

図2 iPS細胞に関する研究の流れ

フリカツメガエルの小腸細胞核移植から、1997年のクローン羊ドリーの誕生、2000年代の多田らによるES・体細胞融合に至る研究の中で、いったん分化した細胞の時間を逆戻りさせられる（＝初期化）何らかの因子が核内に存在することは、すでに推測されていた⁸⁻¹⁰⁾。しかし、細胞の分化・未分化といった状態は、本来多くの遺伝子発現調整やゲノム修飾に規定されている。ES細胞をES細胞たらしめているそのようなエピジェネティック機構を、わずか数個の遺伝子導入というきわめて単純なジェネティック操作で誘導し得たことは、大きな驚きをもって受け止められた（図2）。しかも、ヒトiPS細胞の樹立により、マウス・ヒトという動物種の違いにもかかわらず共通の初期化メカニズムが存在することまで示唆された。現在精力的に進められている初期化過程の解析を通じて、細胞内の様々な分子ネットワーク機構が今後いつそう明らかになると思われる。そうすれば、iPS細胞研究のみならず、生物学・医学全般に大きな発展をもたらすことが期待される。

B. iPS細胞の医学的応用

iPS細胞のもう一つの意義は、いうまでもなく「疾患（患者）由来iPS細胞」の医学的利用への可能性にある（図3）。その点に関し、我が国では当初から「再生（細胞移植）医療の新たな資源」としての期待がやや先行した感もある。しかし、iPS細胞の応用法はそれに止まらない。むしろ、これまで不可能だったアプローチによる病態機序の解明や、オーダーメイドの薬剤スクリーニング、創薬などの分野で、より早く社会への還元が期待される。すでにES細胞研究で蓄積された知見を基に、血液、心筋、網膜、神経などさまざまな組織細胞への分化および利用に関する基礎研究が始まっている。

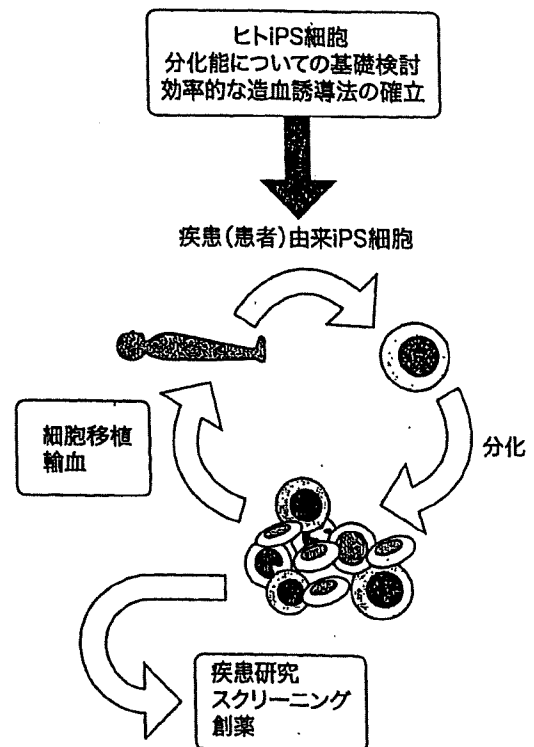


図3 疾患（患者）由来iPS細胞の応用

1. 再生医療

Jaenischらは2007年末、鎌状赤血球症モデルマウスから樹立したiPS細胞を、遺伝子治療後に試験管内で造血前駆細胞に分化させ、再びマウス体内に移植することで一定の治療効果が得られたと発表した¹¹⁾（図4）。これが、iPS細胞を用いた再生医療モデルの最初の報告である。患者自身の体細胞からiPS細胞を樹立すれば、HLAによる免疫学的バリアを回避した移植細胞ソースとしてきわめて高いポテンシャルがある。血液疾患のみならず、パーキンソン病に対するドバミン産生細胞移植や、網膜変性疾患に対する色素上皮細胞移植など、iPS細胞を用いた再生医療の対象となりうる疾患は多岐にわたる。しかし、後述のように実際の臨床応用に向けてはまだ数多くの課題があり、実現にはなお時間を要すると思われる。

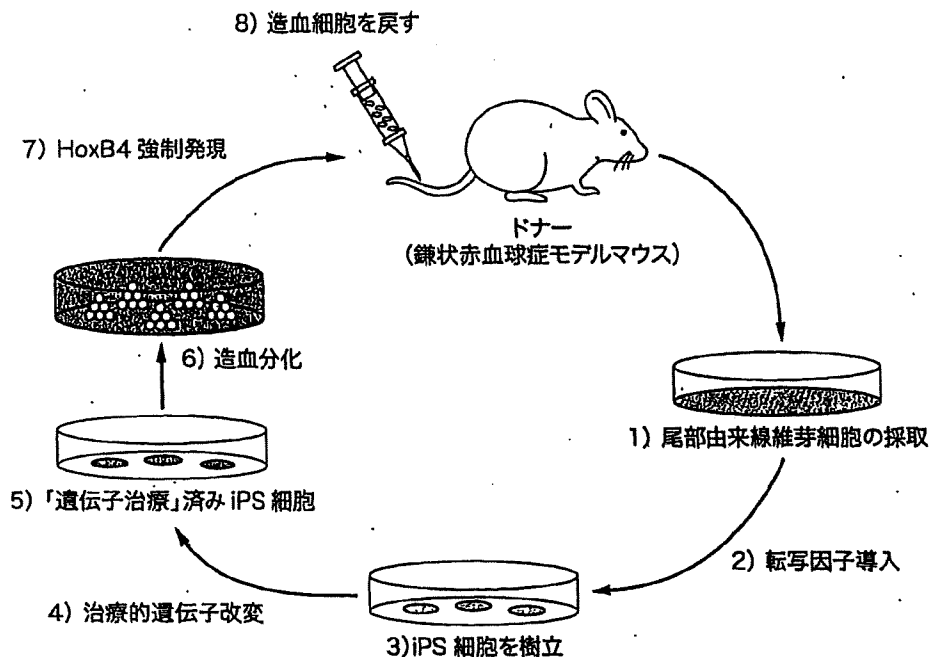


図4 Jaenischらによる鎌状赤血球症治療モデル (文献11を改変)

2. 疾患研究

骨髄不全や神経筋変性疾患などに対する*in vitro*での病態機序解明は、従来主に遺伝子改変細胞株やES細胞を用いて行われてきた。しかし、幾多の疾患についてその遺伝子変異株をすべて人為的に作出することは現実問題として困難である。一方、患者検体を直接用いた研究は、採取できる組織が限られる上、治療による病態修飾や、患者本人に繰り返す苦痛を与えるという倫理的問題も避けられなかった。さらに、筋ジストロフィーのように発症まで長い歳月を要する疾患、Schwachman Diamond症候群など一つの遺伝子異常が複数の組織で異なる不具合を引き起こすような複雑な病態を解明するには、従来の方法で必ずしも充分といえない面があった。

患者由来のiPS細胞を樹立すれば、その状態で無限に増殖・保存が可能になる。それらを様々な分化させることで、体内で実際に起きている病態の機序を、発生学に則って解明できるものと期待される。

3. 薬剤スクリーニング・創薬研究

QT延長症候群など、病型ごとに薬剤の有効性や毒性が異なる疾患がある。iPS細胞を用いた試験管内分化システムを用いれば、オーダーメイドの薬剤スクリーニング試験をハイスループットで行えるようになる可能性がある。さらに、創薬の分野で同様のシステムを応用し、より迅速で網羅的な新規薬剤の開発が可能になると期待される。

C. iPS細胞の分化能

iPS細胞は確かにES細胞にきわめて類似した性質を有すが、人工的に時計の針を逆戻りさせたiPS細胞と、もともと多分化能をもつ受精卵由来のES細胞は決して「同一」でない。iPS細胞から分化させた細胞の臨床応用を議論する際には、まずその分化能を詳しく解析し、生体およびES細胞と比較検討する必要がある。ここでは主に血管内皮・造血分化についての知見を中心に、iPS細胞の分化能について述べる。

1. iPS 細胞からの試験管内血液・血管内皮細胞分化能

マウス・トリ胚において初期の血液細胞クラスターは腹側大動脈に付着して観察される。またこれら早期の血液・血管内皮細胞が表面マーカーの発現を共有することから、血液・血管内皮細胞には共通の前駆細胞（ヘマンジオブラスト、血球血管前駆細胞）が存在すると考えられている¹²⁾。

