

綜 説

ヒト ES 細胞について

佐々木 克 典

信州大学医学部第 1 解剖学教室

Human Embryonic Stem Cell

Katsunori SASAKI

Department of Anatomy, Shinshu University School of Medicine

Key words : human embryonic stem cells (ES cells), differentiation, regenerative medicine

ヒト胚性幹細胞 (ES 細胞), 分化, 再生医療

緒 言

ES 細胞 (胚性幹細胞, embryonic stem cell) は無限に増殖し, かつさまざまな細胞に分化できる内細胞塊由来の細胞である。1981年 Evans と Kaufman¹⁾はマウスにおいて最初にこの細胞を樹立した。その後 ES 細胞の研究は大きく二つの方向に展開した。一つはノックアウトマウス作成の強力な武器として威力を発揮するようになる²⁾。ES 細胞は生体に移植すれば奇形腫になるが, 胚に混ぜると, 胚になじみ, 胚が個体になった時, 個体のいろいろな部位にモザイク状に存在するようになる。したがって生殖細胞に組み込まれば ES 細胞の遺伝子が受け継がれ, 交配により ES 細胞のみでできたマウスも作成することができる。一方, 当初それほど注目されなかったのが多分化能である。分化してしまえば ES 細胞としては使い物にならないから毛嫌いされたかもしれない。この性質が著しく脚光を浴びるようになったのは1998年 Thomson³⁾がヒトで ES 細胞を樹立してからである。本稿では human ES cell biology の研究に広く学友の参加を期待し, 信州大学で展開されるヒト ES 細胞の研究についてこれまでの経過と今後の計画について述べたい。

I ES 細胞の再生医療への応用

再生医療が注目をあびているのは, それが現実化する可能性を誰でもが理解できるようになったことと,

別刷請求先: 佐々木克典 〒390-8621
松本市旭 3-1-1 信州大学医学部第 1 解剖

臓器移植が抱えるドナー不足という問題が新しい医療の確立を求めており, 再生医療がこの社会要請に合致したからである。再生医療のもっとも理想的な形は自らの細胞から細胞, 組織をつくり自分のからだに戻す自己完結型の治療法である。これができて初めて, 臓器移植が抱えてきた問題が氷解する。したがって自分の幹細胞から分化させる方法は一つの理想的なやり方であろう。しかし数少ない細胞のセレクト, あるいは限定された分化能を考えると, まだ心もとない。一方 ES 細胞が持つ多彩な分化能と強い増殖能は生体への応用を容易に強力に現実的なものにする。しかし現段階ではヒトの受精卵を用いるという倫理的な面, 拒絶の問題, 腫瘍化の問題があり, ES 細胞は限りなく理想に近いものであるが, なお過渡的なものと考えざるを得ない。体細胞からつくったキメラ胚から ES 細胞ができれば, このような問題は解決されるかもしれない。しかしそこに到達するまでにはもう少し時間がかかる。それまで我々は十分に ES 細胞をコントロールできるようにしておかなければならない。

ES 細胞を使った再生医療のもっとも大きな利点はピンポイント療法が可能にある。すなわち一種類の細胞, 組織を構築することができるため一種類の細胞が障害を受けるような病気について ES 細胞は遺憾なくその能力を発揮できる。そのような視点から最近の動向を見るならばラ氏島の β 細胞やドパミン産生細胞に焦点が当てられ研究が進められているのも理解ができよう。逆に言えば臓器全体を作り上げることは ES 細胞では困難であり, そのために新しい方法が

表1 ES細胞由来分化細胞

ES細胞	分化細胞	
	内胚葉	肝細胞 (2000,2001) インスリン分泌細胞 (2000)
	中胚葉	造血幹細胞 (1994,1995) 骨芽細胞 (1997) 血管内皮細胞 (1999) 心筋細胞 (1994) 骨格筋細胞 (1994) 平滑筋細胞 (1997) 脂肪細胞 (1996)
	外胚葉	有棘細胞 (1996) 色素細胞 (1999) 神経堤細胞 (1995) グリア細胞 (1995) 乏突起膠細胞 (1999) 星状膠細胞 (1999)

