

図3 細胞シート移植の臨床例



- A：郭清術後の歯根面に3層化した歯根膜幹細胞シート(グリーンのメッシュ部)を設置する。  
 B：骨欠損部分に顆粒状の骨補填剤( $\beta$ -三リン酸カルシウム)を充填する。  
 C：歯肉弁を復位縫合したところ。

5月までに10例の移植が完了し(図3)、順調な経過を示しており、臨床データの解析を順次行っていく予定である。

#### その他の細胞ソースを用いた歯周組織再生の臨床研究

他施設においては、腸骨骨髓・歯槽骨膜・皮下脂肪組織などより細胞を抽出し、担体(スキャフォールド)と組み合わせて歯周組織再生を促す臨床研究が、本邦でも実施されてきている。歯周組織以外から幹細胞を求める異所移植ではあるが、細胞が比較的手に入りやすいという利点もあり、臨床研究の結果は注目されている。また、これらの研究を実施する関係者が中心となり、「歯周組織治療用細胞シートに関する評価指標」を策定し、2011年12月7日に厚生労働省より本ガイドラインが発出された。細胞治療を安全に行ううえで、必要な検査などの事項がまとめられている。

#### 細胞治療の近未来像

現状における細胞治療の問題点は、① GMP基準のCPCが必要であり、その維持費にばく大なコストがかかること、② 安全性・有効性試験に多大な時間とコストがかかること、③ 研究者が不得意なドキュメントワークやリスクマネジメントが多大であること、などである。特に①のCPCに関しては、臨床研究への移行のボトルネックとなっており、細胞治療を本格的に取り組んでいる大学など以外での実施を困難なものとしてきた。また、行政の指針(「ヒト幹細胞を

用いる臨床研究に関する指針」)に沿わない安全性や有効性が未確認な自由診療を横行させてきた。これらの問題に対して国会では、2013年に再生医療三法が通過し、2014年末より新しい法律に則った再生医療製品の開発が始まろうとしている。具体的には、すべての幹細胞治療を認可制とし、細胞培養・加工の外部委託が可能となる。現在は各大学がCPCで家内工業的に細胞製品を自作しているが、産業界の参入と培養の機械化・自動化により、加速的に細胞を用いた再生医療研究が推進するものと考えられている。今現在、東京女子医科大学では、より多くの患者に安全でかつ安価な細胞製品を届けるために、コンパクトな無菌的自動培養装置の開発を行っている。機械化・自動化により省スペースで大量生産できるようになればコストは激減し、患者のメリットは計り知れない。我々の実施している細胞治療がそれに見合うだけの有効性と安全性を持ち合わせていることを確認したあかつきには、一般開業医でも細胞治療が1つのオプションとなるべく、一般化・産業化を目指していきたいと考えている。

### おわりに

歯根膜幹細胞を含めた hMSC は成人にも存在する体性幹細胞であり、がん化の可能性が極めて低いと考えられている。よって、我が国のみならず世界中で臨床研究が行われており、一部の疾患においてはその有効性と安全性が認められている。また、hMSC が保持している免疫調節機能により、他家移植においても免疫拒絶が起きにくいと考えられており、むしろ、移植した細胞による移植片対宿主拒絶反応においては、ドナー細胞による攻撃を抑制すると考えられている。1回のサンプリングで数百から数千回分の治療に必要な細胞数まで増幅することも可能であり、適切な細胞バンクと培養施設が存在すれば、大幅なコスト削減とそれによる普及も見込まれている。さらには、他家移植が有効かつ安全であれば、自己細胞が採取できないケースにおいても、細胞治療を享受することが可能となる。すべては今後の臨床研究による有効性と安全性の検証次第ではあるが、さまざまな potential を持つ hMSC が、現状では治療できない疾患の救世主となるのかを、中長期的な視野で見守っていかなければならないと考えている。

