

6

iPS細胞による再生医療
：総論

Summary

- 患者由来の体細胞に Oct3/4, Sox2, Klf4, c-Myc の 4 つの転写因子を導入する簡便な遺伝子操作によって、無限の増殖能と全身の細胞種への多分化能を有する iPS 細胞が樹立された。
- iPS 細胞の誕生によって、患者自身の iPS 細胞を用いた拒絶反応のない再生医療（細胞療法）や難治性疾患の患者由来 iPS 細胞を用いた疾患モデルの作製とそれを用いた病態解析や治療薬探索が可能となった。そのほかにも、iPS 細胞を用いた薬物毒性評価が研究されている。
- 今後の iPS 細胞研究の課題として、リプログラミング機構の解明、ヒト iPS 細胞の未分化維持機構の解明による均一な細胞株の樹立、分化誘導技術の進展による機能的に成熟した細胞や組織、臓器の作製などがあげられる。

Keywords ▶ iPS 細胞, リプログラミング, 細胞療法, 疾患モデル作製, 治療薬探索, 薬物毒性評価

1 基礎

1.1 iPS 細胞とは

iPS 細胞 (induced pluripotent stem cell; 人工多能性幹細胞) は、2006 年に京都大学山中伸弥博士らがマウスで、そして、2007 年に山中らと米ウイスコンシン大学ジェームズ・トムソン (James Thomson) 博士らが同時にヒトで開発した多能性幹細胞である¹⁻³⁾。オリジナルの論文では、オクト Oct3/4, ソックス Sox2, ケーエルエフ Klf4, シ-ミック c-Myc の 4 つの転写因子 (山中 4 因子ともよばれる) を体細胞に導入するだけの簡便な遺伝子操作によって樹立されている (図 1A)。

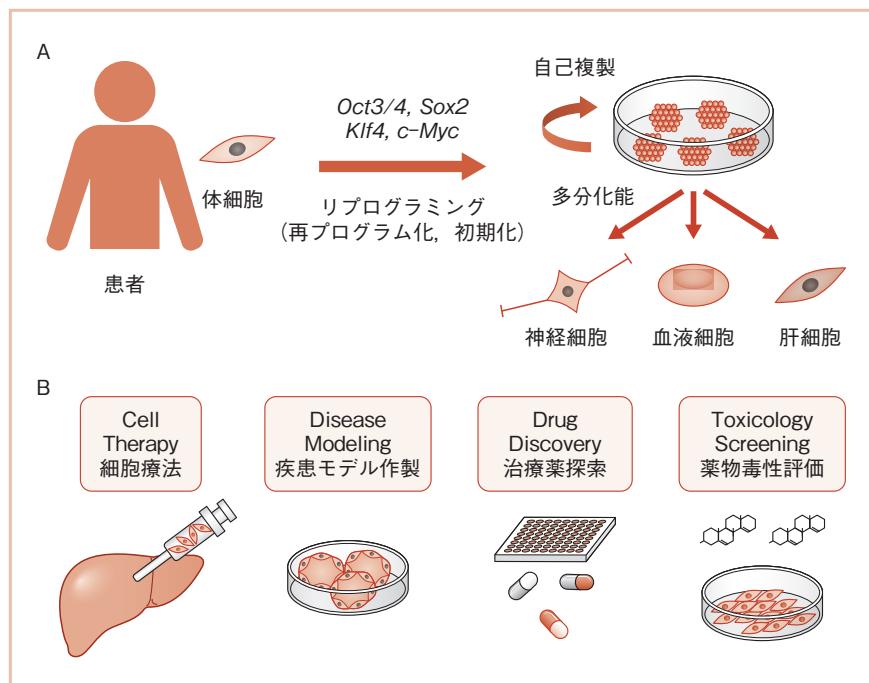
別の多能性幹細胞である ES 細胞 (embryonic stem cell; 胚性幹細胞) と形態学的にも機能的にも類似しており、同等の無限の自己複製 (self-renewal) 能と全身の細胞種へ分化する多分化能 (多能性; multipotency) を有している。

iPS 細胞の開発当初、マウスやヒトの線維芽細胞から樹立が行われたが、その後、iPS 細胞は生体内のほぼすべての細胞種から樹立可能であることが判明し、現在は患者が病院で受ける血液検査用の末梢血液 1 mL からでも樹立可能となっている。iPS 細胞が樹立されている動物種としては、マウスとヒトの iPS 細胞と比べて培養条件が十分に確立されていない可能性もあるが、サル、ラット、ブタ、イヌ、ウサギなどからの樹立が報告されている。



