

201408007A

厚生労働科学研究費補助金
医療機器開発推進研究事業

骨髄単核球を用いた細胞治療の一般普及を目指した
簡便且つ細胞調製施設が不要な幹細胞分離デバイス
の開発

平成 26 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 山原 研一

平成 27 (2015) 年 3 月

厚生労働科学研究費補助金
医療機器開発推進研究事業

骨髄単核球を用いた細胞治療の一般普及を目指した
簡便且つ細胞調製施設が不要な幹細胞分離デバイス
の開発

平成 26 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 山原 研一

平成 27 (2015) 年 3 月

目 次

I. 総括研究報告書

「骨髄単核球を用いた細胞治療の一般普及を目指した簡便且つ細胞調製施設が不要な幹細胞分離デバイスの開発」 山原 研一	1
--	---

II. 分担研究報告書

「簡便且つ細胞調製施設が不要な幹細胞分離デバイスの開発」 山原 研一、曾根 正勝	7
---	---

「脳梗塞患者を対象にした自己骨髄単核球移植の第 1/2a 相臨床試験」 田口 明彦、長東 一行	10
--	----

「幹細胞分離デバイスの医療機器としての早期認可推進に関する研究」 山本 晴子	13
---	----

「幹細胞分離デバイスの事業化に向けた研究」 赤川 英毅、妙中 義之	15
--------------------------------------	----

III. 研究成果の刊行に関する一覧表	17
---------------------	----

IV. 研究成果の刊行物・別刷	19
-----------------	----

I. 総括研究報告書

厚生労働科学研究費補助金医療機器開発推進研究事業
(医療機器開発 (ナノテクノロジー等) 総合推進研究事業)
総括研究報告書

「骨髄単核球を用いた細胞治療の一般普及を目指した簡便且つ細胞調製施設が不要な
幹細胞分離デバイスの開発」

研究代表者 名前 山原 研一 所属 国立循環器病研究センター

研究要旨：骨髄細胞移植をより一般的な医療とするために、セルプロセッシングセンター (CPC) が不要で低コストな、また一般の医療従事者でも操作が簡易な単核球分離デバイスの開発を目指した活動展開を行った。結果、①本デバイスの対象疾患候補である脳梗塞患者における骨髄単核球移植の臨床試験(phase I/IIa)での安全性・有効性結果を基に、先進医療 B への展開を検討、②PMDA 薬事戦略相談での指摘を踏まえ、汎用単核球分離液 (Ficoll-Paque) への変更、及びそれに伴う問題点 (Ficoll-Paque 除去の必要性) 解決に向けた、共同研究企業との分離デバイスを含むシステム全体の開発を行った、③単核球分離デバイスの医療機器としての早期承認促進を目指し、専門家との協議および改正薬事法等を含む情報収集を行った。今後、PMDA との協議を継続しながら、医療機器化しやすいデバイス開発を進め、目標である臨床開発に向けた活動をより活発に展開していきたい。

A. 研究目的

我々は、2001 年より四肢虚血患者に対して自己骨髄単核球細胞を用いた細胞治療を行い、その著明な効果を明らかにし、2009 年より厚生労働省ヒト幹細胞指針に基づく承認を経て、脳梗塞患者に対する自己骨髄単核球移植による臨床試験を実施した。また、同様の手法を用いた細胞治療は、心筋梗塞患者において有効であることが、欧米における二重盲検試験やメタアナリシスでも明らかにされているが、日本同様、セルプロセッシングセンター (CPC) 構築や煩雑手技の問題により、骨髄単核球移植による細胞治療は一般的な医療としては普及していないのが現状である。

そこで本研究では、このような問題点を

解消するため、安全かつ確実な、特殊な手技や知識を必要としない完全閉鎖系の単核球分離デバイスを開発し、普及させることをその目的とする。我々は、これまでに細胞治療実施のため、プロトコール作成・ヒト幹指針の承認・CPC 運用管理・インフォームドコンセント取得・CPC での細胞分離調整など、再生医療の実施に必要な不可欠な非常に多くの事項を経験・実践してきた。本デバイスの作成には、これら実際の臨床試験での経験や知識を全て反映させ薬事承認審査経験のある分担研究者と共同で、本デバイスの速やかな医療機器承認及び一般普及を目指す。

単核球分離装置に関しては、白血病患者における骨髄移植(骨髄採取 500ml 以上)用

の骨髄単核球分離装置が存在するが、目的や容量が異なり、心疾患や脳血管障害の治療(採取骨髄量 20-50ml)には使用することができない。本研究開発は医療機器に関する早期・探索的臨床試験拠点である国立循環器病研究センターにおける成果として、可及的速やかな本デバイスの製品化を目指し、今年度は、脳梗塞患者を対象とした自己骨髄単核球の第 I/IIa 相臨床試験の安全性・有効性結果を踏まえた先進医療 B 展開の検討、共同研究企業とのデバイス開発、およびデバイスの早期医療機器承認を目指した体制整備・情報収集を推進した。

B. 研究方法

本年度は、脳梗塞患者を対象とした自己骨髄単核球の第 I/IIa 相臨床試験の安全性・有効性結果を踏まえた先進医療 B 展開、共同研究企業とのデバイス開発、およびデバイスの早期医療機器承認を目指した体制整備・情報収集として下記のことを行った。

