

宇宙での再生医療

あ さ

山口県立厚狭高等学校生物部

I プロジェクトの目的

国際宇宙ステーションなど、宇宙での長期滞在が実現する中、事故や病気のために宇宙での手術が必要な事態が生じる可能性がある。宇宙で手術が行われた場合、傷口は正常に再生するのだろうか。再生に関して詳しく研究されているプラナリアを用いた再生実験を微小重力下で行い、宇宙での傷の回復に関する情報を収集する。

なお、再生医療に使用するための万能細胞（iPS）の作製に関しては、幾つかの課題が残されている。地上では困難な課題の解決に、宇宙の微小重力環境が利用できないか検証する。

II 関連分野の研究の現状

<微小重力条件下における細胞の分化>

弓削 類教授（広島大学）のグループは、三次元重力分散型模擬微小重力発生装置（3D-clinostat）を使用し、ヒト間葉系幹細胞（human mesenchymalstem cells）および正常ヒト骨芽細胞（normal human osteoblasts）を、通常の1G 環境下と模擬微小重力環境下で培養した。その結果、微小重力環境下で培養した細胞は、細胞表面マーカーだけでなく、mRNAレベルでも未分化状態を維持していることが示された。また、微小重力環境により、骨の分化が抑制されていることが示唆された^{1) 2)}。

<プラナリアの再生機構の解明>

阿形清和教授（京都大学）のグループは、幹細胞からどのようにして器官や体を構築していくのか、体の極性や、位置情報を作る仕組みを解き明かす研究に取り組まれている。再生に必要な位置情報をコントロールする遺伝子の一つとして、nou-darake（ndk）遺伝子を同定された³⁾。近年、再生医療が注目される中、再生現象解明のモデル生物として、プラナリアは注目されている⁴⁾

<iPS細胞（人工多能性幹細胞）の創出>

山中伸弥教授（京都大学）は、細胞を脱分化させる作用を持った4個の初期化因子を突き止め、分化した細胞を初期化することでiPS細胞（万能細胞）を作製された。しかし、初期化因子の組み込みにレトロウイルスベクターを使用するため、ガン化の危険性を否定できない。現在、レトロウイルスベクターを用いず、化学物質で初期化をする研究も進んでいる^{5) 6)}。

III プロジェクトの概要

<プロジェクト1 「きぼう」日本実験棟での、プラナリアの再生>

プラナリアは体長約2cmの扁形動物である。体を2分しても、2週間後にはそれぞれの断片から全身を再生するほど、極めて高い再生能力を有している。また、再生実験中は餌を与える必要が無く、スペースが限られる宇宙での実験動物として最適である。

実験方法

1. 自らの消化液によって溶けてしまわない様に、実験に用いるプラナリアは、切断する1週間前から絶食させる（地上で事前に絶食させておく）。「きぼう」へ運搬する。
2. メスを用いて2分する。体軸に対して横断する方向や縦断する方向などで切断する。

3. 切断後、プラナリアを水棲生物実験装置 (AQH) ⁷⁾ で飼育する (図1)。2週間程度で再生が完了する。装置に内蔵されているCCDカメラで再生の様子を撮影し、形態や行動を記録する。再生終了後は凍結保存して地上に持ち帰り、組織や器官を観察する。なお、ndk 遺伝子の発現についても調べる。実験結果より、微小重力条件下での再生現象について、地上と異なる点を検証する。

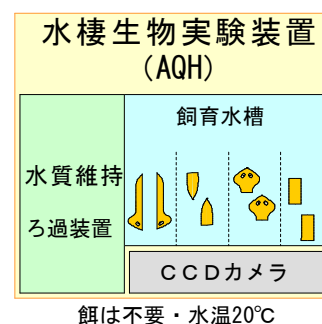


図1 プラナリアの飼育

予想される結果

1. 傷口で、背側と腹側の細胞が接触することで、再生のイベントが開始される。微小重力下では、表面張力の影響が大きくなり、背側と腹側の細胞の接触面が減少するだろう。これにより、再生が開始されない可能性が考えられる。
2. 幹細胞が傷口に移動して再生芽が形成されるが、微小重力下では、円滑に移動できない可能性がある。
3. 極性に従って再生されるが、微小重力下では極性が乱される可能性が危惧される。

実験結果の利用

微小重力条件下でプラナリアが正常に再生しない場合、宇宙でのケガや手術に対して、どのような対策を講じる必要があるか、検討するための情報として活用できる。また、先行研究の成果と併せて考察することで、再生現象の解明に役立つ情報を提供できることが期待される。

3D-クリノスタットを用いた模擬微小重力下におけるプラナリアの再生実験 (予備実験)

