

臓器をつくる～脱細胞化技術が拓く移植可能な臓器再生

*¹ 京都大学大学院医学研究科消化器腫瘍制御・臓器再生外科,

*² 京都大学大学院医学研究科肝胆脾・移植外科

石井 隆道*^{1,2}, 小島 秀信*², 小木曾 聰*², 波多野 悅朗*²

Takamichi ISHII, Hidenobu KOJIMA, Satoshi OGISO, Etsuro HATANO



1. はじめに

末期の臓器不全に対しては、臓器移植が有効な治療法として行われている。しかし本邦では、移植に必要な脳死ドナーが極めて少なく、慢性的なドナー不足が続いている。生体間での移植はこの問題をある程度補えるものの、本来健康であるドナーに手術を行う必要があるため、倫理的な課題が残る。こうした現状を開拓する方法として、ドナーによる臓器提供に依存しない再生医療の発展が期待されている¹⁾。

再生医療とは、生体が本来持つ再生能力を活かし、機能を失った臓器の働きを外部から補う医療である。特に、多能性幹細胞の一種であるiPS(induced pluripotent stem)細胞を用いた神経細胞移植²⁾や網膜シート移植³⁾、膵島細胞シート移植⁴⁾などは、すでに本邦でも医師主導治験が進められており、有望な治療法とされている。しかし、こうした細胞や細胞シートの移植は、臓器の中の特定の細胞機能のみを回復させるものであり、臓器全体の複雑な働きを補うこととはできない。

例えば肝臓では、あらゆる慢性肝疾患の最終段階として肝硬変が生じる。肝硬変では線維化が生じることにより肝臓内の血流抵抗が増し、門脈圧が上昇することで腸管のうっ血や脾腫、側副血行路の形成が起こり、腹水や汎血球減少、食道靜脈瘤破裂、肝性脳症、栄養障害などの症状が現れる。これらは肝細胞機能だけを補う細胞移植では改善できず、肝臓を置き換える肝移植にこそ大きな利点がある。

小腸も同様である。小腸は栄養素を消化吸収するために、絨毛や微絨毛など表面積を増やす構造や、食物を運ぶ蠕動

運動を担う平滑筋を備えている。この複雑な構造と機能が揃って初めて効率的な消化吸収が可能になるため、単に一部の細胞機能を補うだけでは不十分である。

本稿では、こうした背景を踏まえ、従来の臓器移植や細胞移植の枠を超えて、移植可能な臓器そのものを再生させるアプローチの一つとして、脱細胞化技術を利用した人工肝臓および人工小腸の研究について概説する。

2. 脱細胞化技術とは

移植可能な臓器再生を目指すにあたって、臓器機能を担う特有の細胞群や、細胞が生存する足場となる臓器特異的な細胞外基質、および細胞の組織形成を促す適切な微少環境などが必要である⁵⁾。細胞外基質は形態を保つため、細胞同士の細胞接着に必要なだけでなく、臓器固有の細胞機能を維持させることに有用である。また、微小環境は臓器を生存させるための血液供給路や還流路の構造、リンパ管や胆管など臓器固有の管腔構造、それらを保持するための間質細胞の空間、そしてそれらを維持させる各種増殖因子などを含んでいる。

臓器再生や人工臓器の作製を試みる場合、複雑な立体構造を有する臓器を一から再構築することは非常に困難である⁶⁾。この課題を解決するために、生体の臓器より細胞成分のみを除去し、細胞外基質を鋳型として取り出す脱細胞化技術が試みられている^{7), 8)}。脱細胞化技術の概要は、一旦凍結した後に融解することで物理的に細胞膜を破壊し、トリプシンなどの酵素反応により細胞を溶解し、さらに酸や界面活性剤による化学的な処理を組み合わせて脱細胞化を行う操作である。臓器の大きさによって、数時間から数日をかけて細胞成分を溶出させ、白く柔らかい細胞外基質のみを残存させる。このようにして得られた細胞外基質は、本来生体において存在していたものであるため、臓器再生

