

戦略的創造研究推進事業

－CRESTタイプ－

研究領域

「人工多能性幹細胞（iPS細胞）
作製・制御等の医療基盤技術」

研究領域中間評価用資料

平成25年2月18日

目次

1. 研究領域の概要.....	1
(1) 戦略目標	1
(2) 研究領域	3
(3) 研究総括	6
(4) 採択課題・研究費	7
2. 研究総括のねらい	10
3. 研究課題の選考について	10
4. 領域アドバイザーについて	12
5. 研究領域の運営について	13
6. 研究の経過と所見.....	16
7. 総合所見	30

1. 研究領域の概要

(1) 戦略目標

「細胞リプログラミングに立脚した幹細胞作製・制御による革新的医療基盤技術の創出」

本戦略目標の具体的な内容

分化した細胞を再び多能性幹細胞に戻すリプログラミングは、これまでにない革新的な医療を可能とする技術として注目されている。2006年、続いて2007年に京都大学の山中伸弥教授らが本技術に大きなブレークスルーをもたらしたことをうけ、本戦略目標では、細胞のリプログラム過程における分子生物学的機構に基づき、リプログラミング技術の高度化・簡便化を目指す。また、本技術を用いて、患者あるいは健康人由来の体細胞などから幹細胞を作製し、疾患の発症機構の解明を行い、これに基づく革新的治療戦略、薬剤副作用の検証技術などの基盤技術を確立する。

政策上の位置付け（科学技術基本計画、戦略重点科学技術等との関係）

ライフサイエンス分野の戦略重点科学技術「生命プログラム再現科学技術」に該当し、具体的には、研究開発内容として挙げられている、“生体の高次調節機構のシステムを理解する研究”にあたる。

当該研究分野における研究振興方策の中での本研究事業の位置づけ、他の関連施策との切り分け、政策効果の違い

本戦略目標は、体細胞リプログラミング技術の高度化、および、これを応用した先天性疾患の発症機構の解明や、薬剤副作用の検証技術などを旨とする研究に重点をおくものである。一方、「再生医療の実現化プロジェクト」（文部科学省 平成15年～）は、幹細胞などを用いて細胞治療、組織移植の確立を目標とする取り組みであり、本研究事業とは目標が異なる。また、科学研究費補助金（特別推進研究「細胞核初期化の分子基盤」）は、4因子によるリプログラミングの分子的機構の解明に重点をおく取り組みであり、本目標とは研究段階が異なる。

この目標の下、将来実現しうる成果等のイメージ、他の戦略重点科学技術等に比して優先して実施しなければならない理由、緊急性、専門家や産業界のニーズ

本目標は細胞リプログラミングの高度化・簡便化を行い、患者など由来の体細胞からモデル細胞を構築し、疾患発症機構の解明や、新規治療戦略、薬剤副作用の検証法などの基盤技術を構築する。具体的な成果のイメージを以下に挙げる。

【短期的成果目標例】

- ・ 因子導入の精密制御、あるいは化合物による簡便な、リプログラミング技術の確立
- ・ 患者あるいは健康人由来の体細胞から作製したモデル細胞を用いた疾患発症機構の解明

【中期的成果目標例】

- ・ 上記の疾患モデル細胞を用いた創薬候補物質の同定や遺伝子治療の基盤技術の確立
- ・ 健常人由来の多能性幹細胞を用いた不整脈などの薬剤副作用の検出方法の創出

2006年時点で、世界中で100以上の幹細胞研究所が設立されている。現在、これらの機関の研究者が我が国の成果に追随して次々とヒトiPS細胞（induced Pluripotent Stem Cell）を樹立しており、リプログラミング研究は熾烈な競争となっている。本目標の着実な実施によって、世界をリードする我が国発のリプログラミング技術の優位性を保つ必要がある。

本研究事業実施期間中に達成を目指す研究対象の科学的裏付け

従来から、臨床研究に先立つ基礎研究段階においても、ヒト疾患モデル細胞の重要性が認識されている。幹細胞生物学の進展を受けて、患者自身の疾患モデル細胞を作製するリプログラミング技術が欧米で研究開発されている。しかし、この研究には、ヒトES細胞（Embryonic Stem cells）を材料として用いることによる倫理的課題、また細胞移植の際の組織適合性などの課題があった。

2006年、我が国の研究者が、4因子導入によりマウス線維芽細胞からのES細胞に匹敵する多能性幹細胞、iPS細胞の樹立に成功し、2007年にはヒトiPS細胞も樹立した。これらの成果は倫理的課題を大きく解消し、リプログラミング研究に大きなブレークスルーをもたらした。また、大学等を中心に展開されている我が国の幹細胞研究は、科学研究費補助金および「再生医療の実現化プロジェクト」等によって、研究人材、設備、論文業績など国際的に高い研究レベルとなっている。

本目標においては、このような我が国の幹細胞研究のポテンシャルを活かしつつ、細胞リプログラミングに立脚した基盤的研究の推進によって、高齢化社会において求められる根治療法や予防医療の進展を促進する。また、幹細胞研究自体も、幹細胞という視座に立った、発生・再生現象から疾患発症や老化に伴う組織機能低下機構の解明までの総合研究分野として更なる発展が期待される。

この目標の下での研究実施にあたり、特に研究開発目標を達成するための留意点（研究体制等）

本戦略目標の達成には、疾患に対する豊富な臨床知見とフローサイトメトリーなどを活用できる十分な細胞解析技術を有するチーム型研究による推進が望ましい。また、分子生物学的機構に基づくリプログラミング技術の開発には、皮膚細胞や組織幹細胞から、多能性幹細胞を経由せず、直接、他組織の幹細胞や前駆細胞を誘導するなど、斬新なアイデアをもつ若手研究者を中心とした個人研究も効果的推進に必要である。

なお、世界的に幹細胞研究は日進月歩で進められており、知的財産権取得は激しい競争となっている。日本は米国に次いで第2位の幹細胞関連特許を有するも、取得数が近年低下傾向にあるとされている。本戦略目標の下、推進される研究においては、米国など

の幹細胞関連の特許出願状況に照らして、特許取得ならびにその質についても十分に留意すべきである。また、この目標の達成には、ヒト細胞を取り扱うことから、研究の内容に応じた生命倫理への配慮をすることが必要である。

(参考) 本研究事業実施期間中に達成を目指す政策的な目標

最新の知見では、ヒト体細胞に対して、Oct3/4、Sox2、Klf4の3因子をレトロウイルスベクターにより導入し、リプログラムを生じさせ、多能性幹細胞を得ている。

本戦略目標では、まず、リプログラム機構のゲノム、染色体構造の変化や、特にエピジェネティクス解析を通じて、遺伝子の標的導入、あるいは単一細胞あたりの導入遺伝子数制御などの研究を行う。そして、リプログラミングを誘導する化合物等のハイスループットスクリーニングも行う。これにより、因子導入の精密制御・手法簡便化を達成する。また、高度化されたリプログラミング技術を駆使し、先天性疾患の患者の体細胞から、多能性幹細胞などを得て、疾患モデル細胞に分化させて疾患発症機構を解明する。こうして得られた知見を元に、疾患を制御する創薬候補物質の同定や、健常人由来の多能性幹細胞などを用いた薬剤副作用の検出方法の基盤技術を開発する。

(2) 研究領域

「人工多能性幹細胞（iPS細胞）作製・制御等の医療基盤技術」（平成20年度発足）

研究領域設定の背景

平成19年11月京都大学の山中伸弥教授らによって、ヒト人工多能性幹細胞（iPS細胞）が樹立されたことを受け¹、JST研究開発戦略センター（CRDS）にて関連の幹細胞研究の研究促進に関する緊急提言が行われ²、続いて文部科学省において「iPS細胞（人工多能性幹細胞）研究等の加速に向けた総合戦略（平成19年12月22日文部科学省）」（以下、「総合戦略」とする）が策定された³。

この総合戦略では、iPS細胞研究推進における大綱的な指針の他、当年度中の緊急支援策の一部として「科学技術振興機構（JST）戦略的創造研究推進事業の戦略目標として、「iPS細胞等の多能性幹細胞研究の推進」に資する目標を新たに設定し、JSTはこれを踏まえて速やかに研究課題を公募する。」との方針及び平成20年度予算規模（約10億円）が示された。加えて、当該分野における振興方策について検討を行うため、同省科学技術・学術審議会研究計画・評価分科会ライフサイエンス委員会に「幹細胞・再生医学戦略作業部会」（以下、「戦略作業部会」とする）が設定され、総合科学技術会議や他省庁とも十分に連携しiPS細胞研究のオールジャパンでの研究推進体制を

¹ [京都大学—JST共同発表（平成19年11月21日）ヒト人工多能性幹細胞（iPS細胞の樹立に成功）](#)

² [ヒト人工多能性幹（iPS）細胞の作成成功を機に、関連の幹細胞研究を急速に促進するための緊急提言（平成19年12月17日）CRDS-FY2007-SP-07](#)

³ [iPS細胞（人工多能性幹細胞）研究等の加速に向けた総合戦略（平成19年12月22日文部科学省）](#)

確立するための議論が重ねられた。

そして、平成 20 年 1 月 24 日、平成 20 年度戦略目標として前述の「細胞リプログラミングに立脚した幹細胞作製・制御による革新的医療基盤技術の創出」が決定された。なお、当戦略目標は単独で推進されるものではなく各省庁の関連事業と密接に連携しつつ実施され、戦略作業部会の下、iPS細胞研究センター（現・京都大学iPS細胞研究所）を中心として推進される幹細胞研究のうち、特に「iPS細胞の樹立法、培養法の改善」「遺伝子導入制御技術研究」「疾患モデル研究」「リプログラミング誘導化合物研究」を担うものとされた⁴。

また、文部科学省では日本全体の研究推進体制を確立するため開かれたネットワーク組織としてコンソーシアム（後述の「文部科学省 iPS 細胞等研究ネットワーク」）を組織し、研究者ネットワークの構築・拡大が進められてきた。J S T 戦略的創造研究推進事業は、そのネットワークの一員として、国の目指す基礎から実用化に向けた連続性のある研究推進において、特に医療基盤技術の確立に資する基礎研究の推進を担う。

文部科学省における総合戦略の策定を受けて、J S T は戦略的創造研究推進事業の中に「iPS細胞等の細胞リプログラミングによる幹細胞研究戦略事業プログラム」を設け、幹細胞関連分野の研究の一層の促進を図ってきた⁵。当プログラムにおいて J S T は 3 つの取り組みを推進している。CRESTはそのうち“研究の推進及び社会還元に関する取り組み”として、山中iPS細胞特別プロジェクト、さきがけとの相互連携を緊密に図りつつ実施している。その他、“研究環境整備に関する取り組み”としてiPS細胞研究のための国際協調に資する J S T -CIRM 研究交流ワークショップ及び共同研究プログラムを実施している。さらに“知的財産に関する取り組み”として知財専門家人材の派遣等による主として海外特許出願の支援を行ってきた⁶。このようにiPS細胞研究の振興、当該戦略目標の達成に向けて J S T の総力を掲げ推進する中、CRESTは主として異なる分野の専門性を持つ複数のグループからなるチーム型研究の推進を担うものとした。

