



慶應義塾大学



2024年4月26日

報道関係者各位

信州大学
慶應義塾大学
Heartseed 株式会社

ヒト iPS 細胞から作製した心筋球移植による心臓再生に成功 －移植後の不整脈を抑えた細胞移植治療が可能に－

信州大学医学部再生医科学教室の柴祐司教授、同医学部循環器内科学教室の桑原宏一郎教授（以下、信州大）、慶應義塾大学医学部内科学教室（循環器）（以下、慶應大）の遠山周吾講師、福田恵一名誉教授らの研究グループは、Heartseed 株式会社との共同研究により、臨床治療用のヒト人工多能性幹細胞（iPS 細胞）（注1）から心筋球（注2）を作製し、心筋梗塞を発症させたカニクイザル（注3）の心臓に移植したところ、移植した心筋細胞が長期に渡って生着し、サル的心機能を回復させることに成功しました。また、従来報告と比較して移植後に発生する心室性不整脈（注4）の副作用が格段に少ないことを明らかにしました。

心筋梗塞などが重症化すると数億個もの心筋細胞が失われてしまいますが、ヒトを含む哺乳類は失われた心筋細胞を元に戻す自己再生能力を持っていません。ヒト iPS 細胞は、理論的に体を構成するすべての細胞種へと分化できる多能性を持つことから、このような疾患に対し、体外で作製した治療細胞を体内に移入することによる「再生医療」の実現が期待されています。しかし、ヒト iPS 細胞から分化した心筋細胞を移植後に心室性不整脈が発生することが実現化の大きなハードルになっていました。

今回、共同研究グループは、まず臨床用のヒト iPS 細胞から臨床グレードの培養液を用いて、高純度の心筋細胞（主に心室筋）を製造し、微小心筋組織塊（心筋球）を作製しました。心筋梗塞を発症したカニクイザルにその心筋球を移植したところ、移植した心筋細胞が長期に渡って生着し、サル的心機能を回復させることに成功しました。また、従来報告と比較して移植後に発生する心室性不整脈の副作用が格段に少ないことを明らかにしました。

この研究成果は、移植後に発生する心室性不整脈という大きな課題を解決し、心臓の再生医療の実現化を大きく加速するものと考えます。また、本研究成果に基づき、ヒトを対象とした臨床治験（LAPiS 試験）が既に開始されております。本研究成果は 2024 年 4 月 26 日午前 5 時（米国東部時間）に、米国心臓協会（American Heart Association）の科学雑誌「Circulation（オンライン版）」に掲載されました。

1. 研究の背景

心筋梗塞を含む全ての心疾患の終末像である心不全患者が国内外で増加しています。重症心不全に対する根本的治療法は心臓移植しかなく、ドナー心臓の不足が社会的課題となっています。そこで、ヒト iPS 細胞を用いた心筋再生治療は心臓移植に代わる治療法として注目されていますが、移植後の腫瘍化および不整脈のリスクが臨床応用における大きなハードルとなっていました。腫瘍化のリスクに関しては、慶應大のグループが、心筋細胞のみを純化精製する手法を開発することで、リスクを低減することに成功しています (Tohyama S, et al. Cell Metabolism 2016, iScience 2020)。

一方で、移植後の不整脈のリスクに関しては、信州大学のグループにより、これまで凍結保存された心筋細胞を様々な動物モデルに移植し、移植直後から約数か月間に渡って、心室頻拍 (VT) 等の不整脈が出現することが明らかにされてきましたが (Shiba Y, Nature 2016)、具体的な解決策は存在しませんでした。

今回、本共同研究チームは、臨床用のヒト iPS 細胞から臨床グレードの培養液を用いて、高純度の心筋細胞 (主に心室筋) を製造し、心筋球を作製しました。有効性と安全性をヒトに最も近い霊長類モデルで検証するために、心筋梗塞を発症させたカニクイザルにその心筋球を移植したところ、移植した心筋細胞が長期に渡って生着し、サル的心機能を回復させることに成功しました。また、従来報告と比較して移植後に発生する心室性不整脈の副作用が格段に少ないことを明らかにしました。