①脳梗塞患者を対象にした自己骨髄単核球移植の第1/2a相臨床試験

急性期重症心原性脳塞栓症患者を対象に自己骨髄単核球移植の第1/2a相臨床試験の安全性・有効性結果を踏まえた先進医療B展開の検討を行った(田口ら)。

②単核球分離デバイス本体の開発

全ての医療従事者が取扱可能な、簡便・安全・確実な単核球分離デバイスの作成を目指し、共同研究企業と共に試作品の仕様設計および作成を行った。デバイスに求められる要件として、①一般的な遠心機にて完全閉鎖系で細胞処理が可能、②骨髄単核球の分離方法は、心筋梗塞に対する臨床試験で有効性が示されている方法と同じ比重

遠心分離法、③比重遠心分離液層への骨髄液の重層および比重遠心後の単核球層の採取が簡単に可能、であり、特別なスキルがなくても安全かつ簡易に骨髄単核球分画が単離出来る構造を目指した。

(山原、田口、曾根ら)。

③単核球分離システムの開発

昨年度までの PMDA 薬事戦略相談対面助言における指摘を踏まえ、単核球分離デバイス開発に関し、分離液は細胞治療研究において汎用されている Ficoll-Paque とする、という内容に研究内容を変更している。特に Ficoll-Paque という医薬品ではない分離液を用いる必要性から、細胞の洗浄工程をデバイスに組み込む必要性が生じた。そこで、単核球分離デバイス以外に洗浄工程を組み込んだ単核球分離システムの開発を共同研究企業と共に行った(山原、田口ら)。

④単核球分離デバイスの医療機器としての早期承認促進を目指した研究

共同研究を行っている医療機器企業とともに試作した幹細胞分離デバイスについて、1) 医療機器のクラス分類の検討、2) 臨床評価の必要性の有無、3) 前記の2項目を踏まえた上で、臨床試験の実施の必要性および必要な場合はその計画について検討した。国立医薬品食品衛生機構や(財)医療機器センター等の専門家のアドバイスを頂きながら検討を重ね、医薬品医療機器総合機構(PMDA)の薬事戦略相談においてクラスIIに該当する旨の見解を得た。今年度は、その見解をもとに共同研究先企業とともに機器のデザイン開発をおこないつつ、臨床試験について検討を開始した(山本、山原ら)。

⑤単核球分離デバイスの事業化に向けた研

究

大規模な設備を必要とせずにシンプルな器具と操作によって細胞治療を実施可能とする幹細胞分離デバイスは、製品化を伴って医療の均てん化に貢献するであろうと期待できる。デバイスの製品化に向けて、国内はもとより海外における特許などの動向と、競合となる可能性がある製品についての動向が、新しい製品を上市するにあたって把握しておくべきところである。そこで、本研究で取り扱っている細胞分離デバイスの開発状況を整理し、知的財産と試作品作成についての棚卸を行った(赤川、妙中ら)。

C. 研究結果

①脳梗塞患者を対象にした自己骨髄単核球移植の第1/2a相臨床試験

海外での発表データに加え、我々の実施した臨床試験データを基に、先進医療 B のプロトコル作成を行った。主なエントリー基準は i .虚血性脳梗塞患者、ii .年齢が 20 歳以上 80 歳以下、iii .発症 2 日目 NIHSS(National Institute of Health Stroke Scale)の麻痺側上肢サブスコアが 2 点以上(脳梗塞発症日を 0 日目とする)、iv .発症前 mRS(modified Rankin Scale)が 0 点、v .発症 10 日以内に治療可能である、である。また、有効性評価項目として、i .National Institutes of Health Stroke Scale (NIHSS)、評価日:脳梗塞発症 2 日後、14 日後、6 カ月後、ii . modified Rankin Scale (mRS)、評価日:脳梗塞発症 14 日後、6 カ月後、iii . Barthel Index、評価日:脳梗塞発症 14 日後、6 カ月後、iv .FIM、評価日:脳梗塞発症 14 日後、6 カ月後、v .Fugl-Meyer Assessment、評価日:脳梗塞発症 6 カ月後、vi . 最大歩行速度、評価日:脳梗塞発症 6 カ月後、である。また、

探索的評価項目として、MRI による i . Volumetry 解析、ii . FA 値、ADC 値解析、iii . 安静時機能的 MRI 解析、および TMS(Transcranial magnetic stimulation)による錐体路評価を行う(田口ら)。

②単核球分離デバイス本体の開発

単核球分離デバイス本体の周辺特許出願及び試作品作成を共同研究企業である(株)カネカと共に行った。具体的には、(1)周辺特許(特願 2011-2843821 号、特願 2011-284382 号)に基づいた試作品を作成し、単核球採取に関し基本的な構造に問題がないことを確認した(山原、田口、曾根ら)。

③単核球分離システムの開発

単核球分離デバイスに加え、単核球の洗浄工程を組み込んだ単核球分離システムの試作品作成を(株)カネカと共に行った。検討結果を踏まえ、新規特許(細胞分離デバイス及び細胞分離システム)を共同申請するに至った(山原、田口ら)。

④単核球分離デバイスの医療機器としての早期承認促進を目指した研究

これまでの PMDA 薬事戦略相談対面助言における指摘を踏まえ、単核球分離デバイス開発に関し、Ficoll-Paque という医薬品ではない分離液を用いる必要性が生じた。結果、細胞の洗浄工程を分離デバイスに組み込む必要性が生じ、今年度の単核球分離システム開発に至った。今後、単核球分離システムの仕様決定を行った後、PMDA 薬事戦略相談を再度受ける予定である(山本、山原ら)。

