

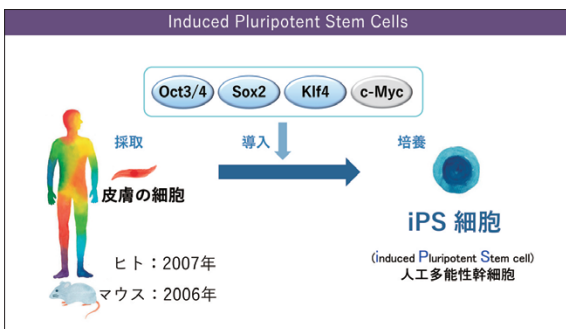
第44回測量調査技術発表会

iPS 細胞を用いたパーキンソン病治療

京都大学 iPS 細胞研究所 所長／京都大学 教授 高橋 淳

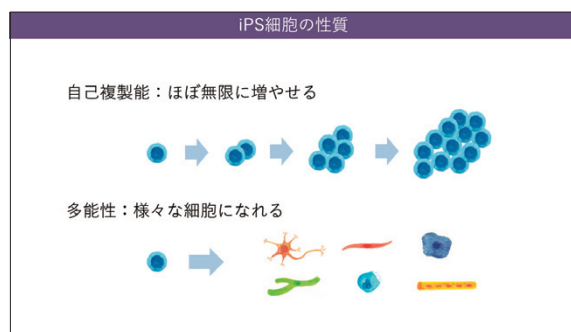


皆さん、本日はお招きありがとうございます。京都大学iPS細胞研究所の高橋です。先ほど控え室でいろいろお話を聞いていますと、測量というのは、「地球のお医者さん」であるというようなことを伺いました。私自身は元々外科医、脳神経外科の医者なので、臨床を20年ぐらいやっていたのですが、そういった意味ではこういう測量の世界も、医学医療の世界も、基本的な考え方というのは一緒になるかなというふうに思います。今日はiPS細胞を使ってパーキンソン病という病気をどうやって治していくかという、治療法の開発のお話をさせていただきますけれども、これが少しでも皆さんのお役に立てればと思います。

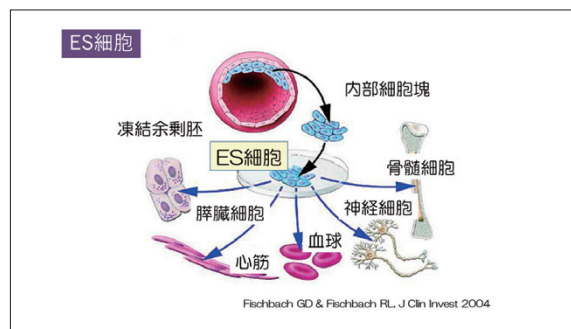


まずは、iPS細胞とは何ぞやということなのですが、これを話し始めるとそれだけでも1時間ぐらい経ってしまうのですが、iPS細胞という名前は、induced Pluripotent Stem cellの頭文字を取ったものです。これは体の、元々は皮膚の細胞、最近では、血液を採って血液細胞から作っていますが、そういうわれわれ大人の細胞から、

遺伝子を導入することによって大人の細胞を受精卵のように若返らせ、それによって次に述べるような性質を持つ特殊な細胞です。iPS細胞が発見されたのは、山中先生が発表された2006年。ヒトのiPS細胞は翌2007年です。



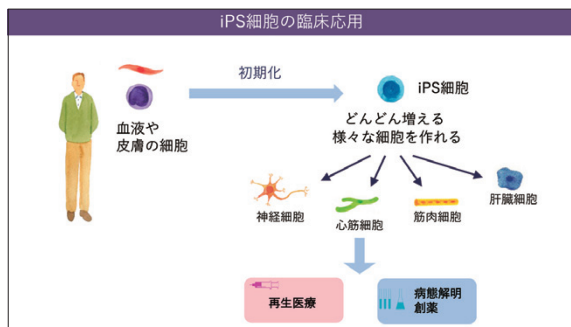
iPS細胞がどんな性質を持っているかという、2つの大きな特徴があります。1つは自己複製能、平たく言うと、ほぼ無限にどんどん増やせるということです。もう1つは多能性と言いますが、様々な細胞になれるということです。このiPS細胞そのものは受精卵と同じで、要するに卵と精子が引っ付いただけの状態なので、それ自体は何ら機能を持っているわけではないのですが、それが形や機能を変えて、例えば神経になったり筋肉になったり、あるいは血液細胞になったり、体を作っているあらゆる細胞になることができるということになります。そういう非常に特殊な性質を持っている細胞です。



実は、このiPS細胞ができる2006年より少し前、

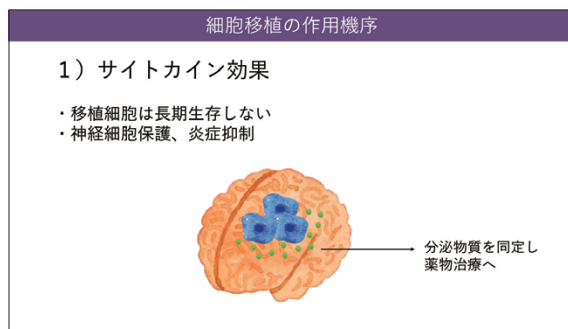
1998年なのですが、同じような性質を持っている細胞ができています。ES細胞、英語で言うとembryonic stem cellというのですが、その頭文字を取ってES細胞と言います。ES細胞はどうやって作ったかという、受精卵が数回分裂してお母さんの胎盤に着床する。これが最終的には胎盤になって、この内部細胞塊という塊になる、これが人間の体、即ち赤ちゃんになっていく。ですからこの内部細胞塊というのは、これからいろんな臓器になる性質を元々持っている細胞なのです。これを取り出して、細胞核にしたのがES細胞です。

したがって性質はiPS細胞と同じなのですが、作られ方が全く違う。もちろんこれが出てきた時はすごくセンセーショナルだったのですが、この「受精卵を壊す」というところが、いろいろ倫理的な問題があって、なかなか、みんながこれをどんどん使うという訳にはいきませんでした。これを、何とか同じような性質を持っている細胞を人工的に作れないかとチャレンジしたのが山中先生で、その成功が2006年で、ヒトが2007年ということでありました。

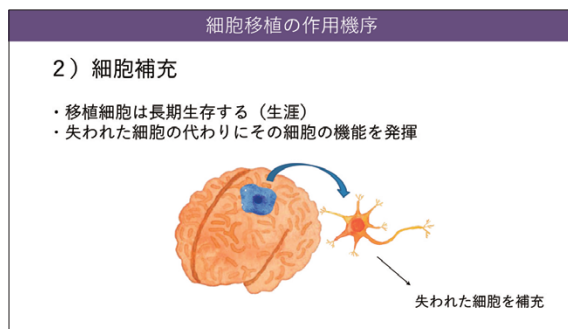


iPS細胞ができたということで、われわれ医学の世界、あるいは生物学の世界が、もうがらりと変わりました。ということかという、iPS細胞というのは自分の体から作ることができるのです。それで、どんどんそれを増やすことができる、それから様々な細胞を作ることができる。ということで、例えばある細胞がなくなりましたという時に、自分の体からその細胞を大量に作って、それを移植する、いわゆる再生医療といいますが、このようなことが現実に行えるようになる。それからもう一つは、病気の遺伝子を持ったiPS細胞を作って、そこからいろいろな細胞を作ると、病気を再現することができ、病気のモデルを作ることができる、あるいはそれを使って新しい薬を開発できる。そういったこともできるようになりました。ということで、