## 文 献

- 1) Page R.C. et al: The Oral Health Information Suite (OHIS): its use in the management of periodontal disease. *J Dent Educ* 69: 509-520, 2005.
- 2) 厚生労働省: 平成 23 年歯科疾患実態調査. 2012.
- 3) Esposito M, et al: Enamel matrix derivative (Emdogain (R)) for periodontal tissue regeneration in intrabony defects. *Cochrane database of systematic reviews*: CD003875, 2009.
- 4) Miron R J, et al: Osteoinduction: a review of old concepts with new standards. *J Dent Res* 91: 736-744, 2012.
- 5) Seo B M, et al: Investigation of multipotent postnatal stem cells from human periodontal ligament. *Lancet* 364: 149-155, 2004.
- 6) Washio K, et al: Assessment of cell sheets derived from human periodontal ligament cells: a pre-clinical study. *Cell and Tissue Research* 341: 397-404, 2010.
- 7) Iwata T, et al: Validation of human periodontal ligament-derived cells as a reliable source for cytotherapeutic use. *J Clin Periodontol* 37: 1088-1099, 2010.
- 8) Dominici M, et al: Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement. *Cytotherapy* 8: 315-317, 2006.
- 9) Nishida K, et al: Corneal reconstruction with tissue-engineered cell sheets composed of autologous oral mucosal epithelium. *N Engl J Med* 351: 1187-1196, 2004.
- 10) Ohki T, et al: Prevention of esophageal stricture after endoscopic submucosal dissection using tissue-engineered cell sheets. *Gastroenterology* 143: 582-588 e581-582, 2012.
- 11) Kanzaki M, et al: Dynamic sealing of lung air leaks by the transplantation of tissue engineered cell sheets. *Biomaterials* 28: 4294-4302, 2007.
- 12) Sakaguchi K, et al: In vitro engineering of vascularized tissue surrogates. *Sci Rep* 3: 1316, 2013.
- 13) Sekine H, et al: In vitro fabrication of functional three-dimensional tissues with perfusable blood vessels. *Nat Commun* 4: 1399, 2013.
- 14) Ohashi K, et al: Engineering functional two- and three-dimensional liver systems in vivo using hepatic tissue sheets. *Nat Med* 13: 880-885, 2007.

---

Cell Sheet Engineering: Periodontal Tissue Regeneration

Takanori Iwata<sup>1,2</sup>, Kaoru Washio<sup>1</sup>, Masayuki Yamato<sup>1</sup>,  
Tomohiro Ando<sup>2</sup>, Isao Ishikawa<sup>1</sup>, Teruo Okano<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Institute of Advanced Biomedical Engineering and Science,  
Tokyo Women's Medical University

<sup>2</sup> Department of Oral and Maxillofacial Surgery,  
Tokyo Women's Medical University

## ● 再生医療普及のための基盤技術

普及を目指した他家細胞シート移植による  
食道再生医療の試み

\*1 東京女子医科大学 先端生命医科学研究所(TWIns) \*\*1 同 教授 \*\*\*1 同 所長

\*2 東京女子医科大学 消化器外科 \*\*2 同 主任教授

\*3 長崎大学大学院医歯薬学総合研究科 移植消化器外科

金井 信雄<sup>\*1\*2</sup> 大和 雅之<sup>\*\*1</sup> 小林 慎一郎<sup>\*3</sup>

山本 雅一<sup>\*\*2</sup> 岡野 光夫<sup>\*\*\*1</sup>

## 要旨

我々は温度応答性培養皿を用いて、平面上に培養した細胞をシート状に回収して治療に使う“細胞シートテクノロジー”を開発し、自己の体細胞から培養作製した上皮細胞シートを使った食道再生治療のヒト臨床を、日本だけでなく海外にも展開してきた。さらに、この再生治療が普及し、標準治療として実現化を目指し、培養加工技術の開発だけでなく、同種細胞を利用して組織工学製品の開発を目指している。

## はじめに

近年、これまでの治療方法では治療困難な疾患に対して、再生医療的なアプローチでの治療法開発の期待がますます高まっている。しかしながら本邦において、ヒト幹細胞臨床指針および臨床研究倫理指針に準じて実施されている再生医療的な臨床研究は、2013年12月現在において84試験と欧米に比べて少なく、患者へ提供可能と承認されているヒト細胞・組織工学製品はわずか2品目(ジェイス<sup>®</sup>、ジャック<sup>®</sup>)のみであり、同時期までの米国13品目、EU14品目、韓国10品目に比べて少なく、組織工学製品の普及においては大きく遅れをと

キーワード：細胞シート，再生医療，組織工学，食道再生

っている。

これまで、東京女子医科大学先端生命医科学研究所では、培養細胞をシート状に回収し、単層もしくは積層化して利用する独自の概念“*Cell Sheet Engineering*”を提唱し、研究開発を進め、臨床研究へと展開してきた<sup>1)</sup>。この細胞シートを用いた再生医療的治療のヒト臨床は2013年12月現在、角膜<sup>2)</sup>・心筋<sup>3)</sup>・食道<sup>4)</sup>・歯根膜・関節軟骨・中耳の領域において拡がっている。食道領域においては、表在食道がんの広範囲に及ぶ内視鏡的粘膜下層剥離術(ESD)後に、自己の口腔粘膜上皮で作製された口腔粘膜細胞シートを内視鏡的に患部に移植し、早期に上皮を再生させ、狭窄を抑制させる再生医療的治療法を開発し<sup>5)</sup>、前臨床研究を経て2008年からヒト臨床研究(単群探索的試験)が行われた。2010年にスウェーデンのカロリンスカ研究所と技術提携し、欧米人に多いバレット食道に対して、2012年から細胞シートによる再生治療の欧州臨床研究を開始している。また、長崎大学と共同で、2013年から細胞シート空輸による臨床研究を開始し、今後の標準治療を目指した臨床研究の展開を戦略的に進めている。

本稿では、米国などですでに承認されている他家由来のヒト細胞・組織工学製品の紹介と、当研究所で進めている上皮細胞シートを用いた食道再生治療の動物実験、ならびにヒト臨床研究の現状、今後の展望について概説したい。

