

課題番号 : 26指119

研究課題名 : 自己骨髄由来培養間葉系細胞移植による抹消動脈疾患に対する血管新生治療

主任研究者名 : 福田 尚司

分担研究者名 :

キーワード : 血管新生、再生医療、骨髄間葉系細胞培養

研究成果 :

【背景】重症末梢動脈疾患患者の中で、全身または局所状態が過度に不良なため、手術加療が困難な患者を対象に、局所麻酔下に少量の自己骨髄細胞を自己多血小板血漿にて培養し、下肢虚血筋肉内に投与し、血管新生を惹起することにより下肢切断を防ぐ治療法を確立すべく、その安全性と有効性を検討する。

この結果をもってヒト幹細胞委員会の承認後、ヒトへ応用し先進医療へつなげたい。

24年度から既に基礎検討を開始している。

【結果】26年度は中大動物実験データを用いて院内倫理委員会へ申請した。承認後、ヒト幹細胞委員会への申請を行ったが、動物実験のデータが論文発表されていないとの事由で平成26年10月6日付不承認と言う結果であった。

27年度、今研究を再申請するにあたり、動物実験データの論文を雑誌に投稿し掲載された。これを経て、再生新法に従い特定認定再生医療等委員会（東京医科歯科大学）へ申請し、2015年（27年）10月27日、承認された。

院内倫理委員会での最終承認、関東厚生局への届け出を経て、2016年（28年）3月、今研究に1人目の患者をエントリーし、血管新生療法を滞りなく実施した。術後早期において、有害事象は発生していない。

Subject No. : 26 指 119

Title : Angiogenic Therapy Against Peripheral Arterial Disease with bone marrow derived MSC grown in platelet-rich plasma

Researchers : Shoji Fukuda

Key word : MSC, PRP, Angiogenesis, Regenerative therapy

Summary : 2014-2015
Our experimental results published to journal named Regenerative Therapy suggest that cultured human BM-MSC can be a promising cell source for therapeutic angiogenesis.

2015-2016
Our all protocol concerning this angiogenic therapy was confirmed by our hospital ethics committee and the Japanese Committee for Regenerative Therapy (Tokyo Dental and Medical University).
The first patient was enrolled to our research program, and received our angiogenic therapy in this early spring.

2016-
We are recruiting new patients.

