

分担研究報告書

臍帯由来間葉系幹細胞を用いた脳室周囲白質軟化症・気管支肺異形成症の治療法の開発
研究分担者：森田育男 東京医科歯科大学医歯学総合研究科分子細胞機能学分野 教授

研究要旨：脳室周囲白質軟化症、慢性肺疾患（気管支肺異形成症）は早産児の予後を悪化させる主要合併症である。その原因の一つである子宮内感染症をモデル化し、臍帯由来 MSC を用いた治療モデルを確立することを目的とする。妊娠中のラットに LPS を腹腔内投与し、実験的子宫内感染症モデルを作成後、ヒト胎盤絨毛、臍帯ワルトンジェリー由来間葉系幹細胞 (MSC) の培養上清を投与し、仔の脳を比較検討した。脳室周囲白質損傷に対して、出生後の MSC 培養上清の投与が有効である可能性が観察されたが、有意差はなかった。今後は MSC 自体の投与を検討する。

A. 研究目的

実験的子宫内感染症モデルを用いて、子宮内感染症に起因する脳室周囲白質軟化症における内在性幹細胞の障害と疾患成立への関与を検討し、間葉系幹細胞を用いた新たな治療法を開発する。

B. 研究方法

日齢 4 の新生仔ラットはヒトの妊娠 28 週前後に相当することを利用し、日齢 4 のラットに LPS15mg/kg を腹腔内投与し新生児白質損傷モデルを作成した。さらに日齢 4、5、6、7 に MSC の培養上清を腹腔内投与し、日齢 6、12 の脳を採取し評価した。

また MSC はヒト胎盤の絨毛や臍帯ワルトンジェリーから採取した。

（倫理面への配慮）

本研究は動物を対象とした実験であり、東京医科歯科大学動物実験委員会のガイドラインに従った。文部科学省「研究機関等における動物実験等の実施に関する基本指針」などの各種指針を遵守した研究を行い、動物は研究に最小限の匹数を用い、飼育保管基準をふまえて管理を行い、麻酔により最小の苦痛となるように配慮して行った。研究計画は既に倫理審査委員会の審査・承認を得ている。

C. 研究結果

LPS 投与により日齢 6 の新生仔脳における炎症性サイトカインの上昇、日齢 12 における脳室周囲白質量の低下を確認した。MSC 培養上清投与により、炎症性サイトカインは減少し、脳室白質量は増加する傾向

がみられた。

D. 考察

今回の実験での MSC 培養上清が抗炎症作用を有していることが示された。また感染に起因する脳室周囲白質損傷に対して、出生後の MSC 培養上清の投与が有効である可能性が示された。しかし、有意差がでなかったことより、効果的な MSC の採取法の検討、投与量の検討、培養上清ではなく MSC そのものを投与することなどを検討したい。またその後 MSC の効果機序として、オリゴデンドロサイト前駆細胞の数や細胞死数、マイクログリア数、グルタミン酸濃度などを検討したい。

E. 結論

子宮内感染に起因する脳室周囲白質損傷に対して、出生後の MSC 培養上清投与は治療効果を有する可能性がある。

F. 健康危険情報

該当せず。

G. 研究発表

1) 国内

学会発表

「LPS 羊水腔内投与によるラット子宮内感染モデルにおける胎盤および新生児合併症の解析」第 65 回日本産科婦人科学会 札幌

2013 年 5 月 11 日

3) 海外

なし

H. 知的所有権の出願・取得状況（予定を含む）

1 特許取得

なし

2 実用新案登録

なし

3 その他 なし

厚生労働科学研究費補助金（難治疾患克服研究事業）
分担研究報告書

臍帯血・臍帯の品質管理と搬送システムの確立（臍帯血移植におけるHLA問題）

研究分担者 幸道秀樹 献血供給事業団 東京臍帯血バンク部 部長
昭和大学医学部

研究要旨：臍帯血およびその由来細胞の免疫原性を検討するためにこれまでの臍帯血移植の生着に関するデータを解析した。対象は成人の臍帯血移植 600 例である。年齢の中央値は 49 歳、全体的な生着率は 77.8%であった。ドナーとなる臍帯血側の HLA から見た不適合度と生着率は、0 不適合 78.6%、1 不適合が 77.7%、2 不適合が 78.6%、3 不適合が 75.0%であり、統計的有意差はなかった。レシピエントである患者側の HLA から見ると 0 不適合の生着率が 84.1%、1 不適合が 78.8%、2 不適合が 76.4%、3 不適合が 76.5%であった。これも統計的有意差はなかった。臍帯血移植では、骨髄移植に比較して生着率は劣り、あまり HLA の不適合度と関連はなかった。この成績は今後の臍帯血由来細胞の治療応用に関して重要であろう。

