

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

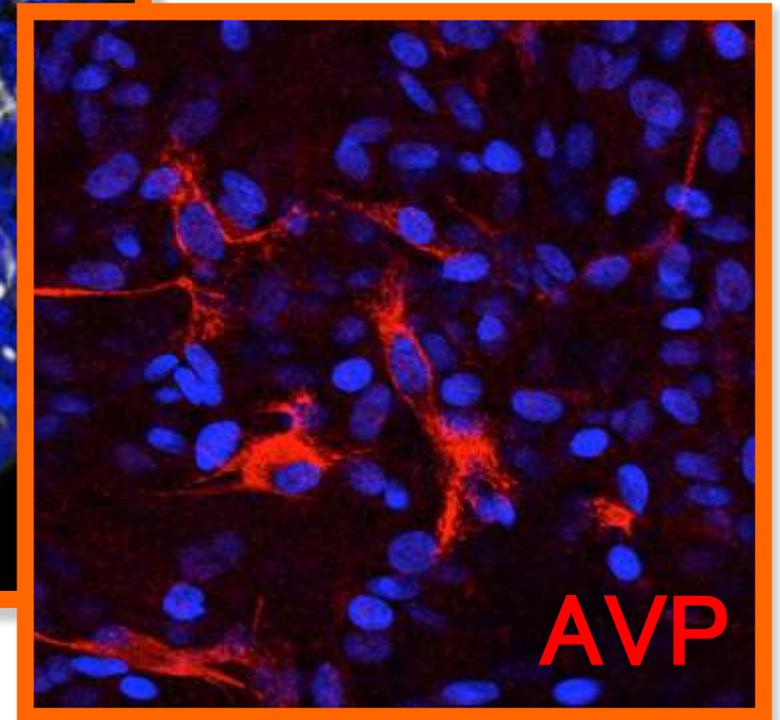
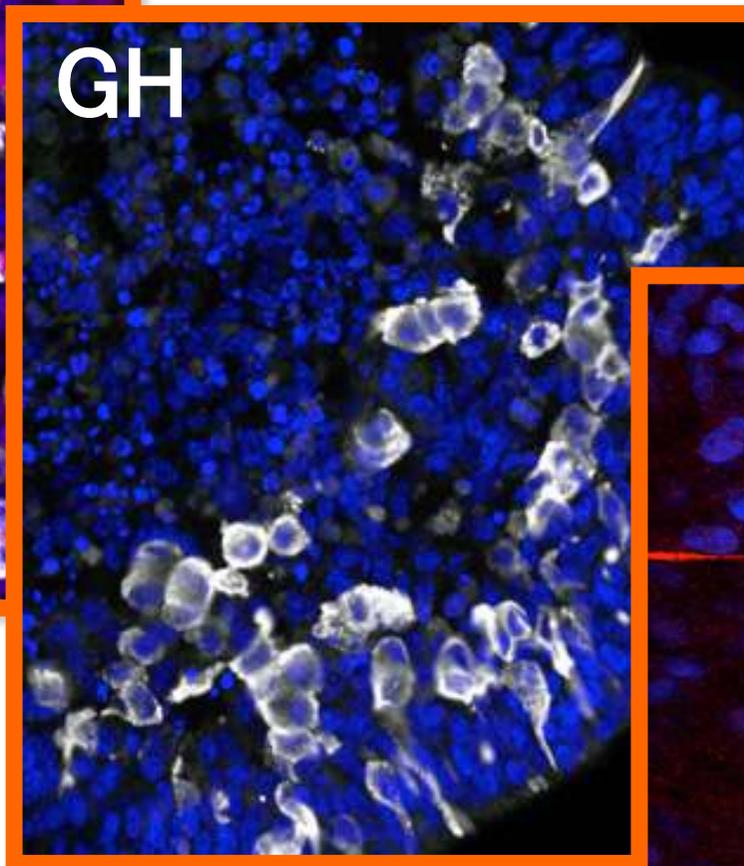
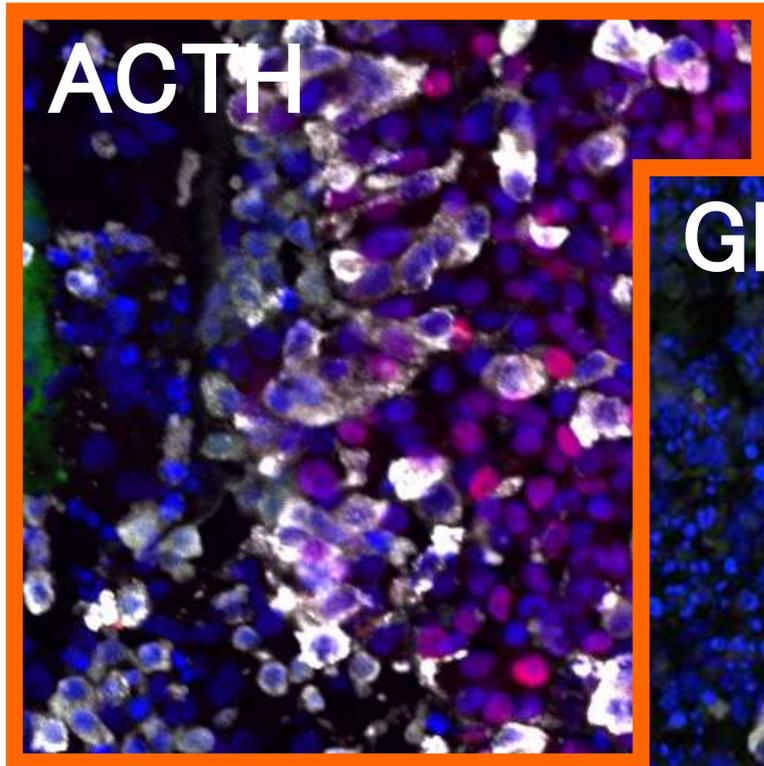
下垂体の再生医療

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

下垂体後葉



下垂体前葉機能低下症 (例:ACTH欠損症)

中枢性尿崩症 (バゾプレシン欠損症)

現在の治療:副腎皮質ホルモン経口投与

現在の治療:dDAVPの投与

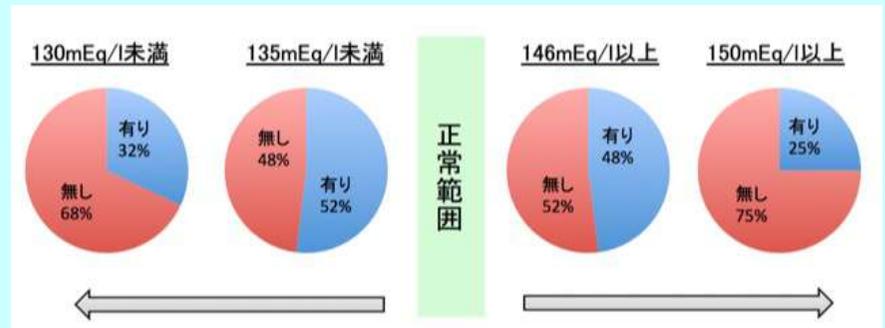
問題点:日内変動をフォローできない。必要量はストレス度合いにより10倍程度変動。

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)

リスク:

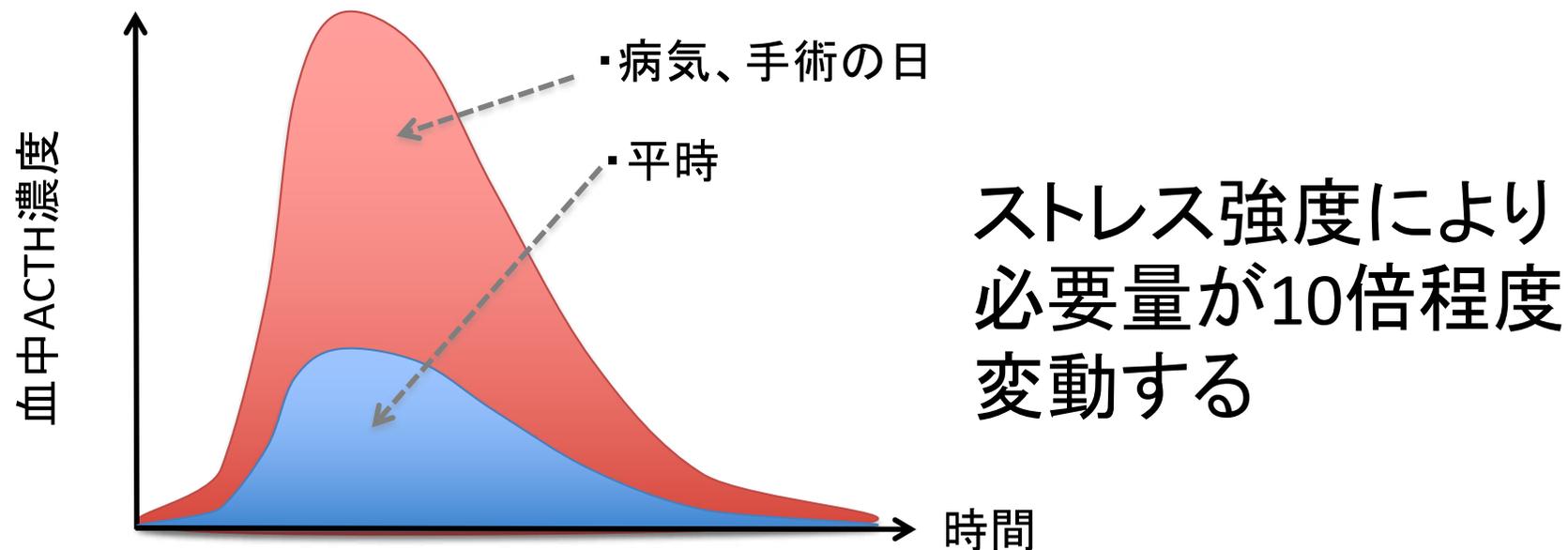
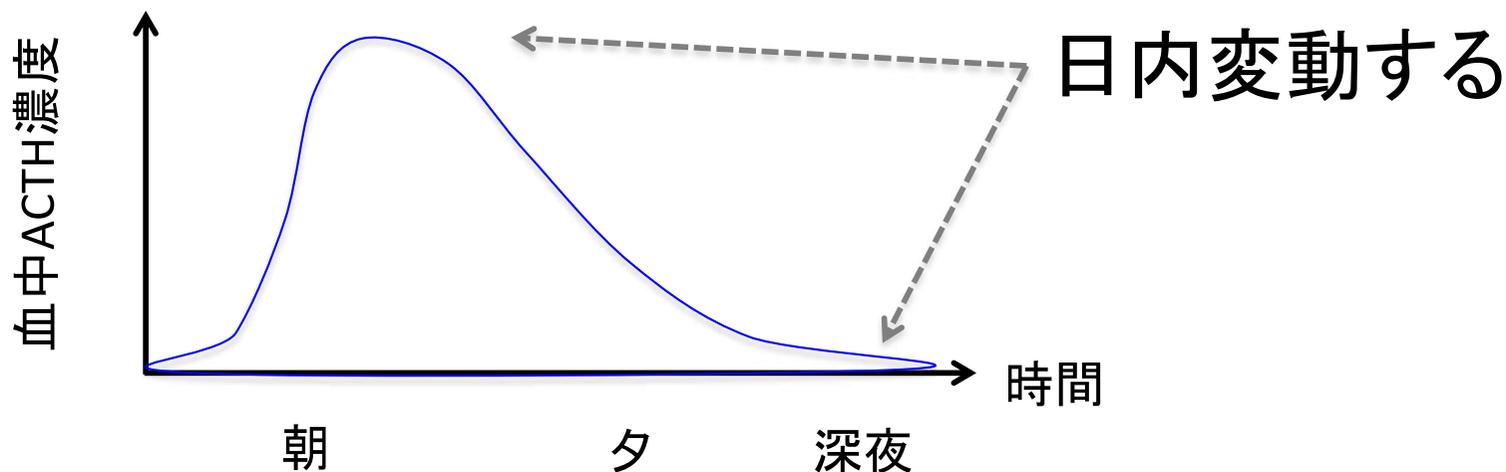
- ①補充不足→致命的な副腎不全
- ②補充過剰→クッシング症候群