医学の世界が大きく変わったということです。特に今日は、その再生医療についてお話をします。

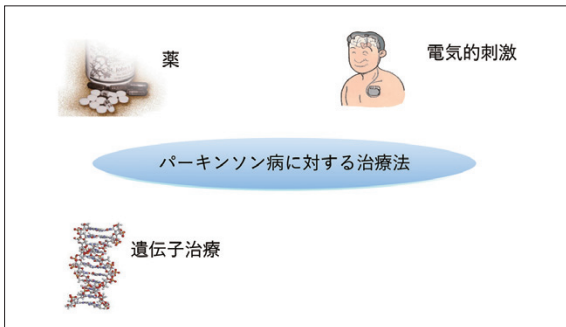


再生医療とは、ざっくり言うと細胞移植ということになります。細胞移植自体は、今も世界中でやられています。ただ、その細胞移植のほとんどはiPS細胞とかES細胞といった細胞ではなくて、間葉系幹細胞という、骨髄にある、またちょっと違った幹細胞でして、そういう幹細胞を使った細胞移植が現在世の中では主流になっています。この場合はどういう作用機序(治療効果を及ぼす仕組み)かという、これはサイトカイン効果といわれますが、移植された細胞そのものはずっと生着し続けるのではなくて、数カ月程度で消えてなくなってしまう。それで、その時にこの細胞からいろんな物質を放出するわけです。それが薬のように効く。細胞から出るような物質は薬のように、例えば神経細胞の保護したり、あるいは周りの炎症を押さえる。そういった形で細胞が薬のような働きをするというのが、現在、間葉系幹細胞を使った、世界で臨床試験が行われている細胞移植です。



そこで、われわれが目指しているのは、そのもう1つ先です。これこそが本当の意味での細胞移植になると思うのですが、「細胞補充療法」です。移植細胞は長期生存し、恐らくその方が亡くなるまでずっと生着し続けて、失われた細胞の代わりにその細胞の機能を発

揮するといった形で細胞移植をするというのが、われわれが今、目指しているところであります。



こういうことができるようになったので、治療法というものが変わりつつあるということです。例えばパーキンソン病に対する治療法。他の病気でもいいのですが、ある病気を治そうとするには、やはり現在でもメインはお薬です。お薬を飲む。後でちょっとお話しますが、パーキンソン病の場合だと、ドパミンという物質が脳の中で減っていきますから、それをお薬で補うということになります。

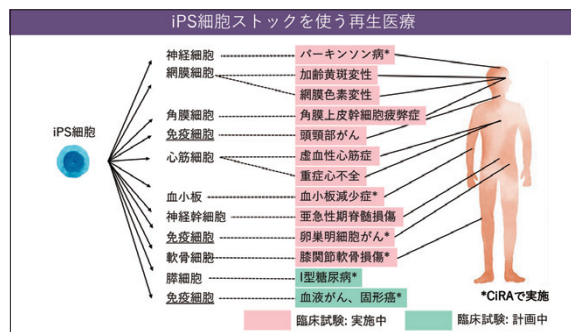
それから電気刺激です。特に脳というのは、その神経の働きというのは電気の流れなので、脳に電極を入れて、そこに電流を流す、それによって体の機能を変えろという方法。こういった方法というのは、もう既に保険治療として普通に病院で行われています。

それから、もう一つは遺伝子治療です。例えば、ある遺伝子が足りないために細胞が死んでいくというような病気の場合には、その遺伝子を直接体に取り込んで、そのタンパクを作らせるといったような方法。こういったものを、例えばパーキンソン病なんかに対して試験的に行われています。こういう既にある治療法の基本的な考え方というのは、今ある細胞でいかにやりくりするか。例えばパーキンソン病だと、どんどんドパミンを作る神経が減っていく病気なのですが、その残された

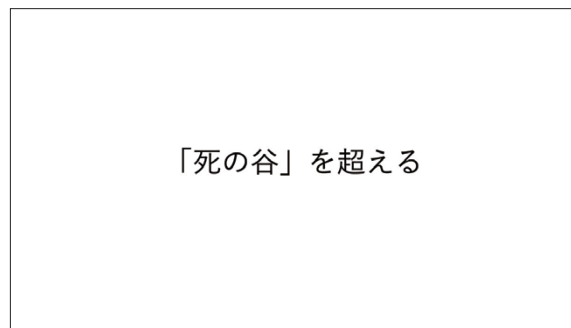


ドパミン神経で何とかやりくりする。あるいは脳梗塞、あるいは、けがで細胞が減っていく、その時にいかに減るのを少なくするか、そういった考え方なのです。

一方、この細胞移植っていうのは全く違う考え方で、もうなくなったものは仕方がない、あるいは減っていくのは仕方がない。そうではなくて、その減った分を新たに細胞移植で補いましょうという考え方です。ですから、これまでとは全く違った考え方に基づいた治療ができつつあるということです。できつつあると言いましたけれども、それこそ輸血なんかもそうです。厳密に言うと、赤血球とか、ちょっと細胞ではないかもしれませんが、失われた赤血球を、あるいは血液成分を輸血で補う、これと同じような考え方に基づいて、細胞移植をするということになります。



こういう考え方に基づいて、今、iPS細胞を使った臨床研究というのが、日本では11個走っています。われわれのパーキンソン病だけではなくて、目の病気、あるいは心臓、あるいは血液の病気、あるいは軟骨、膝の軟骨が減ってきたとか。そのような方に、iPS細胞からそれぞれの必要な細胞を作って、それを移植するといったようなことが行われています。これが現在の状況です。



このようにiPS細胞が2006年、2007年に生まれ、そこから基礎研究がずっと続いてきて、ようやくさきほどお話した臨床試験にまで行きました。これも皆さんと

近いところがあるかもしれませんが、実際に現場で測量する、われわれの場合だと研究をするということと、それからその成果を実際の患者さんを治すというところに届ける、例えば行政対応するというようなところでは、やはり少しギャップがあります。そのギャップをわれわれ、俗に「死の谷」といっていますが、その死の谷を超えていくという作業が必要になってきます。われわれも安全に死の谷を超えたのではなくて、ようやく臨床試験にたどり着いたところです。現在、臨床試験をやっているところですが、そこに至るまで、踏んできたステップについてお話しします。

「死の谷」を超えるには？

1. 科学的根拠
2. 非臨床研究
3. 治験

最初は、やはり科学的な根拠です。治療法を開発しました、これを患者さんで試します。しかし、これが効きそうな気がするとか、そんなあやふやなことで、患者さんにその治療を行うわけにはいきません。ですから、この治療法は安全である、ちゃんと効果も期待できるといったようなデータをきっちり積み上げてこそ、臨床に行ける。そういった基礎研究をしっかりするということと、それから臨床につなげるための研究、データ取りをして、それで、いよいよ人間で試すといったようなステップになります。

1. 科学的根拠

移植細胞の作用機序

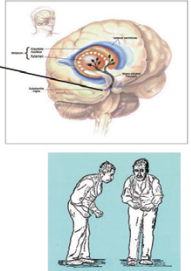
ではまず、科学的な根拠です。パーキンソン病という病気に対して、なぜそういうことをするのか。それは、移植した細胞はどうやって働くのですか？といったよう

