

消化器疾患における動物モデルを用いた病態解明と治療への応用

プログラム

開会挨拶 (公財) 実験動物中央研究所 理事長 野村 龍太 13:00 ~

オーガナイザー挨拶 東京医科歯科大学 大学院医歯学総合研究科 消化器病態学分野 教授 渡辺 守

座長 渡辺 守 13:10 ~ 14:40

- 1) 「培養細胞移植マウスモデルを用いる腸管上皮幹細胞解析」
東京医科歯科大学 大学院医歯学総合研究科 消化管先端治療学 教授 中村 哲也 - 30分 -
- 2) 「ヒト大腸がんミニ組織技術による新しい生体内がん再構築モデルの確立」
慶應義塾大学 医学部 消化器内科 特任准教授 佐藤 俊朗 - 30分 -
- 3) 「消化器癌モデルマウスにおける癌幹細胞マーカーの意義」
京都大学 医学研究科 消化器内科 講師 妹尾 浩 - 30分 -

休憩 14:40 ~ 14:55

座長 東京医科歯科大学 大学院医歯学総合研究科 肝臓病態制御学講座 教授 朝比奈 靖浩 14:55 ~ 16:55

- 1) 「ノックアウトマウスを用いた肝前駆細胞の分化制御機構の解析」
東京医科歯科大学 大学院医歯学総合研究科 肝臓病態制御学講座 講師 柿沼 晴 - 30分 -
- 2) 「バイオメディカルリサーチに有用なヒト化肝臓マウスの開発」
(公財) 実験動物中央研究所 研究副部門長・実験動物研究部長 末水 洋志 - 30分 -
- 3) 「ヒト肝細胞キメラマウスを用いたウイルス性肝炎の病態解明と治療法開発」
広島大学病院 消化器・代謝内科 診療講師 今村 道雄 - 30分 -
- 4) 「iPS細胞を用いたヒト肝臓創出技術の開発」
横浜市立大学 大学院医学研究科・臓器再生医学 教授 谷口 英樹 - 30分 -

閉会挨拶 (公財) 実験動物中央研究所 所長 秦 順一 16:55 ~ 17:00

懇親会 17:00 ~ 19:00

2014/11/13 (木)

学士会館 (東京都千代田区神田錦町 3-28)

シンポジウム 13:00 ~ 17:00
懇親会 17:00 ~ 19:00

第8回 In vivo 実験医学シンポジウム

「消化器疾患における動物モデルを用いた病態解明と治療への応用」

<シンポジウム主旨>

第8回 In vivo 実験医学シンポジウムのテーマは、「消化器疾患における動物モデルを用いた病態解明と治療への応用」とさせていただきます。疾病の病態解明や創薬研究には、ヒトの生命現象や病態をより忠実に再現する動物モデルの開発が不可欠です。近年、遺伝子改変技術や iPS 細胞を中心とした幹細胞研究が著しく進歩し、新しい動物モデルが次々と開発されるとともに、それらを用いた病態解明・治療への応用研究が急速に進んでいます。臨床の立場から消化器疾患を考える場合においても、これらの新しい技術の進歩が開拓しつつある研究領域を理解し、積極的に応用することがますます重要であると考えます。本シンポジウムでは、消化管および肝臓の両分野において、現在最も注目される研究領域である動物モデルを利用した再生研究、病態解明、創薬研究における第一人者の方々に最先端の研究をご紹介します。本シンポジウムにお招きした先生は臨床を行いながら基礎研究をしている方々が多く含まれています。新しい動物モデルの開発やこれらを用いた消化器領域における最先端の研究が消化器病臨床に如何なる変革を与えるのか、その理解を深める機会としていただきたいと思います。

2014年11月

第8回 In vivo 実験医学シンポジウムオーガナイザー
東京医科歯科大学 大学院医歯学総合研究科
教授 渡辺 守

公益財団法人実験動物中央研究所
理事長 野村 龍太
所長 秦 順一

第8回 In vivo 実験医学シンポジウム

「消化器疾患における動物モデルを用いた病態解明と治療への応用」

プログラム

開会挨拶 野村 龍太（公益財団法人実験動物中央研究所 理事長）

13:00～

オーガナイザー挨拶 渡辺 守（東京医科歯科大学 大学院医歯学総合研究科
消化器病態学分野 教授）

第1部【消化管分野】 座長：渡辺 守 13:10～14:40

- 1) 「培養細胞移植マウスモデルを用いる腸管上皮幹細胞解析」
中村 哲也（東京医科歯科大学 大学院医歯学総合研究科
消化管先端治療学 教授）… P6
- 2) 「ヒト大腸がんミニ組織技術による新しい生体内がん再構築モデルの確立」
佐藤 俊朗（慶應義塾大学 医学部 消化器内科 特任准教授）… P8
- 3) 「消化器癌モデルマウスにおける癌幹細胞マーカーの意義」
妹尾 浩（京都大学 医学研究科 消化器内科 講師）… P10

