

8章 再生医療・幹細胞研究

【要 旨】

再生医療とは、損傷を受けた生体機能を還元させることを目的とした医療分野である。他人の組織を移植する従来の手法とは異なり、再生医療では組織の元となる幹細胞の移植などによる還元を行う。再生医療は現在の対症療法的な外科治療法で課題とされている、慢性的なドナー不足・他家移植に伴う拒否反応などの問題を解決し得ることから、世界的に注目を集めている。また幹細胞技術の発展により、現在は実験動物など生体からの摘出に頼っている組織・臓器が、自由に作成可能になると見込まれている。これにより、疾病治療・創薬研究から生物の発生に関する基礎研究まで、幅広い分野への貢献が期待される。

近年は特に多能性幹細胞（ES細胞・iPS細胞）の研究が進んでおり、腫瘍形成リスクの低減、培養効率の改善、臓器原基の形成など実用化につながる知見が蓄積されてきた。2010年にはES細胞、2014年にはiPS細胞を用いた初の臨床試験が実施され、法改正による後押しも相まって今後期待が集まっている。また、体性幹細胞やダイレクトリプログラミングなど、多能性幹細胞以外を用いた再生医療についても研究が進みつつある。今後は、導入する細胞の安全性確保とコスト削減、再生医療を可能とする医師・医療者の育成、最先端の医学を支える研究者の育成が実用化に向けた課題となると予想される。

I 背景

ヒト体内の細胞のうち、ほとんどの細胞は特定の機能に専門化（＝分化）した細胞であり、それ以外の細胞へと分化する機能を失っている。しかし、幹細胞と呼ばれる一部の細胞は様々な細胞に分化することができ、生体の損傷の再生などに役立てられている。例えば、赤血球は既に分化した状態の細胞であり、酸素の運搬に機能を特化しており、他の種類の細胞になることはできない。しかしヒト体内に元来存在する体性幹細胞の一種である造血幹細胞は赤血球、白血球、血小板など血液を構成する様々な細胞に分化することができるため、何らかの理由で血液が失われた際には増殖・分化することによって血液を再生することができる。

体性幹細胞は体内に存在する完全に分化していない細胞のことであり、造血幹細胞、神経幹細胞、筋幹細胞、肝幹細胞、間葉系幹細胞、皮膚幹細胞など様々なものが見つかっている。これらを再生医療へと活用するための研究が進められているが、体性幹細胞は体内に存在する数が少ない、安定的に増殖しない、分化できる細胞種が限られており再生できる組織も限られる、などの課題がある。そこで、あらゆる細胞・組織の再生を可能にするため、ヒト個体が持つ全ての細胞種に分化できる幹細胞の研究が進められてきた。その結果として生み出されたのが、1998年に発表されたヒト胚性幹細胞（embryonic stem cell: ES細胞）の培養法と、2007年に発表されたヒト人工多能性幹細胞（induced pluripotent stem cell: iPS細胞）の作成法である。これらの幹細胞は多能性（pluripotency）を有しており、外胚葉、内胚葉、中胚葉の三胚葉に属する全ての細胞へと分化することが可能である。そのためES細胞・iPS細胞を、損傷した生体機能を再生させる医療、すなわち再生医療へ活用することが期待されている。また幹細胞は、副作用の影響を検証するために臨床試験を繰り返す

必要があるとされている創薬研究への応用も可能である。ヒト幹細胞から分化させた細胞や、得られた細胞によって作成された人工臓器を用いて毒性試験を行うことで、前臨床試験に含まれる各種動物実験等の代替化が可能となるほか、開発の早い段階からヒトの細胞を用いることによって、新薬候補物質の効率的かつ低コストな選定に期待が高まっている。

本章では、再生医療分野について基礎研究から臨床に至るまでのプロセスを「幹細胞の作成・培養」「分化誘導」「組織・臓器形成」「臨床活用」に大別し、各段階における研究開発の概況と事例を紹介する。最後に「今後の展望」として、再生医療分野において現在挙げられている代表的な課題について述べる。

II 幹細胞の作成・培養

1 研究概況

世界初の多能性ヒト幹細胞は、1998年に米国ウィスコンシン（Wisconsin）大学のジェームズ・トムソン（James Thomson）教授らによって樹立されたヒトES細胞である⁽¹⁾。ES細胞は受精後6～7日目の受精卵（胚盤胞）から取り出した内部細胞塊を培養した細胞で、生殖細胞を含む全ての組織に分化できる多能性を持つため、再生医療への活用が期待されている⁽²⁾。一方で、胚盤胞は受精卵から更に発生が進んだ状態であり、生命の初期段階であることから、それを滅失する必要がある点に倫理的な問題が生じることを指摘する声もある。また、ES細胞は患者と異なる個体である胚盤胞から作成されるため、他人由来の細胞を移植することによる拒絶反応を起こす可能性がある。この問題はクローン胚を用いることで克服できるが、ヒトクローン胚を材料としたES細胞の作成は、ヒトES細胞樹立から15年後の2013年になって初めて成功が報告された⁽³⁾。

