

200838076A

厚生労働省科学研究費補助金
厚生労働科学特別研究事業

ヒト幹細胞を用いた細胞・組織加工医薬品等の品質及び安全性の
確保のあり方に関する研究

平成 20 年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 早 川 堯 夫

平成 21 (2009) 年 4 月

目次

I. 総括研究報告

- ヒト幹細胞を用いた細胞・組織加工医薬品等の品質・安全性確保に関する研究 2
早川 堯夫

II. 分担研究報告

1. ヒト幹細胞の利用上の留意点 82
梅澤 明弘
2. 間葉系幹細胞を用いた細胞治療／遺伝子治療の開発 85
小澤 敬也
3. 人工多能性幹細胞(iPS細胞)の臨床応用における課題と展望 90
山中 伸弥 石井 哲也
4. 再生医療実用に向けた医療組織工学の現状と展望 95
大和 雅之
5. ヒト幹細胞臨床研究指針詳解 99
澤 芳樹 松山 晃文
6. ヒト幹細胞、ES細胞、iPS細胞に求められる品質・安全性確保のための要件 109
についての研究
山口 照英
7. (特別研究報告) 欧州連合における新しい先端医療製品審査体制 120
早川 堯夫 佐藤 陽治

Appendix 1 幹細胞臨床研究ガイドライン、国際幹細胞研究学会、2008年12月3日
(仮訳)

Appendix 2 Guidelines for the Clinical Translation of Stem Cells, ISSCR,
December 3, 2008

総括研究報告書

ヒト幹細胞を用いた細胞・組織加工医薬品等の品質・安全性確保に関する研究

主任研究者 早川 堯夫 近畿大学 薬学総合研究所 所長

細胞・組織加工医薬品等による再生医療は、ヒトの臓器や組織の確保が難しいわが国の医療状況下において強く期待されており、研究の進歩に伴う技術的な実現可能性の高まりとともに、医療としての実用化を望む声がますます強くなっている。

また、2007年11月の総合科学技術会議において、その研究成果が注目されている人工多能性幹細胞(iPS細胞)について意見交換が行われ、今後、再生医療研究の加速のための支援のあり方等を検討することが必要という意見が出されたが、その後具体的な検討が進められる中で、わが国を挙げて再生医療の実用化に向けた動きが急速に進められており、近い将来に予想される製品の評価を円滑に進めるための準備を早期に行う必要がある。

再生医療におけるヒト幹細胞の活用について、ヒト胚性幹細胞は倫理上使用が限定され実用化は困難とされていたが、最近、米国ではその使用が認められた。さらに間葉系幹細胞やiPS細胞については国際的に実用化に向けた研究開発が行われている。実用化の為に必要な要件を開発早期から示すことは、これらをより迅速に実用化するために必須であるが、現在示されている指針は平成18年7月3日付け厚生労働省健康局長通知健発第0703003号「ヒト幹細胞を用いる臨床研究に関する指針の施行等について」のみである。

一方、平成18・19年度の厚生労働科学研究事業でわが国の再生医療を適正な規制のもと推進するため、急速に発展する学問・技術、倫理上の観点、国際的動向等を反映した安全性評価基準の作成など規制のあり方について検討し、「ヒト由来細胞・組織加工医薬品等の品質及び安全性の確保に関する指針」の改定案を作成した。この改定案は治療に使用される細胞・組織加工医薬品等全般に関するものである。近年その研究成果が注目されているヒト体性幹細胞、ヒトES細胞、ヒトiPS細胞等のヒト幹細胞をより早期に実用化するためには、これらに特化した留意事項についてさらに深く検討する必要がある。

本研究は、ヒト幹細胞の細胞・組織加工医薬品等への利用に関連した学問・技術の進歩、倫理上の重要ポイント、各種規制、国際動向等を調査・研究し、適切な安全性評価基準の作成や規制のあり方を検討することにより、ヒト幹細胞由来製品の実用化の推進を図ることを目的とする。本年は、以下のような研究結果を得た。

①ヒト体性幹細胞、ヒトES細胞、ヒトiPS細胞を利用する細胞・組織利用製品の製造と臨床応用に関する科学技術面からみた現状と将来について、最新の研究や知見をもとに明らかにした。とくに、ヒト間葉系幹細胞の供給源、各種疾病に対する細胞治療・再生医療

や遺伝子治療を含む臨床応用、iPS 細胞の樹立から分化誘導、臨床応用における課題と展望、再生医療実用化に向けた医療組織工学の必要性やその現状と展望などについての検討結果を提示した。

②わが国における「ヒト幹細胞を用いる臨床研究に関する指針」の内容や意義について詳細な解析、検討を行うとともに、ヒト幹細胞臨床研究の審査についても考察し、今後、向かうべき方向や展望について提言した。

③2008年2月及び9月に通知された「ヒト（自己）由来細胞・組織加工医薬品等の品質及び安全性の確保に関する指針（薬食発第0208003号）」および対応する「同種指針（薬食発第0912006号）」、2008年末に公表された国際幹細胞研究学会（International society of stem cell research: ISSCR）による幹細胞臨床研究のガイドライン、2008年4月にFDAで実施された第45回細胞治療遺伝子治療諮問会議におけるヒトES細胞由来細胞加工製品の品質特性、非臨床試験、患者モニタリングに関するレポート、などをもとに詳細な解析、検討を行い、ヒト幹細胞、ES細胞、iPS細胞及び由来製品に求められる品質・安全性確保のための要件・要素を抽出した。

④2009年欧州医薬品庁（EMA）が先端医療に関する委員会（Committee for Advanced Therapy: CAT）を立ち上げ、活動を開始したので、組織面、運用面等に関する情報収集を行い、わが国の制度、規制のあり方と比較し、評価・解析した。

⑤これらを研究班会議において総合的に解析、討議、整理した。その結果、ヒト間葉系幹細胞等を中心とする体性幹細胞、iPS細胞、ES細胞などに由来する製品の臨床応用に向けて、研究、開発、確認申請、評価等を効率的、効果的、合理的に行う上で、必要と思われる技術、製造方法、特性解析方法、品質管理方法及び安定性評価に関する具体的留意事項、安全性及び有効性に関する各種データとしてどのようなものがあるかに関しては、これらの3種類の原料細胞それぞれに特化した形でまとめる方向性が打ち出された。