なことです。

パーキンソン病とは？

中脳黒質のドパミン神経細胞が進行性に脱落することにより、手足のふるえやこわばり、運動低下などが生じる疾患。

多くは50歳以降に発症し、日本には約16万人の患者さんがいると言われる。

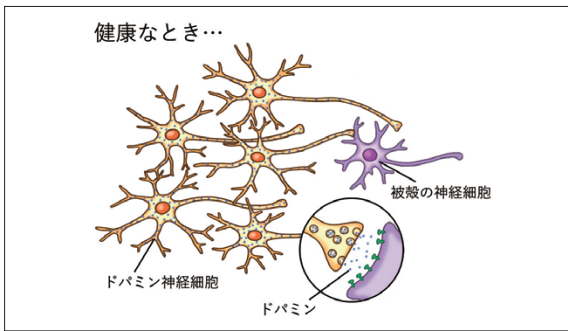


そもそもパーキンソン病とは何か？という話なのですが、大脳の奥の中脳というところにドパミンという物質を作っている神経細胞があります。この神経細胞というのは、長い軸索、手みたいなものですけども、長い軸索を伸ばして行って、被殻という部分でドパミンを放出します。ですからここでドパミンを作って、ずっと線路みたいな手みたいなところを流れて行って、ここでドパミンが放出されるわけです。ここで、次の神経がドパミンを受け取って、それで体がスムーズに動いている。このドパミン神経が進行性にどんどん減っていく、これがパーキンソン病という病気です。何で減っていくのかは、まだちょっとはっきりしたことが分かっておらず、いろいろ研究は進んでいますが、とにかくドパミン神経が減っていく。

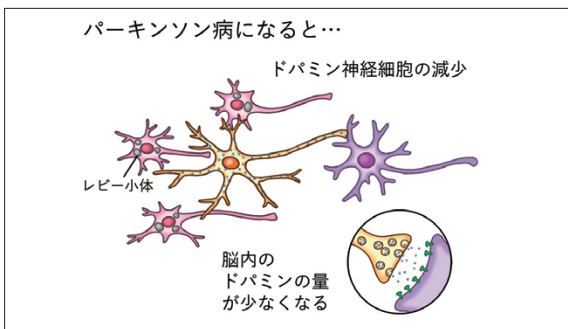
その神経回路というのは、手足の動きを調節しているので、ドパミンが減って、ここの連絡が悪くなってくると手足が震えたり、あるいは硬くなってこわばったりとか、そして、だんだん動けなくなって最終的には寝たきりになる、こういういわゆる神経難病です。50歳以降に発症して、厚労省の統計では、現在16万人強の患者さんがいるとなっています。

最初にお話したように、パーキンソン病に対しては、結構古くからお薬があります。現在もいろいろ薬が開発されているので「パーキンソン病はもうお薬あるでしょ。そんなわざわざ他の治療法が必要な？」と当初よく言われたのですが、そうじゃないというところをちょっとお話しします。

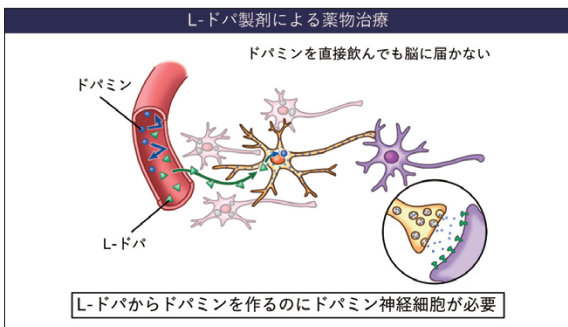
元気な時、少し難しいかもしれませんが、イメージしてもらえるといいのですが、これ、神経です。神経細胞というのは、細胞体という体の部分があって長い軸索を伸ばして行って、次の神経にシナプスという部分でつながります。例えばドパミン神経というのは、ド



パミンという物質を作って、それがずっと軸索の中を流れて行って、次の神経にこのドーパミンを放出します。次の神経は、この受容体という部分でドーパミンを受け取って、また次の神経に信号が伝わって行って体が動いている訳です。元気な時は、ドーパミン神経がたくさんあって、たくさんドーパミンが作られて、たくさんドーパミンが放出されるという状態です。恐らく皆さん、今、そういう状態です。



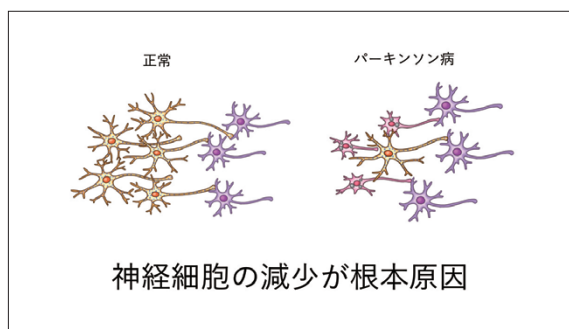
パーキンソン病になると、ドーパミン神経の中に、 α -シヌクレインというタンパクが異常に溜まってきます。もつと溜まったものはレビー小体といいますが、要するにドーパミン神経の中に要らないものが溜まってくると、それによってドーパミン神経が減ってくる。そうすると脳の中のドーパミンの量も減ってきて、それで体の動きが悪くなるという、こういった状態がパーキンソン病という状態です。



お薬があると言いました。どういうお薬を飲むかという、まず単純に思うのが、「ドーパミンがなくなったからドーパミンを飲みましょう。お薬で」という考え方です。「鉄が減ったら、鉄を飲みましょう」みたいな感じですが、ドーパミンというのは、なかなか大きくて血管の隙間を通ることができません。ですからドーパミンをお薬として飲んでも、それは神経に届かない。そこで昔の人はいろいろ開発をして考えて、L-ドーパというものをお薬としました。L-ドーパというのは、小さいので血液の隙間を通して神経に届く。現在このL-ドーパは、パーキンソン病治療の第1選択薬というかメインプレイヤーなのですが、確かにL-ドーパを飲むと体がよく動くようになります。

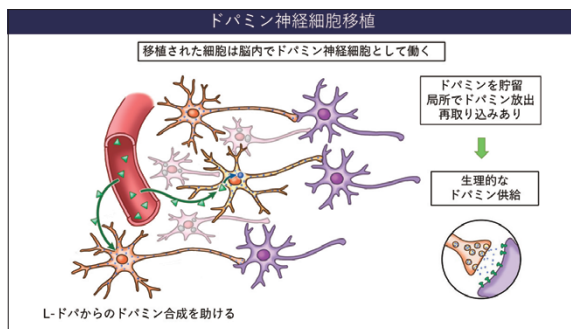
でも、ここで大事なことは、L-ドーパそのものが効いているわけではなくて、L-ドーパがドーパミン神経に取り込まれて、ドーパミン神経がL-ドーパからドーパミンを作る。これが運ばれて効いているということなのです。ですからL-ドーパというお薬は確かに効くのですが、そのお薬が効くためにはドーパミン神経が必要なわけです。ところが、そのドーパミン神経がどんどん減っていくのがパーキンソン病なので、初期の頃は、まだドーパミン神経がそこそこ残っているので、このお薬が効くのですが、どんどんドーパミン神経が減ってきたら、なかなかこれでは追いつかなくなってしまいます。

ちょっとイメージが違うかもしれませんが、4人で仕事している時に、1人減り2人減り。1人減ったぐらいなら頑張ってもやれますけれども、自分1人になってきたら、もうちょっと仕事量も追いつかなくなってくる、そんなイメージです。



