

iPS 細胞から再生した細胞に対して NK 細胞が引き起こす免疫反応とその制御法 —iPS 細胞ストック事業で起こりうる拒絶反応への対処法—

本研究成果のポイント

- iPS 細胞ストック事業を想定して再生細胞に対して NK 細胞が起こす免疫反応を試験管内で解析
- HLA ハプロタイプホモ iPS 細胞から再生した細胞は HLA ヘテロ健常人の NK 細胞により殺傷された
- 殺傷は NK 細胞の抑制性レセプターに刺激が入らない組み合わせの時にだけ起こった
- 抑制性レセプターに刺激が入るように再生細胞を遺伝子改変することで NK 細胞による攻撃を回避できた

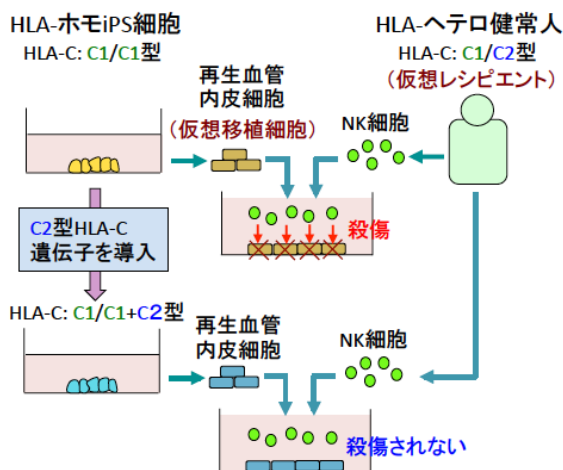
概要

河本宏ウイルス・再生医科学研究所教授、一瀬大志生命科学研究所特定研究員らは、HLA 研究所と共同で、ヒト iPS 細胞から再生した細胞を NK 細胞が殺傷することを示し、さらにその反応を抑制する方法の開発に成功しました。今回の成果は、現在京大の iPS 細胞研究所が中心になって進めている iPS 細胞ストック事業で起こりうる免疫学的問題点を明らかにするとともに、その解決法の提示もしており、今後の再生医療分野において重要な道しるべになると期待されます。論文は 2017 年 8 月 31 日、米科学雑誌 *Stem Cell Reports* に掲載されました。

再生医療分野では、現在、質の良い iPS 細胞をつくってそれを多くの患者に使うという戦略 (iPS 細胞ストック事業) が iPS 細胞研究所を中心にして進められています。白血球の血液型である HLA 遺伝子が、父方由来と母方由来の 2 セットについて同一 (HLA-ホモ) である人から iPS 細胞を作製すると、片方だけ同じセットを持つ人 (HLA-ヘテロ) に再生した組織を移植した場合に、拒絶反応が起こりにくいと期待されます。しかし、その場合でも、免疫系による拒絶反応を完全に回避するのは難しいと考えられます。免疫学的問題点がいくつかある中で、今回は、NK (ナチュラルキラー) 細胞が起こしうる免疫反応について調べました。NK 細胞は、HLA の中の HLA-C という分子を出していない細胞を殺傷するという特性を持っており、HLA-C は、HLA-C1 型と、HLA-C2 型の 2 型に分けられます。

今回の研究では、仮想の移植細胞として、HLA-ホモで HLA-C が C1/C1 型の iPS 細胞から T 細胞あるいは血管内皮細胞を再生しました。仮想の患者として、HLA-ヘテロかつ C1 型と C2 型の両方の HLA-C を有する健常人から NK 細胞を採取し、再生細胞を殺傷するかどうかを調べました。結果として、NK 細胞が再生細胞を殺傷することが明らかになりました。つまり、この組み合わせで移植を行うと、拒絶反応が起こる可能性を示しています。NK 細胞は、再生細胞が C2 型の HLA-C を出していないことを感知して攻撃していました。そこで、再生細胞が C2 型の HLA-C を出すように iPS 細胞に遺伝子改変を加えました。すると、NK 細胞による殺傷が起らなくなりました。

NK 細胞による攻撃が起こりうる組み合わせは、iPS 細胞株によって異なりますが、iPS ストック事業で総じてみると 30% の頻度で起こると予測でき、それらのケースでは、移植後により注意深い経過観察が必要と考えられます。また、HLA 分子を導入する方法は、iPS 細胞を用いた再生医療の中で起こりうる移植片の拒絶反応を軽減させるのに役立つと期待できます。



概要図 NK 細胞による再生細胞の殺傷とその回避法

HLA-ホモで HLA-C については C1/C1 型の iPS 細胞から血管内皮細胞を再生した。一方、HLA-ヘテロで HLA-C については C1/C2 型の健康人から NK 細胞を採取した。両者を反応させると、18 時間後には再生血管内皮細胞は NK 細胞によって殺傷された。この結果は、このような組み合わせの移植では移植片が NK 細胞の攻撃を受ける可能性を示している。iPS 細胞に C2 型の HLA-C 遺伝子を導入して再生細胞に C2 型の HLA-C を出させると、殺傷されなくなった。この方法は移植片に対する免疫反応の抑制に応用できると期待される。

