

異種キメラ動物を用いた臓器の作製とその応用に関する研究

(24-31)

主任研究者 由利 俊祐 国立長寿医療研究センター 実験動物管理室 (室長)

研究要旨

現在、薬物や対処療法だけでは治療できない重篤な心筋症、慢性腎不全、劇症肝炎などの疾病も、臓器移植により治癒するようになっている。しかしながら、臓器のドナー不足は極めて深刻な状況である。このような背景からも、体のすべての部分になりうる能力を持つ多能性幹細胞(ES細胞、iPS細胞)を用いた再生医療研究が発展してきている。その中でも、臓器を欠損する受精卵に、異種の多能性幹細胞をインジェクションした異種キメラ動物体内で、ドナーとなる多能性幹細胞由来の臓器を作製する研究が注目されてきている。本研究では、上記の発生工学的技術を駆使して、動物体内で多能性幹細胞由来の異種の細胞・組織・臓器を作製し、それらが正常な機能を獲得しているかどうかを調べる計画としている。さらに、作製した臓器欠損モデルや細胞欠損モデルを用いて、老化スピードの異なる細胞へと置換を行い、特定臓器や細胞の老化が、個体の老化へとどのような影響を及ぼすかを調べ、老化研究を発展させていく。

主任研究者

由利 俊祐 国立長寿医療研究センター 実験動物管理室 (室長)

A. 研究目的

臓器移植は、臓器不全の抜本的な解決法として最先端医療に位置付けられている。しかし、臓器のドナーは絶対的に不足しており、ドナー不足を解決する必要性が増している。この問題を解決するために、多能性幹細胞由来の臓器を異種の動物体内に作ることができる「胚盤胞補完法」と呼ばれる手法が注目されている。胚盤胞補完法は、臓器欠損モデル動物の胚盤胞(受精卵)に、異種である多能性幹細胞をインジェクションし、異種間キメラ動物の体内で多能性幹細胞由来の臓器を作る方法である。最終的には、この手法を用いて、臓器欠損大型動物の受精卵へヒト多能性幹細胞をインジェクションすることで、機能を持つヒト臓器を作り出すことが期待されている。

本研究では、

- 1) 特に移植可能で必要性の高い臓器（腎臓、心臓など）に焦点をあて、それらの臓器を異種多能性幹細胞を用いた胚盤胞補完法により作製していくこと。
- 2) 作製した臓器欠損マウスの胚盤胞へ、老化スピードが変化したマウス多能性幹細胞をインジェクションし、臓器や細胞の老化スピードを変化させ、臓器や細胞の老化の変化が、個体の老化や寿命へ及ぼす影響を解析することを目的に研究を進める。

B. 研究方法

(1) 全体計画

1) 様々な臓器欠損モデルの作製と異種細胞による臓器補完

本研究課題では、主に、心臓、腎臓など様々な臓器に対して、臓器欠損モデルを作製し、評価を行い、機能をもつ異種臓器を作製する計画としている。これまでに、申請者は、臓器の発生に重要な遺伝子を欠損した ES 細胞を作製し、胚盤胞補完法とは逆に、野生型の胚盤胞へ、その ES 細胞を注入する『逆・胚盤胞補完法』という方法を考案している。この方法では、全てのキメラ動物が臓器欠損細胞と正常細胞を有するため、実験の効率をあげることができる。本研究では、この方法を用い、心臓、腎臓欠損モデルを作製し、評価し、それぞれのモデルに対し、異種多能性幹細胞のインジェクションを行い、完全に異種へと置換された臓器を作製し、その臓器の機能を解析する。

2) 胚盤胞補完法技術の老化研究への応用

上記のように作製した臓器欠損動物や新たに作製する細胞欠損モデルへ、老化スピードが変化する変異を持つ多能性幹細胞を注入し、キメラ動物を作製する。そして、特定の臓器や細胞の老化スピードが特異的に変化したキメラ動物の老化の進行度を継続的に観察し、どの臓器や細胞が、個体の老化や寿命、そのほかの臓器、組織の老化の進行度と関連するかを包括的に解析する。

(倫理面への配慮)

