

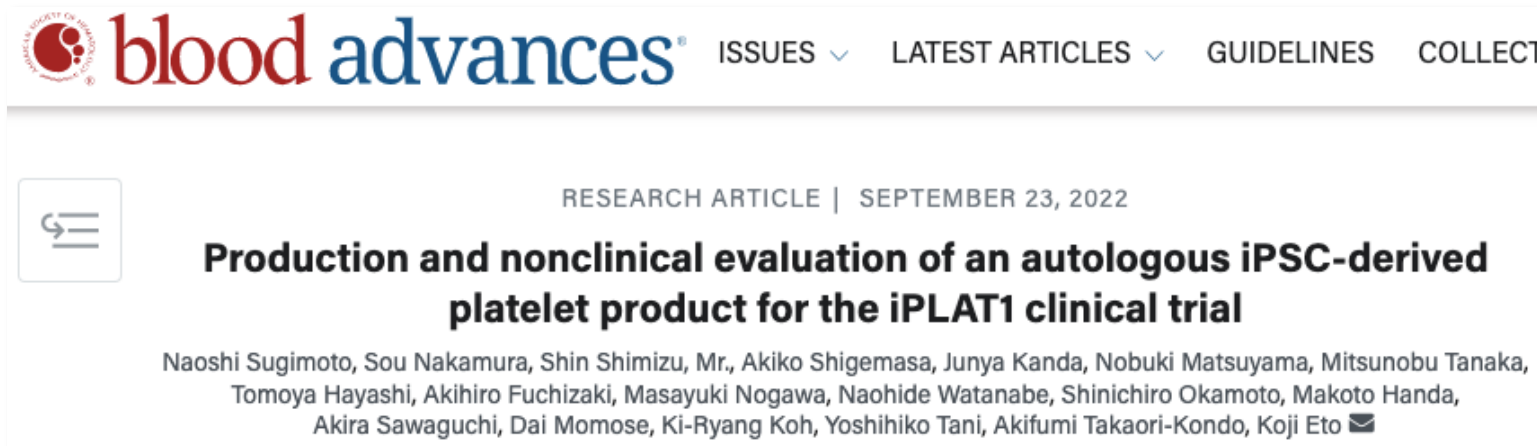
世界初のiPS血小板輸血の臨床試験 (iPLAT1) の実施

京大病院(血液内科)、日本赤十字社近畿ブロック血液センター



Clinical trial

9月 2022



Manufacturing &
Nonclinical test

9月 2022

HPA-1b/1b患者に対する自家iPS血小板の臨床試験

血小板減少症に対する iPS細胞由来血小板の自己輸血に関する臨床研究 (iPLAT1)

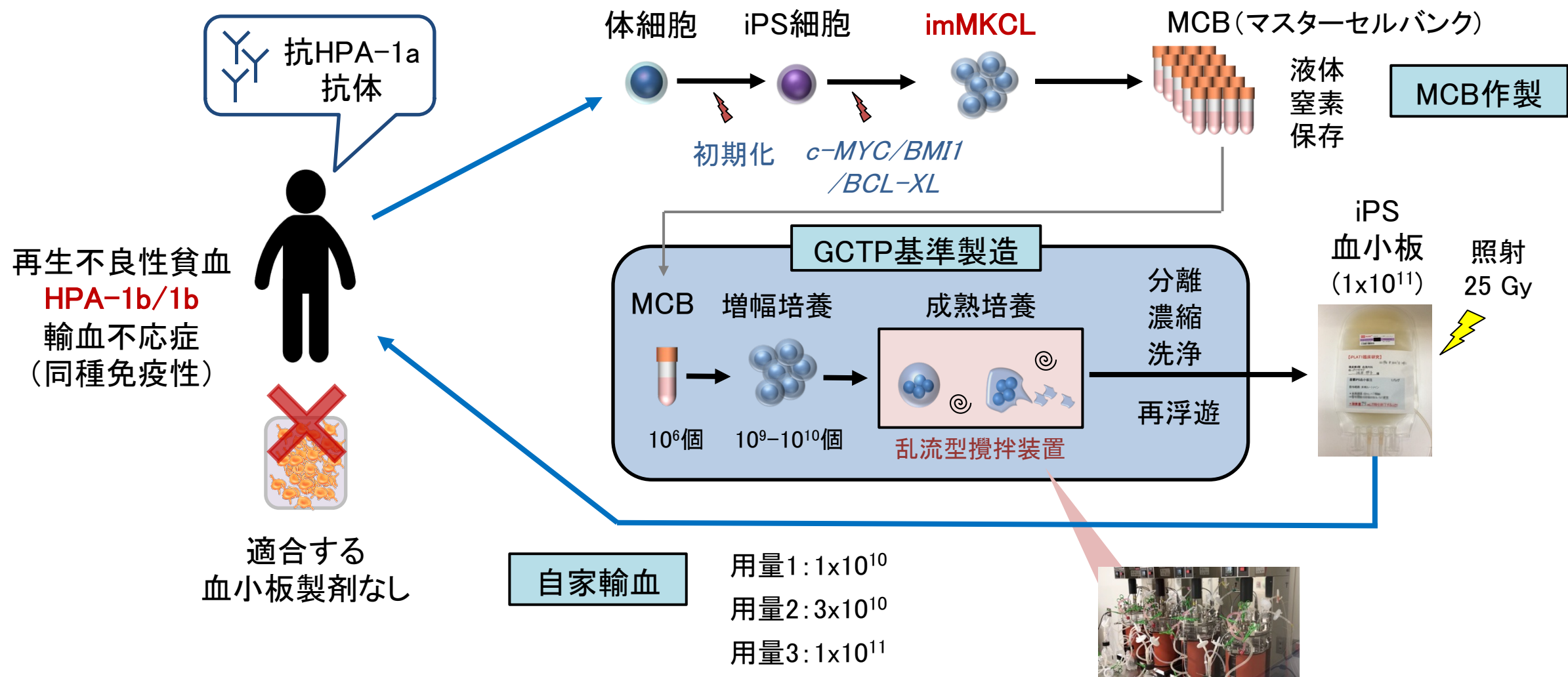
試験対象	再生不良性貧血で、かつ抗HPA-1a抗体による同種免疫性の血小板輸血不応症を併発している特定の患者(1名) * 日赤の登録ドナーにHPA-1b/1bは存在しなかった
試験デザイン	単施設非盲検非対照試験／単回投与用量漸増試験 患者iPS細胞由来血小板製剤(iPS血小板)の自家輸血 (0.5単位、1.5単位、5単位の3用量)
評価項目	主要評価項目:安全性(有害事象の発生頻度と程度) 副次評価項目:有効性(補正血小板増加数)
研究実施期間	2019年3月～2021年1月(血小板最終輸血後1年間の観察期間を含む)

2018.5.28 京都大学 特定認定再生医療等委員会 了承(適合性確認)

2018.9.21 厚生労働省 厚生科学審議会 再生医療等評価部会 了承(適合性確認)

jRCTa050190117

血小板減少症に対する iPS 細胞由来血小板の 自己輸血に関する臨床研究 (iPLAT1)



iPS血小板の出荷試験・品質試験(抜粋)

