

に、分化形質を示すマーカーが2つ以上になることは決して少なくない。Gliosarcomaでは、肉腫としてのマーカーである vimentin と神経としてのマーカーである GFAP が出現し、double marker となる。神経系は外胚葉由来であり、肉腫成分は中胚葉由来と考えられ、通常の場合、一つの細胞由来である腫瘍細胞からいずれものマーカーが出現することは考えにくい。

そこに細胞は元々可塑性を有しており、脳腫瘍においても間葉系マーカーである vimentin を発現する事実を知っていれば、「間葉系細胞が神経に分化する<sup>2)</sup>」という事実も受け止めやすい。また、さらなる仮説を立てる際に、腫瘍における分化マーカーの出現を考えるのも一つの参考になる。

### V. 化生と細胞転換

幹細胞の可塑性と同様の概念となるものとして、細胞転換がある。この細胞転換という概念も再生医学ではよく用いられる言葉である。この細胞転換は、分化した細胞が別の分化形質を有するようになることを意味し、細胞系譜の転換である。この概念は、病的な概念である化生と全く同じであることに気づく。生体内では気管の扁平上皮化生と胃粘膜の腸上皮化生がよく知られた化生である。気管の上皮である線毛上皮が重層扁平上皮に転換することも胃粘膜が Goblet 細胞、Paneth 細胞を含んだ腸上皮に転換することも幹細胞レベルで生じる変化であると考えられる。分化した胃粘膜上皮が脱分化して腸上皮になると考えるよりも、幹細胞レベルでの転換と考えるほうが妥当であろう。この化生という現象が外界からの化学物質に触れやすい部位である(空気を介する)気管や(食べ物を介する)胃粘膜に生じることは、試験管内における幹細胞の細胞転換に脱メチル化剤等の低分子化合物を用いることのアナロジーと思う。

### VI. 再生する臓器と創傷治癒

再生という言葉は、失われた組織がその本来の組織を構成する細胞が増殖することにより、傷害を受けた組織が再び本来の組織に戻ることを指す。一方、再生医療における技術の一つである細胞移植は、細胞を補充することであり、本来の再生を促しているわけではない。肝臓移植の際のドナーとなるほうの肝臓は切除されたとしても3ヵ月以内に元の大きさに戻る。レシピエントのほうに移植された肝臓も、都合がよいことに正常の大きさまで再生してくれる。この肝臓の再生

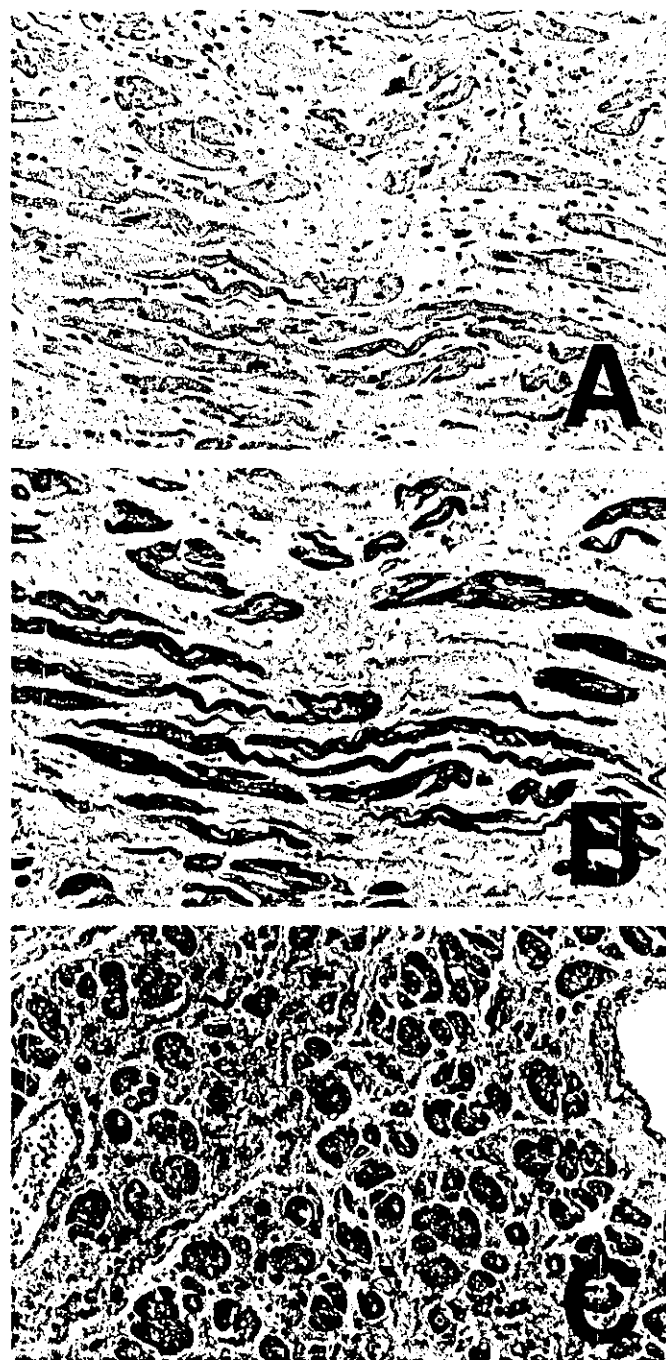


図2 拡張性心筋症の組織像 拡張性心筋症に対し、心筋の収縮力を増強させるために細胞を移植して心筋を再生させる考えがある。しかし、心筋症においては心筋線維間に線維が増生しており、細胞移植による心筋分化が正常に生じたとしても膠原線維が存在することにより心筋細胞の収縮力の回復が阻害される可能性がある。A: H&E染色。B, C: Mallory染色。

能はギリシャ神話に出てくることから知られており、その肝臓の大きさが本来の大きになると再生が終了することからみてもきわめて精巧な機構が存在していることがうかがわれ驚異的である。肝硬変における「再生」結節も病的な状態ではあるけれども肝臓の

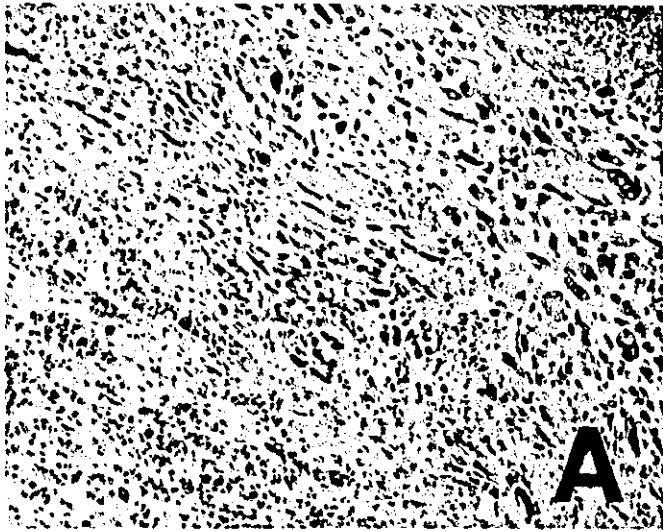


図3 肉腫の成分と神経膠芽腫の成分を有する gliosarcoma 脳腫瘍として経験した例である。中胚葉由来間葉系細胞のマーカーであるビメンチン陽性の腫瘍細胞(A, C)とアストロサイトのマーカーであるGFAPが陽性の腫瘍細胞(B, D)が混在する。両方のマーカーが陽性となる腫瘍細胞はないけれども、異なるマーカーを発現する腫瘍細胞は1つの細胞から由来すると考えられる。A, B: HE 染色, C, D: 免疫組織化学。(慶応義塾大学 本村徳宏先生提供)

再生力を示している(図4A)。肝臓以外にも表皮も欠損すれば再生し、血液も失われれば回復する。いずれにしても再生では元の量まで回復することがポイントとなっている。骨折治癒は、病理総論の授業で行う創傷治癒の代表的な例である(図4B)。骨折した部位では、軟骨性骨化がみられ、骨癒合が生じる。軟骨、神経、心筋組織ではこのような再生能はない。

#### VII. 再生医療・細胞移植における副作用と奇形腫

再生医療・細胞移植における副作用の一つに挙げられていることに、予期せぬ分化と腫瘍形成がある。最も注目を浴びている胚性幹細胞を例に挙げてみる。胚

性幹細胞を用いて心筋細胞に分化させ移植した場合に、予期せぬことに心筋内で骨形成を生じた場合はきわめて問題となる。少なくともそのような報告は知る限りではないけれども、そのような可能性は否定できない。

胚性幹細胞を用いた場合にしばしば指摘されることは、移植した場合に奇形腫を生じることである(図5)。良性の奇形腫であればまだよい。悪性の胎児性癌が生じた場合はきわめて問題となる。このように、医療の現場の領域を越えた問題に対し、病理医は意識が高いと考えられる。

図 1A, B 本来の意味での再生能を有する臓器。再生医療のなかで主に注目されているのは細胞移植であるけれども、細胞移植は本来の意味での再生とは異なる。再生とは、缺损を補填する形で元の組織の細胞が増殖することを言うはずである。

図 1A: 肝硬変は病的な状態ではあるけれども一つの結節は本来の意味での再生による。上段は正常の肝臓 (中内はギリシャ神話の肝再生を示唆する、火を盗んだプロメテウスの神に関する話, 『Science, 1 April, 1997』の表紙より)、中段は肝硬変の肉眼像、下段は肝硬変の組織像。

