

特集：再生医療と栄養

網膜の再生医療

万代道子

神戸市立神戸アイセンター病院

(令和5年11月7日受付) (令和5年11月17日受理)

はじめに

再生医療は, embryonic stem cell (ES 細胞) や induced pluripotent stem cells (iPS 細胞) からさまざまな臓器オルガノイド及びその細胞の分化技術の発展に伴い, 病態解析や薬剤スクリーニング, 移植による細胞治療の分野において, その実用的な応用が注目されるようになった。とりわけ眼科では, 外からアクセスしやすい臓器であることや, 前眼部から眼底まで, 詳細に観察するイメージング手法が発展してきたこと, また細胞治療を行うにしても小さな組織であることから必要細胞数が他の臓器治療に比べて少量で済むことなどから, 早期より細胞治療による再生医療が試みられてきた。網膜は, 眼底で視覚情報を最初に受け取ってシグナル処理を行う組織であり, 光を受け取る視細胞, 情報を処理しつつ伝える双極細胞をはじめとする2次ニューロン, 脳に情報を伝える視神経の中に軸索を伸ばす神経節細胞(RGC細胞)の3層構造から成り立っている。さらに眼内の免疫環境

を維持し, 視細胞の光需要部位である外節の貪食や, 視細胞が機能するために必須である視物質をリサイクルするシステムであるレチノイドサイクルの反応の一部を担う, 網膜色素上皮(RPE)細胞は網膜の裏打ちをするように存在し, 網膜の機能を維持している(図1)。これらの網膜及びRPE細胞は相互的に維持し合う関係にあり, いずれか片方が機能不全に陥ると, いずれは両者が変性していく病態も多く見受けられる。

われわれが一時的に網膜やRPE細胞が変性または機能不全に陥る病態に対し, これまでに臨床研究を行ってきており, ここで簡単に紹介する。

加齢黄斑変性に対するRPE移植

加齢黄斑変性は加齢に伴うRPE細胞の機能低下が原因の一つとされており, 日本では滲出型といって, 脈絡膜からの新生血管を伴うタイプが多い。現在の第一選択としては, 眼内に新生血管を抑えるための抗VEGF薬

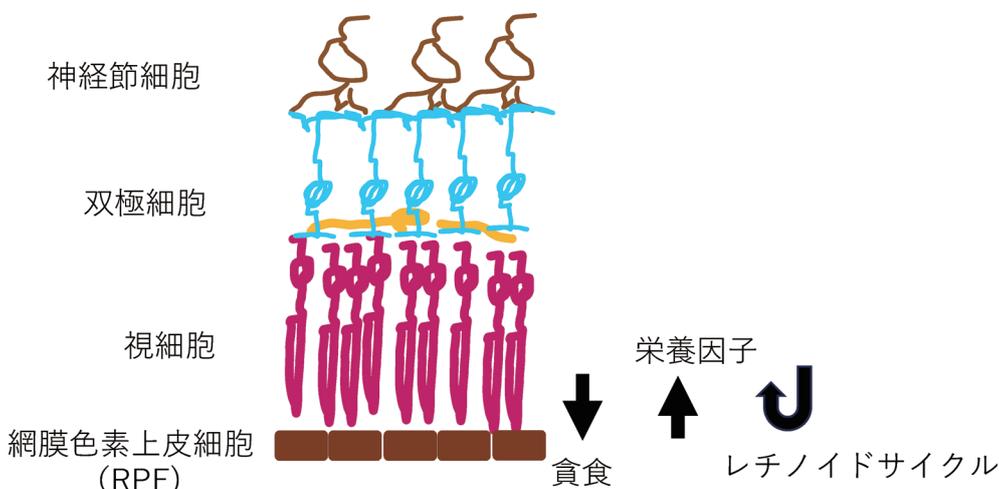


図1

を投与することが行われているが、多くの場合薬剤の効果は一定期間しか得られないため、定期的な投与が必要となる場合が殆どで、完全に治療から離脱できる例は決して多くはない。また、繰り返し投与によりある程度新生血管の活動性を抑えることができて、RPEの萎縮病態が継続すると、その部位での視細胞の機能及び視力が徐々に低下する。そこでわれわれは2014年に、神戸中央市民病院にて、新生血管の抜去と患者自身の皮膚から作成したiPS細胞から作成したRPEシートを移植するという臨床研究を行った¹⁾。この症例においては免疫抑制剤を用いることなくRPEシートの長期生着が得られ、また抜去した新生血管の再発もなく、視力の維持、移植部位での脈絡膜血管の維持、RPE生着部位でのRPEの形状などから、長期的にRPEが機能していることが推察された²⁾。その後、RPE移植をより一般的な治療とするために、必要に応じて抗VEGF治療を併用するかたちでHLA 6座適合のストック細胞を用いてRPE細胞懸濁液移植を行い、免疫抑制剤なしでも局所のステロイド投与で生着が得られることを確認する臨床研究を行った³⁾。さらにHLAを限定すると適応症例が限られることから、加齢黄斑変性のみならずRPEの機能障害を病態とする疾患をRPE不全症として広く対象として、RPE免疫抑制剤を用いての臨床研究を行った(表)。ここまでの臨床研究で、iPS由来RPE細胞移植の安全性はほぼ確認えられたものの、細胞懸濁液という投与形態ではなかなか投与したい領域に十分な細胞量を投与できないという反省より、RPE細胞を紐状に凝集して投与するという方法を開発した⁴⁾。現在はこのRPE凝集紐を用いた臨床研究を進めており、移植細胞の生着を確認できている。今後は対象患者数を増やして有効性を評価していく段階に入ると考えられるが、拒絶については他家細胞を用いる限りは引き続き注意が必要であり、将

