

Title	直接リプログラミングによるヒト肺上皮細胞の誘導と新たな治療法の開発
Sub Title	Establishment of new therapeutic strategy for pulmonary disease by direct reprogramming technique
Author	石井, 誠(Ishii, Makoto)
Publisher	福澤基金運営委員会
Publication year	2021
Jtitle	福澤諭吉記念慶應義塾学事振興基金事業報告集 (2020.)
JaLC DOI	
Abstract	<p>iPS 細胞等の幹細胞を利用する手法が現在の再生医学では主流であるが、幹細胞から肺上皮細胞を得るには、発生段階をなぞり分化過程の各段階で複雑に培養条件を変化させる必要があり煩雑である。また幹細胞の使用には腫瘍形成のリスクがある。現在までiPS細胞の関連技術の向上で、より簡潔で低造腫瘍性の手法が行われつつあるが、コストや細胞の準備期間や品質等の問題から自身の細胞由来のiPS細胞の使用は困難であり、再生医療の実用化のためにはより簡潔な新規手法の確立が必要である。終末分化した体細胞に特異的因子を導入して、幹細胞を経ずに目的の細胞を直接誘導する直接リプログラミングが近年新しい再生医療の手法として注目されている。本研究ではこの直接リプログラミングの技術を用いて、肺上皮細胞の誘導を試みることにした。すでに我々はこれまでの研究によりマウスで4因子を導入することで2型肺胞上皮細胞のマーカーであるSP-C高発現の2型肺胞上皮様細胞の導入に成功し、国際特許(PCT)出願を行い、各国出願(日本、米国、欧州)を完了している。Sftpcリポーターマウスから得た胚性線維芽細胞から肺上皮様細胞を誘導し、オルガノイド培養条件で培養を行い、SftpcにてFACSソートを行い3カ月以上の継代が可能となった。FACSソート後の誘導細胞は、RNA-seq解析により9割以上が2型肺胞上皮細胞に近似していた。今後in vivoモデルで検討を行いたい。</p> <p>iPS cells are a major tool for regenerative medicine, but preparing pulmonary epithelial cells induced from iPS cells is time-consuming and has a risk for tumorigenesis. Although these problems are on the way to resolving by improvement of recent technique, using own iPSL cells is still difficult due to cost and quality of the cells. Therefore new strategy for preparing pulmonary cells is needed. Direct reprogramming is a new technology for inducing intended cells. We have already succeeded for inducing murine SP-C+ type II alveolar epithelial-like cells using direct reprogramming technique by forced induction of selected 4 factors. We have applied international patent (to Japan, U.S.A, and Europe). Lung epithelial-like cells were induced from embryonic fibroblasts (MEFs) obtained from Sftpc reporter mice, cultured under organoid culture conditions, and FACS-sorted with Sftpc, allowing for passaging for more than 3 months. More than 90 percentage of the induced cells after FACS-sorting approximated type 2 alveolar epithelial cells by RNA-seq analysis. We are trying to examine this technique in vivo model.</p>
Notes	申請種類：福澤基金研究補助
Genre	Research Paper
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=KO12003001-00002020-0003

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the Keio Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

研究代表者	所属	医学部臨床教室	職名	専任講師	補助額	1,500 千円
	氏名	石井 誠	氏名 (英語)	Makoto Ishii		
研究課題 (日本語)						
直接リプログラミングによるヒト肺上皮細胞の誘導と新たな治療法の開発						
研究課題 (英訳)						
Establishment of new therapeutic strategy for pulmonary disease by direct reprogramming technique						
研究組織						
氏 名 Name		所属・学科・職名 Affiliation, department, and position				
石井誠 (Makoto Ishii)		医学部・呼吸器内科・准教授				
洪 実 (Minoru Ko)		医学部・システム医学・教授				
1. 研究成果実績の概要						
<p>iPS 細胞等の幹細胞を利用する手法が現在の再生医学では主流であるが、幹細胞から肺上皮細胞を得るには、発生段階をなぞり分化過程の各段階で複雑に培養条件を変化させる必要があり煩雑である。また幹細胞の使用には腫瘍形成のリスクがある。現在まで iPS 細胞の関連技術の向上で、より簡潔で低造腫瘍性の手法が行われつつあるが、コストや細胞の準備期間や品質等の問題から自身の細胞由来の iPS 細胞の使用は困難であり、再生医療の実用化のためにはより簡潔な新規手法の確立が必要である。終末分化した体細胞に特異的因子を導入して、幹細胞を経ずに目的の細胞を直接誘導する直接リプログラミングが近年新しい再生医療の手法として注目されている。本研究ではこの直接リプログラミングの技術を用いて、肺上皮細胞の誘導を試みることにした。すでに我々はこれまでの研究によりマウスで4因子を導入することで2型肺上皮細胞のマーカーであるSP-C高発現の2型肺上皮様細胞の導入に成功し、国際特許 (PCT) 出願を行い、各国出願 (日本、米国、欧州) を完了している。Sftpc リポーターマウスから得た胚性線維芽細胞から肺上皮様細胞を誘導し、オルガノイド培養条件で培養を行い、Sftpc にて FACS ソートを行い 3 カ月以上の継代が可能となった。FACS ソート後の誘導細胞は、RNA-seq 解析により 9 割以上が 2 型肺上皮細胞に近似していた。今後 in vivo モデルで検討を行いたい。</p>						
2. 研究成果実績の概要 (英訳)						
<p>iPS cells are a major tool for regenerative medicine, but preparing pulmonary epithelial cells induced from iPS cells is time-consuming and has a risk for tumorigenesis. Although these problems are on the way to resolving by improvement of recent technique, using own iPS cells is still difficult due to cost and quality of the cells. Therefore new strategy for preparing pulmonary cells is needed. Direct reprogramming is a new technology for inducing intended cells. We have already succeeded for inducing murine SP-C+ type II alveolar epithelial-like cells using direct reprogramming technique by forced induction of selected 4 factors. We have applied international patent (to Japan, U.S.A, and Europe). Lung epithelial-like cells were induced from embryonic fibroblasts (MEFs) obtained from Sftpc-reporter mice, cultured under organoid culture conditions, and FACS-sorted with Sftpc, allowing for passaging for more than 3 months. More than 90 percentage of the induced cells after FACS-sorting approximated type 2 alveolar epithelial cells by RNA-seq analysis. We are trying to examine this technique in vivo model.</p>						
3. 本研究課題に関する発表						
発表者氏名 (著者・講演者)	発表課題名 (著書名・演題)	発表学術誌名 (著書発行所・講演学会)	学術誌発行年月 (著書発行年月・講演年月)			
Ozaki M, Kagawa S, Ishii M, Hegab AE.	Optimizing the in vitro colony-forming assay for more efficient delineation of the interaction between lung epithelial stem cells and their niche.	J Stem Cells Regen Med.	December 2020			
石井誠	炎症性呼吸器疾患の免疫学的解析と直接リプログラミングによる革新的肺再生の試み	東京医科歯科大学大学院講義 特別講演	2021年1月			