

「神経になる幹細胞」

高橋政代（京都大学附属病院探索医療センター開発部）

はじめに

古くから成体哺乳類の中樞神経は再生しないと考えられてきた。しかし、ラットやヒトでも中樞神経系において神経細胞が新生し回路に組み込まれ機能している、つまり神経が再生していることが判明した（１）。さらに 1990 年代に入って神経再生の源となる神経幹細胞の未分化状態での培養に成功したため、中樞神経の治療に応用可能ではないかという期待がにわかに膨らんでいる。

現在「神経幹細胞」という言葉は様々な意味を持ち、神経前駆細胞も含めた意味で使われる場合もあれば、その概念を指して使われている場合もある。そこで、神経に分化しうる幹細胞について現時点でわかっていることを整理し、その治療への応用の可能性を網膜疾患を中心に考える。

1. 神経幹細胞と神経前駆細胞の区別

幹細胞(stem cell)とは、複数の違った種類の細胞に分化する多分化能と、対称的あるいは非対称的な分裂によって、新たな幹細胞を生み出す自己複製能を持った細胞と定義されている。これに対し、ある分化細胞の系譜に入り(commitment)、限られた回数の分裂の後に分化を遂げるように運命づけられた細胞は前駆細胞(progenitor cell)と呼ばれる（図 1）。

中樞神経実質はニューロン、アストロサイト、オリゴデンドロサイトの 3 種類の細胞からなる。これらすべての細胞を産み出すことができる（多分化能）同じ多分化能を持つ細胞を分裂によって複製することができる（自己複製能）細胞が狭義の神経幹細胞である。神経のみに分化する未分化細胞は神経前駆細胞である。しかし、神経幹細胞と前駆細胞とを実際に判別するのは非常に難しい。また、治療への応用を考えると 3 種類すべての細胞に分化する必要はなく、特に網膜疾患では神経のみが必要であるので神経に分化可能な細胞である神経幹細胞と神経前駆細胞を合わせた意味で神経幹細胞と呼んでいる場合が多い。実際の培養

でも神経幹細胞は神経やグリアの前駆細胞にすぐに移行するので培養皿の中には神経幹細胞と前駆細胞、さらに分化した神経やグリアまで様々な分化段階の細胞が混在しているのが常であり、厳密に神経幹細胞のみの培養は現時点では不可能である。そこで本稿でも神経幹細胞と前駆細胞を合わせた神経に分化可能な細胞を神経幹細胞と称する。



図 1 神経幹細胞

2. 神経幹細胞の培養

Weiss らは成体マウスの脳室下帯の無血清培地初代培養に EGF 添加することにより分裂をつづける細胞の浮遊塊、すなわち neurosphere という形で神経幹細胞の培養に成功した(2)。一方、Gage らはラミニンおよびオルニチンコートした培養皿を用いた接着培養で成体ラット海馬初代培養から bFGF 添加により分裂を続ける分散培養細胞としての神経幹細胞を培養した(3)。どちらもクローン解析により神経幹細胞であることが証明されており、Gage らの幹細胞についてはさらに染色体異常がないこと、腫瘍細胞化していないことが bFGF の除去培養や移植の結果から確認されている。Neurosphere 法を用いれば成体脳からだけでなく胎児脳からも容易に神経幹細胞（神経幹細胞を含む neurosphere）を培養することができるが、これらの培養法で得られる細胞は神経幹細胞を含む多様な細胞集団である。そこで最近では、純粋な神経幹細胞を

単離するための試みが報告されている。

神経幹細胞の証明については現時点ではクローン細胞を分化誘導して多分化能を証明することはできるが、証明できた時点ではもとの神経幹細胞はすでに分化して消滅しており retrospective な証明方法でしかない。また、神経幹細胞は神経前駆細胞に変化する過程で遺伝子的には様々な段階を経ていると考えられ、ここまでが神経幹細胞と区切ることさえ無理なのかもしれない。