既に発生の段階を終えた個体の体細胞を材料として、多能性を有する幹細胞が得られれば、ES細胞が抱えている倫理的・科学的問題は解決できる。そこで、体細胞由来の人工多能性ヒト幹細胞として、2007年に京都大学の山中伸弥教授ら及び米国ウィスコンシン大学のジェームズ・トムソン教授らによって樹立されたのが、ヒトiPS細胞である⁽⁴⁾。iPS細胞は、遺伝子導入によって体細胞をES細胞と同様に多能性を有する状態にした細胞であり、移植対象となる患者本人の細胞をもとに作ることができる。そのため、従来の再生医療では避けられなかった拒絶反応がなく、受精卵を利用するという倫理上の問題もないため、画期的な再生医療のツールとして期待されている。

iPS細胞はES細胞における課題の一部を解決したが、遺伝子導入による細胞の異常に由来する腫瘍形成の可能性や、iPS細胞の作成効率の向上など課題はいまなお残っており、悪性腫瘍形成への対策⁽⁵⁾や作成効率の向上⁽⁶⁾など、世界的に活発な研究が続けられている。

* 本稿におけるインターネット情報の最終アクセス日は、2016年2月10日である。

- (1) James A. Thomson et al., "Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts," *Science*, 282(5391), 1998.11, pp.1145-1147.
- (2) 「幹細胞ハンドブック—からだの再生を担う細胞たち—」 京都大学 iPS 細胞研究所ウェブサイト <http://www.icems.kyoto-u.ac.jp/cira/doc/handbookstemcell_web.pdf>
- (3) Masahito Tachibana et al., "Human Embryonic Stem Cells Derived by Somatic Cell Nuclear Transfer," *Cell*, 153(6), 2013.6, pp.1228-1238.
- (4) Kazutoshi Takahashi et al., "Induction of Pluripotent Stem Cells from Adult Human Fibroblasts by Defined Factors," *Cell*, 131(5), 2007.11, pp.861-872; Junying Yu et al., "Induced Pluripotent Stem Cell Lines Derived from Human Somatic Cells," *Science*, 318(5858), 2007.12, pp.1917-1920.
- (5) Momoko Maekawa et al., "Direct reprogramming of somatic cells is promoted by maternal transcription factor Glis1," *Nature*, 474(7350), 2011.6, pp.225-229.

さらに2015年、iPS細胞をもとにヒト始原生殖細胞の作成が可能になったことから、不妊治療への応用が期待される反面、単一のヒト個体から新たな個体を作れる点が倫理面で議論の的になっている⁽⁷⁾。また実用化に際しては、細胞の作成や維持にかかるコスト高が現時点での妨げとなっており、現実的な臨床利用や研究促進のためには、幹細胞の安定した供給ラインとしての、臨床用細胞バンクの構築と活用を促進する必要がある。

2 近年の研究開発動向

再生医療に対する期待の高まりを受けて、幹細胞研究における主要な課題である安全性の確保とコスト低減に向けた研究が、世界各国で行われている。なかでも幹細胞の作成及び維持技術の改善については、産業界における研究開発も進んでおり、目覚ましい進展が見られる。以下では幹細胞分野における日本国内の研究開発例として、安全性に優れた体性幹細胞である間葉系幹細胞⁽⁸⁾の再生医療への応用を目指した研究と、幹細胞の産業化を見据えた三次元培養法開発の2例を示す。

(1) 内在性の多能性幹細胞 Muse 細胞 (2010年)

iPS細胞は成人の体細胞から作成できるため、患者本人の細胞を治療に用いることができ、従来の再生医療では避けられなかった拒絶反応の可能性が低いことから画期的な発見とされた。一方で多能性獲得のための遺伝子導入操作が腫瘍化の可能性を高めており、iPS細胞を用いた治療の実現を困難にしている。東北大学大学院医学系研究科の出澤真理教授らによって2010年に発表された Muse (multilineage-differentiating stress enduring) 細胞は、「成人の体細胞から得られる」「多能性を持つ」「腫瘍性を持たない」「損傷した組織を自発的に再生する」という特徴から、有効で安全性の高い再生医療の実現に向けた貢献が期待されている⁽⁹⁾。Muse細胞が属する間葉系細胞には、従来から間葉系幹細胞の存在が知られており、再生医療への応用が期待されていた。なかでも間葉系幹細胞の数%を構成する Muse 細胞は、外胚葉・内胚葉・中胚葉の三胚葉性の一部の細胞への分化能を有することに加えて、生体内では損傷を受けた組織に誘導されて自発的に分化を行うという特徴がある。iPS細胞が高いテロメラーゼ⁽¹⁰⁾活性を示す一方で、Muse細胞は生体内に元から存在する細胞であることから、通常の体細胞と同程度の活性しか示さないことが明らかになっており⁽¹¹⁾、

(6) Yoach Rais et al., “Deterministic direct reprogramming of somatic cells to pluripotency,” *Nature*, 502 (7469), 2013.10, pp.65-70.

(7) Kotaro Sasaki et al., “Robust in vitro induction of human germ cell fate from pluripotent stem cells,” *Cell Stem Cell*, 17(2), 2015.8, pp.178-194.

(8) 間葉系幹細胞は骨芽細胞、脂肪細胞、筋細胞、軟骨細胞など中胚葉性組織（間葉）に属する細胞への分化能をもつとされる細胞であり、骨、血管、心筋の再構築などの再生医療への応用が期待されている。

(9) Yasumasa Kuroda et al., “Unique multipotent cells in adult human mesenchymal cell populations,” *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 107(19), 2010.5, pp.8639-8643; 出澤真理「ヒト生体に内在する新たな多能性幹細胞 Muse 細胞—細胞治療、予後の診断、創薬、病態解析への展開の可能性—」『人工臓器』42巻1号, 2013.9, pp.16-18.