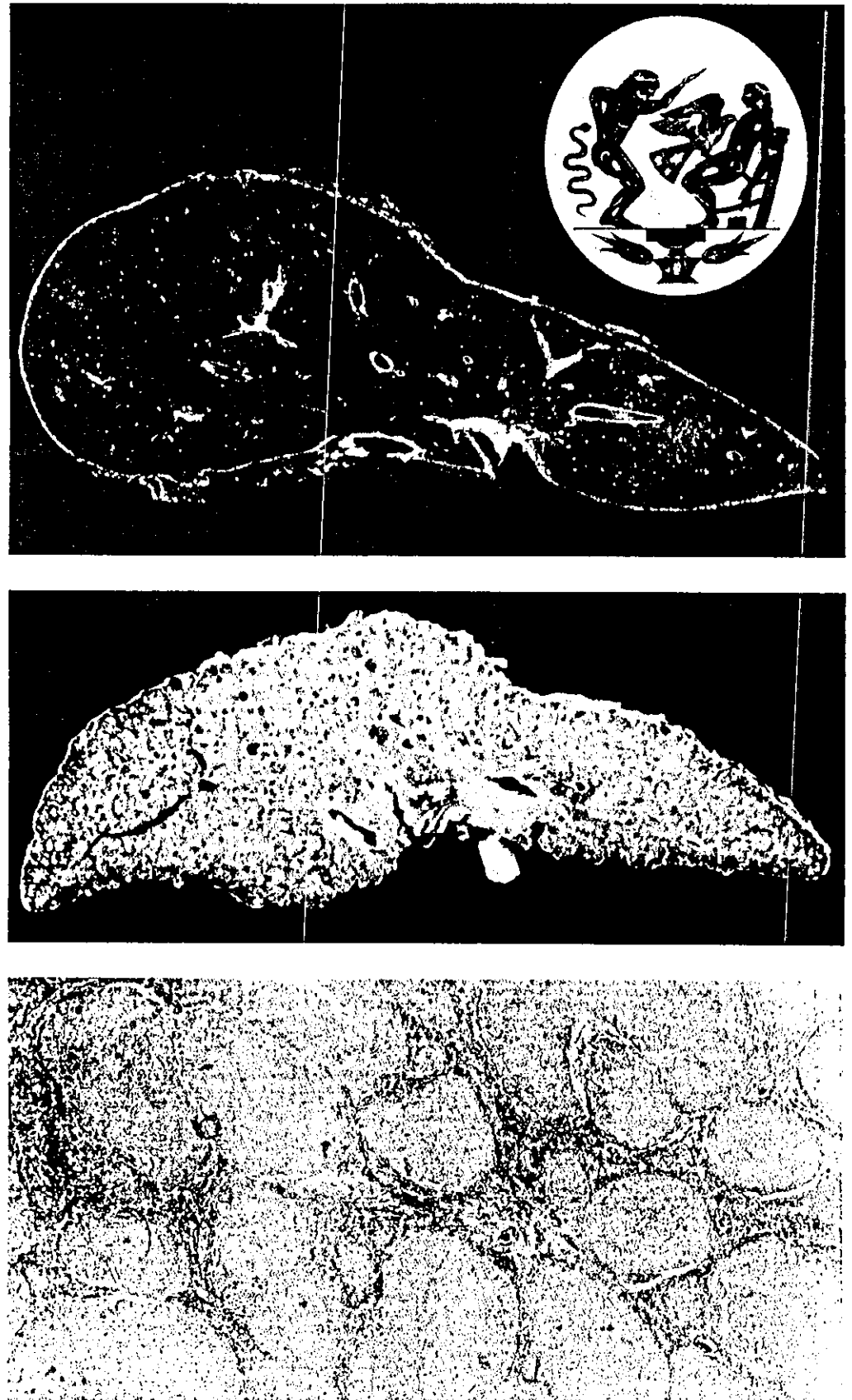


図 1A

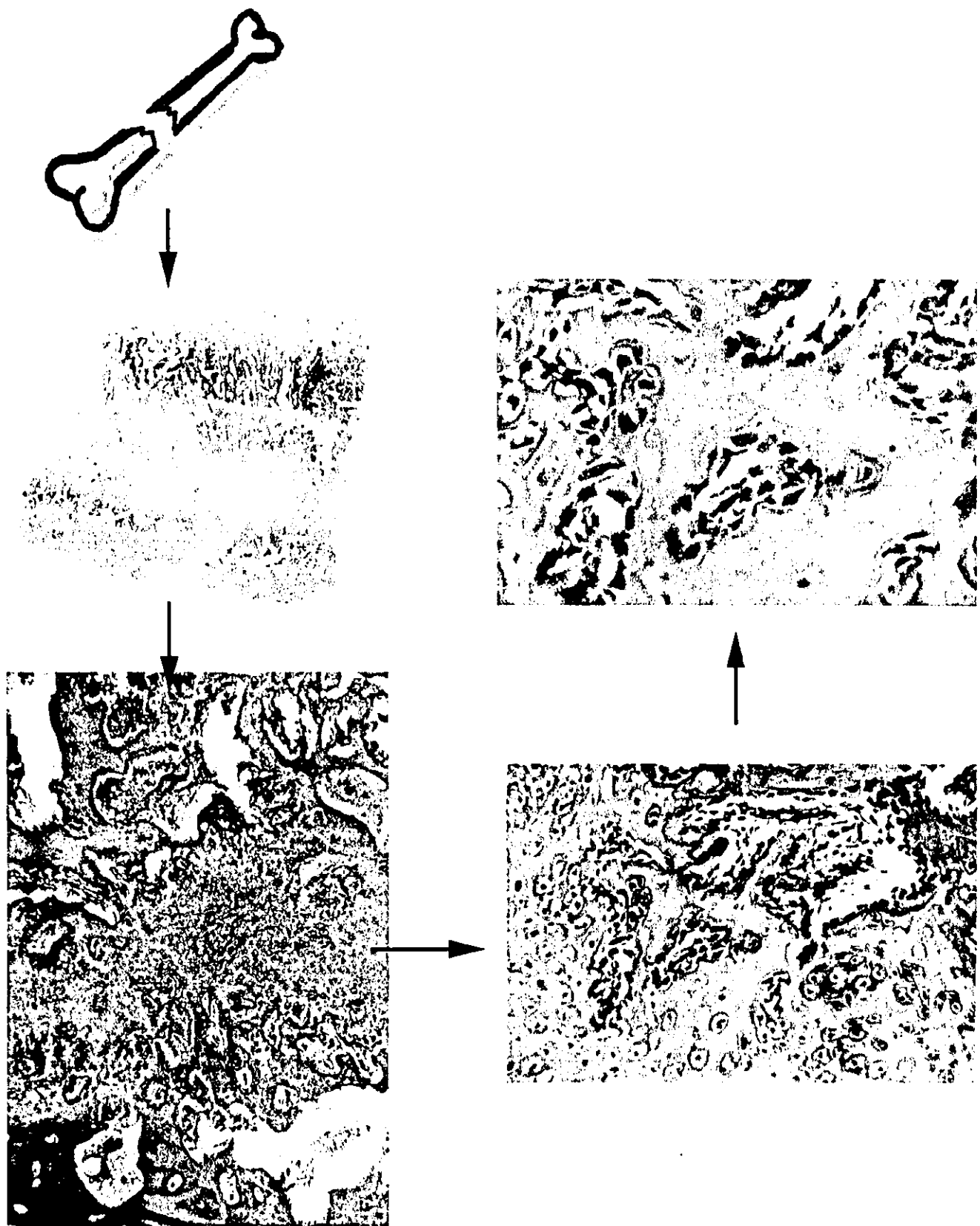


図 4B：実験的に骨折を生じさせた場合における骨癒合の組織像，矢印の順に拡大している。骨折部に軟骨性骨化が認められる。



図5 奇形腫 図に示された奇形腫は、人体に生じたものである。コロッとした結節内に三胚葉由来の組織が認められる(A)、拡大図では軟骨組織が明らかである(B)。ES細胞を導入することにより、やはり同様の奇形腫が生じることが知られている。心筋内に心筋細胞を作製しようとして、このような軟骨組織を含む奇形腫ができてしまうことは好ましくない。

### おわりに

再生医療は、医療の現場ばかりだけでなく、産業界もその収益性に期待をかけ、工学系、理学系の分野の研究者も多く参加し、その進歩は目覚ましい。しかしながら、幹細胞の可塑性の問題一つとっても、論文に書かれているような「細胞の変身」は頻度が低いのではないかとまだ結論が出ていない。学問的な結論が完全でないうちから、再生医療はさまざまな問題点をかかえたまま、少しずつ、医学の各分野で始められつつある。「細胞を移植した後、患者さんが歩けるようになった」、「細胞の移植をした後、ラットの動きがよくなった」という発表を聞いて、いつも筆者が思うことは、細胞を移植してその機能が改善したというのであれば、必ずその検体を形態学的に評価していただきたいということである。研究であれば、適切なマーカーを挿入してもらい、できれば蛍光色素は偽陽性または自家蛍光によって発色しているので、いくつかのマーカーを組み合わせ、その移植効率と妥当性を判定することを必ず行っていただきたい。また、臨床(試験研究)であるならば、なかなか陰性対照群を検討しにくいようである時にも必ず患者さんが良くなったということを生検することで検証することは必須である。不幸にも患者さんがお亡くなりになった場合には、剖検による検証をお願いしたい。それは、細胞治療がうまくいかなかったからお亡くなりになったのか、治療は

うまくいったがお亡くなりになったのか、一つ一つ明確にすることによって、再生医療が社会に信頼されていく新しい治療法として認知される。

謝辞：ある学会で座長が、筆者が所属していた研究室では古く(1960年頃)から再生医療に関わる研究が行われており筆者の研究はその伝統の上に形成されたものであるというありがたい言葉を頂戴した。皮下に膀胱や胆嚢を移植することで骨形成が生じる研究、骨髄間質の形態学ならびにその細胞生物学的特性、ヒト幹細胞の多分化能に関する基盤的研究が40年の間進められ、その流れの一つであるとのことである。ヒト細胞の寿命に関する研究も周りで行われていた。また、形態学を基盤とした解析法は、必要不可欠であった。心より、御礼申し上げたい。

### 文 献

- 1) Tateishi-Yuyama, E., Matsubara, H., Murohara, T. et al. : Therapeutic angiogenesis for patients with limb ischaemia by autologous transplantation of bone marrow cells : a pilot study and a randomized controlled trial. *Lancet* 2002, 360 : 427-435
- 2) 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) 2001, 68 : 235-244
- 3) 梅澤明弘, 五條理志, 秦 順一 : 細胞移植と臓器再生. *病理と臨床* 2001, 19 : 641-647

