

心不全パンデミックから人々を守る最先端再生医療研究と動画像解析

使用機器

ライブセルイメージングシステム
SI8000

主な用途

iPS 由来心筋細胞の品質評価



遠山 周吾 先生
慶應義塾大学医学部循環器内科
専任講師



谷 英典 先生
慶應義塾大学医学部循環器内科
助教

心不全患者は高齢化が進んでおり増加傾向ですが、一方で心臓移植のドナーは少ない状況が続いており、心不全パンデミックを迎える可能性もある深刻な状況です。今回、心不全パンデミックを回避すべく、iPS 細胞由来の心筋細胞を用いた最先端の再生医療研究を実施されている慶應義塾大学医学部循環器内科の遠山周吾先生にお話を伺いました。また、SI8000の優位性や課題に関して、谷英典先生にお話を伺いました。

一研究の背景に関して教えてください。

(遠山) 再生医療のアプローチと創薬のアプローチを行っています。

心不全患者は高齢化が進んでおり、2030年までに130万人にまで増加するといわれています(図1)。まさに、心不全パンデミックと言ってよい状況を迎えます。しかしながら、心臓移植のドナーは圧倒的に不足しておりまして、心臓移植手術は60件/年程度でしかなく、現在4年程度の待機期間は伸びる一方です。多くの重症心不全はがん患者と同じ程度の予後期間(1年未満で半分の方が死亡)であるので、待機期間が伸びることは深刻な問題です。補助人工心臓という機械を入れるのも対策の一つですが、血栓や感染の問題もあります。

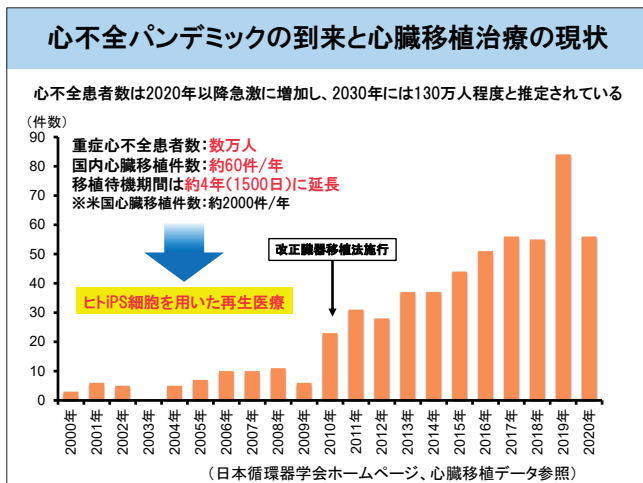


図1

一 心不全パンデミックを回避するためにはどういったことが考えられますでしょうか？

(遠山) 我々が研究しているのが、iPS 細胞から作製した心筋細胞を用いた移植治療に関してです。拡張型心筋症、虚血性心筋症(心筋梗塞)の方は、血管が詰まったり、遺伝的な問題で心臓の筋肉の細胞が減少して、心臓のポンプの機能が悪くなるケースがあるので、iPS 細胞由来の心筋細胞移植により、心臓の筋肉の細胞を補充することでその機能を補うことができます。機能が回復すれば、心臓移植に依存しなくてよいことにつながります。心臓移植の適応年齢は65歳で切られてしまうので、重症心不全の方には心臓移植が適用できない状況もありますが、全ての患者に移植がいきわたらないという課題も解決できる可能性があります。

一 ということは、iPS 細胞を用いた再生医療は心不全パンデミックを回避する非常に有用な方法の一つですね？

(遠山) 免疫拒絶反応のことを考慮すると自家の細胞由来のiPS 細胞を使用することが望ましいですが、コストの問題も考えて京都大学 iPS 細胞バンクからいただいた HLA ハプロタイプホモの iPS 細胞から心筋細胞を作製し研究しています。臓器移植においては、白血球の型として知られる HLA のうち A, B, DR の3座が一致していることが重要とされています。これらがマッチしていれば、免疫拒絶のリスクは大幅に軽減できます。すべての患者さんの中で、iPS 細胞バンク細胞の HLA の型と3座ともマッチするケースは、全体患者の10%ぐらいとされており、HLA がマッチした患者さんをまずは対象と考えています。実際に解析してみますと、日本のような島

