

## E S 細胞

許 南 浩

キーワード：ES 細胞，幹細胞，ノックアウトマウス，再生医療

### ES 細胞とは

ES 細胞は Embryonic stem cells (胚性幹細胞) の略である。

哺乳類の受精卵が発生を始めると、まず分裂を繰り返して細胞の集塊になり、その後中空のボールの内壁の一部に細胞の塊が付着した形になる。この段階を胞胚という(図)。ボールの壁は将来胎児を包む膜や胎盤を形成する。これを栄養性外胚葉という。内部の細胞の塊から胎児の全てができる。これを内部細胞塊 (inner cell mass) と呼ぶ。

内部細胞塊を適切な条件下で培養すると、その性質を変えることなく無制限に増殖させることができる。この細胞を別の胞胚に注入すると、その内部細胞塊と一緒に個体をつくる。元々内部細胞塊に由来するのであるから、自然なことではある。即ち、この細胞は身体のだどのような組織でも作る能力を有している。この細胞を Embryonic stem cells, 略して ES 細胞と呼ぶ。

生まれたマウスの組織には、胞胚由来の細胞(図では白色で示す)と ES 細胞由来の細胞(図ではグレイ)が混在している。このようなマウスをキメラマウスという。生殖細胞にも両者に由来するものがあるので、このキメラマウスを交配すれば、ある確率で ES 細胞由来の細胞だけから成るマウスができる。

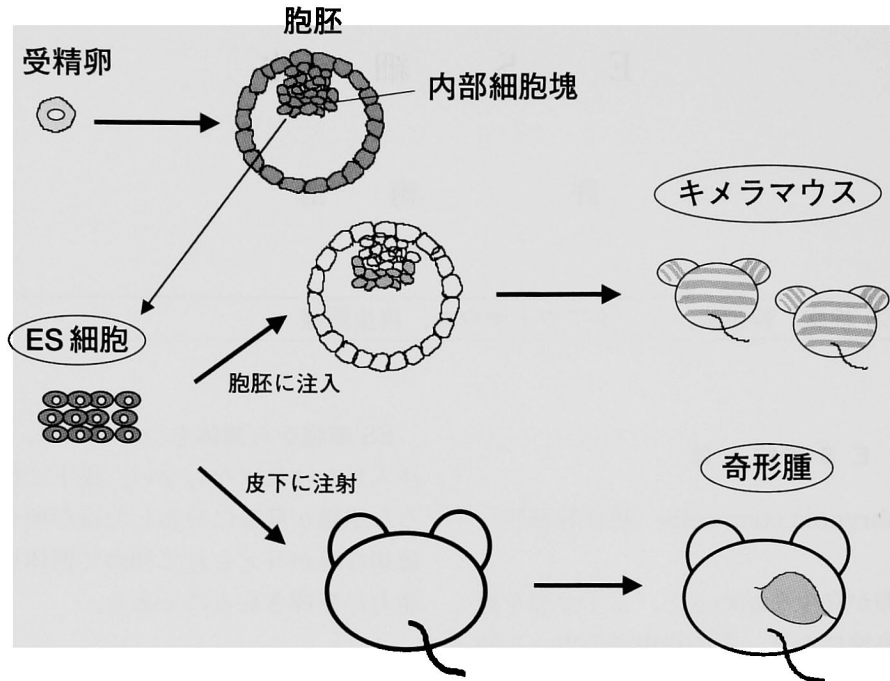
ES 細胞から個体をつくるには、ES 細胞を胞胚に注入しなければならない。皮下に移植するといろいろな組織が乱雑に分布した奇形種を形成する(図)。適切な場が与えられて初めて個体を形成するという能力が発揮されるのである。

### 幹細胞

幹細胞とは、文字どおり木の「幹」にあたる細胞を指す。幹からはいろいろな枝や葉が生える。普通、幹は1本だが、太い枝からは次々により細い枝が分かれて行くので、太い枝は細めの幹とも考えられる。胎児をつくる細胞も、初めは1種類だが、段階的に分化していく。従って、幹細胞も大元の幹にあたるものから太めの枝にあたるものまでいろいろある。個体の発生を考えると、ES 細胞は一番大元の幹であり、その他にも様々な段階の幹細胞がある。成体の組織にも幹細胞は存在する。骨髄、皮膚、消化管上皮などは古くから知られているが、最近ではその他多くの組織中にいろいろな細胞に分化しうる幹細胞が見出されつつある。

いろいろな幹細胞の特徴を一言で纏めるのは難しいが、要点をあげれば次のような性質をもつものと言う。

- 1) 複数の分化細胞を最終的に生み出す。全ての細胞を生み出す能力をもつものを totipotent (全能性) という。限られた種類の細胞しか生み出さないものを、pluripotent, multipotent (多能性) という。後者の方がより限定された細胞種を生み出す場合に使われる。