分担研究者

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

小澤 敬也 自治医科大学 血液内科学 遺伝子治療学血液学部門 教授

山中 伸弥 京都大学 物質・細胞統合システム拠点 iPS 細胞研究センター 教授

大和 雅之 東京女子医科大学 先端生命医科学研究所 准教授

澤 芳樹 大阪大学大学院 医学系研究科 外科学講座 心臓血管外科学 教授

山口 照英 国立医薬品食品衛生研究所 生物薬品部 部長

協力研究者

石井 哲也 京都大学 物質・細胞統合システム拠点 iPS 細胞研究センター フェロー

佐藤 陽治 国立医薬品食品衛生研究所 遺伝子細胞医薬部 室長

中内 啓光 東京大学 医科学研究所 幹細胞治療研究分野 教授

松山 晃文 大阪大学 医学部附属病院 未来医療センター 准教授

安藤 剛 独立行政法人 医薬品医療機器総合機構 生物系審査第一部 審査専門員

鹿野 真弓 独立行政法人 医薬品医療機器総合機構 生物系審査第二部 部長

嶽北 和宏 独立行政法人 医薬品医療機器総合機構 生物系審査第二部 審査専門員

田中 克平 独立行政法人 医薬品医療機器総合機構 生物系審査第一部 部長

掛樋 一晃 近畿大学 薬学部 教授

A. 研究目的

細胞・組織加工医薬品等による再生医療は、ヒトの臓器や組織の確保が難しいわが国の医療状況下において強く期待されており、研究の進歩に伴う技術的な実現可能性の高まりとともに、医療としての実用化を望む声がますます強くなっている。

また、2007年11月の総合科学技術会議において、その研究成果が注目されている人工多能性幹細胞（iPS細胞）について意見交換が行われ、今後、再生医療研究の加速のための支援のあり方等を検討することが必要という意見が出されたが、その後具体的な検討が進められる中で、わが国を挙げて再生医療の実用化に向けた動きが急速に進められており、近い将来に予想される製品の評価を円滑に進めるための準備を早期に行う必要がある。

ヒト幹細胞について、ヒト胚性幹細胞は倫理上使用が限定され実用化は困難とされていたが、最近、米国ではその使用が認められ、さらに間葉系幹細胞や iPS 細胞については国際的に実用化に向けた研究開発が行われている。実用化の為に必要な要件を開発早期から示すことは、これらをより迅速に実用化するために必須であるが、現在示されている指針は平成18年7月3日付け厚生労働省健康局長通知健発第0703003号「ヒト幹細胞を用いる臨床研究に関する指針の施行等について」のみである。

平成18・19年度の厚生労働科学研究事業でわが国の再生医療を適正な規制のもと推進するため、急速に発展する学問・技

術、倫理上の観点、国際的動向等を反映した安全性評価基準の作成など規制のあり方について検討し、「ヒト由来細胞・組織加工医薬品等の品質及び安全性の確保に関する指針」の改定案を作成した。

本研究は、ヒト幹細胞を細胞・組織加工医薬品等として実用化するための必要な要件について、平成19年度の厚生労働科学研究事業で完成した「ヒト由来細胞・組織加工医薬品等の品質及び安全性の確保に関する指針」の改定案を基本として、必要に応じて欧米の規制担当者や国内外の研究者への聞き取りなども含めて深く掘り下げて調査・研究し、品質・安全性評価基準を作成するなどヒト幹細胞の実用化のための規制環境の充実整備を図ることにより、わが国のヒト幹細胞の迅速な実用化の基盤を作ることを目的としている。

B. 研究方法

わが国の再生医療を適正な規制のもと推進していくために平成18・19年度の厚生労働科学研究事業で急速に発展する学問・技術、倫理上の観点、国際的動向等を反映した安全性評価基準の作成など規制のあり方について検討し、通知の改定案を作成した。この改定案は治療に使用される細胞・組織加工医薬品等全般に関するものである。近年その研究成果が注目されているヒト間葉系幹細胞、ヒト iPS 細胞等のヒト幹細胞をより早期に実用化するためには、これらに特化した留意事項についてさらに深く検討する必要がある。そのため、以下のような方法により研究を実施した。

① ヒト幹細胞を利用した細胞・組織加工医薬品等の臨床応用に際して、研究、開発、確認申請、評価等を効率的、効果的、合理的に行う上で、必要と思われる技術、細胞・組織加工医薬品等の製造方法、特性解析方法、品質管理方法及び安定性評価に関する具体的留意事項、安全性及び有効性に関する各種データ並びに各種関連ガイダンス等について、ヒト幹細胞等の研究者や企業などから意見を徴するとともに、適宜実験を行い、それらを解析、整理する（梅澤、澤、山口、大和、山中）。また、個人の人権や情報の保護、社会的理解や認知のもとで再生医療が実施されるよう、ドナー、レシピエント等に対し倫理上配慮すべき重要点などについても検討を深めた。

② ヒト幹細胞を利用した細胞・組織加工医薬品等にかかる国内外の規制の根拠や規制導入の背景、薬事以外の関係法令（例えば海外の公衆衛生法など）、ヒト幹細胞を利用した細胞・組織加工医薬品等の規制の対象範囲（最小限の保存処理を除き加工を行わない臓器や組織との関係）、平成 18 年 7 月 3 日付け厚生労働省健康局長通知 健発第 0703003 号「ヒト幹細胞を用いる臨床研究に関する指針の施行等について」等の既存、あるいは昨年度までに作成した評価ガイダンスなどについて、必要に応じて欧米の規制担当者への聞き取りなども含めて深く掘り下げて調査・研究を行い、それらの解析・評価を含めてわが国におけるヒ

ト幹細胞を利用した細胞・組織加工医薬品等にかかる規制の枠組みなど、制度のあり方そのものを検討する上での参考とした（梅澤、澤、山口、大和、山中）。

③ ①、②を総合的に勘案して、書面にて提示可能な留意事項等については、ガイダンス案を作成する。実験によるデータの作成や適切な技術の活用が必要な場合については、実施の留意点について提案する。

以上の研究を遂行するために、研究代表者（早川）は方針の提示及び意見の取りまとめを行う。必要に応じて国内外の研究者にも意見を徴する。

本研究は、3 年を 1 つの研究とすることを予定している。1 年目に知見を収集し、必要な要件を分析する。2 年目は 1 年目にとまとめた意見を集約するとともに必要に応じて追加情報収集を行う。3 年目は研究班の最終意見としてまとめた意見について再考し、今後のヒト幹細胞等の研究開発に対してヒト幹細胞等の実用化に必要な要件として公に示す。

本年度は、以下のような実施経過を辿った。

① ヒト体性幹細胞、ヒト ES 細胞、ヒト iPS 細胞を利用する細胞・組織利用製品の製造と臨床応用に関する科学技術面からみた現状と将来について、各研究班員（梅澤、小澤、山中、大和）の専門的立場で、研究、最新の知見の収集及び要点の抽出、解析、評価を行った。