来的にはHLAの一部を欠失させて拒絶されにくいタイプのiPS細胞由来RPEを用いることで拒絶リスクが減らせることが期待される(<https://www.cira-foundation.or.jp/e/research-institution/ips-stock-project/genome-edited.html>)。

網膜色素変性に対する視細胞移植

網膜色素変性は、網膜の中でも最初に光に反応する視細胞が、なんらかの遺伝子異常を原因として変性していく疾患であり、原因遺伝子としては100近く報告されている(RetNet <https://web.sph.uth.edu/RetNet/>)。原因遺伝子や変異のパターンにより進行の速度はさまざまであるが、まずは暗いところでの視覚を司る桿体細胞が変性し、続いて中心視機能を司る錐体視細胞も二次的に変性することで徐々に視力も低下していく。人工網膜や、遺伝子治療などの治療開発も進んでいるが、根本的に変性してしまった視細胞を取り戻す治療はない。再生医療での細胞治療では、こういった病態に視細胞を補うことで、視細胞の失われた部分での視機能の回復や、二次的に変性していく錐体細胞の変性を遅らせることを目標としている。われわれは動物を用いた前臨床研究で、1)移植した網膜オルガノイドシートから視細胞が層構造を形成しつつ成熟し、2)移植網膜内の視細胞とホストの双極細胞がシナプスを形成し3)移植部位で、ホストのRGC細胞が光に対して反応を示すようになり、4)行動検査においても移植後の動物が光を用いた学習をできるようになることを示した(図2)⁵⁾。これらの結果に基づき2020年には臨床研究を実施、安全性の確認と移植組織の生着を主要評価項目として2例の末期網膜変性の患者さんを対象として移植を行った。現在2年以上の経過観察を経て、移植組織は安定して生着しており、特に

表 これまでに神戸中央市民病院眼科/神戸アイセンター病院で行われた臨床研究

年	対象疾患	自家/他家	形態	利点	欠点
2014	滲出型加齢黄斑変性	自家	シート	正しい極性が得られる 挿入場所が確認できる	手術侵襲大 長い準備期間
2017	滲出型加齢黄斑変性	他家 HLA 適合	細胞懸濁液	手術侵襲小	術中生着部位の確認が難 逆流散布のリスク
2020	レーベル先天黒内障	他家 HLA 非適合 免疫抑制剤投与	細胞懸濁液	手術侵襲小	術中生着部位の確認が難 逆流散布のリスク
2022	萎縮型加齢黄斑変性 網膜色素変性(MERTK)	他家 HLA 非適合 免疫抑制剤投与	凝集紐	手術侵襲小 挿入場所が確認できる	

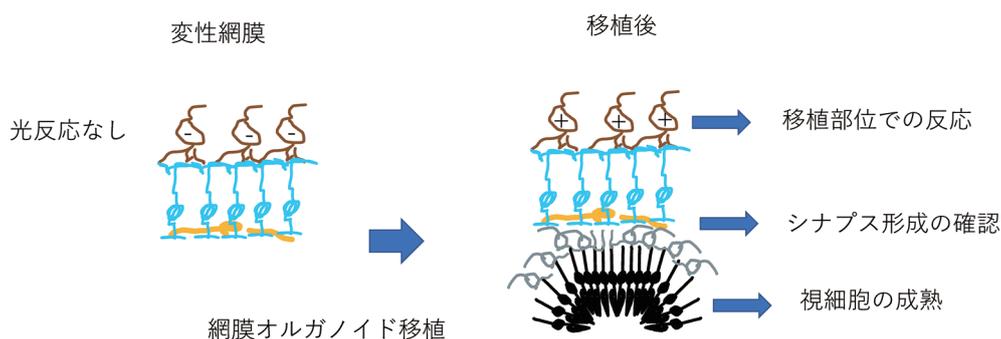


図2

重篤な有害事象などはみられておらず、光覚弁であった1例ではアルファベット認識や網膜感度などで1年目または2年目で若干の改善傾向が見受けられたが、視機能についてはまだまだ今後の評価が必要である。動物での検証実験から、ゲノム編集技術を用いて移植組織内の双極細胞を欠失させることで、ホスト双極細胞と移植視細胞のシナプス形成が促進され、移植後の光応答も増強される可能性がみえており^{6,7)}、現在はこのようなゲノム編集株を用いた臨床研究の準備を進めている。

