

多能性幹細胞を用いた 心臓病の解明と治療方法の開発

湯浅 慎介

慶應義塾大学医学部循環器内科

多能性幹細胞は古くから医学研究への応用が期待されていた¹⁾。人工多能性幹 (iPS) 細胞が開発されるまでの多能性幹細胞としては胚性幹 (ES) 細胞が主流であり、ES細胞を用いた循環器病研究を行うための基盤技術の開発は十分ではなかった。そこで我々は多能性幹細胞から心筋細胞への分化誘導方法の開発や、心筋細胞分化の分子機序の解明などを行った²⁻⁴⁾。2006年に京都大学山中教授らによりマウスiPS細胞の樹立が報告され⁵⁾、翌2007年にはヒトiPS細胞の樹立が報告された⁶⁾。ヒトiPS細胞の登場により、基礎研究だけではなく、早期の臨床応用が可能ではないかと期待が高まり、世界中で爆発的にiPS細胞研究が進み始めた⁷⁾。患者に由来するiPS細胞を用いて心不全などを対象とした再生医療の開発に強い期待が寄せられていた。一方、遺伝性疾患を有する患者から樹立されたiPS細胞は患者遺伝情報を受け継いでおり、遺伝性疾患の疾患モデルの開発が可能ではないかと期待された。また当初、iPS細胞は皮膚線維芽細胞から樹立されていたが、皮膚線維芽細胞を得るためには侵襲的な処置が必要であり、より侵襲性の低い手法の開発が望まれていた。そこで我々はヒト末梢血からiPS細胞を樹立する方法を開発した⁸⁻⁹⁾。これら基盤技術の開発を通して、世界中で多能性幹細胞を用いた心臓病の解明と治療方法の開発が盛んに行われるようになった。

疾患特異的iPS細胞研究は、遺伝性疾患を有する患者に由来するiPS細胞を用いた研究である。樹立されたiPS細胞は、疾患の原因遺伝子の他に様々な多型等も受け継いでおり、分化細胞は患者固有の表現型を受け継ぐことが予想される。遺伝性心臓疾患患者から体細胞の供与を受けiPS細胞を樹立し、培養皿上で心筋細胞を分

化誘導することにより、生きたヒト心疾患心筋細胞を無尽蔵に作る事が可能である。この病気のヒト心筋細胞と正常のヒト心筋細胞とを比較することによる病態解明や、同細胞を用いた薬剤開発が期待されている。2010年に最初に報告された循環器疾患特異的iPS細胞研究は、遺伝性QT延長症候群の表現型がiPS細胞に由来する心筋細胞で再現されたものであった¹⁰⁾。我々も、遺伝性不整脈疾患や心筋症などを中心に様々な疾患を対象として、疾患特異的iPS細胞を用いた病態解明と治療方法の開発研究を行ってきた¹¹⁻¹⁶⁾。

機械学習は人工知能の研究課題の一つで、明示的にプログラムで指示せずに、コンピューターに学習させる技術のことである。近年、機械学習は性能と汎用性が劇的に向上し、様々な問題が解決可能となってきた¹⁷⁾。iPS細胞を効率的に用いるには未だ問題点が残されている。iPS細胞は作製した細胞株ごとに性質が異なり、目的とする細胞への分化誘導効率も大きく異なる¹⁸⁾。さらに同一の細胞株であっても分化誘導するたびに分化誘導効率は異なる。多能性幹細胞は、様々な細胞に分化誘導することが可能であり広い応用範囲があるが、単一の細胞集団のみを分化誘導することは困難で、目的細胞を分化誘導した際には様々な細胞の中に目的の細胞が存在する。再生医療や創薬研究へ用いる際には均質で良質な分化細胞を得る必要があり、常に何らかの方法で分化細胞が適切に誘導されていることを確認する必要がある。我々は機械学習を用いて、iPS細胞に由来する血管内皮細胞の自動判別法を開発した¹⁹⁾。さらに、細胞種ではなく細胞の状態の判定として、健康な血管内皮細胞と病的な血管内皮細胞の自動判別法を開発を行い、薬剤スクリーニング系の構築を行った²⁰⁾。