発生過程で最初に出現する卵黄嚢由来の造血では、脱核しない大型の胚型赤血球が産生される（一次造血）。一方、遅れて AGM 領域に現れる造血細胞からは、脱核赤血球を含む各系統の血球が出現し、やがて造血の場が肝臓・骨髄へと移動する（二次造血）。それに伴い、胚型 Hb から胎児型 Hb、成体型 Hb への移行（Hb スイッチ）が行われる¹³⁻¹⁷⁾。これまでの *in vivo* の観察、および ES 細胞を用いた *in vitro* 造血分化の研究により、ヘマンジオブラストは側板中胚葉マーカーである Flk-1 陽性細胞分面に含まれること、また ES 細胞由来の *in vitro* 造血分化が、胚発生を模倣する形で一次造血・二次造血を再現することが知られている¹⁸⁻²⁴⁾。

そこで我々はマウス iPS 細胞を用い、OP9 共培養システム上での造血分化を経時的に解析し、ES 細胞との比較検討を行った。コロニーアッセイ、免疫染色、フローサイトメトリー、RT-PCR を用いた解析により、iPS 細胞からも ES 細胞と同様に、Flk-1 陽性前駆細胞を経て一次造血・二次造血由

来の血液細胞、血管内皮細胞の連続的分化が行われることが明らかとなった（図5）。iPS 細胞由来 Flk-1 陽性細胞は ES 細胞と同様、分化誘導4日目から出現し、Sca-1, c-kit, CD34 など早期造血に関わるマーカーも同時期に発現していた。

Flk-1 陽性分面からは、血球コロニーと同時に VE-cadherin, CD31 陽性の血管内皮コロニーも出現する。そこで single cell deposition assay を行い、この分面細胞の分化能を一細胞レベルで解析した。その結果、iPS 細胞由来 Flk-1 陽性細胞には、単一細胞から血球と内皮の両方に分化し得る、共通前駆細胞が含まれることが明らかとなった。以上より、iPS 細胞由来の造血分化が、胚発生の経過を模倣するとされる ES 細胞とほぼ同じ過程を経ることが示された（投稿中）。

2. iPS 細胞からの造血幹細胞誘導の可能性

ES 細胞・iPS 細胞から、長期骨髄再建能をもつ移植可能な造血幹細胞を誘導することは、再生医療にむけた研究の大きな目標の一つである。現在臨床で行われている造血幹細胞移植では、ドナー・レシピエント間の免疫学的差異に起因する様々な合併症が生じる。もし患者由来の iPS 細胞から正常造血幹細胞を誘導できれば、そのような免疫学的バリアを回避した移植治療が実現する可能性もある。

先行する ES 細胞の研究では、転写因子 HoxB4 の導入により、ES 細胞から「二次移植可能な造

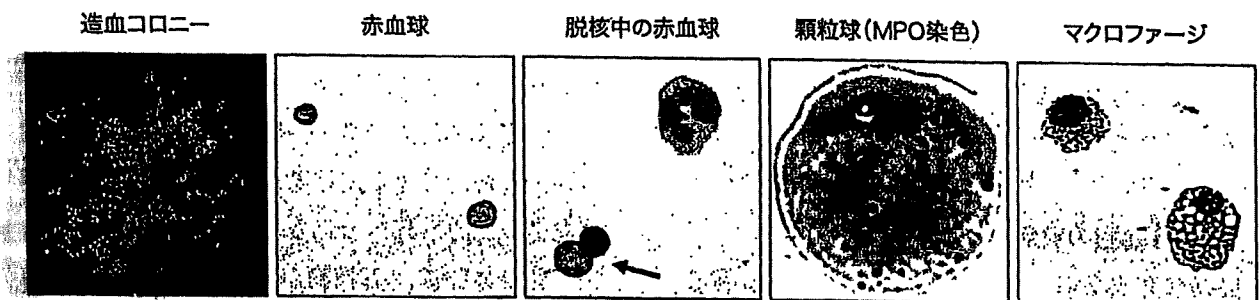


図5 iPS 細胞由来の血液細胞（自験例）

血細胞」を誘導できることを Daley らが 2002 年に報告し、注目を浴びた²⁵⁾。このアイデアは、Jaenisch らによる前述の鎌状赤血球症マウス治療モデルでも採用されており、彼らはグロビン遺伝子の targeting therapy に加え、分化過程で HoxB4 遺伝子を追加導入している¹¹⁾。すなわち、この実験から、iPS 細胞由来造血幹細胞も ES 細胞と同様、HoxB4 の関与する何らかのメカニズムにより誘導され得るということは示されたことになる。しかし現在に至るまで、マウスにおいてもヒトにおいても、厳密な意味での造血「幹」細胞を、何らの遺伝子操作なしに ES 細胞・iPS 細胞から誘導した報告はない。この点は今後も引き続き大きな研究テーマであろう。

3. iPS 細胞からの血液以外の細胞への分化能

中胚葉系器官には、血液・血管内皮以外に筋肉や心筋などがあげられる。我々も前述の系で拍動する心筋コロニーを観察しているが、山下らは iPS 細胞由来の Flk-1 陽性細胞を様々な条件で継続培養し、心筋・血管内皮・壁細胞・血球への誘導を報告している²⁶⁾。さらに、三次元培養による血管構造の再現 (tube formation) にも成功している。

中胚葉系以外には、iPS 細胞からの神経、網膜 (外胚葉)、インスリン分泌細胞 (内胚葉) などへの試験管内分化がすでに報告されている。

D. 実用に向けての課題

iPS 細胞は医学・再生医療研究に大きなブレイクスルーをもたらしたが、実際の臨床応用に至るため、乗り越えるべき課題も多い。

1. iPS 細胞の安全性

最初に発表された iPS 細胞は、その産生に癌遺伝子として知られている c-Myc 遺伝子を導入さ

れており、マウスへの移植実験でも発癌性が報告されていた¹⁾。その後 c-Myc 抜きの 3 遺伝子²⁾や、別の遺伝子の組み合わせ⁵⁾、2 因子と化合物の組み合わせ²⁷⁻²⁹⁾ などによっても iPS 細胞が樹立されるようになったが、それでもキメラマウスにおける悪性腫瘍発生の問題は完全には解決されておらず、今後の大きな課題である。そもそも初期化や増殖に関与する遺伝子には、とかく腫瘍との関連を取り沙汰されるものが多く、残念ながら単に c-Myc を使わなければよい、というような問題ではない。

過去に SCID 患者に対する遺伝子治療が白血病を引き起こした事例を鑑みても、現在の方法で iPS 細胞樹立時に外来遺伝子のゲノム組み込みが避けられない点は、大きな問題である^{30,31)}。解決策として、たとえば「レトロウイルス以外の手段 (アデノウイルスなど) による遺伝子導入」、「蛋白や化合物のみによる初期化」などの方法が考えられている。実際、本稿執筆中の 2008 年秋には Hochedlinger らがアデノウイルス³²⁾、山中らがプラスミドを用いた手法³³⁾ でゲノム組み込みのない iPS 細胞 (いずれもマウス) 樹立を立て続けに報告するなど、より安全で簡便な iPS 細胞作成法の開発に向け、熾烈な競争が続いている。今のところ、これらの iPS 細胞でキメラマウスの腫瘍形成は観察されないようである。しかし、この点を含め今後さらに詳しい検討が必要であろう。

2. 培養条件・技術の開発

現在の幹細胞研究のレベルでは、iPS 細胞にしる ES 細胞にしる、樹立から未分化維持、分化に至る全ステップを動物由来血清や支持細胞抜きに行うことは不可能である。特に移植医療を念頭においた場合、できるだけ選択的に、しかも簡便かつ安価に目的系統へ分化させた上で、他の不要細胞を完全に除去する技術が重要となる。しかし、現状ではまだ一般に応用できる段階でない。

たとえば、輸血製剤は照射により有核細胞など余分な成分を除去できることから、比較的臨床応用に結びつけやすい分野とも考えられる。ES細胞・iPS細胞由来の赤血球や血小板を大量に精製できるようになれば、化学療法後の支持療法など長期に輸血を必要とする患者に応用したり、献血に類らない製剤供給につながる可能性もある³⁴⁻³⁶⁾。しかし、現在は製剤1本を作成するにも大量の増殖とサイトカインを長期に使用する必要があり、今すぐ医療現場に応用できる状況ではない。このように、今後は分化方法の開発とともに、コスト面の改善も実用化への大きな課題となる。

