

特集

再生医療研究の最前線

医療の未来を切り開く細胞リプログラミング技術の新展開

病気やけがで失った体の組織や機能を取り戻す再生医療の新たな切り札として、世界中が注目しているのが、人工多能性幹細胞（iPS細胞）をはじめとした細胞リプログラミング技術の開発とその医療応用の実現だ。

皮膚や筋肉に分化し、それぞれの機能を獲得している体細胞を、人の手で初期化や転換させる細胞リプログラミング研究に躍進をもたらしたのは、2007年、京都大学・山中伸弥教授らによるヒトiPS細胞の樹立であった。山中教授が、1962年に世界で初めて人工的リプログラミングを成功させたケンブリッジ大学のジョン・ガードン教授とともに、ノーベル生理学・医学賞を受賞して1年。激しい国際競争が繰り広げられるなかで、再生医療研究は大きな進展を遂げようとしている。

この特集では、細胞リプログラミング研究の最新成果として、いよいよ始まろうとしている臨床研究を裏打ちする安全性評価の取り組みのほか、iPS細胞からの立体構造をもった臓器づくり、心臓内の細胞のリプログラミングによる心筋細胞の再生、という3つの研究を訪ねた。

● 臨床応用目前、正念場を迎えたiPS細胞の安全性研究 国際的なルール作りへの貢献を目指して

iPS細胞を治療に応用する臨床研究計画が今年7月、厚生労働省に承認された。いよいよ世界で初めて、iPS細胞から分化させた細胞のひとへの移植が始まる。実際の治療に用いるにはさらに長い時間がかかるが、異例のスピードで臨床研究スタートにまでこぎつけた。ひとを相手にする場合、移植の安全性が厳しく問われる。先端医療振興財団の川真田伸副事業統括が受け持つ安全性評価の研究も正念場を迎えた。

臨床研究を保証する 安全性研究

一般の治療薬などは、事前に安全性や有効性を十分検査した上で、人体に投与する臨床研究へと進める。しかし誕生してわずか数年のiPS細胞は、これまでの検査項目だけで安全かどうかを推し量ることはできない。例えば、分化していない細胞が混入して別の細胞になることで、がんになってしまう危険がある。このような安全性の確認は、ほとんど手つかずだった。先輩格の胚性幹細胞（ES細胞）



iPS細胞の安全性・有効性の科学的な検証に取り組む川真田さん（左）らのグループ。

やほかの幹細胞についても、細胞治療の安全性を確保するためのガイドラインは、まだ世界のどこにもない。何を基準にして「安全」と判断してよいのかさえ明確でない「原野」の状態なのだ。

再生医療を進めるには、安全性や有効性を科学的に検証し、かかわるすべての研究機関や医療機関が遵守すべきガイドラインを作らなければならない。日本が先駆けようとしているiPS細胞による治療は、どのように進めようとしているのか、

という点で世界の研究者から注目を集めているのだ。

川真田さんは、「世界で1番先かどうかよりも、臨床に入る前にどのようなデータをどれだけ積み重ねて世界に提供できるかが、私たち日本人にできる最大の貢献」と考えている。

iPS細胞を利用する世界初の臨床研究を目指す理化学研究所の高橋政代プロジェクトリーダーらのチームは、網膜の色素上皮細胞を移植する加齢黄斑変性症の

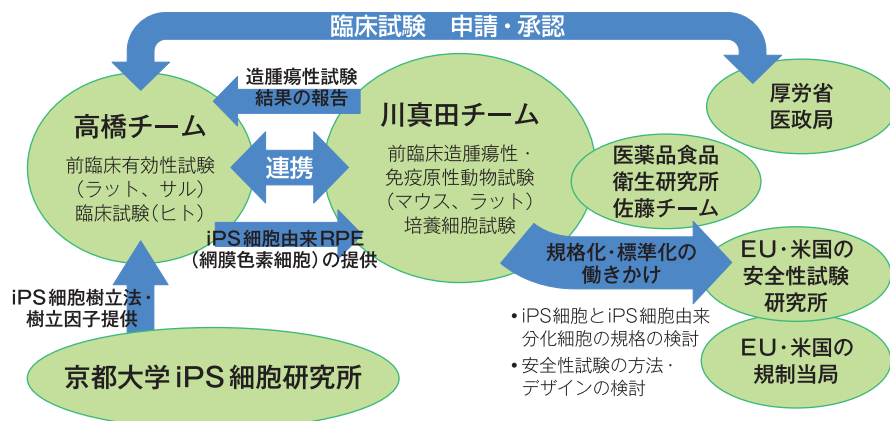
治療（p.5下図参照）に挑戦している。川真田さんは、このチームと連携して安全性評価を担当することになった（右図）。

こうした臨床研究を実施するには、厚生労働省の審査委員会の承認を得ることが必要だ。川真田さんは、この研究の中心地、山中さんのいる京都大学iPS細胞研究所と協力して、iPS細胞から分化させた色素上皮細胞の安全性の確認を続け、ようやく承認にこぎつけた。

「iPS細胞やES細胞といった多能性幹細胞による治療は、まだ本格的に行われてはいません。細胞を移植したときのがん化（腫瘍化）の可能性については、まだよくわかっていないことがいくつもあります。多能性幹細胞を使う治療で、最も危惧されているのが腫瘍化です。私たちは、iPS細胞から作製した細胞が生体内で腫瘍をつくらないことを、どうしたら保証できるのかを考えながら研究を進めてきました」と振り返る。

つくり方で品質に差が生まれる

再生医療を臨床へ応用する試みは、海外でも熱心に行われている。欧米ではiPS細胞よりも歴史の長いES細胞による



川真田さんのチームでは、iPS細胞由来の移植細胞による臨床研究を開始するための安全性の評価を担当している。また、多能性幹細胞を利用する治療法の規格化・標準化を目指して国内外の関係機関に働きかけている。

研究の方が盛んだ。だがES細胞は、人間に成長するはずの初期胚を壊してつくるという倫理的問題が足かせとなっていた。iPS細胞はそうした問題はないが、新たな難しい問題を引き起こすことがわかってきた。

「iPS細胞は、皮膚や筋肉の細胞から多能性幹細胞をつくれるという点で画期的ですが、裏を返せばさまざまな細胞を材料にできてしまうのです。これは大きな長所ですが、つくり方によって、できあがった細胞の品質に大きな差が出ることがわかってきたため、医療応用においては早急に解決しなければいけない問題となっています」と言う。

例えて言うと、体細胞はきれいに折りあがった折り紙のようなものだ。皮膚や神経など、どのような細胞になったかで、ついている折り目が違う。また、同じ組織の細胞でも、子どもと老人では、折り目の状態に変化が生じる。iPS細胞は、その折

り目をアイロンで伸ばし、元の四角い折り紙に近い状態にしたものなのだ。しかも、導入する遺伝子や、導入方法を変えるだけで、アイロンのかかり方も変わってしまう。どれも同じiPS細胞に見えても、ちょっとした違いで、残っている折り目に違いが生じて、iPS細胞の品質にばらつきが出てしまう。

