

ダイレクト リプログラミング

— Direct Reprogramming —

再生医療の新展開

監修

鈴木 淳史

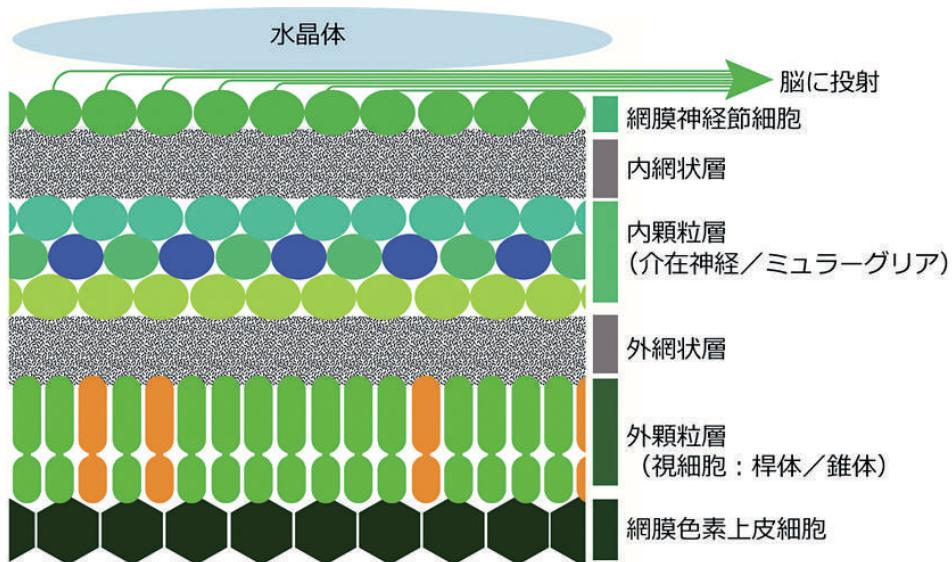


図 1 網膜の構造 (p.21)

網膜の神経細胞とミューラーグリアは細胞腫ごとに水平面を作って並び、間に軸索やシナプスで構成される網状層という部分が存在し、切片で観察すると3層の構造をなしている。外側には1層の細胞で構成される網膜色素上皮細胞が覆い包むように存在する。

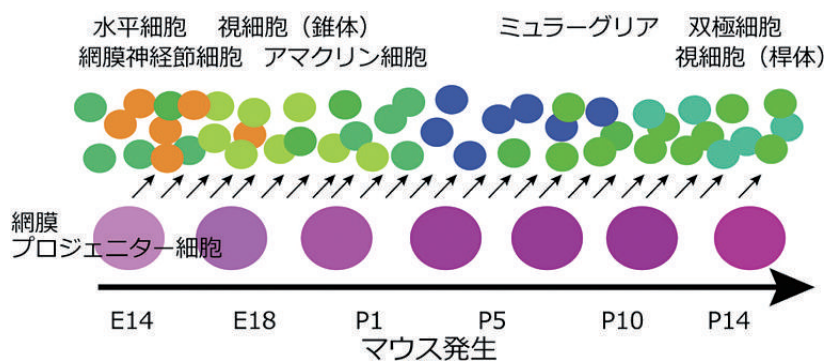


図 2 網膜を構成する細胞は発生の時間軸に従って順番に分化を遂げる (p.23)

すべての細胞が共通の網膜プロジェニター細胞から分化することが知られているが、この逐次的な分化にはプロジェニターに外からのシグナルが段階的に入ると同時に、プロジェニターそのものの性質も発生に従って変化していることが実験的に予測されている。

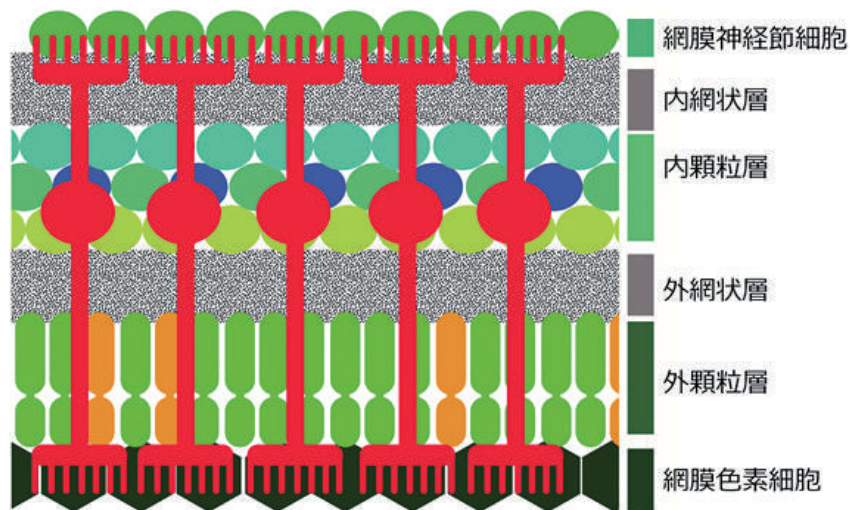


図3 網膜におけるミュラーグリア細胞 (p.24)

ミュラーグリア（赤で示している）は細胞体を内顆粒層に置き、水晶体側、色素細胞側の両側にプロセスを伸ばしている。プロセスは両端で枝分かれし、さまざまな細胞と接触すると同時に、ミュラーグリア同士で接着し、外境界膜、内境界膜と呼ばれる構造を形成している。

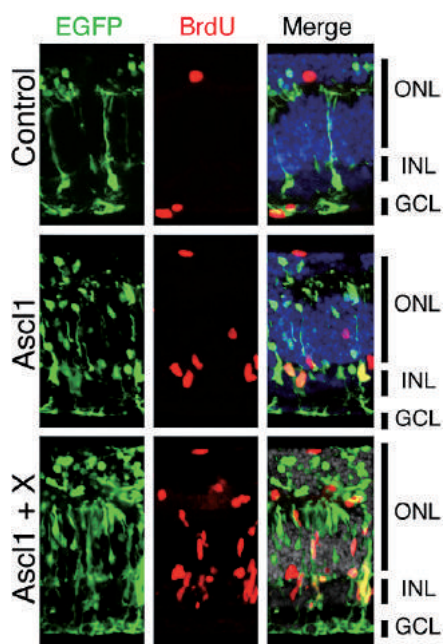


図4 マウス網膜におけるミュラーグリアの発現 (p.27)

マウス網膜に *in vivo* あるいは器官培養系を用いた *in vitro* の系を用いてさまざまな遺伝子をさまざまなタイミングで発現させ、その後のミュラーグリアの挙動を追跡した。図中に示すように、Ascl1 の過剰発現はミュラーグリアの増殖を誘導し、そこにさまざまな遺伝子を組み合わせて発現させると、増殖能の増強が観察される例があったが、神経への再分化は極めて効率が低かった。写真は網膜の凍結切片を免疫染色したもの。遺伝子導入をしてある細胞を GFP でラベルしてある。

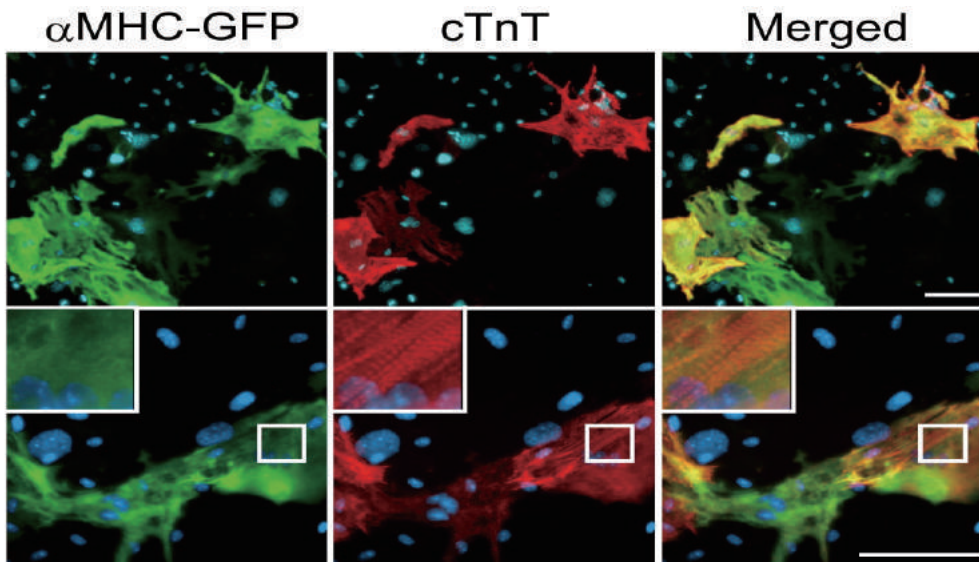


図2 Gata4/Mef2c/Tbx5により誘導されたマウス誘導心筋細胞 (p.41)

GMTにより誘導されたiCM細胞において心筋レポーター(αMHC-GFP)と心筋特異的タンパク質(cTnT)の発現と横紋構造が確認された。スケールバーは100μmを示す。

Direct Reprogramming of Fibroblasts into Functional Cardiomyocytes by Defined Factors. *Cell*, **142**(3), 375–386, doi:10.1016/j.cell.2010.07.002 (2010)より引用。[本文文献4)]

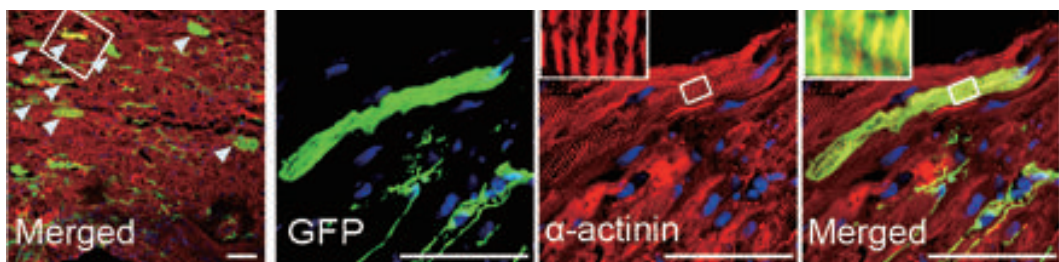


図4 センダイウイルスベクターによる生体内心筋リプログラミングの発展 (p.47)

左端図 センダイウイルスベクターにより誘導された心筋梗塞部のiCM細胞(黄色: 矢頭)。

右3つの図 マウス心臓内で誘導されたiCM細胞を示す。成熟心筋の特徴である横紋構造を認め、遺伝子を導入した細胞から成熟した心筋が誘導されていることを確認した。スケールバーは100μmを示す。

K. Miyamoto et al.: Direct In Vivo Reprogramming with Sendai Virus Vectors Improves Cardiac Function after Myocardial Infarction. *Cell stem cell*, **22**(1), 91–103 e5 (2018)より引用 [本文文献29)]

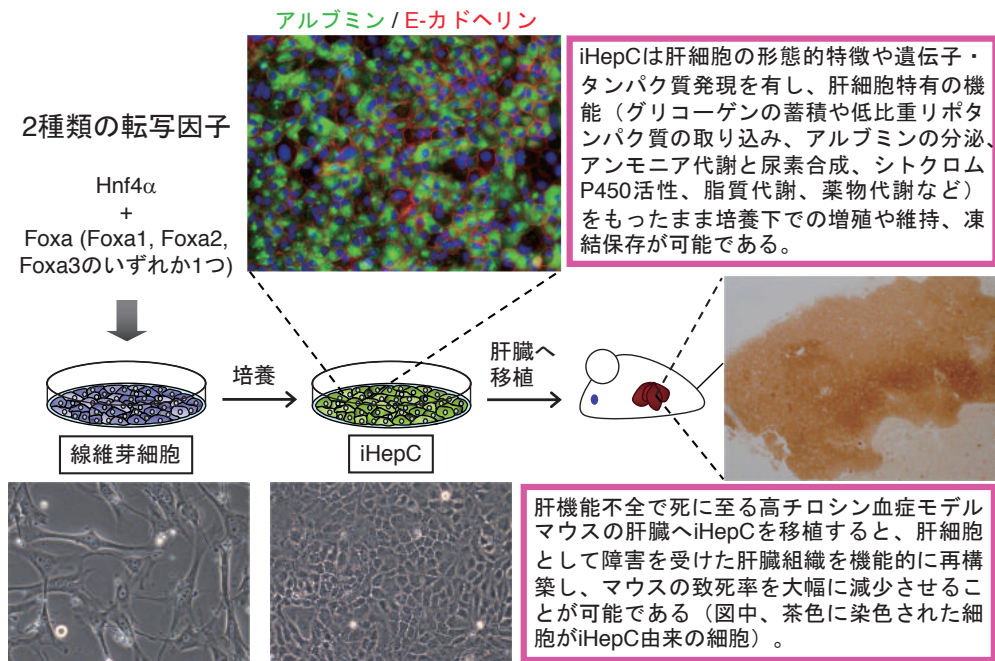


図1 線維芽細胞からiHepCへのダイレクトリプログラミング (p.79)

マウスの皮膚から抽出した線維芽細胞にHnf4αとFoxa (Foxa1, Foxa2, Foxa3のいずれか1つ) という肝細胞分化に関連した2種類の転写因子を導入し、iHepCへと誘導する。作製したiHepCは肝細胞の形態的特徴や遺伝子・タンパク質発現を有し、肝細胞特有の機能を持ったまま培養下での増殖や維持、凍結保存が可能である。また、肝機能不全で死に至る高チロシン血症モデルマウスの肝臓へiHepCを移植すると、肝細胞として障害を受けた肝臓組織を機能的に再構築し、マウスの致死率を大幅に減少させることができる。

