

図 2 生殖細胞を形成させるための細胞の供給源

A：胚盤胞の内部細胞塊に由来する胚性幹細胞ならびに胎児の始原生殖細胞から生殖細胞が形成する可能性が考えられる。

B：精巣由来の精祖細胞から精子を形成させることが可能である。また、ここでは可能性のひとつとして骨髓間質由来の間葉系幹細胞(成熟細胞)からの精子形成を示した。

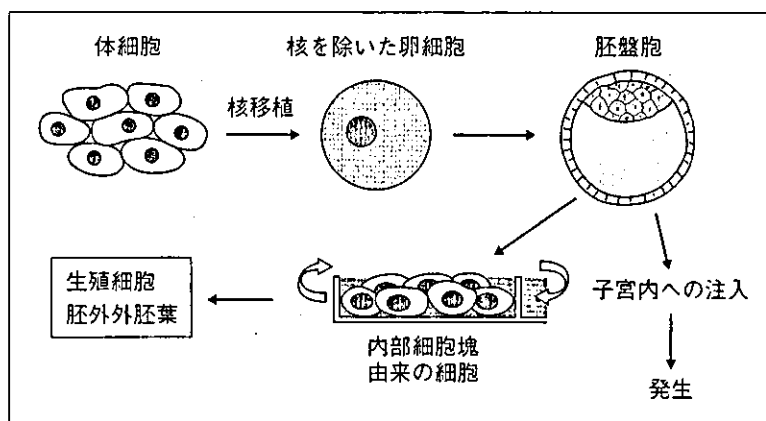


図 3 核移植技術を用いた体細胞からの生殖細胞作製

る。ヒトの生殖系列にウシ、ブタ、マウスといった外来種の内在性レトロウイルスがヒトのゲノムに入り込むのは困るという考えである。

### 生殖細胞を用いた再生医療の対象疾患

ここで、考えをまとめるために細胞移植における対象疾患を列举してみる。リンパ腫、骨髄腫、白血病の患者における造血幹細胞移植の増強のためには自己細胞または同種細胞が使用できる。間葉系細胞に障害を伴う疾患である骨形成不全症お

よび軟骨形成不全症では、同種由来の細胞を用いる。Fabry 病、血友病といった遺伝病では細胞を欠損遺伝子の運び屋として利用することも可能であるし、また同種由来の細胞を導入することにより欠損酵素自体の補充ができる。GVHD (graft-versus-host disease) の予防および臓器移植での免疫寛容を誘導することも理論的に可能である。生殖細胞が関与するような再生医療の対象疾患は存在するであろうか。生殖細胞系列における再生医療は、精子形成過程における微小環境の異常に関係

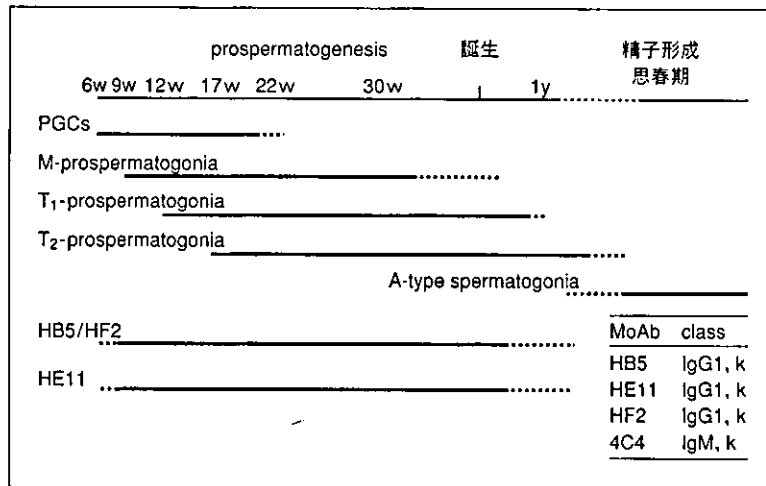


図 4 発生過程の生殖細胞を規定する表面抗原に対するモノクローナル抗体<sup>1)</sup>  
ヒト精巣に由来する胎児性癌細胞の膜表面抗原に対するモノクローナル抗体は、発生過程における生殖細胞を規定することが判明した。

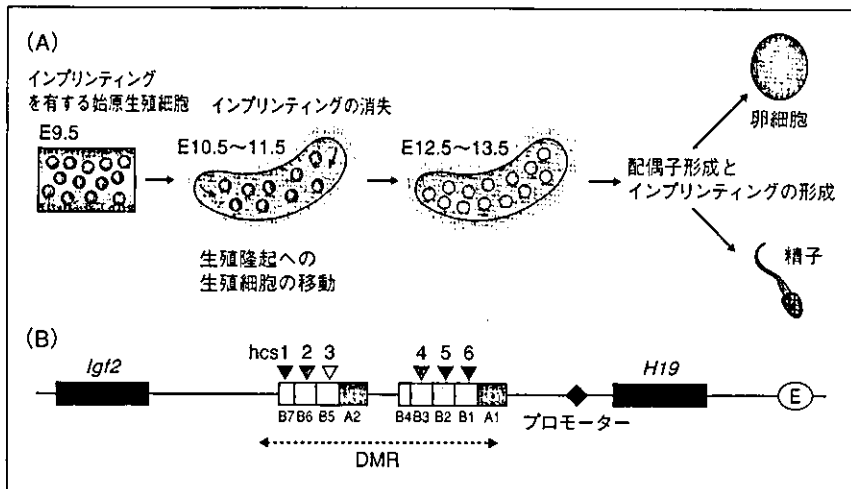


図 5 発生過程における生殖細胞ゲノムのメチル化

A : 始原生殖細胞におけるインプリンティングの保持, 消失, 再形成. “E” はマウス胎仔の日齢を示す.

B : ヒト H19 遺伝子は, 成人臓器において母由来のゲノムからのみ転写が生じる. 父由来のゲノムの H19 遺伝子プロモーターはメチル化されており, 母由来のプロモーターはメチル化されていない. 一方, 精子においては H19 遺伝子プロモーターのメチル化はまったく認められない. プロモーター上流に存在するインプリンティング調節領域(differentially methylated region : DMR)のメチル化も同様に正確に決められている.

する疾病に限られる. 生殖細胞系列に直接かかわる遺伝病では, 自己の細胞では前述したような技術を用いて配偶子形成はできないと予想される. 微小環境が重要であることをよく示す例として, 骨髄間質が造血に寄与する分子に変異を有する Sl/d マウスでは高度の造血障害が認められ, 血液幹細胞移植によりその造血障害と貧血は改善せ

ず, 間質の異常であることが知られる<sup>3)</sup>. 後にこのマウスでは c-kit ligand(SCF)の膜型に変異があることが明らかにされ, その変異が造血障害ならびに生殖細胞形成に至る原因となることが発見された.

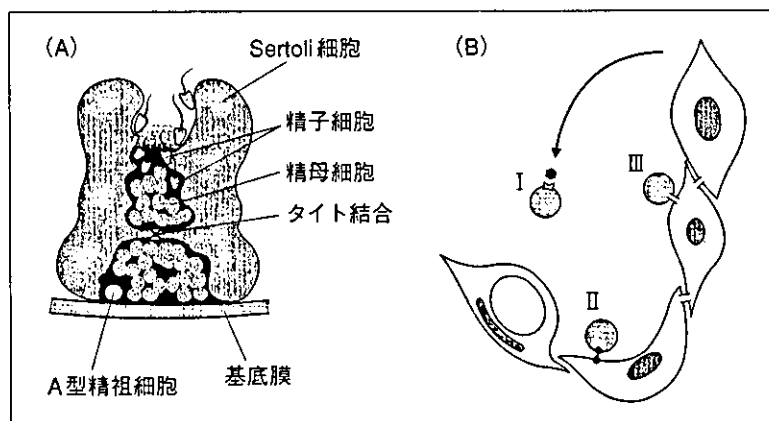


図 6 精子形成過程と Sertoli 細胞(A), 骨髓間質の造血に対する役割(B)

A: 精子形成と造血における細胞と微小環境を形成する細胞との間には基底膜が存在しない。

B: 骨髓間質細胞と血液細胞との細胞相互作用を表した。CSF-1 をはじめとする液性因子を介する交流(I), 膜状の分子を介した連絡(II), ギャップ結合を介した交流(III)の3通りが考えられる。

## 配偶子形成にかかわるエピジェネティクスと再生医療——間葉系幹細胞と比較して

精子をつくりだすことは可能であっても、そのゲノムのメチル化の状態が正常でなければ正常の発生および臓器形成が生じることにはならない<sup>4)</sup>。発生過程において、インプリンティング遺伝子をはじめとする遺伝子転写調節領域のメチル化は正確に調節されている(図5)。体細胞から生殖細胞系列を形成するという考えは、ある意味でクローン動物と同様の危惧がある。体細胞のゲノムのメチル化が生殖細胞のゲノムのメチル化と異なるために、胎児の奇形を生じたり巨大な胎盤が形成されたり、出生直後に生きることができないといったことが報告されている。体細胞のゲノムメチル化は精子のそれとは異なっており、メチル化が異なっていれば遺伝子の発現パターンが変化してしまう。そのため、生殖系列を誘導するには間葉系幹細胞を心筋細胞、骨格筋細胞、ニューロンへ細胞転換させるのに用いた低分子の脱メチル化剤<sup>5-7)</sup>は好ましくない。低分子の脱メチル化剤を用いれば、細胞のメチル化状態は確率的な状態になり、一定の状態はつくり出せない。

体細胞や生殖細胞から精子をつくり出す技術が確立していない現時点において、メチル化の状態の話をしては仕方がないかもしれない。精子の形まで、より正確に言えば減数分裂を生じさせるよ

うな形にまでもっていけることが先決ではあるが、先の先まで考えればゲノムのメチル化は無視できない。まず、发育途中にある原始胚細胞核の機能およびゲノムの発生支持能をそれぞれ評価することが大事となる。生殖細胞の発生、成熟過程とエピジェネティックな修飾との連関を明確にしておくとはいけない。この生殖細胞の機能評価のひとつとして、ゲノムの“成熟”度をひとつの評価基準として、その配偶子形成機構における意義を追求できる。

