

# 令和元年度農学部特別研究費研究経過報告書

1. 研究者名 岡村 大治
2. 研究課題名 コレステロール阻害剤による腫瘍形成細胞の除去技術の確立
3. 研究目的・内容

ヒト iPS 細胞の登場により基礎研究や再生医療のみならず創薬の分野でもかつてない進展が期待されている一方で、iPS 細胞を用いた細胞治療を行う際、残存する未分化細胞による「腫瘍形成」の問題が喫緊の課題として今なお残されている。解決のためには、未分化な iPS 細胞のみに特異的に細胞死を誘導し且つ目的の分化細胞には一切影響を与えない基盤技術の開発が必要とされ、我々は当該効果を有する化学物質の同定に成功し、現在その検証実験を行なっている。

## 4. 研究の経過

コレステロールは細胞にとって必要不可欠であり、細胞と外部環境との境界である細胞膜を構成する主要な脂質のひとつである。これまで多能性幹細胞以外のもう一つの無限増殖細胞である「がん」とコレステロールの関係が指摘されてきたが、その詳しいメカニズムは現在まで不明である。一方で近年、増殖に関わるシグナル蛋白質 Wnt に変異をもつ大腸がんにおいて、細胞膜内側のコレステロール濃度が高く維持されていること (Liu et al., *Nat Chem Biol.*, 2017)、またマウスにおいてコレステロール濃度を上昇させることで腸上皮幹細胞の細胞分裂を亢進させ腫瘍形成が促進された (Wang et al., *Cell Stem Cell*, 2018) など、コレステロール濃度とがんの増殖性の関係を示唆する報告も相次いでいたことから、我々は多能性幹細胞とコレステロール生合成に着目し、本研究提案に至った。

近年我々は、マウスやヒトの iPS 細胞を含むあらゆる多能性幹細胞においてコレステロールが細胞の生存において必須な代謝経路であり、コレステロール阻害剤の添加が 24～72 時間以内に全ての多能性幹細胞にアポトーシスによる細胞死を引き起こすことを見出している (以下未発表データ)。上記細胞死は培養液へのコレステロールの添加によってレスキューされることから、コレステロールの阻害が細胞死のトリガーとなっていることが確かめられた。興味深いことに上記阻害剤は、多能性幹細胞を培養する際にフィーダー細胞として用いる胚性線維芽細胞 (MEF 細胞) の生存には一切の影響を与えなかった。一方で、DNA 複製阻害剤 MMC 処理を行っていない増殖する MEF 細胞に対しては速やかに細胞死を誘導したことから (48 時間以内)、我々はここで示すコレステロール阻害剤が増殖能を有する多くの細胞に対してアポトーシスによる細胞死を引き起こすことを見出した。

iPS 細胞を用いた移植医療を行う上でもっとも重要な課題の一つが「腫瘍化の恐れのある未分化細胞を特異的に除去」することである。目的の細胞への変化(分化)が完了していない、いわゆる未分化細胞の残存は移植後の腫瘍化の原因となるため除去する必要がある。上記結果は、一般的な患者に対しても投与され十分にその毒性が検証されているコレステロール阻害剤が iPS 細胞を用いた移植医療を行う上での懸念材料である「腫瘍細胞の除去」に対して、非常に有効である可能性を示唆するものであり、移植医療の本来の目的である目的細胞 (分化細胞) への影響も含め、以下のような解析を行う計画である。

## 5. 本研究と関連した今後の研究計画

### 移植細胞における未分化細胞の特異的な除去効果の検証

iPS 細胞の試験管内における分化誘導時に必ず生じる「残存する未分化細胞」を、いかに効率良く且つ分化細胞に影響を与えない条件で除去できるかを旨し、同様の細胞死の誘導効果が既に認められた複数のコレステロール阻害剤によるスクリーニングや濃度・投薬のタイミングなどの検討を行う。未分化細胞の除去効果の検証は FACS 解析を用い、同時に分化細胞への細胞特性や生存・増殖などへの影響も確認する。また、コレステロール阻害剤の生体内への投薬による移植細胞・組織内における未分化細胞の腫瘍化抑制効果を検証するために、テラトーマ解析を行う。ヒト iPS 細胞を用いて免疫不全マウスにテラトーマを形成させる際、コレステロール阻害剤を腹腔内注射やマウスへの服用を通じて、腫瘍形成抑制効果を検証する。