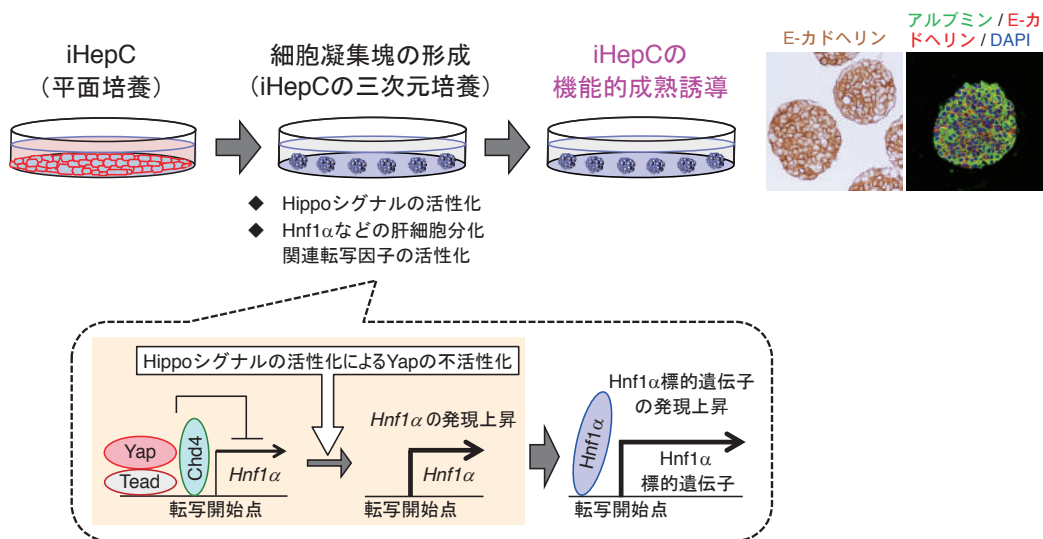


図2 マウス iHepC の機能的成熟誘導とそのメカニズム (p.80)

平面培養下のマウス iHepC を単一細胞化し、それらを三次元浮遊培養することで、iHepC の凝集塊形成が誘導される。iHepC は凝集塊形成後も E-カドヘリンやアルブミンを発現し続けるが、細胞増殖は速やかに停止し、未分化肝細胞マーカーの発現減少と肝機能マーカー遺伝子の発現上昇が誘導され、肝細胞として機能的に成熟する。凝集塊形成後の iHepC では、細胞の形態変化や細胞間接着の増強により、平面培養下で不活性化されていた Hippo シグナルが活性化する。そして、その結果として Yap の不活性化が生じ、Yap/Tead の標的遺伝子である Hnf1 α などの遺伝子発現が活性化され、それに応じて Hnf1 α を筆頭とする転写因子による肝細胞分化関連遺伝子の発現が誘導される。

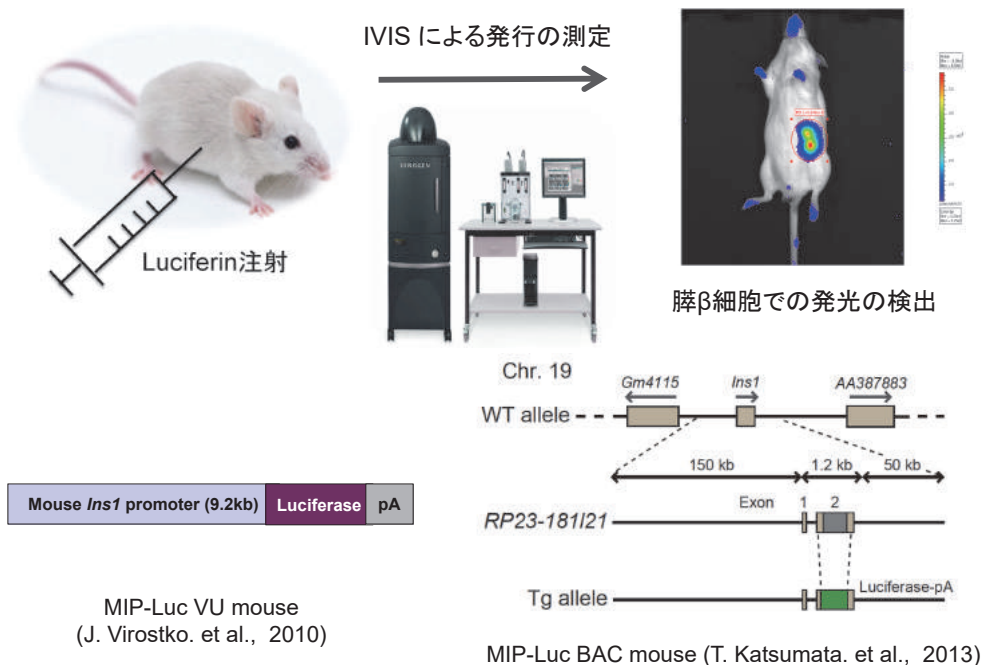


図1 ホタルルシフェラーゼ遺伝子導入によりインスリンの転写を *in vivo* で確認できるトランスジェニックマウス (p.86)

(上図) ルシフェラーゼ (Luciferase) の基質であるルシフェリン (Luciferin) を注射することで発光が起こり、発光部位を IVIS によりマウスを生存状態のまま計測できる。

(下図左) MIP-Luc VU マウスの導入遺伝子構造。マウスインスリンI 遺伝子の 9.2 kb の発現制御領域を有している。

(下図右) MIP-Luc BAC マウスの導入遺伝子構造。マウスインスリンI 遺伝子の上流 150 kb, 下流 50 kb の発現制御領域を有している。

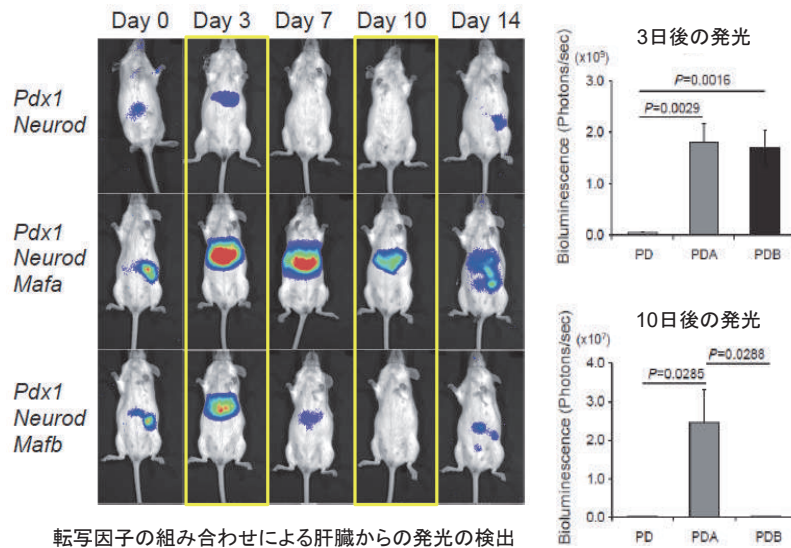
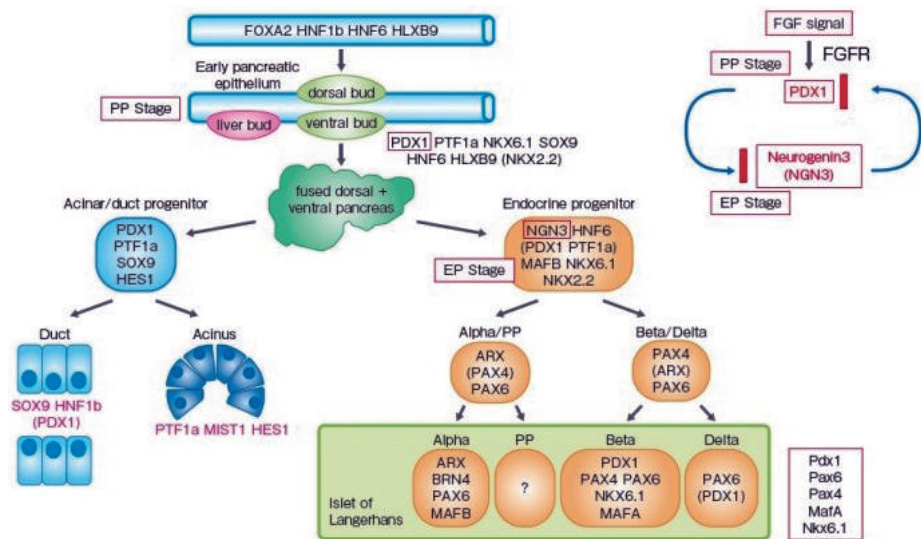


図2 肝臓からのインスリンの転写を誘導する因子の同定 (p.88)

(左) アデノウイルスにより転写因子をマウスの肝臓に導入し、肝臓からのインスリンの転写誘導の強い組み合わせのスクリーニングを行った。その結果、*Pdx1*, *Neurod*, *Mafa* の組み合わせが一番強いことが明らかとなった。

(右) ウイルス導入後、3日目および10日目のルシフェラーゼ活性。PD: *Pdx1*, *Neurod*, PDA: *Pdx1*, *Neurod*, *Mafa*, PDB: *Pdx1*, *Neurod*, *Mafb*。10日目ではPDAだけがルシフェラーゼ活性を維持していた。



(Mfopou JK, et al. Diabetes. 2010 ; 59 : 2094-101.)

図1 膵内分泌細胞の発生と分化⁵⁾⁶⁾ (p.95)

膵発生はマスター転写因子 *Pdx1* の発現が腸管から膵芽形成に必須である。この膵芽形成過程には FGF シグナルが重要で *Pdx1* を誘導する。その後、転写因子 *Neurogenin3* (*Ngn3*) を一過性に発現する膵内分泌前駆細胞が膵管に沿って出現する。ユニークな点は *Pdx1* と *Ngn3* は相互排他的な関係で *Ngn3* 発現の上昇に伴い *Pdx1* 発現は低下する。その後、膵 β 細胞の分化に従い *Ngn3* 発現が低下するのに対して *Pdx1* 発現が上昇する。膵 β 細胞の成熟過程についてはまだ不明な点が多い。

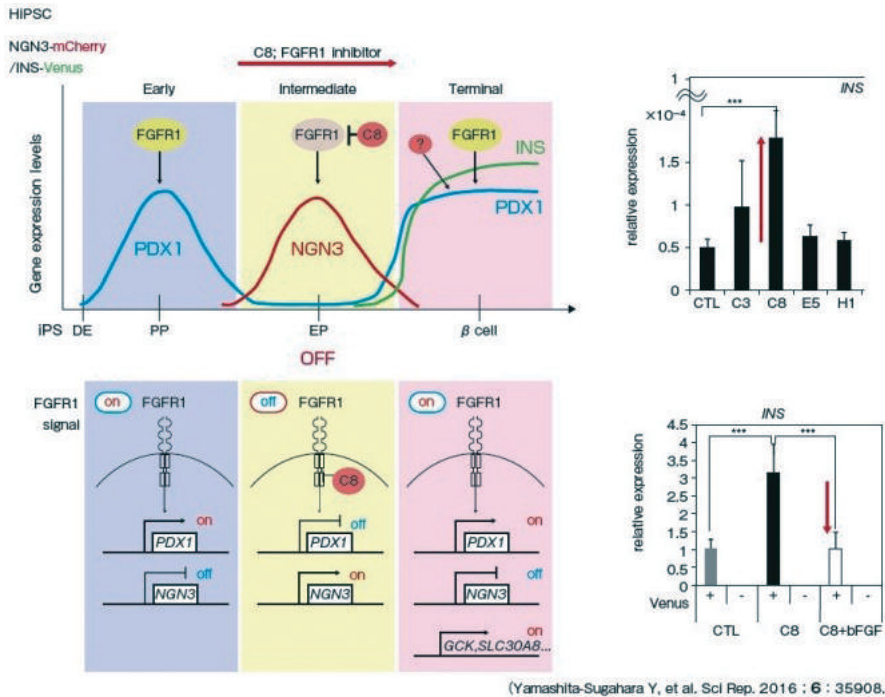
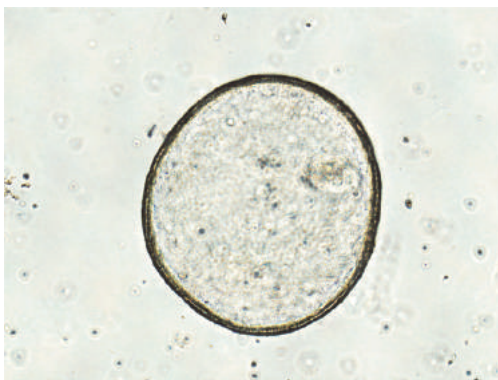
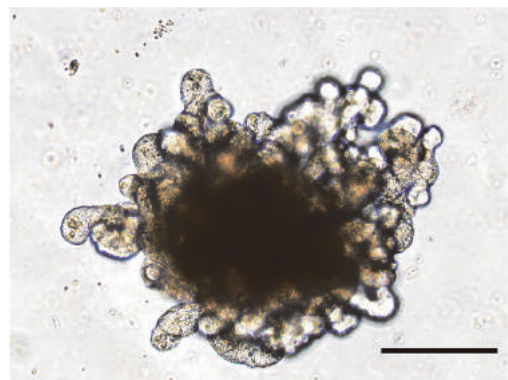


