

幹細胞による疾患治療（総説） New Engl J Med, May 2, 2019

「僻地で世界最先端」西伊豆健育会病院 西伊豆早朝カンファ R1.5 仲田和正

Stem Cells in the Treatment of Disease (Frontiers in Medicine, Review Article)

著者

Helen M. Blau, Ph.D. The Baxter laboratory for stem cell biology

スタンフォード医科大、カリフォルニア

George Q. Daley, M.D., Ph.D.

ハーバード医科大医学部

NEJM の May 2, 2019 に「幹細胞による疾患治療」 (Stem Cells in the Treatment of Disease) という大興奮の総説がありました。

著者は世界から「頭脳」の集まる東のハーバード、西のスタンフォードの医師達です。

これからの 10 年、一体医学はどのように進化していくのでしょうか。

是非見届けてみたいものだと思います。

NEJM 「幹細胞治療」の現在の世界ダービー実況中継によると、
角膜細胞移植は既にヨーロッパで商業化され一馬身抜けて一番手です。
2 番手が表皮水疱症と黄斑変性、後は横並びというところでしょうか。

以前、職員の結婚式で仲人をやったのですが、祝辞で

「新郎は趣味としては競馬を嗜（たしな）まれています。」と言った
ところその場の空気が凍り付いたことがありました。

NEJM 「幹細胞による疾患治療」要点は以下の 12 点です。

- ・体細胞に 4 遺伝子 (Sox2, Oct3/4, Klf4, c-Myc) が作用すると iPS 細胞ができる！
- ・4 遺伝子は現在 retrovirus vector でなく大腸菌環状 DNA (plasmid) で注入。
- ・表皮水疱症 7 歳児で 70% の正常皮膚ができた。熱傷ではより深い真皮層再生必要。
- ・iPS 細胞による心筋症治療は現在電気・力学的統合や生着が困難。薬剤開発に有用。
- ・黄斑変性に網膜色素上皮細胞移植が日本で Phase 1、iPS は腫瘍化、ESC 先行。
- ・角膜幹細胞移植は 2015 年ヨーロッパで既に商業化。

- ・筋ジスは構造蛋白 dystrophin 再生に向け Phase 1 の段階。
- ・トパミンニューロン移植が類人猿で機能。ヒトで始まりつつある。
- ・脊髄幹細胞移植は日本が先行も Nature 誌から批判も。
- ・1 型 DM に iPS 細胞による β 細胞置換が phase1-2。ESC 由来 β 細胞皮下移植も考慮。
- ・2019 年ヒトでの iPS 細胞由来血小板の試験開始。赤血球各型は in vitro で可能。
- ・リンパ腫瘍で iPS から CAR (キメラ抗原受容体) -T 細胞作製が期待。

1. 体細胞に4遺伝子 (Sox2, Oct3/4, Klf4, c-Myc) が作用すると iPS 細胞ができる!

2012年にノーベル賞を受賞した山中伸弥教授が2010年に書かれた幹細胞の総説 (Insight Review) が Nature, June 2010 にあります。下記の論文です。小生、大変興味深く読みました。フリーペーパー (ただ) です。

Nuclear reprogramming to a pluripotent state by three approaches.
Shinya Yamanaka & Helen M. Blau、Nature、June 2010 p704-712

この山中教授の総説では細胞核の再プログラミングの3つの方法の歴史、それぞれの長所、欠点が書かれています。

細胞核再プログラミングの始まりは1962年、卵細胞の核を取り出して体細胞の核を移植し胚性幹細胞 (embryonic stem cell、ES cell) を作ることから始まりました。この方法は1-2日の短期間でできます。

この方法により両生類でなく哺乳類で初めて成功したのがクローン羊ドリーです。ミルクを作る乳腺細胞の核を、あらかじめ核を抜き出した卵子へ移植、刺激を与えることで卵割が開始、ドリーが1996年に誕生したのです。驚くべきことに細胞の全設計図 (全DNA) はすべての体細胞が持っていたのです。

二番目の方法として1966年頃からES細胞と体細胞との電気ショックによる細胞融合 (cell fusion) が行われました。この方法も1-2日で可能でまた成功率が高いのです。2001年マウスのES細胞と体細胞 (リンパ球) を電気ショックで融合させて体細胞が初期化されることがわかりました。すなわち体細胞がES細胞と同様な増殖力と分化多能性を獲得したのです。

