

# 1. COC学術研究会「第9回健康長寿長野研究会 学術講演会」

## 「幹細胞分化と再生医療」

講師 福井大学医学部分子生体情報学 宮本 薫 氏

平成27年6月27日(土) 9:35~10:35  
於：松本大学 524教室

山田／松本大学の山田です。本日の特別講演は、福井大学医学部分子生体情報学の宮本先生にお願い致しました。演題名は「幹細胞分化と再生医療」ということでございます。

恒例によりまして、宮本先生のご略歴をご紹介したいと思います。

昭和54年に大阪大学理学研究科博士課程を修了されて、理学博士の学位を取得されました。その後、群馬大学医学部産婦人科助手、それから国立循環器病センター研究所バイオサイエンス部、群馬大学生体調節研究所助教授を務められたあと、平成11年4月から、現在の福井大学に教授として移られました。

平成3年6月には日本内分泌学会奨励賞を受賞され、この平成27年2月には福井県科学学術大賞を受賞された先生であります。その他日本生化学会北陸支部長、日本内分泌学会内分泌代謝学セミナー会長、日本生殖内分泌学会学術集会会長、日本比較内分泌学会大会会長等を務められるなど、内分泌の世界で非常に有名な先生でございます。

本日は非常に興味深いタイトルでございますし、宮本先生はプレゼンテーションが非常に上手な先生ですので、わかりやすく説明していただける、大変興味深い話が伺えると期待しております。

それでは先生、よろしく申し上げます。

宮本／山田先生、どうも過分なご紹介、ありがとうございます。福井大学から参りました宮本と申します。山田先生は、私どもの教室の助教授を務められて、その後こちらの大学の教授として赴任されているということで、私は専門といいますか、講義は生化学を担当しております、物質の代謝ということでございますが、代謝のほうは山田先生が一番得意とするとところで、大学の優秀教官に何度も選ばれて、私はちょこっとしか選ばれていないので、なかなか山田先生のようにうまくお話できないかもし

れませんが、よろしくお願ひしたいと思います。

今日のお話は「幹細胞分化と再生医療」ということなのですが、今日のお話は私どもが行っております、ステロイドホルモンに関する幹細胞分化、それから再生医療にどのように応用していこうかというお話をさせていただき予定しております。

これはイントロになるわけですが、これはだいたい昔の映画なのですが、ファインディング・ニモというディズニーのアニメですが、こういう魚が出てきているのですが、こういうきれいな魚、実際の写真もこのように見事な縞模様の魚で、これはカクレマノミといわれる魚なのです。珊瑚礁に棲んでいて、群れとして珊瑚礁の中で棲んでいるのですが、実はおもしろい性質があって、群れでいるのですが、個体、群れの中の一番大きな個体が雌。それから2番目に大きな個体が雄になっているのです。その他の個体は未成熟ということで、雄でも雌でもないという、そういう群れを作っています。

おもしろいのは何かというと、実はこの個体、いわゆるそういうグループの中で一番大きい個体の雌がいなくなる、雌が死んでしまうということが起こると、2番目に大きい個体、これは雄なのですが、これが雌に変化する。性が転換するのです。それから3番目に大きい、それまでは未成熟だったのですが、それが順番としては2番目になるので、雄になるというように、おもしろい、非常に不思議な性質を持っているのです。

これはクマノミの生殖腺。精巣と卵巣ですが、雄の場合は精巣はあるのですが、精巣と一緒に卵巣も一緒にあるような、そういう組織になっています。こういう状態で、1番大きな雌がいなくなると、こちら側の完全に精巣の組織は退行して、卵巣だけ。排卵するような、そういうような雌になってしまうという、非常におもしろい性質を持っています。

これは自然の不思議なところだと思うのですが、実はこれだけではなくて、沖縄ベニハゼといわれる、そういうこれも熱帯魚なのですが、これは社会的に性が決まっていると。そういうものがあるのです。たとえば1つの水槽に大きさの違う雌を2匹入

れておきますと、大きい方の雌は自分のほうが大きいということを認識して、雄になってしまう。今度その雄を、大きい雄と小さい雄、2匹、同じ水槽に飼っていくと、小さい方の雄がこれも自分が小さいということを認識して、雌に変換してしまうという、非常に社会的に性が決まる。お互いを認識して性が決まるという、非常に不思議な性質を持っているのですね。

このように性が転換するというのは、哺乳動物というの、滅多にないというか、非常に難しいのですが、魚ですとか、そういう下等動物では、わりとよく起こることなのです。たとえば、ここにありますように、ワニの類、あるいはカメですね。ワニの場合は一応すべて、それからカメの場合もほとんど、生まれたときの温度によって雄になるか雌になるかということが決まってくるというようにいわれています。適温のときは、雄だけが生まれてきて、それよりも気温が低い、あるいは高い場合は、雌が生まれてくるのです。

非常にこういう性が雄と雌が違ってくるというのは、非常に自然の神秘というように思えるのですが、実はそれには「ホルモン」というものが鍵を握っているということがわかってきています。「ホルモン」というのは、よく聞く言葉なのですが、「ホルモン」あるいは「内分泌」というのですが、体の中にそういう物質を出す、そういう器官があって、それで血液の中にそういう物質を出してくるということで、体の中から出てくるということで、「内分泌」といわれています。「ホルモン」というのは、体の中で自分で作っているのです。作っていて、それが血液中に出てきて、それが血液を伝って目的の組織のところにとどり着いて、そこで作用するという、作られるところと作用するところが離れていて、その間血液の中を通過して、いろいろ作用してくるという、そういうものが「ホルモン」というものになっています。いろいろなところにホルモンがあるのですが、皆さんもよく知っているものが多いと思います。

ここに書きましたけれど、脳の中でいうと、脳の中にある視床下部というところ、それからそのすぐ下にある下垂体といわれるところ、それから甲状腺、副甲状腺、それから腎臓の上にある副腎ですね。副腎皮質、あるいは髄質。それから代謝に関係している膵臓ですね。インスリンとかを出す膵臓。それから男性らしさ、女性らしさを決めている精巣とか卵巣ですね。ここからホルモンというものが出てきます。それぞれのホルモンの作用は、ちょっと簡単

