

などを分化・作出し、再生医療のソースとすることが考えられているが、iPS細胞はES細胞に比べて、①ヒトの受精卵を使用しないため倫理的問題が少ない、②自家移植であれば免疫拒絶のリスクが少ない、というメリットがある。このため、iPS細胞を用いた再生医療は非常に有望であろうと考えられている。一方、疾患をもつ患者から血液や皮膚線維芽細胞などの体細胞を採取し、これらからiPS細胞を樹立すると(疾患特異的iPS細胞)、このiPS細胞を患者の罹患細胞へ分化させることにより、患者由来のさまざまな分化細胞を得ることができる。特に神経疾患や心筋疾患などでは、従来得ることが極めて困難であった神経細胞や心筋細胞をiPS細胞を経て大量に培養し、解析に用いることが可能となりうる。このように、疾患特異的iPS細胞は、患者の病態を反映し、臨床へと結びつけるツールとして、疾患の病態解析や創薬などへの応用が可能なことから、医学・生物学分野への幅広い貢献が期待されている。すでに数多くの疾患特異的iPS細胞を用いた研究が報告されている一方で、本格的な疾患解析・治療薬開発のために疾患特異的iPS細胞を用いるための課題も明らかになってきた。本稿では、疾患特異的iPS細胞を用いた解析をレビューするとともに、これを取り巻く現状および今後の展開についてまとめたい。

ヒト疾患解析の手法

従来、ヒト疾患研究では、①ヒトプライマリ細胞、②遺伝子改変動物、③ヒト不死化細胞株、および④ヒト化マウス、などが実験系として用いられてきた。

ヒト疾患研究は、ヒトプライマリ検体を得て行うことができるのが望ましいが、さまざまな制約からそれが難しいことがほとんどである。患者由来プライマリ細胞は治療やサイトカイン環境などに影響を強く受けるため、実験系の信頼性にも問題が生じうる。

遺伝子改変動物は極めて重要なツールであり、ノックアウト、ノックインなどの遺伝子改変技術を用い、さまざまな疾患とその責任遺伝子についての知見が得られている。一方、マウスモデルを用いた場合、ヒトとマウスの遺伝子が異なるため、マウスにヒトの責任遺伝子が存在しない場合や、ヒトとマウスで遺伝子が共通でも機能や表現型が異なる場合がある。また、ヒトの場合、1つの責任遺伝子に対して多くの変異型が存在することが多いが、マウスモデルでは変異型は代表的なものに限定されるか、機能喪失型変異ではノックアウトで代表される。そのため、表現型-遺伝子型関係 (phenotype-genotype correlation) の検討などは難しい。

患者由来線維芽細胞やEBウイルスで不死化したB細胞などのヒト細胞(株)や、すでに存在するヒト細胞株に遺伝子導入を行うなどして、ヒトの細胞株を解析に

用いた場合、遺伝子改変動物でみられたヒトと他の動物種間の遺伝子差異に帰着する問題は回避できる。しかし、この手法で解析できる手法が限定されること、遺伝子導入をした場合に生理的な発現から逸脱する機会が多いこと、培養細胞株ではしばしば核型の変化がみられることなどにより、患者病態を反映できる可能性は高くない。

疾患特異的 iPS 細胞は、ヒトプライマリ細胞に近い機能をもつ細胞を誘導でき、さまざまな細胞種に分化が可能である。また、ヒト ES/iPS 細胞の遺伝子改変技術も進歩しており、疾患 iPS 細胞をさらに遺伝的に改変することも可能になっている。したがって、前述のさまざまな方法を補完する手法として、疾患解析・創薬など、疾患モデルを応用した研究を推進するツールになると考えられる。

≡ iPS 細胞の樹立方法

疾患特異的 iPS 細胞を用いた研究を行うように、図に示すように、iPS 細胞の樹立・分化系確立・解析系確立を適切に行っていく必要がある。

患者・疾患特異的 iPS 細胞を用いて研究を行う場合、まず倫理委員会に研究計画書を提出し、承認を受けた後、患者よりインフォームド・コンセントを取得する必要がある。他方、さまざまな疾患をもつ患者由来の線維芽細胞や不死化 B 細胞株を収集しているレポジトリもあるので、このような組織から体細胞を入手することも可能である。代表的な組織として、米国の Coriell institute (<http://www.coriell.org/>) がある。このようなレポジトリから購入した細胞は連結不可能匿名化されており、さまざまな実験に使用が可能であるが、詳細な使用条件について

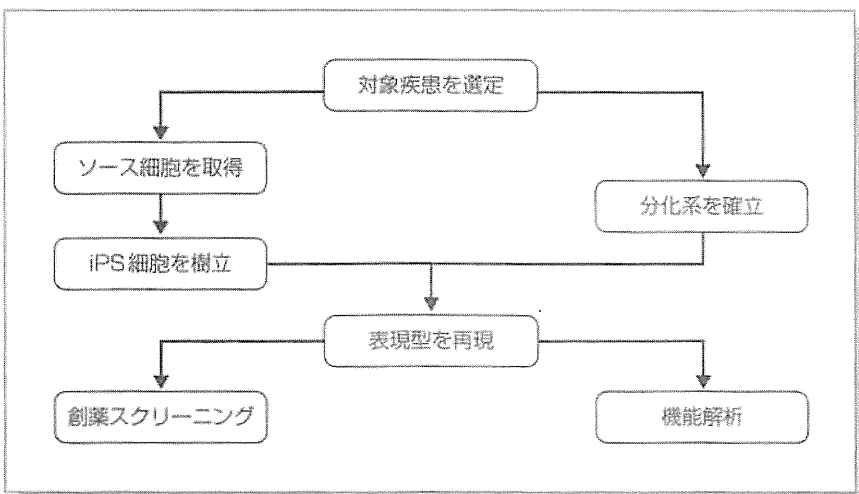


図 疾患特異的 iPS 細胞研究の流れ

はそれぞれのレポジトリに確認し、適切な物質移動合意書を締結しておく必要がある。

iPS細胞の樹立方法の詳細については、各種の実験書に譲るが、樹立に当たって考慮すべきことは、①ソースとなる細胞の種類、②遺伝子導入方法、③取得するクローン数、④コントロールをどうするか、といった事柄である。

①ソース細胞の種類であるが、最も一般的な細胞は、皮膚より採取し、培養した線維芽細胞である。最近、末梢血単核球や、末梢血CD34陽性細胞などからの樹立も可能になっている。さらに、EBウイルスを用いて不死化したB細胞株からも樹立が報告されており³¹⁴⁾、このような株はさまざまな細胞バンクに大量に保存されているために、利用価値が高いと思われる。

②遺伝子導入方法について、報告上最も一般的なのは、ウイルスベクターを用いる方法で、最初に報告されたレトロウイルスを用いる手法であるが、1つのレンチウイルスベクター上に4つの初期化に必要な遺伝子が直列に並んだもの⁵⁾やセンダイウイルスベクターを用いる方法⁶⁾⁷⁾などが頻用されている。最近開発されたプラスミド(エピソーマル)ベクターを用いる方法⁸⁾⁹⁾はウイルスベクターの生成が不要で、通常のプラスミドを用いた遺伝子導入方法で行えることから、ウイルスベクターを用いる方法よりかなり簡便である。線維芽細胞のほか、末梢血単核球からもこの方法で樹立が可能である。

③取得するクローン数であるが、我々は当初6~12クローン程度を取得し、ストックを作製してから、いくつかのクローンの分化能や未分化性を評価して、クローンを選別している。実際の疾患解析に使用するクローンは1症例あたり1~3クローンを用いて行っていることが多いと思われる。

④の対照群についてであるが、患者家族から樹立したiPS細胞や、分化能などの特性がすでに報告されている標準的なES/iPS細胞を用いて解析が行われている。患者iPS細胞がもつ遺伝子変異を相同組み換えなどにより修復したクローンが用いられることもある(後述)。体細胞モザイクで発症する疾患では、ある個人から特定の遺伝子変異をもつ細胞と変異をもたない細胞由来のクローンを得ることができ、後者を前者の対照として用いることができる¹⁰⁾。また、X染色体連鎖疾患の女性由来クローンでは、培養条件などによりiPS細胞クローンによって遺伝子変異をもつX染色体と変異をもたないX染色体のいずれかがランダムに不活化されるため、同様に前者のクローンを対照群として用いることが可能である¹¹⁾。

≡ iPS細胞と分化系

疾患iPS細胞研究に必要な要素として、①疾患iPS細胞、②これに対応する対

照 iPS 細胞, ③適切な分化系, ④機能評価系, が挙げられる。分化系については, ヒト ES 細胞の分化系が応用できることが多いが, 目的の細胞が得られない場合, 独自に開発する必要がある。分化系が適切に評価できれば, ④機能評価系については, マウスやヒトプライマリ細胞の実験系を用いることが可能になる。

iPS 細胞からの *in vitro* 分化系では, しばしば分化させた細胞は幼弱な表現型を呈し, 成人型の分化細胞まで至らないことがある。したがって, 遺伝子異常を伴い乳幼児期に発症する疾患に比べて, 成人期に発症する疾患の表現型の発露は遅れるかもしれない。場合によってはみられないかもしれない。しかし, 胎児・新生児疾患の解析を行うという観点からすると, この点は逆に利点となりうると考えられる。また, ヒト多能性幹細胞は理論的にはすべての細胞種に分化が可能であるとされるが, 実際には分化系が確立されていない細胞種も数多く存在するため, 疾患解析のためにまず分化系開発が必要な場合もある。

