

iPSC衍生的角膜上皮细胞的临床研究

Prof. Ryuhei Hayashi 的一篇访谈

2019年8月，大阪大学医学院研究生院的Ryuhei Hayashi教授，Nishida Koji教授以及他的同事报告了世界上首例由自诱导多能干（iPS）细胞衍生的角膜上皮细胞的移植。从HLA-纯合的iPS细胞产生角膜上皮薄片，并将其移植到患有角膜上皮干细胞缺乏症的患者中。该临床研究于2019年3月获得日本政府的批准，并于2019年7月进行了首次移植，计划总共进行四次移植。在第一项研究中，安全性被评估为主要重点，疗效（如症状改善和视敏度）被评估为次要重点。

味之素公司提供“StemFit”，iPS / ES细胞培养基，不含任何人类和动物的成分，用于临床研究。这次，味之素就临床研究的重点采访了Ryuhei Hayashi教授。



Prof. Ryuhei Hayashi
(大阪大学大学院医学系研究科)

• 临床研究和进展概述

目前，我们正在为第二位患者做准备。首次手术成功完成，截至2019年11月，该患者目前正在手术后四个月接受随访。第二例患者计划于2019年内完成，首批2例患者的中期评估将在2020年中期进行。前两例采用的移植方案是移植HLA类型与患者不一致且术后需要使用免疫抑制剂的iPS细胞。我们将在中期评估中分析这两个案例的过程，以确定是否应匹配HLA以及是否应使用免疫抑制剂。

此后，我们计划在2020年底再进行两次移植。临床研究计划总共进行4例，并在2021年结束。我认为，重要的是彻底分析每个病例，而不仅仅是操作次数。

• 临床细胞生产中的重点和难点

有很多要点。首先，难以稳定培养iPS细胞。在某些情况下，增长速度因设施、操作人员和地点的不同而不同。SOP的宽度要尽可能大，例如，播种间的初始数量应在设施之间进行调整。相反，我们最终确定iPS细胞衍生的角膜上皮片的产品规格，如果质量相同。设施之间被认为可接受。此外，为项目选择最佳的iPS细胞系也很重要，因为并非所有iPS细胞都可以分化为角膜上皮细胞。从京都大学CiRA提供的多株iPS细胞系中。选择一株稳定有效地分化为角膜细胞的细胞系。这次选择的细胞系即使在最终产物中也没有显示出基因组突变（Cosmic census + Shibata list）。

• iPS细胞的质量控制

iPS细胞在特定的传代次数丢弃。将它们从冷冻的细胞原液中融化，在1-2代后做分化培养，并丢弃多达约10代。已经预先证实，可以从多达10代的iPS细胞中稳定地获得角膜上皮细胞。一种细胞库可以生产供应5-6位患者的细胞，包括质量控制的用品。在放大方面，如果初始的iPS细胞数量增加，则理论上最终产品的数量也会增加。但是实际上，用于纯化眼角膜上皮细胞的细胞分选过程目前存在瓶颈。目前，每天的生产时间是有限的。

·法律和监管角度的重点和难点

目前，尚无将iPS细胞应用于人类患者所需的确定试验项目（现在还没有定义）。因此，我们与Masayo Takahashi博士(RIKEN)和Jun Takahashi博士(Kyoto university.)密切分享和交流了最新信息。RIKEN博士对自体诱导多能干细胞衍生的视网膜细胞进行了临床研究，Jun Takahashi博士对异基因诱导多能干细胞衍生的多巴胺神经进行了临床试验。特别是在致瘤性方面，所需的评估方法因移植部位，移植程序和最终产品的特性而有所不同。因此，为非临床试验设计合理的评估协议并提供可证明细胞产品安全性的数据是很重要的。另外，如果细胞系不同，则即使对于以相同生产方法生产的iPS细胞，也可能再次需要非临床测试数据。因此，有必要尽快确定要用于实际临床研究的细胞系。

在临床研究的框架内，我们就日本生物材料标准向PMDA进行了咨询，并参考了他们的意见。味之素StemFit®AK03N (Basic03) 和iMatrix-511已被PMDA批准用于临床，因此不需要其他数据或文书工作。这非常有帮助。

·培养基和生长因子的选择标准

在决定从哪里购买原材料时，制造商必须具备假定临床使用的先决条件，必须遵守当地法规。例如日本生物材料标准。公司与当局合作进行临床研究或试验也很重要。本项目从前期研究开始使用临床使用的试剂。且临床前到临床的过渡非常顺利，对于批次差异较大的试剂，由于批次检查需要付出巨大的努力。

因此，我们希望在以后更换。

细胞生产早期使用的原材料（例如iPS细胞的维持培养和分化的早期等）对后续细胞产品的质量影响很大，因此转换障碍非常高，需要仔细检查。

使用StemFit培养基的原因和使用效果

以前，进行饲养培养，但StemFit / iMatrix-511组合显示稳定的生长。幸运的是，在我们的案例中，与角膜分化的兼容性非常好，稳定且没有问题。此外，由于味之素StemFit AK03N (Basic03) 具有良好的临床兼容性，因此我们从基础研究阶段就一直使用临床级培养基AK03N (Basic03) 进行实验，以消除因更换培养基的影响。

·未来前景，问题等

如果根据当前临床研究的结果确定不需要将HLA类型的iPS细胞与患者相匹配，我们计划将其与目前正在进行临床研究的细胞系商业化。

目前使用的HLA-纯合iPS细胞系是日本人最常见的HLA类型，可以覆盖大约17%的日本人。同时，由于有比角膜上皮疾病更多的病患者，因此，一项新的角膜内皮再生的计划正在进行中。我们希望在接下来的1-2年内提交一项用于角膜内皮再生的临床方案。因为，我们预计在角膜上皮和内皮再生中将使用相同的iPS细胞系。有可以共享的数据，我们相信将有效率地取得进展。

关于眼组织分化的研究正在进行中。晶状体和泪腺也很感兴趣，然后我们正在努力开发新技术。