にここに書きましたけれど、甲状腺から出てくる甲状腺ホルモンというのは、代謝を亢進させるような、そういうホルモン。副甲状腺はカルシウムの代謝。今日お話しする副腎皮質のホルモンというのは、コルチゾール(Cortisol)とかアルドステロン(Aldosterone)というようなことで呼ばれていますが、血糖値を調節したり、免疫系に関係したり、あるいは血圧をコントロールしたりというようなホルモンを出す組織が副腎皮質ということ。ちょっと副腎の中でも別のところからはアドレナリン(Adrenaline)。結構アドレナリンというのによく聞くとありますが、ノルアドレナリン(Noradrenaline)というようなものが出て、血圧だとか血糖の調節をしている。有名なのは膵臓から出ているインスリン(Insulin)ですね。インスリンは血糖を調節する。要するに物を食べたときに、血液中の糖の値が高くなってしまっているので、それを調節する働き、下げる働きをしているのです。あと卵巣は卵胞ホルモンということで女性らしさを作るようなそういうホルモン。精巣からは男性ホルモン。それは男性の特徴を作るようなホルモンが出てくるのです。

後でもちょっと触れますが、視床下部下垂体というところは、実は下垂体からこういう、さっきいった甲状腺とか、副腎皮質とか精巣とか卵巣とか、そういうところのホルモンを、このホルモン自体は、そのホルモンを出させるためのそういうホルモンが出ます。刺激ホルモンといいます。甲状腺を刺激して、甲状腺のホルモンを出させるホルモンなどが下垂体から出ています。ですからホルモンのコントロールセンターというか、そういうところになりますし、さらにそれがもっと上位ですね。脳の中で視床下部といわれるところで、さらにコントロールされているという、上から下までのカスケード(Cascade)といいますが、こういう形でコントロールされている。ですからこういうのが本当に作用するのが、こちらから出ているホルモンですが、そのホルモンを体の中で調節するのは、視床下部と下垂体、上からコントロールを受けている、そういう構造になっているのです。

これは作られる臓器についてのお話をしたのですが、それぞれの性質からいうと、大きくホルモンは2つにタイプとして分けられるのです。脂溶性ホルモンといって、水に溶けにくいホルモン。ステロイドホルモンと甲状腺ホルモンがそれに当たる。それから水に溶けやすいホルモン。これはアドレナリン、それから非常に多いのですが、ペプチドとか蛋

白のホルモンというのは水によく溶けやすい。これは水の溶ける溶けにくいという性質以上に、作用の仕方が違うということで、それぞれこういった形のホルモンで分類をされているということになります。

その脂溶性ホルモン、油に溶けるほうのホルモンの典型として、ステロイドホルモンというのがあります。先程もお話しましたように、副腎皮質から出てくるホルモン、それから精巣から出てくるのは男性ホルモン、それから卵巣から出てくる女性ホルモンということですが、副腎皮質ホルモンは実は2種類ありまして、糖質コルチコイド、グルココルチコイド (Glucocorticoid) とも呼ばれますけれども、そういうものとそれから鉱質コルチコイド、これはミネラルコルチコイド (Mineralocorticoid) とも呼ばれていますが、こちらが糖の調節をする。こちらは塩分とかそういう電解質といいますか、体の中の塩分のコントロールをしている、そういうステロイドホルモン。そういうような2つになるのですが、一般的によく薬で使われているのは、こちら、いろいろ免疫抑制剤とか、抗炎症作用を持つようなそういう薬の中のかなりの部分が、この糖質コルチコイドに近い作用を持つものが使われています。もう1つは、これは筋肉増強剤のような男性ホルモンはそういうものなどに使われていたりするのですが、ステロイドホルモンというのは、こういうものになっているわけです。

先ほどの話、ステロイドホルモンについてですが、先程いいましたように、副腎皮質とか、精巣・卵巣で主に作られるのですが、そのホルモンはこういうところでどのように作られるのかというと、これはコレステロール。皆さんご存じだと思いますが、食べ物の中にも含まれていますし、体の中でも作ることができますけれど、コレステロールというものを材料にして、順番にここに白く溶けている、これはみんなステロイドホルモンなのですが、順番に作られていくのですね。コレステロールが材料です。材料になって、それが加工されるのですが、その加工されるときに必要なのが酵素といわれる。ここにちょっといろいろ書いてありますけれども、こういう酵素が働くことで、コレステロールが様々なステロイドホルモンに変化していく、そういうパターンになっていますね。大きくわかりやすいように、縦の系列、横の系列にしますけれども、縦の系列が副腎皮質ホルモンを作る系列、横の系列に行くと精巣とか卵巣などの話ということになります。実は先程の性転換の話は、ここに関係しているアロマターゼというものが、非常に大きな働きをしています。

どういふことかといいますと、先程のクマノミの話になりますと、つまり製造の組織があるのですが、ここでは男性ホルモンが作っているのですね。ところが1番大きい雌がいなくなって、2番目の男性ホルモンを作っている雄がいわゆる自分が1番大きくなったと認識すると、どういふ機構かわからないのですが、個々の組織の中で先程言いましたアロマターゼという酵素がたくさん出てくるのですね。このアロマターゼというのは、男性ホルモンを女性ホルモンに転換する、そういう酵素なのです。そういうように変化させる、そういう酵素なのです。

昔アダムとイヴという話で、女性はアダムの骨からできたという、男性から女性ができたという、そういう話がありますが、ホルモンでいいますと、やはり同じように男性ホルモンから女性ホルモンができてくる。これはもう決まっているのです。必ず男性ホルモンを経由して女性ホルモンができてくる。そのときに中心になっているのが、このアロマターゼということなのです。ですからこういうカクレクマノミというものが、雄から雌になるときは、このアロマターゼが出てくると。それだけなのです。これが出てくれば、雄から雌になっていくということがわかってきました。