A. 研究目的

臍帯血およびその由来細胞の臨床応用は臨床側からの要求が非常に高いテーマである。しかしながら、臍帯血細胞の抗原性に関してはあまり検討されてこなかった。細胞を他人（同種）に移入した場合には、必然的に免疫反応が起きることになる（JT Slattery et al BMT, 16, 31, 1995）。臍帯血細胞は、HLA 抗原を呈しており、当然のことながら同種の環境内に移駐された場合には拒絶反応の対象となる。また、臍帯血は免疫担当細胞を多量に含むためレシピエントに対する免疫反応（GVHD）を発症する可能性が十分にある。この免疫反応の詳細を明らかにするために、現在広く行われている臍帯血移植における HLA の差と生着に関する影響を検討した。

B. 研究方法

1998年8月から2012年11月までに東京臍帯血バンクにて調整保存した臍帯血を移植した例で成人のみを対象とした。対象疾患は、白血病、リンパ腫、骨髄異形成症候群等の血液疾患であり、移植後28日以内の早期死亡例を除いた。結果として全600例であった。

HLA は、A,B, 座については rSSO 法を DR(DRB1)については SBT 法を用いた。

統計解析にあたっては、JMP (JMP SAS Institute Japan)を用い、ログランク法を用いて有意差検定を行った。

C. 結果

1. 患者の全体像

移植された疾患は、表1に示すように AML が最も多く、約 50%を占めた。年齢の中央値は 49 歳であった。性別は男性がやや多かった。移植された臍帯血の性状は体重

1kg あたりの総細胞数が 2.52×10^7 であり、CD 陽性細胞は 0.79×10^5 /kg、CD34/TNC は 0.31%であった。

末梢血中の白血球数が 500/uI を超えた日を生着と判断すると、全体的な生着率は、77.8%であり、生着日の中央値は day 21 であった。

2. ドナー細胞の HLA 抗原から見た臍帯血の生着への影響

表2にドナーの側から見たレシピエントの HLA 抗原の差による生着率を示す。いっけん 0 不適合、つまりレシピエントに不適合抗原がない場合、生着率が他と比べて良好のようにみえるが、統計学的には有意差はなかった。図1に Kaplan-Meyer のグラフを示す。

2. レシピエント細胞の HLA 抗原から見た臍帯血の生着への影響

表3にレシピエントからみたドナー（臍帯血）の HLA 抗原の差による生着率を示す。統計学的に有意差は見られなかった。図2に Kaplan-Meyer のグラフを示す。

D. 考察

本検討によって、通常臍帯血移植では生着率は80%前後であること、その生着率は HLA の不適合性には影響を受けないことが明らかになった。つまり、非血縁者間骨髄移植であっても生着率はかなりの高率であるのに対し、臍帯血移植では8割程度に留まることが問題点の一つとしてあげられる。

これまでの報告されてきた骨髄移植、あるいは末梢血幹細胞移植では生着率は、ドナーが血縁者であっても非血縁者であってもかなり高く、95%前後とされている (Davies et al, Blood, 96, 4096, 2000)。一方、臍帯

血移植は、90%の生着率を報告 S (Takahashi et al, Blood, 104, 3813, 2004) しているものは少なく、多くが 70-80%である。本報告でも全体的生着率は 77.8%であった。我々の経験 (梶原ら, 臍帯血を用いた悪性リンパ腫に対する RIST の成績, 造血移植学会 浜松 2010 年) では CBT であっても 90% の生着率を得ており、CBT の生存率が低いのは施設間のばらつきが大きいのも原因の一つとして考えられる。また、BMT、PBSCT の報告の多くが血縁者を基本としており、CBT は非血縁者が前提となっていることも生着率の差の原因としてあげられる。加えて、CBT であっても高い生着率を報告 (Takahashi et al, Blood, 109, 1322, 2007) では通常の前処置を移植であり、おおくの CBT は前処置を軽減した reduced intensity stem cell transplantation, RIST (Chenl et al, Leukemia, 22, 31, 2008) の例が含まれていることも考慮しなければならない。Barker ら (Barker et al, Blood, 102, 1915, 2003) は前処置によって CBT 後の血球の回復が異なることも報告しており、我々も移植前の3ヶ月以内に化療をしていないと生着率が低下することを観察している。

