Japanese Society for Apheresis

日本アフェレシス学会雑誌 21(2):114-121, 2002

総　説

再生医学と臨床応用への展望

日裏彰人・井上一知

京都大学再生医科学研究所器官形成応用分野

Clinical Prospective on Regenerative Medicine

Akihito Hiura and Kazutomo Inoue

Department of Organ Reconstruction, Institute for Frontier Medical Sciences, Kyoto University

Summary The shortcomings on organ transplantation, that is, a critical shortage of donor organs, rejection, the need for life-long immunosuppression, and unstable biocompatibility, have stimulated the development of regenerative medicine. Regenerative medicine is composed of three factors: cells, growth factors, and scaffolds. Cell sources may be the most important issues in regenerative medicine. We are giving an outline of cell sources and immunoisolation through islet transplantation. Recently, great efforts are being made to isolate and identify the characteristics of the stem cell population of various tissues. The use of stem cells must provide an almost limitless supply of cells for transplantation. The terminal purpose of regenerative medicine is the reconstruction of the whole body. Although the image is often hasty that the results of cultured cells in dish are directly linked with clinical use, the present study must be grown from dish scale to bench scale, pilot scale, and human scale.

Key words: regenerative medicine, tissue engineering, islet transplantation, Bioartificial pancreas, stem cell

1. はじめに

「再生医学」とは医学と工学の原理を融合することによって，機能障害・不全や欠損した生体組織・臓器を再生あるいは再構築を目指す研究分野であり，再生生物学の知見を積極的に応用することによって，細胞の分化・増殖を誘導し，生命の基本的現象のひとつである再生を人工的にコントロールしようとするところに「再生医学」の本質がある．ただ単に培養細胞とバイオマテリアルを融合して人工的な臓器を造るのではなく，ましてや1950年代に欧米で積極的におこなわれたプラスティックなどの医療材料を応用した人工血管や人工臓器の研究とは全く趣を異にする．このような「再生医学」を基盤とした「再生医療」が21世紀の医療では大きな役割を果たすと考えられている．一方，移植医療に関しては1980年代の免疫抑制剤の進歩以降，臓器移植後の生存率が飛躍的に向上し，もはや現実的な医療となっている．しかし，わが国ではもちろんのこと欧米においても，待機患者の増加とその需要に追いつかない深刻な臓器不足（ドナー不足）という新たな問題を露呈させることになり，この点においても「再生医学の臨床応用」すなわち「再生医療」の実現は緊急の命題として認識されている．本稿では再生医学の主役ともいえる細胞についての将来展望について概説する．

2. 再生医学とは

「再生医学」とは「再生医療」を実現させる高度先端技術の切り札と考えられ，20世紀末に急展開した大きな2本柱，すなわち，組織工学，生体工学，生体組織学，再生医工学などとも呼ばれる「Tissue engineering」と生物学，生化学，細胞生物学，分子生物学，発生学の統合的研究分野である「再生生物学」とがバランスよく「再生医学」を支えている．そして，これらの成果は，組織・臓器の機能，さらには形態までも再生・再構築をもたらし，修復できないような組織・臓器の機能障害，欠損，不全に対して有効な医療「再生医療」をもたらす（図1）．また，学際的色彩が強く，さまざまな研究を柔軟に編集・企画することの必要な新しい学問領域を形成しつつある．上述したように「再生医学」は1990年代に彗星のごとくその姿を現した．すなわち，1987年「細胞組み込み型人工臓器の開発」の報告により創世された「Tissue engineering」の研究分野が，クローン羊の誕生（1997

NII-Electronic Library Service

Japanese Society for Apheresis

年）に端を発する「クローン技術」[1]，ヒトゲノムの構造の解析の完了（2000年）をみた「ヒトゲノム計画」，さらには胚性幹細胞（embryonic stem cell；ES細胞）の発見（1998年）に基づく「ES細胞技術」[2,3]など20世紀終末に確立された生命科学分野での新技術を次々に巻き込み，それに支えられつつ急進展中の新しい学問・研究分野である．また，実用面でも構造機能の再生に関しては，すでに培養皮膚などは臨床応用の一歩手前まで研究が進み，これに代謝機能の再生や遺伝子導入・発現を応用した再生に関する研究が追随しようとしている．

現在，ほとんどの組織や臓器に関する研究がおこなわれているが，血液造血系はすでに積極的に臨床応用がおこなわれている分野であり，骨髄，末梢血幹細胞や臍帯血の移植など造血幹細胞移植が実用化されている．また，皮膚，真皮なども臨床応用の段階に達している．オルガノジェネシス社は「アプリグラフ」といういわゆるバイオ人工皮膚を開発し，1998年FDA

