

する、v) 症例の国際登録

④世界の市民に

i) 一般市民への危険性が否定できないことを明確にしたインフォームドコンセントを取るための標準的指針を作る、ii) 世界の一般市民にその危険性を教育する方法論を示す、iii) 一般市民の健康被害が個人の権利を踏みにじるかどうか、その程度はどれくらいかを判断する国際専門家会議を開催する。

3. 討論のまとめ

- ・研究は急速に進展しており、1例成功裏に行われると予想以上のスピードで世界に普及する可能性があるため、異種移植の最初の臨床例が行われるまでに、WHOは可及的速やかに何らかの行動を起こす必要がある。
- ・合意「いかなる国においても、行政的規制、追跡調査の体制を含む適切な安全性確保の枠組みなしにヒトへのいかなる異種移植も行ってはならない」。
- ・WHOの役割(前項)を合意した。
- ・日本からは、異種移植の定義に関連して、「体外で動物の生きた細胞、組織、臓器に接したヒトの体液、細胞、組織、臓器を体内に戻すこと」も異種移植と定義することに異論はないが、ライン化したフィーダー細胞を使った培養皮膚に対しては、厳格なガイドラインの適用ではなく、実際に数千人の患者に治療が行われてきたことやこれまで安全性で問題がなかったことなどを踏まえ、より現実的な運用が必要だという提案をした。
- ・メキシコ大学の関連小児病院で行われた、タイプ1糖尿病の小児へのブタ膵島(皮下)移植事例について、メキシコ国立移植センター理事長から簡単な説明があったが、国が厳重監視しているとの説明に特別なおとがめはなかった(ちなみに、国際異種移植学会は国の監視体制に関する届出不備を理由に、2003年度の学会発表差し止めの処分をした)。

X. 低開発国にも移植医療の恩恵を

パキスタン、チュニジア、モロッコ、東アフリカ、セネガル、ロシアの実状が報告された。WHOとしてはこういった“ないないづくし”の諸国にも移植を定着・普及させることを目指しており、2020年実現を目処に支援する予定という。WHO主導の支援、指導とともに、先進国の協力体制の確立が不可欠ということになった。

XI. 移植医療の規制と公的(行政的)監視

欧州会議加盟国(EU)は現在15カ国であるが、10カ国が新たに参加予定である。各国にある規制、指針、法律を整合し、統一することはきわめて困難な事業である。特に組織および細胞移植における規制は各国まちまちで、さらに薬品、医療材料との異同に関する定義の整合が難しい。近く共通のガイドラインを上梓する予定である。

発展途上国において移植に関する規制、指針、法律が不備または未策定である理由は、国ごとにあまりにも違うからで、WHOが標準を示すべきといっても、実効あるものを作ることはきわめて困難という印象だった。

XII. 分科会による最終合意と提言

5つの課題別分科会に分かれて報告書原案を作成する作業をした。

分科会の目的は次の4つとした。

- ①移植医療に関する現在の問題点を抽出する
 - ②すでに合意形成のある領域と議論すべき領域を確認する
 - ③WHOの果たすべき役割を勧告する
 - ④WHOが関与することで予想される成果を推定する
1. 死亡者からの組織および臓器の提供に関する合意と提言

- ・移植は有効な治療手段であり、世界に普及させるべき一般的な医療とみなす。
- ・世界的には情報不足で統計が不十分。一部の地域および国からのデータが欠落しており、不確実なデータや集計に入れるべきでないデータもある。
- ・人口100万対年間移植数(pmp)には顕著な地域差がある。また、臓器提供の種類(生体、脳死体など)にも国/地域の特性がある。理由は不明だが、複雑な要素が関与していると思われる。
- ・法的整備がなされているにもかかわらず、大部分の人が脳死下での臓器提供を嫌う国がアフリカ、アジア、ラテンアメリカに多い。要因としてその地固有の文化、信仰、価値観が重要だが、資金不足、専門家の不足、体制の不備などの技術的要素も関係している。
- ・国によっては脳死や移植に関する法整備がないところもある。
- ・臓器提供や移植医療が社会的に信頼されていない国

もある。倫理性、優先順位、安全性などの公明性を担保する必要がある。

- “予定脳死移植”として死刑囚からの提供が複数の国で行われている。同意を得ているといっても、刑務所内の受刑囚であるだけで不適切な状況下に半強制的に同意がとられることになるので、到底許されるものではない。
- 臓器不足から、ドナーの適応拡大が問題になっている。本来は移植に不適とされる腎臓を移植する場合、レシピエントも“ないよりはまし”な状態であるが、その明確な定義や基準はなく、安全性については問題がある。レシピエントへはそのことを十分に説明し、納得してもらう必要がある。ドナーに感染症がある場合に、同じ感染症を持つ患者にどうするか聞くなどのケースだが、アメリカでは提供の20%にも及ぶという。
- 移植で伝染する感染症や他の疾患の危険性は、その地域の状況によって評価・基準を異にする。
- たとえば HIV 感染の頻度の高い国において、HIV 患者への腎移植をどのように考えるか悩ましい問題である。HIV 感染者が多数待機している場合、成功率が低いといって適応外にもできないし、非感染待機者のチャンスはその分減るのである。

<WHO の役割>

- 1991 年の WHO Guiding Principles から逸脱して、生体臓器提供が世界的に激増している事実を放置しない。
- 世界全体の移植の成績を質的、量的に理解するに十分なデータを確保する機構を作る。各国、各地域のデータベースを充実するよう指導し、それを1つにネットワーク化する。
- 法整備など環境が整っているにもかかわらず、脳死下での臓器提供がきわめて少ない地域、国の原因究明のための研究を助成・推進すること。
- 適切な法整備と監視・監督機構の構築が不十分な国に対し、政府にその促進を勧告すること
- WHO 加盟国全体の底上げを計る。

