

令和 6 年 6 月 10 日現在

機関番号：34417

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K08292

研究課題名（和文）iPS細胞由来内分泌細胞を用いた新規治療法開発

研究課題名（英文）Novel therapy using human iPS cell-derived endocrine cell

研究代表者

人見 浩史（HITOMI, Hirofumi）

関西医科大学・医学部・教授

研究者番号：70346641

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）：ヒトiPS細胞からエリスロポエチン産生細胞や副甲状腺細胞などの内分泌細胞を作製した。分化誘導法を改良することにより、高効率に内分泌細胞に誘導することができた。産生された内分泌ホルモンのマーカーを発現するiPS細胞を作製し特許を出願した。この細胞を、独自に作製した内分泌機能低下モデルマウスに移植し、体外から内分泌ホルモン産生を検出することにより病態解明を行った。内分泌補充療法を必要とする患者は非常に多く、ヒトiPS細胞由来内分泌細胞は全く新規の細胞療法や薬剤開発を提供することができる。研究成果は今後の研究に有用であるだけでなく、内分泌ホルモン補充療法や新規薬剤の開発に非常に有望であると考えられる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ヒトiPS細胞を用いた再生医療の試みがなされているが、エリスロポエチン産生細胞や副甲状腺に関しては報告がほとんど存在せず、本研究は全く新規で独自のものである。本研究成果は、内分泌疾患治療に対する安価でより生理的な管理を可能とする医療技術の向上に加え、新規治療法の開発による本邦の医薬産業界の活性化をもたらすものである。患者自身の体細胞から樹立され、ほぼ無限に増殖する能力を有する多能性幹細胞であるiPS細胞を用いることで、免疫抑制の必要ない内分泌細胞を大量に作製することも可能であり、今後も需要の増す内分泌疾患治療に対して有効な手段になりうる。

研究成果の概要（英文）：Endocrine cells, such as erythropoietin-producing cells and parathyroid cells, were generated from human iPS cells. The differentiation induction method was improved to induce endocrine cells with high efficiency. We generated iPS cells expressing markers of the produced endocrine hormones and applied for a patent. These cells were transplanted into originally developed endocrine-deficient mouse models, and endocrine hormone production was detected in vitro to elucidate the pathophysiology of the disease. There are a number of patients in need of endocrine replacement therapy, and human iPS cell-derived endocrine cells can provide completely novel cellular therapies and drug development. The research results are not only useful for future basic research but also very promising for the development of endocrine hormone replacement therapy and new drugs.

研究分野：再生医学 腎臓内科学 内分泌学

キーワード：再生医学 iPS細胞 移植・再生医療 エリスロポエチン 副甲状腺 細胞療法 腎性貧血 CKD-MBD

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

1. 研究開始当初の背景

内分泌臓器は生体の恒常性維持に重要な役割を担っており、この機能が破綻すると様々な病態を呈する。内分泌機能不全の患者に対しては、内服薬や注射製剤による内分泌ホルモンの補充が行われ、内分泌機能が代償されている。これにより臨床では、糖尿病や甲状腺機能低下症、腎性貧血など、補充療法で多くの患者が治療されている。しかしながら現在行われている補充療法にも、いくつかの改善すべき点があると考えられる。一つは間歇的投与の問題である。生体では内分泌ホルモンの産生・分泌は多くの因子で調節されているが、現時点で生理的な持続投与を行うことは難しく、臨床で行われている多くの補充療法は間歇的である。そのためホルモン標的臓器における反応が変動することもあり、その影響は無視することはできない。二つ目の点として、定期的なモニタリングが必要な点があげられる。不適切な投与を防ぐために、患者は定期的に受診し、血液検査等で治療効果を評価し、投与量を調整する必要がある。これら二点に加えて、内分泌疾患によっては遺伝子組み換え製剤が使用されており、治療費が高額となることがある。そのため内分泌疾患患者に対して、安価で生理的な持続的補充療法が渴望されている。

我々は生体材料として iPS 細胞に注目し、エリスロポエチン産生細胞や副甲状腺細胞など、種々の内分泌細胞を分化誘導する方法を開発してきた。患者自身の体細胞から樹立され、ほぼ無限に増殖する能力を有する多能性幹細胞である iPS 細胞を用いることで、免疫抑制を必要としない内分泌細胞を大量に作製することも可能であり、内分泌疾患治療に対して有効な手段になりうる。そこで、我々が開発したヒト iPS 細胞由来内分泌細胞の分化誘導法を進展させ、生体に移植することにより臨床応用が可能であるかと考えた。

