

厚生労働科学研究費補助金（難病・がん等の疾患分野の医療の実用化研究事業
（再生医療関係研究分野））

「iPS細胞等の安定供給と臨床利用のための基盤整備」

分担研究報告書

「間葉系幹細胞移植医療の基盤整備」

研究分担者	玉井 克人	大阪大学 再生誘導医学寄附講座	教授
研究協力者	菊池 康	大阪大学 再生誘導医学寄附講座	助教
研究協力者	片山 一朗	大阪大学 皮膚科学教室	教授
研究協力者	金倉 讓	大阪大学 血液・腫瘍内科学教室	教授

【研究要旨】

重症栄養障害型表皮水疱症患者に対し、母親由来骨髄間葉系幹細胞移植を実施した。生直後より右足背から足関節部に生じ、以後25年間閉鎖したことの無い難治性皮膚潰瘍周囲の皮下に培養間葉系幹細胞を移植した結果、移植4か月後には潰瘍面上の上皮化が観察された。

A. 研究目的

栄養障害型表皮水疱症に対する骨髄由来間葉系幹細胞移植治療を確立する。

B. 研究方法

25歳男性の重症栄養障害型表皮水疱症患者に生直後から一度も閉鎖することなく続いている右足背から足関節部に及ぶ難治性皮膚潰瘍に対して、母親腸骨より採取した20ml 骨髄血を培養して得た骨髄間葉系幹細胞を、2cm間隔で1箇所あたり50万個/250ml 生理食塩水で皮下移植し、以後経時的に潰瘍縮小効果を評価した。

（倫理面への配慮）

本研究においては関連指針等を遵守し、大阪大学倫理委員会の承認を経て慎重に研究を進める。常に人権を尊重した研究を実行し、患者の不利益とならないよう最大限の配慮を行うこととする。

C. 研究結果

母親の腸骨骨髄血20mlより培養した間葉系幹細胞は、2継代、30日間の培養で約1500万個の間葉系幹細胞を得ることが出来た。移植可能な細胞規格である生存率70%以上、CD105陽性CD34陰性細胞50%以上を満たしたため、生直後から25年間閉鎖していない、右足背から右足関節前面に生じた難治性潰瘍周囲の皮下に2cm間隔で1箇所あたり50万個の間葉系幹細胞を移植した。その結果、それまで閉鎖したことの無い難治性皮膚潰瘍が移植4か月後にはほぼ上皮化を示した。

D. 考按

今回の臨床研究においては、HLA マッチを考慮せず、免疫抑制剤も使用せずに母親由来骨髄間葉系幹細胞を表皮水疱症患者の難治性潰瘍周囲皮下に移植したため、経過と共に移植細胞は拒絶され、移植治療効果

の持続時間は比較的短いと予想していた。しかし、移植後4か月目頃より著明な潰瘍縮小効果が出現し、4か月目の終わりにはほぼ上皮化が完了したことから、他家骨髄間葉系幹細胞移植の治療効果は少なくとも数か月持続することが確認された。しかし、5か月目以降には再び水疱が生じ、以後潰瘍の拡大・縮小を繰り返している。間葉系幹細胞移植前には潰瘍のサイズに著明な変動はなかったことから、潰瘍縮小効果は間葉系幹細胞移植の効果であることはほぼ疑いない。

間葉系幹細胞は損傷部位で増殖しながらTSG-6 (TNF- α gene/protein 6)などの抗炎症分子を放出して局所の炎症反応を抑制的に制御するため、拒絶反応が生じにくいと考えられている。しかし、移植5か月目には水疱形成が再燃していることから、免疫寛容は誘導されていないと思われる。より長期の治療効果を得るためにはmyeloid-abrasion後のドナー由来骨髄細胞移植と併用する、免疫抑制剤を併用するなどの拒絶反応回避法開発が必要である。

E. 結論

重症表皮水疱症患者の難治性潰瘍に対する健常家族ドナー由来間葉系幹細胞移植は有効性が確された。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Iinuma S, Aikawa E, Tamai K, Fujita

R, Kikuchi Y, Chino T, Kikuta J, McGrath J, Ishii M, Iizuka H, Kaneda Y. Transplanted bone marrow-derived circulating PDGFR α + cells restore type VII collagen in recessive dystrophic epidermolysis bullosa mouse skin graft. *J Immunol*, 2015 Feb 15;194(4): 1996-2003. doi: 10.4049/jimmunol.1400914. Epub 2015 Jan 19.

2. Fujita R, Tamai K, Aikawa E, Nimura K, Ishino S, Kikuchi Y, Kaneda Y. Stem Cells Endogenous Mesenchymal Stromal Cells in Bone Marrow Are Required to Preserve Muscle Function in mdx Mice. *J Immunol*, 2014; 194(3): 962-975, 2014

3. Moritsugu R, Tamai K, Nakano H, Aizu T, Nakajima K, Yamazaki T, Sawamura D. Functional analysis of the nuclear localization signal of the POU transcription factor Skn-1a in epidermal keratinocytes. *Int J Mol Med*. 2014, 34(2): 539-44.

2. 学会発表

なし

H. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案特許

なし

3. その他

なし