(高血圧、糖尿病、骨粗鬆症、易感染性、精神神経疾患、肥満など)



ACTHやAVPは外環境に応じて変化するホルモン

例； ACTH



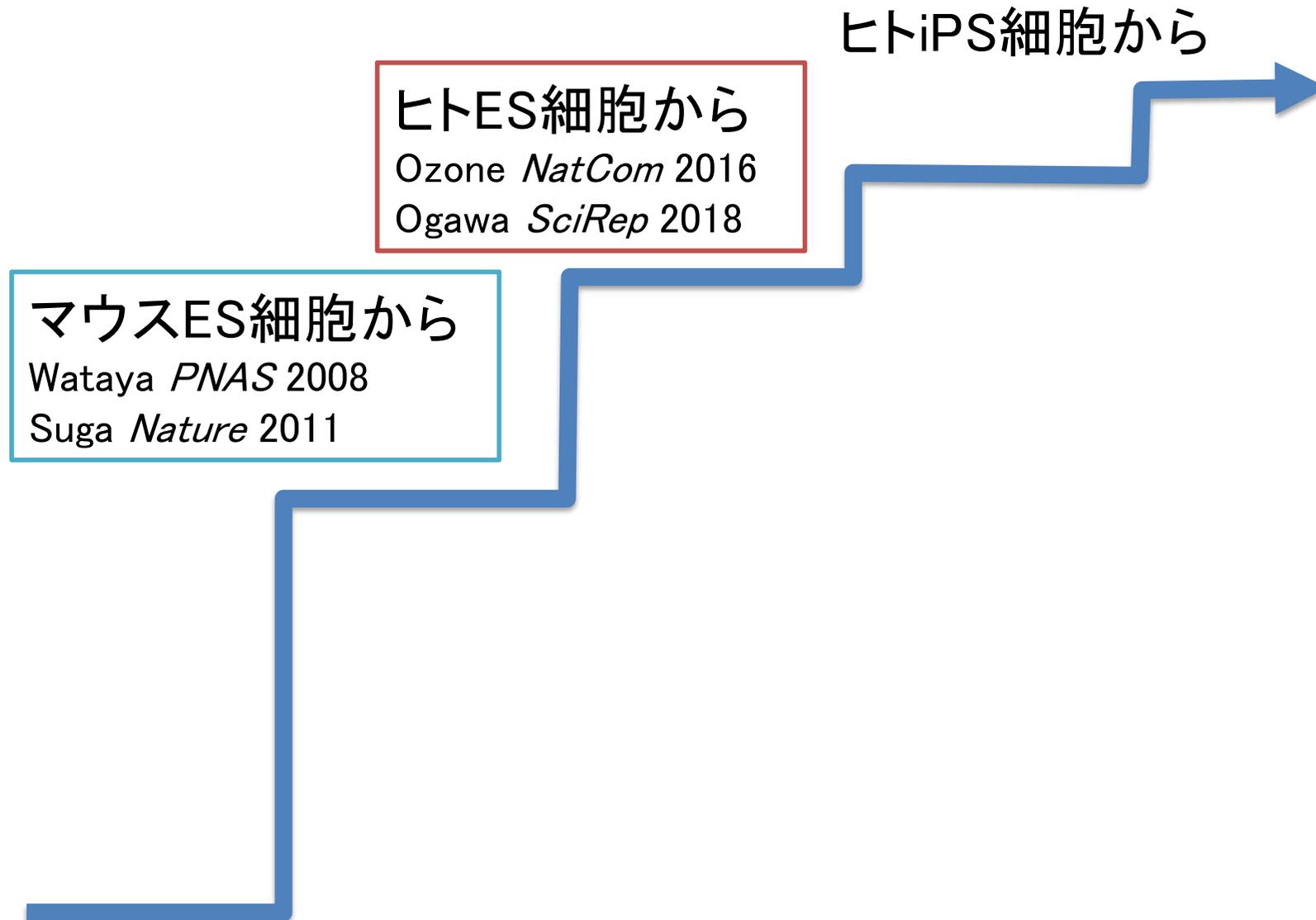
目的

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

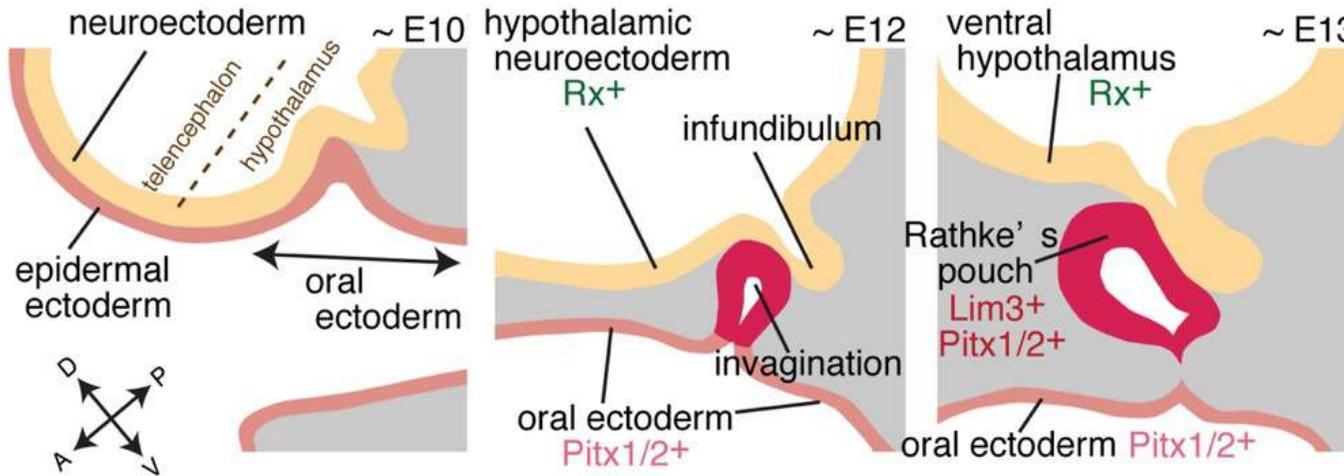


課題は1段ずつ克服する

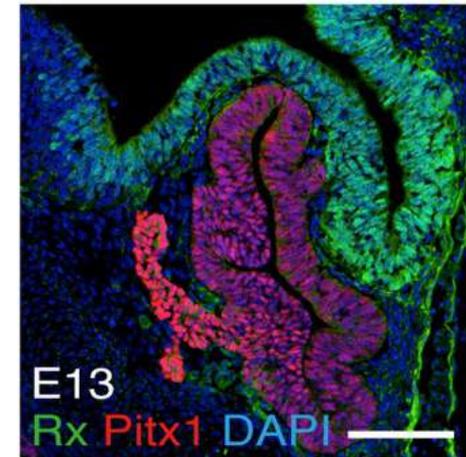


ラトケ嚢が口腔外胚葉から生まれるのには 視床下部との相互作用が必要である

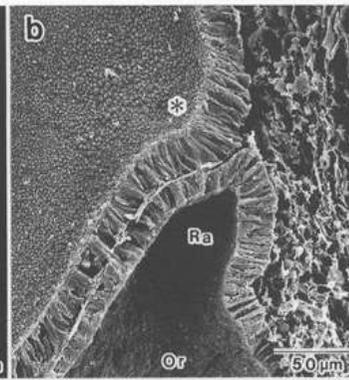
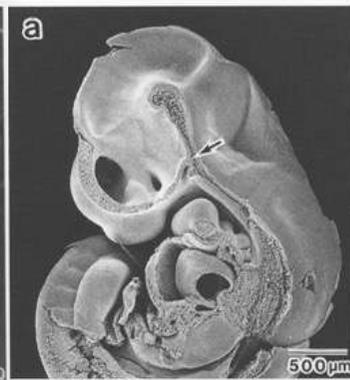
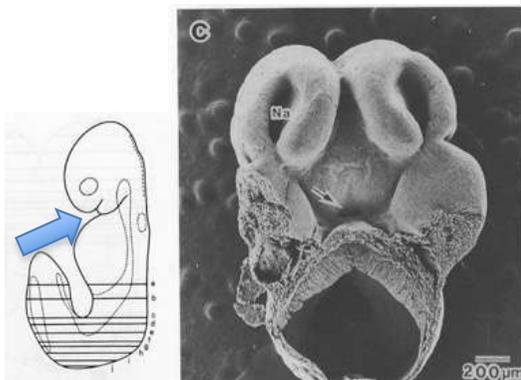
Sagittal View



Rathke's pouch
(hollowed epithelial vesicle)



