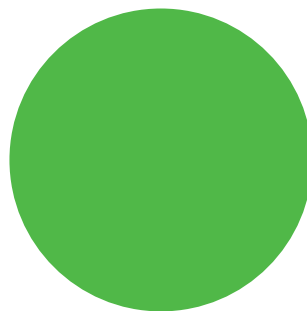
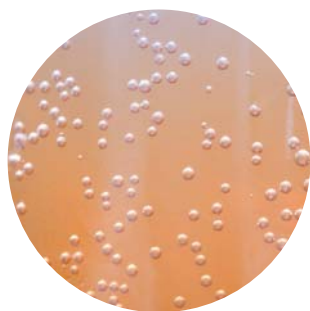
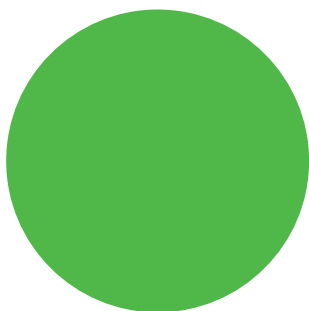


# ASCA Bulletin

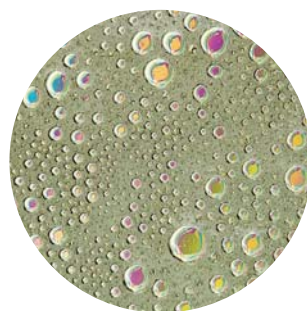
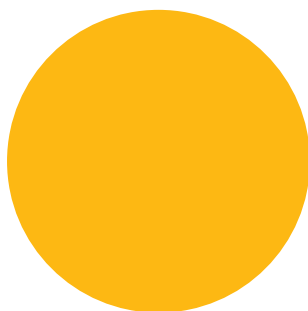
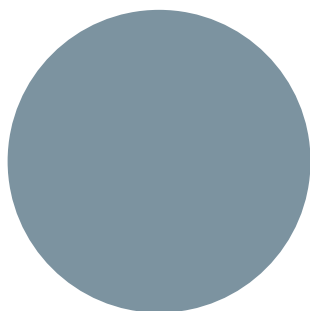
November 2015 vol. 12



r e g e n e r a t i v e



m e d i c i n e



## ■ プロフェッショナルに聞く

- 再生医療を支える基礎研究 — 膵β細胞を再生させる取り組み
- 再生医療最前線 — 多細胞システム研究から再生医療への「橋渡し」 —

- ASCAスタイル：社員研修 ～ASCA meets MORIUMIUS～ 「東北から未来のASCAを考える」
- ASCA掲示板：情報を列挙する ～コンマ、セミコロン、コロンの効果的な使い方～
- 科学誌サイエンス記事：順遺伝学的スクリーニングにより赤血球のCD55が熱帯熱マラリア原虫 (*Plasmodium falciparum*) の侵入に必須であることが同定された

