

Muse 細胞

森田 明広

鈴鹿医療科学大学 薬学部 薬学科

総 説

Muse 細胞

森田 明広

鈴鹿医療科学大学 薬学部 薬学科

キーワード： 間葉系幹細胞, 非腫瘍原性, 自発的分化, 組織修復, 再生医療

要 旨

Muse 細胞は成体の間葉系組織の中に埋もれている非腫瘍原性を示す多能性幹細胞で、2010年に東北大学で見つかった。この内在性の細胞は損傷部位へ集積し、周囲の環境に合わせて自発的に分化し、組織を修復する。したがって、他の幹細胞を用いた再生医療で見られるような人工的な分化や誘導を必要としない。さらに、この細胞はすでに行われている骨髄移植や間葉系幹細胞移植の組織中に含まれている。Muse 細胞は再生医療において実用的で実現性の高い細胞であると考えられる。

1. はじめに

人工多能性幹細胞（iPS 細胞）の樹立以来、再生医療は社会的に脚光を浴びている。しかし、iPS 細胞樹立以前に Muse 細胞とよばれる内在性の多能性幹細胞が発見されており、現在、それを用いた臨床研究が始まっている。しかも、Muse 細胞は非腫瘍原性で、iPS 細胞よりもより安全であることも報告されている。本稿では、この Muse 細胞の発見から臨床研究まで概説する（表 1）。

2. 間葉系幹細胞

間葉系幹細胞は、骨髄や脂肪などの間葉系の組織に存在する幹細胞である。実際には、間葉系の組織から接着性の細胞として分離された不均一な細胞集団が「間葉系幹細胞」として研究されてきたため、この集団に含まれる細胞の種類とその割合や幹細胞の定義を満たすものの割合などの基本的な情報が曖昧なままであった¹⁾。しかし、間葉系幹細胞は、骨髄や脂肪、臍帯血、歯髄、骨膜から比較的簡単に得ることができ、多面的な組織保護作用、すなわち組織を保護する種々の増殖因子やサイトカインの産生と免疫反応の調節による抗炎症効果を示すため、再生医療において注目されてきている。さらに間葉系幹細胞の最大の特徴は、3 種すべての胚葉の細胞に分化することができるという能力である。成体に存在するほかの幹細胞（成体幹細胞、組織幹細胞ともいう）は、

その細胞が属す系譜の細胞へと分化する。例えば、造血幹細胞は血球系の細胞、神経幹細胞は神経系の細胞にしか分化せず、発生学的な胚葉の境界を越えて分化しない。間葉系幹細胞は、中胚葉系の細胞系譜に属するが、中胚葉と外胚葉および内胚葉の境界を越えて種々の細胞へ分化する^{2,3)}。

3. Muse 細胞の発見

間葉系幹細胞を接着条件で培養すると、自発的に細胞のクラスターと呼ばれる細胞塊を形成することがある。このクラスターが胚性幹細胞（ES 細胞）や iPS 細胞の胚様体に似ていることから、多能性をもつ細胞の存在が示唆されていた。成体に存在する多くの幹細胞は休止状態にあり、ストレスにさらされたときに活性化して増殖を開始することが知られている。そこで、線維芽細胞や間葉系幹細胞に様々なストレス（無血清、低酸素、トリプシン処理など）を与え、7 日間浮遊培養した。8 時間又は 16 時間トリプシンで処理すると、直径が 50-150 μm の多数のクラスターが得られた⁴⁾。通常の細胞は長時間のトリプシン処理では栄養が枯渇するだけでなくトリプシン（消化酵素）のために死んでしまう。クラスターにはこのような状況下で生き残った細胞が含まれており、このストレス耐性を示す細胞は元の線維芽細胞に 1.3%、間葉系幹細胞に 1.1% 含まれていた。

クラスターを構成する細胞の染色体は正常で、多能性

表 1 再生医療に用いられる多能性幹細胞の比較

名称	胚性幹細胞 (ES 細胞)	人工多能性幹細胞 (iPS 細胞)	Muse 細胞
由来	胚盤胞 (胚)	線維芽細胞	骨髄や脂肪組織に存在 (内在性) SSEA3 で分離
樹立法	分離して培養	Oct3/4・Sox-2・c-Myc・Klf4 遺伝子やその産物を導入	
倫理的問題	あり	なし	なし
免疫学的問題	他家	自家	自家
分化能力	三胚葉の細胞に分化	三胚葉の細胞に分化	三胚葉の細胞に分化
再生医療での方法	分化・組織構築の後 適切な場所へ移植	分化・組織構築の後 適切な場所へ移植	損傷部位に集積、自発的に細胞へ分化
未分化細胞の移植	テラトーマ (奇形腫) 形成	テラトーマ (奇形腫) 形成	
腫瘍原性	未分化な細胞にある	未分化な細胞にある	なし

