

ラジオNIKKEI ■放送 毎週木曜日 21:00~21:15

マルホ皮膚科セミナー

2010年5月13日放送

第73回日本皮膚科学会東部支部学術大会③ シンポジウム2より

「皮膚に存在する幹細胞、特に脂肪組織由来幹細胞」

国立国際医療センター研究所 細胞組織再生医学研究部 部長
大河内 仁志

はじめに

皮膚には表皮や真皮にさまざまな幹細胞が存在しています。これらの幹細胞を使った再生医療において、臨床応用のしやすさという観点からみた脂肪組織由来幹細胞の有用性について紹介したいと思います。

まず始めに細胞をつかった再生医療として、50年前に骨髄移植が行われたという報告があります。骨髄移植は骨髄中の造血幹細胞を移植していることとなります。皮膚科領域でも古くから行われている植皮術は皮膚の幹細胞移植といえます。また30年近く前からケラチノサイトを培養して増やし、培養表皮シートによるやけどの治療も行われるようになりました。最近のトピックとしては日本でも2009年になってやっと培養表皮が保険適応となり、医薬品として正式に認められました。

一方、骨髄の細胞には血管新生作用があるといわれています。バージャー病などの末梢動脈が閉塞してしまう疾患に対して、骨髄の細胞を虚血部より遠位の筋肉内に直接注入する治療も行われるようになってきました。自分の細胞をすぐに使えるというメリットがあります。ただそのために骨髄を400ccから600ccほど大量に採取して細胞を濃縮しなくてはなりません。なぜなら血管を作る細胞の割合が低いとされているからです。1回の骨髄穿刺で採取できる量は5cc程度ですから、何度も穿刺を繰り返さなければならず、実際にはかなり大変な治療法です。それなら細胞を体外で培養して増やして使えばよいと考えられます。ところが培養した細胞を体内に戻すとすると細胞の品質管理を厳密に行わなければならない、臨床応用のハードルが大変高くなってしまいます。いまだに造血幹細胞を体外で十分に増やすことはできません。

幹細胞研究のエポック

そこで細胞を比較的採取しやすい皮膚が脚光を浴びることになります。奇しくも2001年は皮膚の幹細胞研究にとっては特筆すべき年となりました。なぜなら表皮と真皮と脂肪組織に多能性幹細胞が存在することが、別々に報告されたからです。まず毛の立毛筋付着部位であるバルジ領域に表皮の幹細胞が存在することが報告されました。もともとバルジ領域にはたまにしか分裂しない細胞の存在が報告されており、幹細胞の存在場所の候補になっていました。実際にバルジ領域を交換移植することによって、バルジ領域の細胞が毛にも、脂腺にも表皮にもなりうることを示されました。やはりバルジ領域の細胞が幹細胞であったかと皆、納得したものでした。

一方、真皮には神経細胞や平滑筋細胞、脂肪細胞になりうる間葉系の幹細胞の存在が報告されました。Neurosphere法という、もともと神経の幹細胞を培養する方法を使い、培養液中に細胞を浮遊させた状態で増殖させることに特徴があります。我々も追試に成功しました。この幹細胞はneural crestすなわち神経堤由来の細胞であることが証明され、毛乳頭部に存在するという報告がなされています。ただ別のグループはバルジの近辺に多能性幹細胞が存在すると報告しています。またメラノサイトも神経堤由来であり、メラノサイトの幹細胞もバルジ領域の近傍にいると報告されています。したがって存在部位は複数あるかもしれません。

皮下脂肪組織にも間葉系幹細胞

さらに驚いたことに皮下脂肪組織にも骨や軟骨や脂肪細胞になりうる間葉系幹細胞の存在が報告されました。脂肪組織にはもともと脂肪細胞の幹細胞として脂肪前駆細胞が存在すると考えられていました。実は脂肪以外にも分化する能力をもった、間葉系幹細胞が存在するということになります。欧米では脂肪吸引術が広く行われており、日本でも美容的に脂肪吸引が行われています。通常、吸引した脂肪は廃棄されますが、その吸引脂肪から成熟脂肪細胞を除去

2001年

表皮:バルジ領域の細胞が毛にも脂腺にも表皮にもなりうる
(Oshima H, et al. Cell 104:233-245, 2001)

真皮:神経や平滑筋や脂肪細胞に分化できる多能性幹細胞が存在する
(Toma JG et al. Nat Cell Biol 3:778-784, 2001)

脂肪組織:脂肪吸引された組織の中に、骨や軟骨や筋肉、神経などに分化できる細胞が存在する
(Zuk PA et al. Tissue Engineering 7:211-228, 2001)

脂肪組織から間葉系幹細胞の分離法

脂肪組織 → コラゲナーゼ → 遠心分離

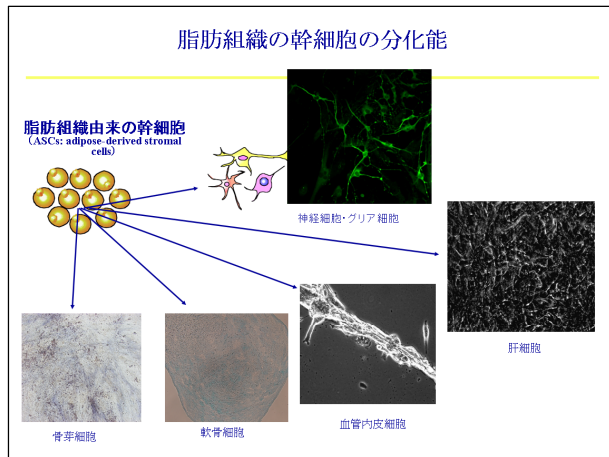
液化脂肪
成熟脂肪細胞
間葉系幹細胞
内皮前駆細胞

して間葉系幹細胞を得ることに成功しました。まず脂肪組織にコラゲナーゼという酵素を加えて、細胞をバラバラにします。成熟した脂肪細胞は油を含むために比重が軽くなりますので、遠心分離によって容易に脂肪を含まない幹細胞と分けることができます。