⑤単核球分離デバイスの事業化に向けた研究

遠心分離など密度差を利用して単核白血球を分離・収集する特許や活栓で成分の混

合・分離を図る海外の特許について検索した結果、既に企業から出願されているものが複数認められた。

また、評価指標を用いた知的財産の評価結果については、全体として事業性の評価は社会性の評価より相対的に高くなる傾向であった（赤川、妙中ら）。

考察

これまでの PMDA 薬事戦略相談対面助言を踏まえ、研究計画を大幅に変更した。特に、単核球分離デバイスに用いる単核球分離液に関し、脳梗塞患者を対象にした骨髄単核球移植では Ficoll-Paque を使用していることもあり、開発する単核球分離デバイスでも Ficoll-Paque を用いることとした。しかしながら、当初のコンセプト通りの簡便かつ細胞調製施設が不要になるよう、Ficoll-Paque を容易に洗浄除去可能なシステムを組み込む必要性が生じた。そこで、単核球分離デバイスに洗浄工程を含む単核球分離システムを、共同研究企業（カネカ）と共に開発を進めており、来年度には上市レベルの試作品を完成させたいと考えている。

E. 結論

本研究の目的である、簡便且つ細胞調製施設が不要な単核球分離デバイスの開発を進めた。PMDA との協議によって、様々な問題点が明らかとなり、現在、その解決に向けた開発を継続中である。本研究にて開発された単核球分離デバイスを用いることで、①全国の全ての地域で、②全ての心筋梗塞患者および脳梗塞患者を対象に、③安全な最先端医療を、④低コストで、提供するこ

とが可能になると考えており、今後、分担研究者と共に精力的にデバイス開発を行っていききたい。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Ohshima M, Taguchi A, Tsuda H, Sato Y, Yamahara K, Harada-Shiba M, Miyazato M, Ikeda T, Iida H, Tsuji M. Intraperitoneal and intravenous deliveries are not comparable in terms of drug efficacy and cell distribution in neonatal mice with hypoxia-ischemia. *Brain Dev.* 2015 Apr;37(4):376-86.
2. Matsuoka K, Yasuno F, Taguchi A, Yamamoto A, Kajimoto K, Kazui H, Kudo T, Sekiyama A, Kitamura S, Kiuchi K, Kosaka J, Kishimoto T, Iida H, Nagatsuka K. Delayed atrophy in posterior cingulate cortex and apathy after stroke. *International Journal of Geriatric Psychiatry.* in press.
3. Yasuno F, Taguchi A, Yamamoto A, Kajimoto K, Kazui H, Sekiyama A, Matsuoka K, Kitamura S, Kiuchi K, Kosaka J, Kishimoto T, Iida H, Nagatsuka K. Microstructural abnormalities in white matter and their effect on depressive symptoms after stroke. *Psychiatry Res.* 2014;223(1):9-14.
4. Yasuno F, Taguchi A, Kikuchi-Taura A, Yamamoto A, Kazui H, Kudo T, Sekiyama A, Kajimoto K, Soma T, Kishimoto T, Iida H, Nagatsuka K.

- Matsuoka K, Kitamura S, Kiuchi K, Kosaka J. Possible Protective Effect of Regulatory T cells on White Matter Microstructural Abnormalities in Stroke Patients. *J Clin Cell Immunol* 2014 ;5(3):221-228.
5. Yasuno F, Taguchi A, Yamamoto A, Kajimoto K, Kazui H, Kudo T, Kikuchi-Taura A, Sekiyama A, Kishimoto T, Iida H, Nagatsuka K. Microstructural abnormality in white matter, regulatory T lymphocytes, and depressive symptoms after stroke. *Psychogeriatrics*. 2014 ;14(4):213-221
 6. 田口 明彦 脳梗塞患者に対する再生医療開発 脳代謝循環 25 巻 2 号 Page 105-107 2014.
 7. 田口 明彦 【脳虚血の基礎と病態】細胞治療による脳梗塞再生医療 *Medical Science Digest* 41 巻 3 号 Page 111-114 2015
 8. 鈴木 育浩、前田光代、田口明彦 脳の科学 Up Date 脳梗塞患者に対する機能再生治療法の開発 能 21 17 巻 3 号 Page 371-374 2014
 9. 田口明彦 笠原由紀子 前田光代 治療戦略を目指した研究 再生・移植基礎研究 骨髄由来単核球細胞を用いた再生医療 日本臨床 72 巻増刊 最新臨床脳卒中学 (上) Page 469-472 2014
 10. 田口明彦 山原研一 脳血管をターゲットにした再生医療による認知症治療戦略 血管医学 15 巻 1 号 Page 69-74 2014
 11. 田口 明彦 心原性脳塞栓症患者に対する自己骨髄単核球移植治療とその発展
- 脳卒中 36 巻 2 号 Page 131-133 2014
2. 学会発表 (発表誌名巻号・頁・発行年等も記入)
 - 1) E. Akagawa, E. Tatsumi, H. Nakada, K. Ootou, S. Hasegawa and Y. Taenaka, Development and implementation of evaluation tool for intellectual properties created in the study of medical devices. 41st European Society for Artificial Organs Congress (2014, 9, 17-20, Roma).
 - 2) 第 52 回日本人工臓器学会大会 (2014, 10, 17- 10,19, 札幌), アカデミアからみた医療機器開発での課題とアプローチ事例- 知的財産の評価指標を用いた公的機関の承継プロセスへの実装. 赤川英毅, 巽英介, 大藤康一郎, 長谷川周平, 中田はる佳, 岩田倫明, 妙中義之.
- H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)
1. 特許取得
 1. 「細胞分離デバイス及び細胞分離システム」出願予定
 2. 実用新案登録
なし
 3. その他
なし

