

議論がある。会場において、ミネソタ大学でMAPCを扱い神経系への細胞転換に成功したLow博士に対し、この議論に関して質問したところ、明確な返事があった。「Verfaillie博士のMAPCとProckop博士が発表した骨髄間質細胞について、キーストンで詳細に比較された。両方とも神経の分化を生じるけれども、その表面マーカーやその他の情報から、全く異なる細胞と思われる」。キーストンにおける詳細な議論はわからないが、骨髄間質細胞とMAPCは異なる細胞である。位相差顕微鏡下における細胞の大きさからして異なっている。私どもが培養している骨髄間質細胞のほうが大型であると理解している。もっとも、東京での招待講演においてProckop博士は、神経に分化し得る骨髄間質細胞は小型であり、細胞密度を低くすることで寿命が延長され、神経分化能を保持すると述べた。そして、神経細胞の供給源としての間葉細胞を取得するための元の組織は、骨髄である必要は全くない。臍帯血由来の間葉細胞¹⁾はその一つである。実験したわけではないけれども、骨芽細胞以外の間葉細胞²⁾も神経への分化を示す可能性がある。

おわりに

細胞転換にしる、分化の可塑性にしる、基礎的なことはかなりわかっている、この分野が始まっている。そして、間葉系幹細胞にかかわる実験も、発生生物学の知識を思いきり、利用してい

る。研究している人々が現代の錬金術師と揶揄されるのもそういった事情があるからだと推察され、サイエンティストというよりエンジニアと考えられているのも頷ける。それぞれの細胞への分化にかかわるプロトコールは、発生学の積み重ねのお陰である。培養に使用する培地、試薬にしる、目新しいものはないけれども、さまざまな手法を組み合わせている。一方、核移植³⁾やトランスクリプトーム⁴⁾といった手法を用いて、骨髄間質由来の間葉系幹細胞にも新たな情報が追加されつつづけている。

余談であるが、私は「間質」という語感が好きである。15年以上も付きあっているのが親しみがあるのだろうけれども、隙間を埋めていて、メジャーな感じがないところがよい。細胞の名前としても無名なために、発生学や生物学の本に記載されたことはない。わずかに骨髄の形態学者によって、造血細胞の超微形態の検討が終了した後に、研究対象として、おそらく間質もあるかといった程度で研究が始まったのではない。しかし、研究者数が少ないことは裏腹に、誠実に丁寧に研究されてきた。血液学の分野では、造血にかかわるニッチェを形成することでその存在が知られ、サイエンスに貢献してきたが、サイエンスにおけるその存在自体もニッチェ的である。隙間産業というか、隙間研究というか、隙間があいていてその部分で存在感を示す。なんと20世紀末期的な生き方なのだろうか。この骨髄間質が二級市

民⁵⁾から脱却する日があるとすれば、そのときのロゴは魅力的とはいえないが、StromaではなくKanshitsuとローマ字で表記したい。しかし、苦労に苦労を重ね、間質が研究対象として二級市民の位置から抜け出せたときは、研究対象としての価値はほとんどなくなっていると思われ、それはそれで残念な気がする。

謝 辞

ヒト骨髄間質細胞に関する発表の機会を与えていただいた医薬品機構に感謝します。また、その研究会においては、多くの質疑が行われ、議論が深まった。時間のある方は、骨髄間質の心筋への分化アニメーションをウェブサイトでご覧ください(<http://1985.jukuin.keio.ac.jp/umezawa/HTML>)。

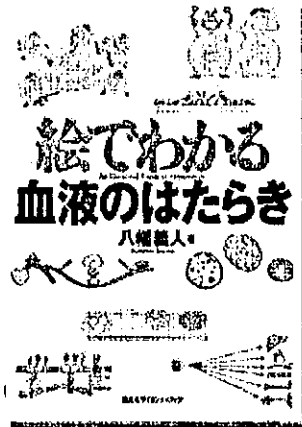
●文 献

- 1) <http://www.lib.kobe-u.ac.jp/products/anatomy/hassei/chap1.pdf>
- 2) Sanchez-Ramos J, Song S, Cardozo-Pelaez F, et al: Adult bone marrow stromal cells differentiate into neural cells *in vitro*. *Exp Neurol* 164: 247-256, 2000
- 3) Kohyama J, Abe H, Shimazaki T, et al: Brain from bone: efficient "meta-differentiation" of marrow stroma-derived mature osteoblasts to neurons with Noggin or a demethylating agent. *Differentiation (Special issue on stem cells)* 68: 235-241, 2001
- 4) Deng W, Obrocka M, Fischer I, et al: *In vitro* differentiation of human marrow stromal cells into early progenitors of neural cells by conditions that increase intracellular cyclic AMP. *Biochem*

- Biophys Res Commun 282 : 148-152, 2001
- 5) Lee OK, Kuo TK, Chen WM, et al : Isolation of multi-potent mesenchymal stem cells from umbilical cord blood. Blood : 2003 (in press)
- 6) Umezawa A, Maruyama T, Segawa K, et al : Multipotent marrow stromal cell line is able to induce hematopoiesis *in vivo*. J Cell Physiol 151 : 197-205, 1992
- 7) Jiang Y, Jahagirdar BN, Reinhardt RL, et al : Pluripotency of mesenchymal stem cells derived from adult marrow. Nature 418 : 41-49, 2002
- 8) Imabayashi H, Mori T, Gojo S, et al : Redifferentiation of dedifferentiated chondrocytes and chondrogenesis of human bone marrow stromal cells via chondrosphere formation with expression profiling by large-scale cDNA analysis. Exp Cell Res 288 : 51-59, 2003
- 9) Ochi K, Chen G, Ushida T, et al : The use of isolated mature osteoblasts in abundance acts as desired-shaped bone regeneration in combination with a modified poly DL-lactic-co-glycolic acid (PLGA)-collagen sponge. J Cell Physiol 194 : 45-53, 2003
- 10) Makino S, Fukuda K, Miyoshi S, et al : Cardiomyocytes can be generated from marrow stromal cells *in vitro*. J Clin Invest 103 : 697-705, 1999
- 11) Gojo S, Gojo N, Takeda Y, et al : *In vivo* cardiogenesis by direct injection of isolated adult mesenchymal stem cells. Exp Cell Res 288 : 35-50, 2003
- 12) Takeda Y, Mori T, Imabayashi H, et al : Can the life-span of human marrow stromal cells be prolonged by bmi-1, E6, E7, and/or telomerase without affecting cardiomyogenic differentiation? J Gene Med (in press)
- 13) Kato Y, Imabayashi H, Mori M, et al : Developmental totipotency of tissue-specific stem cells from an adult mammal ; Nuclear transfer of adult bone marrow mesenchymal stem cells. Biol Reprod (in press)
- 14) Sharov AA, Piao Y, Matoba R, et al : Transcriptome analysis of mouse stem cells and early embryos. PLoS Biol : 2003 (in press)
- 15) Gerson SL : Mesenchymal stem cells ; no longer second class marrow citizens. Nat Med 5 : 262-264, 1999

『絵でわかる 血液のはたらき』

(八幡義人著)



- A5判, 178頁
- 定価 2,100円
(本体 2,000円+税)
- 講談社刊

私が中学生の時に大好きだった本に『化学のドレミファ』(米山正信著/黎明書房)がある。この本は化学のお勉強の本なのだが、物語風になっていて楽しく読んでいくことができる。最後に、化学のお勉強をすすめていく博士がいなくなってしまうときには泣いてしまう。これは私だけではなく、同じように博士がいなくなってしまうときにこの本で泣いてしまった経験を持つ方がいることをウェブサイトで見つけた。

『絵でわかる 血液のはたらき』もある意味では読み物として読み進めることができる。私は1日ですべて読んだ。タイトル通り、絵が多いことにもよるが、この本は文章が読みやすく、内容からいけば“文章でわかる 血液のはたらき”であり、絵は理解に関して補助的である。また、楽しみで読むことができ、“わかる”ことを目的としなくてもよいと思う。全部の内容がわからなくても最後まで読めてしまい、なぜか満足させてくれる、心地よい読後感がある。

著者がどのレベルの読者を想定して書いたのかは不明だが、今度小学校を卒業する息子に読ませ

てみようかと思う。もちろん、さっぱり理解できないかもしれないが、説明してやれば少しはなんとかなるかもしれない。真の読者としてのターゲットは誰なのだろうか。臨床医だろうか。産業界の研究者だろうか。医学生だろうか。講談社が出版元であるから、一般の方々なのだろう。私がいえることは、読んで楽しいと思えるのは『医学のあゆみ』の読者層と一致しているだろうということである。

たくさん話から構成されている。クローン動物、SARS、O-157、ホルモン、ビタミン、血液型と性格判断、ピロリ菌、胚性幹細胞、再生医療、移植、エイズ、ダイエット、ロシア皇室の難病と、本当に多くのはなしが満載である。実は読んでみるとわかるのだが、“血液のはたらき”がわかるために、細胞のかたちのはなし、代謝のはなし、細胞の寿命に関するはなし、細胞周期のはなし、転写因子のはなしと基本的な細胞生物学まで踏み込んでいる。このあたりは、著者の努力がしのばれてしまうところもあり、大変だっただろうと推察している。読者としては、ただ楽しんで読めればよいのではないだろうか。

著者が極めて多くの新しい文献にあたり、どれだけの時間を執筆に費やしたかは、読めばわかる。2002年から2003年に大騒ぎしたSARSのはなしもある。また、この本は“ですます”調で書かれている。これは、“絵でわかる”シリーズの特徴なのか、この本における著者の主張なのかは不明だが、“ですます”調で書かれていることは成功していると思う。もうひとつ付け加えなくてはならないのは、参考文献と索引が充実していることである。参考文献は一般の読者には手に入りにくい雑誌や書籍だが、『医学のあゆみ』の読者には便利であり、また索引はこの本が大事な事項を網羅していることから有効に使用できる。

(国立成育医療センター研究所, 梅澤明弘/
うめざわあきひろ)

来週の学会案内

◎第103回 東京臨床糖尿病医会 総会

④4/17(土) (東京都)

⑤会場：日中友好会館

〒112-0004 東京都文京区後楽 1-5-3

TEL：03-3811-5317

⑥大会長：伊藤眞一(伊藤クリニック)

⑦問合せ先：東京臨床糖尿病医会

〒150-0031 東京都渋谷区桜丘町 9-17 親和ビル 1F

TEL：03-5458-5035, FAX：03-5458-6242

◎第50回 Quality of Life(QOL)研究会 総会

④4/17(土) (吹田市)

⑤会場：大阪大学 医学部銀杏会館

〒565-0871 吹田市山田丘 2-2

TEL：06-6879-5111

⑥大会長：大橋一友(阪大・大学院・医)

