

パーキンソン病モデルラットに対する間葉系幹細胞移植の治療効果

王 飛霏^{a*}, 安原隆雄^b, 亀田雅博^b, 伊達 勲^b

^a高知大学医学部 先端医療学推進センター, ^b岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 脳神経外科学

キーワード: Parkinson's disease, mesenchymal stem cell, SDF-1 alfa

Therapeutic effects of mesenchymal stem cell transplantation on rat models of Parkinson's disease

Feifei Wang^{a*}, Takao Yasuhara^b, Masahiro Kameda^b, Isao Date^b

^aCenter for Innovative and Translational Medicine, Kochi University Medical School, ^bDepartment of Neurological Surgery, Okayama University Graduate School of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences

はじめに

パーキンソン病は中脳黒質ドパミンニューロンの選択的脱落を特徴とする神経変性疾患であり、振戦、筋固縮、寡動などの運動機能障害を生じる。現段階の治療法としては薬物療法や脳深部刺激療法が適用されているが、神経変性の進行自体を止める治療法は未だ確立されていない。変性・脱落によりニューロンが減少する一方であるパーキンソン病に対し、細胞移植を用いた再生医療が新規治療法として期待されている。パーキンソン病モデルに対する細胞移植は、1970年代にラット脳に胎児由来中脳黒質ドパミン細胞を移植する報告に始まり¹⁾、胚性幹細胞、神経幹・前駆細胞などが用いられ良好な治療効果が報告されている^{2,3)}。しか

しながら、胚や胎児の細胞を用いるには供給量の不足と倫理面の問題があり一般的な治療法として普及させるのは困難である。一方、間葉系幹細胞 (mesenchymal stem cell, MSC) は患者自身の骨髄より採取可能で尚かつ培養が容易である利点を有する。MSC は骨髄中に存在する造血幹細胞の増殖や未分化状態をサポートしていると考えられているが、胚葉を超えた多分化能を有し、軟骨や脂肪だけでなく心筋、神経、肝臓等への分化を示す⁴⁾。パーキンソン病モデル動物に対するMSC移植の治療研究は、Chen J. らにより初めて報告されて以来、その機能改善効果が示されてきた⁵⁾。しかしながら、運動機能の改善に関与するメカニズムについては、不明な点も多い。MSC が分泌するケモカインの一つに SDF-1 α (stromal cell derived factor- α) があり、本来は血球細胞の遊走に関わる因子であるが、近年神経保護効果を有する事が注目されている⁶⁾。本稿では、パーキンソン病モデルラットに対する MSC 移植と SDF-1 α の神経保護効果を中心に、その治療効果と治療メカニズムについて紹介する。

平成24年4月受理

*〒783-8505 高知県南国市岡豊町小蓮

電話: 088-880-2435 FAX: 088-880-2435

E-mail: f-wang@kochi-u.ac.jp

プロフィール



王 飛霏

昭和57年10月10日生

平成17年3月 富山大学工学部物質生命システム工学科卒業

平成17年4月 富山大学大学院理工学研究科修士課程入学

平成19年3月 富山大学大学院理工学研究科修士課程修了

平成19年4月 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科博士課程入学

平成23年3月 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科博士課程修了

平成23年4月 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 細胞生理学 特別研究員

平成24年1月 高知大学医学部先端医療学推進センター 再生医療部門臍帯血幹細胞研究班 助教
現在に至る

MSC 移植による機能改善効果と SDF-1 α の神経保護効果

パーキンソン病モデルラットは、神経毒である 6-OHDA (6-hydroxydopamine) を線条体内に投与することにより作製できる。6-OHDA は線条体の神経終末部より取り込まれ、逆行性に黒質ドパミンニューロンの変性を引き起こす⁷⁾。モデル作製より 2 時間後、ラット大腿骨より採取し培養した MSC を、静脈内投与した。MSC 移植群では、コントロール群である fibroblasts 移植群、PBS 移植群に比べシリンダーテスト、アンフェタミン誘発回転運動ともに、有意な行動学的改善を認めた (図 1)。また、移植後 4 週間における組織学的検討においても MSC 移植群では、fibroblasts 移植群、PBS 移植群に比べ線条体ドパミン繊維及び黒質ドパミンニューロンが有意に残存した。