3. 倫理的・社会的問題

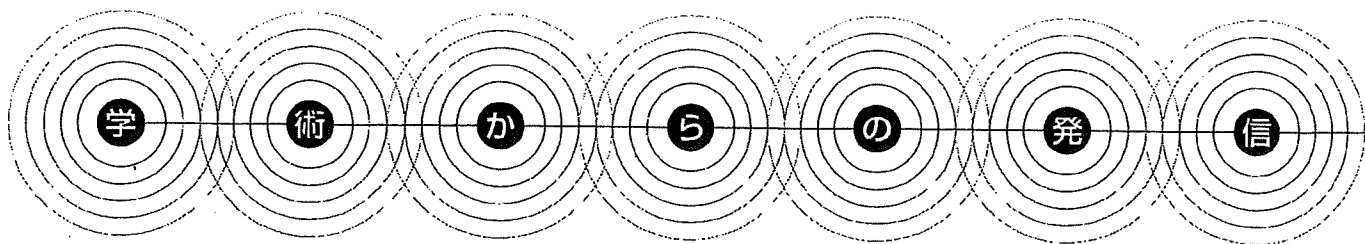
iPS細胞については、しばしば「樹立にあたり胚を壊さない」という点が強調される。確かに、これまでヒトES細胞は発生分化研究や再生医療への応用が期待される一方、「生命の萌芽」である胚を破壊しないと得られない点、研究に用いられるヒトクローン胚が理論的に生殖医療へ転用可能である点が、倫理的・社会的な課題となっていた。それに対し、iPS細胞では前者の問題が完全に回避されるので、ES細胞に比べ有利といえる。しかし、後者についてはiPS細胞でも同様の危険があり、我が国でもすでにiPS細胞の生殖目的利用を禁ずる指針が出されている。また、疾患由来iPS細胞を樹立する際の個人情報などをどう扱うかという、新たな課題も生じている。これらは今後も慎重に議論し検討していく必要がある。

文献

- 1) Takahashi K, Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell*. 2006; 126: 663-76.
- 2) Okita K, Ichisaka T, Yamanaka S. Generation of germline-competent induced pluripotent stem cells. *Nature*. 2007; 448: 313-7.
- 3) Wernig M, Meissner A, Foreman R, et al. In vitro

- reprogramming of fibroblasts into a pluripotent ES-cell-like state. *Nature*. 2007; 448: 318-24.
- 4) Maherali N, Sridharan R, Xie W, et al. Directly reprogrammed fibroblasts show global epigenetic remodeling and widespread tissue contribution. *Cell Stem Cell*. 2007; 1: 55-70.
- 5) Yu J, Vodyanik MA, Smuga-Otto K, et al. Induced pluripotent stem cell lines derived from human somatic cells. *Science*. 2007; 318: 1917-20.
- 6) Takahashi K, Tanabe K, Ohnuki M, et al. Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. *Cell*. 2007; 131: 861-72.
- 7) Park IH, Zhao R, West JA, et al. Reprogramming of human somatic cells to pluripotency with defined factors. *Nature*. 2008; 451: 141-6.
- 8) Gurdon JB. The developmental capacity of nuclei taken from intestinal epithelium cells of feeding tadpoles. *J Embryol Exp Morphol*. 1962; 10: 622-40.
- 9) Wilmut I, Schnieke AE, McWhir J, et al. Viable offspring derived from fetal and adult mammalian cells. *Nature*. 1997; 385: 810-3.
- 10) Tada M, Takahama Y, Abe K, et al. Nuclear reprogramming of somatic cells by in vitro hybridization with ES cells. *Curr Biol*. 2001; 11: 1553-8.
- 11) Hanna J, Wernig M, Markoulaki S, et al. Treatment of sickle cell anemia mouse model with iPS cells generated from autologous skin. *Science*. 2007; 318: 1920-3.
- 12) Wood HB, May G, Healy L, et al. CD34 expression patterns during early mouse development are related to modes of blood vessel formation and reveal additional sites of hematopoiesis. *Blood*. 1997; 90: 2300-11.
- 13) Matsuoka S, Tsuji K, Hisakawa H, et al. Generation of definitive hematopoietic stem cells from murine early yolk sac and paraaortic splanchnopleures by aorta-gonad-mesonephros region-derived stromal cells. *Blood*. 2001; 98: 6-12.
- 14) Moore MA, Metcalf D. Ontogeny of the haemopoietic system: yolk sac origin of in vivo and in vitro colony forming cells in the developing mouse embryo. *BJ Haematol*. 1970; 18: 279-96.
- 15) Doetschman TC, Eistetter H, Katz M, et al. The

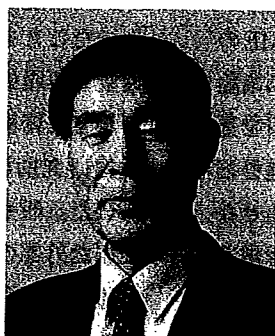
- in vitro development of blastocyst-derived embryonic stem cell lines: formation of visceral yolk sac, blood islands and myocardium. *J Embryol Exp Morphol.* 1985; 87: 27-45.
- 16) Leder A, Kuo A, Shen MM, et al. In situ hybridization reveals co-expression of embryonic and adult alpha globin genes in the earliest murine erythrocyte progenitors. *Development.* 1992; 116: 1041-9.
 - 17) Leder A, Weir L, Leder P. Characterization, expression, and evolution of the mouse embryonic zeta-globin gene. *Mol Cell Biol.* 1985; 5: 1025-33.
 - 18) Ma F, Ebihara Y, Umeda K, et al. Generation of functional erythrocytes from human embryonic stem cell-derived definitive hematopoiesis. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2008; 105: 13087-92.
 - 19) Nakano T, Kodama H, Honjo T. Generation of lymphohematopoietic cells from embryonic stem cells in culture. *Science.* 1994; 265: 1098-101.
 - 20) Nakano T, Kodama H, Honjo T. In vitro development of primitive and definitive erythrocytes from different precursors. *Science.* 1996; 272: 722-4.
 - 21) Nishikawa SI, Nishikawa S, Hirashima M, et al. Progressive lineage analysis by cell sorting and culture identifies FLK1⁺VE-cadherin⁺ cells at a diverging point of endothelial and hemopoietic lineages. *Development.* 1998; 125: 1747-57.
 - 22) Shinoda G, Umeda K, Heike T, et al. alpha4-integrin(+) endothelium derived from primate embryonic stem cells generates primitive and definitive hematopoietic cells. *Blood.* 2007; 109: 2406-15.
 - 23) Umeda K, Heike T, Yoshimoto M, et al. Identification and characterization of hemoangiogenic progenitors during cynomolgus monkey embryonic stem cell differentiation. *Stem Cells.* 2006; 24: 1348-58.
 - 24) Umeda K, Heike T, Yoshimoto M, et al. Development of primitive and definitive hematopoiesis from nonhuman primate embryonic stem cells in vitro. *Development.* 2004; 131: 1869-79.
 - 25) Kyba M, Perlingeiro RC, Daley GQ. HoxB4 confers definitive lymphoid-myeloid engraftment potential on embryonic stem cell and yolk sac hematopoietic progenitors. *Cell.* 2002; 109: 29-37.
 - 26) Narazaki G, Uosaki H, Teranishi M, et al. Directed and systematic differentiation of cardiovascular cells from mouse induced pluripotent stem cells. *Circulation.* 2008; 118: 498-506.
 - 27) Kim JB, Zaehres H, Wu G, et al. Pluripotent stem cells induced from adult neural stem cells by reprogramming with two factors. *Nature.* 2008; 454: 646-50.
 - 28) Shi Y, Do JT, Desponts C, et al. A combined chemical and genetic approach for the generation of induced pluripotent stem cells. *Cell Stem Cell.* 2008; 2: 525-8.
 - 29) Xu Y, Shi Y, Ding S. A chemical approach to stem-cell biology and regenerative medicine. *Nature.* 2008; 453: 338-44.
 - 30) Aoi T, Yae K, Nakagawa M, et al. Generation of pluripotent stem cells from adult mouse liver and stomach cells. *Science.* 2008; 321: 699-72.
 - 31) Woods NB, Bottero V, Schmidt M, et al. Gene therapy: therapeutic gene causing lymphoma. *Nature.* 2006; 440: 1123.
 - 32) Stadtfeld M, Nagaya M, Utikal J, et al. Induced pluripotent stem cells generated without viral integration. *Science.* 2008; 322: 945-9.
 - 33) Okita K, Nakagawa M, Hyunjong H, et al. Generation of mouse induced pluripotent stem cells without viral vectors. *Science.* 2008; 322: 949-53.
 - 34) Nishikii H, Eto K, Tamura N, et al. Metalloproteinase regulation improves in vitro generation of efficacious platelets from mouse embryonic stem cells. *J Exp Med.* 2008; 205: 1917-27.
 - 35) Takayama N, Nishikii H, Usui J, et al. Generation of functional platelets from human embryonic stem cells in vitro via ES-sacs, VEGF-promoted structures that concentrate hematopoietic progenitors. *Blood.* 2008; 111: 5298-306.
 - 36) Hiroshima T, Miharada K, Sudo K, et al. Establishment of mouse embryonic stem cell-derived erythroid progenitor cell lines able to produce functional red blood cells. *PLoS ONE.* 2008; 3: e1544.