の指標の一つであるアルカリフォスファターゼ活性を示し、多能性マーカーの Nanog, Oct3/4, SSEA-3, PAR-4, Sox2 を発現していた⁴⁾。さらに、単一細胞の浮遊培養で作製したクラスターをゼラチンコートしたディッシュで培養すると、外胚葉性細胞のマーカーである NFM, MAP2, 中胚葉性細胞マーカーの α -smooth actin, desmin, Nkx2.5, 内胚葉性細胞のマーカーの α -fetoprotein, CK7, GATA6 を発現する細胞に分化した。このようにクラスターを構成する細胞は、多能性マーカー遺伝子の発現だけでなく、実際にどの胚葉の細胞にも分化できる能力をもつことが示され、multilineage-differentiating stress enduring (Muse) 細胞と名付けられた⁴⁾。

4. Muse 細胞の由来

骨髄の間葉系幹細胞から Muse 細胞を見出した際に、ストレスを与えなくてもクラスターを形成し、多能性マーカーを発現するものが、ストレスを与えたときの 1/75~1/60 存在した。これは、クラスターがストレスなしで形成できることを示唆している。骨髄には間葉系幹細胞、造血幹細胞をはじめとする血液系の細胞、内皮細胞などが含まれている。これらの中から Muse 細胞を見出すために、表面抗原を用いて細胞を選別しクラスター形成の有無を調べた。造血系細胞のマーカーの CD34, CD177 と間葉系幹細胞のマーカーの CD105 を検討したところ、CD34-/177-/105 + の細胞から多くのクラスターが得られた。したがって Muse 細胞は CD105 (+) の間葉系幹細胞であると考えられた。Muse 細胞を多く含むクラスターと間葉系幹細胞で表面抗原の発現量を FACS 解析により比較すると、Muse 細胞を含むクラスターで SSEA-3 (+) の細胞が顕著に多かった。さらに、ヒト線維芽細胞とヒト間葉系幹細胞を SSEA-3 の発現の有無によって選別し、クラスターを形成させると、SSEA-3 (+) 細胞の 57-60% がクラスターを形成したが、SSEA-3 (-) 細胞ではクラスターを形成する細胞は 9-11% にとどまった⁴⁾。このようにして、Muse 細胞は間葉系細胞マーカーの CD105 と多能性マーカーの SSEA-3 によって選別できることが明らかとなった⁵⁾。Muse 細胞は、骨髄の間葉系幹細胞だけで

なく、皮膚の線維芽細胞^{6,7,8)} や脂肪組織^{9,10,11,12,13)} にも存在する。皮下脂肪組織中の Muse 細胞数は、年齢とともに減少するが、多能性と増殖能力に違いはなかった¹³⁾。また、Muse 細胞以外の間葉系幹細胞は多能性を示さなかった¹⁴⁾ ことから、胚葉の壁を越えて分化する間葉系幹細胞の本体は Muse 細胞であると考えられた³⁾。

様々な動物の再生には、組織中の幹細胞が分化するもの、生体組織の細胞が脱分化して再分化するもの、分化した細胞が異なる細胞へ分化転換するものの三つの様式が提唱されている¹⁵⁾。プラナリアの再生はクローン原性新成細胞という多能性の幹細胞によっておこる¹⁶⁾。また、両生類の脚の再生¹⁷⁾ やヒドラの再生¹⁵⁾ は組織の脱分化と幹細胞の両方がある。Muse 細胞による組織の修復は幹細胞によるもので、進化を通じて保存されてきた再生能力の一つである。

5. Muse 細胞による組織修復 (多能性)

Muse 細胞の組織修復能力に関して、心臓・腎臓・脳については後述するので、ここではそれ以外を記載する。静脈内あるいは腹腔内投与された Muse 細胞は損傷部に集積する (詳細は「Muse 細胞の新たな利用」と「心疾患」の項を参照)。この作用は Muse 細胞特異的で間葉系幹細胞には見られない。さらに、集積した Muse 細胞は損傷部の環境に応じて自発的に分化する。この二つの特性が再生医療における Muse 細胞の大きな利点である¹⁸⁾。

皮膚の修復に関して、1 型糖尿病マウスの皮膚潰瘍は、通常マウスに比較して回復が遅い。このマウスにヒト脂肪組織由来の Muse 細胞を腹腔投与すると、損傷した組織に集積し、接着分子である PECAM を発現する血管内皮細胞やそのほかの細胞として組込まれ、傷の回復を早めた¹¹⁾。また、培養条件下でも、ヒト線維芽細胞由来の Muse 細胞から線維芽細胞やケラチノサイト¹⁹⁾、メラノサイト^{8,13,20)} への分化に成功している。分化させたメラノサイトを三次元モデル培養すると、本来のメラノサイトと同様に基底部分に生着し、さらにそれをマウスの皮膚へ移植した後もメラニンの産生を続けた。

