

講演 1

ES 細胞の驚異的能力と可能性—なぜ万能細胞とよばれるのか

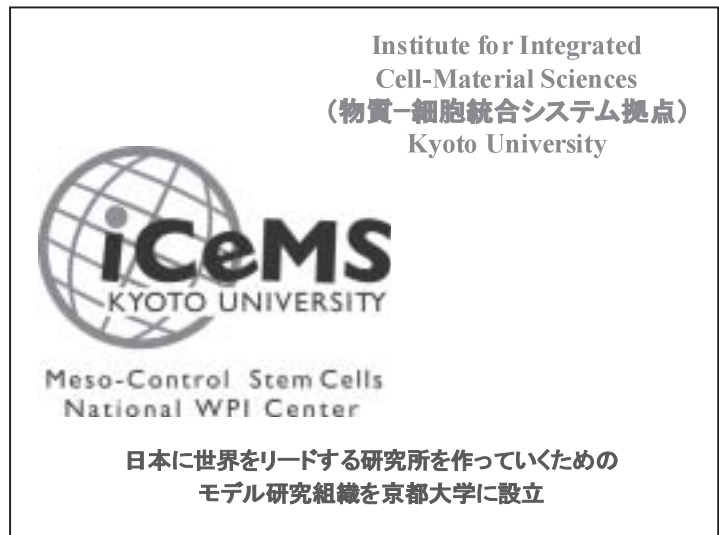
物質—細胞統合システム拠点長・再生医科学研究所教授 中辻 憲夫

ただいま紹介されました中辻です。きょうは天気がよくて、皆様、遊びに行くほうがいいかもしれないですが、たくさん集まっていただきありがとうございます。私、最初の講演ということで、最近、ニュースで万能細胞あるいはESとかiPSという言葉がマスコミをにぎわしていますが、実際にそんな不思議な細胞がどうして存在するのかという疑問を持っておられる方もいると思うんです。そういうことも含めて、基本的なところから少しご説明させていただきます。

その前に、理事からも紹介がありましたけれども、最近、京大に新しい研究組織、物質—細胞統合システム拠点というのができまして、これの立ち上げを私が担当することになりまして、ちょっと頑張ってロゴをつくりまして、iCeMSというふうに名づけたわけです。この説明から入っていきます。

この研究所というのは、文部科学省、政府全体が日本の科学研究の新しいフラッグシップをつくるという

ことで、「National WPI Center」というんですが、真に国際的な研究センターを5カ所だけ採択したうちの1つに選ばれたものです。研究面でもトップレベル、それから今までの違う分野を、我々は物質科学と細胞科学ですが、統合したような研究をやっていく。それだけでなく、実験的に将来のモデルになるような新しい運営方式も考えていこうというふうなことの、非常にアンビシャスな構想です。



私どものiCeMSは、異分野の統合ということからしますと細胞生物学、万能細胞が中心ですけども、そして化学、それから物理学を統合した新しい基礎科学領域をつくるとともに、それだけでなく、社会に役立つ新しい技術をつくっていこうということを、私は基礎研究も応用研究も両方大事で、それをつなげていきたいと思っていますので、例えばきょう、私と、この後の山中教授から話がある万能細胞による再生

医学、それから新しいスマート物質とかスマートマテリアル、今までないようなほんとうにすばらしい働きをするようなものを化学でつくって行って、新しいタイプの医薬品をつくる。

あるいは、環境問題が非常に大きな問題になっていますが、炭酸ガスと水からブドウ糖をつくるというふうな、環境問題にもある程度貢献できるような新しい化学というものを目指しています。そのために、いろんな分野からトップレベルの研究者を国内外から集めています。

これからお話しする山中教授もその一員で、実はこの分野が非常に世界の注目を浴びて、日本政府、社会が支援しているということで、急遽、iCeMSとしては山中教授をリーダーとするiPS細胞研究センターを1月に迅速に設立して、リーダーシップを発揮してやっていただくということになっています。京都大学全体としても支援していくということになっています。

そういうふうなことがiCeMSの紹介ですが、本題に入りまして、まずは、私は生物学から始まりまして、幹細胞ということを少し紹介します。「カン細胞」というんですけど、「肝」と区別できないので、つい「ミキ細胞」と言ってしまうんですが、ステムセルです。これは体の中で非常に大事な働きをしまして、幹細胞というものの特徴は、自分と同じものをつくりながら、いろんな種類の細胞をつくっていく。いろんな種類の細胞をつくって

しまつて、自分がなくなるともうつくれないですから、自分自身もつくりながらつくっていくということになります。

例えば、皮膚があります。皮膚というのは、外側はケラチンというたんぱく質がいっぱい詰まって、ほとんど死んだような細胞で、だんだんはがれていくわけですけど、皮膚は薄くなってなくなならないのは、その一番内側に幹細胞があつて、必要な数だけ表皮の細胞をつくってくれる

幹細胞の種類と特徴	
多能性幹細胞 Pluripotent Stem Cell	
・ES細胞(胚性幹細胞) Embryonic Stem Cell	初期胚由来 分化能:高 増殖能:無制限
・EG細胞 Embryonic Germ Cell	胎児生殖細胞由来 分化能:高 増殖能:無制限
・mGS細胞 Multipotent Germ Stem Cell	新生児精巣内生殖細胞由来 分化能:高 増殖能:高 or 無制限
・iPS細胞(体細胞を遺伝子導入で再プログラム化した細胞株)	
組織幹細胞 Tissue Stem Cell (体性幹細胞 Somatic Stem Cell)	
造血幹細胞、神経幹細胞、間葉系幹細胞など	
・(胎児)組織幹細胞	中絶胎児由来 分化能:中 増殖能:中
・(成体)組織幹細胞(成体幹細胞 Adult Stem Cell)	成人由来(一部は生体から採取可能) 分化能:低? 中 増殖能:低? 中
多能性に近い特性をもつ成体組織幹細胞?	
成人由来 分化能:高? 増殖能:高?(再現性確認が困難)	