これらの基盤技術を開発することにより、幅広い循環器研究を推し進め、未だ明らかになっていない難治性循環器疾患の病態解明を行い、革新的な治療法方法の開発を行っていききたい。

参考文献

- 1) Fukuda K and Yuasa S. Stem Cells as a Source of Regenerative Cardiomyocytes. *Circulation Research*. 2006;98:1002-1013.
- 2) Yuasa S, Itabashi Y, Koshimizu U, Tanaka T, Sugimura K, Kinoshita M, Hattori F, Fukami S-i, Shimazaki T, Okano H, Ogawa S and Fukuda K. Transient inhibition of BMP signaling by Noggin induces cardiomyocyte differentiation of mouse embryonic stem cells. *Nature Biotechnology*. 2005;23:607-611.
- 3) Yuasa S, Onizuka T, Shimoji K, Ohno Y, Kageyama T, Yoon SH, Egashira T, Seki T, Hashimoto H, Nishiyama T, Kaneda R, Murata M, Hattori F, Makino S, Sano M, Ogawa S, Prall OWJ, Harvey RP and Fukuda K. *Zac1* Is an Essential Transcription Factor for Cardiac Morphogenesis. *Circulation Research*. 2010;106:1083-1091.
- 4) Shimoji K, Yuasa S, Onizuka T, Hattori F, Tanaka T, Hara M, Ohno Y, Chen H, Egasgira T, Seki T, Yae K, Koshimizu U, Ogawa S and Fukuda K. G-CSF Promotes the Proliferation of Developing Cardiomyocytes In Vivo and in Derivation from ESCs and iPSCs. *Cell Stem Cell*. 2010;6:227-237.
- 5) Takahashi K and Yamanaka S. Induction of Pluripotent Stem Cells from Mouse Embryonic and Adult Fibroblast Cultures by Defined Factors. *Cell*. 2006;126:663-676.
- 6) Takahashi K, Tanabe K, Ohnuki M, Narita M, Ichisaka T, Tomoda K and Yamanaka S. Induction of Pluripotent Stem Cells from Adult Human Fibroblasts by Defined Factors. *Cell*. 2007;131:861-872.
- 7) Yuasa S and Fukuda K. Recent advances in cardiovascular regenerative medicine: the induced pluripotent stem cell era. *Expert Review of Cardiovascular Therapy*. 2008;6:803-810.
- 8) Seki T, Yuasa S, Oda M, Egashira T, Yae K, Kusumoto D, Nakata H, Tohyama S, Hashimoto H, Kodaira M, Okada Y, Seimiya H, Fusaki N, Hasegawa M and Fukuda K. Generation of Induced Pluripotent Stem Cells from Human Terminally Differentiated Circulating T Cells. *Cell Stem Cell*. 2010;7:11-14.
- 9) Seki T, Yuasa S and Fukuda K. Generation of induced pluripotent stem cells from a small amount of human peripheral blood using a combination of activated T cells and Sendai virus. *Nat Protocols*. 2012;7:718-728.
- 10) Moretti A, Bellin M, Welling A, Jung CB, Lam JT, Bott-Flügel L, Dorn T, Goedel A, Höhnke C, Hofmann F, Seyfarth M, Sinnecker D, Schömig A and Laugwitz K-L. Patient-Specific Induced Pluripotent Stem-Cell Models for Long-QT Syndrome. *New England Journal of Medicine*. 2010;363:1397-1409.
- 11) Egashira T, Yuasa S, Suzuki T, Aizawa Y, Yamakawa H, Matsushashi T, Ohno Y, Tohyama S, Okata S, Seki T, Kuroda Y, Yae K, Hashimoto H, Tanaka T, Hattori F, Sato T, Miyoshi S, Takatsuki S, Murata M, Kurokawa J, Furukawa T, Makita N, Aiba T, Shimizu W, Horie M, Kamiya K, Kodama I, Ogawa S and Fukuda K. Disease characterization using LQTS-specific induced pluripotent stem cells. *Cardiovascular Research*. 2012;95:419-429.
- 12) Okata S, Yuasa S, Suzuki T, Ito S, Makita N, Yoshida T, Li M, Kurokawa J, Seki T, Egashira T, Aizawa Y, Kodaira M, Motoda C, Yozu G, Shimojima M, Hayashiji N, Hashimoto H, Kuroda Y, Tanaka A, Murata M, Aiba T, Shimizu W, Horie M, Kamiya K, Furukawa T and Fukuda K. Embryonic type Na⁺ channel β -subunit, SCN3B masks the disease phenotype of Brugada syndrome. *Scientific Reports*. 2016;6:34198.
- 13) Kuroda Y, Yuasa S, Watanabe Y, Ito S, Egashira T, Seki T, Hattori T, Ohno S, Kodaira M, Suzuki T, Hashimoto H, Okata S, Tanaka A, Aizawa Y, Murata M, Aiba T, Makita N, Furukawa T, Shimizu W, Kodama I, Ogawa S, Kokubun N, Horigome H, Horie