同時期に決定された戦略目標については 2 ヶ月ほどをかけて研究総括を選定し領域を設定、公募を実施するが、当該戦略目標については総合戦略を踏まえ 1 月下旬から研究課題の公募を開始することが決定された⁷。このため、文部科学省における総合戦略の策定から戦略目標の検討と並行し、CRDS 調査報告書等⁸⁹¹⁰¹¹、幹細胞研究の基礎・

⁴ [幹細胞・再生医学戦略作業部会（第 1 回）資料 7「iPS 細胞研究のオールジャパン推進体制\(案\)」](#)

⁵ [科学技術振興機構報 453 号\(平成 19 年 12 月 22 日\)「戦略的創造研究推進事業における多能性幹細胞\(iPS 細胞\)研究の推進について」](#)

⁶ [幹細胞・再生医学戦略作業部会（第 1 回）資料 4「iPS 細胞研究等の加速に向けた総合戦略改訂版」における J S T の iPS 細胞研究支援の状況（平成 22 年 3 月）](#)

⁷ [文部科学省報道発表（平成 20 年 1 月 24 日）「平成 20 年度戦略目標の決定について（科学技術振興機構戦略的創造研究推進事業）」（国立国会図書館収集資料）](#)

⁸ [生体における細胞機能の特異性決定機構（平成 19 年 3 月 1 日）CRDS-FY2006-WR-10](#)

⁹ [G-Tec 報告書「幹細胞ホメオスタシス」国際技術力比較（幹細胞研究）（平成 19 年 7 月）CRDS-FY2007-GR-01](#)

¹⁰ [戦略プログラム「幹細胞ホメオスタシス」（平成 19 年 10 月）CRDS-FY2007-SP-05](#)

応用の両面における有識者へのインタビュー調査等により当該分野の最新の研究動向や発展性・課題等、領域設定を行うための知見を収集し、文部科学省に提供するとともに研究総括の選定及び研究領域の設計を進めた。

そして、平成 20 年 1 月 25 日に開催された研究主監会議において審議を行い、当該研究領域を選定し、研究総括を指定した¹²。研究総括の須田年生氏は、我が国の幹細胞生物学・血液学に関する研究の中心的な役割を担い、未知の可能性を秘めたiPS細胞研究分野について先見性及び深い洞察力を有する。加えて、当領域に必要とされる国際的視点、基礎研究のみならず臨床研究に係る豊富な知見、高い研究マネジメント能力を兼ね備え、研究者コミュニティからの信頼も厚いことから選任した。さらに当領域設定のきっかけとなったiPS細胞を樹立した山中教授を研究総括補佐として迎え、領域名称・概要・公募方針等の確認及び課題選考への参加、他のプロジェクトとの連携について協力を得た。

文部科学省 iPS 細胞等研究ネットワークにおける位置づけ

平成 20 年 4 月、文部科学省における総合戦略の取組の一環として、同省等が支援する iPS 細胞研究等に係る事業の研究機関・研究者を包含するオールジャパンの研究推進体制として、「文部科学省 iPS 細胞等研究ネットワーク（以下、「iPS ネットワーク」という。）」が構築された。

iPSネットワークは、関連 6 事業・制度に参画している約 800 名の研究者が、共通ルールに基づき、最新の研究情報、知的財産権及び成果有体物を共有することで、iPS細胞等研究を加速させ、総合的に推進していくことを目指しており、当領域も参画している¹³。

研究領域の概要

近年、医学のめざましい進歩により、事故や疾患等によって損傷を受けた生体機能を、幹細胞等を用いて復元させる再生医療において、様々な材料を用いた実際の治療技術が現実味を帯びつつある。再生医療は、臓器移植とは異なり、ドナー（臓器提供者）不足等を克服できる革新的医療技術であり、従来法では治療困難である疾患・傷害に対応可能とされるものである。21 世紀の新しい医療の実現に向けて、我が国を含めた世界各国で熾烈な競争が生じている状況でもある。従来から、臨床研究だけでなく基礎研究においても、その重要性の認識から、幹細胞研究において細胞プログラミング技術の研究開発が世界的に進められてきた。しかし、これらの研究については、最先端の研究においても、受精卵ないし初期胚に由来する ES 細胞を用いることによる倫理的課題があ

¹¹ [G-Tec 報告書「幹細胞ホメオスタシス」国際技術力比較（エピジェネティクス）（平成 20 年 1 月）](#)
[CRDS-FY2007-GR-02](#)

¹² [平成 20 年度戦略的創造研究推進事業における新規発足領域の選定及び研究総括の指定について（iPS 細胞関連研究）](#)

¹³ [文部科学省 iPS 細胞等研究ネットワーク Web サイト「iPS ネットワークとは」](#)

った。ヒト皮膚細胞から樹立された iPS 細胞は、倫理的課題を解消し、拒絶反応の観点からも有用と考えられ、社会的にも大きな衝撃をもたらした。

当領域は、国際的に高いレベルにある我が国の幹細胞研究のポテンシャルを活かしつつ、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、疾患の早期発見等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した。研究体制として、研究代表者のマネジメントの下に、周辺領域を含めた豊富な知見及び種々の要素について解析できる技術を兼ね揃えたチームの参加を募った。純粋な細胞リプログラミング技術においてだけでなく、関連する分野における研究ポテンシャルを活用することを狙うため、当領域においては、これまでの細胞リプログラミング技術をより臨床へとつなげる基盤を築くこととともに、iPS 細胞創出に続く第2、第3の生命科学におけるブレークスルーが期待される。

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、遺伝子導入の制御等の研究、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等が含まれる。

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する。

(3) 研究総括

須田 年生（慶應義塾大学医学部 教授）

(4) 採択課題・研究費

(百万円)

採択年度	研究代表者	中間評価時 所属・役職	研究課題	研究費*
平成 20年 度	石井 俊輔	(独)理化学研究所基幹研究所・上席研究員	胚細胞ヒストンによるリプログラミング機構	281
	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	306
	奥田 晶彦	埼玉医科大学ゲノム医学研究センター・教授	i P S細胞誘導の為の分子基盤の解明による安全性の確保	249
	押村 光雄	鳥取大学染色体工学研究センター・教授	ヒト人工染色体を用いた i P S細胞の作製と遺伝子・再生医療	261
	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 i P S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	498
	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	532
	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	255
	千住 覚	熊本大学大学院生命科学研究部・准教授	i P S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	170
	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・プロジェクトリーダー	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	253
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	247	
平成 21年 度	井上 治久	京都大学 iPS細胞研究所・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	349
	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	278
	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	117
	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	234
	高橋 淑子	京都大学大学院理学研究科・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	201
	妻木 範行	京都大学 iPS細胞研究所・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	247
	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	269

採択年度	研究代表者	中間評価時 所属・役職	研究課題	研究費*
平成 22年度	家田 真樹	慶應義塾大学医学部・特任講師	直接リプログラミングによる心筋細胞誘導の確立と臨床への応用	179
	黒川 峰夫	東京大学大学院医学系研究科・教授	iPS細胞を用いた造血器腫瘍の病態解明と治療法の探索	224
	花園 豊	自治医科大学分子病態治療研究センター・教授	ヒト iPS 細胞の高品質化とその検証・応用	200
	宮島 篤	東京大学分子細胞生物学研究所・教授	肝分化指向性 iPS 細胞からの高機能性肝組織の構築	199
	山村 研一	熊本大学生命資源研究・支援センター・教授	iPS細胞による肝臓ヒト化モデルの構築と治療実験	199
	吉田 稔	(独)理化学研究所基幹研究所ケミカルゲノミクス研究グループ グループディレクター	核エピゲノムとミトコンドリアゲノムの化学的制御とその応用	269
			総研究費	6,016

* 研究費：平成 23 年度までの実績額（直接経費）に本報告書作成日時点での平成 24 年度以降の計画額（直接経費）を加算した金額

- 平成 20 年度採択課題については、各課題の緊急加速を趣旨として研究開始時に研究環境の強化の為、必要に応じて設備費を追加した。
- 平成 20 年度より文部科学省より博士課程在学者のリサーチアシスタントとしての雇用促進の依頼を受け、J S T-RA 制度を実施した。本制度は、優秀な博士課程在学者が生活費相当額程度を受給できるようにするための支援制度であったが、平成 20 年度をもって公募を終了した。平成 21 年度以降に採択された課題においては、委託研究費によるリサーチアシスタントの雇用を推奨している。
- J S T男女共同参画計画に基づき、研究者がライフイベント（出産・育児・介護）に際し、キャリアを中断することなく研究開発を継続できること、また一時中断せざるを得ない場合は、復帰可能となった時点で研究開発に復帰し、その後のキャリア継続が図れるよう出産子育て等支援制度を実施している。
- 平成 21 年度に研究成果の実用化をより早く、より多く実現し社会還元をより一層促進するため J S T 社会還元施策を実施し、研究チームへの企業の参加を促進した。

- J S T研究加速室より、当領域において創出された成果を基にした新たな研究展開支援として、ヒト多能性幹細胞からの造血幹細胞の分化誘導法の確立を実施するため、予算追加配賦を受けた。
- 各課題においては、開始の約3年後に課題の評価を実施し、研究の進捗状況及び創出された成果を基に、今後の研究を拡大或いは加速するために研究費の増額、あるいは研究計画の見直しに基づく減額を実施している。その他、研究の進展に基づく研究代表者からの要望に基づき、裁量経費を追加配賦し研究の加速を実施した。
- 平成21年度採択 斎藤通紀教授（京都大学大学院医学研究科）は、平成23年度に戦略的創造研究推進事業 ERATO に採択された。これを受けて、平成23年度末をもって CREST の研究課題を終了した。
- 平成24年度における事業予算の縮減の中、裁量経費を活用し研究者の雇用等の面で研究実施に支障がないよう配慮した。

2. 研究総括のねらい

我が国における細胞リプログラミング技術は、ヒト iPS 細胞の創出が注目されたように、国際的にも最先端の位置にいる。しかし、この分野の国際競争は非常に激しいことから、研究開発の先頭を走り続けることは容易ではない。そこで、本技術に関連する研究開発の裾野及び出口の拡大を図る取り組みを、日本の研究者の総力を結集して進めることが求められている。

幹細胞の研究は、1960 年代に造血幹細胞から始まり、2004 年にヒト ES 細胞、2007 年にヒト iPS 細胞が樹立され、それぞれの特徴をいかした研究が進められてきた。予め特定の細胞に分化することがプログラムされている体性幹細胞に比べ、ES/iPS 細胞はより多分化能を示すが故に、その制御や腫瘍化等安全性の観点において、様々な未解決の課題があった。

