

- diomyocyte lineages. *Nature* **433** : 647-653, 2005
- 6) Tomita Y, Matsumura K, Wakamatsu Y, et al : Cardiac neural crest cells contribute to the dormant multipotent stem cell in the mammalian heart. *J Cell Biol* **170** : 1135-1146, 2005
 - 7) Fukuda K, Yuasa S : Stem cells as a source of regenerative cardiomyocytes. *Circ Res* **98** : 1002-1013, 2006
 - 8) Tateishi-Yuyama E, Matsubara H, Murohara T, et al : Therapeutic angiogenesis for patients with limb ischaemia by autologous transplantation of bone-marrow cells : a pilot study and a randomised controlled trial. *Lancet* **360** : 427-435, 2002
 - 9) Higashi Y, Kimura M, Hara K, et al : Autologous bone-marrow mononuclear cell implantation improves endothelium-dependent vasodilation in patients with limb ischemia. *Circulation* **109** : 1215-1218, 2004
 - 10) Tateno K, Minamino T, Toko H, et al : Critical roles of muscle-secreted angiogenic factors in therapeutic neovascularization. *Circ Res* **98** : 1194-1202, 2006
 - 11) Folkman J : Angiogenesis : an organizing principle for drug discovery ? *Nat Rev Drug Discov* **6** : 273-286, 2007
 - 12) Meluzin J, Janousek S, Mayer J, et al : Three-, 6-, and 12-month results of autologous transplantation of mononuclear bone marrow cells in patients with acute myocardial infarction. *Int J Cardiol* **29** : 2007 [Epub ahead of print]
 - 13) Abdel-Latif A, Bolli R, Tleyeh IM, et al : Adult bone marrow-derived cells for cardiac repair : a systematic review and meta-analysis. *Arch Intern Med* **167** : 989-997, 2007
 - 14) Meluzin J, Mayer J, Groch L, et al : Autologous transplantation of mononuclear bone marrow cells in patients with acute myocardial infarction : the effect of the dose of transplanted cells on myocardial function. *Am Heart J* **152** : 975. e9-e15, 2006
 - 15) Schachinger V, Erbs S, Elsasser A, et al : Improved clinical outcome after intracoronary administration of bone-marrow-derived progenitor cells in acute myocardial infarction : final 1-year results of the REPAIR-AMI trial. *Eur Heart J* **27** : 2775-2783, 2006
 - 16) Tatsumi T, Ashihara E, Yasui Y, et al : Intracoronary transplantation of non-expanded peripheral blood-derived mononuclear cells promotes improvement of cardiac function in patients with acute myocardial infarction. *Circ J* **71** : 1199-1207, 2007
 - 17) Choi JH, Choi J, Lee WS, et al : Lack of additional benefit of intracoronary transplantation of autologous peripheral blood stem cell in patients with acute myocardial infarction. *Circ J* **71** : 486-494, 2007
 - 18) Ahmadi H, Baharvand H, Ashitani SK, et al : Safety analysis and improved cardiac function following local autologous transplantation of CD133⁺ enriched bone marrow cells after myocardial infarction. *Curr Neurovasc Res* **4** : 153-160, 2007
 - 19) Stamm C, Kleine HD, Choi YH, et al : Intramyocardial delivery of CD133⁺ bone marrow cells and coronary artery bypass grafting for chronic ischemic heart disease : safety and efficacy studies. *J Thorac Cardiovasc Surg* **133** : 717-725, 2007
 - 20) Losordo DW, Schatz RA, White CJ, et al : Intramyocardial transplantation of autologous CD34⁺ stem cells for intractable angina : a phase I/IIa double-blind, randomized controlled trial. *Circulation* **115** : 3165-3172, 2007
 - 21) Cleland JG, Coletta AP, Abdellah AT, et al : Clinical trials update from the American Heart Association 2006 : OAT, SALT 1 and 2, MAGIC, ABCD, PABA-CHE, IMPROVE-CHE, and percutaneous mitral annuloplasty. *Eur J Heart Fail* **9** : 92-97, 2007
 - 22) Gavira JJ, Herreros J, Perez A, et al : Autologous skeletal myoblast transplantation in patients with nonacute myocardial infarction : 1-year follow-up. *J Thorac Cardiovasc Surg* **131** : 799-804, 2006
 - 23) Ince H, Petzsch M, Rehders TC, et al : Transcatheter transplantation of autologous skeletal myoblasts in postinfarction patients with severe left ventricular dysfunction. *J Endovasc Ther* **11** : 695-704, 2004
 - 24) Chen S, Liu Z, Tian N, et al : Intracoronary transplantation of autologous bone marrow mesenchymal stem cells for ischemic cardiomyopathy due to isolated chronic occluded left anterior descending artery. *J Invasive Cardiol* **18** : 552-556, 2006
 - 25) Takahashi K, Yamanaka S : Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell* **126** : 663-676, 2006
 - 26) Takahashi K, Yamanaka S : Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. *Cell* **131** : 861-872, 2007
 - 27) Nakagawa M, Koyanagi M, Tanabe K, et al : Generation of induced pluripotent stem cells without Myc from mouse and human fibroblasts. *Nat Biotechnol* **26** : 101-106, 2007

心臓の再生

田村 雄一^{1,2} 福田 恵一²

The review of basic studies about the cardiac stem cell and regenerative medicine

^{1,2}Yuichi Tamura, ²Keiichi Fukuda

¹Cardiopulmonary Division, Department of Internal Medicine,

²Department of Regenerative Medicine and Advanced Cardiac Therapeutics,
Keio University School of Medicine

Abstract

The availability of enough cardiomyocytes to transplant as a cardiac tissue is able to read the achievement of regenerative cardiac medicine. Tissue derived stem cells, embryonic stem (ES) cells and induced pluripotent stem (iPS) cells are all potential cell sources. Several types of cardiac tissue stem cells have already been reported, and we describe about the characteristics and multipotency of these tissue stem cells with an accurate comparison. ES cells and iPS cells are highly proliferative and suitable for mass production, and efficient protocols for selective cardiomyocyte induction using ES cells and iPS cells are also significant. On the other hand, these cells still have several issues about purification and safety as well as ethical problems.

