

2

特集 糖尿病領域における再生医療の現状と展望

多能性幹細胞からの膵島組織作製

渡邊亜美, 宮島 篤
東京大学 分子細胞生物学研究所

iPS細胞やES細胞などの多能性幹細胞から各種組織の細胞を作製しようとする試みが行われている。膵臓分野においてもインスリン産生β細胞を培養皿上に、かつ大量に調製することを目的として、多能性幹細胞(ES, ntES, iPS細胞)あるいは組織幹細胞から膵内分泌細胞の分化誘導に関するさまざまな研究が行われてきた。とくに自己組織より作製されるiPS細胞は、患者本人の組織再生を可能とすることが期待され、医療応用への研究が盛んに行われている。さらに近年は、単純に膵内分泌細胞を作製する二次元的な分化誘導に加え、細胞の相互作用などを培養皿上に再現することによって生体内同様の三次元的な構造を持った膵島を作製する試みも行われるようになってきた。本項では、各種幹細胞からの組織再生のなかで多能性幹細胞を用いた膵島組織再生を目的とした研究のこれまでの流れと、現状について概説する。

多能性幹細胞からの膵β細胞再生

ESやiPS細胞などの多能性幹細胞が樹立、報告されて以来、さまざまな体組織への分化誘導方法が報告されてきた。膵臓系細胞に関しても、糖尿病治療への利用を究極の目的として、膵β細胞を作製する試みが世界中で行われている(図1)。多能性幹細胞から機能的な膵内分泌細胞を作製することができたと初めて報告したのは、2000年のSoriaらの論文である¹⁾。彼らはマウスES細胞から初めてインスリン分泌能を持つβ細胞様の細胞を培養皿上に作製することに成功したと報告した。この細胞は*in vitro*でインスリン分泌可能であり、さらに糖尿病モデルマウスのspleenに 1×10^6 個程度移植することでマウスの血糖値を1週間以内に改善可能であるとされた。しかし、この報告は細胞の機能解析のみに留まっており、移植後の

細胞がどのように生体内で機能しているのか、詳細は不明であった。その後、2001年にマウスES細胞よりインスリンのみならずα細胞が分泌するグルカゴン、δ細胞が分泌するソマトスタチンを発現する三次元構造を持った細胞塊を作製したという報告がなされた²⁾。この研究では、マウスES細胞の神経細胞系への分化誘導をヒントに、一度nestin陽性細胞に誘導した細胞を数段階の分化誘導系を用いて、膵内分泌細胞に分化させるという方法であった。また、この年には、PI3K inhibitorを用いることで内分泌細胞を効率的に得る試みや、ヒトES細胞からインスリン陽性細胞の作製に成功したとの論文が次々に出され、多能性幹細胞からの膵内分泌細胞分化誘導研究はにわかに活気づいた^{3,4)}。

しかし、2003年にMeltonらのグループが、従来の分化誘導系で成熟β細胞を分化した根拠とされていたインスリンの免疫染色結果に疑問を呈した⁵⁾。これは死細胞が培養液中に存在するインスリンを取り込むことで、あたかも