2. 生体臓器移植に関する合意と提言

<ドナーの安全性>

- ドナー候補者の選択基準を決めること。生理的、情緒的、精神的に満たしておくべき条件は最低限規定すること。
- 腎疾患の高度流行地域では提供候補者にも腎疾患発症の可能性が高い。

- 腎や部分肝を提供した人の早期および遠隔期の安全性について不明である。先進国における腎摘出術の死亡率、合併症など罹病率が低いことはわかっているが、アメリカにおいてさえ望まないデータは多分公表されていない。この良好なデータが発展途上国でドナーの安全性の説明、同意の資料として使われている。しかし、その国の経済、栄養、感染症、衛生などの状況は当の先進国とは比べものにならないくらい劣悪であることが多いのである。
- 多くの国ではドナーの早期の死亡率、合併症など罹病率についてさえ不明である。これらのデータは国または地域レベルで把握されるべきで、地方の医師会、学会あるいは国の保健衛生機関の責任である。
- ドナーは腎提供後すぐに元気になり、退院後はフォローされないことが多い。一方、移植患者は、これまで遠隔期までモニターされ、長期予後について究明されてきた。ドナーについても、本人が希望した場合は医師の定期的な診察を受け、腎摘後長期にわたってフォローアップされることになっていた。
- しかし、すべてのドナーが長期フォローアップされ、安全性などについて研究されるべきである。
- 多くの例外はあるとはいえ、生体から提供される細胞、組織、臓器の年間の件数すらわかっていない。これらの数字を明らかにする努力をするべきだということを参加者全員で合意したが、生体ドナーの世界登録を目指すことは得策でないということになった。
- WHO を通じて、各国あるいは地域でドナーの安全性に関するデータを収集させ、WHO がそれらを集計する方法を提唱することにした。

<ドナーの動機づけ>

- 臓器提供の動機には、善意の愛他的、自主的な動機から物欲による闇取引まで、連続性をもっているいろいろな段階の動機がある。もちろん、善意や自主的な動機からの提供は最も賞賛されるべきであり、闇取引による提供は犯罪であり、あってはならない。
- 血縁者間に限った臓器提供は、動機が愛他的であること、HLA の適合度が高く、生着率が良好で免疫抑制剤も少なく済み、ドナーが消息不明になることもないなど利点が多く、特に途上国において顕著である。
- 非血縁間の善意の愛他的、自主的な腎の提供は、WHO 加盟国においても広く容認されている。腎以外の生体臓器(肺葉、部分肝、部分脾)の提供者は

その多くが血縁者間に限られている。

- ・しかし、血縁者間の提供であっても善意の愛他的、自主的な動機から提供されるとは限らず、強制が働き、謝礼金が支払われることもある。家族主義の強い文化圏ほど、“絆”による無言の精神的圧力がかかることが多いといわれている。

- ・“第三者的ドナー擁護者 Independent Donor Advocate” 制の導入が推奨されているが、これまで導入例は少なく、特に低開発地域では実用的でなかった。しかし、この制度の基本概念は人権擁護の意味からも重要であり、文化や環境に対応した方法で実施すべきである。たとえば、生体ドナーの同意を得るための説明は、レシピエントの治療に関わっていない診療科の内科医あるいは外科医が担当するシステムである。

<臓器売買・闇取引>

- ・非合法の移植を行う組織は数、規模ともに増大しており、“不道德だ”、“違法だ”と非難するだけではすまされない状況になっており、阻止する行動が必要である。
- ・違法な臓器提供者の動機づけおよびそれを増殖させている要因は、貧困や臓器不足にあると思われる。
- ・移植の修練を受けたごく少数の内科医や外科医が関与しているといわれているが、ほとんど把握されていない。非合法的売買の現場を押さえることはきわめて困難であり、噂を実証し論駁することは難しい。
- ・臓器の非合法売買は当事者にとってはもちろん、社会的、経済的、政治的にも影響の大きい刑事的犯罪であり、国際的人身売買と同罪とみなすべき。
- ・すべての WHO 加盟国において、臓器や組織の授受とその仲買を業とする者は法的に罰するようにすべき。
- ・意欲を高めるための行動と、意欲をそぐ要素を排除することの概念的違いが議論された。たとえば、保健行政が劣悪で医療保険制度の未完な国で、臓器提供後に合併症が起こった時の補償を条件にした場合、その提供は不適切な動機によるものかどうか結論は出なかった。何かを代償として臓器提供がなされる場合の善悪の線引きは、概念論ではなく、社会的、文化的背景を考慮した現実論であるので、“Independent Donor Advocate” 制の導入が必要であろう。
- ・非合法的臓器移植は複数の国にまたがる組織になっ

ている。提供者と移植希望者と移植実施者（施設）は各々別の国において、仲買は闇の中にいる。各々の国が責任持って処罰する必要がある。移植は公的に承認された病院で行われるべきで、第三国で行われる生体腎提供の医療費を患者が補償することはやるべきではない。

3. 異種移植

いかなる国においても、行政的規制、追跡調査の体制を含む適切な安全性確保の枠組みなしにヒトへのいかなる異種移植も行ってはならないとする合意が得られた。レギュレーションのない国、地域でなし崩し的に異種移植が行われる可能性があり、最初の臨床例が行われるまでに、可及的速やかに何らかの行動を起こす必要がある。