必要であることも念頭に置かなければならない。表1はこれまで報告されたES細胞由来分化細胞をまとめたものである。

ES細胞を分化させる方法はいくつか提唱されている。一つは分化誘導物質として知られているレチノイン酸やアザシチジンを用いるなど薬物による分化⁴⁾、あるいは細胞と細胞との相互作用に期待するもの、例えばST2細胞株とES細胞を共培養することで色素細胞を誘導する⁵⁾など、また成長因子を用いる場合、これは直接分化させるというよりは、与えておいて抜くことが分化を誘導することに有効なケースも少なくない⁶⁾。しかしまだ確定した方法はなく、トライ、トライ、トライの領域である。最近繊維学部との共同で行ってきた研究から人工細胞外基質により分化が大雑把にコントロールできることがわかった。histogenesisを念頭におきながら、過去の方法にとらわれない斬新な発想がこの分化の領域に求められている。

また現在一種類の細胞にのみ分化させることに注意が払われているが、この流れがそのまま正しいとは私は思わない。数種類の細胞が混じった細胞の塊として分化させることの方がより生体に近いと思うからである。すなわちラ氏島を構成する細胞すべてを創ることの方がはるかに理に適っている。研究に独自のカラーを出そうと思うならこの領域に足を踏み入れるのも一つである。

細胞がすべて分化できれば二つの意味で理想的である。一つは単一の細胞が得られること、それにより正

確なピンポイント療法が可能になる。二つ目はES細胞がすべて分化してしまうため、移植した場合奇形腫形成が起きない。しかし細胞を思いのまま分化させることができないのが実情である。したがって単一の細胞を得るための工夫をしなければならない。一つの方法はFACSを使った収集方法であり、他に遺伝子をうまく使った方法もある。すなわち欲しい細胞のプロモーターと薬剤耐性遺伝子を結びつけたベクターを導入し、分化した細胞だけをセレクトする方法である⁷⁾。しかしこれらの方法にもこだわることはない。もっと奇抜な効果的な方法があるかもしれない。いろいろなアイデアを縦横に試せるのがES cell biologyの大きな特徴である。

ヒトに応用する際、分化した細胞の機能が発揮されなければまったく意味がない。したがって分化細胞をヌードマウスやスキッドマウスに移植しその機能を調べる研究は臨床に応用するために不可欠である。これまでの研究の中でも移植し生着した実験結果は多く報告されているが、分化細胞が本当に機能しているかどうかについて明確に答えを出している論文は少ない。神経が形成されたという報告は多いが、大方は形態学的所見であり、機能的に検討しているものが少なく、周りの神経構築と機能的に離反しているような印象を受ける⁸⁾。あるいは心筋細胞も元の心筋と同調して収縮しているかどうかははっきりしない⁹⁾。分化させることへの興味あるいはそれを促す手法は発生学者の方がはるかに強力なものを持っているかもしれないが、分化した細胞の機能面の解析は我々の仕事である。もう一つの仕事は移植のやり方、分化細胞の使い方の開発である。今までの研究を総ざらいして見れば分かるように、もとの場所に移植するという実に単純な発想でしか行われていない。ここに今後我々が開拓する大きな余地がある。例えばES細胞由来心筋細胞を、もとの心臓の心筋梗塞により瘢痕化した部位に移植することにどれほどの意味があるだろうか。瘢痕化した組織は血管が少なく硬い。血管が少ないため、生着する細胞数は減ずるであろうし、組織が硬いため実際なかなか収縮させることは困難である。それよりも他の場所に心筋組織を作り、瘢痕化組織を切り取ってその部位に血管吻合による組織移植の方が、すぐさま機能を発揮できる点ではるかにすぐれている¹⁰⁾。このように分化細胞の使い方こそ、医学部特有のセンスでチャレンジし開拓する領域である。医療への還元を考えるならば、分子生物学的な領域にだけとらわれず、より現

