

学術研究助成金〔社会実装研究〕実績報告書

令和 6 年 4 月 30 日

氏 名： 松本 太郎

所属・資格： 医学部・教授

実施研究所： 医学部・総合医学研究所

1 研究課題

脱分化脂肪細胞調製キットの開発

2 研究期間

令和 3 年度 ～ 令和 4 年度

※令和 3 年度 ～ 令和 5 年度（※特例措置により上記期間を変更している場合記入すること）

3 研究組織

研究代表者及び研究分担者

	氏 名	部科校・資格	役 割 分 担
研 代 究 表 者	松本 太郎	医学部・教授	研究の総括・キットの最適化
研 究 分 担 者	副島 一孝	医学部・教授	キットの性能評価に関する脂肪組織の採取
	樫村 勉	医学部・准教授	キットの性能評価に関する脂肪組織の採取
	李 予昕	医学部・准教授	キットの性能評価に関する品質管理試験・非臨床有効性試験
	風間 智彦	医学部・助教	キットの性能評価に関する品質管理試験・非臨床有効性試験

連携組織

組 織 名	役 割 分 担
株式会社サンプラテック	DFAT 調製キットの製造担当
日水製薬株式会社	DFAT 基礎培地の製造担当

※ホームページ等での公開（可・否）いずれかをチェックしてください。
否の場合は、理由書を別途添付のこと。

4 現在までの達成度

当初の研究目的に対する達成度について研究期間全体を 100%として、以下の区分より自己評価を行ってください。
<区分>①当初の計画以上に進展している。②概ね順調に進展している。③やや遅れている。

【区分： ②】・【達成度： 100 %】

本研究課題において予定されていた研究計画のうち、令和 4 年度に未実施項目が残った「最終製品の非臨床安全性試験」、「最終製品の非臨床有効性試験」については、特例措置として期間延長された令和 5 年度に未実施項目を実施し、マイルストーンとして設定していた研究はほぼ完了した。また「DFAT 調製キットを用いた最終製品の製造」および「PMDA 相談」は、令和 4 年度中にマイルストーンを達成し、令和 5 年度は一部の計画でさらなる進捗が認められた。以上より、②概ね順調に進展している（達成度 100%）と自己評価した。

5 研究目的

研究の全体構想及びその中での本研究の具体的な目的について記述してください。

再生医療によく用いられる間葉系幹細胞 Mesenchymal stem cell (MSC)は患者自身の体から調製できるが、患者の年齢や病状により細胞の品質にばらつきが生じやすいといった問題点がある。MSC による細胞治療を普及させるためには、簡便・安価に大量調製可能で、患者を選ばず均質で安定した性能を示す MSC 製造技術の確立が望まれる。脱分化脂肪細胞 Dedifferentiated fat cell (DFAT)は、成熟脂肪細胞を「天井培養」という方法で培養して作られる MSC に類似した多能性細胞である。DFAT は少量の脂肪組織から均質な治療用細胞を大量に作ることができることから、低コストで実用性の高い再生医療の細胞源として期待できる。研究代表者らは、日本大学医学部リサーチセンター細胞加工施設(CPF)において臨床グレードの DFAT 製造法を確立し、重症下肢虚血患者を対象とした自家 DFAT を用いた血管再生細胞治療の臨床研究を実施中である。またより簡便・効率的に DFAT 調製を可能とする「天井培養フラスコ」を開発し、製品化するに至っている。さらにこの天井培養フラスコを主要構成パーツとし、高効率で安価に DFAT を製造できる「DFAT 調製キット」の開発に着手している。

本研究の目的は、この DFAT 調製キットの最適化を行い、最も効率良く安定的に DFAT を製造できる調製キットを完成させる。そして、この調製キットを用いて製造した DFAT の規格試験や非臨床試験を行い、品質や性能が担保された DFAT が再現性よく調製できることを確認する。これらの研究を通じて本調製キットにて製造した DFAT の品質、安全性、有効性が治験水準に到達していることを確認し、最終的に企業への導出を目指す。本調製キットを完成させ社会実装させることにより、均質で安定した性能を示す臨床グレード DFAT を一般の細胞加工施設でも簡便に製造できるようになる。将来的には現在先行している MSC を用いた細胞治療の大部分をより安全・安価なものとして普遍的に発展させる可能性がある。