からです。この必要なだけというのは非常に大事でして、作り過ぎると例えばケロイドのような状態になったりしますけれども、必要なだけつくっていく。

それから、血液に関しても、大人ですと骨髓の中に造血幹細胞があつて、必要なだけいろんなリンパ球、脊髄をつくっていく。必要以上につくると白血病のような病気が起きたりするわけで、実際にこういう幹細胞を利用した医療というのはもともと存在してまして、骨髓移植がそうです。がん化したような患者さんのがん細胞を含むものを放射線照射とかで殺して、そのままだと貧血で死んでしまいますから、別な人から造血幹細胞が含まれているはずの骨髓をとってきて移植すると、一生の間、成功すれば血液をつくり続けてくれるという意味で、幹細胞というのは、その組織、臓器によって必要な維持あるいは修復をやっているわけです。

ということもあって、普通はどれぐらい増殖するかは非常に厳密にコントロールされているわけです。組織幹細胞というのは、そういう意味で、何になるかというのは割合限られていて、増殖能もそんなに多くない。これは、実は臨床応用には非常にやりやすいという面もあるんですけども、それと違って一群の幹細胞があります。それが、日本語では多能性幹細胞という言葉が学術的にはずっと使われてきて、英語ではプルリポテント・ステムセルと言われます。

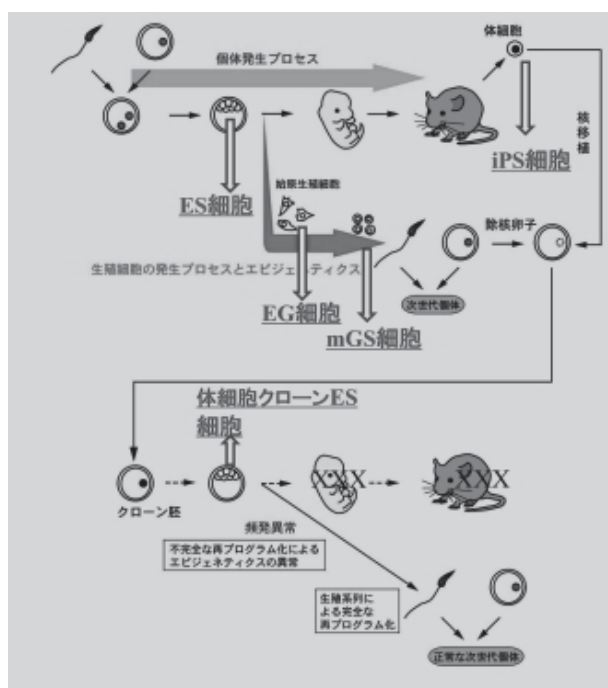
この細胞というのは非常に特殊な細胞で、こんな細胞がほんとうにあったのかと思われるようなんですが、その代表格というか、最初に見つかったのは 1981 年、もう 25 年以上前ですが、将来胎児をつくるもとになる細胞を体の外で維持できるということがマウスでわかって、それで脚光を浴びた。

それ以降、似たような多能性幹細胞というのは幾つか見つかりました。それは、違う由来からほんとうによく似た細胞ができたわけです。例えば、胎児の生殖細胞、卵や精子をつくるもとになる細胞から E G 細胞というのがつくられましたし、生まれた後の精巣の中の精子をつくるもとになる細胞から mGS 細胞がつけられました。これは、2 つとも実は日本人が発見にかかわっているわけですが、ご存じのように、最近、山中教授によって、遺伝子を幾つか入れるだけで同じようなものができるんだということで、iPS 細胞がつけられた。

ですから、これは一群の細胞で、非常によく似ています。それは、実は、私自身は発生生物学を勉強してきて、つまり卵と精子が受精して受精卵をつくってから胎児ができて、胎児の中で将来の卵と精子をつくるもとになる細胞ができて、次の世代ができていくという研究をやってきましたので、それを置きかえてみますと、これはライフサイクルですね。子供ができて、次の世代ができてくる。

クローン動物の、例えばクローンヒツジ、ドリーというのは、大人のヒツジの細胞をとってきて、その核を卵子の中に入れてやると、その中の初期化因子、まだ不明ですけど、そういうものが働いて、もとの状態に初期化するからまた発生を始めて、正常な動物ができることもあるんですが、大体は完全にはもとに戻らずに、さまざまな病気になったりすると。ところが、ただし、その次の子供を作ると完全に正常なんですけども。

こういうことの中で、実は、多能性幹細胞というのはこういうふうに関連しているわけです。E S 細胞というのは、将来胎児をつくるもとになる部品をつくるような細胞からできた細胞株。細胞株というのは、ずっと植え継いでいける細胞のことで、ヒトの E S 細胞はマウスの E S 細胞よりずっと増殖が遅いんですが、それでもヒトの E S 細胞は 1 週間に 10 倍増えます。1 枚の培養皿の中で増えたのを分割して、また何枚にも増やして、ほとんどは凍結保存しておいて一部を植え継いでいきますが、もし凍結保存したいとすると、一月に 10



の4乗、1万倍になるわけです。

1年間、2年間とそのまま増え続けるということはすばらしいんですけど、普通、がん細胞になったら増えるんですけど、そうじゃなくて、もとの性質をほぼ維持したまま増え続けるということが多能性幹細胞のすばらしいことで、1週間に10倍、1年間増え続けると10の52乗になって、10の52乗というのは、なかなか感覚がつかみにくいんですけど、我々1人の体は60兆の細胞でつくられている。数えたことはないですけど、そういうふうに言っているからそうしておきますと、それに世界の地球上の人口というのを掛けても、それよりも増やせる。

つまり、人間の細胞なのに——この場合は人間の細胞ですね。細胞の数としてはほんとうに無限に、無尽蔵につくり出すことができるようなものがES細胞ですが、それはすごく生物的にわかるように、将来の胎児をつくるもとになる細胞だったので、それを増やし続ければいろんな臓器をつくれる。