（休憩 15 分間）

第2部【肝臓分野】

座長：朝比奈 靖浩

14:55～16:55

- 1) 「ノックアウトマウスを用いた肝前駆細胞の分化制御機構の解析」
柿沼 晴（東京医科歯科大学 大学院医歯学総合研究科
肝臓病態制御学 講師）・・・ P14

- 2) 「バイオメディカルリサーチに有用なヒト化肝臓マウスの開発」
末水 洋志（公益財団法人実験動物中央研究所
研究副部門長・実験動物研究部長）・・・ P16

- 3) 「ヒト肝細胞キメラマウスを用いたウイルス性肝炎の病態解明と治療法開発」
今村 道雄（広島大学病院 消化器・代謝内科 診療講師）・・・ P18

- 4) 「iPS 細胞を用いたヒト肝臓創出技術の開発」
谷口 英樹（横浜市立大学 大学院医学研究科・臓器再生医学 教授）・・・ P20

閉会挨拶 秦 順一（公益財団法人実験動物中央研究所 所長） 16:55～17:00

第1部【消化管分野】

座長：渡辺 守

(東京医科歯科大学 大学院医歯学総合研究科 消化器病態学分野 教授)

- 1) 「培養細胞移植マウスモデルを用いる腸管上皮幹細胞解析」
中村 哲也 (東京医科歯科大学 大学院医歯学総合研究科
消化管先端治療学 教授)
- 2) 「ヒト大腸がんミニ組織技術による新しい生体内がん再構築モデルの確立」
佐藤 俊朗 (慶應義塾大学 医学部 消化器内科 特任准教授)
- 3) 「消化器癌モデルマウスにおける癌幹細胞マーカーの意義」
妹尾 浩 (京都大学 医学研究科 消化器内科 講師)

座 長 略 歴

渡辺 守 (わたなべ まもる)

東京医科歯科大学 大学院医歯学総合研究科 消化器病態学分野 教授

[学歴および職歴]

1979年 3月 慶應義塾大学医学部卒業

1984年 3月 慶應義塾大学大学院 医学研究科 (内科学) 修了

1985年 1月 慶應義塾大学病院 助手

1987年 11月 ハーバード大学医学部 留学

1996年 7月 慶應がんセンター 診療部長

2000年 4月 東京医科歯科大学 大学院消化器病態学分野 / 消化器内科 教授

2012年 4月 東京医科歯科大学附属病院

潰瘍性大腸炎・クローン病先端治療センター長

2014年 4月 東京医科歯科大学附属病院 副病院長、難病治療部長

慶應義塾大学客員教授

[主な専門分野]

炎症性腸疾患

消化管上皮の再生・分化機構の解明と再生医療

粘膜免疫

炎症による発癌機構

[主な学会活動歴]

日本内科学会 (評議員)

日本消化器病学会 (副理事長、2016年4月日本消化器学会総会会長予定)

日本炎症性腸疾患研究会 (理事長)

日本消化器免疫学会 (理事長)

日本消化管学会 (理事)

日本臨床免疫学会 (理事)

全米消化器病学会 (AGA Fellow)

国際粘膜免疫学会 (理事)

培養細胞移植マウスモデルを用いる腸管上皮幹細胞解析

中村 哲也 東京医科歯科大学 消化管先端治療学

特異的分子マーカーの同定や体外培養技術の確立により、腸管上皮の組織幹細胞研究が大きく進みつつある。われわれはこれまでに、正常な成体マウスから大腸上皮細胞を採取し、これを体外培養する独自の技術を確認した。この方法では大腸上皮細胞が、無血清培地で、3次元的に、継代操作を経て、長期にわたり培養可能となった。また本法を用いると、Lgr5 発現陽性大腸上皮幹細胞を数の上で増やしうることを見いだした。

そこで、体外で増やした大腸培養上皮細胞が、再び生体内に戻った後に上皮組織を再構築しうるか否かを検討した。このために、デキストラン硫酸ナトリウム (DSS) の経口投与で誘導する大腸炎マウスをレシピエントとし、これに EGFP トランスジェニックマウスから得た培養大腸細胞を移植する技術を確認し、マウス腸管への培養上皮細胞移植に初めて成功した。移植の結果、ドナー細胞が欠損上皮を補充しながら上皮組織を構築しうることが明らかとなった。さらに、ただ 1 個の幹細胞から増やした細胞群の移植によっても細胞生着が得られること、かつ長期にわたってドナー細胞が移植片内で幹細胞として機能することを明らかにした。

われわれはまた海外のグループと共同し、本マウス移植モデルを利用することで、培養胎生期腸管上皮も成体大腸に移植可能であること、しかも胎生期小腸上皮は生着後に一部大腸上皮形質を獲得することを見いだした。さらに最近われわれは、成体由来の培養小腸上皮幹細胞移植にも成功し、この場合には、生着後の移植片が大腸環境内で小腸上皮としての性質を維持することを見いだした。

