

# 小児科診療 UP-to-DATE

2014年10月8日放送

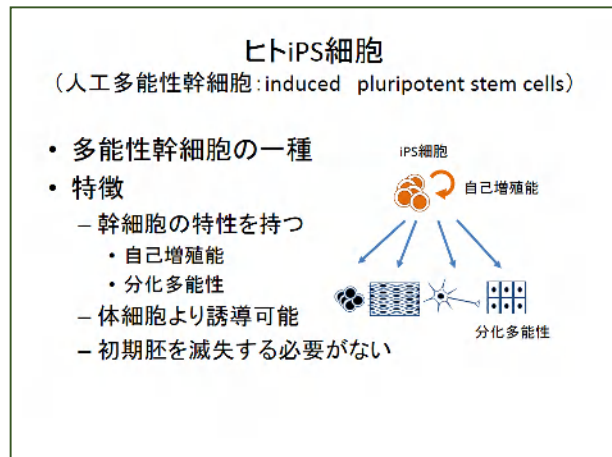
## iPS と小児疾患、どこまできたの？

京都大学 iPS 細胞研究所 臨床応用研究部門  
准教授 齋藤 潤

人工多能性幹細胞(Inducible pluripotent stem cells : iPS 細胞)とは、京都大学 iPS 細胞研究所の山中伸弥先生らによって樹立された幹細胞の一種です。幹細胞というのは、個体を構成する様々な分化細胞の起源となる細胞で、自己を複製して増えることができる自己増殖能と、他の細胞へ分化できる分化能を併せ持ちます。iPS 細胞の特徴は、1)すべての細胞・組織に分化できる多能性(pluripotency)を有する、2)体細胞より誘導できる、という点にあります。2006年にマウス由来のiPS細胞、2007年にヒト由来のiPS細胞がいずれも山中先生らによって樹立されました。

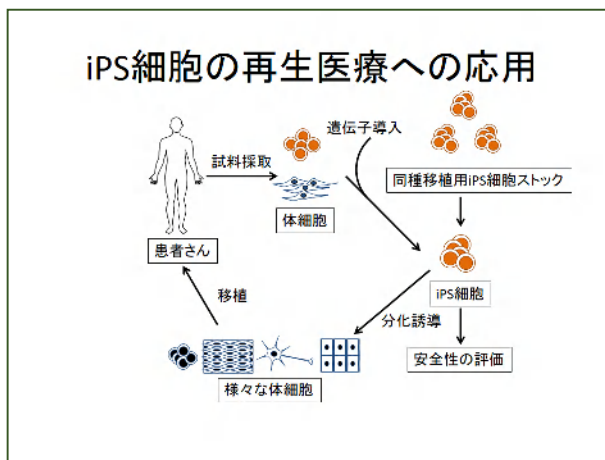
ヒトの場合、個体のすべての組織へ分化することができるかとされている「多能性」を持つ細胞には、iPS細胞の他に、ヒトの初期胚から作られるES細胞(embryonic stem cells)があります。ヒトES細胞はiPS細胞より以前に確立された多能性幹細胞で、こちらも再生医療など、臨床への応用が期待されています。ES細胞とiPS細胞で、大きく異なるのは、ES細胞はヒトの受精卵を潰して作成する必要があるのに対し、iPS細胞は皮膚の線維芽細胞や血球など、ある個人の体細胞から人工的に樹立することができる点です。つまり、ES細胞は成人からオーダーメイドで作製ができないことと、本来はヒトの個体になることも可能であった胚を潰して樹立しないといけないことが課題でした。iPS細胞はES細胞に比べて、1)ヒトの初期胚を使用しないため倫理的問題が少ない、2)自家移植であれば免疫拒絶のリスクが少ない、というメリットがあります。このため、iPS細胞を用いた再生医療は非常に有望と考えられています。

さて、このような多能性幹細胞の医療応用としては、先に少し述べました再生医療への応用と、疾患解析・治療法開発への応用が考えられています。以下はこれら2つのトピックスについてご説明します。