研究の背景

iPS 細胞が登場する前は、ES 細胞が再生医療の材料として主に用いられていました。しかし、ES 細胞*1 を用いる限り、移植組織の HLA 型*2 をレシピエント（移植を受ける人）と適合させる事が困難であるという問題が付きまといまいます。異なる HLA 型とはいわば白血球の血液型にあたるもので、HLA が異なる組織が移植された場合、その異なる HLA を標的にして主に T 細胞*3 が拒絶反応を起こします。2006 年に山中伸弥らが作製した iPS 細胞*4 は、そのような問題を解決してくれる細胞として期待されました。患者の体細胞から iPS 細胞を作製し、その iPS 細胞から再生した組織を本人に移植すれば、拒絶されないはずだからです。しかし、実際には iPS 細胞由来再生組織を「自家移植」として使う事、すなわち患者ごとに iPS 細胞を作製するという医療を一般化するのは、困難であると考えられるようになりました。患者ごとに質の良い iPS 細胞を作製するのは、お金と時間がかかりすぎるからです。

自家移植の系で起こる上記のような問題を解決するために、iPS 細胞を「他家移植」の系で使おうということになりました。現在、京大の iPS 細胞研究所が中心となり、「iPS 細胞ストック事業」として、HLA ハプロタイプのホモ接合型の iPS 細胞を用意するという戦略が進められています (図 1)。ハプロタイプというのはゲノム上の HLA 遺伝子のセットのことで、1 個人は父方由来と母方由来の 2 つのハプロタイプを持っています。このふたつのハプロタイプが同一である場合を、HLA ハプロタイプのホモ接合型といいます。以下、HLA-ホモと表示します。

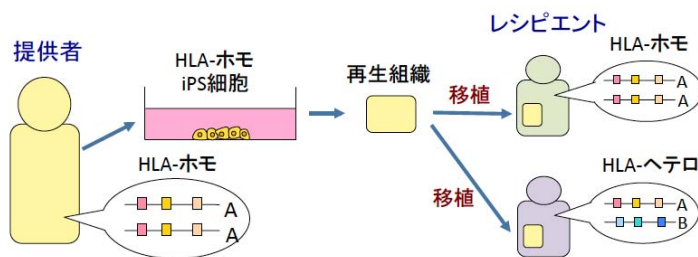


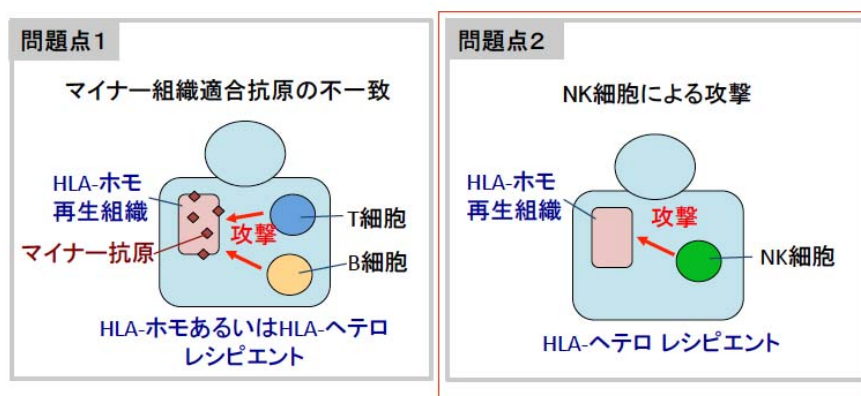
図 1 iPS 細胞ストック事業のコンセプト

HLA ハプロタイプホモ (HLA-ホモ) 型の人から iPS 細胞を作製すると、その iPS 細胞から再生した組織は、同じ HLA-ホモの人だけでなく、同じハプロタイプを有する HLA-ヘテロの人にも生着しやすいと期待できる。HLA-ヘテロのレシピエントから見ると、体内にすでにある HLA なので、HLA を標的とした拒絶反応が起こらないからである。

HLA-ホモ iPS 細胞から再生した組織は、そのハプロタイプを同じ様にホモ型で持つ人に移植できますが、片方だけ持つ人 (HLA-ヘテロ) にも移植できると期待できます。これは、HLA-ヘテロのレシピエントの T

細胞にとってみれば、自分の体の中にすでにある HLA なので、HLA に対する拒絶反応を起こさないからです。iPS 細胞ストック事業は、このようなコンセプトに基づいています。日本では、最頻ハプロタイプは、約 16% の人が有しており、そのハプロタイプホモの iPS 細胞から作製した組織は、6 人に 1 人の割合で使えることになります。上位 70 番目くらいまでのホモ株をつくれば、日本人の 70% くらいをカバーできるとされています。現時点では、iPS 細胞研究所から、1 番目と 2 番目に多い HLA-ホモ iPS 細胞が供給されています。