疾患特異的iPS細胞

はじめに

ヒトiPS細胞の樹立に関する衝撃的な報告されてからわずか2年足らずであるが、膨大な数のiPS細胞に関する論文が報告され、いまだに毎月のようにCore Journalへの掲載が続いている。iPS細胞の持つ意義として、再生医療への応用、疾患の機序解明や治療法選択への利用、基礎研究への貢献等多くのものがあげられているが、本稿では我が国でも最近盛んになってきた疾患特異的iPS細胞を用いた研究について述べてみたい。



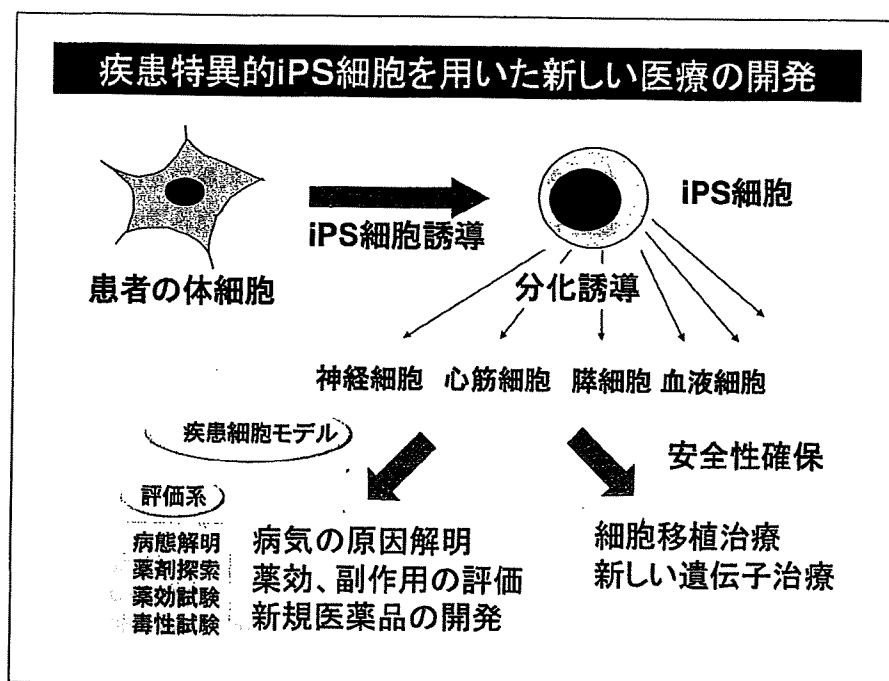
中畑龍俊

iPS細胞を用いた研究

iPS細胞はES細胞と同様、ほぼ無限の自己複製能を持ち、in vitroで培養条件を変化させると、神経細胞、心筋細胞、骨格筋細胞、血管内皮細胞、軟骨や骨の細胞、膵島細胞、肝細胞、各種血液細胞などさまざまな細胞に分

化可能であることから、幅広い研究への応用が期待されている。当初、iPS細胞作製は線維芽細胞などの体細胞に4つの転写因子 (OCT3/4, Sox2, c-Myc, Klf4) 遺伝子を用いていたが、癌遺伝子であるc-Myc遺伝子を

除いた3因子でも作成が可能になっている。また、遺伝子導入にはレトロウイルスベクターを用いて行われていたが、染色体に組み込まれないアデノウイルスベクター、センダイウイルスベクター、プラスミド、蛋白を用いたiPS細胞作製の成功が報告されている。さらに、より安全なヒトiPS細胞をつくり出すために、低分子化合物のスクリーニ



ングが世界的に競争で行われている。

我が国では文部科学省の再生医療実現化プロジェクトなどiPS細胞の再生医療への応用を目指した研究に多額の研究費が投下されてきた。

一方、われわれは、ヒトiPS細胞の樹立が報告された当初から、患者の細胞から疾患特異的iPS細胞をつくりだし、それを用いた疾患解析研究や薬剤試験などさまざまな分野への利用を中心に研究してきた。欧米でもiPS細胞技術を用いた研究は疾患の病態解析や創薬に向けた研究が主体となっている（図）。

疾患特異的iPS細胞

iPS細胞のもつ画期的な点は、さまざまな疾患の患者皮膚などの組織から疾患特異的iPS細胞を樹立できることである。新規治療法の開発、新規薬剤の有効性・毒性の検定などに応用されと考えられる。将来的には患者iPS細胞は異常遺伝子を修復した遺伝子治療と複合した再生医療につながるものと期待される。

京都大学では昨年6月、さまざまな疾患に対する「ヒト疾患特異的iPS細胞の作製とそれを用いた疾患解析に関する研究」、「ヒト疾患特異的iPS細胞を用いた遺伝子解析研究」の倫理委員会の承認が得られ、筋ジストロフィー、ALS（筋萎縮性側索硬化症）などさまざまな疾患特異的iPS細胞の樹立が行われている。

疾患特異的iPS細胞の応用

疾患特異的iPS細胞を用いることによりさまざまな研究が進展すると考えられる。どのような応用が可能になるか、いくつかの疾患を例に挙げて考えてみたい。

①診断への応用

iPS細胞から生検が困難な組織の細胞を作り出し、

それを用いた疾患の診断が期待される。大脳、小脳、脊髄などの中枢神経組織を生検し診断するのは現実にはほとんど不可能である。そこで、患者皮膚などから樹立したiPS細胞を大脳、小脳、脊髄組織等に分化させ、それを使って診断や病態の解明に結びつけることを考えている。心筋、軟骨、肺、脾臓などの組織は生検可能だが、大量の組織を繰り返し採取することはできないので、そのような場合も対象となりえるだろう。

②疾患特異的iPS細胞を用いた病気発症の機序の解明

疾患特異的iPS細胞は患者からつくったiPS細胞なので、その細胞を患部と同じ組織に分化させることができれば、病気発症の機序を詳細に解析できる可能性がある。たとえば、肝臓に疾病のある患者のiPS細胞を分化させる過程で、病気がiPS細胞から肝臓の幹細胞になるまでに発生するのか、それとも肝幹細胞がさらに分化する過程で発生するのか、iPS細胞からの各分化段階の細胞を回収することにより病気のおこっている位置を特定できる可能性がある。しかも健康人と患者のiPS細胞を同じように肝臓に分化させて、各段階で比較することで、いままでとはまったくちがう手法で病気の本態に迫ることができるかもしれない。

また、先天性好中球減少症（Kostmann型）の一部では、好中球減少と中枢神経の異常を、Shwachman症候群では脾外分泌の異常と造血障害を合併することが知られているが、どう見ても関係のない二つの異常が何故合併するのか全く解っていない。これらの患者から疾患特異的iPS細胞を樹立し、その細胞から血液（好中球）、神経、脾臓に分化させその過程を正常と比較することにより新たな知見が得られるのではないかと考えている。

③疾患モデルの構築

iPS細胞技術は、今までモデル動物のなかった疾患に対して新しいモデルを提供すると考えられる。たとえば脊髄性筋萎縮症（SMA）と筋萎縮性側索硬化症（ALS）は筋組織を支配している運動ニューロンが選択的に変性、死滅し、その結果筋力低下、筋萎縮が生じ、不幸な転機をとる疾患である。SMAは、SMN遺伝子の異常によって発症する病気で、遺伝子異常が重度な場合は胎児期に、軽い場合でも新生児、幼少期に発症する。一方、ALSについては原因の大部分が不明で、遺伝子異常がわかっているのは全体の10%にすぎず、一般的には、30歳以後発症して徐々に進行することが知られている。SMA、ALSは運動ニューロン疾患としてまとめられるが、ともに運動ニューロンが選択的に死滅する機序は不明で有効な治療法がないという点では一致している。ともに良い動物モデルがないことから、病態を解明し、治療法を開発するためには新しいモデルの開発が待たれている。

iPS細胞技術を使うことで、SMA、ALS患者さんの皮膚細胞から疾患特異的iPS細胞を樹立し、この細胞からSMAやALS患者と同じ遺伝子セットをもった運動ニューロン細胞を大量に作り出すことができるようになった。こういった細胞を使うことで、これらの病気の病態解明や、薬剤探索のスタートラインに立つことができるようになった。

