

脳神経外科治療における脳生理学 (S3)

脳神経外科疾患の治療において、脳生理学の果たす役割は当然ではあるが極めて高い。本シンポジウムでは、脳神経外科疾患の病態および治療において、生理学的基盤に基づき実践しているもののうち、近年のトピックスでもある4項目を選び、生理学を専門とする先生方にご紹介し、専門的な立場からのご意見を伺うことを目的とした。また、このシンポジウムが、今後、脳神経外科疾患の更なる病態解明・治療において生理学の専門の先生方との共同研究のきっかけのひとつとなることを願って企画した。

選んだ4つのテーマは、①くも膜下出血後の脳血管れん縮に及ぼす脳脊髄液中マグネシウムイオン濃度、②パーキンソン病の外科的治療として行われている脳深部刺激 (deep brain stimulation) 療法の機序、③脳幹部手術における脳幹機能、脳神経機能温存のための術中神経生理学的モニタリング、および④脳血管障害・脳腫瘍などの脳神経外科手術における、神経機能を温存するための各種術中電気生理学的モニタリングである。

各テーマの内容は、それぞれのシンポジストが概説している通りであるが、①は今後治療に応用される可能性を持ったもので高く期待される。②は、パーキンソン病の病態解明にも通ずるものである。③④は、神経機能を温存した脳神経外科手術を行うための極めて重要なものであり、さらに精度の高いモニタリングの開発研究が演者らにより行われている。いずれのテーマも、非常にホットなトピックスであり、生理学の専門の先生方からも質問が出され、有益なシンポジウムとなったと思われる。

本郷 一博 (オーガナイザー, 信州大学脳神経外科)

脳脊髄液中のマグネシウムイオン濃度がくも膜下出血後の脳血管れん縮に及ぼす影響

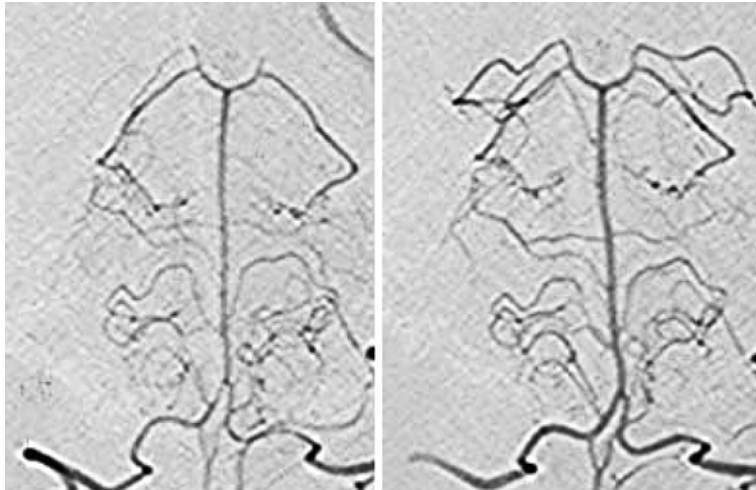
森健太郎 (順天堂大学医学部附属静岡病院脳神経外科, 防衛医科大学校脳神経外科)

はじめに：くも膜下出血 (SAH) は脳動脈瘤破裂によって発症する死亡率の高い脳卒中の一つである。たとえ出血源を治療しても、患者の約30%は発症数日後に脳血管れん縮を来して脳梗塞を合併し機能不良となるが、その治療法は確立していない。一方、細胞外液のマグネシウムイオン濃度 (Mg^{2+}) が、脳血管の調節に重要であることは生理学的に証明されている。そこで我々は脳脊髄液 (CSF) 中の Mg^{2+} が脳血管れん縮を来した脳動脈におよぼす影響と、その治療法について研究を行ってきた。

研究方法と成果：まずRatを用いた実験的SAHモデルを用いて、脳槽内に硫酸マグネシウム ($MgSO_4$) 溶液を注入したところ、脳血管れん縮

のために低下していた脳血流量 (CBF) が増加することを見出した [1]。次に、犬を使った実験的SAHモデルで作成した脳血管収縮を $MgSO_4$ 溶液の脳槽内投与にて実際に拡張させることが可能であることを脳血管撮影にて証明した (図) [2]。以上の結果に基づいて、脳血管れん縮を治療するのに必要な CBF の Mg^{2+} 濃度や効果持続時間について定量的研究を行った。26匹の Beagle 犬を用いて実験的SAHモデルを作成し第7日目 (脳血管れん縮の時期) に各種の濃度の $MgSO_4$ 溶液を脳槽内投与し経時的に脳動脈の血管径を測定した。その結果、正常 (約 1.5 mEq/l) 以下の CSF の Mg^{2+} 濃度では血管れん縮はむしろ悪化し、3 mEq/l 以上の濃度では濃度依存的に拡張することが判明した。また、この血管拡張作用は約6時間持続することも判明した [3]。

研究の意義：我々の研究結果は、細胞外液中の Mg^{2+} が voltage-dependent Ca^{2+} channel blocker



MgSO₄ 投与前

MgSO₄ 投与後

図

として働き、血管を拡張するという生理学的所見がSAH後の血管れん縮という病的状態においても働いていることを証明した。また、MgSO₄溶液の脳槽内投与による脳血管れん縮の治療では、CSF中のMg²⁺濃度を3 mEq/l以上にする必要があることと、実際の治療においてはMgSO₄溶液を間歇的あるいは持続的に投与する必要性が判明した。なお、我々が証明したMgSO₄溶液の脳槽内投与による脳主幹動脈の血管拡張作用とCBF増加作用とをつなぐ脳の抵抗血管である細動脈へのMg²⁺の作用については信州大学脳神経外科学グループらによって近年証明されている [4]。

1. Mori K, et al.: Neurosurg Rev **31**: 197-203, 2008
2. Mori K, et al.: J Neurosurg **110**: 73-78, 2009
3. Mori K, et al.: J Neurosurg **114**:1168-1175, 2011
4. Murata T, et al.: Neurosci Res **70**: 30-34, 2011

パーキンソン病の基底核ニューロン活動異常と deep brain stimulation の機序

橋本隆男（相澤病院神経疾患研究センターセンター長）

パーキンソン病は、黒質のドパミンニューロンの変性脱落と細胞内封入体であるレビー小体を病理学的特徴とし、寡動・無動、筋固縮、安静時振戦、平衡障害を主症状とする神経変性疾患である。治療では、ドパミン補充療法が奏功する一方で、近年、脳内植え込み電極を用いた視床下核や淡蒼球内節の高頻度電気刺激療法（deep brain

stimulation, DBS)の高い有効性が示され世界中で実施されるようになった。DBSの作用機序を解明しようとする研究も盛んに行われ、その結果、従来の大脳基底核機能モデルと全く異なる病態モデルが提唱されるようになった。1980年代後半に、基底核の出力レベルの増減で運動減少症状（寡動・無動）と運動過剰症状（舞踏運動、バリスム）を説明する病態モデルが提唱された [1]。神経核の活動レベルはその中の単一神経細胞の平均発火頻度で表現されることから、このモデルは firing rate モデルとも呼ばれた。しかし、我々はMPTPによるサルのパーキンソン病モデルを用いた実験で、視床下核高頻度刺激により淡蒼球内節の発火頻度が増加することを示した [2]。この結果は、firing rate モデルと逆の変化だった。また、刺激により淡蒼球内節の発火はランダムな発火から定間隔の発火に変化した。これらの結果から、パーキンソン病の寡動は firing rate モデルでは説明できず、発火パターンが重要ではないかという仮説が生まれた。基底核ニューロン活動のパターン異常の中で、基底核運動回路の同期性周期性の神経活動が寡動と密接な関連があることが明らかにされてきた。視床下核や淡蒼球内節から記録される10-30Hzのβ帯域の oscillation (β oscillation) が off 状態のパーキンソン病で増強し、L-ドーパ投与で減少することが明らかにされた [3]。一方、70-85Hzのγ帯域の oscillation がL-ドーパ投与後の寡動の改善とともに現れることも見出された。数多くの知見に基づいて、β帯域とそれより遅い

