

令和 2 年 5 月 28 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(A) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17H01583

研究課題名(和文) Muse細胞を用いた中枢神経治療のための研究基盤構築

研究課題名(英文) Platform for regenerative therapy of central nervous system using Muse cells

研究代表者

富永 悌二 (TOMINAGA, TEIJI)

東北大学・大学病院・教授

研究者番号：00217548

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 32,900,000円

研究成果の概要(和文)：Muse細胞は生体に存在する自然の多能性幹細胞であり、腫瘍性を持たない。安全性と組織修復性を両立した珍しい細胞であり、幹細胞治療の有力なソースとして注目されている。本研究の目的は、寝たきりの大きな原因で、社会的問題となっている中枢神経疾患に対し、Muse細胞による局所修復・機能再建治療を幅広く開発する研究基盤を形成することである。Muse細胞製剤を開発中の株式会社Clioともすでに研究協力体制にある。Muse細胞治療により失われた神経機能を回復することにより、寝たきり患者の減少、患者及び家族の生活の質の向上、医療費削減等においてきわめて大きな社会的波及効果が生じると考えられる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

Muse細胞は安全性と治療効果を両立する興味深い細胞である。Muse細胞で治療できる対象疾患を開発することにより、疾患の革新的治療につながると考えられる。Muse細胞による治療メカニズムの詳細を解明することでさらなる治療対象疾患の開発にもつながる。

Muse細胞治療により、寝たきり患者の減少、患者及び家族の生活の質の向上、医療費削減等においてきわめて大きな社会的波及効果が生じると考えられる。

研究成果の概要(英文)：Cerebral infarction accounts for ~60% of the total stroke and the number of patients is increasing. Even with the current sophisticated treatments including thrombolysis and thrombectomy, more than half patients get disabled. Therefore, it is imperative to develop a new treatment to enhance recovery and restore the lost neurological functions.

Multilineage-differentiating stress-enduring (Muse) cells are endogenous nontumorigenic stem cells with pluripotency and minimum safety concerns. Muse cells recognize the injured site, home preferentially into the tissue and spontaneously differentiate into tissue-compatible cells to replace the lost cells, and repair the tissue, delivering functional and structural regeneration. The purpose of this study is to develop Muse cell therapy for central nervous system disorders. If Muse cell treatment was successfully developed, the social and economic impact is unimaginable.

研究分野：脳神経外科学

キーワード：Muse細胞 多能性幹細胞 組織修復 細胞移植治療 中枢神経疾患

1. 研究開始当初の背景

< 中枢神経疾患と社会問題 >

中枢神経疾患の代表である脳卒中は我が国の死亡原因の第 4 位、かつ寝たきりの原因の第 1 位である。脳卒中による死亡は年間 11 万人を超え、患者総数は 100 万人以上、年間の医療費は 2 兆円に迫る。脳卒中の中でも脳梗塞が最大数を占め、高齢化に伴い患者数は増加傾向であり、国民医療経済の観点から深刻な問題である。一方、パーキンソン病をはじめとする神経変性疾患も 10 万人以上の患者数を有し、外傷に起因するため若年者に多い脊髄損傷や重症頭部外傷も、患者数は 10 万人以上である。これらの中枢神経疾患においては、既存の如何なる治療法を用いても障害された神経組織を根本的には回復させられないため、神経組織自体を再生させ得る幹細胞治療に期待が集まっている。

< Muse 細胞 (Multilineage-differentiating stress enduring cell) (図 1) >

Muse 細胞は、出澤らにより発見された多能性幹細胞である。平素から生体内に存在しており、SSEA-3 をマーカーとして容易に分離できる。腫瘍性を持たず、神経細胞を含め、胚葉を超えたあらゆる細胞に分化することができる「自然の多能性幹細胞」である。多能性を持たせるための遺伝子導入などを必要としない。静注や局注後に傷害部位を認識して遊走し、自発的に組織を修復することが特徴的である。生命科学インスティテュート社でヒト Muse 細胞製品を開発しており、我々とは研究協力体制にある。

