間葉系幹細胞を用いた再生医療

松井英男[1]

１　再生医療とその歴史

再生医療とは、そもそも外傷や疾患などにより欠損してしまった臓器の機能を、人体が元来持っている「再生力」を用いてもとに戻すよう誘導する医療である。実際には、皮膚や血液細胞などの「体細胞」や、増殖・分化能を持つ未分化な「幹細胞」を用いて移植することが多い。

幹細胞には大きく分けて三つの種類がある。一つは、受精卵から胚が形成される過程で、その内部の細胞を培養したもので、胚性幹細胞（ES 細胞)と呼ばれる。次に、ある程度身体の一部に分化した細胞の中にも幹細胞（造血、間葉系など）があり、体性幹細胞と呼ばれる。さらに、体細胞に人工的に遺伝子を導入して細胞を初期化した幹細胞として人工多能性幹細胞（iPS 細胞)がある（図 1)。

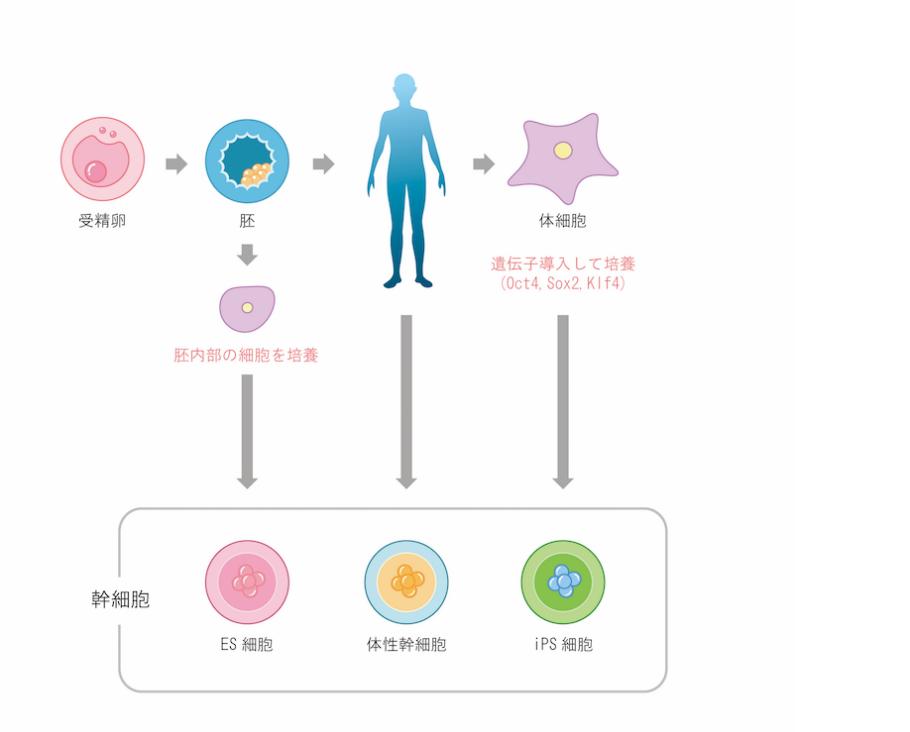

図１　幹細胞の種類

[1] 医療法人社団ビジョナリー・ヘルスケア　川崎高津診療所　理事長

これらのうち、体性幹細胞は分化能を有するが増殖は限定的であり万能ではないのに対し、残り二つは分化能や増殖能が高く万能である反面、腫瘍化やガン化の恐れがある。また、ES 細胞は受精卵を用いることから、これを扱うには倫理的な問題が生じ、iPS 細胞も体細胞を遺伝子操作することから倫理的な問題が生じる場合が有る。例えば、体細胞から卵細胞と精子細胞を作成して受精させる場合などがこれに相当する。

