



特集 iPS細胞と糖尿病治療への応用

幹細胞 (iPS 細胞) から 膵β細胞への分化誘導

宮崎早月¹⁾，宮崎純一²⁾

1) 大阪大学 医学系研究科 幹細胞制御学 特任研究員

2) 大阪大学大学院 医学系研究科 幹細胞制御学分野 教授

膵β細胞は、血糖を低下させる唯一のホルモンであるインスリン (insulin) を分泌する高度に分化した細胞である。この膵β細胞が自己免疫により破壊され内因性インスリンが枯渇する1型糖尿病などの重度の糖尿病に対し、根治療法として膵臓移植や膵島移植が行われている。エドモントンプロトコルを用いた膵島移植は、膵臓移植より侵襲性が少なく安全性の面で優れており治療成績も向上している。しかしながら、1人の患者に対し複数のドナーが必要となることから、ドナーの絶対的不足が問題となっている。それを克服できる可能性があるとして期待されている分野に膵β細胞の再生医療がある。既存の膵β細胞を*in vitro*で増殖させることが困難であることから、移植用細胞の無限の供給源となりうる自己複製能と多分化能を有する幹細胞を用いた機能的な膵β細胞の分化誘導法の開発が世界中で試みられている。これまで最もよく分化誘導実験に用いられてきた幹細胞はES細胞であるが、最近樹立された体細胞由来の幹細胞であるiPS細胞のほうが、移植医療に応用する際の利点が多く、注目を集めている。

ES細胞からの膵β細胞の分化

胚性幹細胞 (ES細胞) とは胚盤胞の内部細胞塊に由来する全能性幹細胞である。マウスES細胞を胚盤胞の腔内に注入すると生殖細胞を含むすべての細胞種に分化し、キメラマウスが得られることが知られている。*in vitro*においても、培養条件を変えることでさまざまな分化能を引き出すことができる。たとえば、マウスES細胞を浮遊細胞塊として3次的に培養すると胚様体に分化する。胚様体は円筒胚に酷似した形態をしており、これをプレート上で付着培養し続けると、心筋や神経な

どのさまざまな細胞が分化誘導されてくる。そのため、*in vitro*分化誘導系を用いて、ES細胞を膵β細胞に分化誘導することができれば、それを移植することで糖尿病を治療することも可能になると期待されている。

2000年以降、ES細胞からのインスリン産生細胞の分化誘導に関して多くの報告がなされてきた¹⁻³⁰⁾ (表1)。2001年には、AssadyらによりマウスだけでなくヒトES細胞からもインスリン産生細胞を*in vitro*で分化誘導できることが報告され²⁰⁾、再生医療への期待が高まった。

彼らによると、ヒトES細胞を胚様体に分化させると、分化後14日目ごろから抗インスリン抗体で染色される細胞が出現し、19日目ごろまでしだいに増加し、胚様体の半数以上にインスリン産生細胞が認められるように

略語解説

Glut2 : glucose transporter 2 / Ngn3 : neurogenin 3 / Pdx-1 : pancreas duodenum homeobox 1 / PC2 : prohormone convertase 2

表1 インスリン産生細胞への分化の報告

代表的と思われる文献のみを表に示した。
(n.d. = not determined)

