

Race to mimic human embryonic stem cells

ヒトES細胞研究でしのぎを削る

Nature Vol.450 (462-463) / 22 November 2007

David Cyranoski

2つの大いに待ち望まれていた世界初の研究成果が11月中旬に発表され、再生医療における夢の実現に一歩近づいた。成功の1つは霊長類クローン胚からの胚性幹 (ES) 細胞の作製、もう1つはヒト成人の皮膚細胞の再プログラミングで、どちらも、体のおよそ200種類の細胞のほとんどどれにでも発生可能な「分化多能性」をもった細胞の作製をめざす行程の、重要な道標となる。

ヒトES細胞はこの特性を備えており、研究に使われるヒトES細胞は通常、体外受精で余った胚から取り出される。しかし研究者たちは、ひとりひとりの患者に遺伝的に適合する多能性幹細胞を作り出したいと考えている。こうして作製した幹細胞は、移植してパーキンソン病や糖尿病などの疾患を治療できるだろうし、疾患進行のモデルを作るのにも使えるだろう。

クローン作製は、このように患者それぞれに合わせた多能性幹細胞を作り出す方法の1つとなる。オレゴン健康科学大学 (米国 ビーバートン) の Shoukhrat Mitalipov 率いる研究チームは、サル

クローン胚からES細胞を作製することに世界で初めて成功し、Nature2007年11月22日号で報告した。これまで、クローン胚からのES細胞作製はマウスでしか成功していなかった。今回の霊長類での成功は「音速を超えたようなもの」だと、ロサンゼルスに本社を置くバイオテック企業、アドバンスド・セル・テクノロジー社の Robert Lanza はいう。

1996年に世界初のクローン動物であるヒツジのドリーが誕生したことで、続々とクローン動物が誕生してきた。しかし、ヒトやサルのクローン胚作製ではずっと失敗が続き、悲観的な見方が出ていた。霊長類クローン作製の研究者である Gerald Schatten は2003年に、「現在のやり方では、ヒト以外の霊長類でNT (nuclear transfer、クローン作製技術の1つである核移植法のこと) を使ってES細胞を作製するのはむずかしいかもしれない。そして生殖目的のクローン作製に至っては、達成不可能かもしれない¹」と語っていた。彼は、サルの未受精卵176個使ってクローンを1つも作り出すことができなかったのである。その後2004年2月になって、当時ソウル大学の教授だった黄禹錫 (ファン・ウソク) が、ヒトクローン胚からES細胞を作り出したと発表した²。ところが、2006年1月になって黄たちの研究結果がねつ造であると判明したため、Schatten の悲観論は当たっているのではないかといい見方も出てきた。

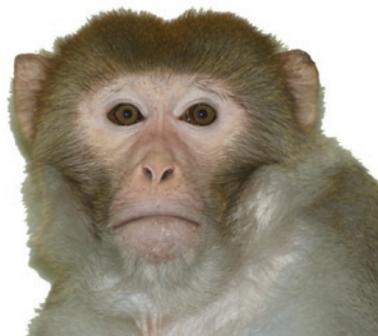
Mitalipov の研究グループは、10年ほどの間、サルで生殖目的のクローン作製を成功させようと研究を続けたことがあり、使用した卵 (卵子ともいう) は累計するとおよそ1万5000個にもなった。黄の論文がねつ造だとわかった後、

Mitalipov たちは方向転換をすることに決め、生殖目的のクローン作製から手を引いて、クローン胚からのES細胞株の樹立に取り組んだ。「セモス」という名の9歳のアカゲザルから、皮膚細胞を採取し、その細胞核を、遺伝物質を除去した未受精卵に注入した。2007年1月になって、ES細胞のような分化多能性を備えた細胞株が1つ得られ、その2か月後にもう1つの細胞株が得られた。

Mitalipov によれば、今回の成功の裏には、「Oosight」という1万9000ドル (約200万円) の装置の存在があるという。この装置のおかげで、卵内のDNAを格納している構造 (紡錘体) が可視化され、これによって、核移植法の第一段階にあたる未受精卵からの除核が容易になった。従来の除核処理では、卵内のDNAの位置を確認して除去するのに、「Hoechst」という蛍光色素と紫外光を組み合わせを使ってきた。しかし Mitalipov たちは、この方法だと卵にダメージを与えることに気づいた。自分たちの手法はヒト細胞でもうまくいくはずであり、「ヒト細胞だからといって特別なことは何もない。ただし、この種の画像化システムを使うべきだ」と Mitalipov は話す。