さて、HLA-ホモから HLA-ヘテロへの移植では、HLA 分子に対する T 細胞の反応が起こらないという意味では、大きな問題点はクリアできていると言えます。しかし、いくつかの免疫学的な問題は残ります。ひとつは、マイナー組織適合抗原の不一致という問題です（図 2 「問題点 1」）。マイナー組織適合抗原とは、人によって蛋白質のアミノ酸配列が異なるような多型性があるので、その部分が抗原として作用することです。これにより、HLA 型を合わせた移植であっても、免疫抑制剤を服用しない限りは、移植片はいずれは拒絶されます。もうひとつ、別の問題点があります。HLA ホモ→ヘテロ移植の場合は、NK 細胞^{*5} による拒絶が起こりうるということです（図 2 「問題点 2」）。



今回はこちらに焦点をあてた

図 2 iPS 細胞ストック事業の免疫学的問題点

問題点 1. マイナー組織適合抗原の不一致：HLA 型が一致しても、マイナー組織適合抗原は一致しないので、他人由来の組織は、いずれは拒絶される。これはレシピエントが HLA-ホモの時でも、HLA-ヘテロの時でも起こる。

問題点 2. NK 細胞による攻撃：HLA-ホモの iPS 細胞由来組織は、HLA-ヘテロのレシピエントの NK 細胞によって拒絶される可能性がある。今回の研究は NK 細胞が起こす免疫反応に焦点をあてた。

このように、免疫学的な問題が起こりうるとされながらも、再生医療の分野では、再生組織に対する免疫反応についての系統だった研究がほとんどなされていませんでした。今回の研究では、この二つの問題点のうち、NK 細胞による免疫反応について調べることにしました。

NK 細胞により免疫反応が起こる仕組みについて説明します。NK 細胞は、抑制性のレセプターを表面に出しており、このレセプターが HLA 分子に結合することによってその活動が抑制されます（図 3）。正常な細胞は通常は HLA 分子を出していますので、この仕組みは、正常な細胞を殺さないための安全装置として働いています。例えばウイルス感染細胞やがん細胞は HLA 分子を出さなくなることがあります。そういう細胞と出

会った時は、抑制性のシグナルを受けないので、そのような異常な細胞を殺傷するのです。自分が出しているはずの分子が消失したことを感知する仕組みですので、このような反応を「ミッシングセルフ応答」(missing-self response) と呼びます。

さらに具体的にみていきましょう。ヒトの場合、HLA-C という分子が、主に NK 細胞が出す抑制性レセプターに刺激を入れる役割を果たしています (図 4)。HLA-C には百種類以上の多型性がありますが、それらは C1 型と C2 型という 2 つのグループに大きく分けることができます。それぞれに対する抑制性レセプターが、KIR2DL3 と KIR2DL1 という分子です。これらは、KIR (キラー細胞免疫グロブリン様受容体: killer cell immunoglobulin-like receptor) という分子ファミリーに属しています。以下、それぞれ 2DL3 と 2DL1 と呼称します。

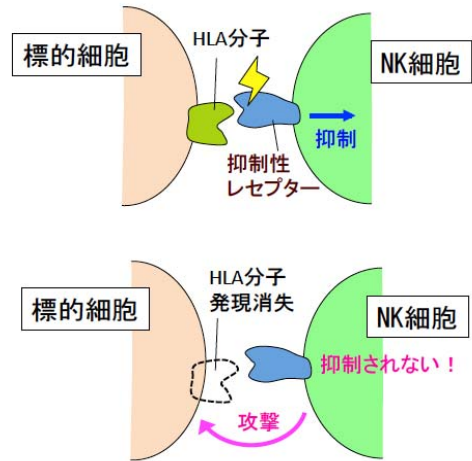


図 3 NK 細胞の反応の様式
NK 細胞は、HLA 分子と結合して抑制性シグナルを伝えるレセプターを出している。相手の細胞が HLA 分子を出していない時は、抑制がかからないので、殺傷する。

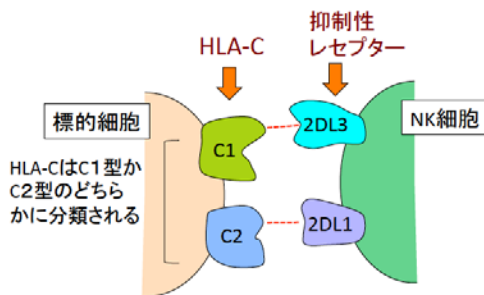


図 4 HLA-C が NK 細胞の抑制
HLA-C は NK 細胞による攻撃を抑制する働きをしている。HLA-C は大きく C1 型か C2 型に分けられ、NK 細胞はそれぞれに対する抑制性レセプター 2DL3 と 2DL1 を出している。

では、HLA-C1/C2 型のレシピエントに、HLA-C1/C1 型の再生細胞を移植するとどうなるかをみていきましょう。まず、HLA-C1/C2 型のレシピエントの体内の NK 細胞について考えます (図 5 A)。NK 細胞は、抑制性のレセプターを細胞ごとにばらばらに出すので、2DL3 だけを出している NK 細胞や、2DL1 だけを出している NK 細胞が存在しています。それぞれ、C1 型と C2 型の HLA-C 分子によって抑制されており、おとなしくしています。さて、ここに、C1 型の HLA-C 分子しか出していない再生細胞が入って来たらどうなるのでしょうか。2DL3 だけを出している NK 細胞は抑制性シグナルを受けておとなしくしてありますが、2DL1 だけを出している NK 細胞は、抑制性のシグナルが入らなくなるので、活性化されて、標的細胞を攻撃すると予測されます (図 5 B)。

