

平成28年度 委託研究開発成果報告書

I. 基本情報

事業名： (日本語) 再生医療実現拠点ネットワークプログラム
(英語) Research Center Network for Realization of Regenerative Medicine

研究開発課題名： (日本語) iPS細胞を基盤とする次世代型膵島移植療法の開発拠点
(英語) Center for the development of methods for next-generation pancreatic islet transplantation using iPS cells

研究開発担当者 (日本語) 宮島篤
所属 役職 氏名： (英語) Institute of Molecular and Cellular Bioscience, The University of Tokyo, Prof. Atsushi Miyajima

実施期間： 平成28年4月1日～平成29年3月31日

分担研究 (日本語) グraftの大量調製と臨床用細胞調製プロトコール
開発課題名： (英語) Mass production of grafts and development of a clinical protocol for pancreatic islet transplantation

研究開発分担者 (日本語) 東京大学 工学系研究科 教授 酒井康行
所属 役職 氏名： (英語) Graduate School of Engineering, The University of Tokyo

分担研究 (日本語) 膵島分化誘導系の改善と臨床用細胞株の選定
開発課題名： (英語) Improvement of islet differentiation and evaluation of iPS cell lines for clinical use

研究開発分担者 (日本語) 東京大学大学院 総合文化研究科 教授 道上達男
所属 役職 氏名： (英語) Graduate School of Arts and Sciences, The University of Tokyo, Prof. Tatsuo Michiue

分担研究 (日本語) グraft大量作製方法の確立
開発課題名： (英語) Establishment of a method for mass production of grafts
研究開発分担者 (日本語) 東京大学生産技術研究所 教授 竹内昌治
所属 役職 氏名： (英語) Institute of Industrial Science, The University of Tokyo, Prof. Shoji Takeuchi
研究開発分担者 (日本語) 東京大学生産技術研究所 特任教授 興津輝
所属 役職 氏名： (英語) Institute of Industrial Science, The University of Tokyo, Prof. Teru Okitsu

II. 成果の概要 (総括研究報告)

研究開発代表者による報告の場合

本拠点では、ヒト iPS 細胞からインスリン産生β細胞を含む膵島を作製し、細胞隔離ファイバに封入して移植することで、膵島の同種他家移植を免疫抑制なしで行うことを目指している。iPS 由来膵島のマウスでの機能評価に加えて小型霊長類のマーモセットの糖尿病モデルの構築とそれを使った機能評価を当面の目標としている。本年度は、膵島分化誘導系の効率化および低コスト化と臨床用 iPS 細胞株の選定を、国際医療センターおよび株式会社カネカと共同で行った。ファイバの改良を行い、膵島封入ファイバを作製し、マウスへの移植による評価を行った。さらに、マーモセットの糖尿病モデルへの移植を国際医療センターと実中研との共同で行った。

酒井チームと(株)カネカは、ヒト iPS 細胞の凝集を抑制する脂質 (LPA と S1P) を同定した。この脂質を用いて、ヒト iPS 細胞の凝集塊を作製して浮遊培養を行った結果、未分化性と分化能を維持したまま細胞を増幅できることが明らかになった。これらの成果により、より容易にヒト iPS 細胞の浮遊培養が実施可能になった。また、透析培養による分化誘導手法の開発を行った。この手法により、膵島分化の培養初期段階である内胚葉分化を効率よく行うことができることが示された。さらに、浮遊培養系にて、スフェロイドのまま膵島への分化誘導にも成功した。宮島らはこうして得た膵島を糖尿病モデル免疫不全マウスの腎臓皮膜下への移植することにより血糖値の正常化を確認した。酒井チームとカネカ、さらに道上チームは、培養コストの削減を目指して、培養系に種々の改良を加えた。宮島チームは、培養コストの大幅削減を目指して、膵臓前駆細胞の増幅を試みた。

道上チームは国際医療センターと共同で、京大 iPS 研究所(CiRA)で臨床用に樹立された HLA ホモドナー iPS の研究用株のうち、臍帯血由来のホモドナー株 7 株及び末梢血由来ホモドナー株 4 株の合計 11 種類について、未分化維持及び分化能の違いを比較検討した。株間の違いが大きいこと、本拠点で従来用いていた iPS 細胞株である TKDN4m に比べると、増殖度が低く、その扱いに若干の困難性が認められた。最も分化能のよい臍帯血由来の 1 株を選択したが、この株は CiRA からの臨床株としての供給が停止されたことにより、新たな細胞株の選定を行うこととした。