それから、生殖細胞に由来する多能性幹細胞は、生殖細胞というのは最初によく似た部分を温存していて、ちょっと培養条件を変えらるともとへ戻るということで、こうなる。それから、いつときにぎわしたクローンES細胞というのは、クローン動物をつくる手順での初期化したものからES細胞をつくれればそうなるはず。

それから、最近すばらしい発見だったiPS細胞というのは、体細胞を卵子とかを使わずに、幾つかの遺伝子を入れるだけでもとに戻ったということで、世界中が驚いたわけです。特に2006年のマウスのiPS細胞をつくったときには、世界が予想だにできなかったことが起きたわけです。それを山中教授は成功させたわけですが、こういう関係になっていますので、生物的に見ますと、お互いに関連したような一群の細胞になります。

マウスのES細胞の研究を、私は、1983年から始めましたからもう随分長いですが、マウスの子宮に着床する前の、胚盤胞という言葉は特殊ですが、周りは胎盤とかをつくる細胞なんです。それから、胎児の頭がどっち側にあるかというのを決めるような大事な細胞がいるんですけど、体自体は真ん中の内部細胞塊と言われる細胞からできるんですけど、それを取り出して普通に培養すると、どんどん神経系になったり変化していくんですけど、ある特殊な条件で培養するともとの性質を保ったまま増やすことができます。それがES細胞株です。普通、増やしておいて、凍結保存しながら使う。

これはマウスのES細胞で、バックグラウンドにあるのはフィーダー細胞といって、ES細胞だけだと何か寂しくてあまり増えないんですけど、そのいろいろ世話する役ということでフィーダー細胞と呼ばれます。えさをやるという意味ですが。ここにあるのがマウスのES細胞の多分10個か20個ぐらいの集団です。細胞同士の境界がはっきりしませんが、ある特殊な染色をしますとES細胞だけ染まって、幾つか数えることができます。こういうふうな集団になっています。アルカリ性フォスファターゼという酵素がそれを染めているんですけど。

マウスでなぜこれが重要だったかといいますと、もちろんいろんな理由があるんですけども、1つは、たくさん増やしておいて、例えば黒い毛のネズミの系統からのES細胞を増やしておいて、白い毛のネズミの胚盤胞の中に注入すると、自分は培養下で1年増えたけど内部細胞塊の細胞だったんだということは覚えていて、まざり合ってネズミをつくる。胎児の体づくりに参加するから、白の胚盤胞と黒のES細胞がまざり合ったようなキメラマウスと

呼ばれるものができます。これは、別におもしろくて愛玩物としてつくっているわけじゃなくて、こういうことができます。

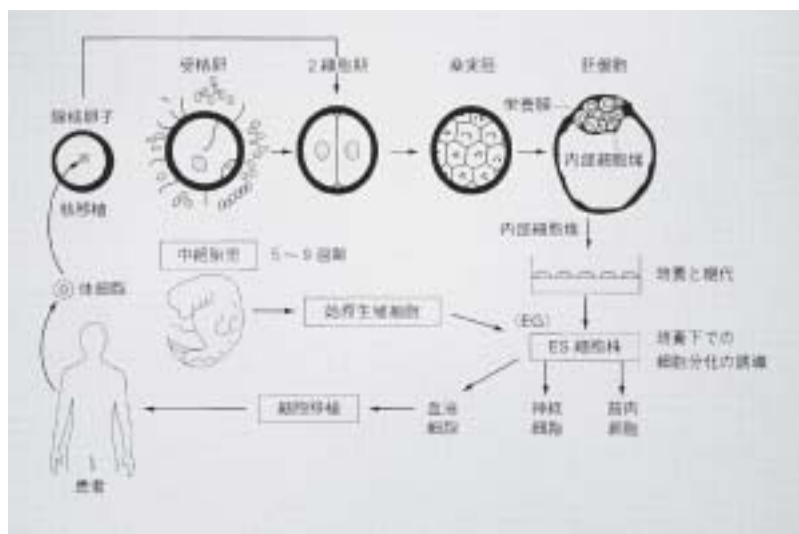
培養している細胞というのはたくさんあるわけです。直径 10 センチの培養皿の中に 10 の 7 乗個、1,000 万個の細胞がいるんです。そこにある遺伝子を変えたいと。例えば、病気のモデルをつくりたいときに、その病気の遺伝子が増えた、突然変異を起こしたような遺伝子を含むようなものを 1,000 万個の細胞に入れると、たまに目的のちょうどねらった部分の染色体の部分が増えた、そこに入り込んだ細胞ができる。それを選ぶ方法さえ、仕組みさえ組み込んでおくと、そういう形で染色体の中にある遺伝子にねらったような変化を起こさせたような細胞ができる。

普通だと、細胞ができたといっても、細胞で何をするのと言うんですけど、それでキメラマウスをつくらせて、それを交配して、目的の遺伝子変化が起きた細胞から精子ができて、それが子供をつくると、その目的の遺伝子を変化させたようなネズミが生まれる。これは、いわゆる遺伝子ノックアウトマウスとか言われて、人間のある病気が増えた遺伝子と同じような変化を起こさせて、その病気の治療法の解明に使う。

このノックアウトマウスというのは、例えば脳の中で何かの遺伝子が発現しているけど、その遺伝子、何をやっているんだろうなというときに、その遺伝子を壊したらそのネズミ、普通は頭が悪くなりますが、よくなることはあまりないんですが、どういう変化が起きるかを調べると、その遺伝子が何をしているかわかるということで、今、研究に世界中で使われている。

このことによって、ごく最近のノーベル医学生理学賞をもらったのが、このノックアウトマウスをつくるというチームです。そのうちの 1 人が、マウスの E S 細胞を最初につくったマーチン・エバンス博士で、私は、実はロンドンに 1982 年か 3 年、日本に帰る直前ですが、滞在したときに、ケンブリッジに行ったところで、その研究室でマウス E S 細胞と出会ったというのが私の研究にとっては非常に重要な意味を持っていたんですが、そういうふうな話で、20 年以上、マウスの E S 細胞はそういう使われ方をしてきました。

