

令和 6 年 6 月 17 日現在

機関番号：12601

研究種目：挑戦的研究(開拓)

研究期間：2019～2023

課題番号：19H05563・20K20471

研究課題名(和文) 幹細胞システム再構築による新しい心臓再生の実現へ向けた挑戦的研究

研究課題名(英文) Trials to reconstitute stem cell system in the heart for cardiac regeneration

研究代表者

山下 潤 (Yamashita, Jun)

東京大学・医学部附属病院・特任教授

研究者番号：50335288

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 20,000,000円

研究成果の概要(和文)：研究代表者らは以前、ヒトiPS細胞から、心臓への移植後においても特異的に心筋細胞に分化する「心筋に運命決定した前駆細胞(CFP細胞)を誘導・同定した。本研究ではCFP細胞を、心筋分化能を保ったまま増殖させ心筋特異的幹細胞(CF-Stem細胞)として利用できる培養条件を検討した。CFP細胞の7日目までの増殖は可能であった。CFP細胞のラット心臓への移植においてCFP細胞はほぼすべて(>95%)が心筋トロポニン陽性の心筋細胞に分化し、移植後8週間では細胞・組織レベルでの成熟化が認められた。完全なCFP細胞の幹細胞化は困難であったが、CFP細胞を元にした効率的な心臓再生細胞治療の可能性が広がった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

自己再生能がない心臓は再生医療の重要なターゲットである。本研究は幹細胞生物学を元に再生と機能維持が実現可能な「新しい心臓」を作り出す新規心臓再生戦略を開発することを目的とした。研究代表者らが誘導・同定した新しい心筋前駆細胞 - 1個の細胞から約7個の心筋細胞を生み出すことができる心筋前駆細胞 を用いることにより、従来よりも高効率な新たな心臓再生治療の可能性が広がった。

研究成果の概要(英文)：The principal investigators previously induced and identified "cardiomyocyte-fated progenitor cells (CFP cells)" from human iPS cells, which specifically differentiate into cardiomyocytes even after transplantation into the heart. In this study, we investigated culture conditions that allow CFP cells to proliferate while maintaining their cardiomyocyte differentiation potential and use them as cardiomyocyte-fated stem cells (CF-Stem cells). As a result, CFP cells were able to proliferate for up to 7 days. Upon transplantation of CFP cells into rat hearts, almost all (>95%) of the CFP cells differentiated into cardiomyocytes positive for cardiac troponin, and maturation at the cellular and tissue levels was observed 8 weeks after transplantation. Although complete stem cell transformation of CFP cells was challenging, the potential for efficient cardiac regenerative cell therapy based on CFP cells has expanded.

研究分野：幹細胞生物学・循環器内科学

キーワード：心筋前駆細胞 心臓再生 iPS細胞 幹細胞

1. 研究開始当初の背景

心臓は自己再生能力がない ⇒ 心臓は再生医療の重要なターゲットである。

現状の心臓再生戦略：ヒト iPS 細胞などから誘導した「分化した心筋」を移植することによる機能回復を目指すもののみ。永続的効果は望みにくい。そうした現状を打破するため、これまでの細胞移植治療の成功例 = 造血幹細胞移植に学んだ新規戦略を勘案する。

研究課題の核心をなす学術的「問い」：

「心臓において、心臓の幹細胞システムを再構築できれば、心臓機能の完全な再生をもたらす「真の心臓再生」が可能となるのではないか？」

しかし、

- ・ 心臓では造血幹細胞のような幹細胞/前駆細胞は同定されていなかった。（報告は種々あるが、確実とされているものはない。）
- ・ 最近（2018年8月）、成体マウスの心臓においては、非心筋細胞から出現する心筋細胞はない。⇨成体心臓には心臓の幹細胞や前駆細胞はない（胎仔期の心臓にはある）、という報告がなされた（Li, *Circulation*. 2018;138:793-805）。

