

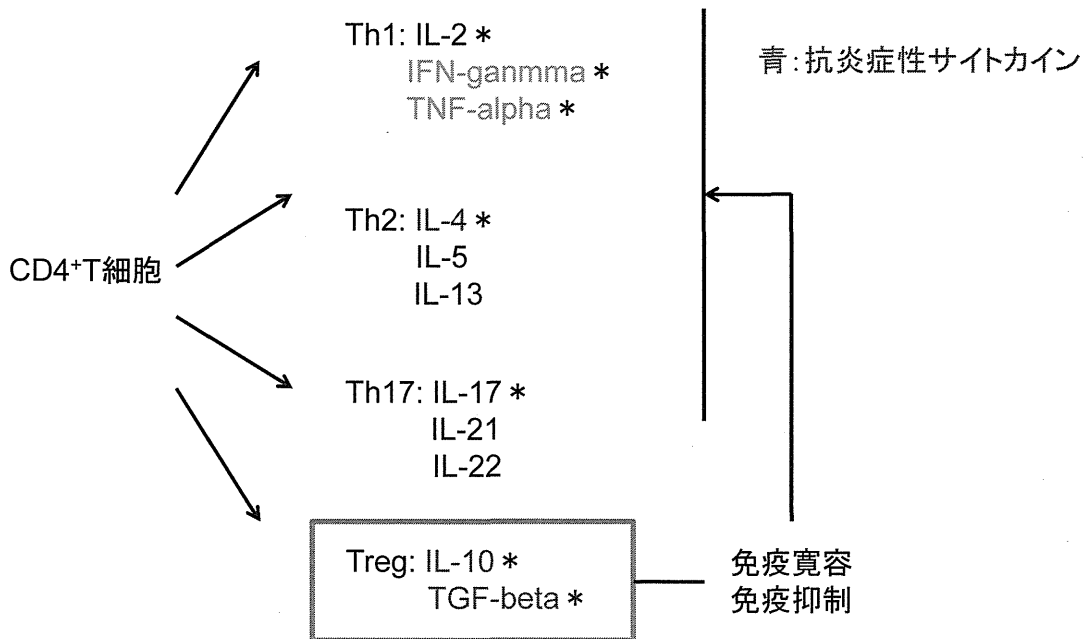
マイトマイシンC 処理やX線照射により増殖抑制したPDCCsでは、未処理のPDCCsと比較し活性化T細胞増殖抑制効果が弱まる傾向が観察されたことから、PDCCsはそれ自身が増殖しない状態になると、抑制効果が減弱する可能性が高いことが分かった。

活性化T細胞増殖抑制効果が高い条件と低い条件のPDCCs(軟骨細胞)間で、タンパク質もしくはRNA発現の網羅的比較解析を行い、両者間で発現に違いのある分子を探索する。この分子の中に増殖抑制に関わる候補因子が含まれる可能性は高いと考えられる。