自己骨髄由来培養間葉系細胞移植による 末梢動脈疾患に対する血管新生治療

<意義>

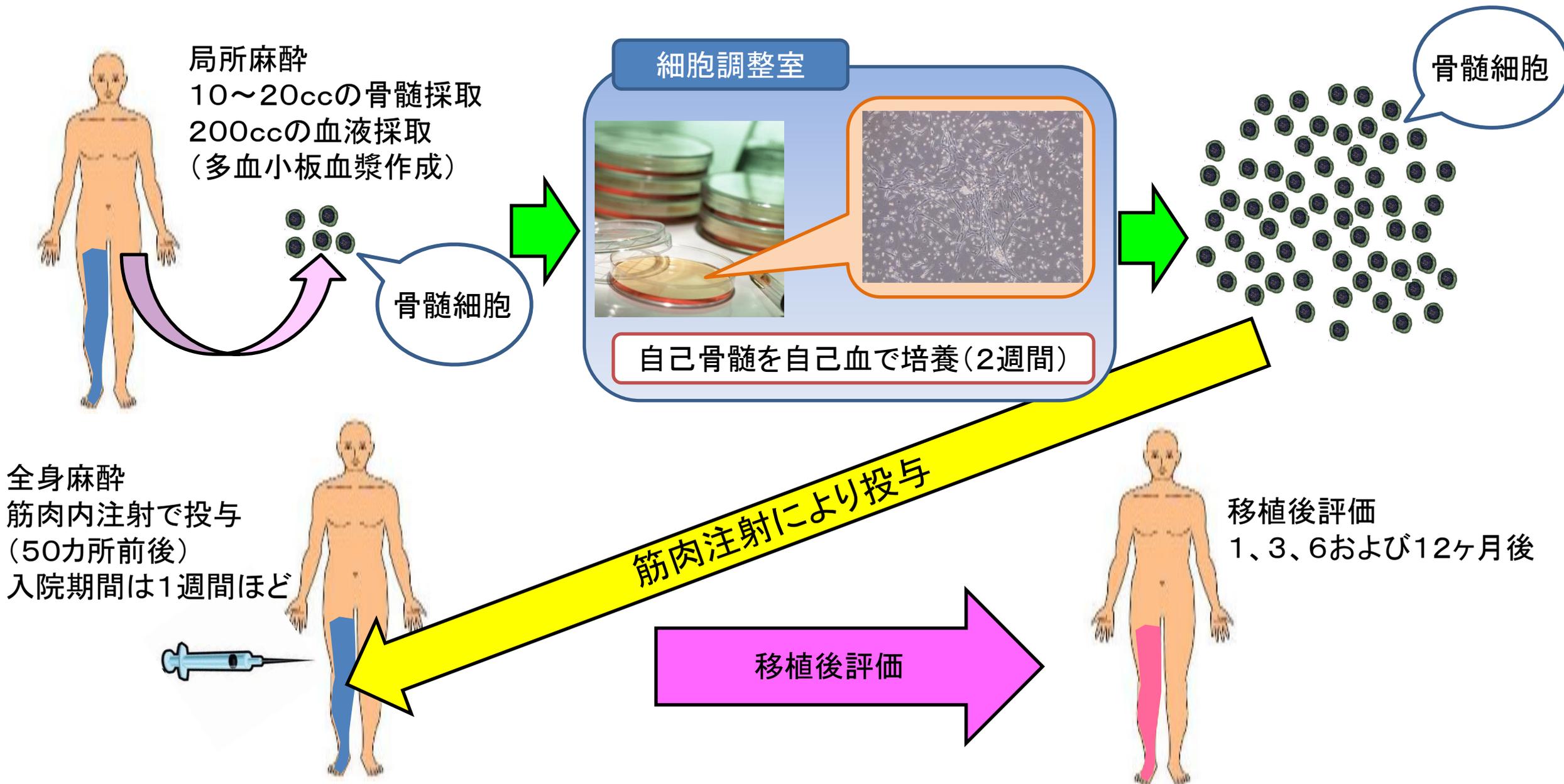
重症末梢動脈疾患患者を対象に、局所麻酔下に少量の自己骨髄細胞を自己多血小板血漿にて培養し、下肢虚血筋肉内に投与する。血管新生を惹起することにより下肢切断を防ぐ治療法を確立すべく、その安全性と有効性を検討する。

この結果をもって特定認定再生医療等委員会の承認後、ヒトへの応用を経て先進医療申請を行う。

<目的>

大量骨髄ではなく少量骨髄を局所麻酔下で採取し、培養においても他種血清を用いず、自己多血小板血漿を用いる点がNeuesであり、下肢切断によるQOLを著しく低下させ得る慢性重症下肢虚血に対する新しい低侵襲治療法を確立することを目指す。

<治療方法>



<研究から申請までの流れ>

【1年目】

基礎研究

《完了》

- 骨髓採取、培養の方法確立
- 小動物における今方法の安全性および有効性の確認
- 中大動物における今方法の安全性の確認

院内倫理委員会
申請・承認

《完了》

ヒト幹審査委員会
申請

《完了》



【2年目】(2015年)

特定認定再生
医療等委員会
申請・承認

《完了》

臨床研究

- 2名程度治療を実施
 - 安全性を確認
- 《1名完了》



【3年目】

臨床研究

- 3~8名程度の追加治療を実施
- 安全性を確認

《5月に1名エントリー》

先進医療
申請

課題番号 : 26指119

研究課題名 : 自己骨髄由来培養間葉系細胞移植による末梢動脈疾患に対する血管新生治療（基礎研究）

主任研究者名 : 福田尚司

分担研究者名 : 大河内 仁志

キーワード : 血管新生、再生医療、骨髄間葉系細胞培養

研究成果 : マウスや中大動物（ビーグル犬）の下肢虚血モデル作成し、骨髄由来の間葉系細胞の培養と移植実験を遂行し、安全性の検討を行った。今年度はこれらのデータをまとめて *Regenerative Therapy* という英文雑誌に「Safety Assessment of Bone Marrow Derived MSC Grown in Platelet-rich Plasma」論文として発表した。

