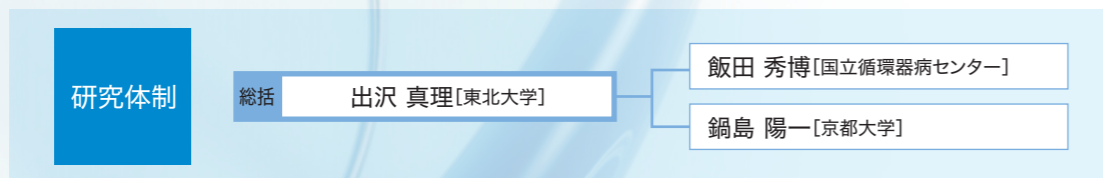


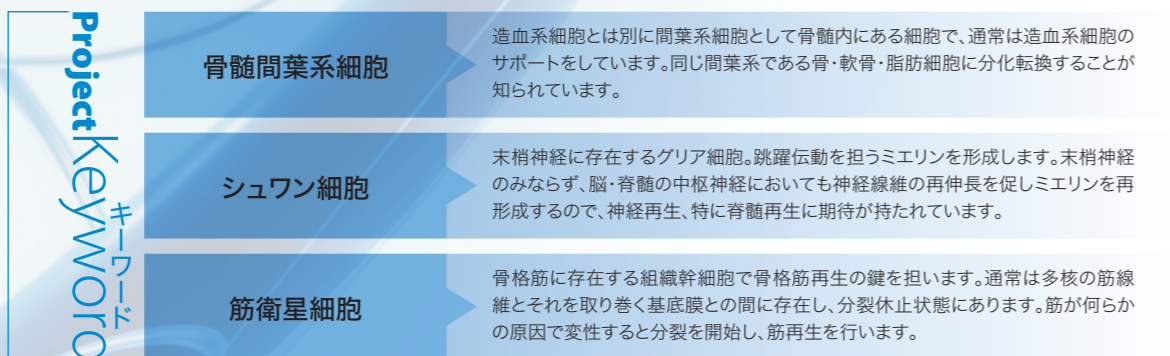
自己細胞移植による神経・筋肉変性疾患の 根本的治療法の開発

研究期間 平成17年度～平成21年度(予定)



※平成21年度における研究体制

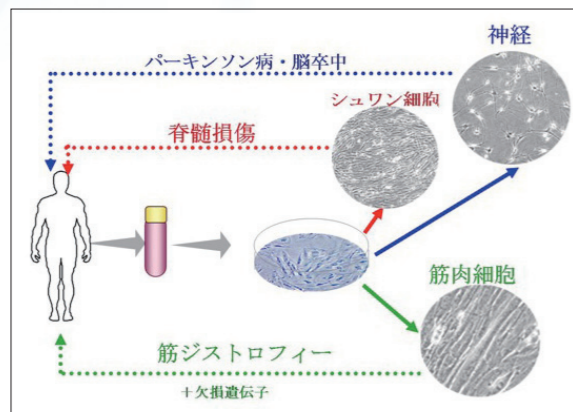
神経・筋変性疾患への自己細胞移植に向けて



1 研究の背景・意義

骨髄間葉系細胞：自己細胞移植治療への期待

骨髄間葉系細胞は倫理問題無く患者本人から採取可能であり、旺盛な増殖力を持ちます。また骨髄バンクも利用できることから、再生医療の細胞ソースとして最適です。我々はヒト骨髄間葉系細胞から(1)脊髄機能再建を担うシュワン細胞、(2)ドーパミン神経、(3)骨格筋細胞、を効率よく誘導する方法を開発しました。本方法は(1)他の細胞の混在が無く選択的に誘導できる、(2)移植に必要な細胞数が比較的短期間に確保可能、(3)自己細胞移植が可能、(4)腫瘍形成の危険性が少ない、(5)骨髄バンクが利用可能、などの利点を有し、臨床応用の可能性の高さが期待できます。本プロジェクトでは前臨床研究として高等哺乳類への移植による安全性・有効性の検討と臨床応用に向けたシステム作りを主眼とし、有効な治療法が切望されている神経・筋変性疾患に対して、倫理問題や免疫拒絶の制限から開放された「自己細胞移植治療」の実現を目指します。



