

“標準化”の達成とは？

②“最適化”は永遠の課題、“標準化”は実用性の保証

“理想的”ではなくても、
使い方が分かれば役に立つ



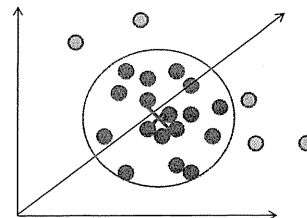
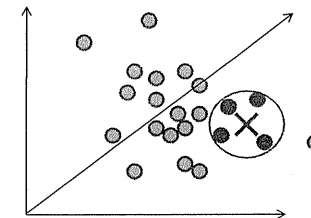
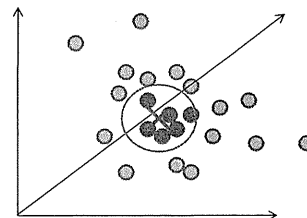
1973



2011

“標準化”の達成とは？

①“標準”は一点ではなく、ばらつきを含む“範囲”である。



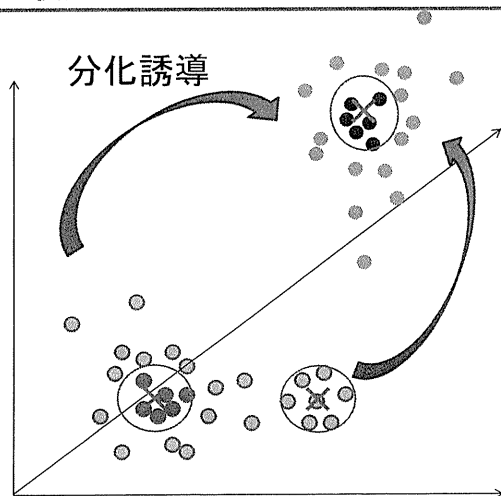
“位置”と“広さ”により定義

↓ ↓
これが必要・十分

“最適化”ではない

“標準化”の達成とは？

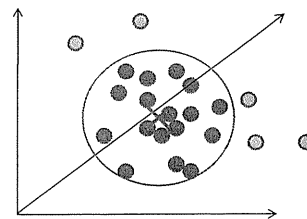
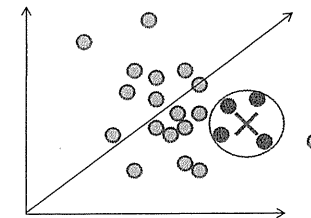
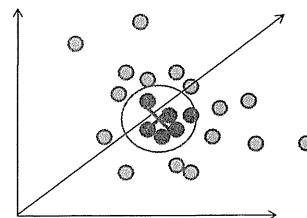
②“最適化”は永遠の課題、“標準化”は実用性の保証



“標準化”さえできていれば、それに応じた方法が決まる。

“標準化”の達成とは？

②“最適化”は永遠の課題、“標準化”は実用性の保証

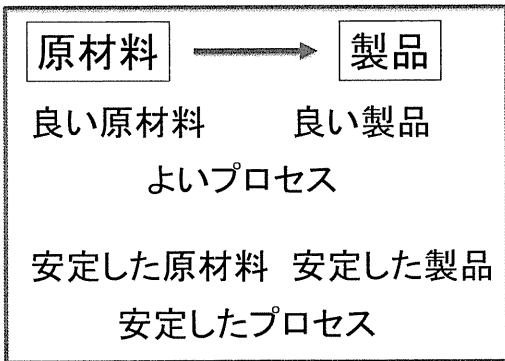


“位置”と“広さ”により定義

↓ ↓
これが必要・十分

“最適化”ではない

種々の応用の実現のためには、
iPS細胞が上質かつ安定したツールになる必要がある

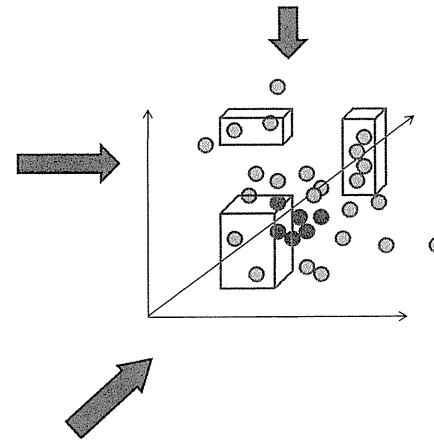


常に一定の良好な
特性を持つ事

- 薬剤への反応性
- 造腫瘍性
- 感染源となる可能性

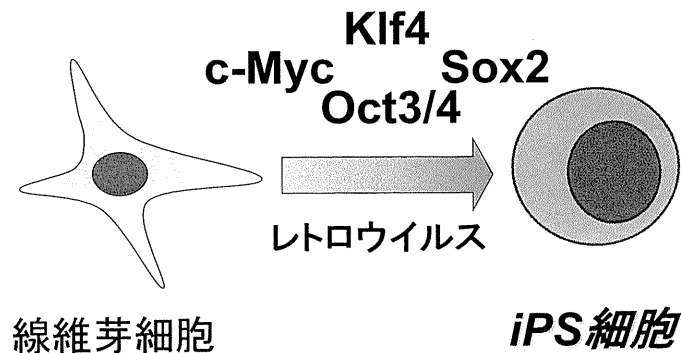
“標準化”の達成のためには？

①多数のサンプルを用いた、多角的な検討が必要



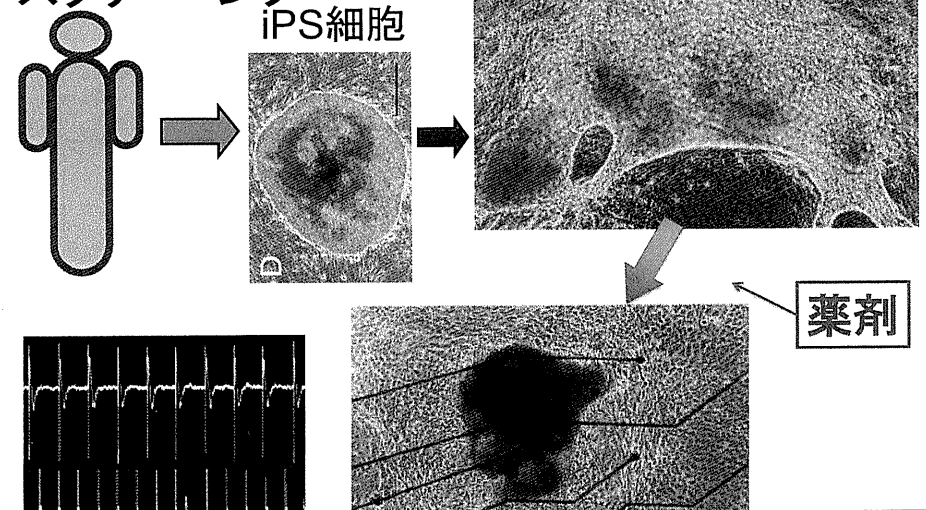
広さと位置を
正しく決めるため

マウスiPS細胞 2006

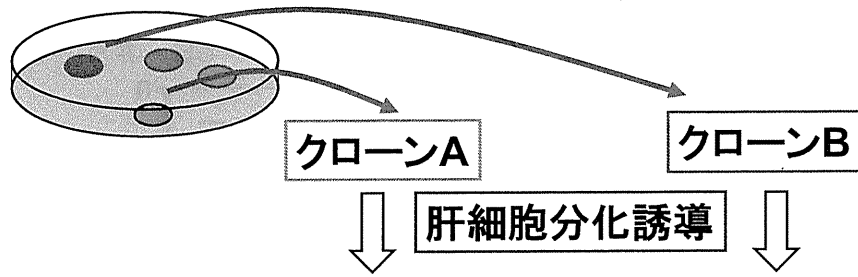


ヒトiPS細胞を用いた患者特異的創薬モデル

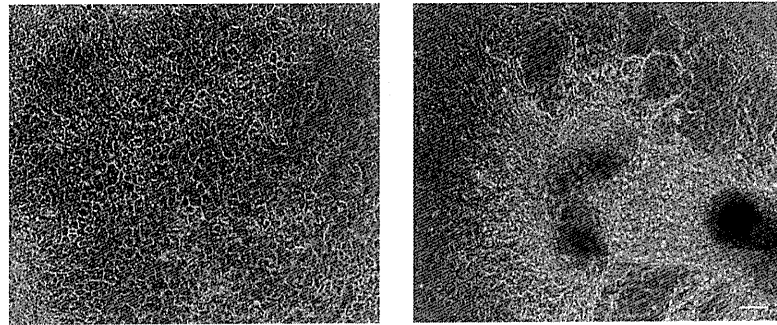
QT延長症候群の
スクリーニング



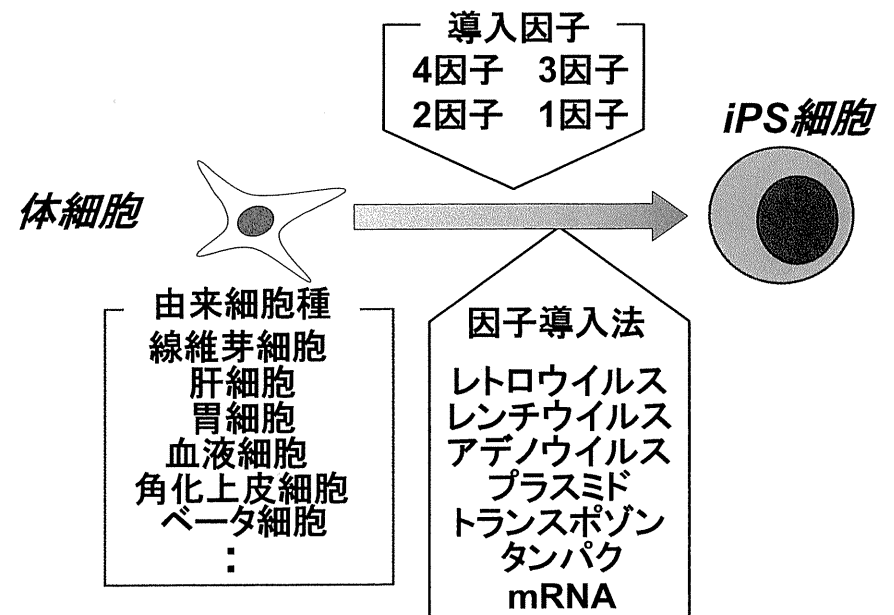
iPS細胞の多様性 (クローンごと)



