

パソコン同好会

放送大学山口学習センターサークル

機関誌 No. 49

Oct. 21, '12.

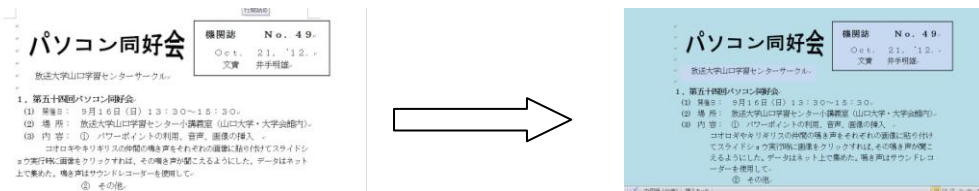
文責 井手明雄

1, 第五十四回パソコン同好会

- (1) 開催日： 9月16日(日) 13:30~15:30
- (2) 場所： 放送大学山口学習センター小講義室(山口大学・大学会館内)
- (3) 内容： ① パワーポイントの利用、音声、画像の挿入
コオロギやキリギリスの仲間の鳴き声をそれぞれの画像に貼り付け、スライドショー実行時に画像をクリックすると、その鳴き声が聞こえるようにした。データはネット上で集めた。鳴き声はサウンドレコーダーアプリを用いてデータ化した。
② その他

2, Q & A

Q: 文書の背面全体に着色や図形の挿入をするには ?



- A: ① 「ページレイアウト」タブの「ページの背景」グループ野中の「ページの色」を選択します。
- ② 「図のスタイル」グループの「図の効果」をクリックし、リストから適切な色を選択します。 図を挿入したいときは、「塗りつぶし効果」を選択し、適切な図形を選択します。

3, 第五十五回パソコン同好会

- (1) 開催日： 10月21日(日) 13:30~15:30
- (2) 場所： 放送大学山口学習センター小講義室(山口大学・大学会館内)
- (3) 内容： ① パワーポイントの利用、 山中伸弥博士のノーベル生理医学賞受賞を記念して。人工多能性幹細胞の理解
② その他

平成24年10月21日

文責： 井手明雄

パワーポイントを使った情報提供－7

スライドの作成演習 －6－

山中伸弥博士のノーベル生理・医学賞受賞祝して

人工多能性幹細胞について

1、概略

この度、山中伸弥博士がノーベル生理・医学賞を受賞されたことを記念して、その背景となった研究、「人工多能性幹細胞作出」についてのスライドを作り、理解しましょう。

話題はフォルダー「H24年10月例会資料」のなかに「iPS細胞」という文書に、これに関わる画像などをフォルダー「素材」の中によいしましたので、これを使って文末に示した「スライド作成例」を参考にして作成してください。

2、話題の内容

(1) プロログ

この文は一部文科省のiPS細胞ネットワークの話を参考にしました。そのアドレスは、次の通りです。

「<http://www.ips-network.mext.go.jp/about/story/no01.html>」

山中先生は、iPS細胞（induced pluripotent stem cell、人工多能性幹細胞）と呼ばれる、人の皮膚の細胞から、様々な種類の細胞に変化する能力を持った細胞を開発しました。これは、病に罹った細胞、組織、器官を再生によって健全なものに置き換えられるという道を示すもので、再生医療の道を拓くことになり、明るいニュースでもあります。をどのようにして作出するのか、また、問題点などを考えてみましょう。

(2) 植物では

同じ多細胞生物でも、植物は分化した葉や根などでも、多くの機能を発揮できますので、未分化する仕組みや、分化する仕組みがわからなくても、早くから成長調整剤（ホルモンという人がいますが、ホルモンの定義から適切でないのでここでは調整剤といわせていただきます）を使用して多能性幹細胞ができる