このワニやカメの場合も同じなのです。男性ホルモンは気温が低くなると、生まれたときにこのアロマターゼがたくさん出てくる。そうすると男性ホルモンがこれで女性ホルモンに転換されて、雌になってしまう。温度が高くても、このアロマターゼというのが出てきて、雌になってしまう。こういう機構になっているのです。結構自然の神秘的なことはたくさんあるのですが、理屈を見ると、意外と単純なシステムになっているということですね。

こういう酵素が働いて、ステロイドホルモンというのは、いろいろ転換してくるということが、わかってきているということなのですが、アロマターゼ、男性ホルモンは化学構造で書くとこのようになっています。テストステロン (Testosterone)。それから女性ホルモンはエストラジオール。よく似ているのですが、よく見るとちょっと違うのです。このところの構造がちょっと違う。こういうのをこちらから、左から右に転換するのが、アロマターゼといわれる酵素なのですが、ここはちょっと立体構造に書いてありますが、蛋白質ですね。蛋白質でそれが、これが出てくると体の中に出てくると、男性ホルモンは女性ホルモンに変換されてしまう。そういうふうな構造になります。



先程の表に戻りますと、こういう酵素というのは、今いったアロマトーゼと同じように、こういう蛋白質で、コレステロールから縦の系列にこういうものが働くとこういうものができる、そういう形でステロイドホルモンというものはできてくるということになります。ですからこういうステロイドホルモンを作るには、こういうところの酵素というものは非常に大事なですね。こういう酵素がなければ、ステロイドホルモンはできてこないということになります。

しかし残念ながら、不幸なことに、こういうステロイドホルモンを作るこういう酵素が欠損している、そういう患者さんというのがあるのです。たとえばこれは1つの例ですが、この縦の系列にこのある酵素がない患者さんというものがいるのです。そうすると、この酵素がないので、この縦の系列は、ここから下に行かれないのです。ここから下にコレステロールからこのように来たのですが、ここから下のところにはこの酵素がないので、下のものができてこない。この×の付いているものはできてこない。つまり副腎皮質のホルモンが全然作れなくなってしまいます。ホルモンというのは、体の機能を維持するのに必須の物質ですので、こういうものが作られないとどうしてもいろいろな病気になってしまうということになります。

今の例は、この上に書いた21水酸化酵素欠損症といわれるものですが、そういうものをはじめとして、先程の図で見たいろいろな酵素、いろいろなところの酵素が欠けているような場合、そういう酵素が働かないような場合は、こういう遺伝的な病気になってしまうということですね。様々な症状ができてくるのですが、その中で最も多いのが、今お話しした21水酸化酵素欠損症ということで、これは副腎皮質ホルモンができてこない、そういう状態になります。

それをちょっとここに書いたのですが、21が欠損すると、やはりこの酵素がないので、下の系列に行かれないということが1つ。それからもう1つは、下に来られないので、ここらあたりにあるステロイドホルモンというのは、いやでも右側の系列に流れてしまうのです。下に行かれないので、こちらに流れる。こちらに流れると何ができるかというと、男性ホルモンなのですね。ですからこういう患者さんというのは、副腎皮質ホルモンができないと同時に、男性ホルモンが非常に過剰になってしまうという、そういう症状を来すのです。

副腎皮質ホルモンですけれども、その中の非常

に大事な働きをしている糖質コルチコイド、グルココルチコイド (Glucocorticoid) ですね。これは非常に大事な作用をするもので、様々な作用を持っています。ここにちょっと書きましたけれど、糖新生、体の中で糖が足りなくなった場合には、糖を作り出す作用があります。蛋白質分解、脂肪分解というもの、それにちょっと関係しているのですが、それ以外に抗炎症作用。炎症が起こったときに、それを抑えるような作用。それからよく使われる、これは塗り薬などによく入っていますね。ステロイドの軟膏のような、抗炎症作用を標的にしたもの。それから免疫抑制作用。これも非常に大きいのです。いろいろな臨床の現場でもねステロイドとして使われているというような、こういう非常に大事な働きをしているホルモンということです。

これはちょっと少し話が難しいのですが、どのようにして作用しているのか、グルココルチコイド、糖質コルチコイドが作用しているのかというのを、絵にしたものです。副腎皮質からグルココルチコイドが作られると、それがずっと血液を伝わって、目的の細胞のところにくるのです。そうすると細胞の中に、受容体というのがあって、それとくつつくのです。蛋白質です。くつつくと、これは遺伝子ですね。遺伝子を抱えているのですが、遺伝子の構造がこのように、これは非常にコンパクトになっていますが、こちらはゆるゆるになっています。このような形に遺伝子の形を変えて、このあたりにある遺伝子が働くかどうかというのを、調節しているのです。そういう働きを持っています。

グルココルチコイドの場合は、このように書いてありますが、DNAという、いわゆる遺伝子にくっついてある特定の遺伝子というものの働きを調節して、このような大きな蛋白質の固まりをつくって、調節しているということですね。もう少し、ここら当たりを書いたのが、こういう形で、遺伝子のところにくっついて、目的の遺伝子、標的遺伝子といいますが、そういうものをコントロールしている。そういうものが、グルココルチコイドが作用する。グルココルチコイドが作用すると、いろいろな細胞で、ヒトがそれぞれ持っている特定の遺伝子ですが、2万くらいあるうちの特定のものについて、それが働くようにする、あるいは働かなくなるようにすると、そういう作用をする、そういう物質だということですね。

これは山田先生のほうが、本当にご専門ですが、たとえば糖を作るような場合には、糖を分解する経路を書いてあるのですが、これもやはり酵素が

働いて作るのですが、大事なところは太字で書いてあります。その酵素をこのグルコルチコイドというのは、酵素の遺伝子を調節する。遺伝子の働きをコントロールするような、そういう形で遺伝子がたくさん出てくるように調節して、糖が作られるように、そういうコントロールをして、これが糖新生と呼ばれる、大変大きな働きのうちの1つのやり方ですね。