国では3座マッチしていると、ほぼ6座ともマッチしているケースが極めて多いです。しかし、マイナー抗原の不一致などもあるので、全く免疫抑制剤を使用しなくてよいというわけではありません。患者さんご本人から iPS 細胞を樹立し、心筋細胞を作製して移植する自家移植は免疫拒絶反応を起こさないため理想的ですが、考慮が必要なのは、患者さんから樹立した iPS 細胞から作製した心筋細胞には、疾患を引き起こした遺伝子異常が搭載されているという点です。したがって、拡張型心筋症の患者さんのように遺伝的な異常を認める場合に自家移植を行うとなりますと、疾患の原因遺伝子を調べて、ゲノム編集などにより改変する必要が出ています。しかしながら、依然として、ゲノム編集技術による遺伝子改変で安全性が担保できるのか？などの課題があり、まだ応用までは時間がかかると思います。

—免疫拒絶以外に克服すべき課題はありますか？

(遠山)我々はリコンビナントタンパク質や低分子化合物を用いた誘導法により、iPS 細胞から心筋細胞に効率よく分化誘導させる技術を確認してきましたが、80%程度は心筋になる一方で、心筋ではない細胞が必ず残存してきます(図2)。この20%程度の心筋以外の細胞を取り除くことができないと、移植後に腫瘍化したり、不整脈の原因になる可能性がありますので、移植においては分化誘導後の心筋細胞以外の除去が極めて重要になります。例えば、iPS 細胞の未分化幹細胞が0.02%混入しているだけで、免疫不全マウスへの移植時に腫瘍化のリスクがあることが判明しています。そこで我々のグループは非標的細胞を取り除くことに重きを置いて研究を進めています。

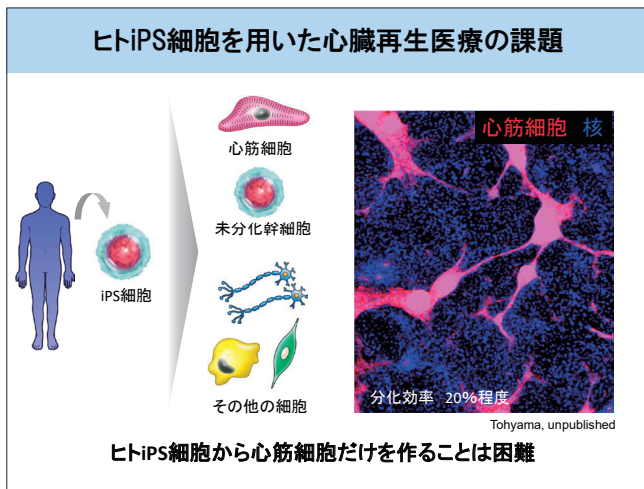


図2

—どういった方法で非標的細胞を除去するのでしょうか？

(遠山)着目したのは、心筋細胞と心筋以外の細胞の代謝機構の違いです。ヒトの臓器でみましても、臓器ごとに同じ代謝をしているわけではありません。各々の臓器、細胞には個性があって好きな栄養素が異なるので、その性質を理解し、心筋細胞が好きな栄養素と、心筋以外の細胞が好きな栄養素の違いに着目すると、簡単に心筋細胞だけを選別することができます。

そこで、培養液に着目しました。通常の培養液は栄養素が豊富に含まれているので、どんな細胞でも生きることができそうですが、これを心筋細胞だけが生きることができる培養液を作製できれば、簡単に大量の心筋細胞を選別できると考えました。通常の細胞は、グルコース、グルタミンをエネルギー源にし

ていますが、心筋細胞は非常に興味深いことに、グルコース、グルタミンが無くとも、一般的には老廃物として知られている乳酸があれば生存できることを見出しました。この性質を利用すると、色々な細胞が混合していても、心筋細胞のみを選別することができます(図3)。つまり、エネルギー源として乳酸を利用する培養状態にしますと、非標的細胞を死滅させ、心筋細胞のみが生存することができます。腫瘍化の可能性がある未分化細胞を含めて、取り除くことができるわけです。