疾患特異的 iPS 細胞各論

すでに100以上の疾患特異的 iPS 細胞を用いた研究の報告がなされており, 個別に言及することは難しいため, いくつかの領域における重要な成果について重点的に解説を行うこととしたい。

1 神経疾患の疾患特異的 iPS 細胞

脊髄性筋萎縮症 (spinal muscular atrophy : SMA) は, SMN1 (survival motor neuron 1) 遺伝子の欠失によって発症する神経原性の筋萎縮症である。治療法はなく, 乳幼児の先天性疾患による死因のうち最多なもの1つである。2009年に Ebertらによって, SMA 患者1例からの iPS 細胞樹立が報告され, これが疾患 iPS 細胞の最初の報告となった¹²⁾。I 型 SMA 患者とその母親由来の線維芽細胞から iPS 細胞を樹立し, 神経細胞へ分化させたところ, 分化開始4週後の時点では差がなかったが, 6週後の時点では SMA 患者において, 運動ニューロンの割合が低下していた。また, 患者由来 iPS 細胞では, gem と呼ばれる細胞内の SMA 蛋白の凝集体が減少しており, SMN 遺伝子の正常転写産物の産生を増強させることが知られているバルプロ酸や tobramycin を添加することにより, gem が増加することが示された。また, SMA 患者由来 iPS 細胞を神経分化させると, 神経突起の伸長が障害され, 運動ニューロンへの分化能も低下するが, これらは SMN 遺伝子の強制発現により回復するという報告もある¹³⁾。他の報告では, SMA 患者由来 iPS 細胞に遺伝子修復を施し, 運動ニューロンへ分化させて SMA モデルマウスに移植すると, 表現型が改善したという¹⁴⁾。

同じ運動ニューロン疾患である筋萎縮性側索硬化症 (amyotrophic lateral scler-

rosis : ALS)は進行性の神経変性疾患で、治療はなく、発症後3~5年で半数が呼吸筋麻痺により死亡する。90%程度が孤発性であるが、残り10%程度の遺伝性ALSのうち、RNA結合蛋白であるTDP-43変異をもつ患者からの疾患特異的iPS細胞樹立が報告されている。TDP-43変異をALS患者3名からiPS細胞を樹立し、運動ニューロンへと分化させたところ、ALS患者由来細胞では、RNA代謝に関わる遺伝子群の発現が亢進し、神経突起が短くなっていた¹⁶⁾。また、TDP-43の発現が亢進し、TDP-43の凝集体が形成されており、細胞は酸化ストレスに対する脆弱性を示した。ALS運動ニューロンにアナカルジン酸を加えると、TDP-43発現量が低下し、脆弱性と神経突起長が改善したという。他のグループも同様に、TDP-43変異をもつ患者1例からiPS細胞を樹立し、運動ニューロンへと分化させたところ、TDP-43蛋白量の増加と神経細胞死の亢進がみられたと報告している¹⁰⁾。

Rett症候群は、主としてmethyl-CpG-binding protein 2 (MECP2) 遺伝子の変異によって発症するまれな疾患で、自閉症スペクトラムを呈する典型的な遺伝性疾患として知られている。Rett症候群患者から樹立したiPS細胞を神経細胞へ分化させたところ、対照群と比してシナプス、神経突起および細胞体のサイズが減少しており、カルシウムシグナリングの異常を認めたという¹⁷⁾。またRett症候群患者由来iPS細胞から誘導した神経前駆細胞では、MECP2によるL1レトロトランスポゾン抑制が上手く働かず、レトロトランスポジションが増加していることも報告されている¹⁸⁾。

アルツハイマー病は頻度の高い神経変性疾患で、剖検によって脳内にアミロイド斑とneurofibrillary tangleが認められることにより定義される。ほとんどの患者は孤発性であるが、疾患特異的iPS細胞を用いた解析は主にまれな家族性アルツハイマー病患者由来の細胞を用いて行われている。Israelらは、APP遺伝子の重複により発症した家族性アルツハイマー病患者2例および孤発性アルツハイマー病患者2例よりiPS細胞を樹立し、神経細胞に分化させた¹⁹⁾。家族性アルツハイマー病患者2例と孤発性アルツハイマー病患者1例の由来神経細胞では、アミロイドβ(1-40)、リン酸化タウ蛋白および活性化GSK-3βの量が増加しており、RAB5陽性の早期エンドソームが細胞質に確認されたという。この報告では、孤発性アルツハイマー病患者でも、iPS細胞から分化させた神経細胞でアルツハイマー病に特有の表現型が得られていることが特色であり、iPS細胞を用いた解析がこのような遺伝的素因が未知の症例にも応用できることを示している。

また、新たなアプローチとして、アルツハイマー病患者由来の線維芽細胞をiPS細胞を経ずに直接神経細胞に分化転換(direct conversion)することも試みられている²⁰⁾。この報告では、presenilin-1またはpresenilin-2変異をもつ家族性アルツハイマー病患者由来の線維芽細胞に転写因子を強制発現し、約21日のプロトコ

ルで神経細胞を直接誘導している (iN 細胞)。患者由来 iN 細胞ではアミロイド前駆蛋白の局在と切断に変化がみられ、アミロイド β の過剰産生と A β 42/A β 40 比の上昇を認めたとする。この手法を用いると、iPS 細胞の評価や長期間に及ぶ神経分化プロトコルを行うことなく、成熟した神経細胞を短時間で得ることができるため、分化転換が可能な細胞種に対しては有用な方法であると考えられる。

パーキンソン病は、アルツハイマー病と同様に高頻度に見られる神経変性疾患で、中脳ドパミン作動性神経細胞の脱落に伴う錐体外路症状を主徴とする。多くは孤発性であるが、一部に原因遺伝子が同定されている。パーキンソン病患者特異的 iPS 細胞の最初の報告は 2009 年で、5 名の特発性パーキンソン病患者から iPS 細胞を樹立したところ、それらはドパミン作動性神経へ分化させることが可能であったという²¹⁾。また、 α -synuclein をコードする SNCA 遺伝子の重複によりパーキンソン病を発症した患者からの iPS 細胞樹立も報告されており²²⁾²³⁾、患者由来神経細胞では、酸化ストレスに対する脆弱性が観察されたという²⁴⁾。同様のストレス脆弱性は、LRRK2 変異患者由来 iPS 細胞でも認められている²⁴⁾。PINK1 変異患者由来 iPS 細胞から分化させた神経細胞では、既報と同様に parkin のミトコンドリアへの移行障害が確認されている²⁵⁾。Parkin 変異患者由来 iPS 細胞を中脳ドパミン作動性神経細胞へ分化させた研究では、モノアミン酸化酵素の発現上昇と酸化ストレスの増加、ドパミン取り込み能の低下およびドパミン放出の増加が観察され、parkin がこの細胞種におけるドパミンの利用方法を制御しているのではないかと考察されている²⁶⁾。Cooper らは、PINK1 変異と LRRK2 変異をもつ患者/保因者からそれぞれ樹立した iPS 細胞を神経細胞に分化させ、ミトコンドリア機能を評価している。さらに、細胞の脆弱性が薬剤投与によって改善することを示しており、パーキンソン病におけるミトコンドリア機能と酸化ストレスの解析に iPS 細胞が有用であることを示唆している²⁷⁾。

代表的な精神疾患の 1 つであり、全人口の 1 % が発症すると推定されている統合失調症は、その発症に遺伝的バックグラウンドが関与することが推定されている。Brennan らは、4 名の統合失調症患者から iPSC を樹立し、神経細胞に分化させてその細胞生物学的な特徴を調べた²⁸⁾。患者由来神経細胞は、神経突起および神経同士の接続が減少しており、PSD95 蛋白やグルタミン酸受容体の発現が低下していた。さらに、患者由来 iPSC を抗精神病薬の Loxapine で処理すると、マイクロアレイで発現に差異がみられた複数の遺伝子発現が正常化することが示された。この研究から、単一遺伝子病ではない、複雑な遺伝的バックグラウンドをもった疾患でも病態モデリングが可能になることがわかる。

