

令和 2 年 6 月 15 日現在

機関番号：34519

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K07228

研究課題名(和文)胎児附属物由来間葉系幹細胞による造血幹細胞移植後合併症の治療開発

研究課題名(英文) Use of amnion-derived mesenchymal stem cells for treatment of immune dysfunction after hematopoietic stem cell transplantation

研究代表者

藤盛 好啓 (Fujimori, Yoshihiro)

兵庫医科大学・医学部・教授

研究者番号：20229058

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：間葉系幹細胞(Mesenchymal Stem Cells: MSC)は、分化能を備えた体性幹細胞であるのみならず、自然免疫系、獲得免疫系の両者に強力な免疫抑制力を持ち、過剰免疫状態を沈静化するのに有用である。我々は羊膜由来の間葉系幹細胞を培養し、マウスの系において、難治性の乾癬が改善することを示した(J Dermatol 2019)。造血幹細胞移植では、ドナー由来Tリンパ球が患者正常組織を攻撃し急性移植片対宿主病などの合併症を起こす。本研究で我々は、羊膜間葉系幹細胞をヒトの移植後急性移植片対宿主病の治療に用いるため医師主導治験のプロトコルを立案した(BMJ Open 2019)。

研究成果の学術的意義や社会的意義

骨髄由来間葉系幹細胞は、現在移植後急性移植片対宿主病の治療に保険適応されている。本研究では、分娩時の廃棄物である胎盤から、羊膜由来間葉系幹細胞を培養し、免疫不全の疾患の治療応用を検討した。皮膚の乾癬は、免疫異常が指摘されており、羊膜由来の間葉系幹細胞投与で軽減することが判明した。また、羊膜由来間葉系幹細胞を用いた急性移植片対宿主病治療の医師主導治験のプロトコルを立案した。これらは、羊膜由来間葉系幹細胞の臨床応用を進めるうえで非常に重要な内容であり、社会的にも意義も深い。

研究成果の概要(英文)：Mesenchymal stem cells (MSCs) have a capacity to differentiate into mesenchymal lineages and can settle immune dysfunction. We here have obtained the MSCs from amnion of the placenta and used for treatment of immune dysfunction. When amnion-derived mesenchymal stem cells were administered to a mouse model of psoriasis, secretion of IL-17 and IL-23 were decreased and histopathological changes in psoriasis were also resolved (J Dermatol 2019). Acute graft versus host disease is a major adverse event after hematopoietic stem cell transplantation. We planned to use of amnion-derived mesenchymal stem cells for treatment of acute graft versus host disease in human. We developed a protocol for clinical examination to facilitate the use of amnion-derived mesenchymal stem cells in clinical setting (BMJ Open 2019).

研究分野：血液病学

キーワード：間葉系幹細胞 造血幹細胞移植 移植片対宿主病 移植後血栓性微小血管障害 乾癬

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

間葉系幹細胞(Mesenchymal Stem Cells: MSC)は、間葉由来の体性幹細胞であり、骨、軟骨、脂肪等の間葉系細胞に分化し(Pittenger M, Science 1999)、現在の再生医療の重要な細胞ソースである。この細胞は、それ以外に自然免疫系、獲得免疫系の両者に強力な免疫抑制力があることが判明し、さまざまな過剰免疫状態を沈静化する細胞としても医療応用されている。間葉系幹細胞は通常骨髄の付着細胞として分離培養されることが多いが、様々な間葉系組織から分離可能であり、胎盤など胎児附属器のから分離した羊膜からも培養が可能であり、また増殖力が強いことを報告されている。

造血幹細胞移植では、抗腫瘍剤等の作用以外に、ドナー由来Tリンパ球が腫瘍(白血病)細胞を攻撃することが治療の重要な要素である。しかし副作用としてリンパ球が患者正常組織を攻撃し急性移植片対宿主病(graft versus host disease: GVHD)や移植後血栓性微小血管障害(Thrombotic microangiopathy: TMA)などの合併症を惹起しうる。骨髄から分離した骨髄由来間葉系幹細胞は、その免疫抑制作用から移植後GVHDの治療に使われている。本研究では、胎盤から分離した羊膜由来間葉系幹細胞を用いて、移植後合併症、急性GVHDや移植後血栓性微小血管障害の治療の可能性を解明し、臨床応用を目指す。

### 2. 研究の目的

骨髄由来の間葉系幹細胞は、移植後の急性GVHDの治療に保険適応となっている。本研究では、胎盤など従来廃棄されていた資源から羊膜由来の間葉系幹細胞を新たに分離培養し、その免疫抑制作用を利用して免疫過剰で起こる疾患の治療を目指すものである。

### 3. 研究の方法

帝王切開時の胎盤を手続きを経て入手し、羊膜を手動的に分離、細分して培養器で培養、間葉系幹細胞を付着増殖させた。今回は、基礎的検討として乾癬モデルマウスに羊膜間葉系幹細胞を投与した。また、臨床への応用として移植後急性GVHDの治療のための、臨床研究プロトコルを作成した。