竹内および興津チームは、細胞隔離能を備えたファイバの被覆材料であるアルギン酸を、高分子量かつグルロン酸の比率が多い(High G)アルギン酸を用いることで高い強度を有するファイバを作製することができた。物理化学的な特性の解析を行うとともに、ラット膵島細胞を封入したファイバのマウス腹腔への移植により長期間の機能評価を行った。ファイバの太さや強度を調整して、ラット膵島細胞の機能が長期間維持されることが確認された。さらに、糖尿病マーモセットが再現よく作製できるようになったので、ヒト iPS 細胞から調製した膵島をファイバに入れて腹腔内に移植したところ、血糖値の低下を認めた(竹内、興津、国際医療センター、実中研)。

This center aims to develop systems to produce pancreatic islets from human iPS cells and encapsulate in a semipermeable hydrogel fiber for transplantation without immunosuppression. In addition to mouse models, we develop a primate diabetic model using marmosets and evaluate the functions of the iPS-derived islets. In this year we tried to improve the culture methods of islet differentiation to reduce the costs for preparation of islets, and physical strength of fibers for transplantation. These projects were conducted by close collaborations among the teams of the University of Tokyo (UT), National Center for Global Medicine (NCGM), Central Institute for Experimental Animals (CIEA) and KANEKA Corporation.

The Sakai's team in collaboration with KANEKA Corp. identified lipids, lysophosphatidic acid (LPA) and Sphingosine-1-phosphate (S1P), that regulate the aggregation of iPS cells. Aggregates formed with these lipids proliferated by keeping high expression levels of the pluripotent marker genes. Spheroids formed by the lipids were shown to differentiate to islets. By transplanting those islets in the kidney capsules of diabetic NOD-SCID mice the blood glucose level was normalized (Miyajima). Culture systems were further improved to reduce the cost (Sakai, KANEKA, Michiue). In addition, to reduce the cost of culture, pancreatic progenitors were isolated and examined the possibility to proliferate (Miyajima).

Michiue in collaboration with NCGM evaluated proliferation and differentiation of iPS cell lines derived from HLA homozygous donors, which were developed at CiRA. Proliferation and differentiation potentials were significantly different among 11 cell lines tested. Nevertheless the best cell line was selected. Unfortunately, however, the selected cell line turned out to be unavailable for clinical use. So we need to evaluate other cell lines.

The Takeuchi and Okitsu team improved the fiber and evaluated its function by transplanting in the peritoneal cavity of mice and demonstrated that rat islets cells encapsulated in the fiber functioned for long term in wild type mice without immunosuppression. iPS-derived islets prepared by the UT teams and the NCGM team were encapsulated in the fiber and transplanted into the peritoneal cavity of diabetic marmosets by the NCGM and CIEA teams. The blood glucose level was normalized at least for short term.

III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧 (国内誌 件、国際誌 1件)

1. 酒井康行, 篠原満利恵, 小森喜久夫, 生体内や培養下における酸素の輸送現象, 化学工学, 2017, 81, 3, 117-119.
2. 酒井康行, 10年後の医-再生医療の実現化-, 化学工学, 2016, 80, 2, 96-99
3. 篠原満利恵, ポウデル サパナ, 清水航平, 小森喜久夫, 酒井康行, 糖尿病治療に向けた再生医療の周辺技術, 生産研究, 2016, 68, 3, 189-194.
4. Ozawa F, Okitsu T, Takeuchi S. Improvement in Mechanical Properties of Cell-Laden Hydrogel Microfibers Using Interpenetrating Polymer Network, ACS Biomaterials Science & Engineering, 2017, 3, 392-398