## パネルディスカッション

### 再生医療の展望 1. 細胞移植による再生医療

梅澤 明弘

**Key words** : 骨髄間質, 間葉系幹細胞, 胚性幹細胞, 体性幹細胞

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。

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。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、言葉で話すこと等沢山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。即ち、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(図1)。皮膚も欠損しても、表皮も真皮もきちっと創傷治癒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、胼胝ともいうが線維性組織によって置換される(図2)。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。

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、大きく胚性幹細胞と成体幹細胞に分類される(図3)。胚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

うめざわ あきひろ：国立成育医療センター研究所

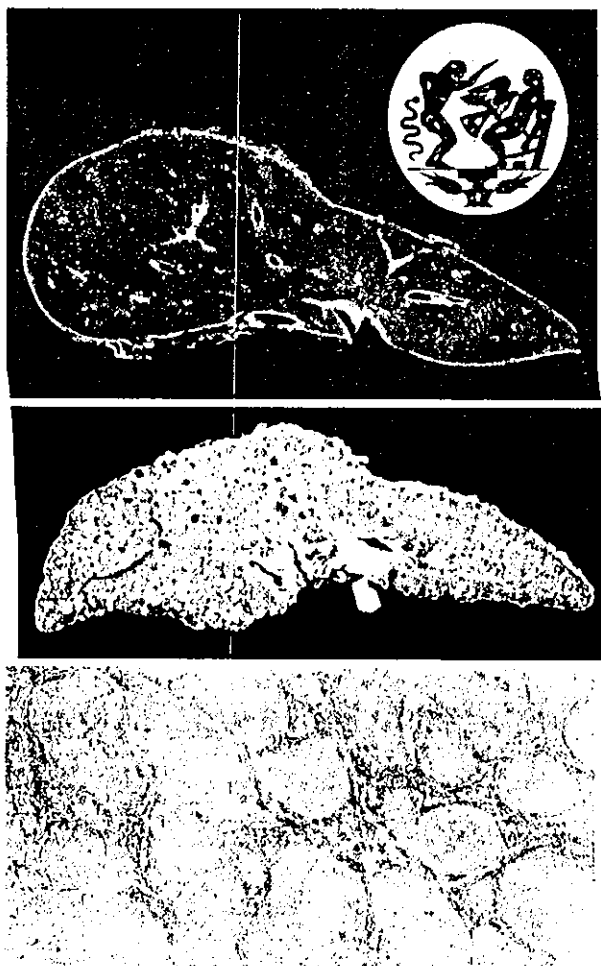


図1. 本来の意味での再生能を有する肝臓  
再生医療の中で主に注目されているのは細胞移植であるけれども、細胞移植は本来の意味での再生とは異なる。再生とは、機能を補填する形で元々の組織の細胞が増殖することを言うはずである。肝硬変は病的な状態ではあるけれどもひとつひとつの結節は本来の意味での再生による。上段は正常の肝臓(円内はギリシャ神話の肝再生を示唆する、火を盗んだプロメテウスの神に関する話)、中段は肝硬変の肉眼像、下段は肝硬変の組織像。

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。3番目の細胞として胎児由来の細胞が挙げられる。胎児由来の細胞が良い点は増殖能が高いこと、分

化形質を保持している点がある。また、胎児由来の神経組織を用いてパーキンソン病が限定的ではあるけれども治癒した事実があることは細胞治療が注目されたきっかけになったことは間違いない。

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、胚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。

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。患者さんないしドナーの方の組織から細胞を一部採取する。骨髄穿刺を思い浮かべていただければ分かりやすい。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ールによって目的の細胞とし、心筋組織や神経組織等の各組織に移植する。移植に関しては、静注することも考えられるが組織内への局注である。骨髄移植では、静脈内に注入することで細胞を導入する一方、現在の細胞治療では傷害を受けた組織の局

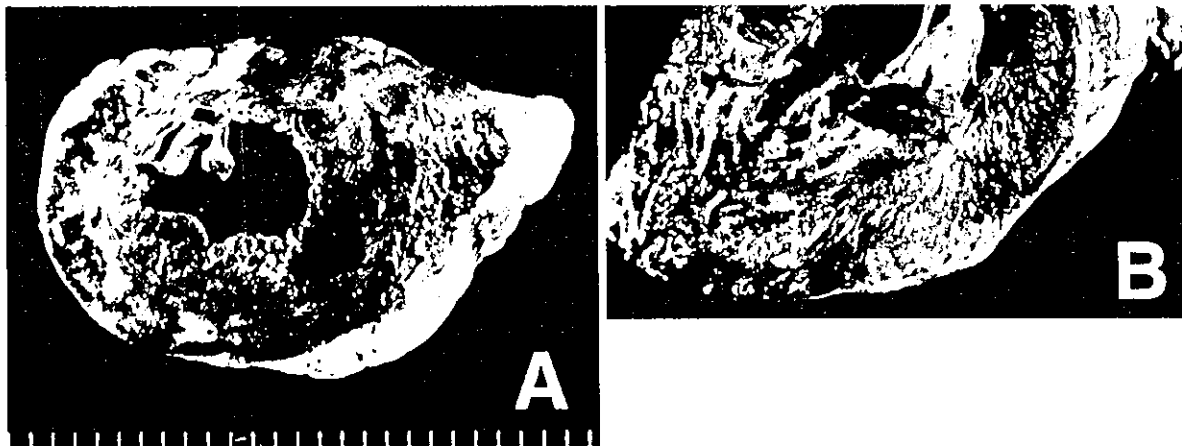


図2. 陳旧性心筋梗塞の肉眼所見.

陳旧性心筋梗塞の場合は胼胝となっており、色が白っぽく認められる部分では心筋組織は存在せず、膠原線維からなる線維化がみられる。このような線維化巣内に細胞を移植して、心筋細胞としての正常の機能を有する形で生着させるのはむずかしいかもしれない。

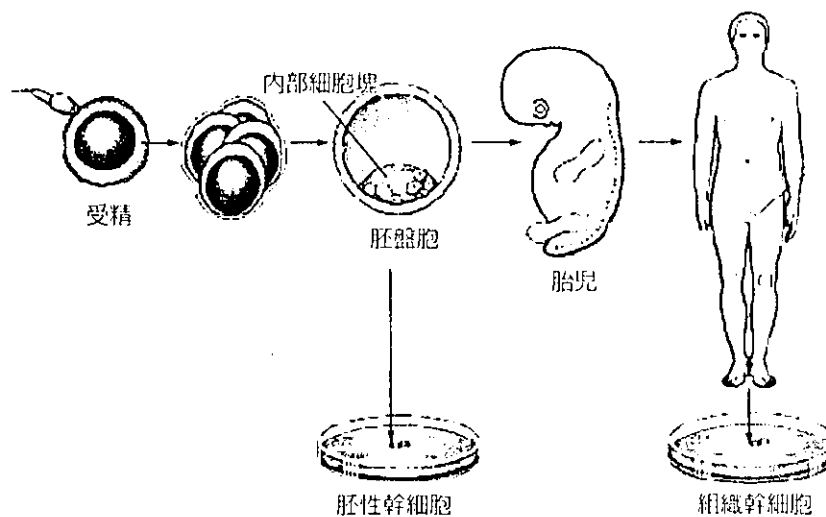


図3. 再生医療における細胞の供給源

所に注入する点が大きく異なる。

分化プロトコールは細かい話になってしまう。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ールができあがっ

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にする際には、周辺に脂肪細胞が同時に出現しているし (<http://1985.jukuin.keio.ac.jp/umezawa/HTML/>), そ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。

対象とする疾病は、虚血性心疾患、リゾナー



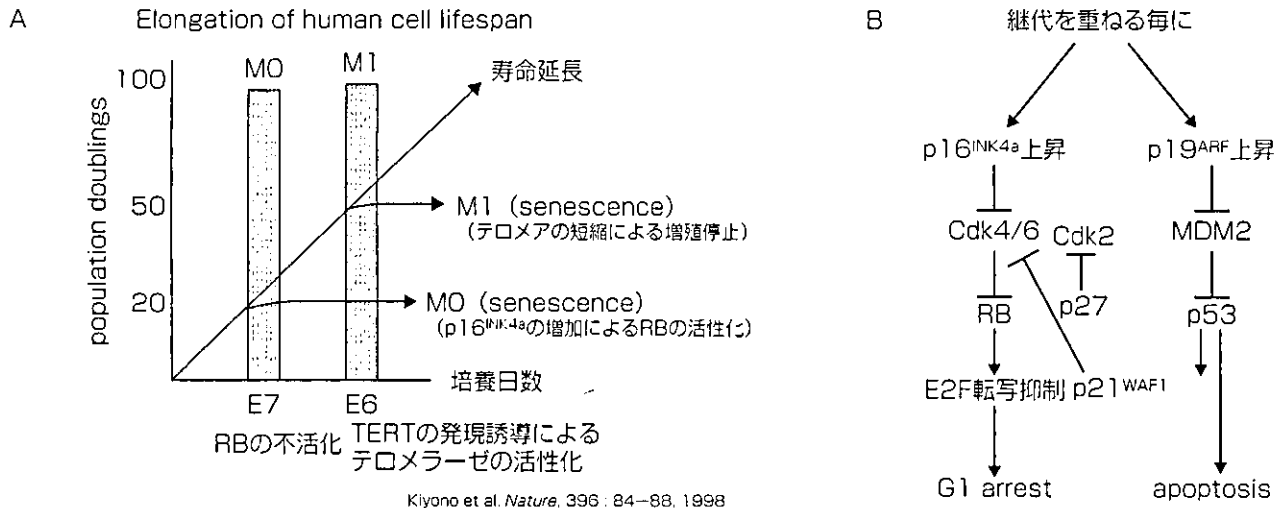


図4. 清野透博士(国立がんセンター研究所)が解明したヒト細胞のsenescenceに関する分子機構  
 A. 培養を重ねる過程におけるsenescenceとpopulation doubling (PD)の関係  
 B. ヒト細胞を培養する過程におけるsenescenceとアポトーシスに関する詳細な分子機構