17日目

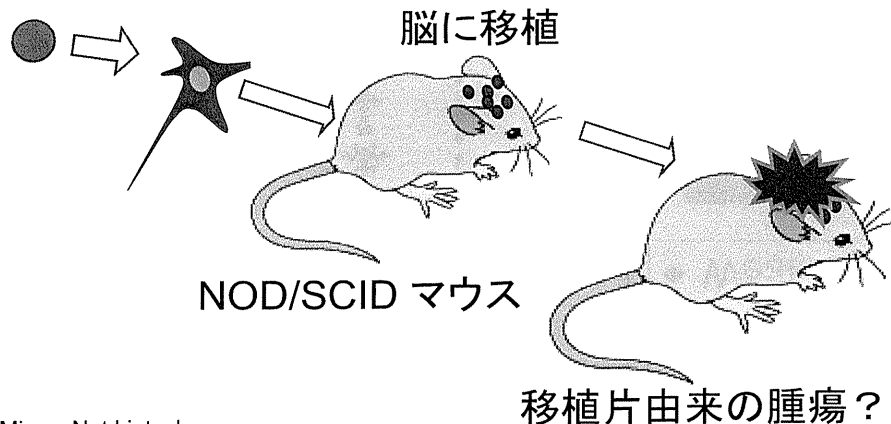


ヒト・マウスiPS細胞 ~2011年



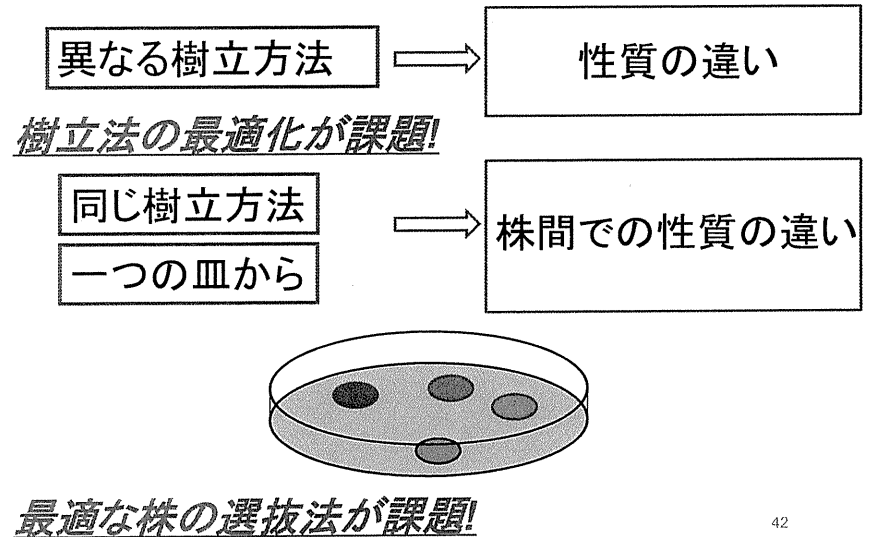
マウスiPS細胞→神経分化→移植

In vitro 神経分化誘導

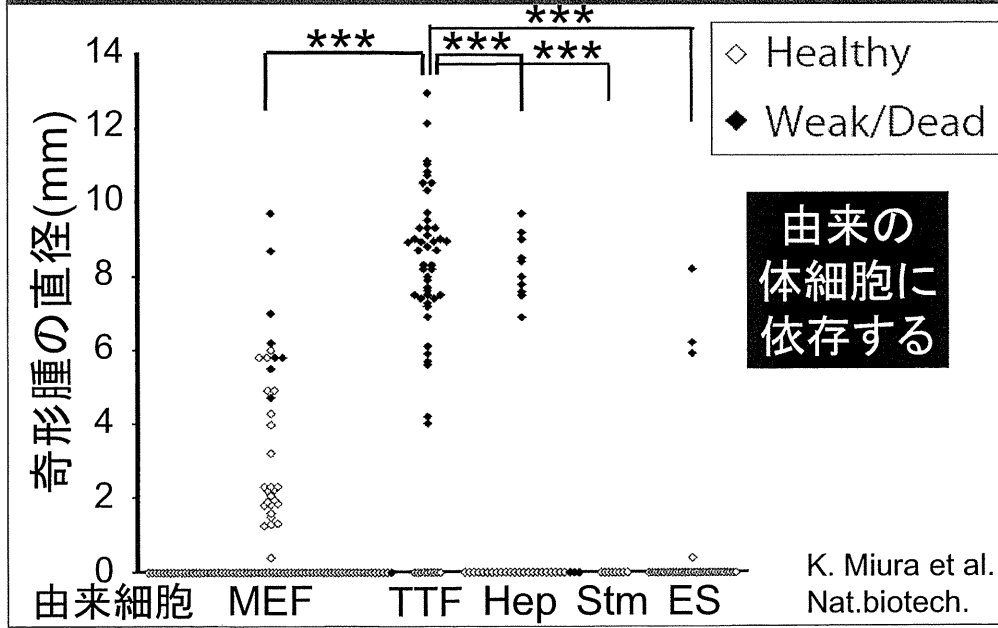


K. Miura Nat.biotech

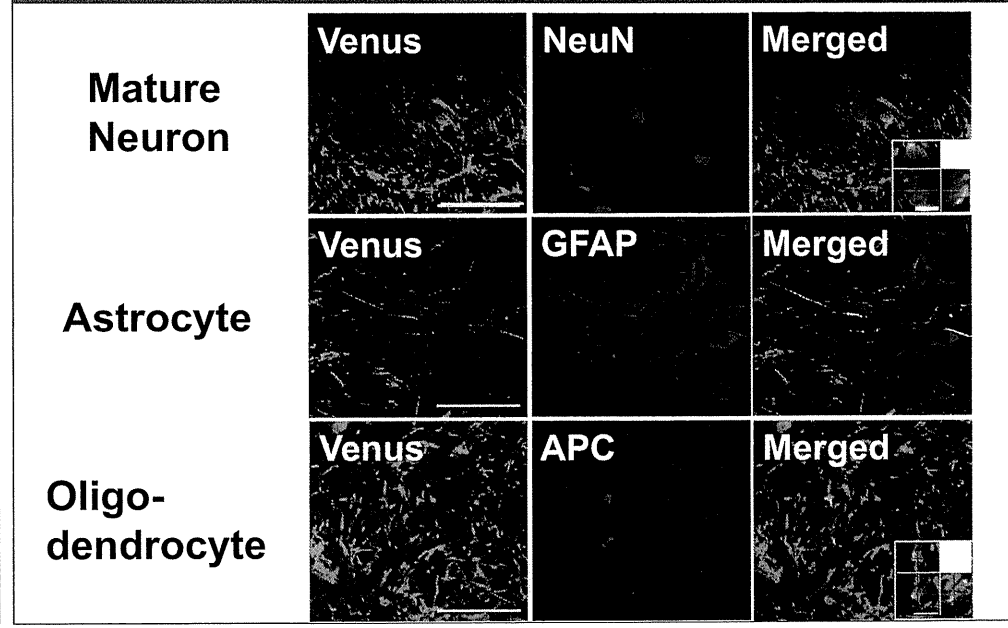
iPS細胞の“多様性”



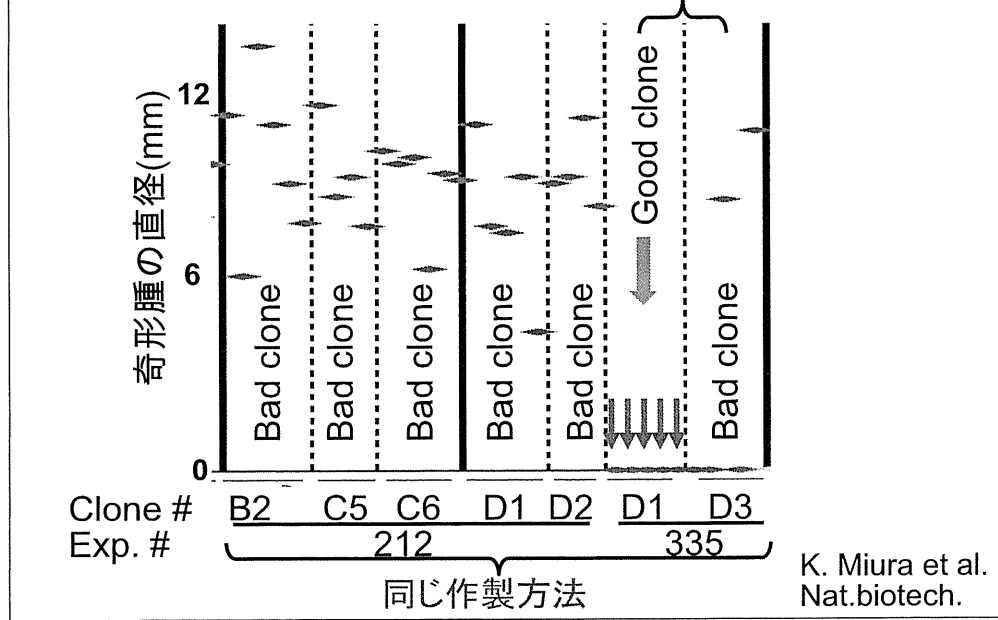
テラトーマ直径の比較 (由来別)



iPS細胞は神経系に寄与

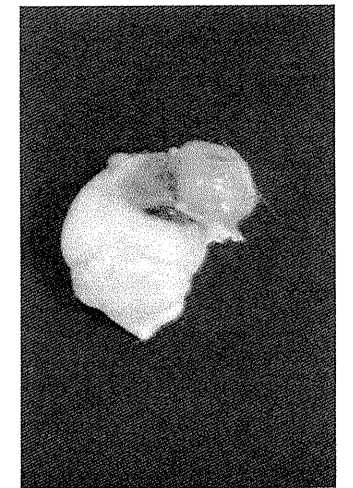
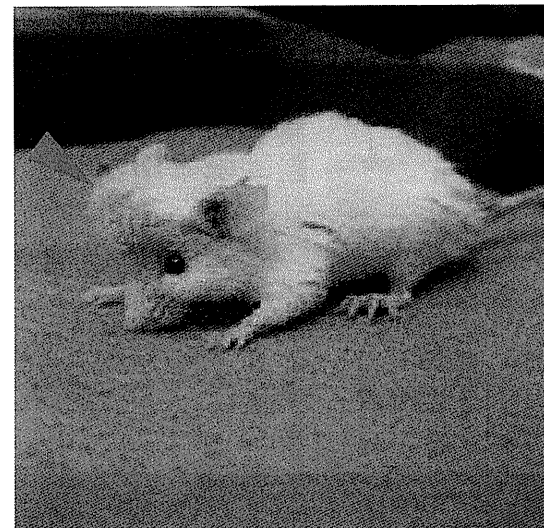


