

2020 年度第 6 回創発セミナー報告

公益財団法人大隅基礎科学創成財団 理事
大谷清

大隅基礎科学創成財団は 2021 年 3 月 23 日、「再生の不思議と応用の可能性」を統一テーマに Zoom 形式で創発セミナーを開きました。テーマと講師は「腕を再生する動物たちの不思議」（東北大学大学院生命科学研究科教授 田村宏治氏）と「幹細胞からの多細胞組織の再生と機能の創発」（京都大学ウイルス・再生医科学研究所教授 永樂元次氏）です。

腕を再生する動物たちの不思議

東北大学大学院生命科学研究科 教授
田村宏治

私は学生時代から手足のできる仕組み、特に再生に興味を持ち、1994 年ごろから脊椎動物の四肢の形態再生を研究している。哺乳類は四肢を再生できないが、両生類は再生できる。魚で四肢に相当するのは鰭（ひれ）だ。鰭にも再生できる部分がある。

移植によらない器官再生は究極の再生医療につながる。脊椎動物の付属肢（四肢、鰭）の再生能力を研究することで、器官再生能力が限定的な哺乳類の形態再生がなんとか可能にならないものか、研究と実験を重ねている。

切られた腕や足を自在に再生できるのがサンショウウオのような有尾両生類だ。両生類の最大の特徴は、切られた位置と形態を記憶していることだ。四肢の再生過程では、切られた部位（損傷部位）の傷口がふさがれ、組織分解が起き、分化細胞の脱分化、つまり未分化な細胞が集積して再生芽細胞となり、それらの細胞が新しい構造を作り出す。しかしそれだけでは再生できない。再生芽細胞の間に網目状に神経軸索が形成されて初めて形態再生が完成できる。神経軸索を切ってしまうと再生しない。神経軸索が再生を開始させる因子となっている。

両生類の中でも動物によって再生能力が異なる。アフリカツメガエルを研究材料に使うと、オタマジャクシの時期には再生能力があるものの、成長するにつれ再生能力が落ちていき、変態後は再生能力がなくなる。20 年ほど前に我々は Fgf10 (※) というタンパク質を再生能力の低下した再生芽に入れてやると四肢形態が再生することを発見した。しかし変態後のカエルの場合、Fgf10 の機能不全が原因ではなく、別の因子として Shh シグナル (※) を活性化させると指らしきものができ、カエルの四肢再生能力が向上することが分かった。遺伝子操作で Shh シグナル分子を活性化させ、指を再生できないか研究中だ。

最近では魚類で器官再生を研究している。両生類は世代交代に年単位の時間がかかるし遺伝子導入も難しい。その点、魚類は時間的な制約も少なく実験材料として適しているからだ。魚で四肢に相当する鰭、たとえば尾鰭は双葉型をしているが、これを直線上に切断しても元通りに双葉型に再生する。このことは魚類の鰭も形態再生が可能であることを示しているが、鰭にある二種類の骨格（鰭条と内骨格）のうち、魚類が再生できるのは鰭条だけで、内骨格は再生しないとつい最近まで考えられていた。

我々は遺伝子操作や遺伝学的解析が容易なゼブラフィッシュを使ってこの形態再生メカニズムを研究している。成魚では内骨格は確かに再生しないが、個体のサイズによって、再生する、しないがあり、体長が 9.1 ないし 10.0 mm の幼魚時期には内骨格が再生することがごく最近分か



ってきた。しかしカエルと同じで、成長すると再生能力がなくなる。再生能力を失う時期が変態の時期と一致しており、メカニズムを解明するうえで興味深い。

最近、魚類の再生研究で注目すべき論文が *Nature* 誌に発表された。ゼブラフィッシュの筋肉再生にマクロファージ (※) が作り出す *Nampt* タンパク質 (※) が関係していて、マウスの筋肉損傷時に *Nampt* タンパク質を加えるとマウスで筋再生が可能になったという。魚類の再生研究を哺乳類の組織再生に直接つなぐ研究としてこの発表は秀逸である。我々も四肢再生に関して、同様のほ乳類に結び付ける器官再生レベルの研究がしたいと考えている。

※注 (編集者)

Fgf10 : Fibroblast Growth Factor 10。1996年に同定された細胞外シグナル因子。四肢の原基 (肢芽) となる側板中胚葉に発現し、上皮に作用して四肢の初期形成を促す。

Shh : Sonic Hedgehog。細胞外シグナル因子の一つで、胚発生において細胞の増殖や分化、四肢の発生、神経細胞の誘引に働く。

マクロファージ : **Macrophage**。白血球の一種。生体内を浮遊して異物を捕食し清掃する。抗原提示細胞でもあり、免疫機能の中心的な役割を果たす。

Nampt : Nicotine amide phosphoribosyl transferase。脂肪組織から分泌されるニコチンアミドアデニンジヌクレオチド (NAD⁺) の生合成に参与する酵素