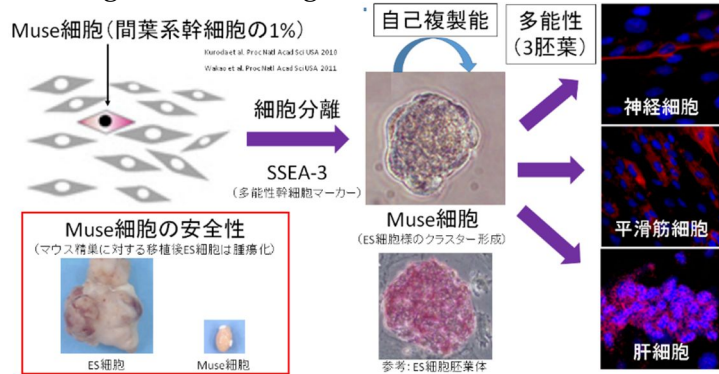


図 1 Muse 細胞概要

< これまでの研究成果 (図 2) >

我々は、かつては間葉系幹細胞や神経幹細胞を中心として研究を重ねてきた (Sakata et al., J Neurosci, 2012; Stroke 2012; Brain, 2012) が、近年は Muse 細胞に着目し、Muse 細胞を臨床での中枢神経再生・細胞移植治療に応用すべく、基礎的解析データを蓄積してきた。最大の社会問題となっている脳梗塞で研究を先行し、ラット中大脳動脈虚血再灌流モデルの線条体にヒト Muse 細胞を移植することにより機能回復がもたらされることを確認した (Uchida, et al., Stem Cells, 2015)。また、タイプの異なる脳梗塞モデルである深部白質梗塞に関しても Muse 細胞が脳梗塞部位から脊髄にまで突起を伸長して神経回路を再建し、腫瘍化もないことを明らかにした (Uchida et al., Brain Res 2015; Stroke, 2017)。

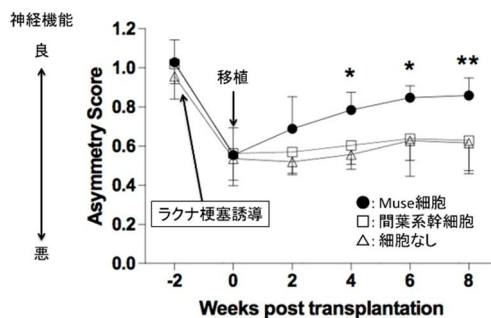


図 2 深部白質梗塞 (ラクナ梗塞) に対する Muse 細胞移植治療

間葉系幹細胞移植群と比較して有意 Muse 細胞移植群で神経機能が改善することが示された。治療効果発現までに時間を要する (~ 4 週) 理由は、細胞増殖、組織の再生と神経回路への統合に時間を要するためだと考えられた。 (Stroke 48:428-435, 2017 より転載)

この Muse 細胞による機能改善は、近年臨床応用が始まっている間葉系幹細胞と比較して有意に良好であることが示された。間葉系幹細胞の治療効果の主体は神経栄養因子などの液生因子によるものだが、Muse 細胞はそれにとどまらず、実際に組織を再生、置換する可能性が示唆された。従って、Muse 細胞により既存の細胞治療とは一線を画する、いわば個体に備わる組織修復能の大幅な enhance とも表現可能な治療効果が期待できる。Muse 細胞が傷害部位を認識して自発的に遊走するメカニズムなど、基礎的知見は研究分担者の出澤らにより蓄積されている。

< 臨床応用 (自家 Muse 細胞移植) に向けた課題 >

前臨床試験では Muse 細胞移植の脳梗塞に対する有効性・安全性が示唆されたが、直ちに臨床応用に移行はできない。現段階においては Muse 細胞の分離には動物由来の研究用抗体を用いており、それらを含めた安全性の担保、Muse 細胞製剤製造工程整備、品質管理、規制対応が必