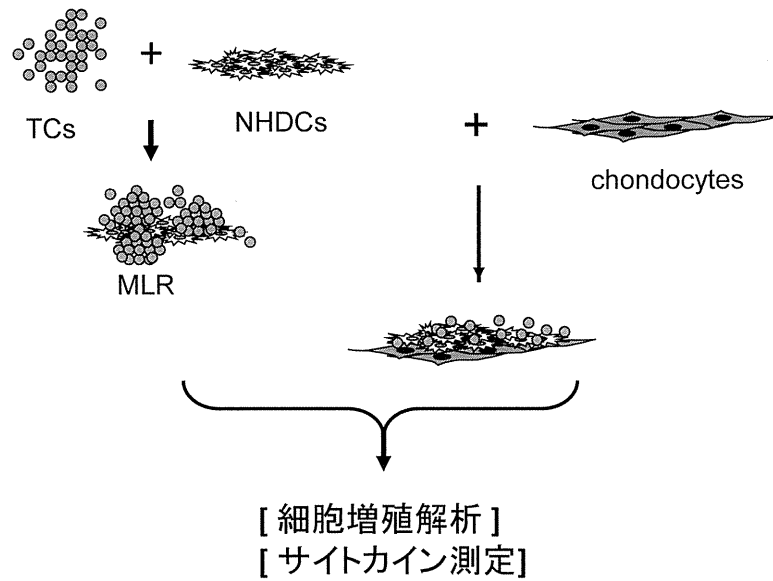


抑制機構のメカニズムの解明につなげる

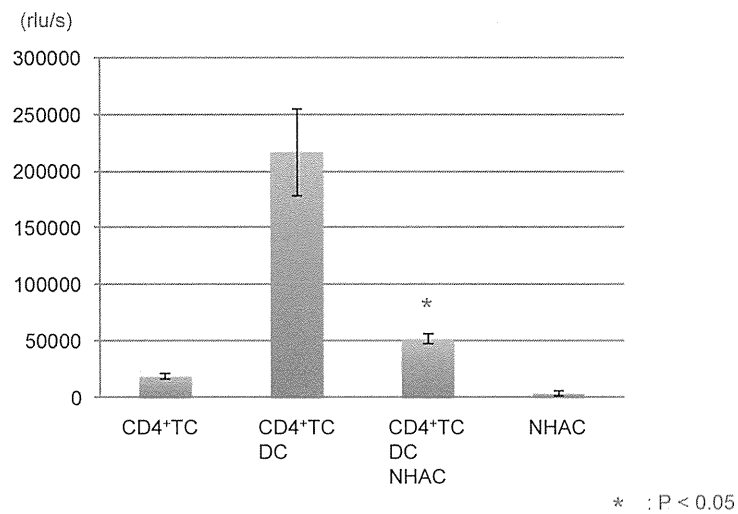
同種T細胞側からの検討



実験方法

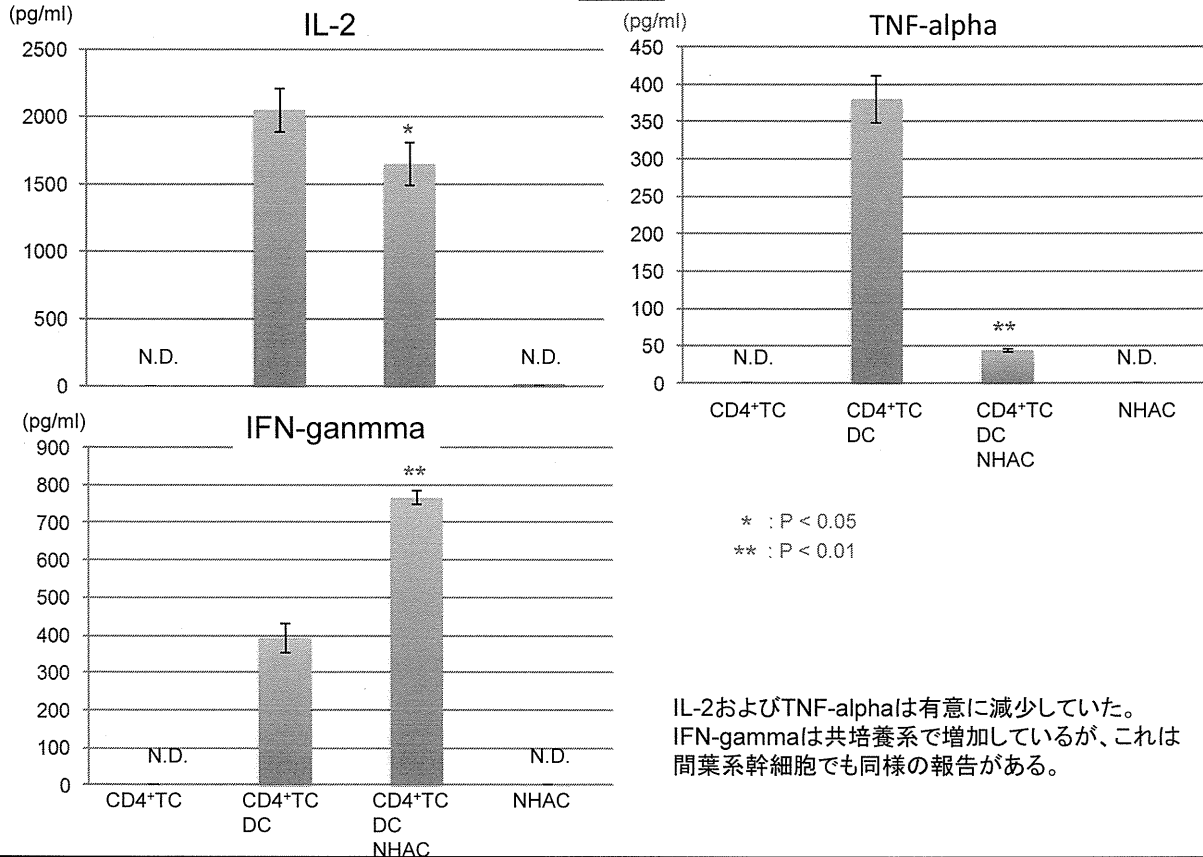


