

厚生労働科学研究費補助金（肝炎等克服緊急対策研究事業）
分担研究報告書

自己幹細胞からの革新的肝再生療法の開発と応用

研究分担者 霜田 雅之 国立国際医療研究センター研究所 プロジェクト研究長

研究要旨：本課題では、新規ペプチドベクター（NTP）付加型蛋白質を用いて「ヒト間葉系幹細胞 肝臓細胞への分化誘導」や「ヒトiPS細胞の作成 肝臓細胞への分化誘導」するためのシステムを確立することが目的である。

分担研究者の分担は、本技術を最終的に肝硬変患者に臨床応用するために、小型動物での技術確立の次段階として中、大動物を用いた移植実験によってその有効性と安全性を検証することである。

研究方法： 中動物として、ミニブタもしくはさらに低体重のマイクロブタ、もしくはマーモセットがあるが、なかでも小型霊長類であるマーモセットに注目した。H26年度は、基礎データ収集および肝障害モデルの開発研究を行う。

成果、結果： H26年度はマーモセットを用いて血液・尿検査・肝機能を含む生化学検査のデータを収集した。全身麻酔下に開腹手術を行い、肝臓および周囲血管、腹腔内臓器の検証を行った。さらに、肝障害性薬剤をマーモセットに投与して急性肝障害を生じさせ、血液・尿検査・肝機能を含む生化学検査のデータを収集した。また、肝臓を採取して組織学的に検証した。

考察・結論：H26年度はマーモセットを用いた肝障害モデル作製の基礎データの収集を行った。H27年度は肝障害モデル作製と移植実験を予定している。

A. 研究目的

本課題では、新規ペプチドベクター（NTP）付加型蛋白質を用いて「ヒト間葉系幹細胞 肝臓細胞への分化誘導」や「ヒトiPS細胞の作成 肝臓細胞への分化誘導」するためのシステムを確立することが目的である。しかし、幹細胞由来肝細胞の評価を肝障害中動物モデルで行う方法は確立されていない。分担研究者の分担は、分化細胞の

臨床応用のために小型動物での技術確立の次段階として中、大動物を用いた移植実験によってその有効性と安全性を検証することである。

B. 研究方法

分化細胞の評価を行う中動物モデルを確立する。本研究では、小型霊長類であるマーモセットに注目した。

(1) マーモセットに対する安全な肝臓への
細胞移植法の基礎技術の確立

初めに、正常な個体を用いて細胞の移植実験を行い、移植方法や移植細胞の生着性、グラフト機能の評価および腫瘍化の有無や全身への遊走性などレシピエントの安全性を検証する。

(2) マーモセットの薬剤投与による肝障害モデルの開発

治療を施さなければ致死に至る程度の肝障害モデルを作成するが、細胞移植は同所性の肝臓をターゲットに血管を通して行われるため、肝実質および血管系は保たれている必要がある。また、肝は再生能力の強い臓器であるため、軽度の障害では自己回復してしまう。移植細胞効果の評価のためには、ある程度の期間肝障害が持続することが望ましいが、まずは急性期の障害に対する効果の検証を目的として、これらの特性を踏まえて再現性の高い急性肝障害モデルを確立する。さらに、移植後の免疫抑制剤使用が必要であるので、薬剤投与方法の最適化を行う。

(3) 肝障害マーモセットモデルへの移植実験

モデル確立後、細胞移植を行い、最適な移植方法、細胞量を検討し、肝機能を評価する。

年次計画は以下である。

平成25年度：正常な個体を用いて細胞の移植を行い、移植方法や移植細胞の生着性、グラフト機能の評価および腫瘍化の有無や全身への遊走性などレシピエントの安全性を検証のための実験を開始する。

平成26年度

前年度の実験を引き続き行う。

肝障害モデルを作製する。

肝障害モデルに細胞移植実験を開始する。

平成27年度

引き続き細胞移植実験継続

評価項目のデータ収集

C. 研究結果

H26 年度は正常なマーモセットに対して肝障害性薬剤を投与して急性肝障害を起こした。薬剤投与量に応じて肝酵素および胆道系酵素の上昇を認め、肝不全により1～3週間で死亡した。生理的、血液学的データの収集を行い、肝臓の組織学的検証を行った。

D. 考察

H26 年度の計画は順調に経過したが、全体の研究進捗を鑑みて時期尚早であるため、マーモセットへの移植実験は行っていない。

E. 結論

H27 年度からはマーモセットの肝障害モデル作製や移植実験を行う予定である。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Sugimoto K, Itoh T, Takita M, Shimoda M, Chujo D, SoRelle JA, Naziruddin B, Levy MF, Shimada M, Matsumoto S. Improving allogeneic islet transplantation by suppressing Th17 and enhancing Treg with histone deacetylase inhibitors. *Transpl Int.* 2014 Apr;27(4):408-15.

2. Shimoda M, Chen S, Noguchi H, Takita M, Sugimoto K, Itoh T, Chujo D, Iwahashi S, Naziruddin B, Levy MF, Matsumoto S, Grayburn PA. A New Method for Generating Insulin-Secreting Cells from

Human Pancreatic Epithelial Cells After Islet Isolation Transformed by NeuroD1. Hum Gene Ther Methods. 2014 Jun;25(3):206-19.

3. Takita M, Itoh T, Shimoda M, Kanak MA, Shahbazov R, Kunnathodi F, Lawrence MC, Naziruddin B, Levy MF. Pancreatic Ductal Perfusion at Organ Procurement Enhances Islet Yield in Human Islet Isolation. Pancreas. 2014 Nov;43(8):1249-55.

4. Questionnaire Survey of Patients with Type-1 Diabetes Mellitus and Their Family Members on the Acceptance of Newly Emerging Therapies. Journal of Diabetes & Metabolism in press.

2. 学会発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし