

分担研究報告書

3. ES 細胞・ iPS 細胞の臨床応用の対象範囲として想定されるもの

小清水右一 アスピオファーマ株式会社生物医学研究所 バイオ探索グループ長

澤芳樹 大阪大学大学院医学系研究科心臓血管外科 教授

脇谷滋之 大阪市立大学大学院医学研究科整形外科学 准教授

高橋政代 理化学研究所発生再生科学総合研究センター網膜再生医療研究チーム

チームリーダー

要旨

将来的なヒト ES 細胞およびヒト iPS 細胞の臨床応用の対象範囲として想定される疾患と、これらの疾患を対象とした治療を行う際の課題・問題点の整理を行った。対象となる疾患としては、脳神経系疾患や心疾患、糖尿病等の代謝性疾患や血球系疾患等、広範囲の組織・臓器にわたるものが想定されるが、例えば同じ組織・臓器であっても、疾病によって、ヒト ES 細胞および／またはヒト iPS 細胞の臨床応用が比較的早期に実現可能であるものとならないもの、また、臨床応用の意義・優先度の高いものと低いものが想定され、ヒト ES 細胞および／またはヒト iPS 細胞を用いた臨床応用の実施によるベネフィットと、現状の科学・技術レベルでは回避できない／予想できないリスクを十分に理解・検討した上で対象疾患を考える（選定する）べきであろうと思われる。

A. 目的

ヒト ES 細胞・ iPS 細胞はその分化多能性（全能性）を有していることから、幅広い再生（細胞移植）治療の細胞ソースとして有用であることは広く認識されつつある事実である。ただし、ヒト ES 細胞の場合は主に

その倫理性、ヒト iPS 細胞の場合は癌原性等、そして両者に共通な種々の問題点・課題を抱えていることから、現状の「ヒト（幹）細胞」と同様の規制や取り扱い、考え方をもって臨床研究／試験／治験（以下、臨床応用と称する）を実施することは適当であると思われる。

ない。

以下、ES細胞・iPS細胞の臨床応用の対象範囲として想定される対象疾患」を考える際、まずヒトES細胞とヒトiPS細胞が同一の特性を有し、同一の規制の下で使用されることを前提とし、両者の臨床応用の際に問題となる点を例示しながら、ヒトES細胞・iPS細胞（以下、多能性幹細胞：PSと略す）の臨

床応用の対象範囲となる疾患およびこれらの疾患を対象とした際の課題・問題点等の整理を行った。

## B. 方法

以下、これまでの学際報告等を参考とし、分担者個々が専門領域に特化した検討、または広範囲にわたる総括的な検討を行った。

## C. 結果

### C-1

ES細胞・iPS細胞の臨床応用の対象範囲として想定されるもの  
アスピオファーマ株式会社生物医学研究所・小清水 右一

ヒトPSを用いた臨床応用の際に問題となる点としては、①ヒトPSより分化誘導した細胞（以下、PS分化細胞）を使用する意義、②PS分化細胞の移植効果、③PS分化細胞の安全性、の3点が主なものとして挙げられる。

①の「PS分化細胞を使用する意義」とは、言い換えれば、「ヒトPSを使用しなければいけない理由」であり、その観点から、既に他の薬物療法や外科的手術により、十分な疾患治療効果が期待できる疾患は、PS細胞の臨床応用の対象としては当面、不適當であると考

える。

ただし、他の先端医療、特に臓器移植やヒト細胞/体性幹細胞移植、遺伝子療法により、ある程度の有効性が認められている疾患に対しては考慮が必要である。例えば、現在、角膜や心臓、肺、膵臓、肝臓等の臓器移植が行われているが、絶対的なドナー不足という問題点を抱えており、この点をPS分化細胞が解消できるのであれば、その医療的/社会的意義は高いものと考えられる。また、近年では、骨髄細胞や間葉系幹細胞移植による骨・軟骨疾患/欠損治療が行われ、高い有効性が示されている一方、心臓、脳・神経、肝

等の疾患に対するこれらの細胞移植は、その効果は必ずしも十分とは言えないのが現状である。この様にPS分化細胞移植が従来の(移植)治療法よりも高い治療効果が期待できる場合には、これらの疾患はPS細胞の臨床応用の対象として検討する必要があると考える。

また、生体内ではほとんど増殖しない(幹細胞があっても、その増殖・再性能が限られている)神経細胞や心筋細胞などの傷害・死滅が原因となる疾患は、ヒトPS細胞の旺盛な増殖性の恩恵を特に受けやすいものと考えられる。

②の「PS分化細胞の移植効果」は当然のことながら「強い有効性(の実証)」が期待される。その際、まず1)PS細胞からの分化誘導技術が確立されており、その分化細胞の特性がin vitro/ in vivoで検証されている必要がある。安定的かつ高効率で目的の分化細胞を作製できる技術が確立されていることはもちろん、PS分化細胞が十分に移植先組織内で機能し得る能力を有していることをin vitroのレベルで調べておく必要がある。また、2)PS分化細胞の精製技術の確立、も重要である。未分化なPS細胞の残存はテラトーマ発生のリスクを喚起し、未分

