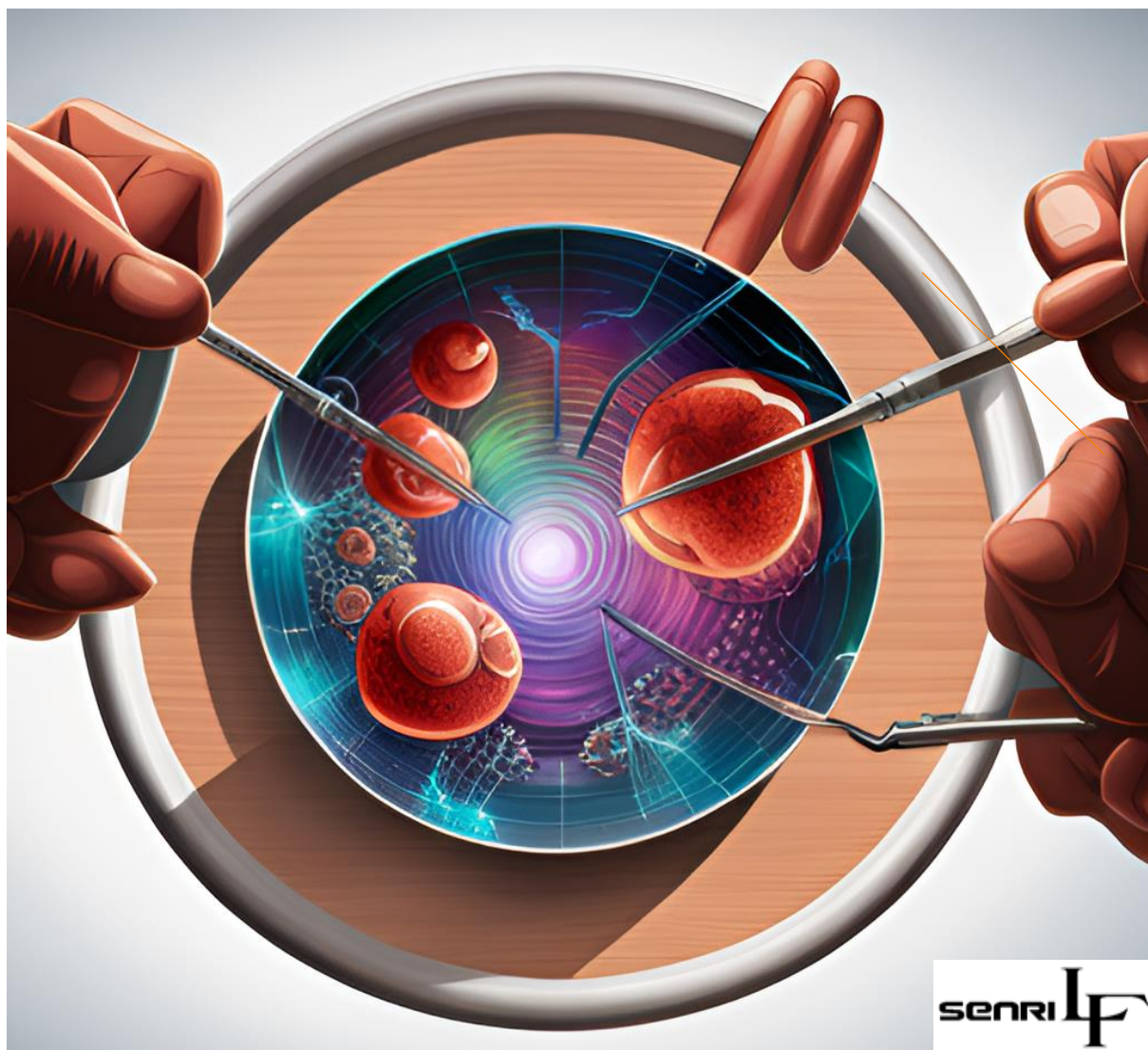


千里ライフサイエンスセミナーV5

色々な器官を創る・培う・繋ぐ

— Organ Multiverse —



コーディネーター：

佐藤 俊朗 慶應義塾大学医学部 医化学教室 教授

西田 幸二 大阪大学大学院医学系研究科 脳神経感覚器外科学（眼科学）教授

日時：2024年1月19日（金）10：30 ～ 16：20

会場：千里ライフサイエンスセンタービル5F

山村雄一記念ライフホール（WEB配信併用）

主催：公益財団法人 千里ライフサイエンス振興財団

後援：バイオコミュニティ関西

表紙の図：色々な器官（オルガノイド）を創り、培養し、Assembleする(繋げる)を
イメージし、DreamStudioで作成

プログラム

10：30～10：35

開会の挨拶 公益財団法人 千里ライフサイエンス振興財団 理事長 審良 静男

10：35～10：50

「はじめに」 慶應義塾大学医学部 医化学教室 教授 佐藤 俊朗 2

10：50～11：30 座長：西田 幸二

演題1 「オルガノイドが切り拓く消化器領域研究」……………4

慶應義塾大学医学部 医化学教室 教授 佐藤 俊朗

11：30～12：10 座長：西田 幸二

演題2 「呼吸器オルガノイドを使った組織幹細胞研究と疾患モデル」……………8

理化学研究所 生命機能科学研究センター 呼吸器形成研究チーム チームリーダー
森本 充

12：10～13：20

昼 食 休 憩

13：20～14：00 座長：西田 幸二

演題3 「生殖系オルガノイドの構築と利用」……………14

大阪大学大学院医学系研究科 ゲノム生物学講座 (生殖遺伝学) 教授 林 克彦

14：00～14：40 座長：佐藤 俊朗

演題4 「泌尿器系臓器オルガノイドの作製」……………18

理化学研究所 生命機能科学研究センター ヒト器官形成研究チーム チームリーダー
高里 実

14：40～14：50

休 憩

14：50～15：30 座長：佐藤 俊朗

演題5 「造血幹細胞増幅技術から見えてきた多様性と応用」……………22

東京大学 医科学研究所 システム疾患モデル研究センター 細胞制御研究分野 教授
山崎 聡

15：30～16：10 座長：佐藤 俊朗

演題6 「眼オルガノイド研究の展開」……………26

大阪大学大学院医学系研究科 脳神経感覚器外科学 (眼科学) 教授 西田 幸二

16：10～16：20

「おわりに」 大阪大学大学院医学系研究科 脳神経感覚器外科学 (眼科学) 教授
西田 幸二

* 会終了後、交流会 (名刺交換会) を開催します。是非、会場にお越し下さい。

※講演の時間は質疑応答を含みます。ご注意ください。

「はじめに」

慶應義塾大学医学部 医化学教室 教授

佐藤 俊朗

