

M20221031_04_EPFL

幹細胞を簡素化し、黄斑変性を治療

スイス連邦工科大学(EPFL)と Karolinska Institute の研究者は、ヒトの ES 細胞 (胚幹細胞)を網膜細胞に成長させる手順をテストし、確認した。これは、加齢黄斑変性症(AMD)などの眼病治療が目的である。

年と共にわれわれの目も老化する、一般に、これは、われわれの視覚に起こる変化と新しいメガネに関連するが、加齢に伴う眼の問題のより深刻な形態がある。その 1 つが加齢黄斑変性症、鮮明な視覚、細部を区別することができる眼の黒い部分、黄斑に影響を与える。結果は、われわれの視野の中心部分のボヤケである。

黄斑は、目の網膜の部分であり、主に眼の視覚細胞で構成される感光性組織。網膜は、網膜色素上皮(RPE)という層も含む。これには複数の重要機能がある。光吸収、細胞老廃物の掃除、眼の他の細胞を健康に保つこと。

RPE の細胞は、眼の光受容細胞に栄養を与え、維持する。加齢黄斑変性症の最も有望な治療の 1 つが、老化し変性した RPE 細胞をヒトの ES 細胞から成長した新しい細胞に置き換える理由である。

研究者は、幹細胞を RPE に変換するいくつかの方法を提案しているが、時間経過にともない細胞がこれらの刺激にどのように反応するかについてのわれわれの知見には、まだギャップがある。例えば、手順によっては数ヶ月かかるものがあるが、最大、1 年かかるものもある。とは言え、研究者は、その期間に正確に何が起きているかについては分かっていない。

混合細胞集団

「臨床試験で提案された分化プロトコルのいずれも、これまでに単細胞レベルで精査されたものはなかった。それらが網膜色素細胞となることは分かっているが、細胞がどのように進化してその状態になるかはミステリーのままである」と、EPFL's Life Sciences Independent Research (ELISIR) プログラムの研究者、Dr Gioele La Manno は話している。

「全般的に、その分野は分化の所産を非常に重視しているので、辿った経路は見過ごされることがあった。その分野が進歩するには、これらの手順で起きている

このダイナミクス面の理解が重要である。成熟への道は、最終状態と同様に重要である、例えば、処置の安全性、細胞純度の改善、製造時間の低減」。

幹細胞が RPE 細胞に成長する過程を追跡

La Manno は現在、Karolinska Institute (Sweden)で Fredrik Lanner 教授とともに研究を主導している。人の ES 細胞を RPE 細胞に特殊化する手順を描き出す。これは、実際に臨床利用を意図している。チームの研究は、そのプロトコルが安全で効率的な多能性幹細胞ベースの加齢黄斑変性治療を展開できることを示している。研究成果は、**Stem Cell Reports** に発表された。

「標準的な方法、定量的 PCR やバルク RNA-seq は、大きな細胞群からの RNAs の平均的発現を捉える。混合細胞集団では、これらの計測は、個々の細胞間の重要な差を見えなくさせる。これは、そのプロセスが正しく広がっているかどうかを知るのに重要である」と EPFL 博士課程学生、論文の主筆の一人、Alex Lederer は話している。その代わりに研究チームは、単細胞 RNA 配列 (scRNA-seq) という技術を使った。これは、個々の細胞で全ての活性遺伝子を所定時間で検出できる。

中間状態を見る

scRNA-seq を使い研究チームは、分化プロトコルを通して個人の ES 細胞の遺伝子発現プロファイル全体を研究することができた。これは、全体で 60 日かかる。これによりチームは、集団内で、それらが網膜色素細胞に成長するにつれて全ての過渡状態をマップアウト(図示)できた。しかし、そのプロトコルを最適化し、非-RPE 細胞の成長の抑制もできた。したがって、細胞集団の汚染形成を防ぐことができた。「目的は、移植時の混合細胞集団の阻止である。また、最終点の細胞が、患者の目からの元の RPE 細胞に類似していることを確実にすることである」(Lederer)。

チームが見いだしたことは、RPE 細胞になる過程で幹細胞は、初期胚発達と非常に似たプロセスを経験すること。この間、細胞培養は、「ロストラル胚パタニング」を始めた、胚の神経管を発展させるプロセスである。これは、さらに進んで、その脳、視覚、聴覚、味覚などの感覚系になる。このパタニングの後、幹細胞は、RPE 細胞に成熟し始めた。

眼から眼:動物モデルで RPE 細胞を移植

分化プロトコルのポイントは、患者の網膜に移植できる RPE 細胞の純粋集団を生成し、黄斑変性を減速させること。したがってチームは、単細胞 RNA 配列 (scRNA-seq) でモニタしていた細胞集団を 2 匹のニュージーランドの白アルビノーウサギの網膜下腔に移植した。これらは、「大きな眼の動物モデル」と研究者が見なしていたものである。手術は、Northern Stockholm Animal Experimental Ethics Committee の承認を得て行われた。

研究から分かったことは、その手順が純粋 RPE 細胞群を作り出しただけでなく、網膜下腔に移植された後もそれらの細胞が成熟を続けていることである。「分化手順は、加齢黄斑変性患者に安全で効率的な多能性幹細胞ベース治療となることをわれわれの研究は示している」と Dr Fredrik Lanner は話している。同氏は現在、その手順が間もなく臨床で使えるように確認しているところである。

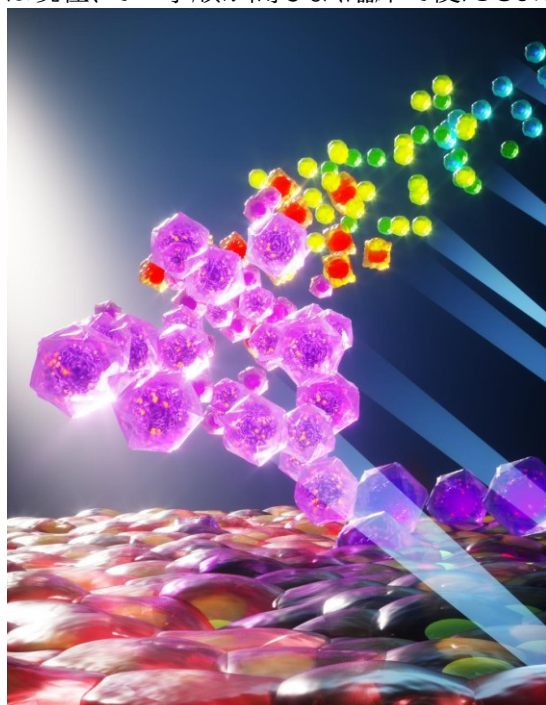


図 急性黄斑変性治療のため、治療利用でヒト ES 細胞の網膜色素上皮へ分化。「スポットライト」は、単細胞 RNA 配列の利用を示している。早期、中期、後期の網膜色素上皮で、細胞の遺伝子発現状態の差を明らかにする(Credit: Ella Maru Studio)。