生体肝移植後の移植片の遺伝子解析により、肝細胞・

類洞の細胞・胆管上皮細胞・グリソン鞘周辺の細胞のいくらかは移植を受けた患者由来の細胞であることが知られている。これは、肝細胞の再生に肝細胞系列以外の細胞が関与していることを示しており、その細胞の源として骨髄の間葉系幹細胞が候補として考えられている。肝切除マウスにヒト骨髄由来の Muse 細胞を静脈注射すると、Muse 細胞は再生領域に組込まれ、初期の肝前駆細胞マーカーを発現した。その後、Muse 細胞は肝細胞、胆管上皮細胞、内皮細胞、クッパー細胞へと自発的に分化した²¹⁾。Muse 細胞以外の間葉系幹細胞では肝再生が起これなかったことから、これまで間葉系幹細胞の機能と考えられていた肝再生は Muse 細胞によるものであった³⁾。

大動脈瘤モデルマウスに、骨髄由来 Muse 細胞を静脈注射すると、動脈瘤の大きさが徐々に縮小した。このとき Muse 細胞は血管の外膜組織から動脈瘤の組織へ入り込み、内皮細胞や血管平滑筋細胞へ自発的に分化していた²²⁾。また、Muse 細胞をヒアルロン酸ゲル中でスフェロイドと呼ばれる球状の塊を形成させ、これを脂肪組織の虚血再灌流モデルマウスに投与すると、萎縮した脂肪組織が回復した。この場合も Muse 細胞は自発的に血管内皮細胞へ分化していた²³⁾。

6. Muse 細胞による組織修復(間葉系細胞としての機能)

Muse 細胞はさまざまな細胞へと分化して組織を修復するが、それ以外にもサイトカイン等を分泌して組織修復に貢献している。分泌されているタンパク質(セクレトーム)を網羅的に解析し、Muse 細胞と間葉系幹細胞には細胞外マトリクスの再構築、酸化還元活性、免疫にかかわる分子が含まれていることが明らかとなった。Muse 細胞特異的に発現しているものとして、細胞周期の G₂/M の DNA 損傷チェックポイントとアポトーシスに関係するもの(14-3-3 タンパク質)、自己複製に関わるもの(A キナーゼ系, FXR/RXR, LXR/RXR シグナル)、免疫系の制御に関わるもの(抗原提示パスウェイ, 凝固系の serpin, FXR/RXR シグナル, LXR/RXR シグナルや pregnancy zone protein)がある。また、これらのタンパク質の発現を引き起こすと考えられる転写因子や分泌タンパク質の

upstream regulator 解析より Muse 細胞特異的に分泌されるサイトカインとしてコルチコトロピン放出ホルモン(CRH)と白血球阻止因子(LIF)が、増殖因子として骨形成因子(BMP)-4, 線維芽細胞増殖因子(FGF) 18がある²⁴⁾。

脂肪組織由来の Muse 細胞は低酸素条件下で血小板由来増殖因子(PDGF)-BB, 血管内皮増殖因子(VEGF), 上皮成長因子(EGF), トランスフォーミング増殖因子(TGF)- β , 神経成長因子(NGF)- β , 幹細胞増殖因子(SCF), bFGF, 腫瘍壊死因子(TNF)- α などの増殖因子を分泌する¹¹⁾。この Muse 細胞をスフェロイド形成させると、低酸素条件で VEGF-A, VEGF-B, 肝細胞増殖因子(HGF), PDGF-A, PDGF-C が分泌される²³⁾。また、脂肪組織由来の Muse 細胞は、マクロファージや T 細胞からの TNF- α やインターフェロン- γ などの炎症性サイトカインの分泌を抑制して、抗炎症効果を発揮する¹²⁾。

さらに、急性肺塞栓による虚血再灌流モデルラットに対して、再灌流 2 時間後に Muse 細胞を肺動脈から注入すると、動脈血酸素分圧, 肺胞気・動脈酸素分圧較差, 肺コンプライアンスなどの肺機能の回復と組織の治癒がみられた。Muse 細胞は損傷部位に集積し、肺胞上皮細胞のアポトーシスを防ぎ、肺胞上皮細胞の増殖を促進していた。このとき Muse 細胞はケラチノサイト増殖因子(KGF) や HGF, angiopoietin-1, プロスタグランジン E₂ を産生していた²⁵⁾。

骨軟骨損傷マウスの関節腔内へ Muse 細胞を移植すると、12 週後に治癒していることも示された²⁶⁾。

7. Muse 細胞と腫瘍原性

幹細胞は長期にわたってストレスにさらされるため、効果的なストレス検知システムと種々の DNA 修復機構をもっている²⁷⁾。ES 細胞や iPS 細胞も同様の DNA 修復機構を備えている²⁸⁾。しかし、iPS 細胞では、リプログラミングの際にミトコンドリアより活性酸素が一時的に放出され、それによって核膜近傍の核ラミナ結合領域に存在する遺伝子に点変異が高頻度に生じている²⁹⁾。Muse 細胞はそもそもストレス耐性の細胞として見つげられたこと

