

総説

再生医療の現状と課題

中畑 龍俊

京都大学大学院医学研究科発生発達医学講座：京都市左京区聖護院川原町54（〒606-8507）

Key Words 再生医療，体性幹細胞，胚性幹細胞，造血幹細胞

はじめに

近年のヒトゲノム研究の膨大な成果は、生命科学の進歩に大きく貢献し、人類の健康や福祉の発展、新しい産業の育成等に重要な役割を果たそうとしている。21世紀は「生命科学」の時代になると言われる。ヒトゲノムのドラフト配列が明らかにされ、現在研究の重点は遺伝子情報の機能的解析に移っている。また、最近の分子生物学、細胞生物学、発生学の発展により様々な生物現象の本質が分子レベル、個体レベル両面から明らかにされつつある。今後は、これらの基礎研究から得られた成果が効率良く臨床応用され、不治の病に苦しむ患者さんに新しい治療法が提供されてゆくことが望まれている。従来の医療は、臓器障害をできるだけ早期に発見し、その原因の除去及び生体防御反応の修飾により、障害を受けた臓器の自然回復を待つものであった。しかしながら、臓器障害も一定の限度を超えると不可逆的となり、臓器の機能回復は困難となる。このような患者に対して障害を受けた細胞、組織、さらには臓器を再生し、あるいは人為的に再生させた細胞や組織などを移植したり、臓器としての機能を有するようになった再生組織で置換することで、治療に応用しようとする再生医療の開発に向けた基礎研究が盛んに行われつつある。

既に世界的に骨髄、末梢血、臍帯血中の造血幹細胞を用いた移植が盛んに行われ、様々な難治性疾患に対する根治を目指す治療法としての地位が築かれ

ている。このような造血幹細胞移植はまさに再生医療の先駆けと位置づけることができ、さらに造血幹細胞を体外で増幅する研究が盛んに行われ、増幅した細胞を用いた実際の臨床応用も開始されている。最近、わが国においては心筋梗塞の患者に対して自家骨髄を直接心臓組織内に移植したり、閉塞性動脈硬化症（ASO）、パージャーマ病に対しても自己の骨髄細胞を用いた治療が行われるなど、再生医療は爆発的な広がりを見せようとしている。しかし、今後、わが国で再生医療を健全な形で進めていくためには、倫理性、社会性、科学性、公開性、安全性に十分配慮して進める必要があり、そのための指針作りが緊急の課題となってきている。本稿ではわが国における再生医療の現状と問題点について述べてみたい。

体性幹細胞を用いた再生医療

1. 体性幹細胞とは

われわれの臓器には、組織特異的な幹細胞（組織幹細胞：体性幹細胞）が存在する。体性幹細胞は固有の系列への分化能を持つとともに、分裂した際自分と同じ能力を持った細胞を再生（自己複製）することにより、それぞれの組織を維持していると考えられている。また、体性幹細胞には階層性（hierarchy）があり、より未分化な幹細胞は自己複製能が高く、分化能を見ても非常に広範な細胞系列に分化することができるが、幹細胞も下位になるに従い次第に自己複製能は失われ、分化できる細胞系列が限定され

てくると一般には考えられている。造血幹細胞は最も研究の進んでいる体性幹細胞であり、造血幹細胞の持つ自己複製能を応用して、骨髄移植、末梢血幹細胞移植、臍帯血移植など様々な造血幹細胞移植が行われている。体性幹細胞は、血液以外にも、血管上皮、皮膚、腸上皮クリプトの基底細胞、生殖器に存在することが知られ、最近では、肝臓、腎臓、網膜のような三次元構造をもった組織においても幹細胞が存在することが報告されている。さらに、最も分化の進んだ組織で、再生はしないと考えられていた成体の神経組織においても、幹細胞（神経幹細胞）が存在することが明らかとなっている。これからの再生医療を考えると、もちろん、様々な組織に存在する体性幹細胞を用いた再生医療においては、造血幹細胞のように静脈から移植すれば幹細胞が骨髄にホーミングし造血組織が再生されるという単純な話ではなく、細胞社会を理解することにより組織構築や臓器形成に結びつくと考えられる。表1にヒト体性幹細胞に関する最近の主な報告を挙げた。

2. 体性幹細胞の可塑性

最近、体性幹細胞の可塑性を示唆する多くの研究

が報告され、今後の再生医療を進めるうえで極めて重要な問題となることから大きな議論を呼んでいる。2000年のNature誌に、骨髄移植を受けた患者の肝組織を検討すると、肝細胞の一部がドナー細胞により置き替わっていたという衝撃的な報告がなされた¹⁾。この観察は1)造血幹細胞自身が血球系以外に肝細胞に形質転換した、2)骨髄中には造血幹細胞とは別の肝細胞のもとになる体性幹細胞が存在した、3)骨髄中には造血幹細胞、肝臓の幹細胞に共通のより未分化な幹細胞が存在した、の3つの可能性を示しているが、いずれが正しいかは全く解っていない。また、遺伝子変異チロシン血症マウスに正常骨髄細胞を移植したところ、血球系のドナータイプへの変換とともに、肝細胞の一部もドナータイプに置き代わり、肝機能の著明な改善とともに、血中チロシン値も低下することが報告されている²⁾。この報告はこれからの再生医療を考えるうえで極めて重要な意味を持っている。なぜならば骨髄移植により、致死的な肝疾患を治癒できる可能性を示唆しているからである。この実験では造血幹細胞自身が形質転換し肝細胞の再生に貢献しているのかどうか興味を持たれるが、この点についても若干の検討を行っている。骨