科学では、あらゆる系の最小単位が規定され、それを尺度に現象を計測し、相関性や因果性、そして理論や定式が決定されてきた。医学生物学では我々の身体の主要な最小単位である“細胞”、“遺伝子”、“DNA”が発見され、分子・細胞生物学が勃興した。一方、我々が日常的に経験する様々な病気の症状は、身体の臓器や器官のかたちや機能の異常ともいえる。しかし、こうした身体機能を DNA などの最小単位でどれだけ語れるであろうか？ 器官の機能的最小単位をそのまま扱い、研究することは難しく、機能と DNA の隔たりは大きい。こうした中、医学生物学でオルガノイド・マルチバースが起きようとしている。あらゆる動物種、組織・器官、ライフステージの機能の最小単位を“オルガノイド”として研究し、新しい生命医学の地平が見えてきた。本セミナーではオルガノイド研究のエキスパートが集い、最新研究をわかりやすく解説し、聴衆の知的好奇心を活性化する。

..... MEMO

演題 1. 「オルガノイドが切り拓く消化器領域研究」

慶應義塾大学医学部 医化学教室 教授

佐藤 俊朗

学歴・職歴

1997年 3月 慶應義塾大学医学部 卒業
1997年 4月 慶應義塾大学病院 内科研修医
2003年 4月 慶應義塾大学病院 内科専修医
2004年 9月 慶應義塾大学病院 COE 特別研究員
2006年 4月 Stowers 研究所 (米国) 博士研究員
2007年 7月 Hubrecht 研究所 (オランダ) 博士研究員
2011年 4月 慶應義塾大学医学部 内科学 (消化器) 特任助教
2011年 7月 慶應義塾大学医学部 内科学 (消化器) 特任講師
2012年 6月 慶應義塾大学医学部 総合医科学研究センター 特任講師
2013年 4月 慶應義塾大学医学部 内科学 (消化器) 特任准教授
2016年 4月 慶應義塾大学医学部 内科学 (消化器) 准教授
2018年 11月 慶應義塾大学医学部 坂口光洋記念講座(オルガノイド医学) 教授
2023年 4月 慶應義塾大学医学部 医化学教室 教授

学 位 博士 (医学) 慶應義塾大学大学院医学研究科 (第 2263 号) 2004 年

受賞歴

2012年 慶應医学奨励賞
2012年 井上リサーチアワード
2012年 文部科学大臣表彰 若手科学者賞
2012年 慶應義塾大学医学部三四会 北島賞
2016年 日本医師会医学研究奨励賞
2017年 井上学術賞
2018年 第 14 回 日本学術振興会賞・第 14 回 日本学士院学術奨励賞
2020年 持田記念学術賞
2019-22年 Highly Cited Researchers (Clarivate Analytics)
2023年 小林賞

所属学会 日本消化器病学会、日本再生医療学会、日本分子生物学会、日本内科学会、
日本癌学会、American Association for Cancer Research, International
Society of Stem Cell Research

専門分野 消化器病学、分子遺伝学、幹細胞生物学、腫瘍学、生化学

要 旨

シーケンス技術の進歩によりヒト疾患のゲノム研究が急速に進んだ。一方、ゲノム異常がどのようにして、臨床で観察される疾患形質につながるのだろうか？これまでの医学生物学研究では、こうしたゲノム異常と疾患形質の関連付けはマウス遺伝子改変モデルによって進められてきた。しかしながら、ヒト腫瘍疾患の多くは複雑なゲノム異常を有し、その再構築はしばしば困難である。また、種差を超えた疾患再現には限界がある。近年のオルガノイド培養技術の開発と CRISPR-Cas9 によるゲノム編集技術によって、こうしたヒト疾患研究におけるボトルネックが打開されつつある。

