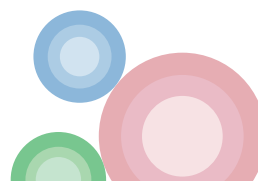




平成 27 年度

AMED 再生医療 公開シンポジウム



ポスター集

ポスター紹介

◆iPS細胞ストック

- ・再生医療用PS細胞ストック開発拠点 50
- ・疾患特異的iPS細胞樹立促進のための基盤形成 51

◆神経

- ・ヒトiPS由来神経前駆細胞の腫瘍形成能のメカニズムとその制御による安全性確保の検討 52
- ・高品質な分化細胞・組織を用いた神経系および視覚系難病のin vitroモデル化と治療法の開発 53
- ・疾患特異的iPS細胞技術を用いた神経難病研究 54
- ・iPS細胞由来神経前駆細胞を用いた脊髄損傷・脳梗塞の再生医療 55
- ・パーキンソン病、脳血管障害に対するiPS細胞由来神経細胞移植による機能再生治療法の開発 56

◆下垂体

- ・ヒトiPS 細胞を用いた視床下部・下垂体ホルモン産生細胞の分化誘導法と移植方法の開発 57

◆眼

- ・培養ヒト角膜内皮細胞移植による角膜内皮再生医療の実現化 58
- ・視機能再生のための複合組織形成技術開発及び臨床応用推進拠点 59
- ・加齢黄斑変性の治療を目指した同種iPS細胞由来網膜色素上皮細胞の研究開発 60
- ・iPS細胞を用いた角膜再生治療法の開発 61

◆研究支援

- ・再生医療における倫理的課題の解決に関する研究 62
- ・再生医療の早期実現化と国際展開に向けた研究開発支援 63

◆心臓・血管

- ・再生医療における血管形成制御技術の開発 64
- ・iPS細胞を用いた再生心筋細胞移植による重症心不全治療法の確立 65
- ・iPS細胞を用いた遺伝性心筋疾患の病態解明および治療法開発 66
- ・小児心不全に対するヒト幹細胞移植による先進医療の実用化加速に向けた第2相臨床研究 67
- ・心機能再生を目指した特定因子による細胞変換技術 68
- ・保険収載を目指した骨格筋筋芽細胞シート移植による心筋再生治療の実用化研究事業
重症心不全に対するiPS細胞由来心筋細胞シート移植の治験を目指した心筋再生治療の実現化研究 69
- ・再生医療用製品の大量生産に向けたヒトiPS細胞用培養装置開発 70
- ・低侵襲・高効果な次世代型血管再生治療の開発 71

◆骨格筋

- ・難治性筋疾患に対する細胞移植治療法の開発 72

◆細胞製造・加工システム

- ・Muse細胞を用いた再生医療の実現を目指した製剤製造システムの研究開発 73
- ・ヒト多能性幹細胞由来の再生医療製品製造システムの開発（網膜色素上皮・肝細胞） 74
- ・ヒト間葉系幹細胞由来の再生医療製品製造システムの開発 75
- ・ヒト多能性幹細胞由来の再生医療製品製造システムの開発（心筋・神経） 76

◆培養技術・容器

- ・多能性幹細胞から多種類の分化細胞を、最短時間、高効率、高品質、大量、
自在に生産するための基盤技術開発と産業化応用 77
- ・幹細胞培養用基材の開発 78
- ・再生医療に用いるiPS細胞大量培養プラットフォームの開発 79
- ・立体浮遊培養の再生医療への実用化のための自動化技術の開発 80

◆外分泌腺

- ・歯・外分泌腺などの頭部外胚葉器官の上皮・間葉相互作用制御による立体形成技術の開発 81

◆実験動物

- ・ブタ等大型動物を利用するiPS細胞技術の開発 82
- ・移植免疫寛容カニクイザルコロニーの確立と再生医療への応用 83

◆評価技術

- ・ iPS・分化細胞集団の不均質性を1細胞・全遺伝子解像度で高速に測定する技術の開発 84
- ・ iPS細胞・体性幹細胞由来再生医療製剤の新規品質評価技術法の開発 85
- ・ iPS細胞分化・がん化の量子スイッチング in vivo Theranostics 86
- ・ 再生医療のための細胞システム制御遺伝子発現リソースの構築 87

◆品質管理

- ・ ヒト成体間葉系幹細胞の再生医療実現のためのゲノム科学に基づく品質管理と体内動態研究 88
- ・ iPS細胞を用いた再生医療における造腫瘍性の対策に関する研究 89
- ・ ヒト幹細胞の造腫瘍性における病態解明とその克服に関する研究 90
- ・ 有害事象発生時の科学的な細胞検証を通じて細胞治療の安全性向上を目指す
臨床用細胞保管・検査拠点の構築 91
- ・ 種々のバリエーションを有したヒトiPS細胞由来分化誘導肝細胞の作製と毒性評価系への応用 92
- ・ ヒトiPS細胞由来褐色脂肪細胞を用いた新規糖尿病治療薬の開発 93

◆大腸

- ・ 培養腸上皮幹細胞を用いた炎症性腸疾患に対する粘膜再生治療の開発拠点 94

◆腎臓

- ・ 慢性腎臓病に対する再生医療開発に向けたヒトiPS細胞から機能的な腎細胞と腎組織の作製 95

◆脾臓

- ・ iPS細胞を用いた新規糖尿病治療法開発 96
- ・ iPS細胞を基盤とする次世代型脾臓移植療法開発拠点 97

◆肝臓

- ・ 重症高アンモニア血症を生じる先天性代謝異常症に対するヒト胚性幹（ES）細胞製剤に関する臨床研究 98
- ・ 培養ヒト骨髄細胞を用いた低侵襲肝臓再生療法の開発 99
- ・ iPS細胞を用いた代謝性臓器の創出技術開発拠点 100
- ・ 幹細胞パッケージングを用いた臓器再生技術と新規移植医療の開発 101
- ・ 肝硬変に対する脂肪組織由来間質細胞を用いた肝再生療法実用化研究 102
- ・ 加工ヒト細胞医薬品の新たな非臨床試験評価技術の開発 103

◆免疫系

- ・ 難治性血液・免疫疾患由来の疾患特異的iPS細胞の樹立と新規治療法開発 104
- ・ 他家ヒト間葉系幹細胞をモデルとした製造効率化と原材料等の国産化の可能性に関する評価 105
- ・ NKT細胞再生によるがん免疫治療技術開発拠点 106
- ・ B細胞性白血病 107
- ・ 再生アソシエイト細胞によるiPS細胞移植時の免疫寛容治療研究 108
- ・ iPS細胞を用いた再生医療における組織不適合の解決 109

◆骨・軟骨

- ・ 低侵襲移植を特徴とした自家培養軟骨の開発 110
- ・ 磁性化骨髄間葉系細胞の磁気ターゲティングによる骨・軟骨再生 111
- ・ iPS細胞由来軟骨細胞を用いた軟骨疾患再生治療法の開発拠点 112
- ・ 疾患特異的iPS細胞を活用した筋骨格系難病研究 113
- ・ 膝関節における外傷性軟骨欠損症又は離断性骨軟骨炎に対する
再生医療の産業化に向けた評価手法等の開発 114
- ・ 滑膜幹細胞による半月板・関節軟骨の治癒促進・再生 115

◆皮膚

- ・ 自家培養軟骨・同種培養表皮・同種培養真皮の産業化に向けた評価手法等の開発 116
- ・ 表皮水疱症に対する他家骨髄間葉系幹細胞移植再生医療の実用化研究 117

◆血小板

- ・ iPS細胞技術を基盤とする血小板製剤の開発と臨床試験 118

疾患特異的iPS細胞樹立促進のための基盤形成

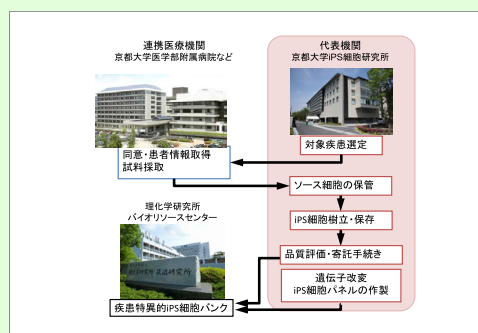
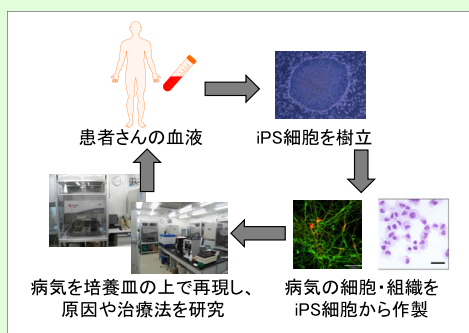
～疾患特異的iPS細胞を活用した難病研究【樹立拠点】～



【代表研究者】
京都大学
iPS細胞研究所
所長／教授 山中 伸弥

概要

疾患特異的iPS細胞とは、様々な病気の患者さんから樹立したiPS細胞のことです。病気の研究のためであっても、患者さんの心臓の筋肉や脳神経などを試料とすることはなかなかできません。疾患特異的iPS細胞を用いて培養皿の中で病気の細胞を作れば、病気の発症メカニズムの解明や、治療法開発に役立つと期待されています。本研究では、患者さんの数が少なく研究が遅れている難病を中心に、様々な病院などと連携して、患者ボランティアの多くの方々から細胞を提供してもらい、疾患特異的iPS細胞を樹立し、理化学研究所バイオリソースセンターに寄託します（疾患特異的iPS細胞バンク）。これにより、我が国における疾患特異的iPS細胞研究の基盤を確立し、多くの研究者や企業がiPS細胞を病気の原因解明や治療法開発に活用できる環境を整備します。



疾患特異的iPS細胞を用いた難病の研究

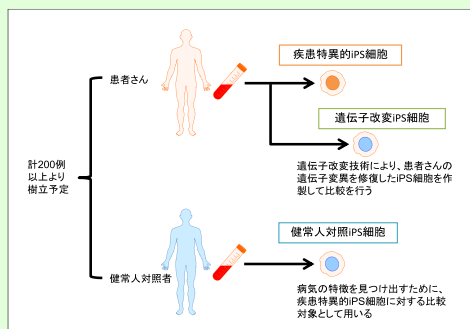
患者さんの血液や皮膚などから作製したiPS細胞より、心臓や神経などの病気の部位の細胞を作製することができるので、これらの細胞を用いて患者さんに大きな負担を強いることなく、病気の研究・治療法開発が可能になります。

研究計画概要

代表機関が主体となって対象疾患の選定を進め、複数の医療機関と連携して患者さんから血液の提供を受け、iPS細胞を樹立します。樹立した細胞は、品質評価を行い、合格したものを理化学研究所バイオリソースセンターへ寄託します。

成果と今後の展望について

現在、iPS細胞作製・評価および寄託のための一連の体制を構築し、疾患特異的iPS細胞の寄託を進めております。連携医療機関においては、倫理的な面に十分に配慮したうえで、患者さんからの細胞採取を進めており、iPS細胞の樹立・寄託も進行中です。並行して、遺伝子改変iPS細胞の樹立を進め、疾患解析や治療薬開発に役立てていきたいと考えております。



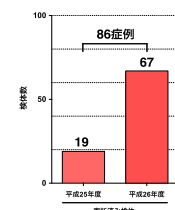
樹立予定のiPS細胞

患者さんより樹立したiPS細胞の他、比較対象として用いる健康人対照者由来の細胞、また遺伝子改変により患者さんの病変を修復したiPS細胞を作製し、様々な比較検討が行えるようにする予定です。

対象疾患

1. 指定難病
2. 多型疾患
 - 多型が発症リスクに
関与する疾患
3. 日本人に特有の疾患
 - 日本の疾患iPS細胞
バンクのオリジナリティ

進捗状況



対象疾患と進捗状況

難治性疾患（国の定める指定難病）、多型疾患、日本人に多い疾患を重点的にリクルートする予定です。平成26年度までに86症例がバンク寄託されており、更に樹立を進めております。

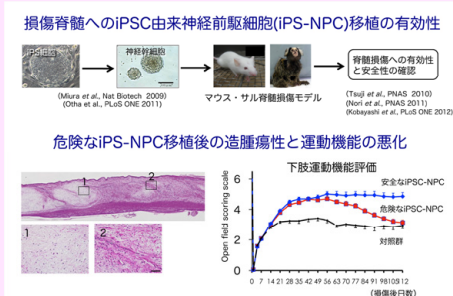
ヒトiPS由来神経前駆細胞の腫瘍形成能のメカニズムとその制御による安全性確保の検討 ～難病・がん等の疾患分野の医療の実用化研究事業～



【代表研究者】
慶應義塾大学
医学部
教授 中村雅也

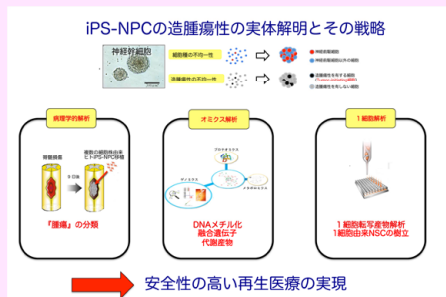
概要

ヒトiPS細胞由来神経前駆細胞(iPS-NPC)は脊髄損傷、脳梗塞、神経変性疾患などに対する再生医療用細胞として期待されています。ヒトiPS-NPCは、これまで亜急性期脊髄損傷に対する治療効果を持つことが実験動物を用いた研究で明らかにされました。しかし、特定のヒトiPS-NPCにおいては移植後に腫瘍様に増殖することも報告されています。本研究では、ヒトiPS-NPCが組織内で形成する組織型の解析、そしてヒトiPS-NPC内の細胞の多様性に着目し、腫瘍様組織形成の実体を明らかにし、中枢神経系疾患に対する再生医療の安全性確保を目指します。



iPS由来神経前駆細胞移植後における「造腫瘍性」

マウスやサルの損傷脊髄へのヒトiPS-NPC移植後に機能回復はみられますが、特定のiPS-NPCにおいては、移植後に腫瘍様に増殖し、一度は回復した運動機能が再悪化しました。

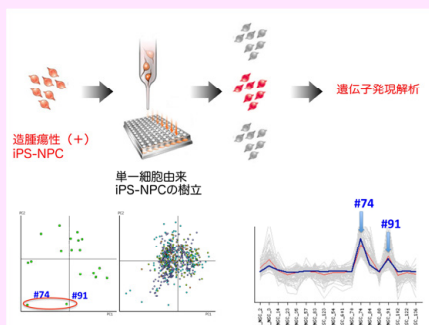


iPS由来神経前駆細胞の造腫瘍性の実体解明

iPS-NPCの腫瘍の作りやすさの実体解明には移植後の組織を詳細に解析し、分類する必要があります。また、遺伝子発現などから移植前に危険なiPS-NPCを見つけることも重要です。iPS-NPCは色々な状態の細胞が含まれている可能性があり、1つずつのiPS-NPCの状態を解析することも重要です。

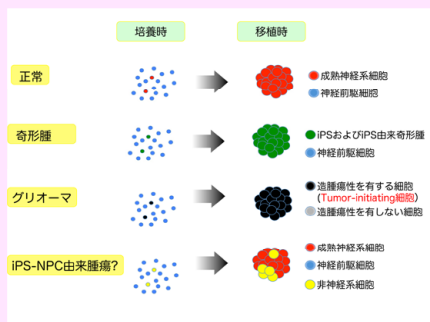
成果と今後の展望について

iPS細胞を用いた再生医療実現に向けてiPS細胞由来細胞の腫瘍化は重要な問題です。腫瘍化は通常病理学的な組織により判断されますが、その基準は腫瘍病理学の知見に基づくものです。iPS-NPCは移植後に一定期間増殖し、分化・成熟していきます。成体の神経系においては増殖性の細胞が通常存在せず、増殖性細胞の存在は腫瘍の存在を意味してしまいます。そのため、移植細胞をある時期に観察すると病理学的には腫瘍細胞と判断されてしまいます。そこで、私たちは経時的な変化を詳細に検討し、iPS-NPCが実験動物の中で示す組織型を分類しています。また、移植後に増殖して運動機能を悪化させるiPS-NPCを利用して、安全性の高いiPS-NPCを選別するためのマーカーを見つけること、そして安全性の高いiPS-NPCを作成し、その品質管理を行うための実験手法や検査法も検討しています。



単一細胞由来iPS由来神経前駆細胞の樹立

移植後に中枢神経組織内での増殖が認められたiPS-NPCから単一細胞由来のクローンを樹立し、遺伝子発現解析を行ったところ特定の細胞集団において腫瘍関連遺伝子の発現上昇が認められた。



iPS細胞由来神経前駆細胞は腫瘍を形成するのか？

iPS細胞の樹立方法は現在かなり改善されています。私たちの現在までの研究により、当初考えられていた神経系腫瘍を生み出す可能性はかなり低く、適切な神経系誘導法と品質管理により充分予防可能なものであると考えています。

高品質な分化細胞・組織を用いた神経系および視覚系難病のin vitroモデル化と治療法の開発 ～疾患特異的iPS細胞を活用した難病研究【共同研究拠点】～



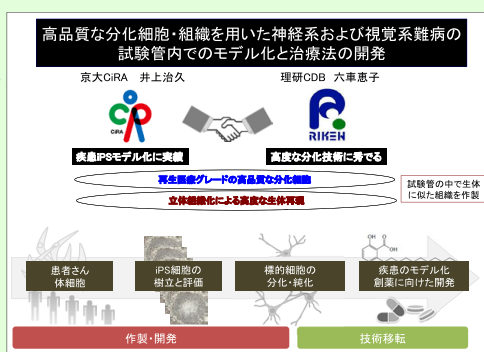
【代表機関 代表】
京都大学iPS細胞研究所
教授 井上 治久



【分担機関 代表】
理化学研究所CDB
六車 恵子

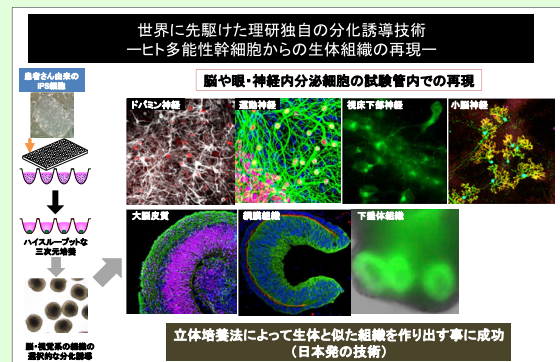
概要

京都大学と理化学研究所はこれまで再生医療などの研究開発を通して、世界に先駆けてヒトiPS細胞の樹立技術、分化技術、純化技術などを蓄積してきました。本事業では、その技術を応用して、神経系および視覚系の疾患モデル細胞・組織を形成し、それらを厚生労働省での難病研究で優れた業績を上げられている臨床系研究者に技術提供する事で、未だ病因・病態に不明な点が多い神経系および視覚系の難病に対する研究の推進と画期的な治療法の開発への貢献を目指すものです。また、こうした共同研究のためのプラットフォームを国内の創薬系の企業での開発研究にも広げ、難病・希少疾患に対する治療薬の開発を大幅に加速しています。



京都大学と理化学研究所の強い連携に基づいた疾患特異的iPS細胞を利用した技術応用の支援拠点

両機関はこれまでも再生医療の実現に向けて協力し実績を積み上げてきました。その実績を基に「移植にも使える質の高い、機能的な組織」を作製する分化誘導法を利用して、病態・原因の解明や創薬開発への利用を進めています。

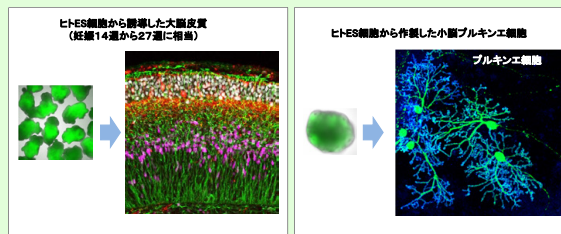


独自に開発した三次元立体内臓法によって試験管内での生体組織の再現に成功

iPS細胞から、病気に関わる細胞を分化しています。理化学研究所が開発した方法によって、生体内の組織と非常によく似た立体構造を作ることが出来ます。病態を再現した組織を利用して、難病を克服するための研究・治療法の開発に活かしています。

成果と今後の展望について

本拠点では、神経難病(ALS、パーキンソン病、大脳・小脳の希少難病など)、神経内分泌難病(家族性尿崩症、下垂体不全など)、視覚系難病(加齢黄斑変性、網膜色素変性、角膜変性など)のiPS細胞を作製しています。これらの細胞から疾患のモデルとなる細胞や組織への分化誘導に挑戦し、これまで世界に先駆けて、大脳神経や小脳神経、視床下部前駆細胞、網膜色素上皮を作り出す事に成功しています。この分化誘導技術を、この拠点に参加する厚生労働省の難病班研究者や製薬企業に移転することで、研究・開発を支援しています。また、作製したiPS細胞は理化学研究所(バイオリソースセンター)へ寄託し、幅広い研究開発に役立てています。



【成果と今後の取り組み】ヒトES細胞から胎児期に相当する大脳皮質と小脳細胞を作製する事に成功

理化学研究所は立体内臓法に加え、長期間の培養法も新たに開発しました。この結果、胎児期と同様の組織構造をもった大脳皮質を作製する事に成功しました。また、小脳神経の作製にも成功しました。現在、大脳・小脳の神経難病の病態・原因の解明や創薬開発のために疾患特異的iPS細胞を使って挑戦しています。

iPS細胞から病態とよく似た細胞・組織を作製し、試験管の中で病気のモデル化を行います。

iPS細胞から作製した組織が、どのくらい病態と似ているのかを評価し、薬の効果を調べるためにふさわしいモデルを作製します。

初期の評価

少数のiPS細胞を利用して、多くの化合物の効果を調べ、薬の候補を選び出します。

治療薬候補の評価

多数のiPS細胞を利用して、薬の効果を調べます。また、副作用の確認も行います。

iPS細胞を利用した治療薬の開発戦略

京都大学の疾患モデル化技術と理化学研究所の培養技術を利用して、iPS細胞を利用した治療薬候補の開発支援を行っています。

疾患特異的iPS細胞を活用した難病研究

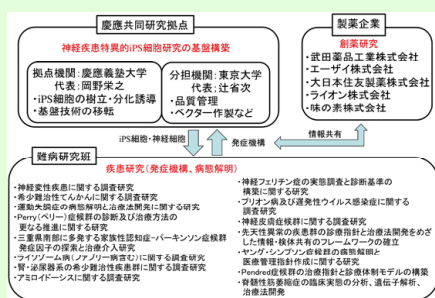
～疾患特異的iPS細胞技術を用いた神経難病研究【共同研究拠点】～



【代表研究者】
慶應義塾大学
医学部
教授 岡野 栄之

概要

ヒトの神経系(脳や脊髄)は、神経細胞やアストロサイト、オリゴデンドロサイトといったグリア細胞など種々の細胞によって構成されています。その中のどの細胞が異常を来すかによって症状は様々で、非常に多くの種類の神経難病があることが知られています。私たちは、15の神経難病研究グループと共同で患者さんからiPS細胞を作製して、それぞれの病気で異常を来す細胞に分化させ、これまで患者さんの体内にあり観察することが困難であった神経難病の病態を解析し、その結果をもとに新しい治療法や薬を開発することを目指しています。



【図1】本拠点の組織図

慶應義塾大学と東京大学で拠点を形成し、15の研究班・5つの製薬企業と共同でiPS細胞を作製し、疾患研究・創薬研究を推進します。

【樹立したiPS細胞の品質管理】

- ・未分化マーカーの発現
- ・神経系への分化能
- ・核型解析
- ・ゲノム解析(一部のiPS細胞株)

【樹立状況】

- ・運動失調症……2疾患
- ・神経変性疾患……2疾患
- ・小児疾患……3疾患
- ・感覚器疾患……1疾患
- ・その他……1疾患

【図2】疾患特異的iPS細胞の品質管理と樹立状況

本拠点では、未分化マーカー発現や神経系への分化能に加えて、核型解析や東大・辻らの共同でゲノム解析によって、樹立したiPS細胞の品質管理を行っています。

これまでに、9つの疾患に関して、疾患特異的iPS細胞の樹立を進めております。

上記品質管理項目をクリアしたiPS細胞株を選定し、順次、理化学研究所バイオリソースセンターへの寄託を行い研究者に広く使っていただけるようにいたします。

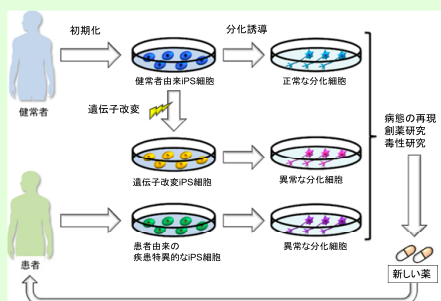
成果と今後の展望について

これまでに、9つの疾患に関して、疾患特異的iPS細胞の樹立を進めております(図2)。

疾患特異的iPS細胞を用いることで、これまでは観察することが困難であった神経系疾患の発生過程を、iPS細胞から分化誘導した神経系細胞で再現することが可能となり、このことによって神経系の難治性疾患の病態解析等が促進されます。得られた結果は、創薬研究への応用も期待されます。

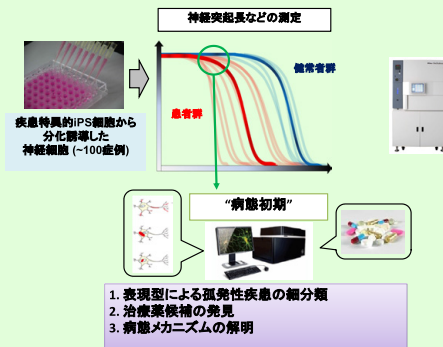
私たちの拠点では、樹立したiPS細胞の品質管理を徹底し、選定したiPS細胞株は理化学研究所バイオリソースセンター(理研BRC)に寄託しますので、多くの研究者が使えるようになり、基礎(発症機序や病態解析など)から応用(創薬研究など)まで多くの研究が進むことが期待されます。

さらに、目的の細胞を効率よく分化誘導する方法、可視化や分離方法を、東京大学との共同で開発しています。



【図3】疾患特異的iPS細胞を使った新しい治療の開発と創薬

疾患特異的iPS細胞から誘導された細胞を、病気にかかっていない人から作製したiPS細胞から誘導した細胞と比較します。その結果からこれまでわかっていなかった病気の原因を突き止めた、製薬企業による新しい薬の開発が期待されます。武田薬品工業・エーザイ・大日本住友製薬・味の素・ライオンが本拠点に参加しています。



【図4】多検体処理技術を用いた創薬研究

多数(～100症例)の疾患特異的iPS細胞から分化誘導した神経細胞に各種化合物を添加し、神経突起の長さや細胞死などの指標を経時的に測定する技術を開発しました。この技術を用いることで、家族性の疾患のみならず孤発性疾患に対する化合物スクリーニングや病態解析への展開が可能になると期待されます。

iPS細胞由来神経前駆細胞を用いた脊髄損傷・脳梗塞の再生医療 ～疾患・組織別実用化研究拠点【拠点A】～



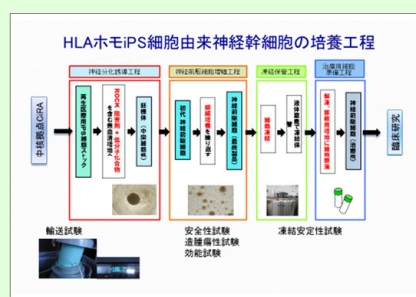
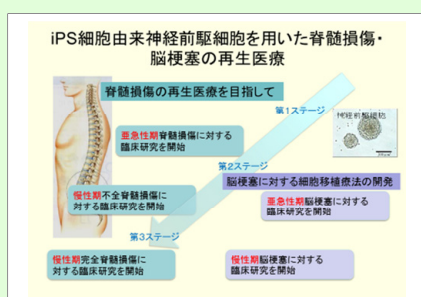
【代表研究者】
慶應義塾大学
医学部
教授 岡野 栄之

概要

中枢神経である脳と脊髄は、一度傷害を受けると再生しないと言われてきました。事実、医療が進歩した現在でも、傷害された脳や脊髄そのものを治療する方法はいまだ確立されていません。そこで私たちは、iPS細胞由来神経前駆細胞を用いた脊髄と脳の再生医療を実現するために、基礎研究を行ってきました。

本プログラムでは、第1ステージでは亜急性期脊髄損傷、第2ステージでは慢性期不全脊髄損傷および亜急性期脳梗塞、第3ステージでは慢性期完全脊髄損傷、慢性期脳梗塞に対する臨床研究の開始という達成目標を設定しています。

今回は第1ステージにおける細胞製造工程のあらましと、第2ステージに向けて慢性期不全脊髄損傷での細胞移植の有効性の検討について報告します。



プログラムの概要

本プログラムでは、第1ステージでは亜急性期脊髄損傷、第2ステージでは慢性期不全脊髄損傷と亜急性期脳梗塞、第3ステージでは慢性期完全脊髄損傷と慢性期脳梗塞に対する臨床研究の開始という達成目標を設定しています。

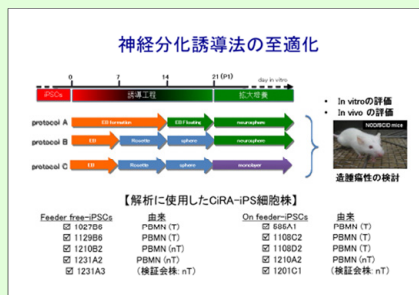
臨床で使用する細胞の培養工程

CiRAで樹立されたiPS細胞ストックから神経細胞への分化誘導工程、拡大培養工程を経て、移植用の神経前駆細胞が作成されます。

成果と今後の展望について

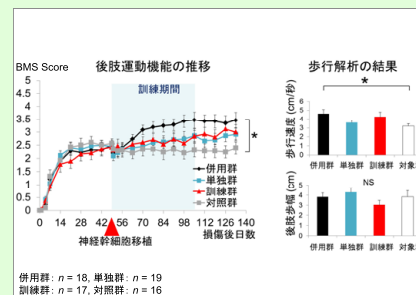
第1ステージである亜急性期脊髄損傷の臨床試験の準備は順調に進んでおります。

また、第2ステージにおける慢性期不全脊髄損傷においても、基礎研究で移植神経幹細胞を歩行訓練と併用することで、有意な運動機能の回復が確認できたと考えています。しかし今回の基礎研究では、併用群と単独療法群の間には有意差は観察されませんでした。そこで、治療抵抗性の損傷中心部に対して、瘢痕を融解したり、軸索伸展阻害因子の抑制剤を投与するなどの薬物治療を併用することを計画しており、さらなる治療効果を望めると考えています。



神経分化誘導法の検討

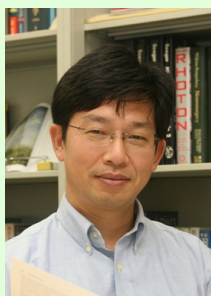
安全な神経分化誘導法を確立するため3つのプロトコル(Protocol A, B, C)について移植実験を繰り返し、安全なProtocol Aに最適化することができました。



運動機能評価

併用群のマウスで、対照群と比べて有意な運動機能の改善を認めました (*: p<0.05)。移植単独群や訓練群でも改善しているように見えますが、有意差は認めていません。

パーキンソン病、脳血管障害に対するiPS細胞由来神経細胞移植による機能再生治療法の開発 ～疾患・組織別実用化研究拠点【拠点A】～



【代表研究者】
京都大学
iPS細胞研究所
教授 高橋 淳

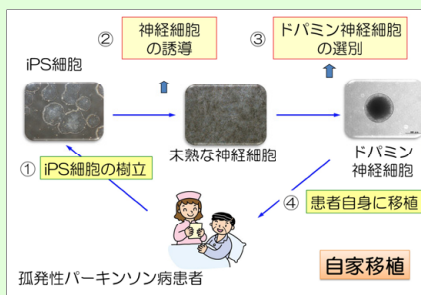
概要

本拠点では主にパーキンソン病を対象に、iPS細胞を用いた細胞移植治療の実現化を目指しています。

パーキンソン病とは、ドパミンを産生・分泌する神経細胞(ドパミン神経細胞)が進行性に減少する神経難病です。病気が軽いうちは薬がよく効くのですが、病気が進行すると薬での症状のコントロールが難しくなります。薬が効果を発揮するためにもドパミン神経細胞が必要だからです。

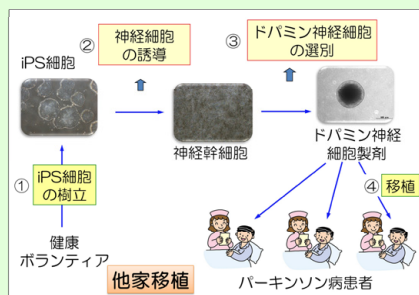
ドパミン神経細胞を移植することによって、①薬を効きやすくする、②脳内のドパミンの量を増やすことが目的です。

自分のiPS細胞で自分を治す「自家移植」と、健康な人から作製したiPS細胞を使ってより多くの人を治す「他家移植」を計画しています。



iPS細胞由来ドパミン神経細胞の自家移植

自分の血液からiPS細胞を樹立し、さらに神経細胞を誘導。その中からドパミン神経細胞を選んで、患者自身の脳に移植します。自分の細胞なので免疫抑制の必要がありませんが、手間・時間とコストがかかります。



iPS細胞由来ドパミン神経細胞の他家移植

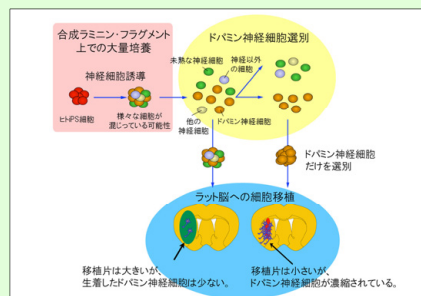
京都大学iPS細胞研究所では健康ボランティアの方から血液をいただいてiPS細胞を樹立しています。その細胞から大量のドパミン神経細胞を作製し、多くの患者さんに移植します。一人あたりのコストは抑えられますが、免疫抑制が必要です。

成果と今後の展望について

我々はこれまで、ヒトES細胞やヒトiPS細胞を用いて、①ドパミン神経細胞が誘導できること、②そのドパミン神経がパーキンソン病モデルのラットやカニクイザルの脳に生着して行動改善をきたしうること、を報告してきました。

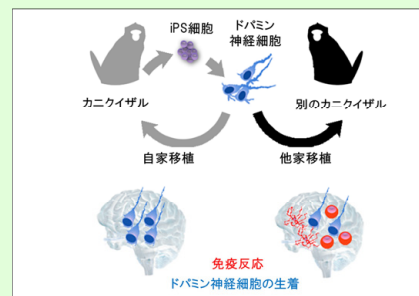
さらにより安全かつ効果的な細胞移植を目指して、ドパミン神経細胞を高度に濃縮する方法を開発しました。この方法では移植後に増殖する可能性のある細胞は事前に除去され、生着するドパミン神経細胞の濃度は高くなります。また、カニクイザルを用いて自家移植と他家移植の直接比較を行い、自家移植では免疫反応は起こらずに良好なドパミン神経細胞生着が得られることを明らかにしました。

現在は最終の有効性・安全性確認をしており、確認ができ次第臨床応用に移りたいと考えています。



iPS細胞からの神経細胞大量培養とドパミン神経細胞の選別

ヒトへの移植を行うには数百万個の細胞を移植する必要があります。その際どうしてもドパミン神経細胞以外の細胞が混じってしましますが、我々はドパミン神経細胞を濃縮する方法を開発し、より安全に移植が行えることを明らかにしました。



自家移植と他家移植の直接比較

自家移植では免疫抑制を行わなくても、ドパミン神経細胞の良好な生着が期待できます。一方、他家移植では免疫抑制なしでは免疫反応がみられたもののあまり激しいものではなく、免疫抑制剤を使えば他家移植もできると期待されます。

ヒトiPS細胞を用いた視床下部-下垂体ホルモン産生細胞の分化誘導法と移植方法の開発 ～技術開発個別課題～

概要

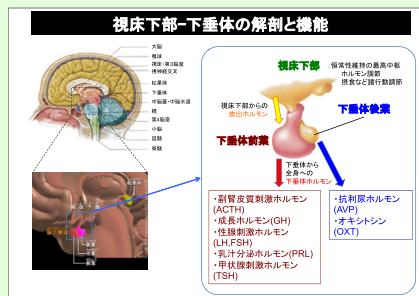


【代表研究者】
名古屋大学
医学部
助教 須賀 英隆

私たちは、全身状態を一定に保つ(恒常性)ために、様々な機能を無意識のうちに調節して生きています。なかでも重要なのが、内分泌系です。内分泌系はホルモンを適切な量で分泌して恒常性を保っています。

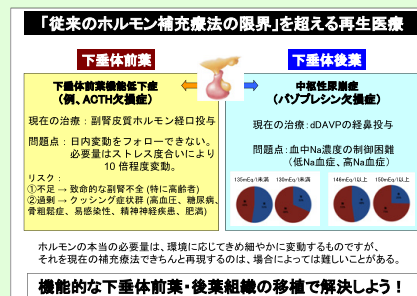
視床下部-下垂体は、種々のホルモン分泌を調節する、内分泌系の司令塔です。その機能に問題が発生すると、全身に重大な影響を与えます。

現在のところ、視床下部-下垂体の機能低下症に対する治療は、不足したホルモンを補充するのが主流です。しかし、視床下部-下垂体の非常に複雑で緻密な制御を再現するのは簡単なことではありません。本課題では、ヒトiPS細胞から視床下部-下垂体のホルモン産生細胞を作り、疾患モデル動物を治療する方法を開発することで、将来、ヒトでの新たな再生治療法開発への道筋をつけようとしています。



視床下部-下垂体の解剖と機能

ヒトの脳のなかで1cmに満たない小さな組織ですが、体の恒常性を維持する働きをしています。視床下部からの指令を通じて下垂体から数種類のホルモンが分泌され、体の調子を整えています。



「従来のホルモン補充療法の限界」を超える再生医療

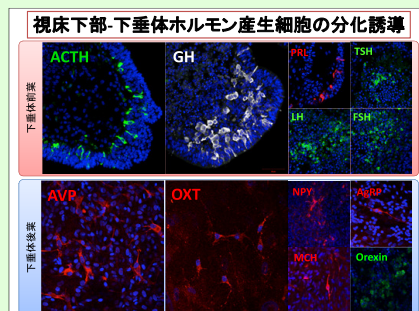
視床下部-下垂体の病気には、ホルモンが高すぎる病気と低すぎる病気とがありますが、本研究課題では後者をターゲットに、再生医療への道筋をつけるのを目的とします。

成果と今後の展望について

ヒトES細胞から、下垂体前葉も後葉も、すべての種類のホルモン産生細胞が分化誘導できるようになりました。ヒトiPS細胞からも同じように分化させられるよう、分化法を改良中です。

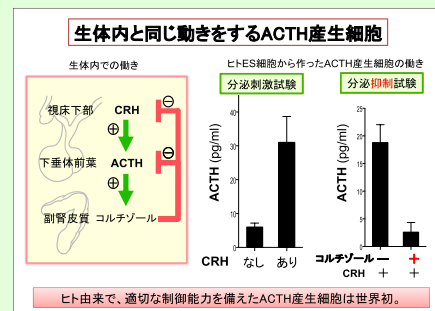
その中で、ACTH産生細胞については、周囲の環境に応じてホルモン分泌を自動調節できていること、つまり、生体内での働きと同じ性質を備えていることを確認しました。病気を模したマウスへの移植で、治療効果があることを示しました。

今後、効率や安全性を高める工夫をして、ヒトの臨床利用に向けた準備を着実に進めていきます。



下垂体前葉細胞も後葉細胞も分化可能

下垂体前葉や後葉に含まれる、すべての種類のホルモン産生細胞をヒトES細胞から分化させられるようになりました。今後は、ヒトiPS細胞でも作製できるようにし、また、分化効率の改善や安全性の向上を図ります。



分化誘導したACTH産生細胞の機能は、生体と同じ

上流からのCRH刺激でACTHが分泌されることを確認しました。また、下流のコルチゾールが十分に存在するときはACTH分泌がきちんと停止することも確認しました。生体内の内分泌細胞と同じ動きをしていると言えます。

培養ヒト角膜内皮細胞移植による角膜内皮再生医療の実現化



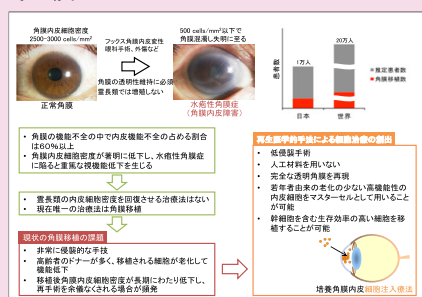
【代表研究者】
京都府立医科大学
医学部
教授 木下 茂

■ 概要 ■

角膜内皮は角膜を裏打ちする一層の組織で角膜の透明性維持に必須です。角膜内皮が機能不全に陥る水疱性角膜症では重症な視力障害が生じます。従来の角膜移植の長期予後は不良で新規治療法の開発が望まれています。

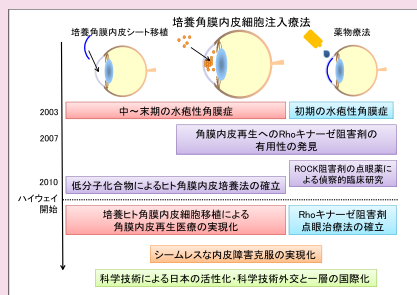
角膜内皮細胞の生体外での培養は従来は非常に困難でした。我々はRhoキナーゼ阻害剤等を用いて角膜内皮細胞の正常な状態での大量培養に成功しました。

