

ICORP 器官再生プロジェクト事後評価報告書

【研究総括】 浅島 誠 (東京大学大学院総合文化研究科／特任教授)

Douglas Melton (Harvard University／教授 兼 Harvard Stem Cell Institute／所長 兼 Howard Hughes Medical Institute／研究員)

【評価委員】 (あいうえお順)

武田 伸一 (国立精神・神経センター神経研究所／部長)

長濱 嘉孝 (委員長：自然科学研究機構基礎生物学研究所／特任教授)

野田 政樹 (東京医科歯科大学難治疾患研究所／教授)

横田 崇 (金沢大学医薬保健研究域医学系／教授)

評価の概要

再生医療は、難治疾患や創傷等による機能不全に対し、組織移植や細胞移植を施すことで根治を目指す新しい医療技術の概念である。その早期実現に向けては、モデル動物の発生における器官や組織の分化メカニズムの解明が重要な鍵を握る。本プロジェクトはアクチビンの発見により器官再生の概念構築に大きく貢献した東京大学総合文化研究科の浅島誠教授を研究総括とし、ハーバード大学分子細胞生物学部の Douglas Melton 教授らと国際的な協調関係を構築することにより、器官再生の基礎的理解を進め、さらには再生医療の技術的基盤を築くことを目的として 2004 年 3 月に発足した。

本プロジェクトでは、これまでに浅島グループが蓄積してきた両生類未分化細胞を用いた生体外での組織・器官培養系に関する知見を基盤として、1) 両生類の未分化細胞から器官形成の過程に発現する遺伝子の網羅的解析による新規遺伝子の同定と機能解析、2) マウスおよびヒトの ES 細胞からの *in vitro* での組織・器官誘導系の確立、3) その誘導系における組織・器官誘導の分子メカニズムの解明、4) 分化細胞および多能性幹細胞の細胞内における様々な分子的条件の比較、などに関する研究を重点的に推進した。また、将来的な臨床応用を見据えた共同研究を臨床医学系の 3 研究室との間で実施した。この間、マウスの ES 細胞からほぼ完全な膵臓構造を形成させることに成功したのをはじめとして、臨床的実用化に資する多数の成果を生み出しており、研究の内容の豊富さと高い独創性が明確に示されている。加えて、未分化細胞を培養するための完全無血清培地を開発したことは本プロジェクトの研究において極めて重要な意味を有し、ES 細胞の分化メカニズムを探る上で有益な技術基盤となることを、研究成果をもって実証した。これらの研究業績は多数の論文として一流国際学術誌に発表されるとともに、知的財産の保護の下に的確に管理されていることは高く評価される。再生医療への社会の注目が集まる中で、世界的な成果を生み出し続けたことは特筆すべきであり、これらプロジェクトが残した成果によって、今後の器官再生研究はさらに大きく発展するものとの期待が高まっている。

以上、本プロジェクトでは器官再生の基礎研究から臨床までをも視野に入れた応用

研究において世界をリードする幅広い研究成果を創出したものであり、戦略目標「個人の遺伝情報に基づく副作用のないテーラーメイド医療実現のためのゲノム情報活用基盤技術の確立」に資する十分な成果を上げたと高く評価されるものである。

1. 研究プロジェクトの設定および運営

1-1. プロジェクトの全体構想

再生医療は、難治疾患や創傷等による機能不全に対し、組織移植や細胞移植を施すことで根治を目指す新しい医療技術である。そしてその早期実現に向けては、モデル動物の発生における器官や組織の分化メカニズムの解明が重要な鍵を握る。2007年に山中伸弥教授ら（京都大学）により発表されたヒト iPS 細胞の創出を契機に、この分野の研究が大きな注目を受けているが、その器官再生の概念の構築に大きく貢献したのが、研究総括である浅島教授である。

本プロジェクトは、浅島教授がこれまでに蓄積してきた両生類の未分化細胞を用いた生体外での組織・器官誘導系をふまえ、その利点を生かして将来的な臨床への応用を想定した組織・器官誘導系を新しく開発することを目指して 2004 年 3 月に発足した。大きな目標として、マウスおよびヒトの ES 細胞または組織幹細胞を *in vitro* の条件下で様々な臓器に形成させる誘導条件を確立することが挙げられる。さらに、その誘導系における組織・器官誘導の分子的仕組みを明らかにする他、分化した細胞を未分化状態へと人為的に脱分化させることを目指し、分化細胞と未分化細胞の細胞内における様々な分子的条件を比較し、分化状態を導く因子やシステムを明らかにすることも目標とした。

本プロジェクトは、戦略目標「個人の遺伝情報に基づく副作用のないテーラーメイド医療実現のためのゲノム情報活用基盤技術の確立」に資する、ICORP に相応しい世界の潮流を生み出すプロジェクトであったと言える。