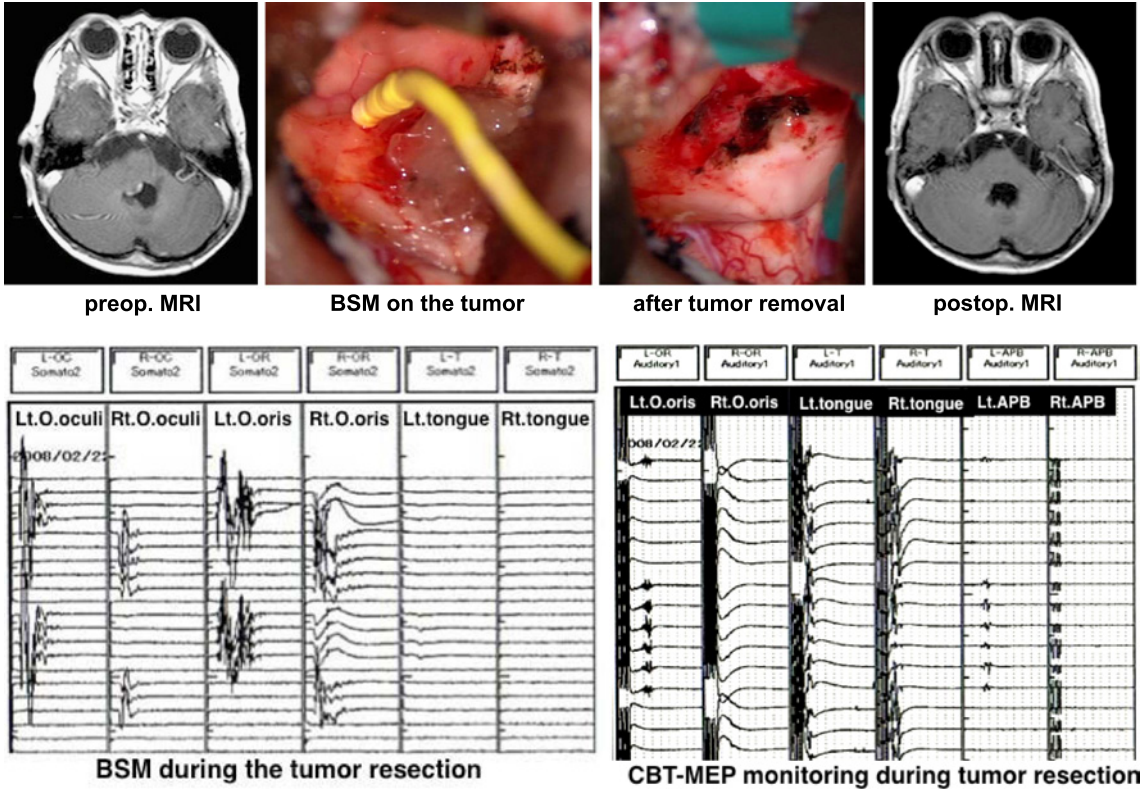


図 1

oscillation は寡動を悪化させ、 γ 帯域の oscillation は寡動を改善させる方向に働く、という oscillation モデルが新たに提唱され、現在最も信頼性の高い病態モデルとなっている。 β oscillation が増えると寡動が生じる機序については、随意運動開始前には運動回路内の β oscillation が非同期化し減少する、という知見が示されている [4]。パーキンソン病では、 β oscillation が増加しかつその同期化が亢進していることにより運動遂行が障害されて寡動を生じる。DBS は β oscillation をブロックすることにより寡動を改善する。

1. DeLong MR: *Trend Neurosci* **13**: 281-285, 1990
2. Hashimoto T, et al.: *J Neurosci* **23**: 1916-1923, 2003
3. Brown P: *Mov Disord* **18**: 357-363, 2003
4. Kühn A, et al.: *Brain* **127**: 735-746, 2004

脳幹部手術に必要な術中神経生理学的手技

師田信人 (国立成育医療研究センター脳神経外科)

【背景】脳幹部はかつては“no man's land”とも形容され、脳神経外科手術の対象とされなかった。しかし、最近のMRIをはじめとする画像診断および脳神経外科手術手技の進歩により、現在では外科治療の対象となってきている。手術にあたっては脳幹機能温存が必須であるが、病変により正常解剖学的指標はしばしば偏位している。このような場合、術中神経生理学的手技を駆使して安全に手術を遂行する必要がある。

【術中神経生理学的手技】手技としては第4脳室底で運動性脳神経核（主に顔面神経核、舌下神経核、必要があれば舌咽・迷走神経核）の局在を同定する mapping (Brain Stem mapping: BSM) と、神経機能を監視する monitoring (Cortico-Bulbar Tract Motor Evoked Potential monitoring: CBT-MEP) を組み合わせて行う。

BSM: 刺激は術者の把持した単極刺激電極を用い陰極刺激とする。陽極は術野あるいは頭皮電極に置く。刺激条件は以下の通り。

刺激波: 持続時間 0.2 ミリ秒, 単発矩形波. 刺激強度: 最大 2.0mA. 刺激頻度: 4Hz. 加算平均:

1-2回、BSMの刺激強度は通常1.5-2.0mAで開始し、反応が得られれば減弱し閾値上強度で刺激する。反応は顔輪筋(第7脳神経)、口輪筋(第7脳神経)、舌固有筋(第12脳神経)、必要があれば咽頭壁(第9/10脳神経)にそれぞれ装着した針電極から筋電図を記録する。

CBT-MEP monitoring: 頭蓋電気刺激部位は頭皮上のC3, C4を用い、陽極刺激とする。脳幹両側に渡る病変では必要に応じて陽極刺激電極を交代し両側のモニタリングを行う。経頭蓋電気刺激時の高頻度刺激条件は通常の運動誘発電位モニタリングと同じである(刺激頻度500 Hz, 刺激回数5回, 刺激波: 矩形波, 刺激時間: 0.5 msec, 加算平均2回)。刺激強度は閾値上強度とする。記録はBSMで装着した記録電極を用いる。

【手術の実際】図1に3才小児の再発上衣腫手術時の記録を示す。手術では、通常の後頭下開頭後に硬膜を切開し、顕微鏡下に第4脳室底より脳幹部に浸潤した腫瘍を露出した。腫瘍切除前にBSMで顔面神経核の位置を腫瘍頭側に確認し、腫瘍切除中はCBT-MEP monitoringで顔面神経機能に異常のないことを確認しつつ切除を進めた。腫瘍底(脳幹部内)に近づいた時点で再度BSMを施行し顔面神経走行部位と離れていることを確認後、脳幹部背側に浸潤した腫瘍を全摘した。術後は一過性に極軽度の顔面神経麻痺が出現したが、現在まで術後4年間再発なく経過している。

【まとめ】脳幹部手術は手術の危険性も高く、現代においても脳神経外科医にとって大きな挑戦である。しかし、最近の術中神経生理学的手技の進歩をもとに、脳幹部マッピングと皮質球路モニタリングを組み合わせることにより、従来以上に安全・確実な手術を目指すことが可能となってきている。

脳神経外科手術における術中電気生理モニタリング

後藤哲哉(信州大・医・脳神経外科)

