

201432005A

厚生労働科学研究委託費  
再生医療実用化研究事業

細胞シート治療の臨床推進とデータベース構築

平成26年度 委託業務成果報告書

研究代表者 岡野 光夫

平成 27 (2015) 年 3 月

本報告書は、厚生労働省の科学研究委託事業による委託業務として、東京女子医科大学が実施した平成26年度「細胞シート治療の臨床推進とデータベース構築」に関する研究の成果を取りまとめたものです。

## 目 次

I. 総括研究報告		
細胞シート治療の臨床推進とデータベース構築	-----	1
岡野光夫 (東京女子医科大学先端生命医科学研究所 特任教授)		
II. 分担研究報告		
1. 自己培養上皮細胞シートを用いた空輸を伴う食道再生ヒト臨床研究	--	6
江口 晋 (長崎大学大学院 医歯薬学総合研究科 移植・消化器外科 教授)		
2. 細胞シート治療のデータベース構築	-----	14
村垣善浩 (東京女子医科大学 先端生命医科学研究所 教授)		
3. ヒト間葉系幹細胞を用いた歯周組織再生治療に関わる技術開発	-----	26
岩田隆紀 (東京女子医科大学 先端生命医科学研究所 准教授)		
4. 上皮細胞シートを用いた食道再生治療に関わる技術開発 ～細胞シート移植デバイス開発～	-----	30
金井信雄 (東京女子医科大学 先端生命医科学研究所 特任助教)		
III. 学会等発表実績	-----	34
IV. 研究成果の刊行物・別刷	-----	39

# I . 総括研究報告

厚生労働科学研究委託費（再生医療実用化研究事業）

総括研究報告書

細胞シート治療の臨床推進とデータベース構築

研究代表者 岡野 光夫

東京女子医科大学 先端生命医科学研究所 特任教授

#### 研究要旨

現在、東京女子医科大学で実施しているヒト幹指針に沿った再生医療の臨床研究は「自己ヒト歯根膜細胞シートを用いた歯周組織の再建」と「早期食道癌に対する内視鏡的粘膜下層剥離術（ESD）後食道潰瘍への自家口腔粘膜上皮細胞シート移植の臨床研究」であり、ともに既存治療では根治困難な疾患に対して、組織工学技術を駆使した細胞シートによる再生医療的アプローチでの治療法開発をめざしている。これまでに細胞シート作製、細胞シート輸送、そして移植デバイスなどのヒト細胞シート治療における一連の技術開発を進めている。本研究では、細胞シート治療の早期普及と実用化をめざし、ヒト間葉系幹細胞やヒト上皮幹細胞などの体性幹細胞から安定した細胞シートの作製、細胞加工施設（CPC）から共同機関への輸送システム、そして移植デバイスや移植手技など包括的なシステムを構築し、細胞治療の標準化と安定化を確保し、先進医療Bならびに治験を想定した多施設で細胞シート治療が施行可能となるプロトコルを作成する。また臨床成績の評価系を確立し検証していくとともに、治療後の経過を追跡し、細胞シート治療に関するデータベースの構築を行う。

#### 研究分担者

江口 晋（長崎大学大学院 医歯薬学総合研究科 移植・消化器外科 教授）

村垣 善浩（東京女子医科大学 先端生命医科学研究所 教授）

岩田 隆紀（東京女子医科大学 先端生命医科学研究所 准教授）

金井 信雄（東京女子医科大学 先端生命医科学研究所 特任助教）

#### A. 研究目的

東京女子医科大学では、未だ標準治療が存在していない食道早期がんの広範囲粘膜切除後の食道狭窄に対して、自家上皮細胞シートによる再生治療を開発し、初期ヒト臨床研究にて安全性および狭窄予防の可能性を示した。現在、多施設での有効性試験をめざした細胞シート空輸による長崎大学のヒト臨床研究を実施している。歯周領域

に対しては、自家間葉系幹細胞シート移植による歯周組織再生治療法を開発し、ヒト臨床研究を実施している。今後、細胞を培養加工した細胞シートによる再生治療が実用化し、多くの患者に提供していくには、安定した品質で細胞シートを作製する技術だけでなく、CPCから多施設に輸送するシステム、そしてデリバリーデバイスや移植手技の開発が重要であり、次のステップである

先進医療 B・治験において多施設で共有できるプロトコルが確立されなければならない。そこで本研究では、東京女子医科大学ならびに長崎大学で「ヒト幹指針」に沿って進められているヒト臨床研究を適切に実施するとともに、ヒト臨床研究で蓄積されている細胞シート作製技術、輸送システム評価、新型移植デバイスを含む治療手技を細胞シート再生医療実用化にむけた包括的なシステム構築し、先進医療 B・治験にむけたプロトコルの集約と効率化を図る。さらに細胞治療に関するデータベースの構築を行う。