⑦問合せ先：大阪大学大学院医学系研究科

保健学専攻母性小児看護学講座

〒565-0871 吹田市山田丘 2-2

TEL：06-6879-2533, FAX：06-6879-2533

◎第32回 日本顎口腔機能学会 学術大会

④4/17(土) (福岡市)

⑤会場：九州大学 歯学部

〒812-8582 福岡市東区馬出 3-1-1

TEL：092-641-1151

⑥大会長：寺田善博(九大・大学院・歯)

⑦問合せ先：九州大学 大学院歯学研究院

口腔機能修復学講座咀嚼機能制御学分野

〒812-8582 福岡市東区馬出 3-1-1

TEL：092-642-6368

◎第79回 日本結核病学会 総会

④4/20(火)～21(水) (名古屋市)

⑤会場：名古屋国際会議場

〒456-0036 名古屋市熱田区熱田西町 1-1

TEL：052-683-7711

⑥会長：下方 薫 (名大・大学院・医)

⑦問合せ先：名古屋大学 大学院医学系研究科

病態内科学講座(呼吸器内科)

〒466-8550 名古屋市昭和区鶴舞町 65

TEL：052-744-1918, FAX：052-744-2176

◎第90回 日本消化器病学会 総会

④4/21(水)～23(金) (仙台市)

⑤会場：仙台国際センター

〒980-0856 仙台市青葉区青葉山

TEL：022-265-2211

⑥大会長：松野正紀(東北大)

⑦問合せ先：東北大学大学院医学系研究科

外科病態学消化器外科学分野

〒980-8574 仙台市青葉区星陵町 1-1

TEL：022-727-5333, FAX：022-727-5333

◎第47回 日本手の外科学会 学術集会

④4/22(木)～23(金) (大阪市)

⑤会場：大阪国際会議場

〒530-0005 大阪市北区中之島 5-3-51

TEL：06-4803-5555

⑥会長：阿部宗昭(阪医大)

⑦問合せ先：大阪医科大学整形外科学教室

〒569-8686 高槻市大学町 2-7

TEL：072-683-1221, FAX：072-683-6265

◎第43回 日本定位・機能神経外科学会 学術大会

④4/22(木)～23(金) (奈良市)

⑤会場：奈良県新公会堂

〒630-8212 奈良市春日野町 101

TEL：0742-27-2630

⑥大会長：榊 寿右(奈医大)

⑦問合せ先：奈良県立医科大学医学部 脳神経外科学教室

〒634-8521 橿原市四条町 840

TEL：0744-29-8867, FAX：0744-24-1466

◎第38回 日本保健物理学会 研究発表会

④4/22(木)～23(金) (神戸市)

⑤会場：神戸大学 深江キャンパス

〒658-0022 神戸市東灘区深江南町 5-1-1

TEL：078-431-6200

⑥大会長：小田啓二(神大・海事科学)

⑦問合せ先：近畿大学理工学部情報学科

〒577-8502 東大阪市小若江 3-4-1

TEL：06-6730-5880, FAX：06-6723-2721

◎第23回 日本法中毒学会 学術集会

④4/22(木)～23(金) (秋田市)

⑤会場：秋田県総合保健センター

〒010-0874 秋田市千秋久保田町 6-6

TEL：018-831-2011

⑥大会長：権守邦夫(秋大)

⑦問合せ先：秋田大学医学部 社会環境医学講座法医学科学分野

〒010-8543 秋田市本道 1-1-1

TEL：018-833-1166(3264), FAX：018-836-2610

◎第20回 日本医工学治療学会 学術大会

④4/22(木)～23(金) (広島市)

⑤会場：リーガロイヤルホテル広島

〒731-0000 広島市中区基本町 6-78

9. 遺伝子変異

梅澤明弘*

I. 病気の原因としての染色体と遺伝子の異常

染色体や遺伝子の変異を考えることは、ヒトの遺伝学を考えることと同じである。染色体と遺伝子の変異には、大きくわけて、胚細胞突然変異 germ line mutation と体細胞変異 somatic cell mutation がある。胚細胞変異では、胚細胞に変異を生じるために、そこから発生してきた個体の体中の細胞すべてに変異がみられることになる。この場合は生殖系列の細胞も含まれ、その変異は遺伝し、奇形の原因となる。一方、体細胞変異では、どこかの体細胞に変異が生じるだけなので、その細胞由来の限られた細胞のみが変異をもつことになる。体細胞変異の例としては、癌細胞が最も多くわかりやすい。

これらの遺伝子レベルの変異が病気として発症するためには、環境要因に大きく影響を受ける(図1)。環境の要因が大きい疾病と小さい疾病があることを意識することは大事である。例えば、遺伝要因のみによって引き起こされる病気としては、出生前に死に至るような重篤な遺伝病がある。遺伝要因と環境要因の両方が関与する病気があり、大多数はこの範疇に入る。環境要因のみによって起こる病気としては、交通事故をはじめとする外傷や感染力の強い病原体によるもの等があげられる。交通事故や感染症でも、環境要因のみとは完全にいいきれない場合もあり、遺伝的要因もわずかではあるが絡むことがある。病気によっては遺伝要因と環境要因は単一ではなく、複数のこともありえることである。遺伝学でやらねばならないことは、まず病気の原因遺伝子を見つけ、そのうえで、環境要因が何であるのか、両者がそれぞれどの程度発症に関与するのか、環境要因や遺伝要因をコントロールすれば病気の発症を防げるのかを明らかにすることである。

この稿では、まず、染色体レベル、遺伝子レベルの変異が関与する具体的な疾病の例をあげて考えていく。次に、これらの遺伝形質の変異により生じる疾病

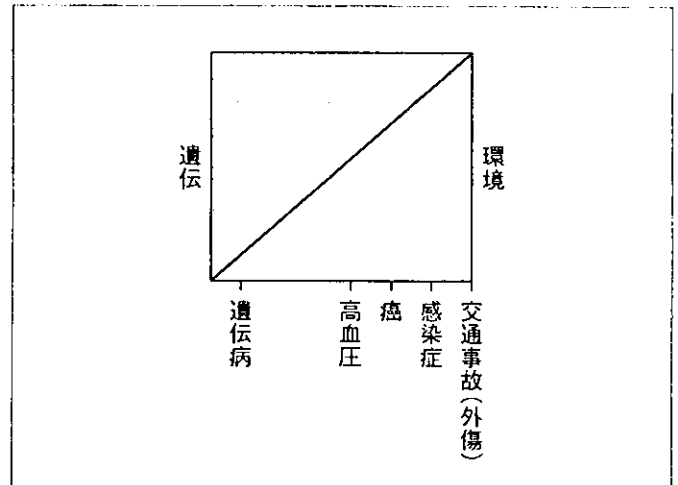


図1 病気の原因としての遺伝要因と環境要因 疾病は、遺伝要因と環境要因によって引き起こされる。大多数の疾病は遺伝要因と環境要因の両方が関与する。遺伝要因と環境要因は一つとは限らず、複数存在することが多い。

の表現型に与える影響をみることで、遺伝子型と表現型の連関を考える。遺伝子型と表現型の連関から、ヒト遺伝病の遺伝形式について考える。具体的な遺伝子変異によって生じるライソソーム病を含む先天性代謝性疾患について検討した後に、ヒトの遺伝子診断を進めた場合の現時点での問題点をみていき、最後に進歩が著しい遺伝子データベースを紹介する。

II. 染色体異常と遺伝子変異

1. 染色体の異常

染色体を観察する際には、まずリンパ球をとってきて、それを培養し、分裂させて、染色する。Gバンド染色法が用いられ、染色体標本を十分乾燥し、0.1% SDS で2分間前処理をしてから0.02% トリプシン含生食液で10~15秒処理後、2% ギムザ液で染色する。分裂中期にある細胞の染色体の写真をとってきて、一番から並べて行く。大きい染色体順となっていく。このような染色体の構成を、核型 karyotype という。ヒトの体細胞には23組、46本の染色体がある。この

*国立成育医療センター研究所

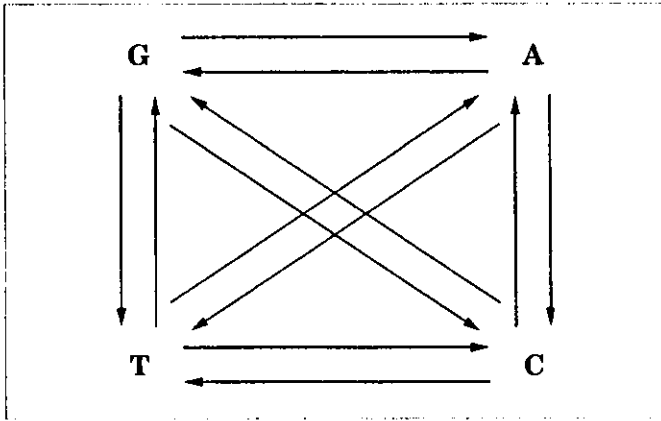


図2 一塩基変異である transition と transversion 一塩基変異には、transition (黒矢印) と transversion (赤矢印) がある。CpG の配列が CpA または TpG となる transition の変異が多い。癌抑制遺伝子である p53 における変異の半分はこの変異である。

うち、22組は同じ染色体が2本ずつある常染色体であり、残り2本が性染色体となり、女性ではXX、男性ではXYとなっている。染色体の異常を観察する場合には、こうして並べられた染色体数の異常や形の異常を調べる。

欠失はDNAの一重鎖上にできた何らかの傷が修復されずに細胞分裂が起こり生じたもので、染色体の一部が失われる。また、同一染色体内で2カ所に切断が起こり、それにより生じた中間の染色体部分が逆転して再結合したものを逆位 inversion という。逆位染色体では遺伝子の量的均衡が保たれるため、表現型の異常を伴わないのが通例である。また、染色体の2カ所以上の切断により生じた染色体断片が、他の染色体に結合転座する現象で、2本の非相同染色体間に生じた転座を相互転座という。数の異常は後に述べる。

2. 遺伝子の組換え

1対の染色体上に連鎖 linkage して並んでいる遺伝子が、染色体の一部が入れ替わることによって遺伝子の組み合わせが変わる現象であり、DNA鎖の二重らせん構造の1本の鎖に損傷による切断が起こると相対する鎖にも切断が起こり、再結合するときに入れ替わって組換え recombination が起こることをいう。このとき、不均等な組換え (不等位交差) が発生しやすく、遺伝子の欠失、重複、再配列等が起こる。

遺伝子配列から、ある長さの塩基配列が失われた場合を欠失 deletion という。遺伝子配列にある長さの塩基配列が挿入された場合を挿入 insertion という。ある塩基配列が遺伝子配列内で逆に配列してもとの位

