



2022年2月4日
15:00-16:30

薬学振興会 先端創薬科学講座セミナーコース2022

再生医療等製品(細胞加工製品)の 品質・安全性確保のための科学

国立医薬品食品衛生研究所 再生・細胞医療製品部 部長
佐藤 陽治

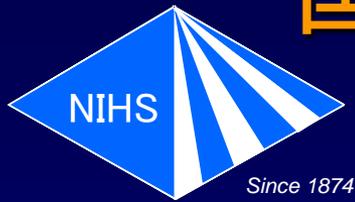
本発表で述べられている見解は発表者の私見であって、国立医薬品食品衛生研究所、厚生労働省または日本再生医療学会の現在の公式な見解では必ずしもありません

Agenda

I. 「レギュラトリーサイエンス」とは何か？

II. 再生医療・細胞治療に関するレギュラトリーサイエンス

- ① 「再生医療」「細胞治療」「再生医療等製品」とは
- ② 「幹細胞」と再生医療・細胞治療
- ③ 再生医療等製品(細胞加工製品)の品質と安全性の確保



国立医薬品食品衛生研究所 (国立衛研)

- ◆ 1874年「東京司薬場」として設立
- ◆ 日本で最も古い国立試験研究機関

◆ 歴代所長



エフェドリン発見者



ハンセン病治療薬「プロミン」の合成
初代東大薬学部長

テトロドトキシン
分離成功



東京帝都復興計画



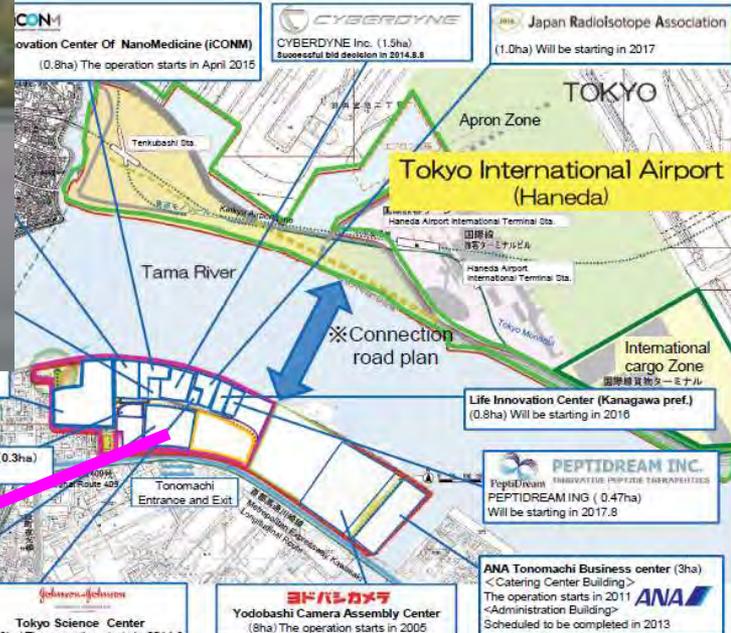
永松東海(初代)、柴田承桂(2代)、後藤新平(5代)、
長井長義(6代)、田原良純(7・9代)…
石館守三(16代)、内山充(21代)、寺尾允男(22代)、
首藤紘一(23代)、長尾拓(24代)、
合田幸広(30代・現所長)

世界的ブロックバスター
「ヘルベッサー」(塩酸ジルチアゼム)の開発



国立衛研：医薬品等のレギュラトリーサイエンスの拠点

所在地：川崎市殿町国際戦略拠点（2017年度～）



http://www.tokyo-np.co.jp/article/kanagawa/list/201803/images/PK2018030502100044_size0.jpg

医薬品等の有効性・安全性・品質の評価

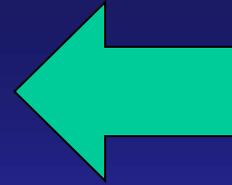
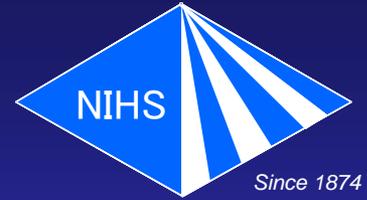
- 医薬品等には「**薬機法(改正薬事法)**」の規制
- 医薬品等の開発の薬事制度はなぜ必要なのか？

– 市場における製品の

「有効性」「安全性」「品質」 の確保

そのためには…

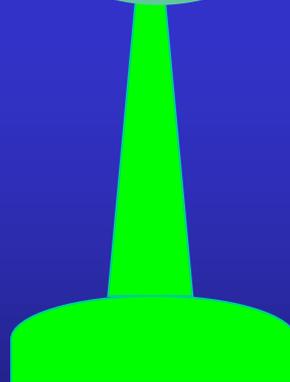
科学的根拠



科学的
合理性

有効性・安全性・品質
ベネフィット

リスク・倫理的問題





「レギュラトリーサイエンス」

『科学技術の成果を人と社会に役立てることを目的に、
根拠に基づいた確かな予測、評価、判断を行い、
科学技術の成果を人と社会との調和の上で
最も望ましい姿に調整するための科学』

(第4期 科学技術基本計画(H23.8.19, 閣議決定))



“Regulatory Science”

...is the science of developing new tools, standards, and approaches to assess the safety, efficacy, quality, and performance of all FDA-regulated products.

FDAが所管するあらゆる製品に関し、その安全性、有効性、品質、性能を評価するための新しい手段、標準、手法を開発する科学

先端医薬の開発に Regulatory Scienceが必須な理由

- 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がない
(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、1細胞解析技術)

Regulatory Science ⇒ 製品の評価法の開発とバリデーション(検証)

「規制」は開発を妨害するか？

新しいタイプの医療製品の 実用化のための課題

- 有効性と安全性
- 有効性・安全性を確保するための品質のあり方
- 品質を確保するための規格設定・特性解析

ルールがなければ、「何を」「どうやって」「どこまで」
示せば十分なのか、開発側も審査側も分からない

「ルールなくして製品なし」

「規制」はだれが作るのか？

先端的な医療製品に関する規制は
「官」だけでは作れない！

- 産学官+医&患の連携
具体的問題に関しては医療現場・開発者の方が審査側より進んでいる場合が多い。
- 国際協調も必要 （製品の国際的展開を視野）
- 科学的&オープンな議論
⇒ 一緒に原則を考え、視点の相違を認識・尊重し、
一緒にルールを考え、共有する
(共同研究・学会・フォーラム・市民講座など)

健康・医療戦略推進法

(H26.5成立)



「国は、医療分野の研究開発の成果の実用化に際し、その品質、有効性及び安全性を科学的知見に基づき適正かつ迅速に予測、評価及び判断することに関する科学の振興に必要な体制の整備、人材の確保、養成及び資質の向上その他の施策を講ずるものとする」

第4期 科学技術基本計画でのレギュラトリーサイエンスの定義

「科学技術の成果を人と社会に役立てることを目的に、根拠に基づく的確な予測、評価、判断を行い、科学技術の成果を人と社会との調和の上で最も望ましい姿に調整するための科学」

⇒実は、医療分野のRSの振興は国の義務

Agenda

I. 「レギュラトリーサイエンス」とは何か？

II. 再生医療・細胞治療に関するレギュラトリーサイエンス

- ① 「再生医療」「細胞治療」「再生医療等製品」とは
- ② 「幹細胞」と再生医療・細胞治療
- ③ 再生医療等製品(細胞加工製品)の品質と安全性の確保

「再生医療」と「細胞治療」

「再生医療」



加齢、疾病、損傷、または先天的障害により、組織・器官が**失った機能を修復ないし置換することを目的に、**機能的かつ生きている組織を作り出すプロセス

[ヨーロッパ科学財団の定義]

「細胞治療」



体外で加工または改変された自己由来、同種由来または異種由来の**細胞を投与することによって**ヒトの疾病または損傷を予防、処置、治療ないし緩和すること

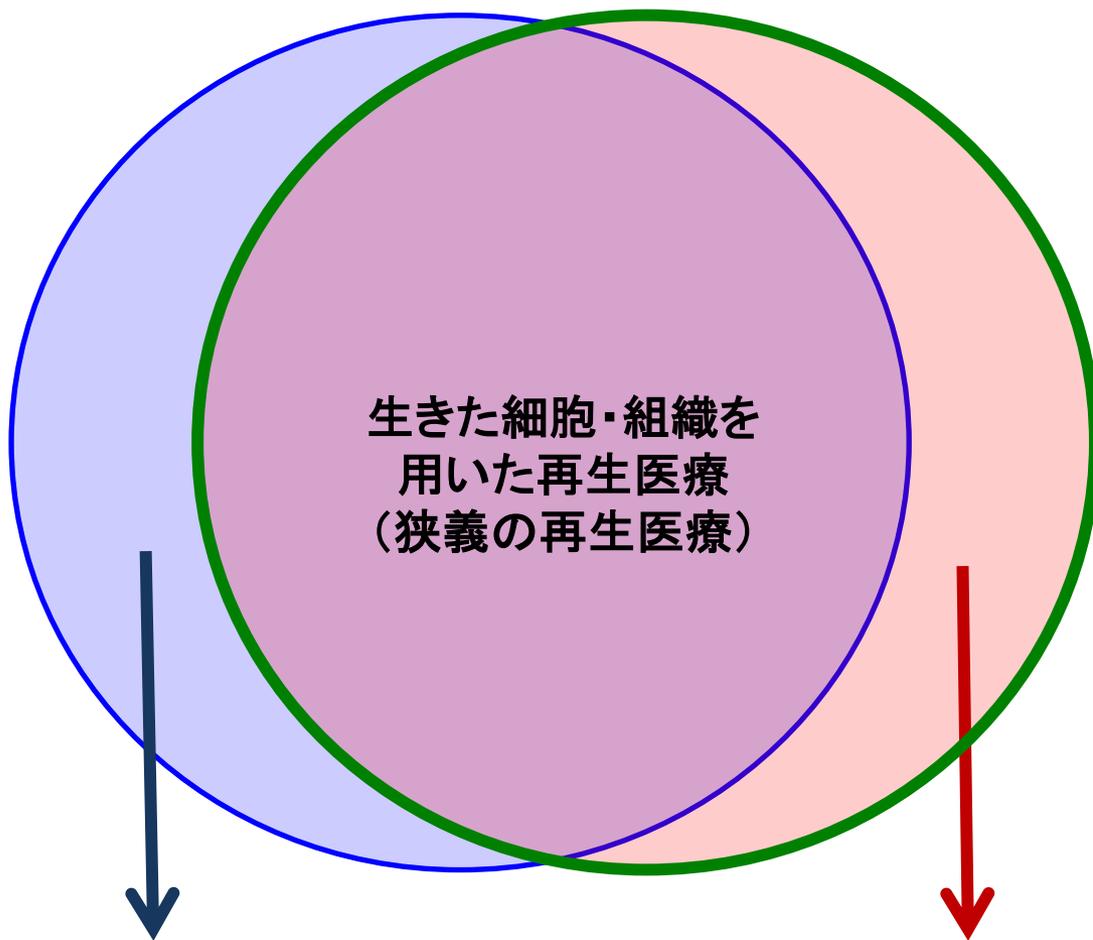
[米国食品医薬品局(FDA)の定義]

再生医療
regenerative medicine

細胞治療
cell therapy



細胞加工製品
(細胞加工物)



加工(培養・活性化・分化誘導など)

あり

なし

細胞・組織
[輸血・移植医療]



生きた細胞を使わない再生医療
(例:細胞を活性化させる因子を投与し、
患者の体内で組織を再生させる方法)

臓器や組織の再生を目的としない細胞治療
(例:免疫細胞の投与によるがん治療)

再生医療
regenerative medicine

細胞治療
cell therapy

薬事法の改正
(平成26年11月施行)

遺伝子治療用製品
細胞加工製品
(細胞加工物)

再生医療等製品

生きた細胞・組織を
用いた再生医療
(狭義の再生医療)

加工(培養・活性化・分化誘導など)

あり

なし

細胞・組織
[輸血・移植医療]

生きた細胞を使わない再生医療
(例:細胞を活性化させる因子を投与し、
患者の体内で組織を再生させる方法)

臓器や組織の再生を目的としない細胞治療
(例:免疫細胞の投与によるがん治療)

Agenda

I. 「レギュラトリーサイエンス」とは何か？

II. 再生医療・細胞治療に関するレギュラトリーサイエンス

① 「再生医療」「細胞治療」「再生医療等製品」とは

② 「幹細胞」と再生医療・細胞治療

③ 再生医療等製品(細胞加工製品)の品質と安全性の確保

再生医療・細胞治療と「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ありません。

「体の外(試験管の中など)で増やせないのか？」

⇒実は、心臓、膵臓、脳などに成熟する前の細胞(未分化な細胞)は増やすことができます。



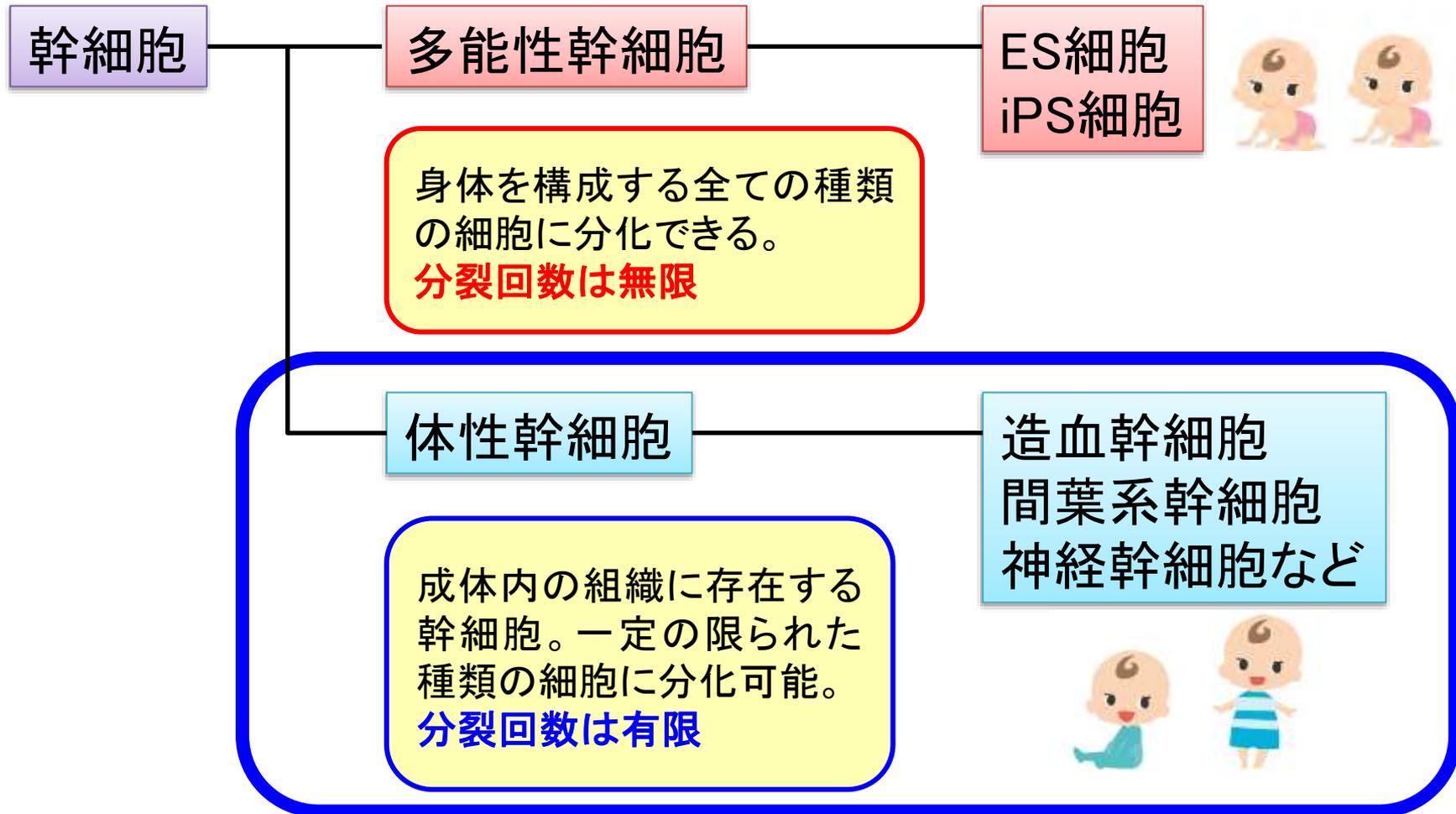
幹細胞とは、

- 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**」

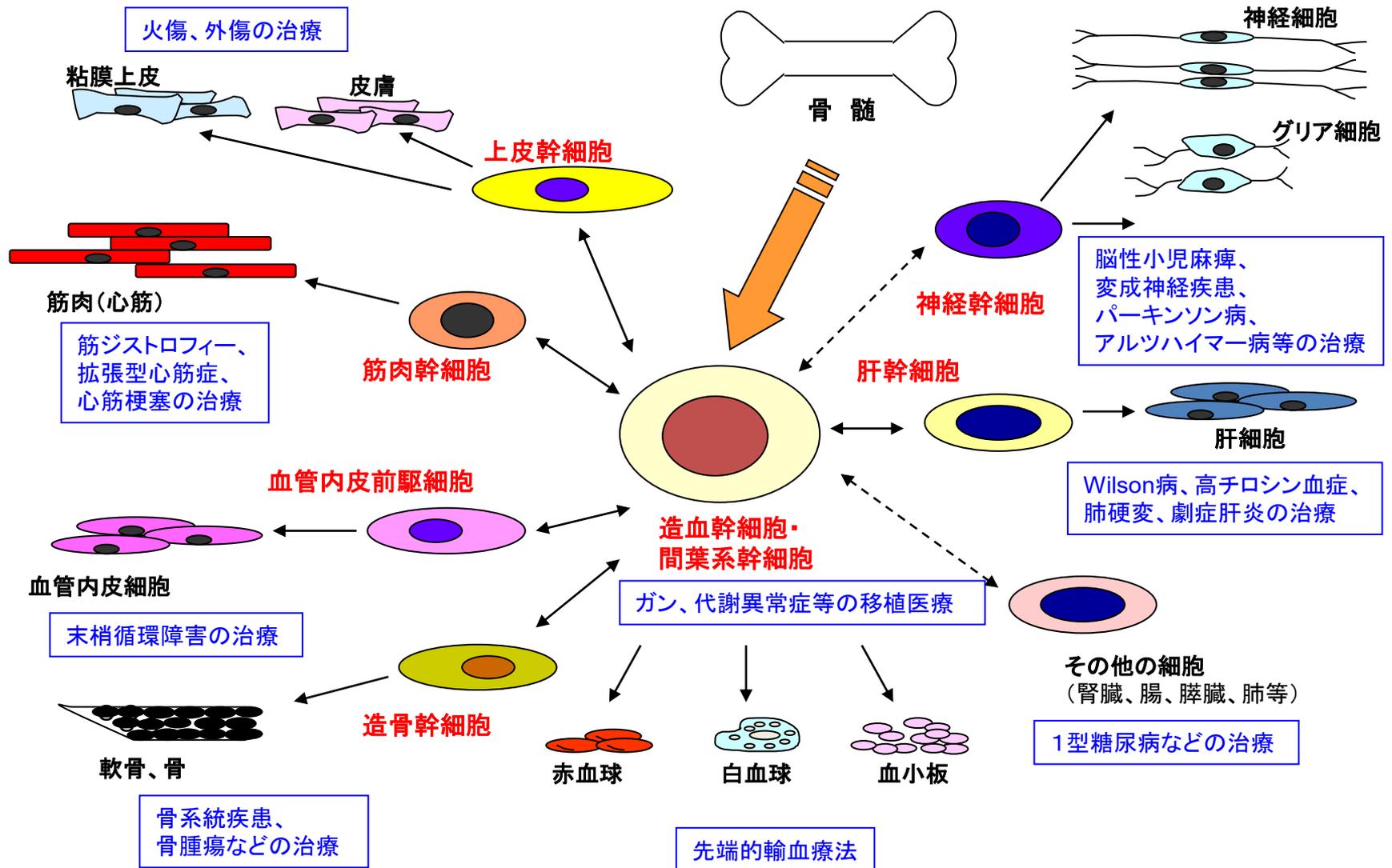
のことです



再生医療・細胞治療と「幹細胞」

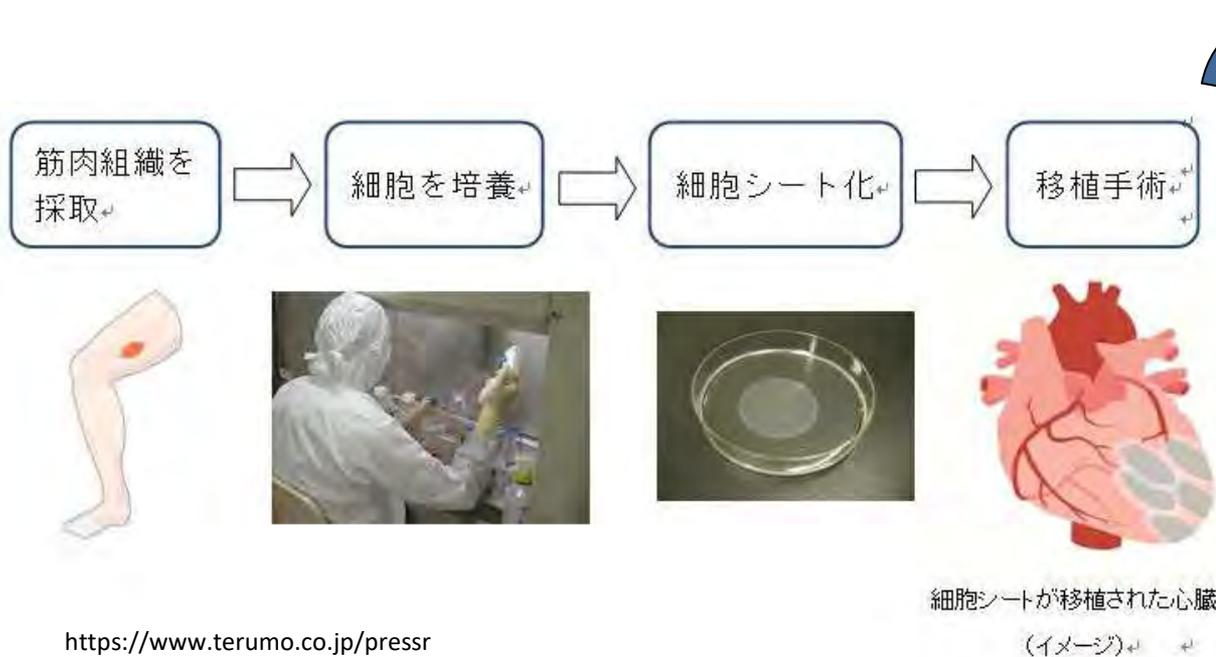


体性幹細胞等を用いた再生医療・細胞治療



細胞加工物を使って病気を治す(重症心不全治療)

<大阪大学心臓血管外科・テルモ>



<https://www.terumo.co.jp/pressrelease/detail/20141031/141>

拡張型心筋症患者が退院
できるまで機能回復

再生医療等製品として期限・条件付き製造販売承認取得(2015年)

(2007.12.20付 産経新聞)
<http://sankei.jp.msn.com>

細胞加工製品を使って病気を治す(角膜再生)

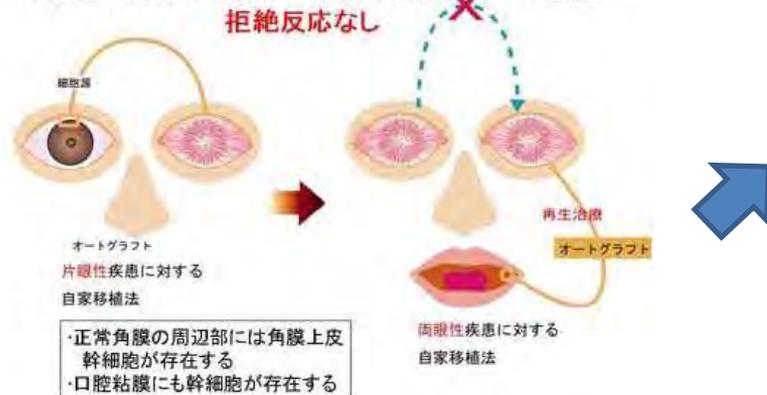
角膜上皮幹細胞疲弊症

角膜上皮は眼の角膜最外層に存在し、角膜上皮の幹細胞は角膜と結膜の境にある輪部に存在します。化学傷、熱傷、ステイブンス・ジョンソン症候群、眼類天疱瘡、角膜感染症などで、角膜上皮幹細胞が機能なくなると、角膜上皮の修復がなくなり視力が失われます。

<東京女子医大・阪大・セルシード・J-TEC>

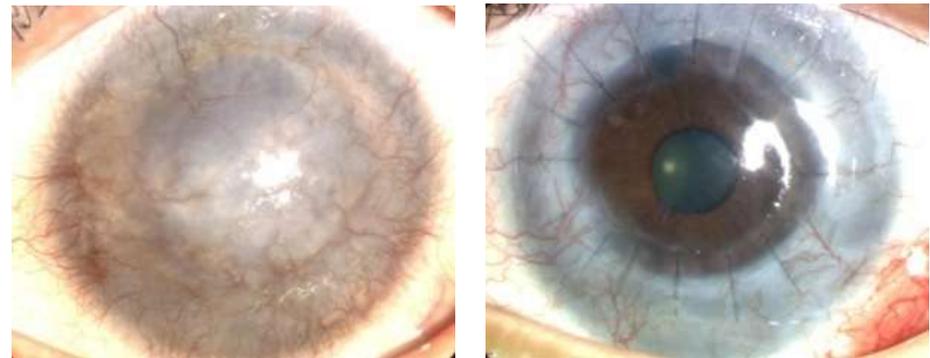
角膜輪部由来上皮幹細胞シート又は自己口腔粘膜上皮シート移植

—患者さん自身の組織から必要な角膜を作って移植—



術前

術後2年



The NEW ENGLAND
JOURNAL of MEDICINE

351, 1187-1196, 2004.

