

2002年1月28日

## プレスリリース内容

(日本時間2002年1月29日午前7時解禁)

京都大学再生医科学研究所および理化学研究所発生・再生科学総合研究センターの笹井研究室は、京都大学再生医科学研究所中辻研究室、京都大学探索医療センター高橋研究室（眼科）、京都大学医学部西川研究室、藤田保健衛生大学一瀬研究室との共同研究グループで、霊長類 ES 細胞からの神経系細胞への高効率な分化誘導に成功した。詳細は2月5日発行の米国科学アカデミー紀要に掲載される。同 HP では1月29日に掲載され、同時に米国科学アカデミーからもプレスリリースされる。

### 【主題】

霊長類 ES 細胞からのドーパミン神経細胞と網膜色素上皮細胞の高効率な産生：  
この世界初の成功によって、幹細胞の神経難病および眼科難病治療研究に大きな貢献

### 【要旨】

#### (1) 霊長類 ES 細胞からのドーパミン神経細胞の高効率な産生

一昨年笹井研究室（河崎洋志講師ら）はマウス ES 細胞からの効率のよい神経分化誘導法（SDIA 法）を発表したが、今回これを霊長類 ES 細胞（カニクイサル由来；一昨年京都大学再生医科学研究所中辻研究室で樹立されたもの；末盛博文研究員ら、Developmental Dynamics 誌に昨年掲載）に適応し、分化条件を至適化したものである。PA6 細胞というストローマ細胞と共培養することにより、サル ES 細胞の約半分の細胞を神経細胞に分化させ、さらにそのうち約3割をドーパミン神経細胞のマーカー（チロシン水酸化酵素）陽性の細胞に分化させることに成功した。藤田保健衛生大学チームはこれらの細胞から神経伝達物質ドーパミンが分泌されていることを確認した。高い分化効率とともに、この系ではドーパミン神経細胞の分化が10日間あまりという短い培養期間で確認され、効率面・時間面ともに実用性が高いことが示された。また、こうして作成されたドーパミン神経は中脳型のドーパミン神経細胞であり、これらを免疫抑制されたマウス脳（線条体）に移植すると、2週間後の観察で1割程度のドーパミン細胞が生着することが確認された。サル ES 細胞からの神経分化の効率はマウス ES 細胞からの神経分化効率の約半分だが、神経特異的表面抗原（CD56）な

どを用いた蛍光細胞ソート法で9割以上の純度で神経細胞を分離することができた(京都大学医学部西川研究室との共同研究)。

サル ES 細胞は同じ霊長類由来であるヒト ES 細胞と非常によく似た性格を有しており、サル ES 細胞での技術はそのままヒト ES 細胞へ利用可能と考えられる。従って、パーキンソン病の細胞治療を含めた ES 細胞の再生医療利用が大きく前進したと言える。

## (2) 霊長類 ES 細胞からの網膜色素上皮細胞の高効率な産生と培養

上記の研究の途中でさらに新しい知見が生まれた。それは、サル ES 細胞を SDIA 法で神経に分化させる時にドーパミン神経細胞にならなかった細胞の性質を解析したが、8%程度の頻度で網膜色素上皮細胞が分化してくることが明らかとなった。さらに京都大学探索医療センター高橋研究室との共同研究で、ES 細胞から分化させた色素上皮細胞を分離し、培養皿で増やして植え継ぐことも成功した。網膜色素上皮細胞は、網膜の最外層の細胞で光を感じる視細胞の機能や生存に重要な細胞である。視細胞とともに胎児の間脳から発生する。今回の色素上皮細胞の試験管内産生の成功は、網膜色素変性症などの治療法の研究を大きく進めるものと期待される。

## 【霊長類 ES 細胞からのドーパミン神経細胞産生成功の意義】

パーキンソン病は中脳黒質に存在するドーパミン神経細胞が変性することに起因する運動障害を特徴とする神経難病である。パーキンソン病に対する細胞移植治療に関して、スウェーデンや米国などの一部の医学研究機関で中絶胎児脳を用いた10年以上のスタディの実績がある。しかし、中絶胎児脳の利用は倫理面でも供給面でも問題が大きく、欧米でも治療は一般化しておらず、本邦での臨床利用は不可能とされている。パーキンソン病に対する細胞移植治療は移植そのものの技術面は確立しているが、移植材料(中脳型ドーパミン神経細胞)の調製がネックとなっている。これに対し、ES 細胞から試験管内で中脳型ドーパミン神経細胞を分化誘導し、材料面での問題解決を図ろうとする研究が最近注目されており、激しい世界レベルの競争が続いている。2000年に京大・笹井らと米国 NIH の McKay らが独立にマウス ES 細胞からのドーパミン神経細胞の産生に成功した。ヒトなどの霊長類 ES 細胞からは神経前駆細胞への分化は報告されているものの、ドーパミン神経細胞への分化誘導は成功していなかった。