領域設定当初、iPS 細胞はまだ樹立されたばかりであり、初期化の原理や得られた多能性の利用法、潜在的な可能性、分化の制御法、理想的な iPS 細胞の定義、といった基盤的な知見が不足していた。当領域では、これまでの発生学を基にした緻密な幹細胞研究より積み上げられた知見を最大限に活用し、戦略目標に定められた「iPS 細胞の樹立法、培養法の改善」「遺伝子導入制御技術研究」「疾患モデル研究」「リプログラミング誘導化合物研究」を通じて、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目指した。また、iPS 細胞研究の裾野を拡げていくため、次世代の多能性幹細胞研究に結びつくような、例えば生殖細胞やエピジェネティクス等で世界のトップレベルを走る礎を築くことを狙い、直接 iPS 細胞を取り扱わない周辺領域の研究も実施することとした。

また、iPS ネットワークにおいては当領域で創出された基礎基盤的な知見を、文部科学省再生医療の実現化プロジェクト／ハイウェイを始めとする iPS 細胞の再生医療の実現に向けた研究支援制度へと橋渡しを進める他、Web サイト「iPS Trend」や合同公開シンポジウム、マスメディアに向けた講演等を通じて、最新且つ正しい知識を社会に向けて発信している。

3. 研究課題の選考について

当領域においては、平成 20 年 1 月 24 日戦略目標の決定を受けて他領域にさきがけ、同年 1 月 28 日より第一回の課題公募が開始された。その後、平成 21 年度、平成 22 年度と継続して計 3 回の公募が実施された。

平成 20 年度公募当時、iPS 細胞については、ES 細胞に比べると基礎研究・応用研究ともに進んでおらず、また多様な科学的視点からの検討がされていない状況であった。

そこで、iPS 細胞を基軸とした細胞リプログラミング技術の更なる発展を目指した研究に留まらず、これまでの分化誘導、腫瘍化、エピジェネティクス、大型動物を含む疾患モデル、遺伝子治療等に関する研究から得られてきた知見を活用し、それらの融合を目指す研究も対象に公募を実施した。

平成 21 年度公募時には、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出てきた。また、生物学・医学分野に留まらず、従来は幹細胞研究等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出てきた。そこで、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募った。

最終年度となる平成 22 年度公募においては、過去 2 ヶ年度の選考結果を踏まえ、①分化した細胞のリプログラミングの分子機構の解明及び、②それらに基づく新たな iPS 細胞作製技術の開発、多能性細胞を経由しない直接的な細胞系列転換、③安全性の評価軸を含む腫瘍発生のない「安全な」iPS 作成方法の開発、④iPS 細胞の異質性に基づく標準化の方法論、の 4 点を重要項目として掲げ公募を実施した。総じて、iPS 細胞をひとつの概念とすることで、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を開拓することを目標とし、ヒト iPS 細胞の創出に続く、第 2、第 3 の科学地図を書き換えるような成果を生み出すべく、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提案を公募した。

その結果として、平成 20 年度には 10 件、平成 21 年度には 7 件、平成 22 年度には 6 件の研究課題を採択した。1 つの領域における 23 課題の実施は、CREST 史上最大規模である。採択課題は、リプログラミング機構の解明、人工染色体の技術応用、より初期状態に近い iPS 細胞作製の検証、iPS 細胞に関連の強い幹細胞研究（組織幹細胞や肝幹細胞）、モデル動物の創出、ディレクトドリプログラミングの技術開発、病態解明や予防医療への応用可能性検討等を含む多様な研究となっている。

また、平成 20 年度は、募集期間が短かったこともあり、またいずれの研究者においても iPS 細胞に関する準備的研究経験が十分でない状況であったが、平成 21 年度には全体として iPS 細胞に関係する具体的な仮説やデータが多く盛り込まれ、提案課題の内容のレベルが上がってきた。平成 22 年度には、これまでの採択課題に比べると、実際に iPS 細胞の技術をどのように応用していくかを標的とした課題が増加し、日本国内における iPS 細胞研究の裾野の拡大と研究の深化を肌で感じた。国際的に激しい競争が行われているが、採択された課題はいずれも研究レベルの高い内容であり、将来の iPS 細胞の応用にとっても重要な基礎研究が進められると考えている。

なお、当該領域における研究については、生命倫理及び安全の確保に関し各府省が定める法令・省令・倫理指針等を遵守して実施し、所属機関の承認・届出・確認等が必要な研究については必ず所定の手続きを経て実施される計画であることを確認した。また、

課題の選考にあたり、利害関係にある評価委員は当該課題の評価に参加せず、公正な評価が実施されるよう努めた。

4. 領域アドバイザーについて

領域アドバイザー名	現在の所属	役職	任期
山中 伸弥 (※)	京都大学 iPS 細胞研究所	所長 / 教授	平成 20 年 3 月～平成 22 年 3 月
石田 功	帝京平成大学薬学部	教授	平成 20 年 3 月～平成 24 年 10 月
佐々木 裕之	九州大学生体防御医学研究所	所長 / 教授	平成 20 年 3 月～現在に至る
瀬原 淳子	京都大学 再生医科学研究所	教授	平成 20 年 3 月～平成 22 年 3 月
高井 義美	神戸大学 大学院 医学系研究科	教授	平成 20 年 3 月～現在に至る
竹市 雅俊	理化学研究所 発生・再生科学総合研究センター	センター長	平成 20 年 3 月～現在に至る
林崎 良英	理化学研究所 ゲノム科学総合研究センター	プロジェクトディレクター	平成 20 年 3 月～現在に至る
宮園 浩平	東京大学 大学院 医学系研究科	教授	平成 20 年 3 月～現在に至る
塩見 美喜子	東京大学 大学院 理学系研究科	教授	平成 22 年 5 月～現在に至る
仲野 徹	大阪大学 大学院 生命機能研究科 / 医学系研究科	教授	平成 22 年 5 月～現在に至る

※山中伸弥教授は、当領域に研究総括補佐として参加した。研究総括補佐は、当該分野の推進の為に、研究総括の任務全般について研究総括を補佐する者を指す。他方、領域アドバイザーは、課題の選定・研究の推進・評価について意見を述べる者を指す。

当領域設定当初は研究試料として iPS 細胞を扱っている研究者がほとんどいないと

いう状況にあった。このため当領域においては、エピジェネティクス、細胞生物学、がん研究等、多分野の専門家を結集し、iPS細胞を基軸とした研究に留まらず、その応用展開を目指す応募課題の審査に対応する必要があった。そこで、研究総括補佐及び領域アドバイザーとして、幅広い学問分野および基礎から前臨床研究にわたる研究フェーズを縦横に俯瞰することのできる、前表の有識者の方々にお願いした。いずれの方も、各分野で先端的研究を行い国際的にも高い業績を挙げているだけでなく、自らの専門分野に立って公平且つ明確に意見を述べる人物である。

また、医療基盤技術の開発に向けて研究開発の視点から評価も必要となるため、大学や公的研究機関のみならず民間企業の研究所での研究経験という視点より、石田功領域アドバイザーをお願いした。表における「現在の所属」は帝京平成大学・教授であるが、課題選考を行った平成20～22年度は、キリンファーマ(株)(現在の協和発酵キリン(株))に所属の民間企業からの領域アドバイザーである。

iPS細胞の樹立を受けて、国内においては各省庁で様々な支援制度がほぼ同じタイミングで開始された。このためCRESTの課題の選考にあたって山中研究総括補佐らによりCREST及び関係制度の状況を俯瞰的に確認し、特定の研究目標、研究者、研究機関に過度の偏りが起こらないよう配慮した。

平成20年度から平成21年度にかけては、研究総括に山中研究総括補佐・領域アドバイザーを加えた計9名体制にて研究課題の採択を行った。しかし、平成22年度に、山中伸弥研究総括補佐及び瀬原淳子領域アドバイザーは多忙のためアドバイザーを辞退され、新たに塩見美喜子領域アドバイザー、仲野徹領域アドバイザーを迎えた。また平成24年10月をもって石田領域アドバイザーは多忙のためアドバイザーを辞退され、現在は7名体制で領域運営を進めている。

5. 研究領域の運営について

研究領域の運営方針について

ヒトiPS細胞の樹立を受けて、細胞移植治療等新規医療への期待が急速に高まったものの、樹立されたiPS細胞の質の評価や、既存医療との関わり、実用化への確実な移行等、課題が多く存在している。臨床応用への研究も重要ではあるものの、特定の疾患を標的とした直接的な臨床応用は文部科学省のリーディングプロジェクトで実施するものであり、当領域では革新的な医療技術の開発に向けた基礎基盤的な知見を創出することを目標とした。

そこで、iPS細胞を直接扱った研究だけでなく、インパクトのある細胞分化や転写ネットワーク、生殖幹細胞に関する研究、ここ数年注目されてきたエピジェネティクス研究等多様な幹細胞研究を推進することで、幹細胞(ES/iPS細胞、組織幹細胞)の包括

的理解を目指した。さらに、具体的な疾患を想定して、iPS 細胞を他の細胞に分化させて臨床応用するための研究や、疾患 iPS 細胞を用いた病態再現、発症機構の解明、創薬スクリーニング等も実施することとした。

また、iPS 細胞研究は国際的にも競争の激しい分野である。日本は基礎技術に比べて臨床研究に弱い傾向にあり、特に幹細胞分野における臨床研究が活発なカナダとの連携による臨床応用への展開の活性化を目指し、カナダ Ontario Stem Cell Initiative (OSCI)との国際交流を進めた。

一方で、応用的な研究に比して、こうした基礎的な研究は専門家以外には、理解されにくいという課題も認識している。iPS 細胞を用いた再生医療を実現するためには、受け入れる側の社会に向けて、その医療の安全性を含めた正確な情報を発信していく必要がある。このため当領域では、iPS 細胞研究ネットワークの中で他制度と連携しつつ、公開シンポジウム等を通じて得られた知見を正しく且つわかりやすく発信している。さらに、JST主催のレクチャー会やメディア懇談会を通して、各種メディアに対し本CREST 領域及び幹細胞研究の現状について理解を促す場を設け、発信した情報が社会に正しく伝わるよう努めている。

研究の進捗状況の把握とマネジメントについて

研究総括としては、チームの自主性を尊重しつつ研究マネジメントを行ってきた。国際競争の激しい分野であり、当初想定されていなかった知見が生まれる等、方向転換を余儀なくされる課題もあったが、研究代表者の当初の研究構想を実現するために必要なアドバイス及び研究費追加配賦、関連課題間の連携創発を主体としてマネジメントを行ってきた。

研究の進捗を把握し、また領域全体としての相乗効果を狙い、平成 20 年度発足時より毎年 1 回非公開で領域ミーティングを開催してきた。領域ミーティングでは、総括、領域アドバイザーを始め、当領域の全研究代表者及び主要な研究参加者に加え、連携するさきがけ「iPS 細胞と生命機能」領域の研究者らも参加し、当 CREST 領域における最新の研究成果についての研究代表者による講演、及び議論を行ってきた。