(10) 腫瘍性の指標となる酵素。染色体末端（テロメア）の特異的反復配列を伸長させる機能がある。通常の細胞では細胞分裂に伴いテロメアの短縮が進み、やがて分裂を止めて細胞死に至るが、生殖細胞・幹細胞・がん細胞など一部の細胞ではテロメラーゼによるテロメアの伸長が起きるため、細胞は継続的に分裂し、いわゆるがん化に至る。

(11) Shohei Wakao et al., “Multilineage-differentiating stress-enduring (Muse) cells are a primary source of induced pluripotent stem cells in human fibroblasts,” *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 108(24), 2011.6, pp.9875-9880.

腫瘍形成の可能性は非常に低くなっている。また骨髄移植・間葉系幹細胞移植の一部として既にヒトへの移植例があることから、安全性には高い実績を持つ。なお現在 Muse 細胞に関しては大学発ベンチャーの Clio 社が独占的实施権を持っており、2015 年 5 月に三菱ケミカルホールディングスが連結子会社化を実施し、臨床試験を計画している⁽¹²⁾。他の多能性細胞と比較すると分化できる細胞種の制限があるため、適用先は限られるものの、有用性の高さから今後再生医療の実現に向けた活用が期待される。

(2) 三次元スフェア培養法 (2014 年)

再生医療や創薬研究への利用可能性から、幹細胞への需要が高まっている。細胞の生産方法として、設備の構造とコストの両面から、液体培地の中で細胞を培養する浮遊培養が注目されているが、「細胞が不均一な塊を形成してしまう」「攪拌によって細胞がダメージを受ける」などの問題があり、単純に規模を拡大するだけでは大量生産を実現できない。この問題を解決するため、2014 年京都大学と日産化学工業の合同チームによって、2 種類の機能性高分子を用いた新たな三次元培養法が開発された⁽¹³⁾。

この手法では、機能性高分子メチルセルロースの添加により、培地中を細胞塊 (スフェア) が浮遊して互いに接触しないようにすることで、スフェア同士のランダムな融合を妨げている。また従来は細胞継代⁽¹⁴⁾時に酵素処理によって細胞同士を解離させていたのに対し、新規に開発された手法ではナイロンメッシュフィルターによる機械的な解離を行うことによって、生じるスフェアの均一化を可能にした。さらに機能性高分子ジェランガム⁽¹⁵⁾の添加によって、攪拌操作をせずに細胞を浮遊させることができるようになり、一定の質を保ちつつ大量培養が可能になった。

この研究は、幹細胞の安定供給における課題である質の均一化及び生産コストの削減につながることから、今後の幹細胞の産業化に貢献できると見られる。また、この培養法を用いた培養機器システムは、従来の培養システムでは不可能であった心筋細胞や神経細胞など分化細胞の大量生産に適応可能であることから、将来的なシェアを獲得できる可能性もある⁽¹⁶⁾。

III 分化誘導

1 研究概況

幹細胞の分化は、細胞内外の環境が複雑に影響しあいながら綿密に制御されており、幹細胞から目的の細胞種を分化させるためには、分化メカニズムの理解と手法の確立が不可欠である。分化の方向性を決定づける主要なシグナル因子は既に単離されており、実際に ES 細胞・iPS 細胞を対象に、多くの細胞種への分化誘導の成功が報告されている。

-
- (12) 「株式会社 Clio の株式取得 (連結子会社化) について」 2015.5.14. 三菱ケミカルホールディングスウェブサイト <http://www.mitsubishichem-hd.co.jp/news_release/00230.html>
 - (13) 「ヒト多能性幹細胞の新規三次元培養法を開発—細胞を傷つけず大量培養可能に一」 2014.4.25. 新エネルギー・産業技術総合開発機構ウェブサイト <http://www.nedo.go.jp/news/press/AA5_100271.html>
 - (14) 細胞培養で既存の培養あるいはその一部を新しい培地を含む培養容器に移し替えて、次代として増殖、維持すること。
 - (15) 複合多糖類に分類される水溶性多糖類で、点眼剤や、乳化剤、安定剤などの食品添加物として広く使われている。
 - (16) 「ヒト多能性幹細胞の新規三次元培養法を開発—細胞を傷つけず大量培養可能に一」 前掲注(13)

分化誘導の制御は、再生医療への応用だけでなく創薬をはじめとする研究にも活用できることから、インパクトの高い研究分野である。現在国内で1つの薬が市場に出るまでには9～17年の歳月がかかると言われており、うち6～12年は前臨床試験・臨床試験に費やされている⁽¹⁷⁾。また新薬候補として各種試験の対象となる物質のうち、実際に新薬として認可されるのは約3万分の1であり、開発プロセスの途中で除外されたものも含めると、上市までに新薬1つあたり約484億円(2008年価格)のコストがかかっていると推計されている⁽¹⁸⁾。

幹細胞の確実な分化誘導制御が可能になれば、ヒト幹細胞から分化させた細胞や、それによって作成された人工臓器を用いて毒性試験を行うことで、前臨床試験に含まれる各種動物実験等の代替が可能となり、時間的・金銭的コストを大幅に削減できる可能性がある。また、より早い段階からヒトの細胞を用いてスクリーニングを行うことで、より効率的な新薬候補物質の選定が可能になる。これらの取組により、最も研究開発費のかかる臨床研究への移行後に失敗する可能性を低減できる。薬の副作用は、主に薬が肝臓・腎臓・心臓へ作用することに起因するため、幹細胞を材料としてこれらの臓器の持つ機能を再現する研究が、現在精力的に行われている。

