

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

「体性幹細胞、iPS 細胞等を用いる臨床研究実施のための基盤技術」

研究分担者	齋藤 充弘	大阪大学 未来細胞医療学共同研究講座	特任准教授
研究分担者	澤 芳樹	大阪大学 心臓血管外科学	教授
研究協力者	宮川 繁	大阪大学 心臓血管外科学	講師

【研究要旨】

大阪大学では重症心筋症患者を対象として、ヒト幹細胞指針に適合した自家骨格筋芽細胞シートの臨床研究を進めている。これまで 20 名以上の対象患者から採取した筋肉に含まれる骨格筋芽細胞を培養した経験から、65 歳以上の患者群で筋肉から単離された初代培養細胞数が低い傾向があり、患者背景が影響している可能性が考えられた。さらに、初代培養細胞数が低いと、継代培養後の骨格筋芽細胞の数や純度が低下していた。以上のことから、骨格筋芽細胞の培養に影響与える患者背景を特定することで、より安定的な培養方法につながる可能性が示唆された。

A. 研究目的

大阪大学医学部附属病院未来医療センターでは、基礎研究の早期実用化を目指したトランスレーショナルリサーチ実践の場として、2003 年に医学部附属病院の中央診療施設の一部門として開設され、ヒト幹細胞臨床研究や遺伝子治療臨床研究について、審査評価委員会への申請や臨床研究の実施に必要な書類作成から臨床研究終了までの総合的なサポートを行っている。さらに 6 ユニットの細胞培養調製施設を保有し、国内最多の承認件数を誇るヒト幹細胞臨床研究は国内随一の実施経験で多彩な幹細胞臨床研究の支援を提供できることに加え、GMP 対応施設として治験での利用も可能である。さらに、将来予定されている iPS 細胞由来細胞加工製品の製造を見据えて、細胞調整ユニットの増設を行うとともに、製

造支援体制の強化を行った。

研究分担者らが進めているヒト幹細胞指針に適合した自家骨格筋芽細胞シートの臨床研究において、対象患者から採取した筋肉に含まれる骨格筋芽細胞を培養した際に、回収細胞数が少ないことや細胞純度が低下したことが原因で、筋肉の再採取及び骨格筋芽細胞の再培養をするケースがあった。これらにはドナーである患者背景が起因している可能性が考えられた。そこで、今回は臨床研究における細胞培養実績から患者背景が骨格筋芽細胞の培養にどのような影響を与えるかを評価した。

B. 研究方法

回収細胞数・細胞生存率や骨格筋芽細胞の特異的なマーカーである CD56 陽性率（純度）を測定し、移植細胞の品質管理を行っ

た。その結果を元に、患者の年齢・体格・心疾患(拡張型心筋症または虚血性心筋症)でグループ分けして倍加時間・回収細胞数・純度を比較した。

(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

65歳以上の患者群で筋肉から単離された初代培養細胞数が低い傾向があり、患者背景が影響している可能性が考えられた。さらに、初代培養細胞数が低いと、継代培養後の骨格筋芽細胞の数や純度が低下していた。さらに、特定の薬剤の投薬歴が筋肉内の筋芽細胞数に影響を与えている可能性が示唆された。

D. 考按

骨格筋芽細胞の培養に影響与える患者背景や因子について、これまで実施した臨床研究の培養データから推察されることが示唆されたので、今後も引き続き蓄積される培養データを精査していく必要がある。

E. 結論

自家細胞移植による再生医療等製品の最大の問題点は、培養プロセスを安定化させることである。患者の病歴、投薬歴、疾患の状態によって変わりうる培養プロセスを精査し、変動因子を明らかにするために、引き続き臨床研究のデータの蓄積をすすめ

る。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

Cell-sheet Therapy With Omentopexy Promotes Arteriogenesis and Improves Coronary Circulation Physiology in Failing Heart. Kainuma S, Miyagawa S, Fukushima S, Pearson J, Chen YC, Saito A, Harada A, Shiozaki M, Iseoka H, Watabe T, Watabe H, Horitsugi G, Ishibashi M, Ikeda H, Tsuchimochi H, Sonobe T, Fujii Y, Naito H, Umetani K, Shimizu T, Okano T, Kobayashi E, Daimon T, Ueno T, Kuratani T, Toda K, Takakura N, Hatazawa J, Shirai M, Sawa Y. Mol Ther. 2015 Feb;23(2):374-86.

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