

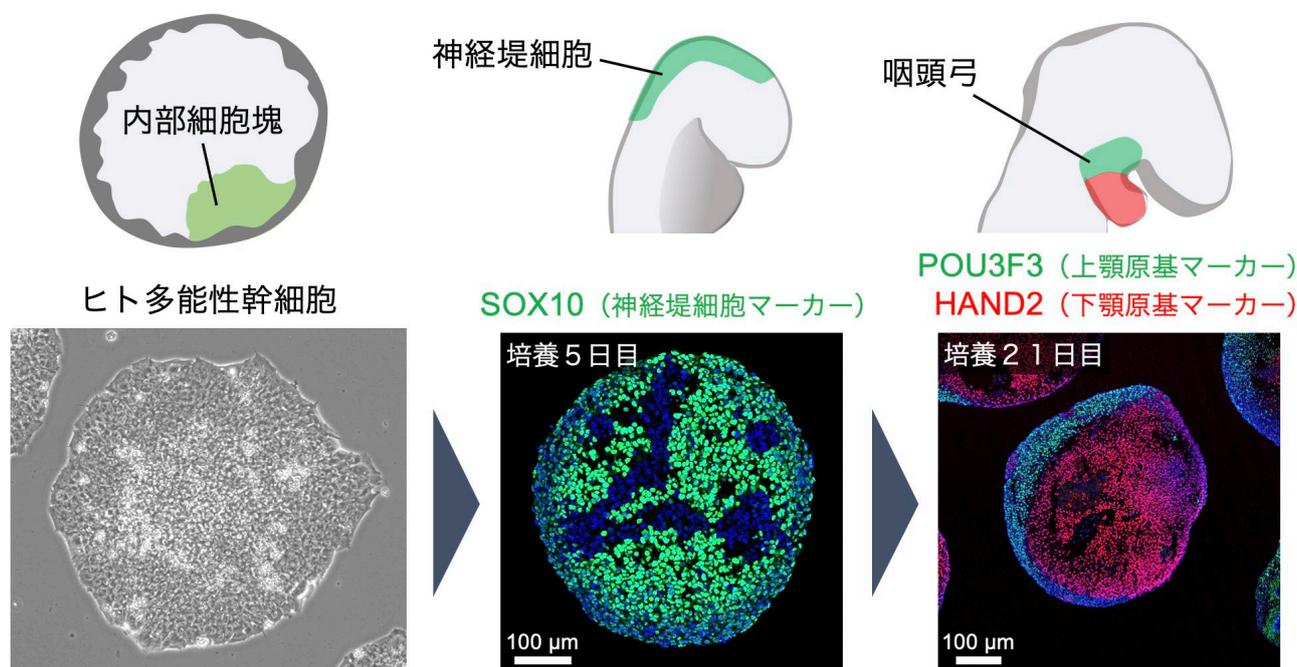
# ヒト ES 細胞から咽頭弓様の構造を形成 —顔の初期発生過程の解明の為のモデルを作製—

## 概要

動物の顔は非常に複雑な形をしています。その大部分の形成は発生過程で一過的に現れる神経堤細胞（注1）と呼ばれる多分化能を持った細胞の集団に由来しています。咽頭弓（注2）と呼ばれる顔の原基（注3）の内部における神経堤細胞の初期の細胞分化と空間パターン形成はその後の顔の適切な構造形成に重要だと考えられますが、発生の早い時期に生じる現象である為、詳細な分子メカニズムの解析には技術的な難しさがありました。

京都大学医生物学研究所 瀬戸裕介 助教（研究当時）、永樂元次 同教授、荻原龍馬 京都大学工学研究科高分子化学専攻修士課程学生らの研究グループは、ヒト多能性幹細胞（注4）から神経堤細胞を多く含む細胞凝集体を作製し、それを咽頭弓様の遺伝子発現パターンを有する細胞集団へと分化（注5）させる手法を確立しました。同細胞集団は、培養時に与えるシグナルに応じて将来の上顎・下顎原基様の細胞へと分化し、また一時的な下顎原基誘導シグナルの添加に応じて自発的にパターン形成をすることが明らかとなりました。本技術を活用することにより、ヒト咽頭級の初期パターンニングの制御機構を解明につながることを期待できます。

本成果は、2024年2月14日に国際学術誌「*Nature Communications*」にオンライン掲載されました。



内部細胞塊と同様に多能性を有するヒト多能性幹細胞の凝集体から、神経堤細胞が誘導できる。その凝集体を継続培養することにより、上顎・下顎原基様の細胞を誘導することができる。

