

創傷に対する新しい治療の理論と実際

幹細胞(再生医療)

吉村浩太郎

東京大学 形成外科

[連絡先]

〒113-8655 東京都文京区本郷7-3-1

東京大学形成外科

吉村浩太郎

TEL:03-5800-8948

FAX:03-5800-8947

E-mail:kotaro-yoshimura@umin.ac.jp

I. 概念

我々の身体は常に新陳代謝を繰り返しており、上皮や血液などは常時、次世代の新しい細胞に置換されている(例外:ニューロン)。こうした各組織のターンオーバーは、組織特異的な前駆細胞(Transient amplifying cells:TA 細胞)が司っており、創傷などの非常時にはその上位のマスター幹細胞や骨髄から動員される前駆(幹)細胞も参加する。たとえば表皮では、基底細胞が生理的ターンオーバーを担うTA細胞、非常時に備えている上位の幹細胞が毛包のバルジに眠っている毛包幹細胞や基底膜で表皮突起毎に1個眠っている表皮幹細胞である。骨格筋では各筋線維の基底膜の内側で形質膜の外側に存在する筋衛星細胞がTA細胞として、脂肪組織では脂肪細胞間で毛細血管に張り付いている前駆細胞が、寿命の長い脂肪細胞のTA細胞としての役割を担っている。

再生誘導医療とは、通常は休眠している幹細胞を恣意的に動員させることによって、組織の治癒や修復もしくは再生を実現(もしくは改善)する治療である。すなわち、既存の幹(前駆)細胞をあえて活性化して動員したり、さらに目的に応じて操作したり、ときには他から投与したりすることによって治療を行う新しい試みである[1]。一方、古くから組織を意図的に傷害して新生置換させる手法が行われてきた。さらに、組織を傷害しなくても、機械的外力を加えたり、生物活性のあるものを注射もしくは接触させたりすることによっても、組織の幹細胞を活性化することができる。幹細胞の絶対数が不足している組織は、硬く線維質で、虚血状態にあり創傷治癒能に乏しい。このような場合には、組織に幹細胞を与えることでその予備能を回復させて、健全な状態に戻すことが優先される。

II. 再生誘導療法の理論

1. 組織傷害を介した再生誘導

最も簡便かつ原始的な手法で、古くから行われているアブレーションやピーリングはその代表である。出血を伴い組織破壊を起こす侵襲の大きい組織傷害から、軽い炎症程度のごく軽度のものまで様々であるが、組織に局在するマスター幹細胞を失わせるような大きな組織欠損を伴う傷害ではない。熱変性や、機械的破壊のいずれにおいても、炎症を伴う組織の修復反応が惹起され、組織のリモデリングが誘導されることによって新鮮な状態に置換される。傷害後に局所の幹細胞や血行性にリクルートされる炎症細胞や骨髄由来前駆細胞が主役となって、組織のリモデリングを司る(図1)。この修復過程においては、断裂した細胞外基質や死細胞から増殖因子や酵素および多数のシグナル因子が放出される。また、出血がある場合には、血小板凝集により血小板由来の数々の因子(PDGF、EGF、TGFβなど)も同時に放出される。これらの一次因子群は前駆細胞・幹細胞に働き、活性化させるとともに、幹細胞からの二次因子群の産生・分泌を促す[2]。

再生治療ではないが、血腫が軟骨(柔道耳)や骨(骨腫)を形成することが知られており、骨切り部分に幹細胞を誘導させることによって骨延長も可能となる。頭皮下にエキスパンダーを入れて伸ばすと、周囲の骨膜が牽引によって剥離されることで新生骨が誘導される。組織再生は少しずつ起こるので、幹細胞の活性化(骨膜の剥離な

ど)に加えて、時間をかけて誘導するような工夫が有効性の鍵となる。

2. 傷害を伴わない再生誘導

傷害を与えないで、傷害時の仲介物質(増殖因子、血小板由来因子、骨髄活性化因子など)を用いて、傷害時に近い組織修復反応を誘導することも理論上は可能である。徐放投与をしたい場合には、ナノテク関連のドラッグデリバリーシステムなどを利用して、1~2週間の徐放投与を行うことも可能である。bFGFはすでに外用スプレーとして我が国で製品化されており、米国ではPDGFの外用剤が承認されている。コラーゲンやフィブリノーゲンなどの細胞外基質成分も強い生物活性を持っており、被覆剤や充填剤などとして組織に接触させることで機能を発揮させることができる。また、細胞を播種する足場として利用することも可能である。上記の因子を複合投与することにより、阻血モデルや糖尿病モデルなどで血管新生や組織再生などが有意に促進されることもわかっている[4]。