ことが、早くからわかっていますし、また、多能性幹細胞から、分化して組織に誘導する技術も進んでいます。私の研究から、その一例を、示しましょう。ヒトツバハギはコミカンソウ科の植物で、新しい型のアルカロイドを含んでいますが、毒性の少ないアルカロイドを作出する目的で、この植物のカルス化、組織培養、アルカロイド産生条件、遺伝子組み換えなど検討しました。(出展、Akio Ide et al.” Growth and Alkaloid Production Callus Culture Induced from *Securinega suffruticosa*”, *Phytochemistry*, Vol. 26, No 1, pp 145-148(1987)。カルス誘導最適条件は、MS 培地で 2,4D が $5 \times 10^{-6} M$, NAA が $5 \times 10^{-5} M$ 、至適 pH が 5.5 でした。カルス中、アルカロイドの至適生成条件は糖が 5%、10 週で最大になりました。成長調整剤は Kinetin が $10^{-7} M$ で、NAA が $10^{-5} M$ 、2,4D が $10^{-6} M$ でした。

このことは、動物と異なり、比較的簡単に操作ができるし、倫理的な問題は考慮しなくても良いということもあり研究に取り組めたと思います。

(3) 動物では

さて、i P S 細胞ですが、i P S 細胞が開発される前に、様々な種類の細胞、組織、器官に変化する能力を持つ E S 細胞 (Embryonic stem cell) が研究されてきました。E S 細胞は、もともとこれから細胞、組織、器官に分化して個体になる出発細胞ですから、当然と言えば当然です。問題点は、順調に成長すれば生命になるので、倫理的な問題が大きく立ちはだかります。

人は、一個の受精卵細胞から出発して、細胞数が増加し、270 種類の機能を持つ、60 兆個の細胞からなる多細胞生物です。細胞は多種類の機能を得る代わりにもとの能力を失うことになると考えられてきました。これを蘇らせた細胞が、i P S 細胞です。

273 分の 1 のプラナリア断片から 1 匹のプラナリアが再生したという報告が、現在でも最も細かい断片 から個体を再生した記録となっているようです。

また、両生類のイモリもその脚や尻尾、更には眼のレンズも再生が可能であることが知られています。それに比べて我々人類は手足を失えば二度と再生することはありません。その違いは何から生まれるのでしょうか。断片から体全体を再生できるプラナリアと、指一本再生できないヒト。この差のカギを握るのは「幹細胞」と呼ばれる細胞です。

プラナリアの体には、この幹細胞が体全体に散らばっていて、切断されると体中の幹細胞が筋肉や神経などを作る細胞になり、失った部分を再生します。

卵子と精子が合体し一つになった受精卵は全能性を持ち、全能性は分裂を重ねるうちに失われます。分裂が進むにつれて徐々に専門性を持つ細胞に分化し、最終的には 270 種類にも及ぶ細胞へと専門化するのです。この分化の過程で、体の場所ごとに異なる種類の幹細胞が作られます。例えば皮膚には皮膚の、腸

には腸の幹細胞があるのです。

ヒトでは全能性を持つ受精卵が分裂し、270 種類の様々な機能を持つ細胞に分化することで体の形や機能が形成されます。、受精卵が分裂して機能を持つ細胞に分化するにつれて、全能性が失われて行くことです。

DNA を安定化するヒストンというタンパク質が化学的に修飾され、およそ 2~3 万個といわれる 遺伝子のうち、活発に働く遺伝子の組み合わせが変わります。必要な遺伝子が働くなど、細胞ごとに活発に働く遺伝子が固定され、細胞は分化するのです。

(4) ドリーの誕生

ドリーが誕生したのは 1996 年。イギリス・ロスリン研究所の Ian Wilmut 博士を中心とした研究チームにより 1997 年に報告されました。

一度分化した細胞は、他の細胞に分化する"全能性"を失っているはずですが、B 羊の卵子から核を除き、その中に A 羊の乳腺細胞の核を挿入し胚の状態まで成長したものを C 羊の子宮に入れて育てたものです。A 羊が生まれました。細胞を卵子と融合させることで A 羊の乳腺細胞が全能性を 取り戻したのです。ドリーの誕生によって、ヒトの細胞を人為的に初期化し、失われた臓器を再生する最初の細胞として再生医療に役立てるというアイデアが、iPS 細胞の誕生に繋がっていきます。