化ではなくても目的の細胞と異なる分化細胞の混入は、移植後の副作用等の原因因子となり得る可能性がある。その他、用途によっては分化細胞のシート化や基質への包埋等の加工が必要となる場合もあり、これらの技術確立も必須であることは言うまでも無い。上記のPS細胞を用いた分化誘導/精製法等においては、動物由来因子を用いない培養系、さらに望むべくはGMPレベルでの培養系を確立しておくことが望ましい。

in vitroにおける機能検証が行われたPS分化細胞は、引き続き、動物モデルを用いたin vivo有効性の実証試験が必要である。その際、実際の臨床応用の際に用いるプロトコルを反映したモデル動物実験の実施が望ましいことは言うまでも無い。ただし、ヒトの臨床状態を高度に反映する動物モデルの存在が少ないことも事実であり、この場合、複数のモデル系の組み合わせや、モデル動物に対する治療効果の詳細メカニズムを解析する等、科学的な根拠を積み上げることにより代替することも必要であるものと考えられる。また、よりヒトに近い病態/疾患モデルとしては、イヌやブタ等の中・大型動物モデルや疾患モデルサルの使用も考えられる。特に疾患モデルサルの使用は、前臨床試験の一環

として重要な役割を担っていることは間違いないが、サルモデル試験をPS細胞の臨床応用の必須条件とするか否かについては見解が分かるところかと思われる。サルモデルは費用がかかるとともに、特別な施設等が必要となり、研究者に対する負担が大きい。また、動物愛護の観点から年々、この種の試験は実施が困難になっている状況もあり、一概に「必須要件」とし難い点がある。事実、米国Geron社は、ヒトES細胞由来グリア細胞を用いた脊髄損傷治療をIND申請しているが、サルはおろかイヌやブタ等を用いた有効性試験も実施していない。

③の「PS分化細胞の安全性」については、①、②と重複する点も多いが、ヒトPSからの分化誘導効率を高めるとともに、目的外細胞の混在率を下げる技術の構築とその安定性の担保、ならびにその評価基準／指標の確立が必要である。ヒトPSそのものの安全性・品質試験も必要だが、PS分化細胞の安全性・品質試験の重要性もここで強調しておきたい。SOPに基づくin vitroにおける形態・増殖能や各種マーカー蛋白／遺伝子の発現、薬物応答性等の指標に関する検証と、in vivo移植後の短期→中・長期安全性の確認が必要であると考え。また、PS分化細胞の

免疫（拒絶）性、すなわち免疫拒絶能の強弱やその回避策の有無に関する考慮も必要である。

結論としては、ヒトPS細胞の臨床応用を考える際には、実施によるベネフィットと、現状の科学・技術レベルでは回避できない／予想できないリスクを十分に理解・整理した上で対象疾患を考えるべきであり、以上の観点から、以下、各種臓器・組織において、ヒトPS細胞の臨床応用の対象となり得る疾患を考察する。

**【脳・神経】** 分化誘導／精製技術の確立や動物モデル実験の進捗等の点から「パーキンソン病」は有望な治療対象であると考えられる。以前、同疾患は胎児脳神経移植が行われたこともあるが、その倫理的問題および必要な細胞ソースの入手の困難さが大きな課題とされた。神経ネットワークを構築する神経細胞ではなく、ドーパミン産生神経の異所移植で良い点も、ヒトPS細胞移植対象として有利な点である。また、「脊髄損傷」も有望な候補疾患の1つである。同疾患も再生医療（移植治療）に関する研究が進んでおり、神経幹細胞移植により著明な治療効果もたらされており、同様のPS分化細胞利用

による高い治療効果が期待できる。

一方、「アルツハイマー病」や「ハンチントン病」、さらには「多発性硬化症」をはじめとする脱髄疾患などは、脳・神経系の広範な部位に障害を有し、ごく一部の神経細胞の代替では機能回復が難しいと考えられる疾患は、第一義的な対象疾患としては適当ではないものとする。また、「脳梗塞（虚血性脳疾患）」も患者数の多い、有効な治療法が望まれる疾患であるが、移植細胞の効果として期待されるのは細胞保護作用や血管新生作用が主であり、他の薬剤治療、外科的手術や体性幹細胞移植の方がリスク面で優位であると思われる。

【眼】 角膜移植の需要・希望の高さを考えても、眼性疾患に対するPS分化細胞の臨床応用の期待度および意義は高いものと思われる。特にヒトPS細胞から分化誘導させた網膜前駆細胞や網膜色素上皮細胞、視細胞等は、血管新生抑制等の対症療法しか治療法がない「加齢黄斑変性」や「網膜色素変性」等の疾患に有効であると考えられている。網膜前駆細胞や網膜色素上皮細胞、視細胞は、体性幹細胞からの分化誘導および大量調製が可能な段階になっておらず、ヒトPS細胞の恩恵を受けやすい疾患であろう。一方、角

膜に傷害を持つ疾患としては、熱・外傷・化学物質等による角膜損傷やStevens-Johnson症候群などがあるが、こちらに関しては角膜輪部幹細胞や口腔粘膜上皮細胞を用いた移植療法が有効性を示しており、ヒトPS細胞の臨床応用の第一候補とするためには、より強いPS分化細胞による治療効果の証明等が必要となるものと思われる。

【循環器】 心筋は幹細胞の存在が報告されているが、生体内での増殖・再性能はきわめて低く、また、その分化誘導ならびに大量調製も試みられているが、必ずしも現実的なレベルとはなっていない。また、心疾患を対象とした細胞移植治療や遺伝子療法も多数試みられているが、ほとんどが細胞保護／血管新生作用に基づくものであり、根本的な心筋再生を可能にする方法としてヒトPS細胞の臨床応用が強く期待される候補疾患である。分化誘導法や精製法、移植法にまだ若干の技術的改良が必要であるが、これらの点に関する研究は国内外で積極的に進められており、数年以内の技術確立が期待できる。対象疾患としては、現在の薬剤治療や細胞移植治療、遺伝子療法では対応が難しい（強い治療効果が望めない）、より悪性度の高い「心筋梗塞」や「拡張型心筋症」が対象疾患とし

