



平成28年7月23日

「リスクコミュニケーションのモデル形成事業」市民シンポジウム
再生医療・遺伝子治療の未来へ ～リスクとベネフィットを考える～

再生医療の安全性評価のための科学 —新しい医療製品のリスクの発生源をどう測るか—

国立医薬品食品衛生研究所
再生・細胞医療製品部

佐藤 陽治

本発表で述べられている見解は発表者の私見であって、国立医薬品食品衛生研究所
および厚生労働省ならびに日本再生医療学会の公式な見解では必ずしもありません

論文発表10年!ここまできたiPSビジネス

週刊 **ダイヤモンド**

特別2 **司法と原発**
窮地の電力会社

DIAMOND
WEEKLY 2016
定価 710円 6/11

世界を変える

iPS

目の次は
パーキンソン病
iPS研究最前線

主導権を握れるのか
世界38兆円市場
争奪戦が勃発!

ゲノム編集から
遺伝子検査まで
新たな医療の幕開け

iPSブームに便乗する
“美容系”再生医療の間

第104巻23号 / 毎週土曜日発行 / 平成28年6月11日発行 / 大正2年5月10日創刊(第1報知新聞社)

「幹細胞」

提供者(ドナー)の不足などから、細胞があまり増えない臓器(例えば心臓、膵臓、脳)の細胞は、治療に必要なだけの生きた分を実際に手に入れるのは簡単ではない。