BMT ではあらかじめ T 細胞を骨髄細胞中から除去してから移植をすることが行われることがある (Small et al, Blood, 93, 467, 1999)。この T-cell depleted BMT は GVHD が大きく減少するが、生着不全が増加することが知られている (Horowitz et al, Blood, 75, 555, 1990)。臍帯血は、その構成成分として造血幹細胞は豊富に含んでいるが、反面、T 細胞などはあまり含まれていないとされる。したがって、免疫担当細胞の機能として T-cell depleted BM と同様と考えられる。両者ともに生着率が低く、GVHD が低いゆえんである

う。

以上述べてきたように、たとえ HLA が大きく異なっていようと臍帯血はかなりの生着率を示すことができる。このことは、将来期待される臍帯血由来の細胞療法では、HLA の差をあまり障害にすることなく、臨床応用が可能になることを示している。しかしながらその生着率は完全ではなく、これからの研究すべき領域が大きいことも明らかである。本報告では、その分野は、1. 施設間の差、2. 前処置の免疫抑制が弱いこと、3. 臍帯血細胞に T 細胞が少ないため、T 細胞機能が低下している、ことの3つをあげた。第一の施設間の差はかなり解決困難な問題である。一口に施設間と言っても設備であるかもしれないし、診療技術的なものかもしれない。経験的には施設間の差は初期の問題であり、ある程度の経験を積んでくると自ずから解決されていくことが多い。そのことから考えてくると、診療技術的なものが大きいかもしれない。一方では施設によって対象としている患者の年齢、感染症などの合併症、これまでの化学療法歴、疾患の状態などが、結果として大きな差がでていく可能性がある。これらの解析には単に生存率や再発率等の解析ではなく、transplantation-related mortality 移植関連死亡率等の解析が有用であろう。第二の前処置および移植後の免疫抑制処置は早急に取り組まなければならない問題である。近年は、これらの移植前後の免疫抑制方法が多様化しかなりの症例が集積されても分析をすることによって各群に十分な症例数が集まらなくなってしまうからである。少なくとも通常の前処置と RIST は完全に分けて考える必要がある。

第3に臍帯血細胞の性状については基礎医学を含めた解析が重要である。臨床からは T

細胞除去骨髄細胞と同等と考えられるが、果たしてそれだけで良いのであろうか？臍帯血細胞中には NK 細胞も多く含まれるし、mesenchymal cell も多い。これらの細胞を総合的に解析しなければならない。また、移植に用いられる臍帯血は最低限度に加工された製品であるため、細胞の解析にはそのプロセスも重要である。分離に手間取ると細胞は傷害されるし、凍結中の温度も重要である。移植前に液体窒素中に保存されてないと品質が低下する(JT Slattery et al BMT, 16, 31, 1995)。また、日本の空港ではすべての貨物が放射線による検査の対象となるため、臍帯血への放射線照射の有無も重要である。

臍帯血を universal donor として用いるのにはまだ道半ばであるが、臍帯血そのものではなく、MSC などの由来細胞を細胞治療、あるいは再生医療の一助としてすることを考えれば比較的短時間で可能かもしれない。何より臍帯血は基本的に医療廃棄物であったが、近年その運命を大きく変えてきている。したがって、異なる HLA の臍帯血を収集することは難しくはない。また、細胞知慮の初期では患者と HLA の一致した臍帯血を探すのではなく、臍帯血に一致した HLA を持つ患者から治療を始めれば臨床応用はもう目の前と行って良い。現在において最も重要な事は様々な議論を繰り返すことよりできることから確実に進めていくことにある。将来の患者と同じように現在の患者も我々の研究の進展を待っているのである。

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

(国内)

1) 高橋敦子, 幸道秀樹, 長村登紀子, 麦島

(海外)