オルガノイド技術は、組織幹細胞の維持に寄与するニッチ因子を組み合わせることにより、組織幹細胞を生体内に近い環境で培養する技術である。オルガノイド培養は、マウス小腸上皮の培養法として開発され、その後様々な臓器、あらゆる種の動物に応用されてきた。さらに、ヒトの正常組織および疾患組織の培養に応用され、疾患組織の生物学的な振る舞いを容易に観察することが可能になった。また、ゲノム編集技術の応用によって疾患関連遺伝子異常を正常組織細胞に導入することができるようになり、従来の遺伝子改変マウスモデルとは異なるヒト組織細胞による Genotype-Phenotype 関連の研究手法が確立された。こうした疾患組織モデルとゲノム編集オルガノイドを両輪とする研究アプローチにより、ヒト疾患研究は新機軸を迎えた。本講演ではオルガノイド技術の開発から疾患組織研究によって得られた洞察を基にし、最新の研究成果を発表したい。

参考文献

1. Fujii M*, Sekine S, Sato T*. Decoding the basis of histological variation in human cancer. **Nature Reviews Cancer**, in press.
2. Ohta Y, Fujii M, et al., Sato T*, Cell-matrix interface regulates dormancy in human colon cancer stem cells. **Nature**. 2022; 608:784-794.
3. Sugimoto S, Kobayashi E*, et al., Sato T. * An organoid-based organ-repurposing approach to treat short bowel syndrome. **Nature**. 2021;592:99-104.
4. Kawasaki K, et al, Sato T*. An Organoid Biobank of Neuroendocrine Neoplasms Enables Genotype-Phenotype Mapping. **Cell**. 2020; 183: 1420-1435.
5. Nanki K, Fujii M, et al., Sato T*. Somatic inflammatory gene mutations in human ulcerative colitis epithelium. **Nature**. 2020;577:254-259.
6. Nanki K, Toshimitsu K, et al., Sato T*. Divergent Routes toward Wnt and R-spondin Niche Independency during Human Gastric Carcinogenesis. **Cell**. 2018;174:856-869.
7. Shimokawa M, Ohta Y, et al., Sato T*. Visualization and targeting of LGR5+ human colon cancer stem cells. **Nature** 2017;545:187-192.

..... MEMO

演題 2. 「呼吸器オルガノイドを使った

組織幹細胞研究と疾患モデル」

理化学研究所 生命機能科学研究センター 呼吸器形成研究チーム チームリーダー
森本 充

学歴・職歴

- 2003年 東京薬科大学大学院 生命科学研究科 博士課程 修了
2003年 国立遺伝学研究所 発生工学研究室 博士研究員
2006年 米国 Washington University in St.Louis 博士研究員
(2007-9年 日本学術振興会 海外特別研究員)
2010年 国立遺伝学研究所 発生工学研究室 助教
2012年 理化学研究所発生再生科学総合研究センター呼吸器形成研究チーム
チームリーダー
2014年 理化学研究所多細胞システム形成研究センター呼吸器形成研究チーム
チームリーダー
2018年 理化学研究所生命機能科学研究センター呼吸器形成研究チーム チームリーダー

学 位 博士(生命科学) 東京薬科大学 2003年

受賞歴

- 2012年 Jo Rae Wright Award (ベストプレゼンテーション賞), FASEB Science
Research Conferences “The Lung Epithelium in Health and Disease”
2013年 International Session Award, 日本呼吸器学会学術講演会
2014年 文部科学大臣表彰 若手科学者賞, 文部科学省
2019年 花王科学賞, 花王芸術科学財団

所属学会 日本分子生物学会、日本発生生物学会、日本呼吸器学会

専門分野 発生生物学、幹細胞学

公職・その他

2018年 日本発生生物学会 幹事長

2021年 神戸大学大学院理学研究科 客員教授

2022年 京都大学大学院医学研究科 客員教授

2023年 日本呼吸器学会 細胞・分子生物学学術部会 部会長

要 旨

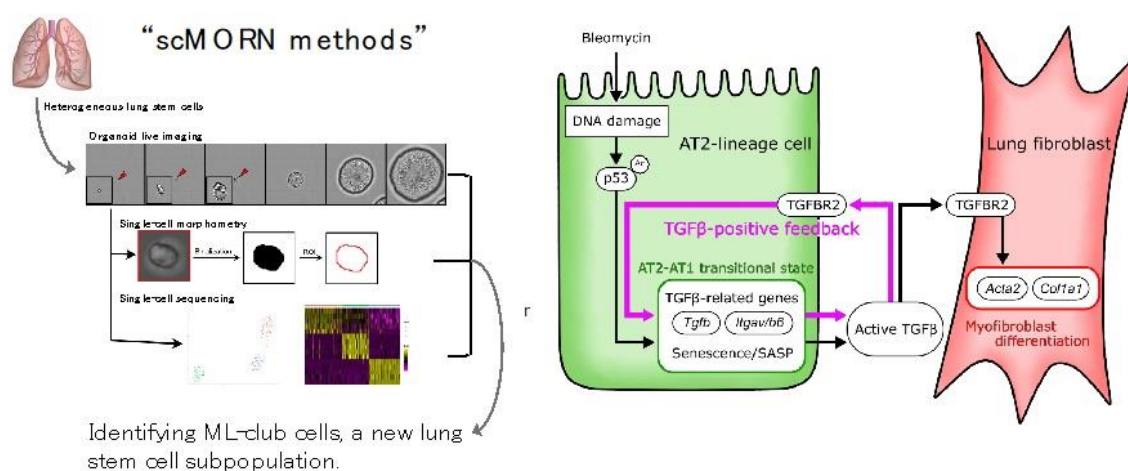
ヒト呼吸器は70 m²を超える広大な表面積を持ち、機能的に区画化された各組織領域に固有の組織幹細胞（以下、幹細胞）が存在する。特に上皮は呼吸により常に外気と触れているため、ウイルスや細菌の感染、喫煙、有害な化学物質への曝露や物理的な傷害など様々な要因によって傷つけられている。傷ついた上皮組織では、幹細胞が損傷を認知して反応し、再生上皮細胞を速やかに供給することで上皮の修復が起こる。肺再生への高い関心から、呼吸器上皮の再生能に着目した幹細胞の研究はここ数年で劇的に増えている。特に近年の細胞系譜解析やオルガノイド培養などの技術的な進歩が後押しとなり、マウスを使った個体レベルの研究と、ヒト幹細胞を使った *in vitro* のオルガノイド研究を統合的に進めることも可能になってきた。本セミナーでは、(1)オルガノイド培養技術を使った新規肺幹細胞の発見、(2)肺線維症オルガノイドモデルを使った同疾患発症の分子機構の解析について講演する。

