

図4 肝再生におけるHGFの役割

部分肝切除や四塩化炭素肝障害では機能的に分化した成熟肝細胞がHGFなどの増殖因子刺激をうけて再生する。一方、コリン欠乏食投与モデルや2アセチルアミノフルオレン(2AAF) /部分肝切除モデルでは自己複製能および肝細胞と胆管細胞への多分化能を持った肝前駆(幹)細胞が出現し再生する。HGFは肝前駆(幹)細胞の増殖・分化にも関与しているものと考えられる。

子はG-6-P発現誘導には必須で特に後期増殖因子はTAT発現にも必須である。

一方、肝芽細胞は肝細胞または胆管細胞に分化する能力を持った細胞である。Kamiyaraらは14~14.5日胚の肝臓から単離した肝芽細胞の培養系を確立し、デキサメタゾン存在下にてOSMがG-6-PおよびTAT遺伝子発現までの肝細胞分化を誘導することを報告した¹¹⁾。HGFもOSM同様、デキサメタゾン存在下にてG-6-PおよびTAT遺伝子発現を誘導するが、その効果はOSMよりも弱く¹²⁾、さらに分化を進めて成熟肝細胞マーカーであるtryptophan oxygenase遺伝子発現を誘導するにはOSMに加えて、ラミニンといった細胞外マトリックスからのシグナルが必要である¹³⁾。

また、最近、SuzukiらはFACS (fluorescence activated cell sorting) を用いた細胞分離法を用いて、マウス胎児肝臓中に多能性肝幹

細胞が存在することを明らかにした¹⁴⁾。彼らはラミニン特異的なレセプターである $\alpha 6 \beta 1$ インテグリンに注目し、非血球細胞画分(CD45⁻Ter119⁻)における $\alpha 6$ インテグリン(CD49f)と $\beta 1$ インテグリン(CD29)、さらにc-Kit (stem cell factor receptor) の発現を指標として、胎児肝臓中(13.5日胚)の約4~5%を占めるc-Kit⁻CD49f⁺CD29⁺CD45⁻Ter119⁻細胞画分中に、増殖能と肝細胞と胆管細胞への多分化能を持った細胞が存在することを見出した。さらにこの細胞群の画分化を進め、胎児肝臓中の約0.3~0.4%を占めるにすぎないc-Met陽性(c-Met⁺c-Kit⁻CD49f⁺/lowCD29⁺CD45⁻Ter119⁻)細胞がより高い自己複製能と、肝細胞と胆管細胞のみならず他の内胚葉由来臓器(膵臓や小腸)の細胞への多分化能を有していることを明らかにした¹⁵⁾。

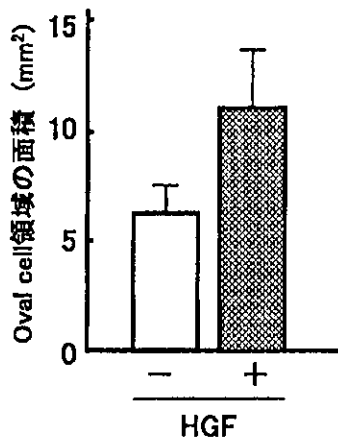


図5 HGFによるoval cell増殖促進作用

2-アセチルアミノフルオレン/部分肝切除モデルでは門脈周囲にoval cellが出現する。このモデルを用い、肝切除と同時にHGF (0.2 mg/day)を7日間腹腔内持続投与し、oval cell領域の面積を測定した。HGF投与群でoval cell領域が有意に増大し、HGFがoval cellの増殖を促進することが示された。

4 肝再生とHGF

1. 肝再生におけるHGFの役割

肝再生は、肝切除などによる肝容積の減少あるいはウイルスおよび薬物による肝細胞喪失を契機として誘導される。肝再生のシステムには機能的に分化した成熟肝細胞が再生するシステムと自己増殖能と多分化能を持った肝前駆(幹)細胞が増殖し肝細胞または胆管上皮細胞に分化するシステムの2つがある(図4)¹⁶⁾。

肝再生因子としてのHGFの作用は部分肝切除および四塩化炭素肝障害ラットにおいて確認されているが、これは成熟肝細胞に対する効果である^{17,18)}。成熟肝細胞は通常静止期(G0期)にあり、増殖因子刺激に反応するにはIL-6やtumor necrosis factor (TNF) α の刺激を受けてG1期に移行するprimingと呼ばれるステップが必要である。primingは可逆性であるが、G1期肝細胞にHGF, transforming growth factor (TGF) α , heparin binding-epidermal growth factor like growth factor

(HB-EGF)といった増殖因子が作用すると肝細胞はG1/Sチェックポイントを越えて増殖する^{19,20)}。HGFは肝細胞増殖を促進する最も強力な因子であるが、*in vivo*ではTGF α やHB-EGFと協調して肝再生を促進させているものと考えられ、その効果は相加的である²¹⁾。肝細胞におけるHGFの細胞増殖シグナルはc-Metのチロシンリン酸化から主にRas/MAPK系を介して核内に伝わりサイクリンD1の発現を増強させる。このHGFによるサイクリンD1発現亢進はサイクリックAMP応答領域(cyclic AMP responsive element; CRE)やその5'上流に存在する未知の領域を介している²²⁾。

2. 肝再生における肝前駆細胞の増殖

コリン欠乏食投与モデルおよび2-アセチルアミノフルオレン/部分肝切除(2AAF/PH)モデルなど、成熟肝細胞の増殖が障害される状況下で肝再生が誘導されるとoval cellに代表される肝前駆細胞が出現する(図4)。oval cellは核が卵型の細胞で分化段階が異なる細胞から構成された不均一な細胞集団として門脈周囲に出現する^{19,20)}。われわれは、HGFのoval cellに及ぼす影響を検討するために2AAF/PHモデルに遺伝子組み換え型ヒトHGFを腹腔内持続投与したところ、oval cell領域が有意に増大することを確認した(図5)。アデノウイルスベクターを用いた遺伝子導入によるHGF過剰発現でもoval cell増殖が亢進することが報告されており²³⁾、HGFは肝前駆細胞に対しても増殖促進作用を発揮すると思われる。しかし、増殖したoval cellの肝細胞または胆管上皮細胞への分化に及ぼすHGFの影響は明らかになっていない。

最近、ラットおよびヒトで肝障害時には骨髓細胞が肝細胞に分化転換することが報告された^{24,25)}。骨髓細胞中にはAFPおよびc-

Met 発現細胞が存在し、HGF および EGF を添加した培地で増殖および肝細胞に分化誘導されることが示されており^{26,27)}、また Schwartz らは骨髄多能性前駆細胞 (multipotent adult progenitor cell) をマトリゲル上で培養し FGF-4 と HGF を添加すると肝細胞に分化誘導できることを報告している²⁸⁾。しかし、骨髄細胞は肝細胞でなく類洞内皮細胞になるという成績²⁹⁾や、骨髄細胞が種々の臓器細胞に分化することを否定する成績も報告されている^{30,31)}。骨髄細胞が肝細胞に分化する potency を有することは間違いないが、実際に肝再生に大きく貢献しているかどうかについては今後の研究の進展を見守る必要がある。

5 おわりに

HGF は種々の上皮細胞に作用する多機能生理活性物質で、肝発生や肝再生時に重要な役割を果たしている。HGF を用いて肝前駆細胞、組織幹細胞および ES 細胞から肝細胞を分化・増殖させる細胞移植療法の確立も期待される。しかし、HGF の分化・増殖の分子メカニズムにはいまだ不明な点も多い。肝発生および再生時の肝幹細胞の増殖・分化における HGF の役割を分子レベルで明らかにすることが今後の課題である。

文 献

- 1) Zaret KS : Liver specification and early morphogenesis. *Mech Dev* 92 : 83-88, 2000
- 2) Zaret KS : Hepatocyte differentiation: from the endoderm and beyond. *Curr Opin Genet Dev* 11 : 568-574, 2001
- 3) Zaret KS : Regulatory phases of early liver development: paradigms of organogenesis. *Nat Rev Genet* 3 : 499-512, 2002
- 4) Jung J, Zheng M, Goldfarb M et al : Initiation of mammalian liver development from endoderm by fibroblast growth factors. *Science* 284 : 1998-2003,