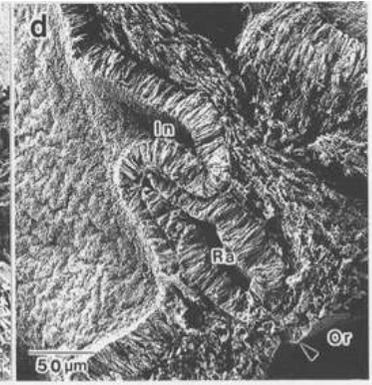
E10.5



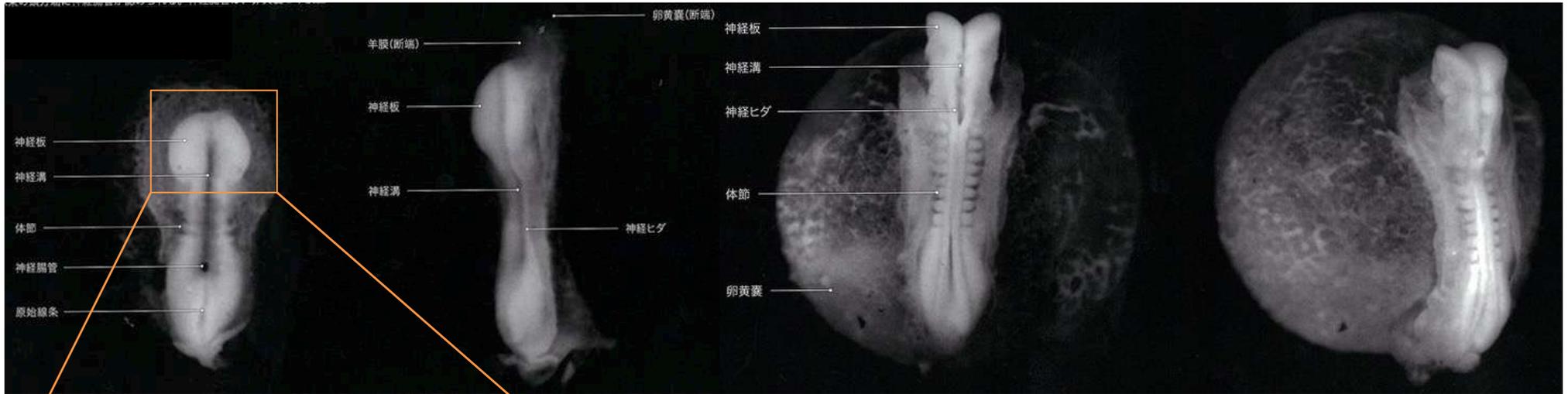
E11.5



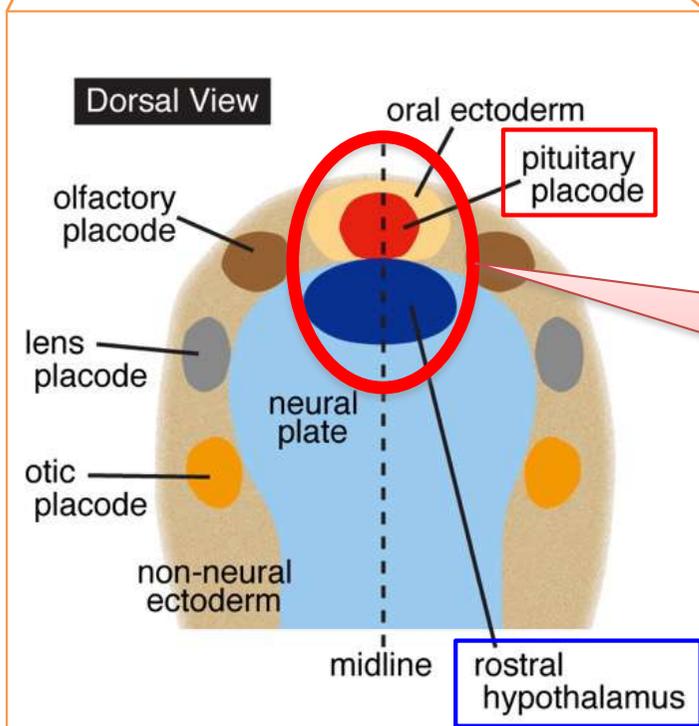
E12.5



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：

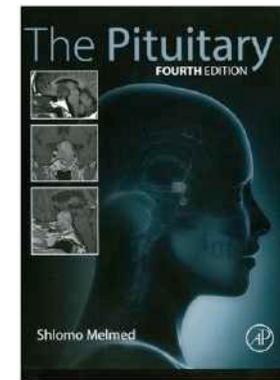
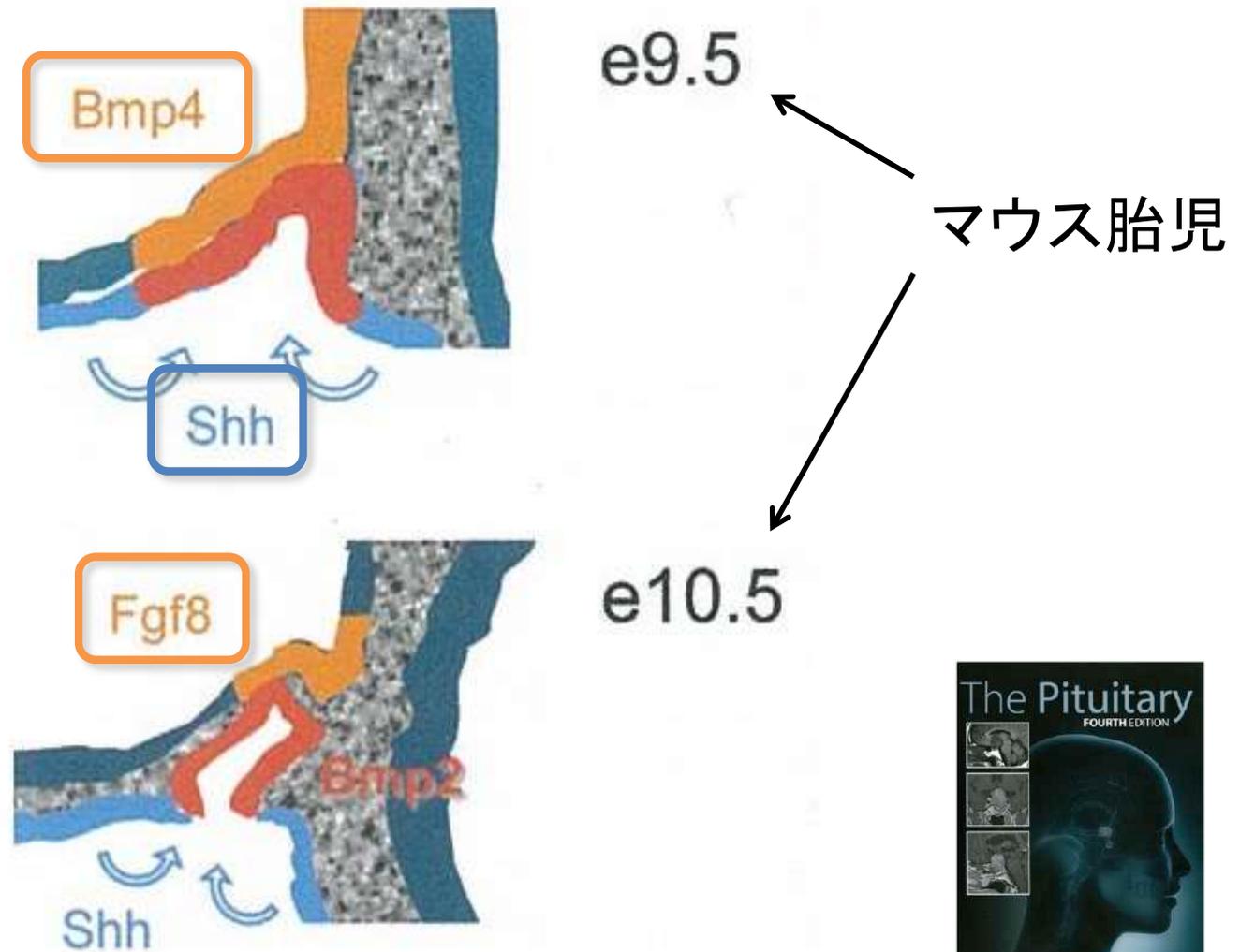
・マウスの胎児発生が約20日間と、ヒトと比べてごく短時間で完了