2 循環器疾患の疾患特異的 iPS 細胞

ヒトとマウスでは安静時の心拍数が 10 倍程度異なること、イオンチャネルや電

気生理学的な特性も異なることなどから、ヒト心筋を用いた疾患解析の重要性が指摘されており、いくつかのiPS細胞を用いた疾患再現モデルが報告されている。

著明な心電図上のQT延長に体表奇形・自閉症などを合併するTimothy症候群は、L型Caチャンネル(CaV1.2)をcodeする遺伝子CACNA1Cの変異によって発症する。Timothy症候群患者由来iPS細胞を心筋細胞へと分化させたところ、心筋細胞における不規則な筋収縮、過剰なCa²⁺流入、活動電位の延長・不規則化、不規則な自発性Ca²⁺上昇を認めたという²⁹⁾。さらに、CaV1.2の不活化を促進するロスコピチンがこれらの異常な表現型を正常化させることを報告し、薬剤スクリーニングの可能性について示唆している。なお、このグループは同じiPS細胞を用いてTimothy症候群の神経系の解析も行っている³⁰⁾。このほか、先天性QT延長症候群(LQT1型³¹⁾、LQT2型³²⁾、カテコラミン感受性多形性心室頻拍³³⁾などの不整脈疾患でもiPS細胞由来心筋を用いた病態再現が報告されている。

肥大型心筋症の解析として、PTPN11遺伝子変異によって経路の異常をきたし、肥大型心筋症を呈するRAS/MAPK症候群の1つであるLEOPARD症候群患者由来のiPS細胞樹立が報告されている。患者由来iPS細胞から分化させた心筋細胞は対照に比べて大きく、サルコメア構築が促進しており、心筋肥大に重要な要素であるNFATC4の核内移行も促進していたという³⁴⁾。

冠動脈疾患に次ぐ心不全の重要な原因である拡張型心筋症についても、モデルが作製されている³⁵⁾。TNNT2遺伝子に変異をもつ家系よりiPS細胞を樹立し、心筋に分化させたところ、サルコメアの構造異常が認められ、収縮力も低下していた。βアドレナリン受容体刺激によりサルコメアαアクチニン構造異常が悪化した一方で、βブロッカーの添加によりこの表現型は改善したという。

3 血液・免疫疾患の疾患特異的iPS細胞

血液疾患として最初に報告されたのは、まれな先天性骨髄不全症であるFanconi貧血の疾患特異的iPS細胞である³⁶⁾。Fanconi貧血患者由来の線維芽細胞に遺伝子修復を施した後に初期化を行い、iPS細胞を得ることができたが、未修復の線維芽細胞からiPS細胞を樹立することはできなかったという。このことは、Fanconi貧血で欠損している経路が初期化に重要であることを示している。一方で遺伝子修復を行ったiPS細胞クローンを血球分化させたところ、正常に分化したため、iPSCを用いた遺伝子治療の可能性も示された。最近、他のグループが、Fanconi貧血患者線維芽細胞を用いて、非常に低い効率ながら遺伝子修復を行わずにiPS細胞が樹立できることを報告している³⁷⁾。

サラセミアは最も高頻度にみられる遺伝性貧血であり、βグロビン遺伝子変異により発症する。サラセミア疾患特異的iPS細胞を用いた遺伝子治療のモデルが提唱されている。Wangらは相同組み換えによってβサラセミア患者由来iPS細

胞の遺伝子修復を行い、これを血球系前駆細胞へ分化させ、マウスに輸注することでヘモグロビンレベルが回復すると報告している^{38,39}。Papapetrouは β グロビン遺伝子をレトロウイルスでiPS細胞に組み込み、赤芽球前駆細胞で発現させることに成功している⁴⁰。鎌状赤血球症においても、同様にiPS細胞を用いた遺伝子修復モデルが提唱されている⁴¹⁻⁴³。

免疫疾患については、食細胞機能異常による免疫不全症である慢性肉芽腫症患者由来のiPS細胞が2つの研究グループによって報告されている^{44,45}。疾患特異的iPS細胞より分化させた好中球では刺激に対する活性酸素の産生応答が傷害されており、患者の病態の一部が再現されていた。

また、血液系悪性疾患として、慢性骨髄性白血病由来のiPS細胞が樹立されている。ソースはヒト由来細胞株⁴⁶、プライマリ骨髄細胞⁴⁷、CD34陽性細胞⁴⁸とさまざまであるが、いずれの報告においてもソースとなった体細胞に存在した9;22転座がiPS細胞においても保持されていた。興味深いことに、初期化後のiPS細胞クローンはimatinibに対する反応性を失っており、血球分化によってoncogene addictionは回復した⁴⁸。

iPS細胞の重要な特徴は、それぞれのクローンがソースとなる単一の体細胞に由来するという点である⁴⁹。この特徴を活かすことにより、ある個人から遺伝的差異のある複数の体細胞集団からなる場合に、個々の集団を代表する細胞を取り出すことができる¹⁰。自己炎症性疾患であるCINCA症候群では、30~40%の患者は責任遺伝子であるNLRP3の変異を体細胞モザイクとしてもつことが知られており、この場合のNLRP3変異陽性細胞と陰性細胞それぞれの働きは不明であった^{50,51}。我々は、モザイク型CINCA症候群患者よりiPS細胞を樹立し、NLRP3変異ありクローンと変異なしクローンをそれぞれマクロファージに分化させて表現型を比較したところ、NLRP3変異細胞のみに特徴的な表現型を確認し、体細胞モザイクにおけるNLRP3遺伝子変異の働きを明らかにすることに成功した¹⁰。

疾患特異的 iPS 細胞を用いた創薬スクリーニング

創薬スクリーニングは、iPS細胞を用いた近い将来に実現可能な研究として、大きな期待がかけられている。実際、多くの疾患特異的iPS細胞を用いた報告では、少数の活性既知の化合物を用いて表現型の改善を確認し、検討が行われている。

しかし、ラージスケールの化合物スクリーニングは、①特定の分化細胞を大量に純化し、②疾患に関連した表現型をこれらの細胞で再現し、さらに③これをハイスループットスクリーニングの解析系に最適化するため、現実的に

はなかなか進展がみられていない。最近、神経堤細胞の異常によって発症する先天性の致死性疾患である家族性自律神経失調症(familial dysautonomia: FD)の疾患特異的iPS細胞を用いたHTS解析が報告された⁵²⁾。Leeらは、以前に報告したFD患者由来iPS細胞を神経堤細胞に分化させる方法⁵³⁾を用いて、原因遺伝子であるIKBKAPの正常スプライシング産物が増加する化合物をスクリーニングしたところ、6,912種類の化合物のうち8個の化合物が有効であった、と報告している。Leeらは、これらの化合物の効果は他の細胞種(iPS細胞、線維芽細胞やリンパ球)では十分認められなかったことから、疾患に関連する細胞種を分化させてスクリーニングすることの重要性を強調している。

疾患特異的iPS細胞の課題

疾患特異的iPS細胞には多くの可能性があるが、前述のように、現状では多くの疾患特異的iPS細胞の報告は“疾患モデリング”に留まっている。iPS細胞技術を用いて、疾患の病態生理を深く解析するためには、解決すべき課題が存在する。最初の問題は、ある患者から樹立した複数iPS細胞クローンについて、クローン間表現型のばらつきが存在しうることであり、これが大きいと疾患に関連した真の表現型の解析が困難になる。このようなクローン間のばらつきは、ゲノム変異⁵⁴⁾、エピジェネティック修飾⁵⁵⁾、ソースとなる体細胞の種類、残存トランスジーン活性、および女性由来の細胞ではX染色体不活化状態がクローンによって異なること^{56)~58)}などにより生じる。さらに、いくつかの疾患、特にFanconi貧血などのDNA修復異常症などではiPS細胞の樹立自体が難しいことがある。このような場合は、一旦遺伝子修復を行ってiPS細胞を樹立し、その後導入遺伝子を除去するなど、特殊な方法が必要になるかもしれない。

また、前述の通り、疾患特異的iPS細胞の対照群をどのようにとるか、ということも問題である。原因遺伝子が判明している場合、患者由来iPS細胞の原因遺伝子を修復して対照クローンとすれば、ゲノムバックグラウンドの差異による表現型のばらつきなどを最小限に抑えて解析することができる。ヒト多能性幹細胞の相同組み換え効率は極めて低かったが、最近、ヘルパー依存性アデノウイルスを用いる手法⁵⁹⁾や、Zinc finger nuclease⁶⁰⁾やTALEN⁶¹⁾といった配列特異的ヌクレアーゼを用いる方法により高効率かつ簡便に遺伝子ターゲティングが行えるようになってきた。今後はこのような手法を用いて、十分に機能評価がされた“正常”iPS細胞クローンやES細胞に疾患特異的変異を導入し、疾患モデルとして用いることも可能になると考えられる⁶²⁾⁶³⁾。この場合、①iPS細胞クローンの評価に時間と労力を割く必要がない、②臨床研究に関する研究計画書を整備し、患者から同意を取得するという手順が省略できる、③分化能・分化した細胞の機能などが十

分に解析されたクローンを使用できる、といった利点があるため、単一遺伝子疾患の解析にはこちらが主流となっていくかもしれない。

三三三 終わりに

以上のように、課題もあるものの、疾患 iPS 細胞を用いることにより、疾患の表現型の少なくとも一部は試験管内で再現可能であることが次々と証明されている。iPS 細胞を用いた治療薬開発や病態解明が進み、これまで治療法のなかったさまざまな難治性疾患に対するアプローチが少しでも早く進展することを期待したい。

