

幹細胞の自己複製シグナル制御－幹細胞を用いた再生医療をめざして



幹細胞シグナル分子制御（アムジェン）寄付研究部門

教授 横田 崇

われわれの研究目的は幹細胞の増殖と分化を調節しているシグナル伝達分子を同定し、その機能を調べることである。さらに、このようなシグナル伝達分子の遺伝子を導入し、遺伝子操作することにより、幹細胞の運命決定を制御することを研究目的とする。

幹細胞シグナル分子制御（アムジェン）寄付研究部門は、医科学研究所における最初の寄付研究部門の一つとして1995年4月から2000年3月までの5年間の時限で設置された。寄付者のアムジェン株式会社は、バイオ医薬品業界のトップメーカーとして国際的にも極めて優れた業績を上げている米国アムジェン社が100%出資し、日本の臨床医学に高付加価値のバイオ医薬品を提供することを目的として設立された企業である。アムジェン社はこれまで最先端をゆく組み換えDNAの技術と細胞工学から成るバイオ医薬品の創業により臨床医学の現場に大きな変革をもたらし、社会的にも大きな貢献をしている。このようなアムジェン社の理解と支援のもとに、種々の幹細胞操作技術の開拓は、骨髄移植、細胞治療、遺伝治療などの先端医科学を進めるために、医科研にとって戦略的に重要であるという認識のもとに設立されたのが幹細胞シグナル分子制御（アムジェン）寄付研究部門である。

寄付研究部門開設当時、医科研では恒常的に実験室が不足し、さらに教授総会メンバーが一堂に会する会議場、グループ化移行に伴う小会議室が不足していることが指摘されていた。また、セミナー、学術集会を行う際にも小会議室の予約を得るのが、困難な状況であった。寄付研究部門開設の交渉の間に、このような状況をアムジェン社が知るところとなり、寄付研究部門とは別に実験室と会議室からなる寄付建物を寄贈したいという申し出があった。その結果、アムジェンホールが1997年2月に医科研に寄贈され、その1階を実験室、2階を会議室として利用できるようになった。現在ではアムジェンホール会議室は教授総会をはじめ、各種のセミナー、ポスター会場、研究室集会場として、医科研内で広く使用されている。さらに幹細胞研究における医科研の先導的役割を示すために、3回の国際幹細胞シンポジウムを医科研講堂で開催し、全国及び海外に医科研の役割を示すことができた。これらを支援していただいたアムジェン社のご好意に深く感謝したい。

本寄付研究部門の使命は幹細胞の同定とその増殖・分化機構の解明をめざすものである。研究部の目的である幹細胞機能制御技術の開発ということでは、研究はその糸口を見い出したばかりで、前途は広大である。また、血液幹細胞・神経幹細胞・肝幹細胞・皮膚幹細胞等を用いた移植による臓器形成を目指した再生医学が注目されている。さらに、最近、クローン動物の樹立やヒト胚性幹細胞が樹立された結果、移植による臓器形成への応用が社会的にも倫理的にも大きく注目されている。したがって、幹細胞機能制御技術の開発の重要性が広く認識されるようになってきた。このような状況の下で、医科学研究所およびアムジェン社は、さらに幹細胞の研究を発展させるべく、当寄付研究部門を2000年4月から2003年3月までの3年間の延長を行うことを決定した。以下にこれまでの研究の成果と今後の展望について述べる。

幹細胞とは自己複製能と分化した細胞を作る能力を併せもった細胞であり、種々の臓器で幹細胞の存在が知られている。血液、皮膚、腸上皮、生殖器などの細胞はいったん分化し成熟すると、それぞれ定まった寿命をもって死滅し、個体の寿命と比較すると極端に短い寿命しかもたない。これを補給するために、未分化の幼若細胞が新たに増殖、分化し、成熟して定常状態を保っている。このような幼若、未分化の親細胞を幹細胞と呼ぶ。血液幹細胞、小腸のクリプトの基底細胞は自己複製能と多種類の細胞への分化能をもっている。一方、表皮、精子の幹細胞は自己複製するが一方向しか分化しない。このような各種の幹細胞の働きの結果、組織あるいは器官の形成、維持、修復、再生が起こっている。

当寄付研究部の主要な研究目的は組織におけるこれらの幹細胞を同定したいということである。その結果、これらの永久的な系列細胞特異的な前駆細胞を標的とした遺伝子治療の戦略が開発できる可能性がある。さらに、正常組織幹細胞をもちいた癌治療など、さまざまな臨床場面において組織幹細胞を操作することに多大な興味を持たれつつあ