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. Differentiation of functional islets from human iPS cells and hiPS-endocrine progenitor cells in vitro, ポスター、Ami Watanabe, Anna Tanaka, Hiroyuki Otsubo, Masahiro Ohta, Yzumi Yamashita-Sugahara, Kohnosuke Mitani, Mahito Nakanishi, Yasushi Okazaki, Atsushi Miyajima, 国際幹細胞学会, 2016.6/22, 国外
2. ヒト iPS 細胞由来の膵内分泌前駆細胞を用いた機能的膵島分化誘導系の開発, 口頭 渡邊亜美, 田中杏奈, 大坪寛之, 太田正広, 山下-菅原泉, 三谷幸之介, 中西真人, 岡崎 康司, 宮島篤, 日本再生医療学会, 2017.3.8, 国内
3. iPS 細胞凝集体の効率的な大スケール増幅分化誘導に向けて, 酒井康行, 口頭, 第 16 回日本再生医療学会総会, 2017/3/7-9, 国内
4. 脂質によるヒト iPS 細胞の凝集抑制と浮遊培養, 口頭, 伊吹将人, 堀口一樹, 篠原満利恵, 酒井康行, 第 16 回日本再生医療学会総会, 2017/3/7-9, 国内
5. 細胞ファイバ技術が拓く 3 次元組織形成, 口頭, 竹内昌治, 日本再生医療学会, 2017/3/8, 国内
6. 細胞ファイバを用いた膵島移植片の開発, ポスター, 小沢文智, 渡邊貴一, 竹内昌治, 日本再生医療学会, 2017/3/8, 国内
7. コラーゲンマイクロビーズを用いた iPS 細胞の 3 次元培養, ポスター, 長田翔伍, 竹内昌治, 日本再生医療学会, 2017/3/9, 国内
8. Mechanical Enhanced Hydrogel Fiber Encapsulating Cells For Long-Term Transplantation, ポスター, 小沢文智, 澤山淳, 竹内昌治, MEMS 2017, 2017/1/25, 国外

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

1. 幹細胞生物学, 宮島篤, 川崎市民講座, 2016.5.30. 川崎市, 国内
2. 幹細胞の基礎と応用, 宮島篤, 染色体学会市民講座, 2016.11.3, 東京大学, 国内
3. iPS 細胞由来の膵島および肝細胞の創出と医療応用, 宮島篤, 平成 28 年度 AMED 再生医療公開シンポジウム, 2017.2.2. 品川, 国内

(4) 特許出願

平成 29年 4月 20日

平成 28年度 委託研究開発成果報告書

I. 基本情報

- 事業名： (日本語) 再生医療実現拠点ネットワークプログラム疾患・組織別実用化研究拠点
(拠点B)
(英語) Centers for Clinical Application Research on Specific
Disease/Organ(Type B)
- 研究開発課題名： (日本語) iPS細胞を基盤とする次世代型膵島移植療法の開発拠点
(英語) Center for development of next-generation pancreatic islet
transplantation methods based on induced pluripotent stem (iPS)
cell technology
- 研究開発担当者 (日本語) 国立研究開発法人国立国際医療研究センター研究所
膵島移植プロジェクト長 霜田雅之
- 所属 役職 氏名： (英語) Masayuki Shimoda, Project leader, Pancreatic Islet Cell
Transplantation Project, Research Institute, National Center for
Global Health and Medicine
- 実施期間： 平成 28年 4月 1日 ~ 平成 29年 3月 31日
- 分担研究 (日本語) ヒト iPS細胞から膵臓β細胞の分化誘導法の開発およびマウモセット等を用いた効果・安全性評価
- 開発課題名： (英語) Development of the methods for efficient induction of functional
islets from human iPS cells and evaluation of the cells using non-
human primate model
- 研究開発分担者 (日本語) 国立国際医療研究センター研究所 細胞組織再生医学研究部
部長 大河内仁志
- 所属 役職 氏名： (英語) Hitoshi Okochi, Director, Department of Regenerative Medicine,
Research Institute, National Center for Global Health and Medicine

II. 成果の概要（総括研究報告）

- ・ 研究開発代表者による報告の場合
- ・ 研究開発分担者による報告の場合

研究開発代表者：東京大学・分子細胞生物学研究所教授・宮島篤 総括研究報告を参照。

III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧（国内誌 件、国際誌 1件）

1. Yabe SG, Fukuda S, Takeda F, Nashiro K, Shimoda M, Okochi H. Efficient Generation of Functional Pancreatic β Cells from Human iPS Cells. J Diabetes. 2017 9(2):168-179.

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. iPS細胞を用いた次世代型膵島移植療法の開発，口頭，霜田雅之、矢部茂治、篠原孝也、元文姫、福田沙月、渡邊亜美、渡邊貴一、篠原満利恵、井上貴史、伊吹将人、酒井康行、竹内昌治、道上達男、大河内仁志、佐々木えりか、加藤智久、宮島篤，第59回日本糖尿病学会総会，2016/5/21，国内。
2. 浮遊培養系によるヒトiPS細胞由来膵 β 細胞の分化誘導，口頭、矢部茂治、福田沙月、霜田雅之、大河内仁志、第16回日本再生医療学会総会，2017/3/7，国内

