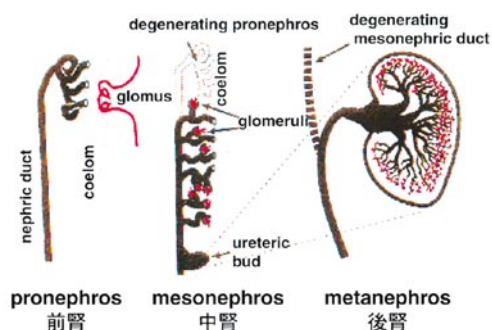


Establishment of Cell and Organ Transplantation Therapy Using Embryonic and Somatic Stem Cells 胚性・体性幹細胞を用いた細胞・臓器 移植治療法の確立



プロジェクトリーダー 吉 田 進 昭

東京大学 医科学研究所 教授



(Vize, et al. Dev Biol, 1997より改変)



1. 研究計画の目的

再生医療はドナー不足の現状から見ても重要な研究課題であり、幹細胞からの臓器・組織形成の研究を含めて細胞・組織移植医療にとっても重要である。本研究は、幹細胞の特徴である「多分化能」と「自己複製能」を分子生物学的に研究するとともに、腎臓という臓器を例にとって組織形成、再生医療への可能性を研究することを目的とする。具体的には、前者では胚性幹細胞（ES細胞）の自己複製機構をシグナル伝達、細胞周期の観点から解明しその知見を再生医療展開のための基盤研究の開発に結びつける。また腎臓をモデルとした研究では、腎臓発生の機構を分子生物学的に解析し、腎臓の前駆細胞を単離、増幅、最終的にはそれを移植することによって腎機能回復の可能性を検討する。まず腎臓前駆細胞に発現するあるいは必須な遺伝子群を同定し、それを利用して腎臓前駆細胞を単離、増幅する方法を検討する。さらに、それをrecipientの腎臓に移植するプロトコルを開発する。これは血液系における骨髄移植に相当するものを腎臓細胞でも開発し、前駆細胞の有無を検定するアッセイ系にしようとするものである。これが確立されれば、ES細胞その他から腎臓の前駆細胞を誘導する際の機能的な検定システムとなり得る。また、病気モデルへの細胞移植によって腎構造の再構築と機能改善が可能か検討し、ヒトへの応用の可能性を探る。



2. 研究の内容

シグナル伝達・遺伝子発現解析に基づく ES 細胞の自己複製能・分化・細胞周期制御機構の解明を行うとともに、ES 細胞、骨髄などの利用可能な細胞から腎臓前駆細胞を誘導し、それを in vitro で分化させる、あるいは移植によって in vivo で分化させ、腎臓の再構築を目指す。

1) 胚性幹細胞 (ES 細胞) の自己複製機構の解析

ES 細胞の自己複製機構をシグナル伝達、細胞周期の観点から解明しその知見を再生医療展開のための基盤研究の開発に結びつける。具体的には、LIF/STAT3 および Oct-3/4 下流の標的遺伝子を DNA チップなどを用いて解析する。ES 細胞の DNA 複製および細胞周期制御機構については、S 期のマスターレギュレーターの機能制御を中心に解明する。

2) 腎臓発生に必須の遺伝子の単離および解析

腎臓は前腎、中腎、後腎の三段階を経て形成される。成体哺乳類の腎臓は後腎だが、基本的な構造や遺伝子発現は三種の腎臓に共通のものが多く知られている。前腎の発生はむしろ *Xenopus* で観察が容易であり、animal cap からの in vitro での前腎管誘導が可能である。この系を用いて、腎臓前駆細胞に発現し、かつ発生に必須な遺伝子の候補を単離する。whole mount in situ hybridization や injection による機能解析が容易な *Xenopus* の利点を生かして、候補を絞り込む。その後そのマウスホモログを単離し、発現解析、ノックアウトマウス作製によって、腎臓発生における役割を同定する。

3) 腎臓前駆細胞の単離、解析

腎臓前駆細胞に発現する遺伝子を指標に腎臓前駆細胞を単離し、モノクローナル抗体、シグナルシークエンストラップ等で、細胞表面に発現する分子を同定する。

4) 腎臓前駆細胞の増幅および誘導

腎臓前駆細胞に発現する遺伝子の promoter 解析によって上流の遺伝子カスケードを明らかにする。その情報を使って、腎臓前駆細胞の増幅や、ES 細胞などからの腎臓前駆細胞の誘導を試みる。

5) 腎臓細胞分化系の確立

in vitro での腎臓細胞の分化系を確立する。単離した腎臓前駆細胞を使用した organ culture、三次元培養、コロニーアッセイなどを開発する。

6) 腎臓細胞移植法の開発

血液系の骨髄移植に相当する、in vivo での機能的な腎臓細胞移植法を開発する。手始めに、新生児マウスの腎臓への移植を試みる。これが確立されれば、ES 細胞などから誘導した細胞が、真に腎臓前駆細胞か検定する系ともなる。またヒトへの応用もにらんで、成体の腎疾患動物への移植も行い、腎構造の再構築と機能改善が可能か検討する。

3. 研究の体制等

期 間：2000 年 6 月～2005 年 3 月

構 成：プロジェクトリーダー 1 名、コアメンバー 3 名、研究協力者 3 名

実施場所：東京大学医科学研究所

