

令和元年6月10日現在

機関番号：32620

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2016～2018

課題番号：16K15538

研究課題名(和文)肝不全モデルに対するヒトES細胞製剤を用いた胎児治療戦略の創生

研究課題名(英文)Development of fetal treatment strategy using human ES cell preparation for liver failure model

研究代表者

大石 芳江(Oishi, Yoshie)

順天堂大学・革新的医療技術開発研究センター・特任研究員

研究者番号：90648130

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,600,000円

研究成果の概要(和文)：本研究により、肝細胞の機能維持培養、保存法を開発することにより、様々な肝疾患に対する移植細胞の保存や、基礎研究の材料としての機能維持肝細胞の確立に一石を投じることができた。臨床応用に向けた安定性の高い、安全なヒト多能性幹細胞由来肝細胞様細胞の新しい分化誘導系を構築し、機能的な肝細胞が分化誘導可能になれば、in vitro毒性評価系の開発成果として実用性・汎用性の高い毒性評価系を構築できた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本プロジェクトで得られた分化誘導技術、モデル細胞を用いたスクリーニング系、スクリーニングで得られた薬物毒性データベースなどの研究成果により、医薬品開発段階における大幅な開発効率の向上が見込まれる。モデル細胞を用いた毒性安全性試験を行うことで、「種差の壁」の限界を有する動物実験に代わる評価システムが構築され、医薬品開発の早いステージで候補薬を正確に絞り込むことができる。医薬品の開発に関する時間およびコスト低減のために最も有効な方法である。

研究成果の概要(英文)：Through this research, by developing a function maintenance culture and preservation method of hepatocytes, we were able to put a stone in the preservation of transplanted cells for various liver diseases and the establishment of function maintenance hepatocytes as a material for basic research. We will construct a new differentiation induction system for highly stable and safe human pluripotent stem cell-derived hepatocyte-like cells for clinical application, and if differentiation of functional hepatocytes becomes possible, we will As a result of development, a highly practical and versatile toxicity evaluation system has been constructed.

研究分野：幹細胞生物学

キーワード：幹細胞 ES細胞 肝細胞 分化誘導

1. 研究開始当初の背景

現在、ヒト細胞加工医薬品を用いた臨床試験、臨床研究に向けた取り組みが世界中で行われている。その中で、アメリカ合衆国の Geron 社、ACT 社による報告が注目を集めている。特に ACT 社の場合は、ES 細胞を用いた初めての臨床研究となり、その特性解析手法や臨床データが今後の細胞加工医薬品研究に大きな一石を投じたことになる (Lancet, 2014)。また、理化学研究所において、加齢黄斑変性を対象としたヒト iPS 細胞の臨床研究がスタートし、ヒト細胞加工医薬品の開発研究はますます加速すると予想される。このような世界的な状況の中で我々は、in vitro によりヒト多能性幹細胞から先天性アンモニア血症に対する細胞治療に使用可能な安定的で安全な肝細胞への分化誘導技術を確立する。臨床応用に向けて、安定性、安全性の高い、簡便な分化誘導系が必要である。最小限の試薬や基材を用いて自然発生的な肝細胞の分化誘導系の開発に挑戦する。in vitro および in vivo の併用により、高アンモニア血症の治療に適しているヒト多能性幹細胞を確立する。さらに、未だに確立されていない機能的肝細胞凍結法開発を目指す。先天性アンモニア血症に対する細胞治療に使用可能な、アンモニア代謝酵素を発現し、実際にアンモニア代謝能を持つヒト多能性幹細胞由来肝細胞様細胞の分化誘導系、機能維持培養法、機能維持保存法が構築され、高アンモニア血症モデルマウス、アンモニア代謝酵素欠損ウサギなどへの移植により、アンモニア代謝能が回復することを目指す。さらには安全性の検討を行い、オーファンドラッグとしての臨床応用へ向けて、研究実績を蓄積する。また、肝細胞は凍結保存することにより、肝細胞としての機能を消失し、生存率も低下することが知られている。肝細胞の機能維持培養法、機能維持凍結保存法の開発は様々な分野で望まれている。本研究で開発される肝細胞保存法は、細胞生物学の分野にも、創薬研究の分野にも非常に有益な情報をもたらすものとなる。