置に入った場合を逆位という。また、ある対立遺伝子がDNA上に近接して存在する場合、不等位の交換により同じ遺伝子同志が1対 pair になることがある。さらに、遺伝子の一部または全部が重複して染色体に組み込まれた場合を重複 duplication という。この特殊な型として相同性の高い遺伝子間で癒合して新しい遺伝子を形成する融合遺伝子 fusion gene を形成することがある。

3. 点突然変異

DNA複製や組換えのときに間違っただ塩基が挿入されて塩基対の異常をきたす。突然変異は点突然変異 point mutation とよばれる一塩基置換がよく知られているが、次のような変異の種類がある。

a. ミスセンス missense 変異

違う塩基に変換することでその部分のアミノ酸が変わるものである。プリン同士 A \leftrightarrow G またはピリミジン同士 T \leftrightarrow C の変換は transition とよばれ、プリン A/G \leftrightarrow ピリミジン T/C の変換は transversion とよばれる。transitionの方が起きやすい(図2)。

b. ナンセンス nonsense 変異

違う塩基に変換することでその部分が stop codon となり、そこで蛋白質の合成が終了するものである。

c. フレームシフト frameshift 変異

3の倍数以外の塩基が欠失・挿入することによって、それ以降の3塩基ずつの読み枠がずれるものである。実際にはすぐに stop codon ができる。

III. 遺伝子変異と表現型の連関

1. 量的異常 dose effect

変異の結果、遺伝子産物の量が減少または増大するような変異が生じることを量的変異という。このような変異を考える際に重要となるのが、遺伝子量 dose effect である。正常な遺伝子の産物の量がどれほどあるのかというのが、発症を規定する要因となる。

a. 染色体数の異常

染色体の分離がうまくいかず、通常2本のはずが1本であったり3本以上であったりすることによる異常である。通常46本ある染色体が45本しかなかったり、あるいは47本あったりするような変異が、染色体を並べる方法ではまずすぐにわかる。何番目の染色体が3本あるものをトリソミー、1本しかないもの

をモノソミーという。前者の例としては第21染色体が3本あるダウン症候群、後者の例としては、性染色体(X染色体)が1本しかない、ターナー症候群が有名である。

以下ダウン症候群、ターナー症候群について細かくみていくが、その前に注意しておきたいのは、どちらの症候群でも、体中のすべての細胞がトリソミーあるいはモノソミーになっているのではないということである。100%の細胞がモノソミー(トリソミー)になっていると、その個体は生きることができず、生まれる前になくなると考えられている。よって、通常このような病気の患者の細胞はモザイクとなっている。モザイクとは、1つの生殖系から由来して、異なる遺伝子をもつような個体のことをいい、これと似た言葉ではあるが、キメラとは、2つの生殖細胞系から由来する個体のことをいう。すなわち、ダウン症候群、あるいはターナー症候群の患者では、人によってその割合に個人差はあるが、体内の細胞の一部のみがトリソミー(モノソミー)になっているのである。

1) ダウン症候群 Down's syndrome

ダウン症候群の患者は47XX/46XXのように表記され、この症候群は、第21染色体が3本あることによって起こる。患者の特徴としては、顔が扁平、首が太い、知能発達が低下、性格が温厚、急性リンパ球性白血病になりやすい、先天性心奇形、筋緊張低下、手の猿線(掌に1本の横線が入っている)、消化管奇形、首のわきがぶよぶよしている、30~40歳で亡くなる、ということがあげられる。

21トリソミーで起こり(通常2本の染色体が21番だけ3本になっている)、新生児800人に1人の割合でみられる。母親の年齢が高いほどトリソミーが起こりやすく、21トリソミー以外はほぼ流産してしまう。正確にいうと3種類あり、21トリソミー type(すべての染色体が47, XX, +21となっている)、モザイク type(46, XX/47, XX, +21と書きあらわし、トリソミーの細胞と正常な細胞が混じっている状態)、転座 type(ほとんどが第14染色体の長腕の1つが第21染色体の長腕に置き換わっているタイプで、46, XX, -14, +t(14q, 21q)と書きあらわす)である(核型は女性の場合で、男性ならXXをXYと書く)。

2) ターナー症候群

ターナー症候群の患者の場合は、45XO/46XX すなわち、性染色体がモノソミーになった細胞と正常細胞のモザイクとなっている。この場合の症状としては、背が低い、翼状頸 webbing of neck、大動脈狭窄症

coarctation of aorta、外反肘 cubitus valgus | 伸ばした前腕が上肢軸の外側(橈骨側)に傾いていること|、卵巣の低形成があげられる。

Xモノソミー45, XOが原因であるが、モザイク type の45, X/46, XXもある。

表現型は女性。特徴としてみられるのは、低身長、索状性腺 streak ovaries(ひも状の卵巣)のため不妊 infertility、翼状頸、外反肘、大動脈狭窄症がある。

女性では正常人においても片方のX染色体が不活性化されているのに、何故ターナー症候群にならないのか。理由には2つある。①X染色体にも常染色体領域が存在し、本来ならば常に2本とも発現していなければならない。②不活性化するのにも時期があり、2本とも必要な時期が発生上ある。

3) クラインフェルター症候群 Klinefelter's syndrome

核型は47, XXYである。表現型は男性で、背が高く凶暴で外性器が小さいのが特徴である。

b. 劣性ホモ型

変異遺伝子を2つもつ状態(ホモ)で発症するもの。酵素欠損症の多くがこのタイプに入る。正常遺伝子の産物の活性が50%以下になることによって、正常な機能を維持できなくなるため発症する。このような変異は劣性遺伝病となる。

c. 半数不全 haploinsufficiency

変異遺伝子が1つだけで発症するもの。発現量が半分になるだけで機能が維持できなくなるということである。例えば、巨大結腸症 Hirschsprung's disease では c-ret の変異があり、腸筋神経叢の神経節細胞が減少・欠損する。

d. ヘテロ接合性の喪失 loss of heterozygosity (LOH)

受精した時点では一方の遺伝子にしか変異を有さないが、個体発生の途中で偶然に正常な遺伝子に変異が起こり、結果的に遺伝子産物の量が50%以下の不足状態となり発症する。発症原因は劣性ホモ型の遺伝子病と同じであるが、1つ壊れるだけで発症するため見た目は優性の遺伝型を示す。網膜芽細胞腫をもたらす *Rb* 遺伝子の変異がよく知られている。例えば、変異を有する *Rb* 遺伝子を父からのみもらっただけでは発症しないが、母由来の *Rb* も壊れたり欠損したり(LOH)するとはじめて網膜芽細胞腫となる。このように、癌抑制遺伝子の変異にみられる。

e. 刷り込み(インプリンティング imprinting)

遺伝子によっては、父由来しか発現しないもの、逆

に母由来しか発現しないものがあり、この現象を刷り込み imprinting という。生殖細胞形成中に遺伝子がメチル化するせいで発現しなくなる。したがって、不活性化している遺伝子に変異が起きても何も起こらないが、活性化している方に変異があると機能的には両方壊れたことを意味する。例えば、*H19* 遺伝子は父由来が不活性化しているの、母由来に変異が生じると Beckwith Wiedemann syndrome となる。症状は巨舌、半身巨大、臍ヘルニアである(どれも育ち過ぎといえる)。このような発症機序のため、家系図をみると発症者の分布がメンデル遺伝と一致しない。Angelman syndrome は遺伝していく様子から imprinting だとわかり、母由来の第 15 染色体にある遺伝子に point mutation があることが発見された。また、Prader-Willi 症候群は、変異遺伝子が母から受け継がれた子供は病気にはならず、父から受け継いだ子供は病気になることが知られている。

f. 遺伝子重複型変異

今までは量が減る方だったが、今度は増える方である。トリソミーや特定の遺伝子だけが数を増やすことによって発現量が上がり、異常が生じる。癌遺伝子 oncogene の変異にみられる。例えば、神経芽腫 neuroblastoma では *N-myc* の数が増えているためその発現量が増加している。*N-myc* の数が多いほど予後が悪いことが知られている。ちなみに、パーキッソリン腫は *c-myc* の発現量は増えているが遺伝子の数は増えていないのでここには含まない。

2. 質的変異

遺伝子に変異が入り、その結果産生された産物が正常とは異なった作用を有し、何らかの悪影響を発揮し病気に至る場合を質的変異という。gain of function, dominant negative, triplet repeat disorder, position effect がある。

a. 機能獲得型変異 gain of function

遺伝子が新たな機能を獲得したり、機能が極端に上がったたりするもの。変異遺伝子産物が単独で悪作用を及ぼす場合がこの変異である。正常産物の有無に関わらず、変異蛋白の存在が病気と直結するので、優性遺伝病となる。具体例は家族性大腸ポリープ (FAP) の原因遺伝子である *APC* があげられる。

b. ドミナントネガティブ型変異 dominant negative (inactive)

変異遺伝子による機能不全型蛋白質が、別の正常な蛋白質を抑制することで異常が生じるもの。例えば、

II 型骨形成不全症 osteogenesis imperfecta では異常 I 型プロコラーゲンの $\alpha 1(I)$ 鎖が産生される。I 型コラーゲンは $\alpha 1(I)$ 鎖 2 本と $\alpha 2$ 鎖 1 本とで 3 本鎖らせん構造 triple helix をとるが、この異常な $\alpha 1(I)$ 鎖を 1 本でも取り込んだものはらせんが不完全となり、分解される。したがって、異常な $\alpha 1(I)$ 鎖を全体の半分しか産生しなくとも、及ぼす影響は半分以上となってしまふ。遺伝子導入は治療法に適していないが、骨髄移植では治ると考えられている。遺伝子に対して、細胞で治すというスタンスである。

<補足> I 型骨形成不全症は単に正常な $\alpha 1(I)$ 鎖が半分しか産生されない [半数不全(量的変異)の仕組み]。

c. トリプレットリピートの増大 triplet repeat disorder

ハンチントン Huntington 病や筋緊張性ジストロフィー myotonic dystrophy, 脆弱 X 症候群では、遺伝子の中にトリプレットリピート (3 塩基反復) がみられ、リピートの数と病気との間に相関がある。すなわち、正常ではリピートが 20 くらいであるが、患者では 50 以上になっている。例えば、ハンチントン病では翻訳領域に CAG の反復が増える機能獲得型の変異と考えられている。一方、脆弱 X 症候群では、非翻訳領域であるプロモーター領域に CCG の反復が増大しているが、この場合は正常遺伝子産物量が反復の結果減少することが発症の原因と考えられている。筋緊張性ジストロフィーでは 3' 非翻訳領域で CTG 反復数が増大する。

d. 位置効果 position effect

転座や挿入によって遺伝子の場所が変わり、キメラ遺伝子が形成され異常な機能を得るもの。Burkitt lymphoma は、転座による position effect によって、*c-myc* の発現量が変異した例である。

