

allogeneic cord blood and PBSCs intended for hematopoietic reconstitution”が発出され、生物製としての申請・承認審査に向けた取り組みが開始された。2003年には臍帯血の科学的問題点を検討するFDAの諮問委員会が開催、2007年に生物製剤申請に必要な要件のガイダンス案である”Draft Guidance on BLA requirements published and comments gathered”が発出され、2009年に”Guidance for Industry: Minimally Manipulated, Unrelated Allogeneic Placental/Umbilical Cord Blood Intended for Hematopoietic Reconstitution for Specified Indications”が発出されFDAとしての考え方が公式にアナウンスされた。これだけの長期間の準備がなされ、2011年に”INDs or BLAs required for distribution in US of allogeneic unrelated cord blood after October 20, 2011”が発出され、生物製剤としての申請・承認としての必要性が確立された。このような経過を経て2011年11月にNew York Blood Centerの臍帯血が”HemaCord”の商品名で生物製剤として承認された。New York Blood Centerでは、容量を調製しないMethod 1、容量を25mLに統一したMethod 2、BioArchiveを用いたMethod 3、ThermoGenesisを用いたMethod 4として製剤としての変遷をしている。特記すべき事は、臨床データとしては、New York Blood Centerから出庫された臍帯血による移植データをこれらのMethodによる違いは考慮せずに一括データとして取り扱われていることが挙げられる。また、製剤としては臍帯血1ユニット毎に含まれている有核細胞数・CD34陽性

細胞数が異なるという規格として統一されてはいない点も医薬品とは異なる。そのため、添付文書では1回の臍帯血移植に必要とされる細胞数を体重当たりで下回る場合には複数臍帯血が用いられることも記載されている。臍帯血移植が普及し、それに合わせる形で承認され、添付文書も作成されたことに起因するが、今後の細胞製剤の考え方の1つの形となる。

バンキングあるいは製剤化を考える場合には品質保証をどのようにするのかは最も重要な検討課題の1つである。”Guidance for Industry: Minimally Manipulated, Unrelated Allogeneic Placental/Umbilical Cord Blood Intended for Hematopoietic Reconstitution for Specified Indications”は特に臍帯血の品質保証に関するFDAの考え方が記載され、本邦でも頻回に引用されている。しかし、この内容は、法的拘束力を有するCode of Federal Regulations (CFR 日本の省令に相当)が根拠として記載されている項目とそうではない項目から成り立っている。CFRでは提供者のHIV-type 1, HIV-type-2, HBV, HCV, Treponema pallidumが、Donors of viable, leukocyte-rich cells or tissueではHTLV1, HTLV2の検査が必要とされており、これらが上記ガイダンスでも用いられている。臍帯血に関連した有核細胞数、生細胞数、CD34陽性細胞数等はガイドラインで追加された項目である。FDA審査官の審査報告書ではNew York Blood Center独自の検査項目も記載されており、ドナースクリーニングテスト、HLAタイピング、Colony Forming Unitとそのサンプルの由来が挙げられているが、サンプルの由来に関して

は、他の臍帯血バンクとの相違も見受けられる。細胞の特性を考慮した検査項目を独自に設定していく必要があるが、この検査項目については同じカテゴリーの細胞であっても、必ずしも製剤によって検査項目が全て同一である必要性はなく、それぞれの施設（あるいは製剤）が根拠をもって定めるべきであることも意味している。

非臨床試験の実施項目に関しては、FDA と NIH の研究者を対象とした合同ミーティングである”Pluripotent Stem Cells in Translation: Preclinical Considerations”に出席して情報を収集した。そこでは、実際の非臨床試験検討の際には、case by case approach とならざるをえないことを FDA も認識していること、規定の動物モデルは存在しておらず、動物実験が実施できない、あるいはその結果をそのまま当てはめることができないことが多く、十分な検討が必要であることが明瞭に示された。その上で、「Large animal model, humanized model の検討が望ましいが、コスト、実現性を考え mouse, rat 等でどの程度検討できるか非臨床試験実施前に考慮すべき」、「考慮すべき点は、Mechanism of Action, がん化リスク, 安全性のエンドポイント, 移植細胞の寿命・活性期間, 移植細胞の経年変化, ホストへの影響、であること」、「げっ歯類では異物を埋め込むと fibrosarcoma が発生するので腫による差を考慮すること」等の留意事項を確認した。また、間葉系幹細胞の留意点として「IFN γ 等の添加によって up regulate (TGF β 等が)されるように、他の細胞と異なる性質を添加物によっては示すこと」、「allo-であっても抗原提示性が低い（臨床上問題ない補ほど）が、IFN γ によ