2. 研究の目的

ヒト iPS 細胞から高効率に内分泌細胞を誘導し、生体に移植することにより生理的な補充を行うことを目的とした。これまでヒト内分泌細胞を単離培養し、研究および臨床に用いることは困難であった。そこで iPS 細胞から誘導した産生細胞を用いて、内分泌ホルモン産生および分泌機構を解明することにより、内分泌疾患新規治療法を開発することも目的とした。

我々はヒト iPS 細胞から、エリスロポエチン産生細胞および副甲状腺細胞を分化誘導することに成功している。これらの細胞以外にも、いくつかの内分泌細胞の分化誘導法を研究している。我々の研究室は、これら全ての内分泌細胞を分化誘導することが可能であり、誘導法の効率化と内分泌細胞の品質特性の確立を行っている。さらに、各種内分泌機能不全動物モデルの作製を行っている。今後、移植デバイスの開発が進むと、内分泌細胞治療の共通プラットフォームとして、移植システムを流用することが可能である。また本研究で用いる内分泌細胞の分化誘導法は独自の方法である。

本研究の成果により、腎性貧血においては遺伝子組み換えエリスロポエチン製剤を使用する国内約 30 万人の慢性腎不全患者、副甲状腺ホルモンが治療として用いられている骨粗鬆症においては未治療も含め約 1,000 万人の患者、甲状腺補充療法が必要な機能低下患者の約 240 万人など、多くの患者に対して、全く新規の細胞治療法を提供することが可能になると考える。

3. 研究の方法

ヒト iPS 細胞由来内分泌細胞の臨床応用を最終的な目的とするが、本研究では、内分泌細胞誘導の効率化と品質特性の確立、移植デバイスの開発とモデル動物作製、内分泌ホルモンの産生・分泌機構の解明を行う。以下に本研究で明らかにする内容を示す。

1) 内分泌細胞の分化誘導法の効率化と品質特性の確立

ヒト iPS 細胞からエリスロポエチン産生細胞および副甲状腺細胞を分化誘導することに成功しており、これを改良し高効率に分化誘導する方法を検討する。また、作製された細胞の品質特性の確立を行う。ヒト iPS 細胞由来エリスロポエチン産生細胞は肝臓系譜の細胞であり、胎生期の肝芽細胞に近いと考えている。そのためエリスロポエチン以外の様々な因子を分泌していることを確認している。これらの分泌因子に関して、定性的・定量的に解析を行い、臨床応用の際に問題とならないことを検討する。副甲状腺細胞に関しても、エリスロポエチン産生細胞と同様に品質特性の確立を行う。

2) 各種疾患モデル動物の作製と細胞移植用デバイスの開発

疾患モデル動物として内分泌不全マウスの作製を行う。我々はアデニン投与マウスを腎性貧血モデルとして報告している。腎性貧血モデル以外に関しても、薬剤による内分泌機能低下モデルマウスや外科的摘除モデルマウスを作製する。分泌タンパク質量から移植に用いる至適細胞数の検討を行う。さらに誘導した細胞を直接腎被膜下等に移植することで、分泌能の確認と移植細胞の腫瘍化や形態の変化について検討を行う。次に細胞移植用デバイスを開発する。生体適合性を考慮した医療材料でモジュールを作製し移植する。既に膵臓再生研究等で用いられたデバイスが使用可能となっている。これらのデバイスにヒト iPS 細胞から分化誘導した内分泌細胞を充填し、モデルマウスに移植する。内分泌補充効果の検討と、デバイス外への細胞漏出およびデバイス内への免疫細胞の混入が無いことを確認する。充填する至適細胞数の検討とデバイス内

での細胞形態変化についても検討する。デバイスの長期間留置も行い、生体内でどのくらいの期間、機能が保持されるかを確認する。移植部位が非常に重要であるため、血流が保持され、またデバイス外の因子を感知することが可能な移植部位を検討する。

3) 内分泌ホルモンの産生・分泌機構の解明

ヒト iPS 細胞から内分泌細胞を分化誘導し、内分泌ホルモン産生を行う条件検討と、ホルモン産生・分泌機構を解明する。iPS 細胞由来内分泌細胞における産生・分泌機構について、既に報告されている分泌機構と比較検討する。さらに、ホルモン補充療法に代わる新規内分泌疾患治療薬のスクリーニングを行う。候補因子が同定されれば、2) のモデルマウスに投与することで、*in vivo* の検討を加える。慢性腎不全に伴う副甲状腺機能亢進症は、腎性骨異常栄養症を引き起こす重要な合併症である。このような内分泌機能亢進患者の治療は、抑制因子の同定が非常に重要である。これについて検討するため、内分泌ホルモン抑制因子のスクリーニングを行う。内分泌機能亢進症の抑制因子に関しても、モデルマウスを作製し、その効果を検討する。

