

フジテレビ ■放送 毎週木曜日 21:00~21:15

マルホ皮膚科セミナー

2014年6月26日放送

「第64回日本皮膚科学会中部支部学術大会②

シンポジウム 1-5 毛包幹細胞による再生医療の臨床応用にむけて」

北里大学 皮膚科
教授 天羽 康之

はじめに

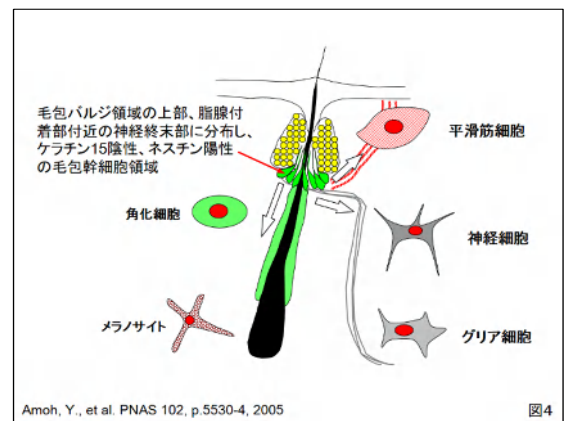
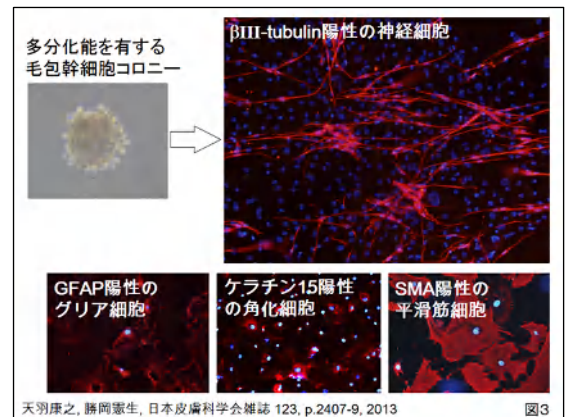
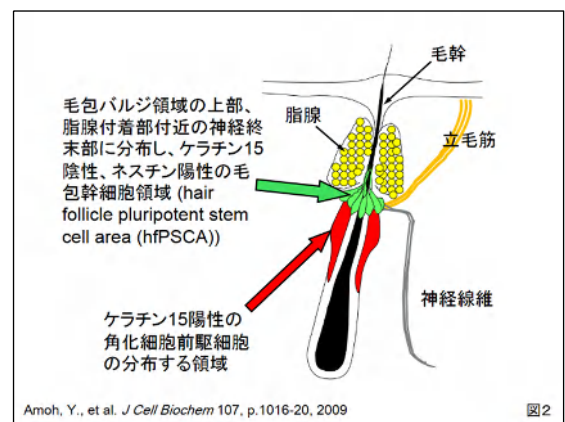
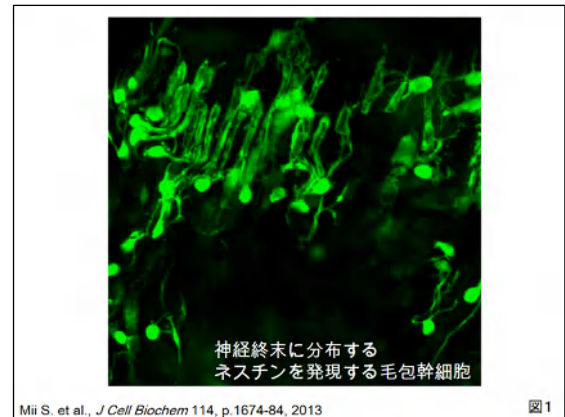
胚幹細胞 (embryonic stem cells (ES 細胞))、誘導多能性幹細胞 (induced pluripotent stem cells (iPS 細胞))、成体組織幹細胞、多分化成体前駆細胞を用いた幹細胞研究は、近年、再生医療への期待も重なり全世界で注目を集めています (1-4)。さらに 2012 年、誘導多能性幹細胞 (iPS 細胞) の発見によって京都大、山中伸弥教授がノーベル医学・生理学賞を受賞した事は、日本国民を熱狂させ、再生医療への臨床応用の期待を全世界でさらに高める契機になったと思われます。現在すでに、皮膚、骨・軟骨、歯周組織、角膜、血管・心臓、肝臓、膵臓、神経、食道等、多くの臓器を対象とした再生医療の臨床応用に向けた検討が進められており、関連する多くのベンチャー企業も立ち上がり、活発な研究が進められています。