Ⅱ. 分担研究報告書

簡便且つ細胞調製施設が不要な幹細胞分離デバイスの開発

研究代表者 国立循環器病研究センター 再生医療部 室長 山原 研一

研究要旨

昨年度に引き続き、1) 完全閉鎖系の、2) 操作が容易な、3) 生体に安全な細胞分離液を用いた、4) 治療効果に優れた単核球分離デバイスの開発・製品化を目指した研究を行った。PMDA 薬事戦略相談対面助言において指摘された単核球分離液に関する問題点を踏まえ、汎用単核球分離液(Ficoll-Paque)への変更とそれに伴う問題点(Ficoll-Paque 除去の必要性)解決: 単核球洗浄工程を加えた単核球分離システム、に向けた開発を共同研究企業と共に行った。

共同研究者

田口明彦 先端医療振興財団 先端医療センター
再生医療研究部 部長
曽根正勝 京都大学医学部附属病院 糖尿病内分
泌栄養内科 講師

A. 研究目的

自己骨髄単核球を用いた細胞治療は、四肢虚血や急性心筋梗塞患者におけるメタアナリシスにて、その有用性が示されている。しかし、自己骨髄単核球は比重遠心により分離するため、厳密な管理が必要とされる細胞調製施設(CPC)において、細胞調整のための知識を備えた技術者が行わなければならない。細胞治療にかかる莫大なコスト、作業の煩雑さを考えると、一般病院レベルでの細胞治療の施行はハードルが高い。そこで、骨髄単核球移植をより一般的な医療とするためには、CPCが不要で低コスト、更には一般の医療従事者でも操作が簡易な単核球分離デバイスの開発に着手した。

B. 研究方法

①単核球分離デバイス本体の開発

全ての医療従事者が取扱可能な、簡便・安全・確実な単核球分離デバイスの作成を目指し、共同研究企業と共に試作品の仕様設計および作成を行った。デバイスに求められる要件として、①一

般的な遠心機にて完全閉鎖系で細胞処理が可能、②骨髄単核球の分離方法は、心筋梗塞に対する臨床試験で有効性が示されている方法と同じ比重遠心分離法、③比重遠心分離液層への骨髄液の重層および比重遠心後の単核球層の採取が簡単に可能、であり、特別なスキルがなくても安全かつ簡易に骨髄単核球分画が単離出来る構造を目指した。

②単核球分離システムの開発

昨年度までの PMDA 薬事戦略相談対面助言における指摘を踏まえ、単核球分離デバイス開発に関し、分離液は細胞治療研究において汎用されている Ficoll-Paque とする、という内容に研究内容を変更している。特に Ficoll-Paque という医薬品ではない分離液を用いる必要性から、細胞の洗浄工程をデバイスに組み込む必要性が生じた。そこで、単核球分離デバイス以外に洗浄工程を組み込んだ単核球分離システムの開発を共同研究企業と共に行った。

③単核球分離デバイスの医療機器承認を目指した活動展開

国立医薬品食品衛生研究所スーパー特区対応部門の担当者や、薬事承認審査経験のある研究分担者山本らと共同で、PMDA 薬事戦略相談を平成 23 年 10 月から開始している。これまでの事前面談や対面助言(平成 24 年 7 月 20 日)において、①本デバイスの医療機器認可には臨床的有用性

を示す必要性があること、②医薬品ベースの幹細胞分離液を用いるには、既承認医薬品の新規適応取得をする必要がある、との指摘を受けた。そこで、これら指摘を踏まえたデバイスの実用化を目指した活動を展開した。

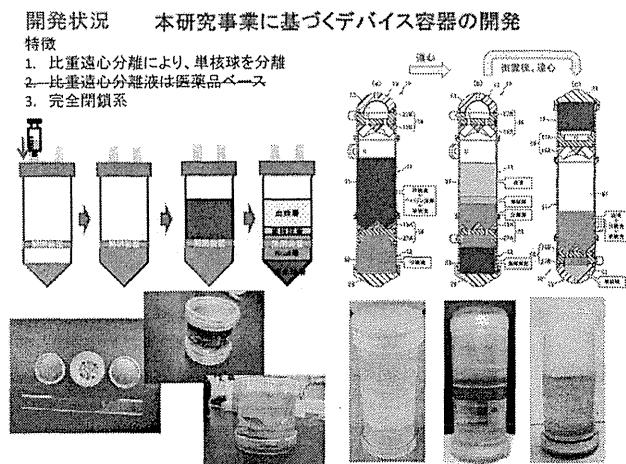
(倫理面への配慮)

ヒト骨髄を用いた研究は、「臨床研究に関する倫理指針」を遵守し、当センターの倫理委員会の審査により承認を得て実施した。

C. 研究結果(図1)

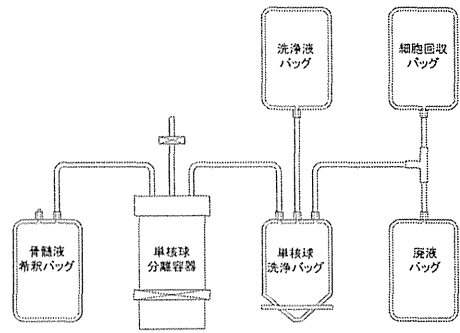
①単核球分離デバイス本体の開発

単核球分離デバイス本体の周辺特許出願及び試作品作成を共同研究企業である(株)カネカと共にに行った。具体的には、(1)周辺特許(特願2011-284381号、特願2011-284382号)に基づいた試作品を作成し、単核球採取に関し基本的な構造に問題がないことを確認した(図1)。



②単核球分離システムの開発

単核球分離デバイスに加え、単核球の洗浄工程を組み込んだ単核球分離システムの試作品作成を(株)カネカと共にに行った。検討結果を踏まえ、新規特許(細胞分離デバイス及び細胞分離システム)を共同申請するに至った(図2)。



