

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 Application of Regenerative Medicine

研究開発課題名： (日本語) 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用化研究
(英語) Translational research for clinical trial in severe heart failure with iPS cell derived cardiomyocyte sheet

研究開発担当者 (日本語) 大阪大学大学院医学系研究科 教授 澤 芳樹
所属 役職 氏名： (英語) Professor Yoshiki Sawa, Osaka University Graduate School of Medicine

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

II. 成果の概要 (総括研究報告)

- ・ 研究開発代表者による報告の場合

和文

本研究は、京都大学 iPS 細胞研究所 (CiRA) から提供された HLA ホモ iPS 細胞を用いて心筋細胞を高率に分化誘導および大量培養し、重症心不全患者を対象として、iPS 細胞由来心筋細胞シート移植の治験申請を行うことを目的としている。

澤 芳樹教授 (大阪大学大学院医学系研究科・心臓血管外科学講座)、宮川 繁特任教授 (同・先進幹細胞治療学講座)、福嶋五月特任准教授 (同・心臓血管外科学講座/循環器再生創薬学講座)、齋藤充弘特任准教授 (同・未来細胞医療学講座)、伊東絵望子特任助教 (同・心臓血管外科学講座) らは、最頻度 HLA の 6 座ホモドナーから樹立された iPS 細胞株を用い、フィーダーフリーの大量培養システムにて心筋細胞に分化誘導させ、自律拍動する心筋細胞シートを形成させた。iPS 細胞株は、株ごとに誘導効率等が異なることが知られているが、研究グループでは、複数のラインの iPS 細胞株に対して、心筋

細胞への分化誘導の効率性・安定性の検討を行い、ヒト臨床に使用可能な株を選択し、培養方法の最適化を行った。

選択した株について、マスターセルバンクを作成し、これを用いて、前年度策定した非臨床安全性試験パッケージに基づき、細胞増殖特性解析を含む *in vitro* 安全性試験を行うとともに、*in vivo* への移植による長期の安全性試験を施行中である。

英文

This project aims to apply for the clinical trial that treats for severe heart failure using iPS cell-derived cardiomyocyte cell sheet.

Headed by Prof. Yoshiki Sawa, we successfully created cardiomyocyte sheet under assumption of clinical use. Human iPS cells of healthy donors with homozygous HLA (human leukocyte antigen), which were offered by Center for iPS Cell Research and Application, Kyoto University, were cultured using a bioreactor of large-scale, feeder-free and three-dimensional culture system. During cell culture, iPS cells were differentiated into cardiomyocytes, and were created as a cell-sheet that beats autonomously. It is reported that differentiation efficiency depends on the strain of iPS cells, so we screened iPS cell lines that differentiates into cardiomyocytes effectively, and optimized its culture condition.

Master cell bank (MCB) of selected iPS cell line was prepared. Based on the package of non-clinical safety study plan, we are conducting *in vitro* and *in vivo* safety assay including cell proliferation assay and cell transplantation assay using MCB.

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 3件、国際誌 4件）

[和文]

1. 宮川繁. 細胞シートを用いた心筋再生治療の現状と展望. 日薬理誌. 2016, 147, 269-271
2. 宮川繁. 心不全における iPS 細胞由来心筋細胞シート開発の現状と展望. 日本臨床. 2016, 74, 667-70
3. 澤 芳樹. 心臓血管外科における再生医療と分子生物学. 胸部外科 2017, 70, 9 - 13

[英文]

1. Masuda S, Miyagawa S, Nakamura T, Khurram MA, Sawa Y. Brentuximab vedotin for CD30-positive tumours. Lancet Oncol. 2016 Sep;17(9):e371.
2. Masuda S, Miyagawa S, Fukushima S, Nakamura T, Khurram MA, Ishikawa T, Saito A, Sawa Y. Expandable progenitors from induced pluripotent stem cells. Nat Rev Cardiol. 2016 Oct;13(10):574.

3. Kashiyama N, Miyagawa S, Fukushima S, Kawamura T, Kawamura A, Yoshida S, Harada A, Watabe T, Kanai Y, Toda K, Hatazawa J, Sawa Y. Development of PET Imaging to Visualize Activated Macrophages Accumulated in the Transplanted iPSc-Derived Cardiac Myocytes of Allogeneic Origin for Detecting the Immune Rejection of Allogeneic Cell Transplants in Mice. PLoS One. 2016 Dec, 8;11(12):e0165748.
4. Okada K, Miyata T, Sawa Y. Insurance systems and reimbursement concerning research and development of regenerative medicine in Japan. Regen Med. 2017 Mar;12(2):179-186.