本シンポジウムでは、これら腸管上皮細胞培養と独自に開発したマウス腸管上皮細胞移植モデルを組合せた最新の研究データを提示したい。マウスモデルを利用するこれら研究の進展は、上皮機能の欠損や重篤な上皮傷害を呈するヒト難治性腸疾患に対し、培養上皮幹細胞を利用した再生医療技術開発の重要な基礎となるものと考えている。

略 歴

中村 哲也 (なかむら てつや)

東京医科歯科大学 消化管先端治療学 教授

[学歴及び職歴]

1992年 3月 慶應義塾大学医学部卒業
1992年 5月 慶應義塾大学医学部内科学教室
1997年 4月 東京大学医科学研究所先端医療研究センター 医員
2001年 11月 東京医科歯科大学医学部消化器内科 助手
2005年 4月 Cold Spring Harbor Laboratory 客員研究員
2007年 4月 東京医科歯科大学消化管先端治療学 講師
2012年 4月 東京医科歯科大学消化管先端治療学 准教授
2014年 4月 東京医科歯科大学消化管先端治療学 教授

[主な専門分野]

消化管上皮細胞研究
細胞生物学
幹細胞学
消化器内科学

[主な学会活動歴]

日本内科学会
日本消化器病学会
日本分子生物学会
日本癌学会

ヒト大腸がんミニ組織技術による 新しい生体内がん再構築モデルの確立

佐藤 俊朗 慶應義塾大学 医学部 消化器内科

大腸がんは本邦のがん死亡原因の上位を占め、その発がん機序の解明と治療法の革新が望まれる。大腸がん研究は分子生物学の進歩とともに、Adenoma-Carcinoma sequence 仮説が提唱され、その分子遺伝学的な理解が進んだ。近年の次世代シーケンサーの出現により、大腸がん遺伝子変異の網羅的な解析が行われるようになり、従来から知られていた高重複な遺伝子変異とともに多くの低重複遺伝子変異群が存在することがわかってきた。これらの遺伝子変異は5つのシグナル伝達異常（WNT、MAPK、TGF- β 、TP53、PI3Kシグナル）を導くが、シグナル伝達異常のみで大腸発がんが成立するかどうかはわかっていない。我々は、正常腸管上皮幹細胞を体外で3次元培養し、単一の幹細胞から生体内の組織構造を擬似化したオルガノイド培養技術を開発した。本技術はヒト腸管上皮幹細胞および患者由来大腸がん細胞に応用が可能であり、培養細胞のゲノム編集技術による人工的な遺伝子変異導入および超免疫不全マウス（NOGマウス）を用いた異種移植系に成功した。人工的な5つの遺伝子（APC、KRAS、SMAD4、TP53、PIK3CA）のノックアウトまたは変異ノックインさせたヒト遺伝子改変オルガノイドはニッチ非依存的な幹細胞自己複製能を獲得し、NOGマウスの腎被膜下での腫瘍形成を示した。同遺伝子改変オルガノイドは脾臓移植からの肝転移能は乏しかったが、転移微小コロニーを形成し、その再培養・再移植が可能であった。これらの結果から5つの高重複ドライバー遺伝子変異は幹細胞維持能に寄与し、遠隔臓器の不適合ニッチ環境における幹細胞維持に関与することが示された。しかしながら、同遺伝子変異のみでは浸潤や転移コロニー形成は不十分であり、発がんの進展にはさらなる染色体変化、低重複ドライバー遺伝子変異やエピジェネティック変化などが必要であることが示唆された。ゲノム編集オルガノイドとその異種移植技術の開発により、これまで不可能であった、ヒト腸管上皮における複雑な遺伝子変異の再構築が可能になり、今後のさらなるがん研究への応用が期待できる。

略 歴

佐藤 俊朗（さとう としろう）

慶應義塾大学 医学部 消化器内科 特任准教授

[学歴及び職歴]

1997年 3月 慶應義塾大学医学部卒業
2003年 3月 慶應義塾大学医学部大学院単位取得退学
2004年 4月 医学博士
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 消化器内科 特任助教
2011年 7月 慶應義塾大学医学部 消化器内科 特任講師
2013年 4月 慶應義塾大学医学部 消化器内科 特任准教授

[主な専門分野]

大腸がん幹細胞
腸管上皮幹細胞
Wnt シグナリング
炎症性腸疾患

[主な学会活動歴]

日本内科学会（会員・認定医）
日本消化器病学会（会員・専門医）
日本分子生物学会（会員）
日本癌学会（会員）
米国癌学会（AACR）（会員）
米国消化器病学会（会員）

消化器癌モデルマウスにおける癌幹細胞マーカーの意義

妹尾 浩 京都大学 消化器内科

近年、正常組織幹細胞と類似したヒエラルキーを持つ癌幹細胞の存在が想定され、癌幹細胞を標的とする新世代の治療法が期待されている。しかし、これまでに報告された癌幹細胞を標識する「マーカー」の多くは正常組織幹細胞にも発現している。それらのマーカーを標的として癌治療を行った場合、正常組織への重大な副作用が懸念される。したがって、癌幹細胞特異的マーカーの同定とそれを標的とする治療法の開発が重要である。