マウスやラットを用いる実験にあたって、「動物の愛護及び管理に関する法律」に準じ、3Rs の観点からも、苦痛の緩和などの適切な処置、使用動物数の削減、動物を用いない代替法を意識した実験を心がける。また、動物実験ならびに遺伝子組み換え実験については、それぞれ動物実験倫理委員会および遺伝子組換え実験安全委員会で承認された方法で行う。

C. 研究結果

- 1) 心臓：前所属時に作製した心臓欠損マウスモデルに、ラット多能性幹細胞の補完を行い、マウス体内にラット由来の心臓を作製する事に成功した。長寿医療研究センター研究所に着任以後、投稿中の論文のリバイス実験（凍結切片作製、免疫染色など）を完了し、

2024 年度中に論文を投稿し、アクセプトされた (Yuri et al., *iScience* 24, 2024)。

腎臓：

・サンプル移動のための MTA 締結や動物実験申請書などの進捗が遅れ、腎臓欠損モデル動物に関係する動物を凍結精子より個体化することが 2024 年度中にできなかった。

2) 老化スピードが変化する変異 ES 細胞を樹立する。老化現象に関わることが知られている遺伝子 8 種類に対し、個々に変異を持つ ES 細胞株を樹立する。これまでに、3 種類に対し、変異を持つ ES 細胞株が樹立できた。

D. 考察と結論

・心臓に関する研究では、異種胚盤胞補完法により、心臓欠損モデルマウスの体内でラット多能性幹細胞由来の心臓を作り出せることを明らかになった。しかしながら、作り出された心臓は発生過程で機能を失うことが明らかとなったことから、胚盤胞補完法により、機能的な異種の心臓を作製するためには、種特異的な心臓の機能を考慮する必要があると考えられた。

・腎臓に関する研究では、2025 年度個体化を行い、解析のためのマウスを増やし、論文の執筆に必要な実験サンプル数や、免疫染色、RNA 解析のデータの蓄積を行う必要がある。

・老化に関する研究では、作製した変異 ES 細胞株を用いて、RNA 発現やタンパク質発現を解析することにより、それぞれの遺伝子変異の評価を行う必要がある。その後、この ES 細胞を用いてキメラ動物を作製し、臓器に対する遺伝子変化が個体の老化へ及ぼす解析を実施する。

E. 健康危険情報

なし。

※班のすべての健康危険情報について記載すること。このため、分担項目に係る情報であっても分担研究報告ではなく、こちらに記載すること。該当がない場合には「なし」と記載すること。

F. 研究発表

1. 論文発表

1) **Yuri S**, Arisawa N, Kitamuro K, Isotani A. Blastocyst complementation-based rat-derived heart generation reveals cardiac anomaly barriers to interspecies chimera development. *iScience*. 2024 Nov 18;27(12):111414. doi: 10.1016/j.isci.2024.111414.

2) Ogiso N, Almunia JA, Munesue Y, **Yuri S**, Nishikimi A, Watanabe A, Inui M,

Takano K, Niida S. Biological characteristics of age-related changes in C57BL/6 mice sub-strains in the national center for geriatrics and gerontology aging farm. Exp Anim. 2025 Apr 20;74(2):229-238. doi: 10.1538/expanim.24-0095.

2. 学会発表

1) 由利俊祐, 有澤範恵, 磯谷綾子「胚盤胞補完法によりマウス体内で作製されたラット由来の心臓は個体発生において機能的限界を示す」日本分子生物学会年会プログラム・要旨集(Web) 47th 2024 年

2) 磯谷綾子, 村田大和, 由利俊祐, 伊川正人「異種間キメラ動物で見る肺上皮細胞の出生前後の成熟」日本分子生物学会年会プログラム・要旨集(Web) 47th 2024 年

3) 由利 俊祐「国立長寿医療研究センター研究所における実験動物の飼育環境の整備について」令和 6 年度 実験動物管理者等研修会（厚生労働省内会議室とオンラインのハイブリッド開催）2025 年 2 月 21 日

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

※予定を含めて記載すること。該当がない場合には「なし」と記載すること。

(4) 分担研究報告

なし