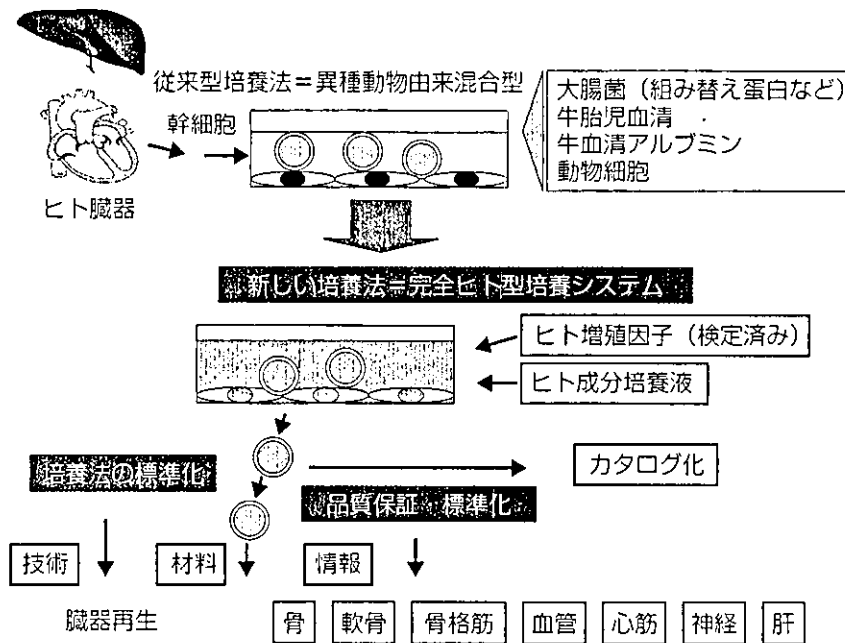


図5. 藤本純一郎博士(国立成育医療センター研究所)が提唱する「幹細胞の完全ヒト型培養システムの開発」

ム病を含めた代謝疾患, 筋疾患, パーキンソン病, 脊髄損傷, 糖尿病, 熱傷である. 骨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. 小児科領域になるかと思うが代謝疾患でも, 細胞移植によるcross correctionにより治療効果が期待できる可能性がある. 骨髄間質細

胞も造血充進作用を期待され、治験が進んでいる。

再生医療に対し、積極的な企業に、胚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、出資をしている。この2年の間に、具体的なメド、すなわちこの医療が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ている。

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、すなわち生体外で培養できたかどうか(図4)。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。再生医療を目指す過程において、注入する細胞の培養法に関する品質管理が極めて重要になってくる。外来種、すなわちウシ、マウス、ブタ等の細胞、血清がヒト細胞を培養する過程で完全に排除することにより、完全ヒト型培養システムの確立が待たれる(図5)。さらに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どうかも問題になり、培養過程の標準化は必要不可欠である。

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、それらが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。

謝辞：ある学会で座長が、筆者が所属していた研究室では古く(1960年頃)から再生医療にかかわる研究が行われており筆者の研究はその伝統の上に形成されたものであるというありがたい言葉を頂戴した。皮下に膀胱や胆嚢を移植することで骨形成が生じる研究、骨髄間質の形態学ならびにその細胞生物学的特性、ヒト幹細胞の多分化能に関する基盤的研究が40年の間進められ、その流れのひとつであるとのことである。また、形態学を基盤とした解析法は、必要不可欠であった。心より、御礼申し上げたい。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) 森 泰昌, 他: 再生医学と幹細胞—成体幹細胞. 日医雑誌 129 (3): 307-312, 2003.
- 2) 植谷宏平, 他: 間葉系幹細胞. 日本医学会新聞(2523), 2003年2月17日(4).
- 3) 竹田征治, 梅澤明弘: 筋ジストロフィーに対する再生医療. 医学のあゆみ 204 (3): 179-182, 2003.
- 4) 清野 透: ヒトパピローマウイルス癌遺伝子とヒト培養細胞の不死化. 蛋白核酸酵素 1579-1604, 1999.
- 5) Kiyono T, et al: Both Rb/p16INK4a inactivation and telomerase activity are required to immortalize human epithelial cells. Nature 396: 84-88, 1998.

## 神経幹細胞の供給源 骨髄-骨芽細胞

梅澤 明弘

### はじめに

今年の6月中旬に、フランスのナントで行われた第10回 NAT といわれる幹細胞に関する小さなミーティングに参加した。会場は1つしかなく、こぢんまりとした学会でシンポジウム形式をとっていた。最初の演者であるフロリダの Sanberg 博士は、ヒト胎児の神経移植について言及し、サイクロスポリンを6ヵ月投与することで、ドーパミン産生細胞が生き続けることを伝えた。また、骨髄間質細胞および精巣の Sertoli 細胞が神経細胞の供給源になりうること、さらには精巣由来の胎児性癌細胞である NT2 までもがよい細胞の供給源になると指摘する。胎児の神経細胞をフィーダーにすることによって、生体内の脳と同じ環境を作り出す試験管内シュミレーションによる細胞転換の例を示した。

### 神経細胞の供給源としての骨髄間質細胞と MAPC(multipotent adult progenitor cells)

そのミーティングの2番目の演者であるミネソタ大学の Low 博士は、MAPC が神経の供給源として有効であり、ドーパミン、セロトニン、GABA を産生するニューロンになることに矛盾しない結果を得たと発表した。さらに、MAPC が脳梗塞、パーキンソン病、リソゾーム病の神経症状に効果があると Low 博士は指摘する。そもそも骨髄由来の間葉系細胞が神経に分化すると発表したのは、前述の Sanberg 博士が最初であり<sup>1)</sup>、Prockop 博士が続く<sup>2)</sup>。骨髄間質が、神経になるという発表は神山氏の論文で、私が知る限り3番目である<sup>3)</sup>。現在ではヒト間葉系細胞さらに MAPS についても同様の発表があり<sup>4)</sup>、私どもも森 泰昌がヒト骨髄間質細胞を用いることで追試に成功している。

骨髄間質細胞と MAPC が同一種類の細胞か異なる細胞

うめざわ あきひろ 国立成育医療センター研究所/生殖医療研究部

かについての議論がある。会場でミネソタ大学で MAPC を扱い神経系への細胞転換に成功した Low 博士に対する、この議論に対する私の質問に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、キーストンで比較が詳細にされた。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も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分からないが、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は MAPC と比較し、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う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いった。

### 骨髄間質細胞から神経細胞への細胞転換プロトコール

骨髄間質細胞は骨髄中では網目構造をとっておりギャップ結合で連絡している。骨髄由来の間葉系細胞を10%血清入りの培養液中で増殖させ、5-azacytidine を4日間処理する。その際に神経増殖因子を同時に入れておく。5-azacytidine は1日だろうと4日間だろうと神経への分化効率に違いはない。その後、神経増殖因子が含まれた DMEM/F12/B27 培地で30日培養することで、神経伝達物質に反応する神経細胞が得られる。

5-azacytidine 処理後4日目ですでに長い軸索を有する神経細胞が得られる(図1)。また、形態学的に長い軸索を持ち、神経をうかがわせる構造を有する細胞には、神経マーカーが陽性になる。逆に元々の骨髄間質細胞と変わらない構造を有する細胞はマーカーは陰性である。低分子化合物である5-azacytidine を用いた場合は、このような神経

マーカーの出現の割合は10%以下である。ニューロンのマーカーであるTuj1, Hu, NeuN, アストロサイトのマーカーであるGFAP, オリゴデンドロサイトのマーカーであるGal-Cが陽性となる細胞(図1)のいずれもが出現してくるが、その割合はほぼ同じくらいであり、後に述べる蛋白性因子であるノギンを用いた場合とは、その割合は異なる。

### 発生に基づいた「骨芽細胞から神経細胞への転換」 プロトコール<sup>6,5)</sup>

低分子化合物を用いたプロトコールによる分化は、その誘導剤の作用である脱メチル化の機序から、ある一定の確率で生じ、その確率は決して高いものではない。一方、神経発生学の成果より、骨形成因子の阻害剤であるノギンを用いるプロトコールが開発され、この効率は目をみはるものがあった。間質細胞のうち、このプロトコールで効率よく神経に分化する細胞は骨芽細胞であった。

骨芽細胞<sup>6,7)</sup>を通常の培養皿で増殖させ、ノギン遺伝子を導入する。すると、細胞は培養皿から剥離し、浮遊し、クラスターを形成するようになる。そのクラスターを位相差顕微鏡下においてピペットで吸い上げ、ファイブロン・オルニチンでコートした培養皿に移動する。移動した時点でクラスターは培養皿に付着するようになる。形態をみるとほとんどの細胞は突起を進展させている(図2)。その時点で神経増殖因子を含む低血清の培地(DMEM/F12)で30日間、培養する。ニューロンに特異的なマーカー分子の発現をみるとMAP2, Tuj1が50%以上の細胞に陽性になる。驚いたことに5-azacytidineを用いたプロトコールとは異なり、分化した細胞はニューロンのマーカーは陽性となるが、アストロサイトやオリゴデンドロサイトのマーカーが陽性となる細胞はほとんど認められなかった。分化した細胞は高カリウムおよびグルタミン酸に対して反応した(図3)。パッチクランプ法による活動電位の検出も試みたが認められなかった。

骨芽細胞ではなく、多分化能を有している細胞<sup>8-10)</sup>を分化させた場合、目的としない細胞が混じる。そうした場合、目的の細胞を選択する技術が必要となる。選択する技術の一つとして、マトリックスを使用する良い点は、標的細胞が付着する場合でも付着しない場合でも選択が可能であ

り、その選択が容易であり特異的であることだ。ここで用いたノギンは誘導として働くが、分化し浮遊した細胞を集めてくる作業は選択である。失われた神経組織を局所に存在する幹細胞により再生させるという本来の意味での再生医療に対して、本稿に書いたような手続きを経て得られた神経細胞を移植するという細胞治療に用いる可能性を示唆している(図4)。