実的な面にも眼を向けておくべきである。

ヒト ES 細胞を臨床に応用する際の大きな問題は拒絶と腫瘍化である。細胞移植であるが故に、拒絶を受けても臓器移植ほど致命的にはならないが、細胞が消失すれば移植する意味はないから、拒絶を回避する研究は重要である。免疫抑制剤を使用する以外に HLA に操作を加える方法 (Tagawa Y, personal communication), ES 細胞と体細胞の癒合により拒絶されにくくする方法¹¹⁾などが考えられている。次の問題は腫瘍化である。これは樹立した細胞が ES 細胞であるかどうかを確認する方法でもあるが、実際臨床応用となれば、逆に非常に大きな問題となる。防ぐ方法は分化を完全にし、厳密にセレクトすることであるが、これから逃れる細胞もでてくるであろう。その場合の対策も考えておかなければならない。一つの方法として DDS [drug delivery system] を用いる。例えば PEG リポソーム (polyethyleneglycol) には容易に抗体を付加することができるため¹²⁾, ES 細胞のマーカーに対する抗体を付加し {選択性の高いものは見出されていない。表面抗原 SSEA (stage-specific embryonic antigen) などが最初の候補になる}, リポソーム内に抗癌剤を入れ生体に投与する方法などは具体性がある。

II 樹立されたヒト ES 細胞とこれまでの研究成果

今まで ES 細胞の再生医療における位置づけと臨床に応用するまで乗り越えなければならない幾つかのバリアーについて述べてきた。次にヒト ES 細胞についてこれまで得た情報をまとめる。2001年8月9日ブッシュ大統領はそれまで樹立されたヒト ES 細胞64株について研究を認める方針を打ち出した¹³⁾。クリントン政権あるいはその流れが現在も続いていたら、アメリ

カの ES cell biology ははるかに進んでいたにちがいない。ブッシュの慎重な態度は我々がこの領域に入るための貴重な時間を作り出してくれた。このチャンスをもものにできなければ日本の ES cell biology はないと考えなければならない。

これらの ES 細胞は NIH の倫理基準, すなわち①生殖医療のため創られた胚由来であること (研究の目的のため作られたものではないこと), ② その胚はもはや生殖医療のために使われることはないこと, ③ 提供者からインフォーム・ドコンセントがとられていること, ④ 胚の提供者に経済的還元がなされないこと, を満たしていることが明らかになった場合, NIH に登録された。NIH はこれらの細胞を使う研究者に助成することにした。現在登録されている ES 細胞株は表 2 の通りである。

現在までヒト ES 細胞に関する研究を丹念にチェックしてみたが, まだそれほど多いわけではない。まず 1998年11月に Thomson らが Science にヒト ES 細胞の樹立を報告したのが最初である。1999年は沈黙の年であり, ヒト ES 細胞の可能性を示唆する論文はあるものの, 直接扱った論文はほとんどない。2000年になるとシンガポールで ES 細胞の樹立が行われた¹⁴⁾。今回京都大学が用いようとしているのがこの細胞である。同年イスラエルでも樹立され胚様体から三胚葉まで分化することが報告された¹⁵⁾。この細胞も NIH に登録されている。秋頃から次第に分化に関する研究が報告されるようになってきた。成長因子とヒト ES 細胞の分化に関する研究から, 一つの因子で一つの細胞に分化させることができず幾つかの因子が必要であることが分かった¹⁶⁾。さらにヒト ES 細胞は長期培養 (1年2カ月) においても, テロメアの長さがほぼ維持され, その性質が失わないなど基本的なことがらで解明され

表 2 NIH に登録されている ES 細胞株

機関名, 所在地	Number
▶ BresaGen, Inc., Athens, Georgia	4
▶ CyThera, Inc., San Diego, California	9
▶ ES Cell International, Melbourne, Australia	6
▶ Geron Corooration, Menlo Park, California	7
▶ Göteborg University, Göteborg, Sweden	19
▶ Karolinska Institute, Stockholm, Sweden	6
▶ National Centre for Biological Sciences/ Tata Institute of Fundamental Research, Bangalore, India	3
▶ Reliance Life Sciences, Mumbai, India	7
▶ Technion University, Haifa, Israel	4
▶ University of California, San Francisco, California	2
▶ Wisconsin Alumni Research Foundation, Madison, Wisconsin	5