■著者連絡先

京都大学大学院医学研究科消化器腫瘍制御・臓器再生外科

(〒606-8507 京都府京都市左京区聖護院川原町54)

E-mail. taishii@kuhp.kyoto-u.ac.jp

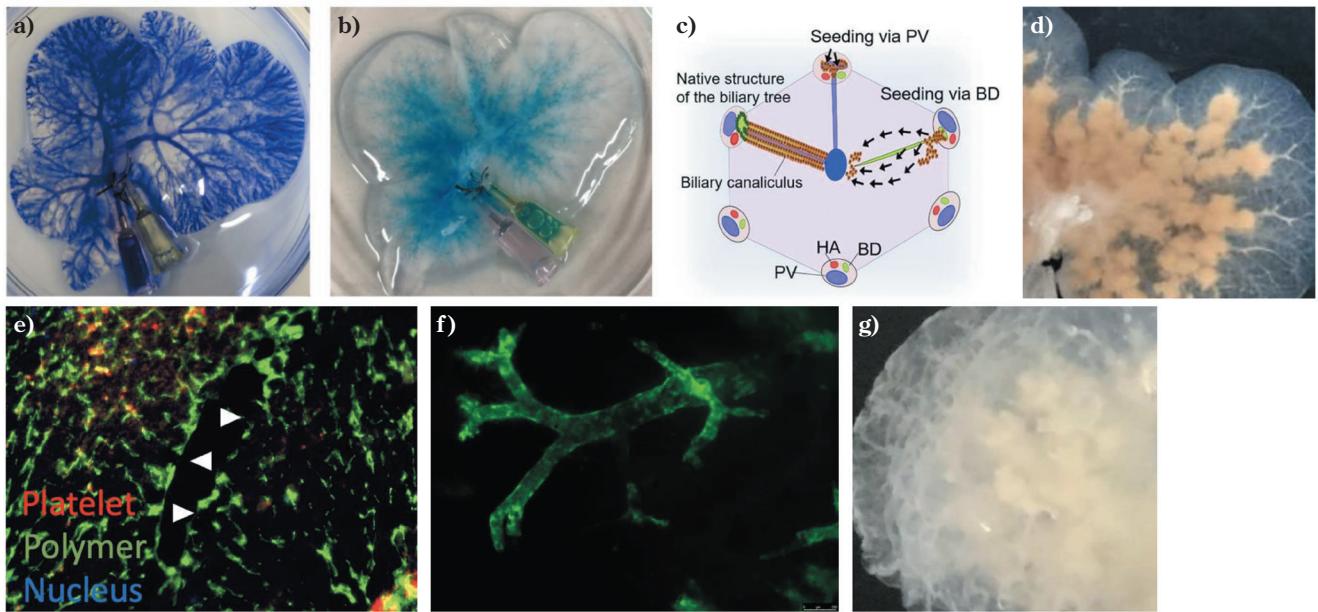


図1 脱細胞化肝臓と再細胞化された肝臓(c), d)は文献11, e)は文献13, f)は文献14, g)は文献15より引用)

a) 脱細胞化肝臓に経門脈的に紫色色素を注入している図。色素は門脈システムを末梢まで染めているが、肝実質腔内に色素は到達していない。b) 脱細胞化肝臓に経胆管的に青色色素を注入している図。胆管のみならず、わずかに肝実質腔までが色素で染色されている。c) 脱細胞化肝臓に再細胞化する経路のシーマ。組織学的に経門脈経路で再細胞化すると肝細胞は門脈内にとどまるが、経胆管経路で再細胞化すると毛細胆管を通じて肝実質腔内へと再配置される。d) 実際に経胆管経路で再細胞化した図。e) 抗血栓ポリマー(緑色)でコーティングした脱細胞化肝臓に血液を灌流させたところ、コーティングされた血管内腔には血小板沈着(赤色)が抑制されている。矢頭(▷)はコーティングされた血管を示している。f) 胆管細胞を再細胞化した図。3次元的な管腔構造を認める。g) 脱細胞化肝臓にiPS細胞由来肝細胞様細胞を再細胞化した。

BD, bile duct; HA, hepatic artery; PV, portal vein.