表1. ヒト体性幹細胞に関する主な報告

報 告 内 容	文 献	報 告 者
ヒト末梢血中のskeletal stem cellが、 <i>in vivo</i> (マウス)において脂肪、骨細胞に分化	JCB 153:1133, 2001	Kunnetsov S.A.
ヒト骨髄由来内皮細胞が、心筋梗塞部位の血管新生を促進し心機能改善に寄与	Nat Med 7: 430, 2001	Kocher A.A.
ヒトで男性由来骨髄移植を受けた女性患者において、男性由来の肝細胞の再生を確認	Nature 406: 257, 2000	Alison M.R.
ヒトで女性由来肝臓移植を受けた男性患者において、男性由来の肝細胞の再生を確認	"	"
ヒトで男性由来骨髄移植を受けた女性患者において、男性由来の肝細胞、胆管細胞の再生を確認	Hepatology 3:11, 2000	Theise N.D.
ヒトで女性由来肝臓移植を受けた男性患者において、男性由来の肝細胞、胆管細胞の再生を確認	"	"
ヒト骨髄ストローマ細胞が、 <i>in vivo</i> (マウス)で脳内移植により生着することを確認	PNAS 95:3908, 1998	Azzizi S.A.
ヒト間葉系幹細胞(MSC)を骨髄より分離し、脂肪、軟骨、骨細胞に分化することを <i>in vitro</i> で確認	Science 284:143, 1999	Pittenger
ヒト骨髄ストローマ細胞が、 <i>in vitro</i> で神経細胞へ分化することを確認	J Neuro Res 61: 364, 2000	Woodbury D.
ヒト骨髄ストローマ細胞が、 <i>in vitro</i> で神経細胞、グリア細胞に分化することを確認	Exp Neurol 164: 247, 2000	Sanchez-Ramos J.
ヒトMSCを羊胎児に移植し、軟骨、脂肪、筋、心筋、骨髄ストローマ、胸腺ストローマ細胞への分化を確認	Nat Med 6: 1282, 2000	Liechty K.W.
ヒトで骨髄よりG-CSFでmobilizationしたAC133 ⁺ 細胞が、血液細胞、内皮細胞へ分化することを <i>in vitro</i> で確認	Blood 95: 3106, 2000	Gehling U.M.
ヒト内皮前駆細胞、血管芽細胞を末梢血より分離	Science 275:964, 1997	Asahara T.
ヒト神経幹細胞(NSC)の筋細胞への分化を、 <i>in vitro</i> , <i>in vivo</i> (マウス)で確認	Nat Neurosci 3: 986, 2000	Galli R.
ヒトNSCを、死体ヒト脳より分離	Nature 411:42, 2001	Palmer T.D.
ヒトNSCを、ヒト胎児脳より分離	PNAS 97:14720, 2000	Uchida N.
ヒトNSCをサル胎児脳に移植し、神経細胞、グリア細胞への分化を確認	Science 293: 1820, 2001	Ourednik V.
ヒトNSCが、マウスへの移植により造血細胞へ分化することを確認	Blood 98: 2412, 2001	Shin C-C.
ヒトNSCを、ヒト胎児脳よりFACSを用いて分離	Nat Biotech 19:843, 2001	keyoung H.M.
ヒトNSCを、マウス新生児脳に移植することにより神経細胞、グリア細胞への分化を確認	Nat Biotech 16:1033, 1998	Flax J.D.
さらに、ヒトNSCの移植により、マウスhexosaminidase-A欠損症症状を改善		
ヒト脂肪組織より作成したPLA (processed lipoaspirate) 細胞が <i>in vitro</i> で脂肪、軟骨、筋、骨細胞に分化	Tissue Eng 7: 211, 2001	Zuk PA
ヒト降膜由来nestin陽性細胞が、 <i>in vitro</i> で降細胞、肝細胞に分化	Diabetes 50:521, 2001	Zulewski H.
ヒト臍帯血中にMSCが存在することを <i>in vitro</i> で確認	Br J Haema 109:235, 2000	Erices A.
ヒト皮膚幹細胞の維持、増殖にb1 integrinとMAP kinaseが関与する	PNAS 96: 6728, 1999	Zhu A.J.
ヒト新生児皮膚よりケラチノサイト幹細胞を細胞表面マーカーを用いて分離	PNAS 95: 3902, 1998	Li A.
ヒトで女性心臓を移植された男性患者において、男性由来の心筋細胞、冠動脈内皮細胞の生成を確認	NEJM 346: 5, 2002	Quaini F.
ヒト筋肉組織に、骨芽細胞が存在することを <i>in vivo</i> で確認	Bone 29: 317, 2001	Levy M.M.
ヒトMSCが、 <i>in vivo</i> (マウス) 骨髄移植において、生着不全予防と免疫制御により移植効率改善に寄与	Exp Hematol 28:875, 2000	Deans R.J.
ヒトMSCの骨髄移植におけるクリニカルトライアルのレビュー	BMT 27: 235, 2001	Koc On