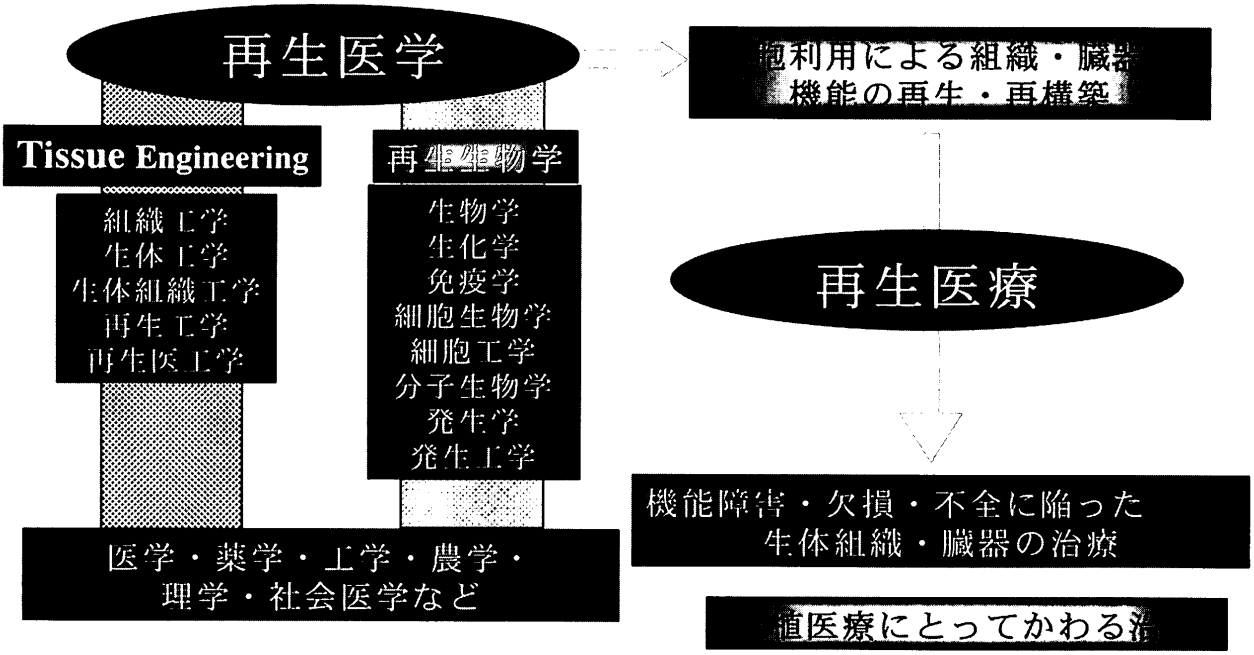

図1　再生医学と再生医療の位置付け

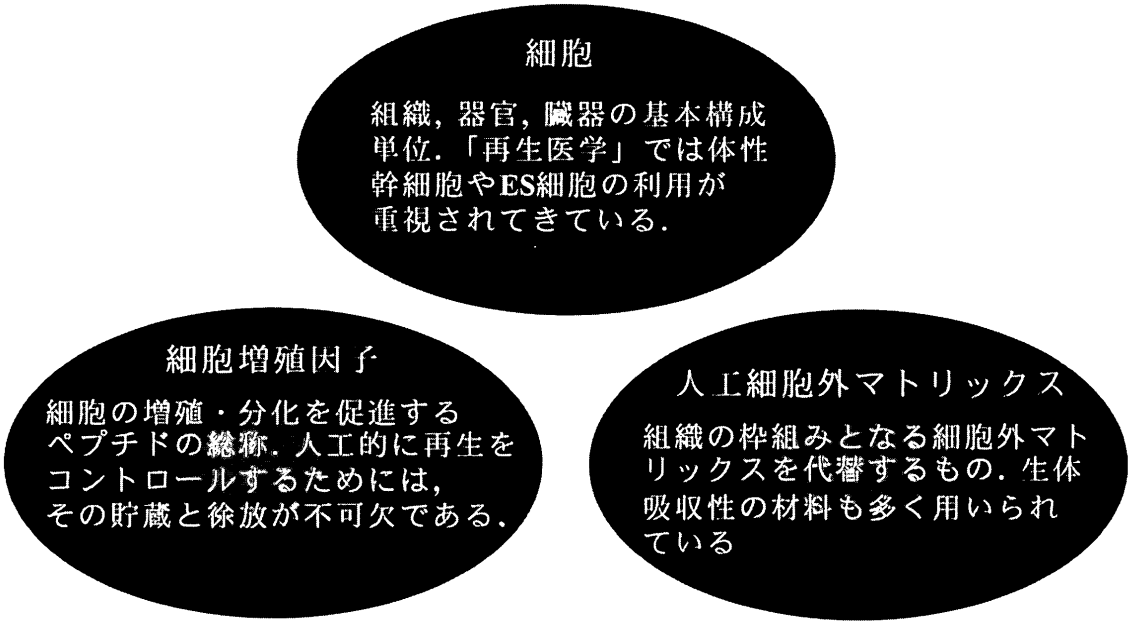

図2　再生医学の3大要素

NII-Electronic Library Service

Japanese Society for Apheresis

から認可され，わが国でも東洋紡がライセンスを得るなど，バイオベンチャー・ビジネスとしてその第一歩を踏み出しており，臨床応用を目指した研究が精力的におこなわれている．