イントロダクション: 多くの脳神経外科手術は全身麻酔下に行われるが、神経機能温存を目的とした場合、顕微鏡下に我々外科医がしている作業は、脳神経の解剖学的なもしくは血行動態的な温存を図ることである。これらの温存により、間接的に神経機能を温存したいためである。これに対し神経機能の評価を術中に直接行おうとした場合、一つの方法は覚醒下手術であり、もう一つは電気生理学的検査の手術への導入である。

研究方法、研究の成果: 近年の麻酔方法や、刺激、記録方法の改良により、現在生理検査室で施行されているほとんどの検査が可能となっている[1]。典型的な体性感覚誘発電位、聴性脳幹反応だけでなく、運動誘発電位や視覚誘発電位といったこれまで比較的難しいとされてきた誘発電位検査や、球海綿体反射、瞬毛反射、片側性顔面けいれんにおける異常筋反応などの多シナプス反射経路も術中の反応の変化量と、術後の予後との相関が明らかになってきている[2, 3]。さらに脳神経外科術中ならではの利用として、脳皮質、白質、脳神経への直接刺激や同部位からの直接記録をおこなうことで、モニタリングだけでなくマッピング(機能局在部位の同定)が可能である。

当該分野における意義: これら電気生理モニタリングは、不意の合併症を予測するという手術の安全性を担保する意味で非常に重要である。また一歩進んで、電気生理モニタリングガイド下に行われる手術では、この方法の成否が手術結果を左右するところまで来ている。このため、術中電気生理モニタリングの必要性はさらに上がることが予想される。今後、モニタリング技術の更なる改良と新たなモニタリング方法の開発、そしてそれら経験の蓄積が必要である。

1. Goto T, et al.: J Neurosurg **108**: 816-819, 2008
2. Goto T, et al.: J Neurosurg **107**: 860-864, 2007
3. Goto T, et al.: Skull Base **20**: 429-434, 2010

四肢の筋骨格系の特性と脳による制御: 生理学知見の工学的理解 (S15)

神経系が身体を如何に制御しているかという問題は生理学における課題として古くから探求されてきている。近年、生理学分野の概念や知見を工学的な理論体系で解釈しようとする試みがなされてきている。本シンポジウムでは、四肢の筋骨格系の特徴を抽出したうえでその制御特性を明らかにし、そのような筋骨格系を適応的に制御するモデルを提案し、脳による計算機構をひも

とこうと試みた。

具体的には下記4題の発表を行った。1) ナメクジウオからヒトに至る進化の過程に一貫してみられる拮抗筋制御, 2) 生体機構に学ぶ筋骨格系の運動制御, 3) 最適制御と運動学習, 4) M1とPMdcの速度に関連した神経細胞活動を推定した状態として捉える。演題1)では系統発生的に古い生物から一貫して1つの関節は主動筋と拮抗筋により駆動されること, ならびに, 2つの関節にまたがる二関節筋を装備しているという特徴があることが示された。この内容を受けて, 演題2)で四肢の筋骨格系の制御特性が明らかにされた。特に, 二関節筋が四肢先端の剛性の自由度の高さを保証していることが示された。このような筋骨格系を脳がどのように制御しているのかという問題に関して, 演題3)では最適制御による枠組で運動学習モデルが提案された。また, 小脳疾患患者と大脳基底核疾患患者の比較行動実験により, このモデルが予測している2種類の学習スキーマ(順モデルの更新による適応と行動戦略の変更による適応)の存在が示唆された。さらに, 演題4)ではサル的一次運動野と運動前野背側尾部に未来の状態を予測する順モデルが存在する可能性が示された。

このように, 本シンポジウムによって脳がどのように四肢の制御を行っているかという問に対する1つの妥当な作業仮説を提案できたと確信している。この仮説が正しいか否かは今後の研究に負うところになる。最後に, オーガナイザーの母校である和歌山県立医科大学の初代学長である古武弥四郎先生の言葉を記して結びとさせていただく。「本も読まねばならぬ, 考えてもみなければならぬ, 併し働くことはより大切である。凡人は働かねばならぬ, 働くとは天然に親しむことである。天然を見つめることである。こうして始めて天然が見えるようになる。」

オーガナイザー: 宮下 英三(東工大院・総理工・知能システム)
熊本 水頼(京大・名誉教授)

ナメクジウオからヒトに至る進化の過程に一貫してみられる拮抗筋制御

熊本水頼(京都大学名誉教授)

ヒトをはじめ陸上四脚動物の四肢リンク機構には強大な拮抗二関節筋が存在することは周知のことでありながら, その存在意義について大きな関心を払うことなく推移して来た背景がある。

そこで先ずヒト上肢を対象に筋電図動作学的解析, 数学モデルによる理論的解析, さらにロボット工学的解析を並行して実施した結果, 拮抗二関節筋と両端の関節に働く2対の拮抗一関節筋は協調した活動様相を示し, 各拮抗筋は相互に活動レベルを交代しながら系先端における出力方向制御に貢献していることが確かめられた。また複数筋束からなる各拮抗筋の活動レベルの交代は相反神経支配回路を複数個組み合わせた簡単な脊髄レベル拮抗筋制御回路で再現可能であり, 3個の回路に位相差をつけて一つに組上げると, 単一の入力信号で3対6筋の活動様式を制御して任意の方向への出力を可能とした[1]。また拮抗二関節筋を含む3対の拮抗筋が活性化されるだけで系先端のコンタクトタスクが解消されることが理論的, 実験的に示された[2]。この結果は中期デボン紀の初めの地層から出土した四脚動物の足跡の化石から, 彼等の四肢は既に拮抗二関節筋と共に一関節筋群も具備していたことを示唆するものである[3]。さらに我々はシーラカンスの胸鰭に二関節筋

が拮抗して存在することを解剖学的に確認し, 拮抗筋制御で胸鰭の運動が再現出来ることを工学モデルで実証している[4]。またさらに原索動物のナメクジウオのS字状波動遊泳運動は, 7乃至8対の拮抗筋を装備した工学モデルを作り時系列モード拮抗筋制御で前進後進自由に遊泳させ, 再現に成功した[4]。すなわち, 原索動物の時系列モード拮抗筋制御は魚類の遊泳運動に継承され, 肉鰭類が胸鰭に準備した拮抗二関節筋が上陸劇を成功に導いた。上陸を果たした初期四脚動物は, 3対の拮抗筋群の拮抗筋制御回路に位相差をつけて組むことに成功した時, 動物特有の出力特性, 卓越した制御機能特性を獲得し, 爾来, 両生類から爬虫類, 鳥類, 哺乳類と連綿とあらゆる陸上四脚動物に継承され, ヒトに至っていると考えられる。

動物界の運動制御を統べる拮抗筋制御を背景に二関節筋の存在意義が明らかになると, 運動に関わる基礎科学諸々の領域の基礎計算座標に二関節筋を組み込むことが余儀なくされる。例えば, 肩関節トルク, 肘関節トルクを独立変数として扱ったNatureの論文などは見直しを迫られることになる[5]。影響するところは広範に及び深刻である。

1. 藤川智彦ら: 日機械学会誌 63: 135-142, 1997
2. Kumamoto M, et al.: H M Sci 13: 611-634, 1994

3. Niedzwiedzki G, et al.: Nature **463**: 43-48, 2010
4. Kumamoto M, ed.: Abstracts ISAB, 2010, 2010
5. Pruszyński JA, et al.: Nature **478**: 387-390, 2011

生体機構に学ぶ筋骨格の運動制御

辻 俊明^{1,2} (¹埼玉大学大学院・理工学研究科,
²JST さきがけ)

