


 最新のトピックス

TOPICS

心臓病に対する再生医療の現状と課題

信州大学バイオメディカル研究所/循環器内科

柴 祐 司

I はじめに

心血管病は先進国だけでなく、世界的にも主要な死亡原因となっている。特に虚血性心疾患とその後に引き起こされる心不全は、罹患率・死亡率ともに高く、治療成績の改善が求められている。心臓は、自己再生能が極めて乏しい臓器であり、一旦傷害された機能は、現状の治療方法では回復が困難である。心臓移植は重症心不全に対する唯一有効な治療法であるが、ドナー不足という深刻な問題を抱えている。

約20年前から、心臓病に対する再生医療の可能性が着目され、iPS細胞の誕生により、現実の医療として実現されようとしている。本稿では、これまでの再生医療研究と今後の課題について、著者らの活動を含めて紹介する。

II 体性幹細胞を用いた再生医療研究

In vitro において、ある特定の環境下で細胞を培養することにより、骨髄細胞や間葉系細胞が実際に拍動する心筋細胞に変化することは以前から知られていた。Orlic ら¹⁾は2001年にマウスにおいて骨髄細胞を心筋梗塞モデルに移植すると、移植細胞が心筋細胞として生着し、心機能を改善することを報告した。その後、骨髄細胞だけでなく骨格筋芽細胞、間葉系幹細胞、心臓幹細胞など多くの細胞を用いた基礎研究が行われ、驚くべきことにほとんどの細胞において、心機能の改善効果が報告されている。これらの研究は、さらに臨床研究として応用されたものの、実際の臨床においては、期待された治療効果は得られなかった。その後の詳細な基礎研究により、実際に移植された体性幹細胞は、移植直後に多くが喪失し、心筋細胞として生着する細胞はほとんどないことが明らかとなった。現在でも、骨髄細胞や間葉系幹細胞を用いた臨床研究が進行中であるが、治療効果はあくまでも移植細胞が分泌する様々な因子による血管新生効果や抗アポトーシス作

用、抗線維化作用と考えられ、心臓移植の代替治療としての治療効果は懐疑的である。

III 多能性幹細胞の誕生と再生医療への展開

1998年に樹立されたヒト ES 細胞²⁾は、無限の自己増殖能と体を構成する全ての細胞に分化する万能性をもつ細胞として、再生医療の有望なツールと考えられている。心筋再生の研究においても、ES 細胞から心筋細胞を作製する様々なプロトコルが提唱された。また、作製された心筋細胞を心筋梗塞モデル動物に移植することにより、心機能が改善されることが報告され、現在でも臨床応用を目指して研究が活発に展開されている。ES 細胞を再生医療のツールとして用いた場合、他家移植となるため、移植後の免疫応答が1つの問題となっている。また、ES 細胞は受精卵から作製されるため、常に倫理的問題が指摘されている。

2007年に樹立されたヒト iPS 細胞³⁾は、これらの2つの問題を同時に解決出来る可能性をもつ、さらに有望な再生医療のツールと考えられる。iPS 細胞の培養方法や分化方法は、ES 細胞で培われた技術がそのまま応用できるため、飛躍的に研究が進んでいる。心筋再生においても、小動物だけでなく大動物モデルにおいても治療効果が報告され、近い将来の臨床応用が期待されている。

IV 臨床応用への課題

米国では ES 細胞を用いた網膜疾患および脊髄損傷に対する臨床研究が開始され、日本においても iPS 細胞を用いた網膜疾患に対する臨床研究が始まった。しかし、心疾患に対する臨床応用はいまだに実現されていない。ここでは心筋再生の臨床応用に向けた課題をまとめた。