1-2. プロジェクトの枠組みや研究体制、および研究活動の状況

ICORP 器官再生プロジェクトは、器官再生研究における大規模な国際共同研究プロジェクトであり、浅島教授を日本側研究総括とし、相手国側総括としてハーバード大学の Melton 教授として、構成された。浅島総括の得意とするアニマルキャップからの組織・器官形成の誘導研究と Melton 教授らの得意とする ES 細胞の分化研究を相互補完的に組み合わせたスキームを構築し、科学技術の潮流の創出を目指したものである。

研究実施場所は、主として浅島総括の本務先である東京大学駒場キャンパスであるが（以下、東大チームと略す）、国際医療センター、松本歯科大学、山口大学医学部といった医療研究機関にもブランチを設け（総合して、ヒト再生医療研究グループ）、将来的な臨床応用を見据えた協調関係を構築している。相手国機関（Melton チーム）との交流もまた、協調関係のもとに成り立っている。シンポジウムなどを活用した意見交換や、発足間もない頃からの研究員の派遣や共同での研究実施が、ICORP の枠組みの中で取り組まれている。本プロジェクトで研究総括は、我が国の主要な研究領域の若手研究者を結集し、発生学、内胚葉、中胚葉形成の科学を、またそれを応用し、臨床的には皮膚、硬組織、眼球の領域に重点を置いた多角的な研究体制を構築して、毎年2回の合宿を通し、強いリーダーシップを発揮した。

1-3. 相手国機関との研究交流実施状況

本プロジェクトで実施された Melton グループとの研究交流は、人的資源を含む共同研究、実験材料などリソースの交換、実験手技の提供、あるいは共同シンポジウムの開催など多岐にわたった。具体的には、東大グループの長船健二研究員がハーバード大学に派遣され、米国からの研究費のサポートのもとに共同研究を行った。この間、3年間という短期間にもかかわらず、Nature 姉妹誌への発表をはじめとする優れた研究成果が多く挙げられたことは国際交流の実績としてきわめて高く評価される。また、2009年1月に開催された CREST iPS 細胞研究領域との合同国際シンポジウムは再生医療研究分野のみならず広く生命科学全般に大きなインパクトを与えた。再生に関する研究は、一般には iPS 細胞の樹立によって一挙に進歩した印象を与えているが、iPS 細胞の樹立以前に行われた浅島教授による両生類の器官形成に関する研究及び Melton 教授によって行なわれたヒト ES 細胞の研究がその背景を成していることは疑いがなく、この2つの先端的研究グループに CREST iPS 細胞研究領域の研究員を加えて開催された合同シンポジウムはまさに圧巻であった。参加者数も1000名を超え、内容の上でも世界トップレベルの研究集会として位置付けられるものであり、本プロジェクトの研究成果の社会的ならびに国際的な発信の上で大きな役割を果たした。

以上のように、本プロジェクトはハーバード大学の Melton チームと有効な協同関係を構築し、再生医療研究分野全体に大きなインパクトを創出し続けたプロジェクトであり、この協力体制が極めて有効に機能したことには疑いはないであろう。

〔研究プロジェクトの設定および運営〕 a+ (特に優れて的確かつ効果的であった)

〔研究活動の状況〕 a+ (特筆して望ましい研究活動・展開を示した)

2. 研究成果の現状

2-1. 両生類未分化細胞を用いた器官形成に関する研究

両生類未分化細胞のアニマルキャップを用いた研究は、浅島グループがこれまで多数の研究の成果を挙げた領域であり、本プロジェクトの高い独創性と優位性を発揮する研究領域と言える。

ツメガエル実験系を駆使した器官形成に関わる新規因子の探索と機能解析について以下のような多くの独創的成果が得られた。1) 心臓形成に関わる新規因子 XHAPLN3 を同定するとともに、この遺伝子機能を解析することにより心臓形成におけるヒアルロン酸マトリクスの重要性を示した。2) 神経形成に関わる新規因子 Dullard が神経分化においてユビキチン経路を介して BMP2 型受容体を分解することによって BMP シグナルを抑制する働きを持つことを見出した。3) 体節の分節位置決定に関わる新規遺伝子として Bowline/Ripply ファミリーを単離、同定し、体節形成に果す機能を明らかにした。これらの新規因子の他にも、腭臓特異的な遺伝子の研究においても原条における発現を指標として新規の因子が得られた他、血管系における新たなマーカー遺伝子 Ami なども単離された。

これらの新知見は、これまでに蓄積されたアニマルキャップに基づく器官形成のメカニズムに言及する発展的な研究成果であり、意義はきわめて大きい。従って、本 ICORP の研究目標に対する達成度は申し分ないと判断される。