1987年頃、スイスでショウジョウバエの眼を作る転写因子

(transcription factor) 遺伝子 Pax6 を触覚になるべき細胞に送りこんだところ、何と触覚に眼を生やすことに成功しました。

これで転写因子遺伝子 (transcription factor) が注目されるようになりました。

2012年、山中教授のノーベル賞受賞の切っ掛けとなったのは下記の2006年の「Cell」の論文です。

従来、細胞核多能化 (pluripotency) の再プログラミングには100位の因子が協働する大変複雑なものと考えられていました。しかしこの論文でわずか4つの転写因子遺伝子 (transcription factor : Oct4, Sox2, c-Myc, Klf4) を体細胞に送り込むことで十分なことがわかり世界中が大興奮、熱狂したのです。

Takahashi,K. & Yamanaka,S. Induction of pluripotent stem cells from Mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. Cell 126, 663-676 (2006)

山中教授は ES 細胞で初期化に必要な遺伝子を 24 個まで絞り込みました。この中から初期化に真に必要な遺伝子を絞り込む必要がありました。数の多さに途方に暮れていたところ、共同研究者の高橋和利氏が、「先生、一個ずつ抜いていったらええんやないですか？」と言ったのだそうです。それを聞いた時、山中教授は「ほんまはこいつ賢いんちゃうか？」と思ったそうです。

(山中伸弥先生に人生と iPS 細胞について聞いてみた。
山中伸弥、聞き手：緑慎也 講談社 2012)

まず 24 個から 1 個目の遺伝子を抜いて 23 個をベクターウイルスで入れ、次に、2 個目の遺伝子を抜いた 23 個を入れるという具合です。もし本当に必要な遺伝子なら 1 個欠けただけでも初期化できません。山中教授の座右の銘は、整形外科医時代に鬼軍曹の上司から言われた「おい、邪魔なか(山中)、ゴチャゴチャ言わんと手動かせ！」だそうです。この格言は後々研究でとても役に立ったそうです。

昔、大学の動物実験室に貼ってあった標語が「一殺多生鬼手仏心 合掌」でした。これが病院の手術室に貼ってあったら怖いよなと思いました。そういえば大学の手術室の男子トイレに、「一步前進して用を足すこと 医局長」とあり、その後にボールペン書きで「俺はそんなこと言ってないけど、皆守ってね」と書いてありました。

この高橋和利氏の方法により 1 年かけて最終的に 4 遺伝子、Sox2、Oct3/4、Klf4、c-Myc の 4 つに絞り込みました。発表しようとした矢先、韓国ソウル大学の黄禹錫(ファンウソク)教授がサイエンスに発表した「ヒトクローン胚からの ES 細胞作製」が捏造であることが発覚しました。

このため念のためには念を入れて再現実験を何度も繰り返し、投稿はトップジャーナルの「Nature」や「Science」でなく「Cell」を選びました。「Cell」は話題性よりもデータを重視する科学誌だからです。投稿に当たっては代表的実験データでなく全実験データを提出しました。論文発表前に、成果が外部に漏れると誰でもすぐに真似ができます。このため京大研究所での毎週の発表会も中止し、4 人だけの極秘としました。生じた細胞は iPSCs (induced pluripotent stem cells) と名付けられました。

下記は山中教授が 2010 年に NIH で行った講演です。英語ですが、ユーモアたっぷりで終始笑いに満ちて楽しい講演です。講演の上手な先生だなあと感心しました。

<https://www.youtube.com/watch?v=AD1sZU1yk-Y>

(2010 年 National Institute of Health での山中教授の英語講演 Induction of pluripotency by defined factors、You Tube, 1 時間 9 分)

この中の 36 分 00 秒から始まるのがクライマックスの 24 因子から 4 因子に絞りこむ感動の場面です。

また 40 分 00 秒の驚きの動画をご覧ください。皮膚線維芽細胞から分化した心筋細胞が収縮しているのです。山中教授もこれを見ながら自分の心臓がシンクロナイズしたと言っています。

以前、日本整形外科学会総会で山中伸弥先生の招待講演がありましたが広い会場が超満員でした。

なぜ iPSCs が小文字の i で始まるのかと言うと、iPOD をパクったのだそうです。素人からは「先生が発見された iPOD 細胞は・・・」と言われることもよくあるとか。

何でも日本人が新たに命名しても、後発の欧米人の命名が一般に使われてしまうことが多く、インパクトの大きな名前である必要があるそうです。そう言えば量子力学の素粒子で quark (クォーク) というのがありますが、これは Murray Gell-Mann が小説の中の「Three quorks for Muster Mark! 」(マスター・マークさんにチーズ 3 つ!) から取ったのだそうです。

