

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) 再生医療実用化研究事業  
(英語) Research Project for Practical Applications of Regenerative Medicine

研究開発課題名： (日本語) 同種血小板輸血製剤の上市に向けた開発  
(英語) Development towards the launch of allogeneic platelet transfusion products

研究開発担当者 (日本語) 国立大学法人京都大学 iPS細胞研究所・教授 江藤浩之  
所属 役職 氏名： (英語) Kyoto University, Center for iPS Cell Research and Application, Professor, Koji Eto

実施期間： 平成28年4月1日 ～ 平成29年3月31日

研究開発分担者 (日本語) 京都大学大学院医学研究科・教授・高折晃史  
所属 役職 氏名： (英語) Kyoto University Graduate School of Medicine, Professor, Akifumi Takaori

研究開発分担者 (日本語) 京都大学大学院医学研究科・教授・武藤 学  
所属 役職 氏名： (英語) Kyoto University Graduate School of Medicine, Professor, Manabu Muto

研究開発分担者 (日本語) 慶應義塾大学医学部 輸血細胞療法センター・講師・渡邊直英  
所属 役職 氏名： (英語) Keio University School of Medicine, Center for Transfusion Medicine and Cell Therapy, Junior Associate Professor, Naohide Watanabe

## II. 成果の概要（総括研究報告）

同種輸血用の iPS 細胞由来血小板製剤の治験届提出に向け、PMDA との非臨床安全性試験に関する薬事戦略相談に加えて、臨床試験(治験フェーズ1)のプロトコールに関する対面助言まで終了した。血小板を産出する治験用の巨核球細胞株は、京都大学 iPS 細胞研究所が製造する iPS 細胞ストッククローンである YZWJ 株 (HLA ホモストック 1 位) から樹立に成功し、マスターセルバンクの製造を経て、ウイルス等安全性試験の外注まで進んでいたが、YZWJ 株の製造工程での逸脱事象の判定から、同株由来の巨核球細胞株が治験には使用不可であることが決定された。したがって、H29 年度内での治験届提出及び治験開始を想定していたが、iPS 細胞の選定作業から再度スタートする必要性が生じ、開発は 18 ヶ月以上遅延することが明らかとなった。

平成 28 年度の主たる成果は

- (1) フェーズ I 臨床試験への製造を見越した培養・血小板放出・製剤精製工程に関し、研究用巨核球株を使用して製造工程などを決定し、PMDA との安全性試験に関する対面助言を終了した。
- (2) 治験フェーズ I/IIa 臨床プロトコールを決定し、PMDA との臨床プロトコール対面助言を終了した。
- (3) 治験用巨核球細胞株のマスターセル製造まで完了した（上記の理由にて、不使用の決定）。
- (4) 製造工程に使用する新規薬剤、血小板の GPIb-alpha 切断阻害（血小板機能維持）薬 KP457、およびリコンビナントトロンボポイエチン(TPO) の代用薬である低分子化合物 TA-316 に関する論文発表を行った。

In fiscal year 2016 (FY2016), in addition to the pharmaceutical affairs consultation on R&D strategy regarding nonclinical safety test, we completed the face-to-face consultation with PMDA on the protocol for the clinical trial (trial phase 1) of iPS cell derived-platelet allotransfusion products. Megakaryocyte cell lines for clinical trials were successfully established from YZWJ strain, a 1<sup>st</sup> ranking homozygous HLA haplotype iPS cell stock clone manufactured by CiRA. A master cell bank was produced and was subject to safety tests of virus and others by testing service companies. However, megakaryocyte cell lines derived from YZWJ strain were determined to be unusable in clinical trials due to a manufacturing deviation event of the strain. Therefore, the overall development became evident to be delayed for 18 months or more.

Main achievements in FY2016:

- (1) With respect to the culture, platelet release and purification processes applicable to production for the Phase I clinical trial, manufacturing process protocols were determined using the research-use megakaryocyte stock, and the face-to-face consultation with PMDA was completed.
- (2) Clinical trial phase I / IIa protocol was fixed, and the face-to-face consultation with PMDA for the protocol was completed.
- (3) Production of master cells from the clinical trial-use megakaryocytic cell line was completed (due to the aforementioned reason, determined as of nonuse).
- (4) We published papers on novel drugs used in the manufacturing process, the platelet GPIb-alpha cleavage

inhibitor KP 457 for maintaining platelet functionality, and thrombopoietin (TPO) mimetic small molecule drug TA-316 as a recombinant TPO substitute.

