

山村 研一

熊本大学生命資源研究・支援センター  
教授

iPS 細胞による肝臓ヒト化モデルの構築と治療実験

## § 1. 研究実施体制

### (1) 「山村」グループ

① 研究代表者: 山村 研一 (熊本大学生命資源研究・支援センター 教授)

#### ② 研究項目

- ・ヒト肝細胞移植に最適なヒト化最適マウスの確立
- ・ヒト iPS 細胞由来ヒト肝細胞の機能解析
- ・FAP 患者由来 iPS 細胞からの変異肝細胞分化誘導

### (2) 「新井」グループ

① 主たる共同研究者: 新井 郷子 (東京大学大学院医学系研究科 講師)

#### ② 研究項目

- ・ヒト肝細胞移植に最適なヒト化最適マウスの確立
- ・ヒト iPS 細胞由来ヒト肝細胞の機能解析
- ・PA 患者由来 iPS 細胞からの変異肝細胞分化誘導

## § 2. 研究実施の概要

全体としては 4 つの研究項目、1. ヒト肝細胞移植に最適なヒト化最適マウスの確立、2. ヒト iPS 細胞からのヒト肝細胞の分化誘導と肝臓ヒト化マウスの樹立、3. ヒト変異 iPS 細胞からのヒト変異肝細胞の分化誘導と変異肝臓ヒト化マウスの樹立、4. 変異肝臓ヒト化マウスの検証と病態モデルとしての確立、であるが、平成25年度は、1-3について研究を行った。

ヒト肝細胞移植に最適なヒト化最適マウスの樹立に関しては、免疫不全マウス由来の ES 細胞を樹立し、その ES 細胞に2つのベクターを導入することに成功した。これらの ES 細胞を用いて多数のマウス系統を樹立し、マウスにタモキシフェンを投与することによりマウス肝細胞を死滅させることのできる系統を確立した。

ヒト iPS 細胞からのヒト肝細胞の分化誘導と肝臓ヒト化マウスの樹立に関しては、これまで M15 フィーダー細胞を用いて効率よく肝細胞の分化誘導に成功していたが、実際にマウスへの移植を考慮するとフィーダー細胞を用いない系の樹立が好ましいと考えられた。そこで、Hannan らの論文 (Nature Protocols 8:430-437, 2013)を参考に改良を行い、分化効率がよくしかも通常4週間を要するところ 14-16 日間程度で肝細胞を誘導する方法を確立した。また、肝細胞を移植するより良い方法を開発することを目指し、胎児期の卵黄血管に肝細胞を移植する方法を検討した。マーカー遺伝子として EGFP を発現するトランスジェニックマウスから単離した初代肝細胞を移植したところ、高い確率で EGFP を発現する肝細胞が生着していることが分かった。すなわち、遺伝子や腫瘍細胞のみならず、成熟した正常肝細胞も胎仔肝に移入し生着・増殖することが確認された。

ヒト変異 iPS 細胞からのヒト変異肝細胞の分化誘導と変異肝臓ヒト化マウスの樹立に関しては、FAP 患者 iPS 細胞からの変異肝細胞の分化誘導に成功し、その肝細胞において、変異型 TTR を発現していることを確認した。また、プロピオン酸血症の患者よりの iPS 細胞も樹立し、患者と同じ変異を持つことを確認した。

### § 3. 成果発表等

#### (3-1) 原著論文発表

1. Semba, K., Araki, K., Matsumoto, K., Suda, H., Ando, T., Sei, A., Mizuta, H., Takagi, K., Nakahara, M., Muta, M., Yamada, G., Nakagata, N., Iida, A., Ikegawa, S., Nakamura, Y., Araki, M., Abe, K. and Yamamura, K. Ectopic Expression of *Ptfla* Induces Spinal Defects, Urogenital Defects, and Anorectal Malformations in *Danforth's Short Tail* Mice. *PLoS Genet.* **9**: e1003204, 2013  
(doi:10.1371/journal.pgen.1003204)
2. Iwashita H., Shiraki N., Sakano D., Shiga M., Sasamoto K, Kume K., and Kume S. Secreted Cerberus1 as a marker for quantification of definitive endoderm differentiation of pluripotent stem cells. *PLOS ONE* **8**: e64291, 2013.  
(doi:10.1371/journal.pone.0064291)
3. Isono, K., Jono, H., Ohya, Y., Shiraki, N., Yamazoe, T., Sugasaki, A., Era, T., Fusaki, N., Tasaki, M., Ueda, M., Shinriki, S., Inomata, Y., Kume, S. and Ando, Y. Generation of familial amyloidotic polyneuropathy-specific induced pluripotent stem cells. *Stem Cell Res.* **12**:574-583, 2014. (doi:10.1016/j.scr.2014.01.004)