

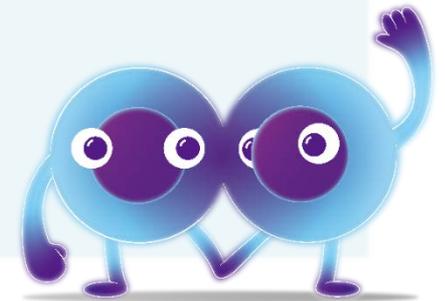


「患者・市民と考える再生医療」
～ 再生医療のコミュニケーションを考える ～

2022年7月16日(土)

【第1部】講演資料①

国立医薬品食品衛生研究所 再生・細胞医療製品部長
一般社団法人日本再生医療学会 理事
佐藤陽治



二次利用など資料の取り扱いには十分ご注意をお願いいたします



令和4年7月16日
ウェブ開催

日本再生医療学会 「患者・市民と考える再生医療」



「安全性・有効性を確認する」とは どのようなことか？

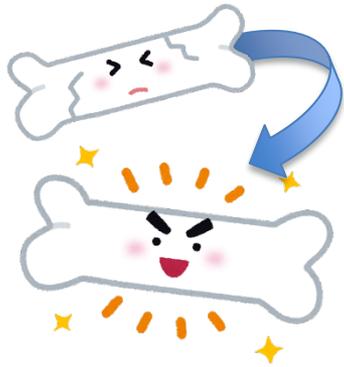
国立医薬品食品衛生研究所 再生・細胞医療製品部長
日本再生医療学会 理事

佐藤 陽治

本発表で述べられている見解は発表者の私見であって、国立医薬品食品衛生研究所、厚生労働省ならびに日本再生医療学会の公式な見解では必ずしもありません

「再生医療」と「細胞治療」

「再生医療」



加齢、疾病、損傷、または先天的障害により、組織・器官が**失った機能を修復ないし置換することを目的に、**機能的かつ生きている組織を作り出すプロセス

[ヨーロッパ科学財団の定義]

「細胞治療」



体外で加工または改変された自己由来、同種由来または異種由来の**細胞を投与することによって**ヒトの疾病または損傷を予防、処置、治療ないし緩和すること

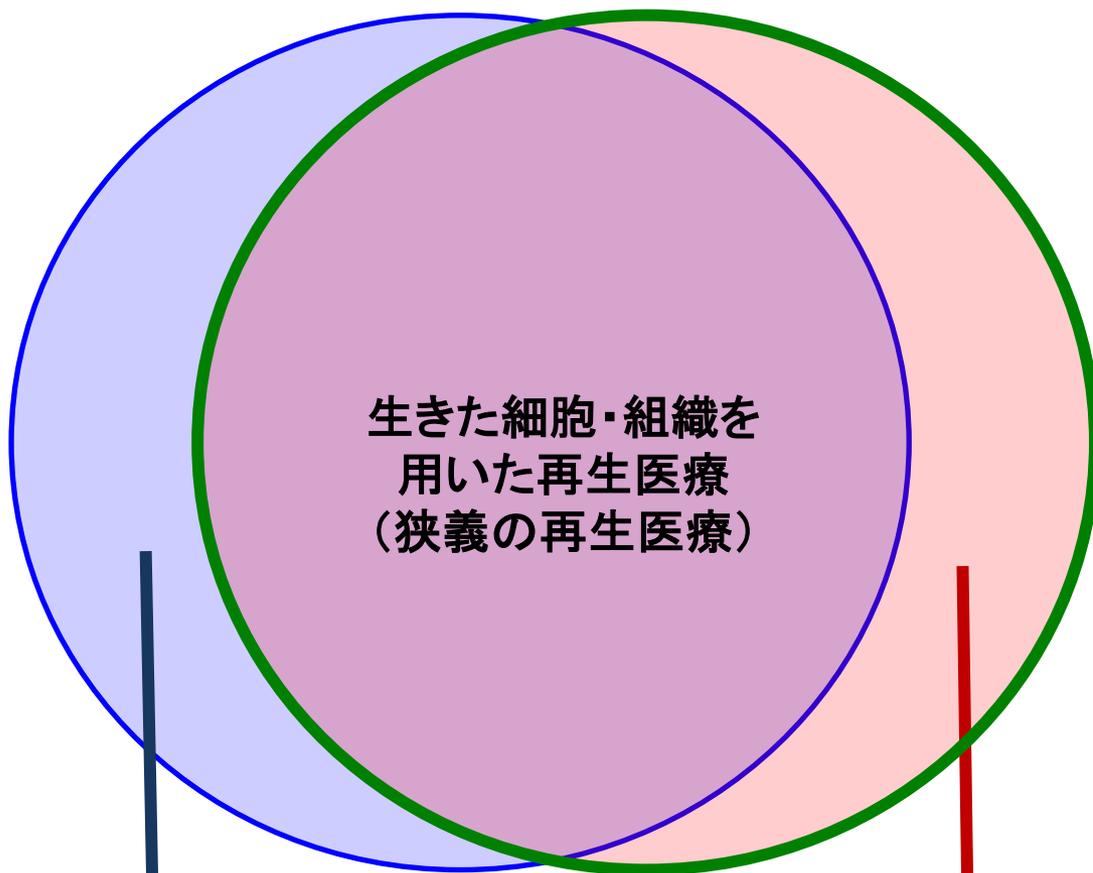
[米国食品医薬品局(FDA)の定義]

再生医療
regenerative medicine

細胞治療
cell therapy



細胞加工製品
(細胞加工物)



加工(培養・活性化・分化誘導など)

あり
なし

細胞・組織
[輸血・移植医療]



生きた細胞を使わない再生医療
(例:細胞を活性化させる因子を投与し、
患者の体内で組織を再生させる方法)

臓器や組織の再生を目的としない細胞治療
(例:免疫細胞の投与によるがん治療)

細胞加工製品を使って病気を治す(角膜再生)

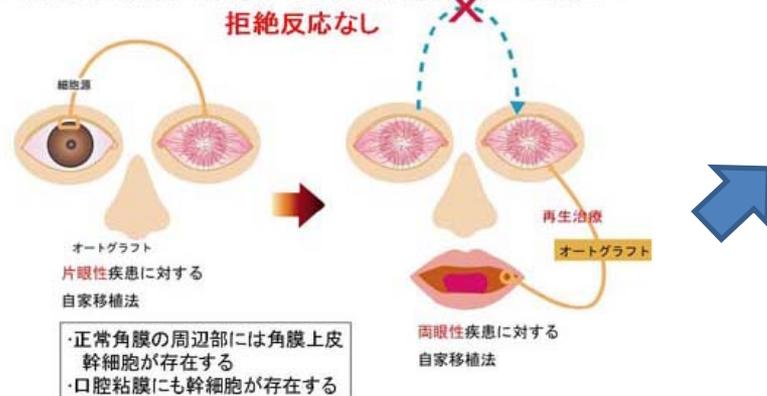
角膜上皮幹細胞疲弊症

角膜上皮は眼の角膜最外層に存在し、角膜上皮の幹細胞は角膜と結膜の境にある輪部に存在します。化学傷、熱傷、ステイブンス・ジョンソン症候群、眼類天疱瘡、角膜感染症などで、角膜上皮幹細胞が機能なくなると、角膜上皮の修復がなくなり視力が失われます。

<東京女子医大・阪大・セルシード・J-TEC>

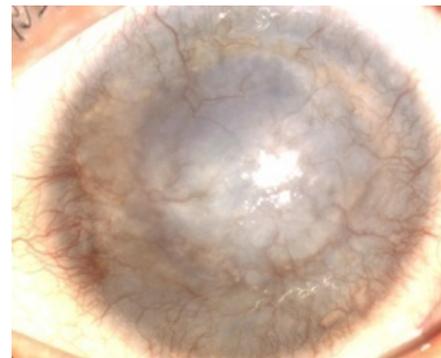
角膜輪部由来上皮幹細胞シート又は自己口腔粘膜上皮シート移植

—患者さん自身の組織から必要な角膜を作って移植—



術前

術後2年



The NEW ENGLAND
JOURNAL of MEDICINE

351, 1187-1196, 2004.

<http://techon.nikkeibp.co.jp/article/NEWS/20050610/60860/>

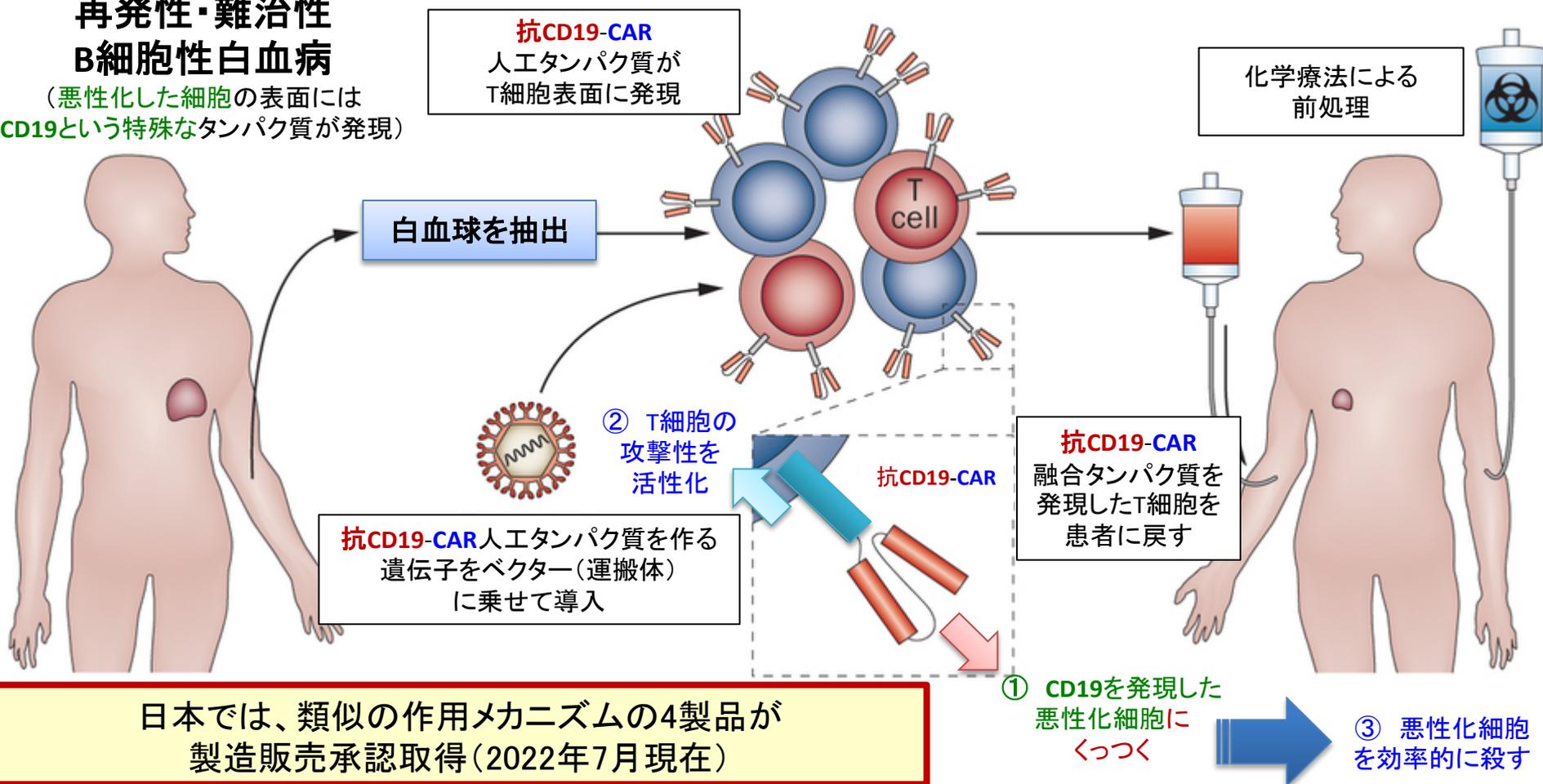
自家培養角膜上皮シートは2020年3月に製造販売承認取得
自家培養口腔粘膜シートは2021年6月に製造販売承認取得

