

**JST戦略的創造研究推進事業 (CREST)
「人工多能性幹細胞 (iPS細胞) 作製・制御等の医療
基盤技術」研究領域**

JSTレクチャー会資料

研究総括 須田 年生

慶應義塾大学 医学部 教授

**平成21年12月4日
研究開発戦略センター会議室**

iPS研究のKey Words

全能性細胞

リプログラミング

細胞培養

標準化 < 最適化

疾患の病態解析

再生医療・細胞移植

細胞バンク

CRESTの概要

(1) 事業趣旨:

社会・経済の変革につながるイノベーションを誘起するシステムの一環として、戦略的重点化した分野における目的基礎研究を推進し、今後の科学技術の発展や新産業の創出につながる、革新的な新技術の創出を目指す。

(2) 研究領域・研究総括:

戦略目標の達成に向けて、JSTが研究総括を中心としたバーチャルインスティテュートとして研究領域を設定(現行31領域)。

「人工多能性幹細胞(iPS細胞)作製・制御等の医療基盤技術」研究領域もその一つ。

山中教授の成果が生まれたのは、以前の「免疫難病・感染症等の先進医療技術」研究領域。

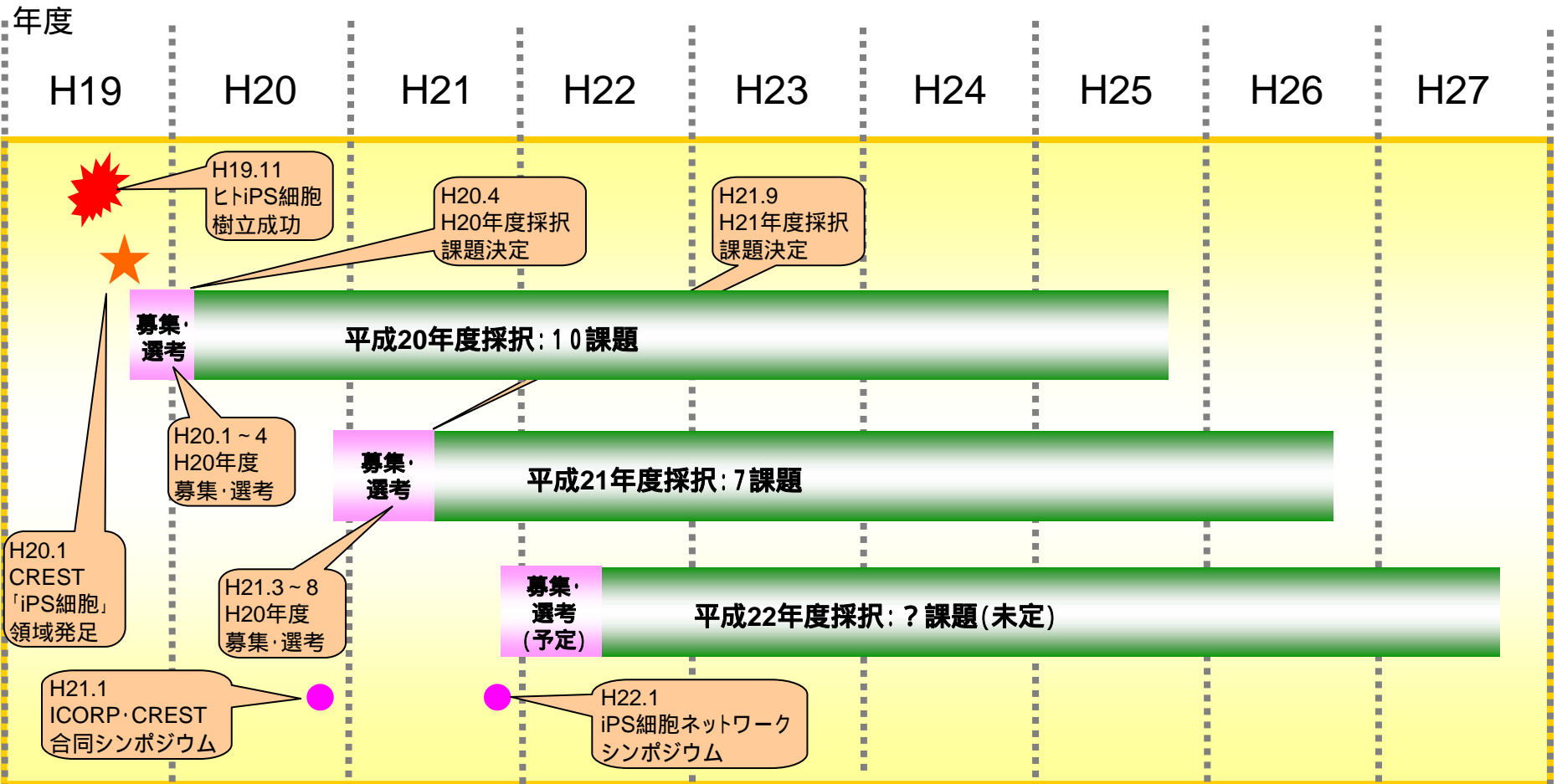
(3) 研究代表者:

研究領域のもとに公募・採択された研究代表者は、自らの研究構想の実現のために産・学・官から研究チーム(数名~20名程度)を編成。

(4) 研究期間: ~5年(研究終了時期は、研究実施の最終年の年度末とすることが可。)

(5) 研究費: 1チーム当り 総額1.5~5億円程度(3~10千万円程度/年)

CREST「iPS細胞」研究領域のスケジュール概要



CREST「人工多能性幹細胞 (iPS細胞) 作製・制御等の医療基盤技術」研究領域

研究領域の概要

本研究領域は、近年著しい進歩の見られる、iPS細胞を基軸とした細胞リプログラミング技術の開発に基づき、当該技術の高度化・簡便化を始めとして、モデル細胞の構築による疾患発症機構の解明、新規治療戦略、疾患の早期発見などの革新的医療に資する基盤技術の構築を目指す研究を対象とするものです。

具体的には、ゲノミクス・染色体構造・エピジェネティクス解析を通じたリプログラムおよび細胞分化機構の研究、遺伝子導入の制御などの研究、リプログラムを誘導する化合物のハイスループットスクリーニングを行う研究、先天性疾患の患者細胞から作製された多能性幹細胞を用い疾患発症機構の解明を目指す研究などが含まれます。さらには、こうした幹細胞研究と病態研究等の統合による、これまでにない新規治療法や予防医療の開発に繋がる研究も対象とします。



研究総括
須田 年生 教授
(慶應義塾大学)

研究総括の募集・選考・研究領域運営にあたっての方針(平成21年度)

平成19年11月にヒトiPS細胞の樹立成功の発表がされて以来、本技術に関する研究の進展は目覚ましく、今なお新たな発見が国内外にて生み出されており、これに携わる研究者のみならず一般の人さえ研究進展のスピードを感じ続けている状況です。しかし、当のフロントランナーである山中教授も、iPS細胞は「わからないことが多い」と述べるように、この研究成果を実際の臨床研究や実用化につなげるためには、解明すべき事象や解決すべき課題がまだ山積している状況です。一方、この細胞リプログラミング技術に関する研究の新たな可能性については、大きな広がりを見せています。引き続き、iPS研究開発の裾野及び出口の拡大を図る取り組みを行いながら、細胞リプログラミングの機構解明とそれを応用した新たな医療基盤の創出を、骨太に目指すことが必要と考えています。

本研究領域は、平成20年度から課題公募を実施していますが、昨年度は多くの研究者にとって、実際にiPS細胞に関する研究を行った経験が少ない状況でした。しかし、その後、iPS細胞を手ずから対象とした研究に着手し、細胞リプログラミングに関する基礎的あるいは応用的研究を構築している研究者が多々いるかと考えられます。また、生物学・医学分野に留まらず、従来は幹細胞研究などとの関連が薄かった分野の研究者の中にも、この細胞リプログラミング研究に触発され、今までにない展開を目指そうとする動きがあります。従来のiPS/ES細胞あるいは組織幹細胞研究の後追いでなく、新しいパラダイムを切り拓くような本格的かつ挑戦的な研究課題を提案していただけるよう期待しています。海外の研究者による研究成果が目を引くことが多くなっている昨今ですが、是非、わが国の研究者も、自らの研究基盤の上に、細胞リプログラミングの新たな概念を取り込み、研究を展開していただきたいと思えます。

新たに採択された研究課題に関しては、引き続き1年に1,2回ほど研究成果を発表するミーティングを開催し、相互の情報交換を行います。また、細胞をはじめとする研究材料の交換も促進し、研究を加速する予定です。

CREST「人工多能性幹細胞(iPS細胞)作製・制御等の医療基盤技術」研究領域
平成20年度採択課題

研究代表者	所属機関		役職	研究課題名
石井 俊輔	(独)理化学研究所	基幹研究所	主任研究員	胚細胞ヒストンによるリプログラミング機構
岩間 厚志	千葉大学	大学院医学研究院	教授	造血幹細胞のエピジェネティクスとその制御法の創出
奥田 晶彦	埼玉医科大学	ゲノム医学研究センター	教授	iPS細胞誘導の為の分子基盤の解明による安全性の確保
押村 光雄	鳥取大学	大学院医学系研究科	教授	ヒト人工染色体を用いたiPS細胞の作製と遺伝子・再生医療
古関 明彦	(独)理化学研究所	免疫・アレルギー科学総合研究センター	グループディレクター	ヒトiPS細胞の分化能と腫瘍化傾向を反映するマーカー遺伝子群の探索
佐谷 秀行	慶應義塾大学	医学部	教授	人工癌幹細胞を用いた分化制御異常解析と癌創薬研究
篠原 隆司	京都大学	大学院医学研究科	教授	精子幹細胞のリプログラミング機構の解明と医学応用の可能性の検討
千住 覚	熊本大学	大学院医学薬学研究部	准教授	iPS細胞由来の樹状細胞とマクロファージを用いた医療技術の開発
丹羽 仁史	(独)理化学研究所	発生・再生科学総合研究センター	チームリーダー	分化細胞に多能性を誘導する転写因子ネットワークの構造解析
米田 悦啓	大阪大学	大学院生命機能研究科	教授	人工染色体を用いた新たな細胞リプログラミング技術開発

CREST「人工多能性幹細胞(iPS細胞)作製・制御等の医療基盤技術」研究領域
平成21年度採択課題

研究代表者	所属機関		役職	研究課題名
井上 治久	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	准教授	iPS細胞を駆使した神経変性疾患病因機構の解明と個別化予防医療開発
江良 択実	熊本大学	発生医学研究所	教授	iPS細胞を用いた組織幹細胞誘導の確立と分子基盤の解明
斎藤 通紀	京都大学	大学院医学研究科	教授	生殖系列におけるゲノムリプログラミング機構の統合的解明とその応用
高倉 伸幸	大阪大学	微生物病研究所	教授	生理的細胞リプログラミング機構の解明とその応用
高橋 淑子	奈良先端科学技術大学院大学	バイオサイエンス研究科	教授	神経堤細胞をモデルとした生体内での細胞リプログラミング法の開発
妻木 範行	大阪大学	大学院医学系研究科	独立准教授	組織幹細胞 / 前駆細胞を誘導するディレクテッドリプログラミング技術の開発
西田 栄介	京都大学	大学院生命科学研究科	教授	細胞リプログラミングと分化における転写調節機構

iPS細胞の成立機構の解明は、基礎研究として 重要なだけでなく、iPSの効率的作成に有効

John Gurdon and Alson Murdoch

Nuclear transfer and iPS may work best together.

