

細胞療法にいたる道のり

藤宮 峯子

札幌医科大学 解剖学第2講座

Pursuit of cell therapy

Mineko FUJIMIYA

Department of Anatomy (II), Sapporo Medical University School of Medicine.

ABSTRACT

We focus on the therapeutic strategies for diabetic complications and Alzheimer's dementia by autologous bone marrow mesenchymal stem cell (MSC) transplantation. In addition to the clinical research, basic research for the mechanism why MSCs can recover tissue damage is important. Stromal (interstitial) cells in every organs support parenchymal cells and maintain their functions. We found that stromal cell damage primarily occurs in diabetes and subsequently causes parenchymal cell damage. Our concept to treat diseases by MSCs is to normalize stromal cells by transplantation of their progenitor MSCs.

(Accepted December 1, 2014)

Key words: Mesenchymal stem cell, Bone marrow, Diabetic complications, Alzheimer's dementia, Cell therapy

1. 解剖学第2講座の研究の目指すもの

自己骨髄間葉系幹細胞を用いて糖尿病合併症と認知症を治すのが、講座の中心テーマである。札幌医大では既に、脳梗塞と脊髄損傷の自己骨髄間葉系幹細胞療法の治験が行なわれており、この細胞療法の成功で札幌医大の名が世界に轟く日も近い。

解剖学第2講座では、間葉系幹細胞の組織修復能力に注目している。機能を失った臓器を新しく作るという「再生医療」というよりは、自己治癒力を高める「蘇生医療」と言う方がぴったりとくる。間葉系幹細胞が、壊れて機能を失った細胞を修復する細胞であると確信を持つに至ったのは、私自身がこの2年間で1万枚の電子顕微鏡写真を撮り続け、徹底的な形態学的観察を積み重ねたからである。

2. 長い道のり

この山を征服したいという確固たるテーマに辿り着いたのは札幌医大に赴任してからだが、その山の麓に辿り着くまでの道のりは遠かった。しかしそれまでの25年間の研究の試行錯誤がなかったらここには辿り着いていなかっただろう。

これまでの長い旅路の時々でお世話になった上司や同僚に感謝をしつつ、今の研究の土台になったこれまでの仕事を振り返ってみたい。

一般的に医学研究は、循環器系、消化器系、呼吸器系、

神経系などと臓器別に研究されている。各臓器に特有の疾患について研究するのは、病気を治そうとするアプローチとして当然なのだが、私はつねに臓器相関を念頭において仕事をしてきた。ストレスで起こる各種疾患が、なぜ起こるのかが最初のテーマだった。例えばストレスを感じるのは脳なのに胃腸の働きが異常になる、FD (functional dyspepsia) や IBS (irritable bowel syndrome) のメカニズムを研究していた。消化管運動に関わる神経は自律神経なので、神経の研究をするのが一般的なのだが、私は消化管ホルモンや内分泌などの血液中を流れて全身に影響をあたえる生理活性物質に注目した。神経のようにゼロイチのデジタル的な効き方より、アナログ的な効き方をするホルモンの方が、生体機能の調節に重要であると感じていた (1-3)。研究を始めた当初のこの感覚は、最先端の再生医学の研究においても通用すると考えている。

FD や IBS のメカニズムとして消化管ホルモンの一種であるセロトニンが重要である。他のペプチドが消化管の部位特異的に分布するのに対してセロトニンは消化管の全域に分布する。セロトニンは発生学的にも最も下等な動物から出現し、ホヤやイソギンチャクですでにセロトニン含有細胞は出現する。神経系が進化するはるか以前からセロトニンを含む内分泌細胞が出現するのだ。セロトニン、ノルアドレナリン、ドパミンなどは生体アミンと総称されるが、生命維持

に関わる基本的物質と言える。現在、本講座では認知症の研究をしているが、アルツハイマー型認知症にしても、パーキンソン病にしても脳の変性疾患の際には、脳内のセロトニン、ノルアドレナリン、ドパミンが全て減少する。この原因はわかっていないが、生体アミンが生命活動の基本になる物質と考えれば、これが低下する事自体が病気の本体であるとも言える。