今回我々は、消化器臓器の正常組織幹細胞マーカー候補とされていた Doublecortin-like kinase 1 (Dclk1) に着目し、正常消化器臓器と消化器癌における Dclk1 陽性細胞の意義について、マウス細胞系譜解析による検討を行った。まず、Dclk1 プロモーターの下流に *CreERT2-IRES-EGFP* コンストラクトをノックインしたマウス (*Dclk1-Cre* マウス) を作出し、*R26-LacZ* マウス、*Apc^{Min}* マウス、*Kras^{G12D}* マウス等と交配した。*Dclk1-Cre; R26-LacZ* マウスの正常腸管では、タモキシフェン投与後に青色の Dclk1 陽性細胞が上皮細胞に疎に出現したが、子孫細胞の供給は認めなかった。一方 *Dclk1-Cre; R26-LacZ; Apc^{Min}* マウスの腸腫瘍では、タモキシフェン投与後に Dclk1 陽性細胞から青色の子孫腫瘍細胞の供給が認められ、1週間程度で腫瘍全体が青色の子孫腫瘍細胞によって占められた。これらの「青い腸腫瘍」は、マウスを観察し得た 105 日後まで残存していた。Dclk1 陽性腫瘍細胞からの子孫腫瘍細胞の供給は、セルレイン膵炎後の *Dclk1-Cre; R26-LacZ; Kras^{G12D}* マウス膵腫瘍でも認められた。さらに、ジフテリアトキシン受容体を発現する *Dclk1-Cre; R26-LacZ; Apc^{Min}; R26-iDTR* マウスを用いて、Dclk1 陽性細胞の特異的アブレーションを行うと、正常腸管には大きな障害を認めずに、腸腫瘍のみが退縮した。

以上より、Dclk1 は正常組織幹細胞を標識せず、腫瘍幹細胞のみを標識する、腫瘍幹細胞特異的マーカーであることが示唆された。これらの知見をもとに、正常組織への障害のない「癌幹細胞治療」の可能性を探求したい。

略 歴

妹尾 浩（せのお ひろし）

京都大学 消化器内科 講師

[学歴及び職歴]

1991年 3月 京都大学医学部卒業
1992年 4月 倉敷中央病院 内科 医員
1995年 4月 静岡県立総合病院 消化器科 医員
2001年 3月 京都大学大学院医学研究科 修了
2001年 6月 京都大学大学院医学研究科 消化器内科学 助手
2005年 6月 米国ワシントン大学医学部 病理免疫学 客員研究員
2008年 10月 京都大学医学部附属病院 消化器内科 講師
2013年 11月 京都大学医学部附属病院 内視鏡部・副部長（兼担）

[主な専門分野]

消化器発癌メカニズムの基礎的検討
消化器癌の画像診断
消化器癌の治療

[主な学会活動歴]

日本内科学会
日本消化器病学会
日本癌学会
日本消化器内視鏡学会
日本肝臓学会

第2部【肝臓分野】

座長：朝比奈 靖浩

(東京医科歯科大学 大学院医歯学総合研究科 肝臓病態制御学講座 教授)

- 1) 「ノックアウトマウスを用いた肝前駆細胞の分化制御機構の解析」
柿沼 晴 (東京医科歯科大学 大学院医歯学総合研究科 肝臓病態制御学 講師)

- 2) 「バイオメディカルリサーチに有用なヒト化肝臓マウスの開発」
末水 洋志 (公益財団法人実験動物中央研究所
研究副部門長・実験動物研究部長)

- 3) 「ヒト肝細胞キメラマウスを用いたウイルス性肝炎の病態解明と治療法開発」
今村 道雄 (広島大学病院 消化器・代謝内科 診療講師)

- 4) 「iPS 細胞を用いたヒト肝臓創出技術の開発」
谷口 英樹 (横浜市立大学 大学院医学研究科・臓器再生医学 教授)

座 長 略 歴

朝比奈 靖浩 (あさひな やすひろ)

東京医科歯科大学 大学院医歯学総合研究科 肝臓病態制御学講座 教授

[学歴及び職歴]

1988年 3月 滋賀医科大学医学部医学科 卒業
1988年 5月 東京医科歯科大学第二内科入局
1996年 6月 米国コネチカット大学消化器科 博士研究員
1998年 12月 武蔵野赤十字病院消化器科 副部長
2009年 4月 武蔵野赤十字病院消化器科 部長
2012年 4月 東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科分子肝炎制御学講座 教授
2013年 4月 東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科肝臓病態制御学講座 教授
(呼称変更)

[主な専門分野]

肝炎および肝臓の病態解明・診断・治療法の開発

[主な学会活動歴]

日本内科学会 (認定内科医・総合内科専門医・指導医)
日本肝臓学会 (評議員・専門医・指導医・診療ガイドライン作成委員・国際委員会委員・社会保険委員会委員・2000年研究奨励賞・2004年 Hepatology Research 賞・2005年冠アワード受賞)
日本消化器病学会 (評議員・専門医・指導医)
日本消化器内視鏡学会 (評議員・専門医・指導医・2009年学会賞受賞)
アメリカ肝臓病学会 (AASLD) 国際メンバー

