

研究成果

サブテーマ名：ES細胞からの内胚葉系細胞の分化誘導技術の確立 小テーマ名：ES細胞からのインスリン産生細胞の分化
<p>テマリーダー：(財)先端医療振興財団、客員研究員、宮崎 純一</p> <p>研究従事者：(財)先端医療振興財団、客員研究員、倭 英司 (財)先端医療振興財団、客員研究員、宮崎 早月 (財)先端医療振興財団、特別研究員、蔣 菁菁 (財)先端医療振興財団、特別技術員、高山いずみ (財)先端医療振興財団、特別技術員、大西 幸子</p>
<p>研究の概要、新規性及び目標</p> <p>① 研究の概要</p> <p>糖尿病はわが国においても急増の一途をたどり、それに伴う合併症が増加し、罹患患者のQOLの低下のみならず、医療費の増大にもつながり、今後の大きな問題になる。その原因の多くは膵β細胞からのインスリン分泌不全が関係し、インスリン産生細胞を補充することで血糖制御は改善する。ES細胞は多分化能を持ち、様々な細胞に分化することが知られている。そこで、本研究ではES細胞からインスリン産生細胞を再現性よく効率的に分化させる手段を考案することを目標とする。</p> <p>② 研究の独自性・新規性</p> <p>ES細胞の分化誘導方法として、これまで試されている液性因子の添加や培養方法の工夫のみならず、我々は転写因子遺伝子導入による方法を試みた。分化には様々な転写因子が必須であることが判明しており、この方法と液性因子の組み合わせにより、効率よい分化誘導が可能であると考えた。</p> <p>また、研究の進行に伴い、未分化ES細胞に対する分化誘導刺激のみでは十分に成熟したインスリン産生細胞を得ることができないことが判明してきたため、ES細胞をインスリン産生細胞が発生するものとなる内胚葉細胞にまず分化させ、その細胞の分化誘導を試みた。これらの試みはいまだ報告もなく、Properな発生に沿った分化誘導方法は、今後も他の組織細胞にも試みられるべき方法であると考えている。</p> <p>③ 研究の目標（フェーズ毎に数値目標等をあげ、具体的に）</p> <ul style="list-style-type: none"> ・フェーズⅠ：ES細胞の転写因子遺伝子導入系の確立とその評価法の確立、および転写因子遺伝子導入のためのアデノウイルスベクターの作製。 ・フェーズⅡ：ES細胞からインスリン産生細胞分化の方法論の確立。
<p>研究の進め方及び進捗状況（目標と対比して）</p> <p>ES細胞への遺伝子導入の方法論の確立に時間を要したが、最終的には分化誘導後も薬剤により転写因子遺伝子発現を制御できる細胞を確立することに成功した。</p> <p>また、ES細胞からのインスリン産生細胞分化については、当初、未分化ES細胞に直接遺伝子導入を試み、インスリンの産生をみたものの、産生されるインスリン量は乏しかった。そこで、Properな発生の沿った分化誘導法、すなわち、ES細胞由来内胚葉細胞を用いた分化誘導方法の確立をした。</p> <p>しかし、この方法論もいまだ十分なインスリン産生を行う細胞の分化にはいたらず、今後も検討が必要であると考えている。</p>

主な成果

具体的な成果内容：

- 未分化 ES 細胞に対する転写因子遺伝子導入による内胚葉細胞への分化誘導に関する検討
- 未分化 ES 細胞から分化するインスリン産生細胞の細胞系譜の検討
- 未分化 ES 細胞における薬剤誘導性外来遺伝子発現システムの開発
- ES 細胞への Pdx-1 遺伝子導入によるインスリン産生細胞分化に関する研究
- 未分化 ES 細胞から分化するインスリン産生細胞分化に対する Pdx-1 遺伝子の役割の検討
- ES 細胞への Sox17 遺伝子導入による内胚葉細胞分化に関する研究
- ES 細胞由来内胚葉細胞を用いたインスリン産生細胞分化方法の開発

特許件数：0

論文数：8

口頭発表件数：10

研究成果に関する評価

1 国内外における水準との対比

ES 細胞を用いたインスリン産生細胞分化に関する国内外の報告は多く見受けられるが、再現性に乏しいものが多い。特に遺伝子導入による分化誘導については単一もしくは少数のクローンを用いたものが多い。我々の経験では ES 細胞はクローン間で分化形質に違いが大きい、再現性が乏しいという結果に結びつくものと考えている。我々はそれを overcome する目的で同一クローンにて遺伝子の影響が検討可能な薬剤誘導性の遺伝子発現システムを構築している。

2 実用化に向けた波及効果

より成熟したインスリン産生細胞の分化誘導方法の開発は将来の細胞移植を考慮した際に重要なファクターとなりうる。

残された課題と対応方針について

今後、さらに成熟したインスリン産生細胞を分化誘導する必要がある。また、転写因子遺伝子を誘導する液性因子の検討を行う必要がある。現在、胎児膵との共培養によりさらに成熟した細胞を得ることができるとの報告もある。胎児膵を用いた分化誘導方法は、臨床応用は困難であるため、胎児膵から分泌される液性因子を詳細に検討してゆく必要があると考えられる。

	J S T 負担分 (千円)							地域負担分 (千円)						
	H12	H13	H14	H15	H16	H17	小 計	H12	H13	H14	H15	H16	H17	小 計
人件費	0	0	10,000	12,000	14,000	9,400	45,400	0	0	0	0	0	0	0
設備費	0	2,000	25,000	0	0	0	27,000	0	0	120,000	55,000	55,000	41,000	271,000
その他研究費 (消耗品費、 材料費等)	13,000	22,640	25,000	10,588	7,200	4,000	82,428	0	0	0	0	0	0	0
旅費	0	0	0	50	80	5	135	0	0	0	0	0	0	0
その他	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
小 計	13,000	24,640	60,000	22,638	21,280	13,405	154,963	0	0	0	0	0	0	0

代表的な設備名と仕様 [既存 (事業開始前) の設備含む]

J S T 負担による設備：遺伝子増幅装置、小型遠心機、超遠心機

地域負担による設備：細胞培養関連設備、プラスミド自動抽出装置