幹細胞はニッチと呼ばれる微小環境に支えられ、ニッチから離れた幹細胞は未分化性を維持できず分化すると考えられている。我々はニッチに含まれる成長因子を利用し、複数種の呼吸器幹細胞を培養できる標準培地の開発を試みた。従来手法では肺線維芽細胞をニッチ細胞として添加することで幹細胞の培養を行っていたが、我々は肺上皮細胞共通の完全培地の開発に成功し、基底細胞、クラブ細胞、AT2細胞といった多様な幹細胞をニッチ細胞非依存的に培養することに成功した。本培地を利用し、単一細胞形態計測、オルガノイド培養、および1細胞RNA-seqを統合することで、オルガノイド形成能力を持つ幹細胞亜集団を発見する新しい1細胞解析手法を確立し、scMORN法と名付けた。この手法を使って新規肺上皮幹細胞を探索し、効率的にオルガノイドを形成し、且つ *in vitro* で肺細胞に分化するclub細胞の亜集団“ML-club細胞”を発見した。マウス個体を使った研究により、ML-club細胞は気道中枢に存在するクラブ細胞の亜集団であり、これまで報告されることがない新規の肺組織幹細胞であることを示した。ML-clubは他のclub細胞よりも有意に増殖し、*in vivo* で損傷再生に貢献できることがわかった。

特発性肺線維症(IPF)は非炎症性疾患であり、その原因は繰り返しの肺上皮障害と、再生過程の異常と考えられている。マウスへのブレオマイシン(BLM)投与による肺線維症モデルは、同疾患の制御メカニズムの理解に大きく貢献してきたが、個体レベルでの実験における変数の多さに対し、遺伝子改変による要素還元論的なアプローチに限界があった。肺線維症に関わる分子の多様さ、複雑さから、中核となる発症メカニズムの解明に至っていない。特に薬剤性肺障害により惹起される炎症の影響が大きく、非炎症性疾患として肺線維症を解析することが難しかった。

我々は最小限の構成細胞を使い、免疫系から独立して肺線維症を再現できる再構成的アプローチを試みた。肺細胞オルガノイド培養を利用してマウスAT2-lineage細胞のみで構成されたspheroidを調整し、BLM処理したところDNA損傷によりp53シグナルが活性化と、老

化関連表現型(SASP)が誘導された。さらに肺線維芽細胞と共培養を行うことで、spheroidのBLM処理に依存して筋線維芽細胞への分化を再現し、その様子のライブイメージング撮影に成功した。この培養系をAT2-lineage細胞と肺線維芽細胞による最小限の細胞構成で筋線維芽化を再現する肺維症オルガノイド培養とした。本培養系を詳細に解析した結果、p53下流のTGF β が独占的な筋線維芽細胞誘導因子であること、さらにTGF β がAT2細胞自身に自家フィードバックすることでTGF β 発現を増強することを発見した。そのためAT2-lineage細胞でTGF β 受容体をノックアウトすると、マウス肺の線維化およびオルガノイドの筋線維芽化は抑制された。AT2-lineage細胞におけるparacrine-autocrine TGF β シグナルは免疫非依存的線維化誘導機構の根幹であり、IPFの治療標的となり得る。



参考文献

1. Enomoto Y, Katsura H, Fujimura T et al, Autocrine TGF- β -positive feedback in profibrotic AT2-lineage cells plays a crucial role in non-inflammatory lung fibrogenesis. Nature Communications. vol.14, Article number: 4956 (2023).
2. Fujimura T, Enomoto Y, Katsura H et al, Identifying a Lung Stem Cell Subpopulation by Combining Single-Cell Morphometrics, Organoid Culture, and Transcriptomics. Stem Cells 41, 809–820 (2023).
3. Kishimoto K, Iwasawa K, Sorel A, et al, Directed differentiation of human pluripotent stem cells into diverse organ-specific mesenchyme of the digestive and respiratory systems. Nature protocols 17, 2699–2719 (2022).
4. Kiyokawa H, Yamaoka A, Matsuoka C et al, Airway basal stem cells reutilize the embryonic proliferation regulator, Tgfb-Id2 axis, for tissue regeneration. Developmental Cell 56, 1917-1929 (2021).

