

平成 28 年度 委託研究開発成果報告書

I. 基本情報

- 事業名： (日本語) 再生医療実現拠点ネットワークプログラム
疾患・組織別実用化研究拠点 (拠点 A)
(英語) Research Center Network for Realization of Regenerative Medicine
Centers for Clinical Application Research on Specific
Disease/Organ(Type A)
- 研究開発課題名： (日本語) 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
(英語) Development of cell replacement therapy using iPS cell-derived neural cells against Parkinson's disease and stroke
- 研究開発担当者 (日本語) 京都大学 iPS 細胞研究所 高橋 淳
所属 役職 氏名： (英語) Center for iPS Cell Research and Application, Kyoto University,
Professor, Jun Takahashi
- 実施期間： 平成 28 年 4 月 1 日 ～ 平成 29 年 3 月 31 日
- 分担研究 (日本語) 同種由来細胞移植後の有効性と安全性のモニタリング
開発課題名： (英語) Brain imaging to monitor the efficacy and safety of allogeneic
grafts
- 研究開発分担者 (日本語) 理化学研究所 ライフサイエンス技術基盤研究センター・生体機能評価研究チームチームリーダー 尾上 浩隆
所属 役職 氏名： (英語) Dynamics Imaging Bio-Function Imaging Team, Center for Life Science
Technologies Division of Bio-Function, RIKEN, Team Leader, Hirotaka
Onoe,

分担研究 (日本語) iPS 細胞由来細胞製剤の安全性評価試験法の開発及びヒト iPS 細胞由来
ドパミン神経細胞の特性・品質が及ぼす安全性への影響の評価

開発課題名: (英 語) Development for non-clinical safety study of iPS cell-derived
tissue-engineered medical products, and evaluation for effects of
character and quality of human iPS cell-derived dopaminergic nerve
cell products in safety study.

研究開発分担者 (日本語) 株式会社 新日本科学 安全性研究所 安全性評価一部 第二毒性評価室
主任 孫谷 弘明

所属 役職 氏名: (英 語) Associate Manager, Safety Assessment Unit 2, Safety Assessment
Department 1, Drug Safety Research Laboratories, Shin Nippon
Biomedical Laboratories, Ltd. Hiroaki Magotani

II. 成果の概要 (総括研究報告)

尾上浩隆グループディレクター (理化学研究所)、孫谷弘明主任 (株式会社新日本科学) らのグループとともに、パーキンソン病に対する同種他家移植の治験準備目的で、ヒト iPS 細胞由来ドパミン神経前駆細胞の有効性・安全性について検討を行った。

1) 細胞移植後に脳内で増殖する可能性のある細胞を同定する目的で以下の実験を行った。実際の移植では分化誘導 12 日目に底板マーカーである CORIN 陽性細胞のみを選別し、さらに 28 日後まで成熟させて移植する。しかし、本実験では、敢えて実際より分化日数が少なくかつ選別も行わないヒト iPS 細胞由来の神経系細胞をラット脳内に移植した。移植後 14 週間の経過観察で、Sox1/Pax6 陽性の初期神経前駆細胞がロゼットを形成しながら脳内で分裂増殖していた。さらに、CORIN 陽性細胞のみを選別することによりこれらの初期神経前駆細胞は除去されること、またもしこれらの細胞が残存していても放射線照射によって増殖が抑えられることが明らかとなった。(勝川ら、Stem Cells Dev. 2016)

2) 治験用プロトコルで作製したヒト iPS 細胞由来ドパミン神経細胞をパーキンソン病モデルカニクイザルの脳内に移植し、経過観察を行った。神経症状スコアおよびビデオ記録に基づく解析で移植による行動改善が確認され、PET や MRI による画像解析で移植細胞によるドパミン合成が明らかとなった。また、脳切片の組織学的解析では、腫瘍形成はみられず多くのドパミン神経細胞が生着していることが確認され、臨床応用の安全性、有効性が示唆された。(菊地ら、投稿中)