って MHC-II が up regulate される」の情報入手した。

規制当局により承認された生物製剤だけではなく、バンキングの動きは世界各国で進み始めている。インドの Reliance Life Science 社は臍帯からの間葉系幹細胞のバンキング事業を展開しているが、その規格決定・品質管理に関する論文も発表している (*Stem Cells International vol. 2011 8*)。保存細胞数を確保するために、1 継体で Master Cell Bank を作成し、そこから必要細胞数を確保する目的で Working Cell Bank を作成する概念も取り入れている。また、品質保証としては細胞の特性として「CD45, CD73, CD105, SSEA-4, HLA-DR, HLA-ABC, CD31, CD14, CD44, CD29, VWF」を測定し、細胞の凍結保存の安定性試験として凍結前、凍結後 1 ヶ月、6 ヶ月、1 年、2 年、3 年の生存細胞と細胞特性の比較、及び 8 継体の核型の確認を実施していた。また、間葉系幹細胞のバンキングに際して、各体性幹細胞の特徴を比較・検討したレビューも発表されている (*J. Cell. Physiol. 228:680, 2013*)。このなかでは、骨髄、脂肪組織、羊膜、絨毛膜、臍帯、臍帯血由来間葉系幹細胞が比較されているが、若干の発現度の差はあるものの、CD44 (+), CD73 (+), CD90 (+), CD105 (+), CD45 (-), CD34 (-), CD14 (-), HLA-ABC (+), HLA-CR(-) が共通していることが示されていたが、各組織からの分離手順、継体時のがん化の可能性の検討、凍結方法には今後の検討を要する点が存在していることが示された。凍結方法に関しては、臍帯由来間葉系幹細胞のバンキング化の検討を行った別の論文では (*Current Stem Cell*

Research & Therapy in press) 複数の凍結方法が試みられており、その検討事項としては、細胞の外観、cytokeratin, vimentin, and α -smooth muscle actin profiles and the expressions of CD105, CD90, CD73, CD29 and HLA-DR が行われており、これらの項目が規格決定において重要な要素であることが考えられた。

D. 考察

製剤化に向けての検討事項としては、①対象としての細胞の同定と性状決定、②製品としての細胞の規格、③保存前・解凍後・移植時の状態、④効能を示す細胞の効能発揮の証拠、⑤レシピエントへの安全性としては感染症と当該の細胞に特異的なものが挙げられる。これは承認製剤に該当しなくとも人体への投与を前提とした細胞であるからには当然であり、論文等の情報も裏付けている。本事業で目指すバンキングは基本的には細胞の分化・増殖に関することは実施せず、分離・保存である。そのため、対象とする細胞の性状を早急に検討し、そこから規格を定め、また移植実験等によりその規格が適切であるかの検証を行っていく必要がある。

非臨床試験の実施項目は、細胞の種類と調製の結果分化させた程度、対象疾患により全く異なる。

この分野については汎用できるガイドンスは存在せず、個々の研究で ad hoc に決めていく必要がある。そのための情報を逐次蓄積・解析していくと共に対象疾患と、調製細胞の特性を考慮していく必要があり、次年度以降は各研究者が調製を目指す細胞の特性に着目しながら、さらなる情報の収集

と検討を行っていくことが重要と考えられた。

E. 結論

臍帯・臍帯由来間葉系幹細胞のバンキング化に必要な規制情報を収集し、特に米国の臍帯血の生物製剤申請が有用なモデルとなりえることがわかり、規制の経緯を中心に検討した。また、難病に応用するためには、非臨床試験による Proof of Concept の検証と安全性の検証が必要であるが、現実的には汎用可能なモデルは存在しておらず、今までの非臨床・臨床試験での結果を踏まえつつ、当該の疾患と調製細胞の特性を考慮しながら検討していくことが重要であることが改めて示された、次年度以降は各研究者と連携を密にし、それぞれの特性に合致した非臨床試験に関して検討を行っていく。

F. 健康危険情報

該当せず

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Matsumoto K, Sumino K, Fukahori H, Kitaoka K, Kamibeppu K, Nagamura F, Stressor Scale for Clinical Research Coordinators: development and psychometric testing. *J Advan Nursing* 6:7; 1636-45, 2012
2. Ebihara Y, Takahashi S, Mochizuki S, Kato S, Kawakita T, Ooi J, Yokoyama K, Nagamura F, Tojo A, Asano S, Tsuji K. Unrelated cord blood transplantation after myeloablative

conditioning regimen in adolescent patients with hematologic malignancies: a single institute analysis. *Leukemia Res* 36(2):128-31, 2012.

