

201406009A

厚生労働科学研究費補助金

再生医療実用化研究事業

滲出型加齢黄斑変性に対する
自家iPS細胞由来網膜色素上皮シート移植に関する
臨床研究

平成26年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 高橋 政代

平成27(2015)年 5月

厚生労働科学研究費補助金

再生医療実用化研究事業

滲出型加齢黄斑変性に対する
自家iPS細胞由来網膜色素上皮シート移植に関する
臨床研究

平成26年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 高橋 政代

平成27（2015）年 5月

目 次

I. 総括研究報告		
滲出型加齢黄斑変性に対する自家iPS細胞由来網膜色素上皮シート移植に 関する臨床研究	-----	1
高橋 政代		
II. 分担研究報告		
1. 細胞移植及び臨床評価に関して	-----	6
栗本 康夫		
2. 臨床研究支援に関して	-----	10
川本 篤彦		
3. 細胞品質評価、ゲノム解析に関して	-----	14
渡辺 亮		

I . 総括研究報告

滲出型加齢黄斑変性に対する

自家iPS細胞由来網膜色素上皮シート移植に関する臨床研究

研究代表者 高橋 政代

独立行政法人理化学研究所 発生・再生科学総合研究センター

網膜再生医療研究開発プロジェクト プロジェクトリーダー

研究要旨

加齢黄斑変性（AMD）は加齢に伴って発症する、網膜の黄斑部の萎縮または変性で、高齢者における中心視力悪化の一般的な原因であり、発症の要因は網膜色素上皮（RPE）の劣化であると考えられている。現在、滲出型加齢黄斑変性の治療法としては、抗VEGF薬の硝子体内投与が主流となっている。しかし、これは脈絡膜新生血管（CNV）の発生・増殖を抑制するための治療であり、根本治療にはならない。また、これらの抗VEGF治療薬に抵抗性を示すCNVも存在し、こういった症例には現在のところレーザー、手術といった破壊的浸潤を伴う治療以外手段がない。よって、視力を維持／回復させるためには、原因となるCNVや瘢痕組織を取り除くとともに、網膜下のRPEの再建が必要である。

RPEは生体内において網膜の視細胞を維持するために重要な役割を果たしている。我々は、iPS細胞 から、生体から得られるものと同等の機能を持つRPE細胞を分化誘導することに成功しており、動物実験によりそれが生体内において機能することを確認している。

これらの研究および知見に基づき、患者本人の皮膚組織から樹立したiPS細胞からRPE細胞を分化誘導してRPEシートを作成し、滲出型加齢黄斑変性の患者に移植することにより、網膜組織の修復、再生を促し、視機能を改善する新しい治療法の開発を目指すことを目的として、本臨床研究を計画し、実施に向けた準備を進めてきた。平成24年度には、ヒト幹細胞を用いる臨床研究に関する指針に則り、施設内審査委員会の審査を受けた上で、厚生労働省に実施計画を申請し、平成25年7月19日付で臨床研究の実施が了承された。平成25年度内に2症例の組み入れと細胞の製造を開始し、平成26年9月12日に第一例目の症例への移植を実施した。

研究分担者氏名・所属および職名

栗本 康夫

公益財団法人先端医療振興財団

先端医療センター病院

眼科統括部長

川本 篤彦

公益財団法人先端医療振興財団

先端医療センター病院

再生治療ユニット長

渡辺 亮

京都大学iPS細胞研究所

特定拠点助教

A. 研究目的

加齢黄斑変性 (AMD) は加齢に伴って発症する、網膜の黄斑部の萎縮または変性で、高齢者における中心視力悪化の一般的な原因である。発症の要因は網膜色素上皮 (RPE) の劣化であると考えられている。AMDには滲出型と萎縮型という二つのタイプがある。日本人に特に多い滲出型AMDは、脈絡膜新生血管 (CNV) という異常な血管を特徴とするもので、現在の治療法としては、抗VEGF薬の硝子体内投与が主流となっている。しかし、これはCNVの発生・増殖を抑制するための治療であり、治療を行ってもCNVがすでに存在している部位には線維性組織やRPEの障害が残り、結局はその上の網膜も変性に陥る。また、これらの抗VEGF治療薬に抵抗性を示すCNVも存在し、こういった症例には現在のとこ

ろレーザー、手術といった破壊的浸潤を伴う治療以外手段がない。よって、視力を維持／回復させるためには、原因となるCNVや瘢痕組織を取り除くとともに、網膜下のRPEの再建が必要である。

