

医療分野研究成果展開事業/研究成果最適展開支援プログラム (AMED・A-STEP)

平成 27 年度成果報告書(公開)

プロジェクトリーダー (研究責任者)	国立研究開発法人 医薬基盤・健康・栄養研究所 創薬資源部 部長 松山晃文
起業家/起業支援機関	Adipo Medical Technology 株式会社 妹尾八郎 /株式会社産学連携研究所 隅田剣生
参加機関	国立研究開発法人 医薬基盤・健康・栄養研究所
研究開発課題	同種脂肪組織由来多系統前駆細胞の重症心不全治療細胞医薬品としての開発

1. 研究開発の目的

脂肪組織由来多系統前駆細胞の具有する in situ reprogramming 能を Confidence-in-Mechanism とし、重症心不全を適応とする冠動脈バイパス術 poor-responder に適用する経冠動脈的投与脂肪組織由来多系統前駆細胞を同種細胞医薬品として開発、起業する。同種由来細胞医薬品として ready-made 型再生医療の leading case とし、低薬価による破壊的イノベーションを目指す。

2. 研究開発の概要

同種細胞投与にかかる非臨床開発と GCTP 化を行う品質開発、製造コストの低減を行うとともに、重症心不全適応同種細胞医薬品として治験届 package の策定を行うため、

- (1) 品質開発: 大量培養システムの導入・技術移転
 - (2) 安全性有効開発: 治験届様式に取りまとめ
 - (3) 臨床開発: 治験届 package 作成・治験届提出
 - (4) 製造工程の最適化: 無血清培養法の導入
- の 4 項目を実施項目として研究開発を進める。

3. 研究開発の成果(平成 27 年度)

(1) 品質開発: 大量培養システムの導入・技術移転【医薬基盤・健康・栄養研究所】

同種由来細胞製剤の強みは、大量かつ安価に同等の性能の細胞製剤を製造することができる点にある。用手培養法の限界は、10cm dish にして 100 枚を超えると細胞回収時間の延長から、細胞障害による不均一性が生じ、また細胞死による歩留まりの低下が懸念されていた。検討の結果、10cm dish の自動培地交換機器である ATTO 社の「Cell Joy」では、10cm dish の培地交換時間は 24 枚で 2~4 分と手による培地交換の約 10 倍の速度であり、培地交換ソフトの改修で PBS による洗浄、EDTA/Trypsin による剥離も自動化可能と判断、採用した。

(2) 安全性有効開発: 治験届様式に取りまとめ【医薬基盤・健康・栄養研究所】

薬事戦略相談対面助言の結果を踏まえ、治験届の取りまとめを進めた。生物由来原料基準適合性試薬に関し、血清代替物として COMPASS 社の PLUS が最も有用であることを見出したため((4) 参照)、そのウイルスクリアランスに関して検討した。Ultra Filtration で培養効率率は若干低下するも

の、産業上許容範囲と判断したが、プール血清由来であることが対面助言中に判明、Ultra Filtration のみでは Log4 のウイルスリダクションしか得られず、追加のウイルスクリアランスを求められた。

安全性試験に関し、製造工程、原材料ならびに細胞基液を変更していることから、既存の非臨床試験成績は活用できるものの、変更等に伴い治験届 package を充足するロジックの組み立ては合理性を欠き、一般毒性試験と安全性薬理試験(循環動態)を追加実施して対面助言を受けることを推奨された。健常ミニブタで一般毒性試験を併合して実施する場合、1 群 10 頭両性、placebo、細胞基液、細胞製剤の合計 6 群 60 頭の実施を求められたところである。

(3) 臨床開発: 治験届 package 作成・治験届提出【医薬基盤・健康・栄養研究所】

対象疾患と被験者について中心に議論をすすめた。対象疾患は、当初 CTO (chronic total occlusion)を对象と想定していたが、急性心筋梗塞治療後 1 年後に心駆出率(Ejection Fraction; EF)が 50%以下の症例を对象とすることとした。データアーカイブの解析結果から、CTO 症例では、EF がそもそも 50%を超える症例が多く、また EF も CTO に対する PCI にて平均 5%の改善を認めることから、統計的に優位性を議論できない。急性心筋梗塞においては、PCI 後に EF が 5%以上改善する症例が多いものの、PCI 後に EF が 50%以下の症例は、PCI 治療前後で EF に改善を認めていないことから、統計的に有意差を示しうとの結論をえた。一方、年齢が 70 歳を超えると腎機能の低下症例が多いことから、急性心筋梗塞治療後 1 年後に心駆出率(Ejection Fraction; EF)が 50%以下かつ 70 歳以下の症例を对象とすることとした。

(4) 製造工程の最適化: 無血清培養法の導入【医薬基盤・健康・栄養研究所】

無血清培養法の導入は、市販の間葉系幹細胞培養無血清培地および血清代替物の中から、細胞増殖性および未分化性を維持する培地を選択する手法で行った。具体的に、UltraCULTURE Serum-free Medium, general purpose (Lonza)、ASF MEDIUM 104N 2L (味の素)、PLUS Cell Culture Supplement, MSC Qualified (CPS-PLS2)(COMPASS)、CTS(TM) StemPro® MSC SFM (Invitrogen)、StemPro®-34 SFM (Invitrogen)、間葉系幹細胞用無血清培地 STK2 (DS ファーマバイオメディカル)、EXPREP MSC MEDIUM (SERUM FREE) (SEEMS)、MSC nutriSTEM® XF BASAL MEDIUM (SEEMS)、MesenCult-SF Culture Kit (STEMCELL TECHNOLOGIES)と、これまでの培地とを比較検討した。その結果、増殖速度では間葉系幹細胞用無血清培地 STK2 (DS ファーマバイオメディカル)、ついで PLUS Cell Culture Supplement, MSC Qualified (CPS-PLS2)(COMPASS)が良好であった。しかしながら、間葉系幹細胞用無血清培地 STK2 (DS ファーマバイオメディカル)では継代数を進めると軟骨基質形成に prone であることがグルコサミノグリカン解析から判明、少なくとも ADMPC の維持培養には適当ではないとの結論に至った(軟骨製造には最適であると評価している)。血清代替物である PLUS Cell Culture Supplement, MSC Qualified (CPS-PLS2)(COMPASS)については、細胞増殖速度は STK2 の 70%程度であるものの、未分化性および細胞特性同一性の維持に適していることが判明した。なお、多くの無血清培地での培養にて *Runx2* の増加が認められ、移植投与後異所性骨化のリスクがあることも同時に判明した。