

		移植に必要な数の注射筒に充填する。	
P.9 5.1 デザインの型	安全性評価のための臨床研究	<u>主に</u> 安全性評価のための臨床研究	第 32 回ヒト幹細胞審査委員会での指摘事項に従い修正した。
P.11	5.6.主要評価項目及び副次評価項目 5.6.1.主要評価項目 5.6.2.副次評価項目	【削除】	6.項との記載重複のため
P.14 7.2.1.被験者の観察・検査項目	3) 血液検査・尿検査 (3)検査項目 ② 遺伝学的検査 HLA 検索 (A、B、DR ローカス) (<u>スクリーニングのみ</u>)	3) 血液検査・尿検査 (3)検査項目 ② 遺伝学的検査 HLA 検索 (A、B、DR ローカス) (<u>前観察のみ</u>)	HLA 検索は評価に用いるデータであるため
P.17 7.2.2.ドナーの観察・検査項目	4)有害事象 (1)観察項目 <u>骨髄液</u> を採取してから骨髄液採取1週後の観察までに、ドナーに起きた有害事象を記録する。	4)有害事象 (1)観察項目 <u>血清</u> を採取してから骨髄液採取1週後の観察までに、ドナーに起きた有害事象を記録する。	誤記修正 (ドナーへの介入は血清採取が先に行われる)
P.17 7.2.2.ドナーの観察・検査項目	5)併用治療 (1)観察項目 <u>骨髄液</u> を採取してから骨髄液採取1週後の観察までに、ドナーに行われた併用治療を記録する。	5)併用治療 (1)観察項目 <u>血清</u> を採取してから骨髄液採取1週後の観察までに、ドナーに行われた併用治療を記録する。	誤記修正 (ドナーへの介入は血清採取が先に行われる)
P.18	6.1.1.有害事象の定義	8.2.有害事象の定義	記載場所の変更

<p>P.18 8.2.有害事象の定義</p>	<p>「有害事象」とは、被験者が治療を開始してから研究参加終了まで、及びドナーが骨髄液を採取してから骨髄液採取1週後の観察までに起きる、あらゆる好ましくない又は意図しない徴候（一般臨床検査値の異常変動を含む）、症状、または病気のことであり、プロトコル治療との因果関係の有無は問わない。</p>	<p>「有害事象」とは、被験者が治療を開始してから研究参加終了まで、及びドナーが血清を採取してから骨髄液採取 1 週後の観察までに起きる、あらゆる好ましくない又は意図しない徴候（一般臨床検査値の異常変動を含む）、症状、または病気のことであり、プロトコル治療との因果関係の有無は問わない。</p>	<p>誤記修正 (ドナーへの介入は血清採取が先に行われる)</p>
<p>P.19</p>	<p>6.1.2.有害事象の評価</p>	<p>8.3.有害事象の評価</p>	<p>記載場所の変更</p>
<p>P.19 8.3.有害事象の評価</p>	<p>臨床研究の実施中に観察された有害事象の重症度は Common Terminology Criteria for Adverse Events (CTC-AE Ver4.0 日本語版) に基づいて決定する。</p> <p><u>Grade 1 軽度の有害事象</u> 軽度；治療を要さない；症状がない画像所見異常/検査値異常</p> <p><u>Grade 2 中等度の有害事象</u> 最低限の治療/局所的治療/非侵襲的治療を要する</p> <p><u>Grade 3 高度の有害事象</u> 入院や侵襲的治療/IVR/輸血/治療的内視鏡/手術などを要する顕著な症状を有する</p> <p><u>Grade 4 生命を脅かす、または活動不能/動作不</u></p>	<p>臨床研究の実施中に観察された有害事象の重症度は Common Terminology Criteria for Adverse Events (CTC-AE Ver4.0 日本語版 2011 年 12 月 17 日版) に基づいて決定する。</p> <p><u>Grade 1 軽症；症状がない、または軽度の症状がある；臨床所見または検査所見のみ；治療を要さない</u></p> <p><u>Grade 2 中等症；最小限/局所的/非侵襲的治療を要する；年齢相応の身の回り以外の日常生活動作の制限</u></p> <p><u>Grade 3 重症または医学的に重大であるが、ただちに生命を脅かすものではない；入院または入院期間の延長を要する；活動不能/動作不能；身の回りの日常生活動作の制限</u></p> <p><u>Grade 4 生命を脅かす；緊急処置を要する</u></p>	<p>CTC-AE Ver4.0 日本語版の最新版に変更</p>

	<p><u>能となる有害事象</u></p> <p><u>急性で生命を脅かす代謝性/心血管系の合併症など。集中治療や緊急処置（緊急IVR/治療的内視鏡/手術など）を要する。</u></p> <p>Grade 5 有害事象による死亡</p>	Grade 5 有害事象による死亡	
p.25 15.3.解析 項目・方法	<p>検定を行う場合にはすべて両側とし、有意水準は0.05とする。</p>	【削除】	第32回ヒト幹細胞審査委員会での指摘事項に従い修正した。
P.29 24.臨床研究 実施体制	<p>大阪大学医学部附属病院</p> <p>未来医療センター</p>	<p>大阪大学医学部附属病院</p> <p><u>未来医療開発部</u></p> <p>未来医療センター</p>	<p>組織改編のため</p> <p>(24.項に15か所該当)</p>
P.29 24.臨床研究 実施体制	<p>2)研究分担者</p> <p>梅垣智子</p>	【削除】	人事異動のため
P.29 24.臨床研究 実施体制	<p>3)研究協力者</p> <p>(1)大阪大学医学部附属病院未来医療センター協力者</p>	<p>3)研究協力者</p> <p>(1)大阪大学医学部附属病院未来医療開発部未来医療センター協力者</p>	<p>誤字修正</p> <p>組織改編のため</p>
P.29 24.臨床研究 実施体制	<p><u>岡田 潔</u></p>	<p><u>本田 博嗣</u></p>	人事異動のため