髓細胞を血球系のマーカーとされているCD45抗原陽性かつc-kit⁺細胞, lin⁻細胞, Sca-1⁺細胞をそれぞれソーティングし移植したときにはドナータイプの肝細胞が認められているが, c-kit⁻細胞, lin⁺細胞を移植したときにはドナータイプの肝細胞は全く検出されていない。このことから造血幹細胞自身が正常の機能を持った肝細胞の再生を担った可能性を強く示唆している。

最近, 1個の造血幹細胞の移植により長期骨髄再構築と皮膚, 肺胞上皮, 消化管粘膜上皮, 胆管上皮への分化が見られたとする画期的な論文が出された³⁾。この実験ではエルトリエーターで分離した雄マウス骨髄細胞からlin⁻細胞を回収し, PKH26色素でラベルした後, 致死量放射線照射した雌マウスに移植している。移植後48時間後, 移植されたマウス骨髄からPKH陽性細胞をソーティングし, 別の放射線照射雌マウス30匹にそれぞれ細胞1個だけ移植し, 11ヶ月後に生存した5匹のマウスについて解析している。5匹いずれも血液系の再構築とともに皮膚, 肺胞上皮, 消化管粘膜上皮, 胆管上皮いずれかが認められている。2回目の移植前のPKH26陽性細胞は

CD34⁺Sca-1⁺であったことから, 造血幹細胞が皮膚や粘膜上皮細胞に分化したと結論づけている。もちろん, 造血幹細胞のマーカーとしてよく使われているlin⁻CD34⁺Sca-1⁺細胞が, 他の体性幹細胞や造血幹細胞より未分化な幹細胞を含んでいる可能性, 最近報告された細胞融合によりもたらされた可能性⁴⁾などは否定できないが, 骨髄中のたった1個の細胞から, 胚葉を超えて様々な細胞に分化したことの意義は今後の再生医療を考えると非常に大きいと思われる。その他, 骨髄から血管内皮細胞, 血管平滑筋細胞, 骨格筋細胞, 心筋細胞, 神経細胞, グリア細胞, 骨細胞等が*in vivo*, *in vitro*で形成されたとの報告が見られる(表1)。これらは骨髄中に存在する間葉系幹細胞やより未分化な幹細胞によりもたらされているのか, 造血幹細胞自身の可塑性を示しているのか明らかではない。造血幹細胞から胚葉を超えて様々な細胞に分化できるか否かは現時点では結論づけることはできないが, 最近得られつつある多くの知見は比較的採取が容易な骨髄細胞を用いて, 今後, 様々な再生医療が展開できる可能性を示している(図1)。一方, 骨格筋細胞から分離した細胞を5日

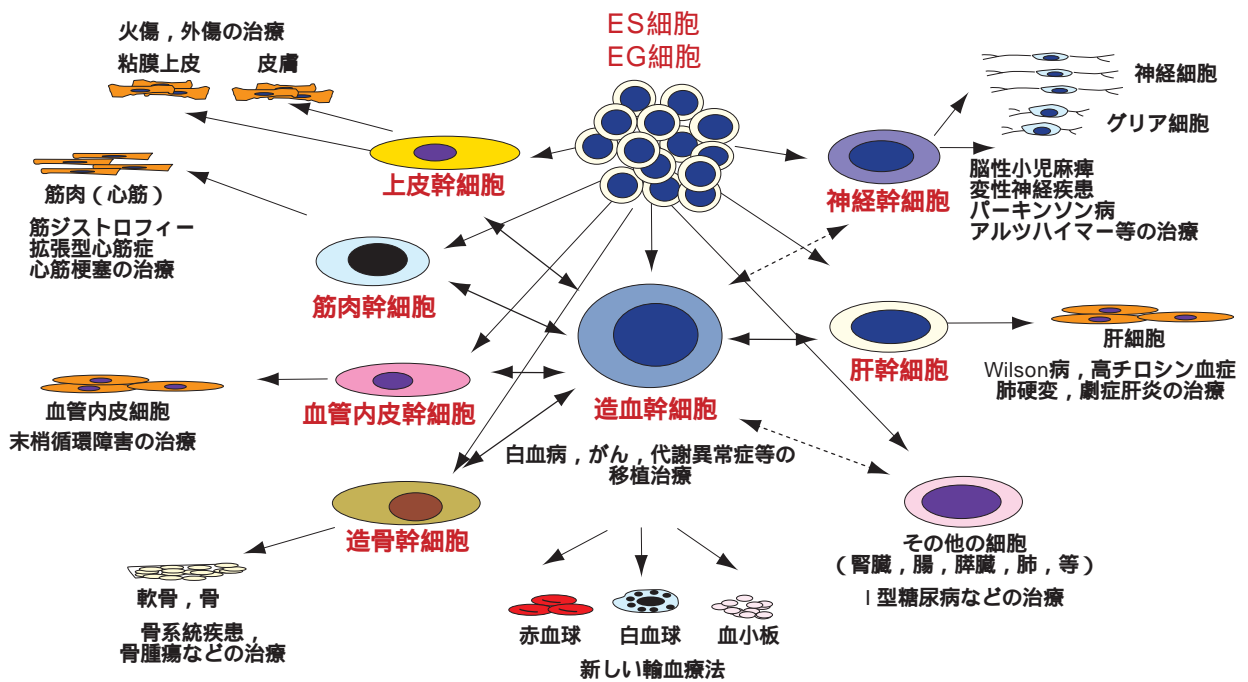


図1. 体性幹細胞, ES細胞を用いた再生医療

間培養すると、骨髄よりも遥かに高頻度に骨髄再構築能を持った細胞が出現するとの報告、神経幹細胞を移植すると血液細胞が出現し、神経幹細胞の一部は骨髄再構築能を持った造血幹細胞としての活性を持つとの報告、筋芽細胞と共培養すると神経幹細胞から筋線維に分化したとの報告など、他の体性幹細胞の可塑性を示唆する報告も相次いでいる。

