

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) 感染症実用化研究事業 肝炎等克服実用化研究事業
(英語) Program for Basic and Clinical Research on Hepatitis

研究開発課題名： (日本語) 肝細胞直接誘導法による肝再生医療基盤の確立
(英語) Establishment of a novel method for liver regenerative medicine
using
induced hepatocyte-like cells

研究開発担当者 (日本語) 生体防御医学研究所 教授 鈴木 淳史
所属 役職 氏名： (英語) Medical Institute of Bioregulation, Professor, Atsushi Suzuki

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) 医療応用が可能なヒト iHep 細胞の作製
開発課題名： (英語) Generation of clinical-grade human iHep cells

研究開発分担者 (日本語) 生体防御医学研究所 助教 堀澤 健一
所属 役職 氏名： (英語) Medical Institute of Bioregulation, Assistant professor, Kenichi
Horisawa

分担研究 (日本語) ヒト組織・細胞の提供
開発課題名： (英語) Preparation of human tissues and cells for this study

研究開発分担者 (日本語) 大学院医学研究院 教授 前原 喜彦
所属 役職 氏名： (英語) Graduate School of Medical Sciences, Professor, Yoshihiko Maehara

分担研究 (日本語) ヒト組織・細胞の提供
開発課題名： (英語) Preparation of human tissues and cells for this study

研究開発分担者 (日本語) 大学院歯学研究院 助教 熊丸 渉
所属 役職 氏名： (英語) Graduate School of Dental Science, Assistant professor, Wataru
Kumamaru

II. 成果の概要（総括研究報告）

本研究では、研究開発代表者らが開発したヒト iHep 細胞の作製法を基盤とし、医療応用が可能なヒト iHep 細胞の作製を目指して研究を進めた。iHep 細胞の医療応用には染色体への挿入がない安全な遺伝子導入法の適用が必須と考えられたことから、遺伝子の導入方法について検討を重ねてきた。その結果、iHep 細胞と考えられる上皮様細胞の出現とその増殖を確認できたことから、染色体への挿入がない安全な遺伝子導入法を用いた iHep 細胞の誘導条件が整いつつある。また、iHep 細胞の医療応用を念頭においた場合、線維芽細胞以外の細胞からも iHep 細胞の誘導が可能であることが望ましいと考えられたため、線維芽細胞以外の細胞を用いてヒト iHep 細胞の誘導を試みた。その結果、iHep 細胞と考えられる上皮様細胞の出現とその増殖が認められ、さらに、肝細胞マーカーのアルブミンや上皮細胞マーカーの E-カドヘリンの発現を確認することができた。また、誘導したヒト iHep 細胞がグリコーゲンの蓄積やシトクロム P450 活性などの肝細胞特有の機能を有することも確認した。以上の結果は、ヒト iHep 細胞の医療応用に向けた基盤技術になることが期待される。

In this study, we sought to generate integration-free human iHep cells to prepare clinical-grade iHep cells. By repeating trial and error, we finally succeeded in induction of cells characterized as iHep cells using an integration-free reprogramming method. Moreover, to develop the iHep cell technology into clinical applications, iHep cells should be generated from not only fibroblasts, but also other types of cells. Thus, we also tried to induce human iHep cells from somatic cells other than fibroblasts. Our data showed that the resultant human iHep cells expressed markers for hepatocytes and epithelial cells and possessed hepatocyte-specific functional features. These results will be used to establish a basic technology for generating clinical-grade iHep cells.

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 3 件）

1. Takashima Y., Terada M., Uono M., Miura S., Yamamoto J., Suzuki A. Suppression of lethal-7b and miR-125a/b maturation by Lin28b enables maintenance of stem cell properties in hepatoblasts. *Hepatology*. 2016, 64, 245-260.
2. Terada M., Horisawa K., Miura S., Takashima Y., Ohkawa Y., Sekiya S., Matsuda-Ito K., Suzuki A. Kupffer cells induce Notch-mediated hepatocyte conversion in a common mouse model of intrahepatic cholangiocarcinoma. *Sci. Rep.* 2016, 6, 34691.
3. *Sekiya S., *Miura S., *Matsuda-Ito K., Suzuki A. (* Co-first author) Myofibroblasts derived from hepatic progenitor cells create the tumor microenvironment. *Stem Cell Reports*. 2016, 7, 1130-1139.

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. Regulation of stem cell properties in liver development, 口頭, 鈴木淳史, The 14th Stem Cell Research Symposium, 2016/5/20, 国内.
2. ダイレクトリプログラミングによる肝細胞の作製とその応用, 口頭, 鈴木淳史, 第 23 回 HAB 研

究機構学術年会, 2016/5/27, 国内.

3. 肝内胆管がんモデルマウスにおいて、クッパー細胞が Notch シグナルを活性化し、肝細胞の分化転換を誘導する, 口頭, 寺田茉衣子, 堀澤健一, 三浦静, 高島康郎, 大川恭之, 関谷明香, 松田花菜江, 鈴木淳史, 第 23 回肝細胞研究会, 2016/7/7, 国内.
4. 転写因子が引き起こす細胞運命の直接転換, 口頭, 鈴木淳史, 第 89 回日本生化学会大会, 2016/9/26, 国内.
5. Stem cell behavior in liver regeneration and diseases, 口頭, 鈴木淳史, 第 39 回日本分子生物学会年会, 2016/12/1, 国内.
6. 凝集塊形成による iHep 細胞の成熟化, 口頭, 山本純平, 鈴木淳史, 第 16 回日本再生医療学会総会, 2017/3/8, 国内.
7. 細胞の運命決定とリプログラミング, 口頭, 鈴木淳史, 東京大学・化学生命工学専攻講演会「化学と生命のかけはし」, 2017/3/21, 国内.
8. 肝臓: 幹細胞システムの解明に向けて, 口頭, 鈴木淳史, 第 122 回日本解剖学会総会・学術集会, 2017/3/28, 国内.

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

該当なし

(4) 特許出願

該当なし