

世界初の犬を対象とした動物用再生医療等製品 「ステムキュア[®]」について

住友ファーマアニマルヘルス株式会社
池田動物細胞医薬センター
上田忠佳

1. ステムキュア[®]の概要

ステムキュア[®]（以下、本製品）は、2021年3月に「医薬品、医療機器等の品質、有効性及び安全性の確保等に関する法律（以下、薬機法）」第23条の26（条件及び期限付承認）に基づき製造販売承認を得た世界初の犬（同種）脂肪組織由来間葉系幹細胞を主成分とする動物用再生医療等製品です。なお、本製品の性能、効能又は効果や用法及び用量は、以下の通りです。

<承認条件>

- (1) 犬の椎間板ヘルニアの診断・治療に対して十分な知識・経験を持つ獣医師の下で、本製品の使用が適切と判断される患畜に対して、バイタルサインの確認、臨床検査によるモニタリング等の適切な対応がなされる体制下で本製品を使用すること。
- (2) 条件及び期限付承認後に改めて行う本製品の製造販売承認申請までの期間中は、有効性及び安全性の評価に十分な数の症例について、製造販売後臨床試験を行うこと。

<期限>

7年

<性能、効能又は効果>

犬胸腰部椎間板ヘルニアに伴う臨床徴候の改善

<用法及び用量>

体重1kg当たり犬間葉系幹細胞として1回0.5～1×10⁶個を日本薬局方ブドウ糖注射液5%で希釈して輸液量を30mLに調整し、ろ過網を有する赤血球用輸血セットを用い0.5mL/分を目安に緩徐に全量を点滴静注する。

通常、1週間に1回、投与間隔は5日以上とし、3週間投与する。



図1 ステムキュア[®] 製品写真

2. 開発の経緯

重度の胸腰部椎間板ヘルニアは、後肢の麻痺による歩行困難や自力排泄の不能により、罹患した犬はもとより、飼い主のQOL（Quality of Life；生活の質）も著しく低下させます。従来の治療法には、外科的処置や保存療法がありますが、十分に回復しない難治性の症例も一定数存在し、新たな治療方法の開発が望まれていました。一方、臨床研究として獣医師自身が間葉系幹細胞（Mesenchymal Stem Cell；以下、MSC）を培養して椎間板ヘルニアに罹患した犬に投与する治療が行われ、一定の効果が報告されてきましたが、特別な培養設備や高度な培養技術を要するため普及は限定的でした。

これらの背景の下、弊社は高品質な細胞製剤を安定的に供給することで胸腰部椎間板ヘルニアの治療に広く貢献することを目的に、2013年より本製品の研究を開始しました。しかし、開発の当初には、動物用再生医療等製品の開発に関するガイドラインは存在せず、開発の方向性に明確な道筋はありませんでした。そこで、農林水産省動物医薬品検査所の「承認申請前チーム相談」制度を利用し、動物用ワクチン-バイオ医薬品研究会及び一般社団法人動物再生医療推進協議会（CARM）が受託した農林水産省補助事業「動物用再生医療等製品の安全性試験等開発事業」で実施された「動物細胞加工製品（同種由来・自己由来）の品質及び安全性確保に関する指針（案）及び解説書（案）」の作成と

試験法の実証試験に会員として参加するなど、指針に沿った製品の安全性や品質管理の実現に取り組むとともに、MSCを含有する細胞製剤の製造技術を確認しました。そして、全国の動物病院への送達や安全で確実な投与方法などの高い安全性と有効性を確保するしくみを総合的に整備することで、世界初の犬（同種）脂肪組織由来MSCを主成分とする本製品の発売に至りました。

3. 開発の概要

1) 適応症の選択及び用法用量の検討

本製品の開発を開始した当時、骨関節炎、椎間板変性、慢性腎疾患、ドライアイ及び脊髄損傷など幅広い疾患に対するMSC治療の症例報告が発表されていました（図2）。弊社は、国内のMSC治療の状況などを考慮して、犬椎間板ヘルニアを治療対象に選択しました。投与経路は、血管内、関節内、脊髄内などがありましたが（図3）、最も簡便な投与方法として静脈内投与を選択しました。また、治療には、同種及び自己のMSCが用いられていましたが、弊社は動物用再生医療等製品の安定供給の観点から、同種MSCを選択しました。投与する細胞数は、公表論文によって幅が見られたものの、 1×10^6 細胞/kg体重の用量（体重10kgの犬1頭当たり 1×10^7 細胞に相当）の投与で効果が期待できると考えました。