遺伝子を導入した免疫細胞を使って病気を治す (白血病に対するCAR-T細胞療法)

2016年12月の米国血液学会で発表された、小児・若年成人の再発・難治性B細胞性急性リンパ芽球性白血病を対象とした国際共同臨床第2相試験ELIANAでは、CAR-Tを投与した患者の**82%(50人中41人)**が、投与3カ月後に完全寛解または血球の完全な回復を伴わない完全寛解を達成

再発性・難治性 B細胞性白血病

(悪性化した細胞の表面には
CD19という特殊なタンパク質が発現)



日本では、類似の作用メカニズムの4製品が
製造販売承認取得(2022年7月現在)

日本の再生医療・細胞治療の現状



再生医療等安全性確保法

再生医療等の提供

治療

4,685 提供計画

(2022年5月31日現在)

クラス1: 7
クラス2: 1,094
クラス3: 3,584



公的保険適用なし
(自由診療)

臨床研究

101 提供計画

(2022年5月31日現在)

クラス1: 17
クラス2: 39
クラス3: 45



患者負担なし
(研究費で実施)

薬機法

製造販売承認

再生医療等製品

13 ヒト細胞加工製品

- 自己表皮
- 自己軟骨
- 同種間葉系幹細胞 (GVHD)
- 自己培養筋芽細胞シート
- 自己間葉系幹細胞
- 遺伝子導入自己T細胞 (4製品)
- 自己角膜上皮細胞シート
- 自己口腔粘膜由来上皮細胞シート
- 同種間葉系幹細胞 (痔瘻)
- 羊膜使用自己口腔粘膜上皮細胞シート



3 遺伝子治療用製品

- プラスミドベクター製品
- AAVベクター製品
- 腫瘍溶解性ウイルス

(赤字: 条件期限付き承認)

公的保険適用

ヒトiPS/ES細胞由来移植細胞の臨床応用



国内で実施が承認されたヒトiPS/ES細胞加工物を使用した臨床研究及び治験 [2022年7月現在]

移植細胞	原料ヒト細胞	適応疾患	実施施設	臨床研究/治験	実施承認	FIH試験
網膜色素上皮細胞	自己iPS細胞	滲出型加齢黄斑変性	先端医療センター病院	臨床研究	2013	2014
網膜色素上皮細胞	同種iPS細胞	滲出型加齢黄斑変性	神戸市立医療センター <i>etc.</i>	臨床研究	2017	2017
ドパミン神経前駆細胞	同種iPS細胞	パーキンソン病	京都大学	医師主導治験	2018	2018
血小板	自己iPS細胞	再生不良性貧血	京都大学	臨床研究	2018	2019
角膜上皮細胞	同種iPS細胞	角膜上皮幹細胞疲弊症	大阪大学	臨床研究	2019	2019
肝細胞	ES細胞(同種)	先天性尿素サイクル異常症	国立成育医療研究センター	医師主導治験	2019	2019
心筋細胞	同種iPS細胞	虚血性心筋症	大阪大学	医師主導治験	2019	2020
神経前駆細胞	同種iPS細胞	脊髄損傷	慶応義塾大学 <i>etc.</i>	臨床研究	2019	2021
網膜視細胞	同種iPS細胞	網膜色素変性症	神戸市立神戸アイセンター病院	臨床研究	2020	2020
NKT細胞	同種iPS細胞	再発・進行頭頸部がん	千葉大学・理化学研究所	医師主導治験	2020	2020
軟骨	同種iPS細胞	膝関節軟骨損傷	京都大学	臨床研究	2020	(2021)*
心筋細胞	同種iPS細胞	拡張型心筋症	慶応義塾大学	臨床研究	2020	-
網膜色素上皮細胞	同種iPS細胞	網膜色素上皮不全症	神戸市立神戸アイセンター病院	臨床研究	2021	2021
抗GPC3-CAR発現NK細胞	同種iPS細胞	卵巣がん	京都大学・国立がん研究センター	医師主導治験	2021	2021
角膜内皮細胞	同種iPS細胞	水疱性角膜症	慶応義塾大学	臨床研究	2021	-
血小板	同種iPS細胞	血小板減少症	メガカリオン・京都大学・CiRA-F	企業治験	2021	2022

出典: 安田智 *医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス* 2021;52:234-239 (佐藤が一部改変)

* 新聞報道によるもの

有効性の確認

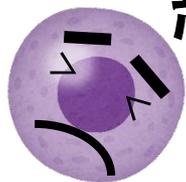
「病気」とは？



体の調子が悪い



臓器や組織の調子が悪い



細胞の調子が悪い・細胞の数が減る

「治る」とは？

細胞の調子が元に戻る・数が元通りになる

今まで



今ある細胞でいかにやりくりするか？

再生医療



細胞をクスリとして補うことで治せないか？

臓器や組織の調子が元に戻る



体の調子が元に戻る



クスリの効能・効果を考えるときに 本来見極めなければならない項目(6Ds)

- ◆ 生死(Death)
- ◆ 疾患(Disease)
- ◆ 自覚症状(Discomfort)
- ◆ 身体機能障害(Disability)
- ◆ 不満足(Dissatisfaction)
- ◆ 費用(Destitution)

「真のエンドポイント」
と言います

これでクスリに 「効き目がある」と思っていないませんか？

- ◆ 高血圧患者に**新薬A**を処方したら血圧が下がった*
- ◆ がん患者に**新薬B**を処方したらがんが縮小した*
- ◆ 腎疾患患者に**新薬C**を処方したら尿蛋白が減った*

*「代用(サロゲート)エンドポイント」と言います

代用エンドポイント (サロゲートエンドポイント)

- ◆ 「真のエンドポイント」を指標にしてクスリの効果・効能を評価するには、通常とても長い時間がかかります。
- ◆ 「代用エンドポイント(サロゲートエンドポイント)」は、治療行為に対する評価を短期間で行うために、「真のエンドポイント」の代用として使われる評価項目です。
- ◆ あくまで「代用」であって、「真のエンドポイント」に必ずしも結びつかないことに注意が必要です。

クスリの効果・効能は、本来は 真のエンドポイントの結果から考えるべき

疾患 (例)	新薬 (例)	代用エンドポイント (サロゲートエンドポイント)	真のエンドポイント
高血圧	A	血圧低下	循環器疾患での死亡、 心筋梗塞発症、 脳卒中発症など
がん	B	腫瘍のサイズの縮小	死亡、生存率
腎疾患	C	尿タンパク質	透析開始、腎移植、死亡

「クスリの最終目的は何か？」から考えることが大切です

効果・効能の根拠(エビデンス)の信頼性にも注意が必要です

信頼性レベル	エビデンス
1a	ランダム化比較試験[RCT]のメタアナリシスがあるか、複数のRCTの結果がほぼ一致している。
1b	少なくとも1つのRCTがある。
2a	よくデザインされた比較研究[非ランダム化]がある。前向きコホート研究を含む。
2b	よくデザインされた準実験的研究(*)がある。後ろ向きコホート研究を含む。
3	よくデザインされた非実験的記述研究(**)がある。ケースコントロールを含む。
4	症例報告、対照群のない研究、質の低いコホート研究、横断的研究などに基づく。
5	専門家の報告・意見・経験に基づく。

* 治療などの介入が行われるグループと、介入が行われないグループを設け、一定の期間観察を続け、その期間に起きた出来事を比較して分析する研究法

**「ある患者さんにある薬を投与したら、症状が改善した」というように、患者さんの経過を記述して報告する研究
<https://minds.jcqh.or.jp/docs/minds/kounyo/evidence.html> を改変

効果・効能の根拠(エビデンス)の信頼性にも注意が必要です

信頼性
レベル

下に行くほど結果に偶然が混ざりやすく、
結論にバイアス(偏見)が混ざりやすい

1a

ランダム化
致して

代表的なバイアス

【選択バイアス】研究対象者の選び方で生じるバイアス

研究対象候補の中から、選ぶ前や選んだ後に研究対象から落ちてしまったり、特定の
特徴を持った偏った対象が選ばれてしまったことによって生じます。

1b

少なくと

【情報バイアス】観察方法や測定方法で生じるバイアス

対象者によって回答が変化しやすい方法で行ったり、対象者によって違う測定方法で
行ったりすることで生じます。

2a

よくデザ

【交絡バイアス】原因でも結果でもない研究しようとしていない第3の要因
によって、検討している因果関係が影響を受けること

2b

よくデザ

例えば他の治療との併用による効果など

3

よくデザイ

4

症例報告、対照群のない研究、質の低いコホート研究、横断的研究などに基づく。

5

専門家の報告・意見・経験に基づく。

* 治療などの介入が行われるグループと、介入が行われないグループを設け、一定の期間観察を続け、その期間に起きた出来事を比較して分析する研究法

** 「ある患者さんにある薬を投与したら、症状が改善した」というように、患者さんの経過を記述して報告する研究

<https://minds.jcqhc.or.jp/docs/minds/kounyo/evidence.html> を改変

利益相反によるバイアス

Pharmaceutical industry sponsorship and research outcome and quality: systematic review

BMJ. 2003;326:1167-70.

Joel Lexchin, Lisa A Bero, Benjamin Djulbegovic, Otavio Clark

製薬企業がスポンサーとなっている臨床試験では、そうでない臨床試験よりも4倍、企業寄りの結果が報告されやすい

Abstract

Objective To investigate whether funding of drug studies by the pharmaceutical industry is associated with outcomes that are favourable to the funder and whether the methods of trials funded by pharmaceutical companies differ from the methods in trials with other sources of support.

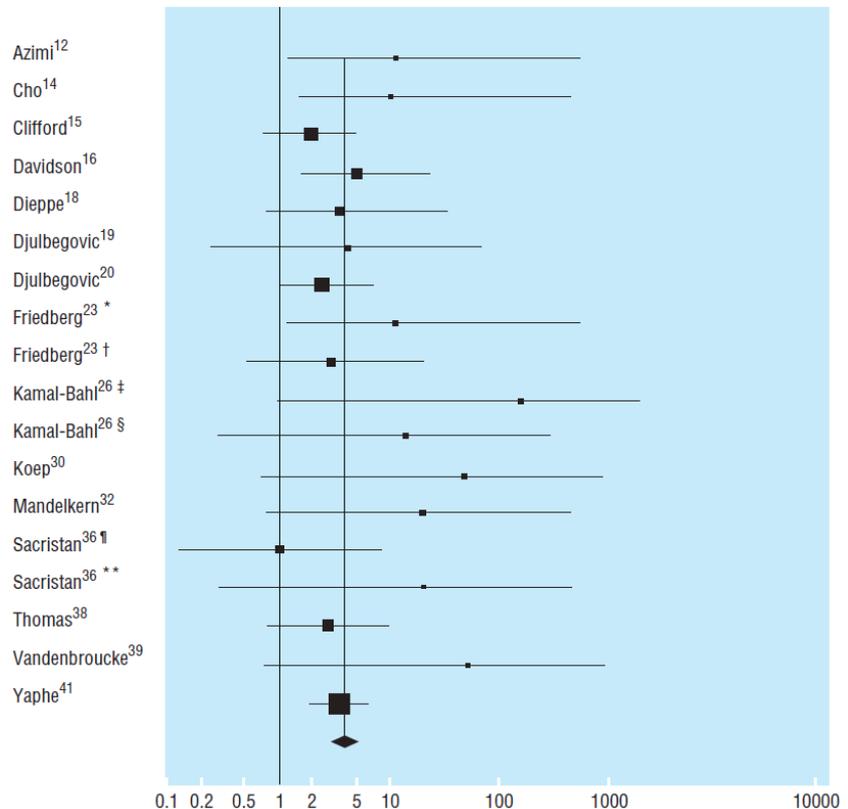
Methods Medline (January 1966 to December 2002) and Embase (January 1980 to December 2002) searches were supplemented with material identified in the references and in the authors' personal files. Data were independently abstracted by three of the authors and disagreements were resolved by consensus.