### 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 4 件、国際誌 9 件)

1. Karagiannis P, Eto K. Ten years of induced pluripotency: from basic mechanisms to therapeutic applications. *Development*. 2016 .143(12) : 2039-43.
2. Karagiannias P, Endo H, Eto K. Generating Blood from iPS Cells. *Molecular and Cellular Biology of Platelet Formation: Implications in Health and Disease* , Springer. 2017. 399-420.
3. Hirata S, Murata T, Suzuki S, Nakamura S, Jono-Ohnishi R, Hirose H, Sawaguchi A, Nishimura S, Sugimoto N, Eto K. Selective inhibition of ADAM17 efficiently mediates glycoprotein Iba retention during ex vivo generation of human induced pluripotent stem cell-derived platelets. *Stem Cells Translational Medicine*. 2017. 6(3):720-730.
4. Aihara A, Koike T, Abe N, Nakamura S, Sawaguchi A, Nakamura T, Sugimoto N, Nakauchi H, Nishino T, Eto K. Novel TPO receptor agonist TA-316 contributes to platelet biogenesis from human iPS cells. *Blood Advances*. 2017. 1(7) :468-476.
5. Kataoka K, Shiraishi Y, Takeda Y, Sakata S, Matsumoto M, Nagano S, Maeda T, Nagata Y, Kitanaka A, Mizuno S, Tanaka H, Chiba K, Ito S, Watatani Y, Kakiuchi N, Suzuki H, Yoshizato T, Yoshida K, Sanada M, Itonaga H, Imaizumi Y, Totoki Y, Munakata W, Nakamura H, Hama N, Shide K, Kubuki Y, Hidaka T, Kameda T, Masuda K, Minato N, Kashiwase K, Izutsu K, Takaori-Kondo A, Miyazaki Y, Takahashi S, Shibata T, Kawamoto H, Akatsuka Y, Shimoda K, Takeuchi K, Seya T, Miyano S, Ogawa S. Aberrant PD-L1 expression through 3'-UTR disruption in multiple cancers. *Nature*. 2016; 534(7607):402-6.
6. Nishizawa M, Chonabayashi K, Nomura M, Tanaka A, Nakamura M, Inagaki A, Nishikawa M, Takei I, Oishi A, Tanabe K, Ohnuki M, Yokota H, Koyanagi-Aoi M, Okita K, Watanabe A, Takaori-Kondo A, Yamanaka S, Yoshida Y. Epigenetic Variation between Human Induced Pluripotent Stem Cell Lines Is an Indicator of Differentiation Capacity. *Cell Stem Cell*. 2016;19(3):341-54.
7. Maeda T, Nagano S, Ichise H, Kataoka K, Yamada D, Ogawa S, Koseki H, Kitawaki T, Kadowaki N, Takaori-Kondo A, Masuda K, Kawamoto H. Regeneration of CD8 $\alpha$  T Cells from T-cell-Derived iPSC Imparts Potent Tumor Antigen-Specific Cytotoxicity. *Cancer Res*. 2016;76(23):6839-50.
8. Nomura M, Iwasa S, Tsushima T, Kato K, Yasui H, Boku N, Muto M, Kei Muro. Active salvage chemotherapy versus best supportive care for patients with recurrent or metastatic squamous cell carcinoma of the esophagus refractory or intolerable to fluorouracil, platinum, and taxane. *Cancer Chemother Pharmacol*. 2016. 78(6):1209-1216.
9. Katada C, Yokoyama T, Yano T, Kaneko K, Oda I, Shimizu Y, Doyama H, Koike T, K, Hirao M, Okada H, Yoshii T, Konishi K, Yamanouchi T, Tsuda T, Omori T, Kobayashi N, Shimoda T, Ochiai A, Amanuma Y, Ohashi S, Matsuda T, Ishikawa H, Yokoyama A, Muto M. Alcohol consumption and multiple dysplastic lesions increase risk of squamous cell carcinoma in the esophagus, head, and neck. *Gastroenterology*. 2016. 151(5):860-869.

10. 重盛智大・江藤浩之、iPS 細胞技術を用いた血小板製剤の開発—献血に依存しない in vitro 血小板製造の実現に向けて、医学のあゆみ、2016、Vol.257 No.3 : 208-212.
11. 中村壮・江藤浩之、iPS 細胞からの血小板分化と臨床応用、小児内科、2016、Vol.48 No.7 : 1067-1069.
12. 杠 明憲・江藤浩之、生命維持装置として登場した巨核球による造血幹細胞制御機構、実験医学増刊 再生医療と疾患解明の鍵となる組織幹細胞、2016、Vol.34 No.17 : 76-81.
13. 福永淳一・江藤浩之、iPS 細胞による再生医療：血小板、臨床薬学テキストシリーズ バイオ医薬品と再生医療、2016、pp218-223.