それからよく薬として使われるのが、こちらが炎症の作用のもので、炎症作用、このようなアラキドン酸カスケードといわれていますが、そういうものがこういう経路がばっと働くと、炎症が起こってしまうのですが、その1番元の所をステロイドは、これはグルコルチコイドですが、それが抑える働きで、抗炎症作用ですね。ステロイドの軟膏などはここを抑えてするようなもので、

それからもう1つは、炎症性。炎症性の反応を抑える。糖質コルチコイドは抑制するのですが、それも先程いったように、グルコルチコイドがくるとその受容体とくっついて、特定の遺伝子、この場合は抑えるほうに働くのです。ちょっとそれを抑える働きで、炎症性の物質を抑える、そういう働きで作用するというので、非常に大事な物質で、臨床的にも非常によく使われている。そういうグルコルチコイドという物質になるわけです。

先程お話したように、ここの酵素が、だめになってしまうと、こういう副腎皮質ホルモンが作れないので、そういういろいろなコントロールができなくなってしまうということになります。こういう欠損になるとどうなるかという、欠乏症。グルコルチコイドがなくなると、こういう症状。あるいは同時にアルドステロン(Aldosterone)という塩分をコントロールするものが欠乏するので、低血圧、脱水、ショック。逆に先程いったように、副腎のアンドロゲン(Androgen)というものが非常に多くなるので男性化してしまうとか、そういう非常に重篤な症状が出ますね。

これを治療するにはどうしているのかというと、ホルモン補充療法といわれるものが、使われています。これは簡単にいうと、体で足りなくなったホルモンというものを注射などで補充して、日常生活に支障がないようにする治療法ということなのですが、外からホルモンを打つわけですね。あるいは飲み薬の場合もあります。そうなので自分自身では作れないのです。ホルモンはね。ホルモンは作れないので、補充してもそれはなくなってしまうので、ずっ

と補充しなければならない。原則、一生の間にわたって補充しなければならない。1番よく知られているのは、糖尿病のときに、非常に悪化したとき、I型糖尿病とかの場合は、膵臓からインスリンというホルモンが、普通の場合は出ているのですが、そこがだめになってしまうと、このインスリンが出てなくなるので、それを補充して血糖値を保とうとするのです。そうしないと、血糖値がどんどん上がって、非常にいろいろな病気の原因になってしまうということで、血糖値を下げるために、インスリンの注射をする場合があります。これもホルモン補充療法の1つですね。実際は、こういうような注射器で自分で毎日こういうところに、ピッと一定量注射して、目盛りなどが付いていて、量をコントロールできる。そういう形で、必ず注射する。こういうものがホルモン補充療法といわれているのです。

ステロイドホルモンについても、ホルモン補充療法が行われているのですが、たとえば更年期障害になったような場合には、女性ホルモンが足りなくなるということで、いろいろな症状が出るということなので、そのために女性ホルモンの関係を補充する、そういう療法もあります。

それから今お話したP450C21遺伝子欠損症という、この副腎皮質ホルモンができないという、そういう患者さんは生まれたときに検査をして、その生まれたときからグルコルチコイド、それからミネラルコルチコイド(鉱質コルチコイド)を投与する。いわゆるホルモン補充療法をして、普通に大きくなることができるというような、治療法が今は一般的に行われております。やはり自分で作ることはできませんから、一生、投与することが必要ということになるわけです。

それではそういうものに対して、何か根本的な治療法はないかということが、いわゆる今、新しい世紀になって、21世紀になっての治療法ということで、再生治療ということが、今非常に考えられています。開発段階にあるというようにいってもよいと思います。その基本的な考え方はどういうことかということ、幹細胞といわれるもの。幹細胞とは「幹」と書いてありますが、どういうものかということ、これ自体は特にいろいろなたとえば心臓の性質とか、筋肉の性質、あるいは神経の性質などを実は持っていないのです。それ自身は、それ自身は持っていないのだけれど、何か処理をしてあげると、たとえばここには心臓の絵が描いてありますが、心臓のある一部分の組織と同じような細胞に変化することがで

きます。そういう変化することを分化、「幹細胞の分化」というように呼んでいます。そういう形で、幹細胞というものをたくさん増やしておいて、目的の心臓のここが悪いんだということであれば、この部分に相当する細胞に変化させる。分化させて、それを細胞培養とって、小さいシャーレから大きいシャーレ、どんどん細胞というのは増えてきますので、たくさん増やして、それを移植しようということです。移植すれば、その組織はもともとなかったのですが、新しくできてくるので、そういう病気というのが完全に治ってしまうということが考えられる。

それから、健康寿命が非常に長くなるのではないかとということで、再生医療というのは、大変注目をされている訳なのです。いろいろなものにこの幹細胞を、心臓の細胞にしたり、あるいは軟骨、脾臓、ちょっとインスリンをつくるようなところですね。それとか、肝臓とか、いろいろなものにして、それを移植しよう。そういう考え方で、各分野で、盛んに行われているのです。この時に使われるのが、ももとの細胞として幹細胞と呼ばれるものが使われるのですが、幹細胞は3種類、今知られています。ここに書きましたが、人間の体の中、私たちの体の中にも幹細胞と呼ばれるものは非常に少ないのですが、数は非常に少ないのですが、みんな持っています。それを自分の体から採ってくるので、「体性幹細胞」と呼んでいます。この体性幹細胞を使った治療法というのは、自分の体からとるので、あまり倫理的問題とか、免疫の問題だとか、そういうものが非常に少ないので、かなり臨床応用は、こちらは進んでいます。

