

175. アロ iPS 細胞の臨床応用を目指した免疫制御技術の開発

宮川 繁

Key words : iPS 細胞, 心不全, アロ細胞移植, 免疫

大阪大学 医学部 心臓血管外科

緒 言

細胞上に発現する糖鎖は様々な生理機能を担い、細胞分化により変化する。我々は、未分化 iPS 細胞 (iPSC) と iPS 細胞由来心筋細胞 (iPSC-CM) の識別、及び iPSC-CM と正常心筋の相違点を検討するため、iPSC, iPSC-CM, 心筋細胞の糖鎖構造の網羅的解析を行った。

また、他家移植による拒絶反応を減じる方法として、主要組織適合遺伝子複合体 (MHC) ホモ iPS 細胞を用いた MHC 一致他家移植が考案されているが、その有用性は明らかではない。今回我々は、MHC ホモカニクイザル iPS 細胞を用いて、MHC 一致他家移植の有用性の検討を行った。

方 法

1. ヒト iPSC 2 株と *in vitro* で心筋細胞へと分化させた iPSC-CM, ヒト心筋細胞 (hCMC) から N 型糖鎖を抽出し、HPLC 法により糖鎖構造の同定を行った。

2. フィリピン産のカニクイザルには MHC をホモ接合で有する個体が複数確認されており、そのうち最頻度ハプロタイプである HT1 をホモ接合で有する個体から樹立された iPS 細胞株 (1123C1-G: 京都大学 iPS 細胞研究所より提供) を用いて検討を行った。カニクイザル iPS 細胞から心筋細胞への分化誘導は、ヒト iPS 細胞と同じ方法で 70-80% の効率でトロポニン T 陽性細胞への分化誘導が可能であった。誘導したカニクイザル iPS 細胞由来心筋細胞をカニクイザル背部皮下に移植し、定期的に iPS 細胞の GFP 蛍光強度を測定すると共に、生検による組織学的な検討により細胞の生着と拒絶反応の評価を行った。移植するカニクイザルは、HT1 をヘテロ接合で有する個体を MHC 一致モデルとして使用し、HT1 を有さない個体を MHC 不一致モデルとして使用した。共に免疫抑制剤を 3 剤 (タクロリムス, MMF, ステロイド) 投与下に移植を行った。

結 果

1. マウス iPSC, iPSC-CM 3 株, 心筋組織の N 型糖鎖を 3 次元 HPLC 法により解析した結果、68 種類の糖鎖が検出され、60 種類の構造が同定された。iPSC には無く iPSC-CM で発現する糖鎖は 13 種類検出され、4 種類は心筋組織でも発現を認めた。また、iPSC にのみ検出される糖鎖を 1 種類認めた。構造的に未熟なハイマンノース型糖鎖の割合は、iPSC では 86.7%, 68.3%, 78.2% で、iPSC-CM では 77.4%, 60%, 65.1% に減少したが、心筋組織 (46.9%) とは差を認めた。また、シアル酸化糖の割合は iPSC (3.1%, 1.8%, 4.2%), iPSC-CM (10.8%, 20.8%, 17.9%) と増加したが、心筋組織 (41%) とは差を認めた。心筋組織ではグリコリル型のシアル酸が 33% を占めたのに対し、iPSC (0.6%, 0.1%, 0.5%), iPSC-CM (0%, 0%, 0%) は低発現であった。グリコリル型のシアル酸を生成するシアル酸水酸化酵素の遺伝子発現を定量 PCR で測定した結果、心筋組織では発現を認めた (0.91/GAPDH) が、iPSC (0.011, 0.013, 0.0045/GAPDH), iPSC-CM (0.21, 0.19, 0.45/GAPDH) では低発現だった。また、iPSC-CM では Gal α 1-6Gal という iPSC には無い特徴的な糖鎖構造を認め (2.4%, 3.9%, 3.6%), 心筋組織 (0.6%) よりも高発現だった (図 1)。

