

恩賜賞 受賞者 山 中 伸 弥



専攻学科学目 幹細胞生物学

生 年 月 昭和三七年 九月
略 歴 昭和六二年 三月
平成 五年 三月
同 五年 三月
同 五年 四月
同 五年 四月
同 五年 四月
同 一一年 二月
同 一五年 九月
同 一六年 一〇月
同 二〇年 一月
同 二二年 四月

神戸大学医学部卒業

大阪市立大学大学院医学研究科博士課程修了

博士(医学)

米国カリフォルニア大学リサーチフェロー

米国グラッドストーン研究所ポストドクトラルフェロー

奈良先端科学技術大学院大学遺伝子教育研究センター助教授

奈良先端科学技術大学院大学遺伝子教育研究センター教授

京都大学再生医科学研究所教授(平成二二年三月まで)

京都大学物質・細胞統合システム拠点iPS細胞研究センター長(併任)

京都大学iPS細胞研究所所長(現在に至る)

博士（医学）山中伸弥氏の「人工多能性

幹細胞（iPS細胞）の樹立」に対する授賞

審査要旨

胚性幹細胞（ES細胞）は受精卵より得られる無限の増殖能と生体のほぼすべての細胞に分化できる多能性（pluripotency）を有する細胞で、再生医療に応用できる可能性が大きいと期待されているが、ヒト胚を破壊するという倫理的な問題があり、また免疫学的な拒絶反応も避けられない。山中伸弥氏はまずマウスES細胞に特異的に発現している転写産物の研究から出発し、ES細胞の多能性を維持する因子が、いったん分化した細胞を再び多能性を有する状態に再プログラムする因子になりうるとの仮説を立てて研究を進めた。公開のデータベースからES細胞に特異的に発現している遺伝子群を選び、種々検討の結果、最終的に四個の因子（Oct3/4, Sox2, Klf4, c-Myc）をレトロウイルスベクターによってマウス皮膚線維芽細胞に導入することにより、ES細胞と同様の増殖能を有する細胞を誘導することに成功した。この細胞はES細胞と類似したコロニー形態を示し、遺伝子発現もよく似ていた。

この細胞を免疫不全マウスの皮下に注射したところ三胚葉系に分化した組織を持つ奇形腫を作ることができ、多能性が確認できたので induced pluripotent stem cell（iPS細胞）と命名した。この細胞をマウス胚に注入することによってキメラマウスを得ることに成功し、さらに交配により全身がiPS細胞よりなるマウスが得られた。こうした結果から、iPS細胞はES細胞と比べてほぼ同様の多能性を有することが確認された。

ついで山中氏は、レトロウイルスベクターを用いてヒト線維芽細胞にマウスと同じ四因子を導入することにより、ES細胞と同様の形態、遺伝子発現、増殖性、多能性を有する細胞を作ることになった。このiPS細胞は患者と同じ遺伝子を持つため免疫拒絶を回避しうることから、再生医療へ応用できる可能性が高まったが、なお問題点も残されている。その一つは、iPS細胞から腫瘍が形成される可能性である。

マウスiPS細胞を胚に注射して得られたキメラマウスでは、飼育観察下において、かなりの高頻度で腫瘍の形成が認められ、c-Myc遺伝子の活性化による可能性が考えられた。そこでc-Mycを除く三因子を用いて樹立方法を検討した結果、樹立効率は悪いがiPS細胞を得ることに成功した。この細胞は四因子の場合に比べて、腫瘍形成の頻度は低くなった。しかしレトロウイルスベクターが遺伝子に

組み込まれて腫瘍を作る可能性は依然として残されていた。そこで山中氏らは、c-Mycを除く三因子を搭載したプラスミドとc-Mycを搭載したプラスミドを作製し、これらを同時に導入することによって、iPS細胞を得ることに成功した。この場合には導入遺伝子のゲノムへの組み込みは、はるかに少なかった。

さらなる問題は、iPS細胞を樹立する効率の低さで、四因子を用いた場合でも1%未満である。そこで山中氏らはマウスおよびヒトiPS細胞の樹立に対する、p53の影響を観察した。その結果、iPS細胞の元となる体細胞のp53を低下させることにより、樹立効率を20%と大きく上げることに成功した。p53はがん抑制遺伝子であるが、細胞の再プログラミングの場合にも、抑制的に働いているものと考えられる。p53の発現や機能を一時的に抑えることにより、効率的なiPS細胞樹立法の開発が期待される。