P.29 24.臨床研究実施体制	<u>笹井 雅夫</u>		<u>森永 学</u>		人事異動のため
P.29 24.臨床研究実施体制	<u>小巻 正泰</u>		<u>砂山 陽子</u>		人事異動のため
P.29 24.臨床研究実施体制			<u>島本 知美</u>		人事異動のため
P.29 24.臨床研究実施体制	<u>墨田 梨絵</u>		<u>渡邊 貴恵</u>		人事異動のため
P.29 24.臨床研究実施体制	<u>山本 紘司</u>	大阪大学医学部附属病院 <u>臨床試験部</u> 特任講師 06-6879-5111	<u>山本 紘司</u>	大阪大学医学部附属病院 <u>未来医療開発部</u> <u>データセンター</u> 特任講師 06-6879-6560	組織改編のため
P.29 24.臨床研究実施体制	<u>棚原 憲子</u>	大阪大学医学部附属病院 <u>未来医療センター</u>	<u>棚原 憲子</u>	大阪大学医学部附属病院 <u>未来医療開発部</u> <u>データセンター</u>	組織改編のため

制		データマネージャー 06-6879-6560 Fax:06-6879-6536			データマネージャー 06-6879-6560 Fax:06-6879-6536	
P.29 24.臨床研 究実施体 制	4)データセンター 大阪大学医学部附属病院 未来医療センター データセンター		4)データセンター 大阪大学医学部附属病院 未来医療開発部 データセンター		組織改編のため	

表皮水疱症患者を対象とした骨髄間葉系幹細胞移植臨床研究

試験物概要書

1. 試験物名

骨髄間葉系幹細胞

2. 規格

- 1) 細胞総数： 1.0×10^7 個以上
- 2) 純度：CD105⁺、CD34⁺細胞として50%以上
- 3) 細胞生存率：トリパンブルー陰性細胞 70%以上
- 4) 感染症検査（移植3日前）
 - (1) 無菌試験：陰性
 - (2) マイコプラズマ否定試験：陰性
 - (3) エンドトキシン試験：1.0EU/mL未満

3. 容器、包装等

骨髄間葉系幹細胞を2.5mLの生理食塩水に懸濁し、インシュリン用注射器に充填し、ラベルを貼付する。注射器はジッパー付きのビニール袋に梱包し、さらにラベルを貼付する。

4. 試験物の原材料、製造方法等

- 1) 原材料
被験者と性の異なる親又は兄弟姉妹のドナーより採取した骨髄間葉系幹細胞
- 2) 製造方法
 - (1) ドナーからの血清の採取
 - ① 大阪大学医学部附属病院輸血部において、ドナーの静脈より採血バッグにて約400mLの末梢血を採取する。
 - ② 採血バッグごと遠心することにより血清を分離する。
 - ③ 血清は別の採血バッグに回収する。
 - ④ 採血バッグにラベルを貼付し、未来医療センターCell Processing Center (CPC)へ搬送する。
 - ⑤ その日の内に培養に使用する場合は4℃の冷蔵庫に保管する。その日の内に培養に使用しない場合は血清を採血バッグのまま-20℃のフリーザーに保存する。
 - (2) ドナーからの骨髄液採取
 - ① 未来医療センター治療区手術室において、局所麻酔下、ドナー腸骨より骨髄穿刺針を用いて骨髄液採取を行う。
 - ② 1回の吸引あたり約2~5mLの骨髄液を吸引し、滅菌採血管に回収する。合計約20mLの骨髄液を回収する。
 - ③ 採血バッグにラベルを貼付し、専用輸送容器に入れて未来医療センターCPCへ搬送する。
 - (3) ドナー骨髄液から骨髄間葉系幹細胞の培養
CPI（セルプロセッシングアイソレーター）内で無菌的に処理する。
 - ① ドナーの血清を室温に暖める。

- ② α MEM 500mLに抗生剤（penicillin/streptomycin）とドナー血清88mLを混和し、培養用基本培地を調製する。
- ③ ドナー骨髄液を培養用基本培地と混合し、フラスコ6本に播種する。
- ④ 培養開始3日以内に上清及び浮遊細胞を吸引除去し、2回の洗浄の後新たに10 mLの基本培地を加える。
- ⑤ 4日を超えない範囲で2~3回/週の間隔で④と同様の方法で培地交換を行う。
- ⑥ Sub-confluentになった場合はトリプシン添加により細胞を剥離し、③と同様の方法により継代を行う。
- ⑦ 継代時に細胞数を計測し、必要細胞数が得られないと判断された場合はもう一度継代を繰り返す。なお、培養期間は20日 \pm 10日間とする。
- ⑧ 移植の3日前に、細胞培養上清を吸引し、その一部（10mL）を感染症検査のために品質管理責任者に提出する。
- ⑨ 移植の前日までに被験者から5mLの血液を採取し、血清分離用の試験管で血清分離を行い、血清を-20℃の冷蔵庫で保管する。
- ⑩ 移植の当日に、細胞培養上清を吸引し、その一部（10mL）を感染症検査のために品質管理責任者に提出する。
- ⑪ 移植当日、フラスコ1つを取り出し、トリプシンにより細胞を剥離し、試験移植のために細胞の一部（約100個分）を生理食塩水100 μ Lに懸濁し、注射筒に充填する。残りの細胞を用いて細胞数、細胞生存率、純度（fluorescence-activated cell sorter（FACS）解析）の検査を行い、細胞が基準（総細胞数 1×10^7 個以上、生細胞数70%以上、 $CD105^+ CD34^-$ 細胞が50%以上）を満たすことを確認する。この際、規格を満たさない場合は培養細胞を凍結保存し、再度ドナーの血清及び骨髄液の採取を行い、同様の工程を経て骨髄間葉系幹細胞の培養を行う。規格を満たすことが確認された場合は試験移植を行う。尚、試験移植でアナフィラキシー反応が確認された場合は本移植を中止する。
- ⑫ 細胞が規格を満たし、試験移植で問題が生じていないことを確認した上で、残りのフラスコを取り出し、トリプシンで剥離した骨髄間葉系幹細胞を、PBSで2回洗浄し、細胞数を再度計測する。
- ⑬ 培養骨髄間葉系幹細胞を、 0.5×10^6 個/250 μ Lの濃度になるように、0.5%自己血清加生理食塩水に懸濁し、1mL注射筒に充填する。移植に必要な数の注射筒に充填する。
- ⑭ 細胞懸濁液を充填したそれぞれの注射等にラベルを貼付する。ジッパー付きのビニール袋に梱包し、それぞれのビニール袋にラベルを貼付する。