Cell Stem Cell, 2008

線維芽細胞からのiPS細胞 0.5%以下

なぜこんなに低いのか？

なぜ多くの分裂を必要とするのか？

特定の細胞周期のポイントがあるのか？

導入因子に反応する細胞が少ないのか？

至適な分子濃度の組み合わせがあるのか？

(2008.3.19

第4回 CSTP 資料から)

iPSはEpigeneticsの巻き戻し

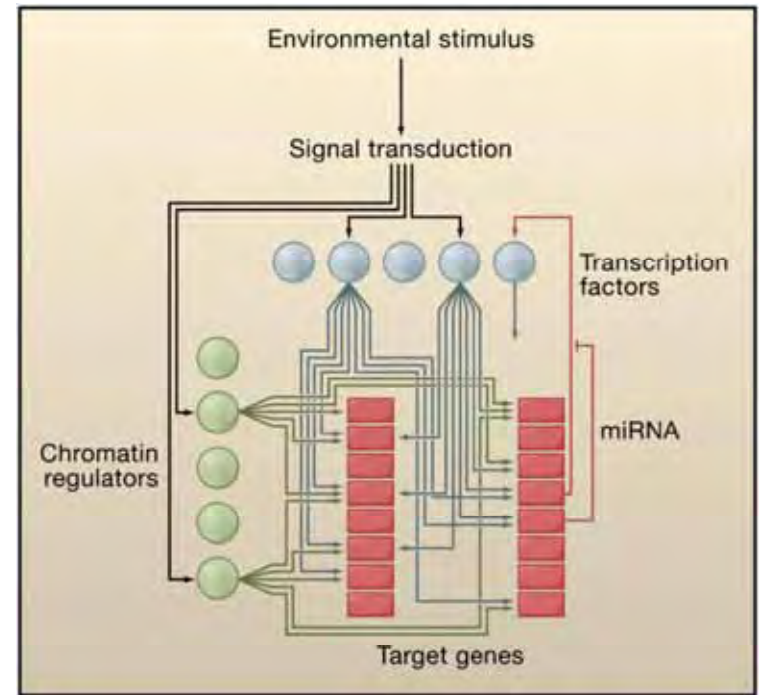
Epigenetics: DNA 配列によらない遺伝子機能の変化

クロマチン構造

DNAメチル化

microRNA

Epigenetics are slaves
not masters in pluripotency.



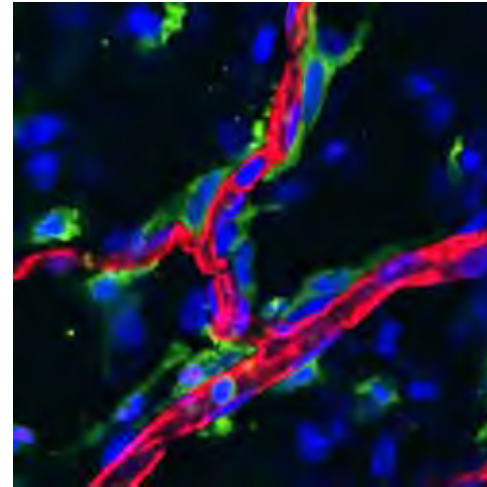
(Jaenisch R and Young R, Cell 2008)

iPS 細胞治療という偏りは、研究を狭くする。

細胞治療

A. 幹細胞移植による置換：
Donor細胞による再生
Ex) 骨髄・臍帯血移植

B. 幹細胞からの栄養因子 (Drug-like)：
残存自己幹細胞による回復
Ex) 骨髄細胞移植による血管新生



緑の骨髄細胞を
移植しても、
血管内皮細胞(赤)
には分化していない

実は、Aタイプの細胞治療が可能な疾患は多くない。
最も実現性の高い疾患に標的を絞る (Ex. Stem Cells 社: Batten病を標的)

分化誘導した細胞による治療

安全面・コストの面からハードルは高いと考えられる。
異種の動物由来の細胞、タンパクは使えない(化学組成の分かった培地が必要)
既存の治療との厳しい競争になる。

臨床への道筋が見えない「臨床研究」は、単なるモデル実験になる。

どこまで安全性を確認するか？

必要性と安全性の均衡

医事法と薬事法の違い

動物モデルの確立

マウスでいいのか？ ヒト化マウス、マーモセット…

アメリカに習うのではなく、日本で考えないかぎり、優位性は保てない。

効率的な研究計画が必要

たとえば、研究の順序

現時点では、移植まで想定してiPS Bankをつくるのは時期尚早？

GMP 基準の研究は、今、必要か？

iPS細胞のVersion Up

移植など臨床応用へのロードマップを示す重要性

Cell line研究の罣とその対策

危険性:

細胞株ごとの違いが研究を混乱させる恐れ
個々の“Cell Line Work”による研究レベルの低下

対策:

各iPSの品質管理 reference iPS細胞の必要性

各疾患ごとの細胞株の標準化

cf. International Stem Cell Forum (ISCF)

2003年より13カ国が参加してヒトESの管理
(Registries & Bank)を行ってきた。

染色体、安定性、分化能などを解析・比較
(UK Stem Cell Bank Registryなど)

リソースセンターなどでの一括管理

国際的な“iPS Bank Registry”を立ち上げてはどうか？

iPS・幹細胞研究に対する社会の理解の重要性

研究の多様性を確保
研究者間の相互批判・議論

戦略会議/WGの機能
研究の方向性・分担・融合を考える組織
国際組織 (ISSCRなど) での役割

メディアの役割:
分かりやすさと正確さ
情報の先取性とその検証

回避すべきは、
臨床応用への拙速
必要性や安易なイメージに引きずられる研究

日本の科学総合力の高さから知財を形成する
(融合することの重要性)

ゲノム
基礎生物学
がん研究
ナノ科学

最初に、iPS研究の枠組みを決める。

- 1) 先ず、iPS研究において、日本は、どうありたいのか？
- 2) 何を研究すべきかを考え、フレームワークを構築する。
- 2) 次に、研究分担者・拠点を考えていく。
- 3) 必要があれば、国の内外から優秀な人材を確保する。

iPS成立機構の解明、樹立方法の改善

多分化能の解析

細胞分化誘導、ことに組織幹細胞の分化誘導

疾患iPSの作成 (遺伝性疾患、染色体異常など)