再生医療の歴史を振り返ってみると、はじめて臨床応用されたのは、自家培養皮膚移植[1)]であった。これは、1983 年米国ハーバード大学シュライナー小児病院に入院した重度熱傷患者に、マサチューセッツ工科大学（当時）のハワード・グリーンが、患者から採取した健常皮膚を培養してシート状にしたものを移植し救命したものである。そして、1990 年代には体性幹細胞の分離培養技術が進み、1998 年にはヒト ES 細胞が樹立された[2)]。2000 年代にはいると、骨髄や臍帯血幹細胞による臨床研究が始まった。2005 年には、韓国ソウル大学の黄禹錫による、体細胞のヒトクローン胚から ES 細胞を樹立したという捏造事件も発覚し、再生医療に対する不信感も生まれた。しかし、2007 年には、京都大学の山中伸弥によりヒト iPS 細胞が樹立され[3)]、再生医療への気運が一気に高まった。一方で、2009 年には慶應大学の佐藤俊朗により、腸上皮幹細胞を 3 次元培養することにより、腸管を模したオルガノイドが作られた[4)]。このようにして、再生医療は iPS 細胞を用いた難病に対する臨床試験へと進み、2014 年には、自己 iPS 由来の網膜色素上皮細胞を加齢性黄斑変性症の患者に移植する臨床試験が世界ではじめて行われた[5)]（図２）。しかしながら、自己細胞から iPS 細胞を調整し投与する方法では、1 年近い歳月と膨大な費用（約 1 億円とも言われている）がかかったことから、現在では、他家 iPS 細胞（再生医療用 iPS 細胞ストック）による臨床試験が開始されている。

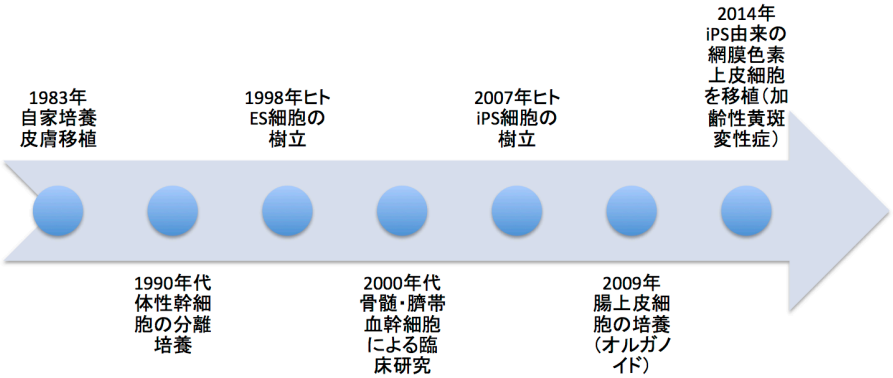

図２　再生医療の歴史

２　間葉系幹細胞（MSC）

間葉（英語で Mesenchyme）とは、主として中胚葉から発生した未分化の粗い構造をした結合組織（細胞と細胞の間を埋める物質）であり、個体発生のごく初期に生じる上皮（内胚葉）や神経組織（外胚葉）とは別の、間葉系細胞（細網線維細胞や未分化細胞など）とその間を満たす細胞間物質よりなる[6]。したがって、間葉系幹細胞(MSC)は、１）脂肪、骨・軟骨、筋肉、血管、その他いくつかの異なった組織や臓器に分化できる（多様性がある）。２）はじめ骨髄で発見されたが、脂肪、臍帯、羊膜由来のものがある。３）線維芽細胞状の形態を持ち、分化能力を維持したまま増殖できる。４）組織の修復のみならず、免疫抑制作用や抗炎症作用を持つ、といった特徴を有し、表面のマーカーとして、CD73 (+), CD105 (+), CD45 (-), CD34 (-), などが条件となる[7]。さらに、脂肪、骨・軟骨などに分化した細胞は、サイトカイン、ケモカイン、成長因子、エクソソームなどを放出する事によって、血管新生、抗炎症、抗酸化、抗線維化作用を発揮する[8]（図３）。このため、各種疾患に対する治療方法として、MSC の利用が検討されてきた。