Quork だと mark, bark, park みたいにゴロがいいからです。またイギリスのパブでのビールの単位の quart にも似ています。

昨年、小生家内とロンドンに行ったのですが、パブでビールのオーダーは「Can I have a pint (ポイント) of beer?」と言います。うまかったなあ。1 パイントが 568ml です。1/2 パイントが quart ですが、パブでは half pint と言い quart とは言っていませんでした。

また素粒子の 6 つの種類の名も、up, down, strange, charm ,top, bottom というふざけた名前です。しかし人口に膾炙するにはこういう受けを狙わなければなりません。iPS 細胞の名は見事に当たりました。

なお、視細胞のリボンシナプス間隙には、「ピカチュリン (Pikachurin)」 という細胞外マトリックス蛋白の伝達物質があり、これを持たないマウスは動物視力が弱いのだそうです。何とピカチュリンは、光を発するアニメキャラクター、ピカチュウから取ったのだ そうです。これは 2008 年、大阪バイオサイエンス研究所の古川貴久氏のチームが発見しました。何とも楽しい命名だよなと思いました。ピカチュリンの写真は下記のように Nature neuroscience の表紙を飾りました。これなら一発で覚えられます。

<https://www.nature.com/neuro/volumes/11/issues/8>
(Nature Neuroscience, August 2008, Pikachurin)

ここで一旦まとめますと「体細胞に 4 遺伝子 (Sox2, Oct3/4, Klf4, c-Myc) が作用すると iPS 細胞ができる！」です。

2. 4 遺伝子は現在 retrovirus でなく大腸菌環状 DNA (plasmid) で注入。

iPS 細胞の利点は、患者自身の細胞から取り出すので、胚性幹細胞 (ES cell、embryonic stem cell) のような倫理的問題がないこと、また ES 細胞のように免疫学的拒否反応がないこと、iPS 細胞を使った薬のスクリーニングが試験管内で可能となること、細胞親和性が高い (high cell yield) ことなどがあります。

iPS 細胞は胎児幹細胞で働いている 4 つの転写因子 (transcription factor) の遺伝子 (Oct3/4, Sox2, Klf4, c-Myc) を retrovirus vector でマウス皮膚細胞に導入し遺伝子の一時的過剰発現により iPS 細胞作製に成功しました。

しかし retrovirus を使うと外部からの virus 遺伝子が残り iPS 細胞に異常を起こすことがあります。そこで現在は大腸菌の環状 DNA (プラスミド) に組み込んで送り込むのだそうで、目的の遺伝子のみ送ることができます。

iPS 細胞作製は血液、皮膚、尿の普通の細胞で可能で患者さんの負担がありません。例えば患者さんの皮膚細胞を培養皿に入れて 2, 3 週間経つと培養皿いっぱい皮膚細胞が増えます。ここに遺伝子 4 つを加えると、細胞の時計の針が巻き戻り 1 カ月ほどで皮膚細胞とは全く違う iPS 細胞が「際限なく」増殖するのです。これがあるとあらゆる器官に分化します。

これによりできた細胞はその運命 (fate) に plasticity (可塑性、適応性) があり、telomerase も表出して telomere 長を修復します。

なお telomere (テロメア) とは染色体は X の格好をしています X の 4 隅にある無意味の繰り返し配列を持つ DNA です。

DNA は 5'末端(五炭糖基の左上)から 3'末端 (五炭糖基の左下) の方向に複製されます。しかし DNA は二重鎖なので一方は 5'から 3'へ途切れなく複製されます (leading 鎖) が、もう一方の鎖は 3'→5'なので何度も DNA polymerase が作用して断片 (Okazaki fragment) が繋がります (lagging 鎖)。
そして lagging 鎖にはどうしても複製できない部分が残ります。

[https://sci-tech-trans.xyz/2018/09/13/dna の複製/](https://sci-tech-trans.xyz/2018/09/13/dna%20%E5%A8%B9%E5%89%B6/)

DNA の複製 英語ですがわかりやすいです。

これを補うために、無意味な繰り返しの telomere があるのです。Telomere が足りなくなるとこれは老化で、はい、それまでよと寿命になります。Telomerase により telomere が伸長されれば永遠に生き続けます。一般人でもテロメア修復で健康寿命を延ばせる可能性もあるのです。

また iPS 細胞は、epigenetic (DNA 塩基配列変化を伴わぬ遺伝子制御) な環境もリセットします。

また、最近では、iPS 細胞よりも tissue-specific stem cells (adult stem cells)の方が腫瘍変化も少なく、より有用でありまた薬効を調べるにも有用だとのこと。これは例えば、皮膚細胞から心筋細胞を作るのではなく、標的臓器である局所の皮膚、角膜、網膜、血液、骨格筋などで ” adult” stem cell を作るものです。自己再生も特殊組織の修復も可能です。

