

学 位 論 文 要 旨

氏 名 東儀那津子



論 文 題 目

「ヒト毛包幹細胞 (hHAP stem cell) の心筋細胞への分化能」

指 導 教 授 承 認 印

天羽 康 之



ヒト毛包幹細胞 (hHAP stem cell) の心筋細胞への分化能

氏名 東儀那津子

近年、幹細胞は生物の自己回復により組織の恒常性を保つために重要であることが明らかにされ、その利用は遺伝子治療、創傷治癒、臓器移植への幅広い応用につながっている。当教室の天羽教授らは、神経特異的な幹細胞マーカーであるネスチン遺伝子のプロモーターを用いた GFP 遺伝子導入トランスジェニックマウス (ND-GFP マウス) を用いて、毛包隆起部にネスチン陽性の毛包幹細胞が発現していることを明らかにした。さらに、この毛包幹細胞が、*in vitro* において神経、グリア細胞、ケラチノサイト、平滑筋細胞、メラノサイト、心筋細胞に分化することを明らかにした (Y. Amoh et al.: Proc Natl Acad Sci USA 102, p.5530-4, 2005)。この多分化能を有する毛包幹細胞を、我々は hair follicle-associated-pluripotent (HAP) stem cells と名付けた。我々は、マウスモデルにおいて、髭の毛包由来の幹細胞 (HAP stem cells) から分化誘導したシュワン細胞が、切断した末梢神経を修復することを明らかにした。さらに、脊髄損傷部においても、髭の毛包幹細胞から分化誘導したシュワン細胞により、損傷した脊髄神経が修復されることを明らかにした。これらの結果から、毛包幹細胞が末梢神経や脊髄神経損傷部の再生医療に応用できることが期待されている。さらに最近我々は、世界で初めて、マウスの毛包幹細胞から拍動する心筋シートを作製できることを明らかにした (A. Yamazaki et al. Cell Cycle 15, p.760-5, 2016)。これらの研究成果は、今後の毛包幹細胞を用いた、神経損傷部や心不全に対する再生医療への臨床応用の重要な礎となりうると考えられる。

今回我々は、ヒトの頭部毛包から分離した毛包幹細胞 (human HAP (hHAP) stem cells) を用いて、心筋細胞への分化能を検討した。対象は、北里大学病院皮膚科を受診した、頭部皮膚良性腫瘍の 5 人の成人患者であり、インフォームドコンセントを得た上で、腫瘍切除時の余剰検体からヒト頭皮標本を採取した。5 人の患者の年齢は 42-63 歳 (中央値 49.8 ± 8.7 歳)、男女比は 3:2 であった。毛包全体を分離するため双眼顕微鏡下でメスを用いて頭皮から毛髪を切り取り、毛包を 1 本ずつ切離した。頭皮の標本サンプルの大きさは 5 ミリ角であり、1 人の患者から 80 ± 26 本の毛包を分離した。分離した毛包全体から毛包幹細胞を含むヒトの毛包上方部を分離し、10% ウシ胎仔血清 (FBS) を含む DMEM を培地で 4 週間培養した結果、毛包幹細胞が、神経、グリア細胞、ケラチノサイト、平滑筋細胞、さらに心筋細胞へ分化したことをネスチン、 β III チューブリン、グリア線維性酸性タンパク (GFAP)、ケラチン 15 (K15)、平滑筋アクチン (SMA)、トロポニン (cTnT) の免疫蛍光染色を用いて確認した。これらの分化した細胞を、FBS を含まない B27 含有の DMEM/F12 の培地に移し basic fibroblast growth factor (bFGF) を加え、さらに 1 週間培養した結果、分化した

細胞は多数のコロニーを形成した。形成されたコロニーはネスチンなどのヒト幹細胞マーカーを用いた免疫染色で陽性となり、毛包幹細胞 (hHAP stem cells) であることを確認した。更に hHAP stem cells から成る毛包幹細胞コロニーを、10%FBS を含む DMEM の培地に移し 2 週間培養すると細胞の分化が認められ、分化した細胞がネスチン、 β III チューブリン、GFAP、K15、SMA、cTnT の免疫蛍光染色により、神経、グリア細胞、ケラチノサイト、平滑筋細胞、心筋細胞であることを同定し、hHAP stem cell が多分化能を有していることを証明した。hHAP stem cell を用いた再生医療は、毛髪から簡便に十分な量を採取、利用することができる。また、毛包幹細胞を用いた再生医療の臨床応用においては、自己の毛包幹細胞を活用することができるため、拒絶反応の問題が少なく、他の生体幹細胞、iPS 細胞や ES 細胞と比較して、安全性の高い優れた治療法になることが期待される。