

[PRESS RELEASE]

2007年3月12日

東京大学医学部附属病院

ティッシュ・エンジニアリング部

角膜組織再生医療寄付講座(アルブラスト)

東大病院 ティッシュ・エンジニアリング部、角膜組織再生医療寄付講座が

大人の一個の幹細胞から上皮シートを作ることに成功

<解禁時間 2007年3月13日正午>

大人から採取した一個の幹細胞から角膜上皮シートと結膜シートを無血清培地で作成することに東大病院 ティッシュ・エンジニアリング部・角膜組織再生医療寄付講座(以下角膜再生講座)が成功しました。詳細については、日本再生医療学会で発表いたします。

今回の成果で重要なのは「大人の組織」から得られ、「一個の細胞から組織構築が行えた」という点です。これは患者自身の細胞を使った再生医療の臨床応用に直結します。一個の細胞から組織構築が行えたということは、再生医療に用いる上皮シートが非常に容易に作成できるということを示しています。そして、これらの結果は成分が完全に明らかな無血清培地で得られました。無血清となったことで動物由来感染症のリスクは非常に低くなりました。また、未知成分がなくなったことで今後幹細胞の研究結果が明確に得られるのではないかと期待され、今後の臨床応用や幹細胞を使った再生医療の研究が大きく前進すると考えられます。

【背景】

現在、角膜移植でも失明が回復できない難治性角膜上皮障害(1)には再生角膜上皮シートや口腔粘膜上皮シートが用いられています。これらの細胞シートは幹細胞(2)が含まれる細胞を患者様から採取して作成されています。しかし幹細胞そのものは実は未発見です。これは患者様から採取した細胞には幹細胞以外の細胞が多く含まれているため、どれが幹細胞なのか見分けがつかない為です。幹細胞の単離(一個だけ取り出すこと)ができれば、幹細胞の特性や能力、機能が詳細に調べることができ、再生医療の他、病気に対する新しい対抗策など発見できる可能性があり、世界中の研究機関で研究が進められています。

【研究の発端と幹細胞の効率よい採取法の開発】

発端は遠心管で細胞を採取する際、細胞が遠心管に張り付いて細胞数に損失がでている

と気がついたときでした。角膜再生講座の助手 横尾誠一と助教授 山上聡は住友ベークライト株式会社とこの問題について話し合い細胞の損失を防止する遠心管を開発することになりました。開発された遠心管は「STEMFULL」(3)と名づけられ、この遠心管で細胞を回収したところ、既存の遠心管より多くの細胞を得ることができるようになりました。

【上皮系幹細胞の単離と組織構築能】

通常上皮細胞など付着系細胞と呼ばれるものは接着させるための工夫を培養容器に施さないと育てることができないと考えられています。しかし遠心管に細胞が接着していたことから、細胞を接着させるための特別な工夫をしていない培養容器を用いて角膜輪部の幹細胞を含むと考えられる上皮細胞の培養を試みました。その結果、1万個に12-13個の割合(0.12%)で接着する細胞が確認できました。

(STEMFULL 以外の既存の遠心管では1万個あたり3個しか得られませんでした。)

特別な工夫がなくても接着する細胞の特性を調べたところ、現在培養に必須と考えられていた動物血清や異種動物の細胞との共培養がなくても無血清培地(4)単独で生育できることがわかりました。単離した一つの細胞は一週間ほどでコロニーが形成され、3週間後には直径2cmほどの角膜上皮組織が出来上がりました。この一つの細胞由来の細胞シートはヒトの角膜上皮組織と形態的に大きな変化はありませんでした。また、EDTA という一般的なキレート剤とピンセットで容易に単独の細胞シートとして剥離できました。

我々是一个の細胞から、ほぼ完全な角膜上皮組織が形成されたことから、この細胞が角膜上皮幹細胞だと確認しました。

【上皮系幹細胞の分化能】

角膜上皮幹細胞には他にも判明した能力として全く別種の細胞に変化することもわかりました。培養条件を変えると、粘膜上皮の表面を保護する分泌物を出すゴブレット細胞へ変化しました。これは通常角膜ではなく結膜上皮組織に含まれる細胞ですが今回の結果、ヒトの体の中でも同じ幹細胞から上皮細胞と一緒に生み出されている可能性が示されました。この結果はドライアイの治療などに役に立つ可能性もあります。

【他組織への応用】

これらの結果は現在、角膜上皮のみではなく、結膜でも同様であることが示されています。また、細胞コロニーの単離は口腔粘膜や食道、歯根部からも得られており同じ手法で多くの生体組織より一気に幹細胞を発見・採取できる可能性が考えられます。

