

～細胞調整室の稼働で臨床応用へ向けて前進～

脱分化脂肪細胞(DFAT)を使った再生医療

2009年5月、日本大学医学部先端医学総合研究センター内に、クラス100の清浄度を維持できる細胞調整室が完成し、稼働している。これにより多分化能を持つ脱分化脂肪細胞(DFAT)の臨床応用研究が飛躍的に前進することが期待されている。細胞調整室は、厚生労働省が平成18年に出した『ヒト幹細胞を用いる臨床研究に関する指針』にも示されているGMP(good manufacturing practice)に準拠した施設である。本施設を利用した研究成果の幅広い臨床応用の可能性について、日本大学先端医学系細胞再生・移植医学分野の分野主任、松本太郎教授に伺った。

細胞調整室が稼働

日本大学医学部先端医学総合研究センターでは、「人の疾病に対する分子医療の確立」を共通テーマに、医学部はもちろん学内のさまざまな関係学部や他大学、企業などとの層の厚い、また幅広い連携のもと、臨床を視野に入れた診断・治療開発に関わる研究が行われている。いわば基礎と臨床の架け橋となる研究である。

その研究施設の一つ、リサーチセンターの地下2階に2009年5月、ヒト幹細胞を用いた再生医療の臨床研究を進めるにあたって必須ともいえる、細胞調整室が設置された。

「2006年9月に厚生労働省から出さ

れた、『ヒト幹細胞を用いる臨床試験に関する指針』の中に、ヒト由来の細胞や、組織の調整培養などはGMP(good manufacturing practice)に準拠した施設で行わなければならないという部分があります。その施設基準である、クラス100の清浄度で細胞調整が行える施設です」と松本太郎教授。

クラス100とは、空気1立方フィートあたりの浮遊物質が100以下ということだ。これを実現するため、昨年、従来からあったクリーンルームを改装し、セルプロセッシング・アイソレーターを導入。これは、ワークエリアを完全閉鎖系にすることにより、内部にクラス100の無菌状態を実現できるシステムだ。

このシステムができる以前は、クラス100の無菌室を作るには、入口から段階的に浮遊物を少なくしていくため、大きな

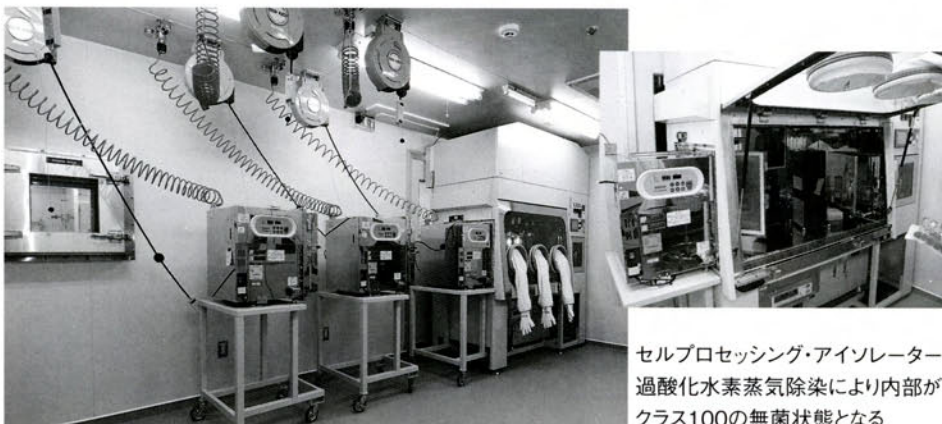
施設が必要だった。それが、このセルプロセッシング・アイソレーターの導入で、よりコンパクトなスペースでGMPを満たした細胞調整室の運用が可能となったのだ。

再生医療の臨床応用研究を進めていくためには、細胞のより精度の高い分離と異物混入のない培養が重要だが、このシステムではそれが可能である。「ハードが整ったので、作業手順書などを揃え、大学内の倫理委員会を通したあとで、厚生労働省の認可を得るといった臨床試験に向けた準備ができました」(松本教授)。

DFATを用いた再生医療研究

松本教授が分野主任を務める日本大学先端医学系細胞再生・移植医学分野では、かねてより『脱分化脂肪細胞(DFAT)を細胞源とする再生医療』の研究に取り組んできた(2008年度 科学技術振興機構「産学共同シーズイノベーション化事業」に採択)。DFAT研究チームは、医学部、生物資源科学部、生産工学部、工学部といったさまざまな学部からの研究者が参加した、横断的なチームである。