た¹⁷⁾。特に論文は掲げないがこの年から次第に倫理的な面から ES 細胞を議論し始めている。2001年から分化に関する興味深い報告がなされるようになった。ヒト ES 細胞は分化しやすく維持しにくいといわれている¹⁸⁾。その判別を行うために特殊なリポーター遺伝子の導入を行った報告がイスラエルからなされた。同じくイスラエルよりインスリン分泌細胞に分化したことが報告された¹⁹⁾。しかしこれは ES 細胞を自然に分化させ、その一部がインスリン産生細胞に変わったものである。さらに胚葉体の8.1%が心筋細胞に分化したことが報告された²⁰⁾。ヒト ES 細胞から造血細胞が分化したという報告は日本のマスメディアも取り上げたので記憶にあるかもしれないが、赤系、白系そして巨核球の特徴を示す細胞が牛血清を使うことで分化したのである²¹⁾。ベンチャー企業である Geron が報告した、フィーダー細胞がなくとも ES 細胞は維持できるという論文も興味深い²²⁾。細胞は Matrigel, Laminin の上で培養されたという。12月に Thomson らが FGF2 (fibroblast growth factor) を用いることにより、神経前駆細胞を分化させ、この成長因子を抜くことで神経、星状膠細胞、希突起膠細胞が分化し、この前駆細胞を移植しても奇形種を形成しなかった²³⁾。以上が1998年より2001年までヒト ES 細胞の研究報告である。我々が今後研究を進めていく上でどこを開拓していくか、そのヒントがこの中に多く含まれている。

III WiCell Research Institute のヒト ES 細胞

次に信州大学が使用する ES 細胞について説明する。これは Thomson らが世界で最初に樹立した株で NIH に5株登録されている。1998年の1月にインフォームド・コンセントの内容が審査委員会により承認された。インフォームド・コンセントの内容を8項目に分け、かいつまんで述べる。

- ① 目的：胎生期の基礎研究
- ② 胚の処置：受精後10日前後の胚から内細胞塊を分離し株化する。この項で内細胞塊は完全な胎児ではない。すなわちそれ自体では子宮に戻されても胎児になることはないとして述べている。
- ③ ES 細胞の重要性：ES 細胞の無限の増殖と多分化能は細胞特異的に起こる疾病に有用である。
- ④ ES 細胞が議論の対象になる理由：この細胞自体個体になることはないが、胎生期の性質を持つが故に個体を作る研究の議論がこの細胞についてもなされる場合がある。いずれにしろどのような方法でも

個体を作ることはしない。

- ⑤ 提供者における利益について：医学的に貢献することはあっても本人には直接的な利益はない。どのインフォームド・コンセントでも触れられているように、これは研究プロジェクトであり、治療ではない。したがってこの研究に参加しないことを選択してもよいと述べている。
- ⑥ 提供者への経済的還元の有無：提供者への経済的還元はなく、樹立された株および分離の方法と細胞株の性質に関する特許などはウイスコンシン大学 (WARF) に帰属する。後でまた触れるが樹立の方法に関することまですでに特許で抑えている可能性がある。
- ⑦ 提供者に関する秘密保持：プライバシーに関して可能な限り保護する。しかし絶対的なものでもないとして断っている。
- ⑧ 提供する意思が変わった場合：内細胞塊として培養されるまではいつでも断ることができる。

このインフォームド・コンセントは両性のパートナーからとられ、かつ彼らの保証人のサインが求められていることに大きな特徴がある。このようなインフォームド・コンセントに基づいてヒト ES 細胞が1998年11月に樹立された。

我々が使用する ES 細胞はインフォームド・コンセントが得られた後で生殖医療目的として作成された受精卵のうち余剰卵から樹立されたものであることを WiCell に直接確認した。これまで述べてきたことから NIH の4つクライテリアをすべて満たしていることは理解できるであろう。Thomson はこの細胞をかなり早期から研究者への研究目的のために無償提供(輸送費などは別)することを提案し実行してきた。