<WHO の役割>

- ・安全性に関する基本原則と行政的監視の必要性を参加国に周知する。
- ・行政による規制・監督の方法など最低限の枠組みの確立を促進する。
- ・行政による監視・監督の実施を指導、援助する。
- ・各国間の連絡と情報交換を密にする方策を考える。
- ・1998年のWHO勧告の見直し（必要な場合）と再配布。
- ・各国とも Xenotourism を極力減らす努力をすることの合意形成。
- ・異種移植事例の追跡調査体制の確立、患者およびその家族などの登録、経過の報告、検査内容・方法の統一、検体の永久保存。
- ・国際登録：移植を実施した医師も、他国で移植を受けて帰国した患者を診ている医師も、それぞれの国の監督機関を通じて国際登録する。
- ・異種移植の行われている国を把握する体制を確立する。
- ・一般市民への危険性を明確に示すインフォームドコンセントの取り方についての基本的標準の提示。

4. 移植のためのヒト組織および細胞の国際的管理・監督

- ・組織、細胞は倫理的妥当な方法で患者に配分されなければならない。倫理性は適応基準、公平性、安全性に配慮すること。
- ・WHO は加盟国の関係者間で「細胞」「組織」の定義を統一し、管理・監督のあり方、システムのモデル、指針を示すこと。
- ・細胞、組織移植の商品化、商業化が進んでいる中で、

組織の非合法的売買が国際的な規模で行われていることへの対応を考える必要がある。

- ・患者にとって高品質でEBMに基づく治療がいつでも受けられるための要件は、有効性、品質、安全性、素材の収集法、処理法、保存法、配分法、バンク間の相互利用、適応基準、公平性、営利的バンク、新機軸の研究開発、教育と訓練、輸出・輸入、追跡性、ドナーの権利、ドナーの同意、ドナーへの支払い、市場の統制、市場調査など。
- ・途上国における角膜移植の推進はWHOの重要な課題の一つである。しかし、品質が悪いため不成功率が50%を超えるという風評があるように、バンクシステムの不備を解決する必要がある。
- ・世界的な統制、指針がないため、各国間の組織バンクの統制機構が未熟である。WHOの主導で、国際的ネットワークを構築し協力体制を作って、データ

ーの共有や分析を行い、必要な指針を示さなければならぬだろう。

- ・HLAの適合する造血幹細胞の国際間相互利用も、世界の骨髄バンク全体を統制する機能がないため、危機的状態にある。

5. (低開発国での) 移植の普及法

WHOは移植医療を開始する国に、指針を含む有効な情報を提供し、人的(指導者の派遣、教育・訓練の体制)、物的支援をするとともに、プログラムの審査、評価も継続して行わなければならない。倫理的基盤の育成を含めて、各国の行政の関与も促進しなければならない。

4日目の昼前、スペインの厚生大臣 Dr. AM Pastor Julian と記念撮影後、大臣の挨拶で閉会した。

異種移植：最近の話題

白倉良太

Organ Biology Vol. 11 No. 1 2004別刷

日本臓器保存生物医学会

「異種移植：最近の話題」

白倉 良太

大阪大学大学院医学系研究科
臓器再生医学講座臓器置換分野

Xenotransplantation : the latest topics

Ryota Shirakura

Osaka University Graduate School of Medicine
Department of Regenerative Medicine
Division of Organ Transplantation

Xenotransplantation is one of several possible solutions to the organ shortage, and many workers believe that the solution closest to clinical application is xenotransplantation of organs, tissues and cells. In fact, xenotransplantation of tissues and cells and ex vivo perfusion of natural and bioartificial porcine livers has already entered into clinical trials. However, a number of scientific and ethical barriers to xenotransplantation exist. Transgenic pigs that express human complement-regulatory proteins are developed and their organs are tested in pig-to-nonhuman primate transplantation model. Recently, genetically engineered pigs that do not express the Gal epitopes have been developed. These studies result in transplant function for months, and the hyperacute rejection has been successfully prevented. However, little is yet known of the nature of the acute vascular rejection and acute cellular rejection response. The physiological and biochemical variations that exist between these species include blood viscosity, liver metabolism, enzymes and hormones. Of particular concern has been the incompatibility of coagulation factors that might lead to the development of a procoagulant state in the graft with subsequent thrombosis. While in vivo PERV transmission into humans or nonhuman primates has never been observed after exposure to living porcine tissues, there remain potential risks associated with the use of pigs, especially genetically engineered pigs.

はじめに

異種移植を臨床応用する場合に、客観的な動物種の選択条件として、①解剖学的条件および生理機能がヒトに似ていること、②危険な微生物に汚染されていないこと、③十分な数が確保できるこ

と、④ペットは除外すること、があげられる。これらの条件にあった動物としてブタが最有力なのである。

1980年代後半に、異種抗原が α Gal 1-3 Gal という構造を末端にもつ糖鎖 (α -galactosyl epitope) であること¹⁾、ヒトはこの糖鎖に対す

別刷請求先：白倉良太 〒565-0871 大阪府吹田市山田丘 2-2 大阪大学大学院医学系研究科 臓器再生医学講座臓器置換分野

る自然抗体を持っていること²⁾、移植臓器の血管内皮細胞上の異種抗原と自然抗体が結合することにより補体系の活性化が起こり血管内皮細胞の障害が起こること、そのために血管がつまって虚血に陥るため移植臓器が超急性に機能を廃絶すること、が明らかになった³⁾。この α -galactosyl epitope は大部分の哺乳類の細胞に大量発現しているが、旧大陸サル、類人猿とヒトには全く発現していない。この差が α -galactosyl epitope を生合成する糖転移酵素 (α 1,3 galactosyltransferase ; 以下 α 1,3 GT とする) の有無によること、進化の過程で旧大陸サル以降の動物にこの遺伝子が失活していることが判明した⁴⁾。つまり、無数にあると考えられたターゲット (異種抗原) が1つに絞られるとされた。その後、異種抗原は α -galactosyl epitope だけではなくて、数% (十数% という説もある) だが人が自然抗体を有する抗原があることがわかってきた。一方、1988年に移植臓器細胞上の補体制御蛋白に種差があるため異種の補体を制御できず、移植臓器は宿主の補体に攻撃されることが明らかになった⁵⁾。それではということで、in vitro の実験で種々のヒト補体制御蛋白遺伝子が異種細胞に導入され、ヒトの補体による細胞障害が抑止されることが報告⁶⁻¹²⁾された。実際にヒト補体制御蛋白遺伝子 DAF (decay accelerating factor : CD55) を導入したブタがつくられ、ヒヒへの移植実験で平均1ヶ月以上の生着が得られている。