Results 30 studies were included. Research funded by drug companies was less likely to be published than research funded by other sources. Studies sponsored by pharmaceutical companies were more likely to have outcomes favouring the sponsor than were studies with other sponsors (odds ratio 4.05; 95% confidence interval 2.98 to 5.51; 18 comparisons). None of the 13 studies that analysed methods reported that studies funded by industry was of poorer quality.

Conclusion Systematic bias favours products which are made by the company funding the research. Explanations include the selection of an inappropriate comparator to the product being investigated and publication bias.

Study (first author)

Odds ratio



「先端的治療」は、松竹梅の「松」ではありません 「標準治療」は、松竹梅の「梅」ではありません

- ◆ 保険外診療(自由診療)で行われる

「先端的治療」は、新しいがゆえに臨床経験が少なく、有効性や安全性の評価が定まっています。



- ◆ つまり、「先端的」で「高額」だからといって、最高級の効果があるとの評価が定まっているわけではありません。

根拠の信頼性(エビデンスレベル)が低く、バイアス(偏見)がまざっている可能性があることに注意

- ◆ 「標準治療」とよばれる治療の「標準」の意味は、「松竹梅の梅」や「牛丼の特上・上・並の並」のような意味ではなく、科学的根拠に基づいた観点で、現在利用できる最良の治療であることが示され、ある状態の一般的な患者さんに行われることが推奨される治療を指します。
- ◆ 有効性や安全性の評価が定まっていない最新の治療に飛びつくと、患者さんの人生の中で「標準治療」を実施すべきタイミングを逸してしまう恐れがあることには注意が必要です。

「標準治療」はどこで調べられる？

- ◆ 各疾患の関連学会等が作成する診療ガイドライン

- ◆ Mindsガイドラインライブラリ(公益財団法人日本医療機能評価機構)

<https://minds.jcqhc.or.jp/>

- ◆ がん情報サービス(国立がん研究センターがん対策研究所)

<https://ganjoho.jp/public/index.html>

- ◆ がん情報サイト(公益財団法人 神戸医療産業都市推進機構)

<https://cancerinfo.tri-kobe.org/>

「標準治療」はどこで調べられる？

https://minds.jcqhc.or.jp

50%



検索



ツールバーに配置すると、素早くアクセスできます。ブックマークを管理...

厚生労働省委託事業 公益財団法人日本医療機能評価機構

Minds ガイドラインライブラリ

GRADE

日本語

ENGLISH

サイト内検索

ログイン

お問い合わせ

このサイトの使い方 診療ガイドラインの評価・掲載をご希望の方へ

Mindsについて

診療ガイドラインとは

Mindsの診療ガイドライン掲載方針

診療ガイドラインの活用

診療ガイドライン作成方法

患者・市民の方へ

重要なお知らせ

COVID-19に関する情報提供 (2022年6月23日更新)

病気のことや治療法について もっと知りたい

Mindsが公開している「診療ガイドライン」「ガイドライン解説」は、医学的根拠に基づいて作成され、評価・選定を経て、掲載されています。



診療ガイドライン検索



ガイドライン解説検索

診療ガイドラインを検索



+ 検索条件を追加



このサイトの使い方



診療ガイドラインの
評価・掲載をご希望の方へ

「標準治療」はどこで調べられる？

🔒 <https://ganjoho.jp/public/index.html> 67% ☆ 🔍 検索

置すると、素早くアクセスできます。ブックマークを管理...

がん情報サービス ganjoho.jp

サイト内検索 🔍

小 大

医療関係者向け > がん統計 > がんの臨床試験を探す >

病名から探す ▾ | がんの治療と生活 ▾ | 制度やサービスを知る ▾ | がんの予防・検診 ▾ | 資料室 ▾

確かながんの情報をお届けします

当サイトは、国立がん研究センターが運営する公式サイトです。

がんの治療と生活

 がんの基礎知識	 診断と治療	 症状を知る／生活の工夫
---	--	---

制度やサービスを知る

がんの相談	がんと仕事	がんと学校	がんとお金
地域のがん情報	小児の地域のがん情報	がん登録	

「標準治療」はどこで調べられる？



がん情報サイト

Cancer Information Japan

サイト内検索 🔍

お問い合わせ



このサイトについて
About Us

がんの種類
Cancer Types

最新がん情報
Summaries

がん用語辞書
Dictionary

お知らせ一覧
News



PDQ®最新がん情報
Cancer Information Summaries



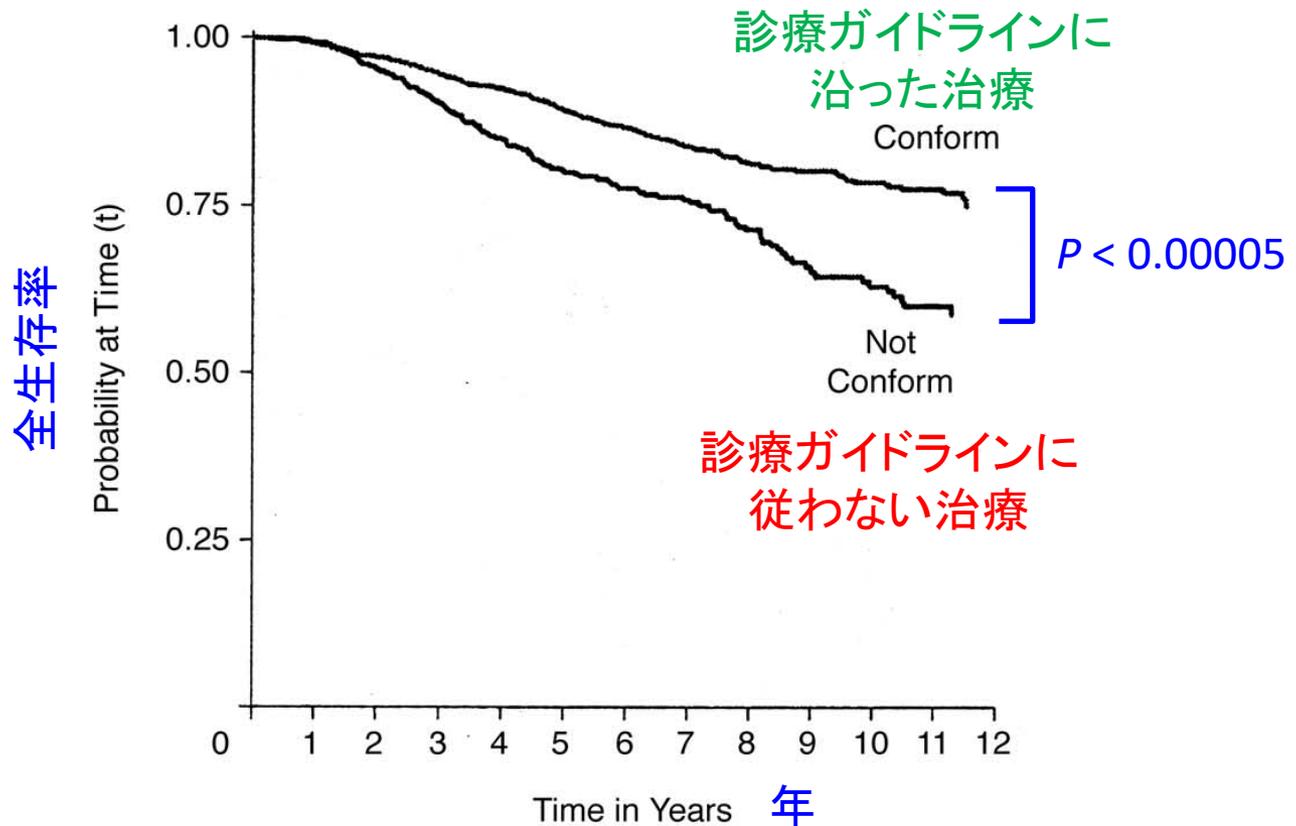
PDQ®がん用語辞書
Dictionary of Cancer Terms



NCCNガイドライン日本語版
NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology

「標準治療」の有用性を示した事例

診療ガイドラインに沿った治療により、リンパ節転移陰性乳癌女性の生存率が改善



参考

患者と医師の関係を考える ～上手に使おう、診療ガイドライン～ ドクターゼ 日本医師会発行



患者と医師の関係を考える

～上手に使おう、診療ガイドライン～



https://www.med.or.jp/doctor-ase/vol18/18page_ID03main1.html#2

安全性の確認

再生医療の実用化の上で

いちばん大切なこと

移植する細胞（細胞加工製品）の
安全性が確保されていること！

安全第一



「再生医療の安全性」を考える上で 注意すべきポイント

① 行うヒト: 医療従事者 (医師・歯科医師)

再生医療の経験・知識が十分か？ (日本再生医療学会の認定医か？)

② 使うモノ: 細胞加工製品 (再生医療等製品)

公平な場で審査されているか？ (専門家のチェックが入っているか？)

- 移植細胞は薬機法(旧薬事法)で製造販売承認を受けたものか？承認時と同じ用途か？
- もしくは、製造販売承認を目指した臨床試験(治験)か？
- あるいは、薬機法上の承認はないが、(特定)認定再生医療等委員会で安全性の審査を受けたものか？
(=再生医療等安全性確保法の下での治療・臨床研究)





「再生医療の安全性」を考える上で 注意すべきポイント(つづき)

③ 使うモノ(細胞加工製品(再生医療等製品))

使われる細胞自体の性質や使われ方は？

- 「先端的技術」は「経験が少ない」ということの裏返し
(例:ES細胞、iPS細胞、遺伝子導入)
- ウイルス感染や拒絶反応のおそれはないか？
(例:他人の細胞、動物由来の細胞)
- 細胞が変質しているおそれはないか？(例:未分化な細胞、長期の培養)
- 投与した細胞が長期間体内に残るか (例:整形外科的な目的の場合)
- 細胞の元々の機能と違う機能を期待して使うか？
[=移植後の細胞の挙動が予測できるか？]
(例:骨髄の細胞を血管の再生に使う)

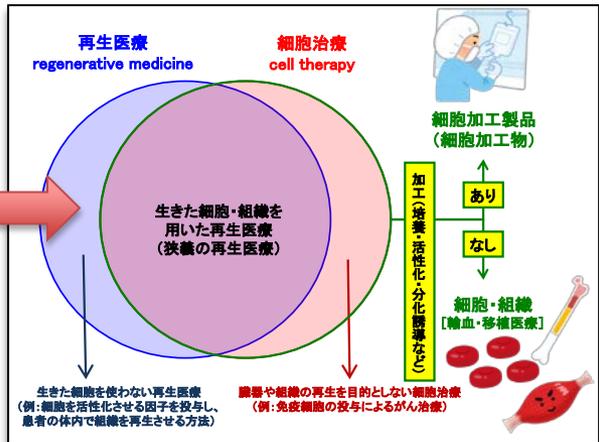




「再生医療の安全性」を考える上で 注意すべきポイント(つづき)