4 . 研究成果

内分泌ホルモン産生細胞として、エリスロポエチン産生細胞および副甲状腺細胞に関して、ヒト iPS 細胞から高効率に分化誘導する方法を検討した。これまで報告した分化誘導法に、いくつかの誘導因子を加えることや、これらの刺激時間を最適化することで、誘導効率を上げることができ、新規分化誘導法とした。また、産生された内分泌ホルモンのマーカーを発現する iPS 細胞を作製した。この内分泌検出細胞と、我々が独自に開発した分化誘導法を組み合わせ、低コストで簡便に内分泌ホルモン産生を検出することができた。これにより、ヒト iPS 細胞から高効率に内分泌細胞を分化誘導する検討を容易に行うことが可能となった。さらに、作製された細胞の品質特性の検討を行った。エリスロポエチン以外の様々な因子を分泌していることを確認した。これらの分泌因子に関して、臨床応用の際に問題とならないことを検討した。一方、ヒト iPS 細胞由来エリスロポエチンや他の内分泌ホルモンは多彩な糖鎖を認めた。そこで詳細な糖鎖解析を行い、生理活性や半減期に影響を与える糖鎖を検討した。次に、各種疾患モデル動物の作製と細胞移植法の検討を行った。マウスにアデニンを経口投与することで腎性貧血モデルを作製した。また、薬剤による内分泌機能低下モデルマウスの作製や外科的摘除モデルマウスを検討した。次に、細胞移植用デバイスを開発するため、生体適合性を考慮した医療材料で作製されたモジュールに細胞を充填し、細胞の生着と内分泌ホルモン産生を評価した。さらに、内分泌ホルモン検出細胞を各種内分泌機能低下モデルマウスに移植することで、体外から内分泌ホルモン産生を検出することを目的として検討を行った。新規内分泌ホルモン検出細胞を目的内分泌細胞に分化誘導してモデル動物に移植することで、*in vivo* における内分泌機能の評価が可能となった。また、新規内分泌ホルモン検出細胞は、特許の出願を行った。また、副甲状腺細胞をヒト iPS 細胞から誘導する方法に関して学術論文として報告した。(Stem Cells Dev. 2023) さらに、副甲状腺細胞の分化誘導法の特許出願し取得した。(特開 2021-069345)