Key words: cardiac tissue stem cell, ES cell, iPS cell, side population cell

はじめに

近年 LVAD などの機械的心臓補助装置が内科治療に抵抗性の重症心不全患者や心筋症の予後を改善する手段として目覚ましい進歩を遂げているが、根本的な治療法は心臓移植に限られてしまうため、我が国においてはドナーの絶対的な不足が依然として大きな問題である。そこで末期心不全に対する新たなブレイクスルーとして期待されているのが心筋再生医療であり、京都大学の山中らによる iPS 細胞作成などを契機として近年より一層の盛り上がりを見せている。本稿では心筋再生医療の基盤的研究ともいえ

る心筋前駆細胞および ES/iPS 細胞の心筋分化誘導に関する研究の現状と展望に関して触れていきたい。

1. 心筋前駆細胞

近年まで永らくの間、成体における心臓は再生する能力をもたない臓器であるとされてきた。しかし 2001 年 Orlic らにより、マウスの心筋梗塞周辺部に移植された骨髓造血幹細胞が心筋細胞や血管内皮細胞および血管平滑筋に分化して梗塞後の心筋を再生する¹⁾こと、更に骨髓幹細胞を末梢血に動員する作用をもつ G-CSF や SCF を心筋梗塞モデルマウスに投与することで、死

¹慶應義塾大学医学部 循環器内科 ²同 再生医学教室

表1 各心筋前駆細胞の特徴

	多分化能	自己拍動能	マーカー
SP/神経堤由来細胞	あり	確認	c-kit ⁺ , Sca-1 ⁺
Sca-1陽性細胞	あり	確認	CD34 ⁻ , CD45 ⁻ , Lin ⁻
c-kit陽性細胞	あり	未確認	c-kit ⁺ , CD34 ⁻ , CD45 ⁻ , Lin ⁻
isl-1陽性細胞	なし	未確認	Sca-1 ⁻ , c-kit ⁻

亡率の減少および心機能の改善を認めることが報告された²⁾。これらの報告により、体性幹細胞を傷害心筋に移植・動員することで心筋細胞が再生される可能性が示唆され、心筋に分化する能力をもつ内在性の前駆細胞の研究が進められた。その結果、生体内においてはこれまでのところ①SP(side population)細胞、②Sca-1陽性細胞、③c-kit陽性細胞および④islet-1(isl-1)陽性細胞の4種類が内在性心筋前駆細胞の特性をもっていることが示されている(表1)。各々は心筋前駆細胞としての特性をもちつつ、相互に異なる性質の独立した細胞群であり、現在までのところ造血幹細胞のように1つの細胞集団に集約はされていない。

a. SP細胞

SP細胞は細胞表面にATP binding cassette transporter (Abcg2)をもちHoechst33342に非染色性の細胞群であり、Pfisterの報告³⁾によるとCD31⁻のSP細胞を心筋細胞と共培養することで高率に心筋に分化させることができる。またTomitaらは心臓内のSP細胞を無血清・EGF/FGF-2存在下で培養するとcardiosphereを形成し、神経前駆細胞の特性として認知されているNestin・Musashi-1・MDR-1・p75NGFR受容体のいずれも陽性であるという特徴をもつ細胞群が得られることを報告した⁴⁾。更にこれらの細胞群は発生段階において神経堤より動脈幹および流出路に遊走し(図1)、心筋のみならず神経ニューロン・グリア・血管平滑筋に分化する多分化能をもっており、神経堤由来の多能性幹細胞としての性質を維持している。また成獣の心筋組織内において神経堤由来の細胞群が心筋として存在することが認められることから、生体内においても心筋の前駆細胞として機能し

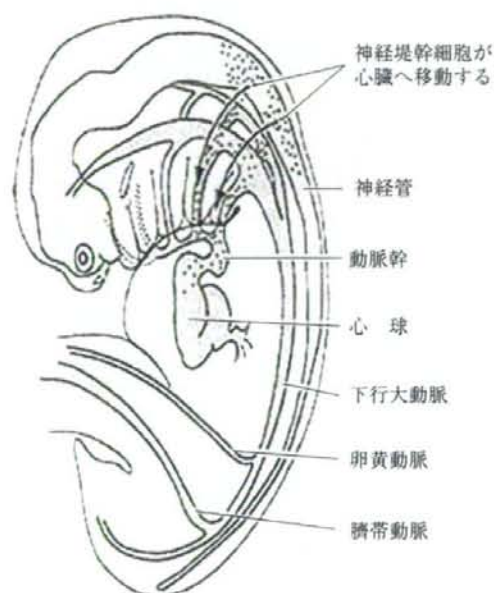


図1 心臓神経堤細胞の心臓への遊走

ていることが示されている(図2)。今後の課題としては、この神経堤由来の細胞群が心筋障害時の心筋細胞再生にどのように関与しているかを解析していくことで、この細胞群の生体内における役割を明確にすることがあげられる。

b. Sca-1陽性細胞

Sca-1陽性細胞はOhらの報告によると^{5,6)}、c-kit⁺・CD34⁻・CD45⁻の特性をもち、成獣マウスの心臓内に存在する細胞群で、心筋転写因子を発現している。また*in vitro*で5-azacytidine処理やオキシトシン添加を行うことによって心筋収縮タンパク質の発現が認められるようになるという性質をもつ。更にマウスの心筋虚血再灌流モデルにおいてSca-1陽性細胞を経静脈的に投与したところ、梗塞巣境界領域にhomig

