

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 1 日現在

機関番号：14401

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2013～2014

課題番号：25670593

研究課題名(和文) iPS細胞由来アロ心筋細胞移植に対する免疫寛容誘導法の開発

研究課題名(英文) Investigation for immune tolerance of allogeneic induced pluripotent stem cell-derived cardiomyocyte

研究代表者

福島 五月 (FUKUSHIMA, Satsuki)

大阪大学・医学(系)研究科(研究院)・助教

研究者番号：80596867

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：iPS細胞は心筋再生治療を可能にすることが期待されている。iPS細胞由来心筋細胞移植療法の問題の一つが、iPS細胞に対する宿主免疫反応である。本研究では、iPS細胞の免疫原性を明らかにし、他家移植における免疫抑制剤の使用や、間葉系幹細胞の併用移植の有用性を検討した。

iPS細胞移植における免疫反応の評価に関して、抗体価の測定、リンパ球混合培養試験を行った。その結果、iPS細胞由来心筋細胞は未分化iPS細胞と比べて抗原性が低いことが示唆され、同種他家由来iPS細胞移植の免疫寛容の誘導に関して、通常の臓器移植と同じ免疫抑制剤の使用や、骨髄間葉系幹細胞併用移植が有用である可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：Cell transplantation therapy using induced pluripotent stem cell (iPSC) is a promising approach for the treatment of end-stage heart failure. One of the problems in iPSC transplantation therapy is immune response against the transplanted iPSCs. This study aimed for the establishment of the methods to evaluate immune response against iPSC and for investigation of immune tolerance to allogeneic induced pluripotent stem cell-derived cardiomyocyte. Measurement of antibody value and mixed lymphocyte reaction revealed significant immunogenicity of undifferentiated iPSC but not of iPSC-derived cardiomyocyte (iPSC-CM). Immune suppressive therapy using immunosuppressant or co-transplantation of mesenchymal stem cell could suppress immune reaction against the transplanted allogeneic iPSC in vitro or in vivo. These approach can possibly induce immune tolerance of allogeneic iPSC.

研究分野：再生医療

キーワード：心筋再生 iPS細胞 免疫原性

1. 研究開始当初の背景

心不全は罹患率が高く、一般的に進行性であるため先進国の主要な死亡原因の一つとなっている。心不全に対する効果的な治療は限られており、末期的心不全という状況に陥った場合には、心臓移植あるいは人工心臓の永久的使用以外には証明された効果的な治療がない。しかしながら、このような置換型治療は、限られた患者しか受けることが出来ず、より汎用性の高い治療法の開発が急務である。自己組織から得られた体性幹細胞を増殖させて心臓に投与するという細胞移植療法は、一定の治療効果が数々の臨床試験を通じて証明されつつある。しかしながら、その治療効果の主なメカニズムは、移植された細胞が様々な内因性修復因子を放出することにより、自己心の修復機能を向上させるというパラクライン効果であり、心筋細胞が極限まで減少していることが病態の主体となっている末期的心不全においては、治療効果が十分でないものと理論づけられる。これに対して、iPS細胞はその増殖能及び多分化能から、増殖させて心筋細胞にまで分化させてから心臓に投与することにより、心筋細胞数を増加させるという、末期的心不全に対する心筋再生治療を可能にすることが期待されている。

iPS細胞由来心筋細胞移植療法を臨床応用するまでには腫瘍形成、大量培養、生着など様々な克服すべき問題がある。その一つが、iPS細胞の抗原性に対する宿主免疫反応である。これはiPS細胞を樹立する際に発現する特殊な因子と関わりが深いことが報告されており、iPS細胞から分化させたiPS細胞由来心筋細胞においてはそれらの因子の発現は異なることが予想され、そのためiPS細胞由来心筋細胞の免疫原性はiPS細胞の免疫原性とは異なるものと考えられるものの、そのエビデンスは乏しい。

また、特にiPS細胞由来心筋細胞を末期的心不全治療に使用する際には、iPS細胞作成および分化誘導の安定性、迅速な治療の必要性から、細胞バンクからの同種他家移植が現時点では現実的と考えられている。この際には、同種他家移植に伴う免疫原性を考慮し何らかの免疫抑制療法が必須と考えられるが、その具体的な方法論の検討は十分でない。臓器移植に準じた各種免疫抑制剤の使用を中心に、免疫寛容を誘導すると報告されている間葉系幹細胞の併用移植による免疫抑制療法を現在候補として考えており、至適な組合せを検討する必要がある。

2. 研究の目的

本研究では、iPS細胞に対する宿主免疫反応を包括的に検討することにより、免疫抑制療法の最適化、そして免疫寛容を効果的に誘導する臨床応用可能な手法を開発すること

を目的とする。

3. 研究の方法

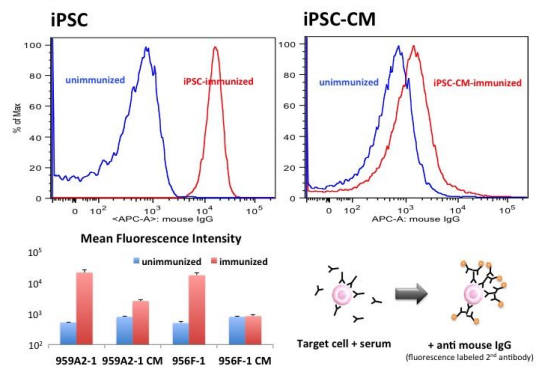
iPS細胞移植における免疫反応と細胞の生着の評価に関して、マウスiPS細胞を移植したマウスから採取した血清中の移植細胞に対する抗体価の測定、脾臓細胞から採取したリンパ球と移植細胞を共培養することでリンパ球の増殖を評価するリンパ球混合培養試験、細胞の生着を、ルシフェラーゼ遺伝子を恒常的に発現するiPS細胞を用いたIVIS(in vivo imaging system)による定量的評価を行った。

