

ヒト子宮における幹細胞

丸山 哲夫

慶應義塾大学医学部産婦人科学教室

はじめに

幹細胞は、1) 未分化性、2) 複数の系統の細胞に分化しうる能力、3) 自己複製・自己再生する能力、といった特性を有する細胞と定義される。胚盤胞の内細胞塊由来である胚性幹細胞 (embryonic stem cell, ESC) は、理論上ほぼあらゆる細胞へ分化するだけでなく、ほぼ無限に増殖する能力を有する点で、幹細胞の代表である。近年、成体細胞に4つの因子 (Oct 3/4, Sox 2, Klf 4, cMyc) を導入することにより、ES細胞様のポテンシャルを有する細胞を作成することが可能となり [1, 2]、人工多能性幹細胞 (induced pluripotent stem cell, iPSC) として、さまざまな医薬生物学分野に革命的影響を及ぼしている。一方、人工的に作られる上記のESCやiPSCと異なり、生体内で自然に存在する幹細胞として、完成した個体 (成体) 由来である成体幹細胞 (adult stem cell; 体性幹細胞, somatic stem cell; 組織幹細胞, tissue-specific stem cell) がある。

成体幹細胞

成体幹細胞は、成体のさまざまな組織や臓器に存在する未分化な細胞であり、通常は静止状態にある一方、さまざまな細胞を作る能力 (多分化能) と本来の自己の組織を作る能力 (自己組織構築能) を通じて、それぞれの組織・臓器の新生・再生や損傷に対する組織修復の役割を担っている。作製・樹立に際して、1) 倫理的問題が少ない、2) 遺伝子操作などの人工的操作がほとんど必要ない、といった点に加えて、3) 体性幹細胞由来細胞・組織は自己であるので免疫拒絶は起きない、などの利点がある。一方、問題点としては、体性幹細胞は一般にきわめて少数しか採取できず、さらに、それらを維持培養・増殖することが難しい点である。

近年、さまざまな組織・臓器における成体幹細胞の存

在が明らかになってきた。子宮も例外でなく、子宮の構成要素である子宮内膜や子宮平滑筋において、成体幹細胞の存在が報告されている [3-5]。子宮内膜は、増殖・分化・組織崩壊という月経周期性の構造および機能変化を延々と繰り返す。このユニークな組織特性から、周期的・生理的な組織破壊 (月経) に対応する能動的な幹細胞システムと強力な再生能・組織構築能の存在が強く示唆される。一方、妊娠に伴う子宮の劇的な増大に、子宮平滑筋の増殖と肥大が貢献していることが知られている [6]。約30年に及ぶ生殖期間を通じて妊娠・分娩を何度も反復することが可能であることから、子宮平滑筋においても特有の幹細胞システムの存在が示唆される。

本稿では、最近のわれわれの研究成果も交えて、ヒト子宮内膜幹細胞およびヒト子宮筋幹細胞についての知見を概説する。

子宮内膜幹細胞

ヒト子宮内膜は、長期間にわたって再生を繰り返すことが可能な高い再生能力を有している。また、最近開発したわれわれの内膜再生モデルでは、ごく少数の分散内膜細胞から機能的内膜組織を再構築することが可能であった [7]。以上の特性より、内膜幹細胞の存在が示唆される。Gargettの総説では、子宮、特に子宮内膜に組織幹細胞が存在することを支持する多くのエビデンスが述べられている [3]。例えば、①ヒト子宮内膜細胞のなかには、増殖能力が高くかつ異なる細胞集落 (コロニー) を形成する2つの細胞集団 (おそらく幹細胞とtransient amplifying細胞) が存在する、②細胞分裂に伴うエピジェネティックなエラーの頻度から、内膜腺管における幹細胞システムの存在が強く示唆される、③内膜を外科的にほぼ完全に除去しても内膜は再生する、④内膜から骨、軟骨、あるいは平滑筋などさまざまな組織が作られる (多分化能)、⑤ヒト内膜腺管はそれぞれがモノクローナルである、などである [3]。ここで、われわれの内膜幹細胞に関する研究を簡単に紹介する。

近年、DNA染色色素 (Hoechst33342) を排泄する能力の高い細胞がさまざまな組織に存在し、それらは side

連絡先: 丸山 哲夫, 慶應義塾大学医学部産婦人科学教室
〒160-8582 東京都新宿区信濃町35
TEL: 03-3353-1211 (代表)
FAX: 03-5363-3578
E-mail: tetsuo@sc.itc.keio.ac.jp

