

Induction of Pluripotency by Defined Factors

山中 伸弥, 中畑 龍俊 (Shinya YAMANAKA, Tatsutoshi NAKAHATA)

京都大学 iPS 細胞研究所 (Center for iPS Cell Research and Application, Kyoto University)

人工多能性幹細胞 (iPS細胞) は、当初マウスまたはヒトの線維芽細胞に*Oct3/4*, *Sox2*, *c-Myc*, *Klf4* という 4 因子をコードする遺伝子をレトロウイルスベクターで導入することにより樹立された。この新しい多能性幹細胞は、形態、増殖、遺伝子発現、多能性などの点で胚性幹細胞 (ES細胞) と類似している。iPS細胞は、ES細胞に比べ倫理的問題が少ないことに加え、遺伝的背景や移植免疫に関わるHLAタイプなど個性の明らかにされている様々な個人から樹立可能であるという利点を持つ。このため、HLAホモ接合体ドナーから構築したヒトiPS細胞ストックは、将来、細胞移植療法など再生医療への応用が期待されている。しかし一方で、移植時の腫瘍化の懸念はもちろん、ここ数年の研究により、樹立されたiPS細胞はES細胞と比較して多様であることもわかってきており、実用化にあたって解決すべき点は多い。初期化のメカニズムも未だ未解明の部分が多い。また、患者由来の疾患特異的iPS細胞は病態解明、新薬探索、毒性評価など創薬開発への利用が注目されている。たとえば、近年、ヒトiPS細胞から分化させた細胞を用いて、心筋細胞や肝細胞の毒性評価や、神経細胞に薬理作用を持つ化合物スクリーニングの企業化も始まっている。

iPS細胞は、線維芽細胞のほか、肝、胃上皮、神経、歯髄、末梢血、臍帯血など様々な由来の体細胞から樹立できる。また、細胞への因子導入方法も、レトロウイルスのほか、アデノウイルス、センダイウイルス、プラスミド、トランスポゾン等、種々のベクターによる遺伝子導入や、組み換えタンパク質、合成mRNAを用いた方法も報告されている。ここで、我々は、エピソーマルベクターを用いることで、ゲノムへ挿入がない遺伝子導入系を構築し、従来の樹立法より安全かつ効率的にiPS細胞を樹立する方法を開発した。また、導入因子についても、より安全かつ高効率なiPS細胞の樹立を目指し、上記4因子以外も含めた様々なバリエーションが考案されている。最近では、*c-Myc*の代替因子を検索する過程で原がん性が弱い*L-Myc*や、さらには*Glis1* という受精卵で特異的に発現している遺伝子を見出し、これらを用いることで、iPS細胞の樹立における効率と品質を向上させることに成功した。また、化合物によりiPS細胞樹立効率を促進し得ることも明らかになりつつある。

このように、樹立法が多様化するとともに、毎回の実験では複数、時には100以上の独立したiPS細胞クローンが得られる。こうした状況下で、iPS細胞の性質については、ES細胞と比較し、潜在的に極めて多様性に富むことが示唆される。これら多様なiPS細胞は*in vitro*での特定の臓器や細胞への分化指向性における誘導効率または腫瘍形成傾向などの特性が異なることが確認されつつある。これらを踏まえ、iPS細胞の臨床応用に際しては、最も適切な由来細胞、樹立方法および得られたiPS細胞株の評価法を決定する必要がある。これら諸問題に対して、ゲノム解析や、メチローム、ヒストン修飾、インプリンティングなどのエピゲノム解析の重要性が増している。さらに、単一の細胞から樹立したiPS細胞におけるサブクローンにも不均一性が認められることにも留意する必要がある。ここでは核初期化の過程で複数回の細胞分裂が必要とされ、外来の因子導入のみではその全過程が完結しないことが、その一因として考えられる。例えば、*p53* や *Rb* 経路を含め他の要因が完全な核初期化に重要な役割を果たしていることを示唆する知見も得られている。今後も核初期化機構に関する理解をさらに深めることが、均一かつ完全に初期化されたiPS細胞の樹立法の開発につながると期待される。