RPEは生体内において網膜の視細胞を維持するために重要な役割を果たしている。我々は過去に霊長類ES細胞から網膜色素上皮 (RPE) を分化誘導し、(PNAS 2002) さらにRPE障害モデルラットの網膜下に移植すると、移植部の視細胞が維持され治療効果が得られることを報告した (IOVS 2004)。これを応用してヒトiPS細胞からも生体内のRPEと同等の機能を持つRPE細胞を分化誘導することに成功した (Neurosci Letter 2009)。これらはすべて世界初の報告である。さらに我々は、RPE細胞を人工的な足場材などを用いずにシート化する技術の開発にも成功している。この方法によって作製したRPEシートをサル網膜下に移植する自家移植を行い、半年以上経っても生着し続けることを確認している。

海外では患者本人の周辺部網膜から切除したRPEシートの黄斑部への移植が一部のグループでなされ一定の効果をあげているが、合併症が多いため普及していない。iPS細胞から作製した若返った自己RPEシートを作成すれば手術の安全性が高まる。

RPEが臨床応用に関して有利な点として細胞の純化が容易であることが挙げられる。また網膜という小さな部位への移植であることから必要な細胞は少量であり、移植細胞の全身への影響も小さい。さらに、万が一何らかの異常が起きた場合、眼という外部から観察しやすい器官であることから、異常の早期発

見が可能で速やかに対応することが可能である。

これらの根拠に基づき、患者本人から樹立したiPS細胞由来RPE細胞シートを作成し、滲出型加齢黄斑変性患者に移植することにより、網膜組織の修復し視機能を改善する新しい治療法を開発することを目的として本臨床研究を計画した。

B.研究方法

最初の臨床研究は、これまでにルセンティスなどの抗VEGF薬等の既存治療を受けて効果がみられなかった、視力0.3未満の滲出型加齢黄斑変性の患者を対象とする。患者の上腕部から直径4ミリ程度の皮膚を採取し、理化学研究所のCPCにおいて、皮膚組織からiPS細胞を作製する。これをRPE細胞に分化させ、RPEシートを作製する。皮膚を採取してからRPEシートが完成するまで、約10ヵ月を要する。RPEシート移植は先端医療センター病院眼科にて全身麻酔科に行く。網膜下の新生血管を取り除いた後、RPEシートを網膜の下へ移植する。手術後は1週間入院、退院後半年間は毎月、その後半年は2ヵ月毎に、視力検査、眼底検査、画像診断などの検査を行い、1年間観察を行う。

【研究実施体制】

細胞調製:

理化学研究所

網膜再生医療研究開発プロジェクト

プロジェクトリーダー 高橋政代

細胞移植・臨床評価:

先端医療センター病院

眼科統括部長 栗本康夫

臨床研究実施支援:

先端医療センター病院 再生治療ユニット長

／臨床試験支援部 副部長 川本篤彦

iPS細胞等の品質評価、ゲノム解析:

京都大学iPS細胞研究所

特定拠点助教 渡辺亮

【臨床研究デザイン】

<目的>

滲出型加齢黄斑変性の患者を対象に、自家皮膚組織由来の人工多能性幹細胞(iPS細胞)から分化誘導した網膜色素上皮(RPE)細胞を用いて作製したRPEシートの安全性を確認するとともに、視機能に対する有効性及びプロトコル治療の実施可能性を評価する。

<対象疾患>

滲出型加齢黄斑変性

<対象疾患の選定理由>

滲出性加齢黄斑変性においては、中心窩に活動性の脈絡膜新生血管／瘢痕形成が残存し、同部のRPEの欠損や萎縮が見られる場合には、これらの病巣を除去し、RPE細胞を移植する以外に、中心窩の視細胞の変性を阻止する手段がない。

<目標症例数>

6症例

<主要評価項目>

治療の安全性: iPS細胞由来RPEシート移植術に起因する有害事象のうち、特に拒絶反

応、腫瘍化、手術に伴う有害事象を評価する
＜副次的評価項目＞

安全性(その他の有害事象)及び有効性(浮腫の軽減、網膜感度、視力など)

【倫理面への配慮】

本臨床研究は理化学研究所と先端医療センターが共同で実施する。「ヒト幹細胞を用いる臨床研究に関する指針」に則り、理化学研究所のトランスレーショナルリサーチ倫理審査委員会および先端医療センターの再生医療審査委員会の審査を受けた上で、厚生労働大臣の意見を聴いて実施する。

また被験者候補に対しては、研究内容や不利益等について同意説明文書を用いて説明するとともに、CRCや遺伝カウンセラーなどが説明補助を行う。

【その他】

本臨床研究においてデータマネジメントはCROに委託し、統計解析は再生医療の実現化ハイウェイ課題Cの支援を受けて実施する。また説明文書作成の際は課題Dの助言を受けた。

C.研究結果

UMIN試験ID:UMIN000011929

平成24年度中に、ヒト幹細胞を用いる臨床研究に関する指針に則り、施設内倫理審査委員会の審査を受けた上で、厚生労働省に実施計画を申請し、平成25年7月19日付で臨床研究の実施が了承された。10月より患者リクルートを開始し、平成25年度内に2症例の組み入れと、皮膚の採取・iPS細胞の作製を開

