



平成 29 年 12 月 4 日
横浜市立大学
日本医療研究開発機構
株式会社ヘリオス
株式会社クラレ
味の素株式会社
株式会社ニコン
カールツァイスマイクロスコーピー
株式会社



取扱注意		
解禁	テレビ・ラジオ・ 通信社・インターネット 新聞	日本時間 12月6日(水) 午前2時以降
		日本時間 12月6日(水) 朝刊

ヒト iPS 細胞からミニ肝臓の大量製造に成功 — 再生医療への応用を大幅に加速 —

～ 『Cell Reports』 に掲載 (米国東部時間 12 月 5 日正午付 : 日本時間 12 月 6 日午前 2 時付オンライン) ～

横浜市立大学 学術院医学群 臓器再生医学 武部貴則准教授、谷口英樹教授らの研究グループは、複数の企業との産学連携体制のもと、iPS 細胞からヒトのミニ肝臓 (iPSC 肝芽) を、大量製造する手法の開発に成功しました。京都大学 iPS 細胞研究所・山中伸弥教授らの樹立した、日本人への免疫適合性の高い HLA 型をもつ HLA ホモドナー iPS 細胞 (研究用) から、ミニ肝臓作製に必要な 3 種類の全ての細胞および小型化したミニ肝臓を、高い品質を担保して製造することが可能となりました。

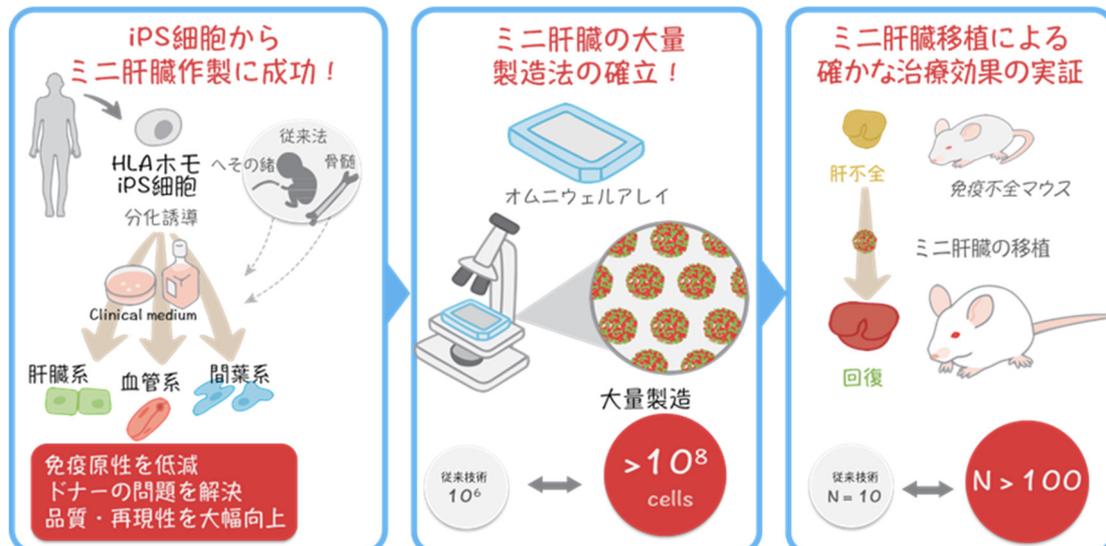
さらに、大量製造されたミニ肝臓は、移植により、重篤な肝疾患を発症する免疫不全マウスの生存を大幅に改善することを実証しました。

本研究は、国立研究開発法人日本医療研究開発機構 (AMED) 「再生医療実現拠点ネットワークプログラム」、国立研究開発法人科学技術振興機構 (JST) 「戦略的創造研究推進事業」、文部科学省「科学研究費補助金 (若手研究 A)」の支援を受けて行われ、横浜市立大学拠点 (再生医療実現拠点 NW プログラム 疾患・組織別実用化研究拠点 (拠点 B)) が推進する「肝疾患に対する再生医療の開発」を促進することが期待されます。

研究成果のポイント

- HLA ホモドナー iPS 細胞 (研究用) からミニ肝臓作製に必要な 3 種類の全ての細胞の作製に成功。
- 特殊な培養プレートの開発により小型化した良質なミニ肝臓を大量製造。
- 従来よりも 100 倍以上のスケールアップが可能に！

