

厚生労働科学研究費補助金難治性疾患等政策研究事業(難治性疾患政策研究事業)  
間脳下垂体機能障害に関する調査研究班

市民公開講座

2019年1月27日(日) 13:30-16:00

名古屋大学医学部附属病院 鶴友会館 2階大会議室

*Hypothalamus*

---

# 下垂体の再生医療

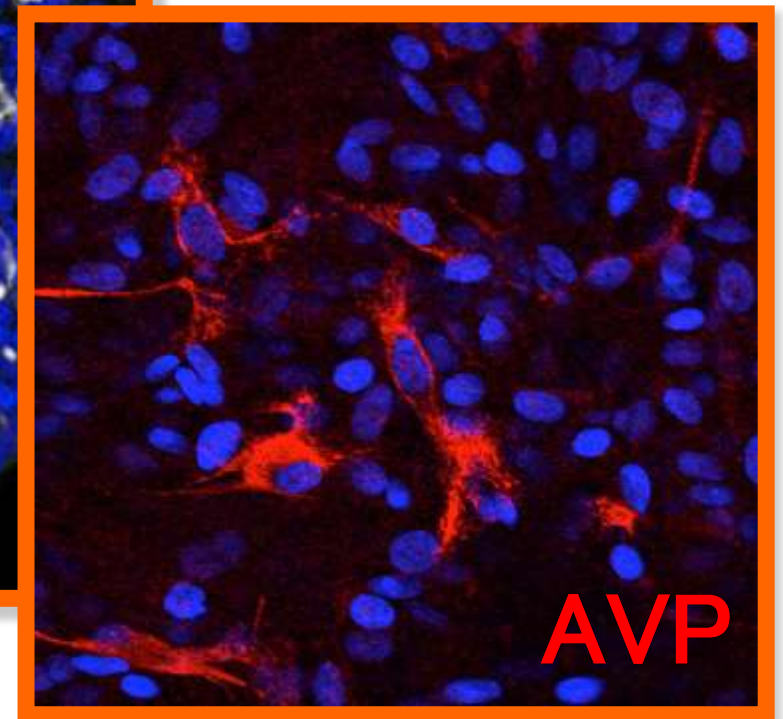
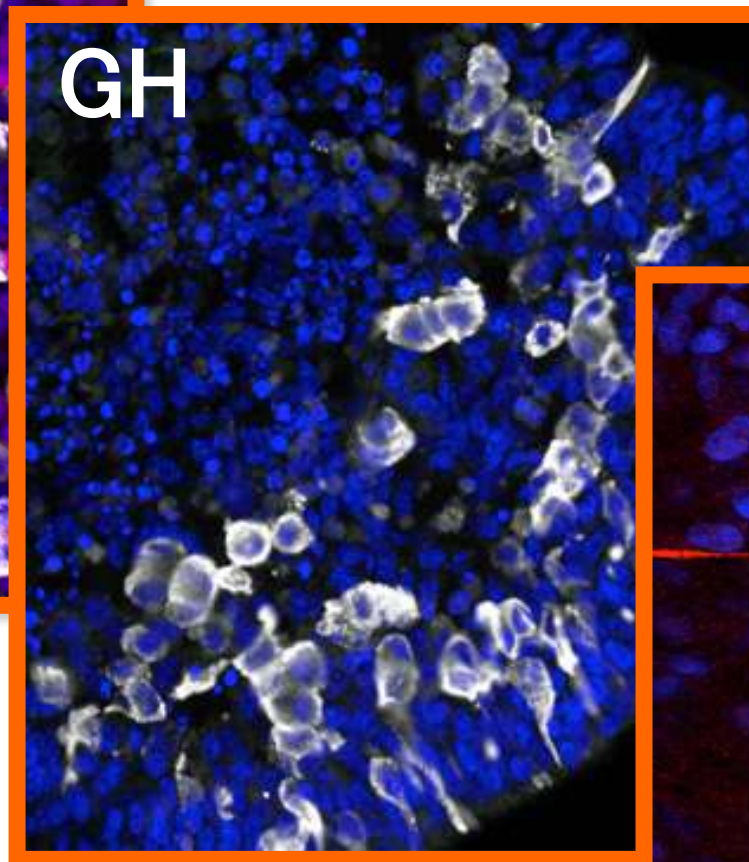
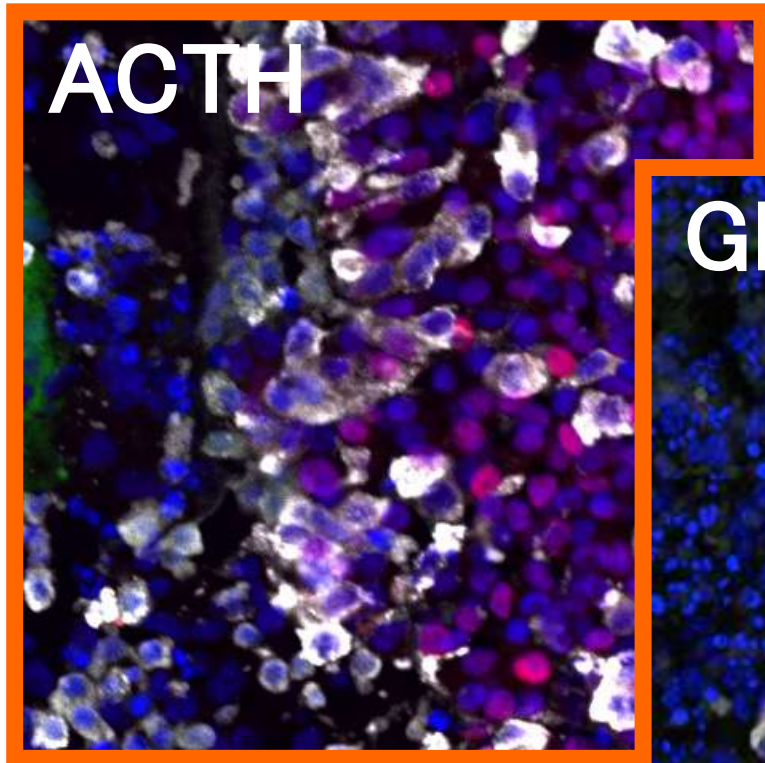
---

*Pituitary Gland*

**須賀 英隆**

名古屋大学大学院医学系研究科 糖尿病・内分泌内科学

ヒトES細胞やiPS細胞から  
下垂体ACTH・GH細胞、  
視床下部バソプレシン神経が出来ます



# 従来のホルモン補充療法には限界がある

## 下垂体前葉

### 下垂体前葉機能低下症 (例:ACTH欠損症)

現在の治療:副腎皮質ホルモン経口投与

問題点:日内変動をフォローできない。必要量はストレス度合いにより10倍程度変動。

リスク:

- ①補充不足→致命的な副腎不全
- ②補充過剰→クッシング症候群

(高血圧、糖尿病、骨粗鬆症、易感染性、精神神経疾患、肥満など)

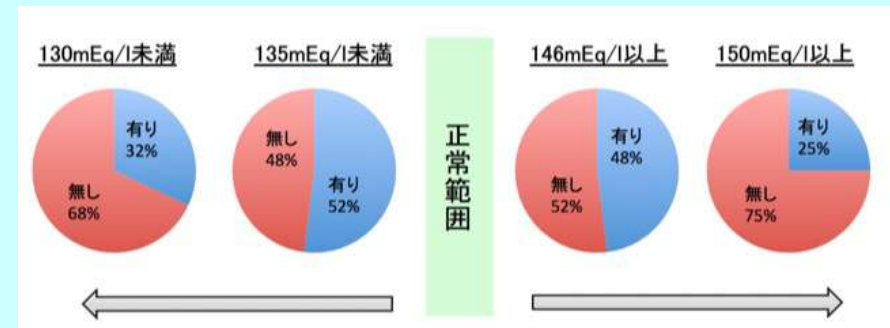


## 下垂体後葉

### 中枢性尿崩症 (バゾプレシン欠損症)

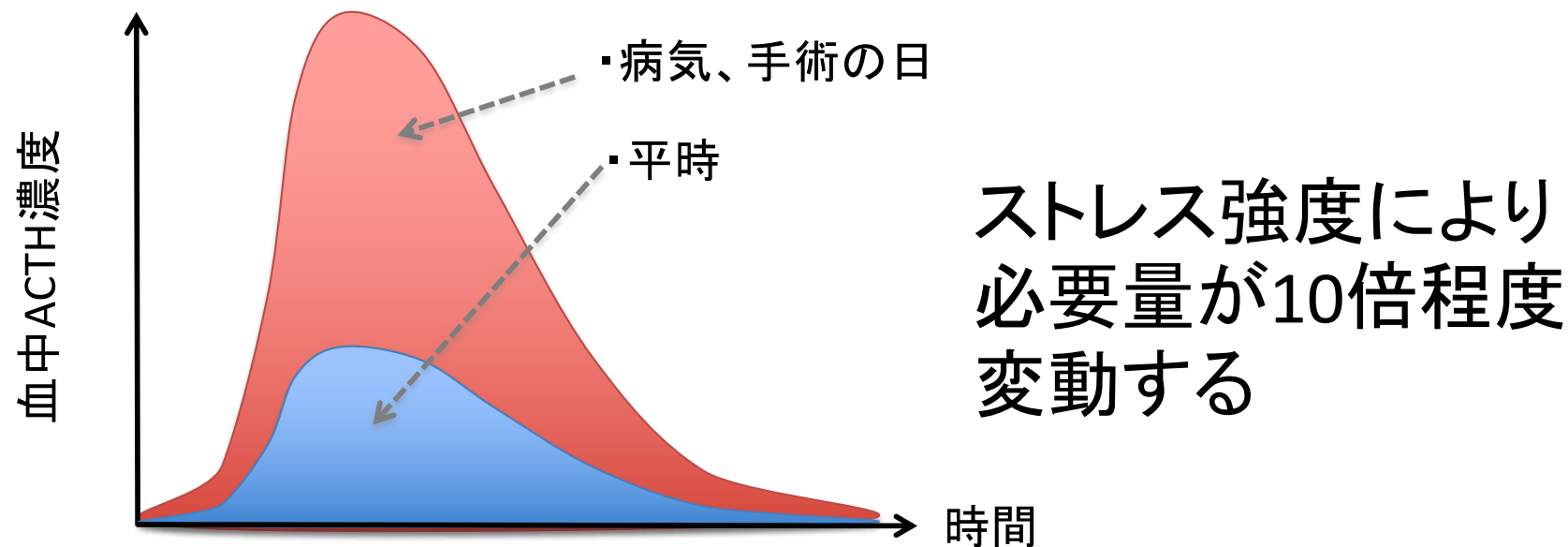
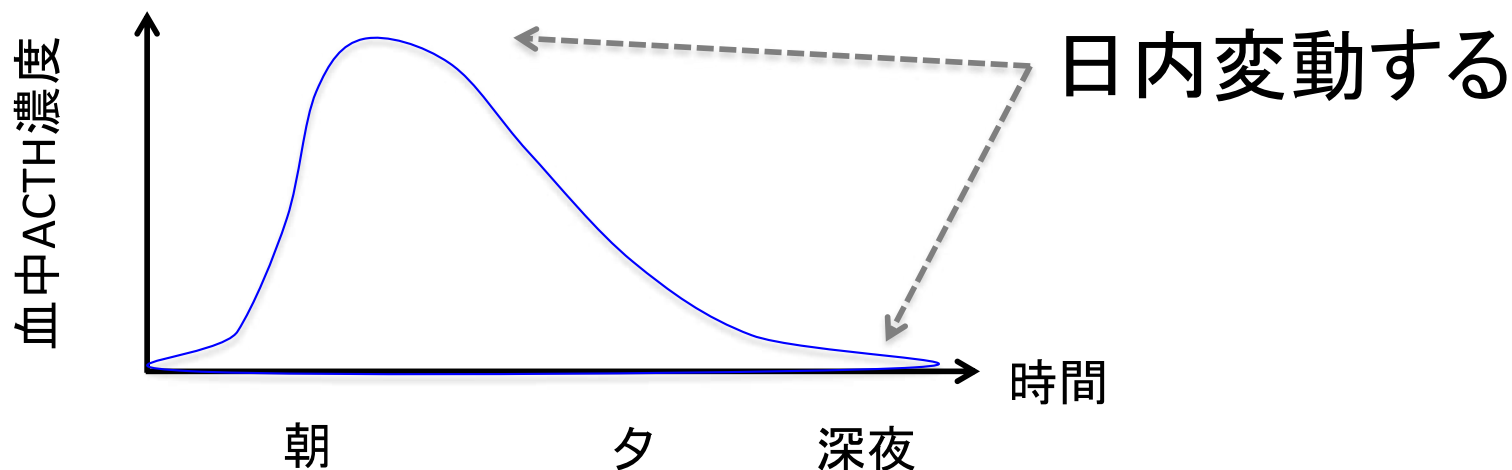
現在の治療:dDAVPの投与

