

令和 6 年 4 月 5 日現在

機関番号：13901

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21K08253

研究課題名(和文) ヒトiPS細胞由来間葉系幹細胞を用いた新規腎疾患治療法の開発

研究課題名(英文) Development of a novel therapy for kidney disease using human iPS cell-derived mesenchymal stem 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) 3,200,000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)から誘導した間葉系幹細胞(MSC)を用いて、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。腎疾患モデル動物の確立と、誘導したMSC(iMSC)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。その結果、難治性腎疾患に対して、iMSCの一定の治療有効性は示された。さらにその治療有効性を最大化する検討を行っている。今後iMSCを用いた新規治療法の確立が大いに期待される。

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、通常のMSCよりも高い治療効果が期待できる。

研究成果の概要(英文)：We have been studying mesenchymal stem cells (MSCs) induced from human induced pluripotent stem cells (iPS cells) to investigate their therapeutic effects on animal models of kidney disease. We also established kidney disease model animals, administration protocols of induced MSCs (iMSCs), and evaluation protocols for therapeutic efficacy. As a result, we have demonstrated a certain therapeutic efficacy of iMSCs for refractory kidney diseases. Further studies are underway to maximize the therapeutic efficacy of iMSCs. The establishment of novel treatment methods using iMSCs is highly promising.

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 (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、理論上無制限に準備できる可能性がある点で、将来性が非常に期待されている。実際に申請者は、iPS 細胞から高効率かつ短期間で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。さらに、申請者らは IgA 腎症に対して、世界で初めて MSC を投与する医師主導臨床試験を実施した(NCT04342325)。その中で、MSC の克服すべき課題も見えてきた。MSC は無限に増殖するわけではないため、由来細胞を繰り返し採取する必要があり、細胞が均一とは限らないことが考えられた。また、継代を繰り返すと老化していくことも懸念された。

申請者は人工多能性幹細胞(iPSC)から短期間かつ高効率で、再現性が高く安定した骨格筋細胞の誘導方法を確立した経験から、iPSC から MSC を作成することによりこれらの問題が解決できると着想した。

2. 研究の目的

(1) iPS 細胞から治療効果が高い MSC を大量に安定して誘導する

iPS 細胞から MSC の作製において、分化誘導法により、多種多様な MSC が報告されている。現時点ではどの誘導法が最も治療効果が高いのかは不明である。本研究では、均一である iPS 細胞から様々な方法で MSC を誘導し、その中で腎炎治療効果が最も高い方法を決定する。また、iPS 細胞から分化誘導した MSC が、安定して均一な細胞を、大量に得ることができるかどうかを確認する。

3. 研究の方法

(1) iPS 細胞から均一かつ大量の MSC へ分化誘導する方法の確立

iPS 細胞から分化誘導した MSC(iMSC)と、骨髄由来の MSC(BM-MSC)において、増殖能を比較する

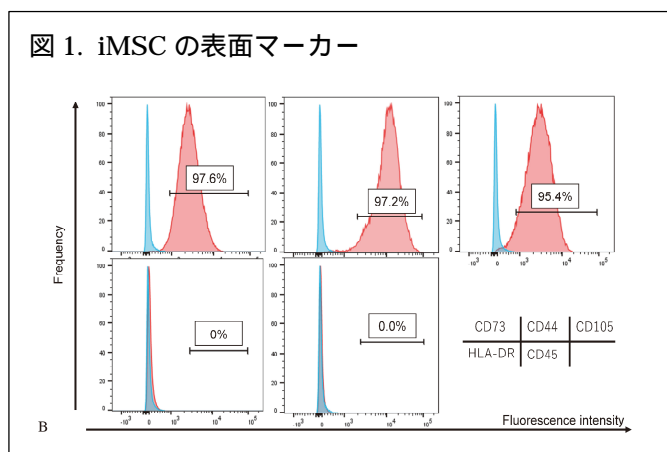
(2)治療効果の高い iMSC の誘導法の決定

iMSC と BM-MSC において、治療効果に関連するとされる因子を比較する

iMSC と BM-MSC において、老化マーカーの発現を比較する

4. 研究成果

(1)まず、iPS 細胞から誘導された iMSC が、表面マーカーの発現について、MSC の定義を満たしていることを確認した(図 1)¹。



そして増殖能を検討したところ、継代数を経るにつれて、BM-MSC は形態が紡錘状に巨大化していき、増殖限界を迎えたものの、iMSC は比較的高い増殖能を示した(図2)。