製剤出荷試験

コホート		コホート 1	コホート 2	コホート 3
項目	規格と方法			
含有血小板濃度	$(5 \pm 1) \times 10^8$ /mL (FACS)	5.1×10^8	4.0×10^8	5.6×10^8
容量	200 ± 40 mL (specific gravity=1)(weight measurement)	204 mL	208 mL	197 mL
含有総血小板数	5 ± 1 units $(1 \pm 0.2) \times 10^{11}$ /bag	Compatible (1.0×10^{11})	Compatible (0.83×10^{11})	Compatible (1.1×10^{11})

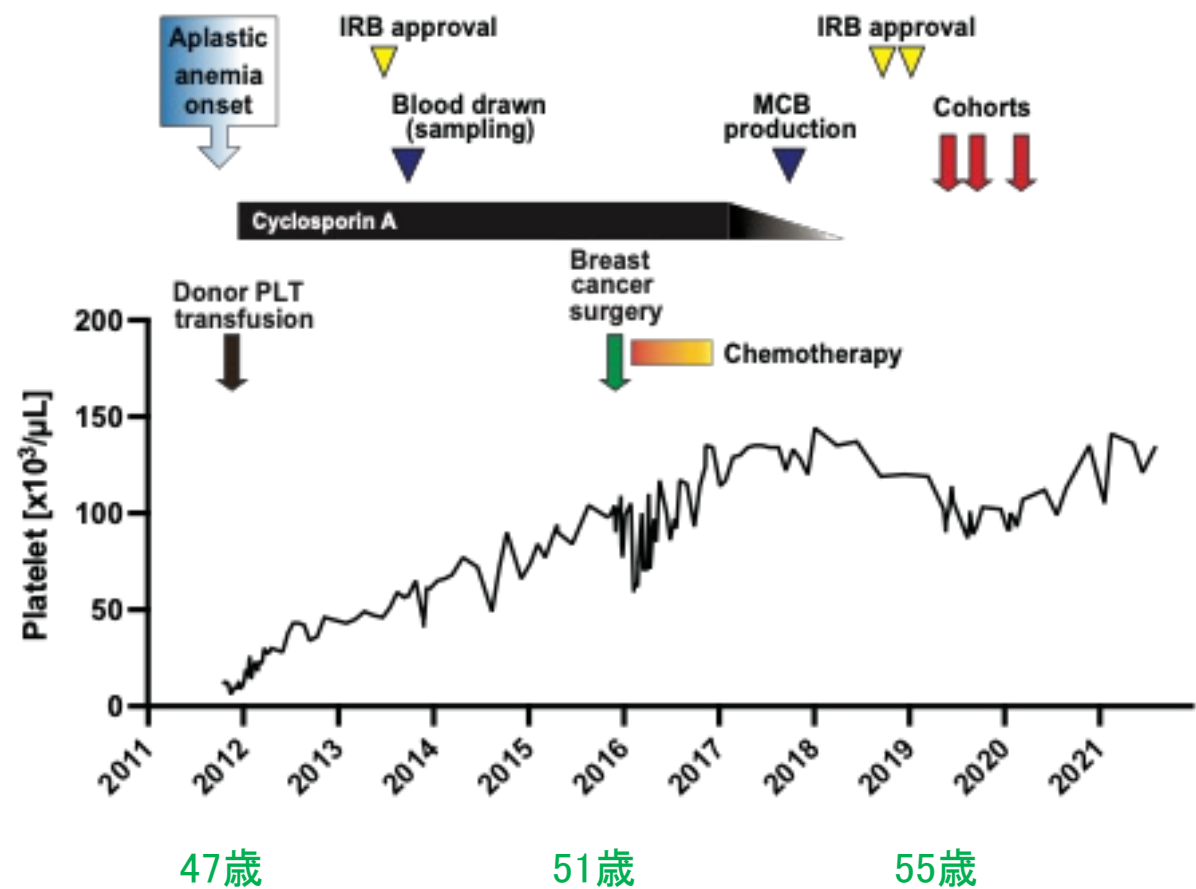
全て規格に合致

製剤品質試験

コホート		コホート 1	コホート 2	コホート 3
項目	規格と方法			
残存imMKCL	$<1 \times 10^9$ /bag (FACS)	合致 1.27×10^7	合致 0.08×10^7	合致 0.11×10^7
Annexin V 結合率	$<40\%$ (FACS)	合致 6.0 %	合致 4.1%	合致 5.8 %

$10^6 \sim 10^7$ レベル程度

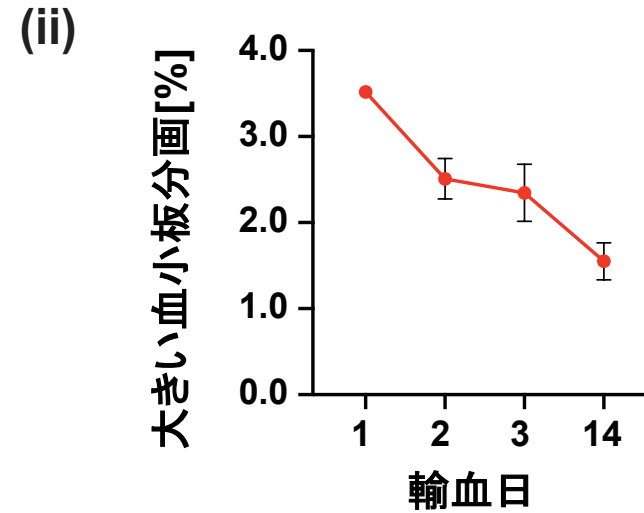
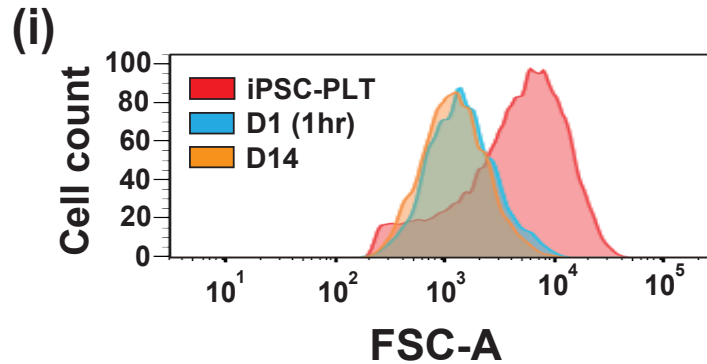
全臨床経過と臨床研究結果



	コホート 1	コホート 2	コホート 3
iPS血小板用量	0.5 単位 (0.1×10^{11})	1.5 単位 (0.3×10^{11})	5 単位 (1.0×10^{11})
液量	20 mL	75 mL	180 mL
投与時間	16 分	28 分	49 分
有害事象	なし	なし	なし
血小板数($\times 10^3/\mu\text{L}$), day -1	93	94	92
血小板数($\times 10^3/\mu\text{L}$), post 1h	90	92	92