また、本ミーティングでは、カナダとの研究交流を狙い平成 21 年度はトロントのマウントサイナイ病院より Andras Nagy 教授を、平成 22 年度は同病院より Samer Hussein 博士、トロント大より Derek van der Kooy 教授をゲストスピーカーに迎え、特別講演を行った。こういった取り組みは、日本とカナダの研究者間のネットワークの醸成につながった。なお、昨年には国際科学技術共同研究推進事業（戦略的国際共同研究プログラム）における「幹細胞のエピジェネティクス」に関する日本-カナダの共同研究支援も始まり、今後ますますの国際連携が期待される。

当ミーティングは年々活発になり、研究チーム内からも若手研究者が積極的に参加し、平成 23 年度には参加者数が 100 名を超える規模となった。平成 23 年度より 2 日間に

わたる合宿形式でのミーティングとして十分な意見交換を促している他、関連テーマ或いは異分野テーマ間での知見の共有を狙い、各研究代表者間の共同研究を醸成した。平成 24 年度には、CREST「エピゲノム研究に基づく診断・治療へ向けた新技術の創出」領域との連携開催となり、領域をまたいで共同研究の創発といった相乗効果にも期待がかかる場所である。また、文部科学省のリーディングプロジェクトにおける非公開のワークショップにて、当領域の研究代表者らにより最新の研究成果を発表し、臨床応用を目指した幹細胞研究支援制度との連携にも努めた。

領域ミーティングにて年間の研究の全体像を把握しつつ、研究総括が研究代表者の研究室を訪問し、研究進捗の把握及び意見交換、必要に応じて助言等を行っている。訪問時には、必要に応じて領域アドバイザーも同行し、研究代表者及び共同研究者との意見交換だけでなく、研究室を見学し研究基盤の整備状況やスタッフの陣容等研究環境の把握に努めている。また CREST に採択されたことを期に移籍し、新たな研究室を立ち上げた研究代表者らが遅滞なく研究が継続できるようにも配慮した。

これまでに全 23 課題の研究実施場所訪問を完了し、研究計画や研究手法の最適化、報道発表や JST News への掲載等の研究成果の発掘、必要に応じて共同研究先の紹介や研究費の追加配賦等を行った。当領域に採択された研究代表者の研究室を見ると、その研究環境にも多様性があった。十分なスペースと設備が確保された研究室は決して多くはなく、狭い通路に消耗品や実験装置を積み上げ、暗幕で四方を囲い暗室を作るなど、限られたスペース、予算でそれぞれが工夫をしつつ取り組んでいた。研究チームには、若い研究者や大学院生も多く参加しており、この機会に研究現場の生の声を聴くことで、幹細胞研究にかける若手研究者の情熱も感じた。iPS 細胞研究が多様化する中、モデル動物やヒト試料を用いる研究、セルソータやイメージング装置等の高額な設備を利用した解析等が求められるようになり、今後の若手研究者の活躍において共同利用施設などの研究環境を整備することが重要と考えられた。その他、学会やシンポジウム等の機会を利用し、研究代表者との打ち合わせの機会を設ける等、積極的に意見交換する機会を持っている。

平成 23 年度より、研究開始後 3 年が経過した課題の中間評価を実施している。平成 23 年度は平成 20 年度採択の 10 課題を対象に中間評価会を開催した。平成 24 年度は平成 21 年度採択の 7 課題のうち途中終了となる 1 課題を除く 6 課題の中間評価及び、同年度までに終了する 2 課題の事後評価を行った。評価会では、領域アドバイザー全員出席のもと、研究代表者からの最新の研究成果と今後の方針についての発表に基づき討議、評価を行った。評価において、研究の進捗状況に懸念がある場合には、当初の研究目標の達成に向け、研究の方向性及びチーム構成の見直し、研究テーマの絞り込み等について助言した。さらに研究を促進するために必要と判断された場合には研究費の再配分を行う等、メリハリをつけた領域運営を行ってきた。

社会の iPS 細胞に対する期待は高く、また当領域は CREST の他の研究領域に比べ多

くの課題を実施している。そこで当領域における研究活動を発信するため、学術雑誌に発表された研究成果についてプレス発表や JST News 等の広報誌、報道各社を迎えてのレクチャー会、公開シンポジウム等を通じて社会に情報発信を行ってきた。公開シンポジウムについては、iPS 細胞ネットワークの取り組みとして行われている合同シンポジウムにおいて、最新の研究成果について口頭発表及びポスター発表を行い、積極的に情報発信を行っている。なお研究成果の発信に際しては、十分な科学的根拠に裏付けされた成果に基づいた発表を行い、短絡的に再生医療の実現を示唆することがないように十分に配慮した。

研究費の配分について

当領域は、iPS 細胞の樹立を受け過去に例をみない短期間にて設定された。このため、公募開始時 iPS 研究は国内でもほとんど開始されていなかった。特に平成 20 年公募においては、関連分野の研究者が自らのアドバンテージを生かして iPS 細胞研究に新たに方向転換する課題が多く、研究開始時に大型備品費等を追加配賦し研究環境の整備を急いだ。さらに、平成 21 年度公募においては、iPS 細胞研究支援をさらに加速する目的で予算調整が行われ予定採択課題数を増やした。

第 3 期科学技術基本計画（平成 18 年 3 月 28 日 閣議決定）の趣旨を踏まえ、平成 20 年度にはリサーチアシスタントの雇用促進の為、JST-RA 制度による支援を行った。また、JST 男女共同参画計画に基づき、ライフイベントを迎えた研究者のキャリアパス維持の為、出産子育て等支援制度より支援を行っている。さらに、平成 21 年度には研究成果の社会還元をより一層促進するため、CREST の研究チームと民間企業との連携・協働が期待される課題に予算を追加措置した。平成 23 年度には JST 研究加速室より当初計画にない新たな展開に対する追加予算配賦を受けた。当領域から創出された成果 4 件について、研究代表者らが新たな策定した計画を基に申請を行い、うち 1 件にて新たな幹細胞誘導法の研究を追加実施している。

その他、研究予算の配賦にあたっては、ヒアリング及びサイトビジット、研究計画書の改訂により内容を十分に把握したうえで、研究代表者らからの要望を精査しつつ、柔軟且つ迅速に対応してきた。あわせて全課題について、課題評価の結果を受けて、研究の進捗状況及び創出された成果を基に、今後の研究を拡大あるいは加速するために研究費の増減額調整、あるいは研究計画の見直しを実施している。

6. 研究の経過と所見

iPS 細胞の樹立を受け、その特性や応用の可能性等のその細胞を取り巻く環境を模索しながらの領域の立ち上げ、課題の採択となった。このような状況下ではあったものの、

戦略目標に定められた4つの目標に合致する研究課題を採択した。その中には、iPS細胞研究に直結はしていないが、将来的にその実用化展開に貢献することが期待されるインパクトのある細胞分化に関する研究や生殖幹細胞研究、エピジェネティクス研究等も含まれ、それぞれが後述の通り基礎医学の進展、医療基盤技術の開発につながる成果を創出しつつある。

また、領域ミーティングを通じた情報交換等より当領域内あるいはCREST・さきがけ間において約半数の課題で共同研究が実施されている。CRESTにて創出された発現ベクター、細胞株、初期化・分化誘導等の手法、創出した細胞株の解析等、互いの持ち味を生かした協力体制が形成されつつある。さらにiPSネットワークにおけるワークショップ等を通じて、CRESTで創出された基礎基盤的な知見を、臨床応用を目指す文部科学省再生医療の実現化プロジェクト/ハイウェイ等の研究参加者へ向けて発信している。

特筆すべき研究成果としてプレス発表を行ったものを主にレビューする。iPS細胞の樹立・維持に関わる成果として、新規誘導因子によるiPS樹立効率の飛躍的向上やがん原因遺伝子を用いない初期化、多能性を維持する遺伝子ネットワークあるいはエピゲノム状態の解析等があげられる。また、新たな遺伝子導入制御技術として、人工染色体を用いた初期化法が開発され、将来的な初期化因子の除去による安全性の確保や遺伝子治療への道筋も示された。その他、生殖細胞を対象とした研究より、生殖細胞腫瘍モデル作製、移植細胞の生着メカニズムの解明、Cell誌のResearch Highlight of 2011にも選出された多能性幹細胞で作製した生殖細胞に由来するマウスの産出成功等、世界が注目する成果を上げている。

より医療基盤技術に直接的に貢献する成果として、様々ながんを始めとし、アルツハイマー病等の後天性の神経疾患、進行性骨化線維異形成症由来のiPS細胞が樹立され、ヒト細胞で疾患を再現するモデル細胞を樹立し創薬シーズを創出する等インパクトのある成果が創出された。また、生体内でiPS細胞を介さずに直接分化転換する手法でも進展が見られ、軟骨細胞や心筋細胞についてはマウス生体内でその効果が実証されつつある。初期化技術を応用した興味深い研究としては人工癌幹細胞の樹立に成功し、薬剤耐性やがんの転移の分子メカニズムの一端を解明し、新たな治療薬候補の発見につながった。外来遺伝子を用いない化合物による初期化法については、世界中で激しい競争が行われており、初期化を誘導するためエピゲノム修飾を人工的に制御する試みが進展しており、今後の展開に大きな期待がかかる。

以下に、上述の事例を含めた全研究チームの研究及び成果概要を記す。

課題名：「胚細胞ヒストンによるリプログラミング機構」

研究代表者：石井 俊輔 ((独)理化学研究所基幹研究所 上席研究員)

本研究では、胚細胞ヒストンによるリプログラミングの機構を解析し、体細胞の初期

化の基盤技術の構築に貢献することを目指す。

卵子への核移植によるクローン個体の作製は、卵子には全能性細胞を作製できる特異的なリプログラミング因子が存在することを示唆している。しかし、卵子／初期胚特異的なリプログラミング因子については不明な点が多い。一方、山中因子による iPS 細胞の作製は、ES 細胞で発現の高い転写因子を発現させて、ES 細胞の遺伝子発現ネットワークを樹立する方法である。iPS 細胞は ES 細胞に比べ質的に多様であり、良質な iPS 細胞を選ぶためには高いコストと長い時間を要する。従って、卵子／初期胚特異的なリプログラミング因子を用いて、全能性細胞を経て iPS 細胞を作製できれば、この問題を克服できる可能性がある。

本研究では、卵子に多く存在する2つのヒストンバリエントと卵子／初期胚特異的なヒストンシャペロンヌクレオプラスミンが、山中因子による iPS 細胞作製を約 20 倍促進することを見出した。また4つの山中因子のうち、Klf4 と Oct3/4 だけを2つのヒストンバリエントとヌクレオプラスミンと共に用いても、iPS 細胞を作製できることを明らかにした。以上の結果は、卵子／初期胚特異的なリプログラミング因子の理解に貢献し、核移植によるリプログラミングを特定の因子で実現するための重要な知見である。

