

平成 30 年 6 月 22 日現在

機関番号：33111

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2014～2017

課題番号：26640060

研究課題名(和文) マウス胎児へのヒトiPS細胞由来肝芽細胞・肝細胞移植方法の確立および安全性の検討

研究課題名(英文) Technical development of transplantation human iPS induced hepatoblast and hepatocyte to mice embryos.

研究代表者

森田 邦恵 (MORITA, KUNIE)

新潟医療福祉大学・医療技術学部・助手

研究者番号：90396440

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は平成26年度より開始し4年間通して行われた。研究開始年度の平成26年度に研究代表者の所属機関が、熊本大学から新潟医療福祉大学への異動があり、研究環境が大きく変わったため、研究内容を一部修正し、分化誘導実験に集中する研究を行った。
新潟大学にて、理化学研究所より譲渡を受けたiPS細胞を、肝細胞へ分化誘導を行う実験を行い、免疫染色により肝細胞マーカーALB, SERPINA1, HNF4Aを確認した。研究期間に実験を重ね、安定して肝細胞に分化誘導することに成功した。
この成果は研究代表者の所属機関である臨床検査技師養成大学にて、学生教育および研究の題材として活用していく予定である。

研究成果の概要(英文)： This research has conducted 4 years, from fiscal year 2013 to 2017. The first year of this research, the research reader had changed the laboratory, from Kumamoto University to Niigata University of Health and Welfare. We were granted human iPS cells from RIKEN, and we started differentiation-induced experiment from iPS cells to hepatocytes. And then, we confirmed differentiation to hepatocytes by means of immunological staining, hepatocytes marker ALB, SERPINA1 and HNF4A.
This achievement would help education and research for university students trying to be medical technologists, the research reader instructed there.

研究分野：再生医療

キーワード：hepatoblast iPS

1. 研究開始当初の背景

ヒト iPS 細胞の発見により、患者由来の iPS 細胞より様々な体細胞の分化誘導・臓器の再生技術が開発されており今後の臨床応用が期待されている。肝臓の再生医療分野では、iPS 細胞より肝細胞の分化誘導および組織構築に成功し、近い将来は臨床応用の可能性が高まっている。iPS 細胞を臨床応用するためには、移植後の癌化などの危険性を検証することが必須であるが、長期観察を行う安定した実験系の報告はまだされておらず、今後免疫不全マウスを用いた実験系の確立が必須である。

2. 研究の目的

本申請はマウス肝臓発生段階の組織に、ヒト iPS 由来細胞を生着させ、肝細胞へ分化促進し、長期可能な実験系を確立することを目的とする。

3. 研究の方法

本研究の開始年度に、研究代表者の所属機関が、熊本大学生命資源研究支援センターから、新潟医療福祉大学に異動し、疫不全マウスの飼育が可能な動物実験施設が研究開始時には、所属機関に備わっていなかったため、今後実験設備を整備することを試みながら、新潟大学脳研究所動物資源開発研究分野にて、分化誘導実験、動物実験を行った。

ヒト iPS 細胞は理研より分与を受け、iPS 細胞培養試薬メーカーのリプロセルの試薬を用いて、基準のプロトコールにて、iPS 細胞の大量培養を行う。肝細胞の分化誘導は、すでに報告されている方法(Hannan NR-F et al., Nat. Protocol., 2013)を試みる。肝細胞への分化誘導の評価は、肝細胞マーカーALB, SEPRINA2, HNF4A の免疫染色にて行う。

4. 研究成果

本研究の計画である、iPS 細胞より肝細胞に分化誘導を行うことには、免疫染色での評価で確認し、学会発表まで行った。肝細胞への分化誘導には成功したので、今後細胞の移植実験を行い、論文発表を目指していく。さらに、この技術を研究代表者が所属する、新潟医療福祉大学にて、臨床検査技師・臨床工学技士を目指す学生の、教育・研究へと生かし、今後の再生医療を担う人材の育成につなげていきたい。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 13 件)

Hagiwara K, Obayashi T, Sakayori N, Yamanishi E, Hayashi R, Osumi N, et al., Molecular and cellular features of murine craniofacial and trunk neural crest cells as stem cell-like

cells. **PLoS One**, 2014 Jan 9(1): e84072.

doi:10.1371/journal.pone.0084072:1
1.(査読有)

Nakamura T, Sato A, Kitsukawa T, Momiyama T, Yamamori T, Sasaoka T; Distinct motor impairments of dopamine D1 and D2 receptor knockout mice revealed by three types of motor behavior.

Front Integr Neurosci. 2014 Jul

15;8:56. doi: 10.3389/fnint.2014.00056.

eCollection 2014. PMID: 25076876

[PubMed] (査読有)

Hayashi Y, Nabeshima Y, Kobayashi K, Miyakawa T, Tanda K, Takao K, Suzuki H, Esumi E, Noguchi S, Matsuda Y, Sasaoka T, Noda T, Miyazaki JI, Mishina M, Funabiki K, Nabeshima YI. Enhanced stability of hippocampal place representation caused by reduced magnesium block of NMDA receptors in the dentate gyrus.