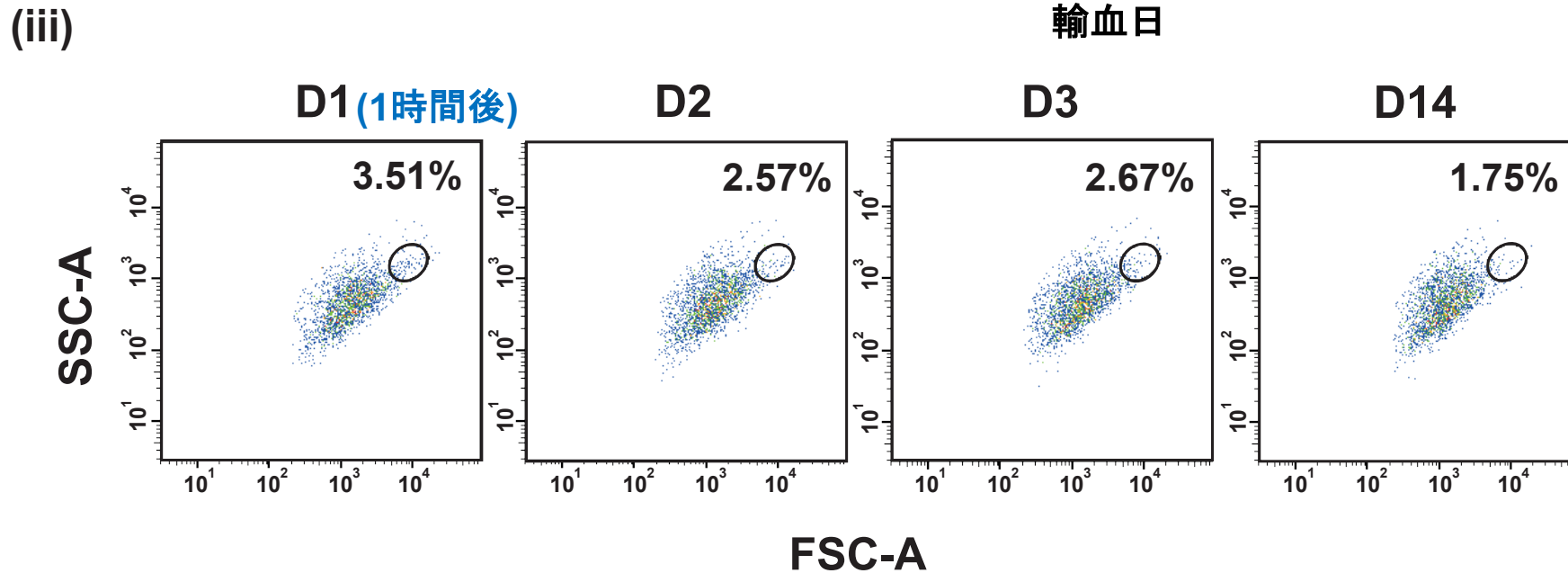
フローサイトメトリーによるコホート3後の末梢血血小板測定

コホート3 (5単位輸血)
CD41+CD42b+血小板分画



輸血前iPS血小板はサイズ
が大きい。

やや大きい血小板の集団が
輸血2日後(day 3)のサンプル
まで検出された。



iPLAT1試験の課題とリバーストランスレーショナル研究

成果

1. GMP/GCTPに準拠した臨床スケール製造法の確立
2. 非臨床試験項目の設定と実施
3. 自家iPS血小板投与の安全性の確認

*Sugimoto & Nakamura et al, 2022, **Blood Adv***

*Sugimoto & Kanda et al, 2022, **Blood***

課題

評価方法不全の可能性

iPS血小板輸血後
の循環測定法
の不確実性

動物モデルと
被験者の
循環動態解離

循環不全の可能性

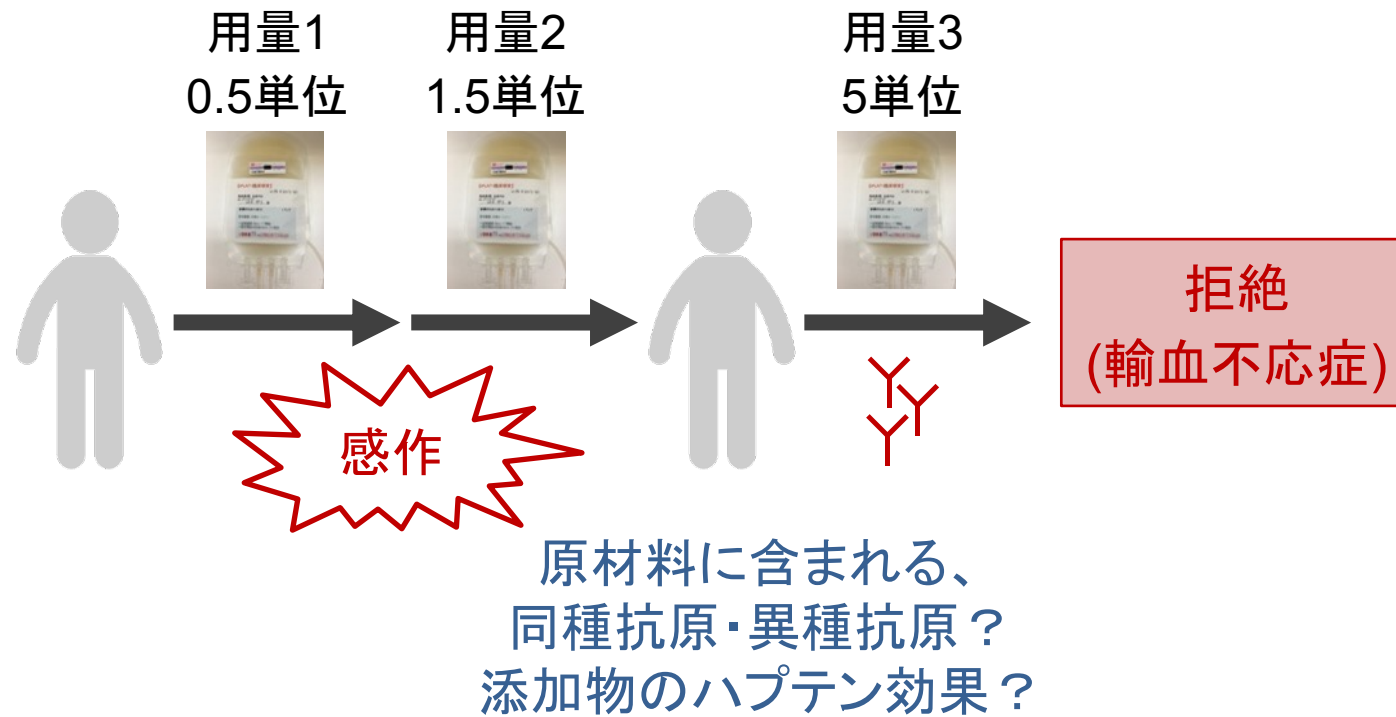
抗iPS血小板
抗体の生成

iPS血小板の
活性化・脱シアル化

imMKCLの老化
・免疫形質保有

① 被験者自家iPS血小板に対する抗体生成の検証

A (自家製剤だが) 抗iPS血小板抗体が産生?