図2 ヒトiPS細胞におけるFGFR1を介する膵内分泌細胞分化の経時的スイッチモデル (Yamashita-Sugahara ら Diabetes 2016, Islet Equality 2017)⁵⁾⁶⁾ (p.97)

腸管からの膵芽形成においてFGF受容体(FGFR)1が活性化されると、下流でPdx1発現が上昇し膵前駆細胞となる。Pdx1欠損マウスが膵形成不全になることからPdx1はマスター転写因子である。膵芽形成後、膵管形成が誘発され、膵管周辺よりNgn3陽性の膵内分泌前駆細胞が出現する。このときPdx1の発現は低下し、特異的阻害剤C8処理によってFGFR1シグナルを抑制することが、Ngn3発現をより上昇させ、正常な膵内分泌細胞の分化を促進させることが明らかとなった。Ngn3発現の低下に伴い、Pdx1発現が再び上昇し、続いて膵β細胞の成熟過程へと進む。このようにFGFR1シグナルの厳密な制御が効率の良い膵内分泌細胞の分化に重要であることが示された。



(a)マウス胎仔由来線維芽細胞から作製されたSO



(b)マウス胎仔由来線維芽細胞から作製されたBO

図1 マウス胎仔由来線維芽細胞から作製した球状のオルガノイド(SO)とcrypt-villus構造を有する成体型オルガノイド(BO) (p.107)



図1 角膜上皮幹細胞疲弊症 (p.119)

角膜上皮幹細胞が消失するため角膜潰瘍が修復せず、角膜混濁を引き起こし著明な視力低下を引き起こす。

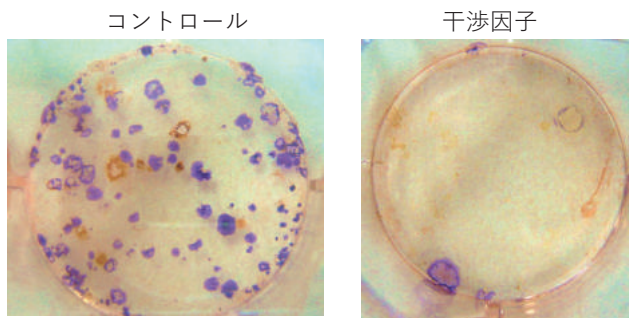


図3 iPS 干渉法プロトコル (p.121)

干渉因子ではコントロールと比べて著明に iPS 化が抑制される。

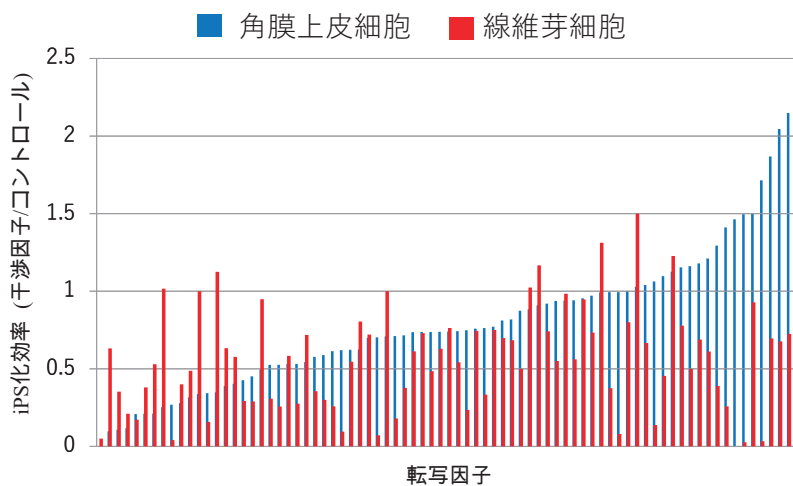


図4 角膜上皮細胞と皮膚繊維芽細胞の iPS 干渉法 (p.121)

角膜上皮細胞で強く iPS 化を阻害する因子、必ずしも皮膚繊維芽細胞の iPS 化を阻害する因子と一致しない。

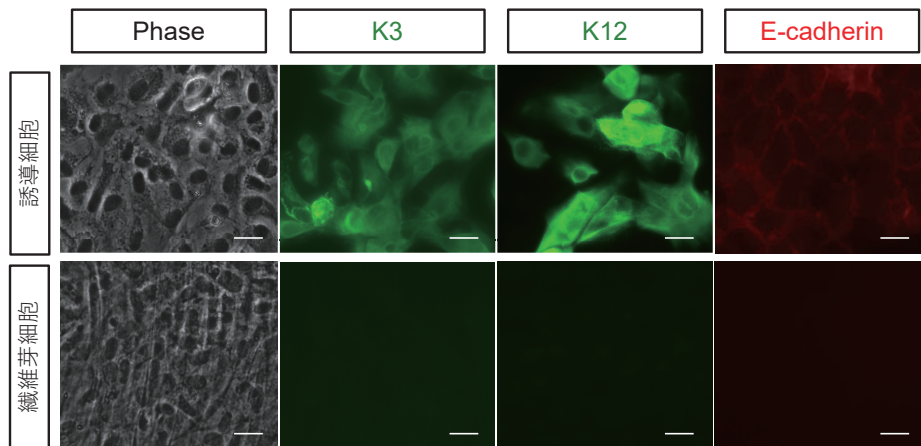


図6 皮膚線維芽細胞から角膜上皮細胞へのダイレクトリプログラミング (p.122)
誘導細胞は角膜上皮細胞特異的タンパクを発現した。スケールバー：20 μm 。

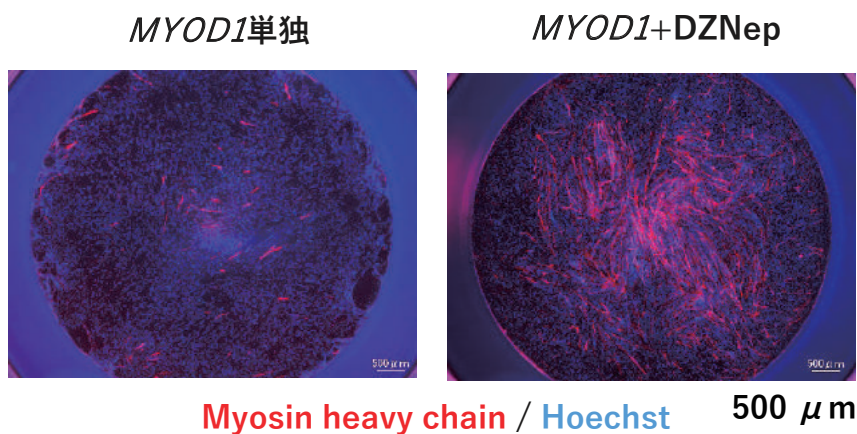


図3 DZNepによるヒトUDCの効率的な筋管分化誘導 (p.133)
ヒストンメチルトランスフェラーゼ阻害剤である3-デアザネブラノシンA塩酸塩 (DZNep)により高分化型の筋管への誘導効率が向上した(分化誘導14日後)

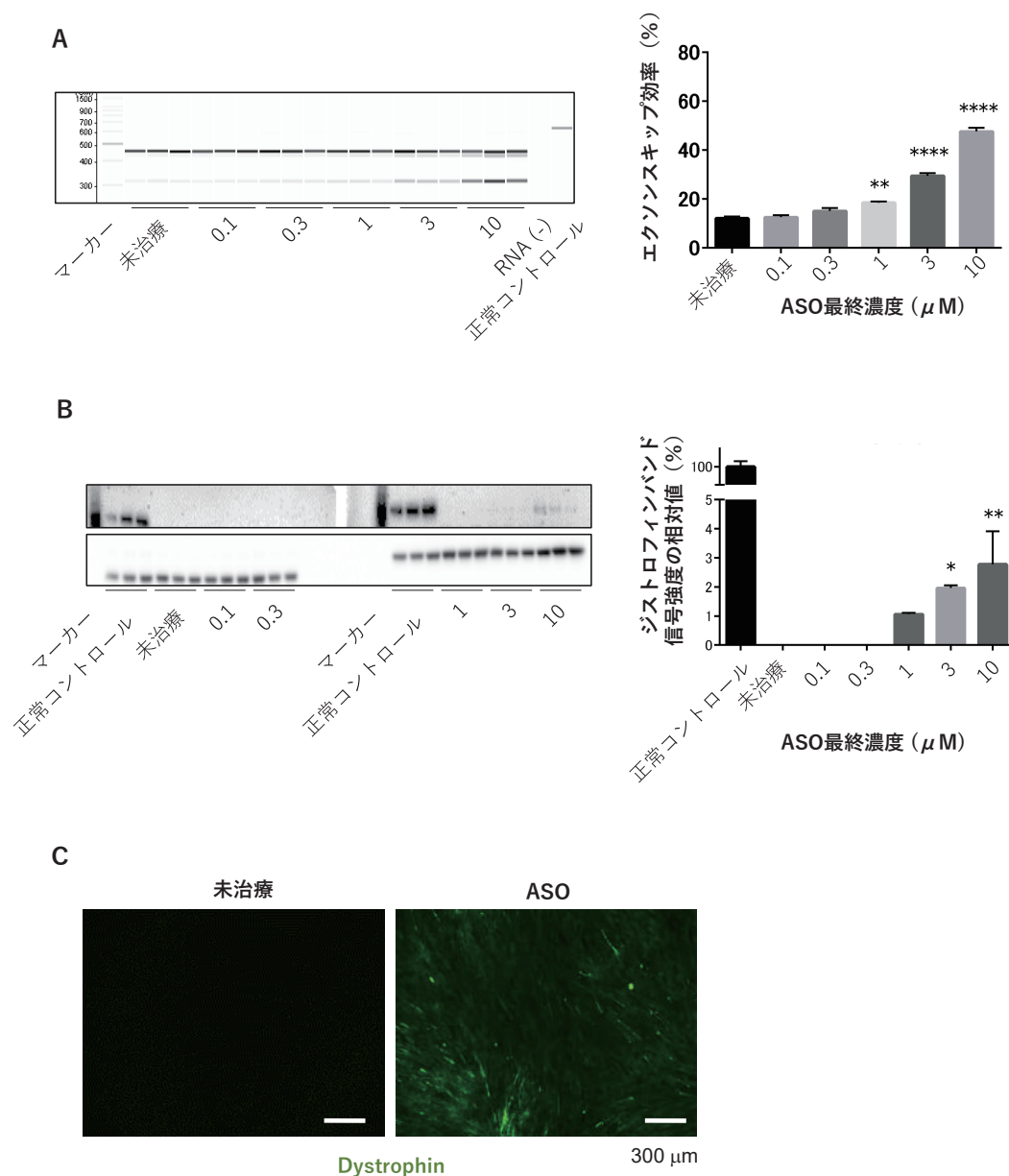


図4 *MYOD1* 変換ヒト尿中細胞のエクソンスキップ評価 (p.136)

A: ジストロフィン mRNA の RT-PCR によるスキップ効率評価

B: ウェスタンブロットによるジストロフィンタンパク質シグナルの半定量化

C: 免疫細胞染色によるエクソンスキッピング後のジストロフィン検出

N=3, 平均±SEM, * $p<0.05$, ** $p<0.01$, *** $p<0.001$, **** $p<0.0001$, One-way ANOVA followed by Dunn's post hoc test

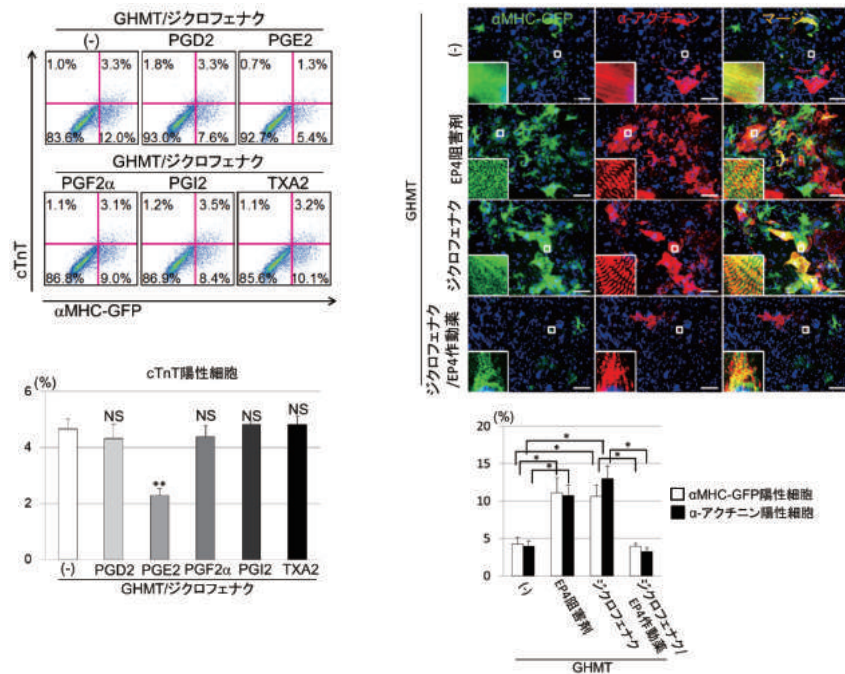


図4 PGE2/EP4経路を介したリプログラミングの制御 (p.143)

