

令和 3 年 4 月 26 日現在

機関番号：17102

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2020

課題番号：18K18369

研究課題名（和文）ヒト末梢血由来iHep細胞を用いた臨床応用への可能性

研究課題名（英文）Potential for clinical applications using human peripheral blood-derived iHep cells

研究代表者

鵜殿 美弥子 (Udono, Miyako)

九州大学・農学研究院・学術研究員

研究者番号：30815543

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、高い増殖能と分化能を備えたヒト肝細胞前駆細胞をダイレクトリプログラミングの手法で作製することを目的とした。肝臓の発生に重要な転写因子の組み合わせを再検討した結果、最終的に3つの転写因子（FOXA3、HNF1A、HNF6）をヒト臍帯静脈や末梢血由来の血管内皮細胞に導入することで、長期培養による安定的な増殖が可能なヒトiHep細胞を作製することに成功した。この細胞は、3次元培養下において肝・胆管組織様構造を形成し、それぞれ機能的な肝細胞と胆管上皮細胞へ分化・成熟する能力を持つことが明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究によって開発された方法を用いることで、機能的に成熟した肝細胞や胆管上皮細胞をヒトiHep細胞から大量に増やし臨床での使用および凍結保存が可能になると考えられる。将来的には、肝臓から採取される肝細胞や胆管上皮細胞の代わりにヒトiHep細胞由来の肝細胞・胆管上皮細胞を用いることで、重篤な肝疾患患者に対する新しい移植医療の実現や、個人に応じた薬剤スクリーニングや毒性を評価できるシステムの構築が期待される。

研究成果の概要（英文）：In this study, we aimed to generate human hepatocyte progenitor cells with high proliferative and differentiation potential by direct reprogramming. After re-examining the combination of transcription factors important for liver development, we finally succeeded in generating human iHep cells capable of stable proliferation in long-term culture by introducing three transcription factors (FOXA3, HNF1A, and HNF6) into vascular endothelial cells derived from human umbilical veins and peripheral blood. These cells were found to have the ability to form liver and bile duct tissue-like structures in 3D culture and to differentiate and mature into functional hepatocytes and bile duct epithelial cells, respectively.

研究分野：生物学

キーワード：iHep細胞 ダイレクトリプログラミング 血液

1. 研究開始当初の背景

当研究室ではこれまでに、マウス線維芽細胞に Hnf4a と Foxa(Foxa1,2,3 いずれかひとつ)という2種類の遺伝子を導入することで、肝臓の性質を持つ細胞(induced hepatocyte-like cells:iHep 細胞)へと変化させることに成功している。この技術はダイレクトリプログラミングと呼ばれ、iPS 細胞と比べて短期間に作製できる、再現性が高い、幹細胞を経由しないため未分化な細胞が残るリスクが低い等の利点を有する。

2. 研究の目的

本研究では、このダイレクトリプログラミング技術を肝再生医療に応用するため、低侵襲で採取できる末梢の血液細胞からヒト iHep 細胞(H-iHep 細胞)を作製することを目的とした。

3. 研究の方法

マウスと同様の手法でヒト iHep 細胞の作製を進めたところ、ヒト iHep 細胞は増殖能が低いことが問題となった。そこで、増殖不可能な肝細胞ではなく、高い増殖能と分化能を備えた肝細胞前駆細胞をダイレクトリプログラミングの手法で作製することとした。

まずは、臍帯血由来血管内皮細胞(HUVEC)を用いて、レトロウイルスにより以下の流れで誘導実験を行った(図1)。評価方法としては、肝臓のマーカーであるアルブミンやEカドヘリンを指標として免疫染色・qRT-PCRを行った。

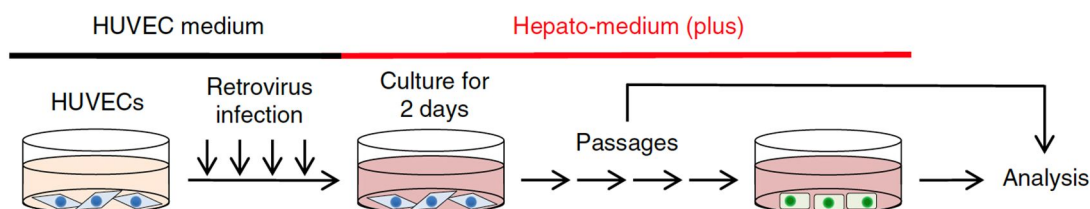


図1

4. 研究成果

肝臓の発生に重要な転写因子の組み合わせを再検討した結果、最終的に3つの転写因子(FOXA3, HNF1A, HNF6)をヒト臍帯静脈や末梢血由来の血管内皮細胞に導入することで、長期培養による安定的な増殖が可能なヒト iHep 細胞を作製することに成功した(図2、3)。

この細胞は、3次元培養下において肝・胆管組織様構造を形成し、それぞれ機能的な肝細胞と胆管上皮細胞へ分化・成熟する能力を持つことが明らかとなった。

本研究によって開発された方法を用いることで、機能的に成熟した肝細胞や胆管上皮細胞をヒト iHep 細胞から大量に準備することが可能になると考えられる。将来的には、肝臓から採取される肝細胞や胆管上皮細胞の代わりにヒト iHep 細胞由来の肝細胞・胆管上皮細胞を用いることで、重篤な肝疾患患者に対する新しい移植医療の実現や、個人レベルで薬剤の効果や毒性を評価できるシステムの構築が期待される。