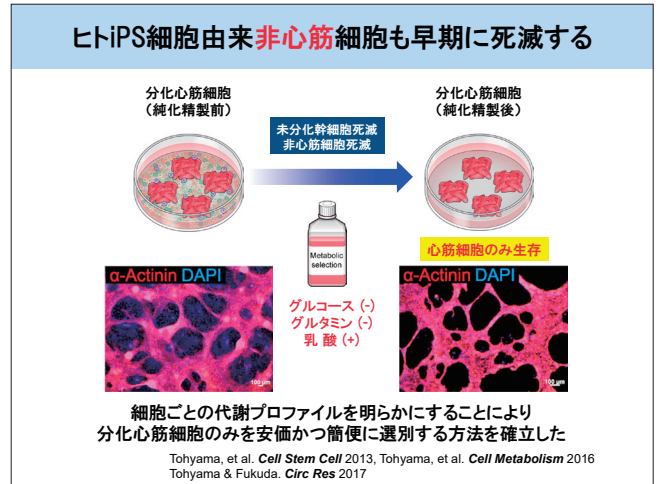


図3

—心臓領域以外の再生医療にも応用可能でしょうか？

(遠山)未分化幹細胞のみを取り除く、といった技術も開発しておりまして、他の再生医療技術への応用が可能です。通常の細胞ではグルコースからピルビン酸が産生され、乳酸となって細胞外に排泄されます。ピルビン酸の一部はミトコンドリアにおいてクエン酸が産生され、クエン酸回路が回りますが、ヒト iPS 細胞のような未分化幹細胞においてはクエン酸から先の回路における代謝酵素がほとんど発現していないので、クエン酸回路が回る代わりに脂肪酸が合成されます。一般的に、細胞内で合成される脂肪酸は細胞膜を作る際の原料となっているため、細胞が増殖する際には極めて重要です。また、増殖だけではなく、未分化幹細胞が生存するためにも脂肪酸合成が重要であることがわかり、オルリスタットなどのこの脂肪酸合成経路を阻害する薬剤を使用することで、心筋細胞や神経細胞、あるいは肝細胞のような分化した細胞には影響を与えることなく、未分化幹細胞のみを選択的に死滅させることができることが判明しました(図4)。

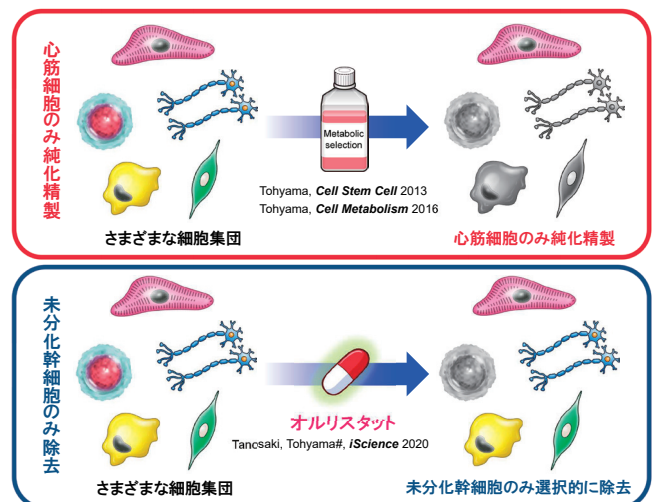


図4

一純化に続いて、iPS 細胞由来の心筋細胞を実用化するための次のステップは何でしょうか？

(遠山) 数億個の心筋細胞が一人の患者に必要なですが、次のステップとしては、大量培養が非常に重要になります。我々は2次元多層培養プレートを用いた大量培養法を開発したことにより、一度に10億個以上もの大量の心筋作製が可能となりました。また、移植に際しては、最終的に純化精製した心筋細胞を直径150 μ m 程度の塊にして移植をしていますが、これは単細胞で移植するより、組織球の方が生着率が大変良いことを見出しているためです。よく使用される培養用の96穴のU底プレートでは、心筋組織球を少量しか作製できないため、特殊なプレートを用いて効率よく大量の心筋組織球を作製しています。

一移植に使用する心筋球の品質はどのように評価されていますでしょうか？

(遠山) 心筋細胞の組織球が正常な機能を有しているか、均一な心筋の塊ができていないか、つまり移植細胞の品質チェックが重要になります。ソニーのSI8000を用いて、心筋組織球の拍動プロファイル解析を実施しています。例えば、通常的心筋細胞に実際の臨床でも使用する薬剤である β 刺激薬を添加すると心拍数が上がるのですが、移植用に作製したヒトiPS細胞由来の心筋組織球においても同様に心拍数の変化が観察されるか？という薬剤応答性の指標をもって品質の評価をしています。

