

小児科診療 UP-to-DATE

2018年2月14日放送

小児における再生医療戦略

慶應義塾大学 臓器再生医学寄附講座
特任教授 小林 英司

1. 研究の背景

近年、iPS細胞をはじめとする優れた幹細胞についての研究が進み、試験管内で「臓器の芽」が作れるようになってきました。しかし、人工的に作成したいわゆる「臓器の芽」は、胎児の臓器よりさらに未熟な状態です。胎児臓器は、母体内で胎児の体全体が大きくなりながら発育して初めて、本来の臓器としての役割を果たすようになります。小児は、これから成長していきますが、生後は臓器形成がほとんど終わっていますから、移植された臓器の芽は、小児の発育に合わせて、成長することが不可欠となります。

再生医療は、我が国の研究者が世界をリードする研究を数多く行っており、成人における再生医療が細胞移植を中心に種々試みられています。小児における再生医療も、人為的に作った「臓器の芽」を患児に移植することが試みられる時代になろうとしています。

私は、この「臓器の芽」の移植には、解剖学的に臓器が発育する場のメカニズムが重要と考えてきました。小児における再生医療戦略について、国内の優れた研究者とともにこれまで行ってきた本領域の研究を聞いていただきたいと思います。

2. 臓器再生の3つの手法

まず私が考えている「移植可能な臓器」をいかに作るかについての3つの戦略について、簡単にお話しします。

一つ目は、生きている動物の体内でヒトの臓器を作る手法です。臓器を培養しようとする試み

は古くは、血管吻合法でノーベル医学生理学賞を1910年に受賞したアレックス・カレル博士が試みましたが、現在の科学技術でも、「臓器の芽」が試験管内で成育、発達を遂げることはできません。そこで生きたブタ等のヒトの体に内臓などが似た構造の動物に作らせようとする試みです。本研究も大変、加熱していますが、またの機会にご紹介できればと思います。

もう一つは、足場となる血管網の回路を生体外で循環させそこで育てようとするものです。ここでは、試験管内の培養から一歩進んで、流体ができてきますが、血液環境に似た状態の再現が課題になっています。

3つ目の手法は、本日の「臓器の芽」を、患者さんに直接移植するというものです。ES細胞やiPS細胞という万能細胞の出現で、一つの細胞ソースから臓器の芽に必要な細胞がほとんど作れるようになりました。骨髄細胞移植や間葉系幹細胞移植、そして肝臓の細胞のうち、ヘパトサイトなどの細胞移植は、すでに臨床応用がされていますが、今後、小児の再生医療の戦略として細胞から進んだ「臓器の芽」の移植が大変注目されている手法です。

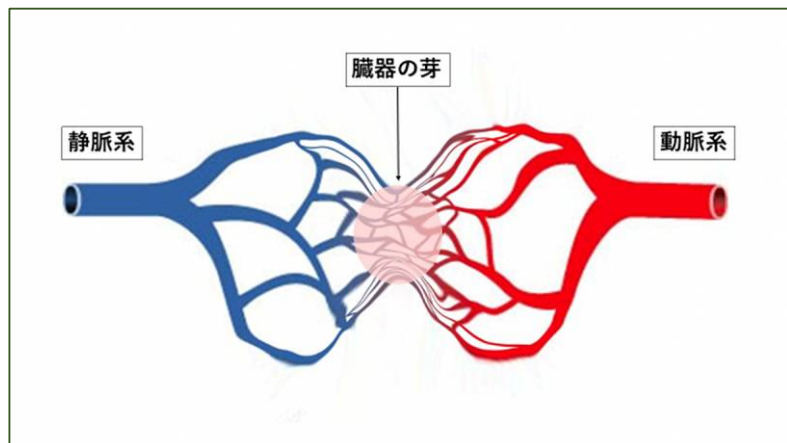
本日は、腎臓の芽と肝臓の芽の再生とその移植法についてお話ししたいと思います、

3. 腎臓の芽の移植

実験的に行われる胎児の臓器の移植でもそうですが、人工的に作った臓器の芽は、発生学的に若く、大変旺盛に血管新生を誘導します。臓器の芽に入り込む血管系は、動脈系から毛細血管系、そして静脈系へと連続性をもって発育します。