# プロフェッショナルに聞く

## 再生医療を支える基礎研究

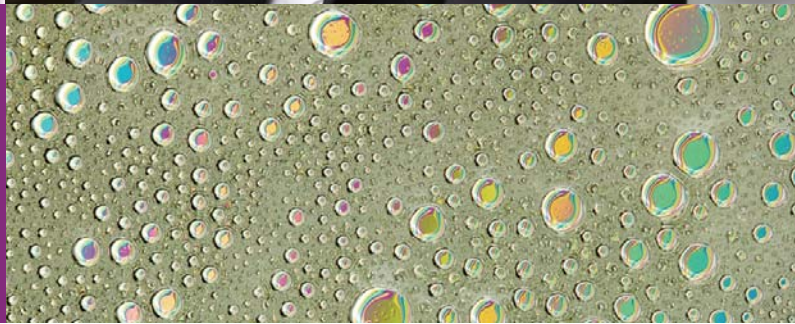
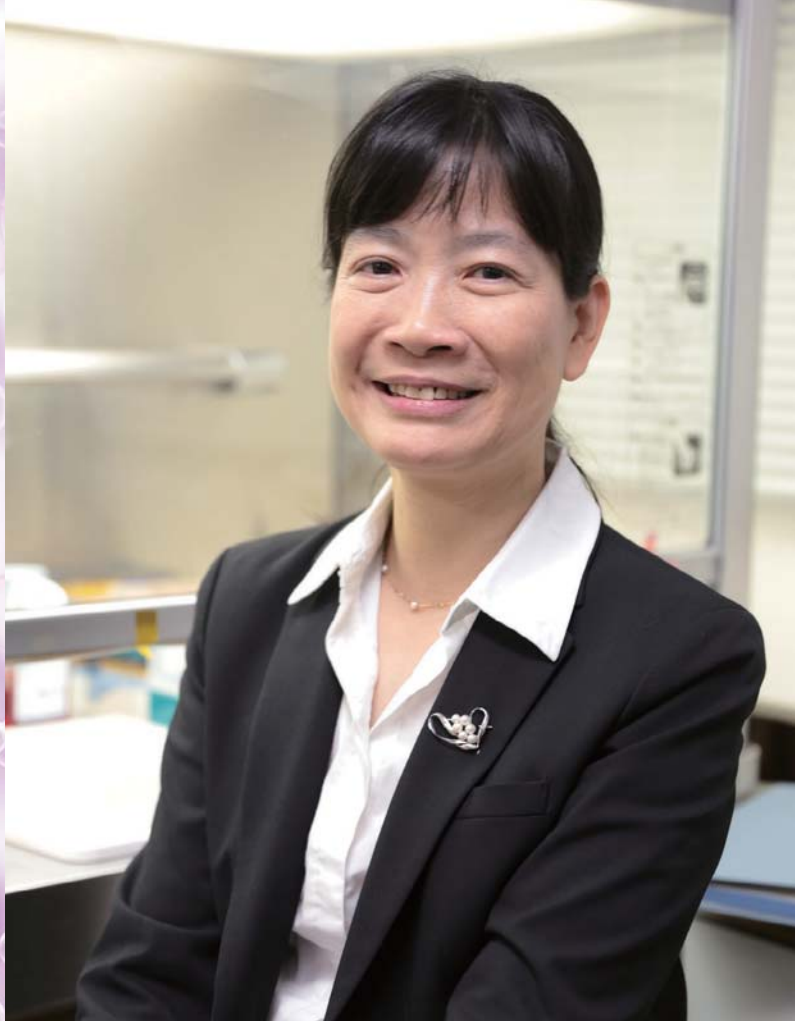
### — 膵β細胞を再生させる取り組み



くめ しょうえん  
**糸 昭苑** 先生

東京工業大学 大学院生命理工学研究科

血糖値は膵臓にあるβ細胞でのインスリン分泌によって調節されており、このβ細胞の機能が低下すると血糖値がコントロールできなくなり、糖尿病に至ります。糖尿病を根治するには膵臓の機能自体を回復させるほかありませんが、膵臓移植は治療機会が限られていることから、再生医療による治療に期待がかかっています。今回は、膵臓など内分泌臓器の分化・再生に関して先進的な研究に取り組む東京工業大学 糸 昭苑先生にお話を伺いました。



## β細胞はなぜ働きを失うのか

糖尿病は、端的に言うと膵臓でインスリンを産生するβ細胞の働きが弱ってしまう疾患です。日本人に多いのは2型糖尿病で、遺伝的な要因と環境的な素因の両方が関わってβ細胞の機能低下やインスリン感受性の変化が起こり、血糖値が高くなります。一方で、1型糖尿病はβ細胞自体が何らかの理由で損傷してしまうことが原因で起こります。

1型糖尿病の原因は自己免疫ですが、正確にはよくわかっていませんでした。しかし近年、ウィルス感染などが引き金で自己抗体ができてしまい、その攻撃によってβ細胞が失われてしまうために、インスリンを産生できなくなるという病態が明らか

になってきています。2型糖尿病でも糖尿病が重篤化して長期的に大きな負荷がかかると、脱落して失われてしまい、結果的には同じ状況になります。正常なインスリン産生能を持ったβ細胞を再生することができれば、残存する膵臓のβ細胞からの再生によって、糖尿病の治療への道が広がることになります。

私たちの研究室では、膵臓を含む消化器官のin vitroでの創製を目指して研究を行っています。胚性幹細胞(ES細胞)や人工多能性幹細胞(iPS)細胞を用いて、発生・分化の機序解明や、作製技術の向上に努めています。