- ② 現在のわが国の「ヒト幹細胞を用いる臨床研究」に関する指針及び審査の内容や意義について、澤班員を中心に詳細な解析、検討を行い、今後、向かうべき方向や展望について提言した。
- ③ 「ヒト（自己／同種）由来細胞・組織加工医薬品等の品質及び安全性の確保に関する指針」、国際幹細胞研究学会による幹細胞臨床研究の指針、第45回細胞治療遺伝子治療諮問会議のリポートなどをもとに山口班員を中心に各班員で詳細な解析、検討を行い、ヒト幹細胞、ES細胞、iPS細胞及び由来製品に求められる品質・安全性確保のための要件・要素を抽出した。
- ④ ヒト幹細胞を用いた細胞・組織加工医薬品等の品質及び安全性の確保のあり方について、わが国の規制環境を整備し、本分野の発展に寄与する一環として、欧米を中心とした国際水準と整合性を図ることは非常に重要である。わが国の規制を国際水準に整合させるためには細胞・組織加工医薬品等の規制を行っている海外行政庁からの情報は必要不可欠である。欧州連合(EU)の医薬品・医療機器審査を統括する欧州医薬品庁(EMA)においては、現在、細胞・組織利用医薬品等を含む先進医療に関する規制環境整備を精力的に進めつつある。その新たな枠組は、Regulation (EC) No 1394/2007を基にし、また、組織的には、今年初め頃から先端医療委員会(Committee for Advanced Therapy: CAT)を新たに立ち上げたことであった。そこで、こうしたEUにおける先端医療製品の

- 規制動向を把握することを目的として、EMA 本部を訪問し、事務局担当者6名(Table 1)から聞き取り調査を行うとともに、わが国のあり方、考え方を説明するなど意見交換を行った。また、CATは加盟国の代表に加えて医師や患者の代表など60名余りから構成されるが、その実質的な第1回会合(2日間)にオブザーバーとして出席し、運営や討議内容を傍聴した。これらにより、EUでは、ヒト幹細胞を用いた細胞・組織利用医薬品をはじめ、遺伝子治療用医薬品・細胞治療医薬品および組織加工製品を従来の医薬品でも医療機器でもない先端医療製品(ATMP)と新たに第三の分類で括り、従来の医薬品・医療機器の二分法にとらわれない新たな特有の規制をかけていること、これに対する評価委員会としてCATを組織するなどして、品質・安全性等の確保およびリスク・ベネフィットのバランスを図りつつ、実用化を促進するための方策や規制の枠組み作りを着実に進めていることが明らかとなった。EUにおける組織面、制度面、運用面等に関する調査研究により、今後、わが国の方針を定めていく上で、貴重な情報が得られた。
- ⑤ これらを研究班会議において総合的に解析、討議、整理した。その結果、ヒト間葉系幹細胞等を中心とする体性幹細胞、iPS細胞、ES細胞などに由来する製品の臨床応用に向けて、研究、開発、確認申請、評価等を効率的、効果的、合理的に行う上で、必要と思われる技術、製造方法、特性解析方法、

品質管理方法及び安定性評価に関する具体的留意事項、安全性及び有効性に関する各種データとしてどのようなものがあるかに関しては、この3種の原料細胞それぞれに特化した形でまとめる方向性が打ち出された。その第一次案の具体化は来年度中を目指すこととするが、その素案作成作業に入った。

C. 研究結果及び考察

C. 1 ヒト体性幹細胞、ヒト ES 細胞、ヒト iPS 細胞を利用する細胞・組織利用製品の製造と臨床応用に関する科学技術面からみた現状と将来

C.1.1 ヒト幹細胞の利用上の留意点

間葉系幹細胞の将来に関し、最も興味があることはその供給源であり、ヒト ES 細胞、iPS 細胞から中胚葉に由来する幹細胞ないしは間葉系幹細胞が樹立されている。これは中胚葉のみに限られたことではなく、内胚葉系、外胚葉系の細胞でも同様である。医療という面からは、間葉系幹細胞は細胞医療における利用できる細胞製剤の原料として有望である。表皮細胞、角膜上皮細胞が現実の再生医療として利用されているのと同様に、間葉系幹細胞が形成外科、歯科口腔外科、循環器科、整形外科の領域で細胞製剤の原料として考えられている。わが国においても、骨髄に由来する間葉系細胞を移植する臨床試験が、GVHD (移植片対宿主病) に対する治療選択肢として開始された。さらに、その増殖能が高いことと同時に遺伝子導入が容易で

あることより、遺伝子治療の対象となる細胞として考えられる。

C.1.1.1 間葉系幹細胞の供給源としてのヒト ES 細胞及び iPS 細胞

ヒトのほとんどの組織から間葉系幹細胞は採取できる。各組織における実質細胞に対し、どのような組織においても間充織が存在するからである。その間充織をコラゲナーゼ、トリプシン処理することで培養が開始されてきた。梅澤らは骨髄、脂肪組織のみならず、月経血、臍帯血、臍帯、胎盤から間葉系幹細胞が採取できること、また採取された間葉系幹細胞が組織ごとにその増殖能及び分化能が異なることを明らかにしてきた。骨髄は、脂肪を初めとした実質組織に比較すると間葉系幹細胞が含まれる率が異なり、およそ 100 分の 1 程度である。それは、骨髄の細胞が大部分、造血細胞で占められ、間充織を占める細胞は極めて少ないからである。しかし、骨髄に由来する間葉系幹細胞は増殖能、多分化能に優れ、数多くの論文が出版されている。ところで、いずれの組織に由来する間葉系幹細胞でも増殖能に限界があり、生体外で増殖させた場合には必ず老化 (senescence) し、増殖を停止する。そのため、ヒト組織に移植する場合に、標準化された細胞数が足りなくなる。実際に、心筋組織に移植される場合には、 10^6 程度の数の細胞数が移植されているが重量でいうと 1 グラム程度であり、骨髄由来間葉系幹細胞では数が不足する。

そこで注目されているのが、ヒト ES 細胞及び iPS 細胞由来の間葉系幹細胞ない

しは間葉系前駆細胞である。これらが有利な点として、主に2点が挙げられる。一つ目は、ES細胞及びiPS細胞が不死であり、事実上、無限の数の細胞を得ることが可能な点である。二つ目は、不死であることより、細胞製剤として標準化されたものが提供可能である点である。加えて、免疫原性が低いとされている間葉系幹細胞ではあるものの、さまざまなHLAないし血液型抗原を有する細胞を用意することができ、それがUniversal細胞としてES細胞及びiPS細胞同様に検証された状態で提供できるという利点も挙げられる。なお、ヒトES細胞及びiPS細胞から間葉系に分化誘導した場合、元々不死であった形質が失われてしまうのではないかという危惧があったが、杞憂であった。これは間葉系のみならず内胚葉系に分化した場合も同様である。