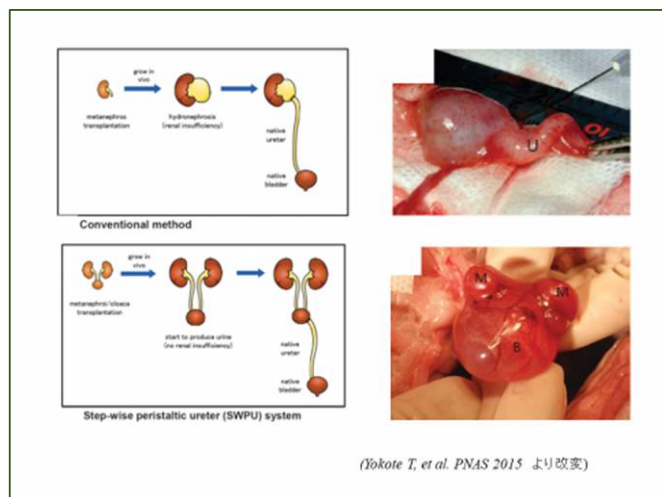
「腎臓の芽」(以下、腎芽)の発育は、レシピエント(臓器受容者)に植えられた腎芽がレシピエント側から毛細血管(動脈系)を引き寄せ発育を開始することが解明されています。

しかし、動脈とつながった腎芽は直ちに原尿ができ始めま



す。ここで糸球体は尿細管と連結して、腎臓再生には、この原尿が流れ出る仕組みができないといけませんが、血管系だけ構築するだ発育する他の臓器と異なる難しさです。そして繋がった尿管が蠕動運動を行い、お乳をしぼりのように膀胱に尿が逃がされないと、新しくできた柔らかい腎芽は水腎症の症状を呈してしまいます。私は、長らく慈恵医科大学横尾教授並びに明治大学農学部長嶋教授と腎臓を作ることを試みてきました。その中で「クロアカ」という、「腎臓の芽」(腎芽)と尿路系(尿管と膀胱)の芽がつながったものそのものを移植する手法を開発しました。

この研究では、「クロアカ」という腎組織を、尿管-膀胱の原器を一体とし、大動脈周辺（本来の腎臓が発達する位置）に移植することで、腎臓が発育する現象を確認することができました。この実験では、動物の腎臓の芽を使っていますが、現在の慈恵医大グループの研究は、動物の胎児腎臓の場に外来から幹細胞を打つこととその後の胎児腎臓の発育を人為的に低下させることで外来細胞から「クロアカ」に近いものを作っています。

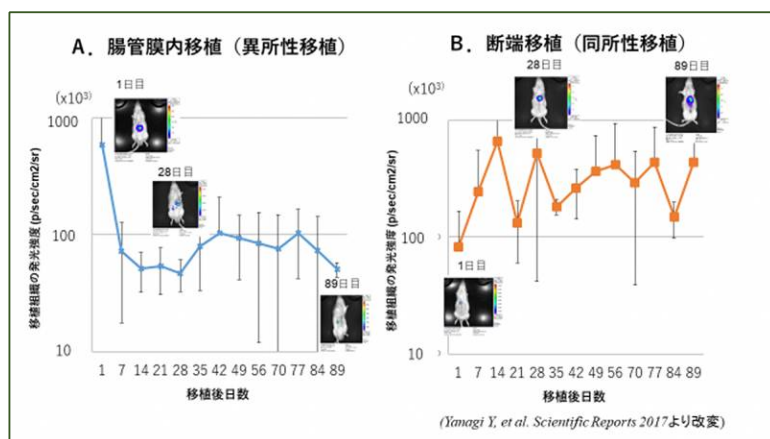


4. 肝臓の芽の移植

次に肝臓の芽（以下、肝芽）に移植についてお話しします。

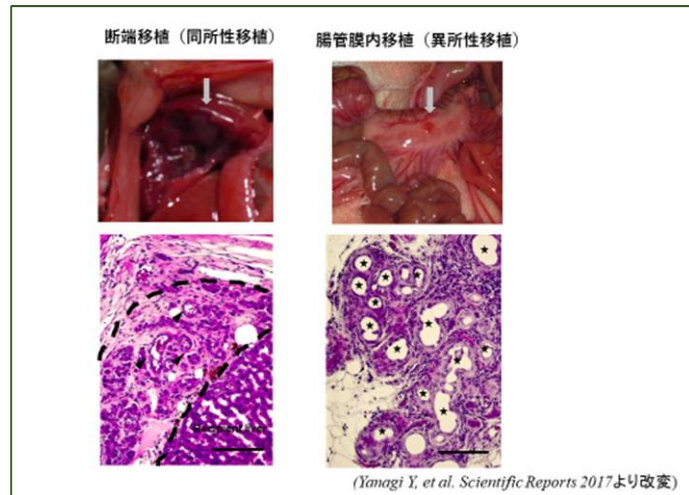
既に、横浜市立大学医学の武部、谷口先生らが中心となりヒト iPS 細胞等から試験管内で肝芽の作成に成功しています。しかし、これまで、マウスの脳表や体網に移植された肝芽は旺盛に毛細血管を引き込み、一部肝細胞として生着したものの、大型動物に対応できるように発育することはありませんでした。その理由は、成熟する肝臓は、2/3 が門脈血（低圧）で、肝細胞領域が1/3 は動脈（高圧系）で胆管領域が発育するため、発育させるには、肝臓本来の解剖学的つながりが達成できる移植法が必要不可欠であるためと考えていました。門脈内は、基底膜が連続せず、その血管の下には、デッセ空という間隙があり、肝細胞の増殖を促せる構造ができています。