1. Nagamura-Inoue T, Kodo H, Quality Control for New type of Cord Blood/ Cord Bank for HSCT and others, W S-1, AisaCORD 2013, Kobe, Japan. April 2013

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 なし

表 1. 患者内訳と生着率

疾患	n=
ALL	109
AML	305
その他白血病	32
リンパ系悪性腫瘍	73
MDS	81
男 : 女	1 : 0.85
年齢 (AVG)	49歳
生着率 (中央値)	77.8%(21日)

表 2. ドナーから見た HLA の不一致度と生着率

HLA mismatch	No. of case	Engraftment rate (%)
0	42	78.6
1	188	77.7
2	346	78.0
3	24	75.0
Total	600	77.8

図 1. ドナーから見た HLA の不一致度と生着

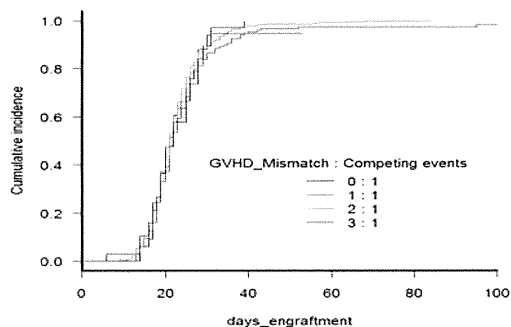


表 3. レシピエントから見た HLA の不一致度と生着率

HLA mismatch	No. of case	Engraftment rate (%)
0	44	84.1
1	191	78.8
2	348	76.4
3	17	76.5
Total	600	77.8

Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書 籍 名	出版社名	出版地	出版年	ページ
松本太郎, 風間智彦	再生医療で用いられる細胞種の培養	天願ルイス	再生医療における臨床研究と製品開発	技術情報協会	東京	2013	181-187
長村文孝	絶対に必要な医学の基礎知識/その他のがん	大木桃代	実践的サイコオンコロジー	真興 交易出版部	東京	2014	印刷中
長村文孝	米国FDAにおける抗がん剤の審査	菅原隆	医薬品・医療機器承認のためのデータ・情報の取得とまとめ方	技術情報協会	東京	2014	印刷中

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
Nagamura-Inoue T., and He H.	Umbilical cord-derived mesenchymal stem cells: Their advantages and potential clinical utility,	<i>World J Stem Cells</i>	6	195-202	2014
He H. Nagamura-Inoue T., Tsunoda H., Yuzawa M., Yamamoto Y., Yorozu P., Agata H., Tojo A.	Stage-Specific Embryonic Antigen 4 in Wharton's Jelly-derived mesenchymal stem cells is not a marker for proliferation and multipotency.	Tissue Eng Part A.	20	1314-24	2014

Atsuta Y, Suzuki R, Yamashita T, Fukuda T, Miyamura K, Taniguchi S, Iida H, Uchida T, Ikegame K, Takahashi S, Kato K, Kawa K, <u>Nagamura-Inoue T</u> , Morishima Y, Sakamaki H, Kodera Y	Japan Society for Hematopoietic Cell Transplantation, Continuing increased risk of oral/esophageal cancer after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in adults in association with chronic graft-versus-host disease.	Ann Oncol	25	435-41	2014
Murata M, Nishida T, Taniguchi S, Ohashi K, Ogawa H, Fukuda T, Mori T, Kobayashi H, Nakaseko C, Yamagata N, Morishima Y, <u>Nagamura-Inoue T</u> , Sakamaki H, Atsuta Y, Suzuki R, Naoe T.	Allogeneic transplantation for primary myelofibrosis with BM, peripheral blood or umbilical cord blood: an analysis of the JSHCT.	Bone Marrow Transplant.	49	355-60	2014
Kanda J, Nakasone H, Atsuta Y, Toubai T, Yokoyama H, Fukuda T, Taniguchi S, Ohashi K, Ogawa H, Eto T, Miyamura K, Morishima Y, <u>Nagamura-Inoue T</u> , Sakamaki H, Murata M.	Risk factors and organ involvement of chronic GVHD in Japan.	Bone Marrow Transplant.	49	228-35	2014
Konuma T, Kato S, Oiwa-Monna M, <u>Tojo A</u> , Takahashi S.	Pretransplant hyperferritinemia has no effect on the outcome of myeloablative cord blood transplantation for acute leukemia and myelodysplastic syndrome.	Ann Hematol. in press	93	1071-2	2014
Konuma T, Kato S, Ooi J, Oiwa-Monna M, Kawamata T, <u>Tojo A</u> , Takahashi S.	Comparable Long-Term Outcome of Unrelated Cord Blood Transplantation with Related Bone Marrow or Peripheral Blood Stem Cell Transplantation in Patients Aged 45 Years or Older with Hematologic Malignancies after Myeloablative Conditioning.	Biol Blood Marrow Transplant.	14	S1083-8791	2014

