

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
幹細胞・再生医学イノベーション創出プログラム
(英語) Research Center Network for Regenerative Medicine
The program for Technological Innovation of Regenerative Medicine
- 研究開発課題名： (日本語) ヒト iPS 細胞を用いた呼吸器上皮細胞の量産化と疾患モデリングへの応用
(英語) Scalable generation of human iPS cell-derived lung epithelial cells
and their application to disease modeling.
- 研究開発担当者 (日本語) 国立大学法人 京都大学 大学院医学研究科 呼吸器疾患創薬講座
特定准教授 後藤 慎平
- 所属 役職 氏名： (英語) Department of Drug Discovery for Lung Diseases, Graduate School of
Medicine, Kyoto University
Associate Professor
Dr. Shimpei Gotoh
- 実施期間： 平成 28 年 11 月 15 日 ～ 平成 29 年 3 月 31 日
- 分担研究 (日本語) ヒト iPS 細胞を用いた気道再生治療法の開発、原発性繊毛機能不全症の疾
患特異的 iPS 細胞の樹立、原発性繊毛機能不全症の疾患モデリング
- 開発課題名： (英語) Airway regeneration therapy using human iPS cells, generation of
disease specific iPS cells from patients with primary ciliary
dyskinesia, disease modeling of primary ciliary dyskinesia
- 研究開発分担者 (日本語) 国立大学法人 京都大学 iPS 細胞研究所基盤技術研究部門
特定研究員 伊倉 宏一
- 所属 役職 氏名： (英語) Department of Fundamental Cell Technology, Center for iPS Cell
Research and Application, Kyoto University
Postdoctoral Researcher
Dr. Koichi Igura

II. 成果の概要（総括研究報告）

和文

ヒト iPS 細胞を用いた呼吸器上皮細胞の分化誘導法はまだ世界的に普及するには至っておらず、動物移植モデルや疾患モデリング研究への応用は世界的にも遅れている。動物移植モデルについてはヒト iPS 細胞由来の呼吸器上皮細胞を経気管的に肺に移植する治療モデルは確立していない。また、疾患モデリング研究については欧米に患者の多い嚢胞性線維症が主な研究対象となってきたが、原因遺伝子である CFTR は、気道繊毛上皮細胞に限らず腸管上皮細胞にも発現し、iPS 細胞を用いない腸管上皮幹細胞を用いた研究が先行している。CFTR は様々な細胞に発現するため、iPS 細胞由来の CFTR 陽性細胞を分化させることは比較的容易だが、嚢胞性線維症の気道における疾患モデリングについては、気道上皮細胞の最も重要な機能である粘液繊毛クリアランスの評価が特に重要で、それが可能な成熟した気道上皮細胞の効率よく再現性の高い分化誘導方法を確立できているのは知るところ、現在でも当グループのみである。

本研究開発計画において研究開発代表者らは、まだ世界的にも前例のないヒト iPS 細胞由来の呼吸器上皮細胞を経気管的に肺に移植する治療モデルの確立を目指す。また、研究開発代表者らは機能的に成熟した気道上皮細胞を効率よくヒト iPS 細胞から分化させ、その本質的な機能である粘液繊毛クリアランス能を再現し、定量化できる技術を有しており、根本的な治療薬のない原発性繊毛機能不全症に着目した。そして、世界的にもまだ前例のない原発性繊毛機能不全症の疾患特異的 iPS 細胞のバンキングをはじめ、細胞生物学、臨床医学を融合したトランスレーショナルリサーチを展開しようとしている。

H28 年度は、将来的なヒト iPS 細胞を用いた気道再生治療法の開発を視野に入れ、まずはヒト iPS 細胞から分化させた気道上皮細胞を、免疫不全マウスの気管に移植し、定着させる手技の開発と定着条件の検討を行なった。

また、原発性繊毛機能不全症の *in vitro* での疾患モデリングについては、原発性繊毛機能不全症患者から研究協力について同意書を取得し、症例の集積を始めた。患者さんから末梢血を採取し、疾患特異的 iPS 細胞株の樹立を開始した。また並行して、健常者由来の iPS 細胞を用いて、原発性繊毛機能不全症の原因遺伝子を改変することにより、疾患モデル構築のための iPS 細胞株の樹立を開始した。樹立できた疾患モデル iPS 細胞については、三次元分化誘導法を用いて気道上皮細胞に分化させ、免疫染色での確認、電子顕微鏡での観察、大阪大学との共同研究により、繊毛機能に関するイメージングデータの取得を開始した。成果としては、原発性繊毛機能不全症患者の症例集積、患者末梢血からの iPS 細胞の樹立、疾患モデル iPS 細胞から分化させた気道上皮細胞の繊毛機能イメージングとも当初の計画通り達成できた。

The methods of differentiation from human iPS cells into lung epithelial cells has not been standardized globally. Animal models of human iPS cell-derived lung cell transplantation therapy and disease modeling using human iPS cell-derived lung cells have not been established yet. Transbronchial transfer of iPS cell-derived lung progenitor cells are expected to support the concept of cell and scaffold-based regenerative medicine for the treatment of tracheobronchial deficiency caused by trauma or certain types of surgeries.