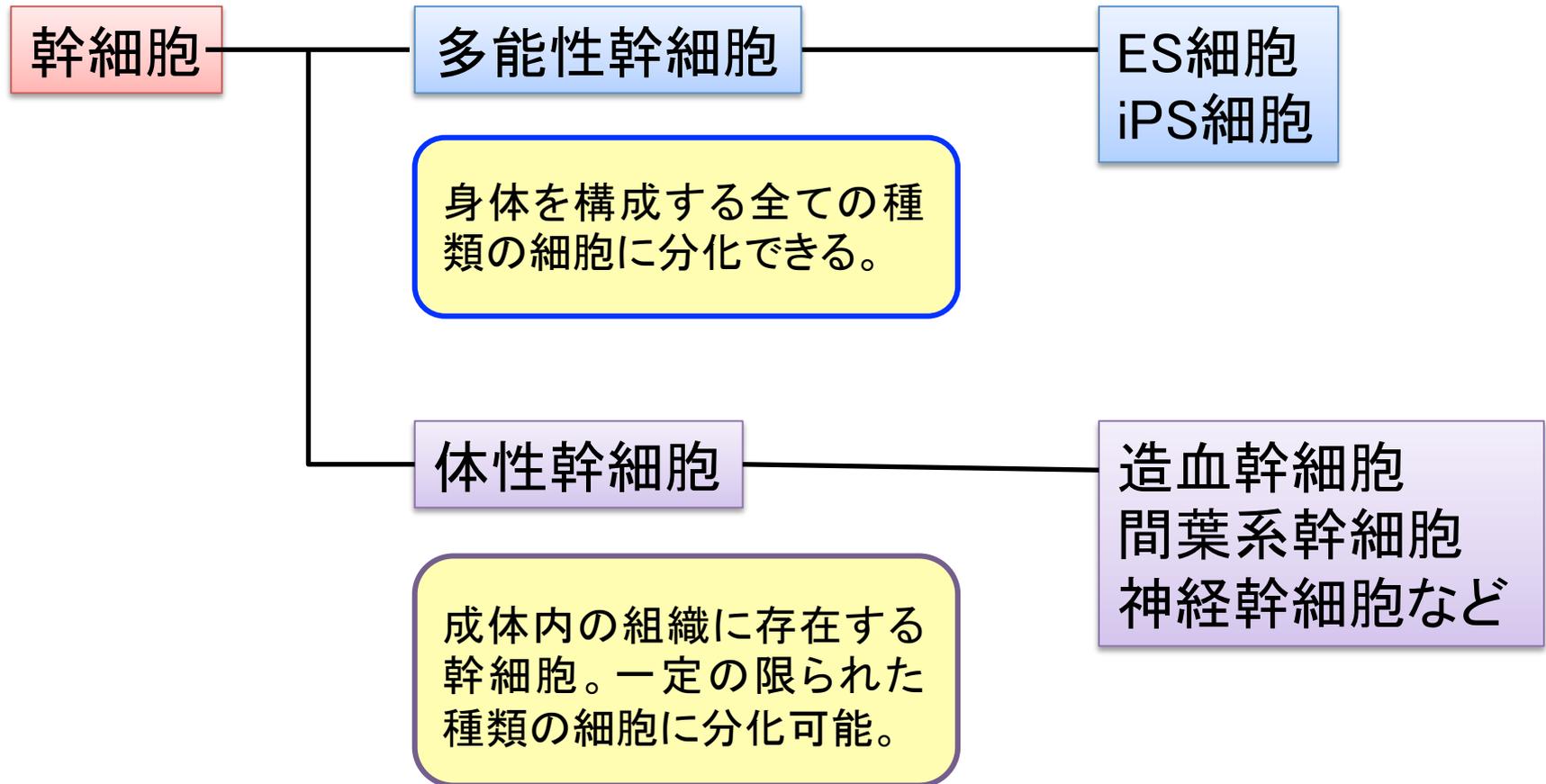
「体の外(試験管の中など)で増やせないのか？」

⇒しかし、心臓、膵臓、脳などに成熟する前の細胞(未分化の細胞)は増やすことができる。

幹細胞とは、

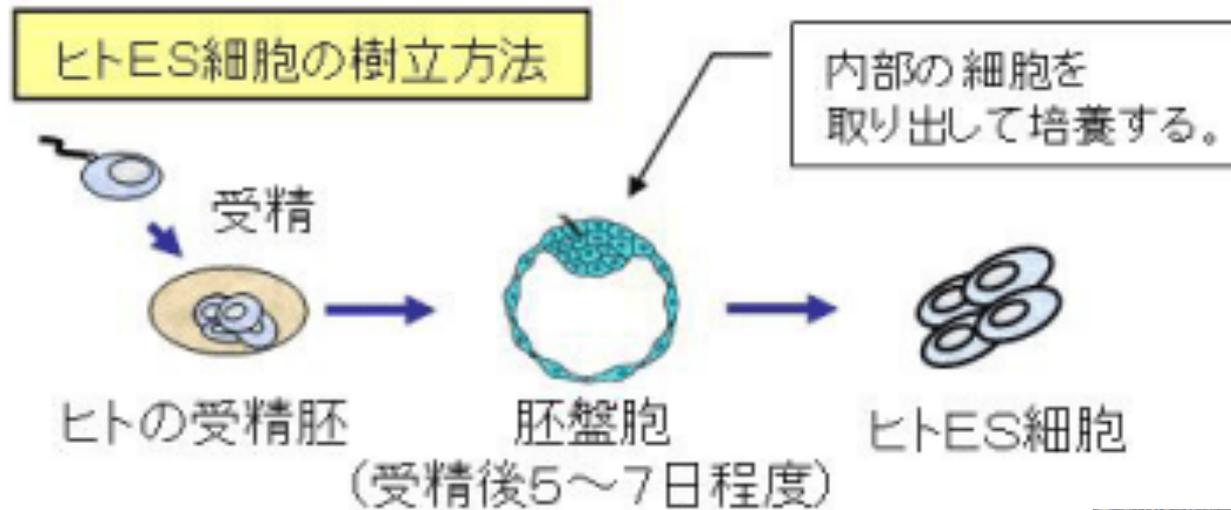
- ①分裂して自分自身をコピーする「自己複製能力」と
- ②様々な細胞へと変化する「分化能力」を併せ持つ
- ③「未分化な細胞」

「幹細胞」の種類



ES細胞（胚性幹細胞）

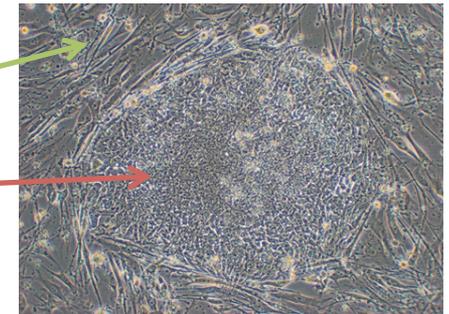
発生初期の胚（胚盤胞）の内部細胞塊から得られる未分化細胞。
体を構成する全ての細胞に分化可能。



<http://www.jst.go.jp/ips-trend/research-gov/topics/2010/01/post-14.html>

フィーダー細胞

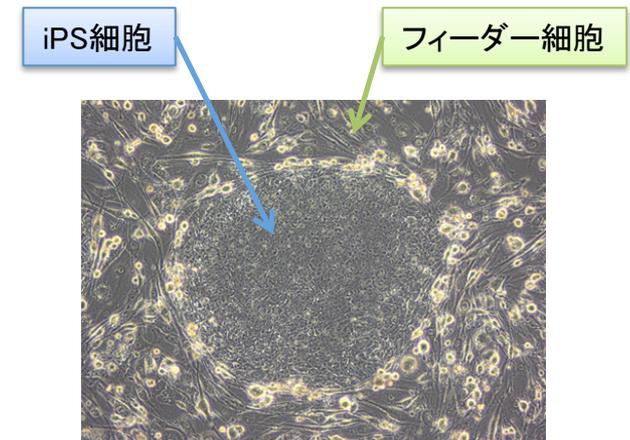
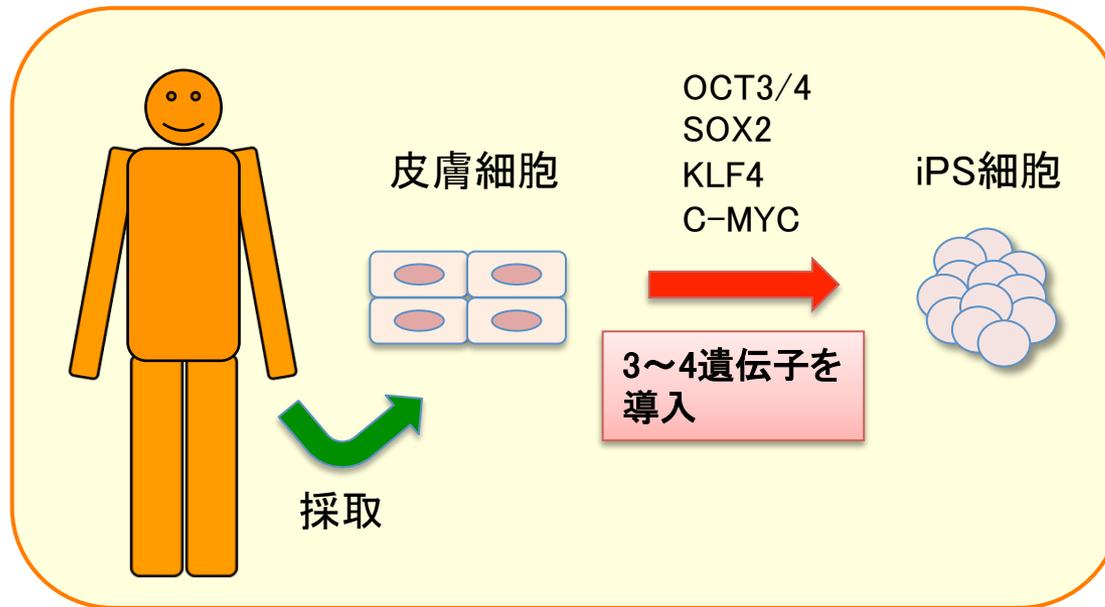
ES細胞