今回の試験で、川真田さんたちのグループは臨床研究を見越して、山中さんの研究所で作製したiPS細胞を使うことにした。ところがそのiPS細胞は、送られてくるたびに作製法が変更されているといっても過言ではなかったという。

「私たちは、臨床研究で使うものと同じもので試験しないといけなかったため、その都度初めから試験をやり直しました。その結果、初めのiPS細胞の規格や、分化させた後の網膜色素上皮細胞の規格が同一でも、iPS細胞のわずかな出自の違いで、分化させる過程で出てくるたんぱく質や分化しかけの細胞（中間体）の性質が異なり、問題を引き起こすケースもあることがわかったのです」

細胞のリセットの仕方によって分化の道筋が違ってくる。安全性の検証は実用化の研究であると同時に、まるでiPS細胞の秘密に迫るような基礎研究の重さを持っていた。

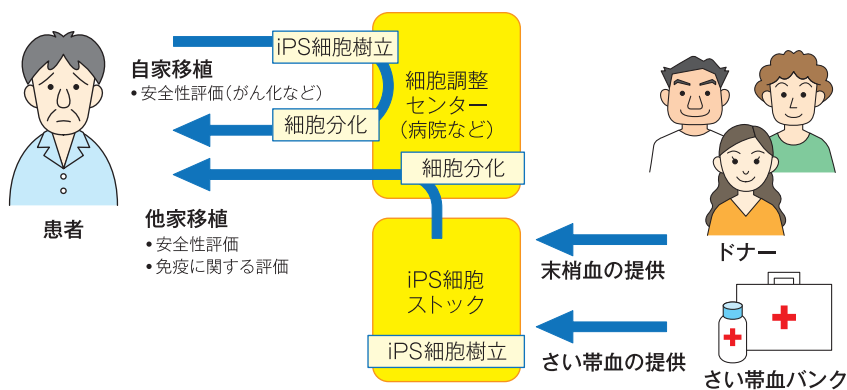
わずかな違いがもたらす変化を精査することで、iPS細胞の分化のメカニズムを解明できる。そこからiPS細胞の樹立や分化方法に関するガイドラインの基準もできるにちがいないと、川真田さんは考えている。



川真田 伸 かわまた・しん

先端医療振興財団 細胞療法開発事業部門
副事業統括（再生医療、血液分化）

1981年京都大学理学部物理学科卒業、90年神戸大学医学部卒業、98年京都大学大学院医学研究科（病理系）修了。医学博士。91年和歌山赤十字病院（血液内科）、98～2001年米国システミックス社、スタンフォード大学医学部（博士研究員）を経て、02年に先端医療振興財団先端医療センター研究所主任研究員。12年より現職。東北大学医学部客員教授、神戸大学医学部非常勤講師、京都大学iPS細胞研究所サイエンスアドバイザーを兼務。



iPS細胞は準備に時間がかかるため、移植用の細胞を備蓄するiPS細胞ストックを山中さんが構築中だ。ストックが実現すると、患者とは異なるドナーの細胞からつくった治療用の細胞を移植することになるため、免疫による拒絶反応への対応が必要になる。川真田さんのチームは今後、免疫についての試験も実施予定だ。

安全基準づくりで世界に貢献を

臨床試験用のiPS細胞は、作製するのに3カ月、さらに目的の細胞に分化させるのに9カ月と、準備に1年ほどの時間をかけている。これだけ時間をかけても、安全性がきちんと確保されていなければ人に使うことはできない。しかも何らかの方法で、iPS細胞からつくった網膜色素上皮細胞の安全性を、誰もが納得する形で示す必要に迫られていた。

そこで川真田さんは、使用する細胞のがん化の危険性を徹底的に調べられる実験環境を組み立てた。今回の臨床研究では、患者の細胞から作製したiPS細胞をもとに移植を行う自家移植が計画されている(上図)。自家移植の場合は、免疫システムが拒否反応を起こすことがなく、安全性が高いという印象をもつ。しかし違った見方をすれば、異物と判別されるべき未分化の細胞が混入していても、免疫機構が機能しないかもしれないことを意味している。

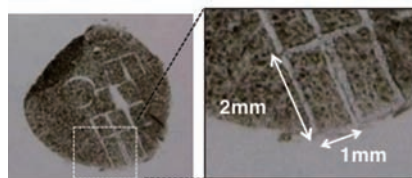
未分化の細胞が生体内に混入した場合、ほぼ間違いなくがん化してしまう。それを防ぐために、川真田さんは未分化細胞を徹底的に取り除いた。未分化段階で確認できて、分化後の細胞では発生しない特殊な物質(因子)に注目し、混入率を0.02%以下にすることに成功した。

さらに未分化細胞の混入があっても、その細胞がなくなる仕組みも明らかにした。「網膜色素上皮細胞が分泌する、視細胞を保護する作用を持つたんぱく質

(PEDF)が、未分化のiPS細胞を見事に殺すことがわかったのです。少なくとも網膜では、たとえ未分化細胞が残っていても、PEDFが分泌されることによって細胞死するので、理論的には未分化細胞は残らないのです」と解説する。

川真田さんらは、がんになりやすい免疫不全マウスに、本来の用途よりはるかに多量の細胞を皮下移植して、がんが発生しないことを確認し、未分化細胞が残っていないことを実験的に示した。皮下移植した免疫不全マウスは、代表的ながん細胞であるHeLa細胞がほんの数個存在するだけでがんが発生してしまうほど感度が高い。このマウスでがんが発生しなかったことで、有害な中間体も発生していないことを同時に証明した。

このように、いくつもの実験結果を合わせていくことで、ひとに移植してもがん



iPS細胞由来網膜色素上皮(RPE)細胞シート



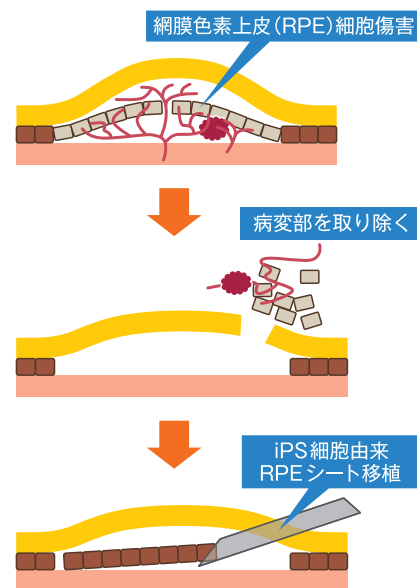
網膜変性疾患に対する移植治療の実現を目指して行われた、ヌードラット網膜下へのヒトiPS細胞由来RPE細胞シート(上)の移植(下)と、移植6カ月後の組織学的な検討例。腫瘍化の可能性などが詳細にチェックされた。

