

中枢神経系の再生医療

慶應義塾大学医学部教授 岡野 栄之



今日は最近非常に話題となっている再生医療、とくに再生能力が非常に低いといわれていました中枢神経系を標的とした再生医療の最近の現状、および私たちのデータについてお話しさせていただきたいと思います。このようにして皆様にお話しする機会をいただきました東レ科学振興会の皆様方、さらにはご推薦いただきました名古屋大学の吉田純先生にこの場を借りて御礼申し上げたいと思います。

再生医療あるいは再生医学の中でキーとなる細胞があります。それは幹細胞、英語でいいますとstem cellといわれる細胞でありまして、幹細胞の基本性質はいろいろな教科書にいろいろななかたちで説明されていますが、それらを凝集しますと三つにまとめることができます。たとえば一つの臓器を構成する非常に多くの細胞がありますが、その一つの細胞から由来し、非常に多くの細胞を作る能力を多分化能といいます。この多分化能を持ちながら未分化の状態が増えることができる能力を自己複製能といいます。さらにはいろいろな損傷した組織を修復する能力を併せ持った細胞が幹細胞といわれている細胞です。

最も研究の歴史が古いのは骨髄に存在する造血系の幹細胞です。さらには最近の幹細胞研究の成果から、われわれのような成熟した個体においてもいろいろな臓器に幹細胞が存在していることがわかってきました。たとえば肝臓、腸管、乳腺、精巣、骨格筋、神経堤、さらには非常に再生能力の低いとされていた中枢神経系などにおいて、この存在が示唆さ

れるようになっていきます。

この幹細胞の性質をもう少しわかりやすく漫画で描いたものがスライドです。このような分裂をします。幹細胞は一つの細胞から由来し、臓器を構成するいろいろな細胞に分化していますが、そういったような細胞を生み出したら幹細胞はなくなってしまうのではなく、必ず自分自身を複製する。自己複製型の分裂をします。ですから幹細胞は分裂すると2個の幹細胞を作る場合もありますが、いろいろな細胞に分化していく場合においても必ず自分自身のコピーを作る。何回分裂しても幹細胞は必ず残ります。ですから幹細胞はいろいろな臓器において一生を通じて存在し続けることがわかってきました。

こういった幹細胞の性質をフルに使うのが現代の再生医療の非常に重要な点ですが、再生医療の歴史そのものは意外と古く、最初に行われた再生医療は1492年です。当時のローマ法王に対して行われた輸血が最初の再生医療であるといわれています。その頃はまだ血液型という概念がありませんでした。たまたまローマ法王は勝負強く、同じ血液型の血液を輸血されたわけですが、血液中にあります赤血球とか白血球はすべて分化した細胞といわれています。

この分化した細胞は、たとえば赤血球の場合、寿命は120日であるといわれています。ですから1回の輸血の効果は、どんなに持っても120日です。しかしながら造血系の幹細胞を含む骨髄を移植しますと必ず自分自身を複製しますので、1回の移植で、一生を通じ

て血液細胞が作られることがわかってきました。ですから幹細胞移植は1回の移植で、一生を通じてその造血能を保持できる。そういうことで骨髄移植が最初の幹細胞治療として定着しました。この骨髄移植に関しては1990年、アメリカのシアトルのグループのThomasという方がノーベル医学生理学賞を受賞しています。

こういったような幹細胞システムを利用した臓器再生の利点は、次のようにまとめることができます。最近になりますと脳死臓器移植が行われるようになりましたが、これは脳死臓器移植に伴ういろいろな問題点です。もちろんドナー不足は非常に深刻です。これはすべての幹細胞で可能というわけではありませんが、多くの幹細胞について試験管の中で増やすことが可能です。ですから試験管の中で増やすことによってドナー不足に関して対応可能です。

それから感染の問題も、先ほど吉田先生のお話にありましたように、厳重な品質管理、GMPレベル、厳重な品質管理の下、これを増やすことができます。

さらには免疫学的拒絶反応という問題が、臓器移植の場合は必ずありますが、これは免疫学的な反応を支配しているHLAという遺伝子とその産物があります。これはヒトによってタイプが何通りかありまして、HLAのタイプが一致している場合は拒絶反応が起きません。HLAのタイプごとの幹細胞のプールを作ることによって、対応は可能です。

さらには最近のES細胞のテクノロジーで、核移植をすることによって個人のES細胞を作り、免疫学的拒絶反応のないES細胞を作るという議論もありますが、これはクローン人間ではなくて、クローン胚を作ることを経なければなりません。これに関してはイギリス、スウェーデンなどがもうすでに容認する方向で行っていますが、国際的にもこの2ヵ国以外は、クローン胚に関してはまだ躊躇している状況です。いずれにしろいろいろな方法によって免疫学的拒絶反応の問題に関して

も検討が行われています。

さらには試験管の中で増やすことができますので、そこに遺伝子導入をすることができます。ですから遺伝子治療との併用も可能となります。たとえば遺伝性の小児の神経疾患に関してある特定の遺伝子が脱落している。その正常の遺伝子を導入した幹細胞を移植することによって、小児の神経疾患の治療法を開発しようといった動きもあります。

さて、幹細胞を用いた最初の再生医療が造血幹細胞移植です。この末梢血を注入するのは輸血ですが、それとは違って造血系の幹細胞がある骨髄を移植するのが骨髄移植です。たとえばこれは造血系の幹細胞です。これは一つの細胞に由来し、赤血球、血小板、さらには顆粒球といわれている細胞集団、さらにリンパ球、非常に多くの細胞集団を作ることができます。これが多分化能でありまして、この多分化能を持ちながら自分自身を複製する。ですから理論的にたった1個の細胞、幹細胞が移植されても、その動物個体の全造血能が回復できることがわかっています。これはすでにマウスなどで証明されています。

この骨髄移植が最初の再生医療に現れていますが、これはこういったような利点があるか。たとえば白血病は血液の癌ですが、白血病治療に関しても骨髄移植が行われることによって治療効率が高まりました。これは血液の癌ですので、そこに放射線を照射する。あるいは抗癌剤などを投与することで、非常に分裂能の高い癌細胞を選択的に殺す方法がいままで使われていました。

しかしながら放射線照射あるいは抗癌剤の投与は、正常の細胞でも分裂する細胞があります。そういったものも障害してしまうということで、これまではある適度なところでやめなければいけなかった。適度なところでやめると、残存する癌細胞は残っています。それによってまた再発してしまうことが起きますが、骨髄移植と組み合わせますと、白血病細胞が完全にゼロになるまで、徹底的に放射線照射あるいは抗がん剤の投与をすること

