

様式

若手研究者育成支援費に係る研究成果報告（ホームページ用）

	(所 属)	(職 名・学 年)	(氏 名)
研究者	京都府立医科大学大学 院医学研究科 視覚機能再生外科学	助 教	上野 盛夫
研究の 名称	線維柱帯マーカーの同定と ヒト胚性幹細胞（ヒトES細胞）から線維柱帯細胞の創出		
研究のキ ーワード	緑内障・多能性幹細胞・再生医療		
研究の 概要	<p>原発開放隅角緑内障では線維柱帯細胞が減少していることより、線維柱帯細胞の細胞移植により房水流出主ルートの機能・構造再生することは原発開放隅角緑内障の根本的な治療となると考えられる。線維柱帯移植治療の細胞ソースとなることを最終目標に、申請者は線維柱帯細胞の分子マーカーレベルを解明し、その知見をもとに <i>in vitro</i> でヒトES細胞からヒト線維柱帯細胞を分化誘導することを目的とする。</p>		
研究の 背景	<p>原発開放隅角緑内障では線維柱帯細胞が減少していることより、線維柱帯細胞の細胞移植により房水流出主ルートの機能・構造再生することは原発開放隅角緑内障の根本的な治療となると考えられる。</p>		
研究手法	<p>神経堤由来組織を不可逆的に蛍光標識する遺伝子改変マウスの胎生8.5日目から出生後12日目まで72時間ごとのステージの胚または新生仔を用いた。中脳領域から眼にかけての組織をトリプシン処理で細胞レベルに分離した後にflowcytometryを用いてGFP陽性分面を集積することにより線維柱帯細胞へ分化途上の細胞を得た。さらに野生型マウス成体より線維柱帯細胞を摘出した。それぞれの細胞より型どおりにRNA抽出、cDNA作成を行い、DNAマイクロアレイを用いて中脳神経堤細胞から線維柱帯細胞にいたるまでの分化過程における遺伝子発現プロファイルを得た。</p>		

	<p>線維柱帯前駆細胞と考えられる中脳領域の神経堤細胞にごく早期に発現している転写因子の活性をGFPの活性に置き換えたノックインES細胞を用いて研究を行った。ES細胞から中脳神経堤細胞の分化誘導系を用いて <i>in vitro</i>でマウスES細胞から中脳神経堤細胞の分化誘導研究を行った。マウスES細胞は<i>in vivo</i>では胚盤胞内の内部細胞塊（胎生3.5日目）に相当すると考えると、中脳神経堤細胞が誘導されるのは胎生8.5日目である。これに一致してES細胞を分化誘導条件で5日間培養するとGFP陽性の中脳神経堤細胞が誘導された。次にflowcytometryを用いてGFP陽性細胞の検出およびソーティングを行いマウスES細胞由来中脳神経堤細胞を得た。</p>
研究の進捗状況と成果	<p>遺伝子改変マウスを用いて、神経堤細胞から眼組織へ分化する課程をトレースし、その遺伝子発現プロファイルを明らかにした。また遺伝子改変ES細胞を用いて、マウスES細胞由来中脳神経堤細胞を得た。</p> <p>ES細胞を用いて再生医療を見据えた分化誘導研究を行う際には、マウス個体の発生過程を模倣することが必須である。そしてマウス由来ES細胞を用いて、効率のよい分化誘導法を確立し、その誘導法をヒト由来ES細胞へ応用することが重要である。本研究では、ヒトES細胞から開放隅角緑内障の再生医療に有用な線維柱細胞を分化誘導する上で礎となる、神経堤細胞から眼組織への分化課程に遺伝子発現プロファイルとマウスES細胞由来神経堤細胞を得た。これらの成果は、ヒトES細胞由来線維柱細胞の創出に極めて有用なツールとなると考えている。</p>
地域への研究成果の還元状況	<p>ES細胞を用いた研究については、京都府立医科大学眼科学教室のホームページに掲載している。</p>
今後の期待	<p>本研究成果によりヒトES細胞から線維柱帯細胞の創出に大きく前進した。今後はヒトES細胞を用いたヒトES細胞由来線維柱帯細胞の高効率の分化誘導をめざして研究が発展するものと考えている。</p>
研究発表	なし