化することはほとんどないという論理を組み立て、細胞の安全性を評価することができた。

「今回の臨床研究に向けての安全性研究は、申請が認められてようやく一段落しました。これからは、私たちが開発した試験法が、ほかのiPS細胞由来の細胞移植治療についての前臨床試験にどこまで応用できるのか、その検討を進めています。同時に、治療に用いる細胞の規格や安全性評価についての提言もしていきたい」。川真田さんは、この成果を多くの研究者たちに広めることに熱意を燃やしている。

初のiPS細胞の臨床応用で、安全性の確保をどのように実施したか——世界の研究者たちはこの点に注目している。多能性幹細胞を利用する移植治療を確立するには、ES細胞の研究者とも協力して議論を重ね、国際的に共有できるガイドラインを作ることが欠かせない。そのルール作りのために、国内外の機関に働きかけを進めている。

「日本の研究者が世界の枠組みの中の確かな立場で、医療に貢献するまたとない機会です」と川真田さんは目を細めた。山中さんが発見した「iPS大陸」にはたくさんの期待の視線が寄せられている。新大陸はまだ荒涼とした原野であって、そこに1つ1つ新たな道を作る開拓者の苦しみと楽しみを味わっている。



iPS細胞由来RPE細胞シート移植のイメージ。浸出型加齢黄斑変性では、異常にのびた血管によりRPE細胞が機能しなくなる。

イラスト提供：高橋政代プロジェクトリーダー

iPS細胞から機能的な臓器をつくる 移植治療や薬剤評価に使う“ミニ肝臓”を創出

iPS細胞やES細胞からはさまざまな細胞がつけられているが、立体構造を持った臓器の作成は一筋縄ではいかない。世界中の研究者が苦戦するなか、ひとのiPS細胞をもとにつくった細胞から、立体的な構造をもつ直径5ミリほどの肝臓の芽をつくり出すことに、横浜市立大学の谷口英樹教授、武部貴則助手らの研究グループが成功した。これを肝不全のマウスの体内に移植したところ、生存率が劇的に改善され、形だけでなく機能的にも肝臓の働きが確認された。医薬品開発で薬効の確認に用いる細胞の安定的な供給をはじめ、肝疾患の患者への再生医療の実現、肝臓以外の臓器への応用などが注目されている。

初めてiPS細胞から 肝臓機能を実現

はじめに谷口さんらは、ひとのiPS細胞から肝細胞になる一手手前の「前駆細胞」をつくった。その前駆細胞と、細胞同士をつなぐ働きをもつ「間葉系細胞」、血管をつくり出す「血管内皮細胞」の3種類の細胞を試験管内で一緒に培養したところ、球状の肝臓の芽ともいえる原基が自律的にでき上がることを見つけた(右上図)。さらに、その肝臓の原基をマウスの体内に移植したところ、肝臓としての機能がきちんと発揮されることも確認した。iPS細胞から臓器そのものをつくり出したのは、世界初の快挙だ。

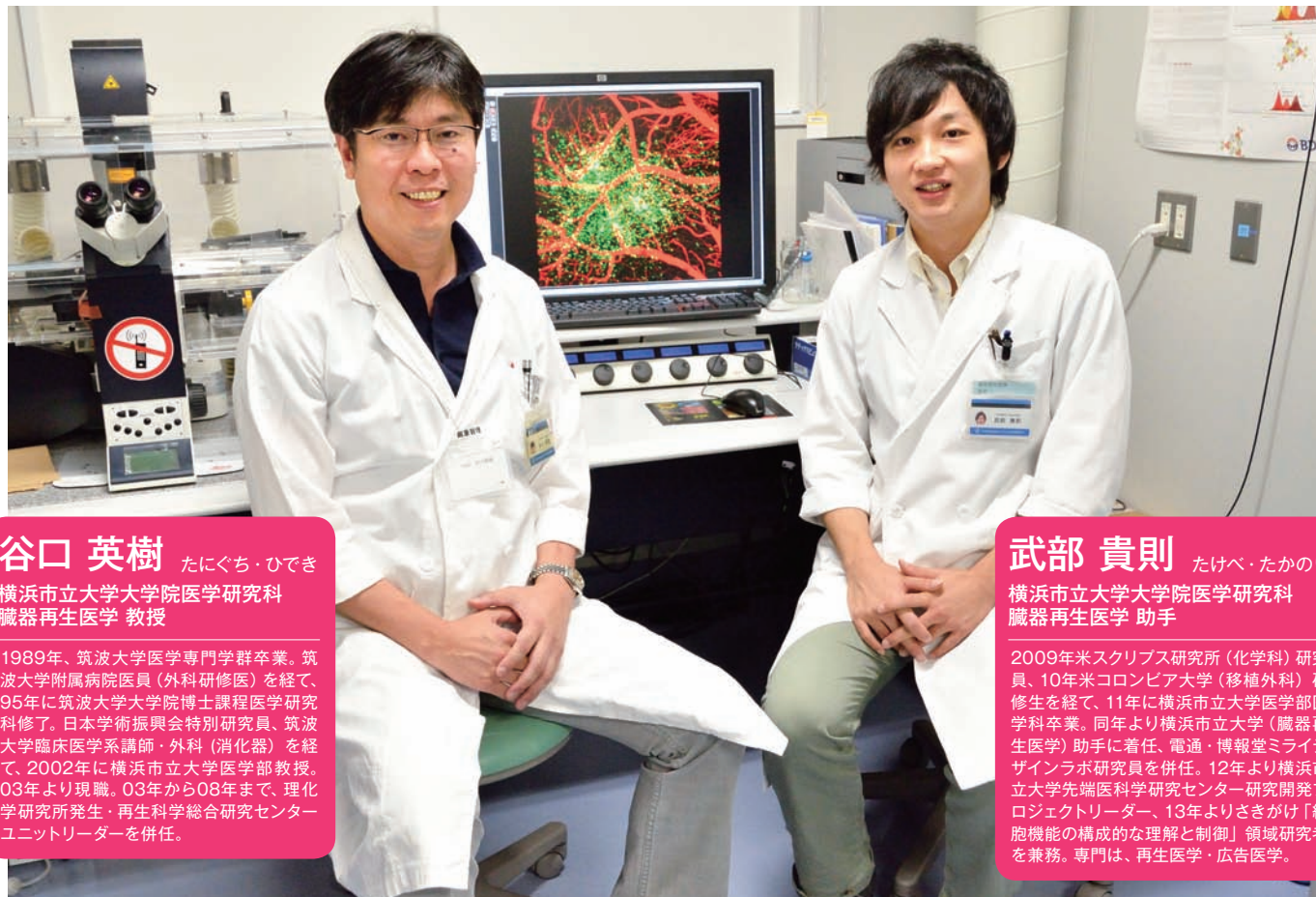
これまでの再生医学研究では、iPS細胞から目的に応じた細胞単体をつくり出す研究が数多く行われてきた。谷口さんも、当初はiPS細胞から肝細胞をつく