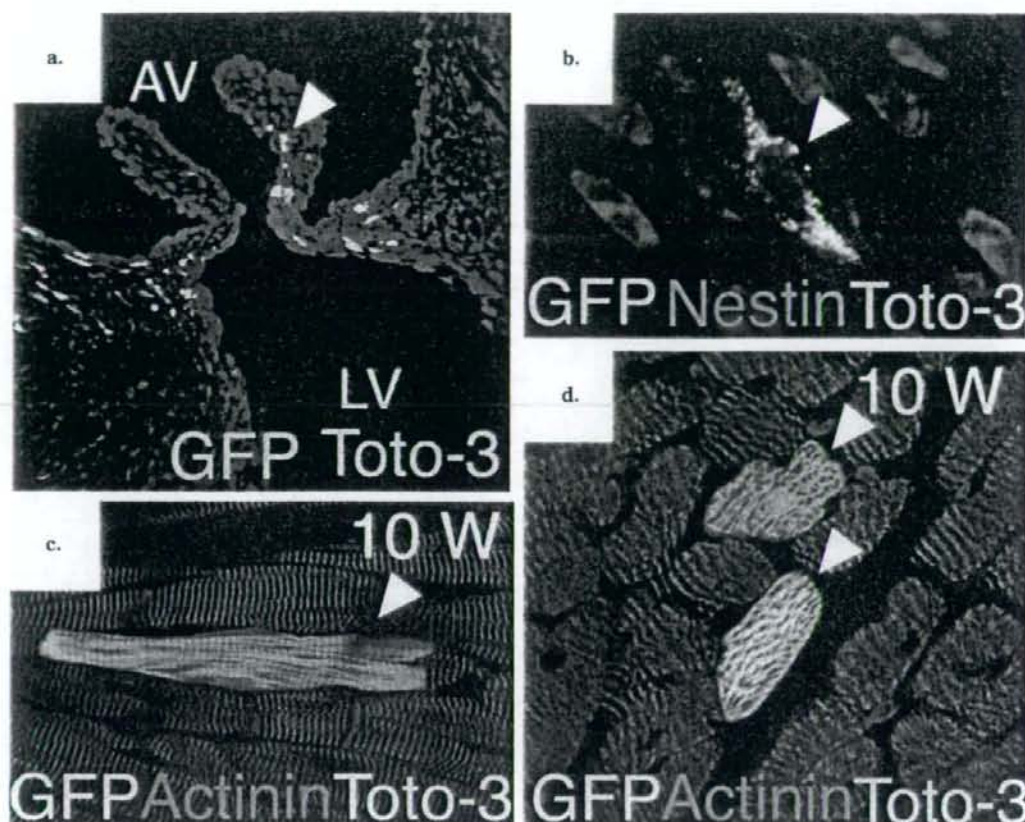


図2 Cre-Lox法を用いた神経堤細胞の標識化と心筋への局在

神経堤由来細胞がaのように心臓弁に、もしくはc, dのように成熟心筋において存在しており、またbのように心臓内において神経堤幹細胞マーカーを発現しているものも認められる。(文献⁴より引用)

することで着生したと報告されている。しかしヒトにおいてはSca-1に相当するマーカーは発現しておらず、ヒトでの応用は期待できないという問題点をもつ。

c. c-kit 陽性細胞

c-kit 陽性細胞は生体の心筋間質内に存在するc-kit・Sca-1・MDR-1 陽性の特徴をもつ細胞群であり、成獣ラットにおいて心筋細胞10万個に1個ほどの割合で存在するとBeltramiらは報告している⁷⁾。またこの細胞群をフローサイトメトリーを用いて単離したものは継代可能であり、心筋構造をもつ細胞に分化する能力をもつ。c-kitはヒトでも存在するため、臨床応用に期待がもたれるが、分化効率および自己拍

動能が得られないなどの問題もあり、現在のところヒトでの応用には至っていない。

d. islet-1 陽性細胞

islet-1 (isl-1)はもともとLIMホメオドメイン転写因子として同定されたものであり、isl-1 陽性細胞は胎仔期に2次心臓発生領域に存在し、c-kit・Sca-1 陰性でSP細胞の特性ももたない細胞群である。Laugwitzらは新生仔マウスよりisl-1 陽性細胞を単離して心筋細胞と共培養することで心筋に分化すると報告している⁸⁾。isl-1 陽性細胞はこれまで報告されている細胞群とはオーバーラップしない細胞群であるため、その特性に関する更なる解析が期待されるが、一方で出生後には急速に減少して成獣にはほとん

表2 これまでに報告されたES細胞から心筋細胞への誘導方法

添加された因子	報告者	文献
retinoic acid	Wobusら	J Mol Cell Cardiol 29: 1525-1539, 1997.
transforming growth factor β_1	Behfarら	FASEB J 16: 1558-1566, 2002.
fibroblast growth factors	Dell'Eraら	Circ Res 93: 414-420, 2003.
dynorphin B	Venturaら	Circ Res 92: 623-629, 2003.
ascorbic acid	Takahashiら	Circulation 107: 1912-1916, 2003.
nitric oxide	Kannoら	Proc Natl Acad Sci USA 101: 12277-12281, 2004.
fibroblast growth factor 2 and bone morphogenetic protein 2	Kawaiら	Circ J 68: 691-702, 2004.
Wnt11	Teramiら	Biochem Biophys Res Commun 325: 968-975, 2004.
PP2(a Src family kinase inhibitor)	Hakunoら	J Biol Chem 280: 39534-39544, 2005.
Wnt3a/Wnt inhibitor	Naitoら	Proc Natl Acad Sci USA 103: 19812-19817, 2006.

