

図3 可塑性はどのように説明されるか

- ①多能性幹細胞が骨髄に存在する。
 - ②さまざまな組織幹細胞が骨髄に存在する。
 - ③組織幹細胞が脱分化して新たな分化能を獲得する。
 - ④移植細胞が宿主細胞と融合してドナー形質を示す。
- S: 多能性幹細胞 Sa: 組織 A の幹細胞 Sb: 組織 B の幹細胞 R: 宿主細胞 D: ドナー細胞

Sca-1⁺ c-kit⁺ CD45⁺ CD34⁻の表面マーカーを示しており, Osawa らの示したマウス造血幹細胞と一致する. しかしながら骨格筋の場合, 元来細胞融合を起こし多核化する細胞なので, ドナー血液細胞がレシピエント骨格筋細胞と融合する可能性も考慮しなければならない. 実際, Corbel らは遺伝子導入マウスを用いて血液細胞と骨格筋細胞の融合をみごとに証明した³⁾. 一方, LeBarge らは骨髄細胞が単核の骨格筋幹細胞になったのち多核骨格筋になることを示しており, 血液細胞との細胞融合によらない分化経路も存在すると考えられる⁴⁾. 骨髄間葉系幹細胞 mesenchymal stem cell (MSC) が骨格筋細胞に分化するので, 再生現象が MSC によるものである可能性が示唆される. 骨髄細胞による骨格筋再生では図3の①あるいは②と④のメカニズムが考えられることになる.

2. 骨髄細胞による心筋再生

Orlic らは, 骨髄 Lin⁻ c-kit⁺細胞を心筋梗塞部位に直接移植したところドナー由来細胞による心筋再生がおこること⁵⁾, さらに心筋に分化可能な細胞はサイトカインにより動員される可能性を報告した⁶⁾. また骨髄 sp 細胞を心筋虚血マウスに経静脈的に投与すると心筋に分化することも報告された⁷⁾. これらの実験では当初造血幹細胞が心筋細胞に分化したと考えられたが, 最近の報告で造血幹細胞から心筋への分化能は存在せず, 細胞融合により説明されることが示された⁸⁾⁻¹⁰⁾.

一方, Dexter 培養により樹立したマウス骨髄由来細胞が *in vitro* で心筋細胞になることが1999年に Fukuda らのグループにより報告された¹¹⁾. Toma らもヒト MSC をマウス心筋内に注入する実験により *in vivo* で MSC が心筋細胞になる可能性を示している¹²⁾. したがって骨髄細胞による心筋再生でも図3の①②と④の可能性が存在している.

3. 骨髄細胞による肝再生

1999年に Petersen らは骨髄移植ラットの四塩化炭素肝障害モデルで, 肝再生の幹細胞と考えられている卵円細胞(oval cell)がドナー由来であることを示した¹³⁾. Lagasse らは遺伝性チロシン血症1型のモデルマウスで肝不全を発症し死亡する FAH (fumarylacetoacetate hydrolase) 欠損マウスに, 純化した骨髄造血幹細胞(Lin⁻ c-kit⁺ Sca-1⁺ Thy-1^{low} 細胞)を移植するとドナー由来の肝細胞が再生し肝機能と生存率を改善させることを報告した¹⁴⁾. その後このモデルもドナー由来再生肝細胞は血液細胞との細胞融合(図3④)により生まれることが示された¹⁵⁾¹⁶⁾. しかし治療効果が示されたことは新たな細胞治療の可能性を示唆する.

4. 骨髄細胞による神経再生

脳のミクログリア細胞が造血細胞由来であることは以前より知られていたが, 2000年に Brazelton らのグループと Mezey らのグループは骨髄移植

マウスを用いてドナー由来の細胞が脳内に移行してニューロンに分化することを報告した¹⁷⁾¹⁸⁾。この実験では骨髄のどの細胞がニューロンに分化するのかは不明である。一方、小脳の Purkinje 細胞は細胞融合によりドナー型になることが示された¹⁹⁾(図3④)。

5. ヒト造血幹細胞移植におけるドナー由来非造血細胞

Theise らは男性ドナーから女性レシピエントへの骨髄移植2例および女性ドナーから男性レシピエントへの肝臓移植4例で肝臓の Y-FISH を行った。全例で Y-FISH 陽性の肝および胆管上皮細胞を認め、これらは骨髄細胞由来と考えられた¹⁹⁾。また Korbling らは男性ドナーから女性レシピエントへの末梢血幹細胞移植6例を解析し、末梢に動員された幹細胞でも数パーセントのドナー由来の肝細胞、皮膚表皮細胞、腸管上皮細胞を認め、末梢に動員された幹細胞も多能性を示す可能性を報告した²⁰⁾。また Okamoto らは同じく男性ドナーから女性レシピエントへの骨髄移植4例を解析し、GVHD や潰瘍形成などの消化管障害に際してドナー由来の腸管上皮再生が認められることを報告した²¹⁾。Mezey らは乳児期に骨髄移植を行った症例で1年後に脳に神経様細胞が認められたことを報告している²²⁾。以上のようにヒトにおいても骨髄由来の細胞が肝、胆管上皮、皮膚、腸管上皮、神経などさまざまな組織細胞に分化することが示唆されているが、そのメカニズムは不明である。