る研究をしていた。でもなかなか思うように進まないため、方針を変えて原点に戻ることになった。それが今回の成果につながったという。

臓器そのものを つくりたい

谷口さんの原点とは何か。筑波大学の学生時代から臓器移植の現場に携わり、臨床外科医になってからも実際に移植を行ってきた。臓器移植の最大の問題点は提供者(ドナー)が不足していることだ。

「移植する技術は確立され、患者さんは手術を待ち望んでいるにもかかわらず、必要な臓器が足りないのです。移植を受けられずに亡くなる患者さんをたくさん見てきました。1人でも多く救いたいという思いから、再生医学の研究に取り組んだのです」。臨床医としての仕事の傍ら、研究に没頭する日々が続いた。2002年に



谷口 英樹

たにぐち・ひでき

横浜市立大学大学院医学研究科
臓器再生医学 教授

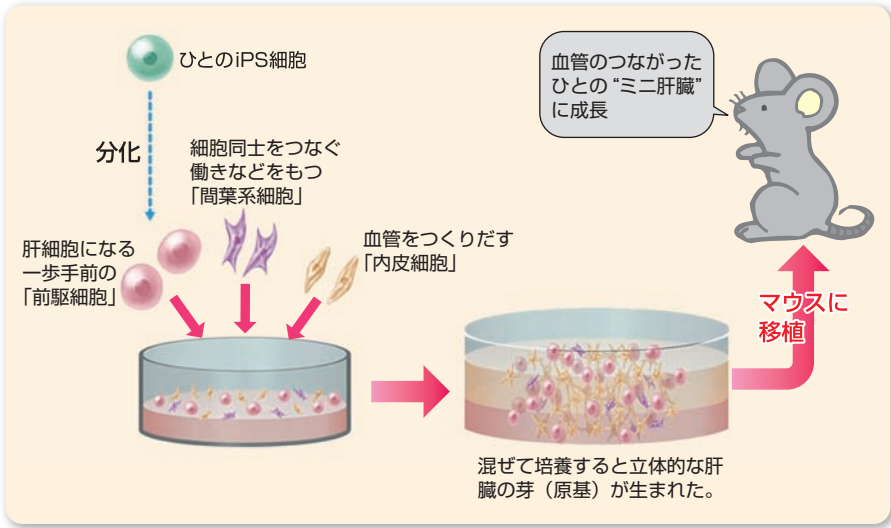
1989年、筑波大学医学専門学群卒業。筑波大学附属病院医員(外科研修医)を経て、95年に筑波大学大学院博士課程医学研究科修了。日本学術振興会特別研究員、筑波大学臨床医学系講師・外科(消化器)を経て、2002年に横浜市立大学医学部教授。03年より現職。03年から08年まで、理化学研究所発生・再生科学総合研究センターユニットリーダーを併任。

武部 貴則

たけべ・たかのり

横浜市立大学大学院医学研究科
臓器再生医学 助手

2009年米スクリプス研究所(化学科)研究員、10年米コロンビア大学(移植外科)研修生を経て、11年に横浜市立大学医学部医学科卒業。同年より横浜市立大学(臓器再生医学)助手に着任、電通・博報堂ミライデザインラボ研究員を併任。12年より横浜市立大学先端医学研究センター研究開発プロジェクトリーダー、13年よりさがけ「細胞機能の構成的な理解と制御」領域研究者を兼務。専門は、再生医学・広告医学。



横浜市立大学に移ってからは、研究に活動の重心を移した。その時、「再生医学」と決まっていた教室名を「臓器再生医学」に変えてもらった。目指したのは細胞づくりではなく「臓器をつくること」、これこそが研究の原点だった。

「原点に戻ることで、アプローチの仕方も全面的に変わることになりました」と谷口さん。例えば、肝細胞をつくり出すための研究では、肝細胞以外は邪魔者になる。だから、邪魔な細胞はさまざまに工夫して積極的に排除してきた。しかし、臓器はさまざまな細胞が協力し合っていて。肝臓も肝細胞だけでできているわけではなく、血管や結合組織である間葉系細胞なども必要なのだ。

「臓器をつくることに目標を変えたこ

とで、肝細胞以外の細胞は邪魔者どころかむしろ大事な仲間ではないか、排除してはいけないのではないかと考えるようになりました」と、発想の180度転換を語る。

細胞が自律的に組織をつくらうとする

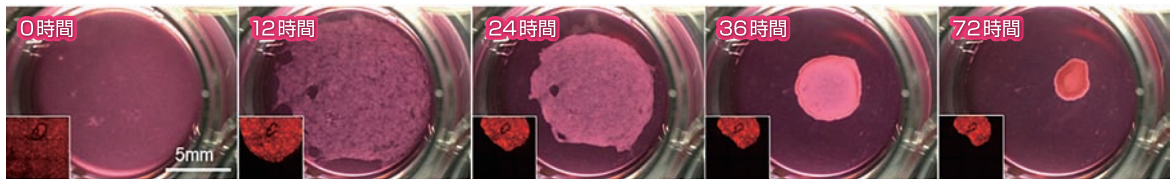
そこで試しに他の細胞も一緒に培養することにした。それが血管内皮細胞と間葉系細胞だ。これらは肝臓の前駆細胞とともに、生体内で肝臓がつくられるときに必要な細胞だ。その3種の細胞を一緒にシャーレに入れたところ、何と2、3日で立体的なボールのような構造が自然に姿を現した（下図上段）。さらに、その内部には血管構造もできていた（同下段）。

この細胞の塊こそが、肝臓の原基なのだ。生物の体がつくられていく過程は、車や電気製品のように、あらかじめでき上がった部品をはめ合わせて形にするわけではない。肝臓の場合も、肝細胞や血管などが別々につくられて合体するのではなく、それぞれが未熟な段階から複雑に絡み合い臓器を形づくる。

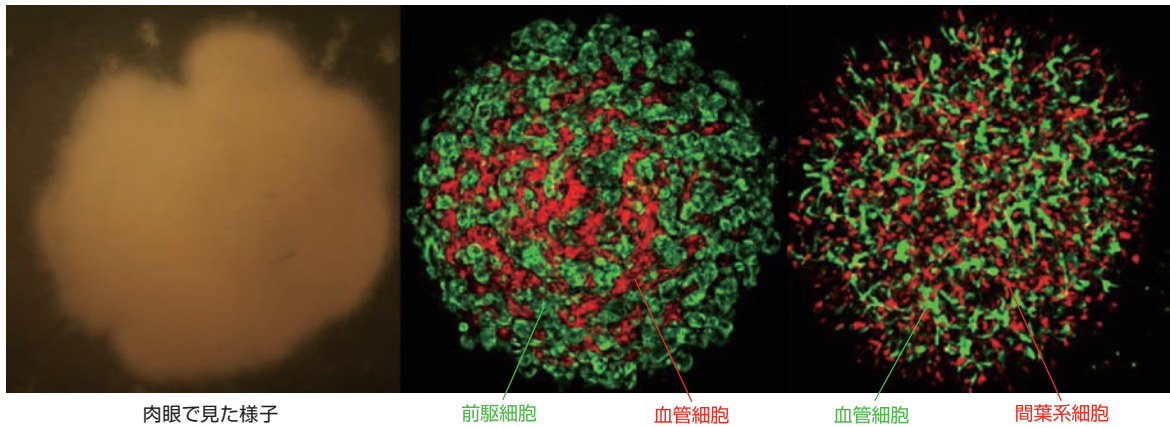
「成熟していない何種類かの細胞を一緒にしてやると、細胞たちが勝手によいものをつくってくれることに気づきました。そこが非常に大事だったと思っています」