次に、パーキンソン病の *in vitro* モデルとして、ドパミン産生細胞株である PC12 細胞を用い、SDF-1 α の神経保護効果を検討した。PC12 細胞は SDF-1 α レセプターである CXCR4 の発現を認め、SDF-1 α 処理を行った 6-OHDA-exposed PC12 細胞では、PBS 処理を行った細胞に比べ有意にドパミン分泌量が増加し、TUNEL 陽性細胞が減少した (図 2)⁸⁾。

MSC 移植による機能改善の治療メカニズム

これまでの研究より、パーキンソン病モデルや脳虚血モデルにおいて経静脈的に移植された細胞の多くは肺や脾臓に補足され、脳内ではごくわずかなドナー細胞しか生着しないことが判明している^{9,10)}。本研究においても、移植後一週間の時点で脳内には少数の MSC しか認められなかった。それにも関わらず運動機能改善が得られた治療メカニズムとしては、移植したドナー細胞が様々な栄養因子やサイトカインを分泌し神経保護効果を発揮していると考えられる¹⁰⁾。MSC はパーキンソン病モデルに対して有効な神経栄養因子である bFGF (basic fibroblast growth factor)、VEGF

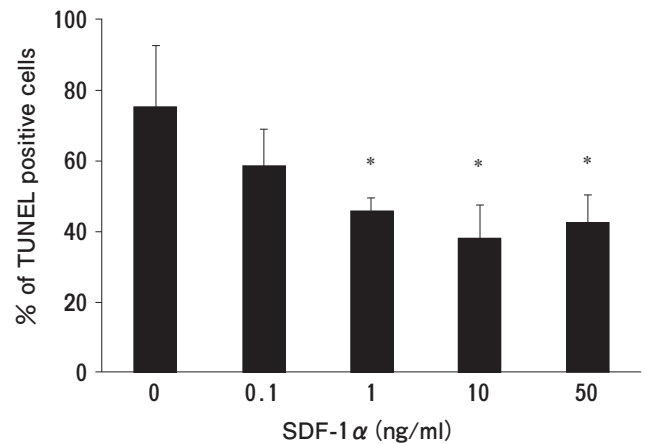


図 2 6-OHDA-exposed PC12 細胞に対する SDF-1 α の抗アポトーシス効果 (文献 8 より引用)