### 4. 研究成果

乾癬は表皮細胞の過剰増殖と不全角化を特徴とする慢性の皮膚炎である。難治性であり、患者QOLが低下しやすい。乾癬の原因は不明の部分が多いが、免疫異常が起こっており、IL-17やIL-23が関与することが明らかになってきて、これらサイトカインを抑制する生物学的製剤も実用化されてきた。本研究では、羊膜由来間葉系幹細胞を用いて乾癬治療の可能性について検討した。マウスモデルにて乾癬を誘導し、そこで間葉系幹細胞を投与群と非投与群を比較した。間葉系幹細胞投与群では、IL-17、IL-22、CXCL1、IL-8等乾癬に関連して上昇する因子が低下しており、また病理組織学的に乾癬病変の改善が見られた。この結果、羊膜由来間葉系幹細胞は乾癬の治療に応用可能と考えられた(J Dermatol 2019)。

更に我々は、羊膜間葉系幹細胞を臨床応用する検討を開始した。基礎的検討については、山原、相馬らが羊膜由来間葉系幹細胞を移植後 GVHD のマウスモデルを用いて報告している。その結果、羊膜由来間葉系幹細胞投与により急性 GVHD の改善がみられた。今回は、これを臨床応用すべく、医師主導治験のプロトコール作成した。移植後 GVHD は通常移植後生着が得られてから 100 日以内に起こり、発疹、肝障害、下痢が症状となる。治療はステロイド投与である。本研究では、ステロイド耐性の急性 GVHD が対象となる。骨髄由来間葉系幹細胞(テムセル)は移植後 GVHD 治療にすでに保険適応になっているが、今回羊膜由来幹細胞をヒトへ投与するに当たり、テムセルとの違いを検討していく。投与細胞数を低細胞数( $1 \times 10^6$ ) cells/kg; テムセルの半量)と高細胞数( $4 \times 10^6$ ) cells/kg; テムセルの倍量)の 2 群に分け、細胞投与間隔回数は週 1 回 4 週計 4 回(テムセルは週 2 回 4 週、計 8 回)とし、このプロトコールに沿って細胞投与し、その安全性と効果を探る。Phase I/II スタディであるため、一次エンドポイントは投与 24 時間以内の安全性を検討し、二次エンドポイントは有効性を検討する(BMJ Open 2019)。

こように本研究では、胎児附属物由来間葉系幹細胞を用いた基礎的な研究と、臨床応用につながる治療開発、特に造血幹細胞移植後合併症の治療計画について検討を行った。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Imai Y, Yamahara K, Hamada A, Fujimori Y, Yamanishi K	4. 巻 46
2. 論文標題 Human amnion-derived mesenchymal stem cells ameliorate imiquimod-induced psoriasiform dermatitis in mice	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J Dermatol	6. 最初と最後の頁 276-278
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/1346-8138.14768	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 Yamahara K, Hamada A, Soma T, Okamoto R, Okada M, Yoshihara S, Yoshihara K, Ikegame K, Tamaki H, Kaida K, Inoue T, Ohsugi Y, Nishikawa H, Hayashi H, Ito YM, Iijima H, Ohnishi S, Hashimoto D, Isoe T, Teshima T, Ogawa H, Sato N, Fujimori Y	4. 巻 9
2. 論文標題 Safety and efficacy of amnion-derived mesenchymal stem cells (AM01) in patients with steroid-refractory acute graft-versus-host disease after allogeneic haematopoietic stem cell transplantation: a study protocol for a phase I/II Japanese trial	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 BMJ Open	6. 最初と最後の頁 e026403
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1136/bmjopen-2018-026403	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件／うち国際学会 2件）

1. 発表者名 Yamahara K, Sudo T, Hamada A, Kuroda S, Yoshihara K, Yoshihara S, Okada M, Soma T, Onishi S, Fujimori Y.
2. 発表標題 Adult bovine-derived leukocyte and platelet-rich plasma (L-PRP) is safe, less ethical, economical and powerful alternative to fetal bovine serum for the culture of mesenchymal stem cells.
3. 学会等名 International Society of Stem Cell Research (ISSCR) 2017 Annual Meeting (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 山原研一, 濱田彰子, 大西俊介, 高田竜二, 須藤稔太, 岡本里香, 豊嶋 崇徳, 磯江 敏幸, 佐藤 典宏, 藤盛 好啓.
2. 発表標題 国産成牛多血小板血漿由来血清「NeoSERA」を用いた羊膜MSC製剤化と急性GVHD・クローン病向け医師主導治験.
3. 学会等名 第17回日本再生医療学会総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Yamahara K, Sudo T, Hamada A, Yoshihara K, Yoshihara S, Okada M, Soma T, Ohnishi S, Fujimori Y.
2. 発表標題 Bovine platelet lysate-derived serum NeoSERA is safe, less ethical and powerful alternative to fetal bovine serum for the culture of mesenchymal stem cells.
3. 学会等名 2019 Annual Meeting of International Society for Stem Cell Research (国際学会)
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	相馬 俊裕  (Soma Toshihiro)  (40273619)	兵庫医科大学・医学部・非常勤講師    (34519)	