

第89回関西実験動物研究会

ヨーロッパからの風

1. イギリスから ～鼻粘膜からの神経幹細胞分離とその有用性の検討～

桑村 充（大阪府立大学大学院・獣医病理学教室）

2003年6月から約15ヶ月間、日本学術振興会と英国王立協会の支援を受け、英国ケンブリッジ大学獣医学部に留学する機会を得た。ホストサイエンティストのロビン・フランクリン博士は、神経学のユニットに所属し、獣医学部の神経学の講義を担当するとともに、主にミエリン再生に関する研究を精力的に行っている。その一つとして、ミエリンが消失した病変（脱髄病変）に対して、ミエリン再生を促すために細胞移植の実験を行っている。細胞移植は、脊髄損傷、神経変性疾患などの様々な神経疾患においても有用な治療法となり得ると考えられている。移植細胞のソースとしては、シュワン細胞、**olfactory ensheathing cell**、中枢神経由来の神経幹細胞などが用いられてきたが、よりアクセスの容易な神経幹細胞が求められている。鼻粘膜は常に物理的、化学的な障害因子にさらされており、哺乳動物の鼻粘膜神経細胞は生後も再生能を保持していることが知られている。今回、鼻粘膜からの神経幹細胞の分離を試み、その有用性を検討した。

F344 ラットの嗅球を外科的に破壊し（嗅球切除術）、鼻粘膜の神経細胞の変性を誘発し、幹細胞の活性化を行った。嗅球切除数日後に鼻粘膜を採材し、機械的およびトリプシン処理にて細胞を分離し、FGF-2、EGF 添加 DMEM 培地にて培養した。数日後、神経幹細胞類似の浮遊細胞塊(**neurosphere**)が認められた。神経幹細胞としての特性を明らかにする目的で、**neurosphere** の凍結切片を作製後、免疫組織化学染色を行ったところ、神経幹細胞マーカーである **nestin** 陽性細胞が混在し、増殖細胞マーカーである **BrdU** 取り込み能を有することから、鼻粘膜由来の **neurosphere** が神経幹細胞の特徴を有することが明らかとなった。

次に、得られた神経幹細胞のミエリン再生能を検討するために、実験的脱髄病変に対して、鼻粘膜神経幹細胞の移植実験を行った。用いた脱髄病変は、臭化エチジウム(**EB**)を脊髄背側に投与し、2日後に放射線照射を行い内因性のミエリン再生細胞を破壊した脱髄モデル病変（**EB** 病変）である。F344 ラットに **EB** 病変を作製後、同部位に鼻粘膜神経幹細胞を投与し、4週後にサンプリングし、ミエリン再生を組織学的に検討した。また、移植細胞を同定する目的で、**LacZ-retrovirus** を培養中に感染させ、移植細胞マーカーとした。鼻粘膜神経幹細胞を移植された **EB** 病変では、組織学的に広範囲なミエリン再生が認められ、**LacZ** 陽性細胞を染める **X-gal** 染色陽性細胞が認められた。再生ミエリンは、免疫組織学的に末梢性ミエリンマーカーである **P0** 蛋白陽性を示し、鼻粘膜神経幹細胞が末梢性のミエリンを形成することが明らかとなった。

以上の所見より、脱髄というミエリン再生が要求される環境において、鼻粘膜由来の神経幹細胞がミエリン形成能を有することが示され、神経疾患の治療のための自己移植ソースとしてのポテンシャルを有することが示唆された。