一方、細胞の治療応用という点からいうと必ずしも神経幹細胞を取り出す必要はなく、むしろ必要とする神経細胞（例えば視細胞やドーパミン細胞）の前駆細胞が多量に含まれている方がよいと考えられるので、神経幹細胞という概念を応用した治療のことを「神経幹細胞による再生医療」と呼び研究がすすめられているのが実情である。ここでいう「再生医療」も内在性の幹細胞が分化して組織を修復する真の再生のみではなく失われた組織を移植によって再生するという広義の再生である。

3. 種々の幹細胞

神経幹細胞は時間的および空間的に規定され、異なった領域から採取された神経幹細胞は異なった遺伝子を発現しているという報告があり、また、同じ領域から得られる神経幹細胞も発達の時期によって分化する細胞の種類が違う⁴⁾。一方、幹細胞に関する最近のトピックのひとつに成体組織由来幹細胞は胎児の幹細胞と異なり胚葉を超えて分化し、神経を含み種々の細胞にするという報告がある。

前者は幹細胞は領域、時期によって分化の方向が規定されているということであり、後者は組織のしほりを超えて分化しうる可塑性があるということで見矛盾しているようにも思えるが合わせて考えると成体に残存している幹細胞は胎児の組織幹細胞よりも未分化な状態で維持されており、胚葉を超えて神経幹細胞になることができるが、神経には様々な種類があるので必要とする神経細胞を得るためには神経幹細胞を厳密にコントロールする必要があるということを意味するように思う。

我々は成体ラット海馬由来の神経幹細胞にはじまり⁽⁴⁾、現在は眼球由来神経前駆細胞を網膜に移植し網膜の視細胞を補う治療開発のための研究を行っているが、視細胞分化に重要な役割を持つホメオボックス

遺伝子の Crx を導入した場合に眼球由来細胞（毛様体上皮細胞、虹彩細胞）ではロドプシン陽性細胞となるが、脳由来神経幹細胞はロドプシンを発現しなかった (5)。つまり神経幹細胞は形態的には同じように見えても由来領域によって内的環境が異なり、必要とする神経を高率に得ようとするするとそれに適した環境を整える必要がある。