このような理由で、生殖細胞における再生医療においては体細胞にはない厳密性が要求される。間葉系幹細胞をはじめとする体細胞の場合では心筋細胞、骨格筋細胞、骨細胞、軟骨細胞に分化する場合、ゲノムのエピジェネティクスは重要では

### サイドメモ 2 微小環境

生殖細胞とその微小環境を形成する細胞との間に基底膜は存在しない(図6)。すなわち、精祖細胞と生殖細胞に対し支持的に作用する Sertoli 細胞との間には基底膜はない。これは、造血幹細胞とその支持細胞である間質細胞との間に基底膜がないことと同様である。逆に、毛根や腸管粘膜においては幹細胞と支持細胞である間葉系細胞との間には基底膜がない。

あるが、厳密に制御されていなくとも心筋、骨格筋、骨、軟骨ができてしまえばよい。一方、生殖細胞では上記のように配偶子形成過程で細胞の供給源を問わず、正確なエピジェネティクスが保たれていることが必要となる。

## 🍷 おわりに

本稿ではおもに間葉系幹細胞における再生医療と生殖細胞系列による医療における異なる点を比べてみた。研究上のことであるが、似ているところもある。発生初期に出現する始原生殖細胞は精子、卵子という単一細胞種のみへの分化が運命づけられた単能性の前駆細胞である。面白いことに、この単能性の配偶子形成への運命決定を受けたはずの始原生殖細胞から胚性幹細胞と同様の全能性をもつ胚性生殖細胞が樹立される。一方、骨髄間質から取り出したひとつひとつの細胞は、骨芽細胞、脂肪細胞、軟骨細胞といった単能性の前駆細胞のことが多い。これらの細胞は、生体外(試験管内)で増殖させると多能性の中胚葉性幹細胞として多分化能を有するようになる。間葉系幹細胞を胚盤胞移植することによってキメラ形成能すらある。始原生殖細胞も間葉系幹細胞もいずれも特定の分化段階にあることは間違いないが、この分化状態は不可逆的に固定化されたものではなく、環

境要因(ここでは生体外で培養することを指す)によって柔軟性を有し、本来有していない多能性を獲得するのかもしれない(図1)。

謝辞：執筆の機会を与えていただいた堤 治教授に深謝します。

## 文献

- 1) Hiraoka, N. et al. : Establishment of three monoclonal antibodies specific for prespermatogonia and intratubular malignant germ cells in humans. *Lab. Invest.*, **76**(3) : 427-438, 2003.
- 2) 野瀬俊明：胚性幹細胞と生殖系列。医学のあゆみ, **199**(13) : 951-955, 2001.
- 3) Kapu, R. et al. : Signaling through the interaction of membrane-restricted stem cell factor and c-kit receptor tyrosine kinase : genetic evidence for a differential role in erythropoiesis. *Blood*, **91** : 879-889, 1998.
- 4) Hamatani, T. et al. : Epigenetic mark sequence of the H19 gene in human sperm. *Biochim. Biophys. Acta*, **1518**(1-2) : 137-144, 2001.
- 5) Umezawa, A. et al. : Multipotent marrow stromal cell line is able to induce hematopoiesis *in vivo*. *J. Cell Physiol.*, **151**, 197-205, 1992.
- 6) Makino, S. et al. : Cardiomyocytes can be generated from marrow stromal cells *in vitro*. *J. Clin. Invest.*, **103** : 697-705, 1999.
- 7) Kohyama, J. et al. : Brain from Bone : Efficient "meta-differentiation" of marrow stroma-derived mature osteoblasts to neurons with noggin or a demethylating agent. *Differentiation* (Stem cell issue), **68** : 235-244, 2001.

\* \* \*

## エピジェネティクスの臨床応用

## 幹細胞と臓器再生

梅澤明弘

国立成育医療センター研究所 生殖医療研究部 (部長)

## はじめに

成人ヒトには多くの組織幹細胞が存在し、個体の維持のためにそれぞれが機能する。これらの細胞は部分的に全能性を有している。成体幹細胞が有する部分全能性の「部分」である機構はいずれに存在するのか。このことは、多分化能または部分全能性を有している細胞と、一種類の細胞にしか分化できない細胞との違いを考えるとまったく同じである。発生が進むと細胞は多分化能を失っていき、ある限られた細胞にしか分化できなくなる。多分化能を有する細胞からある系統にしか分化できない細胞への移行は、細胞の潜在性の消失または遺伝子発現の制限にほかならない。組織特異的な遺伝子の発現は、組織特異的な転写因子による転写活性と組織特異的なゲノムのメチル化による転写抑制があり、どちらの影響がより強いかは遺伝子ごとに異なる。組織幹細胞の分化における制限はゲノムのメチル化にあり、その構造を意識し改変することが再生医療における細胞転換のきっかけとなる。

## 幹細胞の可塑性

ヒトを含めたほ乳動物における幹細胞の可塑性については、その柔軟性が強調される報告と細胞転換という現象は存在するが、試験管内で再現するほどの頻度ではないという報告がある。しかし、現時点での結論は神経幹細胞および骨髄由来の体性幹細胞といえるものでも、胚盤胞に注入することにより全身のほとんどの細胞に分化するようである<sup>1)</sup>。さらに、体性幹細胞を静脈内に注入することにより、発生を介することなく、たどりついた先の組織において別の細胞に転換される。ところが、このような細胞転換は、胚盤胞に注入したり、成体に導入することによってなされるが、試験管内で観察する限りにおいては、その頻度は決して高くない。そのため、再生医療への応用を考えるとその頻度の低さから消極的な考えをもつ研究者もいるにはいる。体性幹細胞に対して、低分子の脱メチル化剤を処理すると低頻度ではあるが拍動する心筋細胞に転換される<sup>2,3)</sup>。この体性幹細胞ないし前駆細胞を増殖させ、目的の細胞を選択し、傷害を受けた組織に注入すると、げっ歯類の場合は良好な分化を示す。骨芽細胞に対し

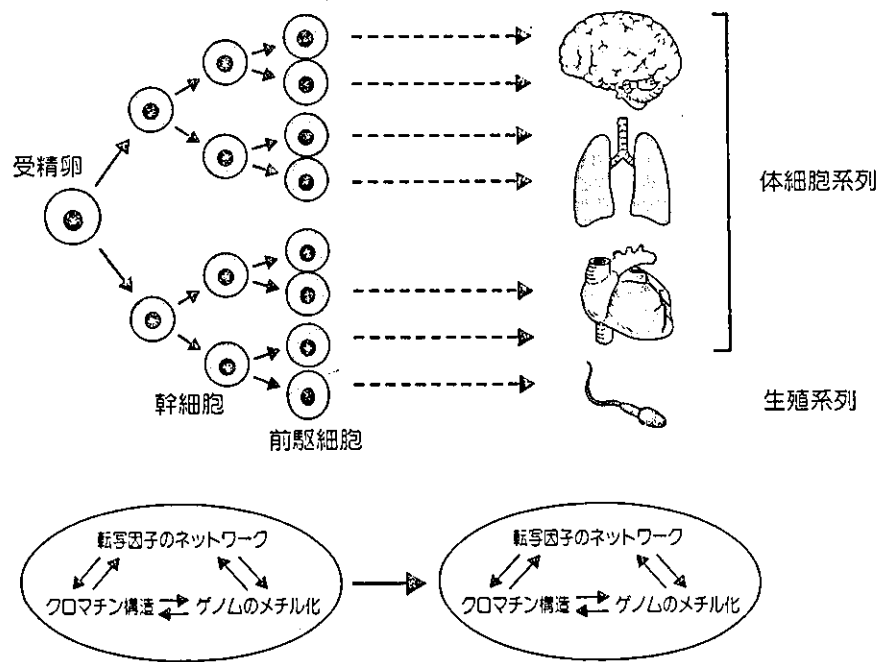


図 1. さまざまなレベルの幹細胞

すべての組織・細胞の元となる受精卵から始まって、機能的に分化した細胞に至るまで、さまざまなレベルの幹細胞が存在する。幹細胞から成熟した細胞に至る分化過程には、それぞれの細胞の「転写因子・クロマチン・ゲノムのメチル化」による定常状態が存在する。

で、骨形成因子阻害剤を導入し、適切なマトリックス、分化誘導因子とともに培養すると高頻度でニューロンに転換する<sup>4)</sup>。このような事実から、筆者は現実に対して比較的楽観的な考えをもっている。

### 幹細胞の定常状態を担う

#### ゲノムのメチル化

ある特定の分化状態にある細胞は、その状態が安定である。細胞の置かれている環境の因子が変化しない限り、細胞がその分化状態を変化させることはない<sup>4)</sup>。これはすでに終末分化と遂げてしまった細胞(骨格筋細胞、神経細胞)についてでなく、発生の途上のどの段階にある細胞についてもいえる(図1)。免疫系のBリンパ細胞は抗原刺激があるまで分化の途上にとどまっていることや、造血幹細胞から研究細胞が分化してくる時にある特殊な因子がないと次のス

テップに進まないことが、この考えを支持している。さらに、その安定状態というのは、細胞外環境因子に支えられているのではなく、細胞のうちに自身の分化状態を安定に保持しようとする働きがあると考えられる。それは数多くの遺伝子の発現調節機構が相互に依存しており、全体として一定のバランスを保った状態にあると言い換えることができる。培養系に移した細胞がその環境から切り離されているにもかかわらず、元の性質をある程度保つことがその根拠の一つである<sup>11)</sup>。

これら分化状態の安定性と変化しやすいという、いささかパラドキシカルな事象が分化という現象の基本である。転写因子のネットワークおよびゲノムのメチル化が、その定常状態を産み出す。逆に定常状態が、転写因子のネットワークおよびゲノムのメチル化を固定してしまうことも考えられ、その状態を観察すれば分化の

定常状態がどのレベルにあるかを指摘できることになる<sup>7,8)</sup>。究極のことをいえば、特定の分化した細胞でその機能や形態、そして組織の構築が決定されるのは、それらに必要な遺伝子が発現し(転写因子)、他の不必要な遺伝子の発現が抑制される(ゲノムのメチル化)ことによって行われている。一定の分化した細胞の個性は、発現している遺伝子のセットによって決まる。