問題点:水バランス・血中Na濃度の制御困難(低Na血症、高Na血症)



# ACTHやAVPは外環境に応じて変化するホルモン

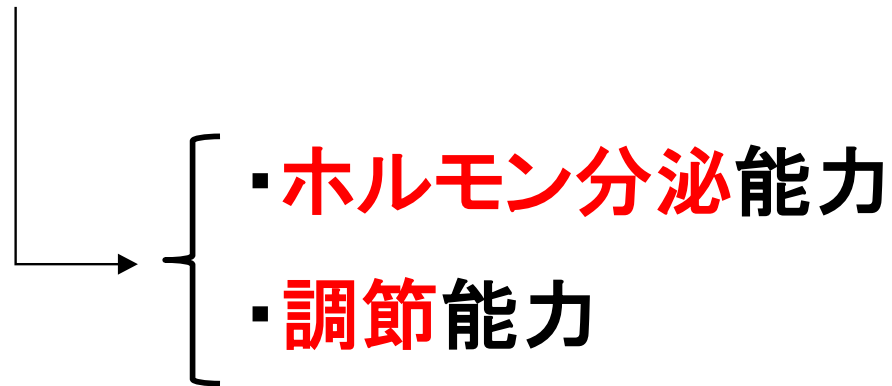
例； ACTH



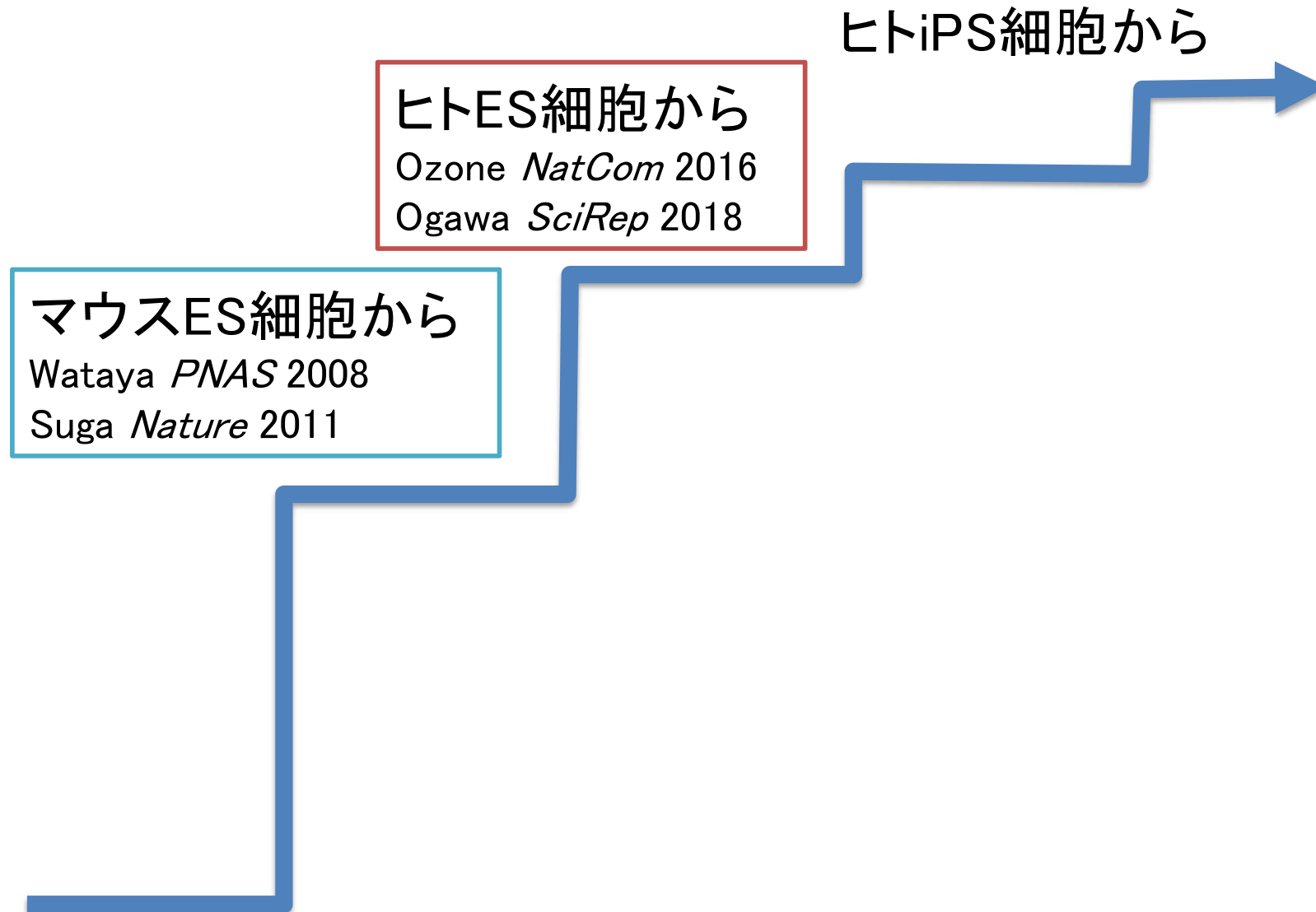
# 目的

ヒトの視床下部・下垂体を作ること

大切なのは機能性を持っていること



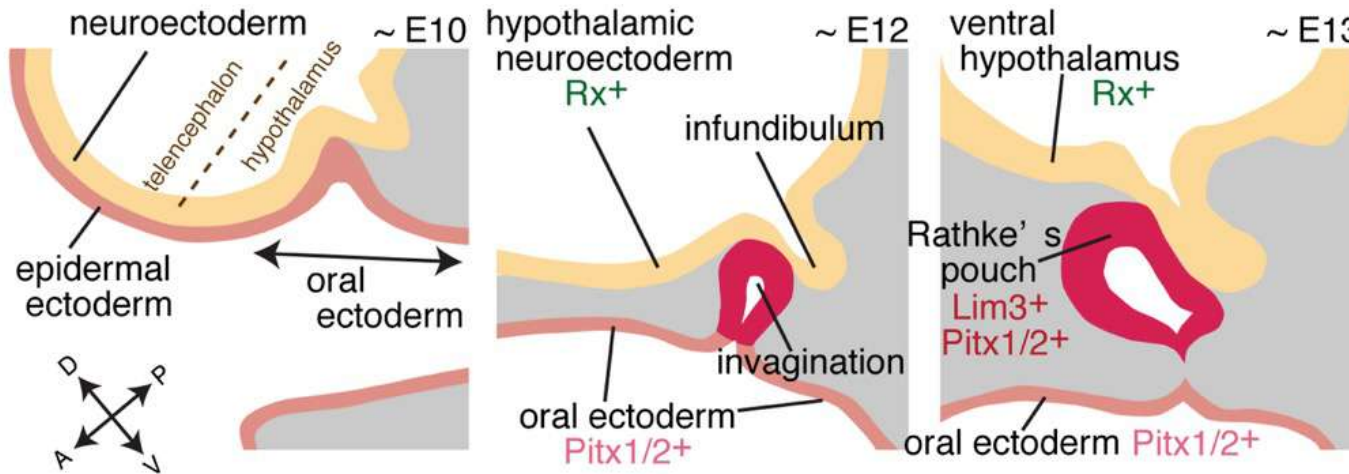
# 課題は1段ずつ克服する



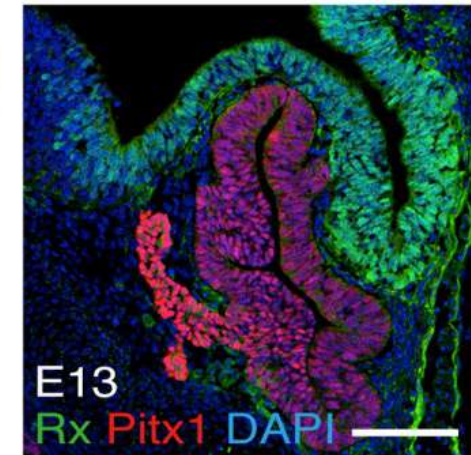


# ラトケ嚢が口腔外胚葉から生まれるのには 視床下部との相互作用が必要である

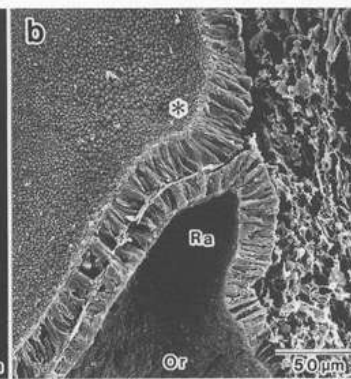
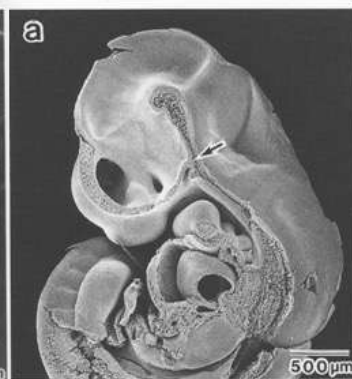
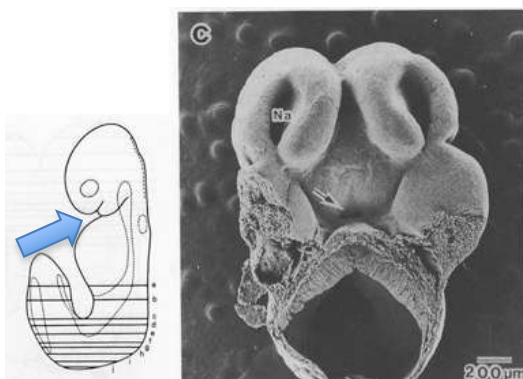
Sagittal View