ができます。そうなりますと正常の造血系の幹細胞も根絶やしになってしまいますが、そこに造血幹細胞を含む骨髄を移植する。造血能を再建させることによって、白血病に関しても治癒率が非常に亢進しました。この方も非常に若くて美しい方ですが、こういった治療をして立派に社会復帰されています。

私が現在勤めている慶應義塾大学病院においては非常に早くから骨髄移植を導入しました。骨髄を取るドナーは、古くは近親者でHLAのタイプが一致しているような方ですが、そういった方から骨髄液を抽出してここに集める。採取した骨髄液は点滴注射をしながら患者に移植される。こういったようなことが行われていました。現在ではさらにドナーのチャンスを高めるために骨髄バンクといった全国組織ができていますし、さらには造血系幹細胞のソースとして骨髄のみならず、現在は臍帯血に存在する造血系の幹細胞を移植することも行われています。

このようにして造血系は再生医療のトップランナーですが、それでは非常に再生能力の低いといわれている中枢神経系は再建させることができるのだろうかということで、われわれはこの研究を行っています。ヒトの脳は1,000億個のニューロンと、その10倍の数のグリア細胞から成り立ち、ご存じのとおり非常に高度な機能を担う生命進化の最高傑作物といわれています。この脳において非常に大事な役割を果たしているのが神経細胞、ニューロンという細胞です。非常に大きい細胞体を持ち、非常に長い軸索という突起を伸ばします。そして次のニューロンにシナプスというところで信号を伝達しています。

たとえば大脳皮質にありますニューロンの軸索は、1個の細胞が何十センチも軸索を伸ばし、次のニューロンへ信号を伝えています。どうやって信号を伝えるかというと、電気活動がここを走ります。この速さたるや新幹線の速さに匹敵するといわれ、この神経細胞の電気的活動がまさにわれわれの脳の高次機能の源になっています。このように非常に高度

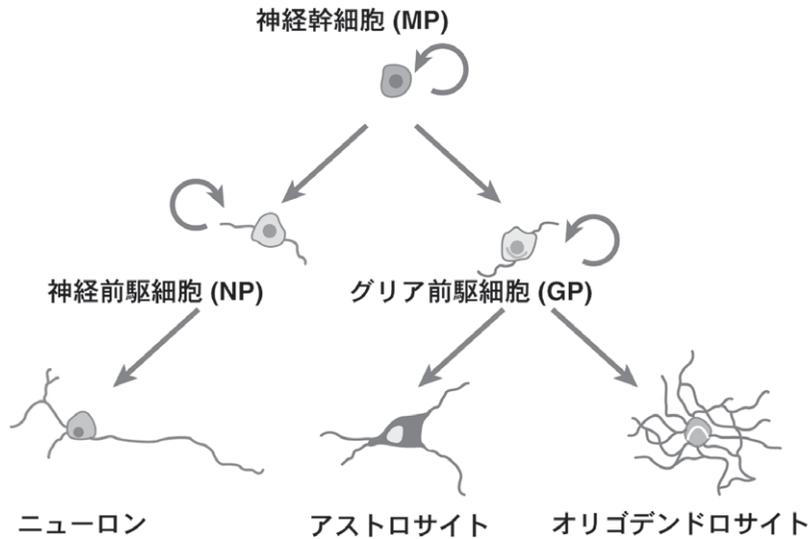
な機能を持っている反面、この細胞は非常にもろく、ニューロンは一回できますと二度と分裂しない。たとえば怪我などにより、あるいはお酒を飲みすぎてこれが死んでしまうと補充されないといった困った事態が起きます。ですから何らかの原因でニューロンという細胞が失われるような状況があると、中枢神経系は再生しないと考えられていました。

Ramón y Cajalは非常に偉大な神経解剖学者で、大脳皮質や中枢神経系のいろいろな部位の細胞構築をゴルジ法という染色によって解析した方です。彼は1901年に始まりましたノーベル医学生理学賞の事業の中で1906年という非常に早期の時期にノーベル医学生理学賞を受賞されました。彼は晩年の著書の中で、いったん損傷を受けた生体哺乳類の中枢神経系は二度と再生しないと明言しています。しかしこの著書の最後のほうに、しかしながらこれは将来の科学の発展によって克服されるかもしれない。そのようにも書いてありまして、何とかわれわれはそれにチャレンジしたいと考え、研究を進めてきました。

神経細胞が死んでしまうことによって起きる中枢神経系の病気はいろいろあります。この中では神経細胞はあるけれど、その機能的な異常によって起きる鬱病とか統合失調症などは含めていません。実際に神経細胞が死んでしまうことによって起きる症状を示す病気はスライドのようなものがあります。これはいろいろな人がいろいろなかたちで分類していますが、私のような基礎生物学者から見ますと次のように分類できます。

一つは非常に大きいカテゴリーとして神経変性疾患という病気があります。これはとくに神経細胞、ニューロンと一言でいってしまっても、脳内には2万種類程度の神経細胞があるといわれています。ところが神経変性疾患はごく少数のニューロン、神経細胞が選択的に脱落します。ある特定の種類のニューロンだけが脱落するのが神経変性疾患です。

アルツハイマー病は後期になりますと非常に広範な病変を示しますが、初期のアルツハ



(文献36より改変)

図1 神経幹細胞は、多分化能と自己複製能を持った中枢神経系の未分化な細胞である。

(出典：蛋白質 核酸 酵素 vol.45 増刊号「再生医学と生命科学」(2000年) 岡野栄之 著:神経幹細胞 共立出版社)

イマー病における物忘れとか認知障害はアセチルコリン作動性ニューロンが脱落することによるといわれています。パーキンソン病に関しては中脳の黒質にあるドーパミン作動性ニューロンという細胞が脱落することによります。筋萎縮性側索硬化症はアミトロ、ALSともいわれていますが、これは脊髄の運動神経が脱落することによる疾患です。こういったような神経変性疾患は特定の神経細胞が脱落するためです。

それ以外にここから下はいろいろな理由、とくに機械的理由、あるいは血管が詰まるといった原因によって中枢神経系を構成するいろいろな細胞が同時多発的に障害されます。それは脳虚血、脳梗塞、さらには脊髄損傷、さらには脳挫傷など、そういったような疾患群があります。こういった細胞が脱落してくるかによって戦略が変わってくるわけで、それについて今日はゆっくりお話ししたいと思います。

ここの中において、骨髄に造血系幹細胞があったように、中枢神経系にも神経幹細胞といった細胞があることが、最近この10年ほどの研究からわかってきました。この神経幹細胞

