

Harvard Medical School, Harvard Stem Cell Institute,
and Wyss Institute for Biologically Inspired Engineering

森實隆司教授への血管網を有する腎オルガノイドの 最新研究に関するインタビュー

インタビュー実施日：2020年5月26日

腎臓は継続的に血液をろ過し、体液の恒常性を維持するための重要な組織である。こうした機能は、複数の細胞からなる複雑な構造と血管ネットワークを必要とするため、動物を使用せずに評価することは難しかった。近年、幹細胞テクノロジーの発展からシャーレ上でオルガノイドと呼ばれる小さな臓器を作製し、創薬や病態モデル構築に役立てる方法が開発され、腎臓に関してもその研究開発が進んでいる。しかしながら、それらのオルガノイドは血管構造をほとんど有しておらず、機能的な組織を構築するための障害となっている。これまで多くの研究者が血管構造を有した腎臓オルガノイドの作成に挑戦してきた。森實隆司教授（Harvard Medical School, Harvard Stem Cell Institute, and Wyss Institute for Biologically Inspired Engineering）は腎臓オルガノイド研究の第一人者である。彼はそのオルガノイド技術とバイオエンジニアリング技術を組み合わせることで血管構造を持つ腎臓オルガノイドの作成に成功した。森實教授のご研究はNIH Director's New Innovator Award（2019）に選ばれ、世界中から高い評価を受けている。味の素(株)はヒト・動物由来成分不含のiPS/ES細胞培養用Feeder-free培地、StemFitを提供しており、同培地は森實教授による高品質な腎臓オルガノイドの作成に使用されている。この度、味の素(株)は森實教授にインタビューを行い、最先端の腎臓オルガノイド研究についてお話を伺った



Harvard Medical School
Harvard Stem Cell Institute
Wyss Institute for Biologically Inspired Engineering
教授
森實 隆司 先生

ーご研究の概況と進捗など

私は日本の慶應義塾大学にてマウスES細胞を用いた腎臓分化の研究をはじめ、2012年に米国に留学し、ヒトES細胞の研究を始めた。その当時、Feeder-free培地が登場し、Feeder培養からFeeder-free培養に切り替えたが、細胞がなかなかアダプトしなかった。2015年にヒト多能性幹細胞を用いた腎臓オルガノイドの作成を報告したが、当時のオルガノイドにはネフロン内に血管構造がなかった¹⁾。腎臓は大量の血液が流れる器官であり、腎臓の機能を再現する上で血管構造は不可欠であるため、以降は血管構造をもったオルガノイドの作成に注力した。その頃、StemFit培地が登場し、Feeder培養からFeeder-free培養への切替がうまくできるようになり、細胞培養が安定した。それからはStemFitを使い続け研究を実施している。現在Prof. Jennifer A. Lewis（Wyss Institute for Biologically Inspired Engineering, Harvard University）との共同研究により、Organoids-on-a-tip技術を開発し、液体の流動が腎臓オルガノイドの血管構築を促進することを明らかにした²⁾。このvascularized organoidはより成熟したネフロン構造を有しており、優れた病態モデル、毒性試験、そして究極的には細胞治療用ソースとして用いることが出来る。こうした特徴から、現在vascularized organoidを用いた多発性嚢胞腎Polycystic kidney diseaseの病態モデルの開発に取り組んでいる。

ー血管網を有するオルガノイド作成において重要な点、苦労された点

バッチ間差の抑制、言い換えると異なる実験バッチにおいても安定的にオルガノイドを製造することに苦労した。そのためには実験に用いるhPSCの品質を安定させることが重要である。過去にはFeeder細胞を用いた培養を行っていたが、頻度の高い継代、feeder細胞の除去工程といった操作が細胞品質のばらつきに繋がりが易かった。現在はStemFitを用いたfeeder-freeの培養系を使用しており、実験結果のばらつきが抑制につながった。また、StemFitは増殖効率が良く、たくさんの細胞が取れるので、一度に大量の細胞ストックを作成し、同じプロジェクト内では常に同じストックを使用できるようになったことも実験の安定につながった。さらにオルガノイドの作成効率は前駆細胞の分化効率に影響されるため、前駆細胞の分化効率は常に確認するようにしている。