文献

- 1) Takahashi K, Yamanaka S : Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell* **126** : 663-676, 2006
- 2) Takahashi K, Tanabe K, Ohnuki M, et al : Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. *Cell* **131** : 861-872, 2007
- 3) Rajesh D, Dickerson SJ, Yu J, et al : Human lymphoblastoid B-cell lines reprogrammed to EBV-free induced pluripotent stem cells. *Blood* **118** : 1797-1800, 2011
- 4) Choi SM, Liu H, Chaudhari P, et al : Reprogramming of EBV-immortalized B-lymphocyte cell lines into induced pluripotent stem cells. *Blood* **118** : 1801-1805, 2011
- 5) Sommer AG, Rozelle SS, Sullivan S, et al : Generation of human induced pluripotent stem cells from peripheral blood using the STEMCCA lentiviral vector. *J Vis Exp* 2012 Oct 31 ;(68), pii : 4327. doi : 10.3791/4327
- 6) Nishimura K, Sano M, Ohnaka M, et al : Development of defective and persistent Sendai virus vector: a unique gene delivery/expression system ideal for cell reprogramming. *J Biol Chem* **286** : 4760-4771, 2011
- 7) Fusaki N, Ban H, Nishiyama A, et al : Efficient induction of transgene-free human pluripotent stem cells using a vector based on Sendai virus, an RNA virus that does not integrate into the host genome. *Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci* **85** : 348-362, 2009
- 8) Okita K, Matsumura Y, Sato Y, et al : A more efficient method to generate integration-free human iPS cells. *Nat Methods* **8** : 409-412, 2011
- 9) Okita K, Yamakawa T, Matsumura Y, et al : An Efficient Non-viral Method to Generate Integration-Free Human iPS Cells from Cord Blood and Peripheral Blood Cells. *Stem Cells* 2012 Nov 29. doi : 10.1002/stem.1293 (Epub ahead of print)
- 10) Tanaka T, Takahashi K, Yamane M, et al : Induced pluripotent stem cells from CINCA syndrome patients as a model for dissecting somatic mosaicism and drug discovery. *Blood* **120** : 1299-1308, 2012
- 11) Cheung AY, Horvath LM, Grafodatskaya D, et al : Isolation of MECP2-null Rett Syndrome patient hiPS cells and isogenic controls through X-chromosome inactivation. *Hum Mol Genet* **20** : 2103-2115, 2011
- 12) Ebert AD, Yu J, Rose FF Jr, et al : Induced pluripotent stem cells from a spinal mus-

- cular atrophy patient. *Nature* **457** : 277-280, 2009
- 13) Chang T, Zheng W, Tsark W, et al : Brief report : phenotypic rescue of induced pluripotent stem cell-derived motoneurons of a spinal muscular atrophy patient. *Stem Cells* **29** : 2090-2093, 2011
 - 14) Corti S, Nizzardo M, Simone C, et al : Genetic correction of human induced pluripotent stem cells from patients with spinal muscular atrophy. *Sci Transl Med* **4** : 165ra162, 2012
 - 15) Egawa N, Kitaoka S, Tsukita K, et al : Drug screening for ALS using patient-specific induced pluripotent stem cells. *Sci Transl Med* **4** : 145ra104, 2012
 - 16) Bilican B, Serio A, Barmada SJ, et al : Mutant induced pluripotent stem cell lines recapitulate aspects of TDP-43 proteinopathies and reveal cell-specific vulnerability. *Proc Natl Acad Sci U S A* **109** : 5803-5808, 2012
 - 17) Marchetto MC, Carron ME, Acab A, et al : A model for neural development and treatment of Rett syndrome using human induced pluripotent stem cells. *Cell* **143** : 527-539, 2010
 - 18) Muotri AR, Marchetto MC, Coufal NG, et al : L1 retrotransposition in neurons is modulated by MeCP2. *Nature* **468** : 443-446, 2010
 - 19) Israel MA, Yuan SH, Bardy C, et al : Probing sporadic and familial Alzheimer's disease using induced pluripotent stem cells. *Nature* **482** : 216-220, 2012
 - 20) Qiang L, Fujita R, Yamashita T, et al : Directed conversion of Alzheimer's disease patient skin fibroblasts into functional neurons. *Cell* **146** : 359-371, 2011
 - 21) Soldner F, Hockemeyer D, Beard C, et al : Parkinson's disease patient-derived induced pluripotent stem cells free of viral reprogramming factors. *Cell* **136** : 964-977, 2009
 - 22) Devine MJ, Ryten M, Vodicka P, et al : Parkinson's disease induced pluripotent stem cells with triplication of the alpha-synuclein locus. *Nat Commun* **2** : 440, 2011
 - 23) Byers B, Cord B, Nguyen HN, et al : SNCA triplication Parkinson's patient's iPSC-derived DA neurons accumulate alpha-synuclein and are susceptible to oxidative stress. *PLoS One* **6** : e26159, 2011
 - 24) Nguyen HN, Byers B, Cord B, et al : LRRK2 mutant iPSC-derived DA neurons demonstrate increased susceptibility to oxidative stress. *Cell Stem Cell* **8** : 267-280, 2011
 - 25) Seibler P, Graziotto J, Jeong H, et al : Mitochondrial Parkin recruitment is impaired in neurons derived from mutant PINK1 induced pluripotent stem cells. *J Neurosci* **31** : 5970-5976, 2011
 - 26) Jiang H, Ren Y, Yuen EY, et al : Parkin controls dopamine utilization in human mid-brain dopaminergic neurons derived from induced pluripotent stem cells. *Nat Commun* **3** : 668, 2012
 - 27) Cooper O, Seo H, Andrabi S, et al : Pharmacological rescue of mitochondrial deficits in iPSC-derived neural cells from patients with familial Parkinson's disease. *Sci Transl Med* **4** : 141ra90, 2012
 - 28) Brennand KJ, Simone A, Jou J, et al : Modelling schizophrenia using human induced pluripotent stem cells. *Nature* **473** : 221-225, 2011
 - 29) Yazawa M, Hsueh B, Jia X, et al : Using induced pluripotent stem cells to investigate cardiac phenotypes in Timothy syndrome. *Nature* **471** : 230-234, 2011
 - 30) Pasca SP, Portmann T, Voineagu I, et al : Using iPSC-derived neurons to uncover cel-

- lular phenotypes associated with Timothy syndrome. *Nat Med* 17 : 1657-1662, 2011
- 31) Moretti A, Bellin M, Welling A, et al : Patient-specific induced pluripotent stem-cell models for long-QT syndrome. *N Engl J Med* 363 : 1397-1409, 2010
- 32) Itzhaki I, Maizels L, Huber I, et al : Modelling the long QT syndrome with induced pluripotent stem cells. *Nature* 471 : 225-229, 2011
- 33) Itzhaki I, Maizels L, Huber I, et al : Modeling of catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia with patient-specific human-induced pluripotent stem cells. *J Am Coll Cardiol* 60 : 990-1000, 2012
- 34) Carvajal-Vergara X, Sevilla A, D'Souza SL, et al : Patient-specific induced pluripotent stem-cell-derived models of LEOPARD syndrome. *Nature* 465 : 808-812, 2010
- 35) Sun N, Yazawa M, Liu J, et al : Patient-specific induced pluripotent stem cells as a model for familial dilated cardiomyopathy. *Sci Transl Med* 4 : 130ra47, 2012
- 36) Raya A, Rodriguez-Piza I, Guenechea G, et al : Disease-corrected haematopoietic progenitors from Fanconi anaemia induced pluripotent stem cells. *Nature* 460 : 53-59, 2009
- 37) Muller LU, Milsom MD, Harris CE, et al : Overcoming reprogramming resistance of Fanconi anemia cells. *Blood* 119 : 5449-5457, 2012
- 38) Wang Y, Jiang Y, Liu S, et al : Generation of induced pluripotent stem cells from human beta-thalassemia fibroblast cells. *Cell Res* 19 : 1120-1123, 2009
- 39) Wang Y, Zheng CG, Jiang Y, et al : Genetic correction of beta-thalassemia patient-specific iPS cells and its use in improving hemoglobin production in irradiated SCID mice. *Cell Res* 22 : 637-648, 2012
- 40) Papapetrou EP, Lee G, Malani N, et al : Genomic safe harbors permit high beta-globin transgene expression in thalassemia induced pluripotent stem cells. *Nat Biotechnol* 29 : 73-78, 2011
- 41) Sebastiano V, Maeder ML, Angstman JF, et al : In situ genetic correction of the sickle cell anemia mutation in human induced pluripotent stem cells using engineered zinc finger nucleases. *Stem Cells* 29 : 1717-1726, 2011
- 42) Zou J, Mali P, Huang X, et al : Site-specific gene correction of a point mutation in human iPS cells derived from an adult patient with sickle cell disease. *Blood* 118 : 4599-4608, 2011
- 43) Mali P, Ye Z, Hommond HH, et al : Improved efficiency and pace of generating induced pluripotent stem cells from human adult and fetal fibroblasts. *Stem Cells* 26 : 1998-2005, 2008
- 44) Jiang Y, Cowley SA, Siler U, et al : Derivation and functional analysis of patient-specific induced pluripotent stem cells as an in vitro model of chronic granulomatous disease. *Stem Cells* 30 : 599-611, 2012
- 45) Zou J, Sweeney CL, Chou BK, et al : Oxidase-deficient neutrophils from X-linked chronic granulomatous disease iPS cells : functional correction by zinc finger nuclease-mediated safe harbor targeting. *Blood* 117 : 5561-5572, 2011
- 46) Hu K, Yu J, Suknuntha K, et al : Efficient generation of transgene-free induced pluripotent stem cells from normal and neoplastic bone marrow and cord blood mononuclear cells. *Blood* 117 : e109-e119, 2011
- 47) Carette JE, Pruszk J, Varadarajan M, et al : Generation of iPSCs from cultured human