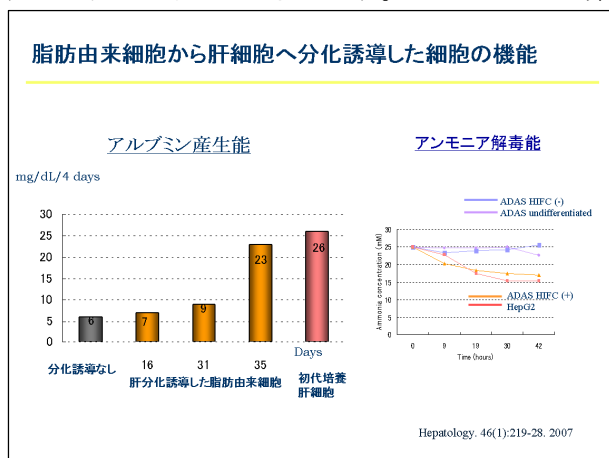
脂肪組織の幹細胞の分化能

ところで骨髄にも造血幹細胞以外に間葉系幹細胞の存在が知られています。役割として造血幹細胞の未分化状態をサポートしていると考えられています。また骨や軟骨や脂肪細胞に分化する能力があるとされています。老化により骨髄が脂肪細胞に置き換わって行くのはこの細胞のはたらきによるものと考えられます。ただ骨髄の間葉系幹細胞は造血幹細胞ほど詳しく検討されていません。1種類の細胞集団なのか、異なる細胞からなる集団なのかについてもまだよくわかっていません。骨髄由来の間葉系幹細胞と比べて、脂肪由来の間葉系幹細胞は骨や筋肉、脂肪細胞などへの同様な分化能を持っています。さらに骨髄由来の細胞よりも増殖力が高く、採取の容易なことが利点となります。

われわれも皮下脂肪や内臓脂肪である大網から間葉系幹細胞の培養に成功しています。骨芽細胞や軟骨細胞、神経細胞、血管内皮細胞、脂肪細胞など様々な細胞への分化を確認しています。80歳の高齢者から採取した脂肪からも細胞を培養して増やすことができました。さらに特筆すべきはヒト脂肪由来の細胞に5種類の細胞成長因子を加えて培養すると、4週間程度で肝臓細胞



を誘導することができました。もともと国立がんセンターの落谷先生のグループが開発したES細胞から肝臓の細胞を分化誘導する方法を応用したものです。アルブミンや薬剤代謝酵素を産生し、アンモニア解毒能をもつ肝臓細胞が誘導できるのです。また肝臓障害作用のある四塩化炭素を投与してマウスに急性肝炎をおこすことができます。その肝炎モデルマウスにヒト脂肪組織の細胞から誘導した肝臓細胞を静注したところ、少数ながら肝臓に生着がみられました。現在では培養方法を改良して約2週間で肝臓の細胞を誘導できるようになっています。



脂肪組織由来幹細胞と再生医療

また脂肪組織由来の間葉系幹細胞は未分化状態を保ったまま増殖することができます。その細胞培養液の上清を調べてどんな因子を産生しているかを検討しました。すると骨髄の間葉系幹細胞や真皮の線維芽細胞よりも HGF という肝臓細胞成長因子の産生が多いことがわかりました。HGF には肝臓再生を促進する作用以外に、血管新生作用も知られています。ですから肝臓細胞にまで最終分化させなくても、未分化な細胞を移植することで効果が期待できるのではないかと考えられます。すなわち脂肪組織由来の間葉系幹細胞の臨床応用には細胞の状態によって3種類の可能性があります。単離したばかりの新鮮な細胞集団と、培養して増やした未分化な細胞、そしてある特定の細胞に分化誘導したものが考えられます。新鮮な細胞集団には間葉系幹細胞以外にも血管内皮前駆細胞も含まれていますので、心筋梗塞などの急性の虚血性の疾患にも効果が期待できます。実際に欧米では脂肪由来の幹細胞を心筋梗塞患者に用いる臨床治験が始まっています。日本ではの乳房再建術として吸引した脂肪と間葉系幹細胞濃縮液を混合して乳癌切除後の患者に移植し、単なる脂肪移植よりも効果がみられたとの報告があります。

すでに米国で吸引脂肪から幹細胞の自動単離濃縮装置が開発されています。この装置を使って我々も血管新生療法の臨床試験を計画しました。施設の倫理委員会承認を得ましたが、「幹細胞を使った臨床研究に関する指針」に従い、さらに厚生労働省の倫理審査委員会に申請をしました。ところが、日本で認可されていない医療機器を使用した臨床試験は薬事法に抵触するおそれがあると指摘されました。一方「医師法」のもとでは、自由診療としてその機器を使うことができます。実際に日本でも美容的な乳房再建術に使用している施設があります。

最近では脂肪由来の間葉系幹細胞が骨髄移植後の GVHD に対して効果があったとの報告がなされています。また尿失禁の治療にも試験的に使われているようです。

以上のことから比較的容易に採取でき、場合によっては大量に採取できる利点から、脂肪組織由来の幹細胞は、今後の再生医療にとって、幹細胞ソースとして非常に有望だと思われれます。