- 1999
- 5) Miyajima A, Kinoshita T, Tanaka M et al : Role of oncostatin M in hematopoiesis and liver development. *Cytokine Growth Factor Rev* 11 : 177-183, 2000
- 6) Bladt F, Riethmacher D, Isenmann S et al : Essential role for the c-met receptor in the migration of myogenic precursor cells into the limb bud. *Nature* 376 : 768-772, 1995
- 7) Schmidt C, Bladt F, Goedecke S et al : Scatter factor/hepatocyte growth factor is essential for liver development. *Nature* 373 : 699-702, 1995
- 8) Spijkers JA, van den Hoff MJB, Hakvoort TBM et al : Foetal rise in hepatic enzymes follows decline in c-met and hepatocyte growth factor expression. *J Hepatology* 34 : 699-710, 2001
- 9) Schuldiner M, Yanuka O, Itskovitz-Eldor J et al : Effects of eight growth factors on the differentiation of cells derived from human embryonic stem cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 97 : 11307-11312, 2000
- 10) Hamazaki T, Iiboshi Y, Oka M et al : Hepatic maturation in differentiating embryonic stem cells in vivo. *FEBS Lett* 497 : 15-19, 2001
- 11) Kamiya A, Kinoshita A, Ito Y et al : Fetal liver development requires a paracrine action of oncostatin M through the gp130 signal transducer. *EMBO J* 18 : 2127-2136, 1999
- 12) Kamiya A, Kinoshita T, Miyajima A : Oncostatin M and hepatocyte growth factor induce hepatic maturation via distinct signaling pathways. *FEBS Lett* 492 : 90-94, 2001
- 13) Kamiya A, Kojima N, Kinoshita T et al : Maturation of fetal hepatocytes *in vitro* by extracellular matrices and oncostatin M: induction of tryptophan oxygenase. *Hepatology* 35 : 1351-1359, 2002
- 14) Suzuki A, Zheng Y, Kondo R et al : Flow-cytometric separation and enrichment of hepatic progenitor cells in the developing mouse liver. *Hepatology* 32 : 1230-1239, 2000
- 15) Suzuki A, Zheng Y, Kaneko S et al : Clonal identification and characterization of self-renewing pluripotent stem cells in the developing liver. *J Cell Biol* 156 : 173-184, 2002
- 16) Sell S : Heterogeneity and plasticity of hepatocyte lineage cells. *Hepatology* 33 : 738-750, 2001
- 17) Ishiki Y, Ohnishi H, Muto Y et al : Direct evidence that hepatocyte growth factor is a hepatotropic factor for liver regeneration and has a potent antihep-

- atitis effect *in vivo*. Hepatology 16 : 1227-1235, 1992
- 18) Fujiwara K, Nagoshi S, Ohno A et al : Stimulation of liver growth by exogenous human hepatocyte growth factor in normal and partially hepatectomized rats. Hepatology 18 : 1443-1449, 1993
 - 19) Fausto N : Liver regeneration. J Hepatol 32 : 19-31, 2000
 - 20) Fausto N, Campbell JS : The role of hepatocytes and oval cells in liver regeneration and repopulation. Mech Dev 120 : 117-130, 2003
 - 21) Moriuchi A, Hirono S, Ido A et al : Additive and inhibitory effects of simultaneous treatment with growth factors on DNA synthesis through MAPK pathway and G1 cyclins in rat hepatocytes. Biochem Biophys Res Commun 280 : 368-373, 2001
 - 22) Moriuchi A, Ido A, Nagata Y et al : A CRE and the region occupied by a protein induced by growth factors contribute to up-regulation of cyclin D1 expression in hepatocytes. Biochem Biophys Res Commun 300 : 415-421, 2003
 - 23) Shiota G, Kunisada T, Oyama K et al : *In vivo* transfer of hepatocyte growth factor gene accelerates proliferation of hepatic oval cells in a 2-acetylaminofluorene/partial hepatectomy model in rats. FEBS Lett 470 : 325-330, 2000
 - 24) Peterson BE, Bowen WC, Patrene KD et al : Bone marrow as potential source of hepatic oval cells. Science 284 : 1168-1170, 1999
 - 25) Alison MR, Poulosom R, Jeffery R et al : Hepatocyte from nonhepatic adult stem cells. Nature 406 : 257, 2000
 - 26) Oh SH, Miyazaki M, Kouchi H et al : Hepatocyte growth factor induces differentiation of adult rat bone marrow cells into a hepatocyte lineage *in vitro*. Biochem Biophys Res Commun 279 : 500-504, 2000
 - 27) Miyazaki M, Akiyama I, Sakaguchi M et al : Improved conditions to induce hepatocyte from rat bone marrow cells in culture. Biochem Biophys Res Commun 298 : 24-30, 2002
 - 28) Schwartz RE, Reyes M, Koodie L et al : Multipotent adult progenitor cells from bone marrow differentiate into functional hepatocyte-like cells. J Clin Invest 109 : 1291-1302, 2002
 - 29) Fujii H, Hirose T, Oe S et al : Contribution of bone marrow cells to liver regeneration after partial hepatectomy in mice. J Hepatol 36 : 695-697, 2002
 - 30) Wagers AJ, Sherwood RI, Christensen JL et al : Little evidence for developmental plasticity of adult hematopoietic stem cells. Science 297 : 2256-2259, 2002
 - 31) Terada N, Hamazaki T, Oka M et al : Bone marrow cells adopt the phenotype of other cells by spontaneous cell fusion. Nature 416 : 542-545, 2002

* * *

骨髄由来幹細胞を用いた肝臓再生療法

寺井 崇二* 山本 直樹* 大森 薫*
坂井田 功* 沖田 極*

索引用語：骨髄細胞，肝幹細胞，Niche，Trans-differentiation，再生療法

1 はじめに

再生医療は大きく細胞を使った細胞移植療法と，その他の薬剤を用いた再生療法の大きく2つに分けられる。さらには Tissue engineering や人工の devise を使った再生医療技術もあり，これらの技術の発達は臨床現場において多くの利益をもたらすと考えられる。本項においては幹細胞を使った再生医療の臨床応用への基礎研究，臨床応用の可能性について示す。

2 骨髄細胞を使った肝臓再生療法の開発へ

現在肝不全患者に対する究極的な治療法としては生体肝移植法などが開発され実際臨床の現場で施行されているが，ドナー不足や手術侵襲が大きいことが問題になっている。この問題の解決のためには新たな幹細胞を用いた再生医療技術の開発が必要になる。使用する幹細胞としては胚性幹細胞 (ES cell)¹⁾，成人臓器に存在する組織幹細胞 (Adult stem cell)

の2つに大きく分類される²⁻⁴⁾。まず ES 細胞であるが，非常に可塑性に富み高い増殖能を持つが奇形腫の形成などの問題も多く，実際の ES cell を使った再生療法，特に移植医療は臨床応用に至るまでに倫理的問題，安全性に対する慎重な評価・判断が必要となると考えられる。一方，Adult stem cell であるが，肝臓においては以前より肝幹細胞の一つとしてラットの重篤な肝障害に伴い発生する卵円形の核を持つ Oval cell が知られている³⁾。この Oval cell は肝細胞，胆管細胞，小腸細胞，膵臓細胞になるなど分化の可塑性が報告されている。一方で FACS を駆使しての胎児肝よりの肝幹細胞の分離同定も行われている⁵⁾。これらの細胞を用いた移植医療は非常に魅力的な方法になるであろうが，臨床医療の現場では移植する細胞源の確保の簡便さが非常に重要になり，その利用にはより簡便な分離技術の開発が必要になると考えられる。一方最近になり動物 model および人の剖検例において，骨髄由来の細胞が肝細胞に分化することが報告された⁶⁻¹²⁾。これらの報

Shuji TERAI et al : A new cell therapy using bone marrow cell to repair damaged liver

*山口大学医学部先端分子応用医科学講座消化器病態内科学 [〒755-8505 宇部市南小串 1-1-1]

表1 今後解決すべき問題点

- ・骨髄細胞の肝細胞への分化過程の解析 (分化 monitoring モデルの開発)
- ・骨髄中にどの分画に肝幹細胞が存在しているかの解析
- ・骨髄細胞 (肝幹細胞) の肝細胞への分化制御機構
- ・肝幹細胞の肝細胞への分化を制御する微小環境 “niche” の解明
- ・積極的に肝幹細胞を体外から誘導する方法
- ・投与した細胞の肝臓への遊走, 骨髄中の肝幹細胞誘導分子の同定
- ・骨髄から培養した肝幹細胞を投与するのがいいのか, それとも培養を経ずに投与した方がいいのか

告は骨髄細胞を用いた肝臓再生療法の臨床応用への実現の可能性を強く示唆する。また骨髄細胞は肝臓に存在する肝幹細胞に比べ分離が容易であり、骨髄細胞 (特に自己骨髄細胞) を細胞源とする新たな肝臓再生療法の臨床開発が可能と考える。では、この新たな治療法の臨床応用を実現するにはどのような基礎研究が必要になってくるであろうか? われわれはより効率的な骨髄細胞を用いた肝臓再生療法の開発を行うためには表1の問題の解決が重要と考える。これらが解決できれば、今後骨髄細胞を用いた肝臓再生療法は臨床応用へ実現可能な治療法になると考えられ、さらには新たな標的分子の発見、創薬に発展すると期待できる。