においてこれらの細胞外基質は理想的な足場となりうる。また、これらの細胞外基質には、各種の成長因子も保持されていることが報告されている。脱細胞化技術の利点は、既に臓器の形態を保持している立体的細胞外基質を足場として、目的の細胞を再細胞化して臓器を再構築することが可能となる点である。これまでに肝臓や小腸のみならず、心臓や肺などでも脱細胞化の報告がある^{9), 10)}。

3. 肝臓の再生・人工肝臓

実際の肝臓を構成する細胞の種類は多岐にわたるが、主要なものとしては肝細胞と胆管細胞、そして血管内皮細胞であると思われる。脱細胞化肝臓にこれらの細胞種を再細胞化させることで、血流を保持したまま機能する肝臓の再生が期待できる。これらの細胞種を、適切な立体構造を構成するように肝臓の中へ注入し、再分布させる方法が重要になる。最も重要な役割を担っているのは肝細胞であるが、我々は肝細胞の投与について、その投与経路などいくつかの条件を最適化することを試みてきた。従来は門脈から肝細胞を投与する報告が多かったが、この投与方法では門脈内に投与した肝細胞が塞栓して肝実質腔へと再配置されなかった(図1a)。そこで我々は、肝細胞が毛細胆管を形成し、Hering管を通じて細胆管に接続して胆汁が流れることに

着目し(図1b, c)、肝細胞を胆管経由で投与することによって、逆行性に肝細胞を肝実質腔へ均等に再分布させることを示した(図1d)¹¹⁾。

また、最終的に臓器として移植することを念頭に置くと、血管系の構築は極めて重要である。細胞外基質へ直接血液を灌流させると、直ちに血小板による1次血栓を形成する。血栓形成を防ぎ、末端の肝臓組織まで血流を維持させるためには、血管内皮細胞による血管内腔の再細胞化は重要である。我々は、類洞内皮細胞を用いて脱細胞化肝臓の血管内腔を経門脈的に再細胞化させた。これにより、少なくとも8時間は血栓形成を認めずに再細胞化肝臓の体外循環が可能となった¹²⁾。さらに、末梢の血管再細胞化は血管内皮細胞による塞栓のため困難であったが、抗血栓ポリマーをコーティングすることにより、肝細胞の生存性を損なうことなく血栓抑制効果が得られることを示した(図1e)¹³⁾。

また、胆汁排泄が肝臓の重要な機能の1つであるため、胆管細胞の再細胞化も重要である。初代培養の胆管細胞を得ることは容易ではないが、我々は胆管成分を多く含むductal organoidを肝臓より培養し、得られた胆管細胞を脱細胞化肝臓の胆管より再細胞化することで、胆管細胞で裏打ちされた胆管が3次元的に分布することを確認できている(図1f)¹⁴⁾。2025年8月時点では肝細胞と胆管細胞、血