間葉系細胞への誘導は、OP9細胞上にヒトES細胞を共培養することによって得られる。OP9細胞は、元々M-CSF遺伝子に変異があるマウス骨髄間質細胞から得られた不死化細胞である。また、OP9細胞を有名にしたのは、マウスES細胞から血球を分化誘導する際にフィーダー細胞として利用できることを示されてからである。OP9細胞は前脂肪細胞として単離されてきたが、増殖できるような適切な血清を用いると軟骨芽細胞としての性質を有している。すなわち、分化誘導させることなしに、OP9細胞を免疫不全動物に移植すると軟骨を形成することが可能である。OP9細胞自体も不死化している細胞であるので、フィーダー細胞として利用する場合はMytomycinC処理ないしは放

射線照射することにより分裂できないようにしておく。ヒトES細胞をOP9細胞上で培養を開始し、40日程度で間葉系幹細胞が単離できる。その際、共培養する段階でヒトES細胞の培地から間葉系幹細胞用の培地に転換しておくことが肝心である。間葉系幹細胞の基礎培地はDMEMを使用しているのが多いが、梅澤らは α -MEMが推薦されるとしている。得られたヒト間葉系幹細胞は、適切な分化誘導法により骨、軟骨、脂肪、骨格筋への分化誘導が可能である。品質が検証された、無限増殖する、多分化能を有した間葉系幹細胞がヒトES細胞から得られる意義は極めて大きい。いまだ、報告はないがiPS細胞からも同様の細胞が得られるという報告はすぐになされるであろう。

C.1.1.2 遺伝病に対する間葉系幹細胞を用いた再生医療

将来的な医療であり、安全性・有効性の検討が今後も十分に必要であることは間違いないことであるものの、間葉系幹細胞を細胞治療としての供給源に用いることが考えられる。対象疾患としては小児の先天性疾患である小児の先天性代謝異常症、尿素サイクル異常症、メチルマロン酸血症、筋ジストロフィー、小児心不全が想定される。先天性代謝異常症の患者は日本に3千人、筋ジストロフィーの新規患者は毎年3千人である。代謝異常症では欠損酵素を分泌する幹細胞や分化細胞、尿素サイクル異常症・メチルマロン酸血症では肝細胞、筋ジストロフィーでは骨格筋の筋芽細胞、心不全では心筋細胞に分化させて患者に移

植する。筋ジストロフィーには有効な治療法がなく、また、症例によっては慢性で長期間に渡り苦しむ。骨髄間質細胞は骨格筋への分化を生体内において示す。多核の幼弱な筋組織が形成される。遺伝性の筋疾患に対し、筋サテライト細胞と同じように間葉系幹細胞が骨格筋に分化し、筋力を増加させるのに有効である可能性がある。同時に移植した細胞が、宿主の骨格筋と癒合するようなことがあれば移植した細胞が有する正常の筋蛋白質を発現し、宿主骨格筋を正常に働かせることができるかもしれない。気になるのは免疫拒絶反応であるが、骨髄移植と異なり免疫担当細胞を移入しないので、約2～300種類の組織適合抗原のレパートリーを用意しておけば日本人の8割はカバーできる。

C.1.1.2 考察と小括

間葉系幹細胞の作用については古くから論文として発表されており、間葉系幹細胞と造血細胞との直接の相互作用であり、増殖・分化を制御することが知られてきた(文献4)。基盤的な研究から20年が経過し、臨床研究に応用するための多くの経験や科学的知見が積み重ねられ、具現化に向けて急速に前進していることに大きな期待が寄せられる。

C.1.2 間葉系幹細胞を用いた細胞治療／遺伝子治療の開発

骨髄の中には造血幹細胞と間葉系幹細胞(MSC: mesenchymal stem cell)という二つの体性幹細胞が存在し、造血システムを維持する上で両者が重要な役割を果

たしている。多彩な細胞への分化能を有するMSCは、生体に投与すると組織傷害部位に集積する性質があることから再生医療への応用が検討されると共に、その免疫抑制能と炎症部位への集積性に着目した移植片対宿主病(GVHD: graft-versus-host disease)の治療に関する臨床研究が進んでいる。また、MSCは腫瘍集積性を有することも明らかになり、癌遺伝子治療のプラットフォームとして用いる戦略も提案されている。さらに、再生医療／細胞治療の有効性を高めていくには遺伝子操作を絡めるアプローチが将来的な方向性であり、その安全性を確保するためのテクノロジー開発も進んでいる。

本項では、MSCを用いた再生医療／細胞治療に関する研究の最新の動向を概括する。

C.1.2.1 多機能性細胞としての間葉系幹細胞(MSC)について

非造血系の未分化細胞であるMSCは、造血支持組織としての骨髄ストローマ細胞の構成成分に分化してだけでなく、さらに脂肪細胞・骨細胞・軟骨細胞・筋細胞・腱などの中胚葉系の様々な組織に分化する能力を持った細胞として、再生医療への応用といった観点から注目されている。例えば、心筋梗塞後の心筋組織修復を目的にMSCを障害部位局所に移植する臨床研究が試みられており、関節症治療への応用を目指した研究も進んでいる。また、造血幹細胞移植領域では、MSCの造血支持能に基づいたものとして、移植後の生着促進と造血系再構築促進効果は、特に臍帯血

移植の場合にその効果が期待される。さらに、MSC が有する免疫抑制作用に着目し、重症 GVHD の治療についても、臨床研究が活発化してきている。

MSC は幹細胞が持つ共通の性質として、自己複製能を有し、分化誘導条件下で様々な系列の細胞に分化する能力を持っているが、造血幹細胞の場合と異なり、それほど厳密な検討がなされているわけではない。MSC という用語自体も研究者によって使い方が異なっており、かなり混乱した状況にある。そこで、ISCT(International Society for Cellular Therapy)では、MSC の定義について次のような提案をしている。即ち、MSC を mesenchymal stem cell と multipotent mesenchymal stromal cell の 2 つに大別し、幹細胞の定義を満たすようなものを前者としている。後者は、プラスチックに接着性の細胞で、形態学的に線維芽細胞様のものであるという大雑把な括りしかできない場合に用いるものとしている。