3) 治験の準備として、京都大学 iPS 細胞研究所で樹立された臨床用ヒト iPS 細胞株からマスター細胞株、ワーキング細胞株を作製した。さらに PMDA と治験に向けての相談を行い、非臨床研究の内容や治験プロトコルについての議論を重ねた。それらに基づき、臨床に用いる細胞株の特性解析、さらにはその細胞を用いての造腫瘍試験、毒性試験、機能解析を開始した。

We are preparing for a clinical trial using human iPSC cell-derived dopaminergic (DA) progenitor cells to treat Parkinson's disease (PD). Co-investigators are Dr. Hirotaka Onoe at Division of Bio-Function Dynamics Imaging, RIKEN Center for Life Science Technologies, and Dr. Hiroaki Magotani at Shin Nippon Biomedical Laboratories, LTD.

1) To identify tumorigenic components in human iPSC-derived neural cells and to determine whether irradiation can prevent tumor formation by these cells, we induced neural cells from hiPSCs and grafted them into the striatum of immunodeficient rats. Immunohistological analyses revealed that SOX1⁺PAX6⁺ neuroepithelial cells formed rosette structures in the grafts, suggesting their tumorigenic potential. In addition, their proliferation was reduced by gamma-ray irradiation. (Katsukawa et al. Stem Cells Dev. 2016)

2) To identify a cell surface marker of ventral midbrain, we employ a double selection strategy for cells expressing both CORIN and LMX1A::GFP and found a novel marker to enrich mDA progenitors, LRTM1. When transplanted into 6-OHDA-lesioned rats, human iPSC-derived LRTM1⁺ cells survive and differentiate into mDA neurons *in vivo*, resulting in a significant improvement in motor behavior without tumor formation. In addition, there was marked survival of mDA neurons following transplantation of LRTM1⁺ cells into the brain of an MPTP-treated monkey. (Samata et al. Nat Commun. 2016)

3) We have established master and working cell banks for a clinical trial. Based on the discussion with PMDA, we have started pre-clinical study using the clinical-grade iPSC cell lines, including characterization, toxicity test, tumorigenic test and functional analysis.

III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧 (国内誌 0 件、国際誌 7 件)

1. Katsukawa M, Nakajima Y, Fukumoto A, Doi D, Takahashi J. Fail-safe therapy by gamma-ray irradiation against tumor formation by human induced pluripotent stem cell-derived neural progenitors. Stem Cells Dev 2016, 25(11), 815-825
2. Nishimura K and Takahashi J. Drug discovery toward successful cell transplantation therapy for Parkinson's disease using human pluripotent stem cells. Adv Regen Biol. 2016, 3, 31772
3. Parr CJ, Katayama S, Miki K, Kuang Y, Yoshida Y, Morizane A, Takahashi J, Yamanaka S, Saito H. MicroRNA-302 switch to identify and eliminate undifferentiated human pluripotent stem cells. Sci Rep in press 2016, 6, 32532
4. Mishima T, Ishikawa T, Imamura K, Kondo T, Koshiba Y, Takahashi R, Takahashi J, Watanabe A, Fujii N, Tsuboi Y, Inoue H. Cytoplasmic Aggregates of dynactin in iPSC-derived

tyrosine hydroxylase-positive neurons from a patient with Perry syndrome. *Park Relat Disord.* 2016, 30, 67-72

5. Samata B, Doi D, Nishimura K, Kikuchi T, Watanabe A, Sakamoto Y, Kakuta J, Ono Y, Takahashi J. Purification of functional human ES and iPSC-derived midbrain dopaminergic progenitors using LRTM1. *Nat Commun.* 2016, 7, 13097
6. Ishikawa T, Imamura K, Kondo T, Koshiya Y, Hara S, Ichinose H, Furujo M, Kinoshita M, Oeda T, Takahashi J, Takahashi R. Inoue H. Genetic and pharmacological correction of aberrant dopamine synthesis using patient iPSCs with BH4 metabolism disorders. *Hum Mol Genet.* 2016, 25(23), 5188-5197
7. Kikuchi T, Morizane A, Doi D, Okita K, Nakagawa M, Yamakado H, Inoue H, Takahashi R, Takahashi J. Idiopathic Parkinson's disease patient-derived induced pluripotent stem cells function as midbrain dopaminergic neurons in rodent brains. *J Neurosci Res.* 2017, in press