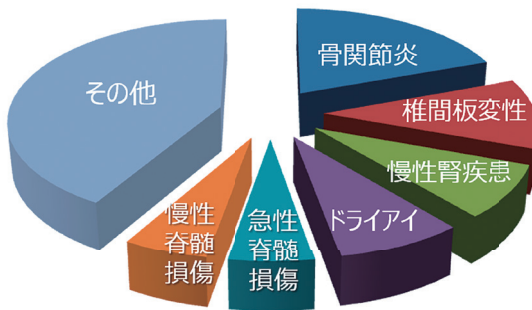


図2 開発当時のMSC治療の症例報告

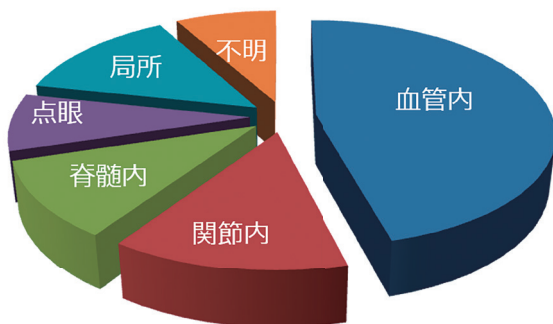


図3 開発当時のMSC投与経路

2) 臨床現場でのMSC治療の実際と課題、目指す製品像

本製品の開発を開始した当時の国内の犬及び猫に対するMSC治療は、獣医師の責任の下で、動物診療施設内で市販培養キットなどを用いてMSCを培養し投与されていました。現在も多くはMSC治療は同様の方法で行われています。この治療法による成果は評価されるものですが、下記の点が課題として挙げられていました。

- ① 動物診療施設で分離・培養されているMSCの品質管理に対して、施設間での差異が生じ、十分に管理がされていないケースが少なくない。
- ② 特別な設備や熟練した技術の下で培養する必要があり、技術の差異が避けられない。
- ③ 培養に2~3週間が必要なため、治療に必要な時にリアルタイムで使用できない。

これらの課題を解決することが、動物のMSC治療で要求される製品像となりますので、以下の項目を満たす製品の開発を「目指すべき製品像」として定義しました。

- ① 安全かつ高品質な製品を安定供給する
- ② 特別な培養設備や高度な培養技術を必要とせず、施設要件を満たした一般の動物診療施設で取り扱えるもの
- ③ 凍結保管可能かつ簡便な用時調製によりタイムリーに使用できるもの

3) 目指すべき製品の開発

上記の定義より、弊社の製品の目標は、犬（同種）脂肪組織由来MSCで構成、超低温凍結保管、Ready-to-use及び簡便に投与可能な点滴静注剤と決めました。その製品の創出にはプラットフォームの構築（図4）が必須であり、その中でも適正なドナーの確保、GMP（Good Manufacturing Practice）に適合した製品製造、動物診療施設への輸送、同施設での簡便な投与の確立が課題であり、個々の課題に対する解決策の検討を重ねました。

4) 動物用再生医療等製品の申請に必要な添付資料

動物用再生医療等製品の製造販売承認申請に必要な添付資料としては、表1の8項目の資料を整備することが動物用医薬品等取締規則に示されています。

ただし、本開発の推進にあたって、該当するガイドラインがなく、表2に示す製品の製造・保管・輸送に関するハードやソフトの整備や製造販売承認申請に必要な試験の具体的内容の計画と実施が課題でした。

それぞれの試験に対して、社外の公的機関の見識、知見やノウハウの活用、臨床使用に即した製品開発の推進を意

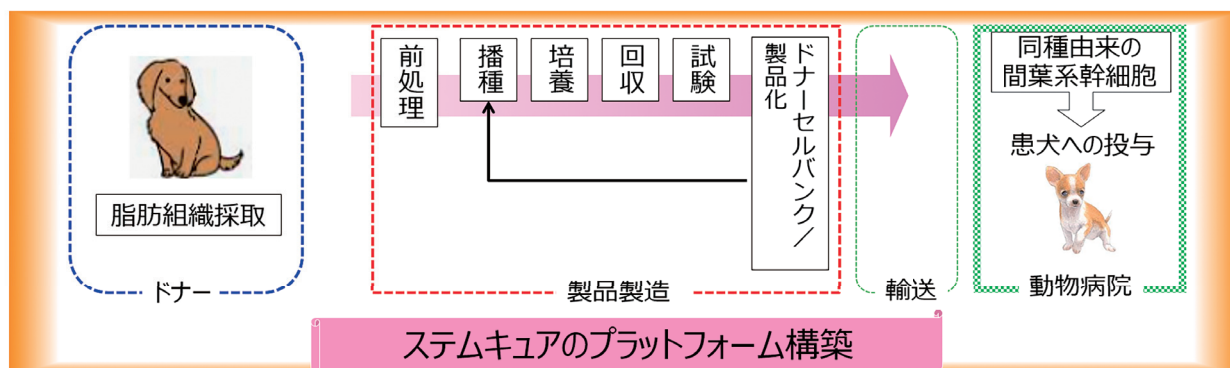


図4 製品創出のために構築すべきプラットフォーム

表1 動物用再生医療等製品の製造販売承認申請に必要とされる添付資料

1	起源又は発見の経緯、外国での使用状況等に関する資料
2	物理的・化学的・生物学的資料、規格、試験方法に関する資料
3	製造方法に関する資料
4	安定性に関する資料
5	毒性に関する資料（対象動物安全性試験を含む）
6	効能、効果又は性能に関する資料
7	体内動態に関する資料
8	臨床試験の試験成績に関する資料