Epigenetics解析

発生生物学との相互作用

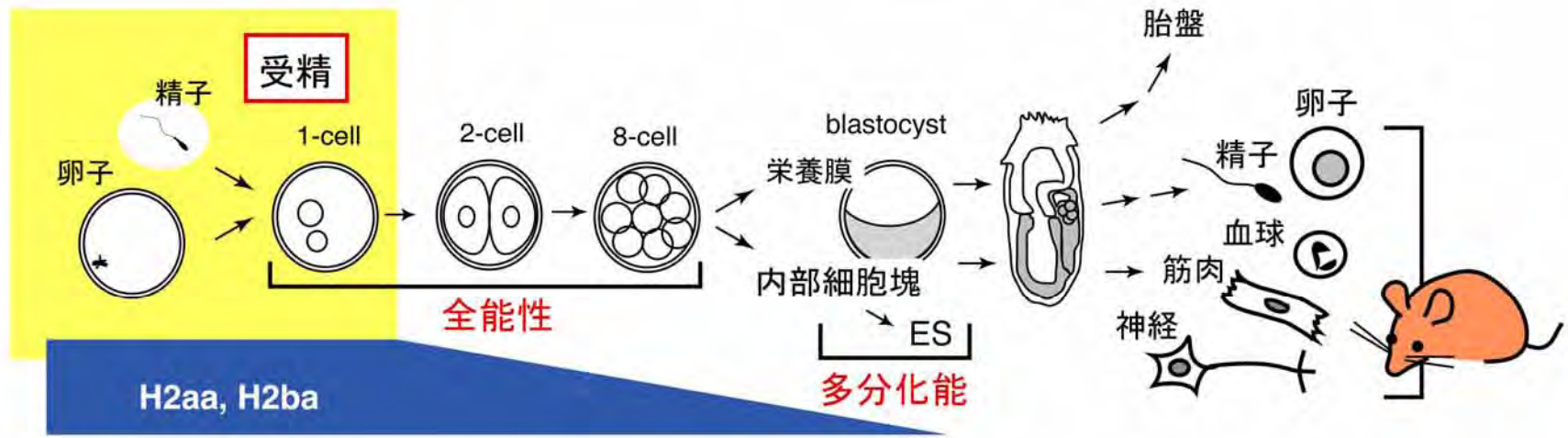
がん研究への応用

創薬・副作用スクリーニング研究

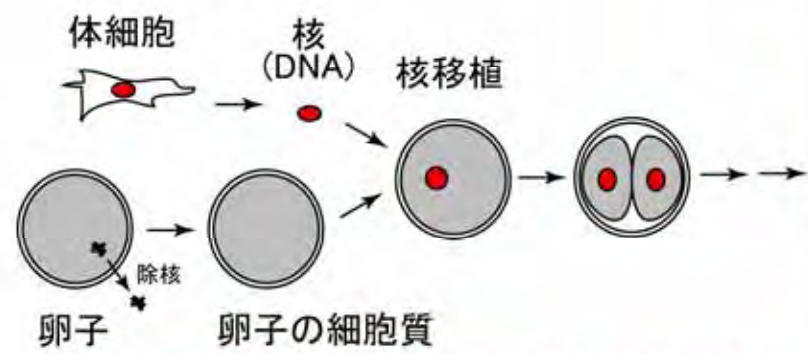
細胞治療

技術の共有・権利化・戦略的活用

胚細胞ヒストンと全能性との関連



核移植による
個体の誕生

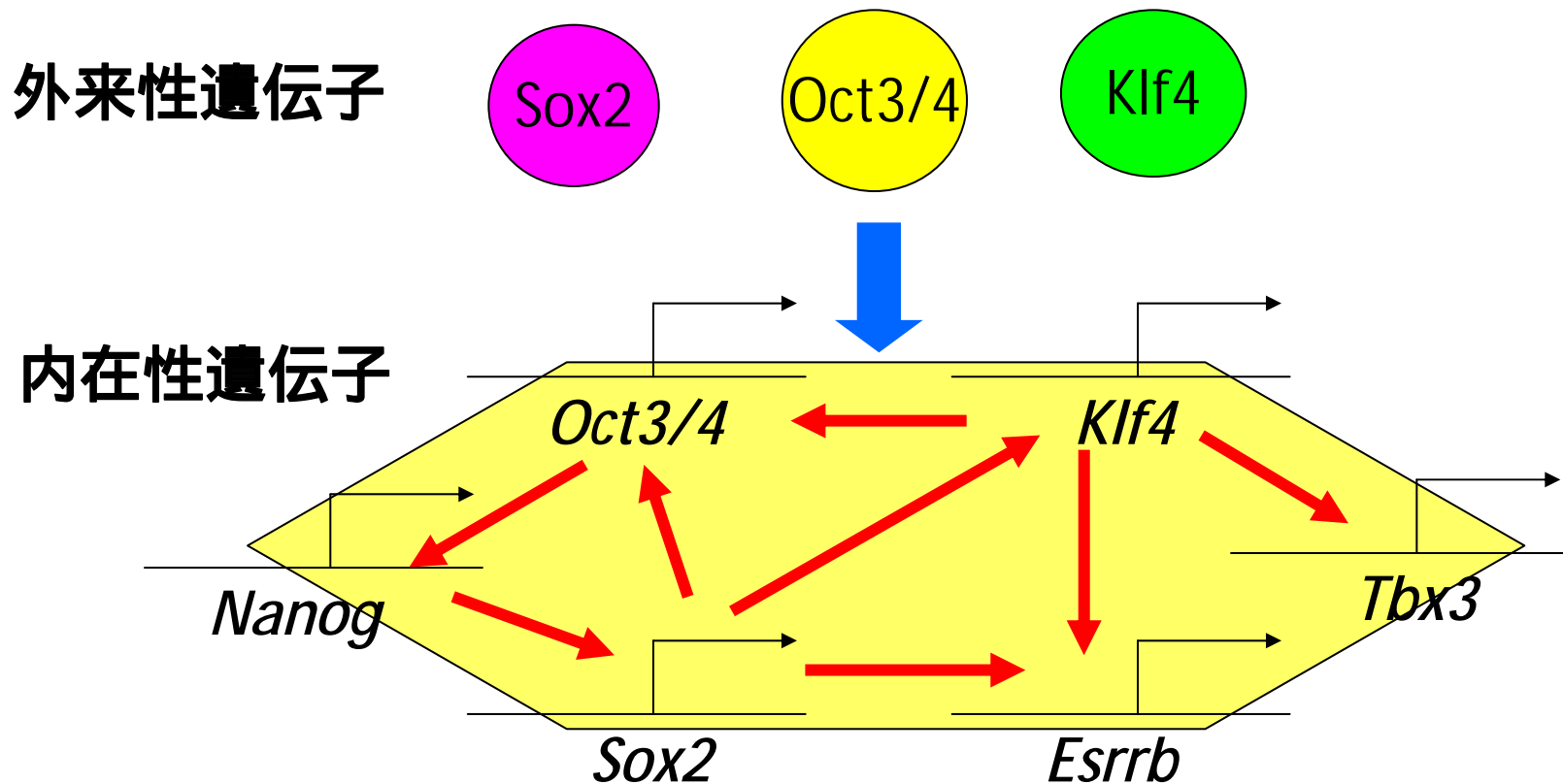


分化の可逆性: 卵子の細胞質中の制御因子

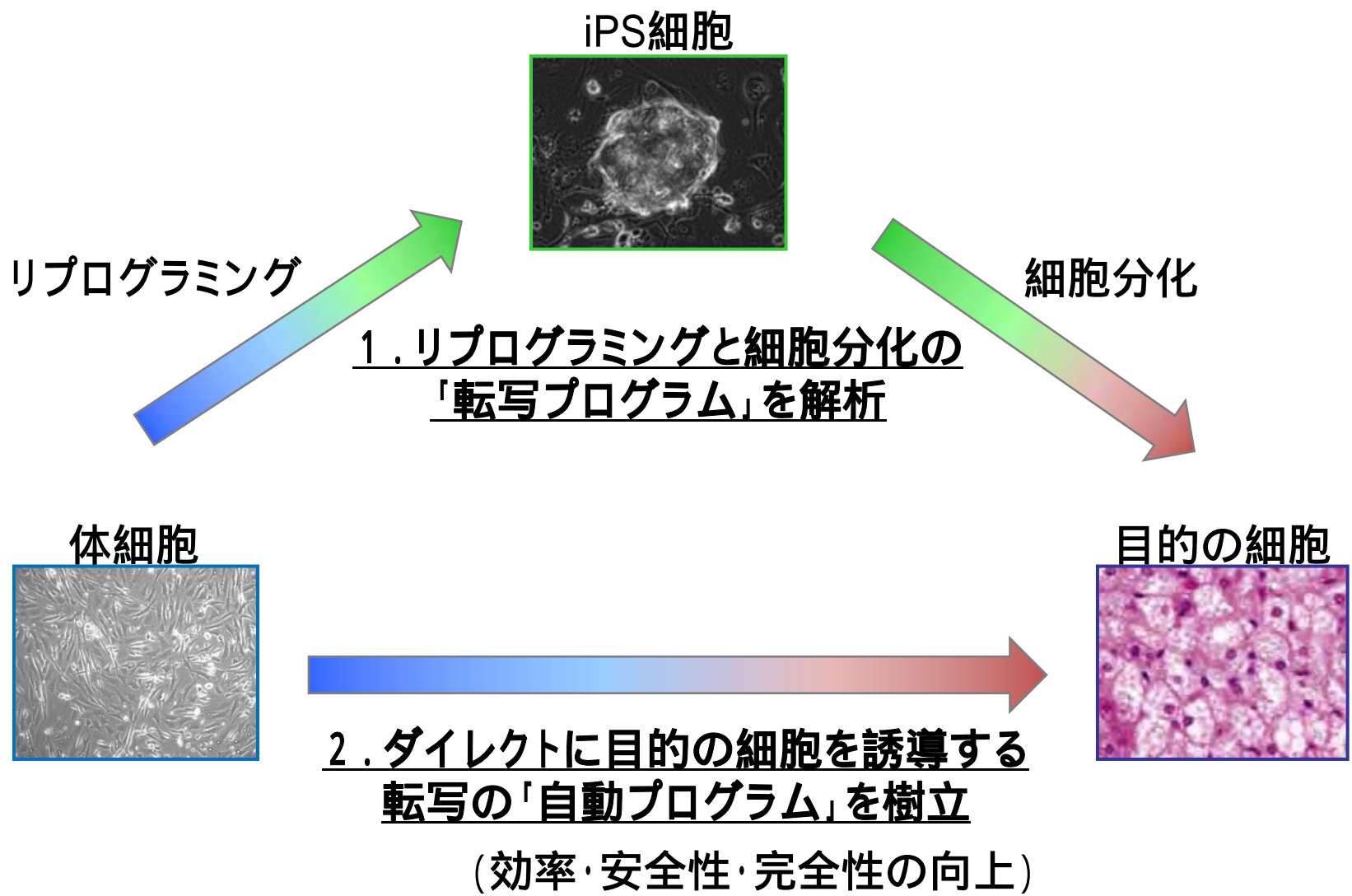


分化細胞に多能性を誘導する転写因子ネットワークの構造解析

転写因子の機能を自律的ネットワークとして捉える



外来性遺伝子による転写因子の発現が、内在性遺伝子の発現を誘導して、安定な多能性を獲得させる機構を、「転写因子ネットワーク」の観点から解明することを目指す。

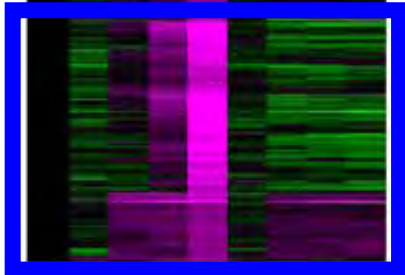


転写プログラムの解析方法

1. 変化した遺伝子を分類

2. 重要な転写因子を予測

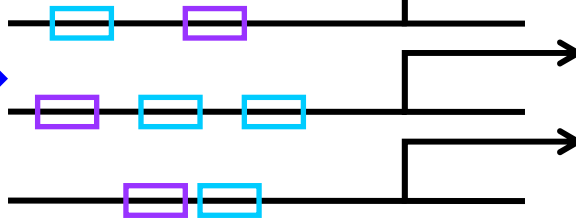
3. 全体像を明らかに



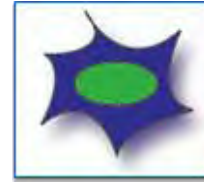
転写因子a



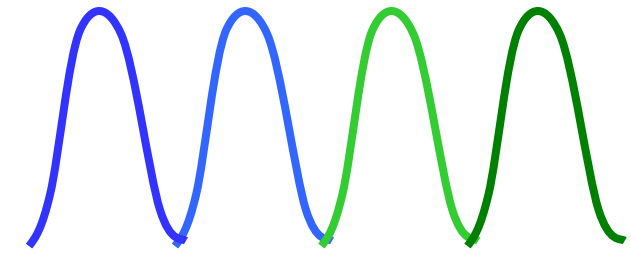
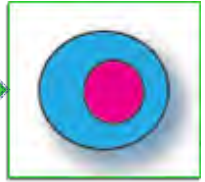
転写因子b 転写因子c



