

令和 3 年 5 月 26 日現在

機関番号：13901

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2019～2020

課題番号：19K23962

研究課題名（和文）iPS細胞由来免疫制御細胞を用いた、難治性腎疾患に対する新規治療法の開発

研究課題名（英文）Development of novel therapies for intractable kidney diseases using iPS cell-derived immune regulatory cells

研究代表者

田中 章仁（Tanaka, Akihito）

名古屋大学・医学部附属病院・病院助教

研究者番号：20846290

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,200,000円

研究成果の概要（和文）：我々は、ヒト人工多能性幹細胞（iPS細胞）から間葉系幹細胞（MSC）などの免疫制御細胞を誘導し、腎疾患モデル動物に対する治療効果を検討すべく研究を進めてきた。結果、ヒトiPS細胞からMSC誘導は比較的安定して施行できた。また腎疾患モデル動物（マウス・ラット）の確立と、誘導したMSCの投与プロトコル、治療効果評価プロトコルの確立も行った。複数の細胞株での比較、検証が必要ではあるが、難治性腎疾患に対して、ヒトiPS細胞から誘導したMSCを用いた新規治療法確立の可能性が示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

今回我々は、腎疾患領域における、ヒト人工多能性幹細胞（iPS細胞）を用いた新規治療法開発の可能性について検討してきた。当教室ではこれまで間葉系幹細胞（MSC）を用いた新規治療法の開発に注力してきた。しかし、MSCは採取できる量に限界があったり、均一的な性質や効果を示すとは限らず、また継代を重ねることで“細胞的老化”を示すとされてきた。今回の我々の研究では、iPS細胞からMSCを誘導することで、これまでのMSC治療の問題点を克服することにつながると考えられた。さらにiPS細胞は治療効果を高める工夫も追加しやすく、難治性腎疾患の新規治療法開発につながることを期待される。

研究成果の概要（英文）：We have been studying the induction of immune regulatory cells, such as mesenchymal stem cells (MSCs), from human induced pluripotent stem cells (iPS cells) to investigate their therapeutic efficacy on animal models of kidney diseases. As a result, we were able to induce MSCs from human iPS cells. We also established animal models (mice and rats) for kidney diseases, and established protocols for administering the induced MSCs and evaluating their therapeutic effects. Although it is necessary to compare and validate the results with multiple cell lines, we have shown the possibility of establishing a new therapeutic method using MSCs derived from human iPS cells for intractable kidney diseases.

研究分野：腎臓内科

キーワード：人工多能性幹細胞 難治性腎疾患 間葉系幹細胞

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

## 1. 研究開始当初の背景

多能性幹細胞 (induced pluripotent stem cell: 以下 iPS 細胞) は山中伸弥教授らのグループによって 2005 年にマウス皮膚線維芽細胞からの作製に成功した。また、2007 年にはヒト皮膚線維芽細胞からヒト iPS 細胞の作製に成功している。ヒト iPS 細胞は患者それぞれの体細胞から作成可能であり、あらゆる種類の細胞に分化誘導可能であるため、再生医療として、目的の細胞を、理論上無制限に細胞が準備できる点で、将来性が非常に期待されている。実際に研究代表者は、iPS 細胞から高効率かつ短期間での骨格筋細胞への誘導方法を開発し、難治性筋疾患に対する再生医療の可能性を示してきた。

当研究室では、通常の間葉系幹細胞 (MSC) よりも治療効果の高い低血清培養脂肪由来 MSC (LASC) を開発し、腎疾患への有効性を見出した。また、当研究室では糸球体腎炎モデルマウスにおいて M2 マクロファージ投与の有効性も報告した。M2 マクロファージには M2a、M2b、M2c、M2d のサブタイプがあることが知られているが、iPS 細胞からの誘導方法は確立していない。また、いずれのサブタイプが腎障害に有効かは検討されていなかった。

つまり、iPS 細胞から誘導した MSC や M2 マクロファージなどの免疫制御細胞は、腎障害への有効性が期待できるが、その中でもどのような誘導法、サブタイプが特に有効かは不明であった。

## 2. 研究の目的

### (1) iPS 細胞から治療効果が高い MSC を誘導する

MSC の培養において、採取臓器、培養法により、多種多様な MSC が報告されている。どの培養法が最も治療効果が高いのかは単純に比較できない。本研究では、均一である iPS 細胞から様々な培養法で MSC を誘導し、それぞれの誘導法間での比較をしようとする点に学術的独自性がある。

### (2) iPS 細胞から治療効果の高い M2 マクロファージのサブタイプごとの誘導法の確立

M2 マクロファージの培養において、サブタイプごとの誘導法は確立されていない。本研究ではそれぞれの誘導法を確立し、臨床応用を目指す点に創造性がある。

## 3. 研究の方法

### (1) ヒト iPS 細胞から MSC/M2 マクロファージへの分化誘導

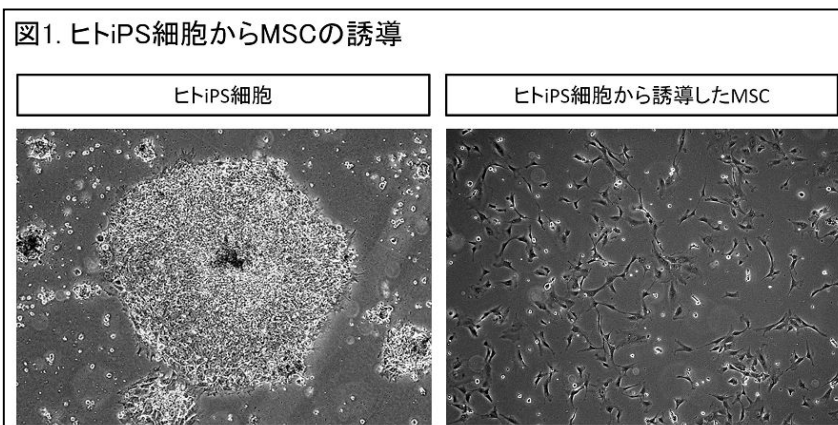
ヒト iPS 細胞を様々な分化誘導法で MSC/M2 マクロファージへ誘導し、表面マーカーとサイトカインの種類をもとに分類する。