まとめますと、「4 遺伝子は現在 retrovirus でなく大腸菌環状 DNA (plasmid) で注入。」です。

3. 表皮水疱症 7 歳児で 70%の正常皮膚ができた。熱傷ではより深い真皮層再生必要。

表皮水疱症は国内では H21 年の受給者数は 329 人、9 歳以下で発症することの多い稀な重症遺伝疾患です。軽い外力で皮膚の水疱、びらんが起こります。皮膚構造維持に不可欠な細胞間質 (matrix) を維持する collagen と laminins を符号化 (encode) する遺伝子変異によります。

laminin 産生困難の 7 歳児で幹細胞により 70%の皮膚ができた報告があります。これは正常皮膚部分から 2×2 cmの皮膚を採取し自家製組織特異性幹細胞 (autologous tissue specific stem cell)を遺伝子エンジニアリングで作成したものです。この児では自己再生する成人表皮ケラチン生成幹細胞 (keratinocyte stem cells(holocloness)) が見つかると幹細胞の性質を失わずに長期間培養できたことで成功が確定し、この方法が標準 (benchmark) となっています。

また熱傷患者では真皮層の再生が必要です。

もし熱傷患者で皮膚幹細胞の使用ができるようになれば熱傷治療の革命となるでしょう。正常皮膚から無限に皮膚シートを培養できるのですから。

まとめますと「表皮水疱症 7 歳児で 70%の正常皮膚ができた。熱傷ではより深い真皮層再生必要。」です。

4. iPS 細胞による心筋症治療は電気・力学的統合や生着が困難。薬剤開発に有用。

心臓に関しては、現在のところ ESC 由来も iPSC 由来の心筋幹細胞でも心筋症治療はうまくいっていません。電気、力学的統合 (integration) が出来ないし、また生着が難しいのだそうです。

現在、心室・心房・ペースメーカー細胞への分化誘導、移植のための骨格 (bioengineering scaffold) の使用、数種類の細胞移植などが考えられています。

心筋梗塞で心筋が消失した場合、心筋再生は極めて限られているのだそうです。原爆被爆した成人心筋細胞での炭素ラベリングにより心筋細胞で心筋再生は年間 1%に満たないのです。

一方、ハツカネズミ (murine) の新生児や zebrafish(シマヒメハヤ)では心筋細胞の再生は活発です。

心筋症末期では現在、心移植が唯一の治療ですが選択肢として幹細胞移植が試みられています。

200 近いトライアルが行われましたが、主に骨髄からの自家単核球

(autologous mononuclear cell) や間質細胞 (stromal cell) からの幹細胞移植が行われ、mesenchymal stem cell (成人 MSCs) と呼ばれますがこれらは実際、中胚葉細胞ではないので命名が間違っておりまた心臓組織に変化もしないそうです。MSCs 移植は安全ですが長期的利点はありません。

MSCs と大きく異なりヒト ESCs(embryonic stem cell)由来の心臓細胞、心筋細胞はネズミの心筋梗塞直後で生着 (engraft) し再筋肉化します。

しかしヒト以外の霊長類 (macaque) への移植では、相矛盾する結果でした。

1 例は心筋細胞が再生しましたが心室性不整脈が起こり、1 例は再筋肉化しませんでした。

18 ヶ月の心不全患者での Phase-1 study で fibrin patch に埋め込んだ ESC 由来の幹細胞で安全性と心収縮力増加が見られました。

なお Phase 1 とか 2 とかは次のような意味です。

【Phase の意味】

- 第 1 相試験 (Phase 1 trial) : 健常人ボランティアへの投与。ただし抗がん剤では健常人投与は禁止。
- 第 2 相試験 (Phase 2 trial) : 少数患者への投与。
- 第 3 相試験 (Phase 3 trial) : 多数患者への投与。
- 第 4 相試験 (Phase 4 trial) : 市販後の臨床試験。

なお患者由来の iPSC 由来の心筋細胞は未熟ではありますが、不整脈、channelopathies、肥大、premature telomere shortening、拡張型心筋症などの心筋細胞の特徴を持っており病因解明や薬剤のスクリーニングに使用されています。即ち薬剤開発には大いに役立っているのです。ということでまとめると、「iPS 細胞による心筋症治療は電気・力学的統合や生着が困難。薬剤開発に有用」です。

