

# ヒト iPS 細胞から、爪幹細胞を含む 「指先オルガノイド」の分化誘導に成功

## 形成的再生医療実現への第一歩

### 【本件のポイント】

- 初めてヒト iPS 細胞から指先を含むオルガノイドを分化誘導
- 初めてヒト iPS 細胞から機能的な爪幹細胞の分化精製に成功
- 形成的再生医療の実現に向けた第一歩

学校法人関西医科大学（大阪府枚方市 理事長・山下敏夫、学長・木梨達雄）大学院医学研究科イノベーション再生医学の服部文幸研究教授らの研究チームは、爪成分を作る機能を持った爪幹細胞、およびこれを含有する「指先オルガノイド」の作製に成功しました。爪再生および指先再生医療への応用が期待されます。詳しい研究概要は次ページ以降の別添資料をご参照ください。

なお、本研究をまとめた論文が『PLOS ONE』に5月14日（火）米国東部標準時14時（日本時間15日4時）で掲載されました。

### ■ 書誌情報

掲 載 誌	『PLOS ONE』 <a href="https://doi.org/10.1371/journal.pone.0303260">https://doi.org/10.1371/journal.pone.0303260</a>
論文タイトル	Lgr6-expressing functional nail stem-like cells differentiated from human-induced pluripotent stem cells.
筆 者	Yukino Inomata, Nano Kawatani, Hiromi Yamashita, and Fumiyuki Hattori

## 別 添 資 料

### <本研究の背景>

あらゆる年齢のマウスは指の先端を再生できます。ヒトの子供は軟部組織と骨を再生することができます。マウスを用いた研究で、指先端の再生は切断された指の量に依存することが知られており、再生が成功するのは爪を横切る切断の場合のみで、爪母\*1細胞に近い部分で切断すると指先は

### 【本件取材についてのお問合せ】

学校法人 関西医科大学 広報戦略室（佐脇・林）

〒573-1010 大阪府枚方市新町2-5-1

電話：072-804-2128 ファクス：072-804-2638 メール：kmuinfo@hirakata.kmu.ac.jp

**PRESS RELEASE**



再生しません。しかし、大きく切断したマウスの指の先に爪器官を移植すると、末節骨が再生され、指先になることが示されています。爪母細胞は、分泌因子である Wnt を介して指先再生のオーガナイザーとして機能するようです。Wnt シグナル伝達アゴニスト<sup>\*2</sup>である Lgr6 は、爪母細胞を作る爪幹細胞のマーカーです。つまり Wnt シグナルは、爪幹細胞自身と指先再生において重要な役割を果たしていると考えられています。また、マウス iPS 細胞を用いて肢芽<sup>\*3</sup>を分化誘導させた報告があり、本研究では、ヒト iPS 細胞を用いてこの方法を拡張し、指先オルガノイドの作製に結びました。

**<本研究の概要>**

まず、マウスでの報告を参考に、ヒト iPS 細胞から肢芽を作製しました。当初このまま長期間静置培養を行いました。細胞塊が大きく成長できないことが問題でした。そこで、旋回培養を採用し、栄養とガス交換を促進することで、長期間肢芽を培養することが可能となり、結果、細胞塊を直径数ミリまで成長させることができました。

この成長した肢芽の網羅的遺伝子発現解析を行ったところ、形態形成に重要な転写因子であるホメオティック遺伝子の中でも、指先に特異的な HoxD13 が強く発現上昇していました。また、骨形成などに重要な Pitx1、運動神経の発達に重要な EphA4、指の数の決定に重要な SHH、Gli3 など、四肢や指の発生に関連する遺伝子群が強く発現上昇していることも分かりました。さらには、爪を構成するハードケラチン群も軒並み発現上昇していました。爪幹細胞のマーカーである Lgr6 の発現が分化に伴って増加してくることも定量的 PCR により確認しました。免疫染色を用いて、細胞塊の中に、脱核し角質化しつつある、ハードケラチン陽性の細胞集団の存在や、Lgr6 陽性細胞の近傍にハードケラチンの塊が存在することも判明したため、この細胞塊を「指先オルガノイド (Digit Organoid)」と呼ぶことにしました。

さらに、細胞が Lgr6 を発現すると緑色蛍光タンパク質 GFP を発現するように遺伝子導入した iPS 細胞を用いて指先オルガノイドの分化誘導を行うと、緑色蛍光を示す細胞を含むオルガノイドが約 10~30%存在しました。セルソーターを用いて緑色蛍光を示す細胞を濃縮し、細胞塊に再形成した後に、免疫不全マウスの背部皮下に移植しました。移入 20 日後、皮下に小さな塊を確認し、取り出して調査を行うと、宿主側からの血管と血流が存在し、ヒト細胞で構成された部分と宿主細胞で構成された部分とが融合していることが確認できました。免疫染色によって、ヒト細胞で構成された組織部分に Lgr6 陽性の細胞の生存が確認され、近傍にハードケラチンの沈着部分が存在しました。

**【本件取材についてのお問合せ】**

学校法人 関西医科大学 広報戦略室 (佐脇・林)