この研究成果は、移植後に発生する心室性不整脈という大きな課題を解決し、心臓の再生医療の実現化を大きく加速するものと考えます。

2. 研究の成果

(1) 臨床用ヒト iPS 細胞と同等の iPS 細胞から心筋細胞および心筋球を作製しました。臨床用 iPS 細胞と同等の iPS 細胞から心筋細胞へ分化誘導を行い、純化精製を行うことにより 99%以上の純度の心筋細胞が得られました。作製した心筋細胞は、パッチクランプ法による解析により心室筋タイプの活動電位パターンを示し、 β アドレナリン受容体アゴニストであるイソプロテレノール、カリウムチャンネルブロッカーであるアミオダロン、HCN ブロッカーであるイバブラジンに対して用量依存的に応答することを確認しました。免疫染色により、ほとんどの細胞が α -アクチニン陽性、ビメンチン陰性の心筋細胞であり、それらの多くは心室筋マーカーである MLC2V を発現していました。また、コネクシン 43 や N-カドヘリン等の接着タンパクを豊富に発現していました。

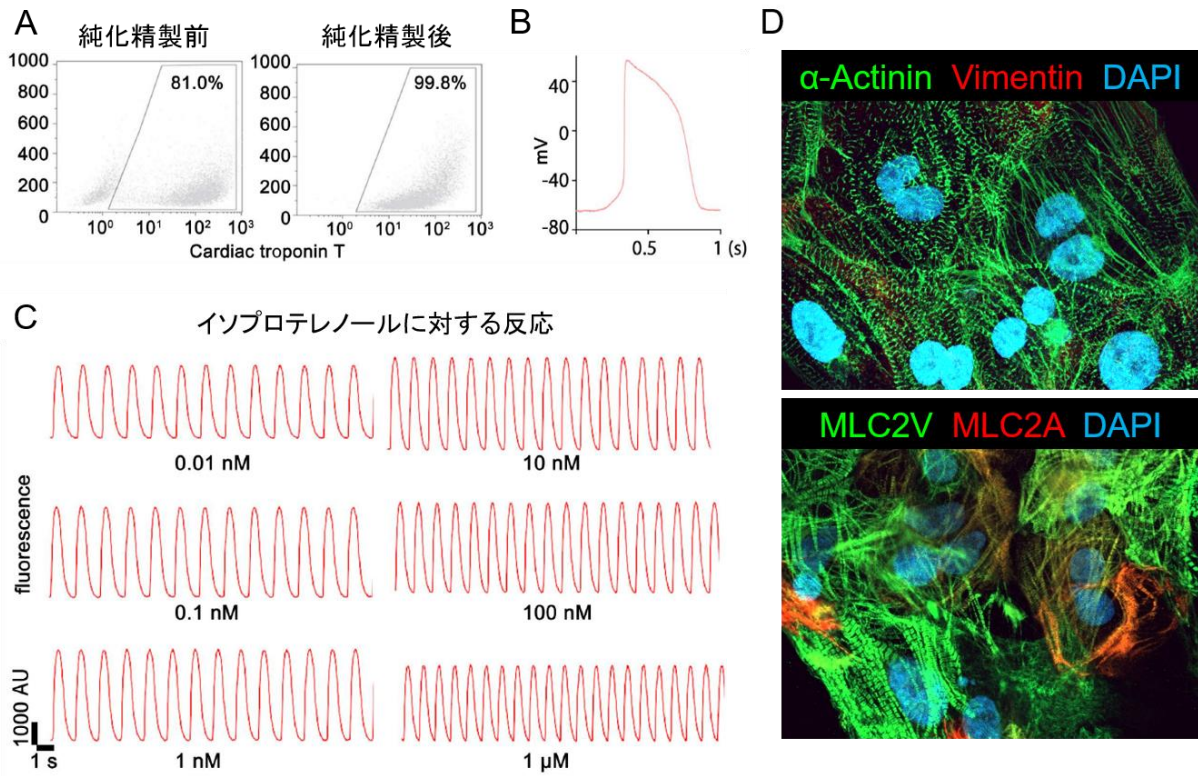
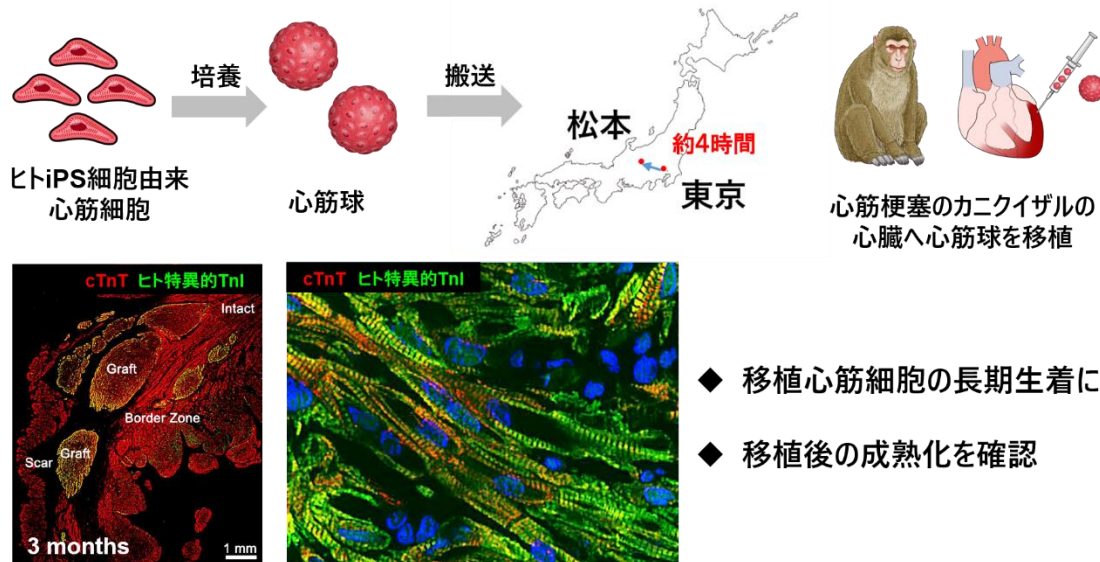