### ヒト細胞・組織工学製品

再生医療とは、患者自身の細胞・組織または他者の細胞・組織を培養加工したものをを用いて、失われた組織や臓器を修復・再生する医療のことである。この再生医療に使用するヒト由来で医療品として規制の対象である製品が、ヒト細胞・組織加工製品と定義されることが多い。本邦で承認されている製品は、株式会社ジャパン・ティッシュ・エンジニアリングの自家培養表皮ジェイス®と自家培養軟骨ジャック®のわずか2品目のみである。

一方、同時期までに米国で承認されているヒト細胞・組織加工製品は、他家線維芽細胞を生体吸収性スキャフォードに培養した Dermafract-TC™(現在の TransCyte®)、Dermafract®, 自家培養軟骨

表1 米国ならびに日本で承認されているヒト細胞・組織工学製品

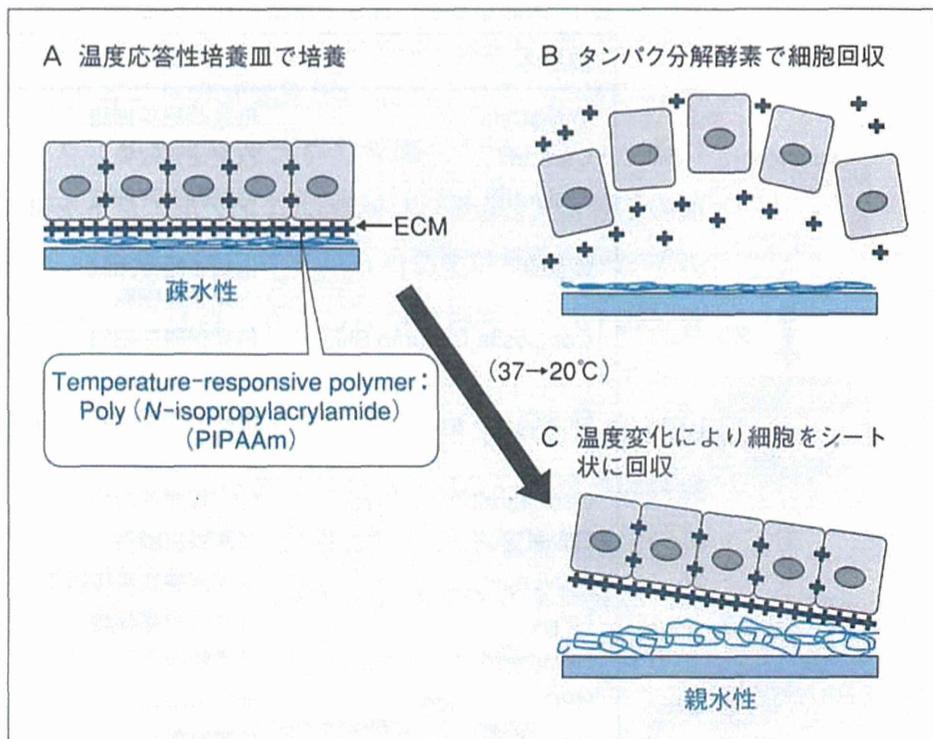
商品名	細胞ソース	承認年月日	承認国
TransCyte®	他家線維芽細胞	1998.8.14	米国
Carticel™	自家培養軟骨	1997.8.22	米国
Aprigraf™	他家線維芽細胞 他家上皮細胞	1998.3.22	米国
Gintuit™	他家線維芽細胞 他家上皮細胞	2012.3.9	米国
Composite Cultured Skin	他家線維芽細胞 他家表皮細胞	2001.2.21	米国
Orcel™	他家線維芽細胞 他家表皮細胞	2001.8.31	米国
Dermagraft®	他家線維芽細胞	2001.9.28	米国
Epicel®	自家表皮細胞	2007.10.25	米国
Provenge®	自家末梢血単核細胞	2010.4.29	米国
Laniv®	自家線維芽細胞	2011.6.21	米国
Hemacord	他家臍帯血	2011.11.10	米国
HPC cord blood	他家臍帯血	2012.5.24	米国
Ducord	他家臍帯血	2012.10.4	米国
ジェイス®	自家表皮細胞	2007.10.29	日本
ジャック®	自家軟骨細胞	2012.7.27	日本

の Carticel™, 他家線維芽細胞および他家上皮細胞をウシ I 型コラーゲンのスキュフォードに培養した Aprigraf™, Gintuit™, 他家線維芽細胞および他家表皮細胞をウシコラーゲンに培養した Composite Cultured Skin, Orcel™, 自家表皮細胞を培養した Epicel®, 自家末梢血単核細胞を免疫学的に活性化した Provenge®, 自家線維芽細胞を培養した Laniv®, 他家臍帯血である HPC cord blood, Hemacord, Ducord の 13 品目である(表 1)。この承認販売されているヒト細胞・組織加工製品の中で、大量に販売されているのが自家由来の製品ではなく、大量生産が可能な他家細胞由来である Aprigraf™ であることから、他家細胞によるヒト細胞・組織工学製品の開発が、臨床で待っている患者だけでなく医療経済的にも期待されている。

