

induced Pluripotent Stem (iPS) 細胞 ～臨床応用への課題～

青井 貴之

Induced Pluripotent Stem (iPS) Cell —Issues for Clinical Application—

Takashi Aoi

*Department of Regulatory Science, Center for iPS Cell Research and Application (CiRA),
Kyoto University; 53 Kawahara-cho, Shogoin, Sakyo-ku, Kyoto 606-8507, Japan.*

(Received August 21, 2012)

Induced pluripotent stem (iPS) cells are generated from somatic cells by introducing small sets of transcription factors. iPS cells demonstrate pluripotency and the ability to self-renew. In addition, iPS cells can be generated from donor individuals with particular characteristics. Based on these features, iPS cells are expected to be applicable in drug discovery, the study of disease mechanisms and cell therapy. From a technical point of view, “diversity” is the key word. At present, iPS cells can be derived using various techniques, resulting in diversity in the quality of iPS cells generated. Therefore, optimization of the derivation technology is one of the most important issues. Another “diversity” is in the propensities amongst iPS cell lines derived using similar techniques. Thus, strategies for selecting good quality lines remain to be established. Considering such technical hurdles, establishment of an iPS cell bank consisting of high quality and versatile iPS lines is a promising idea because of the merits of cost and quality control. Now, we are exploring relevant parameters for the quality control of banked cells. The challenges facing clinical application of iPS cells are new but not unprecedented. To realize clinical applications of iPS cells, we need to make these challenges clear and overcome them through partnership not only with industry, governments and universities, but also patients and society at large.

Key words—induced pluripotent stem cell; cell bank; parameters for the quality control; diversity

1. iPS 細胞とは

人工多能性幹 (induced pluripotent stem; iPS) 細胞は、体細胞にいくつかの因子を導入し、特定の環境下で培養することで得られる多能性幹細胞株である。^{1,2)} iPS 細胞は、① 生体を構成する様々な細胞に分化することができる能力、すなわち分化多能性と、② ①の性質を保ちながら無限に増殖することができる能力、すなわち自己複製能を有している。これら2つの性質を持つ細胞には、iPS 細胞のほかに胚から作製する胚性幹 (embryonic stem; ES) 細胞がある。ここで注意しなければならないのは、iPS 細胞と ES 細胞はともに人工的な細胞であり、発生過程及び成体のいずれにも同様の細胞が存在しないという点である。このことは、これらの細胞の

品質評価をする際に絶対的な正常対照とすべきものが存在しないことを意味し、その品質管理の困難さにつながっている。

iPS 細胞が ES 細胞と異なる点は、その作製において胚を使用しないという点に加え、様々な患者あるいは健常者など、個性が判明している個人からの樹立が可能であるという点がある。これらの特徴から、iPS 細胞は創薬や病態研究、そして、細胞移植医療へ応用することが期待されている。

2. iPS 細胞の多様性

iPS 細胞に関する科学・技術的現状において、最も重要なキーワードの1つは「多様性」である。

第一に、今日において iPS 細胞は多様な方法によって作製可能であることがわかっている。すなわち、由来細胞種や導入因子、因子導入法などに様々なバリエーションがある。³⁻¹⁵⁾ そして、これら作製法の違いは、作製された iPS 細胞の性質の違いにつながるということが知られている。したがって、最も好ましい性質を持つ iPS 細胞を作製するための、作

The author declares no conflict of interest.

京都大学 iPS 細胞研究所規制科学部門 (〒606-8507 京都市左京区聖護院川原町 53)

e-mail: takaaoi@cira.kyoto-u.ac.jp

本総説は、日本薬学会第132年会シンポジウム S22 で発表したものを中心に記述したものである。

製法の最適化が現時点での大きな課題の1つである。

第二に、現在の技術では、同じ方法で作製された場合でも、さらには1回の作製工程から生まれた複数のiPS細胞株においても、株間において性質の違いが生じる。したがって、最適な株の選抜法を確立することはもう1つの重要な課題である。

3. 重要評価項目の探索

iPS細胞は種々の応用においては未分化なまま使用されることはなく、目的とする細胞に分化させて用いる。多くのiPS細胞株の中から、分化誘導を実際に行い、目的とする細胞への分化能力が最も高い株を選ぶ、というのが現時点で可能なiPS細胞株の選抜方法である。しかし一般に、分化誘導には多くの時間や労力、費用を要する。そこで、分化能力あるいは、分化誘導後の細胞の特性と予測するための、未分化状態における因子の探索が行われている。このような因子が見つければ、目的に適した株の選抜の際の指標となるのみならず、選抜された株を増幅して用いる際の品質管理における重要評価項目として有用なものになると考えられるし、同目的のiPS細胞を作製したり作製方法に変更を加えたりする場合、同等性の評価項目にもなり得ると考えられる。