2-2. マウス幹細胞を用いた器官形成に関する研究

本研究プロジェクトの最大な特徴は、浅島グループがこれまで両生類を対象として蓄積してきた器官形成に関する豊富な知見を最大限に活用して、哺乳類の ES 細胞を用いての器官形成の研究を推進することである。そのために、同じプロジェクト内の両生類研究グループ（内・中胚葉性器官再生グループ）と常に効率的な情報交換や技術の互換活用を促進することにより、この 5 年間で多くの独創的研究成果が創出された。

レチノイン酸を添加した無血清培地を用いてマウス ES 細胞から心筋を高率に誘導する系を開発した。さらに、レチノイン酸シグナル伝達系の RXR のみを特異的に活性化することによって心筋細胞への分化効率を上昇させることにも成功した。また、心筋分化には BMP が関与することも見出した。BMP は 10 ng/ml の比較的低濃度で有効であり、他の実験系においてこの分子が 50 ng/ml 以上の高濃度を要求することと対照的である。血清非存在下での BMP の新たな機能をマウスの細胞分化との関わりで見出したものである点も興味深い。心筋細胞への分化を無血清条件下でしかもこれまでよりも高率に誘導することができたことは、より厳密にコントロールされた、再現性の高い環境下での器官再生研究の実現に向けて弾みになるものと期待され、今後の研究進展が大いに期待される。

マウス ES 細胞から膵臓組織の誘導系を開発したことは本プロジェクトの最も特徴的な応用の典型例である。アクチビンとレチノイン酸を用いることにより、腸管様構造と膵臓様組織とを同時に形成させるとともに、それら 2 種の調節因子の濃度を変えることによって膵臓の内分泌細胞（インスリン分泌細胞）と外分泌細胞の誘導効率を別々に制御できることを初めて示したことは、膵臓形成のメカニズムを理解する上でも非常に重要であり、今後のさらなる展開が期待される。また、完全無血清条件下でも Wnt-3 を添加することにより、マウスおよびヒトの ES 細胞から予定膵臓領域を含む中内胚葉へ分化する原条の細胞を誘導することに成功したことは、今後、膵臓のインスリン分泌細胞を無血清单層培養条件下で誘導する方法の開発に大いに有益であると考えられ、臨床応用に向けての期待が大きく膨らむ。

幹細胞の再生医療への応用には幹細胞自身についての全体的理解が不可欠である。本プロジェクトでは、マウスの ES 細胞において未分化状態特異的に発現している因子をプロテオーム解析により網羅的に探索した。その結果、新たな ES 未分化性関連因子が発見され、この分子がクロマチン制御因子であることが明らかになった。幹細胞の特性をこのようなアプローチから解明しようとする試みは本研究が最初であり、今後に望まれる再現性の高い、安全な器官再生技術の確立に大きく貢献できると期待される。一方で、マウスの実験系においては Feeder フリーの条件に基づく検討が成功しており、この点も血清を要しない安全性の高い組織構築の基盤に繋がるものである。また、神経細胞の誘導や軸索延長についての研究も、失われた機能を再生する本領域の研究方向に合致するものである。

総合的にマウス ES 細胞を用いた器官形成の研究は高い達成度を示しており、また新しい分子機能を遺伝子ならびに蛋白質のレベルでも意欲的に見出しつつあり、研究の展開レベルは極めて高いと判定される。またマウスの研究は膵臓の研究を始めとし、ヒトの ES 細胞にも結び付けられており、この意味で科学技術的な側面のみならず、難治性疾患の治療に導かれる意義としての社会的な重要性を持つものと判定される。

2-3. ヒト再生医療研究グループによる研究

ヒト再生医療研究グループでは歯槽骨、角膜、皮膚の医療応用を視野に入れ、これらの再生を試みた。

口腔組織再生に関わる研究は、本プロジェクトと松本歯科大学との共同研究により行なわれた。歯槽骨の形成過程における α -smooth muscle actin の局在研究ならびに歯根膜組織の歯槽骨再生能においてそれぞれ成果が挙げられ、また歯周組織の再生や ES 細胞を用いた人工歯胚さらにはコラーゲンを用いることによるテラトーマの発生の抑制などの成果が挙げられた。

山口大学と共同で行なわれた角膜の再生の研究においても、人工角膜を再生し、細胞のマトリックスと細胞との相互作用や角膜細胞と酸素環境の検討、さらには角膜上皮欠損に対する治療効果の検討を含めたヒトの研究が進展している。

