

Feb-Mar Special

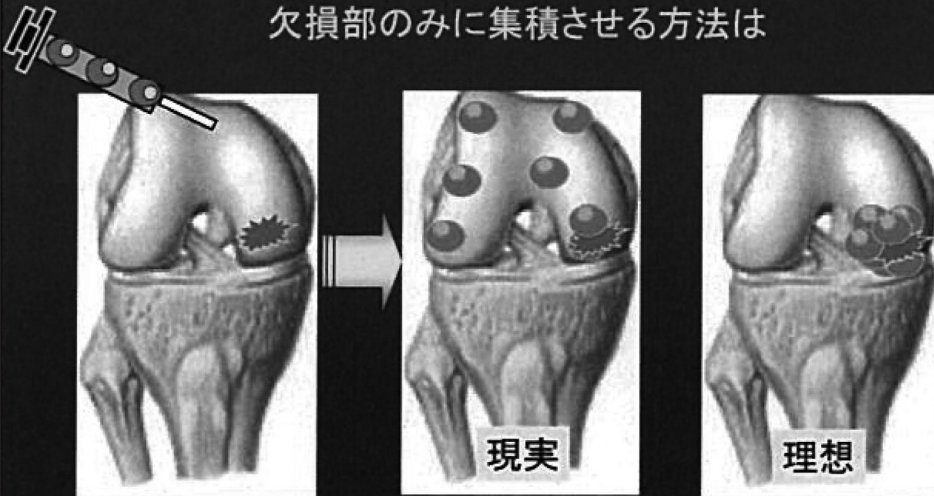
再生医療の 現在

関節軟骨再生、再生医療と
ロボットとリハビリテーション

◆関節内注入された幹細胞

欠損部のみでなく、正常な部分にも集積

欠損部のみに集積させる方法は



「再生医療」というと、現実にはまだしばらく先の話、「未来の治療法」と思っている人も少なくないのではないかと。しかし、整形外科分野では、膝の関節軟骨再生においてその先端を行く広島大学学長の越智光夫先生らによる自家培養軟骨細胞移植術はすでに全国 209 の病院で受けることができる（保険適用）。越智先生らは、さらに磁気ターゲティングという意図するところに細胞を集積するという新たな試みも進めておられる。また同大学の弓削類教授は、特殊な装置を用いて無重力下で間葉系幹細胞を増やし、それを静脈注射する治療法に取り組んできたが、真の無重力（微小重力）である宇宙空間での実験が採択された。同教授は再生医療とリハビリテーションという分野に着目、研究会活動も行っている。ここではこのお二人の先生の取材し、再生医療の現在をまとめた。

1 自家培養軟骨移植術と最新の治療法を語る 越智光夫 P.2

—— 国内外から注目される関節軟骨再生への取り組み

2 再生医療とリハビリテーション 弓削類 P.8

—— 間葉系幹細胞を微小重力で未分化のまま培養、まもなく宇宙実験へ

自家培養軟骨移植術と最新の治療法を語る

——国内外から注目される関節軟骨再生への取り組み

越智光夫

広島大学学長、整形外科医

すでに1980年代から膝の関節軟骨の治療に取り組んでこられた越智先生に、これまでの再生医療への取り組みと、最新の治療法について聞いた。時間の限られた中コンパクトにまとめていただいた。自家培養軟骨移植術はすでに保険適用にもなり、さらに進んだ治療法も開発、今後大きな発展が期待される。

越智先生の再生医療の取り組み

膝の軟骨は大腿骨と脛骨が接触するところにあり、摩擦係数が非常に小さく、滑らかな関節の動きをもたらす、一定の弾力性も有し衝撃も吸収する重要な組織である。しかし、いったん損傷すると血管も神経も走っていないため自己修復による治癒はほとんど期待できない。肘も同様だが、スポーツにおいても軟骨損傷は「やっかいな」疾患であった。

これに対して国内外でさまざまな治療法の研究が進められてきたが、損傷範囲が小さければ、体重のかからない部位から骨軟骨を採取、欠損部に移植するという方法も開発された。しかし、これは面積が大きくなると適用外になる。

1994年、スウェーデンのPetersonらが患者の軟骨細胞を採取し、体外で培養、損傷部位に骨膜で蓋をして縫合、その中に培養軟骨細胞を注射で入れるという方法を開発した。自家培養軟骨細胞による治療だが、これは縫い目から細胞が漏出するという問題があった。

