

ヒト脂肪組織由来間葉系幹細胞によるアルツハイマー病治療の可能性

Takeshi Katsuda^{1,2}, Reiko Tsuchiya³, Fumitaka Takeshita¹, Yasuyuki Sakai² and Takahiro Ochiya¹

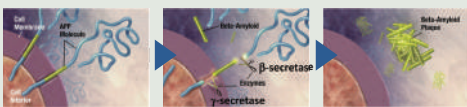
1. Division of Molecular and Cellular Medicine, National Cancer Center Research Institute, Tokyo, Japan
 2. Institute of Industrial Science, University of Tokyo, Tokyo, Japan
 3. Research and Development Dept., seems Inc., Tokyo, Japan

要約

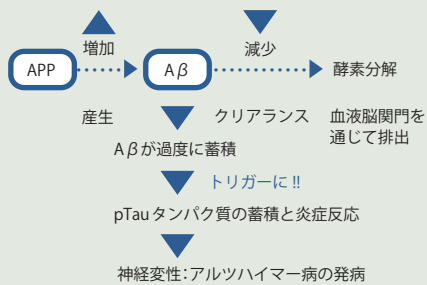
- 序論** アルツハイマー病(AD)の病理学的な定義は、アミロイドβペプチド(Aβ)の脳内蓄積である。脳内におけるアミロイドβの濃度を決定する3つの要因は、(i)アミロイドβ前駆タンパク質APPからのアミロイドβ産生速度(ii)血液脳関門を超えるアミロイドβの輸送速度、そして(iii)脳実質でのアミロイドβ分解の速度である。ネプリライシン(CD10)は脳にあるアミロイドβ分解酵素であり、それゆえにアルツハイマー病治療の標的となりうるものである。最近我々はDNAマイクロアレイ分析によってヒト脂肪組織由来間葉系幹細胞(hAT-MSC)がネプリライシン遺伝子を発現することを発見した。本研究において我々は、hAT-MSCの治療上の可能性について結果を報告する。
- 材料と方法** 我々は3名の提供者(hAT-MSC#1,#3と#4)から得たhAT-MSCを使用した。我々はこれらの細胞でのネプリライシンの発現について、mRNAとタンパク質の量をそれぞれ定量的RT-PCR法(qRT-PCR)とウェスタンブロット法により測定することで解析した。細胞抽出液中のネプリライシン酵素活性についても、蛍光ペプチド基質を用いて調査した。
- 結果** qRT-PCRの結果、ネプリライシンの発現レベルは提供者間で2.5倍異なっていた。なお、hAT-MSCsでのネプリライシン発現レベルは骨髄由来MSC発現レベルよりも高かった。また、ウェスタンブロット法によりタンパク質レベルでネプリライシン発現を検出し、さらにhAT-MSCが十分なネプリライシン酵素活性を持っていることを確認した。
- 結論と展望** 今回の我々の結果は、hAT-MSCが脳内に蓄積したアミロイドβのクリアランスに寄与する能力を持っていることを示唆した。このことはhAT-MSCがアルツハイマー病に対する新しい治療方法を提供すると思われる。適応部位へのhAT-MSCのホーミング能力を考慮すれば、アルツハイマー病に対するhAT-MSCの移植は、脳内アミロイドβ沈着の蓄積を抑制することが期待される。

序論

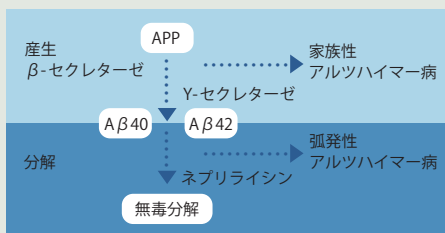
アミロイドβペプチド(Aβ)の沈着はアルツハイマー病(AD)に特徴的な病理学的特徴である



APP:アミロイドβ前駆タンパク質
National Institute on Aging (U.S. National Institute of Health)



ネプリライシンは脳内にある律速となるAβ分解酵素である



我々はDNAマイクロアレイ解析によりヒト脂肪組織由来間葉系幹細胞(hAT-MSCs)がネプリライシン遺伝子を発現することを発見した。



脂肪組織由来間葉系幹細胞 → ネプリライシン生成

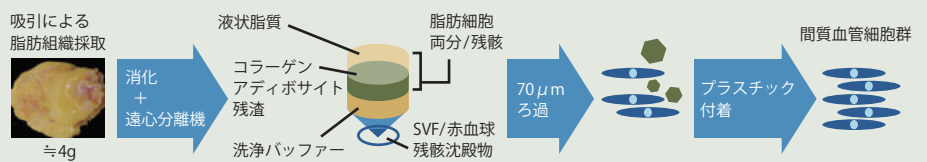
アルツハイマー病治療の可能性

研究目標

ヒト脂肪組織由来間葉系幹細胞のアルツハイマー病に対する治療の可能性を検討する。

材料と方法

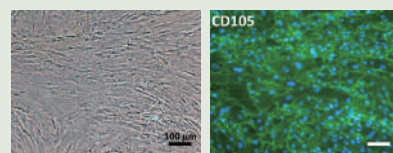
ヒト脂肪由来幹細胞の分離



結果

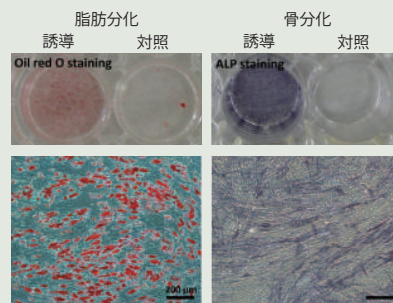
採取されたヒトAT-MSCsはMSC特有の性質を示した

CD105発現と、中胚葉系統に分化する能力



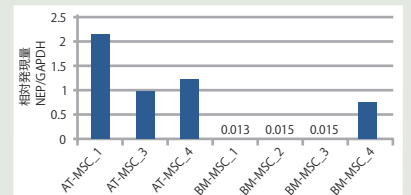
Bright field (明視野)

ヒトAT-MSCsはMSCの有効な特徴である中胚葉系統に分化する能力を示した



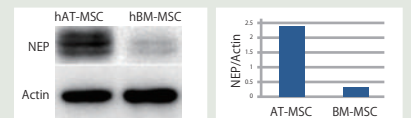
qRT-PCR

AT-MSCは骨髄由来MSC(BM-MSC)より高レベルでNEP遺伝子を発現している



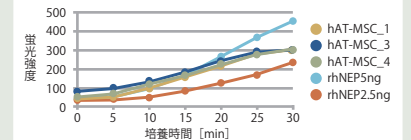
Western Blot

AT-MSCはBM-MSCと比較してより高いネプリライシン発現量を示した



酵素活性

AT-MSCはNEP酵素活性を示す



我々はMca-RPPGFSAFK (Dnp) 蛍光性基質を使用することにより、NEP活性測定を行った。この基質は他のいくつかの酵素によっても分解される。そのため我々は、ネプリライシン、チオルファン(Thr)の阻害剤を使い測定した他の酵素活性を差し引くことによって、ネプリライシン-比活性を評価した。NEP活性=蛍光強度(Thr(-))-蛍光強度(Thr(+))

結論

我々のインビトロにおける研究は、脂肪細胞由来幹細胞が脳に蓄積したアミロイドβ除去に寄与する能力を持つことを強く示唆した。