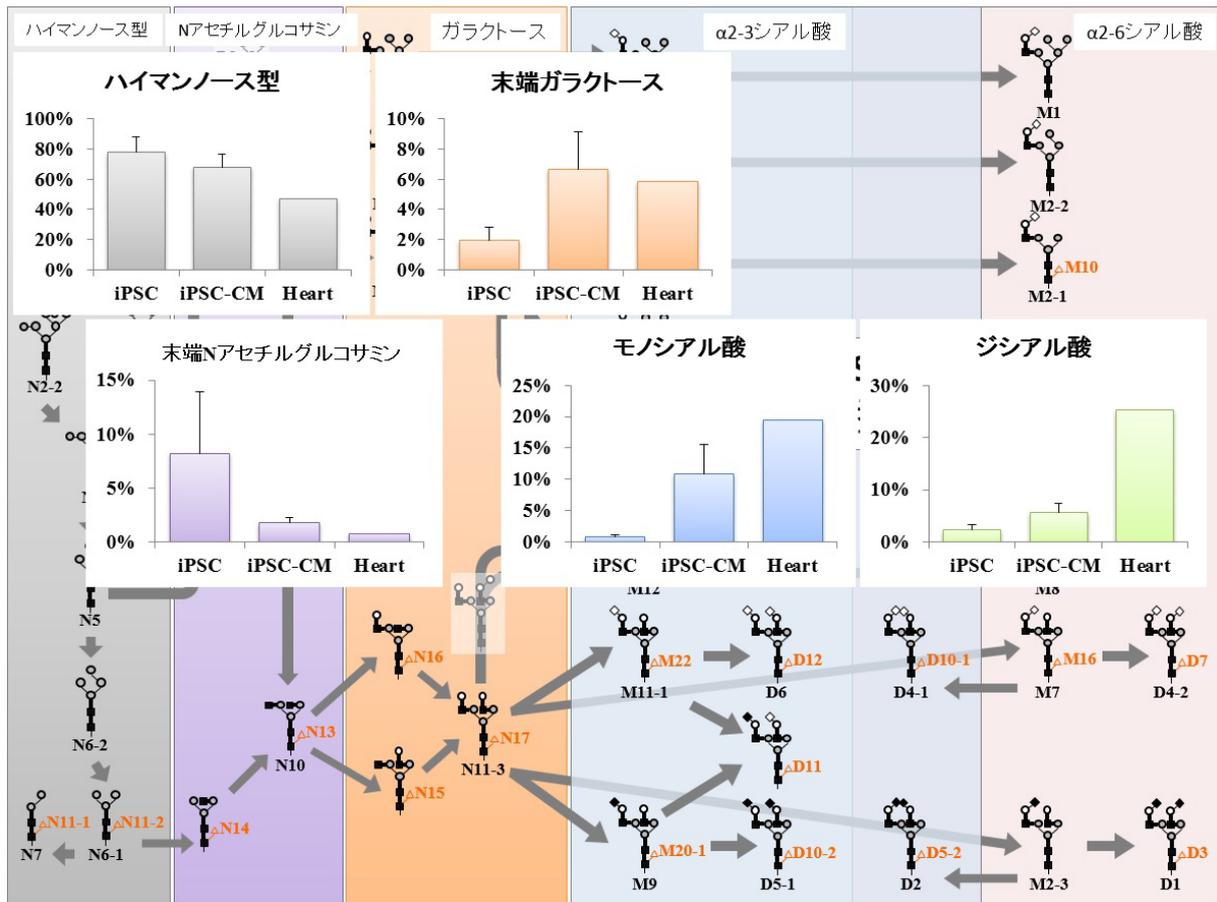


図1. iPS細胞における糖鎖発現の変化。

心筋細胞への分化段階の変遷にともない、各種糖鎖の発現が変化している。

2. MHC 不一致移植においては、移植後2週間の時点でiPS細胞のGFP蛍光の減弱が認められ、組織学的にもT細胞の浸潤を伴う著明な拒絶反応を認め、最終的に移植後1ヶ月の時点で移植した細胞は消失していた。一方、MHC 一致移植においては、移植後3ヶ月まで移植細胞の観察が可能で、組織学的にもT細胞の浸潤は乏しく、拒絶反応は認められなかった。

考 察

iPS細胞が心筋細胞に分化していく過程で、糖鎖抗原は変遷しており、HLAだけのマッチングではなく、移植をする際に移植細胞の糖鎖抗原を考慮にいたした免疫抑制剤の適正化が必要であると思われる。また、HLAのマッチングはアロ iPS細胞由来心筋細胞移植の移植免疫制御に重要であり、移植の際にはHLAをマッチングさせて移植すれば、免疫抑制剤の減量が可能であることが示唆された。

共同研究者

本研究の共同研究者は大阪大学小児外科学講座の宮川周士先生、大阪大学免疫再生制御学講座の豊福利彦先生である。

文 献

- 1) Kawamura, T., Miyagawa, S., Fukushima, S., Yoshida, A., Kashiyama, N., Kawamura, A., Ito, E., Saito, A., Maeda, A., Eguchi, H., Toda, K., Lee, J. K., Miyagawa, S. & Sawa, Y. : N-glycans: phenotypic homology and structural differences between myocardial cells and induced pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes. *PLoS One*, **9** : e111064, 2014.