(左) PEG2による心筋リプログラミングの抑制

(右) ジクロフェナク、EP4阻害剤による心筋タンパクの発現亢進とEP4作動薬による抑制 (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ vs. GHMT/ジクロフェナク (左), スケールバー: 100 μ m (右))

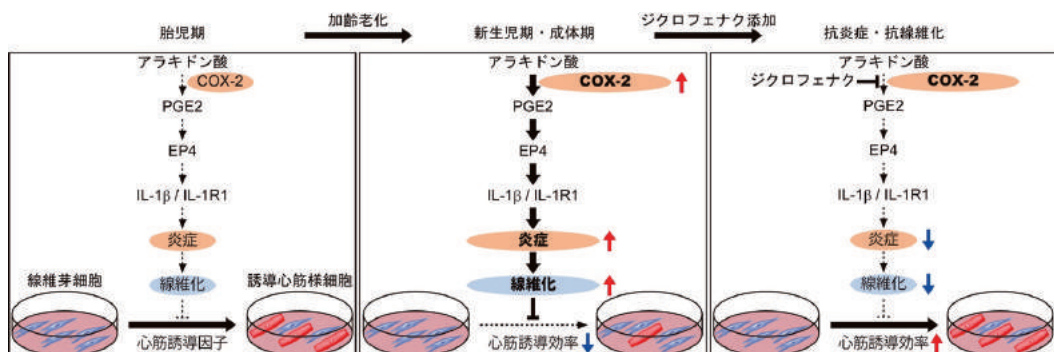


図8 ジクロフェナクによる心筋リプログラミング促進とそのメカニズム (p.146)

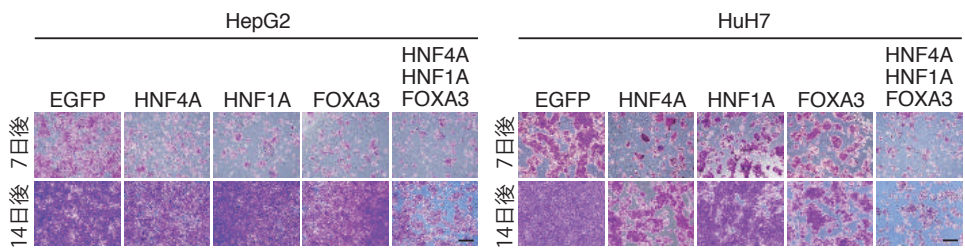


図3 転写因子セットの強制発現による HCC 細胞株の増殖抑制の検証 (文献 16)を引用改変) (p.152)

スケールバー：100 μ m

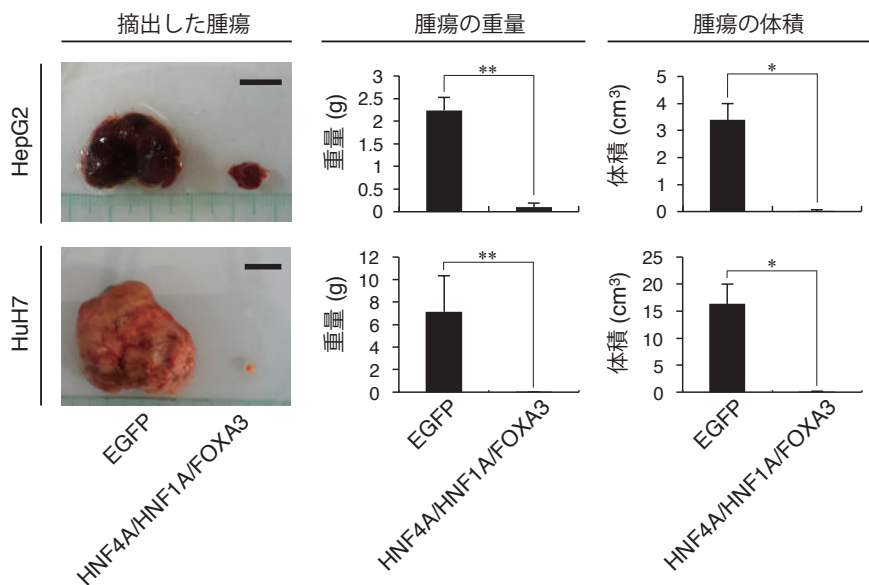


図4 転写因子セットを強制発現した HCC 細胞株の腫瘍形成能の検証 (文献 16)を引用改変) (p.153)

写真のスケールバーは 1 cm。エラーバーは標準偏差 (n=3)。* p <0.05, ** p <0.01

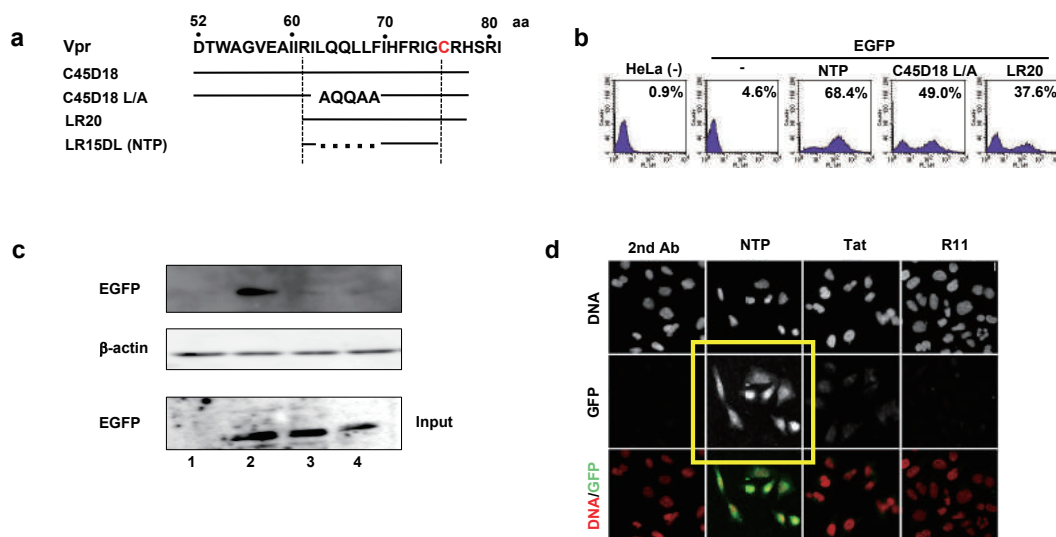


図 1 CPP 付加タンパク質の細胞内輸送能力 (p.184)

(a) 本研究で用いた Vpr 由来ペプチド配列。Vpr のアミノ酸 52-81 番の配列, C45D18 : Vpr のアミノ酸 52-78 番目の配列, C45D18 L/A : C45D18 の L を A に置換した配列。LR20 : aa 62-81, LR15DL : aa 62-76 の LQQLL を欠損した配列。(b) Vpr 由来ペプチドの細胞内輸送能力。HeLa 細胞へタンパク質を 250 nM で添加し 24 時間後にフローサイトメトリーにて解析した。(c) 取り込まれた CPP-EGFP の検出。HeLa 細胞を CPP-EGFP で処理しウェスタンブロットで解析 (上段)。内在性コントロール (中段)。インプット EGFP (下段)。(d) CPP-EGFP タンパク質の免疫染色像。HeLa 細胞を 5 μM の CPP-EGFP で処理し 12 時間後に解析。上段 : 核染色。中段 : EGFP 抗体で染色。下段 : マージ像。スケールバー : 10 μm。

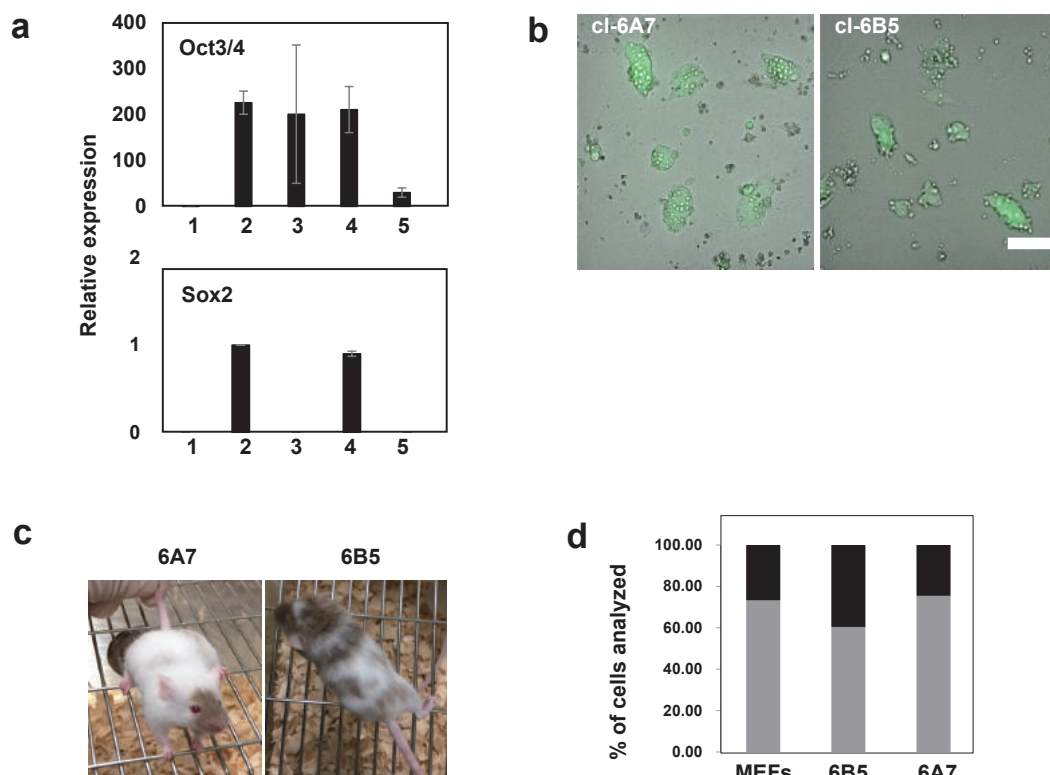


図2 NTP人工転写因子タンパク質によるマウス iPSC の樹立 (p.187)

(a) miR302/367 人工転写因子タンパク質の至適濃度検討。NTP-TALE を Nanog-GFP-MEF へ添加した後に内在性 Oct3/4, Sox2 の相対的発現量を qRT-PCR により解析。1. 未処理細胞, 2. ウイルスベクターで樹立した iPSC, 3-5. 0.1 nM, 0.25 nM, 1 nM でそれぞれ添加。(b) 樹立した Nanog-EGFP 陽性の NTP-iPSC クローン。(c) NTP-iPSC クローン 6A7 と 6B5 から得られたキメラマウス。6A7 のキメリズムは 10%, 6A7 は 40%。(d) 6A7 と 6A5 の核型解析。灰色：正常染色体の割合。黒色：染色体異常を認めた細胞の割合。

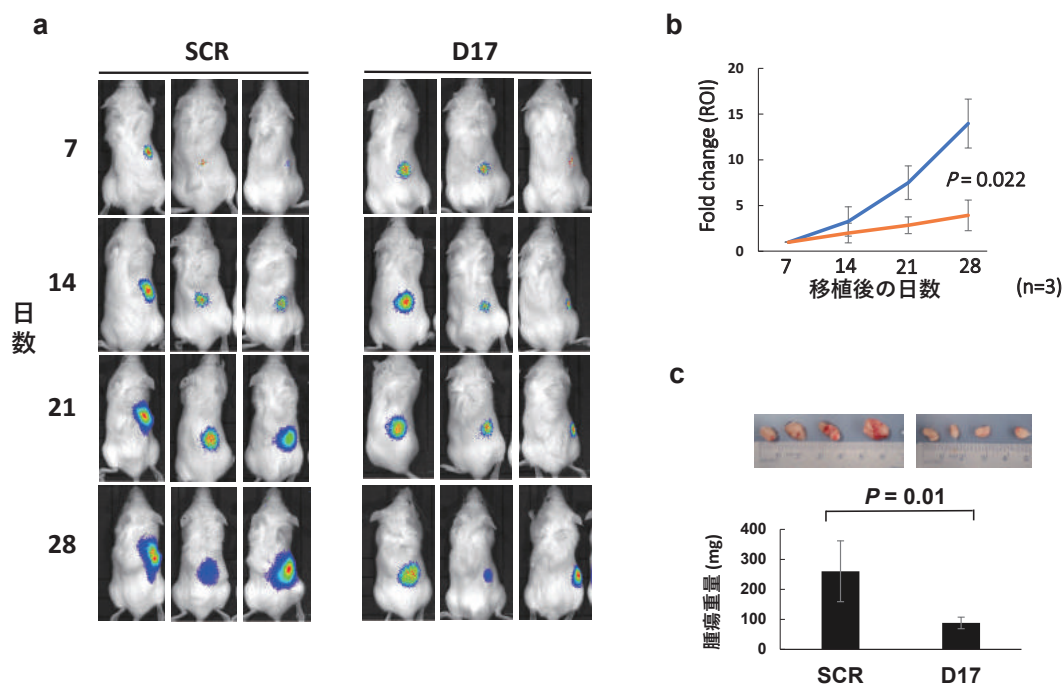


図3 PD-1 抑制 GM タンパク質作用細胞の抗腫瘍効果 (p.190)

