

最先端・次世代研究開発支援プログラム  
事後評価書

|            |                      |
|------------|----------------------|
| 研究課題名      | ヒト iPS 細胞から膵β細胞の分化誘導 |
| 研究機関・部局・職名 | 熊本大学 発生医学研究所 教授      |
| 氏名         | 糸 昭苑                 |

**【研究目的】**

**背景** ● 膵臓β細胞の機能低下による糖尿病患者は近年増加しており、ES/iPS 細胞、あるいは組織幹細胞による再生医療の実現が期待されている。ES/iPS 細胞を用いた方法により実際医学的に有用なβ細胞を誘導するためには、膵臓の組織幹細胞を経て内分泌前駆細胞の生成、そしてインスリン産生細胞の生成、3次元の膵島の構築、糖感受性インスリン分泌する成熟β細胞への成熟化、損傷を受けた時の恒常性の維持、β細胞の再生シグナルについての分子機序を包括的に理解することが必要。

○ 申請者らは、これまで ES/iPS 細胞を用いて膵臓への高効率な分化誘導系を構築した。

マウス ES 細胞を支持細胞 M15 上で培養し、成長増殖因子の添加で分化の方向性を制御し、30%の ES 細胞が Pdx1 陽性の膵前駆細胞に分化することを報告した (Shiraki et al, *Stem Cells*, 2008)。

支持細胞 M15 の膵臓分化誘導作用には、細胞外基質のラミニンα5 が大きく寄与している。

また、細胞基底膜のラミニンとヘパリン硫酸プロテオグリカンがニッチとしての役割を担うことを示した (Higuchi et al, *J Cell Science*, 2010)。

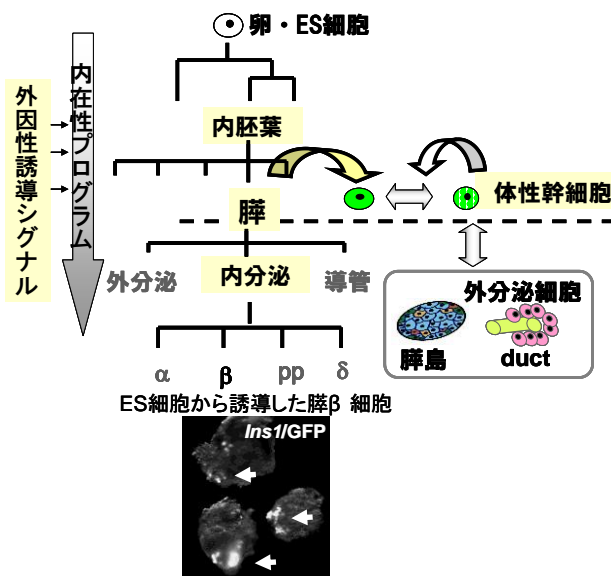
◆ 支持細胞に代わる足場材料としてナノファイバー基材を用いる方法を開発した。高分子化合物により、細胞基底膜の構造を模倣し分化誘導のニッチとしてインスリン陽性β細胞が効率よく誘導できることを見出した (図1)。

◆ この新規な方法を用いて、ハイスクリーンで分化誘導を促進する低分子化合物のスクリーニング系を構築した (坂野ら未発表データ)。

◆ この方法は、ヒト ES/iPS 細胞にも適用でき、ヒト細胞を移植できる重篤な免疫不全 I 型糖尿病モデルマウスの評価系を樹立した。これらの成果を利用して再生医学への展開が期待できる。

○ 本研究では、マウスおよびヒトの細胞を研究材料に用いて、正常発生途上の細胞との比較により分子機構の解明に注力し、ヒト ES/iPS 細胞の分化を人工的に制御することを目指す。ヒト ES/iPS 細胞から糖感受性インスリン分泌細胞を試験管内で誘導

(図1) ES/iPS細胞からのアプローチ



し、糖尿病病態改善に有用な成熟度の高いβ細胞の作成技術を開発する。

そのために、膵臓の各細胞系譜への分化誘導における外因性・内因性シグナルを同定し、増殖・分化・維持機構を解明することを目指す。

- (i) 低分子化合物ライブラリーのスクリーニングによる新規シグナル経路の同定、
  - (ii) 遺伝子改変 ES 細胞株による内分泌前駆細胞の運命追跡、分化誘導シグナルの解析、
  - (iii) 分化細胞の解析による新規膵分化関連遺伝子の同定、
  - (iv) β細胞の細胞外環境、他の内分泌細胞との細胞間作用による制御シグナルの解析、
  - (v) 隣接組織である血管上皮や神経からの制御シグナルの解析、
  - (vi) 分化ヒト iPS/ES 細胞の糖尿病病態モデルマウスへの移植による病態改善効果の評価
- を中心に進める。