ど存在しないという性質ももっており、その分化能や増殖能力に関する更なる検討が期待される。

e. 今後の課題

このように心筋前駆細胞として各々に特徴的な4種類の細胞群が提唱されているが、いずれの細胞群も現在のところ唯一絶対的なものではなく、各々に問題点も持ち合わせている。一方でHsiehらは前駆細胞が正常に老化するマウスの心筋細胞の形成に寄与することはないが、損傷後の新しい心筋細胞形成には参加していることを報告⁹⁾しており、確かに生体においても心筋細胞がturn overを行っていることが示されている。したがってこれらの前駆細胞群の中で、どの分画のものが各々どのように心筋細胞の再生に関与しているのかを明らかにしていくことが今後の課題であると考えられる。

2. ES細胞

胚性幹細胞(ES細胞)は1981年にEvansらによってマウスのES細胞として初めて樹立された。初期のES細胞はノックアウトマウスを作成するために用いられていたが、一方でES細胞を移植すると奇形腫を生じ、*in vitro*で様々な組織の細胞に分化する能力があることから、その多彩な分化能に注目が集まるようになり、1998年のヒトES細胞の樹立を契機に心筋細胞再生・移植への期待が急速に高まってきた。そ

の後様々な薬剤・因子を添加することでES細胞から心筋細胞への分化誘導が試みられてきた(表2)が、いずれも満足のいく分化誘導効率を得ることができなかった。

Yuasaら¹⁰⁾は心臓発生における重要なシグナルであるBMPシグナルに着目した。BMPファミリーは心臓発生初期より細胞の分化・増殖・移動・アポトーシスに関与しており、BMPファミリーの各因子が発生段階においてantagonistにより制御を受けることで、適切なタイミングで適切な刺激を与えられるように調整されている。そしてこのBMP antagonistによる各BMPシグナルのon/offを心臓発生の各段階で詳細に検討した結果、BMP antagonistの一種であるNogginが心臓発生の際に強く発現していることがわかった(図3)。そこでES細胞においても分化誘導の初期段階で一過性にNogginを添加し、生体と同様にBMPシグナルを低下させたところ、自己拍動する心筋細胞を高率に分化誘導することができた。またNoggin以外のBMP antagonistでも同様の結果を得ることができ、これらのことからBMPシグナルは心臓発生において重要な因子であるが、一方で一過性に抑制されることも心筋細胞への分化誘導には必要であると考えられる。

