



訂正

タイトルと枠内の文章を下記のとおり訂正しました。

訂正前：「肝細胞機能の再生に成功」

訂正後：「肝細胞機能の維持に成功」

2012年9月24日

報道関係者各位

慶應義塾大学医学部

大動物を用いた肝臓の脱細胞化骨格の作成と体外で肝細胞機能の維持に成功

肝臓などの臓器再生と新たな再生医療の実現化に期待

日本では、年間4万人以上と言われる肝疾患（肝細胞癌、ウイルス性肝硬変など）患者のうち、重篤な肝不全などの関連する病気により、年間約1万人が亡くなっています。重篤な肝不全で唯一根本的に治癒の見込める治療法は肝移植ですが、肝臓を提供するドナー不足により、肝移植を受けられるのは、移植を必要とする患者の3割にも満たないと考えられています。また、大きな侵襲を伴う肝移植手術を行うことなく、自己再生能を有する肝臓（注1）をいかに再生し、新たな治療法として臨床に応用する肝臓の再生医療（注2）の開発が望まれています。

慶應義塾大学医学部外科学（一般・消化器外科）の研究グループ（北川雄光教授、田邊稔准教授、八木洋助教）はピッツバーグ大学（Soto-Gutierrez A 助教）らとの共同研究において、肝臓から生きた細胞をすべて除去し、骨格だけの半透明な構造を大動物（ブタ）から作成し、そこに再度別のブタの肝臓から分離した肝細胞を生着させることで再細胞化する「脱細胞化」（注3）というユニークな手法を用いて、体外で肝細胞機能の一部を維持することに成功いたしました。

臓器の細胞外マトリックス（注4）骨格だけを残し、そこに臓器が再生するために必要な細胞を入れることによって、移植可能な構造を臓器単位で作成するというコンセプトに基づいたこの技術は、再生医療実現化のための受け皿として、これまで組織レベルあるいはマウスやラットなどの小動物を使って徐々に発展してきました。また、この技術を用いて、皮膚・器官・血管・関節・心臓弁などでは、実際の再生医療に応用された例が報告されていますが、消化器分野ではその構造と機能の複雑さから、再生医療への実現は困難でした。

本研究成果により、大動物の肝臓を使って技術的に移植可能な構造を再現できたことは、これまで困難であった肝臓、膵臓、腎臓などの実質臓器（注5）の再生と、今後の臓器の再生医療実現化へ向けて大きく飛躍させる技術革新となる可能性が期待されます。

この研究成果は、科学誌「Cell Transplantation」に掲載されました。

本研究はJSPS科研費23689059、慶應義塾大学次世代研究プロジェクト推進プログラムなどの助成を受けたものです。

1. 研究の背景

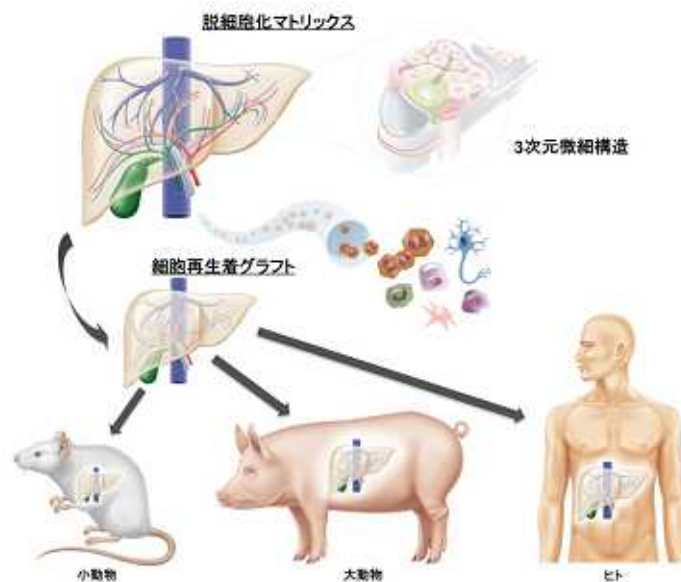
肝臓は切除しても自ら再生して大きくなるという大変ユニークな臓器の一つとして知られていますが、そのメカニズムに関しては未だにわからない点が多くあります。日本だけで、年間4万人以上と言われる肝疾患（肝細胞癌、ウイルス性肝硬変）患者のうち、年間約1万人が肝不全などの肝臓関連の病気で亡くなっています。そのうち重篤な肝不全で唯一根本的に治癒の見込める治療法は肝移植です。ただし肝臓を提供するドナー不足によって移植医療によって治癒する方々は非常に限られており（肝臓を提供するドナー不足により、肝移植を受けられるのは、移植を必要とする患