からも予想されるように、物理的・化学的ストレスに対して、間葉系の他の細胞よりもストレス耐性を示した。Muse 細胞以外の間葉系幹細胞では DNA 損傷後 48 時間経過しても DNA 修復機構が作動しないのに対して、Muse 細胞は効果的な DNA 修復機構をもっており、DNA 二本鎖切断に対して機能する非相同末端結合に関わる酵素活性が高かった³⁰⁾。

また、多能性と腫瘍原性は諸刃の剣と考えられており、ES 細胞や iPS 細胞をそのまま組織に移植すると、テラトーマ (奇形腫) を形成する。しかし、Muse 細胞はテラトーマを形成しない。というのも、ES 細胞と iPS 細胞は胎児性の細胞であるが、Muse 細胞は成体に存在する細胞だからである。また遺伝子発現においても、多能性と腫瘍原性に関わる RNA 結合タンパク質 Lin28 の発現は ES 細胞や iPS 細胞に比べて低く^{31,32)}、胚発生の間 Lin28 を抑制する miRNA の Let7 は Muse 細胞で高かった³²⁾。さらに、ES 細胞や iPS 細胞に比べて、Muse 細胞のテロメラーゼ *TRET* 遺伝子の発現は低かった³¹⁾。これらが、Muse 細胞の非腫瘍原性に関わっていると考えられる。

8. iPS 細胞は Muse 細胞から

iPS 細胞は山中因子 (Oct3/4, Sox2, Klf4, c-Mys) を細胞へ導入することによってリプログラミングされた細胞である。リプログラミングを受ける細胞として、2 つのモデルが提唱されている。一つは「確率論モデル (stochastic model)」で、すべての細胞がリプログラミングされる可能性をもっているというもので、もう一つは特定の細胞が iPS 細胞になる能力をもともと持っているという「エリートモデル (elite model)」である^{2,33)}。iPS 細胞の多くは皮膚の線維芽細胞から作製される。この線維芽細胞は一般に皮膚の接着培養から分離されたものであり、他の細胞すなわち、組織幹細胞も含まれている。Muse 細胞は間葉系の組織に存在することから、不均一な線維芽細胞中に含まれると考えられる。Muse 細胞をヒト皮膚の組織から除くと、残りの組織は山中因子に応答しなかった。また、ヒトの線維芽細胞を、Muse 細胞と非 Muse 細胞に分離してそれぞれに山中因子を導入すると Muse 細胞のみが

iPS 細胞のコロニーを形成できた。また、Muse 細胞からは、ES 細胞様の形態と多能性幹細胞のマーカーである TRA-1-81 を発現するコロニーが形成された。これらのことから、Muse 細胞は iPS 細胞のソースの一つであると考えられ、エリートモデルを支持するものである³¹⁾。

9. Muse 細胞の新たな利用

脳腫瘍の治療を難しくしている点に、腫瘍細胞の広がりや、周囲の正常組織への浸潤や広範囲への移動がある。悪性の神経膠腫は脳内を浸潤性に広がるため外科手術は非治癒的であり、放射線・化学療法も不十分である。ヘルペスウイルス治療薬のプロドラッグであるガンシクロビル (GCV) は、毒性が低く、血液脳関門を通過し、単純ヘルペスウイルスの持つチミジンキナーゼ (HSVtk) によってリン酸化されると増殖している細胞の DNA 複製を阻害することにより細胞死を誘導する。これを利用して、*HSVtk* 遺伝子をレトロウイルスベクターによってがん細胞へ導入し、ガンシクロビルで攻撃する治療法「自殺遺伝子治療」が設計されている³⁴⁾。一方、神経幹細胞や間葉系幹細胞を、神経膠腫をもつマウスに移植すると、幹細胞はがん細胞へ向かって移動し、がん細胞周辺に集積することが知られている^{35,36)}。より未分化な幹細胞である iPS 細胞も腫瘍に集積することが報告されており³⁷⁾、腫瘍細胞が生産する SCF, PDGF-BB, Stromal cell-derived factor, VEGF に対して、それらの受容体である c-Kit, ICAM-1, CXCR4, VEGFR2 を介して移動するのではないかと考えられている。そこで、これらの幹細胞に *HSVtk* 遺伝子を導入して、幹細胞をベクターとして用いることが考案された。神経膠腫をもつマウスの腹腔内にチミジンキナーゼを導入した Muse 細胞を投与して、ガンシクロビル処理すると、2 週間で腫瘍体積が減少し、4/10 の割合で 200 日以上生存した³⁸⁾。Muse 細胞は比較的容易に得られ、腫瘍原性も低いことから有効な治療法として期待される。