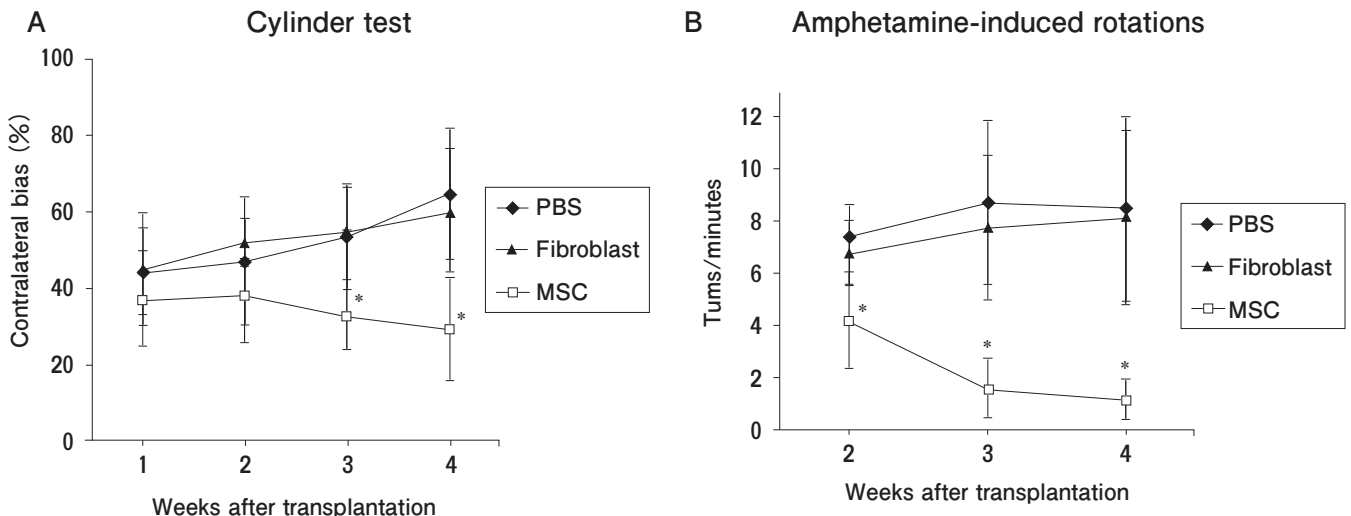


図 1 パーキンソン病モデルラットに対する MSC 移植による機能改善効果
A: シリンダーテスト, B: アンフェタミン誘発回転運動 (文献 8 より引用)。

(vascular endothelial growth factor), GDNF (glial cell line-derived neurotrophic factor) を分泌する¹¹⁾。

また、静脈内投与したドナー細胞が脾臓における免疫細胞活性を抑制し、抗炎症作用により組織の損傷を抑制するとの報告もある¹²⁾。

今回着目した SDF-1 α は、炎症や好中球遊走などに関与するケモカインであるが、レセプターの CXCR4 を介して様々なシグナル伝達経路を活性化する。SDF-1 α が PI3K/Akt や ErK 1/2 経路を活性化することにより、アストロサイトの細胞生存及び増殖を促進させることが報告されている^{13,14)}。中枢神経疾患では、脳虚血モデルに SDF-1 α を脳内投与したところ、梗塞体積の有意な減少と運動機能の改善が認められた。この報告では、SDF-1 α はペナンブラ領域の caspase-3 アポトーシスシグナルを抑制することにより、神経保護効果をもたらしたと述べている¹⁵⁾。パーキンソン病モデルでは、6-OHDA によるドパミンニューロンのアポトーシスに caspase-3 が深く関与しているため、SDF-1 α の抗アポトーシス作用はドパミンニューロンの生存に促進的に寄与すると考えられる。また、CXCR4 は正常脳のドパミンニューロンに恒常的に発現しており、SDF-1 α 投与によりドパミン分泌量が増加することが報告されている。一方で、SDF-1 α の過剰投与はかえって細胞毒性をもたらすことも報告されており、投与量に関しては慎重に検討する必要がある¹⁶⁾。

経静脈的 MSCs 移植による治療効果は、SDF-1 α を含む液性因子による抗アポトーシス作用、抗炎症作用などが主な機能改善メカニズムとして考えられる。しかしながら、本研究では MSC 移植を行ったのは 6-OHDA 投与より 2 時間後という非常に早期であり、本来の臨床に反映するためにも今後は投与時期の検討が必要である。

おわりに

パーキンソン病モデルラットに対して MSC 移植は神経保護効果を示し、部分的に SDF-1 α を介した機序の関与が示唆された。この研究成果を今後、臨床に反映するためにはさらなる検討が必要であるが、パーキンソン病に対する細胞移植療法において高い有用性が期待される。