### 細胞転換におけるエピジェネティクス

再生医療における細胞転換を考える上では、遺伝子の発現が制御されてしまうメカニズムが重要である。遺伝子の発現は転写因子によって調節されている。また、転写因子の発現自体も転写因子によって調節されており、ある分化状態では定常状態を保ってはいるが複雑な遺伝子発現のネットワークが存在し、そのネットワークの維持には自由な遺伝子発現が必要不可欠である。その分化能の制限に繋がる遺伝子発現の制限の機構で知られているものは、ゲノムのメチル化とクロマチン構造がある。ゲノムのメチル化が多くなれば遺伝子発現は制限され、クロマチン構造が高次になれば、遺伝子発現は制約を受ける<sup>7)</sup>。遺伝子の発現が制限されてしまえば、分化能も制限されてしまい、限られた細胞にしかなることができない。

これらの事実の元に、細胞を分化させる目的で脱メチル化作用を有する低分子化合物を使用する。これはメチル化/クロマチン改変に伴う「確率的な」分化誘導であり、現在のところ予想できる範囲にないところが魅力でもある。5-azacytidine は、ゲノムの DNA に取り込まれてゲノムのメチル化を阻害するか、またはメルトランスフェラーゼの活性を阻害する。この細胞に特有の DNA メチル化状態を脱メチル化剤で変化させること自体は、細胞が分裂するとその細胞でいられなることを意味し、細胞の分化状態のリセットがかかることになる<sup>9)</sup>。ゆえに脱メチル化剤で処理することは、(1)細胞の

分化状態を元に戻す(リセットをかける)、(2)細胞の分化に必要な(マスター)転写因子の発現を誘導する、といった二つの作用がある。

低分子化合物を用いて DNA メチル化を改変すると、細胞は初期化(リセット)され、細胞は自己(アイデンティティ)を喪失する。骨髄間質細胞は心臓、脂肪、骨、腱になる<sup>2,5,6)</sup>(図 2)。しかし通常、血液幹細胞は骨、腱にならないし、骨髄間質細胞は表皮、血液細胞にならない。骨髄内に心臓ができたことはない。細胞には細胞の固有の状態がある。脳が筋肉からできていると冗談でいうことがあるが、実際にはない。成人ヒトには、多くの分化した細胞が存在し、個体の維持のためにそれぞれが機能する。大部分の細胞は分化しきっているため、その細胞の系列に分化することはあっても別の分化形質を示すことはない。これらの細胞は部分的に全能性を有している。一部の例外的な現象は報告されているが、部分全能性を有している細胞は元々の胚葉を超えて分化することはない(と考えられていた)<sup>9)</sup>。骨髄間質細胞が基本的に神経や血液細胞になることができない仕組みはどのようなものか。骨髄間質細胞が有する部分全能性の「部分」である機構はいずれに存在するのか。このことは、多分化能(multipotent)または部分全能性を有している細胞と、一種類の細胞にしか分化できない(unipotent)細胞との違いとまったく同じである。最初の時点、すなわち受精卵の時点ではあらゆる細胞になれる。一方、発生が進むと細胞は多分化能を失っていき、ある限られた細胞にしか分化できなくなる。多分化能を有する細胞からある系統にしか分化できない細胞への移行は、細胞の潜在性の消失または遺伝子発現の制限にはかならない。

### 幹細胞の寿命とエピジェネティクス

幹細胞は不死だという人がいる。もし本当に不死であれば、その不死である状態は幹細胞のメチル化状態が決めている(図 3)。逆にメチル

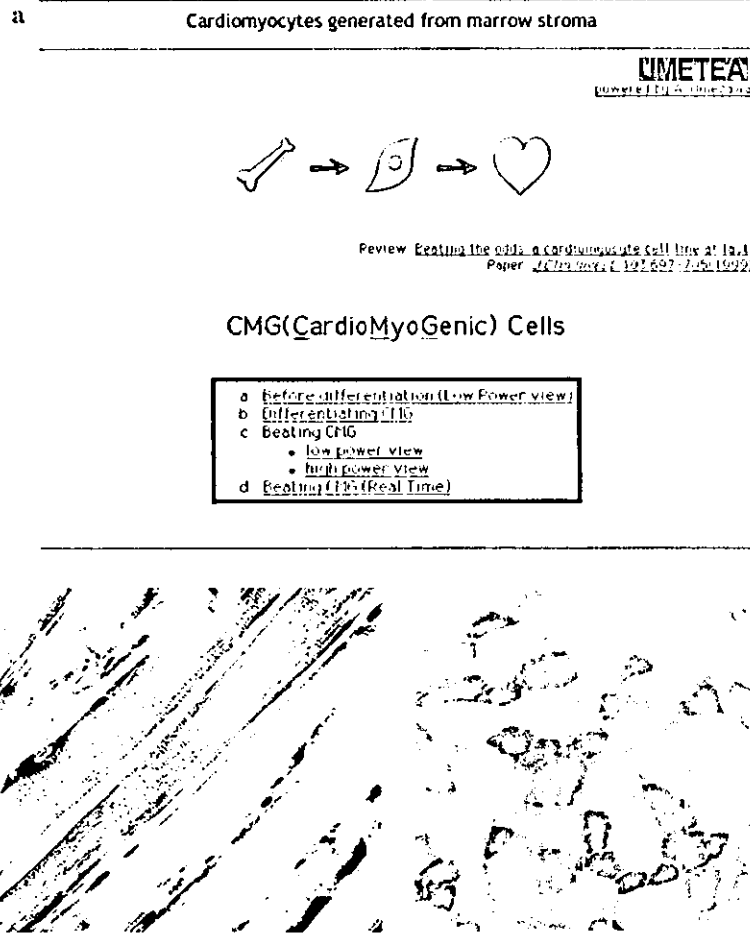


図 2. 低分子の脱メチル化剤を用いることによる細胞転換とその生体内への移植

a: 骨髄間質細胞から心筋細胞への細胞転換をアニメーションとしたウェブサイト (<http://1985.jukuin.keio.ac.jp/omezawa/HTML>)。線維芽細胞と区別できない間質細胞が、拍動する過程がアニメーションまたはダウンロードすることでリアルタイムでみることができる。

b: 骨髄間質細胞を骨格筋組織に移植した。GFP に対する抗体を用いた免疫組織化学を行うことでドナー細胞とホスト細胞を区別する。茶色の細胞が移植した細胞 (ドナー細胞) である。

化状態をみれば不死であるかどうか分かる。胚盤胞の内部細胞塊は胚性幹細胞を作り出すことができ、胚性幹細胞はどうやら不死である。そして、発生が進むとその不死であることが消失し、死に至る細胞になってしまう。それらはメチル化が決めていて胚盤胞からその次の瞬間のメチル化の変化が重要らしい。しかし、メチル化状態を決めなくてはいけない場所が多すぎて、今の技術ではそれらを解明するための手間

も時間もかかりすぎる。現在では、ヒト細胞であったとしても、きわめて高率にその寿命を延長することが可能となっている<sup>9,10)</sup>。

配偶子形成にかかわるエピジェネ  
 ティクスと再生医療  
 -体性幹細胞と比較して-

原始生殖細胞ないし体細胞より、精子を作り出すことは可能であっても、そのゲノムのメ



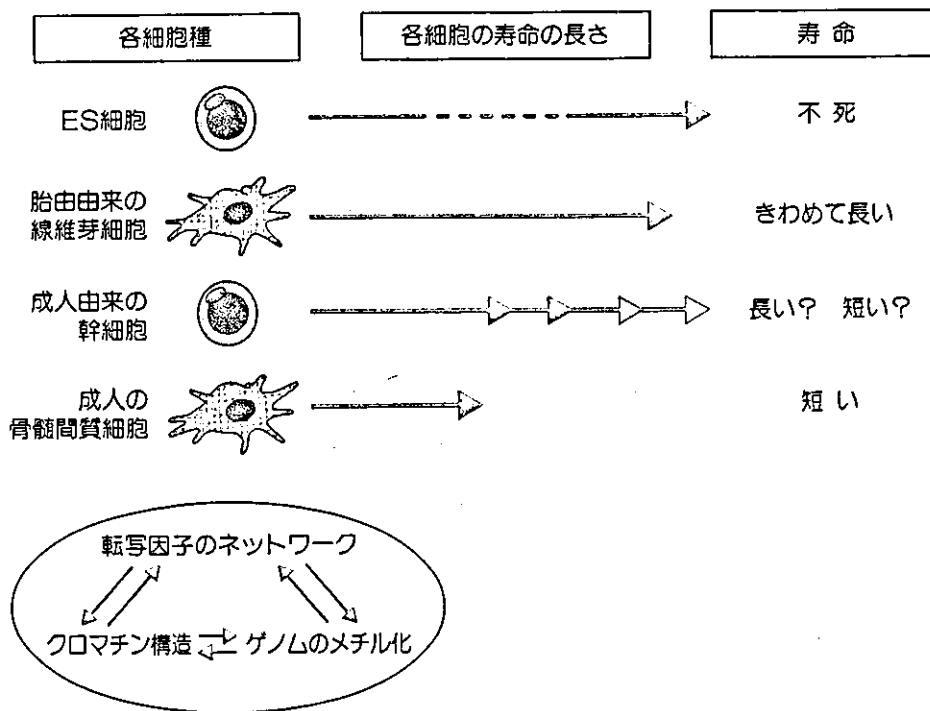


図 3. いくつかの幹細胞とその寿命

それぞれの幹細胞には固有の寿命が存在する。発生過程における細胞の機能的な分化過程同様に、その寿命自体もそれぞれの細胞固有の転写ネットワーク・クロマチン構造・ゲノムのメチル化によって決められていると予想される。

メチル化の状態が正常でなければ、正常の発生および臓器形成が生じることにはならない<sup>13)</sup> (図4)。発生過程において、インプリンティング遺伝子をはじめとする遺伝子転写調節領域のメチル化は正確に調節されている。体細胞のゲノムのメチル化は精子のそれとは異なっており、メチル化が異なっていれば遺伝子の発現パターンが変化してしまう。それゆえに、生殖系列を誘導する際には、体性幹細胞を心筋細胞、骨格筋細胞、ニューロンへ細胞転換させるのに用いた低分子の脱メチル化剤<sup>6,7,9)</sup>は好ましくない。低分子の脱メチル化剤を用いれば、細胞のメチル化状態は確率的な状態になり、一定の状態は作り出せない。