さらに眼内に培養角膜内皮細胞とRhoキナーゼ阻害剤の懸濁液を注入することで水疱性角膜症の角膜内皮を再建して角膜の透明性を回復する、極めて低侵襲な治療法の開発を行い、平成25年12月より水疱性角膜症に対する培養ヒト角膜内皮細胞移植を世界で初めて実施しています。



水疱性角膜症とその新規治療法の開発

外傷・疾病・手術などによって水疱性角膜症に陥ると重症視力障害を生じます。水疱性角膜症に対する唯一の治療法はドナー角膜を用いた角膜移植術です。再生医学的手法を駆使した新規治療法の開発が望まれています。



再生医学的手法による水疱性角膜症の克服

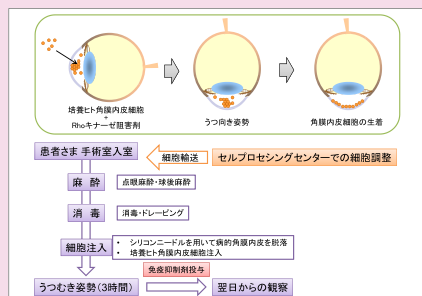
Rhoキナーゼ阻害剤が霊長類角膜内皮細胞の培養を高効率化することと生体内で角膜内皮細胞の接着を促進することを利用して、キャリアを用いずに培養角膜内皮細胞を眼内注射により移植する新医療技術を開発しました。

■ 成果と今後の展望について ■

臨床応用を可能にする安定で安全な高品質ヒト角膜内皮細胞の培養法を創出し、水疱性角膜症モデル動物を用いた非臨床研究でPOC(概念実証)を獲得しました。

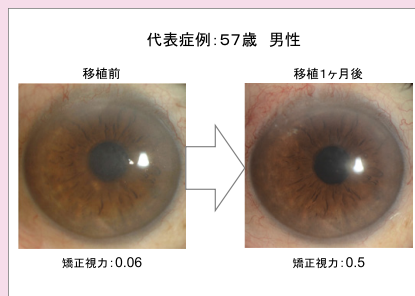
平成26年3月までに3例の臨床研究を実施し、本細胞注入療法の安全性を確認するとともに、角膜の透明化や視力改善などの有効性を確認しています。この体性幹細胞を用いた細胞注入療法は眼科領域のみならず培養細胞の注入移植により組織形成を実現した初めての成果です。

将来的にはアジア、欧米の眼科施設との多施設共同研究や産業界の参画により、本プロジェクトで開発する培養ヒト角膜内皮細胞の眼内注入療法が、我が国発の角膜内皮障害に対する世界標準的医療となることを目指します。



培養ヒト角膜内皮細胞注入療法の臨床研究の実験

局所麻酔下で病的角膜内皮細胞を脱落させた後に、培養ヒト角膜内皮細胞懸濁液を前房内に注入します。手術終了直後より3時間以上のうつむき姿勢をとり、培養ヒト角膜内皮細胞の角膜内皮面への接着を促します。



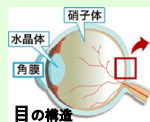
培養ヒト角膜内皮細胞移植を世界で初めて実施

平成25年12月から京都府立医科大学附属病院にて臨床研究を開始しました。平成26年3月までに3例の臨床研究を実施し、本細胞移植治療の安全性を確認するとともに、角膜の透明化や視力改善などの有効性も確認しています。

視機能再生のための複合組織形成技術開発及び臨床応用推進拠点 ～疾患・組織別実用化研究拠点【拠点A】～



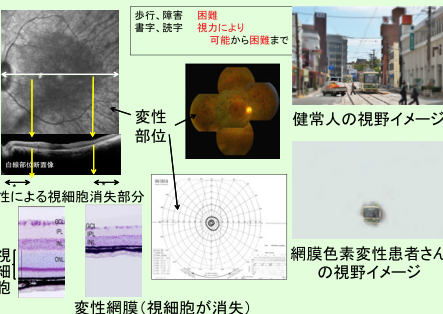
【代表研究者】
理化学研究所
網膜再生医療
研究開発プロジェクト
プロジェクトリーダー
高橋政代



概要

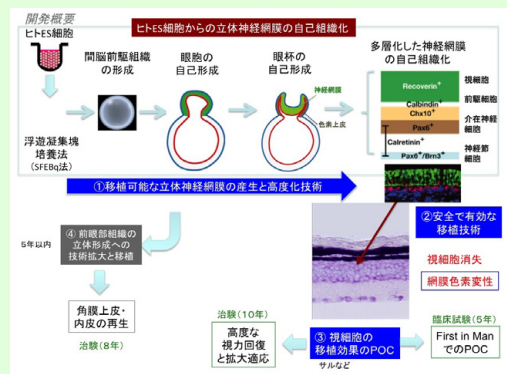
網膜色素変性は、様々な遺伝子の変異を原因として起こる視細胞の変性疾患で、症状としては徐々に進行する視野の狭窄や夜盲があり、進行すると著しい視力の低下をきたします。このプロジェクトでは、ES/iPS細胞(多能性幹細胞)から作製した視細胞を移植することにより、「暗いところでも光がわかるようになる」「失われた視野がいくらか回復する」「病気の進行を抑える」といった効果を目指しています。また、同時に、同じ眼組織の中でも角膜を作製する技術や、より効果的な移植治療のためのより高度な、あるいは安定した、分化培養技術の開発も目指します。

網膜色素変性 3000人に1人 40以上の原因遺伝子



網膜色素変性

網膜色素変性では視細胞が徐々に周辺から失われて、その部分では見えない状態となり、中心に向かって視野が狭くなって行きます(中心性視野狭窄)。



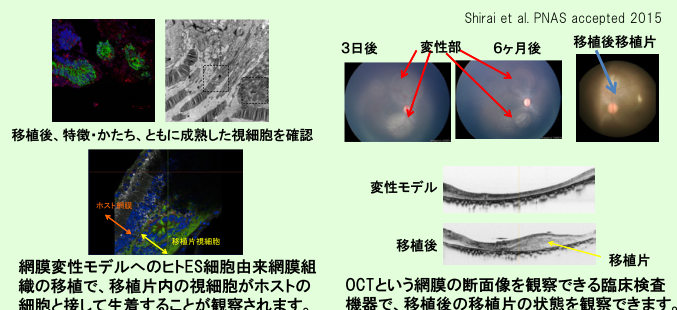
ES細胞からの網膜分化培養技術

これまでES細胞から発生段階をなぞらえて「自己組織化」培養により、網膜組織を分化する技術を開発してきました。最初の臨床試験では、視細胞の失われた網膜色素変性に、分化した視細胞を移植することを目指します。

成果と今後の展望について

これまでに、マウスやラットの網膜変性モデルおよびサル局所視細胞変性モデルを用いて、ES/iPS細胞より分化した視細胞が生着、高度に分化成熟し、ホストの細胞とシナプス形成する可能性を示しました。また、ヒトのES/iPS細胞からより効率よく良質な網膜組織が分化できる方法を開発しました。今後、臨床応用にむけて、移植に適した材料、分化方法、及び品質規格の設定などを行っていきます。また動物モデルにおいてヒト組織においてもシナプス形成が得られるかを確認するとともに、免疫不全動物を用いてiPS細胞から分化した網膜組織の移植の安全性を評価していきます。

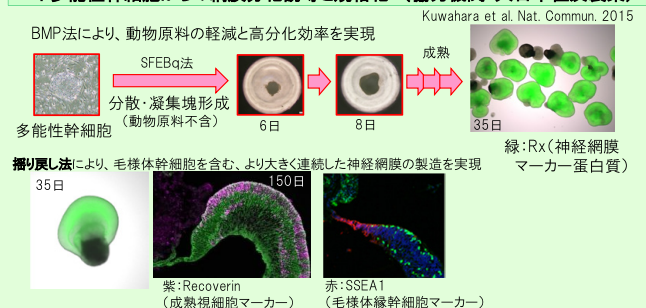
中型動物(サル)網膜変性モデルへの移植



げっ歯類および中型動物の網膜変性モデルへのヒトES/iPS細胞由来網膜組織移植

移植片は層として生着し、視細胞としての高度な形態を獲得すると同時にホストの細胞とシナプス形成をしている可能性を示唆しました。移植後に光応答性の反応を確認しています。また、サルでの局所視細胞変性モデルを作製し、ヒトES由来網膜組織を移植し、その生着、成熟を確認しました。

ヒト多能性幹細胞からの網膜分化誘導と規格化 (協力機関:大日本住友製薬)



ヒトES/iPS細胞から分化した網膜組織の安定生産技術の確立

ヒトのES/iPS細胞から、より高効率かつ高品質な網膜組織が分化できるようになり、安定生産の目的が立ちました。またこの時、臨床応用を念頭に、原料となるiPS細胞や分化培地など、臨床に適合したものを使っての分化方法を確立しています。臨床応用のための規格を設定し、それに適合した安定した移植材料の供給を目指しています。

加齢黄斑変性の治療を目指した同種iPS細胞由来網膜色素上皮細胞の研究開発 ～再生医療等の産業化に向けた評価手法等の開発～



【代表研究者】
株式会社ヘリオス
澤田 昌典

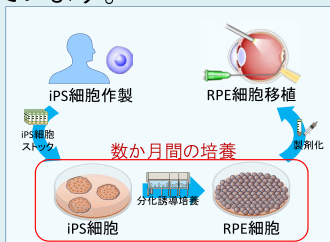
概要

株式会社ヘリオス(旧:株式会社日本網膜研究所)は2011年に設立され、iPS細胞由来の網膜色素上皮細胞(RPE細胞)移植による加齢黄斑変性治療法の実用化に向けた検討をスタートしました。2014年に理化学研究所の高橋政代先生によって、世界初のiPS細胞由来のRPE細胞移植が行われました。より多くの患者さんにiPS細胞による新しい治療を届けられるよう、ヘリオスでは独自のノウハウを用いた効率的なRPE細胞培養法を確立し、iPS細胞由来のRPE細胞の商用生産に向けた製造技術開発を進めています。

本事業では細胞製造装置であるアイソレーターを用いて、安定した製造を行うための運用法について作業工程の評価や作業に適した道具の検討などに取り組んでいます。



世界初のiPS細胞を用いた移植手術
(出所)産経新聞 2014/9/13朝刊
理化学研究所の高橋政代先生によってiPS細胞から作製したRPE細胞の移植手術が実施されました。



iPS細胞から移植治療までの流れ
iPS細胞由来の再生医療製品が患者さんに届くまでには、様々な工程を経る必要があります。特に培養工程は数か月に及び、熟練者による操作や判断が求められます。



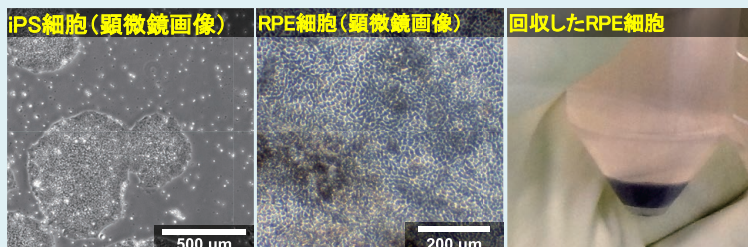
アイソレーターによるRPE細胞製造

数か月の培養期間中は製造環境を無菌状態に維持する必要があります。アイソレーターは無菌の閉鎖空間を作り出すことができる装置で、安全に細胞培養を続けることができます。

成果と今後の展望について

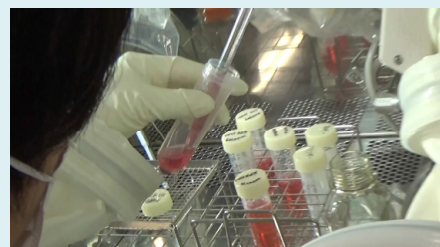
従来はiPS細胞・RPE細胞の培養は安全キャビネットを用いて行っていましたが、2014年度本事業においてアイソレーターを用いてiPS細胞からRPE細胞の製造を実施しました。最終製品を検査した結果、安全キャビネット内で培養したRPE細胞と同等の品質であることが確認されました。

アイソレーターを用いた細胞製造はまだ始まったばかりで、細胞を安定供給するためには資材・設備・道具などの運用について改善を続けていくことが必要となります。今後も本格的な商用生産に向けた検討を続け、患者さんにiPS細胞による新しい治療を届けられるよう取り組んで参ります。



アイソレーター内で製造したRPE細胞

(左:培養中のiPS細胞、中:培養中のRPE細胞、右:回収されたRPE細胞)
従来の細胞培養では安全キャビネット内を用いて細胞操作を行っていました。2014年度本事業ではiPS細胞からRPE細胞を得るための一連の製造工程(100日以上)をアイソレーター内で実施しました。



より良い品質の細胞を安定供給するために

作業者ごとのちょっとした操作の違いや、日々の製造環境の変動などによって培養中の細胞は影響を受けると考えられています。より良い品質の細胞を安定供給するために、今後も資材・設備・道具などの運用を改善し続けることが重要となります。

iPS細胞を用いた角膜再生治療法の開発 ～再生医療の実現化ハイウェイ（課題B）～



大阪大学大学院
医学系研究科眼科学
教授 西田 幸二

概要

難治性の角膜疾患の治療には、ドナー角膜を用いた角膜移植法が現在の治療法ですが、全世界的なドナー不足の問題や拒絶反応の問題を抱えています。これらの問題を解決するために、iPS細胞を用いた新しい角膜再生治療法の開発に取り組んでいます。

（目的）ヒトiPS細胞から角膜上皮細胞シートおよび角膜内皮細胞を作製します。

（研究概要）ヒトiPS細胞から移植可能なヒト培養角膜上皮細胞シートの作製、また同時に培養角膜内皮細胞への分化誘導法を検討します。

（成果）ヒトiPS細胞から移植可能な機能的な培養角膜上皮細胞シートの作製および機能的な角膜内皮様細胞を作製することに成功しました。

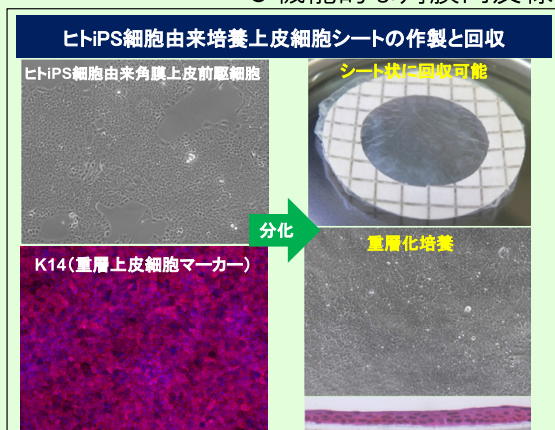


図1. ヒトiPS細胞から分化誘導した角膜上皮細胞と細胞シート

ヒトiPS細胞を分化誘導することにより、高純度の角膜上皮細胞を得ることに成功しました。得られた細胞シートはほぼ全て（99%以上）が重層上皮細胞であり、動物への移植によりその有効性を確認しています。現在は、ヒトiPS細胞由来角膜上皮細胞シートの安全性を中心に、より詳細な検討を実施しています。

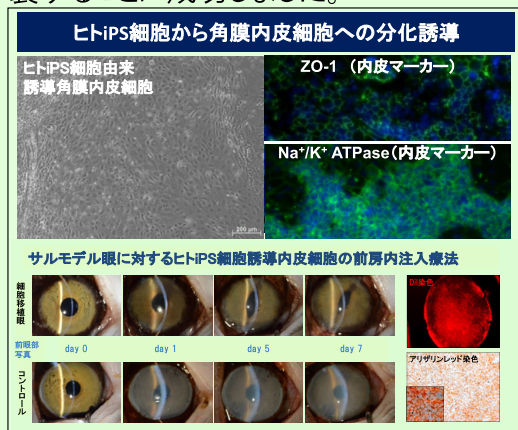


図2. ヒトiPS細胞から分化誘導した角膜内皮様細胞

ヒトiPS細胞を分化誘導することにより、角膜内皮様の細胞群を作製することに成功しました。作製した内皮細胞は角膜内皮と同様の細胞形状を示し、角膜内皮と同様の遺伝子を発現していました。さらに、動物への移植によりその有効性が確認されました。

成果と今後の展望について

目標 自家iPS細胞由来上皮細胞シート移植のFirst in Man 臨床研究の開始

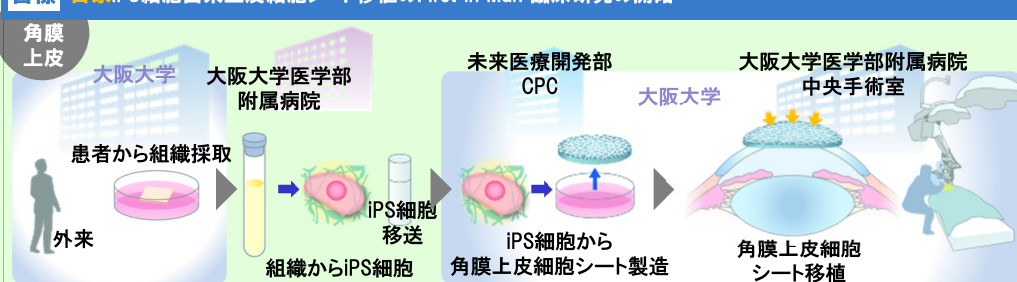


図3. 角膜上皮再生治療

角膜上皮は拒絶反応が強い組織であるために、患者さん自身のiPS細胞を用いた自家の角膜上皮再生治療法を開発します。自家のiPS細胞より角膜上皮細胞シートを製造し、移植することで、拒絶反応の無い治療ができると考えています。H28年度内での臨床試験の開始を目指しています。

目標 他家培養角膜内皮細胞移植のFirst in Man 臨床研究の開始

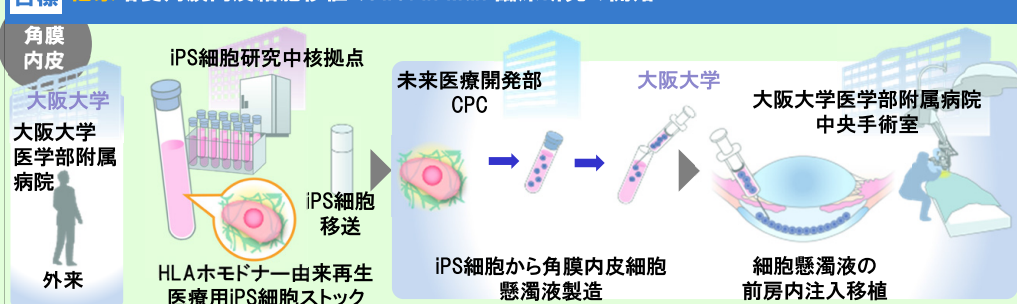


図4. 角膜内皮再生治療

角膜内皮は比較的、免疫拒絶が起きにくい組織であるため、他家HLAホモドナー由来iPS細胞を用いた角膜内皮再生治療法を開発します。HLAホモのiPS細胞より大量の角膜内皮細胞を製造し、注入移植が出来るので、多くの患者さんに対して、安全な治療ができると考えています。H28年度内での臨床試験の開始を目指しています。

再生医療における倫理的課題の解決に関する研究 ～再生医療の実現化ハイウェイ（課題D）～



【代表研究者】
東京大学
医科学研究所
教授 武藤 香織

概要

社会と調和して再生医療が実現していくためには、倫理的な支援・教育・研究も必要です。そこで、わたしたち課題Dは、「再生医療実現拠点ネットワークプログラム」の研究者や研究機関の倫理委員に、(1)倫理支援と(2)倫理教育を提供しています。たとえば、重要な倫理支援として、研究者の方々と患者さんたちとの橋渡しの支援を行っています。さらに、よりよい倫理支援と倫理教育を提供するために、(3)再生医療の倫理に関する調査研究も行っています。

このように、わたしたちは研究者への倫理支援をしながら、患者のみならず、さらには社会のみならずのお役に立てるよう、倫理支援、倫理教育、調査研究を行い、再生医療が社会と調和しながら実現するように尽力しています。



わたしたち課題Dの取り組み

社会と調和していく再生医療の実現を目指し、わたしたちは倫理支援・倫理教育・調査研究に日々取り組んでいます。



倫理支援

再生医療の各研究が、倫理的にみても適切に行われているかどうかについて研究者から相談を受けたり、患者さんと研究者の交流会を開催したりしています。また、お子さんにも理解してもらえるように、研究の説明補助資料を作成しています。

成果と今後の展望について

わたしたちはこれまで、再生医療が社会と調和しながら実現するよう、研究者や研究機関と連携し、再生医療にまつわる倫理的・法的・社会的課題に取り組んできました。これからも、倫理支援・倫理教育・調査研究を通じて、再生医療研究の発展に尽力したいと考えています。



倫理教育

研究参加者の方々の権利の保護、倫理審査の方法、患者さんへの情報提供や説明の適切なしかたについての学習の場を提供するために、インフォームドコンセント研修や倫理審査研修会を開催しています。



調査研究

倫理支援や倫理教育を行っている際に見出した課題について調査・研究を行っています。国内外の研究拠点と連携することで、より充実した倫理支援・倫理教育に研究成果を生かします。

再生医療の早期実現化と国際展開に向けた研究開発支援 ～再生医療の実現化ハイウェイ（課題C）～



【代表研究者】
国立研究開発法人
医薬基盤・健康・栄養研究所
創薬資源部長 松山晃文

概要

オールジャパン体制で世界に先駆けて再生医療を実現するため、

- 1) 再生医療実現拠点ネットワークプログラム
- 2) 再生医療の実現化ハイウェイ
- 3) 疾患特異的iPS細胞を活用した難病研究

の3プログラムを、プログラムディレクター・プログラムスーパーバイザー・プログラムオフィサー、AMEDの指示の下、各拠点、各課題の進捗を把握し、成果の取りまとめ及び事業の運営に必要な支援・連絡調整を行っています。また、拠点機能強化及びネットワーク化をオールジャパン体制で推進し、本事業全体の総合的推進を支援しています。



再生医療規制関連テキストの作成

再生医療はこれまでの医薬品と異なった規制の枠組みのなかで規制されています。私どもは、日本で唯一の再生医療実習テキスト・規制関連通知集を刊行し、ネットワーク内の規制対応の支援を行っています。



再生医療にむけた細胞培養技術トレーニング

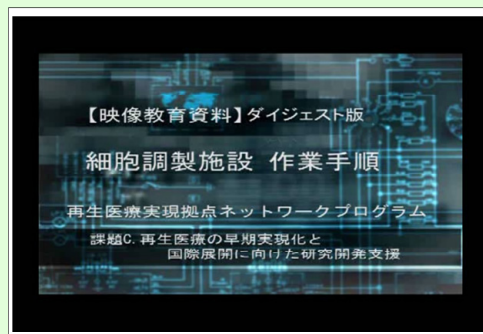
再生医療に特化した細胞培養トレーニングコースをわが国で初めて実施し、これまで約90人の受講生を輩出しています。世界でも類を見ない試みで、本事業から、再生医療が実用化されるための基盤を構築しています。

成果と今後の展望について

本研究課題の使命は、再生医療系シーズと創薬系シーズの各課題の支援と、その経験を全体に波及させる横串的支援です。

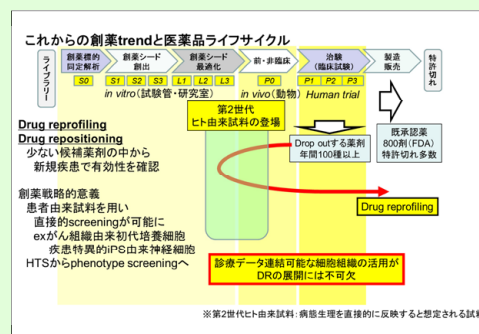
再生医療シーズについては、iPS細胞等を用いる再生医療等製品を臨床現場に届けるために、個々のシーズの推進・連携支援と、共通の課題とその解決法を他課題に生かすよう努めています。創薬シーズについては、疾病の病態生理の理解を出発点として、「Disease Repositioning」という概念を提唱し、新規治療法の開発・スクリーニングからシード・リード化合物への展開を支援しています。

これからも、再生医療の実現を目指す各課題と、創薬展開を目指す各課題を横串的に支援できる唯一のシステムとして、臨床応用／実用化に向けた支援を行ってまいります。



細胞培養技術Webトレーニングシステムへの展開

細胞培養トレーニングコースの経験から、より多くの細胞培養技術者に方に受講していただくべく、細胞培養Webトレーニングシステムを構築しています。



医薬品ライフサイクルを見据えたiPS創薬の支援

本事業では、難病患者さんからご提供いただいた細胞からiPS細胞を樹立して疾患特異的iPS細胞とし、そこから効果のある薬剤の開発をしています。私どもはその支援を行っています。

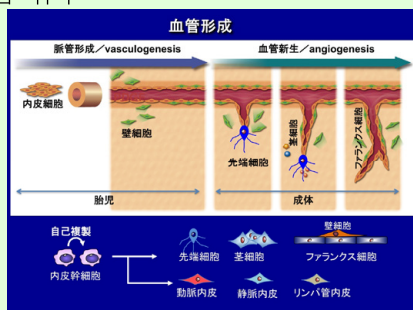
再生医療における血管形成制御技術の開発 ～技術開発個別課題～

概要



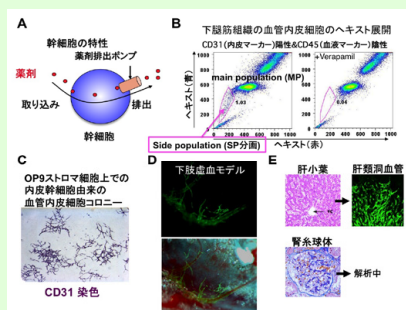
【代表研究者】
大阪大学
微生物病研究所
教授 高倉 伸幸

血管形成は臓器再生において必須のイベントです。再生臓器と体循環との連結はもちろん、例えば肝臓ならば小葉構造を成立させる類洞血管など、再生臓器内に構築される臓器特有の血管形成が誘導されなければ、真に機能する臓器の再生は困難です。そして長期に維持可能な血管を構築するためには、幹細胞性を持つターンオーバー可能な血管形成の誘導が必要です。我々は既存の血管内に、内皮幹細胞がごくわずかに含まれ、この細胞を用いると、長期維持可能な血管を形成し、また臓器特異的な血管を誘導できることを見いだしました。本研究では、内皮幹細胞と血管成熟化のメカニズムを応用して、臓器再生に必要なとされる血管形成を効率よく実施できるシステムの開発を行います。



血管形成のあらましと内皮細胞の多様性

血管新生過程では、先端細胞が血管枝伸長方向の決定、後方の茎細胞による血管伸長、ファランクス細胞による血管安定化が誘導されます。動静脈リンパ管内皮細胞の多様性からも、内皮幹細胞の存在が示唆されます。

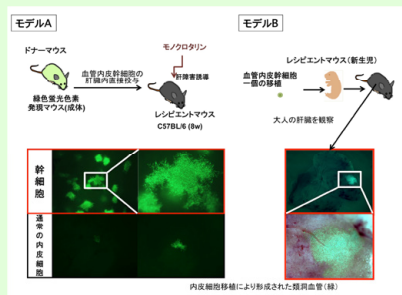


内皮幹細胞はSP分画に稀少に存在します

薬剤排出機能を利用するヘキスト法では、内皮幹細胞はSP細胞分画に含まれます(A,B)。内皮幹細胞は血管網形成能を有し(C)、レシピエント血管と連結する血管(D)、臓器特異的な血管も形成できます(E)。

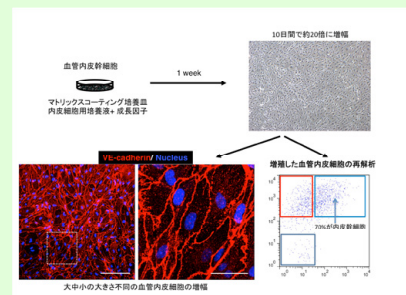
成果と今後の展望について

これまで、我々は内皮幹細胞をSP細胞分画として単離してきましたが、細胞にダメージを与えず細胞表面分子を抗体でラベルして回収する方法を開発してきました。このような内皮幹細胞を、モノクローリンで誘導した肝障害モデルマウスに移植しますと、効率よく肝内類洞血管を再構築し(左図モデルA)、また一個の内皮幹細胞を新生仔に移植すると、大人になっても消失せず、ターンオーバーされる類洞血管が再構築できることが判明致しました(左図モデルB)。血管再生を効率よく行える内皮幹細胞は、体内には僅少にしか存在せず、試験管内で増幅する方法の開発が必要です。我々は、このような内皮幹細胞を10倍以上試験管内で増幅させることに成功しました(右図)。今後はヒト脂肪組織からの内皮幹細胞の単離方法の開発と、その細胞を用いた血管再生治療の開発を行います。



肝障害モデルを用いた血管内皮幹細胞移植

モデルA: 成体マウスを用いたモノクローリン肝障害モデルへの内皮幹細胞移植。モデルB: 新生児マウスへの内皮幹細胞一細胞移植による、血管再構築能の解析。いずれのモデルでも長期にわたり類洞血管形成が維持されました。



血管内皮幹細胞の試験管内増幅技術開発

マウスの肝臓から血管内皮幹細胞を細胞表面マーカーで染色回収し、マトリックスでコーティングした培養皿上で10日間培養すると、大小不同の細胞の増殖が観察され、最初に比べ約10倍の内皮幹細胞の増幅がみられました。

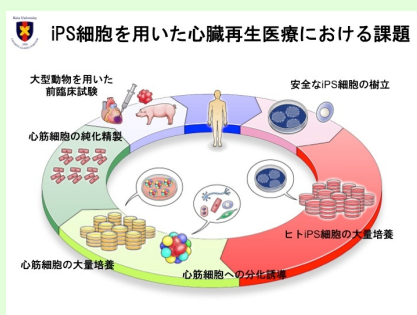
iPS細胞を用いた再生心筋細胞移植による重症心不全治療法の確立 ～再生医療の実現化ハイウェイ（課題B）～



【代表研究者】
慶應義塾大学
医学部
教授 福田 恵一

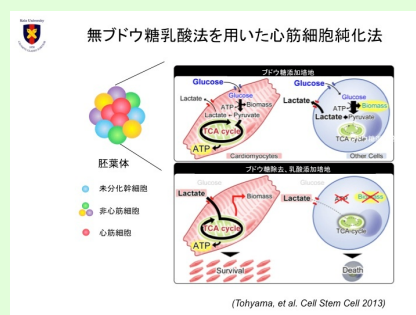
概要

現在、難治性重症心不全に対しては心臓移植が行われていますが、ドナー不足は本邦だけでなく、世界共通の問題です。再生心筋細胞移植を行うことにより、心臓移植に替わる新規治療法を開発することが本研究の目的です。臨床応用のためには、心不全患者さんの心機能を回復するだけの大量の心筋細胞を作出するシステムを構築する必要があります。そのため、iPS細胞を大量の心筋細胞に分化培養し、効率良く純化精製する必要があります。前臨床試験として大型動物を用いて再生心筋細胞の安全性、有効性を確認した後に患者さんへの治療を行ないます。



心臓再生医療における課題

心臓再生医療の具現化のためには解決すべき課題があります。安全なiPS細胞の樹立、大量培養、心筋細胞への分化培養、純化精製、大型動物を用いた前臨床試験が必須のステップです。

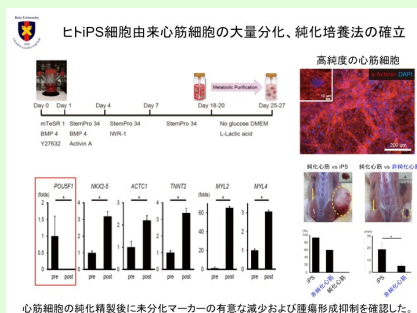


無ブドウ糖乳酸培地を用いた再生心筋細胞の純化精製

iPS細胞は多分化能を持つが故に移植されると腫瘍形成の危険があります。幹細胞はエネルギーの生成を解糖系に大きく依存し、心筋細胞はTCA回路によりATPを効率よく生成する性質を利用して無ブドウ糖乳酸培地により大量心筋細胞の純化精製に成功しました。(Tohyama S, et al. Cell Stem Cell. 2013 Jan 3;12(1):127-37)

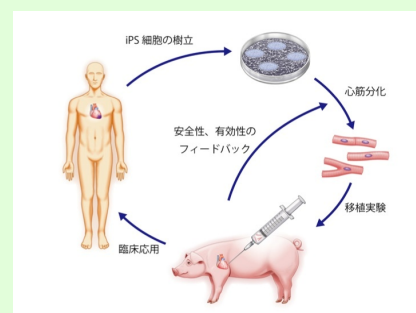
成果と今後の展望について

慶應義塾大学医学部循環器内科では無ブドウ糖乳酸培地を用いて世界で初めてiPS細胞から分化した再生心筋細胞の純化精製に成功しました。また、安全なiPS細胞の樹立法および未分化iPS細胞の培養液の開発に成功しました。さらに、十分な再生心筋細胞を獲得するために心筋細胞の大量培養の方法を確立しました。生体内へ移植された際のiPS細胞の腫瘍形成の有無をみることは临床上重要であり、iPS細胞由来の心筋細胞を移植した際に腫瘍形成をおこさないかを長期的に観察する必要があります。ブタの心筋梗塞モデルに純度の高い再生心筋細胞を移植することで治療法の安全性と有効性を確認し、ヒトへの臨床応用を目指します。



大量心筋細胞の純化精製法の確立

代表的な心筋細胞の大量培養法に回転浮遊培養法があります。大量培養後に含まれる心筋細胞には未分化iPS細胞が少なからず残存し、腫瘍形成の原因となります。無ブドウ糖乳酸培地により純化精製することで安全な心筋細胞を大量に作出することに成功しました。(Stem Cells Transl Med. 2014 Dec;3(12):1473-83.)



大型動物を用いた再生心筋細胞の安全性、有効性の確立

ブタの疾患モデル(心筋梗塞モデル)を作製し、慢性期にヒトiPS細胞由来再生心筋細胞を移植しました。心臓MRIにより心機能の回復を確認し、心筋細胞移植治療のProof of Conceptを確立しました。

iPS細胞を用いた遺伝性心筋疾患の病態解明および治療法開発 ～疾患特異的iPS細胞を活用した難病研究【共同研究拠点】～



【代表研究者代行】
東京大学
医学部
講師 森田 啓行

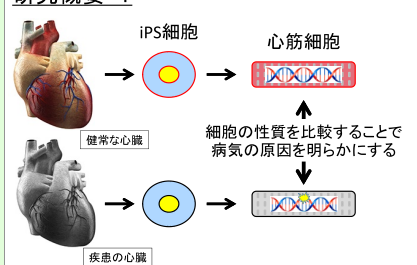
概要

医学の進歩により様々な心臓病の治療法が開発されてきましたが、いまだに病気の詳細が不明で治療法のない心臓の難病が存在します。

心筋症や遺伝性不整脈は心臓の働きが悪くなる病気(心不全)や重篤な不整脈を引き起こす心臓の難病です。患者さんから心臓の筋肉の細胞(心筋細胞)を試料として得ることは困難であり、これまでは患者さんの心臓で起こっている異常を詳細に調べることが不可能でした。

私達はこの研究で、患者さんから作ったiPS細胞を心筋細胞へと変化させて詳しく調べることで、患者さんの心筋細胞で起こっている異常を明らかにするとともに、画期的な治療薬を開発しています。

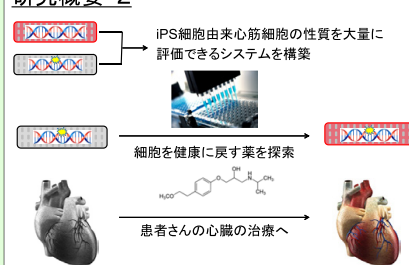
研究概要-1



研究概要-1

患者さんからiPS細胞を作り、心筋細胞へと変化させた後に性質を解析することで病気の原因を明らかにします。

研究概要-2



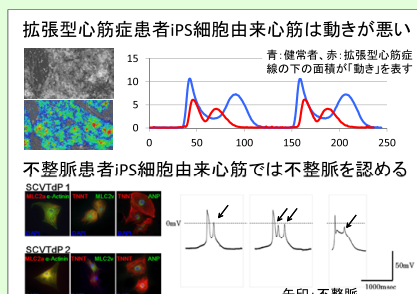
研究概要-2

患者さんからiPS細胞を作り、心筋細胞へと変化させた後に「薬の種」を作用させ、患者さんの心筋細胞で認められる異常を正常に戻す薬を開発します。

成果と今後の展望について

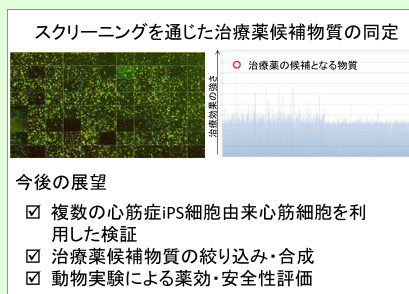
私達はこれまで、40名を超える心筋症や遺伝性不整脈の患者さんからiPS細胞を作り、心筋細胞へと変化させて詳しく調べてきました。その結果、患者さんのiPS細胞を変化させた心筋細胞は、患者さんの心臓と同じ異常を示すことが明らかになってきています。また、患者さんのiPS細胞を変化させた心筋細胞の異常を簡単に評価するシステムを作り、大学等研究機関や製薬企業が保有する多くの「薬の種(化合物ライブラリー)」の中から新しい治療薬につながる物質を探索しています。

今後は、化合物ライブラリーの中から見つかった物質の中から、多くの心筋症患者さんに効果を発揮するような物質を絞りこみ、さらに患者さんに投与した時に副作用なく治療効果を発揮するような改良を加えることで、病気に苦しむ患者さんの福音となるような新しい治療薬の開発を進めていく予定です。



患者iPS細胞由来心筋細胞の解析

現在までに心筋症の患者さん35名、遺伝性不整脈の患者さん9名からiPS細胞を作り、拡張型心筋症患者iPS細胞由来心筋は動きが悪いこと、不整脈患者iPS細胞由来心筋は不整脈を起こしやすいことなどを見つけています。



今後の展望

- ☒ 複数の心筋症iPS細胞由来心筋細胞を利用した検証
- ☒ 治療薬候補物質の絞り込み・合成
- ☒ 動物実験による薬効・安全性評価

iPS細胞由来心筋を利用した心筋症治療薬開発

心筋症患者iPS細胞由来心筋細胞を利用した化合物ライブラリーのスクリーニングを行い、治療薬の候補となる物質を見つけます。候補となる物質を絞り込むとともに様々な変化を加えることで、治療効果が高く、副作用の少ない治療薬の開発を進めます。

小児心不全に対するヒト幹細胞移植による先進医療の実用化加速に向けた第2相臨床研究



【代表研究者】
岡山大学病院
新医療研究開発センター
教授 王 英正

■ 概要 ■

【研究概要】

我々は2003年に世界で初めて哺乳類の心臓内に、傷んだ心臓組織を自分で治す能力を持った幹細胞があることを発見しました。さらに、2007年にはヒトの心臓内にも同じような幹細胞が存在することを突き止め、その培養方法を確立しました。

【現在の問題点・再生医療の目指すところ】

心臓機能が著しく低下した心不全の患者さんは心臓移植しか対処法がなく、臓器提供者不足が深刻な我が国において、心筋再生医療によって、これらの重篤な患者さんに対する新たな代替医療を確立し、保険適応を目指しております。

【どのような病気が対象なのか】

左心低形成症候群といった小児心不全疾患、拡張型心筋症、心筋梗塞疾患。

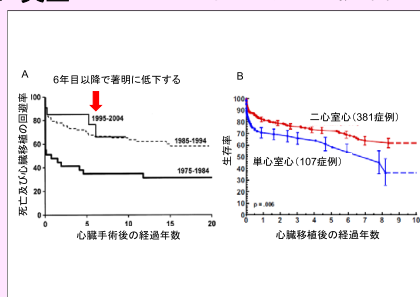


図1. 左心低形成症候群の心臓手術後における長期予後

(A) 左心低形成症候群は、出生直後より緊急手術を要する重篤な心不全疾患であります。年代別の手術法改良によっても6年生存率は65%程度です。(B) 心臓移植を受けた左心低形成症候群(単心室心)の8年生存率はわずか35%です。

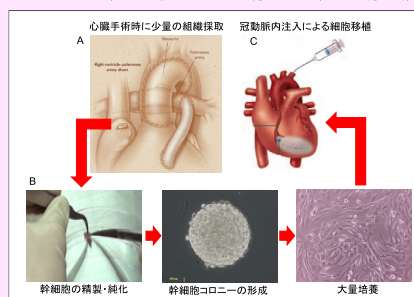


図2. 組織採取、細胞培養から幹細胞移植までの流れ

(A) 心臓手術中に100mg程度の心臓余剰組織を採取し、特定の培地を用いて幹細胞を精製・純化したのちに、大量に培養します(B)。(C) 培養した患者さん本人の幹細胞を体重に合わせて調節し、3本の冠動脈内に注入することで移植します。

■ 成果と今後の展望について ■

【これまでの成果】

2011年1月にヒト幹指針の承認を経て、最も重症度が高い小児心不全疾患である左心低形成症候群14症例を対象に、世界で初めての心筋再生医療の臨床研究(TICAP試験)を実施しました。本研究における3年間にわたる観察結果により細胞治療法の安全性を確認し、2013年4月より、ヒト幹指針の承認を経て、34症例の小児心不全患者に対して、心筋再生医療の第2相臨床研究(PERSEUS試験)を実施し、本細胞治療法の治療有効性を確認しました。

