Mice made from induced stem cells

iPS 細胞からマウス個体を作製

David Cyranoski | Nature Vol.460(560)/ 30 July 2009

人工多能性幹細胞（iPS 細胞）から、実際に完全な哺乳類個体を作製することに成功した。

中国の 2 組の研究チームが iPS 細胞から生きたマウスを作り出し、iPS 細胞から生物の完全な個体を発生させることができるのかどうかという、かねてからの疑問に答えを出した。

2006 年に京都大学の山中伸弥が初めて iPS 細胞¹を作り出して以来、iPS 細胞からも本当の胚性幹細胞（ES 細胞）と同じように完全な哺乳類の個体が作れるのかどうか研究界の疑問となっていた。今回、少なくともマウスに関しては、その答えがイエスだということだが、Nature 2009 年 9 月 3 日号²と Cell Stem Cell 2009 年 8 月号³に発表された論文で示された。

Nature の論文では、動物のクローンを研究している動物研究所（中国、北京）の周琪（Zhou Qi）と上海交通大学の曾凡一（Zeng Fanyi）らが、まずウイルスベクターを使ってマウスの線維芽細胞に 4 つの遺伝子を導入するという山中と同じ方法で、iPS 細胞を作った。研究チームの狙いは、導入した因子が細胞を再プログラム化することにより、その細胞を体内のあらゆる種類の細胞に分化できるようにすることだった。

再プログラム化がうまくいったかどうかを確かめるために周と曾が最初に行ったのは、iPS 細胞が胚性幹細胞（ES 細胞）と同じ表面マーカーをもっているかどうか分析するなどの標準的な検査だった。次に、研究チームは、初期の受精胚の 2 細胞を融合させることによって「4 倍体」胚を作製した（右上の図を参照）。4 倍体胚は、胎盤と、発生に必要な細胞は発生す

るが、将来個体になる胚細胞は発生しない。それは、いうなれば、運転手のいない自動車のようなものである。

この 4 倍体胚に作製した iPS 細胞を移植すると、発生が始まった（4 倍体胚補完法）。続いて、発生が進行している胚を代理母に移植したところ、20 日後に子マウスが生まれた。そのマウスは、iPS 細胞の作製に使ったマウスと同じく黒い体毛をしており、4 倍体胚の作製に使った白いマウスとは明らかに違う色だった。「小小（シャオシャオ）」と名付けられたそのマウスは、DNA 検査の結果、iPS 細胞由来であることが確認された。

マサチューセッツ工科大学（米国、ケンブリッジ）でクローン作製の研究を行っている Rudolf Jaenisch は、2007 年に同じ実験をしようとしたが、後期から先の胚を作り出すことができなかった⁴。Jaenisch は自分たちの失敗について「2 通りの可能性が考えられます」と語る。「iPS 細胞に多能性がないためにできなかったのか、我々の努力が足りなかったのかのどちらかでしょう。前者なら興味深いことになったかもしれませんが、後者が原因でしょうね」。

中国の研究チームの努力は Jaenisch らを上回っていた。培地を調整し、最初のマウスが生まれるまで発生中の胚を 250 個分析していたのだ。

論文には 27 匹が生まれたと書かれているが、最高の細胞株と最適の実験条件で行っても、注入した胚 624 個から生まれたのは 22 匹で、成功率は 3.5% だった。曾によれば、高い死亡率が認められ、わ

ずか 2 日で死んでしまったマウスのほか、詳細は伏せられているが、体に異常がみられるものもいたという。

その一方で、一部のマウスは最も基本的な健康検査に合格している。つまり、交尾させた 12 匹すべてが子どもを産み、生まれた子どもにも異常がなかったのだ。研究チームによれば、現在、2 代目のマウスが数百匹おり、3 代目も 100 匹を超えているという。組織的な検査を行ったわけではないものの、これらのマウスに腫瘍は認められていない。

Cell Stem Cell 掲載論文の研究チームのリーダー、北京生命科学研究所の高紹栄

(Gao Shaorong) も、成功には辛抱強さが必要だと考えている。曾、周らと同じ基本技術を使った高のグループは、4 倍体の補完胚 187 個に iPS 細胞を導入し、生きたマウスを 2 匹だけ得ることができた (効率 1.1%)。ただし、1 匹は間もなく死んでしまった。「そうした細胞株が得られる確率は低いのですが、根気強く実験しました」と高は語る。高らは現在、生存したマウスを交配させようとしている。

現在、両グループが解明しようとしているのは、体の異常、高い死亡率、低い効率、そして多くの iPS 細胞株がマウスの作製に適していないらしいという現実が、iPS 細胞と ES 細胞とのこういった違いによるものなのかということだ。曾と周は、1 つの答えとして、タイミングが重要であることを発見した。短期間 (14 日間) でコロニーを形成した iPS 細胞ではうまくいくが、コロニーの形成に 20 日または 36 日かかった細胞は使えなかったというのだ。高は、少なくとも効率の低さに関しては、「再プログラム化の異常」が原因なのではないかと考えている。

こうしたマウスでの研究は、ヒトの ES 細胞と iPS 細胞との根本的な差を解明するうえでもきつと役に立つだろう。既に 7 月、カリフォルニア大学ロサンゼルス校 (米国) の研究チームは、通常の多能性検査に合格したヒト iPS 細胞が、遺伝子の発現の点で、ヒト ES 細胞と異なっていることを発表している⁵。このチームのメンバー、Kathrin Plath は、「iPS 細胞には ES 細胞と比べて一長一短がありそうですが、今の時点ではまだ、我々は、その答えにたどりついていないでしょう」という。今回の中国の研究については、ヒトの胚では 4 倍体補完法を行うことができないので、iPS 細胞の臨床応用に大きな意義をもつものではない、と同僚の William Lowry は付け加えている。

周と曾は、iPS マウスを従来法によるクローンマウスと比較することや、成体マウスでも同じ実験ができることを証明することなど、新たな道を模索している。(どちらの研究でも、iPS 細胞の作製に使われた線維芽細胞は、後期胚に由来していた。) これは、成体の DNA を再プログラム化

して遺伝的に同じ個体を作り出すもので、実質的に成体の哺乳類の新しいクローン作製法となるだろう。それは、異常の発生が従来のクローン作製法よりも少ない簡単な方法と考えられ、ヒトのクローンを作製するツールとして、倫理を無視してもクローン作製を行いたい者たちの関心をよぶかもしれない。最近、中国では、こうしたクローン作製を禁止する法律が強化された⁶。

「この技術が『再プログラム化を解明するための重要なモデル』として利用できるようになることを望んでいるのです。けっして、iPS 細胞を使ってクローン人間を作り出すための第一歩にすることをめざしているわけではないのです」と、周は語っている。(小林盛方 訳)

1. Takahashi, K. & Yamanaka, S. *Cell* **126**, 663-676 (2006).
2. Zhao, X.-Y. et al. *Nature* **461**, 86-90 (2009).
3. Kang, L. et al. *Cell Stem Cell* **5** 135-138 (2009).
4. Wernig, M. et al. *Nature* **448**, 318-324 (2007).
5. Chin, M. H. et al. *Cell Stem Cell* **5**, 111-123 (2009).
6. Cyranoski, D. *Nature* **459**, 146-147 (2009).