MSC の表面マーカーに関しては、CD45・CD34・CD14 などの造血系マーカーが陰性で、CD102 (ICAM-2)・CD105・CD106 (VCAM-1)・CD29 (integrin β 1)・CD58 (LFA-3)・CD73・CD90 (Thy-1)・CD166・その他の種々のインテグリン分子が陽性である。さらに、ヒト MSC は HLA class I 抗原を発現し、IFN- γ で刺激すると HLA class II 抗原も発現する。しかし、costimulatory 分子の B7-1、B7-2、CD40、CD40 リガンドを発現せず、アロ反応性 T リンパ球を刺激しない。また、MSC を様々な系統に分化誘導しても免疫原性はほとんど出現しない

ことが報告されている。したがって、免疫学的に急速に排除されることがないため、MSC を細胞治療に用いる際に、HLA を一致させる必要は必ずしもないとされている。但し、これらの現象は短期的な観察によるものであり、MSC が HLA のバリアを超えて体内で長期的に維持されるかどうかについては、否定的な報告も出されている。再生医療に応用するには、HLA を合わせるのが一般的である。

MSC の投与ルートとしては静脈注射が一般的であるが、かなりの部分は肺にトラップされてしまい、骨髄や全身の様々な組織に到達するのは一部である。また、組織障害や炎症のある部位には集積しやすいと考えられており、このような現象は再生医療における組織修復の機序との関係で興味深い。

安全性の点では、体外培養で増幅した MSC のゲノムに障害が発生していないかどうか問題となる。例えば、脂肪組織や骨髄から分離したヒト MSC の長期培養(数ヶ月)でトランスフォーメーションが生じ、染色体異常が出現することが報告されている。したがって、臨床用 MSC は長期に亘る継代を避け、使用前に染色体異常の有無をチェックすることが重要である。

C.1.2.2 MSC の免疫抑制作用と GVHD 制御への応用

混合リンパ球培養 (MLC: mixed-lymphocyte culture) やレクチン刺激による T リンパ球の増殖反応が、MSC 添加により in vitro で用量依存性に抑制されることが知られている。この場合、

MSC の HLA を合わせる必要がないことも示されている。MSC による免疫制御の分子機構には、T リンパ球、NK 細胞、樹状細胞 (DC: dendritic cell) などが関与し、炎症性サイトカイン産生の抑制、抑制性サイトカイン産生の増加が観察されている。その他、MSC の免疫制御には、MSC が産生する PGE2 や NO を介した機序なども想定されている。尚、MSC は分化してもその免疫抑制作用が認められると報告されている。

MSC 由来細胞の免疫抑制作用に着目した造血幹細胞移植への応用では、急性 GVHD に対する効果が期待されており、臨床治験が実施されている。MSC を投与する時期としては、造血幹細胞移植時に GVHD 予防を目的として投与する場合と、既存の治療法では制御できない重症 GVHD に対して治療目的に投与する場合がある。前者では MSC の有効性は確認されていないが、後者の治療を目的とする方法については、ヨーロッパの移植チームによる多施設非ランダム化第二相臨床試験が実施された。55 名のステロイド不応性重症急性 GVHD 患者が MSC 治療 (中央値 $1.4 \times 10^6 / \text{kg}$ の MSC を静脈注射) を受け、30 名 (55%) が完全なレスポンス、さらに 9 名が軽快した。合わせると 71% という高率で有効性が認められたわけで、対象症例の従来の治療経過を考えると驚くべき成績であると言える。また、MSC の HLA が患者のものとは一致しているかどうかは、治療成績に影響を与えなかったと報告されている。特に副作用も認められていない。その他、米国では Osiris 社による第三相臨床試験が実施されている。

なお、MSC の免疫抑制作用は、一方で GVL (graft-vs-leukemia) 効果まで抑えてしまうことが懸念されている。動物実験では、MSC の免疫抑制作用が癌細胞による腫瘍形成に有利に働く可能性があることを観察している報告もある。但し、長期的な悪影響よりは、当面の重症 GVHD の治療が優先されるべきであり、また MSC の影響が長期間に亘り持続することは考えにくいいため、それほど心配する必要はないと思われる。

尚、MSC のソースとしては、従来は移植ドナーあるいは血縁者由来のものが用いられたケースが多いが、今後は、HLA を合わさずに用いる方法の臨床治験が進むものと思われる。この場合、1 人の正常骨髄から樹立された MSC が 100~200 人規模の患者の治療に用いられることになるものと予想される。

C.1.2.3 MSC の癌治療への応用

MSC は上述のように組織障害や炎症のある部位に集積していく性質を有するが、その他に癌病巣へ集積する性質があることも知られている。そこで、MSC を癌に対する遺伝子治療のプラットフォームとして利用しようという発想が生まれてきた。例えば、インターフェロン- β (IFN- β) を発現するように遺伝子改変した MSC を担癌ヌードマウスに静脈注射すると、その生存期間が延長するとの観察がなされている。MSC が癌病巣に集積し、そこで局所的に IFN- β を発現し、抗腫瘍効果を発揮したものと推定されている。様々な抗腫瘍性サイトカインを全身投与した場合

は、治療域では副作用の出現頻度が高く、ベネフィットが上回るとは言い難い。また、血中半減期が短いために、頻回投与を必要とするという問題点もある。一方、MSCを利用して腫瘍ターゲティングを行った場合は、抗腫瘍性サイトカインが腫瘍局所で発現されるために効果的であり、かつ全身性の副作用を極力減らすことができるものと考えられる。このような治療ストラテジーの臨床的有効性は今後の課題であるが、癌転移巣の治療法としては魅力的なアプローチである。

C.1.2.4 幹細胞のゲノム操作・染色体部位特異的遺伝子組込み法の開発

幹細胞を用いた再生医療／細胞治療の有効性を高めていくには、遺伝子操作技術の応用が当然の流れである。導入遺伝子の長期的発現を期待する場合には、染色体DNAに組み込ませる必要があり、従来、レトロウイルスベクターがよく用いられてきた。しかしながら、このベクターの場合は、標的細胞のゲノムにランダムに治療用遺伝子が組み込まれる傾向があり、挿入変異が問題となる。安全性確保の観点から、相同組換え技術の応用が理想的であると考えられるが、その実用化にはまだ時間がかかるものと予想される。そこで、染色体の安全な部位に遺伝子を組み込ませる技術の開発が進んでいる。具体的には、非病原性ウイルスであるアデノ随伴ウイルス (AAV: adeno-associated virus) の性質の利用が考えられる。AAVの非構造調節性蛋白質であるRepは、AAVゲノム両端のITR (inverted terminal repeat) と呼ば

れるT字型ヘアピン構造にあるRep結合部位 (RBS) に結合するが、ヒト第19番染色体長腕AAVS1領域 (19q13.4) にもRBS相同配列が存在するため、同部位への野生型AAVゲノムの部位特異的組込みが生ずると考えられている。このユニークな現象を応用し、Repをトランスに働かせることにより、ITR配列を連結した任意の遺伝子をAAVS1領域に特異的に組み込ませることが可能となる。即ち、AAVのITRとRepという二つのコンポーネントを利用することにより、治療用遺伝子を安全な第19番染色体長腕AAVS1領域に組み込ませるというストラテジーである。