5. 試験物の安全性、有効性等

5.1. 非臨床試験

表皮水疱症は、皮膚基底膜レベルで表皮幹細胞を含む表皮全層が剥離する疾患である（図1）。そのため、臨床上観察される皮膚再生・恒常性維持を説明するためには幹細胞補充メカニズムの存在が予想される。我々は、骨髄から血流を介した皮膚幹/前駆細胞供給による

表皮再生維持メカニズムの存在を予想し、GFP 骨髄移植マウスを用いてその可能性を検討した。

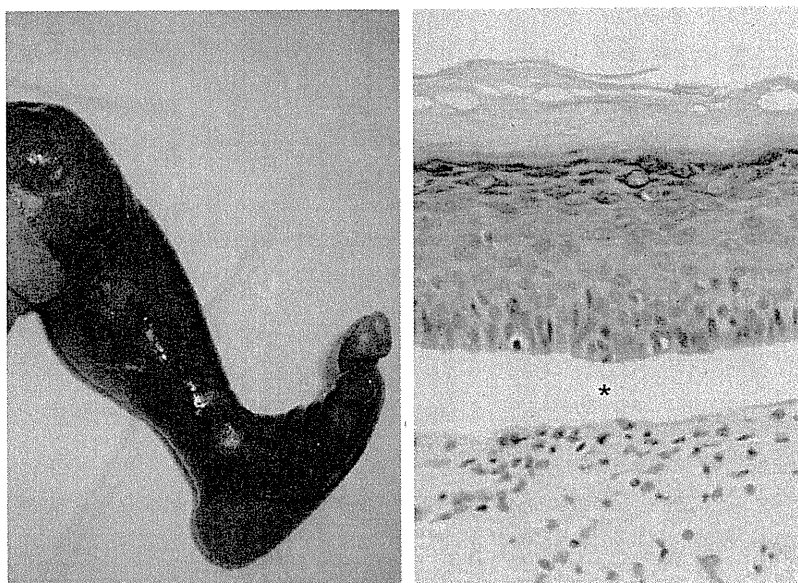


図 1：表皮水疱症の臨床像（左）およびその皮膚組織像（右）

5.1.1. マウスモデルを用いた骨髄由来細胞による表皮水疱症皮膚再生機序の検討

1) 方法

10 週齢雌マウス (C57B16) に致死量 (10 Gy) の放射線を照射し、直後に GFP (green fluorescent protein) マウス (10 週齢雄、C57B16) から採取した骨髄細胞 (1×10^6 個/0.5mL PBS) を尾静脈より移植し、GFP 骨髄移植マウスを作成した。移植 6 週後、GFP 骨髄移植マウス背部に表皮水疱症モデルマウス (EB-mouse: VII 型コラーゲンノックアウトマウス) の皮膚を移植し、剥離表皮の再生に寄与する骨髄由来表皮細胞の存在及び表皮の再生機序を検討した (図 2)。

2) 結果

(1) 表皮水疱症マウス皮膚移植 4 週後に蛍光実体顕微鏡を用いて植皮部皮膚を観察した結果、移植部皮膚領域に限定して極めて強い GFP 緑色蛍光の集積が観察された (図 3)。

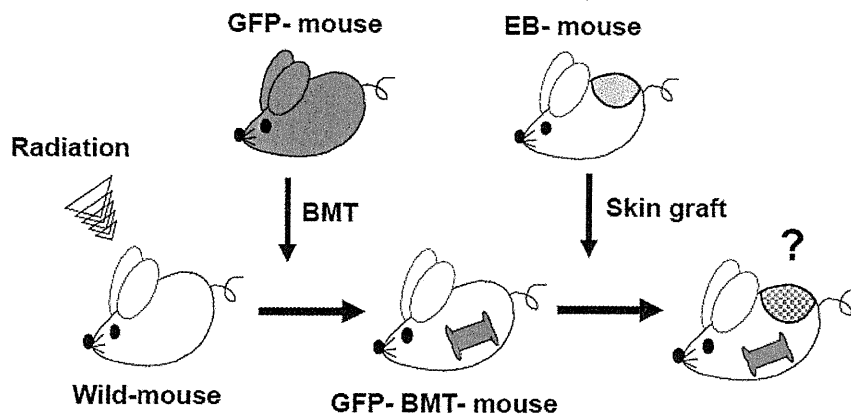


図 2: GFP 骨髄移植マウス背部皮膚への表皮水疱症マウス皮膚移植による骨髄由来表皮再生機序評価

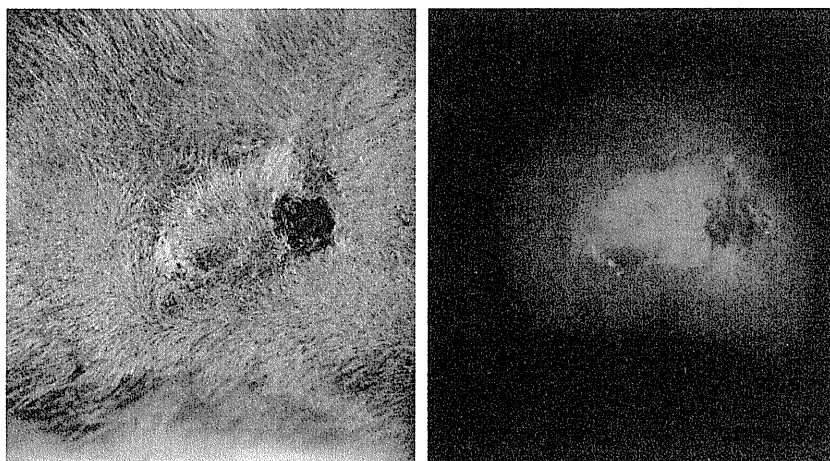


図 3: 表皮水疱症マウス皮膚植皮部に一致した骨髄細胞由来 GFP 蛍光の集積

(2) 共焦点レーザー顕微鏡により GFP 陽性骨髄由来細胞の皮膚内局在を組織学的に検討した結果、真皮血管周囲のみならず、再生表皮内に多数の骨髄由来 GFP 陽性細胞が存在することが確認された (図 4)。表皮内 GFP 陽性骨髄由来細胞はケラチン 5 陽性 (抗ケラチン 5 抗体による赤色蛍光と GFP 蛍光の共存により黄色蛍光を発色している) で、表皮細胞に分化していることが確認された (図 4)。さらに、植皮部皮膚から回収した表皮細胞の培養により、GFP 陽性かつケラチン 5 陽性 (赤色蛍光) の骨髄由来表皮角化細胞の存在が確認された (図 5)。これらの結果から、骨髄は表皮水疱症皮膚の剥離表皮再生時に骨髄由来表皮細胞を供給していることが明らかとなった。

