

# 5 things to know before jumping on the iPS bandwagon

## iPS 研究に参入するための基礎知識 5 か条

Nature Vol 452 (406-408) / 27 March 2008

人工多能性幹細胞は胚性幹細胞と瓜二つであるが、作製が容易で倫理上の大きな問題もない。この急激に進展している分野に関して「真」と「偽」を、David Cyranoski が切り分ける。

ILLUSTRATIONS BY C. ALLEN-FLETCHER

生物医学研究と治療に対する可能性、そのうえ作製が簡単という魅力に引き寄せられ、多くの研究者が人工多能性幹細胞 (iPS 細胞) 研究への参入をうかがっている。成人の細胞から簡単な遺伝学的操作で作られる iPS 細胞は、見かけ上、胚性幹細胞 (ES 細胞) の性質、つまり「万能性」を回復しており、人体のあらゆる細胞に分化する能力を

もつと考えられている。このコンセプトは極めて魅力的であり、胚を破壊しなければならぬ治療用クローン作製や ES 細胞研究などの類似研究は中止すべきだと主張する科学者や政治家さえいる。しかし、生物学者にとって、iPS 細胞には、いまだに未知なる「ブラックボックス」が存在する。iPS 細胞研究に多額の資金が投入され、患者の期待が高

まる中、一部の専門家は誇大宣伝されているのではないかと考えている。今回 *Nature* は、人々が考える iPS 細胞関連の重要問題を 5 つ取り上げ、その現況を検証する。

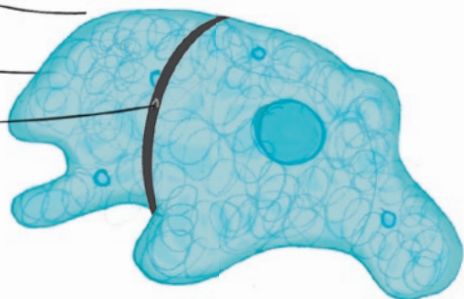
1

### 誰にでもできる

4 種類の遺伝子で成体マウス細胞が再プログラムされることを

## iPS 細胞と再生医療

ヒトの体は、1つの受精卵が細胞分裂を繰り返し、適材適所の遺伝子が機能することで分化してできあがる。細胞は一度分化してしまうと、分化前と同じ遺伝子を保持しているのに逆戻りできない。手や足になってしまった細胞の遺伝子を初期化して、目や心臓を再生することはできないのである。山中らは、皮膚の細胞に4つの因子を導入することで、遺伝子の初期化に成功した。つまり、分化してしまった皮膚の細胞が、皮膚だけでなくさまざまな組織に分化できる能力、「万能性」を取り戻したのである。これは、脊髄損傷や心筋梗塞など、細胞が傷つけられたり壊死してしまったりして機能不全に陥った組織を、自分の細胞から作製して移植する医療、すなわち再生医療に大きな前進をもたらした。この場合、移植されるのは自分の細胞由来の組織なので、拒絶反応は起こらない。



京都大学の山中伸弥と高橋和利が発見したとき、2人はそれを半年にわたって秘密に続けた。毎週の研究室ミーティングを中止し、高橋は同僚に対してすら自らの研究の真実を語らずにいた。それは、作製プロセスがあまりにも単純だったためである。「もし誰かが見つけたら、あっという間に追いつかれてしまったでしょう」と高橋は振り返る。

山中の「オリジナルレシピ」に載っている Oct3/4、Sox2、c-Myc、それに Klf4 というよく知られた遺伝子が、その秘密である<sup>1</sup>。これらの遺伝子をウイルスベクターに導入して適切な条件で培養皮膚細胞に加えるだけで、再プログラムされた細胞ができあがるのだ。