【今後の研究の予定】

完全無血清培養法の更なる最適化が求められます。一種類の培養液で広範囲な組織の再構築が可能になれば再生医療の培養法の国際標準化を目指せます。

幹細胞の特性と能力はまだ多くが謎のままです。これらを明らかにすることで再生医療の応用が広がるのみならず、様々な病気の解決法が明らかになると考えています。

現時点で、即座に臨床応用に用いることができるため、今後安全性などの検討した上、既存の培養法から早期に切り替えてより安全で効果の高い再生医療を実現し実施していきます。

【注 釈】

(1) 「難治性角膜上皮障害」

角膜上皮幹細胞は白目と黒目の境目にあると考えられています。この角膜上皮幹細胞が様々な原因で重篤な障害を受けてしまうと、白目にある結膜が角膜の上にも入ってきます。その結果、角膜が透明でなくなり視力が著しく低下し失明状態になります。角膜移植をしても再び結膜に覆われてしまうため治癒は困難です。

角膜上皮幹細胞が障害を受ける原因は、薬品やセメント(セメントはアルカリ性)による「化学熱傷」や「類天疱瘡」などの病気、そして薬の副作用によって引き起こされると考えられている 100 万人に何人かの確立で稀に起こる「スティーブンス・ジョンソン症候群」などがあります。

(2) 「幹細胞」

今回の記事で述べている幹細胞は正確には角膜輪部と結膜から採取された「成体幹細胞」です。患者様自身より採取することが可能であり、拒絶反応の心配はありません。また細胞分化の方向性はある程度決まっているため再生医療に用いる際に細胞分化のコントロールは比較的容易です。

(3) 「STEMFULL」

住友ベークライト株式会社により開発された幹細胞操作用の遠心管です。一般的に遠心管は培地の中に漂う細胞を遠心機にかけて細胞と培地を分離するのに使われます。我々が見出した幹細胞の非特異的な付着を極力防ぐことで幹細胞の損失を抑えます。

(4) 「無血清培地」

無血清培地は血清を含まない細菌・細胞培養用の栄養成分です。細胞培養には依然として動物血清が必要になりますが一部血清を含まない培地も存在します。ただし無血清培地には血清以外の未知動物由来成分を含むものもあります。例えば代表的なものは BPE(ウシ脳下垂体抽出液)です。本記事の無血清培地は成分が完全に既知な無血清培地であり、BPE も

含めて成分未知なものは一切含まれていません。

(※5) 「角膜組織再生医療寄付講座(アルブラスト)」

角膜組織再生医療寄付講座はアルブラスト株式会社(※6)からの寄付により運営されており、助教授1名、助手1名、文部科学省特別研究員1名、大学院生1名、実験補助員1名、企業派遣研究員1名より構成されています。過去、ヒト角膜内皮、ヒト角膜実質からも幹細胞類似の前駆細胞を採取しており、今回の発見により本講座がヒト角膜に存在する幹細胞を恐らく全て発見したことになります。他にも結膜組織をはじめ様々な幹細胞の発見に関与できる可能性があります。

(※6) 「アルブラスト株式会社」

アルブラスト株式会社は再生医療のベンチャー企業として、角膜、歯槽骨などの再生医療材料をはじめ先進的な医療技術の開発と産業化のほか、国の基準をクリアする清潔な研究環境の提供などを行っています。

[取材に関するお問い合わせ先]

東京大学医学部附属病院 広報企画部

[内容に関するお問い合わせ先]

東京大学医学部附属病院 眼科学教室

担当：客員助教授 山上聡

担当：助手 横尾誠一

【参 考】本記事の学会発表詳細

第6回日本再生医療学会総会

会 期 : 2007年3月13日(火)~14日(水)

会 場 : パシフィコ横浜(ポスター発表 3階 301-304)

発表日時 : 3月13日(火) 17:30-18:00

演題番号 : P-078・P-076

カテゴリ : 組織幹細胞

<http://www.congre.co.jp/jsrm2007/index.html>

演題名 : ヒトドナー角膜からの角膜輪部上皮未分化細胞の採取

筆頭著者所属機関 : 東京大学医学部附属病院 ティッシュ・エンジニアリング部
角膜組織再生医療寄付講座

筆頭著者 : 横尾 誠一

演題名 : ヒト結膜上皮の未分化細胞採取法

筆頭著者所属機関 : 東京大学医学部附属病院 ティッシュ・エンジニアリング部
角膜組織再生医療寄付講座

筆頭著者 : 山上 聡

ティッシュ・エンジニアリング部 URL

<http://www.h.u-tokyo.ac.jp/patient/depts/tissue.html>

<http://square.umin.ac.jp/t-e/>

東大病院眼科

<http://www.h.u-tokyo.ac.jp/patient/depts/1510ganka.html>

住友ベークライト株式会社

<http://www.sumibe.co.jp/>

アルブラスト株式会社

<http://www.arblast.jp/>

過去の発表資料 : 研究成果「人の成体角膜から前駆細胞を発見」

http://www.u-tokyo.ac.jp/public/public01_170518_j.html