要となる。これらに対する基準の策定、研究が必要になるが、ひとたび標準的手法を確立すれば、Muse 細胞移植治療を、動物モデルが確立した他の中枢神経疾患へ水平展開し、容易に臨床応用可能となる。

2. 研究の目的

本研究では、Muse 細胞による中枢神経疾患の局所修復と機能再建治療を開発するプラットフォームを形成する。研究を先行している脳梗塞において、臨床試験（先進医療 B）に移行することを目標とし、その他の疾患動物モデルが確立した中枢神経疾患においては動物実験における概念実証（POC）を取得することを目標にする。基礎研究からヒトでの臨床研究に至るまで、同様の手法を用いて水平展開が可能となり、中枢神経疾患治療開発が加速化する。

3. 研究の方法

上記の目標を達成するために、以下の要素研究を行うこととした。

- 1) Muse 細胞分離法の改良
- 2) 臨床試験グレードの Muse 細胞製剤開発から臨床試験（先進医療 B）への移行
- 3) 動物モデルが確立した中枢神経疾患における Muse 細胞移植治療（局所修復と機能再建）に関する POC 取得

4. 研究成果

Muse 細胞分離法の改良に関しては、Muse 細胞を抗 SSEA-3 抗体でを用いて分離するため、複数の抗体につき、分離後の Muse 細胞の割合などを検証した。また、先進医療 B のトラックを用いた臨床応用についても準備を進めていたが、生命科学インスティテュート社において臨床グレードの Muse 細胞製品 CL2020 が開発されたことから、その製剤を用いることで臨床応用を図る方が研究が加速するという結論に至り、Muse 細胞の自家移植を目指すための要素研究は行わない方針に変更する運びとなった。

脳梗塞においては、臨床の場での治療が容易に行えるように、脳局所投与ではなく静脈内投与による治療の可能性を検証し、あわせて治療効果が得られるメカニズムの解明にも注力した。Nanolantern で標識した Muse 細胞を脳梗塞後に静脈内投与すると、早期から梗塞巣に細胞が集積すること、亜急性期、さらには慢性期のいずれにおいて Muse 細胞を静脈内投与しても、徐々に神経症状が改善し、治療効果が得られること、その治療効果は少なくとも 22 週目までは維持されることなどを見出し、Stroke 誌に発表した（図 3, Abe et al., Stroke, 2020）。