筆者の研究グループではバイオメカニクスの分野のうち、特に筋骨格の進化の系譜に着目して研究を進めている。進化の過程で自然淘汰された筋骨格がたくさんあるとすれば、現在生き残っている種の筋骨格には高いパフォーマンスを発揮する何らかの必然性があると予想される。その必然性の原理が明らかになれば、ロボット制御にもその知見が還元できると期待される。動物の進化の系譜を見ると、水中で生きる魚類や頭索動物、尾索動物と陸上に上がった四肢動物の筋骨格に大きな隔りがあることがわかる。陸上の動物は自重を支え移動するための四肢を持つが、両性類、爬虫類、鳥類、哺乳類のほぼすべての種が四肢に単関節筋と二関節筋を持っている。特に四肢動物がすべて二関節筋を持っていることが工学的見地から不思議な点と言える。そこで本シンポジウムでは二関節筋を有する筋骨格の意義を調査した研究を紹介した。

生物は筋骨格の剛性を巧みに調整しながら器用な動作を実現することが知られているが、これまでの研究成果により、二関節筋が剛性制御の特性改善に寄与していることが明らかになっている。手先を様々な方向に変位させたときの各方位の剛性分布を表したものを剛性楕円と呼び、環境との接触に対して筋骨格が正確な力制御を行うためには、適切な形状に剛性楕円を設定しておく必要がある。そして剛性楕円の設定には2関節筋を含む機構が必要であることが明らかになっている [1]。また、二関節筋により手先の力出力分布が大きくなり、出力分布の等方性が高くなる。筋の数が増えるので力出力分布が大きくなるのは当然のようにも思えるが、対重量比で計算した場合でも有利になることが確認されている [2]。これらの理論は筋の収縮力と手先の力出力を対応付ける座標変換式を展開することにより得られるが、その数式は3相電動機の座標変換式と極めて類似しており、電動機の効率改善のための理論が筋骨格においても適用できることが確認されている [3]。

1. 大島 徹ら：日本機械学会論文集 (C 編) **61**: 4696-4703, 1995
2. 大島 徹ら：精密工学会誌 **65**: 1772-1777, 1999
3. T. Tsuji: International Symposium on Application of Biomechanical Control System to Precision Engineering (ISAB2010), 64-67, 2010

最適制御と運動学習

井澤 淳 (ATR 脳情報研究所)

脳は外界の変化に適応した行動を生成するために存在する。言語、認知、コミュニケーションを含む私達の活動のほぼすべてには運動が伴う。したがって脳を理解するためには脳が運動を生成するメカニズム、特に脳において運動制御・学習が生成される計算論的メカニズムを理解する必要がある。

例えば、我々が運動を行う際に、脳は運動指令を生成し、その結果、感覚器官の変化が生じる。この感覚フィードバックは即座に脳によって評価され誤差情報が計算される。そのうちの 하나가、感覚予測誤差である。脳は運動指令を生成した結果引き起こされる感覚器官の変化を、運動指令の遠心性コピーを用いて予測し、さらに実際に観測された感覚器官の変化との誤差を計算する。もう一つの誤差は報酬予測誤差である。脳は主観的に感覚帰化の変化を評価し、タスクの達成度やエネルギー消費量に基づいて報酬情報計算する。計算理論的に考えれば、脳は各試行ごとに、これら感覚予測誤差と報酬予測誤差を用いて運動指令を改善する。ある特定の運動学習中に、脳がどのような割合で、この二つの予測誤差を用いて運動学習を行っているのか推定することはできるのだろうか？

我々は、簡単な運動学習タスクにおいて、二つの予測誤差の依存度を推定することを試みた。特に、特定の条件では感覚予測誤差が運動指令から感覚情報を予測する順モデルを更新し、感覚の知覚に変化が現れることを確認した。一方、報酬情報のみ与えることによって同様の運動学習が行われることが明らかになった。しかし、報酬情報のみ与えられた場合には感覚の知覚に変化が現れることは無かった。さらに、我々は各試行ごとの運動のばらつきと、理論的に予測される報酬期待値に負の相関が現れることを確認した。これは、報酬情報に依存した学習にとっては、運動のばらつきを調整すること、つまり能動的に解空間を探索することが必要条件であることを意味してい

る。さらに、学習記憶の空間的な汎化性を調べると、報酬情報によって更新された運動記憶と、感覚予測誤差によって更新された運動記憶には大きな違いが現れた。具体的には、報酬情報によって更新された運動記憶の汎化関数は、感覚情報によって更新されたそれよりも細く鋭敏であった。すなわち、報酬情報によって駆動される運動記憶は到達目標により限定されていると考えられる。計算論的には、汎化関数の大きさは、学習システムに含まれるニューロンの特性によって支配されると考えられる。したがって、本結果は、報酬情報によって駆動される脳内機構と感覚予測誤差によって駆動される脳内機構が異なるシステムであることを示唆している。

さらに、我々はパーキンソン病患者を対象として運動学習課題遂行テストを行い、報酬情報による運動学習が健常者よりも劣っていることを確認した。さらに、運動学習中の能動的な探索が、パーキンソン病患者では明確ではないことを示した。これらの結果は、大脳基底核が運動学習中に報酬情報を処理することによって運動記憶の更新に貢献していることを示唆している。

M1 と PMdc の速度に関連した神経細胞活動を推定した状態として捉える

宮下英三(東工大院・総理工・知能システム)

手の到達運動の様々な行動学的特徴をうまく説明できる制御モデルとして最適フィードバック制御が提案されてきている [1]。この制御モデルでは順モデルという概念が重要になる。順モデルは運動指令から未来の状態を予測し、この予測状態は時間遅れのある感覚信号と統合され、尤もらしい未来の状態が推定されることになる。このように推定された状態から運動指令が生成される。演者の研究室では行動学的特徴のみならず、課題の要求精度に応じた筋肉の共収縮度合 [2] や到達運動中のサルの腕の関節剛性の変化 [3] といった筋肉の収縮状態に依存する特徴をも、2 関節 6 筋で構成される腕のモデルを最適フィードバック制御する数値実験により再現することに成功している。シンポジウムでは、サルの一次運動野 (M1) や運動前野背側尾部 (PMdc) に存在する手先速度に関連した活動を示す神経細胞活動を最適

フィードバック制御の枠組で解釈することを試みた。

二頭のサルにマニピュランダムを操作させ、コンピュータ画面上に提示されるカーソルを画面中央から周辺 8 方向の内 1 カ所に提示される視標を通過させるコントロール課題と、画面中央を座標原点とし反時計回りに 45° 回転変換した位置にカーソルを提示した環境下で視標を通過させる学習課題を遂行させた。課題遂行中の手先位置と神経細胞活動を M1 と PMdc から計測し、腕の長さなどのリンクパラメータは実験終了時に測定した。神経細胞の発火特性を運動に関連した変数の空間の中の 1 つのベクトル (PV) として表現することにより、コントロール課題と学習課題完了後で発火特性の変化を定量的に評価した。具体的には、運動に関連した変数として肩関節と肘関節各々の関節トルクと関節角速度の 4 変数を選び、学習課題の前後で関節トルクに関わる発火特性は不変とした。すなわち、関節角速度の空間で PV の変化を定量的に評価した。

腕の到達運動に関連するサルの M1/PMdc の神経細胞は大きく 2 つに分類することができた。体性感覚情報の入力を受ける神経細胞と視覚情報の入力を受ける神経細胞である。体性感覚情報の入力を受ける神経細胞の PV は学習課題の前後で殆ど変化しなかったが、視覚情報の入力を受ける神経細胞の PV は学習課題の後で (手先の空間に変換すると) 時計回りに回転していることが多かった。

この結果は、視覚情報の入力を受ける M1/PMdc の神経細胞が腕の運動との関連性においてカーソルの動きを予測している、つまり、M1/PMdc にカーソルの動きに対する順モデルが存在する可能性を示唆している。したがって、脳のどの部位でどのような計算が行われているかを解明することに本研究は寄与すると思われる。