図1 臨床用ヒト iPS 細胞から作製した心筋細胞のプロファイル

- A. 純化精製前後の心筋含有率（トロポニン T 陽性細胞率）：純化精製後の心筋含有率は 99%以上でした。
- B. 純化精製後の心筋細胞の活動電位波形：純化精製後の心筋細胞は心室筋タイプの活動電位波形を示しました。
- C. β アドレナリン受容体アゴニストであるイソプレテレンールに対する反応：純化精製後の心筋細胞は低濃度から応答し、濃度依存的に心拍数が増加することを確認しました。
- D. 純化精製後の心筋細胞における免疫染色データ：純化精製後の心筋細胞はほとんどの細胞が α -アクチニン陽性、ビメンチン陰性の心筋細胞であり、それらの多くは心室筋マーカーである MLC2V を発現していました。

(2) 心筋球を心筋梗塞のカニクイザル心臓に移植し、長期生着および成熟化を確認しました。

10 匹のカニクイザルを用意し、生理食塩水投与群と 6×10^7 個の上述の心筋細胞を含む心筋の 2 群に無作為に割り付け、免疫抑制剤投与下で移植を行いました。まず、心筋球を細胞生産場所である慶應大から 230km 離れた動物施設（株式会社イナリサーチ）まで 4°C 下で約 4 時間かけて輸送したところ、生存率が保たれていることを確認しました。輸送した心筋球を心筋梗塞のカニクイザルの心臓に移植し、12 週間後に組織学的解析を行ったところ、移植細胞は癒痕、境界域、それ以外の領域に存在していました。ほとんどの移植心筋細胞は成熟マーカーである cTnI を発現していましたが、宿主の心筋細胞とは異なり、その一部はまだ ssTnI を発現しており、移植心筋細胞が完全には成熟していないことを示していました。また、移植細胞はすべて cTnT 陽性でしたが、ほとんどの心筋細胞は MLC2V 陽性の成熟心室サブタイプでした。さらに、移植心筋細胞はコネキシン 43 とカドヘリンを豊富に発現しており、宿主由来の微小な血管が入り込んでいることを確認しました。



- ◆ 移植心筋細胞の長期生着に成功
- ◆ 移植後の成熟化を確認

図2 ヒト iPS 細胞から作製した心筋球の搬送と移植後の生着

心筋球を細胞生産場所である慶應大から 230km 離れた動物施設まで 4°C下で約 4 時間かけて輸送したところ、生存率が保たれていることを確認しました。輸送した心筋球を心筋梗塞のカニクイザルの心臓に移植し、12 週間後に組織学的解析を行うことにより、移植心筋細胞の長期生着および移植後の成熟化を確認しました。