て挙げられる。特に、現在心移植の対象とならない小児および60歳以上の患者に対する臨床応用は医療的／社会的意義が高いものと思われる。

一方、ヒトPS細胞からは血管内皮細胞や平滑筋細胞の分化誘導も可能であるが、虚血性疾患（心臓や末梢組織）を臨床応用の対象とするには、他の治療法とのリスク／ベネフィット比較を十分にすることが必要であるものとする。既に血管新生効果を示すものとしては、細胞移植治療だけでも複数の方法が臨床の場で用いられており、ヒトPS細胞を使用する意義・理由が重要となる。細胞工学技術（例えば、三次元培養や基質培養等）を用いて機能的（大）血管を作製する試みも行われているが、まだ現実的なレベルであるとは言い難い。

【血球系】 赤血球および血小板は脱核が起るため、癌原性をほとんど無視することができ、PS分化細胞の機能が十分であり、その精製法が確立されれば、人工血液として臨床応用の有力な候補となり得る。特に、輸血だけでは量的に対応できない遺伝性の血液疾患、例えば「鎌形赤血球」などへの治療応用が期待される。また、稀少血液型の赤血球や血小板を作製し、「悪性貧血」や「血小板減

少症」等への治療も考えられる。一方、白血球（リンパ球）系細胞に関しては、個々の分化誘導法が未確立であり、その精製法や癌原性にも課題が残っており、現状では臨床応用の優先候補とは考えにくい。

【膵臓】 特にインスリン産生細胞（膵β細胞）を用いた「(I型)糖尿病」治療への応用が期待される。現在、膵島移植が臨床使用されているが、移植ソースの確保が大きな課題となっている。膵β細胞をはじめとする膵島細胞（内分泌細胞）はほとんど増殖・再性を有していないため、高い増殖性を有するヒトPSからインスリン産生細胞（膵β細胞）または膵島（様）細胞が高率に分化誘導できる様になると、臨床応用の有力な候補となり得ると思われる。

【肝臓】 肝臓は本来、旺盛な再生能を有する臓器であるが、「肝癌」や「肝硬変」、「急性肝不全（劇症肝炎）」等で肝組織の大部分に傷害・欠損をきたす疾患に対しては、PS由来分化細胞の移植が有効であるものと考えられる。また、ヘモクロマトーシスやウイルソン病等の「遺伝性の肝代謝障害」への治療応用も期待される。ただし、PS分化細胞の機能や有効性がまだ未確立な面もあり、技術的

な改善が必要な領域だと思われる。

【筋】 筋疾患としては「筋ジストロフィー」を代表する筋原性疾患が候補と考えられる。ただし、本疾患は全身性であるため、その治療応用はかなり難しいのが現状である。ヒトPSより分化誘導した筋芽細胞を全身性に移植するのも1つの解決法であるが、まだ技術的に確立された状況ではない。

【骨、軟骨、脂肪】 比較的良好な増殖性を有する骨髄/脂肪由来間葉系幹細胞による移植治療がほぼ確立しており、ヒトPSを使用する意義・メリットはほとんどないものと思われる。

【表皮】 自家/他家細胞移植が実用化されており、ヒトPSを使用する意義・メリットはほとんどないものと思われる。

C-2

### E S細胞、i P S細胞の臨床応用の対象疾患

大阪大学大学院医学系研究科外科学講座心臓血管外科 澤芳樹

#### はじめに

これまで造血幹細胞移植をはじめ体性幹細胞を用いた細胞治療が盛んに行われてきた。現在、体性幹細胞を体外で増幅させ様々な再生医療に応用する研究も盛んに行われており、細胞工学・組織工学技術が日進月歩で発展、これら知見を基盤とし、拡張型心筋症などで変性・壊死に陥った組織の機能を補う再生医療臨床研究も開始されている。今後これら体性幹細胞を用いる臨床研究が、「ヒト幹細胞を用いる臨床研究に関する指針」に基づき、厚生労働大臣の意見を聴いた上で適切に推進されるものと認識している。

幹細胞は体性幹細胞のみではない。近年知見の蓄積が著しい胚性幹細胞株、昨年報告されたヒトiPS細胞株も、再生医療における細胞源として期待が大きい。これら幹細胞を用いて再生医療を臨床実現するには、科学的にみても医学的に見ても未だ不明な点も残されていることも事実であり、特に胚性幹細胞株やiPS細胞株の様な未分化性が高い細胞を臨床利用する場合には、体外増幅あるいは移植後における細胞の癌化の可能性など安全性を危惧する声がある。一方で、イノベーションの促進・社会還元の一層の加速・国民福祉へ寄与すべきとの観点もあり、国民の公衆

衛生上の安全安心の担保という観点とともに、適正に再生医療を評価・推進することが肝要である。

### 胚性幹細胞株、iPS 細胞株の臨床応用の対象疾患に関する考え方について

胚性幹細胞株あるいは iPS 細胞株を臨床研究で用いる際の、対象疾患に関する基本的考え方は、体性幹細胞を用いる場合と本質的に差は無い。安全性と有効性を確保しつつ再生医療を適正に推進するとの考え方が基本に流れているからである。平成 19 年厚生労働省告示 425 号「ヒト幹細胞を用いる臨床研究に関する指針」を紐解くと、第 1 章第 4 に、対象疾患に関する記述がある。

#### 「第 4 対象疾患等

ヒト幹細胞臨床研究の対象は、次に掲げる要件に適合するものに限る。

- (1) 重篤で生命を脅かす疾患、身体の機能を著しく損なう疾患又は一定程度身体の機能若しくは形態を損なうことにより QOL (生活の質) を著しく損なう疾患であること。
- (2) ヒト幹細胞臨床研究による治療の効果が、現在可能な他の治療と比較して優れていると予測されるものであること。
- (3) 被験者にとってヒト幹細胞臨床研究の治療により得られる利益が、不利益を上回る