5. 黄斑変性に網膜色素上皮細胞移植が日本で Phase 1、iPS は腫瘍化、ESC 先行。

眼球の幹細胞移植に有利な点は、比較的免疫系から隔離されていることです。特に角膜では有利です。眼科での幹細胞利用はターゲットが局在し、標的が簡単、比較的細胞数が少なく済みます。しかし網膜色素上皮 (RPE: Retinal Pigment Epithelium) は血管・網膜バリアにあり加齢性黄斑変性では隔離が甘く従って一時的に免疫抑制が必要かもしれません。

網膜下の RPE stem cells 移植は特に日本で行われているようです。なお、この NEJM の幹細胞総説には 87 参考文献がありますが、そのうち 12 論文は日本からのもので、何と日本が大活躍していました。西伊豆では網膜色素変性の患者さんが結構多く、色々な遺伝系がありますが、常染色体優性のこともありその場合 1/2 の確率で遺伝します。幹細胞移植が実現すれば患者さんにとっては誠に福音です。

外来で失明した患者さんにお話を聞いてみると、静岡に視覚障害者の図書館がありそこで点字図書や、音声図書を無料で注文、郵送で 2 週間貸し出してくれるのだそうです。その患者さんは頻繁に借りていました。また道路や駅の点字ブロックも 1960 年代、岡山で開発されたもので、今や世界中に広まっています。直線部分は線状に、角に来ると丸い点状のブロックになります。中国人が点字ブロックを見て大変驚いていました。つくづく日本はいい国だなあと感じました。

以前、針灸マッサージ師の団体で「腰痛の診かた」について小生、講演したのですが、講演を始めてから「しまった」と思ったのは、1/3位の方が視覚障害でパワーポイントが見えないのです。晴眼者と同伴されている方も多く、隣の晴眼者から説明を受けていました。弱視者の方は双眼鏡や単眼鏡を使用されていました。パワポでなく言葉で説明しなければならないのです。パワポを使うにしても極力単純にしなければなりません。小生、それまで全く思い至りませんでした。

最近 CNN を見ていたら「日本で鍼灸師の 20% が視覚障害者なのはなぜなのか」の記事がありました。また習近平は中国医学の世界化を狙っていますが中国の鍼灸経絡の理論そのものに根拠がなくエビデンスに乏しいと手厳しい記事でした。CNN や BBC を見ていると、日本で報道されない面白い記事が満載で、如何に普段自分が井の中の蛙であるかがよく分かります。

網膜は下層の retinal pigment epithelium (RPE、網膜色素上皮) の健全さに依存します。加齢による黄斑変性は RPE が次第に失われて黄斑の光受容体 (photoreceptor) の死によります。

黄斑変性の前駆として網膜上皮に色素斑 (drusen: 網膜ドルーゼン) 形成されます。治療法はありません。網膜下の RPE stem cells 移植が試みられているのです。

加齢性黄斑変性では動物実験で光受容体が完全に失われる前に、RPE 細胞で置き換えることができました。更に進行すると RPE 細胞だけでなく光受容体細胞の移植も必要です。

ESC または PSC 由来の RPE 細胞移植の phase 1 トライアルは米国、中国、イスラエル、韓国、日本で行われています。PSC 由来の RPE 細胞は細胞混濁液あるいは、Bioengineered scaffold (骨組み) に組み込んで移植します。

ESC 由来 RPE 細胞懸濁液は長期にわたり黄斑色素を保ち、視力がある程度改善した例もありました。しかし同種異系 (allogenic) RPE 細胞の場合は免疫反応を起こす可能性があります。

一方、自家製 iPSC 由来 RPE は拡大培養 (expansion) 中に、発ガン性変異を起こし中止されました。

まとめますと、

「黄斑変性に網膜色素上皮細胞移植が日本で Phase 1、iPS は腫瘍化、ESC 先行」です。

6. 角膜幹細胞移植は 2015 年ヨーロッパで既に商業化。

角膜、水晶体での使用にも進歩がみられています。

成人組織特異性の角膜縁 (limbus) の幹細胞から細胞増殖 (expansion) させコンタクトレンズまたは角膜縁移植して角膜、視力を回復できますが、2015 年何と早くも European Medicines Agency (EMA) から商品化の認可を得ました。EMA って我らの Emergency Medical Alliance (日本の若手救急医の集まり) かと思った。

ポイントは「角膜幹細胞移植は 2015 年ヨーロッパで既に商業化。」です。

7. 筋ジスは構造蛋白 dystrophin 再生に向け Phase 1 の段階。

Duchenne 型筋ジストロフィーに対する幹細胞移植が試みられています。

Duchenne は筋収縮時の膜統合性に不可欠な構造蛋白の dystrophin 欠損により筋線維喪失、線維化が起こります。

dystrophin を暗号化する DMD 遺伝子変異によるのです。

1992 年ヒト自家 myoblast 移植が試みられある程度の効果はありましたが、生着が悪くまた幹細胞の補充もできませんでした。しかし現在も myoblast はトライアルで使用されています。