3.その他
なし

3. Mae H, Ooi J, Takahashi S, Kato S, Kawakita T, Ebihara Y, K Tsuji, Nagamura F, Echizen H, Tojo A. Acute kidney injury after myeloablative cord blood transplantation in adults: the efficacy of strict monitoring of vancomycin serum trough concentrations. *Transpl Infect Dis* 0:1-6, 2012

2. 学会発表

1. 大木桃代 長村文孝 他 臨床研究参加患者の心理状態と対応策の検討(1) 第25回日本健康心理学会年次大会
2. 小室美子、長村文孝 他 東京大学におけるトランスレーショナルリサーチの支援強化領域の検討と支援強化に向けた体制整備 第2回レギュラトリーサイエンス学会
3. 加藤直也、長村文孝 他 日本人を被験者とした肝障害患者薬物動態試験 第2回レギュラトリーサイエンス学会

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Nakasone H, Kanda J, Yano S, Atsuta Y, Ago H, Fukuda T, Kakihana K, Adachi T, Yujiri T, Taniguchi S, Taguchi J, Morishima Y, Nagamura T, Sakamaki H, Mori T, Murata M	A case-control study of bronchiolitis obliterans syndrome following allogeneic hematopoietic stem cell transplantation.; GVHD Working Group of the Japan Society for Hematopoietic Cell Transplantation.	Transpl Int.	印刷中		2013
Nakasone H, Kurosawa S, Yakushijin K, Taniguchi S, Murata M, Ikegame K, Kobayashi T, Eto T, Miyamura K, Sakamaki H, Morishima Y, Nagamura T, Suzuki R, Fukuda T.	Impact of hepatitis C virus infection on clinical outcome in recipients after allogeneic hematopoietic cell transplantation.	Am J Hematol.	印刷中	1-8	2013
Atsuta Y, Kanda J, Takanashi M, Morishima Y, Taniguchi S, Takahashi S, Ogawa H, Ohashi K, Ohno Y, Onishi Y, Aotsuka N, Nagamura-Inoue T, Kato K, Kanda Y.	Different effects of HLA disparity on transplant outcomes after single-unit cord blood transplantation between pediatric and adult patients with leukemia.	Haematologica.	98	814-822	2013
Ishiyama K, Takami A, Kanda Y, Naka o S, Hidaka M, Maeda T, Naoe T, Taniguchi S, Kawa K, Nagamura T, Tabuchi K, Atsuta Y, Sakamaki H.	Prognostic factors for acute myeloid leukemia patients with t(6;9)(p23;q34) who underwent an allogeneic hematopoietic stem cell transplant.	Leukemia	26	1416-9	2013
Ishiyama K, Takami A, Kanda Y, Naka o S, Hidaka M, Maeda T, Naoe T, Taniguchi S, Kawa K, Nagamura T, Atsuta Y, Sakamaki H.	Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for acute myeloid leukemia with t(6;9)(p23;q34) dramatically improves the patient prognosis: a matched-pair analysis.	Leukemia	26	461-4	2012
Sakabe S, Takano R, Nagamura-Inoue T, Yamashita N, Nidom CA, Quynh Le MT, Iwatsuki-Horimoto K, Kawaoka Y	Differences in Cytokine Production in Human Macrophages and in Virulence in Mice Are Attributable to the Acidic Polymerase Protein of Highly Pathogenic Influenza A Virus Subtype H5N1	J Infect Dis.	207	262-71	2013

Kurosawa S, Yakushijin K, Yamaguchi T, Atsuta Y, Nagamura-Inoue T, Akiyama H, Taniguchi S, Miyamura K, Takahashi S, Eto T, Ogawa H, Kurokawa M, Tanaka J, Kawa K, Kato K, Suzuki R, Morishima Y, Sakamaki H, Fukuda T.	Changes in incidence and causes of non-relapse mortality after allogeneic hematopoietic cell transplantation in patients with acute leukemia/myelodysplastic syndrome: an analysis of the Japan Transplant Outcome Registry.	Bone Marrow Transplant.	48	529-536	2012
Ebihara Y, Takedani H, Ishige I, Nagamura-Inoue T, Wakitani S, Tojo A, Tsuji K.	Feasibility of autologous bone marrow mesenchymal stem cells cultured with autologous serum for treatment of haemophilic arthropathy.	Haemophilia	19	e87-9	2012
Kanda J, Atsuta Y, Wake A, Ichinohe T, Takanashi M, Morishima Y, Taniguchi S, Takahashi S, Ogawa H, Ohashi K, Ohno Y, Aotsuka N, Onishi Y, Kato K, Nagamura-Inoue T, Kanda Y.	Impact of the direction of HLA mismatch on transplant outcome in single unrelated cord blood transplantation.	Biol Blood Marrow Transplant.	19	247-54	2012
Kanda J, Ichinohe T, Kato S, Uchida N, Terakura S, Fukuda T, Hidaka M, Ueda Y, Kondo T, Taniguchi S, Takahashi S, Nagamura-Inoue T, Tanaka J, Atsuta Y, Miyamura K, Kanda Y.	Unrelated cord blood transplantation vs related transplantation with HLA 1-antigen mismatch in the graft-versus-host direction.	Leukemia.	27	286-94	2012
Kanda J, Hishizawa M, Utsunomiya A, Taniguchi S, Eto T, Moriuchi Y, Tanosaki R, Kawano F, Miyazaki Y, Masuda M, Nagafuji K, Hara M, Takanashi M, Kai S, Atsuta Y, Suzuki R, Kawase T, Matsuo K, Nagamura-Inoue T, Kato S, Sakamaki H, Morishima Y, Okamura J, Ichinohe T, Uchiyama T.	Impact of graft-versus-host disease on outcomes after allogeneic hematopoietic cell transplantation for adult T-cell leukemia: a retrospective cohort study.	Blood	119	2141-8	2012
Morimoto A, Shimazaki C, Takahashi S, Yoshikawa K, Nishimura R, Wakita H, Kobayashi Y, Kanegane H, Tojo A, Imamura T, Imashuku S; Japan LCH Study Group.	Therapeutic outcome of multifocal Langerhans cell histiocytosis in adults treated with the Special C regimen formulated by the Japan LCH Study Group.	Int J Hematol.	印刷中		2012

