

みんなで考える幹細胞研究

「生命の萌芽」の これまでと これから

市民公開講座

開催日時：2023年3月25日(土)
14:00-17:00

開催場所：国立京都国際会館

基調講演

iPS細胞を用いた
再生医療と創薬研究

岡野栄之
(慶應義塾大学)

こちらの資料は、公開用として一部編集をしています。また、二次利用など資料の取り扱いにはご注意をお願いいたします。

第22回日本再生医療学会・総会・市民公開講座

2023年3月25日



iPS細胞を用いた再生医療と創薬研究

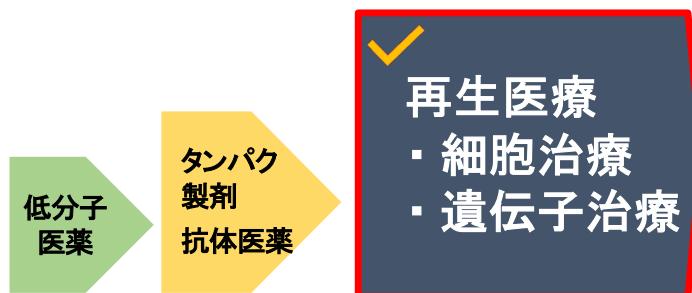
慶應義塾大学医学部
岡野 栄之

細胞、組織、器官の再生や機能の回復を目指す新しい医療



最新分野の再生医療

- ◆ 機能障害や機能不全に陥った生体組織・臓器に対して、**細胞**を積極的に利用して、その機能の再生をはかる。



- ◆ 従来の薬では治療不可能とされる**アンメット・メディカル・ニーズ**への根本治療として期待。

医療業界の未来像

現在



将来

- ①高齢化 → 細胞を損う疾患の増加
- ②技術革新 → ex. 幹細胞技術
- ③規制改革 → ex. 薬事法改正

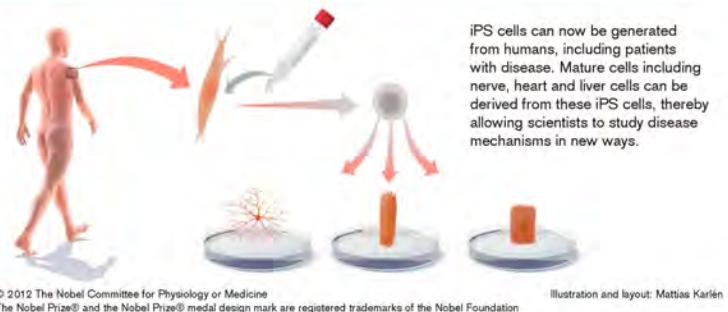


市場規模の拡大が見込まれる領域



2021年: iPS細胞誕生15周年

Takahashi and Yamanaka, Cell, 2006



Courtesy of Prof. Urban Lendahl (Karolinska Institutet)
Adapted from Nobel Foundation Home Page

