

## 要 旨

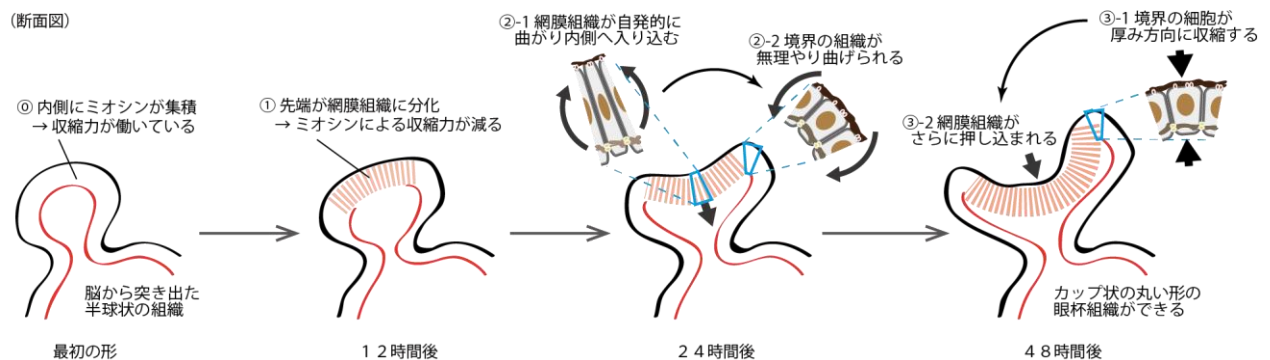
アフリカツメガエルを用いた古典的な発生生物学的研究から明らかにされてきたように、多能性組織からの神経外胚葉誘導 (Neural induction) は中内胚葉への誘導シグナル (BMP, Wnt および Nodal シグナル等) を阻害することによって達成される。このような神経誘導様式は、脊椎動物では共通してみられる機構で「神経誘導のデフォルトモデル」として知られている<sup>1)</sup>。つまり初期胚の多能性上皮組織は外部からの刺激がない状態に置かれると、細胞に内在した時計に応じて自発的に神経上皮組織へと細胞状態が遷移するという考え方である。

多能性幹細胞の培養系においても、神経外胚葉は上述した「神経誘導のデフォルトモデル」に従い、Wnt シグナル、BMP シグナルおよび Nodal シグナルなどの後方の中内胚葉組織を誘導するために働く各種シグナルを抑制することによって誘導される。我々はこれまでに、このような神経発生の自己組織的な側面を利用して、マウスおよびヒト多能性幹細胞から大脳組織、網膜組織、海馬組織などの外胚葉性組織を試験管内形成できることを示してきた<sup>2)</sup>。我々が開発してきた SFEBq 法 (Serum-free culture of embryoid body-like aggregates with quick reaggregation) では ES/iPS 細胞を低吸着性のウェルを用いて素早く再凝集させ無血清培地で浮遊培養する。SFEBq 法を用いる利点として、同じサイズの ES 細胞塊を大量に作成できること、また高い再現性を持って効率よく神経上皮組織へと分化させることが挙げられる。SFEBq 法では培地の組成によって大脳や小脳、網膜といった脳の様々な領域を誘導する事が出来るが、特定の領域の神経組織を 100% の効率で誘導できる訳ではない。多くは複数の領域の混じった神経オルガノイドとして誘導される。例えば、CDM (Chemically Defined Medium) と呼ばれる培地を用いて神経誘導を行なった場合、ES 細胞は Six3 を発現する前脳領域と Irx3 を発現する中脳領域の 2 つの領域に相互排他的に分割された神経オルガノイドを形成する。このような自発的なパターン形成は、初期の分化誘導ステージにおいて、FGF シグナル活性の異方向性がまず生じ、そのことが引き金となって Six3 の局所的な発現および Wnt シグナルのパターン形成を誘導することがわかっている<sup>3)</sup>。

多能性幹細胞からの神経組織誘導系では上記のような自発的な領域化だけではなく、眼杯形成と呼ばれる一連の神経上皮シートの変形が ES 細胞から誘導した網膜組織においても再現される。眼杯組織の形作りの過程では、まず、シート状の脳組織の一部が外側へ突き出し、次に突き出したシート状の脳組織の先端が網膜組織へと分化しながら内側へ入り込み、カップ状の二重構造を作る。さらに、カップの淵の組織が尖ることで、眼杯組織の丸い形が作られる。我々は、これまでに、ES 細胞からの網膜組織分化系とコンピュータシミュレーションを組み合わせることで、眼杯形成に関わる新しいメカニズムを明らかにしてきた (図)。はじめに、脳から突出した神経組織の内側の面には、ミオシンが集まり、内側の面を収縮する力が働く (①)。次に、突出した組織の先端が網膜組織へ分化し、内側に溜まったミオシンの働きが弱まることで、網膜組織が自発的に内側へ入り込む (②)。この網膜組

織の自発的な入り込みにより、網膜組織と周辺の網膜色素上皮との境界（カップの縁）の細胞は、無理やり曲げられる（②）。この境界の細胞は、無理やり曲げられたことで生じる機械的な力を感じ取り、それをきっかけにして組織の厚み方向に沿って能動的に収縮することで、網膜組織をさらに内側へ押し込む（③）。つまり、境界の細胞は、機械的な力を通して、眼杯組織全体の変形度合いを感じながら、その丸い形を微調整していることが分かった<sup>4)</sup>。

今回の講演では上記のような神経組織の自己組織化過程のメカニズム解析の結果と同時に、現在取り組んでいる再生医療の展望と課題についても紹介したい。



## 参考文献

1. Xenopus\_chordin: a novel dorsalizing factor activated by organizer-specific homeobox genes. Sasai Y, Lu B, Steinbeisser H, Geisler D, Gont LK, De Robertis EM. *Cell*. 1994 Dec 2;79(5):779-90.
2. Self-organizing optic-cup morphogenesis in three-dimensional culture. Eiraku M, Takata N, Ishibashi H, Kawada M, Sakakura E, Okuda S, Sekiguchi K, Adachi T, Sasai Y. *Nature*. 2011 Apr 7;472(7341):51-6.
3. Self-patterning of rostral-caudal neuroectoderm requires dual role of Fgf signaling for localized Wnt antagonism. Takata N, Sakakura E, Eiraku M, Kasukawa T, Sasai Y. *Nat Commun*. 2017 Nov 7;8(1):1339.
4. Strain-triggered mechanical feedback in self-organizing optic-cup morphogenesis. Okuda S, Takata N, Hasegawa Y, Kawada M, Inoue Y, Adachi T, Sasai Y, Eiraku M. *Sci Adv*. 2018 Nov 21;4(11):eaau1354.