と十分予測されるものであること。」(以上抜粋)

また、ヒト幹細胞臨床研究の実施にかかる基本原則として、

#### 「第 5 基本原則

##### 1 有効性及び安全性の確保

ヒト幹細胞臨床研究は、十分な科学的知見に基づき、有効性及び安全性が予測されるものに限る。」(以上抜粋)

と記載されている。これらヒト幹細胞臨床研究対象疾患に関する基本的考え方を援用して議論すると、以下の 4 点が焦点になると認識している。すなわち、

- (1) 対象疾患重篤度からの分類
- (2) 移植後の被移植細胞の体内挙動からの分類
- (3) 体性幹細胞での臨床経験のある疾患か
- (4) ほぼ均一な細胞集団を用いる再生医療であるか

##### (1) 対象疾患重篤度からの分類

対象疾患の重篤度と、臨床研究における有効性・安全性の均衡の観点から議論を進める。ヒト幹細胞指針にはあるように、重篤で生命を脅かす疾患、身体の機能を著しく損なう疾患又は一定程度身体の機能若しくは形態を

損なうことによりQOL（生活の質）を著しく損なう疾患をまずは対象とすべきであり、また対象疾患のなかでも特に重症度分類が高い患者群を選択すべきである。これは、このような重症度が高い患者では、そのほか有効と思われる治療選択肢が少ない。「ヒト幹細胞臨床研究による治療の効果が、現在可能な他の治療と比較して優れていると予測されるものであるべき」でもあり、現在可能な他の治療法が選択肢として「現に」提供できるのであれば、臨床研究への参加により適切な治療を享受する機会、すなわち「得られる利益が、不利益を上回る」機会を逸しさせしめたのではないかと、という疑義が生じる可能性も否定できない。また、被験者からみても、自己責任において一縷の望みにかける、という被投が首肯しうる状況である。先行臨床研究により有効性・安全性が確保できるのであれば、対象疾患における重篤度の範囲を重症から軽症へと適応拡大するという方策が望まれる。私ども大阪大学医学倫理委員会においても上記議論があり、大阪大学大学院医学系研究科外科学講座心臓血管外科で行なっている「重症心不全に対する自己骨格筋芽細胞シート移植による治療法の開発」においても、対象疾患は拡張型心筋症という重篤な疾患であり、またそのなかでも補助人工心臓

が装着され、心移植によってのみ治療が可能であるが、心移植が現に行なえていない患者さんを対象とすることとしている。今後、有効性・安全性が確保できれば、補助人工心臓非装着の患者さんに対象を拡大するとともに、我々の技術をプラットフォームとして同種ES細胞株あるいはiPS細胞株を用いた筋芽細胞シートと異なる機序の細胞シート移植を試みてゆきたい。

なお、先天性疾患のなかには非常に重篤な疾患が数多く、また未成年で治療すれば予後が良好となると予測されるものが多い。単に重篤度という疾患における「マイナス」からの評価ではなく、治療研究の成果として予後が改善されうるという積極的な面からの判断もすべきであると考えている。特に同種細胞であるES細胞株やiPS細胞株を臨床利用する場合、その頒布性の高さは先天性疾患の治療研究には非常に有意義である。なんとなれば、有効性の高い細胞株を選択することが可能で、治療効果の恒常性と反復可能性を確保できるからである。大いに期待したい。

## (2) 移植後の被移植細胞の体内挙動からの分類

特に安全性確保の観点から、移植・投与後の被移植・投与細胞の体内挙動との観点は不

可欠であろう。特に、ES細胞株やiPS細胞株の臨床利用にあつては、その未分化性が議論となる。移植投与される場合未分化のまま移植されることはなく、用途に合わせて分化誘導されたものか、あるいは未分化性が低下しコミットメントした子株、例えば巨核球細胞株、心筋幹細胞株、神経幹細胞株など子株が将来的に樹立され、それが投与されるか分化誘導されて投与されると思われるが、移植・投与後の腫瘍形成の有無、対象疾患の選定においても重要であると考えらる。

#### 1) 移植・投与後増殖性を期待する疾患であるか

現在、再生医療は「サイトカインセラピー」であつて、分化誘導した細胞が生着機能するのではない、という議論もある。サイトカインセラピーでは、移植した細胞は早晩死滅する。加えて、例えば我々の行なっている骨格筋芽細胞シートは、生着するが体内で細胞が増殖しない。一方で、細胞治療としてこれまで行なわれてきた造血幹細胞移植は、骨髄に輸注した細胞が生着し機能するものであり、また造血幹細胞あるいは臍帯血幹細胞を体外増幅して投与・移植する場合もそうである。ここで議論すべきなのは、ES細胞株あるいはiPS細胞株の移植投与後、体内にて増殖を期待する場合としない場合があるということ

である。ES細胞株あるいはiPS細胞株を臨床利用する際に、その安全性を担保するために、*in vitro*において染色体異常等を検討することとなるが、体内にて増殖を期待する疾患で臨床利用する場合には特に注意が必要であると考えられる。換言すれば、ES細胞株やiPS細胞株の*in vitro*における染色体異常等の検索がどこまで行なわれたかにより、利用できる対象疾患も限定されるもの、ということである。

#### 2) 移植・投与後体内局在性

ES細胞株やiPS細胞株由来細胞を被験者に投与あるいは移植する場合、細胞として移植する場合と、細胞シートなどのように「組織」として移植する場合とが想定される。特に、単一細胞として静脈注射など経血管的投与の場合はとくに全身に散布されるため、未分化な細胞が局所にて腫瘍を形成する危険性があることを念頭に置くべきであろう。