【今後の研究予定】

今後、この細胞治療法の標準医療化に向けて、2016年4月より企業主導の治験(APOLLON試験)を36症例の小児心不全疾患を対象に開始予定であり、2019年4月からの保険適用化を目指します。

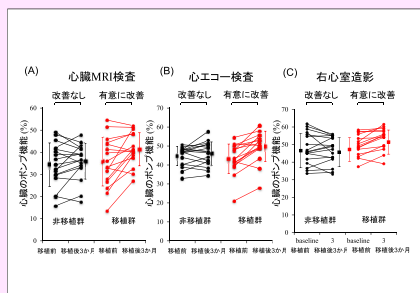


図3. 第2相臨床研究(PERSEUS試験)における3か月目での主要エンドポイント解析の結果

(A-C) 各種心臓機能検査法により、細胞移植後3か月目の症例(赤)は心臓手術単独の非移植群(黒)に比べ、心臓ポンプ機能が有意に改善しております。

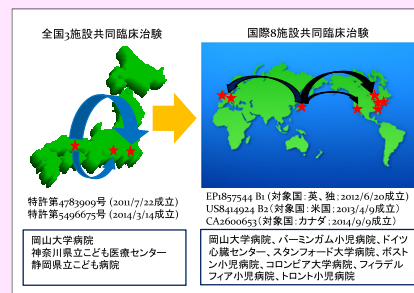


図4. 知的財産の取得と保険適用化を目指して今後実施する予定の国内外における治験(APOLLON試験)

2016年4月に小児心不全を対象とした世界初の細胞治療法による治験を国内3施設で実施する予定です。さらに欧米7施設から治験参加の希望があり、国際共同治験も計画中です。

心機能再生を目指した特定因子による細胞変換技術

～技術開発個別課題～



【代表研究者】

東京大学
分子細胞生物学研究所
准教授 竹内 純

概要

心不全など心臓疾患の治療として、病変部への心筋細胞もしくは悪化予防因子の導入が極めて有効な治療方法として期待されています。しかし、iPS細胞投与はがん化が懸念され、さらに未熟心筋や心筋タイプを混在したままの移植は不整脈の発症が危惧されています(図1:心臓移植への課題)。そこで、本課題は、「簡便・迅速・確実」な心臓細胞分化・再生法の確立を目指して、次の2つを目標としています(図2:本研究の内容)。

- (1)高効率心筋誘導: iPS細胞から直接、心臓前駆細胞および高効率の心筋細胞誘導、さらには心房筋・心室筋・ペースメーカー細胞の各細胞を細胞種ごとに制御して樹立し、心疾患の病態解明の解析ツールとして、また移植用細胞として臨床研究拠点へ提供します。
- (2)誘導ベクター: 研究の遂行に適した遺伝子カセットおよび高効率誘導可能なベクター・カセットを開発します。

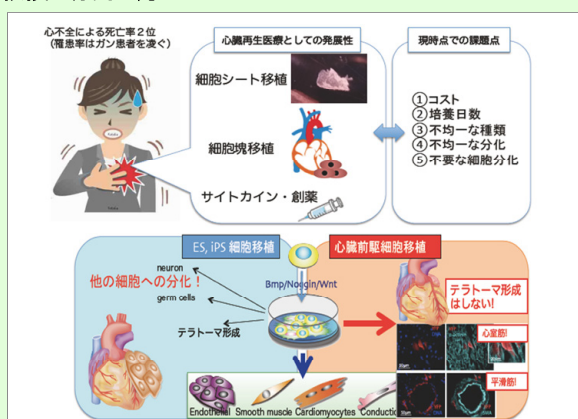


図1:心臓病の積極的治療における可能性と課題点(上)と将来の治療用細胞として高く期待される心臓前駆細胞(下)。

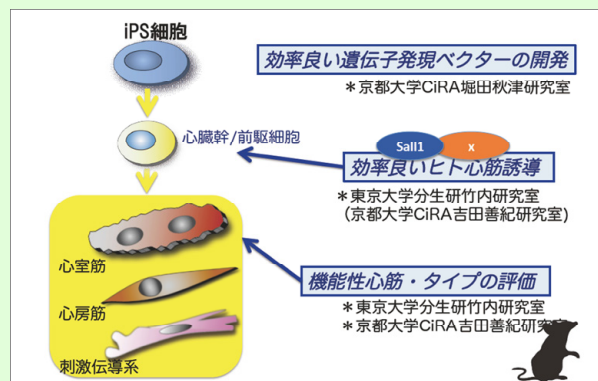


図2:本研究の内容。特定因子を用いてより効率良く、均一な心筋誘導を目指します。そのための誘導用ベクターを開発します。また、発展系として心筋タイプの分化誘導も目指します。

成果と今後の展望について

①:誘導コンストラクトの確立:効率良い心筋誘導を目指し、一過的遺伝子発現ヒトiPS細胞(TG-hiPS細胞)を構築しました。このTG-hiPS細胞の特徴は、好きな時期に心臓誘導因子の発現のon/offが可能で、発現量の調節も可能などところが優れた点です。95%の細胞で陽性細胞が一過的に発現することが確認できました(結果1)。

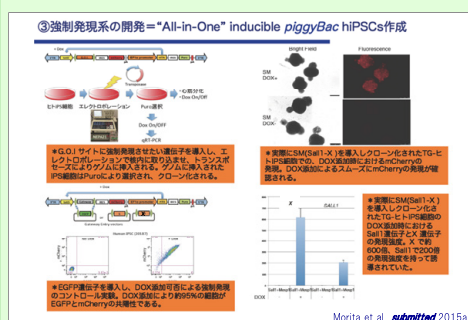
(展開)→非ゲノム挿入型ベクターの開発と代用可能なサイトカインの同定

②:ヒトiPS細胞から効率良い心筋誘導: TG-iPS細胞は心筋誘導効率が良く、誘導後11日目で胚葉体内部にまで心筋構造タンパク(心トロポニン、心筋特異的ミオシン軽鎖)が均一に局在していました(結果2)。

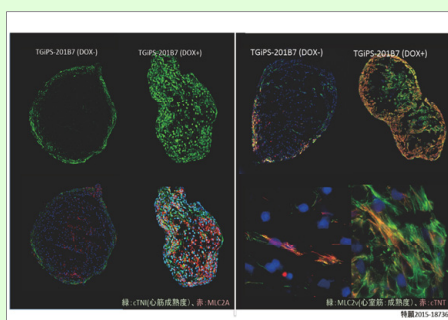
(展開)→ヒト心筋症・心臓病患者さん由来iPS細胞・組織から心筋誘導し、性質評価

③:心室筋の誘導法の確立:心筋タイプ特異的な因子の発現を制御することで、効率良く心房筋構成タンパク(MLC2A)の発現を抑制でき、心室筋構成タンパク質(MLC2V)陽性の細胞が増加できました。一連の成果は線維芽細胞からダイレクトリプログラム法を用いて心室筋誘導も成功しています(結果3)。

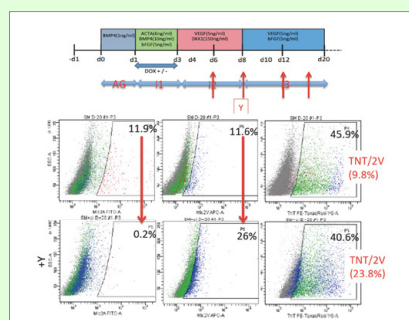
(展開)→臨床移植用心筋の樹立



(結果1)特定因子と強制発現させる効率良いベクター開発



(結果2)一過的な強制発現による均一な心筋誘導結果



(結果3)心室筋誘導結果。Y因子の発現を制御することで心室筋誘導を引き起こせる。

保険収載を目指した骨格筋筋芽細胞シート移植による心筋再生治療の実用化研究事業

重症心不全に対するiPS細胞由来心筋細胞シート移植の治験を目指した心筋再生治療の実現化研究

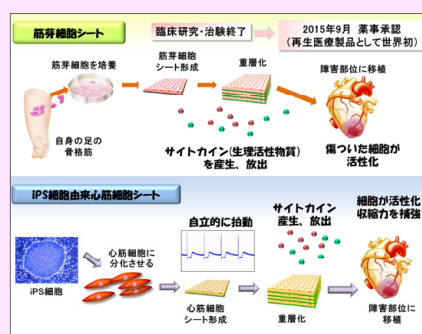
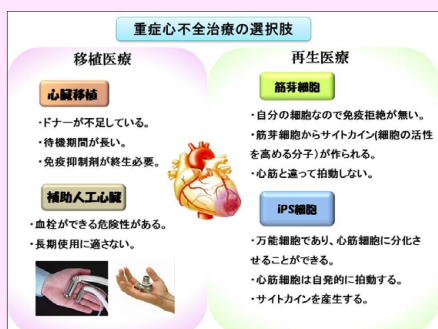


【代表研究者】
大阪大学
医学系研究科
研究科長・教授 澤 芳樹

概要

心臓は全身に血液を送るポンプとして、休むことなく活動しています。心臓の筋肉(心筋)の、収縮力が弱くなったり、梗塞のために心筋が死滅することにより、心臓の働きが弱ることを心不全といいます。

重症心不全には、補助人工心臓や心臓移植といった治療がありますが、それぞれ短所やドナー不足などの大きな課題があります。当科では患者さんの筋肉から細胞シートを作り、心機能を回復させる再生医療製品を開発しました。さらに現在研究中のiPS細胞は、自発的に拍動する心筋細胞に分化させることができるため、より重症の心不全の患者さんに移植することで、心機能の改善が見込まれます。



重症心不全に対する治療法-移植医療と再生医療

重症心不全に対する現在の治療法として、補助人工心臓と心臓移植があげられます。しかし心臓移植には、ドナー不足という困難があり、また補助人工心臓は血栓ができる可能性があり、長期の使用には適していません。これら移植医療に加え、注目されているのが、筋芽細胞やiPS細胞を用いた再生医療です。

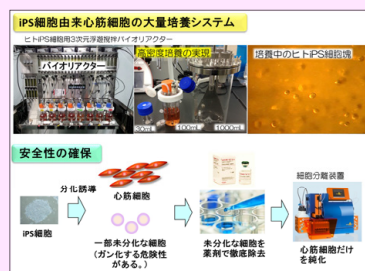
骨格筋筋芽細胞とiPS細胞由来心筋細胞の作用メカニズム

大阪大学心臓血管外科では、患者さん本人の足の筋肉にある筋芽細胞から細胞シートを作り、障害のある心臓に貼る筋芽細胞シート治療を開発し、2015年に厚生労働省から薬事承認されました。さらに、現在開発中のiPS細胞は、自ら拍動する心筋細胞に分化させることができ、心臓の機能をより効果的に回復させることが期待されます。

成果と今後の展望について

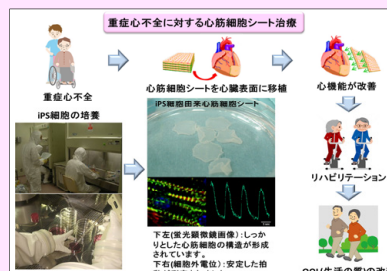
1. 患者さんの筋肉由来の筋芽細胞シート移植療法を開発し、2015年秋に薬事承認されました。
2. さらに重症の心不全に対する再生医療として、iPS細胞を大量に培養し、心筋細胞に分化させる方法を確認しました。これによって、ヒトの心臓に移植するのに必要な量の細胞が得られます。
3. iPS細胞から分化させた心筋細胞をシート状にし、心筋梗塞を起こしたモデル動物に移植して、数か月にわたり、心機能が改善することを示しました。安全性をさらに高めるため、ガン化する可能性のある細胞を徹底的に除去する方法の開発を進めています。
4. 重症心不全の患者さんの心臓に筋芽細胞シートやiPS細胞由来心筋細胞シートを移植することで、心機能の改善が見込まれ、通常の生活や軽い運動もできるようになると期待されます。

* 本成果はAMED「再生医療実現拠点ネットワーク事業」の成果であり、「再生医療実用化研究事業」において、実現化を目指しています。



iPS細胞から、臨床で使用可能な心筋細胞をつくる

心臓は網膜等にくらべて大きな臓器なので、移植には大量の細胞が必要です。当拠点では、大量培養システムを確立し、移植に十分な量のiPS細胞由来心筋細胞を確保できるようになりました。また、ガン化する危険性のある未分化細胞を薬剤等で徹底的に除去し、安全性を高める方法の開発を進めています。



心筋細胞シート移植治療の流れ

iPS細胞由来心筋細胞シートは、自律的に拍動し、顕微鏡的にもしっかりと心筋の構造が確認されました。本プロジェクトの最終目的は、重ねたシートを弱った心臓に移植し、心臓のポンプ機能(収縮力)を改善させることです。本治療によって重症心不全患者さんの日常生活の質の向上が期待されます。

再生医療用製品の大量生産に向けたヒトiPS細胞用培養装置開発 ～技術開発個別課題～

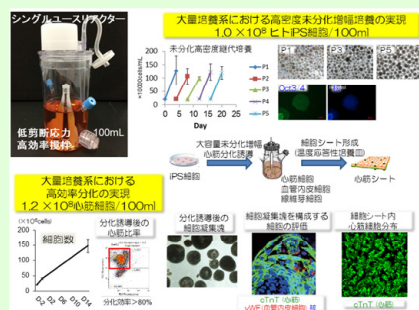


【代表研究者】
東京女子医科大学
先端生命医学研究所
准教授 松浦 勝久

概要

iPS細胞を用いた再生医療の実現のためには安定・安全かつ安価な大量培養を可能にする技術開発が必要ですが、現行の手作業による培養では、時間(労務)、場所(培養スペース)、経済(培養コスト)的なハードルが高くその実現の大きな隘路となっています。これまでにヒトiPS細胞を大量増幅する3次元浮遊攪拌懸濁培養技術、さらには、ヒトiPS細胞を高効率・高収量で心筋細胞に分化誘導する技術、心筋細胞シートを心筋組織の構築に応用する技術を開発しました。

本研究開発では、培地を自動で交換するシステム、透析技術を用いた培地再利用・培養環境維持システム、培養環境制御モニタリング技術の開発を行い、国内外の再生医療において使用されるiPS細胞の、安定・安全かつ安価な供給を可能にする未分化培養及び分化誘導培養システムの開発を目指します。



ヒトiPS細胞大量培養における、3次元浮遊攪拌懸濁培養の利点

- 1) 高密度培養実現による低コスト化・省スペース化・作業時間の削減、
- 2) スケールアップ培養系、
- 3) pH・溶存酸素濃度の能動的制御、
- 4) 未分化増幅から分化誘導までの一貫培養

3次元浮遊攪拌懸濁培養によるヒトiPS細胞の未分化増幅および高効率心筋分化誘導の実現

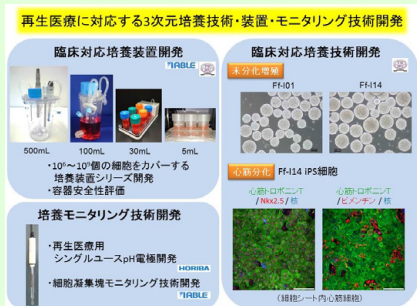
低剪断応力による低速での効率的攪拌を可能にした、3次元浮遊攪拌懸濁培養技術により、ヒトiPS細胞の高密度未分化大量増幅および高効率心筋分化誘導が可能となりました。

成果と今後の展望について

iPS細胞の大量培養技術は、臨床に使用される細胞および培養液、試薬での検証が不可欠です。我々は、臨床用iPS細胞と同様の手法で培養されたiPS細胞を、臨床で使用可能な培養液等を用いることで、未分化大量増幅および心筋細胞への効率的分化誘導を可能にしました。この技術は、臨床用細胞の大量供給に直結するものであり、臨床応用の早期実現に寄与するものと考えます。

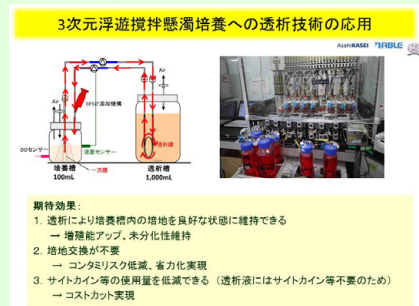
低コストでの細胞の大量培養では、高密度培養が不可欠ですが、細胞の排出する代謝産物の蓄積は解決すべき課題です。我々は、透析技術をiPS細胞培養へ応用することで、代謝産物の濾過を介した培養液の再利用、培養環境の安定化を可能にし、さらにiPS細胞の機能向上が確認されました。

条件検討から臨床応用までをカバーする量産化技術・装置開発、また培養装置の安全性評価を通して、効率的かつ安定・安全・安価な細胞の大量供給を可能にする培養システムを開発してまいります。



臨床用iPS細胞(Ff-iPS細胞)の大量培養への応用

3次元浮遊攪拌懸濁培養装置を用いることで、臨床用iPS細胞として想定されるFf-iPS細胞を、臨床使用可能な培養液中で未分化大量増幅および心筋分化誘導が可能となり、また臨床試験対応培養装置、モニタリング技術を開発しています。

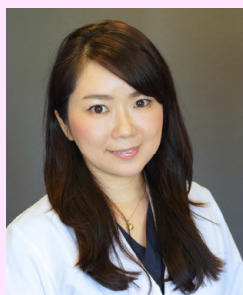


透析技術の応用による3次元高密度培養環境の安定化と細胞機能の改善

臨床でも使用されている透析技術を応用することにより、高密度培養時の培養環境の改善、培養液の再利用が可能となり、Ff-iPS細胞のより効率的な未分化増幅が可能となりました。

低侵襲・高効果な次世代型血管再生治療の開発

～難治性四肢潰瘍患者を対象とした自己末梢血単核球生体外増幅培養細胞移植による血管・組織再生治療～



【代表研究者】
順天堂大学
医学部
准教授 田中里佳

概要

難治性四肢潰瘍患者さんは傷が治らないと四肢の切断を招き、生活の質が低下するだけでなく、生命の危険に脅かされます。その新たな治療法として血管幹細胞(以下EPCs)を用いた再生治療が進められ、一定の安全性が認められています。現在の治療法には下記の図のごとく問題点があります(図1)。これらの問題点を解決し、低侵襲でより効果的な次世代型血管組織再生治療法として、無血清生体外培養増幅法(MNC-QQc)を開発し、各種検討を行いました(図2)。

我々は難治性四肢潰瘍患者さんに対して本技術の安全性と有効性を臨床研究にて検証し新しい四肢救済治療法として実用化を目指します。

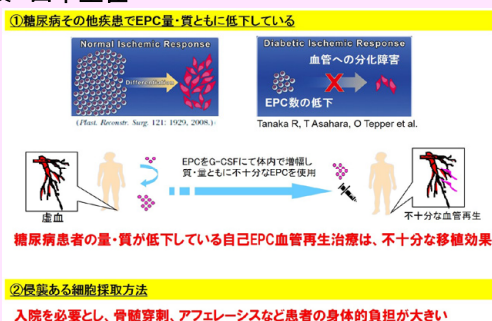


図1 現在の血管再生治療の問題点 糖尿病やその他の疾患のある患者さんでは体内に存在しているEPCsの数が少なく、その血管再生能が有意に低下しているため自己の質の低下した細胞移植では効果が期待できず、細胞を採取する際の身体的負担が大きくなってしまいます。

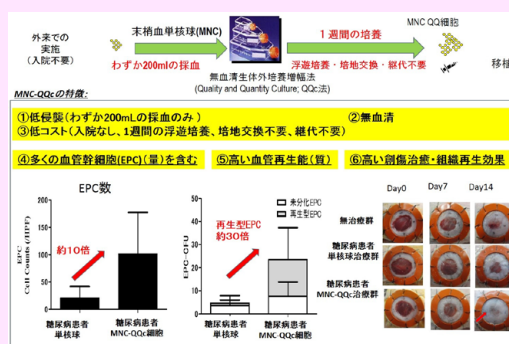


図2 次世代血管再生治療 MNC-QQ治療の特徴 (培養単核球細胞移植)

糖尿病患者さんの少量の血液から一週間の培養で機能的な細胞集団を増幅し高い創傷治癒効果が期待できる技術を開発し、各種検討を行っています。

成果と今後の展望について

本治療法は外来で200mLの採血を行い、細胞調整施設(CPF)で血液中の単核球細胞を分取、1週間MNC-QQcにて培養し、その後患者さんの患部に注射で移植する方法です(図3)。培養により患者さんのEPCsの数は約10倍、血管再生能は約20倍に改善し、さらに高い創傷治癒効果を有する細胞集団が移植可能となります。現在、切断の可能性が高い難治性四肢潰瘍患者を対象とした第I相臨床研究が進行中であり、2020年度の医師主導型治験開始を目指しています。世界で初めて血液のみで実施できる低侵襲で高効果な血管・組織再生治療のため、今後血液と細胞の輸送技術があれば、過疎地を含めて全国どこでも受けられる最先端の再生治療となり得ます(図4)。

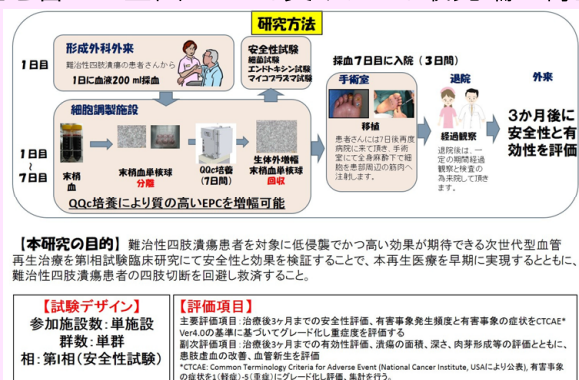


図3 難治性四肢潰瘍を対象とした自己末梢血単核球生体外培養増幅細胞移植による血管組織再生治療による第1相臨床研究 2年間で10例の患者さんに治療し、安全性と有効性を証明しつつ、医師指導型治験へ移行できるよう薬事戦略相談を実施し、非臨床試験と非臨床安全性試験を実施する予定であります。



図4 実用化に向けての展望:世界への発展

本治療は少量の血液のみで実施できるため、必要な周辺技術が開発できればどこに居ても受けられる再生治療となります。産学連携を通して独自の低侵襲・低価格・高効果な再生治療を世界の患者さんに提供したいと考えています。

難治性筋疾患に対する細胞移植治療法の開発 ～技術開発個別課題～



【代表研究者】
国立精神・神経医療
研究センター
神経研究所 所長
遺伝子疾患治療研究部
部長 武田 伸一

概要

代表的な遺伝性筋疾患であるデュシェンヌ型筋ジストロフィーでは、様々な治療研究が進められていますが、いまだ普遍的な治療法はありません。モデル動物を用いた先行研究により、筋再生能を持つ骨格筋系譜幹細胞移植は有効な治療法になりうると期待されていますが、ヒトにおいては治療に十分な質と量の幹細胞を調整することが困難でした。そこで本研究では、国立精神・神経医療研究センター、京都大学、大阪大学、藤田保健衛生大学および京都府立医科大学の骨格筋研究者が協力し、ヒト iPS 細胞からの骨格筋系譜幹細胞の分化誘導法、培養法、純化法、移植法の開発研究を進め、あらゆる難治性筋疾患に有効な治療法になると期待される幹細胞移植再生治療法の確立を目指します。この1年半の成果として、ヒトiPS細胞から筋再生能をもつ筋系譜幹細胞の誘導に成功しました。今後はこの幹細胞を十分に増やすと共に、移植時の安全性を担保するため、移植に適した細胞のみを純化する方法の開発を中心に研究を進めたいと考えています。

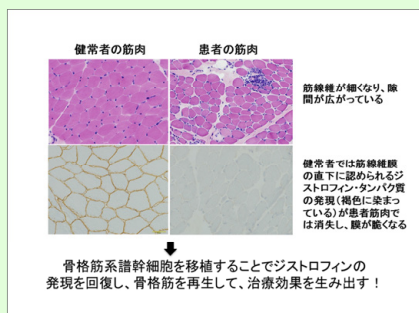


図1 デュシェンヌ型筋ジストロフィー(DMD)は、ジストロフィンが欠損することによって引き起こされる重篤な遺伝性筋疾患です。根治的な治療法はなく、iPS細胞を用いた細胞移植再生治療の開発が期待されています。

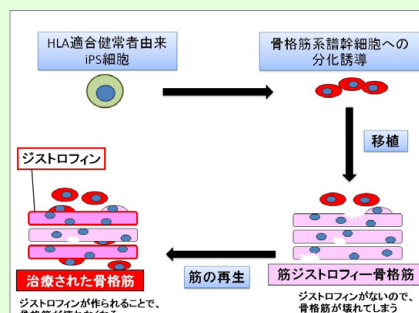


図2 ヒトiPS細胞を用いた細胞移植治療法のコンセプト

京都大学iPS細胞研究所と連携して治療用 iPS 細胞ストックを活用し、骨格筋系譜幹細胞を誘導します。移植された筋系譜幹細胞は膜の脆弱性のために壊れやすい骨格筋繊維の再生に参加し、欠損しているジストロフィンを発現させます。

成果と今後の展望について

これまでの研究でヒト iPS 細胞から高い効率で骨格筋系譜幹細胞を誘導することに成功しました(図3)。誘導された細胞はジストロフィンの発現を欠く筋ジストロフィーマウスへ移植するとジストロフィンの発現を回復させることができました(図4)。今後は ①筋系譜幹細胞の性質を維持したまま増殖させる培養技術の開発と ②移植に適した細胞のみを純化する技術の開発を中心に研究を行う予定です。プロジェクト期間内に有効性・安全性を検証して、なるべく早い時期の臨床応用を目指します。

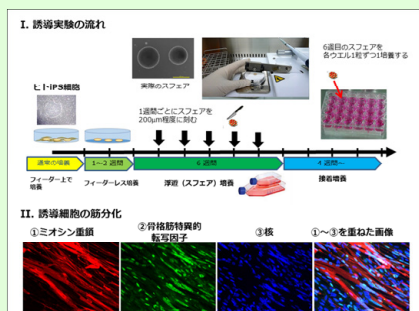


図3 誘導された細胞は多核の筋管を形成します。

上段(I)は我々が行っているヒトiPS細胞を骨格筋へ分化誘導する方法のまとめです。現在は全過程を手作業で行っていますが、将来的には自動化を進める予定です。下段(II)は、誘導された細胞が形成する筋管の免疫染色です。

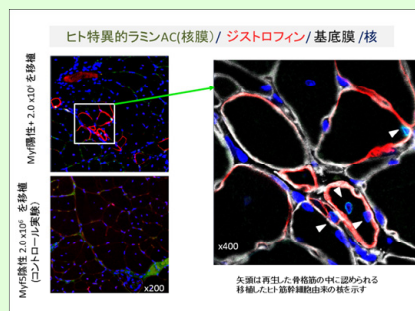


図4 ヒトiPS細胞から骨格筋へ誘導した細胞はDMDモデルマウスの骨格筋へ移植すると企図したとおり、ジストロフィンを発現しました。ここでは、ヒト由来の細胞が骨格筋に分化し、ジストロフィンを骨格筋膜に発現することを特異的な抗体を用いて確認しています。

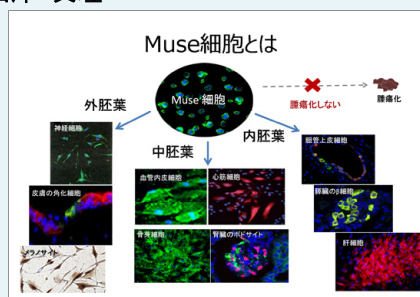
Muse細胞を用いた再生医療の実現を目指した製剤製造システムの研究開発 ～再生医療の産業化に向けた細胞製造・加工システムの開発～



【代表研究者】
東北大学
大学院医学系研究科
教授 出澤 真理

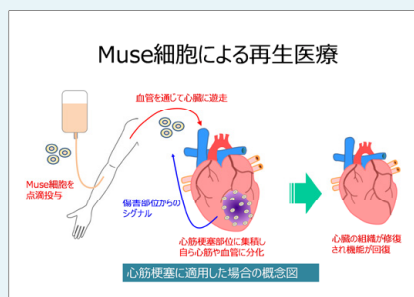
概要

Muse細胞は、出澤らのグループにより発見された多能性幹細胞です。三胚葉性の分化能を示す多能性を有する一方、もともと生体内の間葉系組織内に存在する自然の幹細胞であり、腫瘍化の懸念が低いなど安全性にも優れる有望な幹細胞です。これまで実施された試験の結果、心筋梗塞など組織に傷害を負った動物の静脈内にMuse細胞を投与すると、傷害組織に遊走・集積し、組織を構成する細胞に自発的に分化することによって失われた細胞を補充し、機能回復効果を発揮することが確認されています。本プロジェクトでは必要な時にすぐ投与できる利便性に優れた再生医療製品を目指して、Muse細胞の他家細胞製剤の製造法確立に取り組んでいます。



Muse細胞は高い分化能と安全性を併せ持つ

Muse細胞は、生体の間葉系組織（骨髄、脂肪など）に存在する天然の幹細胞です。外胚葉、中胚葉、内胚葉の多様な細胞に分化できる一方で、腫瘍化の懸念の小さい、再生医療への応用が期待される有望な幹細胞です。



Muse細胞は実用性に優れた再生医療を提供する

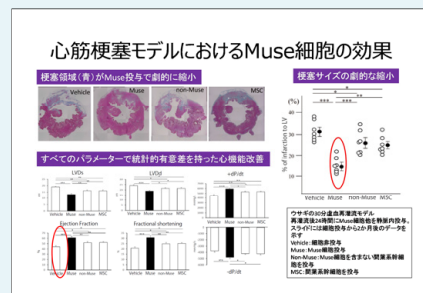
点滴投与されたMuse細胞はシグナルに導かれて傷害部位に達し、その場で傷害された細胞に自発的に分化することで治療効果を示します。心臓だけでなく、肝臓、腎臓、脳などの様々な臓器の疾患モデルで同様の効果が確認されています。

成果と今後の展望について

本プロジェクトでは、Muse細胞の急性心筋梗塞への治療効果を検証するとともに、他家Muse細胞製剤の製造方法の検討を進めています。

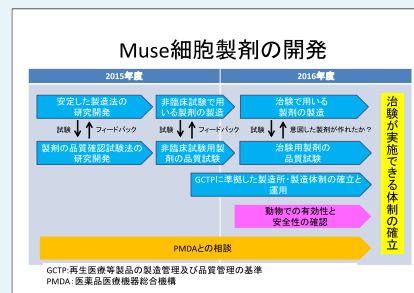
急性心筋梗塞モデルでは、心筋梗塞発生から約24時間後にMuse細胞を静脈内投与したところ、心筋梗塞領域（心筋細胞が死んでしまった領域）が劇的に縮小し、心臓のポンプとしての機能が改善することが確認されました。この作用は、Muse細胞を投与してから6か月目にも持続していることを確認しています。細胞製剤の製造法検討では、安全で有効性の高いMuse細胞製剤を安定的に製造する方法の開発を行っています。

今後は、法令に則った製剤製造法を確立し、2016年度中には急性心筋梗塞の治験が開始できる体制を整えることによって、Muse細胞による再生医療の早期実現を目指します。



Muse細胞は急性心筋梗塞モデルで劇的な有効性を示す

ウサギを用いた急性心筋梗塞モデルにおいてMuse細胞を投与し、2か月後に検査したところ、梗塞領域のサイズが劇的に縮小していました。また、心臓の機能も改善していることが確認されました。



Muse細胞製剤の開発スケジュール

現在Muse細胞製剤の製造法及び品質試験法の開発段階にあります。製造法が確立したのちに、実際に製剤を製造して動物モデルにおいて有効性と安全性を確認します。2016年度中には急性心筋梗塞の治験実施体制が整う予定です。

ヒト多能性幹細胞由来の再生医療製品製造システムの開発（網膜色素上皮・肝細胞） ～再生医療の産業化に向けた細胞製造・加工システムの開発～



【代表研究者】
大阪大学大学院
工学研究科
教授 紀ノ岡 正博

概要

再生医療を取り巻く周辺産業においては、「モノづくり」に資する要素技術の更新だけではなく、要素間での技術統合並びに培養操作や製造管理に対するサービスとの一体化（統合システムの確立）が不可欠です。

さらに、再生医療に従事する人材のキャリアパス構築や育成などを含めた「ヒトづくり」、知財・経済戦略に基づく国際標準化や日本独特な規制改革による「ルールづくり」が不可欠となります。これら、「モノ・ヒト・ルールづくり」の一体化が、再生医療産業分野における「コトづくり」を成し遂げるものと考えています。

我々は、GCTP省令（薬機法）に準拠可能な製造システムの構築を目標に、再生医療分野のコトづくりを行っています。



(インフラ)
↑
(システム)
↑
(道具)



① 全期間を通じ
継続的に無菌を
維持できる手順
+
② 生きた細胞(製品)
を品質低下させない
工程内/外の手順
全てが繋がって、患者の治療を達成することができる

モノづくりからコトづくりへ

再生医療を世界に展開するためには、日本の強みであるモノづくりを統合し、システム化する必要があると考えます。

開発された各要素技術は、統合によって深化することで、本物の事業(産業)を構築できると考えています。

つなぐ技術の開発

生きた細胞を製品とする再生医療は、従来の医薬品とは異なる、多様性が存在します。これに対応するには、複数の技術を組み合わせ、工程間をつなげる、「つなぐ技術」の検討が不可欠と考えています。

成果と今後の展望について

設計・試作した装置は、工程操作ごとにモジュール化し、必要に応じて連結・脱着を行なうことで、再生医療の多様な製造に対応したつなぐ技術、フレキシブルモジュラープラットフォーム(fMP)を採用しています。再生医療の製造では、疾患対象により、数週間から、数ヶ月の期間の細胞培養を必要とします。その間、細胞を無菌の状態で維持しつつ、高品質かつ安価な製品を供給するためには、装置を複数のロット製造で共有することが1つの理想となります。fMPはその課題を解決することを期待されています。

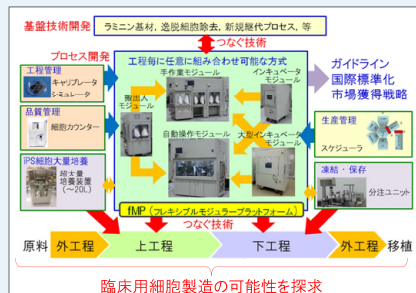
本事業において、我々は、試作装置を運用することで、製造の全工程を一貫運用の検証を行いつつ、適切なチェンジオーバー手順を構築し、複数の製造バッチで装置を共有することを可能にすることに挑戦することで、製造コストの低減を可能とする、新しい製造システムの構築を目指します。



製造システム試作機の運用検討

1台の工程モジュールに対し、複数のインキュベータモジュールを用い、同時に複数の製造ラインを並行して運用することで、製造コストの低減を検討します。

製造は、無菌操作法に則った管理を前提としています。



細胞製造性(Cell Manufacturability)の検討

本事業では、設計・試作した、製造システムのプロトタイプを運用し、原料のiPS細胞から、大量増幅、分化誘導、分離・精製などの作業を一貫して実証することで、「細胞製造性(臨床用細胞製造の可能性)」を追求していきます。

ヒト間葉系幹細胞由来の再生医療製品製造システムの開発

～再生医療の産業化に向けた細胞製造・加工システムの開発～

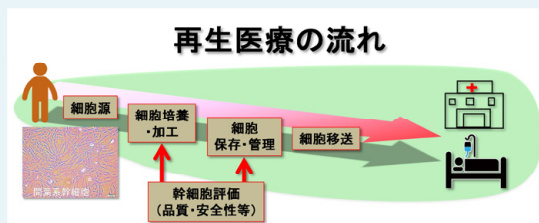


【代表研究者】
国立成育医療研究センター
研究所生殖医療研究部
部長 阿久津英憲

概要

再生医療では細胞の種類によって医療への準備の仕方が異なります。私たちは身体の組織やお産後の臍帯（へその緒）などから幹細胞を採取し、多くの患者さんへ移植が出来るように細胞をきちんと安全に増やす（培養）開発を行っています。つまり、移植する細胞を「製品」とすると、安全で品質管理された「再生医療製品」の製造を開発しています。

細胞製品の製造では、対象が化学物質でなく生きた細胞であるため、その品質管理は細胞種毎で異なる場合もあり、製造方法や治療法でも異なるため手探りの状態でした。私たちは、安全でより良い再生医療を社会へ広く行き渡るように、細胞製造に関連する技術や製品開発を通し、再生医療の発展に貢献しています。



再生医療製品が医療の場に届くまで

体性幹細胞による再生医療がベッドサイドへ届くまでの概略を示します。この工程の重要項目を抽出し（赤い四角）、開発研究を効率よくかつ効果的に進めています。

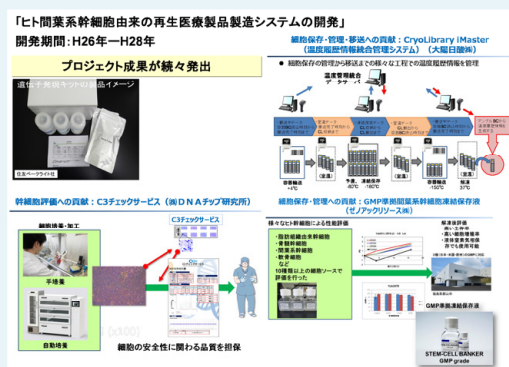


プロジェクト実施体制

8つの企業と6つの大学・研究機関・団体が幹細胞評価基盤技術研究組合を通して、「臨床医療現場のニーズ」を最大限反映した、高品質の幹細胞製品を製造・供給するシステムを実現することを目指し、研究開発を進めています。

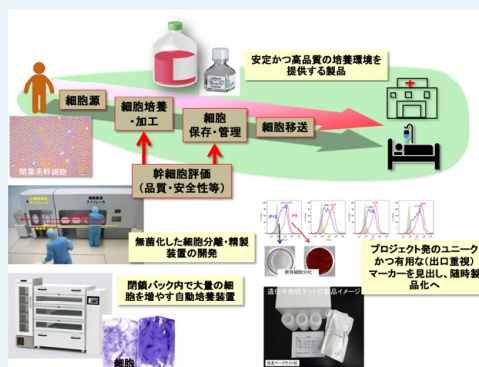
成果と今後の展望について

プロジェクト期間（3年間）の半分が経過した今年度は、製品化・技術サービス提供に至る成果をあげることができました。これらの成果は、再生医療製品を製造するシステムにおいて細胞の品質を評価し、その品質を維持したまま各医療機関等へ供給するために必要な要素技術群です。プロジェクトにおいては変形性膝関節症治療のための幹細胞評価・保温・管理を想定していますが、他の再生医療等製品の供給にも応用できる基盤技術でもあります。今後も開発研究を進め、細胞を育て、保存し、届ける工程に貢献する製品および技術の提供を通じてわが国の再生医療の発展に貢献していきます。



再生医療製品製造における成果の位置づけ

貴重な細胞に対する品質試験をより少ない細胞で、より高解像度のゲノム安全性評価をたった数日で可能とするゲノム解析、そして世界基準の製造設備で製造された凍結保存液はグローバルな再生医療の発展に貢献できます。



再生医療製品製造工程をつなぎ合わせる成果

自動化培養装置、無菌化分離精製装置や臨床準拠培養システムの開発を進め、社会へ行き渡る再生医療の発展を目指していきます。

ヒト多能性幹細胞由来の再生医療製品製造システムの開発（心筋・神経） ～再生医療の産業化に向けた細胞製造・加工システムの開発～



【代表研究者】
京都大学

物質-細胞統合システム拠点
特任教授 中辻 憲夫

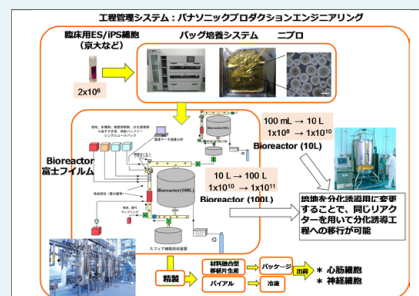
概要

本研究開発では、医療の場に供される再生医療製品を安全かつ安価に製造・加工するための、各プロセスが連携した製造システムを構築します。ここでいう再生医療製品は他家由来です。構築するシステムには再生医療製品の原料となる高品質のヒト多能性幹細胞を安定的に大量供給する技術の確立を含みます。また、これらを達成することにより、ヒト幹細胞を応用した再生医療製品開発の促進や再生医療製品及び再生医療周辺製品の国際競争力強化を図ります。本プロジェクトで開発した自動細胞培養装置及び品質管理・工程管理技術を実用化・製品化することで、ヒト幹細胞由来の国内外の再生医療製品及び再生医療周辺産業市場の形成・成長を促進させます。



プロジェクトの全体像（要素技術開発内容）

世界市場とニーズに適した国際競争力を持つ「世界で売れる」再生医療分野での装置、製造システムの開発と国内外での販売を目指す。設定目標：百億個／ロットの大スケール細胞生産、生産コストを10分の1に削減。



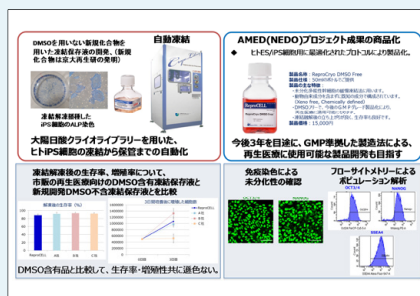
大量細胞生産へのシステム開発構想図

無撹拌3次元スフェア培養法によるヒト多能性(ES/iPS)幹細胞の大量自動培養技術を開発しています。大量培養に必要な安価かつ優れた未分化細胞増殖培地及び分化細胞誘導培地の開発も実施しています。

