

● 畑野 悠 特定助教

Yu HATANO (Program-Specific Assistant Professor)

研究課題：発生学的ニッチと人為的遺伝子改変を用いたヒト iPS 細胞由来膵臓臓器再構築

(Pancreas organ regeneration from human iPS cells using developmental niches and genetic modification)

専門分野：再生医療 (Regenerative medicine)

受入先部局：iPS 細胞研究所 増殖分化機構研究部門 長船研究室

(Osafune Lab, Department of Cell Growth and Differentiation, Center for iPS Cell Research and Application)

前職の機関名：iPS 細胞研究所 増殖分化機構研究部門 長船研究室

(Osafune Lab, Department of Cell Growth and Differentiation, Center for iPS Cell Research and Application)



私の現在の専門は、糖尿病関連の再生医療研究です。特に、1 型糖尿病患者を根治することを目指して研究を行っています。ヒト iPS 細胞などの多能性幹細胞を利用して、インスリン産生細胞への分化誘導と膵臓臓器そのものの再構築を目指しています。この再生医療研究に、私の今までの dry 解析の知識や技術を融合させて、糖尿病の根治に繋がるような研究を進め、社会に貢献できる研究者となることを目標としております。

白眉プロジェクト期間中の目標は、ヒト iPS 細胞由来の膵臓臓器をブタなどの異種動物体内で再構築することです。これを実現するために、まずホスト動物として膵臓欠損や形成不全を引き起こすニッチを持つ動物を利用します。一方、ドナー側にはキメラ形成を促進する遺伝子改変を行ったヒト iPS 細胞を使用します。このように、ドナー側とホスト側の双方に適切な環境を整えることで、ヒト膵臓に近い大きさのヒト iPS 細胞由来膵臓臓器の再構築を目指します。

My goal is to cure patients with type 1 diabetes through regenerative medicine. I am conducting research using pluripotent stem cells, such as human iPS cells, to differentiate insulin-producing cells and regenerate the human pancreas organs. Integrating these techniques with my skill in dry analysis, I aim to advance studies that contribute to society.

My aim during the Hakubi Project is to regenerate human iPS cell-derived pancreas organs in non-human animals, such as pigs. To achieve this, I will utilize 1) host animals with a niche for pancreas agenesis or defective formation, and 2) gene-edited human iPS cells to promote chimera formation. By preparing the environment for both the donor and host sides, I aim to regenerate human iPS cell-derived pancreas organs with the similar size to human pancreas.

背景：膵臓再生医療研究

1 型糖尿病は、自己免疫などの機序により膵 β 細胞が破壊され、発症後生涯にわたってインスリン治療を必要とする難治性疾患である。現在、外因性インスリン治療に代わる根治的治療法として、膵臓・膵島移植が研究および実施されている。しかし、これらの移植療法には、圧倒的なドナー不足という問題が存在している。近年、ドナー不足を解決するための方策として、無限の増殖能と全身の細胞種への多分化能を有するヒト胚性幹細胞

(ES 細胞) やヒト人工多能性幹細胞 (iPS 細胞) から作製した細胞や組織の移植によって臓器機能の回復やドナー臓器不足の解決を図る再生医療が盛んに研究されている。膵臓臓器再生が可能となれば、豊富な内分泌細胞提供源となるだけでなく、膵全摘出患者の外分泌機能の回復も期待される。しかし、ヒト体内膵臓と同等サイズの複雑な 3 次元臓器を in vitro で作製することは現在の技術では難しい。一方、完全な臓器として膵臓を作製するため、胚盤胞補完法という動物の体内で臓器を作製

する試みが行われている。遺伝子改変により目的臓器を欠失させた動物の受精卵胚盤胞に、野生型 ES/iPS 細胞を注入して幹細胞由来の目的臓器を作り出すという技術である¹⁾。しかし、胚盤胞補完法には、異種動物の体内にヒトの脳内神経細胞や生殖細胞などの目的外細胞が作製される可能性があり、安全性評価や倫理的課題の面から、方法の改良や代替法の確立が求められている。また、異種間の細胞競合により、異種動物体内でのヒト由来臓器形成の困難さが唱えられている。