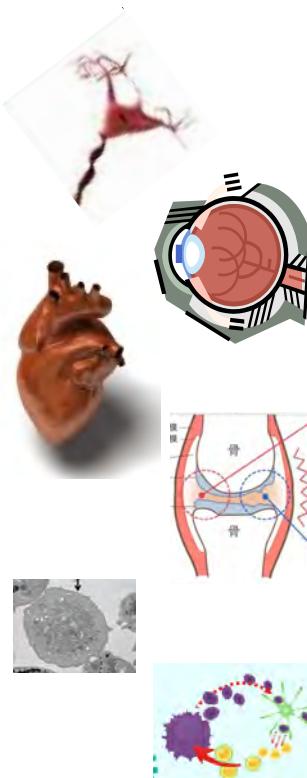


Okano and Yamanaka, 2014

全世界レベルでの多能性幹細胞を用いた再生医療の開発状況



iPSCs



Parkinson's Disease¹⁾

Macular degeneration²⁾

Retinitis pigmentosa³⁾

Corneal disorder⁴⁾

Heart failure⁵⁾

Spinal cord injury⁶⁾

Platelet transfusion⁷⁾

Graft versus host disease⁸⁾

Cartilage defect⁹⁾

Cancer immunotherapy¹⁰⁾

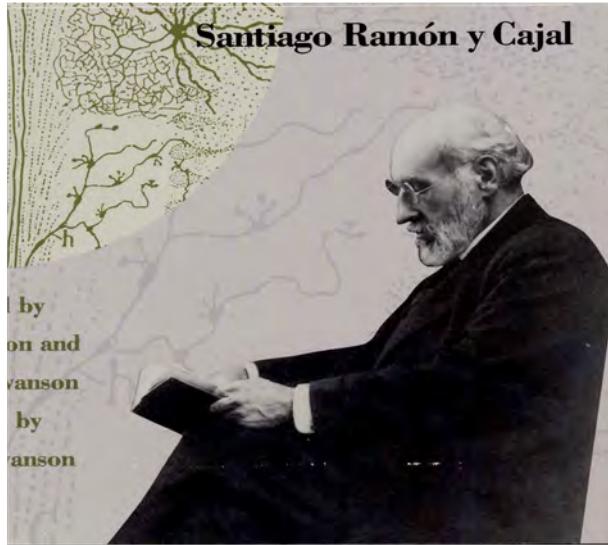


Modified from
Shinya Yamanaka, Cell Stem Cell, 2020

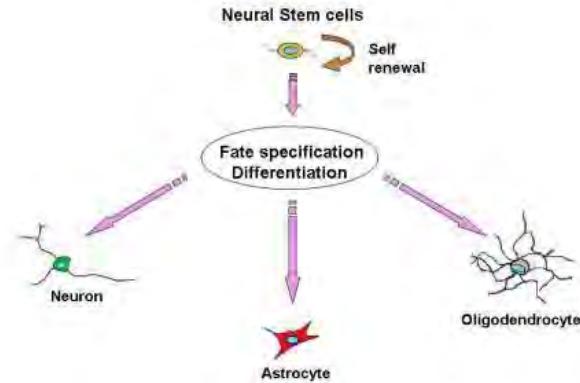


慶應病院で最初にFIHが実施(計画)されている臨床研究

神経幹細胞を用いた脊髄損傷の再生医療



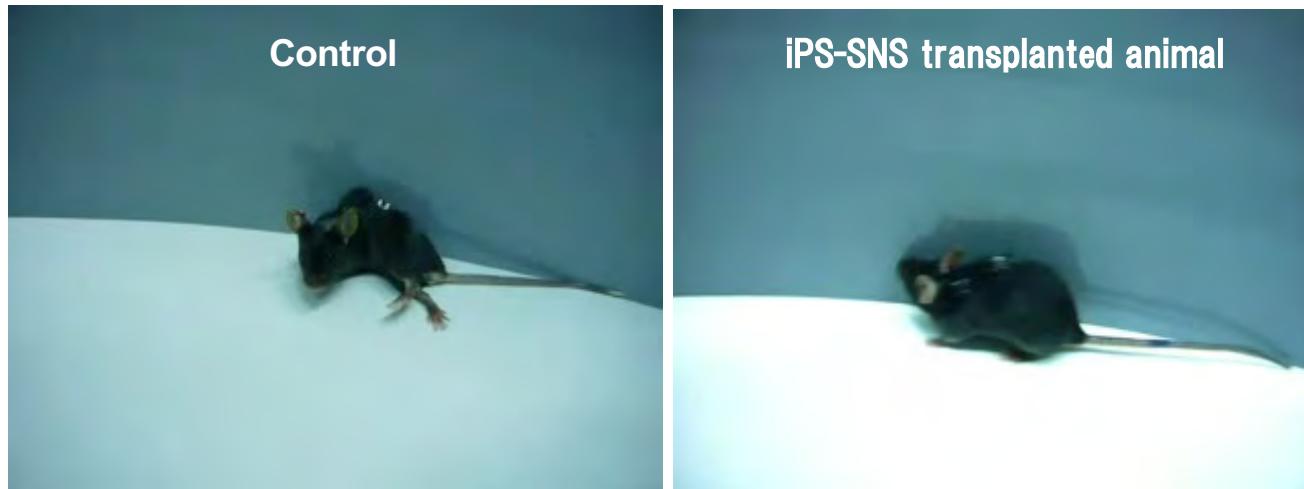
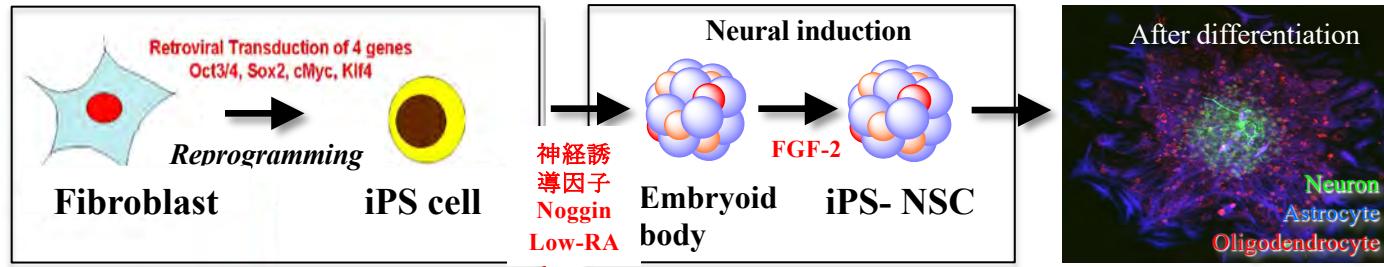
神経幹細胞を用いた
脊髄損傷への挑戦



- 胎児の脳に多く存在し、試験管内で増やす事ができる
- 成人の脳にはMusashi1+細胞としてごくわずかしか存在せず、増殖が容易でない

”一旦損傷した中枢神経系は、二度と再生しないRamón y Cajal, 1928)

マウスiPS細胞を用いたマウス脊髄損傷の治療

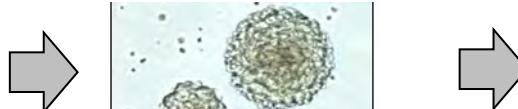


Okada et al. *Stem Cells*, 2008; Naka et al. *Nature Neuroscience*, 2008
Miura et al., *Nature Biotech*, 2009; Tsuji et al., *PNAS*, 2010

ヒトiPS細胞を用いた靈長類脊髄損傷の治療



iPS細胞



神経幹細胞



マウスとマーモセットの脊髄損傷モデルにおいて、
iPS細胞由来神経幹細胞の移植が機能回復を促進した

(Nori *et al*, PNAS 2011, Kobayashi *et al*, PLoS One 2012)



Control



Transplantation

(Miura *et al*, Nat Biotech 2009)

iPS細胞由来神経前駆細胞を用いた亜急性期脊髄損傷臨床研究の概要

Sugai et al., Regenerative Therapy, 2021

臨床グレードiPS 細胞の製造

CiRA iPSC Stock Project



iPS細胞ストック
(凍結ストック)

Supply
→

Induction of hiPSC-NS/PCs

National Hospital Organization Osaka National Hospital



iPSCs



NS/PCs
(Freeze stock)



Quality check
Safety assessment

Transfer and freeze stock at Keio University Hospital.
Thaw and prepare before the scheduled surgery.