1. Todorov E, et al.: Nat Neurosci 5: 1226-1235, 2002
2. Ueyama Y, et al.: Cur Bioinformatics, (in press)
3. Ueyama Y, et al.: Conf Proc. IEEE The 12th International Workshop on Advanced Motion Control, 1-6, 2012

国際宇宙ステーション利用ライフサイエンス及び 宇宙医学分野国際公募研究 (S16)

「はたして人類は宇宙空間で生存可能か?」, 1961年4月12日旧ソ連のユーリイ・ガガーリンによる108分間の人類初の軌道飛行成功以前に, 世界中の科学者が抱いていた疑問は, 最近の宇宙活動を見る限り杞憂に終わったと言ってよい。しかし, 宇宙滞在が長時間に及ぶにつれて, 色々な医学上の問題が明らかになってきた。宇宙酔い, 骨格筋萎縮, 骨量減少, 心・循環系の失調, 空間識失調などであり, これら全ては, 宇宙の微小重力環境が原因であると考えられている。これらの医学的問題にアプローチするため, 国際宇宙ステーション利用ライフサイエンス及び宇宙医学分野研究の国際公募が2009年に行われた。日本からは5つの研究課題が採択され, 2012~2014年での実験実施を目指し, 移行審査が行われている。本シンポジウムでは, 心・循環系の失調とその対策, 筋骨格系の萎縮とその対策, 空間識失調についての4テーマを各々の研究代表者に紹介してもらった。

宇宙飛行士を被験者とする場合の制約, 宇宙ステーションで使用する実験機器開発および機器持ち込みに関する制約などのため, 実際の実験開始までには予想以上の時間がかかっており, 最も早い実験でも, 本年5月に開始予定である。従って, 宇宙実験で得たデータの紹介はなかったが, 各研究者の仮説とその仮説に至った研究, そして現在の準備状況などの報告があった。今回話題になったテーマは, 宇宙飛行だけでなく, 地上の高齢者でも問題になっている医学的テーマであり, 宇宙医学の成果を地上医学に還元するという観点からも興味深いものであった。

オーガナイザー: 森田 啓之 (岐阜大学・大学院医学系研究科・生理学)
岩瀬 敏 (愛知医科大学医学部生理学第2講座)

AGREE プロジェクトの進展: エルゴメーター運動を伴う人工重力の有効性に関する多国間プロジェクトの進捗状況

岩瀬 敏¹, 西村直記¹, 菅屋潤壺², Willam H. Paloski³, Laurence R. Young⁴, Jack J.W.A. van Loon⁵, Floris Wuyts⁶, Gilles Clement⁷, Jorn Rittweger⁸, Rupert Gerzer⁸, James Lackner⁹, 秋間 広¹⁰, 片山敬章¹⁰, 傳 琦¹ (1愛知医大・医・生理, 2椋山女学園大学看護学部, 3Univ. of Houston, USA, 4Massachusetts Inst. of Tech., USA, 5Univ. of Amsterdam and Free Univ., Netherland, 6Univ. of Antwerp, Belgium, 7International Space Univ., France, 8DLR, Inst. of Aero. Med., Germany, 9Brandeis Univ., USA, 10名古屋大学保健センター)

AGREE (Artificial GRavity with Ergometric Exercise) プロジェクトは, 2009年, 国際宇宙ステーションISS国際宇宙ステーション上において, エルゴメーター運動あるいは下腿の伸展運動と遠心力による人工重力の, 宇宙飛行デコンディショニングに対する有効性を評価するために提案された。本提案は, 国際AOに応募した提案が採択されたものである。主任研究者のグループは, 日本から, その他, ヨーロッパ (ドイツ, ベルギー, オランダ, フランス) および米国からの研

究者により構成されている。現状は適宜最初の提案から変更されている。設置場所は, 多目的モジュール (PMM, permanent multipurpose module) で, 欧州宇宙機関はISSのハードウェアを開発した経験に基づいて, 遠心機のハードウェアを開発し, 宇宙航空研究開発機構 (JAXA) は宇宙ステーション補給機 (HTV) による打ち上げ機会を提供し, 米航空宇宙局NASAは, 設置場所を提供することになる。これまでに2回, 国際作業グループ会議が開かれ, 1回は東京で, 運動仕様有人遠心機の最終的な仕様を完成させるために開かれ, 6月にESTECで開かれた会議で, ESAのエンジニアとの最終的な打ち合わせを行った。2011年11月に, 科学者チームはサンノゼで会合を行い, 科学実験要求ESR (experimental scientific requirements) を完成させた。この遠心機の回転部分の直径は2.8mとなり, 遠端に近い部分に設置される予定である。本装置には回転補償のためのカウンターバランスが搭載され, 回転速度は回転軸から心までの距離が30cmの時, 心レベルで1.2Gを負荷するために, 最大で60rpmとなる。追加の運動用機器を設置する可能性はあるが, 回転中の心電図, 各心拍の血圧, 主要筋の筋電図, ビデオ観察による眼球位置, 各足と臀部に対する値彼, 赤外線ビデオによる顔面表情をモニターす

る。重力レベルと運動負荷は、被験者により制御される。重力レベル、回転速度、運動負荷、心拍数はISSのコンピューター・システムに記録、その日のうちに地上にダウンロードされた後に解析する。最初、実験グループ着陸前2か月を対抗措置期間として提案したが、米宇宙飛行士筋力・体力・リハビリ訓練グループは、6か月の滞在期間全体を対抗措置期間とすると提案している。宇宙飛行の前・中・後に、心血管系、体温調節、有酸素運動、神経前庭系、筋骨格系、骨代謝、および自律神経のパラメーターを評価する。2012年には、地上用の短腕遠心機を製造することになり、新しく制作した短腕遠心機のためにベッドレスト等の地上実験を行い、人工重力+運動の有効性について検討する。国際協力をどのように進めるかについても説明する。

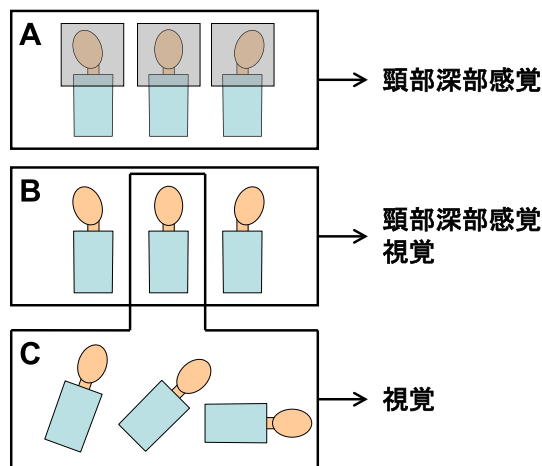


図 1

「傾き」を指標にした長期宇宙滞在中における空間識の適応的变化

和田佳郎¹、平田 豊²、金子寛彦³、柴田智広⁴
¹奈良県立医科大学生理学第一講座、²中部大学、
³東京工業大学、⁴奈良先端科学技術大学院大学

1. 背景

「重力のない宇宙に上下はあるか」という疑問が本研究の出発点である。上下について考えてみると地上では重力軸が絶対的な上下である。しかし、それ以外にも天井が上、床が下という上下（外界軸）、頭が上、足が下という上下（身体軸）が存在する。また、重力軸と外界軸は allocentric（他者中心的）な上下、身体軸は egocentric（自己中心的）な上下であり、重力軸には前庭耳石器入力、外界軸には視覚入力、身体軸には深部感覚入力が主に関与している。このような重力軸、外界軸、身体軸という複数の要素によって形成される上下が空間識の基準であり、「傾き」とはこの上下に対する傾きである。したがって、長期宇宙滞在中に「傾き感覚」を測定すれば冒頭の疑問の答が得られ、その結果、空間識の適応的变化が明らかになると考え、本研究を提案した。

