

2017年11月16日

報道関係者各位

慶應義塾大学医学部

ヒト由来細胞から肝臓の「芽」をラット体内で生着させることに成功 ーバイオ 3D プリンターと新しい移植法による成果ー

このたび、慶應義塾大学医学部の小林英司特任教授を中心とする研究グループは、九州大学医学部と佐賀大学医学部との共同研究によって、ヒト由来細胞から小さな肝臓の凝集体を作り、バイオ 3D プリンターを利用して体外にて培養し、かつ、新しく開発した移植法によりラット生体内でヒト由来細胞による肝臓組織を生着させることに成功しました。

臓器を丸ごと作り上げる臓器再生研究においては、再生臓器を、試験管内や生体で大きく育て上げることが課題となっていました。今回の研究は、臓器が成熟するためには本来の血流を考えた移植の「場」と、その技術開発が必要であることを証明したものであり、移植分野における臓器の「発育」に関する課題の解決に向けた大きな手がかりになるものと期待されます。

本研究成果は、10月26日に、自然科学と臨床科学の総合ジャーナルである『Nature Scientific Reports』に公開されました。

1. 研究の背景と概要

人工的に作成した「臓器の芽」(注1)は、胎児の臓器よりさらに未熟な状態です。胎児臓器は、母体内で胎児の体全体が大きくなりながら発育して初めて、本来の臓器としての役割を果たすようになります。

近年、iPS細胞をはじめとする優れた幹細胞についての研究が進み、試験管内で「臓器の芽」が作れるようになってきました。しかし、この臓器の芽を患者に移植する場合、胎児臓器が胎児とともに発育する過程が欠落しています。すでに成熟した患者に移植されることを前提とした場合には、移植された臓器の芽は発育することが不可欠となります。

研究グループでは、この臓器の芽の移植には、解剖学的に臓器が発育する場のメカニズムが重要と考えてきました。今回の研究に先立ち、慈恵医科大学(横尾隆教授)、明治大学(長嶋比呂志教授)との共同研究において「クロアカ」という、「腎臓の芽」(腎芽)と尿路系(尿管と膀胱)の芽がつながったものの移植で、腎芽の発育に成功し、そのメカニズムの一端を解明しています(Yokote, et al. PNAS 2015)。この研究では、腎芽の発育に関しては、レシピエント(臓器受容者)に植えられた腎芽がレシピエント側から毛細血管(動脈系)を引き寄せ発育を開始することが解明されています。動脈とつながった腎芽は直ちに原尿ができますが、尿管が蠕動運動を行い、乳しぼりのように膀胱に尿が逃がされないと、柔らかい腎芽は水腎症の症状を呈してしまいます。この問題に対して、「クロアカ」という腎芽を、尿管-膀胱の原器を一体とした大動脈周辺(本来の腎臓が発達する位置)に移植することで、

腎臓が発育する現象を確認することができました。

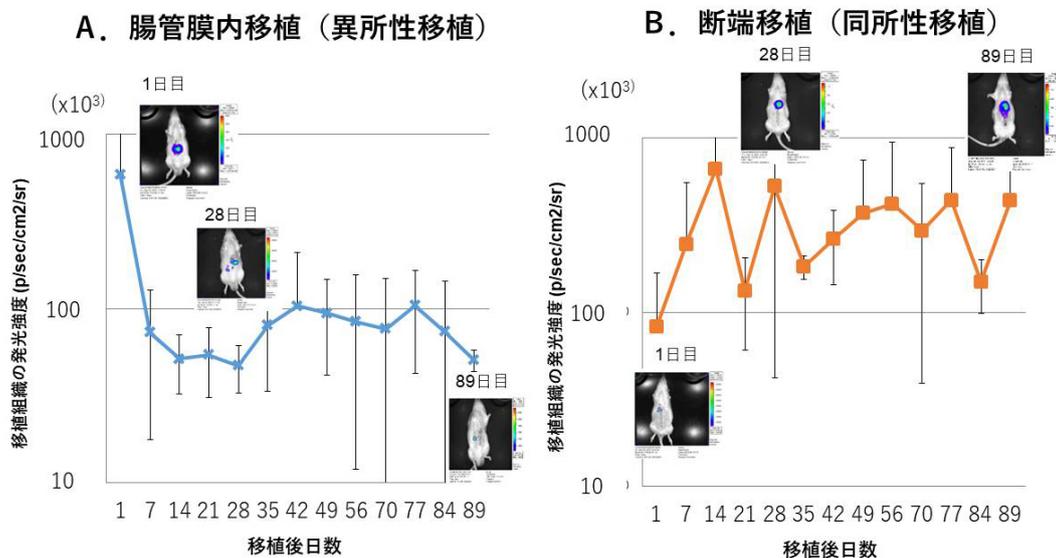
今回、研究グループでは、試験管内でヒト由来細胞から「肝臓の芽」(肝芽)という細胞凝集体を作り、これを生きた動物体内で育て上げるための場を、中心的な課題として、研究を行ってきました。例えば、胎児肝臓では門脈という低圧系の血液が入ることが、発育に必要であると考えられています。