同一マウス、一回の工程で樹立しても良いクローンと悪いクローン



iPS細胞由来の神経を移植したマウスに腫瘍発生

移植後4週間



K. Miura Nat.biotech

iPS細胞の“多様性”

異なる樹立方法

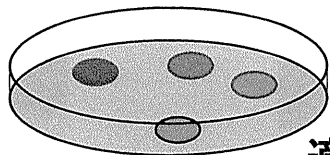
性質の違い

樹立法の最適化が課題!

同じ樹立方法

株間での性質の違い

一つの皿から



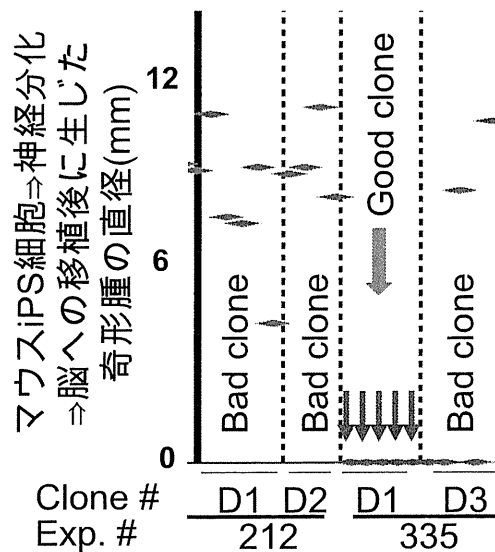
最適な株の選抜法が課題!

適切に

⇒「最適な株」を選び、それを増やして使用する

一旦、「よいクローン」を得ることができれば、「よいiPS細胞」をラージロットで作ることができる

マウスiPS細胞⇒神経分化
⇒脳への移植後に生じた奇形腫の直径(mm)



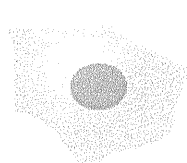
同じ性質を保ちながら無限に増殖

自己複製能

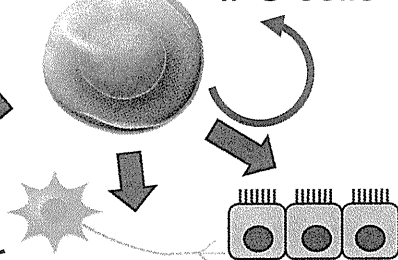
K. Miura et al. Nat.biotech.

iPS cell Bank

Cells from the donor



iPS cells



良質で汎用性の高いiPS細胞とそこから分化細胞を多量に作りバンキングしておく

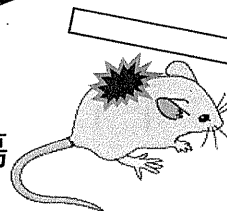
利点: 患者さんあたりのコストが低い
急性期疾患に適応可能(脊髄損傷など)
徹底的な品質評価可能

HLA3座ホモ

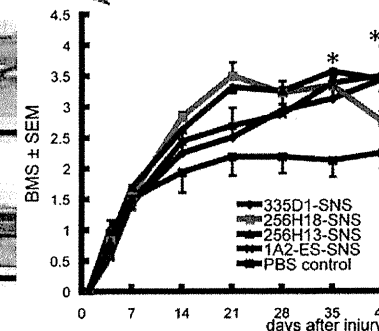
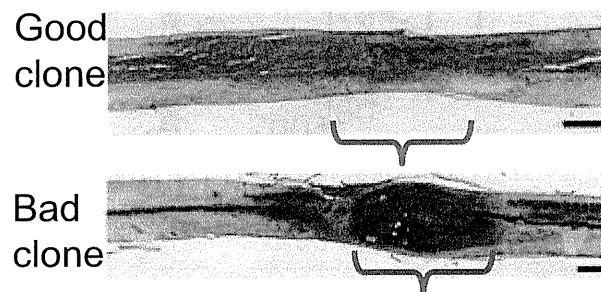
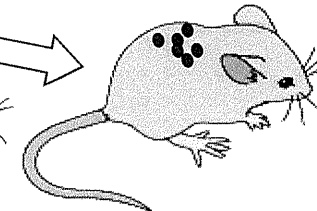
「よいiPS細胞」を神経分化



脊髄損傷



脊髄へ移植

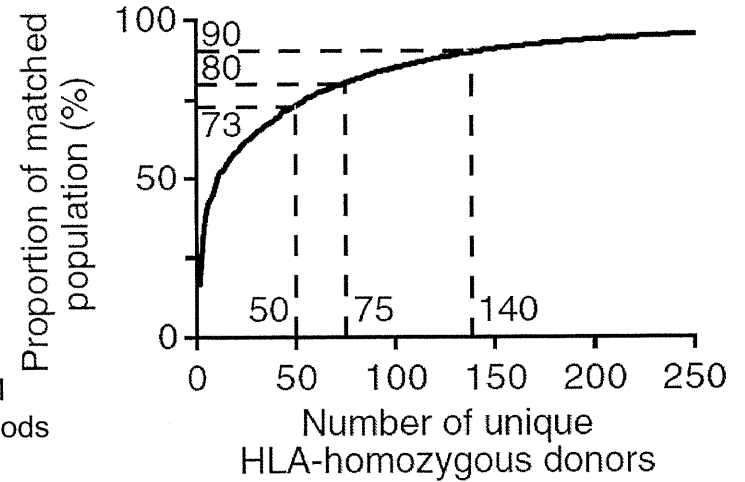


Tsuij et al. PNAS, 2010



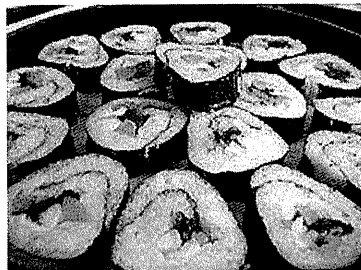
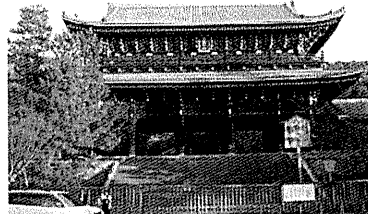
少数のHLAホモiPS細胞は多くの患者に適応可能

HLA3座ホモのユニークなドナーによってカバーされる我が国の人口に関する試算



Okita et al
Nat. methods
2011

Korea and Japan share Culture

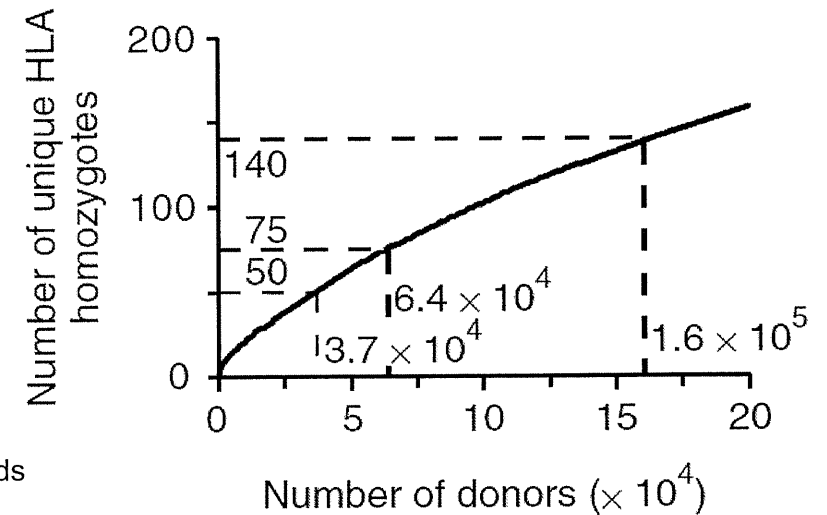


김밥

巻き寿司

HLAホモを見出すには、多くの候補者の検査が必要

ドナー候補者に含まれるHLAホモの数に関する試算



Okita et al
Nat. methods
2011

Allele*Frequencies

in Worldwide Populations

World wide database

The Allele Frequency Web Database
 providing frequency of polymorphisms, locus, programs of access.

Our mission is to archive the present and the past (Database) knowledge on variation on DNA and to work with the future (Research) and (Clinical) in facing the forward. Please contact us if you wish to participate.

Introduction
 The main purpose of the Allele Frequency Web Database is to provide one central source, freely available for all, for the storage of allele frequencies from different polymorphic sites in the human genome. Users can modify the results of their own and the common database and can perform database searches on information freely available.

The polymorphisms collected data in ethnic populations and geographic location. The success of this website will depend on how the information is used.

Please visit the website using our web application: Allele Frequencies and a genome plus more programs for analyzing polymorphisms in worldwide populations. Genotype-Sequence (G-S), Phenotype-Sequence (P-S), Genotype-Sequence (G-S), Phenotype-Sequence (P-S), Genotype-Sequence (G-S), Phenotype-Sequence (P-S).