5. Kishimoto K, Furukawa KT, Luz-Madrigal A et al, Bidirectional Wnt signaling between endoderm and mesoderm confers tracheal identity in mouse and human cells. *Nature Communications* vol. 11, Article number: 4159 (2020).
6. Morimoto M, Takahashi Y, Endo M, Saga Y. The *Mesp2* transcription factor establishes segmental borders by suppressing Notch activity. *Nature* 435, 354-9 (2005).

..... MEMO

演題 3. 「生殖系オルガノイドの構築と利用」

大阪大学大学院医学系研究科 ゲノム生物学講座 生殖遺伝学 教授
林 克彦

学歴・職歴

- 1996 年 明治大学農学研究科修士課程修了
- 1996 年 東京理科大学・生命科学研究所・助手（分子生物学部門）
- 2002 年 大阪府立母子保健総合医療センター研究所・常勤研究員（病院病態学部門）
- 2005 年 ケンブリッジ大学・ガードン研究所・研究員
- 2009 年 京都大学・医学部・講師（機能微細形態学分野）
- 2011 年 京都大学大学・iPS 細胞研究所・特任講師（兼任）
- 2011 年 独立行政法人科学技術振興機構・さきがけ研究員（兼任）
- 2012 年 京都大学・医学部・准教授（機能微細形態学分野）
- 2014 年 九州大学・医学部・教授（応用幹細胞医科学部門）
- 2021 年 大阪大学・医学部・教授（生殖遺伝学分野）

学 位 博士（理学） 東京理科大学 2004 年

受賞歴

- 1997 年度 日本不妊学会学術奨励賞
- 2012 年 サイエンスブレークスルーオブザイヤー2012
- 2016 年 サイエンスブレークスルーオブザイヤー2016
- 2018 年 文部科学大臣表彰・科学技術賞
- 2018 年 読売テクノフォーラム・ゴールドメダル賞

所属学会 日本分子生物学会、日本発生生物学会、日本繁殖生物学会、
日本生殖医学会、日本生殖内分泌学会、日本生化学会

専門分野 生殖生物学

公職・その他

日本繁殖生物学会理事、日本生殖内分泌学会理事、日本生殖医学会学術委員、
日本分子生物学会キャリアパス委員（～2022年）

要 旨

生殖腺の主な機能は次世代に遺伝情報を伝える配偶子を産生する生殖機能と、性ホルモンの分泌により成長や恒常性を制御する内分泌機能に分かれる。生殖腺の異常は不妊や性分化疾患の原因となるほか、加齢による生殖腺の機能低下は更年期障害なども引き起こす。これらの疾患の多くは予見や予防が難しく、生殖腺の発生過程や加齢性変化の理解にもとづいた新しい治療法が求められている。生殖腺の主要な分化過程は胎児期に集中していることから、これらを理解するためには発生時間軸に沿った生殖腺の再構成系（生殖系オルガノイド）が重要となる。生殖腺は生殖細胞系列と生殖腺体細胞系列という発生学的に大きく異なる細胞系列で構成されていることから、そのオルガノイドの構築にはこれら2つの細胞系列を個別に再構成して評価する必要がある。

我々はこれまでにマウスのES細胞およびiPS細胞から機能的な卵子を分化誘導する体外培養法を開発した。この培養系における卵母細胞系列の形態的变化や遺伝子発現変動は体内でのそれらをほぼ踏襲しており、実際に得られた卵子の一部は受精により個体にまで発生する。また最近では、生殖細胞系列の性分化や配偶子形成を支持する生殖巣（精巣や卵巣の原基）の体細胞の再構築にも成功している。

これらの一連の再構築系の開発により、生殖細胞や生殖巣の分化過程を培養レベルで解析することが可能になってきた。本講演では、これらの研究の紹介とそれらを通じて見えてきた課題や生殖細胞の分化メカニズムの新しい知見について紹介したい。

参考文献

1. Murakami K, (14 authors), Hayashi K. Generation of functional oocytes from male mice in vitro. *Nature* Mar 15. (2023)
2. Shono M,(8 authors), *Hayashi K. Induction of primordial germ cell-like cells from common marmoset embryonic stem cells by inhibition of WNT and retinoic acid signaling. *Sci Rep* 13:3186. (2023)
3. Hayashi M, (14 authors), *Hayashi K. Robust induction of primordial germ cells of white rhinoceros on the brink of extinction. *Sci Adv.* 8: eabp9683 (2022)
4. Naitou Y, (6 authors), *Hayashi K. Dual role of *Ovol2* on the germ cell lineage segregation during gastrulation in mouse embryogenesis. *Development* 149: dev200319 (2022)
5. Yoshino T, (13 authors), *Hayashi K: Generation of ovarian follicles from mouse pluripotent stem cells. *Science* 373: eabe0237 (2021)
6. *Hamazaki N, (11 authors), *Hayashi K. Reconstitution of the oocyte transcriptional network with transcription factors. *Nature* 589: 264–269 (2021)
7. Hamada N, (6 authors), *Hayashi K. Germ cell-intrinsic effects of sex chromosomes on early oocyte differentiation in mice. *PLoS Genet.* 16: e1008676. (2020)

