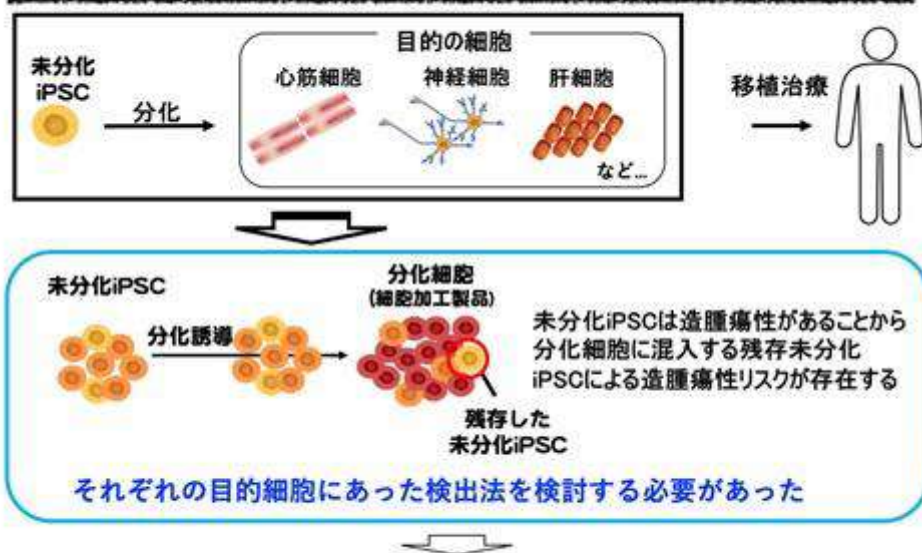


# 再生医療の安全性向上、再生医療用細胞に混入する未分化ヒト

## iPS 細胞の高感度検出法を開発

横浜市立大学大学院医学研究科 臓器再生医学 谷口英樹教授、関根圭輔客員准教授らの研究グループは、東京大学医科学研究所、栄研化学株式会社などと共に、ヒト iPS 細胞から肝臓細胞などさまざまな細胞に分化誘導した際にわずかに残る可能性がある未分化なヒト iPS 細胞を高感度に検出する手法を開発しました。

### iPS細胞を用いた再生医療の実現における課題



本研究ではヒト iPS 細胞から分化誘導した三胚葉(内胚葉、中胚葉、外胚葉)それぞれの胚葉由来の細胞の品質評価に有用なマーカーを同定

### 研究の背景

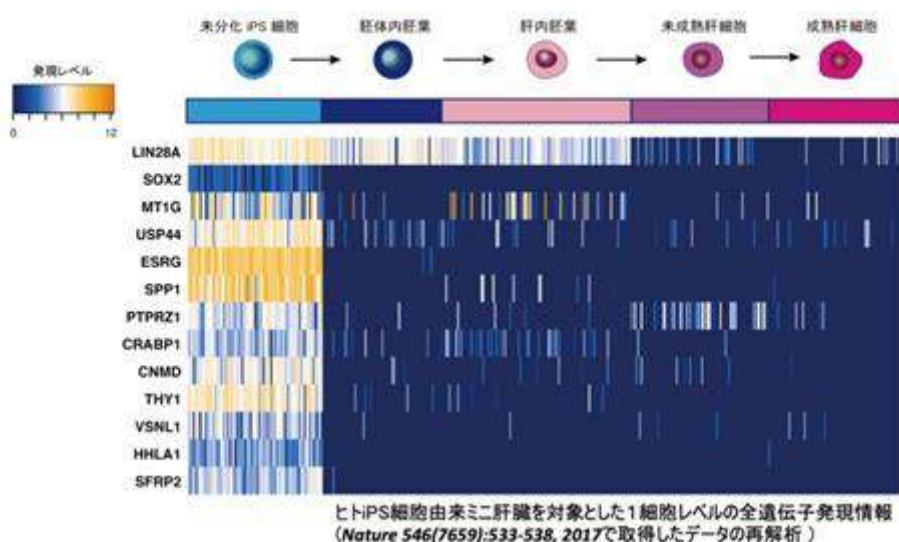
再生医療に用いるヒト iPS 細胞から分化誘導した機能細胞(臓器細胞)は、全ての細胞を完全に分化させることが困難であるため、未分化な iPS 細胞がわずかに混入する可能性があります。未分化な iPS 細胞が体内へ移植された場合、奇形腫を形成する可能性があるため、機能細胞を患者さんに移植する前に、未分化な iPS 細胞の混入の可能性を評価する必要があります。現在、本研究グループは 2013 年に確立したミニ肝臓の作製技術の再生医療への応用を目指していますが、肝臓の再生医療に向けては、大量の細胞を移植するため、製造工

程で実施できる迅速かつ高感度な未分化 iPS 細胞の混入検出手法が必要となります。

これまでにいくつかの未分化 iPS 細胞の混入評価法が報告されているため、これらの評価法で用いられるマーカー遺伝子の使用を試みましたが、これらのマーカー遺伝子は、肝臓では正常の発生過程においても発現が見られました。したがって、ヒト iPS 細胞から分化誘導した際にも、正常な肝臓細胞として発現するのか、あるいは未分化 iPS 細胞が混入しているのか区別がつかず、評価手法としては不適切であることが明らかとなりました。

そこで本研究では、これまでに実施したヒト iPS 細胞由来ミニ肝臓を対象とした 1 細胞レベルの全遺伝子発現情報をもとに、このミニ肝臓の品質評価に適した評価手法の開発に取り組みました。