以上のようにES細胞からの効率的な分化誘導法が発見されたことに加え、2001年にWakayamaらにより体細胞由来の核を用いた核

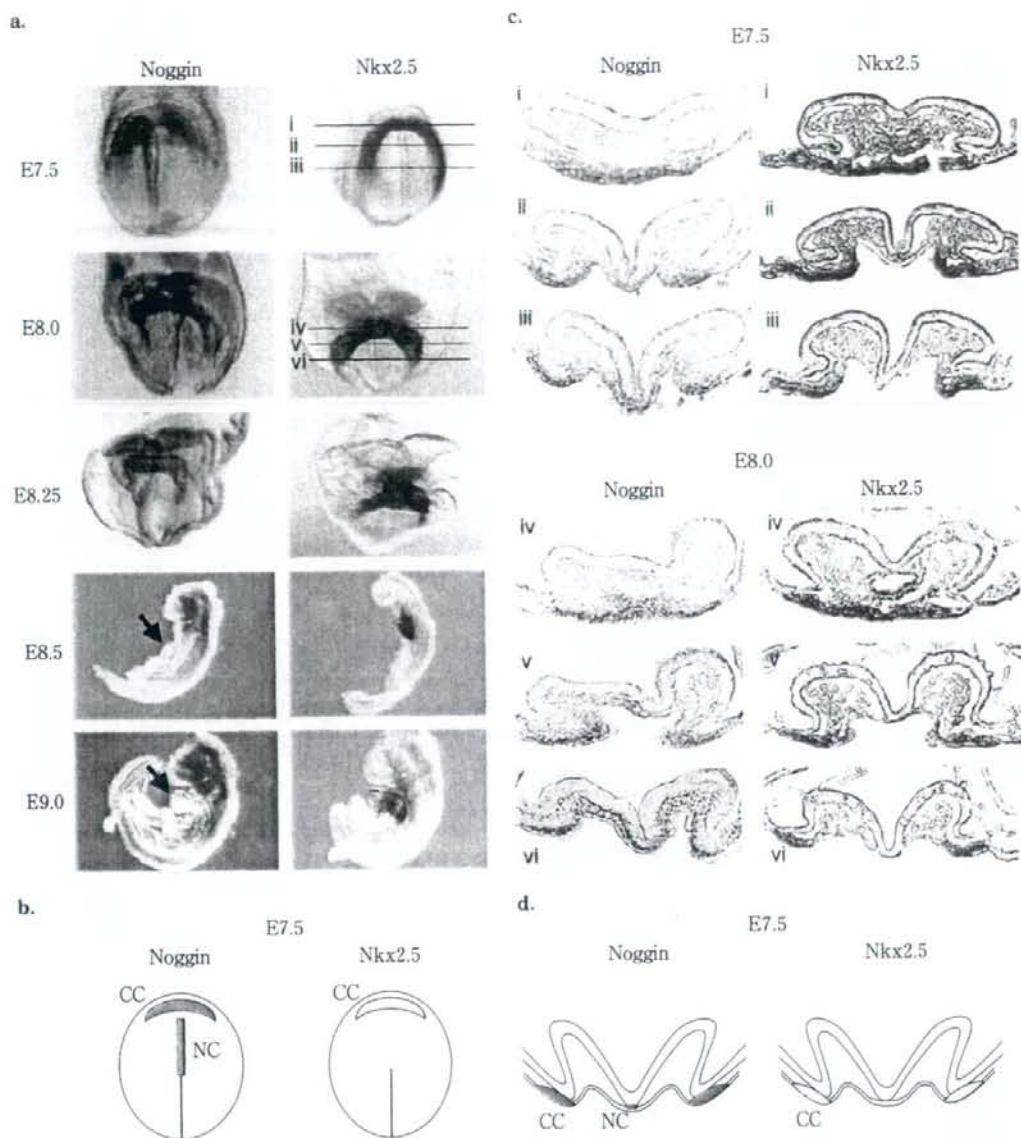


図3 心筋細胞の発生領域におけるNogginの発現(文献¹⁰⁾より引用)

移植の手法によるマウスES細胞の作成方法が報告された¹¹⁾ため、ES細胞による心筋細胞移植における懸案であった拒絶反応の問題も克服されることが期待される。

臨床応用に向けた今後の課題としては、多分化能をもつES細胞が心筋細胞移植時に残留している場合に移植後奇形腫を起こす可能性が懸念されるため、心筋細胞に分化誘導したES細胞

からどのようにして心筋細胞のみを高純度で抽出するか技術の確立が期待される。更に現状においてはES細胞より誘導した心筋細胞は生体内に移植された後にほとんどが死滅してしまうことから、移植細胞が効率的にレシピエントに生着するティッシュエンジニアリングの発展も今後の大きな課題である。また胚細胞をソースとするES細胞のもつ生命倫理的問題も臨

床応用においては克服すべき懸案となっている。

3. iPS細胞

前述したようなES細胞のもつ倫理的問題を克服する技術として期待されているのがiPS細胞(induced pluripotent stem cells: 人工多能性幹細胞)である。2006年Takahashiら¹²⁾はマウスの線維芽細胞に4つの遺伝子(Oct3/4, Sox2, c-Myc, Klf4)を導入することでES細胞のように分化多能性をもつiPS細胞を樹立した。更に2007年には同グループがヒトにおいてもマウスと同様に線維芽細胞にOct3/4, Sox2, c-Myc, Klf4の4つの遺伝子を導入することでiPS細胞を作成することができると報告した¹³⁾。また時を同じくしてYuら¹⁴⁾もOCT4, SOX2, NANOG, LIN28という異なる4つの遺伝子を線維芽細胞に導入することで、同様にiPS細胞を樹立することに成功しており、今後国際的競争が更に激しくなると考えられる。心筋細胞についても既に心筋構造タンパク質を発現し自己拍動能をもつ心筋細胞が誘導可能であることが報告されており、ごく近い将来にES細胞同様に分化効率の高い手法が樹立されることが期待される。

またiPS細胞の技術はES細胞において懸念されてきた胚盤胞の喪失による生命倫理的問題を克服することができるため高い国際的注目を

集めている。一方で樹立時にがん遺伝子導入を行っているため、移植後の発がんのリスクがある点に関しては依然として克服されていない。したがって今後の臨床応用に際しては、ES細胞と同様にいかに分化誘導した心筋細胞のみを高純度で精製し移植することができるかという発がんリスクをゼロに抑える基盤的研究の発展が不可欠である。

おわりに

これまで心臓前駆細胞およびES/iPS細胞研究の現状と課題を述べてきたが、いずれの系においても再生医療として自己の心臓の代替となる大きな心臓組織を作成するまでには様々な課題を克服する必要がある。もちろん現在においても心筋細胞への分化誘導の研究に関しては、基盤的研究となる生体内の前駆細胞からES細胞およびiPS細胞の心筋分化誘導と純化技術まで様々な角度から積極的に進められている。折しも2007年の後半よりiPS細胞が世界中の注目を集めるようになり、再生医療には再び熱い視線が注がれるようになっている。それを契機として更に基盤的研究を推進していくことで、近い将来における心筋組織再生の実現を可能にしていくことができると期待できるのである。

参考文献

- 1) Orlic D, et al: Bone marrow cells regenerate infarcted myocardium. *Nature* 410: 701-705, 2001.
- 2) Orlic D, et al: Mobilized bone marrow cells repair the infarcted heart, improving function and survival. *Proc Natl Acad Sci USA* 98: 10344-10349, 2001.
- 3) Pfister O, et al: CD31⁻ but Not CD31⁺ cardiac side population cells exhibit functional cardiomyogenic differentiation. *Circ Res* 97: 52-61, 2005.
- 4) Tomita Y, et al: Cardiac neural crest cells contribute to the dormant multipotent stem cell in the mammalian heart. *J Cell Biol* 170: 1135-1146, 2005.
- 5) Oh H, et al: Cardiac progenitor cells from adult myocardium: homing, differentiation, and fusion after infarction. *Proc Natl Acad Sci USA* 100: 12313-12318, 2003.
- 6) Matsuura K, et al: Adult cardiac Sca-1⁺ positive cells differentiate into beating cardiomyocytes. *J Biol Chem* 279: 11384-11391, 2004.
- 7) Beltrami AP, et al: Adult cardiac stem cells are multipotent and support myocardial regeneration. *Cell* 114: 763-776, 2003.
- 8) Laugwitz KL, et al: Postnatal Isl1⁺ cardioblasts enter fully differentiated cardiomyocyte lineages. *Nature* 433: 647-653, 2005.
- 9) Hsieh PC, et al: Evidence from a genetic fate-mapping study that stem cells refresh adult mammalian

