

ALS に対するステム・セル・フリー・セラピー (Stem - Cell - Free - Therapy)

- 培養上清の実験的・臨床的研究 -

名古屋大学 名誉教授
上田実

【緒言】

筋萎縮性側索硬化症 (Amyotrophic Lateral Sclerosis : ALS) は主に中年以降に発症し、上位および下位運動ニューロンに選択的かつ系統的な障害を来す神経変性疾患である。経過は症例により異なるが、片側上肢の筋萎縮に始まり、反対側上肢、両下肢へ筋萎縮が進行し、その間に言語障害、嚥下困難などの球麻痺症状および呼吸筋麻痺が加わる経過をとる。人工呼吸器による呼吸管理を行わないと、発症後 2~5 年で呼吸不全のため死亡に至ることが多く、ALS は神経疾患の中で最も過酷な疾患とされる。

ALS は国の指定難病のひとつで 2018 年に特定医療費支給認定を受けた患者は 9805 人となっている。患者のおよそ 9 割は原因不明の「孤発性」、残りの 1 割弱が遺伝の関与が考えられる「家族性」に分類されている。病気は進行性でいったん発症すると止めることはできない。

国内で発症する人は 10 万人当たり 1~2.5 人と多くないが (1)、著名人が罹患を公表し亡くなる報道や 2014 年に米国ではじまり世界的な反響を呼んだ

「アイス・バケット・チャレンジ」(*) などを通じて、病気の治療の難しさが社会に認知されるようになった。

(*) 参加者が氷水を頭からかぶり、撮影した動画を公開していくもの。オバマ大統領やビルゲイツ氏 (マイクロソフト元社長) など有名人が参加し閲覧した人による寄付が集まった。2014 年から 2018 年までの 5 年間に、世界で 9000 万ドル、日本円でおよそ 100 億円の研究助成が実施された。

ALS の原因はいまだ不明な部分が多いが、発症に関連する要因がすこしずつ明らかになってきている。なかでも家族性 ALS からみつかった活性酸素の解毒に関連する SOD1 遺伝子の突然変異説、グルタミン酸過剰説は有力とされている (2)。

ただしこれらはいずれも有力な仮説にすぎず発病の真の原因やそのメカニズムは不明である。したがって ALS に対する有効な治療法はない。

こうしたなかわれわれはこの原因不明の神経変性疾患難病に対して、2021 年 1 月より乳歯幹細胞由来の培養上清 (Conditioned Medium) を用いて臨床研究を開始した (3)。

本稿では、過去に実施された、あるいは現在進行中の ALS に対する治療法をレビューするとともに、それらと対比することで培養上清治療の位置づけを明確にしたい。同時に培養上清治療を含む無幹細胞治療(ステム・セル・フリー・セラピー: Stem-Cell-Free-Therapy)の将来を展望する。

【ALS に対するこれまでの取り組み】

ALS に対する治療は、大別すると薬物療法と幹細胞治療があり 2000 年代後半から臨床研究が本格化した。

薬物療法では、現在、ALS の治療薬として認可されているのはリルテック® (グルタミン酸拮抗薬) 内服およびラジカット®注 (フリーラジカル消去薬) の点滴のみである(2)。これらは先に述べた、グルタミン酸仮説、活性酸素仮説に基づいて開発されたものであるが、いずれを用いても進行を止めることはできない。

同系列の仮説に基づいて研究開発が進められている薬剤として、国内では肝細胞増殖因子 (HGF) (治験中/東北大学) (2)、海外では遺伝性 ALS に対する tofersen (臨床治験終了/米バイオジェン/2021 年 10 月/有効性なし(4)、孤発性 ALS に対する AMX0035 (治験終了/米 Amylyx 社/2022 年 3 月/承認みおくり(5)がある。

一方、患者細胞をつかった iPS 細胞スクリーニング法で ALS に有効性を見出された薬剤としては抗がん剤・ボスニチブ(6) (治験中/京大)、ドパミン作動薬・ロピニロール(7) (治験終了/進行抑制確認/慶応大) の臨床治験がすすめられている。同様に炎症抑制効果をもつ「MN-166」(治験中/メデイシノバ社)、HIV 治療薬「OBP-601」(治験中/オリコス・バイオファーマ社) (8) がある。いずれもエンド・ポイントは ALS の治癒・改善ではなく、病気の進行を遅らせることに置かれている。

次に ALS に対する幹細胞治療について述べる。主な報告は以下の通りである。

造血幹細胞(臨床研究/有効性確認/ Deda, H. et al.: Cytotherapy, 2009) (9)

骨髄由来間葉系幹細胞 (NeuroNata-R) (治験終了/進行抑制確認/韓国で承認 2015) (10)

骨髄由来間葉系幹細胞 (治験中/札医大) (11)

脂肪由来間葉系幹細胞(1 例報告/ Shigematu, K. et al.: Eur. Rev. Pharmacol. 2021) (12)

ミューズ細胞(治験中/LSII 社、2021) (13)