C.1.2.2 小括

最近、我が国でもMSCの細胞医薬品としての臨床開発研究がスタートしている。MSCは造血幹細胞移植領域での細胞治療への応用以外に、心筋組織・関節組織・腱・神経組織などの修復を目的とした再生医療への利用も活発に研究されており、また、遺伝子治療との融合を含め、様々な治療戦略を可能とする新しい医療の発展に繋がるものである。今後の大きな発展が期待される領域である。

C.1.3 人工多能性幹細胞(iPS細胞)の臨床応用における課題と展望

多能性幹細胞は自分自身と同じ細胞を作り出す自己複製能と、様々な種類の細胞に分化する多能性を合わせ持つ細胞である。その代表はES細胞であり、1981年にマウスで、1998年にはヒトで樹立が報告された。パーキンソン病や1型糖尿病などの変性疾患に対する根治療法として、

この ES 細胞を用いた細胞移植療法が有効ではないかと期待されている。現在、ES 細胞由来では初の臨床試験として、米国では Geron 社による ES 細胞由来オリゴデンドロサイトを用いた脊髄損傷の臨床試験が計画されている。しかしながら ES 細胞の樹立には倫理的な問題が依然としてあり、また、他家移植を行うにあたり、免疫抑制剤を利用しなくてはならないなどの問題もある。

一方、iPS 細胞は、ごく少数の遺伝子を体細胞に導入することにより樹立される多能性幹細胞である。これを用いて患者と同じ遺伝情報を持つ神経細胞や心筋細胞などを作り出すことが可能であり、病態解明、毒性試験などへの応用が期待されている。しかし、細胞移植治療への応用については、iPS 細胞の誘導機構の解明、および ES 細胞との十分な特性比較は未だ途上であり、また、移植治療における安全性確保など、検討すべき課題がある。本項では iPS 細胞研究の臨床応用における課題と展望について述べる。

C.1.3.1 iPS 細胞の樹立

分化した体細胞が再び多能性を獲得することを細胞核の初期化と呼ぶ。もし患者自身の体細胞を初期化することで多能性幹細胞を作り出せれば、ES 細胞の利用に付随する幾つかの問題を回避出来ると考えられる。1997年にヒツジの体細胞に核を取り除いた未受精卵を融合させると初期化が起こり、体細胞由来の個体が産まれることが報告された。また、体細胞の初期化は ES 細胞との細胞融合でも引き起こ

されることもわかってきた。これらの研究から、未受精卵や ES 細胞には初期化因子と呼ぶべきものが存在することが示唆されていた。そこで山中らはマウス線維芽細胞に ES 細胞で発現する複数の遺伝子を強制的に発現させて、初期化が引き起こされるかを検討した。すると、わずか 4 種の転写因子(Oct3/4, Sox2, Klf4 および c-Myc)によって ES 細胞様の多能性幹細胞を作り出せることが分かった。この細胞を induced pluripotent stem (iPS)細胞と名づけ 2006 年に報告した。2007 年には同じ 4 種の遺伝子によってヒト線維芽細胞からも iPS 細胞を作製した。同時期に山中らとは異なる組み合わせの遺伝子(Oct3/4, Sox2, Nanog および Lin28)を用いてヒト iPS 細胞の樹立も報告されている。その後、世界各地で続々と研究成果が上がり、2008 年にはラットおよびアカゲザルからの樹立も報告された。

C.1.3.2 iPS 細胞誘導機構

iPS 細胞の誘導には複数の転写因子が用いられている。ES 細胞においてこれらの転写因子は数百を超える遺伝子座に結合し、それぞれの遺伝子の発現を制御している。また、面白いことに Oct3/4, Sox2 および Nanog は自分自身を含めたお互いの遺伝子座に結合して相互に転写調節を行う。さらに多数の共通する標的遺伝子を持つ。Klf4 を含めたこれらの転写因子は ES 細胞において多能性維持のための転写調節ネットワークを形成している。iPS 細胞の誘導時にはこれらの転写因子を強制的に発現させることで、数百を超える下流

遺伝子の発現が変化し、結果として初期化が起こるのではないかと考えられる。その際、恒常的な外来性転写因子の発現は必要ではなく、マウス線維芽細胞では最低 10 日間、ヒト線維芽細胞では 20 日間程度の発現が続けば iPS 細胞が樹立できることが報告されている。また、2008 年には山中及び他の研究グループが、一過性発現ベクターによるマウス iPS 細胞の樹立にも成功している。外来性遺伝子により初期化を引き起こされた後は、内在性遺伝子により多能性が維持されていると考えられる。遺伝子の発現調節には転写因子のほかにヒストンのメチル化やアセチル化、DNA のメチル化などのエピジェネティック修飾も関与する。線維芽細胞において多能性細胞のマーカーである Oct3/4 や Nanog などのプロモーター領域の DNA は高度にメチル化され不活性であるが、iPS 細胞ではメチル化の頻度が低下して活性化している。DNA 脱メチル化剤(5-アザシチジン)、ヒストン脱アセチル化阻害剤(バルプロ酸)やヒストンメチル化阻害剤(BIX-01294)などが iPS 細胞の誘導効率を上げるという報告もなされている。これらのことから iPS 細胞の誘導はエピジェネティックな変化を伴う過程であると考えられる。

Lin28 は RNA 結合活性を持つタンパク質であり、let7 ファミリー microRNA の成熟を阻害することが知られている。Lin28 は ES 細胞で高発現しているが、分化の進行とともに減少し、それに反比例して成熟 let7 ファミリー microRNA が認められるようになる。成熟 let7 は肺腫瘍細胞の増殖を抑制し、分化を促進することが

示されている。これらの結果から iPS 細胞の誘導過程において Lin28 は間接的に分化を抑制しているのではないかと推測されるが、詳細な機構については今後の解析が待たれる。

iPS 細胞の誘導には ES 細胞を培養するための培地を用いている。ヒトおよびマウス ES 細胞ではそれぞれサイトカインである bFGF および LIF の培地への添加が安定な未分化状態維持に有効である。Wnt3a の添加がマウス iPS 細胞の誘導効率を上げるという報告もあり、これらの液性因子による初期化制御機構についても今後研究が進んでいくだろう。