ノギンを用いた、骨芽細胞から神経への転換する効率が極めて高いことより、ひとつの疑問が浮かび上がってきた。発生過程において、ノギンおよびコルディンはオーガナイザーに発現する液性因子でありBMPと直接結合し、BMPの作用を阻害することによって神経誘導がおこることも証明されている。BMPの作用が抑制された場合におこる細胞の自発的な分化が神経分化である。つまり不履行状態(初期値)は神経分化であるという概念はショウジョウバエやゼブラフィッシュに適用可能である<sup>11)</sup>。もともと神経細胞だったのが骨形成因子が高発現することにより骨芽細胞になっていて、それがノギンを処理することにより神経に戻ったのではないかという考えであり、骨芽細胞は神経細胞が変身した仮の姿ではないかという考えである。細胞の表現形質としての初期値または不履行状態が、骨芽細胞か神経細胞かという問題である。ただ、こんな細胞の初期値がどっちであろうとさしたる問題ではなく、細胞生物学的には考えること自体が時間の無駄であり、どちらにでもなる可塑性を有していることのみが重要であるという考えもある。

### 生体への細胞移植における2つの疑問

移植させる前に分化誘導するか、分化誘導は、その場の環境に任せるかについても興味がある。ミネソタ大学のLow博士にMAPCは移植前に分化誘導させるかどうか尋ねたところ、全く分化誘導させずにその虚血部位に移植するとのことである。これはうなずける答で、長いアキソンを有する神経細胞を移植することは難しい。注射針を通るあいだに破壊されてしまう。Low博士はつづけて、分化したニューロンを注射する方法についても考案中であると答えた。

移植する場合の生着の有無に関する疑問も残る。生着したかどうかを明確にするには、ドナー細胞とホスト細胞を

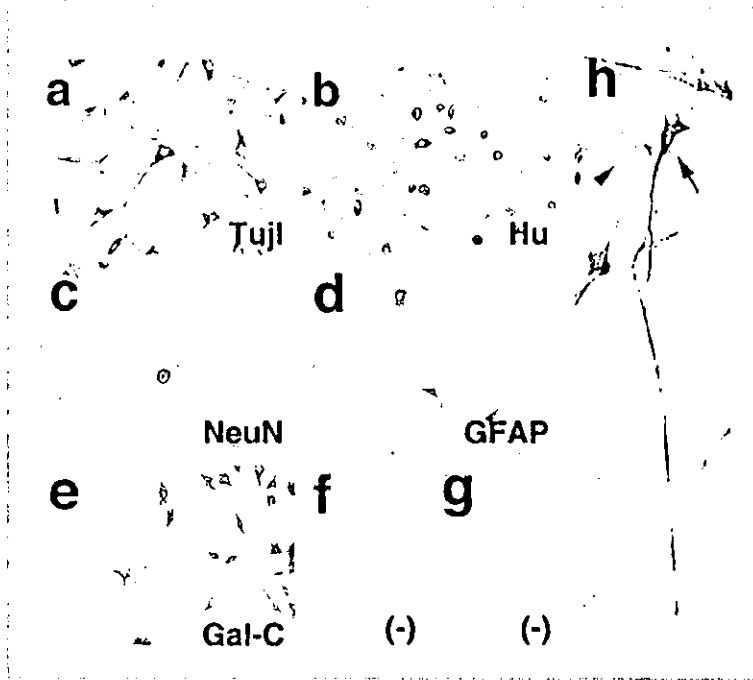


図 1 脱メチル化剤による骨髄間質細胞の神経特異的抗原の発現

a, b, c: 特異的な抗原(a: Tuj1, b: Hu, c: NeuN)、アストロサイト特異的な抗原(d: GFAP)、オリゴデンドロサイトに特異的な抗原(e: Gal-C)が、脱メチル化剤で処理した骨髄間質細胞に発現するのを示した免疫組織化学。fとgには、二重抗体を用いた陰性対照を示す。

h: 骨髄間質細胞KUSA-A1に対して脱メチル化剤を処理したと、Tuj1陽性の長い軸索を有する神経細胞(矢印)が出現した(免疫組織化学的解析)。同じ視野で長い軸索を有さない細胞(矢頭)は、Tuj1陰性である。

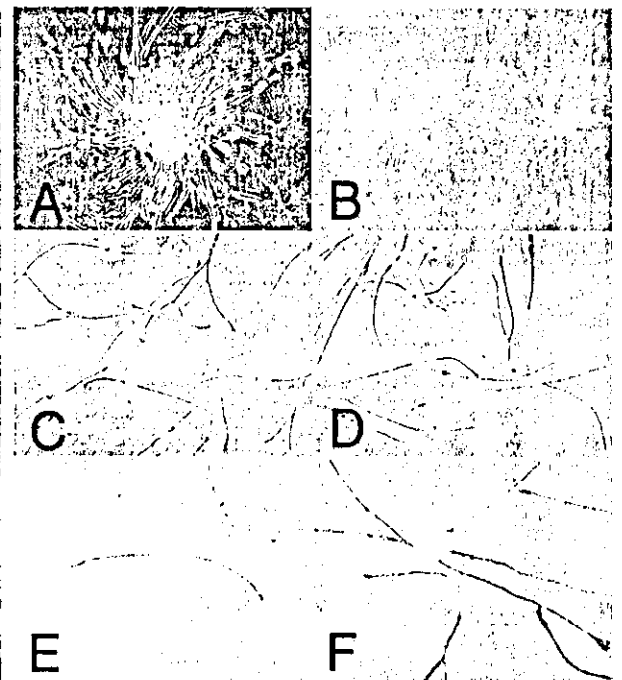
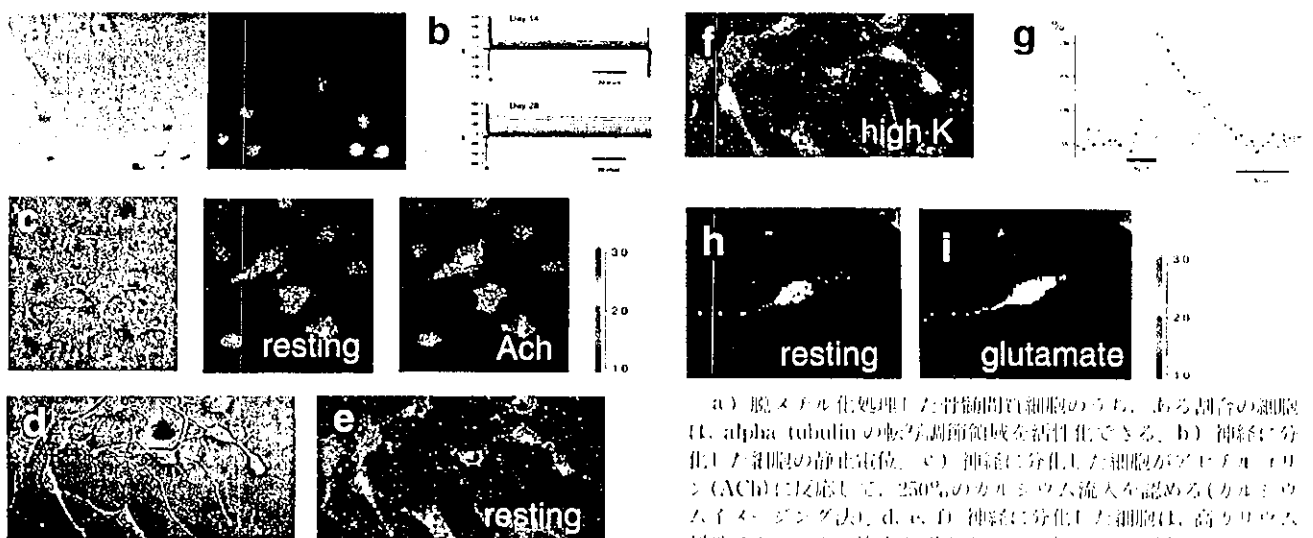


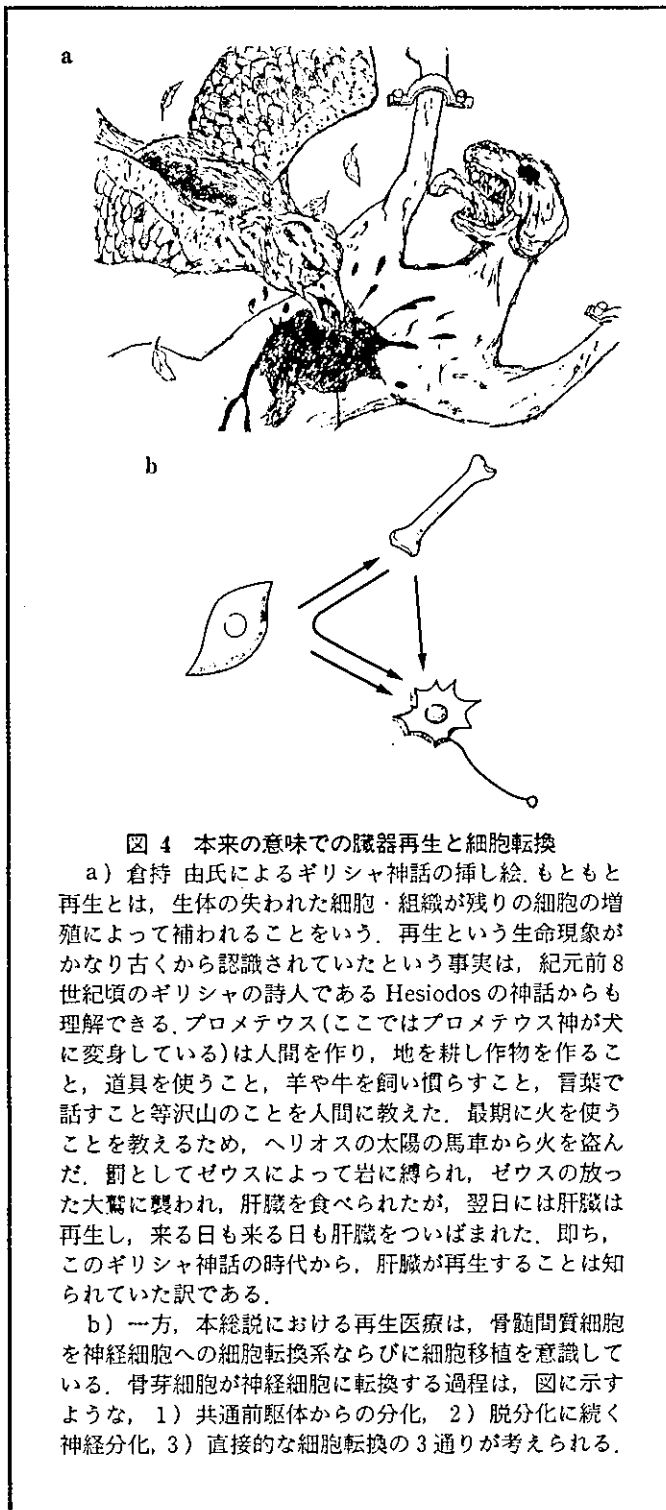
図 2 ノギン法による骨髄間質細胞の神経細胞への分化

ノギン法により骨髄間質から分化した神経細胞。(上段)低倍、(中段)中倍、(下段)高倍。細胞体が見え、丸くキラキラ光り、長い突起を有する。また、長い軸索の末端は三角形になっていることが見てとれる。