Proliferation



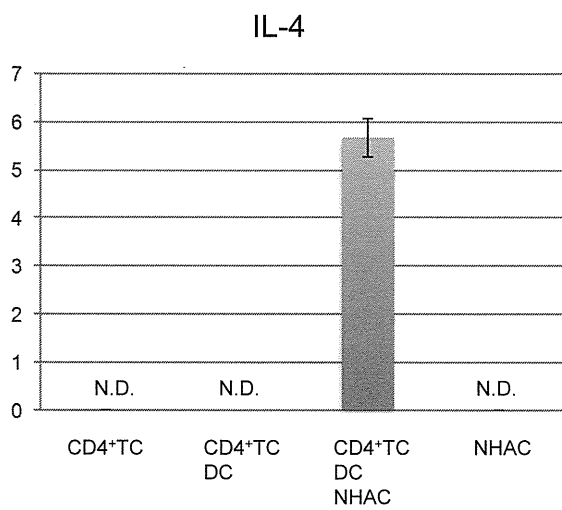
この培養上清中の各サイトカインを測定

Th1



Th2

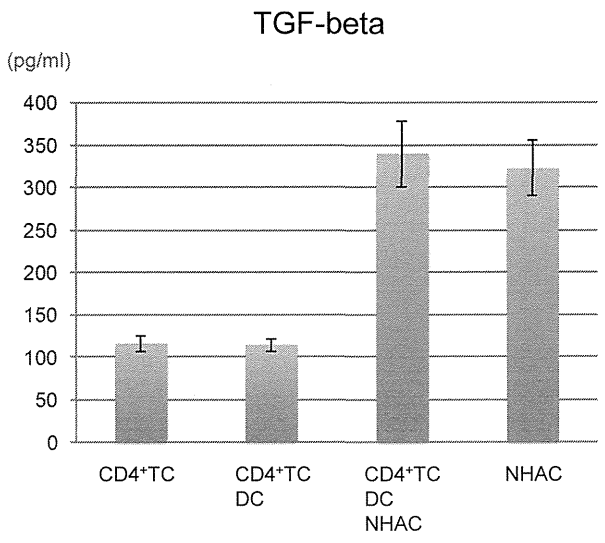
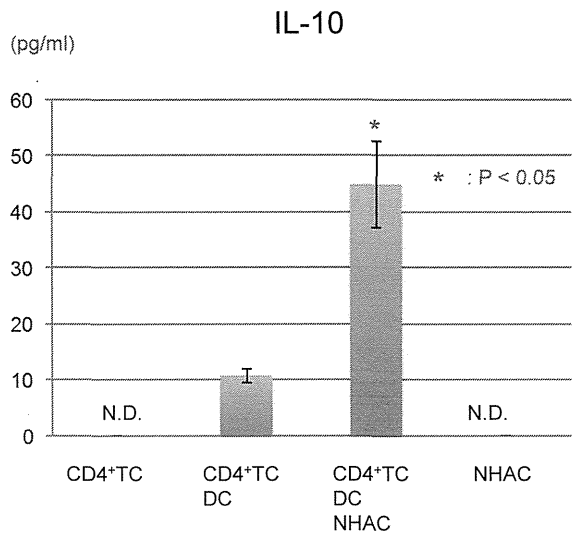
Th17