10. 再生医療へのあしがかり

10-1 心疾患

急性心筋梗塞後に末梢血に Muse 細胞が出現することが知られている³⁹⁾。79 名の急性心筋梗塞患者、44 名の冠状動脈疾患患者 (CAD)、64 名の健常者で、末梢血中の Muse 細胞数を調べた。CAD や健常者では Muse 細胞の増加は見られなかったが、急性心筋梗塞後 1 日で血中の Muse 細胞は増加し、その後徐々に低下した。Muse 細胞数の増加と、脂質メディエーターであるスフィンゴシン -1-リン酸 (S1P) の血漿中の濃度との間に相関がみられた。さらに、急性期に血中 Muse 細胞数の多かった患者は、6ヶ月後の慢性期に左室機能が改善され、左室リモデリングも和らいでいた⁴⁰⁾。

そこで、ウサギ心筋梗塞モデルに、再灌流 1 日後に 30 万個の Muse 細胞を静脈投与した。投与 2 週後に Muse 細胞の 14.5% が梗塞部位に集積した。この集積には細胞破壊によって梗塞部位から出る S1P とそれに対する受容体 (スフィンゴシン -1-リン酸受容体 S1PR2) が関係することが、S1PR の阻害剤や siRNA によって明らかとなった⁴¹⁾。集積した Muse 細胞は、血管内皮細胞や cardiac troponin-I や sarcomeric α -actinin, connexin-43 などのマーカーを発現した心筋細胞へ自発的に分化した。2 か月後梗塞巣は 52% まで減少し、拍出量は 38% 回復した。移植された Muse 細胞の由来 (自家と他家) に関係なく、梗塞巣の縮小と心機能の改善がみられ、6 か月後には Muse 細胞由来の細胞が心臓組織内に存在していた。通常、他家細胞は免疫機構により拒絶されるが、Muse 細胞は胎児が母体の免疫による攻撃を逃れる機構の一つである HLA-G を発現していることから、免疫拒絶反応を回避したと考えられる⁴¹⁾。

慢性期の心疾患では、Muse 細胞が生着すべき微小環境の悪化や再生能力の低下により Muse 細胞の損傷部位への集積が期待できないので、あらかじめ目的の細胞へ分化させる必要がある。Muse 細胞の浮遊培養で azacytidine 処理により心筋マーカー Nkx2.5 のプロモーター領域の脱メチル化が起こった。この細胞を接着培養

に移して、分泌性糖タンパク質の Wnt-3a, BMP-2/4, TGF- β 1, さらに cardiotropin-1 で処理すると、 α -actinin や troponin-1 を発現する横紋パターンをもった心筋様細胞に分化した。心房性ミオシン軽鎖 2 (MLC2a) が発現したことからこの細胞は心房性であると考えられる。また、Wnt-3a の処理の後に、Wnt-3a の阻害剤である DKK-1 や、BMP-4 の阻害剤である Noggin で処理してから cardiotropin-1 で処理すると、心室性ミオシン軽鎖 2 (MLC2v) を発現する心室性の心筋様細胞に分化した⁴²⁾。

10-2 脳疾患

中大脳動脈梗塞モデルマウスの梗塞後の脳へ骨髄由来の Muse 細胞を移植した。移植を受けたマウスは梗塞後 35 日目には回復がみられた。Muse 細胞は梗塞巣の周辺に組込まれ TuJ1 と NeuN 陽性の神経細胞へと分化した⁴³⁾。

また、ラクナ梗塞モデルマウスの梗塞 2 週間後に、骨髄由来 Muse 細胞を梗塞巣近傍へ移植した。移植された細胞の 28% が 8 週後に脳に残っていて、NeuN, MAP2 陽性のニューロンや GST-pi 陽性のオリゴデンドロサイトへと分化した。デキストリンラベルによって軸索を追跡すると、Muse 細胞から分化したニューロンは、同側の錐体細胞の軸索からシナプス入力を受けていた。また、Muse 細胞から分化したニューロンは、軸索を延髄の反対側へ伸ばし脊髄の後索を経て最終的には前角の運動ニューロンへシナプスした。移植を受けた梗塞マウスは運動機能テストの成績が有意に回復した⁴⁴⁾。

10-3 腎臓病

慢性腎臓病の病態を示す代表的な疾患である巣状分節性糸球体硬化症 (FSGS) に対する Muse 細胞の効果について検討されている。アドリアマイシン誘導性 FSGS モデルマウスへ骨髄由来の 2 万個の Muse 細胞を静脈注射すると、Muse 細胞は損傷した糸球体に組込まれ、自発的に足細胞、メサンギウム細胞、内皮細胞へと分化し、糸球体の硬化と間質の繊維化を防いでいた。移植後 7