④時空を超えて病気の本態に迫る

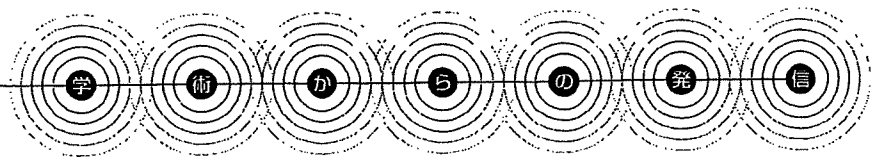
デュシェンヌ型筋ジストロフィー（Duchenne muscular dystrophy）の患者は、10歳ぐらいになると歩けなくなり、20歳ぐらいで人工呼吸器につながれ、その予後もわるいことが知られている。しかし、10歳

頃まではっきりした症状も現れず見過ごされている例も存在する。その間にどういったことがおこって病気が発症してくるのかが興味深い。たとえば10歳の患者から筋生検をして診断すると同時に、皮膚または筋肉の細胞からiPS細胞を樹立し、その細胞から分化させた骨格筋組織は、いわば生まれたての筋肉の細胞と同じ状態であることが予想される。つまり10年間という時間を過去に戻って、そのときの筋肉の状態と現在の筋組織を比較することが可能となると考えられる。このような手法は、今までには考えられなかったことであり、iPS細胞が持つ強力なインパクトではないのかと思っている。

デュシェンヌ型筋ジストロフィーは、ジストロフィンというタンパク質をコードするたった一つの遺伝子の異常によっておこる病気である。本症の発症が筋細胞の持続的な脱落と限定的な再生の結果なのか、なんらかの形でエピジェネティックな変化・修飾が積み重なって、病気が進行してきたのか判定することができであろう。疾患特異的iPS細胞は、いままで遺伝子のちがいにしか目が向けられていなかった遺伝性疾患に対して、発症メカニズムを解明する新たな手段を与えてくれるかもしれない。

⑤患者自身の細胞を使った薬物試験

新薬の開発、薬に対する感受性試験、毒性試験は、その対象となる病気の患者の細胞を使っておこなうのが最も良いと考えられる。新薬の開発に当たっては、一般的に、前臨床試験として動物実験を行うが、動物実験の結果が必ずしも人に当てはまるわけではない。つぎに健康な人で薬物試験をし、そこである程度安全性を確認してから、患者で臨床試験を行うことが多い。しかし、健康な人での毒性試験と患者とでは結



果がまったくちがうことがある。健康な人には異常がなくても、患者では重篤な副作用が現れることもある。実際薬を投与されるのは患者なのだから、患者の細胞そのものを使って毒性試験や有効試験をするほうがはるかによいはずである。

疾患特異的iPS細胞から目的とする細胞に分化させ、その細胞を用いて毒性試験や有効試験をする時代が始まろうとしている。

⑥新しい遺伝子治療の可能性

従来の遺伝子治療は、血液のもととなる造血幹細胞など、体性幹細胞に遺伝子を導入して、患者に細胞を戻すという方法で実施されてきた。体性幹細胞はある程度自己複製能をもってはいるが、その能力が弱く、せっかく遺伝子を導入しても、その細胞がすぐに分化してしまい、幹細胞状態の細胞がなくなってしまうため遺伝子治療はなかなかうまくいかなかった。一方、iPS細胞はほぼ無限の自己複製能をもっているため、患者から作製したiPS細胞の遺伝子を修復して、正常になった細胞だけを選択して増やすことができる。すでにマウスでは、鎌状赤血球のモデルマウスから作成したiPS細胞の異常遺伝子を修復し、修復されたiPS細胞から作られた造血前駆細胞を用いた移植実験で鎌状赤血球マウスの貧血が良くなったモデルが報告されている。将来の遺伝子治療は、iPS細胞を使っておこなう治療法となっていくのではないかと私は考えている。

⑦個別化医療への応用

いまアメリカでは、QT延長症候群のiPS細胞樹立が盛んにおこなわれている。QT延長症候群は8つ以上のタイプに分かれ、タイプによって使用する薬がちがうため、タイプを決めるのに薬物負荷試験をする必

要がある。ところがこの薬物負荷試験が非常に危険な検査で、致死的な不整脈が出現することがあり、点滴を行い、カウンターショック（除細動器）を横に置きながら、心臓の専門医が薬物負担をかけて診断している。そこでQT延長症候群の患者の皮膚からiPS細胞をつくり、心筋に分化させて、試験管のなかの分化した心筋に薬物をかけて試験をすることが試みられている。いままでは患者に負荷をかけておこなっていた診断・薬物試験を、iPS細胞で代用することができるようになるかもしれない。

⑧神経疾患・精神疾患に対する新たなアプローチの可能性

統合失調症やうつ病は、いまでもそのメカニズムがよくわかっていない疾患である。膨大な数の患者がいることから、新規の治療薬の開発には多くの企業の関心が注がれている。おそらく統合失調症の患者の神経細胞は、神経ネットワークの構成など、正常な人の神経細胞とどこがちがうところがあるのではないかといわれてきたが、いままではそれに対してアプローチする手法がなかった。

いまは、神経のネットワークのつくられ方や、グリア細胞との相互作用、神経のトランスミッターの仕方などが詳細に検討できる時代となっているので、統合失調症の患者のiPS細胞から神経細胞や神経ネットワークをつくりだすことができれば、それと健常人のiPS細胞からつくった神経細胞とを比較できる可能性がある。いままでアプローチの方法がなかった疾患、とくに神経疾患・精神疾患に迫る手段となりえるのだ。もちろん、やってみないとわからないことではあるが、疾患特異的iPS細胞は、そういったアプローチの手段を提供することができるかもしれない。

海外における疾患特異的iPS細胞研究

ハーバード大学では幾つかのグループが疾患特異的iPS細胞を樹立して報告している。先天性免疫不全症 (ADA-SCID)、ゴーシェ病、筋ジストロフィー (Duchenne型、Becker型)、ダウン症、パーキンソン病、若年性糖尿病、Shwachman症候群、ハンチントン病、レシユナイハン症候群、ALSである。そのうち幾つかの疾患特異的iPS細胞から目的とする細胞に分化させ、表現型が再現できることを報告している。

ウィスコンシン大学はALSの疾患特異的iPS細胞を作成し、運動ニューロンへの分化を検出している。

カリフォルニア大からはタラセミアの疾患特異的iPS細胞を妊娠中の羊水から作成し、今後の診断、治療への新しいアプローチが示されている。

MITからはパーキンソン病の疾患特異的iPS細胞が、ソーク研究所からはファンconi貧血の疾患特異的iPS細胞が報告されているが、この場合通常の方法ではiPS細胞は樹立できず、線維芽細胞の段階で異常のある遺伝子を修復して初めてiPS細胞の樹立が可能になったという興味ある報告がなされている。

本年バルセロナで開催された国際幹細胞学会では、その他早老症、自閉症、チロシン血症、レット症候群、網膜色素変性症、レーバー先天性黒内障、レーバー遺伝性視神経症、老人性黄斑変性症、夜盲症、冠動脈疾患などの多くの特異的iPS細胞が報告されている。

しかし、これらの発表はまだ疾患特異的iPS細胞を用いた病態の再現にとどまっており、今後の発展が期待される。

京都大学における疾患特異的iPS細胞研究の現状

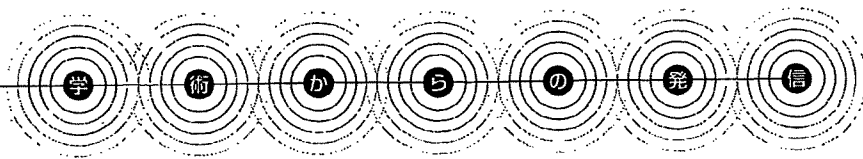
京都大学では、デュシェンヌ型筋ジストロフィー患者を第1例目として疾患特異的iPS細胞の作成が平成20年6月開始された。3歳の筋ジストロフィーの患者および両親から皮膚を採取し、線維芽細胞を培養し増やして、4 (3) 個の転写因子 (OCT3/4, Sox2, Klf4, (c-Myc)) 遺伝子をレトロウイルスベクターで導入することにより疾患特異的iPS細胞が樹立された。