機械的外力を利用することによって、再生の誘導をすることも可能である(図2)。妊娠や肥満および月経周期などで二次的に皮膚や皮下組織の拡張が見られるのも、その1つである。治療としては、内側から組織の拡張を行うティッシュエキスパンダーが代表例である。外的陰圧は、VACシステム®やBRAVA®に応用されている。

3. 細胞を用いた再生誘導

1と2では、すでに標的組織に存在している幹(前駆)細胞を活性化・操作することにより、組織のリモデリングを誘導する。しかし、そういう標的細胞の数が不足している場合や細胞の機能が落ちている場合などでは、傷害や増殖因子投与による再生誘導を行っても、本来期待していた再生が起らない。このため、こうした細胞を外部から投与するという治療戦略が成り立つ[1]。具体的には、放射線照射組織はその代表である。放射線治療は分裂細胞を特異的に傷害するため、がん細胞のみならず活性化された組織幹細胞も死滅させることが想定され、臨床的にも放射線照射組織では、組織の萎縮と線維化を生じており、すでに正常な組織修復能は存在しない。紫外線照射(光老化)や加齢によっても組織の幹細胞密度は下がり、組織はターンオーバーを繰り返すうちに徐々に萎縮していく。こうした組織幹細胞密度の低下は、われわれが生きていく過程の中で避けられないものであり、老化の実体そのものである(図3)。自己免疫疾患や代謝性疾患に生じた慢性炎症や難治性潰瘍においても、炎症反応や組織修復を繰り返すうちに組織幹細胞は消耗性に枯渇していくと想定される。

こうした根本的な各組織の幹細胞密度の低下を改善するためには、幹細胞を補充する治療が理論上必要である。将来的には、若い時に保存した幹細胞や成体細胞を脱分化して作成するiPS細胞(誘導多能性幹細胞)の補充などが実際に行われる日が来るかも知れないが、現時点では自家の組織移植がその代表的解決手段である。メッシュ皮膚移植(上皮系幹細胞が無いところに、正常よりは密度が低いものの一定の密度で供給する)や表皮細胞懸濁液のスプレー塗布もそうであるし、最近では脂肪注入移植の有効性が注目されている。

脂肪注入移植においては、生着率が不安定であることが知られているが、技術的進歩によりその生着率や有効性も改善されてきている。注入した脂肪が軟部組織の体積を増やすという意義以外に、移植床が幹細胞欠乏組織(慢性的に虚血性、線維性、炎症を伴うようであればすべてそう見なすことができる)の場合、移植床の組織だけでなく、その上の皮膚の血行を改善し、柔らかく温かくする効果が見られることがわかってきた。放射線潰瘍などの難治性慢性潰瘍やその周囲に脂肪移植すると潰瘍が自然治癒する、放射線照射組織に脂肪移植すると人工物移植にも耐えられる組織になる、などの臨床現象が報告されている[5,6]。一方、脂肪注入に用いる材料である吸引脂肪組織自体が、前駆細胞欠乏であることから、その前駆細胞数を改善して注入することにより有効性を高めようとする試みもある[2]。

III. ココだけは注意！

細胞を投与する方法を計画立案する場合は、一定の安全性と有効性を確保するために、投与した細胞の挙動を十分に制御する必要がある。

遊離した細胞は、細胞懸濁液の状態では局所に投与されると、溶媒とともに容易に拡散して移動し、多くはリンパ管などを通して、循環に入り、リンパ腺・肝臓・肺などに捕捉されることが知られている。この拡散を制御できなければ、目的とした有効性を失うだけでなく、線維化や石灰化などの望まない方向への細胞分化が誘導されることがある(図4)[3]。