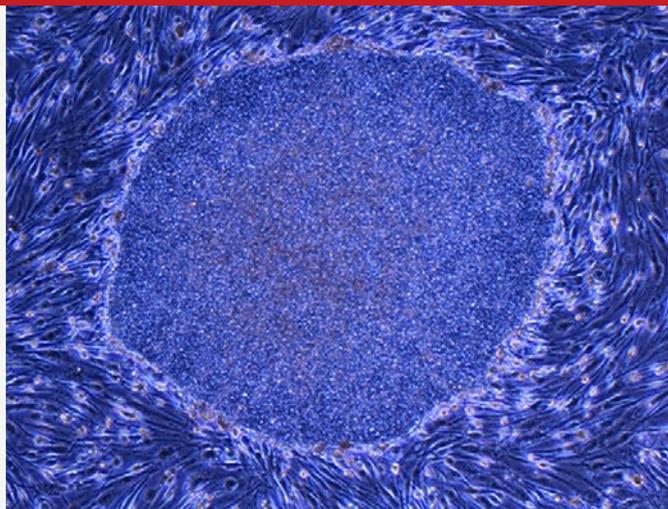
しかし、サルでの生殖目的のクローン作製は、まだずっと先の話のようだ。Mitalipov の研究チームは、クローン胚由来のES細胞を2株作った後、4月に、作製した77個のクローン胚を10匹余りの代理母ザルに移植したが、どれも妊娠を成立させることはできなかった。

Nature は黄禹錫のねつ造事件を鑑み、Mitalipov たちの研究結果をモナッシュ大学 (オーストラリア、メルボルン) の研究チームに独立に検証してもらうという、異



霊長類クローン胚を作り出すのに使われたドナー細胞 (体細胞核) は、「セモス」という名のアカゲザルから採取された。これはSF作品『猿の惑星』に出てくる神の名前をとったもの。

著作権等の理由により画像を掲載することができません。



ヒトの皮膚（左）から採取された細胞は、再プログラミングを施されたのち、ES細胞にそっくりの細胞（人工多能性細胞、iPS細胞）になった。右は、今回山中らが作製に成功したヒトiPS細胞の顕微鏡写真である（京都大学山中伸弥教授提供）。

S. GSCHMEISSNER / SPL

例の措置を取った³。「ヒト体細胞核移植の分野で最近起こった遺憾な事件を考えると、核移植実験の研究成果は、ある程度の確実性をもっている必要がある。我々は、Mitalipovたちの結論に絶対の信頼を寄せる」と、モナッシュ大学の研究チームの1人であるAlan Trounsonはいう。

この手法をヒトにも使うことには、多くの研究者が抵抗を感じている。女性に不快感を与える処置をすることになり、その処置にも健康に対するリスクが確実に伴うからだ。Mitalipovの研究チームが合計304個の未受精卵から作り出したES細胞は、わずか2株だけである。大部分の失敗例とごくわずかの成功例とを分けるものが何であるかは、Mitalipovたちにもまだほとんど把握できていない。そのため、ヒトクローン胚からES細胞株を樹立するのに必要な卵の数は、おそらく今回の場合と同程度だろうと考えられる。

議論を回避する

「ES細胞の基礎科学は重要だ」と、ジョンズホプキンス大学医学系大学院（米国メリーランド州/バルチモア）で幹細胞プログラムの理事を務めるJohn Gearhartは話す。「しかし、特にヒトでの研究を考える際に、成功率の低さが問題になる」。しかし、未受精卵の入手や、反対論も多い胚の破壊を必要とせずに、分化多能性をもつ細胞を作り出せる方法が、もう1つある。11月中旬に京都大学の山中伸弥の研究チームは、ヒトの皮膚細胞から分化多

能性をもつ細胞を作り出したことを発表し⁴、それと同じ日にウィスコンシン大学マディソン校のJames Thomson率いる研究チームも同様の成果を発表した⁵。

山中たちの今回の研究成果は、昨年、4種類の転写因子をマウス皮膚細胞に導入して胚に似た状態に「再プログラミング」するという、画期的な成果の上に積み上げられたものである。2007年の初夏、山中の研究チームとほかの2つの研究チームは、同じ4種類の転写因子を使って、ES細胞と見分けのつかない細胞を作り出したことを報告した⁶。

ヒト細胞とマウス細胞では基本的な違いがあるため、山中は、マウスの場合と同じ4種類の転写因子を使ってヒトでも同じ結果が出たことに驚いた。山中のチームは、顔から取った皮膚細胞をおよそ5万個培養し、これに例の4種類の転写因子を導入して、分化多能性をもつ細胞株を10個得た。元になった皮膚試料は、米国のある企業から入手したもので、36歳の白人女性から採取されたものだった。山中は、69歳の男性から採取された関節の滑液細胞でも同じ手順を施して、同様の結果を得た。分化多能性をもつこれらの細胞は、培養下ではES細胞にみられるような平たい形をしている。

こうした人工的な「誘導」多能性幹(iPS)細胞を形成できる細胞がなぜ、これほど少数なのかは謎であり、山中もまだ解明を試みている段階である。しかし、使っているのは1回の皮膚生検で得られる細胞