8. *Nagamatsu G, (3 authors), *Hayashi K. Mechanical stress accompanied with nuclear rotation is involved in the dormant state of mouse oocytes. *Sci Adv.* 5: eaav9960. (2019)
9. Shimamoto S, (6 authors), *Hayashi K. Hypoxia induces the dormant state in oocytes through expression of Foxo3. *PNAS* 116:12321-12326. (2019)
10. Ishikura Y, (2 authors), Hayashi K, (6 authors), Saitou M. In Vitro Derivation and Propagation of Spermatogonial Stem Cell Activity from Mouse Pluripotent Stem Cells. *Cell Rep.* 17:2789-2804. (2016)
11. Hikabe O, (9 authors), *Hayashi K. Reconstitution in vitro of the entire cycle of the mouse female germ line. *Nature.* 539: 299-303. (2016) “The Breakthrough of the Year 2016 by Science/AAAS”
12. Nakaki F, Hayashi K, (3 authors), *Saitou M. Induction of the mouse germ-cell fate by transcription factors in vitro. *Nature* 501 :222-226. (2013)
13. *Hayashi K, (4 authors), *Saitou M. Offspring from Oocytes Derived from in Vitro Primordial Germ Cell-Like Cells in Mice. *Science.* 338: 971-975. (2012) “The Breakthrough of the Year 2012 by Science/AAAS”
14. Hayashi K, (3 authors), *Saitou M. Reconstitution of the mouse germ cell specification pathway in culture by pluripotent stem cells. *Cell* 146: 519-32 (2011)

演題4. 「泌尿器系臓器オルガノイドの作製」

理化学研究所 生命機能科学研究センター ヒト器官形成研究チーム チームリーダー
高里 実

学歴・職歴

2002年 東京大学 理学部生物学科 卒業
2008年 東京大学大学院 理学系研究科生物科学科博士課程 修了
2009年 オーストラリア クイーンズランド大学 研究員
2015年 オーストラリア マードック小児研究所 上級研究員
2016年-現在 理化学研究所 多細胞システム形成研究センター
(現：生命機能科学研究センター) チームリーダー
2016年-現在 京都大学大学院 生命科学研究科 客員准教授(連携講座)
2021年-現在 大阪大学大学院 医学系研究科 招聘教授(連携講座)

学 位 博士(理学) 東京大学大学院 理学系研究科 2008年

受賞歴

2011年10月 Australasian Society for Stem Cell Research Conference Award
2014年6月 第13回 国際幹細胞学会 (ISSCR) 年会
Betty Jean Ogawa Memorial Award
2016年8月 2016 Eureka Prize for Scientific Research (オーストラリア)
2018年4月 文部科学大臣表彰 若手科学者賞

所属学会 日本分子生物学会、日本発生生物学会、日本腎臓学会、ISSCR

専門分野 発生生物学、幹細胞分化制御、オルガノイド

公職・その他

2018年 TERMIS 国際学会 プログラム委員
2019年-現在 ひょうご科学技術協会 研究助成事業 審査専門委員会委員
2019年-現在 国際幹細胞研究学会 (ISSCR) アジアンタスクフォース委員
2019年-現在 国際幹細胞研究学会 (ISSCR) ポスター審査委員

2020 年 第 19 回日本再生医療学会総会 プログラム委員

2020 年-現在 日本学術振興会 科研費 審査委員

要 旨

我々はこれまでの研究で、自己組織化と呼ばれる細胞の天性の力を利用した自律的な3次元組織構築法を用いることで、ヒト iPS 細胞から腎臓オルガノイドを作製してきた。腎臓オルガノイドは主要な腎臓組織（糸球体、近位尿細管、遠位尿細管、集合管、腎間質細胞、血管）を内包するだけでなく、再吸収機能など一部の腎臓機能も備えていた。ただ、移植可能な一つの臓器を作るという目的に照らすと、腎臓オルガノイドは本物の腎臓とは形も大きさも成熟度も異なる未熟な組織であり、ヒト腎臓を代替できる程には本当の腎臓形成を模倣しているとは言えない。特に、尿の出口となる尿管が形成されておらず、このままの腎臓オルガノイドでは移植に利用することはできない。発生過程において、尿管は腎臓内部で発達すると共に膀胱へも伸長し、両者を接続する。つまり、尿管を備えた腎臓を形成するためには、腎臓だけでなく膀胱の存在が必要不可欠と言える。そこで我々は、これまでに開発した腎臓オルガノイドに加え、膀胱オルガノイドをヒト iPS 細胞から作製する課題に取り組んでいる。

膀胱は、腎臓で作られた尿を貯蔵・排泄し、尿毒素から体を守る袋状の器官である。膀胱の発生過程は哺乳類特有のもので、総排泄腔の腹側が将来の腸管から分離し、尿路上皮へと発達する。本研究では、ヒト人工多能性幹細胞を、後腸、総排泄腔、そして膀胱オルガノイドへと段階的に分化させ、膀胱に特異的な構造的・機能的特徴を持つオルガノイドを作製した。最初の分化誘導段階では、FGF4 を含む培地を用いて、体性内胚葉を中・後腸様スフェロイドに分化させた。後腸様細胞は大腸に向かって分化するので、次に尿路上皮が選択的に誘導されるように、腹側化を促進する特定の培養条件を最適化した。そこで、腹側後腸様スフェロイドを誘導する増殖因子をスクリーニングしたところ、試験管内で UPK2、P63、KRT5 などの尿路上皮マーカーを発現する膀胱様スフェロイドを誘導することに成功した。この袋状の構造体は、高度に特殊化された層状上皮層からなり、すべてのタイプの尿路上皮細胞を含み、伸展可能で、バリア機能を有していた。今回作成した膀胱オルガノイドは、ヒトの膀胱の発生を理解するための強力なモデルとなり、疾患モデルとして機能し、将来的には治療用細胞として提供される可能性が期待される。

参考文献

1. Uno, W., Ofuji, K., Wymeersch, F. J. & Takasato, M*. In vitro induction of prostate buds from murine urogenital epithelium in the absence of mesenchymal cells. *Dev. Biol.* 498, 49–60 (2023).
2. Gogolou, A., Souilhol, C., Granata, I. et al, A. Early anteroposterior regionalisation of human neural crest is shaped by a pro-mesodermal factor. *Elife* 11, (2022).
3. Phipson, B., Er, P. X., Combes, et al, Evaluation of variability in human kidney organoids. *Nat. Methods* 16, 79–87 (2019).