→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

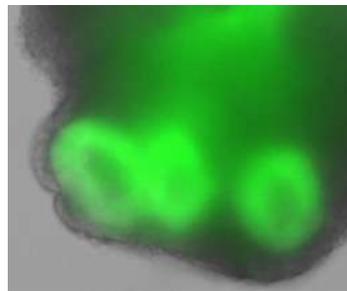
マウスES細胞から下垂体への分化法開発 簡単なまとめ

マウスES細胞から下垂体組織
(ラトケ嚢様組織)の産生

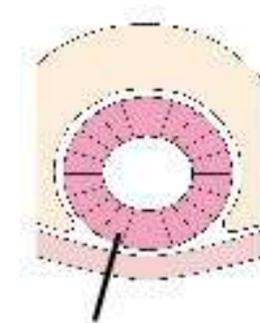
下垂体ホルモン分泌細胞
への成熟分化

ES細胞
凝集塊

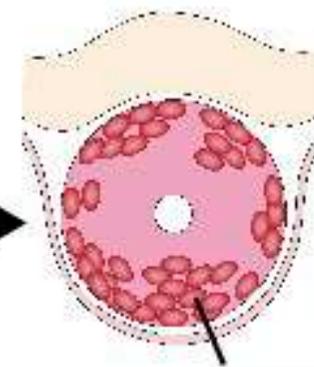
SFEBq法



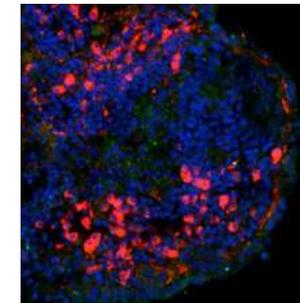
下垂体前駆細胞



ラトケ嚢



成熟



副腎皮質刺激ホルモン
(ACTH)
産生細胞

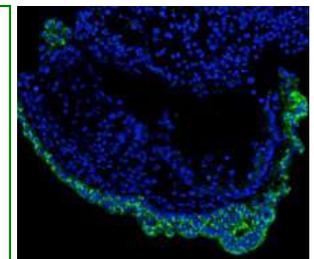
【別の培養条件では】

成長ホルモン(GH)産生細胞

乳汁分泌ホルモン産生細胞

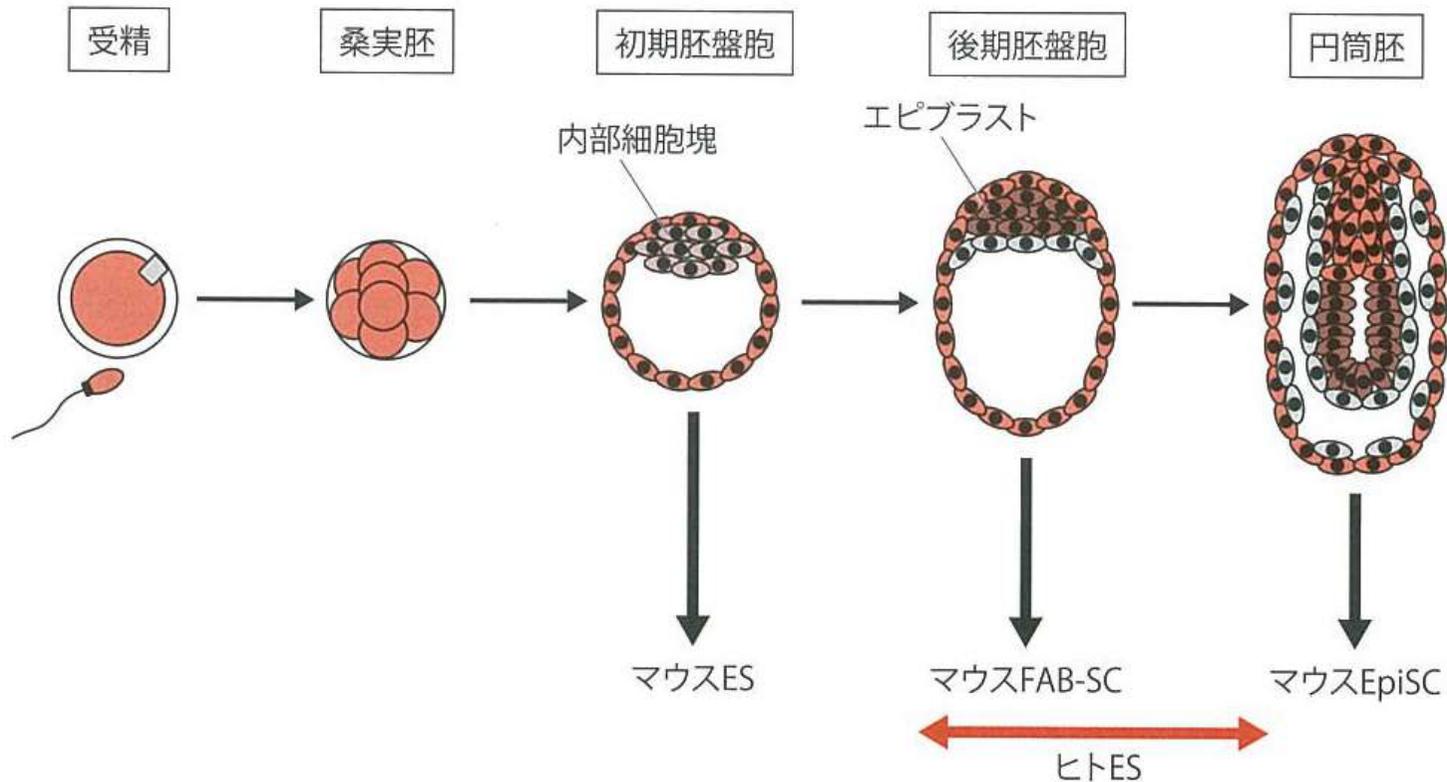
性腺刺激ホルモン産生細胞

甲状腺刺激ホルモン産生細胞



次にいよいよ

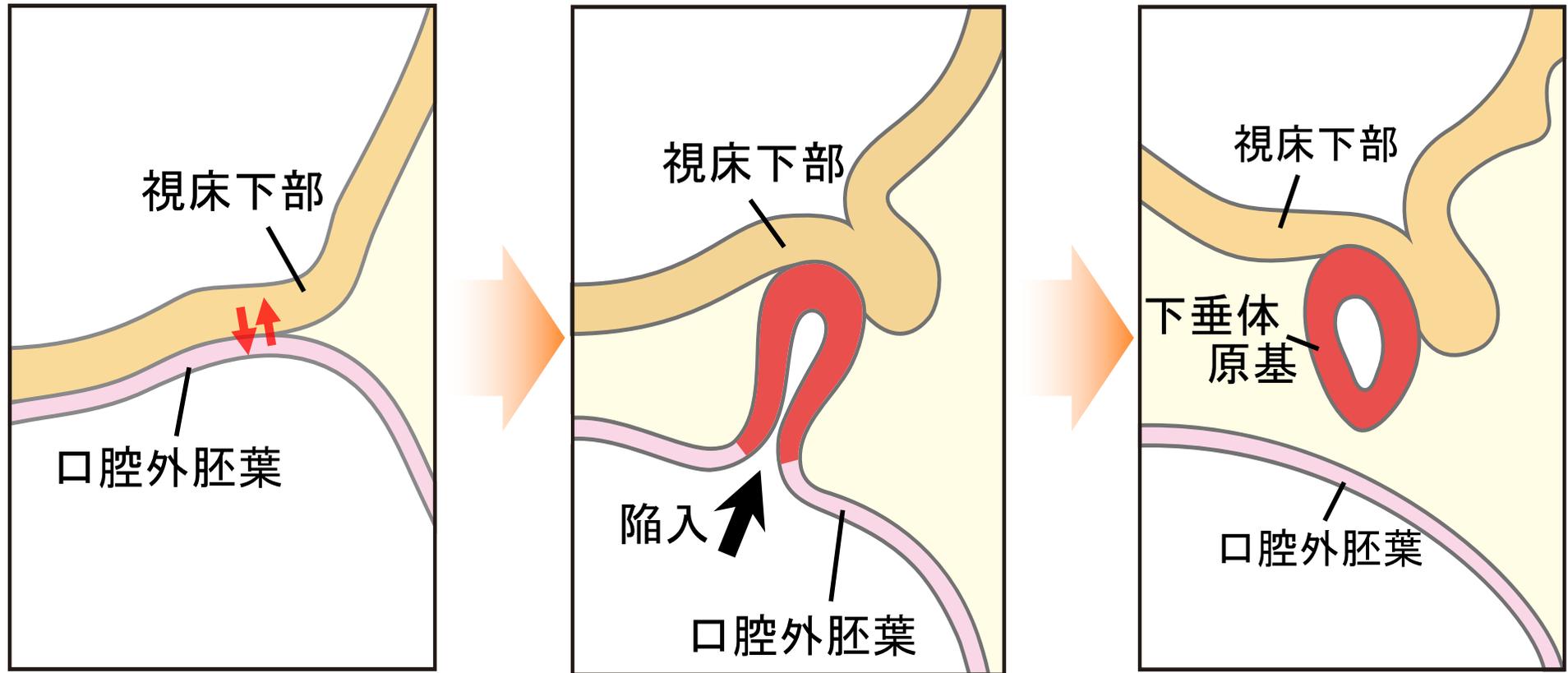
マウスES細胞とヒトES細胞との違いを乗り越える必要がある



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

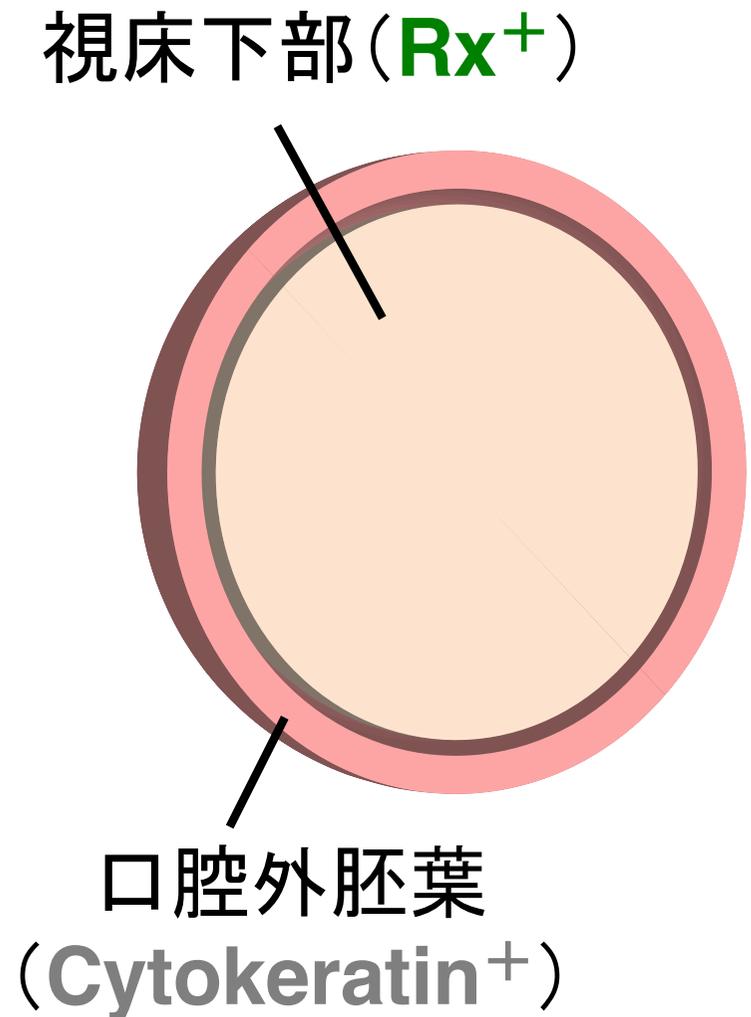
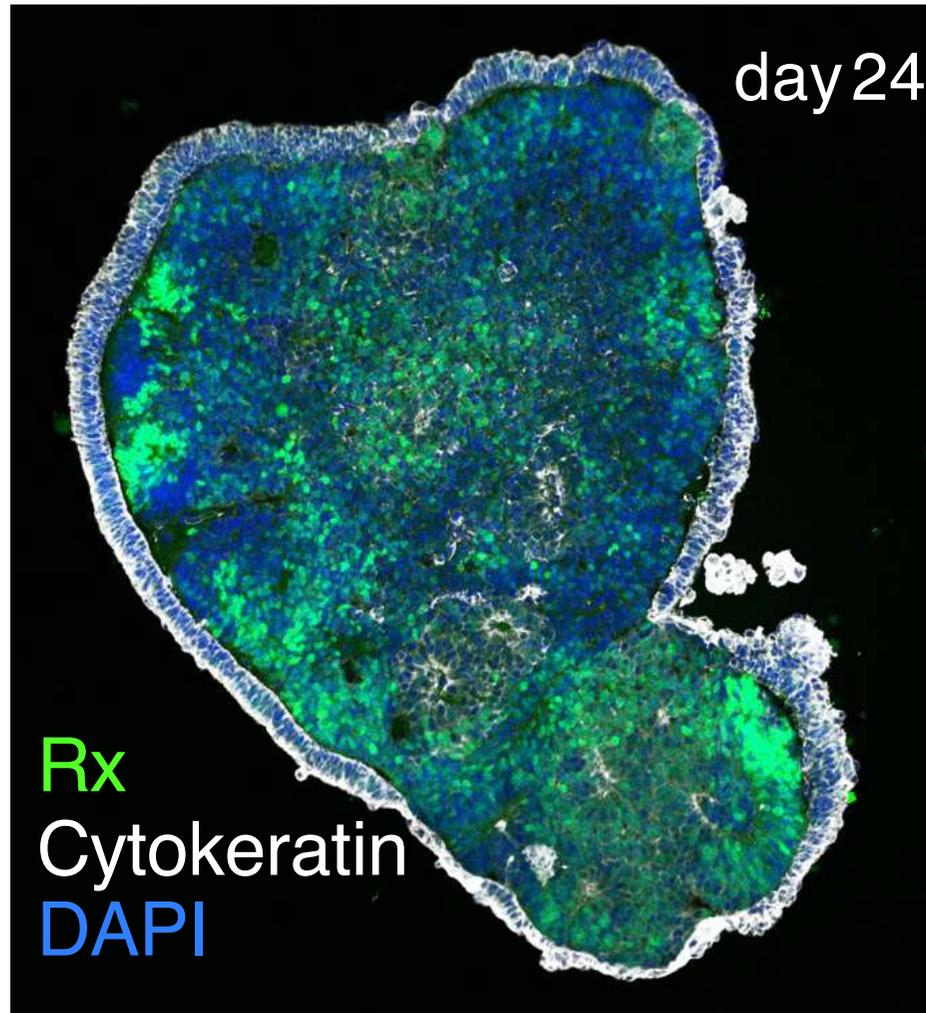
下垂体原基は視床下部と口腔外胚葉との相互作用で出来る