文 献

- 1) Björklund A, Stenevi U: Reconstruction of the nigrostriatal dopamine pathway by intracerebral nigral transplants. *Brain Res* (1979) 177, 555-560.
- 2) Ben-Hur T, Idelson M, Khaner H, Pera M, Reinhartz E, Itzik A, Reubinoff BE: Transplantation of human embryonic stem cell-derived neural progenitors improves behavioral deficit in Parkinsonian rats. *Stem Cells* (2004) 22, 1246-1255.
- 3) Yasuhara T, Matsukawa N, Hara K, Yu G, Xu L, Maki M, Kim SU, Borlongan CV: Transplantation of human neural stem cells exerts neuroprotection in a rat model of Parkinson's disease. *J Neurosci* (2006) 26, 12497-12511.
- 4) Alexanian AR: Epigenetic modifiers promote efficient generation of neural-like cells from bone marrow-derived mesenchymal cells grown in neural environment. *J Cell Biochem* (2007) 100, 362-371.
- 5) Li Y, Chen J, Wang L, Zhang L, Lu M, Chopp M: Intracerebral transplantation of bone marrow stromal cells in a 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine mouse model of Parkinson's disease. *Neurosci Lett* (2001) 316, 67-70.
- 6) Shyu WC, Lin SZ, Yen PS, Su CY, Chen DC, Wang HJ, Li H: Stromal cell-derived factor-1 alpha promotes neuroprotection, angiogenesis, and mobilization/homing of bone marrow-derived cells in stroke rats. *J Pharmacol Exp Ther* (2008) 324, 834-849.
- 7) Perese DA, Ulman J, Viola J, Ewing SE, Bankiewicz KS: A 6-hydroxydopamine-induced selective parkinsonian rat model. *Brain Res* (1989) 494, 285-293.
- 8) Wang F, Yasuhara T, Shingo T, Kameda M, Tajiri N, Yuan WJ, Kondo A, Kadota T, Baba T, Tayra JT, Kikuchi Y, Miyoshi Y, Date I: Intravenous administration of mesenchymal stem cells exerts therapeutic effects on parkinsonian model of rats: focusing on neuroprotective effects of stromal cell-derived factor-1alpha. *BMC Neurosci* (2010) 52, 1-9.
- 9) Borlongan CV, Hadman M, Sanberg CD, Sanberg PR: Central nervous system entry of peripherally injected umbilical cord blood cells is not required for neuroprotection in stroke. *Stroke* (2004) 35, 2385-2389.
- 10) Chen X, Katakowski M, Li Y, Lu D, Wang L, Zhang L, Chen J, Xu Y, Gautam S, Mahmood A, Chopp M: Human bone marrow stromal cell cultures conditioned by traumatic brain tissue extracts: growth factor production. *J Neurosci Res* (2002) 69, 687-691.
- 11) Koh SH, Kim KS, Choi MR, Jung KH, Park KS, Chai YG, Roh W, Hwang SJ, Ko HJ, Huh YM, Kim HT, Kim SH: Implantation of human umbilical cord-derived mesenchymal stem cells as a neuroprotective therapy for ischemic stroke in rats. *Brain Res* (2008) 10, 233-248.

- 12) Lee ST, Chu K, Jung KH, Kim SJ, Kim DH, Kang KM, Hong NH, Kim JH, Ban JJ, Park HK, Kim SU, Park CG, Lee SK, Kim M, Roh JK : Anti-inflammatory mechanism of intravascular neural stem cell transplantation in haemorrhagic stroke. *Brain* (2008) 131, 616-629.
- 13) Bajetto A, Barbero S, Bonavia R, Piccioli P, Pirani P, Florio T, Schettini G : Stromal cell-derived factor-1alpha induces astrocyte proliferation through the activation of extracellular signal-regulated kinases 1/2 pathway. *J Neurochem* (2001) 77, 1226-1236.
- 14) Zheng H, Dai T, Zhou B, Zhu J, Huang H, Wang M, Fu G : SDF-1alpha/CXCR4 decreases endothelial progenitor cells apoptosis under serum deprivation by PI3K/Akt/eNOS pathway. *Atherosclerosis* (2008) 201, 36-42.
- 15) Shyu WC, Lin SZ, Yen PS, Su CY, Chen DC, Wang HJ, Li H : Stromal cell-derived factor-1 alpha promotes neuroprotection, angiogenesis, and mobilization/homing of bone marrow-derived cells in stroke rats. *J Pharmacol Exp Ther* (2008) 324, 834-849.
- 16) Geeraerts T, Deiva K, M'sika I, Salim H, Héry C, Tardieu M : Effects of SDF-1alpha and gp120IIIB on apoptotic pathways in SK-N-SH neuroblastoma cells. *Neurosci Lett* (2006) 399, 115-120.