

厚生労働科学研究費補助金（再生医療実用化研究事業）  
分担研究報告書

劇症患者由来 iPS 細胞の作製

研究分担者 梅澤 明弘

独立行政法人国立成育医療研究センター 再生医療センター長

研究要旨

小児劇症肝炎患者から iPS 細胞を樹立し、特異的な遺伝的多型を有する iPS 細胞由来分化誘導肝細胞を作製するとともに、その性質を精査する

A. 研究目的

本研究は、小児劇症肝炎患者から iPS 細胞を樹立し、特異的な遺伝子多型を有する iPS 細胞由来肝細胞を作製するとともに、その性質を精査し、毒性評価研究に利用するための材料の提供を行うことを目的とする。

B. 研究方法

劇症肝炎患者由来の iPS 細胞の作製を行うための、倫理的手続きを行った。また、その予備実験として、既存 iPS 細胞を用いて多分化能（胚葉体形成、奇形腫形成）ゲノム（核型、CGH 等）未分化性（免疫組織化学、RT-PCR、Transcriptome 等）形態、エピジェネティクス（Bisulfite sequence 法、Illumina assay 等）純度（細菌、マイコプラズマ、ウイルス、エンドトキシン等）の解析項目を決定し、評価を行った。

（倫理面への配慮）

組織については、平成 22 年 11 月 1 日施行された「ヒト幹細胞を用いる臨床研究に関する指針（平成 22 年厚生労働省告示第 380 号）」に従い、最新の社会的な影響を十分に考慮する。さらに、倫理的な手続きおよび考え方が年次毎に異なると予想されるため、「厚生労働科学研究に関する指針」に準拠する。実験動物を用いる研究については、国立成育医療センター研究所動物実験指針に準拠して研究を実施する（承認番

号 2003-002, 2005-003）。特に、動物愛護と動物福祉の観点から実験動物使用は、目的に合致した最小限にとどめる。またその際、麻酔等手段により苦痛を与えない等の倫理的配慮をおこなう。実験者は、管理者と相互協力のもと適切な環境のもと飼育管理を行う。

C. 研究結果

劇症肝炎を含む小児先天性代謝異常症に対する倫理申請を完了した（受付番号 660, 738）。患者選定、同意取得のプロセスを経た後に劇症肝炎患者由来の iPS 細胞の樹立を行うことになる。また、iPS 細胞から肝細胞分化に向けた検討を行い、プロトコールを確定した。

D. 考察

患者の臨床検体を用いる研究においては、倫理的手続きが重要である。その手続きを完了し、受入準備を整えることができた。希少疾患である小児肝疾患の患者数は少ないものの、従来までの受入実績を鑑み、当該 iPS 細胞の樹立を行うことは十分可能であると考えられた。

E. 結論

劇症肝炎を含む小児先天性代謝異常症に対する倫理申請を完了した（受付番号 660, 738）。また、iPS 細胞から肝細胞分化に向けた検討を行い、

プロトコールを確定した。

#### G. 研究発表

Enosawa S, Horikawa R, Yamamoto A, Sakamoto S, Shigeta T, Nosaka S, Fujimoto J, Tanoue A, Nakamura K, Umezawa A, Matsubara Y, Matsui A, Kasahara M. Hepatocyte transplantation using the living donor reduced-graft in a baby with ornithine transcarbamylase deficiency: A novel source for hepatocytes. *Liver Transpl.* 2013

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

なし