神経栄養因子分泌間葉系幹細胞 (NurOwn) (臨床治験終了/BrainStrom 社/2021/有効性なし(14)

ALS に対する幹細胞治療では有効あるいは無効とする論文が混在し、評価が定まらない状態であったが、2020 年 Cochrane Library は ALS に対して行われた 151 件の幹細胞治療を

有効性、安全性、実現可能性などの観点から分析した。その結果「ALS の治療法として骨髄由来間葉系幹細胞の使用を支持しない」と結論付けた(15)。

(C・M,Gabriella/NeuroRrhabilitation,2020)。

このような状況下で幹細胞が分泌するさまざまな生理活性物質（セクレトーム：secretome）に注目が集まっている(16)。セクレトームとは幹細胞の分泌する生理活性をもつ分子の総称であるが、具体的にはサイトカイン、成長因子、ケモカイン、細胞外小胞（エクソソーム）などをさす。これらは幹細胞の培養液から細胞成分、代謝沈殿物をのぞいた培養上清中に存在する。

セクレトームのなかのどの成分が ALS に特効性を有するかまだ不明だが、BDNF,GDNF,IGF-1,VEGF,HGF、miRNA などいくつかの生理活性物質が有効成分として同定されている（16）。

培養上清中のなかにあるすべての生理活性物質が必要なのか、特定の物質単独でも ALS に効果があるのか、現時点では不明である。しかし共通する作用としては以下のものが考えられる。

- 1・神経保護作用
- 2・アポトーシスの抑制作用
- 3・グリア細胞からの神経栄養因子の分泌促進作用
- 4・酸化ストレスの中和作用
- 5・マクロファージの M2 極性転換作用（抗炎症物質の遊離）

培養上清中のセクレトームは上記の作用を惹起する成分をすべて包含していることから培養上清治療は無幹細胞治療（ステム・セル・フリー・セラピー：Stem - Cell - Free Therapy）の中心に位置すると考えられている。

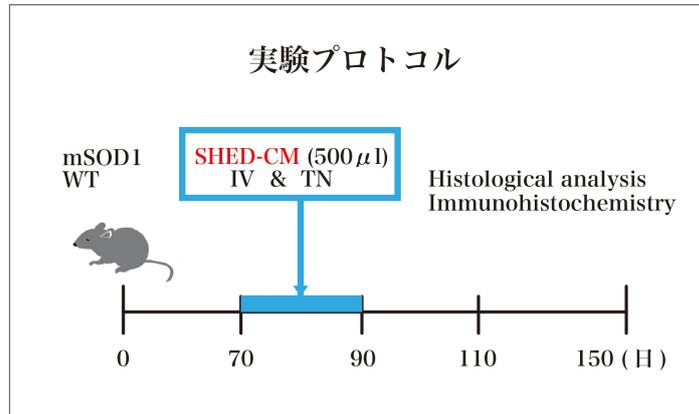
【ALS モデルマウスを用いた実験的研究～培養上清の治療効果】

われわれは ALS に対する培養上清の効果を検証するために以下のような動物実験をおこなった(17)。

「実験方法」

実験のプロトコルを図 1 に示す。

図 1



1) 材料と方法、

実験に用いた ALS モデルマウス(mSOD1、チャールズ・リバー社)は G93A 変異 OD1 遺伝子組み換えマウスであり、生後 70 日(P70)付近で発症し、P150 までに死亡する。

本実験では P50 から P150 を観察に用いた。実験ではつぎの 3 群を設けた。

対照群 1:WT(健常マウス) n=5

対照群 2:mSOD1(ALS マウス) n=5

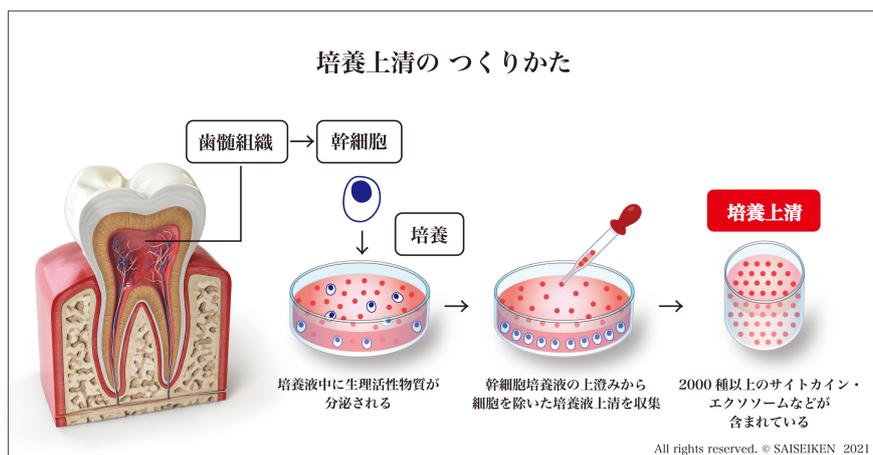
実験群:mSOD1 (ALS マウス) に SHEDCM を投与した群) n=5