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. Pre-clinical Study for Kyoto Trial, 口頭, Jun Takahashi, GForce-PD 2016 Annual Meeting, 2016/4/19, 国外
2. iPS細胞を用いたパーキンソン病治療に向けて, 口頭, 高橋 淳, BIO tech 2016, 2016/5/12, 国内
3. Generation of ventral and dorsal telencephalic tissues from human embryonic stem cells, 口頭, Hideya Sakaguchi, 第57回日本神経学会学術大会, 2016/5/18, 国内
4. Cell-Based Therapeutics for Parkinson's disease, 口頭, Jun Takahashi, 第57回日本神経学会学術大会, 2016/5/20, 国内
5. パーキンソン病治療に対する Cell-Based Therapeutics, 口頭, 高橋 淳, 第36回日本脳神経外科コンGRESS, 2016/5/21, 国内
6. 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, 口頭, 高橋 淳, 再生医療プログラム間連携のための情報交換会, 2016/5/30, 国内
7. パーキンソン病に対する細胞移植と免疫抑制, 口頭, 高橋 淳, 第37回日本炎症・再生医学学会, 2016/6/16, 国内
8. Human leukocyte antigen(HLA)-matched cell transplantaion for Parkinson's disease with induced pluripotent stem cells, ポスター, Asuka Morizane, ISSCR2016 Annual Meeting, 2016/6/22, 国外
9. Induced pluripotent stem cells derived from idiopathic Parkinson's disease patients improve motor function of Parkinson's disease model monkeys. ポスター, Tetsuhiro Kikuchi, ISSCR2016 Annual Meeting, 2016/6/22, 国外
10. Generation of functional hippocampal neurons from self-organizing human embryonic stem cell-derived dorsomedial telencephalic tissue, ポスター, Hideya Sakaguchi, ISSCR2016 Annual Meeting, 2016/6/22, 国外

11. The inhibition of both WNT signaling pathways induced the cortex including motor neurons from human pluripotent stem cells, ポスター, Makoto Motono, Takenori Ogura, Yoshihiko Ioroi, Jun Takahashi ISSCR2016 Annual Meeting 2016/6/23, 国外
12. Quality control of iPSC-derived dopaminergic cell grafts for Parkinson's disease patients, ポスター, Daisuke Doi, ISSCR2016 Annual Meeting, 2016/6/24, 国外
13. Novel cell surface marker for purification of human ESC/iPSC-derived midbrain dopaminergic progenitors, ポスター, Bumpei Samata, ISSCR2016 Annual Meeting, 2016/6/24, 国外
14. Generation of 3D-hippocampal tissues from human pluripotent stem cell, 口頭, Hideya Sakaguchi, Mototsugu Eiraku, Yoshiki Sasai, Jun Takahashi, CiRA Retreat 2016, 2016/7/28, 国内
15. Induced pluripotent stem cells derived from idiopathic Parkinson's disease patients improved motor function of Parkinson's disease model monkeys, ポスター, Tetsuhiro Kikuchi, CiRA Retreat 2016, 2016/7/29, 国内
16. Novel cell surface marker for purification of human ESC/iPSC-derived midbrain dopaminergic progenitors, ポスター, Bumpei Samata, CiRA Retreat 2016, 2016/7/29, 国内
17. Purification of cortical pyramidal neuron progenitors using development related surface markers, ポスター, Noritaka Sano, CiRA Retreat 2016, 2016/7/29, 国内
18. Micro-dissection of sub-class cortical neuron by using microRNA and pluripotent stem cell, ポスター, Tadashi Sunohara, CiRA Retreat 2016, 2016/7/29, 国内
19. The appropriate developmental stage of embryonic cortical tissue graft to reconstruct adult motor neural circuits, ポスター, Takenori Ogura, CiRA Retreat 2016, 2016/7/29, 国内
20. The influence of hiPSCs-derived telencephalon progenitor cells in neural network remodeling of rats brain ischemia, ポスター, Yulius Hermanto, CiRA Retreat 2016, 2016/7/29, 国内
21. Administration of zonisamide promotes survival of grafted dopaminergic neurons derived from human induced pluripotent stem cells (iPSCs), ポスター, Yoshifumi Miyawaki, CiRA Retreat 2016, 2016/7/29, 国内
22. Cell Replacement Therapy for Parkinson's Disease and Rehabilitation, ポスター, Sadaharu Torikoshi, CiRA Retreat 2016, 2016/7/29, 国内
23. Cell-based therapy for Parkinson's disease, 口頭, Jun Takahashi, KSSCR 2016 Annual Meeting, 2016/8/19, 国外
24. パーキンソン病に対する Cell-based therapy, 口頭, 高橋 淳, 大日本住友製薬株式会社 社内講演, 2016/8/23, 国内
25. 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, 口頭, 高橋 淳, 第 57 回 PM 会議, 2016/9/7, 国内
26. パーキンソン病に対する Cell-based therapy, 口頭, 高橋 淳, 第 17 回東北神経変性疾患研究会, 2016/9/9, 国内

