

(様式 5)

平成 30 年度秋田大学研究者海外派遣事業 帰国報告書

令和元年 10 月 28 日

所属・職名：バイオサイエンス教育・研究サポートセンター・助教

氏名： 関 信輔

派遣期間：2018 年 12 月 3 日～2019 年 9 月 28 日

派遣研究機関名：英文 Stanford University, Medicine, Stem Cell institute

：和文 スタンフォード大学, 医学部, 幹細胞分野

研究課題：動物体内における iPS 細胞由来の血液・臓器作出

多能性幹細胞由来クローン動物作出法の開発

○研究概要

研究目的

派遣先研究室では、遺伝的に臓器を欠損する動物の胚盤胞期胚に多能性幹細胞を注入することで臓器を再生する方法「胚盤胞補完法」で、動物体内に臓器を生産することに成功している。しかしながら、この方法は、ヒト細胞が動物神経や生殖細胞に寄与してしまうことを懸念する倫理的問題のため、ヒト臓器作出に応用するには倫理的問題をクリアしながら限定的な取り組みしかできないのが現状である。本研究では、血液欠損胎仔に分化運命の決定している幹細胞を局所的に移植する方法で異種体内での血液産生を行う。

また、多能性幹細胞（ES 細胞あるいは iPS 細胞）由来のクローン動物作出法の開発にも取り組む。多能性幹細胞由来の遺伝子組換えマウスをすぐに研究に使用できれば、医学・薬学研究は迅速にすすむ。また、iPS 細胞由来の動物を作出できれば、保存組織から iPS 細胞を作出することで動物を作出できるようになり、絶滅危惧種の保全にも有効である。ゲノム編集技術によりノックアウトマウスの作出は容易になった。しかし、ノックインについてはゲノム編集に成功した細胞と成功していない細胞が混在するモザイク体になることや効率の低さなどの課題がある。もし、遺伝子組換え処理を施した ES 細胞あるいは iPS 細胞由来の動物を効率良く生産することができればこの課題を解決することができる。そこで、本研究では「多能性幹細胞由来のクローン動物作出法の開発」を実施する。

研究方法

「動物体内における iPS 細胞由来の血液・臓器作出」

血液の産生実験について、マウスにマウス造血幹細胞、ラット造血幹細胞、ヒト iPS 細胞由来のヒト iPS 細胞を移植した。マウス造血幹細胞移植では、造血に関与する遺伝子をノックアウトしたマウスにマウス造血幹細胞（GFP）を移植することで異系統由来の血液を産生することが可能かどうかを調べた。また、免疫不全マウス（T 細胞, B 細胞欠損）にラット造血幹細胞を移植することで、異種間での血液産生の可能性を検討した。

(様式 5)

「多能性幹細胞由来のクローン動物作出法の開発」

多能性幹細胞由来のクローン動物の作出が可能かどうかを調べた。

研究結果

「動物体内における iPS 細胞由来の血液・臓器作出」

造血に関与している遺伝子をノックアウトしたところ、帝王切開により母体から取り出した胎仔は反応がなく生存できなかった。一方、異系統の造血幹細胞を移植したところ、生存しており発生がすすんだ。そのマウスについて血液の解析を行ったところ、そのほとんどが緑色蛍光を示していた。詳細な解析により、無処理の胎仔に移植した場合、赤血球 0.5%、血小板 0.2%、B lymphocyte 2.9%、T lymphocyte 5.0%しか緑色蛍光を示さなかったが、造血に関与している遺伝子をノックアウトした胎仔では赤血球 97.8%、血小板 94.4%、B lymphocyte 96.0%、T lymphocyte 94.0%が緑色蛍光を示しており、異系統間での血液産生に成功した。続いて、異種間でも同様の実験を行うために、免疫不全マウス(B細胞、T細胞)にラット造血幹細胞(Tdtomato 赤色蛍光)を移植した。そのマウスの血液を解析したところ、赤血球 0.003%、血小板 0.019%、B lymphocyte 0%、T lymphocyte 96.6%であった。今後、造血に関与している遺伝子をノックアウトしたマウスにラットの造血幹細胞を移植することで、ラットの血液を生産させることができるかどうかを検証する。

「多能性幹細胞由来のクローン動物作出法の開発」

この研究で最も重要なことは、ES 細胞由来のマウスが本当に生まれて正常に発生するかどうかであるが、受精 19 日後に帝王切開したところ、生存している胎仔を得ることに成功した。さらに、iPS 細胞でも同様の実験を試みたところ、iPS 細胞由来のマウスを作出することに成功した。その効率は移植した胚の 10%にあたり、核移植法よりもすでに 5 倍高い効率である。

○研究期間全般にわたる感想

スタンフォード大学 幹細胞・再生医療研究所 (The Lorry I. Lokey Stem Cell Research Building) は、幹細胞研究をすすめるとともに難病治療のための再生医療の実現を目指し設立された。影響力の大きい優れた研究は、異分野間の協力から生まれるといわれているが、この研究所では、「自由な風が吹く」という校風にふさわしく、研究室間のつながりは自由で共同研究が盛んに行なわれている。研究室間に物理的な隔たりはなく、意見交換や機器の共有等は当然のごとく研究室を超えて共有されている。さらに、キャンパス内のスタンフォード大学附属病院との連携により、基礎研究をおこなう臨床医が共同研究しやすい環境にあり、基礎研究の成果をすぐに臨床へ応用できるという特徴がある。ヒトを救えるかもしれない研究ではなく、直接的にヒトを救うための研究をすすめたいというチャレンジ精神のある研究者が集まっている。

(様式 5)



(Stanford University, The Lorry I. Lokey Stem Cell Research Building)



(各研究室間に壁のない研究環境)



(建物内での共同研究の打ち合わせ)

所属していた研究室では1週間に1回の頻度で研究の進捗状況を紹介していました。また、建物内では、週1回 建物内の研究者2名がプレゼンテーションを実施し、活発なディスカッションが行なわれている。それ以外のイベントでも、提供される飲み物・食べ物は卒業生からの寄付で賄われている。2018年度ハーバード大学に続いて、世界2位の11億ドルが企業・財団。卒業生から寄付されており、大学の予算は寄付によって賄われている部分は多く、それらの寄付金は、教育にあてられると同時に、付属の病院や研究機関などにも投じられる。在学学生は快適な施設で学業・研究に集中し、優秀な卒業生がスタンフォード大学を卒業し、そして寄付をするという、いい循環がつづいているようでした。滞在中にも、病院は改装され、キャンパス内は建物が建てられており、ずっとどこかで工事がされており、拡大を続けていました。

(様式 5)



(研究室での laboratory meeting)



(建物内での研究紹介)