Database Information

Polymorphic Region	Population Studies	Genotype Data	Haplotype Data	Sequence Data
HLA	100	100	100	100
HLA-DQA1	100	100	100	100
HLA-DQB1	100	100	100	100
HLA-DPA1	100	100	100	100
HLA-DPB1	100	100	100	100
HLA-DRA	100	100	100	100
HLA-DRB1	100	100	100	100
HLA-DRC1	100	100	100	100
HLA-DRE1	100	100	100	100
HLA-DSE1	100	100	100	100
HLA-DSE2	100	100	100	100
HLA-DSE3	100	100	100	100
HLA-DSE4	100	100	100	100
HLA-DSE5	100	100	100	100
HLA-DSE6	100	100	100	100
HLA-DSE7	100	100	100	100
HLA-DSE8	100	100	100	100
HLA-DSE9	100	100	100	100
HLA-DSE10	100	100	100	100
HLA-DSE11	100	100	100	100
HLA-DSE12	100	100	100	100
HLA-DSE13	100	100	100	100
HLA-DSE14	100	100	100	100
HLA-DSE15	100	100	100	100
HLA-DSE16	100	100	100	100
HLA-DSE17	100	100	100	100
HLA-DSE18	100	100	100	100
HLA-DSE19	100	100	100	100
HLA-DSE20	100	100	100	100

The number of polymorphisms in our database is 11,111 (HLA), 1,111 (HLA-DQA1), 1,111 (HLA-DQB1), 1,111 (HLA-DPA1), 1,111 (HLA-DPB1), 1,111 (HLA-DRA), 1,111 (HLA-DRB1), 1,111 (HLA-DRC1), 1,111 (HLA-DRE1), 1,111 (HLA-DSE1), 1,111 (HLA-DSE2), 1,111 (HLA-DSE3), 1,111 (HLA-DSE4), 1,111 (HLA-DSE5), 1,111 (HLA-DSE6), 1,111 (HLA-DSE7), 1,111 (HLA-DSE8), 1,111 (HLA-DSE9), 1,111 (HLA-DSE10), 1,111 (HLA-DSE11), 1,111 (HLA-DSE12), 1,111 (HLA-DSE13), 1,111 (HLA-DSE14), 1,111 (HLA-DSE15), 1,111 (HLA-DSE16), 1,111 (HLA-DSE17), 1,111 (HLA-DSE18), 1,111 (HLA-DSE19), 1,111 (HLA-DSE20).

The Allele Frequency Web Database is the main source of information on polymorphisms in the human genome. Please contact us if you wish to participate.

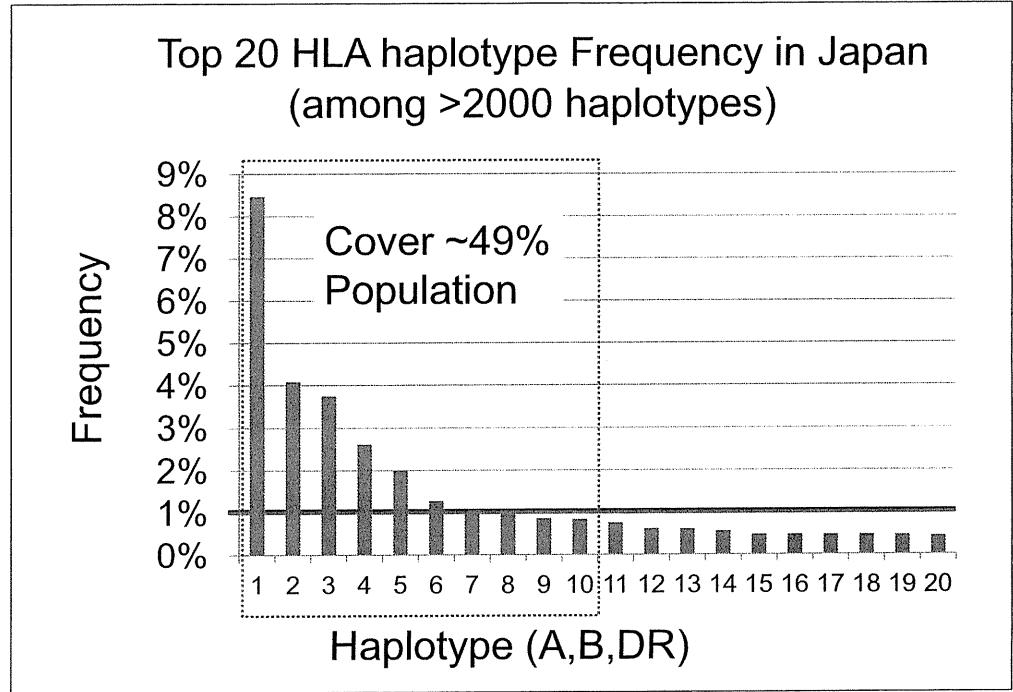
The Royal Liverpool and
Brazzgreen University Hospitals

© 2010 The Allele Frequency Web Database

Korea and Japan share Idols

Genomes

			Haplotype Frequency		
HLA-A	HLA-B	HLA-DRB1	Japan	Korea	
*24:02	*52:01	*15:02	8.468%	1.9%	
*33:03	*44:03	*13:02	4.081%	4.6%	
*24:02	*07:02	*01:01	3.746%	3.0%	
*24:02	*54:01	*04:05	2.609%	-	
*02:07	*46:01	*08:03	2.003%	-	
*11:01	*15:01	*04:06	1.281%	1.2%	
*24:02	*59:01	*04:05	1.062%	1.2%	
*11:01	*54:01	*04:05	0.958%	-	
*24:02	*40:06	*09:01	0.866%	1.0%	
*26:01	*40:02	*09:01	0.843%	-	
*30:01	*13:02	*7:01	-	2.7%	China Yunnan
*02:07	*46:01	*09:01	-	1.0%	10.5



iPS細胞を用いた再生医療の安全性評価

汚染

従来の規制を適用可能な部分が多い。
但し、iPS細胞を用いた再生医療独自の特徴は考慮されるべき

生物学的振る舞いの異常

適切な規制・枠組みを創ってゆく必要

ヒトへの移植医療でのリスクを反映するか？

ヒトと実験動物の違い

移植細胞数 移植部位

ゲノム・エピゲノム異常と腫瘍の関係

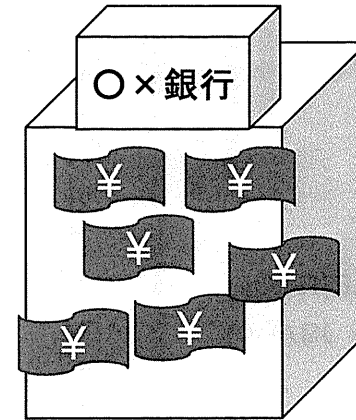
移植細胞に存在する危険因子+付加的要因⇒腫瘍発生

腫瘍発生時期は様々

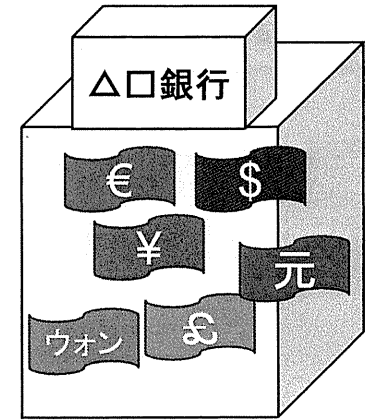
実行可能なコスト・時間で行えるか？

可能なことと不可能なことの整理、 動物の寿命

有用な“バンク”は？



種々の規制で定義される「バンク」

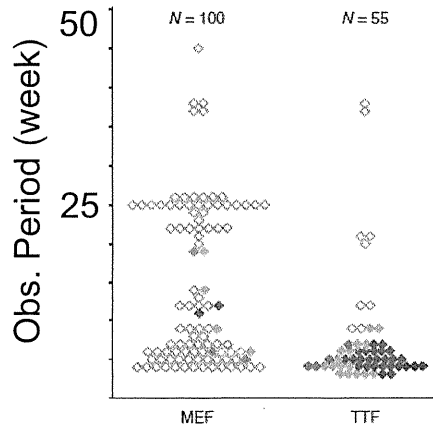
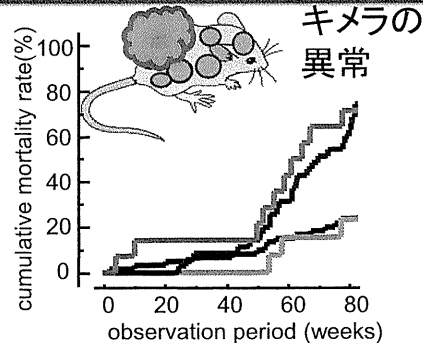


