

中辻憲夫先生 説明資料

第29回生命倫理専門調査会 ヒアリング資料

平成16年3月30日

ヒト凍結胚の解凍と培養

解凍直後



培養3日目



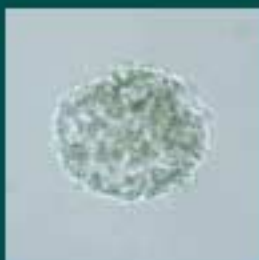
胚盤胞



内部細胞塊 60 μ m
ICM (Inner Cell Mass)

ES細胞株の樹立

胚盤胞から内部細胞塊を免疫手術法により分離

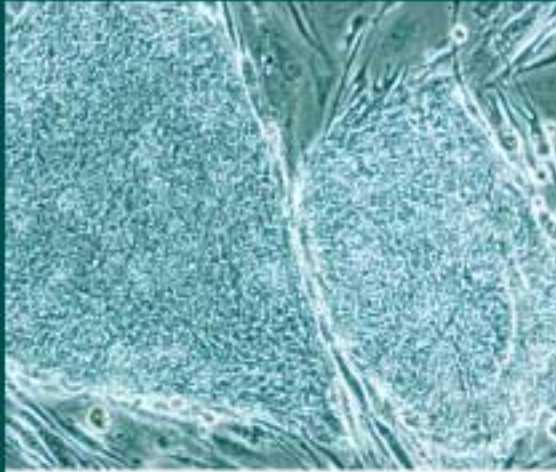


ヒト胚盤胞

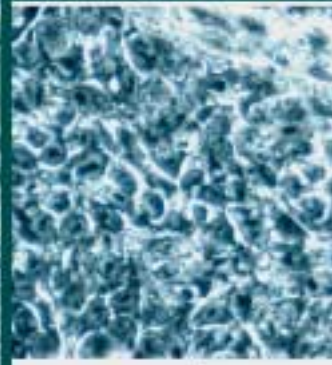
抗体+補体処理

単離した内部細胞塊

2003年5月に、国内で初めて樹立されたヒトES細胞株



275μm



70μm

これまでに樹立したヒトES細胞株

KhES-1
3細胞株 KhES-2
KhES-3

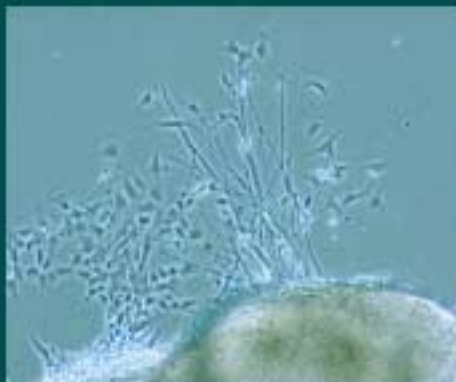
3胚盤胞

今後ナショナルバイオリソースプロジェクトの一環
としてES細胞の分配を行う

ES細胞でのマーカー分子の発現

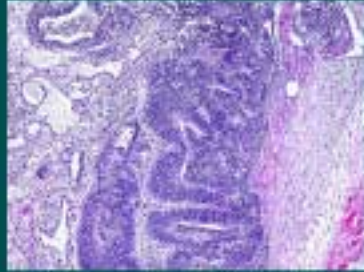
	Human ES Cells	Monkey ES Cells	Mouse ES Cells
ALP	+	+	+
SSEA-1	-	-	+
SSEA-3	+	+/-	-
SSEA-4	+	+	-
TRA-1-60	+	+	*
Oct-3	+	+	+

ヒトES細胞を培養下で分化誘導することによって作られた神経細胞

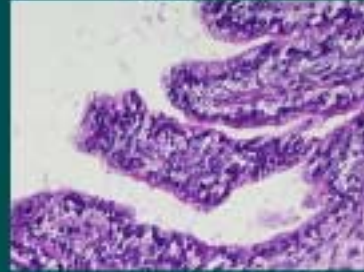


ヒトES細胞が分化して作った生体組織

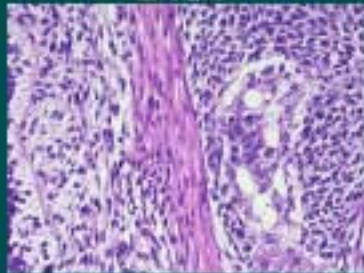
神経組織



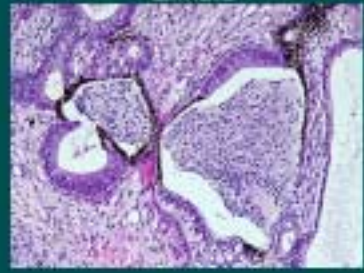
消化管組織



筋肉組織



色素組織



ES細胞のバイオリソース事業

- ・ ヒトES細胞株の樹立と特性解析（増殖能・安定性・多分化能・核型など）
- ・ 細胞株の凍結保存
- ・ ES細胞の使用機関への分配
- ・ 利用者に対する培養技術の研修
- ・ 将来加わる内容
- ・ 公的細胞バンクとの連携
- ・ 使用機関などが作成した改変（加工）ES細胞の寄託とバンク事業