2. 研究の目的

「心臓の幹細胞システムそのものを再構築することにより、永続的な心臓再生と若々しい機能維持が可能な新しい心臓を作り出す画期的な新規心臓再生戦略を開発する。」

3. 研究の方法

- (1) ヒト多能性幹細胞から心筋幹細胞を誘導する。

研究代表者らは、ヒト iPS 細胞から、心臓への移植後においても特異的に心筋細胞に分化する「心筋に運命決定した前駆細胞（CFP 細胞）を誘導・同定することに成功した（Takeda, **Cell Reports**, 2018;22:546-556）。心筋分化能を保ったまま増殖することができれば、それは「心筋特異的幹細胞（Cardiomyocyte-fated Stem Cells: CF-Stem 細胞）」として機能しうる。本細胞が幹細胞として機能すれば、世界初の心筋特異的幹細胞の誘導・同定と言える。CFP 細胞を増殖させ CF-Stem 細胞として利用できる培養条件を確立する。

- (2) CF-Stem細胞移植により心臓幹細胞システムを再構築する。

CF-Stem 細胞を同様の動物モデルへ移植し、心筋細胞の誘導ともに CF-Stem 細胞の残存が認められるか検討する。さらに長期にわたり CF-Stem 細胞が残存し、且つ心筋細胞を供給しうるか検討する。ゼラチンスポンジを初めとする種々の組織工学基材を応用し、CF-Stem 細胞が生存することができる環境（幹細胞ニッチ）を作り出すことを試みる。

- (3) 造血幹細胞移植と同様の完全な心臓機能の永続的再生を可能とする。

(1) 新たな心筋幹細胞(CF-Stem 細胞)の同定と (2) その移植、幹細胞ニッチの構築により、移植した CF-Stem 細胞から恒常的に心筋細胞が供給されうる環境（造血幹細胞移植後と同様）を心臓内に新たに再現する。成体心臓には欠けていた幹細胞システムそのものを再構築することにより、心臓を再生可能な臓器として新しく改変する。

上記3項目の検討により、本研究の目的「心臓の幹細胞システムそのものを再構築することにより、永続的な心臓再生と若々しい機能維持が可能な新しい心臓を作り出す画期的な新規心臓再生戦略を開発する」ことを達成する。

4. 研究成果

- (1) 心筋分化能を保持しながら3日間CFP細胞を拡大培養することに成功した。心筋細胞増殖条件等検討し、7日目までの増殖は可能であった。CFP細胞の拡大培養は可能であった。幹細胞化を実現することはできなかった。
- (2) 心臓への移植生着効率を向上させる新しいバイオマテリアル（インジェクタブルゲル技術）を用いてCFP細胞のラット心臓への移植を行った。その結果、CFP細胞はほぼすべて（>95%）が心筋トロポニン陽性の心筋細胞に分化した。移植後8週間では、心筋細胞の伸長と配向、サルコメアの形成など、細胞・組織レベルでの成熟化が認められた。CFP細胞1個から約7個の心筋が生成できると考えられた。

完全なCFP細胞の幹細胞化は困難であったが、CFP細胞を元にした効率的な心臓再生細胞治療の可能性が広がった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Fukushima H, Yoshioka M, Kawatou M, Lopez-Davila V, Takeda M, Kanda Y, Sekino Y, Yoshida Y, Yamashita JK	4. 巻 15
2. 論文標題 Specific induction and long-term maintenance of high purity ventricular cardiomyocytes from human induced pluripotent stem cells.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 PLoS One	6. 最初と最後の頁 e0241287
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1371/journal.pone.0241287	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Heima D, Takeda M, Tabata Y, Minatoya K, Yamashita JK, Masumoto H.	4. 巻 21
2. 論文標題 Therapeutic potential of human induced pluripotent stem cell-derived cardiac tissue in an ischemic model with unloaded condition mimicking left ventricular assist device	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 J Thorac Cardiovasc Surg	6. 最初と最後の頁 01095-4
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.jtcvs.2023.11.019.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Jun K. Yamashita	4. 巻 44
2. 論文標題 The pathways of pluripotent stem cells to clinical applications.	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Inflamm Regen.	6. 最初と最後の頁 5
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1186/s41232-024-00317-6.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Maurissen TL, Kawatou M, Lopez-Davila V, Minatoya K, Yamashita JK, Woltjen K.	4. 巻 14
2. 論文標題 Modeling mutation-specific arrhythmogenic phenotypes in isogenic human iPSC-derived cardiac tissues	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Sci Rep.	6. 最初と最後の頁 2586
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-024-52871-1.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計17件（うち招待講演 7件 / うち国際学会 6件）

