

平成29年度科学研究費助成事業（特別推進研究）自己評価書
〔追跡評価用〕

平成29年4月21日現在

| | | | |
|---------------------------|--|---------------------------------------|------------------|
| 研究代表者 氏名 | 山中 伸弥 | 所属研究機関・ 部局・職 (研究期間終了時) | 京都大学・iPS細胞研究所・教授 |
| 研究課題名 | 細胞核初期化の分子基盤 | | |
| 課題番号 | 19002014 | 研究期間 | 平成19年度～平成23年度 |
| 研究組織 (研究期間終了時) | 研究代表者 山中 伸弥（京都大学・iPS細胞研究所・教授） 研究分担者 中川 誠人（京都大学・iPS細胞研究所・講師） 高橋 和利（京都大学・iPS細胞研究所・講師） 渡辺 亮（京都大学・iPS細胞研究所・特定拠点助教） 山本 拓也（京都大学・iPS細胞研究所・特定拠点助教） Knut Woltjen（京都大学・iPS細胞研究所・特定拠点助教） | | |

【補助金交付額】（研究期間全体）（直接経費）： 487,000 千円

1. 特別推進研究の研究期間終了後、研究代表者自身の研究がどのように発展したか

特別推進研究によってなされた研究が、どのように発展しているか、次の(1)～(4)の項目ごとに具体的かつ明確に記述してください。

(1) 研究の概要

(研究期間終了後における研究の実施状況及び研究の発展過程がわかるような具体的内容を記述してください。)

【本研究課題における実施状況】

(1) 4因子による iPS 細胞誘導の分子機構の解明

- 多能性誘導プロセスにおいて、初期化因子として細胞外から導入する c-Myc は他の 3 因子 (Sox2、Oct3/4、Klf4) とは異なる特性を有すること、また iPS 細胞の安全性の改善を明らかにした。
- 遺伝学的な解析により、肝細胞または肝前駆細胞が iPS 細胞に変化したことが確認され、iPS 細胞は真に体細胞に由来することを明らかにした。
- iPS 細胞誘導中に p53 の機能を抑制すると iPS 細胞の樹立効率が上昇することを明らかにした。
- 低酸素状態で iPS 細胞を樹立すると効率が上昇することを突き止めた。
- L-Myc を用いることで効率的に安全な iPS 細胞を樹立することに成功した。

(2) レトロウイルスを用いない iPS 細胞誘導方法の確立

- ウイルスを用いずに因子を導入する為に一つのプラスミドに 3 因子を挿入する事で同じ細胞に 3 因子が発現する工夫を行い、マウス胎仔線維芽細胞から iPS 細胞を樹立することに成功した。
- エピソーマルベクターを用いることで体細胞ゲノムに傷を付けずにヒト iPS 細胞を樹立する方法も確立した。

(3) ヒト iPS 細胞の特性解明と分化誘導法の確立

- マウス iPS 細胞を神経幹細胞に分化誘導しマウス脳内へ移植し腫瘍が形成されるか検討した結果、iPS 細胞を樹立する際に用いる元細胞の種類が重要であることを明らかにした。
- マウス iPS 細胞由来のキメラマウスで多発する腫瘍形成にはレトロウイルス由来 c-Myc の再活性化が関与していることが分かった。
- 神経細胞への分化誘導だけでなく、肝細胞、血液細胞、心筋細胞、などへの分化誘導法の確立も進め、iPS 細胞の性状解析の一つのツールとして用いることができることを確認した。
- iPS 細胞の樹立効率に影響がある因子として同定した LIN28, p53, Cyclin D1 の作用メカニズムを明らかにした。
- 4000 箇所を超える iPS 細胞に特異的な DNA メチル化領域を同定した。
- 体細胞初期化前後でスプライシングパターンが変化する遺伝子を 500 個以上同定した。

【研究の発展過程】

本研究課題の研究成果から、効率良く、安全な iPS 細胞を樹立する因子の組合せが特定できた。一番良いと考えられる組合せは、「Sox2 + Oct3/4 + Klf4 + L-Myc + Lin28 + p53 機能抑制」と考えられた。また、初期化因子の導入方法はウイルスを使うことなく、エピソーマルベクターを用いる方法が一番良いと考えられた。これら知見により打ち出された方法がこの時点で、一番安全に効率良く iPS 細胞を樹立する方法となった。