表2 製品の製造・保管・輸送に関する整備事項及び製造販売承認申請に必要な試験

製品の製造・保管・輸送	・GMPに準拠した製造のための設備の整備
	・製品の品質管理（規格、試験方法）
	・製品の保管
	・製品の動物診療施設への輸送
製造販売承認申請に必要な試験の内容	・適正な製品コストの設定
	・物理的・化学的・生物的性質に関する試験
	・安定性試験（保管、輸送、調製後）
	・犬での安全性試験
	・効果、効能又は性質に関する試験
	・体内動態に関する試験
	・臨床試験

図した、現実性を見据えた協議を継続的に実施し、特に、製品の有効性と安全性の要となる品質試験に対しては、「動物細胞加工製品の品質及び安全性確保に関する指針（案）」に示された項目を参考としました（表3）。この中で（2）確認試験は、「動物間葉系幹細胞のCD90及びCD105抗原特異的モノクローナル抗体を用いた再生医療等製品の品質試験法の確立」、（8）ウイルス等の試験は、「再生医療等製品の安全性評価における病原体の網羅的迅速遺伝子解析法の確立」を各々テーマとした産官学の連携によって得られた検証試験の成果を活用しました。また、人と比べて動物用の研究材料（抗体や遺伝子プライマー、ELISAキット等）が少なく、在庫の不安定なものも多いため、試験方法と材

表3 動物細胞加工製品の品質及び安全性確保に関する指針（案）

番号	項目
(1)	細胞数並びに生存率
(2)	確認試験
(3)	細胞の純度試験
(4)	細胞由来の目的外生理活性物質に関する試験
(5)	製造工程由来不純物試験
(6)	無菌試験及びマイコプラズマ否定試験
(7)	エンドトキシン試験
(8)	ウイルス等の試験
(9)	効能試験
(10)	力価試験
(11)	力学的適合性試験

料の選定にも多くの課題があるのが現状です。したがって、これら研究材料のサプライヤーマネジメントも強化しています。

低分子化合物を主薬とする一般的な医薬品製造と比較して、再生医療等製品の製造ロット単位は小さく、さらに再生医療等製品の特性に対応した品質試験の実施等が求められます(表3)。この品質管理に対する根本的な考え方は薬機法で規制されるものであり、人用の製品であっても動物用であっても、原則は変わりません。一方で、人では1,000

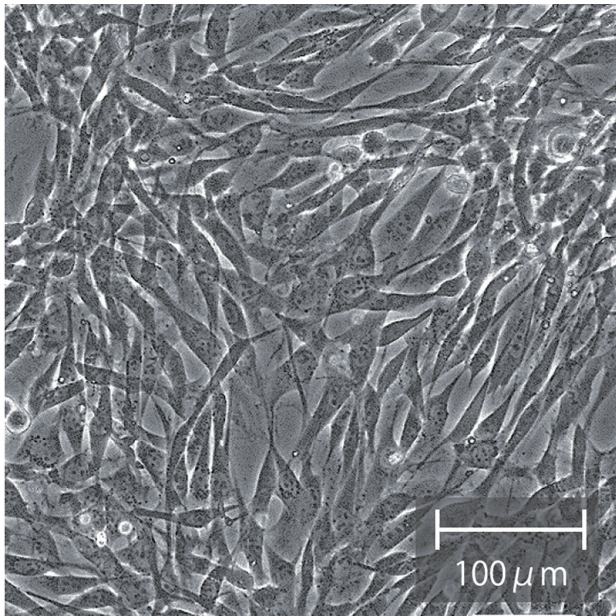


図5 構成細胞
紡錘形の線維芽細胞様の形態

万円を超える治療費で供与されるような再生医療等製品の上市が許容されているのに対して、通常の動物診療施設の現場では、そのような高価格帯の製品の使用は非現実的です。すなわち、実用化のためには、高品質が担保される製品を適正かつ現実的なコストで提供することが必要不可欠です。このことが動物用再生医療等製品の開発において、乗り越えなければならない課題であると考えています。