▲骨髄間葉系細胞を用いた神経・筋変性疾患への自己細胞移植治療

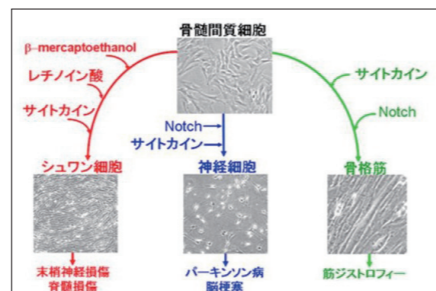
2 研究プロジェクトの目標

高等哺乳類における安全性・有効性検証

本研究では分化転換能を有する骨髄間葉系細胞に着目し、神経系細胞や骨格筋幹細胞の誘導方法の開発に取り組みました。骨髄間葉系細胞は接着性の間葉系細胞であり、数十ccの骨髄穿刺液から2-3週間で1千万個という大量の細胞が確保でき、免疫拒絶やAIDS、BSE感染の問題が解決されること、また骨髄バンクを利用できるなど、多くの利点を持っています。これらのことからヒトへの応用の実現化に最も近い細胞と期待されます。

我々は発生分化を制御するNotch細胞質ドメイン導入やサイトカイン刺激を順序立てて行うことによって、(1)脊髄再生に有用なシュワン細胞、(2)神経細胞(ドーパミン産生細胞)、(3)骨格筋細胞(筋衛星細胞を含む)らの効率の良い誘導系(90-96%前後)を開発しました。また、これらの細胞を用いてげっ歯類を中心とした各種変性モデル(パーキンソン病、脳虚血、脊髄損傷、筋変性など)における移植効果と機能回復を確認しています。

本プロジェクトにおいてはサルや犬など高等哺乳類を用いた有効性と安全性の検証やガン化試験を行います。また他の利用可能な間葉系組織として、臍帯バンクがあるので、この可能性も探ります。さらに細胞移植治療が実際に行われているアメリカでのガイド

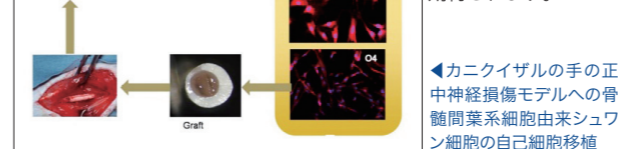


▲ヒト骨髄間葉系細胞にサイトカイン処理や遺伝子導入を組み合わせてこれらを選択的に誘導が可能です。

3 研究プロジェクトの成果

誘導シュワン細胞の安全性と有効性を確認

カンクイザルの骨髄間葉系細胞からシュワン細胞を誘導し、片側の正中神経損傷に自己由来の誘導シュワン細胞を移植しました。一年後における全身のFDG-PETスキャンでは全頭において腫瘍形成がなく、行動解析、電気生理および組織学的検討において優位な改善が認められました。さらに、ヒト臍帯組織の間葉系細胞からも同様の方法でミエリン形成能を持つシュワン細胞が誘導可能であることも新たに分かり、免疫抑制剤投与のラット坐骨神経損傷モデルに移植したところ、電気生理学的に優位な改善が認められました。骨髄だけでなくヒト臍帯の利用の可能性も期待されます。



◀カンクイザルの手の正中神経損傷モデルへの骨髄間葉系細胞由来シュワン細胞の自己細胞移植

神経・筋変性モデルへの移植

カンクイザルの骨髄間葉系細胞からドーパミン神経を誘導し、片側性パーキンソンモデルに自己細胞移植を行いました。移植前後において11C-CFT PET(ドーパミントランスポーターを示す指標)において移植側での改善が認められています。さらにNotch導入と浮遊培養により、神経前駆細胞が高い効率で誘導されることも新たに見いだしました。ビーグル犬の骨髄間葉系細胞から筋衛星細胞を含む骨格筋細胞が誘導され、核型検査やヌードマウスでのガン化試験で安全性が示唆されました。ビーグル犬の声帯筋損傷モデルへの移植を行い経過観察中です。

▶カンクイザルにおけるドーパミン神経自己細胞移植の前後における11C-CFT PET。矢印は移植後の改善を示します。

米国FDA承認と臨床応用に向けて

細胞移植治療、とくにパーキンソン病、脳梗塞、筋ジストロフィーなどの疾患に対する細胞移植治療を行う際の前臨床試験、および臨床試験の体制が出来ている米国FDAのストラテジーは大変参考になるため調査しました。現在、脳梗塞患者に対して、ヒト骨髄間葉系細胞から誘導した神経前駆細胞の移植に対してFDAからの承認を得るために交渉の最終段階にあります。さらに厚生労働省医薬食品局審査管理課とミーティングを持ち、日本でのこの研究の臨床応用への可能性を討議