そうしてでき上がった肝臓の原基を、マウスの体内に移してみた。臓器として育てていくためには、内部にできた血管に、実際に血液を流すことが必要だからだ。すると丸2日ほどで、肝臓原基の血管とマウスの血管とがしっかりとつながり、血液が流れ込んだ。人の手を加えなくても、血管同士が自律的に伸びてつながったのだ。生命の不思議さ、力強さである。「大事なのは、細胞を信じること」と実感した。

次に、つくり出した肝臓の機能を調べた。肝臓全体の機能は200種ほどあるという。それらを1つずつ確認するのは大変だが、肝臓が機能低下を起こし、放置すれば死んでしまうような動物に移植して生存率が上がれば、肝機能の多くを備えていることが一度に判明する。そこで肝



ひとのiPS細胞由来の立体的な構造をもつ肝臓の芽ができていく様子。大きさは5mmほど。左下はそれぞれ肝細胞の蛍光画像。



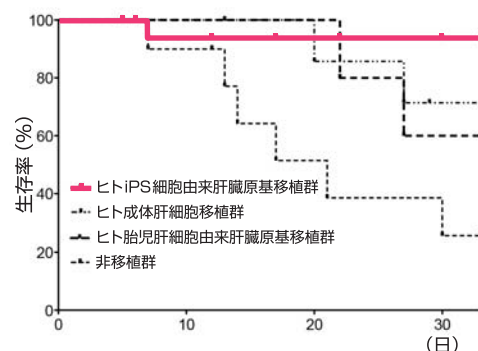
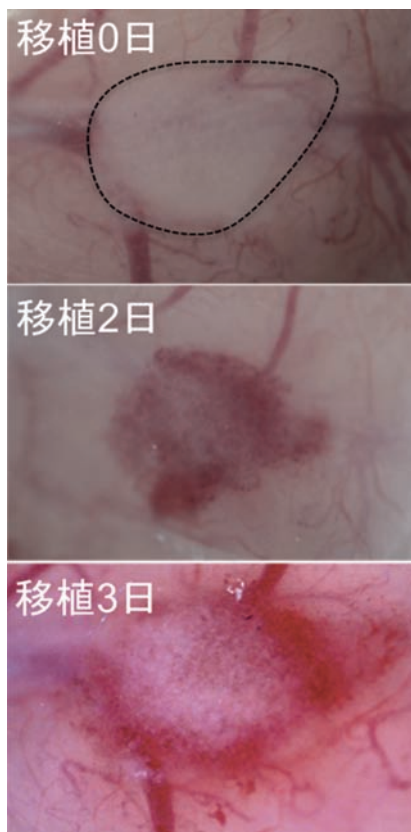
3種類の細胞を一緒に培養することにより、2、3日で、肝臓の原基が自律的に形成された。その際、蛍光物質で細胞を色分けしたところ（中央と右）、血管の細胞が網の目構造を形成することも明らかになった。

不全のマウスに肝臓の原基を移植して治療効果を調べた。結果は、移植しないマウスの1カ月後の生存率が3割程度だったのに対して、移植をしたマウスの生存率はなんと9割を超えた。移植した肝臓の原基が生体内で成熟しながら、その機能を徐々に発揮したことで、肝不全のマウスの生存率が上がったのだ。また、移植する原基の数を増やすほど、生存率が改善されることも明らかになった(右図)。

薬剤評価に活用し 医薬品開発に貢献

JST S-イノベでの研究目的の1つは、新たな医薬品の開発に用いる肝細胞を安定的かつ大量に作成して供給することにある。薬剤評価のための細胞は、非常に高品質で大量、かつ安価なことが求められる。日本で医薬品開発に使う肝細胞は、ほぼ100%を欧米からの輸入に頼っているのが実状だ。

「優れた肝機能を示す細胞が見つかった原基をつくれたので、質の良い肝細胞を安定的に供給できるようになる」と期待している。また単に肝細胞の生産にとどまらない。iPS細胞から、ひとの肝臓組織そ



ひとのiPS細胞からつくった肝臓の芽は、マウスへの移植直後では、血流がないため白く見える(左、0日目)。点線は移植組織の範囲。48時間で血流を持つ血管網を形成し、さらに、ひとの肝機能を有する組織へと成熟した(3日目)。

また、上図のように、移植を行うことによって生存率が高まったことから、肝臓としての機能を発揮し、治療効果が表れていることもわかった。

くことになる。

「7年後の臨床研究の開始を目指している」。さらにそれを1年でも前倒しすることを目標に、どのように進めていくかを議論しているところだ。

今後の臨床応用へ向けた課題の1つは低コスト化である。原基は小さいため、治療に使うには大量培養が必要となる。不可能ではないが、「実用化に見合うかどうか」という点で試算すると、まだまだ難しい」と谷口さん。現状でもかなりコストを下げたが、さらなる改善を目指している。

治療法として確立するには、産業として成立させる必要がある。高品質で均質なものを適切なコストで繰り返し供給できる環境づくりには、医師だけが努力するのではなく、製薬会社などを巻き込まなければならない。新しい医療をいかに産業化していくかが求められている。

「私は、研究者になった時、最初の10年間で基礎研究を行い、次の10年で臨床応用のための技術開発、そして最後の10年で実際に患者さんに使えるようにするという目標を立てました。医学の歴史を振り返ってもわかる通り、1つの技術が確立するまでに何十年もかかります。再生医療を進展させていくには、さまざまな困難を乗り越えなければいけないことは明らかです」と谷口さん。

患者を救うことを目指して一途に研究してきた。だから「研究の成否は患者さんの救済につながるかどうかです」ときっぱり断言した。

のものがつくれたことで、標準化された大量のミニ肝臓を使って、より本物に近い環境で試験する道も期待できる。高品質の肝細胞や肝組織が大量に生産できるようになれば、日本の医薬品開発の国際競争力向上への貢献にもつながるはずだ。

7年以内の臨床応用実現を目指す

もう1つの目的は、この成果をさらに発展させて新しい概念の移植治療を提案することだ。これまで移植による治療法は、細胞移植か臓器移植しかなかったが、今回の成果はその中間ともいえる。

完成した臓器を移植するのではなく、iPS細胞からつくり出した未成熟な臓器を移植し、移植後に体内で成熟させることによってその機能を発揮させることができる。質が良い細胞を使えば自然に血管などがつながるため、わざわざ縫い合わせる必要もなくなる。