(3) 心筋球移植後の不整脈の発生頻度は極めて少なく、傷害心臓の機能を回復させました。

心機能を評価するために、CT と心エコー検査を行ったところ、左室駆出率は移植後 4 週間および 12 週間において、生理食塩水を投与した群よりも有意に高いことを確認しました。また、移植後の不整脈の発生頻度をホルター心電図検査により経時的に観察したところ、心筋球を投与した群において、2 頭のみ短時間かつ一過性に持続性 VT を認めましたが、14 日目以降は持続性 VT は観察されませんでした。VT の発生率が最も高かった個体においても、VT の最長持続時間は 1 日のわずか 3.2%であり、従来の報告と比較して極めて少ないことがわかりました。

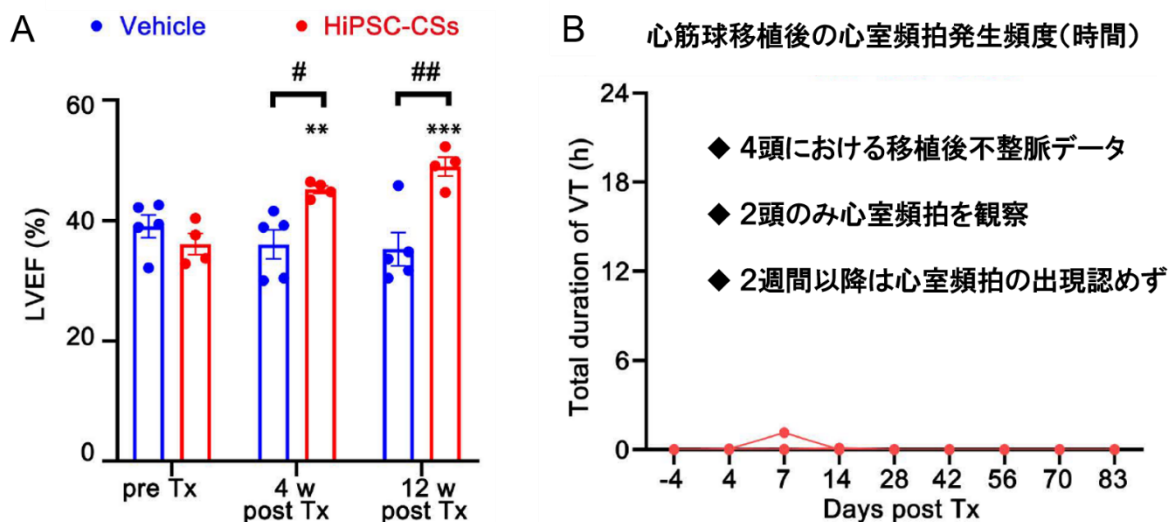


図3 心筋球移植後の心機能および心室頻拍発生頻度

A μCT による心機能評価：心筋球移植群において心機能が有意に改善することを確認しました。

B ホルター心電図による不整脈発生頻度の評価：心筋球を投与した群では、2 頭のみ短時間かつ一過性に持続性心室頻拍 (VT) を認めましたが、14 日目以降は持続性 VT は観察されませんでした。

3. 今後の展開と本研究の持つ意味

本研究で用いられた心筋球作製プロトコールは、ヒトへの臨床応用を前提としたものであります。本研究成果によって、ヒト iPS 細胞由来再生心筋細胞を心臓に直接移植することにより心不全を改善する治療法がより臨床的に現実的なものになったと考えられます。本研究成果に基づき、同じ心筋球を用いたヒトへの治験（LAPiS 試験）は既に開始され、現在進行中です。本研究では、心筋球の搬送についても検証を行っており、信州大学等の遠方の施設においても、心筋球の移植治療が可能となることを示すものであり、今後の臨床応用が期待されています。

4. 特記事項

本研究は、主に下記機関より資金的支援を受け実施されました。

JSPS 科研費 JP21H02910, JP19K22626, JP20H03768)