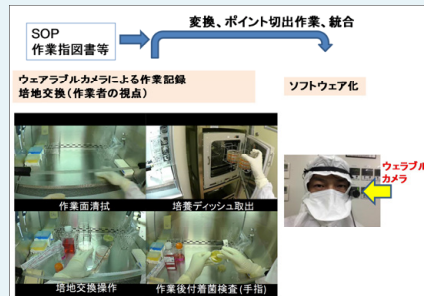
成果と今後の展望について

培地開発関係では、複数化合物を用いた未分化浮遊培養培地を開発中です。無撹拌自動細胞培養リアクターの開発は順調に進展中です。京大・リプロセル共同開発のDMSOフリー細胞凍結保存液をリプロセルより発売しました。加工・評価関係では配向性心筋組織移植片の開発に成功し、動物モデルでの評価研究を実施中です。工程管理システム開発では、ウェアラブルカメラ及び作業ナビシステムによるSOP作成を検討中です。

今後の展望として大量培養システム及び工程管理システムの完成により、集中研におけるヒトiPS細胞からの神経幹細胞及び心筋細胞の作製についての検証実験をプロジェクト期間内に実現できるように仕上げてゆきます。



自動凍結システム及び凍結保存液開発(京大・リプロセル)
平成26年度の成果としてヒトiPS細胞の自動凍結保存システムを構築に成功し、平成27年度の成果としてDMSOフリーの「新規凍結保護剤」を8月に世界同時販売を行いました。現在、分化細胞への応用検討中です。



ウェアラブルカメラによる作業手順記録とソフトウェア化(京大・パナソニックプロダクションエンジニアリング)
構築した作業手順のSOP化、製造管理ソフトウェアへの組込みの方策としてウェアラブルカメラによる作業の記録を試行中。細胞製品生産プロセスSOP等の作成管理として検討中。

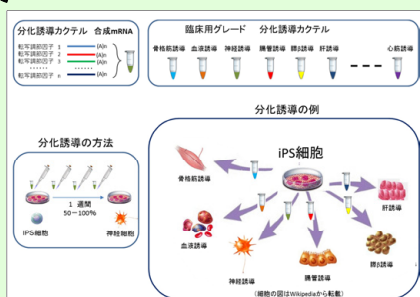
多能性幹細胞から多種類の分化細胞を、最短時間、高効率、高品質、大量、自在に生産するための基盤技術開発と産業化応用 ～技術開発個別課題～



【代表研究者】
慶應義塾大学
医学部
教授 伊藤 実

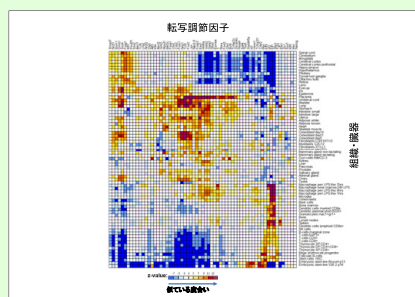
概要

本プロジェクトでは、iPS細胞を用いた再生医療実現とその産業化のために、多種類の高品質分化細胞を、短時間に、且つ自由自在に、十分量産産できる基盤技術の開発を目指しています。これまでに、768個の転写因子(TF)を合成mRNA作成ベクターにクローニングし、145個のTFの合成mRNAを作成、80個のTFをヒトES細胞に導入し効果を検討しました。その結果、神経細胞や骨格筋の細胞を一週間程度で分化させることができるTFの組み合わせを発見しました。



研究のゴールと方法論 1

転写調節因子をコードする合成 mRNA を作成し、その組み合わせで細胞種類毎に細胞分化誘導カクテルを調製します。iPS細胞に細胞分化誘導カクテルをふりかけることで短期間に分化を誘導できる技術を開発します。

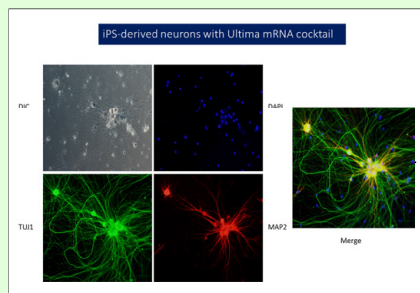


研究のゴールと方法論 2

必要な転写調節因子(TF)は、個々のTFの強制発現によって引き起こされる全遺伝子発現パターンの変化を、組織や臓器の全遺伝子発現パターンと比べることで、同定します。(Correa-Cerro et al., Scientific Reports 2011)

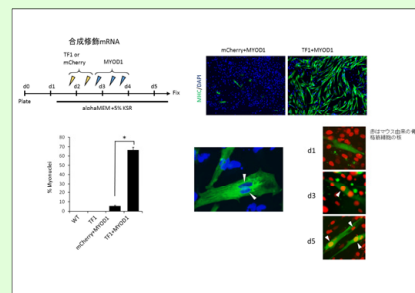
成果と今後の展望について

本課題のゴールに向けての基盤技術開発は実現しつつあると考えています。特に、神経細胞、骨格筋細胞などの一部の細胞は、効率よく分化を誘導する合成mRNAの組み合わせ(カクテル)が完成しています。現在は、これら分化細胞の詳細な形態学的、機能的解析をさらに進めています。本研究を通じて明らかになったこととして、(1)一つの転写因子より、複数の転写因子のカクテルのほうが分化を効率よく誘導すること、(2)モデルとなったマウス細胞とヒト細胞の差は予想より大きいこと、(3)マウス細胞よりヒト細胞の分化のほうが早いスピードで起こることが判明しました。今後は、さらに多くの細胞種を効率よく分化誘導するカクテルを引き続きテストしていきます。産業化応用として、分化誘導カクテルの市販開始を平成28年度に予定しています。またプロジェクト終了時には、合計10種類程度の細胞を効率よく分化誘導するカクテルの作成を目標としています。



例1: 合成mRNAによる神経への分化誘導

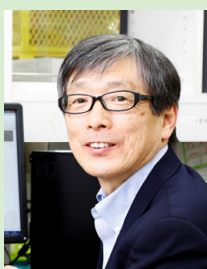
ES細胞に合成mRNAカクテルを振りかけた後、一週間目に神経細胞への分化を調べました。神経細胞のマーカーであるMAP2、TUJ1が発現している細胞が効率よく産生されました。



例2: 合成mRNAによる骨格筋への分化誘導

ES細胞に合成mRNAカクテルを振りかけた後、5日目に骨格筋への分化を調べました。骨格筋のマーカーであるMHC (Myosin Heavy Chain) が発現している細胞が効率よく産生されました。

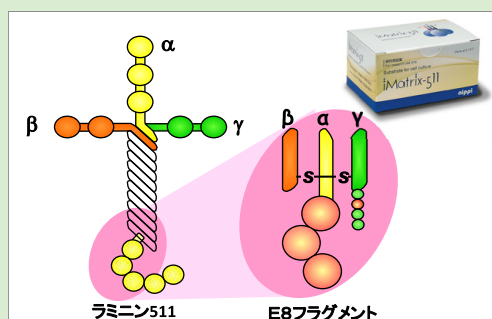
幹細胞培養用基材の開発 ～技術開発個別課題～



【代表研究者】
大阪大学
蛋白質研究所
教授 関口 清俊

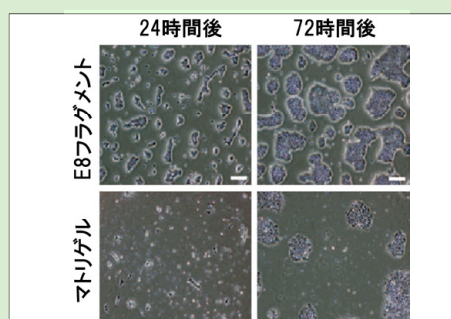
概要

iPS細胞等のヒト多能性幹細胞を医療応用するためには、これらの細胞を安全かつ安定に培養・増幅し、特定の細胞に効率よく分化させる培養技術の開発が必要です。生体内では、細胞が足場とする蛋白質は細胞ごとに異なり、培養基材として使用する蛋白質も細胞ごとに最適化する必要があります。本課題では、細胞ごとに最適な足場を構成する蛋白質を探索し、iPS細胞の未分化性維持に適した培養基材、特定の細胞への分化誘導に適した培養基材、さらには分化誘導した細胞を上皮様細胞シートに加工する際に有用な培養基材を開発するとともに、これら基材をGMP規格で製品化する技術開発を行います。



多能性幹細胞用培養基材ラミニン511とその活性フラグメント

初期胚の多能性幹細胞はラミニン511という蛋白質を足場としています。この蛋白質の活性(E8)フラグメント(商品名:iMatrix-511)を培養基材に使うと、多能性幹細胞を安全かつ安定に培養することができます。

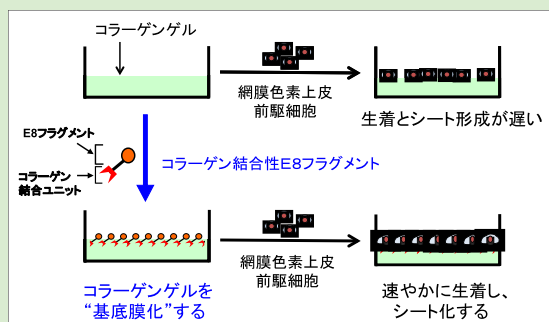


E8フラグメントを使うと単一細胞にした多能性幹細胞が培養可能

従来法では、多能性幹細胞を単一細胞にすると細胞死がおこるため、細胞をばらばらにすることは禁忌でした。E8フラグメントを培養基材に使うと、単一細胞にした細胞が速やかに増殖します。これによりiPS細胞の培養が容易になりました。

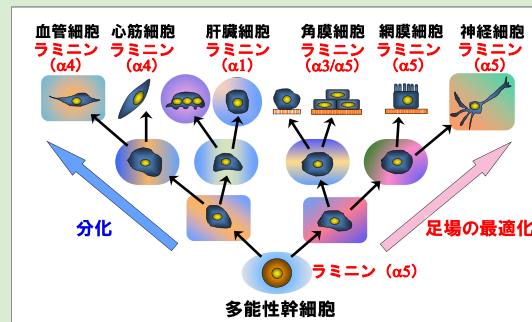
成果と今後の展望について

- ① 再生医療用iPS細胞の製造と培養に適したラミニン511E8フラグメントの製造方法を確立しました。この成果を踏まえ、分担機関の(株)ニッピは生物由来原料基準に適合した製品(商品名:iMatrix-511 MG)の製造を開始しました。
- ② 拠点や個別課題の研究者と協力して、iPS細胞から神経細胞、肝臓細胞、血管細胞、心筋細胞を効率良く分化誘導する培養基材の開発を進めています(下図右)。有用性が確認されたものから、順次医療グレードの製品の製造方法を確立していきます。
- ③ コラーゲン結合性ラミニンE8フラグメントを利用し、コラーゲン上での細胞シート形成を加速する培養基材の開発を進めます(下図左)。また、これを利用した3次元臓器構築技術の開発を目指します。



コラーゲン上での細胞シート形成を加速する培養基材の開発

網膜色素上皮細胞はコラーゲン上で細胞シートに加工され、移植されます。コラーゲン結合性E8フラグメントを利用して、コラーゲン上での細胞シート形成を加速する培養基材の開発を進めます。



細胞分化を誘導する培養基材の開発

多能性幹細胞が様々な細胞に分化するとき、周囲のラミニンのタイプも変化する。細胞ごとに最適化されます。このような情報に基づき、細胞ごとに最適な分化誘導用の培養基材を設計します。

再生医療に用いるiPS細胞大量培養プラットフォームの開発 ～技術開発個別課題～



【代表研究者】
旭硝子株式会社
先端技術研究所
特別研究員 熊谷博道

概要

iPS細胞を用いた再生医療早期実現のため、iPS細胞の大量培養・安定供給に必要なプラットフォーム技術の構築が本プロジェクトの目的です。iPS細胞を医療用途に用いるためには、各種規制に対応する事が重要です。私達は医薬品製造基準に適合した組換えタンパク質製造技術やサイズ均一な細胞塊形成用培養容器技術を保有しています。これらの技術を活用すれば、再生医療の早期実現に貢献できると考え、iPS細胞の増殖・分化に必要な各種タンパク質(ヒト・トランスフェリンを始めとしたタンパク質類(液性因子))の大量製造技術の確立およびiPS細胞塊の3次元培養に適した培養条件に関する研究開発を行い、iPS細胞の大量培養プラットフォーム技術の確立・実用化を目指します。

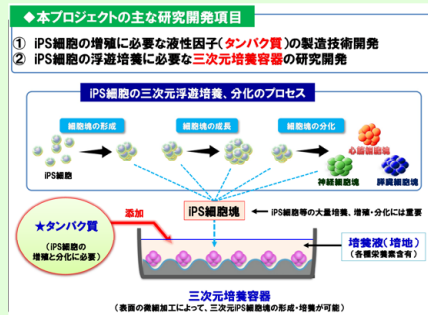


図1. 本プロジェクトの概要

iPS細胞の増殖・分化に必要な各種タンパク質類(液性因子)の高品質での製造技術の開発と共に、iPS細胞の大量培養や分化に重要であるサイズ均一な細胞塊を高効率で形成できる特殊な3次元培養容器の開発・実用化を目指しています。



図2. hTFなどタンパク質類(液性因子)の製造技術の開発

hTFを始めとした各種タンパク質を高効率生産する遺伝子組換え菌株(分裂酵母や大腸菌など微生物)を開発し、それを用いたタンパク質製造プロセス(培養・分離・精製・分析など工程)を確立しました。

成果と今後の展望について

1. 微生物・分裂酵母を使った独自の発現系を活用して、iPS細胞の基礎培地などに汎用される典型的な液性因子ヒト・トランスフェリン(hTF)の高分泌生産系を構築し、hTF大量製造プロセス(培養・精製工程等)を確立しました。さらに、ほかの液性因子(カタラーゼ、SOD、ステムセルファクター)などの遺伝子組換え発現系も作製し、高生産系の構築に成功しました。
2. 汎用性のプラスチックディッシュのレーザー加工によって作製した3次元培養容器を用いて、様々な大きさのiPS細胞塊(胚様体)を均一に形成させることに成功しました。さらに、今後の再生医療への実用化に向け、課題の抽出と改善を行い、形状の最適化・大面積化を進めています。本プロジェクトで得られたプロトコルや開発品・試作品は、本プロジェクトの各拠点・実施機関に提供し、再生医療の早期実現をサポートすることを目指しています。

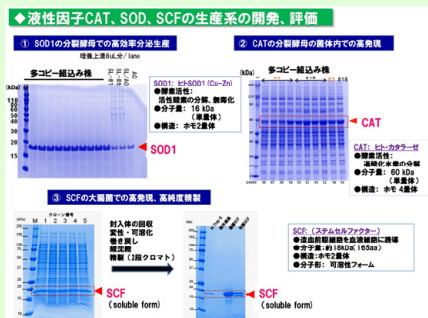


図3. hTF以外の液性因子3種類の高生産系の開発

hTF以外に、ほかの3種類の液性因子(カタラーゼ、SOD、ステムセルファクター)の遺伝子組換え発現系を構築し、それぞれの高い生産効率を確認しました。今後の大量生産に向け、培養・精製など工程の開発を進めています。

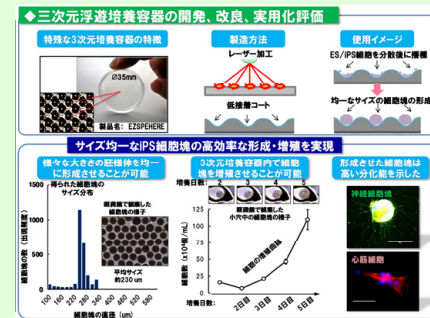


図4. iPS細胞塊の3次元培養用微細加工容器の開発

底面に隙間なく小穴を微細加工した培養容器を用いることで、任意サイズの胚様体を短時間で均一に形成させることを可能にしました。形成した細胞塊が微細加工した小穴の中で高い増殖能を示し、細胞塊の大きさに依存した分化能の違いも観察されました。

立体浮遊培養の再生医療への実用化のための自動化技術の開発 ～技術開発個別課題～



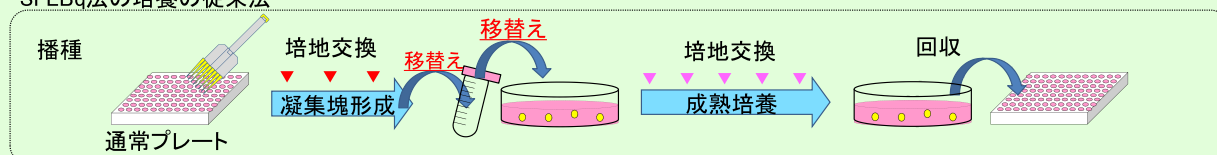
【代表研究者】
川崎重工業株式会社
MDプロジェクト部
室長 佐藤 理

概要

本開発は、幹細胞の立体浮遊培養の自動化を目指します。
幹細胞の立体浮遊培養は、再生医療で有用な細胞や立体組織の産生に重要な技術ですが、平面培養に比して、培養技術の難度が高く、実用化技術の開発は遅れています。

本研究は、立体浮遊培養技術で世界的にリードする理化学研究所 発生・再生科学総合研究センター（開発当時）が開発した培養法（SFEBq法）をベースに、培養の自動化に取り組みます。川崎重工業の最先端ロボット技術を応用した容器ハンドリング技術、住友ベークライトの培養容器を中心とした基材面での革新的技術と、大日本住友製薬と住友化学とが有する品質評価技術を活用します。

SFEBq法の培養の従来法

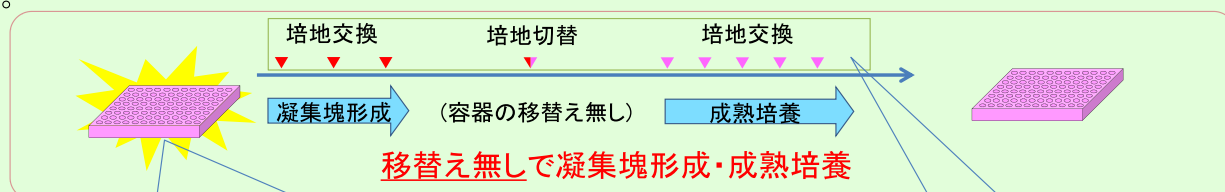


高度な手技が必要で生産性が悪く医療の実用化に不向き

培養容器と自動化装置で解決

成果と今後の展望について

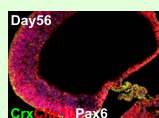
本開発では、分化誘導開始から成熟培養終了まで凝集塊の移替えを行わずに同一の容器で培養可能なプレートを開発しました。このプレートはウェルにスリットを設けることで培地を共有化させ、従来法に比べて培地交換等を容易に行うことが出来る他、凝集塊同士の癒着が防げる、個々の凝集塊を個別に観察（トレース）できる等、従来法では実現できなかった特徴があり自動化に適しています。このプレートの特徴を生かし、生産性や品質の安定性を高めるより実用的な自動化技術の開発を進めています。これらを普及させることで再生医療の実用化を加速させ、将来の医療の高度化に貢献したいと考えています。



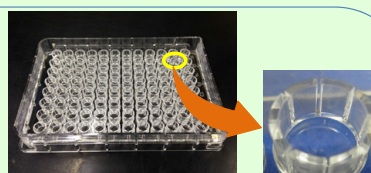
新型ウェルプレートの開発 （スリットウェルプレート）

- ・培地を共有化
- ・凝集塊の癒着（接触・融合）防止
- ・個別観察、品質評価が容易

これまでに神経網膜・大脳皮質への分化を確認



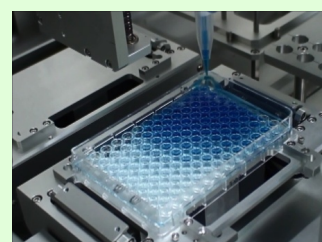
スリットウェルプレートでiPS細胞から作製した網膜組織の免疫染色画像



スリットウェルプレートの画像と原理

製品化に向けて検証中

自動化装置製作中



歯・外分泌腺などの頭部外胚葉器官の上皮・間葉相互作用制御による立体形成技術の開発 ～技術開発個別課題～



【代表研究者】
理化学研究所
辻 孝

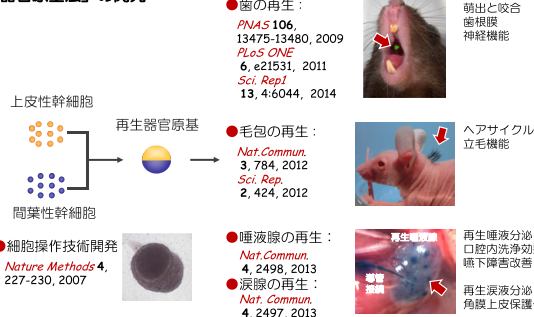
概要

本技術開発では、iPS細胞から上皮・間葉相互作用の精密制御することにより、頭部外胚葉器官(歯や外分泌腺)の立体形成技術の開発を目指しています。

歯の喪失やドライマウス、ドライアイなどの分泌腺機能障害では、人工的な代替治療法(義歯)や人工唾液・涙液の補充などの対症療法による治療しかないため、本質的に機能回復する再生治療の開発が期待されています。

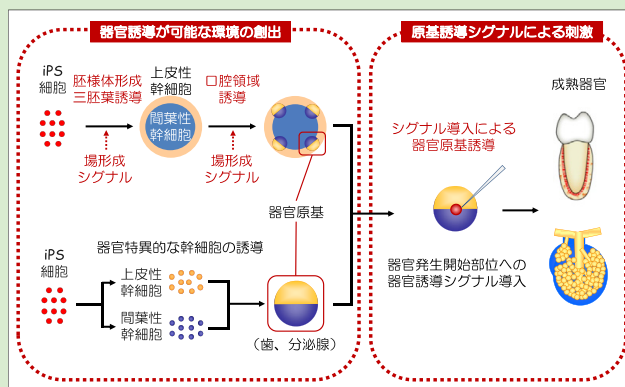
本技術では、上皮性および間葉性幹細胞を誘導し、人為的に歯や唾液腺、涙腺などの頭部器官を再生する技術の開発を目指します。

本研究グループの先行研究成果 「器官原基法」の開発



●これまでの研究成果-革新的器官再生技術、「器官原基法」

本研究グループは、幹細胞から器官(臓器を含む)のもととなる器官原基を人為的に組み立てる細胞操作技術、「器官原基法」を世界に先駆けて開発し、幅広い器官再生の実現可能性を示しました。



●本技術開発における研究

本技術開発では、iPS細胞から各器官に特異的な上皮性・間葉性幹細胞を誘導する技術の開発を行います。また、器官の発生に重要な遺伝子を細胞、組織に導入することにより器官を誘導する器官誘導系の構築を目指します。

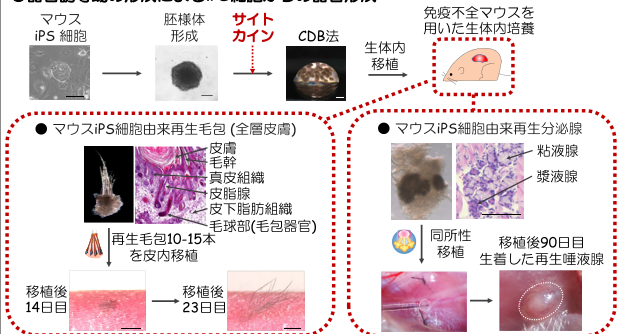
成果と今後の展望について

これまでの研究成果により、マウスiPS細胞から形成した胚様体を複数積み重ねて、生体内で培養することにより、上皮・間葉相互作用による毛包を含む全層皮膚器官系や機能的な外分泌腺が再生可能であることを世界で初めて実証致しました(左下図)。

さらに、臨床応用に向けて、ヒトiPS細胞を用いた生体外培養系の開発を進めています。ヒトiPS細胞から、内外に間葉性・上皮性という極性をもった胚様体への誘導が可能となりました。また、ヒトiPS細胞からそれぞれ上皮性・間葉性細胞の特徴を持つ細胞への誘導が来ています。(右下図)。今後は、上皮・間葉を一体誘導した胚様体及び、誘導した上皮・間葉細胞を再構成した再生原基に原基誘導シグナル遺伝子を導入し、人為的な器官発生の制御を目指します。

器官誘導が可能な環境の創出

●器官誘導の形成によるiPS細胞からの器官形成

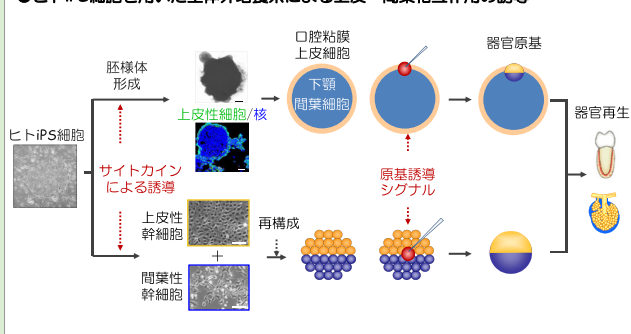


●生体内移植によるiPS細胞からの外胚葉性器官の誘導

マウスiPS細胞を用いて胚様体を作製し、マウスの生体内に移植を行うと、天然と同じ組織構造を持つ、iPS由来の全層皮膚器官系や外分泌腺が再生されることが明らかになりました。

生体外培養系による器官誘導

●ヒトiPS細胞を用いた生体外培養系による上皮・間葉相互作用の誘導



●ヒトiPS細胞を用いた生体外培養による器官再生

ヒトiPS細胞を用いて、上皮・間葉細胞の一体形成(上段)及び、上皮・間葉細胞それぞれを誘導し(下段)、そこへ原基誘導シグナルを導入することにより、三次元器官再生を目指します。

ブタ等大型動物を利用するiPS細胞技術の開発 ～技術開発個別課題～



【代表研究者】

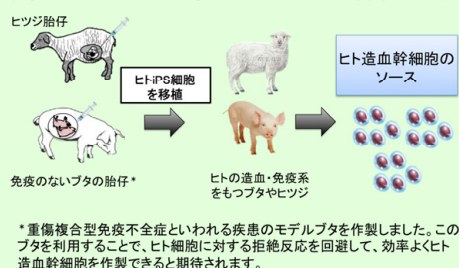
自治医科大学 教授 花園 豊

ねらい

造血幹細胞は、ヒトの血液の元になる細胞で、骨髄移植に使われています。ヒトiPS細胞から造血幹細胞を作り出す研究は、現在のところ試験管内における分化誘導実験が中心です。しかし、これは必ずしもうまくいっているわけではありません。そこで本開発では、ヒトiPS細胞由来の造血幹細胞をブタやヒツジの体内で作ることを目指します。

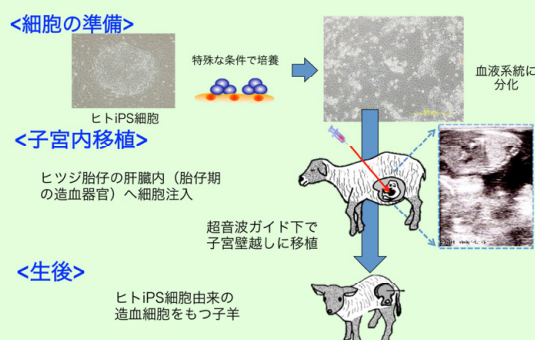
概要と成果

動物(ブタ・ヒツジ)体内でヒト造血幹細胞を作る



本プロジェクトの狙い

ヒトiPS細胞から造血幹細胞をブタ・ヒツジの体内で作ります。具体的には、ヒツジ胎仔や免疫のないブタを利用し、動物体内でヒト造血システムの構築を目指します。



ヒトiPS細胞由来の造血細胞を持つ動物を作出する方法

ここではヒツジ胎仔を利用する方法を示します。ヒトiPS細胞を試験管内で血液細胞の系統に方向付けした後、ヒツジ胎仔の肝臓内、すなわち胎仔期の造血器官へ注入します。その結果、骨髄中にヒトiPS細胞由来の造血細胞をもつ仔ヒツジが産まれます。これらの動物からヒトの造血幹細胞を取り出す予定です。

I. 移植前処置

生着スペースの拡張:
ヒツジ胎仔へ移植前処置剤（ブスルファン）を投与することで、ヒト細胞を受け入れやすくする

II. 移植細胞への処置

造血幹細胞の増幅:
一時的に造血促進遺伝子を強制発現することで、造血幹細胞を強化してからヒツジへ移植する

III. 移植後処置

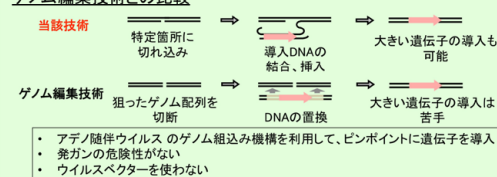
選択的増幅:
生後のヒツジに、ヒツジには効かないがヒトに効く造血因子を投与することで、ヒツジ体内のヒト細胞だけを増やす

ヒツジ体内でヒト血液細胞を増やす工夫

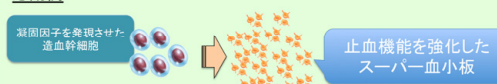
現在の問題は、動物体内で作られるヒト造血細胞の量がまだ少ないことです。ヒツジ胎仔へ細胞を移植する前後で図の3つの工夫をすることにより、ヒツジ体内でヒト造血細胞の比率を高めることができます。いずれも異なる機序による促進作用であるため、組み合わせれば相乗効果が期待できます。

ピンポイントで安全な遺伝子の導入

ゲノム編集技術との比較



応用例



本技術開発の工夫:ピンポイントで安全な遺伝子導入法

本技術開発では、ヒトゲノムの特定箇所にピンポイントで遺伝子を導入する方法を開発し、キット化します。この技術により、ヒトiPS細胞へ安全に遺伝子を導入でき、遺伝子改変によって特定の機能を強化した血液細胞の作製が可能になります。その1例として、ヒトiPS細胞に凝固因子を発現させることで、出血部位での止血機能を強化した「スーパー血小板」の作製を目指します。

今後の展望について

本開発により、動物体内でヒトiPS細胞由来の造血幹細胞の生産が可能となれば、将来、骨髄・臍帯血に次いで、動物が造血幹細胞の第三の移植源になることが期待できます。今後、動物の体内で様々なヒトの細胞や臓器を作る技術が開発されると予想しています。

移植免疫寛容カニクイザルコロニーの確立と再生医療への応用 ～技術開発個別課題～

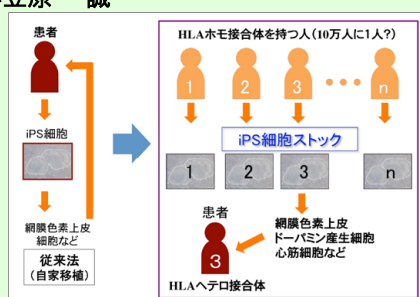


【代表研究者】
滋賀医科大学
医学部
教授 小笠原 一誠

概要

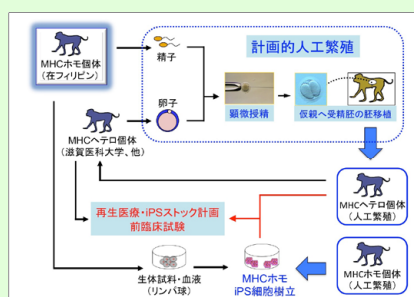
移植の型合わせに使用されるMHC(ヒトではHLA)遺伝子群が同一ペアであるMHCホモ個体より作製したiPS細胞由来分化細胞を、片方のみ同一のMHCヘテロ個体へ移植する場合、免疫拒絶反応はほとんど生じないと予想されます。iPS細胞ストック計画はこの考えに基づいていますが、臨床応用するためには前臨床試験として動物モデルでの検証が必要です。

本課題では、人工繁殖等により得られたカニクイザルMHCホモ個体からiPS細胞を樹立し、併せて同一MHCヘテロ個体のコロニーを拡充させます。この移植免疫寛容システムを再生医療の前臨床試験モデルとして、多くの研究者に幅広く提供できる体制の開発・構築を進めています。



移植免疫寛容の仕組み (iPS細胞ストック計画)

MHC遺伝子ペアの両方が同一型である個体(MHCホモ個体)より作製したiPS由来細胞を、ペアの片方のみが同一型であるMHCヘテロ個体へ移植する場合、免疫拒絶反応は大幅に抑制されると予想されます。



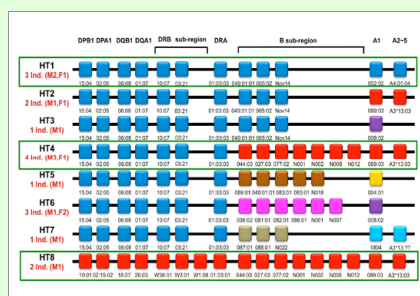
MHCホモ・iPS細胞の樹立とカニクイザル個体の創出

カニクイザルMHCホモ個体は殆どがフィリピンで発見され、ワシントン条約により輸入できません。そこで、MHCホモ個体由来細胞(血液、精子)を入手し、iPS細胞樹立の他、MHCホモ個体の創出を進めます。

成果と今後の展望について

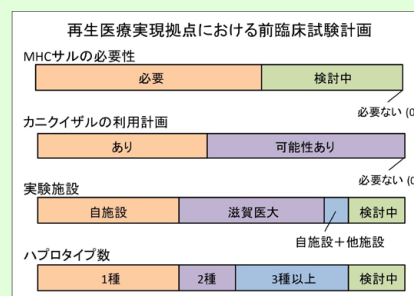
本システムの拡充には稀少なMHCホモ個体の確保が重要です。特に、前臨床試験に有用と考えられるMHCハプロタイプ-HT1、HT4、およびHT8を有するMHCホモ個体を中心に計画的人工繁殖を進めています。また、MHCホモ個体由来血液試料をフィリピンより入手し、移植用iPS細胞として、これまでにHT1、HT4、およびHT8-ホモiPS細胞を樹立しました。

再生医療実現拠点の各施設で実施される前臨床試験に対し、これまで3拠点にHT1を中心とした移植免疫寛容システムを供給しました。今後、各種MHCヘテロ個体を用いた移植免疫の更なる検討と共に、各拠点の前臨床試験に必要とされるカニクイザルMHC個体の準備を進め、臨床応用の加速化に向けて滞りなく提供していきます。



カニクイザルMHC遺伝子型(ハプロタイプ)とiPS細胞樹立

約1700頭のカニクイザルMHCの解析を行った結果、15種類(HT1～15)のMHCホモ接合体を確認しました。中でも、HT4は、HT1およびHT8の遺伝子型を半分ずつ有する興味深い遺伝子型であることを見出しました。



前臨床試験に対する移植免疫寛容カニクイザルの提供

拠点内の13施設で実施される前臨床試験計画について、必要とされるHT1やHT4のMHCを有するカニクイザル個体、および同一MHCホモ・iPS細胞の提供準備を進めています。一部は今年度実施されました。

iPS・分化細胞集団の不均質性を1細胞・全遺伝子解像度で高速に測定する技術の開発 ～技術開発個別課題～



【代表研究者】
理化学研究所
情報基盤センター

ユニットリーダー 二階堂愛

概要

【目標】

再生医療に用いられる細胞の**有効性**と**安全性**を調べる方法を開発します

【方法】

細胞集団のなかにあるひとつひとつの細胞の「個性」を測ります

【課題】

細胞の「個性」を測るには、**ひとつひとつ細胞のなかにあるすべての遺伝子の働きを測定**しなければなりません

1. 細胞集団は個性的な細胞の集まり

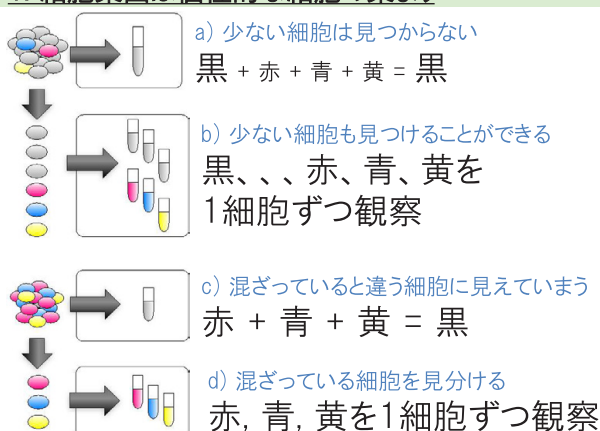


図1. 細胞集団は個性的な細胞の集まり

a) たくさんの細胞(黒)のなかにある希少な細胞(赤、青、黄)の混入は、細胞集団のまま観察すると発見できません。c) 相反する細胞の混合も個性が打ち消し合うため、観察できません。b, d) 1細胞ずつ観察すると、それぞれの個性を調べられます。

2. 細胞の「個性」とは？

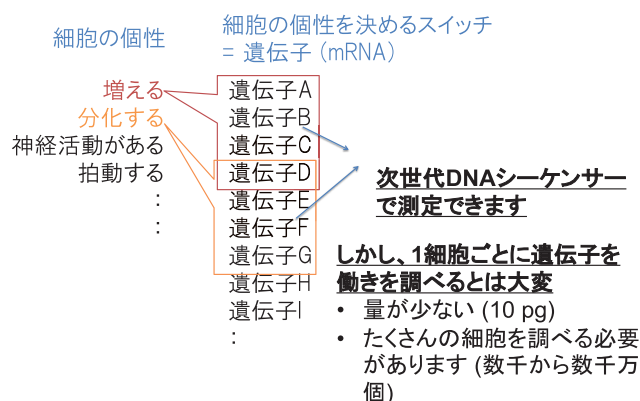


図2. 細胞の個性は遺伝子の働きからわかる

ある細胞のもつ個性、例えば、増える、分化するなどは、複数遺伝子の働きで達成されます。逆にどのような遺伝子が働いているかを調べると細胞の個性を知ることができます。遺伝子の働きはRNAと呼ばれる遺伝子産物の量を、次世代DNAシーケンサーを使って、測定することができます。

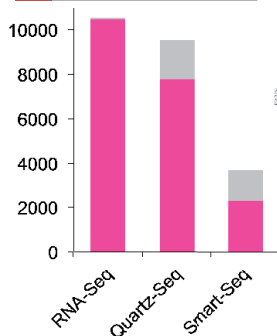
成果と今後の展望について

【実績】世界最高精度の1細胞全遺伝子測定法を開発に成功

【展開】

1. たくさんの細胞で1細胞全遺伝子測定する技術(実験法・ソフトウェア)を開発
2. 再生医療に重要な細胞の個性を高精度に検査する方法を開発

3倍以上の遺伝子を検出



分化や細胞周期のような個性が分類可能

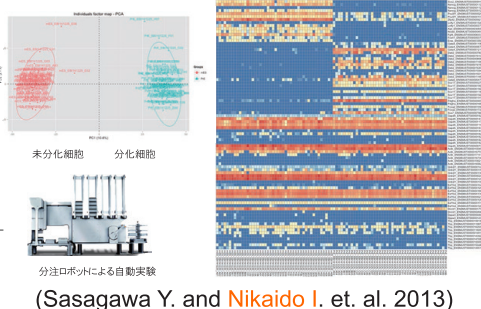


図3. 世界最高精度を誇る1細胞の全遺伝子測定法Quartz-Seq

左: これまでの方法より3倍以上の遺伝子を測定できます。中央: 未分化細胞(赤)と分化細胞(緑)を分類できました。Quartz-Seqの自動化に成功し1度に約400細胞分の計測ができます。右: 未分化細胞と分化細胞を分ける遺伝子が発見できました。行は遺伝子、列は細胞を示します。マスの色が赤いと遺伝子の働きが活発であることを示します。

開発の目標

細胞の個性が混り合うのは現実として存在する個性を踏まえて再生医療の有効性・安全性を飛躍的に高める

再生医療に関わる重要な遺伝子だけを高精度に検査する方法

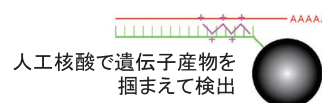


図4. 再生医療の有効性・安全性の検査法を確立

1. 低コストで高精度な1細胞全遺伝子測定法を作ります。
2. 再生医療に重要な遺伝子を標的に10⁷個細胞のなかにある1つの細胞の混入を発見します。

iPS細胞・体性幹細胞由来再生医療製剤の新規品質評価技術法の開発 ～技術開発個別課題～



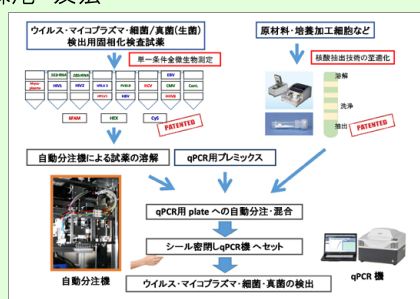
【代表研究者】
東京医科歯科大学
大学院
教授 森尾 友宏

概要

iPS細胞や体性幹細胞を再生医療に応用する際には、少量の細胞を用いてその安全性を検証しておくことが大切です。微生物検査と遺伝子変異検査が重要ですが、現在までまだ十分な機能を有する検査技術がありません。

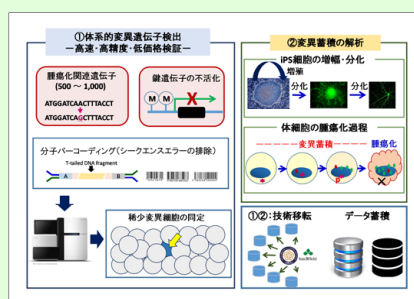
この研究では、迅速に、感度良く、また安価に多種類の微生物を一気に検出する先端的な検査系を開発します。また、少数の細胞において腫瘍化と関係する遺伝子の変異が起きていないかを高感度に検出する技術を開発します。