それが 1998 年にアメリカのウィスコンシン大のトムソン博士がヒトの E S 細胞をつくった。ちょっと前にサル E S 細胞をつくらせて、ヒト E S 細胞を彼らはつくったんですが、それで 1 つの新しい時代が始まったんです。ヒトの場合もマウスと初期のころはほとんどよく似ています。ちょっと時間がかかるから 1 週間ぐらいで胚盤胞という状態になって、子宮に着床して、3 週間目には体の正中線を示す線ができます。これを見ると、頭と後ろのほうとが大体わかるわけです。



同じように、この胚盤胞の中から将来の胎児をつくるもとになる細胞を取り出して、特殊な条件で培養しますとどんどん増やすことができ、そうすると、どんどん増やした後、いろんな細胞に分化といいます、変化させて、いろんな目的に使える。再生医療の移植治療に使うということは当然ですし、きょう、少し最後にお話ししたいんですが、新しい薬の安全性を高める、テストするようなこととか、新しい薬を見つけるための道具にも使えるということになります。

ただし、ここで1つの問題があって、ヒトの場合にこの胚盤胞って、普通は人間が何もしなければ女性の体の中で受精卵ができて、胚盤胞に育って、子宮に着床して赤ちゃんになる。ただし、女性の体の中でもでき上がった受精卵のうち4分の3ぐらいはどこかで消えていつて、4分の1ぐらいだけが着床に成功して赤ちゃんになるんですけれども、それを使うんだから生命倫理の問題が生じてきます。そこで、どういうときにこういうことをやってもいいかということが世界中の国で議論されて、日本はその点では標準的なんです、不妊治療を受けていると、実は凍結されたままで、もう不妊治療に使われなくて消滅させられる凍結胚というのが、日本でいうと年間5,000個とか、アメリカでは数十万個が永遠に凍結保存されているという話がありますが、それぐらいできてくるんです。それは必然的に、不妊治療をやっている限り。

そうすると、それを廃棄するというか消滅する前に、こういうES細胞株をつくるのに使わせてもらえないかと説明して、「いいよ、提供するから使ってください」と言った人からだけいただいて、研究に使ってES細胞株をつくる。そうすると、幾らでも増えますから、一旦つくればいろんな研究者に、日本中、世界中に配っても全然減らないんです。理論的には、1つあれば世界中で使っても減らない。ちょっと足りなければ、1週間増やしたら10倍になりますから。

ということで、このつくる部分については、きちんと提供が自由意思で行われて、説明をちゃんとしたかどうかは必要ですが、私の意見では、幾らでも増える細胞株となった後はできるだけ有効利用すべきだと思います。もちろんやってはいけないことはキメラ人間をつくるかということはありませんけども。

それで、繰り返しますと、ES細胞株、実はこれは多能性幹細胞株といってもいいんです。ですから、iPS細胞も含めた万能細胞と言われる多能性幹細胞株であれば全く同じことが言えます。ほとんど同じ性質を持ったものですので、同じように使えるわけです。たくさん増やしておいて、いろんな細胞をたくさん作って使えるだろう。肝臓細胞とか、インスリン産生細胞という糖尿病の治療とかのものはちょっとまだ難しく、もちろん数年後にはできそうな雰囲気ですが、ほかに神経、血液、心筋とかは十分できている。

そういうものを使いますと、例えば病気の治療ですと、パーキンソン病というのは脳のある部分で神経細胞がなくなっていくんですけど、それを補給してやることもできるし、さっき尾池総長がおっしゃいましたが、心筋梗塞で心筋の一部が死んじゃったときに、心臓をつくるのは無理ですけど、死んだ心筋の細胞を補充してやる。ちゃんと働く心筋細胞を入れてやれば、ちゃんと細胞同士が自分でくっついて、患者さんの周りの心臓の残った部分とうまくくっつきますので、そういう治療ができる。これに関しても、ES細胞のような細胞供給源がないと、だれからもらってくるのかという問題が生じてきて、それは非常に解決が難

しい問題なわけです。

ES細胞株の特性

(1) 長期間の細胞増殖を、正常な性質を保持したまま無制限に維持できる細胞株である

(2) 組織・臓器を構成するほぼ全ての種類の細胞に分化できる多能性をもっている

何度も出てきますが、ES細胞というか、すべての多能性幹細胞、万能細胞の特徴というのは、がん化したりしないで長期間増え続けることができる。それから、いろんな種類の細胞に変化することができる。その方法、条件を整えればいろんなものになれる。ということで、細胞治療の材料にもなりますし、私がきょう少しお話しする新しい薬の開発とか、そもそもの基礎研究、ヒトの胎児の細胞なんて研究においてそれと使

えないですから、そういうことの研究にも使えることになります。

細かいことを言っていると時間がなくなりますが、いろんなものになるということです。大人からとってきたのでは、なかなか胎児の初期にできてくるドーパミン神経や運動神経、大きな神経というのは分化しにくいんですけど、ES細胞からだとか割合簡単にそういうものもつくれるということになります。

それから、1週間に10倍、早いスピードで、幾らでも増えるということとは、実は、ただたくさん手に入る

という以上のことが可能になるんです。例えば、遺伝子をいろいろ変えるノックアウトマウスをつくるように、いろんな遺伝子を変えるというのは、たとえば1,000万個の細胞にある遺伝子を入れて、そのうち1個だけ変化したものをまた1,000万個に増やして使う。さらに、その1,000万個にまた何かの遺伝子で変化させたいというときには、その1個から1,000万個にするというふうなことを繰り返すので、幾らでも増えない限りはなかなか難しいんです。

そういうことができるので、もちろん治療にはそういうことはあまりしないでしょうけど、例えばある難しい病気のモデル細胞をつくって、新しい薬をスクリーニングするというようなことには、そういうモデル細胞の作成に遺伝子改変は非常に役立つ。