神奈川県立産業技術総合研究所（KISTEC） 戦略的研究シーズ育成事業（研究代表者：遠山周吾）

Heartseed株式会社

5. 論文

英文タイトル：Regeneration of non-human primate hearts with human induced pluripotent stem cell-derived cardiac spheroids

タイトル和訳：ヒト iPS 細胞由来心筋スフェロイドを用いた霊長類における心筋再生

著者名：Hideki Kobayashi, Shugo Tohyama, Hajime Ichimura, Noburo Ohashi, Shuji Chino, Yusuke Soma, Hidenori Tani, Yuki Tanaka, Xiao Yang, Naoko Shiba, Shin Kadota, Kotaro Haga, Taijun Moriwaki, Yuika Morita-Umei, Tomohiko C Umei, Otoya Sekine, Yoshikazu Kishino, Hideaki Kanazawa, Hiroyuki Kawagishi, Mitsuhiko Yamada, Kazumasa Narita, Takafumi Naito, Tatsuichiro Seto, Koichiro Kuwahara, Yuji Shiba, Keiichi Fukuda

掲載誌：Circulation, 2024（e-pub online）

DOI：

<参考文献>

Tohyama S, et al. Glutamine Oxidation is Indispensable for Survival of Human Pluripotent Stem Cells. *Cell Metabolism*. 2016;23:663–674.

Tanosaki S, et al. Fatty Acid Synthesis is Indispensable for Survival of Human Pluripotent Stem Cells. *iScience*. 2020;23:101535.

Shiba Y, et al. Allogeneic Transplantation of iPS Cell-Derived Cardiomyocytes Regenerates Primate Hearts. *Nature*. 2016; 538: 388–391.

【用語解説】

- (注1) ヒト人工多能性幹細胞（ヒトiPS細胞：human induced pluripotent stem cell）：体細胞に特定因子を導入することにより樹立される、胚性幹細胞（ES細胞）に類似した多能性幹細胞。多能性を持つことから心筋細胞への分化が可能であり、リソースが限られる心筋細胞を大量に作製して創薬研究に応用したり、遺伝性などの患者特性を有する心筋細胞を培養皿上で作製することで疾患の研究に応用することが期待される。
- (注2) 心筋球：複数の心筋細胞の塊。一つ的心筋球には約1000個の心筋細胞が含まれ、心筋スフェロイドともいわれる。
- (注3) カニクイザル：東南アジアを中心に生息する中型のサル。実験動物としてしばしば使用される。
- (注4) 心室性不整脈：心室から発生する頻脈。持続すると致命的となることもある。心筋細胞を移植した後に出現することが報告されている。

※ご取材の際には、事前に下記までご一報くださいますようお願い申し上げます。

【本発表資料のお問い合わせ先】

サルを用いた動物実験に関する問い合わせ
信州大学医学部再生医科学教室
バイオメディカル研究所
教授 柴 祐司
Tel：0263-37-3535 Fax：0263-37-3549
E-mail：regeneration@shinshu-u.ac.jp

移植した心筋細胞（球）に関する問い合わせ
慶應義塾大学医学部循環器内科学教室
講師 遠山周吾（とおやま しゅうご）
Tel：03-5708-7839 Fax：03-5708-7864
E-mail：shugotohyama@keio.jp

治験等の情報に関する問い合わせ
Heartseed 株式会社
Tel：03-6380-1068 Fax：03-6457-4895
E-mail：press@heartseed.jp

【本リリースの配信元】

国立大学法人信州大学 総務部総務課広報室
Tel：0263-37-3056 Fax：0263-37-2182
E-mail：shinhp@shinshu-u.ac.jp
HP：<https://www.shinshu-u.ac.jp/>

慶應義塾大学
信濃町キャンパス総務課：飯塚・奈良・岸
〒160-8582 東京都新宿区信濃町 35
Tel：03-5363-3611 Fax：03-5363-3612
E-mail：med-koho@adst.keio.ac.jp
HP：<http://www.med.keio.ac.jp/>

Heartseed 株式会社
取締役 COO・広報担当 安井季久央
〒105-0023 東京都港区芝浦 1-2-3 シーバンス S 館 5 階
Tel：03-6380-1068 Fax：03-6457-4895
E-mail：press@heartseed.jp

※本リリースのカラー版をご希望の方は上記までご連絡ください。