幹細胞とは

まず初めに幹細胞について説明します。幹細胞には胚幹細胞 (embryonic stem cells (ES 細胞))、ウイルス等による遺伝子導入を用いた幹細胞 (Oct3/4、Sox2、Klf4、c-Myc の 4 因子のレトロウイルスによる導入によって作成される誘導多能性幹細胞 (iPS 細胞) 等)、そして、骨髄幹細胞、神経幹細胞、毛包幹細胞等の成体に分布して周囲の組織の再生を恒常的に助けている成体組織幹細胞があります。ES 細胞はあらゆる細胞に分化することができ、長期間にわたって増え続けることができる最も再生能力の強い幹細胞です。しかし、個体に生育することが可能な胚を使用するという倫理的な問題から臨床応用は難しいのが現状です。そのため、この倫理面の問題のない iPS 細胞や、患者本人から採取することも可能な成体組織幹細胞を用いた再生医療の臨床応用が期待され、研究が進められています。

皮膚に存在する毛包幹細胞の優位性

ES 細胞や iPS 細胞以外の幹細胞には骨髄幹細胞、神経幹細胞、毛包幹細胞等の成体組織幹細胞があります。これらの成体組織幹細胞は多分化能が限られているため、再生できる組織に限りがあるものの、ES 細胞や iPS 細胞の持つ倫理面や腫瘍化の問題点が少ないことから、より早い臨床応用が期待されています。まず初めに、成体組織幹細胞の中で最も採取が容易な皮膚における毛包幹細胞について述べます。哺乳類では全身の体表の毛の密度が常に一定に保たれていることから、毛を作り出す毛包の一部に毛周期を支配する幹細胞が存在していることが早くから推測されていました。我々は、ネスチン遺伝子のプロモーターと第 2 イントロン間に GFP を組み込んだトランスジェニックマウス (ネスチン-GFP-Tg マウス) を用いて、皮膚毛包の脂腺附着部の神経終末周囲に分布する毛包幹細胞がネスチンを発現しており、毛包サイクルを制御していることを明らかにしました (4-6)。さらに我々は、神経幹細胞の重要なマーカーの 1 つであるネスチンを用いて多分化能を有する毛包幹細胞を分離することに初めて成功しました。ネスチンは細胞内骨格を形成する class IV の中間径フィラメントであり、ネスチンを発現する毛包幹細胞は幹細胞培養液を用いて分離、培養することが可能で、幹細胞培養液では球体構造をとって増殖します。培養液を血清含有培養液へ変更するとケラチノサイト、メラノサイト、神経細胞、グリア細胞、平滑筋細胞へ分化を始めます (5)。我々は毛包幹細胞が分布する毛包バルジ領域の上部、脂腺附着部付近の神経終末部に存在し、今まで明らかにされていなかった多分化能を有する毛包幹細胞が分布する領域を、毛包幹細胞領域 (hair follicle pluripotent stem cell area (hfPSCA)) と命名しました (図 1, 2, 3, 4) (4-6, 10)。