ES細胞の臨床応用に必要な樹立培養法の改良

- 無血清培地から完全合成培地へ
 - ・すでに血清添加しない培地で樹立・増殖維持されている
 - ・すでに動物蛋白質などを含まない完全合成培地の開発が進んでいる
- フィーダー細胞
 - ・すでにヒト細胞を用いた樹立と増殖維持が成功している
 - ・すでにフィーダー細胞を使わない培養維持の成功が報告されている
- 臨床応用に適した品質保証
 - ・GMP基準に適合した施設での樹立・増殖維持と供給体制の構築が必要
 - ・品質管理の基準やプロトコルなど品質保証システムの確立が必要
 - 微生物汚染の検査、核型検定(染色体異常の検査)、多分化能の検定、発現遺伝子などのプロファイリング
 - ・国際的な特性解析の基準作りが始まりつつある

幹細胞の種類と特徴

- 多能性幹細胞 Pluripotent Stem Cell
 - ・ES細胞(胚性幹細胞) Embryonic Stem Cell
初期胚由来 分化能:高 増殖能:無制限
 - ・EG細胞 Embryonic Germ Cell
胎児生殖細胞由来 分化能:高 増殖能:無制限
- 組織幹細胞 Tissue Stem Cell(体性幹細胞 Somatic Stem Cell)
造血幹細胞、神経幹細胞、間葉系幹細胞など
 - ・(胎児)組織幹細胞
中絶胎児由来 分化能:中 増殖能:中
 - ・(成体)組織幹細胞(成体幹細胞 Adult Stem Cell)
成人由来(一部は生体から採取可能)
分化能:低? 中 増殖能:低? 中
- 多分化能をもつ成体組織幹細胞??
成人由来 分化能:高 増殖能:高

ES細胞株の特性

- (1) 長期間の細胞増殖を、正常な性質を保持したまま無制限に維持できる細胞株である
- (2) 組織・臓器を構成するほぼ全ての種類の細胞に分化できる多能性をもっている

ES細胞が組織幹細胞に比較して有利な特質 「多分化能」

- 胚と胎児の発生初期に作られる細胞種など、成体内で組織幹細胞や前駆細胞から補充されることがない(起きにくい)細胞へ分化させることが可能である
- 神経細胞の中で初期に分化するもの:ドーパミン神経、運動神経、感覚神経など、細胞治療に必要な神経細胞
- 心筋細胞、インスリン分泌細胞(数年以内に確実になるだろう)
- 多種類の組織幹細胞を必要なだけ作り出して利用することも可能になる
神経系幹細胞、間葉系幹細胞、造血系幹細胞など
増殖能が限られている組織幹細胞を大量に供給することができる