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. Translational research of Cell sheet-based myocardial regeneration therapy, symposium Miyagawa S, Sawa Y. The 24th Annual Meeting of Asian Society of Cardiovascular and Thoracic Surgery, 2016/4/6 国外
2. 心不全外科学における再生医学の現状と展望～再生医学は心不全治療に変革をもたらすか?～, 口演, 宮川 繁, 第 116 回日本外科学会, 2016/4/14-16, 国内
3. 心筋再生医療の現状と展望, 口頭(特別講演), 澤 芳樹, 第 199 回近畿外科学会, 2016/5/14, 国内
4. 重症心不全に対する心筋再生治療の現状と展望, 口演, 澤 芳樹, 第 63 回麻酔科学会, 2016/5/26-28, 国内
5. 外科領域における再生医療, 口頭(特別講演), 澤 芳樹, 第 41 回日本外科系連合学会学術集, 2016/6/16, 国内
6. BET Protein Antagonist is Potent in Eliminating Residual Undifferentiated Cells from Human iPSc-derived Cardiomyocytes in Synergy with CDK Inhibitors, poster, Masuda S, Miyagawa S, Fukushima S, Kaori Okimoto, Chika Tada, Yumi Ueda, Kohei Kawaguchi, Atsuhiko Saito, Sawa Y. 14th International Society for Stem Cell Research. 2016/6/22 国外
7. 再生医療に鼓動を, 口演(特別講演), 澤 芳樹, 第 70 回日本食道学会, 2016/7/4-6, 国内
8. 重症心不全に対する再生治療の現状と展望, 口演, 宮川 繁, 第 21 回日本冠動脈外科学会, 2016/7/14-15, 国内
9. カニクイザル心筋梗塞モデルに対する同種他家 iPSc 細胞由来心筋シートの MHC 適合/非適合移植の心機能改善効果の検討, 櫻山紀幸, 宮川 繁, 福嶋五月, 齋藤充弘, 増田茂夫, 吉田昇平, 上野高義, 倉谷徹, 戸田宏一, 澤 芳樹, 第 69 回日本胸部外科学会, 2016/9/28-10/1, 国内
10. 重症心不全における再生治療の現状と展望, 口演, 宮川 繁, 第 35 回日本移植学会, 2016/9/29-10/1, 国内
11. 重症心不全に対する再生治療の現状と展望, 口演, 宮川 繁, 第 20 回日本心不全学会, 2016/10/7-9, 国内
12. The Clinical Superiority of MHC-matched Allotransplantation of Induced Pluripotent Stem Cell-Derived Cardiomyocytes Sheets on Improvement of Cardiac Function and Graft Survival in Non-Human Primate Ischemic Cardiomyopathy Model, Poster, Kashiyama N, Miyagawa S, Fukushima S, Saito A, Masuda S, Yoshida S, Ueno T, Kuratani T, Toda K, Sawa Y. American Heart Association Scientific Sessions, 2016/11/14 国外

