

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) iPS 細胞由来角膜上皮細胞シートの first-in-human 臨床研究
(英語) First-in-human clinical research for iPS cell derived corneal epithelial cell sheet transplantation

研究開発担当者 (日本語) 医学系研究科脳神経感覚器外科学眼科学 教授 西田 幸二
所属 役職 氏名：(英語) Kohji Nishida, Professor, Graduate School of Medicine, Osaka University

実施期間：平成 28年 11月 1日 ～ 平成 29年 3月 31日

分担研究 (日本語) ヒト iPS 細胞由来角膜上皮細胞シート移植の臨床研究の統括
開発課題名：(英語) Integration of clinical research for iPS cell-derived corneal epithelial cell sheet transplantation

研究開発分担者 (日本語) 大阪大学大学院医学系研究科 教授 西田 幸二
所属 役職 氏名：(英語) Kohji Nishida, Professor, Graduate School of Medicine, Osaka University

分担研究 (日本語) ヒト iPS 細胞由来角膜上皮細胞シート移植の非臨床試験と品質管理
開発課題名：(英語) Nonclinical tests and quality management of iPS cell-derived corneal epithelial cell sheets

研究開発分担者 (日本語) 大阪大学大学院医学系研究科 寄附講座教授 林 竜平
所属 役職 氏名：(英語) Ryuhei Hayashi, Endowed Professor, Graduate School of Medicine, Osaka University

分担研究 (日本語) ヒト iPS 細胞由来角膜上皮細胞シート移植の臨床研究の実施
開発課題名：(英語) Implementation of clinical research for iPS cell-derived corneal epithelial cell sheet transplantation

研究開発分担者 (日本語) 大阪大学大学院医学系研究科 助教 相馬 剛至
所属 役職 氏名：(英語) Takeshi Soma, Assistant Professor, Graduate School of Medicine, Osaka University

分担研究 (日本語) ヒト iPS 細胞由来角膜上皮細胞シート移植の非臨床試験と試験物製造
開発課題名: (英語) Nonclinical tests and manufacturing of iPS cell-derived corneal epithelial cell sheets
研究開発分担者 (日本語) 大阪大学大学院医学系研究科 特任研究員 高柳 泰
所属 役職 氏名: (英語) Hiroshi Takayanagi, Project Specific Researcher, Graduate School of Medicine, Osaka University

分担研究 (日本語) ヒト iPS 細胞由来角膜上皮細胞シート移植の臨床研究における倫理的課題の解決
開発課題名: (英語) Resolving ethical issue in clinical research of iPS cell-derived corneal epithelial cell sheet transplantation
研究開発分担者 (日本語) 東京大学医科学研究所 特任研究員 高嶋 佳代
所属 役職 氏名: (英語) Kayo Takashima, Project Specific Researcher, The Institute of Medical Science, The University of Tokyo

II. 成果の概要（総括研究報告）

本課題は、我々が世界で初めて開発した新規技術（SEAM 法、特許出願中）を用いて製造されるヒト iPS 細胞由来角膜上皮細胞シートの first-in-human 臨床研究の実施を目的とする。本課題においては、臨床研究の実施に向けて6つの研究開発項目（1.臨床研究用ヒト iPS 細胞株の選定・評価、2.臨床用ヒト iPS 細胞株の非臨床試験（造腫瘍試験）、3.臨床用試験物製造準備、4.臨床研究患者レジストリー構築、5.臨床研究に関する文書作成と特定認定再生医療等委員会申請、6.臨床研究実施）を設定して事業を進めている。その内、本年度においては、研究開発項目 1.～5.の5項目を中心に研究開発を実施した。本年度は京都大学 iPS 細胞研究所（CiRA）における原料取り違えに起因する細胞提供中止が生じたため、我々の選定した臨床研究用 iPS 細胞株も使用できなくなり、開発計画を変更したが、事業期間内の臨床研究実施に向けて引き続き研究開発を遂行する。