First-in-human 臨床研究

Keio University Hospital, and National Hospital Organization Murayama Medical Center

- 臨床研究デザイン: オープンラベル, single arm
- 主要評価項目: 安全性
- 副次評価項目: 有効性
- 観察期間: 1年間
- 介入内容:

1. 脊髄損傷受傷後14～28日に損傷脊髄実質に200万個の細胞を移植
2. 低用量の免疫抑制剤（タクロリムス）
3. 1年間経過観察（保険診療範囲でのリハビリテーション・MRI撮像）

AIS-A at 2-4 weeks after SCI
4 patients



C3/4-Th10 level
完全麻痺

1 症例目への移植の概要

(1) 移植スケジュール

実施場所： 慶應義塾大学病院

実施時期： 2021年12月

対象者： 亜急性期脊髄損傷患者 1名

術 者： 整形外科学教室 中村雅也医師 他3名

(2) 手術方法

全身麻酔のもと、研究参加者は伏臥位の状態で損傷部を展開。

超音波プローブで脊髄損傷中心部の位置を確認したうえで、

顕微鏡視下に硬膜・くも膜を切開して脊髄を露出し、細いシリンジにて
約200万個(液体量で20μl)のヒトiPS-NS/PCを損傷中心部に移植した。

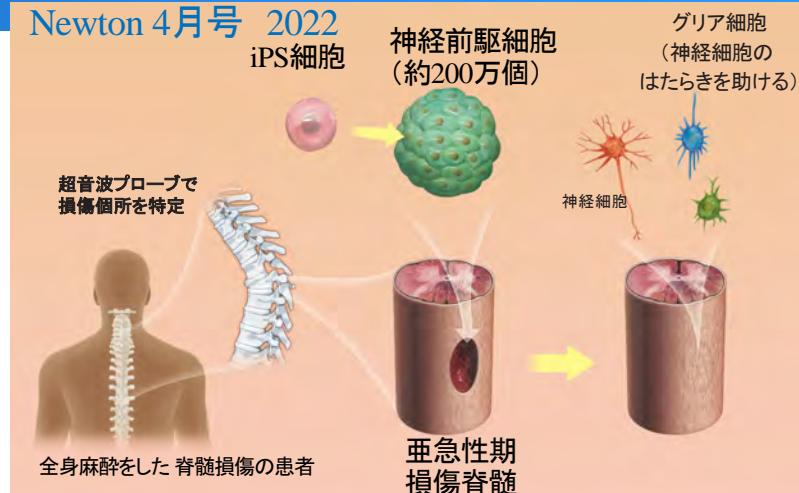
60秒以上かけて細胞を注入し、3分間静置した後に針を抜去し、
抜いた後に細胞の漏出がないことを確認。傷を閉じて手術終了

(3) 結果

手術中の電気生理学的検査にて、移植前後に異常なし。

手術翌日よりベッド上リハビリ開始、術後6日目から離床しリ
ハビリ継続。

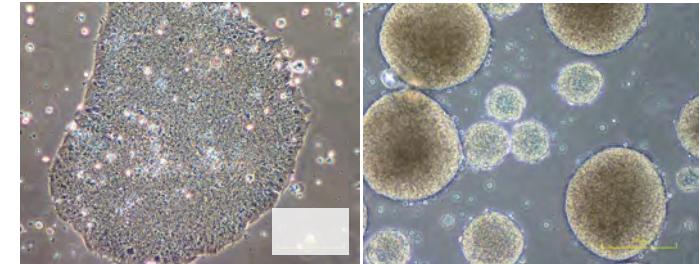
術後3週目のMRIで明らかな異常所見なく、経過良好である。

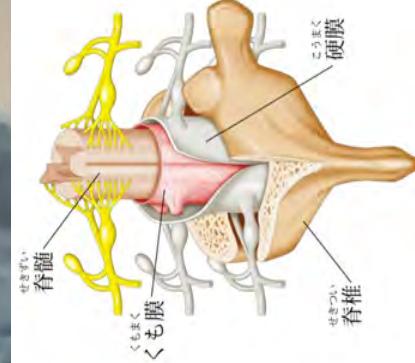


臨床グレード細胞

iPS細胞

iPS細胞由来神經前駆細胞





2021年12月

再生医療は臨床応用へ

iPS細胞由来神経前駆細胞を用いた再生医療の展望

From Rare to Common

亞急性期脊髄損傷に対する臨床研究を開始する(慶應義塾大学病院) :

- ・慢性期不完全脊髄損傷に対する医師主導治験
- ・亞急性期脳梗塞に対する臨床研究
- ・慢性期完全脊髄損傷に対する医師主導治験
- ・慢性期脳梗塞に対する臨床研究

企業治験への移行

製薬企業と連携して薬機法に基づく承認の取得、社会実装を目指す

さらなる適応拡大

- ・ 慢性圧迫性脊髄障害（後縦靭帯骨化症など）
- ・ 脊髄疾患（脊髄空洞症、脊髄変性疾患など）
- ・ 髍鞘関連疾患（多発性硬化症・白質形成不全症など）
- ・ 一部の神経変性疾患（ハンチントン病など）
- ・ 血管性認知症