る。しかし、形態的特徴、あるいは特異的マーカーを用いて組織から幹細胞を同定することは、まだ可能となっていない。また、幹細胞特異的マーカーを発見しようとする多くの試みがなされてきているが、まだ、発見されていない。今までのところ、株化幹細胞と自己複製因子として同定されているのは、胚性幹細胞（Embryonic Stem Cell）と白血細胞阻害因子（LIF; Leukemia Inhibitory Factor）だけである。

ここでは現在主力を注いでいるES細胞の自己複製機構解析と腎臓発生のメカニズムの解析について述べる。ES細胞の自己複製シグナル伝達にはgp130の細胞内領域が重要な役割を持つことが示唆されたことから、gp130を介するどのシグナル経路がES細胞の自己複製に寄与するかを検討した。キメラ受容体（hGMR α /mgp130 + hGMR β /mgp130）を用いたgp130細胞内領域の変異体解析から、STAT3の活性化に必要なチロシン残基がES細胞の自己複製シグナル伝達に必須であることが明らかとなった。また、SHP-2およびMAPキナーゼの活性化に必要なチロシン残基は必須ではなかった。さらに、STAT3とエストロゲン受容体のホルモン結合領域を結合した融合遺伝子を作製した（STAT3ER）。STAT3ERは合成リガンドである4-ヒドロキシタモキシフェン（4HT）存在下でES細胞においてSTAT3の標的遺伝子の一つであるjunBの発現を誘導した。この結果は、STAT3ERが誘導的活性化型分子であることを示す。STAT3ERを遺伝子導入したES細胞を4HT存在下に培養したところ未分化状態を維持できることが明らかとなった。これらの結果から、STAT3の活性化がES細胞の未分化状態の維持に必須で充分であることが強く示唆された。さらに、このシステムでES細胞の多分化能をどの程度まで維持できるのかを調べるために、4HT存在下で培養したES細胞を胚盤胞に注入して仮親マウスの子宮に戻した結果、ES細胞の寄与率の高いキメラマウスが得られた。詳細な解析の結果、注入したES細胞は全身のあらゆる細胞に分化していた。実際、一部のキメラマウスの親からは、ES細胞由来の形質（アグーチ色の毛色）を引き継いだ子供が誕生し、ES細胞がキメラマウスの生殖系細胞にも分化していることが証明された。これらの結果は、転写因子STAT3を活性化さえすればマウスES細胞の多分化能を完全に維持できることを示している。また、ES細胞やEG細胞で特異的に発現している転写因子Oct-3/4は、その一定量の発現が、内部細胞塊の形成、ES細胞の未分化状態の維持に必須であることが明らかにされている。LIFあるいはSTAT3のシグナルは、Oct-3/4と協同する未知の因子の発現を維持することにより、分化抑制に働いていると推測される。今後、STAT3の下流遺伝子（群）でOct-3/4と協同する因子の同定によって、ES細胞が未分化状態を維持するメカニズムの核心に迫ることができると期待される。

しかし一方で、ヒトやサルといった霊長類ES細胞の未分化状態はLIFで維持することができず、フィーダー細胞からの未知のシグナルを必要としていることも明らかになってきた。したがって、再生医療に結びつくヒトES細胞を制御する技術の開発に当たっては、そういったシグナル伝達系の解明も必要になってくると思われる。

もう一つのプロジェクトとして、腎臓発生の機構解析を行っている。腎臓は三次元立体構造を持ち、他種の細胞からなる複雑な臓器である。この発生に迫るために、まず非常に単純な構造の腎臓をもち、かつ試験管内で腎管が誘導できるアフリカツメガエルから遺伝子の単離を試みた。これを足がかりに、マウス後腎間葉に発現するZnフィンガー蛋白を単離した。この遺伝子のノックアウトマウスは左右の腎臓のみが完全に欠損しており、さらにこの遺伝子は後腎発生の最も初期に必須であることが判明した。この分子機構を解明するなかで、ES細胞や種々の幹細胞に共通のメカニズムの一端を捉えつつあり、当初は全く無関係と思われたES細胞と腎臓という二つのプロジェクトが、次第に融合できるのではないかと期待している。これらの知見を利用して、試験管内での臓器細胞誘導、細胞療法への応用を考えている。