体細胞や生殖細胞から、精子を作り出す技術が確立していない現時点において、メチル化の

状態の話をしては仕方がないかもしれない。精子の形まで、より正確に言えば減数分裂を生じさせるような形にまでもっていきけることが先決ではあるが、先の先まで考えればゲノムのメチル化は無視できない。まず、発育途中にある原始胚細胞核の機能およびゲノムの発生支持能をそれぞれ評価することが大事となる。生殖細胞の発生、成熟過程とエピジェネティックな修飾との関連を明確にしなくては行けない。この生殖細胞の機能評価の一つとして、ゲノムの「成熟」度を一つの評価基準として、その配偶子形成機構における意義を追求できる。

このような理由で、生殖細胞における再生医療においては、体細胞にはない厳密性が要求される。体性幹細胞をはじめとする体細胞の場合では、心筋細胞、骨格筋細胞、骨細胞、軟骨細

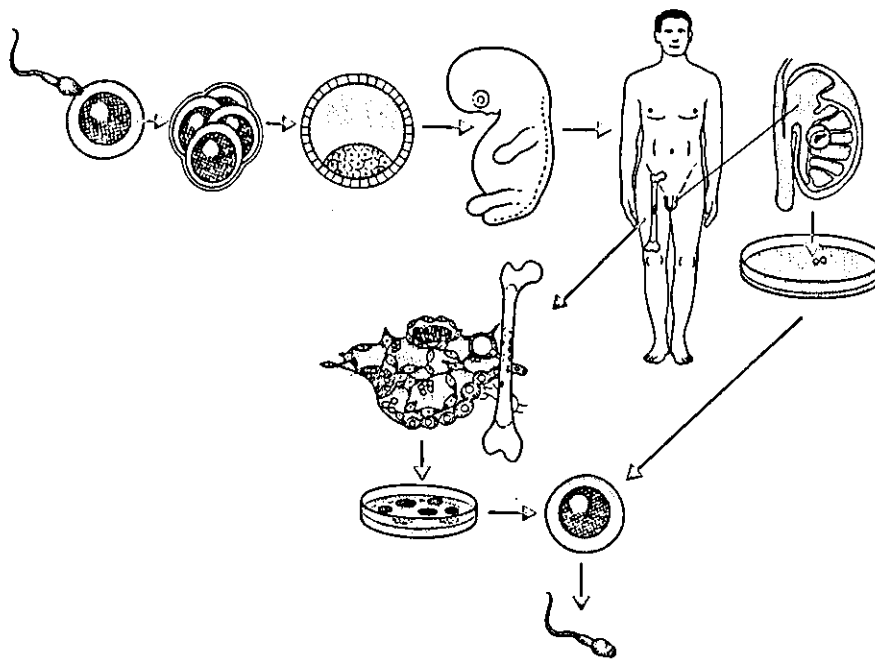


図 4. 「受精→発生」を経て成熟した生殖細胞や体細胞から、精子を作製することを意図した模式図

現実には、このようなかたちで作製された精子が正常なエピジェネティクスを有しているかどうかは不明である。

胞に分化する場合、ゲノムのエピジェネティクスは重要ではあるが厳密に制御されていなくとも心筋、骨格筋、骨、軟骨ができてしまえばよい。一方、生殖細胞では上記のように配偶子形成過程で細胞の供給源を問わず、正確なエピジェネティクスが保たれていることが必要となる。

### おわりに

幹細胞には、胚性幹細胞と体性幹細胞がある。体性幹細胞には各組織・臓器ごとにいろいろと存在し、さまざまなレベルの幹細胞が存在する。全能性を有しており、すべての細胞に分化できる全能性幹細胞がある。一方、部分全能性を示す体性幹細胞が、ヒト骨髄から単離されている。この何種類かある幹細胞は、そのゲノムのエピジェネティクスにより支配されている。

幹細胞の分化ならびに可塑性もエピジェネティクスにより決定される。このエピジェネティクスの状態を検討することで幹細胞のレベルならびにその分化能を予想可能と考えられ、そのエピジェネティクスをゲノム全体に対し、厳密にコントロールできれば再生医療にとって福音となる。

謝辞：執筆の機会を与えていただいた牛島俊和博士に深謝いたします。ここに記述した元となる考えは、米国 NIH の洪 実博士のものである。そして、その考えを熟成させることができたのは、米国パーナム研究所の Oshima 研究室である。国立成育医療センター研究所の秦 順一所長には、幹細胞の多分化能について考える機会を与えられた。よろしければ脱メチル化剤によって生じた骨髄間質の心筋への分化に関するウェブサイトでご覧下さい (<http://1985.jukuin.keio.ac.jp/umezawa/HTML>)。

## 文献

- 1) Jiang Y *et al* : Pluripotency of mesenchymal stem cells derived from adult marrow. *Nature* **418** : 41, 2002.
- 2) Makino S *et al* : Cardiomyocytes can be generated from marrow stromal cells *in vitro*. *J Clin Invest* **103** : 697, 1999.
- 3) Gojo S *et al* : *In vivo* cardiovascularogenesis by direct injection of isolated adult mesenchymal stem cells. *Exp Cell Res* : (in press)
- 4) Kohyama J *et al* : Brain from bone : Efficient "meta-differentiation" of marrow stroma-derived mature osteoblasts to neurons with noggin or a demethylating agent. *Differentiation (Stem cell issue)* **68** : 235, 2001.
- 5) Umezawa A *et al* : Multipotent marrow stromal cell line is able to induce hematopoiesis *in vivo*. *J Cell Physiol* **151** : 197, 1992.
- 6) Umezawa A *et al* : Colony-stimulating factor 1 expression is down-regulated during the adipocyte differentiation of H-1/A marrow stromal cells and induced by cachectin/Tumor necrosis factor. *Mol Cell Biol* **11** : 920, 1991.
- 7) Umezawa A *et al* : Methylation of an ETS site in the intron enhancer of the keratin 18 gene participates in tissue-specific repression. *Mol Cell Biol* **17** : 4885, 1997.
- 8) Takizawa T *et al* : DNA methylation is a critical cell-intrinsic determinant of astrocyte differentiation in the fetal brain. *Dev Cell* **1** : 749, 2001.
- 9) Kiyono T *et al* : Both Rb/p16INK4a inactivation and telomerase activity are required to immortalize human epithelial cells. *Nature* **396** : 84, 1998.
- 10) Imabayashi H *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* : (in press)
- 11) 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, 2003.

## 3) 骨髄由来の多能性細胞

## 1. 骨髄間質による骨・軟骨形成

梅澤明弘

骨髄間質細胞は近年その多分化能が注目され、再生医療の重要な移植細胞として脚光を浴びている。実際、米国ならびに日本において骨髄間質細胞を一部の医療施設にて骨・軟骨欠損の治療薬として臨床治験が行われている。細胞移植における骨髄間質細胞のメリットとしては骨髄穿刺で容易に細胞採取が可能であり培養法が比較的簡易であるということ、自家細胞として移植の際拒絶反応が起きないことがあげられる。骨芽細胞および軟骨細胞と同様に、骨髄間質に由来する間葉系幹細胞は、骨・軟骨における再生医療の供給源となる。

## はじめに

骨髄間質はさまざまな細胞により構成される組織であり、造血幹細胞の維持、分化をコントロールする働きが知られている<sup>1)2)</sup>。また、骨髄間質にはマクロファージや樹状細胞などの造血単核細胞、骨芽細胞や脂肪前駆細胞などの間葉系細胞、血管前駆細胞などが存在している。骨髄を採取し単層培養を行うとコロニーを形成する線維芽細胞が出現する。この細胞こそ、試験管内における骨髄間質細胞といわれる細胞である。この細胞の中に自己複製能と複数の間葉系細胞へと分化する多分化能を有する幹細胞が存在している。間葉系細胞とは骨、軟骨、脂肪、骨格筋、真皮、靭帯、腱といった結合組織細胞を総称しており、発生学的に沿軸中胚葉 (paraxial mesoderm) 由来の細胞である。1999年、ヒト骨髄間質細胞から骨、軟骨、脂肪に分化する多分化能を有する間葉系幹細胞を同定したという報告をPittengerらが行った<sup>3)</sup>。また、この沿軸中胚葉の他に、心筋、平滑筋、血管内皮といった発生学

的に臓側中胚葉 (visceral mesoderm) 由来の細胞があり、骨髄間質細胞のなかに臓側中胚葉にも分化できる幹細胞が見出された。Verfaillieらのグループは骨、軟骨、脂肪、骨格筋、血管内皮細胞に分化する中胚葉に由来する幹細胞の存在を提唱している<sup>4)5)</sup>。

現在のところ骨髄間質細胞においては、中胚葉系幹細胞が一番未熟な多分化能・自己増殖能を有する幹細胞でありその次に間葉系幹細胞、前駆細胞と階層構造を形成しているものと考えられている<sup>1)2)</sup>。さらに、細胞形態が小さく多分化能、増殖能を長期継代にて維持するRS (recycling stem) 細胞の存在をProckopらのグループは示している<sup>6)</sup>。

しかし実際、骨髄間質細胞の多くは20継代から多くて40継代程度の増殖能力をもつものの、継代を重ねるにつれ増殖能、分化能の低下を認め細胞死 (senescence) を迎える<sup>7)</sup>。骨髄間質細胞を採取し実験系に用いる場合、多分化能を有した状態を保ちかつ細胞数を確保する点で難渋し、再現性のある結果が得られにくい。それに対し、細胞株は、単一細胞由来で細胞数を十分確保でき、実験系に用いるに有用であることは言うまでもない。われわれはC3H/Heマウスから、KUSA/A1, KUSA/O, KUM2, KUM9といったマウ

[キーワード]

骨髄間質, 骨, 軟骨, 細胞転換, 分化, 細胞移植

Osteogenesis and chondrogenesis by marrow stromal cells

Akihiro Umezawa : National Research Institute for Child Health and Development, Department of Reproductive Biology and Pathology (国立成育医療センター研究所生殖医療研究部) E-mail : umezawa@1985.jukuin.keio.ac.jp

