

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) 新たな培養・移植・イメージング技術を駆使した自己骨髄間質細胞移植による脳梗塞再生治療
(英語) Research on advanced intervention using novel bone marrow stem cell (RAINBOW)

研究開発担当者 (日本語) 北海道大学病院 脳神経外科 教授 寶金 清博
所属 役職 氏名： (英語) Kiyohiro Houkin, Professor and Chairman, Department of Neurosurgery, Hokkaido University Hospital.

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

分担研究 (日本語) 該当なし
開発課題名： (英語) N/A

研究開発分担者 (日本語) 北海道大学病院 臨床研究監理部 准教授 七戸 秀夫
所属 役職 氏名： (英語) Hideo Shichinohe, Associate professor, Division of Clinical Research Administration, Hokkaido University Hospital.

研究開発分担者 (日本語) 北海道大学大学院医学研究科 評価科学分野 教授 荒戸 照世
所属 役職 氏名： (英語) Teruyo Arato, Professor, Department of Regulatory Science, Hokkaido University Graduate School of Medicine.

研究開発分担者 (日本語) 北海道大学病院 臨床研究開発センター 教授 佐藤 典宏
所属 役職 氏名： (英語) Norihiro Sato, Professor and Director, Hokkaido University Hospital Clinical Research and Medical Innovation Center.

研究開発分担者 (日本語) 北海道大学病院 臨床研究開発センター 特任教授 杉田 修

所属 役職 氏名 : (英 語) Osamu Sugita, Specially Appointed Professor, Hokkaido University
Hospital Clinical Research and Medical Innovation Center.

研究開発分担者 (日本語) 北海道大学病院 放射線部 准教授 工藤 與亮

所属 役職 氏名 : (英 語) Kohsuke Kudo, Associate professor, Department of Diagnostic and
Interventional Radiology, Hokkaido University Hospital.

研究開発分担者 (日本語) 北海道大学大学院医学研究科 核医学分野 准教授 志賀 哲

所属 役職 氏名 : (英 語) Tohru Shiga, Associate professor, Department of Nuclear Medicine,
Hokkaido University Graduate School of Medicine.

研究開発分担者 (日本語) 日本赤十字社北海道ブロック血液センター 所長 高本 滋

所属 役職 氏名 : (英 語) Shigeru Takamoto, Director General, Japanese Red Cross Hokkaido Blood
Center.

II. 成果の概要（総括研究報告）

和文

脳梗塞に対する骨髄間質細胞(bone marrow stromal cells; BMSC)移植治療が国内外で臨床試験として開始されつつあるが、本格的な臨床応用には依然課題が残されている。すなわち、安全で効率的な細胞培養と移植法、移植細胞の挙動の捕捉、移植効果の客観的評価法などは、臨床試験の成否を左右する重要なファクターと考えられる。我々の研究『新たな培養・移植・イメージング技術を駆使した自己骨髄間質細胞移植による脳梗塞再生治療 - 治療メカニズムの解明を目的とした臨床試験』(RAINBOW 研究)では、1) ウシ胎仔血清(FBS)などの代替として、他家ヒト血小板溶解物(platelet lysate: PL)を基礎培養液に添加し、自家 BMSC を培養する、2) 脳梗塞周辺部への効率的な移植を目指し、脳定位的手術により細胞を直接移植する、3) MRI による移植細胞の挙動把握を目的とし、超常磁性酸化鉄(SPIO)製剤により BMSC をラベルする、4) FDG-PET や Iomazenil-SPECT を用いて、細胞移植がホスト脳に及ぼす影響を客観的に評価するなど、過去の臨床試験と異なる新規性のあるプロトコルを採用し、我々は第 2 世代の臨床試験(MSC 2.0)と自負している。また本研究では自家移植のテーラーメイドとしての‘治療の質’を重視しつつ、提携企業と協力し将来的な産業化を目指している。

平成 28 年度前半には、主に治験製品(HUNS001-01)の製造工程確立を目指した研究を行った。北海道大学病院 cell processing center (CPC)にて治験製品の試験製造を行ったところ、非臨床試験において核型異常を示したものがあったが、その後の検討で原因が試験方法によるアーチファクトと判明したため製造工程に変更を加えないこととし、この件に関しては国際学術誌(Tan C et al. Stem Cell International, 2016)にて発表した。最終的に、工程管理試験の妥当性や製品残留不純物、製品の安定性などに関して PMDA と事前面談、対面助言を通じて確認したのち、製造工程を確立した。