生体アミンが生命現象の基本を握っているにも関わらず、世界の研究の流れは生体アミンからペプチド研究に移っていった。その理由は、特定のレセプターに作用する薬物を開発するのに、アミンはレセプターの数が多すぎて太刀打ち出来ないからである。レセプターの数が多いと言う事は、それだけ作用が多彩で、掴みどころがないということである。肥満や生活習慣病の治療においても、ペプチド関連薬に期待が持たれた。NPY やグレリンが代表格である。特にグレリンの発見が脚光を浴びた理由は、従来ストレスでおこる過食や拒食は脳が原因と考えられていたが、胃から放出されるグレリンが脳に作用して、過食を起こすことがわかったからである。消化管は自律神経によって、脳からの支配を受けるといふ支配—従属関係が逆転した瞬間である。消化管ホルモンが脳の機能を制御するというこの新しいペプチドの発見は、大変魅力的で、私自身もグレリンと、その関連ペプチドであるデスアシルグレリン、オベスタチンの研究を精力的に行った(6, 7)。

しかし一世を風靡したグレリンの研究も、摂食障害の患者の治療薬や肥満症の治療薬には結びつかなかった。ここにペプチド研究の限界があると考ええる。いや、ペプチド研究が悪いのではなく、生理活性物質の考え方に問題があったといえる。生体機能は、多くの物質の相互作用で営まれている。たった一つの物質を増やしたり減らしたりしても、代償作用が働いて効果がないか、もしくは副作用が前面に出るかどちらかだろう。

世界の研究の流れは、アミン、ペプチドに続いてサイトカイン、ケモカインなどの蛋白質研究に移行していった。ペプチドで病気が治らないなら、次は病気で特異的に発現する蛋白質を標的にしようというものである。ここで大活躍するのが、トランスジェニックマウスやノックアウトマウスなどの遺伝子改変動物である。十数年前は世界中の研究者が、特定の遺伝子を改変した動物を作り、その動物でどのような症状が出るかを研究し、蛋白質の発現と病気の関連を調べていた。私自身この研究についていけなかった理由は、遺伝子改変動物を自前で作るにはお金がかかりすぎたからである。共同研究をしていたアメリカの研究者が3年がかりでノックアウトマウスを作ったが、結局何の症状も出なかったので労力とお金の無駄使いだったという話を聞くにつれ、特定の蛋白質や遺伝子の異常で病気が起こるわけではないという事を認識した。その後ヒトゲノムの解読が進むにつれ、多くの疾患が複数の遺伝子異常で起こる多因子疾患である事が明らかになり、遺伝子改変動物を用いてヒト疾患の研

究をすることの限界が示された。

疾患特異的遺伝子の解析は、現在でもあらゆる疾患で行なわれている。良性疾患、悪性疾患を問わず、疾患で発現する異常な因子を特定し、それに対する分子標的薬を開発するというものである。現在の薬品開発の基本は、いかにして疾患特異的な分子を見つけるかにかかっている。分子標的薬で劇的な効果が得られた血液癌の例はあるが、必ずしもこの方法で病気が治る訳ではない。

3. 骨髄細胞に秘められたパワー

病気の原因を物質の異常として捉え、その物質を標的にした治療法を考えるとというのが現在の医学研究の方向であるが、私自身は、物質ではなく細胞そのものが治療薬のようにして使えるのではないかと考えた。ペイラー大学と共同でベクターを用いて膵β細胞を再生する研究をしていた時だ。マウスの肝臓に膵β細胞が出来て、血糖値が完璧にコントロール出来る所まで来たが(4)、ウイルスベクターを使う方法なので、ヒトへ応用するまでには至らなかった。しかしこの研究の中で、人工的にベクターを投与しなくても、血糖値が高くなると反応性に骨髄細胞がインスリンを産生ようになる事がわかった(5)。この時初めて、骨髄には自己治療力の元になる細胞がある事に気づいたのである。骨髄細胞は、善悪両面を持つ事もわかった。自己治療力を発揮すると同時に、疾患で形質転換し、修復に行くはずの細胞が逆に相手の細胞を潰しにかかるという二面性を持つ事がわかった。「骨髄幹細胞は、ジギルとハイド、または表と裏」という言い方が出来る。この発見が、その後の骨髄間葉系幹細胞の研究につながって行った。