また、同種他家iPS細胞移植における免疫寛容の誘導として、タクロリムスを浸透圧ポンプを用いて持続皮下投与する方法と、骨髄間葉系幹細胞併用移植の検討を行なった。

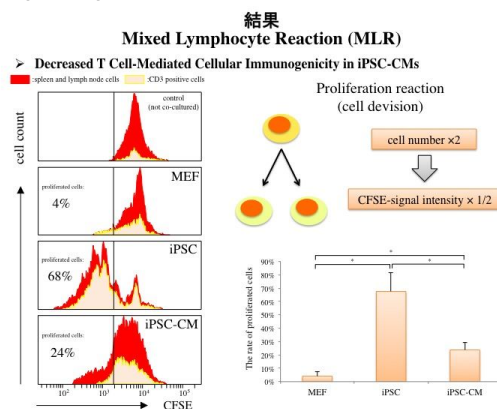
4. 研究成果

iPS細胞移植による移植細胞への抗体産生については、マウス同種同系移植による検出から、未分化iPS細胞への抗体産生が認められたものの、iPS細胞由来心筋細胞への抗体産生は認められなかった(下図)。

❖ 結果 ~抗移植細胞抗体の定量化~

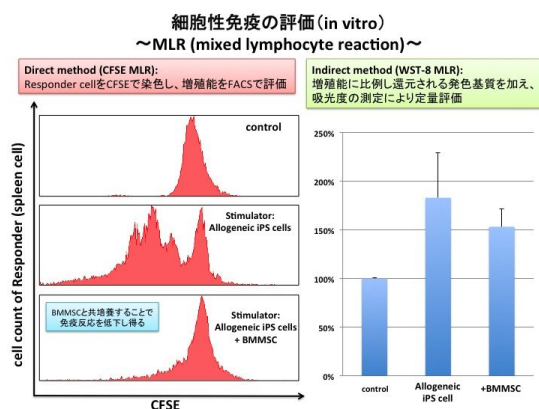


また、リンパ球混合培養試験によって、未分化iPS細胞に対するリンパ球の著明な増殖を認めたのに対し、iPS細胞由来心筋細胞に対するリンパ球の増殖反応は軽度であった(下図)。

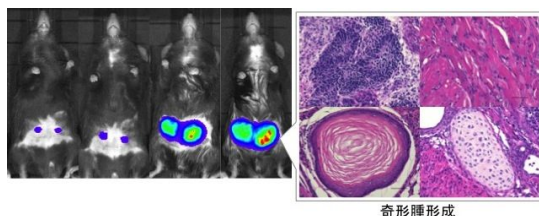


さらに、同様のリンパ球混合培養試験にて認められた、他家由来iPS細胞に対するリン

パ球的増殖反応は、骨髄間葉系幹細胞により著明に減少させることが確認された（下図）。



また、細胞の生着に関して、IVISにより未分化 iPS 細胞の生着による奇形腫の形成を認めた（下図）。



未分化 iPS 細胞の生着による腫瘍形成は、タクロリムス投与下の他家移植でも認められ、タクロリムス投与を中止すると腫瘍が拒絶されることを確認した。

以上の結果から、iPS 細胞移植における免疫反応の評価方法として、通常の臓器移植と同様に抗体価の評価やリンパ球混合培養試験が可能であることが明らかとなった。また、その結果 iPS 細胞由来心筋細胞は未分化 iPS 細胞と比べて抗原性が低いことが示唆された。

また、同種他家由来 iPS 細胞移植の免疫寛容の誘導に関して、通常の臓器移植と同じ免疫抑制剤の使用や、骨髄間葉系幹細胞併用移植が有用である可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

（研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線）

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 5 件)

河村拓史 宮川繁 福嶋五月 澤芳樹他、「未分化 iPS 細胞抗原の解明による腫瘍形成回避の可能性の検討」、第 67 回日本胸部外科学会定期学術集会、2014 年 10 月 1 日、福岡国際会議場 福岡県

福岡市

河村拓史 宮川繁 福嶋五月 澤芳樹他、「未分化 iPS 細胞抗原の解明による奇形腫除去法の可能性の検討」、第 114 回日本外科学会定期学術集会、2014 年 4 月 3 日、国立京都国際会館 京都府 京都市

河村拓史 宮川繁 福嶋五月 澤芳樹他、「Reduction in Immunogenicity of Syngeneic Induced Pluripotent Stem Cells by Promoting Cardiomyogenic Differentiation」、第 78 回日本循環器学会学術集会、2014 年 3 月 23 日、東京国際フォーラム 東京都 千代田区

河村拓史 宮川繁 福嶋五月 澤芳樹他、「iPS 細胞由来心筋細胞に対する液性免疫の検討」、第 40 回日本臓器保存生物医学会学術集会、2013 年 11 月 9 日、東京医科大学病院臨床講堂 東京都 新宿区

河村拓史 宮川繁 福嶋五月 澤芳樹他、「iPS 細胞由来心筋細胞に対する液性免疫の検討」、第 49 回日本移植学会総会、2013 年 9 月 6 日、京都国際会館 京都府 京都市

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等：特になし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

福嶋 五月 (FUKUSHIMA, Satsuki)
大阪大学・大学院医学系研究科・助教
研究者番号：80596867

(2) 研究分担者

宮川 繁 (MIYAGAWA, Shigeru)
大阪大学・大学院医学系研究科・特任准教授 (常勤)
研究者番号：70544237

齋藤 哲也
大阪大学・大学院医学系研究科・特任助教
研究者番号：10644891