WiCell の細胞の使用で一つ問題になるのは Geron との契約である。この細胞は Geron の経済的バックアップの上で樹立された。そのため WARF から培養方法に関与する二つの重要な特許に基づいた商業化の権利が Geron に供与されている。したがって研究として発表することに問題はないが、このままの状態ではパテントをとっても、基本的な部分でかなり押さえ込まれてしまうことは念頭に置かなければならない。医療に還元するものを過度なパテントで押さえ込むことは納得できかねるが、商業ベースにのせ、安全に効率よく提供するためにはやむをえない面もあるかもしれない。彼らが分離、培養方法という基本的なところでパテントを抑えているとすれば、似たような方法で樹

立したものは例え異国であれパテントの価値はかなり下がるであろうと推測する。これを崩すためにはまったく新しい方法で樹立する必要がある。そのためにはヒト ES 細胞の情報を十分集め、新たなブレイクスルーを求めなければならない。輸入ヒト ES 細胞を用いて早期に研究を開始する理由の一つである。

また WiCell の契約は研究者と場所を限定する。これに反すれば研究の中止と損害に対し補償しなければならない。我々は WiCell に対して ES 細胞の使用を信州大学医学部に限定することを提案した。この場合医学部以外で研究をやることは許されないが、医学部内ならば関心を持つ多くの学友が使えるからである。

IV 日本での ES 細胞研究解禁までの経過

我が国においてヒト ES 細胞について国家的な議論が開始されたのはヒト ES 細胞が樹立された翌年からである。2月9日に第1回ヒト胚小委員会が開催された。これらの議論は2000年3月にヒト胚性幹細胞を中心としたヒト胚研究に関する基本的考え方としてまとめられた。この中で輸入 ES 細胞については次の3行に集約された。輸入される ES 細胞については、我が国における樹立に関する条件を考慮しつつ、個別に検討する。これは第10回の議事録に記載されているものである。すぐさま指針(案)が作成された。最終的に指針²⁴⁾として出されたのは9月25日である。この中で輸入 ES 細胞について26条二の3に次のようにまとめられている。前項の規定にもかかわらず、文部科学大臣がこの指針を基準として樹立されたものであると認める場合には、使用機関は、海外から分配を受けるヒト ES 細胞を使用することができるものとする。したがって最終的には文部科学大臣の判断にゆだねることになる。

この指針は大きくわけて提供機関、樹立機関、使用機関の3つの機関についてクライテリアを定めている。信州大学が申請している使用機関としてのクライテリアは主に研究目的、技術、人員、施設の確保、ES細胞の管理、個体を作成しないという倫理的な保証である。しかし輸入 ES 細胞の場合、さらにこの細胞の樹立に関する情報が求められる。恐らく日本の指針の中で海外と根本的に異なるのは胚を1カ月間凍結することであろう。この目的は提供者が十分に熟考でき、かつ第三者が十分に議論できる時間を確保するためである。これを厳密に踏襲している海外の受精卵は、たまたまはあるにしても、そのような意図で行われている

ものはほとんどないと考える。WiCell の ES 細胞の場合、1998年の Thomson らの論文では使用した受精卵は *fresh or frozen* であると記載している。また直接彼らから得た情報では提供者が確定されないようにするため、すでにどの細胞が凍結されたものか新鮮なものかわからないという。これはプライバシーを保護するための当然の処置と考える。凍結1カ月のポイントは十分にインフォームド・コンセントが得られたかどうかにあるが、本質を見失いこの言葉だけが一人歩きしてしまう可能性もある。輸入 ES 細胞の妥当性については国家機関の判断を待つしかない。

V 信州大学での ES 細胞インフラ整備

信州大学では1998年、解剖学第1講座、動物実験施設が中心となり、ES細胞の分化を意識した研究に着手した。我々の研究の動機は臓器移植が抱える問題、すなわち慢性的なドナー不足、そのためこの先端医療が十分に国民に還元されていないという事実、そしてこの原因となる倫理的問題を解決したいという強い思いに駆られたためである。我々が目指したのは自らの細胞から細胞、組織、臓器を作り、自らのからだに戻すという他人を頼らない自己完結型の治療法を確立することであった。その有力な担い手が ES 細胞であると我々は認識していた。