- cardiomyocytes after injury. *Nat Med* 13: 970-974, 2007.
- 10) Yuasa S, et al: Transient inhibition of BMP signaling by Noggin induces cardiomyocyte differentiation of mouse embryonic stem cells. *Nat Biotechnol* 23: 607-611, 2005.
 - 11) Wakayama T, et al: Differentiation of embryonic stem cell lines generated from adult somatic cells by nuclear transfer. *Science* 292: 740-743, 2001.
 - 12) Takahashi K, Yamanaka S: Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell* 126: 663-676, 2006.
 - 13) Takahashi K, et al: Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. *Cell* 131: 861-872, 2007.
 - 14) Yu J, et al: Induced pluripotent stem cell lines derived from human somatic cells. *Science* 318: 1917-1920, 2007.



間葉系幹細胞とRAS

田村雄一^{1,2}, 福田恵一²

¹慶應義塾大学医学部循環器内科

²慶應義塾大学医学部再生医学教室

間葉系幹細胞は多分化能や自己複製能をもつため、再生医療の実現に際して期待されている細胞である。また近年、間葉系幹細胞自身が増殖因子やケモカインなどを分泌して、周囲の組織の環境を修飾する作用をもつことが示されてきており、間葉系幹細胞の局所投与による細胞療法に根拠を与えるものとなっている。またとくに脂肪細胞への分化に関しては、間葉系幹細胞とレニン・アンジオテンシン系(RAS)が局所でクロストークをおこなっていることも明らかとなっており、ARBの新たな可能性を期待させるものである。

Key words

間葉系幹細胞, 脂肪細胞, 心筋分化, バラクライン, バルサルタン

はじめに

間葉系幹細胞は一時ES細胞に押されていたものの、近年再び脚光を浴びるようになってきた幹細胞である。その理由は間葉系幹細胞が従来考えられていた多分化能や自己複製能をもつだけでなく、内分泌器官として周辺環境を修飾する作用があるという報告が相ついできたためである。すなわち直接臓器や細胞に分化することで組織修復に関与するだけでなく、増殖因子やケモカインなどのさまざまな因子を周辺環境に応じて分泌することで、周辺組織を環境の変化に適応させるはたらきがあることがわかってきたのである。本稿では従来より知られている多分化能をもつ体性幹細胞としての役割だけでなく、バラクライン効果をもつ内分泌器官としての間葉系幹細胞にも焦点を当てていく。

間葉系幹細胞の特徴と心筋分化

昨今の再生医療の発達により、胚性幹細胞(ES細胞)やiPS細胞をはじめとした多能性幹細胞の誘導・分化に関する知見は枚挙に暇がない。しかし胚性幹細胞のもつ

欠点として、ES細胞においては倫理的問題および非自己由来の細胞であることに起因する拒絶反応の問題があり、またES/iPS細胞に共通する問題として生体内に投与後に奇形種が生まれる可能性があることから、残念ながら両細胞とも臨床応用に関しては今後の更なる技術革新を待つよりほかない。

一方、臨床応用に向けて研究が進んでいるものとしては、骨髄単核球(mononuclear cells:MNC)や骨格筋芽細胞・血管内皮前駆細胞(endothelial progenitor cells:EPC)などがあげられ、本稿で述べる間葉系幹細胞(mesenchymal stem cells:MSC)もその1つである。

再生医療を臨床応用するにあたって重要なポイントとして、

1. 自己の組織から容易に採取・作製できること
2. 高い自己複製能力と多分化能をもつこと

があげられる。この2項を満たすことができれば、自己の組織から低侵襲下に幹細胞を取り出すことができ、さらに保存も利いて必要な時期に必要な量の細胞を得ることができるので、再生医療の実現においては理想的である。

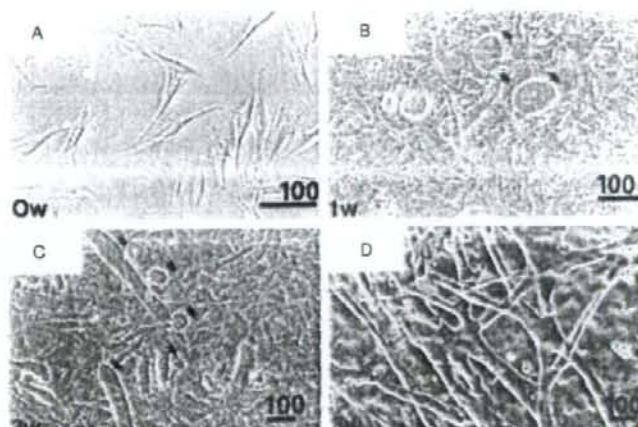


図1 脱メチル化により心筋細胞へ分化する間葉系幹細胞
 脱メチル化をおこなった間葉系幹細胞が心筋に分化していく様子を
 示している。0週から3週まで経過するに従って心筋線維が形成さ
 れていく様子がわかる。

(Makino *Set al.*, 1999¹⁾より改変引用)

間葉系幹細胞は生体組織のうち、脂肪組織・骨髄間質および真皮や骨格筋内に存在するとされている体性幹細胞であり、高い自己複製能をもつ点では再生医療に関して理想的といえる。またその分化能に関しても近年さまざまな組織に分化することが報告されており、骨・軟骨・脂肪・骨格筋・心筋・平滑筋・血管内皮・靭帯など実にさまざまな組織に分化する能力をもつことがつぎつぎに報告されている。