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

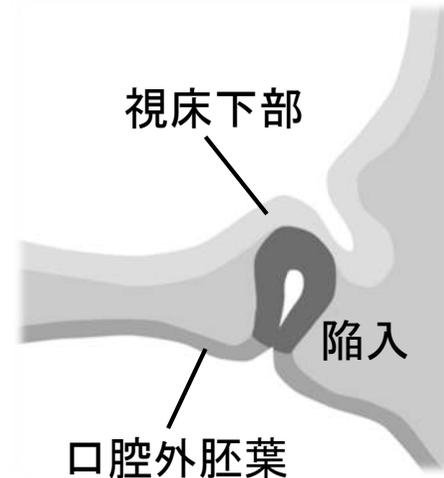
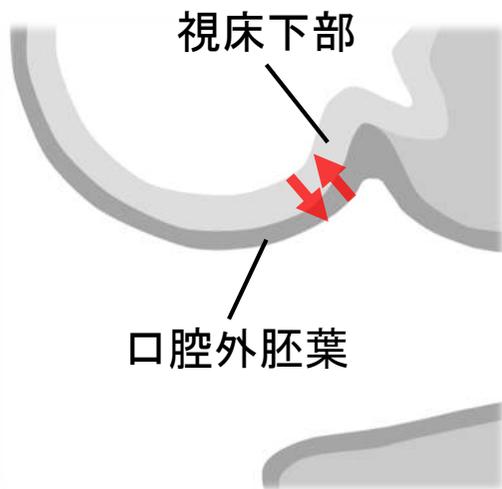
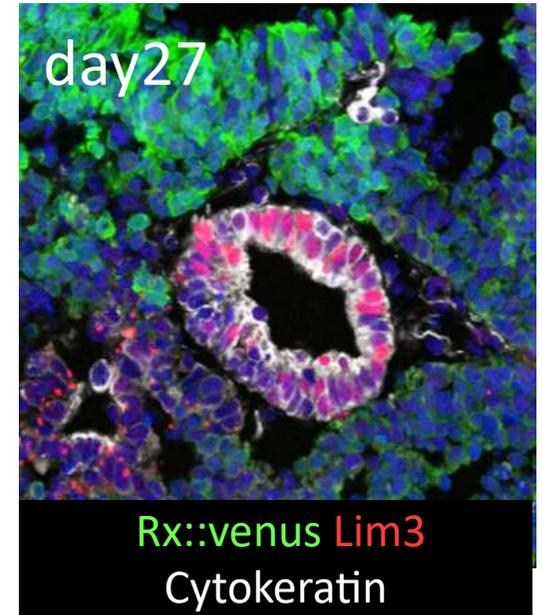
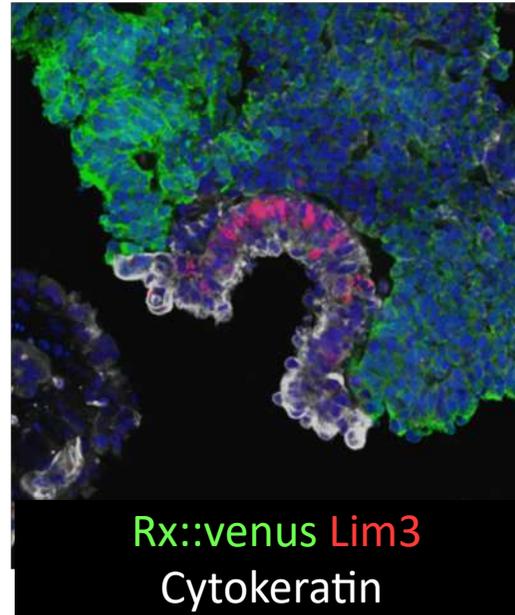
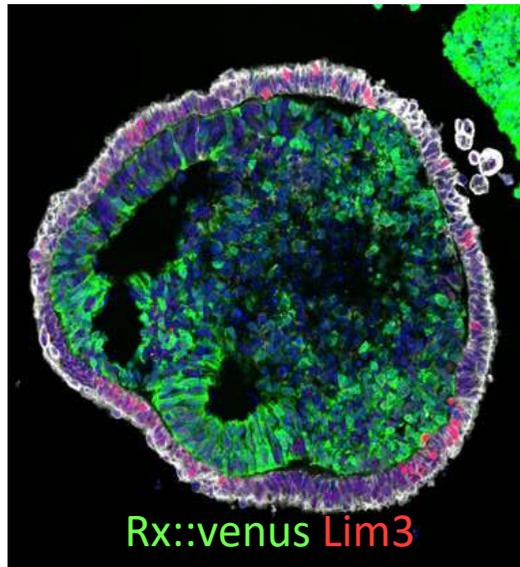
ヒトES細胞塊から口腔外胚葉の分化誘導