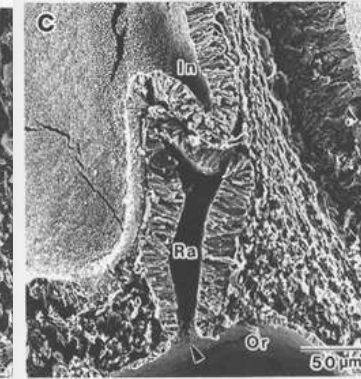
Rathke's pouch  
(hollowed epithelial vesicle)



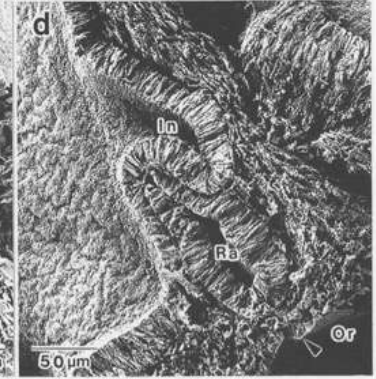
E10.5



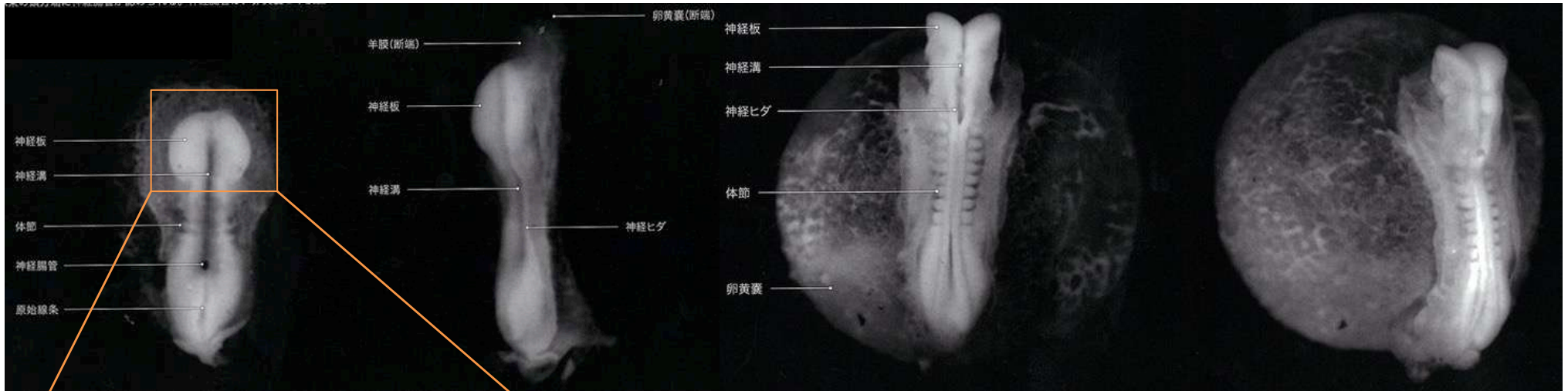
E11.5



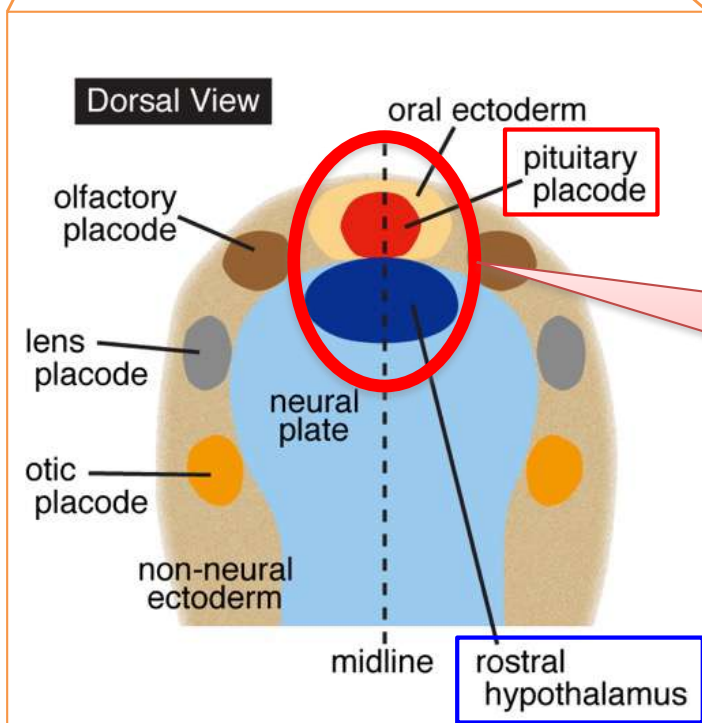
E12.5



# 下垂体前葉は視床下部の吻側-腹側から発生する



塩田浩平 ヒト発生の3次元アトラス 日本医事新報社



このへんを作る



我々の研究で、  
ヒトの多能性幹細胞ではなく、  
マウスES細胞を最初に使用したのは：

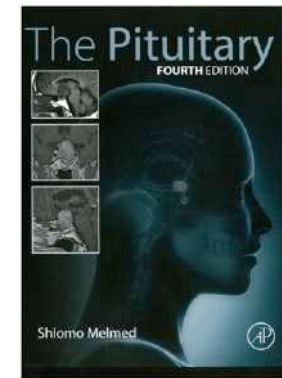
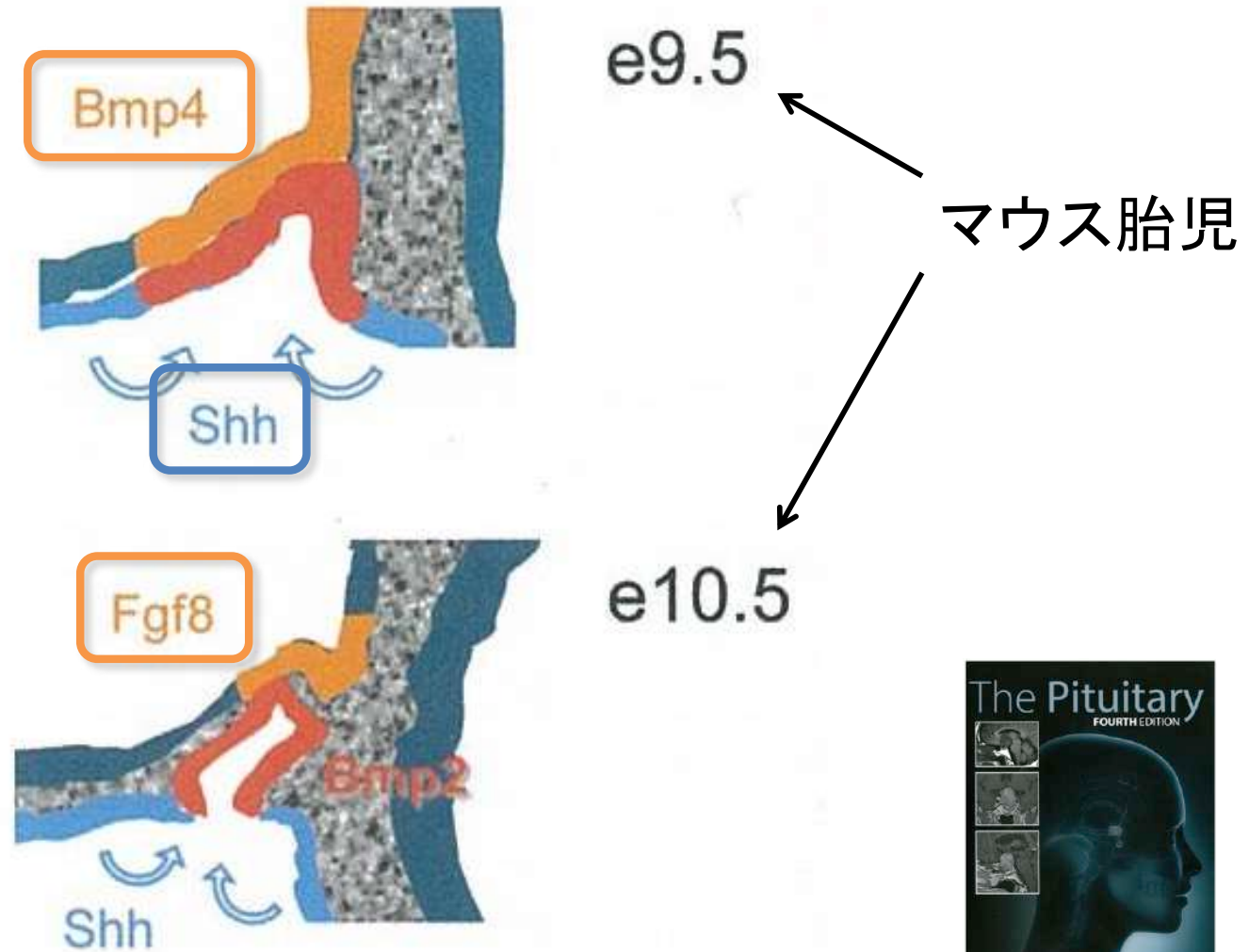
・マウスの胎児発生が約20日間と、ヒトと比べて**ごく短時間**で完了

