

## ボストン留学記

八巻真理子

松本歯科大学 総合歯科医学研究所 硬組織疾患制御再建学部門

Memories of Boston

MARIKO YAMAKI

*Division of Hard Tissue Research, Institute for Oral Science, Matsumoto Dental University*

### はじめに

2007年6月9日から2007年9月6日の間、ハーバード大学・分子細胞生物学研究所のケビン・エガン准教授（以下ケビン）の下で研究を行った。ケビンは、ヒトES細胞による再生研究の大御所であるダグ・メルトン教授のもとで研究生活を送り、昨年、ハーバード大・分子細胞生物学研究所にラボを持ったバリバリの若手 principal investigator (PI) である。現在は「細胞の再プログラミング」と「ヒトALSの病態ES細胞の作製」を2大テーマに、6人のポスドクと4人の大学院生、2人の秘書、テクニシャンとともに精力的に研究を行っている。ケビン自身も、ラボ自体も若く、活気に満ちた研究環境であった。



ハーバードヤードにあるジョン・ハーバードの像

### ボストンの街

ご存知のように、ハーバード大学はアメリカ東海岸沿岸のボストン市にある。ボストンは人口約60万人のこじんまりしたきれいな街で、ハーバードやMITをはじめ、街中に大小120もの大学がある学園都市である。そのためか、人口の平均年齢が約25歳ということで、若者の町であった。ボストンはまた、イギリスからの移民が最初に住み着いた歴史があり、アメリカ独立戦争の引き金になった“ボストン茶会事件”が起こった街としても有名である。アメリカ人は「独立戦争」が大好きで、当時のままにボストン港に係留された“茶会事件の帆船”（本当？）やポール・リビア誕生



ブルデシヤルビルから眺めたボストン市街

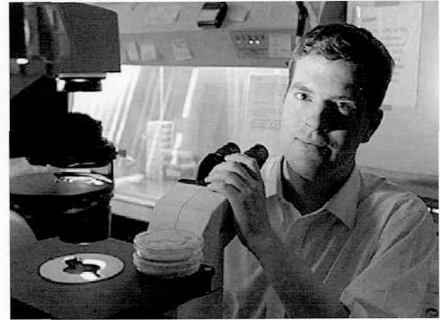
の家など、当時の名残は市内のあちらこちらに、誇らしげに残されている。現在では“アメリカ誕生の地”として、全米でも屈指の観光地となっている。日本では、「マツザカ」が移籍した米大リーグ・レッドソックスの本拠地としての方が有名かもしれないが…。

私がボストンに着いた6月初旬は、極寒の冬がようやく終わり短い夏が到来といったすがすがしい時期であるとともに、大学の卒業シーズンで、街中晴れやかなお祝いムードに溢れていた。アメリカでは「大学卒業」は家族にとって一大イベントで、子供の卒業に合わせて家族や親戚までがキャンパスにやってきて盛大にお祝いをするようである。どうみても普段着の短パン、Tシャツ、スニーカーに、ガウンを着け角帽をかぶりニコニコ顔の卒業生を囲んで、一族郎党がワイワイガヤガヤと電車に乗ってくる光景を何度か目にしたものである。そのせいで、この時期は街中のホテルがいっぱいになり、私も滞在予定のホテルが予約できずに四苦八苦しした。

ボストンは全米でも1～2位を争うぐらい物価が高い。特に宿泊施設は、数が少ないうえに値段が高く、川向こうの大学近くでもダウンタウンでも同じぐらいの値段であった。私は治安のよさと生活のし易さから、ボストンシンフォニーホール近くのダウンタウンの外れに宿を決め、ハーバード大まで地下鉄で通うことにした。

### 研究環境

ハーバード大は川向うのケンブリッジ地区にある。ラボはそのキャンパスの一番奥の分子細胞生物学研究所の4階にあった（ちなみに、1階には“スタバ”があって、コーヒーのいい香りが絶えない）。4階のフロアーはメルトン研とエガン研が分け合う形で使われており、装置はほとんどすべてが共通、2つある細胞培養室も10数人が時間単位で予約して使用するシステムであった。エガン研では、スイス、アイルランド、イタリアなどから集まった6人のボスドクと、数人のテクニシャンがそれぞれミニプロジェクトを作り、「ヒト細胞の再プログラミング」と「ヒトALSの病態ES細胞の作製」に分かれて、分野を担当して一丸となって研究を行っていた。大学院生は常時4～6人が出入りしていた。その他に、ラボに