開発した検査系はキット化して、また標準的な検査法として再生医療全般に広く用いられるように改良と検証を重ね、実用的なものとして広く提供します。



先端体系的迅速微生物検査系の開発

主に核酸増幅法を用いて、再生医療・細胞治療で問題になる多種類のウイルス、マイコプラズマ、細菌・真菌を、1つのシステムで簡便、迅速、高感度でかつ安価に検出する系を開発し、それをキット化し、また自動化します。



先端遺伝的不安定性検証系の開発

将来的に腫瘍化の危険がある細胞を検出する系はまだありません。分子に目印をつけて腫瘍化に関連する遺伝子の変異をもつ細胞を高感度に捕まえる系や、変異蓄積を評価する系を作り、共有データとして蓄積します。

成果と今後の展望について

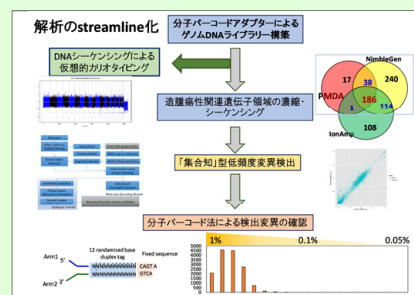
ウイルス検査系はキット化されて皆が利用できるようになりました。マイコプラズマは公に用いられる系とすべく検証を進め、まもなくキット化される予定です。細菌・真菌は、生きた菌だけを捕まえるPCR系を開発しています。すべての微生物は1つのシステムに搭載し、自動化する予定です。投与する細胞の微生物を短時間で検査できれば、より安全な細胞治療につながります。

遺伝的不安定性検証系では、腫瘍化に関連する596個の遺伝子を、次世代シーケンサーで一気に検査し、元細胞や培養細胞で0.1-1%程度に認められる変化を捕まえます。検査エラーを検知するため、1つずつの分子に目印をつけ、間違いをチェックします。この方法が完成すれば、重要な変異をもつ細胞の比率がわかり、より安全な細胞調製に向けた培養法を開発できます。



各微生物検出系の開発と今後の課題

ウイルスは必要なものを選択し追加しています。マイコプラズマキットは標準検査としての認証を目指します。細菌・真菌では短時間培養後の増加の検出、あるいはRNAの測定により、生きた菌だけを感度良く捕まえようとしています。



超低頻度体細胞変異検出系の構築

分子バーコーディング法を主軸として、高精度な新しい染色体検査、造腫瘍性関連遺伝子領域の数理処理による超低頻度変異検出と同変異の確認、の3つの検査を1つの流れとして行える系を構築しています。

iPS細胞分化・がん化の量子スイッチング in vivo Theranostics ～技術開発個別課題～



【代表研究者】
名古屋大学大学院
工学研究科
教授 馬場嘉信

概要

iPS細胞を医療現場で使用するためには、iPS細胞の体内での動きに加えて、がん細胞や目的の細胞への変化(がん化・分化)を診断し、がん細胞になった場合は死滅させる技術の確立が切望されています。私たちはiPS細胞に対して安全な量子ドット、磁性ナノ粒子、生体適合性材料による量子・磁気ナノハイブリッド材料を開発することで、量子スイッチング※・磁気効果によるiPS細胞のがん化・分化 in vivo Theranostics(生体内診断・治療融合)の実現を目指しています。既に、iPS細胞検出用超低毒性量子ドットや新規磁性ナノ粒子を開発し、iPS細胞の高感度検出に成功しました。また、がん化診断に向けた量子スイッチングの要素技術を開発しました。さらに、肝障害治療のために移植した幹細胞の体内挙動と肝臓内における幹細胞の単一細胞レベル in vivoリアルタイムイメージングに成功しました。本成果は、疾患・組織別実用化研究拠点と協力し、脳、肝臓、軟骨、角膜、ホルモン再生等のiPS細胞治療研究に応用しています。

量子スイッチング※: 幹細胞中の量子ドットの量子効果を光で制御することで、幹細胞の変化を量子ドットの蛍光変化として検知すること。

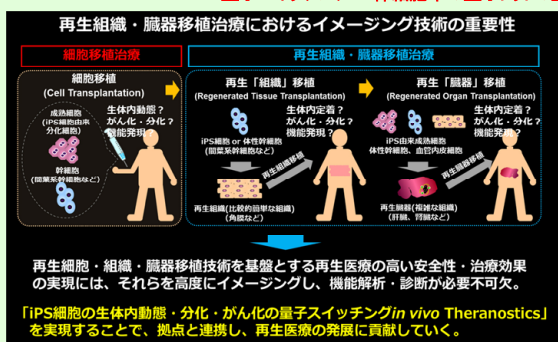


図1. 本研究の背景・目的

再生医療の治療効果を最大限に発揮するためには、移植後の細胞や組織の生体内での状態を正確に把握することが必要不可欠ですが、それを実現できる技術はありません。

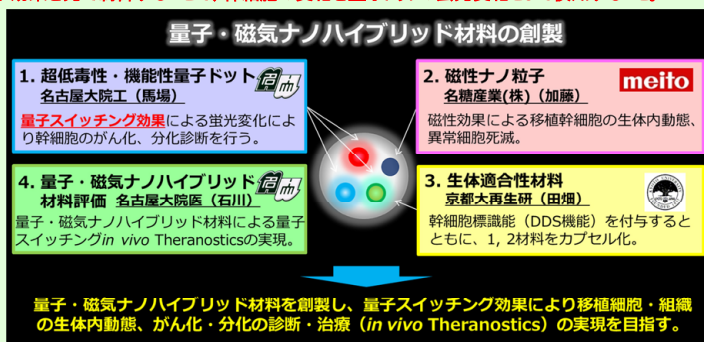


図2. 量子・磁気ナノハイブリッド材料の創製

超長寿命・超高効率の蛍光を示す量子ドットが、幹細胞の生体内動態、がん化、分化の変化を高感度に検出します。磁性ナノ粒子が深部の生体内動態、アポトーシスによる異常細胞の死滅を可能にします。生体適合性材料によるカプセル化にて、量子・磁気ナノハイブリッド材料を創製します。

成果と今後の展望について

本プログラムにおいて、これまでに超低毒性量子ドット(ZnS-ZAIS-COOH)、高効率幹細胞ラベリング可能な新規磁性ナノ粒子(TMADM)、がん化診断に向けた量子スイッチングによる蛍光on/off機能制御の開発に成功することが出来ました。また、病態(肝障害)変化に伴う移植幹細胞の体内挙動変化 in vivo 蛍光リアルタイムイメージングに加え、ハイブリッド化に向けた生体適合性材料によるカプセル化にも成功しています。

今後の展望としては、がん化した細胞を死滅させて治療するハイパーサーミア効果の検証を進めると同時に、各臨床拠点との連携を進め、これら開発した材料の有用性・有効性を先生方とともに確認して頂く同時に、問題点も明らかにしていきます。これにより出来る限り早期に、臨床応用可能な量子・磁気ナノハイブリッド材料の創製を目指して参ります。

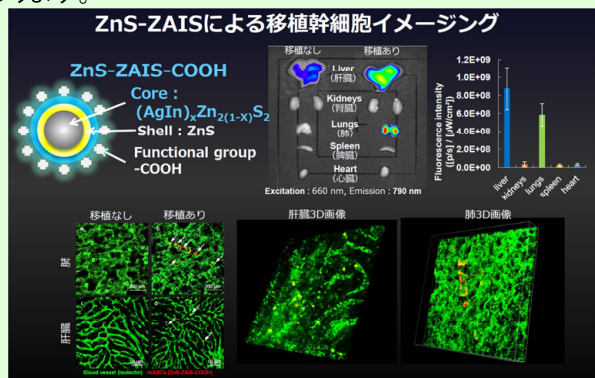


図3. 超低毒性量子ドットの開発と in vivo 蛍光イメージング

幹細胞に対して、低毒性な量子ドットの開発、及び幹細胞イメージングに成功しました。これにより、移植した細胞の組織・臓器内分布の検出に成功しました。今後は拠点と連携して、治療に用いられるiPS細胞から誘導された再生細胞や組織で利用可能かを検討します。

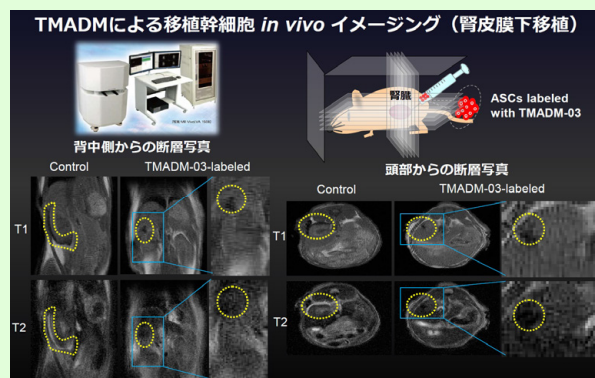


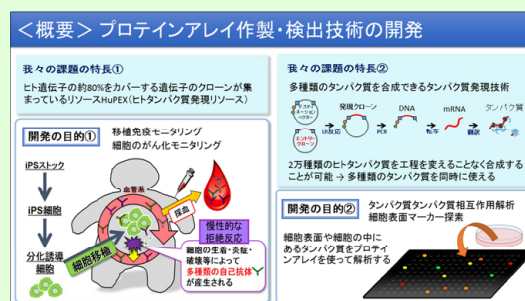
図4. 新規磁性ナノ粒子の開発とイメージング

幹細胞に対して、高効率にラベリング可能な新規磁性ナノ粒子の開発、及び移植幹細胞の in vivo イメージングに成功しました。今後、もう一つの効果である異常細胞を死滅させる効果(ハイパーサーミア効果)について検討して参ります。

Dr. Tetsuya Kato is a middle-aged man with dark hair and glasses, wearing a dark suit, white shirt, and a striped tie. He is looking directly at the camera against a light-colored, textured background.

産業技術総合研究所
機能プロテオミクスチーム
チーム長 五島直樹

我々は再生医療研究への貢献を目指し、細胞の初期化・分化・リプログラミングなどに関連する遺伝子(細胞システム制御遺伝子)リソースの拡充を進め、ネットワークプログラム内へのクローン供給と、クローン選択で必要となる遺伝子情報の提供を行っています。また、我々のリソースから合成した2万種類に上るヒトタンパク質を搭載したアレイを用いて、再生医療の安全性等の課題を解決する、プロテオミクス解析技術を開発しています。



約2万種類のヒトタンパク質を搭載したアレイを作製する技術の開発を進めています。これを用いて体内の免疫の状態や、細胞・タンパク質の解析を行うことで、再生医療における安全性向上への貢献を目指しています。

＜成果＞細胞システム制御遺伝子リソースの拡充・供給

細胞システム制御遺伝子のクローン所有率

	NIH/3T3- Hippocampal	NIH/3T3- Apop-3T3
Wnt3-βgalactosylトランスファクター	53細胞 (83%) 64細胞 (100%)	54細胞 (90%) 67細胞 (100%)
MycRb ⁺ -βgalactosylトランスファクター (53細胞: 87 ORF)	36細胞 (68%) 39 ORF (68%)	44細胞 (75%) 44 ORF (75%)
TGFβ ₁ -βgalactosylトランスファクター (53細胞: 112 ORF)	39細胞 (73%) 39 ORF (73%)	44細胞 (75%) 44 ORF (75%)
Hippocampal-βgalactosylトランスファクター (40細胞: 40 ORF)	17細胞 (41%) 17 ORF (41%)	17細胞 (41%) 17 ORF (41%)
正常細胞遺伝子 (20細胞: 20 ORF)	14細胞 (70%) 15 ORF (75%)	17細胞 (85%) 20 ORF (100%)

※NIH/3T3細胞は14細胞以上クローニングした上で、細胞系を保持するクローンをスクリーニング

データベースを使ったクローン情報の共有化

<http://www.hgcp.jp/>

例) K1細胞遺伝子

クローン・システム・細胞系

本プロジェクトでクローン供給を実施した機関

京都大学 京都細胞遺伝学研究所 (CIRA)	京都府立大学 医学部	慶応義塾大学 医学部
------------------------------	---------------	---------------

＜成果＞ プロテインアレイ作製・検出技術の開発

再生医療で細胞移植を行う場合、移植後の免疫がどのような
 応答をするかが不明です。今後はプロテインアレイを用いた移
 植免疫モニタリングを行い、細胞移植の有効性・安全性の評
 価法の確立につなげていきたいと考えています。

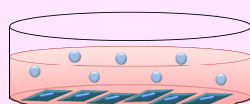
ヒト成体間葉系幹細胞の再生医療実現のためのゲノム科学に基づく品質管理と体内動態研究 ～分泌型microRNAを用いた脂肪由来間葉系幹細胞の品質管理～



【代表研究者】
国立がん研究
センター研究所
分子細胞治療研究分野
分野長 落谷 孝広

概要

ヒト脂肪由来間葉系幹細胞(AD-MSC)を再生医療に用いる際、均質なAD-MSCが製造できていることを確認することが重要です。一般的に実施されている品質試験(QC)の多くは、貴重な幹細胞を用いて評価を実施しています。そこで私たちは、幹細胞を使用しない評価方法の開発を目指し、培養上澄中に分泌されるmicroRNAに注目し研究を行いました。AD-MSCは継代を繰り返すと、老化細胞が増加していきますが、細胞の培養上澄中に分泌されるmicroRNAの種類も細胞の生理的状态に応じて変化します。この性質を利用し、老化細胞が「少ない」、「中程度」、「多い」という3種類のサンプルにおけるエクソソーム内microRNAの発現の変化を解析し、老化細胞が増加した環境において顕著に発現が変化するmicroRNAを同定しました。

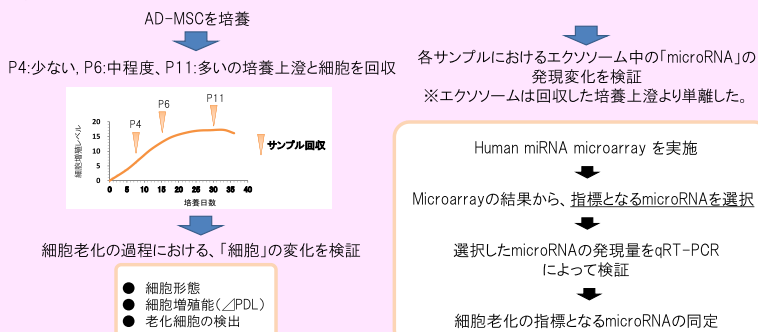


エクソソームの特徴

- ▶ 細胞より分泌される脂質二重膜の粒子
- ▶ 体液中、培養上澄中に存在
- ▶ microRNA、タンパク、mRNAを内包
- ▶ ガンなどの疾患を診断するための、新たなバイオマーカーとして期待されている。

エクソソームの特徴

エクソソームは細胞から培養液中に分泌される。エクソソーム内にはmicroRNAが含まれており、その内包されたmicroRNAを用いた新たな評価系の構築を目指した。



実験概要

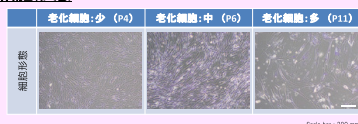
AD-MSCを培養し、P4:老化細胞が「少ない」、P6:「中程度」、P11:「多い」という3種類のサンプルより細胞と細胞培養に用いた培養液(培養上澄)を回収し、検討を行った。

成果と今後の展望について

AD-MSCの継代を繰り返し、老化細胞が「少ない」、「中程度」、「多い」という3種類のサンプルの培養上澄中のエクソソーム内microRNAの発現量について比較しました。その結果、hsa-miR-X、Y、Zを細胞の老化とともに発現が低下するmicroRNAとして同定しました。この3種のmicroRNAを用いることにより、幹細胞を用いず細胞の老化の程度を判断することが可能となりました。今後の検討課題は評価基準を設定することです。

また、幹細胞の分化能等の他の事象についても、マーカーとなるmicroRNAを同定し、幹細胞を使用しない評価方法をさらに充実していきたいと考えています。

細胞形態



- ▶ 長期間培養することにより、細胞の形態、サイズが変化した。

老化細胞の検出



- ▶ 長期間培養することにより、老化細胞(緑)が増加した。

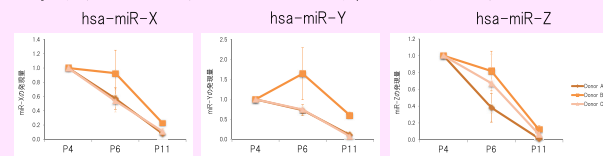
細胞増殖能

	少(P4)	中(P6)	多(P11)
Donor A	2.95	1.32	-1.01
Donor B	2.82	2.14	0.66
Donor C	2.96	1.61	-1.31

- ▶ 数値が大きいくほど、細胞増殖能(∠PDL)が高いことを示す。
- ▶ 長期間培養することにより、細胞増殖能が低下した。

microRNAの発現量の変化

arrayの結果より選択した3種のmicroRNAについて、qRT-PCRを実施した。



P4:老化細胞「少ない」 P6:老化細胞「中程度」、
P11:老化細胞「多い」

- ▶ arrayの結果と同様の傾向が認められた。

microRNAの発現量の変化

P4:老化細胞が「少ない」、P6:「中程度」、P11:「多い」という3種類のサンプルにおけるエクソソーム内のmicroRNA量を比較した。その結果、老化細胞の増加とともに発現が低下するmicroRNAを3種類同定した。

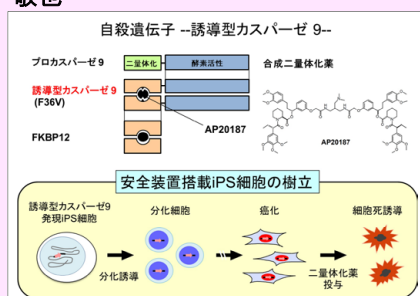
iPS細胞を用いた再生医療における造腫瘍性の対策に関する研究



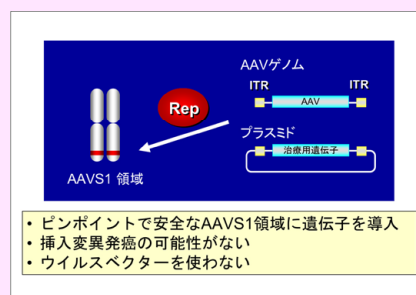
【代表研究者】
東京大学
医科学研究所
教授 小澤 敬也

■ 概要 ■

iPS細胞は様々な応用が期待されていますが、癌化の可能性があり臨床研究推進の妨げとなっています。その解決策の一つとして、iPS細胞に予め自殺遺伝子を組み入れておくことが挙げられます。移植細胞が癌化した場合、自殺遺伝子の発現を誘導し、選択的に移植細胞を体から排除できる安全装置となります。本研究では、自殺遺伝子としてFKBP12とカスパーゼ9とのキメラ蛋白質である誘導型カスパーゼ9を、アデノ随伴ウイルスが第19番染色体のAAVS1領域に組み込まれる性質を利用し、同領域にピンポイントで導入します。AAVS1領域はゲノムの中で安全な部位として知られており、iPS細胞の遺伝子操作に適しています。



自殺遺伝子誘導型カスパーゼ9の構造とそのiPS細胞への搭載 誘導型カスパーゼ9はカスパーゼ9とFKBP12とのキメラ蛋白質です。合成二量体化薬により活性化します。iPS細胞に搭載しておくとし、もし癌化した場合に二量体化薬により移植細胞を殺すことができます。

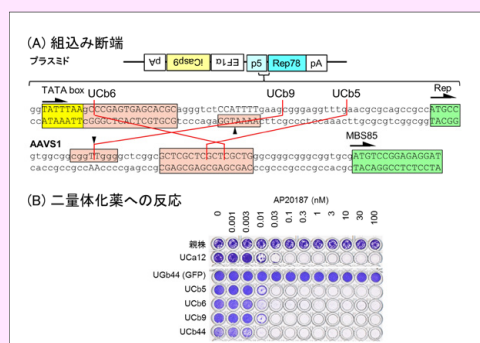


アデノ随伴ウイルスゲノム組込み機構を利用したAAVS1への遺伝子導入法 安全なAAVS1領域への組込みに必要な因子のみを用い、任意の遺伝子をAAVS1領域に挿入することができます。

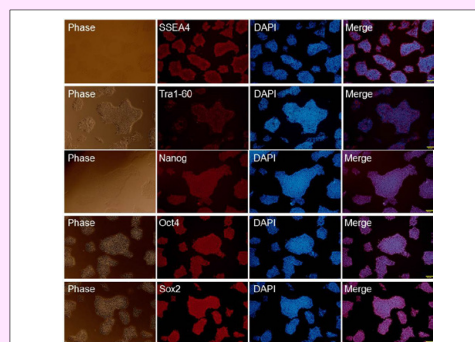
■ 成果と今後の展望について ■

誘導型カスパーゼ9遺伝子がAAVS1領域に入ったiPS細胞クローンを数株樹立しました。クローンに二量体化薬AP20187を加えると30 pM (30×10^{-12} M)という極めて低い濃度で死ぬことが分かりました。またクローンが元のiPS細胞と同じ未分化状態を保っているか調べたところ、iPS細胞と同じマーカーが検出できました。

今後、誘導型カスパーゼ9搭載iPS細胞を心筋などに分化させてAP20187を加え、同様に死ぬか確認する予定です。また、マウスに移植した後、AP20187を投与し、同様に誘導型カスパーゼ9搭載iPS細胞由来の細胞を殺すことが出来るか確認する予定です。



誘導型カスパーゼ9遺伝子のAAVS1組込みクローンの解析 (A) AAVS1組込み断端の解析結果例。必須配列 (赤) 及びその近傍で切断され繋がっています。(B) 低濃度の二量体化薬AP20187で死滅することが確認できました。UGb44はGFP組込みクローン。



誘導型カスパーゼ9組込みクローンにおけるiPS細胞のマーカーの検出

SSEA4、Tra1-60、Nanog、Oct4、Sox4が誘導型カスパーゼ9発現クローンで検出されました。親株iPS細胞と同様に未分化状態と考えられます。

ヒト幹細胞の造腫瘍性における病態解明とその克服に関する研究



【代表研究者】

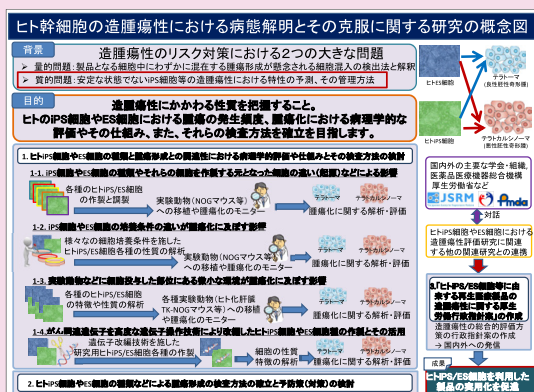
近畿大学

薬学総合研究所

所長/特任教授 早川 堯夫

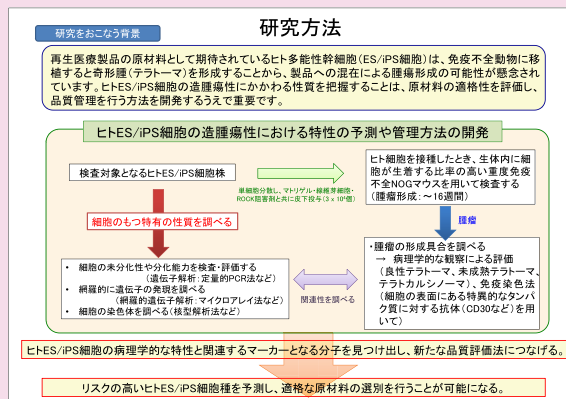
概要

iPS細胞やES細胞などの多能性幹細胞を原料にした製品による医療を患者さんに届けるうえで大事な課題の一つが、これらの細胞で心配される腫瘍形成(造腫瘍性)リスク対策を講じることです。この対策には、望まぬ腫瘍形成につながる可能性について、原料の多能性幹細胞の造腫瘍性における性質を把握する必要があります。しかし、この課題は世界的に十分な検討がなされていないのが現状です。私たちの研究では、造腫瘍性にかかわる性質の把握をおこなうため、とくに、ヒトの各種iPS細胞やES細胞における腫瘍の発生頻度、病理学的評価や仕組み、その検査方法の観点から検討をすすめることで、国際的にも優位性の高い研究開発を行っています。



研究全体の概念図

ヒトiPS細胞やES細胞の腫瘍形成に関わる病理学的評価、その仕組みや検査法の観点から研究を推進しています。

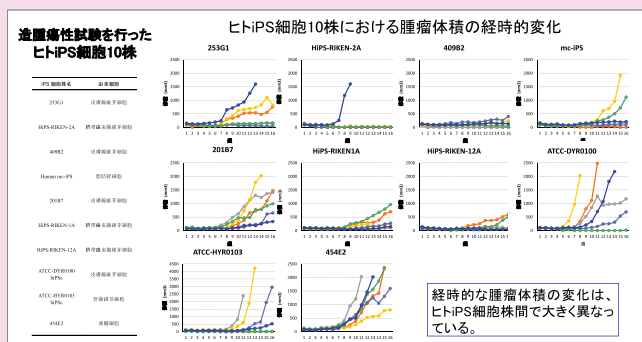


研究の進め方

「ヒトES/iPS細胞の造腫瘍性における特性の予測や管理方法の開発」を目指し研究を推進しています。

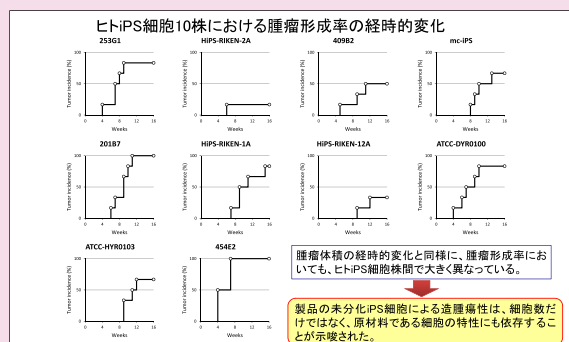
成果と今後の展望について

これまでに種類及び起源が異なるヒトiPS細胞やES細胞株の作製や入手を行い、それらを用いて培養を繰り返すことへの影響、細胞内で生じた遺伝子のパターンや型の変化等を解析しました。一方、これらの細胞を免疫力が全く機能していないマウス(NOGマウス)に接種して、生体内における腫瘍化等の細胞の特性を解析したところ、腫瘍サイズや形成率はこれらの細胞株間で大きく異なることがわかり、また病理学的特性においても違いがあることがわかりました。また、異なる条件で培養したiPS/ES細胞の1個をNOGマウスへ移植した実験からは、細胞毎に形や増殖する能力が著しく異なることが分かりました。今後は、これらの実験結果について更に深く調べ、生体内の環境が及ぼす影響や腫瘍をつくるリスクに繋がる要因を見つけ出し、移植細胞の検査法の確立や再生医療製品の造腫瘍性に関する行政指針案を作成することを目指します。



ヒトiPS細胞の種類における腫瘍体積の経時的変化

細胞をマウスに移植し形成した腫瘍の体積変化について、時間を追って解析した結果をグラフに表しています。



ヒトiPS細胞の種類における腫瘍体積の経時的変化

細胞をマウスに移植した後の腫瘍形成率の変化について、時間を追って解析した結果をグラフに表しています。

有害事象発生時の科学的な細胞検証を通じて細胞治療の安全性向上を目指す 臨床用細胞保管・検査拠点の構築

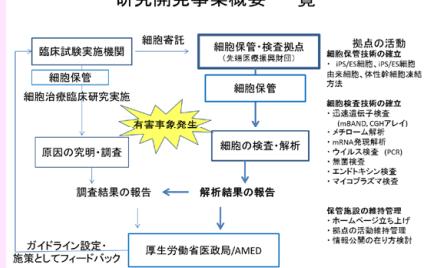


【代表研究者】
(公財)先端医療振興財団
細胞療法研究開発センター
センター長 川真田 伸

概要

再生医療を普及させる上で、重要な社会基盤の一つとして「細胞移植治療の安全性、信頼性を担保する基盤構築」が挙げられます。我々は、移植に用いたヒト幹細胞の一部を医療実施機関のバックアップ検体として保管しておき、移植細胞に起因すると考えられる副作用や医療事故が万一起こった場合に、第三者検査機関として保管していたヒト幹細胞を検査し、行政機関ならびに医療実施機関と情報を提供し、同様の医療事故を未然に防ぐことが可能となるヒト幹細胞用の細胞保存施設「ヒト幹細胞アーカイブ」を整備しました。この「ヒト幹細胞アーカイブ」を中長期的に運用することで、細胞治療の安全性を担保できる体制の構築を目指しています。

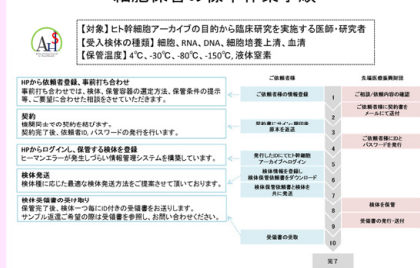
研究開発事業概要 一覧



細胞の保管・検査拠点の役割

保管した細胞に有害事象が発生した場合の対応図。医療機関の個別対応ではなく、第三者検査機関として細胞検査を迅速にかつ確実に実施します。検査結果を行政機関ならびに医療実施機関と共有できる仕組みを構築していきます。

細胞保管の標準作業手順



細胞保管の標準作業手順

細胞保管手順として、ヒト幹細胞アーカイブのホームページを立ち上げ、ホームページを用いて情報の登録・管理を行っています。検体は一つずつID管理を行っています。保管した検体の返還も行っています。

成果と今後の展望について

細胞保管及び細胞検査業務部を構築し、「ヒト幹細胞アーカイブ」ホームページの立上げ、保管寄託業務に対する施設及び運用基準を構築しました。理化学研究所より自家iPS細胞由来網膜色素上皮シート細胞の保管など計27件の保管業務を行っています。また、染色体解析業務を自施設で実施可能とし、染色体解析法の検査体制を構築しました。また、遺伝子の変異検出方法の開発及び細胞の分化能力に関する評価技術の開発を行っています。

細胞保管・検査拠点の構築を通じて、臨床試験の実施に向けた審査基準の設定や、細胞の規格と起こりうる有害事象の情報を国内の臨床試験実施機関と共有し、細胞治療における安全性の向上を目指します。

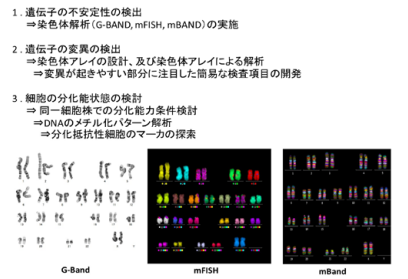
細胞保管施設の整備状況



細胞保管施設

登録者のみの入室管理システム及び管理簿、異常時メール通報システムの庫内温度管理システム、PCソフトによる庫内のサンプル管理システムをそれぞれ構築しました。

細胞検査法の開発



細胞検査法の開発

新しい細胞検査技術として染色体変異に注目し、染色体染色による解析と染色体アレイによる解析法の開発を行っています。また、細胞の状態を評価するためのメチル化評価手法の開発を行っています。

種々のバリエーションを有したヒトiPS細胞由来分化誘導肝細胞の作製と毒性評価系への応用

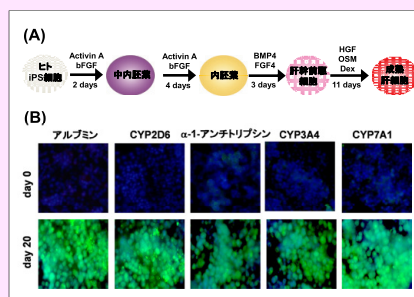


【代表研究者】

医薬基盤・健康・栄養
研究所 招へいプロジェクトリーダー
水口 裕之

概要

薬物誘発性肝障害（肝毒性）は、医薬品の開発中止や市販後の警告、販売中止に至る主要な有害事象であります。ヒト初代培養肝細胞の利用により毒性評価の向上が見込まれるものの、コストや安定供給、さらには薬物代謝酵素の活性に個人差（10倍～1000倍以上）が大きいことが、正確に肝毒性を評価することが困難な原因となっています。そこで本研究では、iPS細胞技術を駆使することで個人差を反映した肝毒性評価系の開発を行っています。具体的には、様々な薬物代謝酵素活性を有したヒトiPS細胞由来分化誘導肝細胞パネルの作製を行い、薬剤の毒性評価が可能かどうか検討しています。



ヒト肝細胞を用いた毒性評価の現状と問題点とヒトiPS細胞由来肝細胞への期待

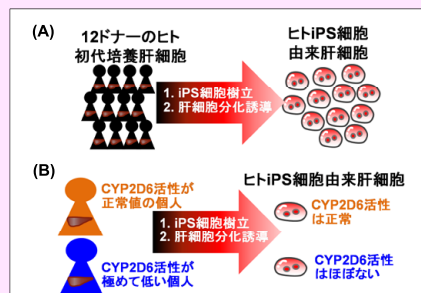
創薬における毒性評価系として、ヒトiPS細胞由来肝細胞は、ヒト初代培養肝細胞が有する問題点（コスト、ロット差、機能低下等）を克服する細胞ソースとして期待されています。

ヒトiPS細胞由来肝細胞の分化誘導と機能

(A) ヒトiPS細胞から肝細胞への分化誘導法
(B) ヒトiPS細胞由来肝細胞（day 20）は、未分化iPS細胞（day 0）と異なり、様々な成熟肝細胞が発現しているタンパク質を発現しています。

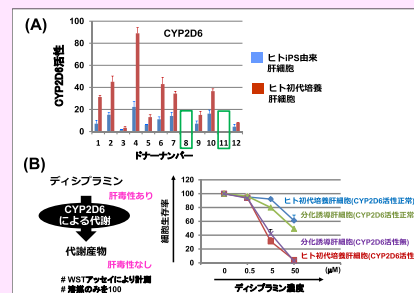
成果と今後の展望について

個々の薬物代謝酵素活性に特徴的な性質をもつヒト初代培養肝細胞を出発材料にして、iPS細胞を樹立し、肝細胞へ分化誘導しました（12個人由来のiPS細胞）。作製したヒトiPS細胞由来肝細胞は元のヒト初代培養肝細胞の薬物代謝酵素活性の性質を受け継ぎ、それぞれ個人差を反映した肝細胞になっていることを確認しました。すなわち、様々な薬物代謝酵素活性を有した肝細胞パネルの作製に成功しました。さらに、CYP2C9やCYP2D6活性の個人差を反映した肝細胞を作製し、これらの薬物代謝酵素による代謝によって毒性の有無が決まる薬剤の評価を可能にしました。iPS細胞技術を利用することで、これまで安定供給が困難であった特異な薬物代謝酵素活性を有した肝細胞の安定供給が可能となりました。今後は、ゲノム編集技術等を駆使することで、特異な遺伝的性質を有した肝細胞を作製し、よりきめの細かい毒性評価系への応用に向けて研究を行います。



様々な遺伝的背景を有したヒトiPS細胞由来肝細胞の作製

(A) 様々な遺伝的背景（薬物代謝酵素活性）を有したヒトiPS細胞由来肝細胞を初代培養肝細胞から作製しました。
(B) CYP2D6（個人差が極めて大きい薬物代謝酵素）活性が正常の（高い）個人と低い個人からiPS由来肝細胞を作製しました。



様々なCYP2D6活性を有したヒトiPS細胞由来肝細胞の作製と毒性評価

(A) ヒトiPS細胞由来肝細胞は様々なCYP2D6活性を示します。
(B) ヒトiPS細胞由来肝細胞はCYP2D6で解毒代謝されるディシプラミンによる毒性を示します。

ヒトiPS細胞由来褐色脂肪細胞を用いた新規糖尿病治療薬の開発



【代表研究者】
国立国際医療研究センター
研究所・疾患制御研究部
室長 佐伯久美子

概要

肥満は癌・脳梗塞・心筋梗塞・肺炎・糖尿病などのリスクを高めます。健康寿命の延長には肥満の新しい予防・治療法の開発は重要です。しかし痩せることは簡単ではありません。近年「痩せる脂肪」や「燃える脂肪」として知られる『褐色脂肪』が注目されています。褐色脂肪は肥満防止だけでなく代謝改善の作用もあることが知られますが、どのようにしてその作用が発揮されるかは解っていません。褐色脂肪は量が少なく、採取すると肥満を助長する危険も想定されます。このためヒト検体は入手できず創薬研究は遅れていました。しかし私どもは、ヒトiPS細胞から高純度に褐色脂肪を作製することに成功しました。本研究ではこの技術を活用して、肥満の予防・治療のための新しい創薬研究を展開します。

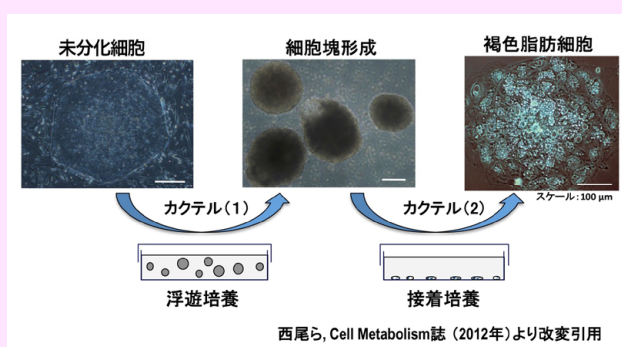


図1 ヒトiPS細胞から褐色脂肪細胞の作製(2段階培養法)

ヒトiPS細胞(左)を、特殊なサプリメントを用いて調合したカクテルを添加して培養すると、10日間程の短い期間で高純度の褐色脂肪細胞(右)を作製することができます。

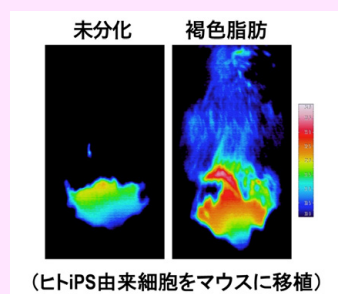


図2 ヒトiPS細胞由来褐色脂肪による熱産生

「分化前のヒトiPS細胞」(左)および「褐色脂肪に分化させたヒトiPS細胞」(右)をマウスの皮下(臀部)に移植し、交感神経刺激薬を与えてから赤外線カメラで観察しますと、『褐色脂肪に分化させたiPS細胞』を移植したマウスでのみ移植部の皮膚温が顕著に上昇します。

成果と今後の展望について

「ヒト褐色脂肪に着目した代謝改善薬の開発」は適切な研究ツールがなかったために遅れていましたが、ヒトiPS細胞から高純度の褐色脂肪を作製できるようになり、今後の創薬研究の展開が期待されます。本研究では、褐色脂肪分化を促進する作用のある薬を探索するとともに、ヒト褐色脂肪が分泌する未知のホルモンも探索します。白色脂肪(皮下脂肪や内臓脂肪などのいわゆる脂肪)からは代謝調節に関係する多様なホルモンが分泌されていることが知られますが、褐色脂肪から特異的に分泌されるホルモンはまだ知られていません。これを同定することは研究者の長年の夢でしたが、基盤技術の開発に成功した本研究は世界に先駆けて探索研究に着手しております。

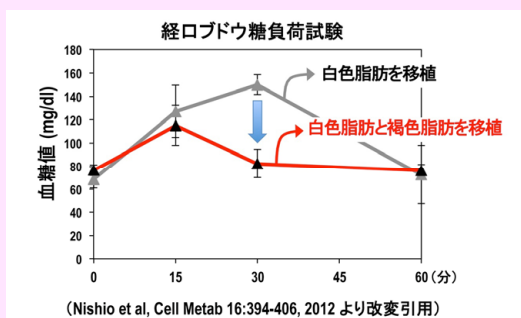


図3 ヒト褐色脂肪による糖代謝の改善

ヒト間葉系幹細胞から作製した『白色脂肪』(皮下脂肪や内臓脂肪を形成する”いわゆる脂肪”です)を移植したマウスは糖代謝能が低下して血糖値が上昇しますが、ヒト多能性幹細胞から作製した『褐色脂肪』を同時に移植しておくと糖代謝能の低下は阻止されます。

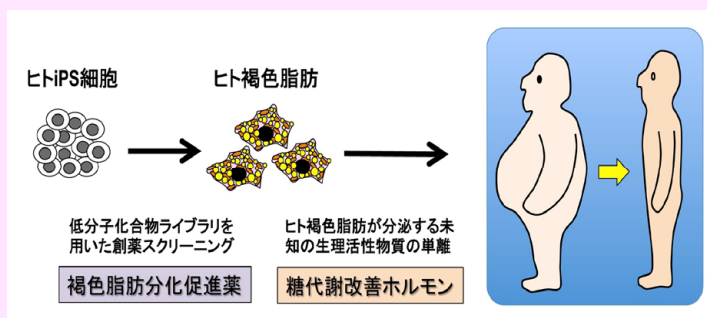


図4 ヒト褐色脂肪に着目した代謝改善薬の開発

ヒト多能性幹細胞の褐色脂肪分化誘導の技術を活用することで「褐色脂肪分化を促進する薬剤」の探索を行います。またヒト褐色脂肪が分泌する未だ同定されていない「代謝改善性ホルモン」の探索も行います。これらの探索研究を実施することで、メタボリックシンドロームの「新しい予防・治療薬」が開発されることが期待されます。