IV. 代表的症例

症例1: 58歳、女性。脳外科で髄膜腫切除手術を受けたのちに、前頭骨に骨性陥凹を生じた。ヒアルロン酸1mlを、陥凹部の骨膜周囲に30G 鋭針で注入した。1年後においても十分な組織量を維持しており、MRIにおいて注入領域が部分的に線維化組織で置換されて維持されていることが示唆された(図5)。

症例2: 26歳、女性。右乳房の低形成および胸郭変形を呈している。前駆細胞を付加した脂肪移植法(Full-CAL法)による豊胸術を行い、左に105ml、右に315ml移植した。CTにおいて乳腺周囲の脂肪組織が厚くなっている。移植後12か月を経過しても十分な増大効果を保持している。形態は自然で、移植組織も柔らかい(図6)。

V. おわりに

現時点での再生(誘導)医療は、健全な組織が本来持つ治癒・再生能力を最大限に引き出す、もしくは回復させることにより、組織の修復・再生を誘導する試みと言えよう。治療手技面からみれば概ね低侵襲医療であり、今後の医療の発展において重要な柱となる可能性がある。癌や老化の根底には、やはり幹細胞が主役として関与していることも明らかになった。癌細胞を制御するためにも、臓器の修復の不全が蓄積されていく老化を抑えるためにも、細胞を操作・制御する技術の進歩が必要であり、その基盤技術が今後広範囲の臨床医学において応用されることが期待されている。

参考文献

- 1) Yoshimura K, Eto H, Kato H, et al. In vivo manipulation of stem cells for adipose tissue repair/reconstruction. *Reg Med* 6(6 Suppl.): 33–41, 2011.
- 2) Yoshimura K, Suga H, Eto H: Adipose-derived stem/progenitor cells: roles in adipose tissue remodeling and potential use for soft tissue augmentation. *Regen Med* 4: 265-273, 2009.
- 3) Yoshimura K, Aoi N, Suga H, et al. Ectopic fibrogenesis induced by transplantation of adipose-derived progenitor cell suspension immediately after lipoinjection. *Transplantation* 85: 1868-1869, 2008.
- 4) Eto H, Suga H, Aoi N, et al. Adipose injury-associated factors activate adipose stem/stromal cells, induce neoangiogenesis, and mitigate hypoxia in ischemic tissues. *Am J Pathol* 178: 2322-2332, 2011.
- 5) Rigotti G, Marchi A, Galiè M, et al. Clinical treatment of radiotherapy tissue damage by lipoaspirate transplant: a healing process mediated by adipose-derived adult stem cells. *Plast Reconstr Surg* 119: 1409-1422, 2007.
- 6) Salgarello M, Visconti G, Barone-Adesi L. Fat grafting and breast reconstruction with implant: another option for irradiated breast cancer patients. *Plast Reconstr Surg* 129: 317-329, 2012.