- Non-clinical trial—
 1. 高等動物での効果試験
 2. ヌードマウスなどを用いたヒト細胞のガン化試験
 3. サル(健康)での安全性試験
 4. 遺伝子導入に関してはNIHのRACの承認を得る
- IND meeting, Clinical trial への認可—
- Clinical-trial—
 1. Phase I-IIa → 患者(20人程)に移植する、
 2. Phase IIb-III → 患者200人程に移植し、一年follow up

◀FDAにおける細胞移植治療へのストラテジー

参考文献

Dezawa, M, et al. 「Bone marrow stromal cells generate muscle cells and repair muscle degeneration.」, 『Science』309 (2005), 314-317.
 Nagane K, et al. 「Practical induction system for dopamine-producing cells from bone marrow stromal cells by spermine-pullulan-mediated reverse transfection method」, 『Tissue Eng』15(7) (2009), 1655-1665.
 Hayase M, et al. 「Committed neural progenitor cells derived from genetically modified bone marrow stromal cells ameliorate deficits in a rat model of stroke.」, 『J Cereb Blood Flow Metab』29(8) (2009), 1409-1420.

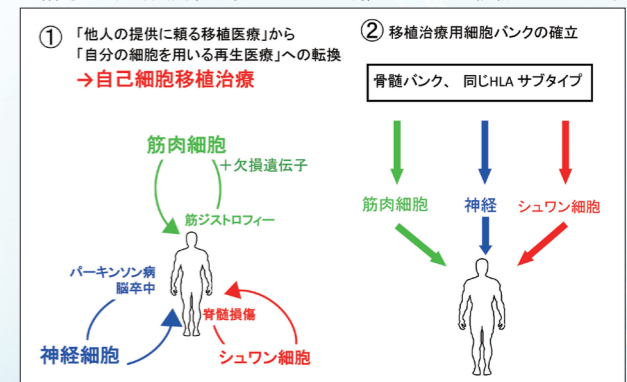
4 実用化にあたっての 今後の課題及び研究方針

細胞移植治療への期待と問題点

サル、犬における各種高等動物モデルでの移植効果、安全性の確認と共に、ヒトからの誘導細胞のサルやnude-mouse、nude-ratへの移植を通じて誘導シュワン細胞、神経細胞、骨格筋細胞の安全性が検証され、裏づけが得られれば、脊髄損傷、パーキンソン病、脳梗塞、筋変性などの疾患における「自己細胞と自己血清を用いた細胞移植治療」への大きな前進となります。これは免疫拒絶、胎児や受精卵使用に伴う倫理問題、感染症、細胞供給数の問題から解放された理想的なテラーメイド医療の実現化につながり、新しい画期的な細胞治療を世界に先駆けて打ち上げる好機となるのではないかと期待されます。

また、同様の方法を用いて同じHLAサブタイプの細胞からのシュワン細胞、ドーパミン神経、骨格筋を誘導し、移植治療用細胞バンク設立を展開することも可能です。この場合現在稼働している骨髄バンクの利用が考えられますが、骨髄間葉系細胞を広くドナーから募りストックを蓄積し、細胞治療製剤として製品化する事業も期待されます。出澤がFounding Scientistを務めるサンバイオ社では、FDAと折衝を重ねヒト骨髄間葉系細胞から誘導した神経前駆細胞の承認に向けて活動しており、INDミーティングを行っています。神経前駆細胞での申請をしている理由としては、誘導がNotch遺伝子導入と浮遊培養に限られておりステップが少ないためです。承認が得られればUniversity of Pittsburgh脳神経外科Prof. Kondziolka(アメリカ脳神経外科学会前会長)のもとでphase I-IIaに入ることが計画されています。ここでは脳梗塞患者に定位脳手術で骨髄間葉系細胞から誘導した神経前駆細胞を移植し、副作用や機能改善、全身状態などを経過観察する見通しとなっています。

また本プロジェクトでの臍帯由来の間葉系細胞の成果は、汎用性をさらに高める技術として大いに期待できるので、この研究項目も推進すべきと考えています。同時にNICD遺伝子導入を蛋白導入に切り替える方法の開発、分化転換機構の検証から得られる新規の誘導方法の開発、他の細胞種の誘導方法への手がかりなどは、この研究領域の裾野を広げ、実用化を促進するため、推進すべきと認識しています。



▲骨髄間葉系細胞では自己細胞移植と骨髄バンクを用いた同種移植の両方が可能です。