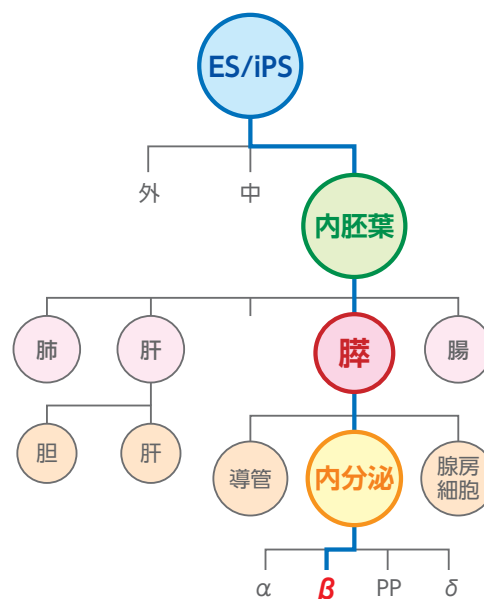
## 幹細胞から膵β細胞への系譜

私の研究のスタートは発生生物学でした。生物のbody plan\*からどのように細胞運命が決定され、分化誘導されるのかということに関心があり、アフリカツメガエルを使って体の形態形成や、初期発生の段階で必要なシグナルを研究していました。この研究の成果を*Science*に発表し<sup>1)</sup>、発生初期についての研究がある程度一段落したところで、新たな研究分野を開拓し、手技を身につけるためにハーバード大学のDoug Melton教授の研究室に留学することになりました。それが膵臓の研究をはじめめる転機になりました。

当時、膵臓の発生分化にフォーカスを当てた研究は少なかったのです。論文や研究書もまだ少なく、例えば膵臓が内胚葉から発生することについても、諸説が存在した中ようやく決着がついたという段階でした。そんな中、状況を変えたのが1998年のヒトES細胞の樹立です。Melton教授がこのニュースに目をつけられ、私たちの研究室でも培養してみようということになりました。世に出たばかりの当時、運用は試行錯誤で、まずES細胞を増殖させるだけでも一苦労でした。しかしそこからMelton研ではインスリン産生細胞を多く取得できるプロトコルを開発し、*Science*に発表するなどの成果を上げました<sup>2)</sup>。私は2002年に留学を終え熊本大学に着任するのですが、その後も引き続きこの分化の研究を進めました。

幹細胞から膵β細胞へ分化する系譜にはいくつかの段階があります(図)。ヒトのES細胞やiPS細胞を使用するメリットは、β細胞の分化を発生と同じ細胞系譜をたどりながら追跡できることであり、それぞれの分化誘導の条件やメカニズムの解明につながってきました。ある細胞に分化しているかどうかを確認

するには、特定の物質(マーカー)の発現の有無を観察します。β細胞のマーカーはインスリンなのですが、インスリン産生が起こるのはかなり後期の段階なので、より初期の膵臓前駆細胞マーカーであるPdx1\*の発現をモニターするようになりました。その過程で2008年に私たちは、Pdx1陽性細胞に効率よく分化誘導する条件を見つけました。M15という細胞をフィーダー\*として使用することで、約30%の細胞が膵前駆細胞に分化することがわかったのです<sup>3)</sup>。当時は膵臓に至る系譜に分化誘導すること自体に苦労していましたし、他の内胚葉性細胞の分化における誘導の効率化の条件を見つけるヒントにもなったという意味で、重要な発見だったと思います。



図：幹細胞から膵β細胞への細胞系譜 ©東京工業大学

\*Body plan：生物の体の設計図。完成図としての身体だけでなく、細胞の分化や形態形成などのプロセスも含む概念。

\*Pdx1 (pancreatic-duodenal homeobox 1)：DNAからRNAへの転写を制御する転写因子のひとつ。膵前駆細胞に発現し、内胚葉からの分化に重要な役割を果たしていると考えられる。

\*フィーダー：目的とする細胞の増殖や分化を促すため、培養時に用いる細胞。マウス胚線維芽細胞(MEF)が一般に用いられる。



β細胞を作るからには、どうしてもインスリンの産生を見たいものですが、私たちの研究では、急ぎすぎずに1つ1つ地道にマーカーを確認するという方法で研究を進めてきました。現在

では分化の系譜に加えて分化を誘導する因子もかなり明らかになっており、1ヵ月程度かかっていたβ細胞への分化も、効率化に従い必要な日数がより短くなっていくと期待されます。