そこで私は、国立成育医療センター研究部の絵野沢博士と肝芽の移植の場として、断端移植法（肝臓に切離面を作り、その部分に張り付ける）を開発しました。まずラットで胎児の肝臓を使い、肝芽を肝臓断端と門脈周辺の腸間膜に移植し、その発育を比較しました。光を放す遺伝子改変ラットの胎児肝臓を採取して、ある程度成熟した同系ラットに移植し、生物学的プロセスを画像にする In vivo バイオイメージング技法を使って移植された肝臓の容積を定量化しながら、長期間追跡しました。この結果、腸間膜への移植では、肝芽はその容積を 1/10 以下に減



衰させますが、肝臓断端への移植では、胎児肝臓は2週間発育を続けました。

長期に生着したこれら肝臓組織を病理学的に調査した結果、肝断端に移植された肝芽は血管を巻き込み肝組織の発達が見られましたが、門脈領域の腸間膜に植えたものは偽腺様構造を示す空洞が目立ちました。

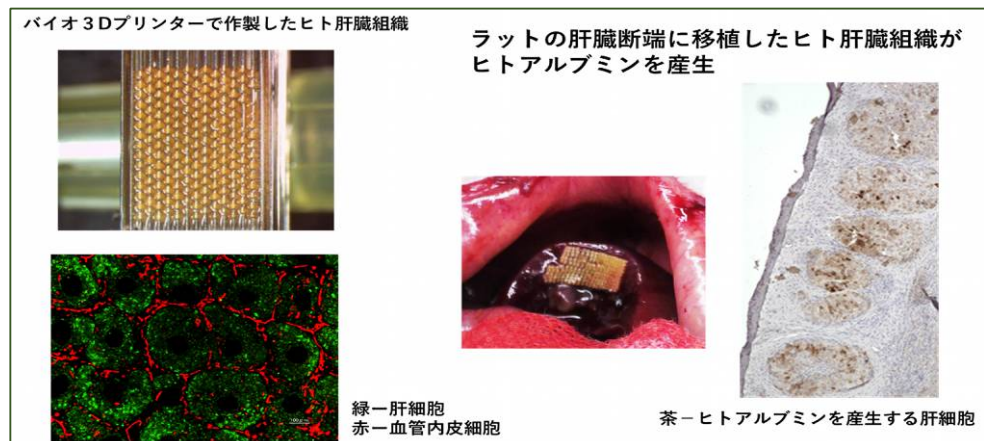


5. バイオ3Dプリンターで臓器の芽を作る

さらにこの研究では本移植法を使って、佐賀大学医学部中山教授と九州大学医学部柳先生、田口教授との共同研究で、試験管内でヒト由来細胞の肝芽を作った上、バイオ3Dプリンターで肝芽組織として組織形態を試験管内で行い、さらに免疫抑制したラット肝臓の断端に移植することで、ヒト由来細胞によって移植された肝臓の成熟を促すことに成功しました。ここでバイオと使った意味は、通常の生体でないものを3Dプリンティングする技術と区別するためです。

そして、バイオ3Dプリンターで作成したヒト由来細胞の肝芽を平たい肝臓組織として、ヌードラットの肝臓断端に貼り付け移植をしました。移植後の肝臓組織では、移植されたヒト由来細胞による肝芽は、生着し、ヒト型の血管マーカー (hCD31)、ヒトアルブミン (hAlb)、ヒト肝代謝酵素 (hCYP3A4) を表出しました。経時的にもレシピエントラット体内にヒト型アルブミンの分泌が続いていました。

これらのことは、ヒト由来細胞により作成された肝臓の成熟が促進されていることを示しています。



6. 今後の展開

今世紀、再生医学の発展を受けて、ヒト幹細胞から種々の分化細胞が作れる時代になりました。さらにその技術は、臓器の芽を試験管内で作成するレベルまで達しています。今後の臨床的応用のためには、多くの臨床に携わる先生方と協力して病める患児にどのように応用するかを考えるとときになっていると思います。

【用語解説】

臓器の芽：人為的に創出された器官に類似した組織体＝オルガノイドを指す。iPS や ES 細胞から分化誘導した種々の細胞を再凝集技術で小さな塊として、近年試験管内で作ることが可能となっている。しかし、試験管内では、完全な成熟が起こらないことが課題である。

「小児科診療 UP-to-DATE」

<http://medical.radionikkei.jp/uptodate/>