B

抗iPS血小板抗体の検出

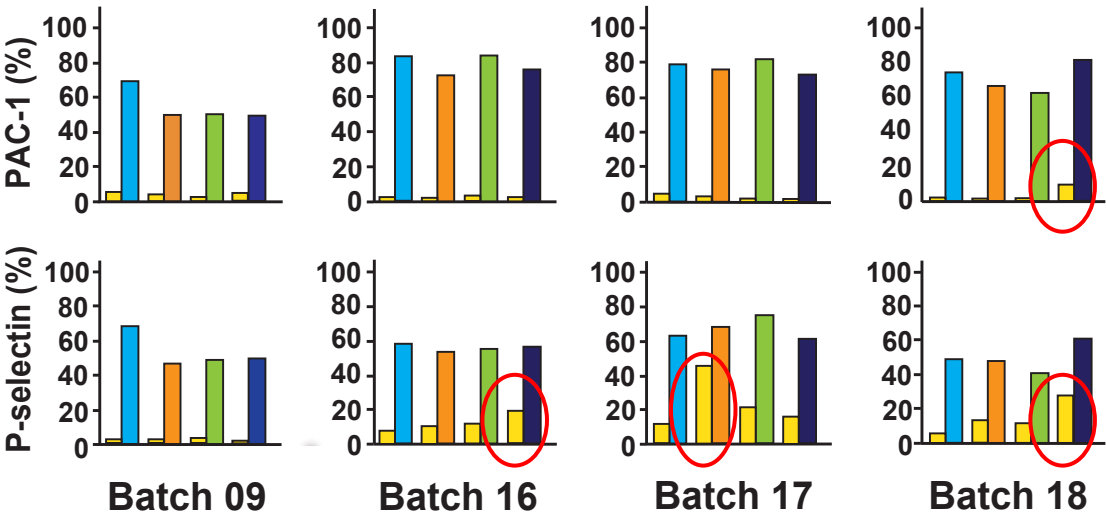


被験者血清中にiPS血小板に対する抗体が存在？

② 製造工程に伴うiPS血小板の活性化・脱シアル化

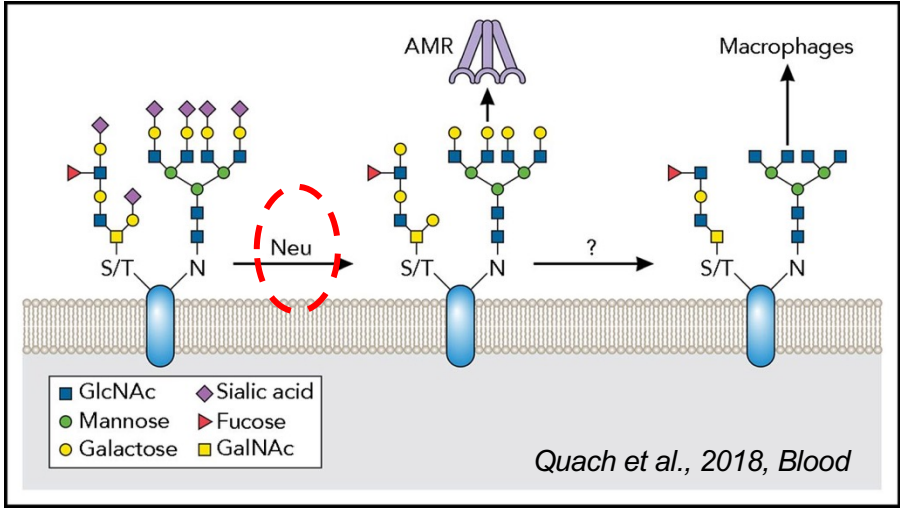
A

製造各工程での血小板品質チェック（刺激応答性）

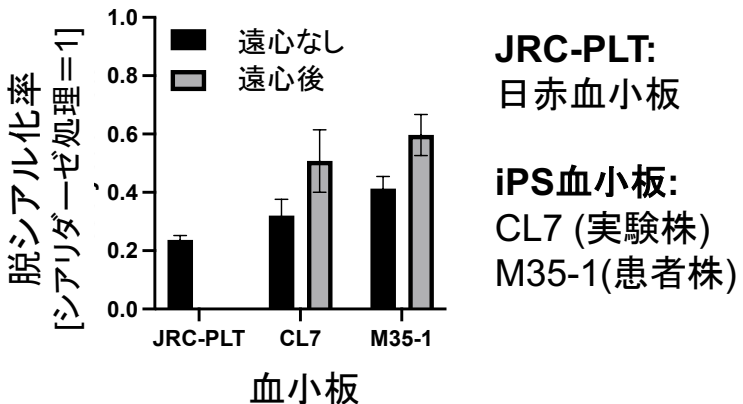


非刺激下でのPAC1結合率とPセレクトリン発現率の上昇
（＝製造操作による低度活性化）
⇒ 凝固による循環不全？

B



血小板の脱シアル化(RCA-1結合アッセイ)



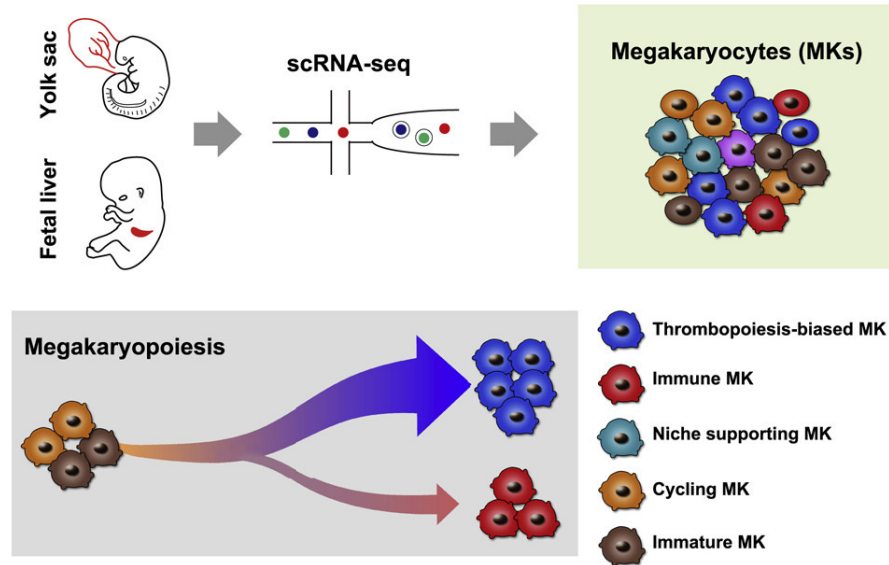
JRC-PLT:
日赤血小板

iPS血小板:
CL7 (実験株)
M35-1(患者株)

