

1.3 細胞の機能制御

遺伝子導入された細胞は、目的の生理活性物質（薬）を移植された生体内で生合成し、かつ微小環境に応じて徐放するいわば全自動生合成型徐放製剤とみなせるが、さらにこの考えを一步進めた方法が報告されている。これは新たに導入した特定遺伝子の単純な発現を期待するのではなく、遺伝子の発現量と発現時間を人為的にコントロールして、病態に応じた薬（生理活性物質）の合成、分泌を制御することによって、さらなる治療の最適化を図るものである。その例として、テトラサイクリンにより導入遺伝子の発現を人為的にコントロールすることができる Tet-on および Tet-off システムの利用が挙げられる。詳細は省くが、テトラサイクリンやその誘導体であるドキシサイクリン (Dox) に対して用量依存的に目的遺伝子の発現を正確に制御できるシステムである。BDNF 遺伝子をこの Tet-on システムで導入した細胞を網膜下に移植し、Dox を含む点眼液で、点眼時のみ遺伝子を発現させる方法が報告された⁶⁾。Dox は生体の機能に何ら影響しない濃度範囲で使用されており、外部から導入遺伝子の発現を完全な形でかつ簡便な方法（点眼）でコントロールするこの方法は、理想的な細胞製剤の1つである。

2. 細胞製剤の投与方法

遺伝子導入等によって機能化された細胞を作成した後、この細胞を目的部位に如何にして移植するかが次の課題となる。最近では、再生医療研究の発展によって、患者自身の体細胞（たとえば皮膚の線維芽細胞）の本来持っている分化機能をリセットして幹細胞に戻し、別の細胞に変換する iPS 細胞が作成できるようになったが、同様に細胞の移植方法が課題として残る。ここでは、細胞を分散した懸濁液を使う方法として高分子カプセルで細胞を免疫隔離する方法と、細胞を特殊な培養皿で培養することによって細胞シート化する方法を紹介する。

2.1 細胞免疫隔離カプセル

遺伝子導入した細胞や iPS 細胞などの多分化能を有する幹細胞など、人工的に機能を操作した細胞を生体内に移植する場合、これら細胞が生体内環境に適応して安定に機能し、目的の機能を発揮して治療に有効に働けば問題はない。しかし、上述したように遺伝子組換え体が異常を起こして癌化等の重大な副作用を引き起こす危険性は排除できないし、さらに使用する細胞は免疫拒絶反応の観点から自己もしくは組織適合性抗原が患者に適合している細胞に限られることになる。このような課題は今後の細胞製剤の産業化の支障となりうる。そこで、宿主の免疫系から移植細胞を完全に回避して拒絶反応を防ぎ、生体内で安定に機能させる方法を開発できれば、遺伝子導入細胞や幹細胞を自己の細胞から調製する必要がなくなり、広く非自己の細胞を利用することができるようになり、さらに遺伝子導入等の改変に伴う拒絶反応を回避できる可能性がある。

このような細胞の免疫隔離の方法として、細胞を高分子膜のようなカプセルで包み込み、免疫担当細胞をはじめとする生体防御因子の侵入を防ぐ方法がある。この場合、使用される高分子は細胞の生存に必要な栄養や酸素、細胞から分泌された生理活性物質が透過し、老廃物の排出も良好である膜でなければならない。さらに、生体内で長期的に安定で、生体適合性に優れている必要がある。このように生体に触れて使用される材料はバイオマテリアルと呼ばれ、高分子だけでなく金属やセラミックスなどこれまでに様々な材料が開発、臨床応用されている。

細胞免疫隔離カプセルの一例として、ニューロテック社の NT-501 を紹介する。2011 年に NT-501 は網膜色素変性症の患者に対する Phase II の臨床試験で、視細胞への保護効果があることが確認された。網膜色素変性症は網膜にある杆体、錐体と呼ばれる視細胞が原因不明に徐々に変性する遺伝性疾患であり、最終的には視力を失って失明に至る、今のところ確立された治療法がない希少疾患である。NT-501 は眼内に埋め込むインプラントで、毛様体神経栄養因子 (CNTF) を分泌するように遺伝子改変したヒト由来細胞を封入した細胞カプセルである⁷⁾。カプセルは、長さ 9mm、内径 870 μm 、外径 1070 μm のポリエーテルスルホン (polyether sulfone ; PES) からなるホローファイバー膜からなり、内部には細胞の足場 (scaffold) となるポリエチレンテレフタレート (polyethylene terephthalate) 製のマイクロファイバーが充填されている。カプセルの一端にはチタニウム性のループがウレタンアクリレートを接着剤にして取り付けられており、反対側は perfluoroalkoxy 共重合体で蓋がされている。遺伝子組換えされた CNTF 発現細胞は、

39,000cells/ μ Lの懸濁液（1%グルタミン含有、血清不含培地）がおおよそ10 μ L充填されており、おおよそ400,000個の遺伝子組換え細胞が充填されている。このカプセルは硝子体手術によって眼内に埋め込まれ、細胞が分泌したCNTFは眼内の硝子体中におおよそ1年にわたって約1-10ng/dayの量で徐放される。Phase IIの治験の結果では、移植から12-24ヵ月後に摘出されたNT-501には、すべて生き生きとしたCNTF産生細胞が残っていたと報告されている。眼内インプラントに伴う副作用もなかったため、細胞隔離がうまく機能していた可能性が高い。この成果は、細胞を薬の運び屋として利用する細胞製剤として臨床的に成功している例であり、どんな細胞でも充填できるカプセルという意味では、今後他の分野にも応用が期待できる汎用性を持っている。

