

2019年4月2日放送

動物性集合胚を用いた研究の今後の展開

国立成育医療研究センター研究所 再生医療センター
生殖医療研究部長 阿久津 英憲

移植臓器の不足

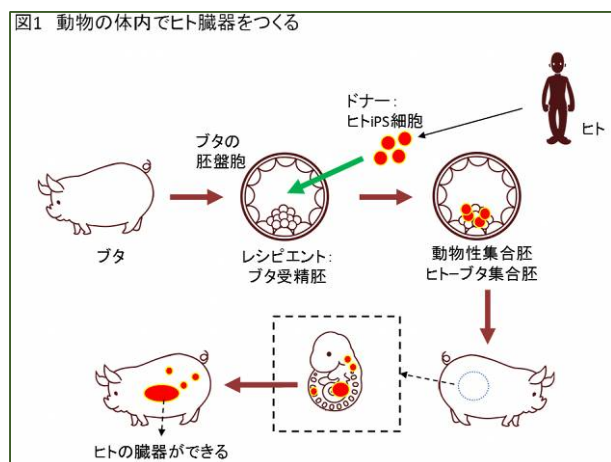
日本移植学会のまとめによると、2017年に日本で実施された臓器移植の数は、2,322件で、その約82%は生体移植となっています（日本移植学会 2018臓器移植ファクトブック）。臓器移植の待機者数は、腎臓の約12,000人をはじめ全体で16,000人を越える数となっています。米国では、10分ごとに臓器移植登録者が増えているとされています。つまり、移植臓器の不足が大きな課題となっています。この医学上の課題を克服するために、様々な観点から研究のアプローチが行われています。その一つに、動物の臓器を人へ移植する異種移植があります。異種移植、つまり人以外の動物の細胞、組織または臓器そのものを人に移植することですが、この異種移植に関しては、「再生医療等の安全性の確保等に関する法律」の対象となり、平成28年（2016年）6月に、「異種移植の実施に伴う公衆衛生上の感染症問題に関する指針」が改定され、異種移植が実際に可能となる法令が整いました。例えば、ブタの膵島を用いた、糖尿病に対する異種移植などが想定されています。

臓器を創生する研究

ヒト臓器を新たに作り出すというコンセプトも注目されています。これは、ヒト多能性幹細胞が創出されその特性の理解が進む中でより現実的になってきました。多能性幹細胞とは、無限に

増殖する自己複製能とあらゆる組織に分化することができる分化多能性を有する幹細胞です。ヒト胚性幹（ES）細胞と人工多能性幹（iPS）細胞が多能性幹細胞となります。このヒト ES 細胞、iPS 細胞の分化多能性を活用するのですが、大きく 2 つに分けられます。試験管の中で器官様の構造体、オルガノイドを作製するという方法で、最近、世界中で研究が活発になっています。しかし、いわゆる生体の臓器を再生させることはまだまだ遠い先のようにです。そして、もう一つが、本稿の本題である、動物の体内でヒト臓器を作り出すというアプローチです。ヒトと動物のキメラ個体を作製するということとなります。着床前の初期胚をターゲットとすることで、ホストの発生とともに臓器本体も作られるというものです。ここで、一度用語の整理をしたいと思います。動物性集合胚とは、人以外の動物の初期胚へヒト細胞（ES 細胞や iPS 細胞）を注入したものです。複数種の細胞が混ざり合った状態ですのでキメラ胚とも言えます。発生の主体、ホストとなるのが動物で、そこに一部寄与するドナーがヒト細胞ということになります。主体が動物なので動物性集合胚といいます。この際に、科学的に重要なのは、ドナー細胞の分化する能力です。臓器は複数の細胞種、発生の由来でいうと外胚葉、内胚葉と中胚葉組織からなるものです。そもそも分化多能性をもつ細胞がドナーとして望まれるということになります。

例えば、ブタの体内でヒトの臓器を得ようとすると、ブタの初期胚、つまり胚盤胞へヒトの iPS 細胞を注入したものがヒトブタの動物性集合胚ということになります。それと、言い方の順序も大事で、マウスラット集合胚と言った場合、マウスがドナー細胞で、ラットがホスト（受精胚）となります。