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 3件）

1. 著者名 Yasuda M, Kato T, Okano M, Yamashita H, Matsuoka Y, Shirouzu Y, Fujioka T, Hattori F, Tsuji S, Kaneko K, Hitomi H.	4. 巻 13
2. 論文標題 Efficient protocol for the differentiation of kidney podocytes from induced pluripotent stem cells, involving the inhibition of mTOR	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Sci Rep.	6. 最初と最後の頁 20010
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-023-47087-8	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 Nakatsuka R, Kato T, Zhang R, Uemura Y, Sasaki Y, Matsuoka Y, Shirouzu Y, Fujioka T, Yamashita H, Hattori F, Nozaki T, Ogata H, Hitomi H.	4. 巻 32
2. 論文標題 The induction of parathyroid cell differentiation from human iPS cells promoted via TGF- β /EGFR signaling	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Stem Cells Dev.	6. 最初と最後の頁 670-680
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1089/scd.2023.0130	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Ishigaki M, Hitomi H, Ozaki Y, Nishiyama A.	4. 巻 12
2. 論文標題 Exposing intracellular molecular changes during the differentiation of human-induced pluripotent stem cells into erythropoietin-producing cells using Raman spectroscopy and imaging	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Sci Rep.	6. 最初と最後の頁 20454
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-022-24725-1.	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 Katagiri N, Hitomi H, Mae S, Kotaka M, Lei L, Yamamoto T, Nishiyama A, Osafune K.	4. 巻 11
2. 論文標題 Retinoic acid regulates erythropoietin production cooperatively with hypoxia-inducible factors in human iPSC-derived erythropoietin-producing cells	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Sci Rep.	6. 最初と最後の頁 3936
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-021-83431-6	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18件（うち招待講演 4件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 岡野舞, 保田真宏, 下村由衣, 白水泰昌, 松岡由和, 藤岡龍哉, 人見浩史
2. 発表標題 先天性尿素サイクル異常症の病態肝モデルとしてのシトリン欠損患者由来人工多能性幹細胞
3. 学会等名 第23回日本再生医療学会総会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 中塚隆介, 加藤憲, 野崎中成, 人見浩史
2. 発表標題 ヒトiPS細胞を用いた副甲状腺細胞分化誘導法の開発
3. 学会等名 第23回日本再生医療学会総会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 人見浩史, 岡野舞, 下村由衣, 金子一成
2. 発表標題 シトリン欠損症患者由来iPS細胞を用いた尿素サイクル異常症の病態肝モデル作成
3. 学会等名 第144回日本薬理学会近畿部会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 金川竜也, 松岡由和, 佐々木香る, 人見浩史
2. 発表標題 膠様滴状角膜ジストロフィ患者由来iPS細胞を用いた疾患モデルの作製
3. 学会等名 第33回日本サイトメトリー学会学術集会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 人見浩史, 加藤憲, 保田真宏
2. 発表標題 ヒトiPS細胞を用いた腹膜中皮細胞の誘導
3. 学会等名 第58回日本小児腎臓病学会学術集会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 保田真宏, 岡野舞, 加藤憲, 加藤正吾, 木全貴久, 藤岡龍哉, 辻章成, 人見浩史, 金子一成
2. 発表標題 特発性ネフローゼ症候群におけるmTORの役割の解明:ゲノム編集ヒトiPS細胞由来ポドサイトを用いた検討
3. 学会等名 第58回日本小児腎臓病学会学術集会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 保田真宏、岡野舞、加藤憲、藤岡龍哉、辻章志、人見浩史、金子 一成
2. 発表標題 mTOR阻害薬を用いたiPS細胞から腎系球体上皮細胞 への効率的な平面培養誘導法の開発
3. 学会等名 第65回日本腎臓学会学術総会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 保田真宏、岡野舞、加藤憲、藤岡龍哉、辻章志、人見浩史、金子一成
2. 発表標題 特発性ネフローゼ症候群におけるmTORの役割の解明:ヒトiPS細胞由来ポドサイトを用いた検討
3. 学会等名 第125回日本小児科学会学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 保田真宏, 岡野舞, 加藤憲, 藤岡龍哉, 辻章志, 人見浩史, 金子一成
2. 発表標題 mTOR阻害薬を用いたiPS細胞から腎系球体上皮細胞への効率的な平面培養誘導法の開発
3. 学会等名 第57回日本小児腎臓病学会学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 人見浩史
2. 発表標題 ヒトiPS細胞由来内分泌細胞を用いた新規治療法開発
3. 学会等名 第26回日本心血管内分泌代謝学会学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 人見浩史
2. 発表標題 iPS細胞の臨床応用「これまで」と「これから」
3. 学会等名 第30回日本慢性期医療学会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 澤田俊輔, 山下裕美, 松岡由和, 白水泰昌, 藤岡龍哉, 人見浩史, 伊泊真央, 切東真子, 安井大樹, 後藤倫子, 兒島由佳, Linh Manh Nguyen, Dan Van Bui, 鈴木健介, 尹泰貴, 濱田聡子, 小林良樹, 八木正夫, 神田晃, 岩井大, 服部文幸
2. 発表標題 放射線治療による唾液腺機能不全に対するヒトiPS細胞を用いた細胞移植療法
3. 学会等名 第22回日本再生医療学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 中塚隆介, 加藤憲, 野崎中成, 人見浩史
2. 発表標題 ヒトiPS細胞より分化した副甲状腺細胞の同定とEGFRシグナル抑制による過形成抑制
3. 学会等名 第140回日本薬理学会近畿部会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 人見浩史
2. 発表標題 腎臓疾患からiPS細胞の作製とその活用法
3. 学会等名 第30回日本小児泌尿器科学会総会・学術集会(招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 保田真宏, 加藤憲, 加藤正吾, 木全貴久, 藤岡龍哉, 辻章志, 人見浩史, 金子一成
2. 発表標題 特発性ネフローゼ症候群におけるmTORの役割の解明: ヒトiPS細胞由来ポドサイトを用いた検討
3. 学会等名 第56回日本小児腎臓病学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 人見浩史
2. 発表標題 慢性腎臓病に対するiPS細胞由来内分泌細胞を用いた新規治療開発
3. 学会等名 第94回日本内分泌学会学術総会(招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 人見浩史, 片桐直子, 前伸一, 小高真希, Li Lei, 山本拓也, 西山成, 長船健二
2. 発表標題 ヒトiPS細胞から分化誘導したEPO産生細胞を用いたレチノイン酸によるEPO産生制御機構の解明
3. 学会等名 第94回日本内分泌学会学術総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 人見浩史
2. 発表標題 iPS細胞を用いた腎臓病における臨床応用と研究の展望
3. 学会等名 第57回近畿小児腎臓病研究会(招待講演)
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計2件

産業財産権の名称 内分泌ホルモン遺伝子発現検出細胞	発明者 藤岡龍哉、福田尚代、人見浩史	権利者 学校法人 関西医科大学
産業財産権の種類、番号 特許、特願2022-148782	出願年 2022年	国内・外国の別 国内

産業財産権の名称 多能性幹細胞から腹膜中皮細胞を分化誘導する方法	発明者 加藤憲、人見浩史	権利者 学校法人 関西医科大学
産業財産権の種類、番号 特許、特願2021-028107	出願年 2021年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔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
---------	---------