しかし、iPS 細胞の作製は、いうほど簡単なものではない。カリフォルニア大学ロサンゼルス校（米）の Kathrin

Plath は、再プログラム用遺伝子のそれぞれ（Plath が使用したのは6種類）が所定の細胞を生み出す可能性は、15% しかないと思積もる。6種類すべてがうまく働いたとしても、完全に再プログラムされている可能性は5%に過ぎない。こうした効率の低さが専門家には課題となっているが、生検材料には何百万という細胞が利用可能であることから、阻害要因とはならない。ハーバード幹細胞研究所（米、マサチューセッツ州ケンブリッジ）の Konrad Hochedlinger によれば、1番技術を要するのは、再プログラムされたごく一部の細胞を見つけてそれを培養することだという。しかし、この新たな iPS 細胞はなかなか気むずかしく、分化の進んだ細胞に変わっていくのを止めるための適切な培養条件（ちょう

ど ES 細胞と同じような条件）が必要である。「ヒト ES 細胞を培養するときのノウハウが絶対的に重要なのです」と Hochedlinger は語る。

しかし、この種のノウハウはどんどん一般的なものになってきている。山中の成果は、山中らを含む3グループにより、1年以内にマウスで再現、改良された。そして山中<sup>2</sup>とウィスコンシン大学マディソン校（米）の James Thomson<sup>3</sup> が別々に、初めてヒト iPS 細胞を作製した 2007 年 11 月以降、ほかにいくつものグループがその域に達している。簡単な技術を習得するだけで高額の見返りが期待できるので、多くの研究者がこの分野に群がってくる、と Thomson は話す。「今や世界中が iPS 細胞に取り組んでいるのです」。

現況：（ほぼ）真

## 2 誰でもオーダーメイドの細胞をもつことができる

「治療用クローン作製」（欠損したり損傷したりした組織を、ヒト胚をクローン化した幹細胞を用いて、拒絶反応の危険を伴わずに置き換える治療法）は、1990年代後半に初めて提唱されて以来、なかなか進展できずにいる。これは主に、ES 細胞の作製に必要なヒト卵の入手が、思いのほか困難なことによる。一方、iPS 細胞は、患者固有の幹細胞を得ると同じゴールをめざして全速力で突進している。

しかし、いつでもすぐにオーダーメイド（注文生産）の細胞ができると考えてはいけない。細胞に遺伝子を導入するためのウイルスベクター、それに導入される遺伝子自体の中には、発がん性を示すものがあるのである。カギとなる遺伝子をタンパク質や薬物で刺激したり、遺伝子を安全な方法で細胞に送達したりするなど、代わりとなる方法を発見する競争は激しくなり、おそらくはここ2年の間に結果が出るのではないかと専門家は考えている。

しかし、カリフォルニア大学アーバイン校の Hans Keirstead は、「臨床的

に意義のある高純度の細胞集団を作るという、一番の難題は残されたままです」と語る。細胞株の樹立に2か月、増殖に数か月、iPS細胞のコロニーを必要な種類の細胞に分化させるのに数か月、その増殖にも2~3か月、そしてその細胞が腫瘍を形成しないことを確認するのに丸々半年かかるのである。細胞の取り扱いにはGMP（医薬品の製造および品質管理に関する基準）に適合した施設で行わなければならない、コストも大幅に増大する。

オーダーメイド細胞の利用には「とても巨額の費用がかかることでしょう」と国立病院機構大阪医療センターの脳神経外科医、金村米博は語る。極めて数の少ない患者に特異的な皮膚の移植には現在でも10万米ドル（約1000万円）かかっているが、オーダーメイド細胞はその数倍もかかるだろうと金村は推測する。また、製品まで約2年もかかるプロセスも、脊髄損傷のような、損傷を最小限にするために迅速な処置が必要な疾患の治療には、時間がかかりすぎる。

金村の考える解決策は「レディーメイド」（既成品）のiPS細胞である。今年の4月から金村は、山中および慶応大学の岡野栄之と共同で、提供される胎盤と臍帯血の組織から治療にすぐ使える細胞株の国有ライブラリーを整備する。当初はウイルスベクターを使用するが、準備ができればウイルスフリー株に切り替えていく計画である。今後5年で、iPS細胞200株と、それに由来する神経細胞200株の作製をめざしている。