異種抗原を持たないブタの開発も盛んに行われ、2001年9月にヘテロ接合体ながら α 1,3 GT 遺伝子をノックアウトしたブタ (GT-KO ブタ) が誕生した^{13) 14)}。2002年6月にはホモ接合体の GT-KO ブタが生まれ¹⁵⁾、 α -galactosyl epitope を全く持っていないことが確認された。昨年の国際異種移植学会 (2003.9.30-10.4.グラスゴー) で、

【キーワード】

異種移植, トランスジェニック-ブタ, α Gal 抗原, クローン技術, ブタ内因性レトロウイルス

ホモ接合体の GT-KO ブタの腎臓と心臓をヒヒに移植した実験成績が発表された。心臓が最長例で62日、腎臓が81日生着したという報告だったが、この成績は GT-KO ブタの作成に関わってきた者には拍子抜けだった。もっと延びるはずだったのである。

ブタからヒトへ臓器を移植する場合、拒絶反応 (超急性、急性血管性、急性細胞性、慢性の4種類あり) が大きな障壁になるが、それ以外にブタの内因性レトロウイルス等が移植臓器とともに伝達感染する危険性、解剖学のおよび生理学的機能の種差、倫理性、なども障壁となる。ブタからヒトへの異種移植に関する問題点と研究の現況を述べる。

1. 遺伝子改変ブタの開発の歴史

1) ヒト補体制御蛋白遺伝子の導入

当初、動物の蛋白や糖鎖など全てが抗原性を持つはずだから抗原性をなくしたり、抗原特異的に抗体産生を制御することは無理だという考えが根底にあり、ブタなど異種移植に使えるわけがないと考えられていた。故に補体制御蛋白の種差が細胞破壊の直接原因であることが発表されるとすぐ、小動物による実験を飛び越えてヒト補体制御蛋白の1種である DAF (decay accelerating factor : CD55) を遺伝子導入したブタ (hDAF ブタ) が作製され^{16) 17)}、ヒヒへの移植実験が行われた。現在世界で開発中の遺伝子導入ブタ (Tg ブタ) のサルへの移植成績を表1に示す。CD46, CD55 を高発現したブタでは超急性拒絶反応 (HAR) が回避されたといえるであろう。CD59 も導入されたが十分な成績は得られていない。

2) 異種抗原の除去

以上の研究成果を総合すると、グラフト (ブタ) の抗原性をなくす戦略が不可欠であることは明らかである。

(1) α 1,3 GT の競合阻害

α 1,3 GT のノックアウトが当分無理であった

表1 Transplantation results in pig-to-nonhuman primate model

<腎臓>

導入遺伝子	免疫抑制	レシピエント動物種	移植位置	平均生着期間(日)	Tgブタ生着期間範囲(日)	nonTgブタ生着期間	数	発表
hDAF(homoZ)	+	baboon	hetero, +TK		11~30		11	7th IXA
hDAF(homoZ)	+	baboon	hetero, +VTL		60~90		5	7th IXA
hDAF	+	baboon	life-supporting	20 ± 3	< 75		24	7th IXA
hDAF	+	baboon	life-supporting	8	4~31		20	7th IXA
hCD55+hCD5	+	baboon		8 ± 2			4	7th IXA
hDAF	+	cynomolgu	life-supporting	29 ± 12			30	7th IXA
hDAF	+	cynomolgu		34	19~51		7	38)

<心臓>

導入遺伝子	免疫抑制	レシピエント動物種	移植位置	平均生着期間(日)	Tgブタ生着期間範囲(日)	nonTgブタ生着期間	数	発表
hDAF(homoZ)	+	baboon	heterotopic/abd	23	12, 21, 21, 36	2 hours	4	6th IXA
CD46	+	baboon	heterotopic/abd	81	62 ~ 113		12	7th IXA
CD46	+	baboon	heterotopic/abd	71 ± 29	< 137		16	7th IXA
hDAF(homoZ)	+	baboon	heterotopic/abd	37	4 ~ 139		10	7th IXA
hDAF(homoZ)	+	baboon	orthotopi	16	1, 9, 25, 30		4	7th IXA

<肺>

導入遺伝子	免疫抑制	レシピエント動物種	移植位置	平均生着期間(日)	Tgブタ生着期間範囲(日)	nonTgブタ生着期間	数	発表
hCD59	+	(human blood)	hemoperfusion	240 min *	35 ± 15 min *		5	39)
hDAF	+	(human blood)	hemoperfusion		2-4 hours *			6th IXA
CD46	+	baboon	left, ortho		0-9 hours		5	6th IXA
hDAF	+	(human blood)	hemoperfusion	227 ± 38 min *	30-240 min *		10	6th IXA
hDAF	+	cynomolgus	left, ortho		6h << 14h		3	7th IXA
CD46	+	baboon	left, ortho	22.1 ± 1.3 h		4.6 ± 1.4 hr	3	7th IXA
hDAF(heteroZ)	+	(human blood)	hemoperfusion	90 min *	10-161 min *	littermate 35min, farm-bred 5min	12	40)
hDAF(heteroZ)	+	(human blood)	hemoperfusion	330 min *	39-577 min *	littermate 35(6-307)	6	40)

homoZ = homozygous
heteroZ = heterozygous
TK = composite thymokidneys
VTL = vascularized thymic lobe