#### 内視鏡的治療後の食道再生治療

食道表在がんに対する ESD の偶発症として、出血、穿孔、狭窄などがある。食道 ESD 後の狭窄は、広範囲に粘膜を切除した後に欠損

図1 口腔粘膜細胞シートの作成



ECM：細胞外マトリックス

した組織が瘢痕化する過程で認められる。近年、ESD によって切除後の粘膜欠損が食道管腔の 3 / 4 周を超える場合には、偶発症として 68 ~ 92 % に狭窄が生じると報告されている<sup>6~8)</sup>。ESD では腫瘍径の大きな病変も一括切除が可能であるため、ESD の普及に伴い、内視鏡的切除の対象となる病変は増加傾向にある。食道表在がん ESD 後の食道狭窄の治療として、内視鏡的バルーン拡張術 (EBD) が標準的治療とされている。内視鏡で狭窄部位を確認した後にバルーンカテーテルを狭窄部位まで挿入し、バルーンを拡張させることにより管腔を拡げる方法であるが、拡張術により穿孔や出血など偶発症を生じることもあり、食道狭窄は時に難治性であるため、安全かつ効果的に狭窄を予防する治療の開発が期待されている。

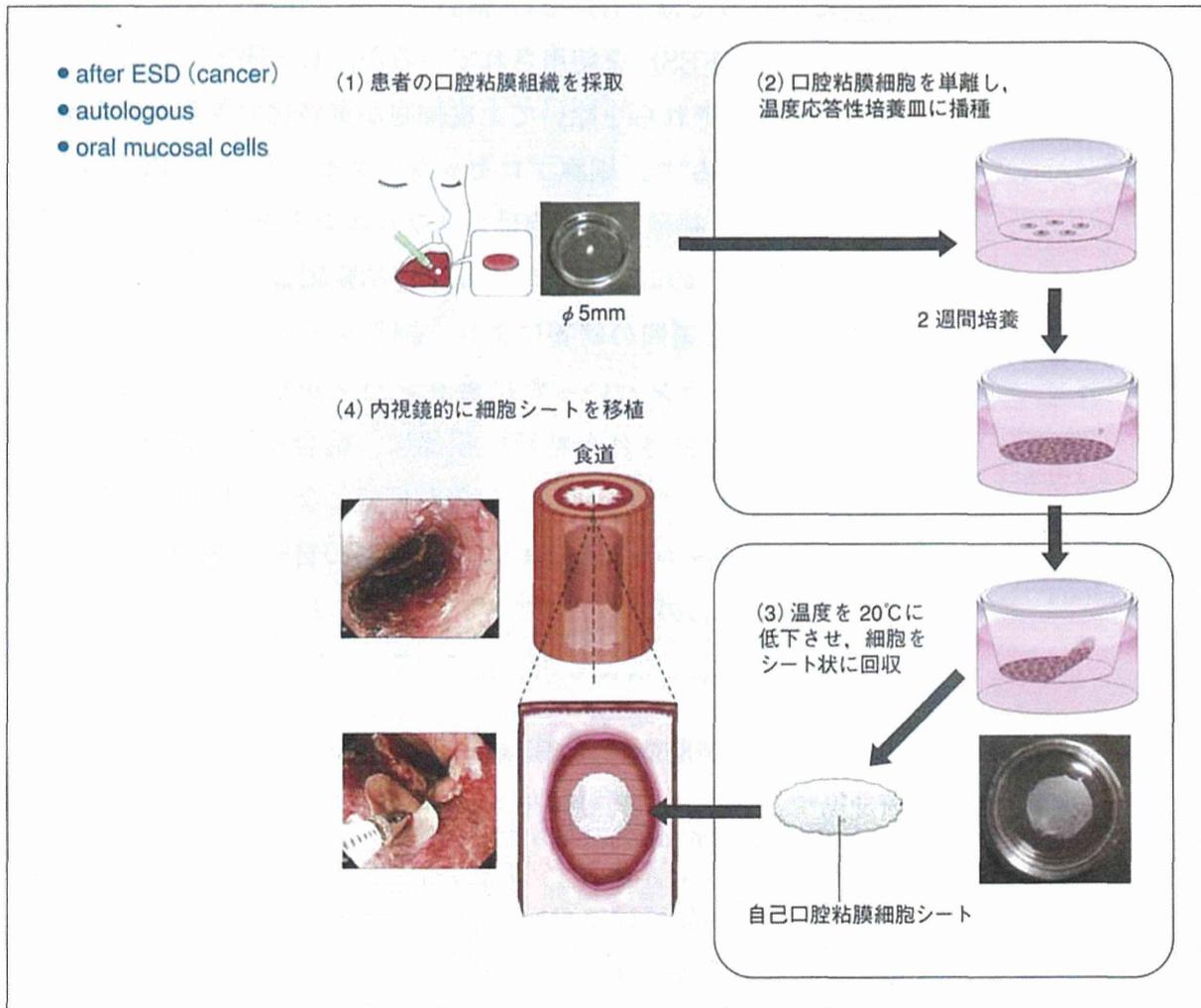
当研究所で開発された内視鏡治療後の上皮細胞シートを用いた食道再生治療とは、食道 ESD を行う 16 日前に患者自身の口腔粘膜組織と患者の自己血清を少量採取し、口腔粘膜組織から単離した上皮細胞を温度応答性培養皿に播種し、線維芽細胞増殖因子 (FGF) などのサイトカインや採取した自己血清とともに培養する。従来、上皮細胞の