体細胞



iPS細胞



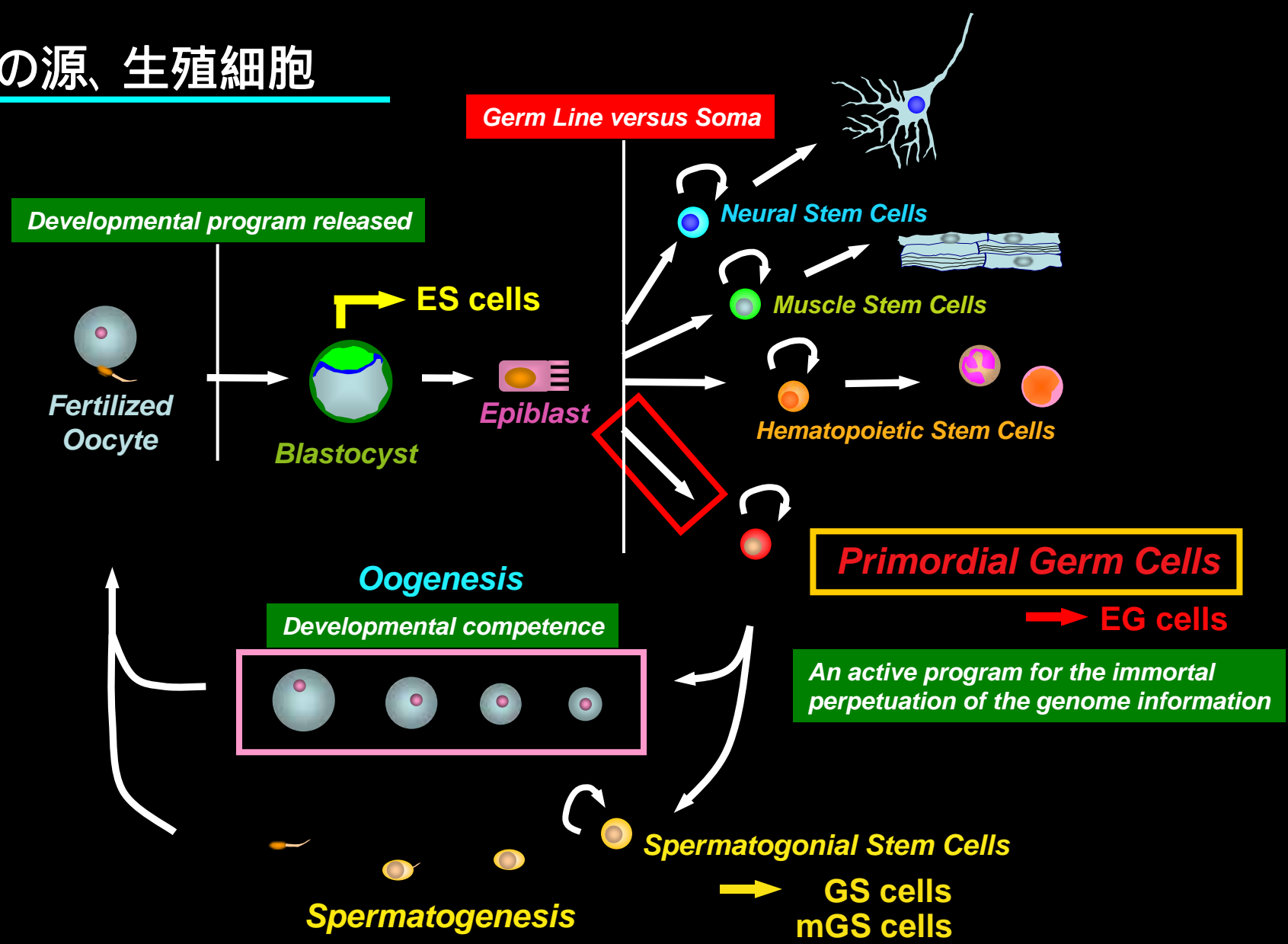
遺伝子群

転写因子
a

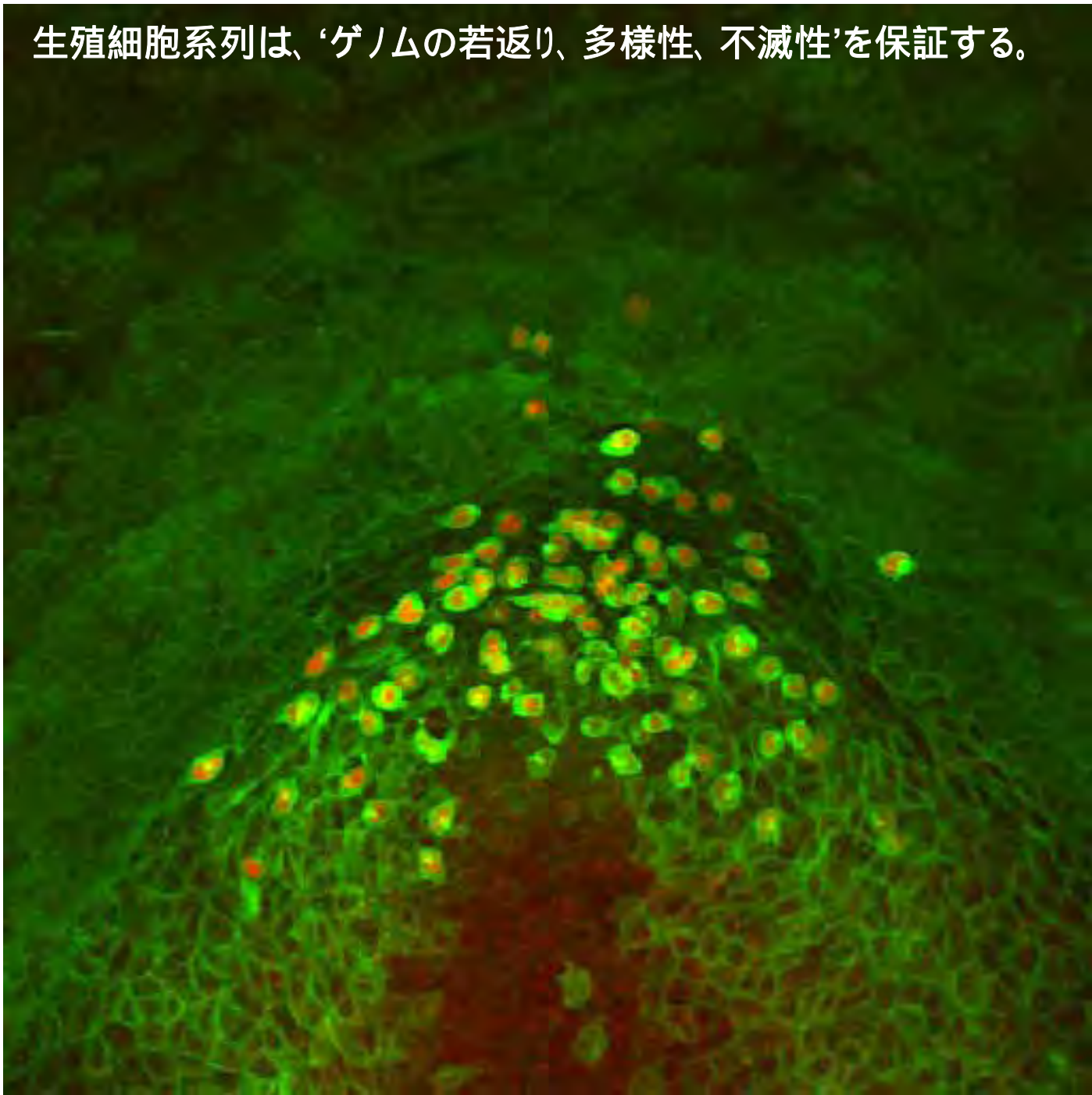
b

c

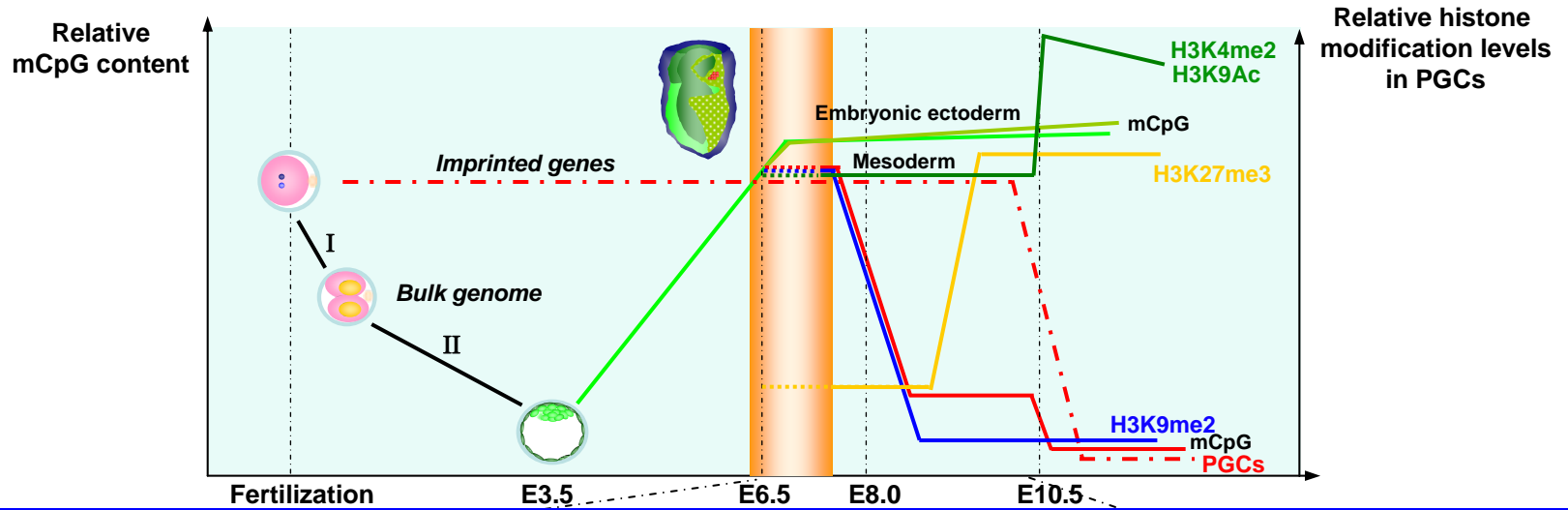
‘生命’の源、生殖細胞



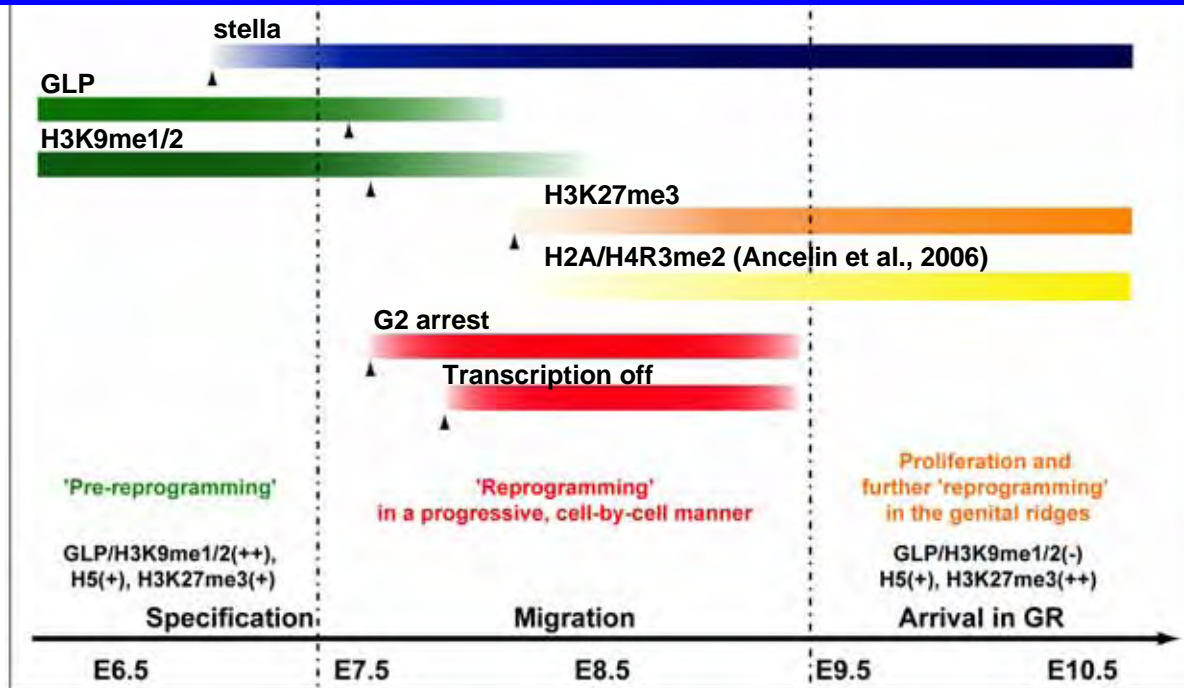
生殖細胞系列は、‘ゲノムの若返り、多様性、不滅性’を保証する。



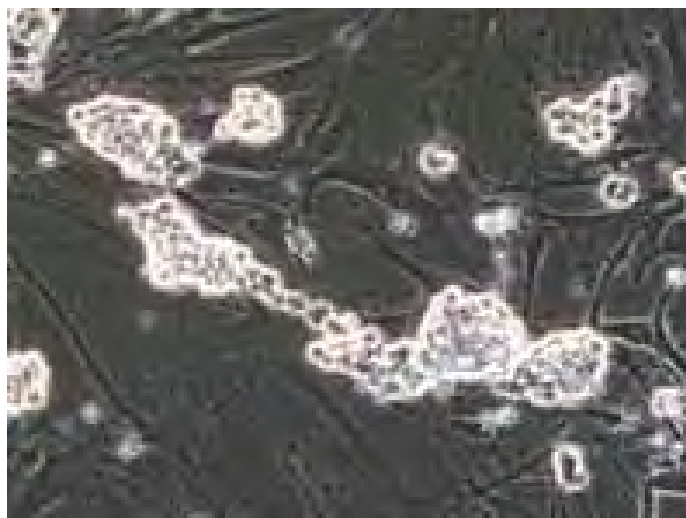
生殖細胞はそのエピジェネティックな修飾を全ゲノムレベルで書き換える。



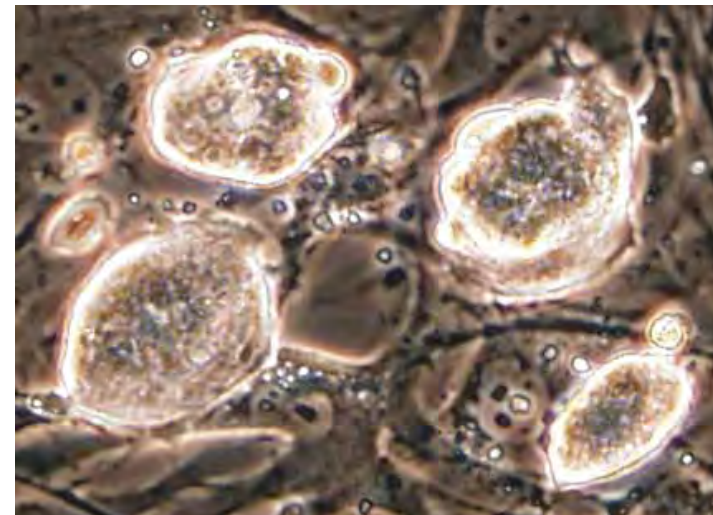
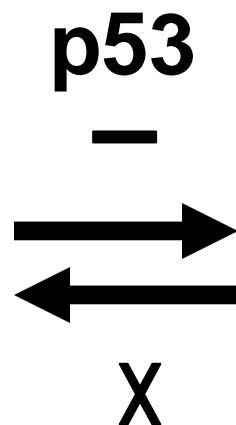
Germ cell specification may be a genetic program for an epigenetic reprogramming