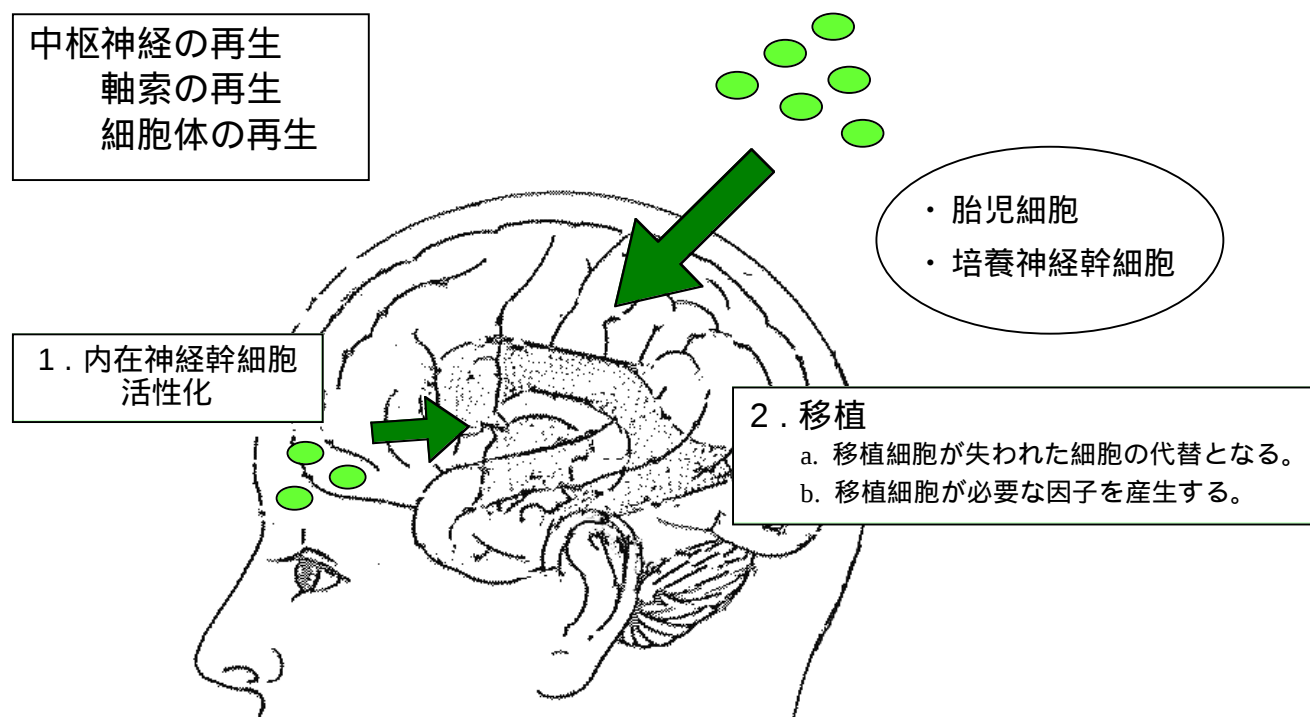


図 2 中枢神経の再生

4. 中枢神経の再生

神経の再生は軸索の再生と細胞体の再生に分けられる。さらに幹細胞を用いた神経再生には内在性幹細胞を賦活化して再生を促す方法と移植によって幹細胞を補う方法がある。また幹細胞移植の中には幹細胞自体が必要な細胞に分化して組織に組み込まれて働く場合と幹細胞から分泌される栄養因子が宿主の細胞の再生を助ける場合とにわけられる。

（図 2）どういう疾患が対象化によって戦略も異なる。

我々が目的としている網膜変性疾患の場合は変性消失する特定の

神経細胞を補う必要がある。例えば網膜細胞移植の細胞源の候補としては神経に分化しうると報告されている細胞すなわち、脳由来の神経幹細胞、胎児網膜由来の神経幹細胞、成体毛様体由来の網膜幹細胞、虹彩由来神経前駆細胞、皮膚幹細胞、脂肪幹細胞、骨髄間質細胞、血液系幹細胞、羊膜上皮細胞、ES 細胞などすべてが考えられる。しかし、この中で現在網膜疾患治療のために必要な視細胞や網膜色素上皮細胞様の細胞が得られているのは現在のところ胎児網膜由来神経幹細胞、毛様体上皮細胞⁵⁾、虹彩細胞¹²⁾といった眼球由来の細胞と ES 細胞¹⁵⁾である。(図 3)

神経の細胞体を補う治療のためには、幹細胞を必要とする神経細胞に効率よく分化させ、正しいシナプスを作らせる必要がある。まだ、必要とする神経細胞に効率良く分化させることに苦労している段階で、現状では正しいシナプスを作るかどうかはブラックボックス、生体の神秘にゆだねるしかない感がある。特定の細胞への幹細胞の分化を司る因子および神経回路網再構築のための因子同定・解析が今後の課題になると考えられる。