腫瘍形成の問題点として、iPS細胞の場合にもES細胞と同様に奇形腫を形成する可能性が考えられる。山中氏らは岡野栄之博士らと共同研究を行い、体細胞の由来や樹立法の異なるiPS細胞から神経系前駆細胞を分化させ、これらを免疫不全マウスの脳内に移植した。その結果、マウス胎仔由来線維芽細胞や成体胃上皮細胞から作られたiPS細胞由来の神経系前駆細胞からは、腫瘍形成が見られなかった。またiPSを樹立する場合、c-Mycを使用した場合と使用し

なかった場合で、腫瘍形成に差は見られなかった。これらの知見は、安全性の高い細胞を選ぶ上で重要な方向性を示すものと考えられた。

いったん分化した細胞から多能性のある細胞に再プログラミングすることが可能であることは、カエルあるいはヒツジの体細胞核を脱核した未受精卵に移植することにより証明されていたが、そこにはきわめて複雑なプロセスがあるものと考えられてきた。山中氏らは、わずかに三ないし四種類の遺伝子を導入することによって再プログラミングに成功し、全世界を驚かせる画期的な業績をあげ、幹細胞研究に新しいページを開いた。この方法では、プログラムが進んだ、すなわち分化した様々な組織の細胞を再現性よく再プログラミングさせることが可能である。iPS細胞はその安全性が確認できれば多くの疾患を対象とした再生医療に応用できるものと期待される。またさまざまな疾患の患者から得られたiPS細胞を用いて、その疾患の成立機構を解明し、新しい治療法の開発に資するなど、無限の可能性を秘めた細胞である。また基礎的な面でも細胞の分化、あるいは再プログラミングの機構を解明する上で役立つものと考えられ、細胞ひいては生体の恒常性に深い洞察を与えるであろう。