Mae H, Ooi J, Takahashi S, Kato S, Kawakita T, Ebihara Y, Tsuji K, Nagamura F, Echizen H, Tojo A.	Acute kidney injury after myeloablative cord blood transplantation in adults: the efficacy of strict monitoring of vancomycin serum trough concentrations. T	Transplant Infectious Disease.	印刷中		2012
Yamamoto S, Ebihara Y, Mochiduki S, Tsuda M, Yuji K, Uchimaru, Tojo A, Tsuji K.	Acute Lymphoblastic Leukemia with t(1;19)(q23;p13)/TCF3 -PBX1 Fusion in an Adult Male with Down Syndrome.	Acta Haematol.	128	242-243	2012
Agata H, Yamazaki M, Uehara M, Hori A, Sumita Y, Tojo A, Kagami H.	Characteristic differences among osteogenic cell populations of rat bone marrow stromal cells isolated from untreated, hemolyzed, or Ficoll-treated marrow.	Cytotherapy	14	791-801	2012
Ebihara Y, Takahashi S, Mochizuki S, Kato S, Kawakita T, Ooi J, Yokoyama K, Nagamura F, Tojo A, Asano S, Tsuji K.	Unrelated cord blood transplantation after myeloablative conditioning regimen in adolescent patients with hematologic malignancies: a single institute analysis.	Leuk Res	6	128-31	2012
Oshima Y, Yuji K, Tojo A.	Eltrombopag in refractory aplastic anemia	New Engl J Med.	367	1162-3	2012
Dong Y, Kobayashi S, Tian Y, Ozawa M, Hiramoto T, Izawa K, Bai Y, Suda Y, Sasaki E, Itoh T, Maru Y, Takahashi S, Uchimaru K, Oyaizu N, Tojo A, Kai C, Tani K.	Leukemogenic fusion gene (p190 BCR-ABL) transduction into hematopoietic stem/progenitor cells in the common marmoset.	Open J Blood Dis.	2	1-10	2012
Tanaka A, Okuyama T, Suzuki Y, Sakai N, Takakura H, Sawada T, Tanaka T, Otomo T, Ohashi T, Ishige-Wada M, Yabe H, Ohura T, Suzuki N, Kato K, Adachi S, Kobayashi R, Mugishima H, Kato S.	Long-term efficacy of hematopoietic stem cell transplantation on brain involvement in patients with mucopolysaccharidosis type II: a nationwide survey in Japan.	Mol Genet Metab.	107	513-20	2012

IV. 資料

「希少疾患への治療応用を目指した臍帯および臍帯
血由来細胞の系統的資源化と
その応用に関する研究」

平成24年度 第1回 研究報告会

日時：平成24年9月25日（火）13:00-16:50

場所：東京大学医科学研究所 病院棟大会議室小会議室

厚生労働科学研究 長村班 班会議 プログラム

日時：平成24年9月25日（火）13：00-16：50

場所：東京大学医科学研究所 病院棟大会議室小会議室

研究課題名（課題番号）：希少疾患への治療応用を目指した臍帯および臍帯血由来細胞の系統的資源化とその応用に関する研究（H24 - 難治等(難) - 一般 - 016）