(2) iMSC と BM-MSC において、治療効果に関連するとされる HGF 濃度の推移を継代数と共に調べたところ、継代を経るとともに、上昇し、横ばいになることが示された(図3)¹。

iMSC と BM-MSC において、老化マーカーを比較することとした。その結果、iMSC は老化マーカーの発現が BM-MSC に比較して少ないことが示された(図4)¹。

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。まだ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、糸球体腎炎に対する非常に高い有効性を示すことに期待をして、実験を行っている。

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い、腎障害モデル動物の確立を進めた。

今回我々は、腎疾患領域における、ヒト 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 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 iMSC 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。

参考文献

1. Aoi T, Tanaka A, Furuhashi K, Ikeya M, Shimizu A, Arioka Y, Kushima I, Ozaki N, Maruyama S. Mesenchymal stem/stromal cells generated from induced pluripotent stem cells are highly resistant to senescence. *Nagoya J Med Sci.* 2023 Nov;85(4):682-690. doi: 10.18999/nagjms.85.4.682.

図2. iMSC は非常に高い増殖能を有する。

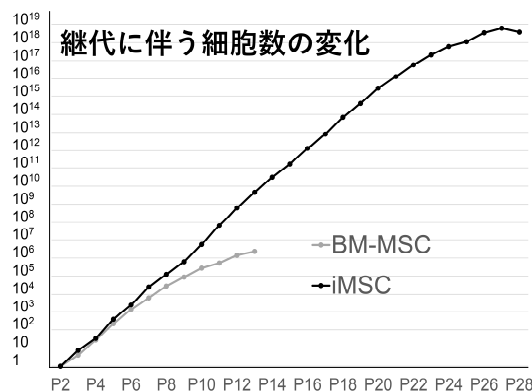


図3. iMSC は特定条件下において、継代と共に HGF 産生が増加する。

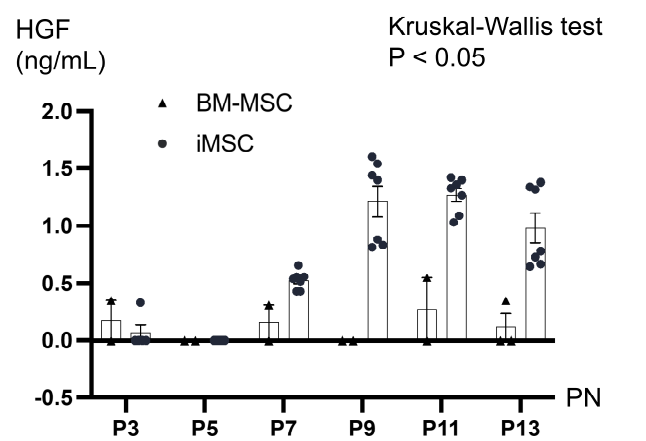
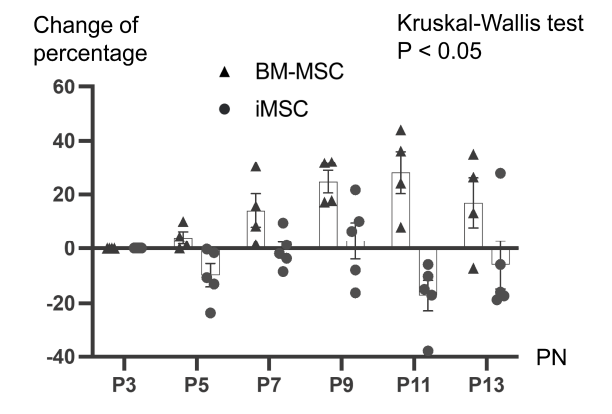


図4. iMSC は老化マーカーの発現が少ない。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Aoi T, Tanaka A, Furuhashi K, Ikeya M, Shimizu A, Arioka Y, Kushima I, Ozaki N, Maruyama S.	4. 巻 85
2. 論文標題 Mesenchymal stem/stromal cells generated from induced pluripotent stem cells are highly resistant to senescence.	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Nagoya J Med Sci.	6. 最初と最後の頁 682-690
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.18999/nagjms.85.4.682	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
研究分担者	石本 卓嗣 (Ishimoto Takuji) (00534835)	愛知医科大学・医学部・教授 (33920)	
研究分担者	丸山 彰一 (Maruyama Shoichi) (10362253)	名古屋大学・医学系研究科・教授 (13901)	
研究分担者	古橋 和拡 (Furuhashi Kazuhiro) (50835121)	名古屋大学・医学部附属病院・病院講師 (13901)	

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