は中枢神経系の中に存在し、多分化能と自己複製能力を併せ持った中枢神経系の前駆細胞です。たとえば一つの神経幹細胞に由来してニューロン(神経細胞)、グリア細胞といえるアストロサイト、オリゴデンドロサイトと、非常に多様な細胞集団を作ります。これがまさに神経幹細胞の多分化能で、この多分化能を持ちながら未分化の状態が増えることができる。これが自己複製能力です。こういったような細胞が中枢神経系の中に存在することがわかってきて、こういったニューロンとかが脱落しても、この細胞からもう一度これが作られれば、中枢神経系はひょっとして元通りになるのではないかということで、これはまさに神経再生の切り札として考えられる細胞です(図1)。

ここ10年の神経系の幹細胞の研究の中で非常に大きいトピックスとして、神経幹細胞を試験管の中で増やすことが容易にできることがわかってきました。造血系の幹細胞の研究は非常に進んでいますが、唯一最大の問題点として試験管の中で増やすことが非常に難しい。いまだもって増やすという技術に関しては非常にまだpoorな状況ですが、神経幹細胞

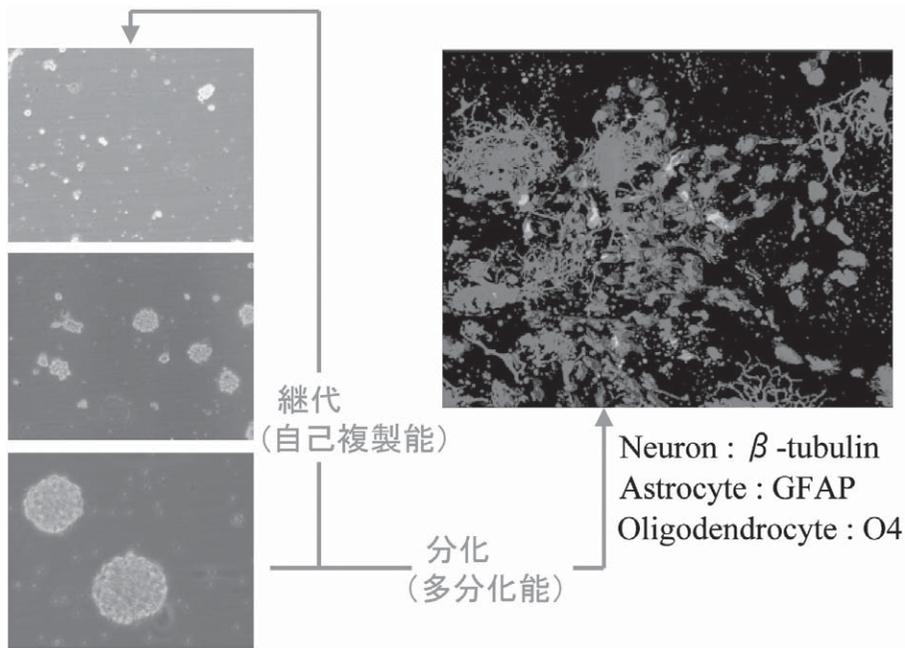


図2 神経幹細胞は、ニューロスフェア法という培養法により未分化な状態を保って増やすことが出来(左)、条件を変えることによりニューロン、アストロサイト、オリゴデンドロサイトを産み出すことができる(右)。

胞に関しては非常に容易にできることがわかりました。

これはたとえば脳の細胞をバラバラにした状態とお考えください。赤で示した細胞が神経幹細胞だとしますと、この細胞は培地の中、試験管の中で、浮遊状態でEGF、FGF2という増殖因子存在下でまりものような細胞塊を作り、増殖します。このマリモをneurosphereと名づけたわけですが、このneurosphereはある条件下に持っていくと、neurosphereから神経細胞、ニューロン、あるいはグリア細胞であるアストロサイト、オリゴデンドロサイトが分化してきます。一つの細胞に由来したneurosphereから中枢神経系を構成する三つの3大系譜ができてきます。これはまさに、この細胞が多分化能を持っていたことを示します(図2)。

また、先ほど言いましたマリモのような細胞の塊を1個1個の細胞にもう一度バラバラにしますと、それぞれの細胞からこのマリモがまたできてきます。これをまた分化誘導しますと、多分化能を示す。このステップを何

回でも繰り返すことができるということで、ごく少数の神経幹細胞を取ってきますと、神経幹細胞の性質を保ちながら増やすことが可能となります。

この神経幹細胞という細胞はどこに存在しているかということですが、これはお母さんのお腹にいるときです。胎児期に非常に豊富に存在します。ヒトにおいては受精が成立して3週目の終わりぐらいになりますと神経管、neural tubeという管ができてきます。この管から中枢神経系ができるわけで、この管が曲がりくねり、膨れるところは膨れて、非常に複雑な脳、脊髄といった中枢神経系ができてきます。しかしながらももとの格好は1本の管です。この管の内側に神経幹細胞は豊富に存在していることがわかってきました。この管の内側は、ここに髄液が通る脳室という部分になります。ですから脳室の周囲部位に、とくに胎児期に豊富に神経幹細胞が存在していることが明らかとなりました。

これは私自身の研究のデータですが、この神経幹細胞を選択的に見つけるマーカー分子

をわれわれは開発してきました。Musashi 1 という名前をつけたRNA結合タンパク質ですが、これを使いまして、われわれのように大人になっても神経幹細胞が脳内に存在するかというのを見てみました。そうしますと胎児期において脳室の周囲に豊富に存在した名残りが、大人になってもあることがわかりました。

これは側脳室といわれている脳室部分ですが、その周囲にMusashi 1 陽性細胞が存在していることがわかりました。これはさらに詳細な検討によって、このMusashi 1 陽性細胞が本当に幹細胞であることを確かめることができました。われわれのような成人の脳は非常に再生能力が低いといわれていますが、神経幹細胞を持っている。なぜ神経幹細胞を持ちながらも再生能力が低いのか。それが問題になります。

そこで神経幹細胞を用いた神経再生戦略の第1のストラテジーとして、このように内在性の神経幹細胞がある。これを何とか起こす。結局これが眠ったままでいるので、脳に傷がついても再生してくれない。われわれのように背骨を持つ動物、脊椎動物の中でもトカゲとかイモリとか、下等脊椎動物といわれている動物は非常に再生能力が高い。トカゲの尻尾切りという言葉がありますが、あれはトカゲの尻尾だけ切るのではなく、脊髄そのものを切断している。しかしながら脊髄そのものが再生する能力をトカゲは持っています。イモリにしても中枢神経系に相当なダメージを加えても自動的に修復してくれる能力を持っています。