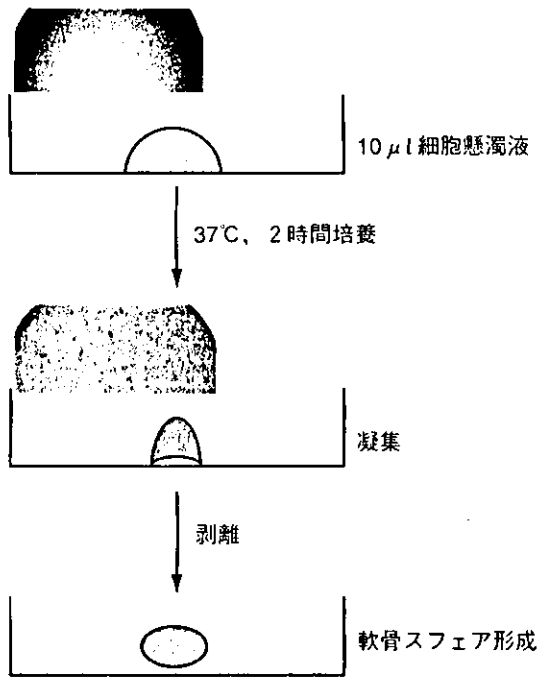
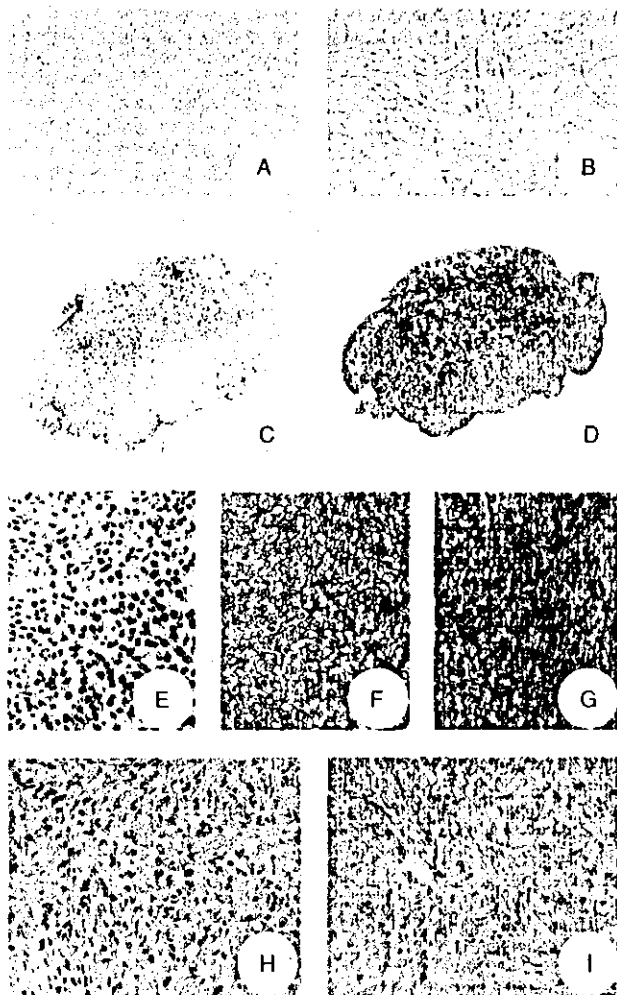


図1 骨髄間質による軟骨形成プロトコール  
骨髄間質細胞を凝集させ、細胞密度を高くし、最終的に軟骨スフェアを形成させることが大事となる



ス骨髄間質細胞株の樹立に成功している<sup>81)9)</sup>。

## II ヒト骨髄間質細胞による軟骨への分化

軟骨より単離した軟骨細胞が軟骨を形成できるように、骨髄間質から単離した間葉系細胞は軟骨への分化を示す(図1)。凝集を起こさせ、細胞密度をあげることが軟骨への分化のポイントとなる<sup>10)</sup>。細胞を遠心することにより細胞密度を上昇させるペレット法と同様に、軟骨スフェア法も軟骨細胞への分化に有効である。細胞密度をあげる点は全く同様である。細胞密度をあげるために凝集をさせ、スフェアを形成させる。TGF- $\beta$ がここで必要な細胞もある。また、細胞の継代を重ねるうちに凝集が生じなくなることもある。

試験管内でできあがる軟骨スフェアで最も特徴的なことは、なんら足場を用いていないにもかかわらず、大量の基質を産生することである(図2)。大量の基質を産生することで細胞自体はその基質の中に埋め込まれるようになる。細胞の形態は丸くなり、軟骨における特徴の1つであるトルイジンブルー(toluidine blue)染色で異染性を示すようになる。異染性とは、本来、青く染色されるものが、軟骨基質の硫酸基により吸光度が変化し、赤く見えることである。また、これらの細胞には軟骨特異的な遺伝子であるアグリカン、II型コラーゲンの発現を認める。少なくとも骨髄間質細胞を用いた場合は、紡錘形の形態を示すペレット法に比べると軟骨スフェア法の方が軟骨細胞らしい丸い形態を示すようになる。

## 図2 寿命を延長させたヒト骨髄間質細胞による軟骨形成

寿命を延長させたヒト骨髄間質細胞の形態(A:低倍, B:高倍)。図1で示した軟骨スフェア法による試験管内における軟骨形成(C:低倍のH.E.染色, D:低倍のアルシアンブルー(alcian blue)染色, E:高倍のH.E.染色, F:高倍のアルシアンブルー染色, G:高倍のトルイジンブルー染色)。ペレット法による試験管内における軟骨形成(H:H.E.染色, I:アルシアンブルー染色)。軟骨スフェア法ならびにペレット法いずれにおいても、アルシアンブルー陽性の基質を多く産生する。軟骨スフェア法によって生じた軟骨では細胞が丸くなり、基質が豊富であり、その基質はトルイジンブルー染色で異染性を示す

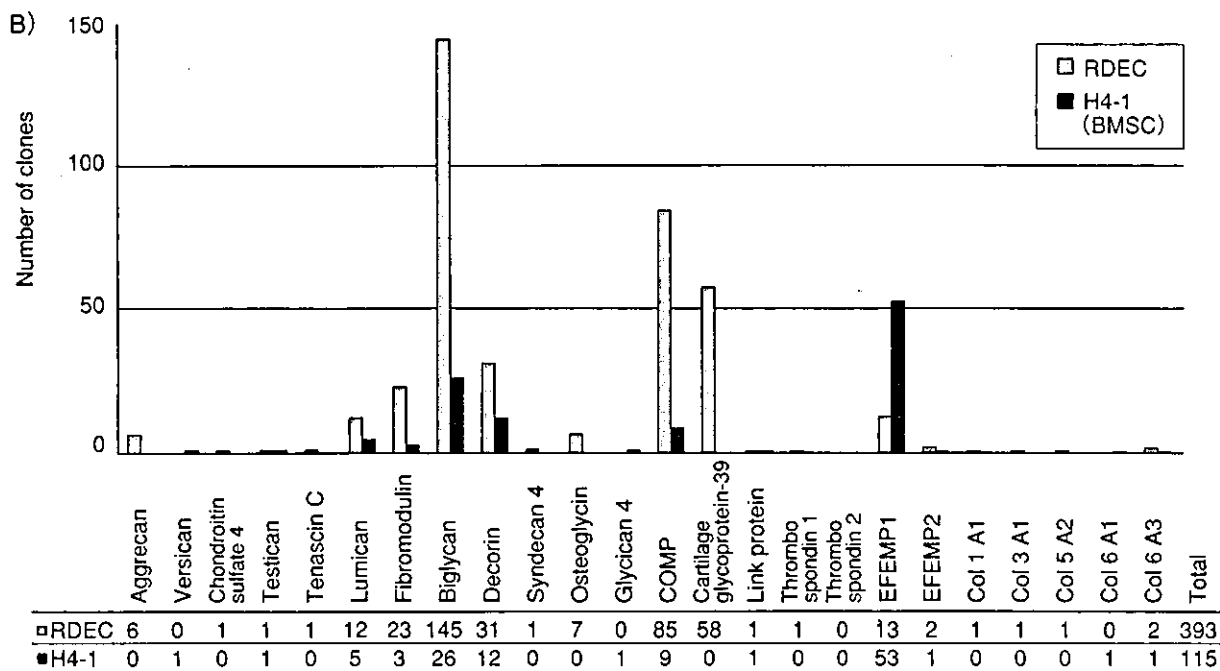
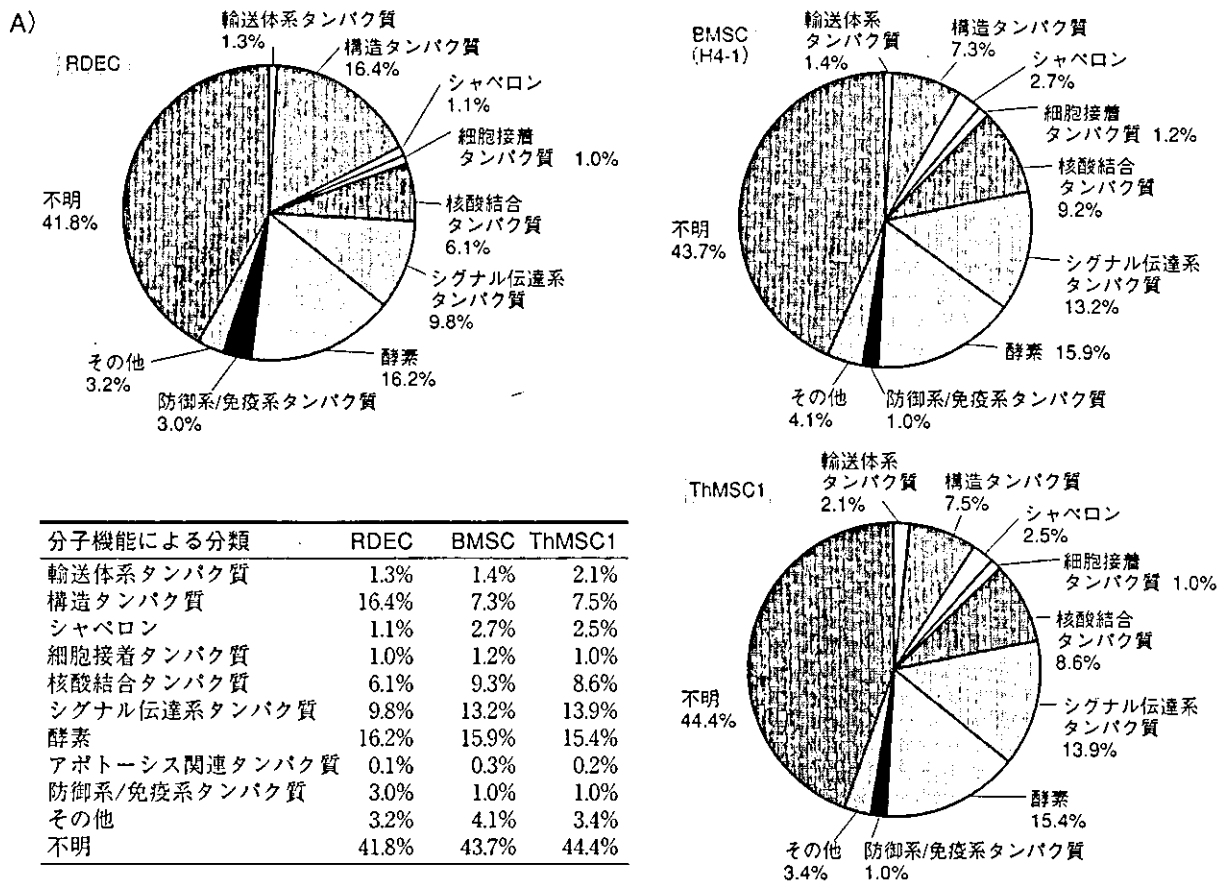


