

## ヒト生体由来多能性幹細胞Muse細胞を用いた劇症肝炎の 治療開発と組織修復機構の解明



東北大学大学院医学系研究科細胞組織学分野 助教 若尾 昌平

### 【研究背景】

肝臓は、身体に必要な物質を合成し、薬物等の身体に有害となる物質を解毒、排泄するなど、生命維持にとって重要な役割を担っている臓器である。難治性の劇症肝炎では、急激な肝細胞の破壊に伴って肝臓の機能維持が困難となり、その生存率は約30%であることから、致命的経過を示す危険度の高い疾患である。これらの治療法としては、内科的治療や部分生体肝移植が行われているが、ドナーへの感染症や死亡の可能性もあるため、決して簡単な治療法ではない。一方で、このように肝細胞が失われて肝臓が機能不全に陥った場合の治療法の一として、細胞移植による細胞の補充がある。その細胞ソースとしては、実際に失われた肝細胞を移植することが一番適していると考えられる。しかし、肝細胞はドナーからの大量採取が困難であると同時に、*in vitro*において培養すると細胞の代謝作用の機能低下等がおこり、本来の肝細胞としての性質を失うこともある。また、肝臓のstem/progenitor cellと言われているoval cellは、健常の組織にはほとんど存在せず、損傷を受けた場合に出現し、組織の再生に寄与することが知られている。しかし、oval cellの起源となる細胞について、その詳細は明らかとされていないため、この細胞を用いた細胞移植治療は現実性がない。そのため、肝障害に適した細胞ソースの探索とその応用方法の開発の必要性が迫られている。

本研究室では、培養ヒト皮膚由来線維芽細胞、骨髄由来間葉系細胞に存在する多能性幹細胞を見出し、Multilineage-differentiating stress enduring (Muse) 細胞細胞として報告した。このMuse細胞は (1). ヒト多能性幹細胞マーカーであるSSEA-3により単離可能、(2). ストレス耐性、(3). 自己複製能を有する、(4). Oct3/4やSox2、Nanogといった多能性幹細胞マーカーを発現する、(5). 一細胞から三胚葉性の細胞への分化を示す、(6). 腫瘍形成は生じないという生体由来の特異な多能性幹細胞であることを明らかとした。

### 【研究目的】

本研究では、間葉系細胞に含まれるMuse細胞およびそれ以外のnon-Muse細胞を移植することにより、四塩化炭素を用いた劇症肝炎モデルマウスにおけるそれぞれの細胞が示す作用機序を経時的に解析するとともに、Muse細胞、non-Muse細胞の様々なサイトカイン、ケモカイン等の因子による肝臓保護作用や抗炎症作用、細胞の遊走の可能性を解析することで、難治性疾患に対する細胞移植治療の可能性を検討することを目的とする。

## 【方法および結果】

Muse細胞の肝細胞系への分化能力を確認するために、*in vitro*において単離したMuse細胞から細胞塊を形成させ自発的な分化を免疫染色により確認した。その結果、肝細胞系マーカーであるDLK, AFP, CK18, CK19陽性の細胞が確認されたことから、Muse細胞は肝傷害の修復に寄与する可能性が示唆された (図.1)。次に、Muse細胞の治療効果を検証するために、四塩化炭素を腹腔内投与した劇症肝炎モデルマウスを作製し、このモデル動物から血清を回収し、*in vitro*においてMuse細胞およびその他のnon-Muse細胞の遊走試験を行った。その結果、Muse細胞は障害肝への特異的な高い遊走能を有していることが確認された (図.2)。次に、*in vivo*におけるMuse細胞の障害肝の再生への寄与を確認するために、劇症肝炎モデルマウスの尾静脈から細胞移植を行った。先の実験でモデル作製後24時間が最も遊走能しやすいことが確認されたため、モデル作製後24時間後に細胞移植を行った。その結果、血液検査では有意差は見られなかったが、Muse細胞移植群において多くの移植細胞の生着および肝細胞マーカー陽性細胞が傷害肝において認められた (図.3)。

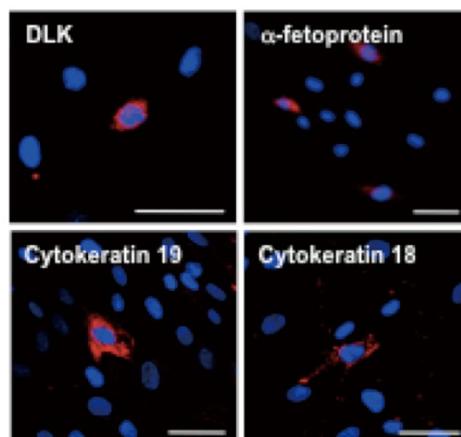


図.1 Muse細胞の肝細胞系細胞への自発的分化能

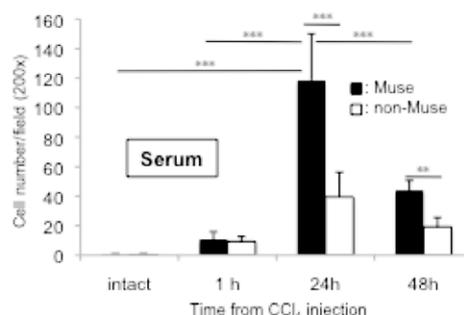


図.2 Muse細胞およびnon-Muse細胞の遊走能

## 【考 察】

Muse細胞は肝細胞系への分化も示す細胞であり、障害肝への遊走能も高く、静脈投与による細胞移植に適していると考えられた。マウスに対する移植実験においても効率的な生着・分化が確認され、障害された組織の修復がみられたことから、Muse細胞移植が急性肝障害の新たな治療法になる可能性があると考えられる。

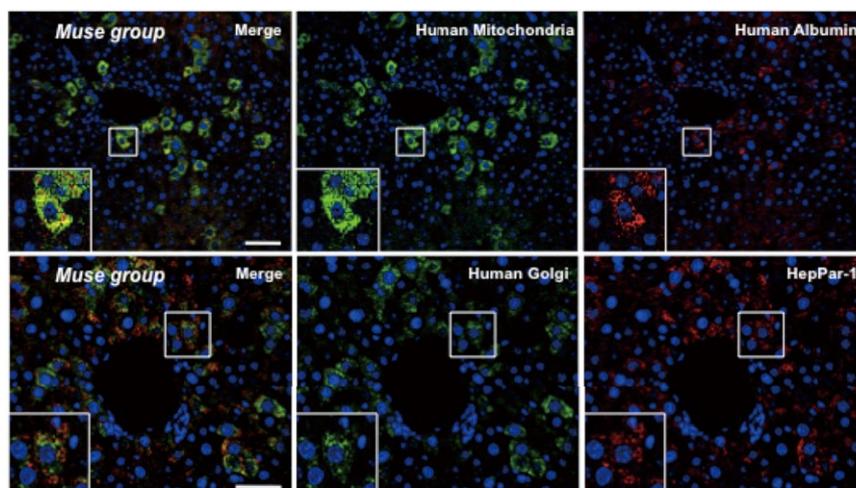


図.3 急性肝障害モデルにおけるMuse細胞移植の治療効果

最後になりましたが、本研究を遂行するにあたり多大なご支援を賜りました公益財団法人難病医学財団の関係者の方々に深く御礼申し上げます。