

7

特集 臓器再生 — 膵臓・膵島移植からiPS細胞を用いた膵再生と他の臓器の再生医療まで —

iPS細胞を用いた
網膜疾患に対する
再生医療開発

杉田 直

理化学研究所 多細胞システム形成研究センター 網膜再生医療研究開発プロジェクト

iPS細胞は多種類の細胞・組織に分化することが可能な細胞として注目され、基礎研究およびヒトへの臨床応用が取り組まれはじめている。筆者らはヒトiPS細胞由来の網膜色素上皮(RPE)細胞の分化・誘導に成功し、2014年9月に加齢性黄斑変性患者に世界で初めてiPS関連の移植を行った。その臨床試験に向けた取り組みとして、iPS細胞やRPE細胞の製造方法の確立、品質規格試験、安全性試験を定期的に行っている。また、将来の標準治療となると思われる他家移植に向けた検討のなかで、HLAホモドナー(HLA-A, B, DRB1 locus homozygote donors)から樹立したiPS-RPE細胞がHLA拘束下でアロT細胞に反応するかなどを行っているところである。近い将来には加齢性黄斑変性だけでなく他の網膜疾患にも移植の構想があり、その場合iPSバンクを利用した他家移植で行われる予定である。もしHLAが適合する患者T細胞のiPS-RPE細胞への反応が低下するならば、iPSバンク由来の細胞がこれらの網膜疾患に利用できる可能性があると思われる。

iPS細胞由来網膜色素上皮細胞の
移植治療

人工多能性幹細胞(Induced pluripotent stem cells; iPS細胞)は、多種類の細胞・組織に分化することが可能な細胞として注目され、現在さまざまな再生医療のための基礎研究およびヒト臨床研究が取り組まれている。筆者らの研究所では、ヒトiPS細胞由来の網膜色素上皮(retinal pigment epithelial; RPE)細胞の分化・誘導に成功し、2014年9月に加齢性黄斑変性患者にiPS細胞由来RPE(iPS-RPE)細胞シートが移植された。現在、この

RPE細胞シートの品質規格試験や安全性試験は多数の項目で行われ問題はないと考えられているが、今後の臨床応用に向けて課題がないわけではない。本稿では、その臨床試験に向けた細胞の製造方法、純度・品質管理試験、安全性試験、また他家移植に向けたその拒絶反応対策について述べる。

iPS-RPE細胞を用いた
網膜疾患への臨床試験

筆者らは、幹細胞を用いた細胞治療研究の経験や過去

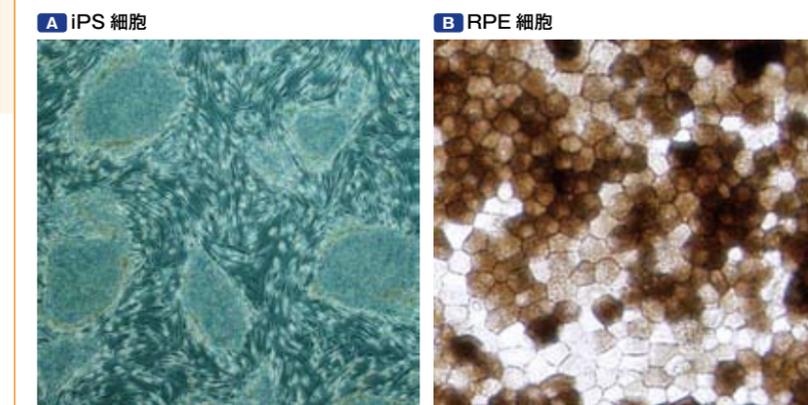


図1 ヒトiPS細胞およびRPE細胞樹立
皮膚由来の線維芽細胞にプラスミド遺伝子(エピソームベクター)を導入し、ヒトiPS細胞を樹立した(A)。iPS細胞から分化・誘導したRPE細胞(B)。褐色の色素をもった多角形の上皮細胞がみられる。

の他グループの報告から、現時点では網膜細胞がiPS細胞を応用した移植治療に適していると判断している。網膜細胞のひとつ、RPE細胞移植の網膜対象疾患はさまざまあるが、最初の臨床試験には滲出型加齢黄斑変性症が対象となった。その加齢黄斑変性は50歳以上の1%前後が罹患しており、米国では失明原因1位の疾患である。現在の治療は脈絡膜新生血管を抑制する、あるいは短縮させる目的で抗VEGF抗体の眼局所注射が中心であるが、症例によっては効果が得られていない。加齢黄斑変性の多くは脈絡膜新生血管とそれによる出血によりRPEやその上の視細胞がダメージを受けており、その修復は従来の既存治療では不可能であった。筆者らの研究室ではサル胚性幹細胞(embryonic stem cells; ES細胞)からRPEが分化・誘導できること¹⁾、ES細胞由来RPE細胞をRPE障害動物モデルに移植して網膜機能が回復すること²⁾、また、ヒトiPS細胞からRPEが分化・誘導できることを報告している³⁾。

移植対象部位は網膜中央の直径数mmという小さな範囲なので移植するのに必要な細胞数も少なく済む。これらの移植条件はiPS-RPE細胞の安全性確保に有利である。また、眼科疾患の移植の場合は術後に眼底をすぐに検査できるという利点があり、なにか問題が起こったときに対処しやすい。最近では網膜断層検査(網膜光干渉断層計; OCT)が発達しており簡易的に、また詳細に術後の網膜の状態を把握することが可能である。

現在、その臨床研究、治療に向けた準備が着々と進め

られている。理化学研究所の細胞プロセッシングセンター(fRECT; facility for Retinal Cell Therapy)では、iPS細胞作製、維持、分化誘導の培養などが行われている。また、臨床研究だけではなく、治療の準備のために設立したヘリオス(旧日本網膜研究所)は理化学研究所ベンチャー企業に設定され、各国の規制状況など情報収集を開始し、また、独自の方法も加えて新しいRPE分化・誘導方法の開発に取り組んでいる。

ヒトiPS細胞の培養および
RPEの分化誘導法

皮膚由来の線維芽細胞にエピソームベクターを用いて初期化因子(山中因子)を遺伝子導入(Electroporationによるプラスミド導入)し、培養する(図1)。フィーダー細胞にマイトマイシン処理SNLフィーダー細胞などを用いている。iPS細胞の品質の確認のために、免疫染色による未分化マーカー確認試験(OCT3/4など)を行う。iPS細胞に分化誘導した後、RPE分化因子をRPE培地下で培養する。褐色の色素をもった六角形の上皮細胞(図1)が確認されたら数回に分けて継代培養する。最終的にはRPEマーカーのRPE65やBestrophinの発現を免疫染色、RT-PCRにて確認する。iPS細胞からRPEへと分化誘導すると色素をもつ黒い細胞がクラスターとして分化してくるので、顕微鏡下にてピックアップして純化することが比較的