

エクソソームを用いた肺線維化に対する新規治療法の開発

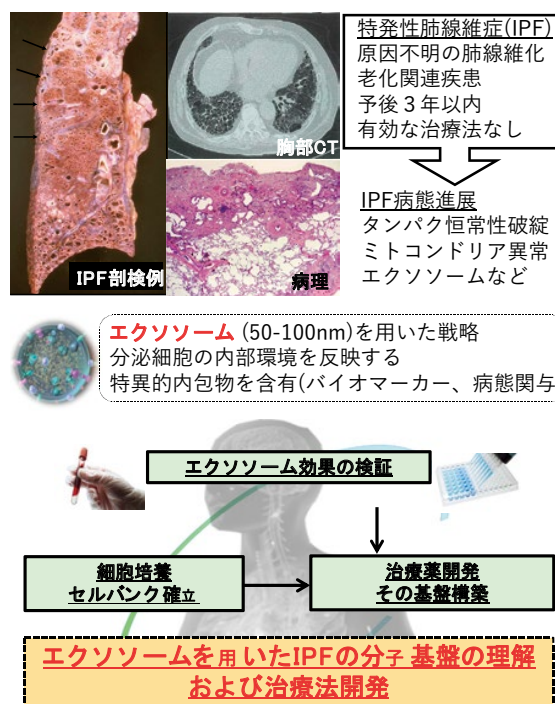
東京慈恵会医科大学エクソソーム創薬研究講座 講師 藤田 雄



背景

細胞外小胞顆粒の一つであるエクソソームは、ほぼ全ての細胞から分泌され、近年、細胞間コミュニケーションにおいて重要なツールとして大きな注目を集めている。さらに、精製されたエクソソームは、動物個体に投与した際に免疫を回避し、他家移植が可能な物質であることが報告されており、Drug Delivery System (DDS) の観点からもその臨床応用に大きな期待が集まっている。これまでの研究より由来する細胞ごとに様々な機能を持つエクソソームがあること、さらにそれが天然のベクターとして働き細胞毒性無しに内包された生体物質を他の細胞に受け渡すことが明らかになっている。つまり、特定の機能を持つエクソソーム投与は、抗体治療や細胞移植治療と同様に、生体内の組織に作用することで、新規の治療薬として利用できることが推察できる。従って、安定的に大規模なエクソソームの分離・精製方法の樹立をすることは全く新しい革新的な治療方法になると考えている。

難治性疾患は、有効性のある治療薬が存在しない、もしくは様々な既存の治療に抵抗性である予後不良の病態であり、新規治療法の開発が急務な疾患群である。特にその中でも、我々が着目する線維化病態は、肺や肝臓などの臓器において、慢性炎症、ストレス障害また細胞老化などにより筋線維芽細胞化が誘導され、進行性の臓器線維化と機能低下に陥る。肝臓は、抗ウイルス治療の発展により病態の改善が得られているものの、特発性肺線維症 (idiopathic pulmonary fibrosis: IPF) を代表とする肺の線維化は、極めて予後が悪く、依然として有効な治療法が存在しない。IPFは、難治性呼吸器疾患である特発性間質性肺炎 (指定難病85) の内、その80-90%を占め日本国内に約1万人以上の患者がいる。これまで我々は、IPF病態において危険因子である喫煙刺激による細胞老化亢進に関して、プロテアソームやオートファジー機能異常に起因する蛋白恒常性維持機構の破綻やミトコンドリア異常やマイトファジーの低下がこれらの病態進展に寄与することを報告してきた。さらに、エクソソームの重要性が認識された初期から、呼吸器疾患におけるエクソソーム中microRNAによる病態解明とバイオマーカー研究に取り組んできた。



目 的

本研究課題では、これまでに動物実験レベルで検証してきた抗線維化作用があるエクソソームを利用したIPFに対する治療モデルの構築を行う。IPFは、上皮幹細胞の傷害に引き続き線維芽細胞が異常増殖し、肺胞構造の改変により呼吸不全を来す原因不明の呼吸器疾患である。予後不良な疾患であるが、病因・病態解明は十分でなく、かつ生命予後を十分に改善する有効な治療法は確立されていない。そのため、抗線維化作用を有するエクソソーム移植治療方法の確立は有望な治療方法となり得る。

結 果

1) 大量細胞培養の確立

これまで肺内正常細胞を用いてエクソソーム回収してきたが、初代培養細胞のため継代に伴い老化し、細胞増殖能が低下することが大きな問題であった。そこで、細胞培養プレートに特殊基質をコートし、細胞の分化を抑制する阻害剤を3種類併用することにより細胞増殖が数十倍に上昇される方法を確立することができた。この方法を用いることで10回以上の継代を可能にし、大規模での細胞培養を可能にした。この手法によって培養した細胞からエクソソームを超遠心方法によって回収することで、十分量のエクソソームを回収できると考えている。

2) エクソソームを用いたIPF治療法開発

これら手法にて回収したエクソソームは、抗線維化機序や組織修復能を備えている可能性があり、肺線維症におけるエクソソームの線維化抑制作用を培養細胞やブレオマイシン誘導肺線維症モデルマウスを用いて検討を行なったところ、有意な線維化抑制作用が認められた。エクソソームが培養細胞レベルで与える影響をRNA-seq法による網羅的な遺伝子発現解析検証を行なっている。

今後の検討

現在、エクソソームを治療薬として用いた臨床試験は、全世界で100以上も計画中および開始されている。既に開発が着手されているエクソソームを対象にした診断・治療分野での市場予測が2018年の推計2500万ドルから2023年には1億8000万ドルへと伸長が予測されている。細胞由来エクソソームを用いたヒト臨床試験において最も重要な点は、ヒトに投与できる十分量のエクソソーム生成技術とそれを可能とする細胞培養法である。上述のように、我々が開発した阻害剤の組み合わせにより、大量培養が可能となり、ヒトに投与できる十分量のエクソソームを生成できる。今後は企業とも連携を行い培養・管理をGMPグレードの施設に委託し、エクソソーム生成と吸入製剤化を目指す。

最後に私たちは、これらの研究を通していまだ解明されていない本疾患の病態メカニズムを明らかにするとともに、病態の本質に迫る新たな治療戦略を創出したいと願っております。本研究費を助成していただいた難病医学研究財団には深く感謝申し上げます。