骨髄バンク、臍帯血バンクなど

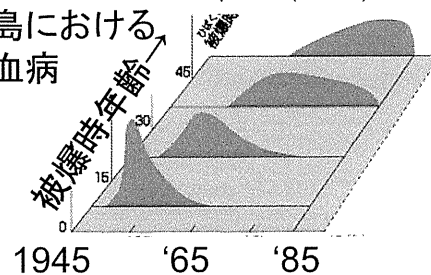
非臨床試験でできること、できないこと



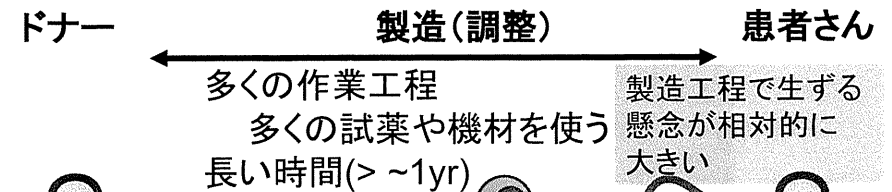
奇形腫 (未分化細胞) < 半年



広島における白血病



iPS細胞を用いた再生医療における危険性



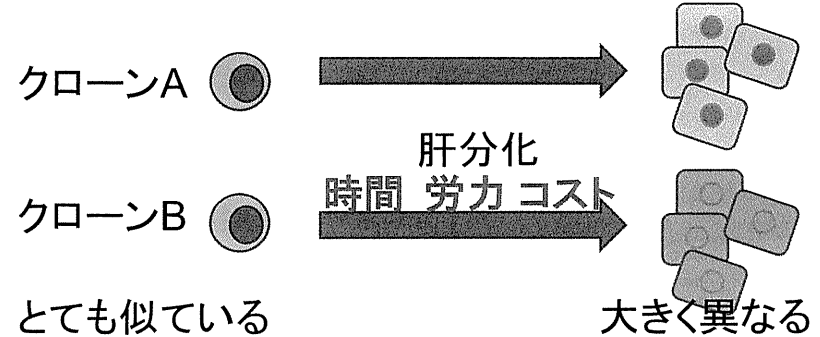
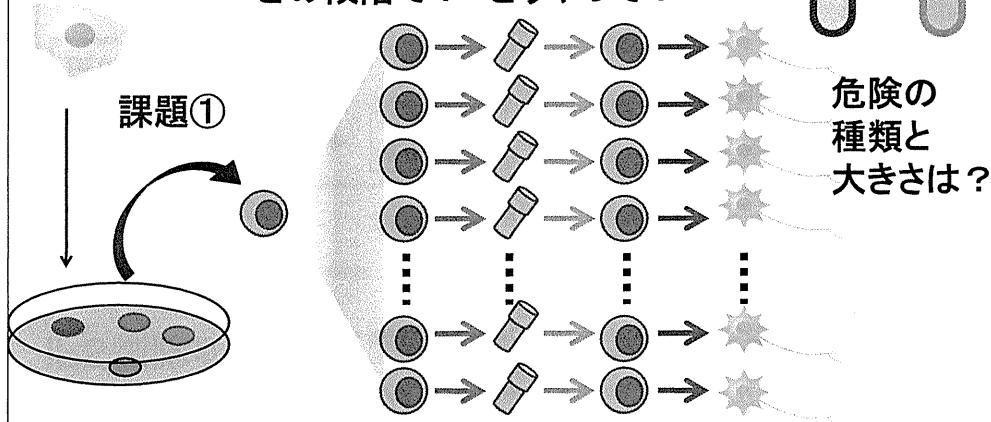
遺伝子異常
感染症

遺伝子変化、エピゲノム変化
病原体のコンタミネーション

Risks

課題① 良いクローンをどうやって選ぶ？

- ・「良いクローン」とは？
- ・それを選び出すには？
- どの段階で？ どうやって？



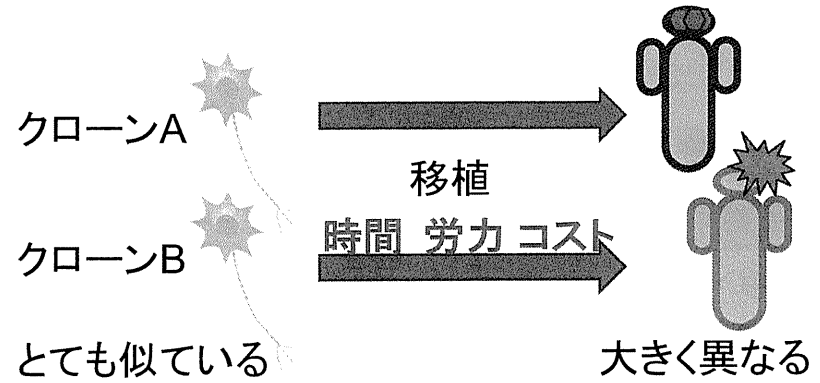
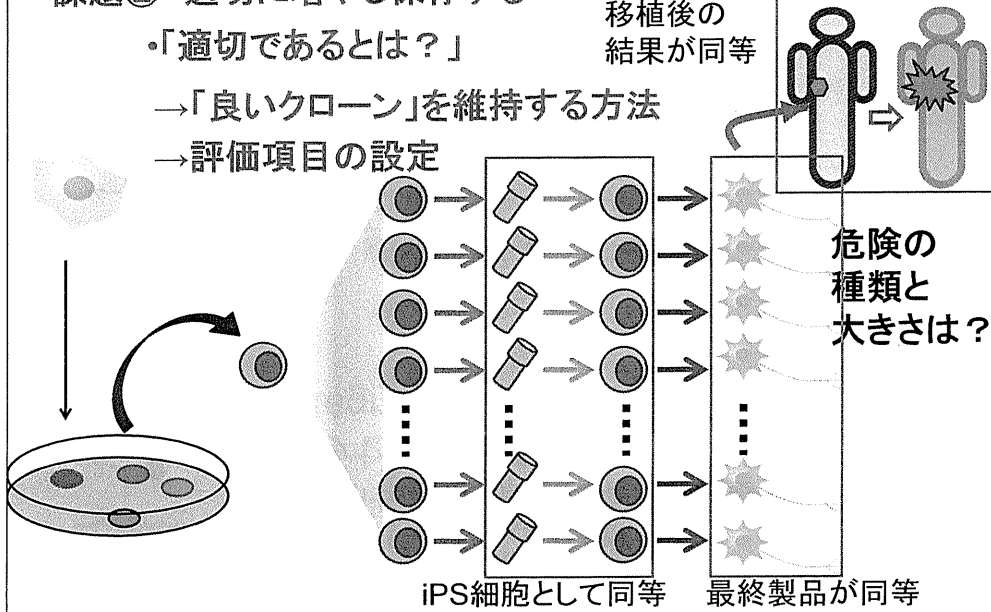
形態
遺伝子発現
DNAメチル化

同一株内の、ロット内の均質性のパラメータにもなる

有意な違い(マーカー)の探索が課題！

課題② 適切に増やし保存する

- ・「適切であるとは？」
- 「良いクローン」を維持する方法
- 評価項目の設定

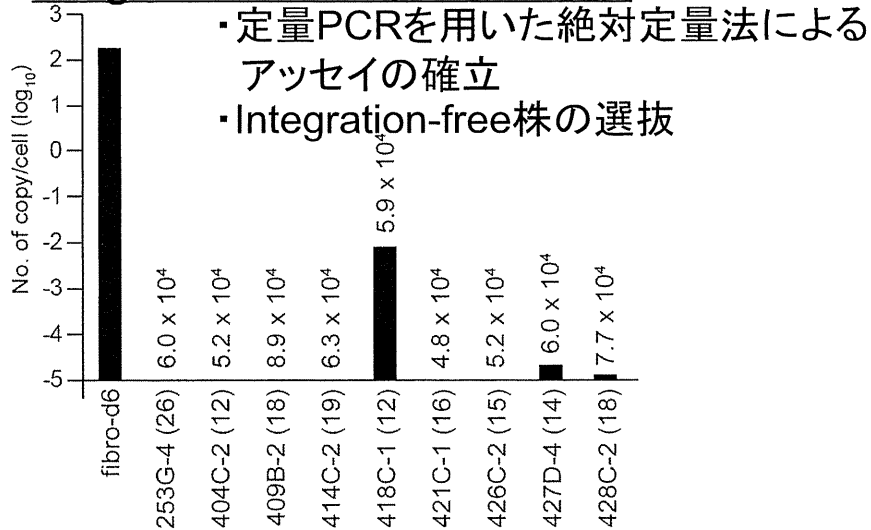


形態
遺伝子発現
DNAメチル化

同一株内の、ロット内の均質性のパラメータにもなる

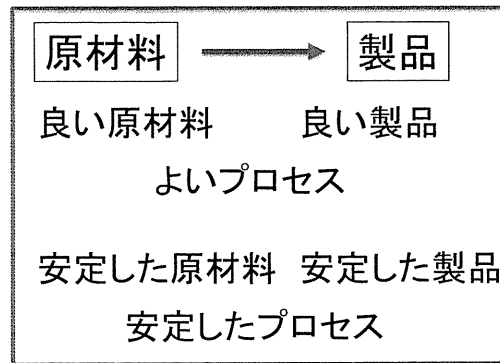
有意な違い(マーカー)の探索が課題！

Integration-freeであることの確認



Okita et al. Nature Methods. 2011 May; 8 : 409

種々の応用の実現のためには、
iPS細胞が上質かつ安定したツールになる必要がある



常に一定の良好な
特性を持つ事

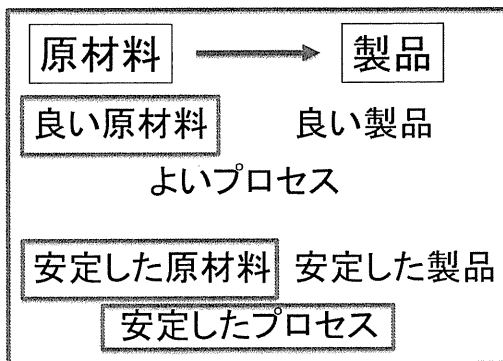
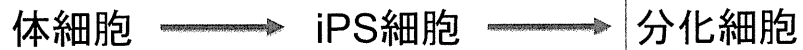
薬剤への反応性