残念ながらわれわれ人間は進化の過程で、その再生能力をどこかに忘れてきてしまいましたが、その残骸ともいえる神経幹細胞は何か残っていた。ですから何とかこの内在性の神経幹細胞を活性化させる必要があるということが、一つ大事な点です。これに関しては去年世界で二つのグループが重要な発表をしました。

一つはスウェーデンのルンド大学のグルー

プ、Olle Lindvall先生です。後ほどまた出てきますが、この方は脳に脳梗塞、脳虚血が起きますと、内在性の神経幹細胞が活性化し、ある程度ニューロンを作ってくれる。そういった傷害に応答してニューロンを作る能力は、われわれ高等哺乳動物でも残っていることを明らかにしました。

さらに東京大学の脳外科の桐野先生、あるいは中福先生のグループは、先ほどneurosphereを作るときに用いた細胞増殖因子であるEGF、FGF2を脳室内に投与しますとこの過程がさらに促進され、本来失われるニューロンがまた回復することを明らかにしました。さらには内在性の神経幹細胞を活性化する薬を開発しようと、いま製薬企業の間で非常に激しい競争となっています。

この成体中枢神経系においてどこに幹細胞が存在しているかということと、どこにおいてニューロンが大人になっても新しく生まれてくるかというのをマッピングした図がこれです。ここが大脳皮質で、このへんが中脳といわれている部分で、このへんが後脳、さらに脊髄といわれている部分ですが、この黒い部分が脳室といわれている部分です。この脳室に沿って、どんな部位においてもわれわれ成体において神経幹細胞があることがわかってきました。しかしながらいま言いましたような、わずかながらでもニューロン新生が見られる部分はごくわずかであることがわかりました。記憶の座といわれている海馬、さらに匂いを感じることに関係している嗅球という部分においては、日常的な生理的な条件下でもニューロン新生が起きていることが明らかになっています。海馬に関しますと、少なくともわれわれ人間でも起きていることが明らかになっています。

大脳皮質においてはニューロン新生がなかなかないといわれていましたが、脳梗塞が起きますと代償反応性にニューロン新生が起きる。これはサルの大脳皮質において虚血にレスポンスして、ニューロン新生が起きることをわれわれは金沢大学脳外科の山嶋先生らと

の共同で明らかにしました。しかしながらいろいろな条件下でニューロン新生が起きるといわれているのは、脳の中でもいちばん前の方、大脳皮質といったような首から上の領域だけです。首より下の脊髄とか、そういったような領域においてはいろいろなことをしてもニューロン新生が起きないことがわかりました。ですから内在性の神経幹細胞の活性化だけでは限界があります。

ですから第2番目の方法として、外から神経幹細胞、あるいはそこからできてきた細胞を移植する。こういったような二つの方法が神経再生戦略として重要であると考えられます。神経系におけるこういったような再生戦略の歴史がいちばん古いのはパーキンソン病です。これはご存じのとおり中脳の黒質といわれているところに存在するドーパミン作動性ニューロンが選択的に脱落する疾患です。それによって震戦（震え）とか体が動かない固縮、それから無動といったような代表的な症状が出てきます。これはまさにここに示した神経細胞、ニューロンが脱落することによります。

これに関してL-dopaという薬が使われていますが、これは最初の数年は劇的に効きますが、だんだんと効かなくなります。その理由としてはL-dopaという薬を取り込んでドーパミンという物質に変えるのが神経細胞です。しかしながらこの細胞が進行性に脱落していきますので、やがてL-dopaを取り込む細胞がどんどん少なくなる。L-dopaがだんだん効かなくなるというのはそういったことから説明ができます。そこでなくなっていく細胞自身を補充することが根本治療になるのではないかということで、細胞移植治療が1980年代の最初ぐらいから試みられました。

最初に行われたのは、1980年代の最初にメキシコのグループが、胎児の副腎髄質の細胞をパーキンソン病の脳内に移植します。非常にセンセーショナルな仕事を報告しましたが、副腎髄質といわれているところに存在するドーパミンの含量は非常に低いことが知ら

れています。ですからその治療効果は非常にわずかなものであることがわかってきました。

そこで1987年に先ほども出てきましたOlle Lindvall先生、スウェーデンのルンドのグループは、胎児の中で将来的に黒質のドーパミンニューロンに分化する領域を胎児の脳から取ってきて、それをパーキンソン病の脳内に移植することを1987年に最初に行いました。これは結論から申し上げますと、治療効果があった。

これはPETという画像によってドーパミンの含量を見たものですが、これは線条体といわれていることで、中脳の黒質から投射しているドーパミン作動性ニューロンの終末におけるドーパミンがこのように含まれているのを示したものです。これは正常の方です。こういう色であればあるほど高いわけですが、パーキンソン病の患者になりますと、その含量が非常に減ってしまいます。このような患者に移植をします。そうしますとその含量が正常に近いレベルまで回復していることはおわかりいただけるかと思えます。

この画像は移植後10年たった画像です。胎児の脳を移植して10年たっても、その細胞はきちっと生着しています。今日は詳しい話をしませんが、さらにいろいろな刺激によってドーパミンをきちんと放出する。機能的にも活動した状態で、これが生着しています。もう一つ大事なのは、他人の細胞をここに移植しても、脳内はいろいろな血液系から血液脳関門によって守られています。ですから移植の当初、免疫抑制剤は数週間投与しますが、他の臓器と違い、数週間後に免疫抑制剤を与えるのをやめても、このように10年間、まったく問題なしにこの細胞が生着していることです。中枢神経系の場合このような細胞移植に対して非常にアドバンテージがある。さらに移植した細胞は機能的にも10年以上にわたって機能していることがわかってきました。

それではこういう患者に関してどうということが期待されるかという、これはドーパミン作動性ニューロンです。中脳の黒質にあり

まして、線条体というところに投射していません。これは何をしているかという、複雑なニューロンネットワークを介して、ここはちょっと割愛しますが、直接経路、間接経路と二つのニューロンネットワークによって最終的に視床という部分から大脳皮質へのニューロンの活動を高めています。このニューロンの入力なくなるのがパーキンソン病です。したがって視床という部分から大脳皮質への電気的活動を示すニューロンが減少してしまう。これによって体が動かなくなるといったような症状を示します。これがパーキンソン病です。

そこで変性してしまったドーパミン作動性のニューロンの代わりに、ドーパミン作動性ニューロンが投射している先である線条体に、このドーパミン作動性ニューロンを含む胎児脳の部分を移植する。これによって結局大脳皮質への刺激が回復する。これによって症状が回復することが期待できます。こういった手術をやって、患者はどのようになっているかということですが、これはカナダのハリファックスにある病院で行われた臨床研究です。これは北の最果ての田舎ですが、そこに先端医療を行う病院があります。