この細胞は患者ひとりひとりに特異的なものではないが、京都大学の中辻憲夫は、50株を適切に選べば、日本人の90%に対してほぼ免疫学的に適合する細胞が得られるものと推算する。緊急を要する患者は完全に適合しなくても最も適合性の高い株を利用し、慢性疾患の患者は費用をかけて自身に特異的な株を作ってもよい、と金村はいう。富裕層の中には、いざという時のために自分のiPS細胞を作り置きしておこうという人が

いるかもしれず、こうしたニーズに投資しようという企業は必ず現れるだろう。

### 現況：（裕福でないかぎり）偽

## 3

### 治療は道半ば

iPS細胞によってもたらされる最初の恩恵は疾患のモデルであり、治療はその次であろう。筋萎縮性側索硬化症患者の運動ニューロンや、心疾患患者の心筋細胞、黄斑変性患者の網膜細胞などは、ディッシュの中でまもなく培養されようになると考えられる。そうした株は、選別された後、疾患の発生が観察され、バイオテクノロジー企業によって予防薬や治療薬を研究に利用されることになるだろう。

なかでも、カリフォルニア大学ロサンゼルス校とハーバード幹細胞研究所は、この目的でiPS細胞バンクの立ち上げ計画を検討している。ハーバード幹細胞研究所が念頭に置いているのは「神経変性疾患、代謝疾患、心血管疾患、糖尿病といった重要な疾患」であるとHochedlingerは話す。臨床応用は、モデル研究のように、iPS細胞がどれだけ忠実に損傷した細胞に分化するか、体内に安全かつ効果的に送達する方法が開発されるかどうかにか左右されるだろう。既に財団は設立されている。

例えばマサチューセッツ工科大学（米、ケンブリッジ）のRudolf Jaenischは、マウスiPS細胞から作った血球前駆細胞を用い、ヒト型鎌状赤血球貧血のマウスモデルを治療した<sup>4</sup>。細胞移植例の多い血液疾患では早い時期にiPS細胞が応用されるかもしれない、とJaenischはいう。パーキンソン病のサルモデルでES細胞由来の神経前駆細胞を研究した京都大学の高橋淳<sup>5</sup>は現在、ES細胞とiPS細胞の双方に由来する神経前駆細胞を用いた臨床治療を研究しており、いずれも5年以内に臨床試験を始めたい考えである。

治療用の分化細胞の培養物に未分化のES細胞やiPS細胞が残っているかどうかは、重大な問題である。「ごくわずかも未分化の幹細胞が移植されると、

おそらくたった1個の多能性細胞であっても、腫瘍形成の危険が生じます」とカリフォルニア大学サンフランシスコ校のArnold Kriegsteinは語る。今年半ばには、ES細胞を利用した初めての臨床試験が予定されており、誰もが注目している。これは、ジェロン社（米、カリフォルニア州メンローパーク）がES細胞に由来する乏突起神経膠細胞を脊髄損傷患者に移植するものである。「iPS細胞の応用は、この臨床試験の結果にかかっています」と岡野はいう。

マウスの脊髄損傷治療にiPS細胞を用いた岡野の未発表の研究成果は、治療への応用を加速させる可能性がある。彼によれば、危険性のある細胞をマウスへの移植前に排除する方法があるのだという。

### 現況：真偽は間もなく明らかに

## 4

### ES細胞はiPS細胞と同じである

ヒトiPS細胞の形態、染色体プロファイル、遺伝子発現を厳密に解析したPlath<sup>6</sup>は、「ES細胞とiPS細胞で、今のところ大きな違いはありません」という。