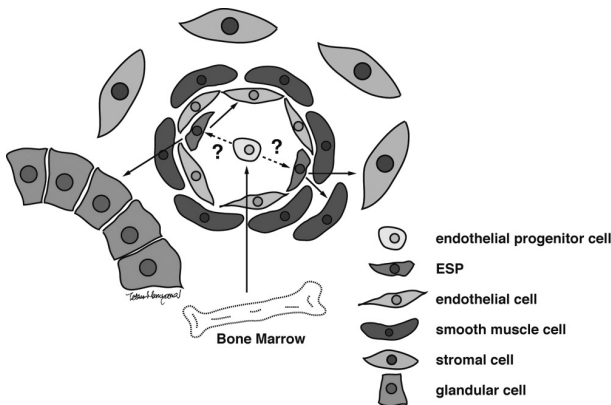


図1 子宮内膜 SP 細胞による内膜再生と内膜症の発生 (仮説)
(文献 [9] より引用)

population 細胞 (SP 細胞) と呼ばれ、高い組織幹細胞活性を有することが明らかになってきた [8]。この排泄能を担う分子の 1 つに ABCG 2 (ATP-binding cassette sub-family G member 2) という細胞膜 transporter があり、実際に SP 細胞には ABCG 2 が強く発現している [8]。そこで、ヒト子宮内膜について同様の検討を行ったところ、確かに内膜細胞にも SP 分画が存在し、重度免疫不全マウスの腎被膜下に SP を移植したところ、SP 移植部位には腺管構造を伴う内膜様組織の再構築が認められた [9]。さらに、non-SP に比べて SP 移植の方が、内膜組織の各コンポーネントより成る多様な組織 (血管や間質など) が構築された [9]。In vitro においても、内膜 SP は、腺上皮、間質、血管内皮、および平滑筋 (unpublished observation) の各細胞を生成するのに対して、内膜 non-SP は間質のみを生成した [9]。われわれの結果と一部異なるが、これまでの報告でも、内膜 SP 細胞は内膜幹様細胞であるとしている [10, 11]。興味深いことに、われわれの内膜 SP は、発現遺伝子、表面マーカーおよび in vivo での構築組織パターンから、血管内皮様の性格を有していた [9]。また、内膜 SP を包含する ABCG 2 陽性細胞は血管内皮に局在しており、さらにその組織分布は、内膜組織に一樣に分布していた [9]。換言すれば、内膜幹細胞特性を有する内膜 SP は、基底層のみならず機能層にも万遍なく存在する可能性が高い。これまで、基底層に存在する内膜幹細胞から新しい内膜細胞が作られて機能層が構築される、と信じられていたが [12]、そのパラダイムを再考する必要があるかもしれない。

内膜 SP 細胞が、血管内皮様の性格とともに内膜幹細胞/前駆細胞様の特性を有することから、内膜 SP 細胞は血管内皮前駆細胞 (endothelial progenitor cell, EPC)

に類似している、という仮説を立てることも可能である (図 1) [9]。EPC の由来は骨髄であるので、われわれの仮説は、内膜の少なくとも一部の細胞は骨髄由来であるという報告 [13, 14] と矛盾しない。現在、この仮説を検証すべく作業を進めている。

子宮平滑筋

子宮は妊娠・分娩時に著明な増大を示し、それが妊娠毎に繰り返されるユニークな臓器特性を有する。その主な構成組織である子宮筋では、妊娠すると、細胞肥大と細胞増殖が著明となる [6]。以上から、子宮平滑筋における組織幹細胞の存在が示唆されるので、われわれは、内膜幹細胞と同様に、SP 法により子宮筋幹細胞の同定と分離を試みた [15]。その結果、子宮筋にも SP 分画 (myometrial SP, myoSP) が存在し、myoSP 以外の子宮筋細胞の大部分を占める main population (myoMP) とは異なり、myoSP は、1) 未分化状態、2) 多分化能、3) 自己組織構築能、といった組織幹細胞特性を有することから、子宮筋において、myoSP を中心とする幹細胞システムの存在が示唆された [15]。

最近、Harvard 大学のグループが、子宮筋腫における SP 細胞を解析した [16]。それによると、正常子宮筋に比べて子宮筋腫では SP 細胞の比率が有意に少なく、正常子宮筋より子宮筋腫の細胞はより分化していた [16]。これについてはいくつかの解釈が可能であるが、その 1 つとして、腫瘍幹細胞の観点から、SP 細胞よりさらに平滑筋へと分化した細胞に何らかの変化が起きて筋腫化し、それが expansion して筋腫結節を形成したのかもしれない。筋腫発生における子宮筋幹細胞の役割については、今後の研究が待たれるところである。

同グループは、以前よりマウス子宮筋に組織幹 (前駆) 細胞が存在することを報告している [17, 18]。彼らは、Cre-loxP システムを用いて Müller 管特異的に β -catenin の遺伝子を欠失させたマウスを作成し、子宮筋組織が脂肪組織に置換することを明らかにした [17]。このことから、 β -catenin は、子宮筋幹 (前駆) 細胞の脂肪への分化を抑えるとともに、子宮筋分化への方向付けに重要であると彼らは主張している。さらにその後の報告で、マウス子宮筋にも SP が存在し、それは Müller 管特異的プロモーターを作用させ得るポテンシャルを有していた。マウス子宮筋 SP は、Müller 管間質由来の未熟細胞であり、組織幹 (前駆) 細胞にきわめて近い細胞集団であるとしている [18]。