異種間キメラ研究の現状

多能性幹細胞を用いた異種間のキメラ研究が注目されるきっかけとなった研究は、2010年、Cell誌に報告された、東京大学医科学研究所の中内啓光教授のグループによるラットとマウスとの集合胚研究になります。異種間の細胞をただ混ぜ合わせるだけでなく、発生分子遺伝学の成果も応用しています。研究グループは、膵臓の発生に必須な Pdx1 欠損のマウス受精胚を準備し、ラットの iPS 細胞を Pdx1 欠損のマウス胚盤胞へ注入し、生まれた個体を確認するとマウス Pdx1 欠損個体の膵臓は、ラット由来でできていました。この異種の集合胚研究の成功で、動物の体内でヒト細胞由来の臓器本体を作製できる可能性が検討されるようになってきました。この研究で

はもう一つ今後の課題となる点ができました。膵臓のインスリン分泌細胞等発生に Pdx1 が関与する細胞はラット由来でしたが、膵臓内の血管、血管内皮、神経や間質細胞はホストのマウス由来のものが含まれているということです。

中内教授は、その後、スタンフォード大学へも所属し異種間キメラの研究を進めています。同グループから、2017年に、さらに移植医療を想定した研究成果が発表されました。マウスの膵臓組織をもつマウスラットキメラ個体を作製し、その健康なマウス由来の膵臓インスリン分泌細胞を単離し糖尿病モデルマウスへ移植を行いました。その結果、移植されたマウスは免疫抑制剤なしに、血糖値が正常にコントロールされ、1年以上生存した、という研究成果を Nature 誌に報告しました。糖尿病の細胞移植医療の Proof of Concept (POC) ともなるような研究成果でした。ほかに、スタンフォード大学と同じアメリカのカリフォルニア州にある、ソーク研究所のベルモンテ教授らの研究グループも精力的に異種間キメラの研究を進めています。この研究グループは、臓器のサイズや組織構造も比較的ヒトに近いとされるブタも研究モデルに加え異種移植の試験を行いました。移植の結果、ヒト iPS 細胞をブタ胚盤胞へ移植した集合胚をブタ体内へ移植し胎生 28 日目で解析したところヒト細胞の寄与を確認したと 2017 年に Cell 誌で発表しています。キメラ研究では、ホストの胎仔発育期間も重要と考えられるのですが、ヒトの妊娠期間 270 日に対し、ブタは 114 日となっています。20 日前後のマウスと比べるとだいぶ長期なのですが、それでもヒトとは大きく相違する点です。

動物性集合胚研究の課題

しかしながら、すぐに、ヒトの臓器がブタ体内で再生できるとういうと、まだまだ課題が大きいというのが現状です。ソーク研究所の研究結果から、ヒトブタ集合胚は体内の発育の遅れ、**growth retardation** が高い割合で認められ、ヒト細胞の寄与率が上がると **growth retardation** の割合も高くなるという結果でした。ヒト細胞のブタ胚での寄与は、「ヒト細胞はおよそ 10 万個に 1 個の割合と推定される、と研究者らは伝えています。臓器本体が発生してくるには、この非常に低いヒト細胞の寄与率と発生への影響を与える異種間バリアのメカニズムの理解が細胞レベル、分子レベルで進む必要があります。

ここで、移植を念頭においた動物性集合胚研究の結果を整理すると、発生の系統が比較的近い、マウスやラット間では、異種の個体内で臓器を再生し、さらに糖尿病の移植医療モデルが提示されました。しかしながら、ヒトと動物種の集合胚研究では、ブタをモデルとした研究からヒト細胞がブタの胎児内に寄与するものの、その寄与率は著しく低く、ヒト細胞が寄与することでブタ

胚の正常な発生を阻害することが示唆されました。

動物性集合胚研究の多様な目的

動物性集合胚の研究は移植臓器作製のための研究だけではなく、他にも活用される研究領域が2つ想定されます。一つは、多能性幹細胞の特性、分化能の検証のための研究です。現在、ヒトES細胞やiPS細胞のような多能性幹細胞の特性に関する研究では、分化能を階層的に捉える研究が進んでいます。その際、分化能の程度を検証するため、ヒト多能性幹細胞によるヒトとマウスなどの集合胚研究が応用される研究も散見されるようになってきました。

もう一つは、創薬開発等で個体レベルでの評価として、ヒト臓器を有する動物性集合胚を応用することも考えられるようになってきました。患者組織から樹立する疾患iPS細胞やゲノム編集の応用による疾患iPS細胞を用い動物性集合胚からターゲットとなる臓器を有する動物を作製し化合物スクリーニング等へ用いるというものです。いずれにおいても、これらの研究では、作製した動物性集合胚を動物の体内へ移植することが必要となってきます。