また、幹細胞の分化誘導によって目的の細胞種を得る技術だけでなく、体細胞に直接遺伝子導入を行うことで、直接一定の細胞種に分化させるダイレクトリプログラミングの研究(後述)が進んできている。これは多能性幹細胞を経由する方法と比べて、実験手法が簡単で再現性が高いこと、未分化な多能性幹細胞に由来する腫瘍形成を防げることが利点である。

2 近年の研究開発動向

多能性幹細胞の分化誘導に関しては既に多くの研究がされており、三胚葉に属する主要な細胞種については分化制御の成功例が報告されている。一方、多能性幹細胞を介さずに分化細胞を誘導するダイレクトリプログラミング技術を用いた研究も、2010年頃から注目を集めてきた。分化誘導の制御は、細胞から組織や臓器を作成するための第一歩となるほか、様々な細胞種が入手できるようになることから、創薬研究への貢献も期待される。以下では、ヒトの皮膚の細胞からダイレクトリプログラミングによって血液細胞を誘導した研究と、iPS細胞の創薬分野への活用に向けた日本での取組について紹介する。

- (1) ヒト皮膚線維芽細胞のダイレクトリプログラミングによる造血前駆細胞の作成(2010年)
 体細胞からiPS細胞を通じて目的の細胞種を作成する際には、まず患者より採取した体細胞に遺伝子を導入することで「初期化(=リプログラミング)」をさせ、多能性を持つiPS細胞を作成する。次に、作成されたiPS細胞を目的の細胞種へ分化させるという手順をとるのが主流である。2007年に京都大学の山中伸弥教授らがヒトiPS細胞を樹立した際には、「山中因子」と呼ばれるOct3/4・Sox2・Klf4・c-Mycの4つの遺伝子を導入している。し

(17) 「Q33 1つのくすりを開発するのに、どれくらいの年月がかかりますか。」 日本製薬工業協会ウェブサイト <http://www.jpma.or.jp/medicine/med_qa/info_qa55/q33.html>

(18) 「DATA BOOK 2015」 2015.2, p.46. 日本製薬工業協会ウェブサイト <http://www.jpma.or.jp/about/issue/gratis/databook/pdf/databook2015_jpn.pdf>; 八木崇・大久保昌美「医薬品開発の期間と費用—アンケートによる実態調査—」『医薬産業政策研究所リサーチペーパーシリーズ』No.59, 2013.7, p.25. 医薬産業政策研究所ウェブサイト <http://www.jpma.or.jp/opir/research/rs_059/paper_59.pdf>

かし、2010年にカナダのマックマスター(McMaster)大学のミッキー・バティア(Mickie Bhatia)教授らの研究グループが、上記4遺伝子のうち多能性の維持に関わる遺伝子Oct3/4のみの導入によって、ヒト皮膚線維芽細胞から造血前駆細胞⁽¹⁹⁾を直接作成(=ダイレクトプログラミング)できることを発表した⁽²⁰⁾。同研究グループは更に、作成した造血前駆細胞の誘導により、リンパ球を除く白血球、赤血球、血小板の作成に成功している。多能性幹細胞を介さずに分化細胞を誘導する手法は、マウス由来の線維芽細胞では神経細胞⁽²¹⁾や心筋細胞⁽²²⁾の作成が報告されていたが、バティア教授らによって初めてヒト由来の細胞でもダイレクトプログラミングによる誘導が可能なが示された。この手法も、外来遺伝子を組み込んでいる点ではiPS細胞と同様に腫瘍形成のおそれがあるが、iPS細胞と異なり多能性幹細胞化の段階を踏んでいないため、誤導入された未分化な細胞の異常増殖による奇形腫(テラトーマ)の形成は避けられる。臨床での実用化までは隔たりがあるものの、患者自身の細胞から血液を作成する方法への可能性が示された。

(2) iPS細胞由来心筋シートを用いた薬剤の心毒性スクリーニング(2015年)

創薬研究における安全性評価にヒトiPS細胞を活用すると、ヒトに投与した際の副作用の予測が開発初期の段階で可能になることから、コスト削減、開発期間の短縮などの効果が期待されている。これまでに日本では、iPS細胞による安全性評価の実用化に向けた取組が精力的になされており、2013年には日本製薬工業協会及び安全性試験受託研究機関協議会加盟企業から計36社が参加する、ヒトiPS細胞応用安全性評価コンソーシアム(Consortium for Safety Assessment using Human iPS Cells: CSAHi)が発足した。また、心毒性評価系の開発・標準化を推進するJapan iPS Cardiac Safety Assessment(JiCSA)も、2014年に設立された⁽²³⁾。これらのコンソーシアムはいずれも企業に加えて国の研究機関や大学が参加しており、産官学が共同で研究開発を進められる環境として期待される。

2015年、CSAHi・JiCSA・日本安全性薬理研究会(Japanese Safety Pharmacology Society: JSPS)の協働による成果として、ヒトiPS細胞由来心筋細胞を用いて、薬剤性の心室再分極遅延(QT延長)⁽²⁴⁾に起因する不整脈を予測できる心毒性スクリーニング手法が発表された。この研究では、細胞外電位の測定によって、薬剤候補が副作用として不整脈を引き起こすリスク(催不整脈性)の予測ができることを明らかにしている⁽²⁵⁾。従来はQT延長の予測はできても、催不整脈性の予測は難しかったのに対し、この手法であれば7~8割程度の確率で催不整脈性を予測できるようになっているという⁽²⁶⁾。

(19) 幹細胞から発生し特定の体細胞や生殖細胞に分化する途中の段階にある細胞。幹細胞は体の様々な組織・臓器に分化する能力をもつが、前駆細胞の分化能力は限られている。

(20) Eva Szabo et al., "Direct conversion of human fibroblasts to multilineage blood progenitors," *Nature*, 468(7323), 2010.11, pp.521-526.