For lung disease modeling, most of the studies have been focused on the cystic fibrosis (CF). CFTR is the responsible gene of CF and is expressed in both mature and immature iPS cell-derived lung epithelial cells. Disease modeling of CF focusing on just CFTR function does not show how the function of the muco-ciliary clearance is impaired. The muco-ciliary clearance is the most important function and its impairment induces a progressive decline of lung function and recurrent pulmonary infection. Therefore, we emphasize that evaluation of muco-ciliary function is essential for various airway disease modeling and we focused on primary ciliary dyskinesia (PCD), because PCD is difficult to diagnose without direct evaluation of ciliary function and no curable therapeutic agents have been developed.

Then we have started working on the development of the cell transplantation therapy of human iPS-cell derived lung cells as well as banking of the PCD patient-specific iPS cells and disease modeling with the aid of cell biology and clinical medicine.

In 2016, we tried to find the suitable condition which can regenerate airway epithelium by using iPS cells. We mainly focused on the techniques of transplantation of iPS cell-derived airway epithelial cells to the trachea of immunodeficient mice and suitable conditions of mouse trachea.

For *in vitro* disease modeling of PCD, we started to obtain the informed consent from patients with PCD and to generate iPS cell lines from their blood samples. In parallel, we started to generate iPS cell lines for modeling PCD by using genetic modification techniques. Then we differentiated these iPS cell lines to airway epithelial cells by organoid formation and examined the cells by immunostaining and electron microscopy. We started to obtain imaging data from iPS cell-derived airway cells under the collaboration with Osaka University. As a result, we could obtain the blood samples from patients with PCD, generate iPS cell lines and start to analyze the imaging data of disease-specific iPS cell-derived airway cells according to the initial plans.

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）

該当無し

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. ヒト iPS 細胞の呼吸器研究への応用, 口頭, 後藤慎平, 九州大学医学部百年講堂, 2016/11/16, 国内.
2. ヒト多能性幹細胞から分化した気道繊毛上皮の有用性, 口頭, 後藤慎平, パシフィコ横浜, 2016/12/2, 国内.
3. ヒト iPS 細胞を用いた呼吸器再生研究の新展開, 口頭, 後藤慎平, 芝蘭会館, 2016/1/19, 国内.

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

該当無し

(4) 特許出願

該当無し

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
幹細胞・再生医学イノベーション創出プログラム
(英語) Research Center Network for Regenerative Medicine
- 研究開発課題名 : (日本語) ヒト iPS 細胞を用いた呼吸器上皮細胞の量産化と疾患モデリングへの応用
(英語) Scalable generation of human iPS cell-derived lung epithelial cells and their application to disease modeling.
- 研究開発担当者 (日本語) 京都大学 大学院医学研究科 呼吸器疾患創薬講座 特定准教授
後藤慎平
- 所属 役職 氏名 : (英語) Department of Drug Discovery for Lung Diseases, Graduate School of
Medicine, Kyoto University
Associate Professor
Dr. Shimpei Gotoh
- 実施期間 : 平成 28 年 11 月 15 日 ~ 平成 29 年 3 月 31 日
- 分担研究 (日本語) 繊毛機能イメージング技術開発
開発課題名 : (英語) The development of quantification of motile ciliary function of
human iPSC derived airway epithelial cells by using imaging
analysis
- 研究開発分担者 (日本語) 国立大学法人 大阪大学 大学院 生命機能研究科/医学系研究科
特任研究員 小西 聡史
- 所属 役職 氏名 : (英語) National University corporation Osaka University graduate school of
Frontier Bioscience / Medicine and Faculty of Medicine specially
appointed researcher Dr.Satoshi Konishi

II. 成果の概要（総括研究報告）

研究開発代表者：京都大学 大学院医学研究科 呼吸器疾患創薬講座 特定准教授
後藤慎平 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）
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
該当なし
- (3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み
該当なし
- (4) 特許出願
該当なし