遺伝子型と表現型に関する、興味深い例

<具体例> *WT1* は癌抑制遺伝子である。体細胞では 2 つともに exon の変異が生じて腎芽腫 (Wilms' tumor) を形成する。しかし、胚細胞系列において intron に変異が生じ、*WT1* のスプライシングに異常が起き通常より短くなると染色体が XY でも外性器が女性化してしまう。内性器は索状(ペらペら)である。ここから *WT1* の下流には性決定因子 *SOX* があり、外・内性器の形成に関わっているとわかった。

IV. 遺伝形式

遺伝子異常はこれまで述べてきた先天奇形、染色体異常にも関与が認められるが、さらに単一遺伝子の異常に基づく疾患もある。この疾患は、家族系に追跡が可能で明確に優性、劣性、伴性遺伝の遺伝様式に分けることができる。現在知られている重い遺伝性疾患はほとんどすべて常染色体性劣性遺伝様式である。親が発病し、その子供の半数が発病する常染色体性優性遺伝様式の疾患は、重篤であれば遺伝する前に死亡することが多く事実上遺伝しないため、新しい突然変異による患者が大多数である。したがって遺伝する常染色体性優性遺伝病は一般に軽症であり、重症となるのは成人後に発病するハンチントン病などに限られる。

1. 常染色体優性遺伝 autosomal dominant inheritance

ある形質を支配する常染色体上の遺伝子座の対立遺伝子 A, a があるとすると、3種類の遺伝子型 AA, Aa, aa が生ずるが、AA と Aa 型の表現型が同じで aa の表現型が異なっていれば、A 遺伝子が1つあれば形質が発現することになり、A 遺伝子は優性遺伝することになる。完全優性であれば、両親の少なくとも一方はこの形質をもち、この形質は毎世代あらわれる。

この疾患は、非常に多くのものが知られ、器官発生別にみると血液系(異常ヘモグロビン症、遺伝性球状赤血球症、楕円赤血球症等)、神経系(筋緊張性ジストロフィー、ハンチントン病、神経線維腫症、結節性硬化症等)、筋肉系(進行性筋ジストロフィー、化骨性筋炎、中心筋線維性ミオパチー等)、骨格系(Marfan 症候群、Ehlers-Danlos 症候群、軟骨異栄養症、骨形成不全症等)、視聴覚器系(網膜芽細胞腫、先天性夜盲症、先天性白内障、幼児聾、耳硬化症等)、消化管(家族性大腸腺腫症等)があげられ、この他代謝疾患としてポルフィリン症、アンチトリプシン欠損症等も含まれる。

2. 常染色体劣性遺伝 autosomal recessive inheritance

劣性遺伝子を2個有することで劣性遺伝形質はあらわれる。この場合、劣性遺伝子を1個だけ有するヘテロ個体は表現型は正常であるが、劣性遺伝子を次世代

に残す可能性があるので保因者 carrier という。同胞以外の血縁に患者が出現することは少なく、近親結婚である場合に多くみられる。疾病としては神経系(脊髄筋萎縮症、フリードリッヒ運動失調症)、血液系(血小板無力症)、視聴覚器系(先天性緑内障)がある。疾病の多くは酵素異常による代謝疾患であり、フェニルケトン尿症、シスチン尿症、ムコ多糖類症、ガラクトース血症、異染性白質ジストロフィーがあり、ライソソーム病の項に記載したゴーシェ病も含まれる。

ヒトの塩基対の数はおよそ 3×10^9 個であり、遺伝子の数は約3万と予想されている。今、正常遺伝子を A, 異常遺伝子を a とし、その遺伝子頻度をそれぞれ p および q とする。劣性遺伝病では、aa となったときに病気が発症するので、36万分の1で発症する遺伝病だった場合、 $q^2 = 1/360,000$ であり、 $q = 1/600$ となる。p+q=1 であるので、 $p = 1 - q$ となる。すると、異常遺伝子をヘテロ、Aa でもつヒトの割合は $2pq = 1/300$ となり、意外にも、36万分の1で発症する遺伝病だった場合、300人に1人と多くの人が異常遺伝子をもっていることになる。また、患者が4万人に1人なら保因者は100人に1人存在し、多数の遺伝病について合計すれば誰でも10個くらいの遺伝子に変異があることになる。

3. 伴性遺伝 X-linked inheritance

伴性という言葉は X 染色体上の遺伝子の遺伝様式に普通は使われる。伴性優性遺伝 X-linked dominant inheritance とは X 染色体上の優性遺伝子1つのみで、ある形質が発現する遺伝である。父親のみが X 染色体に該当遺伝子をもつ場合、娘はすべて患者となる。母親のみの場合は息子、娘ともに半数が患者となる。伴性劣性遺伝 X-linked recessive inheritance の場合、男子が対立遺伝子を1個だけもつヘミ接合となるので、常染色体遺伝とはまったく異なる遺伝形式を示すことになる。女子の場合は劣性遺伝子がヘテロの場合は保因者となり、ホモの場合には形質があらわれる。したがって、例外を除き男子の患者は保因者の母親から生まれ、患者は男子に集中することになる。

X 染色体連鎖の遺伝子病は同じく優性および劣性遺伝をするが、疾患としては男性のみに出現する異常である。しかし、生存率からすれば、患者のほとんどが生産年齢以前に死亡するため、無症状の母親から娘へと遺伝形質は伝達される。この疾患は筋肉系の Duchenne 型筋ジストロフィー、血液系の血友病が有名

表1 主なライソソーム病

名称	欠損酵素	主な蓄積脂質	主な蓄積臓器
Gaucher 病	glucocerebroside β -glucosidase	glucocerebroside	脾, 肝, リンパ節, 骨髄
Fabry 病	α -galactosidase A	trihexosylceramide	皮膚, 腎, 心
異染性ロイコジストロフィー	arylsulfatase A	sulfatide	脳, 肝, 脾
Niemann-Pick 病	sphingomyelinase	sphingomyelin	脾, 骨髄, 肝

である。

Duchenne 型筋ジストロフィー症はヒトの遺伝性疾患の中で最も数の多い伴性劣性遺伝病であり、欧米では約 3,500 人の出産例に 1 例の割合で発症し、その約 1/3 は新たな突然変異であると考えられている。dystrophin の異常のために起こる疾患で、原因遺伝子は X 染色体短腕 (Xp21.2) に存在し、DMD 遺伝子とよばれている。dystrophin をコードする遺伝子は全長 200 万塩基対 (2×10^6 bp) にも及ぶ大きさで、その中に少なくとも 70 ものエクソンがあるとされている。DMD 遺伝子をプローブとして多くの患者を解析した結果、患者の 60% にエクソンの領域に欠損のあることが判明した。

V. ライソソーム病

ライソソームは、脂質やムコ多糖を分解する機能を営むので、ライソソーム酵素遺伝子の変異によってこれらの酵素活性が損なわれると、分解されなかった物質の蓄積が起こり、蓄積症となる。これをライソソーム病とよぶ。ライソソームは主に細胞外に由来する物質の消化にあたるので、蓄積は主に食食能の盛んな網内系細胞に起こる。その結果、網内系の機能がブロックされて感染症が起きやすくなり、脾や肝、ときに中枢神経にも機能障害が進行する。

ライソソーム病(表1)の中では最も頻度が高く、ユダヤ人では十数人に1人の保因者が存在するというゴーシェ (Gaucher) 病は、ライソソームのグルコセレブロシダーゼ活性が低下するために起こる、グルコセレブロシドの蓄積症である。グルコセレブロシドは、ほとんどすべての細胞膜に含まれる脂質であるが、特に赤血球膜に多い。そのため、老化赤血球を貪食する脾のマクロファージに多く蓄積し、小児の巨脾症とな

る。病理学的には脾の洞内皮やマクロファージが空胞状に腫大し、これらの細胞に PAS 染色陽性の封入体が認められる。電顕的に、層板状の蓄積物を入れた数 μ m の巨大なライソソームが確認できれば、Gaucher 細胞として診断の決め手になる。第1染色体 1q21 に局在するグルコセレブロシダーゼ遺伝子の点突然変異が主体である。

VI. 遺伝子診断に関する問題

ヒトゲノム解析が始まる前から、遺伝子診断の技術は開発が進められ、一部実施もされていた。それに伴う倫理的な問題として一番有名な例は、1983 年に発表されたハンチントン病の遺伝子の発見である。ハンチントン病はハンチントン舞踏病ともよばれる遺伝病であり、常染色体性優性遺伝疾患であるから、親の一方が患者であれば子供の 1/2 に伝わり発病する。この病気は 40 歳を過ぎるころまでは発病しないが、その遺伝子を有する人はその後必ず発病し、激しい痙攣を伴う症状が進行して、50 歳代に亡くなることが多い。現在、この病気には治療法も予防法もない。したがって発病前の若い人が遺伝子診断によって、確実に将来発病、死亡することが予告されることになる。このことの深刻な意味について悩んだのは、母がハンチントン病で死亡したことからのこの分野の研究者となった Wexler である。ハンチントン病遺伝子の発見の結果、Wexler は自分の遺伝子を調べれば、自分が悲惨な死に方をした母と同じ運命かがわかる、と知って愕然としたのである。悩んだ Wexler の結論は、「知らない権利、あるいは知らされない権利」であった。

ハンチントン病の例からも明らかなように、科学的に事実を明らかにすることが、ときにはそのような遺伝子診断を受ける人にとってプラスとはいえず、むしろ

ろマイナスになるおそれがあることは、遺伝子診断の重要な倫理的側面である。遺伝子診断には、他の診断法と比較して、次のような特有な問題点がある。

- ①診断時には未発症であるが、将来必ず発症するか、あるいは発症するかもしれない遺伝性疾患を確定的に診断できる。
- ②ある人に疾患と関係した遺伝子が見つかった場合には、その人のすべての血縁者に、その遺伝子がある確率で保有されていると推定できる。
- ③ある疾患の遺伝子を保有している人の生命保険加入が拒否されるおそれがある。また血縁者に遺伝性疾患の人があった場合に、その遺伝子の検査を保険加入に際して求められるおそれがある。この問題に関して、クリントン大統領時代に原則として保険加入に際しての遺伝子検査が禁止された。
- ④胎児の遺伝子診断によって、ある病気がわかった場合に、人工妊娠中絶が行われるおそれがある。あるいは体外受精と卵割初期の遺伝子診断を組み合わせた受精卵選別すらなされうる。
- ⑤遺伝的に欠陥のない人しか生まれるべきでない、という新しい優生思想が広まるおそれがある。