後縦靭帯骨化症



脊髄空洞症

慢性期脊髄損傷治療法開発の骨子

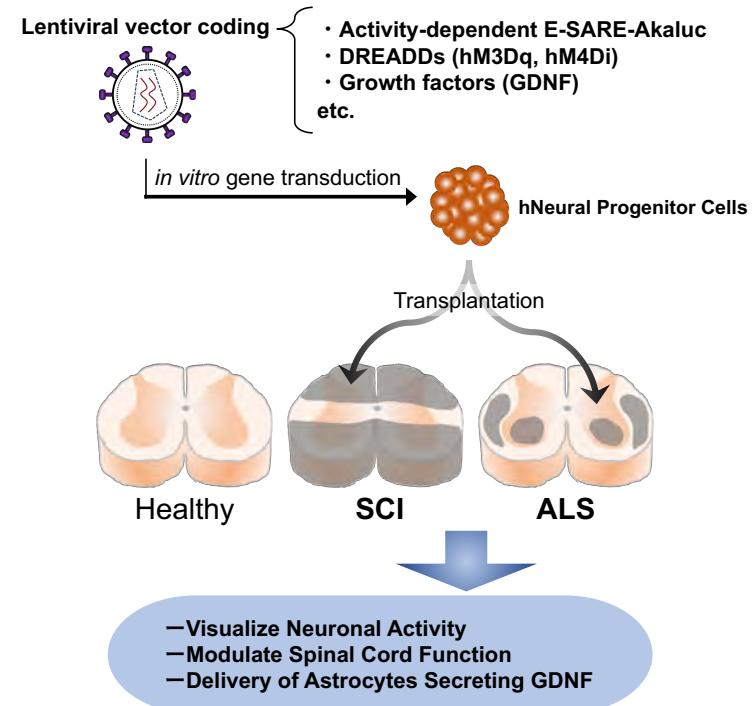
- 移植細胞の能力の増強

亜急性期で用いた細胞 (ProA+GSI処理)
Gliogenic NPC (g NPC)
遺伝子導入細胞 (*ex vivo* gene therapy)

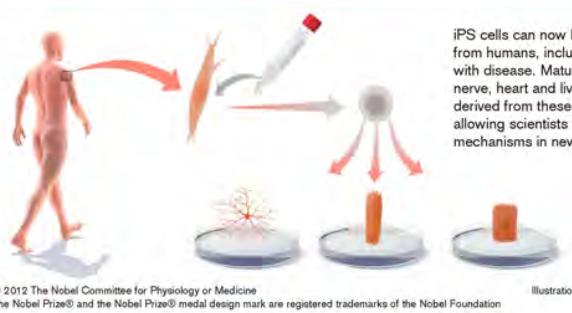
- 慢性期損傷脊髄内環境の改善

Sema3A阻害薬の徐放
HGFの徐放
Chondroitinase ABC

- リハビリテーションや生体工学との併用



Okano: Trends in Molecular Medicine, 2022₁₂
Okano: Nature Medicine, 2022



- **CHARGE症候群**
- **Rett症候群**
- **ATR-X 症候群**
- **Pradaer-Willi症候群**
- **Angelman 症候群**
- **神經管閉鎖不全症**
- **滑脳症 (Lissencephaly)**
- **Pelizaeus-Merzbacher病 (PMD)**
- 小児難治性てんかん (Dravet症候群)
：
- **Sjögren-Larsson症候群**
- **ギャロウェイモアット症候群**
- **網膜色素変性症**
- **Pendred症候群**
- **統合失調症 (Schizophrenia)**
- **双極性障害**
- **睡眠時ブラキシズム**
- **家族性パーキンソン病 (PARK2, 4, 6, 8, 9)**
- **弧発性パーキンソン病**
- **家族性ALS (FUS)**
- **弧発性ALS**
- **球脊髄性筋萎縮症 (SBMA)**
- **多系統萎縮症**
- **Kii ALS/PDC**
- **脊髄小脳変性症**
- **家族性アルツハイマー病 (APP, PS1, PS2)**
- **Nasu Hakola 症候群**
- **FTDP-17**
- **フェリチン症候群**
- **その他**

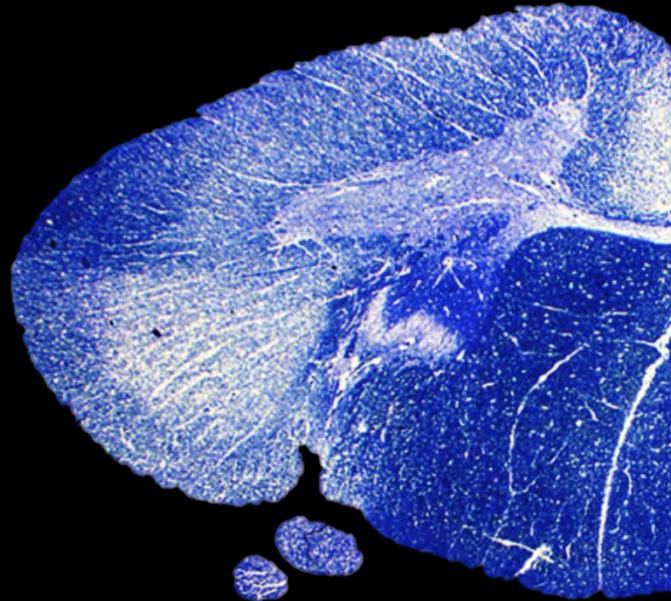
Alzheimer disease (Yagi et al. Human Mol Genet 2011; Imaizumi et al., Stem Cell Reports 2015), **PARK2** (Imaizumi et al. Mol Brain 2012; Matsumoto et al. Stem Cell Reports 2016; Suda et al Mol Brain 2018), **SBMA** (Nihei et al. J Biol Chem 2013), **Dravet** (Higurashi et al. Mol Brain 2013), **Retinitis Pigmentosa** (Yoshida et al. Mol Brain 2014), **Schizophrenia** (Bundo et al. Neuron 2014), **PARK8** (Ohta et al. Human Mol Genet 2015), **Rett syndrome** (Noda-Andoh et al. Mol Brain 2015), **ALS**(Ichiyanagi et al. Stem Cell Reports 2016; Fujimori et al., Nature Medicine, 2018), **Lissencephaly** (Bamaba et al. Mol Brain 2016), **Sleep Bruxism** (Hosashi et al., J Prosthodont Res. 2016), **Pendred syndrome** (Hosoya et al., Cell Reports 2017), **CHARGE syndrome** (Okuno eLife 2017; Muchy et al. Gene Dev 2018), **ALS2** (Imaizumi et al. eNeuro 2018), **Multiple System Atrophy** (Kusunoki-Nakamoto et al., Sci Rep, 2018)