(a) GM タンパク質で処理したNK細胞を移植したマウスにおける腫瘍増殖。ルシフェリンを投与し、マウス体内腫瘍のルシフェラーゼの発光シグナルをIVISイメージングシステムにより測定。(b) (a)で得られた測定値をグラフ化。ROI (region of interest)。(c) 28日後にマウスから摘出した腫瘍サイズの比較。左はSCR (スクランブル, 対照タンパク質) タンパク質処理細胞を移植したマウスから摘出した腫瘍。右はD17 タンパク質処理細胞を移植したマウスから摘出した腫瘍。グラフは重量の比較を示す。

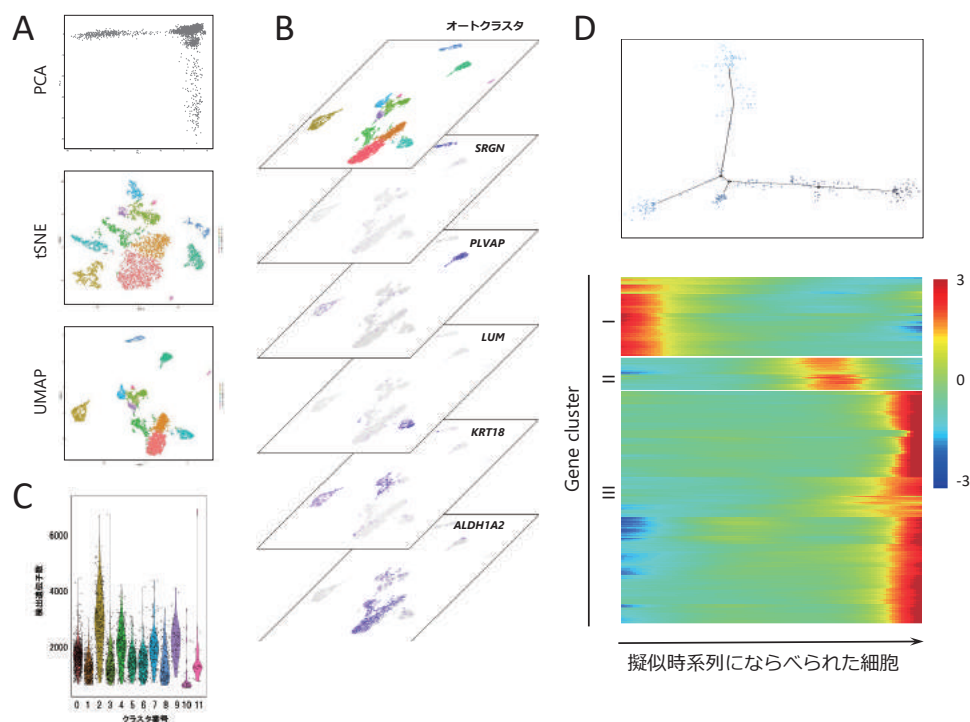


図3 iPS細胞より作製した腎臓系譜の細胞でシングルセル遺伝子発現解析を行った実例（文献27）のデータを再解析）（p.207）

(A)同じ scRNA-seq のデータを用いて、3 種類の次元圧縮法によりデータを可視化した結果。PCA では第一主成分と第二主成分で排他的にサンプルが分散して表示された。tSNE も UMAP も細胞がクラスターを形成しているが、UMAP ではクラスター間で発現プロファイルが近い細胞集団が近接して表示されている。(B) UMAP で表示された細胞分類とマーカー遺伝子の発現。細胞種マーカーの発現が細胞クラスター間で異なっている。(C)発現している遺伝子数によるクオリティ評価。クラスター10 では検出される遺伝子の数が非常に少ないことから、データクオリティが低い細胞がクラスターを形成していたことが推察される。(D)擬似時系列解析。上は、Monocle2 によって細胞の状態変化の軌跡を描いた結果であるが、複数の方向に分化していることが観察されている。下は、この時系列に沿って発現変動する遺伝子の相対発現値を表している。分化に従って発現が低下（Ⅰ）、あるいは上昇（Ⅲ）している遺伝子に加えて、一過的に発現上昇している遺伝子群（Ⅱ）が観察された。

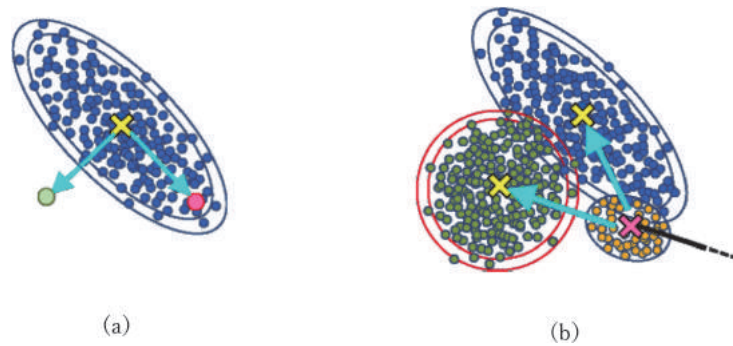


図2 Mahalanobis 距離 (p.233)

(a) Euclid 距離の等しい2点, 重心から近い点は赤の点, (b)初期 lineage の構成, クラスタ重心間の距離を Mahalanobis 距離で測り「近い方」とつなぐ。

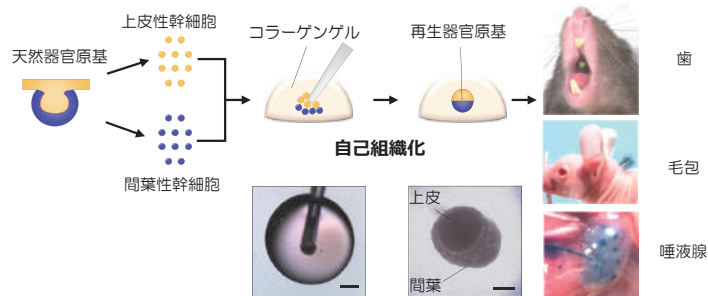


図2 器官原基法の模式図および機能的器官再生 (p.249)

再生唾液腺は口腔へ唾液を分泌するための導管と正しく接続されているかを確認するため, 色素を注入している。Scale bar : 1 mm (左図), 200 μ m (右図)。

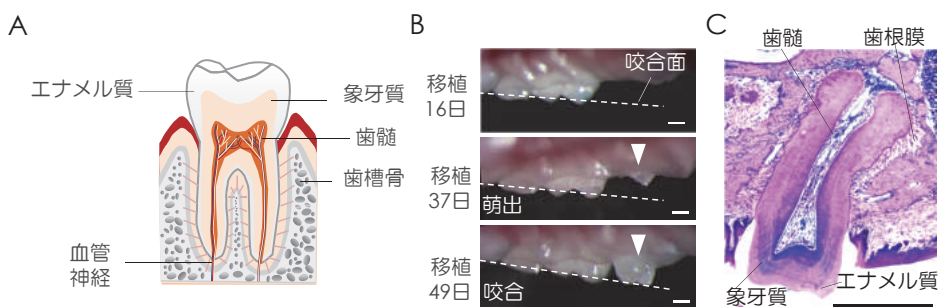


図3 器官原基法による機能的な歯の再生 (p.250)

(A)歯および歯周組織の構造。(B)臼歯の喪失部位へ移植した再生歯胚の経過観察。矢頭, 再生歯。Scale bars : 1 mm。(C)再生歯の HE 染色像。Scale bar : 1 mm。

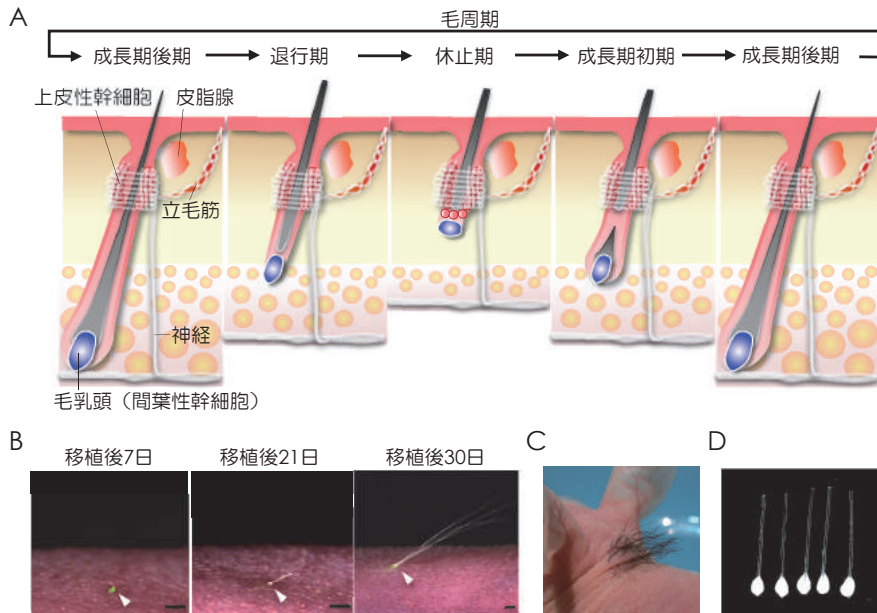


図4 器官原基法による機能的な毛包再生 (p.251)

(A)毛包の構造および毛周期の模式図。(B)ヌードマウス背部皮膚に移植した再生毛包原基の経過観察。矢頭、再生毛。Scale bar: 1 mm。(C)幹細胞数と移植再生毛包原基数の調節による頭髮密度の再現。(D)新たな製造方法によるヒト再生毛包器官原基。

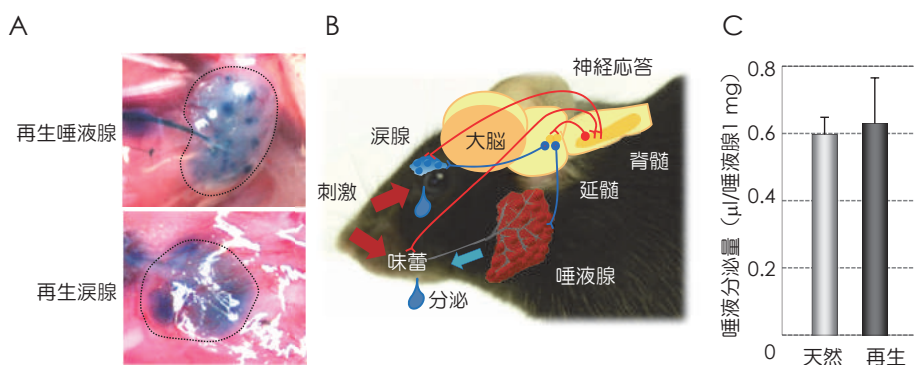


図5 器官原基法による機能的な分泌腺再生 (p.252)

(A)同所性移植により成熟した再生唾液腺および再生涙腺の実体顕微鏡像(破線内)。導管と正しく接続されているかを確認するため色素を注入している。(B)唾液腺および涙腺の神経接続と回路図。(C)クエン酸刺激による単位唾液腺重量当たりの唾液分泌量。

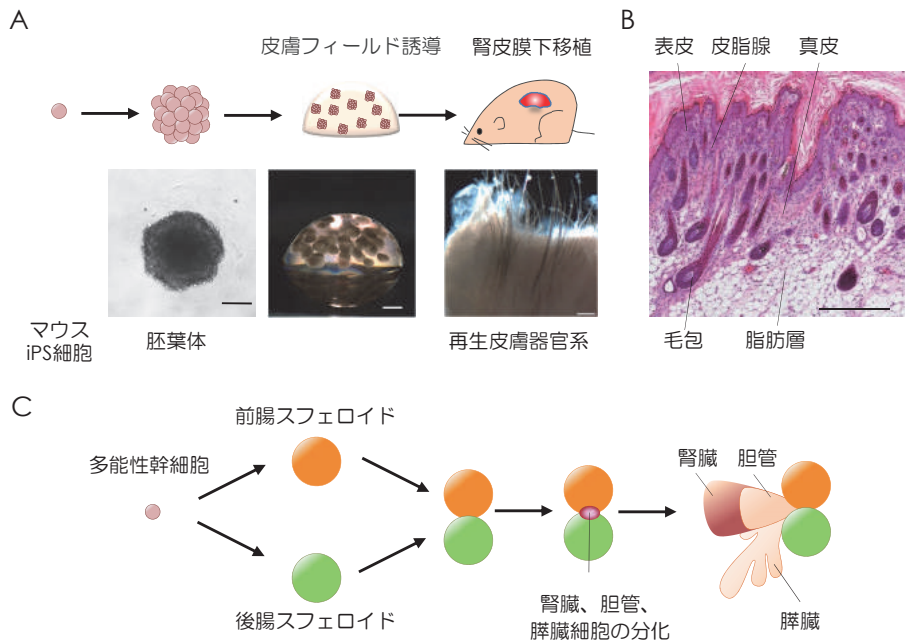


図8 多能性幹細胞による器官系の再生 (p.256)

(A)マウス iPS 細胞からの皮膚器官系再生方法。Scale bar : 200 μ m (左図) ; 1 mm (中図, 右図)。
(B)再生皮膚器官系の HE 染色像。Scale bar : 500 μ m。(C)消化器系オルガノイド誘導の模式図。

監修者・執筆者一覧

【監修者】

鈴木 淳史 九州大学生体防御医学研究所 教授

【執筆者】(執筆順)