培養腸上皮幹細胞を用いた炎症性腸疾患に対する粘膜再生治療の開発拠点 ～疾患・組織別実用化研究拠点（拠点B）～



【代表研究者】

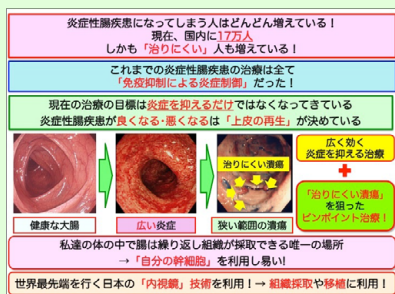
東京医科歯科大学
大学院医歯学総合研究科
教授 渡辺 守

概要

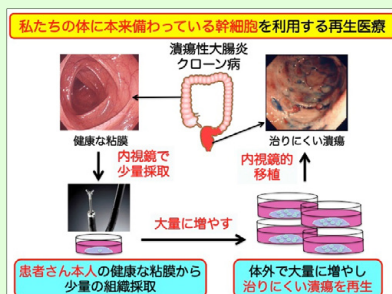
本拠点では腸管の難病である炎症性腸疾患（潰瘍性大腸炎・クローン病）に対し、腸上皮幹細胞の培養・移植技術、並びに消化管内視鏡による治療技術を統合した腸上皮再生治療の開発を目指します。

炎症性腸疾患は国内に22万人を超える患者がおり、今なお増加・難治化の一途を辿っています。この病気の治療には腸上皮の再生が極めて重要であり、腸上皮を速やかに再生できる治療法の開発が重要な課題となっています。

本拠点では「治りにくい潰瘍」のため度々病気が悪化してしまう炎症性腸疾患の患者さんの治療に役立つ「粘膜再生治療」を開発したいと考えています。



「治りにくい」炎症性腸疾患の治療には「上皮の再生」が必要
治りにくい炎症性腸疾患の患者さんでは腸の上皮が治りきらずに「潰瘍」が残ります。このような潰瘍が残っていると、一度病状が良くなっても直ぐにまた悪くなってしまうことが世界的に示されています。

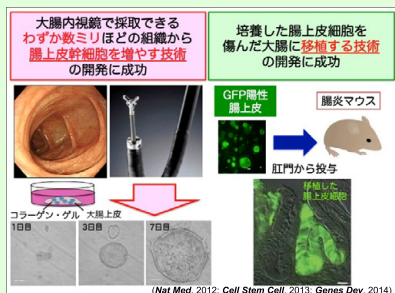


「治りにくい潰瘍」を自身の幹細胞を使って治す治療法の開発
私たちが開発した技術に基づき、「治りにくい潰瘍」に悩む患者さん自身の健康な腸粘膜から僅かな組織を採取し、これを体外で大量に増やし、「治りにくい潰瘍」に移植する事によって腸粘膜を再生したいと考えています。

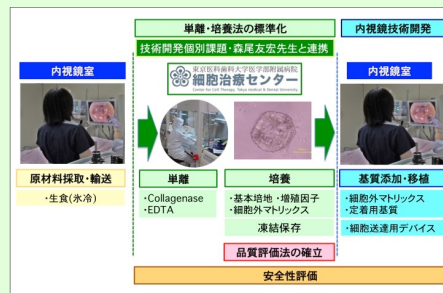
成果と今後の展望について

本拠点ではこれまでに 1)わずかに数ミリほどの腸組織から腸上皮幹細胞を増やす技術の開発、2)培養した腸上皮を傷んだ大腸に移植し定着させる技術の開発、に成功しています。これらの技術を基に患者さん自身の健康な腸粘膜から内視鏡を使って僅かな組織を採取し、腸上皮幹細胞を体外で大量に増やし、移植する事によって、潰瘍を治すだけでなく病気そのものがすぐ悪化してしまうのを防げるのではないかと考えています。

このため1) 効率良く安全な腸上皮幹細胞培養法の開発、2)内視鏡を使って腸上皮幹細胞を移植する技術の開発に取り組んでおり、今後もより良い技術となるよう開発を着実に進めて行きます。これら技術の開発に成功した際には、十分な品質管理と安全性の確保を行い、実際の治療に使うことを目指します。

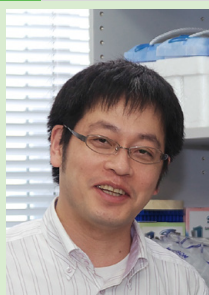


僅かに数ミリの腸組織から腸上皮幹細胞を増やし、傷んだ大腸に移植する技術の開発に成功
腸の上皮は体外に取り出して増やすことは不可能とされてきました。本拠点では腸上皮幹細胞を体外で増やすだけでなく、これを傷んだ大腸に移植して定着させる技術の開発に世界で初めて成功しました。



安全性を確保した、内視鏡による腸上皮幹細胞移植法の実現に向けた研究開発の取り組み
安全性の高い移植用腸上皮幹細胞を十分な量まで増やし、必要な場所まで効率良く安全に送り届けるため、培養法の工夫や新しい内視鏡技術の開発を行っています。

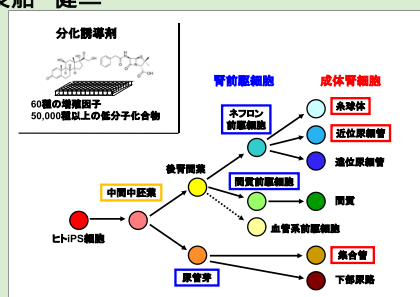
慢性腎臓病に対する再生医療開発に向けたヒトiPS細胞から機能的な腎細胞と腎組織の作製 ～技術開発個別課題～



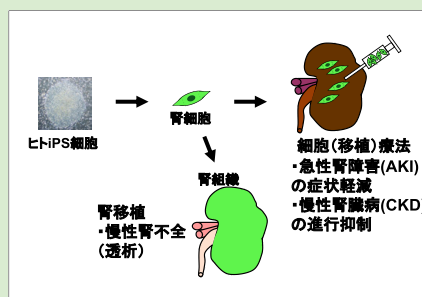
【代表研究者】
京都大学
iPS細胞研究所
教授 長船 健二

概要

慢性腎臓病(CKD)は、我が国の成人の8人に1人が罹患していると推定されるほど頻度が高い疾患です。また、根治的な治療法が少ないため再生医療の開発も期待されていますが、ES細胞やiPS細胞から腎細胞の作製法は未だ世界的にも十分に確立されてはおりません。そこで本研究課題は、ヒトiPS細胞から胎児期の腎前駆細胞の作製法開発、および、血管と結びついた機能的な腎組織の作製法開発を目指します。さらに、腎疾患動物モデルを用いてヒトiPS細胞由来の腎細胞や腎組織の移植による再生医療開発の基盤研究を行います。



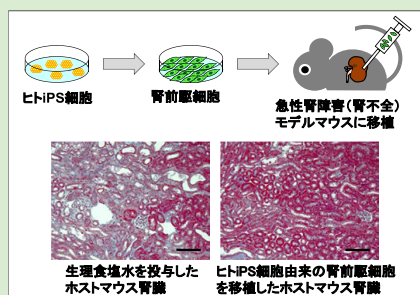
腎臓の発生過程を再現したヒトiPS細胞から腎細胞の作製
腎臓の発生過程を再現し、ヒトiPS細胞から「中間中胚葉」を経て「腎前駆細胞(ネフロン前駆細胞、間質前駆細胞、尿管芽細胞)」を効率よく作る方法を開発します。



ヒトiPS細胞を用いた腎疾患に対する再生医療開発の試み
ヒトiPS細胞から分化誘導した腎細胞から腎組織を作製し将来的に腎移植のドナー不足の問題の解決を目指します。また、腎細胞の移植により急性腎障害(AKI)の症状軽減、慢性腎臓病(CKD)の進行抑制を目指します。

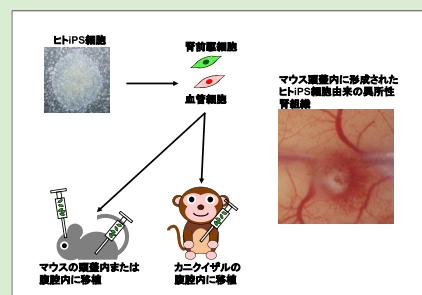
成果と今後の展望について

本課題では、腎臓の発生過程を再現してヒトiPS細胞から腎細胞を作る方法の開発研究を行っています(上左図)。そして、ヒトiPS細胞から分化誘導した腎細胞を用いて腎組織を作製することと腎細胞の移植により急性腎障害(AKI)の症状軽減と慢性腎臓病(CKD)の進行抑制を図る再生医療の開発を目指します(上右図)。最近、虚血再灌流による急性腎障害マウスモデルに対してヒトiPS細胞由来の腎前駆細胞を移植することによって治療効果を得ることに成功しました(下左図)。今後、腎前駆細胞の作製法をさらに確立し、ヒトiPS細胞から作製した腎前駆細胞の移植による腎疾患に対する細胞療法の開発や体内に新しい腎組織を作る研究を行います。



急性腎障害に対する細胞療法

虚血再灌流による急性腎障害マウスモデルにヒトiPS細胞から分化誘導した腎前駆細胞を移植することによって腎機能の増悪と組織学的障害を有意に減少させる治療効果を得ることに成功しました。



体内の腎臓以外の場所に機能する腎組織を作る研究

本課題では、ヒトiPS細胞から分化誘導した腎前駆細胞や血管細胞をマウスやカンクイザルの頭蓋内や腹腔内などへ移植を行い、ホストの血管と結びついた尿を産生する腎組織の作製を目指した研究を行っています。

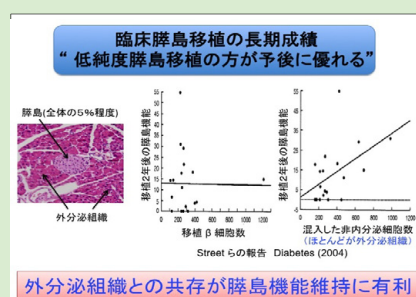
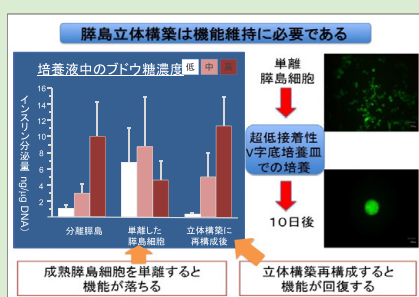
iPS細胞を用いた新規糖尿病治療法開発 ～技術開発個別課題～



【代表研究者】
京都大学
iPS細胞研究所
教授 川口義弥

概要

インスリン不足によって生じる1型糖尿病の根本的治療には、膵臓や膵島の移植が最も有効であるとされています。しかし、移植に用いるドナーが慢性的に不足しているという問題があります。そこでiPS細胞から分化誘導することによって、移植用の膵島を作成する方法を開発することを目的として研究を行います。発生学とこれまでの移植医療の成績を踏まえて、膵島細胞ではなく、“膵臓を丸ごと作る”技術を開発します。



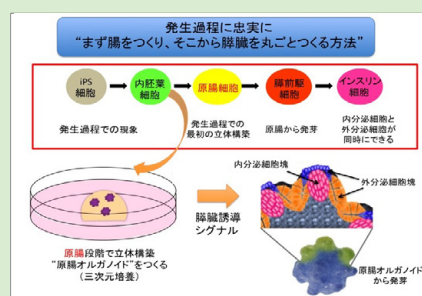
「ちゃんと働く細胞をどのように作ればよいか？」を考える前に、「“完成品”たる膵島細胞の働きには何が必要か？」を考えました。マウス実験から、膵島細胞はバラバラの状態では働きが落ちる事が分かりました。

膵島移植では、膵臓から膵島を取り出して移植します。長年、膵島をできるだけ純化する努力がされてきましたが、皮肉な事に、他細胞(ほとんどが外分泌細胞)を多く含む移植が長期成績に優れるという結果でした。

成果と今後の展望について

上記の結果は膵島機能の維持には細胞の立体構築の形成と、外分泌組織との共存が有利に働く事を意味しています。また、膵臓は胎生期には立体構築をもつ原腸から細胞の塊として発芽し、内分泌細胞と外分泌細胞がほぼ同時に形成され、終生共存する臓器であることから、“3次元培養で丸ごと作る”ことは、機能的な細胞／組織を作るための重要ポイントである可能性があります。

私たちは、iPS細胞から立体構築をもった原腸組織を培養皿の上で誘導し、そこから膵島と外分泌組織を含む膵臓組織を作り出す方法を発見しました。既にマウスを用いた移植実験を開始しており、将来の臨床応用につなげることを目指しています。



私たちは発生過程を出来るだけ忠実に再現し、原腸段階で立体構築を有する“原腸オルガノイド”を作製し、これに膵臓誘導シグナルを加えて膵臓を丸ごと作っています。原腸オルガノイドの段階で大量に増やすことも可能です。現在、培養酸素濃度や膵臓誘導シグナルの濃度の微調整などを行っており、移植実験の結果と照らし合わせて最適方法を決定する段階に入っています。



既に、ヒトiPS細胞を用いて前腸オルガノイド(前よりの原腸)を作りました。これは、膵臓の他、胃や肝臓などへも分化できる可能性のある人工の腸管です。現在、膵臓へ効率よく分化誘導できる方法を検討しています。

iPS細胞を基盤とする次世代型膵島移植療法開発拠点 ～疾患・組織別実用化研究拠点【拠点B】～



【拠点長】
東京大学
分子細胞生物学研究所
教授 宮島 篤

概要

膵島移植はインスリン依存性の糖尿病に対する根治的な治療法ですが、絶対的なドナー不足、移植後に必要な免疫抑制剤による重篤な副作用や高額医療費等の重大な問題があります。

そこで本拠点では、iPS細胞を効率的に膵島へと分化誘導するシステムを開発し、それを基にした膵島大量調製法の開発、さらに膵島を免疫隔離膜で包んで移植することで免疫抑制剤を不要とする移植法の開発を技術開発期間で行いました。本格実施期間には、臨床応用に向けて膵島を大量に調製する体制の整備と、iPS由来膵島の有効性・安全性の評価を行い、早期の臨床試験への展開を目指します。

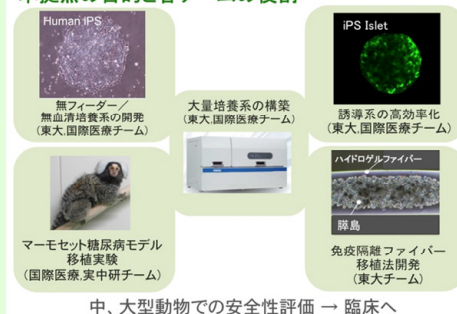
本拠点の目標



膵島移植を目指すiPS研究

ヒトiPS細胞から膵島を分化誘導して移植するシステムを開発しています。

本拠点の目的と各チームの役割



本拠点における研究の流れ

複数の研究施設が役割を分担して、iPS細胞から大量に膵島を作り、その機能と安全性を評価するためのシステムを開発しています。

成果と今後の展望について

これまでに本拠点では、ヒトiPS細胞からインスリンを産生するβ細胞を含む機能的な膵島を作ること成功しています。従来の培養法では動物由来の成分が必要でしたが、これまでに動物の血清成分等を除いて効率的にβ細胞を作る系の開発に成功しました。

膵島移植では、免疫系による移植膵島の破壊を防ぐための免疫抑制剤の副作用と医療費が大きな問題ですが、我々は移植膵島を免疫系から保護する免疫細胞隔離ファイバーを使ったiPS細胞由来膵島の移植法を開発しています。さらに、iPS膵島の機能を確認するためのマーマセット糖尿病モデルを確立しました。これらの研究を引き続き強力に推進して、臨床応用の早期実現を目指します。

これまでの培養系



免疫隔離膜



新しい培養系



免疫隔離膜+iPS膵島



これまでに本拠点が達成したこと

1. 無血清、無フィーダー培養系の開発
2. 中規模培養系の開発・浮遊培養系の開発
3. 免疫隔離ファイバーの開発・移植方法の検討
4. 糖尿病モデルマーマセットの確立・移植による膵島機能評価（評価中）

今後の課題



新しい培養系の確立と移植法の検討

これまでの培養系よりも効率的かつ大量に膵島を調製するシステムを確立しました。現在、この方法で作製した膵島を免疫隔離膜に包み、マーマセットに移植する実験を行っています。

これまでの成果と今後の課題

技術開発期間では、予定していた培養系の開発、免疫細胞隔離膜を使用した糖尿病マーマセットモデルへの移植を行いました。今後は、臨床応用に必要な研究を進めていきます。

重症高アンモニア血症を生じる先天性代謝異常症に対するヒト胚性幹（ES）細胞製剤に関する臨床研究 ～再生医療の実現化ハイウェイ（課題B）～



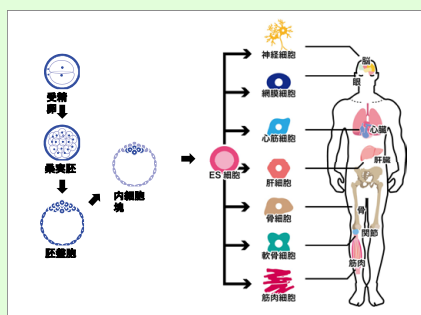
【代表研究者】
国立成育医療
研究センター
再生医療センター長
梅澤明弘



【プロジェクトマネージャー】
国立成育医療
研究センター
再生医療センター
肝細胞移植研究室長
絵野沢 伸

概要

ES細胞はからだの中のすべての細胞になれる能力を持っています。そこで、ヒトES細胞から肝臓の働きを持つ細胞を作り出し、生まれつき肝臓の働きの一部が損なわれた患者さんの治療を行うことを計画しました。対象は高アンモニア血症を生じる小児先天性代謝異常症です。この病気の赤ちゃんは、肝臓移植によって治療がなされます。しかし、低体重や肝臓ドナー適合者がすぐにみつからない等の理由により肝臓移植手術を行うことが困難な場合があります。そうした場合の橋渡しの治療法として、ES細胞から作製した肝臓の働きを持つ細胞の移植治療に着目しました。



ES細胞を用いた再生医療

Asterias Biotherapeutics社(Geron社)

脊髄損傷 → 5例

AST-OPC1細胞(Oligodendrocyte progenitor cells)移植

再社ホームページより

OCATA Therapeutics社(Advanced Cell Technology社)

脊髄脊加齢変異性症

若年性遺伝性変異ジストロフィー症 → 34例(米国24例、英国10例)

ES細胞由来網膜色素上皮(RPE)細胞移植

第9回 World Stem Cells & Regenerative Medicine Congress(2013年6月)発表

ES細胞由来分化細胞の世界初の臨床試験は米国Geron社が2010年11月に行いました。その後、Asterias Biotherapeutics社が引き継ぎ、移植細胞数を増やすなどより複雑な研究デザインで臨床試験を予定しています。また、米国OCATA Therapeutics社(前Advanced Cell Technology社)は、ES細胞由来網膜色素上皮RPE Cell Therapyをスターガルト病と線維型加齢変異性性網膜色素上皮変性症で臨床試験を行っています。さらに近視性変異性網膜色素上皮変性症と関連する遺伝性変異性網膜色素上皮変性症の臨床試験も計画しています。韓国CHA Hospitalとも網膜の細胞治療を目指しています。

ES細胞製剤とは

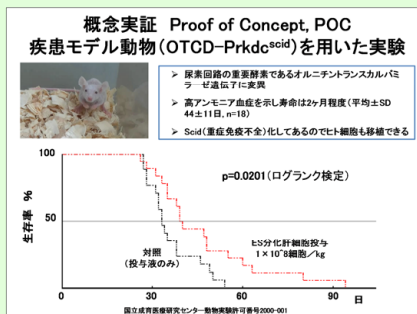
ヒトES細胞は、からだのすべての臓器や組織の細胞になりうる能力を持っています。この力を利用して、現在、世界中で新しい治療法「再生医療」を進めようとしています。

ES細胞とiPS細胞の違いは？ ES細胞を使う利点は？

私たちのプロジェクトは、ES細胞から肝臓の働きを持つ細胞を作り、それを薬として患者さんのもとに届けようとするものです。そのためにはiPS細胞よりES細胞の方が利点が多いと考えています。iPS細胞は主として患者さん本人から作製し、必要とする細胞に分化させて使用します。この方法は拒絶反応が起きないという利点がありますが、分化に時間がかかりますし、個々に対応すると数百万円の費用がかかります。ES細胞であれば、ひとつの細胞ラインを薬向けにじっくりと研究し、効果の高い細胞をより低コストで製剤化することができます。

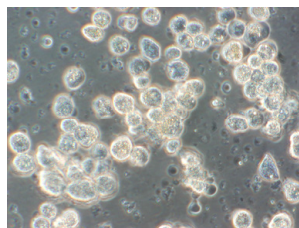
成果と今後の展望について

平成26年11月に施行された再生医療等安全性確保法および薬機法で決められた再生医療等製品に関するルールを順守し、本プロジェクトの期間中に少なくとも一例の臨床試験を目指します。原材料及び製造関連物質、製造工程、加工した細胞の特性解析、感染性物質の安全性評価、最終製品の品質管理法、細胞・組織加工医薬品の非臨床安全性試験、疾患モデル動物を用いた細胞・組織加工医薬品等の効力を裏付ける試験、細胞・組織加工医薬品等の体内動態に関する事項等を行っています。平成25年8月と平成26年12月には先行研究となるヒト肝細胞移植治療が国立成育医療研究センターで実施され、生体肝移植に至るまでの橋渡し治療としての役割を果たした良好な結果が得られました(右下)。肝細胞移植の有効性を踏まえ、ES細胞由来肝細胞を用いた臨床試験への到達を目指しています。

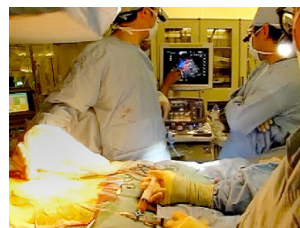


疾患モデル動物 (OTCD-Prkdcscid) の作成

病気のモデルとなる動物の免疫系を操作し、ヒトの細胞を受け入れられるようにしました。私たちの細胞を移植すると、生存日数が有意に延長することを確認しています。



移植した肝細胞

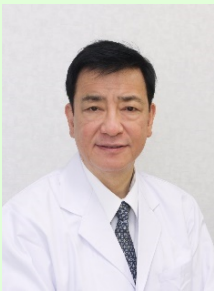


肝細胞移植:小さな赤ちゃんに対しても
低侵襲で安全に施行できます

高アンモニア血症を生じる先天代謝異常症に対する細胞治療

体内で生じたアンモニアを解毒する機能が働かない生後11日の新生児に対して、平成25年8月に日本で初めて第三者の肝細胞を移植する治療を国立成育医療研究センターが行いました。また、2例目が平成26年12月に行われました。その後、この子らは無事に生体肝移植を受け、現在健やかに成育しています。本研究は第三者の肝細胞に代わる細胞をES細胞から製造しようとするものです。

培養ヒト骨髄細胞を用いた低侵襲肝臓再生療法の開発 ～再生医療の実現化ハイウェイ（課題A）～



【代表研究者】
山口大学
大学院医学系研究科
教授 坂井 功

概要

わが国には約30万人の肝硬変の患者さんがいます。進行した肝硬変では肝臓の再生力が低下し、栄養素の代謝や合成、解毒などの役割が果たせない重篤な病状になります（非代償性肝硬変）。肝移植が唯一の根治療法とされていますが、ドナー不足や拒絶反応などの問題があり、これらを補う肝臓再生療法が求められています。これを受けて山口大学では、患者さん自身の骨髄細胞を採取し、洗浄・濃縮して点滴投与する自己骨髄細胞投与療法（ABMi療法）を開発し、その臨床的有効性を明らかにしてきました（2013年6月、先進医療Bに承認）。さらに今回のプロジェクトで、この技術を発展させ、「身体への負担がより少ない肝臓再生療法」を開発し、現在、安全性評価目的の臨床研究を実施中です。

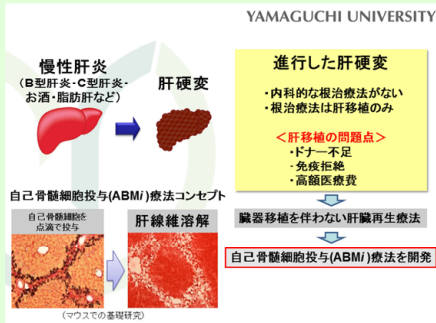


図1. 進行した肝硬変を対象にしたABMi療法の開発

肝移植の問題点を補う治療法を確立するため、自己骨髄細胞に着目しました。臨床研究で、骨髄細胞の投与により肝硬変の症状が改善することが明らかになっています。

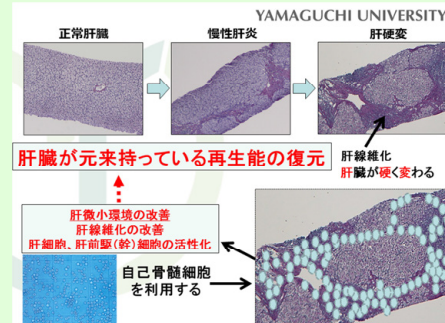


図2. 自己骨髄細胞を用いた肝臓再生療法の作用機序

これまでの動物実験により、投与した骨髄細胞が肝臓に生着し、肝臓を硬くしている線維を減少させることで、肝臓の再生が促され、肝機能が回復することがわかっています。

成果と今後の展望について

ABMi療法では、全身麻酔下に骨髄液（骨髄細胞）を採取するため、全身麻酔が可能な患者さんに適応が制限されていました。そこで今回我々は、全身麻酔が困難な進行した肝硬変症の患者さんにも施行できるよう、より身体への負担が少ない治療法を開発しました。

局所麻酔下に少量の骨髄液を採取し、肝硬変の改善効果がある骨髄間葉系幹細胞を体外で培養増殖し、これを点滴で再び投与します。この治療法については、厚生労働省より臨床研究実施計画の承認を得て開始し、再生医療等安全性確保法の施行にあわせて必要な法的手続きを済ませており、ABMi療法では適応外となる進行した肝硬変症の患者さん（肝硬変の成因は問わない）10例の実施を目標に、安全性を評価するための臨床研究を行っています。

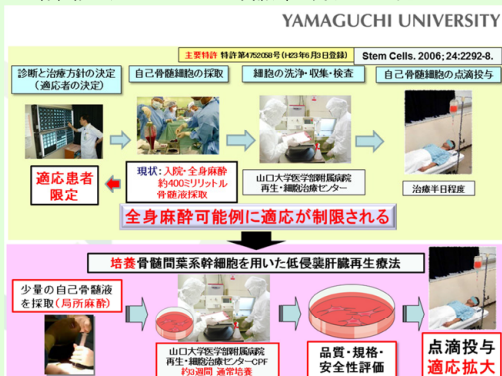


図3. 培養ヒト骨髄間葉系幹細胞を用いた低侵襲肝臓再生療法

ABMi療法では全身麻酔が可能なが必要条件で、適応が限られることが課題でした。今回、局所麻酔下に採取した少量の自己骨髄液から培養した骨髄間葉系幹細胞を用いる治療法を開発しました。

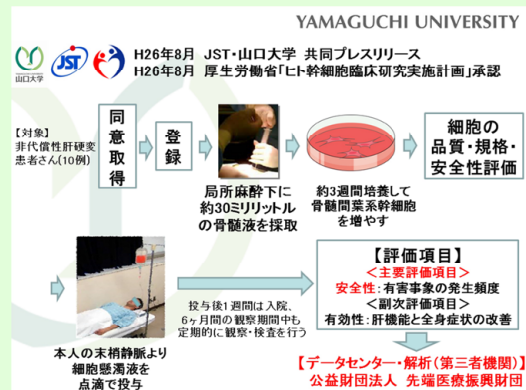
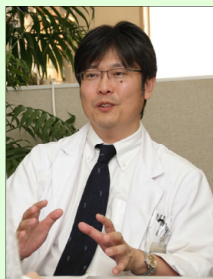


図4. 臨床研究計画の概要

本臨床研究は、ABMi療法の適応外となる進行した肝硬変患者さん（肝硬変の成因は不問）10名の実施を目標に、投与後6ヶ月間の観察期間を設け、主に安全性を評価することを目的として実施しています。

iPS細胞を用いた代謝性臓器の創出技術開発拠点 ～疾患・組織別実用化研究拠点【拠点B】～

概要



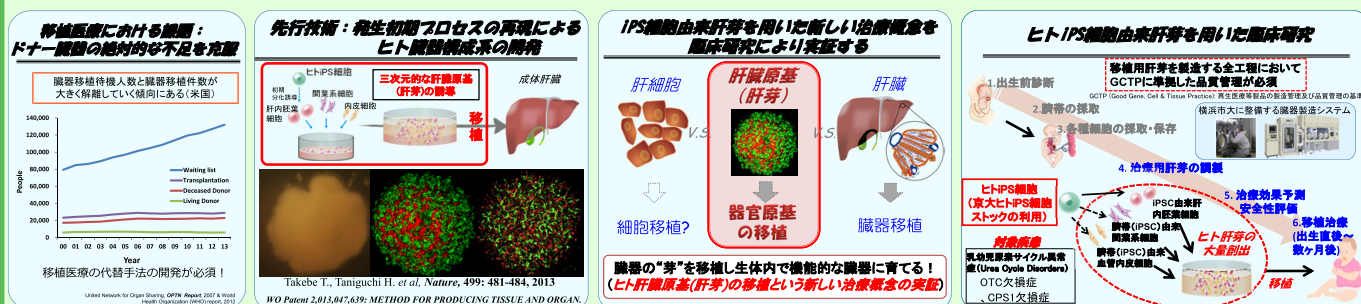
【拠点長】

横浜市立大学大学院
医学研究科
教授 谷口 英樹

肝不全は致死的な病態で、肝臓移植のみが唯一の救命手段です。しかしながら、世界的にドナー臓器の不足が問題となっており、iPS細胞から治療用ヒト臓器を人為的に創出するための技術開発が喫緊の課題となっています。

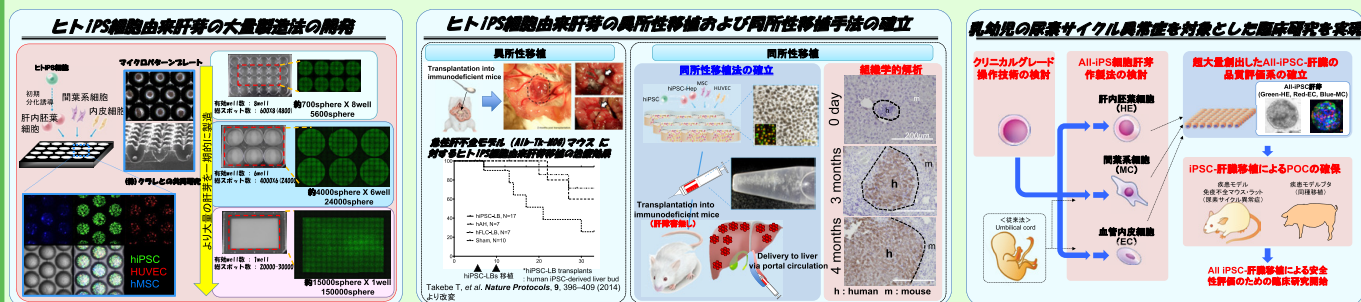
これまでにヒトiPS細胞から肝臓原基（肝芽）の創出を可能とする革新的な三次元培養技術を確立してきました（*Nature*, 499, 481-484 (2013)）。

本拠点では、肝疾患を対象とした臨床応用を目指し、前臨床研究のための臨床グレードの移植用ヒトiPS細胞由来肝芽の大量調製法の構築、最適な移植操作技術の確立、POC(Proof of Concept)の取得、中型動物での機能性評価等を進めています。



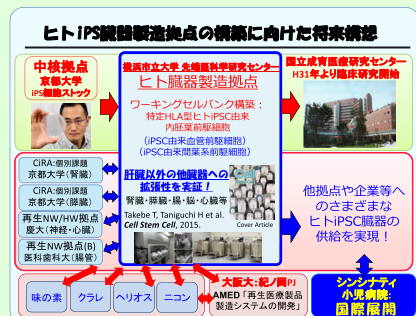
成果と今後の展望について

これまでに特殊な培養基材を用いることにより、小型で均質なヒト肝芽の一次的に大量製造することに成功しました。一方、移植操作技術の最適化を目指し、免疫不全動物へのさまざまな移植操作を検討しています(*Nature Protocols*, 9, 396-409 (2014))。さらに、肝芽作製に必要な3種類の細胞材料の品質の標準化を目指し、すべてをヒトiPS細胞から調製したAll-iPS細胞由来肝芽の作製プロトコルの検討を進めています。

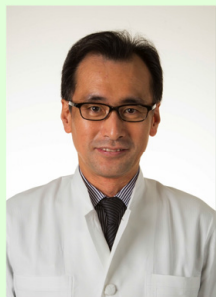


【今後の展望について】

ヒト肝臓の創出技術を再生医療へ応用するために、均一性と安全性を担保しながら、大量に、かつ、低コストで、iPS細胞からヒト肝臓（iPSC肝臓）を創出可能な製造工程を産学連携体制で構築することを目指します。さらに、ヒトiPS細胞由来肝芽移植の安全性および有効性を評価することを目指して、代謝性肝疾患（OTC欠損症、CPS1欠損症等）を対象とした臨床研究の早期実現を目指します。



幹細胞パッケージングを用いた臓器再生技術と新規移植医療の開発 ～技術開発個別課題～



【代表研究者】
慶應義塾大学
医学部
教授 北川 雄光

概要

世界的な臓器のドナー不足のため、今もなお多くの患者様が亡くなられる現状を踏まえ、医療現場で実際に必要とされる臓器レベルでの再生医療実現化を目標としています。具体的には、これまでの組織/細胞再生技術を進化させた新しい臓器再生技術、つまり細胞を除去し骨格のみを再生利用する手法「脱細胞化」を基盤とし、ヒトスケールでの臓器骨格の構造維持と、大動物への移植技術を元に、iPS細胞を用いた肝臓移植の臨床応用を目指しています。

本開発では、各研究拠点によって創出される再生組織/細胞を臨床現場へ届ける最終段階として汎用性の高い技術を提供するためにすべての行程を規格化し、製品化が可能な無菌のパッケージング法を確立していきます。

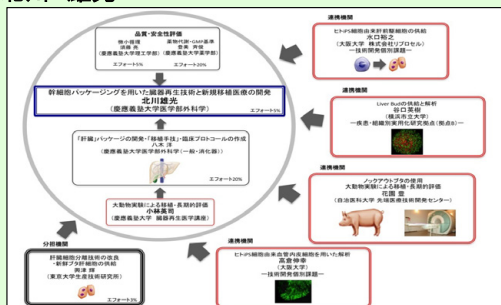


図1 研究課題実施体制

分担機関(東京大学):ブタ肝細胞、連携機関:技術開発個別課題(大阪大学):iPS細胞由来肝幹前駆細胞、疾患・組織別実用化研究拠点B(横浜市立大学):iPS細胞由来成熟肝細胞等を細胞ソースとして用い、血管内皮細胞については大阪大学、免疫不全大動物実験については自治医科大学との連携によって開発を推進します。

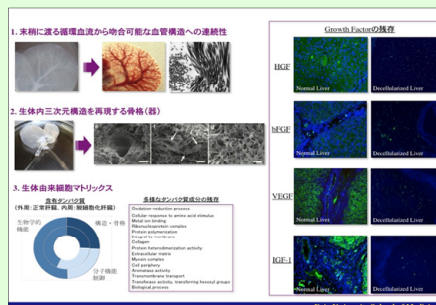


図2 脱細胞化組織の特徴

脱細胞化組織の3つの特徴

1. 大血管から末梢まで至る連続した血管構造
2. 内部に残る複雑な臓器特異的三次元構造
3. 生体由来の多数の蛋白成分の残存(成長因子などを含む)

成果と今後の展望について

成果:これまでの研究によって、大動物での移植実験が進められ、安全に実現可能な手術方法を確立いたしました。同時に実際の臨床現場に安全に届けるための新しい前臨床試験モデルを確立し、我々の脱細胞化骨格に大量のヒトiPS細胞由来の肝細胞を充填した再生肝臓の移植を大動物を用いて世界で初めて実施いたしました。

今後の展望:臓器としての機能、再生臓器としての安全性を適切に評価した上で、患者様のもとへ届き移植が成功するまで、無菌環境下に保存・輸送可能なパッケージとして製品化し、実際の臨床応用が可能な体制を構築いたします。

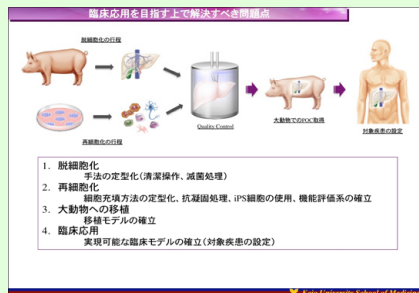


図3 移植技術の確立と新たな治療システムの開発

ブタを用いた長期的実験を元に、iPS細胞技術の利点を生かした安全性の高い新たな治療システムの開発を目指します。課題を一つ一つ解決し、早期の臨床応用を目指します。



図4 安全性の高い治療法の実現を目指したロードマップ

5年間で研究ロードマップを示します。移植臓器の安全性を多角的に評価し、無菌的に運搬するパッケージング技術を確認いたします。その上で大動物実験を十分に行なって、ヒトへの応用を目指します。

加工ヒト細胞医薬品の新たな非臨床試験評価技術の開発

～再生医療等の産業化に向けた評価手法等の開発～



【代表研究者】
セルジェンテック(株)
代表取締役 社長
麻生 雅是

概要

治療困難な病気に、体内でタンパク質が不足または欠損するために起こる病気、例えば糖尿病や血友病などがあり、それらの症状改善を目的としてインスリンなどを治療薬とする酵素補充療法があります。当社は、患者さんの脂肪細胞に治療用のタンパク質をつくらせ、体内に移植する加工ヒト細胞を用いた酵素補充療法を開発し、難病治療やQOL向上への貢献を目指しています。そのためには、まず加工した細胞の動物での効果や安全性を検討しなくてはなりません、免疫による拒絶という問題が立ちはだかつていました。当社は、拒絶を受けないようヒト細胞を包み込む(包埋)技術を確認し、動物実験で加工ヒト脂肪細胞の効果や安全性を検討しています。

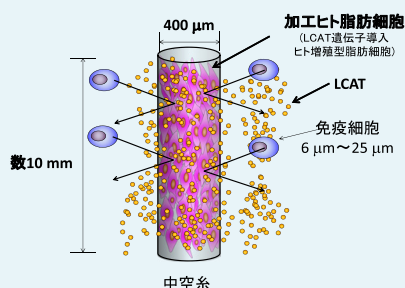


図1. 加工ヒト脂肪細胞の包埋製剤の概念図

生体内の攻撃因子から移植細胞を保護しつつ、栄養因子および薬効因子を相互に透過しうる半透膜素材内にヒト細胞を封入した包埋製剤。

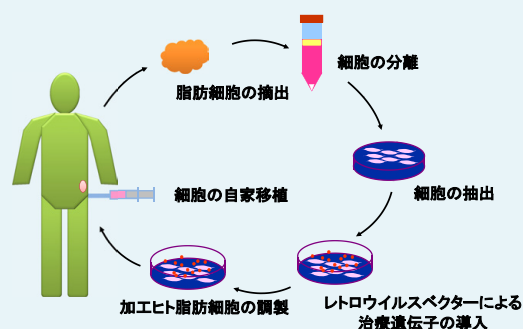


図2. 加工ヒト脂肪細胞の製造

患者さんから脂肪組織をとりだし、特殊な培養法(天井培養)で脂肪細胞を分離、培養します。LCAT遺伝子をのせたレトロウイルスベクターを用いて当該細胞へLCAT遺伝子を導入し、必要細胞数まで培養し、移植します。

成果と今後の展望について

当社は、現在善玉コレステロール(HDL)の働きに必要な酵素(LCAT)が欠損した家族性LCAT欠損症を治療するための、LCAT分泌する加工ヒト細胞医薬品を開発しています。包埋した加工ヒト脂肪細胞(包埋製剤)は、培養液中で、また生まれた時からLCATを作れないマウス内で、LCATを持続的に分泌することを認めています。

今後は、包埋製剤について規制当局と検討し、患者さんを対象とした臨床試験(治験)に向けた研究開発を行う予定です。将来、この技術を用いることで、脂肪の抽出回数を1回に済ませるあるいは第三者(他家)の脂肪を用いた包埋製剤の大量製造が可能となり、糖尿病やアルツハイマー病などの幅広い疾患への適用の道が開けることが期待されます。

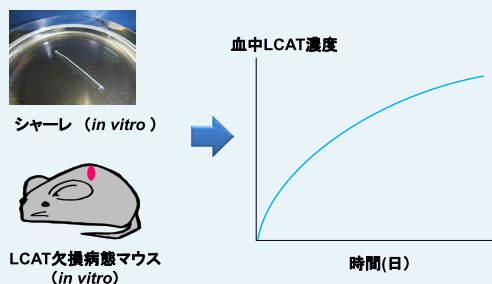


図3. 加工脂肪細胞の包埋製剤からのLCATの分泌

加工脂肪細胞の包埋製剤は、シャーレ(in vitro)内ならびにLCAT欠損病態マウス(in vivo)においてLCATを持続的に分泌した。

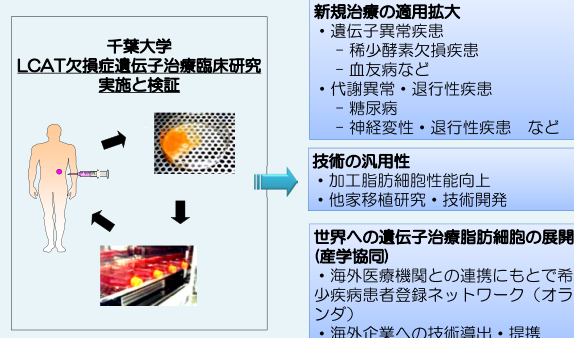
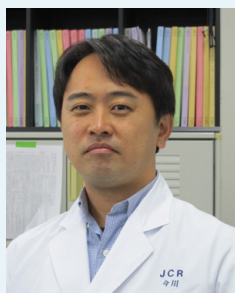