造腫瘍性

感染源となる可能性

69

種々の応用の実現のためには、
iPS細胞が上質かつ安定したツールになる必要がある



常に一定の良好な
特性を持つ事

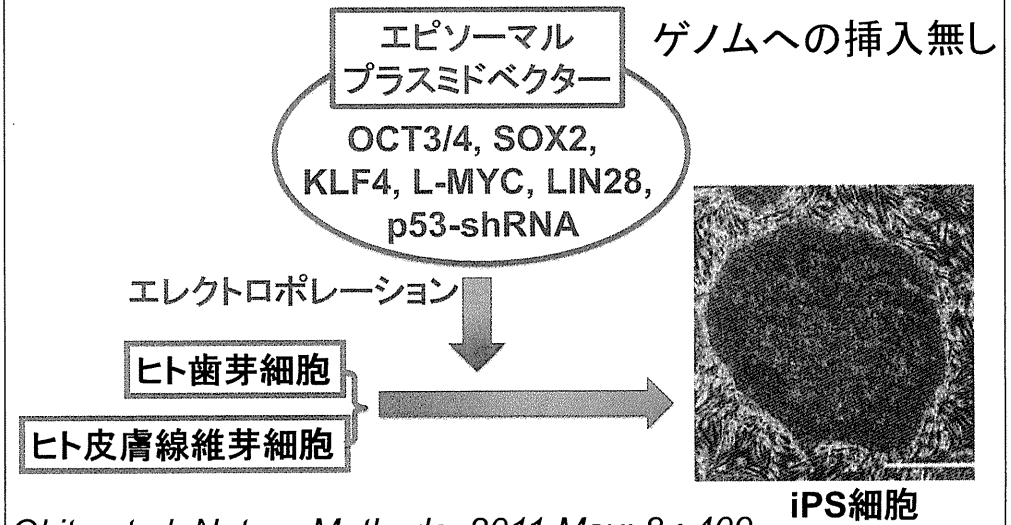
薬剤への反応性

造腫瘍性

感染源となる可能性

臨床用 iPS細胞樹立

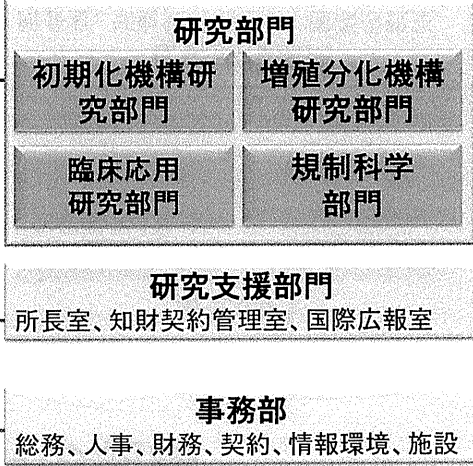
方法の確立: 由来細胞、導入因子、因子導入法



Okita et al. Nature Methods. 2011 May; 8 : 409

CiRAの組織

所長 山中伸弥
副所長 中畑龍俊
戸口田淳也
林秀也

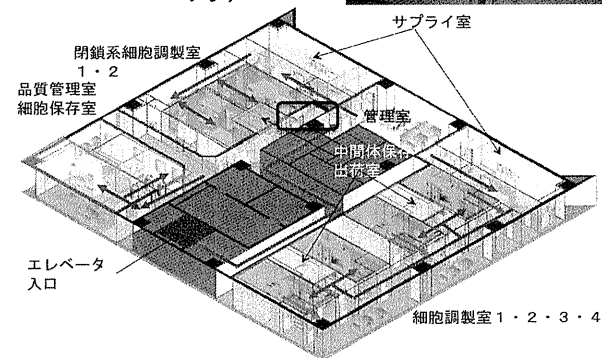


GMPに準拠したiPS細胞の調製

FiT

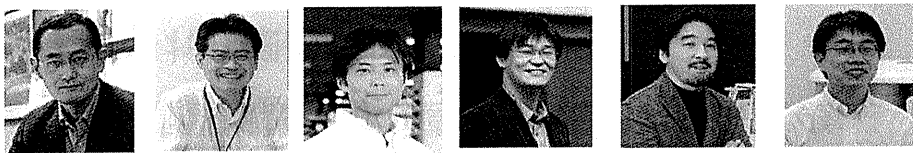
(Facility for iPS Cell Therapy)

施設長：
木村貴文教授



初期化機構研究部門

- ✓細胞初期化メカニズムの遺伝子レベルでの解明
- ✓安全で有効なiPS細胞作製方法の開発



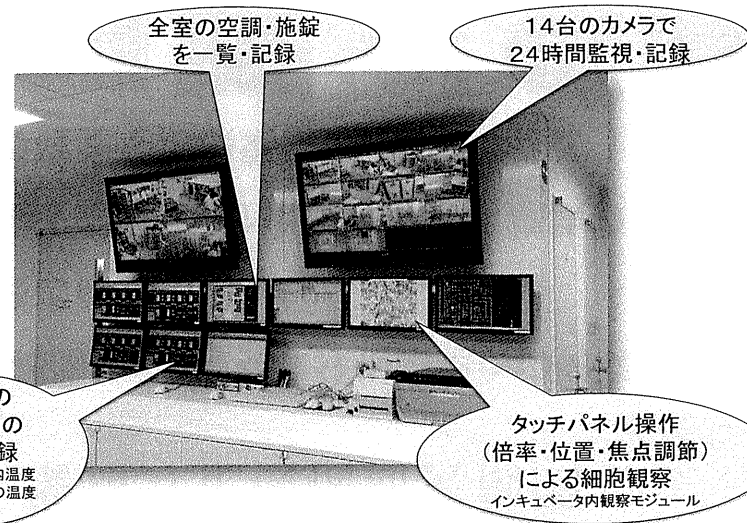
山中伸弥 教授 (部門長) 山田 泰広 教授 齊藤博英 准教授 吉田 善紀 講師 中川 誠人 講師 沖田 圭介 講師



高橋 和利 講師 クヌート・ウォルツェン 助教 山本 拓也 助教 堀田 秋津 助教

集中監視・制御モニタリングシステム

管理室



規制科学部門

- ✓iPS細胞研究を用いた臨床研究規制の研究
- ✓細胞調製施設(FIT)の運営・管理および品質の保証された細胞の培養方法の確立
- ✓iPS細胞樹立・維持培養に関する技術サポート



山中 伸弥 教授
(部門長)



木村 貴文 教授



青井 貴之 教授



浅香 勲 准教授

増殖分化機構研究部門

- ✓iPS/ES細胞から、様々な分化細胞への分化誘導方法の確立
- ✓実験動物を用いた、分化細胞の移植療法の安全性の確認や治療効果を評価



戸田 淳也 教授
(部門長)



妻木 範行 教授



高橋 淳 准教授



山下 潤 准教授



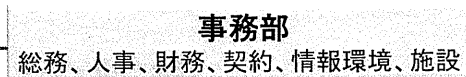
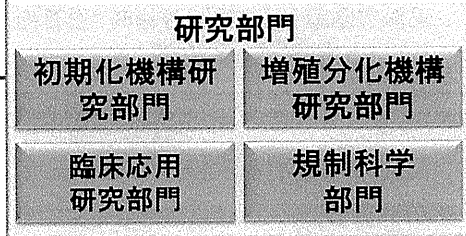
長船 健二 准教授



池谷 真 准教授

CiRAの組織

所長 山中伸弥
副所長 中畑龍俊
戸口田淳也
林秀也



臨床応用研究部門

- ✓患者の方からつくったiPS細胞を分化させた細胞による病態解明
- ✓患者の方からつくったiPS細胞による新薬の探索や治療法の開発



中畑 龍俊 教授
(部門長)



江藤 浩之 教授



川口 義弥 教授



井上 治久 准教授



高藤 潤 講師



櫻井英俊 講師

臨床応用にむけたiPS細胞の現状と課題

京都大学 iPS細胞研究所 規制科学部門
Center for *iPS* Research and Application (CiRA)

青井 貴之



2011/12/14
細胞育成学講座
(於 人間健康科学科)



CiRAのメンバー



April 2011

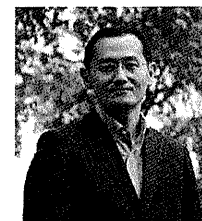
規制科学
Regulatory Science

基礎科学及び応用科学の成果を
社会にとって最も望ましい姿に調整すること
を目的とする科学

京大「iPS細胞研究基金」ご支援のお願い

目的

iPS細胞研究の成果を、一日も早く社会に還元し、難病などの患者さんのお役に立つこと。



基金の使途

- 国内外から優秀な研究者／研究支援スタッフを集めるために
- 知的財産権を取得するために
- 安定的な研究推進・研究所運営のために

www.cira.kyoto-u.ac.jp

「ヒト幹細胞を用いた細胞・組織加工医薬品等の品質および安全性確保のありがたに関する研究班」(早川班)

ヒト細胞・組織加工医薬品等の品質および安全性確保に関する指針(2000.12.12)

ヒト(自己)由来細胞・組織加工医薬品等の品質および安全性確保に関する指針(2008.3.27)

ヒト(同種)由来細胞・組織加工医薬品等の品質および安全性確保に関する指針(2008.9.12)

・ヒト(自己)人工多能性幹細胞
・ヒト(自己)体性幹細胞

・ヒト胚性幹細胞
・ヒト(同種)人工多能性幹細胞
・ヒト(同種)体性幹細胞

現在検討中

- ・2010.1.1. 中間報告案(再生医療 Vol.9, No.1 116-180掲載)
- ・今年度中 最終案作成予定

iPS細胞研究 の成果を
社会にとって最も望ましい姿に調整する
ために必要なこと

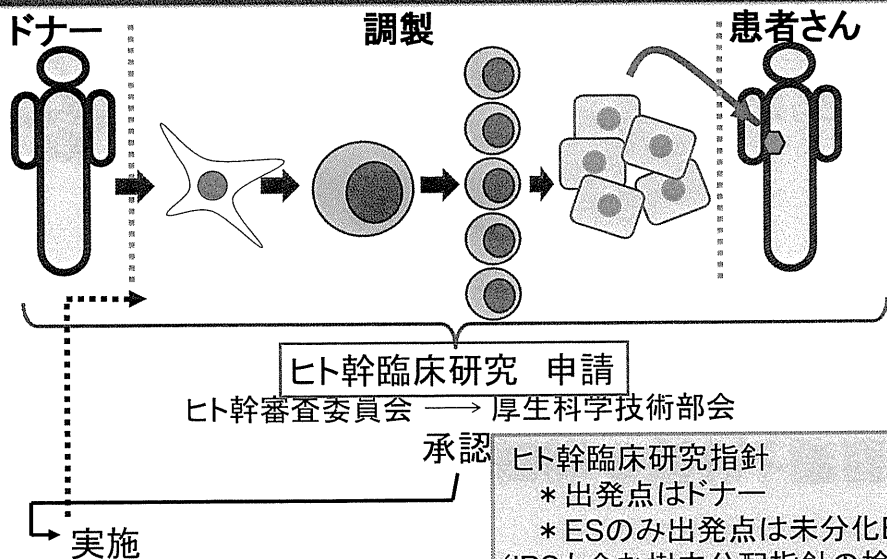
関連する法制と、研究開発状況の調整



臨床・創薬・研究応用への展開の基盤整備

- ・設備 (FiT:木村施設長 など)
- ・標準化 (国際標準化戦略部会参画など)
- ・人材育成 (浅香Gなど)