過去数年でヒト筋細胞から” adult” muscle stem cells (MuSCs) が作られ旺盛な増殖能が見られました。基底層 (basal lamina) で囲まれた MuSCs を成熟多核筋線維に接すると、自己再生、修復を長期間行うのです。

しかし細胞培養で MuSCs を増殖させると幹細胞能力が劇的に低下するため難しいのだそうです。これに対し培養媒体 (culture medium) の工夫や hydrogel など軽減することが行われています。

もう一つの方法として組織にある (tissue-resident) MuSCs をその場で刺激する方法があります。この方法なら細胞の隔離、増殖、デリバリーが不要です。

Dystrophin の置換、再生の為、遺伝子治療、遺伝子編集のトライアルが行われてます。Adeno-associated viral (AAV) vector を使用して短い (truncated) ながらも機能する dystrophin が動物の骨格筋で表出されましたが、この方法の問題は免疫の誘発です。またこの AAV のターゲットは成熟した筋線維であり MuSCs ではないので生涯に亘っての再生能はありません。

MuSCs の代替として mesoangioblasts の全身投与があり、Phase1、2a のトライアルで副作用は少ないのですが今のところ効果がありません。

iPSCs は理論的に myogenic stem cell の自己再生は無制限です。
骨格筋は比較的腫瘍変化が少なく PSC 治療には魅力的な目標だとのこと。

ポイントは「筋ジスは構造蛋白 dystrophin 再生に向け Phase 1 の段階」です。

8. ドパミンニューロン移植が類人猿で機能。ヒトで始まりつつある。

ニューロンが破壊されると永続的になりそれで iPS 細胞に興味を持たれています。
小生、今まで脳神経細胞は生後の新生はないと思い込んでいました。
しかし何と例外があるというのです。

確かに哺乳類では脳発達は子宮内でほぼ完了し小児期では限られた神経形成しかありません。しかし限られた領域の、海馬歯状回 (dentate gyrus of the hippocampus) と線条体脳室下帯 (subventricular zone of the striatum) でのみ神経形成作用 (neurogenesis) が存在するのだそうです。

私達は 3 歳以前の記憶はどうしても遡ることが出来ません。
これは 3 歳以後、海馬歯状回で新たに神経細胞が増殖して記憶が更新されてしまうためではないかという説があるそうです。下記のサイトをご覧ください。

www.fujita-hu.ac.jp/ICMS/topics/ngforget/index.html

(藤田医科大学 脳の海馬歯状回の新しい神経細胞が記憶の忘却を促進することを発見)

小生、3 歳頃家の前で撮った白黒写真があり、その時目の前で誰かがカメラを構えていた状況は何となく覚えています。しかしそれ以前の写真は全く記憶がありません。

脳での幹細胞応用には、胎児由来のドパミン産生中脳組織移植が可能です。
ただパーキンソンでの Lewy bodies の如くプリオン病のように病気が
進行する懸念があるとのこと。
なおプリオン病とは単なる蛋白質で DNA などでないのに次々に伝染していく
不思議な病気です。

胎児由来の細胞 (ESC) を使うと dyskinesia を起こす患者があり iPS 細胞で
解決できる可能性があります。ネズミ、サルでは iPS 細胞が機能しています。
HLA が一致したホモ接合 (homozygous) のヒトからの iPSC 由来のドパミン
ニューロン移植が間もなく始まります。
ESC 由来のドパミンニューロン移植も行われます。
ポイントは「ドパミンニューロン移植が類人猿で機能。ヒトで始まりつつある」です。

9. 脊髄幹細胞移植は日本が先行も Nature 誌から批判も。

また脊髄損傷に対する神経幹細胞や oligodendrocyte 先駆細胞 (progenitors) 移植の研究が進行しています。この総説ではこの一文でしか触れられていません。特に日本が先行しているのですが、2019年1月30日の Nature 誌論説で、下記のような題で時機尚早と激しく攻撃されてしまいました。

<https://www.nature.com/articles/d41586-019-00332-5>

(Nature, Editorial, 30 January 2019, Japan should put the brakes on stem-cell sales. Unproven therapies should not be marketed to patients)

<https://webronza.asahi.com/science/articles/2019031800008.html>

(朝日新聞 論座：日本の再生医療「早期承認」に世界から批判
東京脳神経センター 川口浩先生)