④ 「再生医療等安全性確保法」の対象外となる「再生医療」

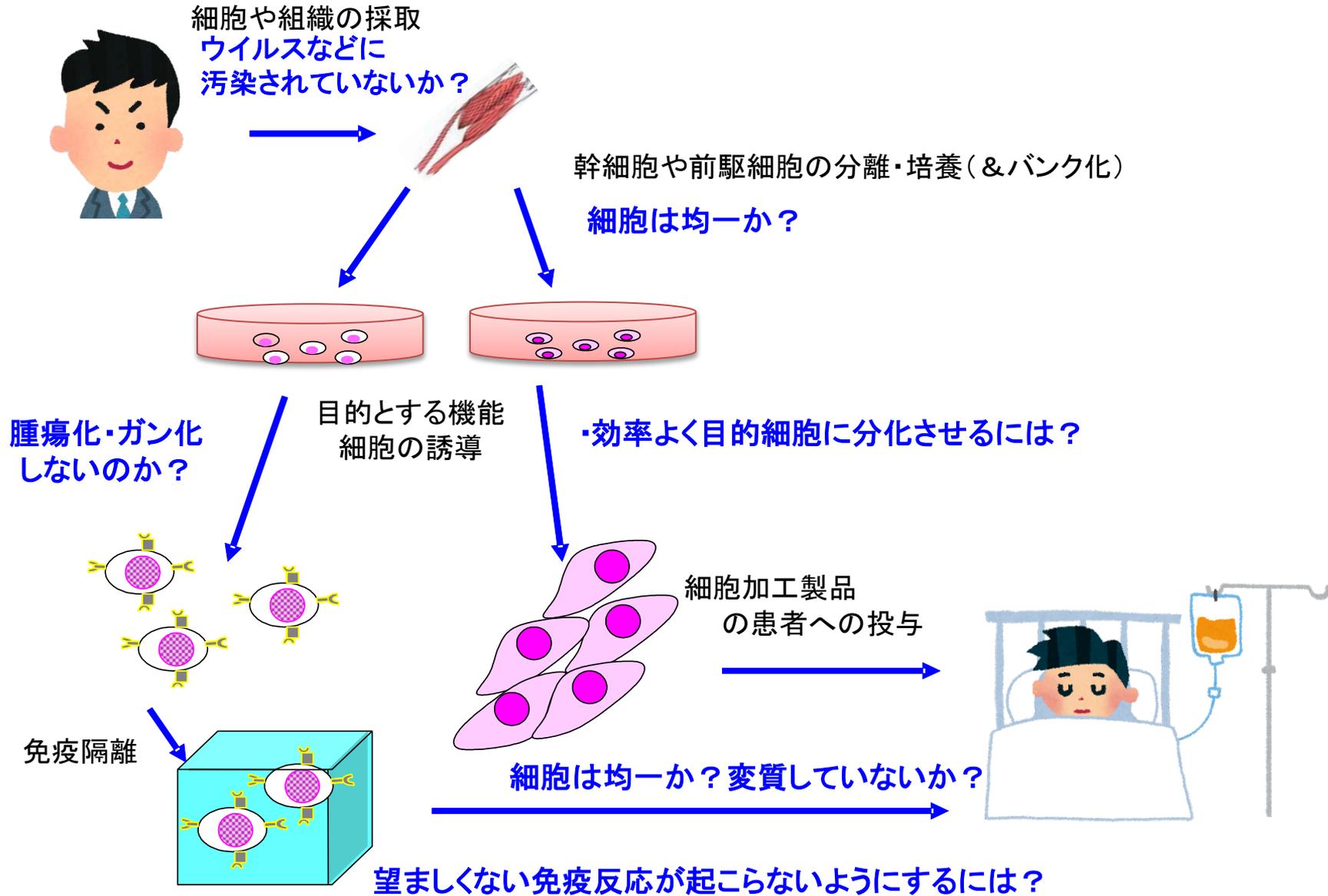
細胞培養上清や細胞外小胞(エクソソーム)を用いた
「『再生医療』と称される自由診療」



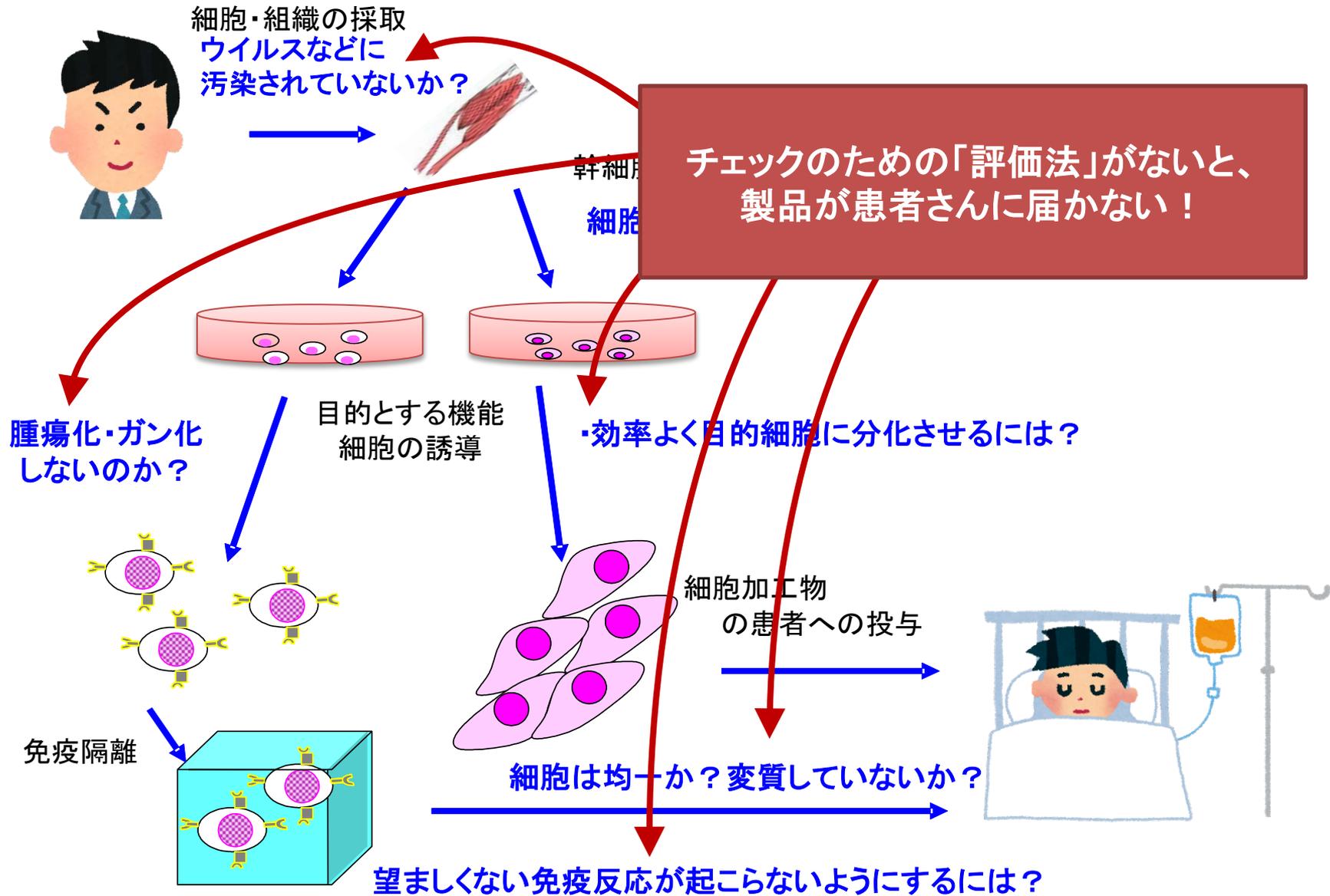
- **細胞培養上清液、あるいはそれから抽出される細胞外小胞(エクソソーム)**を塗布したり投与したりする治療を『再生医療』(=広い意味での再生医療)と称し、自由診療として実施している医療機関が増えています。
- これらの製品は、生きた細胞由来の生(ナマ)の細胞膜成分を含みますので、**ウイルスなどの感染因子の混入を想定した不活化・除去処理が困難**です。
- ただし、これらの製品には生きた細胞が含まれていませんので、法律上は「細胞加工物」に該当しません。したがって、
これらを使った自由診療は、今のところ『再生医療等安全性確保法』の対象外とされています。
- つまり、自由診療で使用される場合には、『再生医療等安全性確保法』や『薬機法』に定められているような**品質管理・製造管理がされていない可能性がある**(=安全性が法的には確保されていない)ことに注意が必要です。



再生医療に使う細胞の品質・有効性・安全性の確保



再生医療に使う細胞の品質・有効性・安全性の確保



先端的な医療製品の安全性・有効性・品質の確保 における問題点

技術の進歩により登場する新しいタイプの製品の開発の速さに、
安全性・有効性・品質の評価法の開発が追いついていない
(例:再生医療、遺伝子治療、ゲノム編集、核酸医薬)

“規制科学” (レギュラトリーサイエンス) 製品の評価法の開発・検証ための科学

評価法の能力・限界についての理解が共有されないと、
先端医療の実用化はできない

“イノベーション”