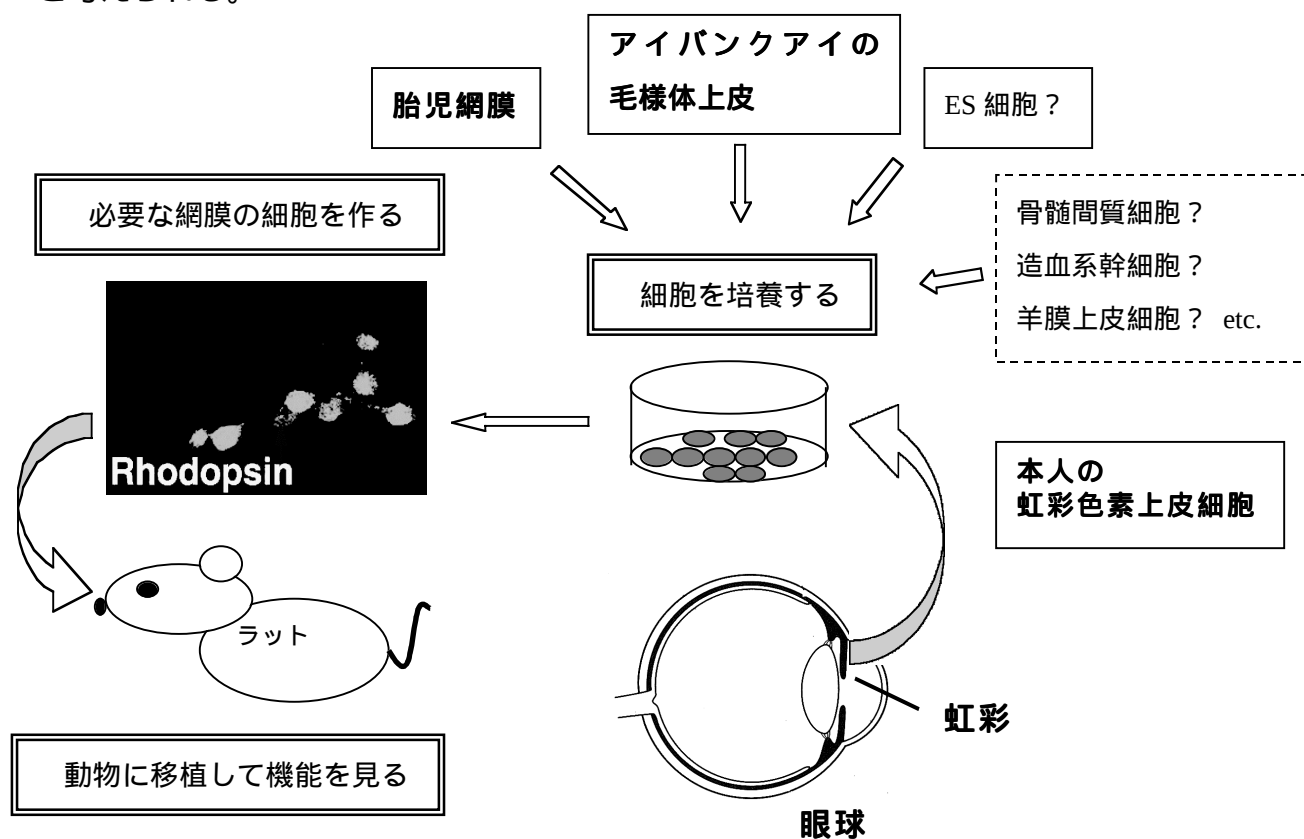


図 3 幹細胞移植研究 (網膜視細胞の例)

参考文献

1. Eriksson PS *et al*: Neurogenesis in the adult human hippocampus. *Nature Med* 4:1313-1317, 1998.
2. Reynolds B *et al*: Generation of neurons and astrocytes from isolated cells of the adult mammalian central nervous system. *Science* 255:1707-1710, 1992.
3. Palmer TD *et al*: The adult rat hippocampus contains primordial neural stem cells. *Mol Cell Neurosci* 8:389-404, 1997.
4. Takahashi M *et al*. Widespread integration and survival of adult-derived neural progenitor cells in the developing optic retina. *Mol. Cell. Neurosci.* 12:340-8, 1998.
5. Haruta M *et al*: Induction of photoreceptor-specific phenotypes in adult mammalian iris tissue. *Nat Neurosci* 4:1163-1164, 2001.