<http://techon.nikkeibp.co.jp/article/NEWS/20050610/60860/>

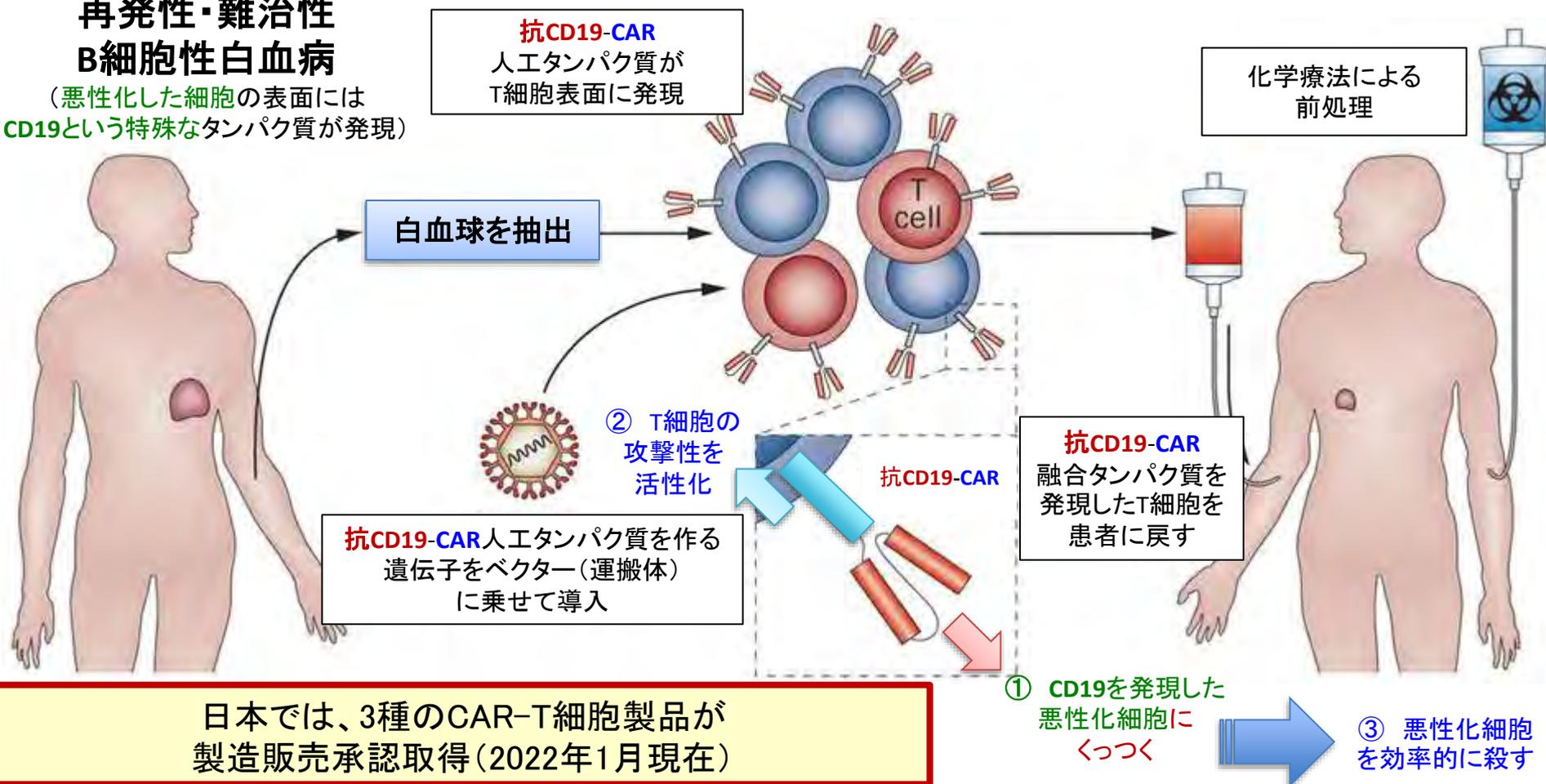
自家培養角膜上皮シートは2020年3月に製造販売承認取得
自家培養口腔粘膜シートは2021年6月に製造販売承認取得

遺伝子を導入した細胞加工製品を使って病気を治す (白血病に対するCAR-T細胞療法)

2016年12月の米国血液学会で発表された、小児・若年成人の再発・難治性B細胞性急性リンパ芽球性白血病を対象とした国際共同臨床第2相試験ELIANAでは、CAR-Tを投与した患者の**82%(50人中41人)**が、投与3カ月後に完全寛解または血球の完全な回復を伴わない完全寛解を達成

再発性・難治性 B細胞性白血病

(悪性化した細胞の表面には
CD19という特殊なタンパク質が発現)



日本では、3種のCAR-T細胞製品が
製造販売承認取得(2022年1月現在)

CAR-T療法の適用対象疾患が拡大中

CAR T-Cell Therapy Is Poised to Transform Childhood ALL Treatment

In 2017, researchers demonstrated that a CAR

represents one of the most remarkable advances in the treatment of childhood cancer in the last decade and could dramatically change treatment paradigms for this disease. Tisagenlecleucel targets a protein, known as CD19, on malignant and normal B cells.

In the United States, ALL will recur in approximately 600 children and young adults per year, despite achieving a response to initial therapy

After a relapse, ALL is difficult to treat, and survival is usually limited to a few months. Current clinical trials have been only 20% with chemotherapy and 33% with targeted therapy.^{10,11}

In a clinical trial of children and young adults with relapsed or refractory ALL, cancer went into remission within 3 months of receiving tisagenlecleucel in 52 (82%) of 63 patients, and 75% of patients remained relapse free at 6 months.^{12,13} On the basis of these findings, the FDA approved tisagenlecleucel for the treatment of children and

小児白血病



CAR T-Cell Therapy Is Effective Against Hard-to-Treat Lymphoma in Adults

CAR T cells that target CD19 have also been proven to be promising against

lymphoma. In a multicenter clinical trial of patients with DLBCL that worsened after at least two prior therapies, the cancer responded to tisagenlecleucel in 59% of 51 patients and went into remission in 43% of patients.¹⁴ At 6 months, 79% of patients had

not had a recurrence of lymphoma. Severe CRS occurred in 25% of patients, and neurologic complications in 13%.

In a recent clinical trial, patients with relapsed or refractory DLBCL, refractory primary mediastinal B cell lymphoma, or transformed follicular lymphoma, received another CAR T cell product called axicabtagene ciloleucel that also targets CD19.¹⁵ Among the first 92 patients who

were treated, the response rate was 82%, with complete remissions occurring in 54% of patients. At a median follow up of 8.7 months, 39% of patients were still in complete remission. Severe CRS occurred in 13% of patients; neurologic adverse effects occurred in 28% of patients. In late 2017, the FDA approved axicabtagene ciloleucel to treat adults with DLBCL that has not responded to, or has recurred, after at least two prior therapies.¹⁷

成人悪性リンパ腫

CAR T-Cell Therapy Sends Multiple Myeloma Into Remission

A different type of CAR T cell therapy that targets a biomarker known as B cell

Despite recent advances in treatment, multiple myeloma—a cancer of plasma cells

that make antibodies to fight infections—remains an incurable disease, with only approximately one-half of patients living 5 years after diagnosis.

In an early clinical trial, the cancer responded to BCMA CAR T cells in 33 (94%)

of 35 patients, and went into complete remission in 14 patients.¹⁸ (Updated data presented at the 2017 ASCO Annual Meeting in Chicago, IL). Only two patients experienced severe CRS, and none experienced neurologic complications from CAR T cell therapy.

多発性骨髄腫

ASCO
AMERICAN SOCIETY OF
CLINICAL ONCOLOGY

Clinical Cancer Advances 2018

米国臨床腫瘍学会
がん治療の進歩2018

ASCO'S ANNUAL REPORT ON PROGRESS AGAINST CANCER

1 Advance of the Year

ADOPTIVE CELL IMMUNOTHERAPY

This year, ASCO named adoptive cell immunotherapy as the clinical cancer Advance of the Year. After decades of research, this powerful and decidedly unique way of treating cancer has become available to certain patients with an otherwise incurable blood cancer.

CAR-T療法の課題

THE NEW ENGLAND JOURNAL OF MEDICINE

ORIGINAL ARTICLE

Long-Term Follow-up of CD19 CAR Therapy in Acute Lymphoblastic Leukemia

Jae H. Park, M.D., Isabelle Rivière, Ph.D., Mithal Gonen, Ph.D.,
 Xiuyan Wang, Ph.D., Brigitte Senechal, Ph.D., Kevin J. Curran, M.D.,
 Craig Sauter, M.D., Yongzeng Wang, Ph.D., Bianca Santomasso, M.D., Ph.D.,
 Elena Mead, M.D., Mikhail Roshal, M.D., Peter Maslak, M.D.,
 Marco Davila, M.D., Ph.D., Renier J. Brentjers, M.D., Ph.D.,
 and Michel Sadelain, M.D., Ph.D.

重篤な副作用や再発が課題

A Subgroup Analysis of Severe Cytokine Release Syndrome



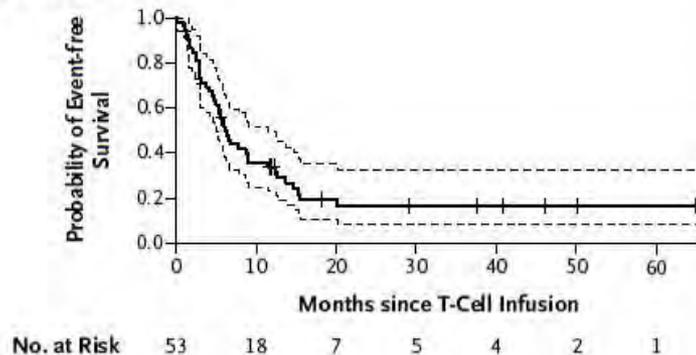
B Subgroup Analysis of Severe Neurotoxic Effects



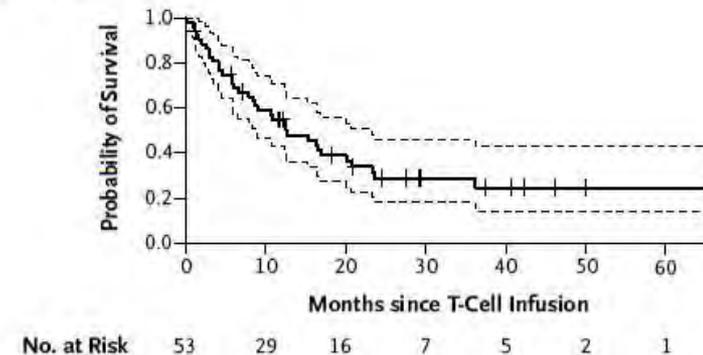
C Subgroup Analysis of Complete Remission



A Event-free Survival, All Patients



B Overall Survival, All Patients



CAR-T療法の課題



トップ 速報 社会 政治 国際 経済 スポーツ エンタメ ライフ

皇室 くらし トラベル からだ 教育 学術・アート 本 将棋 囲碁 科学 環境

白血病新薬3349万円 キムリア、保険適用へ 厚労省が方針

2019.5.14 23:45 | ライフ | からだ



高額な薬価も

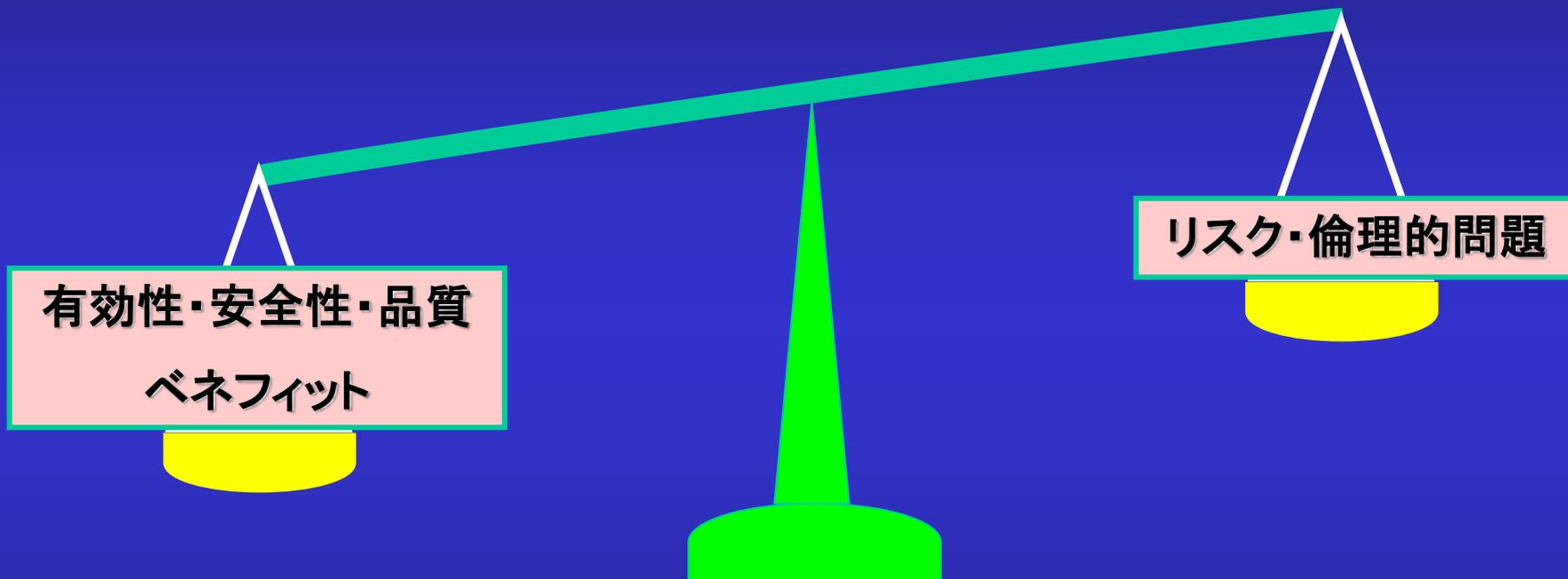


新型治療薬「キムリア」の投与バッグ（ノバルティスファーマ提供）

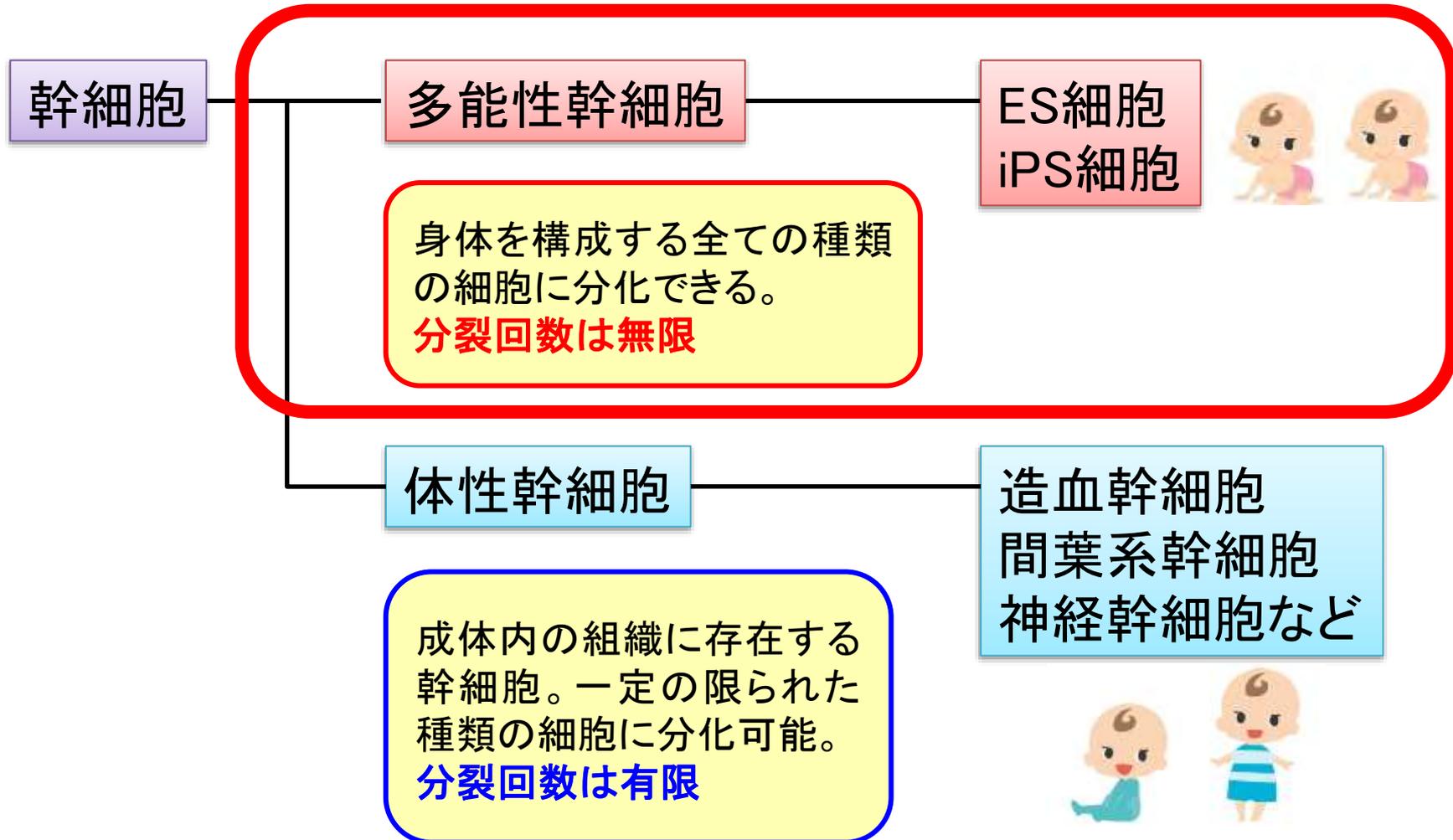
厚生労働省は14日、既存の治療法が効かない一部の白血病患者らに効果が期待される新型治療薬「キムリア」の国内価格（薬価）を、3349万円とする方針を決めた。厚労省は15日の中央社会保険医療協議会（厚労相の諮問機関）に諮る。了承されれば22日に公的医療保険の適用となる見通しだ。高額のため医療保険財政への影響を懸念する声もある。

国では5000万円超の費用がかかるため、国内価格が注目されていた。

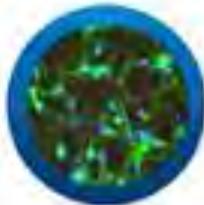
日本の公的保険は、治療費の窓口負担は通常1～3割で、月ごとの自己負担に上限を設ける「高額療養費制度」がある。キムリアが保険適用されると治療費の大部分がカバーされることになる。製薬大手ノバルティスファーマ（東京）が製造販売。米



再生医療のための「幹細胞」



ES細胞やiPS細胞からは いろいろな細胞を作ることができる



iCell®
GABA Neurons



iCell®
Gluta Neurons



iCell®
Dopa Neurons



iCell®
Motor Neurons



iCell®
Astrocytes



iCell®
Cardiac
Progenitor Cells



iCell®
Cardiomyocytes



iCell®
Hepatoblasts



iCell®
Hepatocytes



iCell®
Macrophages



iCell®
Skeletal Myoblasts



iCell®
Hematopoietic
Progenitor Cells



iCell®
Mesenchymal
Stem Cells



iCell®
Endothelial Cells



iCell®
Retinal Pigment
Epithelial Cells

iPS細胞加工物を使って病気を治す

(iPS細胞由来網膜色素上皮細胞による滲出型加齢黄斑変性の治療)



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

← 神戸新聞(2014/9/12)



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)

先端医療センターと理化学研究所発センター(同)は1細胞(iPS細胞)り、目の難病患者研究で、兵庫県内移植手術を実施した細胞が人の体に同病院は「患者のえている」とし、などの安全性や、検証する。

臨床研究は、目視力が急激に落ち出(しんしゅつ)

2017/3/28 22:27

他人iPS世界初移植 高橋氏会見「まだ始まり」

ツイート

印刷



他人のiPS細胞を使った世界初の手術を終え、記者会見する理化学研究所の高橋政代プロジェクトリーダー(右)と神戸市立医療センター中央市民病院の栗本康夫眼科部長=神戸市中央区港島南町2、同病院

他人の人工多能性幹細胞(iPS細胞)を使った世界初の移植手術が28日、神戸市立医療センター中央市民病院(同市中央区)で行われた。本人の細胞を使った1例目の移植から2年半。「夢の万能細胞」による再生医療は、他人の細胞を使う方法へとかじを切った。理化学研究所多細胞システム形成研究センターの高橋政代プロジェクトリーダーは「やっと富士山の5合目。まだ始まりのよう」と、実用化に向けて気を引き締めた。

手術から約3時間後、高橋氏が記者会見場に姿を見せた。前回の記者会見は、

臨床研究実施中
(2022年1月現在)

神戸新聞(2017/3/28)→

iPS細胞から作った分化細胞で病気を治す (iPS細胞由来角膜細胞による角膜上皮幹細胞疲弊症治療)



時事ドットコムニュース > 社会 > iPS角膜、世界初の移植＝大阪大、安全性や視力回復を検証



臨床研究実施中
(2022年1月現在)

iPS角膜、世界初の移植＝大阪大、安全性や視力回復を検証

2019年08月29日19時04分

さまざまな細胞に変わる人工多能性幹細胞（iPS細胞）から角膜の細胞を作り、けがや病気で角膜が傷ついた患者に移植する臨床研究を進めている大阪大は29日、患者1人に移植を行ったと発表した。iPS細胞から作った角膜の細胞を移植したのは世界で初めて。

移植を受けたのは、角膜を作り出す幹細胞が失われ、角膜が濁って視力が低下する「角膜上皮幹細胞疲弊症」の40代の女性患者。阪大の西田幸二教授（眼科）らのチームは、京都大から健康な人のiPS細胞の提供を受け、角膜の細胞に変化させて、厚さ0.03～0.05ミリのシート状にした。移植手術は7月25日に阪大病院で、患者の左目に行った。

チームによると、現時点で拒絶反応はみられず、患者は今月23日に退院。手術前は失明に近い状態だったが、日常生活に支障がない程度に視力が回復した。



人工多能性幹細胞（iPS細胞）から作った角膜細胞シートの移植について、記者会見する大阪大の西田幸二教授＝29日午後、大阪府吹田市

iPS細胞加工物を使って病気を治す (iPS細胞由来血小板による再生不良貧血の治療)



iPS血小板、初の輸血成功 京大

2020.3.25 15:34 | ライフ | 科学 | iPS細胞



人工多能性幹細胞（iPS細胞）から血液の成分である血小板を作り、血小板が減少する難病患者に輸血する臨床研究について、京都大の研究チームは25日、輸血を実施したと発表した。iPS細胞を使った輸血の臨床研究は世界初としている。

輸血は昨年5月から今年1月にかけて計3回、京都市内の同大付属病院で、再生不良性貧血の患者を対象に行った。性別や年齢は明らかにしていない。重大な副作用などはなく、輸血自体は成功したという。平成30年9月、厚生労働省が臨床研究の実施を承認していた。

輸血を指揮した高折晃史教授は「副作用もなく、輸血が無事に終わってほっとしている。今後は安全性、有効性を確認して実用化に結びつけ、新しい治療法を早く患者に届けたい」と話した。

臨床研究実施中
(2022年1月現在)

iPS細胞加工物を使って病気を治す (iPS細胞由来神経前駆細胞による脊髄損傷の治療)



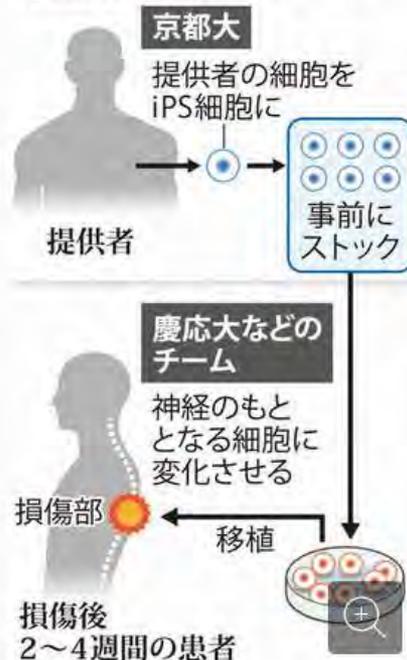
iPS細胞で世界初の脊髄損傷治療 慶応大チーム実施、経過良好

総編あり | 社会 | 暮らし・学び - 医療 | 速報 | 医療・健康

毎日新聞 | 2022/1/14 14:00 (最終更新 1/14 19:15) | 897文字



iPS細胞を使った脊髄損傷治療のイメージ



iPS細胞を使った脊髄損傷治療のイメージ

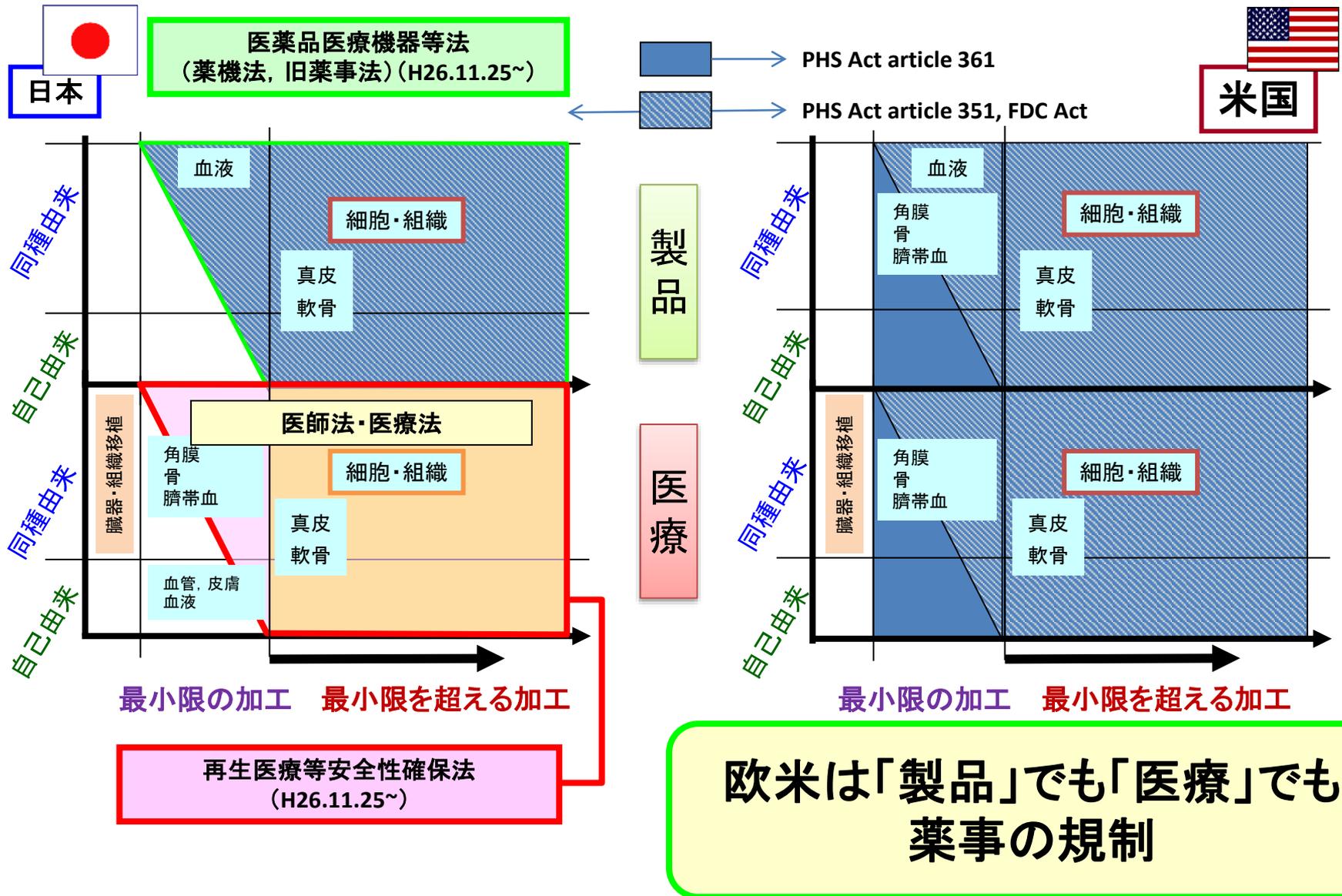
慶応大は14日、iPS細胞（人工多能性幹細胞）から作った神経細胞のもととなる細胞を脊髄（せきずい）損傷患者に移植する手術を昨年12月に実施したと発表した。iPS細胞を使った脊髄損傷治療は世界初。術後3週目までの経過は良好という。1年かけて安全性を確かめる。治療法として国の承認を得るための臨床研究計画の1例目で、さらに3人に移植する。研究チームは「実用化までに少なくとも3~5年かかる」との見通しを示した。

計画は、慶応大の岡野栄之（ひでゆき）教授（生理学）らのチームが2019年に国の承認を受けた。脊髄損傷は脳と体をつなぐ神経の束である脊髄が事故などで傷つき、損傷部位より先の運動機能や感覚がまひする。

細胞を移植することで、脳の信号を伝える組織を新たに作ったり、傷ついた神経回路の修復を促したりして運動機能や感覚の回復を目指す。今回は脊髄損傷から2~4週間経過した患者が手術を受けた。

臨床研究実施中
(2022年1月現在)

再生医療・細胞治療の規制の枠組み



iPS細胞から作った分化細胞で病気を治す (iPS細胞由来神経細胞によるパーキンソン病の治療)



パーキンソン病のiPS治療、1例目実施 京大病院、50代男性に細胞240万個移植

2018.11.9 13:54



記者会見する京都大の高橋淳教授(右)ら=9日午後、京都市

薬事試験実施中
(2022年1月現在)