おわりに

iPS細胞が世に紹介されて15年あまり、眼科の網膜疾患領域ではiPS細胞を用いた治療応用が現実的に可能であること、及びその安全性が示され、ようやく今後どのような病態がこれらの治療に適しているか、どの程度の効果が得られるか、といった有効性評価の段階にさしかかったところである。細胞治療は受け手側の病態、細胞の受け入れ態勢も大事であり、どのような疾患状態が良い適応となるかはこれから検証することになる。また、進行抑制や予防的効果も期待され、その場合には効果を判定するのに長期での経過観察も必要である。また視機能の再建といってもどのような視機能の要素が改善するのもこれから探索していくことになる。そのためにも、多角的な検査を行いながら時間をかけて有効性を評価していくことで、将来的にはこれまでの治療とは異なるかたちでの治療アプローチが可能になるかもしれない。まだまだ再生医療の治療に対する評価はこれからだが、より安定した細胞製造及び供給を行うための技術の発展と、治療効果を見ていくための多角的な検査方法も併せて進化していくことが望まれる。

文 献

- 1) Mandai, M., Watanabe, A., Kurimoto, Y., Hirami, Y., *et al.*: Autologous Induced Stem-Cell-Derived Retinal Cells for Macular Degeneration. *N Engl J Med.*, **376** : 1038-1046, 2017
- 2) Takagi, S., Mandai, M., Gocho, K., Hirami, Y., *et al.*: Evaluation of Transplanted Autologous Induced Pluripotent Stem Cell-Derived Retinal Pigment Epithelium in Exudative Age-Related Macular Degeneration. *Ophthalmol Retina.*, **3(10)** : 850-859, 2019 Oct
doi : 10.1016/j.oret.2019.04.021. Epub 2019 Apr 26. PMID : 31248784.
- 3) Sugita, S., Mandai, M., Hirami, Y., Takagi, S., *et al.*: HLA-Matched Allogeneic iPS Cells-Derived RPE Transplantation for Macular Degeneration. *J Clin Med.*, **9(7)** : 2217, 2020 Jul 13
doi : 10.3390/jcm9072217. PMID : 32668747 ; PMCID : PMC7408794.
- 4) Nishida, M., Tanaka, Y., Tanaka, Y., Amaya, S., *et al.*: Human iPS cell derived RPE strips for secure delivery of graft cells at a target place with minimal surgical invasion. *Sci Rep.*, **11(1)** : 21421, 2021
- 5) Mandai, M., Fujii, M., Hashiguchi, T., Sunagawa, G. A., *et al.*: iPSC-derived retina transplants improve vision in rd1 end-stage retinal-degeneration mice. *Stem Cell Rep.*, **8** : 69-83, 2017
- 6) Matsuyama, T., Tu, H. Y., Sun, J., Hashiguchi, T., *et al.*: Genetically engineered stem cell-derived retinal grafts for improved retinal reconstruction after

transplantation. *iScience.*, **24** : 102866, 2021
7) Yamasaki, S., Tu, H. Y., Matsuyama, T., Horiuchi,
M., *et al.* : A Genetic modification that reduces ON-

bipolar cells in hESC-derived retinas enhances
functional integration after transplantation.
iScience., **25** : 103657, 2022

Regenerative therapy for retinal degeneration

Michiko Mandai

Director, Research Center, Kobe City Eye Hospital, Hyogo, Japan

SUMMARY

The advent of iPS cells by Yamanaka *et al.* has accelerated the clinical application of regenerative medicine. In the field of retinal diseases in ophthalmology, we conducted the first-in-human transplantation using the autologous iPS cell-derived retinal pigment epithelial cell sheet for age-related macular degeneration in 2014. Since then, we have been conducting clinical research, aiming for more general treatments, and have now entered the stage of verifying its effectiveness. For photoreceptor degenerative diseases, we conducted a transplantation of iPS cell-derived retinal organoids containing photoreceptor cells in 2020 and have just confirmed the feasibility and safety of the treatment. For retinal organoid transplantation, it is also important to determine whether the graft can be functionally integrated into the neural network, and further study is needed on how to evaluate the function as well after transplantation in humans. Furthermore, the pathological condition and environment of the recipient eye are crucial in transplantation therapy, and in the future, it will be necessary to consider therapy indications based on the specific disease pathology.

Key words : Retinal regeneration, Regenerative therapy, Retinal pigment epithelium
Transplantation, Clinical study