糖尿病になると、異常な骨髄幹細胞が血流に乗って身体中にひろがる(8)。これが糖尿病性多臓器疾患の原因であると考えた。「糖尿病とは、骨髄の病気である」というセントラルドグマを提唱したのもこの時である(9)。骨髄幹細胞が異常になることで臓器合併症が起こるのであれば、骨髄幹細胞を入れ替えれば合併症が治ることになる。個々の物質に対する標的療法ではなく、骨髄幹細胞療法への道が開かれたのである。

その後の研究で、糖尿病でおこる臓器障害の原因になるだけでなく、骨髄細胞には多彩な作用がある事がわかってきた。骨髄細胞の役割を調べる為に、全骨髄細胞をGFPで標識した動物を使って研究を行ったところ、身体的および心理的ストレスに暴露した動物では、骨髄単球由来のミクログリアが視床下部や海馬に集積し、神経細胞を刺激することがわかった(10)。また慢性疼痛刺激でも骨髄由来のミクログリアが扁桃体中心核に集積し、神経細胞の活動性を変化させ、慢性疼痛患者に合併するうつ症状の原因になっている事がわかった(12)。

造血組織としての骨髄細胞の役割を考える上で、骨髄間葉系幹細胞の役割は重要である。これまで造血幹細胞の機能を維持するニッチと言われたものの本体が、骨髄間葉系

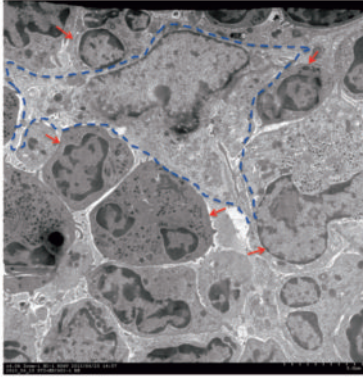


図1 ヒト骨髄の電顕所見
 実質細胞（造血細胞）（矢印）を取り囲む間質細胞（reticular cell）（点線）。間質細胞は実質細胞の機能を維持する。

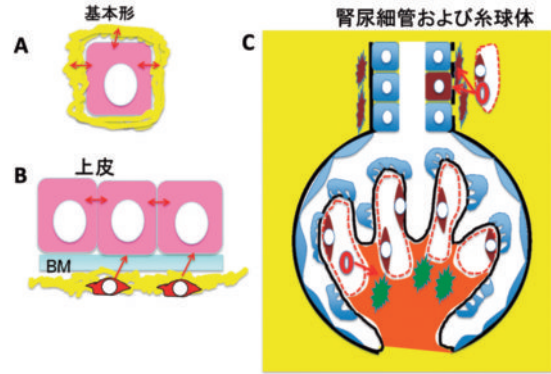


図2 間質と実質の基本概念
 単細胞生物 (A) から多細胞生物 (B) への進化の過程で、常に間質と実質の関係は維持されている。腎障害を考えるとときにこの関係性は重要である (C)。図の黄色の部分の間質。