人の人工多能性幹細胞(iPS細胞)から神経のもとになる細胞を作り、パーキンソン病患者の脳内に移植する計画について、京都大は9日、1例目の臨床試験(治療)に着手し、患者1人に移植を実施したと発表した。京大によると、iPS細胞を利用したパーキンソン病患者に対する治療は世界初。術後も良好といい、高橋淳教授は記者会見で「患者さんに敬意を表したい。これからは企業と協力してiPS細胞から作った神経細胞を量産化する態勢を作っていきたい」と話した。



←産経新聞
(2018/11/9)

iPS細胞加工物を使って病気を治す (iPS細胞由来心筋細胞による心不全の治療)



iPS再生医療、心臓で世界初の手術実施 阪大

2020/1/27 18:32

📄 保存 📧 共有 🖨️ 印刷 🗨️ 📄 🐦 📘 その他 ▼

大阪大学の澤芳樹教授らは27日、iPS細胞から育てた心臓の細胞をシート状にし、重症心不全患者に移植する世界初の手術をしたと発表した。医師主導臨床試験（治験）として1月に実施し、経過は順調だという。今後3年で10人の患者に移植して安全性や有効性を調べる。iPS細胞を使う再生医療は目の難病などで移植手術が始まっているが、命に関わる心臓病で治療効果が確認されるかが注目される。



薬事治験実施中
(2022年1月現在)

iPS細胞を使った心臓再生医療の臨床試験の一内容実施について説明する阪大の澤芳樹教授（左）ら（1月27日、大阪府吹田市）

<https://www.nikkei.com/article/DGXMZO54894860X20C20A100000/>

ES細胞加工物を使って病気を治す

(ES細胞由来肝細胞による先天性アンモニア代謝異常症の治療)



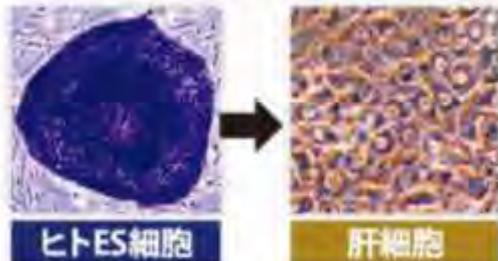
ES細胞国内初治験成功 重い病の赤ちゃんに肝細胞移植 成育研

薬事治験実施中
(2021年1月現在)

産経新聞 産経新聞 2020年5月21日 00時00分 (開始更新 5月21日 00時00分)

社会 > 科学・技術 > サイエンス > 速報 > 政治プレミアタイムライン

ヒトES細胞由来の肝細胞移植の流れ



高アンモニア血症の赤ちゃんに投与

肝細胞が肝臓に届き、アンモニアを分解

※国立成育医療研究センターの資料を基に作成

国立成育医療研究センター（東京）は、ヒトES細胞（胚性幹細胞）から作った肝細胞を重い肝臓病の赤ちゃんに移植して治療する臨床試験（治験）に成功したと発表した。センターによると、ヒトES細胞を使った治験は日本初。ES細胞由来の肝細胞をヒトへ移植したのは世界でも初めてだという。

治験の対象は、有毒なアンモニアを肝臓で分解できない先天性尿素サイクル異常症で「高アンモニア血症」となった赤ちゃん。同異常症の発症頻度は、8000～4万4000人に1人だという。重症の場合、根本的な治療には肝臓移植が必要だが、新生児は重い合併症の恐れがあり、体重6キログラム以上になる生後数カ月を経なければ安全な手術ができない。



ヒトiPS/ES細胞を使った再生医療の開発



国内で実施が承認されたヒトiPS/ES細胞加工物を使用した臨床研究及び治験 [2022年1月現在]

移植細胞	原料ヒト細胞	適応疾患	実施施設	臨床研究/治験	実施承認	FIH試験
網膜色素上皮細胞	自己iPS細胞	滲出型加齢黄斑変性	先端医療センター病院	臨床研究	2013	2014
網膜色素上皮細胞	同種iPS細胞	滲出型加齢黄斑変性	神戸市立医療センター <i>etc.</i>	臨床研究	2017	2017
ドパミン神経前駆細胞	同種iPS細胞	パーキンソン病	京都大学	医師主導治験	2018	2018
血小板	自己iPS細胞	再生不良性貧血	京都大学	臨床研究	2018	2019
角膜上皮細胞	同種iPS細胞	角膜上皮幹細胞疲弊症	大阪大学	臨床研究	2019	2019
肝細胞	ES細胞(同種)	先天性尿素サイクル異常症	国立成育医療研究センター	医師主導治験	2019	2019
心筋細胞	同種iPS細胞	虚血性心筋症	大阪大学	医師主導治験	2019	2020
神経前駆細胞	同種iPS細胞	脊髄損傷	慶応義塾大学 <i>etc.</i>	臨床研究	2019	2021
網膜視細胞	同種iPS細胞	網膜色素変性症	神戸市立神戸アイセンター病院	臨床研究	2020	2020
NKT細胞	同種iPS細胞	再発・進行頭頸部がん	千葉大学・理化学研究所	医師主導治験	2020	2020
軟骨	同種iPS細胞	膝関節軟骨損傷	京都大学	臨床研究	2020	(2021)*
心筋細胞	同種iPS細胞	拡張型心筋症	慶応義塾大学	臨床研究	2020	-
網膜色素上皮細胞	同種iPS細胞	網膜色素上皮不全症	神戸市立神戸アイセンター病院	臨床研究	2021	2021
NK細胞	同種iPS細胞	卵巣がん	京都大学・国立がん研究センター	医師主導治験	2021	2021
角膜内皮細胞	同種iPS細胞	水疱性角膜症	慶応義塾大学	臨床研究	2021	-

出典: 安田智 医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス 2021;52:234-239 (佐藤が一部改変)

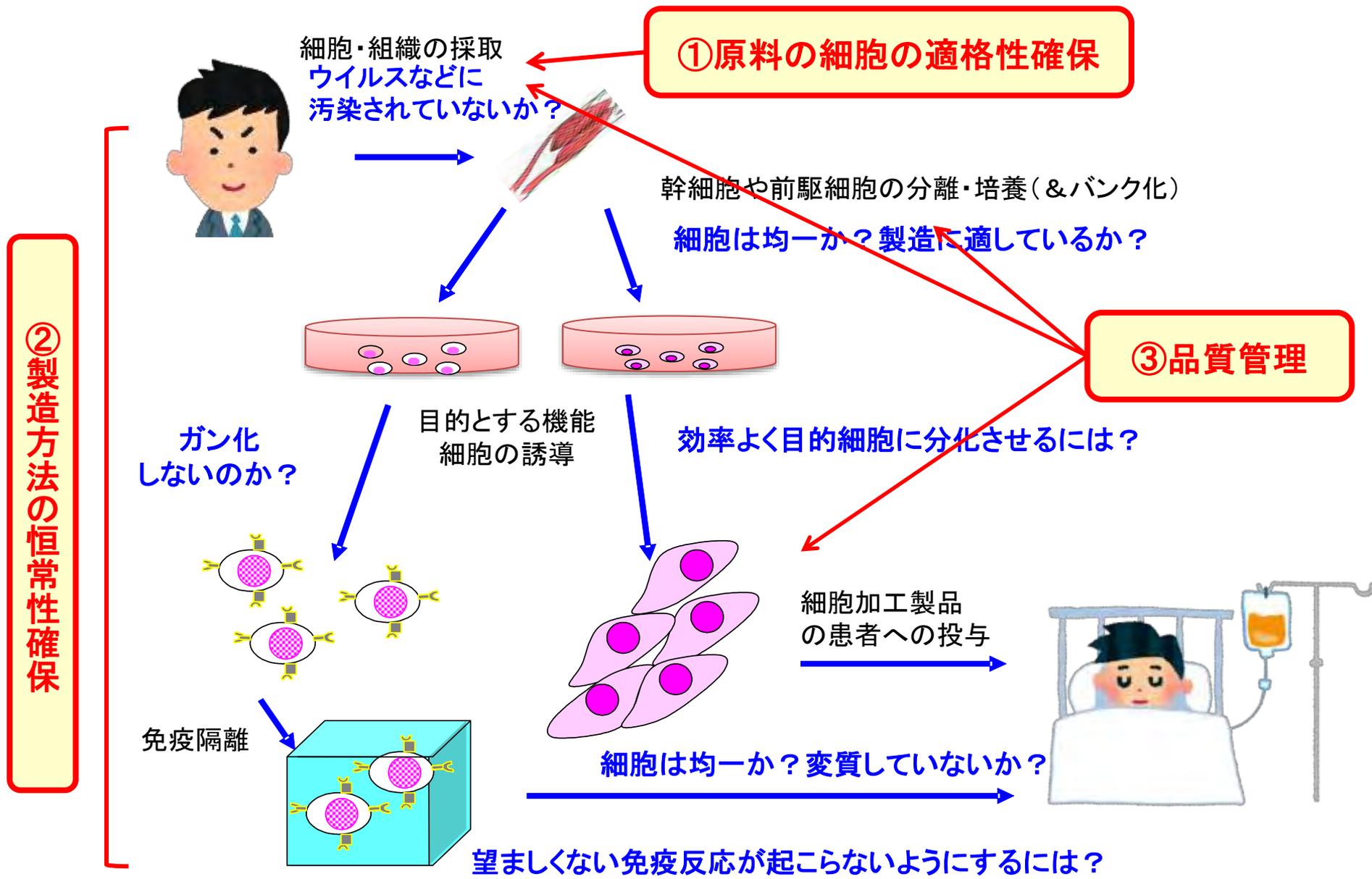
* 新聞報道によるもの

Agenda

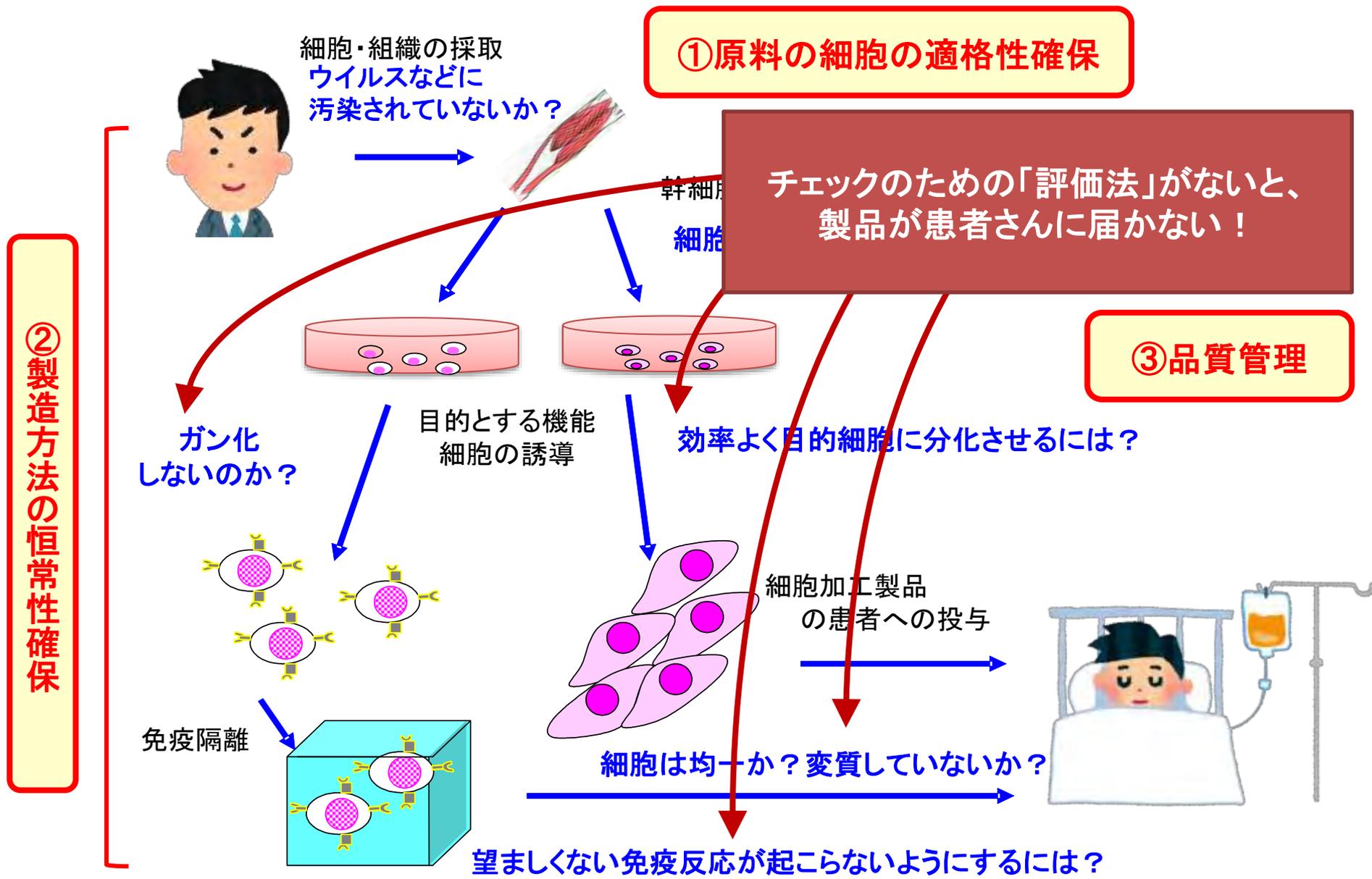
- I. 「レギュラトリーサイエンス」とは何か？

- II. 再生医療・細胞治療に関するレギュラトリーサイエンス
 - ① 「再生医療」「細胞治療」「再生医療等製品」とは
 - ② 「幹細胞」と再生医療・細胞治療
 - ③ 再生医療等製品(細胞加工製品)の品質と安全性の確保

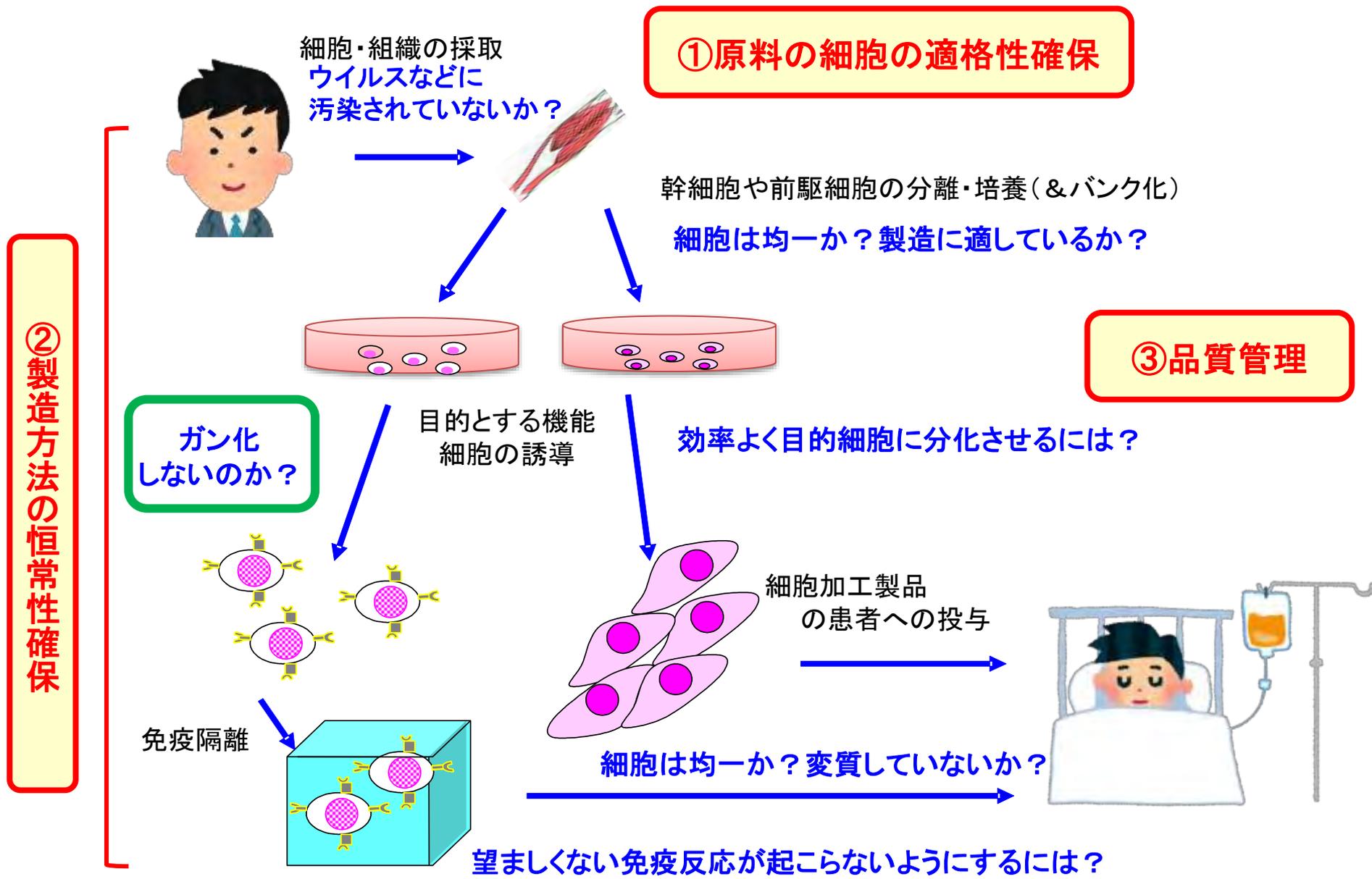
細胞加工製品(再生医療等製品)の品質・有効性・安全性の確保



細胞加工製品(再生医療等製品)の品質・有効性・安全性の確保



細胞加工製品(再生医療等製品)の品質・有効性・安全性の確保



再生医療等製品(細胞加工製品)の造腫瘍性評価の問題点

再生医療等製品(細胞加工製品)は生きた細胞を含む

＝製品中の細胞が異常増殖をして腫瘍を形成する恐れ

・・・ここまでは誰もが理解できる



では、どうすれば造腫瘍性の評価ができるのか？

・・・実はよく知られていない



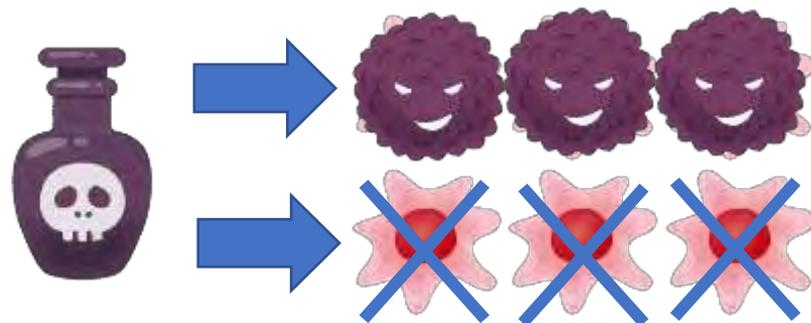
先端医療（再生医療等）の実用化で必要なこと

①「新しい製品には新しい考え方を」

低分子医薬品の毒性 vs. 細胞加工製品の造腫瘍性

- 低分子医薬品の毒性

低分子医薬品の体(細胞・組織・臓器)に対する悪影響

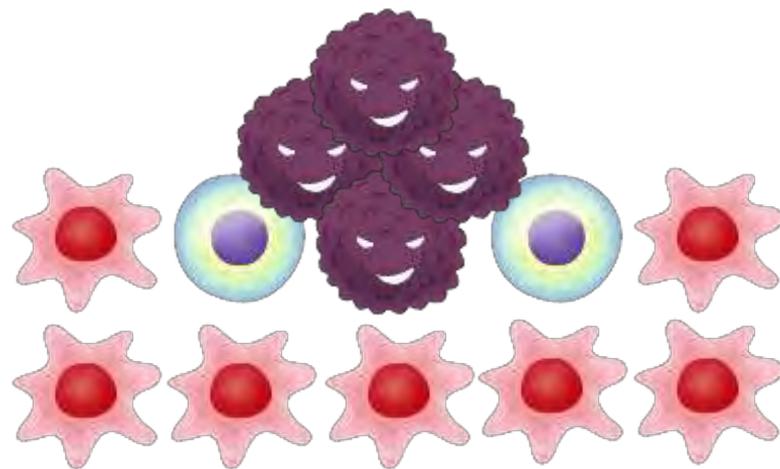


新しいタイプのリスク
= 従来の評価法が
そのまま使えるとは限らない

- 細胞加工製品の造腫瘍性

ヒトの体に移植した細胞集団が、

自ら増殖することにより腫瘍を作ってしまう能力



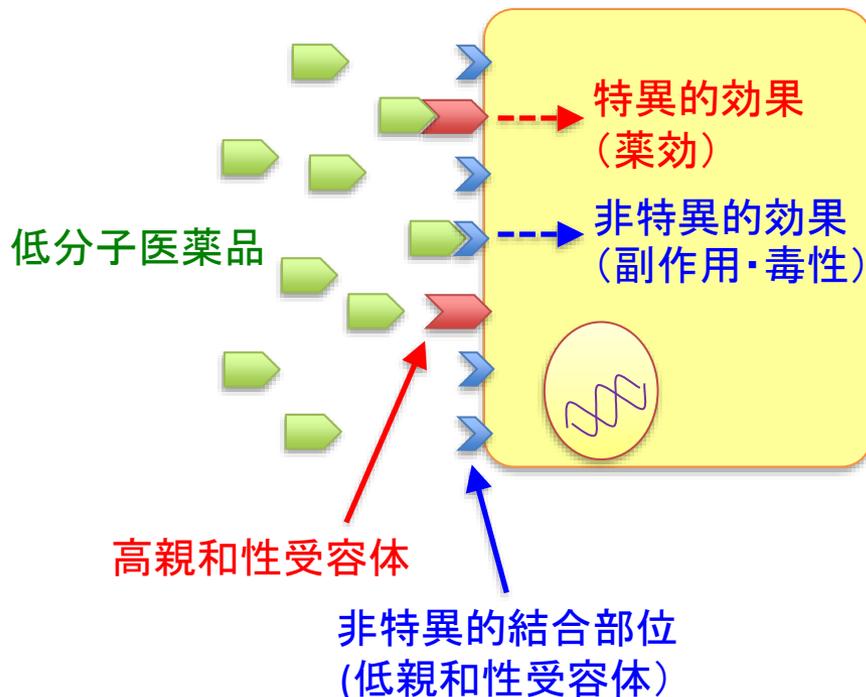
従来の低分子医薬品の毒性学の考え方を、 細胞加工製品の *in vivo* 造腫瘍性試験に当てはめてはいけない

低分子医薬品の
毒性学

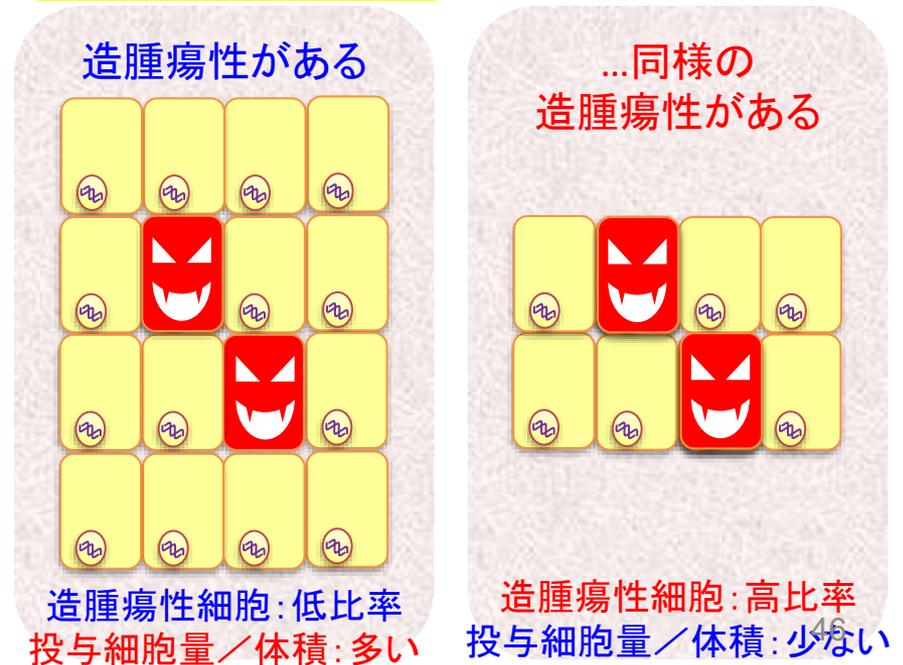
サイエンスが
全く異なる

細胞加工製品の
造腫瘍性試験

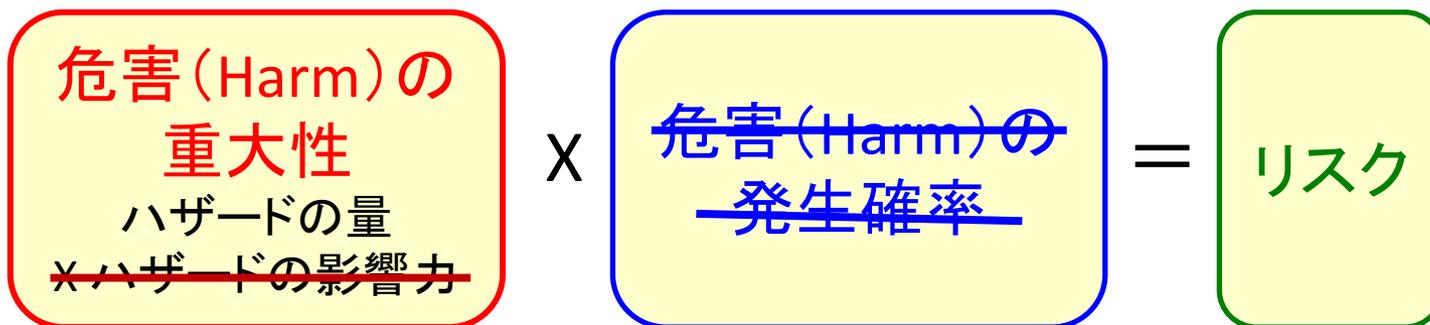
副作用・毒性の主な原因は、
一定濃度(高濃度)の低分子医薬品が、細胞の
非特異的結合部位(低親和性受容体)に「質量
作用の法則」に従って結合することによる。



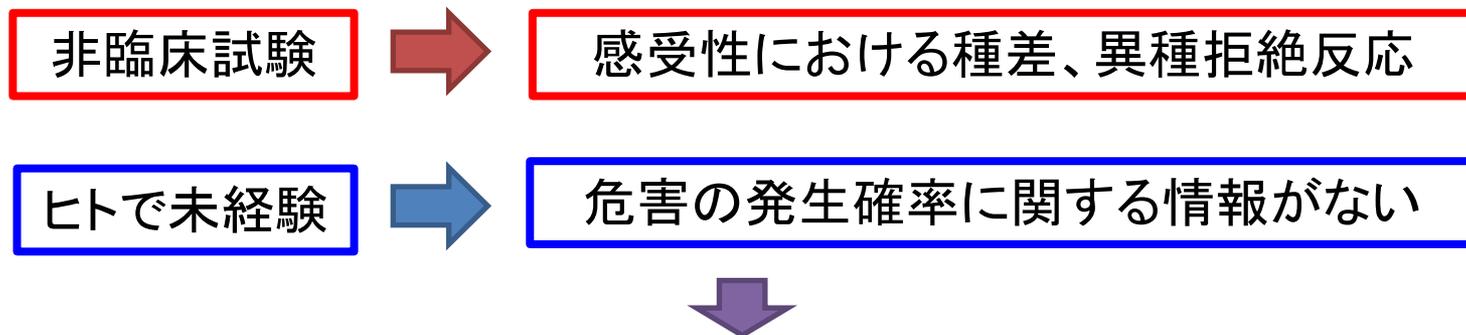
造腫瘍性の主な原因は、
造腫瘍性細胞の存在(または発生)である。
製品の造腫瘍性を決定するのは、生着環境に
おける製品細胞(に含まれる造腫瘍性細胞)の
絶対数であり、製品細胞の濃度(体積換算の
相対細胞数)ではない。



全く新しいヒト細胞加工製品の臨床試験の開始前に リスク緩和策として何ができるか？／何が重要か？



ヒト細胞加工製品の場合



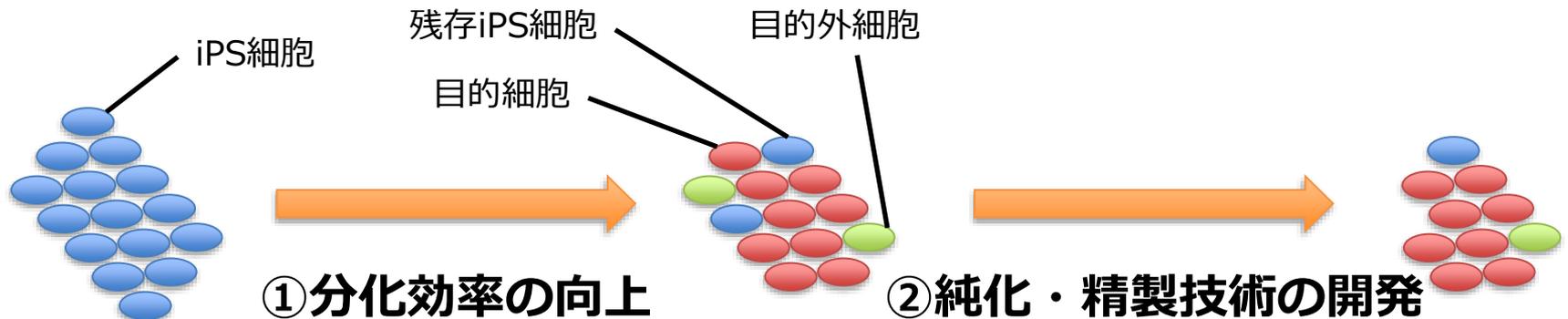
ヒト細胞加工製品のリスク緩和のための基本戦略は...