しかし、多くの研究グループはiPS細胞がES細胞と同じように安定的かつ多様に分化するかどうかという重要な問題を検討し始めており、また誰







しも iPS 細胞の腫瘍形成の危険性を回避しようとしている。さしあたり iPS 細胞のパイオニアは、2 種類の細胞に特徴的なタンパク質マーカーなど、かすかな手がかりに注目している。しかし Hochedlinger は「マーカーには意味がない」という。例えば、腫瘍細胞の中には多能性のタンパク質マーカーを発現するものがあるが、それが腫瘍細胞以外のものになることはないのである。

そして、iPS 細胞の特性に関するいくつかの論文には矛盾がある。たとえば Thomson は、iPS 細胞について、ES 細胞と似た遺伝子をただ発現するだけではなく、より持続的に発現しているということを見いだした<sup>7</sup>。このことは、ES 細胞よりも分化が予測しやすい可能性を示している。一方、アドバンスト・セル・テクノロジー社（米、カリフォルニア州ロスアンゼルス）の Robert Lanza によれば、iPS 細胞は多様性が高かという。「ES 細胞ならどれでも、程度の差こそあれ、同じ多能性をもちます。しかし、iPS 細胞では、少数しか多能性マーカーを発現しないものがあつたり、すべて発現するものがあつたりするので、そこから分化する細胞もやはり異なる性質をもつものと考えられます」と Lanza はいう。

iPS 細胞株がねらった細胞に分化しているようにみえても、株どうしの差は生じる。ジェロン社の試験に携わる Keirstead は、株ごとに厳密な検査が必要だろうと話す。「腫瘍形成能、分化能、移動性は株ごとに異なり、宿主体内での反応もそれぞれであり、そのため、得られる「製品」も異なります。この前提を踏まえてよく検査する必要があります」。同じ理由から、Plath は、あらゆる試験や薬物探索を複数の株で行うことを勧めている。

iPS 細胞に関しては懐疑論もあるが、カギとなる研究者の多くは ES 細胞よりも好ましい代替物として受け入れている。1998 年に初めてヒト ES 細胞株を樹立した Thomson は、「しばらくすればわかることですが、私には ES 細胞研究の結末がわかっています」と語る。Thomson のいうとおりであれば、これは 1 つの時代の終わりなのかもしれない。「iPS 細胞と ES 細胞が区別できないのであれば、ES 細胞は結局、歴史上の『異端者』になるでしょう」と Thomson はいう。

現況：(とりあえず今は) 真

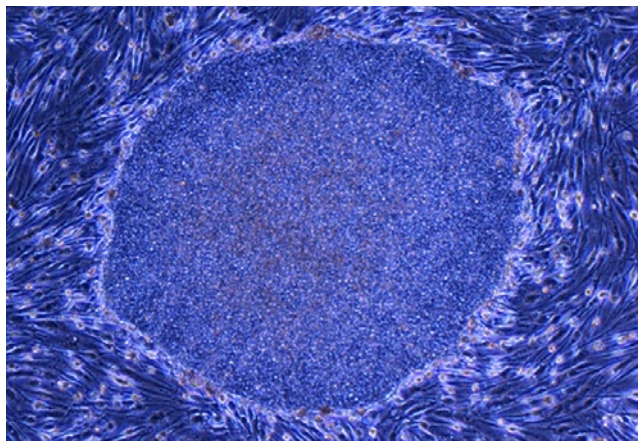
## 5 iPS 細胞には倫理上の問題がない

山中と Thomson がヒト iPS 細胞の作製を発表してから数日後、ブッシュ米大統領はこの研究を「倫理的制約を越えない科学の進歩」の表れと認

め、自らの功績でもあるとした。

しかし 1 週間後、山中は Nature に対し、「我々は新たな倫理的問題を提起しています。多くの人が秘密裏に実験することができますのですから、より質が悪いのかもしれない」と語った。山中が懸念しているのは、iPS 細胞を使って配偶子（人間の生殖細胞）が作られてしまうかもしれないという点である。例えば、ある男性の iPS 細胞から卵と精子の双方を作り、体外受精に使うことも可能なのである。遺伝子は配偶子形成時に再分配されるため、結果的には完全なクローンとは異なると考えられる。それは「得体がしれなく、また危険性をはらんだもの」と山中はいう。しかし、iPS 細胞から作られた配偶子は不妊治療の需要に応えるものかもしれない。そして、男性の iPS 細胞から卵を作ることは、男性同性愛者どうしの子孫を可能とするかもしれないのである（精子を作るのに Y 染色体の遺伝子が必要なため、女性同性愛者のカップルにはご利益がない）。