3. 体性幹細胞を用いた再生医療の現状

1) 造血幹細胞移植

造血幹細胞移植は既に一般的な医療となっていることより詳述は避けるが、造血幹細胞の持つ自己複製能を利用した医療であることから、再生医療のトップを走ってきたという見方をすることもできる。造血幹細胞移植はドナーの種類により、自分の幹細胞を用いる自家移植と他人の幹細胞を用いる同種移植に分けることができ、後者は血縁者間と非血縁者間移植に分類される。また、用いる幹細胞のソース別に骨髄、末梢血、臍帯血の3種類に大別され、年間約1,500の造血幹細胞移植がわが国で行われているが、骨髄バンクの重要性が年々高まっている。わが国の骨髄バンクのドナー登録は既に13万人を越え、2,500例を越える非血縁者間骨髄移植(UBMT)が行われ、多くの患者に治癒がもたらされている⁵⁾。最近のUBMTの治療成績の検討では、HLAのDNAタイピングの重要性が指摘され、30万人規模の骨髄バンクが目標となってきており、ボランティアを中心とした一層の運動の盛り上がり期待されている。

最近、骨髄に代わる造血幹細胞源として末梢血がしばしば用いられている。自家に始まり、最近では同種PBSCTの報告も急増しており、骨髄移植に取って代わる勢いである。健康人の末梢血には造血幹細胞は極く少数しか流れていないが、G-CSFを連続投与すると大量に骨髄から末梢血に動員される⁶⁾。この時期の末梢血から血液成分分離装置を用いて大量に末梢血造血幹細胞/造血前駆細胞(PBSC)を採取し、移植に用いられる。平成12年4月よりわが国では同種末梢血幹細胞移植の健康保険適応が認められ新たな局面を迎えた。健康人にG-CSFを投与して末梢血造血幹細胞を採取し、同種移植に用いることが保険で認められたことから、ドナーの短期、長期の安全

性の確保が大きな課題となっている。日本造血細胞移植学会ではそのためのガイドラインを公表するとともに、安全性追跡調査のための登録制度を開始している。PBSCTは骨髄移植に比べ約10倍ものリンパ球が移植されるにも関わらず急性移植片対宿主病(GVHD)の重症化は見られず、移植後の血球の回復が早いことから、より安全な移植ではないかと言われている。しかし、慢性GVHDの頻度は骨髄移植に比し有意に頻度が高いとの報告も多く、前方視的な移植成績の検討がわが国でも始まっている。

ヒト臍帯血中には造血幹細胞が高頻度に存在することが明らかにされ⁷⁾、世界的に臍帯血移植が盛んに行われるようになり、予想以上の治療成績をあげている。わが国では全国10ヶ所に臍帯血バンクが結成され、臍帯血バンクを通じた移植も300例以上に達している。臍帯血移植は、HLA2座不適合移植でもGVHDの頻度が極めて低い、ドナーへの負担が全くない、コーディネイトに時間を要しないなど骨髄移植にない利点を持っている。一方、血球回復が他の移植と比べ遅延すること、成人に対する移植では拒絶が高率に見られる、悪性腫瘍に対しては移植片対白血病反応(GVL効果)が未知であるなどの問題点も存在する。今後、造血幹細胞の*ex vivo*増幅が可能になれば、臍帯血移植は大きく発展し、再生医療の中心になると期待されている。

現在、ヒト臍帯血を中心に造血幹細胞の*ex vivo*増幅が世界的に試みられているが、未だ成功したとは言いがたい⁸⁾。欧米では種々のサイトカインを組み合わせることで*ex vivo*で造血幹細胞/造血前駆細胞を増幅し、それを用いた移植も開始されているが、明らかな臨床効果は報告されていない。最近われわれは可溶性IL-6受容体(sIL-6R)IL-6複合体とSCF, TPO, Flt3リガンド(FL)を組み合わせた新しいヒト造血幹細胞の増幅法を開発した⁹⁾。臍帯血から分離したCD34⁺細胞をこの条件下で1週間培養することにより、造血幹細胞を約4.2倍増幅できることがNOD/SCIDマウスを用いた定量的に測定法で明らかとなった(図2)。われわれが開発したこの培養法は現時点ではヒト造血幹細胞の*ex vivo*増幅に最も有効と考えられ、臨床応用を開始したいと考えている。