Legends

組織傷害による再生誘導

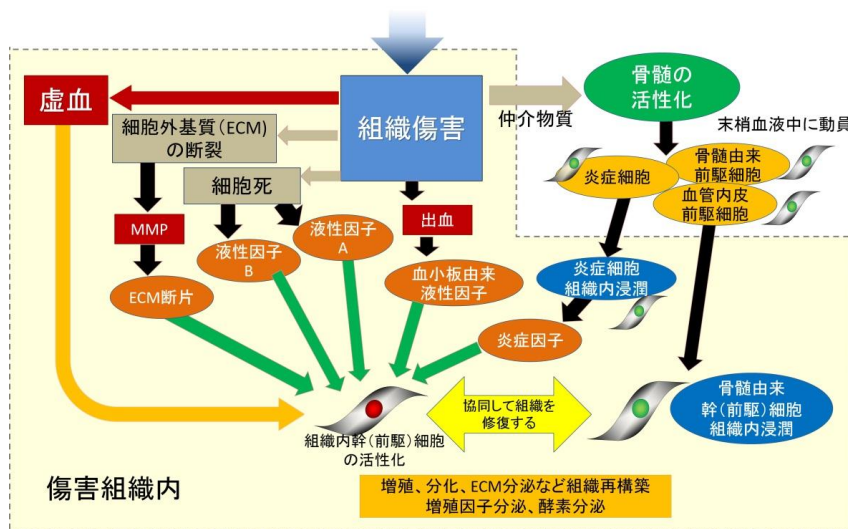


図1. 外傷などの組織損傷を起点とする組織再構築のメカニズム

組織傷害により、細胞死、細胞外基質 (ECM) 断裂、および出血の 3 要素により、損傷部位に増殖因子などの液性因子が現れ、一次的に組織内の幹 (前駆) 細胞が活性化される。これらの因子は一次因子であり、mRNA を通して作られるのではなく、すでに作られて不活化した状態で蓄えられているために、緊急事態においても瞬時に効果を出すことが可能となる。さらに、虚血 (低酸素) や炎症細胞浸潤などによっても組織幹 (前駆) 細胞は二次的に活性化される。一方では、組織傷害は仲介物質によって、骨髄を活性化し、多くの炎症細胞とともに間葉系をはじめとする幹 (前駆) 細胞が末梢血中に mobilize され、損傷部位に浸潤して、創傷治癒に関与する。

機械的外力による再生誘導

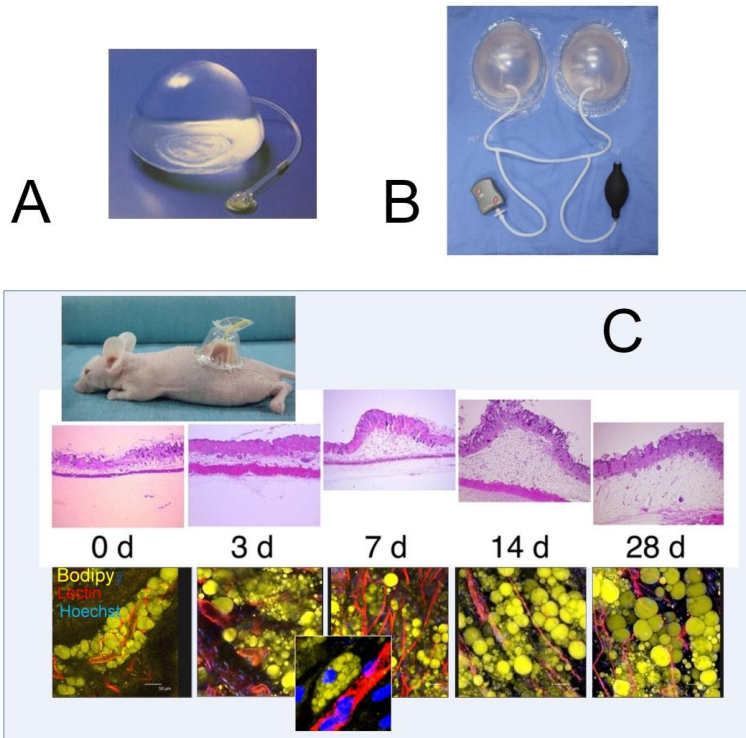


図2. 機械的外力による再生誘導

機械的外力は細胞内に受容体を通してシグナル伝達され、幹(前駆)細胞を活性化する。実際に臨床的に大きな効果が見られることが知られている。A:組織拡張器(ティッシュエキスパンダー)による内側からの組織拡張。B: BRAVA®を用いることにより、乳房に対する外側からの組織拡張も行える。C: マウスの実験による外側からの機械的外力による組織再生誘導。機械的外力により組織内の幹細胞が活性化され分裂を開始する。開始後数日で脂肪新生や血管新生など激しい組織のリモデリングが観察された(Kato H, et al., Tissue Eng Part A 16: 2029-2040, 2010 [より転載改変](#))。

コメント [K1]: 問題ありません

幹細胞から見た“老化”

