

# ありふれた皮膚の体細胞から多能性幹細胞を作り出す

山中伸弥

京都大学再生医学研究所の山中伸弥教授たちは、皮膚などにあるありふれた線維芽細胞にいくつかの遺伝子を導入することで、胚性幹細胞によく似た人工的多能性幹細胞を作り出すことに成功し、*Cell* 誌に発表した<sup>1</sup>。この成果は世界中の幹細胞研究者が待ちわびていたもので、*Nature* 誌の Erika Check 記者は「山中はホームランを打ったようだ」とのコメントを出した。その山中教授に研究の経緯や今後の課題などについて、話をうかがった。

## ありふれた細胞を ES 細胞のように変える

**Nature Digest** — 今回、皮膚の細胞から胚性幹 (ES) 細胞<sup>\*1</sup> のような多能性幹細胞を作り出すことに成功されましたが、なぜこのような研究をされたのですか？

**山中** — 脊髄を損傷したり、重度の糖尿病に陥った場合、そこに新たな神経細胞やインスリン産生細胞を供給できれば、高い治療効果がもたらされると期待されています。いわゆる再生医療です。現在、そのような細胞の供給源として「ES 細胞を分化させたもの」が期待されています。しかし、ヒトの胚から樹立する ES 細胞の利用には慎重な運用が求められていますし、仮に使えるようになったとしても、他人の ES 細胞を用いることによる拒絶反応の問題などが残ります。そこで私たちは、入手しやすいありふれた細胞に遺伝子操作を加えることで、ES 細胞のように多能性と無限増殖能をもつ細胞を作り出せないかと考え、一連の研究を始めました。

**ND** — 具体的にどのようなことをされたのですか？

**山中** — 今回の研究では、細胞はすべてマウスのものを使用しました。私たちは「体細胞に多能性を誘導する因子」は、「ES 細胞の多能性を維持する因子」でもあるだろうと考え、1999 年に、その因子の探索を始めました。ES 細胞における遺伝子発現と体細胞における遺伝子発現とを網羅的に比較し、2005 年までに 24 個の候補遺伝子を選び出しました<sup>2</sup>。これらの遺伝子産物はさまざまな機能をもっており、ES 細胞でのみ特異的に発現しているものや、発現は特異的でなくても ES 細胞で重要な機能を果たすものなどが含まれていると考えられました。ただし 24 個に絞ったのは「まずはこのくらいから始めたらよいだろう」という程度の気持ちからで、確固たる根拠があったわけではありません。

**ND** — 次に、どのような操作を行ったのですか？

**山中** — 「ある細工」をしたマウスの線維芽細胞に、候補遺伝子を人工的に導入し、その細胞が ES 細胞のような多能性を獲得できるかどうかを確かめました。「ある細工」とは、候補遺伝子の 1 つで ES 細胞でのみ特異的に発現する *Fbx15* を、特殊な薬剤の耐性遺伝子と置き換えた遺伝子改変マウスを作ったことです。このマウスから取り出した細胞が、ES 細胞のような多能性細胞になれば *Fbx15* の代わりに薬剤耐性遺伝子が発現するため、薬剤を加えても死にませんが、体細胞のままであれば薬剤耐性をもたないため、死に至ります。つまり、遺

伝子導入後に培養し続けて生き残った細胞は、すべて ES 細胞様の多能性細胞である可能性が高いということになります。

## 本当に必要だったのはわずか 4 遺伝子

**ND** — どのようにして、候補遺伝子を導入したのですか？

**山中** — 私たちはレトロウイルスベクター<sup>\*2</sup>を用いて、24 個の候補遺伝子を 1 つずつ導入する実験と、24 個すべてをランダムに導入する実験を並行して行いました。すると、1 遺伝子ずつ入れた細胞はすべて死んでしまいましたが、24 遺伝子をランダムに入れたものは「50 万～100 万細胞あたり数十個」という少ない確率ながらも、生き残る細胞があり、コロニーを形成しました。これらを 2 週間培養したところ、いずれも、ES 細胞のように小さく丸い形状に変化し、増殖能や遺伝子発現も ES 細胞によく似たものであることがわかりました。さらに、ES 細胞はヌードマウス<sup>\*3</sup>に移植すると奇形腫を形成しますが、私たちが樹立した細胞にも同様の性質がありました。