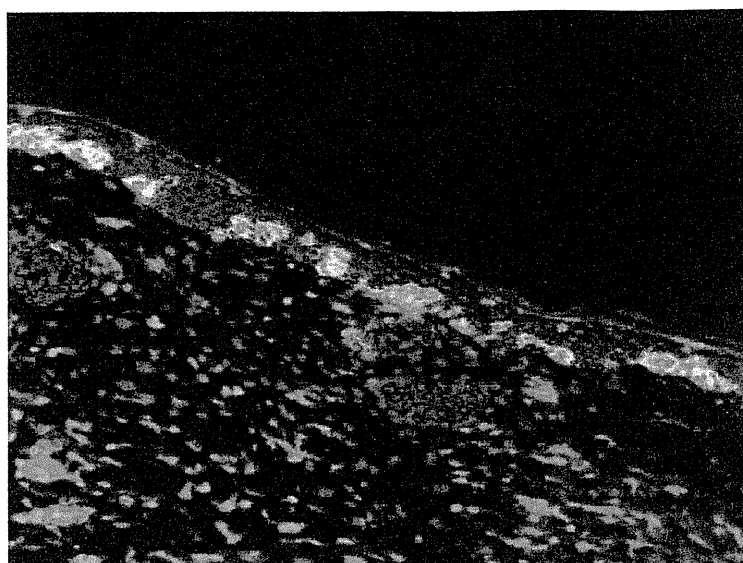


図 4: GFP 骨髄移植マウス背部に移植した表皮水疱症マウス皮膚の共焦点レーザー顕微鏡像

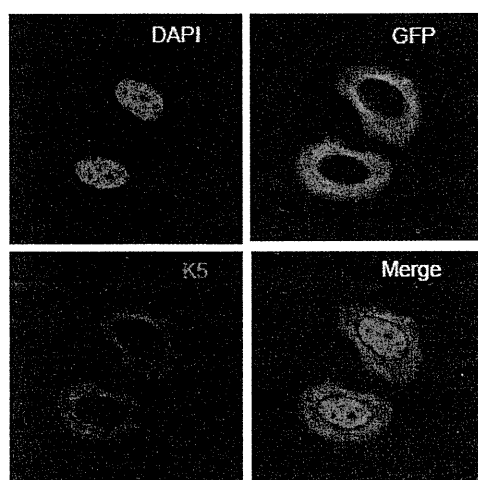


図 5: 表皮水疱症マウス皮膚の再生表皮から得られた骨髄由来培養表皮細胞

(3) 植皮部皮膚由来表皮細胞のフローサイトメトリー解析により、移植後 4 週目の表皮水疱症マウス皮膚内に、10%前後のケラチン 5 陽性かつ GFP 陽性の、骨髄由来表皮角化細胞の存在が確認された (図 6)。

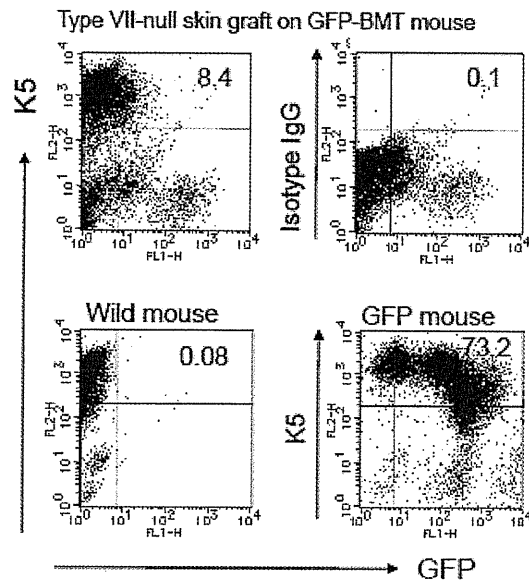


図 6: GFP 骨髄移植マウス背部皮膚に移植した表皮水疱症マウス皮膚表皮細胞のフローサイトメトリー解析

(4) 骨髄由来表皮角化細胞による再生皮膚基底膜領域への VII 型コラーゲン供給の有無について、GFP 陽性骨髄由来角化細胞が存在する植皮部皮膚基底膜領域を免疫組織学的に検討した結果、GFP 陽性骨髄由来角化細胞の局在とほぼ一致して、欠損していた VII 型コラーゲンが供給されていることが確認された(図 7)。

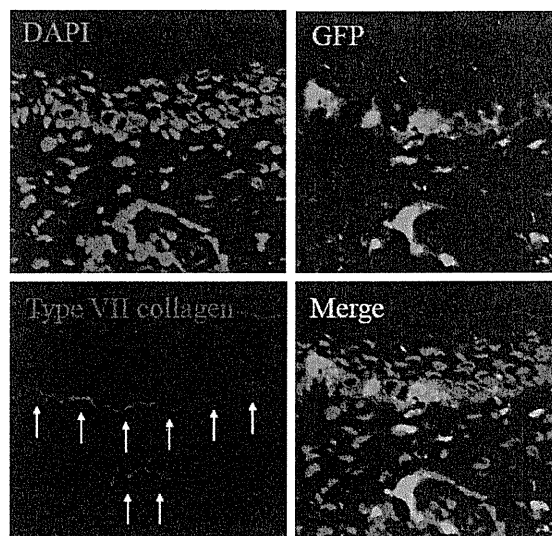


図 7: 骨髄由来表皮細胞による皮膚基底膜部への VII 型コラーゲン供給

3) 結論

以上の結果から、表皮水疱症皮膚再生機序に骨髄由来表皮細胞が寄与すること、

骨髄由来表皮細胞は皮膚基底膜部に VII 型コラーゲンを供給し得ることが明らかとなった。

5.1.2. マウスモデルを用いた骨髄由来表皮細胞の骨髄内起源探索

1) 方法

表皮水疱症皮膚に骨髄由来角化細胞を供給している骨髄内細胞起源を探索するために、新生仔マウス皮膚を生理食塩水 1mL に 24 時間浸した溶液をシリコンチューブ(長さ: 8mm、内径: 3mm) に充填後、GFP 骨髄移植マウス背部皮下に移植し、表皮水疱症における水疱部と類似した溶液環境を作成した。移植 7 週間後にシリコンチューブを回収し、チューブ内溶液中に集積した GFP 陽性骨髄由来細胞の性質を検討した。