2種類の層を同時誘導

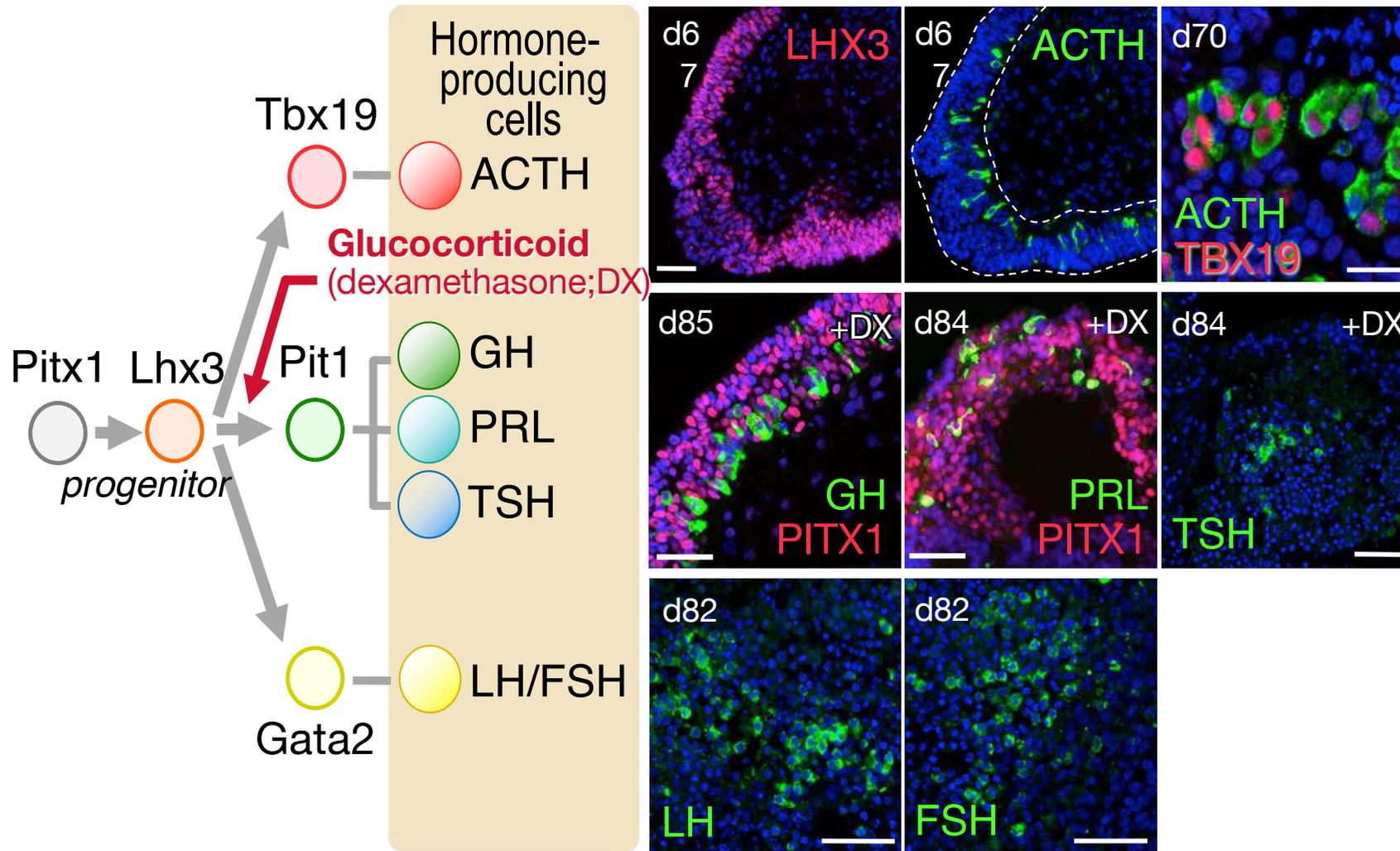


ヒトES細胞から下垂体原基 (Lim3+)の分化誘導

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



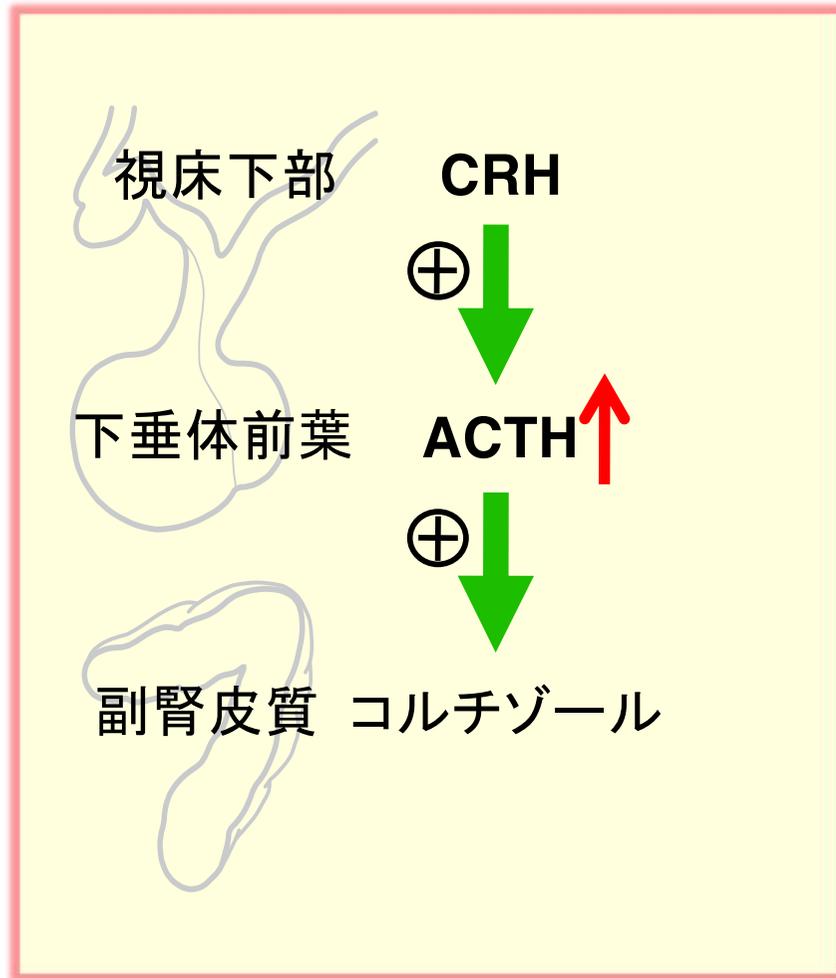
すべての種類の下垂体前葉ホルモンの分化に成功

Functional?

