

体性組織幹細胞研究ユニット

Research Unit for Cell Plasticity

ユニットリーダー 小阪美津子

KOSAKA, Mitsuko

ヒトを含めた多細胞動物には、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1つと位置付けられる。一旦分化した安定な組織細胞が、全く別種の細胞へ変身する「分化転換」は、多細胞動物の体制構築と維持機構を正しく理解するための極めてユニークな現象である。我々の最近の研究結果から、本来再生を起ささない哺乳類の虹彩色素上皮内にも、神経（網膜）幹細胞になる細胞が含まれ、それらは、神経細胞への分化能を有すること、さらに、より幅広い多分化能性を有することが示唆されている。このような、特定組織の単一種類の細胞を幹細胞として培養し、試験管内で分化方向を制御可能な実験系を用いて、組織幹細胞の安定性、多様性、可塑性、多分化能性維持機構の分子基盤の解明を目指す。また網膜組織内においても同様の幹細胞が含まれる可能性が得られており、同様に研究対象として用いる。さらには、虹彩あるいは網膜組織由来の幹細胞を利用した再生医学的应用、特にヒトでの網膜神経再建治療を実現するための知見の集積、細胞技術の確立を目指す。

1. 哺乳類虹彩上皮細胞から網膜神経細胞の誘導（浅見 孫*, 小阪）

マウス虹彩上皮細胞から、純培養系にて、網膜神経細胞（特に視細胞、水平細胞、アマクリン細胞やミュラーグリア）への分化を誘導されることを実証した。また、FGF2 存在下で neurosphere を形成すること、pax-6, chx10 遺伝子を発現することから、出生後組織の虹彩上皮（IPE）由来の幹細胞（前駆細胞）は、網膜幹細胞の性質を有することが明らかとなった。

また、ヒト胎児由来 IPE, 成体サル由来 IPE 細胞においても、neurosphere を形成することが確認されたことから、IPE 細胞の性質は生物種を問わず普遍的に潜在するものであると考えられた。この事実、ヒトでの医学応用の可能性を強く示唆するものである。

2. トリ虹彩上皮細胞の三胚葉性多分化能の実証（孫*, 小阪）

ヒヨコ IPE 細胞の多分化能を検証するため、個々の細胞に解離した IPE 細胞からクローナル培養を行い、誘導された細胞の形質を免疫組織化学、RT-PCR 法にて解析した。その結果、浮遊培養下で増殖可能な IPE 細胞は、種々の成長因子などの効果により、外胚葉性細胞のみならず、内胚葉性・中胚葉性細胞へと分化することを見いだし、IPE 細胞が幅広い多分化能を有することを実証した。

3. マウス虹彩上皮組織内の幹細胞の純化と性状解析（浅見, 土田, 小阪）

数種の幹細胞特異的遺伝子の発現を可視化するために、複数のトランスジェニックマウスを導入し解析した。均一にみえる虹彩上皮組織中にすでに幹細胞遺伝子を発現する細胞が一部存在すること、またそれらの細胞が neurosphere 培養下で優先的に細胞増殖を行うことが示された。この結果は、予め決まった population の虹彩上皮細胞が幹細胞性

質を発揮するのであり、試験管培養で幹細胞化が起きるわけではないことを意味する。現在、虹彩上皮内に潜在する想定幹細胞から網膜神経への分化過程における分子機構を解析中である。

4. マウス網膜組織に存在する幹細胞の同定（土田, 浅見, 小阪）

マウス IPE 由来の幹細胞および生体中の虹彩組織自体において、未分化全能性マーカー分子の発現が確認されていたが、今回網膜組織においても同様の未分化マーカーを発現する細胞が含まれていることを見いだし、それらの細胞の発生時期での分布様式を解析した。さらにそれらの細胞は、試験管内で増殖・分化活性を有することを確認し、幹細胞に似た性質を持つことが明らかとなった。現在、それら幹細胞様画分を濃縮し、その細胞が存在するための分子基盤を解明するため、特異的に発現する遺伝子プロファイルを解析すると共に、それらの細胞の全能性・多分化能性についても検証中である。

* 客員研究員

Cell transdifferentiation is of great interest but it is largely unknown how tissue specific cells can lose their properties and regenerate new cells of other tissues. The phenomenon of Wolffian lens regeneration in newts is the clearest example of transdifferentiation naturally occurring in adult vertebrates. It could provide a useful opportunity for obtaining a real idea of somatic cell plasticity in vertebrates.

In previous work, Kosaka reported that postnatal chick IPE cells can transdifferentiate into lens cells in vitro. Recent our studies indicated that postnatal IPE cells have multipotentiality for differentiation into lens and neurons. In addition, we found IPE cells from postnatal chick and

mouse display retinal stem cell properties and can generate retinal specific neuron and glia in vitro. The multipotent IPE cells may provide a potential source for autologous retinal transplantation.

We are currently establishing several culture systems for the maintenance of iris or retina derived stem cells from mammalian eyes. We have identified gene expression of some pluripotent stem cell markers in their cells. To investigate the cellular and molecular basis of tissue cell plasticity, systematic approaches such as the use of DNA chips are in progress using IPE cell systems and retinal tissue.

Research Subjects

1. Induction of retinal specific neurons in postnatal iris epithelial cells
2. Multipotentiality of iris pigmented epithelial cells in birds and mammals
3. Cellular and molecular basis of ocular tissue stem cells
4. Gene expression profiles in mammalian retina and iris derived stem cells

Staff

Unit Leader

Dr. Mitsuko KOSAKA

Research Scientists

Dr. Junji TSUCHIDA

Dr. Maki ASAMI

Visiting Members

Dr. Guangwei SUN (JSPS/Okayama Univ.)

Assistants

Ms. Keiko SUEYOSHI

誌 上 発 表 **Publications**

[雑誌]

(原著論文) *印は査読制度がある論文

Amemiya K., Haruta M., Takahashi M., Kosaka M., and Eguchi G.: "Adult human retinal pigment epithelial cells capable of differentiating into neurons", *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **316**, 1-5 (2004). *

[単行本・Proc.]

(原著論文) *印は査読制度がある論文

Kosaka M., Sun G., Haruta M., and Takahashi M.: "Multipotentiality of iris pigment epithelial cells in vertebrate eye", *Adult Stem Cells*, edited by Turksen K., Humana Press, Totowa, pp. 253-268 (2004). *