週で腎機能（クレアチニンクリアランス）が回復した。ヒトの Muse 細胞を移植（他家移植）したときには、免疫抑制剤の投与なしで 5 週までに腎機能は回復したが、その後、免疫機構によって Muse 細胞は排除され、それと同時に腎機能が低下した。このことも、移植された Muse 細胞が糸球体の細胞として機能していたことを示している⁴⁵⁾。

11. 再生医療への応用（おわりに）

これまで述べたように、Muse 細胞は非腫瘍原性で、静脈注射で傷害部に集積し、そこに生着して自発的に損傷部に応じた細胞へと分化して、組織を修復する細胞である。これらの特性から、最近、探索的臨床試験がはじめられた。一つは急性心筋梗塞⁴⁶⁾を、もう一つは、脳梗塞患者⁴⁷⁾を対象とするものである。ES 細胞、iPS 細胞よりもより安全で多能性を示す Muse 細胞の、多様な疾患の再生医療への応用が期待される。

参考文献

- 1) Wakao S, Kuroda Y, Ogura F, Shigemoto T, Dezawa M. Regenerative effects of mesenchymal stem cells: contribution of Muse cells, a novel pluripotent stem cell type that resides in mesenchymal cells. *Cells*. 2012; 1: 1045-1060.
- 2) Kitada M, Dezawa M. Muse cells and induced pluripotent stem cell: implication of the elite model. *Cell Mol Life Sci*. 2012; 69: 3739-3750.
- 3) Kuroda Y, Dezawa M. Mesenchymal stem cells and their subpopulation, pluripotent muse cells, in basic research and regenerative medicine. *Anat Rec (Hoboken)*. 2014; 297: 98-110.
- 4) Kuroda Y, Kitada M, Wakao S, Nishikawa K, Tanimura Y, Makinoshima H, et al. Unique multipotent cells in adult human mesenchymal cell populations. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2010; 107: 8639-8643.
- 5) Kuroda Y, Wakao S, Kitada M, Murakami T, Nojima M, Dezawa M. Isolation, culture and evaluation of multilineage-differentiating stress-enduring (Muse) cells. *Nat Protoc*. 2013; 8: 1391-415.
- 6) Yang Z, Liu J, Liu H, Qiu M, Liu Q, Zheng L, et al. Isolation and characterization of SSEA3(+) stem cells derived from goat skin fibroblasts. *Cell Reprogram*. 2013; 15: 195-205.
- 7) Liu Q, Zhang RZ, Li D, Cheng S, Yang YH, Tian T, et al. Muse cells, a new type of pluripotent stem cell derived from human fibroblasts. *Cell Reprogram* **18**, 66-77, 2016.
- 8) Tian T, Zhang RZ, Yang YH, Liu Q, Li D, Pan XR. Muse cells derived from dermal tissues can differentiate into melanocytes. *Cell Reprogram*. 2017; 19: 116-122.
- 9) Heneidi S, Simerman AA, Keller E, Singh P, Li X, Dumesic DA, et al. Awakened by cellular stress: isolation and characterization of a novel population of pluripotent stem cells derived from human adipose tissue. *PLoS One*. 2013; 8: e64752.
- 10) Ogura F, Wakao S, Kuroda Y, Tsuchiyama K, Bagheri M, Heneidi S, et al. Human adipose tissue possesses a unique population of pluripotent stem cells with nontumorigenic and low telomerase activities: potential implications in regenerative medicine. *Stem Cells Dev*. 2014; 23: 717-728.
- 11) Kinoshita K, Kuno S, Ishimine H, Aoi N, Mineda K, Kato H, et al. Therapeutic potential of adipose-derived SSEA-3-positive Muse cells for treating diabetic skin ulcers. *Stem Cells Transl Med*. 2015; 4: 146-55.
- 12) Gimeno ML, Fuertes F, Barcala Tabarozzi AE, Attorresi AI, Cucchiani R, Corrales L, et al. Pluripotent nontumorigenic adipose tissue-derived Muse cells have immunomodulatory capacity mediated by transforming growth factor- β 1. *Stem Cells Transl Med*. 2017; 6: 161-173.
- 13) Yamauchi T, Yamasaki K, Tsuchiyama K, Koike S, Aiba S. A quantitative analysis of multilineage-differentiating stress-enduring (Muse) cells in human adipose tissue and efficacy of melanocytes induction. *J*