●研究開発項目 1：臨床用ヒト iPS 細胞株の選定・評価

H28 年度においては、京都大学 iPS 細胞研究所（CiRA）から提供された日本人適合第 1 位 HLA ホモドナー由来 iPS 細胞株に対して角膜細胞への分化誘導効率を評価し、臨床研究用細胞株として選定した。しかし、決定した細胞株は CiRA にて提供中止となったため、日本人適合第 2 位 HLA ホモドナー由来 iPS 細胞株を新規に受領して評価を開始した。平成 29 年度前半には角膜細胞への分化誘導効率を評価できる予定である。また、提供中止になった細胞株と同一の日本人適合第 1 位 HLA ホモドナー由来の細胞株は京都大学 iPS 細胞研究所にて再度作製され、平成 29 年度に改めて角膜細胞への分化誘導評価を行う計画である。

●研究開発項目 2：臨床用ヒト iPS 細胞株由来試験物の非臨床試験（造腫瘍試験）

臨床研究の特定認定再生医療等委員会申請用データ取得を目的として、本年度に確定した臨床用 iPS 細胞株を含む複数の細胞株で非臨床試験（造腫瘍試験、感染症否定試験、未分化 iPS 細胞残存試験、核型解析）を実施し、試験物の安全性に関するデータ収集を進めており、これまでに腫瘍形成等に繋がる異常は認められていない。今後は CiRA から新規に提供される細胞株を含めて品質・安全性に関するデータ収集を継続して実施し、平成 29 年度に改めて選定する臨床試験用 iPS 細胞株を用いて追加の非臨床試験を行い、臨床研究申請用データを取得する。

●研究開発項目 3：臨床用試験物製造準備

CPC における試験製造（コールドラン）の実施に向けて、iPS 細胞の培養作業の手順書や記録書を CPC 施設運用に則した内容に調整して実施体制を整えた。しかし CPC コールドラン使用を予定していた臨床用細胞株（YZWJ 株）が提供中止となったため予定を変更して、ラボ評価用細胞株を用いることとした。角膜細胞への分化誘導効率の安定していたラボ評価用細胞株（WJ14 株）をコールドラン用として選定し、CPC 持込用細胞ストックを調製した。この細胞ストックに対し、CPC 受入に先立ち汚染否定の確認試験を行った上でコールドランに用いる計画とした。

●研究開発項目 4：臨床研究患者レジストリー構築

HLA タイピング試験について、学内倫理委員会の承認を得て試験を開始した。健常者ボランティアの HLA 検査を実施し、試験系の検証と HLA 適合試験の対照となるボランティアの確保を行った。引き続き平成 29 年度から被験者候補の HLA タイピング試験を実施し、臨床研究の患者レジストリーへ反映させる計画とした。

また、レジストリーに関する倫理的課題や臨床研究における被験者選定、ならびに眼科特有の倫理的配慮に関して、文献調査や専門家の意見聴取により論点抽出を行った。

●研究開発項目 5 : 臨床研究に関する文書作成と特定認定再生医療等委員会申請

臨床用 iPS 細胞株の提供中止に伴い、特定認定再生医療等委員会への申請も延期となったため、被験者の HLA 適合を前提とした臨床研究のprotocols見直しを継続して行った。見直しにあたっては倫理的配慮を考慮に入れて被験者の選択基準・除外基準、評価項目等に変更を加えた。

また、protocol作成における倫理面の配慮として、本課題における被験者選定に関わる倫理的検討を行い、被験者保護やリスクベネフィットを考慮した上での選定基準作成への話し合いを行った。

「英文」

The purpose of this project is conduct clinical research on induced pluripotent stem (iPS) cell-derived corneal epithelial cell sheet transplantation. We established a six-point development plan: 1. Selection of clones from HLA homo donor iPS cell strains; 2. non-clinical safety tests of iPS cells for clinical use; 3. manufacturing test of the products at the cell processing center; 4. construction of a registry for test subjects; 5. preparation of documents and application to conduct clinical research; and 6. implementation of clinical research implementation. Points 1–5 in the development plan were accomplished mainly in the current year.

