

放送 毎週木曜日 21:30~21:45

ラジオNIKKEI

# 虎ノ門医学セミナー

～より良い地域連携医療をめざして～

企画・制作: 虎の門病院・医師と団塊シニアの会  
提供: 総合メディカル株式会社



よい医療は、よい経営から

総合メディカル株式会社

2016年8月11日放送

## 「再生医療の進歩と臨床応用」

慶應義塾大学循環器内科 教授 福田 恵一

本日は、近年急速に発展している重症心不全に対する心臓の再生医療研究のお話を致したいと思います。臓器移植法が改正され、我が国でも心臓移植の数は若干増え、現在年間3-40例程度行われています。一方、植え込み型補助人工心臓の発達により移植登録患者数は急速な増加を見せ、現在600例程度が移植待ちの状態です。なかなか心臓移植にたどり着けないのが状態です。こうした状況を改善すべく山中伸弥先生が開発したiPS細胞を用いて、心臓の再生医療の研究が進められています。心臓の再生医療を現実のものにするにはいくつかの課題があります。第一には、安全で効率的なiPS細胞を樹立する方法の開発が必要です。第二に、iPS細胞を大量かつ安価に培養する方法、第三にiPS細胞から効率的に心筋細胞を作る方法、第四に分化させた細胞の中から心筋細胞だけを純化精製し、未分化なiPS細胞を除去する技術、第五に安全で効率的な心筋細胞の移植技術等の開発が求められます。

第一の課題、安全で効率的なiPS細胞の樹立法の開発ですが、現在二つの方法が開発されました。一つは山中伸弥先生が開発されたエピゾーマルベクターというプラスミドを用いる方法で、これを用いて京都大学でiPS細胞バンクを作製中です。ヒトには白血球型すなわちHLAが有り、免疫拒絶の原因となります。山中先生はHLAのタイプ毎にiPS細胞を作る壮大な作業を進められております。一方、我々は少量の血液からセンダイウイルスを用いて、ゲノム遺伝子に傷付けない効率的な方法を開発しました。こちらは患者さんごとのiPS細胞を勘弁に作出できる方法で、バンクの細胞とHLA型が適合しない方でも利用出来る方法として期待されています。また、最近我々は受精卵特異的に発現するH1fooというリンカーヒストンをiPS細胞樹立の際に遺伝子導入すると、

ES 細胞と同レベルで初期化が達成されることを発見いたしました。今後の iPS 細胞の品質向上に貢献するものと期待されています。

第二の iPS 細胞を安全・大量・安価に培養する方法ですが、この領域には大きな進歩がありました。iPS 細胞の大量培養を向上させるには細胞培養液、細胞外マトリックス、細胞培養器等の問題を解決する必要がありました。まず、細胞培養液に関して我々は、本邦のバイオ産業会社との共同研究で、動物成分を含まず、優れた効率で iPS 細胞が培養でき、しかも比較的安価なものが開発いたしました。次に、細胞外マトリックスの領域でも、大きな進歩がありました。細胞外マトリックスは細胞を包む骨組みのようなもので、謂わば細胞を周囲から元気にする働きを持っています。これまで iPS 細胞専用の適切な細胞外マトリックスがなかったため、MEF 細胞と呼ばれるマウス胎仔の細胞の上に重層して培養していました。大阪大学の関口清俊教授は iPS 細胞専用の細胞外マトリックスであるラミニン 511 を人工合成し、この問題を解決してくれました。また、2次元細胞培養技術の発達に伴って、我々は再生心筋細胞用自動化大量培養装置を産学連携で開発いたしました。これにより培養師の手作業によるのではなく、機械化された装置により大量の心筋細胞が無菌的に安定して作出できる様になりました。

第三に iPS 細胞からの効率的な心筋細胞の作製法ですが、この領域も最近の 10 年間で大きな進歩しました。iPS 細胞から心筋細胞に作製するのに有用な細胞増殖因子やサイトカインが次々と発見され、現在ではこれを組み合わせることで効率的な心筋細胞の作成が可能となりました。また、心筋細胞を細胞増殖させることが出来る因子も発見され、細胞数を増やすことが出来るようになりました。細胞増殖因子やサイトカインは高価なため、これを代用する化学物質が発見され、現在では化学物質だけで心筋細胞が作製出来るようになっていきます。心臓には心房筋と心室筋があり性質が異なりますが、現在我々は心室筋だけを作出する技術の開発に成功しています。

第四に心筋細胞を未分化 iPS 細胞等の他の細胞群から純化精製する必要がございます。従来は抗体等を利用して心筋細胞をセルソーターで純化精製しておりました。しかし、ヒトの心不全心臓を治療する場合、莫大な細胞数を精製する必要があり、この方法による臨床応用は不可能でした。このため、我々は心筋細胞だけが生き残り、未分化な iPS 細胞を含む他の細胞が死滅する特殊な培養液を開発することを考えました。まず、我々はメタボローム解析という方法を用いて、心筋細胞と iPS 細胞ではエネルギー代謝が全く異なることを見出しました。その結果、iPS 細胞はブドウ糖とグルタミンを主たるエネルギー源としている特殊な細胞であることが判りました。iPS 細胞は細胞増殖が活発なため、心筋細胞に比べて同じ細胞数当たり 100 倍程度の大量のブドウ糖を吸収し、解糖系と呼ばれる酵素で分解され、途中の段階で大量の DNA やアミノ酸合成が使

用され、細胞分裂に必要な材料として提供されます。また、グルタミンは細胞内に取り込まれますと、グルタミン酸、 $\alpha$ -ケトグルタル酸に分解され、クエン酸回路の後半部分に直接基質を提供していることが解りました。この2種類の栄養素を培養液から除去すると、iPS細胞はたちまち死滅することが判りました。これに対し、心筋細胞では膜表面に乳酸トランスポーターを発現しており、培養液中に乳酸を添加しておきますと細胞外から細胞内に乳酸を取り込み、ピルビン酸に転換した上で、ミトコンドリアで利用していました。我々はこの細胞代謝の差を利用して、iPS細胞を死滅させるために主たる栄養源ブドウ糖とグルタミンを培養液から除去し、心筋細胞を生存させるために乳酸を添加した培養液を作製しました。その結果、iPS細胞等を綺麗に除去出来、心筋細胞を純化することが可能となりました。また、純化した細胞を免疫不全マウスに移植しても腫瘍形成は認めませんでした。

最後に第五の移植方法ですが、これは既に解決済みの部分とこれから開発する部分がございます。開発当初の心筋細胞移植ではバラバラにした心筋細胞の浮遊液を心臓に直接注射する方法がとられました。この方法では、個々の心筋細胞に直接ストレスが掛かること、注射針の刺入部から細胞が心拍動に伴って逆流してしまうことより、移植細胞の生着率は3%程度でした。これを改善するため、我々は一度純化精製した心筋細胞を1000個ぐらいの小さな球状の塊にし、移植する方法を開発いたしました。この方法では、心筋細胞同士が相互にストレッチしたり、液性因子を分泌し合うことで強固な組織を形成し、移植細胞の生着率が大きく向上しました。残る課題は細胞を左心室全体にどのように均一に移植するかということになるでしょう。現在我々は心臓全体に均等に移植出来るデバイスを開発しており、今後のさらなる研究が求められております。

iPS細胞を用いた再生心筋細胞医療は臨床目前の段階まで来ております。大動物を用いた前臨床試験も心不全改善効果を示しており、臨床応用への課題を一步一步克服しているところです。難治性重症心不全の治療法として、早い段階での臨床応用が望まれております。