着手して1年後にマウス ES 細胞を樹立し、その研究方法をキープした。次に分化の研究にとりかかった。我々は特定の細胞への分化にこだわることなく、すべての細胞に分化させることをもくろんだ。なぜなら医療の現場がすべての細胞を望んでいるからである。同時に胎生期の臓器を用いながら、分化した後、どのようにそれを用いるかをシミュレートした。その中で心臓の研究が早期に立ち上がったので、ES細胞に関しても、心筋細胞への分化に関する研究を強力に進め、その応用へ発展させた。さらに肝細胞への分化に着手し、現在腎臓、消化器、内分泌器への分化へと進めている。

しかしマウスの研究における最大の欠点は、マウスの情報のみでヒトへの応用はできない点にある。マウスとヒトは細胞の動態、生体との反応が微妙に異なる。この微妙な違いが実際臨床へ応用する際、大きな足枷になる。したがって我々は、ヒト ES 細胞の情報を得るため、1999年頃から信州大学にヒト ES 細胞の導入することを計画し始めた。そのころ日本ではヒト ES 細胞の研究は解禁されておらず、ようやくヒト胚小委

員会が立ち上がり、審議が開始された時期である。その審議の方向と ES 細胞に対する国民の反応を見ながら、一方ではどのようにしてヒト ES 細胞を導入するか、すなわち樹立か輸入かを検討した。論議の推移を見ながらかつ本学の状況をかんがみ、本学において樹立から開始するのは難しいと判断した。そのため輸入 ES 細胞にターゲットを絞る、使用機関として研究のみを行うことを目指した。当時ウイスコンシン大学だけが樹立された細胞を研究目的に使用することを前提にし分配することを公にしていた。この細胞を導入の第一候補とした。

2000年3月にヒト胚研究小委員会からヒト胚性幹細胞を中心としたヒト胚研究に関する基本的考え方が出された。これにより、使用機関としての条件が具体的になり、かつ輸入 ES 細胞も幾つかの条件で、導入できることが明らかになった。しかしまだガイドラインの形をとっておらず、具体的な書式などはできていなかったために、実際に申請することは控え経過を見守った。拙速が長い目を見た場合、進歩の流れを抑えることは臓器移植で十分に経験しているからである。

2001年に指針（案）が出され、申請書の書式は明確でなかったが、方向性がはっきり示されたことを確認したため、本学部の倫理委員会に研究計画書を提出する準備を進め、6月に申請した。以後指針（案）に沿い、新たな委員会の設置、規約の作成、審議へとすすんだ。かなり踏み込んだ議論の後に申請書は受理され、9月に教授会で承認された。その間輸入元の WiCell Research Institute との交渉を開始した。9月25日正式な指針が発布された。再びこの指針に照らし検討された結果、申請書は指針に適合することが再確認され、指定された書式にまとめなおされた。11月27日に第1回の生命倫理安全部会特定胚及びヒト ES 細胞研究専門委員会が開催され審査の方針が決められた。我々の申請書は事務的なヒアリングを二度受けた後で12月7

日に文部科学省に提出された。恐らく2002年2月末に決定されるものと思われる。

VI 信州大学における ES 細胞の研究の概要と将来計画

本学における ES 細胞の研究が臨床応用を目指したものである限り、長期展望に立ったものでなければならぬ。そのシナリオを描くことが出来るならば自ずと研究テーマは確定する。欧米で単発的に臨床応用が現れ始めるのが5～8年後、現在の趨勢を考えると恐らく十数年で本格的な臨床応用が開始されると思われる。私の手元に第7回技術予測調査の一覧がある。その中に2020年に胚性幹細胞を用いた障害臓器の再生治療技術の普及とある。私の予測よりも5年後を想定している。どちらが正しいか、多くの人達は自ら確認できるであろう。

十数年を3期に分ける。最初の3年は基礎研究、次の5年は臨床応用への準備期、3期目が実際の臨床応用である。表3にまとめた。

今回申請しているヒト ES 細胞の使用期間は5年ちょうど臨床応用への準備期の中頃までである。恐らくそのころ臨床応用への具体的な新たな国家指針が提示されるものと思われる。正念場は5年である。