	細胞の由来	抗 C-ペプチド抗体による免疫染色	グルコース応答性インスリン分泌	移植実験による糖尿病の是正	特徴	文献
ES 細胞からの分化	マウス	n.d.	+	+	薬剤選択 (インスリンプロモーター)	Soria <i>et al.</i> , 2000 ¹⁾
	マウス	n.d.	+	-	5ステップ分化誘導法 (ネスチン陽性細胞)	Lumelsky <i>et al.</i> , 2001 ²⁾
	マウス	n.d.	-	n.d.		Shiroi <i>et al.</i> , 2002 ³⁾
	マウス	+	+	+	PI3 キナーゼ阻害剤の添加	Hori <i>et al.</i> , 2002 ⁴⁾
	マウス	n.d.	n.d.	n.d.	<i>Hnf6</i> ノックアウト ES 細胞	Houard <i>et al.</i> , 2003 ⁵⁾
	マウス	n.d.	+	+	<i>Pax4</i> 強制発現	Blyszczuk <i>et al.</i> , 2003 ⁶⁾
	マウス	n.d.	+	-	マーキング (インスリンプロモーター + LacZ)	Moritoh <i>et al.</i> , 2003 ⁷⁾
	マウス	+	n.d.	n.d.		Kahan <i>et al.</i> , 2003 ⁸⁾
	マウス	n.d.	+	+		Kim <i>et al.</i> , 2003 ⁹⁾
	マウス	+	-	-	<i>Pdx-1</i> 発現制御	Miyazaki <i>et al.</i> , 2004 ¹⁰⁾
	マウス	+	n.d.	n.d.		Ku <i>et al.</i> , 2004 ¹¹⁾
	マウス	n.d.	+	+	薬剤選択 (Nkx6.1 プロモーター)	Leon-Quinto <i>et al.</i> , 2004 ¹²⁾
	マウス	+	+	+		Blyszczuk <i>et al.</i> , 2004 ¹³⁾
	マウス	n.d.	-	n.d.	<i>Nkx2.2</i> 強制発現	Shiroi <i>et al.</i> , 2005 ¹⁴⁾
	マウス	+	+	+	レチノイン酸 + アクチビン A	Shi <i>et al.</i> , 2005 ¹⁵⁾
	マウス	+	+ (C-ペプチド)	+	膵原基の培養上清 + 薬剤選択 (インスリンプロモーター)	Vaca <i>et al.</i> , 2006 ¹⁶⁾
	マウス	+	n.d.	n.d.	レチノイン酸 + アクチビン A	Nakanishi <i>et al.</i> , 2007 ¹⁷⁾
	マウス	n.d.	n.d.	n.d.	<i>Pdx-1</i> ノックアウト ES 細胞	Takayama <i>et al.</i> , 2008 ¹⁸⁾
	マウス	+	+	n.d.	<i>ngn3</i> 発現制御	Serafimidis <i>et al.</i> , 2008 ¹⁹⁾
	ヒト	n.d.	-	n.d.		Assady <i>et al.</i> , 2001 ²⁰⁾
ヒト	+	±	n.d.		Segev <i>et al.</i> , 2004 ²¹⁾	
ヒト	+	n.d.	n.d.	胎児膵と共に移植	Brolen <i>et al.</i> , 2005 ²²⁾	
ヒト	+	± (C-ペプチド)	n.d.	正常な発生段階を模した分化	D'Amour <i>et al.</i> , 2006 ²³⁾	
マウスとヒト	+	- (C-ペプチド)	n.d.	2相性発現 (<i>Pdx-1</i> VP16)	Bernardo <i>et al.</i> , 2009 ²⁴⁾	
サル	+	n.d.	n.d.	マーキング (インスリンプロモーター + GFP)	Lester <i>et al.</i> , 2004 ²⁵⁾	
問題点を指摘する論文	マウスとヒト	-	n.d.	n.d.		Rajagopal <i>et al.</i> , 2003 ²⁶⁾
	マウスとヒト	-	- (C-ペプチド)	n.d.		Hansson <i>et al.</i> , 2004 ²⁷⁾
	マウス	+ (神経様細胞)	-	-		Sipione <i>et al.</i> , 2004 ²⁸⁾
	マウス	+	+	±		Fujikawa <i>et al.</i> , 2005 ²⁹⁾
iPS 細胞からの分化	ヒト	+	+ (C-ペプチド)	n.d.	clonal variation	Tateishi <i>et al.</i> , 2008 ³⁰⁾

なったという。そのうちのインスリン産生細胞の割合は1～3%であった。RT-PCR法により、グルコキナーゼ、*Glut2*、*Ngn3*、*Pdx-1*などの発現も確認されており、ヒトES細胞もインスリン産生細胞に分化しうることを示された。

これまでインスリン産生細胞の分化誘導にはさまざまな方法が用いられてきた。たとえば、薬剤選択によりインスリン産生細胞のみを濃縮する方法やネスチン陽性細胞

を介して分化誘導する方法、膵発生に重要な遺伝子の過剰発現により分化誘導する方法、そして膵原基との共培養や胎児膵の培養上清を添加して分化誘導する方法などが試されてきた。

薬剤選択によるインスリン産生細胞の濃縮は、最初 Soria らにより行われた¹⁾。彼らはインスリンプロモーター下に β -geo 遺伝子 (lacZ 遺伝子とネオマイシン耐性遺伝子の融合遺伝子) を組み込んだ遺伝子を導入し *in*