図4. 遺伝子治療脂肪細胞の展開

本研究ならびに今後実施する家族性LCAT欠損症に対する遺伝子治療臨床研究の成果を踏まえ、新たな難治性遺伝子疾患への本研究の適用を検討する。また、海外企業への技術導出・提携を目指す。

他家ヒト間葉系幹細胞をモデルとした製造効率化と原材料等の国産化の可能性に関する評価 ～再生医療等の産業化に向けた評価手法等の開発～



【代表研究者】

今川 究

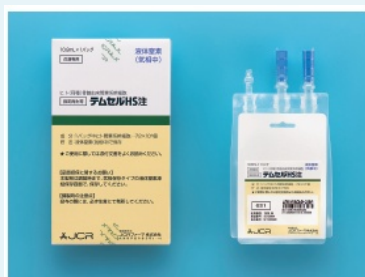
JCRファーマ株式会社
研究本部 研究所 創薬基盤研究部
細胞医療研究グループ
主任研究員

概要

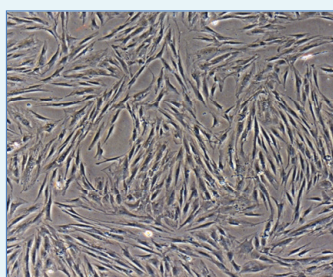
我々が開発したヒト(同種)骨髄由来間葉系幹細胞「テムセル®HS注」は、他人から採取された細胞を「再生医療等製品」として製造販売承認を受けた日本で初めての製品となりました。一般的な化学合成品などの医薬品と異なり、「生きた」細胞が持つ力を応用するため、細胞の人に対する効果や安全性をどのように評価するかなどについて、これまでに日本国内で例がありませんでした。また今後、この細胞を使った製品を患者さまにお届けするために、継続的に生産していくことが必要となります。このためには「より効率的に細胞を培養する方法の開発」や「安定供給できる原材料の確保」が非常に有効となります。

そこで本事業では、以下の2つの事業を行います。

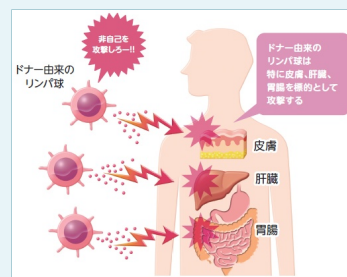
1. より安全で品質の高い細胞を効率よく製造するための方法の検討。
2. 国内で入手することができる再生医療等製品の原料についての検討。



ヒト(同種)骨髄由来
間葉系幹細胞「テムセル®HS注」
造血幹細胞移植後の副作用である
「急性移植片対宿主病」の治療に使われます



「間葉系幹細胞」
顕微鏡で観察した培養中の
細胞の写真。容器に接着して
増えていきます。



「急性移植片対宿主病」とは？
移植に使う「造血幹細胞」に含まれる
リンパ球が患者さんの体を攻撃し、
皮膚、肝臓、胃腸に症状があらわれます。

成果と今後の展望について

1. より安全で品質の高い細胞培養方法の開発

1000種類以上のポリマーから間葉系幹細胞がよりたくさん、早く増えるための足場となるポリマーを開発しました。これを間葉系幹細胞の生産に使っている容器に塗ることで更に効率良く、細胞を増やすことができる可能性があります。また、増やした細胞の品質が同じであるかと評価します。さらに、見つけたポリマーの構造について、より良いものがないか検討を進めています。現在、国内の企業と協力し、ポリマーを塗布した容器の量産化に向けた検討を行っています。



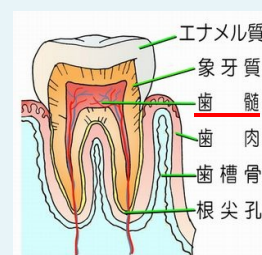
量産化に向けた試作品の作製を検討

見つけたポリマーが容器に塗ることが可能かどうかについて
小さい大きさの容器に塗り、同じ結果が得られるかを確認します。

2. 国内で入手可能な原料を用いた再生医療等製品の検討

廃棄物として捨てられる抜歯した後の歯の「歯髄」に含まれる細胞に着目しました。歯髄にはたくさん幹細胞が含まれており、その作用が骨髄から採れる細胞とよく似ていることを確認しました。そこで、町にあるデンタルクリニックと協力して、産業に利用できるように入手する方法を新たに作りました。

あらかじめ提供してもらえらる人に抜歯した歯が必要な理由などを説明し、同意を得た後、感染症などにかかっていないかを確認します。健康であることが確認できた人からのみ歯を提供してもらい、歯髄から増やした細胞が再生医療等製品として使えるように検討を行います。



歯の断面図

歯の中心にある歯髄に
幹細胞が含まれています。

NKT細胞再生によるがん免疫治療技術開発拠点 ～疾患・組織別実用化研究拠点【拠点B】～



【代表研究者】
理化学研究所
統合生命医科学研究センター
グループディレクター
古関 明彦

概要

NKT細胞(ナチュラルキラーT細胞)は強い抗腫瘍作用を持つT細胞の仲間
で、NKT細胞標的がん治療は進行性肺がんと上顎がんで有効性が示されまし
た(図1)。この治療法は他のがん治療法に比べて有効性が高く、2012年に千
葉大学病院で先進医療Bとして承認されていますが、特にNKT細胞が作り出す
インターフェロンガンマが多い患者では高い効果を示します。しかし、がんの進行
に伴うNKT細胞減少や機能不全のために、治療が可能な患者は希望者の約3
割に過ぎません。そこで必要量のNKT細胞をいつでも患者に補充できる治療法
を開発するために、NKT細胞をiPS細胞から作り出し、患者に投与して安全性と
有効性を確認する「治験」の準備を進めています(図2)。

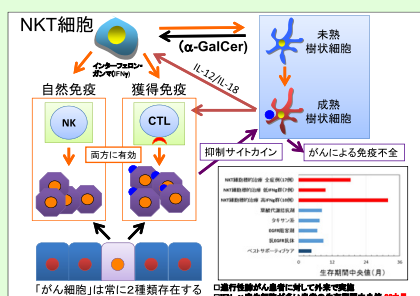


図1. NKT細胞の抗腫瘍作用

NKT細胞は活性化により産生されるインターフェロンガンマ
(IFN γ)の作用により自然免疫系および獲得免疫系細胞を共に活
性化し、強い抗腫瘍活性を発揮する。NKT細胞標的がん治療は、
進行性肺がんにおいて高い延命効果を示した。

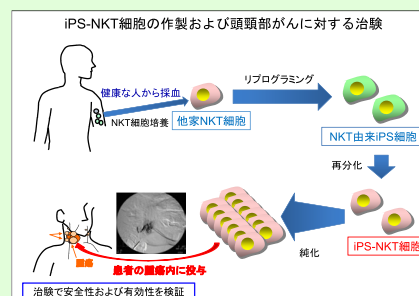


図2. iPS-NKT細胞を用いた治験

健康な人の血液からNKT細胞を採取、一旦iPS化した後再
度NKT細胞に分化させることにより、iPS由来のNKT細胞
(iPS-NKT細胞)を大量に得ることが出来る。iPS-NKT細胞
治療の安全性及び有効性を治験で検証する。

成果と今後の展望について

本研究により、iPS細胞技術を利用したNKT細胞再生の実用化に向けて着実に進展しています。ま
ずiPS-NKT細胞が動物モデルにおいて強い抗腫瘍活性を持つことを確認しました。(図3)。また、こ
れから実施する治験に向けて、均質なiPS-NKT細胞を大量生産する技術を開発しました(図4)。現
在、治験用iPS-NKT細胞を調製する施設(CPC)を整備し、治験に使用可能な品質を持ったiPS-
NKT細胞を大量生産する準備を進めています。今後は、CPC内で作製したiPS-NKT細胞を用いて、
治験に向けた非臨床試験を実施する予定です。

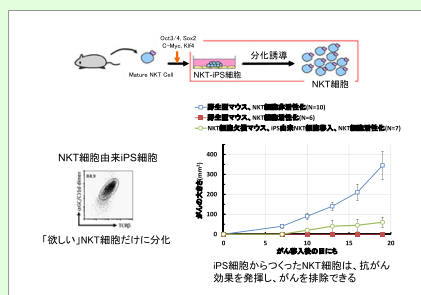


図3. iPS-NKT細胞の抗腫瘍活性

NKT細胞が活性化された野生マウスは、腫瘍細胞を接種し
ても腫瘍が成長しないが、NKT細胞を持たないマウスに
iPS-NKT細胞を導入し、活性化したマウスにおいても、腫瘍
の成長が抑制された。

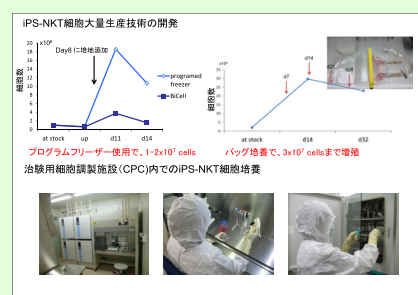


図4. iPS-NKT細胞大量生産技術の開発

大量培養の「種」となる細胞の凍結保存法や培養過程の見直
しにより、治験に必要な細胞数を一度で培養することに成功し
た。新たに建造したCPCを用いて、治験に必要な高品質な
iPS-NKT細胞の作製に取り組んでいる。

B細胞性白血病

～再生医療等の産業化に向けた評価手法等の開発～

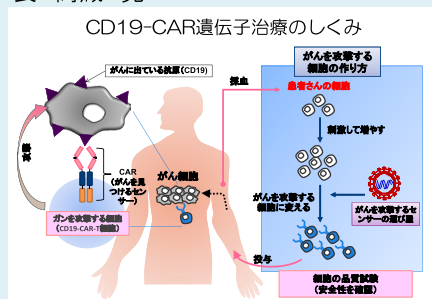


【代表研究者】
タカラバイオ(株)
CDMセンター
副センター長 高蔵 晃

概要

タカラバイオでは、血液のがんを対象に、遺伝子改変したT細胞を用いた治療法の産業化を目指しています。

血液のがんの一種であるB細胞性白血病は、化学療法や移植など現行の治療法での治療効果は完全でなく、新たな治療法の開発、実用化が望まれています。B細胞性白血病の細胞は表面にCD19と呼ばれる抗原(目印)を持ちます。ヒトの体内で免疫を担っているT細胞に対し、特別な遺伝子改変(CD19に結合できる特殊な遺伝子を導入)をすると、B細胞性白血病の細胞を殺傷するT細胞を作ることができます。このような、B細胞性白血病に対して十分な殺傷能力を持つ遺伝子改変T細胞を用いた遺伝子治療を実用化する研究を行っています。



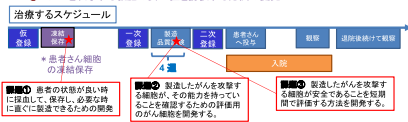
CD19-CAR遺伝子治療のしくみ

がんの目印である抗原(CD19)を攻撃することが出来るCD19-CAR遺伝子を運び屋(ベクター)で患者さん自身のT細胞に入れてがん細胞を攻撃するCD19-CAR-T細胞を作り、再び患者さんに戻します。

本事業における課題

本事業では、**患者さん本人の細胞から作成する再生医療等製品の開発**において、再生医療等製品を**安全に、確実に、迅速に患者に届けるための、品質の評価手法の開発**ならびに**原材料である細胞を保存した場合における品質の評価手法の開発**を目指しています。具体的には以下の3つの課題に取り組んでいます。

- ① 患者さんの細胞を凍結して保存するための評価方法の開発
- ② がんを攻撃する細胞の能力を評価するために使うがん細胞の開発
- ③ がんを攻撃する細胞の安全性を評価する方法の開発



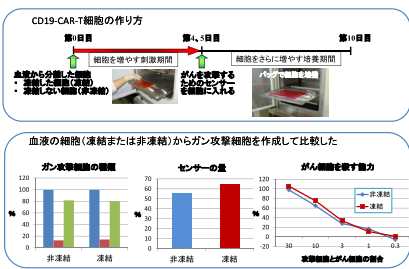
CD19-CAR遺伝子治療を進めるための課題

がん細胞を攻撃する能力の高い細胞を作ることやその細胞の能力を測る方法の開発が必要です。また、患者さんに早く届けるために、CD19-CAR-T細胞の安全性を短期間で判定する方法の開発が必要です。

成果と今後の展望について

- ・患者さんの状態が良い時に採血して凍結保存した細胞から、CD19-CAR-T細胞を作れるか評価しました。凍結保存した細胞からもがん細胞を十分に攻撃できるCD19-CAR-T細胞が作れることを確認できました。
 - ・CD19-CAR-T細胞のがん攻撃力の性能を評価する細胞を開発しました。開発した細胞を用いて、CD19-CAR-T細胞の品質評価に利用します。
 - ・作製したCD19-CAR-T細胞の中に、がん細胞が混入していないかを確認する試験の期間を30日から7～14日に短縮することができました。
- これらの成果に基づき、治験開始の準備を進めています。

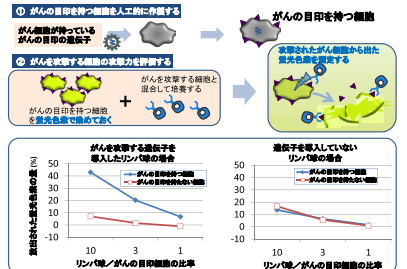
患者さんの細胞を凍結して保存するための評価方法の開発



患者さんの細胞を凍結して保存するための評価方法の開発

凍結した細胞から作ったがん攻撃細胞も、がん細胞を特異的に攻撃することを確認できました。

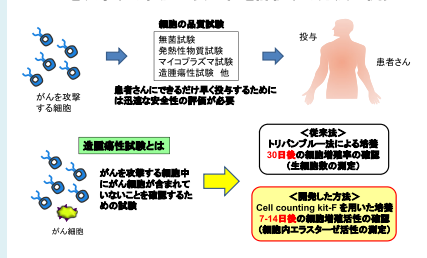
がん攻撃細胞の攻撃力を評価するシステムの開発



がん攻撃細胞の攻撃力を評価するシステムの開発

がんを攻撃する遺伝子を導入したリンパ球が、がんの目印を持つ細胞を特異的に攻撃することが確認できました。

がんを攻撃する細胞の安全性を評価する方法の開発



がんを攻撃する細胞の安全性を評価する方法の開発

がんを攻撃する細胞の造腫瘍性試験に掛かる期間を30日から7～14日に短縮することができました。

再生アソシエイト細胞によるiPS細胞移植時の免疫寛容治療研究

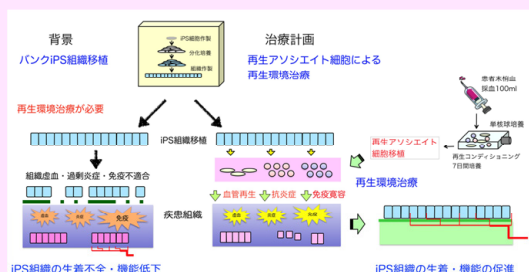
■ 概要 ■



【代表研究者】
東海大学
医学部
教授 浅原孝之

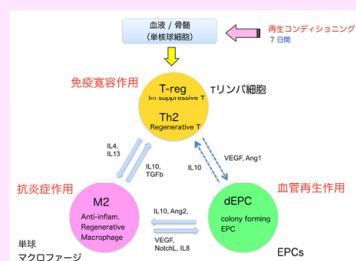
iPS細胞由来組織の作製技術の進捗に比べ、移植時のiPS組織を「臓器で生着させ機能化させるための技術」が未開発のままになっています。

本研究開発事業では、細胞バンク化されたiPS細胞からの組織移植が実現した時に、疾患臓器の移植環境の免疫・炎症状態を整備し、移植組織が生着・機能化する為の「再生環境治療」を開発します。本研究室で開発した「再生アソシエイト細胞」は、血液細胞を単純培養し得られる細胞群で、抗免疫・抗炎症・血管再生作用の強力な細胞群です。プロジェクト研究では、この細胞群を確立し、iPS細胞由来心筋シートなどの移植時にこの細胞治療を施し、移植組織の最適な生着・機能化を目指します。



再生アソシエイト細胞による再生環境治療

(左)疾患臓器では免疫不適合・過剰炎症・組織虚血により移植iPS組織の生着・機能不全が招かれますが、(右)再生アソシエイト細胞治療によって、再生環境改善を行い移植組織の生着・機能化を促進します。



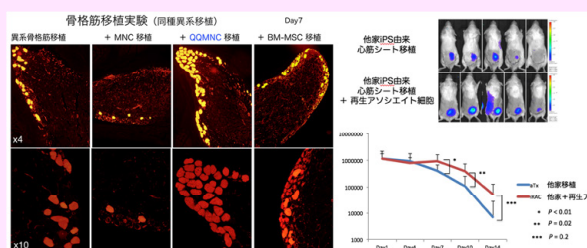
再生アソシエイト細胞とは。。

血液の単核細胞を7日間再生コンディショニングで培養することで得られる、免疫寛容細胞(制御性Tリンパ細胞)・抗炎症細胞(M2マクロファージ)・血管再生細胞(EPC)を中心とした細胞群です。

■ 成果と今後の展望について ■

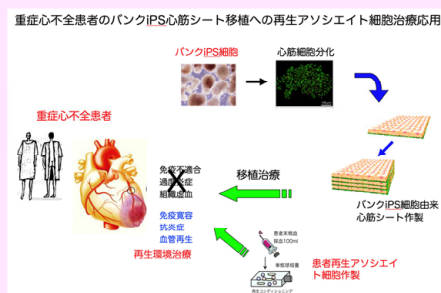
現在、培養細胞評価、他家筋肉組織移植実験、他家iPS細胞由来心筋シート移植実験などによって、再生アソシエイト細胞の免疫寛容・抗炎症・血管再生効果を確認しています。結果は、他家iPS細胞由来組織の移植時における再生アソシエイト細胞治療で、移植効果を促進できることを示唆しています。ただし、効果持続性の判定、患者血液培養での有用性など、確認すべき点が残っています。

本研究が完成すれば、高価で時間のかかる自家iPS細胞由来組織移植に代わってバンクiPS細胞由来組織移植の体制が整ったとき、自らの少量の血液(50ml~100ml)からの細胞を利用して、移植組織の生着不全・機能不全を防ぐことが可能になると予測します。



同種異系(他家)組織移植実験

免疫不適合反応が起こる他家(異系動物)骨格筋(左)あるいはiPS由来心筋シート(右)移植に再生アソシエイト細胞(QQ-MNC)を同時移植すると、移植組織の生着が促進することが確認されました。



バンクiPS由来心筋シート移植への治療コンセプト

バンクiPS心筋シート移植の際の免疫不適合・過度炎症反応・組織虚血を解決するために、再生アソシエイト細胞による再生環境治療を併用する計画です。

iPS細胞を用いた再生医療における組織不適合の解決 ～再生医療技術のがん治療法への応用～



【代表研究者】
熊本大学
生命科学研究所
准教授 千住 寛

概要

iPS細胞による再生医療には、自己由来iPS細胞を用いる場合と同種(アロ)iPS細胞を用いる場合が想定されます。再生医療における組織不適合の問題を解決する目的で、HLAハプロタイプホモ接合の細胞ドナーに由来するiPS細胞のバンク(iPS細胞ストック)の構築が進められています。iPS細胞ストックを用いる再生医療には、より低コストであり、かつ、必要時にすぐに治療用細胞が入手可能であるという利点があります。本研究は、iPS細胞の医療応用に伴う組織不適合に関連する問題を解決し、iPS細胞による再生医療の実用化に資することを目的としています。さらに、ヒトiPS細胞からがん治療に有用な免疫細胞を作成する研究や心臓病の治療に有用な心筋細胞の作成に関する研究も行っています。

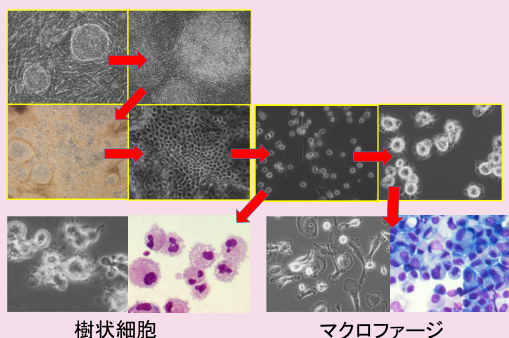


図1:iPS細胞から免疫細胞への分化に伴う形の変化
ヒトのiPS細胞から、樹状細胞とマクロファージと言う免疫細胞を作成する技術を開発しています。この図は、細胞の分化に伴う形態の変化を示しています。

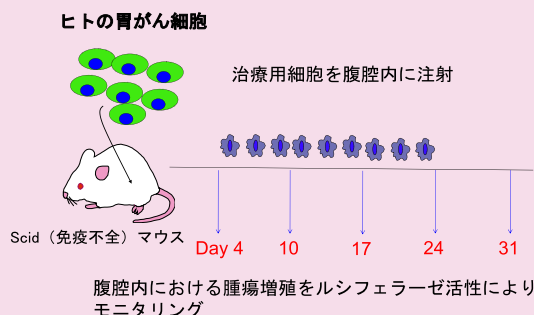


図2:免疫不全マウスを用いたがん治療実験のスケジュール
ヒトの胃がん細胞をマウスに移植し、がんのモデルを作成しました。このモデルを用いて、iPS細胞由来の抗腫瘍効果を持つ免疫細胞による治療効果を検討しました。

成果と今後の展望について

ヒトiPS細胞由来の免疫細胞においてHLA遺伝子を改変する技術の開発、また、iPS細胞に由来する樹状細胞およびマクロファージを用いたがん治療の技術を開発してきました。現在、心筋細胞を用いたアロ免疫反応性の評価法と、移植後の生着を観察するためのマウスモデルの樹立、マイナー抗原不適合による拒絶に対応するためのiPS細胞由来ミエロイド系細胞による免疫制御法の開発、ヒトiPS細胞由来のミエロイド細胞の大量生産し医療応用するためのシステムの開発を行なっています。さらに、自己iPS細胞による再生医療の場合に生じる腫瘍発生の問題を解決する手段として、未分化細胞抗原を標的とする免疫機序による腫瘍排除の研究を行なっています。

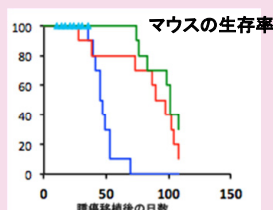
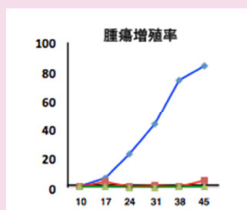


図3:動物実験によって示された細胞治療の効果

図2で示した実験の結果を示しています。青のラインは、がん細胞を移植後に治療を行わず観察したマウスのグループです。腫瘍がどんどん大きくなり、50日目には、ほとんどのマウスが死んでしまいました。一方、緑や赤のラインは、iPS細胞由来の免疫細胞で治療した場合です。こちらは、40日目位までは、腫瘍の増殖をほぼ完全に抑制することが可能で、100日後でも半分くらいのマウスが生きていました。

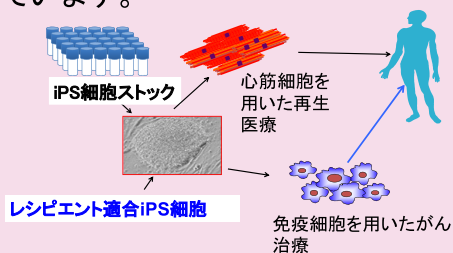


図4:iPS細胞ストックを用いた心筋再生医療とがん治療

京都大学iPS細胞研究所のiPS細胞ストック等を利用することにより、レシピエント(患者さん)に適合した、つまり、免疫応答による拒絶反応が起こりにくいiPS細胞を作成します。このiPS細胞から、心臓病の治療に有効な心筋細胞あるいはがん治療に有用な免疫細胞を作成します。

低侵襲移植を特徴とした自家培養軟骨の開発

～再生医療等の産業化に向けた評価手法等の開発～



【代表研究者】
オリンパスRMS株式会社
代表取締役 社長
森山 剛

概要

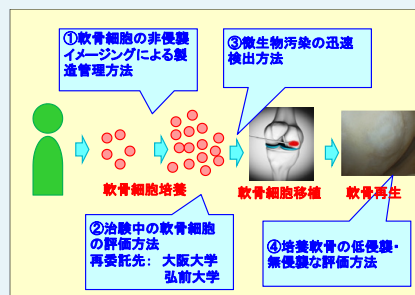
膝の軟骨を外傷等で欠損することがありますが、軟骨は血管に乏しく、自然に再生されません。大きく欠損した軟骨は、5年から15年の内に変形性膝関節症に移行し、将来人工膝関節に置換することが必要になったり、寝たきりの原因になり、患者さんのQOL(生活の質)を著しく低下させる原因となります。私たちは、大きく膝を切開する手術無しに、内視鏡(関節鏡)下で、軟骨細胞を移植することで軟骨再生を目指す、低侵襲な自家培養軟骨の開発を行っております。

本研究では、本培養軟骨を実用化するために、軟骨細胞の非侵襲イメージングによる製造管理方法、治験中の軟骨細胞の評価方法、微生物汚染の迅速検出方法、移植後の培養軟骨の低侵襲(内視鏡検査時に用いる)・無侵襲(MRIを用いる)な評価方法を開発しています。



オリンパスRMS社で開発中の培養軟骨の特徴

軟骨細胞を欠損部位に関節鏡下で移植が可能で膝を大きく切開することなく移植できる低侵襲なアプローチの培養軟骨を目指しています。術後の疼痛が小さく、回復が早いことが期待されます。



本事業における研究テーマ

本事業では、本培養軟骨の実現のために下記を開発します。

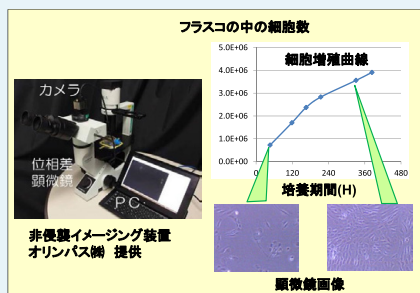
- ①軟骨細胞の非侵襲イメージングによる製造管理方法
- ②治験中の軟骨細胞の評価方法
- ③微生物汚染の迅速検出方法
- ④培養軟骨の低侵襲・無侵襲な評価方法

成果と今後の展望について

先行するH26年度経済産業省委託事業により実現可能性を確認しており、今年度(H27年度)事業では、治験または事業化に向けて実施するための具体的な方法を確認することを目指しています。本事業のうち2つのテーマを紹介します。

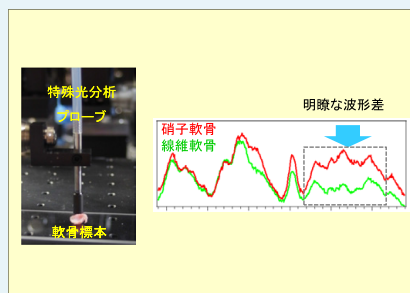
「軟骨細胞の非侵襲イメージングによる製造管理方法」では、オリンパス(株)社提供の顕微鏡をベースとした非侵襲イメージング装置を用い、培養中の軟骨細胞を取り出すこと無しに細胞数や細胞の増え方を計測し、培養にかかる日数や、移植のタイミングなどを予測する方法を開発中です。

「培養軟骨の低侵襲な評価方法」では、特殊な光分析法を用いて、再生した軟骨が、耐久性のある軟骨(硝子軟骨)か、長期的に劣化する可能性のある軟骨(線維軟骨)か判定する方法を開発中です。



軟骨細胞の非侵襲イメージングによる製造管理方法

オリンパス(株)社提供の顕微鏡をベースとした非侵襲イメージング装置を用い、培養中の軟骨細胞を取り出すこと無しに細胞数や細胞の増え方を簡単に計測します。



培養軟骨の低侵襲な評価方法

特殊な光分析法を用いて、再生した軟骨が、耐久性のある軟骨(硝子軟骨)か、長期的に劣化する可能性のある軟骨(線維軟骨)か判定します。

磁性化骨髄間葉系細胞の磁気ターゲティングによる骨・軟骨再生 ～再生医療の実現化ハイウェイ（課題A）～

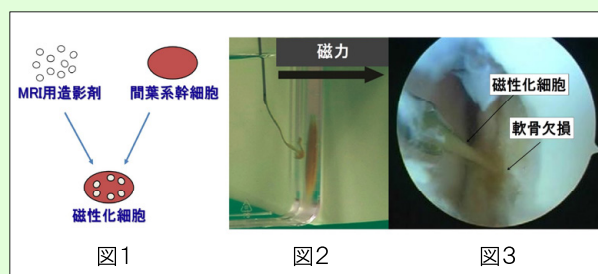


【代表研究者】
広島大学
学長 越智 光夫

概要

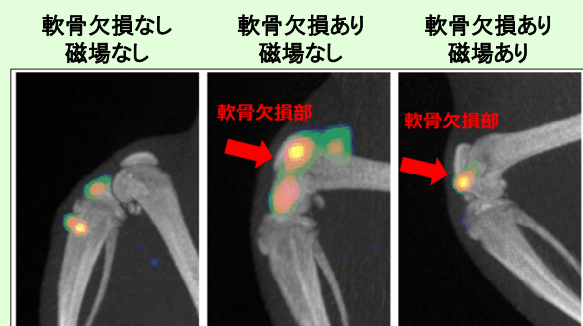
整形外科にかかる病気やケガの中で介護が必要となる主な原因として、変形性関節症などの「関節疾患」が挙げられます。関節疾患の予防と治療は、超高齢化社会を迎える日本の医療における喫緊の課題です。

そこで私たちは、関節軟骨欠損を対象とした新しい治療法の開発に取り組んでいます。MRI用造影剤を取り込ませた細胞が磁力に引き寄せられる性質を利用して、体外から磁場でコントロールして体内へ注射した細胞を治療したい部位へと集める方法（磁気ターゲティング）を開発しました。この磁気ターゲティングと、骨や軟骨を作る能力をもつ骨髄の間葉系幹細胞を使うことで、関節の軟骨欠損を注射で治す新しい治療の臨床応用を目指しています。



磁気ターゲティング

MRI用造影剤（ナノ鉄粒子）を取り込ませた間葉系幹細胞（図1：磁性化細胞）は磁力に引き寄せられる性質を持ち（図2）、関節の中に注射した細胞を体外から磁力でコントロールして、軟骨が欠損した部分に集めることができます（図3）。



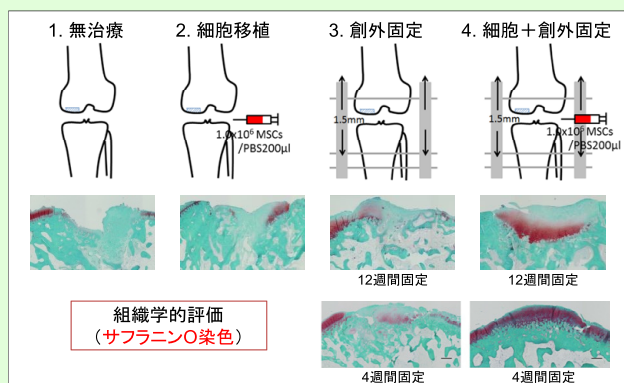
In vivoイメージング

蛍光標識した細胞をラット関節内に注入してイメージングを行ったところ、磁場が無い条件では細胞が関節内で拡散するのに対して、磁気ターゲティングを用いると、ほとんどの細胞を軟骨欠損部へ集積させることができました。

成果と今後の展望について

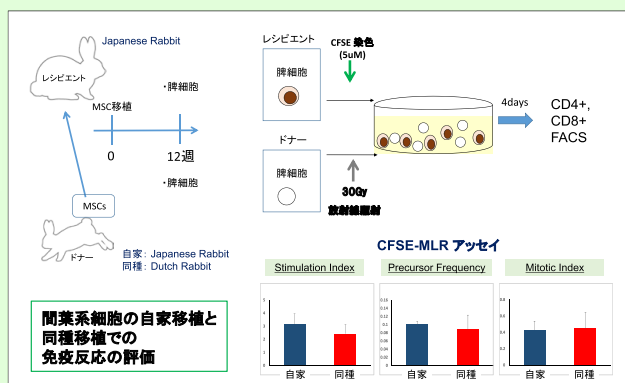
MRI用造影剤を取り込ませた細胞の安全性や品質に関する研究で、一定の信頼が得られたため、膝関節軟骨欠損の患者さんに対して、自分自身の骨髄から培養した間葉系細胞の磁気ターゲティングによる治療を行う臨床試験を平成27年1月に開始しました。

また、関節の可動性を温存した創外固定器を併用することで変形性関節症などの広範囲の軟骨欠損に対応する治療法の開発や、間葉系細胞の同種移植の安全性試験などを行っています。



細胞移植と創外固定の併用

ウサギの膝関節の荷重部に広範囲な骨軟骨欠損を作製して、間葉系細胞移植、創外固定およびこれらの併用を行いました。細胞移植と創外固定を併用すると最も骨軟骨修復が良好であり、さらに固定期間を4週間に短縮した方が修復が良好でした。



間葉系細胞の同種移植

ウサギの膝関節軟骨損傷モデルに対する間葉系細胞の自家移植と同種移植において、移植後12週にドナーとレシピエントとの脾細胞の共培養を行い、リンパ球T細胞の増殖性をフローサイトメトリーで評価しました。T細胞の増殖性は自家移植と同種移植との間で同等で、同種移植でも免疫反応は増強されませんでした。

iPS細胞由来軟骨細胞を用いた軟骨疾患再生治療法の開発拠点 ～疾患・組織別実用化研究拠点【拠点B】～

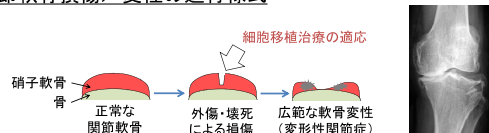


【代表研究者】
京都大学
iPS細胞研究所
教授 妻木 範行

概要

本拠点は、iPS細胞から作製した軟骨細胞や軟骨を、関節軟骨の損傷部位や先天性顔面軟骨欠損の欠損部位に移植して治療する再生治療法の開発を進めています。十分な治療効果を得るには、良質な軟骨細胞が大量に必要です。iPS細胞の無限に増える性質を有し、これを可能にします。まず我々は、iPS細胞を、良質な軟骨細胞に分化誘導する技術の開発に取り組みます。次に、作製した軟骨細胞や軟骨をモデル動物に移植し、移植した軟骨細胞や軟骨の安全性、移植した軟骨が動物の関節軟骨内で軟骨として機能するかどうかの治療効果、の確認を行います。そして、臨床研究(ヒトへの移植)を早期に実施します。ヒトでの安全が確認されたら、より重症の軟骨損傷や先天性顔面軟骨欠損の臨床研究へと進み、軟骨疾患に対するiPS細胞由来軟骨細胞治療の実用化を目指します。

関節軟骨損傷／変性の進行様式

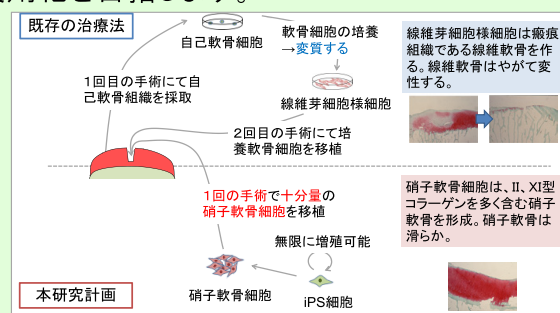


顔面軟骨欠損

例) 小耳症
先天性形態異常や外傷、腫瘍切除などで生じます。
皮下移植による耳介の再建

対象疾患：関節軟骨損傷と顔面軟骨欠損

軟骨は修復能力が乏しく、その損傷は自然修復しません。関節軟骨損傷・欠損は放置すると変性が進行し、関節運動機能が障害されます。顔面の軟骨は顔面の形態の保持に本質的な役割を果たすため、顔面軟骨欠損は患者の生活の質に重大な影響を与えます。



既存の治療法(自家軟骨細胞移植)の課題と、本研究計画
関節軟骨欠損に対して、自家軟骨細胞移植が行われていますが、軟骨細胞は増やすと変質するため、その治療成績は十分とは言えません。本研究ではiPS細胞から十分な数の軟骨細胞を誘導し、欠損部へ移植することを目指します。

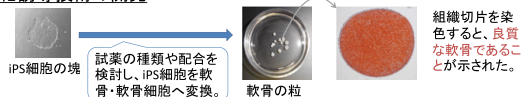
(本研究は、iPS細胞研究基金からの支援も受けて実施されています。)

成果と今後の展望について

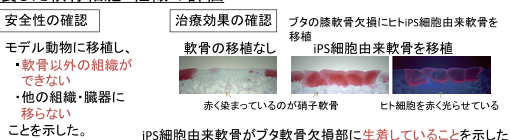
これまでに、iPS細胞(研究用)から良質な軟骨細胞や軟骨を作り出す技術の開発に成功しました。また、モデル動物を使い、移植したiPS細胞由来軟骨が軟骨以外の組織や細胞に変化しない事(安全性)や、ブタの膝関節軟骨欠損部に移植したiPS細胞由来軟骨が生着している事(治療効果)等を明らかにし、本治療法が損傷関節軟骨の治療に有効であることを示しました。

現在、治療用軟骨の製造に着手しています。今後、製造した治療用軟骨を使い、安全性と治療効果を再度確認します。さらに、軟骨細胞の遺伝子配列に異常が発生していないかどうか等、安全性を十分に確認し、臨床研究(ヒトへの移植)を実施します。その後、重症関節軟骨欠損や顔面軟骨欠損の治療を目指し、組織工学技術を導入して移植用大型軟骨組織を開発します。

分化誘導技術の開発



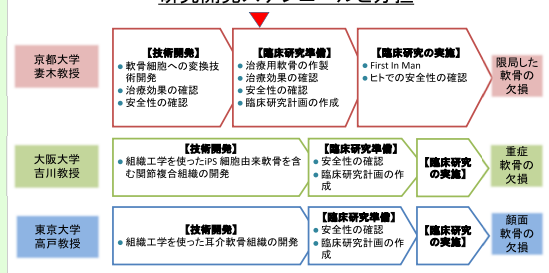
作製した軟骨細胞・組織の評価



変換技術の開発と作製した軟骨の性能解析

上：開発したiPS細胞から軟骨への変換技術。iPS細胞から分化誘導してできた軟骨細胞の培養を続けると、良質な軟骨(硝子軟骨)を形成しました。
下：作製した軟骨の安全性と治療効果を確認しました。

研究開発スケジュールと分担



研究開発の行程

技術開発は順調に進み、臨床研究開始も計画を前倒して実施しています。臨床研究は、限局した膝軟骨欠損を対象として実施し、iPS細胞由来軟骨の安全性を確認します。その後、重症関節軟骨欠損や顔面軟骨欠損へと拡大します。

疾患特異的iPS細胞を活用した筋骨格系難病研究

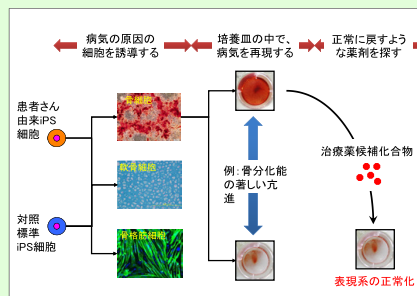
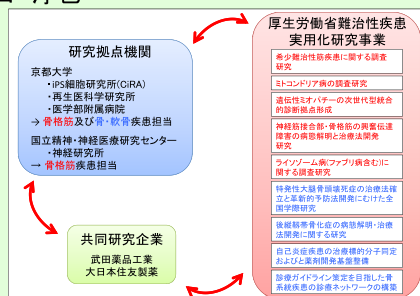
～疾患特異的iPS細胞を活用した難病研究【共同研究拠点】～



【代表研究者】
京都大学
iPS細胞研究所/再生
医科学研究所・教授
戸口田 淳也

概要

筋骨格系組織とは、私たちの体を支えて、動かすことの主体をなしている骨、軟骨そして骨格筋などの細胞によって構成される組織で、これらの組織に異常が生じると、日常生活が著しく障害されます。現在450種類以上の筋骨格系組織の遺伝性疾患が知られていますが治療法が確立しているものは少なく、約半数では病気の原因も不明のままです。私たちはこれら疾患の研究をしている厚生労働省難病研究班の研究者との共同研究として、患者さんの血液細胞などからiPS細胞を樹立して、そこから病気の原因となっている骨、軟骨、骨格筋細胞などを誘導してその機能を調べることで、病気の原因を解明し、治療薬などの新規の治療法の開発を目指しています。



研究の体制について

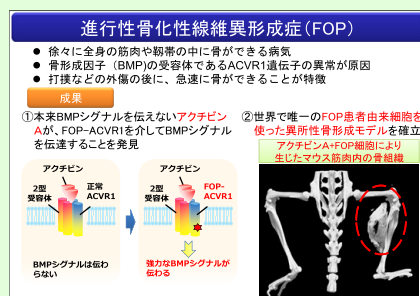
iPS細胞の樹立は京都大学と国立精神・神経医療研究センターの両者で行い、病態解析、更に創薬に関しては厚生労働省難病性疾患実用化研究事業に携わる研究者と製薬企業を含めた3者の共同研究として進めます。