具体的な内容としてはまずビーグル犬の骨髄由来の間葉系幹細胞を 10%牛胎児血清（FBS）と 10%多血小板血漿（PRP）の培養液で培養し、細胞増殖を比較した。その結果、10%PRP の方が 1 週間後にあきらかに間葉系幹細胞の増殖が亢進していた。次に健康人由来の骨髄を採取して、本人由来の PRP で培養すると骨髄間葉系幹細胞はよく増殖することを 3 例で示した。また培養した細胞が均一であることを CD90, CD105, CD73 などの表面マーカーを用いて FACS (Fluorescent activated cell sorting) により確認した。さらに染色体分析も行って、培養による染色体異常の発生がないことを確認した。これらのヒト間葉系幹細胞を免疫不全マウスに下肢虚血モデルを作製して、大腿四頭筋に筋注し、2 週間後に組織を採取して検討した。免疫組織学的な検討により、細胞移植群では非移植群に比べて、明らかに筋肉内の毛細血管が増加していた。

ビーグル犬で下肢虚血モデルを作成し、当該犬の骨髄からイヌの PRP を用いて培養した間葉系幹細胞を大腿四頭筋に筋注した。事前検討において腸骨動脈レベルで動脈を結紮切断しても、下肢の虚血の程度や範囲が個体によって異なることが判明したので、細胞移植による血管新生の評価は難しいと判断した。そこで 3 匹のビーグル犬に細胞を用いて、それぞれ 6.0×10^6 , 9.0×10^6 , 1.3×10^7 個の骨髄由来の間葉系幹細胞を 1 カ所に 1.0×10^6 ずつ筋注し、2 週間後に 2 匹、6 週間後に 1 匹から組織を採取して、組織学的に検討した。移植した細胞は事前に蛍光色素で標識しておいたので、2 週間後も 6 週間後も組織中に存在が認められた。明らかに移植細胞が血管になっている所見は得られなかった。少なくとも細胞移植による副作用は認められなかった。

以上より骨髄由来間葉系幹細胞はマウスにおいて血管新生作用が認められ、ビーグル犬においてヒトと同じ方法で臨床研究のシミュレーション行った所、移植による副作用は認められず、安全に移植できることが示された。

今年度は課題名の臨床研究計画を特定認定再生医療等委員会に臨床研究計画を提出し（研究代表者：福田尚司）、承認されたので、実際に患者を選定して 1 症例について開始することができた。

研究発表及び特許取得報告について

課題番号：26指119

研究課題名：自己骨髄由来培養間葉系細胞移植による抹消動脈疾患に対する血管新生治療

主任研究者名：福田 尚司

論文発表

論文タイトル	著者	掲載誌	掲載号	年
Safety Assessment of Bone Marrow Derived MSC Grown in Platelet-rich Plasma	Shoji Fukuda, Shotaro Hagiwara, Satsuki Fukuda, Ryo Yakabe, Hiroko Suzuki, Shigeharu G. Yabe, Techuan Chan, Hitoshi Okochi	Regenerative Therapy	1 (2015) 72-9	2015

学会発表

タイトル	発表者	学会名	場所	年月
該当なし				

その他発表(雑誌、テレビ、ラジオ等)

タイトル	発表者	発表先	場所	年月日
該当なし				

特許取得状況について ※出願申請中のものは()記載のこと。

発明名称	登録番号	特許権者(申請者) (共願は全記載)	登録日(申請日)	出願国
該当なし				

※該当がない項目の欄には「該当なし」と記載のこと。

※主任研究者が班全員分の内容を記載のこと。