(5) ES 細胞では

ES (Embryonic Stem) 細胞。日本語では胚性幹細胞と表します。胚とは受精卵が分裂、分化を繰り返して胎児と呼ばれる状態になるまでの間の細胞塊のことです。ES 細胞は、この胚の中から取り出した細胞のことです。

1981 年にマウスの胚から ES 細胞を発見したという報告があり、17 年後の 1998 年にヒトの ES 細胞が報告がされました。この細胞は胎盤を構成する細胞以外の細胞に分化できるということで、全能性ではなく多能性があることとなります。ES 細胞は胚を壊して取り出した細胞です。胚は子宮内で成長すれば胎児になり、赤ちゃんが産まれる可能性があります。つまり、生命の芽を摘んでしまうこととなります。

また、他人の細胞からできた細胞ですから、移植が拒絶されてしまう可能性があるのです。

(6) iPS 細胞では

iPS 細胞 (induced Pluripotent Stem Cell、人工多能性幹細胞) について。体細胞が、それになる以前の機能を持つようにするには、分化した細胞では働いていない遺伝子はどれかを調べる必要があるため、全遺伝子のデータベース (ヒトの遺伝子は 2 万 2 千個を超える) からリストアップする必要がありますが、膨大な数があり、実験数が多くなりますので、工夫された。

最初に行われたのは、独立行政法人理化学研究所が公開しているマウスの遺伝子公共データベースを活用し、データベース上でマウスの ES 細胞で働き、分化した細胞で働いていない遺伝子を抽出した結果、100 個程度までに候補を絞り込むことができたのです。更に 24 個に絞れた。どの遺伝子の組み合わせが最小限必要かを調べるには膨大な実験数になるので、考えた末、24 個の遺伝子から一つずつ抜いた 23 個の遺伝子を皮膚細胞に導入し、細胞が初期化されない場合は抜いた遺伝子が細胞の初期化に必須の遺伝子である可能性が高いという考え方により、遂に細胞の初期化に必要な、たった 4 個の遺伝子を特定することに成功。

その遺伝子とは、「Oct3/4」、「Sox2」、「Klf4」、「c-Myc」の 4 つで、ヤマナカファクター（山中因子）とも呼ばれています。

(7) iPS 細胞と ES 細胞との比較

他人の受精卵から取り出した ES 細胞を用いて作製した組織や臓器を患者に移植することになるため、拒絶反応や生命倫理の問題が高い障壁となり、ES 細胞研究は政治、宗教を巻き込んだ社会問題へと発展します。

iPS 細胞は受精卵を利用することがありません。また、初期化する細胞は患者自身の細胞に由来するため、iPS 細胞を元に作った臓器を患者に移植しても、免疫系はその臓器を自己と認識し移植が拒絶されることは少ない ES 細胞と iPS 細胞の研究は相互補完的に進められているのです。

iPS 細胞が抱える最大の懸案事項は、細胞が癌化してしまうことです。

c-Myc を除いた「Oct3/4」、「Sox2」、「Klf4」の 3 つの遺伝子を用いて成人皮膚細胞から iPS 細胞を作製できることが示された。

米国ウィスコンシン大学の James Thomson らのチームは、山中教授とは異なる組み合わせの遺伝子（Oct3/4、Sox2、Nanog、Lin28）を用いて c-Myc 遺伝子を使わない iPS 細胞を作製することに成功しています。

iPS 細胞の作製に必要な遺伝子を細胞内部に送り込む方法、即ち、遺伝子の運び屋として改造されたウイルスを総称してウイルスベクターと呼んでいます。ベクターとして利用されるウイルスにはいくつかの種類があり、代表的なものにレトロウイルス、アデノウイルス、レンチウイルスなどがあげられます。

しかし、これらは、病原性の影響の懸念があります。

2009 年 4 月 25 日、ついに米独の研究チームが「遺伝子を細胞に送らない iPS 細胞の作製法」を実現しました。その方法は、山中ファクターである 4 つの遺伝子から作製したタンパク質を直接マウスの細胞内に入れるというもの。4 つのタンパク質は細胞内に入ってから 48 時間後には自然に消滅するため癌化の心配も少ない。この新しい手法で作製された iPS 細胞は、タンパク質 (Protein) の頭文字をとり「piPS 細胞」と命名されました。