始した。皮膚を採取してからRPEシートが完成するまで、約10ヵ月を要し、第一例目の患者への移植は平成26年9月に行われた。現在までに移植後半年以上を経過したが、主要評価項目である安全性については拒絶反応を認めず生着良好、手術についても特段の有害事象の発現等無く、経過は順調である。

なお二例目の患者については、細胞を作製し、品質評価を行ったところ、細胞のゲノムにいくつかの変異が生じていることが判明したため、当面移植は見送ることとなった。

実施した細胞の遺伝子解析関連の評価項目および評価法は以下の通りである。

評価項目	評価法
プラスミド残存	定量 PCR、全ゲノムシーケンス、プラスミドキャプチャーシーケンス
SNV/Indel	exome 解析、全ゲノムシーケンス
CNV、構造異常	SNP アレイ、全ゲノムシーケンス
亜集団の同定	全ゲノムシーケンス
メチローム解析	WGBS、Infinium 解析
RPE 細胞の均一性	Single cell RT-PCR
核型解析	Conventional Giemsa, G バンド

D/E.考察および結論

平成26年9月12日、我々は、本臨床研究において、世界初のiPS細胞由来分化細胞の移植を実施した。平成19年のヒトiPS細胞樹立当初と比較して、現在では各段に安全性の高いiPS作製方法が用いられているものの、世界初のiPS細胞由来の細胞移植ということで、移植細胞の安全性評価について世界中の研究

者から注目が集まった。また厚生労働省の「ヒト幹細胞臨床研究に関する審査委員会」より、現時点のベストサイエンスによる安全性の確保が強く求められた。具体的には、in vivo造腫瘍性試験に加え、ゲノム、エピゲノム解析や遺伝子発現解析を行うことで、移植細胞の性状を可能な限り明らかにすることが要求された（これらは、平成26年7月30日の第34回審査会にて解析項目が追加された）。

これらの解析については、かねてより移植医療を前提としたiPS細胞のゲノム・エピゲノム解析を実施している京都大学iPS細胞研究所(CiRA)に委託し、実施された。得られた解析結果については9月8日に臨時開催された「ヒト幹細胞臨床研究に関する審査委員会」で報告・審議された結果、晴れて移植が実施される運びとなった。移植細胞の安全性確認および機能や神経網膜の機能回復の評価については今後長期の検討を要するが、被験者の同意取得と皮膚採取から順調に移植細胞が作製されたこと、また移植手術が滞りなく終了できたことは大きな成果であると言える。

その後、第二例目の細胞についても同様の解析を実施したところ、細胞のゲノムにいくつかの変異が生じていることが判明した。品質検査で異常は認めないものの、現状では社会的コンセンサスを得られないと判断し、こちらについては移植の実施を当面見送ることとした。なおその細胞については、免疫不全マウス、ラットへの移植によるin vivo造腫瘍性試験を実施し、現在も観察を継続しているが、移植後半年以上を経過して腫瘍形成等の異常は見られていない。

培養細胞を患者へ移植する前の染色体およびゲノム解析としては一般には核型解析が行われるが、今回のiPS細胞由来RPE細胞の移植に際しては、科学技術部会ヒト幹細胞臨床研究に関する審査委員会の要望により、全エクソンシーケンス、全ゲノムシーケンス、SNPアレイ、メチローム解析、Single Cell RT-PCR等のより詳細な解析を行った。iPS細胞を使った移植の場合のみに、これらの詳細な解析が求められることの妥当性については、今後も引き続き検討が必要である。

本臨床研究について、移植としては一例のみの実施ではあるが、さまざまな有用な知見を得ることができた。一方、本臨床研究を通じて判明した自家移植の課題としては以下が挙げられる。すなわち、1例あたりの製造期間の長さ、高コスト、iPS細胞の作りやすさに個人差があること、ゲノム変異に関しての基準が無いため、一例ごとに個別の議論が必要であることなどである。