C.1.3.3 iPS 細胞の応用

iPS 細胞の技術を利用すると、患者と同じ遺伝情報を持つ多能性幹細胞を得ることができる。さらにその細胞を分化させることにより、これまでサンプルの採取が困難であった心筋細胞や神経細胞などを利用できるようになる。こうした細胞を用いれば、疾患の発症機序の解明や、効果のある薬剤のスクリーニングなどに応用できると考えられる。すでにダウン症、パーキンソン病やハンチントン病などの患者から iPS 細胞が樹立されており、さらに脊髄性筋萎縮症の患者から樹立した iPS 細胞を神経細胞へと分化させた病態モデルも報告されている。こうした取り組みにより、病態進行の予測法、新たな治療法や、新薬が開発されれば、多くの人々がその恩恵にあずかると考えられる。

C.1.3.4 臨床応用の際の安全性について

もう一方の iPS 細胞の応用例としては細胞移植療法が挙げられる。原理的には治療を受ける一人ひとりから iPS 細胞を作製し、免疫拒絶反応の無いオーダーメイドの治療を行うことが可能である。ただし、樹立と分化誘導、さらに治療細胞としての効果や安全性の検討にかかる時間および経済的な観点から、実際には様々な HLA のレパートリーを揃えた iPS 細胞とその分化細胞のバンクのような形が現実的ではないかと考えられる。しかし、こういった治療への応用にはまだ多くの課題が山積している。

多能性幹細胞を細胞移植治療に用いる場合の問題点に、腫瘍の形成が挙げられる。例えば ES 細胞からは神経細胞、 β 細胞や心筋細胞などへの分化誘導法が研究され、一部では疾患モデルマウスへの移植も行われている。しかし、完全な分化誘導はいまだ困難であり、少量の未分化細胞の残存が避けられない。こうした未分化細胞の混入によって移植後に腫瘍が形成されることがわかってきている。そのため、分化誘導後に如何にして未分化細胞を取り除くかが、今後重要な研究課題となるだろう。

iPS 細胞に関しては、上述の問題に加え、iPS 細胞特有の問題が存在する。一つ目は誘導方法に関するものである。現在は初期化因子の発現に主にレトロウイルスやレンチウイルスベクターを用いている。これらのベクターは初期化因子を含む自身の遺伝子情報を目的細胞のゲノムへ組み込む。そのため、細胞分裂を経ても安定して初期化遺伝子を発現させることができる。細胞への導入効率も良く、ダメージ

も少ないことから iPS 細胞の誘導には非常に有利であるが、一方で iPS 細胞のゲノムに初期化遺伝子が挿入されたままになる点は治療を考えた場合には問題となる。特に癌原遺伝子として知られる c-Myc の使用は当初より危険性が指摘されていた。樹立され、安定になった iPS 細胞では組み込んだ初期化遺伝子の発現はほとんど検出できない。これは ES 細胞に認められるような、レトロウイルスのプロモーターを不活性化する機構が iPS 細胞にも存在するためだと考えられる。しかし、マウス iPS 細胞から作製したキメラマウスやその子孫を観察すると、出生後 3 ヶ月以内に 20% ものマウスに腫瘍が形成された。これらの腫瘍ではレトロウイルスで導入した c-Myc の再活性化が認められたことから、これが腫瘍形成の一因であると考えられる。この問題に関しては、のちに c-Myc を用いない 3 因子(Oct3/4, Sox2, Klf4)のみでも、誘導期間を長くすることでヒトおよびマウス iPS 細胞が誘導できることが報告された。すなわち c-Myc は iPS 細胞の樹立に必須ではないが、樹立効率を大きく上げる因子であると考えられる。c-Myc を含まない 3 因子で作成した iPS 細胞由来のキメラマウスでは 6 ヶ月の観察期間内に腫瘍の発生を認めなかった。しかしながら、Oct3/4 などの他の初期化遺伝子もそれぞれ発癌との関連が示唆されている。そのため最終的にはいずれの遺伝子もゲノムへ挿入しないような iPS 細胞の樹立方法が確立されることが望ましい。そこで私たちはウイルスベクターを用いない誘導方法の開発に取り組み、試行錯誤の結果プラスミドベクターによ

るマウス iPS 細胞の樹立に成功した。この iPS 細胞は従来の iPS 細胞と同様に多能性を持ち、調べた限りではゲノムへのプラスミドの組み込みは確認されていない。また別の手法として、遺伝子を発現させる代わりに、化合物を用いて iPS 細胞を誘導する試みも行われている。マウス線維芽細胞では BIX-01294 に加え、L 型カルシウムチャンネル作動薬である BayK8644 を培地に添加することで Oct3/4 と Klf4 の 2 つだけで iPS 細胞が誘導できることが示されている。一方で、誘導元となる細胞を変えることで、必要となる因子の数を減らすことも可能である。内在性 Sox2 の発現の高い神経前駆細胞を用いれば、Oct3/4 と Klf4 の 2 つを加えるだけで iPS 細胞が誘導できることが示されている。そのほかにも、複数の初期化遺伝子をひとつのベクターにまとめることでゲノムへの組み込みを減らす工夫や、アデノウイルスを使用した方法など様々な取り組みが進められている。

iPS 細胞に特有の問題としてもう一点考えられるのは、初期化に伴うものである。マウス体細胞の初期化は除核した未受精卵との融合でも報告されており、クローンマウスも誕生している。しかし、このクローンマウスでは早期の死亡、内分泌異常や DNA のメチル化パターンの異常が見つかっており、これらは不十分な初期化が原因ではないかと考えられている。同じことが iPS 細胞にも当てはまるかどうかは検討が必要だが、例えばマウスの肝臓に由来する iPS 細胞では、キメラマウスが出生直後に高頻度に死亡することが分かっている。この結果は、iPS 細胞の初期化が

不完全であることを示唆しているのかもしれない。iPS 細胞の誘導過程では、多能性維持に関わる遺伝子群の発現やエピジェネティック状態は ES 細胞様に変化すると考えられるが、それ以外の例えば分化時に必要となるような遺伝子群がどう変化しているのかなど、今後慎重に検討を重ねていくことが必要だと思われる。

C.1.3.5 考察と小括

iPS 細胞は、たった数種類の遺伝子を発現させるだけで多能性幹細胞を作り出せるという事実から多くの研究者を驚かせた。一方で、上述した問題点から早期の直接的な医療応用は難しいが、疾患の発症機序の解明や治療薬の開発等への利用はすでに始まりつつある。また、iPS 細胞の概念を応用して、マウスの膵臓外分泌細胞に β 細胞で発現する 3 つの転写因子(Ngn3, Pdx1 および Mafa)を発現させることで、 β 細胞へと変化させるという興味深い研究結果も報告されている。今後、多角的な検討によって、細胞移植治療開発における iPS 細胞の可能性が検証されていくであろう。