ノックアウトマウスを用いた肝前駆細胞の分化制御機構の解析

柿沼 晴 東京医科歯科大学 消化器内科/肝臓病態制御学

肝前駆細胞はと活発な増殖能と2方向性（肝細胞と胆管細胞）の分化能を有する細胞として定義される細胞である。我々は近年、マウス胎仔肝臓よりセルソーターによって分取した肝前駆細胞を用いて、特定の分子が肝前駆細胞の分化・増殖に与える影響について解析してきた。

Matrix Metalloproteinase-14 (MMP-14、MT1-MMP) は膜型 MMP として代表的な MMP 分子の1つである。これまでに MMP-14 は MMP-2 を切断して活性型に誘導すること、様々な臓器で癌の浸潤、転移に関与すること、血管新生に関与すること、造血幹細胞、間葉系幹細胞の運動性に関与することなどが報告されている一方で、肝前駆細胞におけるその機能は不明であった。最近の知見として MMP-14 が肝前駆細胞に与える影響について解析したところ、下記の知見を得た。

野生型マウスにおいて、発生期肝臓における MMP-14 の発現は生後7日目をピークに上昇し、以後は低下した。成体肝臓では肝細胞と比較して胆管細胞に MMP-14 の高い発現が見られた。MMP-14 または MMP-2 をテトラサイクリン誘導性に強制発現するレンチウイルスベクターを構築し、野生型マウス胎生期肝前駆細胞に強制発現させた上で、肝細胞分化及び胆管細胞分化を誘導する培養系でその効果を評価したところ、MMP-14 強制発現により、肝前駆細胞の肝細胞成熟化が遅延し、逆に胆管型コロニーの数と径が有意に増大し、胆管分化マーカーの発現レベルが有意に増加した。MMP-2 の強制発現では胆管型コロニーの数、径ともに変化しなかった。MMP-14 欠損マウスの肝前駆細胞を用いて同様の検討をすると、MMP-14 欠損により、肝前駆細胞の肝細胞成熟化が促進し、逆に胆管型コロニーの著明な形成不全を認めた。MMP-14 欠損肝臓を用いた cDNA microarray 解析では MMP-14 欠損により、肝細胞系譜の代謝機能に関する遺伝子群の発現増強を認めた。免疫染色では、胆管形成の遅延を認めた。これらのことから、MMP-14 は肝前駆細胞の肝細胞としての成熟化を負に、胆管細胞としての成熟化を正に調節することが示された。

さらに、MMP-14 が肝臓への細胞移植に与える影響を検討した。我々はこれまでに ApoE 欠損マウスに対して肝切除を行い、細胞移植をする同種移植系を確立している。本移植系では、血清中のコレステロール値を用いて、半定量的に肝臓の移植細胞による弛緩率 (Donor chimerism) を評価することが可能である。本移植系を用いて、MMP-14 欠損マウス由来の肝前駆細胞を移植すると、野生型に比して、置換率が有意に低く、逆に MMP2 および MMP14 強制発現の肝前駆細胞を移植すると置換率の有意な上昇を認め、これらの MMP は細胞移植効率を正に制御していることが示された。

これらの知見は、今後 iPS 細胞から誘導された肝前駆細胞の機能と移植効率を高める可能性を模索する点で有益な知見を供与できると考えられる。

略 歴

柿沼 晴 (かきぬま せい)

東京医科歯科大学大学院 肝臓病態制御学 講師

[学歴および職歴]

1995年 3月 東京医科歯科大学医学部医学科 卒業
1995年 4月 東京医科歯科大学 第二内科
1999年 4月 東京医科歯科大学大学院 入学
2003年 3月 東京医科歯科大学大学院 卒業 医学博士授与
2003年 9月 東京医科歯科大学 消化器内科 助教
2005年 6月 東京大学医科学研究所 幹細胞治療分野 特任助教
2008年 4月 科学技術振興機構 ERATO プロジェクト研究員
2009年 4月 東京医科歯科大学大学院 分子肝炎制御学 講師
2013年 4月 東京医科歯科大学大学院 肝臓病態制御学 講師

[主な専門分野]

肝臓病学
幹細胞生物学

[主な学会活動歴]

日本消化器病学会 (学会評議員・同指導医)
日本肝臓学会 (学会評議員・同指導医)
平成25年 日本肝臓学会 学会賞 (冠アワード)