本研究の 3 つのポイント



研究の背景

現在、末期臓器不全症に対しては、臓器移植による臓器置換が有効な治療法として実施されていますが、年々増大する臓器移植のニーズに対し、ドナー臓器の供給は絶対的に不足しており、年間数千～万人の方が肝臓移植を待つ間にお亡くなりになっているという深刻な現状があります。したがって、臓器移植に代わる治療法として、新たな再生医療技術を開発していくことは、多くの患者救済のために必須です。

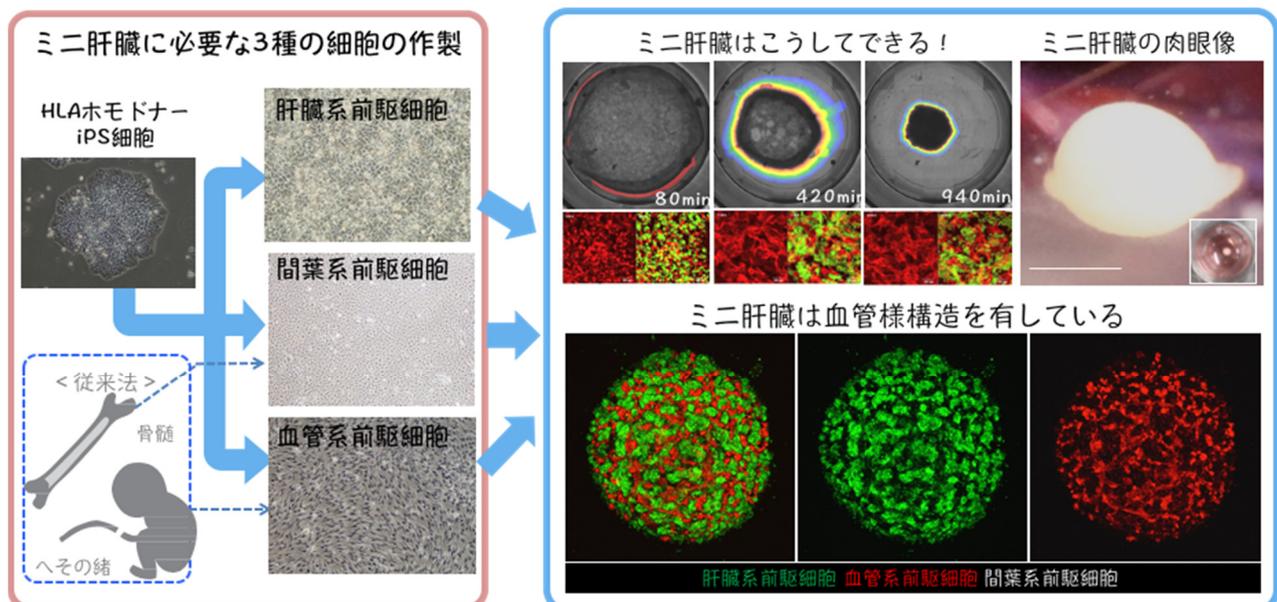
これまでに横浜市大の研究グループは、ヒト iPS 細胞を用いて異なった 3 種類の細胞から血管網を有した肝臓の原基（ミニ肝臓）を創出する画期的な基盤技術を確立してきました（Nature, 2013; Nature, 2017）。一方、本技術を用いた再生医療を実現するためには、すべての細胞材料を iPS 細胞から調製する必要があること、大量のミニ肝臓の一次的製造を実現すること、高い品質・均質性を担保する手法を確立すること、肝疾患動物モデルを用いて高い治療有効性を実証することなど、さまざまな課題を克服していく必要がありました。

本研究では、複数の企業との産学連携研究体制のもと、iPS 細胞からヒトのミニ肝臓を大量製造する手法の開発に成功しました。京都大学 iPS 細胞研究所が樹立した免疫原性の低い HLA ホモドナー iPS 細胞（研究用）から、ミニ肝臓作製に必要な 3 種類の全ての細胞および、小型化したミニ肝臓の高い品質を担保して製造することが可能となりました。さらに、大量製造されたミニ肝臓は移植により、重篤な肝疾患を発症する免疫不全マウスの生存を大幅に改善することを実証しました。