これらを踏まえ、今後は早期かつ円滑な実用化をめざし、CiRAのiPS細胞ストックを用いた他家移植の実施をめざし、研究開発を進めていく計画である。

F.健康危険情報

なし

G.研究発表

第14回日本再生医療学会総会基調講演

第119回日本眼科学会総会評議員指名講演

H.知的財産権の出願・登録状況

なし

II. 分担研究報告

滲出型加齢黄斑変性に対する
自家iPS細胞由来網膜色素上皮シート移植に関する臨床研究
～細胞移植および臨床評価に関して～

研究分担者 栗本 康夫

公益財団法人先端医療振興財団 先端医療センター病院 眼科統括部長

研究要旨

加齢黄斑変性（AMD）は加齢に伴って発症する網膜黄斑部の萎縮または変性で、高齢者における中心視力悪化の一般的な原因疾患であり、我が国での患者数は急速に増加している。発症の要因は網膜色素上皮（RPE）の加齢による劣化であると考えられている。現在、滲出型加齢黄斑変性の治療法としては、抗VEGF薬の硝子体内投与が主流となっているが、これは脈絡膜新生血管（CNV）の発生・増殖を抑制するための治療であり、根本治療にはならない。また、これらの抗VEGF治療薬に抵抗性を示すCNVも存在し、こういった症例には現在のところレーザー、手術といった強い侵襲を伴う治療以外手段がない。よって、視力を維持／回復させるためには、原因となるCNVや瘢痕組織を取り除くとともに、網膜下のRPEの再建が必要である。

RPEは生体内において網膜の視細胞を維持するために重要な役割を果たしている。理化学研究所では、iPS細胞から、生体から得られるものと同等の機能を持つRPE細胞を分化誘導することに成功しており、動物実験によりそれが生体内において機能することを確認している。

これらの研究および知見に基づき、患者本人の皮膚組織から樹立したiPS細胞からRPE細胞を分化誘導してRPEシートを作成し、滲出型加齢黄斑変性の患者に移植することにより、網膜組織の温存・修復を促し、視機能を維持・改善する新しい治療法の開発を目指すことを目的として、本臨床研究を計画し、実施に向けた準備を進めてきた。平成24年度には、ヒト幹細胞を用いる臨床研究に関する指針に則り、施設内審査委員会の審査を受けた上で、厚生労働省に実施計画を申請し、平成25年7月19日付で臨床研究の実施が了承された。平成25年度内に2症例の組み入れと細胞の製造を開始し、平成26年9月12日に第一例目の症例への移植を実施した。

A.研究目的

加齢黄斑変性(AMD)は加齢に伴って発症する、網膜の黄斑部の萎縮または変性で、高齢者における中心視力悪化の一般的な原因である。発症の要因は網膜色素上皮(RPE)の加齢に伴う劣化であると考えられている。AMDには滲出型と萎縮型という二つのタイプがある。日本人に特に多い滲出型AMDは、脈絡膜新生血管(CNV)という異常な血管を特徴とするもので、現在の治療法としては、抗VEGF薬の硝子体内投与が主流となっている。しかし、これはCNVの発生・増殖を抑制するための治療であり、治療を行ってもCNVがすでに存在している部位には線維性組織やRPEの障害が残り、結局はその上の網膜も変性に陥る。また、これらの抗VEGF治療薬に抵抗性を示すCNVも存在し、こういった症例には現在のところレーザー、手術といった強い侵襲を伴う治療以外手段がない。よって、視力を維持／回復させるためには、原因となるCNVや瘢痕組織を取り除くとともに、網膜下のRPEの再建が必要である。

海外では患者本人の周辺部網膜から切除したRPEシートの黄斑部への移植が一部のグループでなされ一定の効果をあげているが、手術合併症が多いため普及していない。iPS細胞から作製した若返った自己RPEシートを作成すれば、周辺部網膜切除が不用となり、手術の安全性が高まる。

RPEが臨床応用に関して有利な点として細胞の純化が容易であることが挙げられる。また網膜という小さな部位への移植であることから必要な細胞は少量であり、移植細胞の全身への影響も小さい。さらに、万が一何らか

の異常が起きた場合、眼という外部から観察しやすい器官であることから、異常の早期発見が可能で速やかに対応することが可能である。

これらの根拠に基づき、患者本人から樹立したiPS細胞由来RPE細胞シートを作成し、滲出型加齢黄斑変性患者に移植することにより、網膜組織の修復し視機能を改善する新しい治療法を開発することを目的として本臨床研究を計画した。

B.研究方法

最初の臨床研究は、これまでにルセンティスなどの抗VEGF薬等の既存治療を受けて効果がみられなかった、もしくは治療を離脱できない、視力0.3未満の滲出型加齢黄斑変性の患者を対象とする。患者の上腕部から直径4ミリ程度の皮膚を採取し、理化学研究所のCPCにおいて、皮膚組織からiPS細胞を作製する。これをRPE細胞に分化させ、RPEシートを作製する。皮膚を採取してからRPEシートが完成するまで、約10ヵ月を要する。RPEシート移植は先端医療センター病院眼科にて全身麻酔科に行く。網膜下の新生血管を取り除いた後、RPEシートを網膜の下へ移植する。手術後は1週間入院、退院後半年間は毎月、その後半年は2ヵ月毎に、視力検査、眼底検査、画像診断などの検査を行い、1年間観察を行う。