- malignant cells. *Blood* **115** : 4039-4042, 2010
- 48) Kumano K, Arai S, Hosoi M, et al : Generation of induced pluripotent stem cells from primary chronic myelogenous leukemia patient samples. *Blood* **119** : 6234-6242, 2012
- 49) Hanna J, Markoulaki S, Schorderet P, et al : Direct reprogramming of terminally differentiated mature B lymphocytes to pluripotency. *Cell* **133** : 250-264, 2008
- 50) Saito M, Nishikomori R, Kambe N, et al : Disease-associated CIAS1 mutations induce monocyte death, revealing low-level mosaicism in mutation-negative cryopyrin-associated periodic syndrome patients. *Blood* **111** : 2132-2141, 2008
- 51) Saito M, Fujisawa A, Nishikomori R, et al : Somatic mosaicism of CIAS1 in a patient with chronic infantile neurologic, cutaneous, articular syndrome. *Arthritis Rheum* **52** : 3579-3585, 2005
- 52) Lee G, Ramirez CN, Kim H, et al : Large-scale screening using familial dysautonomia induced pluripotent stem cells identifies compounds that rescue IKBKAP expression. *Nat Biotechnol*, advanced online publication
- 53) Lee G, Papapetrou EP, Kim H et al : Modelling pathogenesis and treatment of familial dysautonomia using patient-specific iPSCs. *Nature* **461** : 402-406, 2009
- 54) Gore A, Li Z, Fung HL, et al : Somatic coding mutations in human induced pluripotent stem cells. *Nature* **471** : 63-67, 2011
- 55) Kim K, Doi A, Wen B, et al : Epigenetic memory in induced pluripotent stem cells. *Nature* **467** : 285-290, 2010
- 56) Marchetto MC, Carron C, Acab A, et al : A model for neural development and treatment of Rett syndrome using human induced pluripotent stem cells. *Cell* **143** : 527-539, 2010
- 57) Mekhoubad S, Bock C, de Boer AS, et al : Erosion of dosage compensation impacts human iPSC disease modeling. *Cell Stem Cell* **10** : 595-609, 2012
- 58) Tomoda K, Takahashi K, Leung K, et al : Derivation conditions impact X-inactivation status in female human induced pluripotent stem cells. *Cell Stem Cell* **11** : 91-99, 2012
- 59) Aizawa E, Hirabayashi Y, Iwanaga Y, et al : Efficient and accurate homologous recombination in hESCs and hiPSCs using helper-dependent adenoviral vectors. *Mol Ther* **20** : 424-431, 2012
- 60) Hockemeyer D, Soldner F, Beard C, et al : Efficient targeting of expressed and silent genes in human ESCs and iPSCs using zinc-finger nucleases. *Nat Biotechnol* **27** : 851-857, 2009
- 61) Hockemeyer D, Wang H, Kiani S, et al : Genetic engineering of human pluripotent cells using TALE nucleases. *Nat Biotechnol* **29** : 731-734, 2011
- 62) Ding Q, Lee YK, Schaefer EA, et al : A TALEN Genome-Editing System for Generating Human Stem Cell-Based Disease Models. *Cell Stem Cell* 2012 Dec 12. pii : S1934-5909(12)00645-5. doi : 10.1016/j.stem.2012.11.011 (Epub ahead of print)
- 63) Soldner F, Laganieri J, Cheng AW, et al : Generation of isogenic pluripotent stem cells differing exclusively at two early onset Parkinson point mutations. *Cell* **146** : 318-331, 2011

再生医療の現状と将来

東京女子医科大学 副学長・教授
先端生命医学研究所 (TWins) 所長

岡野 光夫

京都大学 iPS 細胞研究所 (CiRA) 副所長

中畑 龍俊

(独) 理化学研究所 発生・再生科学総合研究センター
網膜再生医療研究開発プロジェクト プロジェクトリーダー

高橋 政代

慶應義塾大学 医学部 生理学教室 教授

司会) **岡野 栄之**

岡野(栄)——皆様、今日は公益財団法人ヒューマンサイエンス振興財団の座談会「再生医療の現状と将来」にお忙しいところをお集まりいただき、有難うございました。タイムリーなことに世界で初めてのiPS細胞の臨床研究を申請された直後の高橋先生に来ていただきましたし、また再生医療学会の岡野(光)理事長、そして厚生労働省の“ヒト幹細胞を用いる臨床研究に関する指針”(以下“ヒト幹指針”と略す)を策定した時の委員長であります中畑先生と謀ったように素晴らしいメンバーの座談会となりうれしく思っております。今後の再生医療の方向性について非常に重要な議論をして行きたいと思えます。

再生医療の現状と今後の課題

岡野(栄)——まず再生医療学会の理事長であります岡野光夫先生に、今後の法改正を含め再生医療の現状と今後の課題について少しお話しいただけたらありがたく存じます。

岡野(光)——今の薬事法の仕組みそのまま再生医療を規制していくという考えで今までやってきました。しかし、薬ですと、認可になると認可された範囲の中で正確に同じ錠剤を100万錠でも作れるのですが、そのためには安全と効果を担保するために膨大な治験と技術的な集積が必要なのです。しかし、再生医療は多くの患者さんを治療するに至る途中の段階、すなわち臨床研究段階でまず100例以下の規模で実施し、

それを1,000例、10,000例に徐々に広げていくことが必要で、いきなり100万例で大丈夫だという仕組みを作らないとならないとすると、行き着く前にみな息が切れてしまうでしょう。そこで再生医療に合った仕組みを作れないかということで、自民党の河村建夫先生は再生医療を支援する議員の会を2006年にスタートさせました。この流れに続き民主党の医療イノベーション推進室なども含めて、患者を治すという立場から過剰な規制は取らず、規制は安全が担保できる範囲に収めていくべきではないかということで、科学技術に基づいた規制法を考え、いろいろな見直しを検討されてきました。さらに自民党政権になり今国会に再生医療推進法と関連の法律が出ます。医師法では治療というと医師の判断で、安全かどうかといったサイエンスと別に自由にやれますが、再生医療は医師がすべて安全を担保できるというテクノロジーではないので、テクノロジーも医師法の中である程度規制は必要ではないかと考えられます。それから、薬事法でやるには必ずしも必要でないことにあまりにも厳しすぎ、薬とは別の新しい規制を作って患者のために迅速に安全な再生治療を届けることをする。トータルの推進法の一つを作って、医師法と薬事法の二つを見直す計画です。大きな目玉は、臨床研究のときは医師が自分で作ったものを患者に入れることはやれるのですが、その部分をテクノロジーのあるところに委託ができる仕組みを入れようと考えています。それをやることによって技術と人を育てることが出来るので、日本にとっては財産になります。臨床研究も第三者機関に委託できるということは治験を早く進めることになると思います。もう一つは、大勢の患者を治す、



岡野 光夫

安全と効果が担保される前段階の、ある程度安全性が確保されたところで臨床研究がなされていく中で、条件付きの承認を出し、ある程度症例の数が増えたところで本承認を出す。条件付き承認を早い時期に出しながら、安全と効果をできるだけ早く担保して再生治療を普及させて行くのです。

岡野(栄)——それは薬事法の治験の話ですね。

岡野(光)——そうです。

岡野(栄)——承認後の市販後調査みたいな調査をきちりやってということですね。

岡野(光)——そうです。その代わり全例報告を義務付ける。それから施設の審査をちゃんとやる。プロトコル審査もきちんとやる。医師や技師の資格などもきちんとやる。こういった裏付けの中で、少し新しい仕組みに向けて動いていこうということで、厚生労働省も経済産業省も納得していただいて、自民党から法律が出てくる段階まで来ています。

岡野(栄)——なるほど。これなら良くなりそうですね。治験で再生医療用の細胞製剤のようなものも承認されても、どこで治療をやるかということ是非常に大事な問題になります。特に、無菌室もないような医療機関ではなかなか難しいと思いますし、GMP (good manufacturing practice) レベルのCPC (Cell Processing Center: 細胞調製施設) がないと凍らした細胞を処理できないとなると、そこもまた行き過ぎということになります。その辺りが実際に合った形の法律になって欲しいと思います。進めなければならないものは進めていただいて、抑えなければいけないところは抑える、そこは再生医療学会として健全なご意見を出していただければよろしいかと思います。