4. 構成細胞の特性

本製品の構成細胞は、紡錘形の線維芽細胞様の形態を示し(図5)、細胞の三分化能の証明として、軟骨、脂肪及び骨への分化を確認しました(図6)。

培養上清中の成長因子を分析した結果、Vascular Endothelial Growth Factor-A(血管内皮増殖因子;以下、VEGF-A)及びTransforming Growth Factor-β1(トランスフォーミング成長因子;以下、TGF-β1)の分泌が認められました。さらに、Interferon-γ(以下、IFN-γ)刺激によるProstaglandin E2(以下、PGE2)分泌及びIndoleamine 2,3-dioxygenase-1(以下、IDO1)遺伝子発現の増強も認められました(図7~図9)。また、前にも述べた「動物間葉系幹細胞のCD90及びCD105抗原特異的モノクローナル抗体を用いた再生医療等製品の品質試験法の確立」の成果と文献情報に基づき選択した各細胞表面マーカー陽性率は、いずれも90%以上を示しました(図10)。

これらの結果より、本製品の構成細胞は、MSCとしての特徴を有していることが確認されました。

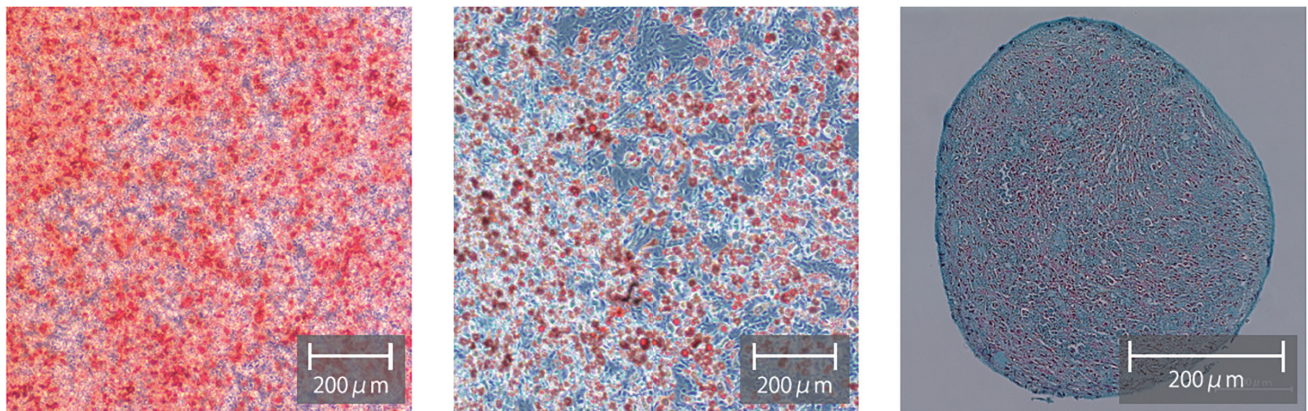


図6 細胞の三分化能の証明
左：骨芽細胞（アリザリンレッドS染色により細胞に付着したカルシウムを赤く染色）
中央：脂肪細胞（オイルレッドO染色により細胞の脂肪滴を赤く染色）
右：軟骨細胞（アルシアンブルー染色により細胞が産生した酸性ムコ多糖類を青く染色）