6 当該年度の実施状況の概要

次の点について、具体的かつ明確に記述してください。

- ①当初の研究計画、具体的なマイルストーンに対する進捗状況
- ②進捗上の問題点と今後の対策

①当初の研究計画、具体的なマイルストーンに対する進捗状況

(1) DFAT 調製キットを用いた最終製品の製造

マイルストーン: 10 症例から調製した最終製品の規格試験を完了する。(達成時期: 2022 年 10 月)

令和 4 年度は DFAT 調製キットを用いて、計 7 症例の脂肪組織から最終製品の試験製造(コールドラン)を行ったが、令和 5 年度は PMDA から提示された追加検討項目を実施するため、さらに 4 症例の脂肪組織から最終製品の試験製造を行った。そしてすべての症例で工程内管理試験および規格試験の基準値から逸脱することなく最終製品を製造できることを確認した。また凍結保存した最終製品の一部を溶解し、特性解析試験として、プラスチック面への付着能、細胞増殖能、コロニー形成能、脂肪・骨・軟骨・平滑筋への多分化能、生理活性物質分泌能、目的外生理活性物質の分泌能の評価を行い、検討したすべてのサンプルで治療用細胞としての特性を保持していることを確認した。また安定性の評価として、原料輸送時安定性試験、最終製品を用いた長期保存試験、輸送時安定性試験、凍結融解後の安定性試験を行った。その結果、DFAT 調製キットを用いて製造した最終製品の貯蔵条件、有効期間、凍結融解後の使用法を決定するに至った。以上よりマイルストーンは完全に達成されたと思われる。

(2) 最終製品の非臨床安全性試験

マイルストーン: 最終製品の非臨床安全性試験を完了する。(達成時期: 2023 年 3 月)

DFAT 調製キットを用いて製造した最終製品の非臨床安全性試験として予定していた核型解析試験および軟寒天コロニー形成試験を実施試験機関に委託し実施した。核型解析試験では検討したすべてのヒト DFAT 細胞に核型異常(構造異常ならびに異数性)がないことを確認した。軟寒天コロニー形成試験では、検討した一部のヒト DFAT 細胞に足場依存性増殖を疑わせるコロニー形成が認められた。コロニー形成が認められた理由として、試験に使用した増殖培地に含まれるヒト血小板血漿の沈殿物を足場にコロニー形成した可能性があることが判明したため、増殖培地を変更して再試験を行う予定である。このように一部再試験が必要となったが、予定していた試験はすべて実施したため、マイルストーンは達成したと思われる。

(3) 最終製品の非臨床有効性試験

マイルストーン: 最終製品の非臨床有効性試験を完了する。(達成時期: 2023 年 3 月)

最終製品の非臨床有効性試験として、免疫不全マウス下肢虚血モデルに対する筋肉内投与試験を予定していた。しかし、PMDA から指示された最終製品の品質および安全性に関するデータの不足を補うための追加試験を優先することとなり、本試験に使用予定であったヒト DFAT(最終製品)が不足したため、令和 5 年度中は本試験の実施に至らなかった。この問題を解決するため、健常ボランティアから追加で最終製品の製造を行い、本試験に必要な検体を確保し

〔6 当該年度の実施状況の概要（つづき）〕

た。信頼性基準を満たす実験プロトコルの作成、動物実験計画書の作成、および動物実験委員会での審査申請は完了しており、委員会で承認を受け次第、本試験を実施する予定である。

(4) PMDA 相談

マイルストーン：PMDA 相談に必要な書類を作成し事前面談を実施する。(達成時期:2023 年 3 月)