3 過去の骨髄細胞から肝細胞への可塑性を評価できるモデル

細胞は特殊な微小環境の “niche” の中で分化するため、骨髄細胞の肝細胞への分化を評価するためにはやはり *In vivo* model の開発が必要と考える (図1)。過去の血球幹細胞が肝細胞に分化し、その結果肝臓の機能を代償したことについては、チロシン血漿突然変異マウス (FAH 欠損マウス) に対し、 β -

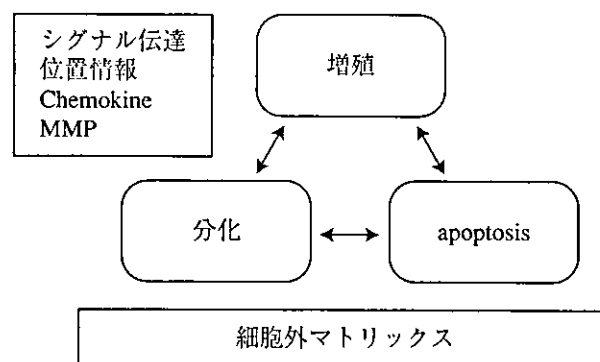


図1 臓器形成を決定する微小環境 (niche)

galactosidase (β gal) 陽性の血球幹細胞の投与により、移植した β gal 陽性細胞が肝臓に cluster を作り定着し、肝臓の機能がうまく代償されることで報告されている⁹⁾。過去のこのモデルを使った肝細胞移植のモデルにおいてもやはり同様の島状の cluster を作っている¹³⁾。このような移植細胞の cluster をわれわれは実際の臨床の現場においてはほとんどみることはないが、これらのモデルは移植細胞の肝臓への repopulation 率の評価においては非常に有用と考える。しかし、このモデルはやはり非常に特殊なモデルであり、実際の移植モデルにおいては、より臨床に近い病態の recipient の条件を作った新たなモデルの開発が必要と考えられる。新たなモデルには β gal あるいは Green fluorescent protein (GFP) などの標識蛋白のトランスジェニックマウスを使うかあるいはレトロウイルスなどを用いて標識蛋白を発現するように操作を加えた細胞群を入れることで、標識した骨髄細胞がどのような recipient の条件にて分化するかを評価するシステムの開発が必要と考える^{14,15)}。現在われわれは GFP transgenic mice と CCl₄ 投与により肝障害を起こしたマウスを用いたモデルの開発に成功しさらに解析を行っている (特許出願, 論文投稿中)。

4

骨髄中の肝幹細胞の問題
(骨髄細胞の可塑性の機序の問題)

過去の解析により肝臓に分化する可能性があると考えられる骨髄中の細胞は大きく3つ、血球幹細胞 (hematopoietic stem cell ; HSC)、間葉系幹細胞 (mesenchymal stem cell ; MSC) また最近幹細胞として注目されている SP 細胞 (Side population cell) があげられる (図2)¹⁶⁾。実際に骨髄中のどの分画に肝幹細胞が存在しているかについては非常に混乱している状況である。最近になり、血球幹細胞が他の細胞系譜へ分化転換 (Trans-differentiation) することは少ないのではないかという反論がでてきている¹⁷⁾。この報告は骨髄細胞を用いて肝臓再生療法を考えることに対する否定的な報告であった。一方で骨髄間葉細胞に HGF, FGF を加え培養することにより、非常に可塑性に富む骨髄間葉系細胞由来の MAPC (Multipotent adult progenitor cells) の樹立に成功したとする報告もある^{18,19)}。この結果より、やはり骨髄中のある分画には肝細胞に分化し得る幹細胞群が存在すると考えられる。今後は、血球幹細胞あるいは間葉系幹細胞というのではなく、骨髄細胞中のどの分画が肝細胞に分化するかを新しいシステムを使い評価していく必要がある。臨床応用を考える上で何より大きいのは人の剖検例の結果である。Y 染色体陽性の細胞は実際に男性の donor からの骨髄移植を受けた女性 recipient の肝臓、腸管に確認されている^{11,12,20)}。この結果は骨髄細胞には肝細胞へ分化する可塑性が存在することを強く示唆し、将来再生療法に使えることを示すが、では実際にどのようなシステムで骨髄細胞が肝細胞へと Trans-differentiation するかについては全くわかっていない状況である。臓器形成は図1

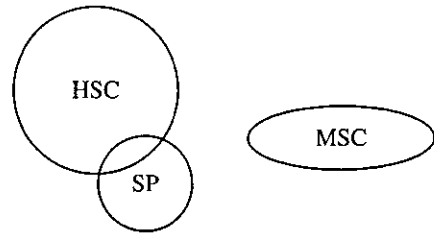


図2 骨髄中の肝幹細胞の候補

のように特殊な微小環境の niche において、分化, 増殖, Apoptosis を繰り返しながら進んでいくと考えられ, 今後肝発生研究を基盤とした詳細なメカニズムの開発が必要と考えられる。一方で Adult stem cell の他の細胞系譜への Trans-differentiation は細胞融合の結果により生じるという報告が相次いでなされた。この実験は薬剤耐性の GFP 陽性骨髄細胞と ES 細胞をある条件下にて培養することにより細胞融合を起こした 4N の GFP 陽性細胞が生じた実験結果から, 成人幹細胞の存在について疑問を投げかけた報告である^{21,22)}。過去の骨髄移植医療において細胞融合が臨床問題になったことはほとんどない。この細胞融合については今後さらに解析が必要になるが, 幹細胞の分化制御機構の解明が今後の再生医療を考える上で最も重要と考える。興味深いことに, 過去のノックアウトマウス解析に伴う肝形成不全は, 炎症性シグナル欠損の KO マウスで認められている。今後さらに詳細な解析が必要になってくるが, 炎症性シグナルと幹細胞分化は今後詳細に解析しなければならない課題と考えられる²³⁻²⁵⁾。

5 Niche, 分化した細胞の運命の問題

最後に細胞の分化過程に伴う微小環境 niche の問題であるが, 細胞の分化には Matrix metalloproteinase 9 (MMP9) などの制御に伴うシグナルが重要な役割を果たしている可能性が示唆された²⁶⁾。MMP は細胞外マ

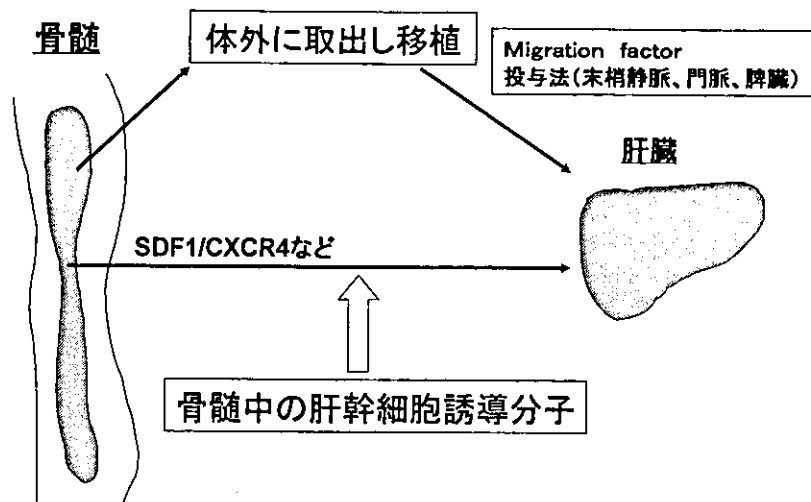


図3 実際に骨髓細胞を使った再生療法

トリックスのそのものを制御し、発生、再生段階においても細胞外マトリックスが非常に重要な役割を果たすと考えられる。今後このような視点での解析が必要になると考えられる。また実際に骨髓から肝細胞に分化した細胞のその後の運命が不明である。いったん骨髓から肝臓に定着した骨髓細胞と、もともと肝臓に存在する肝細胞との関連はどのようになっているのであろうか？これらについても現在全くわかっていない状況である。これらの問題を踏まえ、今後研究を展開する必要がある。

6 骨髓中に内在する幹細胞の肝臓への誘導の可能性

最後に実際に医療の現場を考えた場合の骨髓細胞の投与方法の問題である(図3)。自己骨髓細胞を使った場合の投与方法には、末梢静脈からの投与、脾臓注入、門脈注入が考えられる。末梢から投与した場合には、肝臓への遊走を積極的に促進するケモカインなどの因子の同定が非常に重要と考えられる²⁷⁾。また採取した自己骨髓細胞の単純投与と、何らかの培養を行い体外で骨髓細胞から肝幹細胞を誘導する方法がどちらがよいかについて

は現在のところ全くわからない状況である。最終的には内在の骨髓中の肝幹細胞を血球幹細胞における G-CSF などのような、骨髓細胞を新たに肝細胞に分化させ、さらに障害を受けた肝臓に積極的に遊走させるような因子の同定による効率のよい再生療法の開発を目指した基礎研究は今後重要と考えられる。

7 さいごに

現在、われわれのグループは平成14年より始まった厚生労働省の(基礎研究成果の臨床応用推進事業)の一つとして(自己骨髓細胞を用いた肝臓再生療法)の基礎研究、臨床研究を行っている。効率的な細胞療法(再生療法)の開発のためには以上の問題点の解明と、肝発生、肝再生の統合的な知識の集約が必要であり、今後さらなる解析を進めていく。

文献

- 1) Thomson JA, Odorico JS : Human embryonic stem cell and embryonic germ cell lines. Trends Biotechnol 18 : 53-57, 2000
- 2) Potten CS : Stem cells in gastrointestinal epithelium: numbers, characteristics and death. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci 353 : 821-830, 1998
- 3) Grisham JW, Thorgeirsson SS : Liver stem cells.