それに対してこちらの2つ。ES細胞といわれるものとiPS細胞。これもちょっと後でお話しますが、これは「万能細胞」と呼ばれるものです。万能細胞は非常に再生医療として期待されているのです。どうしてかということ、万能細胞というのは、基本的に無限に増殖するのです。人間の細胞というのは、あまり無限に増殖しません。無限に増殖するのは癌細胞であって、人間の普通の細胞というのは、無限には増殖できないのです。ところがこの万能細胞といわれるES細胞とかiPS細胞は原理的には、無限に増殖させます。それはどういうことかというと、ある組織がない人に治療に使おうというときに、十分な量の細胞を供給することができるということで、再生医療ではこれを何とか使いたいというようにしているのです。どれにしても、そういう細胞というのは、1度シャーレで培養ということ

します。細胞として増やしたり、あるいは変化させる。「分化誘導」といいますが、変化させてたとえば筋肉のような細胞にして、移植する。あるいはこういう、いろいろなものに分化というふうにして、移植する。これがいわゆる幹細胞を使った再生医療の基本的なスキームということになると思います。

万能細胞についてのことですが、「体細胞クローン」とか聞いたことがあると思いますが、ほ乳類ではなかなかクローン動物というのは、できないだろうといわれていたのです。ところが今では、できるということがはっきりわかってきたのです。

実は1960年代からカエルではできていたのです。山中先生と一緒にノーベル賞をもらった人ではないかと思えます。その人がクローンのカエルを作った。非常に昔からカエルではできるということがわかっていたのです。体細胞クローンでドーリーができたのが、1997年。このくらいまでにならないと、ほ乳類ではできなかったのです。その後、ヒトで万能細胞が確立されて、その後山中先生がヒトのiPS細胞を樹立したというような、非常に最近の技術なのです。こういう最近の技術を使って再生医療というのは、行われようとしているのです。

ところがよく知られていることですが、植物ではこのようにクローンの物を作るのは当たり前で、売られている蘭とか、そういうものはほとんど1つの細胞、クローンから作られているということで、植物では当たり前なのですが、そういうのが動物でもできるようになったということです。

実際の使い方ですが、いろいろ3種類書いてありますが、体性幹細胞、骨髄の中に入っている幹細胞は非常に少ないのですが、それを使う場合が多いです。これは患者さんの骨髄から採って、すぐに移植できるというメリットがあるので、実際の臨床でもかなり使われているのです。どういう機構かという、この幹細胞というのを、たとえば特定の臓器に移植してあげるとその臓器の周りの環境によって、幹細胞というのはいろいろな性質を持っているので、必要な細胞のものに変化してくる。自分で変化してくるのです。それでその細胞を利用して機能を回復できるという、そういう原理で使っているのです。

一方でこのES細胞とかiPS細胞というのは、もう1段階必要で、途中で培養というステップを経て、目的の細胞に変化させて、それから移植するということで、実はまだこちらの段階のものについては、臨床応用されているものは、まだほとんどないという



ことなのですね。それは山中先生のiPS細胞でもやっと始まった程度という、そういう状況にあります。

よく使われるのは、骨髄から採ってくる間葉系幹細胞ということで、私どももこの間葉系幹細胞を使っているいろいろな仕事をしたので、簡単にご紹介したいと思います。

これは間葉系幹細胞ともう1つ、これはiPS細胞を説明するために、ちょっとしたのですが、どのようにして目的の細胞にするかということで、いろいろなやり方があるのですが、1つの方法として遺伝子導入という方法があります。これがいわゆる人間の遺伝子、このようになっていますが、2万くらいありますが、その中に何か目的の遺伝子を入れてあげるので、入れる技術があります。入れてやりますと、入れた遺伝子が実際に蛋白質になって、機能を働くようになる。それがいわゆるホルモンの場合だと、生産がONになったりOFFになったりというのは、そういうやり方が遺伝子導入ということですが、私どもの場合は、SF-1といわれる遺伝子を、ステロイドホルモンを作るために導入しています。SF-1というのは、ステロイドを作る場合に非常に大切な遺伝子で、これがないと副腎ができなかったり、あるいは卵巣や精巣ができないというような、そういう物質です。

どうしてそのようになるかという話が難しいのですが、先程いったようにコレステロールからステロイドができてくるのですが、それを作るのはみな酵素なのです。酵素は、ステロイド合成酵素というものが、このように遺伝子の上にそれぞれ並んでいるのです。それをコントロールしているのが、このSF-1と呼ばれる物質なのですね。ここにその酵素群を書きました。こういう酵素がそれでコントロールされているということで、こういう酵素を発現させていこうということなのです。

非常に単純なのですが、いわゆるヒトの骨髄系由来の間葉系の幹細胞に今いったSF-1というものを細胞の中に導入します。導入して培養して、そのようにこういうものが入った細胞だけをピックアップして、それをちょっとサイクリックAMPと書いてありますが、これをちょっとホルモンを誘導するために必要な物質ということで、それを培養してあげると、いわゆる間葉系幹細胞といわれるものがステロイドホルモンを作るようになる。その大本は何かというと、このSF-1というものが遺伝子として入ってきたので、それでステロイドホルモンを作る酵素が

てきたということですね。

これは具体的なものを示しましたが、見ていただくと、このようにこういう経過をたどると、こちらで見て、これは先程いったこういういろいろな酵素ですね。コレステロールから副腎皮質ホルモンを作るためのいろいろな酵素ですが、酵素が実はこれが細胞の中にあるかどうかを示している。遺伝子が発現をしているかどうかということを行いますけれど、出ているかどうかを見ているのですが、こういうSF-1というものをに入れてあげると7日間も経つと、こういった赤字で書いてあるところの酵素がぱっとその細胞の中に出てくるのです。このパターンを見ると、この赤のものがたくさんできているので、コレステロールがこのように縦の系列ができてきているということで、産物としてはコルチゾール(Cortisol)がたくさんできてきているのではないかとということが予想されるのです。実際この細胞を培養した上清といいますが、「メディアム(Medium)」といいますが、この培養している液の中のホルモンを測ってみると、普通なら全然何もホルモンは出ていないのですが、この場合だと、コルチゾールですね、これが大量に出ているということで、この方法でやると副腎皮質ホルモンをたくさん作る細胞を作り出すことができるということがわかったわけです。