「再生医学」には図2のごとく3つ不可欠な要素がある．すなわち①ある組織・臓器の機能を再生するためのヒトあるいは異種動物の「細胞」，②細胞の分化増殖を制御する「細胞増殖因子」，③細胞が3次元的に増殖分化するための「場」，すなわち「人工細胞外マトリックス」である．（骨髄移植がうまくいくのは，骨髄組織が元々存在する生体内に移植するものであり，投与した骨髄細胞中の血液幹細胞が増殖できる「場」があるためである．）上述した細胞培養技術に基づく再生医学研究の応用と並行するように，Tissue engineeringの手法を応用し，「人工細胞外マトリックス」を足場とした骨・軟骨や歯周組織などの比較的小さくかつ単純な組織の修復や末梢神経組織・機能の再生も試みられている．

一方，肝臓や膵臓などの代謝機能を担った臓器の機能不全に対しては，各々の臓器由来の細胞と合成高分子材料の中空糸や多孔性膜を利用する体外式循環モジュール型のバイオ人工臓器を作成し，その機能再生を図るアプローチが試みられてきた．しかしながら，実際には十分な性能を持ったものは現在のところ得られておらず，医療の質において臓器移植を超えるものは見い出されていない．これら代謝機能系臓器の再生は，最も困難な命題であり，「再生医学」の進展で培われてきた技術の集大成が必要と思われる．すなわち本稿では，前述した再生医学における「細胞」を中心に，再生医学の将来への展望を述べる．

3. 細胞の供給

「再生医学」の臨床応用すなわち「再生医療」は，細胞を移植の材料として利用する細胞補充療法と，すでにある自己再生能・修復能を賦活する再生誘導治療の二つに大別される．細胞補充療法の主役はいうまでもなく「細胞」であり，安定かつ大量の「細胞」の供給が再生医療の第一歩といえる．また，再生誘導治療には目的とする細胞へ分化誘導することができる再生誘導因子の発見が第一の課題である．

細胞補充療法において，自己細胞を用いることができれば，①拒絶反応を回避することができる，②ドナー不足の問題がない，③レシピエントの成長に見合った移植片の生物学的成長が期待でき，より長い耐久性が見込める，④完全な生体適合性をもつため，感染しにくい，などの同種細胞・異種細胞や人工医用材料にはみられない利点がある．しかし，病変部の欠損が大きいとか，非可逆的な機能不全に陥った臓器からは必要な自己細胞を十分には採取できない．同種細胞においては，異種細胞に比し細胞親和性は良好で耐久性も優れているが，従来は脳死患者あるいは中絶胎児が細胞源で，ドナー不足は決定的な問題であり，この点では深刻なドナー不足は現在の臓器移植と差はない．また，高額な人件費も要する．一方，異種細胞では，倫理的な問題点はあるもののドナー不足の問題は解消できるが，①拒絶反応に対する対策が必要である，②自己細胞や同種細胞に比し，組織親和性に乏しく長期間の耐久性に問題がある，③移植片が異種のレシピエントにおいて必要な機能を十分に発揮できるか疑問である，などの問題点も抱えている．いずれの細胞を用いるにしても一長一短であることは否めない．これらの問題点を一気に解決できる可能性を秘めているのが幹細胞である．本章では，自己細胞と異種細胞を用いた再生医学の現状と将来への展望を概説する．新たな細胞源としてブタなどの動物を用いる研究が拒絶反応への対策とともに進められている．

4. 自己細胞を用いた再生医学

すでに，実用化されている皮膚や骨以外にも，心血管組織や肝臓において自己細胞を用いた研究がおこなわれている．

新岡らは，生体吸収期間を6～8週間に設計したポリマーメッシュあるいはスポンジに血管組織から単離した細胞を播種，増殖させ，3次元的にコンフルエントの状態となった状態で自家に肺動脈弁移植や肺動脈置換手術をおこなっている．移植された弁尖組織や内腔は内皮細胞で覆われ，間質にはコラーゲン繊維やエラスチンの存在が確認されている[4]．現在のところ，比較的血圧の低い右心系での結果しか得られていないが，ポリマー消失後の強度を高めるために，伸縮性に富み吸収期間がより長い生体吸収材料の開発が進めば，左心系の移植，すなわち僧帽弁・大動脈弁置換手術やACバイパスへの応用も可能であろう．