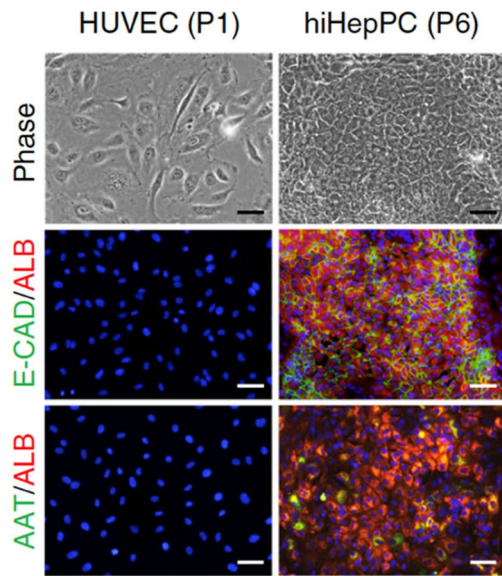


図2. ヒト臍帯血血管内皮細胞から iHep 細胞の作製

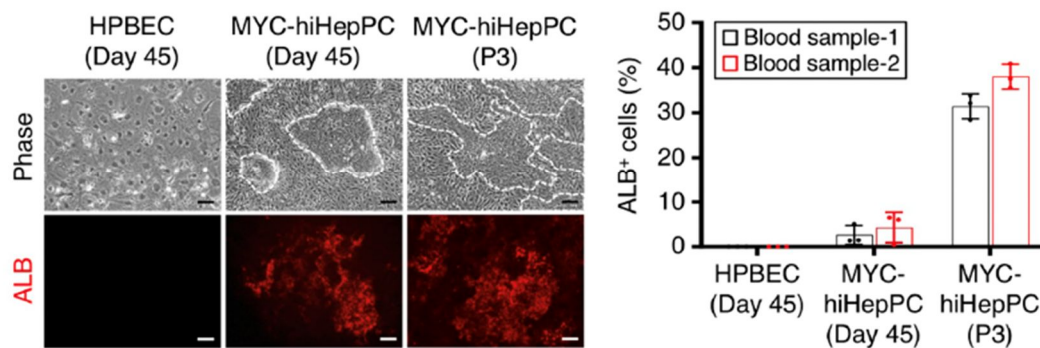


図3. ヒト末梢血由来血管内皮細胞から iHep 細胞の作製

< 引用文献 >

Hiroki Inada*, Miyako Uono*, Kanae Matsuda-Ito, Kenichi Horisawa, Yasuyuki Ohkawa, Shizuka Miura, Takeshi Goya, Junpei Yamamoto, Masao Nagasaki, Kazuko Ueno, Daisuke Saitou, Mikita Suyama, Yoshihiko Maehara, Wataru Kumamaru, Yoshihiro Ogawa, Sayaka Sekiya, Atsushi Suzuki, Direct reprogramming of human umbilical vein- and peripheral blood-derived endothelial cells into hepatic progenitor cells, *These authors contributed equally, *Nature Communications*. 2020, 5292-5292

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Inada Hiroki, Uono Miyako, Matsuda-Ito Kanae, Horisawa Kenichi, Ohkawa Yasuyuki, Miura Shizuka, Goya Takeshi, Yamamoto Junpei, Nagasaki Masao, Ueno Kazuko, Saitou Daisuke, Suyama Mikita, Maehara Yoshihiko, Kumamaru Wataru, Ogawa Yoshihiro, Sekiya Sayaka, Suzuki Atsushi	4. 巻 11
2. 論文標題 Direct reprogramming of human umbilical vein- and peripheral blood-derived endothelial cells into hepatic progenitor cells	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 5292-5292
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-020-19041-z	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Yamamoto Junpei, Uono Miyako, Miura Shizuka, Sekiya Sayaka, Suzuki Atsushi	4. 巻 25
2. 論文標題 Cell Aggregation Culture Induces Functional Differentiation of Induced Hepatocyte-like Cells through Activation of Hippo Signaling	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Cell Reports	6. 最初と最後の頁 183 ~ 198
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.celrep.2018.09.010	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Takashima Yasuo, Horisawa Kenichi, Uono Miyako, Ohkawa Yasuyuki, Suzuki Atsushi	4. 巻 109
2. 論文標題 Prolonged inhibition of hepatocellular carcinoma cell proliferation by combinatorial expression of defined transcription factors	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Cancer Science	6. 最初と最後の頁 3543 ~ 3553
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cas.13798	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Hamano Momoko, Haraguchi Yurina, Sayano Tomoko, Zyo Chong, Arimoto Yashiho, Kawano Yui, Moriyasu Kazuki, Uono Miyako, Katakura Yoshinori, Ogawa Takuya, Kato Hisanori, Furuya Shigeki	4. 巻 8
2. 論文標題 Enhanced vulnerability to oxidative stress and induction of inflammatory gene expression in 3-phosphoglycerate dehydrogenase-deficient fibroblasts	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 FEBS Open Bio	6. 最初と最後の頁 914 ~ 922
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/2211-5463.12429	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 Miyako Udono, Kenichi Horisawa, Ryo Murayama, Atsushi Suzuki
2. 発表標題 Comparative analysis of hepatocyte-like cells directly induced from several types of somatic cells
3. 学会等名 分子生物学会
4. 発表年 2019年

〔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
---------	---------