精巣由来の幹細胞: GS細胞とmGS細胞



Germline stem (GS) cell

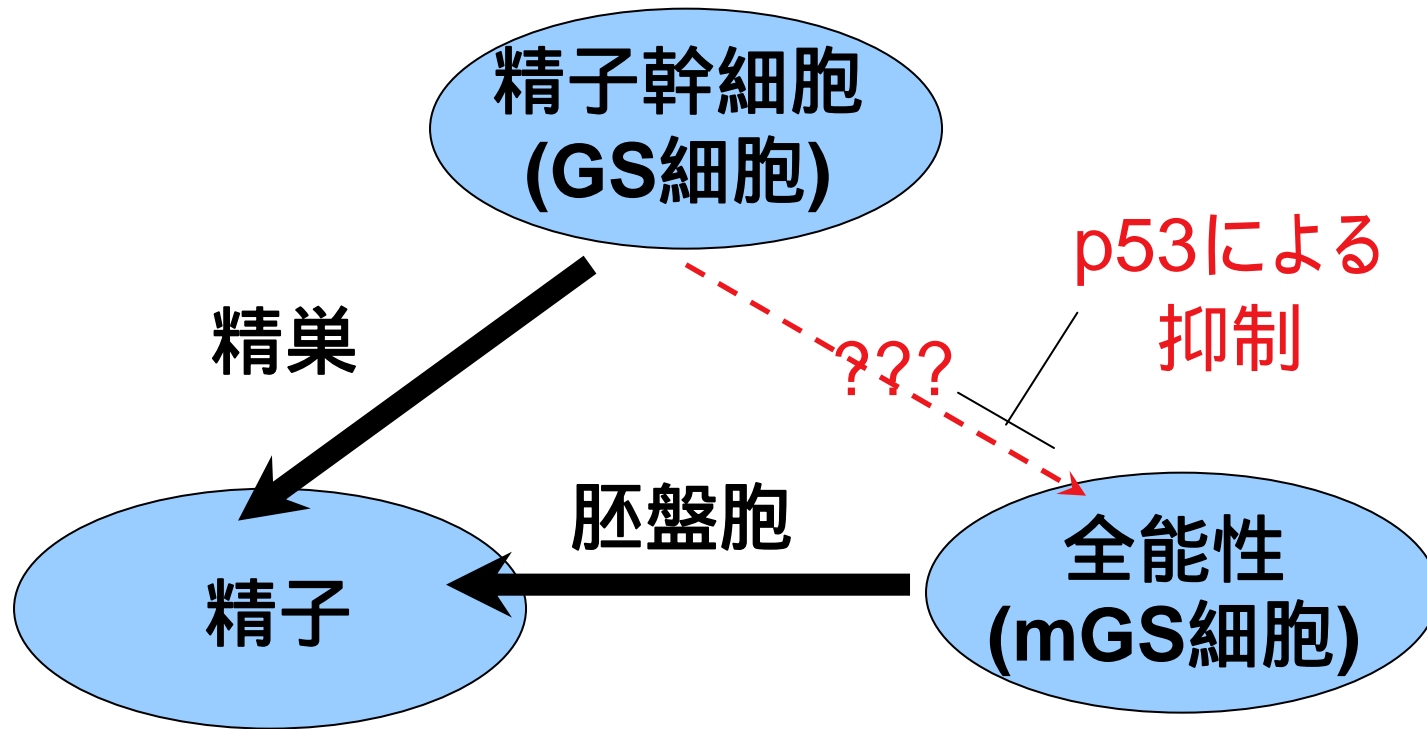


multipotent GS (mGS) cell

1. **安定な核型** と **DNAメチル化**
2. ノックアウト作成
3. **精子形成能**
4. マウス、ラット、ヒト etc
5. 潜在的な多能性

1. 体細胞と生殖細胞に分化
2. ノックアウト作成
3. **胚発生能**
4. マウス、ヒトで樹立
5. ES細胞と異なるDNAメチル化

GS細胞のリプログラミング機構の解明



研究目標

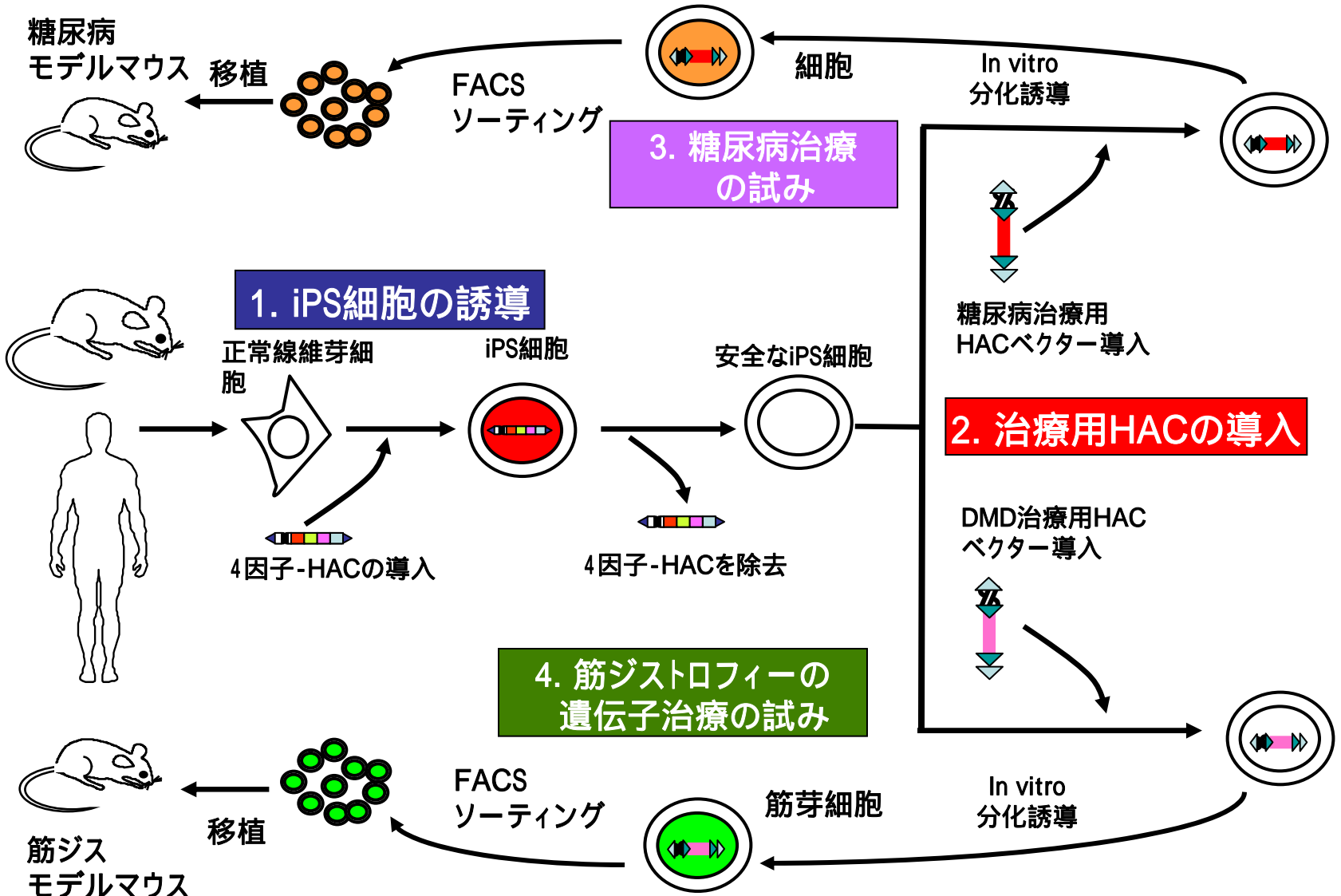
1. 低効率の改善：~1/30 精巣の頻度でしか出現してこない
2. 生物学的性質の解明：ES細胞、精巣腫瘍と何が異なるのか？

ヒト人工染色体を用いたiPS細胞の作製と遺伝子・再生医療

研究代表者: 押村 光雄 (鳥取大学 大学院医学系研究科 教授)

研究期間: 2008.6 ~ 2014.3

研究の全体構想: あらゆる遺伝子を搭載可能な万能染色体(ヒト人工染色体:HAC)の利用



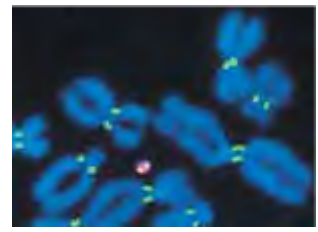
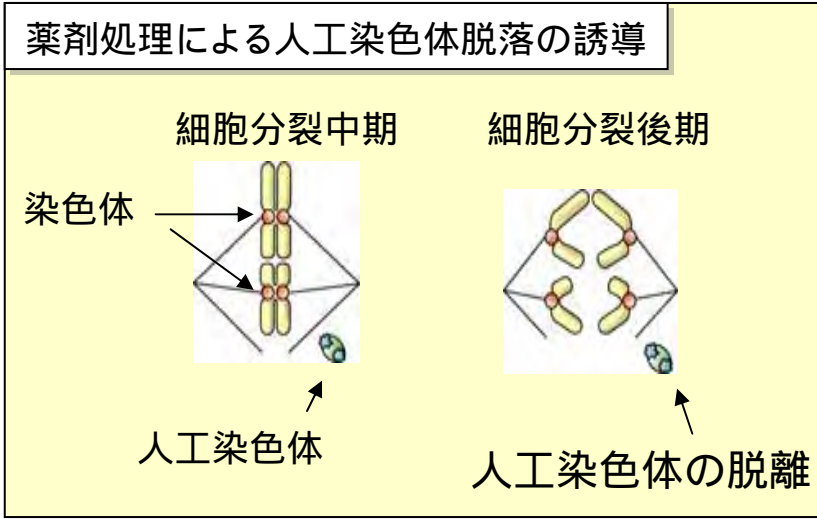
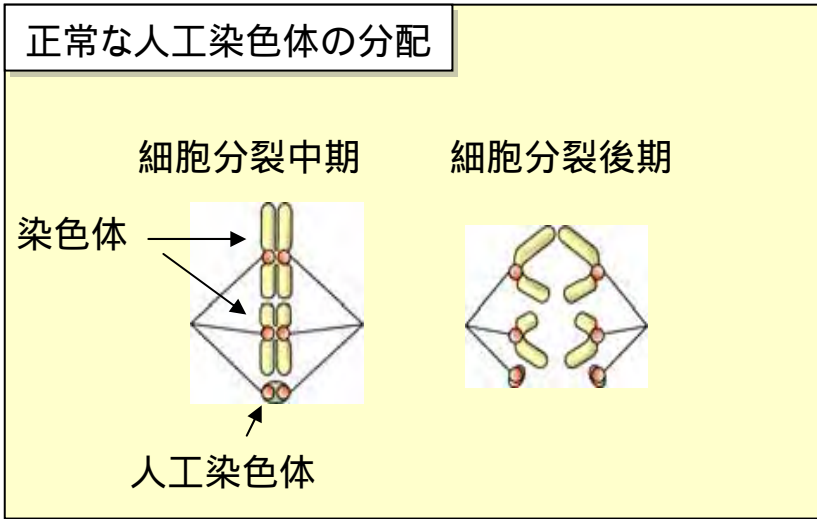
人工染色体を用いた新たな細胞リプログラミング技術開発

研究代表者: 米田 悦啓(大阪大学 生命機能研究科 教授)