さらに、毛包幹細胞の組織再生能を明らかにするため、移植後も緑色蛍光蛋白 (GFP) の発現が安定しているグリーンマウス (8) の髭毛包からネスチンを発現する毛包幹細胞を分離し、移植実験を行いました。グリーンマウスから分離した毛包幹細胞を切断した末梢神経間へ移植したところ、この毛包幹細胞は主にグリア細胞に分化し、シュワン細胞となって既存の神経軸索の再生を促し、末梢有髄神経の神経線維を再生しました。坐骨神経再生部の上流で電気刺激を行うと腓腹筋の収縮能が回復することを確認しました (6)。さらに、グリーンマウスから分離した毛包幹細胞を切断した脊髄間へ移植したところ、この毛包幹細胞は主にシュワン細胞となって既存の神経軸索の再生を促し、脊髄の神経線維も再生しました (9)。特に腰椎損傷部は胸椎損傷部よりも毛包幹細胞の移植で顕著に改善されました。毛包幹細胞は他臓器の成体組織幹細胞と比較して、皮膚という最も採取しやすい部位に分布しており、また、患者本人の皮膚毛包から採取した自己幹細胞を直接病変部へ使用出来るため、ES 細胞で大きな問題となっている倫理面や拒絶反応の問題が少なく、また、ES 細胞やウイルスにより遺伝子導入した iPS 細胞が、ウイルスの宿主への感染や遺伝子異常に伴う腫瘍化の危険から臨床応用が困難であることと比較して、皮膚由来の毛包幹細胞は腫瘍化がほとんど認められず、高い安全性が期待されます。これは、毛包幹細胞が元来、成体内で安定して存在している成体組織幹細胞であり、腫瘍化を起こさないように通常は分裂能を抑えて静かに待機しており、緊急時に必要に応じて必要な細胞への分化をする細胞としての機能を持つためと考えられます。さらに、臨床応用における毛包幹細胞等の成体組織幹細胞と、ES 細胞や iPS 細胞による再生医療との最も大きな違いになると考えられるのは、ES 細胞や iPS 細胞は、幹細胞の状態では再生能が限られているため、損傷した組織に対応した分化が十分できず、既存の組織との連結がうまく進まない可能性があります。一方、毛包幹細胞は奇形腫を発生しないため安全性が高く、さらに幹細胞の状態のまま移植が可能であることから、損傷組織から分泌される増殖因子の環境に対応して必要な細胞へ分化し、損傷組織に応じたより強力な再生能が期待できます。もちろん、これらの再生能力に関しては、ES 細胞や iPS 細胞においても今後、分化度の調整等によって改善される可能性もあり、今後の研究が重要になると考えられます。このように、毛包幹細胞には ES 細胞や iPS 細胞による再生医療とは異なる特徴があり、より安全な組織の修復を目的とした組織修復医療とも言える新しい手法として臨床応用にむけた検討が進められています。

まとめ

強力な組織再生能を持つ ES 細胞と iPS 細胞の発見で様々な臓器を対象にした再生医療実現への期待が膨らんでいます。しかし、患者への ES 細胞、iPS 細胞移植には腫瘍発生の危険性という現時点で克服の難しい問題点があるため、臨床研究の準備が進んでいるものの臨床応用の実現にはまだまだ長い時間がかかると思われれます。倫理面と安全性という問

題点をクリアし得る現時点で実用化に最も近い再生医療は、すべての生体が有している毛包幹細胞、骨髄幹細胞等の成体組織幹細胞であり、これら成体組織幹細胞による組織修復能力を利用するものと考えます。これらの成体組織幹細胞の再生能力は、全組織を再生し得る ES 細胞や iPS 細胞と比較して限られたものではあるものの、患者本人の皮膚や骨髄から幹細胞を取り出し、増殖させることが可能であり、自己幹細胞を分化させることなく未分化状態で直接病変部に移植できることから、倫理面の縛りを受けず、拒絶反応も起こりにくい。さらに成体組織幹細胞は、iPS 細胞等のウイルスを用いた遺伝子導入による幹細胞の作製上で重大な問題となるウイルス感染や腫瘍化の危険性も低いことから、末梢神経、脊髄、皮膚損傷部等の損傷組織修復において、早期に臨床応用に向けた更なる研究が進むことが期待されます。