それから、大事なことは、将来的に治療に使うことになったときに、テーラーメイドではなくて、もっとコストが安い大量生産のものになる。ですから、だれかからいただいてきて、それを何か処理して移植治療に使うときには、毎回毎回、品質管理を気をつけながらやらなきゃいけないですけど、このES細胞、多能性幹細胞の場合は、例えば10兆個などの大量の細胞に増やしてから治療に使うためのインスリン産生細胞とか、いろんなものをつくってお

ヒトES細胞株の重要性

(1) 細胞治療に用いるために必要な機能をもつ細胞の供給

(2) 組織工学による人工組織・臓器作製のための多種類細胞材料の供給

(3) 基礎研究や創薬研究に必要なヒト細胞の供給

いて、1つのロットというかバッチというか、それをつくって、その大部分は小分けして凍結保存するんですが、その一部を使って安全性とか品質を決めた後、それを配ることができる。つまり、大量生産と品質管理ができるわけです。

そういう形で、人間の細胞をそういうふうにつくるためには、だれかからいただいていたのではそんなことはとてもできないわけですけど、こういう幾らでも増える細胞株を使えば、将来、比較的安価な一般医療として成立し得る可能性があるということが大事だと思います。

ES細胞を使った細胞治療を目指す研究の現状

？ パーキンソン病

ヒトやサルES細胞からドーパミン神経への分化誘導
ヒトやサルES細胞からのドーパミン神経細胞を疾患モデル動物へ移植する前臨床研究により病態改善、腫瘍形成なし、など良い結果

？ 脊髄損傷

ヒトやサルES細胞から神経幹細胞／前駆細胞、運動神経、グリア細胞などへの分化誘導
グリア細胞や神経前駆細胞の疾患モデル動物への移植による治療効果の報告

？ 加齢黄斑変性、網膜色素変性など眼科疾患

ヒトやサルES細胞から網膜細胞への分化誘導
ヒトやサルES細胞からの網膜細胞を疾患モデル動物へ移植して病態改善

？ 心筋梗塞

ヒトやサルES細胞から心筋細胞への分化効率を上げる研究が進行中
疾患モデル動物への細胞移植では心筋組織に取り込まれて心筋機能が向上

？ 糖尿病

ES細胞からインスリン分泌細胞への分化誘導の研究は進行中
透過性膜カプセル中に封入して移植すれば免疫拒絶の回避が可能かもしれない

？ 肝硬変など

ES細胞から肝細胞への分化誘導の研究は進行中

実際、どういう病気の治療の研究が進んでいるかといいますと、全体的にいいますと、おそらく数年以内ぐらいにアメリカなりで臨床試験、ほんとうに効くかどうかとか安全性——安全性は動物とかで試しますが、テスト的な実験的な治療が、臨床試験が数年ぐらいで始まっていて、5年、10年ぐらいで治療が実現していくんじゃないかというふう

に思っていますが、それは病気によって違います。

パーキンソン病のようにある特定の神経細胞が失われるものについては、それを補充してやればいいという割合シンプルなことで、実際に動物実験で成功しています。それから、脊髄損傷というのもちょっと不思議ですが、どこかで脊髄が損傷を受けたときに、神経がさらに死んでいくのを保護する効果があるようなグリア細胞を補給してやると割合いいということで、ただ、今のところ、急性期の脊髄損傷の動物での治療が成功しているだけです。それから、目の失明に至る網膜の変性に関しても、やはり動物実験で成功しています。

ですから、動物実験で成功して、一応そんなに危険はないというものを、さらに安全性を確保して、トライアルをいろいろしながら臨床試験に入っていくわけです。その一番最初に進んでいそうなのがパーキンソン病、脊髄損傷と目の病気なんですけども、パーキンソン病に関しては私自身も少し関与した、今、再生医科学研究所の准教授をされている高橋潤先生が、脳外科のグループですが、京大で行っていたので、少しスライドを借りてきているんですけど、パーキンソン病というのは結構多いんです。皆さん、多分ご存じだと思います。

それで、脳の中のある部分のドーパミンという神経伝達物質をつくる神経が、年をとればだれでも減っていくんですけど、非常に減る病気です。最初の治療としては、少なくなった神経にたくさんドーパミンをつくらせればいいというので、その前駆体の薬を与えればある程度効果がある時期があります。

この映画は、その治療法が見つかる前に、ほんとうに動かなくて、何も考えとか人格としても働いてないんじゃないかというふうなとらえ方をされていた患者さんたちにドーパミンを投与すると、ある朝、急に起き出してというふうな。ただ、それは残念なことに長く続か

なかったというふうな映画なんですけど、そういう薬物治療である程度効果がある時期があるんですが、だんだん進行してくるとそれも効かなくなって、新しい研究法はトライアルされていますけども、1つのほんとうに実験的な研究としてアメリカと北欧で行われたのは、中絶胎児の脳を集めてきて、その中のドーパミン神経があるような部分を患者さんに移植してみた。そうすると、効果があるような例もあった。

ただし、どれだけの細胞とどういう細胞を移植するかはコントロールできませんから、いろんな副作用もあったということで、それは実用化できるはずはないわけです、そもそも中絶胎児から細胞を得るのは難しい。