「規制」は開発を妨害するか？

新しいタイプの医療製品の 実用化のための課題

- 有効性と安全性を確保すること
- そのためには細胞の品質をどう確認すればよいか？
- そのためには細胞の規格をどう決めるか？

ルールがなければ、「何を」「どうやって」「どこまで」
示せば十分なのか、開発側も審査側も分からない

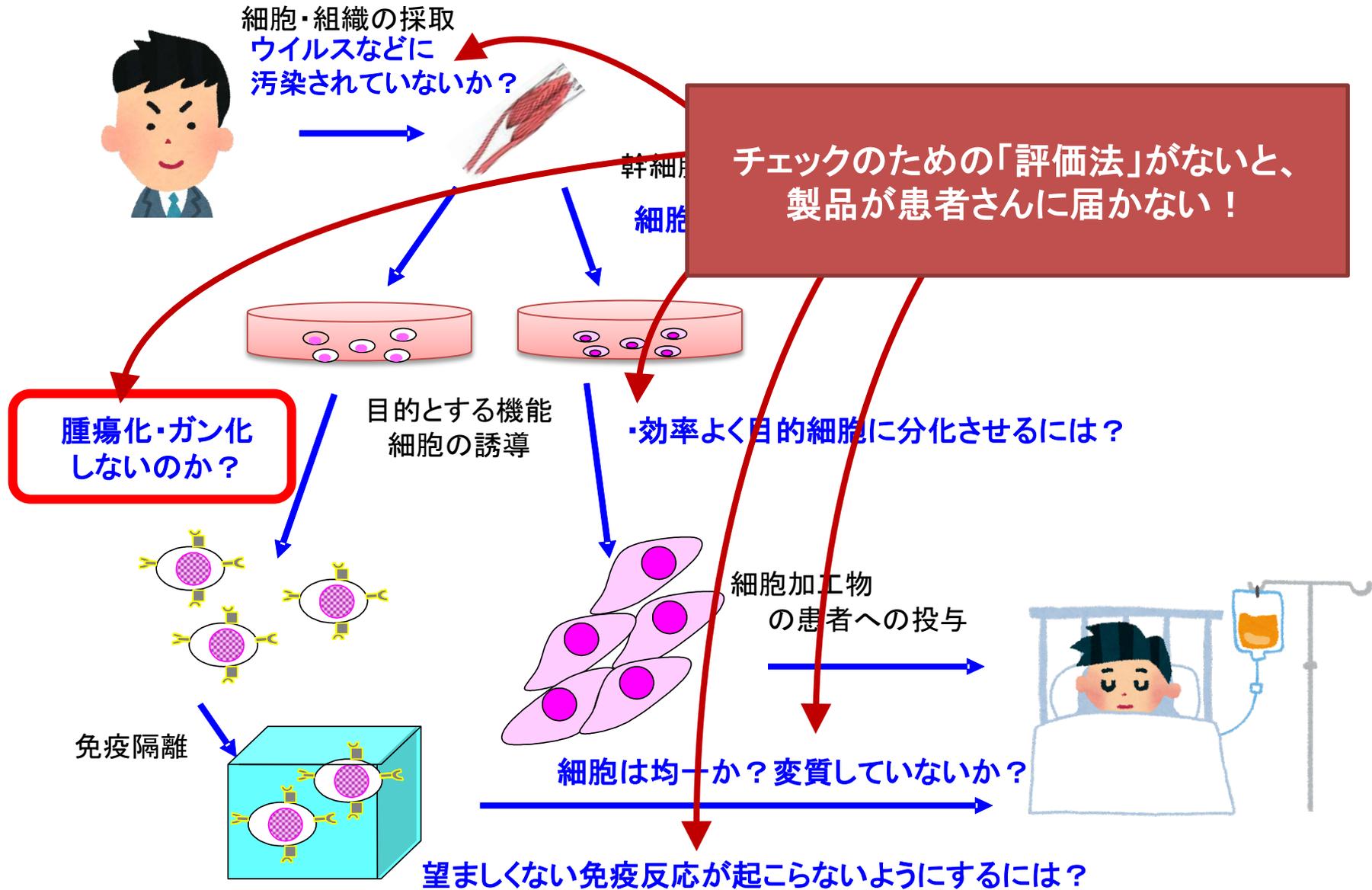
「ルールなくして製品なし」

「規制」はだれが作るのか？

先端的な医療製品に関する規制は
「官」だけでは作れない！

- 産学官+医&患の連携
具体的問題に関しては医療現場・開発者の方が審査側より進んでいる場合が多い。
- 国際協調も必要 （製品の国際的展開を視野）
- 科学的&オープンな議論
⇒ 一緒に原則を考え、視点の相違を認識・尊重し、
一緒にルールを考え、共有する
(共同研究・学会・フォーラム・市民講座など)

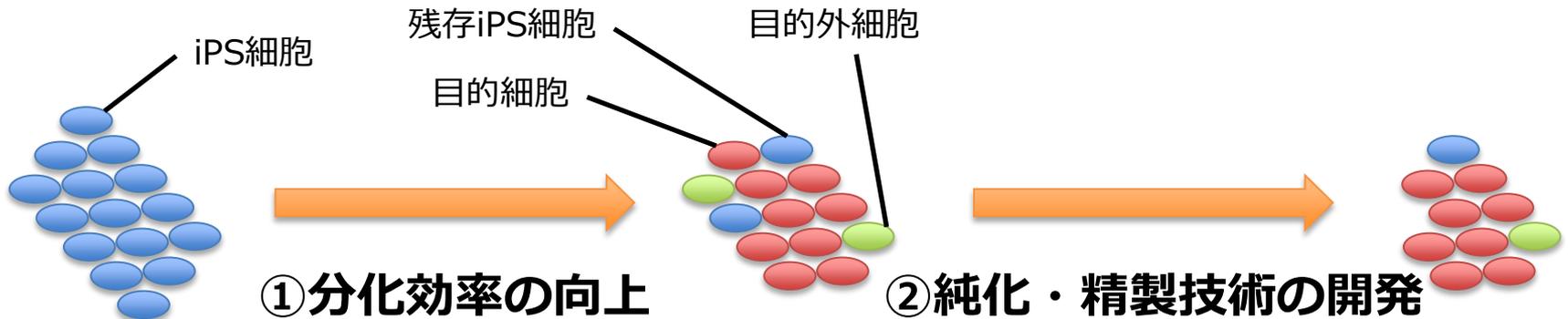
再生医療に使う細胞の品質・有効性・安全性の確保



ヒトES/iPS細胞から作った細胞は患者に移植された後に腫瘍化してしまうかもしれない・・・どうする？

- 未分化な**ES/iPS細胞**には、**元々腫瘍形成能力（悪性でないが）がある**。なので、ES/iPS細胞が残っていると、腫瘍ができやすくなる。
- 長期間の培養により**形質転換細胞（がん細胞）**が出現するかもしれない。

未分化ES/iPS細胞・形質転換細胞の残存・混入を防止する工夫が必要

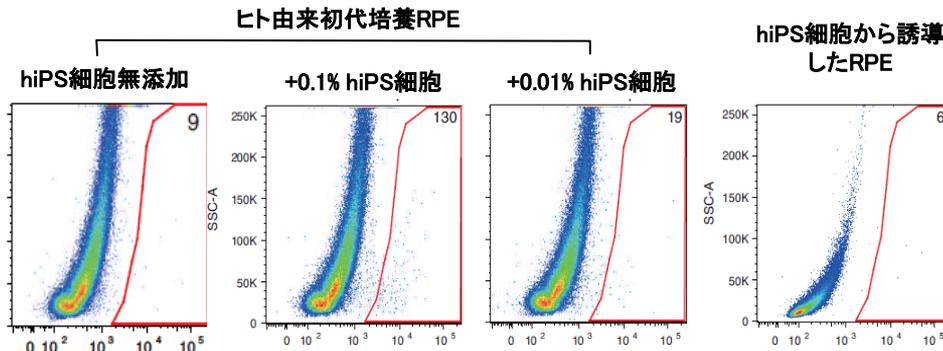


③製品の「実用化」には、未分化ES/iPS細胞や形質転換細胞の除去・残留を確認する試験法が必要

ヒトiPS細胞に由来する分化細胞(移植細胞)に残存・混入する未分化なiPS細胞(造腫瘍性細胞)の検出方法の開発

(公財)先端医療振興財団等
(公財)実験動物中央研究所との共同研究

未分化細胞マーカー分子に対する抗体によるフローサイトメリーによる評価

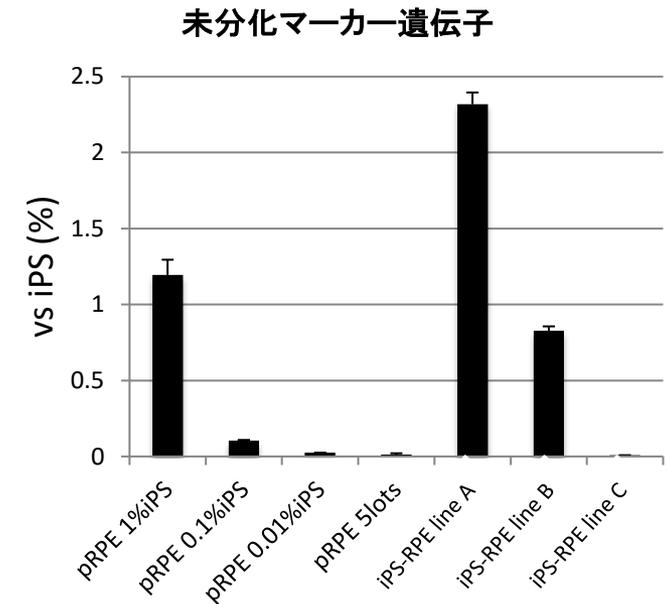


重度免疫不全動物への移植実験による評価



NOD.Cg-Prkdcscid Il2rgtm1 Sug/Jic
(NOG)

遺伝子発現解析による評価

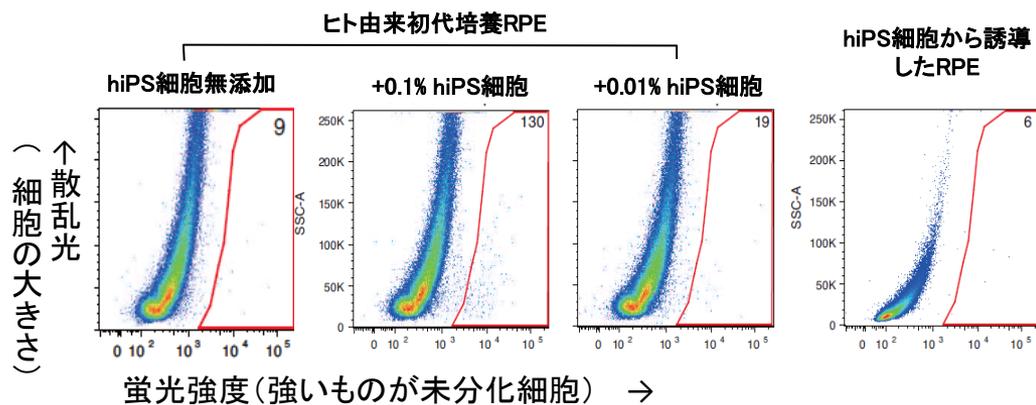
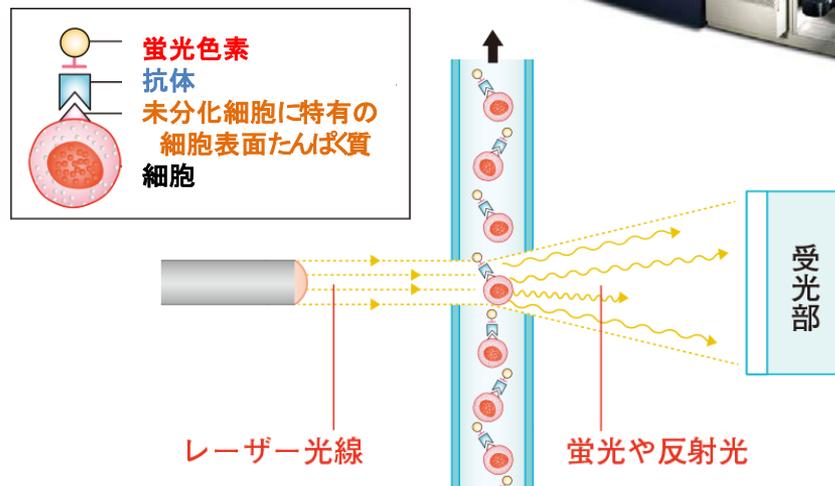
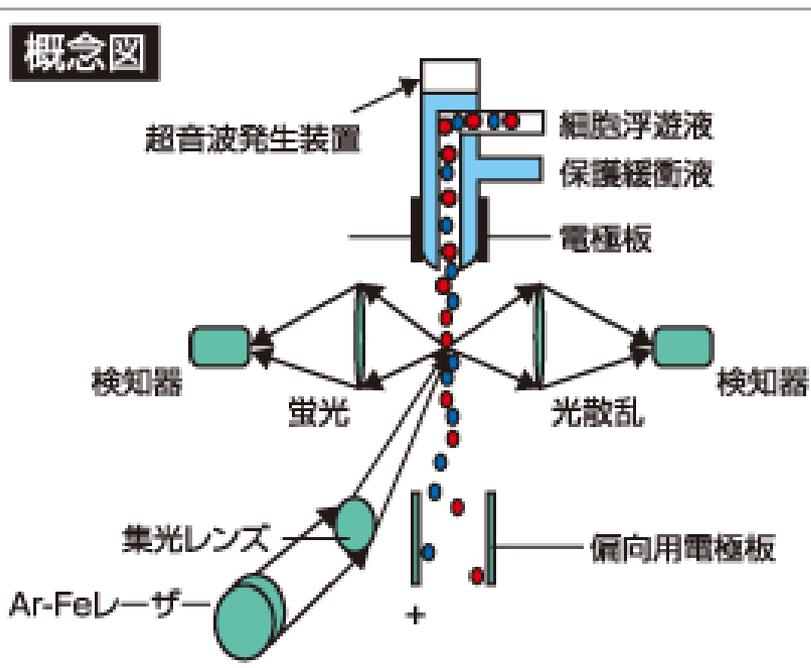