## 1. 背景

動物の顔は、発生の過程において顔の原基内で起きる環境因子の作用と細胞間相互作用によって形成される複雑な組織です。顔の構造の種間差や個人差を生み出す要因となる発生過程の違いを明らかにすることは基礎研究における一課題であるとともに、顔の組織の形成不全などの原因の解明などにもつながります。しかしながら、顔の発生は個体発生の早い時期に始まるため、その初期の過程を詳細に調べることには技術的な難易度の高さがありました。そこで我々は、様々な細胞へと分化できるヒト多能性幹細胞の性質を利用し、顔の原基である咽頭弓に類似した組織を試験管内で作製することにより、顔の初期発生について研究する為のモデルを確立することを目指しました。

## 2. 研究手法・成果

我々はまず、未分化なヒト多能性幹細胞からなる細胞凝集体を、咽頭弓を構成する主要な細胞である神経堤細胞を豊富に含む状態へと分化させる方法を探索しました。その結果、培養開始から5日で、約7割の細胞が神経堤細胞へと分化する培養方法を発見しました。さらに、その細胞凝集体に様々な因子を添加し長期的に培養することにより、咽頭弓の細胞と類似した遺伝子発現パターンを示す細胞集団へと分化させる条件を探索したところ、誘導した細胞凝集体は基本的には将来上顎を形成する上顎弓に類似した細胞集団へと分化する能力を有していること、実際の発生過程において下顎の分化に必要なシグナル因子を添加することで、下顎の原基である下顎弓に類似した細胞集団へと分化可能であることを見出しました。また、下顎弓への分化を誘導するシグナル因子を培地中に一時的に添加することにより、ひとつの細胞凝集体の中に上顎弓・下顎弓に類似した細胞集団を同時に誘導することができることを明らかにしました。興味深いことに、これらの細胞集団は凝集体内で交わることがなく、お互いに独立したコンパートメントを形成し、凝集体内でのパターンニング（領域分け）が起きていました。この現象は、顔の初期発生過程で生じる上顎原基と下顎原基のパターンニングを再現している可能性があり、その詳細な分子メカニズムの解析により、顔の初期発生過程の解明につながる可能性があります。

## 3. 波及効果、今後の予定

本研究で開発したモデルを利用することで、顔の原基の初期パターンニングを制御する細胞間相互作用を解析することができる可能性があります。また、顔原基の発生を制御している環境中の様々なシグナル因子の情報がどのように統御され、上顎弓や下顎弓といった性質の異なる細胞が誘導されているのかはまだ完全には明らかになっていませんが、本研究の手法では、外部からのシグナル因子の添加によりこの分化過程を再現することができるため、顔原基の細胞の分化メカニズムの詳細な理解と制御につながる可能性があります。それにより、新たな再生医療の細胞材料の開発などに発展していくことも期待できます。

## 4. 研究プロジェクトについて

本研究は、科学研究費助成事業（16H06480, 23H04933）および JST 戦略的創造研究推進事業 CREST (JPMJCR1922) の支援を受けて実施されました。

### <用語解説>

注1 神経堤細胞：表皮や神経などと同じ外胚葉に由来する細胞の一種。骨や軟骨細胞、神経細胞など様々な細胞に分化する能力を有しており、顔の形成にも大きく寄与する。

注2 咽頭弓：胎生期において咽頭部に一時的に形成される分節状の構造で、様々な器官へと分化する。そのうち、第1咽頭弓と呼ばれる部分はさらに上顎弓と下顎弓に分けられ、それぞれ上顎・下顎を形成する。

注3 原基：個体発生の過程で生じる、特定の組織・臓器のもととなる細胞集団によって作り出される構造。

注4 ヒト多能性幹細胞：三胚葉への分化能を有するヒトの細胞。ES細胞（胚性幹細胞）やiPS細胞（人工多能性幹細胞）などのこと。

注5 分化：細胞が特定の機能や形態を持った状態に変化すること。

#### <研究者のコメント>

試験管内で細胞の性質を解析することを通じて生き物の発生過程についての考察を深めていくことは、基礎生命科学の発展はもとより、発生過程に端を発する疾患の病態形成過程の解明などにもつながっていく可能性があります。そういった意味で、新規の試験管内組織モデルの作製は、新たな発見を生み出していくための原動力となる重要な課題のひとつだと思います。（瀬戸裕介）

#### <論文タイトルと著者>

タイトル：*In vitro* induction of patterned branchial arch-like aggregate from human pluripotent stem cells.  
(試験管内におけるヒト多能性幹細胞からのパターンニングされた咽頭弓様凝集体の誘導)

著者：Yusuke Seto, Ryoma Ogihara, Kaori Takizawa, Mototsugu Eiraku

掲載誌：*Nature Communications* DOI：10.1038/s41467-024-45285-0