以上

幹細胞からの多細胞組織形成と機能の創発

京都大学ウイルス・再生医科学研究所教授
永樂元次

我々の関心は生命現象の重要な要素である形についてその動態を知ること。たとえば脳はどんなメカニズムでその形ができるのか、形を決める多細胞動態の原理は何か、そもそも生命現象とは何か、だ。形をみるとある程度、機能が想像できる。形から入って機能へ、最後は生命現象の解明へと進みたい。

我々は2008年にマウスとヒトのES細胞から層構造を持った大脳皮質組織の立体培養に、2011年には網膜前駆上皮組織の立体培養にそれぞれ成功し、*in vitro* (試験管内)での3次元自己組織化技術を開発した。生体組織は細胞を単位とするが工業製品と違って常に周りの環境で変化する。*in vitro*で機能的な組織形成を再現するには個体がどのように発生してくるかを知る必要がある。

アフリカツメガエルで未分化な組織が神経組織に変わる過程では **Bmp4** タンパク質 (※) という阻害因子を阻害する神経誘導因子が存在する。脳がなぜ領域化されているかといえばパターンニング因子が作用してニューラルチューブを色分けして領域ができるからだ。生体組織の発生過程は外部入力なしで内部のコンポーネントだけでパターンができ、要素間の相互作用で組織ができあがっていく。組織発生の「自己組織化」(※)がキーワードだ。

その発生を制御する重要なファクターは発生時間(タイミング)、位置情報、細胞分化の階層性とそれを支配する転写因子ネットワーク、そして細胞間相互作用を介した多細胞組織の自己組織化であることが分かった。これらが幹細胞から神経オルガノイド(※)を誘導する方法論といえる。



実際に ES 細胞から網膜を再生する過程を調べてみる。マウスの ES 細胞で網膜を再生してみると、最初は外側に凸に膨らむが勝手に逆に内側に凸になり、へこみ、くぼんでいって最終的には陥入して網膜組織になる。つまり網膜前駆組織には元々形を作るプログラムが内在していて、それが発揮できる環境で培養すると自然と網膜が再生される「自己組織化」が誘発されることが分かった。

この技術は、網膜色素変性症を対象にした再生医療法の開発につながる。哺乳類の網膜は一旦障害を受けると自然には再生しない。網膜は層構造になっていて、主要な光感知部である神経網膜とそれを助ける色素上皮で構成されている。色素上皮は薄い一枚の細胞シートで ES 細胞や iPS 細胞での再生が容易で、加齢黄斑変性などへの細胞移植の臨床研究が進んでいる。しかし網膜色素変性症のような網膜変性症には治療法がなく、失明に至ることから幹細胞を利用した再生医療が期待されている。

我々は 3 次元自己組織化技術を応用して光電素子を再生し、理化学研究所と共同でマウスに移植して視力回復の行動実験をした。すると移植したマウスに光を当てると逃げるようになり、個体の行動レベルでも視機能回復効果が確認された。2021 年秋には iPS 視細胞を移植して神経網膜を再生する実験に進む予定だ。

次に ES 細胞から SCN（視交叉上核）オルガノイドを誘導してみた。SCN は光を感知する中枢時計で、その同期機能が崩れると体内時計が機能しなくなる。我々の体内時計は概日時計によって回されている。太陽が上がるとマスタークロックがリセットされ、全ての細胞がリセットされる。

我々は SCN 周辺の視床下部を丸ごと誘導する技術を開発した。この SCN オルガノイドを SCN が破壊されたマウスに移植すると概日時計が戻ったことが確認された。試験管内 SCN を用いて睡眠覚醒リズム伝達機構を解明できればリズム障害治療薬の開発など創薬に応用できる。

以上のことからキーメッセージは、①多細胞体は適切な環境下で細胞間相互作用を介して自己組織的にパターンを生じる ②多細胞体の自己組織化機能を利用して臓器に似た形と機能を持ったオルガノイドを作る事ができる ③オルガノイドは胚発生における局所的な組織自立性を *in vitro* で再現する。今後の課題として ①オルガノイドを作れるのは一部の臓器のみ ②相互作用を必要とする臓器は形成できない ③多細胞体の状態をどう記述するか、などが残されている。

※注（編集者）

Bmp4 タンパク質： Bone Morphogenetic Protein 4。骨形成因子

自己組織化：細胞などの単純な要素の集合が外部からの意図的な制御なしに自然と複雑な構造を形成すること

オルガノイド： Organoid。試験管内など生体外で 3 次元的に作られた臓器。本物そっくりの解剖学的構造を持つ。

SCN：Suprachiasmatic Nucleus。概日リズムを作り出す中核である視床下部の視交叉上核

概日時計：Circadian clock。概ね一日周期という意味で概日リズムを刻む体内時計のこと

以上