VII. 遺伝病データベース

遺伝病に関係したデータベースとして最もポピュラーなものは、米国ジョーンズホプキンス大学のMcKusickを中心としたグループによって構築・運営

されているOMIM(Online Mendelian Inheritance in Man)である。このデータベースには、各種の遺伝病やその原因となる遺伝子の変異などについての情報が、疫学および遺伝子を1つの単位(エントリー)として格納されている。遺伝病に関する原因遺伝子は次々と発見されている。そこで、遺伝病と遺伝子の関係をデータベース化したのが、このOMIMである。これは、もとはMcKusickが冊子としてはじめたものであったが、現在ではオンライン化し、インターネット上で、病気の名前を入力するとその原因遺伝子としてわかっているものがリストアップされてくる、世界中の医者、科学者が自由にアクセスできるページとなっている。遺伝病については現在日々原因遺伝子が解明されているので、最新の情報を知りたい場合は、このページを調べるのが現実的である。このデータベースを利用するには、例えば、米国のNIHのNCBI(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>)や、ジョーンズホプキンス大学のヒトゲノムマッピングデータベースGDB(<http://gdbwww.gdb.org>)などのWWWサイトにアクセスすればよい。

文 献

- 1) 山村研一：病気の遺伝学。病理と臨床 2000, 18(4) : 373-377
- 2) 武部 啓：遺伝子診断の光と影。予防時報 2001, 206 : 36-41
- 3) 高木利久, 金久 実編：ゲノムネットのデータベース利用法, 共立出版, 1996
- 4) 森 道夫, 澤田典均：ライソソーム。病理と臨床 2000, 18(4) : 379-384

骨再生・形状システムの構築

——生分解性ハイブリッドシートを用いて

Custom-shaping system for bone regeneration



梅澤明弘(写真) 槌谷宏平 牛田多加志 陳 国平

Akihiro UMEZAWA¹, Kohei TSUCHIYA², Takashi USHIDA² and Guoping CHEN³国立成育医療センター研究所生殖医療研究部¹, 東京大学大学院医学系研究科附属疾患生命工学センター², 物質・材料研究機構生体材料研究センター細胞基盤技術グループ³

◎骨の再生医療に対し発生学, 材料工学, 細胞生物学の発展に伴い, あらたな試みがはじまっている。対象となる骨粗鬆症, 骨再生能低下の原因は, 閉経後婦人, 寝たきり手術後安静, 老化, 宇宙といった無重力状態, またダイエットと多岐にわたる。腫瘍の術後骨欠損や, 骨形成不全症など先天性の骨疾患に対する機能再建の必要性も増している。これらの社会的問題に対し骨組織の再生, 維持は, 国民の健康, 医療, 福祉の向上, 政策医療の観点からも急務であり, 欠くことのできない問題となっている。そのなかで, “骨をつくる”という課題に対し生分解性ポリマーおよびマトリックスは細胞とハイブリッドすることできわめて重要な働きを示す。あらたに骨をつくる医療における生分解性ポリマーおよびマトリックスの利益と不利益を意識する。そのうえで一定の手続きを踏み, それらの過程が公開されながら骨の再生医療に関する新しい治療法を社会から祝福される形で世に送り出してあげたい。



骨髄間質, 骨, 再生医療, 足場, 細胞移植

広島で開催された日本臓器保存生物医学会で, 「ブタ, ウシといった異種からのウイルス感染が問題であるから動物の臓器を移植に用いてヒトの治療を行うことはその成否とは別に社会的認知を受けない」という発表が5月22日にあった。社会的認知を受けにくいという点は理解できたけれども異種ウイルスがヒトに対して疾病を引き起こし, 不利益を生じさせることは少ないと著者(梅澤)は思った。たとえば, 狂牛病のウイルスが臓器に潜み, ヒトに感染したとしてもヒトに疾病が生じる可能性は少ないので, 異種ウイルスによって感染する不利益よりもヒトの疾病が重篤である場合は得られる患者の利益が上まわるので, 動物臓器を利用する医療は成立すると考えた。しかし, 広島から羽田に向かう飛行機の中, 研究員の寺井政憲氏より, そんな考えは論外であると指摘された。寺井氏の説明はつぎのとおりである。

異種のウイルスがヒトに対して病原性を有することは少ないことはそうかもしれないし, そうでないかもしれない。しかし, ここで重要なのは異種ウイルスがヒトに対して病原性を有することではなく, あらたに病原性を有するようになることがありうることである。異種ウイルスがヒトの体内で変異や組換えを起こし, ヒトに新規の疾病を起こすようになることは十分考えられる。科学的に証明された, そのような事実も存在する。あらたにできたウイルスがヒトに対して致死性であった場合はどうするんですか。そして, そのウイルスがヒトにどんどん感染していったらどうするんですか。

異種ウイルスの感染に対する, 著者(梅澤)の考えは甘かった。再生医療に用いるヒト細胞の培養には本特集の骨形成能を有する細胞を含め, 患者からの自己血清を使用するか, 無血清培養としな

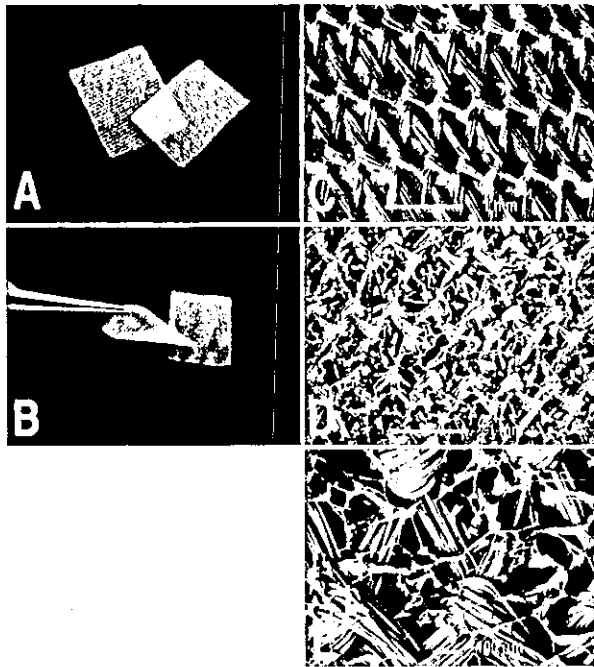


図1 骨形成における細胞の足場である Poly(DL-lactic-co-glycolic acid) (PLGA) シート
足場のひとつである PLGA とコラーゲンのハイブリッド・シートを示す。
A, B: シートの肉眼像, C: コラーゲンのマイクロスポンジを載せていない状態のシートの走査型電子顕微鏡像, D(低倍), E(高倍): PLGA にマイクロスポンジを載せた走査型顕微鏡像。

くてはいけない。

骨形成における足場

再生医療において細胞・材料はきわめて重要な要素である¹⁻⁵⁾。細胞を足場と組み合わせることによって欠損部に再生誘導を起こすための適切な環境を与え、自己修復への自然の流れをつくってやることによって再生が得られる。この場の構築のための技術は化学工学の進歩によるところが大きい。陳 国平と牛田多加志は合成高分子ポリ乳酸-グリコール酸重合体(PLGA)の網目状構造をもつ織布に、ウシI型コラーゲンのマイクロスポンジを複合化、グルタルアルデヒドにて架橋し、蜘蛛の巣様構造をしたシート状とすること^{6,7)}で、再生医療における足場としての妥当性をもたせることに成功している(図1-A~C)。細胞との親和性をもたせるために、生分解性のポリマー上に、コラーゲンのマイクロスポンジをまぶし(図1-D, E)、骨形成におけるきわめて有効な足場とする。作製したコラーゲン複合化シートは厚さ 200 μ m の織

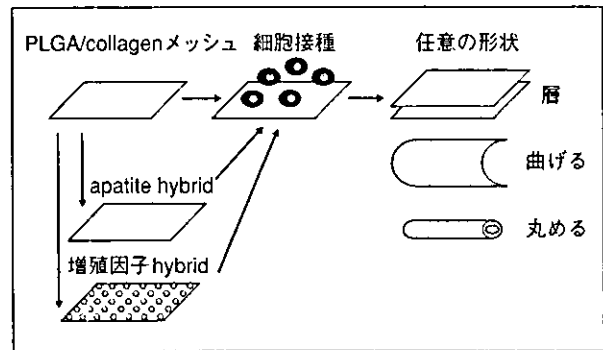


図2 PLGA・コラーゲン・ハイブリッドシート(メッシュ)により任意の形状の骨を作製する模式図

PLGA・コラーゲンハイブリッドシート(メッシュ)に細胞を接種し、その後、叢状にしたり曲げる作業、丸める作業を行った後に、生体に移植する。このハイブリッドシートは増殖因子やヒドロキシアパタイト(apatite)とさらにハイブリッドすることによって骨形成を促進させることを可能とする特性を有する。

布に蜘蛛の巣様であり、そのうえにコラーゲンのマイクロスポンジが載る。このシートは操作性に優れ、容易に把持や形状を変化させることが可能である。

この足場のもうひとつのよい点は生分解性を有する点であり、生体内で水と二酸化炭素に分解され、消失する。細胞と一緒に移植すれば、異物反応もなくなる。これは単に骨の足場材料の例を示すだけであるけれども他の臓器でもそれぞれに相性のよい材料があるはずであり、脳、眼球、軟骨、皮膚、心筋、横紋筋、血管、平滑筋、肝、腎、胆管、尿管、膀胱など、数えあげればきりが無い。そのなかで、PLGA 複合化シートは骨形成の足場として最良な材料のひとつになる。

PLGA 複合化シート重層による頭蓋骨欠損に対する治療

頭蓋骨欠損を作製、細胞を播種した複合化シート5枚を重層して移植した(図2)。対照として細胞を播種しないシートのみおよび骨欠損のみの群を作製し、各10匹の観察を行った¹⁾。マウス頭蓋に作製した骨欠損は対照群(非移植群および細胞未播種シート群)において組織学的に骨の形成が観察されなかったのに対し重層化し移植した細胞播種シート群においては4週で良好な骨形成を生

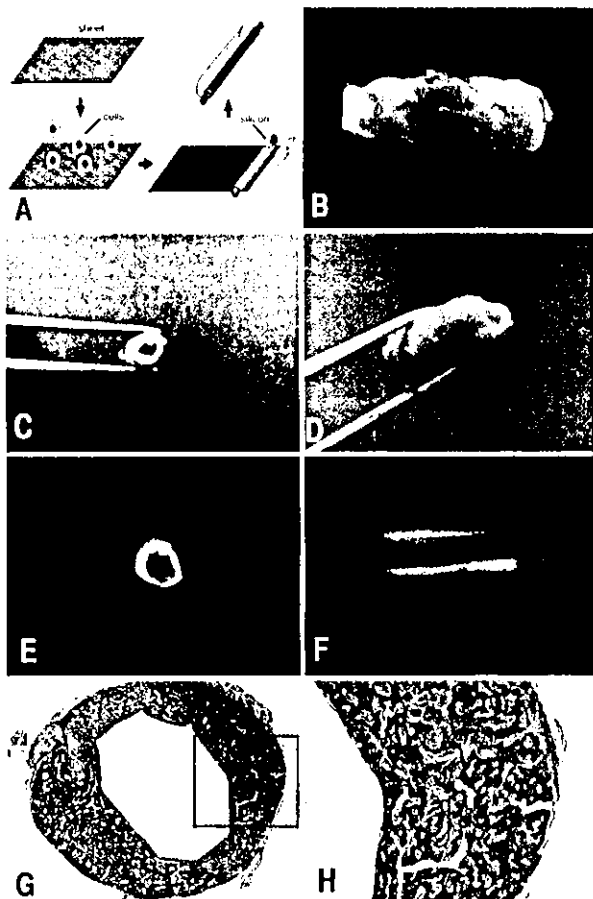


図3 足場による整形性

足場と細胞を使用することにより筒状の骨をつくる。

A: 方法, B-D: 作成した骨の肉眼像, E, F: 作成した骨のX線像, G(低倍), H(高倍): できあがった骨の組織像, みごとな骨梁が形成されている。細胞だけではこのような筒状の形態の骨ができることはない。

