作成／更新日:令和 8 年 5 月 31 日
課題管理番号: 25bm1223007h0003

日本医療研究開発機構
再生・細胞医療・遺伝子治療研究開発課題
(非臨床 PoC 取得研究課題)
事後評価報告書

公開

Ⅰ 基本情報

研究開発課題名： （日本語）MASH 肝硬変を対象としたヒト iPSC 肝臓オルガノイド移植治療法の開発
（英　語）Development of human iPSC-liver organoid transplantation for MASH cirrhosis

研究開発実施期間：令和 5 年 6 月 19 日～令和 8 年 3 月 31 日

研究開発代表者　氏名：(日本語) 谷口　英樹
（英　語）Hideki Taniguchi

研究開発代表者　所属機関・部署・役職：
（日本語）国立大学法人東京大学 医科学研究所 教授
（英　語）The Institute of Medical Science, The University of Tokyo, Professor.

Ⅱ 研究開発の概要

研究開発の成果およびその意義等

研究開発の背景・目的

本研究は、研究開発代表者が世界に先駆けて開発したヒト iPS 細胞由来肝臓オルガノイド(ヒト iPSC-LO)の再構成技術を駆使し、新たに開発に成功した大型オルガノイドである融合型ヒト iPSC-LO(hiPSC-fLO) の移植による代謝異常関連脂肪肝炎 (MASH) に対する新規治療法を確立することを目的とする。すなわち、MASH 肝臓への臨床投与が可能な hiPSC-fLO の製造法の最適化および移植方法の至適化を実施し、マウスおよびヒト MASH モデルを用いてその治療効果を確認することで、堅牢性の高い非臨床 PoC（Proof of Concept）を取得することを目指した。

研究開発内容

1) MASH 肝線維症治療用ヒト iPSC 肝臓オルガノイド開発のための評価系構築

免疫不全マウス（NOD/scid マウス）へのコリン欠乏高脂肪食（CDAHFD）投与条件の最適化を進め、病態進展に伴う線維化を再現するマウス MASH モデルを確立した。また、組織学的評価に基づき肝線維化および肝臓の炎症状態を評価する手法を確立した。さらに、新たにヒト iPS 細胞を用いたクッパー

細胞の分化誘導法（***Cell Rep***. 2023、***STAR Protocols***, 2024）や静止期肝星細胞の分化誘導法（***Dev Cell,*** 2024、特願 2024-191609）を確立した上で、これらの細胞を用いてヒト MASH を再現するヒト MASH オルガノイドモデルを開発した（論文投稿中、特願 2024-191727、PCT/JP2025/038286）。以上より、治療効果の検証に不可欠な評価系の構築を完了した。

2）MASH 肝線維症治療に向けたヒト iPSC 肝臓オルガノイド製造法の確立

提案者らが独自に確立した hiPSC-fLO の作製技術を基に、本プログラムにおいて抗炎症性サイトカインの産生を強化した改良型 hiPSC-fLO の作出を検討した。ゲノム編集により、炎症抑制性マクロファージの誘導効果が期待される抗炎症性サイトカインを高発現するヒト iPS 細胞を作製した後、複数の改良型 hiPSC-fLO 株を樹立した。ヒトマクロファージとの共培養系を用いた予備的検討において、改良型 hiPSC-fLO が期待された炎症抑制性（M2）マクロファージの誘導効果を有することを確認した。これらの知見を基に改良型 hiPSC-fLO を複数ロット製造し、安定的な製造が可能であることを確認した。また、胆管を有する新規 iPSC-fLO の製造法を開発（***Nature Commun***, 2024）するとともに、胎盤由来因子である IL1α がヒト iPSC-LO のサイズ増大効果を示すことを明らかにし、オルガノイドの高度化・大型化のための新規知見を得た（***Nature Commun***, 2024、特願 2024-140043、PCT 出願番号 PCT/JP2025/026992）。更に、製造した改良型 hiPSC-fLO の安全性を確認するため、マウス MASH モデルへ移植し、暫定的な造腫瘍性試験を実施した。その結果、観察期間において腫瘍形成を認めないことを確認した。