③単核球分離デバイスの医療機器承認を目指した活動展開

これまでのPMDA薬事戦略相談対面助言における指摘を踏まえ、単核球分離デバイス開発に関し、Ficoll-Paqueという医薬品ではない分離液を用いる必要性が生じた。結果、細胞の洗浄工程を分離デバイスに組み込む必要性が生じ、今年度の単核球分離システム開発に至った。今後、単核球分離システムの仕様決定を行った後、PMDA薬事戦略相談を再度受ける予定である。

D. 考察

これまでのPMDA薬事戦略相談対面助言を踏まえ、研究計画を大幅に変更した。特に、単核球分離デバイスに用いる単核球分離液を、細胞治療研究において実績のあるFicoll-Paqueを用いることとしたため、当初のコンセプト通りの簡便かつ細胞調製施設が不要になるよう、Ficoll-Paqueを容易に洗浄除去可能なシステムを組み込む必要性が生じた。そこで、単核球分離デバイスに洗浄工程を含む単核球分離システムを、共同研究企業(カネカ)と共に開発を進めており、来年度には上市レベルの試作品を完成させたいと考えている。

E. 結論

本研究の目的である、簡便且つ細胞調製施設が不要な単核球分離デバイスの開発を進めた。PMDAとの協議によって、様々な問題点が明らかとなり、現在、その解決に向けた開発を継続中である。今後ともPMDA側と協議を進め、完成度の高いデバ

イス開発を進めていきたい。

F. 健康危険情報

なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Ohshima M, Taguchi A, Tsuda H, Sato Y, Yamahara K, Harada-Shiba M, Miyazato M, Ikeda T, Iida H, Tsuji M. Intraperitoneal and intravenous deliveries are not comparable in terms of drug efficacy and cell distribution in neonatal mice with hypoxia-ischemia. Brain Dev. 2015 Apr;37(4):376-86.

学会発表

1. なし

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む。）

1. 特許取得

1. 「細胞分離デバイス及び細胞分離システム」出願予定

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

脳梗塞患者を対象にした自己骨髄単核球移植の第 1/2a 相臨床試験

研究分担者 先端医療振興財団 先端医療センター 再生医療研究部 部長 田口 明彦
国立循環器病研究センター 脳神経内科 部長 長東 一行

研究要旨

自己骨髄単核球細胞を用いた治療法は、四肢虚血などにおいては既にその臨床試験的な有用性が証明されている。本研究では我々が実施した脳梗塞患者を対象に自己骨髄単核球移植の第 1/2a 相臨床試験で得られた知見を基に、先進医療 B での実施に向けた研究を行った。

A. 研究目的

脳血管障害は我が国における要介護者の原因疾患の第一位であるが、tPA 治療や血栓除去術の Therapeutic time window は発症数時間以内であり、その後の治療法はリハビリテーション以外には全く存在していない。脳梗塞患者に対する自己骨髄単核球細胞を用いた亜急性期における細胞治療は、我々の研究グループだけでなく米国などで臨床試験が開始され、その安全性/有効性が示されつつある。本年度は、我々が実施した脳梗塞患者を対象に実施した自己骨髄単核球移植の第 1/2a 相臨床試験で得られた知見を基に、先進医療 B での実施に向けた研究を行った。

B. 研究方法

①血中サロゲートマーカーの検討

第 1/2a 相臨床試験では、脳梗塞患者において細胞治療前および投与翌日において、末梢血中 CD34 陽性細胞数、血清サイトカイン(合計 7 種類:EGF、NGF、BDNF、VEGF、HGF、PDGF、bFGF 濃度)の測定を行った。

さらに、脳梗塞モデルマウスにおいて、脳梗塞作成 48 時間に骨髄単核球投与を行い、細胞投与前および投与 24 時間後における血清サイトカイン(合計 32 種類: Eotaxin、G-CSF、GM-CSF、IFN-g、IL-10、IL-12(p40)、IL-12(p70)、IL-13、IL-17A、IL-1a、IL-1b、IL-2、IL-3、IL-4、IL-5、IL-6、IL-9、KC、MCP-1、MIP-1a、MIP-1b、RANTES、TNF-a、FGF-basic、IL-15、IL-18、LIF、M-CSF、MIG、MIP-2、PDGF-bb、

VEGF 濃度)の測定を行った。

②脳梗塞患者細胞治療患者画像データの解析

第 1/2a 相臨床試験に参加した患者において、細胞投与 1 カ月後および細胞投与 6 カ月後の時点で PET(Positron Emission Tomography)による、脳循環代謝の解析を行った(N=7)。国立循環器病研究センターにおける PET 装置を用いて、脳梗塞側大脳半球、脳梗塞反対側大脳半球、テント下(脳梗塞病変なし)における、脳血流量(CBF)および脳酸素代謝(CMRO₂)に関して、DICOM(Digital Imaging and Communication in Medicine)データを自動解析ソフト(NEURO FLEXER)を用いて解析した。

③先進医療 B プロトコール作成

他国で実施されている臨床試験データおよび我々が実施した第 1/2a 相臨床試験や基礎研究を基に、先進医療 B 実施に向けたプロトコール作成を行った。

(倫理面への配慮)

脳梗塞患者に対する細胞治療はヒト幹細胞を用いる臨床研究に関する指針や臨床研究に関する倫理指針等、全ての厚生労働省の指針に準拠しており、国立循環器病研究センター・先端医療振興財団倫理委員会およびヒト幹指針に基づく厚生科学審議会の承認を経て実施した。

またすべての動物実験は、動物実験に供する動物の数を最小限にとどめると共に、外科的手術や細胞採取など際して実験動物に苦痛を与えないなど、先端医療振興財団動物実験委員会の承認を受けて研究を行

