

(報告様式4)

【16be0104004h0001】

平成 28年 5月 31日

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) 再生医療等の産業化に向けた評価基盤技術開発事業

(英語) Project Focused on Developing Key Evaluation Technology: Evaluation for Industrialization in the Field of Regenerative Medicine

研究開発課題名：

(日本語) 再生医療等の産業化に向けた評価手法等の開発

(英語) Evaluation for Industrialization in the Field of Regenerative Medicine

研究開発担当者所属 役職 氏名：

(日本語) 大日本住友製薬株式会社 取締役 執行役員 木村徹

(英語) Toru Kimura, Ph. D. Member, Board of Directors, Executive Officer, Sumitomo Dainippon Pharma Co., Ltd.

実施期間：平成 28年 4月 1日 ～ 平成 29年 3月 31日

分担研究開発課題名：

(日本語) パーキンソン病に対する機能再生療法に用いる iPS 細胞由来神経細胞製剤の開発

(英語) Development of iPS cell-derived neural cell product to treat Parkinson's disease

研究開発分担者 所属 役職 氏名：

(日本語) 大日本住友製薬株式会社 取締役 執行役員 木村徹

(英語) Toru Kimura, Ph. D. Member, Board of Directors, Executive Officer, Sumitomo Dainippon Pharma Co., Ltd.

## II. 成果の概要（総括研究報告）

パーキンソン病は、運動障害をきたす神経変性疾患として最も患者数が多く、要介護率も高いため社会的損失の大きな疾患の一つとなっている。黒質ドパミン神経細胞の変性・脱落が主因のため薬物療法には限界があり、根治的な治療が可能な再生医療への期待が高い。研究開発代表者(大日本住友製薬株式会社)、研究開発分担者1(京都大学)及び研究開発分担者2(日立製作所)は、平成27年度の本委託事業の研究開発成果や分担者1が実施中の再生医療実現拠点ネットワークプログラム拠点Aの成果を進展させ、医薬品医療機器等法に基づいた「iPS細胞由来のドパミン神経前駆細胞（以下本製品とも記載）を用いたパーキンソン病治療」の事業化を目指している。本製品は、分担者1が開発した、合成基質上での「高密度培養」や浮遊培養による「三次元培養」及び中脳floor plate マーカーの発現量を指標にした「セルソーティング」技術の組み合わせによる高品質かつ高純度なドパミン神経前駆細胞の製造法を用いる事が特徴である。iPS細胞からの分化誘導法や最終製品の品質管理戦略、動物実験による有効性・安全性の確認については分担者1によりほぼ終了しているが、承認後の事業化を考えた場合、原材料の規制対応に加え、手培養を中心とした現行の製造方法では一度に製造できる細胞数(ロットサイズ)が限られていることが課題である。承認後のGMP製造における品質の安定化や製造コスト低減を達成するためには、プロセスの合理化による大量製造法の確立が必須であり、これにはスケールアップ製法の手培養との同等性評価手法確立や製造毎の品質のバラつき幅の把握及びこれに準じたロット管理法の構築が求められる。本年度の事業では、GMP準拠での工業的生産に向け、セルソーティング用抗体の規制対応及び品質評価手法の確立、スケールアップ製法の同等性評価手法開発のために必要な評価指標の明確化を進めた。

研究代表者らは、セルソーティング用抗体についてウイルス安全管理及び製造管理に必要な対応を確立した。また、高感度な抗体の品質評価法を完成させ、これにより抗体の品質低下を防ぐ日常的な管理基準を設定した。さらに、最終製品に残存する抗体の安全性担保に関して、当局から求められる実測値に基づくリスク管理の理論を構築した。

また、ロットサイズの大きな工業的生産体制の確立を目指し、本製品のGMP製造に導入可能な新規セルソーターの選定を進め、既存の研究用機種との比較解析及びGMP上の課題をリストアップして対応策の検討を進めた。さらに、浮遊培養工程における新規培養方法の使用可能性を検討し、スケールアップによる品質安定化及び合理化による汚染リスクの低減を目指した。新規培養方法にて作製する細胞の評価指標を選定して有望な培養法の絞り込みを進め、暫定的な運用形態を設定した。