## B. 研究方法

東京女子医科大学・長崎大学において「ヒト幹指針」に合致した臨床研究を推進する。東京女子医科大学では平成 23 年から「自己ヒト歯根膜細胞シートを用いた歯周組織の再建」を実施している。また、女子医大と長崎大学が共同臨床研究「早期食道癌に対する内視鏡的粘膜下層剥離術 (ESD) 後食道潰瘍への自家口腔粘膜上皮細胞シート移植の臨床研究」を平成 25 年より開始している。本臨床研究では長崎の患者の口腔粘膜組織を採取し、東京に輸送し、女子医大で作製した口腔粘膜上皮細胞シートを長崎に移動し、長崎大学で移植手術を行う細胞製品を輸送して移植する臨床研究である。平成 26 年度内に女子医大・長崎大それぞれ 10 例、合計 20 症例の細胞シート移植と予後追跡が終了する予定であり、この期間までに実施中の有害事象や問題点を抽出・共有する仕組みを確立する。また臨床研究の実施と平行して、匿名化されたデータベースの構築を図る。臨床のデータと細胞の性能試験から得

られたデータを紐付け、これらのデータを比較検討することで最適な適応症・有効なマネジメント方法などを導き出す。現在までのほとんどの細胞治療は単独で行われており、日本再生医療学会でも領域毎のデータベース化を推奨していることから、本研究グループが窓口となって体性幹細胞を利用した細胞シート治療のデータベースの構築を推進する。

(倫理面への配慮)

臨床試験に関しては、「ヘルシンキ宣言 (2008 年 10 月修正)」および「臨床研究に関する倫理指針 (平成 20 年 7 月 31 日改正)」および「ヒト幹細胞を用いる臨床研究に関する指針 (平成 22 年 11 月 1 日全部改訂)」を遵守して実施する。開始時に試験担当医師は被験者本人に対し、試験内容を十分に説明し、本試験への参加について文書により被験者本人の自由意思によって同意を取得する。なお本研究期間中に「人を対象とする医学系研究に関する指針」(平成 26 年 12 月)が公表されており、本倫理指針に従ってデータベース構築などの分担研究も遂行する。

## C. 研究結果

2011 年から東京女子医科大学にて実施している臨床研究課題:「自己培養歯根膜細胞シートを用いた歯周組織の再建」の移植ならびに予後追跡調査が全 10 例において完了し、臨床研究を終了することができ、安全性ならびに有効性を確認した。また東京女子医科大学・長崎大学と共同で細胞シート輸送に伴うヒト臨床研究課題:「早期食道癌に対する内視鏡的粘膜下層剥離術 (ESD) 後食道潰瘍への自家口腔粘膜上皮細胞シー

ト移植の臨床研究」を推進し、26年10月30日までに予定されていた10症例を完了した。これにより多施設間での細胞シート製造と治療の分担、共同して治療を行う基盤を作り上げた。さらに細胞シート作製工程に関しては、このヒト臨床研究で得られた安全性評価を参考に、治験に対応した品質規格を設定し、上皮細胞シート製品としての開発をPMDAと相談し進めている。また開発された移植デバイスにおいても論文報告し (*maeda M, Kanai N, et al. gastrointestinal endoscopy 2015. accept*)、治験で使用できるグレードの開発をPMDAと戦略相談を進めている。歯周組織再生治療ならびに食道再生治療のヒト臨床研究において、歯根膜組織由来間葉系幹細胞シートと口腔粘膜上皮細胞シートの製造は先端生命医科学研究所で行われた。これら体性幹細胞を用いた細胞シート作製工程におけるヒト臨床研究での品質規格・出荷規格などのプロトコルを作成し、さらに治験に向けてのPMDA戦略相談が進められている。上皮細胞シートの長崎・東京間での空輸ヒト臨床研究において、開発された輸送システムによる輸送前後の細胞シートの解析を行い、その結果を論文投稿準備中である。

細胞シートのデータベース（以下DB）構築に関しては、以下2点を考慮に入れて設計された。①細胞シート技術が凄まじい発展の只中にあることからDBの構造に将来的な発展性を持たせること、②すでに実施されている2つの臨床試験（歯根膜および食道）のプロトコルを参照し共通性と特殊性を抽出すること、の2点で①の状況を鑑みるに、構築するDBは、完成した構造を持つものとして構築するのではなく、

個々の臨床試験に合わせる形で、電子的データ収集システム（Electric Data Capture: EDC）を個別に構築し、その構造を可能な限り共通のモジュールの組み合わせに落とし込むようにし、そのモジュールは②の共通性の把持による。共通性は大まかには3つのモジュールによって構築される。

i) cell extract、ii) cell cell cultivation、iii) safety(each visit)の3つである。既存の2つの臨床試験データは、それぞれのEDCに格納される。もちろん、secured dataとtime stampが保証されるシステム上で構築するので、データの品質保証という点では問題はない。現時点でテストサーバ上での動作確認が終了している。今後の予定として、これらのデータは、EDCからアウトプットされるとSASデータセットとなり、SASプログラムによって上記3つのモジュールへと再構築されるように設計される。共通性の部分は全体のDBとして、特殊性の部分は個別のDBとして管理が可能になるという予定である。

#### D. 考察

本邦では「細胞シート工学」を用いたヒト臨床研究が積極的に導入され、「ヒト幹細胞を用いる臨床研究に関する指針」に合致した臨床試験が多くの拠点で実施されており、特に体性幹細胞を用いた再生治療においては安全性も蓄積しつつある。本研究で推進された細胞シートによるヒト臨床研究は「自己培養間葉系幹細胞シートによる歯周組織再生治療」と「自己培養上皮細胞シートによる食道再生治療」であり、それぞれ予定していた10症例を完了させることができた。今後速やかに治験に移行するためには