創薬に向けての戦略

これまでにiPS細胞から筋骨格系細胞へ分化誘導する系を確立しています。この方法を用いて、患者さんから樹立したiPS細胞を病気の原因となっている細胞に分化させ、対照標準iPS細胞と比較することで、病気と類似した相違が検出されれば、その相違をなくす作用をもつ薬剤を探します。

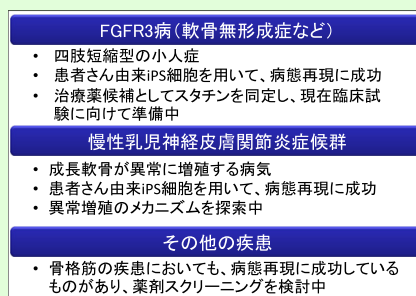
成果と今後の展望について

これまでの研究により、いくつかの疾患において患者さん由来iPS細胞を用いて、患者さんの病態と類似した現象を再現することに成功しています。2014年度にはFGFR3病という疾患に関して、病態の再現に成功し、それに基づいて治療薬候補として高脂血症に対する既存の薬剤であるスタチンを同定しました(山下ら、Nature)。現在、臨床試験に向けて準備が進められています。2015年度では進行性骨化性線維異形成症(以下、FOP)に関して、骨形成のシグナルを伝達する重要な物質として、これまで想定されていなかったアクチビンAを同定しました(日野ら、PNAS)。そしてアクチビンAとFOP患者さん由来細胞を用いることで、マウスの筋肉内にヒトの骨組織を作る疾患モデルの樹立に成功しました。このモデルは治療薬のスクリーニングに有用なものとなると期待できます。その他のいくつかの疾患においてもiPS細胞の有用性を示す結果が得られており、スクリーニングへと進む予定です。



進行性骨化性線維異形成症での成果

アクチビンAが骨形成のシグナルを伝達する物質であることを発見しました。そしてアクチビンAを作用させるとFOP患者さん由来の細胞がマウスの筋肉内に骨を作ること示し、FOPのモデルを確立することに成功しました。



他の疾患での成果と展望

慢性乳児神経皮膚関節炎候群でも、病態再現に成功し、薬剤スクリーニングを検討しています。更に骨格筋疾患においても、同様な成果が上がっています。

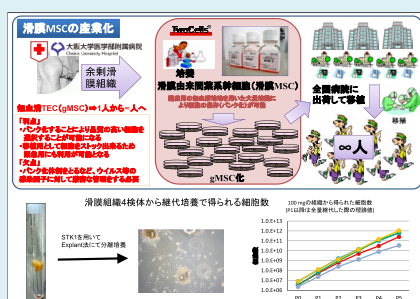
膝関節における外傷性軟骨欠損症又は離断性骨軟骨炎に対する再生医療の産業化に向けた評価手法等の開発 ～再生医療等の産業化に向けた評価手法等の開発～



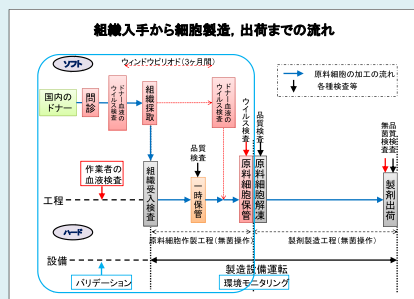
【代表研究者】
株式会社 ツーセル
取締役 加藤 幸夫

概要

幹細胞を用いた再生医療の実現と産業化のためには、移植用細胞製品やその周辺機器、加工プロセス等に関する安全性、有効性、品質性等の評価手法の開発が必要です。本事業では、再生医療製品等の優れた技術シーズの製品化を促進させるべく承認審査、適合性評価等について事業者が示すべき安全性等の論拠の作成に値する評価手法の開発を行います。我々はこれまでに、複数回に渡り滑膜組織由来間葉系幹細胞(MSC)を用いた細胞製品に関する薬事戦略相談の対面助言を実施しました。これらの助言に基づいて開発製品である他家(同種)の滑膜組織由来MSCの入手方法に関する検討、同細胞を製造工程に組み入れるための検討、更に他家細胞の有用性の評価等の検討を行います。また、他家細胞としての臍帯組織由来MSCの入手方法に関する検討も行います。



再生医療産業化を実現するには、有効性、安全性はもちろんですが、必要な時に速やかかつ大量に高品質な細胞を提供出来ることやコストの削減なども不可欠な条件です。我々は数年前に幹細胞無血清培地の開発に成功し、他家滑膜細胞を増幅出来る無血清培養法を確立しました。この方法によると、入手した滑膜組織100mgを分離培養し、P5まで培養続けると最大約1000億個の細胞が得られました。一人の健康なドナーから約千人の患者の治療が可能となったことから大幅にコストも時間も削減出来ると考えられます。



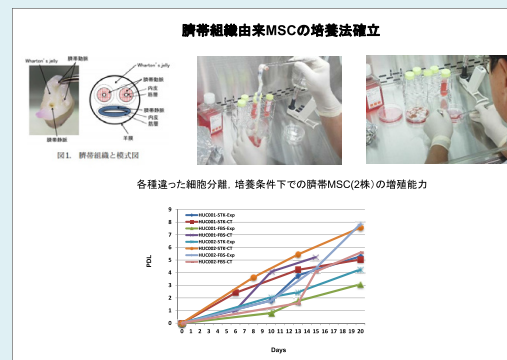
原料細胞の入手は、ドナー及び関係機関との細胞の利用・管理方法等についてのコンセンサスを得ることは重要です。他家細胞を原料細胞とする細胞製品の安全性を確保するため、健康なドナーの選択と組織採取時の血液、作業者の血液、中間品、最終製品の品質検査を組み合わせた安全性確保方法を考案しました。

成果と今後の展望について

国内で滑膜組織を採取し、そこから分離したヒトMSCを、無血清培地を使用して、再生医療の移植用製品(gMSC)として製造する工程を整備しました。gMSCは軟骨欠損に対する他家移植による再生治療事業で有用です(治験準備中)。また本開発では、臍帯組織からもヒトMSCを無血清培地で分離、増幅しました。今後、国内で得た臍帯組織由来MSCや脂肪組織由来MSCについても滑膜組織由来MSCと同様に再生医療用製品としての事業化を目指します。

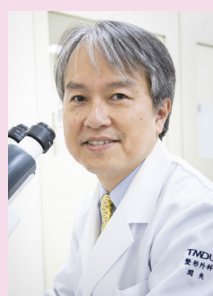
非臨床試験製品 (gMSC) の品質試験成績						
製造場所	大阪大学					
製造者	ツーセル					
ロット	M801-003	M801-001	M801-004	M801-006	M801-007	
製造年月日	2014年 10月20日	2014年 10月27日	2014年 11月24日	2015年7月28日	2015年8月11日	
原材料	滑膜組織	滑膜組織	滑膜組織	滑膜組織	滑膜組織	
使用培地	臨床用STK1, 臨床用STK2					
高濃度培養日数	7日					
菌陽性検査	陰性	陰性	陰性	試験実施中	試験実施中	
エンドキシン試験	1.0 EU/mL以下	1.0 EU/mL以下	1.0 EU/mL以下	試験実施中	試験実施中	
マイコプラズマ試験	陰性	陰性	陰性	試験実施中	試験実施中	
濃度(mg/cm ²)	8.40	7.40	7.27	6.93	8.73	
細胞数(cells/cm ²)	338,667	273,333	262,000	315,333	322,666	
生存率(%)	87.50	94.61	78.48	90.27	95.25	
色調	乳白色	乳白色	乳白色	乳白色	乳白色	
CD13陽性率(%)	99.50	100.00	99.99	データ整理中	データ整理中	
CD34陽性率(%)	0.03	0.17	0.13	データ整理中	データ整理中	
CD44陽性率(%)	99.50	100.00	99.99	データ整理中	データ整理中	
骨分化	確認	確認	確認	試験実施中	試験実施中	
脂肪分化	確認	確認	確認	試験実施中	試験実施中	
軟骨分化	確認	確認	確認	試験実施中	試験実施中	

他家移植細胞の安全性及び品質を保证するために、得られた再生医療製品を製造出荷する際に共通して必要となる検査項目の妥当性について品質試験を行いながら検証し、出荷判定に適当な品質検査項目を確立して行きます。



臍帯は他家細胞原料として有用な組織であることから本プロジェクトに取り入れられました。組織入手体制や品質管理整備、大量培養方法の確立等を開発項目として行っています。細胞培養法については現在組織から酵素処理法やエクソプラント法等各种分離条件培地を設定して検証中です。

滑膜幹細胞による半月板・関節軟骨の治癒促進・再生



【代表研究者】
東京医科歯科大学
再生医療研究センター
教授 関矢 一郎

概要

半月板は膝関節の大腿骨と脛骨の間にある三日月形の軟骨で、クッションの役割を担っています。半月板の損傷・変性や機能不全は、若年から老年に幅広く分布し、変形性膝関節症の原因となり、高齢化社会を迎えている日本において解決すべき課題となっています。滑膜は関節の空間を裏打ちする膜です。私たちは、滑膜の幹細胞を移植することにより半月板機能を再獲得する治療の開発を目指しています。本年度は、半月板損傷部の状態が悪く、現状では切除術の適応となる半月板損傷の患者さん5名に対して縫合術と滑膜幹細胞移植を行った臨床研究が完了し、安全性を確認することができました。現在、2つ目の臨床研究を実施しています。



世界に先駆けて開発した滑膜幹細胞(かつまくかんさいぼう)

①ラットの半月板を切除後、青く染まる滑膜幹細胞を関節内に注射して12週経過すると、注射した細胞が半月板に分化して半月板が再生します。②ブタの半月板を縫合後、滑膜幹細胞浮遊液を10分間静置すると細胞は損傷部に接着します。



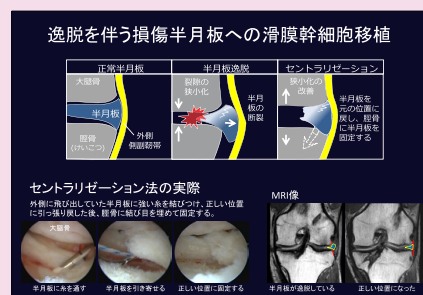
臨床研究① 滑膜幹細胞移植による半月板の治癒促進

半月板縫合術の際に採取した患者自身の滑膜から、2週間かけて細胞を増やし、半月板縫合部に関節鏡で見ながら、移植します。5名の患者さんに対して行った臨床研究の結果、この滑膜幹細胞移植の安全性を確認することができました。

成果と今後の展望について

滑膜幹細胞移植は関節鏡下で行える手術であるため、膝関節を切開する必要がなく、傷も小さくすみずみです。また、滑膜幹細胞は培養期間が2週間と短く、高価な試薬を使わないため、細胞培養にかかるコストも低く抑えられるなどの利点もあります。本年度前半に完了した1つ目の臨床研究によって、私たちが開発した滑膜幹細胞移植の安全性が確認できたことから、現在は、半月板がずれて機能が低下した患者さんに対して、半月板を元の位置に戻して、滑膜幹細胞を移植することにより、膝関節の機能改善を期待する臨床研究を行っています(予定患者数10)。滑膜幹細胞移植によって半月板と軟骨の治癒を促進し、半月板機能を取り戻す治療体系を確立することによって、変形性膝関節症の再生医療の実現を目指します。

* 本研究はAMED「再生医療実現拠点ネットワーク事業」の成果も含んでおり、「再生医療実用化研究事業」において、実現化を目指しています。



臨床研究② 逸脱を伴う損傷半月板への滑膜幹細胞移植

半月板損傷の患者さんでは半月板が本来の位置から外れて飛び出している場合が多く見られます。現在、実施中の臨床研究では、半月板を縫合する際に、元の位置に戻す操作(セントラリゼーション)を行った上で、細胞を移植しています。



最終目標 | 変形性膝関節症に対する再生医療の実現

半月板機能の再獲得により変形性膝関節症の予防が可能であることから、滑膜幹細胞による半月板・関節軟骨の治癒促進・再生の医療体系を確立することにより、変形性膝関節症に対する再生医療の実現を目指しています。

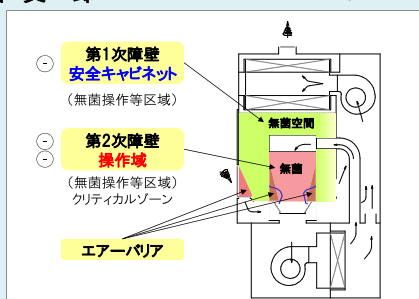
自家培養軟骨・同種培養表皮・同種培養真皮の産業化に向けた評価手法等の開発 ～再生医療等の産業化に向けた評価手法等の開発～



【代表研究者】
(株)ジャパン・ティッシュ・
エンジニアリング
取締役 島 賢一郎

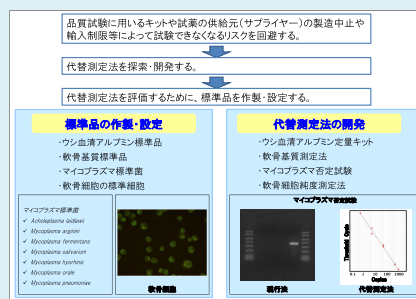
概要

- ① 患者さん自身の細胞を使った再生医療製品製造には、ウイルス等の交差汚染を防止するため、それぞれの作業ごとに除染作業が必要とされています。そのため、大量かつ連続した作業が行いにくく、必然的に製造コストが増加します。本研究では、われわれの考案した交差汚染防止の仕組み(ロボット組込型)を通じて、連続生産に必要な評価法を提案し、類似産業の発展に寄与します。
- ② 再生医療製品の品質試験は、法律で定められたとおり、あらかじめ定められた方法(試薬・機器)にて実施されます。加えて、生きた細胞そのものが製品であるため、その同等性・同一性を検証することが容易ではありません。そこで本研究では、既定の再生医療製品の品質試験法をいかに変更するかをテーマとして、その変更の妥当性評価法について提案します。さらに、同等性・同一性の根拠となる標準品の考え方について言及したいと考えています。



① 二重封じ込め気流発生システムのイメージ

われわれの考案した、空気の流れに強弱を付けて封鎖空間を作り出す二重封じ込めエリアを持つ安全キャビネットを用いて、患者さん自身の細胞を使った製品を連続的に生産するために検証すべき事項を提案します。

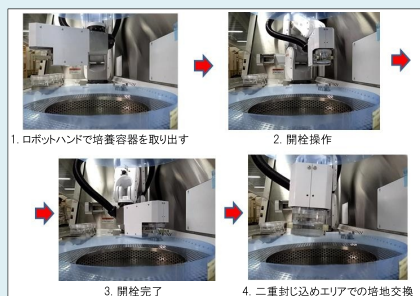


② 変更妥当性の提案によるサプライヤーリスクの回避

品質試験代替測定法を開発し、新旧を適切に比較検証することで、供給元(サプライヤー)理由による品質試験ができない事態の回避を目指します。さらに、代替測定法の評価に必要な、各種標準品の作製と設定を行います。

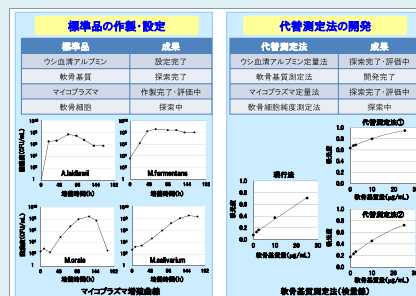
成果と今後の展望について

- 二重封じ込め気流機能を持つ安全キャビネットを開発し、安全キャビネットの日本工業規格(JIS)をもとに評価法を考案・実施しました。
- 上記の結果、作業者の安全性試験、検体保護試験、相互汚染防止試験の全てで適合しました。
- 今後、本装置を中心に据えた量産システムを構築するとともに、本法の有用性についてまとめていく予定です。これにより、再生医療製品をより安定的に供給できるように取り組みます。
- 開発予定の4試験のうち1試験の標準品を設定し、2試験の標準品の目途が立ちました。
- 並行して代替測定法の開発を進め、2試験で市販の代替測定法を見出しました。
- 市販の代替測定法がない1試験は、自社で数種の測定法を検討し、現行法と同等の代替測定法の開発に成功しました。
- 今後、さらに詳細な検証を進め、本法の普及に努めます。



① ロボットによるサポート機能を組込んだ装置の開発

生産作業の均質性と簡便性を両立させるために、ロボットによるサポート機能を組込んだ二重封じ込め気流機能を持つ安全キャビネットを開発・評価しています。



② 標準品の作製及び代替測定法の開発

マイコプラズマ標準菌の作製とウシ血清アルブミン標準品の設定を完了し、標準品を用いて代替測定法の評価を実施しています。また、軟骨基質測定法の代替測定法を確立しました。

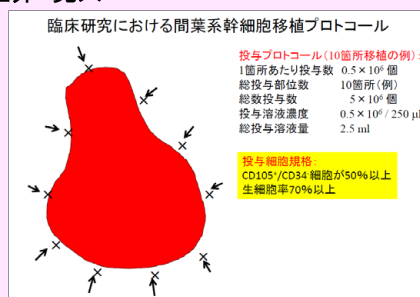
表皮水疱症に対する他家骨髄間葉系幹細胞移植再生医療の実用化研究



【代表研究者】
大阪大学
医学系研究科
教授 玉井 克人

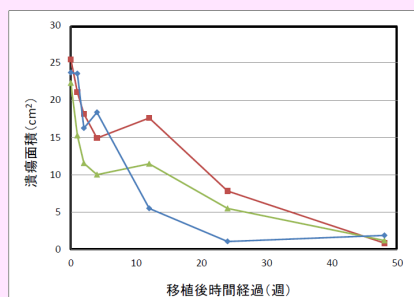
概要

表皮水疱症は、皮膚の接着に必要なたんぱく質の遺伝的異常により、日常生活で生じるわずかな皮膚への力で皮膚に水ぶくれ(水疱)や潰瘍を形成する皮膚難病で、現在有効な治療法がありません。我々は、これまでの基礎研究により骨髄間葉系幹細胞が表皮水疱症皮膚の再生を誘導することを明らかにしてきました。本研究は、健常人由来骨髄間葉系幹細胞を表皮水疱症患者の難治性皮膚潰瘍周囲に移植して、皮膚の再生を誘導するという新しい治療法を開発することを目的としています。今年度は健常人家族由来間葉系幹細胞移植臨床研究を終了し、来年度には企業製剤で医師主導治験を実施して、近い将来に間葉系幹細胞を新たな治療法として表皮水疱症に苦しんでいる患者さんに届けたいと思います。



健常人家族骨髄間葉系幹細胞移植臨床研究プロトコル

大阪大学附属病院皮膚科を受診した表皮水疱症成人患者を対象に、6週間以上続く難治性皮膚潰瘍を1箇所選択し、潰瘍辺縁皮下に2cm間隔で健常人家族由来培養間葉系幹細胞を1箇所あたり50万個移植し、経時的に観察しました。



間葉系幹細胞移植部皮膚潰瘍面積の経時的変化

健常家族由来骨髄間葉系幹細胞移植臨床研究に参加した3名の表皮水疱症患者における、間葉系幹細胞移植部皮膚潰瘍の面積を経時的に評価しました。いずれの患者においても、移植部皮膚潰瘍の上皮化が促進し、1年後には略閉鎖しました。

成果と今後の展望について

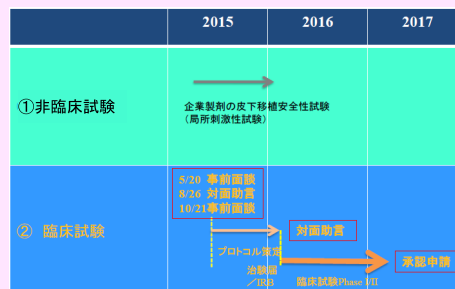
健常家族より採取した骨髓血20mlから間葉系幹細胞を培養し、3名の成人表皮水疱症患者の数年間上皮化しない難治性皮膚潰瘍周囲に移植しました。その結果、いずれの潰瘍も著明な上皮化促進効果が観察され、1年後には3名共に移植部潰瘍は殆ど閉鎖状態となりました。その後の追跡調査により、3例ともに、移植部皮膚は良好な状態が1年半から2年後まで維持されていました。

健常家族由来骨髄間葉系幹細胞を移植する場合、常にドナーとなる家族の存在が必要であり、ドナーが得られない場合には治療が困難です。そこで、我々は骨髄間葉系幹細胞製剤を開発している国内製薬企業と表皮水疱症治療製剤の共同開発を進めており、来年度は企業が製造した骨髄間葉系幹細胞製剤を用いた医師主導治験を実施する予定で準備を進めています。企業製剤による表皮水疱症治療が可能となれば、多くの患者さんに間葉系幹細胞移植による治療を行うことが可能となります。

	先行臨床研究	医師主導治験
対象病型・年齢	水疱瘡等型 20歳以上の成人	単独型、複合部型、 家族性型等、1歳以上
投与細胞	健常家族骨髄由来間葉系幹細胞	健常人ドナー骨髄由来間葉系幹細胞
調製	培養細胞を剥離後、患者血清入り生理食塩水に懸濁	培養細胞を剥離後、DMSOおよびヒト血清アルブミン入り生理食塩水で凍結保存
用法・用量	1箇所あたり50万個(250μl)を2cm間隔で皮下移植、1回のみ投与	1箇所あたり50万個(250μl)を2cm間隔で皮下移植、初回投与4か月後に再開投与しないければ4か月ごとに計10回まで投与
移植対象部位	6週間以上持続する皮膚潰瘍、1箇所選択	1年以上持続する皮膚潰瘍、最大3か所まで選択
観察期間	初回投与後から1年間	初回投与後から1年間

先行臨床研究と実施予定医師主導治験の内容比較

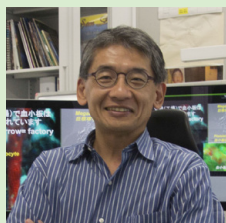
先行臨床研究では成人患者を対象としましたが、来年度実施予定の医師主導治験では小児も対象とします。また企業が製造した健常人ドナー由来骨髄間葉系幹細胞を、1年以上持続する潰瘍周囲に、最大3回まで移植可能とする予定です。



表皮水疱症に対する骨髄間葉系幹細胞製品開発計画

現在、大阪大学と国内製薬企業との間で表皮水疱症に対する骨髄間葉系幹細胞製剤開発の協議を進めており、PMDAとの事前面談、対面助言も実施しています。来年度には臨床試験(医師主導治験)を開始し、早期の承認申請を目指します。

iPS細胞技術を基盤とする血小板製剤の開発と臨床試験 ～再生医療の実現化ハイウェイ（課題B）～

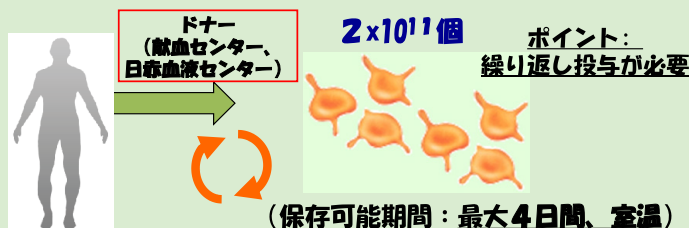


【代表研究者】
京都大学
iPS細胞研究所
教授 江藤 浩之

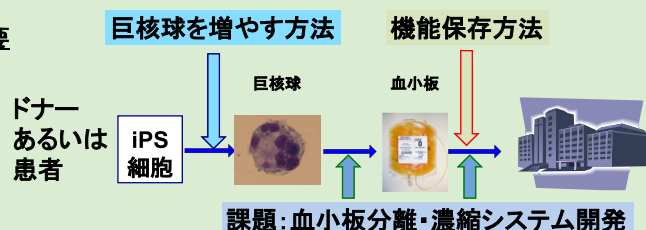
概要

- ・ 現在も多くの患者さまが血小板輸血を必要としています。しかしながら少子高齢化によりドナー不足はより一層深刻な問題となっています。私たちはiPS細胞を用いた血小板製剤を開発しています。この方法には次のような利点があります。
- 1) ドナーから病原体が混入するリスクが小さい
- 2) まれな血小板型（HLA型およびHPA型）の患者さまにも対応できる
- ・ 本プログラムでは、ドナーが見つからず、かつ血小板輸血が必須な患者さまのiPS細胞から作製した血小板を用いて、自家輸血の可能性を実現する臨床研究の実施を目標に研究と準備を行っています。

大量にしかも繰り返し使用する血小板輸血製剤



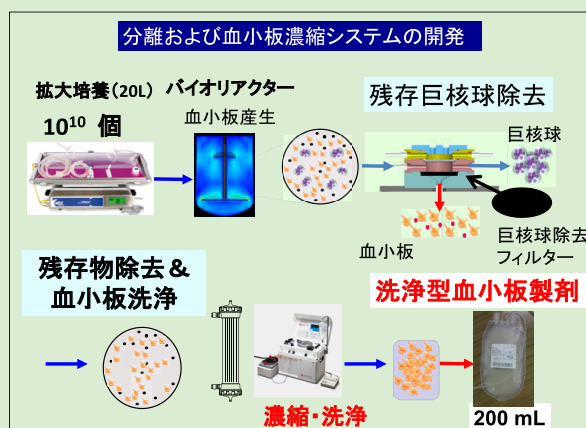
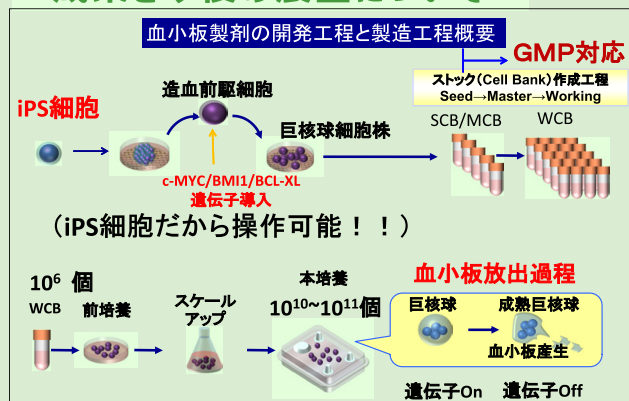
私たちが取り組んでいる課題



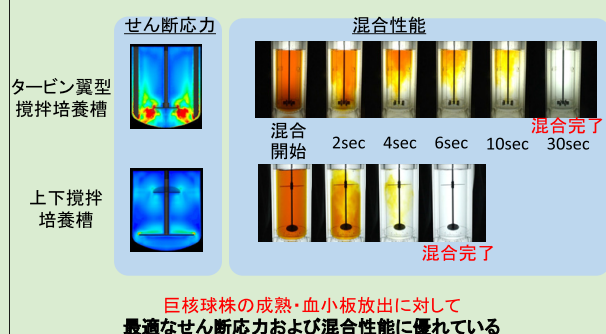
頻回に繰り返し血小板輸血を必要とする患者様の中には、ご自分の血小板型と同じ型の血小板を必要とする方がおられます。この場合には、患者様とまったく同じタイプの血小板型（HLA型およびHPA型）をもつドナーの方が繰り返し血小板を提供されています。ドナーの方の負担軽減やドナーが見つけれられない等の諸問題を解決しなければなりません。

私たちは、繰り返し血小板輸血が必要な患者さまで、ご自身と同じ型の血小板輸血ドナーが見つからない方からiPS細胞を作製します。また大量に必要な血小板を供給するための“巨核球（血小板産生細胞）を増やす方法”、“培養で製造した血小板の機能を保持する方法”、“最終的に血小板輸血製剤200mlのパッケージを製造するための血小板分離・濃縮装置の開発”に取り組んでいます。

成果と今後の展望について



生体と同じ性能をもつ血小板を放出させるバイオリアクターを開発



平成28年度中に最初の臨床研究を開始することを目指し、前臨床試験に取り組んでいます。更に開発した製造技術を臨床応用レベルへグレードアップするための最適化に現在取り組んでいます。

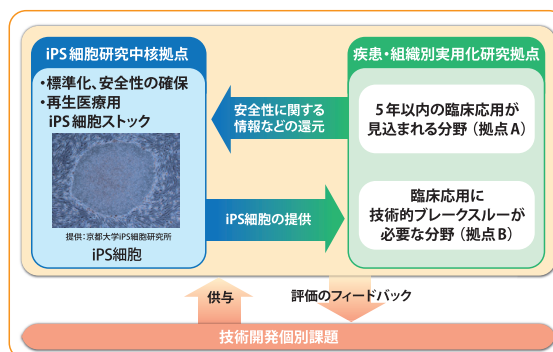
再生医療の実現化ハイウェイ構想

プログラムの概要

国際競争が激化しているiPS細胞等を使った再生医療について、我が国のアドバンテージを活かし、世界に先駆けて臨床応用をするべく研究開発を加速します。また、連続的な再生医療研究の支援による再生医療の加速、さらには疾患発症機構の解明、創薬研究等を実施します。

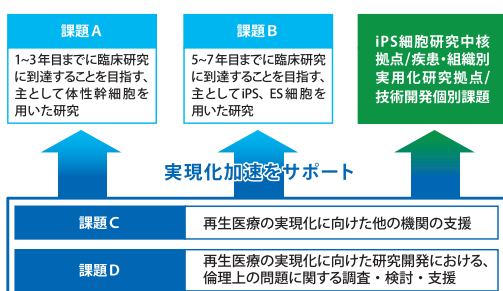
iPS細胞研究中核拠点／疾患・組織別実用化研究拠点／技術開発個別課題

「iPS細胞研究中核拠点」では、iPS細胞の臨床応用を見据えた標準化、安全性の確保を行いつつ、再生医療用iPS細胞ストックの構築を目指して必要な研究を長期的に実施します。また、「疾患・組織別実用化研究拠点」では、「iPS細胞研究中核拠点」で作製される再生医療用iPS細胞等を用いて、臨床研究を実施するために必要な研究開発を行い、疾患、組織別に責任をもって再生医療の実現を目指します。さらに、「技術開発個別課題」では、上記拠点と連携しつつ、iPS細胞等の臨床応用の幅を広げる技術開発や、より高度な再生医療を目指した技術開発を実施します。



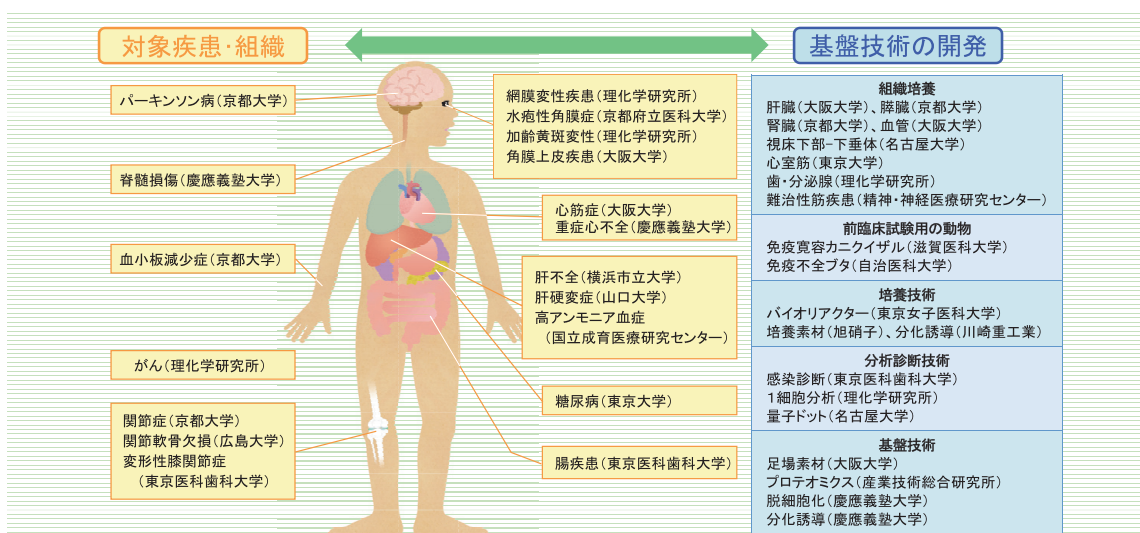
再生医療の実現化ハイウェイ

再生医療のいち早い実現のため、連続的に再生医療研究を支援するとともに、疾患・組織別拠点と連携しさらに研究を加速します。



疾患特異的iPS細胞を活用した難病研究

患者由来のiPS細胞を用いて疾患発症機構の解明、創薬研究等を実施します。



国立研究開発法人日本医療研究開発機構
 戦略推進部再生医療研究課
 TEL:03-6870-2220 Email: saisei@amed.go.jp
<http://www.amed.go.jp/program/list/01/02/006.html>

再生医療の実現化ハイウェイ構想 再生医療実用化研究事業

本事業の位置付けについて

背景

・再生医療は、機能不全になった組織、臓器を補助・再生させる医療で、今までの治療では対応困難であった疾患に対する新たな治療法となり得るものであり、その実用化は喫緊の課題である。

再生医療推進法

(H25年法律第13号)

- ・総則（目的、基本理念、責務）
- ・再生医療の迅速かつ安全な研究開発及び提供並びに普及の促進に関する基本方針の策定
- ・基本的施策（法制上の措置、先進的な再生医療の研究開発の促進、臨床研究環境の整備、等）

再生医療推進基本方針
(平成26年11月25日閣議決定)

・再生医療の研究開発から実用化までの施策の総合的な推進を図り、もって国民が受ける医療の質及び保健衛生の向上に寄与することを目的とする。

再生医療実用化の促進

安全性の確保のための研究



治療方法の探索のための研究



産学連携のための研究



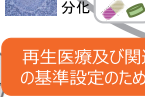
細胞の保管のための研究



再生医療の推進の基本的な方向

- ・法制上の措置等
- ・先進的な再生医療の研究開発の促進
- ・再生医療を行う環境の整備
- ・臨床研究環境の整備等
- ・再生医療製品の審査に関する体制の整備等
- ・再生医療に関する事業の促進
- ・人材の確保等
- ・安全面及び倫理面の配慮等

創薬のための研究



再生医療及び関連事業の基準設定のための研究



健康医療戦略

(H26年7月22日閣議決定)

世界に先駆けて超高齢社会を迎える我が国においては、健康長寿社会の形成に向け、世界最先端の医療技術・サービスの実現による、健康寿命の延伸が重要な課題。

- 2020年までに、
- (1) iPS細胞技術を活用して作製した新規治療薬の臨床応用
 - (2) 臨床研究又は治験に移行する対象疾患の拡大 約15件

- ・臨床研究、治験の促進
- ・人材育成の推進

研究成果を臨床研究及び治験等に反映

研究成果の評価・検証・公表・周知

再生医療実用化研究事業の概要

背景・重要課題

・再生医療は、これまで有効な治療法のなかった疾患が治療できるようになるなど、国民の期待が高い一方、新しい医療技術であることから、安全面及び倫理面から十分な配慮が必要である。

・再生医療は政府の成長戦略にも位置づけられるなど、新たな産業の創出に寄与するものとして、早期の実用化が望まれている。

健康・医療戦略
(H26年7月22日策定)
医療分野研究開発推進計画
(H26年7月22日策定)

・基礎から臨床段階まで切れ目なく一貫した支援を行うとともに、再生医療関連事業のための基盤整備ならびに、iPS細胞等の創薬支援ツールとしての活用に向けた支援を進め、新薬開発の効率性の向上を図る。

研究支援内容

基本方針及び健康・医療戦略に基づいた、再生医療臨床研究・治験等の再生医療の実用化に資するための研究を引き続き推進する。

- 各分野（心臓、皮膚、眼、口腔等）において実施する臨床研究・治験
- ・再生医療等の安全性の確保等に関する法律に従って実施する再生医療等提供計画の臨床研究に対する支援
- 企業の協力を得ながらプロトコルを組む治験又は非臨床試験
- ・アカデミアと企業との共同研究を支援することにより、再生医療等製品としての薬事承認申請を目指した治験や非臨床試験を推進する
- iPS細胞を利用した創薬研究
- ・患者由来のiPS細胞を利用し、当該疾患に対する創薬シーズを探索し、画期的な新薬を開発するための研究を推進する
- 再生医療及び関連事業の基準設定のための研究
- ・ヒトに用いるiPS細胞の品質等の基準をいち早く定め、それを国際的な基準とするための研究を支援 等

臨床研究・治験の促進

- ・再生医療の実用化の促進
- ・再生医療等製品等の開発の加速

創薬研究の推進

- ・新規治療薬の臨床応用の促進
- ・画期的な新薬の開発

再生医療等の基準の策定

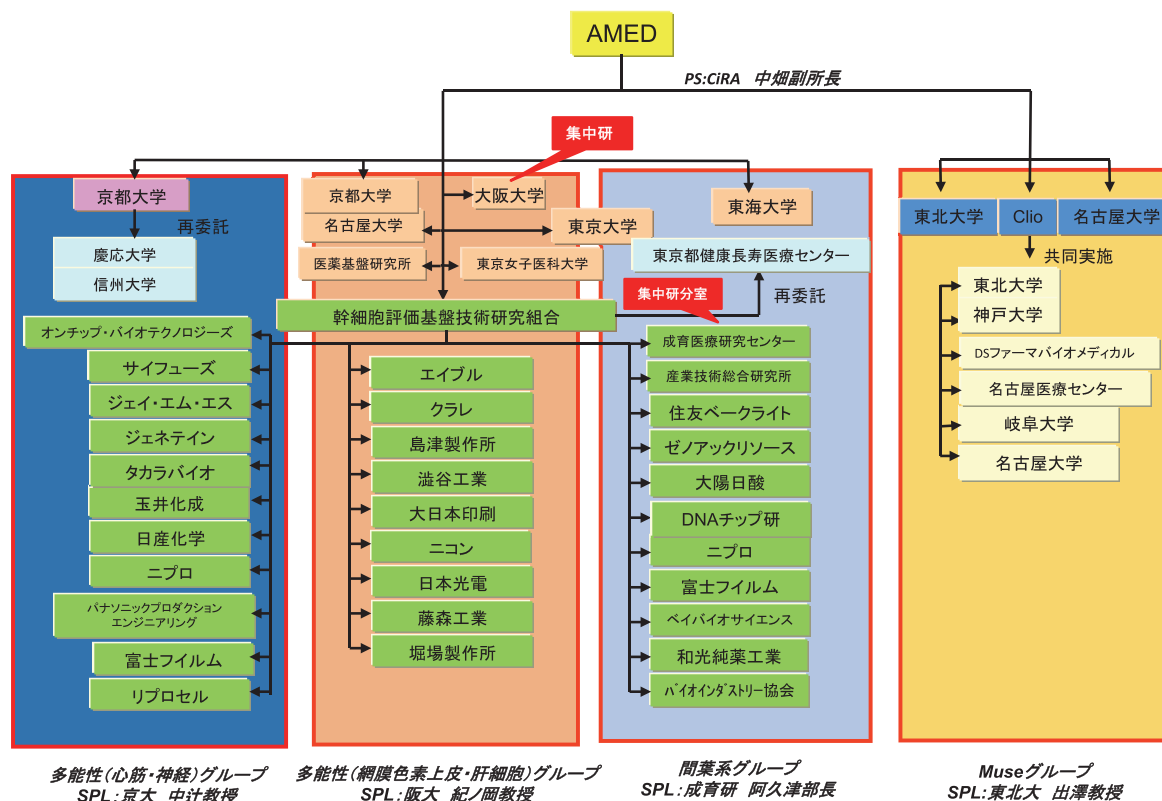
- ・細胞の品質確保に関する基準作成
- ・細胞培養加工等を行う人材の育成

国立研究開発法人日本医療研究開発機構
戦略推進部再生医療研究課
TEL:03-6870-2220
Email:saisei3@amed.go.jp

再生医療の実現化ハイウェイ構想 再生医療の産業化に向けた評価基盤技術開発事業

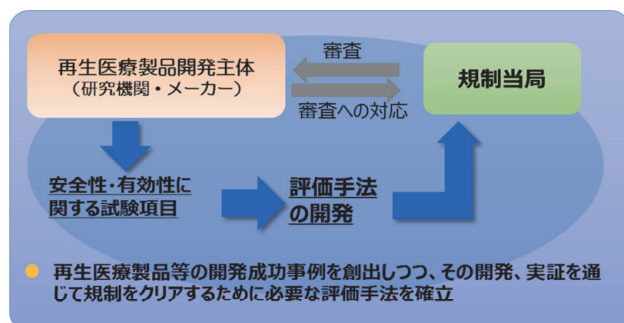
再生医療の産業化に向けた細胞製造・加工システムの開発

医療の場に供される再生医療製品を **安全かつ安価に製造・加工するための、各プロセスが連携した製造システムを開発する**。このことにより、ヒト幹細胞を応用した再生医療製品開発の促進や再生医療製品および再生医療周辺製品の国際競争力強化を図る。



再生医療等の産業化に向けた評価手法等の開発

我が国の再生医療製品等の優れた技術シーズの製品化を促進させるべく、承認審査、適合性評価等に当たって事業者が示すべき **安全性等の論拠の作成に資する評価手法の開発**を行う。



オリンパスRMS (株)	(株) J-TEC
(株) ツーセル	(株) ヘリオス
大阪大学	東京大学
JCRファーマ (株)	セルジェンテック (株)
大日本住友製薬 (株)	タカラバイオ (株)

国立研究開発法人日本医療研究開発機構
戦略推進部再生医療研究課
TEL: 03-6870-2220 Email: saisei@amed.go.jp
<http://www.amed.go.jp/program/list/01/02/006.html>



国立研究開発法人 日本医療研究開発機構



戦略推進部 再生医療研究課

<http://www.amed.go.jp/program/list/01/02>