2. 研究の目的

アンモニア代謝能を持つ多能性細胞由来肝細胞について、機能維持培養、保存系を確立する。本研究ではエンドポイントにおける有効性を鑑みた上で、原材料及び製造関連物質、製造工程、加工した細胞の特性解析、最終製品の形態・包装、製造方法の恒常性及び妥当性、製造方法の変更、製造施設・設備の概要、感染性物質の安全性評価、最終製品の品質管理法、試験方法のバリデーション、規格及び試験方法の妥当性、試験に用いた検体の分析結果、細胞・組織加工医薬品の非臨床安全性試験、細胞・組織加工医薬品等の効力又は性能を裏付ける試験、細胞・組織加工医薬品等の体内動態、臨床試験に関して詳細に検討し、細胞医療の安全性及び有効性に関するデータの蓄積と周辺基盤技術を構築する。

3. 研究の方法

(1) ヒト ES 細胞から肝細胞への分化誘導を制御する基盤技術の開発

ヒト ES 細胞を用いて、無血清条件下で液性因子を添加することにより肝細胞への安定した分化誘導方法を開発した。分化誘導した肝細胞について、網羅的遺伝子発現解析と機能アッセイにより、肝臓細胞としての成熟度の評価を行い、それを基に分化制御の分子機序を解明し、分化誘導した肝臓の更なる成熟化を図った。

(2) ES 細胞の基盤技術を応用したヒト iPS 細胞から成熟肝細胞分化を促進する遺伝子発現制御技術の開発

肝幹細胞が薬物代謝活性および薬剤応答性を有する肝細胞へと分化可能であるという結果を得た。既に開発済みの分化誘導技術に加え、三次元培養技術を駆使してヒト ES 細胞 内胚葉系細胞 肝幹細胞 成熟肝細胞の分化過程における遺伝子発現変化を網羅的に解析した。

4. 研究成果

本研究により、肝細胞の機能維持培養、保存法を開発することにより、様々な肝疾患に対する移植細胞の保存や、基礎研究の材料としての機能維持肝細胞の確立に一石を投じることができた。臨床応用に向けた安定性の高い、安全なヒト多能性幹細胞由来肝細胞様細胞の新しい分化誘導系を構築し、機能的な肝細胞が分化誘導可能になれば、in vitro 毒性評価系の開発成果として実用性・汎用性の高い新規毒性評価系が構築され、将来はそれを基に医薬品医療機器等法の新薬承認審査に反映させる毒性ガイドライン作成及び世界の主要な新薬開発国が参加する ICH のグローバル・スタンダードへ発展にも貢献することが可能となった。本プロジェクトで得られる分化誘導技術、モデル細胞を用いたスクリーニング系、スクリーニングで得られた薬物毒性データベースなどの研究成果により、医薬品開発段階における大幅な開発効率の向上が期待される。モデル細胞を用いた毒性安全性試験を行うことで、「種差の壁」の限界を有する動物実験に代わる評価システムが構築され、医薬品開発の早いステージで候補薬を正確に絞り込むことができる。医薬品の開発に関する時間およびコスト低減のために最も有効な方法である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計0件)

〔学会発表〕(計0件)

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

〔その他〕

ホームページ等
なし

6 . 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：梅澤 明弘

ローマ字氏名：UMEZAWA、Akihiro

所属研究機関名：国立研究開発法人国立成育医療研究センター

部局名：研究所再生医療センター

職名：センター長

研究者番号（8桁）：70213486

(2)研究協力者

研究協力者氏名：阿久津 英憲

ローマ字氏名：AKUTSU, Hidenori