この方法は弊所で進められている臨床応用可能なヒト iPS 細胞のストックプロジェクトの製造方法として活用されている (エピソーマルベクターは特許の問題を回避するため、オリジナルとは異なる)。平成 27 年度から配布された臨床用 iPS 細胞株はこの方法で樹立された株である。平成 28 年度に開始された他家 iPS 細胞を使った臨床研究で用いられた iPS 細胞も同じ方法を使って初期化因子を導入して樹立した細胞である。

神経細胞、肝細胞、血液細胞、心筋細胞、を iPS 細胞から分化誘導する方法を確立した。これらの方法を参考にし、現在ではより特異的な体細胞の分化誘導方が多数報告されている。血液細胞といっても赤血球、白血球、マクロファージ、血小板、など多くの種類の細胞が存在しており、そういった細胞一つ一つへの分化誘導技術が確立されつつある。

ヒト iPS 細胞の特性解明に関しては、エピジェネティックな変化の関与が示唆されたが、現在は転写・翻訳・翻訳後修飾を含めて解析を進めている。

1. 特別推進研究の研究期間終了後、研究代表者自身の研究がどのように発展したか（続き）

(2) 論文発表、国際会議等への招待講演における発表など（研究の発展過程でなされた研究成果の発表状況を記述してください。）

<論文発表>

Mandai, M., et al. First-in-human Clinical Study of Transplantation of Autologous iPSC-Retinal Pigment Epithelial Cell Sheet for Wet Age Related Macular Degeneration. *The New England Journal of Medicine* **376(11)**: 1038-1046, 2017.

Sugiyama, H., et al. *Nat1* promotes translation of specific proteins that induce differentiation of mouse embryonic stem cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* **114(2)**: 340-345, 2017.

Nishizawa, M., et al. Epigenetic variation between human induced pluripotent stem cell lines is an indicator of differentiation capacity. *Cell Stem Cell* **19(3)**: 341-354, 2016.

Yamakawa, T., et al. Screening of human cDNA library reveals two differentiation-related genes, *HHEX* and *HLX*, as promoters of early phase reprogramming toward pluripotency. *Stem Cells* **34(11)**: 2661-2669, 2016.

Funakoshi, S., et al. Enhanced engraftment, proliferation, and therapeutic potential in heart using optimized human iPSC-derived cardiomyocytes. *Scientific Reports* **6**: 19111, 2016.

Sasaki, K., et al. Robust In Vitro Induction of Human Germ Cell Fate from Pluripotent Stem Cells. *Cell Stem Cell* **17(2)**:178-194, 2015.

Miki, K., et al. Efficient Detection and Purification of Cell Populations Using Synthetic MicroRNA Switches. *Cell Stem Cell* **16(6)**: 699-711, 2015.

Kim, SI., et al. KLF4 N-Terminal Variance Modulates Induced Reprogramming to Pluripotency. *Stem Cell Reports* **4 (4)**: 727-743, 2015.

Takahashi, K., et al. Induction of pluripotency in human somatic cells via a transient state resembling primitive streak-like mesendoderm. *Nature communications* **5**: 3678, 2014.

Nakagawa, M., et al. A novel efficient feeder-free culture system for the derivation of human induced pluripotent stem cells. *Scientific Reports* **4**: 3594, 2014.

Koyanagi-Aoi, M., et al. Differentiation defective phenotypes revealed by large scale analysis of human pluripotent stem cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* **110(51)**: 20569-20574, 2013.

Ohta, S., et al. Global splicing pattern reversion during somatic cell reprogramming. *Cell Reports* **5(2)**: 357-366, 2013.

Tanabe, K., et al. Maturation, not initiation, is the major roadblock during reprogramming toward pluripotency from human fibroblasts. *Proc Natl Acad Sci U S A* **110(30)**: 12172-12179, 2013.

Okita, K., et al. An Efficient Non-viral Method to Generate Integration-Free Human iPS Cells from Cord Blood and Peripheral Blood Cells. *Stem Cells* **31(3)**: 458-466, 2013.

Kajiwar, M., et al. Donor-dependent variations in hepatic differentiation from human-induced pluripotent stem cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* **109(31)**:12538-12543, 2012.