“ヒト幹指針”が出来る前と出来た後の状況

岡野(栄)——中畑先生は、今の“ヒト幹指針”を定めたときの委員長でした。この指針が施行になったのが2006年9月1日でした。その当時から見るといろいろな技術的なブレイクスルーも出まして、大分当時と状況が変わったと思いますが、“ヒト幹指針”出来る前、出来た後を振り返ってご説明していただけますか？

中畑——今ありましたように、再生医療のトラックは3つあったと思います。一つは薬事法に則って治験を行って一般医療にしていくというもの。2番目が今お話のあった“ヒト幹指針”を厚生労働省が作りそれに則って進めるというもの。それまで一定の指針がないまま行われていたために、非常に危ない医療も行われていました。そこで一定の指針を作るべきだと検討が行われたのが2番目のトラックです。3番目は先ほどからお話があったいわゆる自由診療、医師の裁量という形で行われる自由診療です。そこにもいろいろな問題

があるということは後でちょっとお話します。この3つのトラックがあり、2番目の“ヒト幹指針”は岡野(栄)先生も委員と一緒に作らせていただきました。当時はES細胞がありましたが実際の医療というところまで行っていませんでしたので、体性幹細胞を用いた再生医療に限定した議論が行われていました。その中では、細胞を処理するには安全で、ある一定のレベルにある施設で処理しなければならないとか、ある程度基準がしっかりしているCPCでなければならないとか、倫理委員会をしっかりと通せとか、当時としては一般的にかなりきちりしたものを作ったつもりですが、その中で死亡胎児をどう取り扱うかで1年以上も議論がありました。今回の指針の中には盛り込まないという形で今ははずしてありますが、当時の指針に基づ



中畑 龍俊

いて各施設の倫理審査委員会を通ったものが20人くらいの専門家からなる中央倫理審査委員会に上がってきて、直すところは差し戻し、駄目なところはだめというやり取りがあり、最終的には厚生労働大臣に中央倫理審査委員会が報告するという仕組みをつくりました。それに則って20数件が認められ、指針に基づいた再生医療が行われていると思いますが、順調に発展してくれるのではないかと考えています。一方当時なかったiPS細胞も生まれてきましたし、また、欧米ではES細胞を用いた医療というものも始まったということもあって、指針の改正の検討が行われています。今回の指針の改定の中には、iPS細胞やES細胞もその中に織り込む予定になっています。これらの細胞を使った時のリスクは、今までの体性幹細胞を用いたときとは違った角度からのリスクの検討が必要なので2013年3月末を目処にまとめる方向に議論が進んでいるところです。もう一つ、先ほどの議員立法の問題とは別に、“再生医療安全性確保推進専門委員会”が立ち上がっておりまして、そこで法律にする議論が進んでおり、一番の問題は自由診療です。再生医療についてどういう自由診療が行われているかを厚生労働省自身も全く掴んでいません。この様に野放しになっている自由診療を厚生労働省がまずしっかり把握する。同じ再生医療でもES細胞やiPS細胞を用いた医療というのは、日本のどこの施設で行っても良いというものではなく、施設を限定して行すべきだという議論も進んでいます。再生医療をAランク、Bランク、Cランクにランク付けし、Aランクはかなりハードルを高くし、いまの治験審査に相当するような倫理委員会の2重の審査をしっかりと行い、しかも施設を限定して行うことでスタートしようとしています。

岡野(栄)——Aランクはどういう疾患とか細胞ですか？

中畑——疾患は限定していません。細胞はES細胞とiPS細胞を用いたものが主ですが、体性幹細胞の中にも非常に複雑な操作を必要とするものはAランクにしようという議論が進んでいます。

岡野(栄)——CPCで増やしたりするものはAランクですな。

中畑——その通りです。一方、一般診療になっているが自由診療で行われている多くの診療、特に美容整形で使われている診療は報告の義務を負わせて、厚生労働省で把握するような仕組みを作る。それに違反した場合は何らかの罰則を作るという形で議論が進んでいます。

岡野(栄)——それがBランクですか？

中畑——いや、それはCランクです。Bランクはその中間ぐらいで……。

岡野(栄)——間葉系幹細胞とか脐帯血などですね。

中畑——その通りです。もう一つは治験のトラックで薬事法に則った医療です。いま岡野(栄)先生と一緒に



高橋 政代

やっているのですが、PMDA（独立行政法人 医薬品医療機器総合機構）でもいままでの審査の形を少し変えようとする動きがありまして、アメリカのFDAのようにサイエンティフィックな視点からの意見をしっかり入れる形にしようということや迅速化などいろいろなことが挙がっており、その検討も精力的に議論が進んでいます。

岡野(栄)——PMDAは独立行政法人ですから言ってみれば厚生労働省に匹敵するお役所のようなところで、申請する医療人が意見を言うことがなかなか出来なかったのですが、組織改革をやっていまして、これから高橋さんのような先端的な申請が出てきた時、これまで誰も審査をしたことが無いから審査できませんということも許されない時代になっているということもあり、科学委員会というものを作り、再生医学や分子生物学あるいはがんの専門家など非常に幅広い医療関係者や医学者が、今後全く新しい申請にどう対応するかという議論を月1回くらいのミーティングでやっています。特に再生医療に関しては中畑先生が部会長で私が副部会長を務めています。毎回テーマを決めており、例えば、iPS細胞はどのようにして調製するべきかは、京都大学iPS細胞研究所（CiRA）の高橋勝利さんにお話をいただきましたし、がん原性に関してどういったチェックをするべきかは、自治医科大学の教授で東京大学の特任教授の間野先生にお話をいただきました。それぞれの専門家から詳しい説明を得て、それをルールに落とすときに実際どうしたら良いかをPMDA側と学者側が密にディスカッションしています。誰も守

れないルールを作ってもどうしようもありませんし、あまりにもルーズになるとこれまたかつての心臓移植の様になりますから、非常に健全な形でルールが作られようとしています。非常に新しい方向ではないかと思っています。

“ヒト幹指針”への申請の経緯など

岡野(栄)——高橋先生、まさにタイムリーな話題ですが、昨日（2013年2月28日）“ヒト幹指針”に申請されたということですが、どのような経緯で準備されてきたかとか今後の課題・展望についてお話いただけますでしょうか。

高橋——私自身は18年ぐらい前、岡野先生などわずかな人しか再生をやっていなかった頃から網膜の再生をやりたいと思い研究しておりました。ES細胞を使い出したのが14年ぐらい前のことで、網膜の色素上皮というものがES細胞から出てくるということを知り、笹井先生の技術などを使わせていただいて、世界で初めて見つけることが出来ました。眼科医でしたので、その細胞が治療に使える重要な細胞であるということが即座に分かりました。そこから10年以上かけて治療に使えるようにしてきているわけですが、その中で、ES細胞で治療に使えるだろうということが、動物実験のPOC（proof of concept）までは10年前には出てきていました。しかし、日本ではES細胞はとて臨床には使えないだろうという雰囲気でしたし、“ヒト幹指針”もまだありませんでしたので、躊躇している間に、アメリカでは民間の企業がどんどん治療にしていこうと聞き、焦っていたところに、iPS細胞が出来てきました。これによりES細胞という拒絶反応のある細胞よりも更に良い治療になるとことを確信して、一挙に臨床レベルに上げてゆきました。私達が最初だと言われますが、既に日本では“ヒト幹指針”を作るという議論が行われていて、それなりの指針があったのです。その指針があるという安心感で、我々も形を作っていくと思います。正直言いますと6年前にiPS細胞が出来たとき、治療は作れると思いましたが、iPS細胞が臨床に使えるところまで改正されるのはすごく時間がかかるだろうと思っていましたし、もしかしたら指針が出来ないためにストップがかかるかと思っていたのですが、iPS細胞の力といいますか、皆がものすごい協力体制をとり、iPS細胞を臨床に使えるという指針が、それも驚くほどの速さで出来てしまいました。文部科学省も厚生労働省も協力して道を開いてくださったのです。その道の上を私はただ歩いていくという感じでした。道筋は皆さんの議論で出来ていて、その道筋を着々と歩い

て到達したというイメージがあります。

岡野(栄)——実際はどういう形でiPS細胞を調製しているのか、自分では分かっているつもりですが、説明していただけますか。

高橋——網膜には中枢神経の部分と網膜色素上皮という上皮系の部分の層構造があります。神経の部分の網膜も治そうと準備をしておりますが、それより前に上皮様の性質を持ちます網膜色素上皮という茶色の細胞に着目しました。この網膜色素上皮はいろいろな病気の原因となります。その中で特に患者さんが一番多くて有名なのが、加齢黄斑変性という病気です。これは網膜の真ん中部分の網膜色素上皮が加齢により弱ってしまって、一番大切な視力を出す網膜中心部の機能が低下するために視力が低下してしまうという病気です。