次いで、改良型 hiPSC-fLO を用いた中型動物への移植に向け、大型の hiPSC-LO 製造法を確立し、特許出願を実施した（特願 2024-13672、特願 2024-014943)。これらの特許を強化するため、追加支援を受け、特許侵害調査を進めるとともに、実施例を強化した。以上の技術を基に、ブタ移植用の大型の改良型 hiPSC-fLO を製造し、暫定規格値を満たすことを確認した。以上より、ヒト iPS 細胞を用いて抗炎症性サイトカインを高発現する大型の改良型 hiPSC-fLO 製造法を確立した。

他方、サイトビジット時の PS/PO コメントに基づき、サル iPSC-fLO を用いた同種移植による有効性評価の準備を進めた。フィーダー細胞フリーでサル iPS 細胞を維持・拡大培養するための培養プロトコルを確立し、iPS 細胞から肝内胚葉細胞（HE）・血管内皮細胞（EC）・間葉系細胞（MC）への分化誘導法を改良した。これにより、従来よりも格段に高い品質のサル iPSC-fLO の作製が可能となった。

以上の多角的な検討により、MASH 肝線維症治療に向けた hiPSC-fLO 製造法、および、非ヒト霊長類の iPSC-fLO 製造法を確立した。

3）MASH 肝線維症治療に向けたヒト iPSC 肝臓オルガノイドの移植プロトコルの確立

改良型 hiPSC-fLO 移植における安全性と有効性の向上を目的として、移植プロトコルの最適化を進めた。具体的には、肝線維化改善効果を確保可能な移植量において移植実験を実施し、移植時のホスト肝臓の表面剥離操作について必要性を検証した。その結果、改良型 iPSC-fLO の組織生着や、hiPSC-fLO から分泌される抗炎症性サイトカインの血中移行において、肝表面剥離処理は必須ではないことを確認した。これにより、肝表面の剥離時の出血等のリスクを回避でき、より安全な移植法を確立した。

次いで、確立した移植プロトコルを基に、中型動物（ブタ）への改良型 hiPSC-fLO 移植を実施し、移植手技の安全性を検証した。ブタの肝表面上に大型の改良型 hiPSC-fLO を移植し、移植に伴う出血・バイタル（血圧、脈拍、体温、呼吸数、門脈圧）の変化を検討したが、逸脱は確認されなかった。また、移植後の血液生化学解析等より、血小板・白血球・ヘモグロビン値、および、AST・ALT・NH_3 等の肝機能・生化学指標の異常な変動は認められなかった。以上より、中型動物を用いた検討を通じて、hiPSC-fLO の移植手技の安全性を確認した。

4) ヒト iPSC 肝臓オルガノイド移植による MASH 肝線維症治療の非臨床 PoC 取得

横浜市立大学の臨床チームが蓄積した MASLD・MASH 患者の経時的な MR エラストグラフィー情報および臨床イベント情報を用いた後ろ向き解析より、線維化レベル F2 から F3 に進展すると臨床イベント発生リスクが増加することを確認した。また、肝線維症の進展を抑制することで、臨床イベント発生リスクを低く抑えることができることを見い出した。これらの知見より、MASH 患者の治療において、線維化レベル F2 から F3 への進展抑制、F3 から F2 への改善を実現することが重要であると結論づけた。他方、マウス MASH モデルに hiPSC-fLO を移植し、線維化レベル F3 から F2 への改善効果を確認した。更に、抗炎症性マクロファージ遊走因子を高いレベルで発現する改良型 hiPSC-fLO をマウス MASH モデルに移植すると、従来の hiPSC-fLO 移植と比べて、より堅牢な治療効果が得られることを明らかにした。また、また、改良型 hiPSC-fLO との共培養により、ヒト MASH オルガノイドにおいて炎症性サイトカイン産生が低下することを確認し、改良型 hiPSC-fLO はヒト MASH に対して抗炎症効果を発揮することを確認した。以上より、改良型 hiPSC-fLO 移植による MASH 肝線維症治療について、堅牢な非臨床 PoC 取得した。