<国際会議等への招待講演における発表など>

Yamanaka, S.: Recent progress in iPS Cell research and application. Cell Symposia: 10 Years of iPSCs (2016.9.25 米国)

Yamanaka, S.: Recent Progress in iPS Cell Research and Application. XVIIth International Symposium on Retinal Degeneration (2016.9.23 京都)

Yamanaka, S.: Induction of Pluripotency by Defined Factors. Coming of age; the legacy of Dolly at 20 (2016.9.2 スコットランド)

Yamanaka, S.: Induction of Pluripotency by Defined Factors. The XVIII Paavo Nurmi Symposium –Future technologies for heart diseases- (2016.8.31 フィンランド)

Yamanaka, S.: Recent Progress in iPS Cell Research and Application. Plenary III: Cellular Plasticity and Reprogramming ISSCR 2016 Annual Meeting (2016.6.23 米国)

Yamanaka, S.: Recent Progress in iPS Cell Research toward Regenerative Medicine. Keystone Symposia on Molecular and Cellular Biology “Diabetes: New insights into Molecular Mechanisms and Therapeutics Strategies” (2015.10.26 京都)

Yamanaka, S.: Recent Progress in iPS Cell Application. ISSCR Annual Meeting 2015 "ISSCR Plenary I-Presidential Symposium" (2015.6.24 スウェーデン)

Yamanaka, S.: Induced Pluripotent Stem Cells: Past, Present, and Future. Karolinska Institutes 主催 Regeneraytiv medicin och stamcellsforskning (2015.6.22 スウェーデン)

Yamanaka, S.: Discovery of iPS Cells and their Applications to Medicine. Nobel Prize Dialogue 2015 (2015.3.1 東京)

Yamanaka, S. : Dissecting Human Reprogramming Towards Pluripotency. EMBO Workshop "Stem Cells Epigenetics in Cancer" (2014.10.18 香港)

Yamanaka, S.: Dissecting Human Reprogramming Toward Pluripotency. ISSCR Annual Meeting 2014- Concurrent Session IB "Control of Pluripotency" (2014.6.19 カナダ)

Yamanaka, S.: Induction of Pluripotency by Defined Factors. French Academy of Sciences Symposium "Tissue regeneration" (2012.11.13 フランス)

1. 特別推進研究の研究期間終了後、研究代表者自身の研究がどのように発展したか（続き）

(3) 研究費の取得状況（研究代表者として取得したもののみ）

文部科学省

再生医療の実現化プロジェクト（第Ⅱ期）

京都大学 iPS 細胞研究統合推進拠点

平成 20 年度～平成 24 年度 7,685,879,044 円

独立行政法人科学技術振興機構

山中 iPS 細胞特別プロジェクト

臨床応用を可能にする真に安全なヒト iPS 細胞樹立方法の開発

平成 20 年度～平成 24 年度 331,500,000 円

内閣府

先端研究助成基金助成金 最先端研究開発支援プログラム

iPS 細胞再生医療応用プロジェクト

平成 22 年度～平成 25 年度 4,993,196,268 円

国立研究開発法人 日本医療研究開発機構

再生医療実現拠点ネットワークプログラム 疾患特異的 iPS 細胞を活用した難病研究 樹立拠点

疾患特異的 iPS 細胞樹立促進のための基盤形成

平成 24 年度～28 年度 1,024,736,000 円

厚生労働省

医薬品等審査迅速化事業費補助金（革新的医薬品・医療機器・再生医療等製品実用化促進事業）

血小板誘導に適した iPS 細胞の品質評価ガイドラインの作成

平成 24 年度～28 年度 237,000,000 円

国立研究開発法人 日本医療研究開発機構

再生医療実現拠点ネットワークプログラム iPS 細胞研究中核拠点

再生医療用 iPS 細胞ストック開発拠点

平成 25 年度～34 年度 28,520,068,000 円（見込み）

(4) 特別推進研究の研究成果を背景に生み出された新たな発見・知見

(1) 4 因子による iPS 細胞誘導の分子機構の解明

- 初期化誘導中には、初期化早期と成熟期に主なロードブロック（壁、障害）があることが分かった。このロードブロックを乗り越えるメカニズムの解明はより高率な初期化方法の開発に繋がると考えられる。