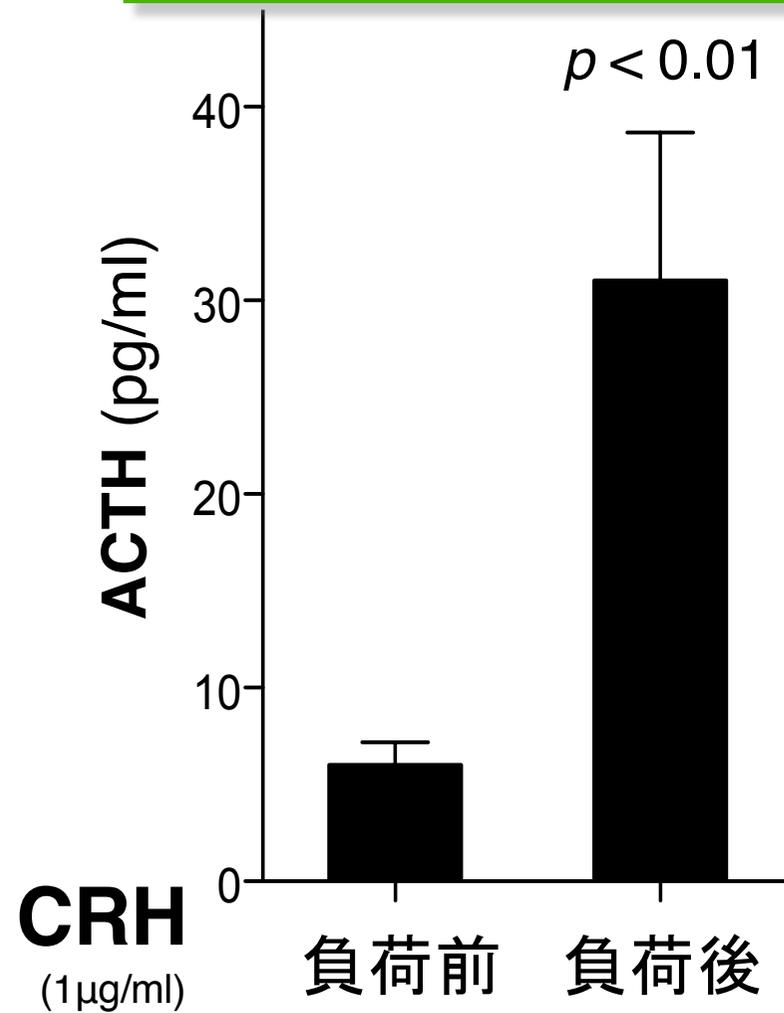
最も重要なポイント

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。

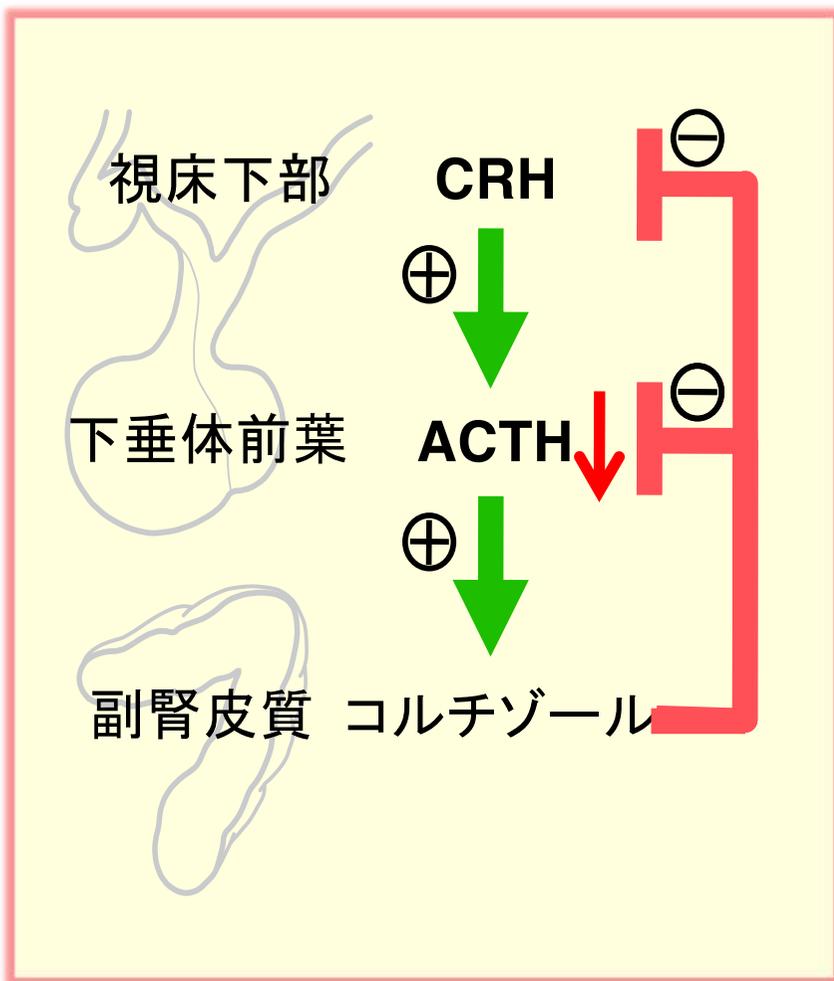
in vitro ホルモン刺激試験にてACTH分泌確認



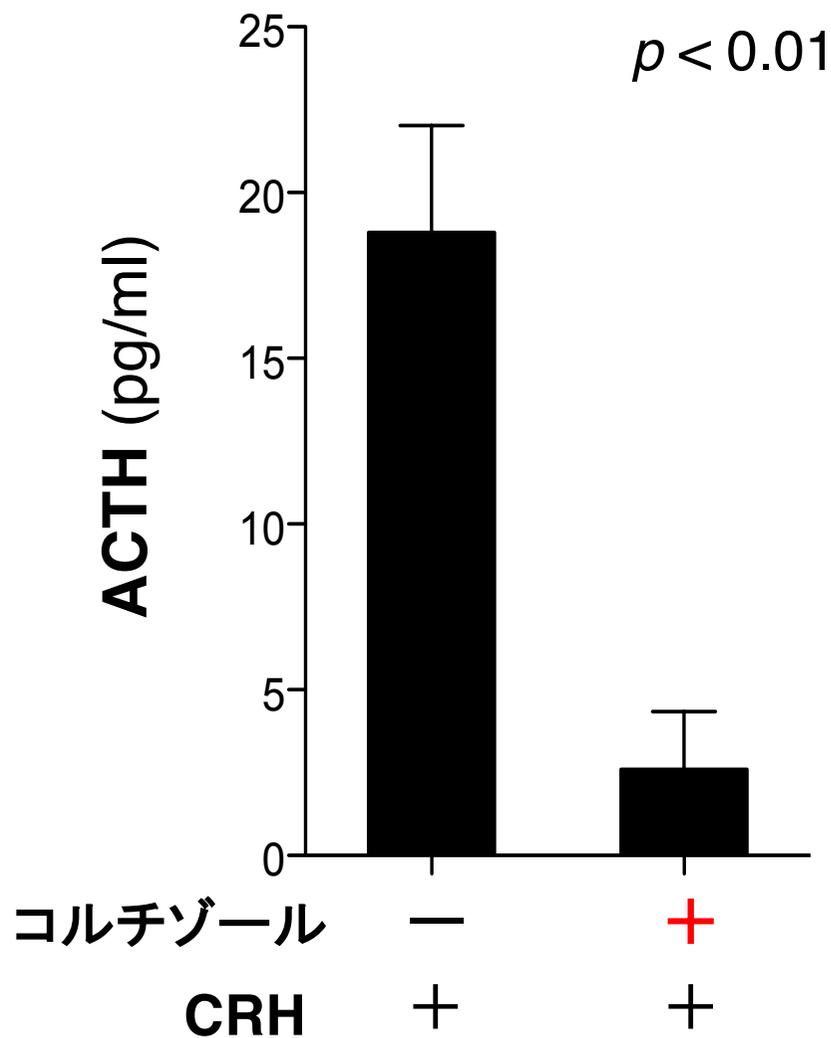
ACTH分泌刺激試験



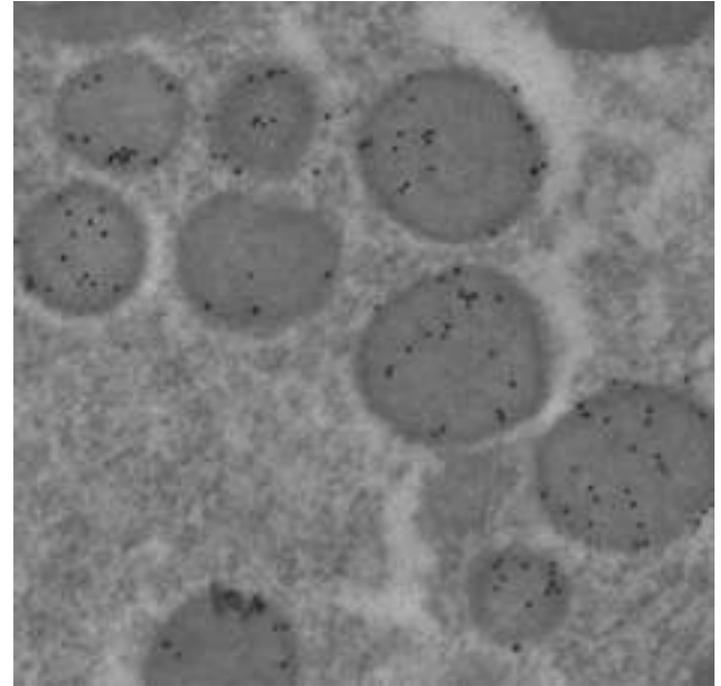
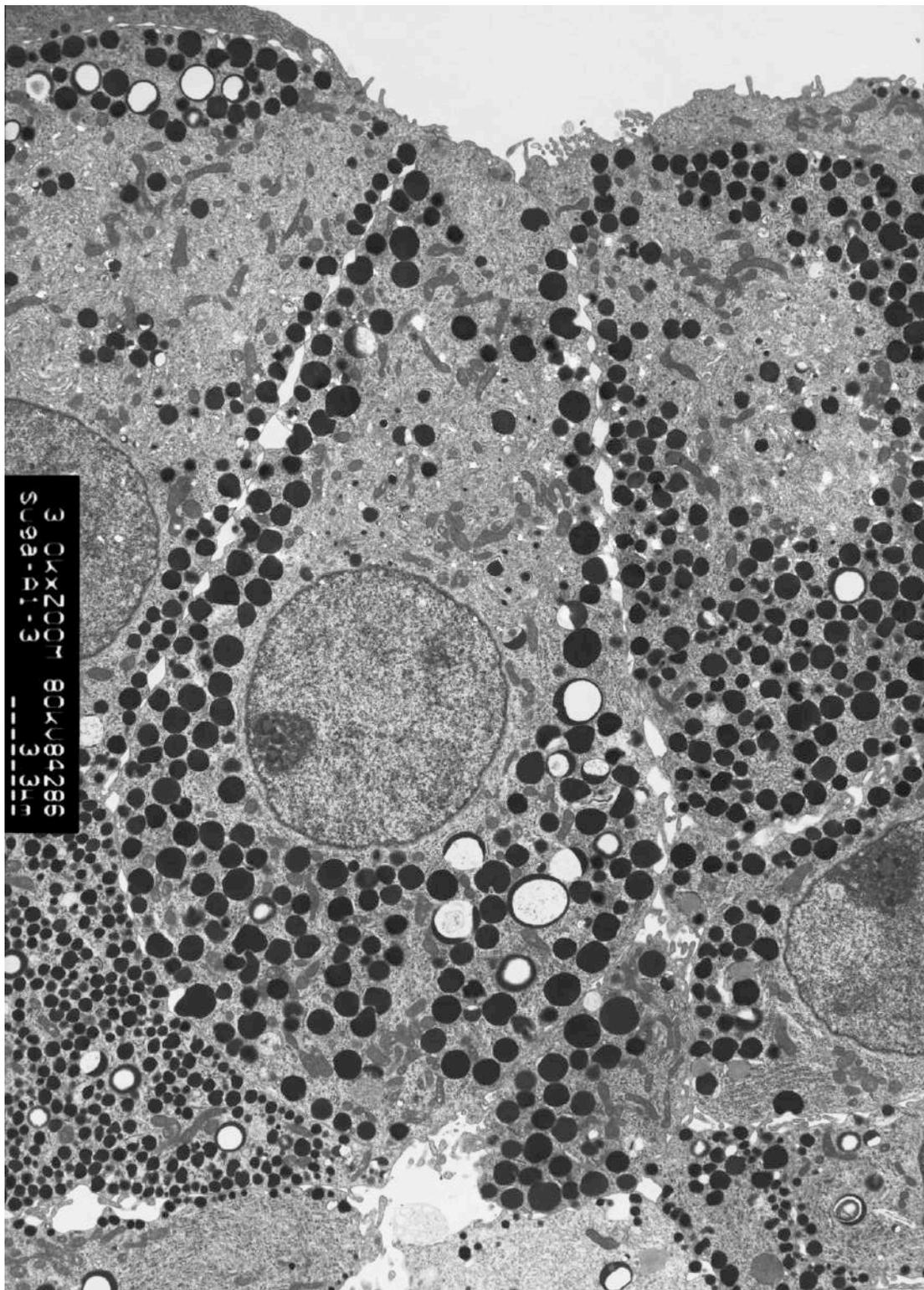
in vitro ホルモン分泌抑制試験にてACTH分泌抑制