者の3割にも満たないと考えられています。) また移植手術そのものが大きな侵襲を伴います。そこで、再生した臓器を新しい治療法として応用する再生医療開発を求める声は、幹細胞技術の発展と共に大変高まっています。これまでに肝臓を含めて細胞レベルの小さな組織を再生し使用する試みは数多くされてきました。本研究グループでは、世界に先駆けて、その中で発展してきた細胞を除去する脱細胞化の技術を肝臓に応用して発表いたしました(文献1)。この手法は肝臓のユニークな再生力を理解するための技術として有効である上、これまでの組織工学的手法(注6)と比べて(文献2)と実際の臨床に応用可能ないくつかの特徴を持っています。

臓器が適切に再生するためには、以下の細胞周囲の環境が必須ではないかと言われています。1)細胞外マトリックス(Extra Cellular Matrix:以下ECM)の存在する環境、2)小さな構造から大血管まで連続する3D構造、そして3)量・質共に十分な細胞があることです。このような条件を満たすような臓器再生手法を実現するために、この脱細胞化の技術は開発されました。本手法の最大の特徴は、臓器内の末梢まで行き渡る血管を細胞障害性薬剤のアクセスを利用することで、臓器のなかを薬剤が均等に循環し、均一に臓器全体の細胞除去が可能であること、また細胞レベルの微細構造から大きな脈管(門脈、肝静脈、肝動脈、胆管)への連続的な立体構造の再現を可能にしたことです。更に重要なことはこれらの構造すべてを、生体に由来するその臓器に特異的なECMがそのまま担っているという点です。

2. 研究内容

この手法にもまだ改善すべき点は多く、その一つがヒトサイズへのスケールアップです。特に臓器再生を考えた場合、小動物での成功は必ずしも臨床応用への明確な方向付けにはなりません。単純にサイズの違いのみならず、必要な細胞の数や解剖学的な違いも含めて、多くの観点から修正を行ったシステムを確立する必要があります。これを踏まえて、我々は世界に先駆けて大動物の肝臓を用いた脱細胞化システムを提示しました。右図に示すように脱細胞化したブタ肝臓は、ラットと比較して構造が安定しており、外科的に移植が可能ではないかと考え、ブタの肝臓を使用して実験しました。



図：脱細胞化の手法によって作成した肝臓骨格に再度細胞を生着させた後、これを移植する。小動物 大動物を経てヒトへの応用を目指す。

実際の実験方法、結果を示します。ブタの肝臓を摘出して数日間かけて肝臓内のすべての細胞成分を除去し脱細胞化します。得られた半透明の肝臓の脱細胞化骨格内に、別のブタ肝臓から分離した肝細胞を肝臓へ流入する門脈という太い血管から注入して、7日間循環培養(注7)します。その後電子顕微鏡を用いて肝臓に特異的な微細構造である類洞構造(注8)を微細に評価し、また各細胞特異的マーカー(注9)による細胞の免疫染色を行なって、細胞の局在・分化・機能について

検討しました。更に細胞の生存率の変化や、肝細胞機能を7日間に渡って解析しました。その結果、細胞外マトリックスと肝臓の血管構造がしっかり残ること、そして肝臓の脱細胞化骨格内に注入した肝細胞の機能が、大動物(ブタ)においても体外で保たれることが示されました。

3. 今後の展開

再生医療はこれまでの治療法を根本的に置き換える可能性を秘めています。実際の臨床応用までに越えるべき壁は高いといえます。これを乗り越えるためには組織・臓器構造と細胞とのお互いの関係の正しい理解が必須であり、肝臓も例外ではありません。特に最近になって、肝臓を構成するECMが肝硬変などの変化に伴って細胞-ECM間の作用も変化することが、細胞自体の影響よりも臓器としての機能低下に強く関わっていることが示されてきました(文献3)。したがって肝臓由来のECMが肝臓そのものの再生に大変重要であることが容易に想像できます。

我々は生体由来のECMを効果的に用いながら臓器固有の立体構造を保った肝臓の脱細胞化骨格を有効に活用し、これからの再生医療の基盤技術として発展させていきたいと考えています。また、本研究成果を踏まえ、今後、大動物を経て、ヒトに応用できる技術へと発展することにより、新たな再生医療への実現化が期待されます。