→実験における条件検討がしやすい

・マウスと**ヒトとの相似性**

→マウスES細胞を用いた場合の知見・原理が、いずれヒト細胞でのチャレンジの際に役立つと期待

# 下垂体原基(ラトケ嚢)が周囲から受けるシグナル



Melmedら The Pituitaryより

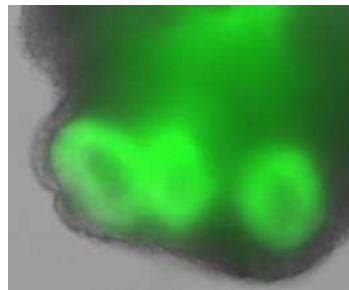
# マウスES細胞から下垂体への分化法開発 簡単なまとめ

マウスES細胞から下垂体組織  
(ラトケ嚢様組織)の産生

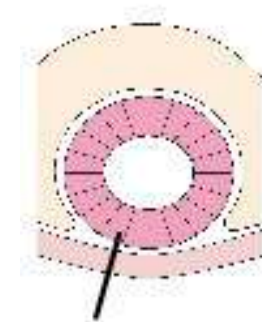
下垂体ホルモン分泌細胞  
への成熟分化

ES細胞  
凝集塊

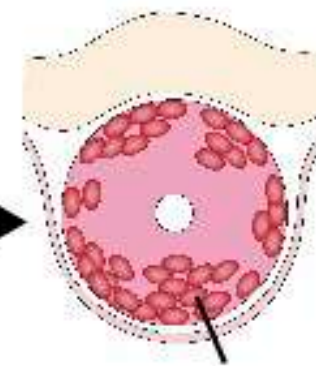
SFEBq法



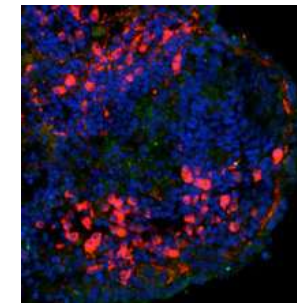
下垂体前駆細胞



ラトケ嚢



成熟



副腎皮質刺激ホルモン  
(ACTH)  
産生細胞

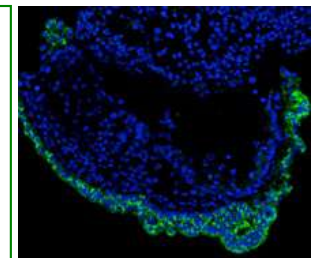
【別の培養条件では】

成長ホルモン(GH)産生細胞

乳汁分泌ホルモン産生細胞

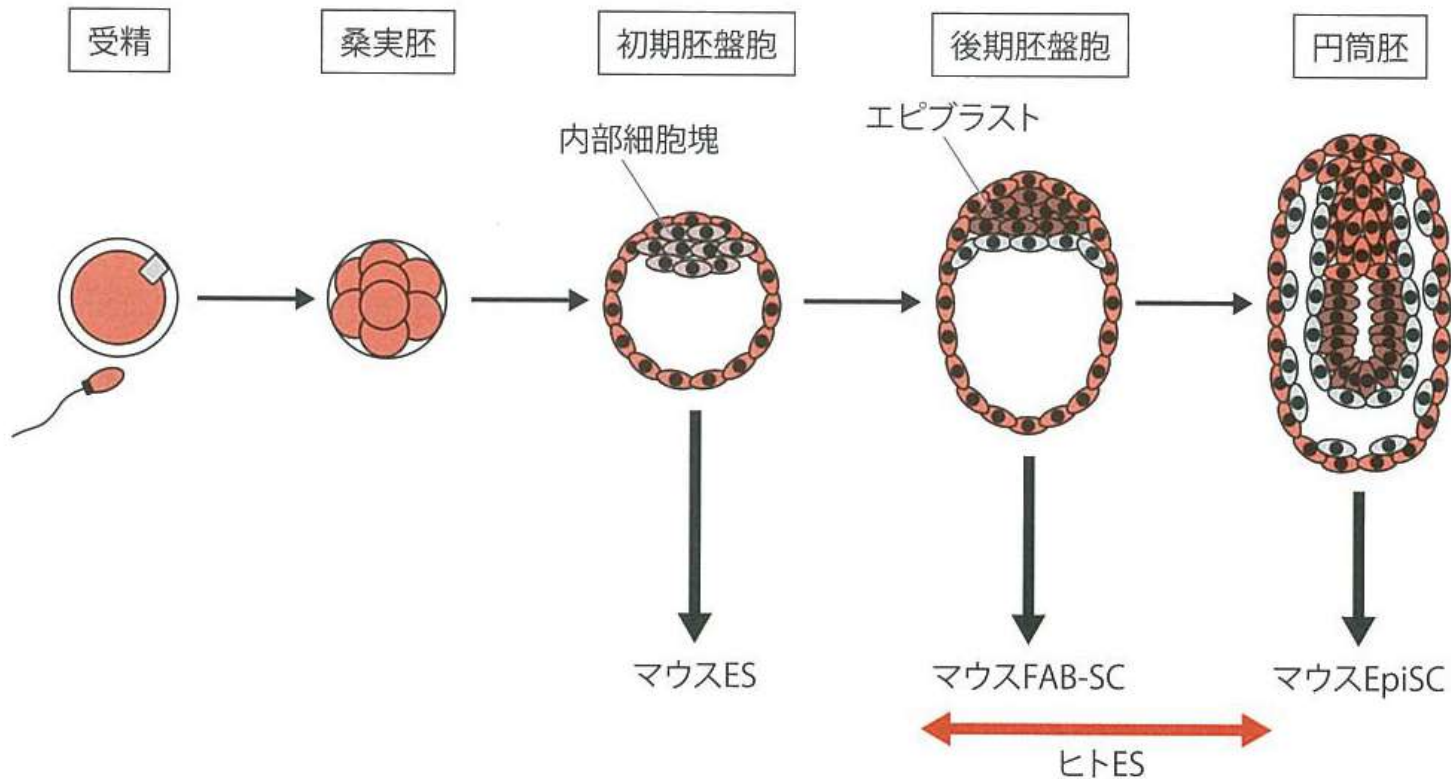
性腺刺激ホルモン産生細胞

甲状腺刺激ホルモン産生細胞



# 次にいよいよ

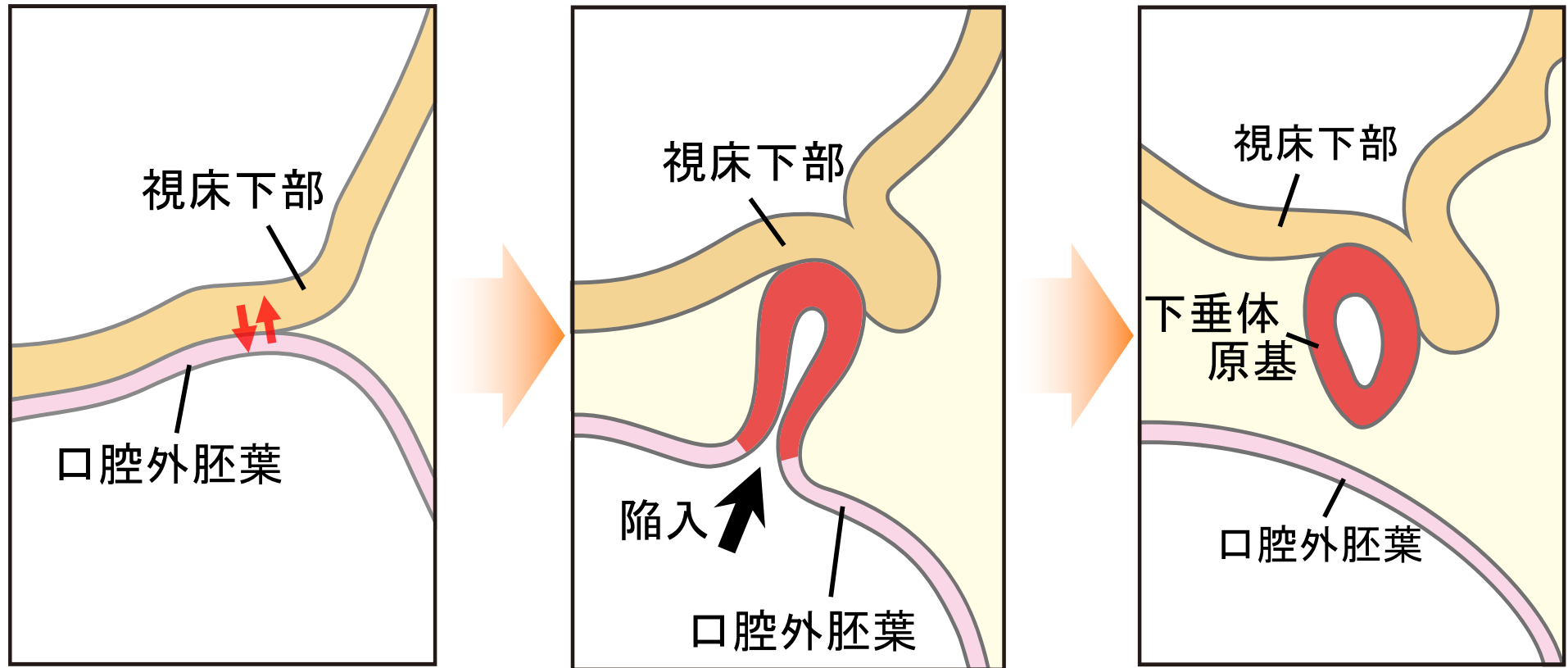
## マウスES細胞とヒトES細胞との違いを乗り越える必要がある



発現するマーカーや性質の違いによりマウスES細胞, マウスFAB-SC細胞, マウスEpiSC細胞, ヒトES細胞の発生段階に沿った分類が可能となります

図4 多能性幹細胞の発生段階の差

# 下垂体原基は視床下部と口腔外胚葉との相互作用で出来る

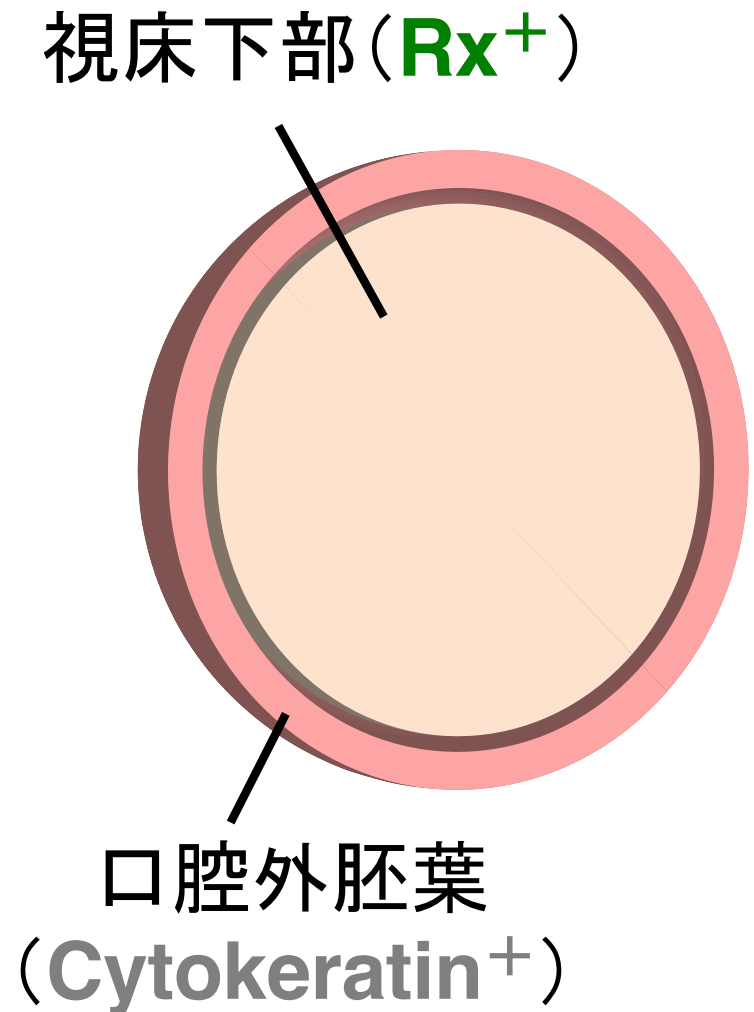
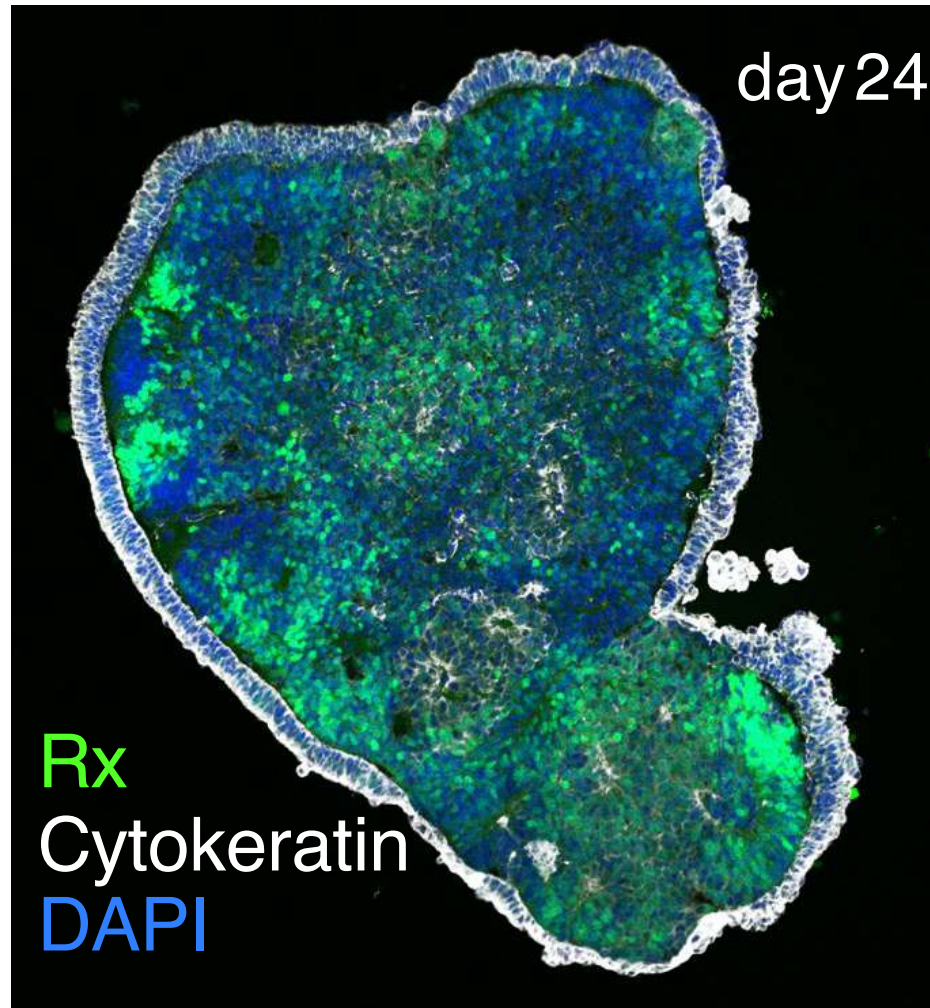