1980年代から膝の関節軟骨の治療に取

り組んでいた越智先生は、これに対して、欠損部分にはめこめる立体構造の軟骨組織を培養、損傷部位の形に合わせて切り出し、移植するという三次元培養である「アテロコラーゲン包埋自家培養軟骨細胞移植術」を開発した。1996年のことである。これは「アテロコラーゲン」という細胞培養の足場がひとつのキーになった。

越智先生は、1977年広島大学医学部卒業後、整形外科科学講座に入局、膝を専門とする整形外科医の道を歩み、1995年に島根県立医科大学（現島根大学）教授に就任。当時、高齢化率全国1位という背景もあり、膝の軟骨治療を進めたが、教授就任の翌年が上記の1996年に当たる。2002年、広島大学大学院整形外科教授就任、2013年4月から越智先生の自家培養軟骨細胞移植術は保険適用になった。現在は、後述するようにさらに進んだ治療法を開発中で、すでに5例手術が行われ、現在経過観察中である。

こうした膝の軟骨治療により難しいとされた競技復帰を実現した選手もいる。ここでは、越智先生に全体の流れと最新の治療法について語っていただく。

なお越智先生は、2004年には自家培養



越智光夫（おち・みつお）学長

軟骨細胞移植術の成果に対して日本学術会議会長賞を、2010年には「三次元培養による軟骨再生技術」により文部科学大臣表彰科学技術賞を受賞されている。また、地元広島のプロチーム、広島カープとサンフレッチェ広島のチームドクターも務められた。

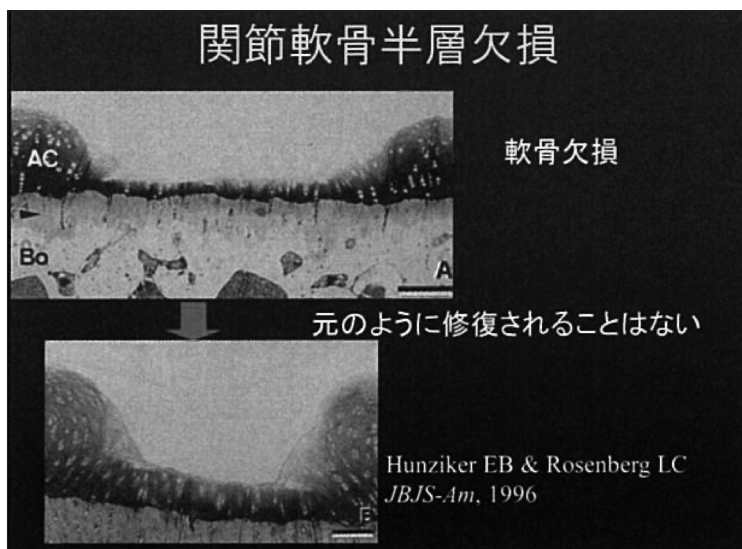


図1 (P.25にカラー図掲載)

膝の関節軟骨再生への取り組み： 越智先生インタビュー

——先生の関節軟骨再生への取り組みについてこれまでの歩みと最新の治療法についてお願いします。

なぜ再生医療のなかでも関節軟骨再生に取り組んできたかと言うと、まず関節軟骨には血管がありません。治るということは、縫合した糸によるものではありません。糸で縫合するのは、断端と断端を近づけ治癒するうえでもっともよい状態にするということです。逆に言うと、切れたものは縫わなくても瘢痕化して治ります。しかし、早期にきれいに治そうとすると、断端同士を近づけておくことが大事になります。糸で断端同士を近づけるわけですが、そこで関与する大事なことが出血です。そこから出てくる細胞や成長因子が周囲を刺激して治癒していく。

髪の毛をいかに丁寧に細い糸で縫ってもつきません。これは血行がないからです。つまり、細胞としての反応がない。軟骨にはたしかに細胞はあります。しかし、細胞と細胞の間に血管もないうえに基質が多く、細胞の信号が伝わらない。ということは反応が鈍い。半層欠損をつくっても修復されないということになります(図1)。