DFATとは、成熟脂肪細胞に由来する多能性細胞のことである。ヒトを含むほ



セルプロセッシング・アイソレーター
過酸化水素蒸気除染により内部が
クラス100の無菌状態となる

先端医学系細胞再生・移植医学分野 教授

松本 太郎

TARO MATSUMOTO

昭和62年 3月 日本大学医学部卒業

平成 8年 3月 医学博士

平成17年 4月 日本大学医学部先端医学講座 細胞再生・移植医学 助教授

平成21年11月 日本大学医学部先端医学系 細胞再生・移植医学 教授

【専門分野】

脂質代謝異常症、血管生物学、再生医学

【主な研究テーマ】

動脈硬化形成機序の解明、血管新生の分子機構、PDGF、VEGFRレセプターシグナル伝達機構、

脂肪細胞・ES細胞を用いた再生医学

【所属学会等】

日本内科学会会員(総合内科専門医)、日本動脈硬化学会(評議員)、日本老年医学会(代議員)、

日本再生医療学会(評議員)、日本循環器学会会員、日本腎臓学会会員、

日本炎症・再生医学学会会員、日本造血細胞移植学会会員、日本血管生物医学学会会員



乳類の脂肪組織から単離した成熟脂肪細胞を体外培養することで生じる繊維芽細胞のような細胞群が、高い増殖能と多分化能を獲得することが明らかになり(日本大学生物資源科学部 加野浩一郎准教授 国際特許取得)、この細胞群を、DFAT(Dedifferentiated fat cell)と名付けたものだ。このDFATを、脂肪細胞から分離して培養するところまでの一連の作業を、セルプロセッシング・アイソレーターの中で行うことができるようになって(図1)。

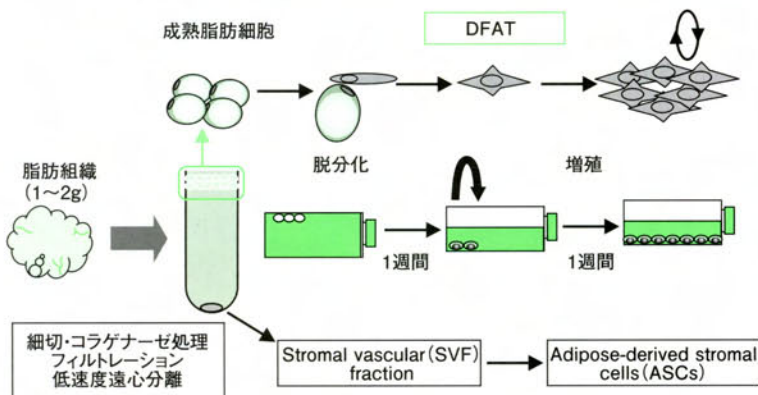
幹細胞といえば、ES細胞やiPS細胞がよく知られているが、松本教授は「ES細胞は、受精卵に近い細胞ですから、倫理的な問題があります。そこで、我々の体の中にある幹細胞を利用して再生医療を行えないだろうかというのが最近の流れです。しかし、採取できる幹細胞が非常に微量であったり、採取のために侵襲が大きいなどの問題点がありました。高齢になると幹細胞自体が少なくなるともされており、高齢者は適応外ということもあります」と指摘する。これに対しDFATは、「皮下から1g程度の脂肪細胞を採取して脱分化体外培養します。すると、そこから骨や血管へ分化することのできる多能性細胞ができるのです」という。

細胞は、受精卵に近い細胞ですから、倫理的な問題があります。そこで、我々の体の中にある幹細胞を利用して再生医療を行えないだろうかというのが最近の流れです。しかし、採取できる幹細胞が非常に微量であったり、採取のために侵襲が大きいなどの問題点がありました。高齢になると幹細胞自体が少なくなるともされており、高齢者は適応外ということもあります」と指摘する。これに対しDFATは、「皮下から1g程度の脂肪細胞を採取して脱分化体外培養します。すると、そこから骨や血管へ分化することのできる多能性細胞ができるのです」という。

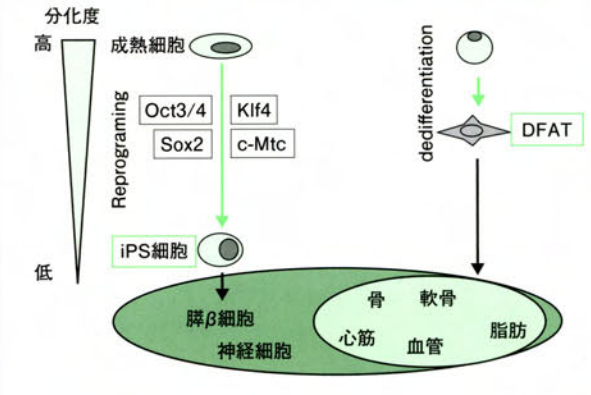
iPS細胞に比べると用途の制限はあるが、DFATは分化度が比較的高いため腫瘍形成ににくいことや、単純に取り出したものを体外培養するものであるため、遺伝子を加えて培養するiPS細胞よりも効率よく培養できるなどの利点がある(図2)。

これまでの研究により、DFATを適切な分化誘導培地で培養することにより、脂肪細胞、骨芽細胞、軟骨細胞、骨格筋細胞などの沿軸中胚葉に由来する細胞や、このほかにも臓側中胚葉に由来する血管内皮細胞、血管平滑筋細胞、心筋細胞への分化転換も可能であることが分かっている。