【臨床研究デザイン】

<目的>

滲出型加齢黄斑変性の患者を対象に、自家皮膚組織由来の人工多能性幹細胞(iPS細胞)

から分化誘導した網膜色素上皮(RPE)細胞を用いて作製したRPEシートの安全性を確認するとともに、視機能に対する有効性及びプロトコル治療の実施可能性を評価する。

<対象疾患>

滲出型加齢黄斑変性

<対象疾患の選定理由>

滲出性加齢黄斑変性においては、中心窩に活動性の脈絡膜新生血管／瘢痕形成が残存し同部のRPEの欠損や萎縮が見られる場合には、これらの病的組織を除去し、RPE細胞を移植する以外に、中心窩の視細胞の変性を阻止する手段がない。

<目標症例数>

6症例

<主要評価項目>

治療の安全性：iPS細胞由来RPEシート移植術に起因する有害事象のうち、特に拒絶反応、腫瘍化、手術に伴う有害事象を評価する

<副次的評価項目>

安全性(その他の有害事象)及び有効性(浮腫の軽減、網膜感度、視力など)

【倫理面への配慮】

本臨床研究は理化学研究所と先端医療センターが共同で実施する。「ヒト幹細胞を用いる臨床研究に関する指針」に則り、理化学研究所のトランスレーショナルリサーチ倫理審査委員会および先端医療センターの再生医療審査委員会の審査を受けた上で、厚生労働大臣の意見を聴いて実施する。

また被験者候補に対しては、研究内容や不利益等について同意説明文書を用いて説明するとともに、CRCや遺伝カウンセラーなど

が説明補助を行う。

【その他】

本臨床研究においてデータマネジメントはCROに委託し、統計解析は再生医療の実現化ハイウェイ課題Cの支援を受けて実施する。また説明文書作成の際は課題Dの助言を受けた。

C.研究結果

UMIN試験ID:UMIN000011929

平成24年度中に、ヒト幹細胞を用いる臨床研究に関する指針に則り、施設内倫理審査委員会の審査を受けた上で、厚生労働省に実施計画を申請し、平成25年7月19日付で臨床研究の実施が了承された。10月より患者リクルートを開始し、患者への説明および同意取得、適格性確認のためのスクリーニング検査を実施した。被験者選定のためのカンファレンスおよび症例検討会を開催し、平成25年度内に2症例の組み入れを完了した。

1例目の被験眼は脈絡膜新生血管からの滲出性変化が持続するため抗VEGF薬による治療を継続していたが、プロトコルに従い平成26年5月(移植予定の3か月前)に治療を中止し、滲出性変化の再発を確認した。移植細胞の品質に問題がないことが確認され、症例検討会にて被験者への治療の適応についての確認を行った後、平成26年9月に1例目の移植手術を実施した。全身麻酔下に右眼の硝子体切除、人工的網膜剥離作成、脈絡膜新生血管抜去の後、網膜切開部位からプロトコルどおりに1.3x3mmのRPE細胞シート1枚を黄斑部網膜下へ移植し、シリコンオイルを眼

内に充填して手術を終了した。現在までに移植後半年以上を経過しているが、特段の有害事象の発現等も無く、経過は順調である。

なお二例目の患者については、細胞を作製し、解析を行ったところ、細胞のゲノムにいくつかの変異が生じていることが判明したため、移植は見送られることとなった。

D. 考察

平成26年9月12日、我々は、本臨床研究において、世界初のiPS細胞由来分化細胞の移植を実施した。移植細胞の安全性確認および機能や神経網膜の機能回復の評価については今後の検討を要するが、被験者の同意取得と皮膚採取から順調に移植細胞が作製されたこと、また移植手術が滞りなく終了できたことは大きな成果であると言える。

移植手術の実施に関しては、培養した細胞シートを眼内、網膜下へ移植するという新しい手術手技および手術器具の開発が必要であった。理研と共同で開発したこの手術手技、器具について、大型動物での実験を重ねてより洗練されたものとし、術者の習熟を図った。また、理研の移植細胞の作製担当スタッフと病院の手術室スタッフとが臨床研究事務局の調整のもとに事前に打合せを行って、入念な準備を整えていたことにより、手術当日の細胞の搬送および受け渡し作業も滞りなく行われ、手術に支障をきたすことはなかった。

さらに、被験者の一次同意取得から移植細胞の作製にかかる期間は10か月間という長期に渡り、その間の被験者の心理的負担は決して軽くなかったと考えられる。また移植手術前後には過度とは言えないにせよ、報道機関の

関心も高く、予想外の心理的負担があった可能性がある。こうした被験者に対する心理的なケアについて、医師、看護師が深く関わることは通常の病院業務の間では時間的にも困難と考えられるが、今回当施設においては臨床研究事務局の支援によりCRCを含め医療スタッフが一体となって円滑な被験者対応が可能であった。臨床研究実施にあたって設備面での充実もさることながら、医療スタッフの数と質の両面における充実が重要であることを改めて実感させられた。