(8) 新薬開発への応用

新しい薬を開発するには、

- ①化合物を探索してその中から生理活性を示す物質を同定する
- ②薬物の効き目や毒性などを動物実験で検討する前臨床試験、
- ③ ヒトに投与して効果や安全性を試験する臨床試験（治験）。

3つのプロセスがあります。これには膨大な時間と経費がかかります。

10～20年かけて全ての試験をクリアした医薬品だけが市場で販売できるので、iPS細胞を利用することによってこのプロセスを効率化し、創薬力を向上させるというアプローチが始まっています。

2009年2月、東京医科歯科大学の安田賢二教授は、iPS細胞を使って新薬の候補となる物質が心臓へ与える副作用を正確かつ素早く検査する方法を開発したと発表しました。

造血幹細胞から輸血に必要な血液製剤を作り出して拒絶反応のない効果的な輸血方法を開発する試みや、網膜を再生して視覚機能を回復させる試みなどもあります。

鎌状赤血球貧血症は、赤血球にあるヘモグロビンと呼ばれる酸素を運ぶたんぱく質に異常が生じ、赤血球中の酸素の量が低下して赤血球が鎌のような形に変形する遺伝性の病気です。鎌状赤血球症は重度の貧血を引き起こし、腎臓、脳、骨、その他の臓器に損傷を与えることがあります。ところがJaenischらの研究グループは、iPS細胞を使って鎌状赤血球症のマウスを治療することに成功したのです。

iPS細胞を再生医療に応用するためには、まずはiPS細胞を体を構成するそれぞれの細胞に分化させる技術を開発する必要があります。

ヒトiPS細胞から血液を作る造血系細胞および血管内皮細胞を分化誘導したiPS細胞を用いて脊髄損傷で脚がまひしたマウスを歩けるまで回復させることにも成功した。

iPS細胞から血小板を作ることに成功しました

iPS細胞を成長させた細胞を肝臓に注入することによって血友病を治すことにマウスを使った実験で成功した。

ヒトiPS細胞から運動ニューロン（神経細胞）を分化誘導した論文がある。

マウスiPS細胞から樹状細胞およびマクロファージを分化誘導した。

マウスの心筋梗塞の病状を改善することに世界で初めて成功しました。

効率的にすい臓インスリン産生細胞を分化誘導した。

マウスのiPS細胞から肝細胞に含まれる「アルブミン」などのタンパク質をつくることに成功しました。

効率的にヒトES細胞およびヒトiPS細胞から様々な神経系細胞を分化誘導し

た。

まとめると、11種類の細胞・組織が研究対象にあげられています。

(1) 脳細胞などの「中枢神経系」、(2)「角膜」、(3) 角膜同様眼を構成している細胞の1つである「網膜色素上皮細胞」、(4) 眼の細胞の中でも光を受け取ってその情報を電気信号に変えて脳に伝える上で必要な「視細胞」、(5) 傷口をふさぐ時に活躍する「血小板」、(6) 体中に酸素を運ぶために必要な血液細胞の1つである「赤血球」、(7) 血小板、赤血球だけでなく白血球など血液に含まれる様々な細胞に分化する能力を持った「造血幹細胞」、(8)「心筋細胞」、(9)「骨・軟骨」、(10) 腕や足の筋肉を構成している「骨格筋」、(11) 肝臓細胞、血糖値を制御するために必要なインスリンを作る膵β細胞、腎臓細胞などに分化する能力を持つ「内胚葉系細胞」です。