(21) Thomas Vierbuchen et al., "Direct conversion of fibroblasts to functional neurons by defined factors," *Nature*, 463(7284), 2010.1, pp.1035-1041.

(22) Masaki Ieda et al., "Direct reprogramming of fibroblasts into functional cardiomyocytes by defined factors," *Cell*, 142(3), 2010.8, pp.375-386.

(23) 「活動報告」 Japan iPS Cardiac Safety Assessment ウェブサイト <<http://jicsa.org/report/>>

(24) 筋肉が収縮した後、通常の電位状態に戻ることを再分極と呼ぶ。心室においてこの再分極が遅れると、心室が通常よりも頻繁で連続的な収縮を引き起こすため、不整脈のリスクが増大する。

(25) Keiichi Asakura et al., "Improvement of acquisition and analysis methods in multi-electrode array experiments with iPS cell-derived cardiomyocytes," *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*, 75, 2015.4, pp.17-26.

(26) 「【CSAHi】一部の心毒性を非臨床で予測—iPS細胞の創薬応用で研究成果—」2015.8.15. 薬事日報ウェブサイト <<http://www.yakuji.co.jp/entry45450.html>>

IV 組織・臓器形成

1 研究概況

ヒトの体内では、複数の細胞種が特定のパターンで結合して組織を形成し、複数の組織が結合して臓器として働くことで、機能を発揮している。そのため再生医療においては、分化誘導した細胞が、導入後に組織を形成していることが重要である。

細胞の移植のみでは、複雑な構造を有する組織の再生は難しい。そのため、1993年にマサチューセッツ工科大学 (Massachusetts Institute of Technology: MIT) のロバート・ランガー (Robert Langer) 教授とハーバード (Harvard) 大学のジョセフ・バカンティ (Joseph P. Vacanti) 教授の2名によって、組織工学 (ティッシュエンジニアリング) の概念が提唱されて以来、立体構造の土台となるスキャホールド⁽²⁷⁾を用いた細胞の構造化について長く研究が進められてきた⁽²⁸⁾。なかでも、再生医療分野では細胞をとりまく微小環境 (ニッチ) が幹細胞の分化・増殖を制御することが注目され、2010年頃からは生物学的機能性を有するバイオリジカルスキャホールドの研究開発が精力的に行われている。一方で、人工物を生体に導入するスキャホールド治療は、異物の導入によって炎症を引き起こすおそれがあることから、スキャホールドを用いない細胞治療の研究も2010年頃から盛んになりつつある。また、細胞の動態に密接に関わるものの、これまで生物学にうまく取り入れられてこなかった、細胞の物理的 (特に力学的) 特性を研究対象とするメカノバイオロジーと呼ばれる分野も研究が進められており、シンガポール国立大学で2009年にメカノバイオロジー研究所 (Mechanobiology Institute) が創設されるなど新たな動きも起こりつつある⁽²⁹⁾。

上記のとおり、組織・臓器形成については様々な研究開発が進んでいる。まだ完全なヒト臓器の再構築例はないものの、骨や心筋、血管など、様々な細胞種について知見が蓄積されつつある。

2 近年の研究開発動向

バイオリジカルスキャホールドについては、主に生体由来のタンパク質を用いたスキャホールド (bioderived scaffold)、生体機能を模倣したスキャホールド (biomimetic scaffold)、既存の組織から生体成分を除いて (=脱細胞化) 作成するスキャホールド、すなわち脱細胞スキャホールド (acellular scaffold) の3種について研究が進められてきた。また、スキャホールドを用いない構造化を目指した研究として、細胞シートや細胞3Dプリンタなどの技術開発が進められているほか、細胞の自律的な組織化の誘導によって、臓器に似た構造体である臓器原基 (オルガノイド) を作成する手法も開発された。以下では、脱細胞スキャホールドを用いて臓器を再構成した研究例と、2015年に発表されたオルガノイドバンクの設置について述べる。

(1) 脱細胞化ラット心臓を用いた心臓の再構成 (2008年、2013年)

バイオリジカルスキャホールドの目的は、生体内で幹細胞の分化・増殖を制御している微小環境を模倣することで、細胞の構造化を支えることである。そこで、既存の組織を処

(27) 組織が立体構造を形成するための土台として生体に導入する材料。主にコラーゲンなどの高分子からなり、細胞が接着・増殖するための足場となる。

(28) Robert Langer and Joseph P. Vacanti, "Tissue engineering," *Science*, 260(5110), 1993.5, pp.920-926.