弓削 類 教授 (広島大学) の全面的な御協力により、模擬的に微小重力環境を創出することができる3D-クリノスタット (図2) を使用し、プラナリアの再生実験を行わせていただくことになった (2008年10月20日~27日に実施予定)。なお、阿形 清和 教授 (京都大学) からは、実験に使用するプラナリアを分譲していただいた。最終審査会では、実験結果についても報告させていただく予定である。

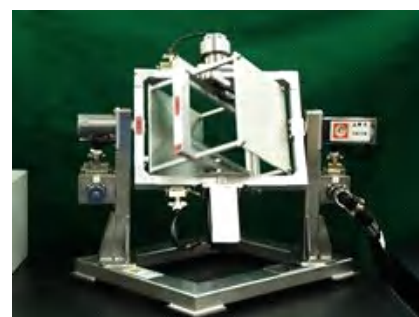


図2 3D-クリノスタット

<プロジェクト2 国際宇宙ステーション「きぼう」での、万能細胞 (iPS細胞) の作製>

模擬微小重力環境下で培養したヒト骨芽細胞は、骨の分化が抑制された²⁾。微小重力環境下では、細胞の分化が抑制されるだけでなく、分化した細胞が万能細胞に戻るための初期化も促進される可能性があるのではないだろうか。「きぼう」内で万能細胞の作製に取り組み、微小重力が細胞の初期化に与える影響について検証する。なお、ガン化のリスクを除去するため、レトロウイルスを用いず、化学物質による初期化の手法を選択する。

実験方法

1. シェン・ディン准教授 (米スクリプス研究所) らは、数万種類の化学物質の中から、体細胞にiPS細胞のような万能性を持たせることができる物質の検索に取り組まれている⁶⁾。これらの研究の成果を参考にして、分化した細胞をiPS細胞へ初期化する作用が強い化学物

質を選択する。

2. ヒト線維芽細胞、培地、初期化の候補物質を、凍結保存した状態で「きぼう」に運ぶ。「きぼう」のクリーンベンチ内でこれらを溶解して混合し、細胞培養装置（CBEF）⁸⁾で培養し、定期的に顕微鏡で細胞の形態を確認する。形態が線維状から粒状に変化すれば、iPS細胞に変化した可能性がある。

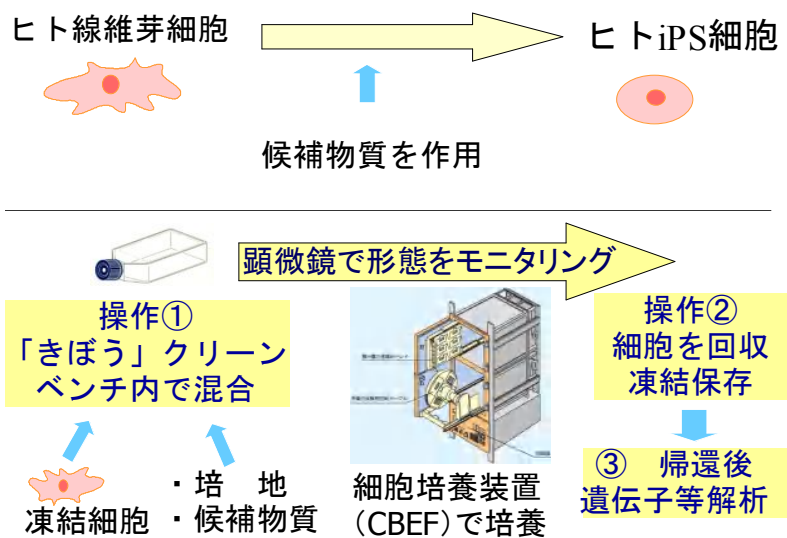


図3 微小重力条件下でのiPS細胞の作製

形態の変化が確認できれば、

細胞を凍結保存する（図3）。iPS細胞の誘導には、レトロウイルスを用いる場合、約1ヶ月を要する⁹⁾。このことから、実験期間は最短1ヶ月を想定している。その間、初期化を誘導する化学物質を含んだ培養液を、細胞培養装置（CBEF）にて自動的に送り込み、10日に1度の頻度で新しい容器にまき直す。まき直す操作は、クリーンベンチを使用する。