脱シアル化高い
（遠心で悪化）
⇒肝細胞と
Kupffer細胞の
取込亢進による
循環不全？

③ 血小板産生・非免疫型被験者imMKCLの選別

免疫巨核球の内在的発生



Wang H. et al., Cell Stem Cell, 2021

ヒト巨核球サブセット

ARNTL+, >8N



血小板産生型

LSP1+, <8N



免疫型

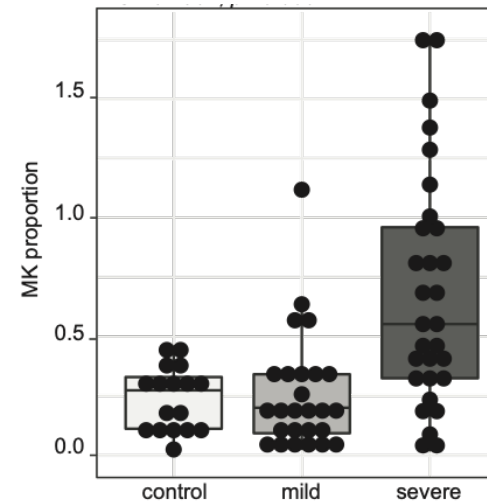
MYLK4+, >8N



造血幹細胞
ニッチ型

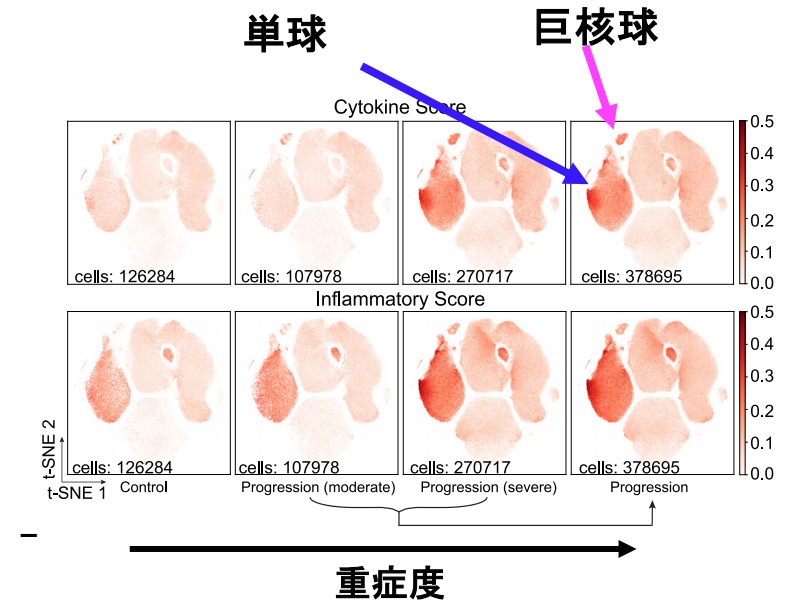
Sun S. et al., Blood, 2021

COVID-19患者における免疫性巨核球の増加



IFN活性化巨核球の増加

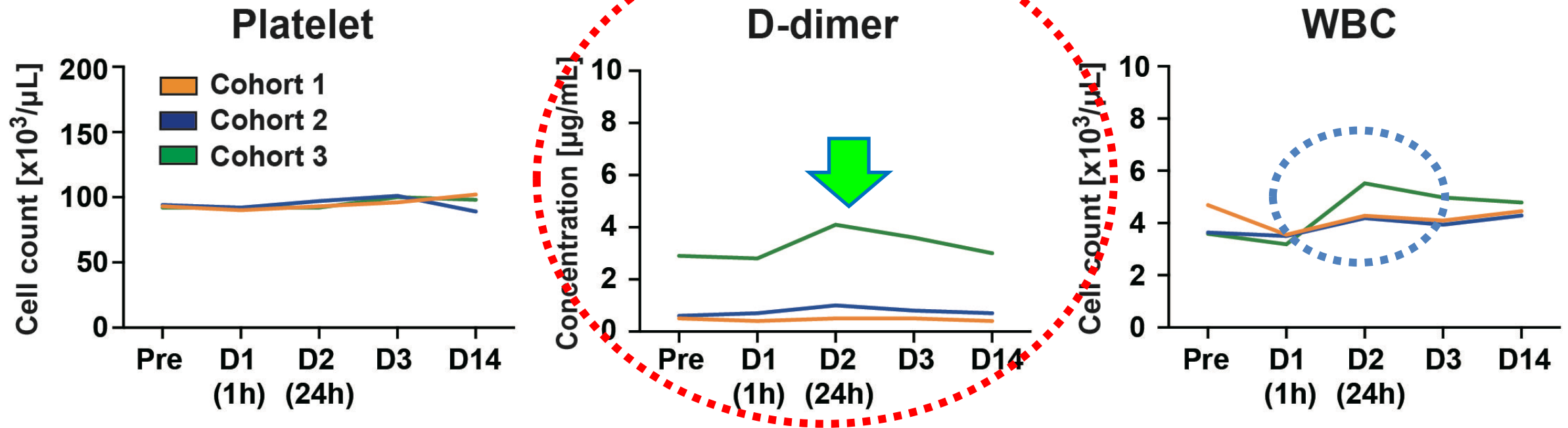
Bernardes et al., Immunity, 2020