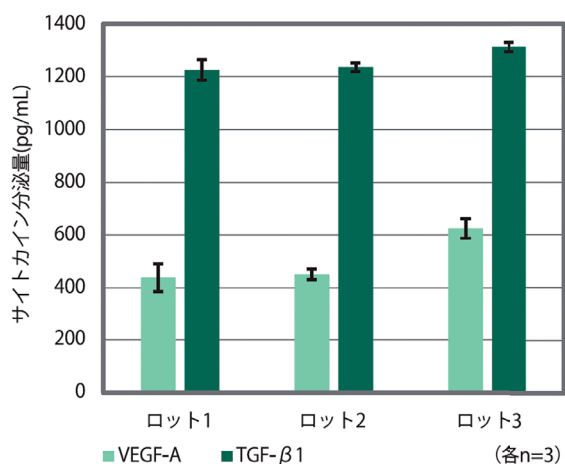


図7 培養上清中の VEGF-A 及び TGF-β1 量

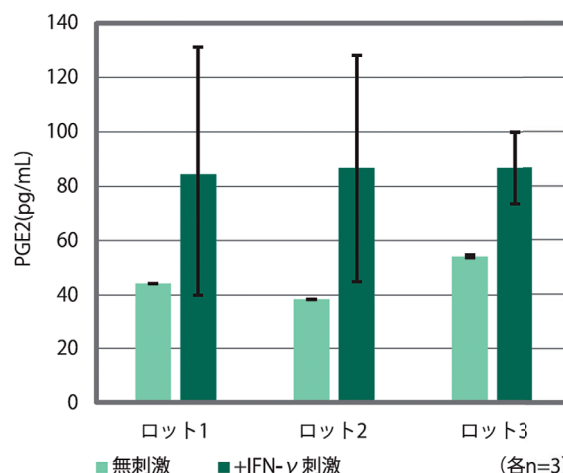


図8 IFN-γ 添加と非添加による PGE2 分泌量

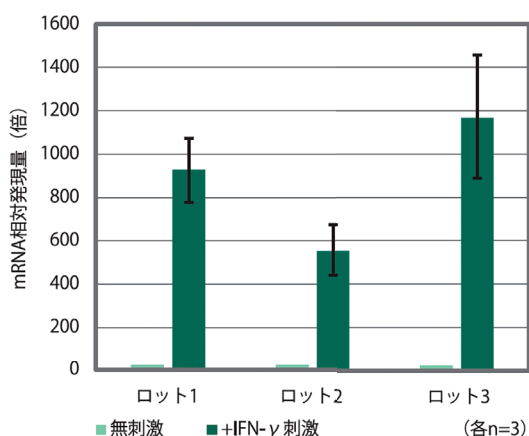


図9 IFN-γ の添加と非添加による IDO1 遺伝子の相対発現量

5. 薬効薬理

一般的に、静脈内投与された MSC は、一旦、肺にそのほとんどがトラップされ、その後、徐々に炎症部位に移行し(図11)、MSC が局所環境の刺激で活性化されて産生する上記の液性因子 VEGF-A、TGF-β1、PGE2、IDO1 などのパラクライン効果により、免疫を調整し、微小循環障害

を改善します(図12)。その結果、疾患動物が本来有する自然治癒力が活性化し、身体機能が回復すると報告されています。本製品も同様の機序により、犬胸腰部椎間板ヘルニアに伴う臨床徴候が改善されるものと考えています。

再生医療と聞くと、ES 細胞や iPS 細胞に代表されるような目的細胞への分化を想像されることが多いと思いますが、本製品には、そのような効果は期待していません。

6. 安全性

常用量(体重1kgあたり 1×10^6 個)、常用量の5倍(体重1kgあたり 5×10^6 個)及び対照群(5%ブドウ糖液)を週1回、合計4回ビーグル犬(各群3頭)に静脈内点滴持続投与したところ、一般状態、血液学検査、血液生化学検査、尿検査及び病理組織学的検査において、特に臨床問題となる所見は認められませんでした。一方、血液凝固系検査では、5倍用量群で、投与後1時間までに血液凝固系及び線溶系が活性化し、常用量でも同様の傾向が認められました。しかし、これらは投与後3日には基準範囲内の値となり、全観察期間を通じて血栓症を示唆する臨床徴候は認められず、病理組織学的検査においても塞栓や血栓像は