日本では、本来ないはずの新生血管が発生するタイプであるwet typeが多いので、我々はこのwet typeの加齢黄斑変性を対象に再生医療の応用を考えました。過去に新生血管を、ダメージを受けた色素上皮と共に取り去る抜去術はあったのですが、新生血管を取ってしまうと色素上皮もなくなってしまい、結局機能は回復しないという不完全な手術でした。そこにiPS細胞が出来てきました。ご本人の若返った網膜色素上皮、拒絶反応のない網膜色素上皮を眼球の外で作れるというのは大きなブレイクスルーでした。我々は、患者さんの皮膚から作ったiPS細胞、そこから生じる網膜色素上皮、茶色い細胞ですから網膜色素上皮だけを選ぶことができ、純粋な網膜色素上皮にすることができました。それをシート状にしまして患者さんの痛んだ網膜色素上皮の代わりに網膜の裏側に挿入するという手術で機能を回復しようと思っています。

岡野(栄)——今回は何例ぐらいの患者さんを対象にされるのでしょうか？

高橋——6例を考えております。まだプロトコルとしましては、昨日“ヒト幹指針”の審査を申請したばかりですので、そこで人数もこれで良いかなど議論されますので決定ではありませんが、いまのところは6例を考えております。

岡野(栄)——これはiPS細胞を使った最初の臨床研究となりますので、是非成功していただきたいと思います。私どもも脊髄損傷の治療を4年後ぐらいに考えております。動物実験で成功してもヒトに応用しないとわからないことが多くあると思いますので、是非道を作っていただきたいと思っています。

iPS細胞のストック作り

岡野(栄)——CiRAの副所長でもありPMDAの科学委員会の委員で細胞組織加工製品専門部会の部会長でも

あります中畑先生は、一般にCiRAとしてこのiPS細胞のストックを作って、薬事法適用になるようなグレードのものを用意されていくことを国家戦略の一環としてやっていらっしゃると思いますが、安全性その他において、どういった点を重要視して行こうというご予定なのでしょうか。勿論、審査に引かかるお話にはならないと思いますが、差し支えない範囲でお話を伺えればと思います。



岡野 栄之

中畑——iPS細胞の再生医療への応用ということに限りますと、高橋先生からお話のあった、自分の細胞を使ってiPS細胞を作ってそれを自分に戻す自家再生医療と、もう一つは他人からのiPS細胞を作って患者さんに戻す他家再生医療という二つの再生医療があります。自家再生医療の場合は自分自身にしか使わないということになりますので、拒絶の問題というのは恐らく非常に少ないと思いますし、自分の持っている以外の病気が持ち込まれるという可能性は非常に少ないと思いますので、その点からは安全性も高いのではないかと思います。一方、iPS細胞を作るためにはお金と時間がかかるという非常に大きな問題があります。医療経済的に見ますと患者さん毎にiPS細胞を作り再生医療に使うとすると、いまの保険制度がパンクしてしまうという大きな問題もありますので、その辺をどうやって行くかが一つの問題です。その一つの解決法として他人の細胞を使ってiPS細胞の再生医療が出来るような仕組みを作ったらどうかということです。今考えられているのはHLA (human leukocyte antigen) ホモiPS細胞ストックという考え方です。ご存知のようにHLAのA、B、DR座それぞれに2つずつあり、移植をするには計6個の型が合わなくてはなりません。しかもそれぞれに多くの種類があるので、組み合わせは膨大な数になります。ただ幸いなことに単民族国家である日本人の中にはHLAの3座がホモである、すなわち、お父さんから貰ったHLAとお母さんから貰ったHLAとが同じHLAを持っている方が正常の人の中にもかなりいることが判ってきました、そういう人たちを選び出してiPS細胞を作れば、かなり多くの人にその細胞が使えるのではないかと思います。HLA-A、-B、-DRの3座について、我が国で最も頻度の高いハプロタイプをホモで有するドナーに由来するiPS細胞なら、1株で我が国の人口の十数%をカバーでき、頻度の高い順に50種類の3座ホモドナーからiPS細胞を作成することができれば日本人の73%がカバーされるという試算がなされています。その場合には、作ったiPS細胞がほんとうに安全かどうかということ、いろいろな角度から徹底的にチェックして、本当に安全なも

のだけを選び出し、また目的とする細胞に分化できることをしっかり確認し、いまのサイエンスで出来ることは全て検定して、実際に患者さんに使えるストックを作るという考え方でいま、京都大学iPS細胞研究所、CiRAではそういった検討が行われています。近々そういった細胞を作り始めるという段階でございます。

岡野(栄)——CiRAで臨床に使えるiPS細胞のストックを作って、再生医療に使うのはiPS細胞そのものを移植するのではないので、そのストックのiPS細胞を医療機関に送って、そこで例えば神経とか心筋とか角膜とかいろいろな細胞・組織に分化誘導して使うということなのですが、その元、種となるiPS細胞は安全性を担保して、品質管理することが重要になろうかと思いますが、どういった点がいま品質管理で重要であるとお考えでしょうか。

中畑——ご存知のように、ヒトのiPS細胞が作られたのが2007年です。その当時、レトロウイルスという遺伝子の運び屋を使って4つの遺伝子を入れていたのですが、中にはがんを引き起こす遺伝子c-mycも含まれていたわけですが、そこに2つの大きなリスクがあるということ是一般の人にも分かったと思うのですが、一つはレトロウイルスという運び屋を使うと



中畑 龍俊

遺伝子に傷が付いてしまう。その傷が付いたところに遺伝子が入ると、その近傍にがんに関係する遺伝子があった場合、その遺伝子が活性化される、あるいは細胞の増殖に関係する遺伝子があった場合、そこが活性化されて、がんのリスクが高くなるという心配があります。従って、遺伝子に傷をつけないで、入れたい遺伝子を細胞の中に入れることが重要です。いまはエピゾーマルベクターという細胞質には遺伝子が入りますが、核の中には入らないという方法が開発され、より安全性が高まったiPS細胞ができる様になりました。入れる遺伝子もより安全なものを使う、c-mycのような遺伝子は使わないという方向にきていますし、その外、入れる遺伝子の種類についても検討が行われてより安全なものを選び出すということが行われています。最終的に一番心配されていたのががんのリスクです。それについては徹底的にリスクがないような細胞を選び出すこともこの1年間で急速に進展してきて、より安全なiPS細胞を選び出すという技術がいま進んでおり、現在の科学で出来る最高のレベルでの安全性を担保するという検討が、どんどん進んできています。丁度、昨日(2013年2月28日)も山中先生と岡野先生と一緒に間野先生というがんの一番の専門家の先生といろいろ討論があり、そこでも非常に有用な示唆がございましたので、そういったものを参考にしながら、より安全なiPS

細胞を作り上げていく検討が進んでいます。

岡野(栄)——免疫不全動物に移植して観察するのは6か月ぐらいが限界ですが、実際に患者さんに移植したら10年、20年、患者さんはその細胞とお付き合いしなければなりません。一方、がんの研究者はlate onsetがどうして起きるかというメカニズムを良く知ってらっしゃる。それを踏まえて、現在出来るベストサイエンスでどこまで手を打たなければならないか、それも実行可能な範囲でやれることをいま議論しているところで、もう少ししたら何らかの形でこのように考えているということがアナウンスされるかと思います。いま本当にexomeを読むwhole exome sequenceは10万円ぐらい、FISH (fluorescence in situ hybridization)などとそんなに変わらない値段で出来ますので、がん遺伝子が入っていないかとか、passageすると変異が増えていないかなどの基本的なチェックを行いながら進める必要があります。どんな方でも自然発生のがんがありますが、iPS細胞由来の細胞を移植しても自然発生のがんと変わらないぐらいのrateまで抑えることが出来たら、iPS細胞移植医療の安全性が担保されたことになります。臨床研究はやってみないと分からないところがありますが、やる前に出来るベストのサイエンスをやるということでは、わが国でも決して拙速にならずしかも全速力で、ということによろしいのではないのでしょうか。

岡野(光)——iPS細胞での治療を達成するという意味でも、体性幹細胞で治療していくということをやらなければ駄目です。

岡野(栄)——そうですね。

体性幹細胞を用いた治療

岡野(光)——我々は、口の粘膜細胞で角膜を治すというのを、日本で30人ぐらい、フランスで26人治療しています。それから食道がんを内視鏡的に切除して、口の粘膜細胞シートを貼り付けて移植し、狭窄を止めて治癒を促進する再生治療を行いました。日本で10人、カリンスカで4人、それから軟骨の細胞シートを4、5人、歯根膜を4、5人やって、あと心臓ですが、大阪大学の澤先生のところで十数人治療し、治験も始まりました。このように着実に体性の幹細胞を移植して、いままで治らなかったような病気が治るという治療が一方では始まっています。自分の病院で少数の患者を治療することまでは出来ますが、多数の患者を治していくための仕組みをどうやって作るかはフロントでは重要なことです。iPS細胞で次々に新しい可能性のある細胞、例えば臍細胞や肝臓の細胞、神経の細胞などを大量に増やしつつ行ってきたわけですから、体性幹細胞で上手に治療するという社会的仕組みづくりを先行させて走ら

せながら、iPS細胞での治療を並行して進め、少数の患者を治療するところから多数の患者を治療する仕組みを作る社会の実現に向けて、そしてそれをアクセプトすることが出来る仕組みを上手く広げていくことが重要だと思います。