2. 宇宙実験の内容

約6ヶ月間の長期宇宙滞在中に、頭部ロール（左右）傾斜時の「身体に対する頭部の傾き感覚」を測定する。実験条件の模式図を図1に示す。暗所で頭部をロール傾斜させた時（図1A）に傾き感覚が生じれば頸部深部感覚、明所で宇宙ステーション内の上下（外界軸）に対して身体をロール傾斜させた時（図1C）に傾き感覚が生じれば視覚の関与が示される。さらに、明所で頭部をロール傾斜させた時（図1B）に傾き感覚が生じれば頸部

深部感覚と視覚の関与が示される。また同時に頭部ロール傾斜によって生じる回旋性眼球運動（Ocular counter-rolling, OCR）を測定する。このような実験を宇宙滞在前、滞在中（4回）、帰還後に実施する計画である。

3. これまでの予備実験の状況

基礎データの蓄積を目的として、1G下、微小重力下（放物線飛行）、過重力下（放物線飛行、大型遠心加速度装置）における暗所/明所での身体傾斜時、頭部傾斜時の傾き感覚の測定をおこなっている。

例えば、放物線飛行では20秒間の微小重力環境を作ることが可能で、微小重力になるとOCRは4名すべての被験者で消失した。一方、傾き感覚は2名ではほぼ消失したが、他の2名は1G下よりは小さいものの十分に大きな傾き感覚が観察された。これは同じ傾きに対する反応であっても、脳幹レベルでの反射であるOCRと大脳を介した高次機能である傾き感覚では性質が異なることをあらわしている。微小重力下でも傾き感覚が生じたという結果は、16日間の宇宙滞在中の実験で遠心加速度により宇宙飛行士に傾き感覚が生じたという過去の報告とも一致する [1]。重力がなくなっても大脳では重力の記憶がしばらくの間残存しているのかも知れない。

4. 意義

本研究により地上では分り得なかった空間識のメカニズムが明らかになれば、空間識研究のみならず、めまい・平衡障害といった臨床医学の分野や、安全で快適な宇宙生活の実現に貢献できるものと考えている。

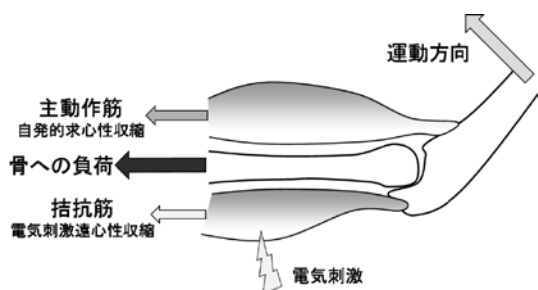


図 ハイブリッドトレーニング

肘関節屈曲を示す。伸展では主動作筋、拮抗筋の関係がこの逆となる。主動作筋は自発求心性収縮、拮抗筋は電気刺激遠心性収縮する。

1. Clément G, et al.: Exp Brain Res **138**: 410-418, 2001

国際宇宙ステーションに長期滞在する宇宙飛行士の筋骨格系廃用性萎縮へのハイブリッド訓練システムの開発

志波直人¹、松瀬博夫¹、名護 健¹、大本将之¹、山田 深²、大島 博² (¹久留米大学リハビリテーションセンター、²日本宇宙航空研究開発機構宇宙医学生物学研究室)

【はじめに】微小重力による骨格筋への力学的負荷の減少により、宇宙飛行士の骨格筋は著しい廃用性変化を来し、地上生活復帰の障害となるため、種々の対策が実施されている。国際宇宙ステーション (ISS) に滞在する宇宙飛行士は大掛かりな装置を用いて一日 2 時間 30 分の運動を行う。

従来の骨格筋電気刺激とは逆の発想で、運動時に動作を妨げる拮抗筋を電気刺激して得られる筋収縮を運動抵抗とする訓練方法を考案、電気刺激と自発筋収縮の混合運動、ハイブリッドトレーニングとした (図) [1-5]。本法は簡易な構造で、重力に代わり、電気刺激による筋力を運動抵抗として体内で発生させ、骨格筋に負荷を与える。本法は、十分なトレーニング装置が無い小型宇宙船内など、制限の大きい環境下で有用である。

【トレーニング効果】若年健常者 1 回 20 分、週 3 回、12 週間の長期訓練実験で、肘屈伸運動で約 30% の筋力増強と 15% の筋断面積増大が得られた [2]。平均年齢 68 歳の高齢者 20 名を 2 群に分け、週 2 回、3 か月間の膝屈伸により、膝伸展筋力は 39%、MRI 筋断面積は約 9% 増加し、大型のトレーニングマシンと同等の効果が得られた [2]。

膝前十字靭帯損傷患者の再建手術待機患者に対

し、術前 4 週間、HTS を実施し、再建に用いた半腱様筋の余剰筋を生検に用い DNA マイクロアレイ法で網羅的に遺伝子発現を解析した [4]。本法で筋タンパク合成、骨格筋幹細胞分化による筋再生の強化に関与する translation initiation factor EIF5A と筋損傷後の筋再生に強く関与する peroxisome biogenesis PEX6 が強く発現していた。症例数は少ないが、これら二つの遺伝子の高い発現が、筋肥大効果等の裏付けになる可能性が示唆された。

メタボリック症候群 (非アルコール性脂肪肝) 35 名を対象とし 2 群に分けて実施した 12 週の長期実験による血液生化学的検証ではインスリン抵抗性、肝機能の改善と共に、高齢者の実験と同様 IL-6 の明らかな低下がみられ、これらの結果から、筋力増強などの局所効果に加え、本法の全身的效果が期待される [5]。

【今後の展望】2009 年度 ISS 利用ライフサイエンス及び宇宙医学分野における国際公募研究テーマとして、現在、ISS 実験に向けた準備を進めている。さらに装置を改良し、宇宙空間長期滞在での効果を検証するとともに、その成果を臨床、福祉の現場へと還元したい。

1. Yanagi T, et al.: Arch Phys Med Rehabil **84**(6): 843-848, 2003
2. Matsuse H, et al.: Aviat Space Environ Med **77**: 581-585, 2006
3. Takano Y, et al.: Tohoku J Exp Med **221**(1): 77-85, 2010
4. Matsugaki T, et al. Kurume Medical Journal **57**(4): 101-108, 2010
5. Kawaguchi T, et al.: J Gastroenterol **46**(6): 746-757, 2011

前庭一血圧反射系の可塑性とその対策

森田啓之¹、安部 力¹、岩田ちひろ¹、田中邦彦² (¹岐阜大学・大学院医学系研究科・生理学、²岐阜医療科学大学)

ガガーリンの初飛行以来 50 年間で 450 人以上の飛行士が宇宙飛行を体験したが、そのうち 40% 以上の飛行士に帰還後の心・循環系の失調が認められた。主な症状は、起立性低血圧であり、ひどい場合は失神発作を起こす。その原因として、循環血液量の減少、圧受容器反射の調節力低下、心筋萎縮に伴う心収縮性低下などが提唱されているが、未だ確定には至っておらず、多因子によるものだと考えられている。私たちは、この原因として宇宙飛行に伴う前庭系の可塑性と前庭一血圧反射の調節力低下が関与しているのではないかと考

え、国際公募研究に応募し、採択された。

前庭—血圧反射は、圧受容器反射と協働して、起立時の血圧維持に貢献している。しかし、前庭系は可塑性の強い器官であることが知られており、異なる重力環境下では、前庭系の機能が変化しうる可能性がある。ラットを2—3 Gの過重力環境で2週間飼育すると、前庭—血圧反射の調節力が低下する。この低下の機序は、過重力環境下ではラットの活動が低下し、活動に伴う前庭系への phasic な入力低下することによる use-dependent plasticity であると思われる。実際、過重力環境下では、前庭系への phasic input が1 G 環境下と比べ10%程度に減少している。また、1 G 環境下で、活動制限して飼育し、前庭系への phasic input を減少させたラットでも、過重力環境下飼育ラットと同様な前庭—血圧反射の調節力低下が観察される。