a) 脱メチル化処理した骨髄間質細胞のうち、ある割合の細胞は、alpha-tubulinの転写調節領域を活性化できる。b) 神経に分化した細胞の静止電位。c) 神経に分化した細胞がアセチルコリン(ACh)に反応して、250%のカルシウム流入を認める(カルシウムイメージング法)。d, e, f) 神経に分化した細胞は、高カリウム刺激でカルシウム流入を認める。g) 高カリウム刺激によるカルシウム流入の時間経過。h, i) 骨髄間質から分化した神経は、グルタミン酸に反応する。

図 3 脱メチル化剤処理した骨髄間質細胞の神経伝達物質に対する反応



同定する必要がある。ヒトの細胞移植では、ドナー細胞とホストの細胞を区別する GFP や  $\beta$ -galactosidase といったマーカーを入れることはやはり禁じられているというナントのミーティングにおける Sanberg 博士の返答は印象的であり、また当然とも思われる。ドナー細胞が男性由来であり Y 染色体を有し、ホストが女性の場合のみ、検証が可能であるというのが結論であろう。

謝辞 岡野栄之博士、桜田一洋博士との骨髄間質細胞の分化に関する共同研究で多くの示唆を受け、多くの世界的な潮流について最新情報の供与を受けました。神山 淳氏は今は岡野栄之研究室にいますが、大学生の時にいろいろと共に議論したことが、ここに書かれている。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下さい。(http://1985.jukuin.keio.ac.jp/umezawa/HTML)

#### 文献

- 1) Sanchez-Ramos J, Song S, Cardozo-Pelaez F, et al. Adult bone marrow stromal cells differentiate into neural cells in vitro. *Exp Neurol* 2000; 164: 247-56.
- 2) 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* 2001; 282: 148-52.
- 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 (Stem cell issue)* 2001; 68: 235-44.
- 4) Jiang Y, Jahagirdar BN, Reinhardt RL, et al. Pluripotency of mesenchymal stem cells derived from adult marrow. *Nature* 2002; 418(6893): 41-9.
- 5) 岡野栄之. 中枢神経系の幹細胞生物学. *実験医学* 2001; 19(15): 80-90.
- 6) Umezawa A, Maruyama T, Segawa K, et al. Multipotent marrow stromal cell line is able to induce hematopoiesis in vivo. *J Cell Physiol* 1992; 151: 197-205.
- 7) 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* 2003; 194: 45-53.
- 8) Gojo S, Gojo N, Takeda Y, et al. In vivo cardiovascularogenesis by direct injection of isolated adult mesenchymal stem cells. *Exp Cell Res.* in press.
- 9) Pittenger MF, Mackay AM, Beck SC, et al. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. *Science* 1999; 284: 143-7.
- 10) 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.* in press.
- 11) Weinstein DC, Hemmati-Brivanlou A. Neural induction. *Annu Rev Cell Dev Biol* 1999; 15: 411-33.



# 間葉系幹細胞の基礎と臨床応用

梅澤明弘<sup>1)</sup>, 五條理志<sup>2)</sup>

幹細胞には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、部分全能性を示す間葉系幹細胞が、ヒト骨髄から単離されている。間葉系幹細胞は、骨、軟骨、脂肪、腱、骨格筋、骨髄間質といった間葉系組織をつかさどる前駆細胞を生み出す。同時に神経系への分化も明らかにされ、間葉系幹細胞は予想以上の可塑性を有していることが次々と明らかになってきている。間葉系幹細胞は、グローバルな「臓器」再構築または細胞治療の生体マイクロデバイスとして事実上の標準となる可能性が出てきた。

Key words transdifferentiation, marrow stroma, bone marrow, mesenchymal stem cell, cell therapy

日本の製薬企業が、骨髄由来の間葉系幹細胞を用いた細胞治療に関する多数の特許を有している米国オサイリス社の間葉系幹細胞技術の日本独占使用権を得たという発表があった。Web上の記事(時事新報)では、「米オサイリス社が、成体由来生理活性物質、遺伝子組換え技術の日本ケミカルリサーチ(JCR)とライセンス契約を締結したと発表し、オサイリスはJCRに造血系幹細胞移植による血液悪性腫瘍治療分野での間葉系幹細胞に関する技術の日本における独占使用権を供与する。契約額は公表されていないが、オサイリスは前払金を受領した。その後、所定の段階に達するごとに所定額の間金金を、提案製品の完全な商品化成功後はロイヤルティーを受け取る。オサイリスの技術では、これまで骨髄移植患者が経験してきた移植片対宿主病が少なくなるとさ

れている」と発表された。神戸におけるバイオビジネスフォーラムにおけるオサイリスのプレゼンテーションならびにその資料では、間葉系細胞は免疫拒絶を受けず、さらに免疫寛容を誘導するという。それらは論文上でも発表されていることではあるけれども、骨髄由来の間葉系細胞を研究対象としている者としては、真偽とは別に改めて大変感銘を受けた。

## 間葉系幹細胞を用いた、心疾患への細胞治療に関する議論

フランスのナントで今年の6月、第10回NATといわれる幹細胞に関する小さなミーティングに参加した。会場は1つしかなく、こぢんまりとした学会でシンポジウム形式をとっていた。そこで、MAPC (multipotent adult progenitor cell)<sup>1)</sup>が神経の供給

### Mesenchymal stem cells as a source of cell therapy

Akihiro Umezawa Satoshi Gojo

1) 国立成育医療センター研究所生殖医療研究部, 2) 埼玉医科大学総合医療センター心臓外科

うめざわ・あきひろ 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留学を経て, 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)。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。

源として有効であり、ドーパミン、セロトニン、 $\gamma$ -アミノ酪酸 (GABA) を産生するニューロンになることに矛盾しないとミネソタ大学のLow博士が発表した次の日には、心臓への細胞移植で知られるMenasché博士が控えめな声ではあるが、いくつかの細胞供給源について、明らかな非難を始めた。「MAPC! Nobody knows it.」前後の発言を含めたニュアンスを汲み入れれば「MAPCなんて有名だけど、誰もみたことないぞ」といったところであろうか。Menasché博士の主張は明確であった。「私は、骨格筋を心筋に移植しているけれども、骨格筋は骨格筋であり、心筋になることはない。幹細胞の可塑性なんていうけれども、分化転換なんていうけれども、その割合はとても小さく、臨床には使えない」「骨格筋を心臓に移植すると、骨格筋のままの形態を示し、その活動電位は骨格筋のそれである」と一つひとつ抑制のきいた口調で説明していった。その後も、「心臓移植で一番いいのは、胎児心筋に決まっている。でも（倫理的に）現実的ではなく、なんと胎児心筋細胞は、虚血に弱い」と続けていった。

「骨髄間質が心臓になるといってもごく一部ではないか<sup>2,3)</sup>。一番いいところを見せているだけではないか」と話は続く。「分化誘導剤としての5-アザシチジン (5-azacytidine, 脱メチル化剤)<sup>4)</sup>？ 現実的である訳がない（処理することで癌化してしまうことだってあるじゃないか）」前日、私が、ヒト骨髄間質が5-アザシチジンを用いて心筋になることを示したばかりで、その会場でヒト骨髄間質細胞の動画まで見せて発表した東洋人のことは聴衆者の記憶に新しかったはずである。あまり、学会場で非難された経験のない私は、ドキドキすると同時に、ちゃんと聴いてくれたことをうれしく思った。「ヒト内皮細胞が、胎児心筋との共培養で心筋細胞になる」「ビンゴ！」と、声を大きくした後にこう続けた。「胎児組織を心筋細胞の支持細胞に使うなんて現実的でない。」胎児組織を支持細胞に使うと発表したのはSanberg博士と私だけである。繰り返しになるが、非難されて動揺すると同時に発表内容に対しコメントされたことがうれしかった。「心筋移植

の供給源は骨格筋しかない。移植したとしても骨格筋は骨格筋であり、心筋細胞との間にギャップ結合は生じなかった。移植した後に不整脈を生じたけれども、それが細胞移植によるものか、心筋梗塞によるものかどうかはわからない。おそらく細胞移植によるものだとは思いますが、わからない。」心筋への細胞移植により不整脈を生じたことは、遺伝子治療で白血病を生じたくらいに衝撃的であったが、細胞移植による不整脈を多少認めただけで、さらに骨格筋が、新規の収縮に対し有効であったことを動画で示した。このMenasché博士の魅力的でやや過激な発表に対し、フランスの実験心臓外科学者のTran博士が質問でいくつもの根拠のもとに反論したときには会場から拍手が出た。