臨床試験開始までの各段階での手続き(臨床研究)



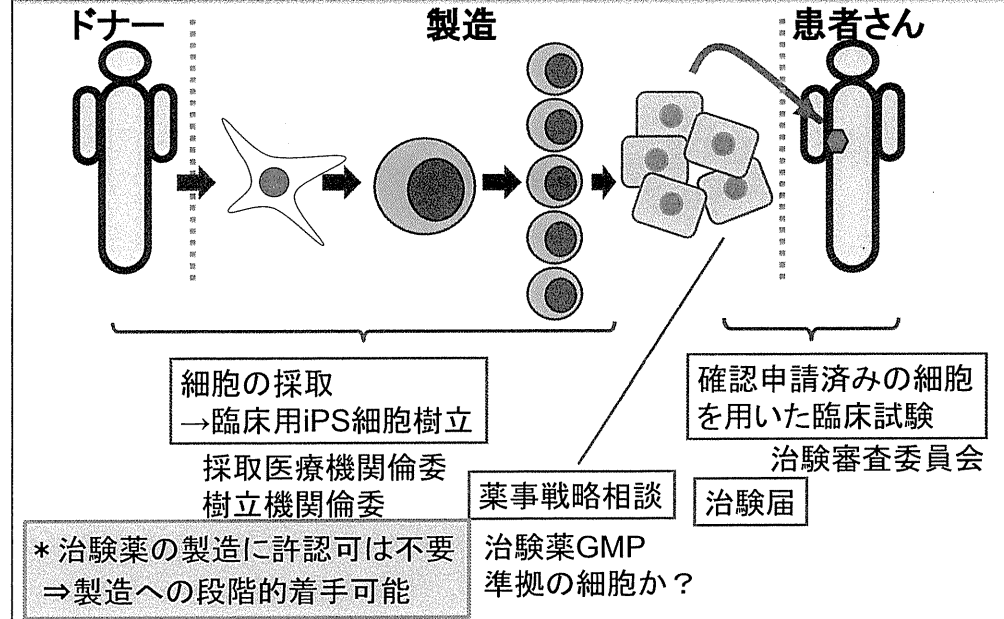
iPS細胞の臨床応用への二つの道

	臨床研究	治験
目的	医療技術開発	製品開発
実施者	医師	企業または医師
関連する指針	ヒト幹細胞を用いる臨床研究に関する指針	ヒト幹細胞を用いた細胞・組織加工医薬品等の品質および安全性確保のあり方に関する指針
“出口”(成果の反映)	高度/先進医療(医師法) 特定の医療機関(技術料・手技料)	医薬品(薬事法) 全ての医療機関(償還価格) 保険収載

新たな技術→既存の規制が援用出来ない部分もある。
⇒関連指針改訂中

材料の種類	材料の新鮮さ
材料の産地	作ってからの時間
肉の等級	評判 誰が評価？
調味料の量	誰が承認？
作り方	どんな機関で製造？
作った場所	どんな患者さんに 投与する？

臨床試験開始までの各段階での手続き(薬事法)



iPS細胞を社会にとって最も望ましい姿にするため

“ゼロ・リスク”の医療はない

有害事象が

起らないように

研究者・規制当局

起こる前に

社会

起こった後に

倫理・法的検討
理解の熟成
補償・救済の整備

安全な細胞治療を行うには？



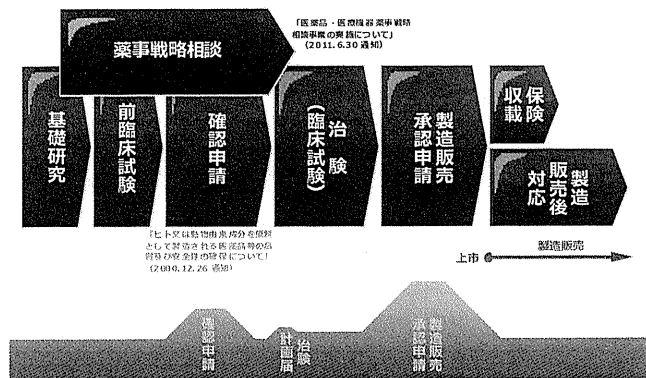
Acknowledgement



M. Kajiwara
M. Nakagawa
K. Okita
K. Takahashi
S. Yamanaka



再生医療における薬事承認プロセス



2011/12/21 細胞育成学連続講演会 2011 (京都大学)

日本における再生医療の関連製品

製品・開発名	分類	治験確認適合	製造承認申請
樹状細胞による癌免疫療法	医薬品	2001/10 治験確認適合	中断
自家培養表皮	医療機器	2002/03 治験確認適合	2007/10 製造販売承認
HGF 遺伝子治療による末梢性血管疾患治療	医薬品	2003/10 治験確認適合	製造販売承認申請 差し戻し
自家培養軟骨	医療機器	2004/02 治験確認適合	製造販売承認申請 審査中
骨格筋芽細胞シートによる慢性心不全治療	医薬品	2011/01 治験確認再適合	治験計画届 準備中
骨髄由来同種間葉系幹細胞による造血幹細胞移植時の移植片対宿主病 (GVHD) 抑制	医薬品	2007/05 治験確認適合	Phase II / III
HSV-TK 遺伝子治療による再発白血病治療	医薬品	2007/09 治験確認適合	Phase I
FGF 遺伝子治療による重症下肢虚血を伴う末梢動脈閉塞性疾患治療	医薬品	2007/11 治験確認適合	Phase II
複合型自家培養表皮	医療機器	2007/12 治験確認適合	中断
同種培養角膜上皮細胞シートによる角膜上皮幹細胞角膜移植治療	医療機器	2009/06 治験確認適合	中断
自家培養角膜上皮	医療機器	薬事戦略相談	治験計画届 準備中

2011/12/21 細胞育成学連続講演会 2011 (京都大学)

京都大学大学院医学研究科 細胞育成学連続講演会 2011

細胞治療・再生医療開発への挑戦 ヒト細胞を組み込んだ日本初の再生医療製品の開発

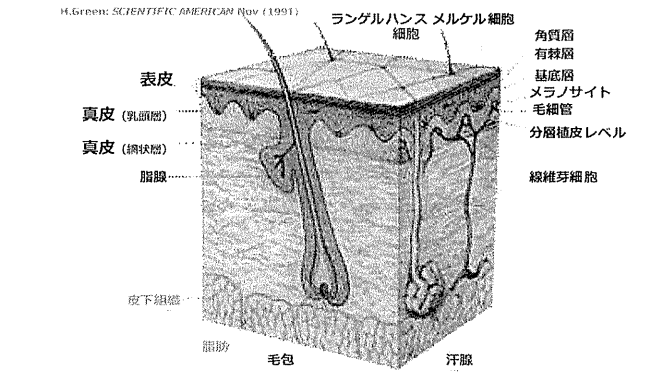
株式会社ジャパン・ティッシュ・エンジニアリング
自家培養表皮「ジェイス®」プロダクトマネージャー
井家 益和

2011/12/21 細胞育成学連続講演会 2011 (京都大学)

日本における法規制

ガイドライン	施行	概要
医薬品・医療機器薬事戦略相談事業の実施について	2011/6/30 薬機発第0630007号	薬事戦略相談の内容
薬事戦略相談の実施に伴う細胞・組織を加工した医薬品又は医療機器の取扱いの要項について	2011/6/30 薬食発0630第2号	薬事戦略相談の実施に伴う細胞・組織医薬品等の取扱いの要項について
再生・細胞医療に関する臨床研究から実用化への切れ目ない移行を可能とする制度的枠組みについて	2011/4/28 薬食発0428第7号 薬機発0428第1号	再生・細胞医療の制度的枠組みの内容
「細胞・組織を利用した医療機器又は医薬品の品質及び安全性の確保について」の一部改正について	2010/11/1 薬食発1101第3号 (医薬発第906号)	確認申請改正通知
ヒト幹細胞を用いる臨床研究に関する指針	2006/7/3 2010/11/1全部改正	ヒト幹細胞を用いる臨床研究の基本方針
ヒト(同種)由来細胞や組織を加工した医薬品又は医療機器の品質及び安全性の確保について	2008/9/12 薬食発第0912006号	1314号通知の見直し (同種由来細胞について)
ヒト(自己)由来細胞・組織加工医薬品等の製造管理・品質管理の考え方について	2008/3/27 薬食監第0327025号	自家細胞・組織利用製品等の特性を踏まえた製造管理・品質管理の実施に関する留意点
ヒト(自己)由来細胞・組織加工医薬品等の品質及び安全性の確保に関する指針	2008/2/8 薬食発第0208003号	1314号通知の見直し (自己由来細胞について)
医療機関における自家細胞・組織を用いた再生・細胞医療の実施について	2010/3/30 医政発0330第2号	自家細胞組織再生医療通知
生物由来原料基準	2003/5/20 厚生労働省告示第210号	生物由来製品または特定生物由来製品を使用する場合の基準
薬事法施行規則の一部改正(細胞組織医薬品及び細胞組織医療用具に関する取扱いについて)	2001/3/28 医薬発第266号	品質及び安全性確保薬事法改訂 製法施設に関するGMP関連法令等の一部改正
ヒト又は動物由来成分を原料として製造される医薬品等の品質及び安全性確保について	2000/12/26 医薬発第1314号	品質・安全性及び細胞・組織の取扱い上の科学的・倫理的妥当性の確保に関する基本方針 【改訂に伴い指針は廃止】
ウシ等由来物を原料として製造される医薬品等の品質及び安全性確保について	2000/12/12 医薬発第1226号	ウシ等由来物を原料として製造される医薬品等の安全性確保のための指針(狂牛病対策)
細胞・組織を利用した医療用具又は医薬品の品質及び安全性の確保について	1999/7/30 医薬発第906号	治療実施前に必要な品質・安全性の確認 【確認申請】