- 2) 自己複製能をもつ。幹細胞は分裂を経て、一方で分化の道を辿る細胞を生み出すと同時に、他方では幹細胞としての性質を維持する細胞をも生み出す。後者の性質を self renewal (自己複製) という。
- 3) 増殖は一般に遅い。このことは遺伝子変異の起こる確率を下げる意味がある。幹細胞より少し分化の進んだ細胞集団は活発に増殖をして必要な細胞数を確保する。

### ES細胞の培養

ES細胞はまずマウスで樹立され<sup>1,2)</sup>、その後ヒト<sup>3)</sup>を含めた幾つかの動物種でも樹立可能であることが示された。未分化状態を維持するには、胎児線維芽細胞等と共に培養する必要がある。これをフィーダー細胞と言う。マウス ES細胞の場合、この作用は LIF (leukemia inhibitory factor) で代用する。一般に ES細胞の増殖は非常に速く、適切な状態で培養すれば分裂可能な回数に制限はないと考えられている。

ES細胞は、培養経過中、ややもすると分化の傾向

を辿る。多少とも分化すると、胞胚に注入して個体を形成させる際に、全身の組織の構築に参画せず、一部の組織を形成するにとどまる。特に生殖細胞への参画が影響を受けやすい。

### ES細胞の遺伝子操作とノックアウトマウスの作成

将来個体を形成する能力を持つ細胞を培養化できたことの最大の利点は、培養中にいろいろな遺伝子操作をすることが可能になったことである。外から新しい遺伝子を入れてやると、その遺伝子を全身あるいは特定の組織に発現するマウスを簡単につくることができる。

ゲノムの特定部分の塩基配列と同じ塩基配列をもつ DNA断片を細胞に導入すると、低い頻度ではあるが、その DNA断片とゲノム上の対応部分との間に組み替えが起こる。ある特定の遺伝子に対して、両端はその遺伝子と相同の配列を持ち、真ん中の部分は全く異なる DNA断片を使えば、ゲノムの中でその遺伝子の構造だけを壊すことができる。この ES細胞を使って個体をつくれれば、その遺伝子の欠失した個体ができる。これをノックアウトマウスといい、

ヒト遺伝病のモデルとして使われたり、特定の遺伝子の全身に対する影響を調べるのに広く使われている。

遺伝病の原因遺伝子が特定されていれば、その壊れた部分を正常な構造をもつ DNA 断片と組み換えることによって治すことができる。これも勿論、実験動物での話である。

#### 培養内分化誘導と再生医療への応用

ヒトは様々な疾病や老化によって臓器の機能が部分的に障害されることが多い。臓器移植をすれば機能を代替・補完しうが、ドナーは絶対的に不足している。そこで近年、細胞を使う再生医療の試みが急激に発展しつつある。細胞は基本的に増殖させることができるからである。

ES 細胞は無限の増殖能を持ち、潜在的には全ての細胞種への分化が可能である。従って、再生医療を担う細胞として期待が高まるのは当然と言えよう。既にヒト ES 細胞から、神経細胞、血液細胞、筋肉細胞、心筋細胞をはじめ、いろいろな細胞が培養内でつくられている<sup>4)</sup>。しかし、効率よく特定の細胞に分化させること、大量に細胞を調製すること、さらにどのように組織に組み上げていくかという大きな問題が残されている。

治療を考えると、もう一つの深刻な問題は免疫学的拒絶である。理論的には、受精卵を脱核して患者の体細胞の核を移植した後、胞胚にまで発生させて、そこから ES 細胞をつくること

しこれはクローン人間の作成につながりかねないので、厳禁されている。

最近、ヒトの未受精卵を胞胚にまで単為発生させて、そこから ES 細胞を樹立したという報告がなされた<sup>5)</sup>。単為発生は途中でとまって個体を形成するに至らないので、倫理的問題をクリアできる可能性がある。但し、これは女性にだけ適用できる方法である。潑刺女性に哀れな男性という社会が来るかも知れない(もう来ている!?)。

このように、治療への応用という観点から考えると、ES 細胞は万能ではない。むしろ ES 細胞は分化機構研究のモデルに過ぎないと考える人もいる。ヒト ES 細胞の医療における意義が明らかになるには、いまだ少し研究の進展を見守る他はないが、組織幹細胞、分化した組織細胞の利用を含めて、多様なアプローチを行う中でその答が得られるであろう。

#### 文 献

- 1) Evans, M. J. and Kaufman, M. H. : Nature (1981) **292**, 154—156.
- 2) Martin, G. R. : Proc. Natl. Acad. Sci. USA (1981) **78**, 7634—7638.
- 3) Thomson, J. A., Itskovitz-Eldor, J., Shapiro, S. S., et al. : Science (1998) **282**, 1145—1147.
- 4) Odorico, J. S., Kaufman, D. S., Thomson, J. A. : Stem Cells (2001) **19**, 193—204.
- 5) Cibelli, J. B., Grant, K. A., Chapman, K. B., et al. : Science (2002) **295**, 819.