- Potten CS (ed.), ACADEMIC PRESS INC, Manchester, 1997
- 4) Gage FH : Mammalian neural stem cells. *Science* 287 : 1433–1438, 2000
 - 5) Suzuki A, Zheng Y, Kondo R et al : Flow-cytometric separation and enrichment of hepatic progenitor cells in the developing mouse liver. *Hepatology* 32 : 1230–1239, 2000
 - 6) Petersen BE, Bowen WC, Patrene KD et al : Bone marrow as a potential source of hepatic oval cells. *Science* 284 : 1168–1170, 1999
 - 7) Alison MR, Poulson R, Jeffery R et al : Hepatocytes from non-hepatic adult stem cells. *Nature* 406 : 257, 2000
 - 8) Theise ND, Badve S, Saxena R et al : Derivation of hepatocytes from bone marrow cells in mice after radiation-induced myeloablation. *Hepatology* 31 : 235–240, 2000
 - 9) Lagasse E, Connors H, Al-Dhalimy M et al : Purified hematopoietic stem cells can differentiate into hepatocytes *in vivo*. *Nat Med* 6 : 1229–1234, 2000
 - 10) Krause DS, Theise ND, Collector MI et al : Multi-organ, multi-lineage engraftment by a single bone marrow-derived stem cell. *Cell* 105 : 369–377, 2001
 - 11) Okamoto R, Yajima T, Yamazaki M et al : Damaged epithelia regenerated by bone marrow-derived cells in the human gastrointestinal tract. *Nat Med* 8 : 1011–1017, 2002
 - 12) Korbling M, Katz RL, Khanna A et al : Hepatocytes and epithelial cells of donor origin in recipients of peripheral-blood stem cells. *N Engl J Med* 346 : 738–746, 2002
 - 13) Gupta S, Rajvanshi P, Aragona E et al : Transplanted hepatocytes proliferate differently after CCl₄ treatment and hepatocyte growth factor infusion. *Am J Physiol* 276 : G629–638, 1999
 - 14) Okabe M, Ikawa M, Kominami K et al : 'Green mice' as a source of ubiquitous green cells. *FEBS Lett* 407 : 313–319, 1997
 - 15) Terai S, Yamaoto N, Omori K et al : A new cell therapy using bone marrow cells to repair damaged liver. *J Gastroenterology* 37 (Suppl XIV) : 162–163, 2002
 - 16) Poulson R, Alison MR, Forbes S et al : Adult stem cell plasticity. *J Pathol* 197 : 441–456, 2002
 - 17) Wagers AJ, Sherwood RI, Christensen JL et al : Little evidence for developmental plasticity of adult hematopoietic stem cells. *Science* 297 : 2256–2259, 2002
 - 18) Schwartz RE, Reyes M, Koodie L et al : Multipotent adult progenitor cells from bone marrow differentiate into functional hepatocyte-like cells. *J Clin Invest* 109 : 1291–1302, 2002
 - 19) Jiang Y, Jahagirdar BN, Reinhardt RL et al : Pluripotency of mesenchymal stem cells derived from adult marrow. *Nature* 418 : 41–49, 2002
 - 20) Theise ND, Nimmakayalu M, Gardner R et al : Liver from bone marrow in humans. *Hepatology* 32 : 11–16, 2000
 - 21) Ying QL, Nichols J, Evans EP et al : Changing potency by spontaneous fusion. *Nature* 416 : 545–548, 2002
 - 22) Terada N, Hamazaki T, Oka M et al : Bone marrow cells adopt the phenotype of other cells by spontaneous cell fusion. *Nature* 416 : 542–545, 2002
 - 23) Beg AA, Sha WC, Bronson RT et al : Embryonic lethality and liver degeneration in mice lacking the RelA component of NF-kappa B. *Nature* 376 : 167–170, 1995
 - 24) Li J, Ning G, Duncan SA : Mammalian hepatocyte differentiation requires the transcription factor HNF-4alpha. *Genes Dev* 14 : 464–474, 2000
 - 25) Nishina H, Vaz C, Billia P et al : Defective liver formation and liver cell apoptosis in mice lacking the stress signaling kinase SEK1/MKK4. *Development* 126 : 505–516, 1999
 - 26) Heissig B, Hattori K, Dias S et al : Recruitment of stem and progenitor cells from the bone marrow niche requires mmp-9 mediated release of kit-ligand. *Cell* 109 : 625–637, 2002
 - 27) Petit I, Szyper-Kravitz M, Nagler A et al : G-CSF induces stem cell mobilization by decreasing bone marrow SDF-1 and up-regulating CXCR4. *Nat Immunol* 3 : 687–694, 2002

Frontiers in

Gastroenterology

CODEN : FRGAF7

対談 Discussion

どうなる, 今後の医療制度

総説 State of the Art

肝細胞癌に対する遺伝子治療の試みと現状

誌上ディベート Debate

脂肪肝は肝硬変になるか

消化器病研究施設紹介 Institute

高知医科大学第1内科学教室

肝癌対策最前線 Hcc

多様化する肝癌治療法 ③移植

膵臓の病理 Pathology

乳頭性病変(膵管内乳頭粘液性腫瘍)由来の浸潤性腫瘍(1)