Konuma T, Kato S, Ooi J, Oiwa-Monna M, Ebihara Y, Mochizuki S, Yuji K, Ohno N, Kawamata T, Jo N, Yokoyama K, Uchimaru K, <u>Tojo A</u> , Takahashi S	Impact of sex incompatibility on the outcome of single-unit cord blood transplantation for adult patients with hematological malignancies.	Bone Marrow Transplant.	49	634-9	2014
Konuma T, Kato S, Ooi J, Oiwa-Monna M, Ebihara Y, Mochizuki S, Yuji K, Ohno N, Kawamata T, Jo N, Yokoyama K, Uchimaru K, <u>Tojo A</u> , Takahashi S.	Effect of ABO blood group incompatibility on the outcome of single-unit cord blood transplantation after myeloablative conditioning.	Biol Blood Marrow Transplant.	20	577-81	2014
Konuma T, Kato S, Ooi J, Oiwa-Monna M, Ebihara Y, Mochizuki S, Yuji K, Ohno N, Kawamata T, Jo N, Yokoyama K, Uchimaru K, Asano S, <u>Tojo A</u> , Takahashi S.	Single-unit cord blood transplantation after granulocyte colony-stimulating factor-combined myeloablative conditioning for myeloid malignancies not in remission.	Biol Blood Marrow Transplant.	20	396-401	2014
Matsuoka F, Takeuchi I, <u>Agata H</u> , Kagami H, Shiono H, Kiyota Y, Honda H, Kato R.	Characterization of time-course morphological features for efficient prediction of osteogenic potential in human mesenchymal stem cells.	Biotechnology & Bioengineering.		印刷中	2014
Mizoguchi Y, Tsumura M, Okada S, Hirata O, Minegishi S, Imai K, Hyakuna N, Muramatsu H, Kojima S, Ozaki Y, Imai T, Takeda S, Okazaki T, Ito T, Yasunaga S, Takihara Y, Bryant VL, Kong XF, Cypowyj S, Boisson-Dupuis S, Puel A, Casanova JL, <u>Morio T</u> , Kobayashi M.	Simple diagnosis of STAT1 gain-of-function alleles in patients with chronic mucocutaneous candidiasis.	J Leukoc Biol	95	667-76	2014

Suzuki R, Fukuda N, Katakawa M, Tsunemi A, Tahira Y, <u>Matsumoto T</u> , Ueno T, Soma M	Effects of an angiotensin II receptor blocker on the impaired function of endothelial progenitor cells in patients with essential hypertension.	American Journal of Hypertension	27(2)	695-701	2014
Mikami Y, <u>Matsumoto T</u> , Kano K, Toriumi T, Somei M, Honda MJ, Komiyama K	Current status of drug therapies for osteoporosis and the search for stem cells adapted for bone regenerative medicine.	Anatomical Science International	89(1)	1-10	2014
Kono S, Kazama T, Kano K, Harada K, Uechi M, <u>Matsumoto T</u>	Phenotypic and functional properties of feline dedifferentiated fat cells and adipose-derived stem cells.	The Veterinary Journal	199(1)	88-96	2014
Tsunemi A, Ueno T, Fukuda N, Watanabe T, Tahira K, Haketa A, Hatanaka Y, Tanaka S, <u>Matsumoto T</u> , Matsumoto Y, Nagase H, Soma M	A novel gene regulator, pyrrole-imidazole polyamide targeting ABCA1 gene increases cholesterol efflux from macrophages and plasma HDL concentration.	Journal of Molecular Medicine	92(5)	509-521	2014
Tomokuni A, Eguchi H, Hoshino H, Dewi DL, Nishikawa S, Kano Y, Miyoshi N, <u>Tojo A</u> , Kobayashi S, Gotoh N, Hinohara K, Fusaki N, Saito T, Suemizu H, Wada H, Kobayashi S, Marubashi S, Tanemura M, Doki Y, Mori M, Ishii H, Nagano H.	Effect of <i>in vivo</i> administration of reprogramming factors in the mouse liver.	Oncol Lett.	6	323-8	2013
Kanamori H, Mizuta S, Kako S, Kato H, Nishiwaki S, Imai K, Shigematsu A, Nakamae H, Tanaka M, Ikegame K, Yujiri T, Fukuda T, Minagawa K, Eto T, <u>Nagamura-Inoue T</u> , Morishima Y, Suzuki R, Sakamaki H, Tanaka J.	Reduced-intensity allogeneic stem cell transplantation for patients aged 50 years or older with B-cell ALL in remission: a retrospective study by the Adult ALL Working Group of the Japan Society for Hematopoietic Cell Transplantation.	Bone Marrow Transplant	48	1513-8	2013