また、安全性を確保するように努力を惜しまないとしても、腫瘍形成などの可能性は零にはならない。通常の治療においても、つねにリスクはあるものであつて、再生医療にのみ過剰な安全性を求めることは、医療の世界から見ても均衡にかけるものである。万が一、移植・投与したES細胞株・iPS細胞株由来細胞が腫瘍形成してしまっても、表層からアク

セスできるか観察しうる組織であれば、発見・摘出可能である。安全性の観点から、このような考え方も可能であるかもしれない。一部、米国の胚性幹細胞を用いる治療開発を行っている企業ではこのような考えに基づき、神経幹細胞を移植する前段階の研究として網膜再生を目指していると同っている。

(3) 体性幹細胞での臨床経験のある疾患か  
再生医療は、医療であって基礎研究ではない。社会に還元されなくてはその存在意義が問われるものであると認識している。しかし、特にES細胞株やiPS細胞株を用いての再生医療臨床研究の推進に向けて、零からのスタートではなく、これまで体性幹細胞による再生医療臨床研究の知見、ノウハウなどを積極的に取り入れるべきであり、それこそが社会還元にむけた一層の加速に資するものであると考え。また、有効性検証、安全性検証の手法ともに体性幹細胞臨床研究には一日の長がある。加えて、わが国が誇る組織工学的技術をプラットフォームとして積極的に活用すべきであり、そのような技術を流用できる対象疾患を志向すべきであろう。

(4) ほぼ均一な細胞集団を用いる再生医療であるか

例えば角膜内皮は早晚ES細胞株やiPS細胞株から分化誘導できると伺っており、またES細胞株やiPS細胞株は心筋分化指向性が高いとされ、我々もiPS細胞株において確認している。心筋は血管を除くと心筋細胞よりなる均一性の高い臓器であり、角膜内皮層は内皮細胞よりなる均一な臓器である。一方、例えば腎臓を再生しようと試みる場合、均一な細胞集団では機能しないため、複雑な分化培養系を用いざるを得ず、複雑性を増すほど適切に分化培養できない危険性が高まるであろう。従って、当面ES細胞株やiPS細胞株を用いて再生医療を試みる場合、「単純・単一」な培養系で再生可能な臓器・疾患を対象として試行し、順次複雑な分化培養系による再生医療に進むべきであろう。

### おわりに

再生医療、特に今後顕在化するであろうES細胞株やiPS細胞株由来細胞を用いる臨床研究は科学的にみても医学的に見ても未だ不明な点、乗り越えるべき課題、まだ見ぬ課題がある。そのため、ES細胞株やiPS細胞株を用いる再生医療医薬品・医療機器の研究開発及び臨床実現においては、十二分に安全性・有効性が確保されるべきである。そのような再生医療こそが国民の健康福祉に資するも

のであると認識している。イノベーションの促進・社会還元の一層の加速・国民福祉への寄与という観点と、国民の公衆衛生上の安全安心の担保という観点を、両目でにらみつつ、

安全かつ有効なES細胞株やiPS細胞株を用いる再生医療の迅速な実現を目指してゆきたい。

C-3

ES細胞/iPS細胞の臨床応用の対象範囲として想定されるもの（整形外科分野）

大阪市立大学大学院医学系研究科・脇谷 滋之

本稿では、整形外科分野での細胞移植による組織再生の現状について解説し、その中から将来ES/iPS細胞の臨床応用に適している疾患を検討する。

【整形外科分野における細胞移植治療の現状】

整形外科分野における細胞移植による再生療法で最も早くから開発されたのは、関節軟骨再生のための軟骨細胞移植である。これは1997年、米国食品医薬品局（FDA）に認可された、整形外科分野において世界で初めての組織再生医療用の商品である。組織再生医療の中では皮膚とともに最も早くから開発されたもののひとつであるが、未だに様々な問題が未解決であり、他の組織再生に比較して進歩が遅い。その原因としては、臨床的

有用性のエビデンスが示されておらず有用性が不明であること、多くの整形外科疾患が生命を脅かすものではなく、また多少の問題があるとはいえ代替療法があるために危険を冒してまで行う必然性がないことなどがあげられる。

現在、整形外科分野で細胞移植による組織再生で臨床応用されているものは、関節軟骨、骨、椎間板がある。前臨床試験段階としては脊髄、靭帯あるいは末梢神経再生療法があるが、その中では脊髄損傷に対する再生療法の臨床応用が早いと考えられる。これらの組織再生に様々な細胞が使用されるが、それらの細胞の起源は大きく分けると、自己であるか同種であるか、さらには組織細胞あるいは前駆細胞であるに分類される（表1）。自己細胞移植であれば免疫反応は問題とならない

が、同種では問題となる。

## I. 関節軟骨再生

細胞移植による関節軟骨再生療法は整形外科分野で最も広く行われているが、他の組織再生療法とは異なった特殊性を持つことが一因であろう。特殊性の第1は、前駆細胞ではなく組織細胞（軟骨細胞）移植が主流であることである。一般の組織再生医療において、自己の組織細胞を採取することは侵襲が大きいこと、あるいは自己の組織欠損を生じることから、前駆細胞移植が主体となっている。自己関節軟骨は少量であれば採取することが可能で、関節鏡を使い低侵襲で採取でき、しかも周辺の荷重に関係しない部分から採取すると欠損症状がほとんど生じないという利点があるからである。また、多くの疾患では臓器全体が疾患で侵され正常部分が存在しないが、関節軟骨損傷の場合は他の部分は正常であるし、場合によっては他の関節から軟骨を採取することも可能である。第2は関節軟骨には血管がなく免疫担当細胞に暴露される機会が少なく、拒絶反応が生じにくいと考えられることである。動物実験では同種軟骨細胞移植でも拒絶反応が認められないことが報告され、ヒトでも同種軟骨移植の商品開発が行われている。