ヒトiPS細胞に由来する分化細胞(移植細胞)に残存・混入する未分化なiPS細胞(造腫瘍性細胞)の検出方法(1)

(公財)先端医療振興財団との共同研究

フローサイトメトリー

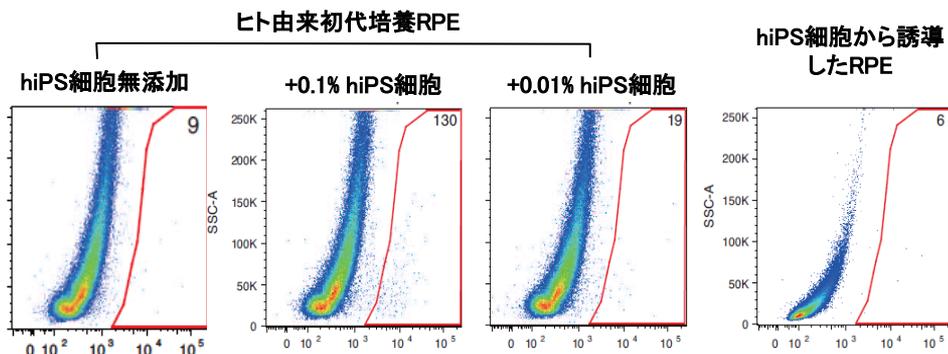
細胞を懸濁させた液体を細胞が一行になるように流れている状態にし、それにレーザー光を当てて反射する光を測定し、光の強さを電気信号に置き換えて定量化し、細胞一つ一つの情報を自動的にサンプリングする方法



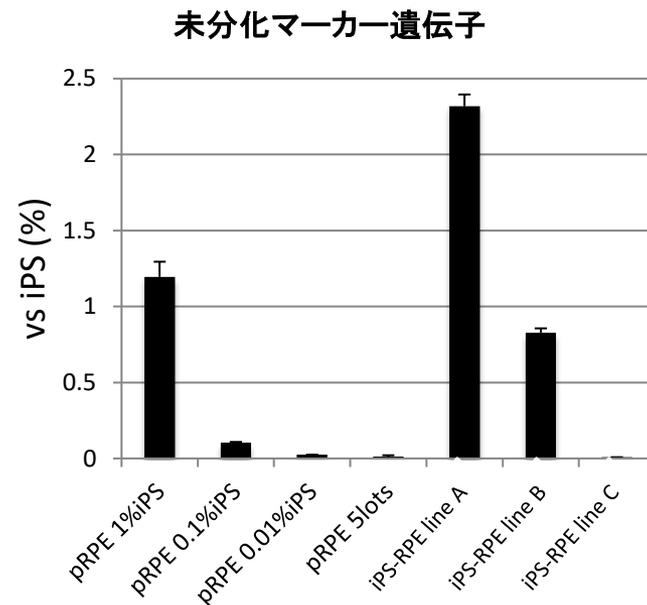
ヒトiPS細胞に由来する分化細胞(移植細胞)に残存・混入する未分化なiPS細胞(造腫瘍性細胞)の検出方法の開発

(公財)先端医療振興財団等
(公財)実験動物中央研究所との共同研究

未分化細胞マーカー分子に対する抗体によるフローサイトメリーによる評価



遺伝子発現解析による評価



重度免疫不全動物への移植実験による評価



NOD.Cg-Prkdcscid Il2rgtm1 Sug/Jic
(NOG)

ヒトiPS細胞に由来する分化細胞(移植細胞)に残存・混入する未分化なiPS細胞(造腫瘍性細胞)の検出方法(2)

(公財)実験動物中央研究所との共同研究

重度免疫不全動物への移植実験

ヒト由来の細胞の造腫瘍性を動物実験で確認するには動物側の免疫拒絶反応を抑えておく必要がある。

NOD.Cg-Prkdcscid Il2rgtm1Sug/Jicマウス(NOGマウス)は、(公財)実験動物中央研究所で開発されたマウス系統で、

免疫系の細胞が無いまたは重度機能不全を起こしている
=ヒトの細胞を移植しても、拒絶反応が少ない



T細胞



マクロファージ



樹状細胞



B細胞



NK細胞



残存iPS細胞あり



ヒトiPS細胞由来
分化細胞

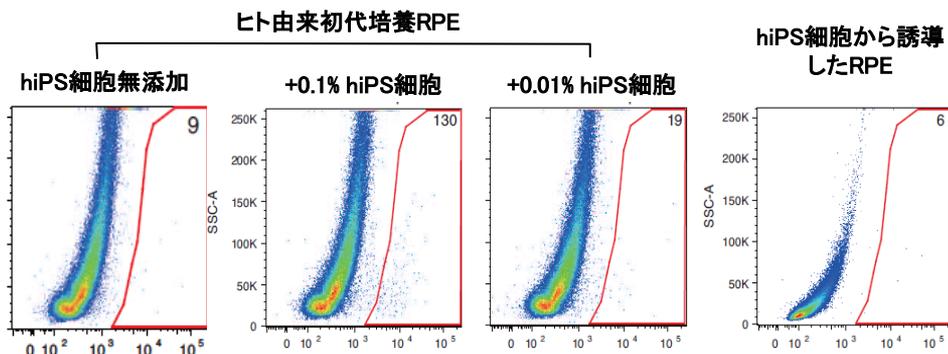
残存iPS細胞なし



ヒトiPS細胞に由来する分化細胞(移植細胞)に残存・混入する未分化なiPS細胞(造腫瘍性細胞)の検出方法の開発

(公財)先端医療振興財団等
(公財)実験動物中央研究所との共同研究

未分化細胞マーカー分子に対する抗体によるフローサイトメトリーによる評価

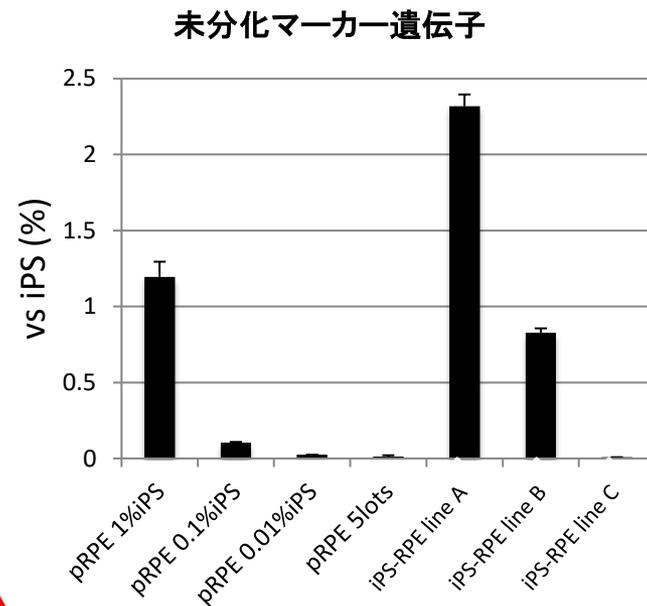


重度免疫不全動物への移植実験による評価

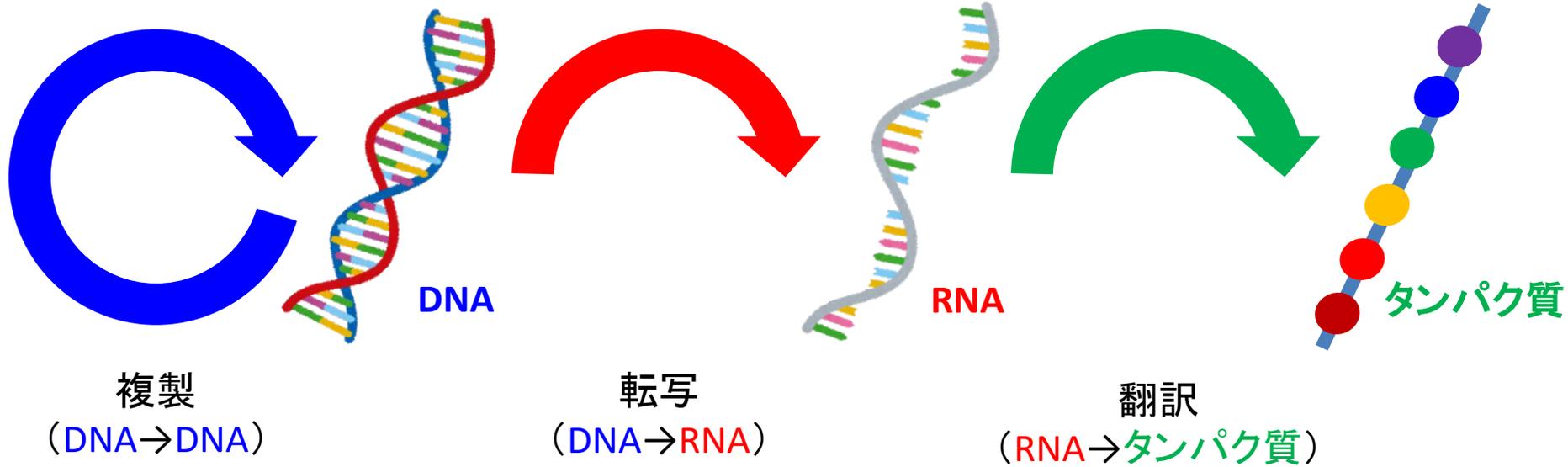


NOD.Cg-Prkdcscid Il2rgtm1 Sug/Jic
(NOG)

遺伝子発現解析による評価



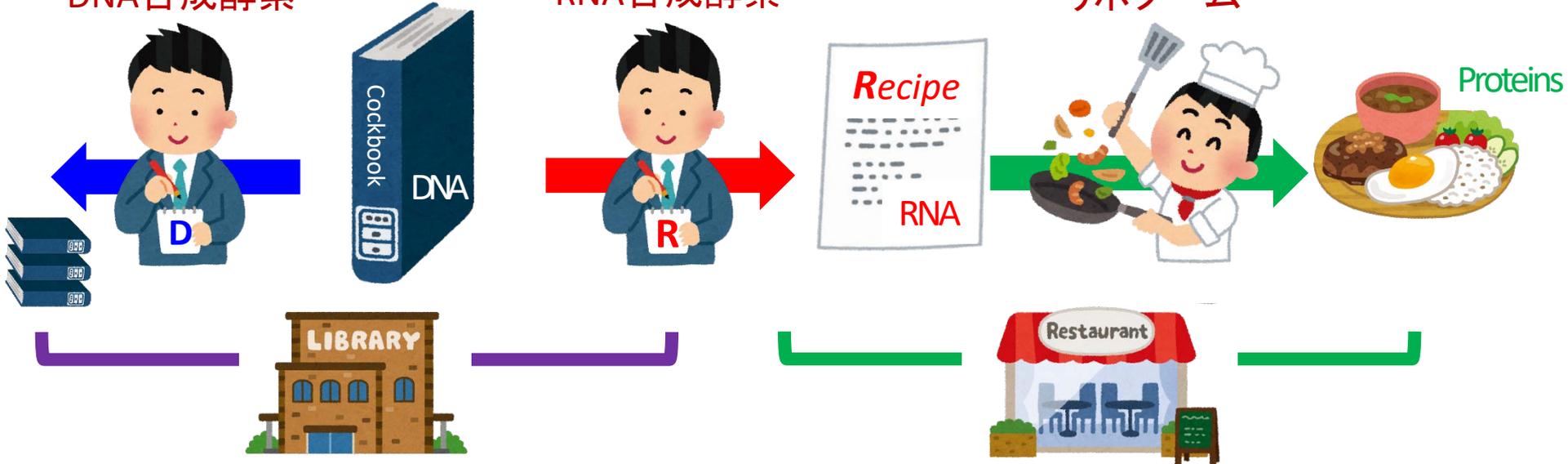
遺伝情報(DNA)から細胞の実体(タンパク質)ができるまで



DNA合成酵素

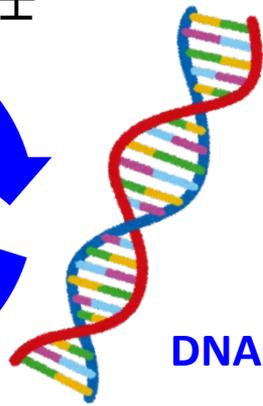
RNA合成酵素

リボゾーム

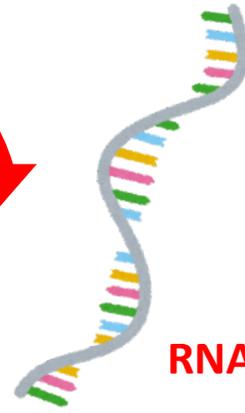
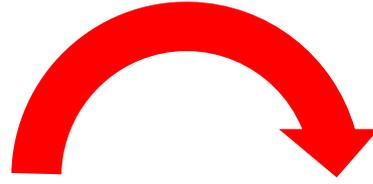