〒573-1010 大阪府枚方市新町2-5-1

電話：072-804-2128 ファクス：072-804-2638 メール：kmuinfo@hirakata.kmu.ac.jp

<本研究の成果>

ヒト iPS 細胞から、爪成分を作る能力を有する爪幹細胞を作製することに初めて成功しました。この成果は、抗がん剤治療による爪の変性や、生まれつき爪の無い人の治療に役立つ可能性があります。さらに、網羅的な遺伝子発現パターンから、指先の発生を模倣したオルガノイド (Digit Organoid) の作製にも初めて成功しました。この成果は、将来、指先の再生を促進する、新しい「形成的再生医療 (Plastic Regenerative Therapy)」の実現において大きな貢献を果たす可能性があります。

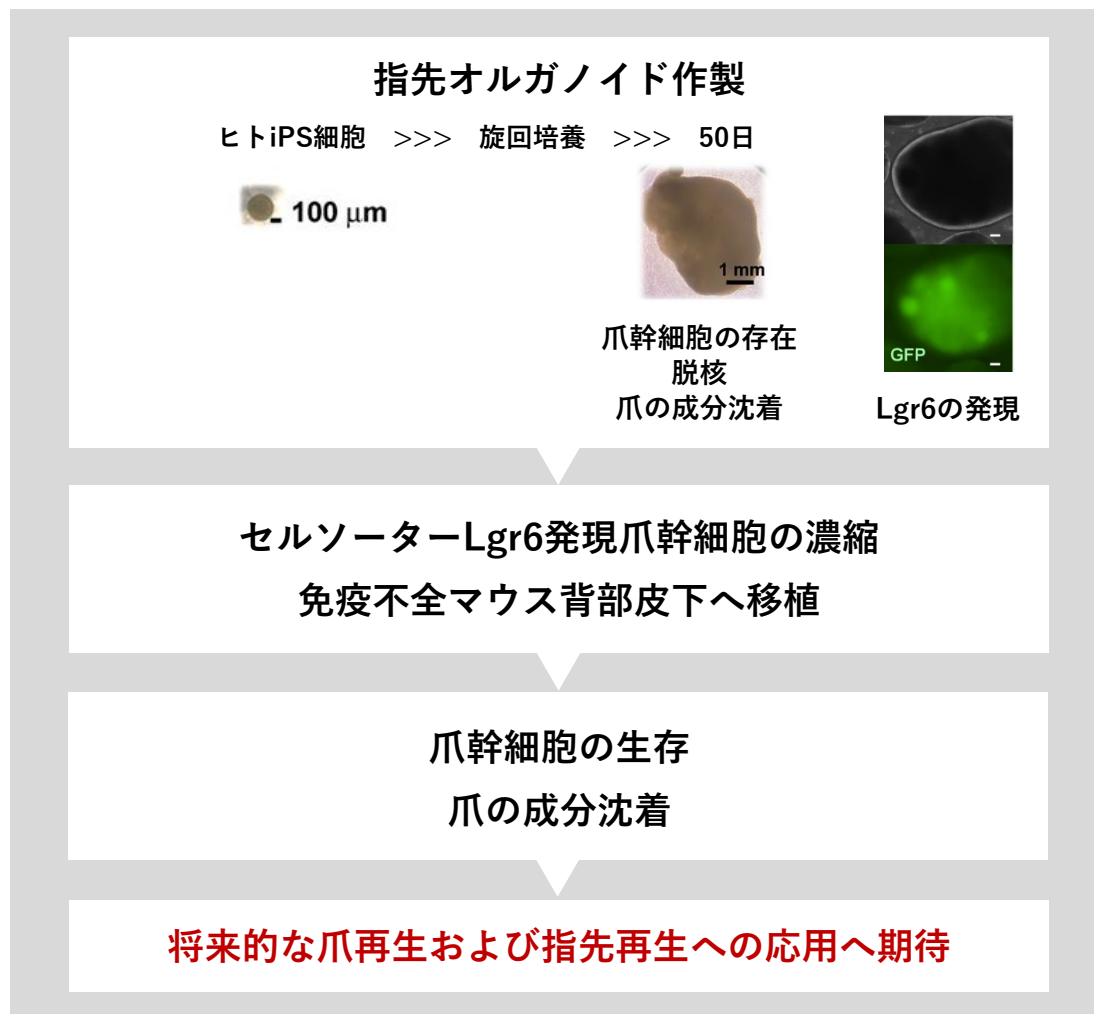


図 本研究成果の概要

【本件取材についてのお問合せ】

学校法人 関西医科大学 広報戦略室 (佐脇・林)

〒573-1010 大阪府枚方市新町2-5-1

電話：072-804-2128 ファクス：072-804-2638 メール：kmuinfo@hirakata.kmu.ac.jp

## 用語解説

### \*1 爪母

爪の付け根にある、爪を作る組織。

### \*2 アゴニスト

受容体に結合することで、その情報を細胞の内部に伝達する物質。

### \*3 肢芽

四肢の元となる胚の構造で、伸長しながら手や指の骨などを形成する。

### <本件研究に関するお問合せ先>

学校法人関西医科大学

大学院 医学研究科 イノベーション再生医学 研究教授

服部 文幸

大阪府枚方市新町 2-5-1

TEL：072-804-0101

E-mail：hattorif@hirakata.kmu.ac.jp

### 【本件取材についてのお問合せ】

学校法人 関西医科大学 広報戦略室（佐脇・林）

〒573-1010 大阪府枚方市新町2-5-1

電話：072-804-2128 ファクス：072-804-2638 メール：kmuinfo@hirakata.kmu.ac.jp