遺伝子修飾した間葉系幹細胞（ＭＳＣ）移植による心血管系の再生医療の開発

株式会社　フロンティア・サイエンス

背景・目的

最近、心筋や内皮細胞などの心血管系の臓器が間葉系幹細胞由来の細胞から分化することが明らかとなり、「再生細胞療法」の実用化が期待されている。本事業では、細胞培養と遺伝子導入の技術、循環器系の動物実験技術、遺伝子治療の基礎研究などを駆使して、間葉系幹細胞を十分な数だけ増殖培養し、適切な遺伝子修飾などを施して、虚血性心疾患による心不全などの患者に対して有効な「再生細胞療法」とすることを目指す。また心血管系疾患の治療に有効とされる遺伝子群を再評価し、間葉系幹細胞移植との組み合わせにおいて最も適切な遺伝子修飾を探る。

内容・方法

本事業では、部分全能性を示す間葉系幹細胞(MSC)を応用した再生医療のプロセスを確立し、循環器疾患に対する根治的治療へつなげる。具体的には、増殖した培養MSC幹細胞を用いて分化を適切に調節する培養条件を確立し必要に応じて遺伝子導入またはサイトカイン投与による細胞の修飾を行う。さらに循環器疾患治療に有効な遺伝子の同定と、その遺伝子を用いた循環器疾患の治療実験を行い遺伝子の有用性を証明する。また本事業では、MSCへの遺伝子導入法の開発、MSC、心血管組織で有効に働きうる遺伝子発現系の検討も行う。これらの結果からヒトの疾患を反映した小動物モデルを用いて、細胞移植実験を行い治療効果を判定する。さらに動物を用いて、細胞移植実験を行い、ヒトへの臨床応用のプロセスを樹立する。ここで得られた知見と技術をもとに「オーダーメイドの心血管系の再生細胞療法」として事業化をめざす。

結果・成果

最近、心血管系の臓器が間葉系幹細胞由来の細胞から分化することが明らかとなり、「再生細胞療法」の実用化が期待されている。しかしヒト治療に十分なほどの間葉系幹細胞を培養することは従来技術ではきわめて困難であったが不死化遺伝子として知られるテロメラーゼ(hTERT)遺伝子を導入することにより細胞の分化能を損なうことなく高い増殖性を維持する方法を確立した。またこの不死化細胞を患者に戻す場合、不死化遺伝子などの外来遺伝子は可能なかぎり除去しておいた方が安全性が高いと考えられ、遺伝子除去技術の確立を行った。MSCへの遺伝子導入法の確立は遺伝子修飾に重要である。MSCはレトロウイルス・アデノウイルスレセプター発現が不十分でありこれらのウイルスベクター感染に対し抵抗性を示す。そこでインテグリンを標的としたRGD型ファイバー改変アデノウイルスベクターを用いることによりMSCに対する効率的な遺伝子導入が可能となった。

次に虚血性疾患治療に対する有用遺伝子の検討を行った。血管新生に有用なサイトカイン・増殖因子遺伝子によりMSCを修飾することによりMSC自ら心筋・血管組織に分化するのみならず、血管新生を強力に誘導し移植細胞の生着・組織修復を促進する可能性がある。強い血管内皮細胞増殖誘導能を有するVEGFと間葉系幹細胞からも分泌されるアンギオポエチン-1(Ang1)に着目し、その血管誘導作用を検討した。ウサギ慢性下肢虚血モデルではVEGF/Ang1遺伝子の併用投与により、成熟し機能的な血管が誘導され血行動態上も有意な改善が認められた。さらにAng1は下肢急性虚血・急性心筋梗塞に対しても効率的に血管新生・組織血流改善を行い、心筋梗塞では心機能の悪化を抑制することが明らかとなった。またこれらの検討から急性心筋梗塞においてVEGFやAng1遺伝子など血管新生遺伝子単独では心筋再生刺激として不十分であり、MSCなどの細胞移植との併用が必要であることが示唆された。そこで心筋梗塞モデル、下肢虚血モデルでのMSC移植を試みた。MSCを、下肢虚血を作製直後に左大腿筋に筋肉内投与したところ、MSC投与群において早期の血流改善が認められ21日後には健常肢とほぼ同等に血流は改善した。またラット心筋梗塞モデル心にGFPトランスジェニックラットより分離したMSCを6×10^6個心筋内投与したところ、細胞投与18日後に正常心筋内、梗塞巣内の両方に緑色蛍光細胞が認められ、移植MSCが長期間移植心で生着することが確認された。このことからMSCが心血管系再生医療における増殖因子/遺伝子のキャリアー（運び屋）としても有用であることが示唆された。

以上のようにMSCの分離、不死化遺伝子の導入・除去に関する基礎的な技術が確立された。さらに遺伝子修飾に影響する発現ユニット、MSCへの遺伝子導入効率が検討され、有効なMSCへの遺伝子修飾法が確立された。また心筋梗塞モデル・下肢虚血モデルではMSCを用いた心血管系細胞移植療法の有用性を示唆する結果が得られた。またAng1遺伝子が虚血心・末梢虚血組織の血行動態を有意に改善することが認められたためAng1がMSC修飾遺伝子として有用であることが示唆された。

今後の展望

下肢虚血に対するVEGF/Ang1併用遺伝子治療臨床研究が既に当該審査機関に提出されている。有効性の確認されているMSC移植については下肢虚血治療の臨床プロトコールの作製を開始していく。間葉系幹細胞は、患者から採取して増やす「オーダーメイド」の調製となるため、最初は北海道地区の患者に限り、心血管系の再生細胞療法の実施を行う。細胞の採取、初期培養、遺伝子導入は、札幌医科大学遺伝子治療室で行う。大量培養と安全性のチェックならびに患者へ投与する細胞製剤の調製は当社ならびに札幌医科大学発細胞医療のバイオベンチャー企業である（株）レノメディクス研究所の事業として実用化する計画である。