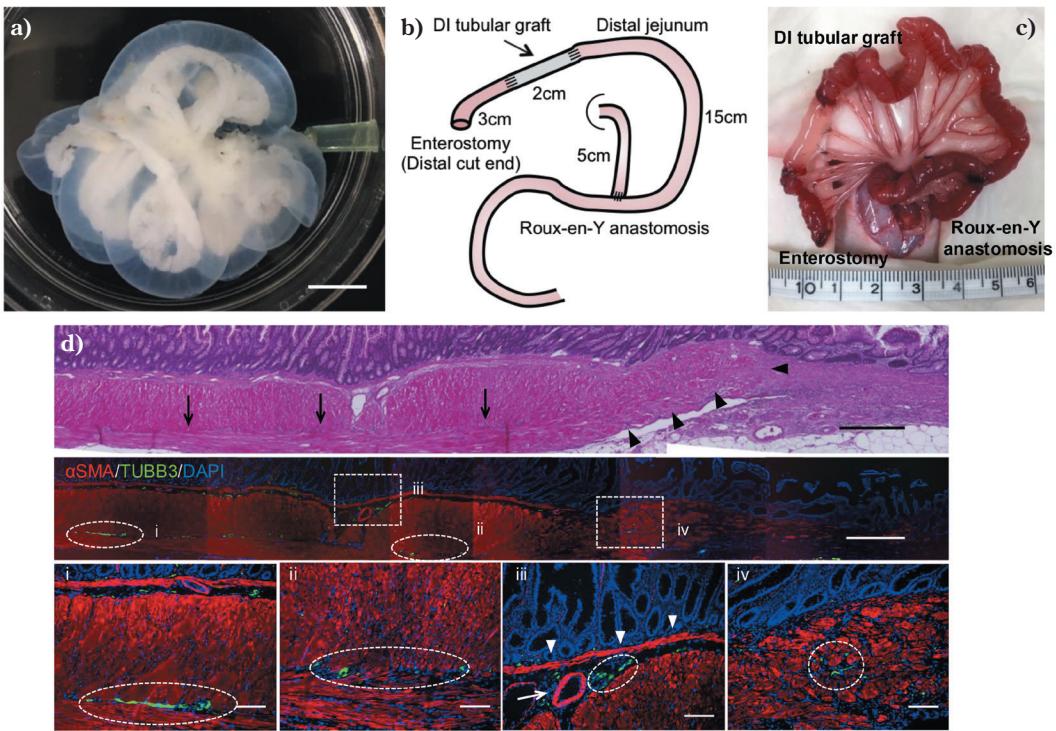


図2 脱細胞化小腸を用いた小腸再生(文献16より引用)

a) 脱細胞化された小腸、b) 脱細胞化小腸を同所性に端々吻合して移植するシェーマ。脱細胞化小腸の内腔にシリコンチューブをステントとして留置し、さらに食物が直接通過しないように小腸脚(Roux-en-Y吻合)を作製して人工肛門を造設した。DI: 脱細胞化小腸、c) 脱細胞化小腸の同所性移植の実際、d) 同所性移植後12週間後の組織像。脱細胞化小腸を足場に粘膜、粘膜下層、筋層、神経線維の再生がみられる。上段はHE染色、中段と下段は免疫染色で、赤色は α SMA(筋)、緑色はTUBB3(神経線維)、青はDAPI(核)を示している。黒矢印(→)は再生した縦走筋を、黒矢頭(►)は縦走筋が再生しておらず欠損している部分を示している。白矢印(⇒)は比較的大きな動脈を、白矢頭(▷)は筋層を示している。

DAPI, diamidino-2-phenylindole; DI, decellularized intestine; HE, hematoxylin and eosin; SMA, smooth muscle actin; TUBB, tubulin beta.

管内皮細胞のうち2種類までの同時再細胞化は成功しているが、3種全ての再細胞化は技術的問題により成功できていない。なお、前述の細胞源は全て初代培養、あるいはそれに類する細胞であるが、ヒトiPS細胞由来の内胚葉細胞をラット脱細胞化肝臓に再細胞化し、不十分ながらも肝機能を発現することに成功している(図1g)¹⁵。

4. 小腸の再生・人工小腸

小腸は肝臓とは異なり、その主要機能を担う細胞種を1つに特定することが難しい臓器である。小腸粘膜上皮細胞だけでは、糖類やアミノ酸、脂質などの栄養素を十分に吸収することはできず、血管内皮細胞やリンパ管上皮細胞だけでも消化吸収は成立しない。さらに、食物を輸送する蠕動運動には平滑筋とその制御を担う神経が不可欠である。これら多様な細胞群が有機的に立体構造を形成して初めて、小腸は効率的な消化吸収機能を発揮する。