その後、自己炎症性疾患 (CINCA症候群)、Kostmann症候群、ALS、多発性嚢胞腎、脂肪萎縮症のiPS細胞が樹立され、その他多くの疾患の患者が待機中である。

これら疾患特異的iPS細胞から目的の細胞系列に分化させ、疾患特異的iPS細胞の応用の項で述べた様々な解析が始まっている。

おわりに

遺伝的疾患ではiPS化 (リセット) した細胞を再び分化させることで、疾患特異的な現象を再現できる可能性が高いと考えられるが、環境要因などでおこる疾患は疾患特異的iPS細胞研究の対象となりえるのかという質問をよくされる。それはやってみないとわからないと答えることにしている。いままで遺伝子には異常がないとされている疾患についても、疾患特異的iPS細胞を有効に用いることにより、なんらかの未発見の異常が見つかるかもしれない。エピジェネティックな変化や環境要因だけでおこると考えられている病気についても、分化条件や培養条件などの環境を変化させる、あるいはストレスをかけたなかで分化させ



てみるなど、いままでとはちがったアプローチにより
病気の本体に迫っていけるかもしれない。疾患特異的
iPS細胞は、今まで考えられなかった新しい研究手段
を提供しており、患者さんに還元される多くの知見が
得られることが期待される。

PROFILE

中畑龍俊

(なかはた たつし)

日本学会連携委員会、京都大学物質・細胞統合システム拠点 iPS細胞
研究センター副センター長、医療応用開発部門教授

専門：小児科学、再生医学、幹細胞生物学

『学術の動向』

平成21年11月号以降の特集テーマ (案)

『学術の動向』では、今後の各号の特集テーマを
以下のように予定しておりますので、ご期待下さい。

平成21年 11月号「脳科学領域における適切な臨床研究を推進するために」(仮題)

「日本国際賞2009」(仮題)

12月号「グローバル化する世界における多文化主義」(仮題)

「海と陸と人と」(仮題)

疾患特異的iPS細胞

Disease-specific induced pluripotent stem cells

中畑 龍俊

京都大学物質—細胞統合システム拠点iPS細胞研究センター
医療応用技術開発部門疾患解析学分野



中畑 龍俊（なかはた たつとし）
1970年信州大学医学部卒業。'93年東京大学医科学研究所癌病態学研究所教授
'99年京都大学大学院医学研究科発生発達医学講座発達小児科学教授。2009年京都大学物質—細胞統合システム拠点iPS細胞研究センター副センター長、医療応用技術開発部門疾患解析学分野教授。研究テーマ：幹細胞生物学、疾患特異的iPS細胞を用いた疾患解析

Key Words: Induced Pluripotent Stem Cell (iPS Cell), Disease-Specific iPS Cell, Clinical Application, Cellular Model, Drug Discovery

■ Abstract ■

iPS細胞のもつ最も画期的な臨床的側面は、さまざまな疾患の患者皮膚などの組織から疾患特異的iPS細胞を樹立できることである。この細胞を用いて、疾患の病態解析、新規治療法の開発、薬剤の毒性の検定などへの応用が期待される。

欧米では幾つかのグループが疾患特異的iPS細胞を作成し、目的とする細胞に分化させ、表現型が再現できることを報告している。京都大学ではDuchenne型筋ジストロフィー患者を第1例目として疾患特異的iPS細胞の作成が平成20年6月より開始された。その後、CINCA症候群、Kostmann症候群、ALS、多発性嚢胞腎、脂肪萎縮症のiPS細胞が樹立され、その他多くの疾患の患者からiPS細胞作成が進行中である。これら疾患特異的iPS細胞を用いた様々な解析が始まっている。

■ はじめに

2006年、山中教授らはマウス線維芽細胞にたった4つの転写因子遺伝子を導入することにより、胚性幹細胞（ES細胞）と比べても遜色がない能力を持つ人工多能性幹細胞（iPS細胞）の樹立に成功し¹⁾、世界中に大きな衝撃を与えた。翌年、彼らはヒトiPS細胞の樹立にも成功した²⁾。iPS細胞の持つ意義として、基礎研究への貢献、再生医療や創薬への応用など様々な面が言われているが、我が国では再生医療への応用を目指した研究を中心に研究費が投下されてきた。

一方、われわれは当初から、患者の細胞から疾患特異的iPS細胞をつくりだし、それを用いた疾患の病因、病態解析を中心に研究してきた。

欧米でもiPS細胞技術を用いた研究は疾患の病態解析や創薬に向けた研究が主体となっている（図）。本稿では最近我が国でも盛んになってきた疾患特異的iPS細胞を用いた研究について述べてみたい。

■ 疾患特異的iPS細胞

iPS細胞のもつ最も画期的な臨床的側面は、さまざまな疾患の患者から皮膚などの組織を用いて疾患特異的iPS細胞を樹立できることである。この細胞を用いて、疾患の病態解析、新規治療法の開発、新規薬剤の有効性・毒性の検定などに応用されると考えられる。将来的には患者iPS細胞は異常遺伝子を修復した遺伝子治療と複合した再生医療につながるものと期待される。

■ 疾患特異的iPS細胞の応用

疾患特異的iPS細胞を用いることによりさまざまな研究が進展すると予想される。いくつかの応用の可能性を列記してみたい。

■ Tatsutoshi Nakahata

Clinical Application Department, Center for iPS Cell Research and Application (CiRA), Institute for Integrated Cell-Material Sciences, Kyoto University

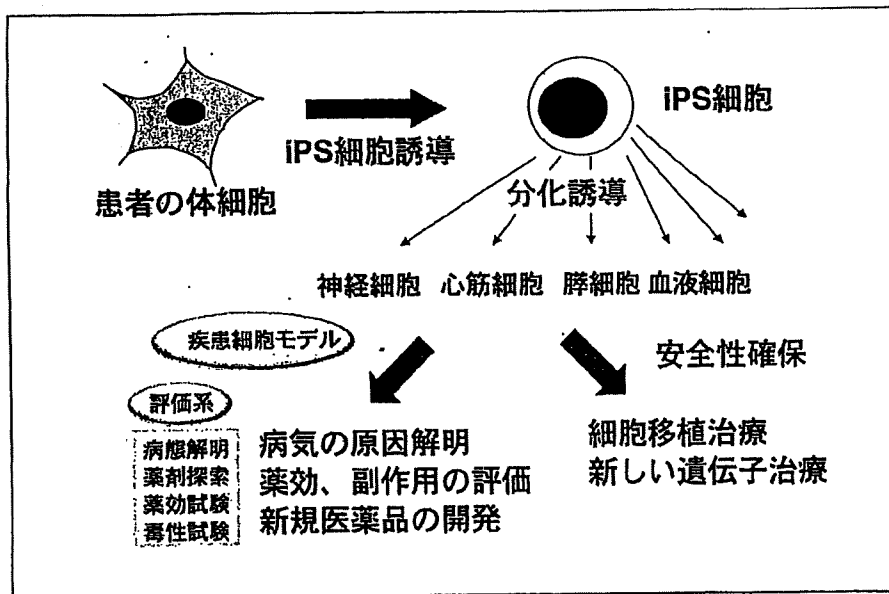


図 疾患特異的iPS細胞を用いた新しい医療の開発

① 診断への応用

iPS細胞から生検が困難な組織の細胞を作り出し、それを用いた疾患の診断が期待される。患者皮膚などから樹立したiPS細胞を生検困難な大脳、小脳、脊髄などの中枢神経組織に分化させ、それを使った診断や病態解析が考えられる。心筋、軟骨、肺、膵臓などの組織は生検可能だが、大量の組織を繰り返し採取することはできないので、そのような場合も対象となりえるだろう。

② 病気の発症機序の解明

患者からつくったiPS細胞を患部と同じ組織に分化させることができれば、病気発症機序を詳細に解析できる可能性がある。健康人と患者のiPS細胞を同じように分化させて、各分化段階の細胞を回収して比較することにより、いままでとはまったくちがう手法で病気の本態に迫ることができるかもしれない。

また、Kostmann症候群の一部では、好中球減少と中枢神経の異常を、Shwachman症候群では膵外分泌の異常と造血障害を合併することが知られているが、どう見ても関係のない二つの異常が何故合併するのか全く解っていない。これらの患者か