被験者実験で前庭—血圧反射の関与を調べるために、非侵襲的・可逆的に前庭—血圧反射を遮断する方法 (GVS, galvanic vestibular stimulation) を開発した。この方法を用いて、起立時の血圧調節における前庭—血圧反射の役割を調べた。健康

成人では、60° head-up tilt (HUT) 時、血圧はほぼ前値に維持されているが、GVSで前庭—血圧反射を遮断してHUTすると、20 mmHg程度の血圧低下が観察される。GVS (無) と GVS (有) の血圧応答の差が、前庭—血圧反射による調節である。ところが、日常の活動が低下した高齢者では、GVS (無)、GVS (有) に関わらず、HUTにより20 mmHg程度の血圧低下が観察される。従って、高齢者では、起立時に前庭—血圧反射が働いていないことが分かる。また、耳鼻科外来を受診した患者を対象とした検査では、耳石機能と起立時の血圧低下との間に有意な相関が認められた。

これらの、動物実験および被験者実験から、起立時の血圧調節に前庭—血圧反射が重要な役割を果たしており、前庭系への入力減少するような状態では、前庭—血圧反射の調節力が低下することが分かった。宇宙の微小重力環境は、まさに前庭系への phasic input がゼロになる様な環境であり、前庭—血圧反射の調節力が低下する可能性が高いと思われる。このことを確かめるための宇宙飛行士を被験者とした実験を、2012年5月から始める予定である。

“ヒト” をキーワードにした多能性幹細胞研究の展開 (S41)

体細胞からの安全な神経幹細胞の直接誘導

赤松和土 (慶應義塾大学医学部生理学教室)

近年、脊髄損傷などの神経損傷モデルに対して神経幹細胞の移植が症状の改善に有用であることが示されてきた。ES細胞から誘導した神経幹細胞も同様の効果があることが示され、ES細胞からの神経幹細胞の誘導を行うことによって、主として胎児にしか存在しない神経幹細胞を大量に調整す

ることが可能になった。iPS細胞技術の登場によりES細胞が持つ倫理的な弱点が解消され、このような細胞移植治療において自家移植の可能性が切り開かれたが、iPS細胞由来神経幹細胞の安全性は由来するクローンの性質に大きく左右されるため、安全性を十分に検討する必要があることが明らかになってきた。さらに、ヒトES/iPS細胞からの神経幹細胞の誘導は1-2ヶ月の期間を要

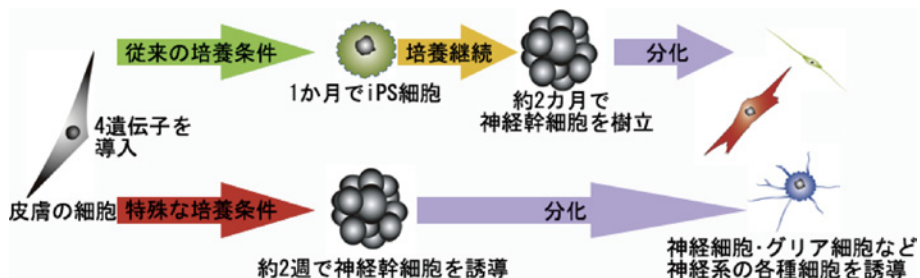


図 1

し、患者線維芽細胞からの神経幹細胞の誘導は半年以上の期間が必要になる。脊髄損傷のような疾患では受傷後慢性期に至るまでに細胞を移植できなければ殆ど効果がないことも知られているため、現在の技術ではiPS細胞由来神経幹細胞を迅速に自家移植することは不可能である。我々はこの問題を解決するために、マウス線維芽細胞にiPS化の4因子 (Oct4, Klf4, Sox2, cMyc) を導入し、リプログラミング途中でニューロスフェア形成培地 [1] で培養し神経分化誘導を行うことにより、iPS細胞を経ずに神経幹細胞 (diNSC) を誘導した (図1) [2]。

この方法を用いると線維芽細胞から約18日間で神経幹細胞を大量に誘導でき、細胞調整の時間が大幅に短縮した。これらの神経幹細胞はiPS細胞由来の神経幹細胞よりも速い速度で分化するため、細胞移植に必要な成熟型の神経幹細胞を迅速に調整することが出来る。さらに我々はヒト線維芽細胞でも同様の手法により遺伝子導入後20日間で神経幹細胞を得ることに成功し、従来iPSを経由すると6ヶ月近く必要であったステップを大幅に短縮することが出来た。今後はこれらの細胞の安全性を詳細に検討し、細胞移植の期間が限られる疾患に対して自己の細胞を調製できるシステムを確立していく。

1. Akamatsu W, et al: Proc Natl Acad Sci U S A **102**: 4625-4630, 2005
2. Matsui T, et al.: Stem Cells **30**: 1109-1119, 2012

ヒト線維芽細胞に存在する多能性幹細胞 (Muse細胞) と iPS 細胞の関連性

若尾昌平, 北田容章, 黒田康勝, 出澤真理 (東北大学大学院医学系研究科細胞組織学分野)

本研究室では、ヒト皮膚線維芽細胞や骨髄間質細胞などの間葉系細胞中に多能性を有する幹細胞が存在することを発見し、その性状から Muse (Multilineage-differentiating stress-enduring) 細胞と名付け、報告した [1]。Muse 細胞は、多能性幹細胞マーカーである SSEA-3 と間葉系マーカー CD105 の二重陽性細胞として単離可能で、自己複製能を有し、多能性幹細胞マーカーの発現、一細胞から三胚葉性の細胞へと分化する能力を有する多能性幹細胞である。重要なこととして、Muse 細胞は生体由来の自然な多能性幹細胞であるため腫瘍形成能を示さない幹細胞である。一方、iPS 細胞は体細胞に数種類の遺伝子を導入することで樹立される、ES 細胞に類似した多能性幹細胞である [2]。iPS 細胞の樹立メカニズムに関して、ほぼすべての細胞から iPS 細胞が誘導されるとするストカスティックモデルと、遺伝子導入がなされる前にすでに iPS 細胞になりうる細胞が既定されているとするエリートモデルの二つのモデルが提唱されている [3]。本研究では Muse 細胞はすでに多能性を有する細胞であり、間葉系細胞に一定の割合で含まれていることから、ヒト皮膚由来線維芽細胞から誘導される iPS 細胞の起源となる可能性を考え詳細な検討を行った。その結果、ヒト皮膚由来線維芽細胞に山中4因子 (Oct3/4, Sox2, Klf4, c-Myc) を導入した場合、Muse 細胞は iPS 細胞に変化したのに対し、Muse 細胞を除