課題名：「造血幹細胞のエピジェネティクスとその制御法の創出」

研究代表者：岩間 厚志（千葉大学大学院医学研究院 教授）

本研究では、造血幹細胞機能を規定するエピジェネティクスの理解を通して、ES/iPS 細胞から造血幹細胞を誘導する際に必須となるエピジェネティクス制御法の分子基盤を確立し、効率良く造血幹細胞を誘導する技術の開発を目指す。

これまでに、造血幹細胞におけるヒストン修飾複合体であるポリコーム群複合体を中心に、造血幹細胞において、ヒストン修飾による可逆的な遺伝子発現抑制による多能性の維持が重要であること、造血細胞特異的なポリコーム群遺伝子の過剰発現が酸化ストレスに対する耐性を付与し自己複製能を強化することを示した。さらに、胎仔肝造血と骨髄造血におけるポリコーム群遺伝子に対する依存性の違いを明らかにし、造血幹細胞の発生におけるエピジェネティック制御機構の変換を示した。

また、ヒト ES/iPS 細胞から胚様体を介して造血幹・前駆細胞を誘導する系を確立し、この系を用いたスクリーニングより TGF 受容体阻害剤が造血幹・前駆細胞の誘導効率を有意に上げることを見だし、特許を出願した。しかし、誘導される造血前駆細胞に骨髄を長期に再建する活性が見られない点が課題である。また、ES/iPS 細胞から分化誘導した造血前駆細胞に、その発生・維持に重要な様々な遺伝子群を強制発現させたところ、転写因子 SOX17 の過剰発現により胚様体内で発生する造血分化能を有する血管内皮細胞、いわゆる hemogenic endothelium に類似の分化段階にある細胞が増幅することが明らかとなった。SOX17 は hemogenic endothelium の造血分化能の維持に重要であることも確認され、造血幹細胞増幅因子として特許を出願した。

上述の造血幹細胞制御のエピジェネティクスの制御と SOX17 の発現操作等、複数の人為的操作を組み合わせることにより、ES/iPS 細胞から造血幹細胞を分化誘導できないか更なる解析を続けている。

課題名：「iPS細胞誘導の為の分子基盤の解明による安全性の確保」

研究代表者：奥田 晶彦（埼玉医科大学ゲノム医学研究センター 教授）

本研究では、iPS 細胞の安全性の向上を念頭に、iPS 細胞が ES 細胞と同様な分化多能性を獲得する過程、及び獲得後における Myc タンパク質の役割の解明を目指す。

iPS 細胞開発当初は、Myc タンパク質は、Oct3/4、Sox2、Klf4 のその他のリプログラミング因子と同様に、iPS 細胞誘導に必須な因子の一つであると考えられていた。iPS 細胞作製技術の進歩に伴い、Myc 遺伝子を導入すること無しに、iPS 細胞が樹立できるようになった。但し、分化多能性を獲得した後に関しては、ごく最近まで、内在性の Myc 遺伝子は、Oct3/4 等と同様に、その分化多能性維持において必須な働きをしていると考えられていた。しかしながら、ES/iPS 細胞を基盤状態という培養条件に曝すことにより、Myc 活性が無くてもこれらの細胞の分化多能性を維持できることを見出した。この発見は、「分化多能性を維持する為に Myc 癌遺伝子のような危険な遺伝子に頼らざるをえないような ES/iPS 細胞は、元来危険な細胞である」という概念を払拭する成果であるとメディア等で大きく取り上げられた。

また、iPS 細胞誘導過程で生じる、リプログラミングが不十分な状態にある partial iPS 細胞を、真の iPS 細胞に変換する上で重要な働きをする遺伝子等の同定にも成功している。

課題名：「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（鳥取大学染色体工学研究センター 教授）

本研究では、1)遺伝子搭載サイズに制限がなく、自立複製するミニ染色体であるヒト人工染色体 (HAC) ベクターを用いて、がん化の危険性がない安全な患者由来 iPS 細胞を作製し、2)その iPS 細胞に、さらに①治療用遺伝子、②分化誘導用遺伝子、③分化細胞分取用遺伝子を搭載した HAC ベクターを導入し、遺伝子治療・再生医療に役立てることを目指す。

これまでに、HAC ベクターを用いて、以下の3つの研究を行った。(1)iPS 細胞誘導：初期化4因子および p53sh を搭載した HAC ベクターをマウス線維芽細胞およびヒト線維芽細胞へ導入することで iPS 様細胞を誘導し、さらに HAC (外来因子)がない iPS 細胞を誘導することに成功した。iPS 細胞の安全性を高めるために自殺遺伝子や免疫拒絶による除去システムを、HAC ベクターに搭載しているところである。(2) 膵β細胞への分化誘導過程のバイオイメージング：分化段階をモニターできるマルチカラー HAC ベクターを作製した。(3) iPS 細胞による筋ジストロフィーの遺伝子治療モデルの構

築:筋ジストロフィー患者及びモデルマウス由来の iPS 細胞に完全長ヒトジストロフィン遺伝子を搭載した HAC ベクターを移入することで欠損遺伝子を完全に修復し、筋組織や心筋等で組織特異的にジストロフィンを発現させることに成功した。

課題名:「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」

研究代表者: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)

本研究では、造血・免疫系をモデルとして、iPS 細胞を用いた細胞治療の有効性と安全性を検証し、それに基づいて iPS 細胞の形質を反映しうる分子マーカーの探索を試みる。この大きな目標に向け、①造血・免疫系細胞からのヒト iPS 細胞の誘導と遺伝子発現とエピゲノム状態のプロファイリング、②iPS 細胞からの造血系細胞への分化誘導、③マウス及びヒト iPS 細胞からの NKT 細胞の誘導系の標準化を行っている。

①マウス末梢リンパ球から iPS 細胞株を樹立し、その遺伝子発現プロファイルからリプログラミングに抵抗するエピジェネティック因子候補としてポリコーム群を抽出した。さらに、このポリコーム群をノックダウンするとリプログラミングは促進され、逆に、過剰に発現させると抑制されることを示した。さらに、ポリコーム群の標的遺伝子にリプログラミングの異常が顕われ易いことを示し、その原因が内因性コアサーキット樹立後の、iPS 細胞安定化のプロセスにあることを明らかにした。一方、ヒト末梢血リンパ球のリプログラミングの至適化も終了し、現在、それらの遺伝子発現プロファイルとエピゲノム状況の解析を行っている。

②ヒト T 細胞由来 iPS 細胞 (T-iPS 細胞) から T 細胞を分化誘導する培養系の開発を行った。臍帯血中および成人末梢血中の CD8T 細胞 (キラーT 細胞) から作製した複数のヒト T-iPS 細胞から DP 細胞を誘導し、再度 CD8 陽性 T 細胞へと誘導することに成功した。この系により、ヒトメラノーマ特異的キラーT 細胞から樹立した iPS 細胞を再分化させたところ、IFN γ の産生が認められた。すなわち、iPS 細胞技術を用いることにより、抗原特異的 T 細胞を大量に再生できることを示している。

③マウス iPS 細胞由来 NKT 細胞を用いたがん治療モデルの作出に成功し、iPS 細胞由来 NKT 細胞が、生体内でもアジュバント効果を発揮することを示した。また、NKT 細胞のサブクラスを特異的に誘導する技術開発に成功した。現在、NKT 細胞受容体を発現しうるヒト iPS 細胞の樹立を試みている。

課題名:「人工癌幹細胞を用いた分化制御異常解析と癌創薬研究」

研究代表者:佐谷 秀行 (慶應義塾大学医学部 教授)

本研究では、人工的に誘導した癌幹細胞 (iCSC) を用いて分化度とニッチ機能を定量化できるアッセイ系を構築し、それを制御できる化合物、抗体などを取得することを目指す。

遺伝子改変マウスにおいて発生した腫瘍あるいはマウス正常細胞から特定の遺伝子を用いて誘導した腫瘍を用い、その中に自己複製能と分化能と高い腫瘍形成能を有する癌幹細胞を同定・単離・増幅・維持することに成功した。これら iCSC を同系マウスに移植することによって成立した腫瘍は、ヒトの自然発生癌に酷似した病理像を呈し、その特性を解析することによって、癌幹細胞の治療抵抗性あるいは腫瘍形成能の基盤となる分子及び代謝特性を見出すことに成功した。さらに、それらの分子を標的とした治療薬の開発を行った。その結果、癌幹細胞の治療抵抗性が、細胞膜分子 CD44v とシスチントランスポーター xCT の相互作用に基づく抗酸化ストレス機能に基づく機構であることを見出し、xCT 阻害剤であるスルファサラジンが癌幹細胞を特異的に抑制することを明らかにし、平成 25 年から本薬剤を用いたヒト進行性胃癌に対する臨床試験を実施する予定である。また iCSC と iPS 細胞の類似点および相違点を明確にし、上記の癌幹細胞に対する特異的治療法が iPS 細胞の腫瘍化の予防や抑制に用いることができるかについて解析を行っている。

iCSC で培った技術と知識に基づき、iPS に正常な分化を遂げさせ、iPS からの腫瘍化を予防あるいは制御する戦略を提案することを本グループの研究のねらいとしている。

課題名：「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」

研究代表者：篠原 隆司（京都大学大学院医学研究科 教授）

精子幹細胞は遺伝子導入せずとも胚性幹細胞に匹敵する分化能力をもつ多能性幹細胞へと変化することができる細胞である。本研究では、培養精子幹細胞である germline stem (GS)細胞の医療応用が可能かどうかを明らかにするため、GS 細胞がどのようにして ES 細胞に匹敵する多能性を獲得するのかを理解し、その効率の改善を目指す。

まず、GS 細胞の過剰な増殖刺激が精巣由来多能性幹細胞である multipotent GS (mGS)細胞への転換を促進するという仮説をたて、GS 細胞の増殖を促進する分子の探索を行った。その結果、Rac1 の抑制体もしくは活性化した Ras 遺伝子を導入された GS 細胞は極めて高い増殖活性を示すことを見いだした。Rac1 分子を抑制した場合は幹細胞活性が低下していたが、活性化 Ras 遺伝子を導入された GS 細胞は外来の自己複製因子の添加がなくとも自律性に自己複製することを見いだした。さらに、この Ras による自己複製実験系を改善することにより、生殖細胞を試験管内で形質転換する方法を開発することに初めて成功した。形質転換された精原細胞は ES 細胞様のコロニーとなり増殖し、移植すると未分化な奇形種を含む混合胚細胞腫を形成した。

課題名：「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」

研究代表者：千住 寛（熊本大学大学院生命科学研究部 准教授）

本研究では、マウスおよびヒトの ES 細胞を用いたこれまでの研究の成果に基づき、

ヒト iPS 細胞から樹状細胞とマクロファージへの分化誘導技術の開発を目指す。

これまでに、ヒト iPS 細胞を樹状細胞 (iPS-DC) およびマクロファージ (iPS-MP) へ分化誘導する方法を開発した。さらに、ヒト iPS 細胞由来のミエロイド系血液細胞に、cMyc と BMI1 等を導入して、M-CSF 依存性に増殖する性質を有する細胞 (iPS-ML) を作成することにより、分化細胞の産生量 (収率) を飛躍的に向上させることに成功した。iPS-ML を GM-CSF と IL-4 の存在化で培養すると数日で樹状細胞 (iPS-ML-DC) へ分化する。