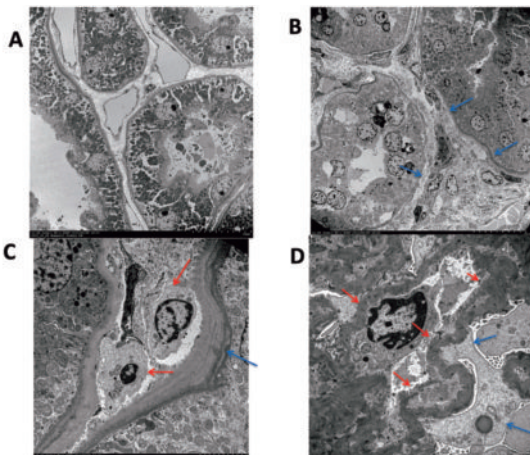


図3 非糖尿病 (A) と糖尿病 (B, C, D) のヒト腎尿管の電顕像
 非糖尿病では、間質に細胞がほとんどない (A)。糖尿病では、間質の肥厚 (矢印) があり (B)、尿管間質への細胞浸潤 (赤矢印) や基底板の肥厚 (青矢印) が著明である (C)。また、糖尿病の糸球体では、細動脈基底板の肥厚 (赤矢印) やたこ足細胞の異常 (青矢印) が観察される (D)。

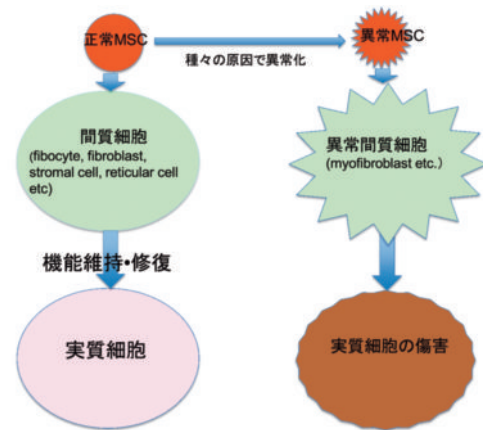


図4 骨髄間葉系幹細胞療法の概念
 間質細胞は実質細胞の機能維持や修復に働く。間質細胞が異常になる事で実質細胞が2次的に異常になる。間質細胞の元になる骨髄間葉系幹細胞を正常化するのが、我々の細胞療法の治療戦略である。

幹細胞が分化した間質細胞であると考えられる (図1)。造血細胞を実質細胞と考えた場合、間葉系細胞が実質細胞を支え、機能維持に働くという概念は最初に骨髄において証明した (11)。実質細胞と間質細胞の関係はすべての臓器において当てはまる (図2)。骨髄間葉系幹細胞療法がなぜ、臓器障害を治せるかに対する答えは、実質細胞とそれを支える間質細胞の関係性、もしくは細胞間相互作用を理解しない事にはわからない。

4. 細胞療法としての骨髄間葉系幹細胞

骨髄間葉系幹細胞を投与して、さまざまな臓器傷害を治療するのが、我々の目標である。なぜ、細胞傷害が骨髄間葉系幹細胞療法で治るのだろうか？ 間葉系細胞は、本来

実質細胞が壊れた時に修復する能力のある細胞である。新たに細胞を新生して治す再生医学ではなく、壊れた細胞を蘇らせる蘇生医学であると考えている。実際糖尿病で起こる臓器障害が骨髄間葉系幹細胞を静脈投与すると治癒する事を観察している。糖尿病で起こる肝障害 (13)、腎障害、血管障害が骨髄間葉系幹細胞を静脈内投与すると改善することを見いだした。

解剖学第2講座と付属講座である「糖尿病細胞療法講座」では、患者さん自らの骨髄間葉系幹細胞で、糖尿病性腎症とアルツハイマー型認知症を治療する為に精力的に研究を行っている。

私自身は、骨髄間葉系幹細胞療法でなぜ臓器障害が治癒するのか？ そもそも慢性炎症や変性疾患の原因は何か？

の疑問に答えるべく、電子顕微鏡観察を中心に演繹法的に研究を行っている。この一連の研究で、全身臓器の実質細胞の傷害の原因が間質細胞にあること(図3)、本来間質細胞は実質細胞の機能を維持する働きがあるが、間質細胞が異常になる事で二次的に実質細胞の傷害がおこる事がわかった(図4)。間質細胞の元になる間葉系幹細胞を正常化することで病気が治る理由はここにある。

5. 何のために研究するのか?