った。

C. 研究結果

①血中サロゲートマーカーの検討

患者データ解析において、各患者ではサイトカインの増減が観察されたが、全体解析においては有意な増加/減少は観察されず、明らかなトレンドを捉えることができなかった。

脳梗塞モデルにおける血清サイトカイン解析においても、継時的な変化は観察されるものの、細胞投与の有無によっても明らかな変化やトレンドを見出すことができなかった。

②脳梗塞患者細胞治療患者画像データの解析

文献的には皮質領域を含む大梗塞患者においては、脳梗塞半球および脳梗塞対側において、継時的に CBF および CMRO₂ が減少することが報告されている。本細胞治療を受けた患者群においては、脳梗塞半球における CBF の増加は見られなかったものの、脳梗塞対側における CBF の増加、および脳梗塞半球および脳梗塞対側における CMRO₂ の増加が観察された。

③先進医療 B プロトコール作成

海外での発表データに加え、我々の実施した臨床試験データを基に、先進医療 B のプロトコール作成を行った。主なエントリー基準は i .虚血性脳梗塞患者、ii . 年齢が 20 歳以上 80 歳以下、iii . 発症 2 日目 NIHSS(National Institute of Health Stroke Scale)の麻痺側上肢サブスコアが 2 点以上(脳梗塞発症日を 0 日目とする)、iv .発症前 mRS(modified Rankin Scale)が 0 点、v .発症 10 日以内に治療可能である、である。また、有効性評価項目として、i .National Institutes of Health Stroke Scale (NIHSS)、評価日:脳梗塞発症 2 日後、14 日後、6 カ月後、ii . modified Rankin Scale (mRS)、評価日:脳梗塞発症 14 日後、6 カ月後、iii . Barthel Index、評価日:脳梗塞発症 14 日後、6 カ月後、iv .FIM、評価日:脳梗塞発症 14 日後、6 カ月後、v .Fugl-Meyer Assessment、評価日:脳梗塞発症 6 カ月後、vi . 最大歩行速度、評価日:脳梗塞発症 6 カ月後、である。また、探索的評価項目として、MRI による i . Volumetry 解析、ii . FA 値、ADC 値解析、iii . 安静時機能的 MRI 解析、および TMS(Transcranial

magnetic stimulation)による錐体路評価を行う。

D. 考察

動物実験モデルでは造血幹細胞投与により虚血領域における微小血管構築の劇的な変化が起こるが、それらの機序は血中サイトカインの増減を介するものではないと考えられた。また、PET による脳循環動態の測定は、治療効果の判定に有用であることが判明したが、PET 脳循環代謝画像が撮像できる施設が極めて限られているだけでなく、測定には持続的動脈採血等の侵襲的処置が必要であり、さらには撮像時間に長時間を要するなど、解決すべき問題が山積しており、先進医療 B における治療効果判定には MRI による評価を考慮する必要があると考えている。

E. 結論

我が国における要介護者および寝たきり者の第一位はいずれも脳卒中であり、要介護者数および介護費用の抑制には、新規治療法開発およびその普及促進に関する研究の継続が必要不可欠であると考えている。

F. 健康危険情報

特記すべきことなし。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Matsuoka K, Yasuno F, Taguchi A, Yamamoto A, Kajimoto K, Kazui H, Kudo T, Sekiyama A, Kitamura S, Kiuchi K, Kosaka J, Kishimoto T, Iida H, Nagatsuka K. Delayed atrophy in posterior cingulate cortex and apathy after stroke
International Journal of Geriatric Psychiatry in press
2. Yasuno F, Taguchi A, Yamamoto A, Kajimoto K, Kazui H, Sekiyama A, Matsuoka K, Kitamura S, Kiuchi K, Kosaka J, Kishimoto T, Iida H, Nagatsuka K. Microstructural abnormalities in white matter and their effect on depressive symptoms after stroke.
Psychiatry Res. 2014;223(1):9-14
3. Yasuno F, Taguchi A, Kikuchi-Taura A, Yamamoto

A, Kazui H, Kudo T, Sekiyama A, Kajimoto K, Soma T, Kishimoto T, Iida H, Nagatsuka K, Matsuoka K, Kitamura S, Kiuchi K, Kosaka J. Possible Protective Effect of Regulatory T cells on White Matter Microstructural Abnormalities in Stroke Patients.

J Clin Cell Immunol 2014 ;5(3):221-228

4. Ohshima M, Taguchi A, Tsuda H, Sato Y, Yamahara K, Harada-Shiba M, Miyazato M, Ikeda T, Iida H, Tsuji M. Intraperitoneal and intravenous deliveries are not comparable in terms of drug efficacy and cell distribution in neonatal mice with hypoxia-ischemia.

Brain & Development in press

5. Yasuno F, Taguchi A, Yamamoto A, Kajimoto K, Kazui H, Kudo T, Kikuchi-Taura A, Sekiyama A, Kishimoto T, Iida H, Nagatsuka K. Microstructural abnormality in white matter, regulatory T lymphocytes, and depressive symptoms after stroke.