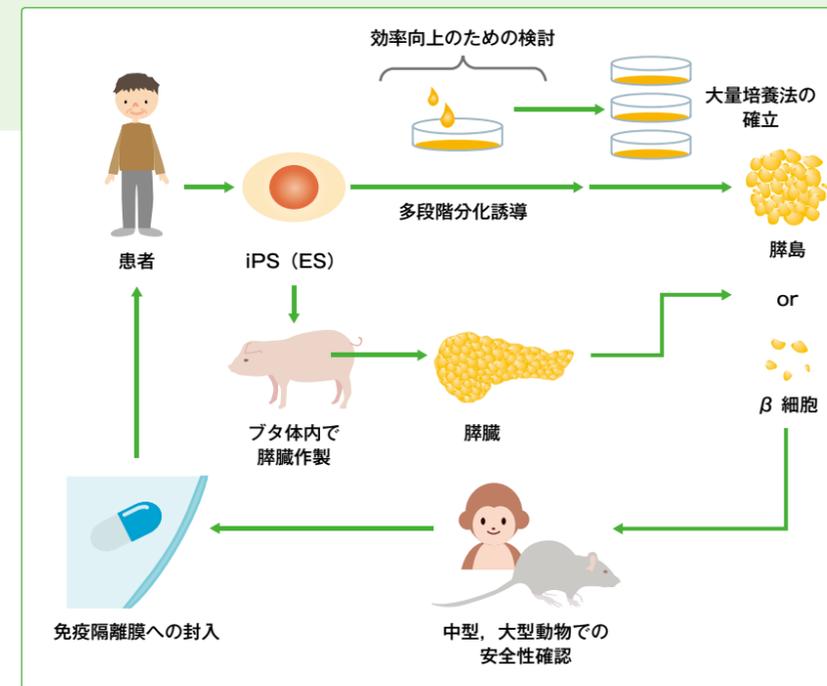


図1 iPS細胞からの膵島、膵β細胞作製研究と展望

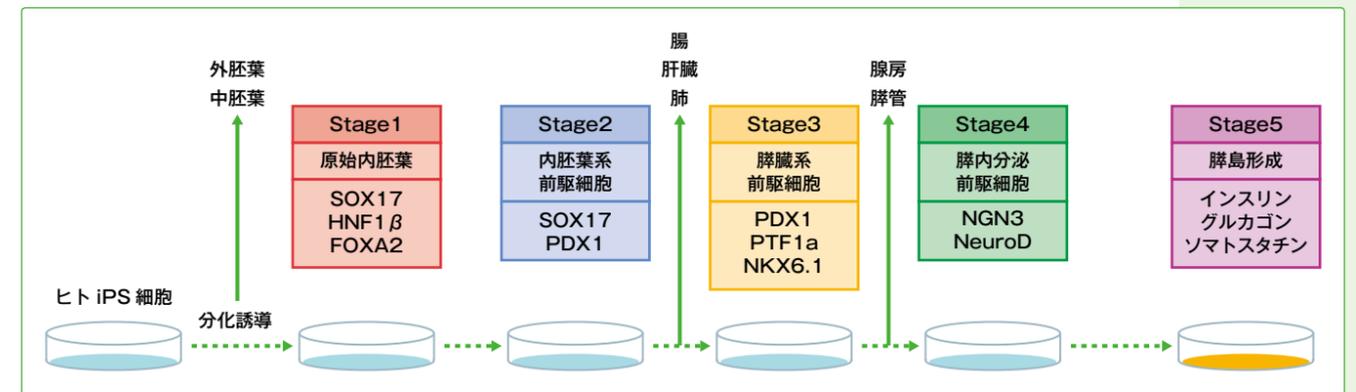


図2 多段階分化誘導法
iPS細胞に各種サイトカインを加えることで膵島細胞へ誘導する。

β細胞のように染色されるという現象を示したもので、この報告以降、インスリンの免疫染色を分化の根拠としてきた報告に疑問符がつくこととなった。そこで、インスリンに代わりc-ペプチドを免疫染色で検出する方法が主流となった。

その後もES細胞から内分泌細胞を作製する試みが行われていった。当時の分化誘導系は、ES細胞を胚葉体形成条件で培養し、得られた内分泌細胞を薬剤選択などで分取する、あるいは膵内分泌細胞への分化を促進する遺伝子をES細胞、あるいはES細胞由来の神経系細胞などに強制発現させるなどの方法で分化誘導を行う試みが

あったが、いずれも分化誘導効率が低く、得られた内分泌細胞の機能も十分ではなかった。

その後、2006年に、現在の主流となる分化誘導方法が報告された。D'amourらは、2005年にES細胞にActivin、低血清の培養系を用いることによって、生体内で膵臓系細胞の大本となる内胚葉系の細胞を高効率に得る系を報告した⁶⁾。彼らは、この系をさらに改善し、マウスの生体内における膵臓発生を内胚葉系細胞、前腸中胚葉細胞、膵臓系細胞、膵内分泌前駆細胞、内分泌細胞の5段階のステップに区分し、これにサイトカインや低分子化合物を添加する多段階分化誘導系を開発し、インスリン