## ES細胞/iPS細胞を用いた糖尿病再生医療の現在と展望

移植などの臨床応用を考えると、ただインスリンを産生する細胞ができればいいというわけではなく、生体内でグルコース依存性、すなわち血糖が上昇している場合にインスリンを分泌できる細胞を作る必要があります。

私たちの研究室では、昨年(2014年)、iPS細胞からxeno-freeの培養系でグルコース依存性にインスリンを産生するβ細胞の作製に成功しました<sup>4)</sup>。xeno-freeというのは異種由来成分を含んでいないという意味で、すなわち細胞だけでなく培養液や因子を含めすべて動物由来のものを用いずにβ細胞に分化させることができたということです。移植にあたり安全性の問題をひとつクリアできたのではないかと考えています。

ES細胞やiPS細胞から、こうした機能性のβ細胞を作る取り組みは世界的に進んでおり、発表が相次いでいます。Melton研でもヒトiPS細胞から成熟β細胞と同様のインスリン産生能を持つβ細胞に分化させ、Cellに論文を発表しています<sup>5)</sup>。特徴的なのはイメージングを行い、カルシウムイオンの細胞内への流入までを視覚的に確認していることです。私たちの研究室でも細胞の培養方法に関する論文を発表しているほか<sup>6)</sup>、Melton研のプロトコールについても検証を行っていて、私たちのプロトコールの改善と並行して比較しているという状況です。

iPS細胞を用いた研究では、すでに移植を見据えたプログラムも進行しています。東京大学分子細胞生物学研究所 宮島 篤教授がリーダーを務める「iPS細胞を基盤とする次世代型膵島移植療法の開発拠点」ネットワークプログラムでは、重症インスリン依存性糖尿病に対する膵島移植に用いるための機能的な膵島の作製を目指して、膵島の分化誘導に始まり大量の調製法、免疫隔離膜による移植に至る技術開発を行っています。

このように隔離膜を使用することにより、安全性に関して重大な問題が出る懸念を回避できると思われる。先にも述べたように動物実験ではin vivoでの成熟化は示されていますので、ヒトでも問題なく進む可能性が高いと考えています。ただ、糖尿病はすぐに命に関わる疾患ではありませんから、患者さんのrisk-benefitの兼ね合いを考えますと、安全性については高い水準で立証されなければ普及は難しいでしょう。また、実際に治療となると、どの程度効果が出るかについては未知数と言わざるを得ません。網膜は臨床研究が始まっていますが、膵臓は網膜よりも治療効果を示すために必要とする細胞の数が多いため、それを用意することの難しさの問題が立ちはだかってくるかもしれません。

## β細胞の生理学の解明

このように臨床応用に向けた取り組みも進んでいるのですが、β細胞についてはまだまだわかっていないことも多いです。

近年では解析技術の進歩を受けて分化促進化合物のスクリーニングの手法も取り入れているのですが、その結果、興味深いことにモノアミン\*が膵臓の分化に関係していることがわかりました。モノアミン輸送体であるVMAT2の発現を阻害すると、膵前駆細胞から内分泌前駆細胞への分化が促進されたのです<sup>7)</sup>。神経伝達物質として知られるモノアミンが、発生期の細胞分化に深く関与していることは意外な発見でした。β細胞への分化には複雑な分子機構が存在しており、引き続き様々な角度からの検討が必要です。他には、栄養学あるいは細胞の代謝制御という観点からの研究が重要であることが最近わ

かってきています<sup>8)</sup>。今後、私たちは栄養・代謝状態によって分化の方向や成熟度に影響があるかどうか調べていく予定です。

また、失われたβ細胞は死滅するものと考えられてきたのですが、最近の研究では「脱分化(dedifferentiation)」という現象が起こっていることが示されています<sup>9)</sup>。高ストレス下でインスリンを発現しなくなったβ細胞の一部は脱分化してインスリン産生能を失っているだけなのではないかと考えられています。すなわち、脱分化した細胞をもう一度分化させることで機能を回復できる可能性があるということです。これらのメカニズムが解明されれば、薬剤によって再生を促すことも可能になるかもしれません。

\*モノアミン: セロトニン、ノルアドレナリン、ドーパミンなど単一のアミノ基を持つ神経伝達物質の総称。  
モノアミンの濃度低下がうつ病などの精神疾患に関連すると考えられている(モノアミン仮説)。

4) J Mol Cell Biol. 2014 Oct;6(5):394-408.

