

ヒト ES 細胞の増殖分化機構の解明とその臨床応用に向けた基盤技術開発

Analysis of proliferation and differentiation of human embryonic stem cells and research for clinical application

中畑 龍俊 (Nakahata Tatsutoshi)

京都大学・物質・細胞統合システム拠点・特定拠点教授



研究の概要

ヒト ES 細胞からの各種組織幹細胞への分化系を確立すべく、*in vitro* の培養実験及び我々の開発した NOG マウスを用いて検討した。各種血液細胞、血液前駆細胞、骨格筋細胞、サテライト細胞、心筋前駆細胞などの誘導が可能となった。

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・小児科学

キーワード：ES 細胞、ヒト、再生医療、幹細胞、NOG マウス

1. 研究開始当初の背景

ES 細胞はほぼ無限の自己複製能と生殖細胞を含む全ての細胞への多分化能を持つ細胞として知られている。欧米を中心にヒト ES 細胞研究が進んでいたが、我が国の取り組みが遅れている状況であった。ES 細胞を分化培養すると様々な種類の組織の様々な分化段階の細胞が同時に出現してしまい、目的とする組織幹細胞のみを特異的に作成することは困難であった。ヒト ES 細胞から組織幹細胞のみを特異的に誘導する分子機構の解明は、細胞生物学など基礎的研究に重要な課題であるのみならず、ヒト ES 細胞を用いた再生医療の基盤技術として欠かせないものである。

2. 研究の目的

ヒト ES 細胞の至適な培養方法の確立、各種サイトカインやストローマ細胞のスクリーニングにより神経幹細胞、造血幹細胞、ヘマンジオブラスト、心筋幹細胞、肝幹細胞などの系列特異的組織幹細胞誘導培養方法の確立、その過程で特異的に発現する細胞表面抗原分子の同定とその分子に対するモノクローナル抗体の作成などにより、各種ヒト組織幹細胞の分離システムを構築し、最近我々が開発した NOG マウスを用いてヒト組織幹細胞の前方視的同定を可能にすることを目的とした。また、ES 細胞から組織幹細胞へと変化する過程において、駆動する遺伝子を各組織幹細胞毎に網羅的に解析し、同定された遺伝子の発現制御による組織幹細胞作成を試みることを目的とし

ている。

3. 研究の方法

ヒト ES 細胞を様々な培養条件下で培養し、出現してくる細胞を細胞表面抗原の発現により自動磁気細胞分離装置(購入)を用いて分取し、*in vitro* 分化能を検討した。また、ヒト化マウスとして現在最も優れていると認定されている我々が開発した NOG マウスに ES 細胞由来の様々な組織幹細胞候補の細胞を移植し、目的とする組織への生着、増幅、分化、機能構築が達成されるか、腫瘍形成など予期しない副反応が発生しないか等について検討を加えた。以上の知見により、ES 細胞から作成される組織幹細胞の種類(造血幹細胞/前駆細胞、神経幹細胞、血管内皮前駆細胞、ヘマンジオブラスト、骨格筋幹細胞など)の前方視的同定を試みた。ヒト iPS 細胞を培養し、ヒト ES 細胞と様々な面から比較検討した。

4. これまでの成果

1. NOG マウスを用いたヒト幹細胞の測定系を確立した。NOG マウスはヒト各種幹細胞の *in vivo* 測定系として極めて優れていることが示された。
2. ヒト、サル ES 細胞から血液細胞への分化系を確立した。サル及びヒト ES 細胞から VEGFR-2、CD34 両者陽性の細胞が培養日数とともに増加することが明らかとなったが ES 細胞株の種類により血球系への分化のしやすさは異なることが明らかとなった。血液細胞及び血管内皮細胞に共通の母細胞であるヘマ