バイオメディカルリサーチに有用なヒト化肝臓マウスの開発

末水 洋志 公益財団法人 実験動物中央研究所

くすりの多くは肝臓の薬物代謝酵素群により修飾され、胆汁、あるいは尿中に排泄される。薬物代謝酵素の特性が齧歯類とヒトでは大きく異なるため、動物実験の結果をそのままヒトに外挿することは難しい。また、チンパンジーやヒトなど一部の霊長類を宿主とする肝炎ウイルスの研究も齧歯類では十分に対応できず、マウス・ラットなど実験動物の限界が指摘されていた。マウスやラットの肝臓をヒトのそれに置換することができれば、理論上はヒトでの薬効や毒性（副作用）の多くを動物実験で予見できると考え、我々は革新的な創薬モデルとしてヒト肝臓保有 TK-NOG マウス (Hu-liver TK-NOG) を開発した。このようなヒト肝キメラマウスの最初の報告は約 15 年前に遡るが、現在では機構の異なる 3 系統のヒト肝キメラマウスが開発され、ようやく一般の研究者にも普及しはじめたところである。

我々は異種細胞の生着性が極めて高い NOG マウスを基盤とし、1 型単純ヘルペスウイルスチミジンキナーゼ (HSVtk) 遺伝子を肝臓で特異的に発現する超免疫不全 NOG マウス (TK-NOG) を作製した。TK-NOG マウスはガンシクロビル (GCV) 投与により肝臓細胞が選択的に破壊される肝傷害モデルである。この肝傷害マウスに市販の凍結ヒト肝臓細胞を脾臓から門脈経由で移植すると効率よく肝臓に定着する。再構築した“ヒト化肝臓”は免疫抑制剤などの薬物を投与すること無く維持され、ヒト肝臓細胞の生着を表す血中ヒトアルブミンレベルは長期にわたり安定して保持された。“ヒト化肝臓”を生化学的、分子生物学的、組織学的に解析したところ、成熟したヒト肝臓が示すような酵素の肝小葉内分布や網羅的遺伝子発現パターンだけでなく、薬物代謝プロファイルもヒト型を示すことから“ヒトの器官”として機能しているものと思われる。今後、薬物代謝、毒性研究、肝再生研究など、ヒト肝臓の生理機能を研究するための新たなプラットフォームとして TK-NOG マウスを用いたヒト化肝臓マウスモデルが広く使われることを期待する。

略 歴

末水 洋志 (すえみず ひろし)

公益財団法人実験動物中央研究所 研究副部門長・実験動物研究部長

[学歴及び職歴]

1986年 3月 北里大学衛生学部産業衛生学科 卒業
1986年 4月 株式会社免疫生物研究所 (IBL) 研究員
1989年 7月 東海大学医学部分子生命科学系 技術系職員
1995年 11月 北里大学学位取得 (保健学博士)
2000年 1月 財団法人 実験動物中央研究所 研究員
2001年 5～7月 National Institute on Aging・NIH Special Volunteer
2008年～2012年 慶應義塾大学医学部非常勤講師・同先導研究所訪問准教授
2013年 4月～ 公益財団法人実験動物中央研究所 研究副部門長・実験動物研究部長
2014年 10月～ 岐阜大学大学院連合獣医学研究科客員教授 (兼任)

[主な専門分野]

実験動物 (疾患モデル動物)

大腸がん

膵臓がんの転移モデル

[主な学会活動歴]

2009年 日本実験動物学会 「NOGマウスを用いたヒト肝臓モデルの確立」 優秀賞
日本実験動物学会 (評議員)

ヒト肝細胞キメラマウスを用いた ウイルス性肝炎の病態解明と治療法開発

今村 道雄 広島大学病院 消化器・代謝内科

B 型あるいは C 型慢性肝炎に対する抗ウイルス療法の治療効果は次第に向上している。しかし未だ難治性あるいは副作用のため治療困難な患者や薬剤耐性ウイルスなど多くの問題点があり、より有効かつ安全な新規治療薬の開発が望まれる。治療薬の開発および効果判定のためには、肝炎ウイルスが有効に感染する小動物モデルが有用である。肝炎ウイルスは、ヒト肝細胞表面に発現するレセプターを介して感染するため、通常のマウスにウイルスを投与しても感染は認められない。一方、肝臓が高度にヒト肝細胞に置換されたヒト肝細胞キメラマウスでは、肝炎ウイルスの投与により、置換されたヒト肝細胞における持続感染が可能である。ヒト肝細胞キメラマウスは、マウスにヒト肝細胞を移植して作製するが、移植したヒト肝細胞が免疫反応により拒絶されず肝臓内で増殖する必要がある、またマウス自身の肝細胞は徐々に死滅する必要がある。免疫不全の SCID マウスと、肝不全を生じる urokinase-type plasminogen activator (uPA) トランスジェニックマウスを掛け合わせた uPA/SCID マウスの脾臓にヒト肝細胞を注入することでヒト肝細胞キメラマウスが作製される。ヒト肝細胞を移植した uPA/SCID マウスに B 型あるいは C 型肝炎ウイルスを投与することにより、ヒト肝細胞に特異的に感染し、ウイルスの複製が生じる。免疫不全のためウイルスが排除されることなく、高 titer のウイルス血症が長期間継続するため、抗ウイルス剤の効果判定に非常に有効である。SCID マウスは T 細胞および B 細胞が欠損しているが、NOG マウスは、さらに NK 細胞、マクロファージおよび樹状細胞が欠損した超免疫不全マウスである。アルブミンプロモーター下に herpes simplex virus type 1 thymidine kinase (HSVtk) が組み込まれた TK-NOG マウスにガンシクロビルを用いて肝細胞障害を誘導後、ヒト肝細胞を移植することにより、ヒト肝細胞キメラマウスが作成される。本マウスは、uPA/SCID マウスに比べ、C 型肝炎ウイルスの感染がより高率であり、今後、抗ウイルス剤の効果判定、ウイルス性肝炎の病態解明および新規治療法開発に有用なモデルになるものと思われる。