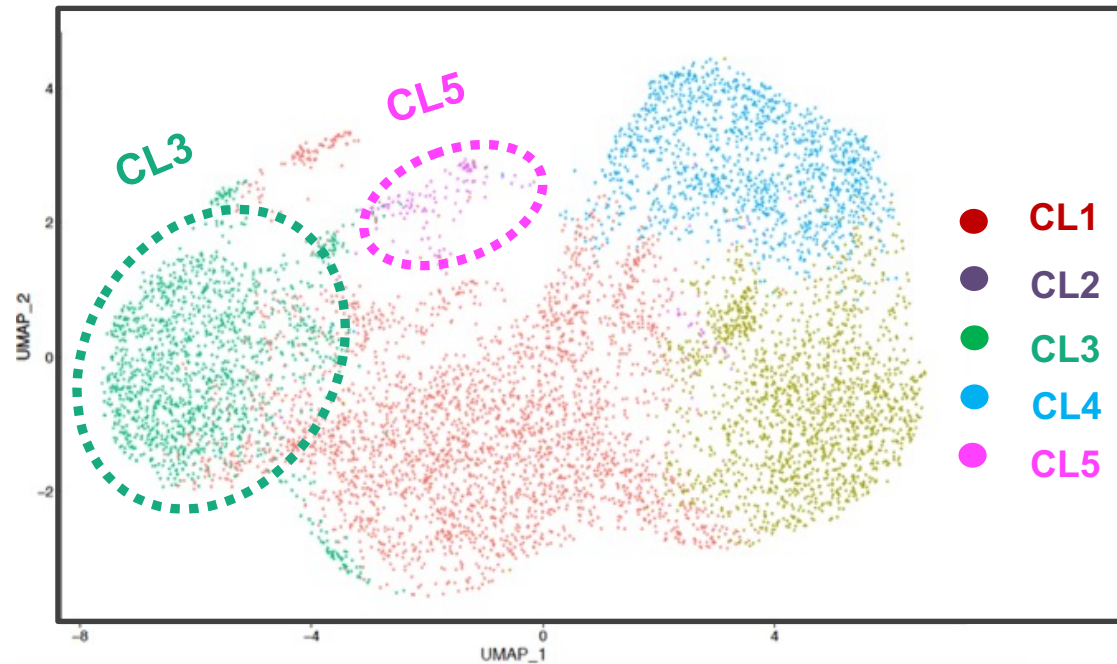
単球と巨核球がサイトカイン・
炎症スコアが高い分画

Ren et al., Cell, 2021

iPLAT1 ~ D-dimerと白血球数の上昇を観察した

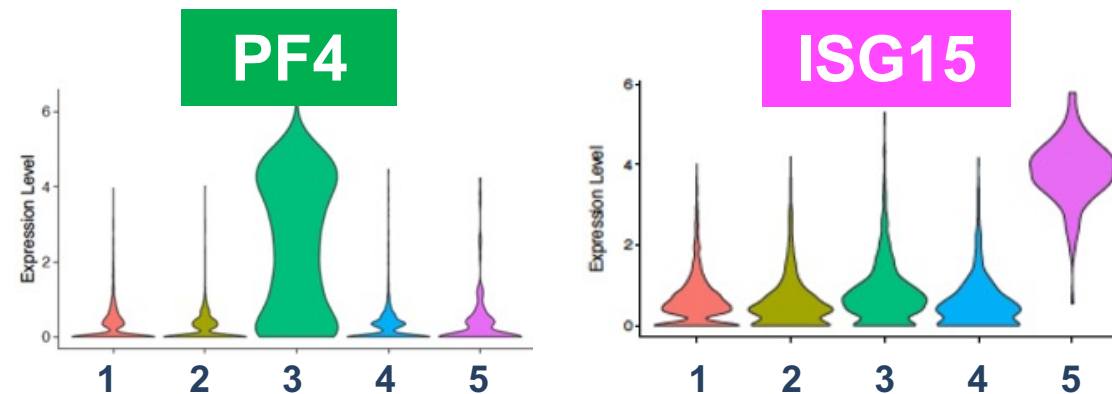


imMKCLにも免疫巨核球の特徴をもつ細胞集団が混在する

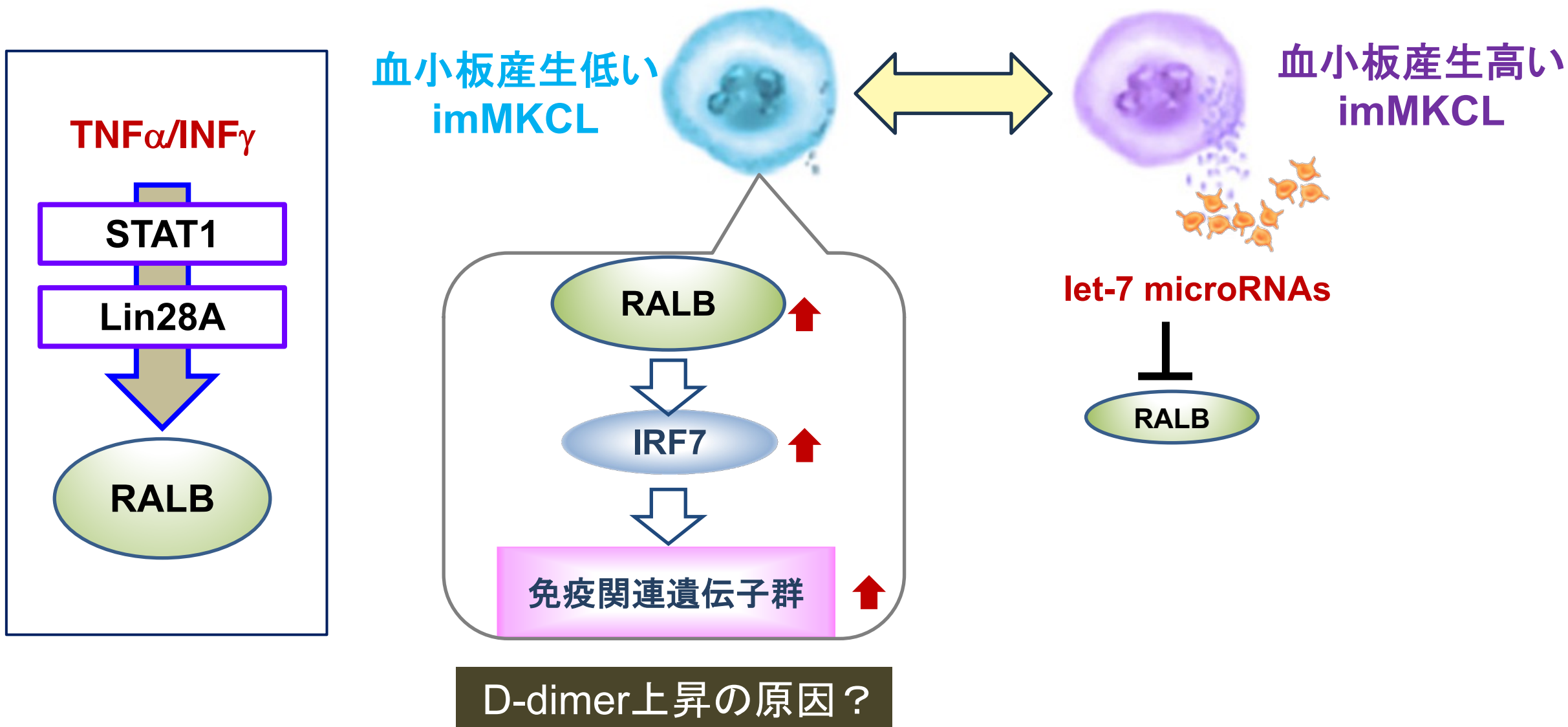


PLT-producing & Inflammation

IFN signaling

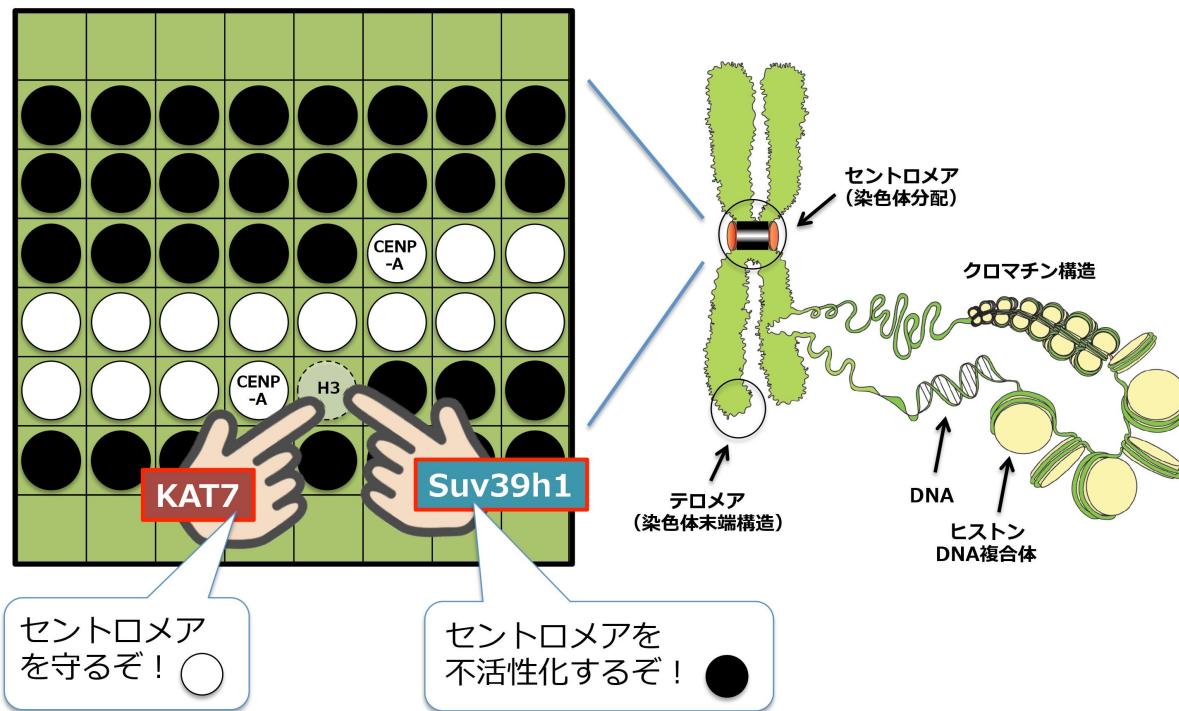


免疫巨核球形質を誘導する制御経路の解明

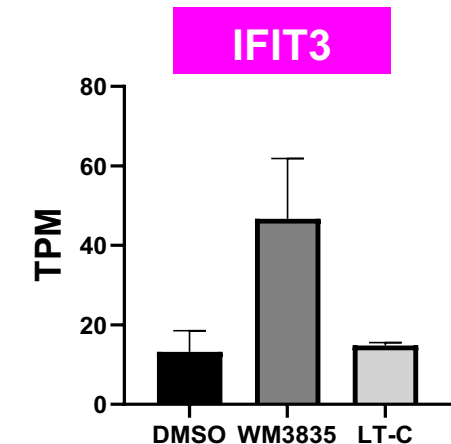
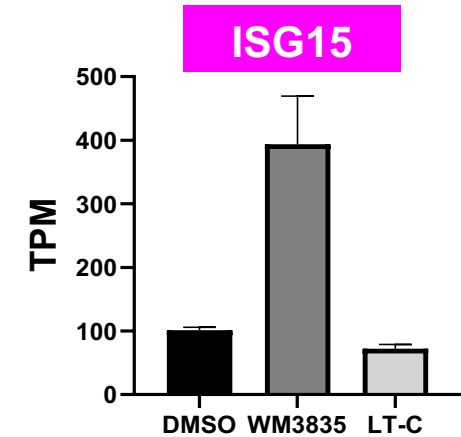