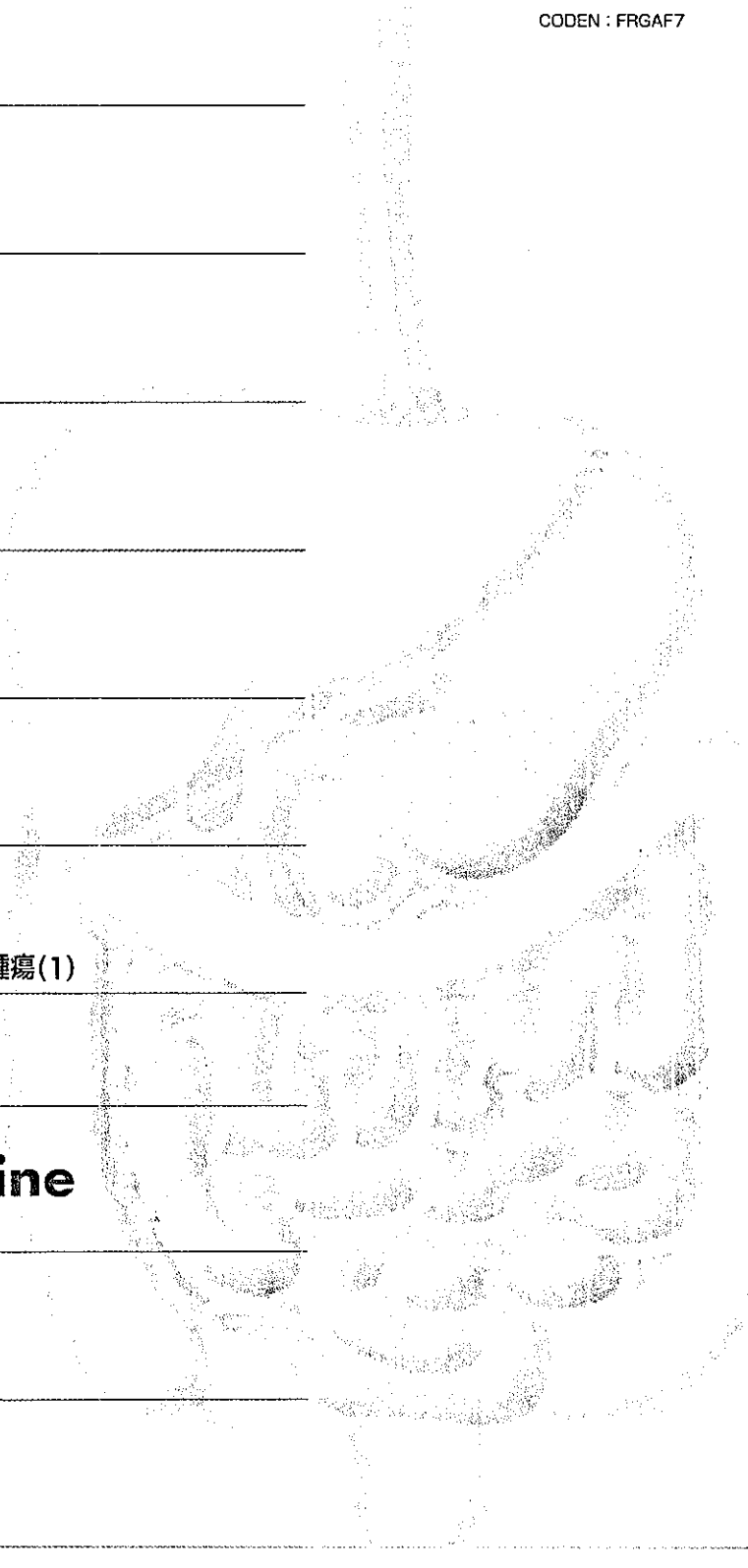
データ解説 Data Analysis

再生医学研究の現状と将来展望 Regenerative Medicine

消化器領域の再生医療の展望

臨床最前線 Meet the Expert

肝臓外科医の熱凝固療法



第1回

消化器領域の再生医療の展望

寺井 崇二 (Terai, Shuji)^{*1}, 沖田 極 (Okita, Kiwamu)^{*2}

^{*1} 山口大学医学部先端分子応用医科学, ^{*2} 同先端分子応用医科学教授

はじめに：再生医学から医療へ

われわれの体は通常小さな傷ならば何もしない状況で何もせずに治癒するが、大きな傷の場合には何らかの処置が必要となる。再生医療というものを、この難治性の傷を治すというイメージで考えると理解しやすい。今回の連載のテーマである消化器疾患としては、難治性の肝不全(肝硬変, 肝癌), クロウン病などの炎症性腸疾患, 短腸症候群, また先天性の食道形成不全症などがあげられる。これらの疾患のなかで特に肝不全については、先駆的な外科医の不断の努力により、特にわが国においては生体肝移植が行われてきた¹⁾²⁾。しかしながら、生体肝移植については依然としてドナー, 手術侵襲の問題など多くの障害がある。そこで新たな治療法として再生医療が期待されている。

最近再生医学の研究が盛んであるが、その研究が真の再生医療として臨床の現場に出るには臨床医の積極的な関与が必要となる。たとえば、非常

に優れた可塑性, 増殖性をもつ骨髄由来幹細胞が樹立されたとする。ではそれが、実際に生体にどのように使えるか、また使用した細胞の運命がどうなるかが、臨床への応用において一番重要なことになる。生物学は確かに発展しているが、それを実際の医療としてどのように使っていくかはまた別次元の問題であり、今後再生医療を実践していく医師は、基礎生物学に対する正確な理解, また倫理的な側面を十分に理解し、再生医学を再生医療へ進めていかなければならない。

生物学の革命的な進歩のなかで

多くの再生医学研究がある意味「バブル」のような多大な期待のなかで行われている。この生物学の進歩には、いくつかの革命的なバイオロジーの発見, 進歩があった。ヒト ES 細胞の発見³⁾, ドリーなどのクローン技術の開発⁴⁾, また組織工学を応用した人工臓器の開発などである。またヒトゲノムプロジェクトによりあらゆる遺伝子が解読され、それをすべての研究者が利用できるよう

になったことも非常に重要な進歩である。このような革命的な生物学の先には、培養あるいはクローン技術などにより再生させた臓器を病気の臓器と取り換えるといった「パーツ医療」の可能性が考えられるが、今この進歩の渦中にあるわれわれ臨床医は何をどう判断し、先端医療を行っていくかが非常に重要になる。最近になり、過去の行われたレトロウイルスベクターを用いた遺伝子治療の治験において、白血病を誘発したと考えられる事例が報告された。遺伝子治療は、不治の病の克服を目的とした情熱をもった臨床医、研究者の手により開発されてきたのであるが、時間経過とともに問題点も明らかになってきた。この遺伝子治療の問題は、われわれのように先端医療として再生医療を志す臨床医にとって無視できない重要な事項である。短期的な治療効果でなく、長い時間経過・予後を判断しながら、われわれ臨床医は基礎生物学者が発見した現象、結果を応用しなければならない。短期的によかったという短絡的な評価は、同時に非常に危うさを並存するだろう。また一方で最近の生物学の発見は、生命倫理観をも変えてきつつある。今の混沌とした時代の中でわれわれ臨床医には、大きな勇気、また慎重さを兼ね備えながら一步一步先端医療を開発する必要がある。

再生医療の対象となる消化器疾患

消化器疾患に対する再生医療の可能性について考えてみたい。歯、皮膚、眼科、整形外科領域では従来、人工レンズ、セラミックス人工骨、自家・同種組織培養などを用い、その機能を補う意味での再生医療が行われてきた^{9)~9)}。しかし、消化器系の臓器は、その機能の複雑さのため、なかなか再生医療そのものが応用しにくい領域である。われわれ消化器病学を専門とする臨床医にとっての再生医療の対象には、慢性肝不全(肝硬変症)、クローン病、短腸症候群、また小児科領域の食道狭窄、食道閉鎖などがあげられる(表1)。消化器

表1 消化器領域の再生医療の対象疾患

- | |
|--|
| <ul style="list-style-type: none"> ・肝不全 ・クローン病 ・短腸症候群 ・食道閉鎖、食道再建 ・糖尿病 |
|--|

領域とは少し違うが、インスリン分泌細胞の作成により糖尿病の治療を積極的に目指すグループの報告もある。これらの病気については、今後、人工肝臓、人工膵臓、人工小腸、あるいは新たな細胞群としてES細胞、骨髄細胞、組織幹細胞、臍帯血細胞、羊膜細胞を用いた細胞療法^{10)~14)}、あるいは増殖因子などを用いた治療法の開発が模索されている。

実際の再生医療における3つの大きなアプローチ

図1に今後の再生医療について考えられるアプローチ、また表2に解決すべき生物学的課題について記載している。今後、①細胞療法、また②人工臓器、組織工学的手法による治療、③体外より増殖因子、転写因子などを導入して細胞、臓器を再生させる治療と大きく3つのアプローチをもとに再生医療技術の開発が進んでいくと考えられる。さらに、これら再生の制御システムにおいてはゲノム、蛋白情報の集約が進んでいき、より効率のよい再生技術の開発につながると考えられる。

1. 細胞療法について

過去に積極的に研究が行われてきた。たとえば肝実質細胞を脾臓に注入し増殖させ、肝機能を代行させることが過去において試みられている¹⁵⁾。これは家族性コレステロール血症の患者から肝細胞を取り出し、体外でレトロウイルスを用いてLDL受容体を組込み、再度体内に戻すという方法である。またCrigler-Najjar症候群において同

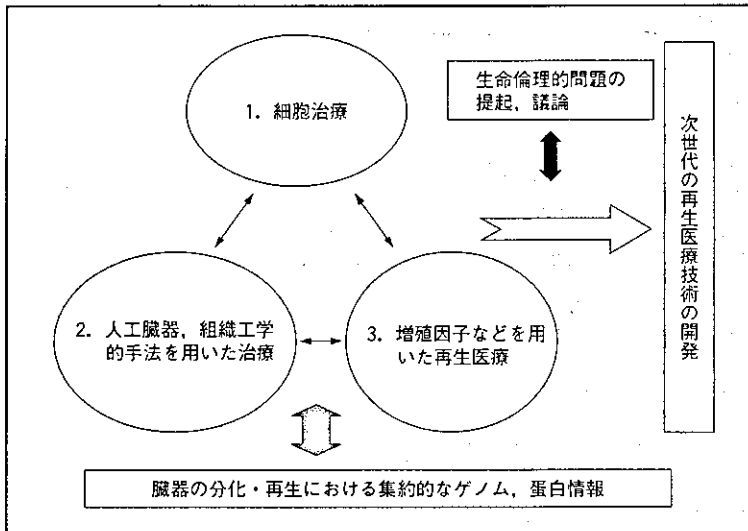


図1 再生医療における3つのアプローチ

様なアプローチが行われた¹⁶⁾。この治療法は大変先駆的であったが、効果の持続時間が一過性であった。一方で糖尿病領域においては Langerhans islet (ラ氏島) からラ氏島細胞をとり糖尿病患者に対する移植療法も行われている¹⁷⁾。