**ND** — 24 個の遺伝子がすべて必要だったのですか？

**山中** — 24 遺伝子をランダムに入れてみるというのは、高橋和利特任助手のアイデアだったのですが、実際にはそのうちの数個が入ればよいほうだろうと考えていました。ところが、コロニーの細胞を調べてみると、どれも 20 個以上の遺伝子が入っていました。遺伝子が 20 個も必要だとは思えなかったので、やはり高橋特任助手のアイデアで、今度は 24 遺伝子のうちから 1 つずつ減らして導入する実験を行いました。すると、特定の 4 遺伝子 (*Oct3/4*, *Sox2*, *c-Myc*, *KLF4*) のうちの 1 つでも抜いた場合には、ES 細胞様の多能性細胞を樹立できないことがわかりました。このうち、*Oct3/4* と *Sox2* は ES 細胞でのみ特異的に発現する、幹細胞研究者の間ではおなじみの遺伝子です。*c-Myc* は自己複製を促進するがん遺伝子として知られています。盲点だったのは 4 番目の *KLF4* でした。これは ES 細胞に特異的というわけではなく、細胞の増殖促進にも抑制にもかかわるというユニークな遺伝子です<sup>3</sup>。私たちは、コロニーの細胞を「人工多能性幹 (iPS: induced pluripotent stem) 細胞」と名づけました (写真 1 参照)。

## 再生医療への応用に向けて

**ND** — ヒトでも iPS 細胞を作り出し、再生医療に使えるようになるのでしょうか？



山中伸弥（やまなか・しんや）/ 京都大学再生医学研究所再生誘導研究分野教授。医学博士。1962年、大阪府生まれ。1987年、神戸大学医学部卒業。1993～1996年、カルフォルニア大学サンフランシスコ校に留学。1999年、奈良先端科学技術大学院大学遺伝子教育研究センター助教授に就任。2005年に研究室ごと京都大学再生医学研究所に移り、現職の再生誘導研究分野教授に就任した。

医学部卒業後、整形外科医を目指したが、基礎研究に方向転換し、発生工学を学ぶ。アメリカ留学から帰国後にES細胞の研究を始める。多能性を維持するための重要因子の探索を始め、2003年に*Nanog*を同定。2005年までに、重要因子の候補を24種選び出すなど、数多くの成果をあげている。

写真1

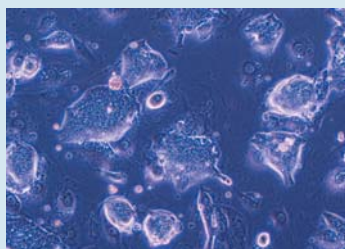


写真2

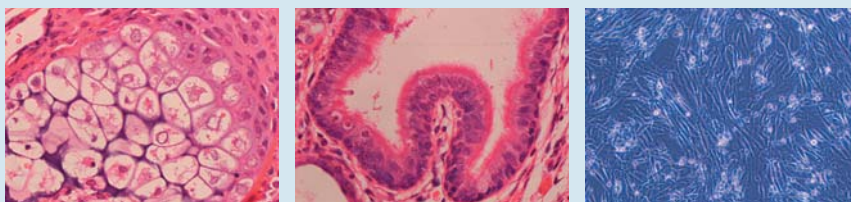


写真1は線維芽細胞から誘導されたiPS細胞。ES細胞のように小さく丸い形状をもつ。写真2はiPS細胞から分化誘導した細胞で、左から軟骨、腸管、皮膚の細胞。

**山中** — ヒトで同じ結果が得られるかどうかは、今のところまったくわかりません。ヒトの線維芽細胞も容易に採取できますが、マウス細胞に施したような細工がヒト細胞ではむずかしく、実験系を作るのに苦労している状態です。また、ヒト細胞ではレトロウイルスベクターの導入率がかなり低いことも問題となります。