1. 発表者名 Jun K. Yamashita
2. 発表標題 Cardiovascular regeneration with human iPS cell-derived heart tissue
3. 学会等名 Symposium on Medical Exchange of Shanghai University and the University of Tokyo (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 山下 潤
2. 発表標題 再生医療への幹細胞/ティッシュエンジニアリング融合技術の役割と新展開
3. 学会等名 日本再生医療学会 (招待講演)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 山下 潤
2. 発表標題 血管内塞栓を形成しない安全な基材による新しい効率的心筋前駆細胞移植法の開発
3. 学会等名 日本再生医療学会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 山下潤
2. 発表標題 ミニ3D心臓組織によるTdPの再現：適度な不均一性と3D構造による創発
3. 学会等名 第67回日本不整脈心電学会学術大会 (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 山下潤
2. 発表標題 臨床応用に至ったiPS/ ES細胞研究の最前線
3. 学会等名 第42回日本炎症・再生医学会（国際学会）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 山下潤
2. 発表標題 多能性幹細胞研究でいったい何ができるのか？ - 基礎から臨床、産業化へ -
3. 学会等名 日本医科大学大学院特別講義（国際学会）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 山下潤
2. 発表標題 Keynote Lecture「再生」多能性幹細胞からの心血管細胞分化研究 - 構成的アプローチによる Organoid, 再生医療、病態モデル -
3. 学会等名 CVMW2021心血管代謝週間 第29回日本血管生物医学会学術集会（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 山下潤
2. 発表標題 多能性幹細胞由来3次元的構造形成と機能再現における間葉系細胞の意義
3. 学会等名 第7回日本筋学会学術総会（国際学会）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 吉岡 美樹 , 山下 潤
2. 発表標題 iPS細胞由来内皮細胞の効率的な分化誘導及び安定的増殖法
3. 学会等名 第19回再生医療学会総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 山下 潤
2. 発表標題 Stem cells meet tissue engineering -幹細胞生物学と組織工学による3D組織構築-
3. 学会等名 第19回再生医療学会総会シンポジウム
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 山下 潤
2. 発表標題 細胞から組織へ -多能性幹細胞由来心臓組織の作製とその治療応用-
3. 学会等名 第19回再生医療学会総会シンポジウム
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 山下 潤
2. 発表標題 ヒトiPS細胞由来心臓組織を用いた心臓再生及び病態モデル
3. 学会等名 第41回日本炎症・再生医学会シンポジウム
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 吉岡 美樹 , 山下 潤
2. 発表標題 ヒトiPS細胞を用いたヒト心筋細胞増殖機構の解析
3. 学会等名 第20回日本再生医療学会総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 山下 潤
2. 発表標題 iPS細胞で心臓を再生する
3. 学会等名 奈良大宮ロータリークラブ 第1920回例会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 山下 潤
2. 発表標題 多能性幹細胞を用いた分化再生研究 -Stem cells meet chemical biology -
3. 学会等名 早稲田大学先進理工学部講演会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 山下 潤
2. 発表標題 多能性幹細胞を用いた心血管分化再生研究
3. 学会等名 Kyushu Vascular Biology & Medicine (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 山下潤
2. 発表標題 再生医療への幹細胞/ティッシュエンジニアリング融合技術の役割と新展開
3. 学会等名 日本再生医療学会（招待講演）
4. 発表年 2024年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織		
氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------