じさせることに成功した。

この足場のすばらしい点のひとつはその整形性である¹⁾。どのような形でも作成することが可能であり、つくりたい形の骨をつくることができる。まず、具体的に形状作製および維持が可能かどうかを確認する。次にシートのうえに骨芽細胞を載せ、シートを丸め筒状骨を模倣した円筒形態を作製し、筒状の骨を作成する(図3)。また、実用的なところでは指の骨をつくる(図4)。シリコンにシートを巻き付け指骨形態を模倣しマウス皮下に移植した。4週において目的とした形態そのままの骨が形成されることが証明された。さらに、複雑な形を模索していき、結んだ骨(bone knot)はその例のひとつである(図5)。できあがった骨を結

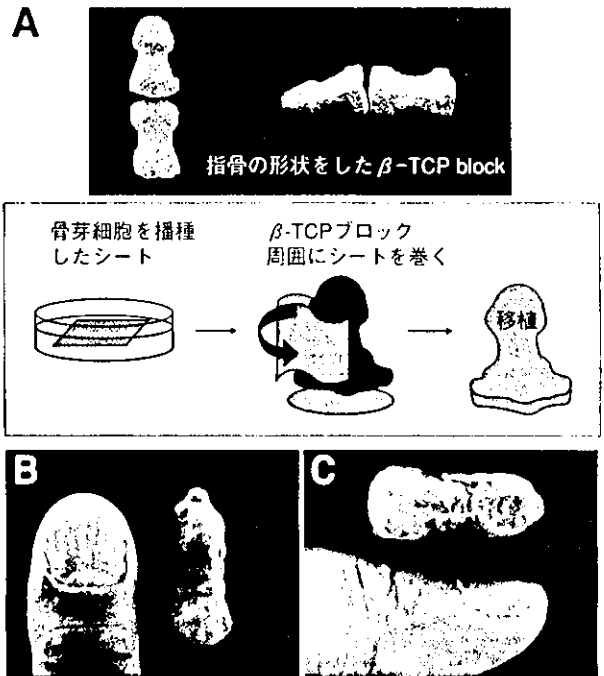


図4 指骨の作成

A: 指の骨(phalanges)を β -TCPとPLGA sheetを用いて作製する方法を示す。

B, C: PLGA sheetと骨芽細胞によって作製された指骨。対照として作製者である樋谷宏平の親指を示す。

んだわけではなく、丸めたシートにて結び目を作製し、結んだ足場に骨をつくり出したというわけである。

おわりに

骨組織の維持・再生に関する研究へ社会的注目が集まるようになって久しい。先天性・後天性の難治性骨欠損に加え加齢、閉経による骨粗鬆症、炎症性疾患による骨形成能低下など骨組織の再生医療が待ち望まれている疾患が多々存在する。多くの骨再生に関する治療法が検討されているものの、すでに骨形成能の低下した病態への画期的な治療法はいまだないのが現状である。近年の再生医学研究より組織構成要素である細胞とポリマーからなる足場が治療材料となることが明らかになった。そのなかでも骨への分化能、再生能、整形性に優れたメッシュ状の生体分解性ポリ乳酸からなる足場を作成し、さらにその表面にコラーゲンを添加した新規足場の開発成功を紹介した。

謝辞: 多くの方々から学問における教授および研

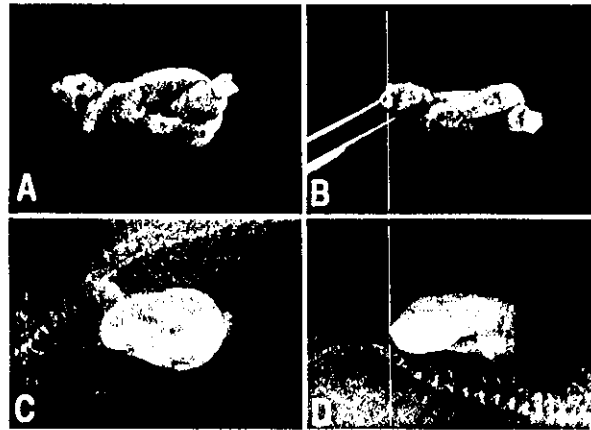


図 5 複雑な形の骨形成を示す意味で“骨の結び目”作成
足場を利用することにより複雑な形の骨を作成できる。ここでは結んだ骨(bone knot)を示す。
A, B:肉眼像, C, D:X線像。

究生活における助けを受けてきた。そして現在も受け続けている。このことに、感謝している。心より、お礼申し上げます。これからも指導を請うことは間違いないけれども何らかの形で、それぞれの方々対し、そして同時にサイエンスに対し恩返しをできれば嬉しい。

文献/URL

- 1) Tsuchiya, K. et al. : Custom-shaping system for bone regeneration by seeding marrow stromal cells onto a web-like biodegradable hybrid sheet. *Cell Tissue Res.*, **316** : 141-153, 2004.
- 2) Ochi, K. et al. : The use of isolated mature osteoblasts in abundance acts as desired-shaped bone regeneration in combination with a modified poly DL-lactic-co-glycolic acid(PLGA)-collagen sponge. *J. Cell. Physiol.*, **194** : 45-53, 2003.
- 3) Gojo, S. et al. : In vivo cardiovascularogenesis by direct injection of isolated adult mesenchymal stem

cells. *Exp. Cell Res.*, **288** : 35-50, 2003.

- 4) Takeda, Y. et al. : Can the life-span of human marrow stromal cells be prolonged by bmi-1, E6, E7, and/or telomerase without affecting cardiomyogenic differentiation? *J. Gene Med. DOI* : 10. 1002/jgm. 583.
- 5) マウス骨髄間質から拍動する心筋細胞への分化を示したサイト：
[http:// 1985.jukuin.keio.ac.jp/umezawa HTML](http://1985.jukuin.keio.ac.jp/umezawa/HTML)
ヒト骨髄間質から拍動する心筋細胞への分化を示したサイト：
[http:// 1985.jukuin.keio.ac.jp/umezawa jgm ubet7](http://1985.jukuin.keio.ac.jp/umezawa/jgm_ubet7).
ヒトとマウスの骨髄間質細胞のカタログを示すサイト：
[http:// 1985.jukuin.keio.ac.jp/umezawa link.html](http://1985.jukuin.keio.ac.jp/umezawa/link.html)
- 6) Chen, G. et al. : The use of a novel PLGA fiber collagen composite web as a scaffold for engineering of articular cartilage tissue with adjustable thickness. *J. Biomed. Mater. Res.*, **67A** : 1170-1180, 2003.
- 7) Chen, G. et al. : A biodegradable hybrid sponge nested with collagen microsponges. *J. Biomed. Mater. Res.*, **51** : 273-279, 2000.

* * *

はじめに

Introduction



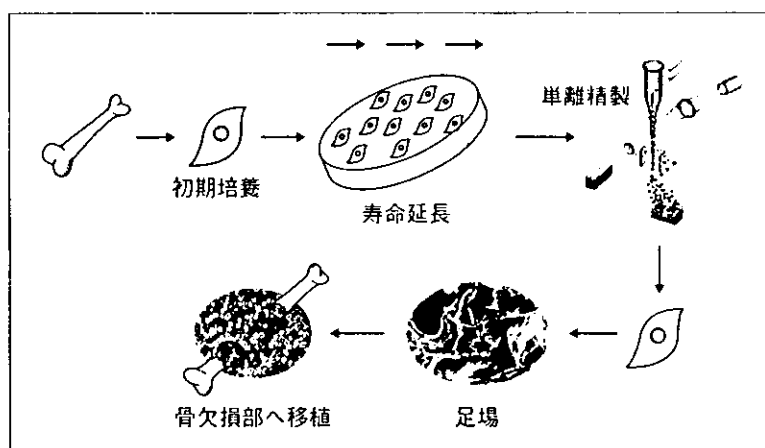
梅澤明弘

Akihiro UMEZAWA

国立成育医療センター研究所生殖医療研究部

骨組織の維持にかかわる問題は社会的に注目されて久しい。骨粗鬆症、関節リウマチに代表される骨再生能の低下は、閉経後婦人、寝たきり(手術後を含む)、老化、宇宙医学(無重力状態)、ダイエットと多岐にわたる。また、悪性腫瘍などの治療技術の向上に伴い生じる術後骨欠損や、骨形成不全症など先天性の骨疾患に対する機能再建の必要性が増している。これらの社会的問題に対し骨組織の再生、維持は、国民の健康、医療、福祉の向上、政策医療の観点からも急務であり、欠くことのできない問題となっている。しかし、ヒト骨髓間葉系細胞は現在までの方法では必要な量の細胞数を得るには至らず、広範な欠損に対する再建や骨粗鬆症、関節リウマチに代表される自己の骨再生能の低下した患者に対する治療法としての限界があった。

このような、現代における骨再生医療の問題点に対する、サイエンティストの挑戦を本号で特集する。清野 透氏により発見された遺伝子を導入することによって、従来、困難であった腫瘍化を伴わないヒト細胞の寿命延長、増殖に戸田淳也氏が成功する。また、牛田多加志氏が開発した生分解性ポリマーを足場とすることで、より整形性が高くなり、広範な骨欠損を再建することが可能となる。さらに、渡辺 研氏、東 佐由美氏、宮戸健二氏は骨形成における分子機構に関する、きわめて貴重な情報を提供する。これらの技術を応用することによって大串 始氏は骨髓間葉系細胞無機人工骨を用いての骨再生に多くの知見を有し医薬品 GCP 基準に合致する施設の立ち上げを終了しており、すでに早期から探索的な臨床研究を推進し、その結果をすべて紹介している。ヒト細胞の増殖をコントロールし移植への系を確立することは移植医療のあらたなパラダイムの獲得につながることであり、臨床応用を視野に入れた具体的なアプローチを本特集で追求する。