(29) "About MBI." Mechanobiology Institute Singapore Website <<http://mbi.nus.edu.sg/about/>>

理して脱細胞化し、構造タンパク質のみを利用するのが脱細胞スキャホールドである。2008年に米国ハーバード大学医学大学院のハラルド・オット (Harald Ott) 博士らが公開した手法では、死んだラットの心臓を界面活性剤処理によって脱細胞化し、細胞を支えていた構造タンパク質だけを残した状態にした後、心細胞及び内皮細胞の培養によって心臓の再構成が行われた⁽³⁰⁾。再構成された心臓は自律的に拍動をしており、培養から8日間で成体ラットの心筋の2%ほどの収縮力を再現できた。更に2013年には、米国ピッツバーグ (Pittsburgh) 大学のトゥンイン・ルー (Tung-Ying Lu) 博士らによって同様の実験がヒト iPS 細胞を用いて行われ、20日間の血液供給を受けて再構成された心臓全体の約90%が拍動したとの結果が得られた⁽³¹⁾。

(2) オルガノイドバンク (2015年)

動物の細胞は、様々な細胞種が相互作用しながら組織を形成しており、適切な条件下であれば、自己組織化によって自律的に3次元構造を構築する能力を持っている。これを利用して、スキャホールドを使わずに作成される原始的な臓器原基がオルガノイドである。2009年に大腸のオルガノイドを作成したオランダのヒューブレヒト (Hubrecht) 研究所のハンス・クレバース (Hans Clevers) 教授率いる研究グループは、その後2015年に様々な臓器のオルガノイドを蓄えたバンクを作ると発表した⁽³²⁾。これらのオルガノイドは、臓器としては不完全ではあるものの、元の臓器の持つ特徴を反映しており、再生医療や創薬のための研究材料として有用である (表1)。

表1 作成が報告されているオルガノイドと想定される主な用途

オルガノイド	想定される用途
大脳皮質	脳の発達、神経変性疾患、その他障害などの研究
腸	個人の体質に合わせた投薬のための実験材料
眼杯	眼病の治療
脳下垂体	内分泌障害の治療
腎臓	毒性検査、組織移植
肝臓	肝障害の治療
すい臓	糖尿病治療、すい臓がん治療薬の特定
神経管	神経発達の研究、細胞治療
胃	胃の発達の研究、胃潰瘍など胃障害のモデル
前立腺	前立腺がんの有効な投薬モデルの予測
乳房	乳がん発症のメカニズム解明
心臓	心臓の発達の研究と薬が与える影響の研究
肺	肺発達・成熟・疾患モデル

(出典) Cassandra Willyard, "Rise of the Organoids," *Nature*, 527, 2015.7, p.521. を基にみずほ情報総研作成。

(30) Harald C. Ott et al., "Perfusion-decellularized matrix: using nature's platform to engineer a bioartificial heart," *Nature Medicine*, 14, 2008.1, pp.213-221.
 (31) Tung-Ying Lu et al., "Repopulation of decellularized mouse heart with human induced pluripotent stem cell-derived cardiovascular progenitor cells," *Nature Communications*, 4, 2013.8.
 (32) Marc van de Wetering et al., "Prospective Derivation of a Living Organoid Biobank of Colorectal Cancer Patients," *Cell*, 161(4), 2015.5, pp.933-945.

V 臨床活用

1 研究概況

ヒト幹細胞を用いた臨床研究は既に各地で行われており、「ヒト幹細胞を用いる臨床研究に関する指針」(平成25年厚生労働省告示第317号。平成26年11月24日をもって廃止)及び「再生医療等の安全性の確保等に関する法律」(平成25年法律第85号。平成26年11月25日より施行)に基づき申請された臨床研究として、平成27(2015)年1月時点で国内では100件以上が厚生労働省の認可を受けている⁽³³⁾。このほとんどは体性幹細胞の自家移植であり、うち14件は細胞シート技術を用いたものである。

世界で初めてヒトES細胞を用いた臨床試験を実施したのは、米国Geron社である。2010年10月、脊髄損傷治療を目的に、ヒトES細胞由来の医薬品が患者の脊髄損傷部位に投与された⁽³⁴⁾。財政上の理由により2011年11月に臨床試験は中断され、効果の確認には至っていないが、安全性は確認できたとされている⁽³⁵⁾。2012年1月には、米国Advanced Cell Technologies社(現Ocata社)によるヒトES細胞由来網膜色素上皮の移植実験が行われ、その効果と安全性が確認された⁽³⁶⁾。ヒトiPS細胞を用いた世界で初めての臨床試験は、2014年9月に実施された理化学研究所の高橋政代博士らによる、iPS細胞由来網膜色素上皮シートの移植実験である⁽³⁷⁾。

このように、ES細胞やiPS細胞など多能性幹細胞の利用・実用化に向けた研究開発は着実に進展しており、期待が集まっている。特にiPS細胞の治験は、2013年4月26日に可決された「再生医療を国民が迅速かつ安全に受けられるようにするための施策の総合的な推進に関する法律」(いわゆる「再生医療推進法」。平成25年法律第13号)に後押しされる形で、世界に先駆けて日本で行われた治験であり、これまで臨床試験が進まず、先進的な医療の導入が遅いとされてきた日本における体制の変化を示唆するものとなった。また、従来の「薬事法」(昭和35年法律第145号)が医薬品、医療機器等の安全かつ迅速な提供の確保を図る目的で、「医薬品、医療機器等の品質、有効性及び安全性の確保等に関する法律」(いわゆる「医薬品医療機器等法」)に改正された⁽³⁸⁾ことに伴い、平成26年11月の施行とともに、再生医療等製品の条件及び期限付承認制度が発足した。これらの措置により、現在、日本は世界に先駆けて再生医療製品を生み出す環境が整備された⁽³⁹⁾。

iPS細胞の樹立、世界初のiPS細胞臨床試験の開始、細胞シート技術など、再生医療分野において日本は世界を牽引できる技術を持っているように見える。しかし、これまでの再生医療等製品のデータを見ると、我が国で厚生労働省薬事・食品衛生審議会より承認を

(33) 「ヒト幹細胞を用いる臨床研究に関する指針」に基づいた臨床研究 多能性幹細胞安全情報サイトウェブサイト <<http://www.nihs.go.jp/cbtp/sispsc/html/table2.html>>

(34) “Geron Initiates Clinical Trial of Human Embryonic Stem Cell-Based Therapy,” October 11, 2010. Geron Website <<http://ir.geron.com/phoenix.zhtml?c=67323&p=irol-newsArticle&ID=1636150>>

(35) “Geron to Focus on its Novel Cancer Programs,” November 14, 2011. Geron Website <<http://ir.geron.com/phoenix.zhtml?c=67323&p=irol-newsArticle&ID=1635764>>

(36) Steven D. Schwartz et al., “Human embryonic stem cell-derived retinal pigment epithelium in patients with age-related macular degeneration and Stargardt’s macular dystrophy: follow-up of two open-label phase 1/2 studies,” *Lancet*, 385(9967), 2015.2, pp.509-516.