以上のように造血幹細胞の可塑性と考えられた現象は多くの場合細胞融合によるものであることが明らかにされてきている。なお、現在まで図3の③の可能性は両生類では示されているが、ほ乳類では示されていない。

Ⅲ. 骨髄間葉系幹細胞

骨髄細胞による組織再生研究の成果の多くが細

胞融合で説明されている。造血幹細胞より由来する単球・マクロファージは炎症部位で融合し多核細胞を形成することは古くから知られており、造血幹細胞の「可塑性」が細胞融合によるものであったという結論は十分納得できるものである。一方、これまでの研究には移植細胞として全骨髄細胞を用いた実験と純化あるいは単一造血幹細胞を用いた実験が混在している。骨髄には造血幹細胞のほかに間葉系幹細胞が存在することが知られているが、間葉系幹細胞の役割については詳しく検討されていない。Horwitz らは3例の骨形成不全症 (osteogenesis imperfecta) 患児への骨髄移植の解析によりドナー由来の骨芽細胞を証明し患児の骨成長に貢献していることを報告したが、これは骨髄中の間葉系幹細胞が移植可能であることを示した最初の報告であった。

われわれは心筋梗塞後の心筋再生に關与する骨髄由来細胞の起源を明らかにするために図4に示す実験を行った。まず造血幹細胞、非造血幹細胞の關与を示すために全骨髄細胞移植と単一造血幹細胞移植後の心筋梗塞マウスを比較した(図4A)。心筋梗塞後に骨髄細胞を動員する目的で G-CSF を投与した。単一造血幹細胞移植マウスではほとんどドナー由来心筋は認められなかったのに対して全骨髄細胞移植マウスではドナー由来の心筋再生が認められた。この結果は心筋細胞が骨髄内の造血幹細胞以外の細胞に由来することを示している。間葉系幹細胞が心筋細胞に分化することが示されているので、次にその可能性を検討した(図4B)。骨髄内移植法により GFP でマーキングされた間葉系幹細胞を移植されたマウスでは心筋梗塞後に GFP 陽性の再生心筋を認めた。以上より骨髄細胞由来の心筋再生が間葉系幹細胞によることが初めて示された(図3②)。