再生医療への応用として、iPS 細胞や ES 細胞等の多能性幹細胞から心筋や神経、内分泌細胞など様々な分化細胞を分化・作出し、再生医療のソースとする計画が進められています。

文部科学省は「再生医療の実現化プロジェクト」と言う委託研究で、iPS 細胞を含む幹細胞を用いた再生医療を実現させるためのプラットフォームを推進してきました。平成 25 年度から新たに「再生医療実現化拠点ネットワークプログラム」が開始され、ここでは再生医療への応用へ向けた前臨床試験が加速することが期待されます。この中で、iPS 細胞研究中核拠点として京都大学が採択され、iPS 細胞を用いた再生医療の実現化のため、再生医療に使用可能な iPS 細胞のストックの作製を推進することとなりました。また、網膜色素上皮、神経、心筋、血小板など、iPS 細胞からの分化細胞を用いた再生医療実現化のための拠点が採択されており、iPS 細胞の再生医療への応用は、まずこれ

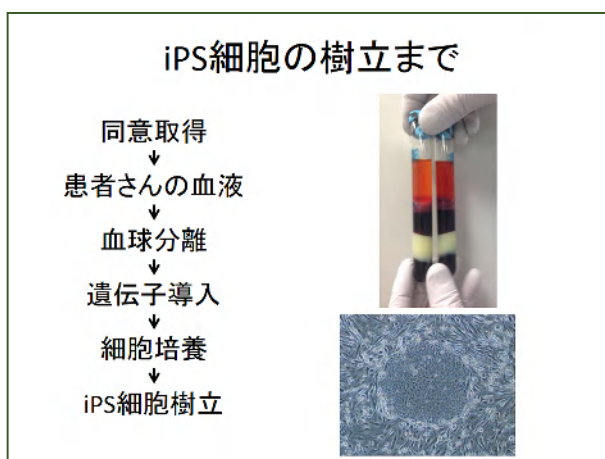


らの疾患や組織を対象として進められることとなります。京都大学 iPS 細胞研究所では、iPS 細胞の再生医療応用に向けて、規制化学部門に細胞調整センターを設立し、GMP (Good Manufacturing Practice) 基準に合致した安全な iPS 細胞を樹立・維持するための研究事業を進めています。また、京都大学病院には 2011 年に iPS 細胞臨床開発部が設立され、iPS 細胞の疾患研究、再生医療に向けた連携を京都大学 iPS 細胞研究所と進めています。

一方、疾患を持つ患者さんから血液や皮膚線維芽細胞などの体細胞を採取し、これらから iPS 細胞を樹立することができます。このような iPS 細胞を疾患特異的 iPS 細胞あるいは患者特異的 iPS 細胞と呼びますが、これらの iPS 細胞を疾患の病態に責任がある細胞や組織へ分化させることにより、患者さんの遺伝的特質を受け継いだ様々な分化細胞を得ることができます。特に神経疾患や心筋疾患などでは、従来得ることが極めて難しかった神経細胞や心筋細胞を iPS 細胞を経て大量に培養し、病態解析や治療法開発に用いることが可能となります。

iPS 細胞の作成方法の実際について説明します。iPS 細胞の作製は、生物学の実験の訓練を積み、それほど難しくありません。患者さんなどのドナーさんから同意を得て、皮膚や血液などを採取し、体細胞を分離します。皮膚の場合は、局所麻酔後にパンチバイオプシーで数ミリ角の皮膚片を採取し、そこから線維芽細胞を培養、増幅します。血液の場合は、数 ml あれば、通常 iPS 細胞の樹立には支障ありません。これらの体細胞に、iPS 細胞樹立に必要な遺伝子群を導入します。この遺伝子群は、初期化因子とか、山中因子とか呼ばれています。遺伝子導入後、最適化された培養条件で数週間細胞培養を行うと、特徴的なコロニーを形成する細胞群が確認できます。これが iPS 細胞です。樹立した iPS 細胞は、見た目の形態、蛋白質や遺伝子の発現プロファイル、あるいは染色体検査などを行い、iPS 細胞としての基準を満たしているか検査を行います。基準を満たした iPS 細胞を用いて、分化実験などを進めていきます。