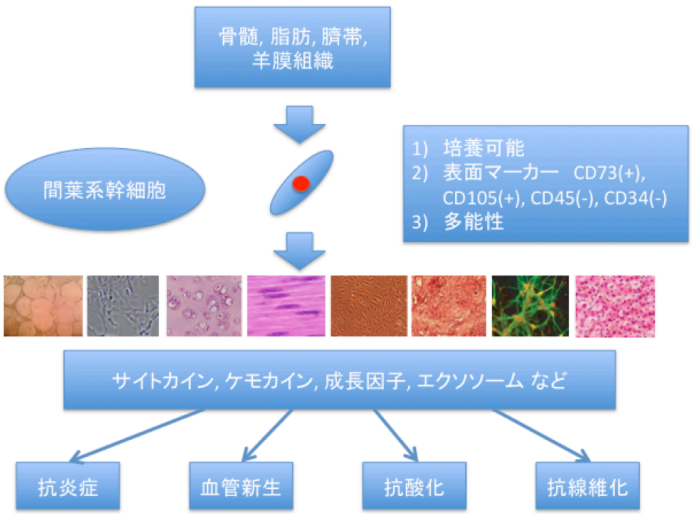

図３　間葉系幹細胞の特徴

３　間葉系幹細胞（MSC)を使った治療

先に述べたように、MSC には様々な働きがあり、これを治療で使う試みがなされている。ここでは、アルツハイマー病、肝硬変、炎症性腸疾患（クローン病、潰瘍性大腸炎)、新型コロナウイルス感染症（COVID-19）に焦点をあて、米国国立医学図書館

(NLM)が提供する ClinicalTrials.gov[9]に登録されている臨床試験を中心に述べる。

１）　アルツハイマー病

アルツハイマー病（ATD)は、脳内の特定の部位に異常なタンパク（アミロイドβやタウ）が蓄積し、神経細胞が死滅してしまう事により、記憶障害などの症状が進行する。そのため、MSC の再生力、抗炎症作用、抗酸化作用などを期待して幹細胞を経静脈投与する臨床試験が行なわれている。ClinicalTrials.gov に登録された臨床試験 13 例（2022 年 4 月 15 日現在）の内訳は、米国 6 例、韓国 4 例、中国 3 例であった。試験が完了しているのは 3 例（米国 2 例、韓国 1 例）あったが、結果はまだ公開されていない。このうち、韓国サムスン医療センターの治験 46 例を検討すると、材料はヒト臍帯血由来 MSC であり、フェーズは 1/2 であった。試験期間は、2014 年 3 月から 2019 年 12 月であり、有害事象の検討と、評価スケール（ADAS-Cog, S-IADL, K-MMSE, CGA-NPI, CDR-SOB）による病状の変化と画像診断（Florbetaben-PET, FDG-PET, CIBIC-plus, MRI)、さらに脳脊髄液中のバイオマーカーを測定するというものである。

ATD を MSC で治療する場合のコストを検討すると、現在日本で認可されているヒト同種骨髄由来 MSC のうち、脊髄損傷用幹細胞（ステミラック®注）を $2x10^8$ 個使用すると仮定した場合、この製剤は、1 パックあたり幹細胞が 0.5~2 億個含まれ約 1,500 万円なので、治療費は 1,500 万円から 6,000 万円という事になる。また、もう一つの GVHD 用骨髄由来幹細胞（テムセル®HS 注）を使用した場合、この製剤は、1 パックあたり 720 万個の幹細胞を含み約 88.5 万円なので、治療費は 2,460 万円かかることになる。いずれにせよ、市販の製剤を治験の上限量使用すると仮定した場合、現状では高額な治療費がかかってしまう。