実験群には P70(発症前)から P90(発症後)まで、ALS マウス(mSOD1)に、SHEDCM 原液を尾静脈から 1 日 0.5ml、20 日間連続投与した。

また対照群(WT および mSOD1)には同量の生理食塩水を投与した。

P150 まで生存状態を観察し P50,P70,P90,P110 に針筋電位検査で下肢の複合筋活動電位(CMAP: Compound Muscle Action Potential) を(18)に記載の方法で測定した。

図 2



2) 培養上清の調整 (図2)

培養上清は乳歯幹細胞由来培養上清 (SHEDCM : Stem Cells from Human Exfoliated Deciduous teeth derived Conditioned Medium) は下記の手順で調整した(19 - 21)。

歯髄の採取 :

脱落したヒトの乳歯から採取した歯髄組織から、SHED を付着性細胞として選別する。

自然に脱落した乳歯を、クロロヘキシジン液で消毒した後、歯冠部を分割し歯科用リーマーによって歯髄組織を回収する。

酵素処理 :

採取した歯髄組織を基本培地(10%ウシ血清・抗生物質含有ダルベッコ変法イーグル培地 (Dulbecc's Modified Eagles Medium、(以下「DMEM」と略す)に懸濁し、2mg/mlのコラナーゼ及びディスパーゼで3℃、1時間処理する。これを遠心分離(600ないし500×g、5分間)して、酵素処理後の歯髄組織、歯髄細胞を回収した。

細胞培養 :

上記のようにして回収した歯髄組織及び歯髄細胞を4ccの5%ないし15%のウシ血清および50ないし150コニット/mlの抗生物質を含有するDMEMあるいは間葉系幹細胞用培地に懸濁し、付着性細胞培養用ディッシュ、6ウェルへ播種する。

これを5%CO₂の雰囲気下、約37℃に調整したインキュベーターで培養する。サブコンフルエント (培養容器の表面の約70面積%を細胞が占める状態を示す) に達したときに細胞を0.05%トリプシン・EDTAにて、5分間、37℃で処理する。ディッシュから剥離した歯髄由来幹細胞を直径10cmの付着性細胞培養用ディッシュに播種し、拡大培養をつた。

継代培養を1ないし15回行い、必要な細胞数(約1×10⁷個/ml)まで増殖させる。以上の培養の後、細胞を回収して保存する。

細胞の回収 :

トリプシン処理で培養容器から細胞を剥離した後、遠心分離により細胞(付着性細胞)を採取して、SHEDを回収する。遠心分離の条件は700、5000×gである。

(5)乳歯髄由来幹細胞培養上清(SHEDCM)の調整:

上記の方法で得られた乳歯髄由来幹細胞 (SHED) を培養容器に入れ、基本培地に血清10%のFBS等の動物血清を加えたDMEMを加える。これを5%CO₂、37℃の条件下に、24ないし48時間培養する。その後、血清を含まないDMEMへ置換し、さらに24ないし72時間培養を行った後、培養上清を回収する。

回収した培養上清から乳歯髄由来幹細胞を完全に除去するため、回収した培養上清を、600、5000×gで7分間遠心分離処理を行うことにより、乳歯髄由来幹細胞を全く含まない(SHEDを

取り除いた)、処理済みの SHEDCM を得ることができる。

「実験結果」

複合筋活動電位(Compound Muscle Action Potential : CMAP)の測定結果を図 3 に示す。対照群 2 (生理食塩水を投与した ALS マウス)では複合筋活動電位は連続的に低下し 110 日目には 5mv 以下となった。一方、対照群 1 (健常マウス) と実験群(SHEDCM を投与した ALS マウス)の複合筋活動電位は 110 日目まで 10mv 以上を維持し、この両者に有意差は無かった。そして、対照群 2 と実験群のグループの間では、複合筋活動電位に有意差($P<0.01$, T 検定)が認められた。

マウスの複合活動電位の正常範囲は 10mv~20mv である(22)

複合筋活動電位は 3つの実験群とも 70 日目までは正常範囲を維持していたが、その後対照群 2 (mSOD1) は低下し 90 日目には正常範囲以下となり 110 日目には 5mv 以下となった。一方対照群 1 (WT) と実験群 (SHEDCM 投与群) は 110 日目まで正常範囲を維持した。