最近の生物学の進歩としては、今までに考えられなかった細胞の可塑性(つまり1つの細胞系譜からほかの細胞系譜への形質転換)が報告されている。また肝臓に存在する肝幹細胞をはじめ、各組織に存在する幹細胞が非常に注目されている¹⁰⁾¹⁸⁾⁻²⁰⁾。特に骨髄中の幹細胞の分化転換の可能性は、移植医療においてその細胞源の得やすさなどから、非常に注目されている²¹⁾⁻²⁴⁾。各臓器に存在する幹細胞の存在が非常にクローズアップされているが、その分化の可塑性制御システム、またその分化した細胞の運命については依然として不明な部分が多い。究極的には、再生医療としては機能不全に陥っている臓器の機能を補うだけの、機能をもった臓器を再生することが目標であるが、幹細胞そのものの研究だけで、再生システムがすべてわかるかは疑問である。今後分離された各幹細胞について、実際の各臓器への定着率、また機能の発現などに関する検討も重要になってく

表2 生物学としての解決すべき問題点

1. 幹細胞の同定、培養増殖法(生体材料も含む)
2. 可塑性の機序の解明
3. 分化制御機構
4. 機能、移植率、成熟臓器としての機能の発揮、またその機能の発揮までの時間
5. 細胞の移植、分化にともなう細胞外マトリックスとの関連、影響
6. 細胞の機能を発揮させるための足場、環境

る。過去の解析により肝臓に分化する可能性があると考えられる骨髄中の細胞は大きく3つあり、**①**血球幹細胞(hematopoietic stem cell : HSC)、**②**間葉系幹細胞(mesenchymal stem cell : MSC)、また最近幹細胞として注目されている**③**SP細胞(side population cell)があげられるが(表2)²⁵⁾、実際に骨髄中のどの分画に肝幹細胞が存在しているかについては非常に混乱している状況である。最近になり、血球幹細胞がほかの細胞系譜への分化転換(trans-differentiation)することは少ないのではないかという反論が出てきている²⁶⁾。この報告は骨髄細胞を用いた肝臓再生療法を考えることに対する否定的な報告であった。一方で骨髄間葉細胞を肝細胞増殖因子(hepatocyte growth factor : HGF)、線維芽細胞増殖因子

(fibroblast growth factor : FGF)を加え培養することにより、非常に可塑性に富む骨髄間葉系細胞由来の MAPC (multipotent adult progenitor cells) の樹立に成功したとする報告もある²⁷⁾²⁸⁾。また培養条件の工夫により骨髄細胞を肝細胞に分化させた報告もある²⁹⁾。これらの結果は、やはり骨髄中のある分画には肝細胞に分化しうる幹細胞群が存在することが示される。今後は、血球幹細胞あるいは間葉系幹細胞というのではなく、骨髄細胞中のどの分画が肝細胞に分化するかを、新しいシステムを使い評価していく必要がある。また幹細胞が分化する過程での環境“niche”の問題なども検討する必要がある³⁰⁾。

2. 人工臓器, 組織工学的手法を用いたアプローチ

細胞の可塑性に頼るだけでは十分な機能をもった臓器への再生が難しいと考えるグループがある。特に肝臓だけは非常に多彩な機能をもっているため、機能を補うという面においてはブタ肝細胞を用いたバイオ人工肝はかなり確立した有用な方法であり、すでに米国などでは急性肝不全に対する治療法として良好な成績をあげている³¹⁾。またわが国においても不死化した肝細胞を細胞源とする研究も行われている³²⁾。さらに肝臓として複雑な機能を発揮するためには肝細胞索構造を作るなどの3次元構造の構築が非常に重要になってくる³³⁾。この組織構築という面を考えた場合、現在の肝細胞を使った治療ではなく、1つの幹細胞から肝細胞、胆管細胞、内皮細胞、星細胞などを作成して、肝臓を構築するのが理想であり、人工の装置のなかでそのような細胞構築が作られれば、さらに効率によい「人工肝臓」を実現する可能性がある。そのためには肝幹細胞、小型肝細胞あるいはES細胞を用いた人工肝臓の開発が期待される¹¹⁾¹⁸⁾³⁴⁾。

一方でバイオマテリアルを生体内で細胞を分化・増殖させ、生体組織の再生を誘導する tissue engineering (組織工学)が非常に重要である。幹

細胞が重要であることについてはいうまでもないが、この組織工学の研究がさらに重要視されることは間違いない³⁵⁾。たとえば、人工食道の開発のプロジェクトにおいて、細胞の増殖の「場」としてコラーゲンスポンジなどが用いられている³⁶⁾。また骨髄間葉系幹細胞を細胞源として応用する研究も行われている³⁷⁾。さらに短腸症候群に対する新たな再生療法の開発も行われている。この方法はコラーゲンの代わりに、生体で分解されるPGA (polyglycolic acid)の線維からメッシュ状のポリマーと分離した小腸粘膜の細胞塊を移植する方法である³⁸⁾。これらの生体材料を組合わせた再生療法は今後の再生医療の発展に必要不可欠と思われる。

3. 増殖因子, 転写因子などの用いた研究

一方で、移植をとまなわな再生医療の実用化を目指した研究も行われている。たとえば、HGFの遺伝子導入による治療、あるいは実際にHGFを製剤化して投与し肝臓再生を促す治療法が京都大学医学部附属病院探索センターを中心に臨床開発中である³⁹⁾⁴⁰⁾。またES細胞、小腸由来の幹細胞にPDX-1などの遺伝子を導入することでインスリン分泌細胞を作る試みも行われている⁴¹⁾⁴²⁾。膵臓のインスリン細胞への分化はPDX-1というマスター遺伝子によりかなり効率よく制御されるが、このような手法は、今後膵臓内分泌細胞以外にその臓器の特異性を決める決定的なマスター遺伝子が見つかった場合は非常に有効な治療法になると考えられる。再生メカニズムの理解には発生システムの基本原理の理解が非常に重要である。発生段階において、体の構造を決めるとき、まず位置情報を決めるため、体軸遺伝子が働き、次に体節形成遺伝子、そして体の体節固有のパーツを形成させる Hometix 遺伝子が働く。このシステムが各臓器を再生させるときにどのように働くかは全く不明である。この制御だったシステムが明らかになれば、発生研究の基盤研究を再生医

療に応用させることが可能になる。

おわりに

現在、多くの基礎生物学者、バイオマテリアルの研究者、そして臨床医が再生医学、医療の分野において精力的に研究を行っており、この再生医療研究がわが国において進んでいる。この新たな再生医療が学問分野として発展し、実際の医療技術になるためには、将来起こりうる生命倫理の問題について常に意識しながら臨床研究開発を行っていく必要がある。ベッドサイドからベンチへ、また逆にベンチからベッドサイドへと、多方面の研究者が参加し、何とか不治の病を克服するという情熱をもって進んでいくことで、再生医学は再生医療に発展できると考える。また新たに発見された事実について、先入観にとらわれることなく柔軟な発想で受け入れ、さらにその応用へと戦略的に策を講じることが、再生医療研究に従事するものの大事な姿勢であろう。再生医療を行う場合、従来と違う生命倫理基準が重要になるが、危険性を含めて十分に留意したうえで、批判を恐れず前進する努力をつづけなければならない。今世紀の先端医療技術の開発のために、この分野に参入する多くの研究者が皆で協力し、不治の病と戦っている患者に夢と希望を与えられるような画期的な医療を将来実現したいものである。また今世紀、多くの新しい再生医療技術がわが国から世界に発信できることを期待して本稿を締めくくりたい。