われわれの研究グループでも骨髄由来の間葉系幹細胞を脱メチル化することによって、拍動する心筋細胞に分化することを報告しており(図1)¹⁾。さまざまな刺激を加えることにより実に多彩な細胞に分化することが示されている。しかし種々の報告を紐解くと、その分化効率は決して高いものとはいえず、一般的にごく少数の間葉系幹細胞が分化しているにすぎないため、そのまま臨床応用をおこなうのは困難であると考えられてきた。

内分泌器官としての間葉系幹細胞

しかしGnecchiらの報告²⁾によると、急性心筋梗塞モデルのラットに対して生存因子として知られているAkt遺伝子を導入した間葉系幹細胞を移植したところ、72時間後の時点ですでに梗塞範囲の縮小と心機能の改

善を認めることができた。このことは、前述した分化効率および早すぎる時間経過のことを考えると、一見不自然であると考えられる。しかし*in vitro*の系での検討において、低酸素負荷の培養条件では間葉系幹細胞が心筋細胞のアポトーシスによる障害を抑制することが示され、さらに培養上清を用いても同様の結果を得ることができた。このことから間葉系幹細胞が自身の分化による組織修復・再生だけでなく、パラクライン効果によっても組織修復・再生に寄与しているのではないかと考えられるようになってきている。

培養上清で検討すると、骨髄単核球と比較して間葉系幹細胞は多量の血管新生因子(vascular endothelial growth factor: VEGF)やhepatocyte growth factor (HGF)/insulin-like growth factor-1 (IGF-1)/アドレノメジュリンを分泌していることが明らかとなっている(図2)³⁾。VEGFやHGF・アドレノメジュリンなどは血管新生やアポトーシスの抑制効果をもつことが知られており、低酸素刺激によって間葉系幹細胞からのこれらの因子の分泌がさらに増加することから、間葉系幹細胞がパラクライン効果によってストレス応答的に周辺組織を組織障害から保護しているのではないかと考えられている。またIGF-1は心筋細胞の成長促進因子として知ら

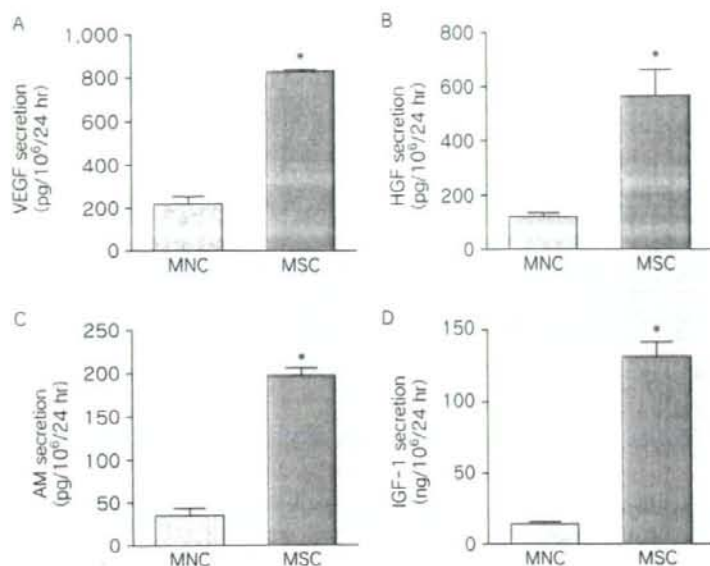


図2 間葉系幹細胞 (MSC) と骨髄単核球 (MNC) から分泌される成長因子および血管新生因子の比較
MSC は MNC と比較してこれらの因子を多量に分泌していることがわかる。

(Nagaya N *et al.* 2005³⁾より引用)

れており、心筋障害時にはやはり間葉系幹細胞がこれらの因子を分泌することで、心筋再生に寄与しているのではないかとされている。

組織内の間葉系幹細胞と RAS

このように組織内において間葉系幹細胞が内分泌器官として周辺組織の障害抑制などに関与していることは、これまで単純に体性幹細胞として理解されていた間葉系幹細胞の可能性を大きく広げるものである。すなわち間葉系幹細胞がさまざまな臓器においてストレスなどに応答して増殖因子やケモカインなどを分泌する一方で、自らも種々の因子に反応し分化することによって、その組織内の環境調整を担っているのではないかと考えられるはじめての。

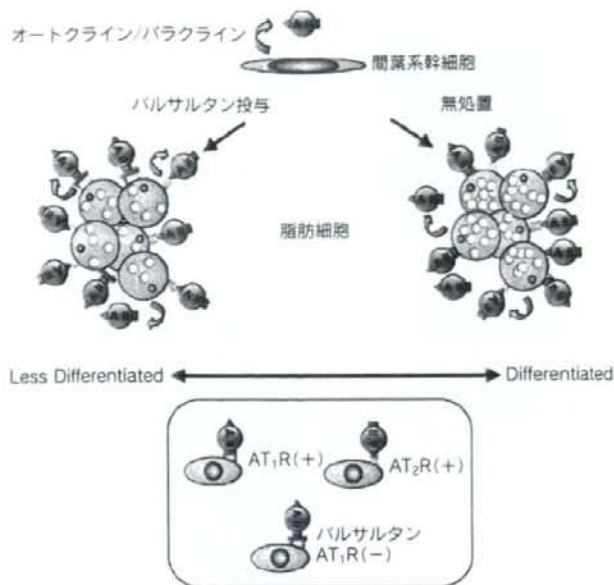
Matsushita らによる報告⁴⁾はそのなかでも特筆すべきもので、脂肪組織由来の間葉系幹細胞が脂肪細胞に分化する前後で、レニン・アンジオテンシン系 (RAS) に関与する遺伝子の発現が変化することを示し、ARB の投与によってそれらが修飾されることで、メタボリックシ