鈴木 淳史 九州大学生体防御医学研究所 教授

松田 花菜江 九州大学大学院医学研究院基盤幹細胞分野 学術研究員

松田 泰斗 九州大学大学院医学研究院 助教

中島 欽一 九州大学大学院医学研究院 教授

渡邊 すみ子 東京大学医科学研究所医学系研究科 特任教授

赤木 祐香 国立研究開発法人産業技術総合研究所生命工学領域細胞分子工学研究部門
ステムセルバイオテクノロジー研究グループ 研究員

高山 祐三 国立研究開発法人産業技術総合研究所生命工学領域細胞分子工学研究部門
ステムセルバイオテクノロジー研究グループ 主任研究員

木田 泰之 国立研究開発法人産業技術総合研究所生命工学領域細胞分子工学研究部門
ステムセルバイオテクノロジー研究グループ 研究グループ長

村方 好子 筑波大学大学院人間総合科学研究科

貞廣 威太郎 筑波大学医学医療系 講師

家田 真樹 筑波大学医学医療系 教授

川村 晃久 立命館大学生命科学部 教授

中尾 周 立命館大学生命科学部 助教

佐藤 貴彦 藤田医科大学医学部 講師

石井 誠 慶應義塾大学医学部 准教授

小川 卓範 慶應義塾大学医学部 助教

高橋 智 筑波大学医学医療系 教授

松本 征仁 東京医科歯科大学生体材料工学研究所生体材料機能医学分野 准教授／順天堂大学 客員准教授

三浦 静 九州大学生体防御医学研究所 特任助教

山下 徹 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 講師

阿部 康二 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 教授

北澤 耕司	京都府立医科大学視覚機能再生外科学 助教
佐藤 充人	国立研究開発法人国立精神・神経医療研究センター神経研究所 遺伝子疾患治療研究部 リサーチフェロー
青木 吉嗣	国立研究開発法人国立精神・神経医療研究センター神経研究所 遺伝子疾患治療研究部 部長
村岡 直人	ワシントン大学医学部病理学 博士研究員/日本学術振興会 海外特別研究員
堀澤 健一	九州大学生体防御医学研究所 助教
武田 行正	京都府立医科大学大学院医学研究科 助教
戴 平	京都府立医科大学大学院医学研究科 研究教授
中西 真人	ときわバイオ株式会社つくば研究所 取締役 (CTO)/つくば研究所長
高品 智記	国立研究開発法人国立国際医療研究センター研究所難治性疾患研究部 上級研究員
石坂 幸人	国立研究開発法人国立国際医療研究センター研究所難治性疾患研究部 部長/研究所 副所長
堀居 拓郎	群馬大学生体調節研究所 准教授
森田 純代	群馬大学生体調節研究所 助教
畑田 出穂	群馬大学生体調節研究所 教授
坂本 智子	京都大学大学院医学研究科 特定研究員
渡辺 亮	京都大学大学院医学研究科 特定准教授
富松 航佑	九州大学生体防御医学研究所 特任助教
大川 恭行	九州大学生体防御医学研究所 教授
鈴木 治和	国立研究開発法人理化学研究所生命医科学研究センター チームリーダー
鈴木 貴紘	国立研究開発法人理化学研究所生命医科学研究センター 上級研究員
中野 令	国立研究開発法人理化学研究所生命医科学研究センター 基礎科学特別研究員
Jing-Ru Li	国立研究開発法人理化学研究所生命医科学研究センター 研究員
渡邊 和秀	国立研究開発法人理化学研究所生命医科学研究センター 上級研究員
川崎 秀二	岩手大学理工学部 准教授
富永 陽子	岩手大学教育推進機構 准教授
中戸 隆一郎	東京大学定量生命科学研究所 専任講師
林 寛敦	東京大学定量生命科学研究所 特任助教
江口 凌平	九州工業大学大学院情報工学研究院学際情報工学専攻

濱野 桃子	九州工業大学大学院情報工学研究院生命化学情報工学研究系 研究職員
岩田 通夫	九州工業大学大学院情報工学研究院生命化学情報工学研究系 研究職員
中村 透	九州工業大学大学院情報工学研究院学際情報工学専攻
沖 真弥	京都大学大学院医学研究科 特定准教授
山西 芳裕	九州工業大学大学院情報工学研究院生命化学情報工学研究系 教授
武尾 真	国立研究開発法人理化学研究所生命機能科学研究センター 上級研究員
池田 悦子	国立研究開発法人理化学研究所生命機能科学研究センター 客員研究員／奈良県立医科大学口腔外科学講座 非常勤講師
仲川 雅人	国立研究開発法人理化学研究所生命機能科学研究センター 研修生／奈良県立医科大学口腔外科学講座
大島 正充	徳島大学大学院医歯薬学研究部顎機能咬合再建学分野 准教授／国立研究開発法人理化学研究所生命機能科学研究センター 客員研究員
小川 美帆	株式会社オーガンテクノロジーズ研究開発部 研究員／国立研究開発法人理化学研究所生命機能科学研究センター 客員研究員
桐田 忠昭	奈良県立医科大学口腔外科学講座 教授
辻 孝	国立研究開発法人理化学研究所生命機能科学研究センター チームリーダー
宮坂 恒太	東北大学加齢医学研究所神経機能情報研究分野 助教

目 次

序 論 ダイレクトリプログラミング研究の現状と未来展望

(鈴木 淳史)

1. はじめに	3
2. ダイレクトリプログラミングとマスター因子	3
3. 医療応用に向けたダイレクトリプログラミング研究の展望と課題	4
4. ダイレクトリプログラミングの分子機構	6
5. おわりに	8

第 1 編 細胞運命制御因子を用いた ダイレクトリプログラミングの技術開発

第 1 章 ダイレクトリプログラミングによるミクログリアから 神経細胞への運命転換

(松田 花葉江, 松田 泰斗, 中島 欽一)

1. はじめに	11
2. ダイレクトリプログラミング法を用いた <i>in vitro</i> での人為的ニューロン新生	11
3. 中枢神経系に存在する非ニューロン細胞からの人為的ニューロン新生	13
4. ダイレクトリプログラミングによるミクログリアからの人為的ニューロン新生	14
5. 成体脳ミクログリアからの人為的ニューロン新生	17
6. <i>in vivo</i> ダイレクトリプログラミングのための遺伝子導入方法	19
7. おわりに	19

第 2 章 ダイレクトリプログラミングによる網膜神経細胞の作製

(渡邊 すみ子)

1. はじめに	21
2. イモリにおける目の再生と虹彩	22
3. 網膜幹細胞	22
4. 網膜プロジェニター細胞	23
5. ミュラーグリア細胞	24
6. ミュラーグリアの再生	24
7. ゼブラフィッシュの網膜再生とその分子機構	25
8. マウス網膜でもミュラーグリアからの再生が起こるのか?	26
9. 傷害を背景とせずにミュラーグリアのリプログラミングを起こさせる試み	27

10. 最近の新しい論文についての記述	28
11. 今後の期待と展開	28

第3章 ダイレクトリプログラミングによる神経堤細胞の作製

(赤木 祐香, 高山 祐三, 木田 泰之)

1. はじめに	31
2. 発生と分類, 疾患との関連	31
3. 多能性幹細胞からの誘導法	32
4. ダイレクトリプログラミングによる誘導法	33
5. マウス神経堤細胞の作製	34
6. ヒト神経堤細胞の作製	36
7. 神経堤細胞へのダイレクトリプログラミングの課題	36
8. 神経堤細胞の応用に向けて	37

第4章 ダイレクトリプログラミングによる心筋再生

(村方 好子, 貞廣 威太郎, 家田 真樹)

1. はじめに	39
2. 線維芽細胞から心筋細胞へのダイレクトリプログラミング	39
3. 生体内における心筋ダイレクトリプログラミング	41
4. ヒト線維芽細胞からの心筋ダイレクトリプログラミング	42
5. 心筋ダイレクトリプログラミングの分子生物学的機序の解明と, 誘導効率改善	43
6. 臨床応用に向けた心筋ダイレクトリプログラミングの最前線	46
7. おわりに	47

第5章 ダイレクトリプログラミングによる 心臓ペースメーカー細胞の作製

(中尾 周, 川村 晃久)

1. はじめに	49
2. 心臓の自動能と洞房結節	49
3. 徐脈性不整脈とペースメーカー治療	50
4. 徐脈性不整脈に対する再生療法: 生物学的ペースメーカーのコンセプト	50
5. 心臓ペースメーカー細胞へのダイレクトリプログラミング	51
6. 多能性幹細胞から心臓ペースメーカー細胞への分化誘導と純化	55
7. 新規リプログラミング候補因子の探索に向けて	57
8. おわりに	58

第6章 ダイレクトリプログラミングによる骨格筋幹細胞の作製

(佐藤 貴彦)

1. はじめに	61
---------------	----

2. 骨格筋発生・再生過程時に働く役者たち	61
3. 骨格筋細胞誘導研究	63
4. 今後の展開	66

第7章 ダイレクトリプログラミングによる肺上皮細胞の作製

(石井 誠, 小川 卓範)

1. はじめに	69
2. 直接リプログラミングを用いた内胚葉由来細胞の作製	70
3. 直接リプログラミングを用いたⅡ型肺胞上皮細胞の作製	70
4. 直接リプログラミングを用いた基底細胞の作製	72
5. 直接リプログラミングで誘導した肺上皮細胞を用いた今後の展望	73
6. おわりに	74

第8章 ダイレクトリプログラミングによる肝細胞の作製 (鈴木 淳史)

1. はじめに	77
2. 誘導肝細胞様細胞 (iHepC) の誕生	77
3. iHepC の機能的成熟誘導	79
4. ヒト iHepC の作製	81
5. iHepC 研究の進展	82
6. 生体内肝臓における iHepC の誘導	82
7. おわりに	83

第9章 肝臓細胞から膵臓 β 細胞へのダイレクトリプログラミング

(高橋 智)

1. 肝臓細胞から膵臓 β 細胞へのダイレクトリプログラミングの利点および原理	85
2. 肝臓細胞へのダイレクトリプログラミング因子の導入方法	85
3. 肝臓細胞から膵臓 β 細胞へのダイレクトリプログラミングを検出するための方法	86
4. ダイレクトリプログラミングに用いられる膵臓 β 細胞特異的因子	87
5. ダイレクトリプログラミングを促進する肝臓細胞側の因子	90
6. 今後の展望	90

第10章 ダイレクトリプログラミングによる膵 β 細胞作出と 1 型糖尿病に対する機能再建

(松本 征仁)

1. はじめに	93
2. 今日の1型糖尿病治療と再生医療への実用化の課題	93
3. 直接分化転換によるインスリン産生細胞の誘導	96
4. リプログラミング因子の同定の着想と同定までの道のり	97
5. 考察と展望	99

第 11 章 ダイレクトリプログラミングによる腸幹/前駆細胞の作製

(三浦 静, 鈴木 淳史)

1. はじめに	103
2. 腸の発生	103
3. 近年の腸上皮オルガノイド培養	104
4. おわりに	108

第 2 編 ダイレクトリプログラミングの医療応用に向けた取り組み

第 1 章 神経疾患治療へのダイレクトリプログラミングの応用

(山下 徹, 阿部 康二)

1. はじめに	111
2. iN 細胞の発見とその後の展開	111
3. ダイレクトリプログラミングを誘導する因子と阻害する因子	112
4. ダイレクトリプログラミングを用いた疾患モデルの開発	114
5. ダイレクトリプログラミングを用いた治療法開発	115
6. おわりに	116

第 2 章 角膜上皮幹細胞疲弊症治療へのダイレクトリプログラミングの応用

(北澤 耕司)

1. はじめに	119
2. 角膜上皮幹細胞疲弊症	119
3. コア転写因子	120
4. コア転写因子の遺伝子導入	121
5. コア転写因子の細胞特異性メカニズム	122
6. おわりに	127

第 3 章 ダイレクトリプログラミングによる MYOD1 変換尿中細胞作製と筋ジストロフィー治療薬スクリーニング

(佐藤 充人, 青木 吉嗣)

1. はじめに	129
2. Duchenne 型筋ジストロフィー	129
3. ダイレクトリプログラミングによる DMD 骨格筋細胞モデルの作成	130
4. 尿中細胞を用いたダイレクトリプログラミング法の実際	133
5. MYOD1 変換尿中細胞のエクソン・スキップ評価法	135
6. おわりに	137

第4章 非ステロイド性抗炎症薬ジクロフェナクによる 心筋リプログラミングの促進

(村岡 直人, 家田 真樹)

1. はじめに 139
2. 化合物スクリーニングによる新規リプログラミング促進因子ジクロフェナクの同定 139
3. ジクロフェナクによる新生児・成体期線維芽細胞からの効率的な心筋誘導法の確立 140
4. ジクロフェナクは加齢老化に伴い上昇するシクロオキシゲナーゼ-2/プロスタグランジン
E2/プロスタグランジン受容体 EP4 経路を遮断して心筋誘導を促進する 141
5. ジクロフェナクはインターロイキン 1 β /インターロイキン 1 受容体タイプ 1 経路を
阻害することで炎症・線維芽細胞の特性を抑制して心筋誘導を促進する 143
6. 既知の心筋誘導促進化合物との比較 145
7. おわりに 146

第5章 ダイレクトリプログラミングを用いたがん細胞制御と 腫瘍抑制

(堀澤 健一, 鈴木 淳史)

1. はじめに 149
2. 肝細胞がんのダイレクトリプログラミングによる分化誘導療法の開発 151
3. 他のがんに対するダイレクトリプログラミング治療 155
4. おわりに 156

第6章 低分子化合物を用いたダイレクトリプログラミング

(武田 行正, 戴 平)