臨床応用まで何をすべきかを考えれば自ずと研究テーマは定まる。信州大学では次の5つのテーマにそって進む。信州大学と他大学との大きな違いは ES 細胞研究を医学部あげて行う点にある。1講座や2講座が蝸壺のように状態で研究を進めても、現在の怒濤のような ES cell biology の発展に対応できない。医学部をあげて行うことにより、研究者の層が厚くなり、数多くの細胞が一気に臨床応用へ用いることができるようになるのである。長期戦略の中で ES cell biology を考えなければならない。

① 輸入ヒト ES 細胞の効率のよい維持、保存、大量

表3 信州大学における ES 細胞研究の将来計画

	平成14～16年	平成16～21年	平成21～27年	活動計画
第一期				ヒト ES 細胞の基礎研究
第二期				臨床応用への準備
第三期				臨床応用開始

培養の方法の確立：ヒト ES 細胞が研究分担者に円滑に供給されることが、このプロジェクトの成否を握る。

- ② ES 細胞の基本的性質の解明：特に細胞間相互作用の研究は分化機構を明らかにし、コントロールするために重要になるであろう。
- ③ ES 細胞の分化とセレクトに関する研究：前に述べたように分化させる、あるいはセレクトする方法に定まったものはない。試行錯誤が要求される。自分のアイデアを試せる領域である。
- ④ 分化細胞の基本的性質の解明：分化した細胞が *in vitro* で一見機能するようになって見えても *in vivo* ではフリーズしてしまう場合がままある。臨床応用を行うためにはこのバリアーを超えなければならない。
- ⑤ 奇形腫発現を抑制する方法の確立：臨床応用する際、恐らくもっとも大きな問題になるのが奇形腫の発現である。完全な分化、厳密なセレクトが解決のカギであるが、最近の Thomson らの報告では、ラフに分化させ、それほど厳密にセレクトしているとは思えないが、奇形腫は発生していない。案ずるより生むがやすしかもしれない。
実際に医療に持っていくためには、さらに細胞自体

の安全性、凍結保存の技術も開発されなければならない。

現在の体制でもっとも大きな問題は分散した状態で研究が行われている点にある。このような状況では細胞の管理が難しく、また研究者の交流が行われにくい。したがって早期に ES 細胞研究をワンフロアーにまとめることが必要である。

十数年にわたる ES 細胞研究の青写真を描いてみた。今大学は揺れている。このような時期こそ、新しいものを創造する大きなチャンスだと考え、スクラムを組み前進しなければならない。医学部が創設されて50年、大きなブレイクスルーが起きる時期にさしかかってきている。ES 細胞研究を機に信州大学がさらに飛躍することを期待したい。

謝 辞

第1解剖学教室の ES 細胞の研究整備にエネルギーを注いでくれた学生の岡村真太郎君、鈴木研裕君、ES cell biology をともに展開してくれてきた動物実験施設の田川陽一講師、教室のスタッフに感謝する。表1の作成は岡村君の協力を得た。

文 献

- 1) Evans MJ, Kaufman MH: Establishment in culture of pluripotential cells from mouse embryos. *Nature* 292: 154-156, 1981
- 2) 田川陽一, 浅野雅秀, 岩倉洋一郎: 遺伝子ノックアウトマウスの作製法. *細胞工学* 14: 946-955, 1995
- 3) Thomson JA, Itskovitz-Eldor J, Shapiro SS, Waknitz MA, Swiergiel JJ, Marshall VS, Jones JM: Embryonic stem cell lines derived from human blastocytes. *Science* 282: 1145-1147, 1998
- 4) Fraichard A, Chassande O, Bilbaut G, Dehay C, Savatier P, Samarut J: *In vitro* differentiation of embryonic stem cells into glial cells and functional neurons. *J Cell Sci* 108: 3181-3188, 1995
- 5) 國貞隆弘: ES 細胞から色素細胞・神経提細胞への分化. *細胞療法* 9: 28, 2001
- 6) Lumelsky N, Blondel O, Laeng P, Velasco I, Ravin P, McKay R: Differentiation of embryonic stem cells to insulin-secreting structures similar to pancreatic islets. *Science* 292: 1389-1394, 2001
- 7) 鈴木研裕, 岡村真太郎, 神吉昭子, 城倉浩平, 荻原直子, 麻沼和彦, 田川陽一, 佐々木克典: 異所性バイオ人工心臓創生にむけて. 第4回日本組織工学学会, 横浜, 2001
- 8) Brustle O, Jones KN, Leartish RD, Karram K, Choudhary K, Wiestler OD, Duncan ID, McKay RDG: Embryonic stem cell-derived glial precursors; A source of myelinating transplants. *Science* 285: 754-756, 1999
- 9) Klug MG, Soonps MH, Koh GY, Field LJ: Genetically selected cardiomyocytes from differentiating embryonic stem cells form stable intracardiac grafts. *J Clin Invest* 98: 216-224, 1998
- 10) Okamura S, Suzuki A, Johkura K, Ogiwara N, Harigaya M, Yokouchi T, Sasaki K: Formation of the bio-pulsatile vascular pump by cardiomyocytes transplants circumvallating the abdominal aorta. *Tissue Eng* 2002 (in press)
- 11) 中辻憲夫, 多田 高: 万能細胞, 体細胞から一拒絶反応少ない臓器も. *日本経済新聞*, 2001年10月3日