(2) レトロウイルスを用いない iPS 細胞誘導方法の確立

- 線維芽細胞だけでなく、末梢血および臍帯血由来の血液細胞からエピソーマルベクターを用いてヒト iPS 細胞の樹立に成功した。末梢血や臍帯血は既に国内にバンクが存在するため、臨床用 iPS 細胞の原材料として有用であり、これらの細胞から iPS 細胞の樹立が可能となったことは大きな意義があると考えられる。
- フィーダー細胞を用いず、動物由来の原料を含まない培地でヒト iPS 細胞の樹立・維持培養を行う系を開発した。

(3) ヒト iPS 細胞の特性解明と分化誘導法の確立

- 大規模解析を行った結果、神経細胞に分化誘導を行った際に分化抵抗性を示すヒト iPS 細胞株があることを見いだした。分化抵抗性ヒト iPS 細胞株を神経細胞に分化誘導すると、未分化マーカーである TRA-1-60 が陽性である細胞群が残っており、この細胞群を回収し遺伝子発現解析を行った結果、分化抵抗性株で共通して発現が変化している遺伝子を同定した。これらの遺伝子は良い iPS 細胞と悪い iPS 細胞を区別するマーカーになると考えられる。
- iPS 細胞の分化能力はクローン間の差より、iPS 細胞の樹立の元となった細胞（＝ドナー）に依存することを明らかとした。このことは、個々人の持つ SNP などが影響していることを示唆している。

2. 特別推進研究の研究成果が他の研究者により活用された状況

特別推進研究の研究成果が他の研究者に活用された状況について、次の(1)、(2)の項目ごとに具体的かつ明確に記述してください。

(1) 学界への貢献の状況（学術研究へのインパクト及び関連領域のその後の動向、関連領域への関わり等）

本研究課題では細胞核初期化の分子基盤に関する基礎研究をすすめてきた。成果は以下に示す通りである（抜粋）。

- 細胞核初期化において外因性の c-Myc は他の 3 因子（Sox2、Oct3/4、Klf4）とは異なる機能を担っており、特に iPS 細胞の安全性との関係を明らかにした。
- iPS 細胞が実際に体細胞に由来することを明らかにした。
- p53 の機能を抑制することや低酸素状態で培養することで初期化効率が上昇することを見いだした。
- L-Myc を用いることで効率的に安全な iPS 細胞を樹立することに成功した。
- ウイルスを用いずにプラスミドベクターを用いてマウス胎仔線維芽細胞から iPS 細胞を樹立することに成功した。
- 自己複製型エピソーマルベクターを用いることで体細胞ゲノムに傷を付けずにヒト iPS 細胞を樹立する方法を確立した。
- 分化誘導効率は iPS 細胞を樹立する際に用いる元細胞の種類が重要であることを明らかにした。
- マウス iPS 細胞由来のキメラマウスで多発する腫瘍形成にはレトロウイルス由来 c-Myc の再活性化が関与していることが分かった。
- 神経細胞への分化誘導だけでなく、肝細胞、血液細胞、心筋細胞、などへの分化誘導法の確立に成功した。
- LIN28, p53, Cyclin D1 の細胞核初期化に対する作用メカニズムを明らかにした。
- iPS 細胞に特異的な DNA メチル化領域や体細胞初期化前後でスプライシングパターンが変化する遺伝子を同定した。

本研究成果より、いくつかの遺伝子を細胞に導入することでその細胞の性質を容易に変えることが可能であることが証明された。初期化の分子メカニズムの解析より、重要な因子を適切に働かせることで細胞の変換が起こることが分かった。この結果は、線維芽細胞にいくつかの転写因子を導入することで神経細胞を作り出すことに成功した仕事に繋がっていると考えられる。この概念は、iPS 細胞などのように発生初期段階に戻ることなく細胞の性質を変えることからダイレクトリプログラミングと呼ばれている。現在では神経細胞だけでなく他にもいくつかの分化細胞がこの手法によって作製されている。作製された細胞は応用に向けた開発にも活用可能であるし、基礎研究の面でも非常に有用であると考えられる。