* perfusion time

18th ITS: 第18回国際移植学会 (2000年)
6th IXA: 第6回国際異種移植学会 (2001年)
7th IXA: 第7回異種移植学会 (2003年)

時期に、抗原を減らす方法がいくつか検討された。 α 1,3 GTと基質が共通な糖転移酵素を過剰発現させることで α 1,3 GTと競合させて α -galactosyl epitopeの発現を抑えようとする方法がある。これまでに α 1,2 fucosyl-transferase (α 1,2FT)^{18) 19)}や α 2,3 sialyl-transferase (α 2,3 ST)²⁰⁾の酵素が試されてきた。 α 1,2FTを遺伝子導入したTgブタは既に作成され、移植実験が行われているが、十分な効果は得られていない²¹⁾。

(2) 糖鎖構造のリモデリング

筆者らはN結合型糖鎖のコア部分に作用するN-acetylglucosaminyltransferase (GnT-III) という糖転移酵素²²⁾をブタ血管内皮細胞に強制発現させると抗原性が低下することを見だし、これ

がN-linked糖鎖全体の構造の改変によるもので、あることを確認した²³⁾。In vitroの解析で、 α -galactosyl epitopeのみでなく、Hanganutziu-Deicher (H-D) 抗原など他の異種抗原も半減することも確認している²⁴⁾。現在、GnT-III高発現ブタ (GnTブタ) を作出し、ライン化に成功²⁵⁾。異所性心移植実験でhDAF遺伝子を導入したブタと遜色ない成績を得ている。このGnTブタとhDAFブタを掛け合わせたGxD F1を作製し²⁶⁾、移植実験を開始した。

(3) 異種抗原のノックアウト

ヘテロ接合体のGT-KOブタを最初に誕生させたのはImmerge BioTherapeutics社で (2001.9.に誕生)¹³⁾、PPL Therapeutics社は3ヶ月遅れた

(2001. 12. に誕生)¹⁴⁾。先行の Immerge Bio Therapeutics社は、オーソドックスにヘテロ接合体の雌と雄を作成し、交配にてホモ接合体を作成したが、順調にいて12ヶ月かかる（実際には2002. 11. に誕生）。後続の Immerge Bio Therapeutics社は胎生4ヶ月の胎児から取り出した線維芽細胞をもちいて、もう一度 α 1-3GTのノックアウトを行い、クローン技術でダブルノックアウトブタを作出した(2002. 6. 25. に誕生)。工程を6ヶ月以上短縮したのである¹⁵⁾。

2. 開発会社と製品 (→ は会社の譲渡先)

PPL Therapeutics Inc → Regenecor Holdings Inc. (Univ. of Pittsburgh Medical Center and others)

- ヘテロ接合体のGT-KOブタ (2001. 12. に誕生)
- ホモ接合体のGT-KOブタ (2002. 6. 25. に誕生)

Immerge BioTherapeutics Inc. (Novartis Pharma AG Company傘下)

- ヘテロ接合体のGT-KOブタ (2001. 9. に誕生)
- ホモ接合体のGT-KOブタ (2002. 11. に誕生)
- GAS 914 (poly L-lysine conjugated to α Gal type 2 and 6 oligosaccharides ; 抗 α Gal抗体中和薬)
- BAS-Gal (BSA conjugated to α Gal type 2 oligosaccharides ; 抗 α Gal抗体中和薬)

Imutran Ltd → Immerge BioTherapeutics Inc.

- hDAF(CD55)-TGブタ
- hMCP(CD46)-TGブタ

Alexion Pharmaceuticals Inc.

- CD59+HT TGブタ

Nextran Inc. → Baxter Healthcare Co. →

Mayo Clinic

- hCD46-TGブタ
- hCD46+HT TGブタ
- NEX1285 (α Gal-PEG conjugate ; 抗 α Gal

抗体中和薬)

PEG : polyethylene glycol

BresaGen Ltd.

- CD46+HT TGブタ
- CD55+CD59 TGブタ

(株)日本動物工学研究所

- hDAF+GnT-III TGブタ

3. 移植成績

1) hDAFブタ

世界各地の共同研究施設で行われた Imutran Ltd製のhDAFブタ臓器を用いた移植成績の集計が報告された²⁰⁾。245頭の cynomolgus monkeyに行われた life-supporting kidney transplantation (hDAF 234, controls 11) では、102頭(42%)が4日以内に死亡した。この内31頭30%は拒絶反応以外の(非免疫学的)臓器不全にて死亡した。組織学的にhDAF例に超急性拒絶反応はみられなかったが、controlの3頭(27.3%)に認められた。

学会で報告された各施設の成績を表1にまとめた。

腎臓移植に関しては、生着期間に関する限り、2001年の成績と比べて、2003年の発表はあまり進展がないように思う。

一方、心臓移植を見ると、この2年間で生着期間は飛躍的に良くなっている。2001年の学会発表時、平均1ヶ月、最長で2ヶ月であったのが、2003年には平均2ヶ月、最長4ヶ月半のレベルになっている。

ヒト補体制御蛋白の強制発現によりHARは抑制できるが、急性血管性拒絶反応は抑えられないとされている。

2) hCD46ブタ

2003年9月グラスゴーで開催された第7回国際異種移植学会でNextran社の開発したCD46-TGブタの移植成績が3題発表になった(表1参照)。心移植2題と肺移植1題。2001年までのCD46-TGブタの成績は心、腎、肺、ともhDAF-TGブ

タにおよばなかったが、今回の発表では心は同等の、肺では驚異的な成績を発表した。

ちなみに、心臓移植は異所性ではあるが、平均70~80日、最高137日の生存を記録している（免疫抑制で、抗 α Gal抗体中和剤 NEX1285 を徹底的に使用していること、抗CD20抗体を追加していることが新しい。あとはFK506, Rapamycin, steroid)。論文や抄録には書かれていないが、メイヨーグループはpig-to-primateの実験は特別の無菌病棟にて行っているという。普通の実験棟で術後をみると、感染・DICで長生きしないと言われている。