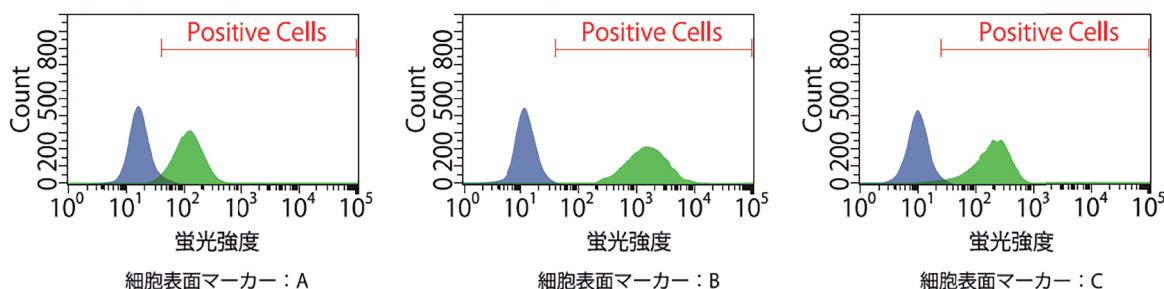


図10 フローサイトメトリーによる特異的細胞表面マーカーの検出

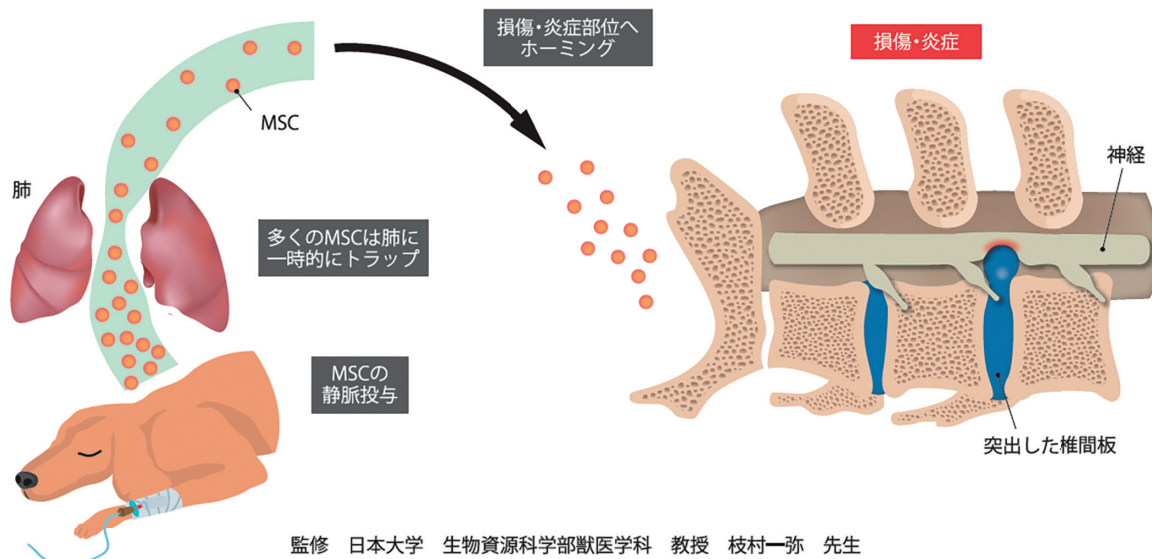


図 11 損傷・炎症部位へのホーミング

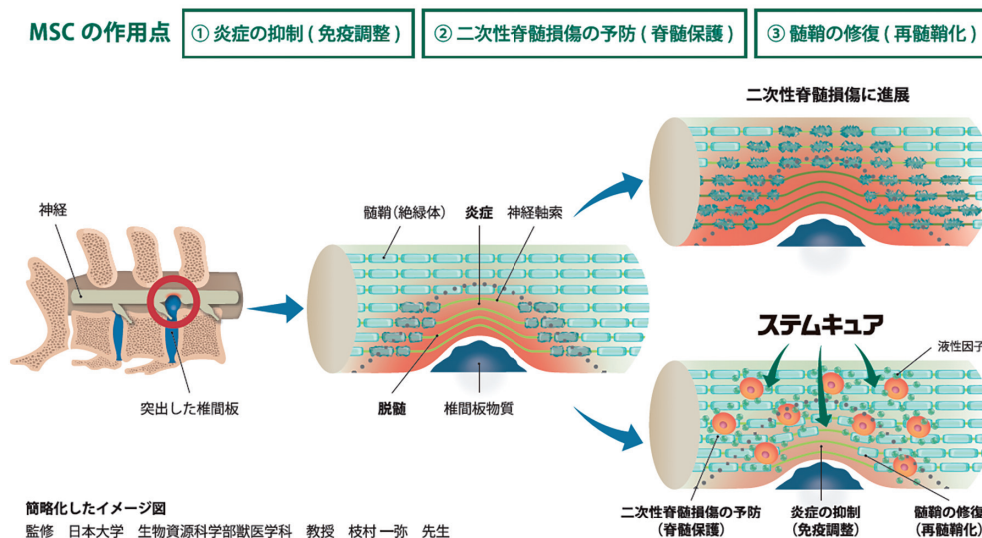


図 12 作用機序

認められませんでした。これらの結果より、本製品の臨床応用上、その安全性に問題はないものと考えていますが、本製品の使用においては、バイタルサインの確認、臨床検査によるモニタリングなどの適切な対応がなされる体制下での使用が必要であると考えています。

7. 有効性

有効性評価は、胸腰部椎間板ヘルニアと診断され歩行不能となり、保存的治療または外科的治療を施されたものの、2週間以上経過しても歩行不能な症例、つまり既存の治療法では回復が見込めない症例を対象に非盲検試験として実

施しました。評価方法としては、Texas Spinal Cord Injury Score (以下、TSCIS: 表 4) を用い、各後肢の「歩様」「固有位置感覚」及び「痛覚」をスコア化し、治療前と治療後のスコアから改善率を算出 (図 13) しました。判定基準は、改善率が25%未満を「無効」、25%以上50%未満を「有効」、50%以上75%未満を「奏効」、75%以上を「著効」としました。「有効」以上となった症例を「効果あり」とし、有効率を算出しました。

その結果、9症例の有効性評価対象のうち「効果あり」と判定された症例は2症例であり、有効率は22.2%でした。残りの7症例は「無効」と評価されましたが、このうち6

表 4 Texas Spinal Cord Injury Score (TSCIS) のスコア表

歩様スコア	
0	後肢の随意運動なし
1	体を支えることのできない後肢の動きが認められる
2	一貫性はないが、体を支える後肢の動きが認められる (立たせることができない)
3	体を支える後肢の動きが認められる (>75%) (立たせることができるが歩けない)
4	運動失調を伴った歩行が可能 (時々尻を地面につける、歩行可能)
5	軽度の運動失調を伴った歩行が可能 (滑ることはあるが、尻を地面につけることはない)
6	正常の歩行が可能
固有位置感覚スコア	
0	消失
1	低下 (正常の位置に戻すまで2秒以上かかった場合)
2	正常
痛覚スコア	
0	深部痛覚なし
1	深部痛覚あり、浅部痛覚なし
2	正常