iPS 細胞を臨床応用する時の問題点は、

- 初期化因子の導入にウイルスを使うこと
- 腫瘍化リスク

であった。本研究により、ウイルスを使うことなくプラスミドベクターで iPS 細胞が樹立できるようになった。また、腫瘍化リスクの主要因であった c-Myc を使わず L-Myc を使うことで高率に安全な iPS 細胞が作れるようになった。この 2 つを組み合わせる事で臨床応用するための iPS 細胞の作製が可能になったことは事実であり、非常に大きなインパクトであったと考える。

iPS 細胞は様々な体細胞へ分化できる能力を持っているが、細胞株ごとに分化指向性があることが分かっていた。本研究により、iPS 細胞の元になる体細胞の種類、つまりドナーの違いによってできてきた iPS 細胞の分化指向性が規定されることが明らかとなった。この結果は、分化誘導法の未成熟さにも原因があることが分かり、改良を進める要因にもなった。また、ドナーの差=遺伝子の差、という観点から SNP の分化誘導に対する研究の推進にも影響を与えたと考えられる。

2. 特別推進研究の研究成果が他の研究者により活用された状況（続き）

(2) 論文引用状況（上位10報程度を記述してください。）

【研究期間中に発表した論文】

| No | 論文名・著者名・発行年・ページ数等 | 日本語による簡潔な内容紹介 | 引用数 |
|----|---|---|-------|
| 1 | Takahashi, K., Tanabe, K., Ohnuki, M., Narita, M., Ichisaka, T., Tomoda, K., and Yamanaka, S. Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. <i>CeIl</i> 131(5):861-872, 2007. | ヒト成人皮膚の繊維芽細胞にレトロウイルスを用いて Oct3/4, Sox2, Klf4 および c-Myc を導入することにより、ヒト iPS 細胞を誘導できることを実証した。 | 7,698 |
| 2 | Okita, K., Ichisaka, T., and Yamanaka, S. Generation of germline-competent induced pluripotent stem cells. <i>Nature</i> 448(7151):313-317, 2007. | Nanog 遺伝子発現による選別により、遺伝子発現および DNA メチル化パターンが ES 細胞に類似し、また、生殖系列にも分化可能な iPS 細胞の誘導に成功した。 | 2,386 |
| 3 | Nakagawa, M., Koyanagi, M., Tanabe, K., Takahashi, K., Ichisaka, T., Aoi, T., Okita, K., Mochiduki, Y., Takizawa, N., and Yamanaka, S. Generation of induced pluripotent stem cells without Myc from mouse and human fibroblasts. <i>Nat Biotechnol</i> 26(1):101-106, 2008. | iPS 細胞は、レトロウイルスを用いて Oct3/4, Sox2, Klf4 および c-Myc の4つの転写因子を導入することにより誘導されるが、c-Myc の再活性化は、腫瘍形成性を増加させる可能性がある。今回、c-Myc の導入を必要としない、ヒト成人繊維芽細胞からヒト iPS 細胞の樹立方法を確立した。 | 1,492 |
| 4 | Okita, K., Nakagawa, M., Hong, H., Ichisaka, T., and Yamanaka, S. Generation of mouse induced pluripotent stem cells without viral vectors. <i>Science</i> 322(5903): 949-953, 2008. | iPS 細胞は、マウスおよびヒトの体細胞に、Oct3/4 遺伝子と Sox2 遺伝子とともに、Klf4 遺伝子と c-Myc 遺伝子または Nanog 遺伝子と Lin28 遺伝子を組み合わせ、レトロウイルスあるいはレンチウイルスをベクターとして導入することで作製されているが、これらのベクターは宿主細胞のゲノムへウイルスゲノムを組み込むため、腫瘍発生の危険性がある。今回、ウイルスベクターを用いないマウス iPS 細胞の樹立方法を確立した。 | 1,116 |