以上より、より少ない費用と労力で大量の分化細胞を得る手法を確立した。iPS-ML は、ヒト腫瘍細胞を移植した scid マウスに移入した場合、生体内に存在するマクロファージと同様に、腫瘍組織へ集積し浸潤する性質を有していた。また、ゼノグラフト腹膜播種モデルにおいて、抗 Her2/neu 抗体とインターフェロン β を同時に発現する iPS-ML を投与すると、胃癌および膵臓癌に対する増殖抑制効果が観察された。ZFN (Zinc Finger Nuclease) を用いてヒトの iPS 細胞において TAP2 の遺伝子を欠損させ、任意の HLA クラス I 分子のみを発現するヒト iPS 細胞を作成するシステムを樹立した。TAP の遺伝子を欠損させた iPS 細胞および分化細胞が、CD8T 細胞によるアロ免疫応答を回避できることを *in vitro* の実験系により確認した。

以上の結果は、1 株の TAP2 欠損 iPS 細胞から、HLA 型等に無関係にあらゆるがん患者に対して治療用細胞として使用可能な樹状細胞およびマクロファージを作製できることを意味する。

課題名：「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」

研究代表者：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 プロジェクトリーダー)

本研究では、iPS 細胞がなぜ 4 つの転写因子の発現で体細胞から誘導できるのかを解明することを目指す。

このため、まず iPS 細胞の原型である ES 細胞において、転写因子がどのようにして多能性を規定しているのかを解明する必要がある。これまでに、分化を抑制するサイトカイン LIF が、異なる細胞内シグナル伝達機構を介して、Klf4 や Tbx3 といった異なる転写因子を標的として、多能性を司る転写因子ネットワークに並列入力していることを明らかにした。また、多能性維持に関わる Wnt シグナルは、Esrrb の発現を活性化することにより、LIF シグナルと協調的に機能しうることを解明した。さらに、複数の転写因子を同時に機能喪失させた ES 細胞の解析から、転写因子の機能重複とネットワークの頑強性を区別し、より厳密なネットワーク構造の解明が進みつつある。一方、マウス ES 細胞とは異なる発生段階の多能性幹細胞である EpiSC の解析から、EpiSC が潜在的にはキメラ寄与能を有していることを明らかにした。また、多能性維持に最も重要な転写因子である Oct3/4 の機能が、ES 細胞と EpiSC では異なっていることも明らか

かにしつつある。また、薬剤誘導型 2 次 iPS 細胞誘導系を確立し、エピジェネティック因子と転写因子の協調作用を解明し、さらにはこの系を用いた遺伝子トラップによる初期化マーカーの検索も進行している。今後、これらのデータを用いた転写因子ネットワークのモデル化に取り組む。

課題名：「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（大阪大学大学院生命機能研究科 教授）

本研究では、現行のレトロウイルスベクターを用いた iPS 細胞樹立系の問題点を克服しインタクトな核型を備えた安全な iPS 細胞の樹立を目指す。

まず、loxP 配列を挿入したヒト人工染色体 (HAC) ベクターを構築した。この loxP 部位へ tTS 遺伝子 (tetR-SDkid) を組み込み、ドキシサイクリン依存的な HAC の自己脱落制御を可能にした。この自己脱落制御可能な HAC ベクターへ iPS 化に必要な遺伝子カセットを組み込み、iPS 細胞の誘導実験と HAC 脱落の条件検討を進めている。

また、細胞リプログラミング過程における核-細胞質間物質輸送制御のメカニズムを明らかにするために、Oct4 の輸送制御機構の解明、また、核輸送関連因子の細胞リプログラミング過程における発現制御、および、その役割の解析を進めている。これまでに Oct4 が核-細胞質間をシャトルする輸送因子であること、さらに、そのシャトリングのバランスを変化させた Oct4 変異体は未分化 ES 細胞維持の活性は有するが、その細胞リプログラミングにおける機能が顕著に低下していることが明らかになった。

これらのことから ES 細胞未分化維持に比べ体細胞リプログラミング過程ではより厳密な Oct4 の核-細胞質間輸送制御が必要であることが示唆されている。

課題名：「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」

研究代表者：井上 治久（京都大学 iPS 細胞研究所 准教授）

本研究では、疾患特異的 iPS 細胞を駆使して、世界規模で急務となっている筋萎縮性側索硬化症 (ALS)、アルツハイマー病 (AD) 等神経変性疾患制圧のための先駆的医療開発に資する基盤構築を目指す。

これまで、ALS、AD 等神経変性疾患患者 iPS 細胞の体系的樹立を進め、神経系譜に分化誘導することにより、*in vitro* で神経変性を生じる微小環境 (ニッチ) を再現する研究を推進した。さらにニッチのミスフォールドタンパク質モニタリングによる疾患予防法確立、遺伝学的解析によるニッチ制御分子同定と該分子機能のモデル動物での評価を試みている。具体的には、ALS 運動ニューロンの解析により、ミスフォールドタンパク質蓄積から RNA 代謝攪乱に至る病態の一旦を明らかにした。家族性および孤発性 AD 神経系細胞におけるアミロイドβペプチド (Aβ) の解析を行い、治療薬評価基盤確立に成功した。さらに iPS 細胞を用いた治療用細胞ベクターを作製し、ポジトロン断層撮影による生体内イメージングに成功した。

これらの研究成果により、現在、神経変性疾患制圧のために最も重要とされる『早期診断・早期治療』をより発展させた個別化予防医療の開発が可能になると考える。

課題名：「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」

研究代表者：江良 択実（熊本大学発生医学研究所 教授）

本研究では、ES/iPS細胞を用いて間葉系幹細胞（MSC）・造血幹細胞・腎臓前駆細胞の分化経路を明らかにし、誘導方法の確立を目指す。さらに、エピゲノム解析を行ない、幹細胞の分化、増殖の分子機構を解明する。

MSCの研究では、ヒトiPS細胞を用いて、中胚葉系細胞からの分化経路と神経上皮系細胞からの分化経路を明らかとし、それぞれの分化誘導の条件を確立した。さらにこの技術を利用して疾患の治療薬候補を同定し、治療方法の基盤的コンセプトを提案した。腎臓前駆細胞研究では、マーカー分子を可視化したマウス胚から試験管内でコロニー形成能を有する後腎ネフロン前駆細胞を分離、誘導することに成功した。これら各細胞の誘導法を確立することがお互いの誘導技術を高め、研究を進める成果につながった。

エピゲノム解析では、iPS細胞の細胞核構造（特異なPMLボディー等）を同定するとともに、染色体コンフォメーションキャプチャー法にて、INK4/ARF遺伝子座では、クロマチン因子CTCFによる転写抑制型のクロマチンループ形成が特徴であることを明らかにした。これらは幹細胞の特徴の理解においてチーム全体に貢献した。

課題名：「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」

研究代表者：斎藤 通紀（京都大学大学院医学研究科 教授）

本研究では、生殖細胞の初期発生過程に随伴するゲノムリプログラミングの本態を高い解像度で解明し、それを引き起こす必要十分な分子機構の同定を目指す。

生体における秩序だったゲノムリプログラミング過程を内包する生殖系列発生機構の研究は、iPS細胞誘導機構の研究を相補し、両機構の解明は、細胞の運命決定・機能維持機構解明において高い相乗効果を生み出し、再生医療の実現に貢献すると考えられる。これまでに、マウスES細胞及びiPS細胞から、始原生殖細胞様細胞を誘導し、その細胞を精巣に移植することにより、健全な精子、さらには子孫を作成することに成功した。

このように多量の始原生殖細胞様細胞を*in vitro*で作成出来るようになったことは、ゲノムリプログラミング機構解明の重要な基盤となる。

課題名：「生理的細胞リプログラミング機構の解明とその応用」

研究代表者：高倉 伸幸（大阪大学微生物病研究所 教授）

本研究プロジェクトでは、人工的ではなく、生理的に生じる終末分化細胞の幹細胞化現象の分子機構を解明することにより、より自然な組織再生の方法論を獲得することを

目指す。

対象としては、既存の血管に存在する血管内皮幹細胞である。この細胞は胎児期には存在せず、出生後に出現することから、成熟した内皮細胞からリプログラミングによって誘導されてくる可能性がある。この血管内皮幹細胞を、DNA dye 排出能が高い side population (SP) 細胞として単離した。この SP 細胞の幹細胞性を細胞周期、増殖活性、前駆細胞産生能、組織構築能により証明した。移植した内皮細胞が長期に維持されるシステムを構築しなければ、成熟内皮細胞の幹細胞化の現象の解析が困難と考え、肝障害モデルに着手した。内皮幹細胞移植により、これらの細胞は肝臓内で血管再生に貢献し、さらにその肝臓から元々移植した幹細胞を回収して再移植可能なモデルを構築した。現在終末分化した内皮細胞の内皮幹細胞化について解析を行っている。

また、リプログラミングを生じさせる際に重要な細胞周期の回復については、幹細胞特異的 DNA 複製因子である GINS 複合体の中の PSF1 遺伝子のプロモーター活性を上昇させる成長因子の同定に向け、PSF1 プロモーター領域に結合する E2F ファミリーの重要性が示唆されつつある。

課題名：「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」

研究代表者：高橋 淑子（京都大学大学院理学研究科 教授）

細胞分化リプログラミングの人工操作法の技術開発は、今後の再生医療の基盤である。そのためには、分化のリプログラミングや可塑性の本質的な理解が不可欠である。本研究では、神経堤細胞（Neural Crest 細胞：NC 細胞）をモデルとして細胞の分化制御機構を明らかにし、その理解をとおして生体内における細胞リプログラミング技術に貢献することを目指す。

NC 細胞が胚内を長距離にわたって移動する際、細胞は刻々と変化する周辺環境からのシグナルを受け、その結果として時空間的に正しい形態形成を遂げる。これまでに、NC 細胞の初期分化に関わる遺伝子の網羅的検索、NC 細胞の胚内移動に関わる分子制御機構の解明、Jmjd3 に代表されるエピジェネティック因子による細胞リプログラミング効果の増強、そして分化可塑性に関わる新たな Ca²⁺シグナリング等を見出している。*in vitro* 条件下で、繊維芽細胞から NC 細胞へと分化誘導させる技術の萌芽も見え始めてきた。また本ヒトやサルやブタの iPS 細胞を初期状態にもちこみ、高品質化を図る研究を進める中で、尾芽領域における神経系形成である Secondary Neurulation (SN) に関しても新たな知見が得られ、SN 細胞が幹細胞として働く可能性が強まった。