再生医療の現状と化学工学への期待

梅澤明弘・植谷宏平・牛田多加志・陳 国平

1. はじめに

再生医療は、主に発生学・材料工学・細胞生物学の発展に伴って生じた細胞を薬と見なして行う新たな試みである。新たな試みとしたが、実際には骨髄移植、末梢血幹細胞移植は造血組織の再生を自己血液細胞ないしは他家の血液細胞を利用して成功している。骨髄移植は、再生医療の中では最も成功していると筆者は理解している。最近の再生医療として紹介されている部分は、骨髄移植に関わるような技術に加え、造血細胞以外の細胞を含め、増殖因子・分化誘導因子、マトリックス、生分解性ポリマーならびに幹細胞に関する情報を上手に統合することで新たに組織を再生するところである。「臓器、組織、細胞を造る」という課題を掲げた再生医療の主要な登場人物像をひとつひとつ紹介したい。

2. 再生とは？

もともと再生とは、生体の失われた細胞・組織が残りの細胞の増殖によって補われることをいう。再生という生命現象がかなり古くから認識されていたという事実は、紀元



図1 倉持由氏による「コーカサス山で罰を受けるプロメテウス」
本来の意味での組織再生を示唆するギリシャ神話。「痛みを苦しむプロメテウス（ビーグル）と、大神ゼウスの使いの大鷲」が描かれている。プロメテウスは自ら生みだした人間にさまざまなことを教え込んだが、火（知恵と技の象徴）だけは許さなかった。しかし、プロメテウスはヘリオス（太陽神）の燃え盛る戦車から、「ういきょう」の莖を使って火を盗み人間に与えた。その罰で、プロメテウスは刑期3万年、コーカサス山に鎖にされ、毎夕やってくる大鷲に肝臓をついばまれる刑に落とされた。肝臓はその夜のうちに再生し、次の夕にまたついばまれる。

前8世紀頃のギリシャの詩人であるHesiodosの神話からも理解できる(図1)。プロメテウスは人間を作り、地を耕し作物を作ること、道具を使うこと、羊や牛を飼い慣らすこと、言葉で話すことなどたくさんのことを人間に教えた。最期に火を使うことを教えるため、ヘリオスの太陽の馬車



Regenerative Medicine
Akihiro Umezawa
1990年 慶應義塾大学大学院医学研究科博士課程修了
現在 国立成育医療センター研究所生殖医療研究部 部長
連絡先: 〒154-8567 世田谷区太子堂3-35-31
E-mail umezawa@1985.jukuin.keio.ac.jp
URL http://1985.jukuin.keio.ac.jp/umezawa/HTML



Kohei Tsuchiya
2004年 旭川医科大学大学院医学系研究科博士課程修了
現在 東京大学大学院医学系研究科附属疾患生命工学センター医療材料・機器工学部門 助手
連絡先: 〒113-0033 文京区本郷7-3-1
E-mail k-tsuchi@m.u-tokyo.ac.jp

2004年5月6日受理



Takashi Ushida
1985年 東京大学大学院工学系研究科博士課程修了
現在 同大学院医学系研究科附属疾患生命工学センター 教授
連絡先: 〒113-0033 文京区本郷7-3-1
E-mail ushida@m.u-tokyo.ac.jp
URL http://tissue.tu-tokyo.ac.jp/



Guoping Chen
1997年 京都大学大学院工学研究科博士課程修了、工学博士
現在 物質・材料研究機構生体材料研究センター 主幹研究員
連絡先: 〒305-0044 つくば市並木1-1
E-mail Guoping.CHEN@nims.go.jp
URL http://www.nims.go.jp/bmc/bmc01/bmtg.html

から火を盗んだ。罰としてゼウスによって岩に縛られ、ゼウスの放った大鷲に襲われ、肝臓を食べられたが、翌日も肝臓は再生し、来る日も来る日も肝臓をついばまれた。すなわち、このギリシャ神話の時代から、肝臓が再生することは知られていた訳である。

このように肝臓は再生しやすい。肝細胞が障害されても新たに再生して結節をつくり、肝硬変の時の再生結節となる。皮膚も欠損しても、表皮も真皮もきちっと創傷治療が行われることは経験的にも理解しやすい。造血細胞の寿命が短いことから考えても分かるように、次から次へと造血細胞はつくりだされ、再生していると言える。消化管の上皮も潰瘍として欠損しても、その部分はやがて再生して治癒する。一方、脳神経組織、心筋組織、骨格筋組織、靭帯、腎は、ほとんど再生しない。心筋組織が梗塞に陥れば、新たに心筋細胞が再生してくることはなく、肝臓ともいうが線維性組織によって置換される。脳組織が梗塞に陥れば、組織が欠損し、脳軟化となり、神経組織が再生されることはないと考えられてきた。

3. 再生医療における細胞の役割とは？

再生医療においては、再生しやすい組織、再生しない組織についてのいずれにおいても、細胞を導入することによって組織の機能を目指す。導入する細胞は、さまざまなレベルの幹細胞が考えられるが、大きく胎児性幹細胞と成体幹細胞に分類される^{1,3)}。胎児性幹細胞は胚盤胞の内部細胞塊より樹立する細胞株であるが、驚くべきことに全身の組織や細胞に分化する能力を維持しており、全能性を有している。一方、成体幹細胞は、各臓器、組織に存在する幹細胞であり、血液幹細胞に代表されるように顆粒球系、赤芽球系、巨核球系の造血にかかわる全ての系列に分化可能である。すなわち、成体幹細胞は限られた範囲の中で多分化能を示し、部分全能性を有している。

マスコミ紙上を賑わしているのは、この幹細胞の可塑性である。細胞の可塑性とは、細胞が別の細胞に変身することである。「幹細胞の可塑性」は10年以上前から知られており、胎児性幹細胞や様々なレベルの成体幹細胞は、発生を模倣する過程を試験管内で再現できる極めて重要な位置を占め、発生にかかわる分子機構の解明に多大なる貢献をし、サイエンスを押し進める上で、確固たる地位を得てきた。再生医療はこの細胞の可塑性を利用する。現実には生体内で細胞が別の細胞に変身することはほとんどなく、化生として知られるごくわずかな現象のみである。胃粘膜が腸上皮に変身する腸上皮化生、気管支上皮が表皮や食道粘膜に変身する扁平上皮化生がある。このような変身が移植した細胞で確認されたり、試験管内で再現できたりしている。

特に骨髄移植により導入された血液幹細胞が全身の組織の細胞に分化するという報告は、驚きであった。

4. 再生医療の手順

再生医療の中心となる細胞移植についての手順を次に紹介する。患者さんないしはドナーの方の組織から細胞を一部採取する。血液幹細胞は試験管の中で培養することは難しいが、神経幹細胞、間葉系幹細胞は容易に増殖させることができる。増殖させた細胞の中から成体幹細胞に相当する細胞を細胞膜抗原、細胞特異的転写調節領域を利用して単離する。その細胞を分化誘導ないし転換プロトコルによって目的の細胞とし、心筋組織や神経組織などの各組織に移植する。移植に関しては、静脈に注射することも考えられるが、対象組織内に直接注射することが多い。

分化プロトコルは細かい話になるが、簡単に概要を示す。発生学の知識を利用して、増殖因子を利用したり、マトリックスを培養器の底にひいたり、丸く塊をつくったり、細胞培養の密度を変化させることによって、できあがる細胞を全く異なるものとする。ES細胞からドーパミン産生細胞やインスリン産生細胞を作製する際には、ES細胞の下にフィーダー細胞として特別な骨髄間質細胞をおく。完全な分化プロトコルができあがっているわけではなく、ある割合で分化したり、同時に別の細胞に分化したりする。たとえば、骨髄間質細胞を心筋細胞⁴⁾にする際には、周辺に脂肪細胞が同時に出現しているし、目的とする細胞の割合は決して高くはないのが現状である。そこで分化誘導因子を利用したり、細胞内に転写因子を導入したり、マトリックスを利用したり、工夫を凝らしている。

5. 化学工学への期待

再生医療において、材料は極めて重要な要素である。細胞を足場と組み合わせることによって、欠損部に再生誘導を起こすための適切な環境を与え、自己修復への自然の流れをつくってやることによって、再生が得られる。この場の構築のための技術は、化学工学の進歩によるところが大きい。陳国平と牛田多加志は、生分解性のポリマーを縫い合わせ、シート状とすること^{5,6)}で、再生医療における足場としての妥当性を持たせた(図2A~C)。細胞との親和性を持たせるために、生分解性のポリマー上に、コラーゲンのマイクロスポンジをまぶした(図2D, E)。

この足場を利用することで、骨芽細胞を載せることにより、筒状の骨を作成することが可能となった(図3)。この足場の素晴らしい点のひとつは、その整形性である。どんな形でも作成することが可能であり、複雑な形の骨をつく

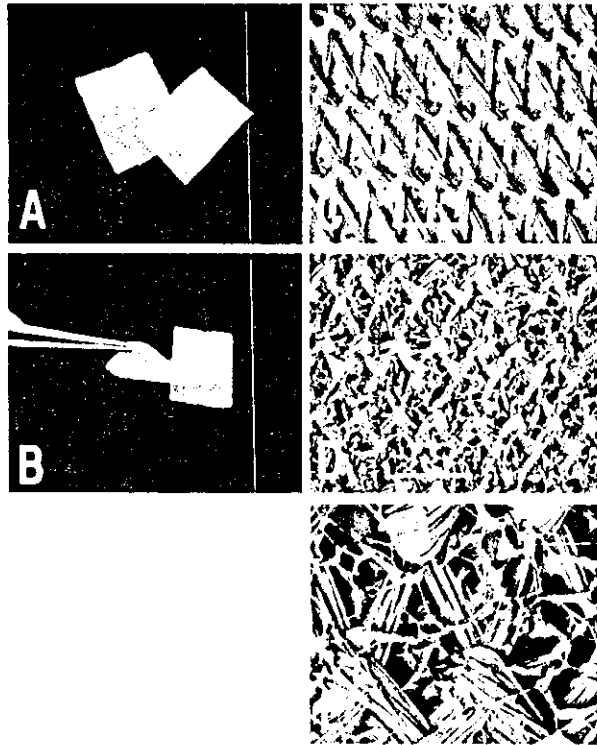


図 2 細胞の足場

足場の一つである Poly (DL-lactic-co-glycolic acid) (PLGA) とコラーゲンのハイブリッド・シートを示す。A と B に、シートの肉眼像を示す。C には、コラーゲンのマイクロスポンジを載せていない状態のシートの走査型電子顕微鏡像を示す。D (低倍) と E (高倍) には、PLGA にマイクロスポンジを載せた走査型顕微鏡像を示す。