ハザードを同定・定量し、可能な範囲で低減すること

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(危害要因)

- **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

先端医療（再生医療等）の実用化に必要なこと

②「目的に適った評価法を探す・作る」

開発・審査のバイオニア期

「ヒト(同種)由来細胞・組織加工医薬品等の品質及び安全性の確保に関する指針に係るQ&Aについて」(平成20年, 厚労省審査管理課事務連絡)より

腫瘍形成及びがん化の可能性について考慮し明らかにすることとされているが、どのようにすれば良いのか。

細胞・組織の由来、加工方法等を考慮し、また、これまでに得られている知見を踏まえて、例えば、以下のような方法により、腫瘍形成及びがん化の可能性について評価すること。

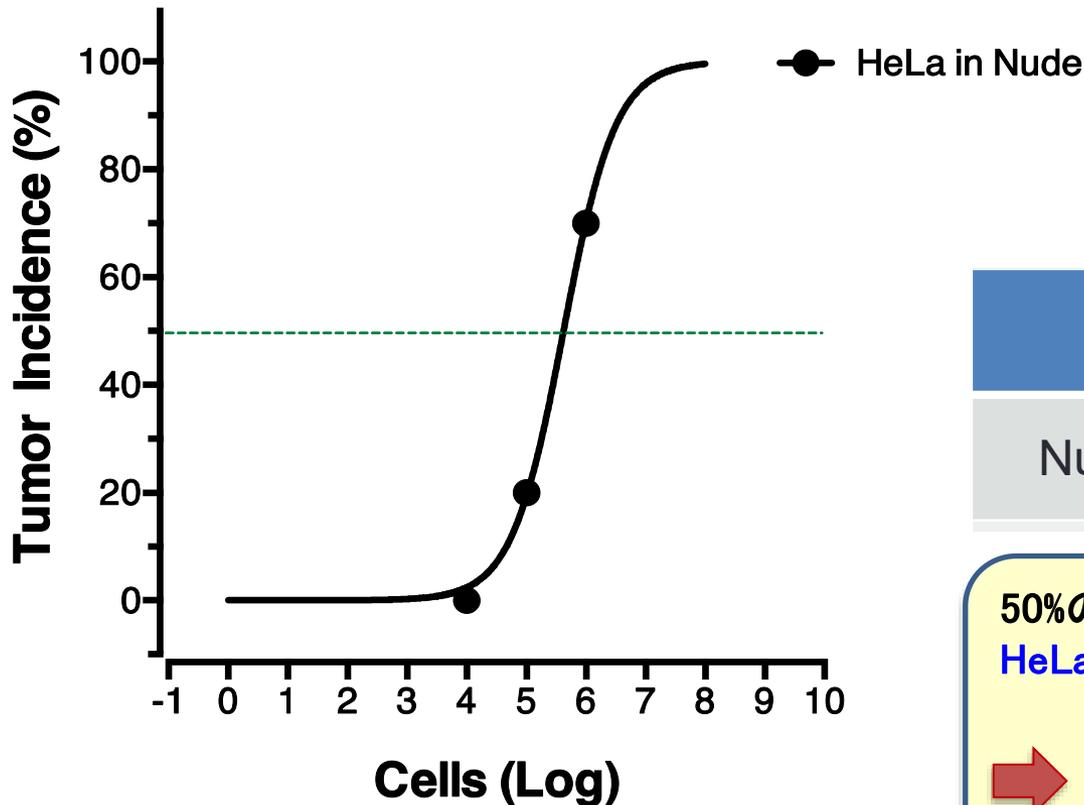
- ・ 核型分析
- ・ 継代数を重ね培養しても細胞特性に変化がないことの確認
- ・ 軟寒天培地法
- ・ 免疫不全動物の皮下に細胞を移植し腫瘍形成の有無の確認

HeLa細胞単独皮下投与試験 (WHO TRS 978で推奨のヌードマウス試験の感度)

WHO TRS 978: 生物製剤*製造時に細胞基材として用いられる細胞株の品質評価ガイドライン
(*再生医療製品の品質・安全性評価は対象外)



Nodule Formation 16 weeks after Subcutaneous Administration



	TPD50
Nude	4.0×10^5

50%の確率で腫瘍を形成させるためでも
HeLa細胞が40万個も必要

➡ 細胞加工製品の品質・安全性評価
には十分な感度とは言えない

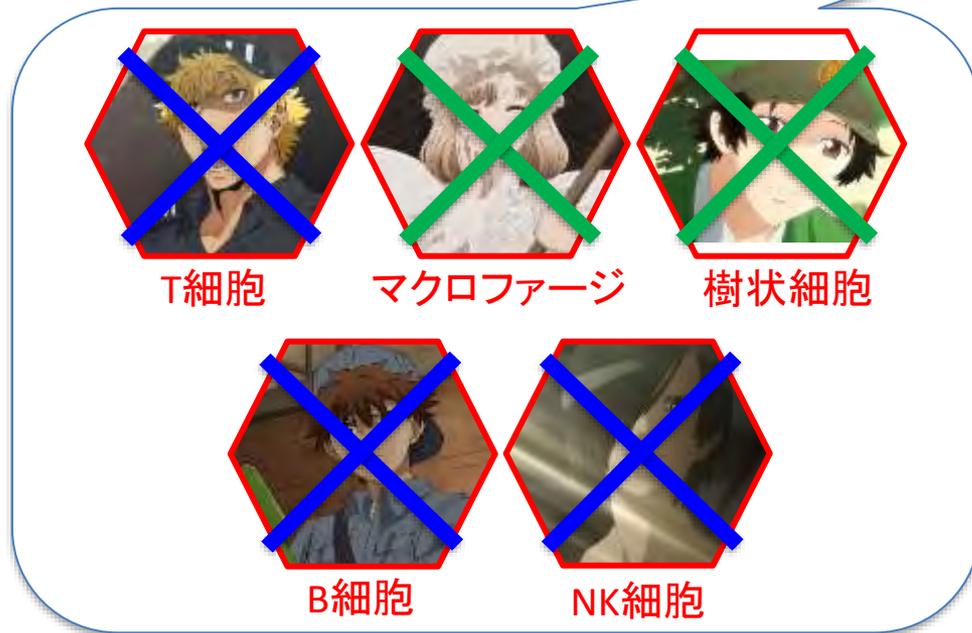
重度免疫不全動物への移植実験

(公財)実験動物中央研究所との共同研究

ヒト由来の細胞の造腫瘍性を動物実験で確認するには動物側の免疫拒絶を押さえておく必要がある。

NOD.Cg-Prkdcscid Il2rgtm1Sug/Jicマウス (NOGマウス) は、(公財)実験動物中央研究所で開発されたマウス系統で、

免疫系の細胞が無いまたは重度機能不全を起こしている
=ヒトの細胞を移植しても、拒絶反応が少ない



残存iPS細胞あり



ヒト由来細胞

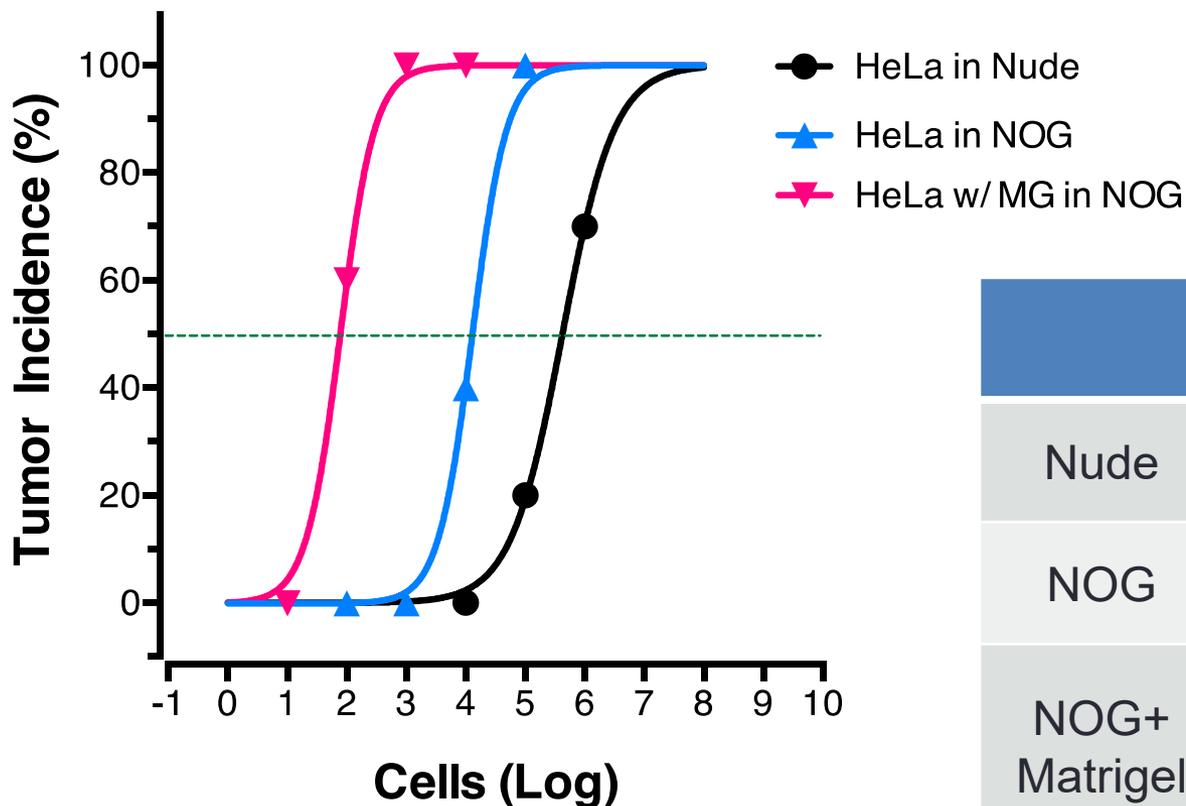
残存iPS細胞なし



HeLa細胞単独皮下投与試験(ヌードマウスとの感度の比較)



Nodule Formation 16 weeks after Subcutaneous Administration



	TPD50	Fold
Nude	4.0×10^5	1
NOG	1.3×10^4	25
NOG+ Matrigel	7.9×10	5,000

先端医療（再生医療等）の実用化に必要なこと

③「各評価法の能力と限界を知る」

開発・審査のバイオニア期

「ヒト(同種)由来細胞・組織加工医薬品等の品質及び安全性の確保に関する指針に係るQ&Aについて」(平成20年, 厚労省審査管理課事務連絡)より

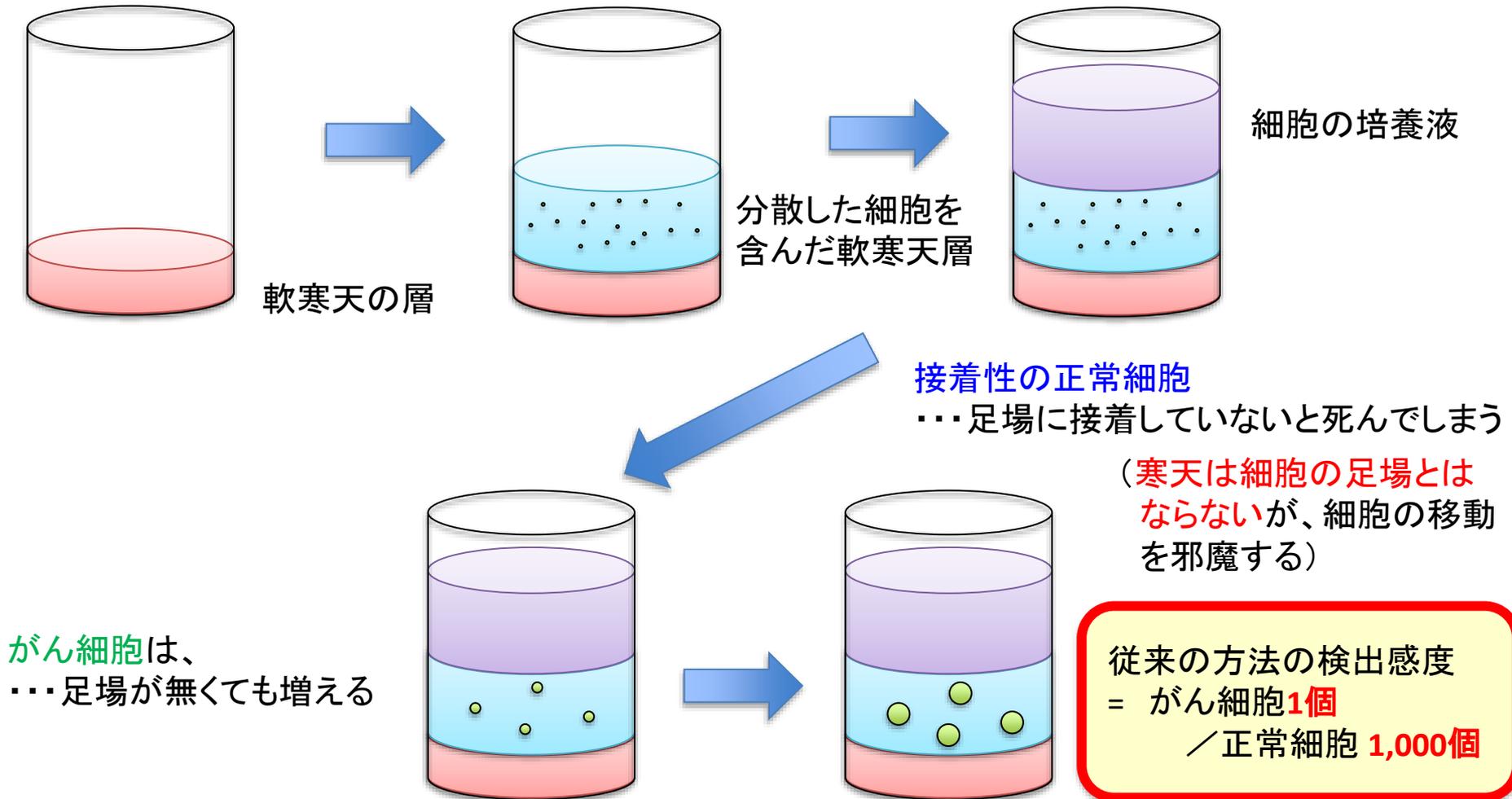
腫瘍形成及びがん化の可能性について考慮し明らかにすることとされているが、どのようにすれば良いのか。

細胞・組織の由来、加工方法等を考慮し、また、これまでに得られている知見を踏まえて、例えば、以下のような方法により、腫瘍形成及びがん化の可能性について評価すること。

- ・ 核型分析
- ・ 継代数を重ね培養しても細胞特性に変化がないことの確認
- ・ 軟寒天培地法
- ・ 免疫不全動物の皮下に細胞を移植し腫瘍形成の有無の確認

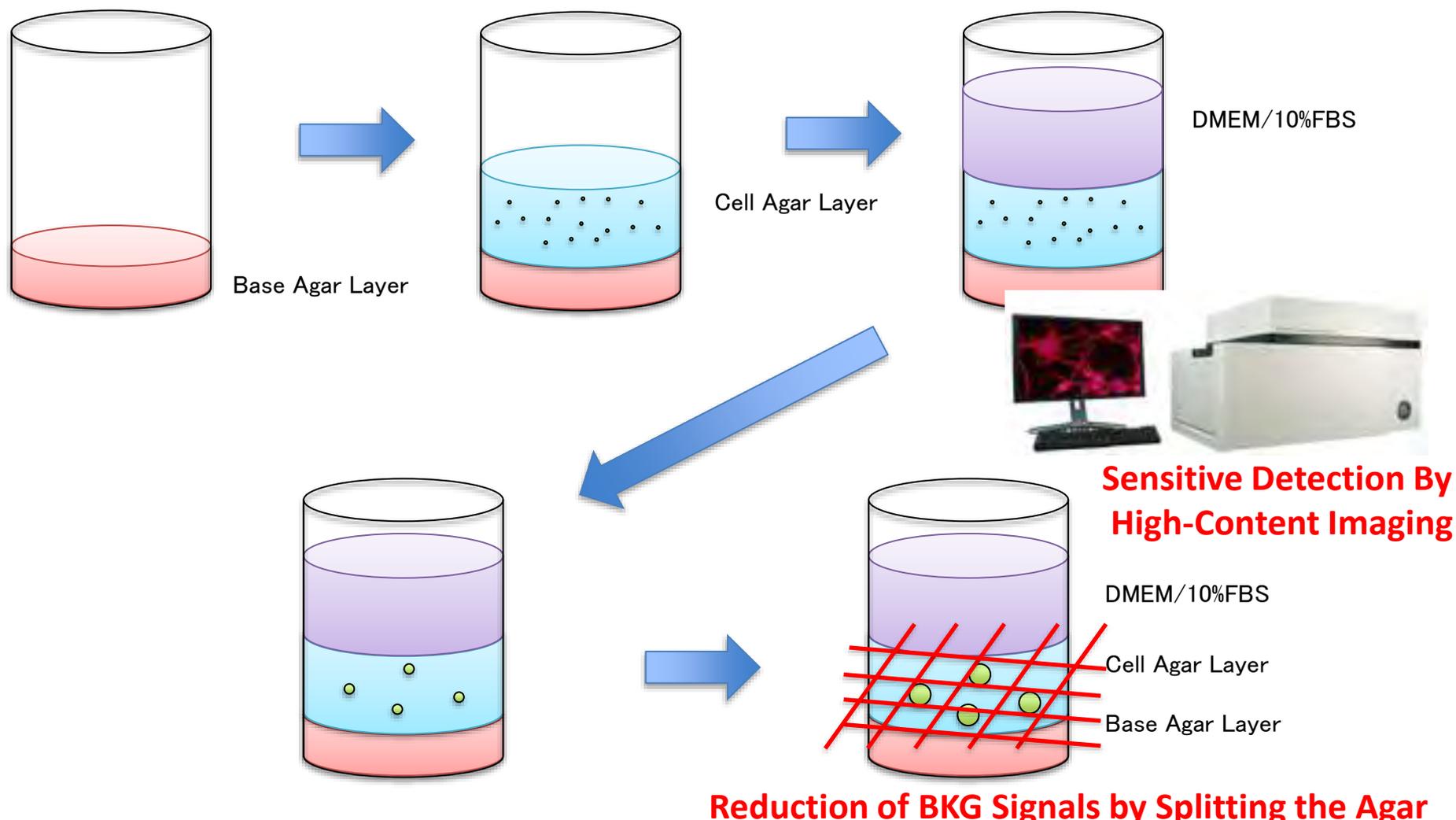
軟寒天コロニー形成試験

試験目的: 足場非依存的増殖(悪性形質転換細胞)の検出



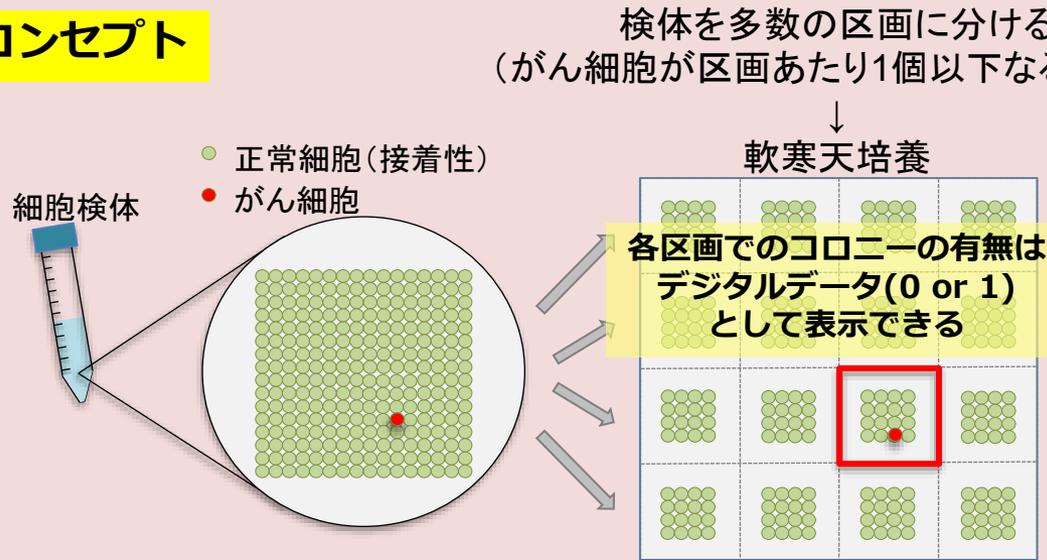
軟寒天コロニー形成試験の大幅な改良

試験目的: 足場非依存的増殖(悪性形質転換細胞)の検出



デジタル軟寒天コロニー形成試験：感度向上の取り組み

コンセプト



一般に、検出シグナルの強さ(S)とバックグラウンド・ノイズの強さ(N)の比率(S/N)が高いほど、感度がよい

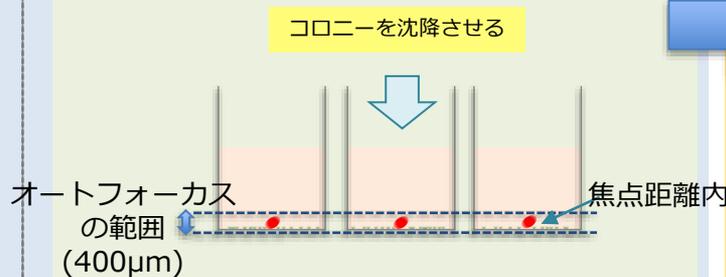
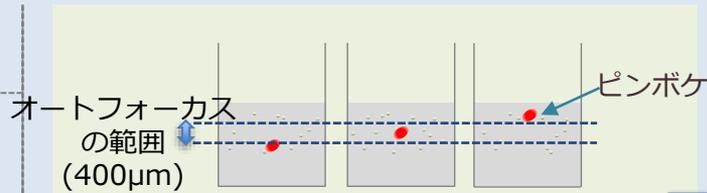
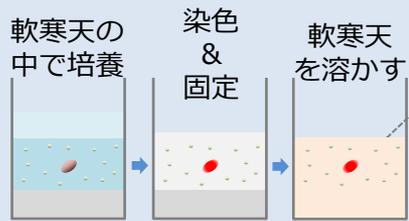
低 S/N 比



