

2022年4月18日

再生医学・再生医療の先端融合的共同研究拠点
2021年度共同研究報告書

京都大学ウイルス・再生医科学研究所長 殿

研究代表者（申請者）

所属：岡山大学学術研究院医歯薬学域（医学系）

職名：教授

氏名：宝田剛志

下記のとおり共同研究課題の実施結果について報告します。

記

1. 研究課題： PRRX1+細胞の不均一性理解によるヒト骨格形成過程の分子理解
2. ウイルス・再生医科学研究所共同研究者：
3. 研究期間：2021年4月1日～2022年3月31日

4. 研究経過及び研究成果：

骨格形成過程での幹細胞を頂点とした階層性の理解は不十分である。申請者らは以前に、マウス骨格形成過程が、Prrx1+Sca1+細胞を幹細胞とした Prrx1+細胞内の不均一性を起点として生じることを報告した (Takarada et al, *Development*, 2016)。これまでに、独自に樹立した PRRX1 レポーターヒト iPS 細胞株を利用して、ヒト多能性幹細胞から PRRX1 陽性肢芽間葉系細胞への発生過程を模倣した誘導に成功していた。また、PRRX1 陽性肢芽間葉系細胞から、発生過程にて一過的に出現する PRRX1 陽性軟骨前駆細胞への誘導および PRRX1 陽性軟骨前駆細胞の拡大培養方法も開発することで、軟骨再生医療や疾患モデリング/創薬応用への道筋を示すことができた (PCT/JP2020/035517、*Nature Biomedical Engineering*, 2021)。さらに、シングルセル RNA シークエンスを利用して、Prrx1 陽性細胞内に含まれる各亜集団（軟骨前駆細胞、骨芽前駆細胞、腱靭帯前駆細胞、真皮線維芽前駆細胞）を同定し、それら亜集団の分化系譜の Trajectory 情報を取得した。これまでは、特定細胞系譜で連続的な遺伝子変化を *in vivo* にて解析することはできなかったが、特定細胞系譜の Trajectory 方向で有意に変化する遺伝子を探索し、それらの pathway 解析を行うことが可能となった。最終的にこれらの知見を踏まえて、PRRX1 陽性ヒト肢芽間葉系細胞から、ほぼ 100%に近い誘導効率で各系譜への細胞を誘導するシグナルを同定することに成功した。

5. 研究成果の公表

・ 発表論文リスト

Daisuke Yamada, Masahiro Nakamura, Tomoka Takao, Shota Takihira*, Aki Yoshida, Shunsuke Kawai, Akihiro Miura, Lu Ming*, Hiroyuki Yoshitomi, Mai Gozu, Kumi Okamoto, Hironori Hojo, Naoyuki Kusaka*, Ryosuke Iwai, Eiji Nakata, Toshifumi Ozaki, Junya Toguchida, Takeshi Takarada. Induction and stable expansion of human pluripotent stem cell derived PRRX1-positive limb bud mesenchymal cells. *Nature Biomedical Engineering*, 2021 Vol. 5 Issue 8 Pages 926-940

・ 学会発表

1. 山田大祐、高尾知佳、中村正裕、戸口田淳也、宝田剛志. ヒト多能性幹細胞からの軟骨前駆細胞の誘導と、その拡大培養方法の開発. 第36回日本整形外科学会基礎学術集会. 2021年10月14日.
2. 山田大祐、高尾知佳、中村正裕、Ming Lu*、戸口田淳也、宝田剛志. ヒト多能性幹細胞からの軟骨前駆細胞の誘導と、その拡大培養方法の開発. 第34回日本軟骨代謝学会. 2022年2月18日.
3. 山田大祐、高尾知佳、中村正裕、Ming Lu*、戸口田淳也、宝田剛志. 骨系統疾患特異的iPS由来ヒト肢芽間葉系細胞を用いたハイスループット薬剤スクリーニングシステムの構築. 第95回日本薬理学会年会. 2022年3月8日.

・ 特許取得

LBM、CPC、OPC、それらの調製方法及び品質管理方法、キット、移植材料並びに疾患モデル
LBM、CPC、OPC、PRODUCTION AND QUALITY CONTROL METHOD THEREOF, KIT, GRAFT MATERIAL AND DISEASE MODEL

発明人 宝田剛志、山田大祐、高尾知佳、吉富啓之、戸口田淳也

出願人 国立大学法人岡山大学、国立大学法人京都大学

JP 特願 2019-169278 日本 出願 2019/9/18

JP 特願 2020-062441 日本 出願 2020/3/31

PCT/JP2020/035517 国際 出願 2020/9/18