皮膚の構造



皮膚：平均 1.6 m²，約 3 kg，厚さ 1.5 ~ 4 mm (皮下組織入れて体重の 16%，約 10 kg)

2011/12/21 細胞治療学会 2011 (京都大学)

再生医療製品事業

	自家培養表皮 ジェイス	自家培養軟骨	自家培養角膜上皮
開発製品 外観			
開発 研究者	(米) ハーバード大学 Howard Green 教授	広島大学 越智 光夫 教授	(伊) モデナ&レッジョ・エミリア大学 Michele De Luca 教授 Graziella Pellegrini 教授 株式会社セルシート
適応疾患 (想定疾患)	重症熱傷 (表皮水疱症)	膝関節の全関節軟骨欠損 事故等の一過性の外力やスポーツ等の 反復的な外力による軟骨の欠損	角膜上皮幹細胞症 化学傷・熱傷 Stevens-Johnson syndrome 眼瞼炎・角膜疾患・再発性軟角
進捗状況	製造承認：2007/10 保険収載：2009/1	製造販売承認申請の審査中	薬事戦略相談

2011/12/21 細胞治療学会 2011 (京都大学)

Green 型自家培養表皮の歴史

1975 年：Howard Green 教授 (現 ハーバード大学医学部) らは、マウス 3T3 細胞とヒト表皮細胞を共培養すると、ヒト表皮細胞が良好に増殖することを発見

• Rheinwald JG, Green H: Serial cultivation of strains of human epidermal keratinocytes: the formation of keratinizing colonies from single cells. *Cell* 6: 231-244 (1975)
• Green H: Cyclic AMP in relation to proliferation of the epidermal cell: a new view. *Cell* 15: 801-811 (1978)



1981 年：世界で初めて、重症熱傷に対する Green 型自家培養表皮の移植が報告 (細胞を用いた再生医療による治療の最初)

• O'Connor NE, Gallico GG, Compton CC, Kehinde O, Green H: Grafting of burns with cultured epithelium prepared from autologous epidermal cells. *Lancet* 1 (8211): 75-78 (1981)



1984 年：BSA 97% 以上の男児 2 名を、腋窩に残った約 2 cm² の皮膚から培養した Green 型自家培養表皮で救命した報告

• Gallico GG III, O'Connor NE, Compton CC, Kehinde O, Green H: Permanent coverage of large burn wounds with autologous cultured human epithelium. *N Engl J Med* 311: 448-51 (1984)

1985 年：日本で初めて、広範囲熱傷に対する Green 型自家培養表皮の移植が報告

• 櫻谷高夫, 仁科博昭, 櫻谷高夫, 我野洋一: ヒト培養表皮移植に関する研究: 自発培養表皮移植による広範囲熱傷の治療. *日形研究会誌* 5: 463-474 (1985)



2011/12/21 細胞治療学会 2011 (京都大学)

自家培養表皮「ジェイス」

ジェイス®の位置づけ

- ・ヒト組織・細胞を組み込んだ日本初の再生医療製品 (厚生労働省の承認品)
- ・自家培養表皮：自家のヒト組織細胞を組み込んだ再生医療製品
→ 患者自身の皮膚から単離した細胞を培養して表皮細胞シートを作製
- ・3T3-J2 細胞をフィーダーとして作製する Green 型自家培養表皮



2011/12/21 細胞治療学会 2011 (京都大学)

Green 型自家培養表皮の開発のために

- ① 3T3-J2細胞のセルバンクの構築
- ② Green 型自家培養表皮の特性解析
- ③ 培養法の標準化
- ④ 安全性と有効性の規格の設定
- ⑤ 製品パッケージと輸送システムの開発
- ⑥ GMP 適合施設の建設

2011/12/21 細胞培養学研究会 2011 (京都大学)

① 3T3-J2 細胞のセルバンクの構築

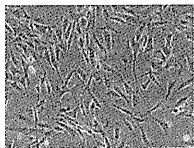
Green 型培養表皮の作製：3T3 細胞のフィーダーが必須

3T3 細胞（マウス胚由来）：1960 年代に Todaro と Green が樹立

■ TODARO GJ, GREEN H : *J Cell Biol* 17, 299-313 (1963)

表皮細胞の培養に最も適した株：3T3-J2 細胞（流通していない）

Howard Green 教授から 3T3-J2 細胞を株分け譲渡：商業利用可能



セルバンクを構築：マスターセルバンクとワーキングセルバンク

2011/12/21 細胞培養学研究会 2011 (京都大学)

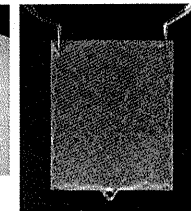
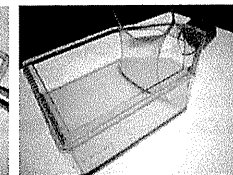
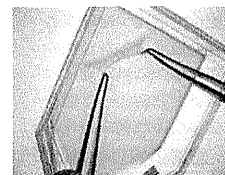
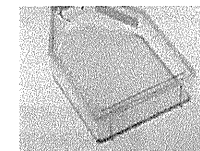
世界における培養皮膚製品の分類

培養表皮	<p>【自家表皮細胞 (Green 型)】</p> <p>ジェイス Epicel[®](米) HoloDerm[®](瑞)</p> <p>【自家表皮細胞 薬液】 Keraheal[®](米) CellSpray[®](米)</p> <p>【自家表皮細胞 + マトリックス】 BioSeed[®]-S(独) Laserskin[®] autograft(伊)</p>
	<p>CellActive[®]Skin(英) 【同種表皮細胞 (Green 型)】 Kaloderm[®](英)</p> <p>EpiDex[®](瑞) AcuDress[®](英)</p>
培養真皮	<p>【同種線維芽細胞 + マトリックス】 北里大(黒柳製) Dermagraft[®](米) TransCyte[®](米)</p> <p>【自家線維芽細胞 + マトリックス】 Hyalograft 3D[®](伊)</p>
培養皮膚	<p>【同種表皮細胞 + 同種線維芽細胞 + マトリックス】 Apligraf[®](米) OrCel[®](米)</p>

2011/12/21 細胞培養学研究会 2011 (京都大学)

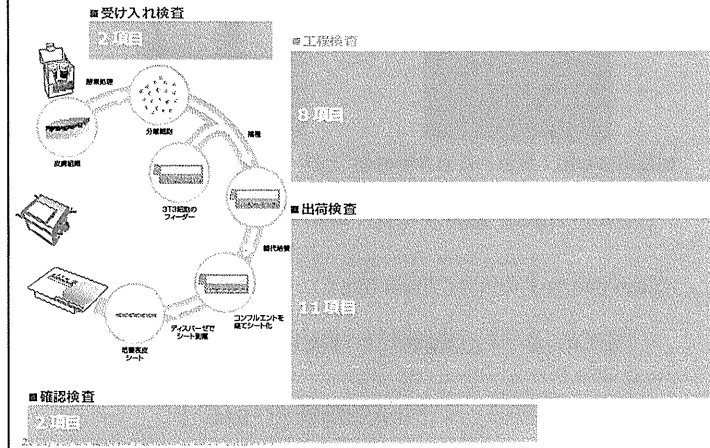
Green 型自家培養表皮

- ・ 3T3-J2 細胞（マウス胚由来）をフィーダー細胞として、ウシ胎児血清含有培地を用いてヒト表皮細胞を増殖させる培養法で製造する。
- ・ 表皮細胞のみでシート状となり、キャリアで懸架可能。



2011/12/21 細胞培養学研究会 2011 (京都大学)

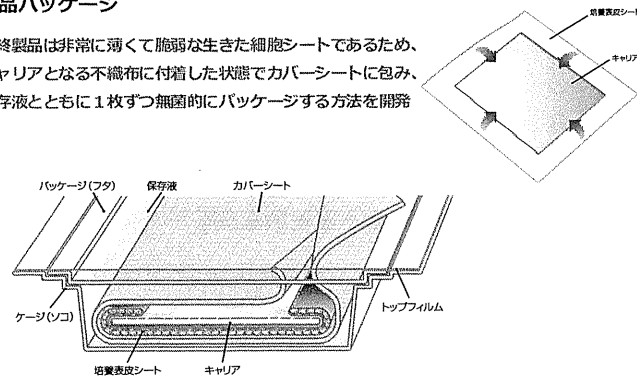
④ 安全性と有効性の規格の設定



⑤ 製品パッケージと輸送システムの開発

製品パッケージ

最終製品は非常に薄くて脆弱な生きた細胞シートであるため、キャリアとなる不織布に付着した状態でカバーシートに包み、保存液とともに1枚ずつ無菌的にパッケージする方法を開発



② Green型自家培養表皮の特性解析

代表的な特性解析試験

- ・ ヒト表皮細胞の連続継代試験
- ・ コロニー形成能試験
- ・ ヒト表皮細胞の含有量定量試験
- ・ 培養表皮に含まれる細胞種の定量試験
- ・ サイトカイン産生の定量試験
- ・ 3T3-J2細胞の残存数定量試験
- ・ 残留抗生物質の定量試験
- ・ 血清由来の残留ウシアルブミン定量試験
- ・ 残留培地添加物の定量試験
- ・ 培養表皮の外観及び形態確認試験
- ・ 剥離工程の洗浄効率確認試験
- ・ 細胞の凍結解凍確認試験
- ・ マイコプラズマ否定試験
- ・ 無菌試験
- ・ エンドトキシン定量試験
- ・ 培養表皮の強度試験
- ・ 培養表皮の保存温度設定試験
- ・ 培養表皮の保存安定性試験
- ・ 培養表皮の長期保存試験

染色体に対する影響と造腫瘍性の否定

- ・ 核型分析試験
- ・ 軟寒天コロニー形成試験
- ・ ノードマウスを用いた移植試験

③ 培養法の標準化