間葉系幹細胞はすでに骨再生、先天性代謝疾患、造血幹細胞移植などに臨床応用されており、今後さまざまな再生治療での利用が期待されている。

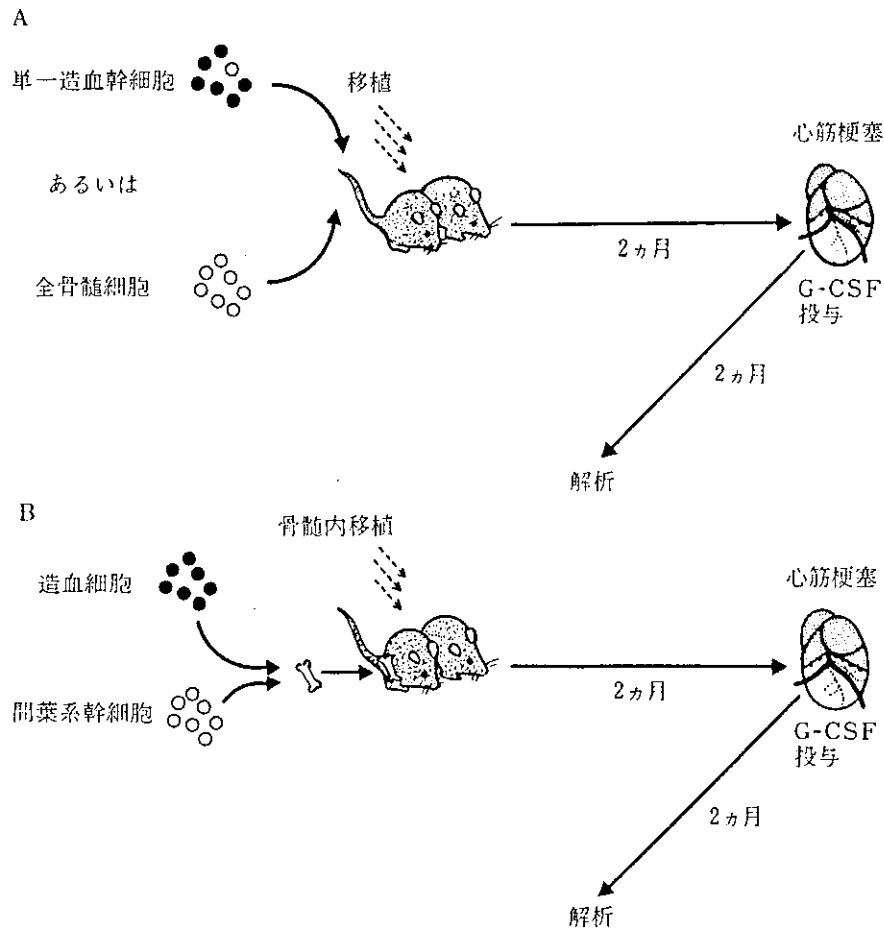


図4 骨髄由来心筋細胞の起源を明らかにする(文献24より)

- A 全骨髄細胞あるいは単一造血幹細胞を移植したマウスに心筋梗塞を作成し、心筋再生を比較する。
- B 骨髄内移植法により間葉系幹細胞を移植したマウスに心筋梗塞を作成し、心筋再生における骨髄由来間葉系幹細胞の貢献を検討する。

IV. 骨髄多能性幹細胞

胚性幹細胞が多能性を持つのは当然であるが、最近成体幹細胞の中にも多能性を持つ細胞が存在することが報告された。Jiangらは間葉系幹細胞の分化能を超えて多分化能を示す成体多能性幹細胞(Multipotent adult progenitor cell: MAPC)が骨髄に存在することを示した²⁵⁾。MAPCは*in vitro*で間葉系幹細胞の分化能を超えて血管内皮細胞、アストロサイト、オリゴデンドロサイト、ニューロン、肝細胞に分化可能であった。*in vivo*では驚くべきことに1個のMAPCを注入した胚盤胞から由来するマウスの7/15匹でMAPC由来の細胞が個体形成に参加していた。さらにその中

の2匹では40%以上のキメリズムを示しており、生殖細胞を除くすべての組織に分化していた。また、 10^6 個のMAPCを照射あるいは非照射NOD/SCIDマウスに経静脈的投与すると、数%のキメリズムであるが造血系、肝、肺、腸管などMAPCが生着した臓器環境に応じて分化することが示された。したがって骨髄移植による組織再生現象が多能性幹細胞による可能性も残されている(図3①)。

ヒトでもMAPCが分離されている²⁶⁾。われわれも日本人成人ドナー21例よりMAPC樹立を試み、13例よりMAPCを得た²⁷⁾。これらの細胞は25回以上の長期継代が可能で、*in vitro*で脂肪細胞、骨芽細胞、軟骨細胞、骨格筋細胞、血管内皮細胞、肝細胞に分化可能であった。さらにNOD/SCID

マウスに移植することにより骨格筋再生を行うことを確認した。

MAPC の分離のためには長期間の培養が必要であり、培養による形質の変化が関与している可能性は否定できない。MAPC の生理的な機能を明らかにするためには生体内で prospective に MAPC を同定する研究が今後必要である。また、再生医学への利用のためにはより簡便な分離法と培養法が必要とされる。

V. 結 語

用いて解説した。骨髄移植実験によりさまざまな組織・臓器再生が示されたため、当初造血幹細胞の可塑性によるものと考えられた。しかしながら骨髄には造血幹細胞以外のさまざまな幹細胞が存在するので再生現象がどの細胞によるものか起源を同定することが重要である。造血幹細胞の可塑性と見られた現象はほとんどが細胞融合によるものであった。一方、間葉系幹細胞による組織・臓器再生も証明され、今後の再生医学での利用が期待される。多能性幹細胞は研究が開始されたばかりであり、今後の進展に期待が持たれる。