| 5 | Hong, H., Takahashi, K., Ichisaka, T., Aoi, T., Kanagawa, O., Nakagawa, M., Okita, K., and Yamanaka, S. Suppression of induced pluripotent stem cell generation by the p53-p21 pathway. <i>Nature</i> 460(7259): 1132-1135, 2009. | iPS 細胞は、マウスあるいはヒト由来体細胞への Oct3/4, Sox2, Klf4 および c-Myc の導入によって誘導されるが、その樹立効率は低い。本論文では、p53 の抑制により、ヒト iPS 細胞樹立の効率が向上することを示した。 | 703 |
| 6 | Aoi, T., Yae, K., Nakagawa, M., Ichisaka, T., Okita, K., Takahashi, K., Chiba, T., and Yamanaka, S. Generation of pluripotent stem cells from adult mouse liver and stomach cells. <i>Science</i> 321(5889):699-702, 2008. | 成体マウスの肝細胞および胃上皮細胞から iPS 細胞を樹立した。遺伝学的手法を用いた細胞系列の追跡解析により、肝臓由来の iPS 細胞はアルブミン発現細胞に由来することが判明した。また、iPS 細胞は分化系列が決定している体細胞に対する直接的な初期化によって誘導され、特定の部位へのレトロウイルスの挿入は必要でないことが示唆された。 | 610 |
| 7 | Takahashi, K., Okita, K., Nakagawa, M., and Yamanaka, S. Induction of pluripotent stem cells from fibroblast cultures. <i>Nat Protoc</i> 2(12):3081-3089, 2007. | 4つの転写因子の導入による、iPS 細胞の樹立方法と Tips について述べる。 | 497 |
| 8 | Silva, J., Nichols, J., Theunissen, TW., Guo, G., van Oosten, AL., Barrandon, O., Wray, J., Yamanaka, S., Chambers, I., Smith, A. Nanog is the gateway to the pluripotent ground state. <i>CeIl</i> 138(4):722-737, 2009. | 多能性は、哺乳類の発達段階において、胚盤葉上層の形成を通じて獲得される。また、多能性は、体細胞の初期化によっても再獲得される。ホメオドメイン蛋白質である Nanog が胚性および人工多能性の双方を制御することを実証した。 | 487 |
| 9 | Okita, K., Matsumura, Y., Sato, Y., Okada, A., Morizane, A., Okamoto, S., Hong, H., Nakagawa, M., Tanabe, K., Tezuka, K., Shibata, T., Kunisada, T., Takahashi, M., Takahashi, J., Saji, H., and Yamanaka, S. A more efficient method to generate integration-free human iPS cells. <i>Nat Methods</i> 8(5): 409-412, 2011. | p53 の機能を抑制し、L-Myc を使用することにより、エピゾーマルベクターを用いたヒト iPS 細胞の作成方法を確立した。 | 473 |
| 10 | 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., and Yamanaka, S. Variation in the safety of induced pluripotent stem cell lines. <i>Nat Biotechnol</i> 27(8): 743-745, 2009. | マウス iPS 細胞を神経幹細胞に分化誘導しマウス脳内へ移植し腫瘍が形成されるか検討した結果、iPS 細胞を樹立する際に用いる元細胞の種類が重要であることを明らかにした。 | 461 |