そうすると、ドーパミン神経が減っている、あるいは減り続けていくということが、やはり根本の問題であって、お薬が効いているというのは、残されたドーパミン神経に、今まで以上に無理やり働かしているという状

態なのです。やはり無理がある。ですから、病気の初期は確かに薬が効いているものの、だんだんと薬の効きが悪くなったり、あるいはいろいろ副作用が出たりする。そこから先の治療法がなかなかないというのが問題なわけです。やはりドパミン神経が減っているという部分を何とか解決してやる必要がある。だから細胞移植で、減ったドパミン神経を補いましょうということになります。



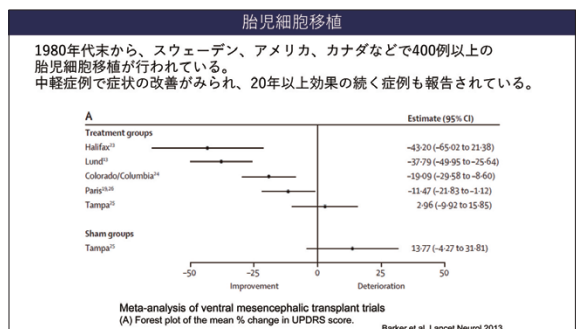
では、移植した細胞に何を期待するかというと、まずは、このドパミン神経というのは、L-ドパミンからドパミンを作ることができますから、ドパミン神経が減ったために薬の効きが悪くなった部分の底上げができる。それからもう1つは、移植したドパミン神経そのものが自分でドパミンを作ることができますから、これは生理的なドパミン供給ができる。要するに、元々ドパミン神経がたくさんあった時と同じように、移植した細胞がドパミンをたくさん作ってくれる。そうするとこういうお薬を飲まなくても移植した細胞だけで十分ドパミンが補える、こういった状態になるというのが理想です。このようなことを目指して、細胞移植をするということになります。



理屈はそうなのですが、では本当にそれが可能なのかということ。大人の脳というのはかなり出来上がっていますから、「そこに細胞入れても本当に生着するのか、そしてちゃんと脳の中でドパミンができる

のか?」というのが、たぶん素朴な疑問だと思うのですが、そこには先人たちのチャレンジがありました。

これはどこかという、スウェーデンのルンド大学というところ。向こうに見えているのが大学病院で、手前に見えているのがワレンベルグ・ニューロサイエンス・センターという研究所です。ここで何が行われたかという、世界で初めて人間の胎児、中絶して出てきた人間の胎児の脳を移植するということを1987年、かれこれ30年以上前に行われました。



もう400例以上、たくさん論文が出ています。何例かまとめた臨床試験がいろいろな国で行われました。これは、そのまとめのグラフで、横軸0、ここは手術前と手術後は変わらないことを示し、こっち(左)に行くとは良くなり、こっち(右)に行くとは悪くなったことを示しています。例えばHalifax、これはカナダの臨床試験ですけども、これぐらい良くなっています。Lund、これはスウェーデンです。Coloradoはアメリカ、Parisはフランスです。


こういった幾つかの国で独立して行われた臨床試験でも、胎児細胞を移植したパーキンソン病患者さんは、術後、症状が良くなっているということが、既に臨床のデータとして出ている訳です。Tampaで行われたのは、二重盲検試験です。患者さんも細胞を移植されたらと思うと、先入観で良くなると感じ、それを評価する医者も先入観で良くなったというふうにバイアスがかかりがちなので、二重盲検試験をやっています。そうすると、移植群と移植コントロール群と比べると、この時(上段)はあんまり症状変わっていないのですが、移植しない(下段)とどんどん悪くなる。確かに胎児の細胞をパーキンソン病の患者さんに移植すると良くなるぞというのが、もう既に何十年にわたるデータが出ているわけです。

最近論文で、「20年以上前に細胞移植をした患者さ

んが亡くなったので、脳を切って調べてみたところ、その20年以上前に移植した細胞がちゃんと生着していた」というようなことも報告されています。

しかしながら、やはり胎児です。胎児を使うというのは、誰でもほいほいというわけにはいきません。やはり倫理的に、なかなか壁が高い。それに、たくさん細胞が必要ですから胎児1体だけでは量が足りないのです。そういった量的な問題もあって、なかなかこれが一般的な治療になりません。

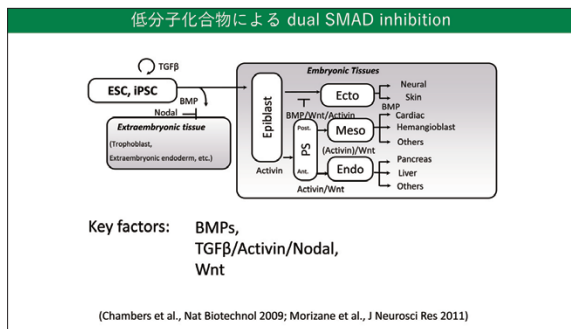
1) どのようにドパミン神経細胞を誘導するか？



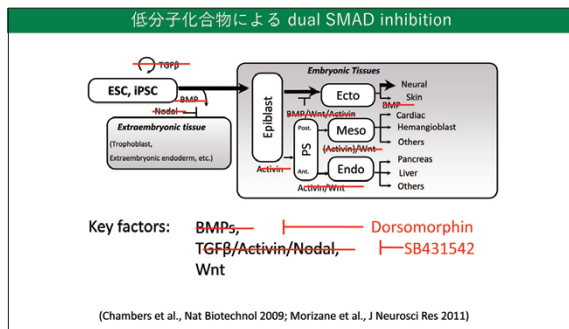
土井 大輔 Stem Cell Reports 2014

そういう問題を抱えていた時に出てきたのが、ES細胞でありiPS細胞です。冒頭にも話しましたように、これは幾らでも増やせますから、必要な分だけたくさん増やして細胞を作ることができる。うまくいけば、パーキンソン病治療に必要なドパミン神経をたくさん必要なだけ作って、それを移植できる。理屈はそうなので、ES細胞、iPS細胞といった幹細胞を使った細胞移植治療というのに期待が高まってきたということになります。

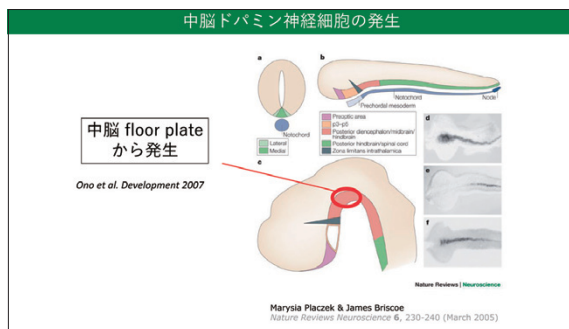
これも理屈ではそうなのですが、では実際、「ES細胞、iPS細胞は何にでもなります。さあどうぞ」と言われても、そこからどうやってドパミン神経を作っていくのか？という、もう、ドストレートの基礎的な問題があって、それを考えていく必要があります。これは、われわれだけではなくて世界中の研究者が、ずっとチャレンジをしてきたわけです。