4. Takasato, M*, Er, P. X., Chiu, H. S. & Little, M. H. Generation of kidney organoids from human pluripotent stem cells. *Nat. Protoc.* 11, 1681–92 (2016).
5. Takasato, M*, Er, P. X., Chiu, H. S., et al, Kidney organoids from human iPS cells contain multiple lineages and model human nephrogenesis. *Nature* 526, 564–8 (2015).
6. Takasato, M., Er, P. X., Becroft, M., et al, Directing human embryonic stem cell differentiation towards a renal lineage generates a self-organizing kidney. *Nat. Cell Biol.* 16, 118–126 (2014).

演題 5. 「造血幹細胞増幅技術から

見えてきた多様性と応用」

東京大学 医科学研究所 システム疾患モデル研究センター 細胞制御研究分野 教授
山崎 聡

学歴・職歴

2012年8月 東京大学医科学研究所幹細胞治療研究センター 幹細胞治療分野・助教
2016年7月 スタンフォード大学 Institute for Stem Cell Biology and Regenerative
Medicine 客員研究員
2016年9月 東京大学医科学研究所幹細胞治療研究センター
先端的再生医療社会連携研究部門・特任准教授
2017年10月 東京大学医科学研究所 幹細胞治療部門・特任研究員
2018年4月 東京大学医科学研究所 幹細胞治療部門・特任准教授
2019年4月 東京大学医科学研究所 幹細胞生物学分野・特任准教授
2020年3月 筑波大学 医学医療系 幹細胞治療研究室・教授
2023年9月 筑波大学 医学医療系 幹細胞治療研究室・客員教授
2023年9月 東京大学 医科学研究所 システム疾患モデル研究センター
細胞制御研究分野・教授

学 位 博士（生命科学学） 東京大学 2012年

受賞歴

2012年 麒麟児賞
2020年 日本医療研究開発大賞 日本医療研究開発機構（AMED）理事長賞
2021年 日本学術振興会賞
2021年 筑波大学 若手教員特別奨励賞
2022年 筑波大学 BEST FACULTY MEMBER

所属学会 日本血液学会、日本分子生物学会、実験血液学会

専門分野 幹細胞生物学、血液学

要 旨

造血幹細胞を含む造血幹前駆細胞 (HSPCs) を *ex vivo* で増幅、維持する培養技術は様々な血液疾患への治療技術として重要である。また、HSPC の長期培養系の確立は将来的に遺伝子治療分野に有用である。約 1 年前、我々は PVA を基とした化学ポリマーをアルブミンの代替えとして培養液に加えることでマウスの HSPC を大幅に増幅する技術を報告した。その技術開発の延長としてヒト HSPC の増幅方法においても注目されている。最近、我々はサイトカインを用いない培養条件によって長期的にヒト HSPC を増幅/維持することを可能にした。具体的には Stem cell factor (SCF) と Thrombopoietin (TPO) は HSPC を増殖するために重要な液性因子であるが、PI3K と特定の Mpl アゴニストの刺激により CD34 陽性細胞を特異的に増幅し 30 日に渡る培養期間においても幹細胞性を維持した。また、選択的に増幅が誘導される細胞の多くは不均一な形態を示す細胞であり、それはより高度に幹細胞を濃縮する。これらの培養システムは human CD34 陽性細胞を選択的に増幅させることから、ヒト造血幹細胞や白血病幹前駆細胞研究のプラットフォームを提供すると期待される。本セミナーではヒト造血幹細胞を用いた基礎から応用までの研究内容を紹介するとともに、本技術の可能性について議論をしていきたい。

参考文献

1. Sakurai M et al., Chemically defined cytokine-free expansion of human hematopoietic stem cells. *Nature*. 2023 Mar;615(7950):127-133.
2. Becker HJ., et al., Controlling genetic heterogeneity in gene-edited hematopoietic stem cells by single-cell expansion *Cell Stem Cell*. 2023 Jul 6;30(7):987-1000.e8.
3. Wilkinson AC., Long-term *ex vivo* hematopoietic-stem-cell expansion allows nonconditioned transplantation. *Nature*. 2019.