しかし、治らないからといって放置しておくとう進行して図2のように変形性膝関節

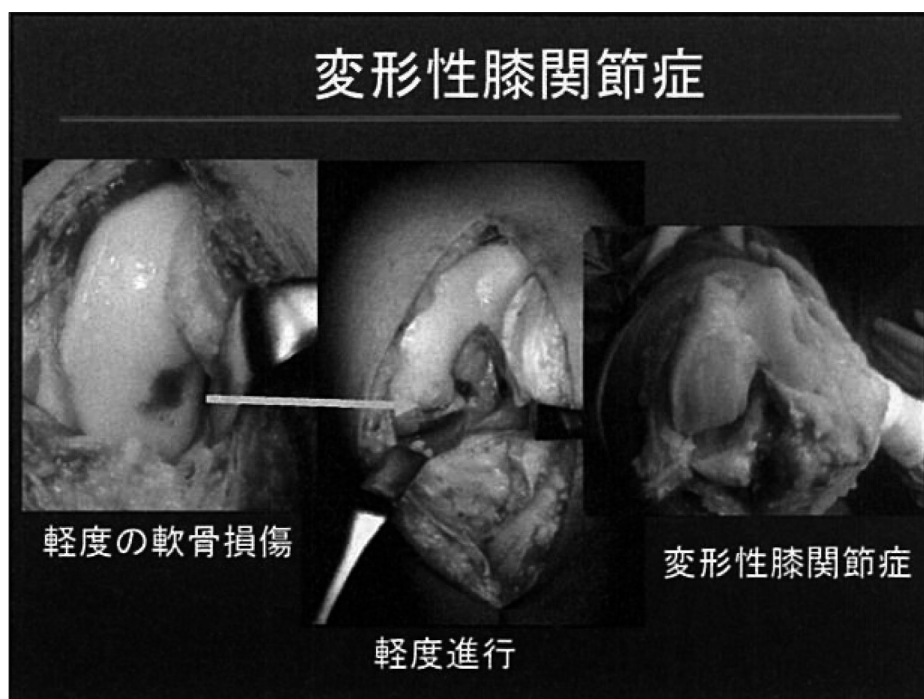


図2 (P.25にカラー図掲載)

症になります。では、どうしようもないか。図2のような変形性膝関節症になれば、65歳以上であれば人工関節でもよいと思いますが、20代でも外傷などで図2左のような軟骨損傷が生じることがあります。その場合は、図3に示すような関節軟骨の体重がかからないところから骨軟骨柱を抜いて移植するというのが一般的な方法です(図4は自家骨軟骨柱移植術。越智先生が1983年に行った症例)。骨と骨はつきます

が、軟骨同士はつきません。先ほど述べたように軟骨には血管がありませんから。軟骨だけでなく骨もいっしょに移植すればよく、くり抜く器械があればできる方法です。世界中でもっとも多く用いられている方法です。しかし、関節が関節たるゆえんは摩擦係数が小さいということですから、移植部位がでこぼこになると摩擦係数が上がり、相対する関節面をきずつけてしまいます。20代には骨軟骨柱移植術は多く用い

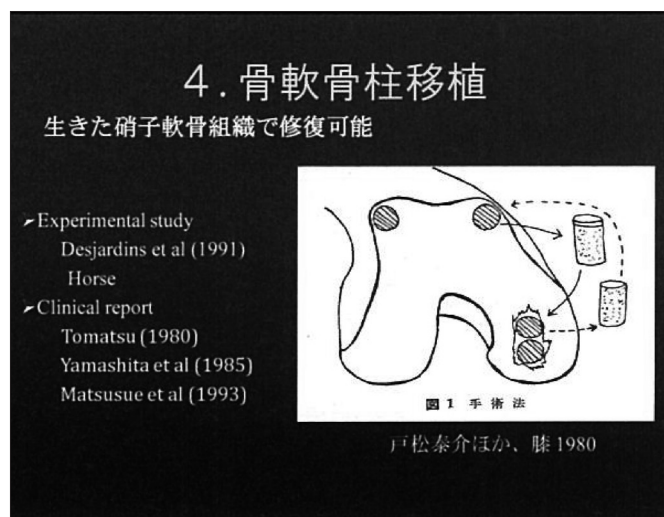


図3

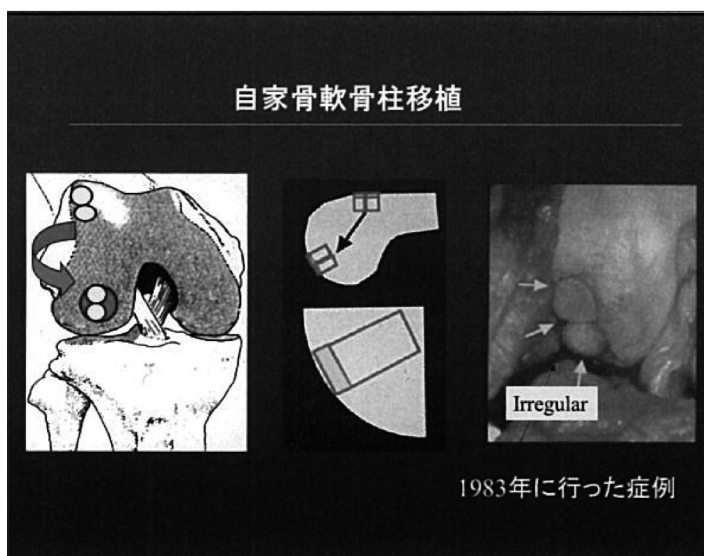


図4 (P.25にカラー図掲載)