- 12) Ishida O, Maruyama K, Takahashi H, Iwatsuru M, Sasaki K, Eriguchi M, Yanagie H: Liposomes bearing polyethyleneglycol-coupled transferin with intracellular targeting property to the solid tumors in vivo. *Pharm Res* 18 : 1042-1048, 2001
- 13) Bush squeezes between the lines on stem cells. *Science* 293 : 1242-1245, 2001
- 14) Reubinoff BE, Pera MF, Fong C-Y, Trounson A, Bongso A: Embryonic stem cell lines from human blastocysts: somatic differentiation in vitro. *Nature Biotech* 18 : 399-404, 2000
- 15) Itskovits-Eldor J, Schuldiner M, Karsenti D, Eden A, Yanuka O, Amit M, Soreq H, Benvenisty N: Differentiation of human embryonic stem cells into embryoid bodies compromising the three embryonic germ layers. *Mol Med* 6 : 88-95, 2000
- 16) Schuldiner M, Yanuka O, Itskovits-Eldor J, Melton DA, Benvenisty N: From the cover: effects of eight growth factors on the differentiation of cells derived from human embryonic stem cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 97 : 11307-11312, 2000
- 17) Amit M, Carpenter MK, Inokuma MS, Chiu CP, Waknitz MA, Itskovits-Eldor J, Thomson JA: Clonally derived human embryonic stem cell lines maintain pluripotency and proliferative potential for prolonged periods of culture. *Dev Biol* 227 : 271-278, 2000
- 18) Eiges R, Schuldiner M, Drukker M, Yanuka O, Itskovits-Eldor J, Benvenisty N: Establishment of human embryonic stem cell-transfected clones carrying a marker for undifferentiated cells. *Curr Biol* 11 : 514-518, 2001
- 19) Assady S, Maor G, Amit M, Itskovits-Eldor J, Skorecki KL, Tzukerman M: Insulin production by human embryonic stem cells. *Diabetes* 50 : 1691-1697, 2001
- 20) Kehat I, Kenyagin-Karsenti D, Snir M, Segev H, Amit M, Gepstein A, Livne E, Binah O, Itskovits-Eldor J, Gepstein L: Human embryonic stem cells can differentiate into myocytes with structural and functional properties of cardiomyocytes. *J Clin Invest* 108 : 363-364, 2001
- 21) Kaufman DS, Hanson ET, Lewis RL, Auerbach R, Thomson JA: Hematopoietic colony-forming cells derived from human embryonic stem cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 98 : 10716-10721, 2001
- 22) Xu C, Inokuma MS, Denham J, Golds K, Kundu P, Gold JD, Carpenter MK: Feeder-free growth of undifferentiated human embryonic stem cells. *Nat Biotechnol* 19 : 971-974, 2001
- 23) Zhang S-C, Werning M, Duncan ID, Brustle O, Thomson JA: *In vitro* differentiation of transplantable neural precursors from human embryonic stem cells. *Nature Biotech* 19 : 1129-1133, 2001
- 24) ヒト ES 細胞の樹立及び使用に関する指針 (平成13年文部科学省告示代55号, 2001年9月5日)

(H 13. 12. 10 受稿)