

総括研究報告書

1. 研究開発課題名：視機能再生のための複合組織形成技術開発および臨床応用推進拠点
2. 研究開発代表者：高橋 政代（理化学研究所多細胞システム形成研究センター）
3. 研究開発の成果

本拠点ではヒト多能性幹細胞（ES/iPS細胞）からの立体網膜形成技術により得られる、高純度で高密度の視細胞を含む神経網膜シートの移植治療により、網膜色素変性などの網膜難病の再生医療を開発することを主目的としている。そのために、まずヒト多能性幹細胞における高度な調製技術、移植技術、機能解析技術を開発し、それら技術をもって動物での効果を確認する前臨床研究を重点的に進めていき、ヒトへの応用を実現する。早期の実現のため、並行して、安全性検証や規制対応などを進め、視細胞移植の臨床応用への技術整備および周辺整備を、平成30年を目処に完成させることを目標とする。

さらに、視細胞移植の標準治療化と高度化のための研究開発を並行して行い、ヒトでの初段階の安全性確認後さらに有効性を高めるために次の段階での「標準治療化のための治験」（本事業の終了時を目処）につなげる事を目指す。また視細胞と色素上皮細胞の同時移植技術も開発して、疾患が進行し大きく視力を障害された網膜変性疾患の患者にも適応拡大を目指す。

本年度の主たる成果は以下の5項目である。

- 1) 移植片調整技術の開発：ヒト多能性幹細胞の自己組織化培養技術を改良し、より高い純度（85%以上）を持つ神経網膜前駆組織の調製を可能にするとともに、臨床応用に適合した培養素材を用いて神経網膜を調製する技術を確立した。
- 2) 動物モデルでの前臨床試験：マウスのiPS細胞由来網膜組織をマウス網膜変性モデルに移植する実験で、移植後の移植片の機能を確認した。また、ヒトES細胞由来網膜移植片を用いて、ラットなどの小型動物に移植を行い、移植組織（視細胞）の長期生着、成熟を確認した。更に、サルでの網膜変性モデルの作製を行い、移植後の生着、成熟を確認し、移植片の実用性を検証すると共に、今後の移植方法などの条件検討に用いるためのモデルの実用性を検証した。
- 3) 免疫適合型他家移植の準備：今後のiPS細胞由来網膜細胞の他家移植実施に向けて、iPS細胞由来RPE細胞の免疫反応について検討した。免疫型を示すMHCがより適合しやすい（両アレル一致型）サルiPS細胞からRPE細胞（網膜色素上皮細胞）を分化誘導、純化し、免疫型の適合したサルへの移植研究を行った（免疫抑制剤未使用）。免疫型が適合しないサルでは拒絶が見られ移植したRPE細胞シートは生着していなかったが、免疫型が適合するサルの網膜下にRPE細胞シートを移植したところ拒絶がみられずに生着していた。その網膜病理切片を用いて抗原提示細胞（マクロファージやマイクログリアなど）やT細胞の浸潤などを調べたところ、免疫型の適合した他家移植では、炎症の所見はなく移植された細胞はきれいに生着していた。この結果は正常サルの末梢血細胞やT細胞を用いて、作製したiPS-RPE細胞と共培養し、T細胞の活性化をみることにより、生体外でも確認できた。また、ヒトにおける他家移植のために、サルのケースと同様に免疫型を一致させたヒトiPS細胞をCiRAより入手し、RPEに分化させて、現在その特性を解析中である。
- 4) 一般治療化/高い治療効果を目指す次世代臨床型移植片の準備：さらに適応拡大できるよう治療内容の機能性を高めるために、より機能特性をもつ移植片の開発研究を行った。長期培養の実施において、網膜発生学の知見を元に、様々な培養条件の検討を行なった。
- 5) 前眼部への拡大応用：角膜での臨床応用を前提に、新たな角膜組織分化誘導法の開発の準備を行った。