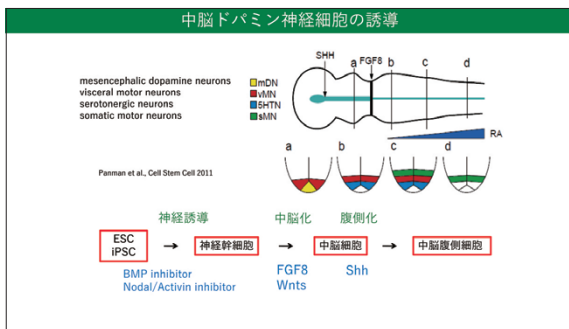
ES細胞、iPS細胞は多能性があり、どんな細胞にもなりますというふうに言いました。実際、名前は別いいのですが、このとおり外胚葉、中胚葉、神経になり、心臓や血液にもなり、膵臓(すいぞう)、肝臓、こういったいろんなものになります。細胞が何かになるというのは、いろんな物質がその方向を決めていくのですが、どういう物質がどういう方向付けをしているのかというのは、これまでのいろんな発生学で分かってきています。



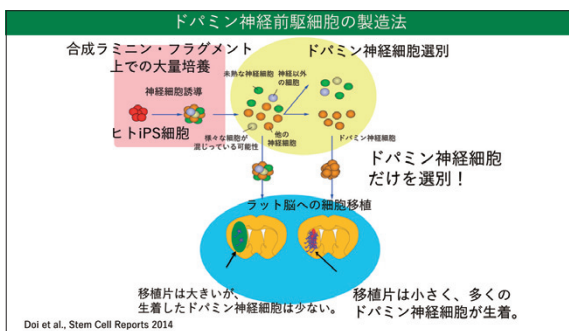
ですから、それを使いながら神経だけを誘導していくわけです。こういうお薬、即ち化合物を使いながら神経だけを誘導するというようなことが、だんだんできるようになってきました。これ、今ですからこうやって言えますけれど、私たちも研究を始めた頃は神経を作っているつもりでも、顕微鏡で見るとびくびく動き出して実は心臓ができていたとか、あるいは細胞を脳に移植すると脳の中に筋肉ができていたとか、このようにきれいにいかない時代もありましたが、現在では、もうきれいに神経だけを作ることができます。



神経はできます。ではドパミン神経は？そもそもドパミン神経ってどこにあるのかという話なのですが、これは神戸の尾野先生との共同研究ですが、これもいろいろ研究があって、中脳のfloor plateという胎児のおなか側の部分から出てきますよということを明らかにしてきました。



そうすると、どの部分を作る必要があるかという、これは非常に若い胎児の脳の図で、脳というも頭側とお尻側、それから背中側とおなか側という「軸」が大事なのですが、神経を誘導して、それから中脳のおなか側にドパミン神経がいるということが分かってきました。そこで、細かいことは省きますが、中脳のおなか側を作るといったようなこと、実際に発生を模するような形で、中脳腹側の細胞を作るといったようなことをしてきました。



何となく中脳腹側の細胞はできるのですが、実は単純にドパミン神経だけを作るとするのが、なかなか難しいのです。どうしても他の細胞が混じってくる可能性がある。あるいは、ドパミン神経になりきれていないとか、iPSC細胞がそのままの形で残っているというようナリスクはあるわけです。

そういうものが混じっていると、脳の中で増える可能性がある。そうすると脳の中でどんどん大きくなって、それが周りの脳を圧迫してまひを起こすなど副作用が起きます。これでは本末転倒なので、そういったことがないようにドパミン神経だけを選んでくるという方法、ソーティングと言いますが、そうした方法もわれわれは開発しています。

ドパミン神経だけを選んできて移植すると、腫瘍を作ったりせずにたくさんのドパミン神経が生着をして、

ラットのモデルで実験した際にも、ラットの異常な行動が改善するということが分かってきました。ということで、大体なのですが、iPS細胞からどうやってドパミン神経を作るのか、あるいは危険な細胞をどうやって取り除くのかという方法や、その方法で作った細胞が、ラットのモデルではありますが、ちゃんと症状の改善も期待できるというようなことが分かってきました。

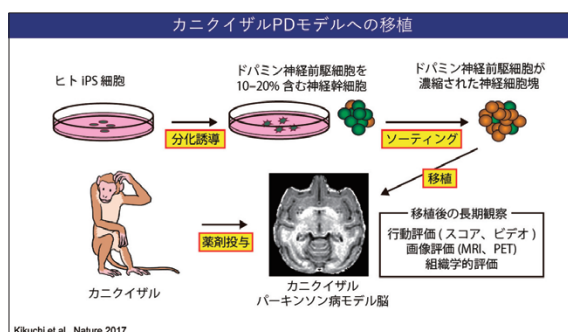
2) 霊長類モデルで機能するか？

カニクイザルは大きなマウスではなく、小さなヒト。単なるスケールアップではなく、臨床試験のシミュレーション



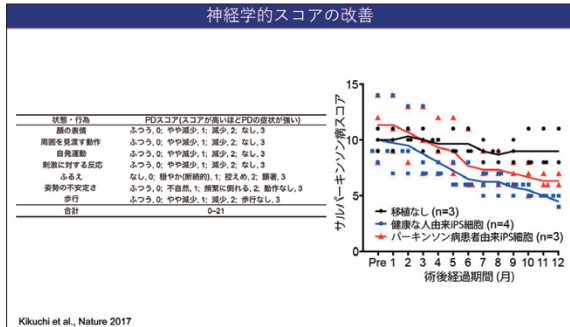
菊地哲広 Nature 2017

では、いよいよ次はヒトかということなのですが、私たちはどちらかという臨床医から入っていますから、やはりマウスとヒトというのは、感覚的にかなり違います。そこで、その間に霊長類のモデルでしっかりと実験やるべきということで、カニクイザルを使って実験をしました。この時に気をつけたのは、カニクイザルは大きなマウスではなくて、小さなヒトであることでした。単純にマウスでやったことを大きなスケールでやるというのではなく、臨床試験のシミュレーションとして、このサル実験をする。ですからできる限り、これからやろうとしている人間への臨床試験と同じことをやるということです。



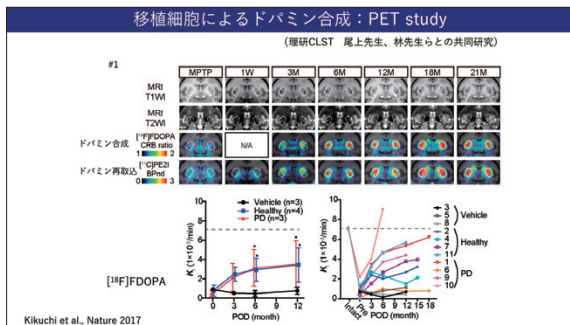
すなわち、ヒトのiPS細胞からドパミン神経を作っていく、それから、カニクイザルに、ある薬剤を投与すると、実際のパーキンソン病と同じように、ドパミン神経だけがなくなります。そうすると、症状的にも似たようなモデルを作ることができます。そういうモデルを

作っておいて、脳に移植する。ただ、この移植する部位も、これから患者さんに投与しようとするのと同じ部位に同じような方法で、同じだけの数を移植するといったようなことをしました。その後、行動評価とか画像評価とか、最終的には組織学的な評価をします。



体の動きはどうやって見たかという、人間の臨床で、世界中統一的に使われているこういうスコアがあるのですが、これをサルに使えるように少し改変をして、点数を付けていきました。このグラフ、縦軸はスコア、点数が高いほど症状が重い。横軸は、手術前、移植後1か月、2か月、と1年間の時間軸です。その間の変化をプロットしています。