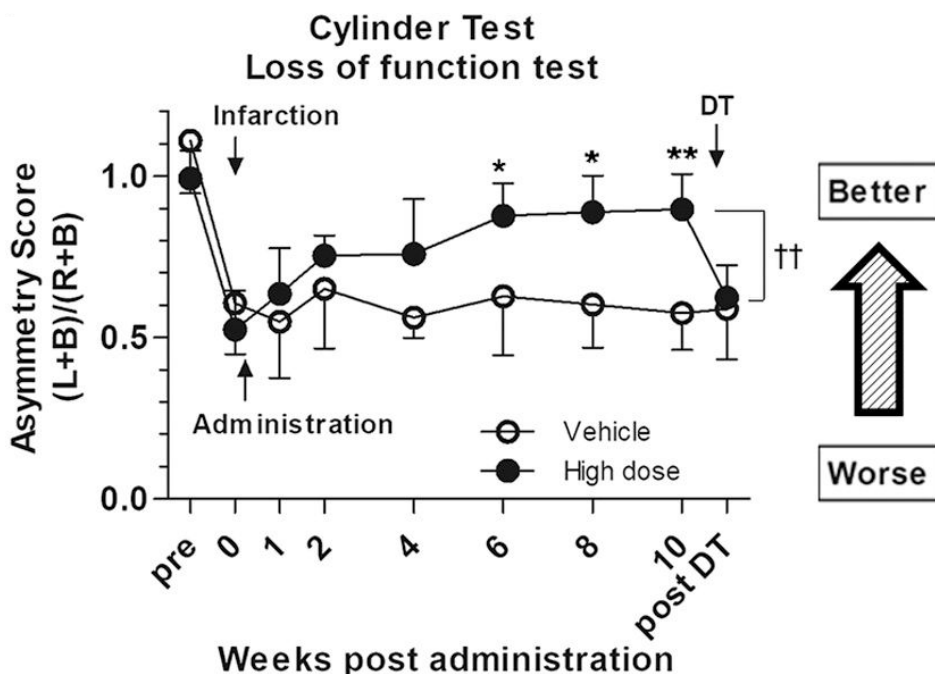


図3 深部白質梗塞への Muse 細胞製品（CL2020）投与後の神経症状の改善。マウス深部白質梗塞後9日の時点で CL2020 を投与した。経時的に神経症状は改善し、6-10 週後において対照群と比較して有意な改善が得られた。ジフテリア毒素を投与して、ヒト由来の CL2020 を脱落させると、回復していた神経機能は再度悪化した。（Stroke 51:601-611, 2020 より転載）

これにより、図 4 に示すように Muse 細胞製品 CL2020 により機能回復に至る概念が実証された。

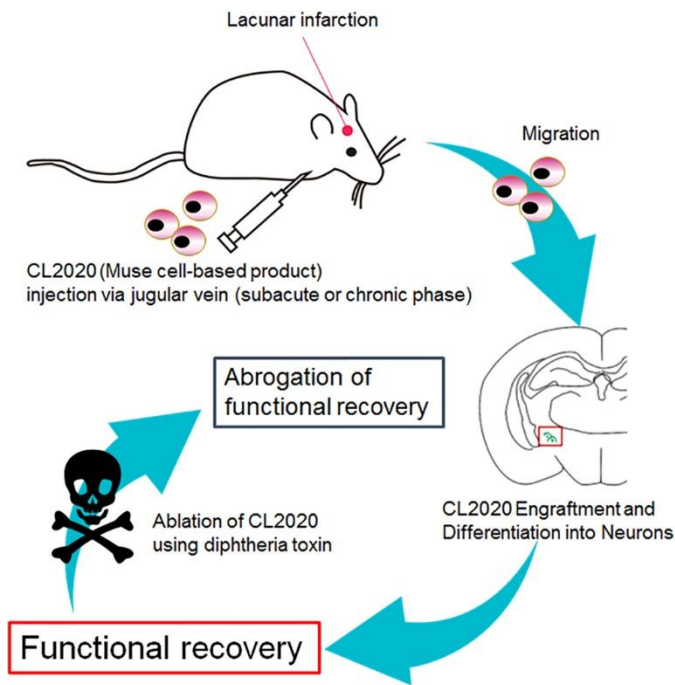


図 4 Muse 細胞製品 CL2020 を亜急性期もしくは慢性期脳梗塞に投与すると、CL2020 は脳梗塞病巣周囲に自発的に郵送し、生着する。その後神経細胞に分化し、神経機能回復をもたらす。ジフテリア毒素を用いて CL2020 を脱落させると、得られていた機能回復がキャンセルされる。
(Stroke 51:601-611, 2020 より転載)

