

厚生労働科学研究費補助金（難病・がん等の疾患分野の医療の実用化研究事業
（再生医療関係研究分野））

「iPS 細胞等の安定供給と臨床利用のための基盤整備」

分担研究報告書

「体性幹細胞、iPS 細胞等を用いる臨床研究支援技術開発」

研究分担者	澤 芳樹	大阪大学 心臓血管外科学教室	教授
研究分担者	齋藤 充弘	大阪大学 未来細胞医療学共同研究講座	特任准教授
研究協力者	宮川 繁	大阪大学 心臓血管外科学	特任准教授

【研究要旨】

iPS 細胞由来心筋細胞シートの移植による再生治療は新たな治療法として期待されており、高純度の心筋細胞を得られる分化誘導法の研究が進んでいる。一方、心臓組織では心筋細胞の割合は半分以下とされていることから、心筋細胞シートの形態形成や機能において、心筋細胞純度を検討した結果、至適な iPS 細胞由来心筋細胞の細胞シートにおいて、電気生理学的機能、細胞シート構造、液性因子の産生に優れており、iPS 細胞由来心筋組織移植による再生治療においてより優れた再生効果をもつ可能性が示唆された。

A. 研究目的

我々は、50 例近い心臓移植と 200 例を超える補助人工心臓治療を経験する国内有数の重症心不全治療の拠点である。しかし、多数の重症心不全患者を目の前に置換型治療の限界と再生型治療の必要性を痛感し、自己骨格筋由来の筋芽細胞シートによる心筋再生治療法を開発することにより補助人工心臓離脱成功例を世界で初めて報告した。さらに 20 例以上の臨床例の経験から細胞シート移植技術を確立した。しかし筋芽細胞シートの機序は HGF 等によるパラクライン効果で、残存心筋細胞が少ない症例に対して有効性は低い。重症心不全例に対しては心筋と電氣的に結合し直接心機能を向上しうる心筋細胞の大量補充が根治的治療につながるとわれ、その細胞源として iPS 細胞が最も期待されているが、我々はすで

にヒト iPS 由来心筋細胞の高率分化誘導大量培養法を開発している。一方、Connexin43 や収縮タンパク発現など心筋細胞源の能力を最大限に生かす細胞移植技術は重要であり、我々は不全心に対するヒト iPS 細胞由来心筋細胞シートによる心機能向上の POC を大動物実験で既に得ている。

iPS 細胞由来心筋細胞の臨床応用を見据えた場合、心臓組織では心筋細胞の割合は半分以下とされており、心筋細胞シートの形態形成や機能において適切な心筋細胞純度が存在する事が推測される。そこで、in vitro において、心筋細胞シートの最適な心筋細胞と非心筋細胞の比率を電気生理学的組織学的に検討した。

B. 研究方法

これまで確立した iPS 細胞から心筋細胞

への大量培養系において、iPS 細胞から心筋細胞へ分化誘導した細胞集団から心筋細胞を精製し、心筋細胞の純度が異なる細胞シートを作製した。

(倫理面への配慮)

本研究においては関連指針等を遵守し、大阪大学倫理委員会の承認を経て慎重に研究を進める。常に人権を尊重した研究を実行し、患者の不利益とならないよう最大限の配慮を行うこととする。

C. 研究結果

微小電極アレイ等により細胞外電位を測定したところ、低純度の細胞シートではシート全体が同期収縮することが確認でき、電位伝播速度は純度依存的に増加していた。一方、高純度の細胞シートの場合、細胞シートの形成が不安定であった。免疫染色、定量 PCR の結果より、高純度の細胞シートではコラーゲン、ラミニンなどの発現が低下しており、中程度の純度の細胞シートでは同発現が有意に高値であった。また、心室型ミオシン軽鎖や VEGF の発現が高い傾向にあった。

D. 考按

iPS 細胞由来心筋細胞シートにおいて、至適な心筋細胞純度が存在し、電気生理学的機能、細胞シート構造、液性因子の産生に優れていた。iPS 細胞由来心筋組織移植による再生治療においてより優れた再生効果をもつ可能性が示唆された。

E. 結論

臨床研究用細胞の培養プロセスにおいては、より単一の細胞を高純度に精製するこ

とが、より高い品質の安定につながる。一方で、心臓も含めて体内の臓器は複数種類の細胞群で構成されている。再生医療等製品においても、より生体内の状態に近い細胞集団を移植することが、高い生着率と高い治療効果をもたらす可能性がある。心筋細胞シート移植による至適細胞純度を明らかにすることで、より高い治療効果が期待される。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Functional and Electrical Integration of Induced Pluripotent Stem Cell-Derived Cardiomyocytes in a Myocardial Infarction Rat Heart. Higuchi T, Miyagawa S, Pearson JT, Fukushima S, Saito A, Tsuchimochi H, Sonobe T, Fujii Y, Yagi N, Astolfo A, Shirai M, Sawa Y. Cell Transplant. 2015, in press
2. N-glycans: phenotypic homology and structural differences between myocardial cells and induced pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes. Kawamura T, Miyagawa S, Fukushima S, Yoshida A, Kashiya N, Kawamura A, Ito E, Saito A, Maeda A, Eguchi H, Toda K, Lee JK, Miyagawa S, Sawa Y. PLoS One. 2014 Oct 30;9(10):e111064.

2. 学会発表

なし

H. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案特許

なし

3. その他

なし