〈図1〉 DFATの調製法

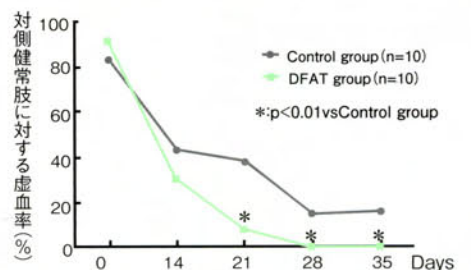


〈図2〉 iPS細胞とDFATの違い



〈図3〉 脱分化脂肪細胞移植による虚血改善効果

(マウス下肢虚血モデル, レーザードップラー血流計による)



脱分化脂肪細胞 (DFAT) を使った再生医療

DFATのマウス下肢虚血モデルへの移植では、血流改善がみられた(図3)ほか、心筋梗塞モデルにおける心機能改善作用、脊髄損傷モデルでは運動機能改善が、そして慢性腎障害モデルにおける腎機能改善なども確認されている。さらに、人工骨基質に蒔いてマウスの骨の欠損した部分に埋め込むと、骨が再生したという結果も出ている。

DFATの臨床応用へ向けての取組み

可能性を秘めたDFATだが、これから臨床応用が期待できる分野とはどのような分野だろう。「まず最初に臨床応用を考えているのは、下肢の血管が詰まってしまった人に対して、DFATを移植して血管を新たに作るという治療です。また、骨粗しょう症で骨折してしまった患者さんに対し、骨を再生することも将来的には可能であろうと考えています」と松本教授は語る。

臨床応用の際の利点を細かく述べると、例えば従来、血管再生には骨髄から幹細胞を採取し自家移植していた。この

場合には、全身麻酔下に骨髄液を600~800cc採取することが必要である。しかし、全身麻酔ができない人や、骨髄炎を起こしている人からは採取ができなかった。しかしこの問題がDFATなら解消される。「骨髄液ですと、高齢者や新生児だと十分に採取できません。しかし脂肪細胞でしたら骨髄採取ができないような人からもとれます。高齢者からとった脂肪組織からでも血管や骨が再生できることを確認しています」(松本教授)。

このほか様々な診療科に関わる分野での臨床応用が期待されている。「心臓血管外科や循環器内科なら心臓や血管の再生です。また整形外科では骨や軟骨の研究も行っています。さらに泌尿器科では膀胱の再生や、尿道の平滑筋強化などの研究、形成外科では皮膚の再生に対する研究も進められています」(松本教授)。歯周病への歯槽骨再生に関する研究は、日本歯科大学との共同研究として進められている。

自家移植が中心だが、さらに研究を重ねることで他家移植へも応用が考えられる。松本教授は「外科手術などで廃棄さ

れる脂肪サンプルを集めてバンキングすれば他家移植にも使えます。これにもニーズがあって、例えば遺伝性疾患などで。また、高齢者で自分の細胞が衰えている場合に若い細胞を移植した方がいい場合もあります。もちろんHLAのタイプが同じという条件があります」と話す。

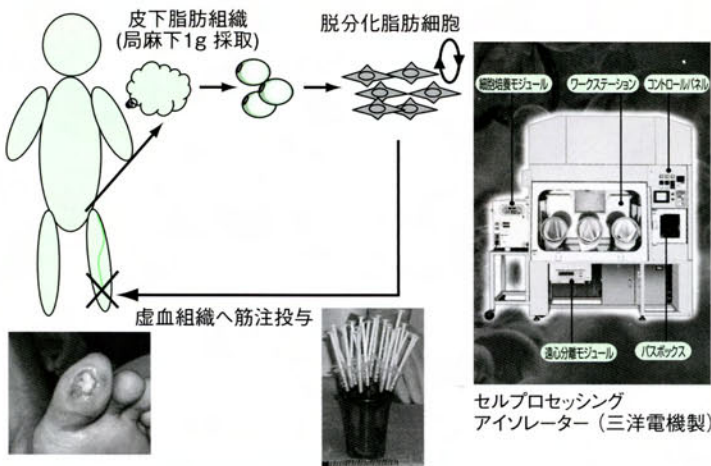
再生医療以外でもDFATの持つ免疫抑制能を利用した難治性免疫疾患に対する治療への応用も期待が大きい。これが実現すれば、骨髄移植の際の重篤な移植片対宿主病などを防ぐことが可能になる。

非常に幅広い応用が期待されるDFAT。研究チームでは、臨床応用は3年後くらいをめどに考えているという。今後の研究成果への注目が集まっている。

DFATを使った再生医療についての問い合わせ先

日本大学医学部附属板橋病院
 担当/松本太郎
 〒173-8610 東京都板橋区大谷口上町30-1
TEL.03-3972-8111 (内線2703)
FAX.03-3972-8666
E-mail : tmatsu@med.nihon-u.ac.jp

■末梢動脈閉塞性疾患(PAD)に対するDFAT移植療法(臨床応用例)



■DFAT研究グループ

