

特別企画③

iPS細胞研究の現状と課題

[特別企画③]

iPS細胞研究の現状と課題

青井貴之

京都大学iPS細胞研究所基盤技術研究部門

2012年のノーベル医学・生理学賞を中山伸弥博士とジョン・ガードン博士が受賞することが決定した。これに関し、メディアではさまざまな事を、さまざまなニュアンスで伝えているが、授賞理由については原典に当たるのが正しいだろう。ノーベル財団のプレス発表によると、授賞理由は「成熟細胞が初期化され、多能性を持ち得ることの発見に対して」であるとしている。鍵になった論文として、ガードン博士については1962年の「オタマジャクシの小腸上皮から採取した細胞核の発生能力」が、中山博士に関しては「特定因子による胎児および生体マウスの纖維芽細胞培養からの多能性幹細胞誘導」が挙げられている。

多細胞生物を構成する多様な構造や機能を有する細胞は、たった一つの細胞すなわち受精卵に由来する。受精卵や初期胚の細胞がもつ、多様な細胞になれる力が、授賞理由のキーワードの一つである「多能性」である。

生命は、“a Journey toward increasing specialization”であるというのが20世紀に至るまで積み上げられた科学における生命の理解だった。ところが、20世紀半ばを過ぎ、ガードン博士は、オタマジャクシの小腸の細胞核を除未受精卵に移植することにより、カエルの体のすべての細胞になり得るということを実験で示した。これをクローン技術という。97年にはイアン・ウィルムット博士が哺乳類でも、クローン技術によりドリーという羊を誕生させることに成功し、これは大きなニュースになった。すなわち、生命は“round trip journey”であるという理解が、ガードン博士の研究によってなされたのだ。この逆向きの旅路、復路のことをリプログラム(初期化)と呼ばれ、この度の授賞理由のもう一つのキーワ

ードである。

次に、1962年のガードン博士の仕事からiPS細胞誕生までをご紹介したい。多能性を有する受精卵は小さく、細胞の数も少ないため、さまざまなことを解析し、多能性のメカニズムを解明することが困難だった。そこで、受精卵から成熟した細胞に向かう旅路の始まりから少し脇道にそれて、つまり、実験室に持つて皿で培養することで細胞株を樹立することに、1981年にマーティン・エヴァンス博士が成功した。マウスのES細胞(胚性幹細胞)である。この細胞も、受精卵と同じく多能性を有している。さらに、これはそうした性質を保ったまま無限に増殖できる性質すななり自己複製能を持つ。これにより、エヴァンス博士は2007年にノーベル賞を受賞した。受精卵という多能性幹細胞は人類誕生以前から存在していた。しかし、ES細胞誕生により、私たちはそれを実験室で無限に手の中で操り利用することが可能になったという生命科学史上の意義がある。これは、発生生物学や遺伝子工学等に広く応用されている。そして、ES細胞の誕生以降、ES細胞の特性すなわち多能性や自己複製能等の機構に迫る研究が大きく展開した。

そのような研究が展開していた時代に、先述の体細胞クローン技術に加え、多田博士らによりES細胞と体細胞の細胞融合によっても初期化が起こり得ることが分かってきた。しかし、この時点では、ES細胞、あるいは未受精卵が持つ“何か不思議な力”によって初期化が起こるという理解だった。その“何か”というのは何なのか？を突き止めるのが、学問の常套である。

山中らは、ES細胞が持つ“何か”に注目した。そして、その探索に当たり大胆な作業仮説として、

この初期化因子はES細胞で特異的な発現、あるいは重要な働きを持つものではないかという考えの下に、遺伝子工学的に作製したES細胞類似になると印が付くようなノックインマウスの細胞に、遺伝子工学の手法であるレトロウイルスベクターを使用し、候補因子を中細胞に入れてゆくという研究が、高橋らを中心に行われた。そして長い物語を短くすると、マウスの線維芽細胞にOct3/4, Sox2, Klf4, そしてc-Mycという、既知の遺伝子をレトロウイルスを使って四つ同時に入れるだけで、ES細胞にそっくりな細胞、iPS細胞が樹立されたことを報告した。これが2006年の出来事である。