- M, Kamiya K and Fukuda K. Flecainide ameliorates arrhythmogenicity through NCX flux in Andersen-Tawil syndrome-iPS cell-derived cardiomyocytes. *Biochemistry and Biophysics Reports*. 2017;9:245-256.
- 14) Tanaka A, Yuasa S, Mearini G, Egashira T, Seki T, Kodaira M, Kusumoto D, Kuroda Y, Okata S, Suzuki T, Inohara T, Arimura T, Makino S, Kimura K, Kimura A, Furukawa T, Carrier L, Node K and Fukuda K. Endothelin - 1 Induces Myofibrillar Disarray and Contractile Vector Variability in Hypertrophic Cardiomyopathy-Induced Pluripotent Stem Cell-Derived Cardiomyocytes. *Journal of the American Heart Association*. 2014;3.
- 15) Kodaira M, Hatakeyama H, Yuasa S, Seki T, Egashira T, Tohyama S, Kuroda Y, Tanaka A, Okata S, Hashimoto H, Kusumoto D, Kunitomi A, Takei M, Kashimura S, Suzuki T, Yozu G, Shimojima M, Motoda C, Hayashiji N, Saito Y, Goto Y-i and Fukuda K. Impaired respiratory function in MELAS-induced pluripotent stem cells with high heteroplasmy levels. *FEBS Open Bio*. 2015;5:219-225.
- 16) Shimojima M, Yuasa S, Motoda C, Yozu G, Nagai T, Ito S, Lachmann M, Kashimura S, Takei M, Kusumoto D, Kunitomi A, Hayashiji N, Seki T, Tohyama S, Hashimoto H, Kodaira M, Egashira T, Hayashi K, Nakanishi C, Sakata K, Yamagishi M and Fukuda K. Emerin plays a crucial role in nuclear invagination and in the nuclear calcium transient. *Scientific Reports*. 2017;7:44312.
- 17) Kusumoto D and Yuasa S. The application of convolutional neural network to stem cell biology. *Inflammation and Regeneration*. 2019;39:14.
- 18) Kunitomi A, Yuasa S, Sugiyama F, Saito Y, Seki T, Kusumoto D, Kashimura S, Takei M, Tohyama S, Hashimoto H, Egashira T, Tanimoto Y, Mizuno S, Tanaka S, Okuno H, Yamazawa K, Watanabe H, Oda M, Kaneda R, Matsuzaki Y, Nagai T, Okano H, Yagami K-i, Tanaka M and Fukuda K. H1foo Has a Pivotal Role in Qualifying Induced Pluripotent Stem Cells. *Stem Cell Reports*. 2016;6:825-833.
- 19) Kusumoto D, Lachmann M, Kunihiro T, Yuasa S, Kishino Y, Kimura M, Katsuki T, Itoh S, Seki T and Fukuda K. Automated Deep Learning-Based System to Identify Endothelial Cells Derived from Induced Pluripotent Stem Cells. *Stem Cell Reports*. 2018;10:1687-1695.
- 20) Kusumoto D, Seki T, Sawada H, Kunitomi A, Katsuki T, Kimura M, Ito S, Komuro J, Hashimoto H, Fukuda K and Yuasa S. Anti-senescent drug screening by deep learning-based morphology senescence scoring. *Nature Communications*. 2021;12:257.