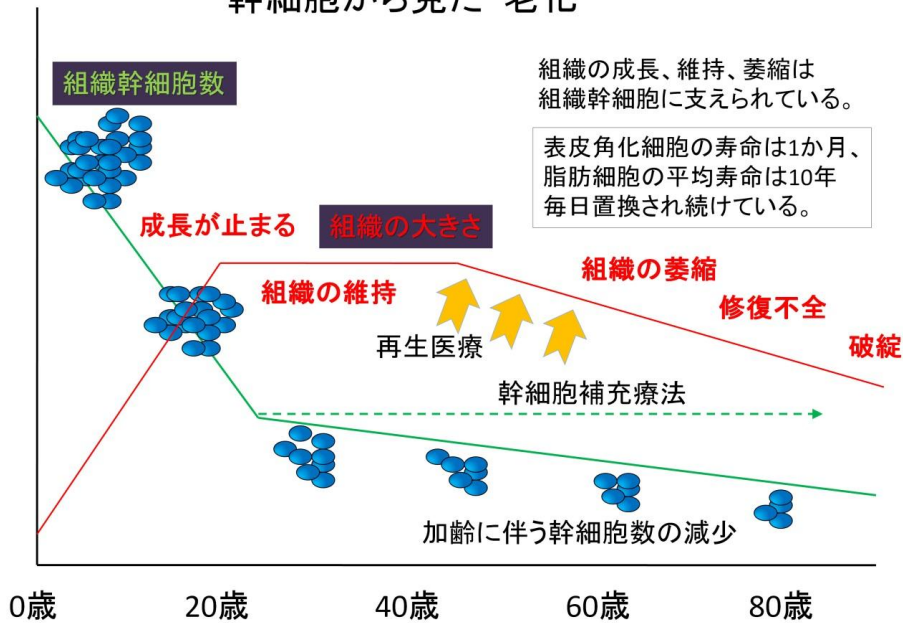
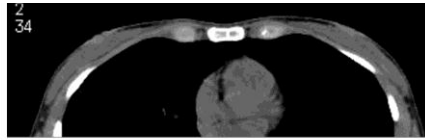


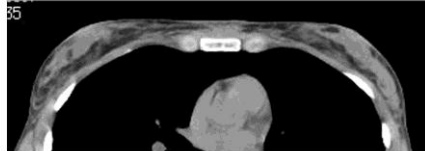
図3. 幹細胞から見た老化の模式図

組織の幹細胞密度は年齢とともに減少する。とくに初期の身体的成長時に多くが消費されると考えられる。成人化後は安定的に変化すると思われるが、幹細胞を消耗することにより恒常性を維持しており、長期的には加齢に伴う幹細胞の減少に伴い、やがて高齢においては組織は徐々に萎縮を始める。再生医療はマスター幹細胞を操作したり活性化することにより、一時的に組織の萎縮を修復する試みが主体であるが、幹細胞補充療法とは、加齢に伴う幹細胞の自然減少を体外から補充することによって予防する試みである。

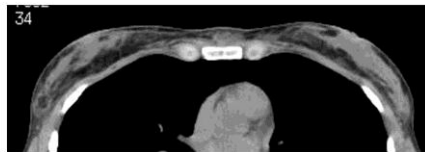
治療前



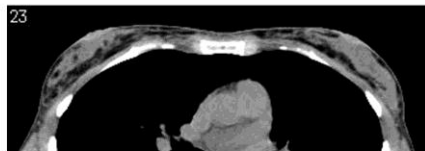
3か月



6か月



12か月



30か月

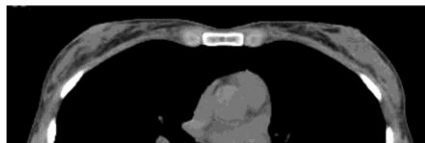
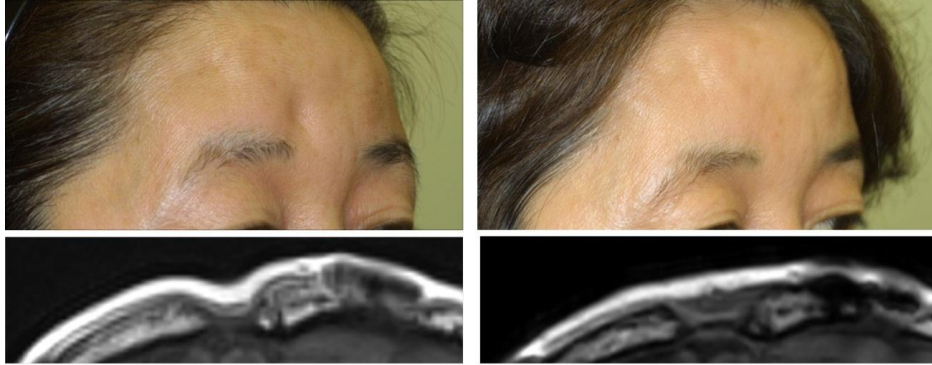