ーゲノム編集において重要な点、苦労された点

過去の研究では、Cas9と共に遺伝子導入したGFPマーカーを用いてソートし、単離・増殖させるという手法をとっていたが、細胞の生存率が低く、現実的な労働力では十分な数の編集されたクローンを得ることは難しかった。当時遺伝子導入の効率は1-2%であり、遺伝子導入効率の向上もしくは単離した細胞の生存率向上が必要であった。培地を増殖性能が良いStemFitに切りかえたことにより細胞の生存率が大きく向上したため、この問題は解決された。

ー最近注目している新しい研究、技術など

異分野の技術を組み合わせることで新しい価値を生み出していく研究には注目している。BiotechnologyとBioengineeringを組み合わせた Organ-on-a-tipや、Prof. Jennifer A. Lewisらによるオルガノイド内に血管を作成する技術などはとても興味深い。オルガノイドを巨大化させる際、栄養枯渇による細胞死を抑制するため、血管構造を作ることが課題となっている。彼女らの技術は3Dプリンターによって三次元的に血管を構築することができる³⁾。これらの組織内の微小環境を生体内に近づけていく取り組みにおいて、血流の再現は重要であり、多くの研究者がそこを目指している。

ーStemFit培地をご採用頂いている理由、使用感など

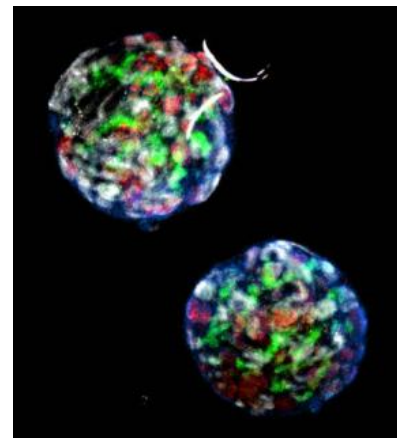
Feeder培養からFeeder-free培養へと移行する際、他の培地では切り替えが上手くいかないケースがあったが、StemFitを用いることでスムーズにFeeder-free培養へ移行できた。ViabilityやCloningの効率も高く、ゲノム編集の効率化に貢献している。また、一度に大量の細胞ストックを作成できる点も有用である。実験間差を少なくするため、細胞のストックは同じ継代数の細胞から1度に作成することが重要であるが、Feeder培養時は1wellから1本の細胞ストックしか取れなかったため、一度の大量のストックを作成することが困難であった。StemFitは1 wellから20本近い細胞ストックを作成することができるため、効率よく細胞ストックの作成が行える。これで安定した研究プロジェクトを実施できるようになった。また足場を選ばない柔軟性や、週末の培地交換スキップといった特徴も助かっている。

ー今後の研究の展望、課題など

今後は腎臓オルガノイドを用いた薬剤スクリーニングなど、translational researchに力を入れていきたい。また臨床への応用なども将来的に視野に入りたいと考えている。課題としては、PSC全般の課題となるが、移植に用いる高品質の細胞を製造することである。特に近年培養中の遺伝子変異などが注目されており、細胞の品質をどのように管理するかが課題である。対象疾患にもよるが、リスク-ベネフィットで考えるべき問題かもしれない。またコスト-ベネフィットの観点も重要であり、再生医療によって改善する予後と費用のバランスを考える必要がある。Bioreactorを用いるなど、細胞製造を効率化し、製造コストの削減を図ることも重要である。

【参考文献】

- 1) *Nat. Biotechnol.* 2015 Nov; 33 (11): 1193-200
- 2) *Nat. Methods.* 2019 Mar; 16 (3):255-262
- 3) *Sci. Adv.* 2019 Sep 6; 5 (9): eaaw2459



腎臓オルガノイドの免疫染色画像

Eat Well, Live Well.


AJINOMOTO.

▶ お問い合わせ

味の素株式会社 アミノ酸部 バイオフィーマソリューションズグループ

✉ stemfit@ajinomoto.com

関連製品はこちら

