

Simple switch turns cells embryonic

簡単なスイッチで細胞を多能性幹細胞に切り替える

Nature Vol.447 (618-619) / 7 June 2007

David Cyranoski

2007年6月第2週に3つの研究グループが発表した研究成果によって、マウスの正常な皮膚細胞を胚の状態に再プログラミングできることが明らかになった¹⁻³。驚くほど単純なこの手法をヒト細胞へ適用することが、次の勝負どころとなる。

もし研究が成功すれば、胚性幹細胞と見分けがつかず、患者ひとりひとりに遺伝的に適合する細胞を、かなり容易に作り出せるようになる。こうした細胞は、治療に使うには当面のところ有用性や安全性に限界があるが、実験にはすぐに恩恵となるはずである。

「この技術は、我々の物の見方を根底から大きく変えてしまうだろう」とモナッシュ大学（オーストラリア、ビクトリア州）のAlan Trounsonはいう。Trounsonは今回の研究にはかかわっていないが、この技術を「明日」にでも使い始める予定だと述べ、「私は今、10件余りの実験を考えている。どれも価値ある実験だ」と話す。

胚性幹細胞は理論的には、それ自身とまったく同じ細胞を作り出すことができる。しかし今までのところ、胚性幹細胞を得る方法は1つしかなく、それには胚を破壊しなければならない。そして、ある患者に遺伝的に適合した胚性幹細胞を得るということは、事実上、その患者の細胞をクローニングすることを意味する。つまり、いずれも倫理的にむずかしい問題を生じるのだ。

この従来の「クローン作製」法には、倫理的な問題が潜んでいるだけでなく、技術的にもむずかしい。未受精卵を入手

して、その遺伝物質（つまり細胞核）を、成人細胞から採取した遺伝物質で置き換えた後、その卵細胞を分裂させて初期胚を形成させ、そこから胚性幹細胞を採取する。これらの障壁は、今回の成果によって崩れ去ることになるのかもしれない。

「卵細胞も胚も必要ではない」と、今回の新技術の開発に携わった京都大学の山中伸弥は語る。昨年、山中はマウスの繊維芽細胞を使う実験系を発表した⁴。繊維芽細胞は、卵細胞と違って、皮膚から容易に採取できるありふれた細胞種である。この繊維芽細胞に、転写因子という特定のタンパク質4種類をコードする4つの遺伝子を、レトロウイルスを利用して移入する。これらのタンパク質は、ほかの複数の遺伝子の発現を引き起こして、繊維芽細胞に体のどんな種類の細胞にもなれる「多能性」をもたせる。山中はできた細胞を、人工多能性幹（iPS）細胞（induced pluripotent stem cell）と名づけた。「いたって簡単。種もしかけもない」と山中はいう。

この研究成果は驚きをもって迎えられたが、懐疑的な見方も多かった。4つの因子では事があまりに簡単すぎるように思われたのだ。また、これで得られた細胞は、胚細胞の特徴をいくつか備えていた（コロニーを形成し、持続的に自己増殖することができ、奇形種とよばれるがん性増殖が可能である）ものの、欠けている特徴もあった。例えば、iPSを発生中の胚に移入しても「キメラ」にならなかった。つまり、もとの胚とiPS細胞の両方に由来するDNAが体中に混在するマウスはでき

なかったのだ。「昨年の段階では、私は（iPS細胞の）『多能性（pluripotent）』という言葉に違和感を感じていた」と、マックス・プランク分子生物医学研究所（独、ミュンスター）の幹細胞研究者Hans Schölerはいう。彼は今回報告された3つの論文のどれにもかかわっていない。

山中は6月6日に、第二世代のiPS細胞について報告した¹が、この細胞は上記の検証のすべてをクリアしている。さらに、ホワイトヘッド生物医学研究所（米国マサチューセッツ州ケンブリッジ）のRudolf Jaenisch率いる研究グループ²と、ハーバード幹細胞研究所のKonrad Hochedlingerとカリフォルニア大学ロサンゼルス校のKathrin Plathの2人チーム²は、山中たちとまったく同じ4つの因子を用いて、極めてよく似た結果を得た。