1. はじめに 159
2. 外胚葉系細胞 160
3. 中胚葉系細胞 162
4. 内胚葉系細胞 165
5. 組織前駆細胞 166
6. 共通する低分子化合物の種類について 167
7. おわりに 168

第3編 ダイレクトリプログラミングの発展を担う基盤技術

第1章 マイナス一本鎖 RNA ウイルスベクターの開発と応用

(中西 真人)

1. はじめに 173
2. 細胞リプログラミングに必要な遺伝子導入・発現技術 173
3. RNA ウイルスを利用した遺伝子導入・発現系 176
4. ダイレクトリプログラミングに適したステルス型 RNA ベクターの開発 178

5. 今後の展望	180
----------------	-----

第2章 組換え人工転写因子タンパク質による ダイレクトリプログラミング

(高品 智記, 石坂 幸人)

1. はじめに	183
2. 人工転写因子	186
3. ダイレクトリプログラミングへの応用	188
4. 組換えタンパク質を用いることで見えてきたリプログラミングにおける新たな可能性	191
5. 本システムのアドバンテージ	192
6. おわりに	192

第3章 エピゲノム編集による細胞運命制御

(堀居 拓郎, 森田 純代, 畑田 出穂)

1. はじめに	195
2. エピゲノム	195
3. エピゲノム編集	197
4. エピゲノム編集と細胞運命制御	200
5. おわりに	201

第4章 細胞分化の多様性と階層性を解析する 1 細胞トランスクリプトーム解析

(坂本 智子, 渡辺 亮)

1. シングルセル遺伝子発現解析の特徴	203
2. シングルセル遺伝子発現解析の実験ワークフロー	204
3. データ解析とその応用	206
4. ダイレクトリプログラミングを解析した実例	208
5. おわりに	210

第5章 単一細胞エピゲノム解析技術の開発

(富松 航佑, 大川 恭行)

1. はじめに	211
2. エピゲノム解析の背景	211
3. 単一細胞エピゲノム解析法	213
4. ダイレクトリプログラミング解析への展望	216
5. おわりに	217

第6章 転写制御ネットワークと細胞直接変換

(鈴木 治和, 鈴木 貴紘, 中野 令, Jing-Ru Li, 渡邊 和秀)

1. 転写制御ネットワーク解析と細胞直接変換	219
------------------------------	-----

2. エピゲノムと細胞直接変換	223
3. 小分子化合物による細胞直接変換	226
4. おわりに	227

第7章 細胞系譜軌跡推定ツールとそのアルゴリズムについて

(川崎 秀二, 林 寛敦, 富永 陽子, 中戸 隆一郎)

1. 背景	229
2. 次元圧縮	229
3. lineage 構成と擬似時間の計算	231
4. 今後の展望	235

第8章 データ駆動型ダイレクトリプログラミング

(江口 凌平, 濱野 桃子, 岩田 通夫, 中村 透, 沖 真弥, 山西 芳裕)

1. はじめに	239
2. オミクスデータを用いたダイレクトリプログラミング誘導転写因子の予測	240
3. 予測される転写因子セットは使用するオミクス情報に依存する	241
4. さまざまな標的細胞に対してダイレクトリプログラミング誘導転写因子を予測	242
5. オミクス情報を融合することにより予測性能が向上	243
6. おわりに	244

第9章 幹細胞の自己組織化による器官再生とその展望

(武尾 真, 池田 悦子, 仲川 雅人, 小川 美帆, 大島 正充, 桐田 忠昭, 辻 孝)

1. はじめに	247
2. 哺乳類における器官の発生と再生	247
3. 三次元器官再生に向けた発生生物学的な戦略	248
4. 器官誘導能を有する胎児性幹細胞を用いた機能的な器官再生	249
5. 多能性幹細胞を用いたオルガノイド研究	253
6. 多能性幹細胞からの器官系再生	255
7. 幹細胞系譜を調節するダイレクトリプログラミングによる器官再生の未来	257
8. 次世代器官再生の研究開発と実現に向けた展望	258

第10章 メカニカルストレスによる細胞分化制御

(宮坂 恒太)

1. メカニカルストレス	261
2. メカニカルストレスによる細胞分化制御	263
3. メカニカルストレスによるダイレクトリプログラミング制御	266

※本書に記載されている会社名, 製品名, サービス名は各社の登録商標または商標です。なお, 本書に記載されている製品名, サービス名等には, 必ずしも商標表示 (®、TM) を付記しません。

序 論

ダイレクトリプログラミング研究の 現状と未来展望

九州大学 鈴木 淳史

1. はじめに

体の組織や臓器を構成する細胞の運命は、それらが形作られる発生過程で決定（プログラミング）し、一度決定した細胞運命は二度と変更されることはない。拍動する心筋細胞が突然肝細胞になったり、神経細胞が突然血液細胞になったりしたら一大事である。ゆえに細胞の分化状態はロバストでなくてはならず、それが生命を支える屋台骨となっている。ところが、細胞運命の再編成（リプログラミング）に関する近年の目覚ましい研究の進展によって、細胞の遺伝子発現や周辺環境に人為的操作を加えることで、その細胞の分化状態を強制的に変更して全く別の性質を持った細胞を生み出せることが明らかになってきた。この現象は、細胞運命の直接的なリプログラミングということから「ダイレクトリプログラミング」と呼ばれ、将来の革新的医療を担う新しい技術として注目されている。

本書では、進展著しいダイレクトリプログラミングの開発研究で世界と戦う研究者の方々、ダイレクトリプログラミングの医療応用に向けて精力的に取り組む研究者の方々、そしてダイレクトリプログラミングの基礎研究や応用研究の発展において重要となる基盤技術の開発で世界をリードする研究者の方々にそれぞれの研究分野についてご紹介いただき、将来の発展的ビジョンについて語っていただいている。本書がダイレクトリプログラミングの研究をこれから始める方やご自分の研究に取り入れたい方、ダイレクトリプログラミングのことをもっとよく知りたい方の一助になれば幸いである。

2. ダイレクトリプログラミングとマスター因子

ダイレクトリプログラミングに関連する研究が活発になったのは今から10年ほど前だが、その当時はまだダイレクトリプログラミングという呼称さえ存在しなかった。「ダイレクトリプログラミング」ということばを直訳すると、「直接的な（細胞運命の）再編成」となる。したがって、広義の意味では人工多能性幹細胞（induced pluripotent stem cell；iPS細胞）の誘導（＝細胞の初期化）もダイレクトリプログラミングの1つといえる。しかしながら、現在の世界基準では、iPS細胞のような未分化細胞を介さずにある種の分化した細胞を直接別の種類の細胞に変えること（＝細胞の分化転換）をダイレクトリプログラミングと呼んでいる（図1）。重要なことは、ダイレクトリプログラミングとは自然に生じる細胞の運命転換ではなく、人為的な誘導によってのみ達成される現象を指す点である。そしてその人為的な誘導を支えるキープレイヤーが細胞運命を決定する転写因子、マスター因子である。例えば、筋細胞のマスター因子はMyoDという転写因子であり、皮膚の線維芽細胞にMyoDを発現させるだけで筋細胞の運命プログラムを誘導することができる¹⁾。筋細胞のマスター因子はMyoD 1つだが、一方で胚性幹細胞（embryonic stem cell；ES細胞）のマスター因子はOct4, Sox2, Klf4, c-Mycという4つの転写因子であり、それらを皮膚や血液の細胞で過剰に発現させると、4つの因子が協調して強く働くことによってiPS細胞が誘導される²⁾。すなわち、細胞運命を決定するマスター因子は必ずしも1つである必要はなく、複数の因子が細胞の運命決定に必要な「コア転写ネットワーク」を形成すればよ

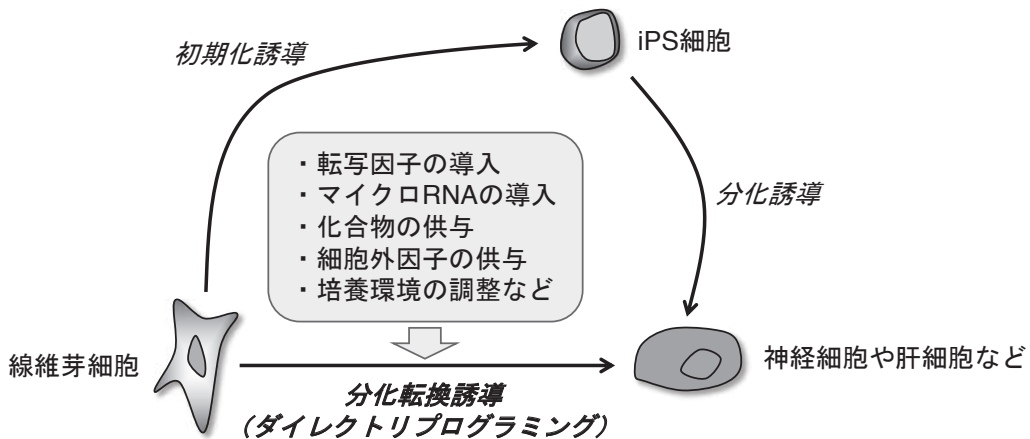


図1 ダイレクトリプログラミングの概略図

皮膚などに含まれる線維芽細胞を例にとって説明すると、すでに細胞運命が決定済みの線維芽細胞に対し、人為的操作による転写因子（マスター因子）やマイクロRNAの導入、化合物や細胞外因子の供与、培養環境の調整などを行うことにより、神経細胞や肝細胞など、別の種類の分化細胞へ、直接、その細胞運命を変化させることができる（分化転換誘導・ダイレクトリプログラミング）。一方、線維芽細胞に4つの転写因子を導入して誘導（初期化誘導）されるiPS細胞は、二次的な分化誘導を経て、神経細胞や肝細胞などに分化することができる。

いことがわかる。こうした概念に基づき、特定の機能を持った数多くの細胞種について、それぞれの細胞運命を規定するマスター因子が同定されている。また最近では、それらマスター因子の発現を誘導したり、細胞運命に直接作用したりするマイクロRNAや化合物なども同定され、複合的な細胞運命制御因子セットを用いたより効果的なダイレクトリプログラミング誘導も可能になってきている³⁾（図1）。とりわけ、化合物のみを用いたダイレクトリプログラミングは「ケミカルリプログラミング」とも呼ばれており、ごく最近でも、5つの化合物を用いて視細胞の一種である桿体細胞をマウスの線維芽細胞から直接誘導し、移植後に視覚機能を部分的に回復できたことが報告されている⁴⁾。

3. 医療応用に向けたダイレクトリプログラミング研究の展望と課題

ダイレクトリプログラミングの技術によって実現が期待されるのは、細胞移植や組織創造に基づく再生医療だけでなく、病気の原因や治療法を調べるための疾患モデルの構築、誘導した細胞、特に患者本人やその集団に由来する細胞から誘導した細胞を用いた創薬研究、ハイブリッド型人工臓器への細胞供給などが考えられる（図2）。現在では、すでに研究の対象がマウスからヒトへ移行しつつあり、多くのヒト疾患の治療を想定したダイレクトリプログラミング研究が世界中で進んでいる。ダイレクトリプログラミングを利用した将来の応用例はiPS細胞のそれとほぼ同じといえるが、それぞれには長所と短所があることから、目的に見合った細胞の選択ができるように今後も両者の研究を並行して進めていくべきだと考える。

iPS細胞の長所として例を挙げるならば、iPS細胞は特定の組織・臓器細胞への分化誘導過程において、その組織・臓器を構成する細胞のすべてを同調して産生し、複雑な構造を伴う疑似組織

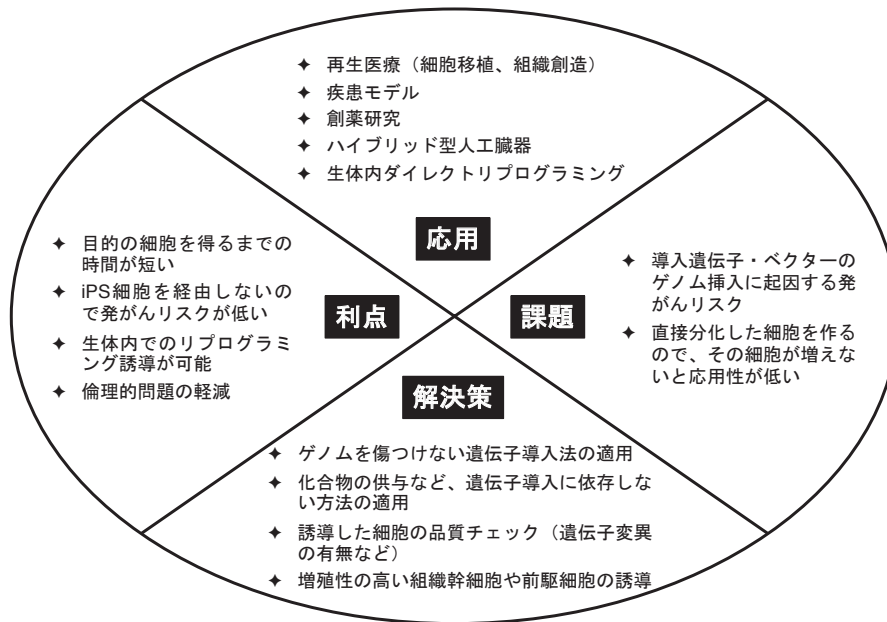


図2 ダイレクトリプログラミングの応用例と利点、ならびに課題とその解決策

や疑似臓器を試験管の中で作り出せる点である。こうしたiPS細胞の特徴は、特にヒトを対象とした研究において、これまで難しかった組織・臓器の発生や疾患のメカニズムを解析し、それを理解するうえで重要である。すでに近年新たに開発された1細胞RNAシーケンス解析と融合することで、この領域の飛躍的な進歩に貢献している⁵⁾⁶⁾。将来的にはiPS細胞由来組織・臓器を用いた移植医療などへの応用も期待されるが、こうした組織・臓器の発生過程を模倣した細胞分化が成り立つことは、作製された疑似組織・臓器を構成する細胞が生体由来の細胞に非常によく似ていることを示しており、iPS細胞由来の組織・臓器それ自体でなくとも、そこから得られる細胞を用いた細胞移植医療や創薬研究などへの応用が期待できる。一方で、ダイレクトリプログラミングの技術を用いて作製される細胞は基本的に単一種であることから、組織・臓器の形成はそれだけでは難しい。また、発生過程を模倣した細胞分化のステップを経っていないことから、生体由来の細胞に対し、遺伝子発現や機能が全く同じとは言いきれない。しかしながら、ダイレクトリプログラミングによって誘導される細胞が持つ特徴的な遺伝子発現や機能は、iPS細胞がES細胞に似ているのと同じように、対応する生体由来細胞に類似したものである。したがって、細胞の分化誘導経路は異なるが、iPS細胞由来の細胞であっても、ダイレクトリプログラミングによって作製された細胞であっても、人為的な方法によって作製された細胞としての性質は大きくは変わらないのではないかと推測される。