さらに、国立国際医療センターと共同で行なわれた研究では、皮膚の組織についても新たな毛包の培養による分化の誘導系が開発され、脂訪組織からの血管内皮の誘導や肝臓細胞への誘導の研究に成果が挙げられている。皮膚組織における CD133 の新たなマーカーとしての意義が明らかとなり、マウスの毛乳頭細胞 SPHERE による毛包誘導の研究も大きく進展した。皮下脂肪由来細胞の間葉系幹細胞についての研究では、脂肪由来細胞からも血管系の細胞の分化において成果が見られた。

以上の成果はヒトにおける再生医療を目指した本研究チームのゴールに近づくための、着実かつ大きな進展の見られた研究と判断される。

2-4. ヒト ES 細胞を用いた再生医療に関する研究

国際共同研究の一環として、ハーバード大学側に長船健二研究員を派遣し、緊密な協力関係の下に研究を推進した。同研究員により、ヒト ES 細胞の性状についての画期的な研究成果が挙げられている。米国の研究室のリソースを十分に活かした十数種以上のヒト ES 細胞の機能・性質の違いが明らかとなり、本研究成果は今後のヒト再生医療における重要な知見と位置付けられている (Nature Biotechnology 2008)。また、ヒト線維芽細胞からの幹細胞の誘導も特筆に値する研究である。特に、低分子化合物 Ascivicin を用いた研究は遺伝子導入を主体とする近年の研究の弱点を克服する方向を示したものであり、その意義は大きい。また同じくヒストン脱アセチル化酵素阻害のライブラリーのスクリーニングによるバルプロ酸の発見など、今後のヒト ES 細胞の研究に向けた大きな進展が見られる。これらの研究成果は科学的な意義は大きく、また、その社会的、経済的側面においても創薬の方向性を示した点で大きな意義を有するものと判定される。

iPS 細胞作成法については、Sox2 遺伝子を低分子化合物で置き換える手法が Eggen らにより開発された。C-myc や Klf4 を置き換えることの出来る低分子化合物とあわせ、今後、4 遺伝子を低分子化合物で置き換え、低分子化合物だけで初期化を起こす手法の開発が期待される。これと関連し、ヒストンのメチル化酵素、脱メチル化酵素、アセチル化酵素、脱アセチル化酵素などを用いた初期化の分子機構に迫る研究の重要性が高まりを見せており、今後の発展が期待される。

〔研究成果 (科学的側面)〕 a+ (成果として秀逸である)

〔研究成果 (産業・社会的側面)〕 a+ (成果として秀逸である)

3. 総合所見

本プロジェクトは浅島総括の強力なリーダーシップの下に、主として浅島総括の本務先である東京大学駒場キャンパスのチームに加え、国際医療センター、松本歯科大学、山口大学医学部といった医療研究機関にもブランチを設け、将来的な臨床応用を見据えた協調関係を構築した。本プロジェクトの成果は基礎研究的意義を有するものから臨床医学的意義を有するものまで広範にわたり、ここで構築された研究グループ間の連携体制が極めて効果的に働いた結果であると高く評価される。

特筆すべき研究成果としては、1) マウスES細胞を用い、膵臓、腸管、心筋、繊毛細胞などの誘導系を確立したこと、2) マウスES細胞を培養するための完全無血清培地を開発したこと、3) マウスES細胞において未分化状態特異的に発現する蛋白質を多数同定したこと、4) ツメガエルの未分化細胞を用いて器官形成に必須な新規遺伝子を多数クローニングしたこと、などがあげられる。なかでも、マウスおよびヒトのES細胞から、膵臓および予定膵臓領域の細胞を誘導する実験系の開発に世界に先駆け成功したことは、本ICORP日米共同研究の輝かしい成果であると言える。これらの研究成果をもとに5年間で発表された論文数は90件を超え、特許出願数も19件にのぼり、科学技術的な意義はきわめて大きいと判断される。

さらに本研究の波及効果は1000名を超える参加者を数えた2009年1月24日のシンポジウムに象徴される如く、日本の本領域の研究者に対しても大きな影響を与えたものであった。さらにハーバード大学からの多数の主要研究者が参加し、直接に最先端のデータを交換する本プロジェクトとの研究会議は、両国のトップ研究者が対等の立場で互いの研究を高めあうだけの科学的な成果を共有したことに立脚するものであり、この点も大いに評価される。

上記のように、本プロジェクトの研究成果は日本が世界に誇ることでできるレベルに到達した。プロジェクトとしての学術的成果に加え、研究の過程で開発された技術も今後の幹細胞の分化研究において重要な意義を有するものであることは言うまでも無く、戦略目標「個人の遺伝情報に基づく副作用のないテーラーメイド医療実現のためのゲノム情報活用基盤技術の確立」に資するに十分な成果であると高く評価すべきものである。

〔総合評価〕 A+ (戦略目標に資する十分な成果が得られた)

以上