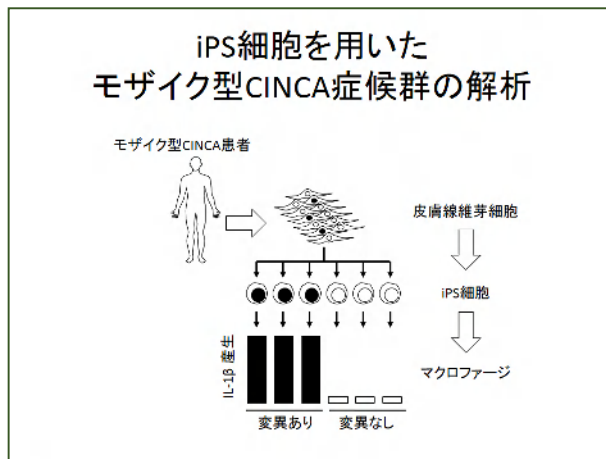
iPS 細胞を用いた疾患解析に必要不可欠なの



が、目的の細胞を得るための分化系です。安定した簡便な分化系の構築と、それらから得た細胞の機能的な違いを調べる解析系の確立が非常に重要です。私たちは、iPS細胞やES細胞から血球細胞を分化誘導する分化系を構築しています。この分化系では、赤芽球系、骨髄球系、単球系、巨核球系など様々な血球細胞を分化誘導することができ、得られた血球細胞が機能的であることも確認されています。多能性幹細胞からの分化誘導系構築は非常に競争が激しい分野であり成果が続々と報告されています。現在では血球の他、神経、心筋、血管内皮、膵臓β細胞、肝細胞、腎臓の前駆細胞、間葉系細胞、筋細胞、軟骨細胞など、様々な細胞が多能性幹細胞から誘導可能となっています。興味深いことに、iPS細胞からの分化系では、しばしば分化させた細胞は幼弱な表現型を呈し、成人型の分化細胞まで至らないことがあります。このことは成人期に発症する疾患の解析にはデメリットになるかもしれませんが、一方で新生児あるいは小児疾患の解析を行うという観点からすると、この点は逆にメリットになります。また、理論的には胎児期の発生をiPS細胞からの分化系を用いて追うこともできますので、このような観点からも、小児科医にとってiPS細胞を用いた疾患解析は魅力的です。

iPS細胞の重要な特徴は、それぞれのiPS細胞クローンがソースとなる単一の体細胞に由来すると言うことです。この特徴を活かすことにより、ある個人が遺伝的差異のある複数の体細胞集団からなる場合に、個々の集団を代表する細胞を取り出すことができます。自己炎症性疾患であるCINCA症候群では、30-40%の患者は責任遺伝子であるNLRP3の変異を体細胞モザイクとして持つことが知られており、この場合のNLRP3変異陽性細胞と陰性細胞それぞれの働きは不明でした。私たちは、モザイク型CINCA症候群患者より多数のiPS細胞クローンを樹立し、NLRP3変異ありクローンと変異なしクローンをそれぞれマクロファージに分化させて表現型を比較しました。すると、NLRP3変異細胞のみに特徴的な表現型が確認され、体細胞モザイクにおいて遺伝子変異細胞と正常細胞が果たす役割を明らかにすることができました。このように、従来は解析が難しかった病態の解明にもiPS細胞テクノロジーは有用であると考えられます。さらに、このような表現型を修飾するような化合物を探索することにより、あらたな治療薬などの開発につながることを期待されます。

以上のように、iPS細胞の医療への応用には様々な方向性があります。まだ課題もいろいろとありますが、iPS細胞を用いた治療薬開発や病態解明が進み、これまで治療法のなかった難治性疾患に対するアプローチが少しでも早く進展することを期待したいと思います。



「小児科診療 UP-to-DATE」

<http://medical.radionikkei.jp/uptodate/>