

## 1. 不死化した乳歯歯髄幹細胞の培養上清について

人工多能性幹細胞（iPS細胞）は、京都大学の山中伸弥先生が開発した体細胞に4つの遺伝子を導入し初期化することにより非常に多くの細胞に分化できる分化万能性（pluripotency）と分化増殖を経てもそれを維持できる自己複製能（self-renewal）を持った幹細胞のことである。2012年にその功績でノーベル生理学・医学賞を受賞された後、オールジャパンで再生医療の迅速実現化に取り組んできており、再生医療等製品として承認される時期も近づいてきている。一方、間葉系幹細胞（MSC）は、中胚葉性組織（間葉）に由来する体性幹細胞で間葉系細胞への分化能を有し、iPS細胞とは異なり腫瘍形成能（造腫瘍性）がないため安全性が高く、免疫原性が低く免疫監視機構からもすり抜け、免疫抑制能や組織修復能を有していることより、種々の神経や骨の障害や自己免疫や炎症性疾患の治療を目的に、日本では、これまでに3つのMSCの細胞移入療法が、再生医療等製品として承認されている。2015年に、他家の骨髄由来MSCを用いた移植片対宿主病（GVHD）の際の拒絶反応の軽減に、2018年に自家の骨髄由来MSCを脊髄損傷の治療に、そして昨年2021年に他家の脂肪組織由来MSCを炎症性腸疾患のクローン病の治療に用いられている。

ところが、MSCの細胞移入療法は、免疫原性が低いとは言えゼロではなく免疫拒絶の可能性が残っており、MSC自身のがん細胞に分化することはないが、体内にがんがあるとそのがん細胞の増殖を促進する可能性があること、他家の細胞移入療法のため倫理面の規制とそのため臨床応用への利便性の問題、MSCは比較的細胞が大きいため、血管内に投与した場合、塞栓や血栓を形成する可能性があること、MSCは*in vitro*での継代回数に限界があり、数回の継代で増殖能や分化能、遊走能などの機能が低下するため、しばしば、MSCの細胞の質の担保など様々な要因により、十分な治療効果が得られない場合があるなど、最適の治療方法と言えるまでには至っていない。

一方、MSCの治療効果の作用機序は、MSCを生体内に投与すると損傷や炎症部位に遊走し損傷した細胞に分化し置き代わって治療効果を示したり、MSCが分泌するサイトカインやエクソソームなどによるパラクリン効果によるなどと考えられている。ところが、実際に損傷部位に残る移入したMSCの割合は低く、生体内でのMSCの半減期も短いことより、MSCが分泌するサイトカインやエクソソームなどによるパラクリン効果による可能性が高いと考えられている。実際に、これまでに、MSCの培養上清（conditioned medium: CM）やエクソソームの投与だけでも、同様な治療効果が多数報告されている。そこで、最近、俄然、培養上清が注目されてきているのだが、その培養上清を製剤化、つまり、薬にしようとする、その培養上清中の各種液性因子の種類や濃度、安定性などが、ドナーやMSCの継代数にも依存し、ロット間でのバラツキなどの問題も懸念される。

そこで、我々は、MSCの培養上清を製剤化するには、培養上清を供給するMSCを不死化して、無制限に増殖し、培養上清をたくさん産生する単一の供給源とすることが必要であると考えに至った。MSCとしては、未成熟で幼弱な幹細胞を多く含み、発生学的に神経由来細胞であるヒト乳歯由来の歯髄幹細胞（SHED）を用い、4種類の不死化遺伝子を導入して、不死化乳歯由来歯髄幹細胞（iSHED）を作製した。この細胞は、無限に増殖し、再現性良く、各種液性因子をたくさん分泌することもわかった。現在、この培養上清（iSHED-CM）を用いて、褥瘡や神経炎のモデルマウスを用いて、その治療効果と作用機序が明らかになってきている。

善本隆之：東京医科大学 医学総合研究所 免疫制御研究部門・教授

HP: <https://immunoreg-web-1.jimdosite.com>