反対にiPS細胞の短所としては、作製されるiPS細胞クローンに偏りがあるため、iPS細胞クローンの中には分化指向性やゲノム不安定性、分化抵抗性に基づく発がん性などの異常があるものが含まれる点が挙げられる。そのため、適切なiPS細胞クローンの作製や選択には多くの時間と費用が必要とされる。一方、ダイレクトリプログラミングで作製される細胞はすでに分化した細胞であることから、iPS細胞に内在する上記の問題はほとんど考慮しなくてよいと考えられる。

もちろん、作製法としてゲノム挿入を伴うウイルスベクターを用いる場合は、細胞のがん化の危険性が増すことから、iPS細胞と同様にダイレクトリプログラミングで作製される細胞も危険性の低い方法で誘導される必要がある。この問題に対しては、すでに多くの安全性の高い方法がダイレクトリプログラミング誘導に利用されていることから³⁾、今後のさらなる発展が期待される。また、iPS細胞は高い増殖能を持つことから、研究や治療に必要とされる分化細胞を大量に調達可能だと考えられている。しかしながら、iPS細胞とは異なり、iPS細胞から分化誘導した細胞の増殖能は顕著に低下することから、大量の分化細胞が欲しい場合は、その材料となるiPS細胞を大量に用意し、その後それらを一律に分化誘導する必要がある。これは実行可能な手順だが、手技的にもコスト的にも問題が多い方法といえる。これに対し、ダイレクトリプログラミングの研究分野では、従来の最終分化細胞を標的とした研究に加え、組織幹/前駆細胞の誘導を目指す研究も精力的に行われるようになってきた(図2)。ダイレクトリプログラミングによって作製される分化細胞は、iPS細胞から分化誘導した細胞と同様に増殖能が低い。しかしながら、組織幹/前駆細胞をダイレクトリプログラミングによって誘導できれば、組織幹/前駆細胞の自己複製能によってそれらはリプログラミング後も増殖し、二次的な分化誘導によって最終的な分化細胞を大量に生み出すことができる。したがって、ダイレクトリプログラミングによって作製される組織幹/前駆細胞は、ダイレクトリプログラミングを利用した将来の医療応用にとって“切り札”ともいえるポテンシャルを秘めた細胞といえることができる。さらに、iPS細胞とは異なり、ダイレクトリプログラミングだからこそできるアプローチとして、生体内で直接細胞の運命転換を誘導する「生体内ダイレクトリプログラミング」の研究も進んでいる(図2)。例えば、心臓の線維芽細胞から生体内で直接心筋細胞を誘導することで心筋梗塞の症状を軽減させることができた⁷⁾⁸⁾、線維化した肝臓中の筋線維芽細胞を生体内で肝細胞にリプログラミングさせることで線維化レベルの部分的な軽減ができるようになったりしている⁹⁾¹⁰⁾。今後、遺伝子の導入方法や導入効率を改善させる必要はあるが、生体内におけるダイレクトリプログラミングの誘導は、次世代の医療技術の1つとして今後も発展していくと考えられる。

4. ダイレクトリプログラミングの分子機構

上述したように、ダイレクトリプログラミングの誘導にはマスター因子の働きが必須だが、これらマスター因子の多くが特殊な機能を持つ転写因子である「パイオニア因子」と呼ばれる転写因子群に属することが知られている。パイオニア因子とは、高度に密集したクロマチン構造に結合してそれを弛緩させ、抑制されていた遺伝子発現を活性化できる状態を作りうる転写因子のことを指す¹¹⁾(図3)。したがって、ある細胞で発現が見られない遺伝子を選択的に活性化するためには、誘導したい細胞に特異的なパイオニア因子が先行してクロマチン構造を開き、それを起点としてその細胞に特有の遺伝子発現を活性化する他の転写因子が結合する必要がある(図3)。このようなパイオニア因子を起点とした細胞運命転換機構は非常にわかりやすくダイレクトリプログラミングの分子機構を説明しているが、その詳細なメカニズムやパイオニア因子の作用機序などに関しては多くの未解明な部分が残されており、今後の解明が待たれる状況にある。

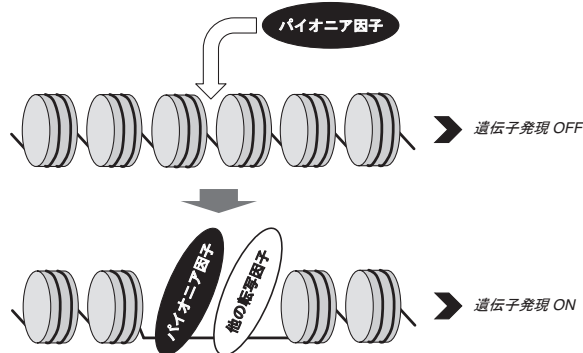


図3 パイオニア因子を起点とする転写活性化機構の概略図

パイオニア因子は高度に密集したクロマチン構造に結合し、それを弛緩させることで他の転写因子の結合を促す。パイオニア因子は発現が抑制されている遺伝子を活性化させるために必要な転写因子であり、ダイレクトリプログラミングを誘導するマスター因子の多くがその機能を有している。

マスター因子/パイオニア因子は、ロバストであるべき細胞の分化状態をかき消し、その細胞に新たな運命を与える力を持っているが、もともとの細胞の分化状態はそれらの前では無力なのだろうか？ 答えは“ノー”だ。現状では、ダイレクトリプログラミングの誘導効率は数%ほどで、よくても数十%程度である。したがって、その他の多くの細胞は、マスター因子/パイオニア因子を導入され、適切な培養環境を提供されたにも関わらず、細胞運命転換が誘導されないままである。これはマスター因子/パイオニア因子によって運命を変更可能な細胞のほうマイナー集団であることを示しており、たとえマスター因子/パイオニア因子の導入や周辺環境の変化があったとしても、それらに抗い、自らの分化状態を維持しようとするロバストな機構が細胞に存在することを意味している（図4）。それでは、マスター因子/パイオニア因子の機能をブロックする細胞の機能とは何なのだろうか？ また、マスター因子/パイオニア因子や周辺環境の影響によって運命を転換できる細胞とできない細胞の違いは何なのだろうか？ 今後の研究でこれらの問いの答えを導き出すことができれば、ダイレクトリプログラミングの誘導効率を上げるためのヒントが得られ、医療応用への壁がさらに低くなると思われる。細胞の持つ

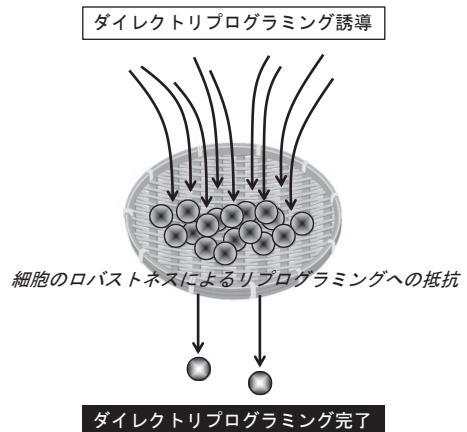


図4 細胞のロバストネスによるリプログラミングへの抵抗

ある細胞に別の種類の細胞のマスター因子/パイオニア因子を導入すると、細胞運命を変更しようとする力が生じ、既存の分化状態を維持しようとする内因性の力と拮抗することで、その細胞の運命を維持するか変更するかでせめぎ合う状態になると考えられる。しかし、既存の分化状態を維持しようとする力のほうがマスター因子/パイオニア因子の導入によって生じる力よりも遥かに強い場合、マスター因子/パイオニア因子を導入された細胞の多くは、結果的に細胞運命転換が誘導されないまま分化状態を維持することになる。これは、たとえマスター因子/パイオニア因子の導入や周辺環境の変化があったとしても、それらに抗い、自らの分化状態を維持しようとするロバストな機構が細胞に存在することを意味している。このロバストな機構を低い確率ですり抜けることができた細胞のみが、新しい細胞運命を受け入れ、別の種類の細胞に変化することができる。

ロバストネスの解明がダイレクトリプログラミングの研究を進めるうえで重要なテーマの1つになると考えられる。

5. おわりに

ダイレクトリプログラミングは、その結果生み出される細胞を用いた医療や創薬、検査などへの展開が大きな注目を集めているが、ダイレクトリプログラミングによって作製される細胞の臨床応用には、細胞の安全性や治療効果、副作用など、解決すべき高いハードルがいくつもあり、それらを1つ1つクリアするための地道な研究が今後も長期的に必要と考えられる。ダイレクトリプログラミングの臨床応用を目指すうえでは、技術改良のための基盤研究や作製された細胞の詳細な性状解析が重要な意味を持っており、基礎的な研究の発展なくしてダイレクトリプログラミングの真の臨床応用は望めないといってよい。ダイレクトリプログラミングの応用性は非常に重要な一面であることはいうまでもないが、その一方で、ダイレクトリプログラミングの誘導過程で生じるさまざまな生物学的事象に対する科学的興味もまた研究者たちを魅了している。こうしたダイレクトリプログラミングの生物学の興味に没頭して研究を行う者は、ダイレクトリプログラミングの裏に隠された未解明の事象を解き明かすことで、細胞運命の決定とその可塑性に関わる重要な新知見を得るかもしれない。その中には教科書を書き換えてしまうような大発見が隠されている可能性もあることから、今後の展開に大きな期待を寄せたい。

ダイレクトリプログラミングの生物学的研究は、一見するとその応用研究とはかけ離れた存在に感じるかもしれないが、それらはともにダイレクトリプログラミングの医療展開にとって必要な存在であり、どちらが欠けてもダイレクトリプログラミングに未来はないと断言できる。そして、こうしたダイレクトリプログラミングの基礎・応用両面の発展のためにはあらゆる技術革新との融合が必要不可欠といえ、本書でも取り上げた基盤技術の開発がダイレクトリプログラミングの今後を左右する生命線といっても過言ではない。貪欲に新しい技術や知見を取り入れながら、今後もダイレクトリプログラミングの研究が発展し、いつの日か、医療応用への展開がなされんことを期待してやまない。

文 献

- 1) R. L. Davis et al.; *Cell*, **51**, 987–1000 (1987).
- 2) K. Takahashi and S. Yamanaka; *Cell*, **126**, 663–676 (2006).
- 3) K. Horisawa and A. Suzuki; *Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci*, **96**, 131–158 (2020).
- 4) B. Mahato; *Nature*, online publication, (2020).
- 5) A. Subramanian et al.; *Nat Commun*, **10**, 5462 (2019).
- 6) J. Klaus et al.; *Nat Med*, **25**, 561–568 (2019).
- 7) L. Qian et al.; *Nature*, **485**, 593–598 (2012).
- 8) K. Song et al.; *Nature*, **485**, 599–604 (2012).
- 9) G. Song et al.; *Cell Stem Cell*, **18**, 797–808 (2016).
- 10) M. Rezvani et al.; *Cell Stem Cell*, **18**, 809–816 (2016).
- 11) K. S. Zaret and J. S. Carroll; *Genes Dev*, **25**, 2227–2241 (2011).

この先をご覧いただくには、パスワードが必要です。

制限つきPDFで全ページをご覧いただけます。
(制限内容：閲覧期間の設定、コピーやプリントの禁止など)

- ・ PDFの閲覧

「パスワード」と「専用のビューア」（無料）が必要です。
費用は一切かかりません。

※WindowsのPCでのみご覧いただけます。予めご了承ください。

- ・ パスワード ※電子試読ページよりお申込みください

<https://www.nts-book.com/ntsの電子試読>

ページ下部にお申込みフォームがあります。

右のQRコードからも
電子試読ページにアクセス
いただけます。



- ・ ビューアのダウンロード

PDFは、株式会社スカイコムの SkyPDF Viewer（無償のPDFビューア）をダウンロードしてご覧いただけます。

※Adobe Acrobat Readerなど他のPDF閲覧アプリケーションではご覧になれません。

SkyPDF Viewer 無償ダウンロード：

<https://www.skycom.jp/free/>