

となる成果を得ることが出来た。これらの結果により、培養パピラ細胞の大量培養と細胞移植による毛髪再生療法事業実現の可能性を示すことが出来た。

2-4．トランスジェニック人工皮膚の開発

本研究は、科学技術振興事業団創造科学技術振興事業吉里再生機構プロジェクト（1992年10月～1997年9月）において、新しい遺伝子治療の方法を開発する目的で研究が行われた＜インスリン分泌性ハイブリッド型人工皮膚の構築（吉田進：平成5年4月20日～平成9年3月31日）＞の成果をさらに発展させ、実用化することを目標とし研究を行ってきた。

フェーズ I では、主にインスリン分泌性人工皮膚の作製を実験を行った。臨床応用を視野に入れ、実際に臨床応用例のあるレトロウイルスベクターを遺伝子導入システムとし、また、臨床現場で取り扱うヒトの皮膚線維芽細胞を用いてデータの収集を行い、次の結果を得た。

- 1) インスリン分泌性人工皮膚の作製に成功した。
- 2) レトロウイルスベクターによる複数回の遺伝子導入操作により細胞レベルでのインスリン分泌量の増加に成功した。また、人工皮膚内の細胞密度をこれまでの2倍にすることで人工皮膚レベルでのインスリン分泌量の増加が左脳であることが明らかとなった。
- 3) フリン感受性ヒトインスリン遺伝子を導入したヒト皮膚線維芽細胞から分泌されるインスリン様物質全体の約9割が前駆体のプロインスリンからインスリンへ変換されていることを明らかにした。
4. 我々が作製したインスリン分泌性人工皮膚をストレプトゾトシン投与により糖尿病を誘発したヌードマウスに移植したが、有意な血中インスリンレベルの上昇や血糖値降下などの治療効果は得られなかった。これは人工皮膚単位面積当たりのインスリン分泌量が低いことが主な原因と予想された。

フェーズ I の結果を踏まえ、フェーズ II では、臨床応用に必要不可欠である「動物実験での治療効果の実証」を目標にし、1) インスリン分泌性人工皮膚の単位面積当たりのインスリン分泌量向上、2) 生体内での半減期が比較的長く微量で治療効果が期待できるエリスロポエチン分泌性人工皮膚の作製およびその有効性の実証を行った。そして次の結果を得た。

- 1：エリスロポエチン分泌性人工皮膚の作製に成功した。
- 2：エリスロポエチン分泌性ヒト皮膚線維芽細胞が分泌したエリスロポエチンは生物学的に機能することをヒトエリスロポエチン依存的に増殖する株細胞を用いて示した。
- 3：エリスロポエチン分泌性人工皮膚を移植したヌードマウスで、有意な血中エリスロポエチン濃度の上昇と治療効果であるヘマトクリット値の上昇を確認し、「動物実験での治療効果」を実証した。
- 4：ヌードマウスへの組み換え体エリスロポエチン投与実験との比較から、恒常的にエリスロポエチンを体内に供給する人工皮膚システムは有効であることが示唆された。
- 5：エリスロポエチン分泌性人工皮膚の移植後後1日目から7日目までに急速に血中エリスロポエチン濃度が低下し、その比較的緩やかに低下したことから、人工皮膚移植7日目

までに人工皮膚内に変化があり、その後は比較的安定していると予想された。

以上のことから遺伝子導入人工皮膚システムがドラッグデリバリーシステムとして有効に機能することが実証されたと考えている。また、5については原因が現時点で明確でない。この点は今後遺伝子導入人工皮膚によるドラッグデリバリーシステムを臨床応用する場合の重要事項となると思われた。

2-5 . ヒトへの移植法の研究

臓器には自然に備わった修復再生能力があるが、これには限界がありこれを超えた重度あるいは広範囲に及ぶ損傷は治癒することなく臓器不全へと至る。現在、臓器不全に対する治療は臓器移植が最も優れた治療法である。しかし臓器移植には拒絶反応、ドナー不足、感染症などいまだに解決されない多くの問題が残されており、大きな成果を上げると同時にその限界も明らかになってきた。そこでよりすぐれた治療法として再生医療が期待されるようになった。

その背景には近年、分子生物学など基礎科学の発展を基に幹細胞や器官形成に関する知見が急速に伸展したことが挙げられる。再生医学はこのような状況を背景に組織の発生過程や修復能力を制御し再現することで臓器の機能回復を目指すものである。21 世紀の医療はバイオテクノロジーを応用した再生医療が大きな柱になると考えられている。

これまで、われわれは肝細胞については研究を重ね再生医療に直接結び付く成果を得ている。肝臓は再生に関して古くから多くの研究者が注目してきた臓器であるにもかかわらず、正常な肝細胞を増殖させることはヒトではもちろん動物においても長年成功しなかった。しかしわれわれは正常ヒト肝細胞の増殖培養に世界ではじめて成功し、増殖した肝細胞は正常な分化を示し高い機能を長期維持していることを確認した。これまでの研究で得た高い知識と技術を基に、小型肝細胞の脱分化および可塑性の研究、成熟肝細胞への分化とそのコントロールに関して研究する人工肝臓の開発グループの成果を基に新たな医療技術の研究をフェーズⅡより参加し開始した。そして最終的には臨床で再生医療が施行できる技術の確立を目標とした。

フェーズⅡにおいては、具体的な目標として肝細胞移植、肝細胞遺伝子治療、人工肝臓を挙げそれぞれ研究を進め、さらに研究レベルにとどまらず実際の医療現場で臨床応用しその有用性を証明するために、臨床研究を施行するための体制・環境作りにも力を割いた。

肝細胞移植においては、我々の増殖させた培養肝細胞が実際に重篤な肝不全状態から延命させ生存率を改善させる効果があるかを中心に検討を行った。実際の劇症肝炎の再現性に最も優れたラット急性肝不全モデルで新鮮な分離肝細胞と遜色ない延命作用を確認した。これにより、正常肝細胞を培養し臨床治療に応用する可能性を世界で初めて確認した。

次に肝細胞を用いた遺伝子治療に関しては、OTC 欠損症を対象に研究を行い、ウイルスベクター、モデル動物、酵素活性の測定、免疫学的染色などの必要な実験系を確立した。培養肝細胞への OTC 遺伝子導入を行ったが、OTC 酵素自体の細胞培養による自然消失を認めた。また遺伝子導入による培養細胞中の蛋白発現レベルは低く、十分な OTC 酵素の確認はできなかった。これらの障害が原因となって、先天性代謝異常症の遺伝子治療は世界で今のところ成功例がないことが推測された。よって遺伝子治療を成功させるためには、生体内での肝細胞への遺伝子導入システムを確立する必要性が明らかになり、新たな臨床応用可能な遺伝子治療の研究アイデアの検討を開始した。