2) 結果

(1) 回収したシリコンチューブ内に多数の GFP 陽性骨髄由来細胞が存在することが明らかとなった(図 8)。また、チューブ内に集積した骨髄由来細胞(tube-entrapped cells: TECs) をプラスチックシャーレ上で培養した結果、付着性増殖細胞は、殆どすべてが GFP 陽性骨髄由来細胞であることが確認された(図 8)。

(2) 移植チューブより回収した GFP 骨髄由来付着細胞の培養上清中に新生マウス皮膚抽出液を添加した結果、GFP 陽性/ケラチン 5 陽性細胞の表皮角化細胞への分化が確認された。すなわち、表皮角化細胞への分化能を有する骨髄由来表皮前駆細胞が皮膚抽出液を含むチューブ内に集積していることが確認された(図 9)。

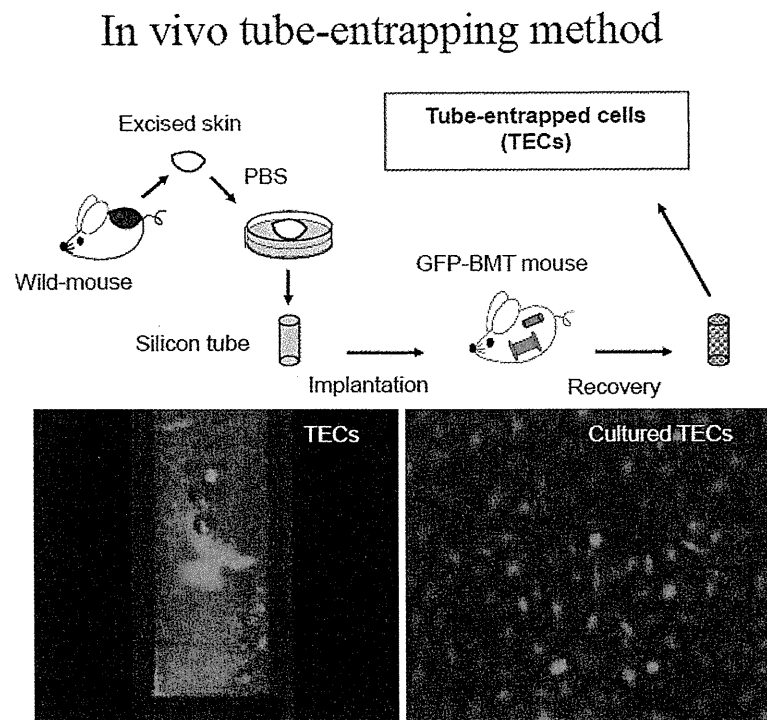


図 8 : 新生仔マウス皮膚抽出液含有チューブ内に集積する GFP 骨髄由来付着細胞

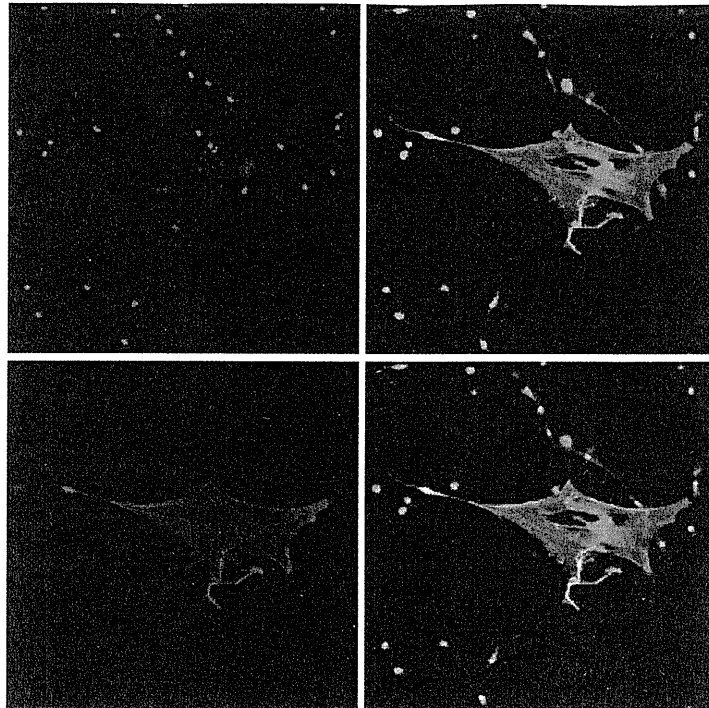


図9：TECs中に存在する骨髄由来培養表皮前駆細胞

(3) チューブ内に動員された細胞分画をフローサイトメトリーにより検討した結果、チューブ内細胞の約20%が間葉系幹細胞のマーカであるPDGFR α 陽性骨髄由来細胞である事が認められた(図10)。一方、骨髄内細胞(bone marrow cells: BMCs)ではPDGFR α 陽性細胞は0.1%未満であった(図10)。これらの結果から、チューブ内に遊走した骨髄由来表皮前駆細胞が骨髄間葉系幹細胞由来である可能性を仮定した。