### 【総合評価】

|                       |                |
|-----------------------|----------------|
| <input type="radio"/> | 特に優れた成果が得られている |
| <input type="radio"/> | 優れた成果が得られている   |
| <input type="radio"/> | 一定の成果が得られている   |
| <input type="radio"/> | 十分な成果が得られていない  |

### 【所見】

#### ① 総合所見

低分子化合物ライブラリーのスクリーニングにより、ES 細胞から膵β細胞への分化誘導を促進する2つのヒット化合物（レセルピンとテトラベンアジン）を同定し、in vitro で分化誘導させた細胞を糖尿病モデルマウスに移植し成熟膵島と同等な糖尿病は正効果を認めた。ヒト iPS 細胞についても安定に分化誘導できる系を樹立した。低分子化合物による分化誘導は世界初の成果でありブレークスルー成果といえる。本研究で、VMAT2-モノアミンのシグナル伝達系がβ細胞への分化を制御していることを見出し、さらに C2cd4 遺伝子が膵β細胞の機能維持に必要な遺伝子であることを明らかにした。ヒト ES 細胞/iPS 細胞の臨床応用に対する基盤が確立したと考える。

#### ② 目的の達成状況

・所期の目的が

(  全て達成された ・  一部達成された ・  達成されなかった )

膵β細胞への分化を促進させる低分子化合物を同定しており、これらの低分子化合物を用いて ES 細胞から分化誘導させた膵β細胞を Akita 糖尿病マウスに移植することでマウスの高血糖を是正できることを確認している。VMAT2-モノアミンのシグナル伝達系がβ細胞への分化を制御することが明らかになり、また膵β細胞の機能維持に C2cd4 遺伝子が必要であることも示した。ヒト iPS 細胞を安定に分化誘導できる系も確立しており、所期の目標は十分に達成していると評価できる。

|  |
|--|
| <b>③ 研究の成果</b>   |
| <ul style="list-style-type: none"> <li>・これまでの研究成果により判明した事実や開発した技術等に先進性・優位性が<br/>(<input checked="" type="checkbox"/>ある ・ <input type="checkbox"/>ない)</li> </ul>  |
| <ul style="list-style-type: none"> <li>・ブレークスルーと呼べるような特筆すべき研究成果が<br/>(<input checked="" type="checkbox"/>創出された ・ <input type="checkbox"/>創出されなかった)</li> </ul>  |
| <ul style="list-style-type: none"> <li>・当初の目的の他に得られた成果が (<input checked="" type="checkbox"/>ある ・ <input type="checkbox"/>ない)</li> </ul>  |
| <p>ES 細胞を膵β細胞に分化誘導させる低分子化合物の同定は画期的な成果であり、膵β細胞分化の分子機構の解明にも資する処が大きい。ニッチの細胞基底膜を用いたβ細胞の3次元分子誘導法は独自の方法であり、また分化を誘導するシグナル系も同定しており in vivo, in vitro での研究に、先進性・優位性がある。膵β細胞以外の膵内分泌細胞の分化に関する知見及びアミノ酸除去培地での培養法の確立は当初の目的外の成果である。</p> |

|  |
|--|
| <b>④ 研究成果の効果</b>   |
| <ul style="list-style-type: none"> <li>・研究成果は、関連する研究分野への波及効果が<br/>(<input checked="" type="checkbox"/>見込まれる ・ <input type="checkbox"/>見込まれない)</li> </ul> |
| <ul style="list-style-type: none"> <li>・社会的・経済的な課題の解決への波及効果が<br/>(<input checked="" type="checkbox"/>見込まれる ・ <input type="checkbox"/>見込まれない)</li> </ul>  |
| <p>膵β細胞の分化機序の解析は、他の ES/iPS 細胞の分化誘導研究にも波及効果が期待されるのみならず、糖尿病治療、特に I 型糖尿病治療に応用される可能性がある。I 型糖尿病患者でインスリン注射の代替治療薬となれば社会的波及効果は極めて大きい。</p>                        |

|   |
|---|
| <b>⑤ 研究実施マネジメントの状況</b>  |
| <ul style="list-style-type: none"> <li>・適切なマネジメントが (<input checked="" type="checkbox"/>行われた ・ <input type="checkbox"/>行われなかった)</li> </ul>                                     |
| <p>研究体制も適切に整備されており、論文発表も順調に進められている。iPS 細胞は国民の関心も高いため、更なる対話型の情報発信も期待したい。</p> <p>本研究課題は世界的にも競争の激しい分野であるが、研究代表者らの研究は独自性の高い成果を得ており高い先進性と優位性をもっている。iPS 細胞の実用化に向けて、更なる発展を期待したい。</p> |