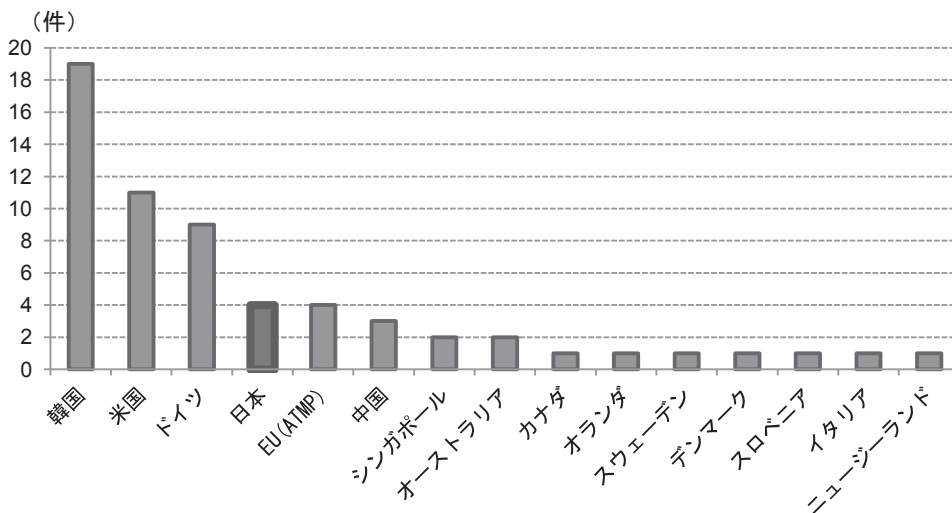
(37) 「滲出型加齢黄斑変性の臨床研究」 理化学研究所多細胞システム形成研究センターウェブサイト <<http://www.riken-ibri.jp/AMD/>>

(38) 全部改正ではない。

(39) 「世界の再生医療産業化に貢献する日本」2016.2.1. 再生医療イノベーションフォーラムウェブサイト <http://firm.or.jp/pre_rmit/RMIT_jpn.pdf>

得ているのは、ジャパン・ティッシュ・エンジニアリング社の自家培養表皮「ジェイス」、同社の自家培養軟骨「ジャック」、テルモ社の自家骨格筋芽細胞シート「ハートシート」及びJCR ファーマ社の他家骨髄由来間葉系肝細胞「テムセル HS 注」の4製品のみである(図1参照)。一方、海外の承認状況を見ると、韓国は19製品、米国は11製品、ドイツは9製品が承認済みであり、産業化では日本はむしろ後れをとっている状況である。治療目的での再生医療ビジネスの市場は、周辺産業も含めて2030年には世界で17兆円、2050年には53兆円規模にまで拡大すると推計されている(経済産業省調べ)⁽⁴⁰⁾。平成25(2013)年に「再生医療推進法」が可決したことで、再生医療の一大拠点としての、日本の今後の成長が期待される。

図1 承認済み再生医療等製品の件数



(注) 欧州医薬品庁 (EMA: European Medicines Agency) において先端医療医薬品 (Advanced Therapy Medicinal Products: ATMP) として認可されている製品については、EU (ATMP) として図内に示した。
 (出典) 小澤洋介「再生医療の産業化」 ジャパン・ティッシュ・エンジニアリングウェブサイト <http://www.jpte.co.jp/ir/pdf/seminar_FY2015Q2.pdf>を基にみずほ情報総研作成。

2 近年の研究開発動向

平成26(2014)年9月12日、理化学研究所の高橋政代博士らによって、70代の滲出型加齢黄斑変性患者1名へのiPS細胞由来網膜色素上皮 (retinal pigment epithelium: RPE) シートの移植が行われた⁽⁴¹⁾。これは世界で初めて、ヒトiPS細胞がヒトに移植された臨床試験である。加齢性黄斑変性は、加齢によって網膜の中心にある黄斑が変性し、失明の可能性もある疾患だが、根治的な治療法はないとされていた。そこでこの研究では、患者本人から得た細胞を元にiPS細胞を作成し、そのiPS細胞から網膜色素上皮細胞を誘導、その後培養によりRPEシートを作成した。手術では網膜の病変部が切除され、作成されたRPEシートが移植された。この移植試験は、ヒトに対する移植の安全性の検証を目的としている。1年間にわたる経過観察後の2015年10月、「移植したRPEシートは生着している」「腫瘍

(40) 再生医療の実用化・産業化に関する研究会「再生医療の実用化・産業化に関する報告書 最終とりまとめ」2013.2, pp.25,37. 経済産業省ウェブサイト <<http://www.meti.go.jp/press/2012/02/20130222004/20130222004-2.pdf>>
 (41) 「iPS臨床研究——症例目の移植を実施——」2014.9.15. 理化学研究所多細胞システム形成研究センターウェブサイト <http://www.cdb.riken.jp/news/2014/researches/0915_3127.html>