13. Effectiveness of human iPS cell-derived cardiac 3D-tissue constructs with cardiomyocytes and endothelial cells, Oral, Yokoyama J, Miyagawa S, Fukushima S, Takamura Y, Shima Y, Akashi M, Toda, K, Ueno T, Kuratani T, Sawa Y. American Heart Association Scientific Sessions, 2016/11/14, 国外
14. Resveratrol improves the purity of cardiomyocytes derived from human pluripotent stem cells after differentiation, Poster, Shiozaki M, Miyagawa S, Fukushima S, Masuda S, Ishikawa T, Saito A, Sato Y, Sawa Y, American Heart Association Scientific Sessions, 2016/11/14 国外
15. Xeno-Free Human Induced Pluripotent Stem Cell-Derived Cardiomyocyte Cell Sheet Transplantation Promise the Safety and Effectiveness in the Treatment for Heart Failure, Poster, Shiozaki M, Miyagawa S, Fukushima S, Minami I, Yajima S, Domae K, Saito A, Asada T, Nakatsuji N, Sawa Y. American Heart Association Scientific Sessions, 2016/11/14 国外
16. A Novel Purification Method of Cardiomyocytes Derived from iPS Cells Based on Their Affinity to Laminin-221 towards clinical applications, Poster, Ohashi F, Miyagawa S, Fukushima S, Imanishi Y, Yoshida S, Saito A, Masuda S, Iseoka H, Ito E, Sameshima T, Sekiguchi K, Sawa Y. American Heart Association Scientific Sessions, 2016/11/14 国外
17. An Effective Practical Freezing Method of Human Induced Pluripotent Stem Cells Derived Cardiomyocytes Toward a Clinical Application, Poster, Ohashi F, Miyagawa S, Fukushima S, Imanishi Y, Yoshida S, Saito A, Masuda S, Iseoka H, Ito E, Sameshima T, Sato Y, Sawa Y. American Heart Association Scientific Sessions, 2016/11/14 国外
18. A Promising in Vitro Treatment to Reduce Tumorigenicity in iPSC-Based Cardiomyogenesis Therapy by Antibody-Drug Conjugate Selectively Targeting Contaminating Undifferentiated iPSCs, Oral, Sougawa N, Miyagawa S, Fukushima S, Kawamura A, Ito E, Yokoyama J, Masuda S, Saito A, Sawa Y. American Heart Association Scientific Sessions, 2016/11/15 国外
19. 重症心不全に対するアロ細胞移植－免疫学的見地からの検証－, 口演, 宮川 繁, 櫻山紀幸, 吉田昇平, 中村優貴, 小田 - 望月紀子, 澤 芳樹, 第 16 回日本再生医療学会、2017/3/7, 国内
20. 間葉系幹細胞との共培養は iPS 由来心筋細胞の成熟化を促進させる, 口演, 吉田昇平, 宮川 繁, 福嶋五月, 櫻山紀幸, 原田明希摩, 大橋文哉, 豊福利彦, 戸田宏一, 澤芳樹, 第 16 回日本再生医療学会、2017/3/7, 国内
21. 臨床応用に向けたヒト iPS 細胞由来心筋細胞の凍結保存法の開発, ポスター, 大橋文哉, 宮川繁, 吉田昇平, 齋藤充弘, 福嶋五月, 増田茂夫, 伊東絵望子, 伊勢岡弘子, 石川烈, 鮫島正, 佐藤陽治, 澤芳樹, 第 16 回日本再生医療学会, 2017/3/7, 国内
22. iPS 細胞由来心筋細胞の臨床応用に向けた腫瘍原生 iPS 細胞の除去方法の検討, ポスター, 伊東絵望子, 宮川 繁, 福嶋五月, 武田真季, 皆巳和賢, 乾翔輝, 原田明希摩, 齋藤充弘, 澤芳樹, 第 16 回日本再生医療学会, 2017/3/7, 国内
23. ヒト iPS 細胞由来心筋細胞を用いた心臓繊維化モデルによる創薬スクリーニングシステムの開発, ポスター, 伊勢岡弘子, 宮川 繁, 福嶋五月, 齋藤充弘, 増田茂夫, 伊東絵望子, 大橋文哉, 澤芳樹, 第 16 回日本再生医療学会, 2017/3/7, 国内

24. 心不全モデルラットに対する Xeno-free 分化誘導法を用いたヒト多能性幹細胞移植の治療効果の検討, ポスター, 塩崎元子, 宮川 繁, 福寫五月, 南一成, 矢嶋真心, 齋藤充弘, 浅田孝, 中辻慶夫, 澤芳樹, 第 16 回日本再生医療学会, 2017/3/7, 国内
25. 低毒性の糖脂質型界面活性剤を用いた凍結保護材の再生医療への応用, ポスター, 大河原弘達, 野上明日香, 石井七瀬, 龍見宗樹, 齋藤充弘, 竜瑞之, 平田善彦, 宮川繁, 澤芳樹, 第 16 回日本再生医療学会, 2017/3/7, 国内
26. 再生医療の普遍的発展を目指して, 口演, 澤 芳樹, 第 16 回日本再生医療学会, 2017/3/8, 国内

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

1. 医療が創る夢のきざし, 澤 芳樹, 高石市医師会創立 50 周年記念事業一般市民向けの講演会, 2016/6/4
2. 再生医療・AI・ゲノム・人材育成・まちづくり, 澤 芳樹, inochi 未来フォーラム(阪急うめだホール), 2016/10/12, 国内
3. 再生医療の成果と課題, 澤 芳樹, 読売テクノ・フォーラム, 2016/12/1, 国内

(4) 特許出願