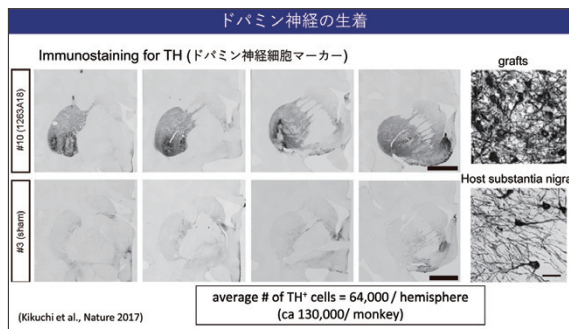
黒は、細胞移植していないサルで、あんまり変化はありません。赤いグラフと青いグラフは、どちらも細胞移植群なのですが、青は健康な人から作った細胞、赤はパーキンソン病患者さんから作った細胞、どちらも少しずつですけども、点数が低くなっています。要するに症状が良くなりましたということです。これ以外にもビデオによる行動量の解析なども行い、症状が良くなるぞということを明らかにしました。



では実際に、この改善が移植した細胞の作用によるものかどうかということ、PETという方法で調べました。これは何を見ているかというと、脳の中でドーパミンが作られているか、あるいはドーパミン神経というのは

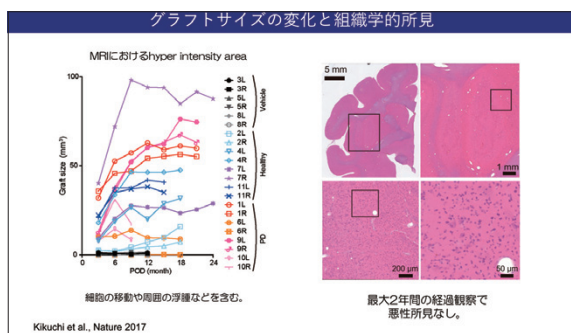
ドーパミンを取り込むことができるので、ドーパミンの取り込みが行われているかというのを見ています。ドーパミンが作られる、あるいは取り込みがあると、赤くなってきます。手術前(一番左)はドーパミン神経を脱落させているので青っぽいのですが、移植後(右にいくにつれ)、だんだん赤くなっていくということが分かります。

これはどういうことかという、脳の中で元々はドーパミン神経がなかったのにドーパミンが作られるようになっている、要するに、移植した細胞が脳の中に生着をしてドーパミンを作っているということが、実際にこのように客観的に見る事ができたということです。



安全性も見るということで、最終的には2年間経過観察しました。2年間の経過観察でドーパミン神経が生着しているということ、実際に脳の切片で、免疫染色という方法を使って調べています。チロシン水酸化酵素というドーパミン神経のマーカーで染色をしているのですが、下の段は細胞移植をしてないサルの脳切片です。白っぽいですね。上は移植したもの、これは黒っぽい。これはどういうことかという、ドーパミン神経、あるいはドーパミン神経のファイバーがあると黒く染まってくるのですが、これ(下の段)はお薬でドーパミン神経を脱落させているので白っぽい。ところが(上の段のように)細胞移植すると、ドーパミン神経が生着をしています。特に黒っぽいところは、細胞を置いてきた部分ですが、ここを大写しにすると、こんな感じ(一番右)で細胞の塊、細胞体があつて、細胞の軸索という細い腕がたくさん見えているんですが、これが周りに、びゅうっと伸びて被殻全体を覆っているということで、ちゃんとよく生着をしているということが分かってきました。生着した細胞の数を数えると、両側で大体10万個以上、13万個ぐらい平均で生着したということです。先ほど胎児細胞移植で症状が良くなっているという報告をしましたが、あのような報告で、亡くなった後に


生着した細胞の数を数えると、論文によってばらつきがありますが、5万個ぐらいから20万個ぐらい、大体のコンセンサスとして、10万個というのが一つのラインなのですが、実際われわれの方法で10万個以上のドパミン神経が生着するというのが、このサルの研究で確認できたということです。従って、これは臨床に行くために非常に重要なステップになったと考えています。



もう一つ大事なものは、やはり安全性です。「そんな訳の分からない細胞を脳の中に入れて、本当に安全なのか」ということ。実際2年間様子を見て、グラフト(移植された組織)の移植片のサイズを見ても非常に小さいし、実際に顕微鏡で調べてみても、悪性所見とか、あるいは細胞がどんどん増えていますとか、あるいはこれは脳を圧迫していますよとか、そういった所見は全くないということで、安全性もこのサルで確認できました。ですから、途中でもお話しましたように、人間と同じ量を同じ場所に同じような投与方法で見ても、安全でしたということです。

2. 非臨床試験

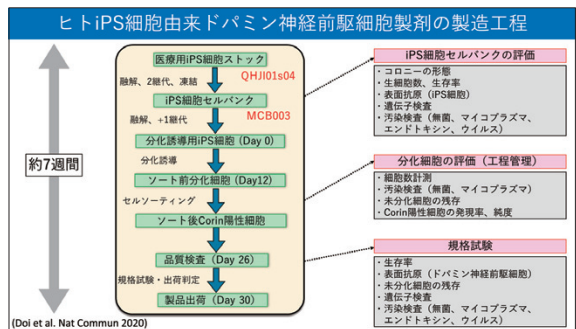
臨床株での安全性・有効性確認
品質管理基準



土井 大輔 Nat Commun 2020

ここまでやったら、もう次は臨床に行けるだろうということで、次の非臨床試験というものに進みました。さきほど説明した実験は研究用の細胞を使ってやっています。何種類もの細胞株を使って、どの細胞株でも大丈夫だということも確認した訳ですが、今度は臨床に行くための試験なので、臨床株を使うことに

なります。実際にこの細胞を患者さんに投与しますよという、それと同じ細胞で安全性、有効性を確認し、品質管理基準、即ちクライテリアを作成します。この基準を満たせばOKです、人に投与できますという管理基準をきっちり作るということです。こういった手順に入っていくわけです。



これはiPS細胞からドパミン神経を作る工程ですけども、3段階でチェックします。元々出発点のiPS細胞、それから途中でソーティングをした状態、それから最終的にいよいよこの細胞を投与しますよという最終段階です。

工程管理・品質の考え方		
	安全性	有効性
細胞成分	目的外細胞 (造腫瘍性)	細胞数・生存率
		目的細胞の純度
		効能・力価
非細胞成分	工程由来不純物	生生活性物質
	目的外生生活性物質	
	無菌・マイコプラズマ・エンドトキシン・ウイルス	

参考：平成24年度5月計(ヒトiPS細胞細胞加工製造品等の品質及び安全性の確保について) 平成26年度再生医療製品の品質、有効性試験及び臨床試験の実施に関する説明会ガイダンス

特に最終製品については、既に厚生労働省からこういう考え方に基づいて試験を下さいよというのが示されています。細胞成分と非細胞成分、それから安全性に関わる項目、有効性に関わる項目ということです。