ヒトES・iPS細胞でも、口腔外胚葉と視床下部との相互作用を再現する必要がある



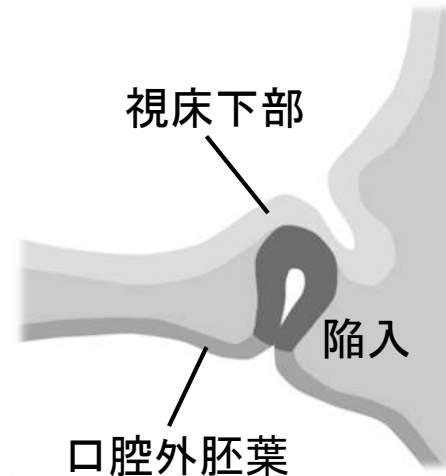
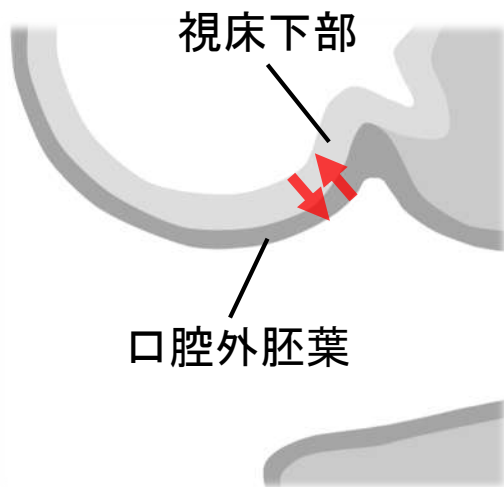
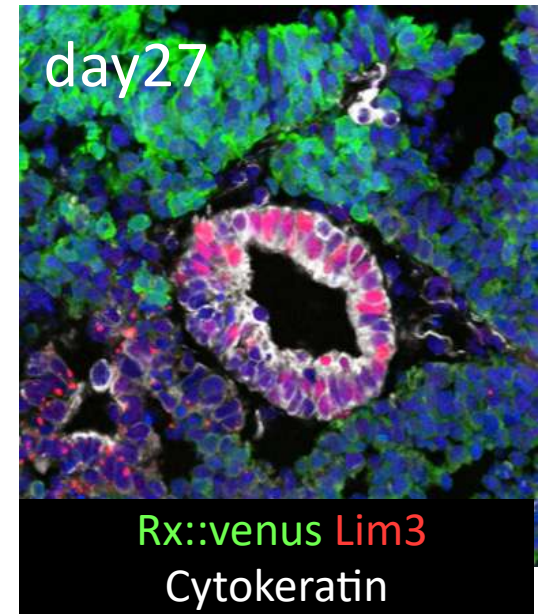
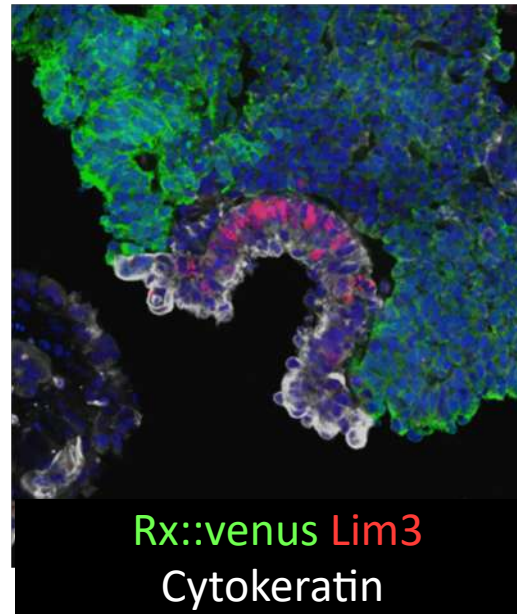
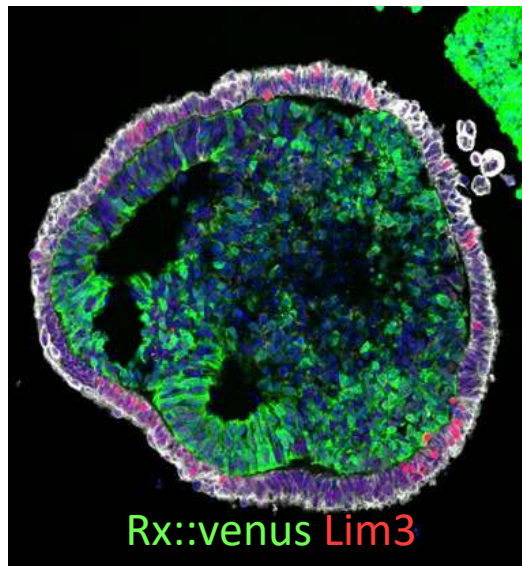
# ヒトES細胞塊から口腔外胚葉の分化誘導

## 2種類の層を同時誘導

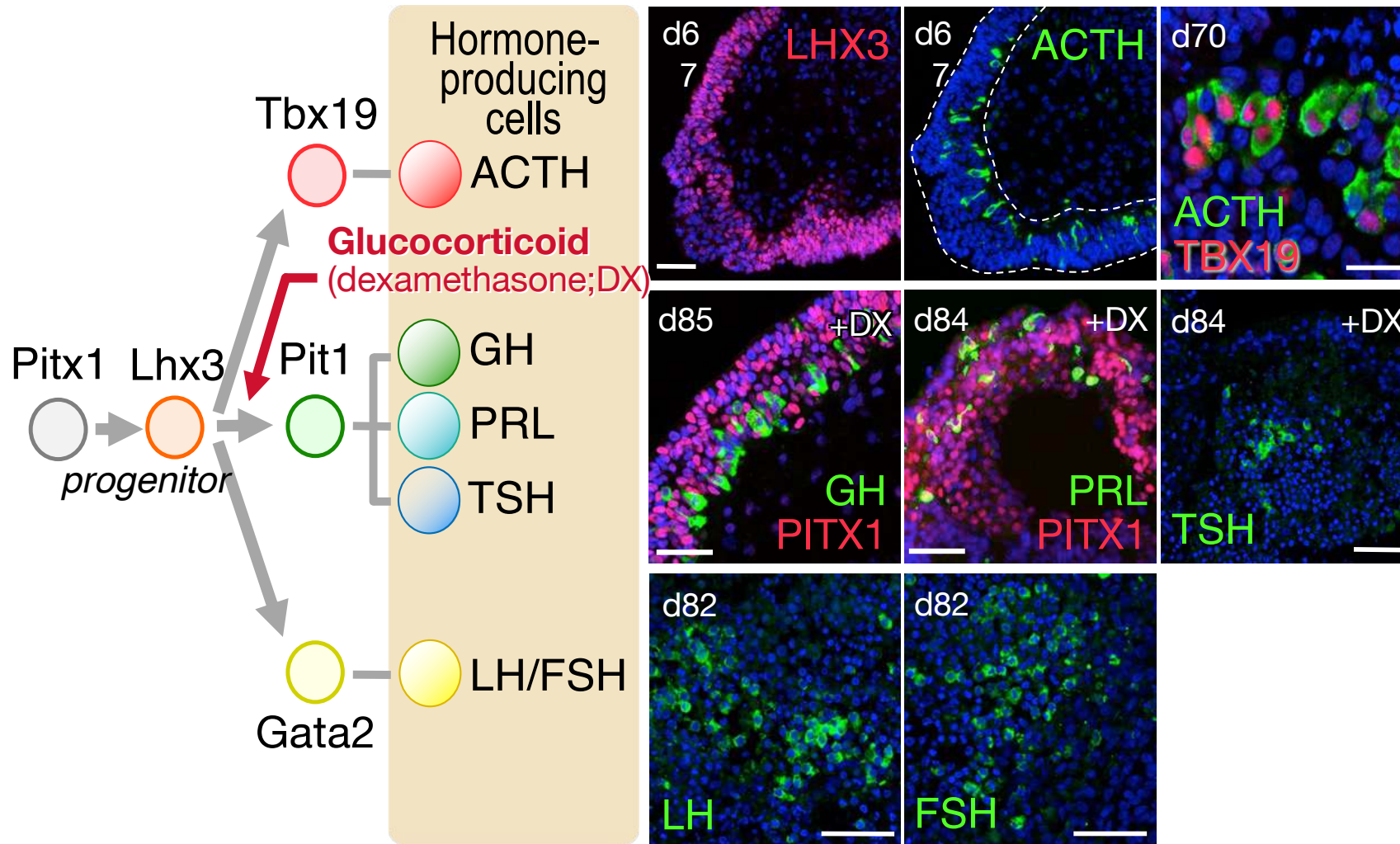


# ヒトES細胞から下垂体原基 (Lim3+)の分化誘導

Fgf2を作用させると...