Murata M, Nakasone H, Kanda J, Nakane T, Furukawa T, Fukuda T, Mori T, Taniguchi S, Eto T, Ohashi K, Hino M, Inoue M, Ogawa H, Atsuta Y, <u>Nagamura-Inoue T</u> , Yabe H, Morishima Y, Sakamaki H, Suzuki R.	Clinical Factors Predicting the Response of Acute Graft-versus-Host Disease to Corticosteroid Therapy: An Analysis from the GVHD Working Group of the Japan Society for Hematopoietic Cell Transplantation.	<i>Biol Blood Marrow Transplant.</i>	19	1183-9	2013
Kurosawa S, Yakushijin K, Yamaguchi T, Atsuta Y, <u>Nagamura-Inoue T</u> , 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.	Recent decrease in non-relapse mortality due to GVHD and infection after allogeneic hematopoietic cell transplantation in non-remission acute leukemia.	Bone Marrow Transplant.	48	1198-22	2013
Nakasone H, Kanda J, Yano S, Atsuta Y, Ago H, Fukuda T, Kakihana K, Adachi T, Yujiri T, Taniguchi S, Taguchi J, Morishima Y, <u>Nagamura T</u> , 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.	26	631-9	2013
Nakasone H, Kurosawa S, Yakushijin K, Taniguchi S, Murata M, Ikegame K, Kobayashi T, Eto T, Miyamura K, Sakamaki H, Morishima Y, <u>Nagamura T</u> , Suzuki R, Fukuda T.	Impact of hepatitis C virus infection on clinical outcome in recipients after allogeneic hematopoietic cell transplantation.	Am J Hematol.	88	44-6	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, Nakao 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
Taketani T, Kanai R, Abe M, Mishima S, Tadokoro M, Katsube Y, Yuba S, Ogushi H, Fukuda S, Yamaguchi S.	Therapy-related Ph+ leukemia after both bone marrow and mesenchymal stem cell transplantation for hypophosphatasia.	Pediatr Int	55	e52-5	2013
Tomokuni A, Eguchi H, Hoshino H, Dewi DL, Nishikawa S, Kano Y, Miyoshi N, Tojo A, Kobayashi S, Gotoh N, Hinohara K, Fusaki N, Saito T, Suemizu H, Wada H, Kobayashi S, Marubashi S, Tanemura M, Doki Y, Mori M, Ishii H, Nagano H.	Effect of in vivo administration of reprogramming factors in the mouse liver.	Oncol Lett.	6(2)	323-8	2013
Imashuku S, Shimazaki C, Tojo A, Imamura T, Morimoto A.	Management of adult Langerhans cell histiocytosis based on the characteristic clinical features.	World J Hematol.	2	89-98	2013
Agata A, Sumita Y, Asahina I, Tojo A, Kagami H.	Ischemic culture of dental pulp-derived cells is a useful model in which to investigate mechanisms of post-ischemic tissue recovery.	Histol Histopathol	28	955-64	2013