そこで行われた手術の例ですが、スライドは手術前の患者で、パーキンソン病特有の症状を示されています。いわゆるすくみ足という症状を示されていますが、しばらく歩いていただき、ある所になりますと向きを180度変えて動いてくださいとお願いします。そうしますとまたいろいろな症状が現れてきます。この方はしばらくゆっくり歩かれています。ここでターンしてくださいということですが、なかなか簡単にターンできなくて、震えがひどくなってしまっています。

同じ患者ですが、移植をしました。移植後1年後の経過で、食欲も回復して非常にふっくらとされていますが、円滑にすたすと歩いています。ターンも正確に行っています。これは二重盲検（後で説明いたします）ではなく、あなたにこの細胞を移植しますと言っ

て、実際に移植するというオープンスタディですが、少なくともルンド大学のOlle Lindvall先生の臨床スタディの結果から、細胞移植というものはパーキンソン病の機能の回復を起こすことができると結論しました。

最近アメリカのグループで二重盲検といまして、本当に細胞移植するか、移植しないかわからない条件下で移植すると、結論がなかなかわからないという非常にコントラバーシカルな報告もされていますが、ルンド大学の治験からいいますと、アメリカのグループの行った手術は非常に稚拙な手術で、細胞の調整に関しても非常に問題点がある。少なくともパーキンソン病の細胞移植をする業界から見ると、ルンド大学の結論であると考えてよろしいかと思います。

ただ、問題点として、ヒトの胎児組織を使うということ、一人の患者に対して約10体の胎児脳が必要であるといわれており、ヒト胎児の組織の量的制約が当然あります。さらには移植する細胞は、10体の胎児脳のミクスチャーですので、移植する細胞の標準化、純度、生存率の規格化が非常に難しい。もちろん胎児脳を使うということ、倫理的な問題点が非常に指摘されています。

この点を克服するためにどういうことが考えられるかということですが、一つは異種移植です。ドナーとしてたとえばブタの胎仔脳を使えば、もちろんヒトを使わないということ、倫理的側面はクリアできるかもしれません。しかしながら実際にこれでアメリカのボストンのバイオベンチャーが、異種移植で臨床研究をいくつか始めましたが、そうこうしているうちに狂牛病やBSEの問題がクローズアップされてきて、いまアメリカのFDAはこの異種移植をほとんど認める方向ではないということで、異種移植はほとんど下火になっています。

やはり倫理的側面が完全にゼロというわけではありませんが、ほんのちょっとの細胞から無限に近い状態まで増やすことができる幹細胞を使った方法が、胎児脳移植に伴ういろ

いろいろな問題点を克服できると考えられています。 Lund 大学においても先々週、ステムセルリサーチセンターという基礎から臨床に至るトランスレーショナルリサーチをする研究所ができ、私はその開所式のシンポジウムにご招待いただきまして行ってまいりましたが、非常に素晴らしい研究センターができています。スウェーデンにおいても胎児脳移植からステムセルリサーチへとというシフトが起きています。

しかしながらアメリカやスウェーデンに行きますと神経幹細胞を使った医療をもうやっているのではないかと、皆さんは思われるかもしれませんが、科学者はいったん何か問題がありますと、また暗黒時代が長く続きます。これはわが国において心臓移植において起きたようなことは二度と繰り返すべきではないと考えていまして、非常に慎重に地道な基礎研究を積み重ね、その上で安全性と有効性を担保した上で臨床応用に入っていこうという姿勢を持っています。

これは私たちの研究室で行っている、対象とする疾患ですが、パーキンソン病、それから脊髄損傷、脳虚血、さらに ALS、アルツハイマー病、こういったような疾患を対象とした再生医学の研究を行っています。まずはこういった疾患のモデル動物を使った研究が大事になります。最初の標的であります脊髄損傷についてお話しします。

この方は22歳の男性で、慶應病院に運ばれた方ですが、胸髄の部分に非常に激しい骨折をされていて、残念ながらあらゆるリハビリに抵抗性であり、現在車椅子の生活を余儀なくされています。こういったような方を何とかしたいと考え、実際に臨床にあたっている慶應の整形外科のグループとわれわれは緊密な共同研究をして、損傷脊髄を標的とした再生医学ができないかということで研究を行っています。

実際の臨床では脊髄損傷の場合、約5%から10%の軸索が損傷を免れるか、あるいは再生できれば機能的にかなりの改善が期待でき

ます。こうなりますとリハビリテーションの世界となりまして、機能的な回復が期待できますが、0から5%か10%にするというのはまさに再生医学の出番でして、ここを何とかしたいと考え、研究を行いました。

このような脊髄損傷の損傷部に培養した神経幹細胞を導入し、ここの機能回復を起こす。非常に単純な発想の下で行いました。最初に用いたモデル動物としてラットの頸椎損傷のモデルを用いました。頸椎の4番、5番という部分において椎弓という部分はずして35gの重さを15分間乗せる。脊髄は潰れますので、これで脊髄圧迫モデルができます。数週間しますと脊髄の背側部分に大きな空洞ができます。空洞がここまで大きくなる前に、培養下で増やした神経幹細胞を植える。こういった非常にシンプルなストラテジーで研究を始めました(図3)。

しかし問題点として、成体脊髄には内在性の神経幹細胞がやはりあります。しかしながら内在性の神経幹細胞はイモリやトカゲと異なりまして、損傷時も非損傷時もニューロン新生を行っていません。損傷してもグリア細胞であるアストロサイトを作りますが、ニューロンを作らない。こういったようなことがわかってきました。そうなりますと外から神経幹細胞を入れてやっても、神経細胞は作らないのではないかと。グリア細胞しか作らずに、神経細胞が新たにできないということが予想されます。

そうした幾多のご批判を当初からいただきましたが、われわれは神経幹細胞移植というものを損傷脊髄に対してやることは、それほど愚かだとは考えていません。われわれが考えた仮説として、移植された神経幹細胞がどのような運命をたどるかは、損傷脊髄内の微小環境に非常に強く依存するだろうと考えました。先ほど吉田先生のお話にもありましたように、損傷が起きるといろいろな炎症反応が起きます。

