

研究課題別評価

1. 研究課題名 眼組織の再生を支える幹細胞システムの解明とその医学応用

2. 研究者氏名 小阪 美津子

グループメンバー 江崎 真理子(研究期間 H12.10.1. ~ H14.3.31.)

孫 廣イ(研究期間 H13.4.1. ~ H15.8.31.)

3. 研究の狙い：

ヒトを含めた多細胞動物には、きわめて複雑な体制を長期間維持するため体制構築に高度なフレキシビリティが備わっている。「再生」は、その動物個体が示すフレキシビリティの代表的現象のひとつと位置付けられる。有尾両生類イモリは、その生涯を通じて、色素上皮から眼の主要組織であるレンズや網膜神経を再生することが知られているが、実は、この色素上皮細胞の分化転換能力はニワトリやヒトを含めた脊椎動物に普遍的に保持されていることが、示唆されてきた。本研究の狙いは、次の2点からなる。

1)動物体制の基本的理解:一旦確実に分化した細胞が、全く別種の細胞へと変化する「分化転換」現象は、多細胞動物の体制構築と維持のしくみを正しく理解するためのきわめてユニークな系である。申請者が確立した、脊椎動物の色素上皮細胞の分化転換を試験管内で制御する系を用いて、組織細胞の分化形質発現の安定化機構あるいは脱分化機構を分子レベルで解明する。

2)再生医療への応用:これまでの申請者自身の研究成果から、眼の主要組織を再構築させるための幹細胞として「虹彩色素上皮細胞」に注目している。虹彩上皮細胞の分化転換能力を活用して、細胞移植により、哺乳動物の眼球内でのレンズおよび網膜神経の組織再生を試み、ヒト眼科系難病に対する新しい再生医療の道を開拓する。

4. 研究結果：

(1)ニワトリ虹彩上皮細胞の神経細胞への転換の実証

本研究を開始する前に、ニワトリ虹彩上皮細胞のレンズ細胞への転換を試験管内で示すことに成功していた。そこでまず第一に、この細胞の神経系への転換の可能性を検証した。その結果、孵化後2日齢のニワトリ虹彩上皮細胞が試験管内で神経系細胞(ニューロン、グリア)へ転換すること、さらに一部の細胞では、特定の網膜神経細胞(網膜視細胞(ロッドおよびコーン)、ミューグリア細胞)への分化を起こすことを明らかにした。

(2)ニワトリ虹彩上皮細胞の神経幹細胞(前駆細胞)としての性状

中枢神経系幹細胞の選択培養として知られる neurosphere 法で虹彩上皮細胞を培養すると、neurosphere が形成し幹細胞マーカーや網膜前駆細胞マーカーの発現が認められた。さらに、成体組織内の虹彩上皮細胞の少なくとも一部の細胞でそれらの幹細胞マーカーの発現が確認された。

(3)成体哺乳動物虹彩上皮細胞から視細胞への転換の誘導

成体哺乳動物(ラット)の初代培養系を確立し、網膜視細胞の発生期に特異的に働く *crx* 遺伝子を強制発現させたところ、細胞形態は視細胞様に変化し、光受容に関わる視細胞特異的蛋白質の産生が誘導された。この実験は、京大眼科グループと共同で実施し、今後網膜疾患に対する再生治療に、虹彩細胞が有力な材料となり得ることを世界にさきがけて示した。

(4) 哺乳類虹彩上皮細胞の分化ポテンシャルの実証

マウスおよびラットの幼若個体の眼球から虹彩上皮細胞を効率よく単離する方法を確立し(特許申請済)、トJの場合と同様に neurosphere を形成可能であること、ニューロン、グリア細胞へ分化が可能であることを確認した。さらに、マウス虹彩上皮細胞のトJ胚眼球内への移植やトJ網膜幹細胞との共培養系による解析から、マウス虹彩上皮細胞にもレンズや網膜神経細胞へ分化する能力があることを実証した(特許申請済)。

(5) 哺乳類虹彩上皮細胞由来幹細胞の可塑性の解析

マウス虹彩上皮細胞から得られる幹細胞の中には、予想を超えた多分化能を有する可能性が全能性細胞マーカーの発現や胚葉性を超える分化細胞の出現から示唆された(特許申請済)。この事は、分化転換現象を理解する上で極めて重要であり、従来の概念を再検証する必要を提起するものである。

5. 自己評価 :

哺乳類の虹彩上皮細胞を培養可能とし、レンズや網膜神経への転換、さらには、より広範囲な分化スペクトルを示せたことは、基礎生物学、再生医学双方の分野において大きな意味を持つと考えている。虹彩組織はその一部を外科的手術で切除することが可能であるため、本細胞が再生治療に有用となれば、臨床応用に直結することが期待される。また、ある種の動物生体内で実際にその可塑性を示し、分化転換を引き起こす虹彩上皮細胞から得られる知見は、未だ謎の多い生体組織幹細胞研究においても、多大な貢献をもたらすことと考える。本研究期間内では、多くの新しい知見を得ることができ研究を大きく展開することができた。しかしながら、成果の多くが正式な発表が未完成な段階にあり、現在論文の投稿を多数かかえる状況になっていることが反省すべき点である。

6. 研究総括の見解 :

眼の機能の解明とその医療への応用に大きな波及効果をもつ、「虹彩色素上皮細胞」の幹細胞性に着目して、独自の実験系を立ち上げて、その展開を着実にやってきた。胚性幹細胞(ES細胞)とは別に体性幹細胞が存在することが次第に注目され、その医療への応用技術も動きだしている現在、先駆的役割を果たしてきたことは評価できる。

7. 主な論文等 :

1. Haruta M, Kosaka M, Kanegae Y, Saito I, Inoue T, Kageyama R, Nishida A, Honda Y, Takahashi M. Induction of photoreceptor-specific phenotypes in adult mammalian iris tissue. Nat Neurosci. 2001 Dec;4(12):1163-4.

学会発表 国際 5件 / 国内 8件

出版物 国際 1件