いろいろな間葉系幹細胞を試したのですが、すべてステロイドホルモンを作るようになりました。でもどういものができてきたかということ調べてみると、様々でいわゆる精巣の細胞に近いものだとか、あるいは副腎皮質に近いものだとか、あるいはこれもちょっと黄体化した卵巣の細胞に近いものだとか、様々なものができてくるのですが、使う間葉系の幹細胞によって変わってくるのですが、すべてステロイドを作るようになったということなのですね。

今までこうやってホルモン補充療法をしていたのですが、こういう幹細胞を使って副腎皮質ホルモンを作る細胞を使って、それを移植してやればこの補充療法をしなくても、大きくなるような、そういう治療法が可能になるのではないかとこのように考えたわけです。

ところがこれはやはりいろいろ問題がまだあるのです。1つだけちょっとお話をしておきます。今、遺伝子導入というやり方でステロイドホルモンを作りました。ところが普通に遺伝子導入をしますと、いろいろなリスクがあるのです。遺伝子治療というのは、導入の治療というのは、一時やられていた

のですが、今はほとんどやられていません。どうしてかという、そういう遺伝子治療した、遺伝子を導入した細胞というのは、非常に癌化すると。癌細胞になってしまうという、そういう例がフランスなどで実際にあったので、それ以来あまり使われていないのですね。どうしてそういう遺伝子を導入した細胞というのは、癌化するのかというのが、ちょっと簡単に書いてありますが、外来の遺伝子、外から遺伝子を入れてあげると、染色体のいろいろなところに、緑で書いてあるものですが、いろいろなところに遺伝子が、外から入れられたものが入ってしまうのですね。このように。これをコントロールするのは非常に難しい。緑で入れたもの自体は、別に癌化でも何も関係ないのですが、たまたま変なところに入ると、癌を引き起こすようなそういう遺伝子を活性化してしまうのですね。変なところに入ってしまうと。もしそういうことが起きると、細胞が癌化するというので、再生医療にも使いにくいということで、こういう一般的な遺伝子の導入のやり方というのは、あまり使われていないということになります。

それも含めてではどうしたらよいかということで、今、間葉系幹細胞を使う場合は、癌化のリスクとか、あるいは細胞を無限に増殖できないとか、いろいろな問題があるのですね。それを解決するのは万能細胞を使った方が良いということ。ES細胞とかiPS細胞は無限に増えるということと、もう1つの大きな特徴は、ある特定の所にだけ、遺伝子を入れることができるのですね。安全なところに遺伝子を入れることが可能だということですね。どこまで安全かということは、もちろん実証しなければいけないのですが、いろいろなところに入る。わからないリスクは非常に減らせるということで、万能細胞を使うというのは、非常によいやり方かもしれません。

それで山中先生のiPS細胞ということですが、これも実は遺伝子を導入して、細胞を作っていました。遺伝子導入。普通のいろいろな皮膚の細胞などを使って、山中4因子といわれる。先程いったいわゆる転写因子といわれるものを入れてあります。遺伝子の働きをコントロールする、そういう物質を4つ入れているのですね。4つ入れて、しばらくすると、それがいわゆる万能細胞といわれる、無限に増殖して、体のすべての細胞になることができる。変化することができる細胞ができる。それが山中先生が作ったiPS細胞といわれるものですね。

実際はこのように遺伝子、最初に導入していたので、非常に危険が多いということで、今は、先程

いったヒトの遺伝子の中に組み込まれないような形の、そういうものを使って、トリックを使って、iPS細胞を作っています。非常にこういう予算もたくさん下りていますし、すぐにそういう技術的な進歩は非常に早いので、最初は効率が悪かったり、扱いが難しかったりしたのですが、最近はそういうところもかなり解決されて、細胞レベルでのiPS細胞を扱うことの問題ということは、ほぼ解決されているのではないかなと思います。これはiPS細胞。

もう1つ。ES細胞。ES細胞というのはその前からわかっている万能細胞なのですが、これも別に天然にあるものではないのです。受精卵を使います。受精卵がだんだん細胞が分裂して、こういうように胚盤胞といわれるものが形成するのですね。これから実はさらに発達して胎児になっていくのですが、そのときにこの細胞の固まり、こういうものが中にできてくるのですね。これを取り出して外で培養していると、これが万能細胞になってくるのですね。ですからES細胞というのも、実は天然の細胞ではないのですね。人工的に作った細胞。iPS細胞もそうですが、そのように人工的に作った細胞ということですね。それから受精卵を使うので、ヒトの場合は、やはり相当倫理的な問題があるのですね。倫理的にそういうものを使っていいのかどうか、そういういろいろな問題があるのですが、そういう点でiPS細胞というのは、自分の体から採った細胞でできますから、そういう倫理的な問題とか、あるいは免疫の拒絶反応とか、そういうものもクリアしているので、iPS細胞が本当にうまく使えれば、よいのかもしれないと思っています。

私どももES細胞を使って、さっきの分化をやってみました。ところがさっきと同じような間葉系幹細胞でできたような形、酵素が出てくるかどうかをチェックして、それをいろいろな細胞でやったのですが、これはES細胞の結果。先程いきましたSF-1というのは遺伝子導入していますから確かに出てくるのですが、それをやっても他のステロイドを作る細胞というのは、出てこないのですね。酵素は全然出てこない。これはどうにもならないということで、ちょっといろいろな工夫をしました。ちょっと難しくなるので、簡単に説明しますと、こういう何というか、あるES細胞の特定の1箇所にだけこのSF-1が入るようにしました。癌化しないように入れています。入ったかどうかが、これが出てきたかどうかを緑色が出るGFP (Green Fluorescent Protein) という蛋白が光るような、そういうようなしくみ、仕