京都大学で樹立されたヒトES細胞株KhES-1

iPS細胞（人工多能性幹細胞）

分化した細胞に遺伝子を導入し、脱分化を誘導して得られる未分化細胞。ES細胞に類似の多能性を示す。



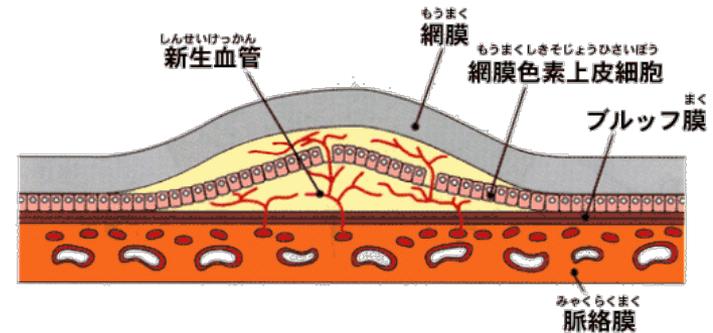
京都大学で樹立されたヒトiPS細胞株201B7

- ES細胞と違いヒトの胚を壊して作らないため、倫理的問題がない。
- 自分の細胞から作ることができるため、拒絶反応がない。

iPS細胞による治療の試みの例 ①

(滲出型加齢黄斑変性症)

滲出型加齢黄斑変性症は、脈絡膜から新生血管が発生し、黄斑に障害が起こる疾患で、進行の早い黄斑変性症です。理化学研究所・先端医療振興財団で、自己のiPS細胞を使った臨床研究が行われています。



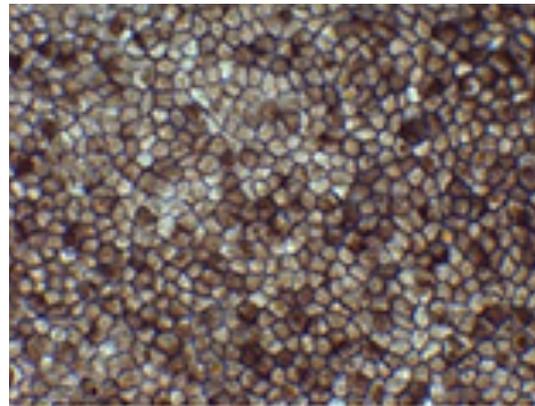
<http://homepage3.nifty.com/SAI-EYE-CLINIC/page/ohan/ohan.html>