それ以降、iPS細胞は急速に展開した。2007年には、多能性を示す最も厳格な基準である生殖系列への寄与を達成するマウスiPS細胞が報告された。同じ年には、初期化因子の内、癌遺伝子cMycを除く3因子のみを使用することでより安全なiPS細胞も樹立された。同時期に、ヒトiPS細胞樹立も成功した。さらに、肝および胃上皮細胞からのiPS細胞樹立により、iPS細胞は分化系列に入った細胞からの初期化によって生まれることや、初期化因子導入のためのレトロウイルスの染色体上の特定部位への挿入が不要であることが証明された。また、染色体への挿入を伴わない因子導入法によるiPS細胞樹立やcMycのファミリー遺伝子であるL-Myc使用による樹立効率、安全性、多能性の改善といった技術的進展、p53-p21経路による初期化抑制機構の存在の発見などの成果が次々に得られた。

今日における我々の技術開発、研究における課題のキーワードは“多様性”である。現在ではさまざまな細胞から、さまざまな因子、さまざまな遺伝子導入方法でiPS細胞が作製される。すなわち、作製法の多様性がある。そして、作製法の多様性は樹立されたiPS細胞の性質の違いに繋がることが分かっている。したがって、樹立方法の最適化、大きな仕事の一つとなっている。もう一つは、現在の技術では同じ方法で、あるいは1回の実験で作ったiPS細胞であっても株間で性質が違う、性質の多様性があることが分かっている。したがって、最適な細胞株の選抜法の確立は、もうひとつ

の重要な仕事となっている。

関連する研究の一例を紹介する。ヒトiPS細胞から肝細胞への分化特性を多数の株で比較したところ、やはり株間でばらつきがあることが分かった。この時のデータを一見すると、血液から作ったiPS細胞は、皮膚や歯髄から作ったiPS細胞と比べて肝臓になる成績が非常よい、という結論が得られたかに思われた。しかし、各由来細胞種のドナーに偏りがあることに気付き、同一ドナーの皮膚と血液由来のiPS細胞における肝分化特性を比較したところ、由来細胞種よりも、むしろドナーによる差の方が大きかった。この実験から、作製法の最適化に取り組むにあたっては、ドナーの違いの影響を考慮すべきだと事が判った。

肝細胞へと分化させると、株間で大きな違いがみられるが、iPS細胞の状態では非常に似ている。分化誘導には多くの時間や労力、コストを要する事から、iPS細胞の状態で肝分化特性を予測するマーカー、すなわち、肝分化に適したiPS細胞株を選抜する方法の探索を行ったが、現時点では成功していない。他の細胞種への分化特性と相関するマーカー探索も含め、現在多くの労力を費やして研究が進められているところである。

iPS細胞の種々の応用の内、再生医療への応用に関して、平成23年度から開始された再生医療のハイウェイ事業を紹介する。ここに採択された8つの研究課題は、我が国でもっとも有望でかつ進捗している再生医療開発のプロジェクトだといえるだろう。8つのうちの4つはiPS細胞、一つはES細胞である。このプロジェクトの特徴として、4つの課題は2~3年のうちに、他の4つの課題は数年で臨床研究を開始する、との宣言をしているという事がある。再生医療は未来の医療である、という漠とした言い方がなされる事が多いが、このようなスケジュール感で動いているプロジェクトもあるのである。

iPS細胞を用いる再生医療を実現するために、規制上の枠組みの整備も進んでいる。我が国では、薬事法にのっとる治験を経て製品開発へつながる道と、医師法のもとに臨床研究を経て医療技術としての保険収載へ繋がる道がある。いずれに係る指針も、iPS細胞の科学的特性や技術的現状に

即した形での改訂がなされ、現在も、更なる改訂作業が行われている。

iPS細胞の医療への真の貢献のために、関係諸

兄の御指導、ご支援をいただく事を切に願っている。