### (2) 腎疾患モデル動物への投与

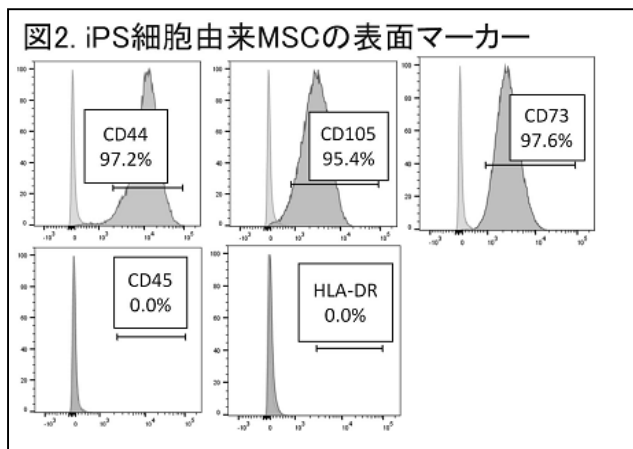
上記にて誘導した細胞を、急性尿細管障害、虚血、糸球体腎炎、糖尿病性腎症など様々なモデルマウスやラットへ投与する。それぞれの誘導法の治療効果について比較検討することにより、最も治療効果の高い分化誘導法を決定する。

## 4. 研究成果

研究代表者は 2019 年 4 月に当施設へ転勤し、まずは当施設内での研究、動物実験を行うことができるよう、その資格を入手した。研究代表者の教室ではこれまでヒト人工多能性幹細胞 (iPS 細胞) の実験が実施されておらず、これらの実験を開始できるよう当施設の生命倫理審査委員会への申請や、動物実験の申請を行い、通過後、実験を開始した。まず iPS 細胞を入手し、分化誘導を行った (図 1)。

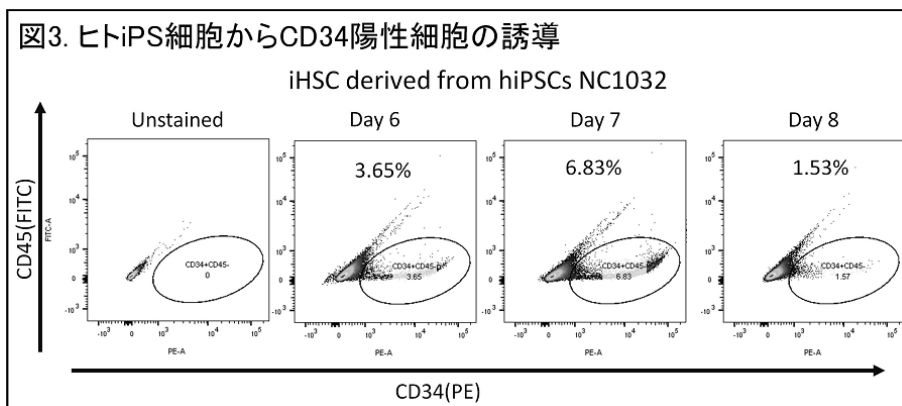


免疫制御性細胞として、間葉系幹細胞 (MSC) の誘導は比較的安定して施行可能となった。表面マーカーでの評価でも、安定して MSC の定義を満たす細胞が誘導可能であった (図 2)。



もともと当教室では MSC の研究が精力的に行われており、この過程で、実験に用いるモデル動物の作成、対照群となる間葉系幹細胞の投与プロトコルや、治療効果を評価するプロトコルの確立も行った。最終的には、複数の iPS 細胞株から MSC を誘導し、モデルマウスやモデルラットへの細胞投与実験を行った。まだ様々な細胞株での実験中であり、明確かつ安定した治療効果を結論付けるには至っていないが、有効性に期待して実験を行っている。

他にも免疫制御性 M2 マクロファージなどの有効性を示す研究も当教室から報告しており、M2 マクロファージの誘導も検討した。しかし造血系の細胞(HSC)への誘導効率が高くはなく(図3)、MSC を誘導する方が、実現可能性が高いものと考えられたため、今後は MSC の治療効果増強を目指す、といった方向性で検討していくこととした。



研究の今後の発展を見据えて、大型のモデル動物を用いた実験について、他大学との共同研究契約の締結を行った。小型モデル動物で得られた知見をもとに大型モデル動物への実験を行い、最終的にはヒトへの応用を進めていくことを計画している。

今回我々は、腎疾患領域における、ヒト人工多能性幹細胞(iPS 細胞)を用いた新規治療法開発の可能性について検討した。当教室ではこれまで間葉系幹細胞(MSC)を用いた新規治療法の開発に注力してきた。しかし、MSC は採取できる量に限界があったり、均一的な性質や効果を示すとは限らず、また継代を重ねることで“細胞的老化”を示すとされてきた。今回の我々の研究では、iPS 細胞から MSC を誘導することで、これまでの MSC 治療の問題点を克服することにつながると考えられた。さらに iPS 細胞は治療効果を高める工夫も追加しやすく、難治性腎疾患の新規治療法開発につながる可能性を示すことができた。

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〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------