２）　肝硬変

ウイルス性肝炎、アルコール性肝炎、非アルコール性脂肪肝炎(NASH)などでは慢性炎症の結果、肝臓の線維化から肝硬変をきたす。これまでに、肝硬変に対する MSC 治療が行われてきたが、投与経路としては肝動脈や末梢静脈などであった。また、幹細胞投与は安全に行われる事がわかったが、その効果はまちまちであり、線維化や肝機能が改善した、生存期間が延長したなどの報告がある一方で、明らかな効果はないという報告も見られた[7]。ClinicalTrials.gov に登録されている臨床試験 45 例（2022 年 4 月 15 日現在）を検討すると、国別では中国が 24 例と最も多かった。日本の臨床試験は 2 例あるが、そのうち NCT03254758（新潟大学と日本大学）を検討すると、対象は、非代償性肝硬変で、介入方法は、脂肪由来 MSC (ADR-001, ロート製薬)を静脈注射するも

のである。症例数は 27 例で、単グループ、オープンラベルによる治療を行う。検討項目は、副反応頻度、Child-Pugh スコアによる評価で、実施期間は 2017 年 7 月から 2021 年 12 月までであった。

世界で最初に肝硬変に対して MSC による治療を行った、新潟大学の寺井らによれば、末梢から投与された幹細胞は、肺に捕獲され、肝臓には到達しない。それにもかかわらず肝臓での治療効果が現れる機序として、幹細胞からエクソソームが分泌され、肝臓に存在するマクロファージや好中球が活性化される結果、肝線維化の改善や、肝再生がおこると考えられるという [10]。

３）　炎症性腸疾患

クローン病（CD）や潰瘍性大腸炎(UC)が代表的な疾患であるが、これらの原因は、環境因子、遺伝的素因、炎症反応の異常など多彩である。また、免疫学的には、T 細胞やマクロファージが関与し、サイトカインのバランスの異常が指摘されている [10]。これらの知見から、抗 TNFα抗体、抗 IL-6 抗体、抗 IL-12/23 抗体、ヤヌスキナーゼ阻害剤などが治療薬として用いられている。

炎症性腸疾患の場合、病変部に直接 MSC を投与できるというメリットがある。まず、MSC 局所投与により、CD による痔瘻の治癒が促進されたことから、CD に対する自己骨髄由来 MSC 局所投与は安全に施行できることがわかった。さらに、UC において、臍帯由来 MSC の静脈投与は安全であり、深い潰瘍や炎症所見も改善したとの報告がある [7]。　ClinicalTrials.gov に登録された炎症性腸疾患に対する臨床試験は 30 例あり（2022 年 4 月 15 日現在）、クローン病が 7 割近くを占める。また、実施国では、米国 12 例、中国 6 例となっている（図４）。

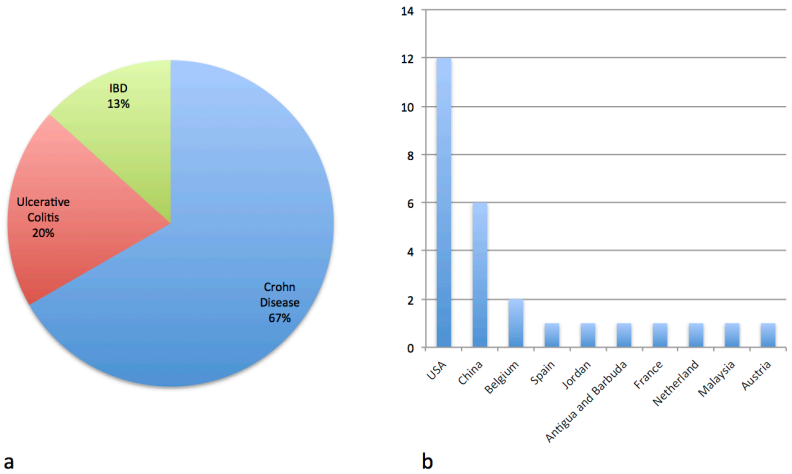

図４　炎症性腸疾患に対する MSC 治療の疾患別内訳(a)と国別の件数(b)

