

令和 6 年 6 月 5 日現在

機関番号：14401

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2022～2023

課題番号：22K20938

研究課題名（和文）移植・再生医療に向けた肝・膵組織の三次元立体構築

研究課題名（英文）Three-dimensional construction of liver and pancreas tissue for transplantation and regenerative medicine

研究代表者

的羽 大二郎（Matoba, Dajiro）

大阪大学・医学部附属病院・医員

研究者番号：80966549

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）：今回の研究ではヒトPSC由来 細胞を使用し、LbL法により、三次元化した細胞集塊の内部に網細血管を組み込むことで、組織のviabilityの向上を得ることに成功した。さらにインスリン分泌能は非血管化組織と比較して有意に上昇していた。in vivoにおいて血管化スフェロイドと非血管化組織を皮下移植し、血糖の推移を見ると、血管化スフェロイド移植群で有意に随時血糖値及びグルコース負荷試験での有意な血糖値の低下を認めた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本邦の肝・膵移植医療における脳死臓器提供者数は年間約50例と諸外国に比して、極めて少なく、絶対的なドナー不足が現在も問題となっており、それに代わる再生医療や組織移植の開発に期待が寄せられている。しかし、臨床応用に向けては、1）安全な細胞ソースの確保 2）生体内での至適移植部位の同定 3）三次元肝組織における胆管組織構築 4）長期生着に向けた膵組織グラフトの血管化が新たな課題としてあげられ、これらの克服に向けた、更なる研究開発を行い、ドナー不足にとらわれない次世代の移植・再生医療の実現を目指すことを目的としている。本研究では、1型糖尿病に対する再生医療の確立に有用である可能性が示唆された。

研究成果の概要（英文）：In this study, human PSC-derived β -cells were used, and the LbL method was used to incorporate reticular vessels inside the three-dimensional cell aggregates, resulting in improved tissue viability. In addition, insulin secretory capacity was significantly increased in the vascularized spheroid group compared to the non-vascularized group, and blood glucose levels were significantly lower in the vascularized spheroid group than in the non-vascularized group.

研究分野：消化器外科学

キーワード：臓器移植 再生医療

1. 研究開始当初の背景

申請者らは、2000 年以降これまでに、成人肝移植（脳死・生体）170 例、脳死膵移植 54 例を実臨床にて施行し、また、膵島移植の実施認定施設として、2013 年には国内初の遺伝性膵炎に対する自己膵島移植を成功させ、本邦の移植医療に貢献してきた。しかし、脳死ドナーが年間約 50 例と少ない本邦では、肝移植の大半は現在も生体ドナーに依存しており、脳死膵移植についても登録からの待機期間は 3 年以上と長期に及んでいる。また、2020 年より保険収載された膵島移植についても、インスリン離脱のためには複数回の膵島移植を必要とするため、ドナー確保が課題となるが、異種移植によるドナー不足の解消は人畜共通感染症の面から安全性が懸念されており、本邦では発展するに至っていない。これまでに我々は、大阪大学大学院生命機能研究科 明石 満 教授らにより開発された細胞外マトリックスによる細胞積層技術(layer-by-layer 法: LbL 法)を用いて、ヒト凍結初代肝細胞からなる機能的血管化三次元肝組織や MIN6 細胞を用いた三次元膵組織を構築し、既存の二次元組織と比較し、機能的・形態的にも有用であることをマウス生体内においても確認し、報告してきた。しかし、その一方で、臨床応用に向けては、1)安全な細胞ソースの確保 2)生体内での至適移植部位の同定 3)三次元肝組織における胆管組織構築 4)長期生着に向けた膵組織グラフトの血管化が新たな課題としてあげられる。

2. 研究の目的

臨床応用に向けては、1)安全な細胞ソースの確保 2)生体内での至適移植部位の同定 3)三次元肝組織における胆管組織構築 4)長期生着に向けた膵組織グラフトの血管化が新たな課題としてあげられ、これらの克服に向けた、更なる研究開発を行い、ドナー不足にとらわれない次世代の移植・再生医療の実現を目指すことを目的としている。本研究では、実臨床の観点より、ヒト人工多能性幹細胞(human induced pluripotent stem cell: iPSC)由来の細胞ソースを用いる方針とした(Cellartis® hiPS-HEP/hiPS Beta Cells)。細胞ソースとして iPSC 由来肝細胞および iPSC 由来膵細胞を用いて、三次元肝・膵組織を立体構築し、それぞれの生体内における機能性と安全性について検討を行い、次世代の移植・再生医療の実現を目指すことを目的とする。

3. 研究の方法

実臨床への応用を目標として、これまでに申請者らが用いてきた初代肝細胞、MIN6 細胞株から、細胞ソースをヒト iPSC 由来肝細胞およびヒト iPSC 由来細胞へと変更し、LbL 法により、三次元化した細胞集塊の内部に網細血管を組み込むことで、組織の viability の向上を図る。in vitro にて作成した三次元組織の組織学的安定性および機能的評価については、血管構造を有しない単層および二次元組織との比較にて行う構築した高機能三次元組織の生体内における生着率と組織学的成熟度については NOD/SCID マウスへの移植を行い評価する。特に、血管化三次元組織を用いることでの利点として、より早期の段階からのグラフト機能の立ち上がりが見られることがこれまでの申請者らの研究から明らかとなっており、このことは障害モデルにおける早期の機能回復につながることで期待される。グラフト機能評価では、肝組織についてはアルブミン合成能の経時的推移を評価し、膵組織についてはグルコース刺激による血糖の経時的推移ならびに C ペプチド分泌の推移をもとに評価す

る。移植組織については、摘出後に免疫染色を用いて評価する。

4．研究成果

今回の研究ではヒトPSC由来細胞を使用し、LbL法により、三次元化した細胞集塊の内部に網細血管を組み込むことで、組織のviabilityの向上を得ることに成功した。さらにインスリン分泌能は非血管化組織と比較して有意に上昇していた。in vivoにおいて血管化スフェロイドと非血管化組織を皮下移植し、血糖の推移を見ると、血管化スフェロイド移植群で有意に随時血糖値及びグルコース負荷試験での有意な血糖値の低下を認めた。

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
---------	---------