- Dermatol Sci. 2017; 86: 198-205.
- 14) Dezawa M. Muse cells provide the pluripotency of mesenchymal stem cells: direct contribution of Muse cells to tissue regeneration. *Cell Transplant*. 2016; 25: 849-861.
 - 15) Tanaka EM, Reddien PW. The cellular basis for animal regeneration. *Dev Cell*. 2011; 21: 172-185.
 - 16) Wagner DE, Wang IE, Reddien PW. Clonogenic neoblasts are pluripotent adult stem cells that underlie planarian regeneration. *Science* **332**, 811-816, 2011.
 - 17) Whited JW, Tabin CJ. Limb regeneration revisited. *J Biol*. 2009; 8: 5.
 - 18) Wakao S, Akashi H, Kushida Y, Dezawa M. Muse cells, newly found non-tumorigenic pluripotent stem cells, reside in human mesenchymal tissues. *Pathol Int*. 2014; 64: 1-9.
 - 19) Hu MS, Longaker MT. A Muse for skin regeneration. *J Invest Dermatol*. 2017; **137**: 2471-2472.
 - 20) Tsuchiyama K, Wakao S, Kuroda Y, Ogura F, Nojima M, Sawaya N, et al. Functional melanocytes are readily reprogrammable from multilineage-differentiating stressenduring (muse) cells, distinct stem cells in human fibroblasts. *J Invest Dermatol*. 2013; **133**: 2425-2435.
 - 21) Katagiri H, Kushida Y, Nojima M, Kuroda Y, Wakao S, Ishida K, et al. A distinct subpopulation of bone marrow mesenchymal stem cells, Muse cells, directly commit to the replacement of liver components. *Am J Transplant*. 2016; 16: 468-483.
 - 22) Hosoyama K, Wakao S, Kushida Y, Ogura F, Maeda K, Adachi O, et al. Intravenously injected human multilineage-differentiating stress-enduring cells selectively engraft into mouse aortic aneurysms and attenuate dilatation by differentiating into multiple cell types. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2018; 155: 2301-2313.
 - 23) Mineda K, Feng J, Ishimine H, Takada H, Doi K, Kuno S, et al. Therapeutic potential of human adipose-derived stem/stromal cell microspheroids prepared by three-dimensional culture in non-cross-linked hyaluronic acid gel. *Stem Cells Transl Med*. 2015; 4: 1511-1522.
 - 24) Alessio N, Özcan S, Tatsumi K, Murat A, Peluso G, Dezawa M, et al. The secretome of MUSE cells contains factors that may play a role in regulation of stemness, apoptosis and immunomodulation. *Cell Cycle*. 2017; 16: 33-44.
 - 25) Yabuki H, Wakao S, Kushida Y, Dezawa M, Okada Y. Human multilineage-differentiating stress-enduring cells exert pleiotropic effects to ameliorate acute lung ischemia-reperfusion injury in a rat model. *Cell Transplant*. 2018; 27: 979-993.
 - 26) Mahmoud EE, Kamei N, Shimizu R, Wakao S, Dezawa M, Adachi N, et al. Therapeutic potential of multilineage-differentiating stress-enduring cells for osteochondral repair in a rat model. *Stem Cells Int*. 2017; 2017: 8154569.
 - 27) Frosina G. The bright and the dark sides of DNA repair in stem cells. *J Biomed Biotech*. 2010; 2010: 845396.
 - 28) Momcilovic O, Knobloch L, Fornasaglio J, Varum S, Easley C, Schatten G. DNA damage responses in human induced pluripotent stem cells and embryonic stem cells. *PLoS ONE*. 2010; 5: e13410.
 - 29) Yoshihara M, Araki R, Kasama Y, Sunayama M, Abe M, Nishida K, et al. Hotspots of De Novo point mutations in induced pluripotent stem cells. *Cell Reports*. 2017; 21: 308-315.
 - 30) Alessio N, Squillaro T, Özcan S, Di Bernardo G, Venditti M, Melone M, et al. Stress and stem cells: adult Muse cells tolerate extensive genotoxic stimuli better than mesenchymal stromal cells. *Oncotarget*. 2018; **9**: 19328-19341.
 - 31) Wakao S, Kitada M, Kuroda Y, Shigemoto T, Matsuse D, Akashi H, et al. Multilineage-differentiating stress-enduring (Muse) cells are a primary source of induced pluripotent stem cells in human fibroblasts. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2011; 108: 9875-9880.
 - 32) Simerman AA, Perone MJ, Gimeno ML, Dumesic DA, Chazenbalk GD. A mystery unraveled: nontumorigenic