これらの研究成果に基づき、亜急性期脳梗塞に対する細胞治療の治験を介するに至った。

また、社会的需要が大きい脊髄損傷についても Muse 細胞治療の効果を検証した。脊髄損傷後に Muse 細胞治療が効果を示す知見が得られ、論文として投稿中である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Niizuma K, Borlongan C V, Tominaga T.	4. 巻 1103
2. 論文標題 Application of muse cell therapy to stroke	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Advances in Experimental Medicine and Biology	6. 最初と最後の頁 167-186
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/978-4-431-56847-6	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 Yasunami Y, Nakafusa Y, Nitta N, Nakamura M, Goto M, Ono J, Taniguchi M.	4. 巻 102
2. 論文標題 A novel subcutaneous site of islet transplantation superior to the liver	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Transplantation	6. 最初と最後の頁 945-952
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1097/TP.0000000000002162	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Uematsu Suzuki S, Inagaki A, Nakamura Y, Imura T, Igarashi Y, Fathi I, Miyagi S, Ohuchi N, Satomi S, Goto M.	4. 巻 102
2. 論文標題 The optimization of the prevascularization procedures for improving subcutaneous islet engraftment	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Transplantation	6. 最初と最後の頁 387-395
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1097/TP.0000000000001970	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Elkordy A, Mishima E, Niizuma K, Akiyama Y, Fujimura M, Tominaga T, Abe T.	4. 巻 146
2. 論文標題 Stress induced tRNA cleavage and tiRNA generation in rat neuronal PC12 cells	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Neurochemistry	6. 最初と最後の頁 560-569
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/jnc.14321	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Rashad S, Sugiyama S, Niizuma K, Sato K, Endo H, Omodaka S, Matsumoto Y, Fujimura M, Tominaga T.	4. 巻 128
2. 論文標題 Impact of bifurcation angle and inflow coefficient on the rupture risk of bifurcation type basilar artery tip aneurysms	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Neurosurgery	6. 最初と最後の頁 723-730
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3171/2016.10.JNS161695	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Mansour A, Niizuma K, Rashad S, Sumiyoshi A, Ryoke R, Endo H, Endo T, Sato K, Kawashima R, Tominaga T.	4. 巻 131
2. 論文標題 A refined model of chronic cerebral hypoperfusion resulting in cognitive impairment and a low mortality rate in rats	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Neurosurgery	6. 最初と最後の頁 892-902
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3171/2018.3.JNS172274	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 新妻邦泰, 富永悌二	4. 巻 29
2. 論文標題 脳梗塞におけるMuse細胞を用いた治療戦略	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 血液フロンティア	6. 最初と最後の頁 47-57
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Abe T, Aburakawa D, Niizuma K, Iwabuchi N, Kajitani T, Wakao S, Kushida Y, Dezawa M, Borlongan CV, Tominaga T.	4. 巻 51
2. 論文標題 Intravenously transplanted human multilineage-differentiating stress-enduring cells afford brain repair in a mouse lacunar stroke model	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Stroke	6. 最初と最後の頁 601-611
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1161/STROKEAHA.119.026589	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計6件（うち招待講演 6件 / うち国際学会 3件）

1. 発表者名 Niizuma K, Tominaga T
2. 発表標題 Development of a new thrombolytic agent and stem cell therapy for cerebral ischemia
3. 学会等名 Ralph L. Nachman Vascular and Biology Seminar Series at Weill Cornell Medical College (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 新妻 邦泰
2. 発表標題 MUSE細胞
3. 学会等名 第2回日本神経細胞治療研究会総会 (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 新妻 邦泰
2. 発表標題 Muse 細胞による脳梗塞治療
3. 学会等名 日本脳神経外科学会第77回総会 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 新妻邦泰 富永悌二
2. 発表標題 Muse細胞による脳梗塞治療
3. 学会等名 Stroke2018 (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Niizuma K, Tominaga T
2. 発表標題 Muse cell treatment for cerebral ischemia
3. 学会等名 Pan Pacific Symposium on Stem Cells and Cancer Research (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 新妻 邦泰
2. 発表標題 Muse細胞を用いた脳梗塞再生治療
3. 学会等名 第44回日本脳卒中学会学術集会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	藤村 幹 (FUJIMURA MIKI) (00361098)	東北大学・医学系研究科・非常勤講師 (11301)	
研究分担者	新妻 邦泰 (NIIZUMA KUNIYASU) (10643330)	東北大学・医工学研究科・教授 (11301)	
研究分担者	出沢 真理 (DEZAWA MARI) (50272323)	東北大学・医学系研究科・教授 (11301)	

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	後藤 昌史 (GOTO MASAFUMI) (50400453)	東北大学・医学系研究科・教授 (11301)	
研究分担者	坂田 洋之 (SAKATA HIROYUKI) (80722305)	東北大学・医学系研究科・非常勤講師 (11301)	