こうした不妊治療には安全性の問題がつきまとうと考えられるが、ES 細胞での実験から判断して、すぐには実現しないであろう。卵も精子も、ES 細胞からは既に形態の似たものが作られている。ただ、1 つのグループのみが ES 細胞由来の配偶子（マウスの精子）を作り、正常卵と組み合わせて仔マウスを得ているが、この結果は今後再現性の検証が必要である<sup>8</sup>。



ヒトの iPS 細胞の顕微鏡写真。中央のかたまりが、iPS 細胞の集まり（京都大学山中伸弥教授提供）。

iPS細胞を使って生きたクローン人間を作ろうという取り組みも行われかねない。Jaenischは、2細胞胚の細胞を融合させて作った特別仕立ての胚にiPS細胞を導入して、クローンマウスを作ろうとした。こうしてできた胚を代理母に移植することにより、iPS細胞の元の個体と遺伝的に変わらない胎児が作られた（無事に生まれたものはなかったが、Jaenischはたまたまできなかつただけだとしている）。

Jaenischによれば、この実験を人間で再現することは「原理的には可能」であろうという。しかし、成功するにはおそらく「100個以上」の胚が必要と考えられ、本当に実行するのは非現実的ではかかっている、と付け加える。ただ、クローン化で使う新鮮な卵よりも受精胚の方が入手しやすいことから、一匹狼的な研究者の中にはこれをやってみようとする者があるかもしれない。ある個人から作られたiPS細胞を受精胚

に組み込み、キメラの赤ん坊を作り出すことも可能である。

こうした生殖産業的な戦略は、少なくとも現状の技術では失敗に終わるものと考えられる。しかし、技術革新は日々進歩し、幅広くいろいろな目的でiPS細胞が利用される可能性があり、危険な実験を監視することはますますむずかしくなっていくだろう。「かつては、生殖補助医療に従事する医師という監視を行う特別な団体がありました。しかし自己規制に大きく依存する米国などでは特に、iPS細胞の登場により監視はむずかしくなるでしょう」とスコットランド再生医療センター（英、エジンバラ）のPaul De Sousaは語る。

山中の倫理面の懸念は、Paul De Sousaを規制に向けた政府への陳情に動かした。2月21日、文部科学省は、日本のすべての大学と研究機関に対し、「人間や動物の子宮にiPS細胞から作製した胚を移植すること、そのほかのあ

らゆる方法を用いてiPS細胞から人間を作り出すこと、胚や胎児にiPS細胞を導入すること、それに生殖細胞をiPS細胞から作製すること」を特別に禁止する通達を発した。

#### 現況：偽（目的による）

iPS細胞が提起した難題は専門家ではなく、社会が迅速に処理しなければならないと、山中は語る。「私はこの技術を誇りに思いますが、大きな責任も感じています」。

David CyranoskiはNatureのアジア・パシフィック特派員。

1. Takahashi, K. & Yamanaka, S. *Cell* **126**, 663-676 (2006).
2. Yu, J. et al. *Science* **318**, 1917-1920 (2007).
3. Takahashi, K. et al. *Cell* **131**, 861-872 (2007).
4. Hanna, J. et al. *Science* **318**, 1920-1923 (2007).
5. Takagi, Y. et al. *J. Clin. Invest.* **115**, 102-109 (2005).
6. Lowry, W. E. et al. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* **105**, 2883-2888 (2008).
7. Yu, J. et al. *Science* **318**, 1917-1920 (2007).
8. Nayernia, K. et al. *Dev. Cell* **11**, 125-132 (2006).