IL-17はいずれも検出限界以下

IL-4の検出限界が4.9 pg/mlであることからほとんど発現していないと思われる。

Treg



IL-10は共培養の上清中で有意に発現量が増えている

培養上清中にはT細胞だけでなくNHAC由来のタンパク質も含まれる (特にTGF-beta)

FACSを用いてT細胞だけに着目し、細胞表面抗原や細胞内タンパク質を染色することで軟骨細胞によってどのような影響を受けているか検討する。

今後の予定

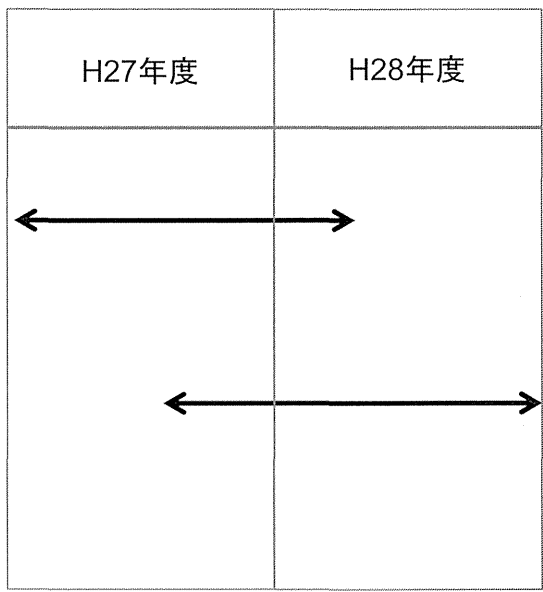
H27年度

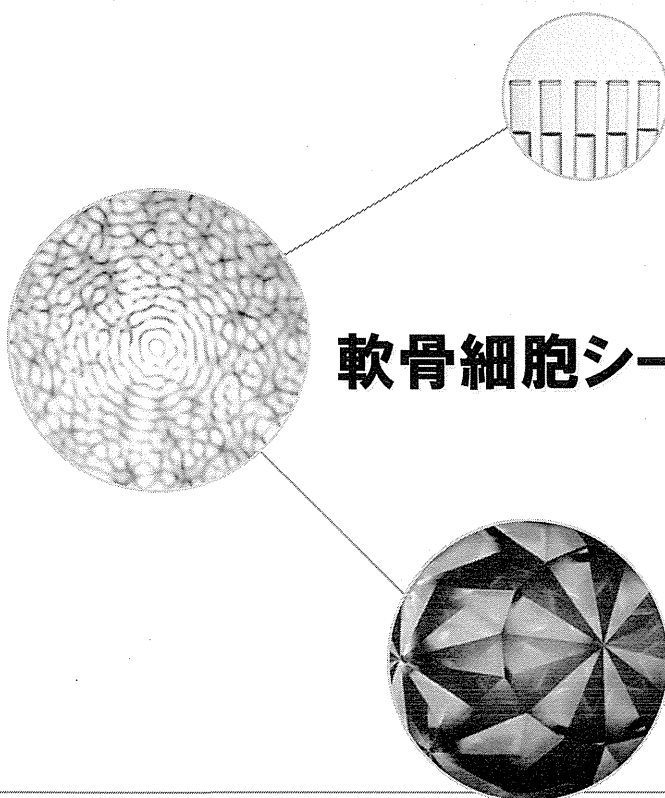
同種リンパ球の挙動に及ぼす影響の検討

- PDCCsシートでの抑制効果の検証
- 継代数による抑制効果への影響の検討
- 共培養中のT細胞のプロファイリング

抑制効果のメカニズム解明

- 活性化T細胞増殖抑制効果が高い条件と低い条件の軟骨細胞間で、タンパク質もしくはRNA発現の網羅的比較解析により、抑制効果に関わる因子を同定





軟骨細胞シート専用器材の開発

2015年3月19日

厚生労働科学研究費補助金
再生医療実用化研究事業

【関節治療を加速する細胞シートによる再生医療の実現】

JASDAQ
証券コード:7776

関節治療を加速する細胞シートによる再生医療の実現

- 軟骨細胞シート専用器材(大型アップセルインサート)の開発
- 自己軟骨細胞シートの臨床治験に向けた取り組み(方針)