研究室では、「何のために研究するのか?」という問いを常に発している。若い人が研究結果を持ってきた時には、「この研究の目的は?」「これだけのお金とエネルギーを注ぐのは、自分の為か、それとも人類の為か?」と問う事している。これは私自身が、自らに課している課題でもある。

今後の研究においても、真の意味で人類を病の苦しみから救う為に、全力を尽くしたい。

参考文献

1. Fujimiya M, Okumiya K, Kuwahara A. Immunoelectron microscopic study of the luminal release of serotonin from rat enterochromaffin cells induced by high intraluminal pressure. *Histochem Cell Biol.* 1997; 108(2): 105-13.
2. Fujimiya M, Okumiya K, Kwok YN, St-Pierre S, McIntosh CH. Immuno-electron microscopic study of differential localization of motilin and serotonin in the rabbit duodenal epithelium. *Peptides.* 1998; 19(1): 65-73.
3. Okumiya K, Fujimiya M. Immunoelectron microscopic study of the luminal release of chromogranin A from rat enterochromaffin cells. *Histochem Cell Biol.* 1999; 111(4): 253-7.
4. Kojima, H., Fujimiya, M., Matsumura, K., Younan, P., Imaeda, H., Maeda, M. and Chan, L.: NeuroD-betacellulin gene therapy induces islet neogenesis in the liver and reverses diabetes in mice. *Nat. Med.* 2003; 9: 596-603.
5. Fujimiya M, Kojima H, Ichinose M, Arai R, Kimura H, Kashiwagi A, Chan L. Fusion of proinsulin-producing bone marrow-derived cells with hepatocytes in diabetes. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007; 104: 4030-4035.
6. Fujimiya M, Ataka K, Asakawa A, Chen CY, Kato I, Inui A. Ghrelin, des-acyl ghrelin and obestatin on the gastrointestinal motility. *Peptides.* 2011; 32: 2348-51.
7. Fujimiya M, Ataka K, Asakawa A, Chen CY, Kato I, Inui A. Regulation of gastroduodenal motility: acyl ghrelin, des-acyl ghrelin and obestatin and hypothalamic peptides. *Digestion.* 2012; 85(2): 90-4.
8. Yamashita T, Fujimiya M, Nagaishi K, Ataka K, Tanaka M, Yoshida H, Tsuchihashi K, Shimamoto K, Miura T. Fusion of bone marrow-derived cells with renal tubules contributes to renal dysfunction in diabetic nephropathy. *FASEB J.* 2012; 26: 1559-68.
9. Fujimiya M, Nagaishi K, Yamashita T, Ataka K. Bone marrow stem cell abnormality and diabetic complications. *Anat Rec (Hoboken).* 2012; 295(6): 917-21.
10. Ataka K, Asakawa A, Nagaishi K, Kaimoto K, Sawada A, Hayakawa Y, Tatzawa R, Inui A, Fujimiya M. Bone marrow-derived microglia infiltrate into the paraventricular nucleus of chronic psychological stress-loaded mice. *PLoS One.* 2013; 8(11): e81744.
11. Chiba H, Ataka K, Iba K, Nagaishi K, Yamashita T, Fujimiya M. Diabetes impairs the interactions between long-term hematopoietic stem cells and osteopontin-positive cells in the endosteal niche of mouse bone marrow. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2013; 305(7): C693-703.
12. Sawada A, Niiyama Y, Ataka K, Nagaishi K, Yamakage M, Fujimiya M. Suppression of bone marrow-derived microglia in the amygdala improves anxiety-like behavior induced by chronic partial sciatic nerve ligation in mice. *Pain.* 2014; 155(9): 1762-72.
13. Nagaishi K, Ataka K, Echizen E, Arimura Y, Fujimiya M. Mesenchymal stem cell therapy ameliorates diabetic hepatocyte damage in mice by inhibiting infiltration of bone marrow-derived cells. *Hepatology.* 2014; 59(5): 1816-29.

別刷請求先： 藤宮峯子

〒060-8556 札幌市中央区南1条西17丁目
 札幌医科大学 医学部 解剖学第2講座
 TEL : 011-611-2111 (2640)
 FAX : 011-618-4288
 E-mail : fujimiya@sapmed.ac.jp