培養にあたっては NIH / 3T3 細胞 (マウス由来の線維芽細胞) やウシ胎仔血清 (FBS) を使用されているが, ヒト臨床への応用に足枷になると考え, それらを除いて上皮細胞が重層化できる培養方法をすでに確立している<sup>9)10)</sup>. 細胞プロセッシングセンター (CPC) での 16 日間の培養にて, 播種した細胞はコンフルエントを経て適度に重層化し, 37℃ から 20℃ の温度低下により口腔粘膜細胞シートが採取可能となる (図 1). 2 週間の培養により, 細胞シートの底面にはラミニンやフィブロネクチンといった接着タンパクがリッチに発現しており, ESD により切除された粘膜欠損部に, 縫合や接着剤を必要とせず, 短時間ただ置いておくだけで生着が可能となっている. 本邦で重症熱傷の治療に承認されている組織工学製品の自家培養表皮 (ジェイス<sup>®</sup>) は, 培養皿からの回収にトリプシンが使われているため, 接着剤なしで生着しないことはよく知られている.

#### 細胞シート食道再生治療のヒト臨床研究

この自家口腔粘膜細胞シートを用いた食道領域での First in Human であるヒト臨床研究 (単群探索的試験) は, 2008 ~ 2010 年に東京女子医科大学において食道表在がんに行われた (図 2). 本臨床研究の対象は早期食道がんで, 内視鏡的に広範囲切除に及び, 術後に狭窄のリスクが高い 10 症例で, すべての症例において細胞シートの作製に成功し, いずれも細胞シートの最終出荷試験をクリアしていた<sup>4)</sup>. 2010 年に欧州の医科大学では, 最大規模であるカロリンスカ研究所と技術提携し, バレット食道の内視鏡治療後の食道再生治療のヒト臨床研究の準備を進め, 2012 年より臨床研究が開始されている. さらに本邦では 2013 年から, 長崎大学と東京女子医科大学のスーパー特区連携による, 組織や細胞シートの輸送を目的とした臨床研究が開始されている. これは, 長崎大学で口腔組織と血清を採取し, 東京女子医科大学の CPC に輸送し 16 日間培養し細胞シートを作製, 再び長崎へと輸送し, 長崎大学で食道広範囲 ESD 後に移植する研究で, 1,000 km 以上離れた施設においても, 組織工学製品 (細胞シート) の品質を損なわない配送や保存方法の開発を目的とした, 単群探索的研究である. この臨床研究の新規項目としては, 細胞シートを輸送し

図2 初期ヒト臨床研究：東京女子医科大学病院（2008～2010年）（文献<sup>4</sup>より引用改変）



体内へ移植するデバイスの開発も行い、治療成績の向上が認められている（図3）。

### 他家表皮細胞シートを用いた研究

自家上皮細胞シートを用いた再生治療が普及していくうえで、足枷となっている問題点が幾つか挙げられる。移植可能な上皮細胞シートが作製されるまで約2週間の期間を要することや、シート作製が熟練した手作業であること、無菌製剤製造と同等の品質管理のため、ランニングコストがかさむ細胞加工施設（CPF）を利用することによって、最終的に治療にかかる経済的負担が増大していることである。組織工学製品の細胞ソースに他家細胞が利用できると細胞採取や培養期間の待機が不要となり、さらにスケールメリットによって、経済的負担が

図3 細胞シート輸送ヒト臨床試験：長崎大学病院(2013年～)



軽減できる可能性が期待されている。

当研究所ではすでに、大動物の食道全周 ESD モデルにおいて、自家の培養表皮細胞シート1枚の移植により狭窄を軽減させることを報告しているが<sup>11)</sup>、同種移植においても、複数枚の表皮細胞シートを移植することにより治療効果が期待できる結果を得て、現在、論文投稿中である。

### おわりに

2013年、再生医療に関する法案として、再生医療の実用化を促す「再生医療推進法案」がすでに成立し、さらに再生医療製品の承認を早めるための「薬事法改正法案」や、細胞の培養作業を民間に委託することを可能とする「再生医療新法案」も国会で成立し、再生医療を取り巻く環境が大きく変化している。これにより本邦から、多くの安全かつ効果的なヒト細胞・組織工学製品が開発され、広く世界の患者へと普及していくことをおおいに期待している。