## 1. 自己軟骨細胞移植

1989年、自己軟骨細胞移植の動物実験、1994年、ヒトへの臨床成績が報告され、1997年、FDAに認可された。その後、ヨーロッパ、韓国でも行われ、これまでに世界で2万例以上に施行された。この方法では、採取できる自己軟骨が少量であるために、分離した軟骨細胞を増殖させている。軟骨細胞を増殖させると脱分化して線維芽細胞様となるために、この方法が本当に軟骨細胞を移植しているか疑問である。この問題を解決するために、軟骨細胞を何らかの担体中で培養することにより脱分化を押さえて移植する方法、第二世代の自己軟骨細胞移植が開発されている。

我が国でも、Genzyme Biosurgery社の自己軟骨細胞移植の商品導入が試みられたが、治験の段階で断念した。広島大学ではコラーゲン・ゲル内で培養した自己軟骨細胞移植の技術を開発し臨床試験を行った。この技術をジャパン・ティッシュ・エンジニアリング社が販売を計画、現在、厚労省の認可待ちである。名古屋大学では、約10例にplatelet rich plasma (PRP)ゲルに自己軟骨細胞をいれて移植した。東海大学では自己軟骨細胞を、温度感受性培養皿を用いて軟骨シートにし移植する方法を開発し、現在東海大学倫理審査委員会へ諮っている状況である。

## 2. 同種軟骨細胞移植

1968年、家兎の実験で、関節軟骨あるいは成長軟骨を酵素処理することにより軟骨細胞を分離し、骨軟骨欠損部への移植する方法が報告された。その後、我々は担体としてコラーゲンを使用すると修復の成績が改善されることを報告した。さらに、*in vitro* でアスコルビン酸、存在下、コラーゲン・ゲル内で培養し、軟骨様にして骨軟骨欠損部に移植するとより良好な成績が得られることを報告した。これらの動物実験では同種軟骨に対する拒絶反応は認められなかった。また、この修復は、動物実験で見られる修復の中で最も優れたものの一つであることから、臨床応用の可能性が考えられた。しかしながら、我が国ではtissue banking systemが完備しておらず、死体からの軟骨採取が困難であるために臨床応用はされていない。米国では死体から軟骨を採取することが可能であり、数社が同種軟骨細胞移植の商品を開発中である。

## 3. 自己骨髄間葉系細胞移植

骨髄血を採取し培養すると接着細胞が出現し、増殖する。それを多孔性セラミックあるいはコラーゲン・ゲル内に包埋し、免疫抑制系のマウスの皮下に移植すると骨および軟骨が出来ることは約40年前から明らかにされてきた。これらの細胞から骨および軟骨

が形成されるので、関節の骨軟骨欠損修復に有用ではないかと考え、我々は1994年、家兎の実験系で骨軟骨欠損修復を促進することを報告した。この方法を1998年、臨床応用した。これまでに数十例の患者に施行した。臨床成績は良好であったが、修復組織は完全な硝子軟骨では無いことが多かった。奈良医大では数例、神戸大学、兵庫医大では各1例試行し、良好な成績であった。信州大学ではこの方法を厚労省ヒト幹細胞治療移植指針に申請中である(2008年4月9日現在)。

## 4. 他の細胞移植による関節軟骨再生

東京医科歯科大学および大阪大学では自己滑膜細胞を利用した関節軟骨修復を近い将来、臨床応用する予定である。

## II. 骨再生

骨移植は一世紀以上前から広く行われてきた組織移植である。自己移植と同種移植とある。自己骨移植は、腸骨から採取すると大きな障害を残さないために(術後の疼痛はある)、現在でも広く行われる。しかし、大量の移植骨を採取することは不可能である。同種骨移植は、人工股関節置換術で廃棄する大腿骨頭などを冷凍保存して免疫源性を低下させて移植するものである。各病院にて保存し地域骨銀行としておこなわれている。しか

し、感染症の問題があるために、最近では加温処理などを使いしている。これに対して全国的な骨銀行を作ろうとする努力が行われている。北里大学と東海骨バンクでは、同種骨を集めて脱脂、滅菌などの処理をして、他の施設に配布するシステムを作り上げた。

骨移植以外に、ハイドロキシアパタイトや $\beta$ -TCPなどの人工材料による補填も有効であり、これら単独、あるいは自家骨と混ぜて使用されている。別の方法として、骨形成蛋白が骨欠損の再生に有効であり、これらの開発も行われている。

軟骨再生の時の骨髄間葉系細胞からは軟骨のみならず骨も形成されることから、骨欠損修復の動物実験が行われ、臨床応用が行われた。我が国では、奈良医大では *in vitro* でセラミックの人工足関節の表面に自己骨髄間葉系細胞に骨を作らせた後に置換し術後成績の改善を目指し、奈良医大および大阪大学ではハイドロキシアパタイトに細胞をいれて移植し、骨修復を促進することを目指して行われている。京都大学では骨髄間葉系細胞移植を骨壊死部分に移植している。信州大学では $\beta$ -TCPを担体とした骨髄間葉系細胞移植による骨再生を厚労省ヒト幹細胞移植治療指針に申請中である(2008年4月9日現在)。