Psychogeriatrics. 2014 ;14(4):213-221

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む。）

1. 「細胞分離デバイス及び細胞分離システム」
出願予定
2. 「虚血性疾患の治療及び／又は予防の為の
医薬、細胞の血管新生促進活性向上方法、又
は、医薬の製造方法」出願予定

幹細胞分離デバイスの医療機器としての早期認可推進に関する研究

研究分担者 山本 晴子 国立循環器病研究センター 先進医療・治験推進部 部長

研究要旨

現在、幹細胞を用いた細胞治療は、特定機能病院を中心としてごく少数の患者を対象に実施されているのみである。この原因の主なものとして、現状では細胞の分離、培養過程を細胞調整施設（CPC）で行わなければならない、CPCとその稼働体制が構築されたごく少数の施設でのみ対応が可能であり、一般診療への普及は困難である。我々は、CPCなしで細胞分離が可能で、完全閉鎖系で操作が容易、かつ生体に安全な分離液を用いた分離デバイスの開発を開始するとともに、医療機器として早期認可を可能とするための研究を開始した。昨年度までに専門家のアドバイス等を受けた上でPMDAの薬事戦略相談を実施し、クラス分類や臨床開発の道筋について一定の見解を得たが、一方で共同研究企業の変更に迫られた。また、法律改正等の環境変化もあり、臨床研究デザインの検討は一時中断を余儀なくされた。そのため、別事業で脳梗塞の細胞治療に関する開発ガイドラインの開発を行う研究グループと意見交換を行いつつ、有効性評価指標についての検討を行い、一定の知見を得た。

A. 研究目的

現在、幹細胞を用いた細胞治療は、特定機能病院を中心としてごく少数の患者を対象に実施されているのみである。この原因の主なものとして、現状では細胞の分離、培養過程を細胞調整施設（CPC）で行わなければならない、CPCとその稼働体制が構築されたごく少数の施設でのみ対応が可能であり、一般診療への普及は困難である。我々が臨床試験として実施している急性期脳梗塞患者に帯する骨髄間葉系幹細胞による治療は、分離液を用いて幹細胞を分離、洗浄するだけのプロセスであるため、完全閉鎖系で操作が容易、かつ生体に安全な分離液を用いた分離デバイスがあれば、CPCは必ずしも必要でなくなる。そこで、この条件を満たす分離デバイスの開発を開始するとともに、医療機器として早期認可を可能とするための研究を実施した。

B. 研究方法

共同研究を行っている医療機器企業とともに試作した幹細胞分離デバイス（以下、本デバイス）について、
1) 医療機器のクラス分類の検討、2) 臨床評価の必要

性の有無、3) 前記の2項目を踏まえた上で、臨床試験の実施の必要性および必要な場合はその計画について検討していたところであった。昨年度、国立医薬品食品衛生機構や（財）医療機器センター等の専門家のアドバイスを頂きながら検討を重ね、医薬品医療機器総合機構（PMDA）の薬事戦略相談においてクラスIIに該当する旨の見解を得た後、当初の共同研究企業が開発を断念する事態に至った。そのため、主任研究者が新たな共同研究企業を探索、決定し、改めて機器デザインの検討が開始された。また、今年度は薬事法の改正と再生医療等安全性確保法が施行された。

昨年度から今年度にいたる上記のような環境の変化を受け、臨床研究デザインの検討は一時中断を余儀なくされた。そのため、別事業で脳梗塞の細胞治療に関する開発ガイドラインの開発を行う研究グループと意見交換を行いつつ、有効性評価指標についての検討を行った。

（倫理面への配慮）

臨床試験計画策定は行わなかったため、倫理面への配慮を必要とする研究に該当しない。

C. 研究結果

急性期脳卒中に対する治療効果判定のための有効性評価指標として代表的なのは、modified Rankin scale である。しかし、この評価指標にも様々な問題があることが専門家の間では知られている。また、治療方法の特性によって機能回復の評価尺度を変えるべきという考え方もある。機能障害の評価尺度としては、Fugl-Meyer scale、Action Arm Research Test や walking speed などが認知度も高く、臨床試験の中で使用可能と考えられた。また、Barthel Index の使用も検討に値すると考えられた。さらに、より早期の探索段階での有効性指標として、運動神経機能の回復を評価できる新たな尺度（画像評価等）の開発が必要であると思われる。

D. 考察

医療機器の認可は薬事法及び関連法令に基づいて行われているが、現状では関連法令が医薬品の許認可と類似の内容であり、医療機器の特徴が必ずしも正しく反映されていないという問題点が指摘されている。我々の開発している医療機器は、従来CPCで行われている細胞分離手技を簡便な医療機器で行うことで、CPCの使用可能な施設でしか実施できない治療行為をほぼ国内全地域に普及させることのできる画期的なコンセプトの医療機器である。操作が簡便で使用毎に遣い捨てるという性質から、機器自体は単純な構造であり、販売予想価格も非常に低いと考えている。そのこと自体は認可後の当該機器の普及に大きく寄与すると思われるが、逆に開発コストを低く抑えなければ採算性がなく、企業に導出することが困難という問題を抱えている。本研究を進める中でこの問題は顕在化し、当初の共同研究企業は開発を中断するに至った。我々の開発している細胞分離デバイスは、CPCで行われる細胞分離手技をより簡便な手技に変換することを目的としているのであり、分離された生産物の臨床的有用性の検討のレベルは、自ずと医薬品とは異なってしかるべきと考えている。そのため、医師主導治験や先進医療等の制度を利用した臨床評価の方法について検討してきた。新たな共同研究企業を得て、本デバイス自体の開発は本研究期間中に大きな進捗を得ている。

また、今年度は脳梗塞の細胞治療に関する開発ガイドラインの開発を行う研究グループとの意見交換の機会を得たため、急性期脳卒中の臨床試験における有効性の評価指標について検討することができ、今後、本デバイスを臨床応用していく上で大きな収穫となった。

急性期脳卒中の治療施設は全国で整備が進んでいるが、その殆どは地域の基幹病院であり、CPCを有する大学等の医療機関は含まれていない。そのため、急性期脳卒中に細胞治療を応用するためには、CPCに頼らないシステムが必要である。本デバイスはこのギャップを埋めることのできる有望な技術であり、今後も開発を進める必要が高い戸考える。