このような造血幹細胞移植とは別に骨髄や末梢血

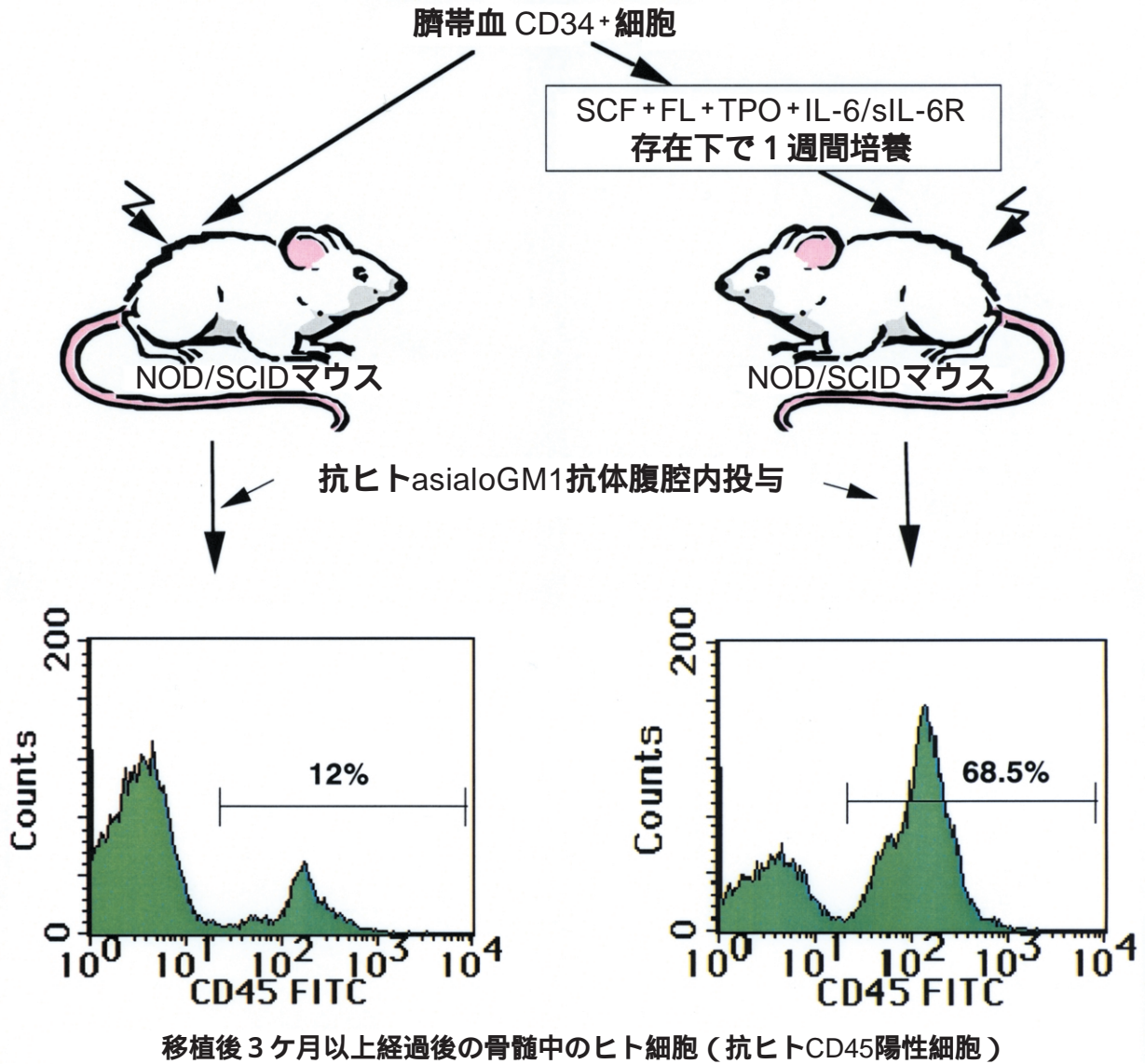


図2 . Ex vivo 増幅ヒト造血幹細胞の評価

中の体性幹細胞を用いた種々の新しい再生医療がわが国で始まっている。表2には本年2月現在、従来の造血幹細胞移植以外の体性幹細胞を用いた再生医療の臨床研究についてのアンケート調査の結果を示した。このアンケートは全国の医学部臨床部門、基礎部門で該当すると推測される教室のみに送付され、研究所、病院や企業などへは送付されなかったにもかかわらず、我々の予想を遥かに超える再生医療が既に行われている、あるいは行われようとしている実態が明らかとなった。骨髄細胞を用いて心筋梗塞

の患者に対して自家骨髄を直接心臓組織内に移植することにより、心筋梗塞などで壊死に陥った組織の機能を補う臨床研究が実際に行われている。また、閉塞性動脈硬化症（ASO）、パージャーマ病に対しても自己の骨髄細胞を用いた治療が行われるなど、再生医療は爆発的な広がりを見せようとしている。しかし、今後わが国で再生医療を健全な形で進めていくためには、倫理性、社会性、科学性、公開性、安全性に十分配慮して進める必要がある、そのための指針作りが緊急の課題となってきている。

表2. わが国における体性幹細胞を用いた臨床応用の実態調査（平成14年2月25日）

調査対象：大学医学部臨床部門，基礎部門で該当すると推測される教室，
 研究所，病院，企業は未調査
 調査方法：アンケート郵送の後，該当する場合のみFAXにて回答
 発送数：1512，回答数：204，該当する回答数：101