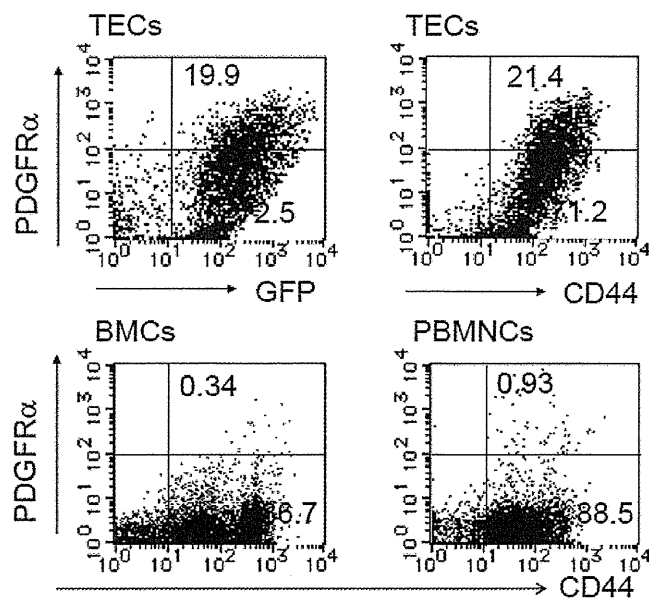


図10：TECsのフローサイトメトリー解析結果

(4) PDGFR α 陽性骨髄細胞が骨髄由来表皮細胞の起源であることを確認する目的で、PDGFR α 陽性/GFP 陽性骨髄細胞と PDGFR α 陰性/GFP 陰性骨髄細胞のキメラ骨髄細胞を移植した P+G+/P-G-骨髄移植マウスを作成し、その背部に表皮水疱症マウス皮膚を移植した。その結果、再生した表皮内に PDGFR α 陽性骨髄細胞由来である GFP 陽性表皮細胞が多数存在することが示され、骨髄由来表皮細胞は骨髄内 PDGFR α 陽性細胞を起源とすることが明らかとなった (図 11)。

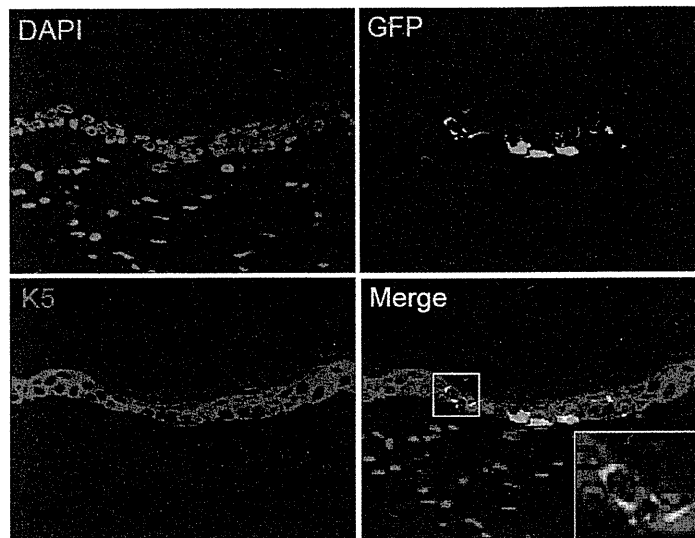


図 11: 表皮水疱症マウス再生表皮内の PDGFR α 陽性/GFP 陽性骨髄細胞由来表皮細胞の同定

3) 結論

以上の結果から、骨髄内 PDGFR α 陽性細胞が骨髄由来表皮細胞の起源であることが明らかとなった。

5.1.3. マウスを用いた骨髄内 PDGFR α 陽性細胞の性質検討

1) 方法

PDGFR α 遺伝子のプロモーター下流にヒストン H2B 遺伝子と GFP 遺伝子の融合遺伝子 (H2B-GFP) をノックインした PDGFR α -H2BGFP マウスから骨髄細胞を採取し、核内 GFP 陽性細胞の性質について、フローサイトメトリーにより解析した。また、骨髄内 PDGFR α 陽性細胞を培養し、間葉系細胞および表皮細胞への分化能を検討した。

2) 結果

(1) 骨髄内 PDGFR α 陽性細胞は、血球系分化マーカーである Lineage および未分化造血幹細胞マーカーである c-kit がいずれも陰性であることが明らかとなり、造血系細胞では無いことが示された (図 12)。

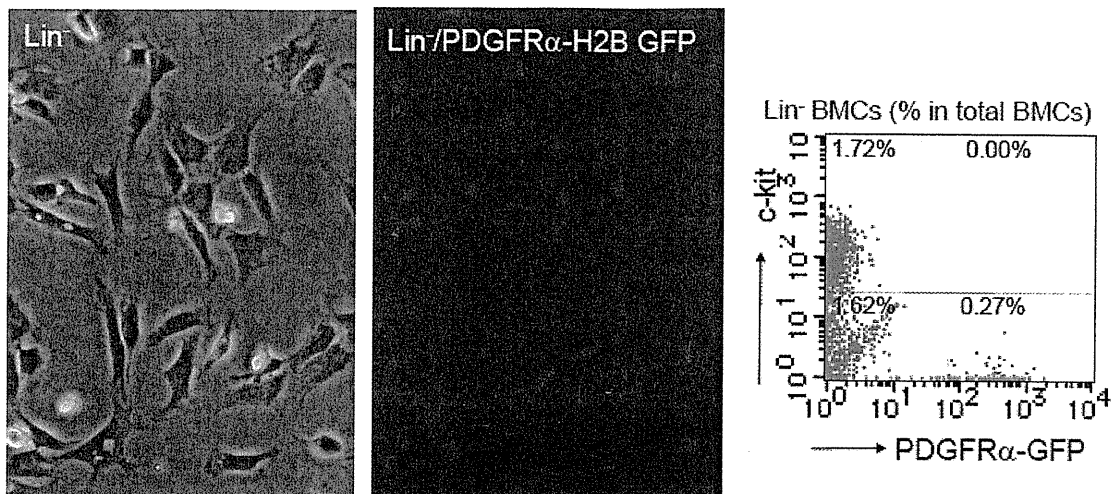


図 12 : PDGFR α -H2BGFP マウス由来骨髄細胞の培養およびフローサイトメトリー解析

(2) 骨髄内 Lin⁻/PDGFR α ⁺陽性細胞は骨芽細胞や脂肪細胞への分化能を有することが明らかとなり、間葉系幹細胞としての性質を有することが示された (図 13)。さらに、表皮細胞分化誘導培地で培養を行った結果、ケラチン 5 陽性細胞の出現を確認し、骨髄内 PDGFR α 陽性細胞は間葉系のみならず外胚葉由来である表皮角化細胞へと分化し得る、多能性幹細胞であることが示唆された (図 14)。