「この結果は、特にHwang（Woo Suk Hwang、黄禹錫）のスクランダルの後、我々の研究成果について疑念を抱いていた一部の人々をホッとさせた」と山中はいい、再現不可能でやがてねつ造とわかった黄禹錫のクローン作製研究について触れた。また、Schölerは「我々はようやく、これが研究を進めるに値するものだと確信できる」と述べている。

昨年の成果に加えた改善は単純なものだった。山中が使用した4つの転写因子は一貫性なく非効率的に細胞を再プログラミングするため、1回の皮膚生検で得た100万個の細胞のうち、完全に再プログラミングされるのは0.1パーセント未満であった。むずかしいのは、再プログラミングが成功した細胞を単離することだ。

こうした細胞を単離するには、幹細胞に特徴的なタンパク質が発現された場合にだけ活性化される抗生物質耐性遺伝子を組み込む。これらの細胞に抗生物質を投与すれば、幹細胞になりそこねた細胞を死滅させ取り除くことができる。

山中が昨年、幹細胞のマーカとして用いたタンパク質は、再プログラミングされた細胞を見つけだすのに最適なものではなかった。今回、3つの研究グループはいずれも、別の2つのタンパク質マーカ（NanogとOct4）を用いて成功した。3つの研究グループとも、この方法で単離したiPS細胞を用いてキメラマウスを作り出すことができ、このマウスから子孫へとiPSのDNAが受け継がれた。

Jaenischはさらに、特殊な胚を使って、完全にiPS細胞に由来する細胞をもった胎児を生み出した。「これは最高の胚性幹細胞にしかできないことだ」と彼はいう。5月31日にババリアで開催された会議でJaenischの発表する成果を聞いたSchölerは、「信じがたい、まさに驚きだ」という。「私にいわせれば、これはドリー（クローン動物の第一号）みたいなものだ。それくらい、たいへんな功績なのだ。」この手法は魅力的である。ヒトのクローン作製は、入手できる卵細胞の数や、習得に約6か月もかかる技術のむずかしさのために制限されていたが、山中の手法だと、最もありふれた細胞を使うことができ、しかも簡単な実験技術で行える。

しかし、ヒト細胞へのこの手法の適用はまだ成功していない。「我々は必死で研究している。それこそ昼夜を問わず」と山中



このキメラマウスが誕生したということは、使われた細胞が胚性幹細胞のようにふるまったということだ。

はいう。おそらく、さらに他の転写因子が必要なのだろう、と彼は付け加えた。

もしヒト細胞でうまくいけば、パーキンソン病や糖尿病といった疾患の患者からiPS細胞を作り出すことができるかもしれない。これらの細胞が発生するときに細胞内でどのような分子レベルの変化が起こるかを観察できるかもしれない。この「シャーレ内で再現された疾患」は、さまざまな環境要因が病態にどうかかわるかを調べたり、薬剤が疾患進行をどれくらい抑制できるかを調べたりする糸口になるだろう。

しかし、このiPS細胞でも完全無欠とはいえず、例えば脊髄損傷を治療するために、遺伝的に適合する移植用細胞を安全に作製することはできないだろう。山中は、4つの因子のうち1つが、彼の作ったキメラマウスの20パーセントに発生したが、人に関与しているらしいことを見つけた。

これは改善可能だが、使用するレトロウイルスそれ自体が突然変異やがんを引き起こす可能性がある、と彼は考えている。「これは実に危険なことだ。我々は決してこれらの細胞を患者へ移植しようとは考えない」とJaenischはいう。彼は、クローン技術で作られた胚性幹細胞に関する研究は、今も「絶対に必要」だと考えている。

この1年間の経過を判断材料とすれば、変化はすぐに訪れるだろう。「それが我々なのか、Jaenischなのか、それともほかの誰かなのかはわからないが、私は、今後1年間のうちにヒト関連で何か大きな成功があるとみている」と山中は語った。■

1. Okita, K., Ichisaka, T. & Yamanaka, S. *Nature* doi:10.1038/nature05934 (2007).
2. Wernig, M. et al. *Nature* doi:10.1038/nature05944 (2007).
3. Maherali, N. et al. *Cell Stem Cell* doi:10.1016/j.stem.2007.05.014 (2007).
4. Takahashi, K. & Yamanaka, S. *Cell* **126**, 663-676 (2006).