以上のような図式が、これまでに他グループによる細胞株、腫瘍細胞、感染細胞などを用いた先行研究から予想されました。しかし、実際に iPS 細胞から再生した細胞に対してこのような NK 細胞による免疫反応が起こるかどうかは調べられていませんでした。今回、私達は、実際に HLA-ホモの iPS 細胞から再生した細胞を用いて、NK 細胞が攻撃するかどうかを調べました。

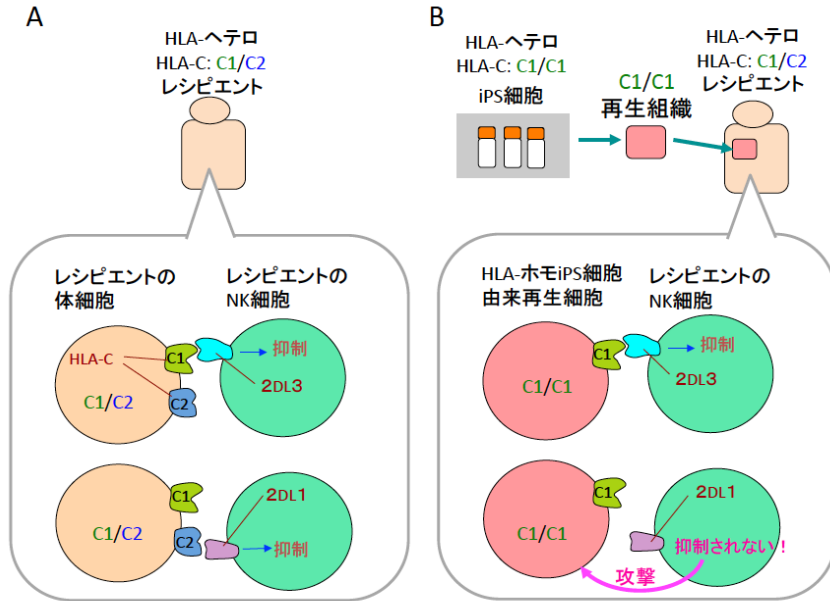


図5 HLA-ホモの iPS 細胞から再生した細胞を C1/C2 型のレシピエントに移植する NK 細胞の一部が攻撃を加えると予測される

- A. HLA-C が C1/C2 型であるレシピエントの体内では、C1 型の HLA-C と C2 型の HLA-C によって抑制される NK 細胞が存在している。
- B. 上記のようなレシピエントに、C1/C1 型の iPS 細胞から再生した細胞を移植すると、C2 型 HLA-C によって抑制される NK 細胞が、C2 型 HLA-C を出していないことを感知して、攻撃すると予測される。

研究手法と成果

まず、仮定の移植細胞として、日本で2番目に頻度の高い HLA ハプロタイプをホモで有するヒトから iPS 細胞を作製し、その iPS 細胞から、T 細胞と血管内皮細胞を再生して、これらを標的細胞として用いました (図6)。一方、同じハプロタイプを片方だけ共有し、もう片方は異なる HLA を持つ人のうち、HLA-C が C1 型と C2 型である人から NK 細胞を採取し、攻撃側の細胞として用いました。これらの細胞を共培養し、一定の時間が経ってから、標的細胞のうちの死んだ細胞の割合を測定しました。

標的細胞として T 細胞を用いたのは、私達は今 iPS 細胞から再生した T 細胞を用いたがんの免疫細胞療法の開発研究を進めているからです。血管内皮細胞を用いたのは、血管内皮細胞は免疫細胞と直接的に接するためには攻撃対象になりやすいということと、立体的な臓器の再生を行う時には血管も同時に再生する必要があるので、血

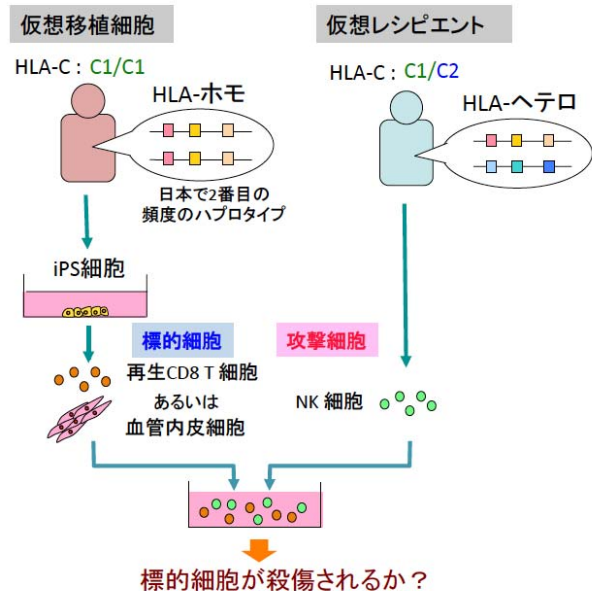


図6 実験の手順

HLA-C については C1/C1 型の HLA-ホモ健康人から iPS 細胞を作製した。その iPS 細胞から CD8 陽性のキラー T 細胞あるいは血管内皮細胞を再生し、標的細胞として用いた。HLA-C については C1/C2 型の HLA-ヘテロ健康人から NK 細胞を採取し、攻撃細胞 (エフェクター) として用いた。両者をさまざまな比率で混ぜて共培養し、それぞれ6時間後、18時間後に標的細胞の中の死細胞の割合を計測した。