もちろん、ヒトへの応用を目指していますが、まだ先は長いと思います。当面はヒトの線維芽細胞でiPS細胞を作ることが目標です。がん遺伝子である*c-Myc*をヒトの体内に導入してよいのかという問題や、染色体に取り込まれる部位によってはがんを発症するレトロウイルスベクターを用いてよいのかといった問題もあります。安全性の点では、極めて大きな課題があるといわざるを得ませんが、問題ははっきりしているので、いずれ解決への道が開かれるのではないかと考えています。

**ND** — iPS細胞は特定の体細胞に分化できたのでしょうか？

**山中** — iPS細胞は軟骨細胞、腸管細胞、皮膚細胞などに分化させることができました（写真2参照）。ただし、ES細胞は生殖細胞にも分化させることができますが、iPS細胞を生殖細胞に分化させることには成功していません。その理由をよくわかっていないのですが、再生医療に用いる場合には、生殖細胞に分化させると倫理的な問題が発生するおそれもあるので、必ずしも完全なES細胞状態に誘導できなくてもよいと思っています。

一方、創薬において、化合物の効果を検証するためにiPS細胞由来の細胞を使うことはむずかしくないと考えています。例えば、アルツハイマー病やパーキンソン病の患者さんからiPS細胞を採取し、そこから神経系の細胞をたくさん作って、治療薬の候補化合物をスクリーニングすることなどが可能だと思います。

**ND** — 日本はヒトES細胞の使用基準がとても厳しいですが、その点をどのようにお考えですか？

**山中** — 日本はヒトES細胞を樹立した国のなかで、最も使用条件が厳しい国になっています。ヒトES細胞の利用は基礎研究に限られていますが、それでも使用申請後、許可が下りるまでに1年もかかっています。新たなES細胞株の樹立はきわめて慎重に行われるべきですが、すでにあるヒトES細胞については、存分に研究に使われるべきだと思います。

私たちの成果によって、ヒトES細胞が必要とされなくなるのではないかとという声もありましたが、それは正しくありません。ES細胞とはどういう細胞なのか、多能性や無限増殖能のメカニズムがどうなっているのかなど、残された謎は多く、まだまだ研究されるべきことが山積みです。同時に、私たちのような研究成果も、ヒトES細胞研究で得られた知見によって十分に検証される必要があると思っています。

**ND** — ありがとうございました。 ■

聞き手は西村尚子（サイエンスライター）。

\*1 胚性幹（ES）細胞

生殖細胞を含むあらゆる細胞に分化することができ、無限の増殖能をもつ樹立細胞株。再生医療の切り札としての期待が大きい反面、生命の萌芽である受精卵を利用して作られることから、その利用に際しては課題も多い。

\*2 レトロウイルスベクター

レトロウイルスはその粒子内にインテグラーゼという組み込み酵素をもっており、その働きによって遺伝子が高効率に宿主染色体に組み込まれる。この性質を利用して開発されたベクター。

\*3 ノドマウス

モデルマウスの系統の1つで、体毛がないためにノドマウスとよばれる。胸腺がないので免疫性が著しく乏しい。ヒト由来のがん組織を移植して、抗がん剤の効果などを研究するのに用いられる。

1. Takahashi, K. & Yamanaka, S. *Cell* **126**, 663-76 (2006).

2. Mitsui, K. et al. *Cell* **113**, 631-42 (2003).

3. Rowland, B. D. & Peeper, D. S. *Nature Reviews Cancer* **6**, 11-23 (2005).