研究の内容

従来の手法では、ヒトのミニ肝臓の作製に必要な血管系前駆細胞や間葉系前駆細胞は、分娩時に得られる臍帯および骨髄より分離することが必要でした。しかし、今後の製造工程の標準化や拡張性という観点を考慮すると、全ての細胞材料（現時点では 3 種類）をヒト iPS 細胞（iPSC）から分化誘導して使用することが最も望ましいと考えられます。そこで、京都大学 iPS 細胞研究所が樹立した、日本人への免疫適合性の高い HLA 型をもつ、HLA ホモドナーに由来するヒト iPS 細胞（研究用）からの誘導方法を検討し、肝臓系前駆細胞に加えて、血管系前駆細胞および間葉系前駆細胞を作製する最適な手法を確立しました（図 1 左）。各細胞に特徴的なマーカー発現等を用いて得られた細胞を評価したところ、高い効率で分化誘導が可能であることが確認され、さらに、得られた細胞からヒトミニ肝臓の作製を試みたところ、三次元的なヒトのミニ肝臓（All-iPSC ミニ肝臓）の作製が可能であることが確認されました（図 1 右）。興味深いことに、従来のヒト臍帯由来血管系細胞および間葉系前駆細胞を用いて作製した場合と比べて、高い機能を安定的に示すことが示されました。

図 1. All-iPSC ミニ肝臓作製法の確立



次に、大量製造工程の確立を目指し、ミニ肝臓 2×10^4 個（肝細胞 1×10^8 個相当）の一次的製造を目標に、株式会社クラレと連携し、新規の培養基材の開発を行い、微小サイズ（直径 $100\text{-}200\mu\text{m}$ 程度）のミニ肝臓を、均質性を担保して大量に創出するため、表面微細加工技術を用いたマイクロウェルパターンが展開された特殊な培養プレートを開発しました（図 2 左）。

さらに、マイクロウェルにおける形状（辺縁部の傾斜度・深さなど）、3種の細胞の分化段階、細胞材料の調製・播種方法、細胞混合比率・量などを詳細に検討し、高品質なミニ肝臓を一括創出および、一斉回収することを実現する培養操作技術を開発することに成功しました（図 2 右）。

これらのミニ肝臓は、免疫不全マウス体内へ移植した結果、移植後数日で血管化された肝組織を再構成し（図 3 左）、ヒトアルブミン分泌や薬剤代謝機能などのヒト肝臓に特徴的な機能を発揮することを見出しました。さらに、亜急性肝不全をきたすモデルマウスへ大量のミニ肝臓を移植したところ、製造バッチにかかわらず高い精度で治療効果を示すことが明らかとなりました（図 3 右）。

図 2. ミニ肝臓の一次的大量製造

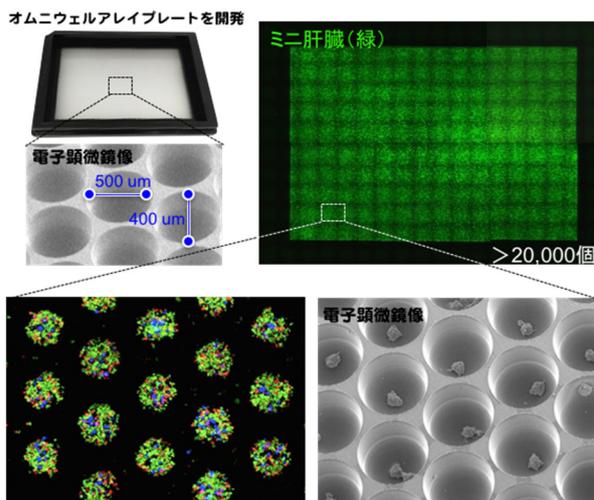
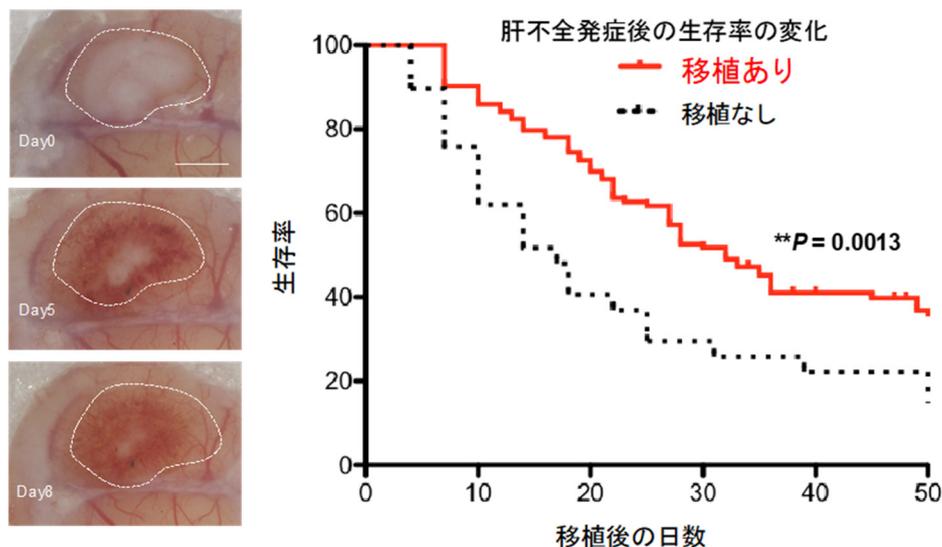