軟骨修復方法

1. 遊離骨軟骨片固定
2. 関節鏡視下 debridement
3. 間葉系幹細胞を誘導する方法
ドリリング、アブレーション
マイクロフラクチャー
4. 骨切り術
5. 組織移植
自家骨軟骨柱移植
6. 培養軟骨細胞移植
7. 新しい試み

図 5

6) 自家培養関節軟骨細胞移植

(Brittberg, Peterson, et al, New Eng J Med, 1994)

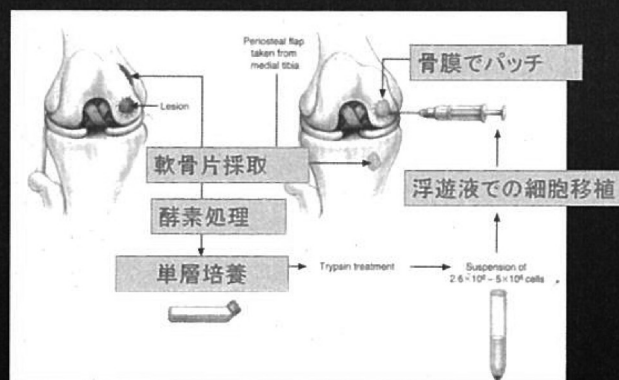


図 6

単層培養を利用する培養軟骨細胞移植の問題点

移植細胞の漏出の可能性

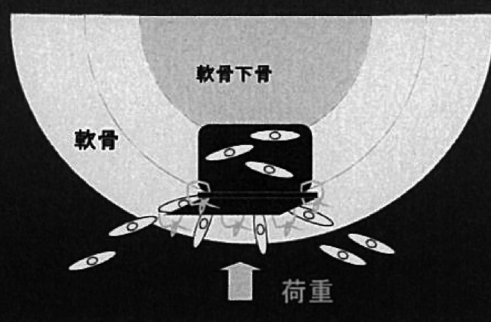


図 7

を取ると増殖できません。そうして増殖させた細胞を欠損部に注射し、膝の前部にある骨膜を採取してフタをする、そういう方法（自家培養関節軟骨細胞移植、図 6）を考案し、実際にそれで治療しました。しかし、その方法では、図 7 に示すように、縫合糸の間

から細胞が漏出する可能性があります。

それに対して、固形の細胞をつくればよいのではないか、また細胞がつく足場をつくればよいのではないかと考えました。そこでつくったのが図 8 の軟骨様組織です。これを作製し移植すれば細胞が漏出することはないだろうということです。それを 1996 年、世界で最初に始めました。

アテロコラーゲンゲル包埋 自家関節軟骨細胞移植

その手術の方法（アテロコラーゲンゲル包埋自家関節軟骨細胞移植）が図 9 です。

られている方法ですが、 2 cm^2 以下の小さな欠損が対象で、大きな面積は使いづらいという欠点があります。

関節軟骨再生医療の時代へ

軟骨修復方法には図 5 のようなものがありますが、次の段階として再生医療が出てきます。先ほどの骨軟骨柱移植術では、採取できる領域が限られてきます。体重があまりかからないところといっても限定されています。では、大きな欠損の場合どうするのか。軟骨を増やすしかない。それを考えたのが、Dr. Lars Peterson です。それは、体重がかからないところから、内視鏡で少しずつ（約 0.5 g ）軟骨を採取し、その細胞を増やす。細胞の「鎧（よろい）」