表 5 有効率

評価対象	臨床効果				有効率 (%)
	著効	奏効	有効	無効	
有効性評価対象 (n=9)	0	0	2	7	22.2
全症例評価対象 (n=19)	0	2	4	13	31.6

有効率 (%) = (著効症例数 + 奏効症例数 + 有効症例数) ÷ 全症例数 × 100

$$\text{各症例の改善率 (\%)} = (\text{治療後スコア} - \text{治療前スコア}) / (20 - \text{治療前スコア}) \times 100$$

図 13 各症例の改善率の算出式

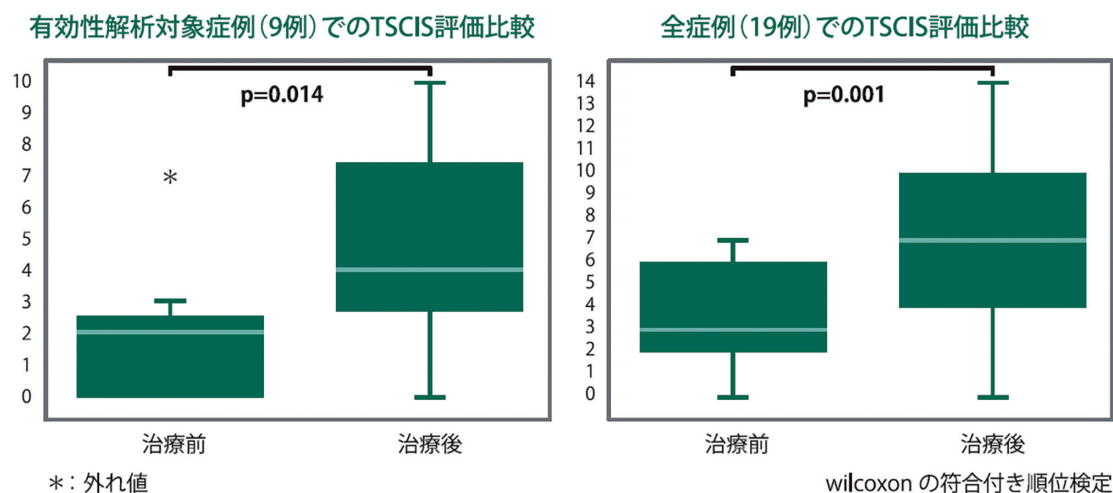


図 14 TSCIS 評価比較

症例では、痛覚や固有位置感覚の臨床症状の改善が認められ、全体の88.9%で何かしらの臨床症状の改善が確認されました。また、本製品投与前にスコアの改善が認められるなど有効性評価対象に該当しなかった10症例においては、2症例で「奏効」、2症例で「有効」、6症例で「無効」と評価されましたが、このうち4症例で血流改善などの臨床症状の改善などが認められました(表5)。また、9症例の有効性評価対象および有効性評価対象を含めた全症例評価対象19症例では治療後のスコアが治療前に対して統計学的に有意に高い値を示し、スコアの改善が認められました(図14)。

次に、初診時、初回投与前、2回目投与前、3回目投与前、最終投与前1週間後及び最終投与前4週間後の6地点で、主要評価項目であるTSCISを用いて評価を行いました。全19症例のスコア変動平均は、時間の経過とともに改善傾向がみられました(図15)。また、全19症例の84%にあたる16症例でTSCISに何らかの改善が認められています(図16)。

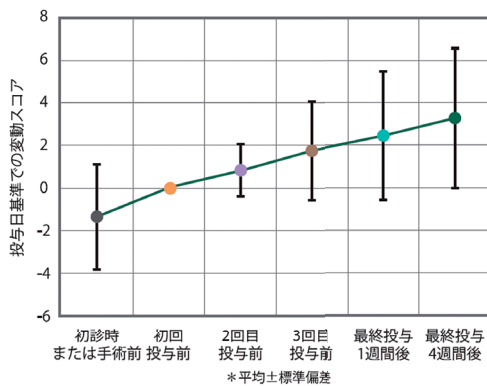


図15 全症例(19症例)のスコア変動(平均)