動物性集合胚研究の規制

日本では、動物性集合胚はクローン技術規制法に定める特定胚の一つとして、ヒトと動物の動物性集合胚の作製は、体外培養だけ認められ、動物の体内へ移植することはこれまで禁止されてきました。しかし、科学研究の進展等を考慮し、2013年、総合科学技術会議（現 総合科学技術・イノベーション会議）生命倫理専門調査会は、動物性集合胚の作成目的の拡大を検討することや、一定の要件を満たす場合に動物胎内への移植等を認めることが適当などとする見解をとりまとめ、指針を担当する文部科学省の特定胚等研究専門委員会で5年にわたり審議をしてきました。研究の意義の他に、人と動物との境界が曖昧になるような個体作出の懸念や動物福祉の観点などからも多くの時間をかけ慎重に議論を進めてきました。最終的に、研究計画の審査は自施設の機関内倫理審査委員会だけでなく国の委員会でも審査をすることとし、動物の厳重な管理はもとより、段階的に研究の進みを判断する必要性などを踏まえて、動物性集合胚の作製と胚の体内移植を可能とする「特性胚の取扱いに関する指針」の改正がなされました。

| | 日本 ・ヒトに関するクローン技術等の規制に関する法律(2000) ・特定胚指針の取扱いに関する指針(改正)(2019) | 国際幹細胞学会 幹細胞研究・臨床応用ガイドライン(2016) | 英国 動物におけるヒトの物質の使用に関するガイダンス(2016) | 米国立衛生研究所 ヒト幹細胞研究ガイドライン(2009) | 米科学アカデミー ヒト幹細胞研究ガイドライン(2010) ※iPS細胞等も対象 |
|--------------------------|---|---|--|-----------------------------------|---|
| 動物の胚にヒトES/iPS細胞を導入する研究 | 可能 | 可能 | 可能 | 可能 ただし、富集率は選択芽算を助成しない。 | 可能 ただし、富集率は現時点で許可されるべきでない。 |
| 上記胚を作成する場合の研究目的の限定 | 限定せず | 限定せず | 限定せず | 限定せず | 限定せず |
| 上記胚の胎内移植及び個体発生 | 一定の厳格な要件の下に認め、研究段階と個体の2段階で確認 | 禁止せず | 禁止せず | 禁止せず | 禁止せず |
| 上記研究における特定の過程等(以下を除く)の作成 | 禁止せず | 禁止せず | 禁止せず ただし、動物の外観等を大幅に変更することが予想される研究等は慎重に審査 | 禁止せず | 禁止せず |
| 生殖細胞等の作成 | 禁止せず ただし、生殖細胞を持つ可能性のある研究は慎重に審査、発生した個体同士の交配は禁止。 | 禁止せず ただし、生殖細胞を作成する研究は特別な研究監査が必要とされる。発生した個体同士の交配は行わべきでない。 | 禁止せず ただし、生殖細胞を持つ可能性のある研究は慎重に審査、発生した個体の交配は慎重な審査に追加詳細な調査。 | 禁止せず ただし、発生した個体の交配は選択芽算を助成しない。 | 禁止せず ただし、発生した個体の交配は現時点で許可されるべきでない。 |
| 脳神経細胞等の作成 | 禁止せず ただし、脳の実質的な変化を伴う研究等は慎重に審査。 | 禁止せず ただし、脳に機能的に統合し、動物の性質を本質的に変化させる研究は特別な審査をすべき。 | 禁止せず ただし、大型動物の脳の実質的な変化を伴う研究等は慎重に審査、富集率は慎重な審査に追加詳細な調査。 | 禁止せず | 禁止せず |

(注) 上記は、動物胚にヒトの細胞を導入する研究や幹細胞研究に特化した規制を中心に挙げた。なお、動物実験一般に関する規制は別途適用される。

2019 年の 3 月 1 日に改正指針が発出され、日本でも移植も含めた動物性集合胚の研究が可能となりました。動物性集合胚研究に関する各国の規制の現状を表に示します。

ヒト多能性幹細胞研究の進展やゲノム編集技術の活用などとあいまって、本分野の研究も進んでいくが期待されていますが、社会へ透明性をもった研究の審査と実施も望まれています。

「小児科診療 UP-to-DATE」

<http://medical.radionikkei.jp/uptodate/>