

(別紙1)

総括研究報告書

課題番号	2021A-1						
研究開発課題名	ES細胞プラットフォームに基づく成育疾患に対する再生医療						
分類※	<input type="checkbox"/> ①	<input checked="" type="checkbox"/> ②	<input type="checkbox"/> ③	<input type="checkbox"/> ④	<input type="checkbox"/> ⑤	<input type="checkbox"/> ⑥	<input type="checkbox"/> ⑦
区分	<input checked="" type="checkbox"/> A	<input type="checkbox"/> B	<input type="checkbox"/> C	<input type="checkbox"/> E	<input type="checkbox"/> S		
主任研究者	所属	細胞医療研究部					
	役職	部長					
	氏名	梅澤 明弘					
実施期間	2023年 4月 1日 ~ 2024年 3月 31日						

※分類は下記①～⑦より選択

- ① 日本の成育分野の疾患の研究の基盤となる研究
- ② 診断、治療及び予防法の開発に関する研究
- ③ 発症機序や病態の解明等を行う研究
- ④ 診断や治療のための基準の開発等に関する研究
- ⑤ 患児・者のQOL向上に結びつく研究
- ⑥ 研究的視点や技術をもつ医療従事者を育てるための研究
(プロトコル作成のフェージビリティ研究)
- ⑦ 政策提言に結びつく研究

成果の概要

1. ヒトES細胞を用いた気管再生

前年度に引き続きヒト胚性幹細胞から胚様体を作製し、胚様体から胚様体由来軟骨細胞シートを作製、これを重度免疫不全マウスに移植することで最終的に軟骨様組織の作成に向けた検討を行った。この工程を分注機及び自動培養装置を用いて行うことにより、培養における作業効率を大幅に向上させ大量培養を実現させた。また、*in vitro* 及び *in vivo* での培養日数、培地交換頻度、誘導培地組成等を変更し胚様体由来軟骨細胞シート及び軟骨様組織を作製したところ、軟骨細胞シートの長期培養や生体内期間の延長が作製される軟骨様組織の巨大化に寄与することや、培養の後期において誘導培地中の代替血清濃度を低下させることが軟骨様組織の巨大化に寄与することが示唆された。本研究により、軟骨組織培養の機械化が可能であることが示唆された。また、軟骨様組織作製にかかる期間や培地中の代替血清濃度が軟骨様組織の分化や成熟に影響を及ぼすことも示唆された。

2. ヒトES細胞由来肝細胞製剤

本研究においては、前年度に引き続きES細胞由来製剤の機能強化、適応拡大に向けた取り組みを行っている。細胞の選別過程における遺伝子発現を網羅的に解析し、薬剤代謝やアンモニア代謝マーカーの発現の上昇を確認した。具体的には、アンモニアを用いて選択された細胞

において CYP3A4 や CPS1、OTC といった薬剤代謝やアンモニア代謝の肝機能マーカーの発現が上昇することが確認された。また、タンパクレベルでは ALB や AFP といった肝細胞マーカーが確認できた。このことから、アンモニアを細胞選択に用いることでヒト多能性幹細胞由来肝細胞を選択できる可能性が示唆された。さらに、フィーダー細胞がある条件で細胞の肝細胞特異的遺伝子発現の亢進が起こることが示唆された。また浮遊培養を行うことで、薬剤代謝酵素である CYP3A4 とアンモニア代謝酵素である OTC といった酵素系の遺伝子の発現が上昇した。このことから、アンモニア選択後の細胞はフィーダー細胞がある条件での培養が最適であり、細胞の肝機能遺伝子の亢進を目的とした際には 3D 培養を行うことが最適であると考えられる。