細胞シート作製技術、細胞シート輸送技術さらに細胞シート移植技術などのバリデーションは急務であり、本研究で進められた細胞シートに関する一連の技術開発やデータベース構築などの分担研究の成果により、すみやかに改正薬事法のもとで治験の準備を進めるとともに、本研究成果を公開・共有することによって再生治療のヒト応用の推進に貢献できるものと考えている。

#### E. 結論

「自己培養間葉系幹細胞シートによる歯周再生」ならびに「自己培養上皮細胞シートによる食道再生」ヒト臨床研究を推進し、細胞加工・細胞輸送・細胞移植などの細胞シート治療一連の技術開発を行った。さらに今後の細胞シート治療のヒト臨床応用を推進していく際に、最適と思われるデータベースを構築した。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文

1. Takagi R, Kobayashi S, Yamato M, et al. How to prevent contamination with *Candida albicans* during the fabrication of transplantable oral mucosal epithelial cell sheets. *Regenerative therapy*, e-pub, 2015.
2. Maeda M, Kanai N, Yamato M, Kobayashi S, Hosoi T, Takagi R, Ohki T, Muragaki Y, Yamato M, Okano T. Endoscopic cell sheet transplantation device developed by using a 3D printer and its feasibility evaluation

in a porcine model. *Gastrointestinal Endoscopy*. accept, 2015.

3. Suphanantachat S, Iwata T\*, Ishihara J, Yamato M, Okano T\*, Izumi Y. A role for c-Kit in the maintenance of undifferentiated human mesenchymal stromal cells. *Biomaterials*, 35(11):3618-3626. 2014.
4. 岩田隆紀, 鷺尾薫, 大和雅之, 安藤智博, 岡野光夫, 石川烈. 自己培養歯根膜細胞シートを用いた歯周組織の再建, *The Quintessence*, 33(4):130-133. 2014.
5. 岩田隆紀, 鷺尾薫, 葭田敏之, 大和雅之, 安藤智博, 岡野光夫, 石川烈. 自己培養歯根膜細胞シートを用いた歯周組織の再建 歯界展望 124(2):325-329. 2014.
6. 岩田隆紀, 大和雅之, 岡野光夫. 細胞シートによる再生医療実現プロジェクト, *病院*, 73(7):551-555. 2014.
7. 岩田隆紀, 鷺尾薫, 大和雅之, 安藤智博, 石川烈, 岡野光夫. セルシートエンジニアリング: 歯周組織再生, *最新医学*, 69(7月増刊号):1525-1533. 2014.
8. 金井信雄, 岡野光夫. 組織工学(細胞シート) ~細胞シート技術が切り拓く再生医療の実用化~, *日本移植学会50周年記念誌*, 297-302, 2014年
9. 金井信雄. 細胞シートを利用した食道再生治療. *先進医療 NAVIGATOR II (再生医療・がん領域の実用化へのTOPICS)*, 94-96, 2014年
10. 小林 慎一郎, 岡野 光夫, 江口 晋. 【移植・再生医学最前線】 臨床応用に向けた再生医学研究、細胞シート(解説



/特集). 消化器外科(0387-2645)37 卷 8 号, 1321-1332, 2014

2. 学会発表

1. Isomoto H, Yamagushi N, Fukuda H, Nakao K, Kobayashi S, Kanetaka K, Sakai Y, Eguchi S, Kanai N, Ohki T, Yamato M, Okano T. Prevention of post-ESD esophageal stricture using endoscopic transplantation of tissue-engineered autologous oral mucosal epithelial cell sheets in the end of round trip transportation between Tokyo and Nagasaki, UEGW2014, Vienna, Republic of Austria, 2014/10/21
2. Kobayashi S, Kanai N, Hosoi T, Yamato M, Okano T, Eguchi S. The analysis of esophageal mucosal healing and strictures after endoscopic submucosal dissection using allogeneic epidermal cell sheets in a porcine model. EMBO/EMBL Symposium Epithelia. Germany, 2014/8/29
3. Iwata T, Washio K, Yamato M, Tsumanuma Y, Yamada A, Onizuka S, Izumi Y, Ando T, Okano T, Ishikawa I. Periodontal Regeneration with Autologous Periodontal Ligament-Derived Cell Sheets In Human. 100th Annual Meeting of American Academy of Periodontology, San Francisco, USA, 2014/09/20
4. Onizuka S, Iwata T, Yamada A, Yamato M, Okano T, Izumi Y, Functional analysis of ZBTB16 during the osteoblastic differentiation of hPDL-MSCs. 92nd General Session & Exhibition of the IADR, Cape Town, South Africa, 2014/06/27
5. 鷺尾薫, 黒田ほづえ, 岩田隆紀, 安藤智博, 大和雅之, 岡野光夫. ヒト歯根膜細胞シートにおける細胞凍結の影響, 第35回日本炎症・再生医学会, 沖縄, 2014/07/02
6. 岩田隆紀, 自己歯根膜細胞シートを用いて再生治療を行った一症例, 第57回春季日本歯周病学会学術大会, 2014/05/24
7. 山田梓, 岩田隆紀, 小田茂, 和泉雄一, ヒト歯根膜由来間葉系幹細胞の骨芽細胞分化における secreted frizzled-related proteins (SFRPs) の作用, 第57回春季日本歯周病学会学術大会, 2014/05/23
8. 岩田隆紀, 細胞シート工学を用いた歯周組織の再生, 日本歯科保存学会 2014年度秋季学術大会(第141回), 山形 2014/10/31
9. 岩田隆紀, 大和雅之, 鷺尾薫, 石川烈, 岡野光夫. 細胞シート工学を用いた組織再生の現状と未来, 第103回日本病理学会総会, 広島, 2014/04/25
10. 金井信雄. シンポジウム「気管食道科から発信する新規医療」細胞シートによる食道再生治療の普及を目指して, 第66回日本気管食道科学会, 高知市, 日本, 2014年11月13日
11. 山口直之, 磯本一, 大仁田賢, 竹島史直, 宿輪三郎, 中尾一彦, 河野茂, 金高賢悟,