令和 5 年 3 月 28 日に本研究計画のマイルストーンである PMDA RS 戦略相談事前面談を実施し、対面助言に向けた要点整理を行った。令和 5 年度は、PMDA の助言に従い、計画・実施した非臨床安全性試験の実施状況をまとめるとともに、最終製品を用いた特性解析や安定性試験を追加実施した。そして令和 6 年 3 月 5 日に治験用 DFAT の「非臨床安全性試験の充足性」に関する PMDA 対面助言を実施し、機構の合意を取得した。また令和 6 年 3 月 28 日に治験用 DFAT の「品質」に関する PMDA 対面助言を実施し、最終製品の生物由来原料基準への適応状況、工程内管理試験・規格・試験方法の適切性、安定性試験、製造工程由来不純物及び副成分の安全性評価に関して機構の合意を取得した。以上より、本項目に関しては予定以上の進捗があったと考えられる。

②進捗上の問題点と今後の対策

特例措置による 1 年間の研究期間延長により、予定された研究計画はほぼ完了し、特に「PMDA 相談」では予定以上の進捗が認められた。完成した DFAT 調製キットを用いた医師主導試験の準備や DFAT 細胞治療の適応拡大を目指す学部横断的研究といった今後予定している研究に関しては、すでに採択が決定している令和 6 年度日本大学特別研究の研究資金を利用して実施していく予定である。令和 7 年度に開始を予定している医師主導試験は、多施設共同試験とすることを計画しており、その実施にあたり多額の研究資金が必要となる。このため、AMED 再生医療等実用化研究事業といった大型競争的研究資金へ申請し獲得を目指す。

課題番号	社 21-1202
------	-----------

【様式 5 社会実装研究】

7 学会発表等

当該年度における研究成果の発表状況（学会発表，成果物展示，プレス発表等）について記入してください。
要旨集の抜き刷り，発表原稿のコピー等及び発表したことがわかるものを添付してください。

発表者名	学会，発表会名等	発表テーマ	発表年月
<u>松本太郎</u>	BioJAPAN2023	重症下肢虚血に対する脱分化脂肪細胞を用いた自家細胞医薬品の開発	2023年 10月
御子柴郁夫， <u>風間智彦</u> ， <u>松本太郎</u> ，他	第44回日本炎症・再生医学会	ラット反回神経切除モデルに対する脱分化脂肪細胞(DFAT)声帯内移植の効果	2023年 7月
<u>松本太郎</u>	第9回日本先進医工学ブタ研究会	遺伝子改変ブタを用いたトランスレショナル・リサーチの実際	2023年 11月
<u>松本太郎</u>	第4回日本フットケア・足病医学会年次学術集会	脱分化脂肪細胞を用いた血管再生細胞治療の実用化	2023年 12月
宮下采子， <u>副島一孝</u> ， <u>風間智彦</u> ， <u>松本太郎</u>	第32回日本形成外科学会基礎学術集会	脱分化脂肪細胞(DFAT)含浸真空凍結乾燥人工真皮の作製	2023年 10月
<u>風間智彦</u> ， <u>松本太郎</u> ，他	第23回日本再生医療学会	特発性肺線維症に対する脱分化脂肪細胞静脈内投与による治療効果の検討	2024年3 月
野呂知加子， <u>松本太郎</u> ，他	第23回日本再生医療学会	細胞接着基質特性による脱分化脂肪細胞およびES細胞の増殖・分化の制御	2024年3 月

課題番号	社 21-1202
------	-----------

【様式 5 社会実装研究】

8 著書・雑誌論文

当該年度における研究成果の発表状況（著書，雑誌等）について記入してください。
著書，雑誌，抜き刷り等を添付してください。コピーの場合は掲載されたことが客観的にわかるものを添付してください。

著者・執筆者	著書名・雑誌名／論文名	巻・号	年月	出版社・発行所
Mimatsu H, <u>Kazama T,</u> <u>Matsumoto T,</u> et al.	Scientific Reports / Dedifferentiated fat cells administration ameliorates abnormal expression of fatty acids metabolism-related protein expressions and intestinal tissue damage in experimental necrotizing enterocolitis.	13 巻・1 号	2023 年 5 月	Springer Nature
Maekawa K, Ishizawa M, <u>Matsumoto T,</u> et al.	Biomolecules / Syntheses of 25-adamantyl-25-alkyl-2- methylidene-1 α ,25- dihydroxyvitamin D3 derivatives with structure- function studies of antagonistic and agonistic active vitamin D analogs.	13 巻・7 号	2023 年 7 月	MPDI
Chen L, Fukuda N, <u>Matsumoto T,</u> et al.	Journal of Pharmacological Sciences / Development of multifunctional pyrrole- imidazole polyamides that increase hepatocyte growth factor and suppress transforming growth factor- β 1.	154 巻・1 号	2024 年 1 月	Elsevier