組織工学技術によって作製される軟骨様組織

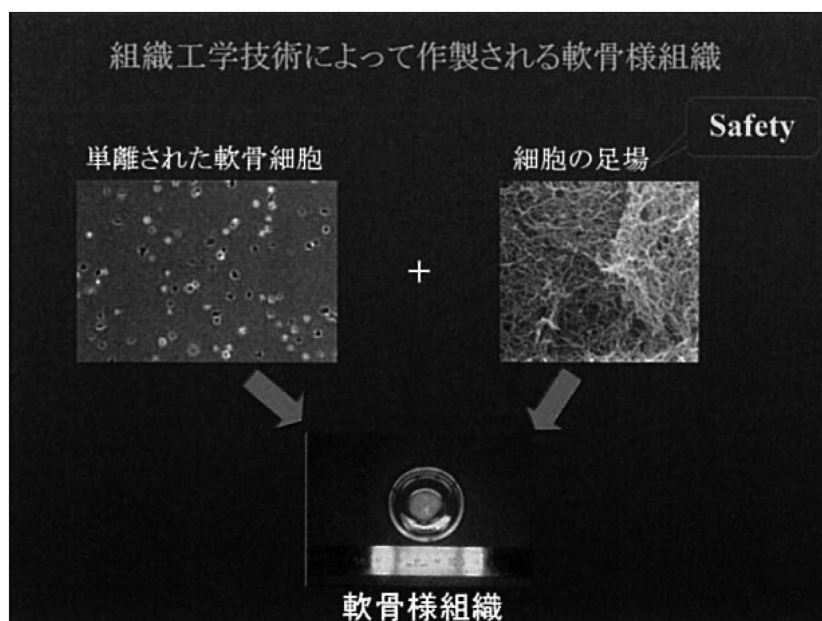


図 8 （P.25 にカラー図掲載）

再生医療とリハビリテーション

——間葉系幹細胞を微小重力で未分化のまま培養、まもなく宇宙実験へ

弓削 類

広島大学大学院医歯薬保健学研究院
生体環境適応科学教室 教授、博士（医学）

昨年11月に東京で記者発表を行い、各紙誌やテレビ等のマスコミに取り上げられたのでご存知の人も多いだろうが、弓削先生の研究成果を宇宙空間で確認するため国際宇宙ステーションでの実験を行うことが決まった。弓削先生は、間葉系幹細胞を用いた再生医療の研究を進め、脊髄損傷ラットモデルの機能回復の研究から、無重力下で未分化のまま培養できる装置を開発、近々真の宇宙空間である国際宇宙ステーションで培養した幹細胞との違いを検証する実験を行うことになっている。ここでは、その概要を紹介し、再生医療とリハビリテーションという間近に迫った課題について語っていただく。

「宇宙再生医療センター」

——再生医療といってもいろいろな幹細胞を用いるが、先生は間葉系幹細胞。

間葉系幹細胞（Mesenchymal stem cell: 以下 MSC）は、中胚葉性組織（間葉）に由来する体性幹細胞で、骨芽細胞、脂肪細胞、筋細胞、軟骨細胞等、間葉系に属する細胞への分化能をもつ細胞です。さらに、胚葉の差をこえて神経細胞や肝細胞に分化するという報告もあり、世界で使われている再生医療の有力な細胞ソースです。iPS細胞やES細胞は万能細胞と言われどのような細胞にもなれる多能性をもっていますが、制御が難しいという面があります。我々は、宇宙技術を使ってMSCの「Cell Bank（細胞バンク）」をつくりたいと考え

ています。そのCell Bankを用いて研究と臨床を行うためにプロジェクト研究センターである「宇宙再生医療センター」を広島大学に立ち上げました。

私がセンター長を拝命し、学内の医学部、歯学部、工学部の医師と研究者、および東京大学、大阪大学の再生医療のグループのご支援を得て、海外ではハーバード大学で脊髄損傷の再生医療を行っているYang（Ted）D.Teng教授らと組んで、国内外の研究者、臨床家の研究拠点として活用していただければと思い立ち上げました。とくに、私たちは中枢神経系の再生医療を主なターゲットにして細胞治療、ロボットを使ったリハビリテーション、脳マッピングを使った機能評価までの一連の流れに取り組んでいます。

重力制御装置、Gravite®

まず再生医療の幹細胞を未分化大量培養するための道具「Gravite®」（グラビテ：重力制御装置）について紹介します（図1）。原理を説明します。重力は、地上では常に試料の下方向にかかっていますが、試料を上下逆さまにした場合、重力に対して逆さまの重力（-1G）がかかります。よって試料にかかる重力の和は±0Gとなります。また、試料を直交する2軸まわりに回転させると三次元的に回転させることができます。コンピュータを使って正確に回転制御を行うことで、360°全方位に重力が分散し、重力ベクトルを時間平均として宇宙ステーションと同じ $10^{-3}G$ の微小重力環境を作り出すことが可能になります。この装置を用いると幹細胞を未分化の状態で大量培養が可能になります。「Gravite®」は、