一SI8000の優位性や課題はこういったところにありますか？

(谷) 今までは再生医療アプローチの話でしたが、同時に創薬のアプローチも進めています。

実際には培養皿上でEHT (Engineered Heart Tissue) という心筋組織を作製し、創薬研究に活かさないかということに取り組んでいます。医薬品の市場撤退の大きな原因である心血管系異常を正確に評価するには、ヒトiPS細胞由来の心筋細胞が有効といわれているのですが、一方でディッシュ上のヒトiPS細胞由来心筋は未分化(胎児期相当の成熟度)であるという報告があり、いかに成熟化させるかが課題でした。そこでEHTという心筋組織を作製することに成功し、例えば拍動数、移動距離やその収縮力をSI8000で定量評価ができています。従来のように別の装置への移し替えや前処理がなく、その後も継続して培養できる点がとても助かっていますし、動画を取るだけで簡単に評価ができるのが良いと思います(図5)。またSI8000では拍動数だけでなく、心臓に対して陽性/陰

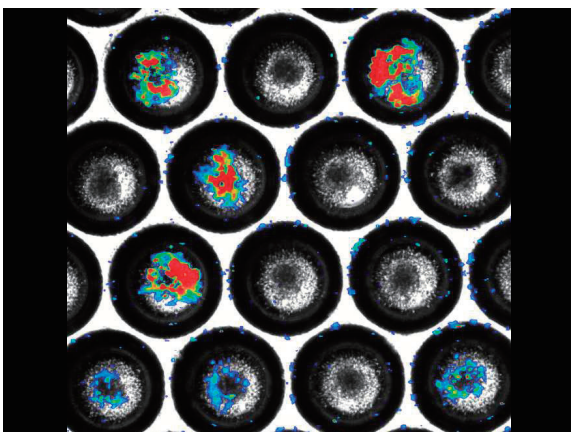


図5

性変力作用をもつ薬剤を使って収縮力(Force)を評価しているのですが、これまで難しいとされていた収縮力の評価を“簡単に”評価できることが良いと考えています。SI8000がなければ難しかったです。

SI8000の課題は、撮影時間は短い割には、動画データの容量が大きくなってしまっているので、解析容量や保存の面で改善してほしいと思っています。

一次に目指すステップはいかがでしょうか？

(遠山) 現在、作製された心筋球を用いた移植実験はマウスなどの実験動物レベルで成功し、既によりヒトに近いサルやブタなどで前臨床試験を実施し、実際に心臓の機能が回復することを確認しています。近い将来、拡張型心筋症の患者さんへの細胞移植治療が行われることになるかと思いますが、そこで終わりではなく、将来的には、拡張型心筋症や虚血性心筋症の患者さんの予後をしっかりと改善できる標準的な治療として認められるような治療法にしていきたいと思っています。たとえHLAの型が一致していたとしても他家移植の場合は、免疫抑制剤の使用が必須になってきますので、その際の免疫抑制剤の投与量の最適化も行っていきたいと思っています。また創薬に対しては、より良いものを提供できるように、開発薬の上市前にリスクを正確に予想できるようなヒト心筋細胞の開発に取り組んでいます。

このように再生医療、創薬それぞれに対して必要な心筋細胞の機能を研究し、明らかにしていきたいと思っています。



一研究を志す若手へ一言お願いします。

(遠山) 再生医療は他分野の人と交流が多いです。いろんな分野にアンテナを張って、こだわりも大事だが自分の思い込みだけはやめて、他の分野のプロフェッショナルな研究者とコミュニケーションをとってみると面白い研究に繋がるかもしれません。

一遠山先生はHeartseed株式会社の顧問というお立場でもありますが、ビジネス視点としてのお考えをご教示ください。

(遠山) Heartseed株式会社ではこれまでの技術を応用して、ビジネスへの展開を目指します。アカデミアだけでは、患者さんへの応用の際に通らなければならない“死の谷”を乗り越えることができないのは明らかですので、死の谷を乗り越え、標準的な治療法として発展させていくためにも非常に大きな存在です。企業としては、アカデミアで開発してきたシーズを心不全で苦しんでいる患者さんにいち早く届けたい、という思いで実施しています。アカデミアと密に連携することでしっかりと技術力を持つように育成していきたいと考えています。

一ありがとうございました。

ライブセルイメージングシステム SI8000

鍛え抜かれた画像解析技術が生んだ先進のライブセルイメージングシステム

- ・最新の画像解析技術で細胞の動きを定量
- ・ラベルフリー・細胞本来の状態での評価が可能に
- ・形態解析やタイムラプス、蛍光画像を利用する解析も可能



発行元

ソニー株式会社

メディカルビジネスグループ ライフサイエンス事業部 〒220-8750 神奈川県横浜市西区みなとみらい5-1-1 TEL: 0120-667-010

<http://www.sony.co.jp/LS>



Sony Corporation