..... MEMO

演題 6. 「眼オルガノイド研究の展開」

大阪大学大学院医学系研究科 脳神経感覚器外科学（眼科学） 教授

西田 幸二

学歴・職歴

1988年	大阪大学医学部	卒業	
1988年	大阪大学医学部附属病院	医員	
1989年	大阪厚生年金病院	医員	
1992年	京都府立医科大学	助手	
1998年	ソーク研究所（米国、サンディエゴ）	研究員	
2000年	大阪大学大学院医学系研究科	助手	
2001年	大阪大学大学院医学系研究科	講師	
2004年	大阪大学大学院医学系研究科	助教授	
2006年	東北大学大学院医学系研究科	主任教授	
2010年	大阪大学大学院医学系研究科	主任教授	現在に至る
2022年	大阪大学ヒューマン・メタバース疾患研究拠点	拠点長	現在に至る

学 位 医学博士 学位記（大阪大学 1997年）

受賞歴

1997年	第2回ロート賞
1998年	日本眼科学会 学術奨励賞
2005年	Alcon Award
2006年	第2回 Pfizer Ophthalmic Award Japan
2009年	平成21年度文部科学大臣表彰科学技術賞研究部門
2015年	日本眼科学会評議員賞
2017年	日本再生医療学会賞
2023年	Asia Pacific Eye 100(100 Most Influential Ophthalmologists 2022)
2023年	第2回森下泰記念賞
2023年	日本医師会医学賞

所属学会 日本再生医療学会（副理事長）、日本眼科学会（常務理事）、
日本角膜学会（理事）、日本角膜移植学会（理事長）、
日本コンタクトレンズ学会（理事）、日本アイバンク協会（常務理事）、
大阪アイバンク協会（理事長）

専門分野 眼科学、再生医学

公職・その他

医師免許証（医籍登録番号第 315147 号）

日本眼科学会専門医（第 9169 号）

臨床修練指導医認定（第 2530 号）

日本眼科学会専門医制度眼科研修プログラム施行施設認定責任者

日本眼科学会指導医認定

要 旨

外界からの情報の80%以上を視覚から得ている我々人間にとって、視覚の維持に資する眼研究は極めて重要である。眼の最も前方に位置している透明組織である角膜は、外傷や炎症性疾患、遺伝性疾患など様々な要因により、混濁すると機能不全となり、失明に至る。


このような難治性の眼疾患の克服を目指し、本質的な基礎研究を進めるとともに、その成果を応用研究、臨床研究へと一貫的に発展させてきた。細胞シート工学による世界初の角膜再生医療技術（自家培養角膜上皮細胞シート移植及び自家培養口腔粘膜上皮シート移植）を開発し、ヒト臨床試験、治験を経て、それぞれ「ネピック」「オキュラル」という再生医療等製品として、2019年、2021年に承認され、標準医療にまで発展している。さらに基礎研究として、ヒトiPS細胞から眼全体の発生を時空間的に再現させる眼オルガノイド系の開発に世界で初めて成功した（self-formed ectodermal autonomous multi-zone：SEAMと命名）ことに加え、SEAM形成の分子メカニズムを解明し、細胞密度依存的なYAPの細胞内局在により細胞分化が制御されていることを明らかにした。SEAMは眼を構成する様々な組織の再生医療に応用可能であるとともに、ヒト眼の形態形成や先天的な眼異常の分子機構の解明に応用可能な革新的な発見である。この成果をもとに、iPS細胞由来角膜移植の世界初のヒト臨床試験を2019年に開始し、2022年に完了させた。iPS細胞由来角膜移植は角膜疾患で失明している世界中の患者の視力回復に寄与する技術となることが大いに期待される。

また、iPS細胞からヒト結膜及びヒト涙腺を作製し、ヒト眼の形態形成機構の解明へと研究を広げ、今回、それらの成果について報告したい。

参考文献

1. Hayashi R, Okubo T, Kudo Y, Ishikawa Y, maizumi T, Suzuki K, Shibata S, Katayama T, Park SJ, Young RD, Quantock AJ, **Nishida K**. Generation of 3D lacrimal gland organoids from human pluripotent stem cells. *Nature*. 605(7908):126-131, 2022.
2. Nomi K, Hayashi R, Ishikawa Y, Kobayashi Y, Katayama T, Quantock AJ, **Nishida K**. Generation of functional conjunctival epithelium, including goblet cells, from human iPSCs. *Cell Rep*. 34(5):108715. 2021.
3. Shibata S, Hayashi R, Okubo T, Kudo Y, Katayama T, Ishikawa Y, Toga J, Yagi E, Honma Y, Quantock AJ, Sekiguchi K, **Nishida K**. Selective Laminin-Directed Differentiation of Human Induced Pluripotent Stem Cells into Distinct Ocular Lineages. *Cell Rep*. 25(6):1668-79.e5. 2018.
4. Hayashi R, Ishikawa Y, Katori R, Sasamoto Y, Taniwaki Y, Takayanagi H, Tsujikawa M, Sekiguchi K, Quantock AJ, **Nishida K**. Coordinated generation of multiple ocular-like cell lineages and fabrication of functional corneal epithelial cell sheets from human iPS cells. *Nat Protoc*. 12(4):683-96. 2017.
5. Hayashi R, Ishikawa Y, Sasamoto Y, Katori R, Nomura N, Ichikawa T, Araki S, Soma T, Kawasaki S, Sekiguchi K, Quantock AJ, Tsujikawa M, **Nishida K**. Co-ordinated ocular development from human iPS cells and recovery of corneal function. *Nature*. 531(7594):376-80. 2016.

..... MEMO



公益財団法人 千里ライフサイエンス振興財団
〒560-0082 大阪府豊中市新千里東町1-4-2
千里ライフサイエンスセンタービル20階
TEL:06-6873-2006 FAX:06-6873-2002
E-mail:otk-2023@senri-life.or.jp