●Development item 1. Selection of clones from HLA homo donor iPS cell strains

We evaluated iPS cell strains from the Center for iPS Cell Research and Application, Kyoto University (CiRA), and selected cell strain (YZWJ), which originated from an HLA homo donor and was intended for clinical use. However, the supply of the cell strain was decided to be stopped; therefore, we had to select other cell strains (RWMH). We, in conjunction with CiRA, produced and evaluated iPS cell strains (YZWJ) again.

●Development item 2. Non-clinical tests of human iPS cell-derived corneal epithelial cell sheets

We carried out non-clinical tests (*in vivo* tumorigenicity test, reverse transcription-polymerase chain reaction for LIN28A, infectious disease testing, karyotype analysis) of iPS-derived corneal epithelial cell sheets made from various cell strains. These results show low risk from these products. Next, we will perform tests of products, including new iPS cell strains, to prepare an application for clinical research of iPS cell-derived corneal epithelial cell sheet transplantation.

●Development item 3. Preparation to manufacture products for clinical use

We have been preparing to manufacture products for clinical use in the Cell Processing Center (CPC), including preparing Standard Operating Procedures (SOP) and other documents. However, the iPS cell strains selected for clinical use were no longer available at CiRA. Therefore, we decided to test a cell strain used for research for manufacture in CPC. iPS cell strain WJ14 was selected and multiplied to create stocks for the tests. Next year, the cell stocks will be tested for manufacturing in CPC, after testing for infections.

●Development item 4. Construction of a subject registry

We performed HLA typing of healthy volunteers and secured a variety of people, with inclusion criteria approved by the Ethics Committee. Subsequently, we will perform HLA typing tests of subjects again and revise the registry for subjects. We discussed ethical problems in clinical research and the selection of subjects with experts and using other references.

●Development item 5. Preparing documents and procedures for clinical research

Because the iPS cell supply ended, the application for clinical research was postponed. Therefore, we revised the protocols for clinical research, including those on inclusion criteria, exclusion criteria, and evaluation items.

Considering the ethical problems in ophthalmological deficiency research, we discussed to ensure that the selection of subjects for clinical research, human research protection, and the risk-benefit for subjects were reflective of selection criteria in the protocol.

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 件、国際誌 1 件)

1. Hayashi R, Ishikawa Y, Katori R, Sasamoto Y, Taniwaki Y, Takayanagi H, Tsujikawa M, Sekiguchi K, Quantock AJ, Nishida K. Coordinated generation of multiple ocular-like cell lineages and fabrication of functional corneal epithelial cell sheets from human iPS cells. Nat Protoc. 2017 Apr;12(4):683-696.

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. Development of stem cell-based therapy for corneal diseases-from tissue stem cell to iPS cell, 口演, 西田幸二, 人工角膜学会, 2016/4/22, 海外
2. Current and Future Corneal Stem Cell-Based Therapy, 口演, 西田幸二, Chinese Cornea Society Congress, 2016/5/13, 海外
3. 眼と iPS 細胞の未来, 口演, 西田幸二, 第 9 回 TORC の会, 2016/6/25, 国内
4. Current and Future Corneal Stem Cell-Based Therapy, 口演, 西田幸二, Congress of Chinese Ophthalmological Society 2016/9/8, 海外
5. Development of Stem Cell-based Therapy for Corneal Diseases-from Tissue Stem Cell to iPS Cell, 口演, 西田幸二, ISER2016, 2016/9/28, 海外
6. 眼と iPS 細胞の未来, 口演, 西田幸二, 第 37 回西中国眼疾患フォーラム, 2016/11/10, 国内
7. iPS Cells for Corneal Epithelial Regeneration, 口演, 西田幸二, Asia-Pacific Academy of Ophthalmology, 2016/ 3/4, 海外
8. Induction of Corneal Epithelial Cells from Human Pluripotent Stem Cells by a Method Based on Spontaneous Ocular Cell Differentiation, ポスター, Ryuhei Hayashi, Yuki Ishikawa, Yuzuru Sasamoto, Ryosuke Katori, Tatsuya Ichikawa, Naoki Nomura, Takeshi Soma, Satoshi Kawasaki, Andrew J Quantock, Kiyotoshi Sekiguchi, Motokazu Tsujikawa, and Kohji Nishida, ISSCR, 2016/6/23, 海外
9. ヒト iPS 細胞からの協調的な眼組織発生と角膜再生医療への応用, 口演, 林竜平, 産学連携蛋白質研究所セミナー, 2016/6/2, 国内
10. ヒト iPS 細胞からの協調的な眼組織発生と角膜再生医療への応用, 口頭, 林竜平, 第 23 回眼科若手研究者の会, 2016/11/ 4, 国内