軟骨細胞シート

軟骨細胞シート専用器材の開発

従来のアップセルインサート



- ✓ 既存の細胞培養用器材を利用
- ✓ 培養面積4.2cm²
- ✓ 専用の6ウェルプレート上で培養



- ◆ 積層化やメンブレンの切り抜きに最適化されていない。
- ◆ 培養面積より大きな軟骨欠損に対応できない。
- ◆ 1枚のシートでも6ウェルプレートが必要
(1枚のプレートで複数のシートを培養するとハンドリングのミスがあった場合に影響が大きい)



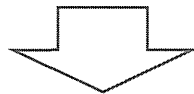
軟骨細胞シート専用の温度応答性器材の開発

軟骨欠損の大きさ

従来法の適用欠損サイズ

(ヒト自家移植組織 [販売名] ジャック 審査報告書より)

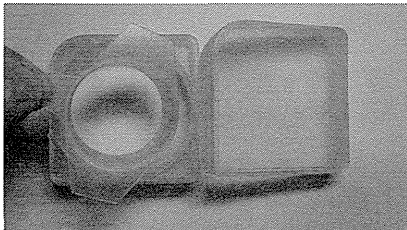
- 骨穿孔法: $\sim 2 \text{ cm}^2$
- 自家骨軟骨柱移植術: $2 \sim 4 \text{ cm}^2$



従来法では修復の難しい 4 cm^2 以上のサイズの治療を目指すには、より大きな面積の温度応答性インサートが望ましい

大型UpCellインサート

3Dプリンター試作 (2回目)



大型UpCellインサートの設計基本方針

- ◆ 現行UpCellインサートによる培養条件を踏襲
- ◆ 温度応答性多孔膜のたるみを抑制

インサート部等の設計変更

- ◆ インサート部の耳を4ヶ所へ変更。
- ◆ 容器表面/インサート間の隙間を現行の 0.9 mm とする。
- ◆ 容器内へのインサートの収まりを改善。
- ◆ 培養容器全体の高さを現行の 21 mm へ近づける。等



インサート部のさらなる設計変更

- ◆ ピンセット使用時のインサート部の持ち易さを改善

使いやすい大型UpCellインサートを設計

→ 金型作製、大型インサート試作

軟骨細胞シート

臨床治験に向けた取り組み

当社基本方針(2015.2.16)

- 1. 日本で自己細胞・同種細胞の開発を推進**
- 2. 企業治験は自己細胞の治験を平成28年(2016年)上期より開始予定**
- 3. 自己細胞の販売承認申請平成29年(2017年)中に提出予定**
- 4. 同種細胞の開発は自己細胞での開発データを参考に推進予定**

自己軟骨細胞シート臨床治験に向けた取り組みの開始

今後の検討項目

- 品質管理体制(QMS)の構築
- 細胞シート製造体制の構築
- 自己軟骨細胞シートの製造の技術移転(現SOPを当社QMS体制へ書き換え)
- 薬事戦略相談(品質)の実施
- 治験実施体制(GCP)の構築
- 治験実施機関の選定および治験プロトコール作成

自己軟骨細胞シート臨床治験に向けた取り組みの開始

今後の検討項目

- 品質管理体制(QMS)の構築 **着手**
- 細胞シート製造体制の構築 **着手**
- 自己軟骨細胞シートの製造の技術移転(現SOPを当社QMS体制へ書き換え)
- 薬事戦略相談(品質)の実施
- 治験実施体制(GCP)の構築 **着手**
- 治験実施機関の選定および治験プロトコール作成