多能性幹細胞

全身の臓器を構成する外胚葉、中胚葉、内胚葉の 3 つの胚葉由来の細胞種に分化できる幹細胞。全能性を有する受精卵と異なり、胎盤などの胚体外組織には分化できない。ES 細胞と iPS 細胞以外に、胚性がん細胞 (embryonic carcinoma cell: EC 細胞)、胚性生殖細胞 (embryonic germ cell: EG 細胞)、mGS 細胞 (multipotent germ stem cell) などがある。



一口メモ

Oct3/4, Sox2, Klf4, c-Myc

未分化 ES/iPS 細胞に発現する転写調節因子。Oct3/4 (POU domain, class 5, transcription factor 1: Pou5f1) は ES/iPS 細胞の未分化維持に必須の因子。Sox2 (SRY-related HMG box 2) と Klf4 (Kruppel-like factor 4) は Oct3/4 と協調して下流遺伝子の発現を制御する。がん関連遺伝子である c-Myc は iPS 細胞樹立効率を高める。

図1 iPS細胞を用いた臨床応用と実用化を目指した研究領域

iPS細胞は、患者由来の体細胞に *Oct3/4, Sox2, Klf4, c-Myc* の遺伝子導入によって樹立され、無限の自己複製能と全身の細胞種への多分化能を有する (A)。iPS細胞を用いて、細胞療法、疾患モデル作製、治療薬探索、薬物毒性評価などの研究が行われている (B)。

1.2 iPS細胞の誕生

生物の個体においては、受精卵の1個の細胞が分裂を繰り返しながら、さまざまな体細胞種へと最終分化していく。全身の臓器を構成する最終分化細胞は、受精卵に由来するが多種類の細胞へ分化しうる多能性を発揮することはないと考えられていた。

しかし、1958年にイギリスのジョン・ガードン (John Gurdon) 博士らが⁵、紫外線照射で除核したアフリカツメガエルの未受精卵に、オタマジャクシの腸由来の体細胞核を移植すること (体細胞核移植 (somatic cell nuclear transfer: SCNT)) によってクローンガエルを誕生させることに成功した。この現象は、最終分化した体細胞の核のプログラムが多能性を有する未分化状態に戻ったことを意味し、リプログラミング (再プログラム化 (reprogramming)) または初期化とよばれている。その後、ヒツジやマウスといった哺乳類でも体細胞核移植によってリプログラミングを起こし、クローン動物が作製された。また、体細胞とES細胞を細胞融合 (cell fusion) しても体細胞核のリプログラミングが生じることが報告され、リプログラミング誘導因子が、受精卵あるいはES細胞の細胞質に存在することが示唆された。

この知見をもとに、山中らはES細胞に発現する24の候補遺伝子を選出し、1

因子ずつを線維芽細胞に導入したが、リプログラミングを起こすことはできなかった。しかし、24 遺伝子すべてを同時に導入するという大胆な発想の実験を行ったところ、形態学的に ES 細胞に類似した幹細胞が得られることを発見した。そして、リプログラミング誘導因子の絞り込みを行ったところ、前述の 4 因子の組み合わせで十分であることがわかり、この遺伝子導入で樹立される多能性幹細胞を iPS 細胞と名付けた。

1.3 iPS 細胞の利点

現在までに、多数の幹細胞が同定または樹立されているが、再生医療の開発のために近年とくに注目を集めているのが、ES 細胞と iPS 細胞である。ES 細胞は、受精卵の中にある内部細胞塊とよばれる細胞塊を取り出し、培養することで樹立される。1981 年にマウスの ES 細胞が初めて樹立され、疾患モデルマウスの作製などによる医学の進展に多大なる貢献をした。その後、1998 年にヒトの ES 細胞が樹立され、無限に増える移植用細胞の元となる供給源が登場し、再生医療が現実のこととしてとらえられるようになった⁴⁾。

しかし、ヒト ES 細胞から作製される細胞種を再生医療に用いる場合、移植後に拒絶反応が生じて移植された細胞や組織が破壊されることや、それを抑えるために免疫抑制薬を投与したときに感染症やがんなどの重篤な副作用が生じることが問題であった。またヒト ES 細胞は、ヒトの受精卵を破壊して樹立されるため倫理的問題も生じていた。一方 iPS 細胞は、患者自身の体細胞から樹立されるため、移植後の拒絶反応の問題がない。また、受精卵を使用しないため倫理的問題も少ない。iPS 細胞は、これらヒト ES 細胞にかかわる 2 つの問題点を解決可能とし、再生医療を実現化に向けて大きく加速させた(表 1)。