研究期間: 2008.6 ~ 2014.3

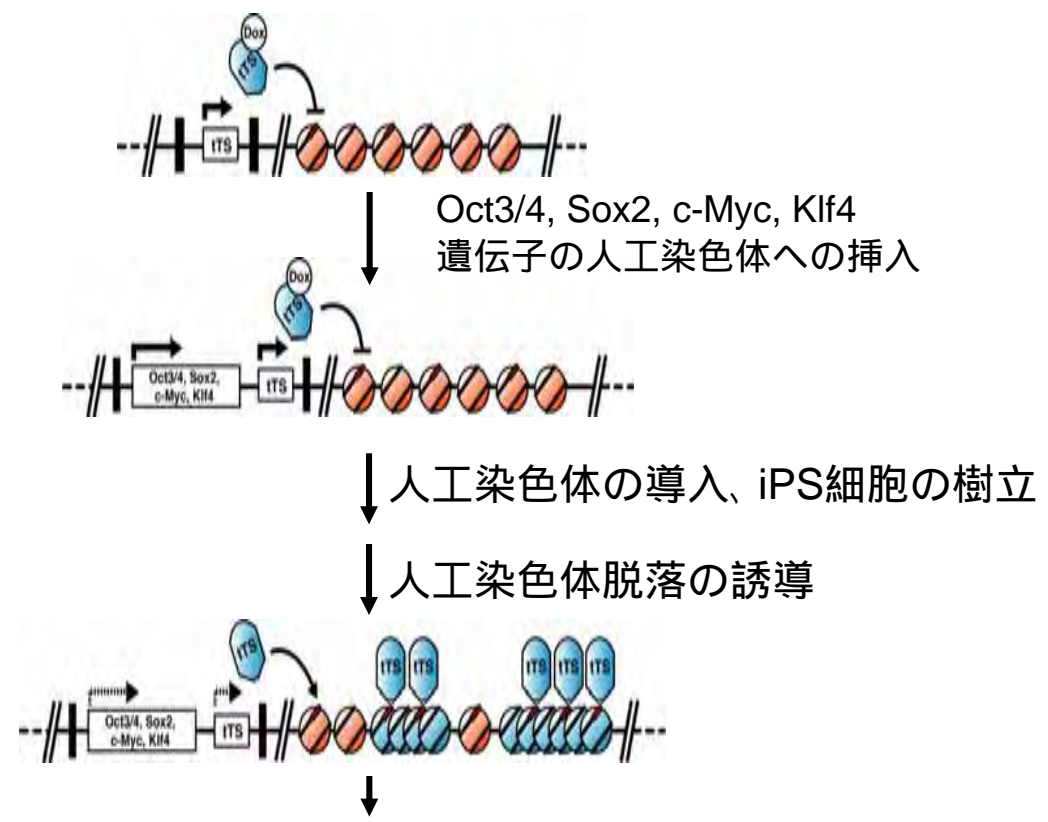
ヒト人工染色体を用いた安全なiPS細胞の作製の試み

(1) 脱落制御可能な人工染色体の作製



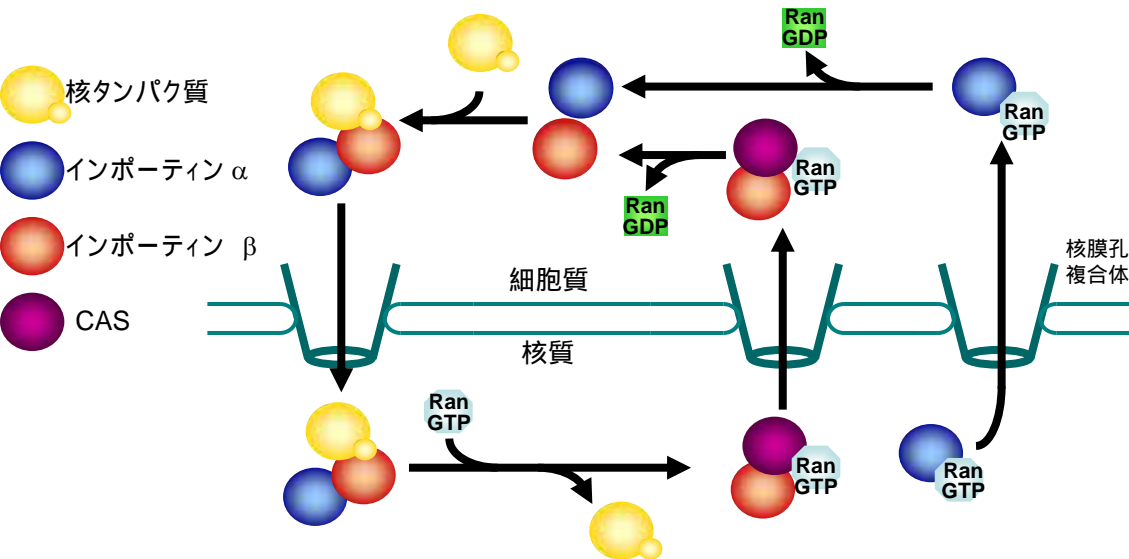
人工染色体:

(2) 人工染色体の導入と除去によるiPS細胞の確立



正常な宿主染色体を持つ安全なiPS細胞の樹立

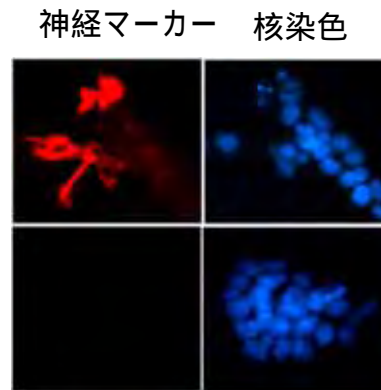
核 - 細胞質間物質輸送の制御によるiPS細胞樹立高効率化の試み



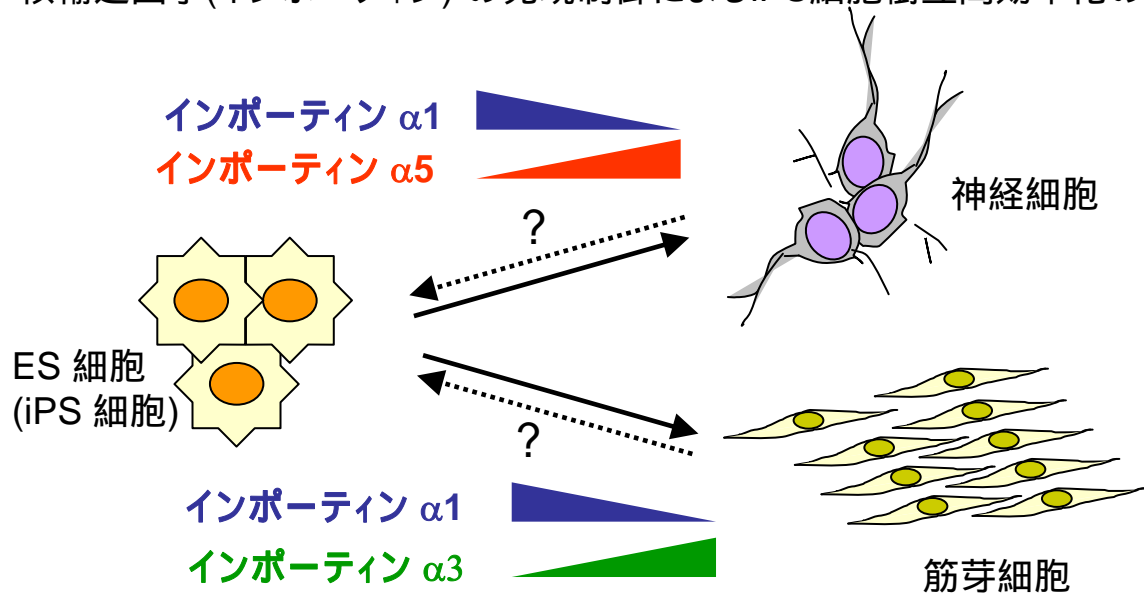
核輸送因子の発現操作の細胞運命決定への影響

インポートイン α1の発現を抑制しインポートイン α5を強発現したES細胞

野生型 ES細胞



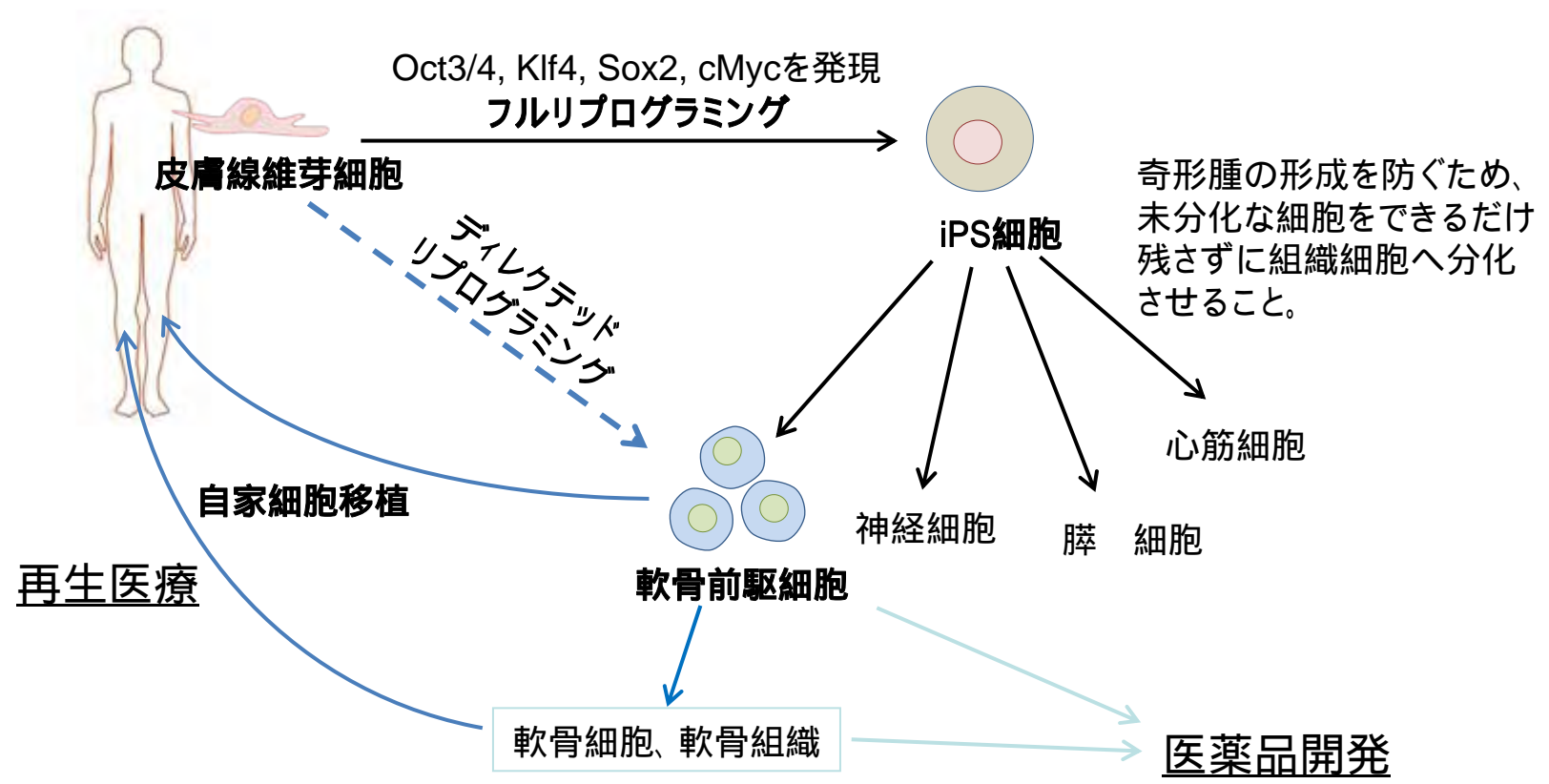
核輸送因子(インポートイン)の発現制御によるiPS細胞樹立高効率化の試み



- 1) ヒト細胞におけるインポートインファミリーの多様性
 6種類のインポートインα
 20種類のインポートインβ
- 2) インポートインによって核へと運ばれる核タンパク質の種類は、それぞれのインポートインによって異なる。