# 下垂体前葉ホルモン産生細胞の分化誘導



すべての種類の下垂体前葉ホルモンの分化に成功

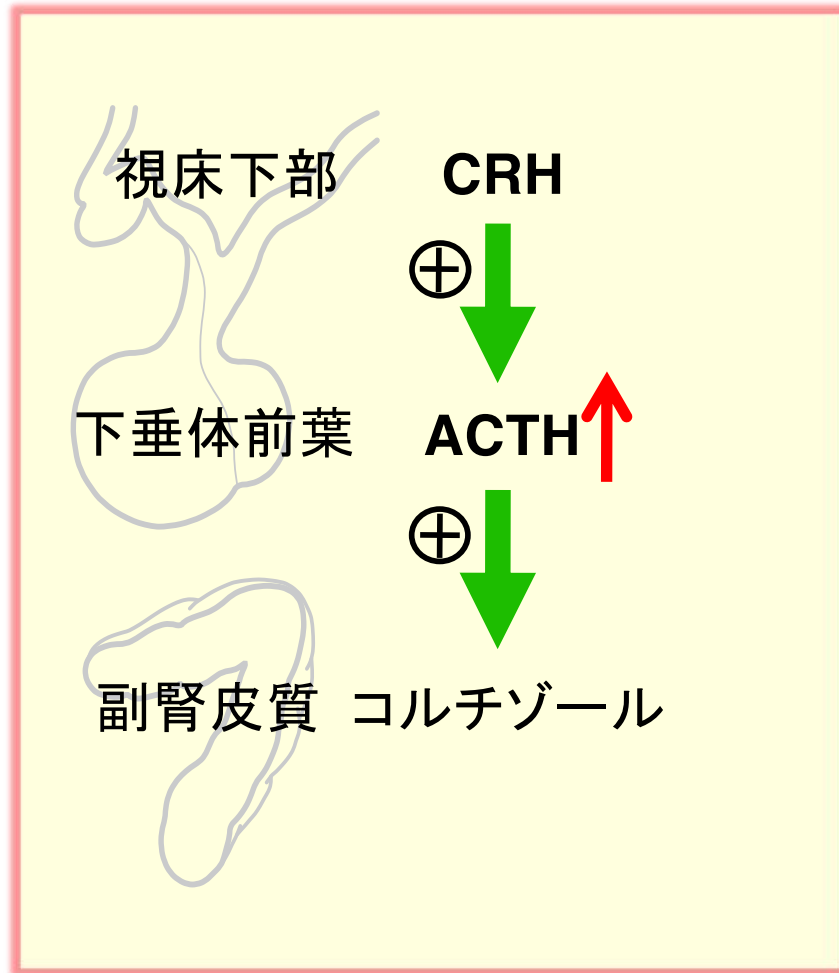
# Functional?