主任研究者：長村登紀子

座長 長村登紀子

1. 挨拶 武村 真治先生 国立保健医療科学院 (13：00-13：10)
2. 「研究の概要と今後の方向性について」 (13：10-13：25)
長村 登紀子 東大医科研病院 セルプロセッシング・輸血部
3. 「細胞保存システムの構築」 (13：25-13：40)
幸道 秀樹・高橋 敦子 献血供給事業団 東京臍帯血バンク
4. 「造血幹細胞生着促進を目的とした細胞治療用ドナー細胞のスクリーニング」 (13：40-14：00)
松本太郎¹、石毛美夏²、西川英里²、下澤克亘²、風間美奈子²、麦島秀雄²
¹日本大学医学部機能形態学系細胞再生・移植医学分野 ²日本大学医学部小児科学分野
5. 「臍帯由来間葉系幹細胞の免疫制御作用の研究」 (14：00-14：15)
東條 有伸 東大医科研 先端医療センター分子療法分野
6. 「臍帯由来間葉系幹細胞の骨系統疾患治療への応用可能性検討」 (14：15-14：30)
縣 秀樹 東大医科研 先端医療センター分子療法分野
座長 東條 有伸
7. 「先天性骨形成不全症、軟骨無形成症に対する臍帯由来間葉系幹細胞を用いた治療法の開発」 (14：45-15：00)
辻 浩一郎¹、海老原 康博² ¹東大医科研・幹細胞治療研究センター・幹細胞プロセッシング分野 ²東大医科研病院・小児細胞移植科
8. 「妊娠ラット羊水腔内LPS投与による脳室周囲白質損傷に対する臍帯由来間葉系幹細胞を用いた治療法の開発」 (15：00-15：20)
滝 敦子、森丘 千夏子、本多 泉、小牧 基浩、森尾 友宏、森田 育男
東京医科歯科大学 大学院発生発達病態学・ナノメディスン（DNP）・分子細胞機能学
9. 「幹細胞臨床応用に必要な非臨床試験及び規制対応」 (15：20-15：40)
長村 文孝 東大医科研 先端医療研究センター先端医療開発推進分野
10. 「臍帯血と臍帯の採取について」 (15：40-15：55)
角田 肇 NTT東日本関東病院・産婦人科
11. 「臍帯血と臍帯由来間葉系幹細胞バンキングと細胞治療の可能性について」

長村登紀子 東大医科研病院 セルプロセッシング・輸血部 (15:55-16:10)

座長 幸道 秀樹・長村 登紀子

12. ディスカッション

(16:20-16:50)

「研究の概要と今後の方向性について」

長村登紀子

東京大学医科学研究所附属病院 セルプロセッシング・輸血部

近年、臍帯血は造血幹細胞のソースのみならず組織幹細胞ソースとして注目され、骨髄移植同様に先天性疾患や出産時障害を含む希少難治性疾患へ応用され始めている。しかし、臍帯血移植の重要な問題点は生着不全が多いこと、臍帯血中の間葉系幹細胞(MSC)は必ずしも全ユニットで樹立できないことである。臍帯も胎児由来組織であり、ワルトンジェリー(WJ)、動脈、静脈より構成されるが、各々からMSCの採取が可能である。

医学雑誌STEMCELLに2008年に特集されて以来、多くの論文は出ている。3葉系への分化能及び高増殖能と低免疫原性を有し、テラトーマを形成せず、ストローマ同様の支持細胞機能を有すると報告されている。また、臍帯も臍帯血同様、医療廃棄物であり、臨床応用あるいはバンキングに際して倫理面から受け入れ易いと考えられる。さらに疾患患児の臍帯由来MSCを病態解析や遺伝子治療を含めた新たな細胞治療を樹立出来る可能性がある。しかし、未だ治療法として確立されていない。

本研究班では、H24年度は臍帯由来MSCの効率的な分離・培養手順を確立し、臍帯血及び臍帯由来MSCの再生医療が有効と考えられる希少難治性疾患を対象に各専門家の研究者とともに基礎的研究開発を行う。さらに、同一ドナー由来の臍帯血・臍帯MSCを利用することにより、臍帯血移植における生着促進や移植片対宿主病抑制のための臍帯由来MSCの投与、生着促進のための臍帯血由来制御性T細胞の投与など、両視点からの検討を行う。H25年度は、引き続き基礎研究を行い、他の組織幹細胞ソースとの性状の違いを明らかにしつつ、臨床導入を念頭に検討する。また、臍帯血と臍帯を同時に保存し、臨床使用可能なバンキングを開始する。以上、臍帯血のバンキング施設・経験を生かし、国内初の臍帯血と臍帯由来MSCの同時供給可能なバンキングに向けた基盤整備と、難治性希少疾患の専門家の結集による再生医療としての応用のための道筋をつけることを最終目的とする。

「細胞保存システムの構築」

幸道 秀樹・高橋 敦子

献血供給事業団 東京臍帯血バンク

細胞保存システムの構築

希少疾患への治療応用を目指した
臍帯および臍帯血由来細胞の系統的
資源化とその応用に関する研究
厚生労働科学班研究 長村班 班会議 平成24
年9月25日

献血供給事業団 東京臍帯血バンク 幸道秀樹・高橋敦子

Establishment of New Cell/Tissue Bank

- Legal
 - Private bank
- Patient whom the present bank neglects
- Innovation for intractable disease
- Corporation in future

Cell/Tissue

- Placental/umbilical cord blood
 - Hematopoietic stem cell
 - Mesenchymal stem cell

Source and Patients

- Healthy baby
- Written consent
- Malignancy (hematological etc.)
- Neurological disease
- Cerebral vascular disease
- Etc.

