

先天性高アンモニア血症患者に対するヒト多能性幹細胞を用いた細胞治療の開発

現在、重篤な先天性アンモニア血症患者に対しては生体肝移植が行われている。しかし、患者が低体重であること、移植ドナーの不足などの理由で、治療が遅れ死に至ることがある。我々はヒト多能性幹細胞由来の肝細胞様細胞の移植により、生体肝移植前の高アンモニア血症からくる神経障害などの症状を抑制することを目的とした。

肝臓は、摂取されたタンパク質を分解し、アンモニアを経て無毒な尿素へ変換して尿中へ排泄する機能を持つ。アンモニアが分解されず血中アンモニア濃度が過剰になると、アンモニア中毒状態に陥り、肝性脳症などの意識障害を引き起こす。先天性高アンモニア血症は、先天性に肝臓ミトコンドリア内の尿素回路に存在するアンモニアを分解する酵素に欠損、欠陥があり、アンモニア代謝ができない疾患である。そこで本研究では、アンモニア代謝能を持つ移植可能なヒト多能性幹細胞由来肝細胞様細胞の作製を試みた。臨床応用を目的とするため、分化誘導方法は動物性因子、肝発生を模倣するようなサイトカインを用いず、基質と細胞密度をコントロールすることによる自然発生的誘導法を開発した。本方法で作製した肝細胞様細胞(図1)はヒト肝細胞の形態を示し、肝特異的遺伝子(α -フェトプロテイン、アルブミン、 α -1アンチトリプシン、トリプトファンジオキシゲナーゼ、p450-Cyp3A4)の発現を認め、いくつかの

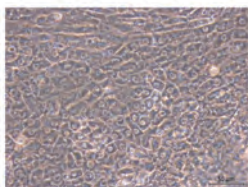
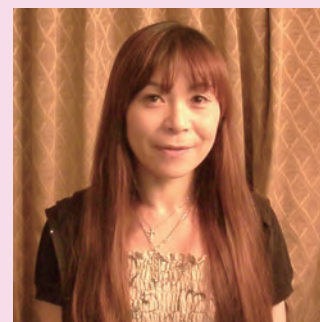


図1 ヒト多能性幹細胞から分化誘導した肝細胞様細胞の形態像

アンモニア代謝酵素遺伝子(オルニチンカルバミルリン酸、アルギナーゼ)の発現も認めた。また、PAS染色により、グリコーゲンの蓄積が1割程度の細胞で認められた。さらに、in vitroでのアンモニア代謝能を示した。これらの細胞を、高アンモニア血症自然発症マウスであるOTCD(オルニチンカルバミルリン酸欠損)/SCIDマウスの脾臓、および肝臓に移植を試みた。in vivoでの効果は未だ検討中であるが、術式などに問題はないようである。

今後は、本分化誘導系における分化効率の向上と、分化誘導細胞のより詳細な特性解析と共に、移植マウスにおける生存率上昇、およびアンモニア代謝能の回復についての更なる検討を予定している。



中村直子

GCOE PD
慶應義塾大学総合医科学研究センター/国立成育医療研究センター研究所

代表論文

*Nakamura N, Saeki K, Mitsumoto M, Matsuyama S, Nishio M, Saeki K, Hasegawa M, Miyagawa Y, Ohkita H, Kiyokawa N, Toyoda M, Akutsu H, Umezawa A, You A. Feeder-Free and Serum-Free Production of Hepatocytes, Cholangiocytes, and Their Proliferation Progenitors from Human Pluripotent Stem Cells: Application to Liver-Specific Functional and Cytotoxic Assays. Cell Reprogram. 2012; 14(2):171-185.

腫瘍微小環境における免疫抑制の分子メカニズム

近年、ヒト腫瘍抗原が同定され、様々な免疫療法の臨床試験が実施されているが、より高い抗腫瘍効果を目指しさらなる改善が必要である。免疫療法の臨床効果を減弱する原因の一つは、免疫抑制的な腫瘍微小環境が引き起こす腫瘍免疫回避であると考えられている。癌組織には癌細胞、免疫細胞、間質細胞の三者が存在し癌組織特有の微小環境を構成している(図)。我々は、この三者の相互作用を検討し、癌微小環境における免疫動態、特に免疫抑制の分子機構を解明すること、更に各々の機構を標的とした免疫抑制解除法の開発を目的に研究してきた。まず、がん細胞においては、がん細胞で恒常的に活性化しているシグナル伝達経路が、増殖や転移など以外にも、腫瘍免疫逃避に関与する可能性を検証した。その結果、悪性黒色腫において、Wnt/ β -catenin シグナル経路の亢進により、免疫抑制性のIL10 が異所性に産生されること(Yaguchi et al. J Immunol 2012)、Histatin-1 という唾液腺特異的分子も異所性に発現され、この分子には、これまで知られていなかった、免疫抑制作用があること、そしてこれらの分子の異所性発現の結果として、樹状細胞(DC)や細胞傷害性T細胞(CTL)の機能が抑制されていることを発見し、Wnt/ β -catenin シグナル経路が腫瘍免疫回避の一原因となっていることを明らかにした。次に、間質細胞に関しては、特に間葉系幹細胞(MSC)に注目して解析を行った。マウス骨髄から直接分離した新鮮MSCを培養した細胞は、様々な免疫抑制分子を発現し、腫瘍と共にマウスに移植するとその増殖を速めた。また、腫瘍間質組織中にも骨髄のMSCと同様の表面マーカーを持つ細胞集団が存在し、そのマーカーを発現し



谷口智憲

GCOE PD →
慶應義塾大学医学部 先端医科学研究所 細胞情報研究部門 助教

ない細胞に比べ、腫瘍細胞の生存をより強力にサポートする能力が高い可能性を見出した。以上より、腫瘍細胞で亢進しているWnt/ β -cateninのようなシグナル伝達経路、また腫瘍の間質細胞は、腫瘍免疫回避の解除のための治療標的となることが示唆され、現在その開発を進めている。

(図)がん微小環境では、癌細胞や間質の細胞によって、様々な免疫抑制分子が産生され、様々な抑制性の免疫細胞が集積する。その結果、抗腫瘍免疫応答に必要な、樹状細胞やCD8⁺T細胞の機能が抑制されている。(Yaguchi et al. Int J Hematol. 93 294 2011より)



代表論文

Yaguchi et al. Immune suppression and resistance mediated by constitutive activation of Wnt/ β -catenin signaling in human melanoma cells. J Immunol. 189 2110-7 2012