

成体イモリがみせる網膜再生の原理を適用した新規 RPE 培養法の開発

松永 杏樹 (筑波大学 生物学類) 指導教員: 千葉 親文 (筑波大学 生命環境系)

背景と目的

視覚は、脊椎動物の重要なモダリティの一つである。多くの動物の生存は視覚に依存しており、ヒトもまた、外界から得る情報の約 9 割を視覚に頼っている。この視覚機能において、光子の受容および初期情報処理という重要な役割を担っているのが網膜である。網膜の損傷や変性は、様々な網膜疾患および失明の原因となる。

近年、iPS 細胞から作製した神経上皮の袋から立体的な神経性網膜を作製し、これを網膜疾患患者に移植することで視覚機能の再建を目指す研究が進んでいる。この神経性網膜の端 (すなわち毛様体辺縁部) には、眼発生時と同様に網膜幹細胞が存在することから、培養条件下で成長 (面積を拡大) させることができる。しかし、シート状でしかも眼球内を覆う広い面積の網膜を作製するのは簡単ではない。一方、成体イモリは、眼球から神経性網膜をすべて失っても、約 2 ヶ月で網膜色素上皮 (RPE) から完全な網膜を再生する。すなわち、眼球内を覆う網膜を短期間につくりだすことができる。本研究室では、イモリがどのような原理で広い面積の網膜組織を同期的に構築できるのか研究してきた。

成体イモリの RPE 細胞は、神経性網膜を失うとすぐに上皮-間葉転換に似た (EMT-like) 行動を示す。この過程で、RPE 細胞はユニークな多能性細胞 (RPE stem cell: RPESC) にリプログラムされる。RPESCs は 2 集団に分離され、それぞれは基底膜 (ブルックス膜) 沿って内外 2 層の細胞層を形成する。間葉-上皮転換に似た (MET-like) 過程と増殖を経て、内層 (pro-NR) は神経性網膜を、外層 (pro-RPE) は RPE 自身を再生する。このようにイモリは、小さな網膜をつくってそれを成長させるのではなく、眼球内を覆う基底膜上に RPESCs を均一に配置することで、必要な面積の網膜を同期的に構築している。

もし、この原理がヒトの組織工学に適用できれば、どのような面積の網膜組織も培養下でつくりだすことが可能である。しかも、作製時間が面積に依存しないため、より効率的な立体網膜作製法になるかもしれない。しかし、そのためには、ヒト・哺乳類 RPE の前に、まず *in vivo* で網膜を再生する能力のあるイモリ RPE を用いて、それぞれの再生の段階を再現する培養条件を明らかにする必要がある。

そこで本研究では、その基礎として、*in vitro* で RPE 細胞を RPESC に転換させる条件を検討した。

方法と結果

成体アカハライモリ (*Cynops pyrrhogaster*) の正常眼球から RPE 細胞を単離し、様々な条件で培養を行った。

詳しい方法と結果については、発表会の場で報告させていただきます。

展望

RPE 細胞から立体網膜を作製する培養法をイモリで確立することができれば、iPS 細胞由来の RPE シートを出発材料にすることで、ヒトへの応用が可能である。勿論、このシステムはイモリ網膜再生のメカニズムを解明する強力なツールにもなり得る。