4. iPS細胞バンク構想

以上の述べたような技術的現状に照らして、iPS細胞を真に臨床応用につなげるためには、良質で汎用性の高いiPS細胞とそこからの分化細胞を多量に作り banking しておく、という方策が適切であると考えられる。iPS細胞は従来の細胞移植治療と比べて、その製造工程に多くの試薬や機材、時間そして操作を要する。したがって、ドナーに起因する遺伝子異常や感染症のリスクに比して、製造工程で生ずる異常に対する懸念が相対的に大きい。言い換えれば、他家移植に対する自家移植の利点が相対的に小さくなるということである。そして、好ましい特性を持つiPS細胞を作製し選び出すのに多くの時間やコストが必要であることを鑑みると、自家iPS細胞を用いる医療が一般に行われるようになるのは難しい可能性が高い。これらが、バンク構想を適切と考える根拠である。

具体的には、まず、臨床応用可能な品質管理のなされたiPS細胞を作製・増幅し、提供することができる技術や体制を確立する。その上で、移植免疫

に重要なHLA遺伝子のうち、A, B, DRの3座がホモの遺伝子型を持つ健常ドナーからのiPS細胞を作製することが考えられている。例えば、このようなiPS細胞を50株用意しておけばわが国の人口の73%を、140株用意しておけば90%を3座一致でカバーできると試算されている。ただし、このような数のHLAホモドナーを見い出すには、多くの候補者のHLA型を調べる必要がある。50人のユニークな3座ホモドナーを見い出すためには3万7千人の、140人を見い出すには16万人の候補者が必要と試算される。¹⁵⁾ これを実現するための現実的な方策を立てることは重要である。

5. 開発の観点から：新規性はどこにあるか？

iPS細胞を用いて移植用の細胞を製造する試みは、「新しいものである」ことのみがしばしば強調される。しかし、ここに含まれるすべての要素が過去に例を求めることができないというわけでは決してない。これまでに蓄積された知見やノウハウを援用すべき要素と、真に新規性がある要素を整理して、開発に取り組むことが重要である。

例えば、good manufacturing practice (GMP) に則った製造について、化学的医薬品製造におけるGMPをすべて当てはめることは困難だが、その根本精神であるところの、間違えの防止、汚染や不良品出荷の防止、「よいモノづくり」のための組織構築、ということすべてiPS細胞においても可能である。最終製品の品質確保の原則は製造管理と品質管理にあり、このためには文書を作成し、それに従い、記録を行い、これを振り返る、という一連のサイクルも、iPS細胞やそこから分化させた細胞の製造にそのまま当てはめることができる。ほかに、ロット単位で品質管理を行うことや、培養細胞においては実際に使用する培養期間を超えて培養した検体を用いて品質試験を行うことなど、すべて既存の方策が援用可能である。また、上記のバンク構想実現のためのドネーションにおける社会の理解と協力及び適切な手続きのあり方については、血液製剤や骨髄バンク、臍帯血バンクが重要な前例となる。国際流通における有用性向上とそのための合意形成のあり方についても、多くの医薬品や臍帯血などが既に乗り越えてきた問題だと言えるだろう。そして、ゼロ・リスクではない臨床試験や臨床使用を実施することは、(もちろん、リスクの大きさは様々では

あるが) ほぼすべての医療で行われてきたことだと言える。

では、iPS細胞を用いた移植治療における“新しい点”にはどのようなものがあるだろうか。まず、樹立や評価、すなわち一連の製造に、従来の医薬品などと比べて多くの時間がかかるということである。したがって、開発者は製造に早く着手したいと考える。ところが、iPS細胞作製法にしても分化誘導法にしても、いまだに技術革新途上にあるため、変更の可能性が常に存在する。これらのことから、作製法等の変更時の手続きが円滑に行われる仕組み作りが求められる。

また、細胞加工医薬品においては、“品質”(=意図した用途への“適切さ”)の点。あるいは、製品等において、性質の組み合わせが、“要求事項を満たす程度”の点^{16,17)}の指標となる可能性がある“特性”の数は非常に多い。例えば、われわれは今日、何万もの遺伝子の発現量をマイクロアレイを用いて容易に調べることができる。一方、現実的に実施可能な臨床試験の症例数は比較的小さなものにならざるを得ない。したがって、ヒトへの投与が開始される時点で、多数の“特性”それぞれが、治療を受けた患者の体内での移植細胞のふるまいと関連するか否かがすべて明らかになることは考え難い。また、現時点では存在しない技術によって、将来的に新たな細胞の“特性”が測定される可能性も大きい。そこで、出荷判定のための試験項目や規格値以外に多くの特性を測定し、「参考情報」として蓄積することや、細胞そのもののストックをシスマティックに保管しておき、それらを、治療を受けた患者の観察結果と対照させることを継続的に行うことが可能な枠組みを作ることで、将来にわたって品質に関する知見が蓄積し、品質管理技術が向上してゆくものと筆者は考えている。