最も重要なポイント

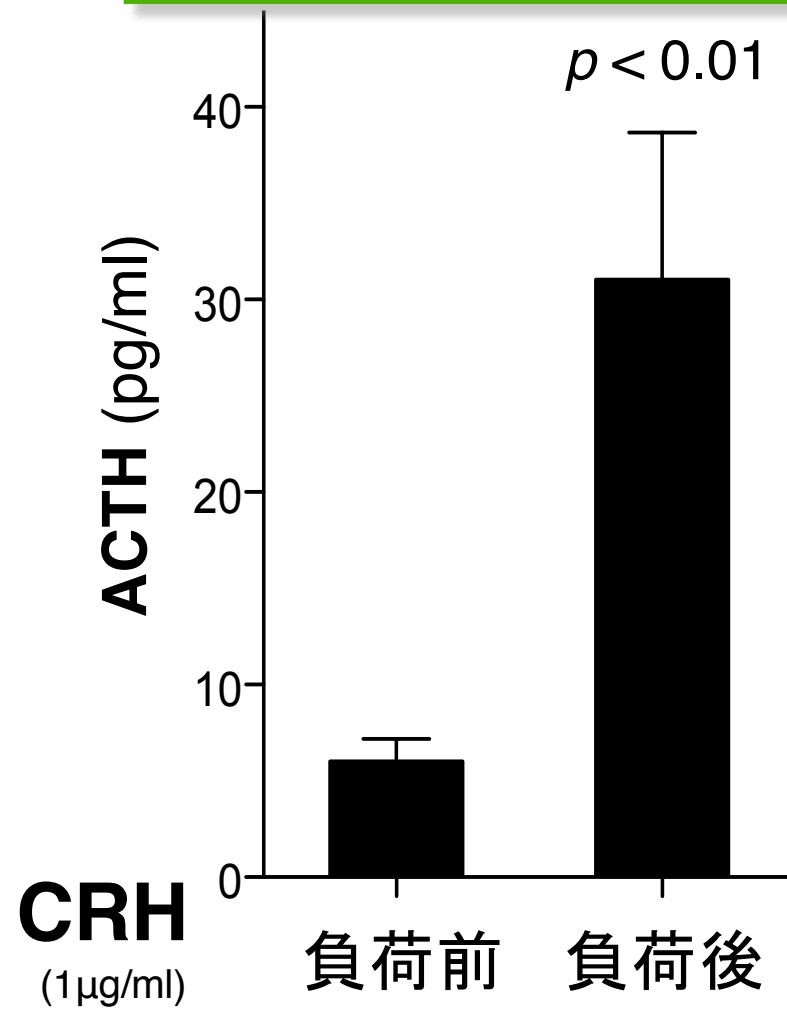
試験管内培養だけで機能的な内分泌細胞が出来ているか。



# in vitro ホルモン刺激試験にてACTH分泌確認

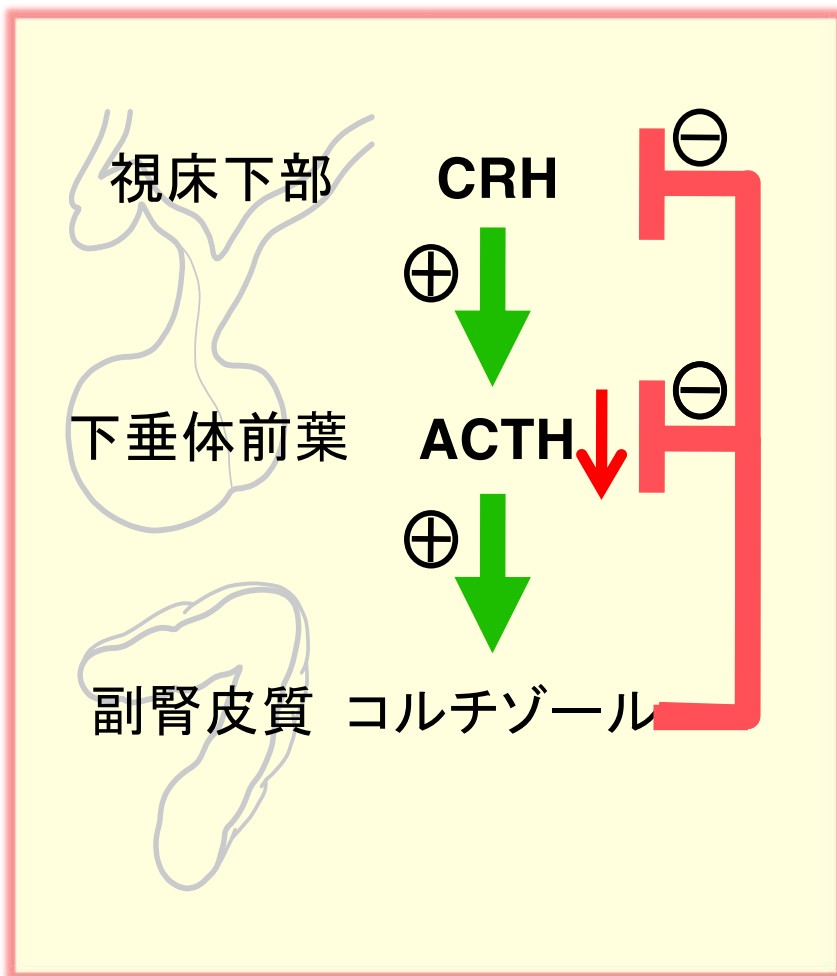


## ACTH分泌刺激試験

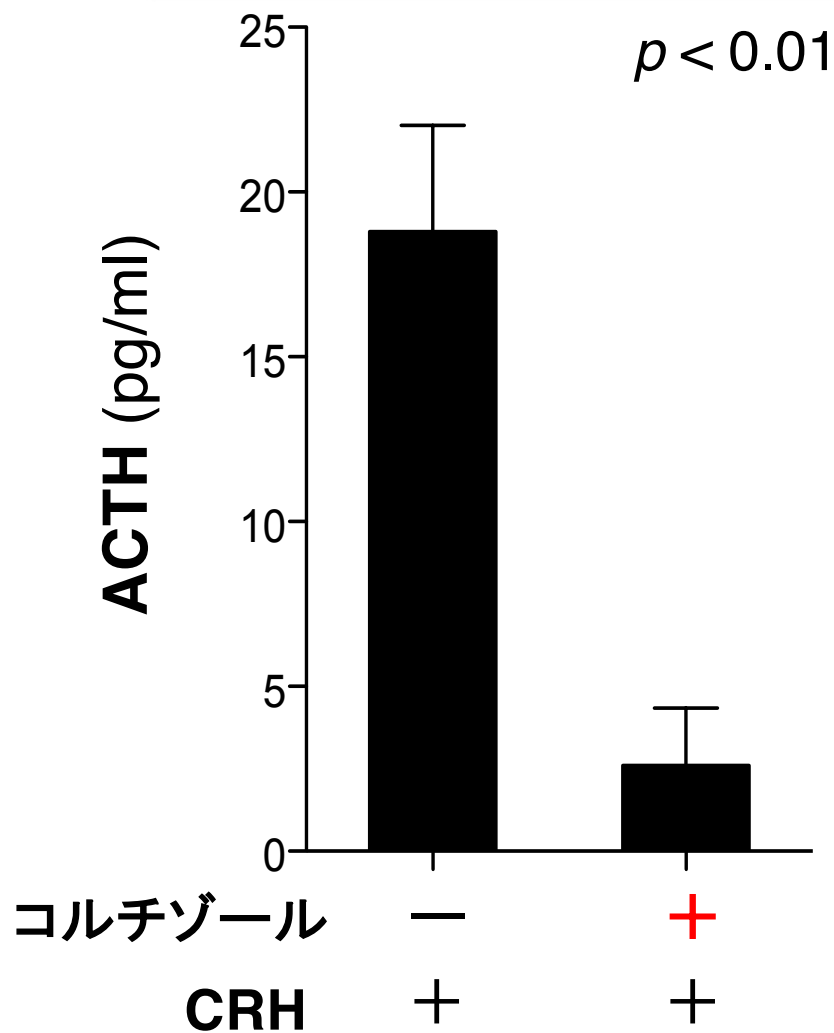




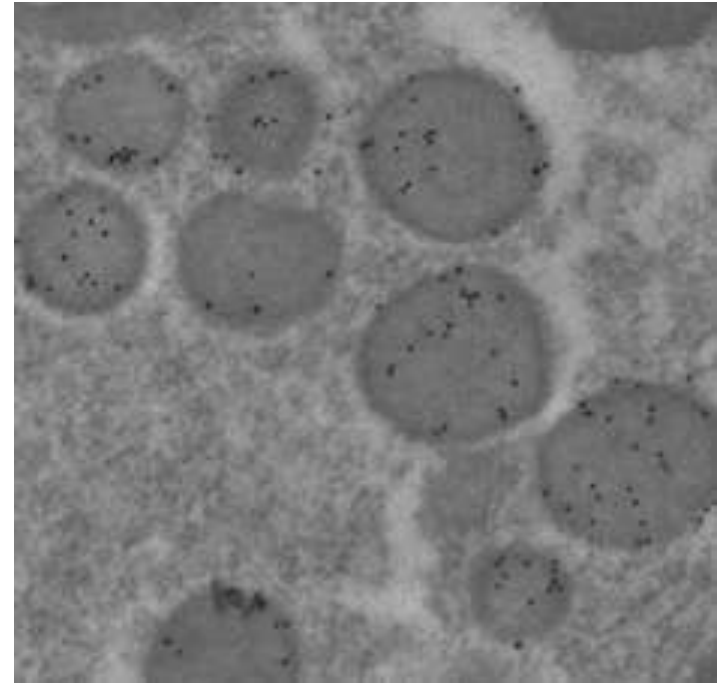
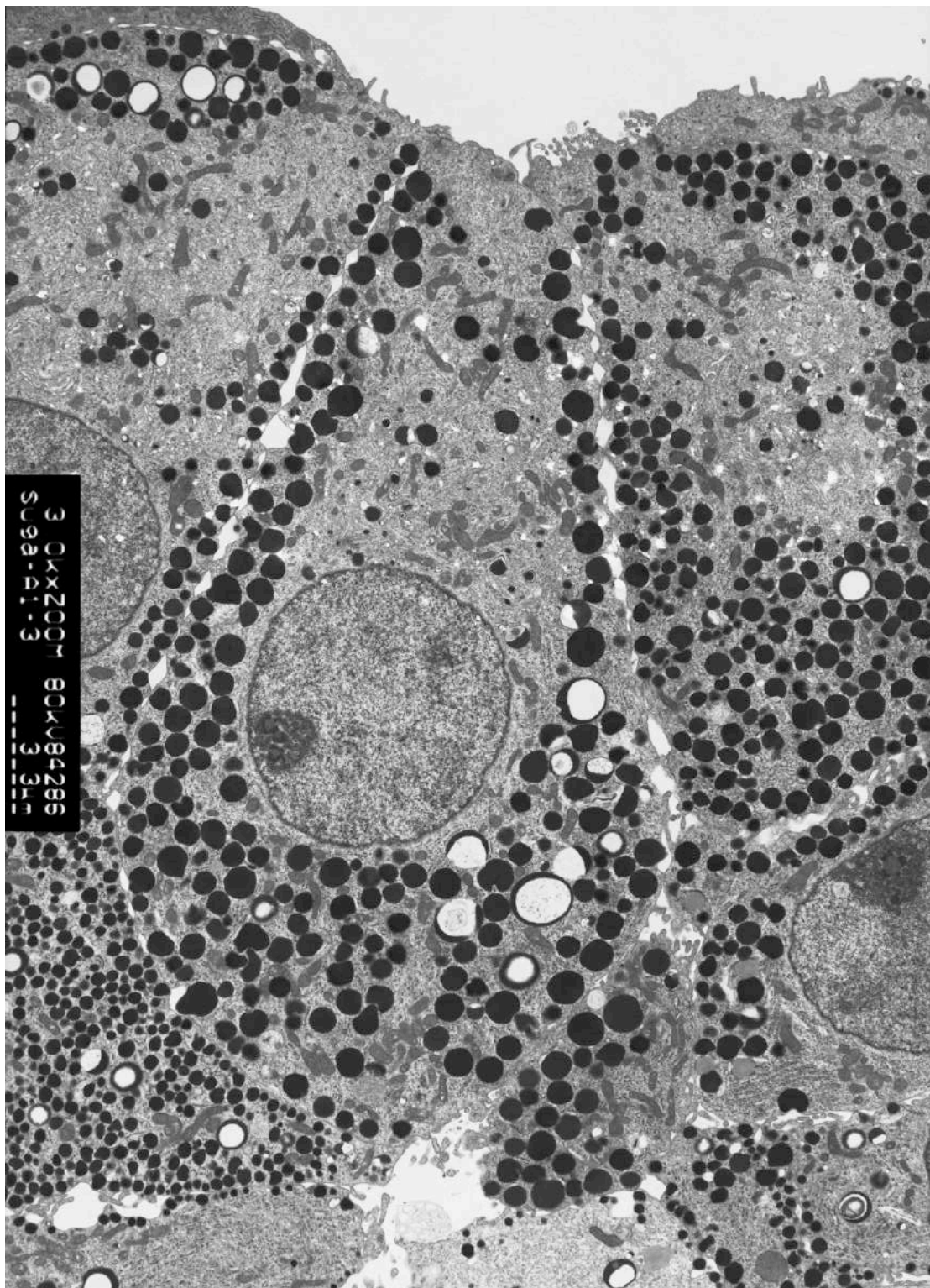
# in vitro ホルモン分泌抑制試験にてACTH分泌抑制