図3 ヒト細胞の遺伝子発現プロファイリング

A) ヘリックス研究所・杉山友康博士によって行われたランダム塩基配列解析の結果である。RDECは脱分化したヒト軟骨細胞を再分化させた後のプロファイルであり、BMSC (H4-1) はヒト骨髄間質細胞、ThMSC1は寿命を延長させたヒト骨髄間質細胞のプロファイルである。一目して、軟骨細胞 (RDEC) では基質となる構造タンパク質をコードする遺伝子の発現が高い。B) 軟骨細胞 (RDEC) とヒト間質細胞 (H4-1: BMSC) が発現する基質遺伝子のレベルを表わす。軟骨細胞に特異的な基質となる遺伝子の発現に差があるのが、明らかである

## 2 ヒト細胞の遺伝子発現プロファイル

ヒト細胞の遺伝子発現プロファイルは、その細胞の性格を知るうえできわめて貴重な情報となる。発現プロファイルを検討する場合に、DNAチップやアレイを用いることが多いがここではランダム塩基配列法による発現レベルの解析を行った(図3A)。ランダム塩基配列法は、作製したcDNAライブラリーにおける、それぞれのクローンの数から発現レベルを決定するものである。DNAアレイやDNAチップと比較すると、高価で手間もかかり解析も面倒であり感度も低い。逆に利点は、その発現量が正確にわかり、発現していることに関しては間違いがない。この利点は、細胞移植や分化の研究をするうえで大きい。SAGE法と同様であるが、このランダム塩基配列法の方が確実である。一度、できあがったデータベースは宝であり、実験するうえでの辞書がわりとなっている。例えば、フローサイトメトリーで検索する骨髄間質細胞の表面マーカーの結果と、ランダム塩基配列決定法によるプロファイリングは全く同じ結果となる(表)。

もちろん、正確度はフローサイトメトリーが優れるが、抗体のないものから新規のものまですべての表面抗原の発現量が感度は低いが確実に予想できる点が良い。すなわち、サイトカイン、構造タンパク質、酵素、細胞接着、転写因子、アポトーシス関連、シャペロンといった遺伝子の発現量がある程度の正確さで予想できる。発現において、このランダム塩基配列法では、発現における偽陽性はない。感度が低いために偽陰性が多い。軟骨に特異的に発現する基質遺伝子の発現量(実際にはクローン数)を見てみると、予想通りに軟骨細胞では多くの軟骨特異的な遺伝子の発現をみることができる。意外な結果がでている場合は、ノーザン解析法や定量的RT-PCRで確認すればよい。実はアレイも同様に行っているが、偽陽性が多い、すなわち発現していないのにシグナルとして出ているように見えることが多く、発現の辞書として利用するには不便である。

## 3 ヒト骨髄間質細胞の寿命延長

ヒト骨髄間質細胞はマウス骨髄間質細胞と異なり不老化細胞の自然発生はまず認められない<sup>1)</sup>。そこでヒトパピローウイルスのE6およびE7遺伝子を導入し、

寿命を延長させる<sup>11)</sup>。これらの遺伝子では、細胞の分化能力は保持され、移植しても腫瘍を形成しない、すなわち形質転換はない。しかし、染色体異常を引き起こし、細胞の継代を重ねた場合には形質転換する可能性は否定できない。寿命延長を目的に、テロメアの延長を図るテロメラーゼ(hTERT)遺伝子、細胞周期に関連するBmi遺伝子などいくつかの遺伝子を導入しヒト骨髄間質細胞の寿命延長を行っている。その細胞の1つであるUBET7は、脂肪、神経、骨格筋への分化能力を保持し細胞形態も比較的正常に近いものであった。現在腫瘍化の有無の確認を行っており、ヒト骨髄間質細胞の細胞数確保として有効な手段と考えている。将来的には、前述した発現のデータベースを公開したうえで、寿命を延長させた骨髄間質細胞を公共の細胞バンクなどに供与したい。

## 4 骨再生システムの供給源としての骨髄間質細胞

発生過程において、骨形成は全く異なる2つの経路をとる。頭蓋骨、下顎を除き、骨格を形成する骨は前もって軟骨によって形づくられる。その後には血管の侵入に伴い、軟骨細胞はアポトーシスに陥り、骨芽細胞に置き換わる。この過程は内軟骨性骨化といわれる。

表 ヒト骨髄間質細胞と脱分化したヒト軟骨細胞の表面マーカーの違い

マーカー	H4-1	H3-4	RDEC
CD14	-	-	+
CD29	+	++	++
CD34	-	++	-
CD44	++	++	++
CD45	-	-	-
CD105	+	++	++
CD144	-	-	-
CD31	-	-	-
CD50	-	-	-
CD117	-	-	-
CD104a	-	+	+
CD90	+	++	++
CD106	+	+	+
CD166	++	++	++

ヒト骨髄間質細胞であるH3-4細胞は、CD34マーカーが陽性となっている。このフローサイトメトリーによる結果は、ランダム塩基配列の結果と完全に一致している。ゆえにランダム塩基配列の結果からすべての表面マーカーを予想することが可能である。マーカーの発現強度はコントロールとの対比の概算である。++：強陽性(コントロールの10倍以上の発現量)、+：弱陽性、-：陰性(コントロールの2倍以下の発現量)

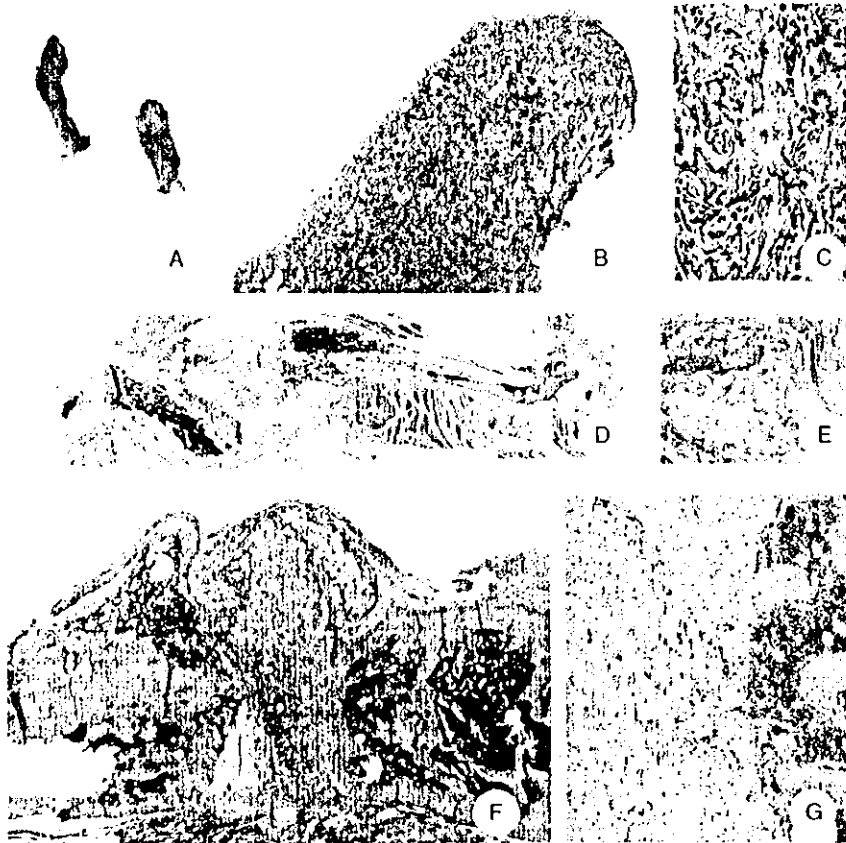


図4 マウス骨髄間質細胞による骨形成

コラーゲン・ゲルの中に間質細胞を入れ、骨形成を促した(A:肉眼所見, B:低倍, C:高倍)。骨梁がきわめて豊富であることがみてとれる。できあがった骨組織をマウス難治骨折モデル(D:低倍, E:肉芽のところの高倍)に対し、移植すると4週間でみごとな骨癒合ができる(F:低倍, G:癒合部の高倍)。間質細胞によって作製された骨梁が、宿主の骨に比較して密であることがわかる。