図4. 血管間質細胞群を注射して合併症を引き起こした例

乳房への脂肪注入移植直後に、脂肪組織から採取した新鮮な状態の血管間質細胞群を細胞浮遊液として乳房全体に注入した例。乳房全体に線維化を起こすとともに、細胞が胸骨上に集積して線維化を作って皮膚を挙上した。さらに腹部や鼠蹊部のリンパ節腫脹を併発し、移植細胞がリンパ行性に移動したことが示唆された。同様の治療を受けた2例中2例において認められた。このように、細胞の挙動を制御できないことは避けなければならない、投与方法も重要な要素である。接着細胞は何らかの組織や細胞、基質などに接着させ、遊走や分化などその挙動を制御することが重要である。



治療前

12か月

図5. 症例1。(左)治療前。(右)治療後 12 か月。下は MRI の T1 強調画像。

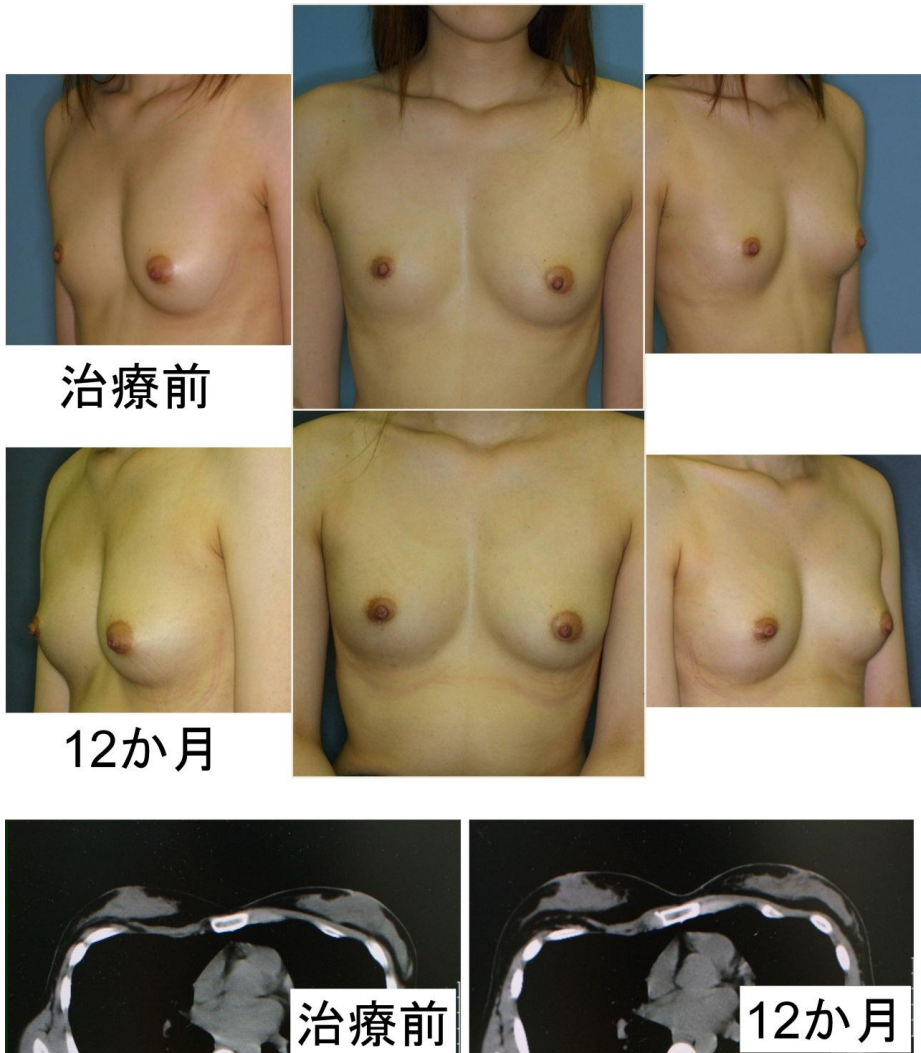


図6. 症例2。上段は臨床写真で、(上)術前、(下)術後 12 ヶ月の状態。下段は CT 画像。