また iPS 細胞の別の利点として、難治性疾患の患者体細胞より樹立される iPS 細胞を用いて病態解析や治療薬探索 (drug discovery) を行う疾患モデル作製

表 1 ES 細胞と iPS 細胞の比較

	ES 細胞	iPS 細胞
原材料	受精卵胚盤胞の内部細胞塊	皮膚や血液などの体細胞
樹立対象(ドナー)の選択	困難	容易
樹立法	内部細胞塊の体外培養	遺伝子導入
増殖能	旺盛	旺盛
分化能	全身の細胞種	全身の細胞種
遺伝子操作	可能	可能
安全性	移植後に腫瘍形成の危険性あり	移植後に腫瘍形成の危険性あり
倫理的問題	受精卵の破壊に関する問題	ゲノム情報が漏出する危険性
拒絶反応	あり	本人由来の株ではなし

(disease modeling) 研究が可能となったことがあげられる。具体的には、遺伝性疾患などの患者体細胞から病気の発症要因を有する疾患特異的 iPS 細胞 (disease-specific iPS cell) を樹立し、その iPS 細胞を病気で傷害される細胞種へ分化誘導することによって試験管内で疾患を再現するモデルを作製する。そのモデルを用いて疾患の詳しい病態解析や治療薬探索を行う (図 1B) (⇒本章「6-6 疾患再現、創薬スクリーニングへの応用」(p.224) 参照)。

1.4 分化誘導研究の現状について

各臓器の発生過程を再現したヒト iPS 細胞の分化誘導研究がさかんに行われている。外胚葉性器官としては、ドーパミン神経、運動神経、グリアなどの神経細胞や視細胞、網膜細胞、角膜細胞などの眼や皮膚の細胞が誘導可能となっている。中胚葉性器官では、心筋や血管内皮などの心血管系細胞、血液細胞、骨・軟骨、骨格筋、脂肪、腎臓などの細胞の分化誘導の報告がある。内胚葉性器官では、肝臓、膵臓、腸、肺などの構成細胞が誘導されている。さらに、精子や卵などの生殖細胞も誘導可能となっている。

2 臨床

2.1 iPS 細胞を用いた臨床応用と実用化を目指した研究領域 (図 1B)

iPS 細胞から分化誘導される細胞種の移植により臓器の機能不全からの回復を図る細胞療法 (cell therapy, 狭義の再生医療) が注目を集めているが、そのほかにも iPS 細胞を用いた臨床応用と実用化を目指した研究領域として前述の疾患モデル作製研究とそれを用いた治療薬探索、さらに薬物毒性評価 (toxicology screening) などがあげられる。薬物毒性評価は、開発中の治療薬候補の毒性を、従来の人体を用いる治験ではなく、ヒト iPS 細胞から分化誘導される細胞種を用いて試験管内で検証するものであり、心筋細胞や肝細胞を中心に複数の細胞種で研究が進められている (⇒本章「6-7 薬物毒性評価」(p.233) 参照)。

2.2 再生医療

がん化の危険性の少ない安全な iPS 細胞樹立方法の開発

iPS 細胞の開発当初、レトロウイルスベクターやレンチウイルスベクターによる初期化因子の遺伝子導入によって iPS 細胞が樹立されていたが、これらのベクターは、宿主細胞の染色体内に組み込まれるため、がん遺伝子の近傍に組み込まれ活性化することによるがん化の危険性が危惧されていた。この問題を解決するため、染色体に組み込まれない、がん化の危険性の少ない iPS 細胞樹立方法の開発がさかんに研究された。



レトロウイルスベクターとレンチウイルスベクターの特徴

ともにレトロウイルス科に属す RNA ウイルスであり、逆転写酵素を用いて合成される二本鎖 DNA が宿主細胞のゲノムに組み込まれ、そこからウイルス RNA が転写・増幅される。この性質を利用して外来遺伝子を染色体へ導入するベクターとして、基礎実験や遺伝子治療臨床試験でも汎用されているが、がん遺伝子近傍に挿入されがん遺伝子を活性化してしまうと、発がんを誘導する危険性がある。