しかし、脱細胞化小腸を全長にわたって再細胞化するには大きな技術的課題がある。小腸の血管系である腸間膜動脈や腸間膜静脈は細く、複雑に分岐しており、これらを通して各細胞種を粘膜層、粘膜下層、漿膜下層といった適切な部位

に分布させることは極めて困難である。この点は、肝臓の肝門部に太い門脈と胆管が存在し、門脈が全肝の血管内腔へ、胆管が肝実質腔へと直接通じている構造とは対照的である。

そこで我々は、再細胞化を行わず、脱細胞化小腸(図2a)をそのまま小腸欠損部に端々吻合する方法を検討した¹⁶。この場合、周囲の正常小腸組織が脱細胞化小腸を足場として自発的に再生してくることを期待した。脱細胞化小腸は物理的に脆弱であるため、内腔にシリコンチューブをステントとして留置して、さらに食物が直接通過しないように小腸脚を作製し、人工肛門とする工夫を加えた(図2b, c)。

その結果、脱細胞化小腸を移植してから12週間後には、ほぼ完全な粘膜上皮と筋層(内輪筋および外縦走筋)、血管構造、そして神経が再生していた(図2d)。経時的観察では、粘膜や筋層が脱細胞化小腸の両端から中央に向かって伸展する形で再生しており、周囲の正常小腸組織が足場を利用して自家再生したと考えられた。こうして再生した小腸は、わずかながら蠕動運動を示した。

5. 移植可能な臓器再生を目指して

以上のように、脱細胞化臓器は臓器再生の足場として極

めて有用な技術である。しかし、肝臓のような実質臓器と、小腸のような管腔臓器とでは、再生のアプローチは大きく異なる。必要とされる細胞の種類や数、血管構造、間質細胞の分布など、臓器ごとの解剖学的特徴が異なるため、再生の対象となる臓器に応じた工夫が不可欠である。

では、なぜわざわざ細胞成分を除去し、その後に再細胞化を行う必要があるのだろうか。脱細胞化臓器を足場として利用する利点は、大きく次の3点にまとめられる。

1) 本来の立体構造をそのまま利用できる

脱細胞化臓器に再細胞化することで、生体内で構築された立体構造を人工臓器として活用できる。特に移植を想定した場合、もとの脈管構造が保持されていることは、レシピエントとの吻合を容易にする点で大きな利点となる。

2) 必要な時期に作製可能

脱細胞化臓器自体は冷凍保存が困難だが、元となる臓器は冷凍保存が可能である。そのため、必要に応じて解凍後に脱細胞化処理を行うことで、望む時期に目的の臓器を得ることができる。

3) 免疫原性が低い

細胞外基質は免疫原性が極めて低く、移植後も拒絶反応の原因となりにくい¹⁷⁾。この点は、移植を前提とした臓器再生において特に重要である。

肝臓の再生を例にとると、異種動物由来(xenograft)や同種他個体由来(allograft)の脱細胞化肝臓を足場とし、自己由来(autograft)のiPS細胞から分化誘導した肝細胞、胆管細胞、血管内皮細胞などを再細胞化することで、免疫拒絶のリスクを最小限に抑えた人工肝臓の作製が可能になる。

また、小腸のように脱細胞化小腸そのものを移植し、宿主の細胞が足場を利用して自家再生する場合でも、同様に免疫拒絶反応の軽減が期待できる。

人工肝臓における課題としては、iPS細胞から肝細胞など機能的細胞への高効率な分化誘導と、大量培養を可能とする培養技術の確立が挙げられる。加えて、各細胞種を脱細胞化肝臓内に適切かつ均一に再配置するための再細胞化技術の開発も不可欠である。人工小腸において、実際に消化吸収機能を有するのかについては未検討である。課題は依然として多く残されているものの、脱細胞化技術を基盤とした臓器再生は、深刻なドナー問題を解決しうる革新的、かつ有望なアプローチであると考えられる。