神経の難病中の難病

筋萎縮性側索硬化症

Amyotrophic Lateral Sclerosis (ALS)

Lou Gehrig's disease
Charcot disease



iPSCを用いたALSに関する最近の研究成果の概要

Stem Cell Reports
Article



OPEN ACCESS

Establishment of In Vitro FUS-Associated Familial Amyotrophic Lateral Sclerosis Model Using Human Induced Pluripotent Stem Cells

Trends in Pharmacological Sciences

Review

Ropinirole, a New ALS Drug Candidate Developed Using iPSCs

Hideyuki Okano,^{1,*} Daisuke Yasuda,² Koki Fujimori,¹ Satoru Morimoto,¹ and Shinichi Takahashi^{1,3,4}



Regenerative Therapy

journal homepage: <http://www.sciencedirect.com/science/jol/1011/ret>

Original Article

Ropinirole hydrochloride remedy for amyotrophic lateral sclerosis – Protocol for a randomized, double-blind, placebo-controlled, single-center, and open-label continuation phase I/IIa clinical trial (ROPALS trial)

Satoru Morimoto^{1,8,*}, Shinichi Takahashi^{1,9}, Komei Fukushima^{1,9}, Hideyuki Saya^{1,9}, Norihiro Suzuki^{1,10}, Masashi Aoki^{1,9}, Hideyuki Okano^{1,9}, Jin Nakahara^{1,9}



Articles

<https://doi.org/10.1016/j.nmedic.2018.09.010>

Modeling sporadic ALS in iPSC-derived motor neurons identifies a potential therapeutic agent

Koki Fujimori¹, Mitsuji Ishikawa¹, Asako Otomo^{2,3,4}, Naoki Atsuta², Ryoichi Nakamura⁵, Tetsuya Akiyama⁶, Shinji Hadano^{2,7}, Masashi Aoki⁸, Hideyuki Saya⁸, Gen Sobue⁸ and Hideyuki Okano^{1*}

*Amyotrophic lateral sclerosis (ALS) is a heterogeneous motor neuron disease for which no effective treatment is available, despite decades of research into SOD1-mutant familial ALS (FALS). The majority of ALS patients have no familial history, making the search for sporadic ALS (SALS) models challenging. To model the heterogeneity of ALS, we performed genome-wide screening of SALS patients and used induced pluripotent stem cell (iPSC) technology to generate stem and differentiated cells retaining the patients' full genetic information. We have established a large number of in vitro cellular models of SALS. These models showed phenotypic differences in their pattern of neuronal degeneration, types of abnormal protein aggregates, cell death mechanisms, and onset and progression of these phenotypes *in vitro* among cases. We therefore developed a system for case clustering capable of subdividing these heterogeneous SALS models by their *in vitro* characteristics. We further evaluated multiple-phenotype rescue of these subclassified SALS models using agents selected from non-SOD1 FALS models, and identified ropinirole as a potential therapeutic candidate. Integration of the datasets acquired in this study permitted the visualization of molecular pathologies shared across a wider range of SALS models.*

Nature Medicine | VOL 24 | OCTOBER 2018 | 1579–1589 |



Contents lists available at ScienceDirect

Neurobiology of Disease

journal homepage: www.elsevier.com/locate/ndise



Identification of hub molecules of FUS-ALS by Bayesian gene regulatory network analysis of iPSC model: iBRN

Masahiro Nogami^{1,10,*}, Mitsuji Ishikawa^{1,9}, Atsushi Doi^{1,9}, Osamu Sano^{1,9}, Takefumi Sone^{1,9}, Tetsuya Akiyama^{1,9}, Masashi Aoki^{1,9}, Atsushi Nakanishi^{1,9}, Kazuhiro Ogi^{1,10}, Masato Yano^{1,9}, Hideyuki Okano^{1,9}