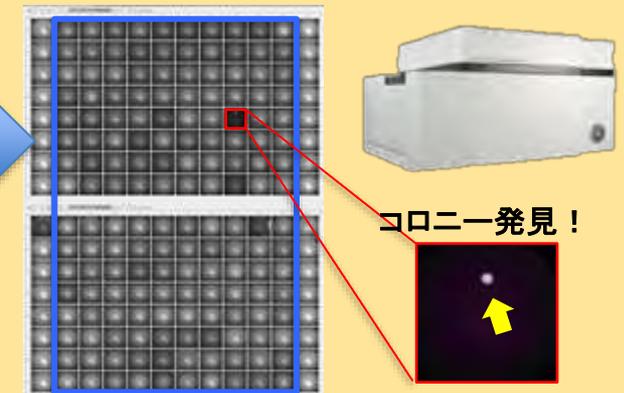
高 S/N 比

測定方法

軟寒天培養 & サンプル調製



高容量の細胞イメージ測定装置を使ってコロニーを検出

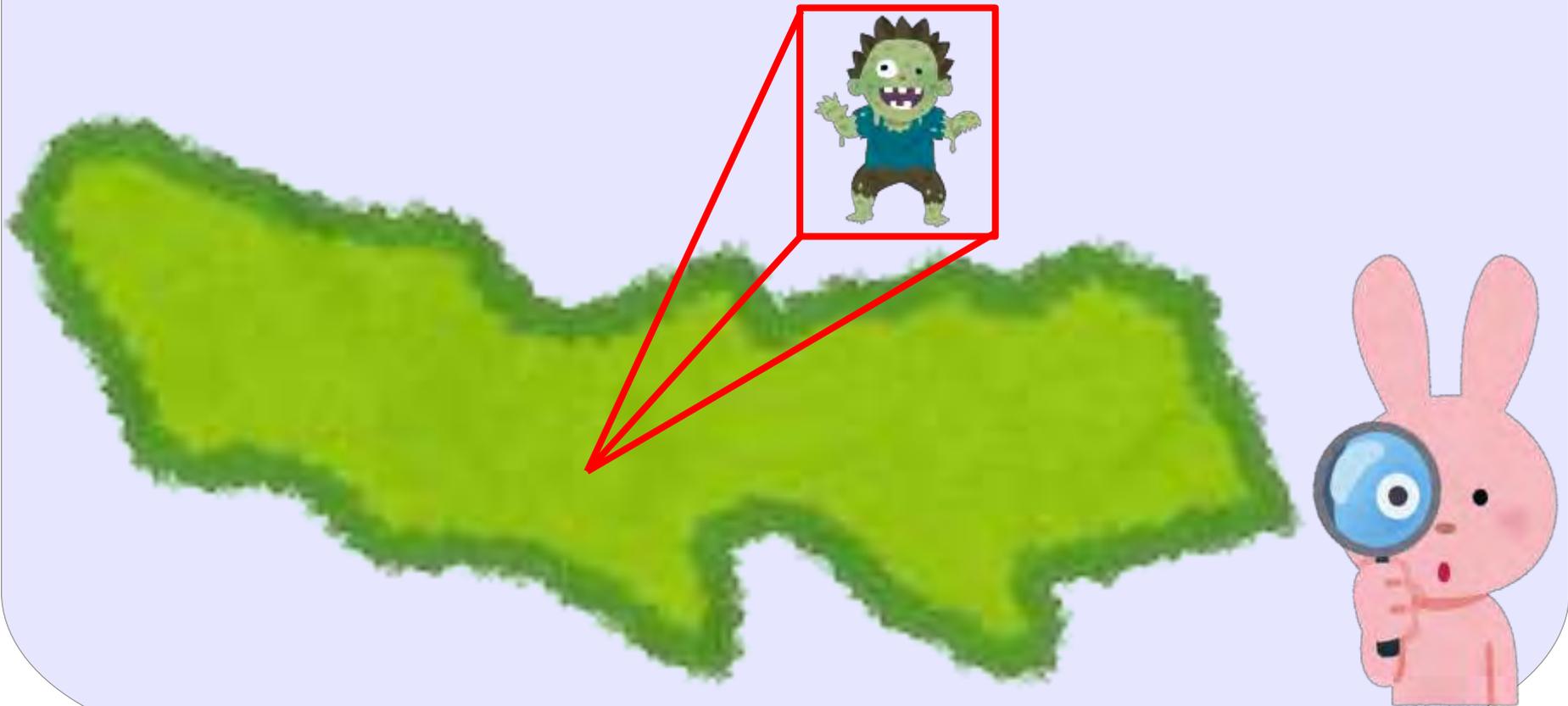


正常細胞中に微量に混在するがん細胞を検出する技術

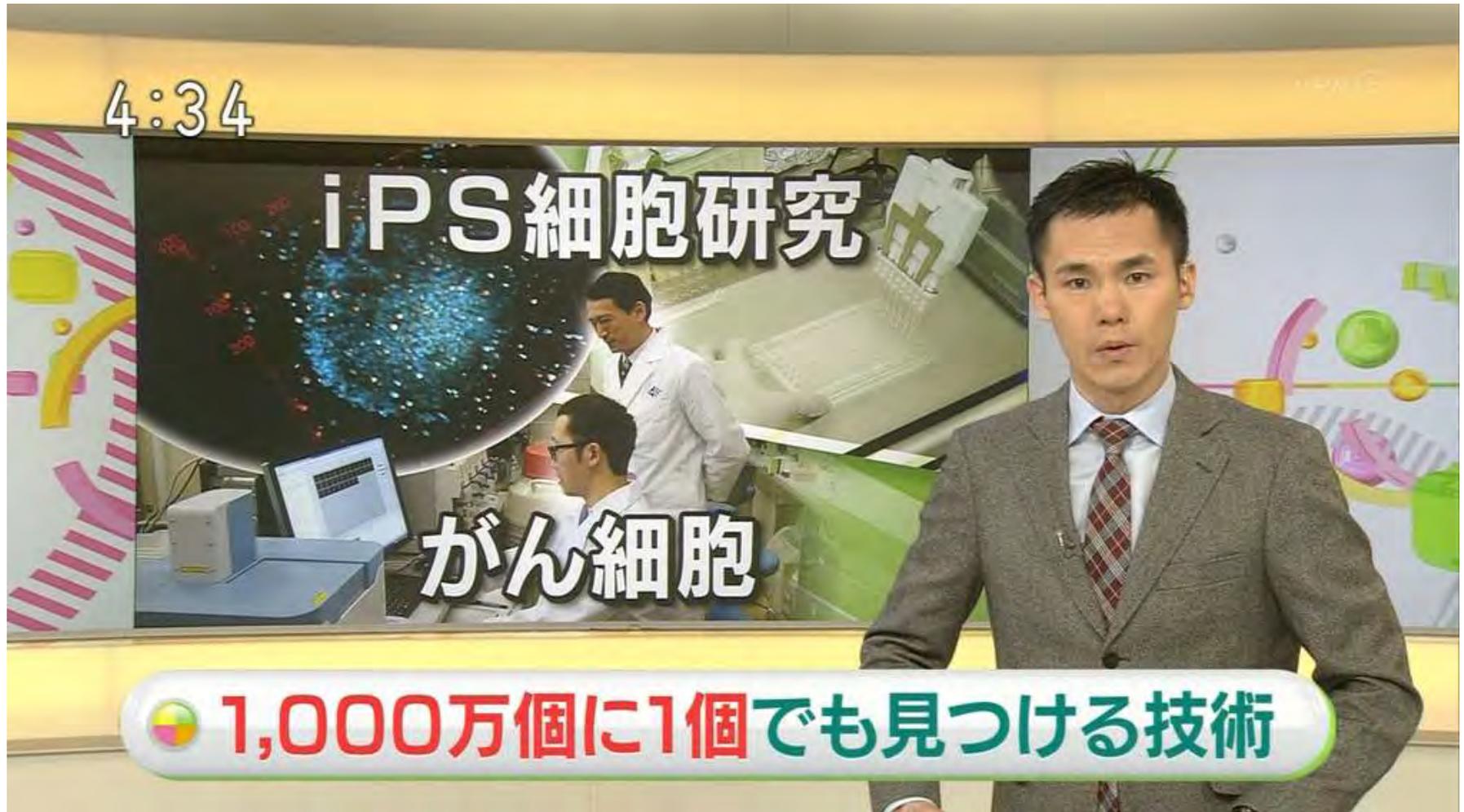
(1000万分の1の割合で混在するがん細胞を検出することが可能に)

イメージ:

東京都(人口約 1,400 万人)の中から1人のゾンビを見つけ出すことが可能な技術



正常細胞集団中に混入する**悪性形質転換細胞**の超高感度検出法
(従来の軟寒天コロニー形成試験の感度を1万倍向上)



2016年3月4日 NHKニュース

混在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 	<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・留意点	<ul style="list-style-type: none"> 費用と時間がかかる 専用動物施設が必要 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)
検出限界 または 検出能力	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。脂肪由来幹細胞に $1/1E+5$ (0.001%) の割合で混在する不死化脂肪由来幹細胞は検出可能
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&2017 Hasebe-Takada <i>et al.</i> , <i>Regen Ther.</i> 2016

道具・手段の「能力と限界を知る」ことが大切



SR Lv 1 COST 9

近接 トリケロス
ビーム格闘 960 + 0

遠隔 ランサーダート
物理射撃 900 + 0

特殊 フェイスシフト

装甲 860 + 0
機動力 19 + 0
占拠力 6 + 0
演算力 14 + 0

Exp 0
Next 2
EN MAXまで -

出撃可能
100 200 300 1 回

OK



SR LV 1 COST 9

近接 ビームサーベル
ビーム格闘 1001 + 0

遠隔 ビームライフル
ビーム射撃 1001 + 0

特殊 マグネットコーテ

装甲 960 + 0
機動力 19 + 0
占拠力 6 + 0
演算力 11 + 0

Exp 0
Next 2
EN MAXまで -

出撃可能
100 200 300 1 回

OK



SR LV 1 COST 8

近接 ヒートホーク
物理格闘 860 + 0

遠隔 ザクバズーカ
物理射撃 900 + 0

特殊 -

装甲 732 + 0
機動力 21 + 0
占拠力 9 + 0
演算力 11 + 0

Exp 0
Next 2
EN MAXまで -

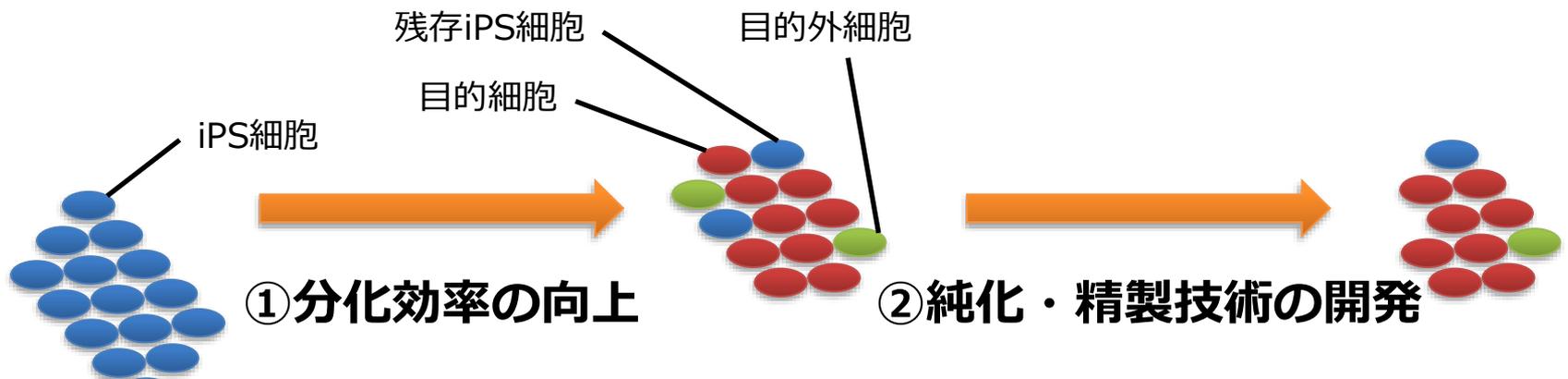
出撃可能
100 200 300 1 回

OK

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(危害要因)

- **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

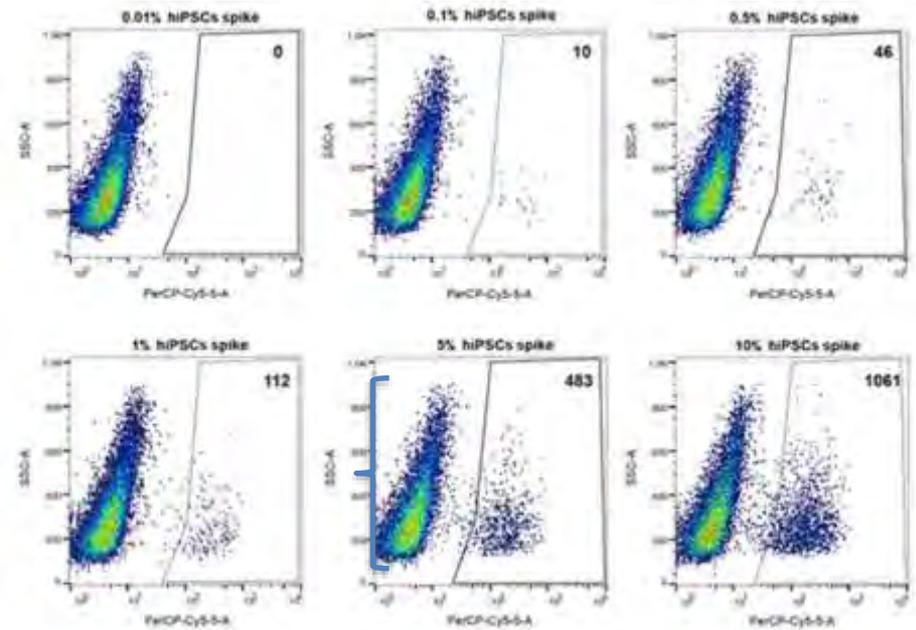
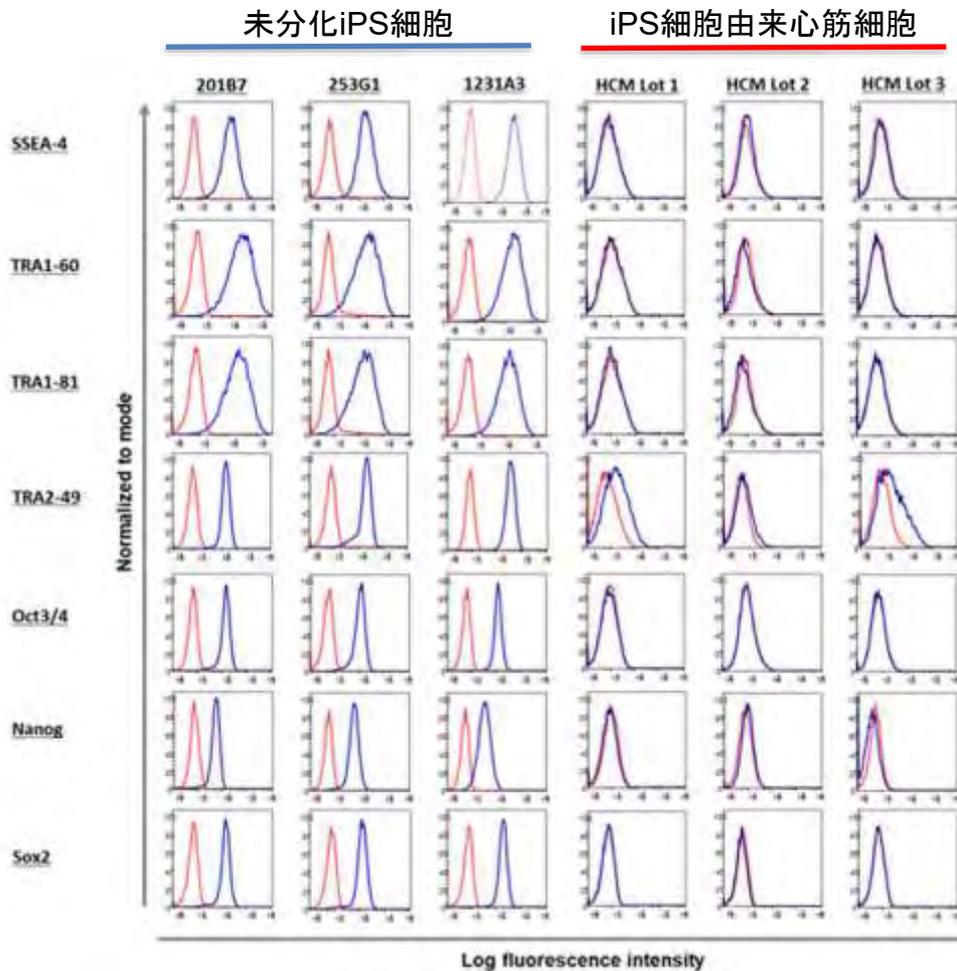


③製品の「実用化」には、未分化ES/iPS細胞や造腫瘍性形質転換細胞の
除去・残留を確認する試験法が不可欠

ヒトiPS細胞に由来する分化細胞(心筋細胞)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

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リーによる評価

iPSC:心筋細胞=1:1,000 (0.1%) の混在を検出



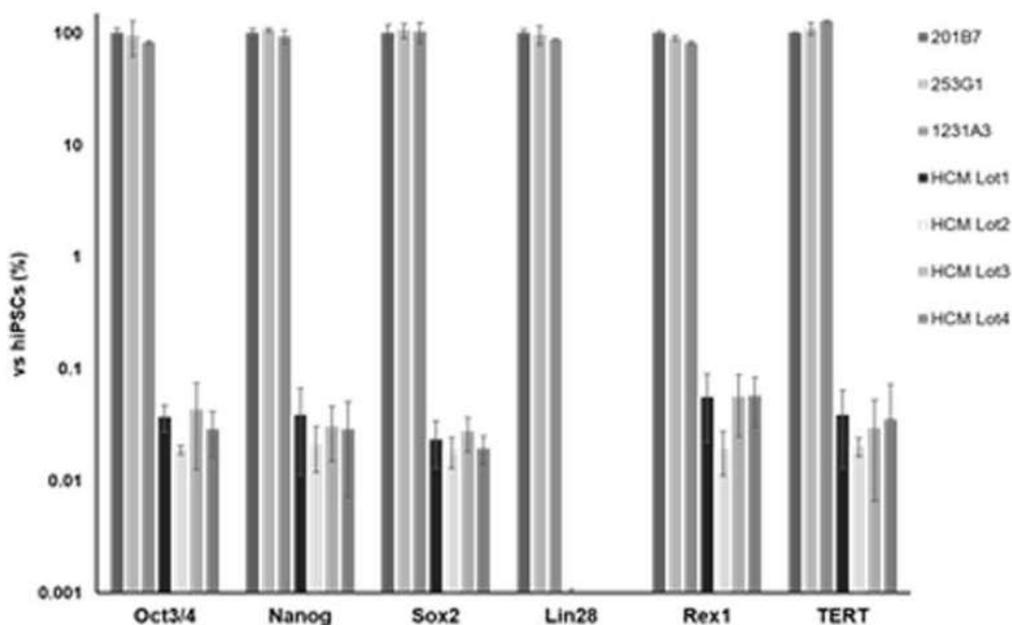
↑
iPS細胞スパイク実験による
検出限界評価

←未分化細胞マーカー分子に対する抗体
によるiPS細胞の残存評価

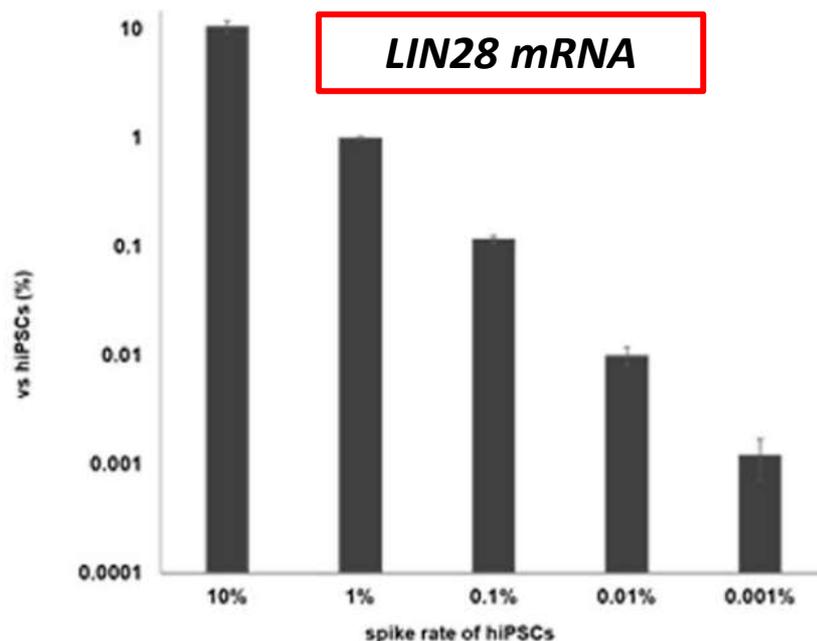
ヒトiPS細胞に由来する分化細胞(心筋細胞)に残存・混入する未分化なiPS細胞(造腫瘍性細胞)の検出方法の開発

遺伝子発現(Real Time qRT-PCR)解析による評価

未分化細胞マーカー遺伝子の発現



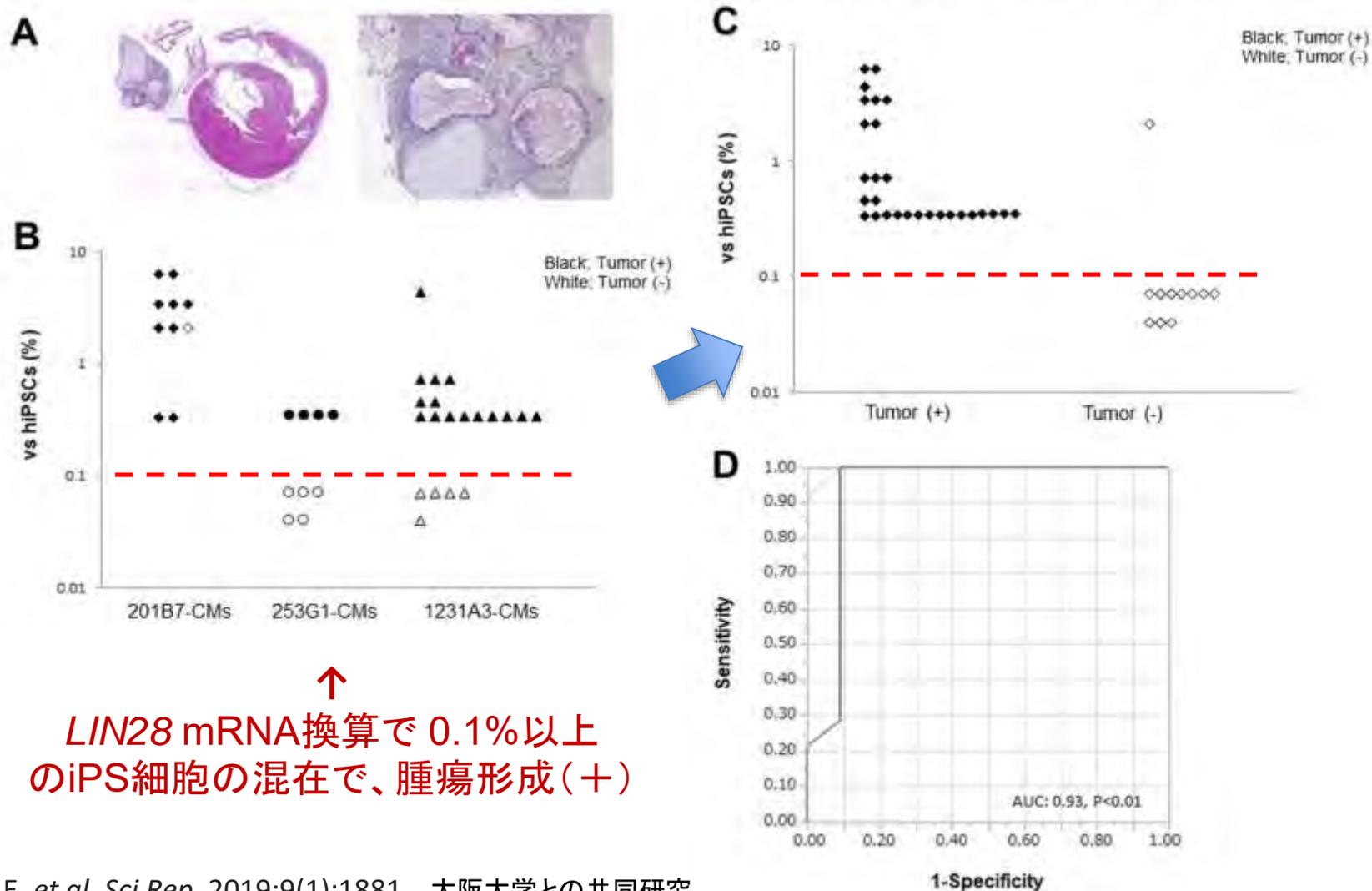
iPS細胞スパイク実験による検出限界の評価



↑
iPSC:心筋細胞=1:100,000
の混在を検出可能

ヒトiPS細胞に由来する分化細胞(心筋細胞)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

重度免疫不全動物(♂ヌードラット)への1E+7個細胞のシートの移植実験による評価(4カ月)



混在する未分化iPS/ES細胞の検出法

試験法	<i>in vivo</i> 造腫瘍性試験 (NOG x Matrigel, 皮下投与)	フローサイトメトリー	GlycoStem-HP法
目的	造腫瘍性細胞の検出	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	12-16週間	1日	3時間以下 (培養上清回収から測定まで)
利点	<ul style="list-style-type: none"> 直接的 微小環境での造腫瘍性を評価できる 	<ul style="list-style-type: none"> 短時間・簡便 個々の細胞を解析 	<ul style="list-style-type: none"> 非破壊的 簡便 高スループット
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 臨床適用相当部位の微小環境での造腫瘍性を評価可能 	<ul style="list-style-type: none"> 間接的 既知のマーカ分子を発現する細胞以外は検出不能 ゲーティングが結果に影響 	<ul style="list-style-type: none"> 間接的 個々の細胞でのマーカ分子発現レベルは評価できない 培地成分が結果に影響
LLOD または 検出力	hrPE2.5E+5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:TRA-1-60)	HEK293T中の 0.05% のiPS細胞 (マーカ:H3+ポドカリキシン)
出典	Kanemura <i>et al.</i> , <i>Sci Rep.</i> 2013 Yasuda <i>et al.</i> , <i>PLoS ONE.</i> 2018	Kuroda <i>et al.</i> , <i>PLoS ONE.</i> 2012	Tateno <i>et al.</i> , <i>Sci Rep.</i> 2014

試験法	qRT-PCR	Droplet Digital PCR	Essential-8/LN521培養増幅法
目的	未分化の多能性細胞の検出	未分化の多能性細胞の検出	未分化の多能性細胞の検出
所要時間	6時間	数時間	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"> 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分子発現レベルは評価できない 	<ul style="list-style-type: none"> 時間がかかる スループットが低い
LLOD または 検出力	hrPE中の 0.002%以下 のiPS細胞 (マーカ:LIN28)	ヒト心筋細胞中の 0.001% のiPS細胞 (マーカ:LIN28)	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 <i>et al.</i> , <i>PLoS ONE.</i> 2012	Kuroda <i>et al.</i> , <i>Regen Ther.</i> 2015	Tano <i>et al.</i> , <i>PLoS ONE.</i> 2014



「ヒト細胞加工製品の未分化多能性幹細胞・形質転換細胞検出試験、造腫瘍性試験及び遺伝的安定性評価に関する留意点」

目次

1. はじめに
 2. 本文書の位置づけ
 3. 用語の定義
 4. 一般的留意点
 5. ヒトES/iPS細胞加工製品のための造腫瘍性関連試験
 - 5.1. 原料・原材料の品質特性解析のための造腫瘍性試験
 - 5.2. 中間製品又は最終製品の造腫瘍性細胞の定量のための試験
 - 5.2.1. 中間製品・最終製品の未分化多能性幹細胞検出試験
 - 5.2.1.1. *in vitro*試験
 - 5.2.1.2. *in vivo*試験
 - 5.2.2. 中間製品・最終製品の形質転換細胞検出試験
 - 5.2.2.1. *in vitro*試験
 - 5.2.2.2. *in vivo*試験
 - 5.3. 最終製品細胞のヒトでの生着部位での腫瘍形成能を評価するための試験
 - 5.3.1. 試験動物の選択
 - 5.3.2. 対照細胞の選択
 - 5.3.3. 試験動物の数
 - 5.3.4. 細胞投与の部位と投与細胞の数および態様
 - 5.3.5. 観察期間
 - 5.3.6. 投与部位の観察
 - 5.3.7. 投与部位の病理学的評価
 - 5.3.8. 結果の解釈
 6. ヒト体細胞／体性幹細胞加工製品のための造腫瘍性関連試験
 - 6.1. 原料・原材料の品質特性解析のための造腫瘍性試験
 - 6.2. 最終製品のための造腫瘍性関連試験の留意点
 7. 遺伝的安定性に関する一般的留意点
- 参考文献
表1 残存する未分化iPS/ES細胞の検出法の詳細
表2 混入する形質転換細胞の検出法の詳細
参考情報(各種試験法プロトコール)

厚生労働省
薬生機審発0627第1号通知, 令和元年6月27日

同日付パブコメ回答
もご覧ください

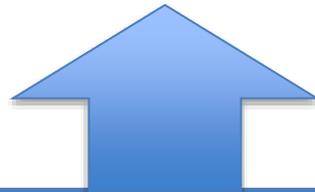
“パブリックコメント”と“造腫瘍性”で検索

ヒト細胞加工製品中に混在する未分化多能性幹細胞及び形質転換細胞について、その**代表的検出試験例**を示すと同時に、これらの試験の中から、特定のヒト細胞加工製品の品質・安全性評価のために実施する**試験を選択する際に留意すべき事項**を示すもの

再生医療の実現化で重要なこと

「有効性・安全性の確保」

「移植細胞（細胞加工製品）の品質の確保」



③「各評価法の能力と限界を知る」



②「目的に適った評価法を作る」



①「新しい製品には新しい考え方を」

レギュラトリーサイエンス（評価科学）

ヒトiPS細胞由来移植細胞の臨床応用開始



神戸新聞(2014/9/12)

iPSから網膜細胞 世界初の移植手術実施 神戸

ツイート 48 | 페이스북 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)

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)から作られた網膜細胞を、目の研究で、移植手術した細胞が同病院はえているなどの安検証する

臨床研究視力が急出(しん)

iPS再生医療、心臓で世界初の手術実施 阪大

2020/1/27 18:32



大阪大学の澤方樹教授らは27日、iPS細胞から育てた心臓の細胞をシート状にし、重症心不全患者に移植する世界初の手術をしたと発表した。重症心不全患者は、経過は短期間という、今後3年で10人の患者に移植して安全性や有効性を調べる。iPS細胞を使う再生医療は肺の臓器などで移植手術が始まっているが、心臓に閉る心臓病で治療効果が確認されるかが注目される。

時事ドットコムニュース > 社会 > iPS角膜、世界初の移植=大阪大、安全性や視力回復を検証

iPS角膜、世界初の移植=大阪大、安全性や視力回復を検証

2019年08月29日19時04分

さまざまな細胞に変わる人工多能性幹細胞(iPS細胞)から角膜の細胞を作り、けがや病気で角膜が傷ついた患者に移植する臨床研究を進めている大阪大は29日、患者に移植を行ったと発表した。iPS細胞から作った移植したのは世界で初めて。これは、角膜を作り出す幹細胞が失われ、角が低下する「角膜上皮幹細胞疲弊症」の患者。阪大の西田幸二教授(眼科)らのチームが健康な人のiPS細胞の提供を受け、角を移植し、厚さ0.03〜0.05ミリメートルの移植手術は7月25日に行われ、現時点で拒絶反応はみられなかったが、日常生活に支障がなかった。