## 文 献

- 1) Yamato M, et al: Thermo-responsive culture dishes allow the intact harvest of multilayered keratinocyte sheets without disperse by reducing temperature. *Tissue Eng* 7: 473-480, 2001.
- 2) Nishida K, et al: Corneal reconstruction with tissue-engineered cell sheets composed of autologous oral mucosal epithelium. *N Engl J Med* 351: 1187-1196, 2004.
- 3) Sawa Y, et al: Tissue engineered myoblast sheets improved cardiac function sufficiently to discontinue LVAS in a patient with DCM: report of a case. *Surg Today* 42: 181-184, 2012.
- 4) Ohki T, et al: Prevention of esophageal stricture after endoscopic submucosal dissection using tissue-engineered cell sheets. *Gastroenterology* 143: 582-8 e2, 2012.
- 5) Ohki T, et al: Treatment of oesophageal ulcerations using endoscopic transplantation of tissue-engineered autologous oral mucosal epithelial cell sheets in a canine model. *Gut* 55: 1704-1710, 2006.
- 6) Ono S, et al: Predictors of postoperative stricture after esophageal endoscopic submucosal dissection for superficial squamous cell neoplasms. *Endoscopy* 41: 661-665, 2009.
- 7) Takahashi H, et al: Risk of perforation during dilation for esophageal strictures after endoscopic resection in patients with early squamous cell carcinoma. *Endoscopy* 43: 184-189, 2011.
- 8) Ezoe Y, et al: Efficacy of preventive endoscopic balloon dilation for esophageal stricture after endoscopic resection. *J Clin Gastroenterol* 45: 222-227, 2011.
- 9) Murakami D, et al: The effect of micropores in the surface of temperature-responsive culture inserts on the fabrication of transplantable canine oral mucosal epithelial cell sheets. *Biomaterials* 27: 5518-5523, 2006.
- 10) Takagi R, et al: Fabrication of human oral mucosal epithelial cell sheets for treatment of esophageal ulceration by endoscopic submucosal dissection. *Gastrointest Endosc* 72: 1253-1259, 2010.
- 11) Kanai N, et al: Fabricated autologous epidermal cell sheets for the prevention of esophageal stricture after circumferential ESD in a porcine model. *Gastrointest Endosc* 76: 873-881, 2012.

---

Attempt of Esophageal Regeneration  
Using Allogeneic Epithelial Cell Sheets

Nobuo Kanai<sup>1,2</sup>, Masayuki Yamato<sup>1</sup>, Shinichiro Kobayashi<sup>3</sup>,  
Masakazu Yamamoto<sup>2</sup>, Teruo Okano<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Institute of Advanced Biomedical Engineering and Science,  
Tokyo Women's Medical University (TWIns)

<sup>2</sup> Department of Surgery, Institute of Gastroenterology, Tokyo  
Women's Medical University

<sup>3</sup> Department of Surgery, Nagasaki University Graduate School of  
Biomedical Sciences

## 3

## 細胞シートを利用した食道再生治療

東京女子医科大学先端生命医科学研究所 特任助教 金井 信雄

## はじめに

近年、これまでの治療方法では治療困難な疾患に対して、再生医療的なアプローチでの治療法開発の期待がますます高まっている。再生医療とは、患者自身の細胞・組織または他者の細胞・組織を培養加工したものをを用いて、失われた組織や臓器を修復・再生する医療のことであり、この再生医療に使用するヒト由来で医療品として規制の対象である製品がヒト細胞・組織加工製品にあたる。本邦において2013年12月までに、患者へ再生医療的治療として提供可能と承認されているヒト細胞・組織工学製品はわずか2品目（自家培養表皮ジェイス<sup>®</sup>・自家培養軟骨ジャック<sup>®</sup>）のみであり、米国13品目、韓国10品目に比べて、組織工学製品の普及においては大きく遅れをとっている。

当研究所では培養細胞をシート状に回収し、単層もしくは積層化して利用する独自の概念“Cell Sheet Engineering”を提唱し、研究開発を進め、臨床研究へと展開してきた<sup>1-3)</sup>。食道領域においては、表在食道がんの広範囲に及ぶ内視鏡的粘膜下層切開術（Endoscopic Submucosal Dissection；ESD）後に、自己の口腔粘膜上皮で作製された口腔粘膜細胞シートを内視鏡的に患部に移植し、早期に上皮を再生させ狭窄を抑制させる再生医療的治療法を開発し<sup>4)</sup>、2008年からヒト臨床研究が行われた。また2010年にスウェーデンのカロリンスカ研究所と技術提携し、欧米人に多いバレット食道に対して、2012年から細胞シートによる再生治療の欧州ヒト臨床研究を開始している。さらに長崎大学と共同で、2013年から細胞シート空輸によ