図 3

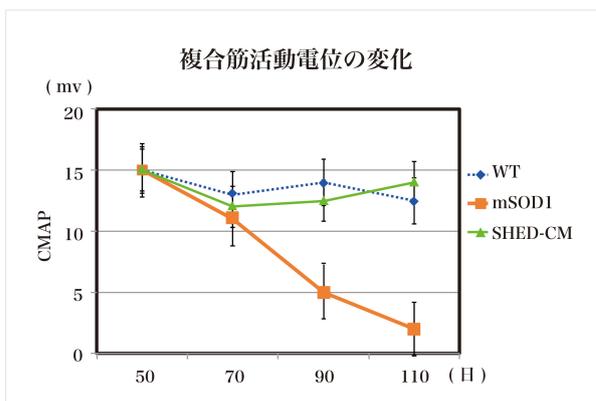
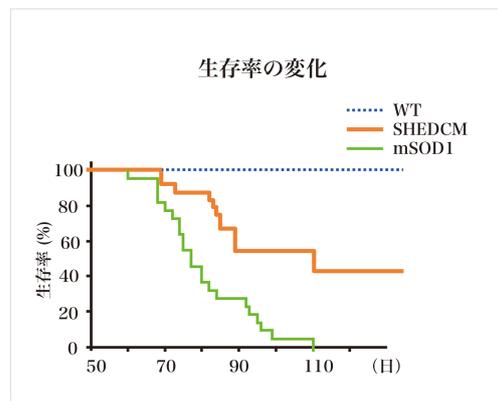


図 4



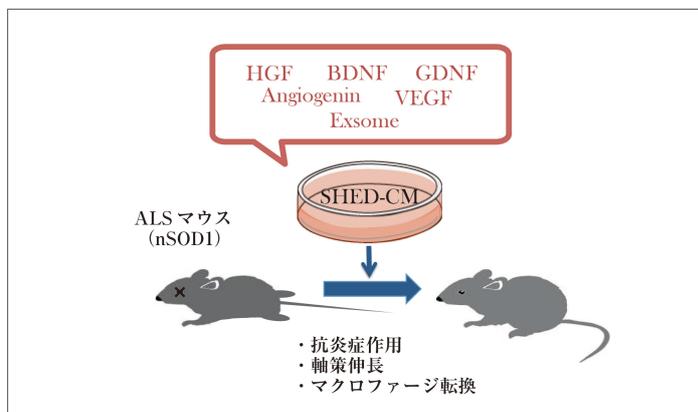
次に各群のマウスの生存率の推移を図 4 に示す。P70 では 3 群ともほぼ 100% 生存していたが、P110 での生存率は WT では 100%、対照群 2 では 0%、実験群では 50%であった。ALS マウスの延命効果は、培養上清(SHEDCM)投与群は非投与群を顕著に上回る延命効果が 1% 水準の有意差をもって認められた (T 検定)。

「考察」

Shimojima ら(20)は、EAE モデルマウスに乳歯幹細胞由来の培養上清を投与し、その治療効果を検討している。その結果、培養上清中の ED-Siglec-9 が脊髄の炎症を緩和するキーファクタ

一であることを証明した。一方、Bonafede(23)らは ALS モデルマウスから分離した神経幹細胞を用いて *in vitro* で脂肪幹細胞エクソソームの効果を検証した。その結果、エクソソームは神経幹細胞の酸化損傷から保護すると述べている。Ed-Siglec-9 およびエクソソームはともに培養上清中に存在し、他の生理活性物質との協同により、複合筋電位の維持と生存率の改善に繋がったと考えられる (図 5)。

図 5



【ALS に対する培養上清の臨床的研究 ① 重症・高齢症例に対する効果】

「症例」

患者(68 歳、男性)は 2020 年 6 月に ALS と診断された。その後、患者は ALS の専門病院に転院し、経過が観察されていたが症状の進行は止まらなかった。そこでこの患者が SHEDCM による治療を希望したため、2021 年 1 月、われわれに紹介された。患者には ALS の特徴的症状がみられた。とくに呼吸機能の低下(%肺活量・66・5%(2020 年 6 月)から 46.1%(同年 8 月))は深刻で、また四肢痙縮が著しく、病状が急速に悪化していることを確認した。

「処置および経過」

2021 年 1 月から同年 8 月の間、SHEDCM の点鼻投与(5 ml/週)を行った。この間、呼吸機能が低下し(室内気、Spo2<90%)、四肢痙縮が進行した。そこで、同年 9 月から SHEDCM の点滴投与(240ml/週)を開始した。SHEDCM の点滴治療開始後 1 週で、四肢と手指(とくに親指と小指)に痙縮の緩和および自動的な関節可動域の急速な拡大がみられ、その後も自動運動と呼吸機能の改善が続いている。

治療開始前(2021 年 1 月)と SHEDCM の点滴投与を 3 ヶ月行った後(20

21年12月)にこの患者の運動可動域を測定した。図6に運動可動域の測定方法を示す。また表1にこの患者の治療前とSHEDCMの3ヶ月投与後の運動可動域を示す。他動的可動域とは他人が手をそえて動かすことが可能な範囲を意味し、自動的可動域とは患者の意思で動かすことが可能な範囲(随意運動)を意味する。可動域の測定法は関節を軸として回転する四肢あるいは手指を角度として評価する。計測のため関節角度計(角度計(神中氏)松吉医科器械)を用いた。

表1の数字は角度を示す。列「前」の数字は治療前に上記の方法で計測した関節可動域、列「後」はSHEDCMを3ヶ月投与後の関節可動域を示す。

「肩の屈曲・伸展」の場合、垂線の位置を0度として前方向が正、後ろ方向が負の数字になる。当該患者の右腕は、治療前は前方向に30度の位置で強直していた。SHEDCMの3ヶ月投与後は手を添えれば50度の位置まで動くようになった。