ら疾患特異的iPS細胞を樹立し、その細胞から血液(好中球)、神経、膵臓に分化させその過程を正常と比較することにより新たな知見が得られるのではないかと考えている。

③ 疾患モデルの構築

iPS細胞技術は、今までモデル動物のなかった疾患に対して新しいモデルを提供すると考えられる。たとえば脊髄性筋萎縮症(SMA)と筋萎縮性側索硬化症(ALS)は筋組織を支配している運動ニューロンが選択的に変性、死滅し、その結果筋力低下、筋萎縮が生じ、不幸な転機をとる疾患である。しかし、ともに良い動物モデルがないことから、病態解明が進まず治療法の開発のためには新しいモデルの開発が待たれている。iPS細胞技術を使うことで、SMA、ALS患者さんの皮膚細胞から疾患特異的iPS細胞を樹立し、この細胞からSMAやALS患者と同じ遺伝子セットをもった運動ニューロン細胞を大量に作り出すことができるようになった。この細胞を使うことで、これらの病気の病態解明や、薬剤探索のスタートラインに立つことができるようになった。

④ 時空を超えて病気の本態に迫る

Duchenne型筋ジストロフィー患者は一般に10歳ころ歩けなくなり、20歳ぐらいで人工呼吸器が必要となる。たとえば10歳の患者から筋生検をして診断する際、皮膚または筋肉の細胞からiPS細胞を樹立し、その細胞から分化させた骨格筋組織は、いわば生まれたての筋肉の細胞と同じ状態であることが予想される。つまり10年間という時間を過去に遡って、そのときの筋肉の状態と現在の筋組織を比較することが可能となると考えられる。このような手法は、今までには考えられなかったことであり、iPS細胞が持つ強力なインパクトではないかと思っている。

⑤ 患者自身の細胞を使った薬物試験

新薬の開発に当たっては、一般的に、前臨床試験として動物実験を行うが、動物実験の結果が必ずしも人に当てはまるわけではない。つぎに健康人で薬物試験を行い、ある程度安全性を確認してから患者での臨床試験に移ることが多い。しかし、健康人には異常がなくても、患者では重篤な副作用が出現することがありしばしば問題となる。実際薬を投与されるのは患者なのだから、患者の細胞そのものを使って毒性試験や有効試験をするほうがよいはずであり、疾患特異的iPS細胞から目的とする細胞に分化させ、その細胞を用いて毒性試験や有効試験をする時代が始まろうとしている。

⑥ 新しい遺伝子治療の可能性

従来の遺伝子治療は、体性幹細胞に遺伝子を導入して、患者に細胞を戻すという方法で実施されてきたがあまりうまくいかなかった。iPS細胞はほぼ無限の自己複製能をもっているのだから、患者から作製したiPS細胞の遺伝子を修復して、正常になった細胞だけを選択して増やすことができる。すでにマウスでは、鎌状赤血球のモデルマウスから作成したiPS細胞の異常遺伝子を修復し、修復されたiPS細胞から作られた造血前駆細胞を用いた移植実験で鎌状赤血球マウスの貧血が良くなったモデル

が報告されている³⁾。将来の遺伝子治療は、iPS細胞を使っておこなう治療法となっていくのではないかと私は考えている。

⑦ 個別化医療への応用

最近米国では、QT延長症候群のiPS細胞樹立が盛んにおこなわれている。QT延長症候群は8つ以上のタイプに分かれ、タイプによって使用する薬がちがうため、タイプを決めるのに薬物負荷試験をする必要がある。ところがこの薬物負荷試験が非常に危険な検査で、致命的な不整脈が出現することがあり、除細動器を横に置き、循環器専門医が慎重に薬物負担を行い診断している。そこでQT延長症候群の患者の皮膚から作成したiPS細胞をin vitroで心筋に分化させこの細胞を用いて薬物負荷試験が行われている。従来患者で行っていた負荷試験を、iPS細胞で代用できるようになるかもしれない。

■ 海外における疾患特異的iPS細胞研究

ハーバード大学では幾つかのグループが疾患特異的iPS細胞を樹立して報告している^{4, 5)}。先天性免疫不全症(ADA-SCID)、ゴーシェ病、筋ジストロフィー (Duchenne型, Becker型)、ダウン症、パーキンソン病、若年性糖尿病、Shwachman症候群、ハンチントン病、レシュナイハン症候群、ALSである。そのうち幾つかの疾患特異的iPS細胞から目的とする細胞に分化させ、表現型が再現できることを報告している。

ウィスコンシン大学はSMA特異的iPS細胞を作成し、運動ニューロンへの分化を検出している⁶⁾。

カリフォルニア大からはタラセミアの疾患特異的iPS細胞を妊娠中の羊水から作成し、今後の診断、治療への新しいアプローチを示している⁷⁾。

MITからはパーキンソン病の疾患特異的iPS細胞が⁸⁾、ソーグ研究所からはファンconi貧血の疾患特異的iPS細胞が報告されているが、この場合通常の方法ではiPS細胞は樹立できず、線維芽細胞の段階で異常のある遺伝子を修復して初めてiPS細胞の

樹立が可能になったという興味ある報告をしている⁹⁾。

最近, Studerら¹⁰⁾は自律神経や感覚神経が減少する致死的な疾患である家族性自律神経異常症の患者からiPS細胞を樹立し, 本疾患の病態解析と新規薬剤の開発に関する報告を行っている。

本年バルセロナで開催された国際幹細胞学会では, その他早老症, 自閉症, チロシン血症, レット症候群, 網膜色素変性症, レーバー先天性黒内障, レーバー遺伝性視神経症, 老人性黄斑変性症, 夜盲症, 冠動脈疾患などの多くの特異的iPS細胞が報告されている。

しかしこれらの発表はまだ疾患特異的iPS細胞を用いた病態の再現にとどまっており今後の発展が期待される。

■京都大学における疾患特異的iPS細胞研究の現状

われわれは昨年3月, さまざまな疾患に対する「ヒト疾患特異的iPS細胞の作製とそれを用いた疾患解析に関する研究」, 「ヒト疾患特異的iPS細胞を用いた遺伝子解析研究」の2つの申請を京都大学医の倫理委員会に提出し6月承認が得られた。

Duchenne型筋ジストロフィー患者を第1例目として疾患特異的iPS細胞の作成が平成20年6月開始された。患者および両親から皮膚を採取し, 線維芽細胞を培養し増やして, 4(3)つの転写因子(OCT3/4, Sox2, Klf4, (c-Myc))遺伝子をレトロウイルスベクターで導入することにより疾患特異的iPS細胞が樹立された。

その後, 自己炎症性疾患(CINCA症候群), Kostmann症候群, ALS, 多発性嚢胞腎, 脂肪萎縮症のiPS細胞が樹立され, その他多くの疾患の患者からのiPS細胞作成が進行中である。これら疾患特異的iPS細胞から目的の細胞系列に分化させ, 疾患特異的iPS細胞の応用の項で述べた様々な解析が始まっている。

■おわりに

遺伝的疾患ではiPS化(リセット)した細胞を再

び分化させることで, 疾患特異的な現象を再現できる可能性が高いと考えられるが, 環境要因などでおこる疾患は疾患特異的iPS細胞研究の対象となりえるのかという質問をよくされる。それはやってみないとわからないと答えることにしている。いままで遺伝子には異常がないとされている疾患についても, 疾患特異的iPS細胞を有効に用いることにより, なんらかの未発見の異常が見つかるかもしれない。エピジェネティックな変化や環境要因だけでおこると考えられている病気についても, 分化条件や培養条件などの環境を変化させる, あるいはストレスをかけたなかで分化させてみるなど, いままでとはちがったアプローチにより病気の本体に迫っていけるかもしれない。疾患特異的iPS細胞は, 今まで考えられなかった新しい研究手段を提供しており, 患者さんに還元される多くの知見が得られることが期待される。

文 献

- 1) Takahashi K., Yamanaka S., *Cell* 126:663-676, 2006.
- 2) Takahashi K., Tanabe K., Ohnuki M., *et al.*, *Cell* 131:861-872, 2007.
- 3) Hanna J., Wernig M., Markoulaki S., *et al.*, *Science* 318:1920-1923, 2007.
- 4) Park I.-H., Arora N., Huo H., *et al.*, *Cell* 134:877-886, 2008.
- 5) Dimons J. T., Rodolfa K.T., Niakan K.K., *et al.*, *Science* 321:1218-1221, 2008.
- 6) Ebert A., Yu J., Rose F.F., *et al.*, *Nature* 457:277-280, 2009.
- 7) Ye L., Chang J.C., Lin C., *et al.*, *PNAS* 106:9826-9830, 2009.
- 8) Soldner F., Hockemeyer D., Beard C., *et al.*, *Cell* 136:964-977, 2009.
- 9) Raya A., Rodriguez-Piza I., Guenachea G., *et al.*, *Nature* doi:10.1038/nature08129
- 10) Lee G., Papapetrou E.P., Kim H., *et al.*, *Nature* doi:10.1038/nature08320