ケビン・エガン准教授

は、実験に使用するすべての消耗品や試薬の管理、実験動物の購入などを扱う専門の秘書があり、絶えず培養室を廻っては不足品の補充をしてくれていた（日本では考えられない！）。また、研究者は、ほしい試薬や器具の情報を彼女に告げるだけで、事務を通さずに購入することができた。もちろん、高額な抗体などはボスのケビンの承認が必要だったが、研究に必要なものは基本的になんでも直ぐに手に入る環境であった。さらにこのフロアーには“キッチンレディー”と呼ばれる人たちがいて、使用した実験器具を回収して洗浄、滅菌してくれる。同じように、滅菌したい試薬も名前を書いて“キッチン”に置くと、翌日には滅菌されてあるというシステムがあって、非常に驚いた。研究者が雑用に煩わされない研究しやすい体制が、きちんと細分化されて整っているハーバードの状況を目の当たりにして、アメリカの科学を支える底辺の厚さを感じた。これで成果が出ないわけではない！

### 研究生活

#### ヒトES細胞培養

私はわずか3ヶ月間の短い滞在であり、研究できることには限りがあった。“気楽に観光でもして過ごせば良いですよ”との声もあったが、しかし、せっかくの機会である。無為、無駄には過ごしたくなかった。私の訪問とちょうど時期を同じくして、エガン研では、メルトン研と共同で新たなヒトES細胞の樹立を行っていた。“ES細胞”のcriteriaのひとつとして「テラトーマ形成能」が求められる。これは、私がこれまで研究してきた「ES細胞のテラトーマ形成能を抑制する方法」で培った技術が応用でき、かつ、エガン研にも貢献できる分野である。



Dieter

さっそくケビンと相談し、ヒト ES 細胞株の樹立をテーマとして共同研究することになった。ハーバード側の研究者はエガン研の Dr. Gieter Egli とメルトン研の Dr. Alice Chen である。2 人とも 30 代前半であるが、それぞれ Nature 誌に論文を発表している優秀な若手研究者である。彼らはすでに、ヒトの凍結受精卵から 10 数の ES 細胞を作り出していたが、テラトーマ形成能のチェックは未経験で行っていなかった。そのため、私がそこを埋める形で協力することになったわけである。

7 月はじめに Gieter から 3 種類のヒト ES 細胞を受け取り、はじめてのヒト ES 細胞 (hES) の培養を開始した。hES はマウスと比べて増殖が遅く、コロニーも大型で平べったい。約 1 週間ですらうやく 10cmφ ディッシュが confluent になるような状態である。分化もしやすく、やっ



ALP (赤)

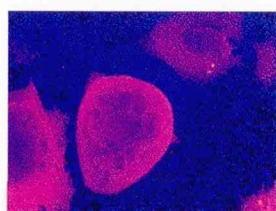
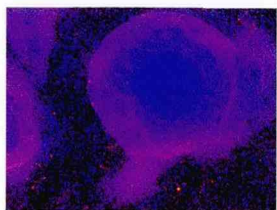
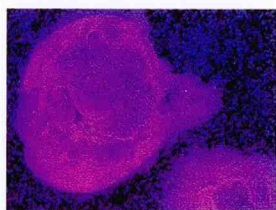
Oct 4  
(青; 核, 赤; Oct 4)Nanog  
(青; 核, 赤; Nanog)Sox 2  
(青; 核, 赤; Sox 2)

図: ヒト ES 細胞コロニーの未分化マーカー染色

てきたコロニーが、何かのきっかけでたちまち分化してしまうことも経験した。

しかし 2 週間ほどで培養技術が安定し、順調に、かつ、分化させることなく増殖させることができるようになったため、さらに 4 種類の hES を渡され、合計 7 種類の hES の「これ全部のテラトーマ形成能を見てくれ」ということになった。