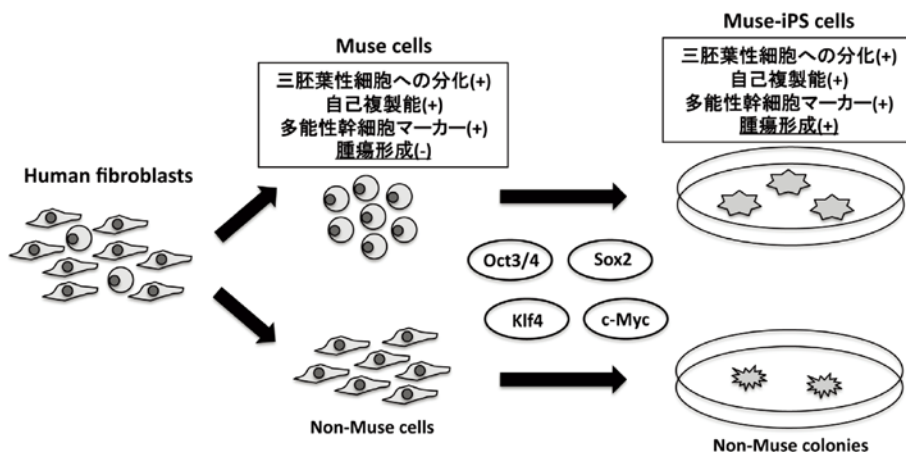


図 1

いたヒト皮膚由来線維芽細胞からはiPS細胞が
いっさい誘導されなかったことから、エリートモ
デルの存在が示唆された(図1)。また、Muse細胞
由来iPS細胞との比較により、遺伝子導入がな
されることでMuse細胞に腫瘍性増殖能が付与さ
れた結果iPS細胞に変化したのではないかという
誘導メカニズムの可能性も示唆された[4]。また、
ヒト皮膚由来線維芽細胞を用いる場合、Muse細胞
のみがiPS細胞に変化し得るのであれば、あ
らかじめMuse細胞を分離することでiPS細胞への
誘導効率を向上させることが可能であると考
えられる。また、皮膚由来線維芽細胞は様々
な細胞種を含む細胞集団であることが知ら
れているが、比較的均質な細胞集団である
Muse細胞をiPS細胞誘導に用いることで、
その誘導メカニズムの解明に役立つことが
可能であると考えられる。

1. Kuroda Y, et al.: Proc Natl Acad Sci USA. **107**: 8639-43, 2010
2. Takahashi K, et al.: Cell **126**: 663-76, 2006
3. Yamanaka S, et al.: Nature **460**: 49-52, 2009
4. Wakao S, et al.: Proc Natl Acad Sci USA. **108**: 9875-80, 2011

多能性幹細胞を用いた心筋再生療法の開発

柴 祐司(信州大学大学院医学系研究科循環器
病態学)

心筋梗塞を始めとする虚血性心疾患に対する再生医療は近年急速に研究が進展し、骨髄幹細胞等の体性幹細胞を用いた再生医療はすでに臨床応用されている。しかし、これまでの臨床試験から、細胞移植の効果は限定的とされている[1]。これは移植された幹細胞そのものが、心筋細胞には分化しないことが一因と考えられている[2]。

ES細胞を始めとする多能性幹細胞は、無限の増殖能と万能性を有しており、心筋細胞への分化も証明されているため、心臓病に対する有望な再生医療の細胞源と考えられている。これまでの前臨床試験で、移植されたヒトES細胞由来心筋細胞(hESC-CM)は、心筋梗塞部位に生着し心臓の収縮能を改善することが示されている[3]。しかし、移植心筋細胞が効率的かつ安全に機能するためには、宿主心筋細胞と電気的に結合し、一体となって収縮する必要がある。本研究では、ヒトES細胞移植後の電気生理学的特性について検討した。

蛍光CaセンサーGCaMPをヒトES細胞に遺伝子導入し、hESC-CMを作製したところ、*in vitro*においてGCaMP+hESC-CMの細胞収縮と一致した蛍光GFPシグナルを確認した。さらに、心筋梗塞発症モデルモットに対して、GCaMP+hESC-CMを

移植した。移植4週間後の心臓では、グラフト心筋が宿主心筋の収縮と一致して収縮していることが確認できた[4]。

次に、細胞移植後の致死性不整脈の発生頻度について検討したところ、細胞移植モデルモットにおいては、コントロール群に比べ、致死性不整脈の発生頻度が有意に低いことが分かった[4]。

hESC-CMは心筋梗塞心臓に移植された後、宿主心筋細胞と電気的に結合し、心臓の収縮能改善だけでなく電気的安定性にも寄与することが示された。

1. Lipinski MJ, et al.: J Am Coll Cardiol **50**: 1761-1767, 2007
2. Murry CE, et al.: Nature **428**: 664-668, 2004
3. Laflamme MA, et al.: Nat Biotechnol **25**: 1015-1024, 2007
4. Shiba Y, et al.: Nature (in press)

再生医療における人工多能性幹細胞の展望

岳 鳳鳴¹、友常大八郎¹、市川比奈子¹、白澤佐季子²、横山忠幸²、永井美圭²、原 一生³、齊藤直人³、薄井雄企⁴、遠藤守信⁴、佐々木克典¹(¹信州大学医学部組織発生学講座、²ブルボン先端健康研究室、³信州大学医学部保健学科応用理学療法学、⁴信州大学工学部)

人工多能性幹細胞(Induced pluripotent stem cells, iPS)とは、体細胞へ四つの遺伝子を導入することにより、ES細胞(胚性幹細胞)のように非常に多くの細胞に分化できる分化万能性(pluripotency)、分裂増殖を経てもそれを維持できる自己複製能を保持した細胞のことです。京都大学教授の山中伸弥教授らのグループによって、マウスの線維芽細胞(皮膚細胞)から2006年に世界で初めて作られました。2007年11月、京都大学の山中伸弥教授らのチームがヒト人工多能性幹細胞(iPS細胞)作製に成功したとの発表は、再生医療の新しい時代の幕開けとして世界に大きなインパクトをもたらしました。iPS細胞樹立の成功により、ES細胞の持つ生命倫理問題を回避することができるようになり、免疫拒絶の無い再生医療の実現に向けて大きな一歩となりました。

我々の研究は外胚葉由来の色素細胞、視細胞、神経細胞、内胚葉由来のインスリンを分泌する膵β細胞、amylaseを分泌する膵外分泌細胞、中胚葉由来の骨芽細胞など、ヒトiPS細胞からさまざまな種類の細胞を作り出すことに成功しています。

特に、ヒトiPS由来網膜色素細胞との共培養によるヒトiPS細胞から視細胞への分化誘導を成功させました。これまで報告されている視細胞の分

化誘導法において、二つの問題があります。一つは血清が必要であるということ、もう一つは胎児網膜との共培養が必要であるということです。将来、移植医療を実現するためには、感染や拒絶反応のリスクを回避するために新規の網膜細胞を得る方法の確立が望まれています。私たちの方法では nicotinamide を含む培地に、Sertoli 細胞と iPS 細胞を共培養すると、多角形状の黒っぽい細胞が多く観察されました。色素細胞特異的マーカーの mRNA とタンパク質の発現を確認しました。電子顕微鏡で観察すると非常に多くの色素顆粒が細胞質中に存在していることがわかります。しかし、色素細胞が 100% の純度でなくてはなりません。少しでも未分化な ES 細胞が混入していれば、移植後の奇形腫形成の危険性が高くなります。色素細胞は顆粒を多く含むため、比較的細胞の比重が高いと考えられます。そこで、Percoll を用いた密

度勾配法によって色素細胞の単離を試みました。純化した色素細胞と未分化 iPS 細胞を共培養し、視細胞へ分化誘導します。培養後 2 週間から、分化した視細胞を確認することができます。視細胞を純化する方法として、GFP レポーター遺伝子と網膜特異的転写因子の遺伝子をヒト iPS 細胞に導入し、網膜前駆細胞のみを単離することを検討しています。

我々の分化誘導方法により得られた細胞を用いて、創薬研究や毒性試験、眼の発生研究への応用も期待できます。

1. Takahashi K, Yamanaka S: Cell **126**: 663-676, 2006
2. Takahashi K, et al.: Cell **131**: 861-872, 2007
3. Osakada F, et al.: Nat Protoc **4**: 811-824, 2009
4. Osakada F, et al.: Nat Biotechnol **2**: 215-224, 2008