

iPS 細胞由来の“肝臓の芽”の移植で 重度肝疾患の治療を目指す

横浜市立大学大学院医学研究科（臓器再生医学、同大学先端医科学研究センター 研究開発部門長）

谷口 英樹 教授

細胞そのものを移植するのではなく、細胞から育てた臓器を移植するのではなく、その中間にあたる“臓器の芽”を作製して移植し、患者さんにそれを育ててもらう。再生医療の概念を変える新しいコンセプトを打ち出し、2019年に“肝臓の芽”移植の臨床研究開始を目指す谷口 英樹 教授に研究の現状と将来構想を聞く。

肝臓に存在する肝細胞以外の細胞を加えて“肝臓の芽”を作製

谷口教授は外科医として、これまで多くの肝臓移植手術を手がけてきた。現在も内視鏡手術などを担当しながら、研究を続けている。

肝臓はヒトの最大の臓器で、その9割を切除しても残りの1割が元の大きさにまで再生する。“肝臓の芽”をiPS細胞を用いて作製し、患者さんに体内で育ててもらうという発想は、患者さん自身の持つ治癒力、肝臓の再生力を目の当たりにしてきた谷口教授ならではの道。

現在行われているiPS細胞関連研究の多くは、iPS細胞から臓器様の細胞を作るものだ。培養系でこうした分化誘導を

行う場合、その成熟過程に合わせて、分化に必要な分子を順に添加していく。実際、iPS細胞由来の臓器様細胞の作成は、すでに成功例が複数報告されている。しかしこうした報告には、分化効率が低い、再現性に乏しい、という問題があり、また、分化した臓器様細胞がヒトの臓器の細胞と同様の機能を持っているのかどうかの評価が難しいという課題もある。さらに、分化した臓器様細胞をマウスなどに移植しても、うまく生着しないことが多い。

谷口教授もES細胞やiPS細胞を使って肝細胞様細胞を作る研究をしてきたが、「私たちの研究のエンドポイントは移植できる肝臓を作って重度肝疾患の患者さんを救うこと。それには本来の肝臓

のように多種類の異なった細胞の集合体にするべき」と発想を変えた。

肝臓には肝上皮細胞（肝細胞と胆管上皮細胞）や血管内皮細胞、間葉系細胞、血液細胞などがある。肝臓は内胚葉由来の前腸上皮から発生し、肝臓のほとんどを占める肝細胞は、前腸上皮由来の肝芽細胞から分化する。谷口教授らは、iPS細胞由来の腸管上皮細胞を分化誘導させたところ、80～90%の細胞が肝芽細胞へと分化するものの、それ以降の分化効率が極端に落ちることを明らかにした。つまり、臓器の3次元化が進む段階以降は、分化がうまく進まないのだ。これについて谷口教授は、「血管内皮細胞、接着剤のような役目を果たす間葉系細胞など中胚葉由来の細胞を仲間に入れて一緒に育てれば、血流などの物理的な刺激も加わって、肝臓様の組織ができるのでは」と推測した。

そこで谷口教授は、ヒトiPS細胞の分化誘導を腸管上皮細胞の段階で止め、シート状になった腸管上皮細胞にヒト臍帯血由来の血管内皮幹細胞と間葉系幹細胞を混ぜた。すると、それぞれの細胞が自律的に集合し、48時間ほどでボール状になった（図1a）。このボール状の組織には肝臓同様に、細胞と細胞の間に血管のような管状構造が形成され、その傍らには間葉系細胞が存在していた（図1b、1c）。そして、肝臓発生の際に

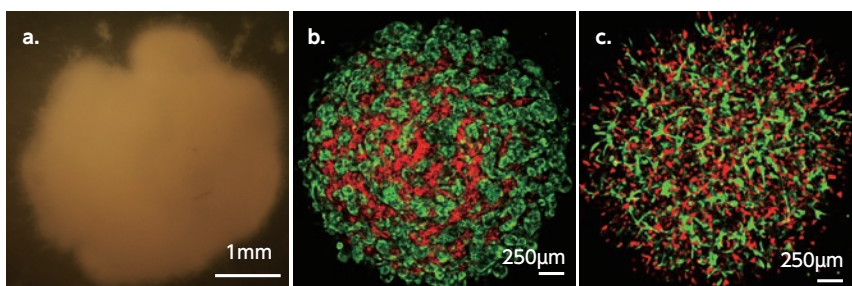


図1. iPS細胞から分化させて作製した“肝臓の芽”

a. ヒトiPS細胞から分化させた腸管上皮細胞を、ヒト臍帯血由来の血管内皮幹細胞と間葉系幹細胞を混ぜて培養したところ、細胞が自律的に集合してボール状になった。b. このボール状の組織は、細胞（緑色）と細胞の間に血管のような管状構造（赤色）が形成された。c. 管状構造（緑色）の傍らには、間葉系細胞（赤色）が存在していた。なお、この“肝臓の芽”は*Science*の“10 Breakthrough of the Year, 2013”の“Dishing Up Mini-Organs”の1つとして取り上げられた。

