

京都大学教育研究振興財団助成事業
成果報告書

平成28年11月1日

公益財団法人京都大学教育研究振興財団
会長 辻 井 昭 雄 様

所属部局・研究科 医学研究科呼吸器内科学

職名・学年 研究生

氏名 山本 佑樹

助成の種類	平成28年度・若手研究者在外研究支援・国際研究集会発表助成		
研究集会名	国際幹細胞学会		
発表題目	ヒトiPS細胞より分化誘導したII型肺胞上細胞の長期培養		
開催場所	米国 サンフランシスコ		
渡航期間	平成28年6月21日 ～ 平成28年6月26日		
成果の概要	タイトルは「成果の概要／報告者名」として、A4版2000字程度・和文で作成し、添付して下さい。「成果の概要」以外に添付する資料 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> 有()		
会計報告	交付を受けた助成金額	250,000 円	
	使用した助成金額	250,000 円	
	返納すべき助成金額	円	
	助成金の使途内訳	航空券	127,900 円
		宿泊代	70,000 円
		学会参加費用	45,900 円 (一部)
鉄道代金		6,200 円	
当財団の助成について	(今回の助成に対する感想、今後の助成に望むこと等お書き下さい。助成事業の参考にさせていただきます。) 現地の宿泊費等が高騰する中、経済的サポートを頂き学会発表に専念することが出来ましたので、大変感謝しております。		

このたび、国際幹細胞学会(International Society for Stem Cell Research, ISSCR) 2016 San Francisco に参加する機会を頂くことができた。本学会は、iPS 細胞や胚性幹細胞、体性幹細胞、癌幹細胞など、幹細胞研究を中心としたテーマが扱われる国際学会である。特に発表者が従事する iPS 細胞に関わる研究テーマは臓器横断的に幅広く扱われており、その発表数も大変多いものとなっている。このため、幹細胞研究領域に従事する者にとって、非常に幅広い知見を得る重要な機会であると思われた。

私報告者は、『ヒト iPS 細胞より分化誘導した II 型肺胞上皮細胞の長期培養』というテーマでポスター発表を行った。II 型肺胞上皮細胞は肺サーファクタントを産生し肺胞の虚脱を防ぐとともに、肺胞領域の組織幹細胞として自己複製能と I 型肺胞上皮細胞への分化能を持ち、肺恒常性維持に大きな役割を果たしている。このため、II 型肺胞上皮細胞の機能異常は、COPD、肺線維症、肺癌といった呼吸器領域における難治性疾患の病態形成に深くかかわっているとされる。しかしながら、特にヒトにおける II 型肺胞上皮細胞の正常および疾患における挙動に関する研究は進んでいるとは言い難い。プライマリー細胞を採取するためには侵襲度の高い外科的切除検体を要すること、さらには採取された細胞を通常の培養方法で長期間安定的に維持するのが困難であることが、研究の発展の大きな障害となってきた。

ヒト iPS 細胞から臓器特異的細胞を分化誘導する技術は、こうした障壁を打破するための有効な手段と考えられ、II 型肺胞上皮細胞の分化誘導については我々のグループおよび海外でも試みられてきたが、効率的に II 型肺胞上皮細胞を分化誘導するのは難しく、さらに特徴的な形質を保ったまま安定的に増殖させるのは困難であった。

今回、私は肺前駆細胞を効率的に認識する Carboxy peptidase M (CPM)を用いて単離した細胞を胎児肺線維芽細胞と三次元共培養することで、50%程度の効率で SFTPC 陽性の II 型肺胞上皮細胞を分化誘導することが出来ることを報告した。誘導された iPS 細胞由来 II 型肺胞上皮細胞は、II 型肺胞上皮細胞特異的構造物である lamellar body を持ち、網羅的 RNA 発現解析や免疫染色の結果、SFTPA、SFTPB、SFTPD、ABCA3、DCLAMP、SLC34A2、LPCAT1、NAPSA などの種々のマーカーを発現していることが確認された。

次に iPS 細胞由来 II 型肺胞上皮細胞を長期継代増殖させることを試みたところ、分化誘導に用いた胎児肺線維芽細胞との三次元共培養系を用いて自己複製能と I 型上皮細胞への分化能を保ったまま 10 週間以上に渡って維持することができた。継代増殖を続けた iPS 細胞由来 II 型肺胞上皮細胞では、形態学的にも lamellar body が維持されており、網羅的発現解析によりプライマリー成人 II 型肺胞上皮細胞に比較的近い発現パターンを呈し続けることが判明した。

この技術は COPD や肺線維症などの難治性肺疾患の疾患モデリング、初期発癌機構研究、それに続く創薬・肺再生医療に応用可能であると考えられるため、同じ肺・気道領域の幹細胞研究者から、比較的高い関心を得ることができたと思われる。ただ、肺の領域は以前よりも発表が増えたとはいえ、心臓や神経、血液など盛り上がっている他臓器分野に比べると、まだまだ発表数が少ない印象であり、設定されたポスタープレゼンテーションの時間帯になっても最初は見に来る人が少なく、多少不安になった。しかしながら、途中から多くの人を訪れ発表について興味を持って質問をしていただいた。事実上の競合状態にあると思われる海外研究室の研

研究者も訪れ、拙い英語ながら有意義なディスカッションを行うことができた。また逆に、他研究室の発表者ともコンタクトを取ることが出来て、同年代の海外研究者と実際に会って話ができるのは貴重な機会であったと思う。また日本の学会発表とは異なり、皆会場で出されるワインやビールを片手に研究の話で盛り上がるといったスタイルであり、発表は緊張したもののもとても楽しい時間を過ごすことができた。

発表の時間以外では、同様の研究分野にある海外研究室の発表はもちろん、呼吸器分野以外の先端研究の発表を意識的に聴講するように心がけた。iPS細胞を用いて複雑な臓器構築を再現する、いわゆるオルガノイド研究に関しては、大変刺激的な発表が数多くなされていて、特に海外研究室から発表されていた腸管オルガノイドが自発的に蠕動をしている動画を見て、衝撃を受けた。またテクノロジーの進歩も著しく、特に感銘を受けたのはシングルセル解析技術の目覚ましい進展であった。これらの技術は、肺の領域でも様々な形で応用することが可能と思われ、次なる研究に向けての大きなモチベーションを得ることができた。

他の研究者と交流することは出来たが、やはり英語の壁で相手の言っていることが余り理解出来なかったり、こちらの言わんとすることが伝わらなかったりで、もどかしい思いをすることも多々あった。今回はポスター発表という比較的自由な形での発表であったが、今後例えば **Oral presentation** の機会が与えられたときなどは大変苦勞するだろうと感じた。今後は、自身の研究に励むのはもちろん、今回頂いたこのような機会になるべく積極的に挑戦をして、国際的に自らの成果を公表していく経験を積む重要性を痛感した。