成体幹細胞の可塑性と多能性を骨髄細胞の例を

文 献

- 1) Ferrari G, Cusella-De Angelis G, Coletta M, et al : Muscle regeneration by bone marrow-derived myogenic progenitors. *Science* 279 : 1528-1530, 1998.
- 2) Gussoni E, Soneoka Y, Strickland CD, et al : Dystrophin expression in the mdx mouse restored by stem cell transplantation. *Nature* 401 : 390-394, 1999.
- 3) Corbel SY, Lee A, Yi L, et al : Contribution of hematopoietic stem cells to skeletal muscle. *Nat Med* 19 : 1528-1532, 2003.
- 4) LeBarge MA, Blau HM : Biological progression from adult bone marrow to mononucleate muscle stem cell to multinucleate muscle fiber in response to injury. *Cell* 111 : 589-601, 2002.
- 5) Orlic D, Kajstura J, Chimenti S, et al : Bone marrow cells regenerate infarcted myocardium. *Nature* 410 : 701-705, 2001.
- 6) Orlic D, Kajstura J, Chimenti S, et al : Mobilized bone marrow cells repair the infarcted heart, improving function and survival. *Proc Natl Acad Sci USA* 98 : 10344-10349, 2001.
- 7) Jackson KA, Majka SM, Wang H, et al : Regeneration of ischemic cardiac muscle and vascular endothelium by adult stem cells. *J Clin Invest* 107 : 1395-1402, 2001.
- 8) Murry CE, Soonpaa MH, Reinecke H, et al : Haematopoietic stem cells do not transdifferentiate into cardiac myocytes in myocardial infarcts. *Nature* 428 : 664-668, 2004.
- 9) Balsam LB, Wagers AJ, Christensen JL, et al : Haematopoietic stem cells adopt mature haematopoietic fates in ischaemic myocardium. *Nature* 428 : 668-673, 2004.
- 10) Alvarez-Dolado M, Pardal R, Garcia-Verdugo JM, et al : Fusion of bone-marrow-derived cells with Purkinje neurons, cardiomyocytes and hepatocytes. *Nature* 425 : 968-973, 2003.
- 11) Makino S, Fukuda K, Miyoshi S, et al : Cardiomyocytes can be generated from marrow stromal cells in vitro. *J Clin. Invest* 103 : 697-705, 1999.
- 12) Toma C, Pittenger MF, Cahill KS, et al : Human mesenchymal stem cells differentiate to a cardiomyocyte phenotype in the adult murine heart. *Circulation* 105 : 93-98, 2002.
- 13) Petersen BE, Bowen WC, Patrene KD, et al : Bone marrow as a potential source of hepatic oval cells. *Science* 284 : 1168-1170, 1999.
- 14) Lagasse E, Connors H, Al-Dhalimy M, et al : Purified hematopoietic stem cells can differentiate into hepatocytes in vivo. *Nature Medicine* 6 : 1229-1234, 2000.
- 15) Vassilopoulos G, Wang PR, Russell DW : Transplanted bone marrow regenerates liver by cell fusion. *Nature* 422 : 901-904, 2003.
- 16) Wang X, Willenbring H, Akkari Y, et al : Cell fusion is the principal source of bone-marrow-derived hepatocytes. *Nature* 422 : 897-901, 2003.
- 17) Brazelton TR, Rossi FM, Keshet GI, Blau HM : From marrow to brain : expression of neuronal phenotypes in adult mice. *Science* 290 : 1775-1779, 2000.
- 18) Mezey E, Chandross KJ, Harta G, et al : Turning blood into brain : cells bearing neuronal antigens

- generated in vivo from bone marrow. *Science* 290 : 1779-1782, 2000.
- 19) Theise ND, Nimmakayalu M, Gardner R, et al : Liver from bone marrow in humans. *Hepatology* 32 : 11-16, 2000.
 - 20) Korbiling M, Katz RL, Khanna A, et al : Hepatocytes and epithelial cells of donor origin in recipients of peripheral-blood stem cells. *N Engl J Med* 346 : 738-746, 2002.
 - 21) Okamoto R, Yajima T, Yamazaki M, et al : Damaged epithelia regenerated by bone marrow-derived cells in the human gastrointestinal tract. *Nat Med* 8 : 1011-1017, 2002.
 - 22) Mezey E, Key S, Vogelsang G, et al : Transplanted bone marrow generates new neurons in human brain. *Proc Natl Acad Sci USA* 100 : 1364-1369, 2003.
 - 23) Horwitz EM, Prockop DJ, Fitzpatrick LA, et al : Transplantability and therapeutic effects of bone marrow-derived mesenchymal cells in children with osteogenesis imperfecta. *Nat Med* 5 : 309-313, 1999.
 - 24) Kawada H, Fujita J, Kinjo K, et al : Non-hematopoietic mesenchymal stem cells can be mobilized and differentiate into cardiomyocytes after myocardial infarction. *Blood* 104 : 3581-3587, 2004.
 - 25) Jiang Y, Jahagirdar BN, Reinhardt RL, et al : Pluripotency of mesenchymal stem cells derived from adult marrow. *Nature* 418 : 41-49, 2002.
 - 26) Reyes M, Lund T, Lenvik T, et al : Purification and ex vivo expansion of postnatal human marrow mesodermal progenitor cells. *Blood* 98 : 2615-2625, 2001.
 - 27) Muguruma Y, Nakamura Y, Sato T, et al : In vivo and in vitro differentiation of myocytes from human bone marrow-derived multipotent progenitor cells. *Exp Hematol* 31 : 1323-1330, 2003.