1) 腫瘍形成のリスク

心筋再生に必要な移植細胞数は 10^9 - 10^{10} と考えられており、網膜疾患に対する移植細胞数の約10万倍であ

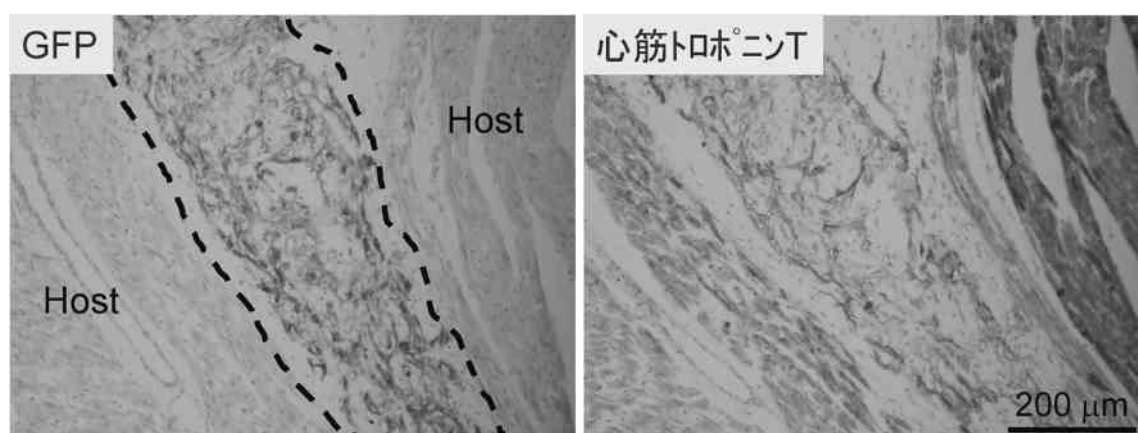


図1 カニクイザル心臓に移植された iPS 細胞由来心筋細胞
 (左) 移植された心筋細胞 (GFP 標識) は拒絶反応なく生着していた。(右) 生着したほとんどの細胞において心筋細胞特異的の蛋白である心筋トロポニンTの発現を認めた。

る。細胞集団の中に、一定の割合で腫瘍細胞が含まれているとすると、心筋再生においては網膜再生に比べて10万倍の腫瘍形成のリスクを伴うことになる。これを回避するためには、未分化細胞を除去した、高純度の心筋細胞を移植する必要があるが、現状では100%の純度をもった心筋細胞の作製は不可能である。今後さらに効率の良い心筋細胞の作製法と純化方法の開発が必要である。

2) 免疫拒絶反応の回避

多能性幹細胞由来心筋細胞移植後の免疫応答については、多くの研究がなされておらず、不明な点が多い。自己 iPS 細胞を用いた移植治療を行えば、拒絶反応は回避できるものの、細胞の品質管理とこれに伴う膨大なコストの問題から、実現の見通しは立っていない。

3) 移植後不整脈

移植心筋細胞の催不整脈作用についても、不明な点が多い。著者らは、小動物心筋傷害モデルに ES 細胞由来心筋細胞を移植した際にはむしろ不整脈リスクが減少することを報告⁴⁾しているが、同じ細胞を大動物心筋梗塞モデルに移植した場合には不整脈が増加する傾向にあることが報告⁵⁾された。今後、移植後の不整脈発生のメカニズム解明を含めた検討が必要である。

4) 最適な移植方法の確立

現状で想定されている細胞移植方法として、細胞シート製剤等を用いた心外膜側への移植、心筋内への直接注射、冠動脈内注射がある。それぞれ一長一短あり、最適な移植方法は確立されていない。今後新たな移植方法の開発も含めた最適化が必要である。

V 信州大学における取り組み

著者らの研究室では前述の課題を解決するために、約2年前からカニクイザル心筋梗塞モデルを用いた同種 iPS 細胞由来心筋細胞移植の検討を行っている。これまでの報告は、ヒト由来の心筋細胞を動物モデルに移植する異種移植モデルを用いていたが、このモデルでは移植後の腫瘍形成、免疫拒絶の正確な評価が不可能であった。そこで、カニクイザルの皮膚から iPS 細胞を作製し同種移植の検討を開始した。このサル iPS 細胞はヒト iPS 細胞と同等の性質をもち、同じプロトコルを用いて心筋細胞の作製に成功した。作製した心筋細胞を、MHC 型の一致したカニクイザル心筋梗塞モデルに移植したところ、拒絶反応なく移植細胞が生着し (図1)、これまでのところ奇形腫などの腫瘍形成は認められていない。さらに生着した心筋細胞は、蛍光 Ca センサーを用いたイメージングにより、宿主の心臓と電気的に統合し、協調して収縮していることも確認できた (図2)。現在、これまでの報告と同様に心機能の改善効果があるかどうかを確認するための検討を行っている。心臓病の再生医療の実現に貢献できるよう、今後も研究を続けていく予定である。