一方，小林らは成熟肝細胞を用いた肝臓の再生を目指している．ヒト生体肝移植でも移植された約400 gの肝臓は数カ月もすると1,200～1,500 gになるほどの再生能を有しているが，その一方では肝細胞は一般的な *in vitro* 培養下ではほとんど増殖しない．小林ら

NII-Electronic Library Service

Japanese Society for Apheresis

の手法は，後で切り離しが可能な癌遺伝子を組み込んだレトロウィルスベクターを用いて，肝細胞を不死化させるというものであり，レトロウィルスベクターを注入した肝細胞は48時間で2倍に増殖したとしている．こうして得られた不死化細胞株をラットの90%肝切除急性肝不全モデルに移植したところ60%の1ヶ月生存をみたと報告している[5]．この研究成果がヒトに応用できれば，肝生検などで得られた自己肝細胞を利用することによって，経門脈的に肝臓あるいは脾臓に移植して再構築させることも可能性が高いと思われる．

5. 異種移植を用いた再生医学と免疫拒絶反応

ブタは異種移植のドナーとして注目を浴びている動物である．ブタがヒトとの長い共存の歴史があること，繁殖力が旺盛であること，臓器の生理的・解剖的特徴がヒトに類似し，サイズ的にもヒトに近い．また，食肉動物であることから動物愛護や動物福祉の面からも比較的抵抗感が少ないことなどが，その理由にあげられる．さらにインスリンに関しては，ブタとヒトでは構造式が類似し，ブタインスリンはヒト体内でも機能することもわかっている．

現在，最も期待されているのが，パーキンソン病に対するブタ胎児脳細胞を移植する治療法であろう．ヒト胎児の脳細胞はドパミンを産生しており，これをパーキンソン病の脳内部に移植する治療法は1990年代初めから各地でおこなわれてきた．しかし，患者ひとりにつき16人の胎児の脳が必要で，倫理的ばかりでなく，ドナー確保の問題も関わっているのも事実である．したがって，拒絶反応を制御することができれば，ブタはドナーとしての価値は非常に高まる．しかし，その一方で拒絶反応は避けて通れない問題で，臍帯血からの血液細胞の移植や上述したパーキンソン病治療のための胎児脳細胞の移植など，同種移植では比較的拒絶反応が弱い場合もあるが，異種動物の細胞の利用となると，免疫拒絶反応はさらに強くなるばかりである．

はじめての同種移植においては細胞免疫，すなわち免疫担当細胞が中心となり，移植後6ヶ月までに急性拒絶反応がおこり，その後液性免疫，すなわち抗体や補体が主役となって慢性拒絶反応がおこる．これらは第一次免疫反応と呼ばれ，移植臓器によるレシピエントの感作によっておこる反応である．感作されたレシピエントに同じドナーから移植をおこなうと，移植から数時間のうちに拒絶される超急性拒絶反応や移植から約1週間以内に促進急性拒絶反応がおこる．これらは抗体や補体の関与する液性免疫あるいは感作免疫担当細胞による前感作による第二次免疫反応と呼ばれる．

異種移植では種特異的自然抗体が存在し，ドナーに対する自然抗体を持っているレシピエントに移植すると，同種移植における超急性拒絶反応に相当する激しい拒絶反応が分単位でおこる．ドナーとレシピエントの組み合わせによっては種特異的自然抗体が存在しない場合があり，この組み合わせの移植においては数日中に，抗体や補体さらに感作免疫担当細胞が絡んだ促進急性拒絶反応がおこる（超急性拒絶反応をおこす異種移植をdiscordantな組み合わせ，超急性拒絶反応をおこさない異種移植をconcordantな組み合わせと呼んでいる）．したがって，同種移植においては，移植細胞と免疫担当細胞の接触さえ阻止できれば拒絶反応を防止できるが，discordantな組み合わせの異種移植では，免疫担当細胞の接触以外に抗体や補体の侵入を防ぐことができなければ，拒絶反応も阻止できないと考えられている．

6. 免疫隔離膜と脱抗原化

上述した免疫拒絶反応に対して，免疫隔離膜や遺伝子組換えなどが，拒絶反応を抑制する手段として研究されている．

免疫隔離膜については，現在，研究が最も盛んにおこなわれているバイオ人工膵を実例としてあげる．生体組織と人工物を組み合わせて機能を発揮する人工臓器を，バイオ人工臓器あるいはハイブリッド人工臓器という．前述したように，ヒトとブタではインスリンはアミノ酸が一つ違うだけで，ブタインスリンはヒトでも機能するため，ブタ膵島を高分子免疫隔離膜に封入して作製したバイオ人工膵を，異種移植する研究が進められている．