【研究期間終了後に発表した論文】

| No | 論文名・著者名・発行年・ページ数等 | 日本語による簡潔な内容紹介 | 引用数 |
|----|--|---|-----|
| 1 | Yamanaka, S. Induced Pluripotent Stem Cells: Past, Present and Future. <i>Cell Stem Cell</i> 10(6): 678-684, 2012. | iPS 細胞技術の医療応用への影響および課題についての総説 | 263 |
| 2 | Kondo, T., et al. Modeling Alzheimer's disease using iPSCs reveals stress phenotypes associated with intracellular A β and differential drug responsiveness. <i>Cell Stem Cell</i> 12(4): 487-496, 2013. 185 | 家族性および孤発性 AD 患者から iPS 細胞を作成し、神経細胞に分化させた。その結果、アミロイド前駆タンパクの変異 (E693 Δ) を有する家族性 AD 患者および孤発性 AD 患者由来の神経細胞とアストロサイトにおいて、A β の重合体が蓄積しており、小胞体と酸化ストレスの関与が示唆された。患者特異的 iPS 細胞が、AD の病態解明および薬物の評価に有用であることが示唆された。 | 185 |
| 3 | Egawa, N., et al. Drug Screening for ALS Using Patient-Specific Induced Pluripotent Stem Cells. <i>Sci Transl Med.</i> 4(145): 145ra104, 2012. | 家族性 ALS 患者 (TDP DNA binding protein-43, TDP-43 の変異) 由来 iPS 細胞から運動ニューロンを分化誘導した結果、この運動ニューロンは、患者特有の表現型を示すことが明らかとなり、また、histone acetyltransferase inhibitor が ALS 患者由来運動ニューロンの病的な表現型を回復させることを見出した。 | 144 |
| 4 | Okano, H., Nakamura, M., Yoshida, K., Okada, Y., Tsuji, O., Nori, S., Ikeda, E., Yamanaka, S., and Miura, K. Steps toward safe cell therapy using induced pluripotent stem cells. <i>Circ Res.</i> 1:112(3):523-533, 2013. | iPS 細胞を用いた細胞療法の最近の進捗と今後の課題を述べた総説 | 139 |
| 5 | Okita, K., Yamakawa, T., Matsumura, Y., Sato, Y., Amano, N., Watanabe, A., Goshima, N., and Yamanaka, S. An Efficient Non-viral Method to Generate Integration-Free Human iPS Cells from Cord Blood and Peripheral Blood Cells. <i>Stem Cells</i> 31(3): 458-466, 2013. | CD34+臍帯血および健康人ドナー由来の末梢血から iPS 細胞を作成する、改変したプロトコルを確立した。この方法により、20 歳代から 60 歳代までの健康人ドナーからの血液由来 iPS 細胞の樹立が可能になった。 | 124 |
| 6 | Inoue, H., Nagata, N., Kurokawa, H., and Yamanaka, S. iPS cells: a game changer for future medicine. <i>The EMBO journal.</i> 33(5): 409-417, 2014. | 患者由来の iPS 細胞と分化させた細胞を用いた創薬および臨床試験に関する総説 | 122 |
| 7 | Ohnishi, K., Semi, K., Yamamoto, T., Shimizu, M., Tanaka, A., Mitsunaga, K., Okita, K., Osafune, K., Arioka, Y., Maeda, T., Soejima, H., Moriwaki, H., Yamanaka, S., Woltjen, K., and Yamada, Y. Premature Termination of Reprogramming In Vivo Leads to Cancer Development through Altered Epigenetic Regulation. <i>Cell</i> 156(4): 663-677, 2014. | マウスを用いて、doxycycline (Dox) により転写因子の発現を一時的に制御させるモデルを作成した。その結果、転写因子を一時的に発現させることにより、様々な組織において腫瘍が形成された。Dox 処置を中断した腎臓の腫瘍細胞から得られた iPS 細胞はマウスにおいて腎臓の細胞に腫瘍性を示さなかったことから、これらの細胞が非可逆的なゲノムの形質転換を受けていないことを証明した。iPS 細胞の誘導に関連する epigenomic な制御が、特定のガン種の発達を誘導していることが示唆される。 | 102 |
| 8 | Mae, S., Shono, A., Shiota, F., Yasuno, T., Kajiwara, M., Gotoda-Nishimura, N., Arai, S., Sato-Otubo, A., Toyoda, T., Takahashi, K., Nakayama, N., Cowan, C. A., Aoi, T., Ogawa, S., McMahon, A. P., Yamanaka, S., and Osafune, K. Monitoring and robust induction of nephrogenic intermediate mesoderm from human pluripotent stem cells. <i>Nature Communications</i> 4: 1367, 2013. | OSR1 陽性細胞を指標として、ヒト iPS 細胞から中間中胚葉を誘導する方法を確立した。 | 93 |
| 9 | Li, H.L., Fujimoto, N., Sasakawa, N., Shirai, S., Ohkame, T., Sakuma, T., Tanaka, M., Amano, N., Watanabe, A., Sakurai, H., Yamamoto, T., Yamanaka, S., and Hotta, A. Precise Correction of the Dystrophin Gene in Duchenne Muscular Dystrophy Patient Induced Pluripotent Stem Cells by TALEN and CRISPR-Cas9. <i>Stem Cell Reports</i> 4(1): 143-154, 2015. | Duchenne 型筋ジストロフィー (DMD) 患者由来 iPS 細胞を用いて原因遺伝子の編集と分化誘導を行った。結果より、プログラム可能なヌクレアーゼを用いることで、遺伝性疾患に対する iPS 細胞技術を基とした遺伝子治療の可能性が示唆された。 | 92 |
| 10 | Kajiwara, M., Aoi, T., Okita, K., Takahashi, R., Inoue, H., Takayama, N., Endo, H., Eto, K., Toguchida, J., Uemoto, S., and Yamanaka, S. Donor-dependent variations in hepatic differentiation from human-induced pluripotent stem cells. <i>Proc Natl Acad Sci U S A</i> 109(31):12538-12543, 2012. | iPS 細胞の分化能力はクローン間の差より、iPS 細胞の樹立の元となった細胞 (=ドナー) に依存することを明らかとした。 | 75 |