VI おわりに

医学研究、特に再生医療の開発においては様々な研究背景を持った研究者の関与が必要である。とりわけ臨床経験のある研究者は貴重な戦力であるが、昨今の医学生・医師の臨床医志向から、信州大学医学部にお

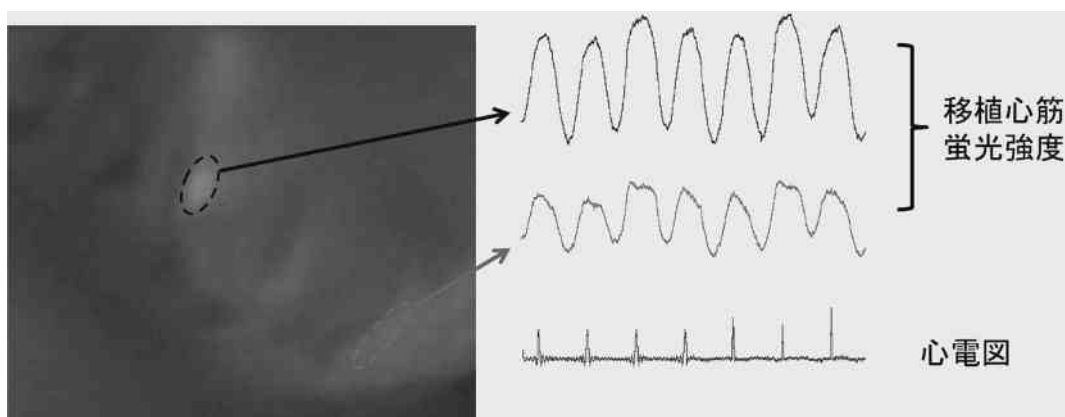


図2 蛍光Caセンサーを用いた *in vivo* イメージング

移植心筋細胞の収縮周期を蛍光標識するために、蛍光Caセンサーを遺伝子操作によってサルiPS細胞に導入したところ、移植心筋の収縮を宿主心臓内で可視化することに成功した。移植心筋の収縮周期は心電図周期と一致しており、宿主心臓と協調して機能していることが確認できた。

ける研究環境は厳しい状況である。地域医療への貢献
だけでなく、信州大学においても医学の発展に寄与で

きるよう今後も研究を続けていきたい。

文 献

- 1) Orlic D, Kajstura J, Chimenti S, Jakoniuk I, Anderson SM, Li B, Pickel J, Mckay R, Nadal-Ginard B, Bodine DM, Leri A, Anversa P: Bone marrow cells regenerate infarcted myocardium. *Nature* 410: 701-705, 2001
- 2) Thomson JA, Itskovitz-Eldor J, Shapiro SS, Waknitz MA, Swiergiel JJ, Marshall VS, Jones JM: Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. *Science* 282: 1145-1147, 1998
- 3) Takahashi K, Tanabe K, Ohnuki M, Narita M, Ichisaka T, Tomoda K, Yamanaka S: Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. *Cell* 131: 861-872, 2007
- 4) Shiba Y, Fernandes S, Zhu WZ, Filice D, Muskheli V, Kim J, Palpant NJ, Gantz J, Moyes KW, Reinecke H, Van Biber B, Dardas T, Mignone JL, Izawa A, Hanna R, Viswanathan M, Gold JD, Kotlikoff MI, Sarvazyan N, Kay MW, Murry CE, Laflamme MA: Human ES-cell-derived cardiomyocytes electrically couple and suppress arrhythmias in injured hearts. *Nature* 489: 322-325, 2012
- 5) Chong JJ, Yang X, Don CW, Minami E, Liu YW, Weyers JJ, Mahoney WM, Van Biber B, Cook SM, Palpant NJ, Gantz JA, Fugate JA, Muskheli V, Gough GM, Vogel KW, Astley CA, Hotchkiss CE: Human embryonic-stem-cell-derived cardiomyocytes regenerate non-human primate hearts. *Nature* 510: 273-277, 2014