弓削類（ゆげ・るい）教授

今年3月にNASAに納品し、そこで宇宙実験の研究用に使うことになっているものです。本装置で増殖させた幹細胞を用いて研究と臨床を行い、細胞移植したのち後述する「Re-Gait®」を使ってリハビリをするプログラムを構築しています。

——MSCは、利用価値が非常に高いけれども、全体数が少ない。

そうです。ですから幹細胞を大量に増やす必要があります。

——大量に増やすための装置が「Gravite®」。MSCが無重力下で増えるということは誰が発見した？

私たちはその発見に大きく貢献をしていると思います。普通の培養は培養容器の底面しか使えないのです。ところが、この「Gravite®」だと宇宙空間と同様に天と地がなくなってしまうので、たとえばこの部屋だと培養できる場合は六面体全部を使える。簡単に言うと培養面積が6倍になる。——細胞は、どこかに接着していなければいけない？

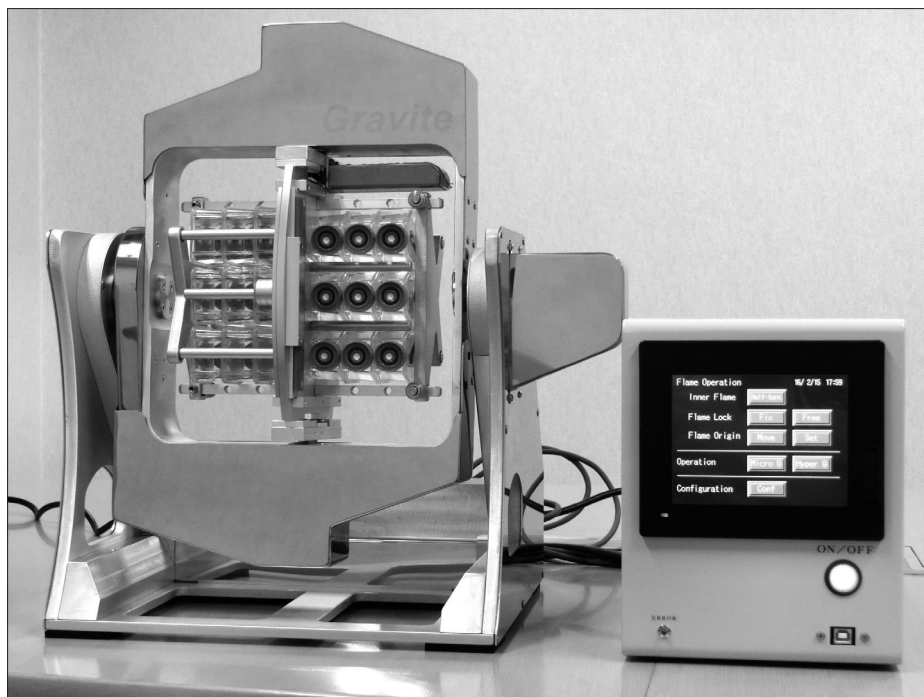


図1 「Gravite®」(グラビテ：重力制御装置) NASA仕様 (P.25にカラー図掲載)

細胞は、2種類あって一般的な接着細胞と血球系細胞のように接着せずに生存できるものがあります。通常は培養容器の底面に接着していますが、重力を分散してできる微小重力環境で回すと全部の面につくから培養面積が増える。最初に接着させて、底面につけた状態で培養することも可能です。いろいろなアプリケーションが可能です。

—— 増えていくというのはどういうこと？

分裂するということ？

細胞分裂するのですが、細胞分裂を繰り返すと細胞の寿命が低下します。最近テレビなどでも取り上げられているテロメア(染色体の末端粒子であり、染色体末端を保護する役目をもつ。テロメアが長いほどヒトも長寿と言われるが細胞分裂により短くなることがわかっている)もそうです。ところが微小重力環境で培養するとテロメアの長さは変わらないという結果を得ました¹⁾。

—— 「大量」とはどのくらい？

MSCは、身体の中だけでは骨髄、脂肪、滑膜等いろいろな場で採取が可能です。腸骨から取ってきたMSCを培養すると1G

では1週間ではほぼ増えないのですが「Gravite®」では、1週間で6倍に増えます¹⁾。また滑膜のMSCは、増殖率が高い細胞ですが、この装置では10の10乗個の増殖を見込んでいます。研究するためには、同じロットで増やした幹細胞がたくさん増えると助かります。また、臨床的にも同じクオリティで細胞が10倍に増えると治療費軽減につながるかもしれません。