6) J Biol Chem. 2014 Apr 4;289(14):9623-38.

8) Cell Metab. 2014 May 6;19(5):780-94.

5) Cell. 2014 Oct 9;159(2):428-39.

7) Nat Chem Biol. 2014 Feb;10(2):141-8.

9) Cell. 2012 Sep 14; 150(6): 1223-1234.

ES細胞やiPS細胞から作り出したβ細胞には、直接的な再生医療に用いられるだけでなく、創薬研究や病態の解明に使うための試験モデルとしての用途もあります。そのためには、生理

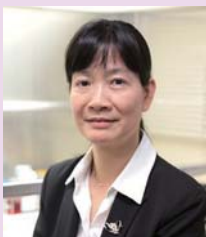
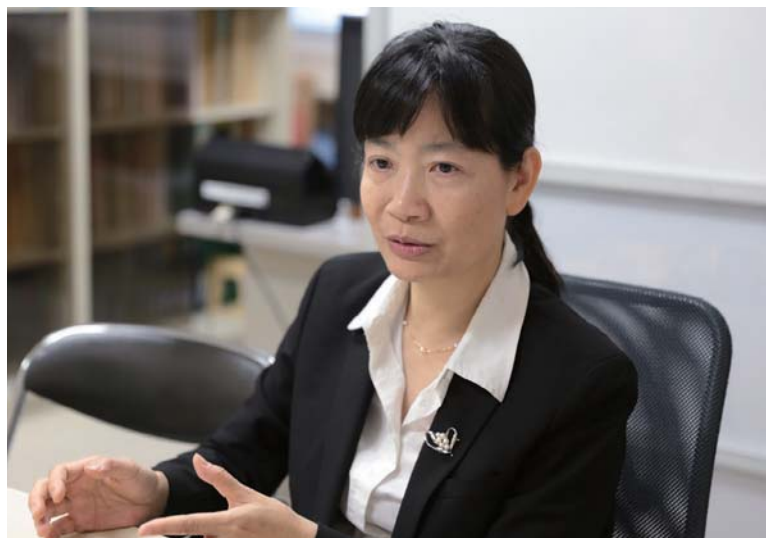
的な機能を細かく見ることができるといえるような系を確立しなければなりません。より効率的に質の高い細胞を作るために、今後もプロトコルや技術の改善が欠かせないと考えています。

## 基礎研究の貢献のあり方

私が師事していたMelton教授も発生生物学の研究者だったのですが、ご子息が1型糖尿病と診断されたのをきっかけに糖尿病治療の研究に取り組まれるようになりました。私もこのエピソードに感銘を受けて、膵臓の研究をするようになったのです。今でも1型糖尿病の患者さんと話をする機会をもち、自分の研究が人々の健康につながることを常に意識しています。

一方で、基礎研究者としての立ち位置もおろそかにはできないと考えています。私たちが研究の中で大事にしていることは、ばらつきをいかに抑えるかということです。基礎研究での実験は長期間にわたることもあり、細胞など生き物を相手にする場合、データを安定させることがなかなか難しいものです。特に、分化誘導の研究ではプロセスが多段階になるため、それぞれの効率に誤差が出ると最終的には大きな差になってしまいます。そのためには、一見時間がかかるように見えるかもしれませんが、再現性のことを考慮してアクセス系とプロトコルをきっちりと決めていくことが結果的には早道ではないかと思えます。

再生医療は大変期待の大きい分野ですので、早くポジティブな結果がほしいという考えはよく理解できます。しかし、現状では未知なことも多く、技術的な進歩も見込めることを考えると、一歩ずつ進めていくのが患者さんの利益になると信じています。



くめ しょうえん  
**桑 昭苑 先生**

東京大学薬学部、同大学院薬学系研究科卒。

帝人株式会社での勤務後、大阪大学大学院理学研究科博士課程を修了。米国ハーバード大学への留学、熊本大学発生医学研究所教授を経て、現在は東京工業大学大学院生命理工学研究科教授。

専門はin vitro 分化誘導系を用いた消化器官の発生・分化。

### インタビューを終えて

インタビューの中で、桑先生が一貫して強調しておられたのが「確かなプロトコルを作る」こと、そのために「地道に」「一歩一歩」取り組むことでした。私たちが報道で見る華々しい研究成果のニュースの裏にはこのような努力があり、そしてそれが強い信念に支えられていることに改めて感銘を受けました。