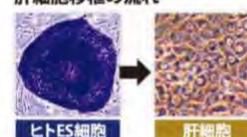
人工多能性幹細胞(iPS細胞)から作った角膜細胞シートの移植について、記者会見する大阪大の西田幸二教授=29日午後、大阪府吹田市

ES細胞国内初治験成功 重い病の赤ちゃんに肝細胞移植 成育研

国立成育医療研究センター 毎日新聞 2020年5月23日 09時00分 | 更新時刻 5月23日 09時00分

社会 > 科学・技術 > サイエンス > 医療 > 政治・プレミアタイムライン

ヒトES細胞由来の肝細胞移植の流れ



肝細胞が肝臓に届き、アンモニアを分解

※国立成育医療研究センターの資料を基に作成

国立成育医療研究センター(東京)は、ヒトES細胞(胚性幹細胞)から作った肝細胞を重い肝臓病の赤ちゃんに移植して治療する臨床試験(治験)に成功したと発表した。センターによると、ヒトES細胞を使った治験は日本初。ES細胞由来の肝細胞をヒトへ移植したのは世界でも初めてだという。

治験の対象は、有毒なアンモニアを肝臓で分解できない先天性尿素サイクル異常症で「高アンモニア血症」となった赤ちゃん。同異常症の発症頻度は、8000〜4万4000人に1人だという。重症の場合、根本的な治療には肝臓移植が必要だが、新生児は重い合併症の恐れがあり、体重6キロ以上になる生後数カ月を経なければ安全な手術ができない。



残存iPS細胞／造腫瘍性細胞の検出試験法の開発で貢献

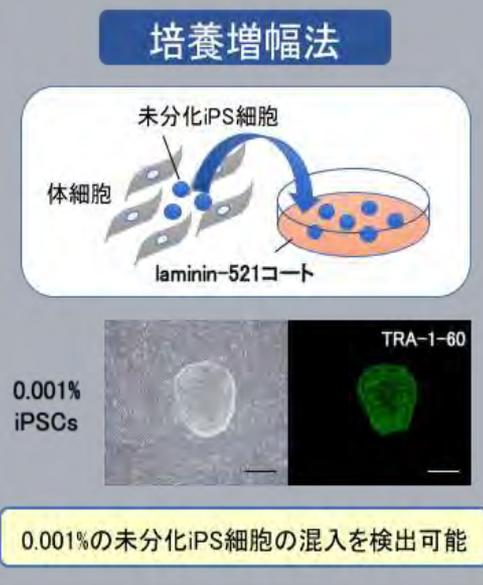
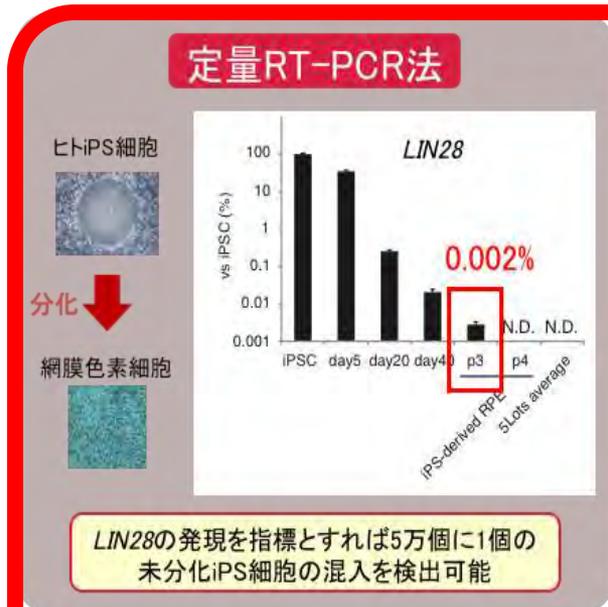
先端医療（再生医療等）の実用化で必要なこと

- ④「各評価法の再現性・汎用性を知る」
（標準プロトコールを共有する）

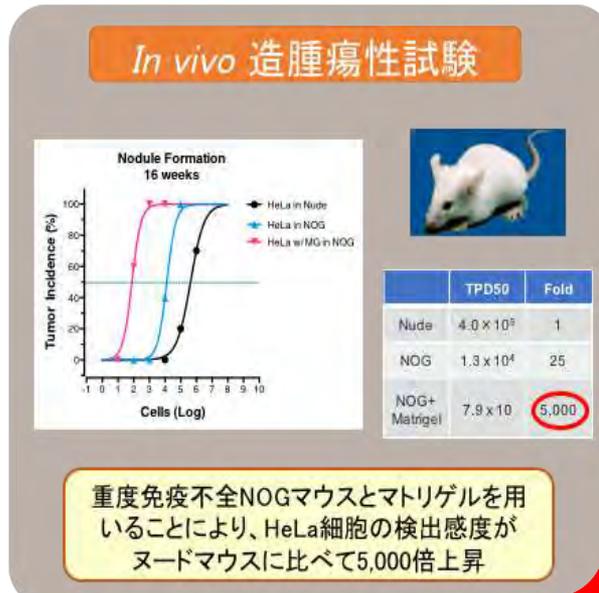
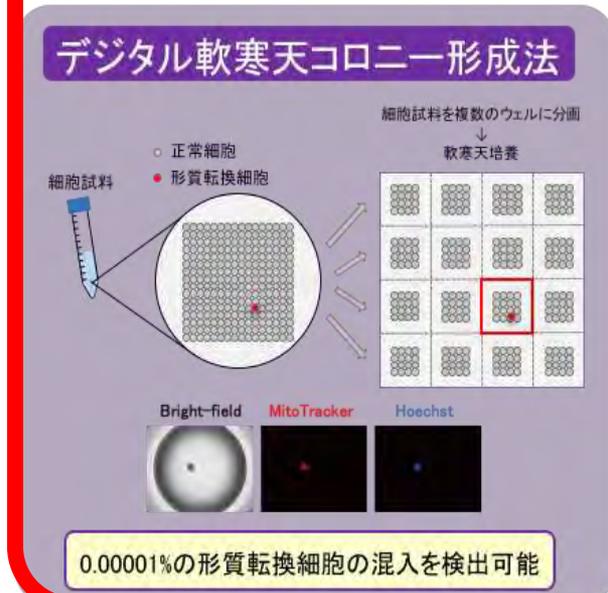
製品中に混在する造腫瘍性細胞の高感度検出法の開発(例)



残存ES/iPS細胞の検出



悪性形質転換細胞の検出



試験法の性能検証 (バリデーション) の官民共同研究



委託費

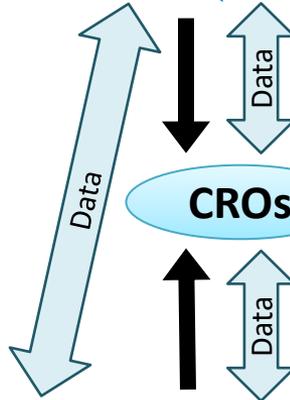
補助金



研究開発代表者:
佐藤陽治(国衛研)

MEASURE

(Multisite Evaluation Study on Analytical
Methods for Non-clinical Safety
Assessment of Human-derived
Regenerative Medical Products)



研究開発
補助者

試験統括機関(研究開発分担者)

アステラス製薬
大日本住友製薬
富士フイルム
武田薬品工業
テルモ
協和発酵キリン(~2019)

研究開発協力者

FIRM-CoNCEPT
加盟企業
または
CRO

Data

FIRM-CoNCEPT 委員長: 渡辺武志(武田薬品)

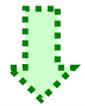
FIRM- the Committee for Non-Clinical Safety Evaluation
of Pluripotent Stem Cell-derived Product



IABS

ISCT

その他の国際関連
学会・団体



WHO

ICH

IPRP



厚労省

PMDA

Discussions

Discussions

Discussions

Discussions



製薬協

日本
再生医療
学会

細胞加工製品の品質・安全性試験法に関する 国際的なコンセンサスの形成に向けた対話

HESI CT-TRACS Membership



(CT-TRACS Multi-Sector Membership, as of November 2020)

Committee members and collaborators from
> 25 organizations across EU, Japan and USA.

Regulatory bodies:



Universities/ Research Centers:



Gov./Consortia/NGO:



Developers (Therapies and Tools), CROs:



細胞加工製品(再生医療等製品)の品質・有効性・安全性の確保



①原料の細胞の適格性確保

幹細胞や前駆細胞の分離・培養(とバンク化)

細胞は均一か？製造に適しているか？

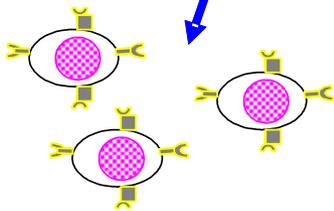


③品質管理

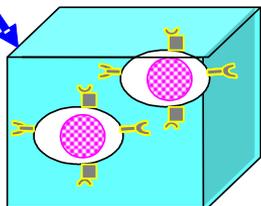
ガン化
しないのか？

目的とする機能
細胞の誘導

効率よく目的細胞に分化させるには？



免疫隔離



細胞加工製品
の患者への投与

細胞は均一か？変質していないか？



望ましくない免疫反応が起こらないようにするには？

②製造方法の恒常性確保

湘南Health Innovation Park

横浜市立大学



神奈川県庁

理化学研究所



KISTEC



慶應義塾日吉キャンパス



慶應義塾新川崎タウンキャンパス

殿町WRC



羽田空港



「生きた素材」を使った「ものづくり」

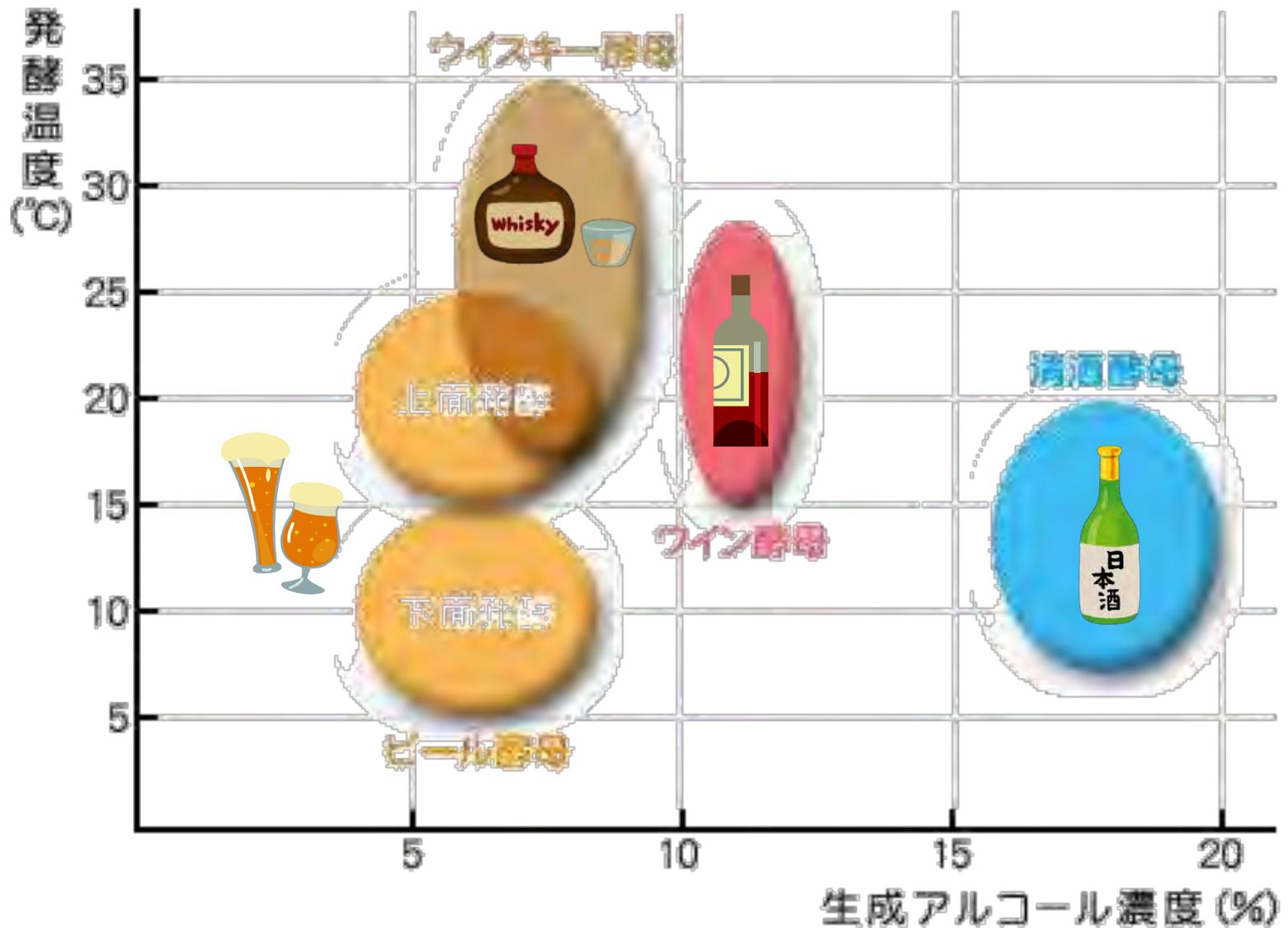
ウイスキー酵母



ワイン酵母



目的に合った酵母(素材)を使い分けることで、各品目で美味しい(高品質な)製品を作ります
「素材へのこだわり」「至高の素材」「厳選素材」「選び抜かれた素材」



「生きた素材」を使った「ものづくり」

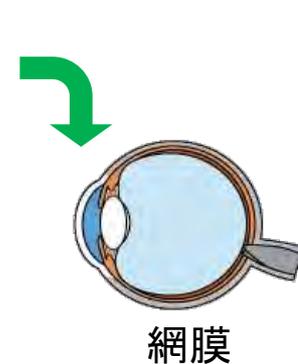
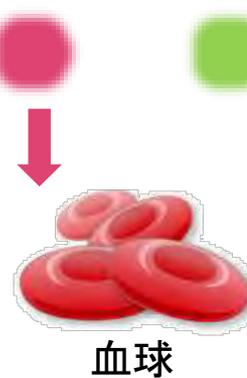
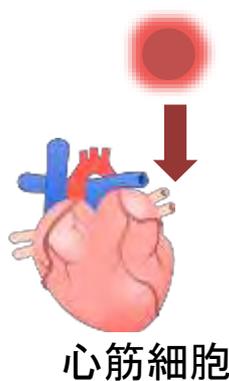
ウイスキー酵母



ワイン酵母



目的に合った酵母(素材)を使い分けることで、各品目で美味しい(高品質な)製品を作ります
「素材へのこだわり」「至高の素材」「厳選素材」「選び抜かれた素材」



「高い再現性で品質の高い最終製品(目的細胞)を製造する」という目的に適った**素材**
(例: 専用の**細胞株**)またはその**規格**を選択する(**囲い込む**)ことが重要

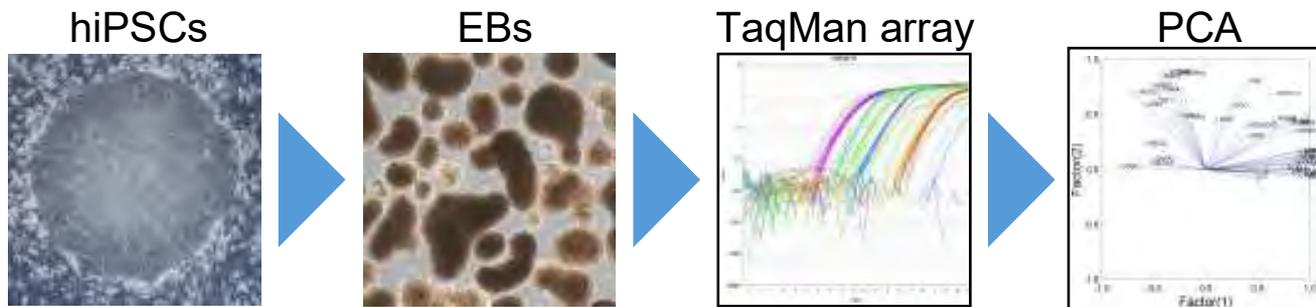
厳選した「生きた素材」を囲い込む

iPS細胞の**基本特許の期間はあと10年ていど？**
では「再生医療等製品」の**本格的実用化・産業化はいつか？**



「厳選素材」(セル・バンク)あるいはその品質規格を門外不出にすれば、良い製品を独占的に長期にわたり売り続けることができる

iPS細胞は株間で分化のしやすさ（分化傾向）に大きなバラツキがある

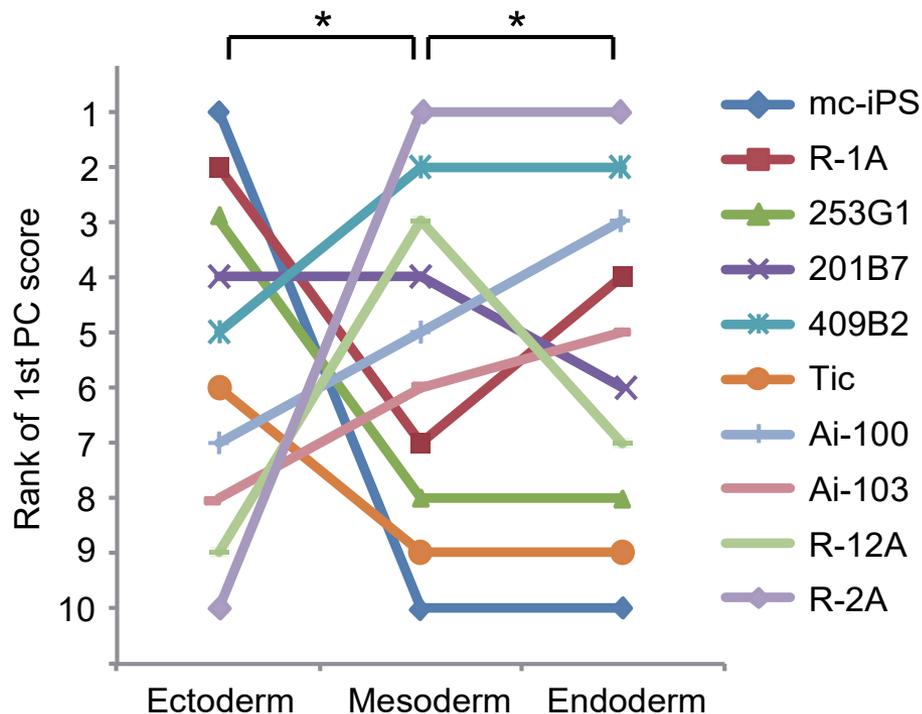


外胚葉マーカー:45遺伝子 中胚葉マーカー:56遺伝子 内胚葉マーカー:27遺伝子

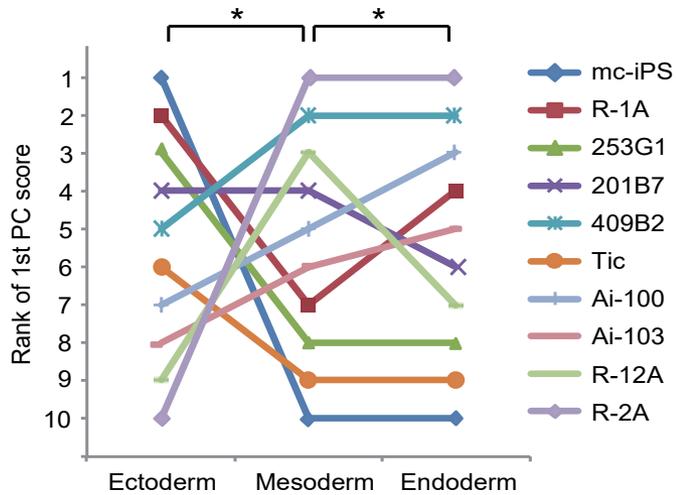
第一主成分得点

Cell line	Differentiation lineage		
	Ectoderm	Mesoderm	Endoderm
201B7	23.5	1.5	1.2
253G1	23.8	-12.6	-9.5
409B2	-11.8	18.5	9.3
Ai-100	-17.7	0.9	5.6
Ai-103	-18.0	0.2	3.0
mc-iPS	28.5	-32.2	-18.1
R-1A	25.4	-2.5	4.4
R-2A	-20.3	41.1	18.4
R-12A	-19.1	12.1	-0.4
Tic	-14.3	-27.0	-13.8

■ High □ Medium ■ Low



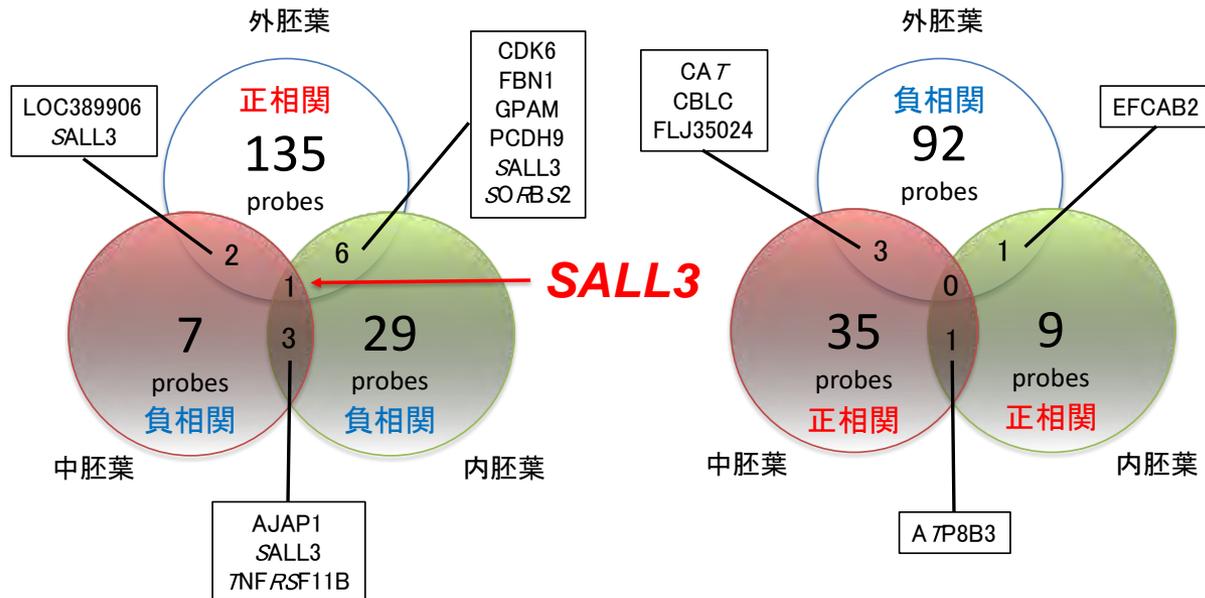
iPS細胞の分化傾向マーカー SALL3



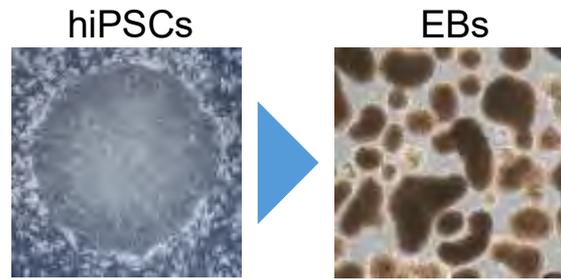
外胚葉になりやすい株は中・内胚葉になりにくい
 中・内胚葉になりやすい株は外胚葉になりにくい