Registration

- Registration of baby
- Routine tests
- Test of infectious diseases
- Check of genetic diseases
- Check of quality

Cryopreservation

- Cryopreservation
 - Liquid nitrogen
 - Etc.
 - Computer check

Order

- Call from baby or relatives
- Check of cell quality
- Check of justice

- Supply

Therapy

- Transplantation, Cell therapy and/or regeneration

- Consultation
- Follow up

General

- GMP
- International standard
 - FACT
 - FDA
 - AABB

東京臍帯血バンクにおけるHLA頻度について

11th IHW: 11th International Histocompatibility workshop
(Yokohama, Japan 1991)

Frequency I: Tokunaga K. et al. Immunogenetics
1997; 46(3):199-205による日本人n=114のアリル頻度

Frequency II: Tanaka H. et al. Clinical Transplants
1996; 139-144による日本人n=493のアリル頻度

Frequency III: Hashimoto M. et al. Tissue Antigens
1994; 44:166-173. による日本人n=916のアリル頻度(一部破変)

現在、献血供給事業団細胞処理保存施設にて
凍結保存している臍帯血で、
HLA検査が終了している検体のうち
HLA-A,B,DR(血清表現型)
すべてホモ型の臍帯血は

1.41%

今後の計画

- HLA-A, B, CまたはHLA-A, B, DRB1アリルにおけるホモ型の頻度の解析
- 患者総数とそれによるバンク規模の予測
- 特殊な遺伝子型(例CCRSなど)の頻度予測
- ISO9001規格への当てはめの検討

「造血幹細胞生着促進を目的とした細胞治療用ドナー細胞のスクリーニング」

松本太郎¹、石毛美夏²、西川英里²、下澤克亘²、風間美奈子²、麦島秀雄²

¹ 日本大学医学部機能形態学系細胞再生・移植医学分野

² 日本大学医学部小児科学分野

臍帯血移植は、ドナーリスクが少なく、HLA 部分不一致でも移植可能であることから、公的バンクの整備に伴い近年移植件数が急速に増加している。一方、臍帯血移植の最大の問題点として生着不全の割合が 10~20%と高いことがある。いったん生着不全が完成するとその治療は困難であり、予後は不良である。供給される造血幹細胞の絶対数不足が生着不全の主因と考えられているため、複数臍帯血移植や骨髄内臍帯血移植などが試みられているが、その生着促進効果は限局的である。骨髄液と異なり移植臍帯血は、間質細胞をほとんど含有していないといった特徴があるが、このような造血幹細胞の生着をサポートする細胞の存在が、移植細胞の生着には重要である可能性がある。間葉系幹細胞 (MSC) は、ストローマ細胞として造血幹細胞の支持能を有することが知られており、実際に、造血幹細胞と骨髄 MSC の同時移植により生着不全を回避できることなどが報告されている。臍帯や胎盤などの胎児付属組織に由来する MSC は、無侵襲的に調製可能であり、また臍帯血移植の場合にはドナーに由来する MSC を調製することもできることから、臍帯血生着促進を目的とした治療用細胞として期待できる。一方、MSC は臍帯結合組織、胎盤羊膜など種々の部位より調製が可能であるが、どの部位から調製した MSC がストローマ細胞としての機能がどうか、またドナー由来 MSC がアロ MSC より生着促進効果が優れているかといったことは明確になっていない。本研究では、ヒト胎児付属組織に由来する MSC を用いて臍帯血 CD34 陽性細胞との共培養実験や、NOD-SCID マウス臍帯血生着不全モデルへの移植実験などを行い、生着促進を目的とした細胞治療用ドナー細胞のスクリーニングおよび治療法の確立を目指す。

「臍帯由来間葉系幹細胞の免疫制御作用の研究」

東條 有伸

東大医科研 先端医療センター分子療法分野

臍帯由来間葉系幹細胞による免疫制御の解析

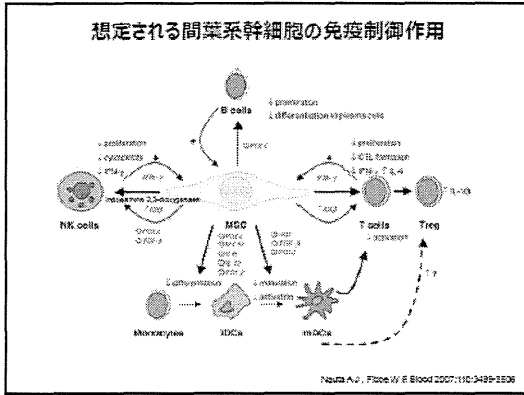
東京大学医学研究所
先端医療研究センター 分子療法分野
幹細胞移植研究センター 幹細胞移植分野
附属病院 血液腫瘍内科
セルプロセンシング・輸血部

東條有伸

ステロイド抵抗性重症aGVHDに対する間葉系幹細胞治療 (PII)