利益相反の開示

石井隆道：【寄付講座等】医療法人錦秀会
その他の著者には規定されたCOIはない。

文 献

- 1) 石井隆道、福光 剣、小木曾聰：肝臓の再生医療～細胞移植から移植可能な人工臓器の作製へ。人工臓器 **49**: 146-9, 2020
- 2) Sawamoto N, Doi D, Nakanishi E, et al: Phase I/II trial of iPS-cell-derived dopaminergic cells for Parkinson's disease. Nature **641**: 971-7, 2025
- 3) Sakai D, Mandai M, Hirami Y, et al: Transplant of Induced Pluripotent Stem Cell-Derived Retinal Pigment Epithelium Strips for Macular Degeneration and Retinitis Pigmentosa. Ophthalmol Sci **5**: 100770, 2025
- 4) Kirkeby A, Main H, Carpenter M: Pluripotent stem-cell-derived therapies in clinical trial: A 2025 update. Cell Stem Cell **32**: 10-37, 2025
- 5) Vacanti JP, Langer R: Tissue engineering: the design and fabrication of living replacement devices for surgical reconstruction and transplantation. Lancet **354** Suppl 1: SI32-4, 1999
- 6) 福光 剣：ドナー不足解消に向けた移植可能な臓器作製. BIO Clinica **35**: 68-71, 2020
- 7) Uygun BE, Soto-Gutierrez A, Yagi H, et al: Organ reengineering through development of a transplantable recellularized liver graft using decellularized liver matrix. Nat Med **16**: 814-20, 2010
- 8) Soto-Gutierrez A, Zhang L, Medberry C, et al: A whole-organ regenerative medicine approach for liver replacement. Tissue Eng Part C Methods **17**: 677-86, 2011
- 9) Ott HC, Matthiesen TS, Goh SK, et al: Perfusion-decellularized matrix: using nature's platform to engineer a bioartificial heart. Nat Med **14**: 213-21, 2008
- 10) Ott HC, Clippinger B, Conrad C, et al: Regeneration and orthotopic transplantation of a bioartificial lung. Nat Med **16**: 927-33, 2010
- 11) Ogiso S, Yasuchika K, Fukumitsu K, et al: Efficient recellularisation of decellularised whole-liver grafts using biliary tree and foetal hepatocytes. Sci Rep **6**: 35887, 2016
- 12) Kojima H, Yasuchika K, Fukumitsu K, et al: Establishment of practical recellularized liver graft for blood perfusion using primary rat hepatocytes and liver sinusoidal endothelial cells. Am J Transplant **18**: 1351-59, 2018
- 13) Horie H, Oshima Y, Fukumitsu K, et al: Antithrombotic Revascularization Strategy of Bioengineered Liver Using a Biomimetic Polymer. Tissue Eng Part A **31**: 433-41, 2025
- 14) Tomofuji K, Fukumitsu K, Kondo J, et al: Liver ductal organoids reconstruct intrahepatic biliary trees in decellularized liver grafts. Biomaterials **287**: 121614, 2022
- 15) Minami T, Ishii T, Yasuchika K, et al: Novel hybrid three-dimensional artificial liver using human induced pluripotent stem cells and a rat decellularized liver scaffold. Regen Ther **10**: 127-33, 2019
- 16) Kojima H, Ishii T, Fukumitsu K, et al: In Vivo Regeneration of Tubular Small Intestine With Motility: A Novel Approach by Orthotopic Transplantation of Decellularized Scaffold. Transplantation **107**: 1955-64, 2023
- 17) Brown M, Li J, Moraes C, et al: Decellularized extracellular matrix: New promising and challenging biomaterials for regenerative medicine. Biomaterials **289**: 121786, 2022