バイオ人工膵はその形状によりマクロカプセル型とマイクロカプセル型に大きく分類される．代表的なマクロカプセル型である拡散チャンバー型バイオ人工膵臓は，半透膜製のチューブ状のデバイス，あるいは半透膜を張った数センチ大の太鼓状のデバイスを2枚直接または間にスペーサーを介して接着させた形状を呈し，チューブ内部，もしくはスペーサーで囲まれた空間にアルギン酸や寒天の主成分であるアガロースなどのゲル化剤とともに膵島細胞を封入する．

チューブ状デバイスの半透膜には塩化ビニル-アク

NII-Electronic Library Service

Japanese Society for Apheresis

リロニトリル共重合体製の分画分子量50,000の限外ろ過膜がよく用いられている．抗体のなかで最も小さい分子量のIgG（分子量160,000）の通過は阻止し，封入した細胞が生存していくのに必要な酸素，アミノ酸，糖や分泌したインスリンは通過させるというのが基本構造である．Sullivanら[6]は膵全摘した糖尿病イヌに同種移植をおこない，10週間以上血糖が正常化したと報告している．筆者らも，筏の研究グループと共同で，生体適合性に優れたポリビニルアルコールを用いてチューブ状のデバイスやバッグ状のデバイスを作製した（図2）．これらのデバイスは移植後も免疫隔離膜表面に線維芽細胞の付着が見られず，糖尿病ラットへの同種移植あるいはブタ単離膵島細胞を用いた異種移植において，それぞれ3か月間，40日以上血糖値は正常にコントロールされた[7,8]．

太鼓状デバイスには0.05〜1 μmの微細孔をもつnuclepore膜などの精密ろ過膜が用いられる．大河原らは免疫隔離膜にnuclepore とシリコンを用いることにより，細胞接着性を低くしている．すなわち，免疫隔離膜表面に蛋白や線維芽細胞の付着・増殖が起こることで膜透過性を軽減し，このデバイスにmouse insulinoma cell line（MIN 6）を分散・封入して作製したバイオ人工膵は，糖尿病ラットへの異種移植において50週にわたり血糖値を正常化したと報告している[9]．

East Carolina大学の小児科臨床教授Anton-Lewis Usalaによって創設されたアメリカのベンチャー企業であるEncell社によって開発されたマクロデバイスは，詳細な構造は不明であるが，最外層をステルスポリマーと命名されたポリマーで構成することでレシピエントから異物認識も免疫攻撃も受けないと報告している．

一方，マイクロカプセル型バイオ人工膵は，膵島細胞1〜数個が直径300 μm〜1 mmのハイドロゲルで包まれたカプセル構造を有し，アルギン酸—ポリ(L-リジン)-アルギン酸を材料とした3層構造が広く検討されている．このマイクロカプセルにブタ単離膵島細胞を封入したバイオ人工膵をサルへ異種移植したところ803日間にわたって生着したことが報告されている[10]．また，Soon-Shiongらはヒト単離膵島細胞を封入したバイオ人工膵の移植により，移植9か月後にインスリンの離脱に成功しており[11]，米国食品医薬品局（FDA）から限定的な臨床試験の許可を得ている．ニュージーランドのRobert Elliottも，VivoRx社と共同研究を行ない，このマイクロカプセルにブタ膵島細胞を封入して作製したバイオ人工膵臓のヒトへの臨床応用を申請している．筆者らも，岩田の研究グループと共同で，アガロースからなるマイクロカプセルが同種移植に，またアガロース・ポリスチレンスルホン酸相溶ブレンドを基本とする3層マイクロカプセルが異種移植に有効であることを確認している（図3, 4）[12]．

以上，バイオ人工膵の開発研究成果を紹介した．同種移植ではイヌをレシピエントとした長期にわたる有効性を示した報告は比較的多いが，異種移植に関しては現在までに検討されてきた研究結果の有効性を疑問視する報告もある．すなわち，限外ろ過膜では微細孔が必ずしも一様でなく，ごく小数ではあるが抗体や補体が通過できる孔が存在する．また，ハイドロゲル膜では，膜内を溶質が濃度勾配に従って拡散するため，抗体や補体の拡散係数が非常に小さくても，いずれは細胞表面に到達する，などである．さらに多くの細胞移植を必要とする疾患が，自己免疫疾患であり自己の抗体の存在も報告されているため，同種移植においても異種移植と同様の免疫隔離が必要と考える研究者もいる．今後のバイオ人工臓器を考える上では，必要な際には簡単にデバイスの交換や封入した細胞の補塡が可能な移植システム，たとえば皮下移植などに目を向けていく必要があると考えられる．