りだすことに成功した。結んだ骨 (Bone knot) は、その例のひとつである (図 4A~D)。できあがった骨を結んだ訳ではなく、結んだ足場に骨をつくり出したという訳である。実用的なところでは、指の骨をつくった (図 4E~H)。この足場のもう一つの良い点は、生体内で水と二酸化炭素に分解され、消失する。細胞と一緒に移植すれば、異物反応もなくなる。これは、単に骨の足場材料の例を示すだけであるけれども、他の臓器でもそれぞれに相性の良い材料があるはずであり、化学工学によって明らかにされてくるはずである。他の臓器の例としては、脳、眼球、軟骨、皮膚、心筋、横紋筋、血管、平滑筋、肝臓、腎臓、胆管、尿管、膀胱など数えあげれば切りがないが、申し上げたいことはそれぞれに重要または適切な材料があるということであり、それらの材料を開発し、緻密にかつ効率よく製造する化学工学者への役割に大きく期待するということである。

6. 対象となる疾病

対象とする疾病は、骨欠損、骨折、虚血性心疾患、代謝性疾患、筋疾患、パーキンソン病、脊髄損傷、糖尿病、熱傷である。脊髄移植や皮膚移植では、細胞や生分解性材料を用いて成功していることは前述したが、パーキンソン病では中絶胎児の神経組織を利用して有効であったという報

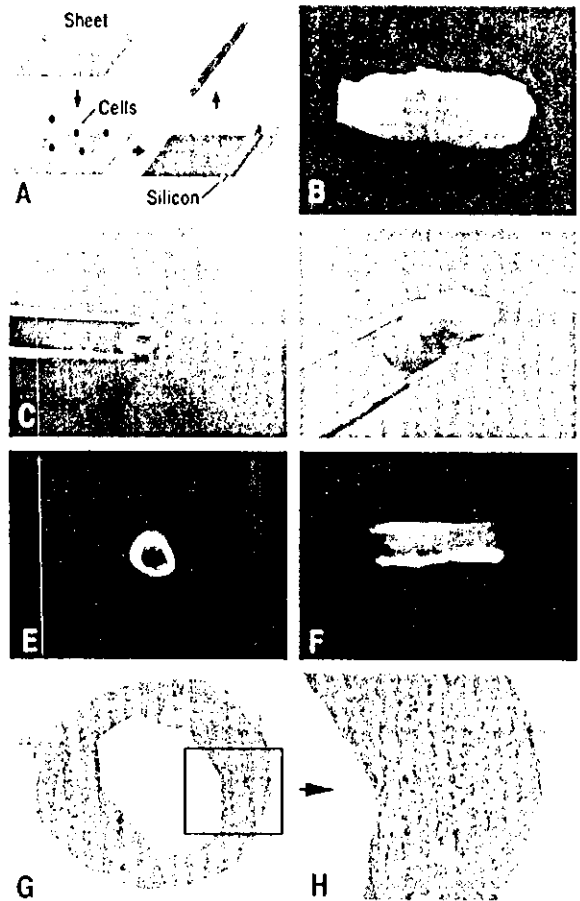


図 3 足場による整形性

足場と細胞を使用することにより、筒状の骨を作る。A: 方法。B-D: 作成した骨の肉眼像。E-F: 作成した骨のX線像。G (低倍) と H (高倍): 出来上がった骨の組織像。みごとな骨梁が形成されている。細胞だけでは、このような筒状の形態の骨ができることはない。

告がなされている。さらに心筋内に骨髄細胞を注入することは日本、欧州で行われている。骨髄間質細胞も造血充進作用を期待され、治療が進んでいる。

再生医療に対し、積極的な企業に、胎児性幹細胞のゲロン社、間葉系幹細胞のオシリス社がある。多くの特許が取得され、実現に向けて、Cell processing center も設立されつつある。ゲロン社、オシリス社は米国の企業であるが、日本の製薬会社ならびに商社もこの新しい医療に対し、興味を示し出資している。この2年の間に、具体的なメド、すなわちこの医療価値が認められるのかどうか、採算がとれるのかどうかについての回答がでると予想される。

7. おわりに

再生医療に関する問題点はいくつか指摘されている。最も根本的な問題が細胞移植することによって症状の改善が見込まれるかどうかである。目的の細胞に生体内で分化したか、目的の細胞とは異なる分化形質を示していないかどうか、病気の症状を軽減するのに十分な細胞数を注入できたかどうか。十分な細胞数を試験管内で、すなわち生体外で

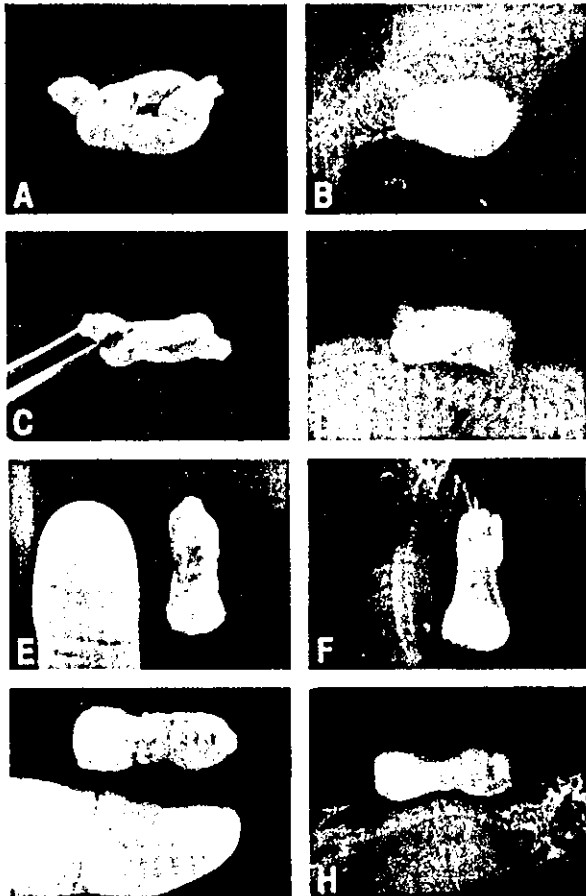


図 4 複雑な形の骨

足場を利用することにより、複雑な形の骨を作成できる。A-D：結んだ骨 (Bone knot)。E-H：指の骨 (Phalanges)。肉眼像 (A, C, E, G) と X線像 (B, D, F, H)。

培養できたかどうか。試験管内で細胞は十分増えたが腫瘍化していないか。そして移植後、細胞が腫瘍とならないか。培養している過程で細胞の分化能が低下しないかどうか。培養過程でウシ血清を使用しなくてはならず、狂牛病の心配はどうか。細胞培養の過程でばらつき、すなわち毎回同じように細胞を処置できたか。きりがないように感じるかもしれないが、だいたいこんなところである。これらの問題を解決するセンシング技術、高度培養技術などの開発においては、化学工学技術者の活躍を大いに期待するところである。

また、このような問題点があるとしても、それを上回る利益が期待できるのであれば再生医療を試みるかどうかの検討をするべきである。不利益にしても、個々の疾病で意味が異なるであろうし、問題点が解決してしまっている場合もある。利益と不利益を意識した上で一定の手続きを踏み、それらの過程が公開されながらこの再生医療が進行することにより、この新しい治療法が社会から祝福される形で世に送り出してあげたい。

引用文献

- 1) 梅澤明弘：再生医療，3(1)，61-68，(2004)
- 2) 梅澤明弘，五條理志：Molecular Medicine，40(12)，1432-1439 (2004)
- 3) 梅澤明弘，竹田征治：実験医学，22(1)，12-16 (2004)
- 4) <http://1985.jukuin.keio.ac.jp/umezawa/HIML>
- 5) Chen, G., T. Sato, T. Ushida, R. Hirochika, Y. Shirasaki, N. Ochiai and T. Tateishi: J Biomed Mater Res, 67A, 1170-1180 (2003)
- 6) Chen, G., T. Ushida and T. Tateishi: J Biomed Mater Res, 51, 273-279, (2000)

書評

科学者・技術者のための英語論文の書き方
—国際的に通用する論文を書く秘訣—

R. Lewis, N. Whitby, E. Whitby 著，東京化学同人，219頁，2004年1月発行，定価2600円＋税

英語論文の書き方を述べた書籍は、書店で容易に何冊も見つけることができ、書棚にお持ちの会員諸氏も多いことと思われる。そんな中でこのようなタイトルを持つ本書はどんな特徴を持つのかと思い読み始めたが、予想に反して内容は Technical Writing の基本をていねいに解説したものであった。

「はじめに」で述べられているように、本書は全5部33章からなり、月刊誌「現代化学」に連載された内容に加筆を行ってまとめられた本である。

第1部の基本編はいわば本書の中心をなす部分で、全10章を使って、IMRAD方式にのっとった Technical Writing を解説している。IMRAD方式とは Introduction (序論)、Methods (実験方法)、Results (結果)、and Discussion (考察) の頭文字をとったもので、現代の科学論文の基本構成である。第1部ではまず科学論文の基本構成をどのように論理的に構築していくか、各パラグラフに落とし込んでいくかが述べられる。これに続く各章では IMRAD の各部分を独立した章として、論文全体に対する各部分の役割、書く時の考え方や論理立てについて簡潔な文章で説明している。Technical Writing の基礎をまとめた日本語で読める本が少ない中、本書の第1部は実際の論文執筆にそくして簡潔に解説されている。各章におかれている Key Points にその章での要点をまとめてあり、各章ごとの説明の整理や読後の備忘録として機能している。また要所に Q&A が入っており、読者の一般的な疑問に答えている。

第2部の実践英語用法活用編は、冠詞の使い方など執筆の時に日本人が悩みがちな部分の解説をしており、科学論文用文法書に近い。第3部の Visual 作成とコンピューターの活用編は、グラフや表などの Visual を作成する時の「考え方」を解説している。ただし著者らも述べているように、個々のソフトウェアの操作法などについては、別に専門の書籍を探していただきたい。第4部の執筆作業編では、論文の執筆と投稿から出版にいたるまでプロセスを解説しており、これから論文を書き始める人にとって、論文投稿後の作業の流れがわかる。また論文原稿に添える添え状の書き方も、ていねいに示されている。

第5部はサバイバル編として、日本人が書いた英語科学論文などの添削経験が豊富な著者らが、第1部基本編で述べたことをどう具体的に英語で論文にしていくかを解説している。例文を出して添削していく解説方法をとっており、誤用の多い言葉や誤解を生みやすい言葉についても章を立てて細かく言及している。その他にも、明快な文章を書くにはとか、能動態と受動態、人称の使い方などの章が並んでおり、英語論文を書く際の実際のな手引き書になると思われる。

本書は、英語論文を書き慣れた人には基本を思い出す際の手引きとして、英語論文をこれから書き始める人には、Technical Writing の基礎を学ぶ良い独習書となるであろう。

(T・F)