細胞リプログラミングに最適な核-細胞質間分子輸送の場の構築によるiPS細胞樹立の高効率化

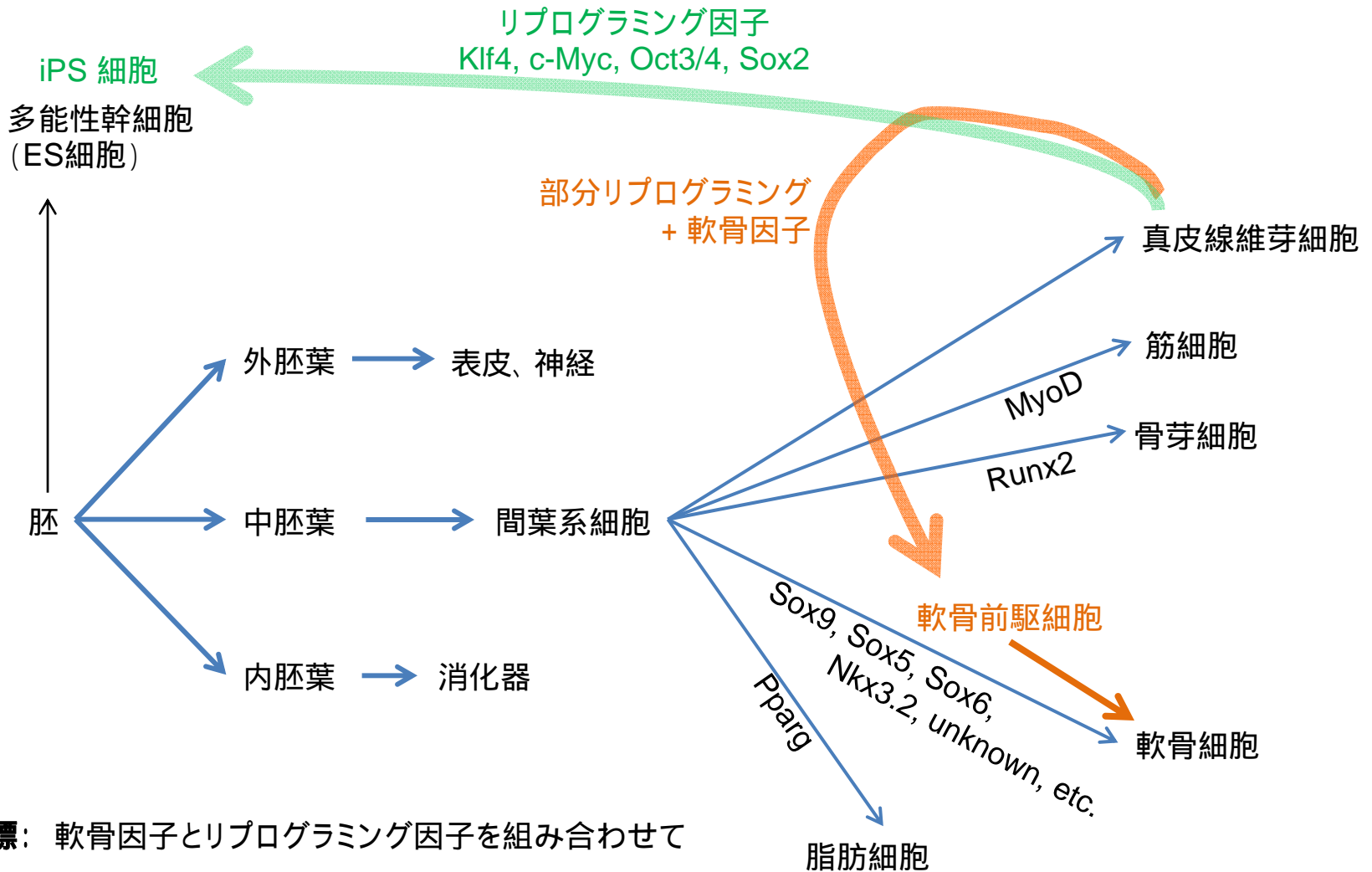
研究の背景
体細胞を別の組織型の細胞へ変換する、2つの方法



ディレクトドリ細胞リプログラミング

多能性幹細胞を経ずに、皮膚線維芽細胞培養から直接、軟骨前駆細胞を誘導する

研究のねらい



目標: 軟骨因子とリプログラミング因子を組み合わせ、皮膚線維芽細胞に導入することにより、軟骨細胞様細胞を直接誘導する。

iPS細胞由来の人工樹状細胞を用いた免疫療法

iPS細胞バンク

iPS細胞

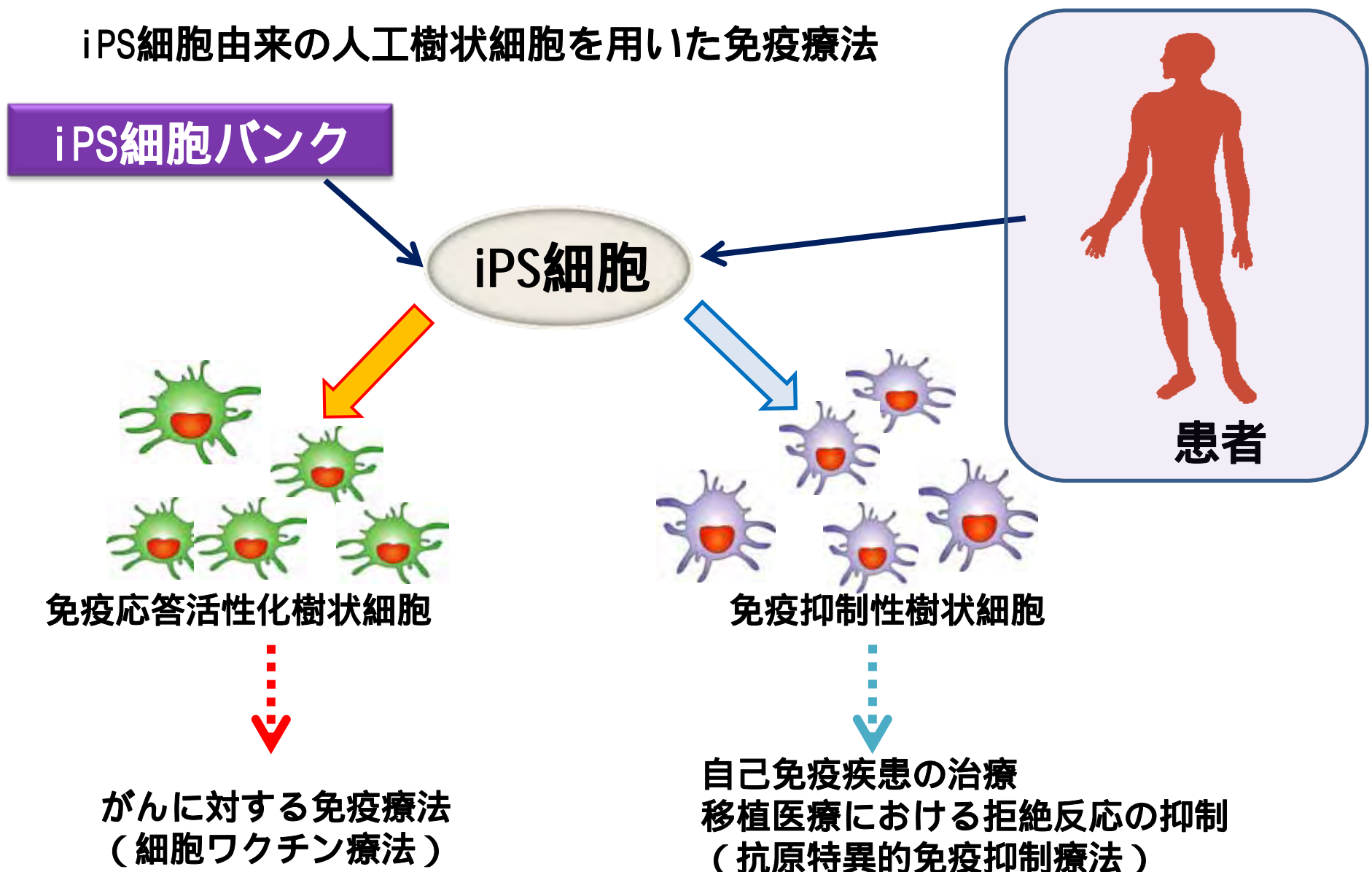
患者

免疫応答活性化樹状細胞

免疫抑制性樹状細胞

がんに対する免疫療法
(細胞ワクチン療法)

自己免疫疾患の治療
移植医療における拒絶反応の抑制
(抗原特異的免疫抑制療法)