一方，異種細胞の脱抗原化については，ブタを例にあげる．ブタの組織をヒトに移植すると，ブタの持つgalactose-α-(1,3)-galactose（gal α-1,3 gal）抗原にヒト自然抗体（抗Gal抗体）が結合して，数分から数十分以内に，超急性拒絶反応（hyperacute rejection; HAR）が起こる．この免疫反応は主としてブタ臓器の血管内皮のα Gal抗原が補体を活性化させることによっておこり，補体活性を制御することがHARを回避する有効な方法と考えられている．そこで，human decay accelerating factor（hDAF），embrane cofactor protein（MCP）などの補体制御タンパク（coplement regulatory proteis; CRPs）やCD 59などのヒト遺伝子を，ブタ（ミニブタ）受精卵に導入し，トランスジェニック（TG）ブタの作製がおこなわれている．Chenら[13]はCD 59/DAF導入に成功したブタ心臓をヒヒに移植し，拒絶反応が遅れたことを報告している．また，従来，受精卵200〜300個に1頭と，作製効率の悪かった遺伝子導入も中西ら[14]は，卵胞卵を体外培養・体外受精し，

NII-Electronic Library Service

Japanese Society for Apheresis

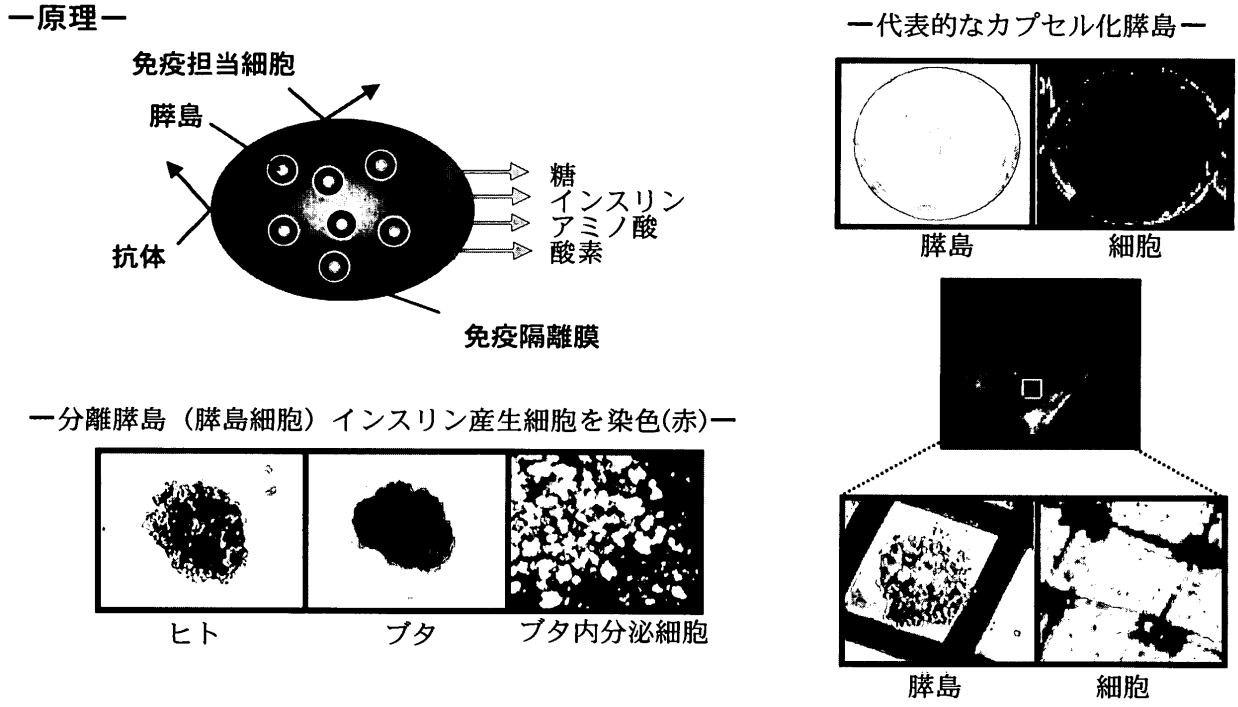

図3　カプセル化膵島

（左上）バイオ人工膵の原理．（左下）分離した膵島および膵島細胞．インスリン産生細胞を染色．（右）ビーズタイプのカプセル化膵島とバッグタイプのカプセル化膵島．

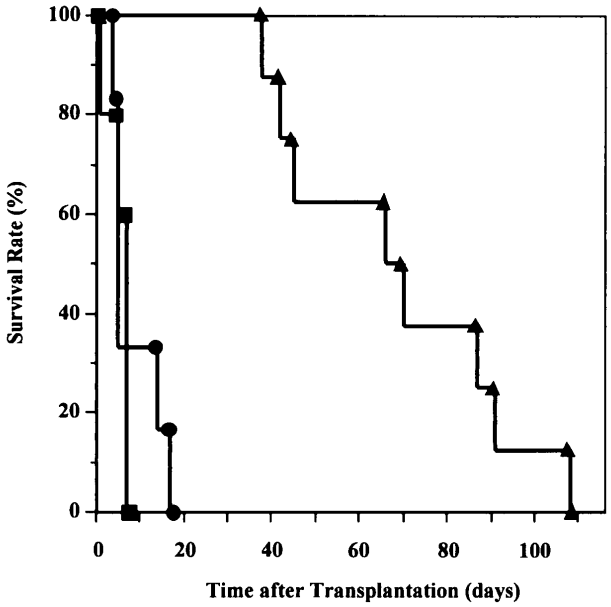

図4　カプセル化膵島の異種皮下移植

ラットから分離した膵島から作成したバイオ人工膵をマウス背部皮下に移植．—■—Control：血管新生誘導を全くおこなっていない群（n=5），—●—bFGF（−）：bFGFを含まない血管新生誘導法をおこなった群（n=6），—▲—bFGF（+）：bFGFを含む血管新生誘導法をおこなった群（n=8）．各群の生着日数はそれぞれ，5.6±2.2，9.5±5.1，68.4±25.6(日)であった．

作製効率が向上したと報告し，TGブタの臨床応用の期待も高まっている．

7.　幹細胞を用いた移植

胚性幹細胞（embryonic stem cell；ES細胞）は胚様体（embryoid boby；EB）を経て自発的に各種細胞に分化しうる能力は持っているものの，形態形成は伴わない．これはNakanoら[15]がEBを経ることなくフィーダー細胞上での2次元培養で血液細胞への分化が確認されたことから明らかである．したがって，ES細胞を用いた移植は細胞移植に限られる，というのが現状の考えである．*In vitro*分化によって作られた細胞を移植に用いるためには，移植に必要な分化した細胞を効率良く得る必要がある．ES細胞から特定の分化した細胞を得るには，分化誘導物質を添加したり，特定の遺伝子を発現させるなどの手法によって分化そのものを積極的に誘導する方法（選択的分化誘導），自発的に分化した細胞群を特定の細胞に適した培養条件に移して優先的に増殖させる（選択的増殖），あるいは特定の細胞のみを薬剤耐性マーカーなどで選別する（選択的排除）などが必要である[16]．これらの方法あるいは組み合わせた方法にて得られた分化細胞を用いた細胞移植の実験がマウスで行われている．