3. その他、効果・効用等の評価に関する情報

次の(1)、(2)の項目ごとに、該当する内容について具体的かつ明確に記述してください。

(1) 研究成果の社会への還元状況（社会への還元の程度、内容、実用化の有無は問いません。）

【臨床応用への繋がり】

本研究課題は基礎研究を重視した内容であったが、その先は iPS 細胞を臨床応用するためのものであった。細胞核初期化のメカニズム解明、初期化因子導入方法の検討、分化誘導法とドナーとの関係、などの基盤研究の成果が実り、iPS 細胞を使った移植手術がすでに行われている。今後も、基礎研究の底上げと臨床応用の両輪が噛み合うことで、より一層の応用が進むことが期待できると考えている。

【セミナーなどの開催による社会との繋がり】

iPS 細胞研究は医者、研究者だけでなく一般の方々の興味も非常に強い。それだけ期待されていることと感じている。本研究に関することおよび関連する事柄については随時セミナーを開催し一般の方々にも広く情報の共有を行ってきた。セミナーの開催には限りがあるためホームページ上での情報公開・発信を積極的に行ってきた。所内ラボツアーもそういったことの一環として定期的に開催してきた。

また、次世代の研究者を育てる意味で、小・中・高の生徒を対象としてセミナーや各種イベントを行い、iPS 細胞やサイエンスそのものに対する興味を持ってもらえるような活動を行ってきた。また、患者の方々やそのご家族に対しても誠意を持った対応を進めてきた。

セミナーを聞いていただいた方々から多くのご意見を頂戴し、これらを元に今後も社会に情報を迅速かつ正確に発信できるように努めていきたい。

【初期化因子導入ベクターの製品化】

元の細胞のゲノムを傷つけずに初期化因子を導入し iPS 細胞を作製することができるエピソーマルベクターは現在サーモフィッシャーより販売されている（製品名：Epi5™ Episomal iPSC Reprogramming Kit、製品番号：A15960）。

【創薬研究への流れ】

iPS 細胞技術は創薬研究の流れを変えるだけのポテンシャルがあると考えている。例えば、神経細胞における遺伝子疾患（遺伝子異常）を持った患者から iPS 細胞を作った場合、その iPS 細胞にも遺伝子異常が残っている。そして、その iPS 細胞から試験管内で作製した神経細胞も遺伝子異常を持っており、試験管内で患者の病態を再現することが可能である。これを病態モデルと呼ぶ。つまり、この iPS 細胞を使った病態モデルを活用することで新たな次元での創薬探索が可能となる。iPS 細胞はほぼ無限に増やすことが可能であることから、スクリーニングのスケールも増やすことができ、様々な薬、化合物、天然物などの試験が可能となる。これまでの動物実験での結果に比べて人体に対する影響をより正確に見られることが予想され、新薬開発に一石を投じる技術であると考えられる。

また、人体を使わずに毒性試験や副作用試験を行えることも iPS 細胞技術の利点である。このことは将来的な個別化医療の実現に大きな推進力になると考えている。

3. その他、効果・効用等の評価に関する情報（続き）

(2) 研究計画に関与した若手研究者の成長の状況（助教やポスドク等の研究終了後の動向を記述してください。）

| | | | | | | |
|-------|------|-----|---|----|------------------|-----------------------------|
| 研究終了時 | 京都大学 | 研究員 | → | 現在 | 神戸大学 | 助教 |
| 研究終了時 | 京都大学 | 助教 | → | 現在 | 京都大学 | 講師、准教授 |
| 研究終了時 | 京都大学 | 助教 | → | 現在 | 神戸大学 | 教授 |
| 研究終了時 | 京都大学 | 助教 | → | 現在 | 米国 Gladstone 研究所 | Staff Research Investigator |