2.2 細胞シート化

近年の目覚ましい再生医療研究の発展は、従来臓器移植に頼ってきた移植医療を革新する新しい医療として現実味をおびてきた。特にノーベル医学・生理学賞を受賞した山中伸弥教授のiPS細胞技術は、上述してきた自己細胞を使うことによる免疫拒絶反応の回避や、必要な細胞を人工的にいくらでも増やせるという点で、現状の臓器移植医療にある拒絶反応やドナー不足を解消できる可能性がある。さらに岡野光夫教授が開発した細胞シート化技術は、iPS細胞等から作成した分化した細胞を3次元的な組織・臓器に組み立てることを可能にする技術である。従来の細胞懸濁液を注入していた方法では、細胞が移植部位で分散し、さらに細胞同士のインタラクションが希薄で分化機能の維持が難しいという課題が指摘されたが、細胞シート化によって目的の機能を維持した組織・臓器として移植し、定着させることが可能になると期待できる。これら日本発の2大技術は、今後の日本の最先端医療を牽引し、世界をリードする基幹技術である。最近、この2大技術を利用した革新的再生医療法が報告された。それは患者自身のiPS細胞からRPEを作成し、さらにこれを細胞シート化して加齢黄斑変性症治療に臨床応用するという試みである。

加齢黄斑変性症は、加齢によって網膜の中でも視力の中心部分となる黄斑に障害が生じ、視力が低下する病気である。欧米では失明原因の1位の疾患であり、日本でも高齢化と食生活の欧米化が進み、患者数は近年著しく増加している。加齢黄斑変性症には大きく分けて萎縮型と滲出型の2種類があるが、上述のRPE細胞シートの臨床応用は滲出型患者を対象にしているため滲出型を中心に述べる。滲出型は、一部上記したが、異常な血管（脈絡膜新生血管：CNV）が脈絡膜から網膜色素上皮の下あるいは網膜と網膜色素上皮の間に侵入して網膜が障害される病気である。外科的にCNVを抜去する手術が行われるが、CNVと一緒にRPEも失われる場合があり、網膜を栄養しているRPEが失われた部分は、最終的に網膜が細胞死を起こし視力は回復しない。CNVが抜去された空間に新たなRPEを移植する方法は前項で述べたが、細胞懸濁液を注入していたため、細胞が分散し、目的部位に定着しないという課題が残っていた。さらにRPEは生体中で1層の上皮バリア構造を形成しているが、細胞は溶液に分散した状態で注入されるため、本来のRPEの機能を維持していたかどうかは不明である。この点において、RPEを細胞シート化して移植する方法は、本来のRPEの機能を維持したまま、本来の構造のままで移植することが可能であるため、移植後は定着し網膜を栄養して保護することが期待できる。

3. 実用化の課題

細胞をDDSとして用いる場合、移植した細胞が目的の仕事だけを適切に行っているか、間違った仕事をしていないか監視できれば良いが、一度移植してしまうと細胞の様子をうかがい知ることは難しいため、移植後の治療は細胞任せになってしまう。これは再生医療研究にも言えることだが、移植した細胞が間違った方向に分化、すなわち癌化したり、思わぬ副作用を惹起することのないように、常に注視することが重要になってくる。この意味では、細胞免疫隔離カプセルは周囲の細胞との接触がなく、さらに不要になれば取外しも可能であるため、現状のベストな移植方法だろう。また、移植した細胞の監視と言う意味では、細胞のラベリング、モニタリング技術も必要になるかもしれない。一方、薬剤徐放の持続性も重要な課題である。ポリマーを用いた従来のDDS製剤は薬剤充填量に限界があるため、いずれは空となり持続性はない。細胞を用いれば、細胞が生きている間は薬剤を自動で合成するため、長期間の徐放が期待できるが、どれほどの持続性があるかは今後の報告に期待するところである。いくつかの課題はあるものの、細胞を用いた細

胞治療は 21 世紀の医療に向けて無限の可能性を秘めており，寄せられる期待は大きい。

文 献

- 1) Abe T, Yoshida M, Yoshioka Y, Wakusawa R, Tokita-Ishikawa Y, Seto H, Tamai M, Nishida K. *Prog Retin Eye Res.* 2007 May;26(3):302-21
- 2) Kaiser J: Gene therapy. Seeking the cause of induced leukemias in X-SCID trial. *Science*, 2003, 299: 495
- 3) Marshall E: Gene therapy on trial. *Science*, 2000, 288:951-957
- 4) Sugano E, Tomita H, Ishiguro S, Abe T, Tamai M. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2005 Sep;46(9):3341-8
- 5) Hojo M, Abe T, Sugano E, Yoshioka Y, Saigo Y, Tomita H, Wakusawa R, Tamai M. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2004 Oct;45(10):3721-6
- 6) Abe T, Wakusawa R, Seto H, Asai N, Saito T, Nishida K. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2008 Aug;49(8):3631-9
- 7) Thanos CG, Bell WJ, O'Rourke P, Kauper K, Sherman S, Stabila P, Tao W. *Tissue Eng.* 2004 Nov-Dec;10(11-12):1617-22