Palaciosら[17]は，ES細胞を骨髄間質細胞をフィーダーとし特定のサイトカインを組み合わせることによって得られた血液幹細胞を，放射線照射したSCIDマ

NII-Electronic Library Service

Japanese Society for Apheresis

ウスに静脈注射し，長期間の骨髄機能の再建ができたと報告している．Brustle ら[18]はEBから神経グリア前駆細胞を分化誘導し，サイクロスポリンによって免疫抑制したミエリン欠損ラットの脊髄に注入したところ，ミエリンの形成を確認している．Klug ら[19]は心筋に特異的に発現する薬剤遺伝子を組み込んだES細胞からEBを経て形成した心筋細胞を筋ジストロフィーマウスの心筋に注入したところジストロフィン陽性細胞の生着が確認されたとしている．さらに，Lumelsky ら[20]はES細胞をフィーダー細胞および白血病抑制遺伝子（leukemia inhibitory factor; LIF）非存在下に培養して得られたEBにおいて神経系への分化でみられるネスチン陽性細胞を選択的に分化させ，さらにbFGF存在下で増殖させるとインスリンを産生する膵島様のクラスターが生じると報告した．われわれのグループでもマウスES細胞からインスリン分泌細胞の分化に成功しており，これを糖尿病マウスに移植することによって血糖の正常化を確認している（未発表データ）．

さらに，1998年相次いでヒトES細胞が樹立され[2,3]，アメリカでは受精卵から得られたES細胞はすでに市販されており，拒絶反応の問題を除けば，ES細胞を用いた夢の治療法は実用の一歩手前まできている印象を与えかねない．しかし，ES細胞を用いるにあたり，いろいろな問題が山積していることも事実である．必要な細胞を移植するにあたっては，現在よりも数段再現性をあげ，かつ有用性の高い細胞を分化増殖させる必要があろう．また，ES細胞のもつ多分化能を発揮すると奇形種を形成する危険性もある．さらに，Smith[21]が提案している自分自身のES細胞（my ES）を取り出すことは生命の芽生えである胎盤胞を破壊することになり，倫理的な問題は大きい．

一方，最近になって増殖可能な幹細胞が各臓器に少量ながら存在し，これらの細胞が組織の再生を担っていることがわかってきた．骨髄の造血幹細胞が心筋細胞へと分化させることが可能であり，骨髄の造血幹細胞は肝幹細胞として機能することも報告されている．また，膵管近傍には膵外分泌・内分泌細胞いずれにも分化しうる幹細胞の存在も確認されている．これら組織幹細胞は，ES細胞で掲げた拒絶反応や倫理的問題もなく，細胞移植における細胞供給源としての実用性はES細胞より高いと考える研究者も多い．