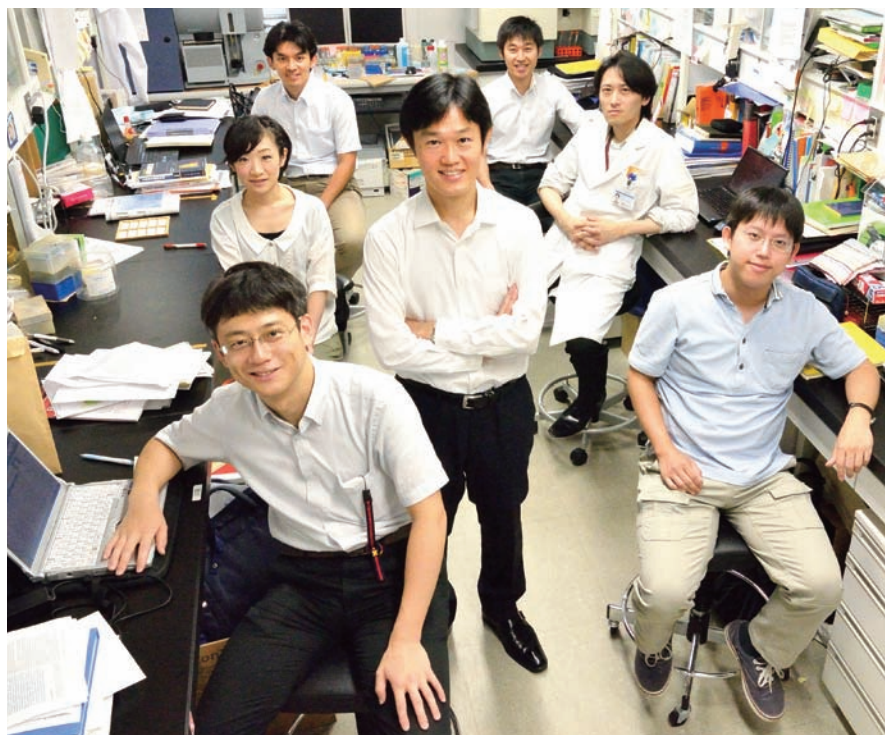
谷口さんたちの研究は、平成25年度からJST再生医療実現拠点ネットワークプログラムの「疾患・組織別実用化研究拠点(拠点B)」にも採択された。今後は臨床応用に向けた取り組みを積極的に進めてい



細胞が塊になっているのを最初に見つけた武部さん。顕微鏡で覗いて「これはすごい」と確信し、すぐさま谷口さんにも確認を求めた。

● 心疾患で失われた機能を再生する新たな技術 iPS細胞から学んだiCM細胞（誘導心筋細胞）

iPS細胞からつくり出した組織や細胞の臨床応用が注目を集めるなか、iPS細胞を使わずに直接リプログラミングして病気によって失われた細胞を再生する新たな治療法の研究も進められている。その1つが、日本人の死因の中で2番目に多い、心筋梗塞などの心臓病の治療だ。心臓のポンプ機能を担う心筋細胞は再生できないため、一部でも失われてしまうとその機能を完全に回復させることは難しい。この心筋細胞を生体内で直接再生させるという心臓病根治の打開策になり得る研究が、慶應義塾大学医学部の家田真樹特任講師らにより進められている。



心筋のように拍動する細胞を直接つくり出すことを成功させた家田さんと研究室のメンバー。

根本治療が困難な臓器

心臓は休みなく拍動し続け、全身に血液を巡らせることによって生命活動の根幹を支えている。問題が起きれば生命の危機にさらされるにもかかわらず治療がとても難しい臓器の1つだ。その原因は、心臓のポンプ機能を支えている心筋細胞の性質にある。人体は、ある程度の再生能力を備えている。例えば、皮膚に切り傷を負って出血しても、傷口周辺の皮膚

の細胞が増殖して傷口はふさがる。しかし心筋細胞は増殖しないため、一度失われてしまうと、その機能を取り戻すことは難しい（下図）。

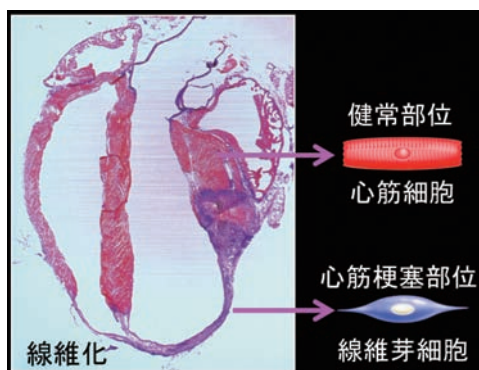
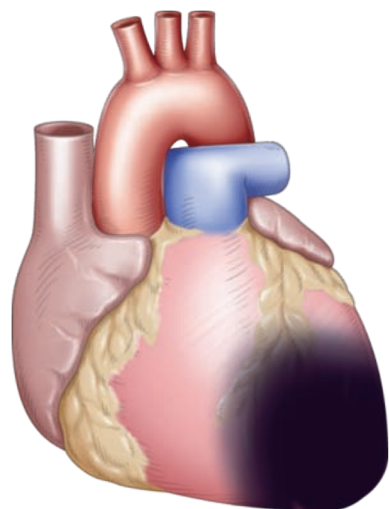
「例えば、動脈硬化などで血管が詰まり心筋梗塞になった場合、血流が止まった部分の心筋が壊死します。傷口は心臓線維芽細胞が増殖してふさがりますが、その部分の心筋細胞は失われてしまいます」と家田さんは話す。

心臓線維芽細胞は、心臓を形づくる細

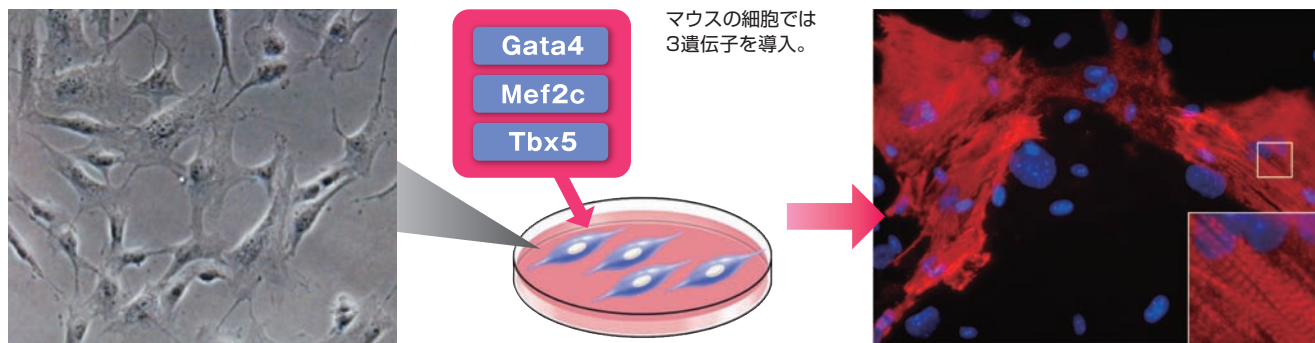
胞だが、心筋細胞のように拍動することはない。このため心筋梗塞などで心筋が心臓線維芽細胞に置き替わると、ポンプ機能は低下してしまう。失われた心筋細胞を再生させる方法は今のところない。有効な治療法は、血管を広げたり、詰まった血管の代わりに新しい血液の通り道をつくったりして、生き残った心筋細胞を長生きさせ、残された機能を低下させないように保つことなのだ。