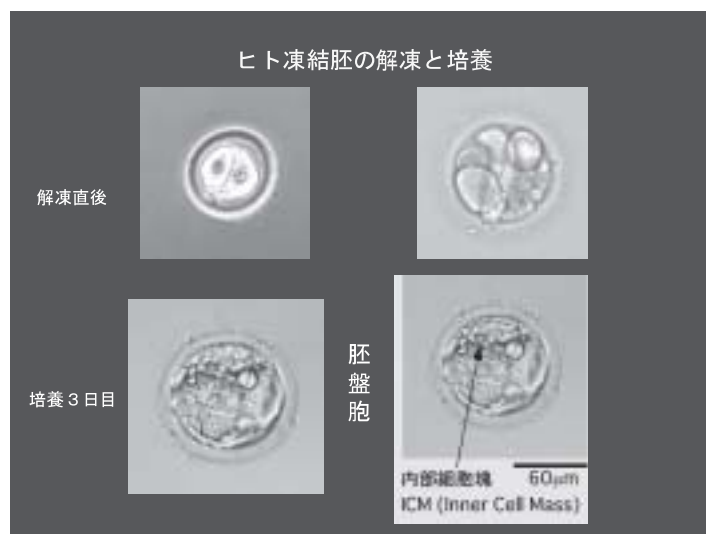
でも、考えてみると、ES細胞からドーパミン神経をつくって、ドーパミン神経に成熟していくとか、変化していくうちのどの段階を何個集めて移植するということができますから、それは非常にわかりやすい治療で、我々がヒトES細胞の前につくったカニクイザルのES細胞を使って、高橋先生たちはドーパミン神経をつくって、パーキンソン病のカニクイザルの脳に移植して、結構、手を伸ばしてえさをとることができなかったサルがちゃんと

とれるようになったとかいうふうないい結果が得られています。さらに3カ月後に調べた限りでは心配していたテラトーマという良性腫瘍の発生も見られずに、今、彼らはヒトES細胞からつくったドーパミン神経をサルに移植しようとしているし、iPS細胞を使っても同様なことをやろうとしています。

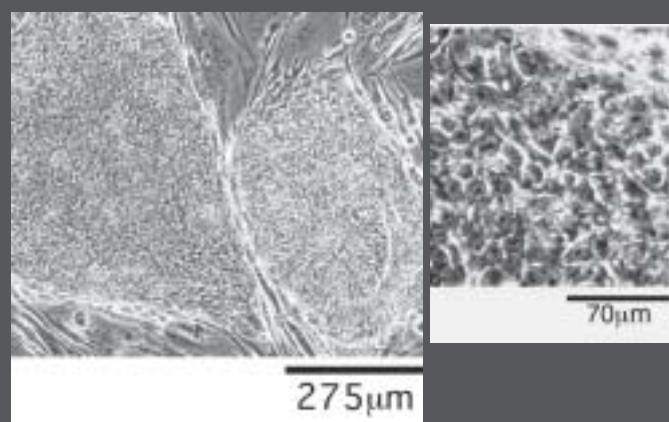
我々は、とにかくヒトES細胞株というのを日本でつくって、みんなに配って、研究者がそれで研究を始

めなきゃいけないということで、日本で我々、現実的には1カ所だけ成功しているわけです。こういう壊れている細胞がありますが、これは我々が頂いた中で一番良い胚です。不妊治療では当然よい状態の胚を使って、残ったものというのは壊れている細胞が多くて、ほとんど凍結保存から融かしたときには死んでいるものしかいただけないわけですけど、それは当然なんです。

そのうち3個だけは内部細胞塊を取り出せるような状態まで发育したので、その中の内部細胞塊を取り出して培養しますと、2003年5月に、一緒にやっている末盛博文という准教授が、マウス・サルで練習を積ん



2003年5月に、国内で初めて樹立されたヒトES細胞株 KhES-1



でいた成果もあって、3 個の胚盤胞から 3 株をつくることに成功しました。、E S 細胞であることを示すような、あるいは多能性幹細胞であることを示すようなたんぱく質を発現してまして、神経にもすぐなるし、免疫拒絶ができないような免疫不全の SCID マウスと言われるマウスに移植すると、いろんな組織断片がまざり合ったような良性腫瘍のテラトーマができます。これがどういう分化能、どういうものになれるかということのテストのスタンダードなんです。それで 1 年間増え続けても、2 年間増え続けても、検出できる範囲では正常な染色体を持っていた。もし凍結保存せずに 2 年間増え続けていれば、10 の 104 乗個の細胞になったということになります。それで、その 3 株を、今までは国内に全くの無償で配っています。

これからどんなことをやらなきゃいけないかということですが、臨床応用のためにはいろんなことをやらなきゃいけないです。研究用の細胞をつくるというのは簡単だけど、臨床用のものをつくるというのは大変なことで、例えばフィーダー細胞、今までは非常に成功率を

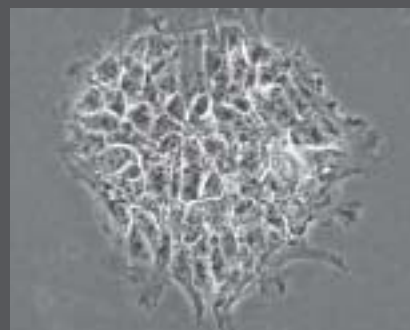
高くするためにこれまで経験を積んだマウスの細胞の上で培養しているんですが、それではだめ。少なくともヒトの細胞、あるいはフィーダー細胞なしで、やっぱりそういうややこしいものは使わないほうがいいということで、実際、世界的にはそういう研究が進んでいます。我々もその開発を全部自分たちでやるなんてことは不可能ですので、世界の状況に並んでやっていくということを考えています。

ES細胞の臨床応用に必要な樹立培養法の改良

- ・無血清培地から完全合成培地へ
 - ・すでに血清添加しない培地で樹立・増殖維持されている
 - ・動物蛋白質などを含まない完全合成培地の開発が進んでいる。動物成分なしの培地で樹立維持に成功したとの論文が複数発表されている
- ・フィーダー細胞
 - ・すでにヒト細胞を用いた樹立と増殖維持が成功している
 - ・フィーダー細胞を使わない培養維持方法の開発は進行中であるが、樹立維持に成功したとの論文が複数発表されている
- ・GMP基準に適合した施設での樹立・増殖維持と供給体制の構築
 - ・品質管理の基準やプロトコルなど品質保証システムの確立
 - ・動物成分不含、完全合成培地、微生物汚染検査、核型検定(染色体異常の検査)、多分化能の検定、発現遺伝子などのプロファイリング

