

千住 覚

熊本大学 大学院生命科学研究部 免疫識別学分野・准教授

iPS 細胞由来の樹状細胞とマクロファージを用いた医療技術の開発

§1. 研究実施の概要

多能性幹細胞から樹状細胞あるいはマクロファージなどのミエロイド系血液細胞を作成し、これらを用いた、悪性腫瘍、アルツハイマー病、自己免疫疾患等に対する細胞治療技術を開発するべく研究を行っている。平成 22 年度の研究による主な成果は、以下の通りである。

- ヒトの iPS 細胞から、大量（ 10^{10} 以上）の樹状細胞およびマクロファージをより簡便に産生することを可能とする新たな手法を開発した。
- マウスの ES 細胞由来のマクロファージを担がんマウスに移入することにより、マウス体内で既に生着していた癌に対する治療効果を認めた。
- マウスモデルにおいて、ES 細胞由来の樹状細胞を投与することにより自己免疫疾患の発症抑制が可能であること、さらに、その発症抑制のメカニズムに免疫制御性 T 細胞が関与していることを明らかにした。

平成 23 年度以降の研究においては、以上の研究成果を発展させ、臨床的に実用可能な細胞療法を開発を目指す。特に、今後は、強い社会的ニーズがあり、臨床試験の実施に際して倫理的観点からのハードルが比較的低いと考えられる進行がんに対する治療法としてのマクロファージ療法の早期の実用化をめざした研究に重点を置きたいと考えている。

§ 2. 研究実施体制

（1）「千住」グループ

① 研究分担グループ長：千住 覚（熊本大学、准教授）

② 研究項目

- 多能性幹細胞由来の樹状細胞による免疫制御療法の研究
- 多能性幹細胞由来のマクロファージによるがん治療法の研究
- 多能性幹細胞由来のマクロファージによるアルツハイマー病治療法の研究
- ヒト多能性幹細胞から大量のミエロイド系細胞を作成する方法の開発

§3. 研究実施内容

(文中に番号がある場合は(4-1)に対応する)

多能性幹細胞由来のミエロイド系細胞による免疫制御法の研究

ES細胞やiPS細胞などの多能性幹細胞に由来する樹状細胞あるいはマクロファージなどのミエロイド系血液細胞を用いて、免疫応答を人為的に制御し、自己免疫疾患やアレルギー疾患を治療する手法を開発すべく研究を行っている。

前年度までの研究において、ミエリン鞘抗原 MOG と TRAIL を同時に発現するマウスの ES 細胞由来の樹状細胞 (ES-DC) を投与することにより、自己免疫性脳脊髄炎 (EAE) の発症抑制が可能であり、そのメカニズムとして、T 細胞の細胞死の誘導のみならず、制御性 T 細胞の機能増強あるいは増幅が関与していることが考えられた。本年度の研究においては、TRAIL 欠損マウスを用いた検討も加え、TRAIL が疾患誘導時の制御性 T 細胞の増殖に関与していることを明らかにした¹⁾。

さらに、多能性幹細胞由来のミエロイド系細胞による自己免疫抑制について検討を行った。NOD(Non-Obese Diabetic)マウスは、自己免疫機序により膵島炎および糖尿病を自然発症する自己免疫疾患モデルマウスである。自己性糖尿病発症前の比較的若年齢 (5-9週令) のNODマウスに、NODマウスのES細胞由来のミエロイド系細胞を投与することにより、半年以上に亘って糖尿病の発症をほぼ完全に抑制できることを確認した。この結果は、多能性幹細胞由来のミエロイド系細胞の投与により、体内の異常な免疫応答を是正し自己免疫現象を抑制できることを示唆するものである。