8. おわりに

「再生医学」の最終目標は言うまでもなく完全な体内器官を造ることであるが，実質臓器，とくに肝臓や膵臓，腎臓など臓器移植の対象となる重要臓器に関しては「再生医学」の分野では，しばしばシャーレ上の培養細胞の成果を臓器の再生に直結するかのごとく，イメージが先行しがちである．人体の臓器はよく化学装置に例えられ，一定の容積と有限の作動時間のなかで機能するものである．つまり，化学プラントの設計や建設のように，試験管スケール，ベンチスケール，パイロットスケール，実スケールの4つの段階を追ってテストが繰り返されることが不可欠である．実質臓器の再生は夢物語で終わってしまわないように，装置自身の性能を大きくスケールアップしていき，「再生医学」の進歩に伴う「再生医療」の普及が人類の幸福に寄与することを祈る．

文　献

1) Wilmut I: Viable offspring derived from fetal and mammalian cells. Nature **385**: 810-813, 1997
2) Thomson JA, Itskovitz-Eldor J, Shapiro SS, et al: Embryonic stem cell lines derived from human blastcytes. Science **283**: 1145-1147, 1998
3) Shamblott MJ, Axelman J, Wang S, et al: Derivation of pluripotent stem cells from cultured human primordal germ cells. Proc Natl Acad Sci USA **95**: 13726-13731, 1998
4) Shinoka T, Ma PX, Shum-Tim D, et al: Tissue-engineered heart valves. Autologous nalve leaflet replacement study in a lamb model. Circulation **94**: Suppl II 164-168, 1996
5) Kobayashi N, Fujiwara T, Westerman KA, et al: Prevention of acute liver failure in rats with reversibly immortalized human hepatocytes. Science **287**: 1258-1262, 2000
6) Sullivan SJ, Maki T, Borland KM, et al: Biohybrid artificial pancreas: long-term implantation studies in diabetic, pancreatectomized dogs. Science **252**: 718-721, 1991
7) Inoue K, Fujisato T, Gu YJ, et al: Experimental hybrid islet transplantation: application of polyvinyl alcohol membrane for entrapment of islets. Pancreas **7**: 562-568, 1992
8) Inoue K, Gu YJ, Hayashi H, et al: Pig-to-rat xenotransplantation with mesh-reinforced polyvinyl alcohol bag: efficacy of agarose gel. Transplant Proc **28**: 1422-1423, 1996
9) Ohgawara H, Hirotani S, Miyazaki J, et al: Membrane immunoisolation of a diffusion chamber for a bioartificial pancreas. Artif Organs **22**: 788-794, 1998
10) Sun Y, Ma X, Zhou D, et al: Normalization of diabetes in spontaneously diabetic cynomolgus monkeys by xeno-

NII-Electronic Library Service

Japanese Society for Apheresis

grafts of microencapsulated porcine islet without immunosuppression. J Clin Invest **98**: 1417-1422, 1996
11) Soon-Shiong P, Heintz RE, Merideth N, et al: Insulin independence in a type 1 diabetic patient after encapsulated islet transplantation. Lancet **343**: 950-951, 1994
12) Tun T, Inoue K, Hayashi H: A newly developed three-layer agarose microcapsule as a promising biohybrid artificial pancreas; rat to mouse xenotransplantation. Cell Transplant **5**: 59-63, 1996
13) Chen RH, Naficy S, Logan JS, et al: Herts from transgenic pigs constructed with CD 59/DAF genomic clones demonstrate improved survival in primitives. Xenotransplantation **6**: 194-200, 1999
14) 中西喜彦: 異種間移植にかける夢. 実験医学 **17**: 36-41, 1999
15) Nakano T, Kodama H, Honjo T: Generation of lymphohematopoitic cells from embryonic stem cells in culture. Science **265**: 1098-1101, 1994
16) 丹羽仁史, 宮崎純一: ES細胞を用いた移植治療の展望. Bio Industry **17**: 42-50, 2000
17) Palacios R, Golunski E, Samaridis AJ: *In vitro* generation of hematopoitic stem cells from an embryonic stem cell line. Proc Natl Acad Sci USA **92**: 7530-7534, 1995
18) Brustle O, Jones KN, Learish RD, et al: Embryonic stem cell-derived glial precursors: a source of myelinating tranplants. Science **285**: 754-756, 1999
19) Klug MG, Soonpaa MH, Koh GY, Field LJ: Genetically selected cardiomyocytes from diffrentiating embrionic stem cells form stable intracardiac grafts. J Clin Invest **98**: 216-224, 1996
20) Lumelsky N, Blondel O, Laeng P, et al: Differentiation of embryonic stem cells to insulin-secreting structures similar to pancreas islets. Science **292**: 1389-1394, 2001
21) Smith A: Cell thrapy: in search of pluripotency. Curr Biol **8**: 802-804, 1998

NII-Electronic Library Service