

平成 28 年度 委託研究開発成果報告書

I. 基本情報

事業名：(日本語) 再生医療実用化研究事業
(英語) Research Project for Practical Applications of Regenerative Medicine

研究開発課題名：(日本語) 非代償性肝硬変患者に対する培養自己骨髄細胞を用いた低侵襲肝臓再生療法の安全性に関する研究
(英語) Safety study of a less invasive liver regeneration therapy using cultured autologous bone marrow-derived mesenchymal stem cells for decompensated liver cirrhotic patient

研究開発担当者 (日本語) 大学院医学系研究科 消化器内科学及び再生医療研究教育センター
教授及びセンター長 坂井田 功

所属 役職 氏名：(英語) Department of Gastroenterology and Hepatology, and Center for Regenerative Medicine, Graduate School of Medicine, Professor and Director, Isao Sakaida

実施期間：平成 28 年 4 月 1 日 ～ 平成 29 年 3 月 31 日

II. 成果の概要（総括研究報告）

平成 26 年 8 月 6 日に厚生労働大臣より実施許可を得た「非代償性肝硬変患者に対する培養自己骨髄細胞を用いた低侵襲肝臓再生療法の安全性に関する研究」（厚生労働省発医政 0806 第 8 号）について、再生医療等の安全性確保等に関する法律の施行に伴い、平成 27 年 11 月 17 日に第二種再生医療等提供計画として承認（計画番号：PB6150001）を取得し、引き続き対象症例の入院業務及び外来業務、培養骨髄細胞の製造、培養骨髄細胞の評価、規制科学及びデータ登録等の業務を協働して実施した。

平成 26 年 12 月よりデータモニタリングシステムの整備（先端医療振興財団 臨床研究情報センター）および臨床研究保険への加入手続を実施し、平成 27 年 1 月の山口大学医学部附属病院 再生・細胞治療センター整備を経て、同年 2 月から症例登録および臨床研究を開始した。

【研究デザイン】単施設、非盲検、第 I 相試験

【主要評価項目】培養自己骨髄細胞投与後 24 週の時点までに生じた有害事象の発生頻度（第三者機関である先端医療振興財団臨床研究情報センターでデータ解析を外部委託で実施した）。

【副次評価項目】以下の 24 週時点の量または、24 週時点における培養自己骨髄細胞投与からの変化量を副次評価項目とした。(1)Child-Pugh スコア、(2)アルブミン値、(3)血清線維化マーカー値、(4)下腿浮腫の改善及び消失、(5)自覚症状スコア

【選択基準】(1) 90 日以上離れた 2 点において、Child-Pugh スコアが 7 点（Child-Pugh B）以上の状態にあり、現行の内科的治療法では改善が見込めない非代償性肝硬変症例、(2) 20 歳以上 75 歳以下の症例、(3) 総ビリルビン値が 3.0mg/dL 以上 5.0mg/dL 未満の症例、あるいは総ビリルビン値が 3.0mg/dL 未満で全身麻酔を施行することができない症例、(4) 文書によるインフォームドコンセントを本人から取得可能で、研究参加の同意が得られた症例

【主な除外基準】(1) 活動性の悪性新生物または無病期間が 1 年以内の悪性新生物を有する症例、(2) 破裂の危険性を有する食道・胃静脈瘤を合併している症例、(3) 腎機能障害（血清クレアチニン値 2 mg/dL 以上）を合併する症例、(4) ヘモグロビン値が 8g/dL 未満、血小板数が 50,000/ μ L 未満、あるいは PT が 40%未満の症例、等

平成 28 年度中に 10 例の登録・細胞投与を計画していたが、初期 3 例において細胞投与に伴う重篤な有害事象は認められず、早い段階での安全性の検証が可能と考えられたため、平成 28 年 12 月に本研究開発計画の変更申請を行い、目標症例数を 6 例とした。

現在までに 5 例で臨床研究登録、骨髄液採取、骨髄細胞培養を行った。うち 1 例において培養後の細胞数が基準を満たさず投与は行われなかったが、少なくとも投与を実施した 4 例は 6 ヶ月の経過観察期間内には細胞投与に伴う有害事象は認めなかった。また別の 1 例において細胞投与との因果関係のない有害事象（足関節骨折）による長期療養のため約 12 週で観察中止となったが、細胞投与との因果関係の否定できない重篤な有害事象は認めなかったことから、細胞投与の安全性は確認された。

また細胞投与の有効性については、持続期間は限定的ではあったが Child-Pugh スコアの低下と血清アルブミン値の上昇が観察された

一方、並行して行っている AMED 再生医療の実現化ハイウェイ研究において、イヌ肝線維化評価モデルを確立し、本研究の末梢静脈投与と新規経路である肝動脈投与の有効性を比較したところ、肝動脈投与の優位性が明らかとなった。また本研究において細胞投与の安全性が確認されたことから、細胞投与経路を肝動脈とした新規臨床研究を策定し、実施に向けた手続きを進めている。

II. Overview of progress

Following approval from the Minister of Health, Labour and Welfare on 6 August, 2014, for performance of a Safety Study of a Less-invasive Liver Regeneration Therapy Using Cultured Autologous Bone Marrow-derived Mesenchymal Stem Cells (BMSC) for Decompensated Liver Cirrhotic Patient, we initiated the equipping of a related data monitoring system at the Translational Research Informatics Center (TRI Center) of the Foundation for Biomedical Research and Innovation (BRI) in Dec. 2014, performed the procedure for acquisition of clinical research insurance, and proceeded through the related equipping of the Center for Regenerative and Cell Therapy in January 2015 at Yamaguchi University Hospital to initiation of case registration and clinical study in February of that year. With the enactment of the law to ensure safety in regenerative medicine, on 17 Nov, 2015, we received approval of the protocol for provision of regenerative therapy (Protocol No. PB6150001).