腕の回外・回内については上腕が垂直になった位置(体側に平行)が0度、内方向に回転していれば負の数字で、外方向に曲がっていれば正の数字とする。治療前、患者の右腕は垂直の位置(0度)から内方向に35度回転した位置で強直していた(-35度)。SHEDCMの3ヶ月投与後は手を添えれば30度外方向に動かすことができた(-5度)。測定した全ての項目において、患者の可動域は、SHEDCMの3ヶ月投与後は治療前に比べ大きくなった。

また2022年1月においては患者の呼吸機能は室内で、SpO₂>97%となり、改善が認められた。なおこの患者は2022年3月現在もSHEDCMの点滴投与を継続しており運動可動域はさらに改善している。

以上よりSHEDCMの効果は明らかである。進行性の呼吸筋の萎縮や四肢の痙縮は運動神経ニューロンの炎症と変性によって生じるALSに特徴的な症状である。発症後は進行を遅らせることはできても、進行を停止・回復に成功した例は過去にはない。今回ようなALS重症の治療で、急速に悪化しつつある呼吸機能を改善し、四肢運動可動域の向上効果が持続していることは、SHEDCMの抗炎症および神経再生効果が高いことを示している。

図 6

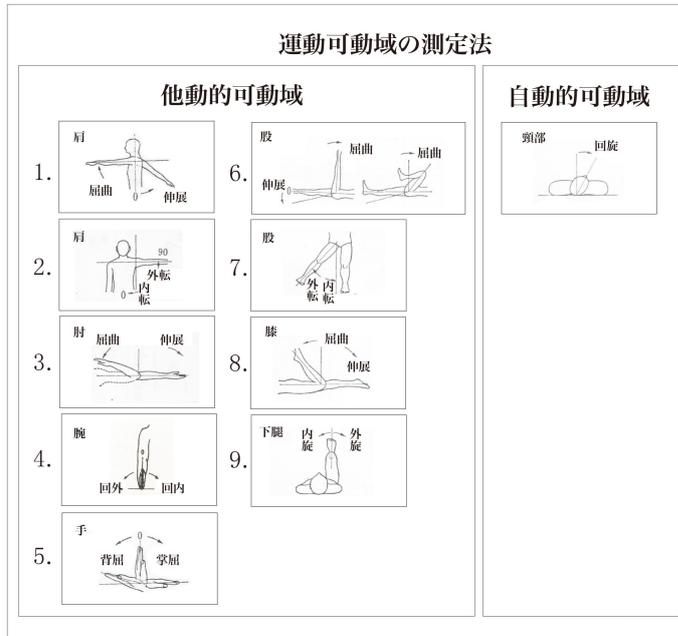


表 1

運動可動域の改善結果

他動的可動域

部位	前	後
1. 肩・屈曲・伸展 (右)	30	50
(左)	40	60
2. 肩・外転・内転 (右)	25	35
(左)	25	30
3. 肘・屈曲・伸展 (右)	50	90
(左)	40	70
4. 腕・回外・回内 (右)	-35	-5
(左)	-45	-5
5. 手・背屈・掌屈 (右)	0	10
(左)	-45	10
6. 股・屈曲・伸展 (右)	40	50
(左)	35	60
7. 股・外転・内転 (右)	10	25
(左)	15	25
8. 膝・屈曲・伸展 (右)	10	20
(左)	10	20
9. 下腿・内旋・外旋 (右)	70	80
(左)	70	85

自動的可動域

部位	前	後
頸部回旋 (右)	0	30

【ALS に対する培養上清の臨床的研究 ② 軽中等症例に対する効果】

「症例」

対象症例：5、年齢：42歳～81歳、性別：男性4名、女性1名、

重症度：2～4、ALSRS-R スコア：17～43、

「治療」

培養上清投与回数（期間）：8～12回（2～3か月）

「結果」

ALS 症状の変化は ALSFRS-R スコアをもとに評価した。

その結果、改善：1例、不変：2例、悪化：2例であった。

なお有害事象による点滴投与の中止はなかった（表2）。

表2

症例	年齢	性別	重症度
1	42	男	3
2	48	男	3
3	65	男	2
4	81	男	4
5	46	女	3

症例	ALSRS-R		投与回数(回)	ALS 勾配
	治療前	治療後	期間(月)	
1	22	15	12 / 3	-2.3 点 / 月
2	36	36	9 / 3	0
3	43	40	12 / 2.5	-1.2 点 / 月
4	32	32	12 / 2.5	0
5	17	24	8 / 2	+3.5 点 / 月

本臨床研究①②の結果より、培養上清（SHEDCM）の静脈内投与が安全に行えることが確認された。また短い観察期間（約3か月）であったが、中等症1例で症状の著明な改善がみられ、