この炎症反応が起きますと、先ほども出てきましたが、いろいろなサイトカインが出て

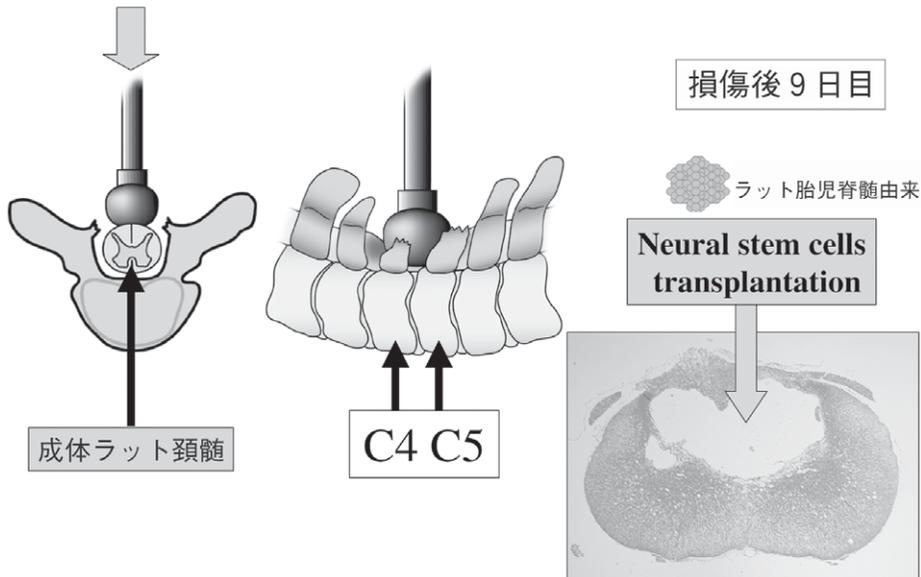


図3 ラットを用いた頸髄損傷モデル
(出典：日本整形外科学会誌、76、579-589 (2002))

きます。これはIL-6、さらにTNF- α 、インターフェロン β 、それからIL-1 β 、そういったような多くの炎症性のサイトカインが出てきて、局所の炎症反応を起こします。ところがこの炎症反応はずっと持続するわけではありません、4日もたちますと炎症反応がびたっと収まるということが、われわれの研究から明らかになりました。

そうなりますと炎症が起きている時期に神経幹細胞を移植しても、あまりよくないのではないかと考えました。実際、この時期に移植してやっても炎症が激しいため神経幹細胞はほとんど生着しませんでした。ごくまれに生着しても神経幹細胞から新しくニューロンができてきませんでした。グリア細胞にしかならないことがわかりました。なぜグリア細胞にしかならないのか。これはあとで出てきますが、IL-6というサイトカインがあります。これが幹細胞に対して働きかけ、アストログリアへと誘導する能力があることが、多くの研究から明らかになっています。

ですから最初の急性期は炎症性のサイトカインがどんどん出ることによって内在性の幹細胞はアストログリアを作り、ニューロンを

作る前に終わってしまいます。だから損傷脊髄内でニューロンの新生は起きません。ですからこの時期は移植する時期として避けるべきですが、われわれ自身は移植するタイミングをいつでも選べることができます。ですからこの時期は避けるべきである。

しかしながら遅ければ遅いほどいいかという、そうでもない。これはげっ歯類のラットやマウスだと、2週間以降はいわゆる慢性期といわれています。そうなりますと空洞というものもどんどん大きくなりますし、その周りをグリア細胞による瘢痕組織が覆います。このグリア性の瘢痕組織は神経細胞の軸索再生を邪魔する物質を出しています。これは少し専門的になりますが、コンドロイチン硫酸プロテオグリカンという分子を出していて、神経軸索の再生を邪魔しています。

ですから慢性期も移植をするにはよくない。早すぎても遅すぎてもいけないということで、移植するゴールデンタイムはこのへんではないかと考えました。この時期は何が起きているかという、神経細胞、ニューロンの生存維持を誘導するニューロトロフィンという因子が、この時期一過性に損傷脊髄内に出てい

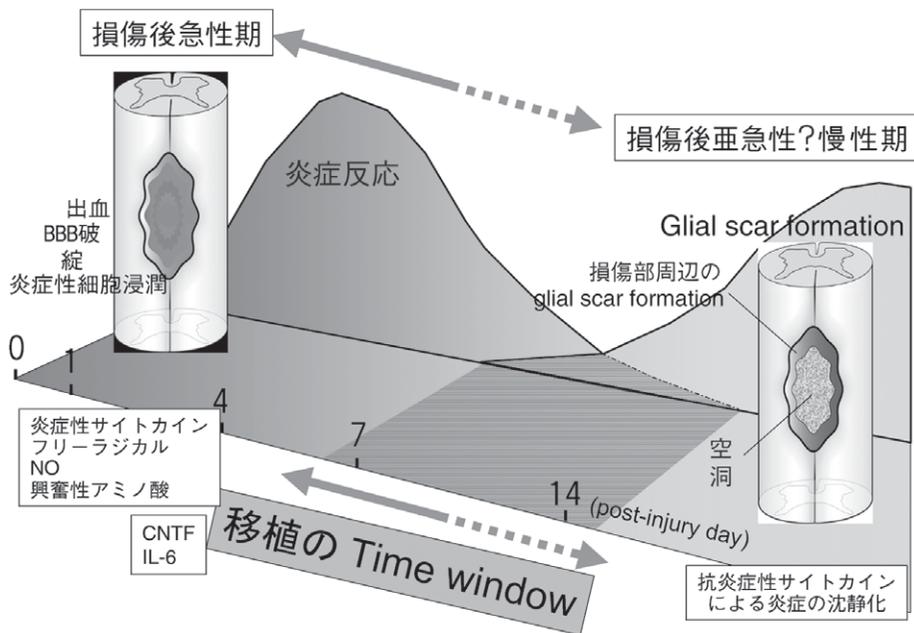


図4 脊髄損傷後の微少環境の変化と移植に至適な時期
(出典：日本整形外科学会誌、76、579-589 (2002))

ることがわかりました。ということは、損傷した脊髄も何とか治そうと努力しているということです。ところが内在性の幹細胞はグリアを作って終わってしまうので、内部環境の変化に対応して、外からこの時期に入れると非常にうまくいくのではないかと考えました。この9日目に着眼して移植しました(図4)。

結論からいいますと非常にうまくいきまして、内在性の神経幹細胞は受傷直後の炎症性のサイトカインの影響下でアストロサイトにしかなりませんが、われわれが亜急性期と呼んでいる受傷後9日目に移植しますと、移植された神経幹細胞はアストロサイトのみならずニューロン、オリゴデンドロサイトに分化することがわかりました。この新しくできました神経細胞は宿主の神経細胞ときちっとシナプスを作っています。オリゴデンドロサイトはミエリンという神経軸索を絶縁する物質を作る細胞ですが、宿主の細胞というものの神経軸索に対してミエリンを構成していることがわかりました。ですから9日目に神経幹細胞移植をすることによって組織学的な回復