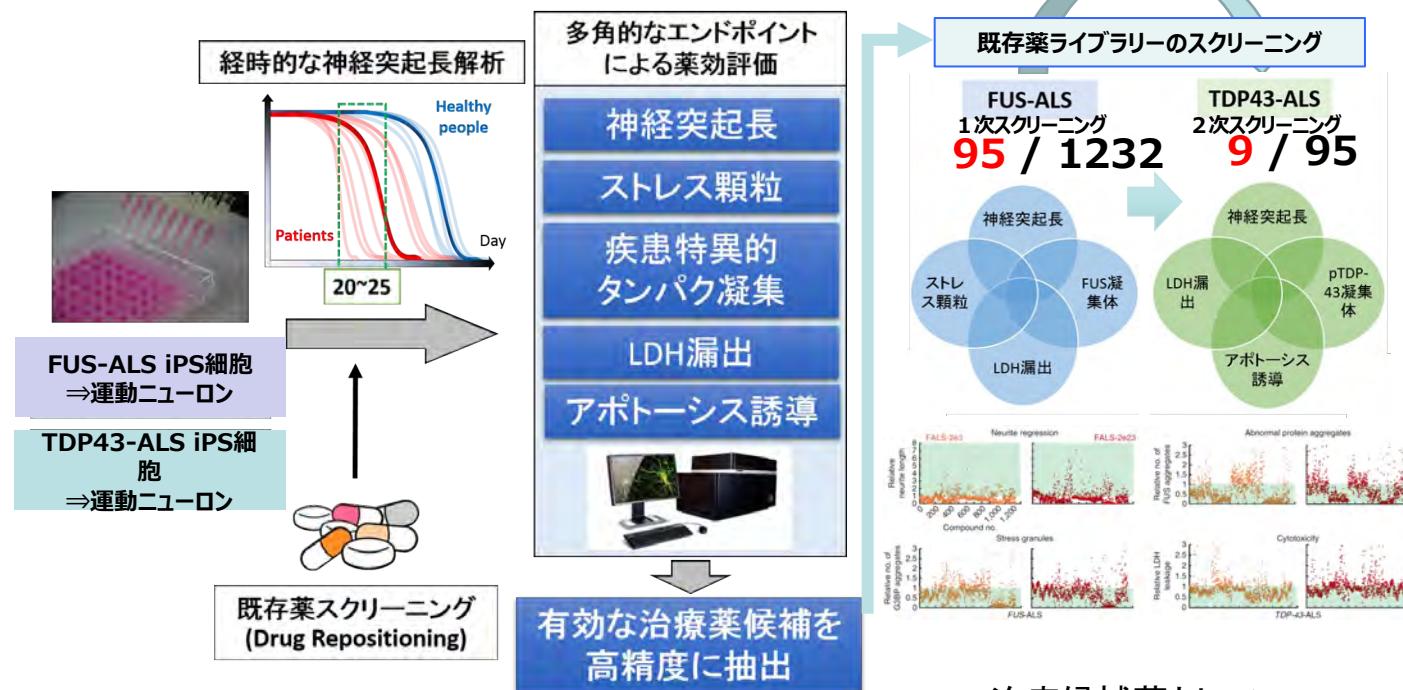
◆ FUSおよびTDP-43変異を有する家族性ALS患者から採取したiPSCs-MNを用いて、ロピニロール(ROPI:既に抗PD薬として承認されており、D2Rアゴニストでもある)を抗ALS薬の候補として同定し、臨床試験(ROPALS試験)を実施した