- 江口晋, 小林慎一郎, 金井信雄, 大木岳志, 大和雅之, 岡野光夫. 食道 ESD 後狭窄に対する治療戦略. 第 102 回日本消化器病学会九州支部例会/第 96 回日本消化器内視鏡学会九州支部例会、2013 年 11 月 8 日
12. 磯本一, 山口直之, 中尾一彦: 食道 ESD 後狭窄に対する治療戦略、第 87 回日本消化器内視鏡学会総会、2014 年 5 月 16 日
13. 荻原久美, 山口直之, 磯本一, 大仁田賢, 宿輪三郎, 中尾一彦, 小林慎一郎, 金高賢悟, 江口晋, 金井信雄, 大木岳, 大和雅之, 岡野光夫. 食道 ESD 後狭窄に対する治療戦略-細胞シート移植の中間報告も含めて、第 103 回日本消化器病学会九州支部例会/第 97 回日本消化器内視鏡学会九州支部例会、2014 年 7 月 4 日
14. 山口直之, 磯本一, 福田浩子, 南ひとみ, 大仁田賢, 宿輪三郎, 中尾一彦, 小林慎一郎, 金高賢悟, 江口晋, 金井信雄, 大木岳, 大和雅之, 岡野光夫. 食道 ESD 後狭窄に対する治療戦略. 第 52 回日本癌治療学会学術集会. 2014 年 8 月 29 日
15. 柿ヶ尾佳奈, 山口直之, 磯本一, 大仁田賢, 宿輪三郎, 中尾一彦, 小林慎一郎, 金高賢悟, 江口晋, 金井信雄, 大木岳志, 大和雅之, 岡野光夫. 食道 ESD 後狭窄に対する治療戦略第 104 回日本消化器病学会九州支部例会/第 98 回日本消化器内視鏡学会九州支部例会、2014 年 12 月 5 日
16. 小林慎一郎, 金井信雄, 細井孝洋, 大和雅之, 江口晋. 細胞組織工学的アプローチを主軸とする食道狭窄を克服するための新規治療戦略. 第 104 回日本消化器病学会九州支部例会/第 98 回日本消化器内視鏡学会九州支部例会、2014 年 12 月 5 日
17. 小林慎一郎, 金井信雄, 田中信行, 前田真法, 細井孝洋, 竹田一礼, 高木亮, 大和雅之, 岡野光夫, 江口晋. ワークショップ 組織工学製品化を目指した再生医療研究 外科医と工学技術者が考案した細胞シート移植デバイス. 第 114 回日本外科学会. 2014 年 4 月
- H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)
1. 特許出願
1. 治療物質の運搬用器具、発明者(東京女子医科大学:前田真法、金井信雄、大和雅之、岡野光夫)、出願番号:特許 2014-046921
2. 実用新案登録  
なし
3. その他
- 日本歯周病学会学術賞受賞
- 著書 : Iwata T, Washio K, Yoshida T, Ishikawa I, Ando T, Yamato M, Okano T. Cell Sheet Engineering for Periodontal Regeneration, *New Trends in Tissue Engineering and Regenerative Medicine-Official Book of the Japanese Society for Regenerative Medicine*, Intech, Rijeka, Croatia, 1-17. 2014.
- 発行 : 2014 年 9 月

## II. 分担研究報告

厚生労働科学研究委託費（再生医療実用化研究事業）

分担研究報告書

自己培養上皮細胞シートを用いた空輸を伴う食道再生ヒト臨床研究

研究分担者 江口 晋

長崎大学大学院 医歯薬学総合研究科 移植・消化器外科 教授

#### 研究要旨

長崎大学・東京女子医科大学が共同で実施しているヒト幹指針に沿った再生医療のヒト臨床研究「早期食道癌に対する内視鏡的粘膜下層剥離術（ESD）後食道潰瘍への自家口腔粘膜上皮細胞シート移植の臨床研究」を推進する。長崎大学で食道ESDを行う患者の口腔粘膜組織と自己血清を採取し、温度や気圧を一定に保持できる専用容器に収納し、約1,000km離れた東京女子医科大学のCPCに最長7時間をかけて輸送（空輸・陸輸）し、15日間の培養により細胞シートを作製する。この細胞シートを再び専用容器に収納し、長崎大学へ輸送して患者に移植するという細胞輸送による影響も検討する。