© Japanese Ophthalmological Society

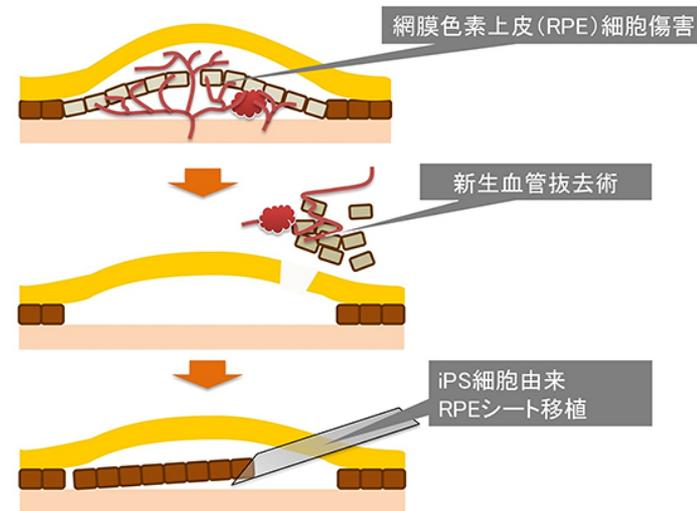
加齢黄斑変性の症状

日本眼科学会より



iPS細胞から分化させた
網膜色素上皮細胞

http://www.riken.jp/pr/topics/2013/20130730_1/



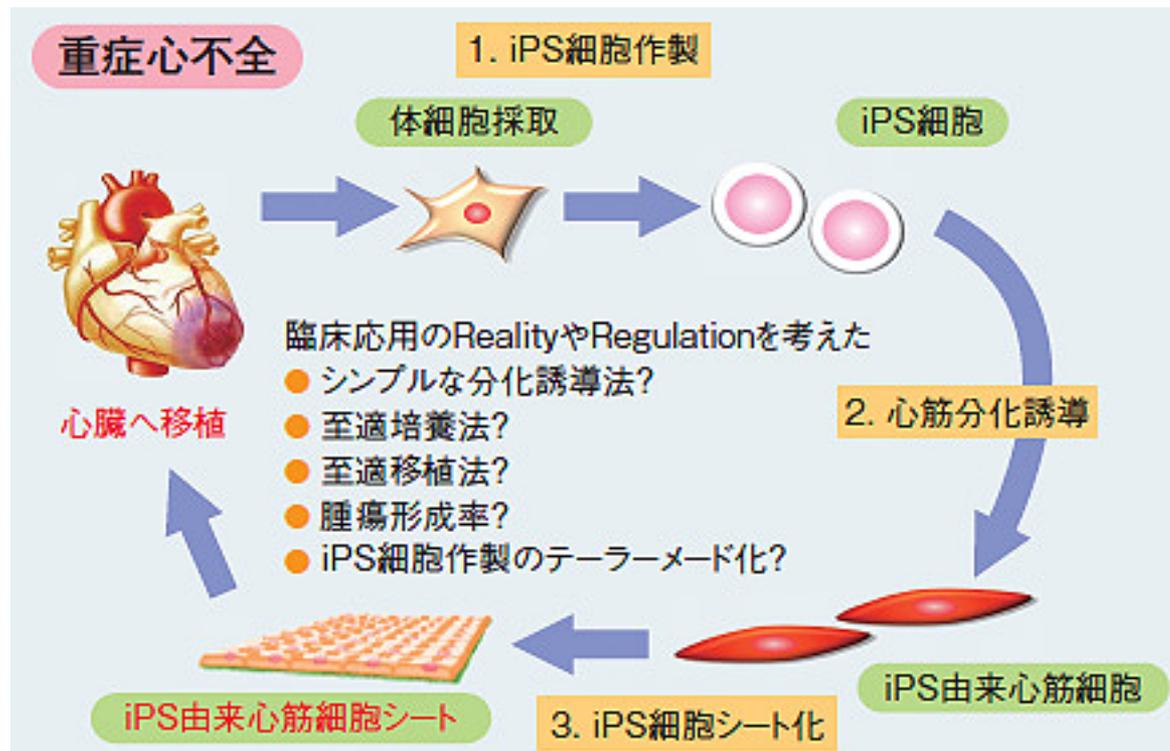
移植網膜細胞を用いた治療

http://www.riken.jp/pr/topics/2013/20130730_1/

iPS細胞による治療の試みの例 ②

(重症心不全)

- 心不全とは、心臓が十分な量の血液を送り出せなくなることです。
- 大阪大学・慶応義塾大学・京都大学などでは、iPS細胞から心筋細胞を作製し、重症心不全患者に移植する治療を計画しています。



再生医療の実現化で重要なこと

「安全性の確保」

「移植細胞（細胞加工物）の品質の確保」

安全性・品質の確保の上での問題点

- 技術の進歩により登場する新しいタイプの製品の開発の速さに評価法の開発が追いついていない
 - ⇒ 新しいタイプの製品が登場しても、その安全性・有効性・品質を評価する方法に乏しい（例：再生医療、遺伝子治療、核酸医薬）
- 技術の進歩により新しいタイプの分析ツールが開発されても、医薬品等の評価法として使えるのかがわからない
 - ⇒ 新しいタイプの分析ツールを医薬品評価に用いた時の能力と限界がわからない（例：次世代シーケンサー、デジタルPCR）

製品の評価法の開発・検証ための科学⇒レギュラトリーサイエンス

関係者が評価法の能力・限界についての理解を共有しないと、先端医療の実用化・社会受容は不可能

“イノベーション”

ハザード(危害要因)とリスク

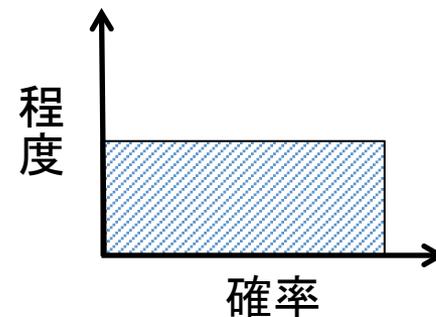
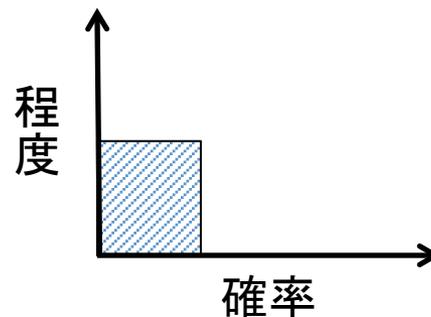
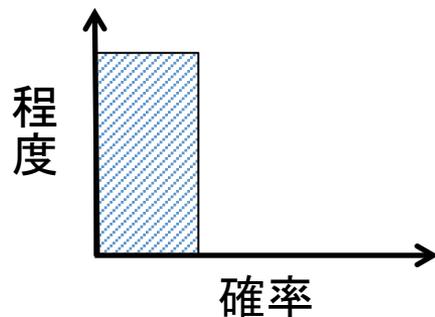
例) 自動車に乗る場合