これらの研究は、北里大学医学部皮膚科カリフォルニア大学 San Diego 校外科学教室、Anticancer, Inc. の Robert M. Hoffman 教授らとの共同研究によるものであります。

図の説明文

図 1

ネスチン-GFP-トランスジェニックマウスにおける神経終末に分布するネスチンを発現する毛包幹細胞 (11)。

図 2 毛包幹細胞領域の分布

多分化能を有する毛包幹細胞は毛包脂腺附着部,毛包バルジ領域上部 (hair follicle pluripotent stem cell area (hfPSCA)) に分布する (10)。

図 3

多分化能を有する毛包幹細胞コロニーは、幹細胞培養液から 10%血清含有 RPMI1640 培養液へ移動すると \square III-tubulin 陽性の神経細胞、GFAP 陽性のグリア細胞、ケラチン 15 陽性のケラチノサイト、平滑筋アクチン陽性の平滑筋細胞に分化する (12)。

図 4

毛包バルジ領域の上部、脂腺附着部付近の神経終末部に分布し、ケラチン 15 陰性、ネスチン陽性の毛包幹細胞領域は、 \square III-tubulin 陽性の神経細胞、GFAP 陽性のグリア細胞、ケラチン 15 陽性のケラチノサイト、平滑筋アクチン陽性の平滑筋細胞、メラニンを持つメラノサイトに分化する(5)。

文献

1. Takahashi K, Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell* 126: 663–676, 2006.
2. ‘iPS 細胞で何が治せる?’ *日経メディカル* 11: 34-39, 2012.
3. 天羽康之, 田辺健一, 三井純雪, 狩野真帆, 勝岡憲生: ‘皮膚原発腫瘍における毛包幹細胞マーカー発現の検討’ *日本皮膚科学会誌* 122: 1365-1374, 2012.
4. Li L, Mignone J, Yang M et al: Nestin expression in hair follicle sheath progenitor cells, *Proc Natl Acad Sci USA* 100: 9958-9961, 2003.
5. Amoh Y, Li L, Katsuoka K, et al: Multipotent nestin-positive, keratin-negative hair-follicle bulge stem cells can form neurons, *Proc Natl Acad Sci USA* 102: 5530-5534, 2005.
6. Amoh Y, Li L, Katsuoka K, et al: Implanted hair follicle stem cells form Schwann cells which support repair of severed peripheral nerves, *Proc Natl Acad Sci USA*, 102: 17734-17738, 2005.
7. 天羽 康之, 勝岡 憲生: 毛包には多分化能を有する幹細胞が存在する -Hair follicle pluripotent stem (hfPS) cells-’ *皮膚と美容* 43: 2011; 8-13, 2011.
8. Okabe M, Ikawa M, Kominami K et al: ‘Green mice’ as a source of ubiquitous green cells. *FEBS Lett* 407: 313-319, 1997.
9. Amoh Y, Li L, Katsuoka K, et al: Multipotent hair follicle stem cells promote repair of spinal cord injury and recovery of walking function. *Cell Cycle* 7: 1865-1869, 2008.
10. Amoh Y, Kanoh M, Niiyama S, et al. Human hair follicle pluripotent stem (hfPS) cells promote regeneration of peripheral-nerve injury: An alternative to ES and iPS cells. *J Cell Biochem* 107: 1016-1020, 2009.
11. Mii S, Duong J, Tome Y, et al. The role of hair follicle nestin-expressing stem cells during whisker sensory-nerve growth in long-term 3d culture. *J Cell Biochem* 114: 1674-1684, 2013.
12. 天羽 康之, 勝岡 憲生: 皮膚における毛包幹細胞の役割と再生医療の臨床応用に向けて. *日本皮膚科学会誌* 123: 2407-2409, 2013.