管が免疫細胞の攻撃を受けるかどうかを調べておくことは、将来的に重要になると考えられるからです。

実験では、「自家」の再生細胞も標的細胞として用いました。攻撃側のNK細胞を提供した健常人からもiPS細胞を作製し、そのiPS細胞から再生した細胞(自家再生T細胞あるいは自家再生血管内皮細胞)です。また、K562細胞という、NK細胞によって殺されやすい細胞があり、この細胞をNK細胞の殺傷能力を確かめるための陽性対照群として用いました。攻撃細胞(エフェクター)の比率を上げていくにつれて標的細胞中の死細胞率が上がれば、エフェクターによる殺傷が起こっていると判定できます。

実験の結果、K562細胞はよく殺傷されました(図7「標的:T細胞」)。これは実験に使ったNK細胞が殺傷能力を有していることを示しています。一方、自家再生T細胞はまったく殺傷されませんでした。これは「NK細胞は再生細胞というだけで殺傷する事はない」という事を示しています。

さて、最も重要なHLA-ホモのiPS細胞から再生したT細胞ですが、これはNK細胞によって、殺傷されました(図7「標的:T細胞」)。同様の結果は、再生血管内皮細胞を用いた実験でも得られました(図7「標的:血管内皮細胞」)。ここではデータは示しませんが、HLA-ヘテロでC1/C1型のHLA-Cを有する仮想レシピエント由来のNK細胞は、他家ホモ再生細胞を殺傷しませんでした。さらに、2DL1を出しているNK細胞がこの殺傷を行っていることも示しました。これらの結果は、「HLA-ホモ再生組織をHLA-ヘテロの患者に移植した場合に、拒絶される可能性がある」ことを示しています。

次に、このNK細胞による拒絶を回避する方法を考えました。上記のNK細胞による殺傷は、「再生細胞がC2型のHLA-Cを出していないこと」をNK細胞が感知する事によって引き起こされていました。そこで、再生細胞にC2型のHLA-Cを発現させれば殺傷されなくなると考えました。このアイデアを実証するために、HLA-ホモのiPS細胞に、C2型のHLA-C遺伝子を導入し、T細胞と血管内皮細胞を作製しました(図8「方法」)。元のiPS細胞から再生したT細胞(他家ホモ再生T細胞)は、図7で示した実験と同じようにNK細胞によって殺傷されるのに対して、C2型のHLA-Cを発現するように改変した再生T細胞(他家ホモ再生T細胞+C2)は、殺傷されなくなりました(図8「標的:T細胞」)。また、再生血管内皮細胞でも同様の結果が得られました(図8「標的:血管内皮細胞」)。これらの結果は、再生細胞にC2型のHLA-Cを出させることにより、NK細胞による拒絶反応を回避できることを示しています。なお、将来の臨床応用に際しては、導入したC2型のHLA-CがレシピエントのT細胞によって異物と

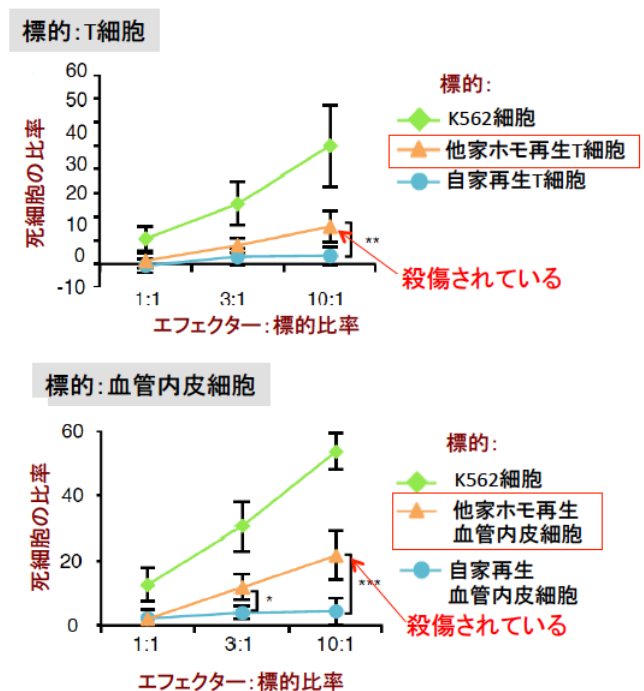


図7 iPS細胞由来再生細胞はNK細胞により殺傷された
HLA-ホモのiPS細胞から再生した細胞は、C1/C2型のHLA-Cを有するHLA-ヘテロ健常人由来のNK細胞によって殺傷された。まずNK細胞の提供者からiPS細胞を作製し、そのiPS細胞からT細胞と血管内皮細胞を再生した(自家再生T細胞と自家血管内皮細胞)。これらは、NK細胞によって殺傷されなかった。一方、HLA-ホモのiPS細胞から再生した細胞(他家ホモ再生T細胞と自家ホモ血管内皮細胞)はNK細胞によって殺傷された。K562細胞はNK細胞によって殺傷されやすい細胞で、実験に用いたNK細胞が細胞を殺傷する能力を持っていることを確かめるための対照群として置いている。