こうした状況を一変させる希望の光として注目されているのが、胚性幹細胞（ES細胞）や人工多能性幹細胞（iPS細胞）だ。これらの細胞から心筋細胞をつくり出し、患者に移植することで、低下した心臓の機能を取り戻すことができる可能性が出てきた。まだ研究段階ではあるが、心臓病の画期的な治療法として大きな期待が寄せられている。

さらに新しい再生医療として、根本治療につながる可能性が高い研究が、家田さんらによって行われている。それは、心臓の中にある心臓線維芽細胞を、iPS細胞を経ることなく心筋のように拍動する



心筋細胞は心臓を形づくる線維芽細胞の中に点在し、心臓を拍動させている。心筋梗塞によって心筋細胞が死んでしまうと（左）、線維芽細胞のみが増殖して線維化し（上）、拍動する力は失われてしまう。



家田さんが見つけた3つの心筋誘導遺伝子をマウスの心臓線維芽細胞（左）に導入すると、直接iCM細胞（右）に転換することが明らかにされた。拡大すると、心筋などに特有の横紋構造がはっきり見える（右下）。赤は心筋細胞などに特有のたんぱく質（トロポニン）、青は各種細胞の核。

細胞に直接つくり替えてしまうというものだ。

誰もできないことへのチャレンジ

「私は基礎研究に取り組むと同時に、病院で患者さんの診察もします。臨床医としては、心臓の細胞の半分以上を占める心臓線維芽細胞を心筋に転換することができないのかと、誰でも考えるものです。それを本当にやってみることにしたのです」と家田さんは、動機を語り始めた。心筋細胞の再生研究を始める直接的なきっかけは、2007年から3年間、米国カリフォルニア大学のグラッドストーン研究所に留学したことであった。環境が変わることを機に、以前からやってみたいと考えていた心筋再生に取り組むこ

とにした。

研究に着手したころ、線維芽細胞からiPS細胞をつくり、さらに心筋細胞に分化させられることは報告されていた。だが、線維芽細胞を直接心筋細胞に変えることは、当時ほぼ不可能であると考えられていた。20年以上前から多くの研究者が取り組んできたが、決め手となる遺伝子が見つかっていなかった。

「当然、米国では誰も研究していませんでしたし、研究内容を話しても誰も相手にしてくれないような雰囲気がありました。長年、誰も成功しなかったテーマにあえて取り組むことそのものが、私にとって1番高いハードルだったかもしれません」と当時の心境を明かした家田さんは、ある仮説を立てていた。京都大学の山中さんは、線維芽細胞に4つの遺伝子を導入

してiPS細胞をつくった。この成功例にならない、「複数の遺伝子」を導入することによって、新しい道が切り開けるのではないかと考えた。難点は、その組み合わせが無数にあることだ。「本当にギャンブルといってもよいくらいの感覚でした。ただ、私が取り組んで成功しなかったら、誰にもできないという気持ちでチャレンジしました」と語る。

家田 真樹 いえだ・まさき 慶應義塾大学医学部 特任講師

1995年、慶應義塾大学医学部卒業。99年、慶應義塾大学医学部助手。2007年より3年間、カリフォルニア大学サンフランシスコ校グラッドストーン研究所に留学。帰国後、慶應義塾大学医学部研究特別講師などを経て、現職。11年に日本学術振興会賞を受賞。

幸いなことに、当時、グラッドストーン研究所には山中さんの研究室が設置されていた。家田さんは心筋細胞の研究に取りかかる前に、山中研究室に通い、まず、iPS細胞をつくる技術を身につけることから始めた。

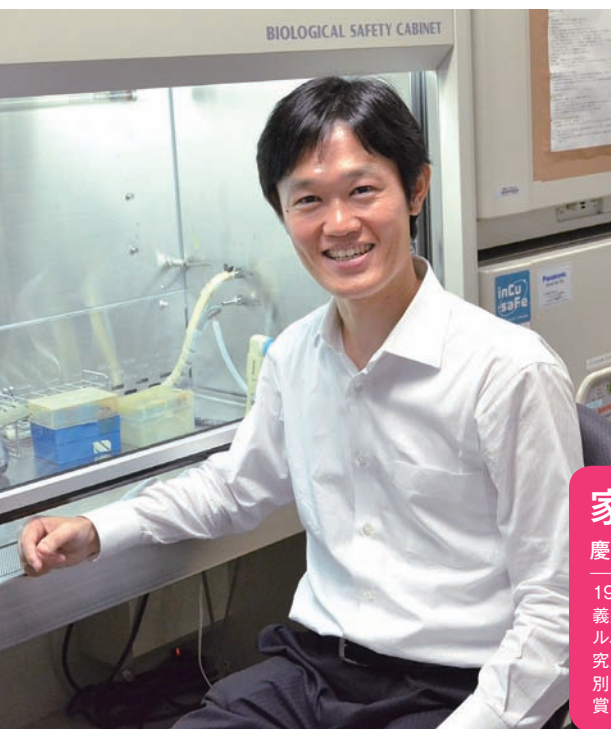
「この研究は、iPS細胞をヒントに着想した部分もありましたから、iPS細胞をつくれるようにならなければ、心筋細胞もつくれないだろうと考え、勉強させていただきました。この土台がなければ、研究そのものを成り立たせることもできなかったでしょう。この研究所では、本当にいろいろな人にお世話になりました」と振り返る。