る臨床研究を開始し、今後の標準治療を目指した臨床研究の展開を戦略的に進めており、将来的に世界中の患者へ提供可能な、日本発のテクノロジーを結集した組織工学製品の開発を目指している。

本稿では上皮細胞シートを用いた食道再生治療の動物実験ならびにヒト臨床研究の現状、今後の展望について概説したい。

## 内視鏡切除後の食道再生治療

食道表在がんに対する内視鏡的粘膜下層切開術（ESD）の偶発症として出血、穿孔、狭窄などがある。食道ESD後の狭窄は、広範囲に粘膜を切除した後に欠損した組織が癒着化する過程で認められる。近年、ESDによって切除後の粘膜欠損が食道管腔の3/4周を超える場合には、偶発症として高頻度に狭窄が生じると報告されている<sup>5-7)</sup>。ESDでは腫瘍径の大きな病変も一括切除が可能であるため、ESDの普及に伴い、内視鏡的切除の対象となる病変は増加傾向にある。この術後の食道狭窄は時に難治性であるため、安全かつ効果的に狭窄を予防する治療の開発が期待されている。

当研究所で開発された内視鏡治療後の上皮細胞シートを用いた食道再生治療とは、食道ESDを行う16日前に患者自身の口腔粘膜組織と患者の自己血清を少量採取し、口腔粘膜組織から単離した上皮細胞を温度応答性培養皿に播種し、FGFなどのサイトカインや採取した自己血清とともに培養する。従来、上皮細胞の培養にあたってはNIH/3T3細胞（マウス由来の繊維芽細胞）やウシ胎児血清（Fetal Bovine Serum；FBS）が使用されているが、ヒト臨床への応用に足枷

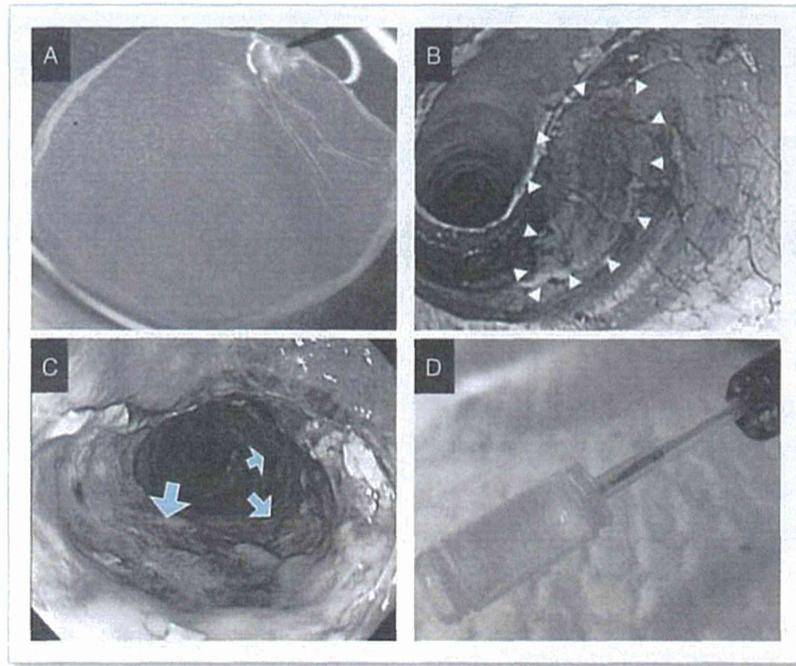


図1 細胞シート治療の実際

- A: 2週間の培養後に温度低下でシート状に回収した培養上皮細胞シート  
(画像はミニブタ由来の表皮細胞シート)  
B: 内視鏡切除後ただちに、自家培養口腔粘膜細胞シートを移植  
C: 術後4日目内視鏡画像、細胞シート移植部位からの上皮再生が認められる。  
D: 現在開発中の細胞シート移植デバイス。移植が効率的に可能となった。

になると考え、それらを除いて上皮細胞が重層化できる培養方法をすでに確立している<sup>8,9)</sup>。細胞培養センター (Cell Processing Center: CPC) での16日間の培養にて、播種した細胞はコンフルエントを経て適度に重層化し、37℃から20℃の温度低下により口腔粘膜細胞シートが採取可能となる。(図1-A) 2週間の培養により、細胞シートの底面にはラミニンやフィブロネクチンといった接着タンパクが豊富に発現しているため、ESDにより切除された粘膜欠損部に、縫合や接着剤を必要とせず、短時間ただ置いておくだけで生着が可能となっている。

### 細胞シート食道再生治療のヒト臨床研究

この自家口腔粘膜細胞シートを用いた食道領域での First in Human であるヒト臨床研究(単群探索的試験)は2008～2010年に東京女子医科大学において食道表在がんに行われた。したがって本臨床研究の対象は早期食道がん、内視鏡的に広範囲切除に及び、術後に狭窄のリスクが高い10症例で、すべての症例において細胞シートの作製に成功し、いずれも細胞シートの最終出荷試験をクリアしていた<sup>10)</sup>。そして2010年に