C.1.4 再生医療実用に向けた医療組織工学の現状と展望

C.1.4.1 再生医療実現における組織工学の必要性

骨髄移植としてスタートした造血系幹細胞移植は、現在までにほぼ確立した医療技術となっており、骨髄バンクに続いて臍帯血バンクが立ち上がる等、試験的臨床研

究のレベルをはるかに超えて、支援組織の整備の段階に入っている。しかし造血系以外では、幹細胞を含むと考えられる細胞懸濁液の注射で有効性が示されている臨床報告はきわめて限られている。遺伝子疾患に起因する肝不全患者への経門脈的あるいは脾臓への他家健常肝実質細胞移植や、パーキンソン病患者への中絶胎児由来他家神経細胞移植は有効性が確認されているが、これらでさえ全世界で 100 例弱程度にすぎない。この他、バージャー病などの下肢血行障害への自己骨髄細胞移植が有効であるとの報告が注目を集めている。

しかし、筋組織への細胞懸濁液の移植は数十カ所から百カ所程度の注射によって達成され、その際に注射針が不可避免的に組織を傷つける他、移植された細胞の生着率が 10%以下ときわめて低いこと、また島状の組織のみが再生し、大きな組織とならないなどの問題点も指摘されている。

上記の細胞懸濁液移植は、すべて培養することなく採取した細胞を直接移植に供するものである。培養した系としては、膝関節軟骨の傷害に対する培養自己軟骨細胞懸濁液移植が知られている。欠損部位は自己骨膜で被覆する。その臨床応用は 1994 年にブリットバーグらにより報告され、1995 年より Genzyme 社より患者軟骨細胞の培養代行サービス（1 件約 200 万円）が Carticel®として商品化されており、一万件以上の症例がある。

フランスのフィリップ・メナシュが率いた、虚血性心筋症に対する培養自己骨格筋芽細胞移植の第 II 相試験である MAGIC スタディはベルギー、フランス、ドイツ、イタリア、英国での多施設ランダムイズド

試験であり、97 名の患者が参加した。バイパス手術時に梗塞部位およびその周囲に計 30 カ所の注射による細胞懸濁液移植を行った。第 I 相試験で頻発した不整脈を防ぐために全例に除細動器を装着している。試験の結果、プライマリーエンドポイントである心機能の改善を得ることができず、やはり、ヒトを含む大型動物の組織再生には、細胞懸濁液の注射だけでは不十分であり、何らかの形で組織を再構築する技術、すなわち組織工学の探求が必須であると考えられる。

C.1.4.2 組織工学黎明期

培養細胞を用いて臨床応用に成功したのは、ハワード・グリーンらによるものが最初である。グリーンは、特殊な培養条件下で移植に耐えうる重層化扁平上皮組織を作製できることを 1975 年に報告し、1980 年より臨床応用を開始した。培養皿からの回収には、ディスパーゼと呼ばれる微生物由来のタンパク質分解酵素を用いる。本技術を用いて Genzyme 社は、1988 年より Epicel®商品名で患者表皮細胞の培養代行サービスを商品化している。同様の培養代行サービスはヨーロッパや韓国でも商業化されている他、本邦でも 2007 年に日本初の再生医療ベンチャーであるジャパン・ティッシュ・エンジニアリング社が厚生労働省の承認を得た。この技術を用いた症例は、これまでに 1 万件程度である。表皮と同様に、重層扁平上皮である角膜上皮も同様の培養条件で作製できるものの、培養表皮に比べ重層化度が低く、ディスパーゼ処理後に脆弱となるため、フ

イブリンゲルや羊膜を基質として培養し、そのまま角膜実質に移植する。あるいは岡野らが開発した温度応答性培養皿上で培養し、ディスペーゼ処理ではなく室温程度の低温処理で回収し移植に供する。

1979年、ユージン・ベルらは、真皮（皮膚の下層部分、皮革製品の材料）など軟骨以外の多くの結合組織の主成分であるI型コラーゲンを生理的条件下で37℃に加温するとゲル化することに着目し、ゲル化の際に細胞を導入すると内部で三次元的に細胞が分散した細胞を含むコラーゲンゲルを作製でき、これを三次元培養系とすることができることを報告した。ベルらはこの技術を発展させ、線維芽細胞を内部に含む収縮コラーゲンゲルの上に表皮細胞を播種し、これを培養全層型皮膚として1981年に論文報告した。この技術はベル自身が作ったOrganogenesis社がApligraf®という名前で商品化した。適応は糖尿病の際に足裏にできる難治性潰瘍である。Apligraf®は、細胞が生存した状態で出荷され、患者患部への移植後も細胞はしばらくの間生存しているものと考えられる。この間にApligraf®が創面を塞いで創傷治癒を促進する他、Apligraf®中に含まれる移植された細胞が、種々の細胞成長因子やサイトカイン、細胞外マトリックス成分を合成分泌することで、他の薬剤では見ることのできない良好な創傷治癒が生じる。

C.1.4.3 生分解性足場を用いた組織工学とその臨床応用

1980年代後半、ジョセフとチャールズ

のヴァカンティ兄弟は、皮膚のように薄い組織ではなく、肝臓のように分厚い臓器を作ることを目指して、三次元的な細胞の足場を作り、これに細胞を播種した後に移植に供するという新しい手法を提案した。足場の素材としてポリ乳酸やポリグリコール酸などの生分解性合成高分子が採用された。ポリスチレンやポリエチレンなどの合成高分子はいずれも生体適合性を大きく欠いており、われわれの体の中に埋入しても身体の一部として同化することはない。コラーゲンを中心とする線維性の組織で周囲を取り囲まれ、内なる外部として隔離されてしまう。しかし、生分解性合成高分子は、生体内への埋入後に、ある一定の半減期をもって分解され、吸収もしくは排泄されるという性質をもち、すでに内臓の手術等に用いられる縫合糸の素材として臨床応用されていた。すなわち、対象とする組織の形態にあわせて成型した生分解性高分子製の細胞培養用足場に細胞を播種し、培養後に患部へ移植する。足場は分解するが、その間に足場に播種した細胞やホスト由来の細胞が合成・分泌したコラーゲンやプロテオグリカンなどの細胞外マトリックスないし増殖した細胞と置換されるため、足場通りの形を再現した組織が再生することが原理的には期待される。逆に、生分解性高分子の分解・消失速度と細胞による細胞外マトリックスの産生速度、細胞の増殖速度がうまく対応していないと形が崩れることになる。

1993年、ジョセフ・ヴァカンティは共同研究者であるロバート・ランガーと共著でScience誌に「ティッシュ・エンジニアリング」と題する総説を発表し、組織工学