それから、動物血清が入っていたらいけないし、血清は今使っていませんが、ウシの血清からとったアルブミンなどが入っている。そうすると BSE のウシじゃないかとか、いろいろありますので、動物性由来のものを含まないのがベストなんです。そういうふうなことの研究は世界的に進んでいますし、実際に細胞株によってちょっとずつ性質が違っているので、世界的な研究者、15 あるいは 20 の研究室が集まって比較検討するという共同研究が始まっています。インターナショナル・ステムセル・イニシアチブで、四、五年前から比較研究しているんですが、今はどういう時点かといいますと、これは私の研究室で撮影して、今までで一番きれいにヒト E S 細胞が見える写真で、多分、世界でも一番き

Human ES cell colony cultured without feeder cells
フィーダー細胞なしで培養されたヒトES細胞コロニー



At present, human ES cell lines can be maintained without feeder cells:
At least for a few months on the ECM molecules-coated substratum and in defined media now under development / improvement by several groups.

れいかもしれないですが、フィーダー細胞がないわけです。

ですから、一個一個の細胞がちゃんと見えるんです。これはヒトのES細胞です。フィーダー細胞なしでも、数カ月、合成培地で増やすことはできます。最初につくるところはできるかどうかわかりませんが。これまでに、ちょっと英語で申しわけないんですが、こういうのがあるというだけ見てください。これまでこれだけの種類のいわゆる合成培地というものが、含まれている成分が全部わかるようなものが開発、報告されてきているんです。

でも、自分の細胞株ではよかったけどほかではだめだとか、いろんなことがありますので、こういうものの中から比較検討しようという国際共同作業が来週、電話会議でゴーという、スタートしようという号令が出るんですけども。電話会議をするのに、最初は世界の15カ所のうち4カ所だけ、信頼されている4カ所で10種類ぐらい始めて、その後良いのを絞り込んでから、15カ所すべてで比較しようということで、最初の始める4カ所のうちの1つが我々です。

私たち以外では、南カリフォルニア大学とカロリンスカ研究所、スウェーデンです。それから、ヒトのES細胞をそもそも最初につくったウィスコンシン大学でやります。ですから、これで電話会議すると、日本は端っこですから、大体早朝か深夜、どっちかになるんです。それでもうしばらくすれば、大体いろんな細胞株で使えるような合成培地が見つかるかもしれません。見つからないかもしれません。

もう1つ、技術的にはうまくいっても、あと、ほんとうに微生物汚染等がないような、医薬品をつくるのと同じような厳密に品質保証されたものをつくらなきゃいけないくて、それを普通の実験室でやっでは無理なんです。そのために、再生医科学研究所では細胞プロセッシングセンターというものをつくって、この写真の彼はチーフですが、こういう非常にクリーンな部屋、手術室よりもずっとクリーンな部屋をつくって、そこで培養する。

ただし、ここに人間が入りますと、人間がいろんなものを持っていて最大の汚染源ですから、空気をいっぱい何回も変えなきゃいけないです。そうじゃなくて、例えばアイソレーター、人は中に入らないけど全部道具はそろっていて、グローブを突っ込んでやるというようなシステムとかを試しています。

ヒトES細胞株の創薬研究における重要性

創薬研究に必要な多種類ヒト組織細胞の大量供給

- ・均一な特性(ゲノム)をもつヒト細胞
- ・外来遺伝子ベクターを組み込んだヒト細胞
- ・内在遺伝子を改変したヒト細胞(疾患モデルヒト細胞)
- ・各種細胞内活性を検出するレポーター遺伝子導入ヒト細胞

ヒト細胞(肝細胞や心筋細胞)を使った安全性試験

それから、最後の部分ですが、もう1つ、私たち自身が研究をやっていることも少しお話ししたいと思います。ということで、新しい薬を安く安全に早くつくるために、ES細胞あるいは他の多能性幹細胞、iPS細胞なども同じように使えます。それは、治療に使われるよりもずっと早く実現するんです。

これはなぜかといいますと、例えば患者さん、人間に臨床試験をする前に動物実験をする。でも、動物と

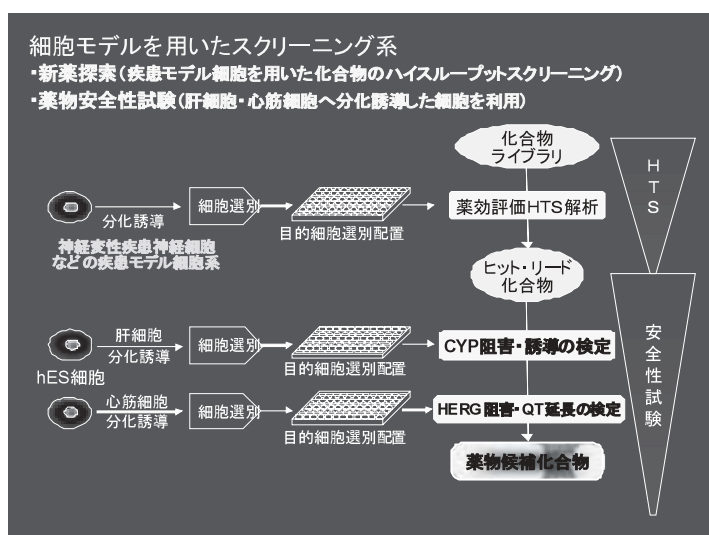
ヒトは違うし、動物実験も動物がかわいそうで減らそうとしているし。そうすると、人間の

いろんな細胞で効果があるか、安全かどうかを試したいんですね。そうすると、その人間の細胞ってどこからもらってくるかという問題が生じてきて、今のところはアメリカとかヨーロッパ、日本にはシステムがあまりなくて、アメリカでは亡くなった方のいろんな臓器の細胞を分けて、それを公的な団体が配っているというような、実際には日本の製薬企業がたくさんそれを購入しているわけですけど、そういうことを行っております。でも、亡くなった人は、いろいろ体質も違うし、死亡原因も違うわけです。