#### 研究協力者

磯本 一（長崎大学大学院 医歯薬学総合研究科 消化器内科 准教授）

金高 賢悟（長崎大学大学院 医歯薬学総合研究科 移植・消化器外科 講師）

山口 直之（長崎大学大学院 医歯薬学総合研究科 消化器内科 助教）

小林 慎一郎（長崎大学大学院 医歯薬学総合研究科 移植・消化器外科 医員）

#### A. 研究目的

自家上皮細胞シートを用いた再生治療が普及していく上で、足枷となっている問題点がいくつか挙げられる。シート作製工程が熟練した培養しによる手作業であることや、品質管理のためランニングコストがかさむ細胞加工施設（Cell Processing Center: CPC）を利用することである。すべての医療機関でCPCや熟練した培養士を整備することは現実的に困難であることから、拠点としての細胞加工施設から治療実施機関への細胞輸送システムの確立が急務であり、消化器領域では世界初の細胞シート輸送による食道再生ヒト臨床研究を施行した。

#### B. 研究方法

臨床的に転移のない早期食道扁平上皮癌で、深達度が上皮内癌或いは粘膜固有層までである患者で、周在性 2/3 周以上とする。登録時において、被験者の適格規準をすべて満たし、除外規準のいずれにも該当しない症例を適格症例とした。試験期間は2013年7月～2014年10月で、目標症例数は10人とする。最終症例登録後、1年後には一斉調査を行い、10年までは追跡調査を行う。本臨床試験は、輸送した培養上皮細胞シートを用いて、東京女子医科大学で実施されたESD施術後の食道潰瘍面への移植に准じて行われる。長崎大学にて口腔粘膜組織・自己血液を採取し、東京女子医科大学に輸送して口腔粘膜上皮培養上皮細胞シ

トを作製後、さらに培養上皮細胞シートを長崎大学に輸送して ESD 施術後の食道潰瘍面へ移植する (図 1)。

(倫理面への配慮)

責任医師または分担医師は、本研究への参加候補となる被験者本人に対して同意説明文書を提供し、口頭で十分説明を行った後、本研究への自由意思による参加の同意を文書で取得する。同意を得る前に、被験者および被験者の家族などが質問をする機会と、本臨床試験に参加するか否かを判断するのに十分な時間を与えるものとする。その際、全ての質問に対して被験者が満足するように答えるものとする。同意文書には、責任医師または分担医師および被験者が各自日付を記入し、記名捺印または署名し、保管する。同意説明文書は全ての被験者および被験者の家族などが理解できる平易な言語と用語を用いて作成する。また、同意書および同意撤回書の様式も準備されている。なお、本研究においては、単独で同意を取得できない者は被験者としなない。被験者の同意取得後はデータ管理、製造管理など、症例の取り扱いにおいては全て連結可能匿名化された被験者識別コード又は登録番号により管理され、匿名化コードと氏名の対照表及び氏名記載同意書は施錠可能な書類保管庫に厳重に保管する。

### C. 研究結果

2013 年 7 月から 2014 年 10 月までに長崎大学・東京女子医科大学にて実施している臨床研究課題:「早期食道癌に対する内視鏡的粘膜下層剥離術 (ESD) 後食道潰瘍への自家口腔粘膜上皮細胞シート移植の臨床研究」の細胞シート輸送ならびに細胞シー

ト移植を予定されていた 10 症例 (3/4 周以上 ESD8 例、全周 ESD2 例) を完了し、細胞シート移植の安全性を確認するとともに有効性が示唆された (表 1)。また特殊コンテナ (図 2) による細胞シート輸送の影響を検討したが、初期の臨床研究と比べて問題は認めなかった (図 3)。

### D. 考察

今回の 10 例の自己培養上皮細胞シート製造に関しては 10 症例ともに CPC にて細胞シートを製造でき、いずれも出荷規格をクリアしていたので、細胞シートの製造プロトコルにおいては問題なかったように思われた (表 2)。しかしながら輸送に関しては最初の 1 例目において、患者口腔由来 *Candida albicans* を CPC に搬入してしまう事象があり、細胞輸送液の Amphotericin B 濃度 (0.27mg/dl → 1.0mg/dl) の再検討を行った。再検討以降の 10 症例においては輸送に関して問題を認めず、細胞移植後の有害事象も認めなかったため、この細胞輸送に関する検討を論文報告した<sup>1)</sup>。

### E. 結論

多施設間での細胞シート製造と治療の分担、共同して治療を行う基盤を作り上げた。さらに細胞シート作製工程に関しては、このヒト臨床研究で得られた安全性評価をもとに、治験にむけての上皮細胞シート製品としての品質規格の基準として規制当局と相談を進めていく。

### F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文

1. Takagi R, Kobayashi S, Yamato M, et al. How to prevent contamination with *Candida albicans* during the fabrication of transplantable oral mucosal epithelial cell sheets. Regenerative therapy, e-pub, 2015.