### III. 椎間板再生

椎間板が損傷された場合、上下の椎体を固定する方法しか治療方法がなかった。欧米では人工椎間板が開発されているが、有用性には疑問がある。

東海大学整形外科では椎間板再生を目指し、自己椎間板髄核細胞移植法を開発した。椎間固定術施行時、椎間板髄核を採取し細胞を分離、さらに自己骨髄間葉系細胞と共培養し、椎間板細胞を活性化させる。その固定椎間の上下の変性した椎間板に移植し、椎間板の機能を改善することを目指している。厚労省ヒト幹細胞移植治療指針の承認を受け、この春にも開始予定である。

### IV. 脊髄再生

脊髄損傷に対しては、受傷早期に大量のステロイドを投与し、麻痺の進行を防ぐしか方法が無い。

ラットあるいはサルの脊髄損傷に対する神経幹細胞移植が有効であることが慶応大学から報告された。ここで使われた神経幹細胞は胎児由来であるためにヒトに応用するには倫理的問題、免疫反応など克服すべき問題が多い。自己神経幹細胞として他の体性幹細胞からの誘導の研究がおこなわれている。ES細胞から神経幹細胞を誘導は可能である

が、この場合には同種移植となるので HLA をあわせるための ES 細胞のバンキングシステムの構築などが必要である。慶応大学では iPS 細胞から神経幹細胞を誘導する研究が行なわれているが、可能となれば入手困難な自己神経幹細胞が作成でき、非常に有用である。

#### 【整形外科分野で ES 細胞/iPS 細胞の臨床応用の対象範囲として想定される疾患】

前述の細胞移植による再生療法のいずれにおいても、理論的には ES 細胞あるいは iPS 細胞を使い、これらの細胞を分化誘導してから移植することは可能である。これらの細胞を使うリスクとベネフィットの検討を行い、リスクを上回るベネフィットがある場合に行うべきであろう。患者の生命を脅かす疾患の場合には、多少の危険ならば冒しも施行する理由となりうるが、本稿で解説した細胞治療が行われている整形外科分野での疾患は、いずれも生命を脅かすものではない。

#### I. 脊髄再生

脊髄損傷は上位頸椎以外は生命を脅かす疾患ではないが、患者に与える苦痛は肉体的にも精神的にも大きく、もし治癒させることができれば患者に与える恩恵は大きく、生命を脅かす疾患の次に、危険性のある治療の施行を許容できる疾患であると考えられる。他

に有効な治療法がないことも脊髄損傷を細胞移植で治療することに対する期待が大きい理由である。では脊髄損傷治療で有効であることが証明された神経幹細胞をどこから採取するか？胎児の神経幹細胞が最も有効であるが、倫理的問題および同種移植の克服の問題がある。他の体性幹細胞からの誘導が試みられているが、それならば、ES 細胞あるいは iPS 細胞の方が有効であろう。幹細胞から神経細胞への誘導の研究は非常に進んでいることも臨床応用が近いと考えられる理由の一つである。脊髄の場合、blood-brain barrier があるために同種移植でも免疫反応を逃れられる可能性も指摘されてきたが、実際には生着細胞数の減少などが生じるために、同種移植には免疫抑制剤の投与などが必要である。したがって、ES 細胞の場合には HLA を合わせるために ES 細胞バンキングシステムが必要である。その意味では自己細胞移植が可能である iPS 細胞のほうが有用である。

#### II. 関節軟骨再生

関節軟骨損傷は生命を脅かす可能性がなく、また完全な方法ではないものの代替法がないわけではなく、危険な治療を許容することはできない。しかし、ES/iPS 細胞の安全性が確立された場合には、これらの細胞から軟骨細胞を分化誘導して移植する方法が有用

であろう。細胞移植による関節軟骨修復の問題点は、確実に硝子軟骨で再生できないことである。移植する細胞の分化能が十分でないことが挙げられる。その意味では全能性をもつ ES/iPS 細胞は有用であると考えられるが、確実に軟骨細胞にのみ分化させる方法の開発が重要となる。また関節軟骨には神経、血管、リンパ管がないこと、軟骨細胞が密な細胞外基質が囲まれており免疫担当細胞に暴露されないことから、同種細胞移植ができる可能性がある。動物実験では同種軟骨細胞移植で免疫反応はなく、米国ではヒト同種軟骨細胞移植の商品開発が行われている。その意味では、同種移植となる ES 細胞でも問題ない可能性があり、現時点では遺伝子導入を必要とする iPS 細胞よりは ES 細胞のほうが臨床応用が容易であると考えられる。

### III. 椎間板再生

椎間板髄核細胞移植についてはまだ十分は知見が得られていないが、関節軟骨と同様である可能性が高く、ES 細胞の適応となる可

能性がある。現在の方法では一度手術を受ける患者からの採取であるが、ES 細胞が使えるようになると、手術を受けない患者の椎間板再生が可能となる。

### IV. 骨再生

骨再生については、現在の骨髄由来間葉系幹細胞でも十分な骨誘導が得られており、また問題はあるものの骨移植という代替方法があるため、あえて ES/iPS 細胞を使う必要性は低いと考えられる。

結論としては、整形外科分野での細胞移植による治療においては、脊髄損傷に対する iPS 細胞から誘導された神経幹細胞移植はまず優先して進められるべき課題であると考えられる。関節軟骨あるいは椎間板損傷に対する ES 細胞から誘導された軟骨あるいは髄核細胞移植は有用であると考えられるが、必要性が高いわけではなく、安全性が確立されてから行われるべきであろう。

表1. 整形外科分野での細胞移植による組織再生の現状

	自己	同種
関節軟骨再生	軟骨細胞○ 前駆細胞○	軟骨細胞△ (但し米国)
骨再生	前駆細胞○	
椎間板再生	椎間板髓核細胞○ 前駆細胞○	
脊髄再生	前駆細胞△	前駆細胞△?

