

厚生労働科学研究費補助金（医療技術実用化総合研究事業（早期探索的・国際水準臨床研究事業））  
分担研究報告書

研究事業7. 重症クローン病に対する同種卵膜間葉系幹細胞による新たな治療法の開発

研究分担者 大西 俊介 北海道大学病院 消化器内科 講師

研究要旨

羊膜由来間葉系幹細胞(MSC) をクローン病に臨床応用するため、臨床試験を行うための治験薬 GMP に準拠したヒト羊膜 MSC 製剤を作製し、品質および非臨床試験を実施して確認した。また、first-in-human の臨床試験へ向けて、臨床試験プロトコルを作成した。今後は PMDA の対面助言を受け、治験届を提出して臨床試験を実施していく。

A. 研究目的

間葉系幹細胞(MSC)は骨髄など多くの組織に存在し、新しい再生医療材料として注目されている。最近、MSC の抗炎症作用が明らかとなり、骨髄移植後移植片対宿主病に対する同種 MSC 投与の臨床試験が国内外で行われている。一方、クローン病は難治性炎症性腸疾患であり、近年の分子標的薬の登場により一定の効果をあげているが、二次無効の問題も生じている。

我々はこれまでに、出産時に廃棄される卵膜からの MSC の分離・培養に成功し、炎症性腸疾患モデルの症状や大腸の炎症所見が、ヒト卵膜由来 MSC の静注によって改善することを確認した。本研究では、重症クローン病患者に対し、同種卵膜由来 MSC の静脈内投与を行い、その安全性および忍容性を評価することを目的としている。これまでに PMDA の助言を受けてヒト羊膜 MSC 製剤の作成法、品質ならびに非臨床試験項目について決定してきた。本年度は、実際に北海道大学セル・プロセッシング・センター(CPC)においてヒト羊膜 MSC 製剤を作成し、また臨床試験プロトコルの作成を行った。

B. 研究方法

北海道大学 CPC にてヒト羊膜を酵素処理し、大量培養皿を用いて培養し、凍結保存を行い品質の確認を行った。臨床試験プロトコルの作成については、先行研究を参考にして適格基準や除外基準、細胞の投与数、投与回数、評価項目を設定した。

（倫理面への配慮）

北海道大学産科において帝王切開による分娩時に、通常は廃棄される卵膜を母親の同意を得て提供いただき、動物実験等に用いることについて、北海道大学医学部医の倫理委員会の承認を得て実施した。

C. 研究結果

治験薬 GMP に準拠した細胞製剤を製造するための手順書などの書類を作成した。また、北海道大学病院産科において帝王切開による分娩時に卵膜を提供いただき、決定した MSC 製剤作成プロトコルの手順に従って細胞製剤を製造することができた。その細胞について、品質および非臨床試験を行い、安全性および有効性を確認した。さらに、First-in-human の臨床試験へ向けて、臨床試験プロトコルを作成し、PMDA の事前面談の申し込みを行った。

D. 考察

北海道大学病院において卵膜採取から細胞の調整までの手順が確立され、第 I 相試験のためのプロトコルを作成した。臨床試験プロトコルについては PMDA の対面助言を経て治験届を提出し、平成 27 年度に臨床試験を開始する予定である。

E. 結論

羊膜 MSC を用いたクローン病に対する First-in-Human 試験の開始へむけて、治験薬 GMP に準拠した細胞製造法を確立し、臨床試験プロトコルを作成することができた。

F. 研究発表

1. 論文発表

Onishi R, Ohnishi S, Higashi R, Watari M, Yamahara K, Okubo N, Nakagawa K, Katsurada T, Suda G, Natsuzaka M, Takeda H, Sakamoto N. Human amnion-derived mesenchymal stem cell transplantation ameliorates dextran sulfate sodium-induced severe colitis in rats. **Cell**

Transplantation (in press)

## 2. 学会発表

大西礼造、大西俊介、東亮佑、山原研一、吉松淳、桂田武彦、大久保直登、中川宏治、武田宏司、坂本直哉。羊膜由来間葉系幹細胞による炎症シグナルの制御。第 22 回日本胎盤学会学術集会。平成 26 年 10 月 (Placenta 2014;35(10);A23)

## G. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む。）

### 1. 特許取得

【発明の名称】羊膜間葉系細胞組成物の製造方法及び凍結保存方法、並びに治療剤

① 国内出願 特願 2014-130142（出願日：2014.06.25）／特開 2015-61520（公開日：2015.04.02）

② 国際出願 PCT/2014/071546（出願日：2014.08.18）／W02015/025810（公開日：2015.02.26）

【優先権】特願 2013-170008（優先日：2013.08.19）

### 2. 実用新案登録

### 3. その他