2. 学会発表

1. Isomoto H, Yamagushi N, Fukuda H, Nakao K, Kobayashi S, Kanetaka K, Sakai Y, Eguchi S, Kanai N, Ohki T, Yamato M, Okano T. Prevention of post-ESD esophageal stricture using endoscopic transplantation of tissue-engineered autologous oral mucosal epithelial cell sheets in the end of round trip transportation between Tokyo and Nagasaki, UEGW2014, Vienna, Republic of Austria, 2014/10/21
2. Kobayashi S, Kanai N, Hosoi T, Yamato M, Okano T, Eguchi S. The analysis of esophageal mucosal healing and strictures after endoscopic submucosal dissection using allogeneic epidermal cell sheets in a porcine model. EMBO/EMBL Symposium Epithelia. Germany, 2014/8/29
3. シンポジウム1「気管食道科から発信する新規医療」細胞シートによる食道再生治療の普及を目指して、第66回日本気管食道科学会、高知市、日本、2014年11月13日

4. 山口直之, 磯本一, 大仁田賢, 竹島史直, 宿輪三郎, 中尾一彦, 河野茂, 金高賢悟, 江口晋, 小林慎一郎, 金井信雄, 大木岳志, 大和雅之, 岡野光夫: 食道 ESD 後狭窄に対する治療戦略、第 102 回日本消化器病学会九州支部例会／第 96 回日本消化器内視鏡学会九州支部例会、2013 年 11 月 8 日
5. 磯本一, 山口直之, 中尾一彦: 食道 ESD 後狭窄に対する治療戦略、第 87 回日本消化器内視鏡学会総会、2014 年 5 月 16 日
6. 荻原久美, 山口直之, 磯本一, 大仁田賢, 宿輪三郎, 中尾一彦, 小林慎一郎, 金高賢悟, 江口晋, 金井信雄, 大木岳, 大和雅之, 岡野光夫、食道 ESD 後狭窄に対する治療戦略-細胞シート移植の中間報告も含めて、第 103 回日本消化器病学会九州支部例会／第 97 回日本消化器内視鏡学会九州支部例会、2014 年 7 月 4 日
7. 山口直之, 磯本一, 福田浩子, 南ひとみ, 大仁田賢, 宿輪三郎, 中尾一彦, 小林慎一郎, 金高賢悟, 江口晋, 金井信雄, 大木岳, 大和雅之, 岡野光夫、食道 ESD 後狭窄に対する治療戦略、第 52 回日本癌治療学会学術集会、2014 年 8 月 29 日
8. 柿ヶ尾佳奈, 山口直之, 磯本一, 大仁田賢, 宿輪三郎, 中尾一彦, 小林慎一郎, 金高賢悟, 江口晋, 金井信雄, 大木岳志, 大和雅之, 岡野光夫、食道 ESD 後狭窄に対する治療戦略第 104 回日本消化器病学会九州支部例会／第 98 回日本消化器内視鏡学会九州支部例会、2014 年 12 月 5 日