- ◆ ブレーキの調子が悪い
- ◆ 道がデコボコ
- ◆ ハイヒールを履いて自動車に乗っている

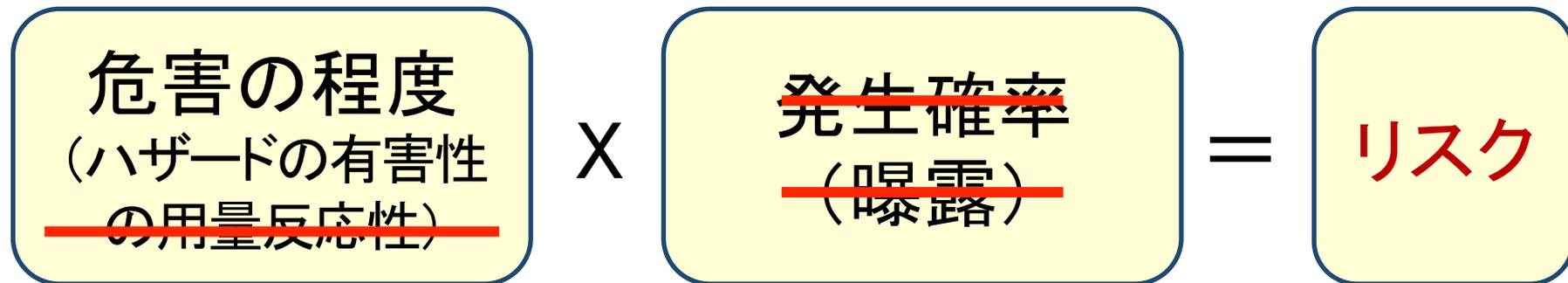


・・・といった、事故を起こす原因になると考えられることを「ハザード」と言います。

そのような状況で事故を起こしてしまう**確率**と
どれくらいのケガをするかという**程度**を表したものが「**リスク**」です。



再生医療で使う移植細胞(細胞加工物)のリスク低減策



細胞加工物の場合

反応性に動物種差、異種免疫反応

ヒトでの経験に乏しい⇒ヒトでの「発生確率」が分からない



リスクを下げる対策としては、安全上明らかな問題がないか
ハザード(危害要因)を同定し、技術的に可能な限り低減することが基本

移植細胞（細胞加工物）のリスク（例）

- 感染症の伝搬（←ウイルス、細菌、真菌）
 - 不純物混入（←血清、抗生物質、有害細胞）
 - 腫瘍形成（←造腫瘍性細胞）
 - 好ましくない免疫反応（←他人由来の細胞）
 - 細胞特性の意図しない変化
 - 非細胞成分による不必要な免疫応答、炎症反応、毒性
 - 好ましくない体内分布
-
- 製品を使用しないことによる治療機会喪失

再生医療に用いるES/iPS細胞由来細胞の品質または安全性の上での課題は？

ES細胞

- ヒトの胚を壊して取り出したものから作るため、倫理的問題が生じる。
- 他人由来の細胞のため、移植時に拒絶反応が生じる。

iPS細胞

- 作製方法によっては外来遺伝子が染色体上に残存する。

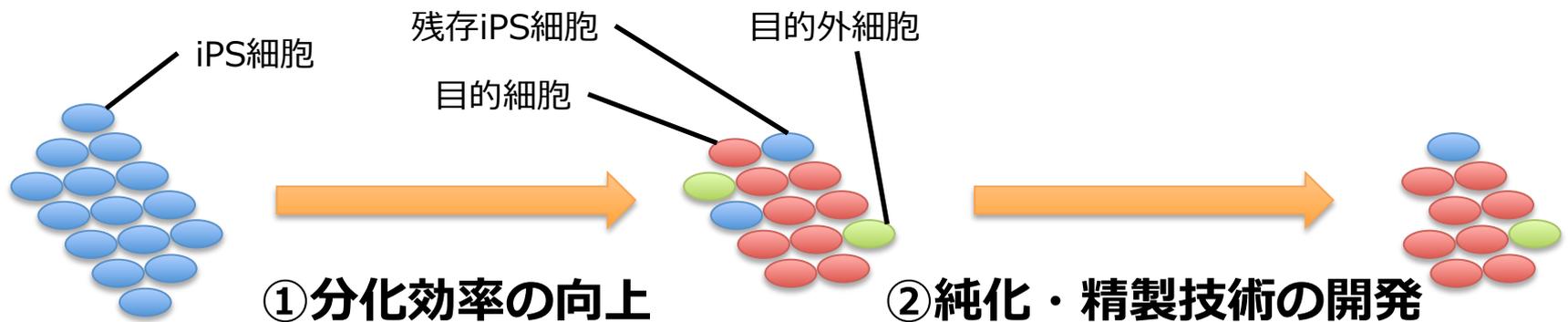
ES細胞とiPS細胞に共通

- 分化後も腫瘍形成能をもつ未分化細胞が残存／混入している可能性
- 培養中に腫瘍形成能をもつ形質転換細胞が発生／混入する可能性
- 目的とする細胞への効率的な分化誘導方法の開発が必要
- 目的とする細胞の精製方法の開発が必要

ヒトES/iPS細胞加工製品の 腫瘍形成リスクに関するハザード

- 未分化なES/iPS細胞には**腫瘍形成能（造腫瘍性）**があることから、**残存ES/iPS細胞**による造腫瘍性のリスクが存在する。
- 培養に伴う**造腫瘍性形質転換細胞**の出現の可能性もある。