課題名：「組織幹細胞／前駆細胞を誘導するディレクトトプログラミング技術の開発」

研究代表者：妻木 範行（京都大学 iPS 細胞研究所 教授）

軟骨は、骨の端を覆って関節面を構成し、滑らかな関節運動を担っている。軟骨は治療能力に乏しく、損傷や変性を受けると自然治癒しない。よって、再生医療による治療

方法の開発が期待されている。そこで本研究では、軟骨細胞を供給するソースとして、患者の皮膚線維芽細胞を軟骨細胞に直接リプログラミングして供する手段を開発する。

軟骨レポータートランスジェニックマウスを作り、その皮膚線維芽細胞培養に種々の候補因子を組み合わせて導入し、軟骨細胞様細胞を出現させることを試みる。次いで、ヒト細胞でも誘導を試みる。マウス皮膚線維芽細胞に、2つのリプログラミング因子(c-Myc, Klf4)と1つの軟骨因子(SOX9)を導入することで軟骨細胞様細胞を直接誘導できることを発見した。直接誘導した細胞は、ヌードマウスの皮下に軟骨組織を作り、ヌードラットの関節軟骨欠損部を軟骨組織で埋めることができた。Nanog レポーターをタイムラプス観察することにより、この誘導過程では多能性の状態を経ないことが判明した。今後、安全な軟骨細胞様細胞の誘導と、細胞の軟骨形質を誘導・維持しうる新たな遺伝子と化合物の探索を行う。

課題名：「細胞リプログラミングと分化における転写調節機構」

研究代表者：西田 栄介（京都大学大学院生命科学研究科 教授）

本研究では、iPS細胞へのリプログラミング過程および各種細胞への分化過程を、転写調節機構に注目して解析し、細胞リプログラミングと細胞分化の完全な分子機序解明を目指す。

これまでに、リプログラミング過程の遺伝子発現パターンを網羅的に解析し、遺伝子発現変動を制御する転写因子およびリプログラミング過程のマーカーとなる候補遺伝子群を同定した。また、スプライシングバリエーションの網羅的解析から、リプログラミング過程でスプライシングパターンが切り替わる遺伝子群が存在することを明らかにした。一方、分化過程における解析では、筋芽細胞の融合過程において、ERK5 MAPキナーゼ/Sp1/Klf2&4というシグナル伝達経路が重要であることを明らかにした。さらに、腸上皮組織のホメオスタシス維持の機構に関連して、幹細胞・前駆細胞の増殖と杯細胞への分化を制御する機構を解析し、新規転写因子が関与することを見出した。

課題名：「直接リプログラミングによる心筋細胞誘導の確立と臨床への応用」

研究代表者：家田 真樹（慶應義塾大学医学部 特任講師）

心臓病は死亡原因の上位を占め、心臓再生医療等、新しい治療法が開発が期待されている。本研究では、心臓内の線維芽細胞を、幹細胞を介さないで直接心筋細胞に分化転換する技術の開発、およびその臨床応用に必要な研究を行う。

マウス培養細胞に心筋リプログラミング因子(Gata4, Mef2c, Tbx5)を同時導入することで線維芽細胞から心筋細胞へ直接分化転換できることを確認した。今後の主な目的は①ヒト心臓線維芽細胞から直接リプログラミングによる心筋細胞誘導の系を確立、②マウス心筋梗塞モデルで生体内での線維芽細胞から心筋細胞への直接分化転換の至適条件の検討、有効性検証を行なう。①に関してはこれまでにヒト心臓線維芽細胞の培養に

成功し 80%以上の細胞に遺伝子導入する方法を確立した。当初マウスで使用した 3 因子 (Gata4, Mef2c, Tbx5) により心筋リプログラミングを行ったが十分な心筋誘導が見られず、現在他の因子を用いて心筋リプログラミングを行っている。②に関してはマウス心筋梗塞モデルで心筋リプログラミング因子(Gata4, Mef2c, Tbx5)を導入すると、2-4 週間で生体内で新生心筋を直接作製できる事を確認した。さらに心筋誘導を改善するために新しいポリシストロニックベクターを開発し、これにより心筋リプログラミング効果は 2 倍に改善する事を確認した。ポリシストロニックベクター使用による生体内直接リプログラミングの研究結果は世界初であり論文として発表した。

課題名：「iPS 細胞を用いた造血器腫瘍の病態解明と治療法の探索」

研究代表者：黒川 峰夫（東京大学大学院医学系研究科 教授）

本研究では、従来十分な数を得ることが難しかった患者由来の白血病細胞を iPS 細胞化し、必要に応じて増幅・利用可能で、がん研究に広く活用できる生きた疾患細胞バンクの実現を目指し、様々な造血器腫瘍のヒト検体より iPS 細胞の作製を試みる。

現在までに、慢性骨髄性白血病(chronic myeloid leukemia: CML)患者の腫瘍細胞よりレトロウイルスを用いて iPS 細胞の樹立に成功した (CML-iPS 細胞)。CML-iPS 細胞は BCR-ABL を発現しているが、ABL 阻害薬であるイマチニブに対し耐性を示した。しかし再度血球へ分化させた場合、原病と同様にイマチニブに対する感受性が回復した。CML-iPS 細胞ではイマチニブ投与により RAS-MAPK、PI3K-AKT 等の生存シグナルが低下せず、イマチニブに対する耐性を獲得していると考えられた。また CML-iPS 細胞由来の血液細胞の中で最も未分化な分画はイマチニブに対する抵抗性を示し、CML 幹細胞の病態解析に使用できる可能性を示した。

その他、原発性骨髄線維症等の骨髄増殖性腫瘍や慢性骨髄単球性白血病の腫瘍細胞や RUNX1 遺伝子変異を持つ家族性血小板異常症患者の皮膚より iPS 細胞の樹立し、それらの病態解析を行っている。また、レトロウイルスにより外来遺伝子がゲノムに挿入されることを回避するために、センダイウイルスベクターやエピゾーマルベクターを用いて腫瘍細胞からの iPS 細胞の作製を試み、樹立に成功した。

課題名：「ヒト iPS 細胞の高品質化とその検証・応用」

研究代表者：花園 豊（自治医科大学分子病態治療研究センター 教授）

本研究では、ヒトやサルやブタの iPS 細胞を初期状態にもちこみ、高品質化を図ることを目指す。

現在、我が国で樹立されているヒト iPS 細胞はプライム型と呼ばれ、マウス iPS 細胞(ナイーブ型)と異なり初期状態を脱している。①安定なナイーブ型ヒト iPS 細胞はこれまで報告がなく、その樹立が望まれている。また、②ヒト iPS 細胞の臨床応用には、その有効性と安全性を検証できる大型動物実験系が必須である。

①に対してまずブタ iPS 細胞でナイーブ型を樹立した。ナイーブ型はキメラ形成能で特徴づけられる。実際、ブタ iPS 細胞は、蛍光標識した上でブタ初期胚に注入すると、蛍光を発するキメラ胎仔を形成した。また、ナイーブ型を選別するための、DNA メチル化によるプレスクリーニング系を構築した。これらを踏まえ、今後、ナイーブ型のサル・ヒト iPS 細胞を樹立する。なお、初期胚の凍結技術に関して、極めて効率的な中空系ガラス化法を開発した。

②に対して、ヒツジ胎仔にヒト造血幹細胞を移植して、ヒト造血細胞をもつヒツジが生まれた。また、ZFN 法と核移植技術を用いて免疫不全(SCID)ブタ作製に着手した。今後、これら大型動物の系でヒト iPS 細胞の造血幹細胞分化の *in vivo* 評価を実施する。

課題名：「肝分化指向性 iPS 細胞からの高機能性肝組織の構築

研究代表者：宮島 篤（東京大学分子細胞生物学研究所 教授）

本研究では、肝疾患の発症メカニズムの解明や創薬研究等に利用可能な多様な機能を備えた肝組織をヒト iPS 細胞から *in vitro* で再構築することを目指す。

生体肝臓から分離した肝細胞の機能を *in vitro* で維持することができないことから、肝機能の高発現の達成には肝細胞のみならず肝非実質細胞を含んだ肝組織の再構成が必要である。また、実用化を視野に入れると大量調製が可能な培養系が望まれる。これまでにマウス胎児肝臓中の肝芽細胞は分化能を維持したまま継代培養可能であることを示してきた。そこで、ヒト iPS 細胞から肝芽細胞を分化誘導し、それを純化・増幅した後に機能的肝細胞へと分化成熟させるという 2 段階の分化誘導法の確立を試みている。現在までに、表面抗原の発現を指標に肝芽細胞を純化して、肝細胞への分化能を維持したまま細胞を増幅する培養系の樹立に成功した。さらに、内胚葉分化に働く可能性のある miRNA を複数同定するとともに miR148a が未分化肝細胞の分化成熟を促進することを見いだした。また、酸素透過性材料を用いる培養系にて、ラット肝細胞および内皮細胞やマトリクスを用いた疑似三次元的共培養系の確立を行っている。今後は、こうして開発されたシステムを統合して高機能肝組織の構築を目指す。

課題名：「iPS 細胞による肝臓ヒト化モデルの構築と治療実験」

研究代表者：山村 研一（熊本大学生命資源研究・支援センター 教授）

本研究では、ヒト iPS 細胞から誘導したヒト肝細胞の有用性と安全性を検証するため肝臓をヒト化したマウスモデルを構築すること、肝臓の遺伝病に対して有効で簡便な治療法を開発することを目指す。

まず、肝臓が 100%ヒト化したマウスを作製するため、移植したヒト肝細胞が生着可能な「ヒト化最適マウス」を確立する。これまでに、ヒト肝細胞の移植時の拒絶反応を回避するため免疫不全マウスから樹立した ES 細胞に、肝細胞のみでジフテリア毒素を発現することができる遺伝子を導入し、ヒト化に最適な遺伝子改変マウスを作製してい

る。また、ヒト iPS 細胞から誘導したヒト肝細胞の移植法の検討を進め、マウスにて胎児期に羊膜上の血管からメラノーマ細胞を移植し、生後 10 日の仔マウス肝臓でメラノーマの生着・増殖が起こることを確認した。

さらに、家族性アミロイドポリニューロパチーおよびプロピオン酸血症の患者の線維芽細胞から、iPS 細胞を樹立した。FAP 患者 iPS 細胞からの肝臓分化を行ない、肝臓細胞マーカーである ALB および患者由来の変異トランスサイレチンの発現を確認した。

課題名：「核エピゲノムとミトコンドリアゲノムの化学的制御とその応用」

研究代表者：吉田 稔 (独)理化学研究所基幹研究所ケミカルゲノミクス研究グループグループディレクター)

本研究では、(1) エピゲノム制御の中心を担い、iPS 細胞の誘導と分化に関わるヒストン修飾酵素阻害剤の探索、(2) 酵母をモデルとしたミトコンドリアゲノムリプログラム機構の解析、(3) ミトコンドリア病治療を目指した患者由来細胞の iPS 細胞作成とミトコンドリア機能解析を目指す。