仮説

外胚葉 ↔ 中・内胚葉で逆相関を示す遺伝子
 = 機能的に分化に関与



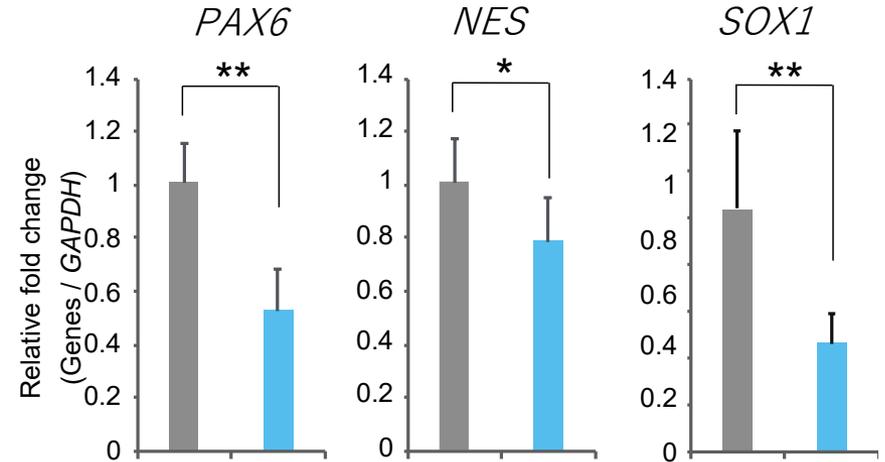
253G1 SALL3KD株 EB分化



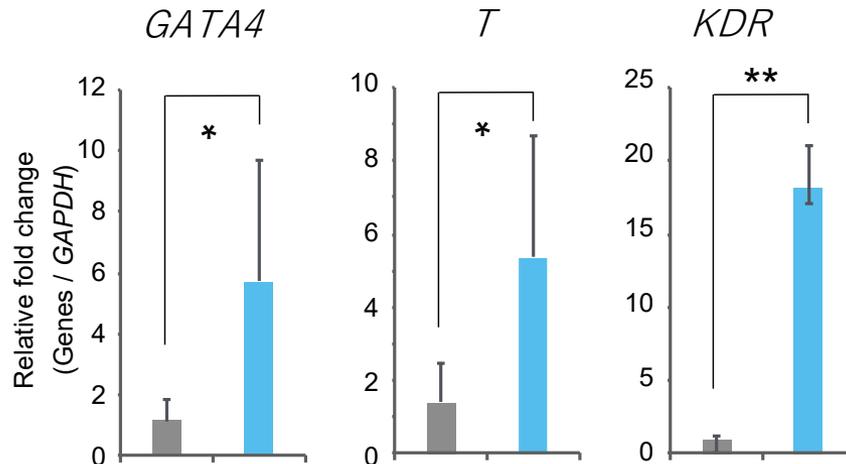
Control shRNA

SALL3 shRNA

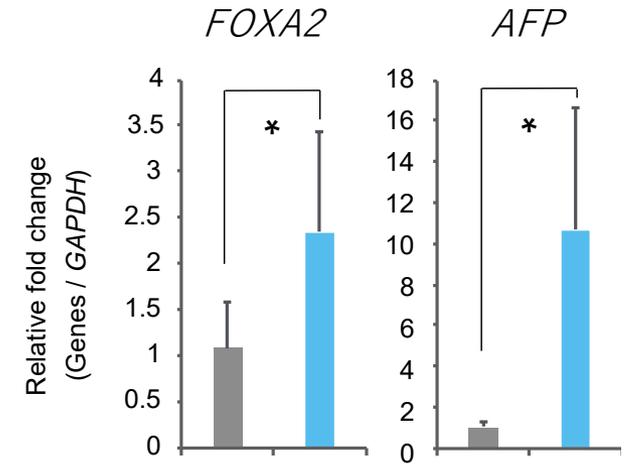
外胚葉マーカー



中胚葉マーカー

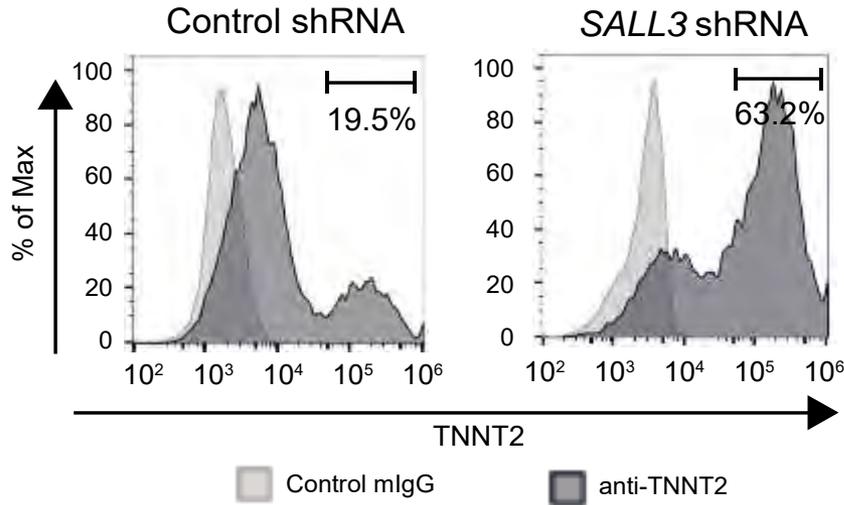


内胚葉マーカー

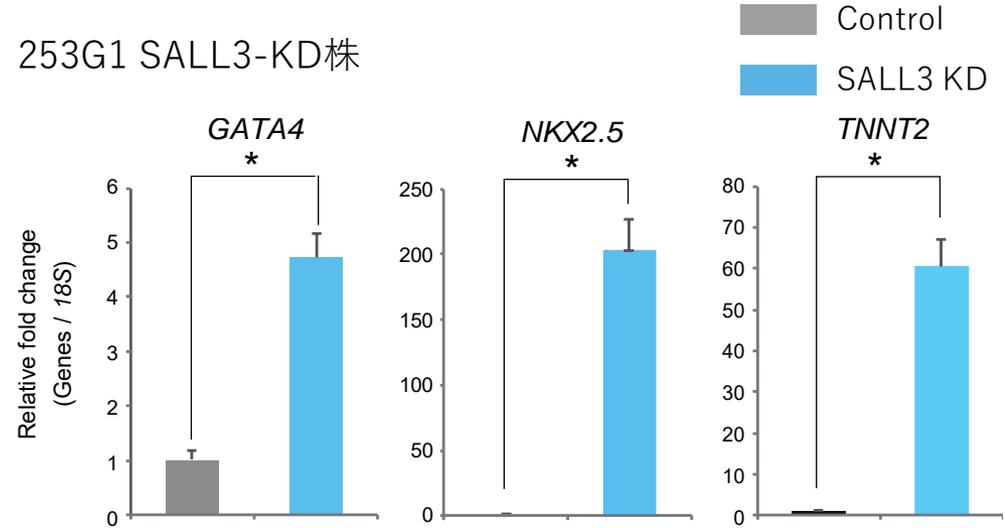


253G1 SALL3 KD/OE株 心筋分化誘導

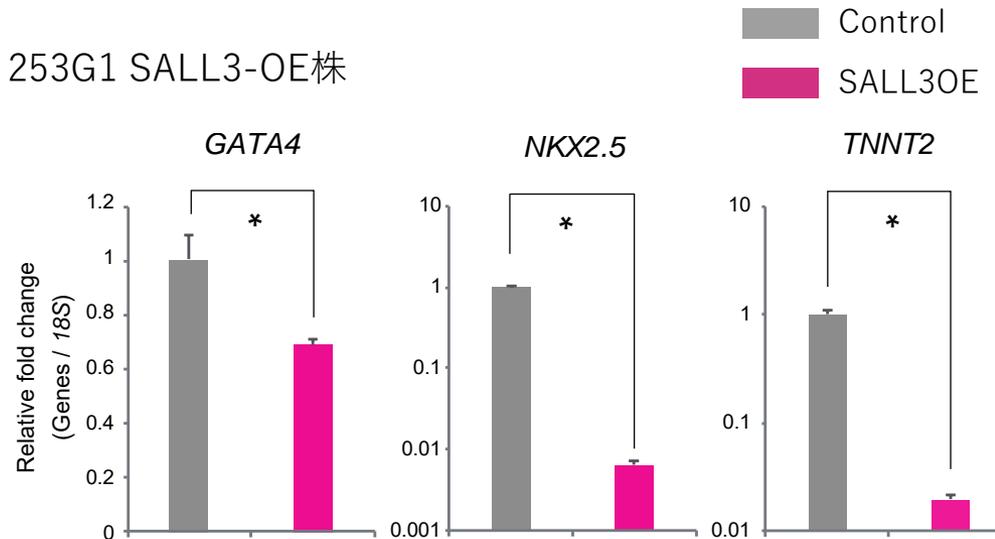
253G1_SALL3-KD株



253G1 SALL3-KD株



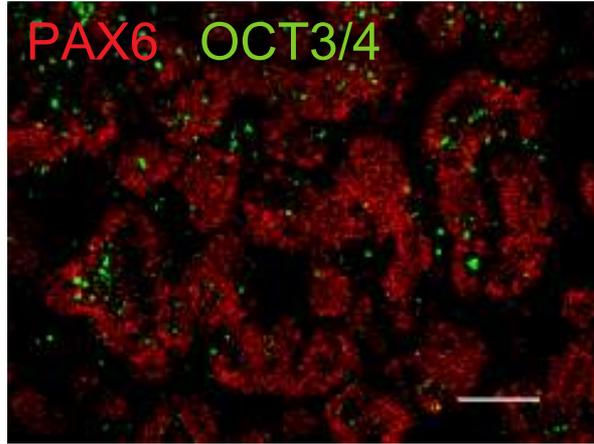
253G1 SALL3-OE株



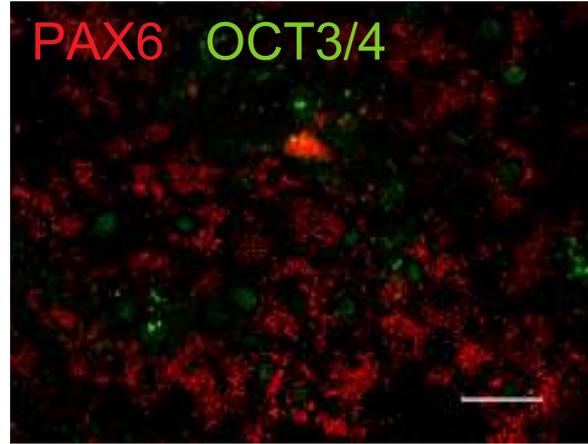
253G1 SALL3 KD/OE株 神経分化誘導

神経分化誘導 (Day10)

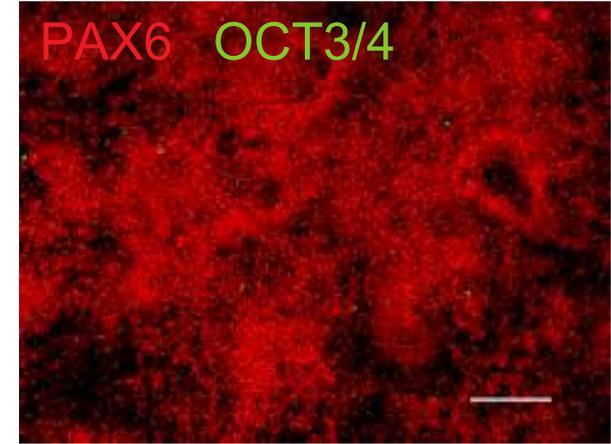
PAX6: 外胚葉マーカー



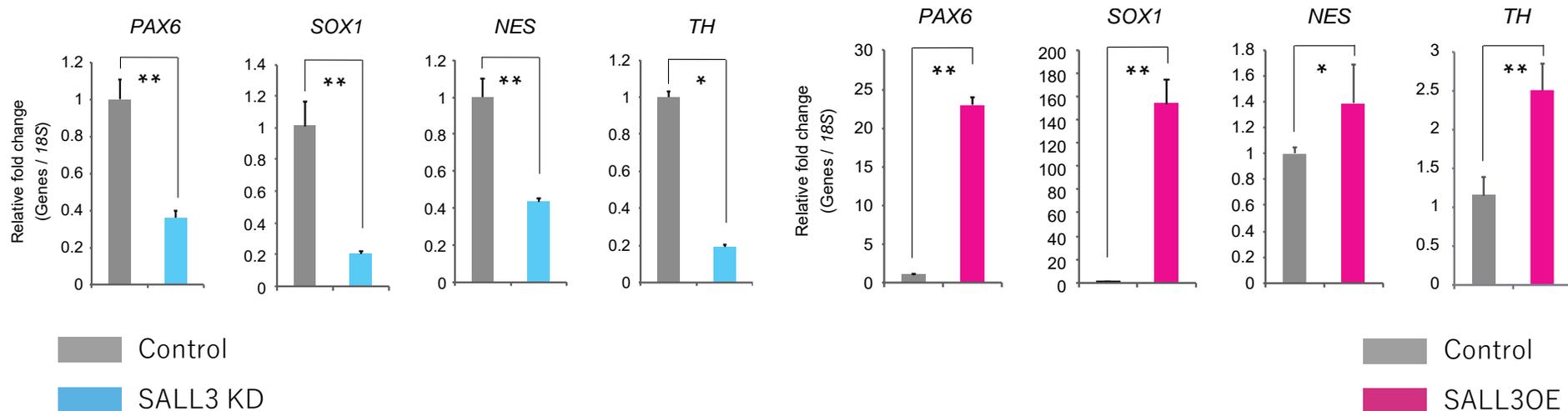
253G1



253G1_SALL3-KD

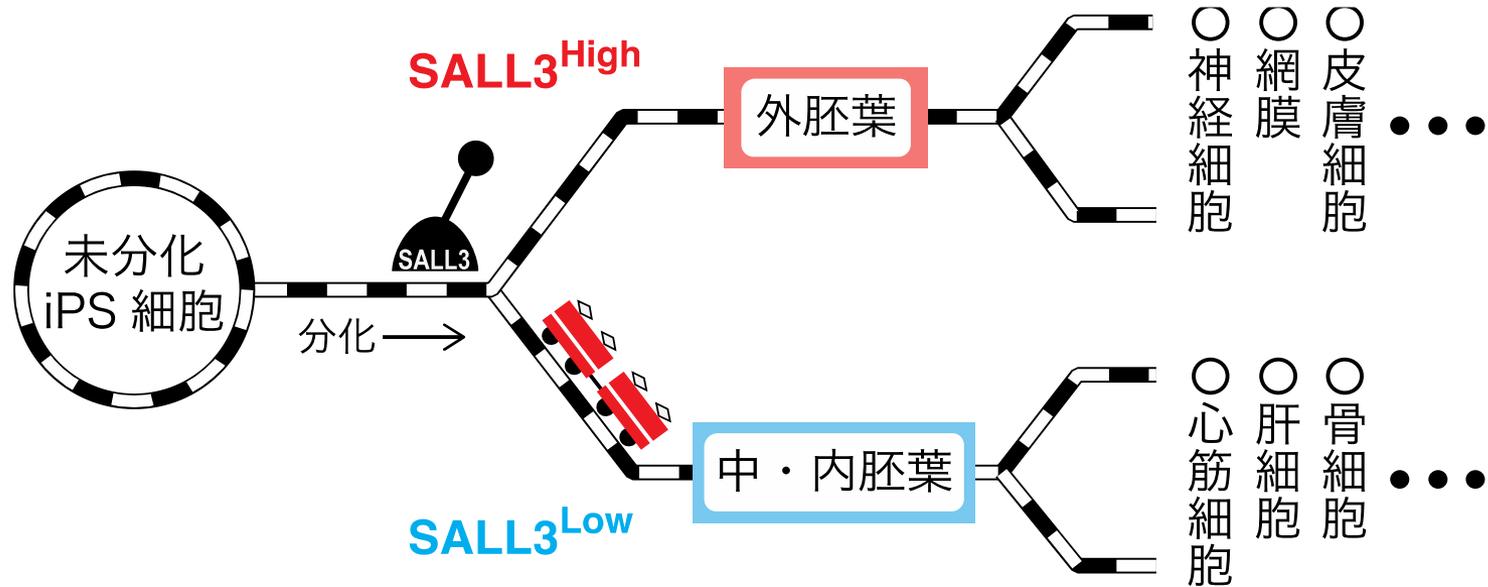


253G1_SALL3-OE



iPS細胞の分化傾向マーカー SALL3

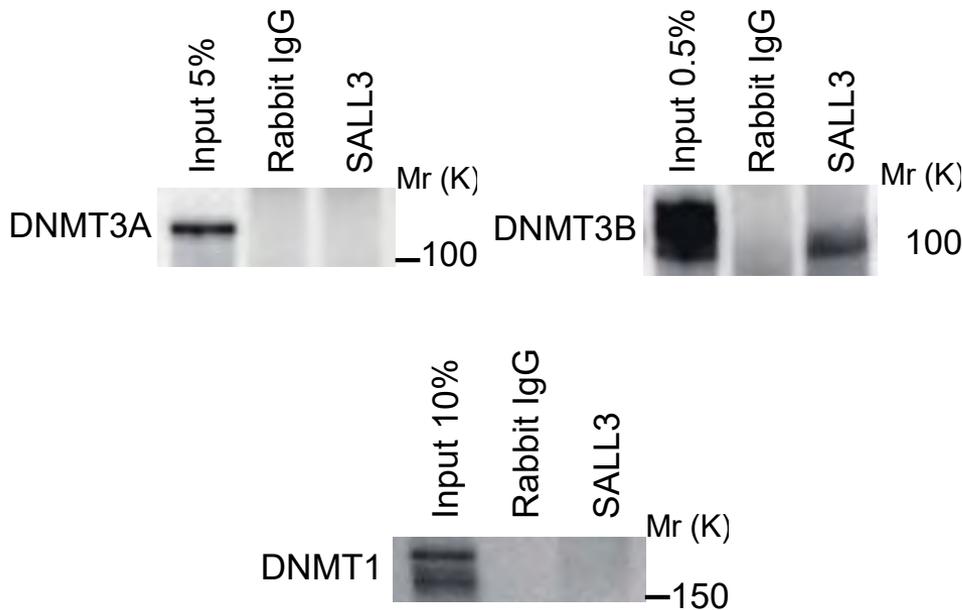
ヒトiPS細胞はSALL3の発現が高いと外胚葉に分化しやすく、
逆に発現量が低いと中・内胚葉に分化しやすい



SALL3は分化傾向を調節する分岐器（ポイント）の機能を持つ。

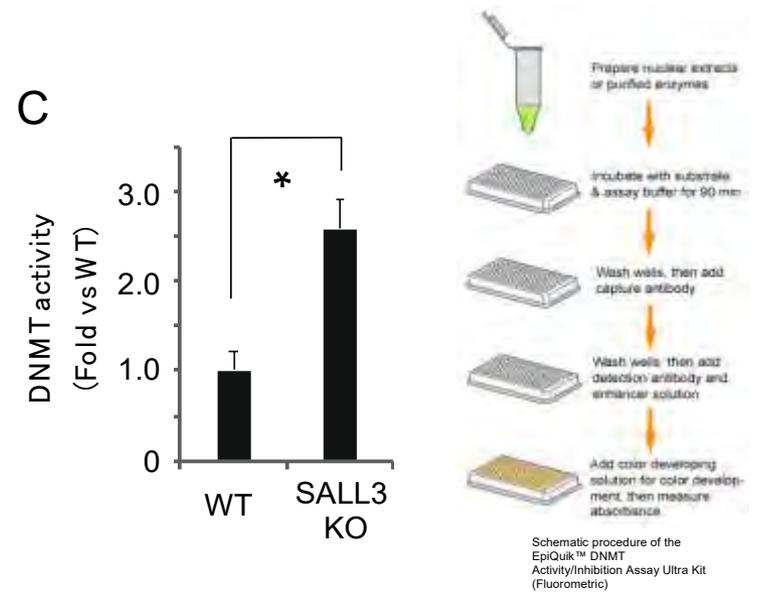
SALL3はDNMT3Bと結合しメチル化活性を調節する

SALL3抗体を用いた免疫沈降実験



SALL3は3種類のDNMTタンパク質のうち
DNMT3Bとのみ結合している

核画分を使ったDNMT活性測定



SALL3KO株の核画分のDNMT活性は
WT株よりも高い

SALL3はDNMT3BのDNMT活性を阻害していることが予想される

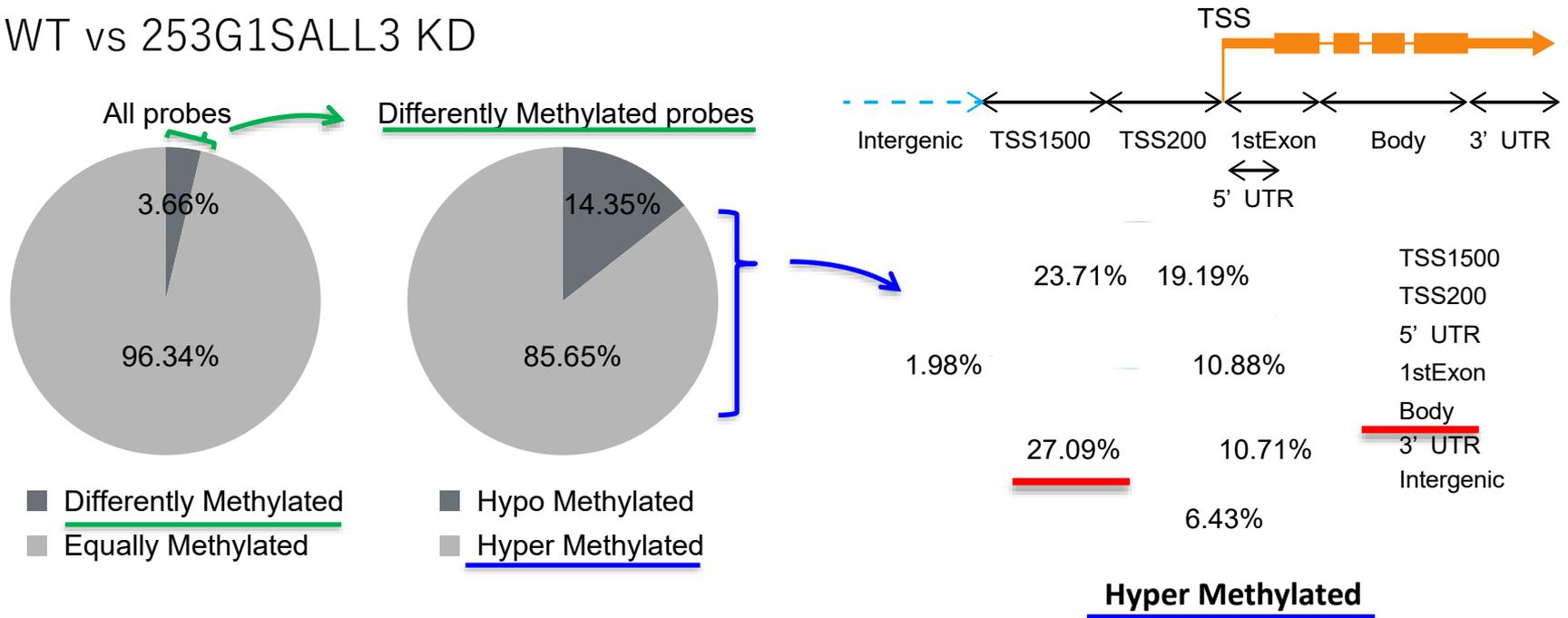
DNAメチル化解析（ビーズアレイ）



Illumina Human methylation 450 Bead Chip

DNAサンプル内の個々のCpGサイトを調べるためにデザインされた、ターゲット特異的な長鎖プローブ（45万種類）が結合したビーズを使用して、バイサルファイト処理したゲノムDNAの定量的ジェノタイピングにより測定

WT vs 253G1SALL3 KD



SALL3はGene bodyのメチル化に関与することが示唆された

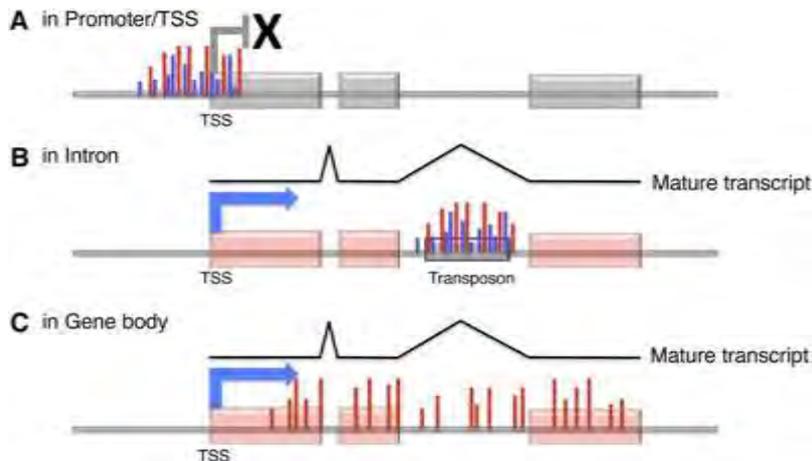
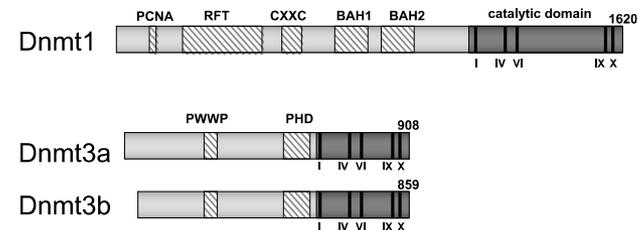
DNAメチル化

DNAメチル化（ディーエヌエイメチル化）とは、DNA中によく見られる**CpG アイランド**という配列の部分などで炭素原子にメチル基が付加する化学反応。**エピジェネティクス**に深く関わり、複雑な生物の体を正確に形づくるために必須の仕組みであると考えられている。

DNA methyltransferase

複製DNAのメチル化の維持

発生時における新規のメチル化



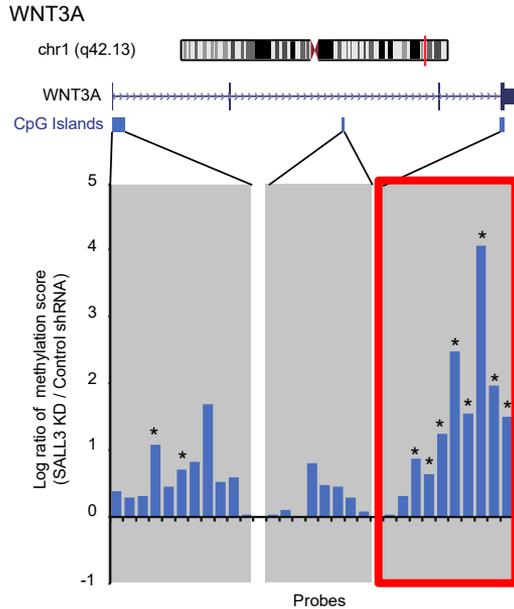
(A)一般的に、DNAのメチル化によって転写因子の結合が阻害され遺伝子発現が抑制される

(B)イントロンのDNAメチル化によってトランスポゾンスキップする

(C)Gene bodyのDNAメチル化は転写を促進する (DNMT3B)

WNT3A, WNT5Aのメチル化

WNT3A



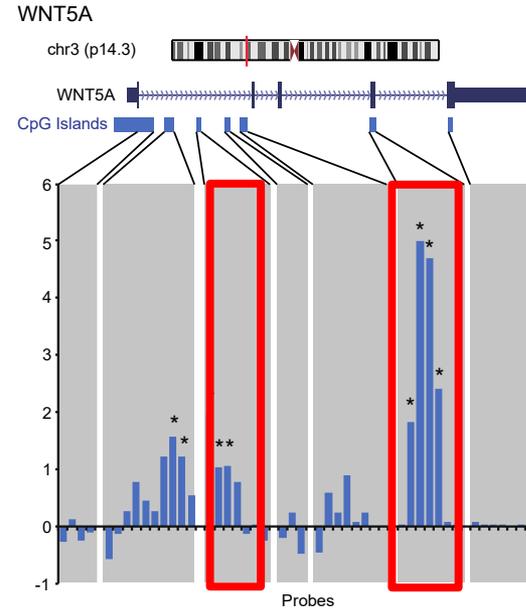
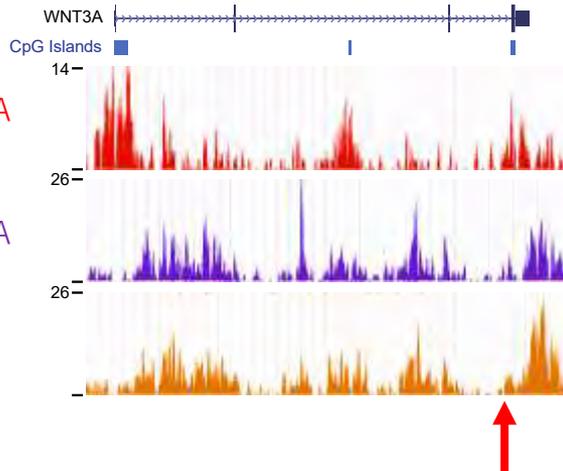
メチル化アレイ

ChIP-Seq

253G1 Control shRNA
anti-SALL3

253G1 Control shRNA
anti-DNMT3B

253G1 SALL3 KD
anti-DNMT3B



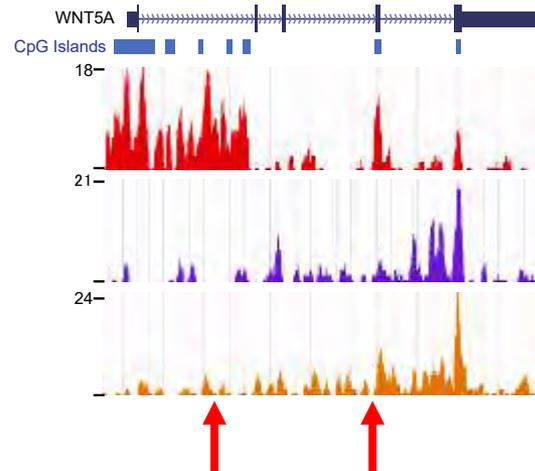
WNT5A

WT株に比べて、SALL3 KD株ではWNT3A, WNT5AのGene bodyメチル化が有意に上昇している

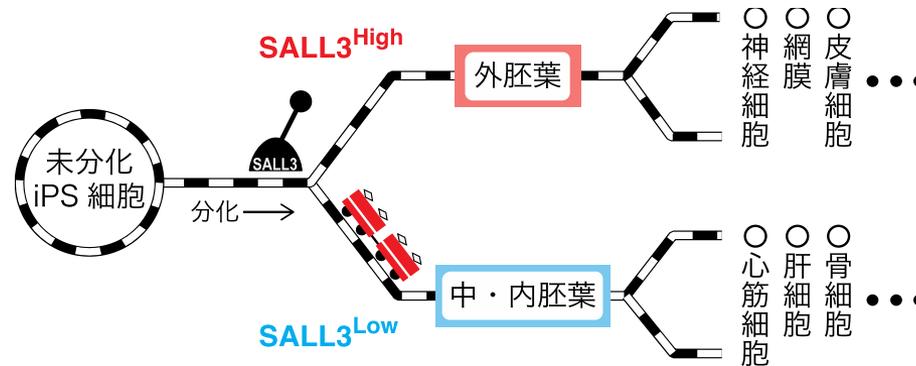
SALL3はCpG islandに結合する

DNMT3Bの結合部位はSALL3と一部重複する

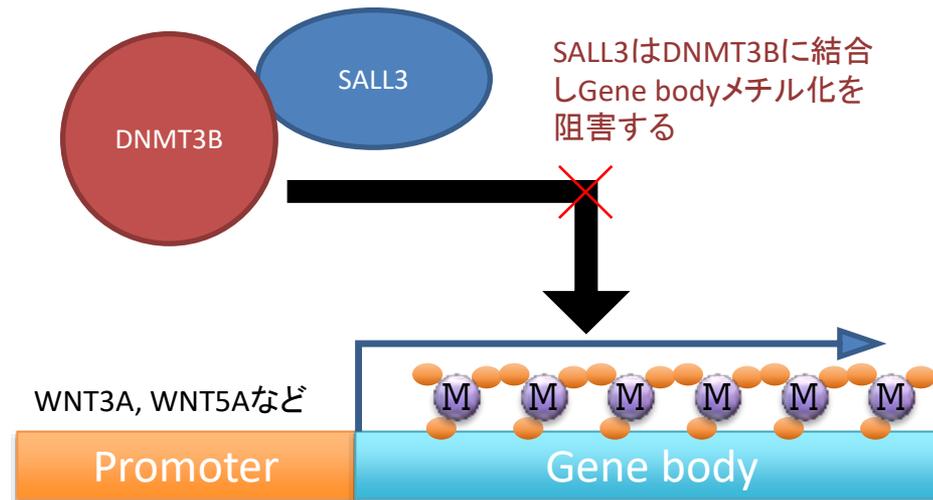
SALL3のKDによりDNMT3Bの結合量が上昇した部分とメチル化が上昇した部分は一部一致する



まとめ：SALL3の機能



SALL3は分化傾向を調節する分岐器（ポイント）の機能を持つ。



SALL3はDNMT3BのGene bodyメチル化を阻害している。

「目的細胞へのなりやすさ」を予測するための iPS細胞バイオマーカー(外胚葉 vs. 中・内胚葉)

AMEDプレスリリース



ARTICLE
<https://doi.org/10.1038/s41467-021-25911-9> OPEN

SALL3 expression balance underlies lineage biases in human induced pluripotent stem cell differentiation

Takuya Kuroda¹, Satoshi Yasuda¹, Shiori Tachi^{1,4}, Setoko Matsuyama^{1,4}, Shinji Kusakawa¹, Keiko Tano¹, Takami Miura¹, Akiyumi Matsuyama² & Yoji Sato^{1,2,4,5}

Clinical applications of human induced pluripotent stem cells (hiPSCs) are expected, but hiPSC lines vary in their differentiation propensity. For efficient selection of hiPSC lines suitable for differentiation into desired cell lineages, here we identify SALL3 as a marker to predict differentiation propensity. SALL3 expression in hiPSCs correlates positively with ectoderm differentiation capacity and negatively with mesoderm/endoderm differentiation capacity. Without affecting self-renewal of hiPSCs, SALL3 knockdown inhibits ectoderm differentiation and conversely enhances mesodermal/endodermal differentiation. Similarly, loss- and gain-of-function studies reveal that SALL3 inversely regulates the differentiation of hiPSCs into cardiomyocytes and neural cells. Mechanistically, SALL3 modulates DNMT3B function and DNA methyltransferase activity, and influences gene body methylation of Wnt signaling-related genes in hiPSCs. These findings suggest that SALL3 switches the differentiation propensity of hiPSCs toward distinct cell lineages by changing the epigenetic profile and serves as a marker for evaluating the hiPSC differentiation propensity.