## 未分化ヒトiPS細胞を高感度に検出するマーカー遺伝子を同定



### 研究の内容

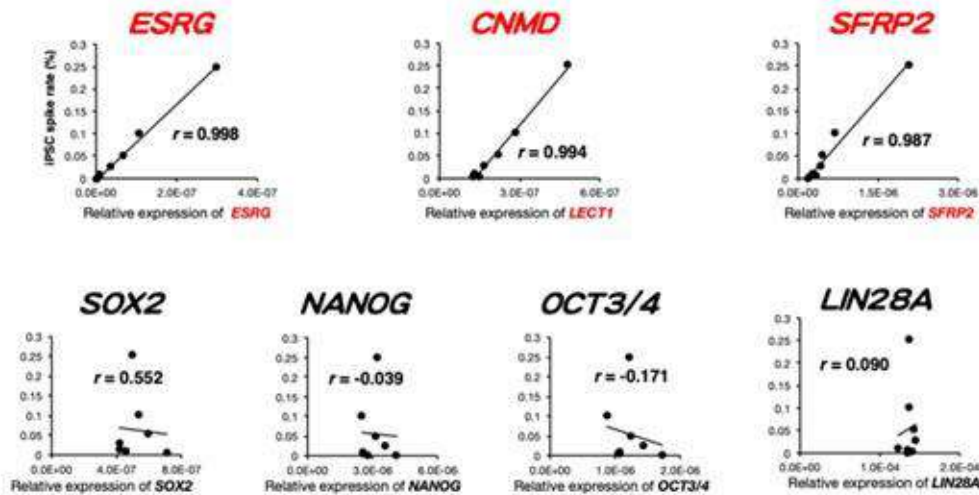
まず、これまでに実施したヒト iPS 細胞由来ミニ肝臓を対象とした 1 細胞レベルの全遺伝子発現情報の再解析を行い、分化細胞に混入する未分化 iPS 細胞を検出可能なマーカーとして、未分化 iPS 細胞での発現が特異的に高く、分化細胞で発現が減少する 12 遺伝子を抽出しました。これら 12 遺伝子について詳細

な遺伝子発現解析や、実際に分化細胞の中に未分化 iPS 細胞を混入させて、混入した未分化 iPS 細胞を検出する試験などを実施し、特に ESRG、CNMD、SFRP2 の 3 遺伝子がヒト iPS 細胞由来肝細胞に未分化 iPS 細胞が混入した場合にも、高感度に検出可能であり、再生医療用細胞の品質評価に有効であることが明らかとなりました。ヒト iPS 細胞由来ミニ肝臓は肝細胞の他、ヒト iPS 細胞由来血管内皮細胞、ヒト iPS 細胞由来間葉系細胞を用いることから、これらの細胞でも、未分化 iPS 細胞の混入評価に有効か否か検討を行いました。その結果、ヒト iPS 細胞由来血管内皮細胞、ヒト iPS 細胞由来間葉系細胞においても、混入した未分化 iPS 細胞を高感度に検出する上で有効であることが明らかとなりました。

脊椎動物は発生初期に、内胚葉、中胚葉、外胚葉という 3 種類の胚葉(三胚葉)を形成し、これらの胚葉からそれぞれ内胚葉は肝臓や肺、腸、膵臓など、中胚葉は血管や間葉系細胞、心筋細胞など、外胚葉からは神経や皮膚などが作られます。本研究で同定したマーカー遺伝子が内胚葉由来細胞(肝臓、膵臓)、中胚葉由来細胞(血管内皮細胞、間葉系細胞)において有効であったことから、外胚葉由来細胞である神経細胞においても有効であるか検討しました。すると、ヒト iPS 細胞由来神経細胞においても混入した未分化 iPS 細胞を高感度に検出する上で有効であることが明らかとなりました。これらの結果から、本研究で同定したマーカー遺伝子はヒト iPS 細胞を用いた再生医療を実現する上で、ヒト iPS 細胞由来ミニ肝臓だけでなく、さまざまな臓器の細胞の品質評価に有効であると期待されます。

# ヒトiPS細胞由来肝細胞に混入させた 未分化ヒトiPS細胞を高感度に検出

## 未分化iPSC微量スパイクでの検出感度



この研究で開発した技術を再生医療用ミニ肝臓の製造工程の品質評価に用いることにより、未分化 iPS 細胞の混入に基づく造腫瘍性リスクを著名に低減させることができ、移植を受ける患者さんの臨床的な安全性を格段に向上させることが可能となります。また、本技術はミニ肝臓だけでなく、ヒト iPS 細胞を用いた他の細胞・組織・臓器の製造工程の品質評価においても有用な評価手法になることが期待されます。現在、本技術を発展させ、更なる検出感度および検出精度の向上に向けた技術開発に産学連携で取り組んでいます。

### 用語説明

**ミニ肝臓:** ヒト iPS 細胞から分化誘導した肝内胚葉細胞と、血管内皮細胞、間葉系細胞を最適な比率で混ぜ合わせることで、in vitro 培養条件下で自律的に創出した、肝臓の基となる立体的な肝芽(ミニ肝臓)のこと。さらに、この革新的な3次元培養技術(器官原基法)を他器官の作製に応用し、肝臓のみならず、膵臓、腎臓、腸、肺、心臓、脳から分離した細胞から3次元的な器官原基を創出することを報告している。創出された3次元器官原基は、移植後すみやかに血流を有する血管網を再構成し、機能的な組織を自律的に形成することができる。

■論文情報

タイトル : Robust detection of undifferentiated iPSC among differentiated cells

雑誌 : Scientific Reports

U R L : <https://www.nature.com/articles/s41598-020-66845-6>

日本語原文

[https://www.yokohama-cu.ac.jp/amedrc/news/202006sekine\\_SR.html](https://www.yokohama-cu.ac.jp/amedrc/news/202006sekine_SR.html)

文 JST 客観日本編集部