○臨床応用されているもの、△臨床応用が近いもの

表2. 整形外科分野でのES細胞/iPS細胞の臨床応用の対象

	iPS細胞	ES細胞
関節軟骨再生	△	○
骨再生		
椎間板再生	△	○
脊髄再生	◎	△

◎非常に有望 ○有望 △可能性あり

C-4

ES, iPS細胞を用いた臨床試験、対象疾患とその課題  
 ・加齢性黄斑変性 (網膜色素上皮細胞: iPS細胞)  
 ・パーキンソン病 (ドーパミン細胞: ES or iPS細胞)  
 理化学研究所発生再生科学総合研究センター・高橋 政代

以下資料参照

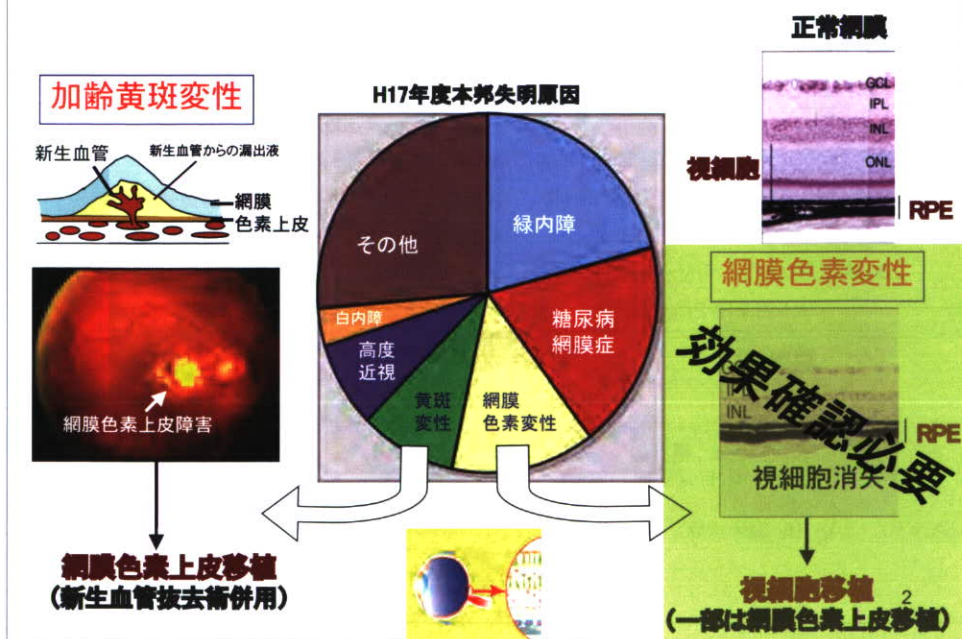
# ES, iPS細胞を用いた臨床試験 対象疾患とその課題

- 加齢黄斑変性  
(網膜色素上皮細胞: iPS細胞)
- パーキンソン病  
(ドーパミン細胞: ES or iPS細胞)

理化学研究所 高橋政代

1

## 網膜細胞治療の対象疾患



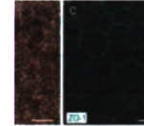
1

## 網膜色素上皮細胞移植 (RPE)

対象疾患：加齢黄斑変性など(一部の網膜色素変性も)

拒絶反応あり → 自己細胞 → **IPS細胞が有利**

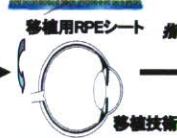
現時点での技術的な実現性が高く、治療効果も期待



	平成20年度	平成21年度	平成22年度	平成23年度	平成24年度
マウス IPS細胞	移植用シート 作成法				
サル IPS細胞	サルIPS細胞作成	RPEをサル移植(安全 性、拒絶反応確認)			
ヒト IPS細胞	RPEの分化	移植用シート作成法 完成	患者のIPS細胞作 成(複数)	患者IPS細胞から のRPE分化誘導 (GMP準拠)	安全性を含めた品質 管理手法完成 手術手技完成
プロトコル			GMP基準培養SOP 効果・安全性評価 のプロトコル化		臨床試験申請の 準備完了



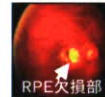
サル・ヒトESから  
高効率分化成功  
PNAS 2002, 2008  
IVOS 2004  
Nature Biotech, 2008



患者IPS樹立  
RPE分化  
シート作成  
GMP/SOP  
安全性検証

5年目標

医師主導型臨床試験  
申請準備完了



## 網膜色素上皮細胞(RPE)移植

対象疾患：浸出型加齢黄斑変性

ヒト患者への臨床応用の現実性(根拠)

1998年- **黄斑移動術**(網膜を回転して網膜中心を正常な網膜色素上皮の部位に移動させる)

成績：約半数で効果 (Arch Ophthalmol. 2007) **RPE置換効果**

ただし、重篤合併症の危険が大のため、一般化せず

2006-7年 **RPE自家移植**の報告4報： 約58%で効果(計73例中) **RPE置換効果**

自家RPE採取の重篤な副作用40%、他家移植では強い拒絶反応

2008年2月 **米ベンチャー企業も注目** (Advanced Cell Technology社)

ヒト由来RPEによる網膜疾患治療で前臨床試験へのFDA協議完了 (pre-IND)

課題

- (1) ヒトIPS細胞からのRPE分化、細胞機能確認
- (2) RPEのLaser microdissectionによる**純化**(用手法では既に可能)
- (3) 移植法、器具の**調整**(プロトタイプは既にあり)
- (4) サル(自家移植)での拒絶反応検討
- (5) **患者由来のIPS細胞**作成、分化、細胞機能確認、安全性検証
- (6) 臨床試験**プロトコル**作成とそれに沿った前臨床データ

臨床試験

4