3. 帰還後、融解して培養し、iPS細胞になっているか調べる。

予想される結果とその利用

未分化な状態の細胞が分化する際、DNAのメチル化やクロマチン修飾が起こり、これらの領域の遺伝子は不活性化され、特定の領域の遺伝子のみが利用できる状態になる。遺伝子に対し、微小重力が、1G条件下と異なる作用をする機構としては、「メチル化やクロマチン修飾が起こった領域に作用する力学的なストレスの相違」、「遺伝情報の読み取り（転写）を調節するタンパク質の、DNAへの結合状態への作用の相違」、「細胞内における物質移動の停滞」などが考えられる。微小重力により、分化した細胞の初期化が促進され、地上では不可能だった「化学物質による初期化」が可能になることが期待される。もし、iPS細胞の作製が実現できれば、再生医療に使用するための安全な細胞が準備でき、臓器の再生など多くの分野で活用されるだろう。実験後の細胞を地上に持ち帰った後、発現遺伝子の解析も詳細に行い、分化や初期化に与える重力の影響について考察したい。

IV 社会的な効果

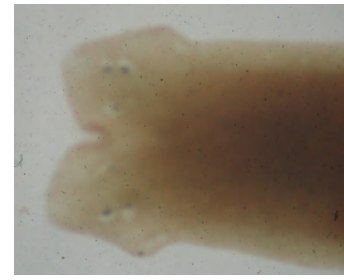
今回提案した宇宙実験により、再生医療に使用するための万能細胞の作製や再生現象に関する知見を得ることができれば、一般の人々にとって日常生活からかけ離れている印象を持たれがちな宇宙開発も、生活に役立つ身近な活動だと認識される機会になる。また、プラナリアは高等学校の授業で使用する資料集などにも記載されており、ユーモラスな形態の眼や、高い再生能力のためによく知られている。プラナリアを用いることで、先端医療や宇宙開発について興味を持っていただくきっかけとしても適した実験だと思われる。学校の近くの川で実際にプラナリアを捕獲して再生実験をしたところ、頭が2つあるプラナリアになった（写真①、②、③）。この実験だけでも、再生現象についてとても面白いと感じることができた。



写真① プラナリアの採集



写真② プラナリアの切断



写真③ 再生した2つの頭

V 実施に向けての準備

このプロジェクトは、2週間以上の期間を要することと、「きぼう」に設置が予定されている機器のみで実験が可能であることから、「きぼう」を利用して行う。なお、3D-クリノスタットなどの装置を利用して模擬的に微小重力条件を作り出すことで、地上実験を行うことはできる。しかし、地上実験で得られた結果が、宇宙実験の結果と完全に一致するとは限らない。真の微小重力環境下での実験を行うために、「きぼう」で実験を実施したいと考えている。

「きぼう」で行われる実験については、2012年度（第2期利用）までテーマの採択が終了しているため、プロジェクトの実施時期を2013年度とする。2013年度に向け、下記のスケジュールで準備に取り組む。

	2009年	2010年	2011年	2012年	2013年
実験の準備	初期化を誘導する候補物質の絞り込み	地上実験改善の検討		実験内容最終確認	宇宙実験
宇宙飛行士準備		実験操作手順の協議		実験操作の訓練	

VI 謝辞

阿形清和教授（京都大学）から、予備実験で使用するためのプラナリアを提供していただきました。弓削類教授（広島大学）、河原裕美先生（広島大学）には、3D-クリノスタットの使用について御支援をいただき、宇宙実験についても御指導下さいました。皆様に心から感謝申し上げます。

VII 参考文献

1. 日経BP社 産学連携事務局, 「スペース・バイオ・ラボラトリーズ、重力分散型模擬微小重力発生装置で幹細胞を受託培養」 <http://innovation.nikkeibp.co.jp/etb/20060307-00.html>
2. 弓削 類, 宇宙環境利用科学委員会HP, 「微小重力環境を利用した再生医療」 http://www.isas.jaxa.jp/home/riyoukagaku/wg/wg19/life/35.r_yuge.pdf
3. Cebria F *et al.*: FGFR-related gene *nou-darake* restricts brain tissues to the head region of planarians. *Nature* 419, 620-624 (2002)
4. 学振ニュース, 平成17年度科学研究費補助金「学術創成研究費」交付内容, http://www.jsps.go.jp/j-grantsinaid/06_jsps_info/g_050810/data/01_koufu_setsumei/agata_gaiyou.pdf
5. 水谷 仁 編集, ニュートン「万能細胞」, ニュートンプレス, 2008年6月
6. 読売新聞, http://www.yomiuri.co.jp/iryuu/news/iryuu_news/20080512-OYT8T00216.htm
7. 水棲生物実験装置 (AQH), <http://kibo.jaxa.jp/experiment/pm/aqh/>
8. 細胞培養装置 (CBEF), <http://kibo.jaxa.jp/experiment/pm/cbef/>
9. ヒトiPS細胞の樹立方法, http://www.icems.kyoto-u.ac.jp/cira/doc/hiPS_Protocol_080703a.pdf