ンドロームにおける RAS 抑制の効果の根拠を間葉系幹細胞に見出したものである。

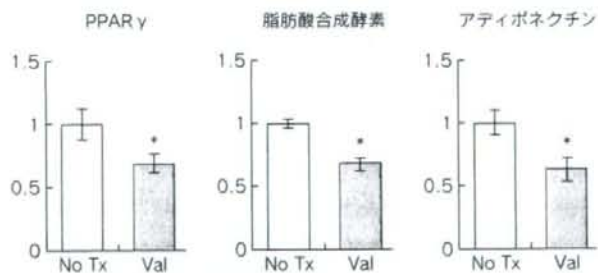
具体的には図3に示すように局所の脂肪組織において間葉系幹細胞から脂肪細胞に分化する際に間葉系幹細胞自身がアンジオテンシン II (AII) を分泌し、それが局所でオートクラインないしパラクラインの効果で AII 受容体 type 1 へ結合する。するとそれが刺激となって間葉系幹細胞から脂肪細胞への分化が起こるというものである。さらにそれに対して AII 受容体 type 1 に対する拮抗薬であるバルサルタンの投与により間葉系幹細胞から脂肪細胞への分化が抑制され、peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) γ ・脂肪酸合成酵素およびアディポネクチンの合成やそれに伴い脂肪滴の産生が抑制されるのである (図4・図5)。

このように近年注目されている組織の局所の RAS の活性と、間葉系幹細胞の分化は密接に関与しており、またお互いにパラクライン的にクロストークしていることが明らかになっているのである。

このように体性幹細胞としての間葉系幹細胞の概念は



図④ 間葉系幹細胞から脂肪細胞への分化における RAS 抑制の効果
 間葉系幹細胞は脂肪組織局所におけるレニン・アンジオテンシン系の刺激によって脂肪細胞に分化するが、アンジオテンシン II 受容体 type 1 を抑制することによって分化は抑制される。
 (Mogi M *et al.*, 2006⁶⁾ より改変引用)



図⑤ ARB による脂肪細胞への分化抑制
 間葉系幹細胞に対してバルサルタン (Val) を投与すると、投与しなかったときと比較して有意に PPAR γ ・脂肪酸合成酵素およびアディポネクチンの生合成が抑制され、脂肪細胞への分化が抑制されることが示唆された。
 * $p < 0.05$
 (Matsushita K *et al.*, 2006⁴⁾ より改変引用)

近年急速に広まりつつあり、純粋に分化する能力をもつ細胞という特性だけでなく、パラクラインの効果で周囲の環境に影響を与える細胞としてその存在意義がより重要なものとなっているのである。

おわりに

本稿では間葉系幹細胞の最新の知見としてサイトカインなどを分泌する機能をもつ細胞であるという点を中心に、RAS の関与に関して述べてきた。再生医療への応

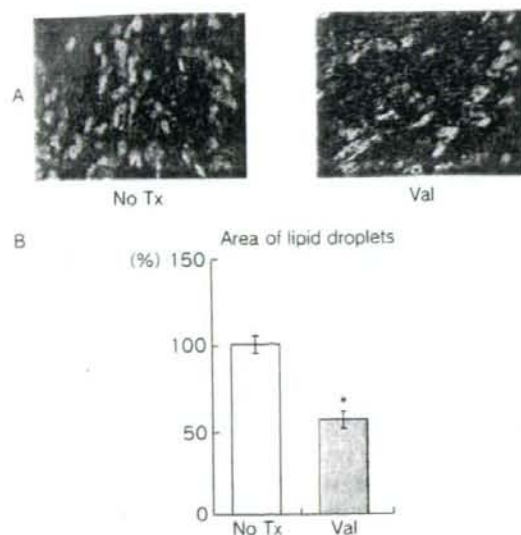


図6 ARB投与による脂肪組織の分化度の調節

間葉系幹細胞にバルサルタン (Val) を投与した場合、間葉系幹細胞から脂肪細胞に分化した後に分泌される脂肪滴の合成も抑えられていることから、脂肪細胞の分化度も抑えられていることが示唆された。

(Matsushita K *et al.* 2006⁴⁾より改変引用)

用もさることながら、ARBなどの新規の治療のターゲットとなることも期待されており、その可能性は年々拡大している。一方で間葉系幹細胞についてはその起源をは

じめとしていまだはっきりと解明されていない点も多く、実際には胚葉を跨いだ広範な分化能をもつ細胞であるといった報告もされている³⁾ので、今後の更なる解析が新しい再生医療の分野の扉を開けることも期待される。

文献

- 1) Makino S *et al.*: Cardiomyocytes can be generated from marrow stromal cells *in vitro*. *J Clin Invest* 103: 697-705, 1999
- 2) Gnecci M *et al.*: Evidence supporting paracrine hypothesis for Akt-modified mesenchymal stem cell-mediated cardiac protection and functional improvement. *FASEB J* 20: 661-669, 2006
- 3) Nagaya N *et al.*: Transplantation of mesenchymal stem cells improves cardiac function in a rat model of dilated cardiomyopathy. *Circulation* 112: 1128-1135, 2005
- 4) Matsushita K *et al.*: Local renin angiotensin expression regulates human mesenchymal stem cell differentiation to adipocytes. *Hypertension* 48: 1095-1102, 2006
- 5) Jiang Y *et al.*: Pluripotency of mesenchymal stem cells derived from adult marrow. *Nature* 418 (6893): 41-49, 2002
- 6) Mogi M *et al.*: Emerging concept of adipogenesis regulation by the renin-angiotensin system. *Hypertension* 48: 1020-1022, 2006