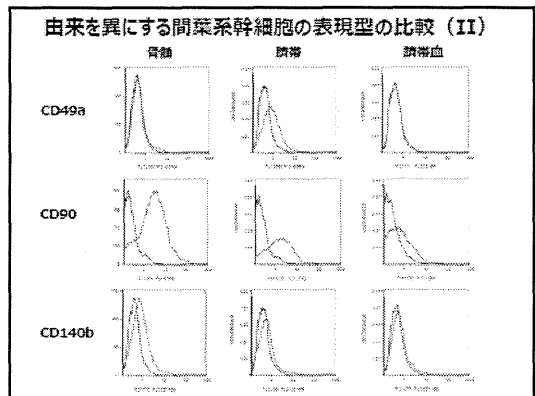
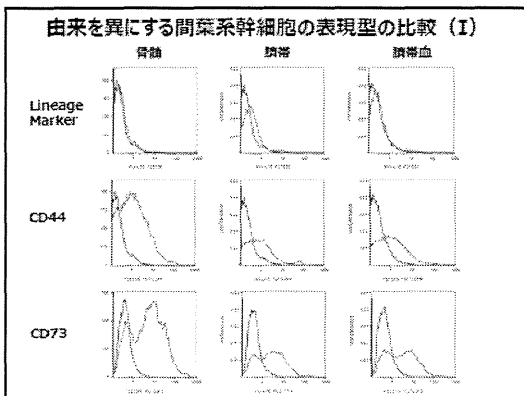
Le Blanc K et al. The Lancet 2008; 371:1579-86

Donors and cells	GVHD response and outcome		
	Children (n=25)	Adults (n=30)	All patients (n=55)
Female donor to male recipient	10	17	27
Male donor to female recipient	5	13	18
HLA-identical sibling	19	4	23
Unrelated A, B, DRB1 identical	15	2	17
Mismatched donor	6	11	17
Unrelated CB (matched, mismatched)	3	18	21
Complete response	17	13	30
Partial response	4	5	9
Stable disease	2	1	3
Progressive disease	2	11	13
Overall response	21	18	39
Survival*	13	8	21
Limited chronic GVHD	2	0	2
Extensive chronic GVHD	4	2	6

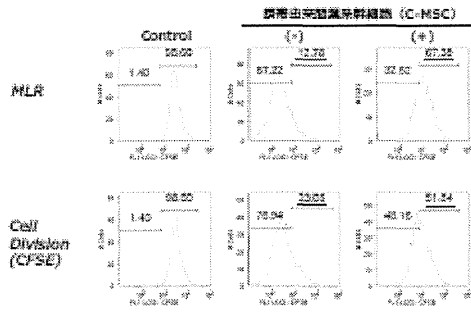


由来を異にする間葉系幹細胞の表現型の差異

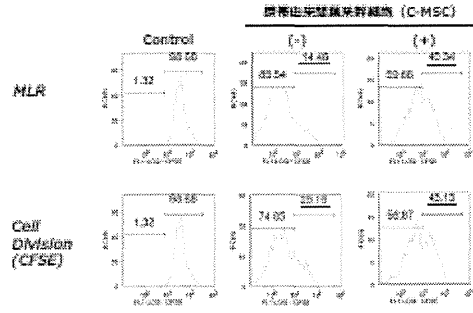
	骨髄	臍帯	臍帯血
Lineage marker	-	-	-
CD13	+	+	+
CD29	+	+	+
CD34	-	-	-
CD44	+	+	+
CD45	-	-	-
CD49a	-	±	-
CD63	±	±	±
CD73	+	+	+
CD90	+	+	±
CD105	+	+	+
CD133	-	-	-
CD140b	±	±	-
CD166	±	±	±
CD271	-	-	-