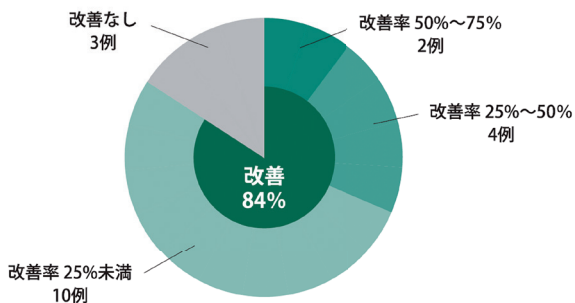


図16 全症例(19症例)のスコア改善率

以上の結果から本製品の有効性が推定されました。

8. 最後に

本製品の上市をきっかけとし、これまで間葉系幹細胞を用いた幹細胞治療を実施できなかった動物診療施設においても同治療法の選択が可能となりました。しかし、幹細胞治療は「魔法の医療」ではなく、定められた用法・用量を遵守し、かつ、対象となる患犬を正しく選定したうえで飼い主の同意を得て慎重に実施することが求められます。獣医領域における幹細胞治療が新たな治療方法として確立され、これまで治療することができなかった患犬を救い、飼い主に再び笑顔を取り戻すために、弊社は法令を遵守のうえ本製剤の普及に取り組んで行く所存です。

今後、本製品が我が国の動物再生医療の拡大と発展の礎になることを期待しています。

参考文献

- 1) Leibacher J, Henschler R. Biodistribution, migration and homing of systemically applied mesenchymal stem/ stromal cells. *Stem Cell Res Ther.* 2016; 7: 7-18.
- 2) Karen English. Mechanisms of mesenchymal stromal cell immunomodulation. *Immunology and Cell Biology.* 2013; 91: 19-26.
- 3) Katarina Le Blanc, Lindsay C. Davies. Mesenchymal stromal cells and the innate immune response. *Immunology Letters* 2015; 168(2): 140-146.
- 4) Gwendolyn J. Levine, Jonathan M. Levine, Christine M. Budke, Sharon C. Kerwin, Jennifer Au, Arathi Vinayak, Bianca F. Hettlich, Margaret R. Slater: Description and repeatability of a newly developed spinal cord injury scale for dogs. *Preventive Veterinary Medicine.* 2009; 89: 121-127.

出典

動物用ワクチン-バイオ医薬品研究会 ニュースレター
23号(2021)
ファームプレス社 小動物臨床総合誌 MVM
No,203(2022)

◆住友ファーマアニマルヘルス株式会社について

住友ファーマアニマルヘルスは、動物たちの健康を支えることで、人々の笑顔あふれる暮らしに貢献する企業として、2010年7月に大日本住友製薬株式会社（現：住友ファーマ株式会社）の事業部門から分社化し、設立された研究開発型の動物用医薬品等の製造販売会社です。70余年に及ぶ動物薬事業を通じて培った経験と実績を基礎に、人と動物の絆を支える「コンパニオンアニマル事業」、人々の豊かな生活を支える「畜水産事業」、確定診断に必要不可欠な「臨床検査事業」を展開しています。また、医薬品や機能性食品の提供に加え、診察・検査・診断・投薬・アフターケアにわたる獣医師、ペットオーナーや畜産農家等のニーズの全体（ヘルスケアサイクル）へ事業領域を拡張し、総合的なソリューションを提供する会社への変革を推進しています。詳細はホームページをご覧ください。

<https://ah.sumitomo-pharma.co.jp/>

◆著者紹介

上田 忠佳 Tadayoshi Ueda



住友ファーマアニマルヘルス株式会社

- ・開発生産本部 池田動物細胞医薬センター 品質管理責任者
- ・ビジネスイノベーション本部 新規事業部 主席部員

学歴

1989年 大阪ハイテクノロジー専門学校
生命工学技術科卒

職歴

- 1989年 大日本製薬（株）ラボラトリープロダクツ部入社
- 2005年 大日本住友製薬（株）ラボラトリープロダクツ部（会社合併）
- 2007年 DSファーマバイオメディカル（株）ラボラトリープロダクツ部（会社分割）
- 2018年 DSファーマアニマルヘルス株式会社 池田動物細胞医薬センター兼新規事業部
- 2022年 住友ファーマアニマルヘルス株式会社 新規事業部兼池田動物細胞医薬センター（商号変更）

職務内容

・1989~2018年 民間細胞バンクとしての研究用細胞株の供給、品質管理業務に従事
約5,000種類の細胞を取り扱った経験を活かし、NEDO等の再生医療関連プロジェクトにも参画、iPS細胞等の無血清培養、凍結保存方法の開発に従事

・2018年～ 獣医領域での再生医療等製品の開発、愛玩動物や畜産分野の検査薬開発に従事

所属学会 / その他

- ・日本獣医再生医療学会 常務理事
- ・日本再生医療学会 代議員 同会認定臨床培養士
- ・日本組織培養学会 評議員 同会認定細胞培養指導士
- ・大阪ハイテクノロジー専門学校 教育課程編成委員

趣味等

・蝶類の採集・観察
晴れた休日には、フィールド活動をしています。そのため、年中日焼けしています。