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. iPS 細胞由来血小板の臨床試験に向けた開発現状報告、口頭、江藤浩之、第 64 回日本輸血・細胞治療学会総会、2016/4/30、国内.
2. Challenge of “HLA omnipotent platelets” for overcoming allogenic immune response using induced Pluripotent Stem Cell (iPSC) technology、口頭、Daisuke Suzuki, Naoshi Sugimoto, Norihide Yoshikawa, Sou Nakamura, Hiroshi Endo, Akitsu Hotta and Koji Eto、第 14 回幹細胞シンポジウム、2016/5/20、国内.
3. 「iPS 細胞を基盤とする血小板製剤の開発と臨床試験」「同種血小板輸血製剤の上市に向けた開発」、口頭、杉本直志・江藤浩之、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.
4. Plenary VII : Cell therapy in clinical trials “How should we generate 300b platelets from iPS cells?”、口頭、Koji Eto、ISSCR 2016、Jun25,2016、国外.
5. ヒト iPS 細胞を用いた血小板の生産に関する最新の話、口頭、江藤浩之、第 23 回八幡平造血セミナー、2016/8/20、国内.
6. iPS 細胞由来血小板製造の出口戦略、口頭、江藤浩之、第 17 回 Pharmaco-Hematology、2016/9/3、国内.
7. Engineering Biogenesis of Human Platelets by iPS Cell Technology and New Type of Bioreactor System、口頭、Koji Eto、Platelets 2016、Sep18,2016、国外.
8. Production and purification of 1U/300 billion platelets towards development of universal type transfusion products using iPS cell technology、口頭、Koji Eto、Cell Symposium: 10Years of iPSCs、Sep26,2016、国外.
9. Universal Platelet Products using iPS Cell Technology、口頭、江藤浩之、The 8th Congress of the International Federation of Shock Societies、2016/10/5、国内.
10. iPS 細胞由来血小板製剤の出口戦略、口頭、江藤浩之、第 52 回日本赤十字社医学会総会、2016/10/21、国内.
11. なぜ iPS 細胞を使うのか？献血に依存しない血小板製剤の開発ストーリー、口頭、江藤浩之、新薬理学セミナー2016、2016/11/19、国内.
12. Natural Killer Cell Activities Against iPSCs-Derived HLA-Knockout Platelets and Megakaryocytes Reveal Perfect Rejection Profiles for Allogeneic Transfusion、Poster、Daisuke Suzuki, Naoshi Sugimoto, Norihide Yoshikawa, Hiroshi Endo, Sou Nakamura, Akitsu Hotta

- and Koji Eto, 58th ASH Annual Meeting & Exposition, 2016/12/5、国外.
13. Synthetic miRNA Switch Technology Elucidates Heterogeneity in Regulation of Immortalized Megakaryocyte Cell Lines, Associated with Improvement of Platelet Generation Efficiency for Clinical Use, Poster, Kazuya Hashimoto, Satoshi Matsuura, Yoshihiko Fujita, Karin Hayashi, Naoshi Sugimoto, Takuya Yamamoto, Hirohide Saito and Koji Eto, 58th ASH Annual Meeting & Exposition, 2016/12/5、国外.
  14. iPS 細胞技術を基盤とする血小板製剤の開発と臨床試験・同種血小板輸血製剤の上市に向けた開発、ポスター、中村壮・江藤浩之、平成 28 年度 AMED 再生医療公開シンポジウム、2017/2/2、国内.
  15. NK 細胞から見た HLA 欠失血小板の有用性と安全性の保証、口頭、鈴木大助、杉本直志、吉川典秀、中村壮、遠藤大、堀田秋津、江藤浩之、第 16 回日本再生医療学会総会、2017/3/8、国内
  16. miRNA スイッチテクノロジーによる工業化製造に向けた血小板産生の不均一性改善方法の開発、口頭、橋本一哉、松浦理史、藤田祥彦、林香倫、杉本直志、山本拓也、齊藤博英、江藤浩之、第 16 回日本再生医療学会総会、2017/3/9、国内.
  17. Human bone marrow mesenchymal stromal/stem cells modulate IMiDs-induced differentiation of HSPCs. [Abstract #OS-1-90]、口頭、Fujii S, Miura Y, Iwasa M, Fujishiro A, Sugino N, Sato A, Yokota A, Hirai H, Takaori-Kondo A, Ichinohe T, Maekawa T、第 78 回日本血液学会学術総会、2016/10/13、国内.
  18. ウサギを用いた改良型血小板血中滞留時間測定法によるヒト血小板の経時的劣化の検討、口頭、渡邊直英、野川誠之、江藤浩之、半田誠、第 64 回日本輸血細胞治療学会総会、2016/4/29-5/1、国内.
  19. ウサギを用いた改良型出血時間測定法によるヒト血小板の経時的劣化の検討、口頭／ポスター両方、渡邊直英、野川誠之、江藤浩之、半田誠、第 38 回日本血栓止血学会学術集会、2016/6/16-18、国内

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

1. iPS 細胞技術による血小板製剤の開発、杉本直志、江藤浩之、京都大学アカデミックデイ、2016/9/18、国内.
2. iPS 細胞技術を基盤とする血小板製剤の開発と臨床試験、同種血小板輸血製剤の上市に向けた開発、中村壮・江藤浩之、AMED 再生医療公開シンポジウム、2017/2/2、国内.

(4) 特許出願

なし