骨髄由来中胚葉系幹細胞による脳梗塞の治療

特集 バイオ素材による創薬とDDS

本 望 修^{*1,2)}

A mesodermal stem cell therapy for stroke

Stem cells or progenitors derived from non-neural samples as well as the neural tissues in humans are thought to be a good candidate for the regenerative medicine in central nervous system (CNS) diseases. The characteristics of these stem cells are high proliferating potential and multipotential. They showed good adaptation in the host CNS, migrated through the normal and damaged brain tissue, and differentiated upon the host microenvironment subsequent to transplantation. These characteristics seem to be very useful to establish a cell therapy for CNS diseases.

A distinct advantage of a stem cell therapy using autologous bone marrow for CNS diseases such as stroke is a longer therapeutic time window, whereas the majority of the present treatments for stroke have an interventional time window of only hours. The present project will be able to represent a novel technology for a therapeutic strategy for CNS diseases including stroke. Given the severity and frequency of stroke, such an approach could have a very significant impact on the medical, social and economical consequences.

近年、神経再生に有用と思われる幹細胞が、神経系のみならず、その他の組織からも調整が可能となってきた。これらの幹細胞は、増殖や分化する能力が高いばかりでなく、移植後はホスト脳神経組織への親和性が高く、損傷部位へ遊走能し、状況に応じて分化するので、細胞治療の有力な候補となっている。

自己の骨髄細胞を用いた脳梗塞治療などの場合、利点としては、発症よりある程度時間が経過してからでも治療の可能性がある、ということである。従来の治療のゴールデンタイムがきわめて短いこととくらべると、注目すべきと思われる。現在の研究がさらに発展し、新治療法として成熟することが望まれる。

Osamu Honmou^{*1,2)}

key words : bone marrow, stem cell, stroke,

筆者らは、1990年代初期から神経系細胞をはじめとする種々のドナー細胞の研究を開始し、特に神経幹細胞やES細胞などの幹細胞を用いた基礎研究を展開してきた。特に近年では、実用化を念頭に臨床応用に最短位置と予想される骨髄細胞をドナー細胞とした神経再生研究に注目し、基礎的研究成果を数多く報告してきた¹⁻⁹⁾。そのなかでも特に神経再生作用の強い細胞群(骨髄幹細胞)が、経静脈内投与でも実験的脳梗塞に対して著明な治療効果が認められることを報告してきた。

これらの基礎研究結果に基づき、2007年1月より脳梗塞亜急性期の患者を対象とした自己骨髄幹細胞

の静脈内投与について、その安全性と治療効果について検討しているところであるが、従来の脳梗塞治療による症状経過と比較して、きわめて回復がよいと思われる症例も散見されはじめています。

幹細胞による治療効果は、ドナー細胞とホスト側の反応の総和であり、多彩な作用メカニズムが時間的にも空間的にも多段階的に作用する。また、治癒過程も従来の自然経過とはまったく異なる表現系となる。したがって、リハビリテーションの方法や目標設定もまったく異なる。

治療メカニズム

脳梗塞に対する骨髄幹細胞の治療メカニズムはいくつか推測され、筆者らも基礎研究結果を多数報告

^{*1)} Department of Neural Repair and Therapeutics, Sapporo Medical University 札幌医科大学神経再生医学講座

^{*2)} Department of Neurosurgery, Sapporo Medical University 札幌医科大学脳神経外科学講座

図1 Schematics of therapeutic mechanisms

している^{1,3~8)}。大きく分けて、① サイトカインによる神経栄養・保護作用^{4,5,7)}、② 血管新生作用(脳血流の回復)^{6,7)}、③ 神経再生^{1~3)}、の三つがあるが、それぞれの治療効果が発揮される時期が異なると推測している。

すなわち、①のサイトカインによる神経栄養・保護作用は、MSC(mesodermal stem cell)が産生する液性因子が脳梗塞巣に直接作用するので作用時期はきわめて早い。②の血管新生作用は、脳梗塞発症より3日後ぐらいからはじまり、1週間後には脳血流の回復が明らかに認められるようになる。③の神経再生作用は、1週間後から著明になり、少なくとも数ヵ月は漸増する(図1)。

さらなる基礎研究の発展

骨髄幹細胞の治療効果の機序が科学的に判明してくると、さまざまな方法で治療効果を増強させることができるようになる。たとえば、静脈内に投与された骨髄幹細胞は脳梗塞巣へ到達し、brain derived neurotrophic factor (BDNF)⁴⁾や glial derived neurotrophic factor (GDNF)⁵⁾などのサイ

トカインを介するメカニズムで強力な神経保護作用を発揮する。もし、この治療効果のメカニズムを増強することができれば、治療効果は格段に向上すると考えられる。

そこで筆者らは、人工的な遺伝子操作で、これらのサイトカインの発現を増強した骨髄幹細胞を作製し、脳梗塞ラット(中大脳動脈永久閉塞モデル)へ移植し、治療効果の比較解析を行った。その結果、BDNFを強制発現するように遺伝子を操作した骨髄幹細胞を脳梗塞ラットへ移植すると、遺伝子操作を行っていない通常の骨髄幹細胞を用いて治療を行った場合と比較して、より良好な治療効果が得られることが判明した⁴⁾。また、GDNFを強制発現するように遺伝子を操作した骨髄幹細胞を脳梗塞ラットへ移植しても、同様に、より良好な治療効果が得られた⁵⁾。このように、遺伝子組換え骨髄幹細胞を作製することで、脳神経保護作用が期待できるサイトカインを高濃度で産生させるようにすると、より高い治療効果を発揮するのである。