欧州の医科大学では最大規模であるカロリンスカ研究所と技術提携し、バレット食道の内視鏡治療後の食道再生治療の欧州ヒト臨床研究の準備を進め、2012年より探索的臨床研究が開始され、2014年よりランダム化比較試験開始される。さらに本邦では2013年から長崎大学と東京女子医科大学のスーパー特区連携による組織や細胞シートの輸送を目的とした臨床研究が開始されている。これは長崎大学で口腔組織と血清を採取し、東京女子医科大学のCPCに輸送し16日間培養し細胞シートを作製、再び長崎へと輸送し、長崎大学で食道広範囲ESD後に移植する研究で、1000km以上離れた施設においても、組織工学製品(細胞シート)の品質を損なわない配送や保存方法の開発を目的とした単群探索的研究である。この臨床研究の新規項目としては、細胞シートを体内へ輸送し移植するデバイスの開発も行い、治療成績の向上が認められている。(図1-B, C, D)

### 他家細胞利用によるメリット

自分の体から採取した細胞を培養した細胞シートを移植する自家培養方式の治療には、足枷となっている

問題点がいくつか挙げられる。移植可能な上皮細胞シートが作製されるまで約2週間の期間を要することや、シート作製が熟練した手作業であること。無菌製剤製造と同等の品質管理のためランニングコストがかさむ細胞加工施設 (Cell Processing Facility : CPF) を利用することによって、最終的に治療にかかる経済的負担が増大していることである。組織工学製品の細胞ソースに他家細胞が利用できると、細胞採取や培養期間の待機が不要となり、さらにスケールメリットによって経済的負担が軽減できる可能性が期待されている。

当研究所ではすでに、大動物の食道全周 ESD モデルにおいて、自家の培養表皮細胞シート1枚の移植により狭窄を軽減させることを報告しているが<sup>11)</sup>、同種移植においても複数枚の表皮細胞シートを移植することにより、治療効果が期待できる結果を得られている。

## おわりに

昨年、再生医療に関する法案として、再生医療の実用化を促す「再生医療推進法案」がすでに成立し、さらに再生医療製品の承認を早めるための「薬事法改正法案」や、細胞の培養作業を民間に委託することを可能とする「再生医療新法案」も国会で成立し、再生医療をとりまく環境が大きく変化している。これにより日本発の、多くの安全かつ効果的なヒト細胞・組織工学製品が開発され、広く世界の臨床現場へと普及し、患者にとって福音となっていくことを大いに期待している。

## 参考文献

- 1) Yamato M, et al. Thermo-responsive culture dishes allow the intact harvest of multilayered keratinocyte sheets without disperse by reducing temperature. *Tissue Eng* 2001 ; 7 : 473-80.
- 2) Nishida K, et al. Corneal reconstruction with tissue-engineered cell sheets composed of autologous oral mucosal epithelium. *N Engl J Med* 2004 ; 351 : 1187-96.
- 3) Sawa Y, et al. Tissue engineered myoblast sheets improved cardiac function sufficiently to discontinue LVAS in a patient with DCM : report of a case. *Surg Today* 2012 ; 42 : 181-4.
- 4) Ohki T, et al. Treatment of oesophageal ulcerations using endoscopic transplantation of tissue-engineered autologous oral mucosal epithelial cell sheets in a canine model. *Gut* 2006 ; 55 : 1704-10.
- 5) Ono S, et al. Predictors of postoperative stricture after esophageal endoscopic submucosal dissection for superficial squamous cell neoplasms. *Endoscopy* 2009 ; 41 : 661-5.
- 6) Takahashi H, et al. Risk of perforation during dilation for esophageal strictures after endoscopic resection in patients with early squamous cell carcinoma. *Endoscopy* 2011 ; 43 : 184-9.
- 7) Ezoe Y, et al. Efficacy of preventive endoscopic balloon dilation for esophageal stricture after endoscopic resection. *J Clin Gastroenterol* 2011 ; 45 : 222-7.
- 8) Murakami D, et al. The effect of micropores in the surface of temperature-responsive culture inserts on the fabrication of transplantable canine oral mucosal epithelial cell sheets. *Biomaterials* 2006 ; 27 : 5518-23.
- 9) Takagi R, et al. Fabrication of human oral mucosal epithelial cell sheets for treatment of esophageal ulceration by endoscopic submucosal dissection. *Gastrointest Endosc* 2010 ; 72 : 1253-9.
- 10) Ohki T, et al. Prevention of esophageal stricture after endoscopic submucosal dissection using tissue-engineered cell sheets. *Gastroenterology* 2012 ; 143 : 582-8 e2.
- 11) Kanai N, et al. Fabricated autologous epidermal cell sheets for the prevention of esophageal stricture after circumferential ESD in a porcine model. *Gastrointest Endosc* 2012.

