

## 総括研究報告書

1. 研究開発課題名：再生アソシエイト細胞による iPS 細胞移植時の免疫寛容治療研究
2. 研究開発代表者： 浅原孝之（東海大学医学部再生医療科学）
3. 研究開発の成果

iPS 細胞由来組織作製技術の進歩に較べ、移植時における iPS 組織生着・機能化を図る技術が未開発のままである。現実の患者疾患組織における再生不全環境では、単球マクロファージ (Mp)・T リンパ球 (T)・血管内皮前駆細胞 (EPC) などの血液支援細胞が協同的な抗炎症・免疫寛容・血管再生誘導で臓器再生が進展することが判ってきた。本研究室では、近年血管再生治療のための EPC 培養法の開発研究を進めてきたが、その中で血液単核球を血管再生コンディションで培養すると、EPC の増幅とともに、Mp・T 細胞の「再生型」への変換が進み、免疫寛容細胞の出現を確認した(特願 2012-218206)。そこで、この細胞群「再生アソシエイト細胞」の抗炎症・免疫抑制・血管再生連関を利用した「再生型」環境整備と免疫寛容作用により、iPS 細胞を用いた再生治療のための移植治療開発を計画することになった。

本研究課題では、再生アソシエイト細胞の免疫寛容作用を確認・最適化し、非自己 iPS 細胞由来組織移植時における再生環境治療法の基盤開発として、iPS 細胞由来心筋細胞シート（拠点大阪大学：澤グループ）治療への応用研究を進め、前臨床研究に進める基盤を整えることを目的とした。

研究開発は、以下の 3 課題に分類されたので、それぞれ報告する。

### 課題①：再生アソシエイト細胞移植の免疫寛容研究

#### 【①-1】再生アソシエイト細胞の獲得免疫反応に対する免疫寛容効果の in vitro 研究

再生アソシエイト細胞培養によって、制御性 T 細胞 (Treg)、抗炎症マクロファージ (M2-Mp) が増殖し、免疫抑制効果が確認された。ただし、マウス再生アソシエイト細胞は安定しているが、ヒト再生アソシエイト細胞培養が不安定なため、さらに研究が続けられている。

#### 【①-2】再生アソシエイト細胞（同種同系）移植実験

純系マウス (BALB/CJ, C57BL/6, 129/- など) の再生アソシエイト細胞培養を確立し、同種同系疾患モデルマウス (下肢虚血・心筋虚血など) への移植実験による免疫抑制・抗炎症・血管再生効果を確認した。

### 課題②：iPS 組織移植のための再生アソシエイト細胞免疫寛容研究

#### 【②-1】再生アソシエイト細胞（同種異系）移植実験による免疫寛容研究

iPS 細胞・組織移植実験に先立ち、同種異系 (アロ) 組織移植における再生アソシエイト細胞移植による免疫寛容作用の研究である。同種異系マウスの骨格筋移植実験が進められ、生着に対する効果が確認された。

#### 【②-2】マウス iPS 移植における再生アソシエイト細胞同種異系移植の免疫寛容作用の研究

大阪大学で iPS 細胞分化技術を用いて同種異系心筋シートを用意し、マウスへの心筋シート移植実験および併用再生アソシエイト細胞移植実験が行われ、再生アソシエイト細胞移植による免疫寛容効果が確認された。現在臨床で想定されている iPS バンクからの HLA 適合移植を想定した心筋シート移植において、再生アソシエイト細胞移植の有用性を示すことが出来た。

### 課題③：再生アソシエイト細胞基盤・応用研究

#### 【③-1】再生アソシエイト細胞免疫寛容メカニズムの最適化研究

再生アソシエイト細胞培養法における、培養経過における EPC・単球 Mp・T リンパ球それぞれの表現型の変化を確認し、各細胞群の相互作用メカニズムを利用した免疫寛容作用・抗炎症作用の確認を進めた。現在最終的な培養改善研究を進めている。

#### 【③-2】臨床再生アソシエイト細胞培養開発

臨床血液培養の臨床研究成果により、臨床培養・品質管理を確立し、臨床培養法を最適化・標準化する研究が進められた。臨床血液での培養に関して、免疫寛容作用の安定化がさらに求められることが判り、新たな研究を開始している。