今回の成功により、ヒトを含めた霊長類 ES 細胞からのドーパミン神経細胞の産生は技術的にクリアされたことになり、パーキンソン病の再生医療の研究が飛躍的に

進むことが期待される。

この成功により

- (1) 2002年からのパーキンソン病の細胞治療の研究の主体は、マウスなどの齧歯類を用いた基礎的なものからカニクイサルなどの霊長類を用いた「プレ臨床研究」に移ることになる。齧歯類とは違い、霊長類では MPTP という薬剤処理によりヒトのパーキンソン病と非常によく似た疾患モデル動物が利用できるため、治療効果と副作用などを詳細に検討し、臨床応用前提となるデータを取ることが可能となる。
- (2) サルとヒト ES 細胞の性格は酷似しており、2002年度から本邦でも始まるヒト ES 細胞を用いた研究では、直ちにヒトドーパミン神経を産生できると考えられる。
- (3) 霊長類のドーパミン神経細胞を試験管内で簡便に無尽蔵に作ることが可能となるため、ドーパミン神経細胞の機能や生存を助けるパーキンソン病治療薬などの開発に大きく貢献が期待される。

#### 【網膜色素上皮細胞産生成功の意義】

眼の組織を ES 細胞から効率よく分化させたことは世界初の報告である。

失明にいたる網膜色素変性症という眼科難病の原因には、この色素上皮細胞に遺伝的に問題がある場合と視細胞に問題がある場合が存在する。今回、色素上皮細胞を試験管内で産生に成功したことは

- (1) 色素上皮細胞に遺伝的に問題がある網膜色素変性症の細胞移植治療の研究に材料を提供し、大きく貢献する。
- (2) 視細胞に問題がある場合の網膜色素変性症に対しては、移植に際し視細胞を分化させることが必要だが、同じ網膜由来の細胞である色素上皮細胞の分化が可能になったことは視細胞の分化誘導も近い将来可能となることを期待させる。
- (3) 他の網膜疾患（加齢黄斑変性症など）の治療法への応用も期待される

#### 【今後の展開】

- (1) 笹井研究室は霊長類 ES 細胞のドーパミン神経細胞への分化効率のさらなる最適化を研究している。霊長類ドーパミン神経細胞を用いたパーキンソン病モデルサルへの移植治療研究は京大病院脳外科学教室との共同研究で進められ、今後京大病院脳外科が中心に京大再生研や理研等の神戸医療産業都市関連機関と共同開発グループをつくり in vivo での研究は進められる。これらにより、2002年度からの ES 細胞を用いたパーキンソン病治療研究は臨床応用を強く意識したプレ臨床研究の段階に入ったと言える。
- (2) 京都大学再生医科学研究所では中辻教授を中心にヒト ES 細胞の本邦での樹立を文部科学省に申請している。本邦での樹立に成功すれば、ヒトドーパミン神経細胞や網膜色素上皮細胞の産生を試み、京大病院脳外科学教室や探索医療センターなどでの治療法研究に用いる方向になる。将来臨床に用いる場合、高いクオリティーコントロールのもとでの細胞管理が一貫される必要があり、国産の ES 細胞の利用は必須であると考えられる。
- (3) 一方、サル・ヒト ES 細胞を用いた移植治療法は未だ開発中の領域である。プレ臨床研究の段階では、カニクイサルなどを用いて「効果」とともに「副作用」（腫瘍化や不顕性感染など）の有無を注意深く研究する必要があり、時間がかかってもそういった研究なしには臨床応用には進めない。
- (4) ES 細胞から分化させたドーパミン神経などの有用細胞を、より純度の高い細胞を分離・精製する技術開発が望まれる。
- (5) 昨年公布の文部科学省の ES 細胞ガイドラインでは非臨床研究のみが認められており、ES 細胞を用いた移植治療などの直接的医療応用には、厚生労働省を中心にして作成される幹細胞治療のためのガイドラインの設定を待つ必要がある。

#### 【研究資金サポート】

本研究は医薬品機構基礎研究推進事業、理化学研究所—京都大学共同研究受託研究、日本学術振興会未来開拓研究推進事業、文部科学省科学研究費補助金などからのサポートを中心に進められた。

#### 【写真等の資料請求先】

京都大学再生医科学研究所再生誘導研究分野 教授 笹井 芳樹

電話 075-751-4860, fax075-751-4861, sasaicdb@mub.biglobe.ne.jp