異種動物体内での臓器再構築

申請者らは、(1) 発生学的ニッチを用いた臍前駆細胞補完法という新たな手法構築と、(2) CRISPR/dCas9 システムを用いてキメラ促進因子の同定を行い、両者を融合させることで異種動物体内においてヒト iPS 細胞由来臓器再構築を達成するという研究目標を立案している。具体的には、(1) 臍前駆細胞補完法とは、遺伝子改変により臓器形成不全となる異種動物胎仔の臓器形成予定領域にドナー臍前駆細胞を注入することで、ドナー細胞由来臓器を再構築するというものである（図 1）。本方法では、胚盤胞補完法と異なり、ドナー細胞として多能性幹細胞ではなく臍前駆細胞を使用する。また、宿主側である注入部位も臓器形成予定領域に限られるため、臓器以外の目的外細胞が作製されるリスクを回避できる可能性が高い。さらに、(2) のキメラ促進因子同定のために、CRISPR/dCas9 網羅的スクリーニングを行い、キメラ促進候補因子の同定を行う。(1) と (2) を組み合わせることで、異種動物体内でヒト iPS 細胞由来臓器再構築を達成する（図

1)。臓器形成不全マウスの中でヒト iPS 細胞由来臓器を作製することで救命と血糖改善を行う。さらに、本研究で開発予定の超音波ガイド下穿刺手技を用いて、遺伝子組み換え臓器形成不全ブタの体内にヒト iPS 細胞由来臓器を作製する。また、網羅的トランスクリプトーム解析などを用いて、(2) で同定した因子のキメラ促進メカニズムを探索する。

低抗原 iPS 細胞由来臓器再構築

ドナー細胞として HLA ゲノム編集 iPS 細胞由来臍前駆細胞を用いることで、低抗原ヒト臓器の構築を試みる。これにより、臨床応用を目指した免疫拒絶反応のリスクが低いヒト臓器の再構築を目指す。

本研究により期待される成果

本研究は、発生学的ニッチと人為的遺伝子改変を組み合わせる点で新規であり、ブタに応用することでヒト iPS 細胞からヒトとほぼ同等のサイズの臓器再生という革新的な技術開発に発展可能である。申請者の夢である“1 型糖尿病患者にインスリン注射フリーの生活を生み出す”という目標達成や、臓器欠損患者への移植ドナー臓器源としての可能性を有している。

参考文献

1. Kobayashi, T., Yamaguchi, T., Hamanaka, S., Kato-Itoh, M., Yamazaki, Y., Ibata, M., Sato, H., Lee, Y.S., Usui, J., Knisely, A.S., et al. (2010). Generation of rat pancreas in mouse by interspecific blastocyst injection of pluripotent stem cells. *Cell* 142, 787-799. 10.1016/j.cell.2010.07.039.

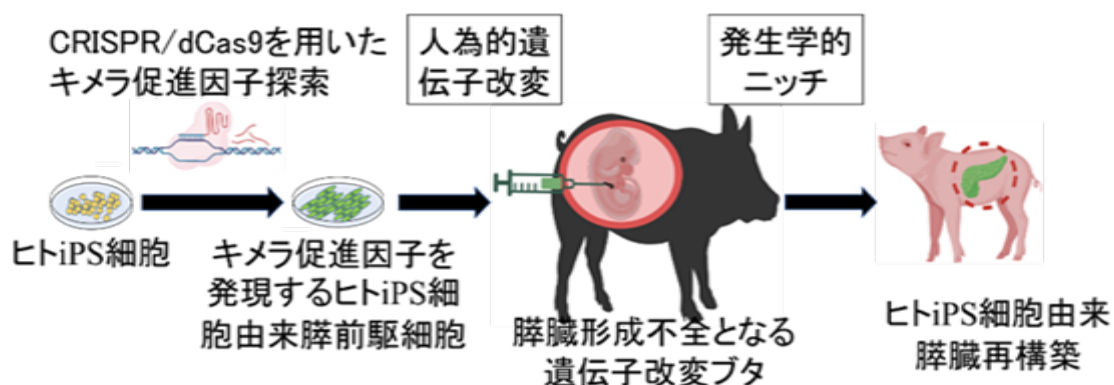


図 1. 発生学的ニッチと人為的遺伝子改変を用いたヒト iPS 細胞からの臓器再構築