成果の意義

肝硬変は現時点において我が国で約 30 万人、世界で約 5000 万人程度の患者が存在する社会的に重要な疾患である。さらに、アジア・アフリカ諸国における B 型肝炎患者の増加や先進諸国における MASH 患者の増加等に起因して、肝線維症患者数は将来的に爆発的に増加することが予測されている。現在、肝線維症患者に対する根治的な治療方法は肝移植のみであるが、深刻なドナー不足が課題となっており、代替治療法の開発が急務である。

本研究開発では、ヒト iPS 細胞を用いた改良型 hiPSC-fLO の製造工程を構築し、複数の MASH モデルに対して改良型 hiPSC-fLO が炎症抑制性マクロファージの誘導を介して、著明な肝線維化改善効果を示すことを明らかにした。更に、既存の MASH 治療薬の奏功率に対して、本移植治療法は高い奏功率を示すことを明らかとし、新規移植治療法の優位性を示した。本技術は、我が国初となる新規 MASH 治療法として高い科学的・社会的意義を有すると考えられる。

実用化に向けた具体的な計画・見通し

本研究プログラムの完了後、AMED 実用化研究事業等に申請し、実用化に向けた研究開発を展開したいと考えている。具体的には、臨床試験を実施し臨床有効性・安全性評価を確認した後、医師主導治験および企業導出を進める計画である。

英文概要（公開文書）

1. Background and Objectives

This research project aimed to establish a novel treatment for liver fibrosis associated with metabolic dysfunction-associated steatohepatitis (MASH) liver fibrosis through the transplantation of fused human iPSC-derived liver organoids (hiPSC-fLO). By leveraging a world-pioneering human iPSC-derived liver organoid (human iPSC-LO) reconstruction technology developed by the principal investigator, the project sought to obtain a highly robust non-clinical Proof of Concept (PoC). This was pursued by optimizing hiPSC-fLO manufacturing for clinical use, refining transplantation methodologies, and verifying therapeutic efficacy across both mouse and human MASH models.

2. Core R&D Achievements

1) Construction of Pathological Evaluation Systems

To properly validate therapeutic efficacy, we successfully established a progressive mouse MASH model by optimizing the administration of a choline-deficient, high-fat diet (CDAHFD) to immunodeficient mice. In parallel, we developed a human MASH organoid model that faithfully recapitulates human pathology by establishing novel differentiation protocols from human iPS cells into Kupffer cells and quiescent hepatic stellate cells.

2) Robust Manufacturing Process for hiPSC Liver Organoids

Using our proprietary fabrication technology, we engineered genome-edited human iPS cell lines that highly express anti-inflammatory cytokines. These lines successfully generated modified hiPSC-fLO, which demonstrated a strong ability to induce inflammation-suppressing (M2) macrophages. We confirmed excellent manufacturing stability and consistency across multiple lots. Furthermore, provisional safety evaluations in mouse models showed no tumor formation. Additionally, based on expert feedback obtained during a site visit, we established a large-scale manufacturing process for porcine transplantation and performed additional experiments to optimize high-quality simian fLO production protocols.

3) Optimization of Safer Transplantation Protocols

To maximize clinical safety, we optimized the surgical approach for organoid delivery. Our studies demonstrated that host liver surface abrasion is completely unnecessary for the tissue engraftment of modified iPSC-fLO or for the systemic circulation of secreted therapeutic cytokines. This insight allows surgeons to entirely avoid bleeding risks associated with abrasion. The surgical safety of this protocol was successfully validated in a large-animal (pig) model using large-scale modified hiPSC-fLO, showing no abnormal deviations in vital signs or post-operative blood biochemical indicators (including AST, ALT, and NH_3).

4) Acquisition of Non-clinical PoC

A clinical retrospective analysis using patient data from Yokohama City University indicated that suppressing fibrosis progression from level F2 to F3, or reversing it from F3 to F2, is critical to reducing clinical event risks. *In vivo* experiments demonstrated that transplanting modified hiPSC-fLO into mouse MASH models achieved significant therapeutic reversal from F3 to F2. Furthermore, *in vitro* co-culture assays with human MASH organoids showed a marked decrease in inflammatory cytokines, proving that modified hiPSC-fLO exert powerful anti-inflammatory effects against human MASH pathology. Together, these findings successfully secured a highly robust non-clinical PoC for this advanced transplantation therapy.