2例で疾患の進行が停止した。最も重要なことは、全症例で、治療終了後でも患者が生活の質の改善を自覚していたことである。今回の結果はALSに対するSHEDCMによる培養上清治療が有効であることを強く示唆している。

【考察】

1. 薬物療法・幹細胞治療とステム・セル・フリー・セラピー

過去のALSに対するこれまでの薬物療法は、病気の進行スピードを抑制するにとどまり、症状進行の停止や改善につながる結果はえられていない。

幹細胞治療においても、同様でほとんどの試験の結果は満足すべきものではない。しかし血栓や癌化のリスクを考慮するならば幹細胞を無制限に増量するわけにはいかない。

一方、幹細胞を含まない培養上清などを用いたステム・セル・フリー・セラピーでは、癌化、血栓のリスクは免れ投与量を増やすことが可能になる。事実われわれわれの行った臨床研究においても、培養上清の1回投与量が240mlをこえても有害事象はみられず、症状の改善や進行の停止という前例のない治療効果がえられた。

2. ステム・セル・フリー・セラピーの未来

ステム・セル・フリー・セラピーでは培養上清をそのまま使用する方法と、培養上清からエクソソームや特定のサイトカインを抽出し、それらを純品薬剤として投与する戦略が検討されている(16)。Shimojimaら(20)は培養上清中に存在するED-Siglec-9のみで培養上清原液と同等の抗炎症・神経保護効果があることをみいだした。またBonafedeら(23)らのグループはエクソソームのみでも強力な抗酸化作用があると報告している。ただし、こうしたキー・ファクターのみの大量投与戦略は合理的だが、副作用のリスクが高まる危険性が排除できない。

過去に試みられた同様の戦略として、骨形成タンパクがある(24)。この物質はBMP

(Bone-Morphogenic-Protein)とよばれ1965年Uristによって骨基質中から発見され、その後、スーパー・ファミリーとして20のサブタイプの遺伝子解析に成功した。それらのうちBMP-2の活性が最も高いことが判明し、遺伝子操作技術をもとに大量生産され、2002年には「Amplify」という商品名で医療現場に投入された。骨移植のかわりに薬剤のみで骨再生ができると臨床医は歓迎したが、「Amplify」には「ミリグラム」単位のBMP-2が含まれていた。血中のBMP-2の量は「ナノグラム」単位である。つまり臨床で期待される結果を出すためには、生理量の100万倍のBMP-2の投与が必要であることを意味する。ほどなくBMP-2の大量投与を受けた患者に平均の4~5倍のがんリスクがあるとの統計が公表され(25)、BMP-2は臨床現場から消えた。

ステム・セル・フリー・セラピーの実現には、培養上清のように未精製のまま使用するか、

キーファクターのみを使用するかを選択、その投与方法、キーファクターの有効濃度と副作用という難題が残されており、実践までには慎重かつ重厚な臨床研究が望まれる。

3. ステム・セル・フリー・セラピーの費用対効果

幹細胞治療が広く普及しなかった理由のひとつに費用対効果の問題があったといわれる。つまり費用のわりに期待した結果がえられないという指摘である。これはステム・セル・フリー・セラピーにおいても同じである。幹細胞ほどではないにしても培養上清の製造にも費用がかかる。さらに特定のサイトカインやエクソソームを分離するには大量の培養上清を必要とし、しかもそれらの抽出（超遠心法）には時間と費用がかかる。こうした高額医療が社会に受け入れられるのは、進行性で他に治療法のない希少疾患で、その治療を行えば確実に効果がある場合に限られる。そうでなければ医療として成立しない。ALSはまさにその条件に当てはまる。

ALSの治療法の開発をすすめるにあたっては、費用対効果の問題は免除されるだろう。治療にかかる費用を度外視してでも有効な治療法の開発を進めなくてはならない。

現在世界中でステム・セル・フリー・セラピーの治験が計画され、そのなかにはALSも含まれている。これら治験に求められることは素人でもはっきりわかる治療効果を示すことだ。ALS患者の望みは「進行スピードを抑える」ということではなく「進行を停止させ改善することであることを忘れてはならない。

その一方で、コストダウンのための新しい技術開発もすすめるべきだ。Deng(30)らは超音波刺激によってヒト星状細胞からのエクソソーム放出量が約5倍に増加することを示した。同様にUedaらは乳歯歯髄幹細胞に対する超音波刺激によって、幹細胞培養上清中のMCP-1, Siglec-9, HGFなどのサイトカイン量が増加することを明らかにした (to be published)。