6. おわりに

iPS細胞は医療の新たな資源となることが期待されている。iPS細胞の臨床応用を真に実現するには、iPS細胞の生物学的特徴や技術的現状、既存の医療の開発経緯や問題点についてなど、幅広い知見に基づき、乗り越えるべき壁を明確にしなが、これに適切に対応してゆくことが求められるだろう。そのためには、産官学はもちろんのこと、患者やその家族など、広く社会に開かれた議論と連携の場を持ち

ながら、目標達成を図ることが重要である。

REFERENCES

- 1) Takahashi K., Tanabe K., Ohnuki M., Narita M., Ichisaka T., Tomoda K., Yamanaka S., *Cell*, **131**, 861–872 (2007).
- 2) Yu J., Vodyanik M. A., Smuga-Otto K., Antosiewicz-Bourget J., Frane J. L., Tian S., Nie J., Jonsdottir G. A., Ruotti V., Stewart R., Slukvin I. I., Thomson J. A., *Science*, **318**, 1917–1920 (2007).
- 3) Fusaki N., Ban H., Nishiyama A., Saeki K., Hasegawa M., *Proc. Jpn. Acad. B Phys. Biol. Sci.*, **85**, 348–362 (2009).
- 4) Woltjen K., Michael I. P., Mohseni P., Desai R., Mileikovsky M., Hämäläinen R., Cowling R., Wang W., Liu P., Gertsenstein M., Kaji K., Sung H. K., Nagy A., *Nature*, **458**, 766–770 (2009).
- 5) Kaji K., Norrby K., Paca A., Mileikovsky M., Mohseni P., Woltjen K., *Nature*, **458**, 771–775 (2009).
- 6) Jia F., Wilson K. D., Sun N., Gupta D. M., Huang M., Li Z., Panetta N. J., Chen Z. Y., Robbins R. C., Kay M. A., Longaker M. T., Wu J. C., *Nat. Methods*, **7**, 197–199 (2010).
- 7) Yu J., Hu K., Smuga-Otto K., Tian S., Stewart R., Slukvin I. I., Thomson J. A., *Science*, **324**, 797–801 (2009).
- 8) Warren L., Manos P. D., Ahfeldt T., Loh Y. H., Li H., Lau F., Ebina W., Mandal P. K., Smith Z. D., Meissner A., Daley G. Q., Brack A. S., Collins J. J., Cowan C., Schlaeger T. M., Rossi D. J., *Cell Stem Cell*, **7**, 618–630 (2010).
- 9) Kim D., Kim C. H., Moon J. I., Chung Y. G., Chang M. Y., Han B. S., Ko S., Yang E., Cha K. Y., Lanza R., Kim K. S., *Cell Stem Cell*, **4**, 472–476 (2009).
- 10) Tsubooka N., Ichisaka T., Okita K., Takahashi K., Nakagawa M., Yamanaka S., *Genes Cells*, **14**, 683–694 (2009).
- 11) Hong H., Takahashi K., Ichisaka T., Aoi T., Kanagawa O., Nakagawa M., Okita K., Yamanaka S., *Nature*, **460**, 1132–1135 (2009).
- 12) Maekawa M., Yamaguchi K., Nakamura T., Shibukawa R., Kodanaka I., Ichisaka T., Kawamura Y., Mochizuki H., Goshima N.,

- Yamanaka S., *Nature*, **474**, 225–229 (2011).
- 13) Nakagawa M., Koyanagi M., Tanabe K., Takahashi K., Ichisaka T., Aoi T., Okita K., Mochiduki Y., Takizawa N., Yamanaka S., *Nat. Biotechnol.*, **26**, 101–106 (2008).
 - 14) Nakagawa M., Takizawa N., Narita M., Ichisaka T., Yamanaka S., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **107**, 14152–14157 (2010).
 - 15) Okita K., Matsumura Y., Sato Y., Okada A., Morizane A., Okamoto S., Hong H., Nakagawa M., Tanabe K., Tezuka K., Shibata T., Kunisada T., Takahashi M., Takahashi J., Saji H., Yamanaka S., *Nat. Methods*, **8**, 409–412 (2011).
 - 16) Ministry of Health, Labour and Welfare, Pharmaceutical Affairs Bureau Notification No. 568, “Specifications: Test Procedures and Acceptance Criteria for New Drug Substances and New Drug Products: Chemical Substances,” 2001.
 - 17) Ministry of Health, Labour and Welfare, Pharmaceutical and Food Safety Bureau Notification No. 0219–1, “ICH-Q10 Pharmaceutical Quality System,” 2010.