宇宙ステーションでの実験

—— 採択が決まったNASA/CASIS (The Center for the Advancement of Science in Space) 宇宙ステーションに打ち上げて行う実験は？

人工的無重力(正確には微小重力)下で「Gravite®」で作った細胞と真の宇宙と地上1Gで作った細胞を比べる実験です。

—— 同じもののなか、何が違うのかを見るため？

頭蓋由来のMSCを脳神経外科グループと協同して採取しています。もちろん患者さんの許諾を得たうえですが、頸から上のMSCは神経になりやすいのです。発生学的に神経管由来なので神経になりやすいと

いうことが我々の研究から明らかになりました⁸⁾。私たちの目標は神経の再生医療なのですが、頭蓋由来のMSCについて真の宇宙、「Gravite®」と1Gの3つの条件に分けて検討します。MSCは、凍結してロケットで打ち上げ、それをNASAの宇宙飛行士が解凍して10日間培養したものを地球で回収し、遺伝子解析等の分子細胞生物学的な手法で幹細胞の分化の差異を、また脊髄損傷ラットモデルに細胞移植して運動機能がどれだけ回復するかを宇宙実験で確かめるということです。それによってなぜ微小重力下では、未分化性維持ができるのか、細胞移植の効果がいいのか等のメカニズムの解明が目的です。2年後の打ち上げに向けてNASAと協議し、細胞の樹立や培養実験等の準備に取りかかっています。今回の結果から必要なら追加の宇宙実験も行う予定です。

—— 凍結して打ち上げるのは、細胞の安定性を保つため？

ロケットの打ち上げ時には最初2～3Gかかります。それが宇宙空間の無重力では $10^{-3}G$ になります。地球に帰ってくる大気圏再突入時には再度2～3Gかかります。結局どのG環境の影響を受けているのかわからない宇宙実験では困る。そこで凍結で打ち上げるとその影響を排除することができます。宇宙飛行士には、忙しいスケジュールのなか細胞の解凍、培養、凍結保存をお願いすることになります。

—— 帰るときもまた凍結する。

宇宙実験は地球上の実験と大きく違って多くの制限があるのですが、NASAの協力を得て、大がかりですが丁寧に行う実験をしたいと思います。MSCを用いた脊髄損傷の再生医療の世界で最初の宇宙実験になります。

—— それが先日の記者発表の内容。

そうですね。マスコミで報道されて大きな反響と好意的な支援をいただきました。この宇宙実験の成果は「Cell Bank」につながります。NASAは、幹細胞を使った再生医療は真の宇宙で培養したほうがよ

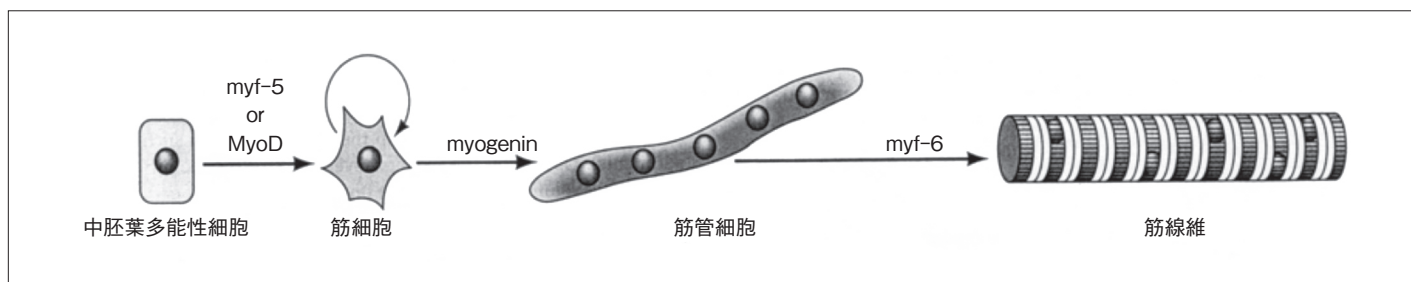


図2 筋細胞の発生・再生時に発現する筋特異的転写調節因子 MyoD ファミリーの分化制御
中胚葉多能性細胞は、体節内で骨格筋系譜に「決定」され、筋芽細胞となる。筋芽細胞は「増殖」を繰り返して数を増した後、増殖を止め「分化」し、筋管細胞を形成する。筋管細胞は筋線維へと「成熟」する。中胚葉多能性細胞からの「決定」または筋芽細胞の維持は、MyoD あるいは Myf-5 が担い、筋管細胞への「分化」はミオゲニンが担っている。「成熟」には、Myf-6 (または MRF-4) が働いている。(吉田松生、他：細胞工学 14, 1995 より改変)