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

(4) 特許出願

平成 28年度 委託研究開発成果報告書

I. 基本情報

事業名： (日本語) 再生医療実現拠点ネットワークプログラム疾患・組織別実用化研究拠点
(拠点 B)

(英語) Centers for Clinical Application Research on Specific Disease/Organ
(Type B)

研究開発課題名： (日本語) iPS 細胞を基盤とする次世代型膵島移植療法の開発拠点

(英語) Center for development of next-generation pancreatic islet
transplantation methods based on induced pluripotent stem (iPS) cell
technology

研究開発担当者 (日本語) 東京大学 分子生物学研究所 宮島篤

所属 役職 氏名： (英語) Professor, Institute of Molecular and Cellular Biosciences, The University
of Tokyo

実施期間： 平成 28年 4月 1日 ~ 平成 35年 3月 31日

分担研究 (日本語) マーモセットでの効果・安全性の検証

開発課題名 (英語) Preclinical evaluation of pancreatic islet transplantation therapy based
on induced pluripotent stem (iPS) cell technology using a common
marmoset model.

研究開発分担者 (日本語) マーモセット研究部 部長・応用発生学研究センター
センター長(兼任) 佐々木えりか

所属 役職 氏名： (英語) Director, Applied Developmental Biology Center/ Department Head,
Marmoset Research Department, Central Institute for Experimental
Animals

II. 成果の概要（総括研究報告）

研究開発代表者：東京大学 分子生物学研究所 宮島篤 総括研究報告を参照。

III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧（国内誌 0 件、国際誌 0 件）

該当なし

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. iPS 細胞を用いた次世代型膵島移植療法の開発, 口頭, 霜田雅之、矢部茂治、篠原孝也、元文姫、福田沙月、渡邊亜美、渡邊貴一、篠原満利恵、井上貴史、伊吹将人、酒井康行、竹内昌治、道上達男、大河内仁志、佐々木えりか、加藤智久、宮島篤, 第 59 回日本糖尿病学会総会, 2016/5/21, 国内.
2. 実験動物としてのマーモセットの特性と疾患モデルへの応用、口頭(招待講演)、井上貴史、第 5 回実験動物科学シンポジウム、2016/10/21、国内
3. A marmoset diabetes model for preclinical evaluation of novel islet transplantation therapies, 口頭(招待講演), Takashi Inoue, Asia-Oceania Regional Committee (AORC) for Marmoset Research, Seoul National University Hospital, Seoul, 2017/3/17, 国外

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

1. 医学研究に貢献する小型サル「コモンマーモセット」, 井上貴史, 川崎市サイエンスカフェ@殿町キングスカイフロント, 2016/12/9, 国内.

(4) 特許出願

該当なし

平成 28年度 委託研究開発成果報告書

I. 基本情報

事業名： (日本語) 再生医療実現拠点ネットワークプログラム
(英語) Research Center Network for Realization of Regenerative Medicine

研究開発課題名： (日本語) iPS細胞を基盤とする次世代型膵島移植療法の開発拠点
(英語) Center for development of next-generation pancreatic islet transplantation methods based on induced pluripotent stem (iPS) cell technology

研究開発担当者 (日本語) 宮島篤 東京大学 分子生物学研究所
所属 役職 氏名： (英語) Atsushi Miyajima Institute of Molecular and Cellular Biosciences, The University of Tokyo, Professor

実施期間： 平成28年4月1日 ～ 平成29年3月31日

分担研究 (日本語) グラフト大量作成・移植法確立と臨床用プロトコール確定
開発課題名： (英語) Mass production of graft, establishment of a method and a clinical protocol for pancreatic islet transplantation

研究開発分担者 (日本語) 櫻井裕士、株式会社カネカ / Health Care Solutions Research Institute / 再生・細胞医療研究所、基幹研究員
所属 役職 氏名： (英語) Hiroshi Sakurai, Kaneka Corporation / Health Care Solutions Research Institute / Regenerative Medicine and Cell Therapy Research Laboratories, Senior Researcher

II. 成果の概要 (総括研究報告)

・ 研究開発代表者による報告の場合

・ 研究開発分担者による報告の場合

研究開発代表者：東京大学・分子生物学研究所・宮島篤教授 総括研究報告を参照。

III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧（国内誌 件、国際誌 件）

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. 脂質によるヒト iPS 細胞の凝集抑制と浮遊培養, 口頭, 伊吹将人, 堀口一樹, 篠原満利恵, 酒井康行, 第16回日本再生医療学会総会, 2017/3/7-9, 国内

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

(4) 特許出願