既存薬ライブラリーを用いたALS治療候補薬の同定

Fujimori K, et al., Nat Med 2018

Okano et al. Trends in Pharmacological Science, 2020

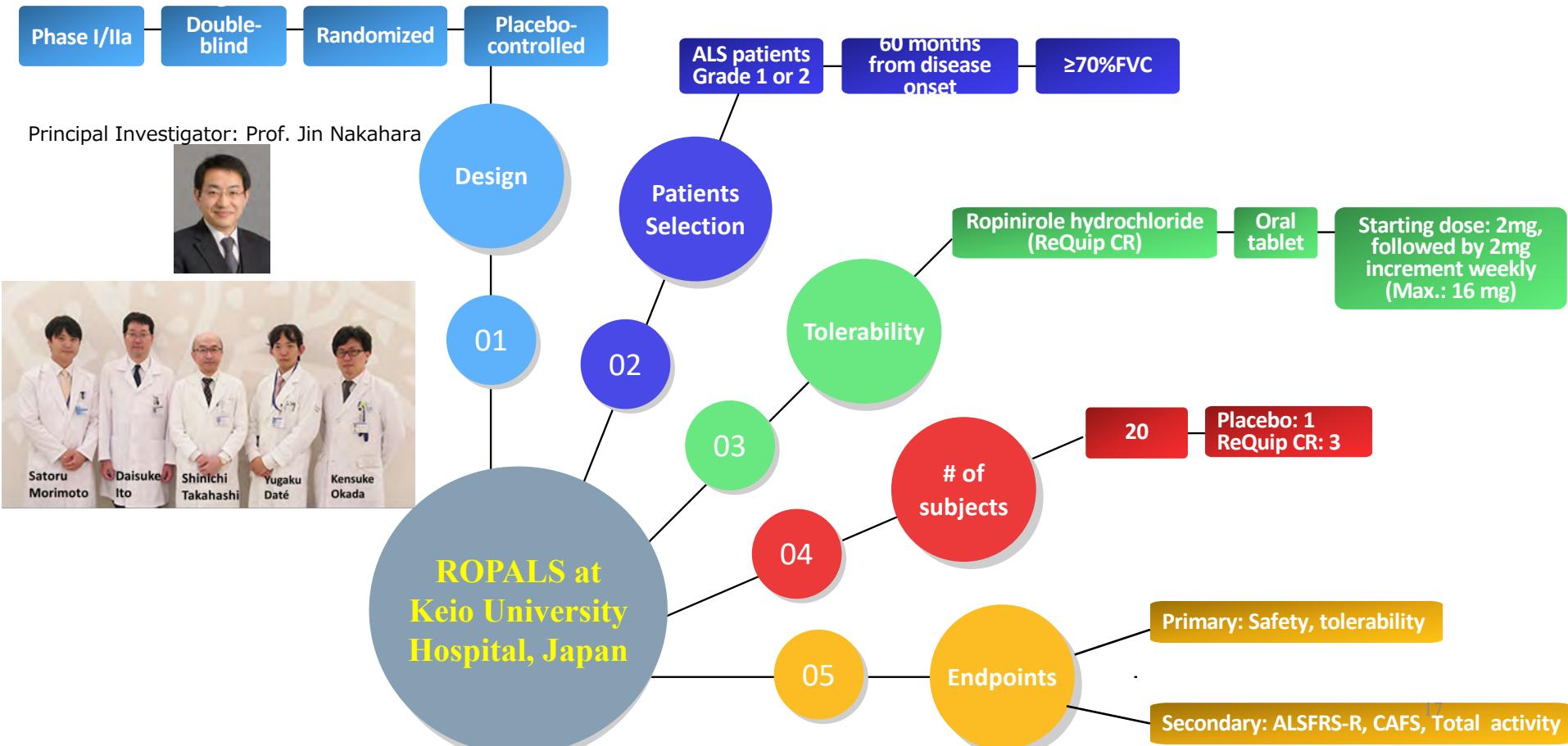


ALS治療候補薬として
抗パーキンソン病薬ロピニロール塩酸塩を同定

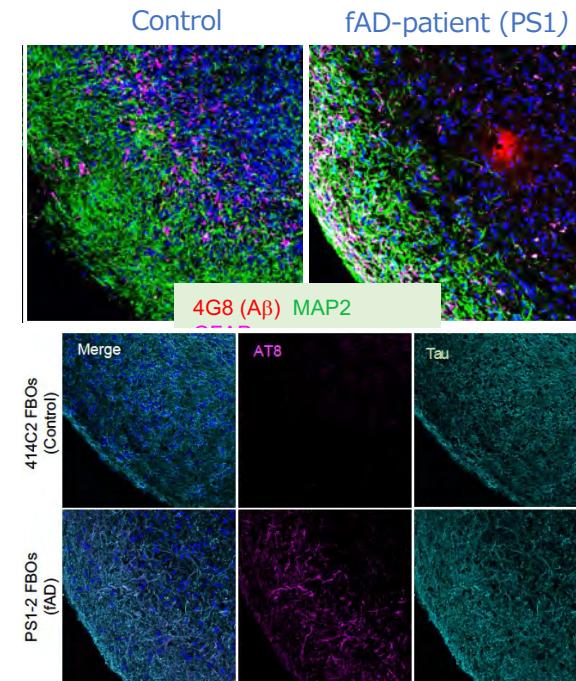
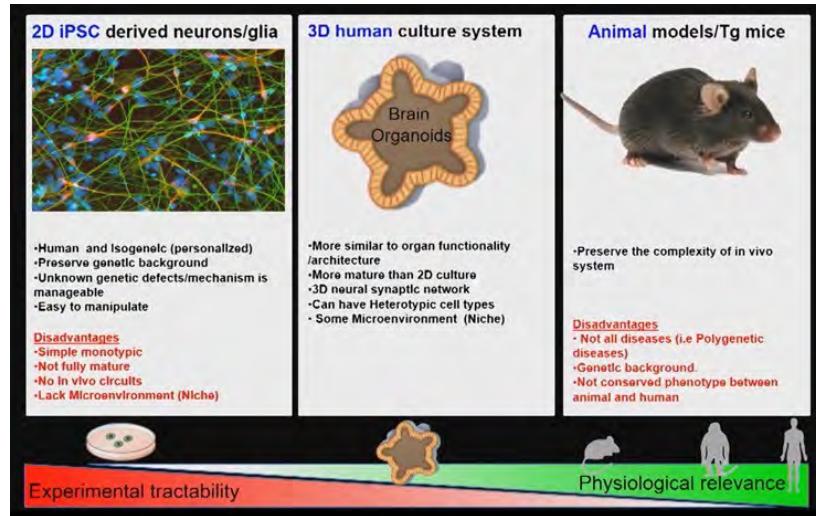


ALSに対する医師主導治験・ROPALS試験

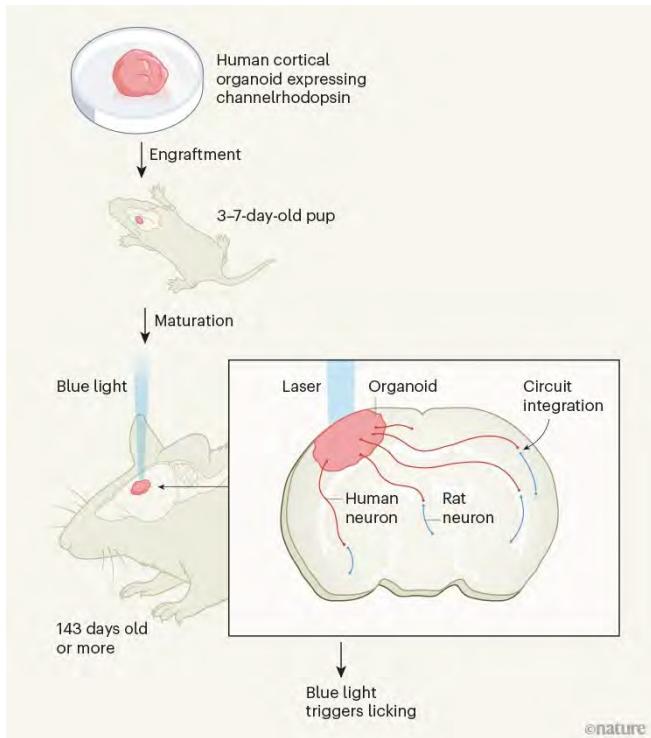
Morimoto et al. Regenerative Therapy, 2019



進化する幹細胞技術と再生医療 オルガノイド技術



進化する幹細胞技術と再生医療 オルガノイド技術



Camp and Treutlein et al., Nature, 2023

Revah et al., Nature, 2022

Article

Maturation and circuit integration of transplanted human cortical organoids

<https://doi.org/10.1038/s41586-022-05277-w>

Received: 16 December 2021

Accepted: 25 August 2022

Published online: 12 October 2022

Open access

Check for updates

Omer Revah^{1,2,3}, Felicity Gore^{1,3,10}, Kevin W. Kelley^{1,2,10}, Jimena Andersen^{1,2}, Noriaki Sakai¹, Xiaoyu Chen^{1,2}, Min-Yin Li^{1,2}, Fikri Birey^{1,2}, Xiao Yang^{1,2,4}, Nay L. Saw⁵, Samuel W. Baker⁶, Neal D. Amin^{1,2}, Shravanti Kulkarni^{1,2}, Rachana Mudigali^{1,3}, Bianxiao Cui¹, Seiji Nishino¹, Gerald A. Grant⁷, Juliet K. Knowles⁸, Mehrdad Shamloo^{4,7}, John R. Huguenard⁸, Karl Deisseroth^{1,3,9} & Sergiu P. Pasca^{1,2,3,9}