## ACTH分泌抑制試験

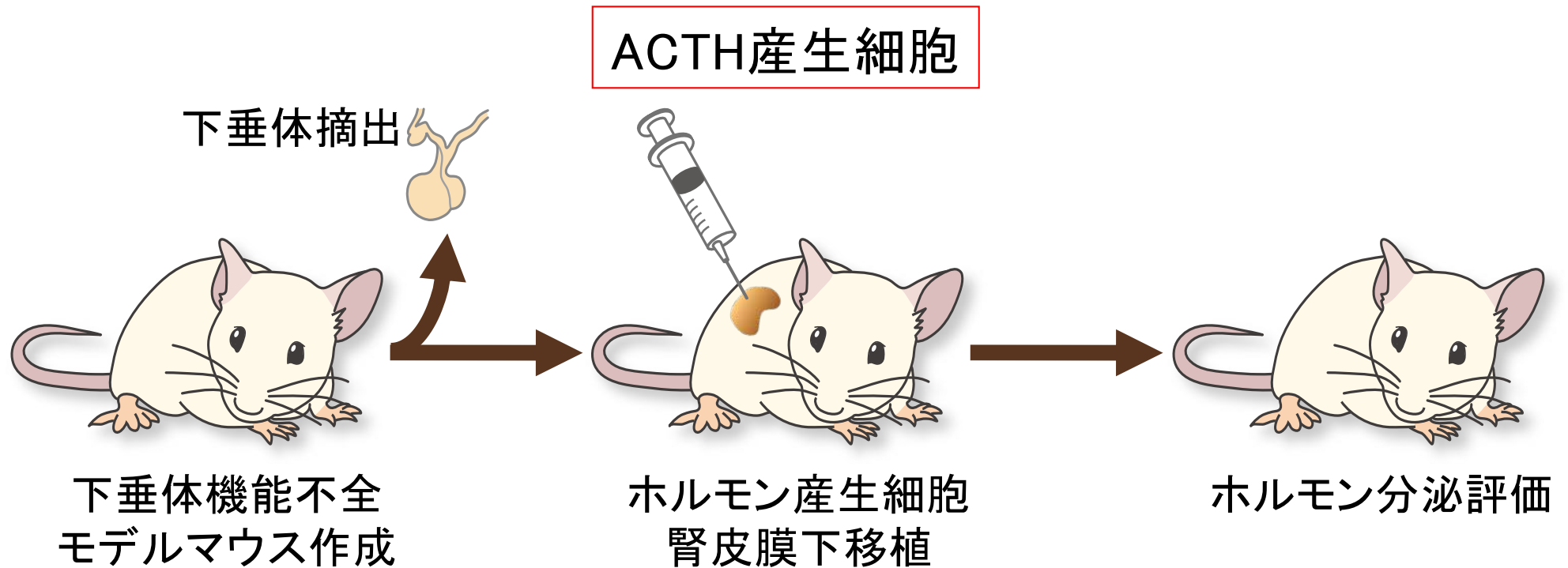


ヒト細胞で、positiveおよびnegative制御を備えたACTH細胞は世界初。



虎の門病院  
井下先生による電顕

# 異所性(腎皮膜下)移植による ホルモン分泌機能評価

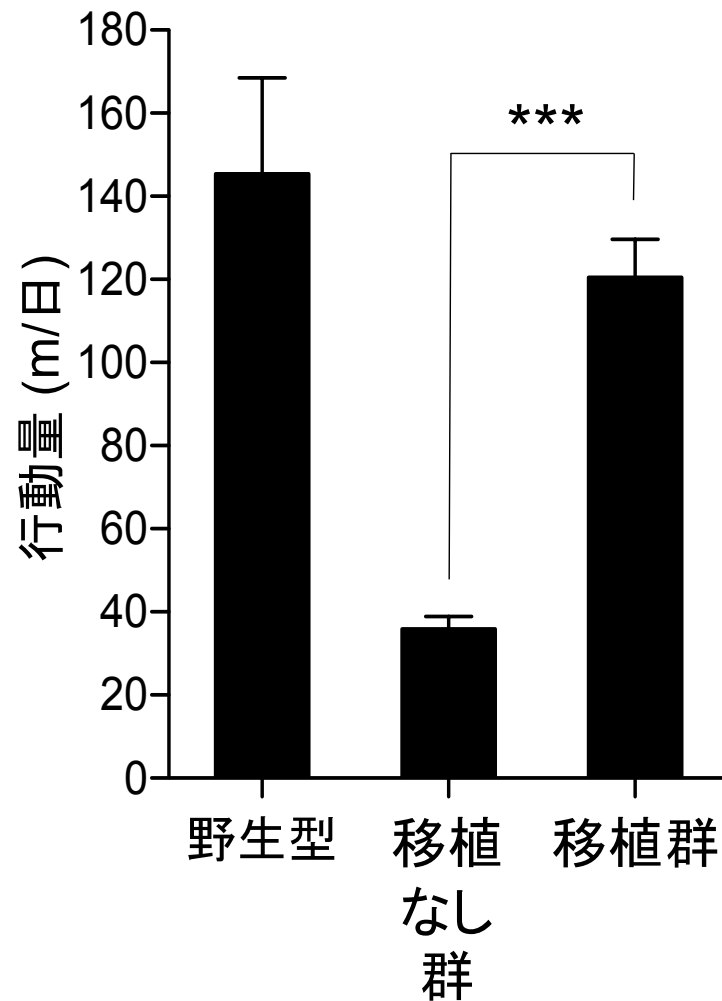


(SCIDマウス)  
負荷試験で完全枯渴を確認

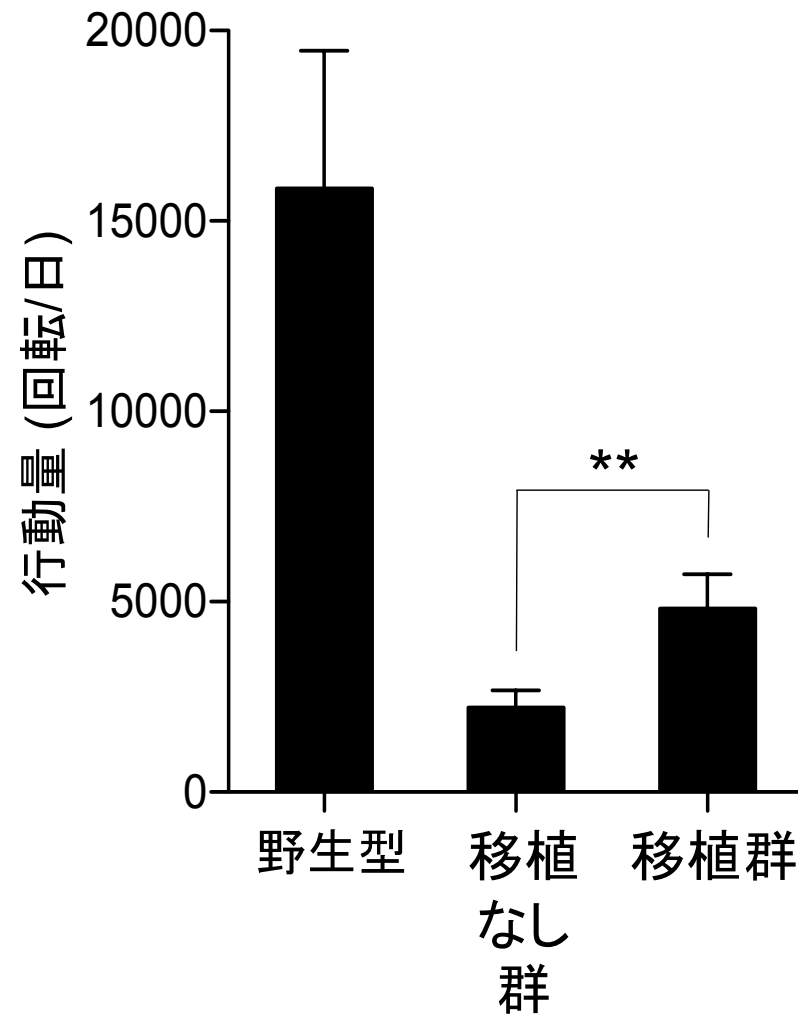
# CRH負荷なし状態でも自発運動改善を確認



## Home-cage activity test



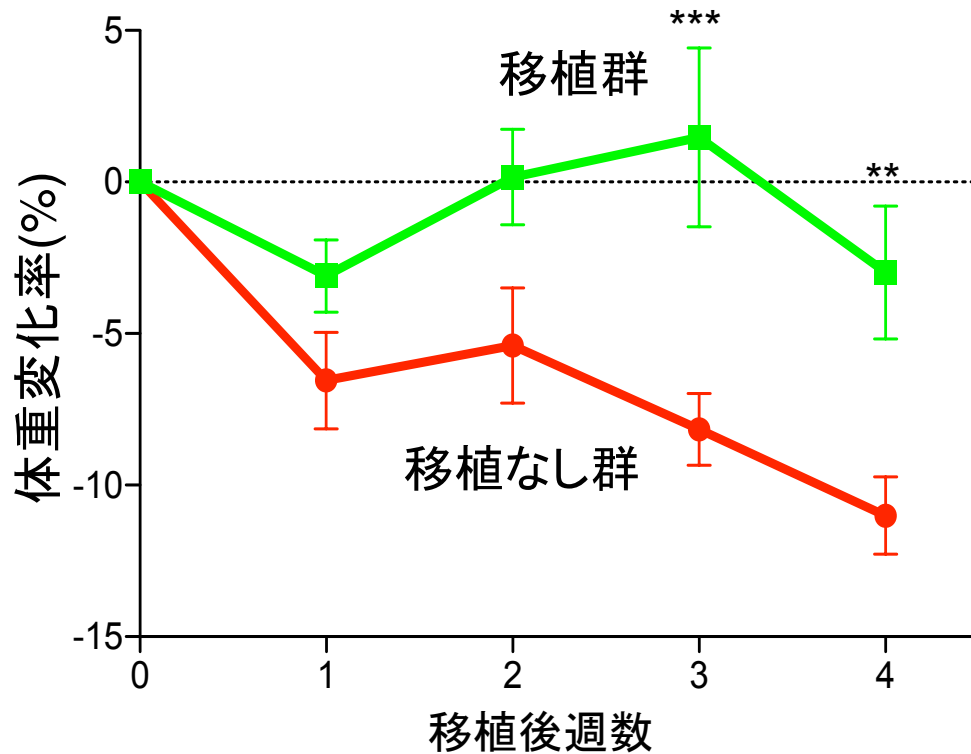
## Running-wheel activity test



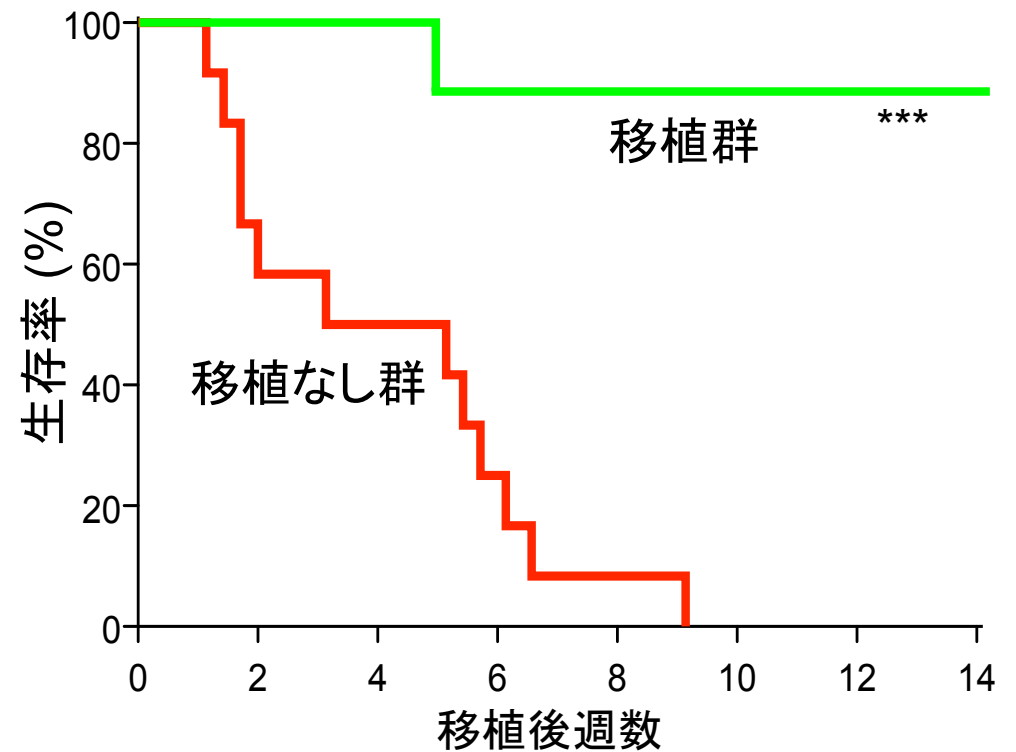
# CRH負荷なしで長期予後改善を確認



## 体重変化率



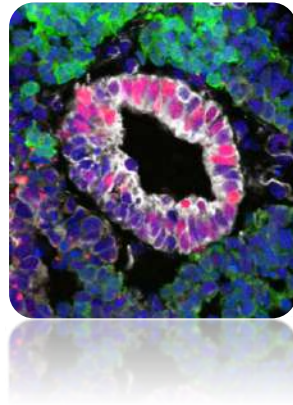
## 生存曲線



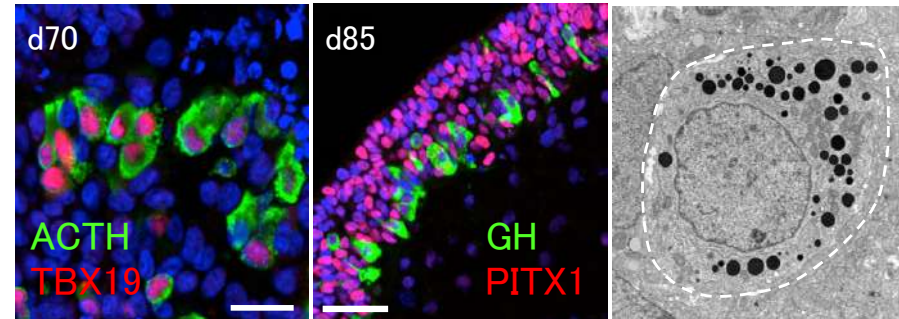


# 可能になった事

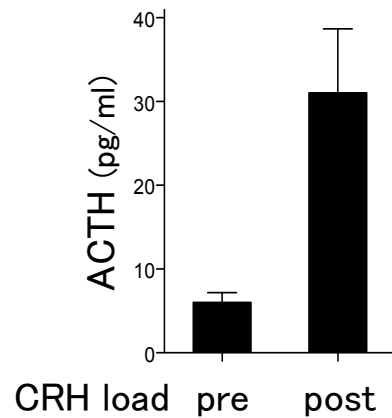
胎児発生と同じ方式で、*in vitro*で  
下垂体原基(ラトケ囊)を誘導



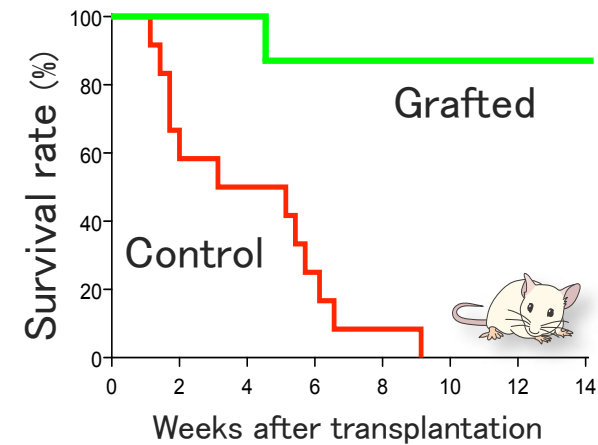
ホルモン産生細胞へ最終分化



適切にホルモンを分泌



下垂体機能不全マウスを治療



# Acknowledgement

---

## **Nagoya University Graduate School of Medicine Department of Endocrinology and Diabetes**

Hiroshi Arima

Hiroshi Ochiai

Koichiro Ogawa

Kazuki Mitsumoto

Mayuko Kano

Shiori Taga

Junya Kakegawa

Mayuko Sakakibara

Chikafumi Ozone

Takatoshi Kasai

Takeshi Ishihara

Takashi Nagai

Hajime Ozaki

Mika Soen

## **Center for Advanced Medicine and Clinical Research**

Masaaki Mizuno

## **RIKEN CDB**

### **Laboratory for Organogenesis and Neurogenesis**

Yoshiki Sasai

Taisuke Kadoshima

Keiko Muguruma

Nozomu Takata

Tokushige Nakano

## **Four-Dimensional Tissue Analysis Unit**

Mototsugu Eiraku

### **Division of Human Stem Cell Technology**

Masatoshi Ohgushi

### **Laboratory for Organ Regeneration**

Takashi Tsuji

Miho Ogawa

Jun Ishikawa