4. 特記すべき事項

本研究は、主に以下の事業・研究領域・研究課題によって得られました。

研究種目：文部科学省科学研究費若手研究(A)

課題番号：23689059

課題名：ブタ脱細胞化技術と幹細胞の融合により三次元胆管・血管構造を有す新規移植肝臓の開発

研究種目：慶應義塾大学次世代研究プロジェクト推進プログラム

課題名：全肝マトリックスを基盤にヒトiPS細胞由来成熟肝細胞を誘導した移植グラフトの開発

5. 論文名

“Human-Scale Whole-Organ Bioengineering for Liver Transplantation: a Regenerative Medicine Approach.”

「生体工学的アプローチを用いたヒトスケールの移植肝臓再生」

Yagi H, Fukumitsu K, Fukuda K, Kitago M, Shinoda M, Obara H, Itano O, Kawachi S, Tanabe M, Coudriet GM, Piganelli JD, Gilbert TW, Soto-Gutierrez A, Kitagawa Y.

【文献】

- (1) Uygun BE, Soto-Gutierrez A, Yagi H, Izamis ML, Guzzardi MA, Shulman C, et al. Organ reengineering through development of a transplantable recellularized liver graft using decellularized liver matrix. *Nat Med.* 2010; 16(7): 814-20.
- (2) Macchiarelli P, Jungebluth P, Go T, Asnaghi MA, Rees LE, Cogan TA, et al. Clinical transplantation of a tissue-engineered airway. *Lancet.* 2008; 372(9655): 2023-30.
- (3) Matrosova VY, Orlovskaya IA, Serobyan N, Khaldoyanidi SK. Hyaluronic acid facilitates the recovery of hematopoiesis following 5-fluorouracil administration. *Stem Cells.* 2004; 22(4): 544-55.

【用語解説】

(注1) 自己再生能を有する肝臓

肝臓は健康な状態であればその70%が切除されても、体内で容量としてはほぼ元の大きさに戻る（自己再生）ことが可能なユニークな臓器である。

（注2）再生医療

胎児期にしか形成されない人体の組織が欠損した場合に、その機能を回復させることを目的とした医療。

（注3）脱細胞化

組織から細胞傷害性の薬剤を循環することで、細胞を除去し細胞外蛋白のみを残す手法。

（注4）細胞外マトリックス

細胞外、細胞間に介在する線維性蛋白質を主体とした基質。骨格、細胞の足場、増殖因子の保持などの役割を担う。細胞から産生され細胞周囲環境を動的に構成する。

（注5）実質臓器

消化管などの管腔臓器に対して、肉眼的な臓器形態と臓器単位が明らかで、断面の性状が充実性の臓器を指す。膵臓、肝臓、腎臓など。

（注6）組織工学的手法

ティッシュエンジニアリングの訳。工学的手法を組織に応用し、組織や細胞を制御して再生医療に応用する技術。

（注7）循環培養

従来のシャーレ上の培養と異なり、培養液を持続的にポンプで循環させることで、細胞培養が可能な環境を与えて培養する手法。

（注8）類洞構造

肝臓特異的な毛細血管構造。肝細胞とディッセ腔を隔てて連絡し、肝細胞との物質交換を担う。類洞には肝臓に流入する動脈血と門脈血が混合して流れる。

（注9）各細胞特異的マーカー

細胞表面などにある蛋白のうち、ある種の細胞のみが特徴的にもつものを利用し、特定の細胞を判断する証拠となり得る要素のこと。

ご取材の際には、事前に下記までご一報くださいますようお願い申し上げます。

本リリースは文部科学記者会、文部科学省科学記者会、厚生労働記者会、厚生日比谷クラブ、各社科学部等に送信させていただいております。

【本発表資料のお問い合わせ先】

慶應義塾大学医学部 外科学教室（一般・消化器）（八木洋・猪俣研太）

TEL:03-5363-3802 FAX 03-3355-4707

E-mail: keio.hy.1973@gmail.com

<http://surgery.med.keio.ac.jp/ggs/>

【本リリースの発信元】

慶應義塾大学信濃町キャンパス総務課:富田
〒160-8582 東京都新宿区信濃町3 5

TEL 03-5363-3611 FAX 03-5363-3612

E-mail: med-koho@adst.keio.ac.jp

<http://www.med.keio.ac.jp/>