岡野(栄)——おっしゃるとおりだと思います。iPS細胞そのものを移植するわけではなくて、体性幹細胞にしてから移植するわけですから、体性幹細胞を使った治験あるいは臨床研究がどんどん進んでいかないと、先詰まりになります。そこを是非やっていただきたいと思います。そのためにもPMDAの方でも“ヒト幹指針”ではなくて、その上を行った保険医療を担うための仕組みを作って行きたいですね。

岡野(光)——いま食道がんも10例やって成功しました。しかし、どのように治療を普及させるのかという仕組みがはっきりしていないために投資も起きないし、やりたいという製薬会社は沢山あるのですが研究段階にとどまり、やったら止められるのではないかと、規制の中でどう商売するのがいままではっきりして来なかったのです。今回、委託製造が認められるようになると、少し広げていく新しいメカニズムが出てきたのではないかと思います。そこにサイエンスとして、過剰にならない適切な安全と効果の担保の仕方で、多数の患者を治していく仕組みを作っていくながら、iPS細胞、ES細胞で次々に治療が出来てくる時に、その仕組みを上手につなげていくことが、いまやらなくてはならないことだと思っています。

岡野(栄)——いま仕組みとしてそのときのベストサイエンスでやらなくてはいけないことは勿論ですが、CiRAや先端医療振興財団が出来ないような仕組みを作ってもどうしようもありません。実行可能であり、かつreasonableな仕組みを是非作っていかなくてはならないと思います。“ヒト幹指針”と治験の溝はだんだん無くなって行き、再生医療のためのスタンダードな考え方を中畑先生の委員会では是非作っていただきたいと思っています。

岡野(光)——後は20世紀の縦型の仕組みが、21世紀のこういった新しい時代に必ずしも上手に対応できない仕組みになってきているので、CiRAのような新しい人が入るような仕組みや私どもの先端生命医学研究所(TWIns)もかなり斬新な仕組みを作って対応して、それで初めて人を治すところまでいけます。それを国内で上手に統合や協力ができるような横断型の連携の仕組みを皆で作っていかなくてはならないのです。

官民挙げての協力体制と制度改革

岡野(栄)——一機関では難しい場合は、例えば神戸のように先端医療振興財団と理化学研究所のコンプレッ

クスとか、最近、岡野(光)先生のご協力で神奈川県川崎市に医療特区を作ろうという動きもありますし、いろいろな形でこれまで単一機関で出来なかったようなことも可能にしていく、そうやってパワーを発揮していくことが大事です。数年前まで日本では出来なかった比較的pessimisticな段階から、日本で医学生理学賞を出したということでリードして行こうという雰囲気が出来たところではないかと思うのですが、そういう意味では岡野先生が理事長をやってらっしゃる再生医療学会も是非指導的なお立場で……。

岡野(光)——去年(2012年)皆で協力してYOKOHAMA宣言を出しましたが、論文書きがゴールになっている学者たちにとって、Science誌

やNature誌の先を考える、臨床家と基礎研究者がもう一度上手に共働できるような雰囲気を作る、そういうバジェットもだいぶ増えてきました。大型のプロジェクトも増えてきていますので飛躍が期待されます。

岡野(栄)——そうですね。いろいろな省庁も、いままでありえないような協力を……。

高橋——そうですね。

岡野(光)——昔は、臨床家は臨床家、基礎の人は基礎で研究費が出ていましたが、最近ではイノベーションを目指した協力体制のあるところに研究費を出すようなグラントも大分用意されてきているようなので、学会が働きかけてやってきていることが、いろいろな形で省庁の人たちも受け入れてくれて、良い方向へ進んできたと思います。

中畑——ようやく国も本腰を入れて動き出しているところですが、特に医療というのは制度に依存するところもあり、そういった制度改革がいま急激に進んでいますので、先ほどのPMDAにしても従来の治験の形ではない新しい治験のあり方が議論されています。特に再生医療ですと多数例でPhase I、II、IIIとやるのは不可能ですので、別の仕組みで再生医療を審査しようとしています。

岡野(光)——多数例での結果を前提とした審査は再生医療にはふさわしくありませんよ。

岡野(栄)——再生医療でPhase II、IIIで二重盲検というのは倫理的に良くないと思います。アメリカで、FDAでやれといっているようですが、それは日本のカルチャーではちょっと……。

高橋——日本ではちょっと似つかわしくありませんね。

岡野(栄)——それに匹敵するようなサイエンティフィックなエビデンスがもし得られるのであれば、やらないに越したことはない。それはYOKOHAMA宣言に我々は組み込みました。二重盲検のようなシャムオペレイ



岡野 光夫

ションのようなことはやらないというYOKOHAMA宣言は、ISSCR (International Society for Stem Cell Research: 国際幹細胞学会) でも評価されています。

岡野(光)——やはりプロフェッショナルなプロフェッサー達が、患者のために正しいことを言ったほうが良いと思うのです。学会が総力を挙げてサイエンスと技術をベースに患者のためにこうあるべきだという意見を前面に押し出して研究を進めていくことで、行政サイドもずいぶん協力してくれるようになりました。また、産業サイドも最近“再生医療フォーラム”というのが作られ、富士フィルムの戸田さんが初代の会長になりました。だんだん本気で患者のための再生医療を考えるような雰囲気は産業サイドでも育ってきていますので、後は最高に良い治療を患者にどう届けるかということで、アカデミアの学者達が皆で協調、協力してやるということではないでしょうか。

岡野(栄)——これまでの製薬メーカーだけではなく、バイオをやっていたところや富士フィルムのようにマテリアルを扱っていたところなど、いろいろなところが参入してきて面白くなっています。これまでのような構図で製薬企業だけの尻を叩くのではなく、これまで医療と関係がなかったところも……。

高橋——臨床家と製薬企業が協力することで、この形が出来るのかと思いますし、先ほどの制度の話でいいますと、製造のところを企業に委託できるというのは画期的なことであって、いままでアカデミアで閉じていたものが、初めて産業界に開かれる、この形をどんどん進めて、アカデミアが途中までやっていたところにもっと早く企業が入ってくるのが良いと思います。

岡野(栄)——それは“ヒト幹指針”でも出来るのですか、それとも薬事なのですか？

高橋——いまのところ“ヒト幹指針”はグレーです。

中畑——“ヒト幹指針”もそういった形で出来るように進めています。

岡野(光)——先生、医学会にとっても、そういう部分を全部自分でやらなくてはならないところを、良い施設でトレーニングを受けた人がアシストしてくれるのなら、それを利用した方が医学にとっても絶対得なのですよ。

岡野(栄)——ほんとうに腕の立つ外科医で、ちゃんとしたプロトコルを渡せて最高の手術が出来る人に、CPCで培養しろといっても意味ないですよ。

高橋——ドクターに細胞培養させているよりも、それに特化したプロフェッショナルを作って行くほうが良いですよ。

岡野(栄)——少し前までは“ヒト幹指針”がそうでしたから……。やはり外科医は外科医に専念していただいで……。

ロボットの利用と制度

岡野(光)——いま私、FIRST program (最先端研究開発支援プログラム) というプロジェクトを貰って、3次元の臓器に血管を入れながら厚い臓器を作るというのをやっていて、2、3週間前にNature Communication誌に出ましたが、結構厚い組織が*in vitro*で出来て、出来たものを移植するところまで行きました。私どものCPCは280m²あり、その中にカルチャールームが3室あります。今手作業でCPCの中でやっていますが、これから多数の患者を治療するには、計算すると膨大な敷地が必要になります。少ない患者しか治療しないという仕組みの中で動くのだったらこれでも良いのですが、発展させるにはどうしたら良いかと10年ぐらい前から悩んでいましたが、小さな箱を作ってロボットを使って細胞を無菌環境下で培養させ細胞シートが出てくるような仕組みを作れば良いと考えました。日立との共同でロボットをやっている人々といういろいろ検討し、いま、細胞を入れてやると3層ぐらいの細胞シートが全自動で作れるところまで来ました。手作業である程度の量まで作って患者を治しているながら、将来は多数の患者を治療するために、無菌の中でロボットが作るというところまでいければ、医師たちが自分のオーダーに沿ったプロダクトを手に入れることが出来て、それに合った治療を行うという再生医療が描けるのではないかと思います。

岡野(栄)——日本のロボット技術は素晴らしいものがあり、バイオの関係でも独立行政法人 産業技術総合研究所のヒューマノイドロボットなどは難しいことをこなしてくれますから、彼らに培養をやらせようかと思っています。CPCでやらせればそれこそ不眠不休でやってくれます。

岡野(光)——やはり高度なテクノロジーを上手にタイムリーに医学の世界に入れて、医学がそれを利用した方がより高度な医療ができるに違いありません。私は仕組みを作って入れていくべきだと思います。再生医療が極めてよいモデルケースになるのではないかと思います……。

高橋——そこでも制度を先々作っていないと、ロボットを利用した技術が出来ても制度がないので使えない、というのではもったいないと思います。

中畑——経済産業省も力を入れて、NEDO (独立行政法人 新エネルギー・産業技術総合開発機構) でも自動培養装置でいろいろなものを作り出すということが進んでいます。



高橋 政代