未分化ES/iPS細胞・造腫瘍性細胞の残存・混入を防止する工夫が必要

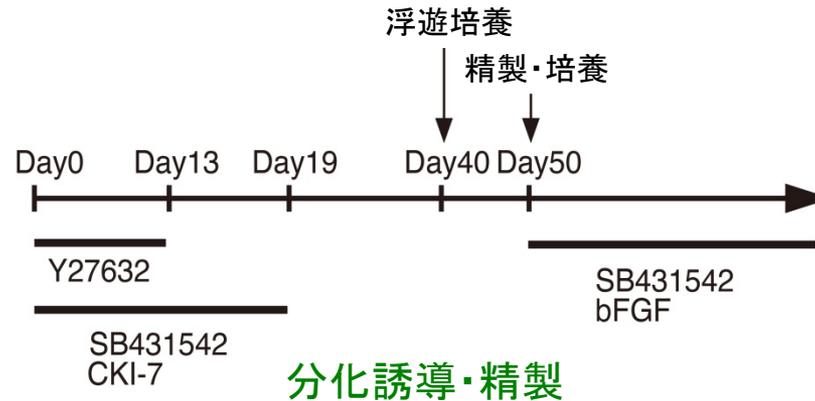
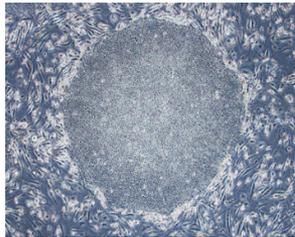


③ 製品の「実用化」には、未分化ES/iPS細胞や造腫瘍性形質転換細胞の除去・残留を確認する試験法が不可欠

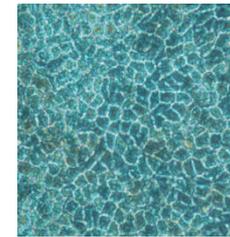
未分化ES/iPS細胞・造腫瘍性細胞の高感度検出法の開発

モデルケース: ヒトiPS細胞由来の網膜色素上皮細胞(RPE)

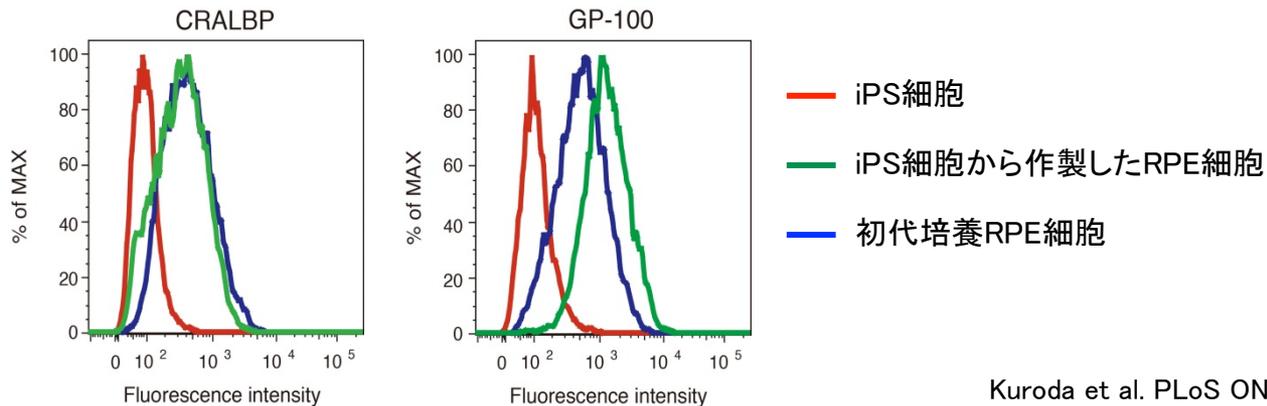
iPS細胞(201B7株)



網膜色素上皮細胞



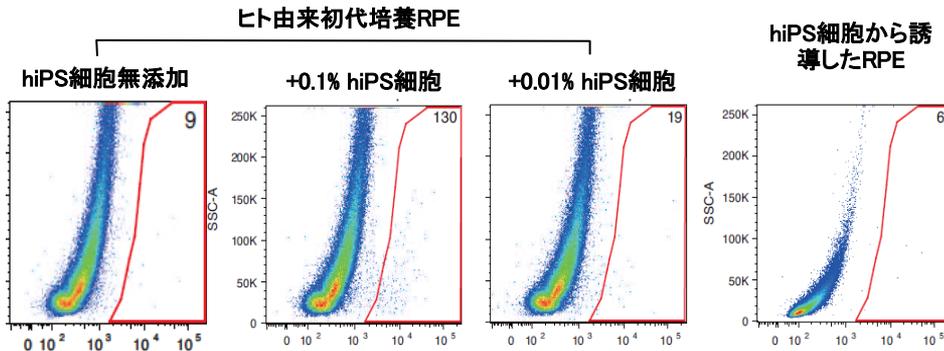
RPE細胞に特異的に発現するタンパク質



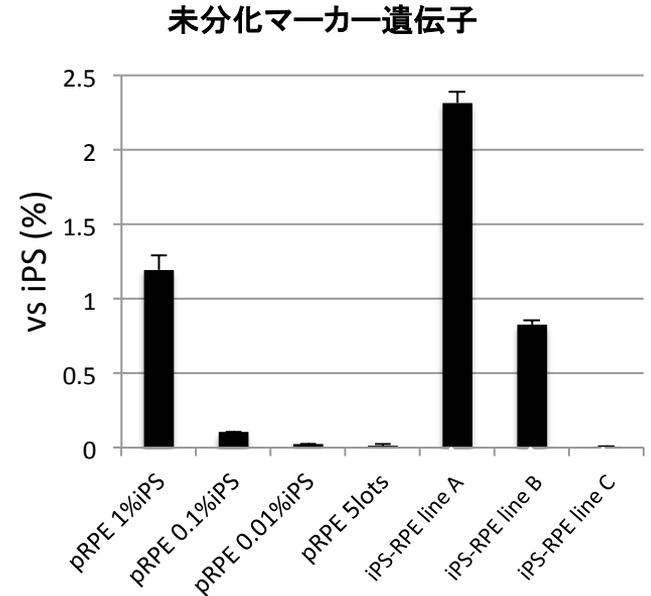
ヒトiPS細胞に由来する分化細胞(移植細胞)に残存・混入する未分化なiPS細胞(造腫瘍性細胞)の検出方法の開発