形成などの異常は見られない」「視力の低下が止まった」などの結果が公表された⁽⁴²⁾。

網膜に次ぐ iPS 細胞の臨床試験として、パーキンソン病患者への iPS 細胞由来ドーパミン産生細胞の移植が計画されている。パーキンソン病は運動能力の著しい低下が主な症状で、脳内におけるドーパミン産生細胞の減少が原因となって発症することから、ドーパミン産生細胞の移植により症状の軽快が期待されている。網膜と異なり脳への移植となるため、直接目視での経過観察ができないなどの難点はあるが、成功すれば神経変性疾患の治療に向けた第一歩となり得る。なお、第1件目の臨床試験として、孤発性パーキンソン病患者自身の細胞を基にした自家移植を2017年までに実施する予定である⁽⁴³⁾。

VI 今後の展望

幹細胞技術は、再生医療の在り方を大きく変える画期的な技術だが、僅かな細胞を基に分裂・増殖を行うことから、体に移植する細胞の安全性確保が重要な課題である⁽⁴⁴⁾。患者本人以外から得た細胞を導入する場合は、通常の移植と同様に免疫適合性の確認が必要なほか、患者本人から得た細胞の場合でも、採取の際あるいは体外で培養中に、細菌・ウイルスなどに感染する可能性があり、免疫原性について検査する必要がある⁽⁴⁵⁾。さらに iPS 細胞の場合は、c-Myc 等がん化の可能性を高める遺伝子を導入していることも、リスク要因の一つである。遺伝子導入にウイルスベクター⁽⁴⁶⁾を用いる場合、ウイルスベクター挿入が腫瘍形成につながる可能性もある。今後再生医療が広く実用化されるためには、安全性が確認できた細胞のみを正確に選び出す作業が、安全・簡便・安価に行われる必要があり、今後の技術開発が待たれる。

また、再生医療は医薬品等に比べて、品質が完全には安定しない、症例数が少ない場合が多いなどの特性がある⁽⁴⁷⁾。探索的な性格を持つヒト初回投与試験を行う場合、想定しなかった効果が得られる場合もある。そのような特性を持つ再生医療に関して、明確な科学的なエビデンスをエンドポイント⁽⁴⁸⁾として設定することを一律に課してしまうと、あらかじめ想定した以外の効果をむしろ捨象してしまう可能性がでてくるなどの課題もある。

さらに、現在事業化における最大の障壁となっているのが、安全性試験や製造にかかる

(42) 「「滲出型加齢黄斑変性に対する自家 iPS 細胞由来網膜色素上皮シート移植に関する臨床研究」における第一症例目の移植手術の経過について」2015.10.2. 理化学研究所ウェブサイト <http://www.riken.jp/pr/topics/2015/20151002_1/>

(43) 「今後の幹細胞・再生医学研究の在り方について 改訂版」2015.11.11, p.33. 文部科学省ウェブサイト <http://www.mext.go.jp/b_menu/shingi/gijyutu/gijyutu2/046/houkoku/_icsFiles/afieldfile/2015/12/04/1364984_1_1.pdf>

(44) 医政局研究開発振興課「再生・細胞医療の現状及び課題」2012.9.26, p.29. 厚生労働省ウェブサイト <<http://www.mhlw.go.jp/stf/shingi/2r9852000002h9ie-att/2r9852000002kfgy.pdf>>; 「セルソーティング技術細胞の状態・種類の判別技術開発」慶應義塾大学 [理工学部機械工学科宮田研究室] ウェブサイト <http://www.miyata.mech.keio.ac.jp/MIYATALAB_dacs_ja.html>

(45) 再生医療の実用化・産業化に関する研究会 前掲注(40) p.8.

(46) ウイルスベクターとは、病原性に関する遺伝子を取り除いて目的遺伝子を組み込んだウイルスであり、細胞に遺伝子を導入する際の「遺伝子の運び屋」として用いられる。導入の際に既存の遺伝子を欠失させたり、異常増殖を引き起こしたりする可能性があることから、腫瘍形成のリスクを高めるといわれている。

(47) 佐久嶋研「再生医療等製品—臨床試験の計画・実施におけるポイント（ヒト細胞加工製品を中心に）—」医薬品医療機器総合機構ウェブサイト <<http://www.pmda.go.jp/files/000205386.pdf>>

(48) 臨床試験を行う目標、すなわち「どのようなことが示されれば、当該治療方法を有効と判定するか」という条件の定義をエンドポイントという。

コストが高いことである。幹細胞の利用には、品質保全のための安全かつ正確なオペレーションが必要なほか、自家移植に用いる場合は一例一例製造する必要があり、一括した大量製造ラインに乗せられない点なども、コスト高の原因となっている。特に、市場導入期から成長期にかけての収益化なくしては、企業の新規参入が見込めない。また、臨床試験の制度に関しても、有効性や安全性を厳しく管理しすぎるあまり、コスト的に不可能なレベルとなってしまっは意味がない。再生医療等製品を産業分野において成長させるためには、製造プロセスの自動化などによる必要コストの削減が必要不可欠である。

再生医療の実現化において、制度的な枠組みは整いつつあるが、運用においてどのように対応すべきか、実情に合った実施体制はどのようなものかは、議論すべき余地が大きく残されている。

みずほ情報総研株式会社 サイエンスソリューション部 コンサルタント

つるおか まゆこ
鶴岡 茉佑子