費用対効果の問題は新規治療法の開発においては避けて通れない。しかしALSはその例外といえるだろう。

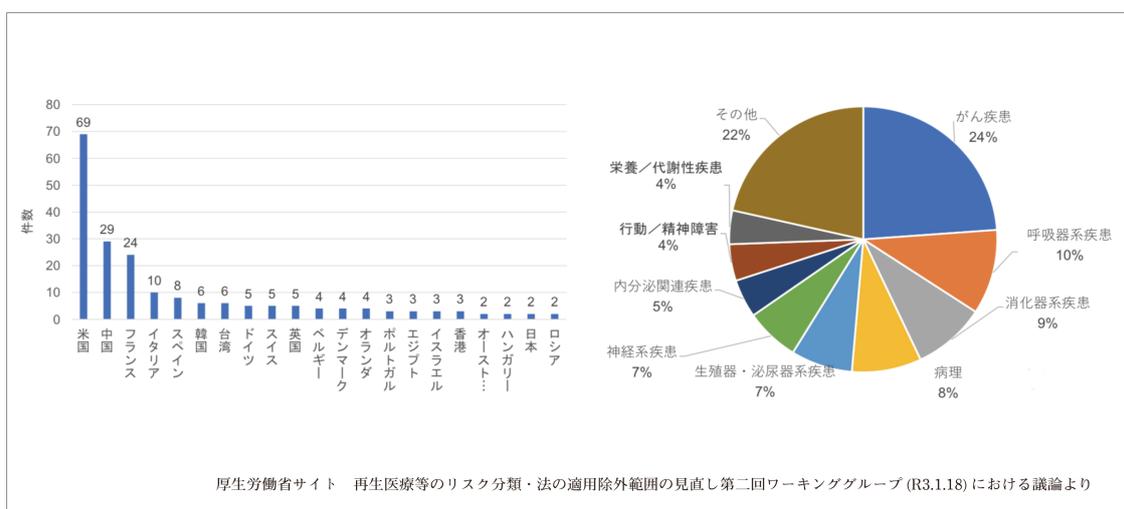
補償：ステム・セル・フリー・セラピーに対する政府・学会見解

はじめにステム・セル・フリー・セラピーの世界の動向を紹介する。エクソソームの単体使用による臨床治験は世界の 33 か国で 204 件行われている（図 7）アメリカが最も多く 33%（ほとんどが間葉系幹細胞由来のエクソソーム）、中国 14%、フランス 11%とつづく。日本は 2 件と大きく水をあけられている（31）。医師主導治験が 322 件と最も多く、企業治験は 53 件である。一方、培養上清の臨床治験は計画段階にとどまっている。

対象疾患別のカテゴリー（図 8）ではがん分野 24%と最も多く、呼吸器、消化器と続き、神経系は 7%とすくない。エクソソームを使った ALS 治療の取り組みは始まったばかりである。

エクソソームの治験数（図 7）

エクソソームの治験状況（図 8）



つぎに厚労省「エクソソームを含む細胞外小胞（EV）を利用した治療製剤に関する専門部会」（2021/8/4）における議論をみると以下のような問題提起がされている。

- ① EV 治療薬の開発には以下の問題点（リスク）をクリアする必要がある。
 - 1) EV 画分ではウイルスが濃縮される可能性がある
 - 2) 治療用 EV を介した感染伝播の可能性がある
 - 3) EV 以外のオフターゲット効果をどう考えるか
 - 4) EV 品質のばらつきをどうするか
 - 5) EV には種差があり、非臨床試験の結果がヒトに使えないかもしれない。
 - 6) 治療効果が EV だけで 100%なりたつのか。EV 中の miRNA が主役だとしても miRNA は培養上清中にもある、[論旨は 3)と同じ]。
- ② 自由診療でおこなわれているエクソソーム治療には懸念がある。米ネブラスカの 5 例の EV

治療で敗血症がおきた（筆者推測：培養上清治療）。

- ③ 不死化細胞からつくったエクソソームは危険。不死化に使ったがん遺伝子がエクソソームに混じって、それが正常細胞にとりこまれがんかするのではないか。
- ④ 世界はセル・フリー・セラピーに向かっている。

つぎに日本再生医療学会が 2021 年 3 月にまとめた「エクソソーム等の調整・治療に関する考え方」は以下の通りである。

- ① エクソソームと培養上清はともにステム・セル・フリー・セラピーに該当するが両者を明瞭に区別することができない。したがって本学会は「エクソソーム等」とする。

培養上清からエクソソームのみを抽出することは技術的に困難。エクソソームには細胞外小胞やサイトカインが含まれている。

- ② エクソソーム等の品質、有効性、安全性確保のためには、再生医療等製品並みの品質管理・製造管理を実施すべき
- ③ 有効性と安全性が実証されていないエクソソーム等を用いた特定疾患の治療はヘルシンキ宣言の下に医療従事者の高度な倫理観にもとづき実施されるべきである。
- ④ エクソソーム等は「細胞加工品」ではなく「細胞の断片」である。