国立研究開発法人 日本医療研究開発機構
 Japan Agency for Medical Research and Development

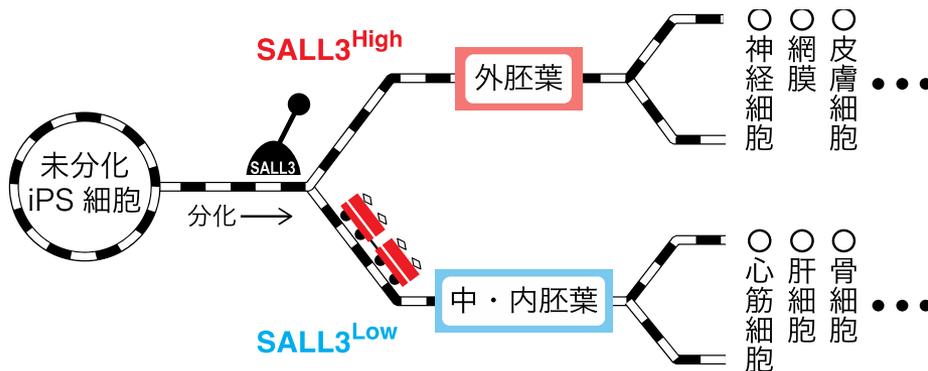
プレスリリース

ヒトiPS細胞の分化傾向調節遺伝子SALL3を同定—目的細胞に分化しやすいiPS細胞株を選別可能に—

令和元年5月15日 プレスリリース

国立医薬品食品衛生研究所
 日本医療研究開発機構

国立医薬品食品衛生研究所 再生・細胞医療製品部の佐藤隆治部長、安田智室長、黒田拓也主任研究官らの研究グループは、藤田医科大学医学部 松山晃文教授との共同研究により、ヒトiPS細胞株の分化傾向を予測するためのマーカー遺伝子としてSALL3を同定しました。ヒトiPS細胞は三胚葉（外胚葉、中胚葉、内胚葉）全ての系譜に分化することのできる能力（多分化能）を持っていますが、細胞株によって各系譜への分化のしやすさ（分化傾向）にバラツキがあることが明らかになっています。そのため、目的とする細胞への分化に適した細胞株を選択することの重要性が注目されています。ヒトiPS細胞において、今回同定したSALL3の未分化状態での発現量を測定することにより、相対的に発現量が高い細胞株は外胚葉に分化しやすく、逆に発現量が低い細胞株は中・内胚葉に分化しやすいことが予測できます。



「目的細胞へのなりやすさ」を予測するための iPS細胞バイオマーカー（心筋細胞）

理研プレスリリース

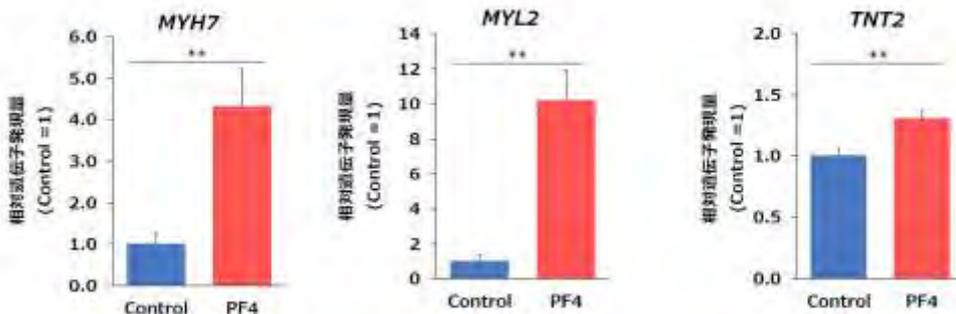
SCIENTIFIC REPORTS

OPEN

CXCL4/PF4 is a predictive biomarker of cardiac differentiation potential of human induced pluripotent stem cells

Fumiyu Ohashi^{1,2,3,4}, Shigeru Miyagawa¹, Satoshi Yasuda^{5,6}, Takumi Miura¹, Takuya Kuroda¹, Masayoshi Itoh¹, Hideya Kawaji^{1,3}, Emiko Ito⁴, Shohei Yoshida⁴, Atsuhiko Seito¹, Tadashi Sameshima⁷, Jun Kawai², Yoshiaki Sawa⁷ & Yoji Sato^{1,3,4,8}

Selection of human induced pluripotent stem cell (hiPSC) lines with high cardiac differentiation potential is important for regenerative therapy and drug screening. We aimed to identify biomarkers for predicting cardiac differentiation potential of hiPSC lines by comparing the gene expression profiles of six undifferentiated hiPSC lines with different cardiac differentiation capabilities. We used three platforms of gene expression analysis, namely, cap analysis of gene expression (CAGE), mRNA array, and microRNA array to efficiently screen biomarkers related to cardiac differentiation of hiPSCs. Statistical analysis revealed candidate biomarker genes with significant correlation between the gene expression levels in the undifferentiated hiPSCs and their cardiac differentiation potential. Of the candidate genes, PF4 was validated as a biomarker expressed in undifferentiated hiPSCs with high potential for cardiac differentiation in 13 additional hiPSC lines. Our observations suggest that PF4 may be a useful biomarker for selecting hiPSC lines appropriate for the generation of cardiomyocytes.



広報活動

Home > 広報活動 > プレスリリース (研究発表) 2019 >

お知らせ

記事の検索 最新記事 過去の記事

2019年3月22日
 神奈川県立産業技術総合研究所
 理化学研究所
 医薬品品質衛生研究所

「心筋細胞になりやすいiPS細胞」をみつけるための目印となる遺伝子を同定

国立医薬品品質衛生研究所再生・細胞生産製品部企画推進部長（大阪大学大学院医学研究科教授と神奈川県立産業技術総合研究所研究員を兼務）、佐田智幸、大城文雄研究員（大阪大学大学院医学研究科、テルモ株式会社所属）らの研究グループは、大阪大学大学院医学研究科心臓血管外科准教授、京大特別教授、理化学研究所技術イノベーション部予防医療・診断技術開発プログラム開発副プログラムディレクターらと共同で、ヒトiPS細胞から心筋細胞への「分化しやすさ」を予測することができるマーカー遺伝子としてCXCL4/PF4を同定しました。

ヒトiPS細胞から誘導される細胞を再生医療に応用するためには、目的とする細胞に分化しやすいiPS細胞株を選ぶ必要があります。目的とする細胞に分化しにくいiPS細胞を選んでしまうと、分化していないiPS細胞が移植する細胞の中に残りやすくなり、こうした残存した未分化iPS細胞が患者さんの体内で腫瘍を形成するリスクが高くなるからです。

本研究では、心筋細胞へ分化しやすいiPS細胞株と分化しにくいiPS細胞株の遺伝子発現を理化学研究所が開発した世界唯一の遺伝子解析技術であるCAGE法など、3つの遺伝子解析手法を用いて網羅的に解析しました。その結果、CXCL4/PF4という遺伝子の発現量が心筋細胞への分化しやすさと相関することが明らかとなりました。つまり、CXCL4/PF4の発現量を指標にすれば心筋細胞の製造に選んだiPS細胞株を選び出すことができると考えられます。本成果はiPS細胞株の品質管理方法として心筋再生医療の実用化に貢献することが期待されます。

『勝ち続ける「仕組み」をつくる 瀬祭の口ぐせ』

旭酒造会長 桜井弘志 (KADOKAWA刊)

「経験と勘」を見える化する

データ化が「経験と勘」を凌駕する

バイオマーカー
特性指標



<最後に>
先端医療における
レギュラトリーサイエンス

先端医療におけるリスクvs.ベネフィットの問題 (例) 遺伝子治療の「光」と「影」

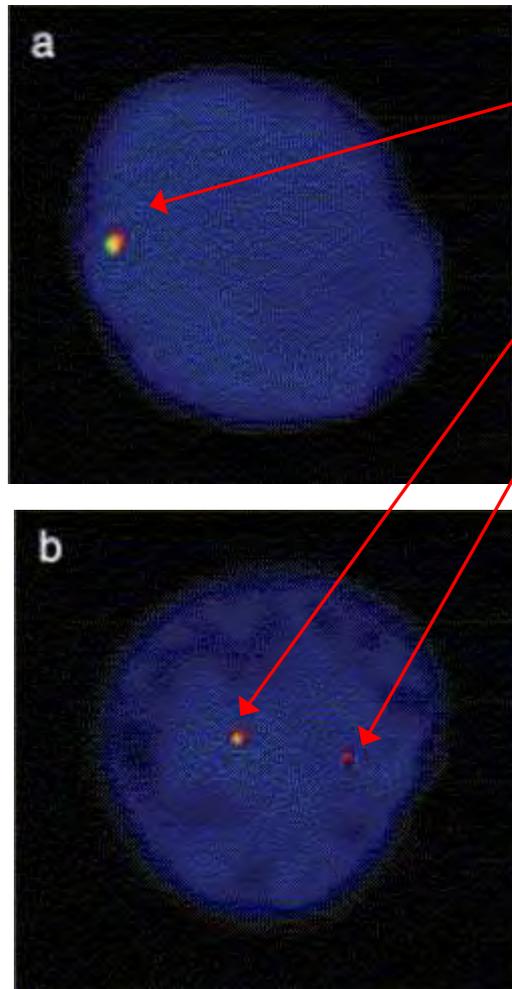
成功例

- X連鎖重症複合免疫不全症(X-SCID)に対する造血幹細胞遺伝子治療(レトロウイルスベクターでIL-2R α と γ 鎖を導入)により10人中9人に著効
- また、アデノシンデアミナーゼ欠損症(ADA-SCID)に有効
- 慢性肉芽腫(CGD: 重篤な感染症を起こす好中球異常)の遺伝子治療で極めて有望な結果

重篤な副作用の発現

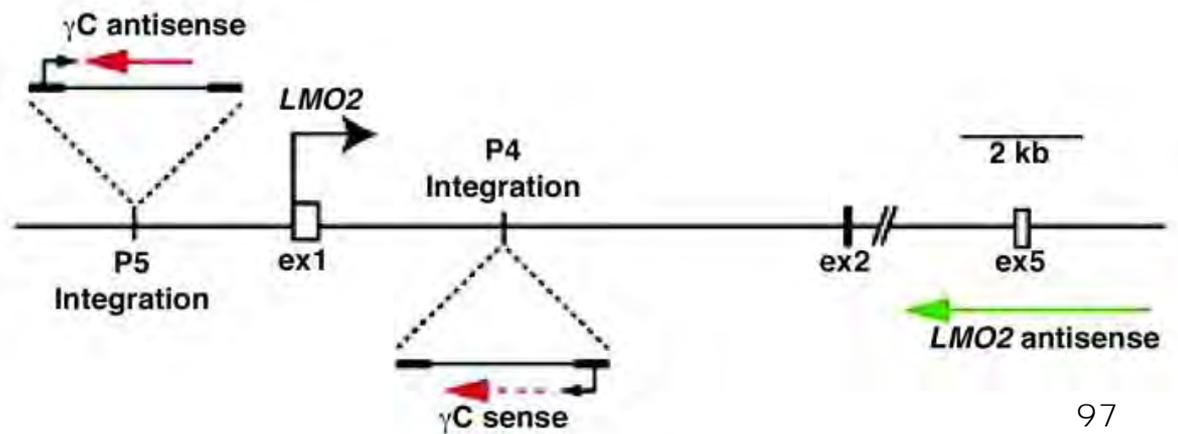
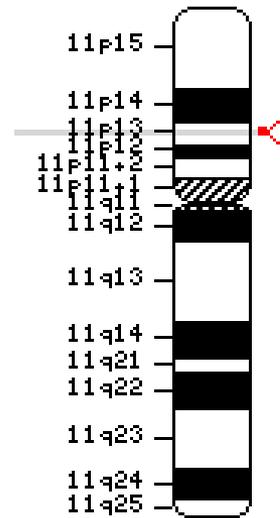
- 1999年 アデノウイルスベクターの投与による異常免疫反応により死亡
(米・ペンシルベニア大)
- 2002年 レトロウイルスベクターによるX-SCID遺伝子治療で遺伝子の染色体挿入が原因となり複数の患者にT細胞白血病様症状が発症
(仏・ネッカー病院)

先端医療に期待しすぎてはいけない。有効性・安全性を慎重に検討する必要がある。
でも、怖がりすぎてもいけない。



赤: 導入した遺伝子

緑: LMO2
発がん遺伝子





治療前

http://news.bbcimg.co.uk/media/images/55792000/jpg/_55792800_jex_22601_de57.jpg



<http://www.cc.nih.gov/about/news/newsletter/2007/dec07/newsletter.html>

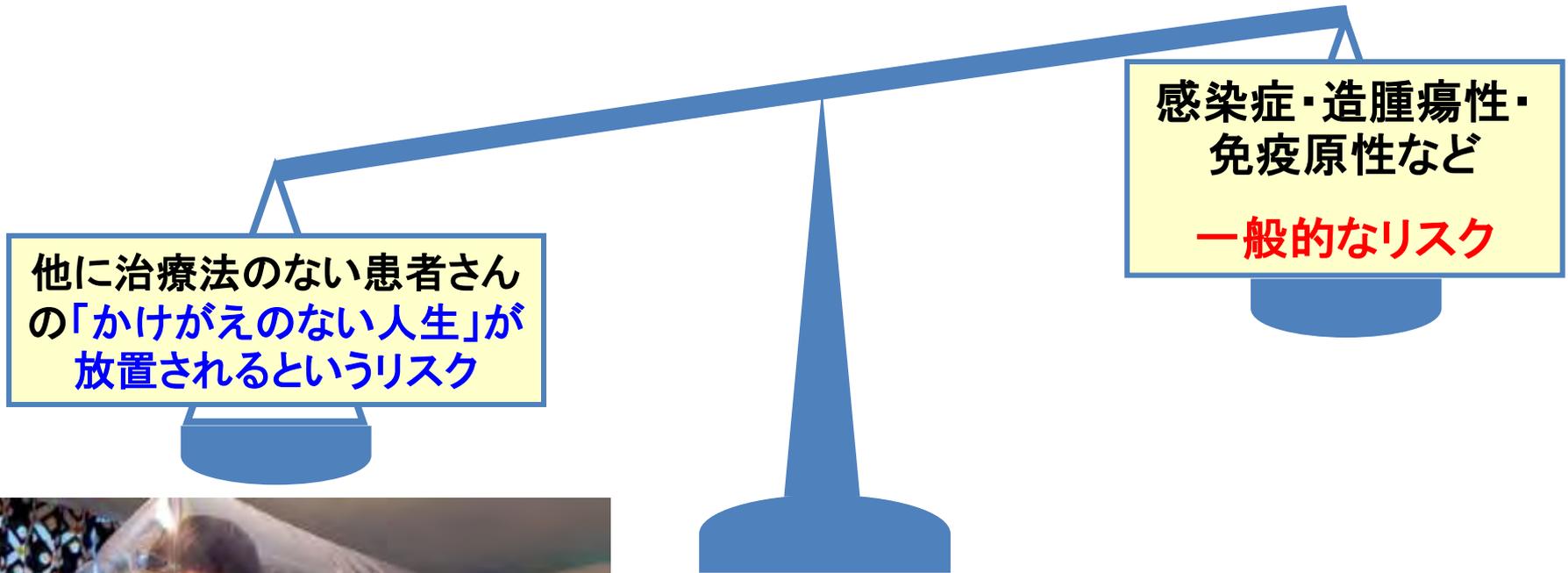
治療後



<http://discovermagazine.com/2009/sep/02-second-coming-of-gene-therapy>

<http://news.sciencemag.org/2005/03/committee-wants-tighter-controls-gene-therapy>

先端医療の規制科学(レギュラトリーサイエンス) —何が科学的に合理的か?—



David Phillip Vetter
(September 21, 1971 – February 22, 1984)

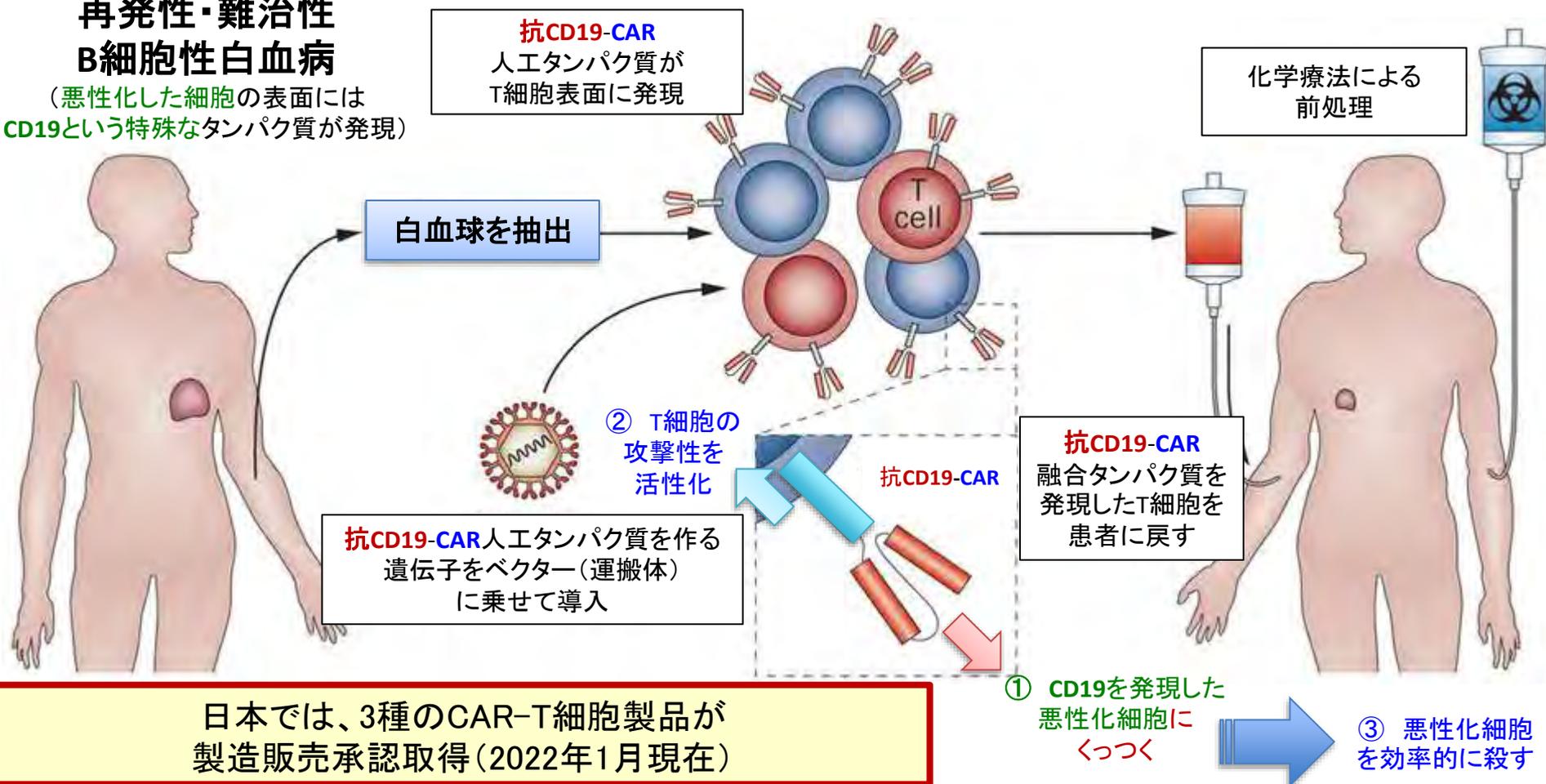
<http://www.sapendolo.it/wp-content/uploads/2012/03/David-Phillip-Vetter.jpg>

遺伝子を導入した細胞加工製品を使って病気を治す (白血病に対するCAR-T細胞療法)

2016年12月の米国血液学会で発表された、小児・若年成人の再発・難治性B細胞性急性リンパ芽球性白血病を対象とした国際共同臨床第2相試験ELIANAでは、CAR-Tを投与した患者の**82%(50人中41人)**が、投与3カ月後に完全寛解または血球の完全な回復を伴わない完全寛解を達成

再発性・難治性 B細胞性白血病

(悪性化した細胞の表面には
CD19という特殊なタンパク質が発現)



日本では、3種のCAR-T細胞製品が
製造販売承認取得(2022年1月現在)

The Power of CAR-T Cell Therapy



<https://directorsblog.nih.gov/2017/08/30/fda-approves-first-car-t-cell-therapy-for-pediatric-acute-lymphoblastic-leukemia/>



<https://blog.dana-farber.org/insight/2019/01/pediatric-leukemia-survivor-having-a-ball-after-car-t-cell-therapy/>



<https://www.penmedicine.org/cancer/about/patient-stories/non-hodgkin-lymphoma-barbara>



<https://www.today.com/health/new-car-t-cancer-treatment-saved-mom-s-life-i-t124066>



„Es ist nicht genug zu wissen, man muß es auch anwenden; es ist nicht genug zu wollen, man muß es auch tun.“



知るだけでは十分でない、使わなければ
やる気だけでは十分でない、実行しなければ

Johann Wolfgang von Goethe

ヨハン・ヴォルフガング・フォン・ゲーテ

(1749-1832, ドイツの文豪、自然科学者、政治家、法律家)

謝 辞

国立医薬品食品衛生研究所
再生・細胞医療製品部の皆様

再生医療イノベーションフォーラム
多能性幹細胞安全性評価委員会
ならびにAMED MEASURE1/2プロジェクトの皆様

HESI CT-TRACSメンバーの皆様

実験動物中央研究所 伊藤守所長ならびに所内の先生方

大阪大学大学院医学系研究科 澤芳樹先生
ならびに研究室の先生方

大阪大学大学院薬学研究科 水口裕之先生

大阪はびきの医療センター 松山晃文先生

昭和薬科大学 宇都口直樹先生・小泉直也先生

神戸医療産業都市推進機構 川真田伸先生

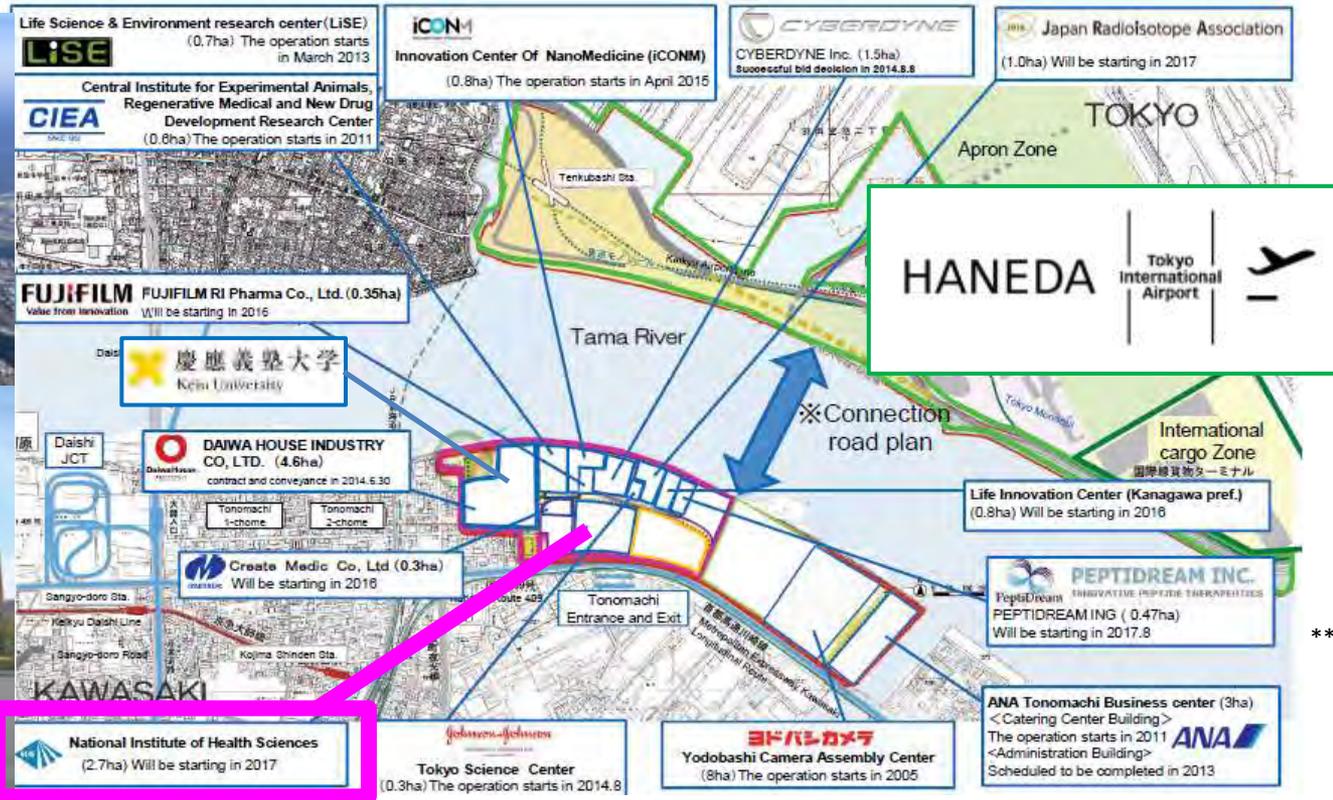
ご質問があれば・・・



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



* <https://www.oag.com/hubfs/air-canada-787.jpg>
 ** <http://www.city.kawasaki.jp/en/page/0000038680.html>