### 間葉系細胞製剤

臨床の場に導入しようとしている米国オサイリス社により、Allogen<sup>®</sup>（抗癌剤による骨髄抑制障害の治療薬として造血幹細胞と併用し投与する医薬品）、Osteocel<sup>®</sup>（骨の再生細胞治療薬）、Fabrogen<sup>®</sup>（Fabry病の遺伝子治療薬）といった3つの薬剤について細胞医薬としての可能性が検討されている (<http://www.osiristx.com>)。日本においても一部の医療施設にて骨・軟骨欠損の治療薬として骨髄間質細胞の検討が行われている。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、拒絶反応が起こらないことがあげられる。

骨髄間質細胞を用いた細胞治療に関して、オサイリス社は38の特許を有していると発表している。そのオサイリス社が日本ケミカルリサーチと提携することである。これは、日本国内において骨髄間質細胞を利用した細胞治療や再生医療が仮に病院内で順調にいった場合に、オサイリス社から知的財産権を取得した日本ケミカル社からロイヤルティーを主張されることも否定できない。骨髄間質細胞を用いた細胞治療により、疾患モデル動物を用いた研究結果から予想されるような素晴らしい結果が患者さ



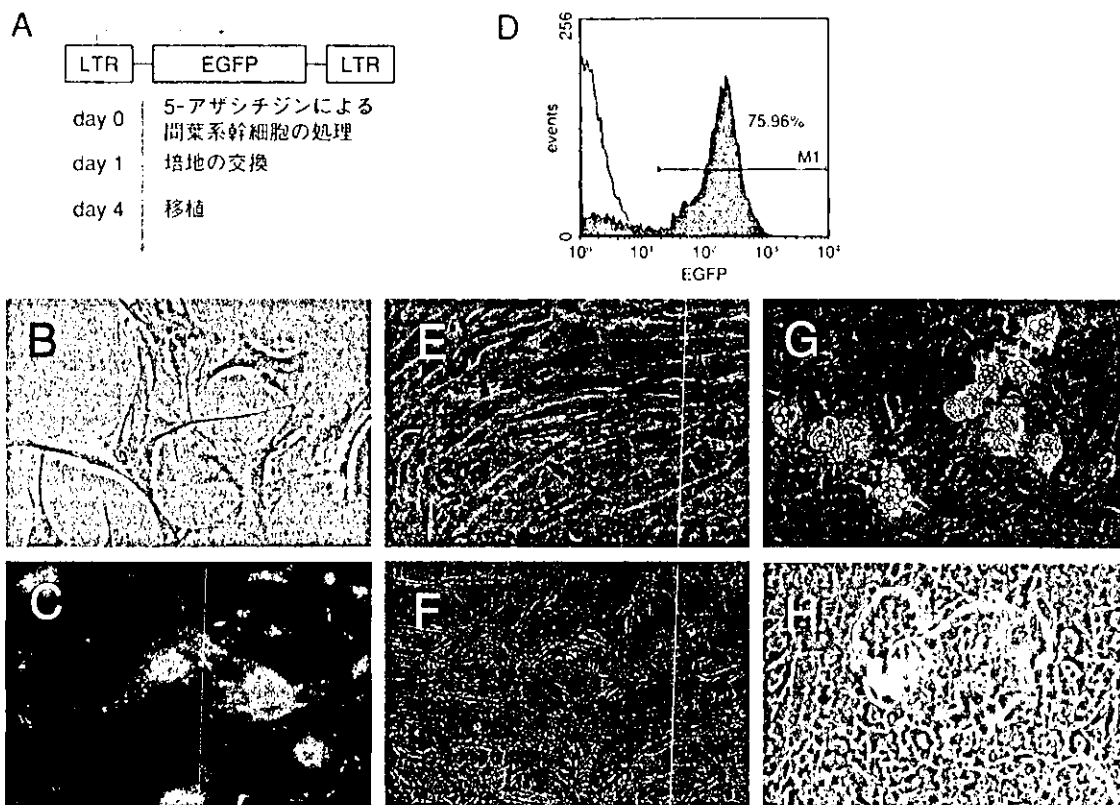


図1 多能性幹細胞としての骨髄由来の間葉系幹細胞

A : EGFP を有するレトロウイルスベクターと実験プロトコール.

LTR : long terminal repeat, EGFP : enhanced green fluorescent protein

B : 単離した間葉系幹細胞の位相差顕微鏡像.

C : 蛍光を発する間葉系幹細胞. このEGFPは核移行シグナルを有しているため, 核も蛍光を発する.

D : 蛍光を発する間葉系細胞のフローサイトメトリー.

E : 心筋細胞に分化した間葉系幹細胞. 分岐が認められる.

F : 骨格筋への分化. 自動能を有しておらず, 多核であり, 拍動しない.

G : 脂肪細胞への分化.

H : 細胞から産生される骨結節.

んの疾病においても同様に得られ, 社会的にも認知されるといふ最も素晴らしい展開になったときに, 間葉系幹細胞技術の日本独占使用権をオサイリス社から得た企業がロイヤルティーを主張する可能性があるということである.

骨髄中に間葉系の幹細胞が存在することが明らかにされている(図1)<sup>5,6)</sup>. このような多分化能を有する骨髄間質細胞は, 年齢とともに減少してくる. オサイリス社は骨髄由来の単核細胞中に占める間葉系幹細胞の割合と年齢との関係に関するデータを発表した. 新生児では骨髄単核細胞の1万分の1ぐらいに間葉系幹細胞が存在するが, 10歳代の人では10万分の1に, 35歳では25万分の1, 50歳では40

万分の1, 80歳では200万分の1に減少する. オサイリス社によると, 年齢とともに数は変動するが性質には変化がないと報告されている. したがって, 若い人のほうが取得は容易であると考えられる. この骨髄間質細胞に存在する幹細胞の同定は, その数が少ないこと, 表面マーカーがいまだに明らかにされていないことから現在でも難しい. 骨髄より間葉系の幹細胞を分離, 精製してくるには, 表面抗原とそれに対する抗体を準備する必要がある. さらに, 抗体によって認識される抗原の有無によって規定された細胞系列をすべて明らかにすることは, 今までにも多くの報告があるが, さらなる研究対象と考えられる.

## 「間葉系幹細胞を用いた心疾患における細胞移植」に関する倫理審査が日本国内において開始された

今年の9月末にWeb上で共同通信からの記事が目についた。記事は、間葉系幹細胞を分離し心臓に投与する治療を開始したいとする国立循環器病センターに関するものであった。直接、発表を聞いたわけではないので、共同通信の記事を簡潔にニュアンスを変えずにまとめてみる。間葉系幹細胞を心臓病患者の骨髄から分離し、患部に移植して心筋を再生させる新しい治療法を、永谷憲歳再生医療部室長らが開発、9月30日までに内部倫理委員会に申請した。幹細胞を含む骨髄の細胞をまとめて患部に投与する治療は試みられていたが、間葉系幹細胞だけを分離することで心筋梗塞や拡張型心筋症などをより効率よく治療することが期待できる。治療は、患者の腰から骨髄液10 mlを採取し、患者の血液中で約1か月間培養しながら幹細胞だけを分離し、血管から心臓の患部に投与する。マウスの研究では間葉系幹細胞は心筋に分化する(図2)ことが知られており、臨床試験に向けてラットとブタを使った実験を行い、それぞれ心筋への再生を明らかにした。筆者も、永谷博士の発表を8月中旬に聞き、大動物を用いた心疾患モデルで治療に成功していることに強く感銘を受けたことを思い出した。

その発表に前後して、大阪大学から筋肉の細胞を用いた心筋の細胞治療に関する倫理審査が内部倫理委員会に申請されたことを、やはり共同通信からのWeb上の記事で見た。大阪大の研究グループは、心筋梗塞の患者に患者自身の筋肉と骨髄の細胞をそのまま移植し、傷んだ心臓組織を再生する治療の臨床応用を、9月2日までに学内の医学倫理委員会に申請したとのことである。筋肉の細胞の心臓への移植は欧米ではMenasché博士をはじめ、成功例が報告されている。対象は人工心臓の装着が必要な重度の心筋梗塞患者であり、患者の太股から骨格筋の一部を採取し、筋肉のもとになる細胞を抽出、培養する。これをさまざまな組織に分化、成長する能力を秘め

た骨髄の幹細胞とともに患者の心臓に移植する。「筋肉のもとになる細胞は心筋に成長し、骨髄細胞は血管を新生するとみられている」と記事では記載されていたが、先ほど述べたフランスのナントではMenasché博士は骨格筋が心筋に分化転換することはないと発表している。倫理委員会では「心筋の中に骨格筋を作ると、不整脈を起こさないか」などの慎重な意見も出て結論は見送られ、継続審議となったとのことである。Menasché博士の発表でも3名の患者さんが不整脈を起こしたとされる。

さらに、間葉系細胞ではないが血管を作るもとになる血液中の幹細胞を体内で増やして取り出し、心筋梗塞などで血管が詰まった患者に移植して血管を再生させる治療の実施計画を、先端医療センターの浅原孝之博士が9月8日、明らかにした。これも共同通信のWeb上の記事である。同センターと東海大、米タフツ大の3か所で治療を始めたいとの考えを示した。浅原博士は、骨髄でできた血管幹細胞が血液に含まれているのを見つけ1997年に発表した<sup>7)</sup>。1%以下と微量であるが、成長因子を投与すると増えることも突き止めた。その後、そうした方法で増やした幹細胞を血管が詰まった部分に移植すると、心筋梗塞が改善することをブタを使った実験で確認した。血管再生には骨髄細胞や骨髄由来間葉系細胞を使う方法(図3)もあるが、骨や脂肪、筋肉などのもとになる細胞が含まれるため危険も考えられるので、血管の幹細胞だけを使った治療はより安全であるという考え方である。