(公財)先端医療振興財団等
(公財)実験動物中央研究所との共同研究

未分化細胞マーカー分子に対する抗体によるフローサイトメトリーによる評価



遺伝子発現解析による評価



重度免疫不全動物への移植実験による評価



BALB/cAJcl-nu/nu
(Nude)



NOD.Cg-Prkdcscid Il2rgtm1Sug/Jic
(NOG)

分化細胞10万個に1個の割合でのiPS細胞残留も検出(世界最高感度)

ヒトiPS細胞由来移植細胞の臨床研究開始



■ iPSから網膜細胞 世界初の移植手術実施 神戸

ツイート 48

おすすめ 103

印刷



会見で笑顔を見せる高橋政代プロジェクトリーダー＝12日夜、神戸市中央区港島中町6（撮影・峰大二郎）

拡大

先端医療センター病院（神戸市中央区）と理化学研究所発生・再生科学総合研究センター（同）は12日午後、人工多能性幹細胞（iPS細胞）から網膜の細胞を作り、目の難病患者の網膜を再生させる臨床研究で、兵庫県内の70代女性に1例目の移植手術を実施した。iPS細胞から作った細胞が人の体に移植されるのは世界初。同病院は「患者の状態は安定し、成功と考えている」とし、今後は腫瘍ができないかなどの安全性や、視野の改善などの効果を検証する。

臨床研究は、目の奥にある網膜が傷んで視力が急激に落ち、失明の恐れもある「滲出（しんしゅつ）型加齢黄斑変性」の患者

神戸新聞(2014/9/12)



残存iPS細胞／造腫瘍性細胞の検出法の開発で貢献

混在する未分化iPS/ES細胞の検出法の能力と限界

試験法	in vivo造腫瘍性試験 (NOG x Matrigel, 皮下投与)	軟寒天コロニー形成試験	フローサイトメトリー
目的	造腫瘍性細胞の検出	足場非依存的増殖 (悪性形質転換細胞)の検出	未分化な多能性幹細胞の検出
所要時間	12-16週間		1日
利点	<ul style="list-style-type: none"> 直接的 臨床適用相当部位の微小環境での造腫瘍性を評価可能 ⇒非臨床安全性試験に適用可能		<ul style="list-style-type: none"> 短時間・簡便 個々の細胞を解析し、マーカー分子の発現量を評価可能
欠点・注意点	<ul style="list-style-type: none"> 費用と時間がかかる 専用動物施設が必要 スループットが低い 腫瘍の由来が形質転換細胞か多能性幹細胞かを区別するには、病理的評価等が必要 	<ul style="list-style-type: none"> ヒトiPS細胞検出には使用できない(分散誘導性細胞死のため) 	<ul style="list-style-type: none"> 間接的 ゲーティングが結果に影響
検出限界又は検出力	hRPE 25万個中に1,000個(0.4%)の割合で混入するhiPS細胞を50%の確率で検出		hRPE中の0.1%のiPS細胞 (マーカー:TRA-1-60)
出典	Kanemura et al., Sci Rep. 2013	Kuroda et al., PLoS ONE. 2012	Kuroda et al., PLoS ONE. 2012

試験法	qRT-PCR	Droplet Digital PCR	GlycoStem-HP法	Essential-8/LN521培養増幅法
目的	未分化な多能性幹細胞の検出	未分化な多能性幹細胞の検出	未分化な多能性幹細胞の検出	未分化な多能性幹細胞の検出
所要時間	6時間	数時間	3時間以下 (培養上清回収から測定まで)	約1週間
利点	<ul style="list-style-type: none"> 迅速 簡便 高感度 	<ul style="list-style-type: none"> 迅速 簡便 高感度 	<ul style="list-style-type: none"> 非破壊的 簡便 高スループット 	<ul style="list-style-type: none"> 直接的 簡便 残存iPS細胞の特性解析が可能
欠点・注意点	<ul style="list-style-type: none"> 間接的 個々の細胞でのマーカー分子発現レベルは評価できない 	<ul style="list-style-type: none"> 間接的 個々の細胞でのマーカー分子発現レベルは評価できない 	<ul style="list-style-type: none"> 間接的 個々の細胞でのマーカー分子発現レベルは評価できない 培地成分が結果に影響 	<ul style="list-style-type: none"> 時間がかかる スループットが低い
検出限界又は検出力	hRPE中の0.002%以下のiPS細胞 (マーカー:LIN28)	ヒト心筋細胞中の0.001%のiPS細胞 (マーカー:LIN28)	HEK293T中の0.05%のiPS細胞(マーカー:H3+ポドカリキシン)	hMSC中の0.01-0.001%のiPS細胞 ヒト胚葉体中の0.1-0.01%のiPS細胞
出典	Kuroda et al., PLoS ONE. 2012	Kuroda et al., Regen Ther. 2015	Tateno et al., Sci Rep. 2014	Tano et al., PLoS ONE. 2014

