

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。

ブタ肝細胞を利用した人工肝臓の開発を国内で先進的に進めてきた長崎大学医学部と共同研究を開始した。人工肝臓は異種動物の細胞使用に関して未知の感染症、特にブタの内在性レトロウイルスの危険性を排除できないことからヒト細胞の使用へと向かっている。しかし、例えば細胞接着性の違いがあるように、ヒト肝細胞とブタ肝細胞はその特性が大きく異なる。新たなヒト細胞における至適条件の検討を行い、臨床用の回路の検討と開発、ヒト肝細胞のマイクロキャリアーとの接着方法、ヒト肝細胞の凍結保存の影響評価、ヒト肝細胞への大腸癌細胞の混入判別方法の確立。前臨床段階のミニリアクターを組み込んだ縮小回路を作成し機能評価を人工肝臓のグループと協力して行った。

さらに肝細胞に限らず収集した細胞を、直接的に評価する方法として、物質間相互作用を無標識、リアルタイムに解析できる表面プラズモン共鳴(SPR)を利用して、観察のための修飾や影響が極めて少ない、生きたままの細胞機能が評価できる新しい方法を発明した。

また再生医療の実現のための体制作りは、倫理委員会へ、研究および臨床応用の申請を行い承認を得た。さらにヒト組織を取り扱う上で重要な個人情報の管理として匿名化ソフト SCST21 を導入し非連結匿名化による情報管理を開始した。そして組織の供給を安定化させる体制を築くための細胞バンク設立準備として県下主要病院と提携しヒト肝組織の採取を行う体制を整備しヒト肝細胞の収集・保存を行った。

以上の活動により再生医療の実現に向けた準備が整い、術後肝不全・劇症肝炎における肝細胞移植の実施や人工肝臓の使用、また先天性代謝異常症での正常肝細胞移植や自分自身の肝細胞を正常化し移植する遺伝子治療を、今後フェーズⅢとして臨床応用する取り組みを、更に具体化し行っていく予定である。

2-6. プロテオーム解析法

細胞や組織に含まれるタンパク質全てを網羅的に扱うプロテオーム解析という手法は、タンパク質の分離と同定という2つの技術が根幹となっている。二次元電気泳動は一枚のゲル上に数千のタンパク質をその等電点と分子量という性質によって分離する手法である。また、質量分析計は電気泳動によって分離されたスポットに含まれるごく微量なタンパク質やペプチドの質量を測定することにより、タンパク質を同定することが出来る。この「生体高分子の同定および構造解析のための手法の開発」に対して 2002 年のノーベル化学賞が贈られている。ゲノムプロジェクトの進行に伴い、ヒトをはじめとする様々な生物種の全遺伝子配列情報が明らかになりつつある。この膨大な遺伝子情報の増加を背景にして、質量分析計によるタンパク質の同定という手法が現実的なものとなってきた。これによって初めて、細胞や組織に含まれるタンパク質全てを網羅的に解析するアプローチが可能となったのである。このプロテオーム解析を用いて、さまざまな生命現象における分子生物学的解析を行い、また新しいプロテオーム解析技術を開発することを目標に、本事業における1テーマとして選択された。

本事業のスタート時である平成 10 年には、プロテオームという概念やその技術は、ほとんど日本に普及していなかった。本事業においても、その立ち上げ時には、再現性と分離能がタンパク質をターゲットとした実際の分子生物学的研究に耐えうる二次元電気泳動像を作り出すことを最初の目標としていた。また質量分析計は英国の Micromass 社から当時最新鋭の装置である Q-TOF を日本で初めて導入した。この Q-TOF は今までの質量分析計とは異なり、分子データベースを必要とせずアミノ酸内部配列を同定することが可能