が見られたということが明らかになりました。

それではこれは機能的に回復したかというのを見てみました。頸椎の4番と5番は、われわれでいうと手です。ラットでいうと前足になります。それを支配している運動神経、運動ニューロンがあるところ。ここに障害がきますと、巧みな運動が障害されます。この柵の向こうにラットがいて、手を伸ばして餌を取って食べるという行動をさせる。その効率を見ることによって、どれだけ脊髄機能が回復したかというのがわかります。餌を取って食べるというのは、ラットにとって非常に巧みな運動でありまして、損傷に非常に敏感に反応します。

これが正常な動物ですが、損傷を加えましてここまで餌を取る個数が減ります。ここで移植の効果を見たものですが、これは培地だけを移植したものです。ここに神経幹細胞を入れますと非常に正常に近いところまで戻ることがわかりました。ですから移植をするタイミングを適切に選ぶことによって、このような機能回復を起こすことができます。

そこで損傷脊髄に対する細胞治療の歴史を考えてみますと、古典的にはラット脊髄損傷に対してラットの胎仔脊髄移植を行ったグループがあります。これはたしかに効きますが、実際に臨床応用を考えると、移植には大量の胎仔脊髄が必要となり、臨床応用は事実上不可能です。そこでわれわれは試験管の中で増やしたラットの神経幹細胞を移植することによってその有効性を示すことができました。これも古いスライドで、ずいぶん前に論文を発表しましたが、これですぐ臨床に応用できるかという若干の問題点があります。

ラットとわれわれ人間を含む霊長類は、脊髄の構造と機能がかなり違います。これは神経線維が走っている位置も違いますし、いろいろな面で脊髄の構造と機能が違うということで、ラットでうまくいった方法が実際の患者に適応できるかというのはもう少し検討の余地がある。そういうことで霊長類であるサルの脊髄損傷を作り、そこにヒトの神経幹細胞を移植し、その有効性を立証する必要があります。こういった前臨床試験が必須であると考えました。

今後は神経幹細胞移植の有効性と安全性をさらに確認した後、やがては臨床応用に向けていきたいわけですが、こうなりますとわれわれのような私学で、しかも基礎の人間だけが単独でやっていると、とうていどうにもなりません。そこで必要なのはやはりトランスレーショナルリサーチです。そのパートナーとして経済産業省系の独立行政法人である産業技術総合研究所（兵庫県尼崎市）のグループと共同し、臨床グレードのヒトの神経幹細胞の安定供給体制を確立しよう。先ほど吉田先生のお話に出ましたようにGMPレベルで非常に安定した、要するに形質転換、癌化していない。さらに安全ないろいろなウイルスフリーの状態でのヒトの神経幹細胞の大量培養の開発に着手しています。ここにGMPレベルでのセルフプロセッシングセンターを現在セットアップ中です。少々サイズは小さくなりますが、私がおります慶應義塾大学医学部

においても、いま建設を始めたところで、全国で使います臨床グレードのヒトの神経幹細胞の安定供給体制を、近い将来何とか確立したいということで準備を始めたところです。

これはプレリミナリーですが、結論だけ申し上げますと、100日間で100万倍に増殖させるテクノロジーを開発しました。このとき少なくとも250日間の観察下では神経幹細胞としての性質をまったく変えることなく、100万倍に増殖させる。100日間で100万倍に増殖させることが可能となりますので、ごくわずかの神経組織から非常に多くの方に対して使える神経幹細胞の準備は、将来的に可能にしたいと考えています。

脊髄損傷に関します今後の改良点ですが、損傷脊髄内の環境を修飾する必要があります。ですから植えてやった神経幹細胞がどういふ運命をたどるか、損傷脊髄内の環境に非常にディペンドしていましたので、これを修飾する必要があります。さらにこれは慢性期のサルの脊髄損傷の組織像ですが、このように大きな空洞ができます。その周りにグリア性瘢痕が著しく存在し、こういったものが神経細胞の軸索の伸長を阻害しています。その軸索伸展阻害因子を抑制する必要があります。こういったことによって慢性期の脊髄損傷に対する神経幹細胞移植も確立していこうと考えています。

先ほど申し上げましたように損傷後9日目というのが、少なくともラットやサルの場合、移植するには非常にいいタイミングだったわけですが、現在わが国において10万人から20万人といわれている脊髄損傷の患者がいます。しかしながら毎年新規の患者は5,000名ですから、その5,000名の方に対して理想的に完全に神経幹細胞移植ができるようになったとしても、慢性期の患者さんに対してどうするかという問題が非常にシリアスな問題です。この問題に関してはこういったあらゆる可能性を詰めていふ動物実験で挑んでいます。なかなか容易な問題ではないと思いますが、これに関しても多少ではありますが可能性が

見え始めているところです。

今日はこの中で損傷脊髄の微小環境の変化について少しだけお話ししたいと思います。これは損傷直後に起きることで、損傷部の軸索断裂が起きます。さらに血液脳関門が破壊される。それを1次損傷といいますが、そこに炎症細胞が浸潤してきてグリア性瘢痕、空洞性形成ができる。これを2次損傷といいます。この2次損傷に関して、いまのところ治療法が不可能であるといわれていまして、これを何とかしたいと考えました。

この2次損傷に関しては、現在合成副腎皮質ステロイドの大量療法が行われています。唯一の治療法といわれていますが、これは糖尿病の誘発の可能性、その他いろいろな問題点がありますし、これ自身が本当に効くかということに関して非常に疑問視されています。この点を何とかしようと考えまして、この点に関して検討を行いました。

そこで目をつけたのは先ほど申し上げたように、損傷直後に炎症性のサイトカインが一過性に誘導されるということです。その中でわれわれはIL-6というサイトカインが誘導されることに着目しました。このIL-6は神経幹細胞に対して働きかけ、アストログリアの分化誘導を急激に起こします。このアストログリアはグリア性瘢痕を作り、神経軸索の再生を邪魔しています。このIL-6の働きを抑制することによってグリア性瘢痕の形成を抑制し、損傷脊髄の機能回復、あるいは神経再生を起こすことができないかといったことを検討しました。

IL-6のシグナルの伝達の抑制に関しては、つい最近まで大阪大学の総長をされていた岸本先生のグループが抗マウスIL-6レセプター抗体を作り、MR16というものを作っておられ、IL-6受容体に結合することによってIL-6とIL-6レセプターの接触を邪魔します。これによってIL-6によるgp130を介するシグナルを阻害します。ヒトのIL-6受容体のシグナルをブロックするヒト化抗体が、やはり大阪大学の岸本先生のグループと中外製薬の共同研