ACTH分泌抑制試験

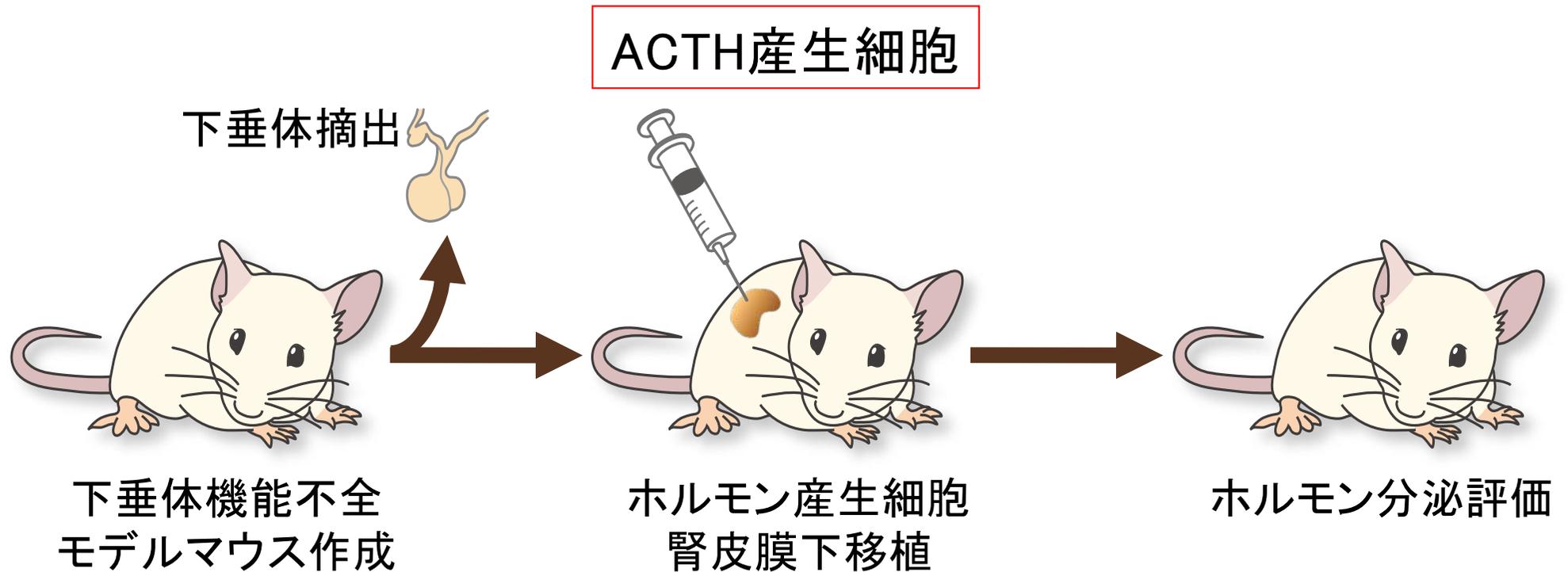


ヒト細胞で、positiveおよびnegative制御を備えたACTH細胞は世界初。



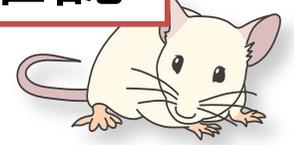
虎の門病院
井下先生による電顕

異所性(腎皮膜下)移植による ホルモン分泌機能評価

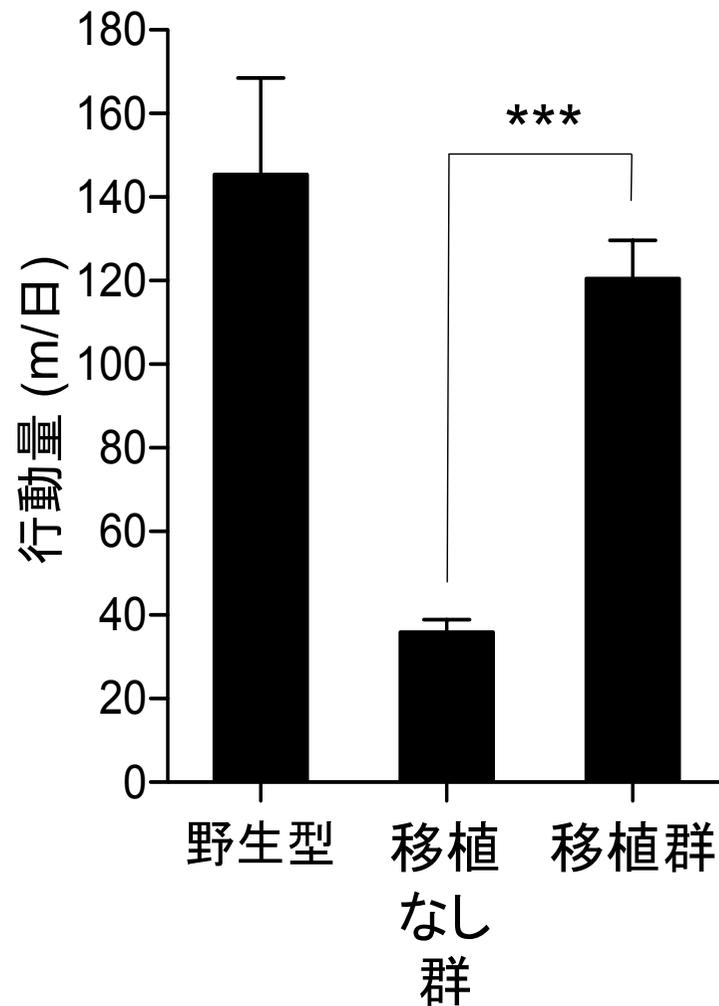


(SCIDマウス)
負荷試験で完全枯渴を確認

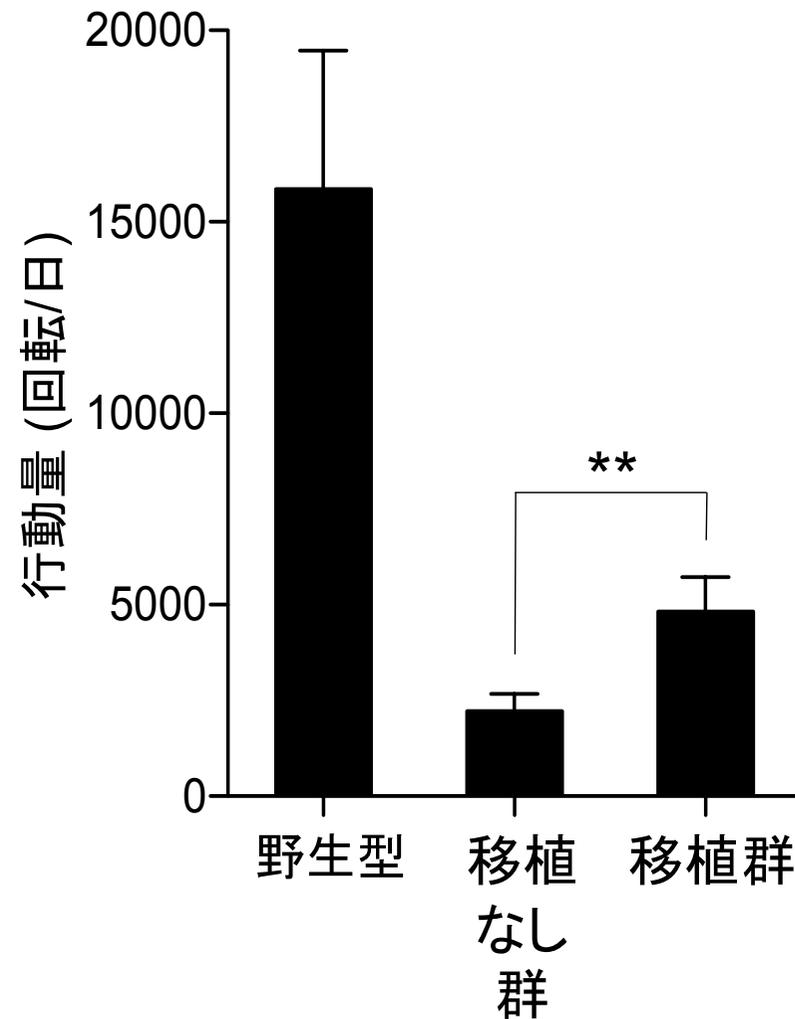
CRH負荷なし状態でも自発運動改善を確認



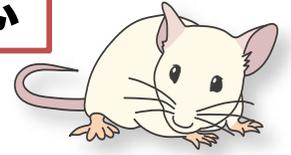
Home-cage activity test



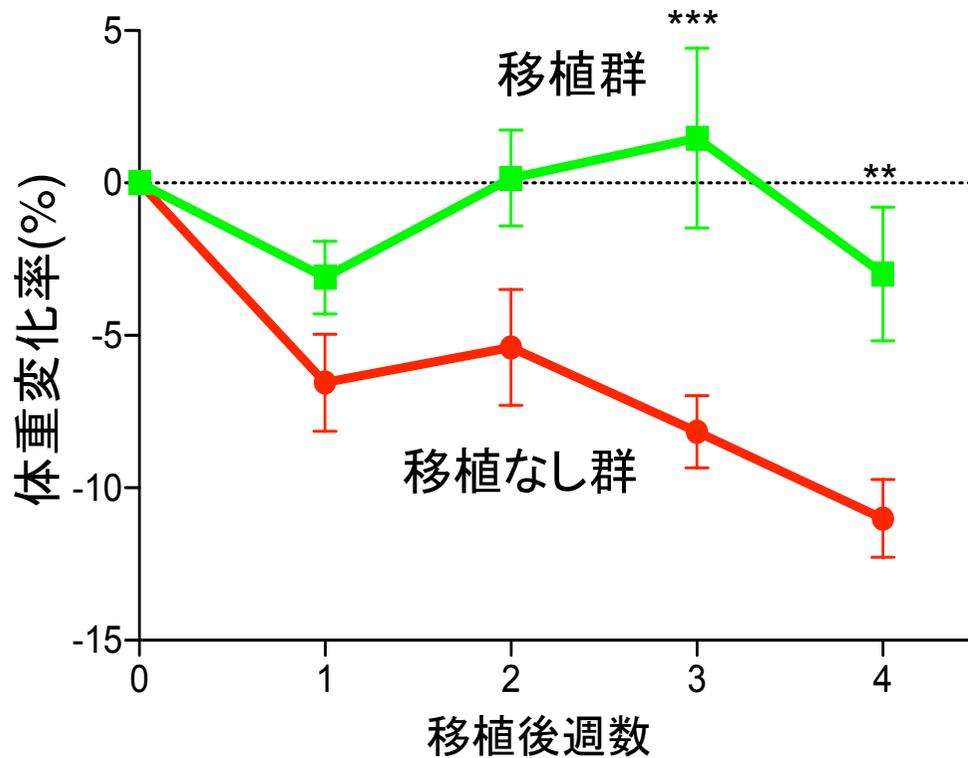
Running-wheel activity test



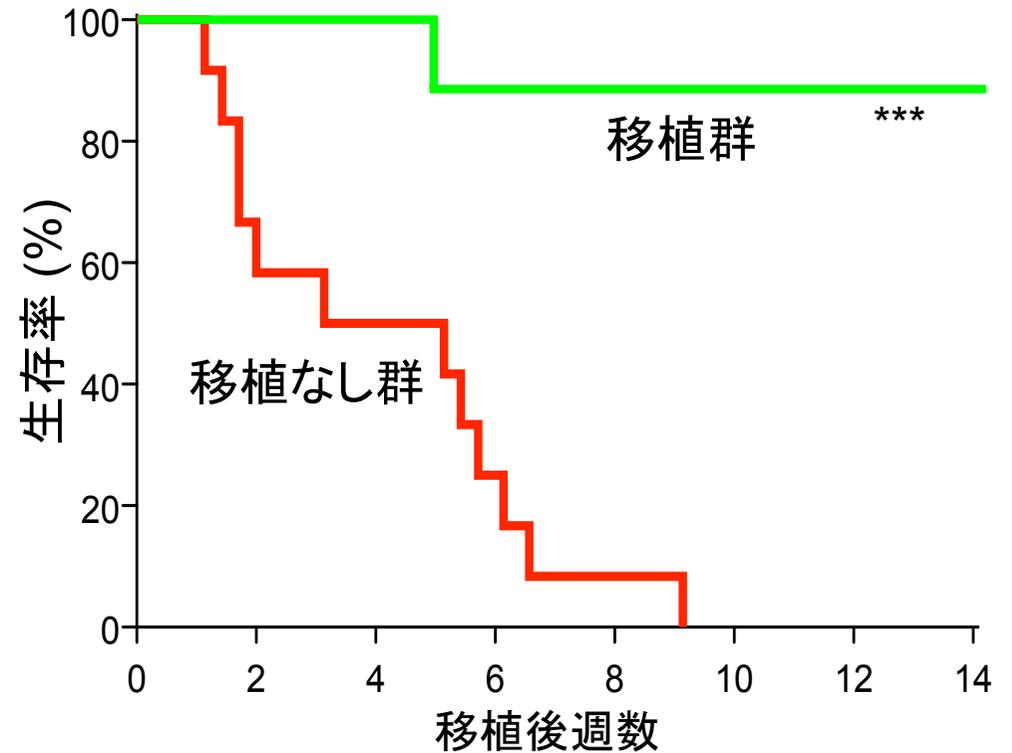
CRH負荷なしで長期予後改善を確認



体重変化率

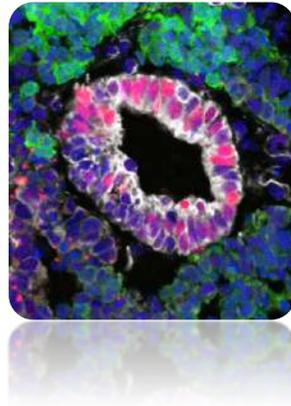


生存曲線

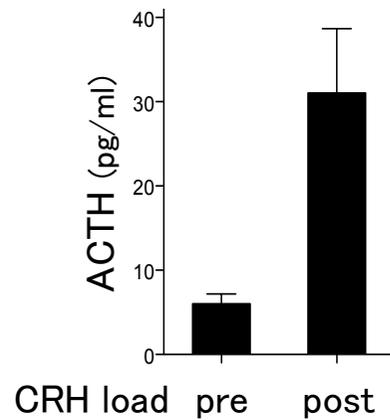


可能になった事

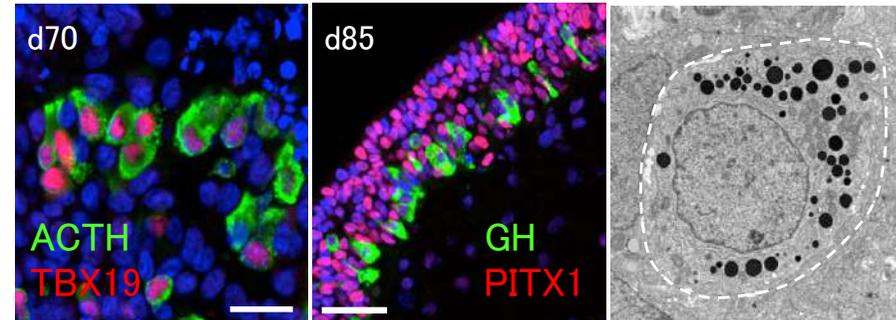
胎児発生と同じ方式で、*in vitro*で
下垂体原基(ラトケ囊)を誘導



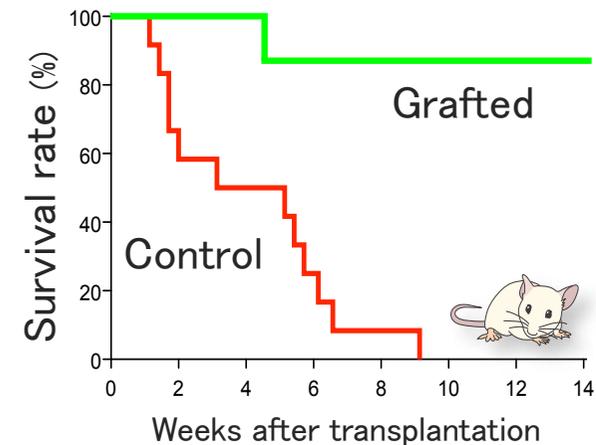
適切にホルモンを分泌



ホルモン産生細胞へ最終分化



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