図 3. 重篤な肝不全マウスモデルに対するミニ肝臓移植の治療効果



今後の展開

現在、横浜市立大学では iPS 細胞由来のヒトミニ肝臓移植の安全性評価を目的とした臨床研究を目指して、iPS 細胞を用いたヒト肝芽の大量製造工程の構築、GCTP (Good Cell and Tissue manufacturing Practice) プロトコールの作製、対象疾患のモデル動物の樹立などを推進しています。今回の研究で、現状で最も困難な解決課題であった $1 \times 10^8\text{-}10^9$ 個の細胞数に相当する「大量」のヒトミニ肝臓を「適切な製造コスト」で「均質性を担保」して製造することが可能であることが示されました。全世界における肝移植の待機患者数が少なく見積もっても年間 2 万人超という現状を考慮すると、我々の開発技術に基づく肝疾患に対する再生医療が実現化できれば、多くの患者を救済することの可能な革新的な医療技術となるとともに、大きな経済的効果をもたらすことの可能なライフサイエンス産業におけるイノベーション創出が期待されます。

※本研究は、『Cell Reports』に掲載されます。(米国東部時間 12 月 5 日正午付：日本時間 12 月 6 日午前 2 時付オンライン)

掲載論文

Massive and Reproducible Production of Liver Buds Entirely from Human Pluripotent Stem Cells

Takanori Takebe, Keisuke Sekine, Masaki Kimura, Emi Yoshizawa, Satoru Ayano, Masaru Koido, Shizuka Funayama, Noriko Nakanishi, Tomoko Hisai, Tatsuya Kobayashi, Toshiharu Kasai, Rina Kitada, Akira Mori, Hiroaki Ayabe, Yoko Ejiri, Naoki Amimoto, Yosuke Yamazaki, Shimpei Ogawa, Momotaro Ishikawa, Yasujiro Kiyota, Yasuhiko Sato, Kohei Nozawa, Satoshi Okamoto, Yasuharu Ueno, and Hideki Taniguchi

Cell Reports (2017), <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2017.11.005>

連携先企業

株式会社ヘリオス
株式会社クラレ
味の素株式会社
株式会社ニコン
カールツァイスマイクروسコピー株式会社

<お問い合わせ先>



(本資料の内容に関するお問い合わせ)

公立大学法人横浜市立大学 学術院医学群 臓器再生医学
武部 貴則、谷口 英樹

TEL&FAX : 045-787-8963

E-mail : ttakebe@yokohama-cu.ac.jp

rtanigu@yokohama-cu.ac.jp

(取材対応窓口、詳細の資料請求など)

公立大学法人横浜市立大学 研究企画・産学連携推進課長 渡邊 誠

TEL : 045-787-2510 FAX : 045-787-2509

E-mail : sentan@yokohama-cu.ac.jp



(AMED の事業について)

国立研究開発法人 日本医療研究開発機構 戦略推進部 再生医療研究課

TEL : 03-6870-2220 Fax : 03-6870-2242

E-mail : saisei-ML@amed.go.jp

URL : <http://www.amed.go.jp/>