一方、頭蓋骨や下顎骨では、軟骨形成を経ることなく、直接に骨芽細胞が骨を形成し、この過程は膜性骨化と呼ぶ。

骨髄由来の間質細胞を集めることによってこの骨発生を模倣する再生の過程を促進し、細胞治療ならびに臓器再生のソースとすることが検討されている。骨髄間質細胞は、骨の中に存在するので、そこにもともとある組織または分化形質を示す。分化形質として、骨芽細胞、軟骨芽細胞、脂肪細胞が知られている。単一細胞のマーキングにより、1つの細胞が分裂し異なる分化形質を示すことより、多分化能を有する細胞であることがわかる。このような多分化能は、分裂を繰り返してもまた不死化しても保持されることは、特記すべきことである。

もともとの骨髄間質細胞の性質として、脂肪細胞への分化、軟骨への分化、骨芽細胞への分化は本来備わっている分化能と考えられる。そのうち、骨芽細胞への分化能については最も多くの研究がなされている<sup>12</sup>。骨髄間質から単離した骨芽細胞は生体内において、効率的に骨を形成する(図4)。骨形成は再現性が高く、すべての注入部位で骨を形成する。同細胞の骨細胞と

しての特徴は際だっており、報告されている骨芽細胞とは本質的に異なる細胞である。驚くべきことに、骨を生体内で形成し、ある大きさをもった骨梁からなる骨組織をつくるにもかかわらず、その周辺に肉腫などの腫瘍を形成しない。その事実、骨芽細胞がすべての細胞製剤を考えるうえでの貴重なモデルとなることを意味する。

## 5 難治性骨折・骨欠損に対する骨再生の挑戦

Osiris社も骨修復を促すために、欠損している部に間葉系幹細胞を直接、移植している(<http://www.osiristx.com/>)。これらの研究は、ラット、ウサギ、イスで行われ、今日ではヒトに対して間葉系幹細胞を用いた研究が集中して進められている。その際に細胞だけを注入するだけでなく、同時に足場(scaffold)をおき、その中に骨芽細胞を植え、骨を形成させている<sup>13</sup>。足場には、コラーゲン・ゲルから始まり、穴のあいたカルシウムを含んだセラミック、ハイドロキシー・アパタイトなどが利用されている。われわれは、整形性、生分解性、細胞との親和性といった観点から、PLGA (poly DL-lactic co-glycolic acid) コラーゲンハイブ



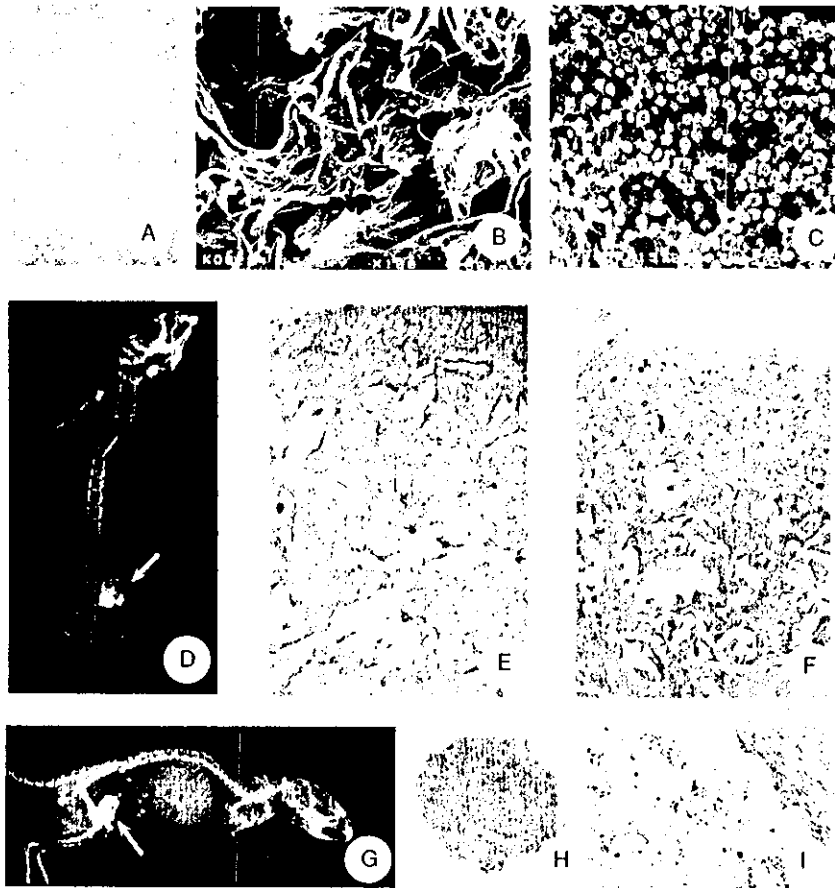


図5 骨髄間質細胞による、目的の形状をもつ骨形成

コラーゲン・ゲルで作製された骨組織の形は、コラーゲン・ゲルが軟らかいためその形状はさまざまであり、いびつである(図4参照)。そのため、骨髄間質細胞による骨形成は、適切な形状ならびに材料による足場が必要となる。適切な足場が多く存在するなかで、ここではPLGAを利用する(A:肉眼所見, B:位相差顕微鏡写真, C:細胞を入れたところの位相差顕微鏡写真)。スポンジ状にし、100  $\mu\text{m}$ の穴が存在するスポンジの中に細胞を注入する。骨髄間質細胞を注入するとスポンジと同じ形状の骨が形成される(DとG:マウス内にできた骨のエックス線写真, EとHとI:骨形成の顕微鏡像)。細胞を注入せずに、スポンジだけを移植するとPLGAに対する異物反応のみが認められる(F)

リッド・スポンジを用いている(図5)。

一番の臨床における問題は、骨髄間質細胞による骨形成の時間的な遅れである。現在のプロトコルでは、治療を受けたいと思っている患者さんから骨芽細胞を単離してきて、それを一回培養することで増殖させ、患者さんに移植することで戻すという手順をとるが、これらは治療の開始を意味する細胞移植まで数週間を要する。緊急時では、全く通用しないばかりか、プロトコルが培養を介するためにそれにかかる費用もばかにできない。これらを解決するために、自家移植ではなく他家移植も検討されている。使用する間葉系細胞が免疫細胞に認識されず、拒絶が生じないようにしておけば、あらかじめ細胞を凍結して保持しておき、整形外科医が欲しいときに欲しいだけの細胞を使用できるという作戦である。

### ③ 胚葉を超えた間葉系幹細胞の可塑性

中胚葉という枠組みを超え、骨髄間質細胞のKUM2, KUM9, KUSA-A1において外胚葉系の組織である神経への分化を認めている。脱メチル化剤である5アザ

シチジン、BMPアンタゴニストであるNogginを投与することにより骨髄間質細胞からニューロンへの分化が認められている<sup>8)</sup>。また、骨髄由来の間葉系幹細胞は生殖系以外の造血細胞、肝、肺、腸管上皮細胞といった外胚葉・内胚葉に分化可能であることを示している<sup>9,10)</sup>。このことは、まさに骨髄間質細胞のなかに生殖系以外の分化能を有するものとしてES細胞に相当する分化能をもつ細胞が存在することを意味している。ただしこの発生学とは異なる現象の実態は明らかでない。培養過程で脱分化という現象が生じ多分化幹細胞が誘導される可能性、分化転換により異なる系列の細胞へ分化している可能性などが考えられるものの確固たる証明はなされていない<sup>11)</sup>。

### おわりに

臨床的な骨移植の最初の記載は、1682年のMeekrenに始まるとされる。その後自家骨移植は19世紀前半より盛んに行われるようになった。また同種骨移植は1912年のInclanにより始められている。しかし自家骨移植では骨の大欠損への対応の問題、また同種骨移

植では移植骨に対する抗原性や病原性、骨の生着率の問題などが残されている。このように骨移植は未だ解決されない、古くて新しい問題を抱えている。われわれは移植細胞の培養条件、継代数、移植細胞数および細胞密度、移植部位といったさまざまなことを考慮しなければならない。多分化能をもつ細胞であるだけに目的とした組織以外の分化をすることに注意せねばならず、他方向への分化が決まった前駆細胞を含まないよう幹細胞を純化する培養法、細胞採取法を開発することも必要となってくる。また、実際移植細胞を選択するほど細胞の確保が困難になると予想される。さらに長期継代した細胞は増殖能、分化能が低下することがわかっている。その解決のため、形質転換を生じさせず、分化能を維持した形での寿命を延ばす方法の開発が望まれる。

今林英明先生（指導：戸山芳昭教授）との議論は、この総説の元となっています。発想の元となった細胞は、丸山達也博士、草刈 悟氏、阿部 仁氏により樹立され、クロニングされたものです。

## 文献

- 1) 桜田一洋, 梅澤明弘: わかる実験医学シリーズ「再生医学がわかる」(横田 崇/編), pp84-92, 羊土社, 東京 2002
- 2) 梅澤明弘: 実験医学, 19: 151-158, 2001

- 3) Pittenger, M. F. et al.: Science, 284: 143-147, 1999
- 4) Reyes, M. et al.: Blood, 98: 2615-2625, 2001
- 5) Jiang, Y. et al.: Nature, 418: 41-49, 2002
- 6) Colter D. C. et al.: Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 98: 7841-7845, 2001
- 7) 梅澤明弘: わかる実験医学シリーズ【老化研究がわかる】(井出利憲/編), pp114-120, 羊土社, 東京, 2002
- 8) Kohyama, J. et al.: Differentiation, 68: 235-244, 2001
- 9) Gojo, S. et al.: Exp. Cell. Res., in press, 2003
- 10) Imabayashi, H. et al.: Exp. Cell. Res., in press, 2003
- 11) Kiyono, T. et al.: Nature, 396: 84-88, 1998
- 12) 梅澤明弘: 実験医学, 20: 2206-2211, 2002
- 13) Ochi, K. et al.: J. Cell. Physiol., 194: 45-53, 2003

## <著者プロフィール>

梅澤明弘: 1985年慶應義塾大学医学部卒業, '89年慶應義塾大学医学部病理学教室助手, '91年米国カリフォルニア大学サンディエゴ校内科学教室, '92年米国バーナム研究所, '99年慶應義塾大学医学部助教授(病理学), 2002年国立成育医療センター研究所部長(生殖医療研究部). (URL: <http://1985.jukuin.keio.ac.jp/omezawa/HTML>). 骨髄間質細胞の分化の研究から始まり, メチル化・クロマチン構造の改変の研究, そしてヒト胎児性癌細胞の多分化能に関する研究に進み, 研究テーマは一貫して「細胞の全能性と部分全能性」の問題に関することである. 間葉系細胞の予想以上の可塑性に驚いている. 生殖細胞, 体細胞を用いて, 生殖医療の世界に貢献したい.