27. iPS 細胞を用いたパーキンソン病治療に向けて, 口頭, 高橋 淳, パーキンソン病の基礎と臨床, 2016/9/16, 国内
28. パーキンソン病に対する Cell-based therapy, 口頭, 高橋 淳, 第 26 回日本医療薬学会年会, 2016/9/19, 国内
29. パーキンソン病に対する Cell-based therapy, 口頭, 高橋 淳, 平成 28 年度神戸再生医療勉強会 (第 3 回), 2016/9/21, 国内
30. パーキンソン病に対する Cell-based therapy, 口頭, 高橋 淳, 日本脳神経外科学会第 75 回学術総会, 2016/9/29, 国内
31. ヒト iPS 細胞移植後の腫瘍形成に対する放射線治療効果の検討, 口頭, 土井 大輔, 日本脳神経外科学会第 75 回学術総会, 2016/9/29, 国内
32. Stem cell-based therapy for Parkinson's disease, 口頭, Jun Takahashi, Cell and Gene Meeting on the Mesa 2016, 2016/10/7, 国外
33. パーキンソン病に対する Cell-based therapy, 口頭, 高橋 淳, 第 52 回日本赤十字社医学会総会, 2016/10/21, 国内
34. パーキンソン病に対する Cell-based therapy, 口頭, 高橋 淳, 第 1 回再生医療産学官連携シンポジウム, 2016/10/24, 国内
35. Cell therapy for Parkinson's disease, 口頭, Asuka Morizane, Kyoto-Swiss symposium, 2016/10/31, 国内
36. Regenerative Medicine / Innovation of iPS cell technology towards clinical application, 口頭, 高橋 淳, 第 53 回日米財人会議, 2016/11/4, 国内
37. パーキンソン病に対する細胞移植治療, 口頭, 高橋 淳, 第 34 回日本神経治療学会総会, 2016/11/5, 国内
38. パーキンソン病に対する Cell-based therapy, 口頭, 高橋 淳, 日本蘇生学会第 35 回大会, 2016/11/12, 国内
39. iPS 細胞を用いたパーキンソン病治療に向けて, 口頭, 高橋 淳, 第 14 回倉敷神経内科疾患フォーラム, 2016/11/25, 国内
40. パーキンソン病に対する Cell-based therapy, 口頭, 高橋 淳, 第 39 回日本分子生物学会年会, 2016/11/30, 国内
41. Cell-Based Therapeutics for Parkinson's disease, 口頭, 高橋 淳, 第 1 回 DIA 再生医療製品シンポジウム, 2016/12/16, 国内
42. iPS 細胞を用いたパーキンソン病治療に向けて, 口頭, 高橋 淳, 滋賀医科大学 iKODE プログラム 成果発表会・シンポジウム, 2017/1/10, 国内
43. iPS 細胞を用いたパーキンソン病治療に向けて, 口頭, 高橋 淳, 名古屋大学医学部講義, 2017/1/18, 国内
44. パーキンソン病治療に対する Cell-based therapy, 口頭, 高橋 淳, 医療産業イノベーションフォーラム, 2017/1/24, 国内
45. パーキンソン病治療に対する Cell-based therapy, 口頭, 高橋 淳, 日本皮膚科学会第 79 回沖縄地方大会, 2017/1/29, 国内
46. パーキンソン病治療に対する Cell-based therapy, 口頭, 高橋 淳, 2017 年ライフサイエンス知財フォーラム, 2017/2/7, 国内