KAT7低下は免疫巨核球へのスイッチ

KAT7/HBO1:
histone H3 and H4
acetylation
in DNA replication

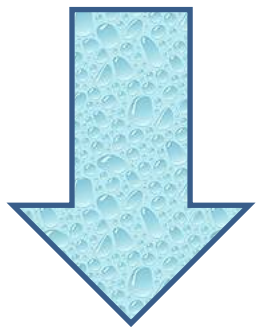


WM3835:
KAT7 inhibitor



iPS細胞由来人工血小板(iPSC-PLT)の臨床開発戦略

献血ドナーに
依存しない
血小板輸血の模索



HLA クラスI 欠失
ユニバーサル対応型
血小板輸血法の開発

終了(京大病院)

自家iPS血小板

2019~2020 (最終化:2021)

Sugimoto, Kanda et al, Blood, 2022

企業治験 中断(京大病院)

同種iPSC血小板 (CiRA-F iPSC)

2021 ~ 2022

同種iPSC血小板
(HLA クラスI欠失)

2027~ 予定

採択テーマ：

汎用性の高い人工血小板の開発

事業の目的・概要

ほぼ全ての患者に拒絶反応なく輸血できるユニバーサルな血小板の開発に向けて、ヒトiPS細胞から人工的に血小板を生産する基盤技術の開発、動物において有効性や安全性等の確認を行う非臨床試験の実施、社会実装を見据えた高効率な生産プロセスの開発と製造及び品質管理体制の構築、ヒトにおいて有効性や安全性等の確認を行う臨床試験の実施を行う。

実施体制

※太字：幹事機関

京都大学・キヤノン株式会社・佐竹マルチミクス株式会社
ミナリスアドバンスドセラピーズ株式会社
東京慈恵会医科大学・千葉大学・山梨大学

事業期間（予定）

2024年度 ～ 2028年度（5年間）

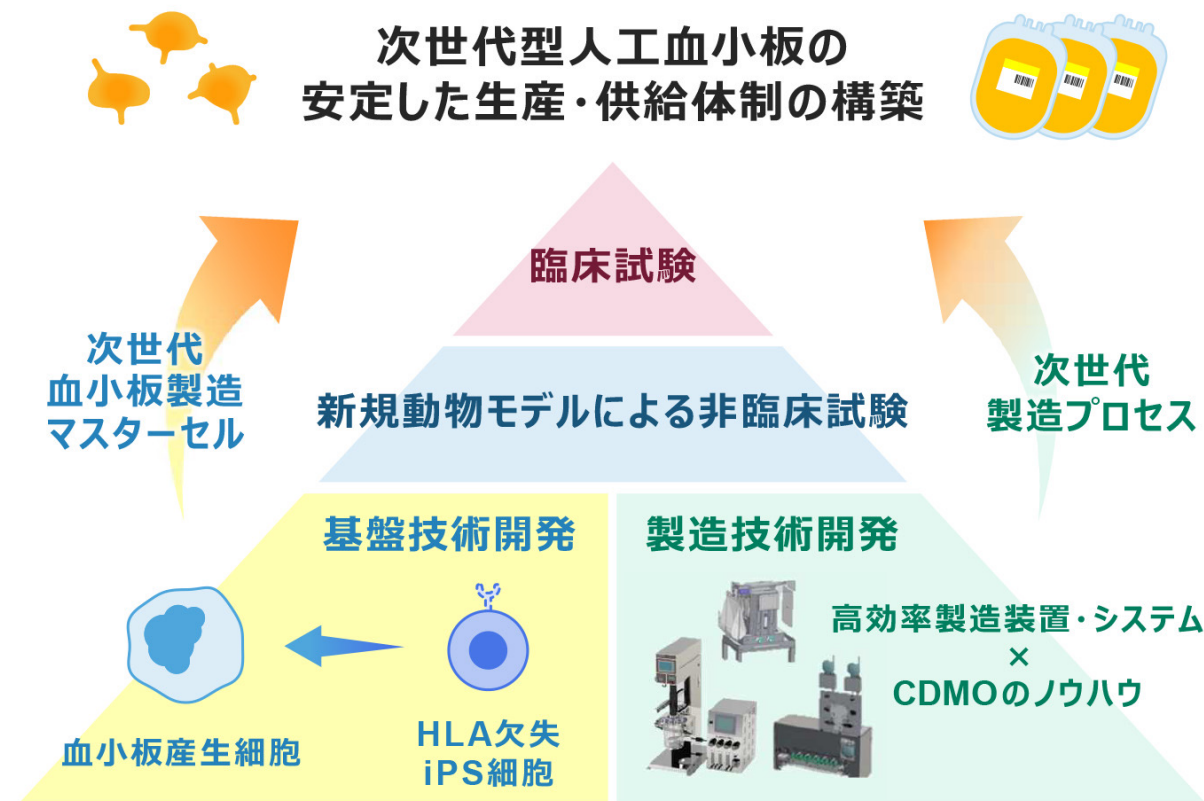
事業規模など

事業規模：50億円（委託事業）

主な研究開発内容

- ① ヒトiPS細胞から人工的に高品質な血小板を生産する新たな基盤技術の開発
- ② 非臨床試験及び臨床試験の実施に必要な血小板量を確保できる高効率生産プロセスの開発
- ③ 社会実装に必要な商用製造を見据えた製造管理・品質管理体制の構築
- ④ ヒトでの有効性や安全性を高精度に予測評価可能な新しい動物モデル非臨床試験法の確立と実施
- ⑤ ヒトでの有効性や安全性等の確認を行う臨床試験

事業イメージ（全体像）



CDMO: 医薬品受託開発製造企業

新しい次世代の人工血小板製造と供給のための戦略

- ユニバーサルタイプ（HLA欠失）
- 免疫巨核球の排除
- ミトコンドリアが豊富な血小板を産生する巨核球株
- ヒューマンエラーの排除（大型化・オートメーション化）

臨床研究:4基 = 製造コスト・human エラーと相関



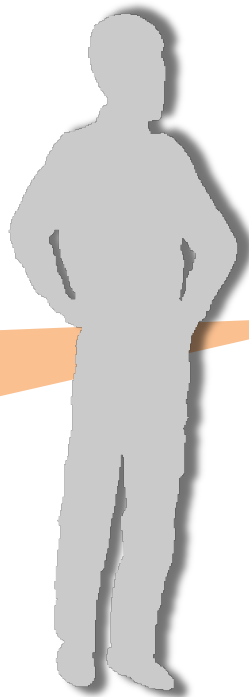
製造管理および作業効率
の観点から、
1つの容器による製造方法
の開発が望まれた