遺伝情報(DNA)から細胞の実体(タンパク質)ができるまで

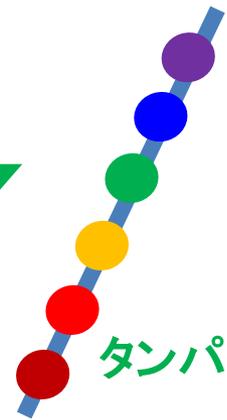
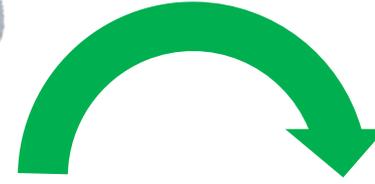
キャリー・マリス博士



DNA



RNA



タンパク質

複製
(DNA→DNA)

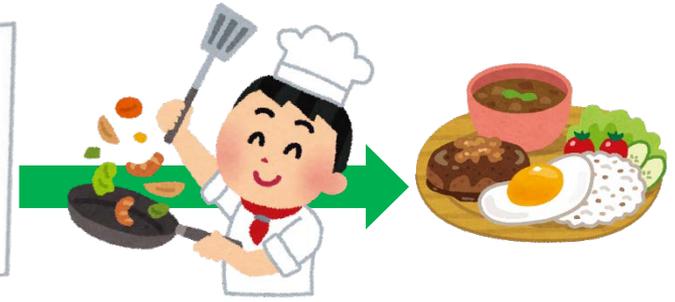
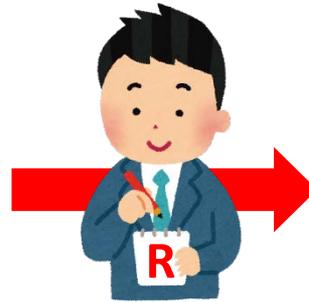
転写
(DNA→RNA)

翻訳
(RNA→タンパク質)

耐熱性DNA合成酵素

RNA合成酵素

リボゾーム



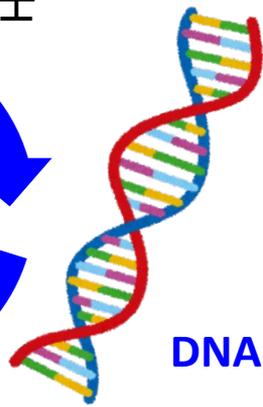
PCR
ポリメラーゼ連鎖反応



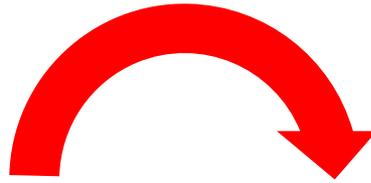
1993年
ノーベル化学賞

遺伝情報(DNA)から細胞の実体(タンパク質)ができるまで

キャリー・マリス博士



DNA



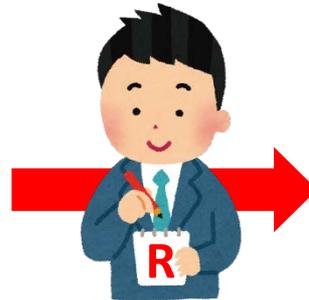
RNA

複製
(DNA→DNA)

転写
(DNA→RNA)

耐熱性DNA合成酵素

RNA合成酵素



iPS細胞だけで転写されている
遺伝子由来のRNA量を測れば、
iPS細胞の混入量を推定できる

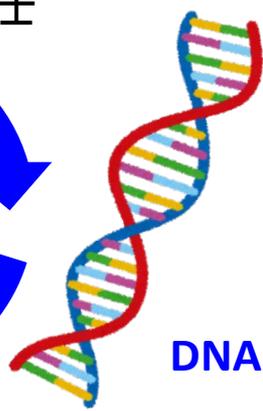
1993年
ノーベル化学賞



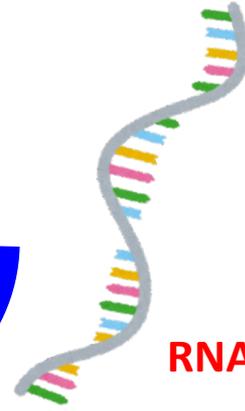
https://en.wikipedia.org/wiki/Kary_Mullis

遺伝情報(DNA)から細胞の実体(タンパク質)ができるまで

キャリー・マリス博士



DNA



RNA

複製
(DNA→DNA)

逆転写
(DNA←RNA)

RT-PCR(逆転写PCR, 定量性のあるものをqRT-PCRという)

耐熱性DNA合成酵素

RNA逆転写酵素

iPS細胞だけで転写されている遺伝子由来のRNA量を測れば、iPS細胞の混入量を推定できる

PCR

ポリメラーゼ連鎖反応

1993年

ノーベル化学賞

Restaurant



残存する未分化iPS/ES細胞の高感度検出法

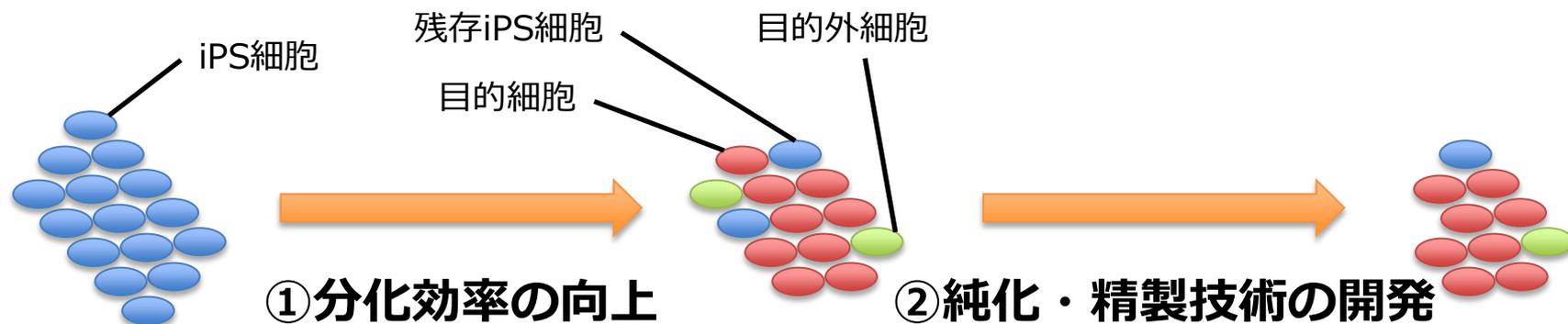
試験法	<i>in vivo</i> 造腫瘍性試験 (NOG x Matrigel, 皮下投与)	フローサイトメトリー	GlycoStem-HP法 [産総研の開発]
目的	造腫瘍性細胞の検出	未分化な多能性幹細胞の検出	未分化な多能性幹細胞の検出
所要時間	12-16週間	1日	3時間以下 (培養上清回収から測定まで)
利点	<ul style="list-style-type: none"> 直接的 微小環境での造腫瘍性を評価できる 	<ul style="list-style-type: none"> 短時間・簡便 個々の細胞を解析 	<ul style="list-style-type: none"> 非破壊的 簡便 高スループット
欠点・注意点	<ul style="list-style-type: none"> 費用と時間がかかる 専用動物施設が必要 臨床適用相当部位の微小環境での造腫瘍性を評価可能 	<ul style="list-style-type: none"> 間接的 既知のマーカ分子を発現する細胞以外は検出不能 ゲーティングが結果に影響 	<ul style="list-style-type: none"> 間接的 個々の細胞でのマーカ分子発現レベルは評価できない 培地成分が結果に影響
LLOD または 検出力	hrPE2.5E+5個中に 1,000個(0.4%) の割合で混入するhiPS細胞 を50%の確率で検出	hrPE中の 0.1% のiPS細胞 (マーカ:TRA-1-60)	HEK293T中の 0.05% のiPS細胞 (マーカ:H3+ポドカリキシン)
出典	Kanemura <i>et al.</i> , <i>Sci Rep.</i> 2013 Yasuda <i>et al.</i> , <i>PLoS ONE.</i> 2018	Kuroda <i>et al.</i> , <i>PLoS ONE.</i> 2012	Tateno <i>et al.</i> , <i>Sci Rep.</i> 2014

試験法	qRT-PCR	Droplet Digital PCR	Essential-8/LN521培養増幅法
目的	未分化の多能性細胞の検出	未分化の多能性細胞の検出	未分化の多能性細胞の検出
所要時間	6時間	数時間	約1週間
利点	<ul style="list-style-type: none"> 迅速 簡便 高感度 	<ul style="list-style-type: none"> 迅速 簡便 高感度 	<ul style="list-style-type: none"> 直接的 簡便 残存iPS細胞の特性解析が可能
欠点・注意点	<ul style="list-style-type: none"> 間接的 個々の細胞でのマーカ分子発現レベルは評価できない 	<ul style="list-style-type: none"> 間接的 個々の細胞でのマーカ分子発現レベルは評価できない 	<ul style="list-style-type: none"> 時間がかかる スループットが低い
LLOD または 検出力	hrPE中の 0.002%以下 のiPS細胞 (マーカ:LIN28)	ヒト心筋細胞中の 0.001% のiPS細胞 (マーカ:LIN28)	hMSC中の 0.01-0.001% のiPS細胞 (ヒト胚葉体中の 0.1-0.01% のiPS細胞)
出典	Kuroda <i>et al.</i> , <i>PLoS ONE.</i> 2012	Kuroda <i>et al.</i> , <i>Regen Ther.</i> 2015	Tano <i>et al.</i> , <i>PLoS ONE.</i> 2014

ヒトES/iPS細胞から作った細胞は患者に移植された後に腫瘍化してしまうかもしれない・・・どうする？

- 未分化な**ES/iPS細胞**には、**元々腫瘍形成能力（悪性でないが）がある**。なので、ES/iPS細胞が残っていると、腫瘍ができやすくなる。
- 長期間の培養により**形質転換細胞（がん細胞）**が出現するかもしれない