E. 結論

滲出型加齢黄斑変性患者本人の皮膚から作製されたiPS細胞由来RPE細胞シートを、網膜下に移植することに成功した。移植細胞の安全性確認および機能や神経網膜の機能回復の評価については今後の検討を要するが、iPS細胞由来移植細胞の作製とその移植手術の成功は、この新規治療法の実現可能性を示唆し得ると考えられる。

G. 研究発表

栗本康夫, 平見恭彦, 藤原雅史, 森永千佳子, 杉田 直, 万代道子, 高橋政代: 加齢黄斑変性に対する自家iPS細胞由来網膜色素上皮細胞シート移植の臨床研究. 第14回日本再生医療学会, 横浜市, 2015.3.19-21

H. 知的財産権の出願・登録状況 なし

滲出型加齢黄斑変性に対する
自家iPS細胞由来網膜色素上皮シート移植に関する臨床研究
～臨床研究支援に関して～

研究分担者 川本 篤彦

公益財団法人先端医療振興財団 先端医療センター病院 再生医療ユニット長

研究要旨

加齢黄斑変性（AMD）は加齢に伴って発症する、網膜の黄斑部の萎縮または変性で、高齢者における中心視力悪化の一般的な原因であり、発症の要因は網膜色素上皮（RPE）の劣化であると考えられている。現在、滲出型加齢黄斑変性の治療法としては、抗VEGF薬の硝子体内投与が主流となっている。しかし、これは脈絡膜新生血管（CNV）の発生・増殖を抑制するための治療であり、根本治療にはならない。また、これらの抗VEGF治療薬に抵抗性を示すCNVも存在し、こういった症例には現在のところレーザー、手術といった破壊的浸潤を伴う治療以外手段がない。よって、視力を維持／回復させるためには、原因となるCNVや瘢痕組織を取り除くとともに、網膜下のRPEの再建が必要である。

RPEは生体内において網膜の視細胞を維持するために重要な役割を果たしている。理化学研究所では、iPS細胞から、生体から得られるものと同等の機能を持つRPE細胞を分化誘導することに成功しており、動物実験によりそれが生体内において機能することを確認している。

これらの研究および知見に基づき、患者本人の皮膚組織から樹立したiPS細胞からRPE細胞を分化誘導してRPEシートを作成し、滲出型加齢黄斑変性の患者に移植することにより、網膜組織の修復、再生を促し、視機能を改善する新しい治療法の開発を目指すことを目的として、本臨床研究を計画し、実施に向けた準備を進めてきた。「ヒト幹細胞を用いる臨床研究に関する指針」に則り、平成24年度より機関内倫理審査委員会の意見を聴き、また厚生労働大臣の意見（平成25年7月19日付大臣意見書）を聴いた上で、研究機関において臨床研究の実施が承認された。平成25年度内に2症例の組み入れと細胞の製造を開始し、平成26年9月12日に第一例目の症例への移植を実施した。

A.研究目的

加齢黄斑変性(AMD)は加齢に伴って発症する、網膜の黄斑部の萎縮または変性で、高齢者における中心視力悪化の一般的な原因である。発症の要因は網膜色素上皮(RPE)の劣化であると考えられている。AMDには滲出型と萎縮型という二つのタイプがある。日本人に特に多い滲出型AMDは、脈絡膜新生血管(CNV)という異常な血管を特徴とするもので、現在の治療法としては、抗VEGF薬の硝子体内投与が主流となっている。しかし、これはCNVの発生・増殖を抑制するための治療であり、治療を行ってもCNVがすでに存在している部位には線維性組織やRPEの障害が残り、結局はその上の網膜も変性に陥る。また、これらの抗VEGF治療薬に抵抗性を示すCNVも存在し、こういった症例には現在のところレーザー、手術といった破壊的浸潤を伴う治療以外手段がない。よって、視力を維持/回復させるためには、原因となるCNVや瘢痕組織を取り除くとともに、網膜下のRPEの再建が必要である。

海外では患者本人の周辺部網膜から切除したRPEシートの黄斑部への移植が一部のグループでなされ一定の効果をあげているが、合併症が多いため普及していない。iPS細胞から作製した若返った自己RPEシートを作成すれば手術の安全性が高まる。

RPEが臨床応用に関して有利な点として細胞の純化が容易であることが挙げられる。また網膜という小さな部位への移植であることから必要な細胞は少量であり、移植細胞の全身への影響も小さい。さらに、万が一何らかの異常が起きた場合、眼という外部から観察