## 先天性代謝性疾患に対する骨髄間葉系細胞の有用性

間葉系幹細胞を用いた細胞治療は、心疾患だけでなく、代謝性疾患もその対象となる(表1)。間葉系細胞の遺伝病であり、骨芽細胞においてコラーゲンI型の産生を認めないことにより骨の変形を伴う骨形成不全症の患者に間葉系幹細胞の細胞移植が試みられている<sup>8)</sup>。細胞移植は、allogenic combinationで行われた。3例全例での患者いずれも、間葉系幹細胞が骨に生着し、骨形成を促進し、成功例と

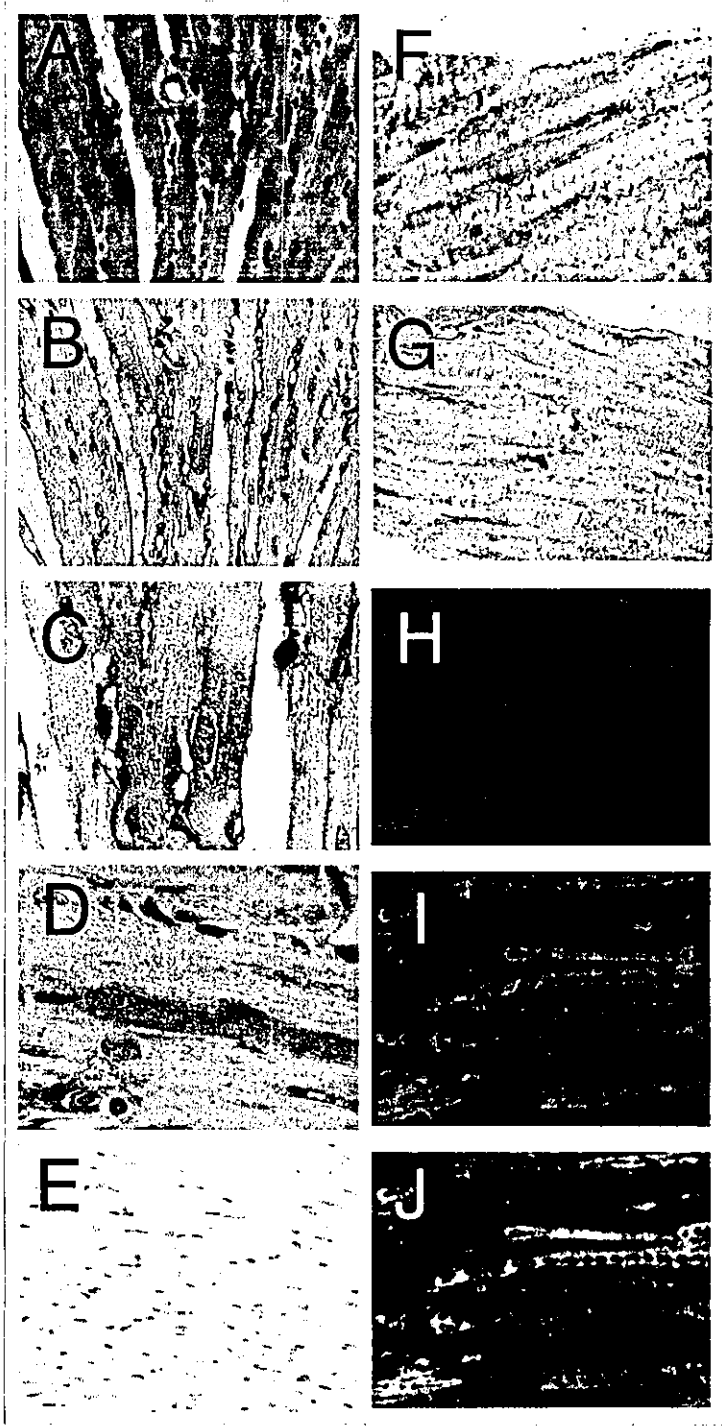


図2 マウスにおける間葉系幹細胞の心筋 (A～E) ならびに骨格筋 (F～J) への移植  
 A : ヘマトキシリン・エオシン染色。  
 B～E : EGFP に対する免疫組織化学的染色 (B : 低倍, C : 高倍). EGFP 陽性細胞に分岐が認められる (B, C). 骨格筋とは異なり, 核が細胞質の中央に位置する (D). 一次抗体で処理していない陰性対照 (E).  
 F, G : 骨格筋に移植した骨髄間質細胞に対し, EGFP 抗体を用いて免疫組織化学的染色を行った. アルカリホスファターゼにより, 赤く発色している (F). 一次抗体で処理していない陰性対照 (G).  
 H～J : 移植した細胞は EGFP により蛍光を発する (H). デスミン (I : 赤色) に対する免疫組織化学的染色を施行すると, 移植した細胞はデスミン陽性であることがわかる [J : merge (画像を重ね合わせること), 黄色].

して報告されている。癌の再発例や抗癌剤の大量投与例に対しても間葉系幹細胞が投与され、細胞治療への可能性が広がっている<sup>9)</sup>。まったく同様に、軟骨発育不全患者でも間葉系細胞が治療として役立つともいわれており、難治性骨折、軟骨欠損、腱修復への治療の可能性への希望が膨らんでいる<sup>10)</sup>。局所に細胞を注射するにせよ、静脈注射するにしろ、

自己 (autologous) の細胞を利用できる意味でも骨髄間質由来の間葉系幹細胞は、細胞治療における事実上の標準となると考える。

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

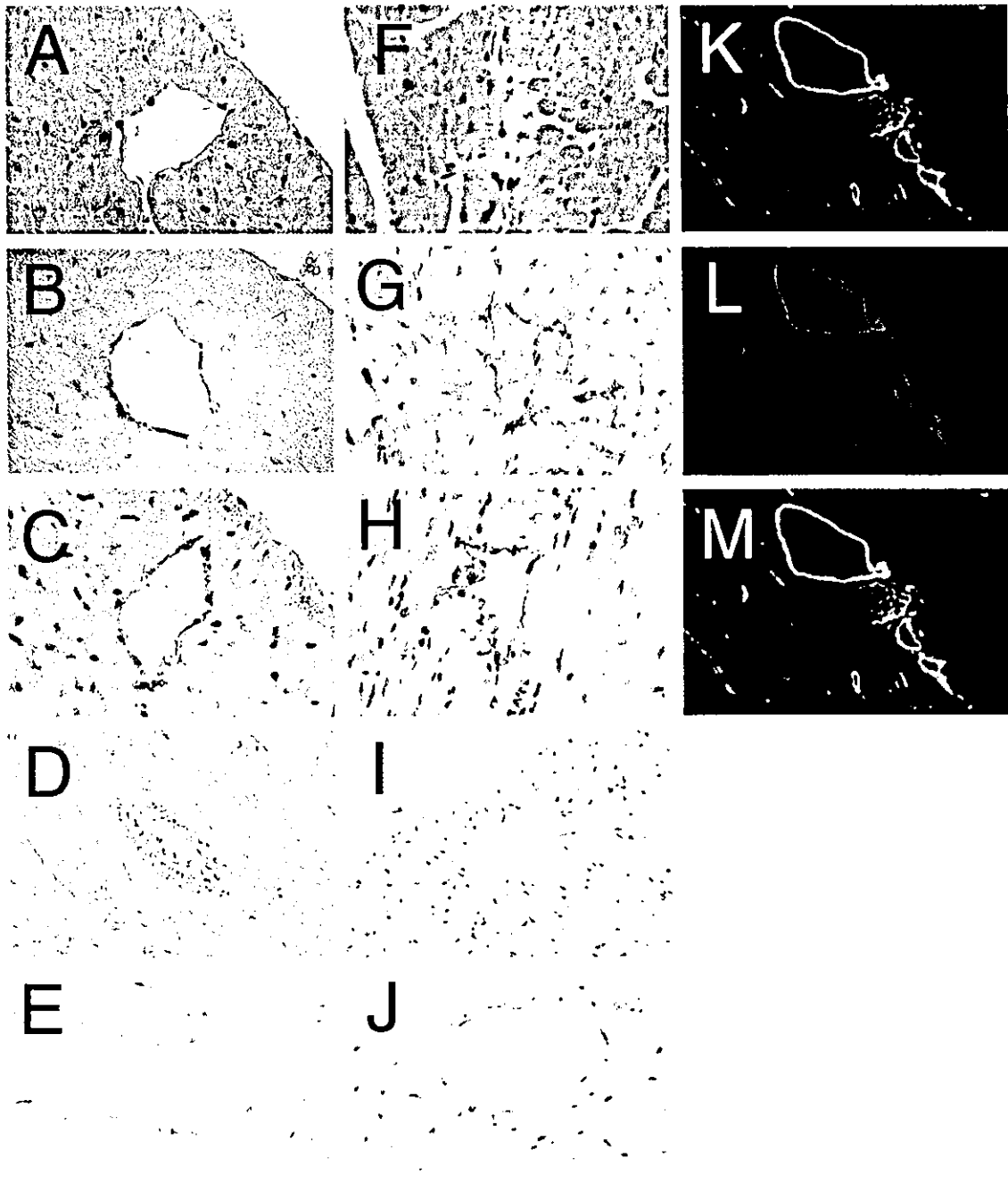


図3 骨髄間質細胞による血管形成

骨髄間質細胞移植1か月後(A~E)と3か月後(F~J)における血管形成。BとGはEGFPに対する免疫組織化学的染色であり、陽性となる移植された細胞が血管腔を作り、これらは血管内皮のマーカーであるCD31陽性である(C, H)。D, E, I, JはそれぞれB, C, G, Hを一次抗体で処理していない陰性対照。さらに移植した細胞(K: EGFPによる蛍光)は、CD31(L: 赤)陽性となる。merge(M)では、血管内皮に分化した細胞は黄色となり、分化していない細胞は緑(蛍光色)のみである。血管腔内には赤血球がみられ、なんらかの機序で宿主の血管と吻合し、血液が流れ、組織に栄養を供給し始めたと考えられる。

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。先天性代謝疾患では異染色性白質萎縮症(metachromatic leukodystrophy)やムコ多糖症に対しても、間葉系細胞が産生する酵

素量は少ないものの供給源の一つとなる。移植片対宿主病(graft-versus-host disease; GVHD)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ことが指摘されている。