

総括研究報告書

1. 研究開発課題名：iPS細胞を用いた心筋再生治療創成拠点
2. 研究開発代表者：澤 芳樹（大阪大学大学院医学系研究科）
3. 研究開発の成果

当拠点の目的は、CiRAより出荷されるHLAホモiPS細胞から心筋細胞を高効率で分化・大量培養し、免疫抑制法や造腫瘍性等のRegulatory Science上の課題を解決しつつ、iPS細胞由来心筋細胞シート治療法を確立し、虚血性心筋症に対するiPS細胞由来心筋細胞シートのFirst in Manを安全に行い、治験へと展開することである。当該年度は、①Feeder-freeでのヒトiPS細胞由来心筋細胞の大量培養法の確立、②臨床応用に向けた安全性の検証、③MHCホモiPS細胞のアロ移植における免疫拒絶に関するカニクイサルを用いた検討を行った。

① Feeder-freeでのヒトiPS細胞由来心筋細胞の大量培養法の確立

iPS細胞は株ごとに分化誘導効率が異なる。当該年度は、Feeder-freeの大量培養について、個別技術課題の東京女子医科大学・松浦博士のご指導を得て大阪大学へ技術移転を行い、ヒト臨床候補株3系統について、それぞれ最適化を行い、大量培養システムを確立した。

② 臨床応用に向けた安全性の検証

未分化iPS細胞による造腫瘍性のリスクを排除するため、抗体医薬・分子標的治療薬を用いた選択的未分化細胞除去法を確立した。抗体医薬については、すでに臨床で用いられている薬剤が有効であり、株ごとの処理条件の最適化を行った。

一方、体内移植後、万が一腫瘍ができた場合の検出方法についても検討し、未分化iPS細胞をマウス心臓に移植して腫瘍形成するプロセスを画像で検出することを試みた。同系マウスあるいは免疫抑制剤投与下での他家モデルにおいて、FDG-PETで高感度に腫瘍形成の検出が可能であることを示した(Kawamura A et al. Scientific Reports, 6:19464, 2016)。さらに、miPS由来腫瘍除去の選択肢として、免疫抑制剤中止の効果を検討した。DsRed-Luciferase miPSCを心筋へ分化誘導しシートを作成、タクロリムス持続皮下投与下BALBc/Jマウスの心臓に移植し（免疫抑制下他家移植モデル）、移植後7日目にマウスを免疫抑制剤継続群および免疫抑制剤中止群に分けた。免疫抑制剤継続群では2週間後に6/9匹でteratocarcinomaの形成を認めた。一方免疫抑制剤中止群では、腫瘍形成が無く全例が長期生存可能であった。免疫抑制剤中止後にT細胞の増殖やIL-2放出能の回復が得られ、組織学的にもCD8陽性T細胞を中止とした免疫反応の惹起が確認された。

③ MHCホモiPS細胞のアロ移植における免疫拒絶に関するカニクイサルを用いた検討

ヒト臨床においては、HLA最頻度ホモドナー由来iPS細胞によるアロ移植となる。当科ではMHCホモのカニクイサルから樹立されたiPS細胞（GFP遺伝子導入）から分化誘導した心筋細胞シートを、MHC適合、あるいは非適合のカニクイサルの皮下および心臓に移植し、免疫抑制剤3剤の併用を検討した。その結果、MHC非適合群では移植後1ヶ月で、免疫抑制剤3剤使用でのみ移植細胞が確認されたが、2ヶ月では蛍光が消失していた。一方、適合群では免疫抑制剤3剤使用下で2ヶ月後にも蛍光が確認されたが、1剤のみ使用した場合は消失した。この結果から、MHC適合移植であっても免疫抑制剤3剤の使用が有効であることが示唆された(Kawamura T et al. Stem Cell Reports, 6:1-9, 2016)。