News (学会情報)

●第57回日本ウイルス学会学術集会

テーマ: ウイルス学のグローバル化

グローバル化したウイルス感染症に対応するために

会期: 10月25日(日)~27日(火)

会長: 宮村達男(国立感染症研究所)

会場: 都市センターホテル

運営事務局: 株式会社コンベンションリンケージ内

東京都千代田区三番町2 三番町KSビル

Tel: 03-3263-8688

Fax: 03-3263-8693

序 ～さまざまな幹細胞を用いた今後の再生医療～

中畑 龍俊

Nakahata Tatsutoshi

京都大学 物質-細胞統合システム拠点 iPS 細胞研究センター 医療応用技術開発部門 部門長

Summary 障害を受けた細胞、組織、さらには臓器を体内あるいは体外で再生させて患者に戻す医療、いわゆる再生医療に向けた基礎研究や臨床研究が現在盛んに行なわれている。再生医療に用いられる可能性のある幹細胞の主なものには3種類あり、われわれの身体の中にある体性幹細胞、受精卵から樹立されたES細胞、最近注目されているiPS細胞である。その中でも疾患特異的iPS細胞は、今まで考えられなかった新しい研究手段を提供しており、再生医療への応用を含め、今後患者に還元される多くの知見の集積が期待されている。

はじめに

従来の医療は、臓器障害をできるだけ早期に発見し、その原因の除去および生体防御反応の修飾により、障害を受けた臓器の自然回復を待つものであった。しかしながら、臓器障害も一定の限度を超えると不可逆的となり、臓器の機能回復は困難となる。このような患者に対して障害を受けた細胞、組織、さらには臓器を体内あるいは体外で再生させて患者に戻す医療、いわゆる再生医療に向けた基礎研究や臨床研究が盛んに行なわれている。このような再生医療の基盤となる細胞は幹細胞と呼ばれる細胞であり、この細胞は自己複製能と様々な細胞への分化能を持った細胞として知られている。幹細胞の持つ自己複製能がゆえに再生

医療を施された患者では、幹細胞由来の成熟した機能細胞が長期にわたって供給され、治療が成立すると考えられている。現在、再生医療に用いられる可能性のある幹細胞の主なものには3種類あり、われわれの身体の中にある体性幹細胞、受精卵から樹立された胚性幹細胞 (embryonic stem cells: ES細胞)、最近注目されている induced pluripotent stem cell (iPS細胞) である。

再生医療の発展にむけて

現在まで行なわれてきた再生医療は、全て体性幹細胞を用いたものであり、骨髄移植、臍帯血移植、末梢血幹細胞移植などの造血幹細胞移植、間葉系幹細胞を用いた各種再生医療、膵島移植な

ES細胞 (embryonic stem cells ; 胚性幹細胞) iPS細胞 (induced pluripotent stem cell)

ど、様々な体性幹細胞を用いた再生医療が行われてきた。わが国では、体性幹細胞を用いた再生医療を安全な形で発展させていくために、厚生科学審議会科学技術部会ヒト幹細胞を用いた臨床研究の在り方に関する専門委員会のもとで「ヒト幹細胞を利用した臨床研究に対する指針」が作成され、これに基づく審査が行なわれ、順調に幹細胞を用いた新しい再生医療が進められている。この指針の中で対象となる幹細胞は体性幹細胞に限定されており、倫理的な面だけではなく、臨床試験に必要な様々な問題が取り上げられている。①安全性と有効性の確保、②倫理性の担保、③インフォームドコンセントの確保、④細胞操作に必要な環境整備、⑤幹細胞の品質の確認、⑥公衆衛生上の安全への配慮、⑦情報の公開、⑧個人情報の保護などの項目全てに適用することが求められている。

一方、ES細胞はほぼ無限に増やせることから、この細胞から特定の細胞や特定の組織幹細胞だけに分化させる培養系を確立することができれば、幅広い再生医療への応用が可能になると期待されている。ES細胞は、人の生命の萌芽である胚を使用することに伴う生命倫理上の極めて大きな問題点が存在することから、より慎重な対応が求められてきた。しかし、米国では既にヒトES細胞を用いた神経疾患に対する再生医療がFDAの承認を得て、近々開始される予定になっている。このような状況から、わが国でも「ヒト幹細胞を利用した臨床研究に対する指針」の改正に向けた検討

が開始されている。この中で、ヒトES細胞やiPS細胞をいかにわが国で再生医療の中に組み込んでいくかについて慎重な議論が重ねられている。

おわりに

本特集では、「ES細胞、iPS細胞と体性幹細胞の臨床への応用」を目指して、それぞれの分野をリードしている9名の先生方にご執筆いただいた。特に、わが国発の画期的な技術であるiPS細胞を用いた今後の再生医療の可能性については、多くの先生方に触れていただいた。より安全なiPS細胞樹立を目指した課題については青井貴之先生が詳しく述べられているように、今後急速に標準化に向けての研究が進んでいくものと思われる。iPS細胞の持つ画期的な点は、様々な疾患の患者皮膚などから疾患特異的iPS細胞を樹立できることである。疾患特異的iPS細胞は、診断への応用、新しい視点からの病因・病態の解析、細胞疾患モデルの提供、時空を超えた病態の解析、新規薬剤の開発、毒性試験・有効性試験への応用、新しい遺伝子再生医療への応用などが考えられている。疾患特異的iPS細胞は、今まで考えられなかった新しい研究手段を提供しており、再生医療への応用を含め、今後患者に還元される多くの知見の集積が期待されている。

今後、様々な幹細胞を用いた再生医療が発展していくことを期待しつつ、本特集の序としたい。



重症先天性好中球減少症の分子病態

小林正夫* 岡田 賢* 溝口洋子*

重症先天性好中球減少症は慢性好中球減少、骨髓像での前骨髄球・骨髄球での成熟障害、生後早期からの重症感染症の反復を特徴とする遺伝性疾患である。近年、本疾患において種々の原因遺伝子が同定され、重症先天性好中球減少症は10種類以上の遺伝子異常からなる疾患群であることが明らかとなっている。1956年にKostmannが最初に報告した乳児遺伝性無顆粒球症は、2007年に原因遺伝子がHAX1と同定された。本稿では重症先天性好中球減少症の主疾患である好中球エラスターゼ遺伝子変異とHAX1欠損によるKostmann症候群を中心に、重症先天性好中球減少症の分子病態について最近の知見を概説した。

はじめに

重症先天性好中球減少症(Severe Congenital Neutropenia: SCN)は乳児早期からの慢性好中球減少、とくに末梢血好中球絶対数が $200/\mu\text{L}$ 未満、骨髓像での前骨髄球・骨髄球での成熟障害、生後早期よりの重症細菌感染症の反復を特徴とする遺伝性疾患である¹⁾。1956年にKostmannがスウェーデン家系での第一例を報告したが長くその病因は不明であった²⁾。本症は重症感染症を反復すること、根治療法がなかったことから、乳幼児期に死亡する例が多かったが、顆粒球コロニー刺激因子(Granulocyte colony-stimulating factor: G-CSF)の本疾患群への有効性から長期生存が可能となった³⁾。また、

欧米ではSevere chronic neutropenia international registryによる症例集積がなされ⁴⁾、本疾患群での病因・病態が分子レベルで急速に解明されつつある。1999年に好中球エラスターゼ(neutrophil elastase: NE)をコードするELA2遺伝子のヘテロ接合性変異が周期性好中球減少症とSCNの半数例で同定され、その後も10種類以上に及ぶ種々の責任遺伝子が明らかにされていることから、SCNは種々の原因によってもたらされる疾患群と考えられている¹⁾⁵⁾。本稿ではSCNを表①のように分類し、代表であるELA2遺伝子異常とHAX1遺伝子異常(Kostmann病)を中心に最近の知見を概説する。

1. ELA2遺伝子変異による重症先天性好中球減少症

Horwitzら⁶⁾が1999年に周期性好中球減少症の多数例で好中球エラスターゼをコードする遺伝子、ELA2遺伝子のヘテロ接合性変異を報告した。その後、SCNの約半数例で同じくELA2のヘテロ接合性変異が存在することが明らかとされた。常染色体性優性の発現形式をとり、

Key Words

Severe congenital neutropenia
ELA2
HAX1
Kostmann 症候群

* KOBAYASHI Masao, OKADA Satoshi, MIZOGUCHI Yoko/広島大学大学院医歯薬学総合研究科小児科学