Lin⁻/PDGFR α ⁺ bone marrow cells

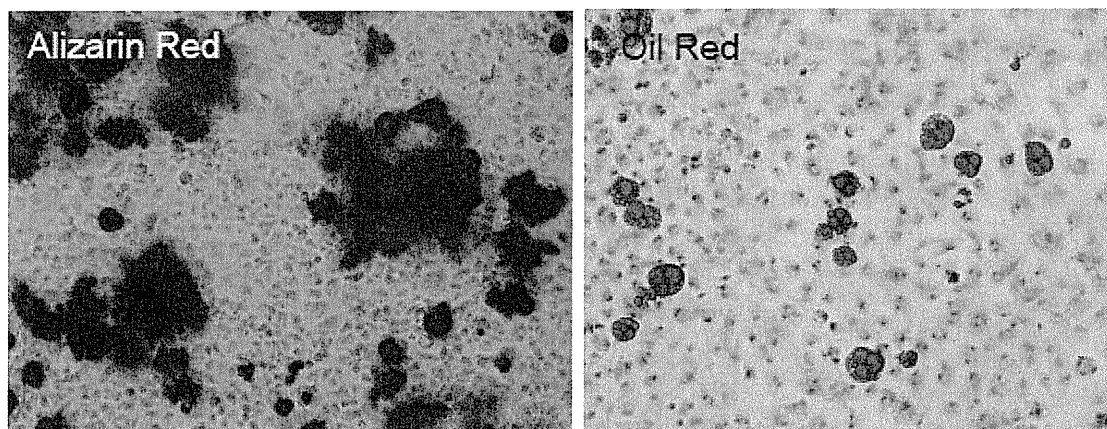


図 13 : PDGFR α -H2BGFP マウス由来 Lin⁻/PDGFR α ⁺骨髄細胞の間葉系細胞への多分化能。
(左 : alizarin red 陽性骨芽細胞、右 : oil red 陽性脂肪細胞)、

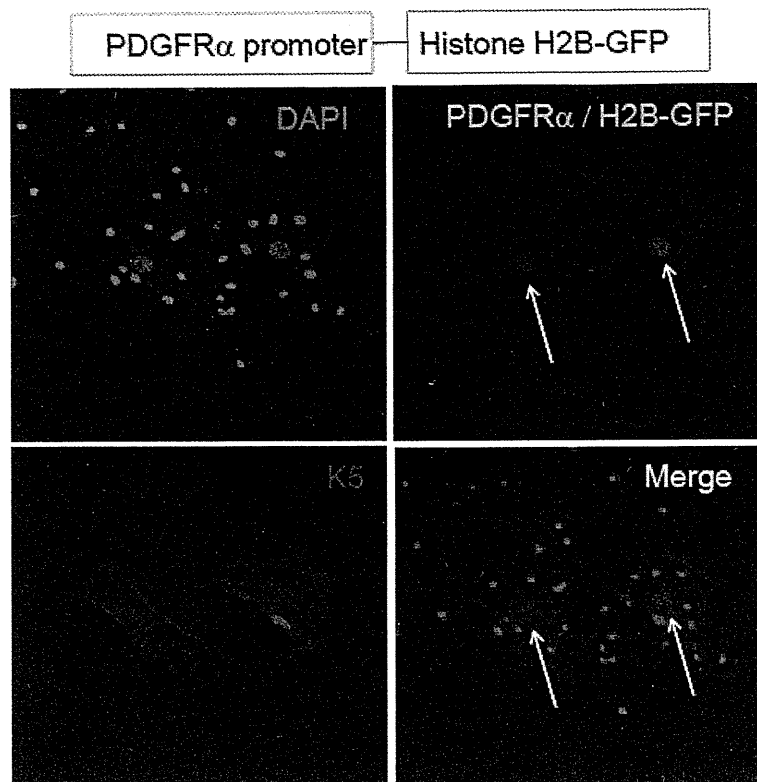


図 13 : PDGFR α -H2BGFP マウス由来 Lin⁻/PDGFR α ⁺骨髄細胞の表皮細胞分化能

3) 結論

以上の結果から、骨髄内 Lin⁻/PDGFR α ⁺骨髄間葉系幹細胞が表皮細胞の起源であることが明らかとなった。

5.1.4 表皮水疱症マウス皮膚への骨髄間葉系幹細胞移植による治療効果検討

(Alexeev V and Uitto J *et al.* Cytotherapy 2011;13:30-45)

上述した研究結果から、骨髄間葉系幹細胞を表皮水疱症皮膚に移植することにより、移植間葉系幹細胞が線維芽細胞や表皮細胞に分化し、皮膚基底膜領域に欠損している接着分子を供給して治療効果を発揮することが予想された。我々の共同研究者で、栄養障害型表皮水疱症モデルマウスである VII 型コラーゲンノックアウトマウスを開発して我々に提供してくれた米国フィラデルフィア、ジェファーソン医科大学皮膚科主任教授の Jouni Uitto 博士は、我々の研究成果を基にして、VII 型コラーゲンノックアウトマウス背部にマウス間葉系幹細胞 (5×10^5 個) を皮下移植し、その治療効果を検討した。その結果、移植した間葉系幹細胞は皮膚に生着し、基底膜部位に欠損していた VII 型コラーゲンを供給し、皮膚の病態を著明に改善することを明らかにした (図 14)。