F. 健康危険情報

なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

（発表誌名巻号・頁・発行年等も記入）

2. 学会発表

なし

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

3. その他

なし

幹細胞分離デバイスの事業化に向けた研究

研究分担者 赤川英毅 国立循環器病研究センター知的資産部 室長
妙中義之 国立循環器病研究センター 研究開発基盤センター長

細胞調整施設のような大規模な設備を必要とせずに細胞治療を実施可能とする幹細胞分離デバイスは、製品化によって医療の均てん化に貢献するであろうと期待できる。このようなデバイスの臨床での普及には製品としての上市が必要であって、企業への技術移転が不可欠である。一方で、技術移転に伴う知的財産の価値を共有して認識することは重要であり、知的財産の評価指標の有効性についてはこれまでも述べてきたところである。本研究分担者らは、当該細胞分離デバイスに関わる知的財産の棚卸を行いつつ、知的財産の評価指標について汎用的な観点からの検証を行った。

A. 研究目的

新規の医療機器が実際に患者への治療に用いられるようにするためには、製品化を担うべき企業とのマッチング・合意形成など、優れた技術のみではなく事業性や社会性など俯瞰的・包括的な立場からの価値の認識が重要である。特に企業とのマッチングにおいては、特許など知的財産の権利化が進められていることが、その後の事業戦略に大きく影響を及ぼす。

一方で、分担研究者らは医療機器を対象とした知的財産の評価指標の策定に取り組んできた。この指標は従来の特許権としての取得のしやすさや事業としての可能性のみでなく、治療・診断での効果やオープン性など社会への貢献についても考慮している。また、それぞれの評価指標においては提示された幾つかの条件の中で合致するものの数をポイント化するなど、可能な限り定量的に評価するように配慮されたものである。本分担研究の初年度においては、当該デバイスについて本指標を用いた評価も実施した。しかしながら、汎用的な観点からの検証は未だ十分とは言い難い。

そこで本研究では、これまでの当該デバイスについての知的財産の状況を整理するとともに、上述の指標

によって公開された既出願の発明を評価することによって、これら発明の価値・特徴を把握して指標の有用性を検証することを目的とした。

B. 研究方法

本研究で取り扱っている細胞分離デバイスの開発状況を整理し、知的財産と試作品作成についての棚卸を行った。

また、大学・公的研究機関に所属する発明者を含む公開された特許出願のうち、医療機器と見做せるものを対象として、4年目以降の年金が支払われているか否かを考慮しつつ2009年以前の8年間からランダムに14件を抽出した。これらについて、本分担研究の初年度にも当該デバイスについて実施した医療機器の評価指標を用いて評価した。評価の定量化については、それぞれA:3点、B:2点、C:1点として数値化したもので解析した。なお、これらの調査にはインターネット検索情報サービスなどを適宜使用した。また、対象技術分野として、IPC分類でのA61医学または獣医学の中から分類対象を幾つかに絞った。

C. 研究結果

本研究で取り扱っている細胞分離デバイスに関する知的財産で公開されているものを以下に示す(表 1)。これらに続き、企業とともに国際出願と意匠に関する出願 2 件も進めた。

また、評価指標を用いた知的財産の評価結果については、全体として事業性の評価は社会性の評価より相対的に高くなる傾向であった。

表 1. 本研究に関する特許出願状況

出願番号	出願人
特願 2010-175056	ヒューマンサイエンス財団
特願 2011-284381	国立循環器病研究センター
特願 2011-284382	国立循環器病研究センター
特願 2012-117511	先端医療振興財団

その他、国際出願を予定しているもの意匠出願を予定しているものなど

D. 考察

本研究では、事業化の準備程度と特許性・事業性・社会性における傾向を分析した。特にアカデミアでの開発を念頭におき、対象とする研究機関の検索キーワードには「大学」「理化学研究所」「産業技術総合研究所」「高度専門医療研究センター」を選択し、当研究センターの開発ともコミットしつつ汎用性のある観点からも分析できるように考慮した。

特許性の中では、新規性の評点が相対的に低く、権利行使等に関する評点が高くなっていた。事業性については、他の特許性・社会性に比して相対的に評点は高かった。社会性の中では、治療に対する効果・身体的精神的な負担軽減・QOL に関する課題・オープン性の評点が相対的に低く、均てん化や環境への配慮に関する評点は高かった。なお、対象となる発明や出願者の属性などが異なっても、これらは似通る傾向があり、本来は差別化を図るべき指標としての役割を考えたときには、その難しさが改めて浮き彫りとなったかたちである。特に評価者に依存する偏りの可能性については否定しがたく、今後の検討課題である。

E. 結論

この評価指標は医療機器に関する知的財産の価値

を把握するのに有用性はあるものと考えられるが、一方で評価者に依存する偏りの可能性など更に検討すべき課題も示唆された。また、幹細胞分離デバイスの技術移転にあたっては、その具現化へと切り開かれつつある。

F. 研究発表

学会発表

- 1) E. Akagawa, E. Tatsumi, H. Nakada, K. Ootou, S. Hasegawa and Y. Taenaka, Development and implementation of evaluation tool for intellectual properties created in the study of medical devices. 41st European Society for Artificial Organs Congress (2014, 9, 17-20, Roma).
- 2) 第 52 回日本人工臓器学会大会 (2014, 10, 17-19, 札幌), アカデミアからみた医療機器開発での課題とアプローチ事例- 知的財産の評価指標を用いた公的機関の承継プロセスへの実装. 赤川英毅, 巽英介, 大藤康一郎, 長谷川周平, 中田はる佳, 岩田倫明, 妙中義之.