究によって開発されています。これがクローン病とか慢性関節リウマチ、あるいはキャッスルマン病、いずれも免疫学的な反応が起きることによって起きる。こういったような病気に対して非常に有効であることがわかってきました。現在臨床スタディはフェーズⅢまで進んでいまして、市販される日も近いと聞いています。

われわれはこれを脊髄損傷に応用できないかということで、まずはマウスの脊髄損傷に対してこれを投与してみました。これは非常に単純な方法でやりました。脊髄損傷を加えまして、直後にMR16というブロッキング抗体を腹腔内にシングルショット、要するに損傷直後に1回だけ投与します。そしてしばらくして効果を見る。非常に簡単な実験で行いました。そうしますとこれはコントロールのIgGだけを加えたものですが、リアクティブアストロサイトがコントロールで非常に出ますが、抗IL-6レセプター抗体を加えますと、これが抑制されることがわかりました。

さらにこれが行動学的に回復したかどうかを見てみます。これはコントロールグループです。下肢をこのように引き摺っていますが、このブロッキング抗体を加えますと、なんと下肢が動き始めまして、下肢に体重をかけられるところまで回復します。これはかなりの回復を示しまして、この回復の曲線を見てみますと、これがコントロールグループで、これはいまのブロッキング抗体を加えたグループですが、ポイント9といまして、下肢に体重をかけられる。これは治療の有効性を示す重要なポイントをクリアするところまで回復することがわかりました。

大事なのは、損傷直後に1回だけこの抗体を投与していることです。しかしながらこのマウスに関して、7週間にわたって非常に長期間の効果を示すことがわかりまして、医薬品として抗IL-6受容体抗体を、中外製薬がやがて販売されると聞いています。これを使った臨床治験を現在計画しているところです。こういったようなテクノロジーを駆使し、何

とか脊髄損傷に関して新しい治療法を開発したい。

いま神経幹細胞は中枢神経系に存在します。組織幹細胞です。そこから目的の細胞を作って修復しますが、もう一つ注目されている細胞ソースでES細胞、胚性幹細胞という細胞があります。これはもともとノックアウトマウスを作るといった発生工学的な研究手法のために使われていた細胞ですが、これはin vitroで試験管の中に未分化の状態として飼っているものです。これは未分化で維持することをやめると、細胞自身が凝集していろいろな細胞間相互作用が起き、ES細胞はあたかもお母さんのお腹にいると勘違いし、内胚葉、中胚葉、外胚葉の分化を試験管の中で始め、上皮細胞、神経細胞あるいは血液細胞を作り始めます。ですから試験管の中でいろいろな細胞を作るツールとしても使えます。

そこでマウスの新規発生のごく初期過程にできる細胞をここから作ってやろうと考えました。ごく初期過程には前脳のコリン作動性ニューロン、さらに中脳のドーパミン作動性ニューロン、さらに小脳のプルキンエ細胞、あるいは運動神経などがあります。これらは発生のごく初期過程にできますので、われわれのような大人になってから存在する神経幹細胞からは決してできません。こういったような疾患が脱落するパーキンソン病、ALS、アルツハイマー、ハンチントン舞踏病、こういったような神経疾患の再生は内在性の神経幹細胞の活性化ではなく、ES細胞を使ったストラテジーが非常に大事であると考えます。

そこで最後にアルツハイマー病に関する最近の取り組みについてお話ししたいと思います。これはもちろん痴呆を起こす進行性の神経変性疾患でありまして、A β アミロイドというものが沈着することによっています。このときに物忘れなどの認知障害があるのは、アセチルコリン作動性ニューロンが選択的に脱落するためといわれています。これに対してアセチルコリン作動性ニューロンの活性を強めてやる薬としてアリセプト（塩酸ドネペ

ジル）がエーザイ社から販売され、唯一アルツハイマー病の認知障害として現在使われている薬ですが、この薬をもってしてもアセチルコリン作動性ニューロンのいったん破壊されたものをまた復活させることはできません。

それを何とかES細胞のテクノロジーを使って行ってみようということで、これはアセチルコリン作動性ニューロンの細胞体がある領域です。これが海馬というところに投射し、これがなくなることによって海馬依存性の記憶力が起きます。ですからこれによっていろいろな物覚えが悪くなるというのが、アルツハイマー病の初期症状です。病気によって障害されたもののまだ残っている神経細胞をフルに駆動させるのがアリセプトですが、この細胞自身を何とか作ってやろうということで、われわれはES細胞からコリン作動性ニューロンをいろいろな仕掛けを下すことによって作ることに成功しました。

ネズミではありますが、プールの中に泳がせまして、どこに島があるかを覚えさせる実験をします。1回目は試行錯誤してなかなか辿り着けませんが、2回目以降は周りの景色を見ながら辿り着く時間がどんどん早くなるという報告です。要するに辿り着く時間が早ければ早いほど賢いネズミで、なかなか辿り着けないのは賢くないネズミということです。

いまのコリン作動性ニューロンを破壊しますと非常に賢くないネズミになってしまいます。辿り着く時間が非常に長い。これが正常です。ところがES細胞から由来したコリン作動性ニューロン、われわれが作ったものを移植しますと非常に正常に近いところまで回復した。このような認知能力に関しても再生医学の研究手法の対象になっています。

現在ヒトES細胞というものがウイスコンシン大学のグループによって樹立されました。これはヒトのいろいろな正常細胞をin vitroで作ることができますので、これを標的とした創薬というものもできます。今後ヒトの細胞に本当に働く創薬がこれでできると同時に、こういったものを移植することによっていろ

いろな再生医学研究ができるだろうということで、われわれは去年、文部科学省にヒトES細胞を使った中枢神経系の基礎研究で承認を得、ESセルインターナショナル社からES細胞を輸入しました。

われわれはこの輸入に関し、シンガポールにある研究所に行ってきましたが、なんとそこにいますディレクターは羊のドリーを作ったイギリス人です。非常に高名な方ですが、シンガポールのグループがヘッドハンティングをして、リクルートして、彼がいるではありませんか。彼は昔から知っていて、非常に意気投合し、すぐに輸入することができました。ここにいらっしゃるダンディなご老人は実中研の野村達次所長で80歳ですが、世界を飛び回って、いまもニューヨークに行つて特許に関する交渉をされているということです。この野村先生のご尽力もありまして、この方とすぐ交渉が成立し、ヒトES細胞を使った研究を始めています。

これは私の研究グループですが、このように非常に若い研究集団でありまして、こちら半分が基礎研究をやっている人で、こちらが臨床応用をやっている人ですが、基礎研究の成果をすぐ臨床応用できるように頑張ってやっていたと考えています。臨床応用は非常に慎重にやりたいと思いますが、なるべくそれが早く実現できるように努力していきたいと思います。