４）　新型コロナウイルス感染症（COVID-19）

COVID-19 の病態としては、オミクロン株以前のウイルスは、主として肺胞上皮に感染し、間質性肺炎を引き起こす。また、血管内皮細胞にも感染し、凝固系に異常をきたす結果、血栓形成による肺塞栓など重篤な病態を引き起こす。肺での病態では、免疫系の暴走によるサイトカインストームから ARDS をきたし、感染細胞が細胞死を起こす結果、間質の線維芽細胞などが活性化されて間質の線維化が惹起される[11), 12)]。

これらの病態に対して、幹細胞治療によるさまざまな効果が期待できる。まず、肺胞上皮や血管内皮細胞の障害に対する、組織修復と再生を促す作用が考えられる。次に、免疫系の細胞（T 細胞、B 細胞、マクロファージ、樹状細胞など）にたいして炎症反応を抑える作用がある。さらに、組織の線維化や上皮間葉転換を阻害する働きが期待できる[12)]（図５）。

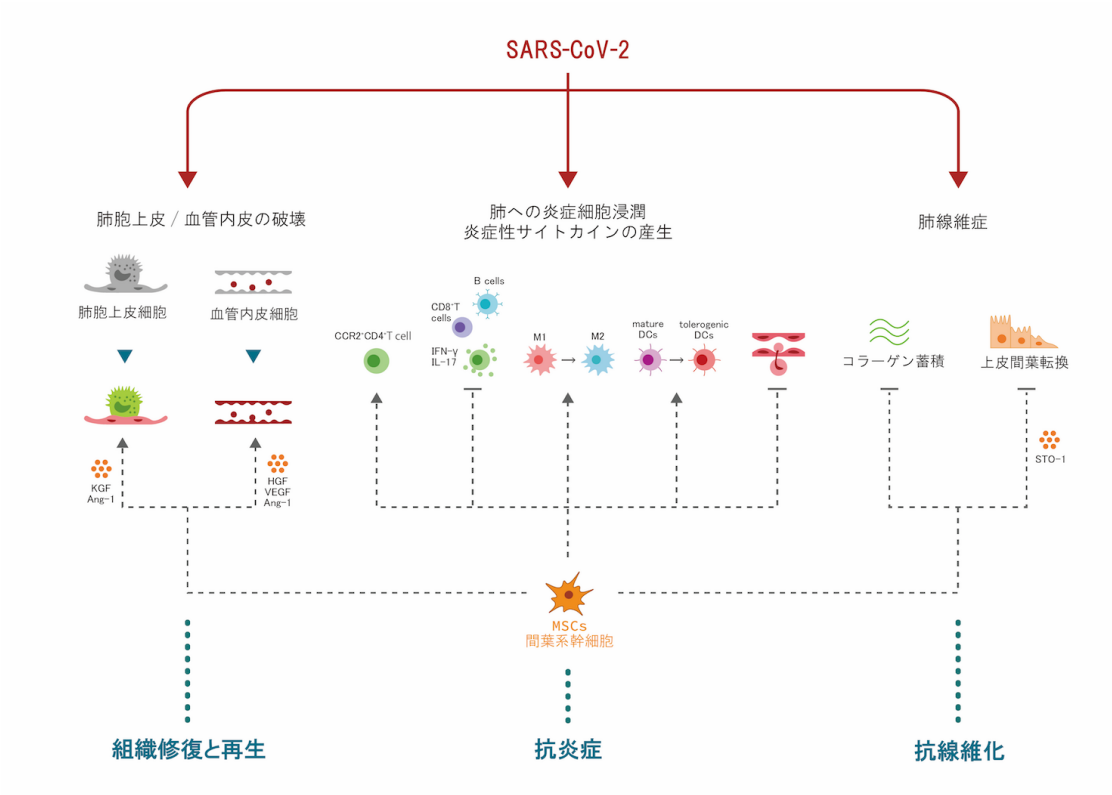

図５　COVID-19 の病態の特徴と間葉系幹細胞治療の可能性

これまでの臨床試験で明らかになったことは、MSC 治療の従来の治療への上乗せ効果として、１）呼吸困難例の減少や回復時間の短縮、２）肺病変の CT 初見の改善、重症・危篤患者の生存期間の延長、３）重症患者の相関前投与で病状進行のリスクや死亡率を減少、４）早期の治療で機械式人工呼吸の抜管率をあげる可能性、などが指摘され