ポイントは「脊髄幹細胞移植は日本が先行も Nature 誌から批判も」です。

10. 1型DMにiPS細胞由来β細胞が phase1-2。ESC由来β細胞皮下移植も。

1型DMは膵島のインスリン産生β細胞の自己免疫による破壊です。内因性β細胞からの幹細胞は効率的に再生しないのでiPS細胞による置換が研究されています。Phase1、2の段階です。

ESCsからのグルコース反応性のインスリン産生β細胞への分化が動物実験で報告されています。またこの細胞をカプセルに入れてヒトに投与する Phase 1, 2 試験が行われています。

β細胞単独移植が良いのか、α、δ、ε細胞なども共に移植した方が良いのかはまだわかっていません。β細胞は血糖レベルのモニターが可能であり血糖の正確、敏感なコントロールが可能です。

ただ自家製iPS細胞移植は自己免疫誘発が危惧されるようで、免疫抑制が必要です。この為にT細胞の副刺激が注目されているとか。

なるほどなあと思ったのは、インスリンは血中を循環するので移植β細胞は別に膵臓にある必要はないというのです。従ってカプセル(encapsulation)に入れて皮下へ置く方法が考えられています。ただこれにより免疫、炎症が防げるかは不明です。

臍臓が皮下にあるなんて驚き桃の木山椒の木です。

我が家の庭の山椒の木は、竹の子のシーズンには大変重宝しています。

うー、考えるだけでよだれが出る。

ポイントは「1型DMにiPS細胞由来β細胞がphase1-2。ESC由来β細胞皮下移植も」です。

11. 2019年ヒトでのiPS細胞由来血小板の試験開始。赤血球各型はin vitroで可能。

ヒトからの輸血はHCVやZika virusなどの感染の可能性があります。iPS細胞からの産生が最も期待されています。

特に血小板は半減期が短く室温保存（20-24℃で振とう保存、採血後4日まで）が必要で細菌汚染されやすく扱いにくいことで悪名高いのだそうです（notorious）。

小生、これを読むまで、血小板は室温保存というのを知りませんでした。ガーン！！

慌てて調べてみたところ、血液製剤の保存は下記の通りです。

赤血球、血漿、血小板で皆保存法が違うというのは、小生恥ずかしながら知りませんでした。

【血液製剤の保存の仕方】

- ・赤血球は2-6度、採血後21日まで。
- ・血漿製剤は-20度以下、1年保存可能。
- ・血小板は室温保存、20-24℃で振とう保存。

当、西伊豆健育会病院では、沼津の血液センターまで車で1時間40分かかるので出血救急に対し、常時、O型Rh+赤血球を800ml保存しています。

Rh型は自然抗体ができませんから、輸血歴がなければRh(-)患者にRh(+)を輸血しても構いません。ただしクロスは必ず行っています。

ただ3週毎、入れ替えなければならず赤血球200mlで8,402円ですから年間42万円ほどかかります。しかし救急病院の必要経費で仕方がないと思っています。

今まで当院では血漿製剤は常備していませんでした。

しかし、血漿製剤は1年保存可能ですから、万能のAB型血漿製剤も置こうと思いました。

この数年で、出血治療は大きく変化しました。

今までは、乳酸リンゲルや生食の大量輸液が常識でしたが、現在の出血治療の要諦は「早期止血、血液製剤の早期投与、低血圧の容認！」であって「大量輸液、特にリンゲルや生食はやるな！」というのです。ただし意識障害を起こさず橈骨動脈が触れる程度（sBP80以上）の輸液は行います。

米軍では乾燥凍結血漿（freeze dried plasma）の使用が多いようです。

国内ではこれはありません。戦傷ではこのような搬送システムの教育、戦術の変更により搬送時間が短縮され生存率が向上しています。

(出血性ショック (総説)、N Engl J Med, Jan.25,2018
西伊豆早朝カンファランス H30.2 西伊豆健育会病院)

この本日の幹細胞総説に依ると赤血球や血小板の作成が出来れば病原体フリーとなります。In vitro では色々な血液型の赤血球の作成が既にできているそうです。しかしまだ in vivo では行われていません。しかし胎児性 globin が残りやすく、また核が残りやすいのですがネズミの宿主にいれると赤血球は成熟します。

西伊豆では、ホテルに中国人も出稼ぎに来ています。以前、Hb6 なのに RBC600 万という低色素性貧血の中国人がこられました。Thalassemia index と言って $MCV/RBC \times 106 \leq 100$ ならサラセミアが強く疑われます。初めて見たサラセミアでした。