47. iPS 細胞を用いたパーキンソン病治療に向けて, 口頭, 高橋 淳, iPS 細胞研修会, 2017/3/4, 国内
48. パーキンソン病に対する Cell-based therapy, 口頭, 高橋 淳, 第 16 回日本再生医療学会総会, 2017/3/8, 国内
49. LRTM1 を用いたヒト ES/iPS 細胞由来機能的ドパミン神経前駆細胞の純化, 口頭, 佐俣 文平, 第 16 回日本再生医療学会総会, 2017/3/8-9, 国内
50. カニクイザル iPS 細胞を用いた脳への神経細胞同種移植における MHC 適合と免疫抑制療法, 口頭, 森実 飛鳥, 第 16 回日本再生医療学会総会, 2017/3/9, 国内
51. 霊長類パーキンソン病モデルへのヒト iPS 細胞由来ドパミン神経前駆細胞移植, ポスター, 菊地 哲広, 第 16 回日本再生医療学会総会, 2017/3/9, 国内
52. 細胞の自己組織化能によって形成されるヒト多能性幹細胞由来の脳組織～再生医療へ向けた課題と展望～, 口頭, 坂口 秀哉, 第 16 回日本再生医療学会総会, 2017/3/9, 国内
53. パーキンソン病の再生医療 (iPS 細胞など), 口頭, 高橋 淳, 第 6 回日本パーキンソン病・運動障害疾患学会教育研修会, 2017/3/11, 国内
54. Cell therapy for Parkinson's disease with induced pluripotent stem cell, 口頭, Asuka Morizane, ADPD 2017 (13th International Conference on Alzheimer's and Parkinson's Disease), 2017/3/29, 国外

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

1. iPS 細胞を用いたパーキンソン病治療に向けて, 高橋 淳, 結成 30 周年千葉県パーキンソン病友の会記念講演会, 2016/6/5, 国内
2. パーキンソン病に対する iPS 細胞を用いた細胞移植治療, 森実 飛鳥, 第 10 回パーキンソン病勉強会 in 会津, 2016/6/5, 国内
3. iPS 細胞を用いたパーキンソン病治療に向けて, 高橋 淳, 愛知県難病団体連合会 2016 年度大会, 2016/10/10, 国内
4. iPS 細胞を用いたパーキンソン病治療, 高橋 淳, 秋田パーキンソン病市民フォーラム, 2016/11/19, 国内
5. iPS 細胞を用いたパーキンソン病治療に向けて, 高橋 淳, CIRA 活動報告会, 2016/12/11, 国内
6. 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, 高橋 淳, 平成 28 年度 AMED 再生医療公開シンポジウム, 2017/2/2, 国内
7. Cell-based therapy for Parkinson's disease, Jun Takahashi, カナディアンアカデミー講演, 2017/3/15, 国内
8. iPS 細胞を用いた再生医療とは, 高橋 淳, 再生医療産業化推進事業市民講座, 2017/3/26, 国内