掛けを作りました。ちょっと仕掛けがここに書いてあります。GFP遺伝子というものがあるところの中、遺伝子がぱっと働くようになったのを、1つの目安ですね。指標にするためのものですが、こういうようにしてやると、実際のこういうSF-1が出ているかどうかということ自体を、緑色に光る蛍光で見ることができるということで、これもそういうトリックを使っているのですね。

この場合は、この細胞をテトラサイクリン(Tetracycline)といわれる薬剤と一緒に培養しているのですが、このテトラサイクリンというものを除くと、TC-と書いてあります。そうするとこれが出てくると、そういう仕掛けになっています。そういう仕掛けでやると、実際にこのテトラサイクリンを除いてあげると、このように緑色に光る細胞、みんな緑色に光るようになってきて、なおかつこのSF-1が出てくる。普段はSF-1は出さなくて、必要に応じて、このSF-1が働くようにしてあげる、そういう仕組みを作ったのです。そして何をしたかという、簡単にいうと、この状態で、そのままES細胞の状態です。SF-1というものが出てきてしまうと、確かにSF-1は出るのだけれどステロイドホルモンはできない。そういう状況になるのです。これはちょっと、やや姑息な手段なのですが、ES細胞というのは万能細胞ですから、どんな細胞にもなるのです。ではそれだったら、間葉系の幹細胞というものにまず変化させておいて、この状態にしておいてこのSF-1を出すように、テトラサイクリンを抜けば、出るのではないかとということで、実際に実験をやってみると、最初は全然出ていないのですが、こうやってテトラサイクリンをオフにしてあげると、いろいろなステロイドホルモンを作るための酵素というものが出てくるということで、こういうものを使ってES細胞から初めてステロイドホルモンが作れるようになった。

このケースの場合は、ここに赤で書いた酵素群がやはり出ていますので、コルチゾール。副腎皮質ホルモンがたくさん作れるような、そういう細胞ができたということを示しています。

それからもう1つ、ちょっと注目してもらいたいのは、ACTH-Rと赤で書いてあります。これも一緒に出てくるのです。これは実は副腎皮質ホルモンを作る細胞としては、かなり大事な性質なのです。どうしてかという、先程ちょっと先に話した、脳の中の視床下部とか下垂体というところがあって、実はこの副腎皮質ホルモンが出るかどうかという調節はこの上から指令が来ているのです。上からこ

れを出すよという指令がくると、これがコルチゾールがたくさんですね。上から出るという刺激が来て、これが出続けてしまうとコントロールできない。実際の体では、これがさらに出てきた、コルチゾールがまた視床下部や下垂体に働いて、「もう刺激をやめてください」と、それでバランスが取れるようになってきているのです。これはネガティブフィードバック(Negative Feedback)といわれています。体の中は、そういうものが備えられていて、きちんとホルモンの環境がコントロールされているのです。

それはどうしてかという、上からこのように来て、下垂体からACTHという物質が出ます。こういう物質が出て、副腎皮質を刺激して、先程のグルココルチコイド、ステロイドホルモン、コルチゾールとかそういうものが出てくる、こういうしくみになっているので、人間の体ではこれが出ると、この下垂体に働いて、逆に出過ぎないように、今度はこれがあまり分泌されないようにされるという、そういうネガティブフィードバックという機構が働いているのです。

そのためにはACTHの受容体というのが、この副腎皮質にあってそれが刺激してコルチゾールが出るという、そういうしくみになっているのですが、簡単にいうと視床下部から下垂体を経て、ACTHという物質が出て、その受容体というものが副腎にあって、それが刺激されてコルチゾールが出る。コルチゾールが出ると、それが元に戻って、今度は視床下部と下垂体からのこういうものを抑えるということ。ですからこういうものが回るために大事なものは、このACTHの受容体がここにあるということが大事なのですが、実はこの細胞では、これが出ているので、このACTHというもので、この細胞を刺激すると、実際にコルチゾールが出てくるということで、いわゆる人間のACTHに反応してコルチゾールを分泌する人間の体の中を模倣したような、フィードバック機能の保持といいますか、そういうものが作り出された細胞を利用して出てくるということで、単に注射してコントロールができないということではなくて、自分で自律的にコントロールできる、そういう細胞ができる。それを再生医療に利用できる可能性があるということがわかりました。

現在では、先天性の副腎ホルモン産生異常症は現行で1万人規模いるのですが、現在ではホルモン補充療法で治療をされています。問題点としては、一生の間ホルモンを続けなければいけないということ。あるいは量をコントロールするのが非常に難

しいので、副作用の心配。ステロイドホルモンというのは非常によく効くので、やはりいろいろたくさん投与しすぎてしまうと、いろいろな悪い症状が出てしまうのですね。ですからうまくコントロールする必要があります。それがちょっと心配です。たとえば風邪を引いたときなどは、量をコントロールするのがなかなか難しいね。免疫が抑制されてしまうことがあります。将来的には、こういうものに対して幹細胞を用いた再生医療ができるようになれば、一生にわたって補充しなくても良い。あるいは自律的にコントロールして一定環境を保つような、そういうような治療法に開発できるのではないかとということで、今後の研究につなげたいと思っています。

ところが今の実際の再生医療の現状では、先程もいいましたように、ES細胞、iPS細胞というのは実は万能細胞で非常に良いのですが、なかなか扱いにくい細胞なのです。どうしてもES細胞、iPS細胞というのは癌化する性質を持っているのです。ですからそのあたりを山中先生とか、そのあたりのところも非常に慎重にいろいろなトリックを使ったりして、癌化をしないよううまくトリックを使って、治療法につなげたいということでやっているのですが、まだまだこういうものはいろいろな人間に対してする治療になりますので、非常に慎重に、きちんとステップを踏みながら進めていくので、まだだいぶ時間がかかるように思います。若い学生の諸君が老後、自分の細胞を再生するくらいのタイムスケジュール、そういう感じになるかも知れませんが、今後のいろいろな治療法のメインの1つに、21世紀ではなってくるのは確実だと思いますので、その中で1つ貢献できればいいのかなというように考えています。

