

iPS細胞研究の実用化に向けた取り組み

齊藤美佳子

生物はたった一つの細胞である卵から始まり、一定の形をもった個体へと発生、成長していく。ヒトでいえば、一つの受精卵から60兆個もの細胞を有するヒトの形ができあがる。この時間の経過とともにドラマチックに変化する個体発生現象は、ヒトに限らずあらゆる生物にとって基本の現象であり、その形づくりの過程は、マクロな形態の変化からミクロな遺伝子発現や調節まで、発生のプログラムにしたがって非常に規則正しく制御されている。しかし、近年のiPS細胞の樹立やクローンテクノロジーの研究から、一度分化した細胞を未分化状態に戻す(初期化、リプログラミング)ことができることが明らかになり、これをきっかけに再生医療への関心が高まってきた。

iPS細胞は、分化した細胞に山中因子と呼ばれる4つの因子(*Oct3/4*, *Sox2*, *c-Myc*, *Klf4*)を導入して作製された細胞である¹⁾。多くの期待を受け、多くの研究者によって日々研究が進められているが、実用化へ向けて解決しなければならない課題が多々あり、また、研究が進むにつれて新たな課題も出てきている。その一つが初期化メカニズムの解明である。これを明らかにすることは、iPS細胞の最適な作製方法の確立や作製効率への向上へつながるだけでなく、再生医療への実用化へつながっていくものである。

私たちの身体は、受精卵からさまざまな機能を持つ細胞に分化した細胞で構成されており、それぞれの細胞への分化は特定の転写因子によって決められている。転写因子はそれぞれが固有の働きを有し、それが他の転写因子と協調して働く。ES細胞の多分化能の維持やiPS細胞の初期化のしくみの鍵を握るのは*Oct3/4*だと考えられている。

*Oct3/4*はES細胞の未分化維持に重要な役割をもち、未分化状態のマーカー遺伝子として知られている。Niwaらはテトラサイクリンによって遺伝子発現を制御できるTet-onシステムを用い、テトラサイクリンの有無で、*Oct3/4*の発現量を相対的に上昇あるいは抑制することができるES細胞株を2種類作製した²⁾。通常、ES細胞では*Oct3/4*の発現量が一定に保たれており、分化促進とともに発現量の低下あるいは消失がおこる。この細胞を用いて*Oct3/4*の発現を150%以上にすると原始内胚葉に、50%以下にすると栄養外胚葉に分化することがわかった。これは遺伝子導入による分化促進を引き起こした初めての報告であり、厳密に保たれた未分化維持の分子メカニズムを壊すことにより分化が促進する

ことが示された。

Kimらは、ES細胞の未分化関連遺伝子発現ネットワークの上流に位置すると考えられている*Oct3/4*, *Sox2*, *Nanog*の他に未分化維持に関与する7つの遺伝子群を加えChIP-Chip法によりゲノムレベルでの因子の結合能、発現量変化の解析を行った³⁾。その結果、多くの遺伝子が複数の因子により制御されており、数種の因子により発現が抑制される場合と、多数の因子により発現が活性化される場合の2つに大別できることを明らかにした。また、Bergらは、*Oct3/4*と相互作用する166個のタンパク質からES細胞の自己複製能に関係する転写因子を選び、タンパク質が作用する下流の転写因子を複数同定した⁴⁾。また、*Oct3/4*の欠乏によりこれらの転写因子の発現が減少し、それにより自己複製能が減少することを明らかにした。

以上のように、*Oct3/4*を中心とした転写因子のネットワークが明らかにされつつある。一方で、iPS細胞を分化誘導し標的とする細胞を作製する方法も次々に報告されているばかりではなく、線維芽細胞から直接、未分化状態を経ずに目的とする細胞の作製報告もなされている。Hanらは、山中因子を線維芽細胞に導入時に、培地をiPS細胞用のものではなく、bFGF, Activinを添加することでエピプラスト幹細胞様細胞を直接作製することに成功している。また、作製した細胞の*Klf4*を過剰に発現させることでES細胞様の細胞になることを明らかにした⁵⁾。同様にKimらは、山中因子導入時にiPS細胞用の培地ではなく、神経細胞用の培地を用いることで、神経幹前駆細胞を直接作製することに成功している⁶⁾。彼らはiPS細胞への初期化の途中は非常に不安定であり、他の刺激を与えることで安定した分化細胞ができるのではないかと考えている。

上述したように、iPS細胞の実用化へ向けての課題は、初期化メカニズムの解明だけでなく、標準iPS細胞の作製と供給、疾患研究・創薬のための患者由来のiPS細胞の作製・評価、バンクの構築など、数々あるがいくつかそれらが解決されることを期待したい。

- 1) Takahashi, K. *et al.*: *Cell*, **126**, 663 (2006).
- 2) Niwa, H. *et al.*: *Nature Genet.*, **24**, 372 (2000).
- 3) Kim, J. *et al.*: *Cell*, **132**, 1049 (2008).
- 4) Berg, D. L. C. *et al.*: *Cell Stem Cell*, **6**, 369 (2010).
- 5) Han, D. W. *et al.*: *Nat. Cell Biol.*, **13**, 66 (2011).
- 6) Kim, J. *et al.*: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **108**, 7838 (2011).