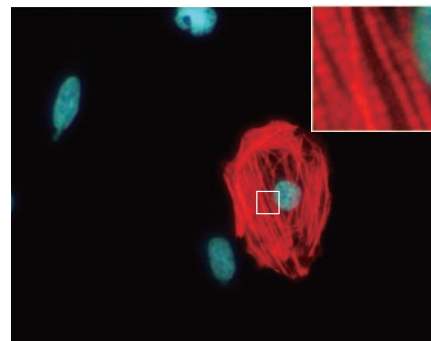
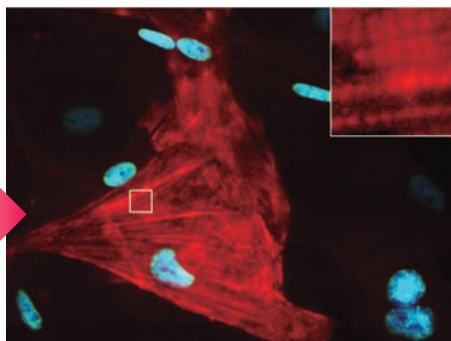
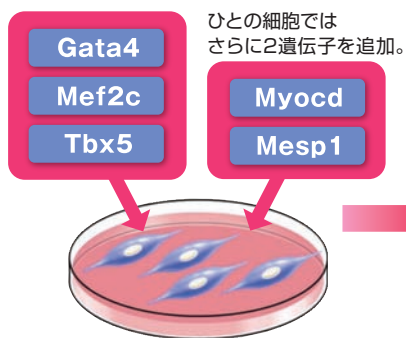
遺伝子を絞り込んで心筋細胞への転換に成功

iPS細胞をつくる技術を身につけた家田さんが真っ先に取り組んだのは、心筋細胞をつくる遺伝子を効率よく選び出すための実験環境を構築することだった。

まず、マウスの細胞を使って、候補となる遺伝子の導入により心筋になった場合にだけ蛍光を発するような細胞をつくり、心筋細胞がどれだけでできているか、すぐに測れるようにした。心筋細胞に関係する遺伝子は、既存の研究を参考に14個選り出した。この中から線維芽細胞を心筋細胞に転換させる遺伝子の組み合わせを探したところ、取捨選択の末、3つの遺伝子に行きついた（上図）。20年以上も誰も発見できなかった組み合わせをとうとう見つけ出したのだ。

3つの遺伝子を導入してつくられた細胞は、心筋特有の縞模様（横紋構造）を持つなど見た目にも心筋細胞によく似て





家田さんが見つけた5つの遺伝子によってつくったiCM細胞（中）と、ヒトES細胞からつくった心筋細胞（右）。iCM細胞は、形態や構造も心筋と同様に変化しており、横紋構造も確認できる。

いて、しっかりと拍動もした。さらに、心筋に特徴的な遺伝子やたんぱく質の働きも見られた。家田さんはこの細胞を、「誘導心筋細胞（iCM細胞）」と名付けた。

続いて、マウスで人工的に急性心筋梗塞を引き起こした患部に3つの遺伝子を入れ、生体内で直接iCM細胞をつくる実験にも成功。さらに、ひとの細胞でiCM細胞をつくる研究に取りかかった。「はじめは、マウスと同じように3つの遺伝子でできると期待していましたが、うまくいきません。そこで、それらに別の新しい何かを加えようという発想から、さらに遺伝子を探したのです」

探索の結果、ひとの細胞の場合、さらに

2つ加えた5つの遺伝子でiCM細胞へ転換できることが明らかになった（上図）。

より効率を高めて患者のもとへ

ひとの細胞で成功したことにより、心臓病の新しい治療法への道が開けてきた。将来、5つの遺伝子を直接心臓に導入して線維芽細胞から心筋をつくり、機能を回復できる可能性が出てきたのだ。

しかし課題もある。家田さんの研究では、遺伝子を導入できた線維芽細胞が実際にiCM細胞に変化する効率はかなり低い。

「シャーレで実験する場合の効率は5%ほどありますが、マウスの体内で心筋に

変化させる場合は、1%ほどに下がってしまうのです」と家田さんは具体的な数字を示す。

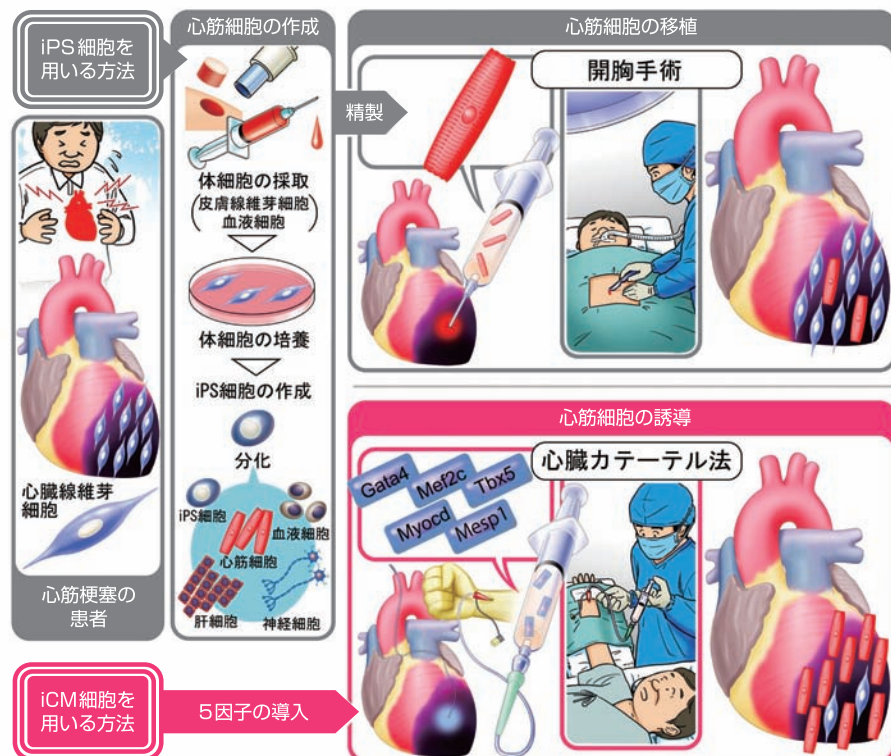
多能性幹細胞を経ないため、がん化するリスクが少ないという利点の一方で、効率が低いのは大きな難点といえる。また、ひとの場合は5個の遺伝子を同じ細胞に導入しなければいけないため、生体内ではさらに効率が下がると考えられる。iCM細胞は、1個の心臓線維芽細胞から1個しかつくることができず、心筋は増殖しないので、この効率がそのまま治療の効き目につながる。

ただし、ゴールが途方もなく遠いというわけではない。心筋細胞は心臓を形づくる線維芽細胞の中に点在し、もともと心臓全体の30%しか存在していない。生体での転換効率を10%くらいまで高めることができれば、新たな治療法として期待がもてるという。

「次の段階として、導入する遺伝子や細胞の培養条件を変えて、効率を高める方法を探します。その過程で、線維芽細胞がiCM細胞化していくメカニズムも、よりはっきりとわかり、臨床応用へ近づいていくでしょう」と今後の展望を語る。

家田さんの目標は、この技術を新しい治療法として患者のもとへ届けることだ。残された心筋の機能を維持するための治療ではなく、失われた患部の心筋を直接再生し、低下した心臓の機能を取り戻す。しかも、開胸手術がいらない心臓カテーテル法で治療することができるので体への負担も軽いはずだ（左図）。

心臓疾患を完治させる医療への発展が期待できる、新たな治療法が確立されようとしている。



iPSC細胞を用いる心臓再生医療（上）と、家田さんらによるヒト心筋様細胞（iCM細胞）直接誘導法による心臓再生医療（下）。家田さんらの方法では、心筋細胞を術前に用意する必要がなく、より負担の少ない治療が可能になると期待される。