しやすい器官であることから、異常の早期発見が可能で速やかに対応することが可能である。

これらの根拠に基づき、患者本人から樹立したiPS細胞由来RPE細胞シートを作成し、滲出型加齢黄斑変性患者に移植することにより、網膜組織の修復し視機能を改善する新しい治療法を開発することを目的として本臨床研究を計画した。

本分担研究者の立場としては、本臨床研究の実施にあたり、病院内および共同研究機関、また外部委託機関等との調整を図り、本臨床研究が円滑に推進されるよう支援することを目的とする。

B.研究方法

UMIN試験ID:UMIN000011929

最初の臨床研究は、これまでにルセンティスなどの抗VEGF薬等の既存治療を受けて効果がみられなかった、視力0.3未満の滲出型加齢黄斑変性の患者を対象とする。患者の上腕部から直径4ミリ程度の皮膚を採取し、理化学研究所のCPCにおいて、皮膚組織からiPS細胞を作製する。これをRPE細胞に分化させ、RPEシートを作製する。皮膚を採取してからRPEシートが完成するまで、約10ヵ月を要する。RPEシート移植は先端医療センター病院眼科にて全身麻酔科に行く。網膜下の新生血管を取り除いた後、RPEシートを網膜の下へ移植する。手術後は1週間入院、退院後半年間は毎月、その後半年は2ヵ月毎に、視力検査、眼底検査、画像診断などの検査を行い、1年間観察を行う。

【臨床研究デザイン】

<目的>

滲出型加齢黄斑変性の患者を対象に、自家皮膚組織由来の人工多能性幹細胞(iPS細胞)から分化誘導した網膜色素上皮(RPE)細胞を用いて作製したRPEシートの安全性を確認するとともに、視機能に対する有効性及びプロトコル治療の実施可能性を評価する。

<対象疾患>

滲出型加齢黄斑変性

<対象疾患の選定理由>

滲出性加齢黄斑変性においては、中心窩に活動性の脈絡膜新生血管／瘢痕形成が残存し、同部のRPEの欠損や萎縮が見られる場合には、これらの病巣を除去し、RPE細胞を移植する以外に、中心窩の視細胞の変性を阻止する手段がない。

<目標症例数>

6症例

<主要評価項目>

治療の安全性：iPS細胞由来RPEシート移植術に起因する有害事象のうち、特に拒絶反応、腫瘍化、手術に伴う有害事象を評価する

<副次的評価項目>

安全性(その他の有害事象)及び有効性(浮腫の軽減、網膜感度、視力など)

【研究(支援)方法】

臨床研究実施体制の整備・支援：CRC業務の実施および臨床研究事務局の設置

【倫理面への配慮】

本臨床研究は理化学研究所と先端医療センターが共同で実施する。「ヒト幹細胞を用い

る臨床研究に関する指針」に則り、理化学研究所のトランスレーショナルリサーチ倫理審査委員会および先端医療センターの再生医療審査委員会の審査を受けた上で、厚生労働大臣の意見を聴いて実施する。

また被験者候補に対しては、研究内容や不利益等について同意説明文書を用いて説明するとともに、CRCや遺伝カウンセラーなどが説明補助を行う。

【その他】

本臨床研究においてデータマネジメントはCROに委託し、統計解析は再生医療の実現化ハイウェイ課題Cの支援を受けて実施する。

C.研究(支援)結果

臨床研究実施体制の支援として、CRC業務の実施および臨床研究事務局を設置し、本臨床試験の推進を支援した。主な内容としては、1)CRO(データマネジメント)対応支援：関連様式や手順の作成支援、データ入力、2)倫理審査委員会への対応支援、3)製造機関との調整支援：スケジュール調整や被験者由来RPEシート運搬手順の作成支援、4)協力研究機関との調整：スクリーニング検査のスケジュール調整、5)症例検討会の開催支援、6)被験者対応補助：同意説明の補助、スケジュール管理、などの支援を行った。

D/E.考察および結論

臨床研究実施体制を整備することにより、機関間の調整、および被験者対応をスムーズに行うことができ、本臨床試験を円滑に推進することができた。

実施医療機関内での調整をはじめ、製造機関との打合せや調整を度重ねて行い、また被験者との信頼関係を築くことで、落ち着いて第1症例の移植当日を迎えることができた。現状の支援体制をさらに充実させ、次の移植でも円滑な試験実施に貢献したい。

また、今後は再生医療新法(再生医療等安全性確保法)に準じた臨床試験実施計画等の見直しについても対応し、本臨床試験を問題なく進められるように支援していく予定である。