肺は他の臓器と異なり、何故か免疫抑制をしても数時間で機能しなくなる（病理学的には超急性拒絶反応ではなく、DICによる）とされてきた。今回の発表では、liposomal clodronateを食させて肺血管内に多数存在するマクロファージを80%以上除去した後移植したとあり、CD46の効果のみではないと思うが、それまで数時間であった生着期間が平均22時間まで延長している。無処置のCD46-TGブタ肺も平均4時間（これまでhDAF-TGブタで80分だった。）機能しているので、CD46-TGブタそのものも改良されていると思われる。

3) GT-KOブタ

腎移植は5例、3群に行われた。5例とも同じ免疫抑制療法を用いた。つまり、胸腺摘出、脾臓摘出を行ったヒヒにGT-KOブタの腎臓を移植し、ATGまたはcyclophosphamideと抗CD2抗体による導入療法を行い、抗CD154mAb、ステロイド、MMF、タクロリムス、cobra venom factor (CVF)による維持療法を28日間続行した。1群 ($n=2$): 腎移植と同時に血管吻合による胸腺移植を行った。2群 ($n=2$): 移植2週間まえにGT-KOブタの腎被膜下にGT-KOブタの胸腺細胞をあらかじめ移植した腎臓("thymokidney")を移植した。3 ($n=1$): GT-KOブタの腎臓のみを移植。1, 2群では一時的(約10日~50日)に免疫不応答状態になったが、1

群は68, 80日, 2群は40, 81日目に機能が廃絶した。3群の1例は免疫抑制中止後すぐ(33日目)に拒絶された。

心臓移植は3例に行われた。ヒヒは術前から免疫抑制を開始。ATGは3日前から3日間、700 Gyの胸腺照射を前日に、CVFを術前日から毎日術後14日まで行った。維持療法には抗ヒトCD154mAb, MMF, ステロイド, とヘパリンを用いた。心臓は56, 59, 62日間拍動した。1例は56日目に合併症で死亡(移植心は未だ拍動していた)。他の2例は拒絶された。

以上腎臓も、心臓も生着期間で見ると、hDAF-TGやCD46-TGブタの移植成績と変わらない。ちがいは、GT-KOブタの場合は α Gal中和薬等による抗体除去が必要ないこと、TGブタの場合はCVFが要らないことのようなのである。Gal α 1-3 Gal epitopesを除去しただけでは、急性血管性拒絶反応は制御できないというのが、現在の認識である。

4. 臨床異種移植の定義と臨床例

WHOや米国のFood and Drug Administration (FDA)のガイドラインによると「異種移植」の定義は、以下のようになる。

"Xenotransplantation" is defined as any procedure that involves the transplantation, implantation, or infusion into a human recipient of either

- (a) live cells, tissues, or organs from a nonhuman animal source, or
- (b) human body fluids, cells, tissues or organs that have had ex vivo contact with live nonhuman animal cells, tissues or organs.

つまり、フィダー細胞上で培養されたケラチノサイトによってつくられた自己再生皮膚も異種移植に含まれることになる。

米国では(OECDの資料によると)2001年末までに、治験として約470名の患者に異種移植が行われたという。動物種はブタとマウスがほとんどで、

一部遺伝子改変動物製品を含む。FDAによると、それ以降は治験の許可はないはずとのこと。これ以外に自己再生皮膚の移植が1500例ほどあるという（培養にマウス細胞をフィーダとして使用）。

1964年4月から2000年の間の文献検索で270例の体外肝灌流例が確認された²⁹⁾。そのうち、方法論および予後が明記されている198名について分析しているが、24時間以上生存例は78例（39%）で、長期生存例は26%であった。これは標準的集中治療の成績と変わらないという。ただし、この集計には遺伝子改変ブタの肝臓を使った灌流は2例しか含まれていない。この2例を含めて肝移植へのbridgingを目的に灌流した14例中12例が無事移植を受けることができていたことから、遺伝子改変ブタの肝臓を使った灌流はハイブリッド人工肝を用いた血漿灌流装置²⁹⁾と同様の効果が期待できるとのこと。

ニュージーランドのDiatranz社が作出した生後7日目のSPF化ニュージーランド白ブタから採取したブタ臍島が、メキシコ市の小児病院で12人の子供（10～15歳）の皮下に移植されたことが6th IXA（2001）で発表された。7th IXA（2003）でDiatranz社から臍島移植した臨床例18例の報告があった。6例はニュージーランドで行われ、最高9年の経過観察でPERVもCMVも伝達感染していなかったと明言している。しかし、残り12例は特別なdeviceの中にセルトリ細胞とともに移植し、最高3年間の観察をしたと言うだけで、どこで実施したかには触れなかった。PERVの感染者はいなかったと。

5. レトロウイルスと安全性

ブタは他の動物とちがって食肉用として飼育されてきたので、長い歳月をかけて衛生的な飼育管理の方法論が確立されており、実験用のマウス、ラットを除くとヒト以外の哺乳動物ではもっとも清浄な動物である。ウサギ以上の大動物でSPF化する技術が確立されているのもブタだけである。

移植を受けた患者は免疫抑制剤によって易感染性状態にあることから、ブタの臓器にウイルス等

が潜んでいると、一般には伝染しないとされているものであっても移植患者に感染する可能性はある。移植用ブタから排除すべきであると考えられるウイルスはSPF化することで、その大部分は排除できる。しかし、ブタでは数百万年前に内在性レトロウイルス（PERV）の遺伝子が染色体に組み込まれたと考えられており、感染性のウイルスを産生する可能性があると考えられている^{30) 31)}。そして、免疫不全マウスにブタの臍島細胞を移植したらPERVの感染が起こったことから、ヒトにおいても起こりうると警告している³²⁾。また、PERVは潜伏期が長いので、もし患者に感染するとしたら、患者に発症するまでに患者に接する医師や看護婦、検査技師などの医療従事者、患者の家族や友人にも感染を引き起こす可能性があり、ひいてはHIVのように広く一般市民・人類の感染症にならないとも限らない。