みなされないようにするためには、レシピエントの持つ C2 型の HLA-C と同一の遺伝子を用いるのがよいと考えられるので、この実験でも仮想レシピエントの持つ C2 型の HLA-C と同一の遺伝子を用いました。

ここまでは日本で 2 番目の頻度の HLA ハプロタイプをホモで有する iPS 細胞を用いてきましたが、今回の論文の中では、最頻ハプロタイプホモの iPS 細胞から再生した血管内皮細胞を用いて同様の実験を行っており、同様の結果が得られています。

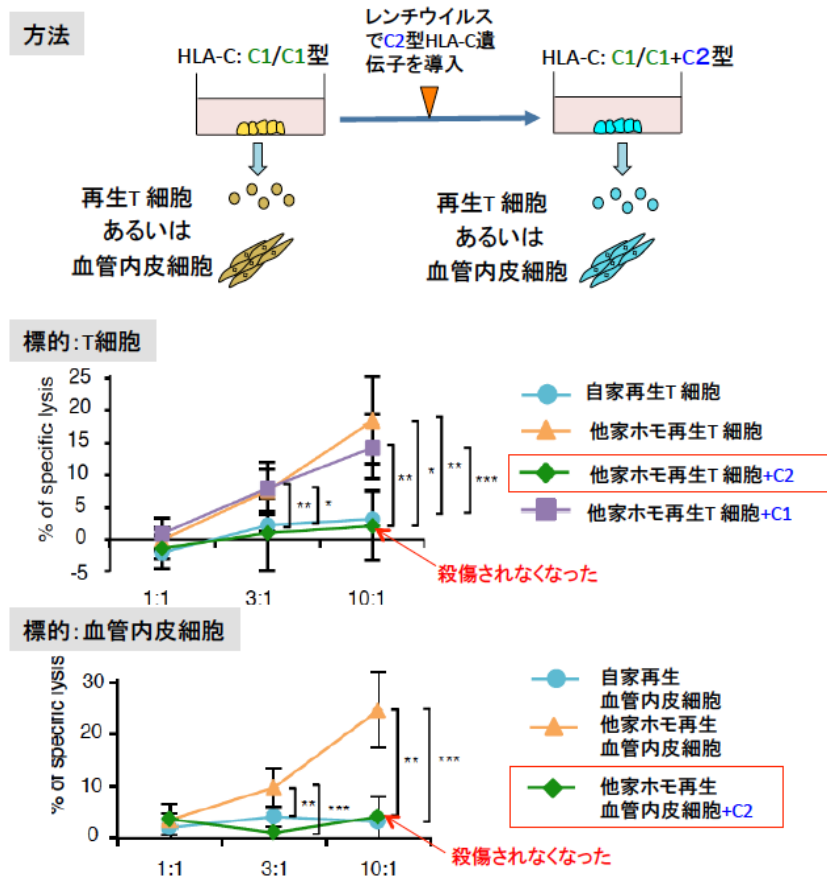


図 8 NK 細胞による再生細胞の殺傷を回避する方法

C1/C1 型の HLA-C を有する HLA-ホモの iPS 細胞に C2 型の HLA-C を導入し、この iPS 細胞から T 細胞と血管内皮細胞を再生した。図 7 の実験で示したように、自家再生細胞は NK 細胞によって殺傷されないが、他家ホモ再生細胞は殺傷される。C2 型の HLA-C を出すように遺伝子改変を加えた細胞（他家ホモ再生 T 細胞+C2、他家ホモ再生血管内皮細胞+C2）は、NK 細胞によって殺傷されなくなった。なお、再生 T 細胞の方の実験では、C1 型の HLA-C を出すように遺伝子改変を加えた細胞を標的にした実験（他家ホモ再生 T 細胞+C1）も行っているが、これは「単に HLA-C 分子の過剰発現による効果である」ことを除外するために設定した対照群である。

波及効果・今後の予定

再生医療では、再生組織を移植する時には免疫抑制剤を用いるという事を前提に進められています。しかし、免疫抑制剤の服用を続けていると、感染症に罹りやすくなる、がんの発症頻度が増えるなどの問題が起こります。従って、少しでも免疫抑制剤を減らせるような方法の開発が必要だと考えられます。

本研究は、iPS 細胞ストックプロジェクトを軸とした再生医療において、移植細胞に対して NK 細胞が免疫反応を起こしうることを初めて示しました。今後、この再生医療の中で免疫学的な問題点を考える時に、今回の成果は、重要な道し