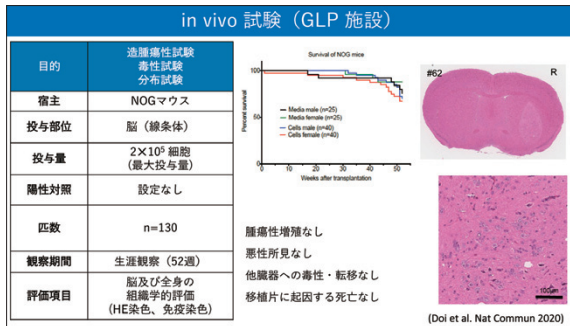
まず、やっぱり一番大事なのは、薬なので有効成分は何か、それはしっかりあるかということですね。目的細胞がどれぐらい純度高く入っているかということ。それから、もう一つは、入ってはいけない細胞は何か、それはちゃんと取り除けているかというようなことをしっかり示すことです。それ以外のこと、例えば目的外生生活性物質。目的細胞はドパミン神経なので、その細胞はちゃんとドパミンを作ることができるのか、あるいはバクテリアとかウイルスとかが生まれていないか等です。

これを言い出すと、いっぱい項目があって大変なの

品質規格試験 (最終製品)				
有効細胞成分 = ドパミン神経前駆細胞	試験項目	試験方法	規格/判定基準	
	生存率	フローサイトメ	生存細胞割合 ≥50%	
目的外細胞成分 = 未分化iPS細胞 神経幹細胞 形質転換細胞	試験項目	試験方法	規格/判定基準	
	未分化iPS細胞	Taqman qPCR	POU5F1, LIN28	発現量が未分化iPS細胞と比較して1/100以下であること
癌関連遺伝子の異常なし: COSMIC ver.83 (723 genes) 厚労省リスト (236 genes)	試験項目	試験方法	規格/判定基準	
	プラスミド残存なし	SNPアレイ	ドナー細胞と比較して10kb以上の領域または欠片が検出されないこと	
無菌、ウイルスフリー	試験項目	試験方法	規格/判定基準	
	汚染検査	IP17 インゲンフィルター法	無菌試験	検出されないこと
		IP17 CITE (PCR)	マイコプラズマ	検出されないこと
		IP17 比濁法	エンドトキシン	≤1 EU/mL (暫定値)

(Doi et al. Nat Commun 2020)

ですが、ざっと言うと有効細胞成分はドパミン神経前駆細胞で、これをこういう方法(表の上段)で見つけます、規定しますということ。目的外細胞、これは入ってはいけない細胞のことですが、未分化なiPS細胞や元々のiPS細胞のままの細胞。さらに形質転換細胞。これはどういう細胞かという、細胞に、特にがんに関連した遺伝子に傷が入っていると異常な増殖をしてしまう可能性があり、そうすると脳の中でふわっと増えて神経を圧迫してしまう。そういったことがないですということ、がん関連遺伝子の異常、遺伝子のテストをやりました。何百という遺伝子について全部調べる。こういったことをやります。そして、実際に出荷するための基準というのもしっかり作って、今後はこれを満たした細胞を実際に患者さんに投与するというようになっていきます。



こういった細胞が、実際体の中で腫瘍を作らないか、それから毒性を持たないか、あるいは脳以外の変なところに行ってしまうのかというようなことも調べる必要があって、ここも細かいことは省きますが、免疫不全のマウスの線条体、即ち実際の患者さんに打つと同じ部分に最大投与量の投与をし、検査しました。世界で初めてやったので、そもそも規制する側もどれだけ見ればいいのか分からないので、取りあえず現代の科学でできるだけのことをやりましょうということで、ネズミが死ぬまで結局結果的に52週間、約1年

間観察をしました。これで分かったことは、腫瘍を作ることではなく、悪性所見もない。他の臓器に行ったりもしないし、それで死ぬということもないといったようなことで、安全性も確認できたということです。

3. 治験

合理的なデザインとエンドポイント

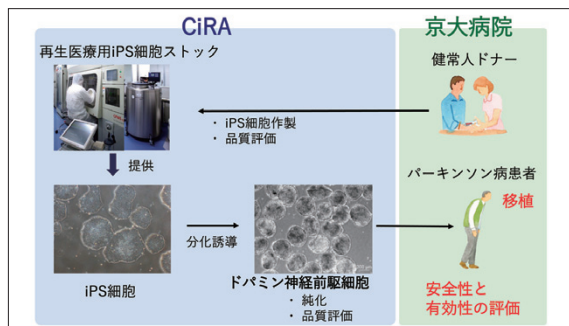
ということで、確かに臨床株でも安全性、有効性も確認したので、このデータを持って、国と京都大学にある委員会にかけ、OKということで、いよいよ治験という実際の患者さんでこの細胞を試すということになります。

臨床試験 (治験)

パーキンソン病に対するヒトiPS細胞由来ドパミン神経前駆細胞の細胞移植による安全性及び有効性を検討する医師主導治験(第I/II相)

2018年8月1日：患者募集開始
 2018年10月：第1例目手術(片側)
 2019年：第1例目(対側)、2、3例目(2例目からは両側)
 2020年：第4例目
 2021年：第5、6、7例目(予定手術を完了)

患者さんの募集を開始したのは2018年で、最初の手術が10月です。19年、この頃から、コロナでなかなか手術そのものができなくなってしまいましたが、何とか21年に、予定していた7例全て完了することができました。



これはアウトラインですが、京大病院で患者さんから血液を頂いて、臨床用のiPS細胞を作り、ドパミン神経を作って、京大病院で脳外科医が移植して、神

経内科と放射線科の先生が安全性、有効性を評価するといったようなことをやっています。

治験デザイン概要

- ✓ 単施設（京都大学医学部附属病院）
- ✓ 非盲験
- ✓ 非対照（術前 vs. 術後比較）
- ✓ 7症例（ただし1例目は、片側ずつ）
- ✓ 観察期間は術後24か月

京大病院で、術前と術後の症状の比較をするということ、2年間かけてやっています。対象症例は7例。手術はもう全て終わっているので、現在は術後の観察期間に入っています。最終的な結果が出るのが、恐らく2023年か、或いはまとめるのに時間かかったら2024年ぐらいになると考えています。

適格基準


対象疾患：パーキンソン病

主な選択基準：

- 1) パーキンソン病である
- 2) 薬物での症状コントロールが不良である
- 3) 同意取得時の年齢が50才以上70才未満である
- 4) 罹病期間が5年以上である
- 5) オン時のHoehn&Yahr重症度分類がstage I～III
- 6) オフ時のHoehn&Yahr重症度分類がstage III～V
- 7) 投薬中止後のL-Dバ反応性が30%以上である

主な除外基準：

- 1) 精神疾患や認知症、重篤な合併症がある
- 2) パーキンソン病に対する外科治療を受けている

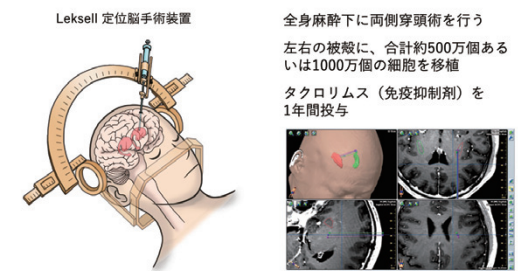


どういう患者さんが対象になるかということですが、細かいことは省きますがパーキンソン病というのは5段階あります。軽い人から重い人。軽い人は、最初お話ししたように、薬で十分対処できます。それから重くなりすぎると、ドパミン神経以外のいろいろなところがやられてくるのでちょっと遅すぎる。ですから中間ぐらいの人が対象になります。