9 本研究課題に関するその他の発表（新聞，一般雑誌掲載等）

- 松本太郎：日本大学 Web 研究発表会，脱分化脂肪細胞(DFAT)による細胞治療開発，(YouTube 配信 <https://www.youtube.com/watch?v=iNOVoTSw9Gc&t=19s>) 2024 年 3 月 7 日
- 松本太郎：研究発表「脱分化脂肪細胞(DFAT)を用いた血管再生医療」，第 1 回日本大学本部記者懇談会 2023 年 5 月 26 日

10 その他の成果

- 松本太郎：公開シンポジウム開催；AMED 再生医療実用化研究事業 日本大学医学部公開シンポジウム「包括的高度慢性下肢虚血(CLTI) あなたの足をどう守る？」，日本大学医学部，

課題番号	社 21-1202
------	-----------

【様式 5 社会実装研究】

2024 年 2 月 17 日

- 松本太郎: 令和 6 年度日本大学特別研究 採択 (2024~2025 年度 研究課題名: 脱分化脂肪細胞を用いた細胞治療の臨床試験と適応拡大に向けた学際的研究) 2024 年 1 月 29 日
- 松本太郎: 2023 年度研究開発型ベンチャー企業成長支援事業 (Kawasaki Deep Tech Accelerator) 採択 (事業名: DFAT 細胞医薬品開発事業) 2023 年 7 月 5 日
- 松本太郎: 日本大学医学部オープンキャンパス 模擬講義「日本大学発技術によるユニークな再生医療」 2023 年 8 月 5 日

1 1 本研究課題による知的財産権の出願・取得状況

名 称	知的財産の種類	発 明 者 (考案者・創作者)	権 利 者	出願・登録番号	出願年月日	取得年月日
創傷被覆材 及び創傷被 覆材の製造 方法	特許権	<u>副島一孝</u> , <u>松本太郎</u>	日本大学	特願 2023- 129592	2023 年 8 月 8 日	
インプラン ト手術時に おける骨再 生材料	特許権	秋田大輔 井上陣 <u>松本太郎</u> 加野浩一郎 <u>風間智彦</u> 萩原芳幸	日本大学	特願 2024- 55373	2024 年 3 月 29 日	

1 2 今後の計画

実用化までの今後の計画について、当初計画からの変更点をふまえて記載してください。

本研究課題の成果として、治験水準の品質、安全性を担保した臨床グレード DFAT を簡便で安定的に製造できる「DFAT 調製キット」を完成させることができた。今後、本研究の社会実装を加速するためには、本調製キットを用いて自施設のみならず、一般の細胞培養加工施設でも安定した性能を示す臨床グレード DFAT を製造できるようにする必要がある。これに関しては、細胞加工受託を行う CDMO 企業と秘密保持契約を締結し、本調製キットを使った臨床グレード DFAT の委託製造に向けた試験製造を開始している。現在、安全キャビネットを用いた DFAT の製造作業手順書、品質管理作業手順書が完成し、製造バリデーションを実施中である。そして令和 6 年度中にこの細胞培養加工施設を利用した変形性膝関節症を対象とした DFAT 細胞治療の臨床研究を開始する予定である。さらにより高品質な DFAT 製造を行うために、GCTP に対応可能な自動培養装置を開発する企業と共同研究契約を締結し、DFAT 製造工程の自動化システムの共同開発を開始した。また DFAT 細胞医薬品を社会実装するためには、細胞医薬品開発を共同で行う再生医療関連企業との連携や、多額の研究資金の確保が必要となるため、引き続き、再生医療関連企業やベンチャーキャピタルとのマッチングを行っていくと共に、DFAT 細胞医薬品開発を行う大学発ベンチャーの設立準備を進める。