3、スライド作成

(1) 印刷物から画像の切り抜き

スキャナーを用います。方法は、機種により多少異なりますが、ここではエプソンのスキャナーとアプリを用いた方法を挙げます。

① スキャナーに原稿を置き、アプリの「EPSON scan」を立ち上げます。



上左図の画面が出るので、原稿全体を写し取るのであれば「スキャン」を条件を付けや部分を写し取る時は、「オプション」をクリックします。

② 「オプション」を選択したときは、上右図の画面が出るので、様式を設定します。

(2) 原稿を音声に変換する

「サウンドレコーダー」を立ち上げると、パソコンの前でテキストを読み上げた音声を取り込めますので、それをファイルとして保存し、スライドに張り付けます。

デバイスが適正でないと、機能しませんので、そのときは、「通知領域」にあるスピーカーアイコンを右クリックし、画面から「録音デバイス」タグを選択し、「切断されているデバイス」に「レ」を入れます。

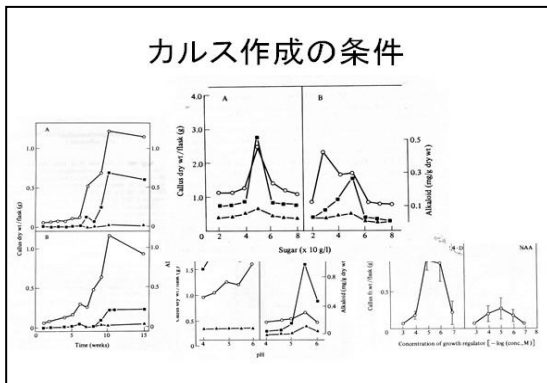
4、作成スライド例

スライド 1

iPS細胞
induced pluripotent stem cell
人工多能性幹細胞

山中伸弥京大教授の
ノーベル生理・医学賞受賞を記念して

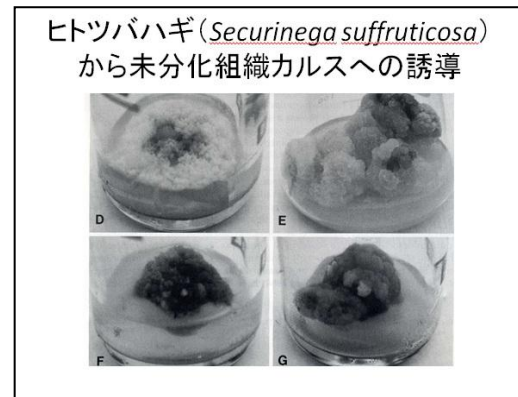
スライド 3



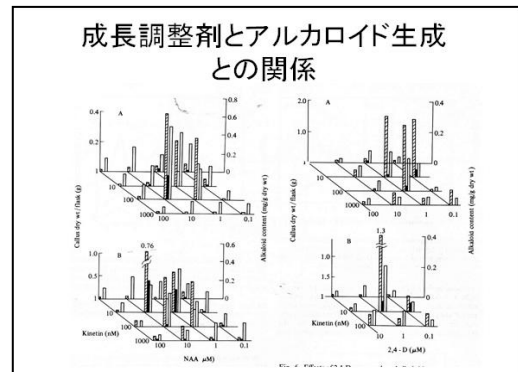
スライド 5



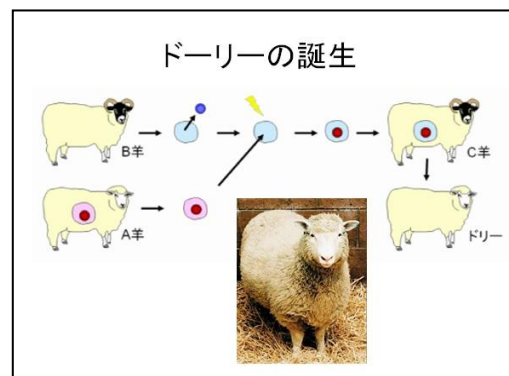
スライド 2



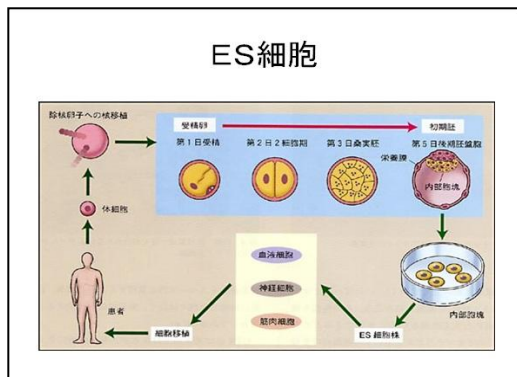
スライド 4



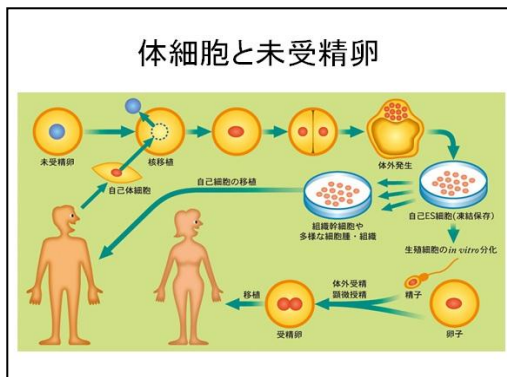
スライド 6



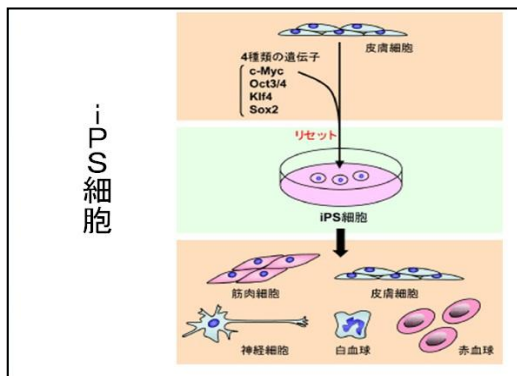
スライド 7



スライド 8



スライド 9



スライド 10

ES細胞とiPS細胞との比較

	メリット	デメリット