るべになると期待できます。

ここで、実際に NK 細胞による免疫反応がどれくらいの頻度で起こりうるか検討します。表 1 に日本人における頻度トップ 10 の HLA ハプロタイプを示しています。これらを HLA-ホモの形で有する iPS 細胞株がつけられた場合で見えていきましょう。さて、レセプターに刺激を入れる分子のことを一般にリガンドと呼びます。以下、ミッシングセルフ応答が起こりうる組み合わせを、「KIR-リガンド不一致」という言葉で表現します。HLA-C については、iPS 細胞株が C1/C1 型であれば、レシピエントとしては同じ HLA ハプロタイプを一つ有している人が選ばれるはずですので、少なくとも片方のハプロタイプは必ず C1 型を持っていることとなります。もう片方のハプロタイプは制約なく選ぶことができ、それが C2 型であった時に、「KIR-リガンド不一致」ということとなります。日本人では C1 型と C2 型の遺伝子頻度は 92.7 対 7.3 とされています。従って、HLA-C についての KIR-リガンド不一致である頻度は、iPS 細胞が C1/C1 型であれば 7.3% ということとなります。同じように、iPS 細胞が C2/C2 型であれば、92.7%の頻度で起こることとなります。表 1 にありますように、6 番目の頻度の iPS 細胞のみが C2/C2 型で、後は C1/C1 型です。従って、HLA-C についての KIR-リガンド不一致は、日本ではあまり起こらないと言えます。

これまでに登場しませんが、HLA-B の一部も、抑制型 KIR のリガンドとして働くことが知られており、B-Bw4 と呼ばれています。B-Bw4 に対する抑制型 KIR は、3DL1 という分子です。B-Bw4 についての KIR-リガンド不一致は、HLA-ホモ iPS 細胞が B-Bw4 陰性であった場合で、さらにレシピエントが B-Bw4 陽性であった場合に起こります。トップ 10 の中では、B-Bw4 陰性である 3、4、5、6、8、9、10 番目について、起こりえます(表 1)。HLA-B の中で B-Bw4 である頻度は約 30%ですので、これらの B-Bw4 陰性である iPS 細胞については、30%の確率で KIR-リガンド不一致が起こることとなります。

Rank	A	C	B	DRB1	Frequency	B-Bw4	C1	C2
1	*24:02	*12:02	*52:01	*15:02	8.377%	○	○	
2	*33:03	*14:03	*44:03	*13:02	4.473%	○	○	
3	*24:02	*07:02	*07:02	*01:01	3.722%		○	
4	*24:02	*01:02	*54:01	*04:05	2.539%		○	
5	*02:07	*01:02	*46:01	*08:03	1.866%		○	
6	*11:01	*04:01	*15:01	*04:06	1.345%			○
7	*24:02	*01:02	*59:01	*04:05	1.058%	○	○	
8	*11:01	*01:02	*54:01	*04:05	1.001%		○	
9	*26:01	*03:04	*40:02	*09:01	0.746%		○	
10	*24:02	*08:01	*40:06	*09:01	0.709%		○	

表 1 日本人における HLA ハプロタイプの頻度

HLA-A、C、B、DR について、日本人でトップ 10 の頻度のハプロタイプを示している。iPS ストック事業では、これらのハプロタイプをホモで有する iPS 細胞が、おおむねこの表の順に作製される予定である。なお、頻度 (Frequency) として示している数字はハプロタイプとしての頻度なので、片方だけでも持つ人の頻度は、最頻ハプロタイプの場合 $[1 - (1 - 0.08377) \times (1 - 0.08377)]$ と計算でき、約 16% である。それぞれのハプロタイプが、B-Bw4、C1 型 HLA-C、C2 型 HLA-C を有しているかどうかを右側に示した。○印は有していることを示している。

KIR-リガンド不一致は、HLA-C と HLA-Bw4 についてそれぞれ独立の事象として起こるので、どちらかが起これば「KIR-リガンド不一致移植」とみなすことができます。例えば 1 番目、2 番目の iPS 細胞を再生医療で用いる場合には、HLA-C についてだけ起こるので不一致は 7.3%の頻度ですが、3 番目については HLA-C と HLA-Bw4 の両者について起こりますので、35.1%ということになります。6 番目では 94.9%ということになります。

上記のように KIR-リガンド不一致になる確率は iPS 細胞株によって異なりますが、全体で総じてみると、「iPS 細胞ストック事業で HLA-ホモから HLA-ヘテロに移植を行う場合、日本人では平均して約 30%の頻度で起こる」*6 ということがで

きます。一方、西欧人の場合、C1型とC2型の頻度が1対1に近いとされており、またBw4の頻度も30-40%とされていますので、合わせると50%以上の頻度で起こることになると考えられます。