未分化ES/iPS細胞・形質転換細胞の残存・混入を防止する工夫が必要



③ 製品の「実用化」には、未分化ES/iPS細胞や形質転換細胞の除去・残留を確認する試験法が必要

混在する形質転換細胞の高感度検出法

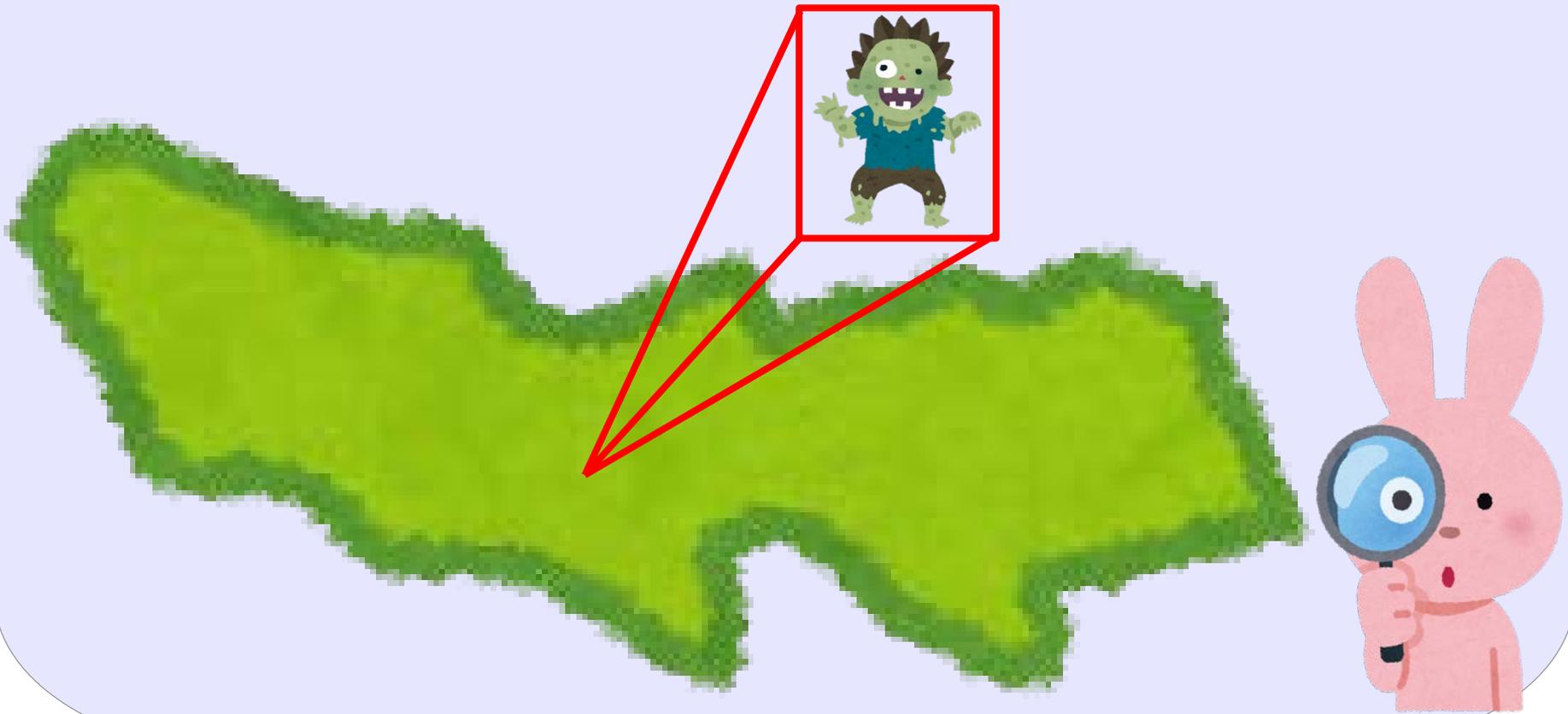
試験法	<i>in vivo</i> 造腫瘍性試験 (NOG x Matrigel, 皮下投与)	軟寒天コロニー形成試験	デジタル 軟寒天コロニー形成試験	細胞増殖特性解析
目的	造腫瘍性細胞の検出	足場非依存的増殖 (悪性形質転換細胞)の検出	足場非依存的増殖 (悪性形質転換細胞)の検出	不死化細胞 (形質転換細胞)の検出
所要時間	16週間以上	3-4週間	3-4週間	4週間またはそれ以上
利点	<ul style="list-style-type: none"> 直接的 臨床適用相当部位の微小環境での造腫瘍性を評価可能 	<ul style="list-style-type: none"> 安価 悪性形質転換細胞を単離・特性解析できる 	<ul style="list-style-type: none"> 悪性形質転換細胞を単離・特性解析できる 	<ul style="list-style-type: none"> 安価で簡便 良性も悪性も幅広く不死化細胞を検出
欠点・留意点	<ul style="list-style-type: none"> 費用と時間がかかる 専用動物施設が必要 良性不死化細胞検出不能 	<ul style="list-style-type: none"> 造腫瘍性細胞の有無は間接的に判断 浮遊系細胞には使えない 良性不死化細胞検出不能 	<ul style="list-style-type: none"> 造腫瘍性細胞の有無は間接的に判断 浮遊系細胞には使えない 良性不死化細胞検出不能 イメージスキャナーが高価 	<ul style="list-style-type: none"> 造腫瘍性細胞の有無は間接的に判断 (良性と悪性を区別できない)
検出限界 または 検出能力	hMSCIに $1/1E+6$ (0.0001%) の割合で混入するHeLa細胞 (10個)を17%の確率で検出	hMSCIに $1/1E+3$ (0.1%) の割合で混入するHeLa細胞 (計算上は0.02%)	hMSCIに $1/1E+7$ (0.00001%) の割合で混入するHeLa細胞を検出可能	hMSCIに $1/1E+6$ (0.0001%) の割合で混入するHeLa細胞。脂肪由来幹細胞に $1/1E+5$ (0.001%) の割合で混在する不死化脂肪由来幹細胞は検出可能
出典	Kusakawa <i>et al.</i> , <i>Regen Ther.</i> 2015	Kusakawa <i>et al.</i> , <i>Regen Ther.</i> 2015	Kusakawa <i>et al.</i> , <i>Sci Rep.</i> 2015	Kono <i>et al.</i> , <i>Biologicals.</i> 2015&2017 Hasebe-Takada <i>et al.</i> , <i>Regen Ther.</i> 2016

正常細胞中に微量に混在するがん細胞を検出する技術

(1000万分の1の割合で混在するがん細胞を検出することが可能に)

イメージ:

東京都(人口約900万人)の中から1人のゾンビを見つけ出すことが可能な技術



道具・手段の「能力と限界を知る」ことが大切

http://app.famitsu.com/20140305_328167/



その上で、開発競争の場にいち早く投入する

国内で実施が承認されたヒトiPS/ES細胞加工物を使用した臨床研究及び治験 [2022年7月現在]

移植細胞	原料ヒト細胞	適応疾患	実施施設	臨床研究/治験	実施承認	FIH試験
網膜色素上皮細胞	自己iPS細胞	滲出型加齢黄斑変性	先端医療センター病院	臨床研究	2013	2014
色素上皮細胞	同種iPS細胞	滲出型加齢黄斑変性	神戸市立医療センター <i>etc.</i>	臨床研究		
神経前駆細胞	同種iPS細胞	パーキンソン病	京都大学	医師主導治験		
血小板	自己iPS細胞	再生不良性貧血	京都大学	臨床研究		
角膜上皮細胞	同種iPS細胞	角膜上皮幹細胞疲弊症	大阪大学	臨床研究		
肝細胞	ES細胞(同種)	先天性尿素サイクル異常症	国立成育医療研究センター	医師主導治験		
心筋細胞	同種iPS細胞	虚血性心筋症	大阪大学	医師主導治験		
神経前駆細胞	同種iPS細胞	脊髄損傷	慶応義塾大学 <i>etc.</i>	臨床研究	2019	2021
網膜視細胞	同種iPS細胞	網膜色素変性症	神戸市立神戸アイセンター病院	臨床研究	2020	2020
NKT細胞	同種iPS細胞	再発・進行頭頸部がん	千葉大学・理化学研究所	医師主導治験	2020	2020
軟骨	同種iPS細胞	膝関節軟骨損傷	京都大学	臨床研究		
心筋細胞	同種iPS細胞	拡張型心筋症	慶応義塾大学	臨床研究		
色素上皮細胞	同種iPS細胞	網膜色素上皮不全症	神戸市立神戸アイセンター病院	臨床研究		
G3-CAR発現NK細胞	同種iPS細胞	卵巣がん	京都大学・国立がん研究センター	医師主導治験		
角膜内皮細胞	同種iPS細胞	水疱性角膜症	慶応義塾大学	臨床研究		
血小板	同種iPS細胞	血小板減少症	メガカリオン・京都大学・CiRA-F	企業治験	2021	2022



<https://nd.natureasia.com/figure/4438/56992/phone/1>



<https://english.kyodonews.net/news/2020/01/47a1ba1f19f1-japan-researchers-conduct-worlds-1st-transplant-of-ips-heart-muscles.html>

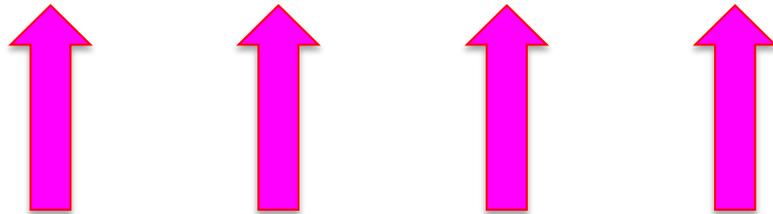
<https://japan-forward.com/osaka-university-team-does-worlds-first-successful-ips-cell-derived-corneal-transplant/>



<https://www.sankei.com/article/20200521-B515H155EB16XMQ5AVIKYLXQVY/photo/UDRYD4AHVFJPDHGF854X2ZS2B2Q/>



試験法の開発で貢献



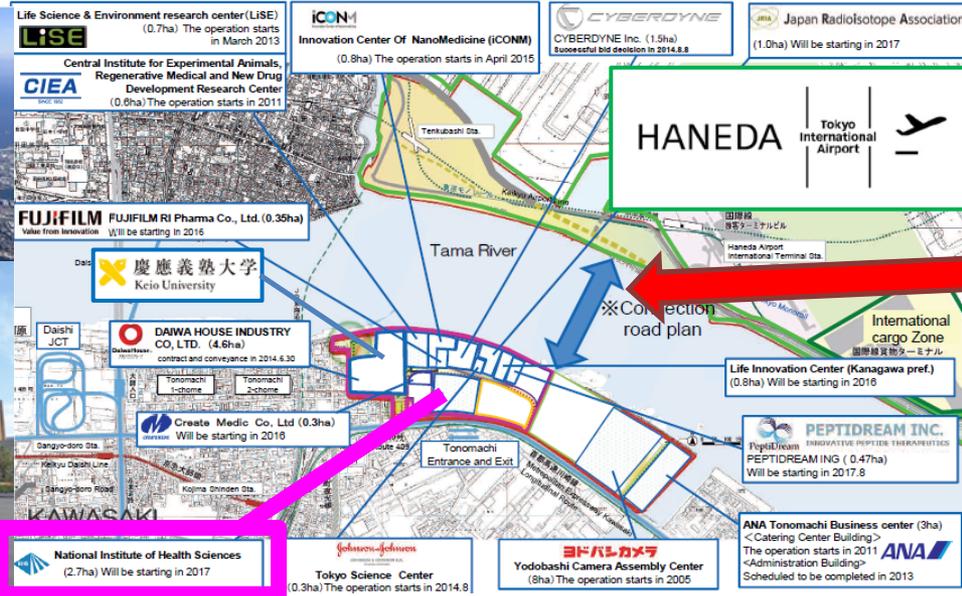
ご清聴ありがとうございました



佐藤陽治

国立医薬品食品衛生研究所 再生細胞医療製品部

E-mail: yoji@nihs.go.jp



橋が開通しました



* <https://www.oag.com/hubfs/air-canada-787.jpg>
** <http://www.city.kawasaki.jp/en/page/0000038680.html>

<https://www.yomiuri.co.jp/economy/20220312-OYT1T50093/>