ES細胞だけがもつ優れた特質 「特性変化なしの無限増殖能」

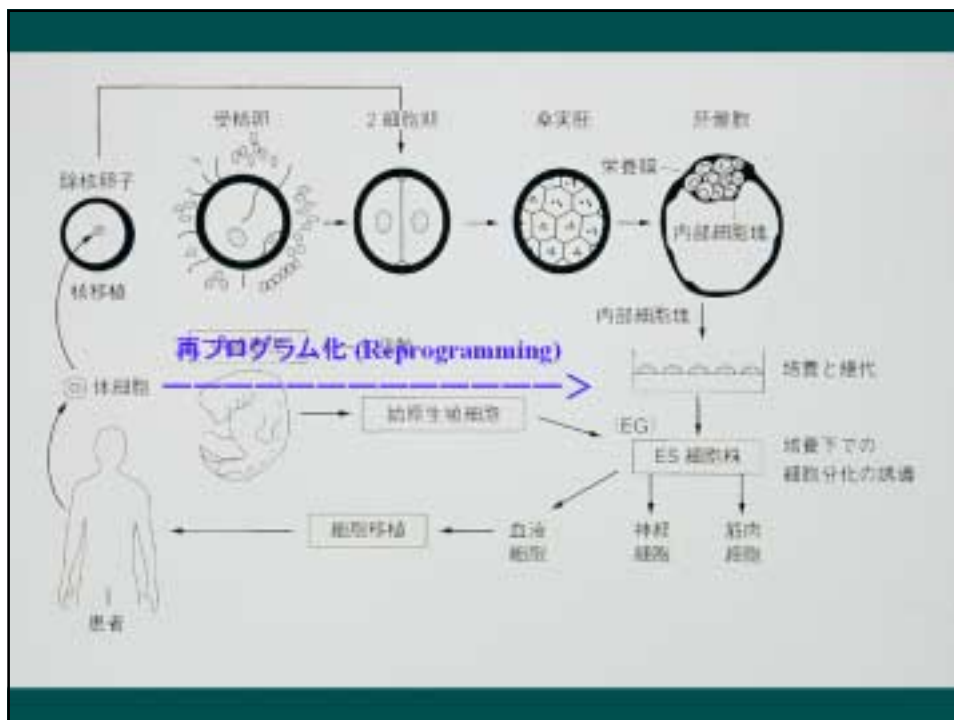
- 速い細胞増殖を長期間(無制限に)維持できるとともに、多分化能などの性質が保持されることによって:
- 多様な遺伝子改変を加えることが可能(目的に応じて安全性や治療効果を高めることができる)
- 同一特性をもつ細胞集団(目的に応じて作成・選択した細胞株のサブライン、増殖させたある時点で凍結保存も可能)について、細胞機能や安全性などを十分にテストしたのち使用することができる
- 一定の特性と品質をもつ細胞を多数サンプルとして大量に供給することができる
- 細胞供給を安定標準化することによって、細胞治療という先端医療を一般医療として普及させることが可能になる

ES細胞を使った細胞治療を目指す研究の現状

- **パーキンソン病**(免疫拒絶は比較的軽度、免疫抑制剤で対応可能だろう)
サルとヒトES細胞からドーパミン神経への分化誘導は成功している
サルES細胞からのドーパミン神経細胞を疾患モデルサルへ移植する前臨床研究が進行中
→ 病態改善など良い結果が得られている
- **脊髄損傷など**(免疫拒絶の回避手段が必要だろう)
サルES細胞から運動神経(神経知覚神経、自律神経も)への分化誘導は成功している
→ 神経幹細胞と前駆細胞も作れるだろう
神経前駆細胞などの疾患モデルラットへの移植による治療効果が報告されている
- **加齢黄斑変性、網膜色素変性など眼科疾患**(免疫拒絶の回避手段が必要だろう)
サルES細胞から網膜色素上皮やレンズへの分化誘導は成功している
サルES細胞からの網膜色素上皮を疾患モデルラットへ移植して病態改善など良い結果が得られている(テラトーマ形成は起きなかった)
- **心筋梗塞**(免疫拒絶の回避手段が必要だろう)
サルやヒトES細胞から心筋細胞への分化効率を上げる研究が進行中だろう
疾患モデル動物での細胞移植によって心筋組織に取り込まれることが報告されている
- **糖尿病**(透過性膜カプセル中に入れ込んで移植すれば免疫拒絶は回避できるだろう)
ES細胞からインスリン分泌細胞への分化誘導の研究は進行中
- **肝硬変など**(免疫拒絶は軽度かもしれない)
ES細胞から肝細胞への分化誘導の研究は進行中

ES細胞を使った移植治療において免疫拒絶を回避する方法の可能性

- A. ES細胞の遺伝子改変によって拒絶反応が弱くなる細胞株を作る(MHC遺伝子の改変など)
- B. 再プログラム化を利用して患者の体細胞から幹細胞を作る
- (1)患者の体細胞核を除核卵子に移植して作ったクローン胚からES細胞株を樹立する
 - (2)ES細胞との細胞融合によって患者の体細胞をES様細胞に再プログラム化する
 - (3)卵子やES細胞に存在する初期化因子や再プログラム化の仕組みが解明され、人工的な処理で体細胞を幹細胞に変換できるようになる



体細胞核移植ntES細胞研究の展望

- A. 受精卵から作ったES細胞株による細胞治療
 - 基礎研究から前臨床研究(～5年間)
 - 臨床研究から治療実現へ(～10年後)
 - (しかし、拒絶反応を無くしないと治療困難な疾患は残る)
- B. 卵子を使った体細胞核移植ntES細胞株の樹立
 - 成功率の向上、特性・能力と安全性の確認(～5年間)
 - (しかし、卵子の入手方法、クローン胚作成の問題は残る)
- C. ES細胞から作った「卵母細胞と類似の細胞」を使ったntES細胞株の樹立
 - ヒトES細胞を使った「卵母細胞と類似の細胞」の作成が可能だろう(～5年間)
 - これを使った核移植、胚盤胞への発生、ES細胞株の樹立
 - (B. の研究成果を利用すれば ～7年後)