混在する形質転換細胞の検出法の能力と限界

試験法	<i>in vivo</i> 造腫瘍性試験 (NOG x Matrigel, 皮下投与)	軟寒天コロニー形成試験	デジタル 軟寒天コロニー形成試験	細胞増殖特性解析
目的	造腫瘍性細胞の検出	足場非依存的増殖 (悪性形質転換細胞)の検出	足場非依存的増殖 (悪性形質転換細胞)の検出	不死化細胞 (形質転換細胞)の検出
所要時間	16週間以上	3-4週間	3-4週間	4週間またはそれ以上
利点	<ul style="list-style-type: none"> 直接的 臨床適用相当部位の微小環境での造腫瘍性を評価可能 <p style="text-align: center;">↓</p> 非臨床安全性試験に適用可能	<ul style="list-style-type: none"> 安価 悪性形質転換細胞を単離・特性解析できる 	<ul style="list-style-type: none"> 悪性形質転換細胞を単離・特性解析できる 	<ul style="list-style-type: none"> 安価で簡便 良性も悪性も幅広く不死化細胞を検出
欠点	<ul style="list-style-type: none"> 費用と時間がかかる 専用動物施設が必要 良性不死化細胞検出不能 	<ul style="list-style-type: none"> 造腫瘍性細胞の有無は間接的に判断 浮遊系細胞には使えない 良性不死化細胞検出不能 	<ul style="list-style-type: none"> 造腫瘍性細胞の有無は間接的に判断 浮遊系細胞には使えない 良性不死化細胞検出不能 イメージスキャナーが高価 	<ul style="list-style-type: none"> 造腫瘍性細胞の有無は間接的に判断 (良性と悪性を区別できない)
LLOD または 検出力	hMSCIに $1/1E+6$ (0.0001%) の割合で混入するHeLa細胞 (10個)を17%の確率で検出	hMSCIに $1/1E+3$ (0.1%) の割合で混入するHeLa細胞 (計算上は0.02%)	hMSCIに $1/1E+7$ (0.00001%) の割合で混入するHeLa細胞を検出可能	hMSCIに $1/1E+6$ (0.0001%) の割合で混入するHeLa細胞, 又は $1/1E+5 \sim 1/1E+4$ (0.001~0.01%) の割合で混入する不死化hMSCIを検出可能
出典	Kusakawa <i>et al.</i> , <i>Regen Ther.</i> 2015	Kusakawa <i>et al.</i> , <i>Regen Ther.</i> 2015	Kusakawa <i>et al.</i> , <i>Sci Rep.</i> 2015	Kono <i>et al.</i> , <i>Biologicals.</i> 2015; Hasebe-Takada <i>et al.</i> , <i>Regen Ther.</i> 2016

再生医療の実現化で重要なこと

「安全性の確保」

「移植細胞（細胞加工物）の品質の確保」



「目的に適った評価法を作る」

「各評価法の能力と限界を知る」

レギュラトリーサイエンス（評価科学）

なぜ先端的医療製品のイノベーションにレギュラトリーサイエンス(評価科学)が必要か？

患者さん個人の立場



新しい医療製品は、新しさゆえに安全性の面で不明な点も多い
だから『**できる試験は何でも**しておいてほしい』

…と考えるのは自然

「できる試験は何でも」の問題点

◆ 「できる試験」は技術の進歩で増える。「意思決定に資する試験」とは限らない。

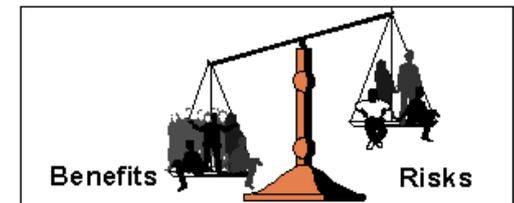
➡ 果てしなく試験を続けることになり、いつまでたっても製品ができない

◆ 不合理に費用と時間がかかってしまう

➡ 製品として開発する人(企業)がいなくなってしまう ➡ 持続が不可能

➡ 他の多くの患者さんや未来の患者たちに治療法が届かなくなってしまう

各試験の性能と限界を科学的に理解したうえで、
開発・臨床利用の**意思決定に資するか否か**という観点から
『**すべき**』と合理的に判断される試験をする必要があります



国民・未来の患者のアクセス

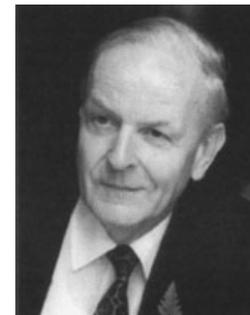
Gerhard Zbinden

(1924–1993)

1. Do not do something just because you can.
ただ出来るからというだけで何かをしてはいけない
2. Do not do something just because it has always been done.
ただこれまでいつもしてきたやり方だからというだけで何かをしてはいけない
3. Do not do something just because others do it.
他人がやっているからといって何かをしてはいけない

Hamlin (Ohio State Univ.) の補足

4. Do not do something because (you believe) it is expected.
ただやってほしいと期待されている(と思う)からというだけで何かをしてはいけない
5. Do not do something the results of which cannot be interpreted.
解釈できない結果をもたらすようなものをしてはならない
6. Do something because there is a reasonable expectation it will provide knowledge necessary for an accurate decision.
正確な意思決定のために必要な知識が提示できると合理的に期待できるものならばやりなさい



<http://www.forschung3r.ch/de/publications/bu3.html>



<https://vet.osu.edu/hamlin-robert>

Contact Information

佐藤 陽治

国立医薬品食品衛生研究所 再生・細胞医療製品部

E-mail: yoji@nihs.go.jp



「多能性幹細胞安全情報サイト」

<http://www.nihs.go.jp/cgtp/cgtp/sec2/sispsc/html/index.html>

twitter  @secpscell