Self-organizing neural organoids represent a promising *in vitro* platform with which to model human development and disease^{1–3}. However, organoids lack the connectivity that exists *in vivo*, which limits maturation and makes integration with other circuits that control behaviour impossible. Here we show that human stem cell-derived cortical

ヒト大脳皮質オルガノイドを移植したところ、ヒトのニューロンがラット脳のニューロンと機能的な結合を形成し、ラットの行動様式を変化させた。

進化する幹細胞技術と遺伝子・再生医療 ゲノム編集技術

●**ヘモグロビン異常症:**地中海性貧血, 鎌形赤血球症など

Ex Vivo, In Vivo

●**がん免疫療法:** CAR-T, CAR-NK細胞 : Ex Vivo (自家・他家)

●**再生医療:** I型糖尿病 EX Vivo (免疫反応が起きないようにデザインした同種幹細胞由来臍 β 細胞移植)

●**In vivo:** 血友病A, Friedreich失調症, ALS

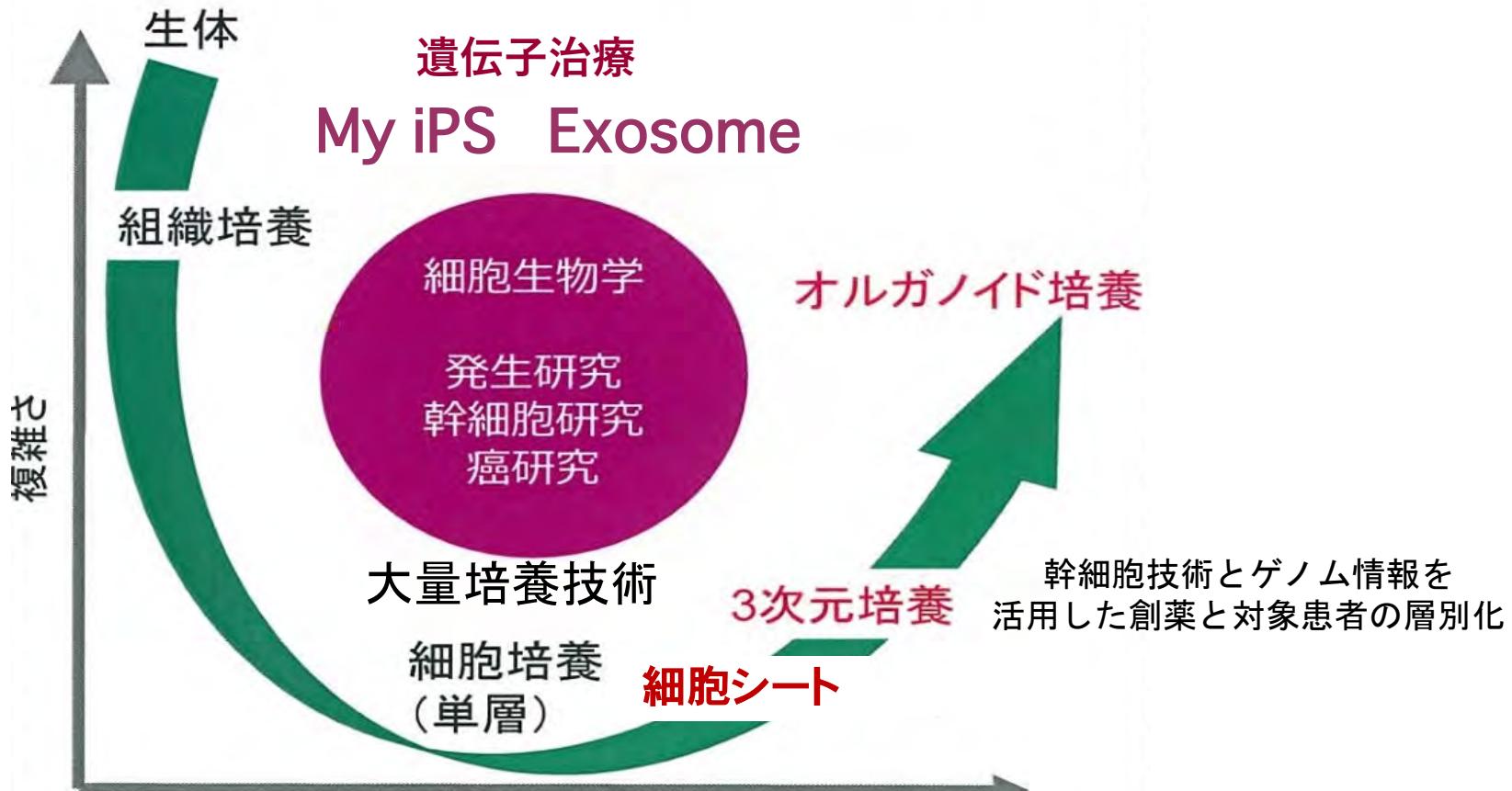


進化し過ぎた幹細胞技術と遺伝子・再生医療 その課題は？

倫理学的な密な議論とPublic Acceptance



再生医療と関連技術の現状と展望





1. 予想以上に進んでいる
2. 予想した程は進んでいない