長い時間、どうもありがとうございました。これでお話を終わらせていただきます。

**山田**／宮本先生、ありがとうございました。大変わかりやすいお話で、おもしろかったと思いますが、学生にもわかるようにということをお願いしてありましたので、非常にわかりやすくお話しいただけたかと思っています。

せっかくですので、どなたかご質問、コメント等ございますでしょうか。最初はステロイドホルモン、要はホルモンの作用ということでカクレクマノミの話から入りまして、ホルモンの構造とか、階層的調節などの話から入りまして、実際にそれを発現を調節する遺伝子機構としてSF-1という転写因子があ

ると。それをさらに細胞で発現させますと、ステロイド産生細胞ができるということで、素晴らしい研究だと思いますが、ではどうぞ。

**米倉**／信州大学の米倉と申します。どうも、先生、おもしろいお話をありがとうございました。

1点、再生医療とは違う視点で疑問に思った点があるのですが、最初のCYP21 (21水酸化酵素) の欠損の場合は、副腎が過形成になるという表記があったと思うのですが、一方でSF-1のノックアウトマウスは副腎がなくなってしまうということで、どちらもコレステロールを作る大事な酵素に当たる、SF-1のほうがもっと上流にあるのかなという気がするのですが、同じような働きを持っていて、副腎に対しての表現型に対しての違いはなぜ生まれるのかということ、もしおわかりでしたら、お聞きしたいと思います。

**宮本**／なぜ過形成になるのかということの原因は、このフィードバックで結局欠損症だとこのコルチゾールは出ないわけですね。そうすると視床下部下垂体は正常なので、コルチゾールがでてこないぞということで、ACTHをものすごく過剰に分泌してしまうのです。何とかコルチゾールを出そうと思って。そうすると副腎自体はコルチゾールを出せないのに、いつでも刺激されている。いつでも過剰に刺激されているので、過形成になる。

そういうことで、過形成というのは、SF-1が全部働かなくなったらどうなるかということ、その場合は胎児からのことなので、いわゆるフィードバックのシステムができる前に、それができなくなってしまうということなのですが、ある1カ所だけ止まって、コルチゾールだけできないということになると、他が正常なので、副腎が過剰に刺激されて過形成になる。そういう考え方だと思います。

**米倉**／どうもありがとうございました。

**山田**／他にどなたか。

**進藤**／松本大学の進藤と申します。非常におもしろく、お話を伺いました。特に前半の部分は、先生に直接の最後のお話ではないのですが、性転換とか性ホルモンのお話がすごくおもしろいと思ったのですが。

ヒトの発生学をいいますと、胚というのは基本的

に女性として作られていて、途中で男性ホルモンなどが作られるようになってから、それが男性として内性器も外性器のほうも変化していくというのが、実際によく知られていると思いますが、先程のホルモンとの関係がどこまであるか。つまり男性ホルモンから女性ホルモンとか、また逆だということが、ヒトにあるのかわからないのですが、その辺の関係があるのかどうかというのが1つと、もう1つ、最近問題になっております性同一性障害というのがあると思うのですが、それといわゆるこの辺の、先程「ヒトでは性転換ホルモンはない」とおっしゃいましたが、そういうところに何か関係がないかどうか、気になりました。

**宮本**／ありがとうございました。あとのほうの性同一性障害ですね、それについてですが、先生もご存知だと思いますが、胎児期にテストをするのですね。これがあると脳の中で脳波も男性化するといいますか、そういう神経核もできてくるような、そういうものがあると思いますので、胎児のときのそういうホルモン環境というものが、何らかの関係で本当は男性なのに女性的な脳の神経構造ですね、そういうことになってくるというのが1つの考え方ではないかと思います。

ですから先生がいわれた胎児のときのステロイドホルモン、特にステロイドですね、その関係というのは、非常に大事なポイントだと思いますね。

最初のご質問は、デフォルトは女性なのです。精巣ライディッヒ (Leydig) からテストステロンが出ると男性器が発達してくるというお話で、その通りでその中で性転換が起こるかどうかというご質問だったですかね。それについては、まだあまり進んでいないかと思います。それを哺乳動物でも、非常にタイトにコントロールされているのですが、精巣と卵巣ですね。ある特定の転写因子が働くようにしてあげると、実際に精巣から卵巣に転換とか、そういうことも可能だということがわかってきています。普通の場合は、起こらないというように考えて良いというように理解しています。

**進藤**／ありがとうございました。

**山田**／もう1人。

**片山**／信州大学の片山と申します。ご丁寧に、ご発表ありがとうございました。

いわゆる幹細胞というのは、癌化しやすいという、非常にちょっと扱いにくいとはいえ、最後の発表のところ、たとえばACTHの受容体が発現してすぐ細胞自体が順応するというか、そういった可能性が、聞いていておもしろいと思ったところなのですが、そういう意味で、移植した際に、思いも寄らないような順応を見せる、もしくは逆に癌化ではなくても、非常に周りの細胞に迷惑をかける、もしくは引きずられてしまうといった、移植後というところで、何かお話をお聞かせ下さい。

**宮本**／今、先生のお話で結局、細胞の分化についていうと、周りの環境というのは非常に大きいわけですから体制の、間葉系の幹細胞などを移植すると、それは周りの環境に従って、その環境に必要な細胞に、結構そちらのほうに圧力がかかると思いますか、そういう方向に分化しやすいので、先生のおっしゃるようにね。それでうまく再生治療に使う、実際に臨床応用されている例も多いのです。それは幹細胞をそのまま打っているのですが、その局所の環境で順応して、必要な細胞になっているということがありますが、ES細胞とかiPS細胞の場合は、完全にその細胞になってくれないと、元の未分化のやつが残ってしまうと、それが無限に増殖する形で、どうしても腫瘍化とか、そういう問題があるのでまだ使われていないという現状ではないでしょうか。

**山田**／それでは時間ですので、宮本先生、どうもありがとうございました。もう一度拍手をお願いします。