Mae H, Ooi J, Takahashi S, Kato S, Kawakita T, Ebihara Y, Tsuji K, Nagamura F, Echizen H, <u>Tojo A.</u>	<u>Acute kidney injury after myeloablative cord blood transplantation in adults: the efficacy of strict monitoring of vancomycin serum trough concentrations.</u>	Transplant Infect Dis.	15	181-6	2013
Morimoto A, Shimazaki C, Takahashi S, Yoshikawa K, Nishimura R, Wakita H, Kobayashi Y, Kanegane H, <u>Tojo A.</u> , 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.	<u>Int J Hematol.</u>	97	103-8	2013
<u>Taketani T.</u> , Kanai R, Abe M, Mishima S, Tadokoro M, Katsube Y, Yuba S, Ogushi H, Fukuda S, Yamaguchi S.	Therapy-related Ph ⁺ leukemia after both bone marrow and mesenchymal stem cell transplantation for hypophosphatasia.	Pediatr Int.	55	e52-5	2013
Kumaki S, Sasahara Y, Kamachi Y, Muramatsu H, <u>Morio T.</u> , Goi K, Sugita K, Urabe T, Takada H, Kojima S, Tsuchiya S, Hara T.	<u>B-cell function after unrelated umbilical cord blood transplantation using a minimal-intensity conditioning regimen in patients with X-SCID.</u>	Int J Hematol.	98	355-60	2013
Shimizu M, Kanegane H, Wada T, Motoyoshi Y, <u>Morio T.</u> , Candotti F, Yachie A.	Aberrant glycosylation of IgA in Wiskott-Aldrich syndrome and X-linked thrombocytopenia.	J Allergy Clin Immunol.	131	587-90	2013
Kamae C, Nakagawa N, Sato H, Honma K, Mitsuiki N, Ohara O, Kanegane H, Pasic S, Pan-Hammerstrom Q, van Zelm MC, <u>Morio T.</u> , Imai K, Nonoyama S.	Classification of common variable immunodeficiency by quantification of T cell receptor and Ig kappa-deleting recombination excision circles.	J Allerg Clin Immunol.	131	1437-40	2013

Xia D, Sumita Y, Liu Y, Tai Y, WanJ, Uehara M, <u>Agata H</u> , Kagami H, Fan Z, Asahina I, Wang S, Tran SD.	GDFs promote tenogenic characteristics on human periodontal ligament-derived cells in culture at late passages.	Growth Factors.	31	165-73	2013
Iijima H, Daikonya A, Takamatsu S, Kanno A, Magariyama K, Yoshikawa K, Takamiya T, Ueda Y, Yakubo S, <u>Matsumoto T</u> , Ueno T, Yamori Y, Fukuda N, Kitanaka S	Effects of the herbal medicine composition "Saiko-ka-r yukotsu-borei-To" on the function of endothelial progenitor cells in hypertensive rats.	Phytomedicine	72	196-201	2013
Kikuta S, Tanaka N, Kazama T, Kazama M, Kano K, Ryu J, Tokuhashi Y, <u>Matsumoto T</u>	Osteogenic effects of dedifferentiated fat cell transplantation in rabbit models of bone defect and ovariectomy-induced osteoporosis.	Tissue Engineering Part A	19	1792-1802	2013
渡辺恵理, 阿部素子, 工藤寿子, 浜田聡, 糸洲倫江, 中内啓光, 森尾友宏, 渡辺信和	重症複合免疫不全症に対する臍帯血ミニ移植後の混合キメリズムの遷延	CYTOMETRY RESEARCH	23	41-49	2013

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

その応用に関するに関する研究」

平成 25 年度 第 1 回 研究報告会

日時：平成 25 年 10 月 5 日（土）13:00-15:45

場所：東京大学医科学研究所 1 号館 2 階 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25年10月5日（土）13：00-15：45

場所：東京大学医科学研究所 1号館2階 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

挨拶 武村 真治先生 国立保健医療科学院 (13：00-13：05)

1. 「研究の概要と臍帯由来間葉系幹細胞の製剤化に向けた取り組み」 (13：05-13：15)

長村 登紀子 東大医科研病院 セルプロセッシング・輸血部

2. 「臍帯血と臍帯の効率的採取方法の研究」

— 個人情報保護のための3段階ID導入について— (13：15-13：25)

角田 肇 NTT東日本関東病院・産婦人科

3. 「原発性免疫不全症の診断と検体の資源化について」 (13：25-13：35)