Reference

- 1) 後藤正治：生体肝移植—京大チームの挑戦—。岩波新書 804
- 2) Kawasaki S, Makuuchi M, Ishizone S, Matsunami H, Terada M, Kawarazaki H : Liver regeneration in recipients and donors after transplantation. *Lancet* 339 : 580-581, 1992
- 3) Thomson JA, Marshall VS : Primate embryonic stem cells. *Curr Top Dev Biol* 38 : 133-165, 1998
- 4) Wilmut I, Schnieke AE, McWhir J, Kind AJ, Campbell KH : Viable offspring derived from fetal and adult mammalian cells. *Nature* 385 : 810-813, 1997
- 5) Langer R, Vacanti JP : Tissue engineering. *Science* 260 : 920-926, 1993
- 6) Green H, Kehinde O, Thomas J : Growth of cultured human epidermal cells into multiple epithelia suitable for grafting. *Proc Natl Acad Sci U S A* 76 : 5665-5668, 1979
- 7) Brittberg M, Lindahl A, Nilsson A, Ohlsson C, Isaksson O, Peterson L : Treatment of deep cartilage defects in the knee with autologous chondrocyte transplantation. *N Engl J Med* 331 : 889-895, 1994
- 8) Ueda M, Tohnai I, Nakai H : Tissue engineering research in oral implant surgery. *Artif Organs* 25 : 164-171, 2001
- 9) Tsubota K, Satake Y, Kaido M, Shinozaki N, Shimmura S, Bissen-Miyajima H, Shimazaki J : Treatment of severe ocular-surface disorders with corneal epithelial stem-cell transplantation. *N Engl J Med* 340 : 1697-1703, 1999
- 10) Suzuki A, Zheng Yw, YW, Kaneko S, Onodera M, Fukao K, Nakauchi H, Taniguchi H : Clonal identification and characterization of self-renewing pluripotent stem cells in the developing liver. *J Cell Biol* 156 : 173-184, 2002
- 11) Mitaka T, Sato F, Mizuguchi T, Yokono T, Mochizuki Y : Reconstruction of hepatic organoid by rat small hepatocytes and hepatic nonparenchymal cells. *Hepatology* 29 : 111-125, 1999
- 12) Ise H, Takashima S, Ou Cyou, Akaike T, Nikaidou T : The isolation of hepatic progenitor cells from adult liver and human amnion. *KAN TAN SUI* 46 : 345-353, 2003
- 13) Terai S, Yamaoto N, Omori K, Sakaida I, Okita K : A new cell therapy using bone marrow cells to repair damaged liver. *J Gastroenterology* 37(Suppl.XIV) : 162-163, 2002
- 14) Kakinuma S, Tanaka Y, Chinzei R, Watanabe M, Shimizu-Saito K, Hara Y, Teramoto K, Arai S, Sato C, Takase K, et al : Human umbilical cord blood as a source of transplantable hepatic progenitor cells. *Stem Cells* 21 : 217-227, 2003
- 15) Grossman M, Rader DJ, Muller DW, Kolansky DM, Kozarsky K, Clark BJ 3rd, Stein EA, Lupien PJ, Brewer HB Jr., Raper SE, et al : A pilot study of ex vivo gene therapy for homozygous familial hypercholesterolemia. *Nat Med* 1 : 1148-1154, 1995
- 16) Fox IJ, Chowdhury JR, Kaufman SS, Goertzen TC, Chowdhury NR, Warkentin PI, Dorko K, Sauter BV, Strom SC : Treatment of the Crigler-Najjar syn-

- drome type I with hepatocyte transplantation. *N Engl J Med* 338 : 1422-1426, 1998
- 17) Najarian JS, Sutherland DE, Baumgartner D, Burke B, Rynasiewicz JJ, Matas AJ, Goetz FC : Total or near total pancreatectomy and islet autotransplantation for treatment of chronic pancreatitis. *Ann Surg* 192 : 526-542, 1980
 - 18) Grisham JW, Thorgeirsson SS : Liver stem cells. Academic Press Inc., Manchester, 233-282, 1997
 - 19) Potten CS : Stem cells in gastrointestinal epithelium : numbers, characteristics and death. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 353 : 821-830, 1998
 - 20) Suzuki A, Zheng Y, Kondo R, Kusakabe M, Takada Y, Fukao K, Nakauchi H, Taniguchi H : Flow-cytometric separation and enrichment of hepatic progenitor cells in the developing mouse liver. *Hepatology* 32 : 1230-1239, 2000
 - 21) Alison MR, Poulson R, Jeffery R, Dhillon AP, Quaglia A, Jacob J, Novelli M, Prentice G, Williamson J, Wright NA : Hepatocytes from non-hepatic adult stem cells. *Nature* 406 : 257, 2000
 - 22) Theise ND, Nimmakayalu M, Gardner R, Illei PB, Morgan G, Teperman L, Henegariu O, Krause DS : Liver from bone marrow in humans. *Hepatology* 32 : 11-16, 2000
 - 23) Okamoto R, Yajima T, Yamazaki M, Kanai T, Mukai M, Okamoto S, Ikeda Y, Hibi T, Inazawa J, Watanabe M : Damaged epithelia regenerated by bone marrow-derived cells in the human gastrointestinal tract. *Nat Med* 8 : 1011-1017, 2002
 - 24) Korbling M, Katz RL, Khanna A, Ruifrok AC, Rondon G, Albitar M, Champlin RE, Estrov Z : Hepatocytes and epithelial cells of donor origin in recipients of peripheral-blood stem cells. *N Engl J Med* 346 : 738-746, 2002
 - 25) Uchida N, Fujisaki T, Eaves AC, Eaves CJ : Transplantable hematopoietic stem cells in human fetal liver have a CD34 (+) side population (SP) phenotype. *J Clin Invest* 108 : 1071-1077, 2001
 - 26) Wagers AJ, Sherwood RI, Christensen JL, Weissman IL : Little evidence for developmental plasticity of adult hematopoietic stem cells. *Science* 297 : 2256-2259, 2002
 - 27) Schwartz RE, Reyes M, Koodie L, Jiang Y, Blackstad M, Lund T, Lenvik T, Johnson S, Hu WS, Verfaillie CM : Multipotent adult progenitor cells from bone marrow differentiate into functional hepatocyte-like cells. *J Clin Invest* 109 : 1291-1302, 2002
 - 28) Jiang Y, Jahagirdar BN, Reinhardt RL, Schwartz RE, Keene CD, Ortiz-Gonzalez XR, Reyes M, Lenvik T, Lund T, Blackstad M, et al : Pluripotency of mesenchymal stem cells derived from adult marrow. *Nature* 418 : 41-49, 2002
 - 29) Miyazaki M, Akiyama I, Sakaguchi M, Nakashima E, Okada M, Kataoka K, Huh NH : Improved conditions to induce hepatocytes from rat bone marrow cells in culture. *Biochem Biophys Res Commun* 298 : 24-30, 2002
 - 30) Nishimura EK, Jordan SA, Oshima H, Yoshida H, Osawa M, Moriyama M, Jackson IJ, Barrandon Y, Miyachi Y, Nishikawa S : Dominant role of the niche in melanocyte stem-cell fate determination. *Nature* 416 : 854-860, 2002
 - 31) Khalili TM, Navarro A, Ting P, Kamohara Y, Arkadopoulos N, Solomon BA, Demetriou AA, Rozga J : Bioartificial liver treatment prolongs survival and lowers intracranial pressure in pigs with fulminant hepatic failure. *Artif Organs* 25 : 566-570, 2001
 - 32) Kobayashi N, Fujiwara T, Westerman KA, Inoue Y, Sakaguchi M, Noguchi H, Miyazaki M, Cai J, Tanaka N, Fox IJ, et al : Prevention of acute liver failure in rats with reversibly immortalized human hepatocytes. *Science* 287 : 1258-1262, 2000
 - 33) Michalopoulos GK, Bowen WC, Mule K, Stolz DB : Histological organization in hepatocyte organoid cultures. *Am J Pathol* 159 : 1877-1887, 2001
 - 34) Yasui O, Miura N, Terada K, Kawarada Y, Koyama K, Sugiyama T : Isolation of oval cells from Long-Evans Cinnamon rats and their transformation into hepatocytes in vivo in the rat liver. *Hepatology* 25 : 329-334, 1997
 - 35) Tabata H : The importance of drug delivery systems in tissue engineering 3 : 80-89, 2000
 - 36) Komuro H, Nakamura T, Kaneko M, Nakanishi Y, Shimizu Y : Application of collagen sponge scaffold to muscular defects of the esophagus : an experimental study in piglets. *J Pediatr Surg* 37 : 1409-1413, 2002
 - 37) Hori Y, Nakamura T, Kimura D, Kaino K, Kurokawa Y, Satomi S, Shimizu Y : Experimental study on tissue engineering of the small intestine by mesenchymal stem cell seeding. *J Surg Res* 102 : 156-160, 2002
 - 38) Kaihara S, Kim SS, Benvenuto M, Choi R, Kim BS, Mooney D, Tanaka K, Vacanti JP : Successful anastomosis between tissue-engineered intestine and native small bowel. *Transplantation* 67 : 241-245, 1999
 - 39) Kosai K, Matsumoto K, Funakoshi H, Nakamura T :