- pluripotent stem cells in human adult tissues. *Expert Opin Biol Ther.* 2014; 14: 917-29.
- 33) Wakao S, Kitada M, Dezawa M. The elite and stochastic model for iPS cell generation: multilineage-differentiating stress enduring (Muse) cells are readily reprogrammable into iPS cells. *Cytometry A.* 2013; 83: 18-26.
- 34) Culver KW, Ram Z, Wallbridge S, Ishii H, Oldfield EH, Blaese RM. In vivo gene transfer with retroviral vector-producer cells for treatment of experimental brain tumors. *Science.* 1992; 256: 1550-1552.
- 35) Aboody KS, Brown A, Rainov NG, Bower KA, Liu S, Yang W, et al. Neural stem cells display extensive tropism for pathology in adult brain: evidence from intracranial gliomas. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2001; 97: 12846-12851.
- 36) 難波宏樹. 幹細胞を用いた悪性グリオーマの遺伝子治療 *Neuro-Oncology の進歩.* 2016; 23: 21-26.
- 37) Koizumi S, Gu C, Amano S, Yamamoto S, Ihara H, Tokuyama T, et al. Migration of mouse-induced pluripotent stem cells to glioma-conditioned medium is mediated by tumore-associated specific growth factors. *Oncol Lett.* 2011; 2: 283-288.
- 38) Yamasaki T, Wakao S, Kawaji H, Koizumi S, Sameshima T, Dezawa M, et al. Genetically engineered multilineage-differentiating stress-enduring cells as cellular vehicles against malignant gliomas. *Mol Ther Oncolytics.* 2017; 15: 45-56.
- 39) Hori E, Hayakawa Y, Hayashi T, Hori S, Okamoto S, Shibata T, et al. Mobilization of pluripotent multilineage-differentiating stress-enduring cells in ischemic stroke. *J Stroke Cerebrovasc Dis.* 2016; 25: 1473-1481.
- 40) Tanaka T, Nishigaki K, Minatoguchi S, Nawa T, Yamada Y, Kanamori H, et al. Mobilized Muse cells after acute myocardial infarction predict cardiac function and remodeling in the chronic phase. *Circ J.* 2018; 82: 561-571.
- 41) Yamada Y, Wakao S, Kushida Y, Minatoguchi S, Mikami A, Higashi K, et al. S1P-S1PR2 axis mediates homing of Muse cells into damaged heart for long-lasting tissue repair and functional recovery after acute myocardial infarction. *Circ Res.* 2018; 122: 1069-1083.
- 42) Amin M, Kushida Y, Wakao S, Kitada M, Tatsumi K, Dezawa M. Cardioprotective growth factor-driven induction of human Muse cells into cardiomyocyte-like phenotype. *Cell Transplant.* 2018; 27: 285-298.
- 43) Yamauchi T, Kuroda Y, Morita T, Shichinohe H, Houkin K, Dezawa M, et al. Therapeutic effects of human multilineage-differentiating stress enduring (MUSE) cell transplantation into infarct brain of mice. *PLoS One.* 2015; 10: e0116009.
- 44) Uchida H, Niizuma K, Kushida Y, Wakao S, Tominaga T, Borlongan CV, et al. Human Muse cells reconstruct neuronal circuitry in subacute lacunar stroke model. *Stroke.* 2017; 48: 428-435.
- 45) Uchida N, Kushida Y, Kitada M, Wakao S, Kumagai N, Kuroda Y, et al. Beneficial effects of systemically administered human Muse cells in adriamycin nephropathy. *J Am Soc Nephrol.* 2017; 28: 2946-2960.
- 46) 株式会社 生命科学インスティテュート 急性心筋梗塞を対象疾患とした Muse 細胞製品の探索的臨床試験開始について プレスリリース 2018年1月15日
- 47) 株式会社 生命科学インスティテュート 脳梗塞患者を対象とした Muse 細胞製品の探索的臨床試験開始について プレスリリース 2018年9月3日

Muse cells

Akihiro MORITA

Faculty of Pharmaceutical Sciences,
Suzuka University of Medical Science

Key words: mesenchymal stem cell, non-tumorigenicity, spontaneous differentiation, tissue repair, regenerative medicine

Abstract

Multilineage-differentiating stress-enduring (Muse) cells are discovered in adult mesenchymal tissues at Tohoku University in 2010. They are endogenous non-tumorigenic pluripotent stem cells, integrate into the damaged site and repair the tissue through spontaneous differentiation into tissue-compatible cells. Neither artificial differentiation nor induction is needed. Indeed, Muse cells are present in bone marrow and mesenchymal stem cell transplants. Thus Muse cells are practical and plausible candidate for regenerative medicine.

略 歴

森田 明広 (博士 (理学)) 鈴鹿医療科学大学 薬学部 薬学科 助教

学 歴 :

平成 10 年 大阪市立大学大学院理学研究科後期博士課程生物学専攻 修了

職 歴 :

平成 10 年 日本学術振興会 特別研究員 名古屋大学大学院生命農学研究科

13 年 日本学術振興会 未来開拓推進事業 研究員 三重大学医学部

15 年 大阪市立大学大学院 医学研究科 特別研究員

18 年 地方独立行政法人 大阪府立病院機構 大阪府立母子保健総合医療センター研究所
免疫部門 流動研究員

21 年 鈴鹿医療科学大学 薬学部 薬学科 助手

28 年 鈴鹿医療科学大学 薬学部 薬学科 助教

学会活動 :

日本薬学会 (正会員)

日本動物学会 (正会員)

日本蚕糸学会 (正会員)

日本昆虫学会 (正会員) 平成 24 年~27 年 英文誌 Entomological Science 編集委員

主な研究分野 :

(1) 発生生物学

(2) 再生生物学