ており、投与時期も重要なことが示唆されている [12]。抗炎症・免疫制御への影響としては、炎症性マーカーの減少や抗炎症マーカーの増加が報告されている一方で、そのような変化は見られなかったとする報告もある [13), 14]。また、副反応は顔面紅潮や発熱、悪寒・戦慄などで、多くは安全で忍容性があったという [12]。

ClinicalTrials.gov に登録されている、COVID-19 に対する MSC 治療は 66 例であった（2022 年 4 月 15 日現在）。その国別の内訳は、米国が最も多く 20 例で、以下中国 9 例、インドネシア 6 例であった。さらに、治験が終了したものは 16 例、募集中が 18 例であった（図 6）。このうち、症例数がもっとも多い中国の報告（NCT04288102）を検討すると、これは、臍帯由来 MSC を用い（$4x10^7$ cells/iv/x3）、重症 COVID-19 患者 100 例による無作為、二重盲検、プラセボコントロールによるフェーズ 2 の臨床試験である。結果は、肺病変部位（とくに充実性病変部位）の容積が減少し、6 分間歩行検査が改善したという。また、試験は安全に施行可能であり、効果が期待できるとしている [14]。

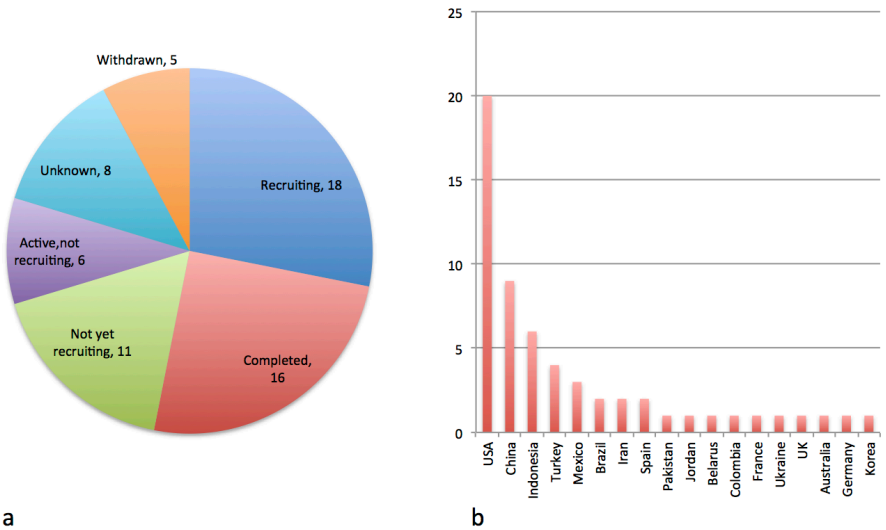

図 6 COVID-19 に対する MSC を用いた治療の進捗状況(a)と国別件数(b)

4　再生医療に関する法律

これまで述べてきたように、MSC 治療を含めた再生医療は魅力的な治療法である一方、均一な細胞集団をつくるのが難しく、大規模な設備や時間が必要であった。また、投与する細胞自体が有効ではなく（とくに末梢静脈投与の場合）、その細胞が分泌する活性物質が重要との考えもあり、細胞培養上清による治療も報告されている [15]。いずれにせよ、製剤の品質管理や保証が重要な点になる。少なくとも、細胞の提供者や由来