(4) 特許出願

該当ありません。

平成 28 年度 委託研究開発成果報告書

I. 基本情報

- 事業名： (日本語) 再生医療実現拠点ネットワークプログラム
疾患・組織別実用化研究拠点 (拠点 A)
(英語) Research Center Network for Realization of Regenerative Medicine
Centers for Clinical Application Research on Specific
Disease/Organ (Type A)
- 研究開発課題名： (日本語) 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
(英語) Development of cell replacement therapy using iPS cell-derived neural cells against Parkinson's disease and stroke
- 研究開発担当者 (日本語) 京都大学 iPS 細胞研究所 教授 高橋 淳
所属 役職 氏名： (英語) Center for iPS Cell Research and Application,
Kyoto University, Professor, Jun Takahashi
- 実施期間： 平成 28 年 4 月 1 日 ~ 平成 29 年 3 月 31 日
- 分担研究 (日本語) 同種由来細胞移植後の有効性と安全性のモニタリング
開発課題名： (英語) Brain imaging to monitor the efficacy and safety of allogeneic
Grafts
- 研究開発分担者 (日本語) 理化学研究所 ライフサイエンス技術基盤研究センター・生体機能評価研
究チーム チームリーダー 尾上 浩隆
所属 役職 氏名： (英語) Dynamics Imaging Bio-Function Imaging Team,
Center for Life Science Technologies Division of Bio-Function,
RIKEN, Team Leader, Hiroataka Onoe

II. 成果の概要（総括研究報告）

研究開発代表者：京都大学・iPS細胞研究所・高橋 淳 総括研究報告を参照。

III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧（国内誌 1件、国際誌 0件）

1. 田原 強、尾上浩隆、iPS細胞由来移植細胞の安全性・有効性評価事例パーキンソン病に対するiPS細胞由来神経細胞の有効性・安全性評価、iPS細胞の安全・高品質な作製技術、技術情報協会、81-84, 2016.

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. Induced pluripotent stem cells derived from idiopathic Parkinson's disease patients improved motor function of Parkinson's disease model monkeys, Kikuchi T, Morizane A, Doi D, Magotani H, Okita K, Nakagawa M, Inoue H, Takahashi R, Mizuma H, Takara S, Onoe H, Hayashi T, Takahashi J, ISSCR 2016, 2016/6/22-25, San Francisco, USA, 国外
2. Human Leukocyte antigen (HLA) matched cell transplantation for Parkinson's disease with induced pluripotent stem cells, Morizane A, Kikuchi T, Doi D, Magotani H, Okita K, Mizuma H, Takara S, Onoe H, Hayashi T, Shiina T, Ishigaki H, Ogasawara K, Yamanaka S, Takahashi J, ISSCR 2016, 2016/6/22-25, San Francisco, USA, 国外

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み
特になし

(4) 特許出願
特になし

平成 28 年度 委託研究開発成果報告書

I. 基本情報

事業名： (日本語) 再生医療実現拠点ネットワークプログラム疾患・組織別実用化研究拠点
(拠点A)

(英語) Research Center Network for Realization of Regenerative Medicine
Centers for Clinical Application Research on Specific
Disease/Organ (Type A)

研究開発課題名： (日本語) 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

(英語) Development of cell replacement therapy using iPS cell-derived
neural cells against Parkinson's disease and stroke

研究開発担当者 (日本語) 京都大学 iPS 細胞研究所 教授 高橋 淳

所属 役職 氏名： (英語) Center for iPS Cell Research and Application,
Kyoto University, Professor, Jun Takahashi

実施期間： 平成 28 年 4 月 1 日 ～ 平成 29 年 3 月 31 日

分担研究 (日本語) iPS 細胞由来細胞製剤の安全性評価試験法の開発及びヒト iPS 細胞由来
ドパミン神経細胞の特性・品質が及ぼす安全性への影響の評価

開発課題名： (英語) Development for non-clinical safety study of iPS cell-derived
tissue-engineered medical products, and evaluation for effects of
character and quality of human iPS cell-derived dopaminergic nerve
cell products in safety study.

研究開発分担者 (日本語) 株式会社 新日本科学 安全性研究所 安全性評価一部 第二毒性評価室
主任 孫谷 弘明

所属 役職 氏名： (英語) Associate Manager, Safety Assessment Unit 2, Safety Assessment
Department 1, Drug Safety Research Laboratories, Shin Nippon
Biomedical Laboratories, Ltd., Hiroaki Magotani

II. 成果の概要（総括研究報告）

研究開発代表者：京都大学 iPS 細胞研究所 高橋 淳 総括研究報告を参照。

III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧（国内誌 0 件、国際誌 0 件）

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表
該当なし

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み
該当なし

(4) 特許出願
該当なし