

「特別講演 -2」

サル（カニクイザル、ニホンザル）ES細胞株の樹立とこれからの展開 鳥居 隆三（滋賀医科大学医学部附属動物実験施設）

数年前より発生工学的手法によるマカカ属サル類の計画的繁殖と実験動物化について検討を重ね、卵巣刺激法、採卵法、精子凍結保存法、体外受精法、顕微授精法等についてそれぞれの開発と確立を行ってきた。これらの技術を応用し、今回我々の研究グループ（近畿大学・生物理工学部、京都大学・再生医科学研究所、田辺製薬（株））は、カニクイザルとニホンザルにおいて Embryonic Stem (ES)細胞（胚性幹細胞）株の樹立に成功したので、その経緯と、これからの有用性について述べる。

（方法）GnRH を前投与後、eCG/hMG/FSH と hCG 投与による卵巣刺激を行った後、卵巣から腹腔鏡観察下で採取した成熟卵子と凍結保存・融解精子を用いて、体外受精および顕微授精を行った。受精を確認した後は、炭酸ガス培養器にて7～10日間培養を行い、胚盤胞期胚を得た。胚盤胞期胚は、プロナーゼ処理により透明体を除去した後、フィーダー細胞層上にて解離・培養を繰り返し、ES細胞の分離を行った。

（結果）得られたES様細胞について特性の検索と評価を行った。その結果、1）形態学的には核／細胞質比が大きく、扁平である、2）ALP 活性がある、3）正常な核型を維持している、4）細胞表面マーカーに特異的な染色性がある、5）SCID マウスにおいてテラトーマの形成がみられる、6）胚様体の形成がみられる、7）未分化状態で継代・維持が可能である、等の成績が得られた。

（今後の展開）ES細胞は、すべての細胞に分化する全能性を有する未分化細胞である。今後、神経細胞、インスリン分泌細胞、肝細胞等各種の細胞に分化・誘導を行うことが出来れば、臓器移植に変わる21世紀に向けた再生医療への応用が期待されている。とくに今回のサルES細胞は、ヒトES細胞では出来ないin vivo 実験が可能であることが極めて重要な点である。サルES細胞を実験動物学的にみれば、ヒツジやウシ、マウスで行われている体細胞を用いたクローン動物作出を可能とし、さらに遺伝子改変操作も容易に行えることからトランスジェニック個体を効率よく作出することも可能であるし、ノックアウト、ノックイン個体の作出も夢ではなくなる。とくにサルであることは、マウスよりも遙かに多く、かつ速やかにヒトへ外挿出来るデータが得られることも優位な点である。