KIR-リガンド不一致かどうかを判定するためには、患者のHLAに関してはHLA-Cを含めたタイピングをしておく必要があります。さらに、患者のKIRについても、タイピングが必要です。2DL1、2DL3、3DL1ともにほとんどの日本人で陽性ですが、陰性例も少しあるからです。また、3DL1については多型性があり、シグナルが強いものから弱いものまでのばらつきが報告されており、それぞれの間でKIR-リガンド不一致時のミッシングセルフ応答の強さが異なる可能性があります。さらに、活性化型KIRというものもあり、今後はこれについても検討が必要になる可能性があります。

さて、ではKIR-リガンド不一致の移植例に対しては、どのように対処するべきでしょうか。現在進行中の各種組織の再生医療において、ほとんどの場合多かれ少なかれ免疫抑制剤の使用が予定されています。その場合は、NK細胞による拒絶反応も抑制されると考えられます。従って、再生医療において、少なくとも当面はKIR-リガンド不一致例を避けるというほどの必要はないと考えています。ただし、不一致例ではより強く拒絶反応が起こる可能性があるため、より注意深い経過観察が必要となるでしょう。もし臨床試験の過程で、KIR-リガンド不一致例において看過できないような拒絶反応が見られる事が判明した場合には、NK細胞に効果があるとされる免疫抑制剤を使うなどの対処法が考えられます。あるいは本研究で示したように、ミッシングセルフ応答の標的となるHLA分子を再生組織に出させればよいと考えています。

<研究プロジェクトについて>

本研究はレグセル株式会社の支援を受けています。

<論文タイトルと著者>

タイトル: NK cell alloreactivity against KIR ligand-mismatched HLA-haploidentical tissue derived from HLA haplotype-homozygous iPSC cells

著者: Hiroshi Ichise, Seiji Nagano, Takuya Maeda, Masaki Miyazaki, Yuki Miyazaki, Hiroto Kojima, Nobuyo Yawata, Makoto Yawata, Hidenori Tanaka, Hiroh Saji, Kyoko Masuda, Hiroshi Kawamoto

掲載誌: *Stem Cell Reports*

補足説明

*1 ES細胞

受精卵からの発生過程の初期に形成される胚盤胞の中の内部細胞塊を取り出して培養した細胞で、ほぼ全ての種類の細胞に分化する能力を有している。

*2 HLA型

ヒトの白血球の血液型にあたる。抗原提示細胞がT細胞に抗原を提示する機能を有しており、HLAにはクラスIとクラスIIの2種類がある。主にクラスIにはA、B、Cの3種類、クラスIIにはDR、DQ、DPの3種類があり、それぞれについて、人類で数百~千種類ずつの多型性が確認されている。そのため、他人とHLA型が一致する確率は低い。HLA型

が不一致である他人からの移植では、HLA が標的となることが拒絶反応の主要な要因である。通常、個人では父方由来と母方由来の HLA 型のセットを 2 セット有しており、ひとつのセットをハプロタイプと呼ぶ。父方および母方由来が同じハプロタイプを有する場合を、ホモ接合型と呼び、異なる場合をヘテロ接合型と呼ぶ。

*3 T 細胞

リンパ球の 1 種で、Tリンパ球とも呼ばれる。免疫系全体の司令塔の役割を果たす。

*4 iPS 細胞

分化した体細胞に山中因子と呼ばれる因子 (Oct3/4、Klf4、Sox2、c-Myc) を導入して発現することによって作製される多能幹細胞。ES 細胞と同等の多分化能を有している。

*5 NK 細胞

ナチュラルキラー細胞の略称。リンパ球の 1 種で、感染細胞やがん細胞を攻撃する。NK 細胞は T 細胞や B 細胞のように抗原レセプターを発現するということはないが、いろいろな種類の活性化型レセプターと抑制性レセプターを出しており、それらにより機能が制御されている。活性化型レセプターによって、感染やがん化によって変性した細胞を感知して攻撃する。一方で、抑制性レセプターによって、クラス I 分子などを出す細胞を攻撃しないという仕組みも有している。

*6 「iPS 細胞ストック事業で HLA-ホモから HLA-ヘテロに移植を行う場合、日本人では平均して約 30%の頻度で起こる」

今後 iPS 細胞ストックが多数つくられると想定する。HLA-C 遺伝子については、C1 型:C2 型の頻度が 92.7 対 7.3 なので、HLA-ホモ iPS 細胞が C1/C1 型である頻度は 92.7%、C2/C2 型である頻度は 7.3%となる。それぞれから再生した組織を HLA-ヘテロのレシピエントに移植する時に KIR-リガンド不一致が起こる確率は 7.3%と 92.7%なので、総じてみると $[0.927 \times 0.073 + 0.073 \times 0.927] = 0.135342$ なので約 13.5%の頻度ということになる。B-Bw4 については、HLA-ホモ iPS 細胞が B-Bw4 陰性かつ、レシピエントが B-Bw4 陽性の時に起こるので、それぞれ約 70%、30%であるから、 $0.7 \times 0.3 = 0.21$ になるので、約 20%の頻度で起こることになる。HLA-C と B-Bw4 に関して不一致はそれぞれ独立した事象として起こるので、少なくともどちらかが起こる確率として計算すると $[1 - (1 - 0.135) \times (1 - 0.2)] = 0.308$ になるので、約 30%ということになる。