これまでにブタの臓器、組織、細胞の移植を受けた人160名にPERV感染調査をした結果が報告された³³⁾。それによると、免疫抑制療法を受けていた患者や術後8年以上経過している患者全員に感染の証拠は全く認められなかったが、多くの患者の体内にブタ細胞のマイクロカイクメリズムが検出されたという。

しかし、Bluschらのレビューによると³⁴⁾、これらの報告には欠陥があり、大丈夫とは言えない。つまり、① 報告にある症例のうち、免疫抑制療法を受けた例は10%以下で、しかも同種移植に対する免疫抑制で、異種移植後に想定される強烈なものではない、② ヒト補体制御因子を発現したブタの細胞や組織の移植例が含まれていない、③ 一時的にしろ、補体抑制療法を受けた例が含まれていない、④ 血中の α Gal抗体を免疫吸着法等で除去した例は2例あるのみ、⑤ ブタ細胞との接触期間が（臓器移植例と比較して）極めて短い例がほとんどである、⑥ 検査はすべて末梢血単核球を検体としているが、末梢血単核球が感染するかどうか証明がない、等を考えると、“感染しない”とか、“安全である”とはいえない。

今後異種移植を臨床応用するには、非常に厳密

な監視体制の元に限定的な臨床試験を行い、ブタ PERV の感染を確認する作業が必要となる。現在、米国 FDA および WHO から、異種移植後の感染を監視するための指針、国際サーベイランス・システムが提案されている^{35) 36)}。

6. 展 望

移植したブタ臓器の3ヶ月（あるいは6ヶ月）生存率がどれくらいあったら倫理的に受け入れられるか、最長生存期間や平均生存期間がどれくらい見込まれたら良しとするのか、といった臨床応用開始の基準値についてはまだ議論が始まったところである。2000年末、国際心・肺移植学会（Xenotransplantation Advisory Committee of the International Society for Heart and Lung Transplantation）が心臓および肺の異種移植を最初に行う場合の技術的基準、患者選択基準を発表した³⁷⁾。

期待が大きいだけに、臨床応用に向けての倫理的議論はこれから激化するであろう。

文 献

- 1) Galili U, Shohet SB, Kobrin E et al. : Man, apes, and old monkeys differ from other mammals in the expression of α -galactosyl epitopes on nucleated cells. *J Biol Chem* 263(33) : 17755-17762, 1988
- 2) Galili U, Macher BA, Buehler J et al. : Human natural anti-alpha-galactosyl IgG. II. The specific recognition of alpha (1-3)-linked galactose residues. *J Exp Med* 162(2) : 573-582, 1985
- 3) Rose AG, Cooper DK, Human PA et al. : Histopathology of hyperacute rejection of the heart ; Experimental and clinical observations in allografts and xenografts. *J Heart Lung Transplant* 10(2) : 223-234, 1991
- 4) Galili U, Swanson K : Gene sequences suggest inactivation of alpha-1,3-galactosyltransferase in catarrhines after the divergence of apes from monkeys. *Proc Natl Acad Sci (USA)* 88(16) : 7401-7404, 1991
- 5) Miyagawa S, Hirose H, Shirakura R et al. : The mechanism of discordant xenograft rejection. *Transplantation* 46(6) : 825-830, 1988
- 6) Oglesby TJ, Allen CJ, Jiszewski MK et al. : Membrane cofactor protein (CD46) protects cells from complement-mediated attack by an intrinsic mechanism. *J Exp Med* 175(6) : 1547-1551, 1992
- 7) Miyagawa S, Shirakura R, Iwata K et al. : Effects of transfected complement regulatory proteins, MCP, DAF, and MCP/DAF hybrid, on complement-mediated swine endothelial cell lysis. *Transplantation* 58(7) : 834-840, 1994
- 8) Kennedy SP, Rollins SA, Burton WV et al. : Protection of porcine aortic endothelial cells from complement-mediated cell lysis and activation by recombinant human CD59. *Transplantation* 57(10) : 1494-1501, 1994
- 9) Mikata S, Miyagawa S, Yoshitatsu M et al. : Prevention of hyperacute rejection by phosphatidylinositol anchored mini complement receptor type 1. *Transpl Immunol* 6(2) : 107-110, 1998
- 10) Mikata S, Miyagawa S, Iwata K et al. : Regulation of complement mediated swine endothelial cell lysis by a surface bound form of human C4b binding protein. *Transplantation* 65(3) : 363-368, 1998
- 11) Matsunami K, Miyagawa S, Yamada M et al. : A surface bound form of human C1 esterase inhibitor improves xenograft rejection. *Transplantation* 69(5) : 749-755, 2000