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む。）

1. 特許出願  
なし

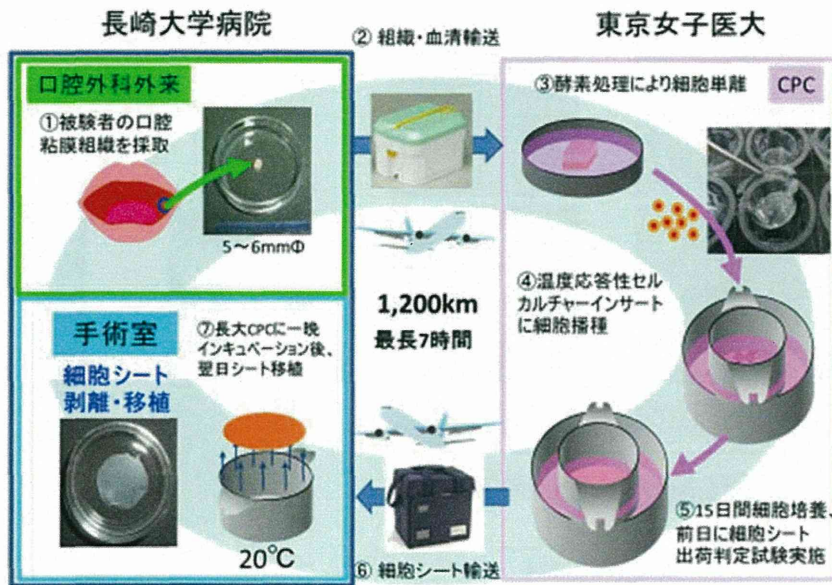
2. 実用新案登録

なし

3. その他

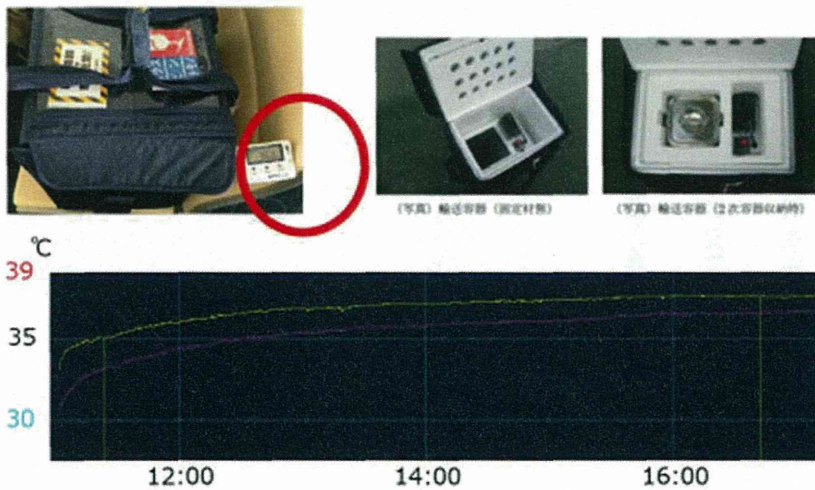
なし

(図1) 研究の流れ



(図2) 温度維持輸送ボックス

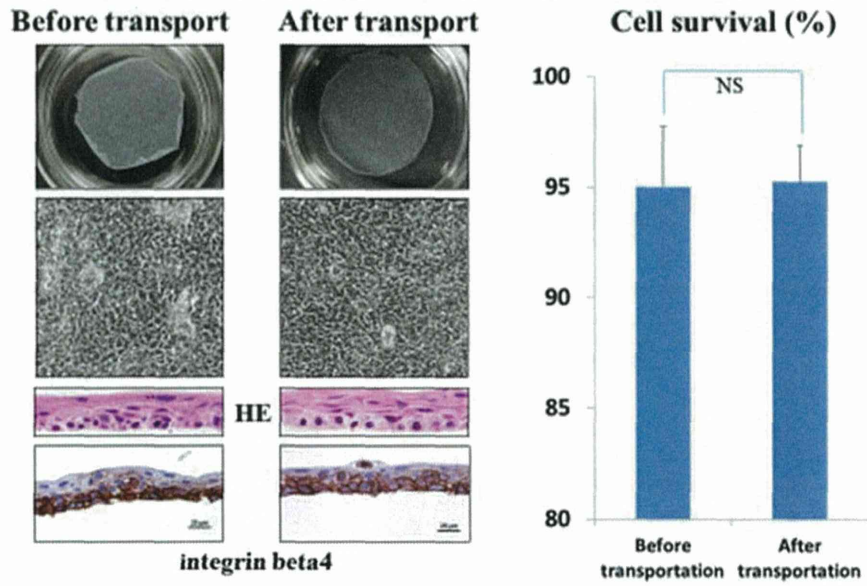
### 輸送ボックス・37度温度維持



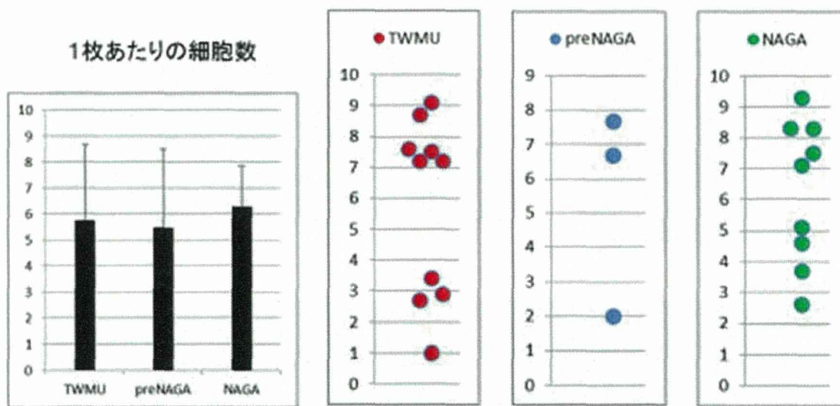


(図3) 細胞輸送による影響を評価

## 細胞シート輸送による影響 評価研究



## 細胞輸送による影響を検討



(表1) 細胞シート移植結果一覧

No	Age Gender	Circum. (%)	Resected Size	Resected Area	Cell Sheets	Stenosis	Balloon (times)	Mucosal Healing (days)
1	55 M	88	80mm	4400mm <sup>2</sup>	6	-	0	28
2	68 M	90	75mm	5200mm <sup>2</sup>	7	+	1	36
3	73 M	83	45mm	1350mm <sup>2</sup>	5	-	0	40
4	58 M	88	55mm	2530mm <sup>2</sup>	8	+	2	29
5	67 M	83	50mm	1650mm <sup>2</sup>	8	-	0	29
6	56 M	83	55mm	2200mm <sup>2</sup>	6	-	0	29
7	63 M	90	103mm	4015mm <sup>2</sup>	8	-	0	36
8	72 M	100	95mm	5985mm <sup>2</sup>	13	+	7	72
9	62 M	100	50mm	2650mm <sup>2</sup>	5	+	1	70
10	74 M	88	46mm	2070mm <sup>2</sup>	6	-	0	42

(表2) 細胞シート出荷判定試験

## 細胞シート出荷判定試験

	症例1	症例2	症例3	症例4	症例5
1枚当たりの細胞( $\times 10^5$ )	4.6	2.6	7.5	8.3	8.3
細胞生存率	99%	95%	96%	95%	97%
細胞純度(%)	80%	84%	96%	99%	99%
細胞形態	問題なし	問題なし	問題なし	問題なし	問題なし
細胞シート剥離	可能	可能	可能	可能	可能
Confluentまでの期間	8日	8日	12日	13日	10日

	症例6	症例7	症例8	症例9	症例10
1枚当たりの細胞( $\times 10^5$ )	5.1	3.7	7.1	9.6	6.0
細胞生存率	89%	91%	94%	96%	94%
細胞純度(%)	98%	99%	96%	99%	99%
細胞形態	問題なし	問題なし	問題なし	問題なし	問題なし
細胞シート剥離	可能	可能	可能	可能	可能
Confluentまでの期間	-	-	-	-	12日

