

# 非下垂体細胞から下垂体前葉ホルモンを創り出す技術の検証

鳥取大学農学部・講師 樋口 雅司

## ■ 目的

牛の受胎率低下の原因の一つに対象動物に最適なホルモン製剤がないことが挙げられるが、現在、機能的かつ免疫学的に問題のないオーダーメイドのホルモン製剤を大量に創る技術は存在しない。神経堤(neural crest, NC)細胞は神経管形成に伴い出現する移動能をもつ多能性幹細胞であり、各組織に侵入してその組織特有の幹細胞として定着する。一方、NC由来の幹細胞は起源が共通であることから、NC由来の歯髄幹細胞から神経細胞など別組織の細胞が構築できることも報告されており、再生医療における細胞源としても注目されている。最近、我々は転写因子 Paired-related homeobox 1 (*Prrx1*)を指標に、外胚葉起源とされてきた下垂体にもNC由来の幹・前駆細胞が存在することを明らかにした。従って、オーダーメイドのホルモン製剤開発にも非下垂体のNC由来細胞が利用できる可能性がある。そこで本研究では、*Prrx1*-EGFPトランスジェニック(TG)マウスを用いて下垂体および毛包におけるNC由来細胞を分離し、その類似性と分化能を検証した。

## ■ 方法

*Prrx1*-EGFP TGマウス胎齢18.5日(E18.5)、出生後20日齢(P20)の下垂体および成熟個体の毛包においてEGFP(PRRX1)および幹細胞マーカーSOX2の免疫組織化学を行った。次に、EGFP/SOX2二重陽性細胞を分離するため、NC細胞のみを増殖させることが可能なgrowth or sphere(GS)培地を用いて下垂体前葉細胞および毛包バルジ領域を2次元培養した。前者は7-12日間、後者は36日間培養した後、定量PCRおよび免疫細胞化学によりそれらの性質を解析した。

## ■ 結果および考察

免疫組織化学の結果、E18.5およびP20下垂体における一部のEGFP陽性細胞がSOX2陽性であることがわかった。また、毛包バルジ領域にも同様の細胞が少数ながら認められた。下垂体前葉細胞および毛包バルジ領域の2次元培養を行ったところ、どちらも線維芽細胞様の細胞が増殖した。また、下垂体前葉ホルモンやケラチノサイトならびにメラノサイトなどの分化マーカー遺伝子の発現が検出限界以下に低下した。一方、幹・前駆細胞マーカー(*Prrx1*および*Sox2*)およびNC細胞マーカー(*Nes*)遺伝子の発現量は培養後の細胞において顕著に高かった。加えて、下垂体前葉細胞は7日間、バルジ領域は36日間の培養でEGFP/SOX2二重陽性細胞の割合がほぼ100%になった。興味深いことに、NC由来毛包幹細胞をさらに培養すると下垂体前葉ホルモン遺伝子の1つ*Lhb*が検出された。これらの結果は、NC由来毛包幹細胞がNC由来下垂体幹・前駆細胞と似た性質をもつことを示唆する。

## ■ 結語

NC由来下垂体幹・前駆細胞および毛包幹細胞の分離に成功した。また、NC由来毛包幹細胞が下垂体前葉ホルモン産生細胞に分化する可能性を示した。今後、バルジ領域から分離したNC由来毛包幹細胞を効率良く下垂体細胞に分化誘導するメカニズムの解明が期待される。