今井耕輔、森尾友宏 東京医科歯科大学大学院・小児科

4. 「胎児付属物由来幹細胞による造血幹細胞維持能の比較解析」 (13：35-13：45)

西川英里¹ 松本太郎²

¹日本大学医学部小児科学分野 ²機能形態学系細胞再生・移植医学分野

5. 「臍帯由来間葉系幹細胞の免疫制御作用の研究」 (13：45-14：00)

The immunosuppressive effect of Wharton jerry-derived mesenchymal stem cells *in vitro*

何 海萍 長村登紀子 東條 有伸 東大医科研 先端医療センター分子療法分野

(休憩)

6. 「臍帯・胎盤由来間葉系幹細胞を用いた脳室周囲白質軟化症の治療法の開発」

(14：15-14：25)

森丘千夏子¹、本多泉¹、滝敦子¹、小牧基浩¹、森尾友宏¹、森田育男²

¹東京医科歯科大学医歯学総合研究科 分子細胞機能学・発生発達病態学・生殖機能協
関学

²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

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」 (14：25-14：35)

海老原 康博 東大医科研病院・小児細胞移植科

8. 「低フォスファターゼ症に対する臍帯由来間葉系幹細胞の臨床応用に向けた研究」

竹谷 健 島根大学医学部附属病院輸血部 (14：35-14：45)

9. 「臍帯バンキングに必要な非臨床試験及び規制対応の研究」 (14：45-15：00)

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

(休憩)

特別講演「ヒト生体に内在する多能性幹細胞 Muse細胞：新たな概念 Regenerative homeostasisとStem cell failureの提唱」 (15:15-15:40)

出澤 真理 東北大学大学院医学系研究科・細胞組織学分野/人体構造学分野

閉会挨拶

長村 登紀子 東大医科研病院 セルプロセッシング・輸血部

研究の概要と臍帯由来間葉系幹細胞の製剤化に向けた取り組み

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 長村登紀子

本研究では臍帯血・臍帯由来間葉系幹細胞(MSC)の基礎的研究を行うとともに、臨床応用を目指し、その細胞製剤化と系統的資源化に必要な技術基盤を確立し、難治性疾患治療に応用することを目的とする。

臍帯は間葉系幹細胞を含み再生医療の細胞ソース、あるいは抗炎症・免疫抑制作用による細胞療法の細胞ソースとして注目されている。米国では、骨髄由来の間葉系幹細胞がOsiris社から「Prochymal」という製剤として承認され、国内でもこうした治療用細胞の製剤化が加速されつつある。

我々は臍帯由来間葉系幹細胞の製剤化に当たり、今年度は特に臍帯血・臍帯採取、調製保存の効率化、検査、情報の管理体制の確立ならびに各手順書の作成に取り組んでおり、PMDAへの事前相談や企業との共同研究を開始した。また、製剤化した場合には東大医科研が製造所という扱いになるが、CPCの適合性についてもPMDAにて早期に審査を受ける必要がある。細胞調製に関しては、臍帯をexplant法にて効率よく回収するための機器の開発により、細胞の回収効率が高まった。約1gの臍帯から2週間以内に平均 1.6×10^6 の細胞が回収(=Master cell)され、一旦凍結後に増幅する。製剤としてはP3の細胞(=Working cell)を予定している。また臍帯組織そのものを凍結保存に成功したことで生物資源製剤の原材料の保存、難病疾患患者からの検体回収、現在では分離抽出できない未知の細胞の回収等の可能性がある。今後、腫瘍形成テストや足場テスト等の品質試験を実施する予定である。臍帯血に関しては臍帯血バンクの手順に準じた調製を行うとともに、制御性T細胞等の薬効のある製剤形式にするかは今後の課題である。なお、資源化の規模は、対象疾患や投与方法に左右される。造血幹細胞移植を例にとるとHLAのVarietyを追及すると1座不一致の場合1万ユニットであるが、HLAを適合させる必要が無ければ数十の適合ユニットで済む可能性が高い。また遺伝性疾患の場合には血縁者(同胞)の臍帯血・臍帯も調製の対象になりうる。臨床応用の対象疾患としては、難病疾患に対する造血幹細胞移植御のGVHD、炎症性腸疾患 骨形成不全症を想定し、次年度以降臨床試験に向けて準備を始める。