組織、分離方法、表現系の特徴、投与方法などは明確にする必要がある。また、分化、増殖する細胞を用いるので、ガン化リスクは常に考えなければならない。この点、ある程度の歴史のある MSC による治療では、現在までのところ拒絶反応やガン化の報告はない。また、一部では治療効果に乏しい製剤が臨床で使われていることも問題である。

そこで、日本では再生医療の安全性の確保を図るため、再生医療等の提供機関及び細胞培養加工施設についての基準が設けられ、2014 年 11 月から「再生医療等安全性確保法」として施行され、自由診療や臨床研究に適応された。また、同時に再生医療の実用化に迅速に対応できるように、再生医療等製品の製造販売に関して、その特性を踏まえた承認・許可制度を新設するため、従来の薬事法が改正され、「医薬品医療機器等法（薬機法)」が実施された。これによって、再生医療は、１）第 1 種再生医療等：ES 細胞や iPS 細胞等ヒトに未実施で高リスクのもの、２）第 2 種再生医療等：体性幹細胞等現在実施中の中リスクのもの、３）第 3 種再生医療等：体細胞を加工等リスクが低いもの、に分けられた。とくに、第 1 種では、提供計画は、特定認定再生医療等委員会の審査が必要で、厚生労働大臣への提出後、厚生科学審議会の意見をもとに厚生労働大臣の許可が必要である。また、細胞培養加工については、医療機関から企業への外部委託が可能になった。MSC による治療は第 2 種再生医療等に相当するため、特定認定再生医療等委員会の審査と厚生労働大臣への提供計画の提出が必要になる。

５　おわりに

再生医療の現状と歴史、とくに MSC を用いた疾患の治療につき概説した。再生医療は、第 1 種再生医療に相当する iPS 細胞を用いた難病治療に関心が集まっており、他家細胞移植による臨床研究がようやく始まりつつある。一方、MSC 治療には歴史的な背景があり、安全性とある程度の効果も確認されている治療で、各種疾患で臨床試験が進行中である。細胞を用いた治療では、投与する細胞の品質管理と保証が重要になる。また、MSC を例にとると、細胞の持ついろいろな作用があることから、何が治療効果を生んでいるかの判断が難しい。さらに、現状ではコスト面で万人に行き渡る治療になるまでには、まだ時間を要するであろう。まさに、産学官が一体となった開発体制が必要であり、本邦が世界に先駆けて多くの患者に朗報を伝えたいものである。

グラフィックデザイン（図 1, 5）　MIJE luv crafts

文献

1) Green H, Kehinde O, Thomas J. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 76(11):5665-68, 1979
2) Thomson JA, et al. Science 282(53919):1145-47, 1998
3) Takahashi K, et al. Cell. 131:861-72, 2007
4) Sato T, et al. Nature. 459:262-5, 2009
5) Mandai M, et al. N Engl J Med. 376(11):1038-46, 2017
6) https://ja.wikipedia.org/wiki/間葉（一部改変）
7) Tsuchiya A, et al. Inflammation and Regeneration. 37:16, 2017
8) Pittenger MF, et al. npj Regenerative Medicine. 4:22, 2019
9) https://clinicaltrials.gov
10) Watanabe Y, Tsuchiya A, Terai S. Clinical and Molecular Hepatology. 27:70-80, 2021
11) Karki R, et al. Cell. 184(1):149-168.e17, 2021
12) Xu R, Feng Z, Wang FS. eBioMedicine. 77:103920, 2022
13) Zhu R, et al. Cell Res. 31:1244-62, 2021
14) Shi L, et al. Signal Transduction and Targeted Therapy. 6:58, 2021
15) Katsuda T, et al. Proteomics. 13:1637-53, 2013

本論文は、第 79 回 TA 講演会「間葉系幹細胞を用いた再生医療」(2022 年 4 月 28 日)の内容に加筆・修正したものです。

Published on line 2022/05/10 (v2.3.1)

©Kawasaki Takatsu Shinryo-jyo, All rights reserved.