段階的に発現が上昇する肝臓特異的遺伝子の発現データベースと照らし合わせてクラスター分析を行うと、この組織の分化段階は、まさに肝臓の発生初期に位置することが明らかになった。“肝臓の芽” (liver bud) の誕生だった¹。また、この方法は、分化効率が非常に高いことも分かった。従来のように iPS 細胞を直接分化誘導した場合、肝細胞様の細胞へと分化するのは 3~4 割だが、この“肝臓の芽”には肝細胞様の細胞が約 7 割も含まれていたのだ。

実際にヒト iPS 細胞由来の“肝臓の芽”を免疫不全マウスに移植すると、肝臓にのみ生着した。しかも発生初期に合成されるアルブミンをはじめ、肝臓特異的なヒト型タンパク質を作り出しており、また、メタボローム解析や薬物代謝解析から、ヒト型の代謝産物が多くなっていることが分かった。

さらに、“肝臓の芽”を免疫不全マウスの脳脊髄に移植すると、2 日目には血管がつながり、血液が流れるのを確認した²。「この速さには驚きました。ヒトの肝移植では血液が流れるまで 10 日はかかります」と谷口教授。なお、移植前と移植後では遺伝子発現のパターンが異なり、“肝臓の芽”が成熟していることが分かった。また、致死性の薬剤性肝障害を起こしたマウスに“肝臓の芽”を移植したところ、9 割が生存し、肝臓が正常に機能することも確かめている。

“肝臓の芽”の大量生産や安全性担保に向けての準備も進む

谷口教授は、“肝臓の芽”の臨床研究までのハードルとして、“大量生産”“GMP (Good Manufacturing Practice) 準拠”“移植操作”の 3 つを挙げる。このうち大量生産については、半球状に凹ませた小さな盤を用いて、均質に大量に作ることを考えている。品質管理と操作性の観点から、1 つ 1 つは小さい“肝臓の芽”を作り、それを多量に移植する方が良いからだ。現在、GMP 準拠に向け、複数の細胞を組み合わせるためにベルトコン



ベックマン・コールター社「MoFlo™ Astrios™」と谷口教授

谷口教授の実験には、フローサイトメトリーが欠かせない。調べたい細胞を選ぶ際に特定のマイナーな分子を持つ細胞を取り除き、細胞のばらつきを少なくするため。もちろん、“肝臓の芽”になる効率が上がりやすい細胞、あるいは移植後の生着が良くなる特定の分子の発現パターンを持つ細胞を選ぶのにも使っている。「フローサイトメトリーは、1 つの細胞に発現している分子、また、組織中のある細胞の存在比率の 2 つを定量化できます。中でも“MoFlo™ Astrios™”はさまざまな表面抗原を同時に検出でき、高度なセルソーティングをスピーディーに行えるのがメリット。脆弱な細胞にもやさしいのがありがたい」。

ベヤーでつながったセルプロセッシングセンターを建設中で、12 月に完成予定。移植操作は、これまで 1000 例以上行われている人工膵島移植を参考にしている。「膵島移植では生着のために門脈から肝臓に点滴で人工膵島細胞を流す際に門脈塞栓が起こり、肝臓が傷つきます。流す材料の大きさ、量やスピード、門脈塞栓の度合いや肝臓の傷害度のデータは“肝臓の芽”の臨床研究にも応用できます」。谷口教授はすでにこの方法をラットで試し、肝臓への生着を確認している。

iPS 細胞は安全性担保と産業化の観点から、京都大学 iPS 細胞研究所 (CiRA) が持つ iPS 細胞バンクの標準株を利用する。「当初は一緒に使う臍帯血の血管内皮細胞から iPS 細胞を作り、肝細胞様細胞に分化させることも考えましたが、臍帯からの細胞分離や細胞誘導を繰り返してみても CiRA の安定した品質の iPS 細胞を使う方がいいと考えています」。

実用化の最初の候補は重度肝疾患の子ども。小児の肝移植の世界最高峰である

国立成育医療センターとの共同研究で、ブタなどの中型動物での研究を準備しており、2019 年をめどに最初の移植をするのが目標だ。

谷口教授にとっては、手術も研究も患者さんを治すための手段。「先輩たちが、臓器移植を開発し、医療として確立するのを傍で見てきました。私たちの世代も次のより良い治療法を自ら開発していくべきです」。谷口教授の強いモチベーションが、研究と診療への取り組みを前進させる。

1. Takanori T., et al., *Nature*, **499**, 481-484, 2013.
2. Takanori T., et al., *Nature Protocols*, **9**, 396-409, 2014.



お問い合わせ：
ベックマン・コールター株式会社
TEL: 0120-826-777
www.beckmancoulter.co.jp