

総括研究報告書

1. 研究開発課題名：腫瘍性を持たない多能性幹細胞 Muse 細胞を用いた新たな肝再生治療
2. 研究開発代表者：出沢 真理（国立大学法人東北大学）
3. 研究開発の成果

【Muse細胞の特性解析】

- ・ミニブタ骨髄液から間葉系幹細胞の樹立に成功し、ヒトと同様の手法を用いて Muse 細胞が単離できることが確認された。また、Clio 社が開発中の Muse 細胞の濃縮方法をもとにブタ間葉系幹細胞の培養を行ったところ、ブタにおいても Muse 細胞を濃縮できることが確認された。これらの細胞を凍結保存することで、ブタ Muse 細胞製剤を作製した。
- ・樹立した間葉系幹細胞にレンチウイルスを用いて GFP ラベルを施し、これらの細胞について閉鎖系培養装置で使用するための master cell bank の作製を行った。
- ・master cell bank には、SSEA-3 陽性である Muse 細胞が含まれていることが確認され、これらの細胞は浮遊培養により 1 細胞から多能性細胞塊を形成すること、またこの多能性細胞塊が自発的に三胚葉性の細胞へと分化することが確認された。
- ・ヒト骨髄間葉系幹細胞を用いて、ストレス環境やコーティング剤を組み合わせることで、Muse 細胞の濃縮に成功した。

【他家Muse細胞移植：ブタ肝切除モデル】

- ・術者の技量依存度の低い自動縫合器を用いた 70%ブタ肝切除モデルの作成法を確立した。
- ・70%ブタ肝切除モデルにおける Muse 細胞および間葉系幹細胞経門脈移植の手術手技を確立した。

【他家 Muse 細胞移植：ブタ肝不全モデル】

- ・ヒトに近い大型動物としてミニブタを選択し、その慢性肝障害モデルの作成を行った。肝障害の作成法として、D-ガラクトサミンに代わり、四塩化炭素を腹腔内投与する方法を採用した。
- ・上記ミニブタ慢性肝障害モデルにおける肝障害の評価法として、肝生検、臨床検査（生化学検査、末梢血検査）などを採用しそれぞれのパラメーターの整合性を評価し、またヒト臨床検査との比較を行った。
- ・Muse 細胞ドナーとして同月齢の雄ミニブタより骨髄を回収し、Muse 細胞移植用、およびコントロール細胞移植用の検体を作成した。

【Muse細胞製剤の精製方法及び規格値等確立】

- ・平成 27 年 8 月 4 日及び 11 月 30 日に実施した班会議において、製造方法や非臨床試験の進捗状況を確認し、薬事戦略相談（対面助言）の準備を進めた。
- ・医師主導治験の準備のため、承認されている肝疾患にかかる医薬品の情報、並びに UMIN 臨床試験登録システムに登録されている細胞や細胞培養上清による肝硬変に対する臨床試験の情報を収集した。
- ・他家 Muse 細胞製剤をヒト骨髄液から製造する方法及び製剤の品質試験法を検討し、手法をほぼ確立した。また生物由来原料基準を満たす試薬を用いて製造が可能であることを確認した。

4. その他
特になし