既に、横浜市立大学医学群の武部貴則准教授、谷口英樹教授らがヒト iPS 細胞等から試験管内で肝芽の作成に成功しています (Nature 2013)。しかし、これまで、脳表や体網に移植された肝芽は旺盛に毛細血管を引き込み、一部肝細胞として生着したものの、発育することはありませんでした。その理由は、成熟する肝臓は、2/3 が門脈血 (低圧) で、肝細胞領域が 1/3 は動脈 (高圧系) で胆管領域が発育するため、発育させるには、肝臓本来の解剖学的つながりが達成できる移植法が必要不可欠であるためです。

2. 研究の成果と意義

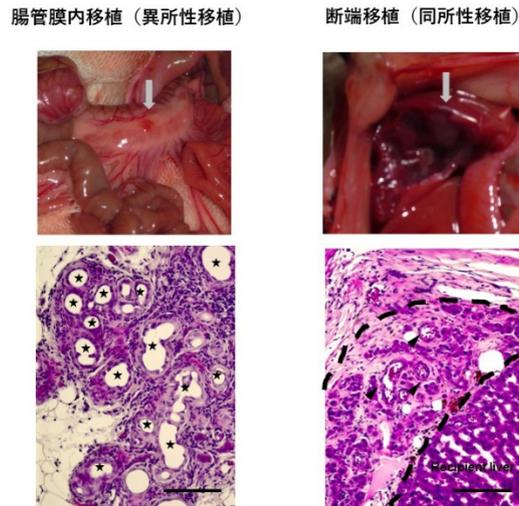
研究グループは、肝芽の移植の場として、断端移植法 (肝臓に切離面を作り、その部分に張り付ける) を開発しました。まずラットで胎児の肝臓を使い、肝芽を肝臓断端と門脈周辺の腸間膜に移植し、その発育を比較しました。13.5 日齢のルシフェラーゼ遺伝子導入ラット (注 2) の肝臓を成熟した同系ラットに移植し、生物学的プロセスを画像にする In vivo バイオイメージング技法を使って移植された肝臓の容積を定量化しながら、長期間追跡しました。この結果、腸間膜への移植では、肝芽はその容積を 1/10 以下に減衰させますが、肝臓断端への移植では、胎児肝臓は 2 週間発育を続けました。(図 1)

【図 1】



長期に生着したこれら肝臓組織を病理学的に調査した結果、肝断端に移植された肝芽は血管を巻き込み肝組織の発達が見られましたが、門脈領域の腸間膜に植えたものは偽腺様構造を示す空洞が目立ちました (図 2)。

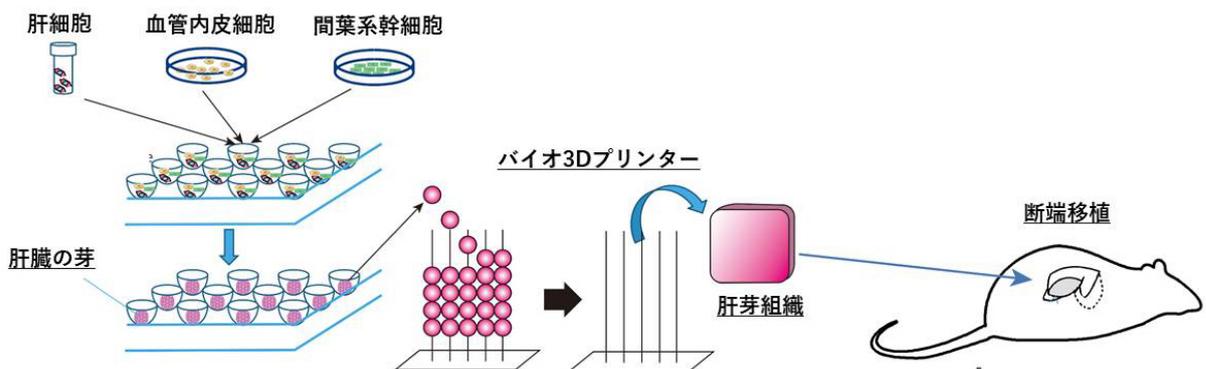
【図 2】



また、肝臓への肝芽の移植において、肝臓の表面に付着させてもその移植効果は十分ではないことが確認されました。この手術手技は、肝臓に切離面を作り移植構造体を静置させたうえで、表面にフィルム状のマトリゲルを張ることで、臓器の発育が安全に行われることを、ラットと同様に臨床に近いブタモデルでも証明しています。

さらにこの移植法を使って、佐賀大学医学部の中山功一教授、九州大学医学部の柳佑典研究員、田口智章教授らとの共同研究で、試験管内でヒト由来細胞の肝芽を作った上、バイオ3Dプリンター(サイフューズ社製 レジェノバ®)で肝芽組織として組織形態を試験管内で行い、さらに免疫抑制したラット肝臓の断端に移植することで、ヒト由来細胞によって移植された肝臓の成熟を促すことに成功しました(図3)。