幹細胞からの血小板作成には、iPS 細胞から巨核球 (megakaryocyte) を作り増殖して冷凍保存し in vitro で血小板に分化させる研究が行われています。期待されているのは巨核球の安定供給の為に、巨核球先駆細胞への細胞増殖、分化停止を行なう遺伝子を導入 (transgene) し可逆的な不死化を行うことです。

iPS 細胞由来の赤血球、血小板の利点はその安全性と、核がないことから放射線照射により腫瘍原性を無くせることです。しかし今のところ iPS 細胞からの生成は非効率でコストが高いとのこと。2019 年いよいよヒトでの iPS 細胞由来血小板の試験が始まります。

ポイントは、「2019 年ヒトでの iPS 細胞由来血小板の試験開始。赤血球各型は in vitro で可能」です。

1 2. リンパ腫瘍で iPS から CAR (キメラ抗原受容体) -T 細胞作製が期待。

腫瘍標的 T 細胞療法は特にリンパ系腫瘍で期待されています。現在の方法は白血球分離 (leukapheresis) で自家製 T 細胞を分離し、これに遺伝子操作で B 細胞特異的 CD19 抗原を標的とする chimeric antigen receptor (CAR,キメラ抗原受容体)を発現させます。この受容体はモノクローナル抗体特異性を持ち CAR-T 細胞といいます。

CAR-T と言うと、HIV 治療の cART(combined antiretrovirus therapy)を思い出しますがそれとは別のものようです。CAR-T は急性白血病に使用しますがこの方法は大変面倒でコストも高いのです。

理論上、iPS 細胞由来 T 細胞の CAR-T 細胞はいくらでも増産できます。
免疫反応を避けるため CAR-T 細胞中の MHC(主要組織適合遺伝子複合体)を除去するため CRISPR-Cas9 とか言う技術を使うそうです。

CRISPR-Cas9 とは clustered regularly interspaced short palindromic repeats associated with Cas9 endonuclease だそうで、DNA 二本鎖を切断してゲノム配列の任意の場所を削除、置換、挿入できる新しい遺伝子改変技術だそうです。
2013 年に登場し急速に普及しています。

CRISPR の P は palindrome (回文)で「たけやぶやけた」「ダンスがすんだ」
「わたし負けましたわ」みたいな、どっちから読んでも同じ遺伝子の繰り返しのことのようにです。

Palindrome の語源を調べたところ、ギリシャ語で palin が again、drome が run のことでした。学生の時、アテネの市場でブドウに「σταφυλός (スタフィロス)」と書いてあったのにはひどく感動しました。

iPS 細胞由来の CAR-T 細胞が出来れば、CAR-T 細胞の既製品 (off-the-shelf) が出来ますから大幅なコスト削減が可能です。

現在、同種異系 (allogenic) 骨髄移植の死亡率は高くその使用はハードルが高いのですが、ネズミ、サル、ヒトからの iPS 細胞による多型潜在性リンパ系・骨髄系幹細胞作成が成功しつつあるとのこと。

ポイントは「リンパ腫瘍で iPS から CAR (キメラ抗原受容体) -T 細胞作製が期待」です。

それでは、

NEJM、「幹細胞」の現在の世界ダービー実況中継要点は以下の 12 点です。

角膜細胞移植は既にヨーロッパで商業化され一馬身抜けて一番手です。

2 番手が表皮水疱症と黄斑変性、後は横並びというところ。

- ・体細胞に四遺伝子 (Sox2, Oct3/4, Klf4, c-Myc) が作用すると iPS 細胞ができる！
- ・四遺伝子は現在 retrovirus でなく大腸菌環状 DNA (plasmid) で注入。
- ・表皮水疱症 7 歳児で 70%の正常皮膚ができた。熱傷ではより深い真皮層再生必要。
- ・iPS 細胞による心筋症治療は現在電気・力学的統合や生着が困難。薬剤開発に有用。
- ・黄斑変性に網膜色素上皮細胞移植が日本で Phase 1、iPS は腫瘍化、ESC 先行。
- ・角膜幹細胞移植は 2015 年ヨーロッパで既に商業化。

- ・筋ジスは構造蛋白 **dystrophin** 再生に向け **Phase 1** の段階。
- ・ドパミンニューロン移植が類人猿で機能。ヒトで始まりつつある。
- ・脊髄幹細胞移植は日本が先行も **Nature** 誌から批判も。
- ・1型 DM に iPS 細胞による β 細胞置換が **phase1-2**。ESC 由来 β 細胞皮下移植も考慮。
- ・2019年ヒトでの iPS 細胞由来血小板の試験開始。赤血球各型は **in vitro** で可能。
- ・リンパ腫瘍で iPS から **CAR** (キメラ抗原受容体) -T 細胞作製が期待。