分担者2らは、接着培養時のスケールアップが実現可能な閉鎖型自動培養装置導入時の同等性評価手法の開発、妥当性検証を行った。これにより、培養環境の重要な要素である温度ならびに炭酸ガス濃度の許容範囲を決定した。この範囲内にて自動培養を行い、得られた細胞の品質が手培養のものと同等であることを確認した。

分担者1は、本製品を凍結保存した後に非凍結の細胞と*in vitro*, *in vivo*の各種指標により比較した。凍結細胞は解凍後に非凍結細胞と同じ方向性で成熟を続け、げっ歯類モデル動物脳内においてドパミン神経として機能することを確認し、凍結剤型での本製品提供が可能であることを示した。さらに、本製品における特性解析上のバラつきを評価し、想定されるバラつきの大きさを把握した。これにより、現行製法の再現性、頑健性を確認するとともに許容培養日数幅や許容継代数等ロット管理方針を立案した。

Parkinson's disease (PD) is known as one of the diseases causing greatest social loss due to the largest number of patients with movement disorder and requires nursing care. Because PD is caused by progressive loss of nigro-striatal dopaminergic (DA) neurons, current therapy such as medication or surgical treatment can only provide partial symptomatic improvement. Therefore, there is high anticipation for regenerative medicine that can provide curative treatment. Our research group, Sumitomo Dainippon Pharma Co.,Ltd. (representative), Center for iPS cell Research and Application, Kyoto University, (member 1), and Center for exploratory research laboratory, Hitachi, Ltd.(member 2), is aiming to commercialize regenerative medicine with DA neurons, and the project is approved by PMD Act as “iPS cell-derived dopaminergic progenitor cell product (Product)” for Parkinson's disease. This program also stands on the result of “Research Center Network for Realization of Regenerative Medicine, Type A” program as well as research activities of this project. The Product is produced by high quality and high purity production method of DA progenitors which is composed of high density culture technique on the synthetic matrix, 3D floating culture technique, and cell sorting technology with a floor plate marker. The production procedure has already established and differentiation protocol of DA progenitors from iPS cells with QC strategy to ensure efficacy and safety in animal models has also been developed. However, in considering commercial manufacturing after approval of the Product, there are remaining issues to improve on the scale and the cost of the manufacturing process in the current manual system. Moreover, it is also necessary to comply with regulations on raw materials. These issues need to be solved in commercial GMP manufacturing system which also secure quality stabilization and cost reduction. It is also needed to be developed cryopreservation method of the Product. To this end, it is very important to develop equivalence evaluation method between previous and newly developed manufacturing processes, and also required to collect data to grasp acceptable range of data variation quantitatively between each production batch.

As the result of this year, firstly, we have established novel method for quality evaluation and have completed regulatory compliance of the cell sorting antibody. Utilizing this method, quantity of residual antibody in the final product could be calculated accurately to construct a strategy of safety assurance of the residual antibody.

Then, we have tried to clarify evaluation parameters used in the equivalence evaluation to employ automated closed cell culture instrument. The allowable ranges of important elements of the culture environments were determined. When verification prototype of the instrument was operated within the range, it was confirmed that the quality of the obtained cells was equivalent to that of manual culture system by several evaluation parameters. In the case of manufacturing cell sorter, comparative analysis was conducted in the several evaluation parameters with existing cell sorter for laboratory use. Furthermore, a novel culture method to the floating culture process was also investigated, aimed at reducing the risk of contamination by scale up manufacturing process. We have clarified the evaluation parameters of each manufacturing process and established outline of equivalence evaluation method in scale up modification of manufacturing process. Concurrently with these experiments, the data on various evaluation parameters was widely collected in the manual culture system and possible quantitative variation was grasped in this manufacturing process, assuming it could be essential information for development of equivalence evaluation method and for proper equivalency estimation.

Finally, cryopreserved formulation of the Product was compared with unfrozen cells. According to the results in several *in vitro* and *in vivo* evaluation parameters, it was confirmed that cryopreserved cells can mature and function as unfrozen cells in the transplanted brain.