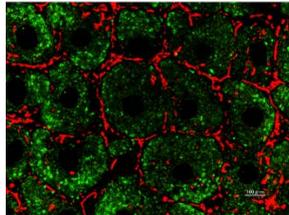
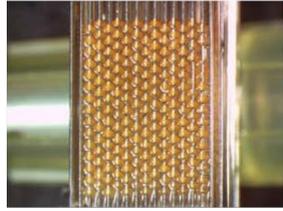
【図 3】



そして、バイオ 3D プリンターで作成したヒト由来細胞の肝芽を平たい肝臓組織として、ヌードラットの肝臓断端に貼り付け移植をしました。移植後の肝臓組織では、移植されたヒト由来細胞による肝芽は、生着し、ヒト型の血管マーカー (hCD31)、ヒトアルブミン(hAlb)、ヒト肝代謝酵素 (hCYP3A4) を表出しました。経時的にもレシピエントラット体内にヒト型アルブミンの分泌が続いていました (図 4)。これらのことは、ヒト由来細胞により作成された肝臓の成熟が促進されていることを示しています。

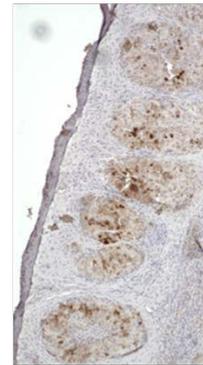
【図 4】

バイオ3Dプリンターで作製したヒト肝臓組織



緑-肝細胞
赤-血管内皮細胞

ラットの肝臓断端に移植したヒト肝臓組織が
ヒトアルブミンを産生



茶-ヒトアルブミンを産生する肝細胞

3. 今後の展開

今後の臨床的応用のためには、肝臓の切離面を作るという手術侵襲に起因する課題が残っています。生体内で肝臓を育てるには、肝臓が成熟する本来の血流を考えた移植の場と、その技術開発が必要であると考えられます。研究グループでは、現在、臨床応用可能な「肝臓の芽」(肝芽)の移植場の開発に取り組んでおり、これからの安全な臓器移植技術確立に役立てることを期待しています。

4. 特記事項

本研究は、JSPS 科研費 JP23659618、JP25253094、JP24592696、文部科学省 橋渡し研究加速ネットワークプログラム、レジエンス株式会社との共同研究の支援によって行われました。

5. 論文

英文タイトル : In vivo and ex vivo methods of growing a liver bud through tissue connection

タイトル和訳 : 生体内および生体外での組織の結合による肝芽の発育法

柳佑典、中山功一、田口智章、絵野沢伸、田村忠士、吉丸耕一朗、松浦俊治、林田真、孝橋賢一、小田義直、山座孝義、小林英司

掲載誌 : Nature Scientific Reports

【用語解説】

(注1) 臓器の芽 : 人為的に創出された器官に類似した組織体=オルガノイドを指す。iPS や ES 細胞から分化誘導した種々の細胞を再凝集技術で小さな塊として、近年試験管内で作ることが可能となっている。しかし、試験管内では、完全な成熟が起こらないことが課題である。

(注2) ルシフェラーゼ遺伝子導入ラット : 本研究グループが世界に先駆けて開発したラット。

(Hakamada Y et al. Transplantation 2006: イメージングラット) 再生医療の実現化に貢献 [http://organfabri.med.keio.ac.jp/Updates\(J\).html](http://organfabri.med.keio.ac.jp/Updates(J).html) 全身にルシフェラーゼ遺伝子が発現しており、このラットから取り出した細胞、組織、臓器は他の生体内で犠牲死することなく、経時的にその状態を把握することができる。

※ご取材の際には、事前に下記までご一報くださいますようお願い申し上げます。

※本リリースは文部科学記者会、科学記者会、厚生労働記者会、厚生日比谷クラブ、各社科学部等に送信しております。

【本発表資料のお問い合わせ先】

慶應義塾大学医学部

特任教授 小林英司 (こばやし えいじ)

TEL : 03-5315-4090 FAX : 03-5315-4089

E-mail: organfabri@keio.jp

<http://organfabri.med.keio.ac.jp/organfabrication.japanese.html>

【バイオ 3D プリンターのお問い合わせ先】

佐賀大学医学部

再生医学臓器再生医工学講座

教授 中山功一 (なかやま こういち)

TEL : 0952-28-8480 FAX : 0952-28-8708

E-mail: info@nakayama-labs.com

【本リリースの発信元】

慶應義塾大学

信濃町キャンパス総務課 : 鈴木・山崎

〒160-8582 東京都新宿区信濃町 35

TEL : 03-5363-3611 FAX : 03-5363-3612

E-mail : med-koho@adst.keio.ac.jp

<http://www.med.keio.ac.jp/>

※本リリースのカラー版をご希望の方は上記までご連絡ください。