G.研究発表

なし

H.知的財産権の出願・登録状況

なし

滲出型加齢黄斑変性に対する
自家iPS細胞由来網膜色素上皮シート移植に関する臨床研究
～細胞品質評価、ゲノム解析に関して～

研究分担者 渡辺 亮
京都大学iPS細胞研究所 特定拠点助教

研究要旨

加齢黄斑変性（AMD）は加齢に伴って発症する、網膜の黄斑部の萎縮または変性で、高齢者における中心視力悪化の一般的な原因であり、発症の要因は網膜色素上皮（RPE）の劣化であると考えられている。現在、滲出型加齢黄斑変性の治療法としては、抗VEGF薬の硝子体内投与が主流となっている。しかし、これは脈絡膜新生血管（CNV）の発生・増殖を抑制するための治療であり、根本治療にはならない。また、これらの抗VEGF治療薬に抵抗性を示すCNVも存在し、こういった症例には現在のところレーザー、手術といった破壊的浸潤を伴う治療以外手段がない。よって、視力を維持／回復させるためには、原因となるCNVや瘢痕組織を取り除くとともに、網膜下のRPEの再建が必要である。

RPEは生体内において網膜の視細胞を維持するために重要な役割を果たしている。我々は、iPS細胞 から、生体から得られるものと同等の機能を持つRPE細胞を分化誘導することに成功しており、動物実験によりそれが生体内において機能することを確認している。

これらの研究および知見に基づき、患者本人の皮膚組織から樹立したiPS細胞からRPE細胞を分化誘導してRPEシートを作成し、滲出型加齢黄斑変性の患者に移植することにより、網膜組織の修復、再生を促し、視機能を改善する新しい治療法の開発を目指すことを目的として、本臨床研究を計画し、実施に向けた準備を進めてきた。平成24年度には、ヒト幹細胞を用いる臨床研究に関する指針に則り、施設内審査委員会の審査を受けた上で、厚生労働省に実施計画を申請し、平成25年7月19日付で臨床研究の実施が了承された。平成25年度内に2症例の組み入れと細胞の製造を開始し、平成26年9月12日に第一例目の症例への移植を実施した。

A.研究目的

加齢黄斑変性(AMD)は加齢に伴って発症する、網膜の黄斑部の萎縮または変性で、高齢者における中心視力悪化の一般的な原因である。発症の要因は網膜色素上皮(RPE)の加齢に伴う劣化であると考えられている。AMDには滲出型と萎縮型という二つのタイプがある。日本人に特に多い滲出型AMDは、脈絡膜新生血管(CNV)という異常な血管を特徴とするもので、現在の治療法としては、抗VEGF薬の硝子体内投与が主流となっている。しかし、これはCNVの発生・増殖を抑制するための治療であり、治療を行ってもCNVがすでに存在している部位には線維性組織やRPEの障害が残り、結局はその上の網膜も変性に陥る。また、これらの抗VEGF治療薬に抵抗性を示すCNVも存在し、こういった症例には現在のところレーザー、手術といった強い侵襲を伴う治療以外手段がない。よって、視力を維持／回復させるためには、原因となるCNVや瘢痕組織を取り除くとともに、網膜下のRPEの再建が必要である。

海外では患者本人の周辺部網膜から切除したRPEシートの黄斑部への移植が一部のグループでなされ一定の効果をあげているが、手術合併症が多いため普及していない。iPS細胞から作製した若返った自己RPEシートを作成すれば、周辺部網膜切除が不用となり、手術の安全性が高まる。

RPEが臨床応用に関して有利な点として細胞の純化が容易であることが挙げられる。また網膜という小さな部位への移植であることから必要な細胞は少量であり、移植細胞の全身への影響も小さい。さらに、万が一何らか

の異常が起きた場合、眼という外部から観察しやすい器官であることから、異常の早期発見が可能で速やかに対応することが可能である。

これらの根拠に基づき、患者本人から樹立したiPS細胞由来RPE細胞シートを作成し、滲出型加齢黄斑変性患者に移植することにより、網膜組織の修復し視機能を改善する新しい治療法を開発することを目的として本臨床研究を計画した。

B.研究方法

最初の臨床研究は、これまでにルセンティスなどの抗VEGF薬等の既存治療を受けて効果がみられなかった、もしくは治療を離脱できない、視力0.3未満の滲出型加齢黄斑変性の患者を対象とする。患者の上腕部から直径4ミリ程度の皮膚を採取し、理化学研究所のCPCにおいて、皮膚組織からiPS細胞を作製する。これをRPE細胞に分化させ、RPEシートを作製する。皮膚を採取してからRPEシートが完成するまで、約10ヵ月を要する。RPEシート移植は先端医療センター病院眼科にて実施し、1年間観察を行う。

本分担研究者としては、患者への移植にあたり、調製されたiPS細胞やRPE細胞およびRPEシートについて、その性状解析としてゲノム・エピゲノム解析を実施する。具体的には、全ゲノムシーケンスや高感度定量PCRやキャプチャーシーケンスなどのプラスミド残存試験、全ゲノムDNAメチル化解析、シングルセル遺伝子発現解析を実施する。