定位的脳手術による細胞移植

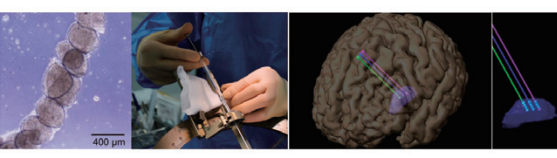
Leksell 定位置脳手術装置

全身麻酔下に両側穿頭術を行う
左右の被殻に、合計約500万個あるいは1000万個の細胞を移植
タクロリムス（免疫抑制剤）を1年間投与



実際の手術ですけれども、これは定位置脳手術といえます。細胞を打つ場所は、小さい部分なので、そこを正確にちゃんと計算をして、そこに至るまでどういう方向に何ミリ進めるかというのをコンピュータでシミュレーションして、実際にこういう装置で小さな穴から針を通していきます。

手術内容



1つの刺入経路ごとに細胞塊(sphere)を装着して注入

3本の刺入経路を用い、1つの刺入経路あたり2mm間隔で4～8か所ずつ合計約250/500万個の細胞を移植（両側で約500/1000万個）

細胞というのは、400マイクロメートルぐらいの塊なのですが、これを針に吸って、3回針を通して、ポツポツポツポツ、こんな感じで細胞を打っていく。大体両側合わせると、最初の3例は500万個で、4例目以降は1,000万個打っています。

評価項目

<主要評価項目>

- 1) 有害事象の発現頻度と程度
- 2) 移植後24ヶ月における脳内の移植片増大の有無

<副次評価項目>

- 1) MDS-UPDRS
- 2) 一日平均オン時間、オフ時間
- 3) Hoehn & Yahr重症度
- 4) PDQ-39スコア
- 5) EQ-5D-5L など

この臨床試験で何を見るかというと、まずは安全性ですね。いろんな悪いことが起こっていないか、特に脳の中に腫瘍ができていないかというのを見ます。そして、副次項目としては、いろんな症状の変化。放っとくとパーキンソン病というのは悪くなっていきますから、術前と比べて、それがどうなのか。悪くなるのが収まるのか、あるいは逆にV字回復で良くなるのか、そういったことを見ています。

それと同時に、症状だけだといろんな先入観が入る可能性もあるので、より客観的な標本としてPET、これはサルの実験の時に見ましたけれども、実際にFDOPAでドパミンができていのかどうかを見ています。これも非常に客観的かつ定量的な指標になります。あ

PETによる移植細胞・免疫反応の評価

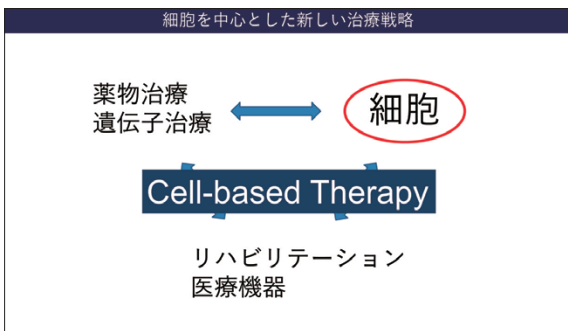
PET (Positron Emission Tomography)

[¹⁸F]FDOPA
 ドパミン合成を検知
 移植細胞の生着、成熟、機能発現を評価

[¹⁸F]FLT
 細胞増殖能を検知
 移植細胞の異常増殖、腫瘍化の有無判定に有効

[¹⁸F]GE180
 炎症によるミクログリアの活性化を検知
 移植後の拒絶反応や神経炎症の有無判定に有効

るいは、実際に移植した細胞が増殖しているかどうかというのも非常に大事なポイントなので、このFLTというPETで細胞増殖を確認します。これは悪性脳腫瘍の凶なのですが、万が一移植した細胞が増えてくるとこのように光ってくるので、これで安全性を確認する。それから免疫反応を見る、脳の炎症反応を見るといったようなこともあります。



そんな感じで、現在既に手術が終わっているので、この結果がどうなるかというのを、実際、ちょっとどきどきしながら待っているわけですが、もしも結果が良ければ、限定付きですけれども、パーキンソン病の治療法として、この細胞移植も認められるということになります。しかしこういった技術は、やはり次々と、どんどん進歩していく必要があるので、現在は、確かに細胞ができた、細胞移植して失われたドパミン神経を補うことができた、あるいはできそうだといいところですが、この細胞の機能を高めるために、生着率を良くするとか、ドパミンの放出を良くするとか、あるいは、この軸索の伸びを良くするとか、改善し続ける必要があります、そのためには、例えば、従来行われていた薬物治療や遺伝子治療、あるいはリハビリ、あるいは医療機器、こういうものと組み合わせて細胞の機能をさらに高めていくというのが、これからこの細胞移植の進んでいく道ではないかと考えて、現在は、もう一回少

し基礎研究に戻って、進めているところです。

謝辞

京都大学, 京都
 森美飛鳥, 土井大輔, 菊地哲広
 坂口秀哉, 佐俣文平, 孫谷弘明
 吉田賢司, 平松里恵, 高橋秀明
 菅尾祐輔, 窪田 慶, 山崎絵海
 中村仁美, 志賀令奈
 CIRA(高橋淳ラボ)

山仲伸, 高橋和利, 中川誠人,
 沖田圭介, 堀田秋津 CIRA
 高橋良輔, 澤本伸克 神経内科
 宮本 享, 菊池隆幸 脳神経外科

理化学研究所, 神戸
 笹井芳樹 CDB 尾上浩隆, 林 拓也, 水間 広, 高良沙幸 CLST

関口清俊 大阪大学, 尾野雄一 KAN研究所
 椎名 隆 東海大学, 小笠原一誠 滋賀医科大学

国立研究開発法人 日本医療研究開発機構
 Japan Agency for Medical Research and Development

さて、今日お話しした研究や試験を進めていくにあたっては、われわれのラボメンバー、あるいは京都大学、あるいは他のいろいろな大学の方にお世話になりました。

謝辞

治療にご協力いただいた患者さん

KU:IP
 脳神経内科, 脳神経外科, 放射線診断科
 脳神経研究センター (IBCT)

国立研究開発法人 日本医療研究開発機構
 Japan Agency for Medical Research and Development

IPS細胞基金
 CRP
 FiT
 赤堀栄研究
 細胞調製施設

大日本住友製薬
 脳細胞製造

HITACHI
 Inspire the Next
 自動培養装置

東和薬品
 免疫抑制剤 (タクロリムス)

TOP
 細胞移植用医療機器

med+phosice
 PET 検査薬

KAN RESEARCH INSTITUTE, INC.
 抗CORIN抗体開発

JMS
 細胞搬送装置

SNBL
 造腫瘍性試験
 一般毒性試験
 奇形腫形成能評価試験

それから何といっても治療に協力していただいた患者さん、非常に勇気のある行為だと思います。あるいは京都大学のドクター、それからコメディカルの方々、それからたくさんの方々の企業の方々にお世話になりましたし、それから資金面では、日本の国、あるいはIPS細胞基金にお世話になっています。この場を借りて御礼を申し上げます。以上です。どうぞご清聴ありがとうございました。(拍手)

講演者
高橋 淳 (たかはし じゅん)
 京都大学 iPS 細胞研究所 所長
 京都大学 教授

本稿は2022年9月14日に新宿区立牛込筋筒区民ホールで開催された、当協会主催「第44回測定調査技術発表会」における、高橋 淳氏の特別講演の内容をまとめたものです。