と思っています。私たちは「Gravite[®]」とのデータの比較に大変な興味をもっています。とにかくやってみないとわからないところが面白いです。すでに SpaceX 社 Falcon 9 で打ち上げることも決まっています。

——「Gravite[®]」で作った細胞を脊髄損傷ラットモデルに入れて、機能が回復するのを確認している。

我々が2013年に発表した研究で確認しています⁶⁾。MSCを脊髄損傷モデルラットに静脈経由で細胞移植すると1Gで培養した同様の幹細胞より、「Gravite[®]」では幹細胞が多く損傷部位に遊走して生着し、運動機能の回復も促したと報告しています。

細胞分化と重力

——それと宇宙で培養したものとどう違ってくるか？

おそらく違うと思います。幹細胞の分化には初期～後期まで何段階かのプロセスがあります。宇宙は、初期分化プロセスだけでなく分化行程全体に影響しているのかもしれませんが。分化のプロセスのどこに抑制がかかるのか科学的に興味のあるところです。図2は筋芽細胞を培養しているのですが、筋芽細胞は骨格筋になる細胞で、筋芽細胞が分化すると筋管細胞になります。筋芽細胞は、単核細胞なのですが、その細胞同士が寄り集まって多核の筋管細胞を作り、その形態がチューブのようなので筋管と呼

んでいます。次にその筋管細胞がさらに分化して筋線維になるのです。

「Gravite[®]」で培養すると筋芽細胞の分化が抑制され筋管細胞に分化しません。また、筋管細胞を「Gravite[®]」で培養すると再び筋芽細胞に戻る現象が観察されます。

真の宇宙はどこを抑制しているのか知りたいのです。宇宙飛行士が筋萎縮する原因も骨が骨粗鬆症のようになる原因もここにあります。

——それは重力があるかないか？

とくに重力に抗する筋や骨には、重力の有無すなわち負荷量の違いが大きなファクターになります。

——重力がカギになっている？

胎児は母親のからだの中で羊水に浮いています。それがオギャーと生まれた途端に1G環境で成長していくわけです。生命も陸に上がる以前は長く海にいたわけです。NASAの研究者は、重力ファクターが生命の進化や形態変化、またその成長に大きな因子となったと考えています。

——重力がかかってスイッチが入る？

重力は生命にとって大きなファクターです。宇宙実験から細胞レベルで重力センサーがあることはわかってきました。細胞が接着する部位をフォーカルコンタクト (Focal contacts) というのですが、フォーカルコンタクトが重力センサーであると言われています。

——タコの足のようになっている？

個々の細胞が重力センサーをもっているということがわかっています。しかし、それらがどうネットワークを形成してコミュニケーションをしているかわかっていません。今回の宇宙での実験はそのようなメカニズムの解明に貢献できる研究になります。幹細胞を未分化維持するとき、普通の1Gの状態であればサイトカインなどの薬物の添加や遺伝子操作を必要とします。つまり薬を入れて未分化状態を保って培養するのです。しかし、将来臨床で使おうと思えば、できるだけ薬や遺伝子の操作をしないほうがいいわけです。「Gravite[®]」に入れると、何も薬物や遺伝子操作なしで未分化状態を保ったままかつ大量に培養できます。つまり臨床で求められる、安全、安心、安価な培養方法かもしれません。これが再生医療などに使えればいいと考え、これまで研究を進めてきました。

——この「Gravite[®]」を購入して研究に使いたいというところも出てきた？

国内外の大学や研究施設に納品し多くの購入依頼をいただいています。また北米やヨーロッパ等の大学や研究機関からの視察やNASA関連機関や研究所からの依頼を受けています。

——いろいろな重力環境で細胞を培養する装置として、現在はこの「Gravite[®]」しかない。

この装置は、Gを加えることもできGを減ずることもできますので、重力依存性に研究をすることができます。微小重力の $10^{-3}G$ では細胞の分化が抑制され、2～3Gでは細胞の分化が促進されます。以前は遠心力でGをかける実験しかできていませんでした。

——Gをかけることは簡単。