ES細胞	<ol style="list-style-type: none"> 多能性を持つ ほぼ無限に増殖可能 遺伝子の導入は不要 遺伝子から歴史が長く知見が蓄積されている 	<ol style="list-style-type: none"> 移植時に拒絶の可能性がある 胚利用による倫理的問題 胚の入手が不安定
iPS細胞	<ol style="list-style-type: none"> 多能性を持つ ほぼ無限に増殖可能 移植時に拒絶の可能性が低い 胚が必要ない 	<ol style="list-style-type: none"> 遺伝子の導入が必要で、がん化の可能性がある 初期化のメカニズム等が不明である
共通の課題	<ol style="list-style-type: none"> 多能性維持などのメカニズムが未解明 ほぼ無限に増殖するため、がん化の可能性がある 目的の細胞・組織に分化誘導する技術がまだ確立されていない 	

スライド 11

細胞の種類と特徴

細胞種	細胞の種類と特徴	
	ES細胞	iPS細胞
作成法	体中に存在する胚を凍って作成する	各種の細胞から作成できる
移植時の拒絶	自己細胞を利用すれば拒絶が少ない	自己細胞を利用するので拒絶が起きない
腫瘍化の恐れ	腫瘍化の可能性は低い	腫瘍化の可能性はある
その他	分化することに成功した細胞種はまだ少ない	分化させる技術はES細胞知見を利用した細胞種はまだ少ない
臨床試験について	既に世界中で臨床試験が進んでいる	臨床試験は行われていない

スライド 12

iPS細胞の医療への利用

(1) 脳細胞などの「中枢神経系」、(2)「角膜」、(3)角膜同様眼を構成している細胞の1つである「網膜色素上皮細胞」、(4)眼の細胞の中でも光を受け取ってその情報を電気信号に変えて脳に伝える上で必要な「視細胞」、(5)傷口をふさぐ時に活躍する「血小板」、(6)体中に酸素を運ぶために必要な血液細胞の1つである「赤血球」、(7)血小板、赤血球だけでなく白血球など血液に含まれる様々な細胞に分化する能力を持った「造血幹細胞」、(8)「心筋細胞」、(9)「骨・軟骨」、(10)腕や足の筋肉を構成している「骨格筋」、(11)肝臓細胞、血糖値を制御するために必要なインスリンを作る膵β細胞、腎臓細胞などに分化する能力を持つ「内胚葉系細胞」です。