- Hepatocyte growth factor prevents endotoxin-induced lethal hepatic failure in mice. *Hepatology* 30 : 151-159, 1999
- 40) Miyazawa K, Tsubouchi H, Naka D, Takahashi K, Okigaki M, Arakaki N, Nakayama H, Hirono S, Sakiyama O, et al : Molecular cloning and sequence analysis of cDNA for human hepatocyte growth factor. *Biochem Biophys Res Commun* 163 : 967-973, 1989
- 41) Zhang YQ, Zhang H, Maeshima A, Kurihara H, Miyagawa J, Takeuchi T, Kojima I : Up-regulation of the expression of activins in the pancreatic duct by reduction of the beta-cell mass. *Endocrinology* 143 : 3540-3547, 2002
- 42) Kojima H, Nakamura T, Fujita Y, Kishi A, Fujimiya M, Yamada S, Kudo M, Nishio Y, Maegawa H, Haneda M, et al : Combined expression of pancreatic duodenal homeobox 1 and islet factor 1 induces immature enterocytes to produce insulin. *Diabetes* 51 : 1398-1408, 2002
- 43) Taniguchi H, Yamato E, Tashiro F, Ikegami H, Ogi-hara T, Miyazaki J : beta-cell neogenesis induced by adenovirus-mediated gene delivery of transcription factor pdx-1 into mouse pancreas. *Gene Ther* 10 : 15-23, 2003



肝臓の再生医療 —高齢化社会に対応する次世代の 肝臓再生療法開発を目指して—

寺井崇二 沖田 極

山口大学医学部先端分子応用医科学消化器病態内科学

要旨：わが国では国民の平均寿命が急速に伸長し今や世界の最長寿国とされている。今後の見通しとしては、全人口に占める65歳以上の割合が2005年には19.6%、2025年には27.4%にまで上昇すると予測される、このような超高齢化社会に対しては、迅速かつ適切な諸政策が必要である。理想的には、高齢社会においても高齢者が疾病や障害をできるだけ軽減し、自立を促進し健やかに生活できる「長寿社会」を実現する

肝臓の再生医療

—高齢化社会に対応する次世代の 肝臓再生療法開発を目指して—

寺井 崇二 沖田 極

山口大学医学部先端分子応用医科学消化器病態内科学

要旨：わが国では国民の平均寿命が急速に伸長し今や世界の最長寿国とされている。今後の見通しとしては、全人口に占める65歳以上の割合が2005年には19.6%、2025年には27.4%にまで上昇すると予測される。このような超高齢化社会に対しては、迅速かつ適切な諸政策が必要である。理想的には、高齢社会においても高齢者が疾病や障害をできるだけ軽減し、自立を促進し健やかに生活できる「長寿社会」を実現することである。この「長寿社会」の実現のために、再生医学を利用した医療技術の応用研究が必要と考える。再生医療は、細胞療法、増殖因子等を用いた治療、また人工の装置を用いた人工臓器の3つの大きなアプローチで現在開発が進行中である。本稿では、これらの現状を説明するとともに今後の高齢者に対する肝臓再生医療について述べる。

Key words 肝臓再生, 高齢化社会, 再生医療

はじめに

わが国では国民の平均寿命が急速に伸長し今や世界の最長寿国とされている。その傾向は世界の先進諸国に共通するもので、その原因としては、経済成長に伴う国民生活一般の向上、公衆衛生の改善、医療技術の目覚ましい進歩などが挙げられる。今後の見通しとしては、全人口に占める65歳以上の割合が2005年には19.6%、2025年には27.4%にまで上昇すると予測される。このような超高齢化社会に対しては、迅速かつ適切な諸政策が必要である。理想的には、高齢社会においても高齢者が疾病や障害をできるだけ軽減し、自立を促進し健やかに生活できる「長寿社会」を実現することである。この「長寿社会」の実現のために今後 (1) 老年医学、医療全般に関する基礎的研究、ここに述べる (2) 再生医学を利用した医療技術の応用

研究、また高齢者を受け入れる社会福祉も含めた (3) 社会医学、福祉の整備が必要となる。消化器の疾患は、人が生きていくために必要な「摂食する」という最も根本的な問題に深くかかわる。そのため「長寿社会」の実現のためには、老年消化器病学の診断法、治療法の確立は重要と考える。理想的には、高齢者に対する治療法は、治療に伴いなるべく寝たきりにならないように侵襲の少ない治療法の開発が必要となり、このような観点より考えた治療法の開発が必要になる。

I. 肝移植に代わる新たな再生療法の開発の必要性

現在肝不全患者に対する究極的な治療法としては生体肝移植法などが開発確立され実際臨床の現場で施行されている。しかしながら依然としてドナー不足や手術侵襲が大きいことが問題になっている。実際に肝移植の成功率は70~80%で、術後も長期にわたり免疫抑制剤を必要とするため、その適応は末期の重症の肝障害患者に限定される。また手術侵襲も大きく、実際に高齢者が移植を希

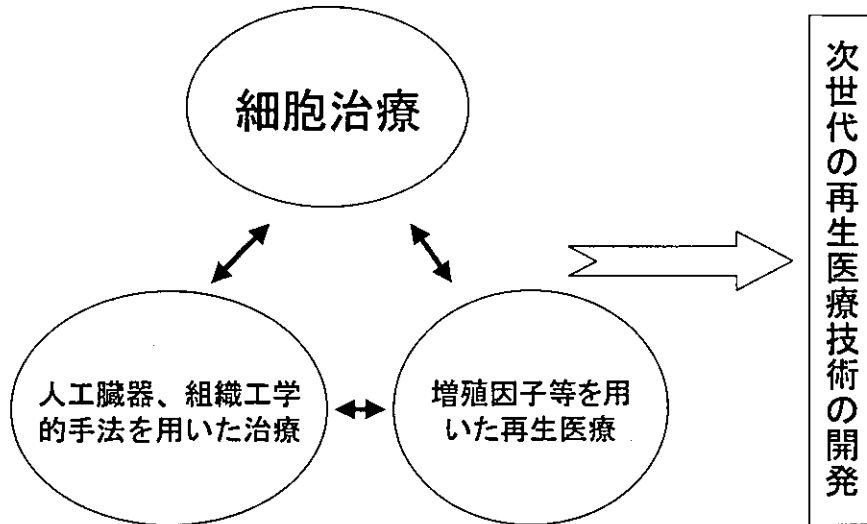


図1

望した場合、肝臓移植に伴う Quality of life, また移植手術に伴う長期の肝不全の合併に伴う多臓器の状態なども考慮に入れる必要がある。また高齢者レシピエントに対してはドナー自体も高齢者になり、肝臓摘出に伴う危険性はより大きくなると考えられる。このため高齢者に対する肝移植はかなり限定した適応になる。今後の高齢化社会に対する対策としては、高齢者に対する生体肝移植にかわる次世代の再生療法の開発の必要があると考えられる。

II. 再生医療の開発への期待と3つの大きなアプローチ

図1に今後の再生医療について現在主に考えられているアプローチ、また表1に解決すべき生物学的課題について記載している。今後の再生医療技術の開発は、(A)細胞療法、また(B)体外より増殖因子、転写因子等を導入して臓器を再生させる治療、(C)人工臓器、組織工学的的手法による治療、と大きく3つのアプローチをもとに進んでいくと考えられる。さらに再生の制御システムにおいて、ゲノム、蛋白情報の集約が進んでいき、より効率のよい再生技術の開発につながると考えられる。その中でも、特に細胞療法あるいは増殖因子等を用いた再生療法は生体に対して侵襲が少ないと考えられ、また高齢者に対するQOLの面からも非常に期待される。

表1 解決すべき問題点

1. 幹細胞の同定, 培養増殖法 (生体材料も含め)
2. 可塑性の機序の解明
3. 分化制御機構
4. 機能, 移植率, 成熟臓器としての機能の発揮, またその機能の発揮までの時間
5. 細胞の移植, 分化に伴う細胞外マトリクスとの関連, 影響
6. 細胞の機能を発揮させるための足場, 環境

1. 骨髄細胞を用いた肝臓再生療法への期待

最近の生物学の進歩としては、今までに考えられなかった細胞の可塑性 (つまり一つの細胞系譜から他の細胞系譜へ形質転換) が報告されている。特に骨髄中の幹細胞の分化転換の可能性は、移植医療においてその細胞源の得やすさなどから、非常に注目されている¹⁻⁴⁾。低侵襲に細胞源として得やすい骨髄中の幹細胞を用いた肝臓再生療法が開発されれば、生体肝移植に比べ、より低侵襲で治療が行える可能性が高く、この治療法が開発されればより積極的に高齢者へ応用できると考える。現在のところ肝臓に分化する可能性があると考えられる骨髄中の細胞は大きく3つ、血球幹細胞 (hematopoietic stem cell; HSC)、間葉系幹細胞 (mesenchymal stem cell, MSC) また最近幹細胞として注目されている Side population cell (SP細胞) があげられるが (図2)⁵⁾、実際に骨髄中にどの分画に肝幹細胞が存在しているかについては非