心筋細胞なんていうのは、ほんとうに心臓の細胞は増えないから何をやっているかといいますと、モルモットか何かの動物の心筋ではない普通の細胞に、イオンチャンネルというのが大事なんですけど、ヒトの心筋のイオンチャンネルの遺伝子だけは人間のものを入れた動物の普通の細胞でとりあえずテストして、最終的には多分ビーグル犬で不整脈が起きないかということをテストして、それで臨床試験に入る。

少ない数の患者さんに臨床試験をしてオーケーでも、最近もあつたんですが、薬を売り出してから、何万人の人たちが使い出してから心不全、不整脈を起こして回収されるという薬もたくさんあるんです。そうすると、人間の心筋細胞をたくさんつくってテストしておけば、そういうリスクを減らせるわけです。

幸い経済産業省の NEDO プロジェクトの支援を得て、三、四年前から製薬企業の方とかも加えながら始めたのは、人間の病気のモデルになるような細胞をつくって、それでいろんな化



合物を試して、新しい薬の候補を見つけようと。見つかったものに関しては、肝臓とか心筋の人間の細胞をつくっておいて、肝臓の毒性とか心筋の毒性がないかどうかを簡便に早く、コストが安くテストできるようなシステムをつくらうということです。

心筋は分化が割合容易にできます。この部分に心筋があつて、これは心筋だけが蛍光を出すような遺伝子を組み込んであります。ですから、こ

れで心筋だけを集めてくることができるんです。大量に均一な集団を集めてくることができます。そういう心筋を使って、例えば電気生理を簡単にやるようなシステムをつくりますと、これは QT 延長というのですが、ある不整脈を起こすことがわかっている化合物を与えますと、電気的活動が、心電図が乱れるわけです。

だから、こういう人間の心筋細胞をいっぱいつくっておいて、それを並べおいて新しい薬に入れてやると、心電図をとると簡単に、これはだめ、これは危ないとかということがわかって、そうすると薬の開発のコストが抑えられて将来の薬も安くなるし、それから何にも増して安全にできるわけです。こういうことが今までは不可能だったわけです。イヌでかわいそうだけど試させてもらうか、動物の細胞で試すしかなかったのを、これができるようになるわけです。

さらには、遺伝子を変えますと、不整脈を起こしやすい人の遺伝子を組み込んでおけば、ほんとうに1万人の1人、不整脈を起こしやすい人の心筋細胞でテストするのと同じことができる。

もう1つは、済みません、ちょっと専門的過ぎますが、アルツハイマー病は9割以上は家族関係がなくて起きるんですが、普通、いろんな難病の5%か10%以内はある家系で起こることがあって、それを調べると、治療法を見つけるために非常に医学的に重要な情報なんです、ある特定の遺伝子が突然変異を起こしているということがわかる。そういう例が少数あるんですが、突然変異を起こしたようなES細胞をつくって神経細胞をつくると、アルツハイマーの患者さんの脳の中で死んでいく、どうやって死ぬかはまだよくわかってないわけですけども、調子悪くなっていく神経細胞と同じようなものをつくることのできる。

それを使えば、実際、そういうプレセニリン1という遺伝子を変えたものですが、そうするとアミロイドβというふうなものの異常型が増えている。そうすると、ここから神経細胞をつくって、どうなるかという病気の仕組みの研究にも使えるし、こういう神経細胞を並べておいていろんな化合物を与えて、1万種類、10万種類、その調子悪くなるのが防げるような化合物を探す、新しい薬の候補を探すということもできるというふうなことを、これは大学だけではできないですから、産学連携で始めて、ここ3年ほどやってきて成果が出始めています。こういう方法が見つかれば、当然、iPS細胞を使って同じようなことができることになります。

そういうふうなことで、これが新しい薬の開発に使えるということで、数年後にはできるでしょうし、ヨーロッパは特に実験動物使用に反対する世論が強いですし、実験動物を使うよりはこういう細胞を使ったほうがずっといいということで、例えばイギリス政府はごく最近、製薬企業と国の合同プロジェクトを立ち上げました。そうすると、日本の経済産業省は先見的で、その四、五年前にもうそういうことを考えていたということになります。

これは共同研究者で、私自身がいる京都大学のチームでは、末盛博文准教授が実際の研究のリーダー役をしています。大学院、ポスドク研究員で、あと、これはNEDOプロジェクトを進めるためにつくったNPO法人の研究員です。それから、ベンチャー企業の研究者がNEDOプロジェクトには参加しています。

以上です。どうもご清聴ありがとうございました。(拍手)

ヒト多能性幹細胞をもちいた再生医療の将来展望

1. ヒトES/iPS細胞株を用いた安定増殖法や分化誘導法などの基礎研究
2. 動物疾患モデルを用いた細胞移植治療の前臨床研究
3. 動物成分不含有で完全合成培地による、臨床品質(GMP)ヒトES/iPS細胞株の作成
4. 免疫抑制剤を用いた臨床試験開始(急性期脊髄損傷やパーキンソン病から)
5. 拒絶反応の軽減と回避方法の確立
(HLAタイプ細胞株バンク、免疫系細胞並行移植や制御性T細胞による免疫寛容誘導、組織適合抗原の発現抑制、など)
6. 体細胞再プログラム化による多能性幹細胞株の安定性と臨床安全性の確立と保証
・すぐ確実に役立つのは、疾患と治療研究のためのモデル細胞としての利用
・特定のHLAタイプ(ホモ型など)個人からの臨床用細胞株樹立にも役立つ
8. 患者毎に多能性幹細胞株を樹立して、安定増殖性を確認し、分化誘導条件の再調整をおこない、得られた目的分化細胞の安全性を確認し、これら全てをGMP基準で実施することは、時間的および財政的に実現不可能になる可能性が大きい(富裕層向けの医療ビジネスとしては成り立つ可能性があるが、国民医療としては困難)
9. 必要な種類のHLAタイプを集めた多能性幹細胞株バンクの有用性と実現性が大きい