厚生労働科学研究委託費（再生医療実用化研究事業）

分担研究報告書

細胞シート治療のデータベース構築

研究分担者 村垣 善浩

東京女子医科大学 先端生命医科学研究所 教授

#### 研究要旨

先行して実施された「自己ヒト歯根膜細胞シートを用いた歯周組織の再建」（以下、歯根膜研究）と「早期食道癌に対する内視鏡的粘膜下層剥離術（ESD）後食道潰瘍への自家口腔粘膜上皮細胞シート移植の臨床研究」（以下、食道粘膜研究）の情報を用いて、細胞シート治療に関するデータベースを構築した。再生医療の爆発的な発展を踏まえて、完成した巨大なデータベース（臨床データマネジメントシステム：CDMS）を構築するのではなく、なるべく共通性を持たせた個々のEDCシステム（臨床研究マネジメントシステム：CTMS）を構築し、将来的にCDMSに統合する際の基本構造を策定した。基本構造は1)cell source、2)cell cultivation、3)safety and efficacyの3つから成る。用いたシステムはPCG社（© Pharma Consulting Groupスウェーデン）のVIEDOCT<sup>TM</sup>である。

#### 研究協力者

飯室 聡（東京女子医科大学 先端生命医科学研究所 准教授）

#### A. 研究目的・背景

この数年で再生医療を取り巻く法律環境は大きく整備されてきており、とくに平成26年11月26日より施行された「再生医療等の安全性の確保等に関する法律」により、安全性を積極的に確保していくことの重要性が増している。これまではいわば「医師の裁量の範囲」で行われてきた再生医療に対して、ある一定の枠組みが存在することとなったのである。しかし、どのように安全性を確保するかということに対して、法律レベルでは具体的なことが明記されているわけではない。しかし少なくとも、自施設にこれまでの再生医療に係るデータの蓄積が存在するのであれば、それを積極的に参照していくことは必要であろう。

先端生命医科学研究所では、細胞シー

トのヒト臨床への応用として2つの領域、すなわち難治性の歯周病に対する歯根膜細胞シート治療および食道粘膜下腫瘍への粘膜剥離術後の術後狭窄に対する口腔粘膜を用いた細胞シート治療である。これらはすでにそれぞれ10例の症例を経験しており、細胞抽出から細胞シート作成、そして移植までの各段階での安全性および最終的な有効性の評価がしっかりとされている。それらデータは今後の細胞シート研究に対して非常に有用であり、積極的に活用すべきものと判断される。そこで、これら2つの先行研究の経験を基に、細胞シート治療のデータベースを構築することとした。先端生命医科学研究所において、過去に実施された細胞シート治療のデータを積極的に活用する環境を整えること、またどのような

レベルで安全性・有効性のデータを蓄積していくかということ、積極的に議論し、「先端生命医学研究所の標準仕様」として公にすることには非常に大きな意味があると考えられる。

## B. 研究計画

データベースを構築すると言っても、いろいろな立場があると考えられる。大きくは2つの立場がある。ひとつは、データベース化するのには最小限の必要情報だけで、個別症例の詳細な情報に関してはリンクを辿ることができるようにしておくというもの。もう一つは、個々の臨床試験のデータをすべて吸い上げ、大きなデータベースとして構築していく、というものである。一般的にデータベースと言えば、後者のイメージであろう。スウェーデンの Quality Registries や Intelligence は前者の典型例である。今回のデータベース構築にあたっては、基本的には前者の立場にたち、データベース構築の過程で「必要最小限のデータとは何か」を確認していくような内容とした。理由は再生医療領域そのものがすさまじい発展の過程にあること、さらに臨床試験の規模が最大でも数十例であること、である。

上記に加えてさらに、細胞シート治療のデータの特殊性をまずは検討しなくてはならない。それは一言でいえば、「細胞を利用する治療である」という特殊性である。そこで検討に挙げるべき項目は以下である。

### (1)細胞ソースの管理

- ①自家細胞/他家細胞
- ②体性幹細胞、iPS、ES
- ③ロット管理

④（検討課題として）用いた試料の一部保存の必要性

### (2)製品の品質管理

- ①抽出した細胞の形状・構造
- ②シート作成方法
- ③培養に用いる材料の成分、分量、ロット
- ④感染症チェック履歴

### (3)細胞シート移植後の安全性

### (4)細胞シート治療の実施過程の手順遵守状況

- ①中央モニタリングによる実施過程のチェック
- ②（検討課題として）サイトモニタリングの必要性

### (5)医療機関の習熟度（実施成績）

上記5項目を念頭に置きながら、細胞シートのデータベース構築に関しては、以下2点を意識して計画した。①細胞シートの技術自体が凄まじい発展の只中にあることからデータベースの構造に将来的な発展性を持たせること、②すでに実施されている2つの臨床試験（歯根膜および消化管）のプロトコルを参照し共通性と特殊性を抽出すること、の2点である。

①の状況を鑑みるに、構築するデータベースは、いきなり完成した構造を持つものとして構築することは得策ではないと判断した。むしろ個々の臨床試験に合わせる形で、電子的データ収集システム（Electric Data Capture: EDC）を個別に構築し、その構造を可能な限り共通のモジュールの組み合わせに落とし込むということを考えた。そのモジュールは②の共通性の把持による。たとえば、上に挙げた(1)、(2)はほぼ共通の項目を設定が可能であろう。また、(3)に関しては、安全性データの確認のためやはり可能な限りの共通化を図るべきである。(4)は共通化の問題というよりは、臨床試験実