略 歴

今村 道雄 (いまむら みちお)

広島大学病院 消化器・代謝内科 診療講師

[学歴および職歴]

1994年 3月 宮崎大学医学部卒業
1994年 4月 広島大学病院内科研修医
1996年 4月 庄原赤十字病院内科
1999年 4月 広島大学病院消化器・代謝内科 医員
2000年 4月 広島大学大学院医学系研究科 入学
2005年 3月 広島大学大学院医学系研究科 修了 (医学博士)
2005年 4月 広島大学病院消化器・代謝内科 助教
2012年 7月 広島大学病院消化器・代謝内科 診療講師 現在に至る

[主な専門分野]

消化器疾患 (特に肝臓疾患) の診療
肝臓疾患 (特にウイルス性肝炎) の研究

[主な学会活動歴]

日本肝臓病学会 (評議員)
日本内科学会
日本消化器病学会
日本消化器内視鏡学会
日本ウイルス学会
日本門脈圧亢進症学会

iPS 細胞を用いたヒト肝臓創出技術の開発

谷口 英樹 横浜市立大学大学院 医学研究科・臓器再生医学

従来の再生医療が目指していたのは、iPS 細胞などの多能性幹細胞から疾患治療に有益な「細胞」を創り出すことであった。しかしながら、細胞療法の有効性は多くの疾患において未確定であり、その臨床的意義は将来性への希望的期待の範疇にあるにすぎない。一方、臨床的有效性が明確な移植医療における最も重要な未解決課題が、ドナー臓器の絶対的不足であることは明らかである。この課題を解決するためには、「ヒト臓器の人為的構成」を可能とする革新的な細胞操作技術を開発する必要がある。

肝不全は致命的な病態であり、肝臓移植のみが唯一の救命手段である。しかしながら、世界的にドナー臓器の不足は明らかであり、iPS 細胞から治療用ヒト臓器を人為的に創出するための技術開発が喫緊の解決課題となっている。

我々は、これまでに器官発生プロセスを模倣することにより、ヒト iPS 細胞から肝臓原基（肝芽）の創出を可能とする革新的な三次元培養技術を確立してきた (*Nature* 499:481-484, 2013)。現在、このヒト肝芽創出法をコア技術として、前臨床研究のためのヒト iPS 細胞由来肝芽の大量調製・品質評価・移植操作技術の開発を推進中であり、POC (*Proof of Concept*) の早期確保を目指している (*Nature Protocols* 9:396-409, 2014)。

本研究は、JST 再生医療実現拠点ネットワーク事業の支援を受けており、国立成育医療研究センターにおける臨床研究を H31 年度に開始することを目指して準備を進めている状況にある。本拠点における、臨床グレードの移植用ヒト肝臓製造工程の構築に向けた取り組みについて紹介する。

略 歴

谷口 英樹 (たにくち ひでき)

横浜市立大学大学院 医学研究科・臓器再生医学 教授

[学歴および職歴]

1989 年 3 月	筑波大学医学専門学群卒業
1989 年 6 月	筑波大学附属病院医員 (外科研修医)
1995 年 3 月	筑波大学大学院博士課程医学研究科修了・博士 (医学)
1995 年 4 月	日本学術振興会特別研究員
1997 年 4 月	筑波大学臨床医学系講師 外科 (消化器)
2002 年 5 月	横浜市立大学医学部教授 臓器再生医学
2003 年 4 月	横浜市立大学大学院医学研究科教授 臓器再生医学

[主な専門分野]

再生医学
幹細胞生物学
移植外科学

[主な学会活動歴]

日本移植学会 (評議委員・学会誌常任編集委員)
日本再生医療学会 (評議委員・学会誌編集同人)
日本臓器保存生物医学会 (理事・学会誌編集幹事)



In-Vivo Science Inc.