### 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 件）  
なし
- (2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表  
なし
- (3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み  
なし
- (4) 特許出願  
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) 再生医療等の産業化に向けた評価基盤技術開発事業  
再生医療等の産業化に向けた評価手法等の開発

(英語) Project Focused on Developing Key Evaluation Technology: Evaluation for  
Industrialization in the Field of Regenerative Medicine

研究開発課題名：

(日本語) 再生医療等の産業化に向けた評価手法等の開発

(英語) Evaluation for Industrialization in the Field of Regenerative Medicine

研究開発担当者 所属 役職 氏名：

(日本語) 国立大学法人京都大学 iPS 細胞研究所 教授 高橋 淳

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

実施期間： 平成 28 年 04 月 01 日 ～ 平成 29 年 03 月 31 日

分担研究開発課題名：

(日本語) パーキンソン病に対する機能再生療法に用いる iPS 細胞由来神経細胞製剤の開発

(英語) Development of iPS cell-derived neural cell product to treat Parkinson's disease

研究開発分担者 所属 役職 氏名：

(日本語) 国立大学法人京都大学 iPS 細胞研究所 教授 高橋 淳

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

## 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
- ・ 研究開発分担者による報告の場合  
研究開発代表者：大日本住友製薬株式会社 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）  
発表無し
- (2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表  
発表無し
- (3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み  
発表無し
- (4) 特許出願  
特許出願無し

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) 再生医療等の産業化に向けた評価基盤技術開発  
(英語) Project Focused on Developing Key Evaluation Technology : Evaluation for Industrialization in the Field of Regenerative medicine
- 研究開発課題名： (日本語) 再生医療等の産業化に向けた評価手法等の開発  
(英語) Project Focused on Developing Key Evaluation Technology : Evaluation for Industrialization in the Field of Regenerative medicine
- 研究開発担当者 (日本語) 大日本住友製薬株式会社 取締役 執行役員 木村 徹  
所属 役職 氏名： (英語) Dr. Toru Kimura, Board of Directors and Executive Officer, Sumitomo Dainippon Pharma Co., Ltd.
- 実施期間： 平成 28 年 4 月 3 日 ～ 平成 29 年 3 月 31 日
- 分担研究 (日本語) パーキンソン病に対する機能再生療法に用いる iPS 細胞由来神経細胞製剤の開発  
開発課題名： (英語) Project Focused on Developing Nerve Cell Preparation Derived from iPS Cell for Functional Regeneration Therapy in Parkinson's disease
- 研究開発分担者 (日本語) 株式会社日立製作所 基礎研究センター 主管研究長 武田志津  
所属 役職 氏名： (英語) Dr. Shizu Takeda, Chief Scientist, Center for exploratory research laboratory, Hitachi, Ltd.

## II. 成果の概要（総括研究報告）

研究開発代表者：大日本住友製薬株式会社 取締役 執行役員 木村 徹 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 2 件、国際誌 0 件）

1. 武田志津. 再生医療が拓く未来の実現に向けて. 日立評論. 2016, 07-08, 76-79.
2. 武田志津. 再生医療の普及に向けた閉鎖系自動培養技術. Medical Science Digest. 2017, 43, 40-41.

### （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 automated cell culture process for iPS cells,ポスター, H. Saito, M. Kato, M. Kiyama, S. Sekiya, M. Yoshikawa, K. Yoshida, A. Kishino, T. Kimura, J. Takahashi, S. Takeda, 国際幹細胞学会（ISSCR）2016/06/22-25, 米国サンフランシスコ.
2. Evaluation of Culture Process Developed for Automated Mass Production of Induced Pluripotent Stem Cell-Derived Dopaminergic Progenitors TERMIS2016, ポスター, M. Kato, H. Saito, K. Arikawa, M. Kiyama, S. Sekiya, M. Yoshikawa, K. Yoshida, A. Kishino, T. Kimura, J. Takahashi, H. Hanzawa, and S. Takeda, 国際再生医療学会（TERMIS-AM）2016/12/11-14, 米国サンディエゴ.

### （3）「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

なし

### （4）特許出願

なし