(1) ヒストン修飾酵素 (G9a、Set7/9、SIRT1) あるいはタンパク質 SUMO 化を触媒する酵素群について阻害剤探索を行い、複数の活性化合物の同定に成功した。さらに、細胞内でのヒストン修飾酵素阻害剤の効果をリアルタイムに評価するために、ヒストン H4K12 のアセチル化およびヒストン H3K9 のメチル化を特異的に検出する蛍光プローブの開発に成功した。また、マウス胚性幹細胞の自己複製を促進する化合物を複数取得した。(2) 酵母において変異型ミトコンドリア DNA(mtDNA)の混在によるヘテロプラスミーがホモプラスミーへ変換される機構を解析し、ミトコンドリア融合が ROS による組換え依存型複製を活性化すること、ミトコンドリア分裂タンパク質活性を阻害することがホモプラスミーの形成を速めることを明らかにした。一方、細胞周期チェックポイントの活性化がヘテロプラスミー形成を促進することを見いだした。iPS 細胞のミトコンドリアが分化細胞のミトコンドリアとはあらゆる点で異なる性質 (形態、機能、mtDNA 挙動等) を示し、ES 細胞のミトコンドリアに酷似していることを明らかにした。

今後は、種々の mtDNA 変異を有するミトコンドリア病患者由来細胞から樹立した疾患特異的 iPS 細胞を用い、ミトコンドリアゲノムの動態変化を分化段階に応じて解析することでミトコンドリア病の病態発症機構の全容解明を目指すとともに、化合物を用いた人為的なミトコンドリアのリプログラム法を確立する。

7. 総合所見

研究領域のマネジメント及び創出される成果の見通し

当領域では、iPS 細胞をひとつの概念あるいは技術とすることで、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を開拓することを目標とし、ヒト iPS 細胞の創出に続く新しいパラダイムを切り拓く本格的かつ挑戦的な研究提案を公募した。採択された課題は、リプログラミング機構の解明、人工染色体の技術応用、より初期化状態に近い iPS 細胞作製の検証、iPS 細胞に関連の強い幹細胞研究、モデル動物の創出、ディレクトドリプログラミングの技術開発、病態解明や予防医療への応用可能性検討等を含む多様な研究となり、当初のねらいをほぼ満たすことができたことと認識している。採択された課題は、いずれも学術的に見て極めて高いレベルのもので、且つ5年という短期間での目標達成が見込まれ、将来的に医療につながる基盤技術の創出に資するものであった。

領域運営においては、領域ミーティングやサイトビジット、課題評価等の機会を通じて各課題の進捗状況の適切な把握と最適化を行ってきた。特に、1期生には iPS 細胞に対する知見が非常に少ない中で始まった課題も多く、必ずしも当初の計画通りに進まない場合もあった。当初計画からテーマの拡散が見られた課題、好ましくない方向へ進み始めた課題については軌道修正をしつつも、各チームの自主性を尊重し個々の課題の目標が達成されるよう助言を行ってきた。

領域設定当初は、細胞の初期化はヒト線維芽細胞に4つの遺伝子を導入すると0.1%弱の細胞が多能性を獲得するという発見であった。それからわずか5年足らずで、初期化における細胞内での様々な遺伝子の発現状態、初期化因子のネットワーク等の理解が進み、正しい知見に基づくウィルスベクターの構成や種類の検討、導入する遺伝子の検討、化合物の併用等の様々な試みにより飛躍的に効率が上昇し、線維芽細胞だけでなく血液細胞や肝臓、がん細胞等様々な細胞から iPS 細胞を誘導できるようになった。分化誘導についても、単に分化できる／できないという議論を超え、由来細胞による分化傾向が明らかになり、その原因となるエピゲノム修飾等との関連性に基づいた因子のスクリーニングも進んだ。

当領域からも、これまでに305報の論文が学術誌に掲載された他、506件（うち179件が国際学会）を超える招待講演を受ける等、数多くの成果が創出されている。

掲載誌の内訳としては、国際的に評価されているトップレベルの学術誌である Nature、Cell、Science 誌にそれぞれ2報づつ、Cell Stem Cell 誌に10報を始め、特にインパクトが高いとされる学術誌に計34報の論文が掲載された。掲載誌の分野も広く、PLoS One、PNAS などの一般誌を始め、分子細胞生物学分野では EMBO J. や JBC、MCB、幹細胞関連分野では Cell Stem Cell や Stem Cells、Development、その他 Blood や Exp. Hematol、Cancer Sci のような各領域の専門誌への成果発表が行われた(表1)。

表 1：研究成果の学術誌等への掲載数（左：高インパクト誌、右：掲載数上位）

掲載誌	IF(2011)	掲載数	掲載数上位10誌	掲載数
Nature	36.28	2	PLoS One.	27
Cell	32.403	2	Blood.	15
Science	31.201	2	Development	13
Cancer Cell	26.566	2	Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.	12
Cell Stem Cell	25.421	10	Biochem. Biophys. Res. Co.	11
Nat. Biotechnol.	23.268	1	Biol.Reprod.	11
Nat. Methods	19.276	1	Cell Stem Cell	10
Dev. Cell	14.03	3	EMBO J.	8
J. Exp. Med.	13.853	3	J. Biol. Chem.	8
Genome Res.	13.608	1	Cancer Sci.	6
Cell Host Microbe	13.5	1	Exp. Hematol.	6
J. Clin. Invest.	13.069	3	Mol. Biol. Cell	6
Hepatology	11.665	1	Stem Cells	6
PLoS. Biol.	11.452	1		
J. Cell Biol.	10.264	1		

また、国際招待講演 179 件のうち約 2/3 は海外での講演であり、招待国は米国、アジア、EU と幅広く、日本の研究成果が世界からいかに注目されているかを示している。主な会議としては幹細胞研究関係では世界最大級の国際幹細胞学会 (ISSCR) や、コールドスプリングハーバー主催シンポジウム、Keystone ミーティング、ゴードンカンファレンス、EMBO ミーティング等があげられる。

また、前述の通り生体における疾患の発症、薬剤抵抗性等の分子機構に基づく複数の創薬シーズも発見され、各課題における研究基盤が固まった今後、更なる成果の創出も期待できる。研究成果に関連して特許出願も積極的に行われている。現在までに、国内出願 21 件、海外出願 15 件の出願が行われており、課題評価会に J S T 知的財産戦略センターより専門家が同席するなど、今後とも知的財産の確保について取り組みを進めていく。

これらの成果に関連したプレス発表は各種メディアにより取り上げられた他、JST News 等の広報誌、公開シンポジウム、メディア向け講演、研究代表者らによるアウトリーチ活動等により社会に向けても発信されている。

領域の意義と波及効果

当領域は、J S T の「iPS 細胞等の細胞リプログラミングによる幹細胞研究戦略事業プログラム」の一環として、幹細胞関連分野の研究の一層の促進を目的として設定された。国内では殆ど iPS 研究を行っている研究者がいない中、迅速な取り組みにより当領域を設定し、周辺分野の研究者を当該分野に呼び込むことに成功した。その結果、全 23 課題における大学院生等を含めた研究参加者規模は 600 名を超え、国内最大規模の iPS 細胞関連支援となり iPS 細胞研究の裾野の拡大に貢献した。昨年 6 月に横浜で行わ

れた国際幹細胞学会第10回年次大会（ISSCR2012）においては、当領域の若手関係者からも口頭発表があり、また当領域関係者より多くのポスター発表がなされたことから、若手の育成にも一定の貢献を果たしている。

また、当領域には様々な分野から研究者が集まったことから、領域ミーティング等を通じてCRESTに参加することによって初めて出会う分野の研究者との交流がはかられた。こうしたiPS細胞研究をきっかけにした異分野融合により、新しい着想、発見、協調が生まれたことは当領域の大きな成果である。今後、再生医療の実現に向けたiPS細胞研究にはまだまだ多くの解明すべき生体のメカニズムがあり、また検討すべき安全性や倫理面、コスト面での問題等があり、学際領域からだけでなく産業界も含めた様々な分野からの参入と協調が期待される。

当領域にて、ES/iPS細胞をからの生殖始原細胞及び精子の作製に成功し国際的に高い評価を受けた京都大学斎藤教授らのチームは、平成23年度にJST戦略的創造研究推進事業ERATOに採択され、同年をもって当領域での研究を終了した。そして、ERATOに移行した後、精子形成に用いたものと同様の手法により卵子の形成に成功し、Science誌のBreakthrough of the Year 2012に選出される等、当領域で創出された技術の芽は、次世代の研究へと繋がっている。

領域設定より約5年が経過し、このような優れた研究成果の創出だけでなく、他分野、関連研究への波及的な効果も鑑みれば、戦略目標に示されたiPS細胞研究への迅速な取り組みに対しては、十分にその責務を果たしたといえる。

今後の展望

当領域では、細胞が初期化される過程及び発生・分化し機能を持つ過程を分子レベルで解明することで、初期化技術の高度化・簡便化あるいは疾患の発症機構の解明等の医療応用に向けた幅広く利用可能な技術基盤につなげることを目指している。今後の展開として、如何にして医療基盤技術へつなげていくかを考える時期に来ており、再生医療への期待が高まっているが、当領域においては拙速に臨床研究に移行するのではなく、まずは基盤となる知見を創出するための基礎研究をしっかりと進めたい。また今後は、iPS細胞を使って既知の事実を追試するのではなく、新しい現象、新しい物質、新しいメカニズムといった新規性の高いものを発見するような研究に積極的に取り組んでいきたい。臨床応用が期待される分野であるが、単に研究がモデル実験に終わることのないように心がける。ヒト細胞移植の場合、細胞の数、安全性、作製にかかるコスト等を厳しく検討する必要がある。さらには、既存の治療に対して十分に競争力のあるものであるか否かを専門家間で議論していく。

また、領域も半ばを折り返し成果が創出される時期に来ており、今後はこれまでの課題間、他分野の研究間の連携を誘発するような領域全体でのミーティングの他、疾患や臓器等に標的を絞った専門的な議論を深めるような試みを行っていきたい。そして、

様々な研究成果が医療に向かっていく中で、生命倫理の問題や再生医療の実現性等、研究の方向性を根本的に議論していく必要もある。特に、成果の社会への発信に際しては、社会に与えるインパクトが非常に大きいことから、過度の期待、誤解を招くことの無いよう細心の注意を払い、正確情報発信を行うことが重要と考えている。

最後に、当領域の1期生も来年度をもって研究終了となる。ここまで多くの非常に重要な基盤研究の成果が創出されており、今後の展開に期待がかかる。一方、幹細胞分野においては多くの研究費が措置されているものの、CRESTのように初期化・分化誘導の原理を解明するような基礎基盤的な研究を支援する制度がない。このため、当領域から創出された成果を継続して発展させる、iPS細胞に限定されない多様な幹細胞研究を対象とした領域が今後設定されていくことを期待する。また、技術開発に重点がおかれる傾向があるが、iPS細胞研究の実用化までにはさらに長期の時間が必要であり、基礎科学に関心を持った若手の育成が重要である。

以上