

35. マウスパーキンソンモデルに対する多能性幹細胞由来ドーパミン産生細胞を用いた移植治療

熊澤 綾乃、八幡 俊男、清水 恵司
高知大学医学部脳神経外科

【研究の背景と目的】

パーキンソン病は神経伝達物質であるドーパミンを合成する中脳の神経の脱落を特徴とする神経疾患である。胎児中脳の移植によるパーキンソン病の治療効果が報告されているが、ドーパミン産生能が不安定であること、倫理的な問題があるために細胞の供給源としては適当とはいえない。一方、胚性幹細胞(ES 細胞)や人工多能性幹細胞(iPS 細胞)は増殖性が高く、ドーパミン産生神経を分化誘導することができるので、この疾患に対する細胞療法の出発資材として有用である。しかしながら、ES を用いた細胞療法は、個々の患者の ES 細胞が入手困難であり、iPS 細胞は、未だに治療への応用性が十分に検討されていない。さらに、これらの細胞を用いた治療法では、未分化細胞の混入による発ガン性が危惧されている。本研究では、ES 細胞と iPS 細胞を用いた細胞移植療法の有効性を比較検討し、細胞移植における移植細胞と宿主細胞の免疫応答を解析することで移植細胞の安定性を検討した。

【方法】

C57BL/6(H-2K^b)と C3H/HeN(H-2K^k)及び BALB/c-nu/nu を加えた 3 系統のマウスにおいて 6-OHDA 投与により線条体のドーパミン産生神経を破壊し、メタンフェタミン(2.5mg/kg)を腹腔内投与後のローテーションテストにおいて 10 分間で破壊側に 50 回転以上するマウスをパーキンソンモデルマウスとして使用した。マウス ES 細胞(129/Sv+c+p 由来、haplotype: H-2K^b)、マウス iPS 細胞(iPS-MEF-Ng-20D-17、haplotype: H-2K^b)から 5 step 法を用いてドーパミン産生細胞を分化誘導した。GFP 標識マウス ES 細胞(H-2K^b)または iPS 細胞(H-2K^b)から分化誘導したドーパミン産生神経 5x10⁵ を細胞移植し、ローテーションテストにより治癒経過と免疫組織化学を用いて脳内免疫応答に関して検討を行った。

【結果】

5-step 法により *in vitro* で ES 細胞と iPS 細胞から分化誘導したドーパミン産生神経細胞は MHC class I を発現していなかった。免疫組織化学で ES 細胞から分化誘導した細胞を同系、異系マウスに移植した直後から、活性化マクロファージ/ミクログリアのマーカーである Iba I 陽性の細胞が移植部位周辺に集簇し、移植細胞と移植部位周辺組織における MHC class I の発現上昇が観察された。Iba I 陽性細胞の減少に伴い MHC class I の発現が消失し、移植後 4 週以降で、同系、異系マウスの機能回復が観察された。観察した時期を問わず、同系、異系マウス共にドーパミン産生神経細胞マーカーである TH 陽性の細胞は脳内に生着していることが確認された。機能回復後、同系マウスにおいて MHC class I 抗原は発現せず、異系マウスでのみ 8 週以降再発現したが回復した機能に影響を与えなかった。iPS 細胞を用いた移植による機能回復と免疫不全マウスにおける解析は、現在、解析中である。

【まとめ】

ES 細胞から分化誘導したドーパミン産生神経細胞の移植直後に外傷、炎症に伴うマクロファージ/ミクログリアの活性化が生じ、サイトカイン等の刺激により移植細胞及び移植部位周辺組織の MHC class I の発現を誘導したが、同系、異系マウスに関わらず顕著な移植細胞の排除は認められず機能回復が観察された。また、異系マウスにドーパミン産生神経細胞を移植した場合のみ、8 週以降で MHC class I が発現したが、機能回復には影響を及ぼさなかったことは、異系間移植が MHC class I の発現に関わらず有効であることを示唆している。この異系間移植における MHC class I の再発現の差異と MHC class I の発現の意義、制御機構に関しては今後の検討課題である。