

総括研究報告書

1. 研究開発課題名：Muse細胞を用いた再生医療の実現に向けた製剤製造システムの研究開発
2. 研究開発代表者：出澤 真理（国立大学法人東北大学）
3. 研究開発の成果

本研究では、ヒトの間葉系組織に存在する自然の多能性幹細胞である Muse 細胞を製剤化する製造システムの開発を目的としている。具体的には、生体原料から間葉系幹細胞を分離・培養し、そこから Muse 細胞を分離・濃縮して製剤化をするプロセスを確立する。製剤の規格についても医薬品医療機器総合機構（PMDA）との議論を行った上で、動物モデルでの有効性を検証し、治験薬の製造・臨床試験を実施する体制を整えることを目的として研究開発を進めている。

生体原料から間葉系幹細胞を分離する工程では、骨髄、臍帯/臍帯血及び脂肪を原料として用いた。その結果、いずれの原料からも間葉系幹細胞を得ることが可能であった。更に得られた間葉系幹細胞から Muse 細胞の分離を検討した結果、いずれの原料からも Muse 細胞を分離することが可能であったが、その効率は原料ソースによって異なっていた。骨髄を原料とした際の効率が最もよく、また先行する研究結果から骨髄由来の Muse 細胞が最も分化能に優れていると考えられたことから、本研究では骨髄を原料とした製造システムの開発を先行させることとした。

間葉系幹細胞から Muse 細胞を得る際には、細胞ソーターにより Muse 細胞を単離する方法とストレス培養により Muse 細胞の割合を高める方法の両方を検討した。前者では動物由来の培養材料を用いずに Muse 細胞を分離することが可能であったが、分離に用いる抗体を製剤化に用いることが困難であると考えられたことから、メインの研究ではストレス培養法を採用した。各種のストレスを検討した結果、Muse 細胞の割合を数十%に高める方法を見出すことに成功した。また臨床に用いる製剤を製造するには原料の骨髄液や培養材料について生物由来原料基準を満たす必要があるが、本研究においてはすべて同基準を満たすことが可能であった。また将来的に動物由来の培養材料を用いずに製造を行うための培地の開発も同時に進めた。

得られた Muse 細胞製剤について、Muse 細胞の同定、純度、不純物、無菌性の確保、有効性、安全性等の各観点から品質試験項目を設定し、試験法の確立を行った。試験項目の選定に際しては、PMDA との薬事戦略相談を実施し妥当性を確認した。

Muse 細胞製剤の凍結保存については、独自の処方により数か月間の凍結保存安定性が確認された。更に、新規の凍結保護材を用いることにより従来の凍結保護材から細胞毒性の強い DMSO の使用量を減じることが可能であることを示すデータが得られた。

得られた製剤の生体における有効性は急性心筋梗塞モデルにおいて確認した。分離精製された Muse 細胞をウサギの心筋梗塞モデルで評価した結果、自家、他家、異種（ヒト Muse 細胞）のいずれの移植においても Muse 細胞が心臓に選択的に集積し、失われた心筋細胞を補充することによって心機能を回復させることが確認された。また少量の Muse 細胞を含む間葉系幹細胞を多量に投与した際の有効性を評価した結果、純度の高い Muse 細胞を少量投与した際の効果に及ばないことが示され、本研究において Muse 細胞率を増加させた製剤を作製することの妥当性が確認された。ストレス培養により得られた製剤についても、ラットの心筋梗塞モデルにおいて心機能を回復させる効果が確認された。複数のドナーの骨髄液から得られた製剤について評価を行ったが、検討の範囲ではドナー間差は認められなかった。

以上のように本年度の研究により、骨髄液を原料として Muse 細胞率を高めた製剤の製造プロセスをほぼ確立し、その有効性を検証することに成功した。