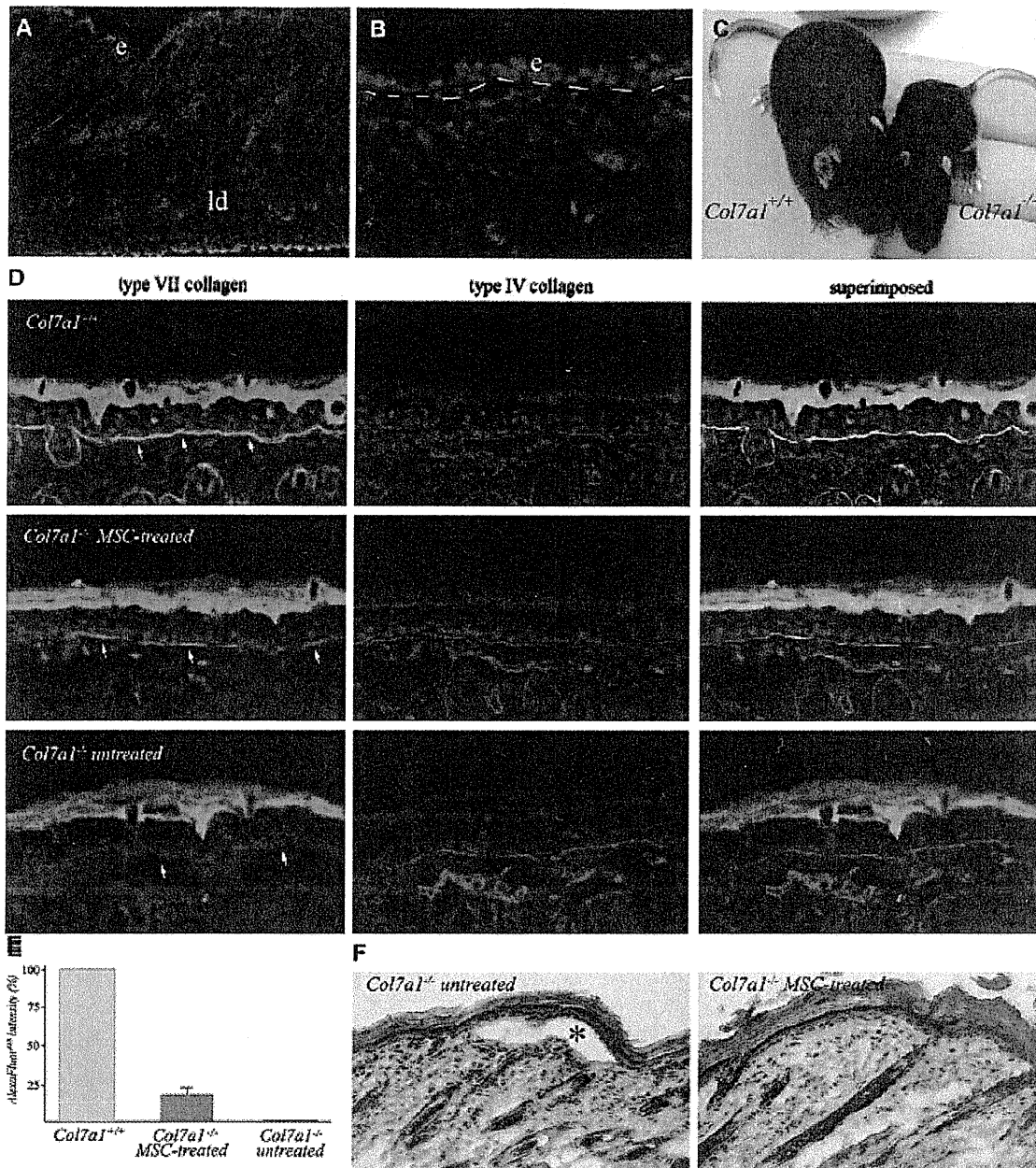


図 14：栄養障害型表皮水疱症モデルマウス皮膚への間葉系幹細胞移植治療効果

A、B：皮下移植した間葉系幹細胞（赤色蛍光）の生着、C：移植後のマウス（左；野生型、右；VII型コラーゲンノックアウトマウス）、D：間葉系幹細胞移植治療効果（上段；野生型マウス皮膚、中段；間葉系幹細胞移植後のVII型コラーゲンノックアウトマウス、下段；未治療のVII型コラーゲンノックアウトマウス、左列；VII型コラーゲン、中列；IV型コラーゲン、右列；Merge）、E：基底膜部のVII型コラーゲン発現量定量（左；野生型100%、中；骨髄間葉系幹細胞移植後VII型コラーゲンノックアウトマウス20%、右；未治療VII型コラーゲンノックアウトマウス0%）、F：骨髄間葉系幹細胞移植による表皮水疱症マウス皮膚水疱形成抑制（左；移植前、右；移植後、*水疱）

5.1.5 非臨床試験のまとめ

上述した基礎研究により、骨髄内 Lin⁻/PDGFR α ⁺/c-kit⁻ 細胞は造血幹細胞とは独立して骨髄内に間葉系幹細胞として存在し、表皮水疱症における皮膚損傷に応答して骨髄内から流血中へと動員され、表皮剥離部で角化細胞へと分化して表皮再生に寄与していることが明らかとなった。これらの結果を基に骨髄間葉系幹細胞 (5x10⁵ 個) を栄養障害型表皮水疱症モデルマウス (VII 型コラーゲン欠損マウス) 皮下に移植した結果、移植間葉系幹細胞が皮膚構成細胞に分化して基底膜部に VII 型コラーゲンを供給し、表皮水疱症の病態を改善することが明らかとなった。

5.2. 臨床成績

5.2.1. 2 例の劣性栄養障害型表皮水疱症患者に対する同種間葉系幹細胞皮内投与による VII 型コラーゲンの補充と慢性潰瘍の再上皮化

(Conget P, Rodriguez F, *et al.* Cytotherapy 2010;12:429-431)

VII 型コラーゲンが完全欠損した劣性栄養障害型表皮水疱症患者に培養他家骨髄細胞由来間葉系幹細胞を移植し、治療効果が得られることを確認した。

詳細を以下に示す。

1) 対象患者

- 1 例目：25 歳の女性
- 2 例目：13 歳の男性

2) 方法

背部の健常部皮膚と四肢の慢性創傷周囲の潰瘍部皮膚に対し、0.5×10⁶ 個の間葉系幹細胞 (治療部) とコントロールとして賦形剤 (コントロール部) を皮内投与した。

間葉系幹細胞は、非血縁者の成人健常人女性の骨髄から採取した。

3) 結果

1 例目での移植 1 週後のコントロール部では水疱の形成が認められた。免疫組織化学検査による VII 型コラーゲンの発現はほとんどなく、ケラチン生成細胞と線維芽細胞の細胞質が染色されていた。一方、治療部では連続した真皮-表皮結合が認められ、免疫組織学検査によって基底膜部位が認められた。

治療部において移植 1 週間後から創傷の再上皮化が認められ、12 週間にはほぼ治癒した。再生された表皮は真皮と強固に結合し、痒みや機械的応力による水疱形成を起さず、移植 4 カ月後まで治療効果が持続していた。一方、コントロール部では創傷の治癒は認められなかった。

本試験を通じて、急性の有害事象はみられなかった。

2 例目においても、1 例目と同様の結果が得られた。

4) 考察

同種間葉系幹細胞を皮内投与することにより、真皮-上皮結合部の VII 型コラーゲンの補充、水疱形成の防止、創傷治癒の改善が認められた。また、この治療による急性の有害事象は認められず、安全に行えるものと考えられる。