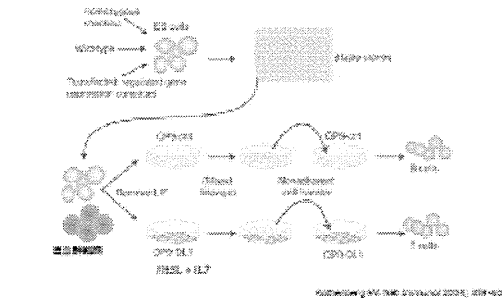
臍帯由来間葉系幹細胞によるT細胞制御：CD4⁺ T細胞



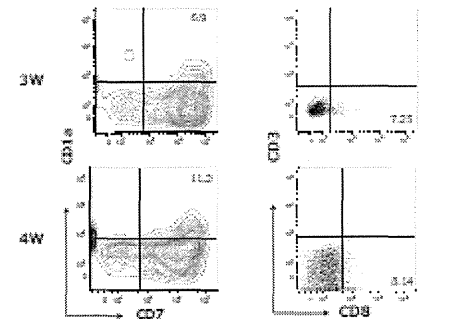
臍帯由来間葉系幹細胞によるT細胞制御：CD8⁺ T細胞



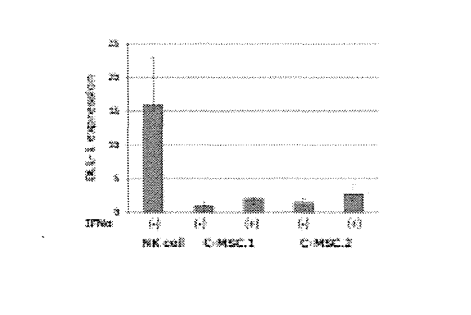
Ex vivoにおけるT細胞分化誘導



OP9-DL1細胞による造血幹細胞からのT細胞分化誘導



臍帯由来間葉系幹細胞におけるDLL-1の発現と誘導



臍帯由来間葉系幹細胞による免疫制御

- 臍帯由来間葉系幹細胞による免疫制御の機序
由来を異にするMSC (骨髄, 臍帯血, etc) 間での比較
T細胞と共存/非共存下での発現プロファイルの変化
サイトカイン刺激による発現プロファイルの変化
- 臍帯由来間葉系幹細胞の操作による調節性T細胞の作製
リンパ系造血支持分子の再構成

「臍帯由来間葉系幹細胞の骨系統疾患治療への応用可能性検討」

縣 秀樹

東京大学医科学研究所 先端医療研究センター 分子療法分野

骨系統疾患とは、骨、軟骨、靭帯などの骨格を形成する組織の成長や発達に異常をきたす疾患の総称であり、低身長、骨格の変形、運動機能異常、易骨折性を主症状とする希少疾患である。骨系統疾患に分類される疾患は現在 400 種類以上あるが、そのほとんどが遺伝子異常に起因する疾患であるため、本質的な治療は困難と考えられてきた。しかしながら、近年の細胞生物学、再生医学研究の進歩により、骨格形成に重要な細胞（間葉系幹細胞）の単離・培養が可能となったため、骨系統疾患治療の新たな切り札として他家間葉系幹細胞移植が注目を集めている。実際、代表的な骨系統疾患である骨形成不全症や低フォスファターゼ症に対して骨髄由来の間葉系幹細胞移植が有効であることが報告されている。しかしながら、骨髄からの間葉系幹細胞採取は痛みや侵襲を伴うためドナーの安定した確保は困難であり、骨系統疾患の細胞治療を実現するにはより安定した細胞源の開拓が必要である。そこで、本研究では間葉系幹細胞の新たな細胞源としての臍帯組織の可能性を検討することにした。臍帯組織に間葉系幹細胞が存在することは以前から知られており、採取もドナーの肉体的負担なく行えることから、他家移植に使用する間葉系幹細胞の理想的な細胞源と考えられる。しかしながら、臍帯由来の間葉系幹細胞の特性については不明な点が多く、特に骨分化能については詳しく検討されていない。したがって、本年度は臍帯由来の間葉系幹細胞の効率的な単離法と骨分化能について検討し、来年度は骨系統疾患モデルマウスへの移植を行い、骨系統疾患への応用可能性を検討する予定である。

「先天性骨形成不全症、軟骨無形成症に対する 臍帯由来間葉系幹細胞を用いた治療法の開発」

辻浩一郎¹⁾、海老原康博²⁾

¹⁾東京大学医科学研究所・幹細胞治療研究センター・幹細胞プロセッシング分野

²⁾東京大学医科学研究所・附属病院・小児細胞移植科

骨形成不全症は、易骨折性、進行性の骨変形などの骨脆弱性症状に加え様々な結合組織障害を呈する先天性疾患である。発生頻度は約2万人に1人とされ、ほとんどの患者でI型コラーゲン遺伝子の変異が認められる。臨床症状としては、易骨折性の他に、長管骨・脊椎骨の骨変形、低身長、青色胸膜、歯芽形成不全、難聴、関節・皮膚の弛緩性などを呈し、これらの症状の組合せによりその病型が分類されている（Sillence Provisional 分類）。治療法としては、整形外科的治療法の他に、ビスフォネートによる治療が実施される。根治的治療法としては、骨髄移植が有効であることが報告されているが、安全性の観点から広く普及するには至っていない。

一方、軟骨無形成症は、軟骨細胞の異常により骨形成が阻害され、四肢の短縮を伴う低身長の他に、全身の骨形成障害に起因する多様な症状をきたす先天性疾患である。四肢短縮型低身長をきたす疾患の中では最も頻度が高く、その発生頻度は1~2万人に1人とされる。常染色体優性遺伝で、大部分の症例で繊維芽細胞増殖因子受容体(FGFR)3遺伝子の変異が認められている。症状としては、四肢短縮型低身長、短指、O脚、脊椎の異常、特徴的な顔貌、大後頭孔狭窄に伴う神経症状などが認められる。治療法としては、整形外科的治療の他に、低身長に対しては成長ホルモンの投与などが実施される。また、骨延長術に間葉系幹細胞移植術を組み合わせた治療も実施されているが、根治的治療方法は開発されていない。

本研究において我々は、臍帯、臍帯血、胎盤由来間葉系幹細胞の特徴を検討し、これらを用いた先天性骨形成不全症、軟骨無形成症に対する治療法の開発を目指す。