インビボサイエンス株式会社

～基礎研究から臨床現場へ～

(公財)実験動物中央研究所の研究成果の事業化を目指し、
製品・サービスを開発、展開します！

NOGマウスの一般販売を開始！

2013年12月1日よりインビボサイエンス(株)がNOGマウスの一般販売を開始しています

次世代NOGマウスの紹介！

NOGマウスにさらなる遺伝子改変を加えた系統をラインナップしています！

具体的業務内容

- ・ NOGマウスの販売、及び薬理・薬剤効果試験のご紹介
- ・ ヒト化NOGマウスを用いた実験モデルの普及、及び薬理・薬剤効果試験のご紹介
- ・ 次世代NOGマウスの普及、及び薬理・薬剤効果試験のご紹介
- ・ 遺伝子組換え動物の作製
- ・ 疾患モデル動物の遺伝子検査
- ・ バイオメディカル研究に用いられる実験動物及び実験材料の作成、販売及び輸出入に関わる業務
- ・ 上記に付帯する代行、代理、紹介、仲介業務
- ・ 上記に付帯する一切の事業



お問い合わせ

〒216-0001 神奈川県川崎市川崎区殿町3-25-12

Email: info@invivoscience.com

URL <http://www.invivoscience.com>

Tel: 044-201-8518 / Fax: 044-201-8519



rasH2マウス

Jic:CB6F1-TgrasH2@Jcl

厚労省・米国FDA・欧州CPMPが認めたマウス

国際的な評価プロジェクトの結果から、
新薬の申請用試験データとして認められています。

rasH2マウスの近況

米国研究製薬工業協会は加盟企業から提供された182化合物のデータを解析し、一定の条件を満たす医薬品については本試験法*とラット6か月慢性毒性試験で得られた成績を組み合わせることで、ラットがん原性試験を実施せずに医薬品のがん原性陰性の評価が可能であることを示し、日本製薬工業協会による追加調査でも同様の結論が得られました。これらの調査を踏まえて、2011年6月にはがん原性試験の必要性に関するICH S1Aガイドライン改訂の必要性を議論する非公式作業部会(IWG)が編成され、2012年2月28日には専門家作業部会(EWG)を結成することに日・米・EUの産官6団体が合意し、検討が進められています。

rasH2マウスを選択する理由

幅広い発がん感受性と厳格な品質管理

5~6年毎に個体復元と1~2年毎に発がん感受性試験を実施しモニタリング

※これらの作業及び種コロニーの更新は日本クレア・Taconic同時に行います。

上市された製品と使用系統 (米国データ)

実験動物中央研究所 調査

	p53KO	rasH2	Tg.AC
until2003	7	1	2
2004	3	0	0
2005	4	0	2
2006	3	0	0
2007	1	3	2
2008	3	1	1
2009	1	3	0
2010	3	6	1
2011(~Aug.)	3	2	1

剤型変更、投与経路拡大等による重複は除外

※短期発がん性試験は、試験期間、費用、動物数、検体量を削減する

● 試験期間 1/3!

2年間試験 24ヵ月 (投与期間) 12ヵ月 (病理解析 他)

短期試験 6ヵ月 6ヵ月

● 試験費用 1/2!

2年間試験 2.0~3.0 万ドル

短期試験 1.0~1.2 万ドル

● 使用動物数 1/2!

2年間試験 500 - 750 匹

短期試験 250 - 350 匹

● 使用する被験物質 1/9!

動物福祉にも
多大に貢献
します



小さな生命から大きな未来へ

日本クレア株式会社

http://www.CLEA-Japan.com

AD受注センター 〒153-8533
東京 A D 部 〒153-8533
大阪 A D 部 〒564-0053
札幌出張所 〒063-0849
仙台出張所 〒983-0047

東京都目黒区東山1-2-7
東京都目黒区東山1-2-7
大阪府吹田市江の木町6-5
札幌市西区八軒九条西10-4-28
仙台市宮城野区銀杏町14-12

TEL.03-5704-7123
TEL.03-5704-7050
TEL.06-4861-7101
TEL.011-631-2725
TEL.022-295-9731



REGISTERED ORGANIZATION
No.2827-ISO 9001



登録商標を持つマウス・ラットの生産

安全で効果的な消毒を

動物室に提供する



除塵・清掃

動物飼育管理の業務経験を生かし、飼育機材等は細かい部分まで分解・清掃します。

塵埃(汚染物質)を排除し、消毒剤の効果を最大限に引き出す為、重要な作業と位置付け、取り組んでいます。



消毒剤

Exspor(二酸化塩素殺菌剤)

細菌・ウイルスから芽胞菌まで殺菌できます。

消毒剤の特徴として耐性菌を生じさせません。

EPA(米国環境保護局)の認可を受けた、安全な消毒剤

EPA_RegNo,45631-03



消毒作業

噴霧器で消毒剤を微粒子(10 μ m)にして、噴霧を行います。目視確認を行いながら、部屋・機材の細かな所まで消毒を行います。

弊社独自の手法により、設備・機器を腐食させません。

二酸化塩素・過酸化水素・弱酸性次亜塩素酸水など様々な消毒剤を取り扱えます、ご要望の時に、ご相談ください。



環境測定

浮遊・落下菌、室内塵埃測定など各種検査測定が出来ます。

検査測定は日本工業規格等の規定や御社規定に従い、クリーンルームの環境測定を行います。

JNC 株式会社 **エー・イー・エー**

〒153-0043 東京都目黒区東山1丁目2番7号
本 社 ☎03-5722-0555 Fax03-5722-0557
大阪営業所 ☎&Fax06-4861-7121



実中研