引用文献

- (1) Longinetti, E & Fang, F. : Epidemiology of amyotrophic lateral sclerosis; an update of recent literature. *Curr. Opin. Neurol.* 32, 771-776 (2019)
- (2) 青木正志、筋萎縮性側索硬化症の治療開発の現状.
日本内科学会雑誌 105 巻 10 号、2055 - 2062 (2016)
- (3) Ueda,M. et al.: The first in human case of Amyotrophic Lateral Sclerosis Treated with Stem Cell-Derived Conditioned Medium: A 1-Year-Follow Up.
Neurology and Neurorehabilitation 4:011- 015, (2022)
- (4) 米バイオジェン社 プレス・リリース、SOD1-ALS を対象とする tofersen の第 III 相臨床試験およびオープンラベル延長試験のトップライン結果 2021.10.20
- (5) 米 Amylyx 社 プレス・リリース、ALS 治療薬候補 AMX0035 が FDA 諮問委員会の承認勧告を得られず：日経バイオテク 2022. 4.7
- (6) 筋萎縮性側索硬化症 (ALS) 患者を対象とした治験開始について | ニュース・イベント | CiRA | 京都大学 iPS 細胞研究所
- (7) 神経難病における iPS 細胞創薬に基づいた医師主導治験を完了 -筋萎縮性側索硬化症 (ALS) 治療の世界に新たな扉を開く,
慶應義塾大学医学部生理学教室 プレス・リリース 2021・5・20
<https://www.keio.ac.jp/ja/press-releases/files/2021/5/20/210520-2.pdf>
- (8) 星義孝、筋萎縮性硬化症 (ALS) | Beyond Health | ビヨンドヘルス 2020・8・6
- (9) Deda,H. et al : Treatment of amyotrophic lateral sclerosis patients by autologous bone marrow-derived hematopoietic stem cell transplantation: a 1-year follow-up, *Cytotherapy*, 11:18-25 (2009)
- (10) biopharma dealmakers First licensed stem cell therapy for ALS

- (11) 臨床研究ポータル・サイト 臨床研究実施計画番号 JRCT20131910
札医大
- (12) Shigematu, K.et al.: Long-term survival of a patient with amyotrophic lateral sclerosis (ALS) who received autologous adipose-derived mesenchymal stem cells. *Eur. Rev. Med. Phamacol. Sci.* 25:4086-4090,2021
- (13) LSII 社 プレス・リリース 細胞製剤で ALS の臨床試験開始、LSII 社
日本経済新聞 2021・1・28
- (14) Berry, J. D. et al, NurOwn , phase 2, randomized, clinical trial in patients with ALS : safety. clinical. and biomarker results. *Neurology* 93, 2294-2305 (2019)
- (15) Ceravolo,Maria,Gabriella et al:
Is cell-based therapy more efficacious for people with amyotrophic lateral sclerosis/motor neuron disease than placebo or no treatment? - A Cochrane review summary with commentary, *NeuroRehabilitation*, 46,4: 613-615 (2020)
(<https://content.iospress.com:443/ajournals/neurorehabilitation>) ,
- (16) Trzyana, A. et al. : Adipose-Derived Stem Cells Secretome and Its Potential Application in “ Stem Cell-Free Therapy ,*Biomolecules* 11:878-906 (2021)
- (17) Ueda,M. et al: Experimental and Clinical Study of “ Stem Cells Free Therapy. ;
Conditioned Medium Therapy for ALS.(to be published)
- (18) Pollari,E. et al:In Vivo electrophysiological measurement of compound muscle action potential from the forelimbs in models of motor neuron degeneration.
Neuroscience,15:2018 doi:10.3791/57741
- (19) Matsubara,K. et al.: Secreted ectodomain of sialic – binding Ig-like lection-9 and monocyte chemoattractant protein-1 promote recovery after rat spinal cord injury by altering macrophage polariyty.
J.Neurosci, 35:2452-2464 (2015)

- (20) Shimojima, C. et al.: Conditioned medium from the stem cells of human exfoliated deciduous teeth ameliorates experimental autoimmune encephalomyelitis, *J. Immunol.* 196 :1-8 (2016)
- (21).Mita,T.,et al.“Conditioned medium from the stem cells of human dental pulp improves cognitive function in a mouse model of Alzheimer's disease. *Behave. Brain. Res.* 293 :189-197 (2015)
- (22) Osuchowski,M. et al.: Noninvasive model of sciatic nerve conduction in healthy and septic mice: Reliability and normative data. *Muscle & Nerve* , 40(4):610-616 (2009) doi;10.1002/mus.21284
- (23) Benafedea,R. et al : Exosome derived from murine adipose-derived stromal cells: Neuroprotective effect on in vitro model of amyotrophic lateral sclerosis. DOI:10.1016/j.yexcr.2015.12.009
- (24) Urist, M.R. et al.: Bone: Formation by autoinduction, *Science* 150:893-899(1965)
- (25) Wu,G. et al : High Levels of BMP-2 promote Liver Cancer Growth via the Activation Myeloid-Derived Suppressor Cells doi.org//10.2389/ Front.oncol. 2018/11/5 froc.2020.00194
- (26) Deng,H. et al: Ultrasound-mediated augmented exosome release from astrocytes alleviates amyloid- β -induced neurotoxicity DOI:10.7150/thno.52436
- (27) 肝硬変に対するエクソソームを用いた新たな治験の可能性—肝硬変への新たな再生医療を目指して 国立研究開発法人日本医療研究開発機構
プレス・リリース