## 再生医療

—病理解剖ならびに病理検体から学ぶこと—

梅澤明弘\*

### はじめに

細胞を移植することで臓器の機能を回復させる「再生医療」に対する試みが精力的に研究対象となっている。再生医療とは、本来、各組織が有している再生能を活性化させ、組織の機能を回復させることが目的となる。この場合は、液性因子が重要な意味をもつ。もう一つの考え方として、臓器移植同様に正常な機能を有する細胞を目的の臓器に移植することにより、臓器ないしは組織の機能を回復させるという方法がある。いずれもが新しいタイプの再生医療として考えられているが、実際に進められている臨床例は乏しい。細胞を移植する試みとして成果が上げられているものとして、骨髄移植ならびに皮膚移植が挙げられる。この2つの細胞移植は、生体外で移植すべき細胞を培養するかどうかで大きく異なる。骨髄移植では穿刺した骨髄細胞から骨を除去した後、静注する。一方、皮膚移植では、表皮細胞を培養した後、目的の部位、すなわち皮膚が欠損した部位に移植する。現在、神経やホルモン産生細胞を移植する場合は、後者に相当する。ここでは、再生医療の進めようと考えている研究者への参考として、現在、この再生医療に関して存在する考え方および問題点を、筆者自身で遭遇した、種々の病理検体を例にして、一つ一つ列挙してみた。

#### I. 細胞を移植する時期について—急性心筋梗塞に陥った心臓の肉眼所見より思うこと—

虚血部位に対して、骨髄単核球や骨髄間質細胞、さらに endothelial progenitor cells (EPC) を移植することで新生血管を作製し、虚血を改善しようとする試みがある。図1に示すように、急性心筋梗塞に陥った部分は出血を伴っている。組織学的には、心筋細胞に壊死がみられる。さらに、その壊死に陥った心筋組織に

は好中球を含めた炎症細胞の浸潤がみられるようになるであろう。このような急性期の心筋梗塞組織に、注射をしてコロニー刺激因子を産生しうる骨髄細胞を注入するのは、心筋組織の破壊を誘導し、心筋破裂の可能性を上昇させる可能性があると予想される。顆粒球コロニー刺激因子 (G-CSF) が虚血性心疾患に有効であるという報告もあるが、やはり十分な検討が必要であろう。

#### II. 移植する細胞数について—傷害を受けたヒト組織は実験レベルに比べ大量に必要となることを忘れていないか—

急性心筋梗塞に陥った臓器の範囲をみると、スケールをつけているのでおわかりになるかと思うが、2×4 cm くらいの範囲にわたり出血がみられる (図1)。急性期を越え、心筋組織が壊死に陥った部分に、肉芽組織ができ、結合織に置き換わっていくことになる。その部位に細胞を注入し、心筋細胞を新生させることを細胞治療では目的とするであろう。マウスにおいては心筋の梗塞部位に対して、有効な細胞数を供給することは、マウスの心臓が小さいことより、さほど難しいことではない。しかしながら、ヒトの場合はそうはいかない。注入すべき細胞数は、きわめて大量に必要となってくるであろう。現在は、全身麻酔の状態で何百 mL もの骨髄液を腸骨から採取し、骨組織などを除去した後、直接心筋組織に注入することが試みられ、成功している。この骨髄液注入では血管を新生させようとする試みであって、心筋細胞を再生または新生させるには、骨格筋芽細胞、骨髄間質細胞、心筋芽細胞、その他の間葉系細胞を用意することが必要である。これらの細胞は試験管内にて増殖させることが可能であるけれども、その細胞数は図に示したような範囲に行き渡るくらいに必要であり、そのためには体積でいって2~3 mL くらいかそれ以上の細胞が必要である。そのくらいの体積になるくらいの壁に付着する

\*国立成育医療センター研究所再生医療研究部

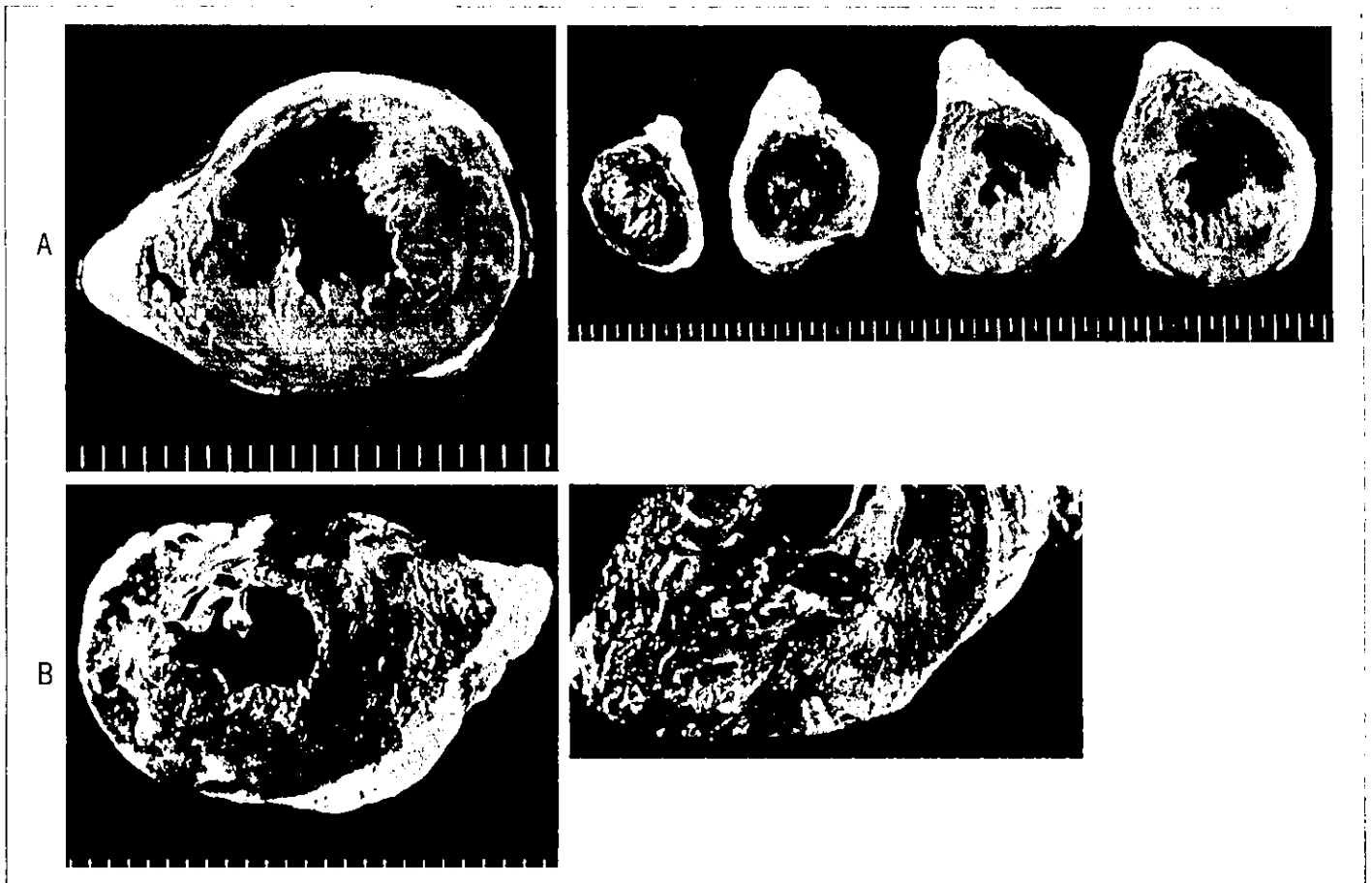


図1 心筋梗塞における病変の広がり A:急性心筋梗塞に陥った部位には出血がみられる。スケールの一つの目盛は、5mmである。かなり広い範囲に病変部位が認められる。B:陳旧性心筋梗塞の内面所見。やはり広範囲に線維化巣を認める。急性心筋梗塞、陳旧性心筋梗塞のいずれにしても、図に認められるような病変部位が認められた場合、細胞移植を行うにしても相当量の細胞が必要となることは容易に想像できる。また、陳旧性心筋梗塞の場合は創痕となっており、膠原線維から成る線維化巣内に細胞を移植して正常の機能を有する形で生きさせるのは難しいかもしれない。

細胞数は、10 cm の培養皿で言えば 50 枚以上になるのではないか。これだけの数の細胞数を用意するのは労力的にも結構大変である。マウスやラットの実験においてはその臓器が小さいために細胞数が問題となることがない。一方、ヒトにおいてはヒト細胞の試験管内での寿命 senescence が限られていることから、十分な細胞数を得ることは難しいと予想する。

### III. 線維化を伴った臓器に細胞治療を行った場合はどうなるのか—心筋症の組織像より—

肥大型心筋症も細胞治療の対象疾患の一つとして、しばしば挙げられている。肥大型心筋症ならびに拡張性心筋症といった疾病では、心臓は 500 g を超える。心筋梗塞は心筋組織の一部が虚血になるけれども、心筋症は心臓全体が問題となるのでその心筋内に細胞を均等に注入することは、多くの細胞を必要とし、培養

量およびその手間は大変なことになる。臓器の大きさもさることながら、心筋症における心筋線維間には線維化がひどい(図2)のでその間に入り込んで正常の心筋細胞が入り込めるかどうかポイントである。仮に細胞移植が成功し、心筋細胞が骨髄細胞から形成されたとしても、膠原線維は排除できるとは考えにくい。膠原線維の除去は、心筋細胞を形成することとは別に考慮する必要がある。

### IV. Gliosarcoma という一つの腫瘍から考える幹細胞の可塑性

Gliosarcoma(図3)の組織像を示す。この gliosarcoma に対して細胞移植をするという意味で話題にするわけではなく、現在、再生医療の主たる概念の一つとして存在する「細胞の可塑性」は、外科病理の場合には比較的多く認める。腫瘍における分化をみる場合