- 12) Yoshitatsu M, Miyagawa S, Mikata S et al. : Function of human factor H and I on xenosurface. *Biochem Biophys Res Commun.* 265(2) : 556-562, 1999
- 13) Dai Y, Baught TD, Boone J et al. : Targeted disruption of the α 1,3-galactosyltransferase gene in cloned pigs. *Nat Biotechnol* 20(3) : 251-255, 2002
- 14) Lai L, Kobler-Simonds D, Park K W et al. : Production of α 1,3-galactosyltransferase knockout pigs by nuclear transfer cloning. *Science* 295(5557) : 1089-1092, 2002
- 15) Phelps J, Koike C, Vaught TD et al. : Production of α 1,3-galactosyltransferase-deficient pigs. *Science* 299(5605) : 411-414, 2003
- 16) Yannoutsos N, Langford GA, Cozzi E et al. : Production of pigs transgenic for human regulators of complement activation. *Transplant Proc.* 27(1) : 324-325, 1995
- 17) Rosengard AM, Cary NR, Langford GA et al. : Tissue expression of human complement inhibitor, decay-accelerating factor, in transgenic pigs. A potential approach for preventing xenograft rejection. *Transplantation* 59(9) : 1325-1333, 1995
- 18) Sandrin MS, Fodor WL, Mouhtouris E et al. : Enzymatic remodelling of the carbohydrate surface of a xenogenic cell substantially reduces human antibody binding and complement-mediated cytotoxicity. *Nat Med.* 1(12) : 1261-1267, 1995
- 19) Miyagawa S, Tanemura M, Koyota S et al. : Masking and reduction of the Galactose- α 1,3-Galactose (α -Gal) epitope, the major xenoantigen in swine, by the glycosyltransferase gene transfection. *Biochem Biophys Res Commun.* 264(3) : 611-614, 1999
- 20) Tanemura M, Miyagawa S, Koyota S et al. : Reduction of the major swine xenoantigen, the α -galactosyl epitope by transfection of the α 2,3-sialyltransferase gene. *J Biol Chem.* 273(26) : 16421-16425, 1998
- 21) Sharma A, Okabe J, Birch P et al. : Reduction in the level of Gal(α 1, 3)Gal in transgenic mice and pigs by the expression of an α (1,2)fucosyltransferase. *Proc Natl Acad Sci USA.* 93(14) : 7190-7195, 1996
- 22) Ihara Y, Nishikawa A, Mohma T et al. : cDNA cloning, expression and chromosomal localization of human N-acetylglucosaminyltransferase III (GnT-III). *J Biochem* 113(6) : 692-698, 1993
- 23) Tanemura M, Miyagawa S, Ihara Y et al. : Significant downregulation of the major swine xenoantigen by N-acetylglucosaminyltransferase III gene transfection. *Biochem Biophys Res Commun.* 235(2) : 359-364, 1997
- 24) Murase A, Miyagawa S, Koma M et al. : An attempt to downregulate the Hanganutziu-Deicher antigen by overexpression of glycosyltransferases. *Transpl Proc* 32(7) : 2507-2508, 2000
- 25) Miyagawa S, Murakami H, Murase A et al. : Transgenic pigs with human N-acetylglucosaminyltransferase -(GnT-III). *Transplant Proc.* 33(1-2) : 742-743, 2001
- 26) Takahagi Y, Miyagawa S, Murakami H et al. : Transgenic pigs expressing both human decay-accelerating factor and N-acetylglucosaminyltransferase III. *Transplant. Proc.* 35(1) : 516-517, 2003
- 27) Schuurman HJ, Pino-Chavez G, Phillips MJ et al. : Incidence of hyperacute rejection in pig-to-primate transplantation using organs from hDAF-transgenic

- donors. *Transplantation*. 73(7) : 1146-1151, 2002
- 28) Pascher A, Sauer IM, Hammer C et al. : Extracorporeal liver perfusion as hepatic assist in acute liver failure : a review of world experience. *Xenotransplant*. 9(5) : 309-324, 2002
- 29) Sauer IM, Kardassis D, Zeillinger K et al. : Clinical extracorporeal hybrid liver support ; phase I study with primary porcine liver cells. *Xenotransplant*. 10(5) ; 460-9, 2003.
- 30) Patience C, Takeuchi Y, Weiss RA : Infection of human cells by an endogenous retrovirus of pigs. *Nat Med*. 3(3) : 282-286, 1997
- 31) Wilson CA, Wong S, Muller J et al. : Type C retrovirus released from porcine primary peripheral blood mononuclear cells infects human cells. *J Virol*. 72(4) : 3082-3087, 1998
- 32) Van der Laan LJW, Lockey C, Griffeth BC et al. : Infection by porcine endogenous retrovirus after islet xenotransplantation in SCID mice. *Nature* 407(6800) : 90-94, 2000
- 33) Paradis K, Langford G, Long Z et al. : Search for cross-species transmission of porcine endogenous retrovirus in patients treated with living pig tissue. *Science*. 285 (5431) : 1236-1241, 1999
- 34) Buhler L, Xu Y, Li W et al. : An investigation of the specificity of induced anti-pig antibodies in baboons. *Xenotransplant*. 10(1) : 88-93, 2003
- 35) U.S. Public Health Service : PHS guideline on infectious disease issues in xenotransplantation. May, 2000
- 36) WHO : WHO guidance on xenogeneic infection/disease surveillance and response : A strategy for international cooperation and co-ordination. WHO/CDS/CSR/EPH/2001.2
- 37) Cooper DKC, Keogh AM, Brink J et al. : Report of the Xenotransplantation Advisory Committee of the International Society for Heart and Lung Transplantation : The present status of xenotransplantation and its potential role in the treatment of end-stage cardiac and pulmonary diseases. *J Heart Lung Transplant*. 19(12) : 1125-1165, 2000
- 38) Cozzi E, Vial C, Ostlie D et al. : Maintenance triple immunosuppression with cyclosporin A, mycophenolate sodium and steroids allows prolonged survival of primate recipients of hDAF porcine renal xenografts. *Xenotransplant*. 10(4) : 300-310, 20003
- 39) Chen RH, Kadner A, Adams DH : Monitoring pig-to-primate cardiac xenografts with live Internet images of recipients and xenograft telemetric signals : histologic and immunohistochemical correlations. *J Heart Lung Transplant*. 19(6) : 591-7, 2000
- 40) Azimzadeh A, Zorn GL3, Blair KSA et al. : Hyperacute lung rejection in the pig-to-human model. *Xenotransplant*. 10(2) : 120-131, 2003