多能性幹細胞由来のマクロファージによるがん治療法の研究

iPS 細胞由来の樹状細胞(iPS-DC)による細胞ワクチン療法の研究と並行して、がん抗原に対する抗体を発現するマクロファージ(iPS-MP)によるがん治療の研究を行っている。平成21年度の研究においては、ヒトの CD20 分子に対する単鎖抗体を細胞表面上に発現する iPS-MP が、CD20 分子を発現するヒト B リンパ球性白血病細胞株 BALL-1 を貪食する活性を有していること、そして、3 日間の iPS-MP との共培養により、BALL-1 細胞数が 1/100 以下に減少することを観察した。さらに、scid (重症複合型免疫不全症) マウスの腹腔内に BALL-1 細胞を移植する実験においても、抗 CD20 抗体を発現する iPS-MP により BALL-1 細胞の生着を阻害できることを観察した²⁾。

平成22年度の研究では、さらに、マウスの ES 細胞由来のマクロファージ (ES-MP) を投与することにより、マウスの大腸がん細胞 (Colon26) の腹膜播種を抑制できた。しかしながら、この実験系において治療効果を得るためには、ES-MP を Colon26 細胞と同時に腹腔内投与する必要があった。腫瘍細胞を投与した翌日以降に iPS-MP を効果した場合には、効果が得られなかった。その理由として、腫瘍細胞が組織中に浸潤した後、ある

いは、組織中で腫瘍を形成した後に、iPS-MP を腹腔内投与しても、腹腔内から腫瘍細胞の存在する部位へ移行するのが困難であるのが理由ではないかと考えた。

そこで、ES-MP を腹腔内投与する際に、ヒアルロニダーゼとコラゲナーゼを同時に投与することにより ES-MP を腫瘍組織中に浸潤しやすくさせることを試みた。まず、腫瘍細胞をマウス腹腔内へ投与し、数日後、腹腔内に腫瘍が形成された後に蛍光色素（PKH 26）で標識した ES-MP を投与した。そして、その翌日、マウスをと殺して腫瘍塊を摘出し、凍結切片を作成して、ES-MP の腹腔内腫瘍組織への浸潤を観察した。その結果、ヒアルロニダーゼとコラゲナーゼを同時に投与することにより、ES-MP の腹腔内腫瘍組織への浸潤が促進されることが確認できた。さらに、ES-MP をヒアルロニダーゼおよびコラゲナーゼと同時に投与することにより、腫瘍細胞をマウスへ投与し、腹腔内に腫瘍細胞が定着した後に治療を開始した場合でも、治療効果が得られることが判明した。

多能性幹細胞由来のマクロファージによるアルツハイマー病治療法の研究

認知症の原因疾患として最も頻度の高い疾患であるアルツハイマー病は、加齢に伴って脳内にアミロイド β タンパクが蓄積することが原因となって発症する。iPS 細胞から、アミロイド β を処理する能力の高い貪食細胞を作成し、これを用いてアルツハイマー病を治療する研究を行っている。ヒトの細胞を移入することが可能な、アルツハイマー病モデルマウス（5XFAD/SCID）を作成し、このマウスの脳室内にアミロイド β を認識し貪食する、ヒト iPS 細胞由来のマクロファージを投与して治療する研究を継続している。

§ 4. 成果発表等

（4-1）原著論文発表

●論文詳細情報

1. Ikeda T, Hirata S, Fukushima S, Matsunaga Y, Ito T, Uchino M, Nishimura Y and Senju S. Dual effects of TRAIL in suppression of autoimmunity: the inhibition of Th1 cells and the promotion of regulatory T cells. J Immunol vol 185, No. 9, pp.5259-5267, 2010 doi: 10.4049/jimmunol.0902797
2. Senju S, Haruta M, Matsumura K, Matsunaga Y, Fukushima S, Ikeda T, Takamatsu K, Irie A, and Nishimura Y. Generation of dendritic cells and macrophages from human induced pluripotent stem cells aiming at cell therapy. Gene Therapy, in press

（4-2）知財出願

- ① 平成 22 年度特許出願件数（国内 1 件）
- ② CREST 研究期間累積件数（国内 3 件）