臨床研究段階：16施設	
施設名	臨床研究内容
A大学第2外科 B大学第3内科 C大学皮膚科 D大学第1内科	下肢慢性動脈閉塞症に骨髄移植（患者選定段階） 重症末梢血管疾患（パージャール病）に自家骨髄移植 8人/9肢に施行済 皮膚潰瘍に対して自家皮膚移植 3例施行 2例有効 閉塞性動脈硬化症状・パージャール病に対して自家骨髄血管前駆細胞移植 虚血性心疾患に対して自家骨髄血管前駆細胞移植予定（倫理委員会申請中） 糖尿病に対してヒト胎児の膵島細胞移植予定（倫理委員会申請準備中）
E大学血液循環器分野 F大学胸部心臓血管外科 G大学形成外科 H大学整形外科	パージャール病に対して自家骨髄血管前駆細胞移植 3例 冠動脈バイパス手術に際し，自家骨髄細胞移植を併用または単独で施行 ヒト表皮細胞培養後移植（巨大母斑・白斑）自家移植 290例，同種移植180例 人工関節と骨との接触部に自家骨髄間葉系幹細胞を培養して移植 2例 小児良性骨腫瘍による骨欠損部に人工骨上で自家骨髄細胞を培養し移植予定
I大学血管内科 J大学整形外科 K大学眼科 L大学循環器内科学	パージャール病に対して自家骨髄細胞移植 例数記載なし ヒト骨髄間葉系細胞移植 詳細記載なし 自家角膜上皮，同種角膜上皮を直接あるいは培養後移植 閉塞性動脈硬化症（ASO）に対して末梢血CD34+細胞移植 4例5肢に行い全例有効 虚血性心疾患への移植も倫理委員会での承認済
M大学第2内科 M大学頭頸部感覚器外科学	先天性骨嚢腫に対して自家移植 培養表皮および培養粘膜上皮移植を120例施行 ほとんどが自家移植であり90%に生着 自家骨髄由来間葉系幹細胞を培養し人工骨として移植 例数記載なし
N大学血液学部門	閉塞性動脈硬化症状・パージャール病に対して自家骨髄細胞筋注療法実施 例数記載なし 虚血性心疾患に対して自家骨髄細胞筋注予定
N大学循環器内科 O大学形成外科 P大学第1内科	重症虚血肢患者に自己骨髄単核球移植による血管再生療法 12例に施行 骨髄細胞を使った下顎骨の再生 2例に施行
Q大学血液リウマチ科	閉塞性動脈硬化症（ASO），パージャール病，心筋梗塞に対して自家骨髄移植（倫理委員会承認済） 骨髄細胞を用いた肝臓再生 臍帯血CD34+細胞をマウス骨髄ストローマ細胞上で増幅し移植 1例施行
前臨床研究段階：3施設	
R大学臓器再生医学 S大学外科 T大学小児科	骨髄細胞を使った肝細胞，膵細胞作成，骨髄中幹細胞を使った腎疾患治療 骨髄細胞を使った肝細胞，膵細胞作成，骨髄中幹細胞を使った腎疾患治療 臍帯血CD34+細胞をサイトカインで増幅し移植 体性幹細胞を用いた先天性筋疾患，肝疾患，心筋症の再生治療
研究段階：90施設	

4. 体性幹細胞を用いた臨床研究のための指針

わが国では体性幹細胞を用いた再生医療が急速な広がりを見せているが，体性幹細胞の臨床応用に関する指針が無かったために医療現場では大きな混乱が起こっている。このような現状を鑑み，今後わが国で再生医療を健全な形で発展させていくためにはヒト体性幹細胞を用いた臨床研究に対する指針の早急な作成が求められている。

平成14年，厚生科学審議会科学技術部会ヒト幹細胞を用いた臨床研究の在り方に関する専門委員会が発足し，「ヒト幹細胞を利用した臨床研究に対する指針」作成のための検討が進められている。

この指針は倫理的な面だけでなく臨床試験研究の

安全性を十分に考慮して作成する必要があると考えられ，ドナーについて（自己，同種（墮胎胎児等を含む）等）採取にあたっての説明・同意，ドナースクリーニング，幹細胞の採取方法，幹細胞の加工について（培養，遺伝子操作等），幹細胞の利用について（対象とする疾患の範囲，投与手技に対する評価等）など様々な問題が検討されている。倫理的検討は再生医療を進めるうえで極めて重要な問題であるが，それに加えて最近では細胞をintelligent drugとして位置づけ，従来の薬の生産と同じように安全性をしっかりと担保することが求められている。

従来、薬事法に基づき安全性に対して厳密な基準のもとで行われてきた臨床治験と異なり、わが国で行われてきた再生医療はすべて医師主導の臨床研究として各医療機関の倫理委員会をパスすれば良いという形で行われてきた。しかし、細胞を無菌的に処理・加工するための施設を整備する事もないまま、各医療機関の倫理委員会のレベルはまちまちで、審査される項目や内容も全くばらばら行われてきたことから、これまでのやり方でわが国において再生医療が爆発的に展開されることを危惧する声が大きくなりつつある。欧米においては、体性幹細胞を用いた細胞治療、再生治療に関する臨床試験研究がまきに行われようとしている。米国ではテキサス州ヒューストンのベイラー医科大学、MD アンダーソン・メディカル・センター、ウイスコンシン大学のワイズマン・トランスレーショナル・リサーチ・センター、ミネソタ大学の細胞プロセッシング・センターをはじめとして、細胞治療、再生治療、遺伝子治療等の探索的トランスレーショナル・リサーチを目指している最先端の大学あるいは医学センターには、治療用細胞を無菌的に安全に作製するための細胞プロセッシング・センターがほぼ例外なく併設されている。同様の施設は現在全米30数箇所を数える。