11. ヒト iPS 細胞由来角膜上皮細胞の長期間培養, ポスター, 石川幸, 林竜平, 香取良祐, 佐々本弦, 辻川元一, 西田幸二 角膜カンファレンス, 2017/2/16, 国内
12. 多能性幹細胞を用いた眼組織分化誘導技術の開発と角膜再生医療への実用化, 口頭, 林竜平, 2017 再生医療学会総会, 2017/3/7, 国内.
13. ヒト iPS 細胞由来角膜上皮細胞シート臨床応用のための試験物製造体制の整備, ポスター, 高柳泰, 香取良祐, 山手百合香, 安川裕子, 石川幸, 小林由紀, 森田未央, 片山朋彦, 林竜平, 西田幸二, 2017 再生医療学会総会, 2017/3/8, 国内.
14. ヒト iPS 細胞を用いた角膜上皮の分化誘導と再生医療への応用, 口頭, 林竜平 角膜カンファレンス 2017, 2017/2/16, 国内
15. Ethical discussions of the first-in-human iPSc-based clinical research in Japan, ポスター, Kayo Takashima, Yusuke Inoue, Kaori Muto, 43nd IMSUT Founding Commemorative Symposium, 2016/6/3, 国内
16. Ethical Implications for Stem Cell Research of Ophthalmology Treatment, ポスター, Kayo Takashima, Shimon Tashiro, Kaori Muto, ISSCR, 2016/6/23, 海外
17. 診療と研究の区別, 口演, 高嶋佳代, 第 11 回緑内障若手研究者の会, 2016/11/5, 国内
18. 英国の倫理審査委員会をてがかりに, シンポジウム臨床研究 日本は「被験者保護」先進国か? ~「生命倫理」の果たす役割~, 口頭, 高嶋佳代, 第 28 回日本生命倫理学会, 2016/12/4, 国内
19. 再生医療研究における個人情報保護法改正の影響, ポスター, 高嶋佳代, 松永亜佑美、武藤香織 第 2 回研究倫理を語る会, 2017/2/11
20. 「First-in-Human 試験における被験者選定と倫理的課題の検討」, ポスター, 高嶋佳代, 山本圭一郎, 田代志門, 武藤香織, 2017 再生医療学会総会, 2017/3/7, 国内.
21. 再生医療における倫理, 口頭, 高嶋佳代, 日本再生医療学会第 4 回再生医療資格認定セミナー, 2017/3/6

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

1. 角膜再生～体性幹細胞から iPS 細胞へ, 西田幸二, ~次世代医療システム産業化フォーラム, 2016/6/29, 国内
2. 眼と iPS 細胞の未来, 西田幸二, 眼科再生医療特別講演, 2016/8/17, 国内
3. iPS 細胞由来角膜上皮細胞の臨床応用に向けた研究開発, 口演, 西田幸二, 第 13 回 DIA 日本年会, 2017/11/14, 国内
4. 角膜再生～体性幹細胞から iPS 細胞へ~, 口演, 西田幸二, 健康セミナー in 大阪, 2017/2/18, 国内

(4) 特許出願