主要な論文及び書籍目録

1. Kazuki, Y., Hiratsuka, M., Takiguchi, M., Osaki, M., Kajitani, N., Hoshino, H., Hiramatsu, K., Yoshino, T., Kazuki, K., Ishihara, C., Takehara, S., Higaki, K., Nakagawa, M., Takahashi, K., Yamataka, S., Oshimura, M. Complete genetic correction of iPS cells from duchenne muscular dystrophy. *Mol Ther* **18**: 386–393, 2010.
2. Takahashi, K., Nania, M., Yokura, M., Ichisaka, T., Yamataka, S. Human induced pluripotent stem cells on autologous feeders. *PLoS ONE* **4**: e8067, 2009.
3. Nagata, S., Toyoda, M., Yamaguchi, S., Hirano, K., Makino, H., Nishino, K., Miyegawa, Y., Okita, H., Kiyokawa, N., Nakagawa, M., Yamataka, S., Akutsu, H., Umezawa, A., Tada, T. Efficient reprogramming of human and mouse primary extra-embryonic cells to pluripotent stem cells. *Genes Cells* **14**: 1395–1404, 2009.
4. Nakamura, K., Salomonis, N., Tomoda, K., Yamataka, S., Conklin, B. R. G. Coupled GPCR signaling controls the formation and organization of human pluripotent colonies. *PLoS ONE* **4**: e7780, 2009.
5. Tanaka, Y., Ikeda, T., Kishi, Y., Masuda, S., Shihata, H., Takeuchi, K., Komura, M., Iwanaka, T., Muramatsu, S., Kondo, Y., Takahashi, K., Yamataka, S., Hamazono, Y. ERas is expressed in primate embryonic stem cells but not related to tumorigenesis. *Cell Transplant* **18**: 381–389, 2009.
6. Iwawaki, T., Akai, R., Yamataka, S., Kohno, K. Function of IRE1 alpha in the placenta is essential for placental development and embryonic viability. *Proc Natl Acad Sci USA* **106**: 16657–16662, 2009.
7. Nishimura, K., Nakagawa, T., Ono, K., Ogita, H., Sakamoto, T., Yamamoto, N., Okita, K., Yamataka, S., Ito, J. Transplantation of mouse induced pluripotent stem cells into the cochlea. *Neuroreport* **20**: 1250–1254, 2009.
8. Silva, J., Nichols, J., Theunissen, T. W., Guo, G., van Oosten, A. L., Barrandon, O., Wray, J., Yamataka, S., Chambers, I., Smith, A. Nanog is the gateway to the pluripotent ground state. *Cell* **138**: 722–737, 2009.
9. Yoshida, Y., Takahashi, K., Okita, K., Ichisaka, T., Yamataka, S. Hypoxia Enhances the Generation of Induced Pluripotent Stem Cells. *Cell Stem Cell* **5**: 237–241, 2009.
10. Hong, H., Takahashi, K., Ichisaka, T., Aoi, T., Kanagawa, O., Nakagawa, M., Okita, K., Yamataka, S. Suppression of induced pluripotent stem cell generation by the p53–p21 pathway. *Nature* **460**: 1132–1135, 2009.
11. Yokoo, N., Baba, S., Kaichi, S., Niwa, A., Mima, T., Doi, H., Yamataka, S., Nakahata, T., Heike, T. The effects of cardioactive drugs on cardiomyocytes derived from human induced pluripotent stem cells. *Biochem Biophys Res Commun* **387**: 482–488, 2009.
12. Miura, K., Okada, Y., Aoi, T., Okada, A., Takahashi, K., Okita, K., Nakagawa, M., Koyanagi, M., Tanabe, K., Ohnuki, M., Ogawa, D., Ikeda, E., Okano, H., Yamataka, S. Variation in the safety of induced pluripotent stem cell lines. *Nat Biotechnol* **27**: 743–745, 2009.
13. Niwa, A., Umeda, K., Chang, H., Saito, M., Okita, K., Takahashi, K., Nakagawa, M., Yamataka, S., Nakahata, T., Heike, T. Orderly hematopoietic development of induced pluripotent stem cells via Flk-1+ hemangiogenic progenitors. *J Cell Physiol* **221**: 367–377, 2009.
14. Tsubooka, N., Ichisaka, T., Okita, K., Takahashi, K., Nakagawa, M., Yamataka, S. Roles of Sall4 in the generation of pluripotent stem cells from blastocysts and fibroblasts. *Genes Cells* **14**: 683–694, 2009.
15. Okita, K., Nakagawa, M., Hong, H., Ichisaka, T., Yamataka, S. Generation of mouse induced pluripotent stem cells without viral vectors. *Science* **322**: 949–953, 2008.
16. Aoi, T., Yae, K., Nakagawa, M., Ichisaka, T., Okita, K., Takahashi, K., Chiba, T., Yamataka, S. Generation of pluripotent stem cells from adult mouse liver

- and stomach cells. *Science* **321**: 699–702, 2008.
17. Nakagawa, M., Koyanagi, M., Tanabe, K., Takahashi, K., Ichisaka, T., Aoi, T., Okita, K., Mochizuki, Y., Takizawa, N., Yamanaoka, S. Generation of induced pluripotent stem cells without Myc from mouse and human fibroblasts. *Nat Biotechnol* **26**: 101–106, 2008.
 18. Takahashi, K., Tanabe, K., Ohnuki, M., Nariwa, M., Ichisaka, T., Tomoda, K., Yamanaoka, S. Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. *Cell* **131**: 861–872, 2007.
 19. Okita, K., Ichisaka, T., Yamanaoka, S. Generation of germline-competent induced pluripotent stem cells. *Nature* **448**: 313–317, 2007.
 20. Takahashi, K., Yamanaoka, S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell* **126**: 663–676, 2006.
 21. Mitsui, K., Tokuzawa, Y., Itoh, H., Segawa, K., Murakami, M., Takahashi, K., Maruyama, M., Maeda, M., Yamanaoka, S. The homeoprotein Nanog is required for maintenance of pluripotency in mouse epiblast and ES cells. *Cell* **113**: 631–642, 2003.
 22. Takahashi, K., Mitsui, K., Yamanaoka, S. Role of ERas in promoting tumor-like properties in mouse embryonic stem cells. *Nature* **423**: 541–545, 2003.
 23. Yamanaoka, S., Zhang, X. Y., Maeda, M., Miura, K., Wang, S., Farese, R. V. Jr., Iwao, H., Imerarity, T. L. Essential role of NAT1/p97/DAP5 in embryonic differentiation and retinoic acid pathway. *EMBO J* **19**: 5533–5541, 2000.