5. 体性幹細胞の臨床応用に向けた基盤整備

再生医療に用いる体性幹細胞を骨髄その他の組織から分離したり、体外で培養したり、加工したりしてからそれらの細胞をヒトへの臨床応用に用いるためには、まずは安全性と細胞の機能、品質が保証されなければならない。最近、細胞治療の普及に伴い米国のFDAからGTPガイドラインが施行された。GTPとはGood Tissue Practiceの略でヒト細胞/組織に由来する製品の製造工程において伝染病物質の混入を防ぐとともに製造工程と品質管理の基準を示すことで安全かつ細胞機能を保証するものである。わが国においてもこれを受け、2001年3月に厚生労働省令として「細胞治療生物製剤の取り扱い」という基準が公示された。我々が体性幹細胞の体外増幅を含めた細胞療法を行う場合、これらの基準に合致した細胞の加工が必要であると考えられる。具体的には伝染物質の混入を防いだり、細胞の取り違えなどを防ぐため、基準に合致したCPC (cell processing center) での培養や標準作業手順書 (SOP) の作成、厳格な品質管理体制の確立などの整備を行う必要がある (図3)。また、体外処理された体性幹細胞の安全性と効果を科学的に証明していくためには質のよい臨床試験のデザインの構築が必要である。

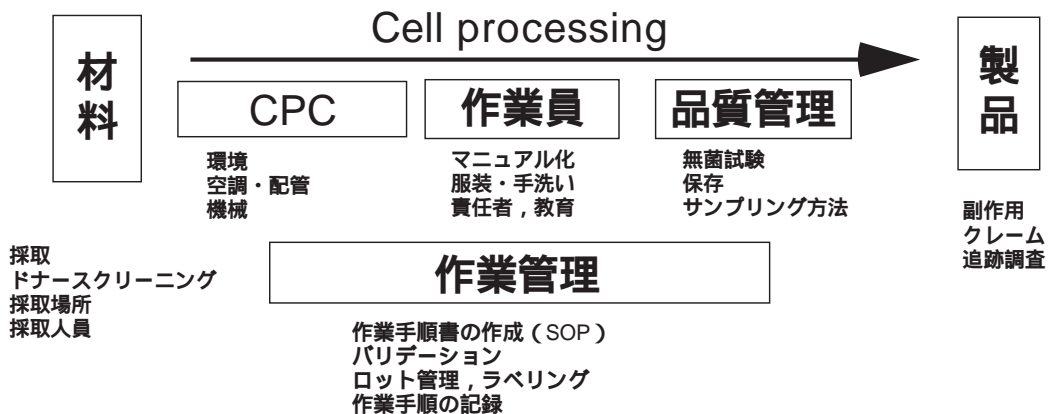


図3 GTP (Good Tissue Practice)
ヒト細胞/組織に由来する製品の製造工程 (採取一流通) において、伝染病物質の混入を防止するとともに、適切な作業工程と品質管理の基準を示すことにより、製品の機能 (function)、完全性 (integrity) が損なわれない、安全かつ有効な製品がつけられることを保証する基準

胚性幹細胞(ES細胞)の再生医療への利用

胚性幹細胞 (embryonic stem cell : ES細胞) は受精卵とともに最も上位に存在する幹細胞である。ES細胞はある一定の培養条件下で未分化な状態を保持しながら半永久的に自己複製し、生殖細胞系列を含むあらゆる種類の細胞に分化できる全能性、多分化能を有する細胞として知られている。このことを利用してマウスES細胞は遺伝子改変マウスなど最近の分子生物学、発生学分野で大きな役割を果たしてきた。最近、ヒトES細胞の樹立に成功した論文が発表され、世界中に大きな衝撃を与えた¹⁰⁾。ヒト受精卵(余剰卵：生殖医療で使われなかった受精卵)を用いたES細胞の樹立は社会的、倫理的に多くの問題を抱えているが、一方、ES細胞はほぼ無限に増やせることから、これらの細胞から特定の細胞や特定の体性幹細胞だけに分化させる培養系を確立することができれば、目的とする細胞や臓器を無限に造り出すことが可能になると考えられる。しかし、ヒトES細胞の樹立及び使用が医学及び生物学の発展に大きく貢献する可能性がある反面、人間の生命の萌芽であるヒト胚を使用すること等の生命倫理上の問題点が極めて大きいことから、ヒトES細胞の樹立及び使用に関して、生命倫理の観点から遵守すべき基本的な事項を定め、もって適正な実施を確保することを目的として文部科学省により「ヒトES細胞の樹立及び使用に関する指針」が公表され、すでにこの指針を遵

守したES細胞の樹立、海外から導入したES細胞を用いた基礎研究の申請がなされている。欧米では既に多数のES細胞株が樹立され、種々の研究が進んでいる(表3)。

ES細胞の自己複製と分化の決定の本質的な分子メカニズムはまだ明らかではないが、leukemia inhibitory factor (LIF) 存在下に全能性を維持したまま自己複製できることが知られているマウスES細胞においては、LIFが分化を抑制することによりES細胞の自己複製能を支持していると考えられる。LIFはIL-6などと共通の受容体であるgp130を介してシグナルを伝達するが、その際の細胞内シグナル分子としてSTAT3が必須であることが明らかにされている¹¹⁾。しかし、ヒトES細胞では自己複製へのLIFの関与は否定的であり、今後の検討が待たれている。