平成 28 年度後半には、治験届提出に向けた準備を中心に行った。医師主導治験「脳梗塞急性期患者を対象とした自家 BMSC 脳内投与による再生治療の安全性及び有効性を検討する第 I 相試験」は、2017/1/17 に北海道大学病院治験審査委員会の承認があり、1/18 に治験届が提出され、2/22 に UMIN に登録された(UMIN000026130)。本治験では、脳梗塞(急性期)患者を対象とし、患者自身の骨髄液から製造された HUNS001-01 を脳内に直接投与し、投与 1 年後の安全性を評価することを目的としている。また、副次的に神経学的評価や画像評価により客観的な治療効果判定を行う。本治験のデザインは非盲検非対照試験で、目標症例数は低用量(移植細胞数 2.0×10^7 個)群として 3 例以上、高用量 (5.0×10^7 個)群として 3 例とした。主な選択基準としては、発症 14 日目の時点で脳梗塞による中等～重度の神経症状(NIHSS: ≥ 6)を有すること(ただし NIHSS の「5.上肢の運動」と「6.下肢の運動」項目において総計 6 点以上であること)、投与予定日 7 日前の時点で脳梗塞による中等～重度の障害神経症状(mRS: ≥ 3)を有することとした。また、本治験で採用した脳実質内直接投与法は侵襲性を伴うため、特に同様の投与法を用いた海外の臨床研究で報告されているてんかんなどの有害事象に十分配慮したプロトコルとした。これらについては、国際学術誌にプロトコル論文として投稿中である。

現在、本治験後の第 II 相試験を見据えて協力企業を選定中である。以前より PL 製造のための血小板供給に関して日本赤十字社血液事業部と日赤北海道ブロック血液センターとの間で共同研究計画を締結している。また本研究全般に関して関与する提携先として、国内大手製薬会社、医療機器メーカーなど数社と秘密保持契約を結び交渉中である。

英文

We have reported the results of translational research on bone marrow stromal cell (BMSC) transplantation for stroke. Human BMSCs were cultured with allogeneic human platelet lysate (hPL) instead of fetal calf serum (FCS). The cells were injected stereotactically into rat ischemic brains. The donor cells were labeled in advance with superparamagnetic iron oxide (SPIO) for cell tracking using magnetic resonance imaging (MRI). After the transplantation, ^{18}F -fluorodeoxyglucose positron emission tomography (FDG-PET) and ^{123}I -iomazenil single-photon emission computed tomography (IMZ-SPECT) were performed for the analysis of cellular function and metabolism. There was no difference in the surface markers and cell proliferation between hPL and FCS. Although a rotarod test showed that motor function deteriorated in rats suffering from permanent MCA occlusion, BMSC-hPL transplantation significantly enhanced recovery of motor function. MRI demonstrated that SPIO-BMSCs aggressively migrated toward the lesion. Moreover, FDG-PET and IMZ-SPECT showed that BMSC transplantation promoted recovery of glucose utilization and the binding potential of iomazenil in the peri-infarct area, respectively. Histological analysis supported the MRI findings and showed the inclination of donor cells for neural differentiation. We concluded that allogeneic hPL was valuable and safe for expanding BMSCs and that the application of bioimaging techniques was also valuable for BMSC transplantation for stroke.

We translated these results to the optimal design of a new clinical trial called the Research on Advanced Intervention using Novel Bone marrow stem cell (RAINBOW). It is a phase 1, open-label, uncontrolled, dose-response study, with the primary aim to determine the safety of the autologous BMSC product HUNS001-01 when administered to patients with acute ischemic stroke. Estimated enrollment is 6–10 patients suffering from moderate to severe neurological deficits. Approximately 50 mL of the bone marrow is extracted from the iliac bone of each patient 15 days or later from the onset. BMSCs are cultured with allogeneic hPL as a substitute for fetal calf serum and are labeled with SPIO for cell tracking using MRI. HUNS001-01 is stereotactically administered around the area of infarction in the subacute phase. Each patient will be administered a dose of 20 or 50 million cells. Neurological scoring, MRI for cell tracking, FDG-PET, and IMZ-SPECT will be performed for 1 year after the administration. The trial was registered at The University Hospital Medical Information Network on February 22, 2017 (UNIN ID: UMIN000026130). We hope that it will be helpful not only for the patients but also for clarifying the underlying therapeutic mechanisms.

