

「人工多能性幹細胞（iPS 細胞）作製・制御等の医療基盤技術」
平成 22 年度採択研究代表者

H26 年度
実績報告書

山村 研一

熊本大学生命資源研究・支援センター
シニア教授

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 シニア教授)

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 准教授)

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
- ・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26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 細胞に新たな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。また、肝細胞の増殖に必要なマウス遺伝子を破壊した ES 細胞及びそのマウスの作製に成功した。さらに、マウス遺伝子を破壊後に、ヒト相同遺伝子を挿入しヒト化した ES 細胞およびヒト化マウスの作製に成功した。

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、Hannan らの論文 (Nature Protocols 8:430-437, 2013) を参考に改良を行い、分化効率がよく肝細胞を誘導する方法を確立した。synthetic nanofiber を用いると、Rac1 の活性化を通して分化誘導を促進することを明らかにした。さらに、ヒト iPS 細胞では、多分化能を維持するために高い濃度の methionine とその代謝産物である S-adenosylmethionine を必要とすることを明らかにした。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、胎児期に肝細胞を移植する方法を開発した。

ヒト変異 iPS 細胞からのヒト変異肝細胞の分化誘導に成功した。

Nobuaki Shiraki, Yasuko Shiraki., Tomonori Tsuyama, Fumiaki Obata, Masayuki Miura, Genta Nagae, Hiroyuki Aburatani, Kazuhiko Kume. Methionine metabolism regulates maintenance and differentiation of human pluripotent stem cells. *Cell Metab.* 2014 May 6;19(5):780-94. (doi: 10.1016/j.cmet.2014.03.017).