SP 法では、Hoechst 染色の至適条件が細胞の種類に

よって異なる。さらに、実験条件や細胞の状態によって SP 分画の細胞組成も変動する。このように、色素の排泄能力を指標にする SP 法の限界を鑑みると、表面マーカーを用いる幹細胞の純化法が望まれる。われわれは最近、いくつかの表面マーカーを組み合わせて子宮筋 SP 分画を最も多く含む細胞集団を選別することに成功した (投稿準備中)。この細胞集団は、子宮筋 SP と同様に、多分化能や自己組織構築能を有することが明らかになった。

おわりに

本稿では、われわれの研究成果も含めて、ヒト子宮の幹細胞に関する現在の知見の一部を紹介した。子宮関連の幹細胞研究の目標の1つとして、他のさまざまな臓器・組織と同様に、幹細胞を用いた子宮関連組織・細胞の再生・再建医療の実現が挙げられる。しかし、現実性と重要性の観点からは、幹細胞からのアプローチにより、ヒト子宮の発生・分化・修復の機構や子宮疾患の病理メカニズムが明らかになることを期待したい。その成果は、幹細胞システムを標的とする子宮関連疾患に対する新しい治療法や創薬の開発につながると考えられる。

引用文献

1. Takahashi K, Yamanaka S (2006) Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell* 126, 663-676.
2. Takahashi K, Tanabe K, Ohnuki M, Narita M, Ichisaka T et al. (2007) Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. *Cell* 131, 861-872.
3. Gargett CE (2007) Uterine stem cells: what is the evidence? *Hum Reprod Update* 13, 87-101.
4. Ono M, Maruyama T, Yoshimura Y (2008) Regeneration and adult stem cells in the human female reproductive tract. *Stem Cells and Cloning: Advances and Applications* 1, 23-29.
5. Maruyama T (2010) Stem/progenitor cells and the regeneration potentials in the human uterus. *Reprod Med Biol* 9, 9-16.
6. Ramsey EM (1994) Anatomy of the human uterus. In: Chard T, Grudzinskas JG (eds). *The Uterus*. Cambridge: Cambridge University Press, pp.18-40.
7. Masuda H, Maruyama T, Hiratsu E, Yamane J, Iwanami A et al. (2007) Noninvasive and real-time assessment of re-constructed functional human endometrium in NOD/SCID/ γ^c ^{null} immunodeficient mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 104, 1925-1930.
8. Goodell MA, Brose K, Paradis G, Conner AS, Mulligan RC (1996) Isolation and functional properties of murine hematopoietic stem cells that are replicating in vivo. *J Exp Med* 183, 1797-1806.
9. Masuda H, Matsuzaki Y, Hiratsu E, Ono M, Nagashima T et al. (2010) Stem cell-like properties of the endometrial side population: implication in endometrial regeneration. *PLoS ONE* 5, e10387.
10. Kato K, Yoshimoto M, Kato K, Adachi S, Yamayoshi A et al. (2007) Characterization of side-population cells in human normal endometrium. *Hum Reprod* 22, 1214-1223.
11. Tsuji S, Yoshimoto M, Takahashi K, Noda Y, Nakahata T et al. (2008) Side population cells contribute to the genesis of human endometrium. *Fertil Steril* 90, 1528-1537.
12. Padykula HA (1991) Regeneration in the primate uterus: the role of stem cells. *Ann N Y Acad Sci* 622, 47-56.
13. Taylor HS (2004) Endometrial cells derived from donor stem cells in bone marrow transplant recipients. *Jama* 292, 81-85.
14. Ikoma T, Kyo S, Maida Y, Ozaki S, Takakura M et al. (2009) Bone marrow-derived cells from male donors can compose endometrial glands in female transplant recipients. *Am J Obstet Gynecol* 201, 608 e601-608.
15. Ono M, Maruyama T, Masuda H, Kajitani T, Nagashima T et al. (2007) Side population in human uterine myometrium displays phenotypic and functional characteristics of myometrial stem cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 104, 18700-18705.
16. Chang HL, Senaratne TN, Zhang L, Szotek PP, Stewart E et al. (2010) Uterine leiomyomas exhibit fewer stem/progenitor cell characteristics when compared with corresponding normal myometrium. *Reprod Sci* 17, 158-167.
17. Arango NA, Szotek PP, Manganaro TF, Oliva E, Donahoe PK et al. (2005) Conditional deletion of beta-catenin in the mesenchyme of the developing mouse uterus results in a switch to adipogenesis in the myometrium. *Dev Biol* 288, 276-283.
18. Szotek PP, Chang HL, Zhang L, Preffer F, Dombkowski D et al. (2007) Adult mouse myometrial label-retaining cells divide in response to gonadotropin stimulation. *Stem Cells* 25, 1317-1325.