また、骨髄幹細胞は、脳梗塞局所で血管新生を誘導することが判明している^{4,6~8)}。これは、いわゆる血管新生因子、たとえば angiopoietin-1(Ang-1)⁶⁾

や placental growth factor (PIGF)⁷⁾が関係していると考えられている。従来の知見では、脳梗塞局所における血管新生が、どの程度、治療効果に影響するかは判明していなかった。

そこで筆者らは、Ang-1 を強制発現する遺伝子組換え骨髄幹細胞を作製し、脳梗塞ラットへ移植し、治療効果の比較解析を行った。その結果、Ang-1 を強制発現するように遺伝子を操作した骨髄幹細胞を脳梗塞ラットへ移植すると、遺伝子操作を行っていない通常の骨髄幹細胞を用いて治療を行った場合と比較して、血管新生を促進させ脳血流の改善効果を高めることで、より良好な治療効果が得られることが判明した⁶⁾。また、血管新生因子である PIGF も Ang-1 と同様に、強制発現するように遺伝子を操作した骨髄幹細胞を脳梗塞ラットへ移植すると、血管の新生を誘導すると同時に、神経保護作用も発揮し、より高い治療効果が得られることが判明している⁷⁾。

このように、細胞療法のつぎのステップとしての治療遺伝子を幹細胞に導入する、遺伝子・細胞療法の実用が期待される。また、骨髄幹細胞は、多種の疾患に対して治療効果を発揮することが判明している。たとえば、抗腫瘍性の遺伝子を導入すると、悪性グリオーマの治療が可能となる⁹⁾。さらに、脊髄損傷、脱髄疾患、パーキンソン病等など、適応疾患の候補は広く、さらなる研究が期待されている。

おわりに

骨髄移植などを代表とする体性幹細胞を用いた再生医療は、成人の生体内にある幹細胞を使用するため、①安全性が高く、②自己移植が可能、③すでに一部は実用化されている、などの利点があるため、早急な実用化が期待されている。特に、骨髄幹細胞は、非常に少量の骨髄液から、培養・増殖させることが可能であり、臨床応用においては、誠に勝手のよい細胞として認知されつつある。

前述のように、骨髄幹細胞の治療メカニズムを考慮すると、脳梗塞以外の脳神経疾患への適応拡大の可能性が示唆され、今後の研究が期待される。脳神経以外の領域では、GVHD、ASO、IHD、肝硬変、

糖尿病等々で、安全性や有効性がすでに報告されつつある。このように、再生医療における骨髄幹細胞の占める割合は、近年、急速に高まってきており、さらなる発展を遂げることが予想される。

文 献

- 1) Kim S, Honmou O, Kato K, Nonaka T, Houkin K et al.: Neural differentiation potential of peripheral blood- and bone marrow-derived precursor cells. *Brain Res* 1123: 27-33, 2006.
- 2) Iihoshi S, Honmou O, Houkin K, Hashi K, Kocsis JD: A therapeutic window for intravenous administration of autologous bone marrow after cerebral ischemia in adult rats. *Brain Res* 1007: 1-9, 2004.
- 3) Honma T, Honmou O, Iihoshi S, Houkin K, Hamada H, Kocsis JD: Intravenous infusion of immortalized human mesenchymal stem cells protects against injury in a cerebral ischemia model in adult rat. *Exp Neurol* 199: 56-66, 2006.
- 4) Nomura T, Honmou O, Harada H, Houkin K, Hamada H, Kocsis JD: Intravenous infusion of BDNF gene-modified human mesenchymal stem cells protects against injury in a cerebral ischemia model in adult rat. *Neuroscience* 136: 161-169, 2005.
- 5) Horita Y, Honmou O, Harada K, Houkin K, Hamada H, Kocsis JD: Intravenous administration of GDNF gene-modified human mesenchymal stem cells protects against injury in a cerebral ischemia model in adult rat. *J Neurosci Res* 84: 1495-1504, 2006.
- 6) Onda T, Honmou O, Harada K, Houkin K, Hamada H, Kocsis JD: Therapeutic benefits by human mesenchymal stem cells (hMSCs) and Ang-1 gene-modified hMSCs after cerebral ischemia. *J Cereb Blood Flow Metab* 28: 329-340, 2008.
- 7) Liu H, Honmou O, Harada K, Nakamura K, Houkin K et al.: Neuroprotection by PIGF gene-modified human mesenchymal stem cells after cerebral ischemia. *BRAIN* 129: 2734-2745, 2006.
- 8) Ukai R, Honmou O, Harada K, Houkin K, Hamada H, Kocsis JD: Mesenchymal stem cells derived from peripheral blood protects against ischemia. *J Neurotrauma* 24: 508-520, 2007.
- 9) Nakamura K, Ito Y, Kawano Y, Kurozumi K, Kobune M et al.: Anti-tumor effect of genetically engineered mesenchymal stem cells in a rat glioma model. *Gene Ther* 11: 1155-1164, 2004.