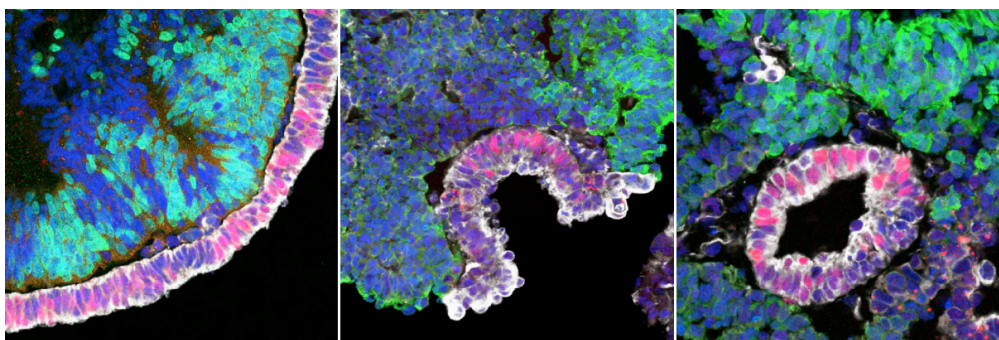


ヒト ES 細胞から機能的な下垂体組織を誘導

2016 年 1 月 14 日

脳にある下垂体は、全身のホルモン分泌を制御する中枢で、視床下部からの刺激を受けて各種ホルモンを分泌するだけでなく、全身からのフィードバックを受けて分泌するホルモン量を適切に調節している。下垂体のホルモン生産能が低下すると、血圧低下や電解質異常、意識障害、成長障害、不妊などの重い症状を引き起こすことから、下垂体が恒常性の維持に必須であることがわかる。これらの治療法としては、不足するホルモンを投与する補充療法があるが、生涯ホルモンを投与し続ける必要があるうえに、刻々と変化するホルモンの必要量に対応できないなどの課題が残る。そのため、生体の下垂体と同様に応答性を持ったホルモン産生細胞の作製が望まれていた。

理研 CDB の大曾根親文リサーチアソシエイト（器官誘導研究チーム、辻孝チームリーダー）と名古屋大学医学部の須賀英隆助教らの研究グループは、ヒト ES 細胞から下垂体の前駆組織を自己形成させ、さらに、機能的な下垂体前葉の各種ホルモン産生細胞を誘導することに成功した。この研究成果は *Nature Communications* 誌に 1 月 14 日付けで発表された。

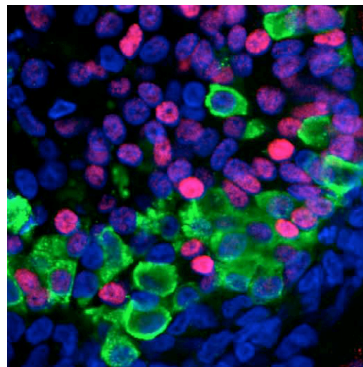


ヒト ES 細胞から腹側神経上皮（RX 陽性、緑）と非神経外胚葉（サイトケラチン陽性、白）が同時に誘導され、培養 26 日目（左）～27 日目（中央および右）にかけてラトケ嚢様構造（LHX3 陽性、赤）が形成された。

須賀助教と故笹井芳樹グループディレクター（器官発生研究グループ）らは以前の研究で、同グループが開発した立体浮遊培養法 SFEBq 法を応用し、マウス ES 細胞から下垂体組織を試験管内で自己形成させる方法を示していた（科学ニュース 2011.11.14）。彼らは今回も、下垂体が発生する生体内環境を試験管内に模倣するという戦略を用い、ヒト ES 細胞から下垂体の 3 次元誘導を試みた。

下垂体原基であるラトケ嚢は、将来視床下部になる腹側神経上皮からの誘導により、それと隣接する口腔外胚葉から生じる。そこで彼らは、ヒト ES 細胞から腹側神経上皮と口腔外胚葉が並存して誘導される条件を探った。試行錯誤の結果、培養したヒト ES 細胞塊でヘッジホッグシグナルを増強すると、腹側神経上皮が高効率に誘導できることが分かった。さらに、BMP4 を添加すると、腹側神経上皮を取り囲むように口腔外胚葉と一緒に誘導されることを見いだした。培養を続けると、26 日目頃には口腔外胚葉の一部が肥厚して下垂体の初期マーカーである LHX3 を発現し、内側へと陥入してラトケ嚢様の構造を形成していた。下垂体形成の初期に必要なとされる FGF を添加すると、ラトケ嚢様の構造形成が高頻度に認められた。

さらに培養を続けると、67～70 日目には、副腎皮質刺激ホルモン産生細胞（ACTH⁺）が分化していることが免疫組織化学的解析や分泌小胞の存在から明らかになった。また、先行研究で示されている通り、糖質コルチコイドで処理すると、成長ホルモン産生細胞（GH⁺）の分化が認められ、また、頻度は低いものの、プロラクチン産生細胞（PRL）、甲状腺刺激ホルモン産生細胞（TSH）の分化も見られた。一方、Notch シグナルを阻害すると、性腺刺激ホルモン産生細胞、黄体形成ホルモン産生細胞、卵胞刺激ホルモン産生細胞などが誘導された。これらの結果から、ヒト ES 細胞からラトケ囊を経て、下垂体前葉の各種ホルモン産生細胞が分化していることが明らかになった。



ヒト ES 細胞から分化した副腎皮質刺激ホルモン産生細胞（ACTH 陽性、緑）

次に、副腎皮質刺激ホルモン産生細胞に着目してその制御応答性を調べた。その結果、生体内と同様に、副腎皮質刺激ホルモン放出ホルモン（CRH）による正の制御、糖質コルチコイドによる負の制御を受けることが分かった。また、ヒト ES 細胞由来の成長ホルモン産生細胞も生体内と同様の応答性を持っていることが確認された。

最後に、ヒト ES 細胞由来の下垂体組織が生体内で機能し得るかどうかを探った。通常、マウス下垂体を摘出すると、ACTH の欠乏による糖質コルチコイド欠乏が生じ、数週間で死に至る。下垂体を欠損させた免疫不全マウスの腎被膜下にヒト ES 細胞由来の下垂体組織を移植したところ、移植 10 日後には ACTH 産生細胞が生着し、血中の ACTH 濃度が上昇して糖質コルチコイド分泌を誘導していることが確認された。さらに、移植したマウスでは移植しなかったマウスと比較して、糖質コルチコイド欠乏時に見られる活動量の低下が回復することや、体重が維持されること、生存期間が大幅に延びることも明らかになった。また、移植後 12～16 週間経っても、移植片は周囲に血管を伴って生着し、ホルモンを分泌する機能を保っていた。

須賀助教は、「ヒト ES 細胞からの下垂体細胞の誘導は過去にも報告がありましたが、今回は発生プロセスを再現している点で異なり、また、誘導した下垂体細胞の制御応答性や移植による治療効果が確認されたのは初めてです。今後、下垂体機能不全に対する再生医療への応用が期待されるだけでなく、ヒト下垂体の発生や病気が起こる仕組みの解明のほか、創薬にも役立つと考えられます。」と今後の展望を語った。