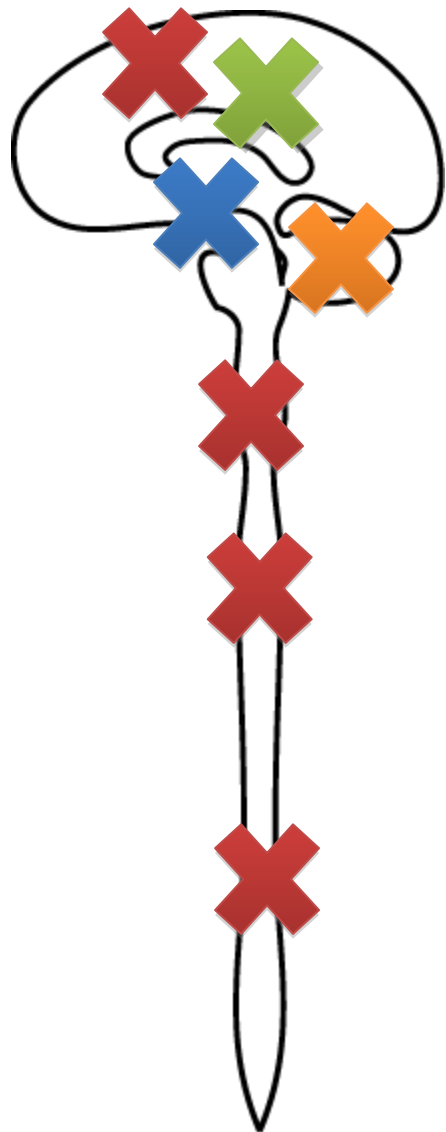
神経変性疾患

アルツハイマー病
レビー小体型認知症
前頭側頭型認知症

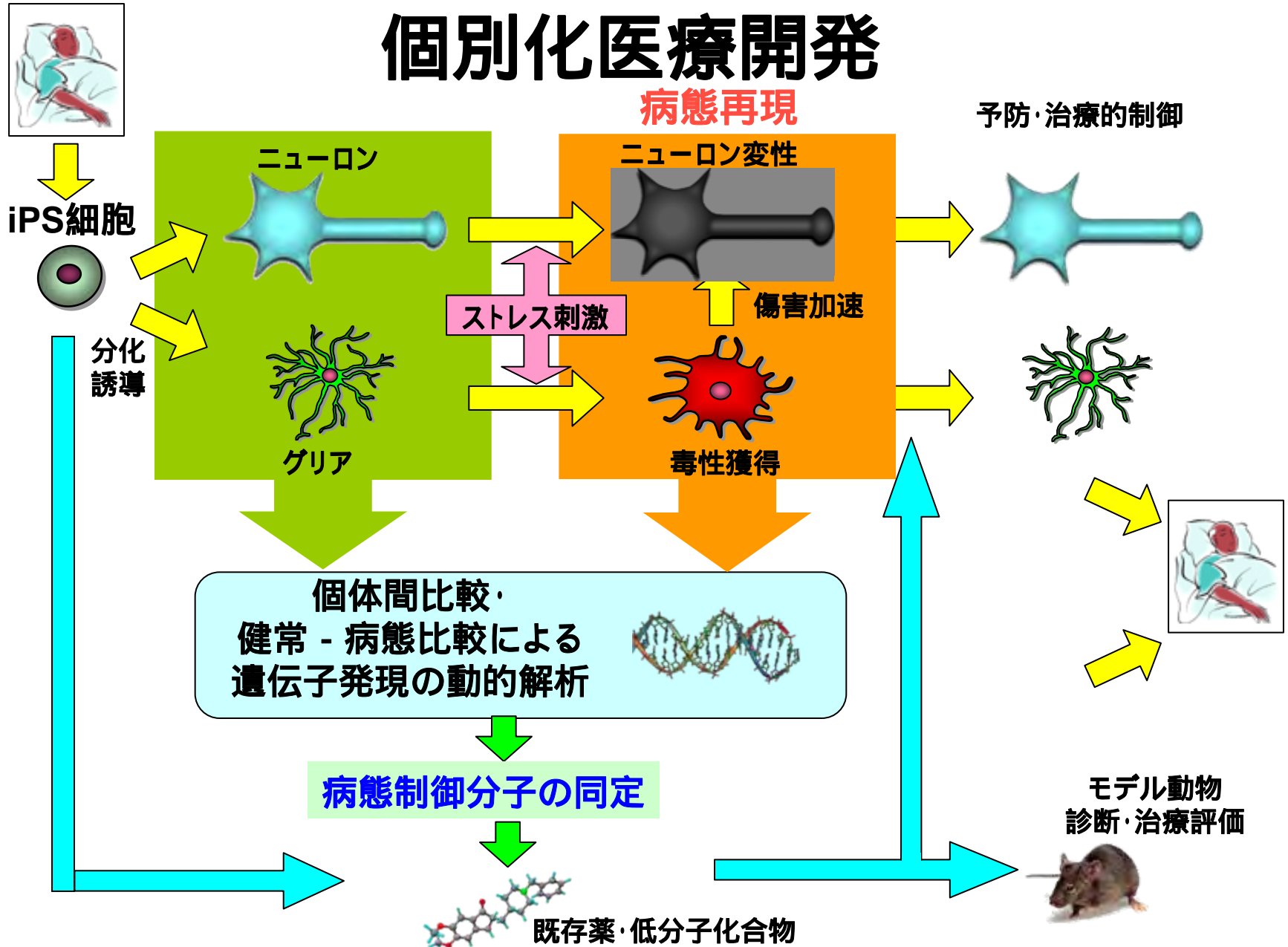
パーキンソン病

脊髄小脳変性症

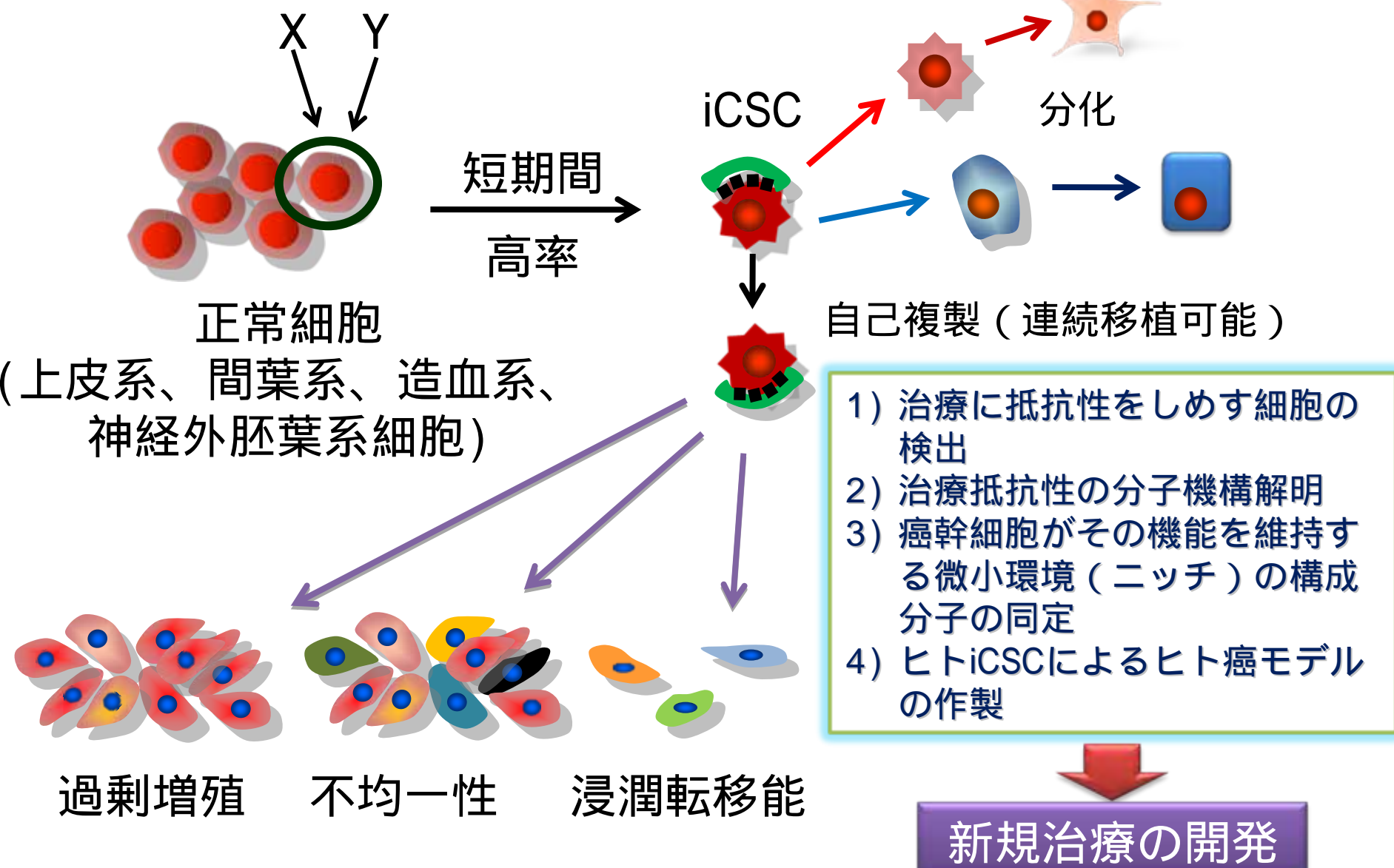
筋萎縮性側索硬化症 (ALS)



神経変性疾患病因機構の解明と 個別化医療開発

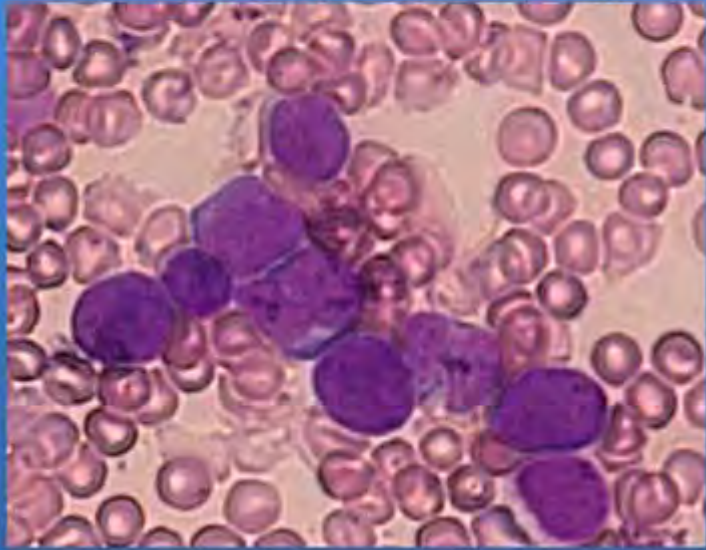


人工癌幹細胞 (induced cancer stem cell : iCSC) の作製

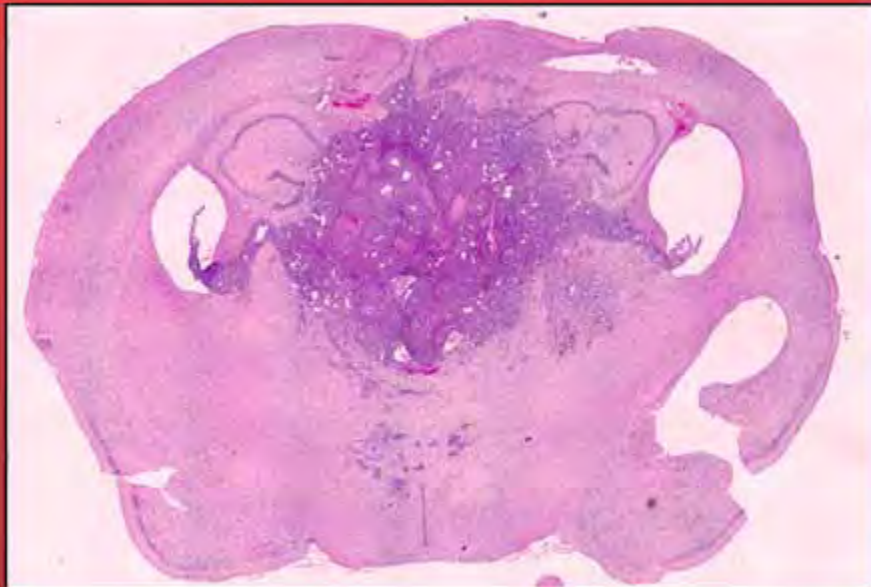
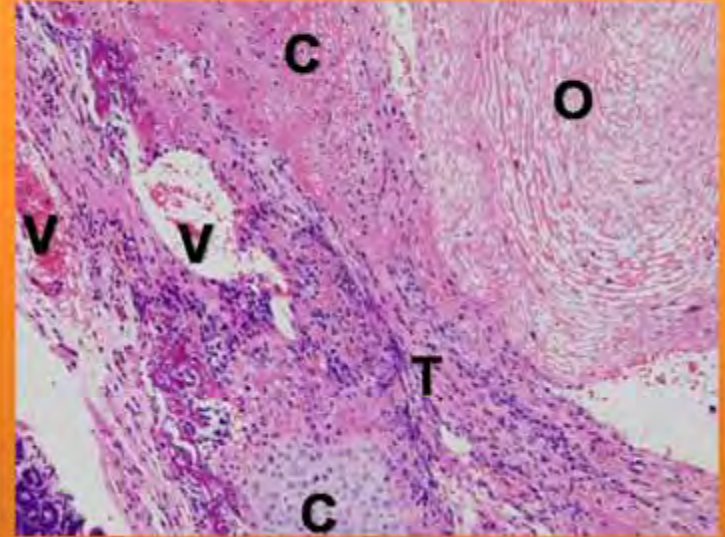


人工癌幹細胞 (induced cancer stem cell : iCSC) の作製

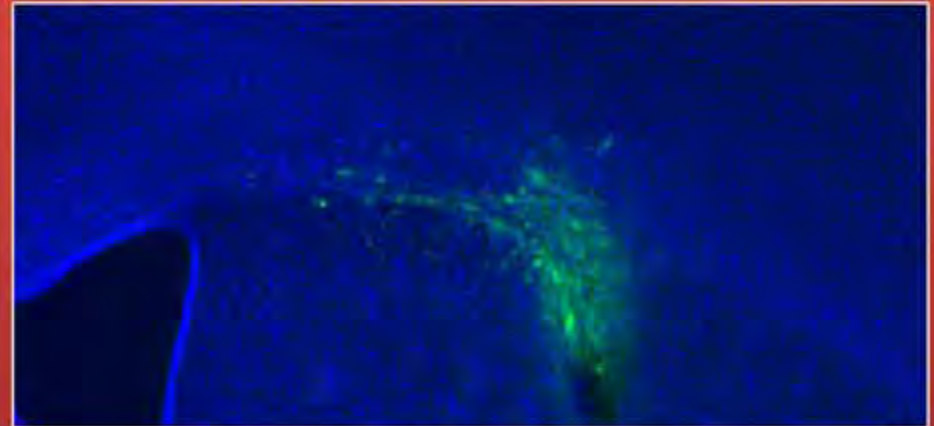
Bリンパ細胞性白血病



骨肉腫



脳腫瘍



iPS 研究に関する報道

- ・国民の理解・支援を得る上で極めて重要
- ・研究の方向性に影響（出口志向）
- ・研究のあり方に影響（過剰競争）
- ・分かりやすさ？
- ・研究の質の評価