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 2 件、国際誌 3 件)

1. Tan C, Shichinohe H, Wang Z, Hamauchi S, Abumiya T, Nakayama N, Kazumata K, Ito T, Kudo K, Takamoto S, Houkin K. Feasibility and Efficiency of Human Bone Marrow Stromal Cell Culture with Allogeneic Platelet Lysate- Supplementation for Cell Therapy against Stroke. Stem Cells Int. 2016;2016:6104780.
2. Shichinohe H, Houkin K. Cell Therapy for Stroke: Review of Previous Clinical Trials and Introduction of Our New Trials. Neurol Med Chir (Tokyo). 2016 Oct 15;56(10):592-596.
3. Shichinohe H. Review of Previous Clinical Trials and Guidelines of Cell Therapy. Cell Therapy Against Cerebral Stroke: Comprehensive Reviews for Translational Researches and Clinical Trials (Springer). 123-134.
4. 七戸 秀夫, 寶金 清博. 細胞移植と神経再生. Clinical Neuroscience. 2016;34(10):1082-1085.
5. 七戸 秀夫. 脳梗塞に対する細胞治療の ELSI 的課題. 週間 医学のあゆみ. 2017;260(7):600-604.

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. The Next Generation of Autologous Bone Marrow Stromal Cell Transplantation for Stroke. 口頭, Shichinohe H, Houkin K. Asia Pacific Stroke Conference 2016, 2016/7/15-17, 国外.
2. The Next Generation of Autologous Bone Marrow Stromal Cell Transplantation for Stroke; MSC2.0. ポスター, Shichinohe H, Tan C, Wang Z, Abumiya T, Nakayama N, Kazumata K, Houkin K. Neuroscience 2016, 2016/11/12-16, 国外.
3. Autologous Bone Marrow Stromal Cell Transplantation against Stroke; RAINBOW study. ポスター, Shichinohe H, Tan C, Wang Z, Abumiya T, Nakayama N, Kazumata K, Houkin K. International Stroke Conference 2017, 2017/2/22-24, 国外.
4. 脳梗塞に対する骨髄間質細胞移植：次世代の細胞治療をめざして. 口頭, 七戸 秀夫. 第 41 回日本脳卒中学会学術集会 シンポジウム, 2016/4/14, 国内.
5. 脳梗塞の細胞治療と『革新的医薬品・医療機器・再生医療製品実用化促進事業』. 口頭, 寶金 清博. 第 6 回レギュラトリーサイエンス学会学術大会 シンポジウム, 2016/9/9, 国内.
6. 脳梗塞に対する細胞治療の「いま」. 口頭, 七戸 秀夫, 寶金 清博. 第 75 回日本脳神経外科学会学術総会 シンポジウム, 2016/9/29-10/1, 国内.
7. 脳梗塞に対する自家骨髄間質細胞移植 作用機序から治療戦略を考察する. 口頭, 七戸 秀夫, 寶金 清博. 第 28 回日本脳循環代謝学会総会 シンポジウム, 2016/11/10-12, 国内.
8. 脳梗塞の細胞治療と 『革新的医薬品・医療機器・再生医療製品 実用化促進事業』. 口頭, 七戸 秀夫, 寶金 清博. 第 16 回日本再生医療学会総会 シンポジウム, 2017/3/7-9, 国内.
9. 七戸 秀夫, 川堀 真人, 譚 成博, 王 子豊, 鏡谷 武雄, 中山 若樹, 数又 研, 寶金 清博. 口頭, 第 42 回日本脳卒中学会総会, 2017/3/16-19, 国内.

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

1. Boys and Girls, be a scientist ! 七戸 秀夫. 立命館慶祥中学校 平成 28 年度キャリア教室, 2016/6/18, 国内.
2. 間葉系幹細胞: 患者に届いている再生医療. 七戸 秀夫. 第 16 回日本再生医療学会総会 高校生学会体験企画, 2017/3/9, 国内.

(4) 特許出願

なし