ES細胞は培養条件を変化させると、様々な細胞に*in vitro*で分化可能なことが知られている。既に神経細胞、筋肉細胞(特に心筋細胞)、血管内皮細胞、軟骨や骨の細胞、膵島細胞、肝細胞、赤血球、マクロファージ、肥満細胞、巨核球等の血液細胞をES細胞から分化させることが可能である。*In vivo*では身体を構成するすべての臓器に分化可能なことから、至適な培養条件さえ見い出すことができれば、*in vitro*でもすべての細胞をES細胞から作り出すことが可能であると考えられる。このように分化培養の系に様々な増殖因子を添加して分化させるわけであるが、現在のところ目的とする細胞系列だけをES細胞から

表3 米国国立衛生研究所(NIH)から報告されているヒトES細胞リスト

保 有 期 間	保有株数
BresaGen, Inc., Athens, Georgia	4
CyThere, Inc., San Diego, California	9
ES Cell International, Melbourne, Australia	6
Geron Corporation, Menlo Park, California	7
Goteborg University, Goteborg, Sweden	19
Karolinska Institute, Stockholm, Sweden	6
Maria Biotech Co. Ltd.-Maria Infertility Hospital Medical Institute, Seoul, Korea	3
MizMedi Hospital-Seoul National University, Seoul, Korea	1
National Centre for Biological Sciences/Tata Institute of Fundamental Research, Bangalore, India	3
Pochon CHA University, Seoul, Korea	2
Reliance Life Sciences, Mumbai, India	7
Technion University, Haifa, Israel	4
University of California, San Francisco, California	2
Wisconsin Alumni Research Foundation, Madison, Wisconsin	5

分化させることには成功していない。

ES細胞の再生医療への応用は、現在胎児の脳を用いて行われているアルツハイマーやパーキンソン病を中心とした変性、脱髄性神経疾患でまず開始されるのではないかと予想されている。しかし、ES細胞の臨床応用にあたっては、体性幹細胞と同様に安全性を担保する様々な技術面をクリアーする必要があるうし、さらに、遥かに深い倫理的な幅広い議論が必要であろう。

おわりに

再生医療の今後の発展は、研究者や臨床試験を計画する医師がすべての情報を公開し、様々な面から議論を重ねる事により、われわれの社会がいかに倫理的、社会的コンセンサスを持ちうるかにかかっている。また、科学性を十分に検証しながら、intelligent drugとして細胞を捉え、常に安全性に配慮し、少しでもそれを高めた医療として展開しようとする研究者、医療従事者のたゆまぬ努力にかかっている。

参考文献

- 1) Alison MR, et al. : Hepatocytes from non-hepatic adult stem cells. *Nature*, 406 : 257, 2000.
- 2) Lagesse E, et al. : Purified hematopoietic stem cells can differentiate into hepatocytes in vivo. *Nature Med*, 6 : 1229 ~ 1234, 2000.
- 3) Krause DS, et al. : Multi-organ, multi-lineage engraftment by a single bone marrow-derived stem cell. *Cell*, 105 : 369 ~ 377, 2001.
- 4) Terada N, et al. : Bone marrow cells adopt the phenotype of other cells by spontaneous cell fusion. *Nature*, 416 : 542 ~ 545, 2002.
- 5) 日本造血細胞移植学会平成13年度全国調査報告書. 日本造血細胞移植学会全国データ集計事務局, 2001.
- 6) Tanaka R, et al. : Kinetics and Characteristics of peripheral blood progenitor cells (PBPC) mobilized by Filgrastim (rHuG-CSF) in normal healthy volunteers. *Brit J Haematol*, 92 : 795 ~ 803, 1996.
- 7) Nakahata T, Ogawa M : Hemopoietic colony-forming cells in umbilical cord blood with extensive capability to generate mono- and multipotential hemopoietic progenitors. *J Clin Invest*, 70 : 1324 ~ 1328, 1982.
- 8) Nakahata T : Ex vivo expansion of human hematopoietic stem cells. *Int J Hematol*, 73 : 6 ~ 13, 2001.
- 9) Ueda T, et al. : *Ex vivo* expansion of human NOD/SCID-repopulating cells by stem cell factor, Flk2/Flt3 ligand, thrombopoietin interleukin-6 and soluble interleukin-6 receptor. *J Clin Invest*, 105 : 1013 ~ 1021, 2000.
- 10) Thomson JA, et al. : Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. *Science*, 282 : 1145 ~ 1147, 1998.
- 11) Matsuda T, et al. : STAT3 activation is sufficient for maintaining an undifferentiated state of embryonic stem cells. *EMBO J*, 15 : 4261 ~ 4269, 1999.

Current Status and Consideration of Regenerative Medicine

Tatsutoshi NAKAHATA, MD

Department of Pediatrics, Graduate School of Medicine, Kyoto University,
54 Kawahara-cho Shogoin Sakyo-ku Kyoto 606-8507.

Key Words Regenerative Medicine, Somatic Stem Cell, Embryonic Stem Cell, Hematopoietic Stem Cell