Study design: Single-institution, unblinded, phase I trial

Primary endpoint: Frequency of adverse events in 24 weeks following admin of the cultured autologous BMSCs (data analysis commissioned to a third party, the Translational Research Informatics Center, Foundation for Biomedical Research and Innovation).

Secondary endpoint: The values at the 24th week following admin or changes from the time of the cultured BMSC admin in: (1) Child-Pugh score, (2) Alb level, (3) serum fibrosis marker level, (4) rate of improvement/elimination in lower-leg edema, and (5) subjective symptom score.

Inclusion criteria: (1) Child-Pugh score of 7 (grade B) or higher at two times separated by 90 days or more and decompensated liver cirrhosis with no expectation for improvement by current internal medicine therapies, (2) age ≥ 20 and ≤ 75 , (3) T.Bil ≥ 3.0 mg/dL and < 5.0 mg/dL or T.Bil < 3.0 mg/dL with no possibility for total anesthesia.

Main exclusion criteria: (1) active malignant neoplasm or malignant neoplasm for less than 1 yr free from active malignant neoplasm disease, (2) combined risk of esophagogastric varix rupture, (3) combined renal dysfunction (Cre ≥ 2 mg/dL), or (4) Hb < 8 g/dL, Plt $< 50,000/\mu\text{L}$, or PT% $< 40\%$.

Registration and admin for ten cases had been targeted for FY2016, but no serious adverse events were found in the first three cases, so modification of the protocol was requested, and in December 2016, the target was reduced to six cases. To date, clinical trial registration, BMC culturing has been performed for five cases and followed by cultured cell admin for four of the five. In the remaining case, admin was not performed because the number of cultured cells did not meet the criterion. In the 6-month observation period following cell admin in the four cases, no associated adverse events were found. These results confirmed the safety of cell administration.

The duration of this study to date has been too short for full assessment of the efficacy of cell admin, but it has shown a lowering of the Child-Pugh score and an increase in Alb levels.

In parallel, basic research was performed as part of the Highway Program for Realization of Regenerative Medicine, and we compared the efficacies of the peripheral venous admin used in this clinical study and the new hepatic artery admin in a canine liver fibrosis. The results clearly showed the superiority of hepatic artery admin, and the clinical study has confirmed the safety of cultured BMC admin for cases of decompensated liver cirrhosis. We are now proceeding with preparations for a new clinical study with the hepatic artery as the route of cell admin.

III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧（国内誌 0 件、国際誌 2 件）

1. Cell transplantation as a non-invasive strategy for treating liver fibrosis. Matsumoto T, Takami T, Sakaida I. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol*. 2016;10(5):639-48.
2. Long term follow-up of patients after autologous bone marrow cell infusion for decompensated liver cirrhosis. Kyung Kim J, Kim SJ, Kim Y, Eun Chung Y, Nyun Park Y, Ok Kim H, Seok Kim J, Park MS, Sakaida I, Young Kim D, Il Lee J, Hoon Ahn S, Sik Lee K, Han KH. *Cell Transplant*. 2017 Jan 24. [Epub ahead of print]

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. 自己骨髄細胞による肝臓再生療法の臨床実施とそのメカニズム解析, 口頭, 松本俊彦, 高見太郎, 坂井田 功, 第 102 回日本消化器病学会総会, 2016/4/22, 国内
2. 当科における非代償性肝硬変症に対する先進的医療の現状と展開, 口頭, 高見太郎, 石川 剛, 坂井田 功, 第 52 回日本肝臓学会総会, 2016/5/19, 国内
3. 肝硬変症に対する自己骨髄細胞を用いた肝臓再生療法, 口頭, 高見太郎, 松本俊彦, 坂井田 功, 第 20 回日本肝臓学会大会, 2016/11/4, 国内
4. 肝硬変症に対する自己骨髄細胞を用いた肝臓再生療法, 口頭, 坂井田 功, 第 16 回日本再生医療学会総会, 2017/3/8, 国内
5. 肝硬変に対する培養骨髄間葉系幹細胞の肝臓再生機序の検討, 口頭, 高見太郎, 松本俊彦, 坂井田 功, 第 16 回日本再生医療学会総会, 2017/3/8, 国内

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

1. 自己骨髄細胞を用いた肝臓再生療法, 高見 太郎, 坂井田 功, やまぐち医療関連成長戦略推進協議会シンポジウム, 2016/9/13, ANA クラウンプラザホテル宇部, 国内
2. 培養ヒト骨髄細胞を用いた低侵襲肝臓再生療法の開発, 坂井田 功, 平成 28 年度 AMED 再生医療公開シンポジウム, TKP ガーデンシティ品川 ボールルーム, 2017/2/2

(4) 特許出願

該当なし