であり、非常に安価なので、成功率が低くても問題にならないのだと山中はいう。日本では、多大な行政上の議論や骨の折れる作業のために、ヒトES細胞株はわずか3つしか存在しないが、それに比べると自分たちの手法は生産性が高く、「小さいシャーレの中で、すぐに10の細胞株を得ることができる。現実的にみれば、これは極めて高い成功率だ」と山中は話す。

山中のヒトiPS細胞は、マウスiPS細胞と同様にES細胞としての基本的検証をすべてクリアした。その検証事項には、免疫系をもたないよう遺伝子操作を施したマウスの皮膚の下に注入すると、三胚葉系のさまざまな細胞からなる腫瘍を形成する能力などが含まれる。

だが、iPS細胞は本当に分化多能性をもっているのだろうか。マウスの場合に行われた最も厳しいテストは、iPS細胞から動物の完全な個体が作られるかどうか、または、1個の胚に混ぜ込んだiPS細胞が、できあがったキメラマウスの組織のすべてにかかわっているかどうかを調べるものだ。ヒト細胞では、どちらのテストも行うわけにはいかない。「ヒトでは、この問題に対する解答は得られていない」と山中は語る。

しかし、もしiPS細胞が、特定の組織にかかわる疾患の治療または研究に使われるのであれば問題はないと、彼は付け加えた。例えば、山中のiPS細胞は、ニューロンや心筋細胞を形成することができ、心筋細胞は分化して12日経つと拍

動を始めた。とはいえ、iPS細胞には短所がいくつかある。4種類の「山中因子 (Yamanaka factors)」を導入するには、ウイルスベクターを使って遺伝子操作を行う必要があるが、保健行政当局はこのベクターの臨床利用を承認しないとみられるのだ。そして、4因子のうちの1つ、c-Mycは、マウスで腫瘍を引き起こすと考えられている。

Thomsonは、培養でヒトES細胞の単離と維持を初めて行った人物だが、彼はiPS細胞の問題を一部解決する道を進んだ。やはり彼も、ウイルスベクターで導入した4種類の因子を用いて、ヒトの陰茎包皮細胞を再プログラミングさせた。ただし、彼が使った4種類の因子のうち山中因子と同じものは2種類だけで、c-Mycは使わなかった。しかも、違うレシピでも再プログラミングに成功することを見つけたおかげで、山中のとった手順に、臨床的に受け入れ可能な変更を加えても成功する見込みが高まったというわけだ。

治療に利用可能か？

研究者が次々と参入しつつあることから、

Gearhartやほかの関係者は、この分野が急速に進展していくとみている。「iPS戦略は、細胞の再プログラミングにおける大きなパラダイムシフトの1つである。もしiPS戦略がヒト細胞で有効かつ安全であると実証されたなら、それによって、患者特異的な分化多能性細胞の作製において体細胞核移植 (SCNT) の出番はほとんどなくなるだろう。そして、それはごく近い将来に訪れる公算が高い」とGearhartはいう。

やはり11月中旬に、ドリーの生みの親の1人であるエディンバラ大学のIam Wilmutが、自身の切り開いたクローン研究から手を引き、山中の再プログラミング法を使った研究に切り替えるつもりであることを公にした。これにより、クローンを使う方法に背を向けてiPS細胞研究へ向かう研究界の流れが浮き彫りになった。

Mitalipovは、卵が唯一の「完全な再プログラミング装置」であるという見解を保持しており、治療への効用が最初に明らかになるのはクローン胚由来のES細胞のほうだろうと確信している。彼はすでに、自身のクローン作製法による成功率を倍以上に上げたと話しており、また、

クリニックの準備もしている。計画として進めているのは、セモスとほかの10匹ほどのサルに由来するクローン胚からES細胞の株を樹立させること、糖尿病などの疾患をそれらのサルに引き起こしてから、すでに樹立したクローン胚ES細胞を使ってそれらのサルを治療できるかどうかをみることである。

さらに新たな議論をよび起こしそうな動きとして、Mitalipovは、英国ニューカッスル大学のAlison MurdochとMary Herbertとの共同研究を始めた。Murdochたちは、ヒト胚を使った研究の承認を得ている。「いつまでもモデル化研究ばかりやっているとダメ」とMitalipovはいう。「我々が医療への貢献を示せば、世の中はこの技術を受け入れてくれるはずである」。

1. Simerly, C. *et al. Science* **300**, 297 (2003).
2. Hwang, W. S. *et al. Science* **303**, 1669-1674 (2003).
3. Cram, D. S. *et al. Nature* doi:10.1038/nature06357 (2007).
4. Takahashi, K. *et al. Cell* doi:10.1016/j.cell.2007.11.019 (2007).
5. Yu, J. *et al. Science* doi:10.1126/science.1151526 (2007).
6. Cyranoski, D. *Nature* **447**, 618-619 (2007)