Mol Brain. 2014 Jun 4;7(1):44. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 24893573.(査読有)

Ko Miyoshi, Kyosuke Kasahara, Shinki Murakami, Mika Takeshima, Natsuko Kumamoto, Asako Sato, Ikuko Miyazaki, Shinsuke Matsuzaki, Toshikuni Sasaoka, Taiichi Katayama, Masato Asanuma

Lack of dopaminergic inputs elongates the primary cilia of striatal neurons

PLoS One, 2014 May 15;9(5):e97918.

doi: 10.1371/journal.pone.0097918.

eCollection 2014.(査読有)

Sato A, Sasaoka T, Nishijo T,
Momiya T.
GABAergic synaptic transmission onto
striatal cholinergic interneurons in
dopamine D2 receptor knock-out mice.
Neuroscience. 2014 Mar 28;263:138-47.
doi: 10.1016/j.neuroscience.2014.01.010.
Epub 2014 Jan 13.(査読有)

小田佳奈子 . 初期胚の体外培養がマウ
スの個体発生に及ぼす影響 .
新潟医学会雑誌.2014,128(査読有)

Hayashiji N, Yuasa S*,
Miyagoe-Suzuki Y, Hara M, Ito N,
Hashimoto H, Kusumoto D, Seki T,
Tohyama S, Kodaira M, Kunitomi A,
Kashimura S, Takei M, Saito Y,
Okata S, Egashira T, Endo J,
Sasaoka T, Takeda S and Fukuda K;
G-CSF supports long-term muscle
regeneration in mouse models of
muscular dystrophy
Nature Communications 2015 Apr
13; Vol.6: Article number 6745. doi:
10.1038/ncomms7745. PMID:
25865621(査読有)

Nakamura T, Sato A, Kitsukawa T,
Sasaoka T, Yamamori T*; Expression
pattern of immediate early genes in
the cerebellum of D1R KO, D2R KO,
and wild type mice under various
conditions.
**Frontiers in Cell and Developmental
Biology**. Vol.3, Article 38, June 2015
doi: 10.3389/fcell.2015.00038(査読有)

Chiken S, Sato A, Ohta C, Kurokawa
M, Arai S, Maeshima J,

Sunayama-Morita T, Sasaoka T*,
Nambu A*. Dopamine D1
receptor-mediated transmission
maintains information flow through
the cortico-striato-entopeduncular
direct pathway to release movements.
Cerebral Cortex 2015
Dec;25(12):4885-97. doi:
10.1093/cercor/bhv209. Epub 2015
Oct 6. (査読有)

Kubo M, Nagashima R, Ohta E,
Maekawa T, Isobe Y, Kurihara M,
Eshima K, Iwabuchi K, Sasaoka T,
Azuma S, Melrose HL, Farrer MJ,
Obata F*.
Leucine-rich repeat kinase 2 is a
regulator of B cell function, affecting
homeostasis, BCR signaling, IgA
production, and TI antigen responses.
J Neuroimmunol. 2016 Mar
15;292:1-8. doi:
10.1016/j.jneuroim.2016.01.005. Epub
2016 Jan 8. (査読有)

Macpherson T, Morita M, Wang Y,
Sasaoka T, Sawa A and Hikida T*.
Nucleus accumbens dopamine
D2-receptor expressing neurons
control behavioral flexibility in a
place discrimination task in the
IntelliCage.
Learning and Memory 2016 Jun
17;23(7):359-64. doi:
10.1101/lm.042507.116. Print 2016
Jul.PMID: 27317196(査読有)

Morita M, Wang Y, Sasaoka T, Okada
K, Niwa M, Sawa A, Hikida T*.
Dopamine D2L receptor is required

for visual discrimination learning.

Molecular Neuropsychiatry 2016; 2:
124132. DOI: 10.1159/000447970 (査
読有)

Shioda N, Yabuki Y, Wang Y,
Uchigashima M, Hikida T, Sasaoka T,
Mori H, Watanabe M, Sasahara M,
Fukunaga K; Endocytosis following
dopamine D2 receptor activation is
critical for neuronal activity and
dendritic spine formation via
Rabex-5/PDGFR β signaling in
striatopallidal medium spiny
neurons.

Molecular Psychiatry 2016 (査読有)

〔学会発表〕(計 2 件)

マウスへのヒト iPS 細胞由来肝細胞移植
への試み、森田邦恵、山村研一、再生医
療学会(大阪国際会議場) 2016年3月
マウス神経堤細胞の解析によるメラノ
マ腫瘍マーカー候補遺伝子の検索、日本
医学検査学会(於 神戸ポートピアホテ
ル) 2016年9月、森田邦恵、池上喜久
雄

〔産業財産権〕

出願状況(計 1 件)

名称: 多能性幹細胞から神経堤細胞群の分化
誘導方法

発明者: 西田幸二

権利者: 西田幸二、大家義則、林竜平、森田
邦恵

種類: 特願

番号: 2011-518523(JIP)

出願年月日: 2013.10.2

国内外の別: 国内

6. 研究組織

(1) 研究代表者

森田 邦恵 (MORITA Kunie)

新潟医療福祉大学 医療技術学部 助手

研究者番号: 90396440

(2) 研究分担者

笹岡 俊邦 (SASAOKA Toshikuni)

新潟大学脳研究所 教授

研究者番号: 5022005

(3) 研究分担者

小田 佳奈子 (ODA Kanako)

新潟大学脳研究所 助教

研究者番号: 60708212

(4) 研究分担者

川村 宏樹 (KAWAMURA Hiroki)

新潟医療福祉大学 医療技術学部准教授

研究者番号: 2033495

(4) 研究分担者

浅井 孝夫 (ASAI Takao)

新潟医療福祉大学 医療技術学部 講師

研究者番号: 60612736