また、並行して樹立しているウサギ ES 細胞も、同様にテラトーマ形成能を検討しようということになり、私は細胞の世話で土日にも休むことなく、ラボに通い詰めることになった。

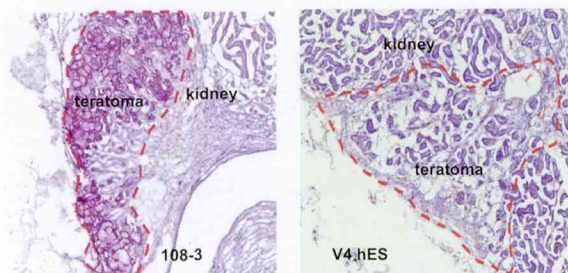
つぎは、いよいよ移植に向けて ES 細胞を増やし細胞数を確保する段階である。細胞によってはなかなか増えてこず、分化と未分化の微妙なところに停滞してしまうものもあって、“未分化を維持しつつの細胞数確保は難しい!!” というのが私の感想であった。予備実験の結果、hES はマウス ES に比べて、テラトーマ形成に多くの未分化細胞が必要であることが分かった。さらに、hES は、細胞回収に用いるトリプシンやコラゲナーゼ処理でダメージを受けやすい。そのため、“いかに多くの未分化な ES 細胞を、活性化した状態で増やすことが出来るか” がテラトーマ形成実験のカギであった。

### Teratoma 形成

ハーバード大の動物実験舎はラボのあるビルのすぐ隣にあり、数十億ドルの費用をかけて最新の設備を導入した新しい施設である。専門のスタッフが厳重に維持管理しており、出入りの許可を申請してから 2 ~ 3 週間後に 1 日の講習を受けて、ようやく動物舎内で実験ができる。動物実験のプロトコルも細かな項目までしっかり決められており、いかに実験動物の苦痛を軽くするかに重点が置かれていた。手術後の動物が麻酔から完全に覚醒し、動き出すまで、実験者はその場を離れることが出来ないなどはその例である。

テラトーマの形成は、マウス ES 細胞の約 1 万倍の hES ( $1 \times 10^6$  個) を 1 つのマウス腎臓皮膜下に移植する方法で行った。7 種類のうち 2 種類の hES に、マクロで腎臓にテラトーマを確認することができた。ラボにはパラフィン包埋や組織染色の設備がなく、これらの試料は採取後すぐに凍





図：ヒト ES 細胞の移植によりテラトーマを形成したマウス腎臓の HE 染色像（2 例）

結包埋してクリオスタットで薄切し、HE 染色を行った（以下の図）。それ以外の組織学的な検討は、試料を郵送してもらい日本で行うことにし、9 月初旬に帰国した。テラトーマを形成した試料は、帰国後、抗ヒト抗体を使って免疫染色を行った。その結果、2 例ともテラトーマが hES 由来であり、かつ、3 胚葉に分化した細胞を含んでいることが確認できたため、Dieter, Alice とともに論文を準備中である (*Nature Biotech.*)。

#### おわりに

ラボでは週 1 回定期的に、木曜日の午後 2 時か

ら約 2 時間のミーティングがあり、ピザやサンドイッチ、ケーキなどを食べながら活発なディスカッションが行われていた。この他に、メルトン研や他のラボとのジョイントミーティングや大学院生が行う論文紹介などもあり、週 3～4 回は参加自由なミーティングが開かれていた。こうした会にはテクニシャンや秘書も参加し、自分は分からないけどと言いながら、鋭い質問をしたりするのが印象的であった。勉強する姿勢は日本でもアメリカでも変わらないが、会の雰囲気やボスとの対話など、アメリカはまったく開けっぴろげで楽しかった。3 ヶ月の短い滞在であったが、ラボのメンバーの「また来年の夏、来てね」、「来年会えるのを楽しみにしているよ」との言葉を背に、来年はもっと実りある研究をするぞ〜と決意を新たに帰国した。

最後に、留学のグラントを快く出してくださった小澤先生、ICORP 浅島先生（東京大学）に深く感謝するとともに、さまざまに支援をしてくれた本学の研究所の方々、事務の方々、ICORP の方々に厚くお礼を申し上げます。