45Lスケール血小板製造への挑戦 (商業用製造を目指したシングルユースバック)

45Lスケール
上下動式培養装置
VerMES50

新開発

シングルユースバッグ

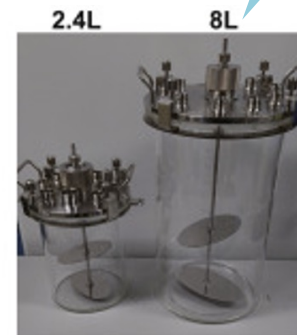
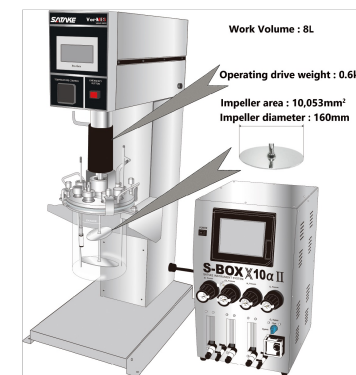


従来型

臨床研究で使用

VMFリアクター
(0.3L / 2.4L / 8L)

ガラス容器



スケールアップされた培養槽(10L以上)では、乱流刺激のデッドスペースが広がり、低血小板産生と不均一な品質を示す

3L培養槽
(2.4L培地)

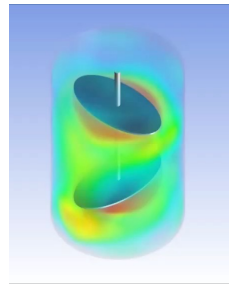
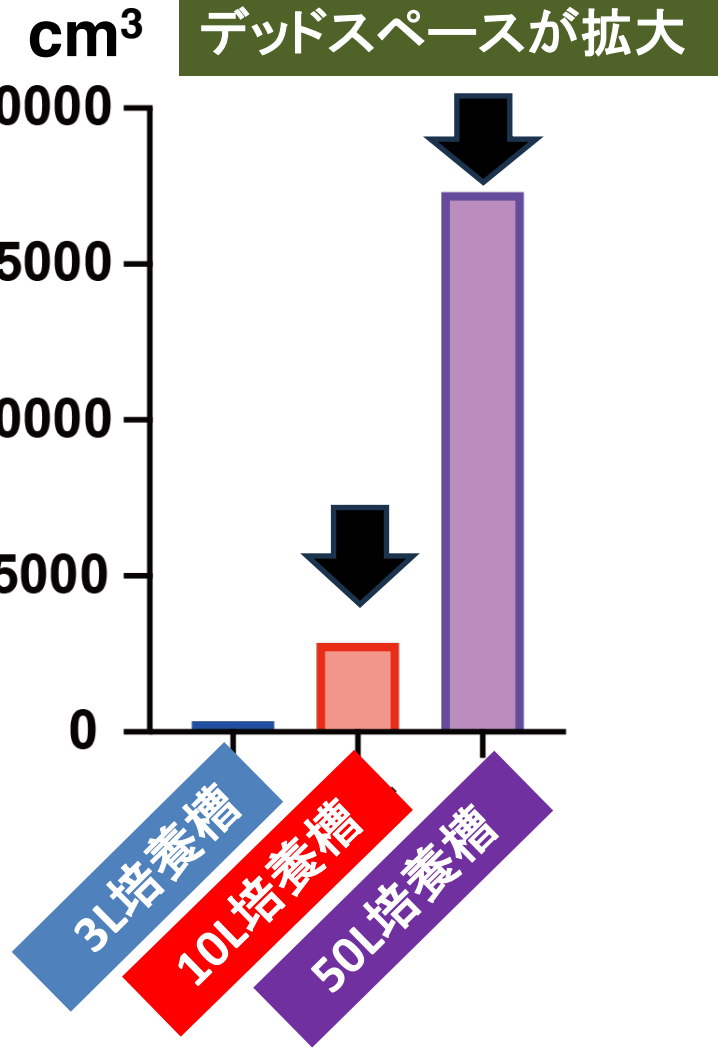
10L培養槽
(8L培地)

50L培養槽
(45L培地)

最適化不十分

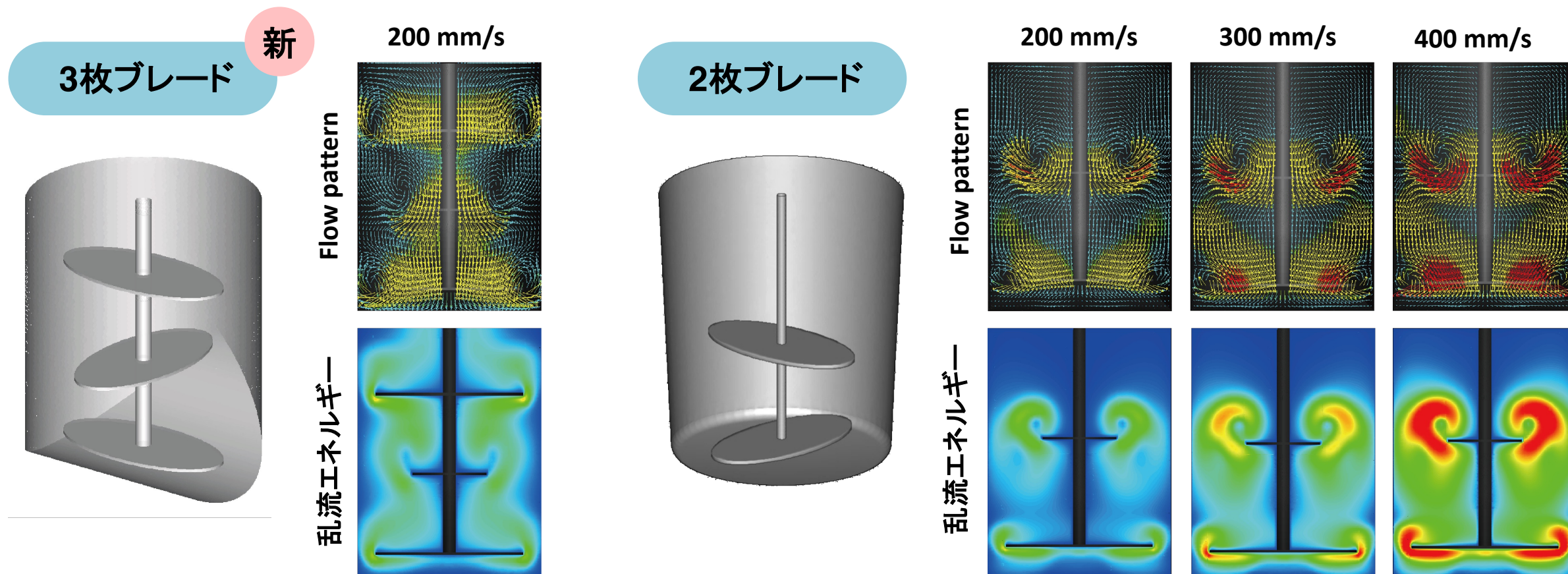
最適化不十分

乱流エネルギーが消失してしまっている容積



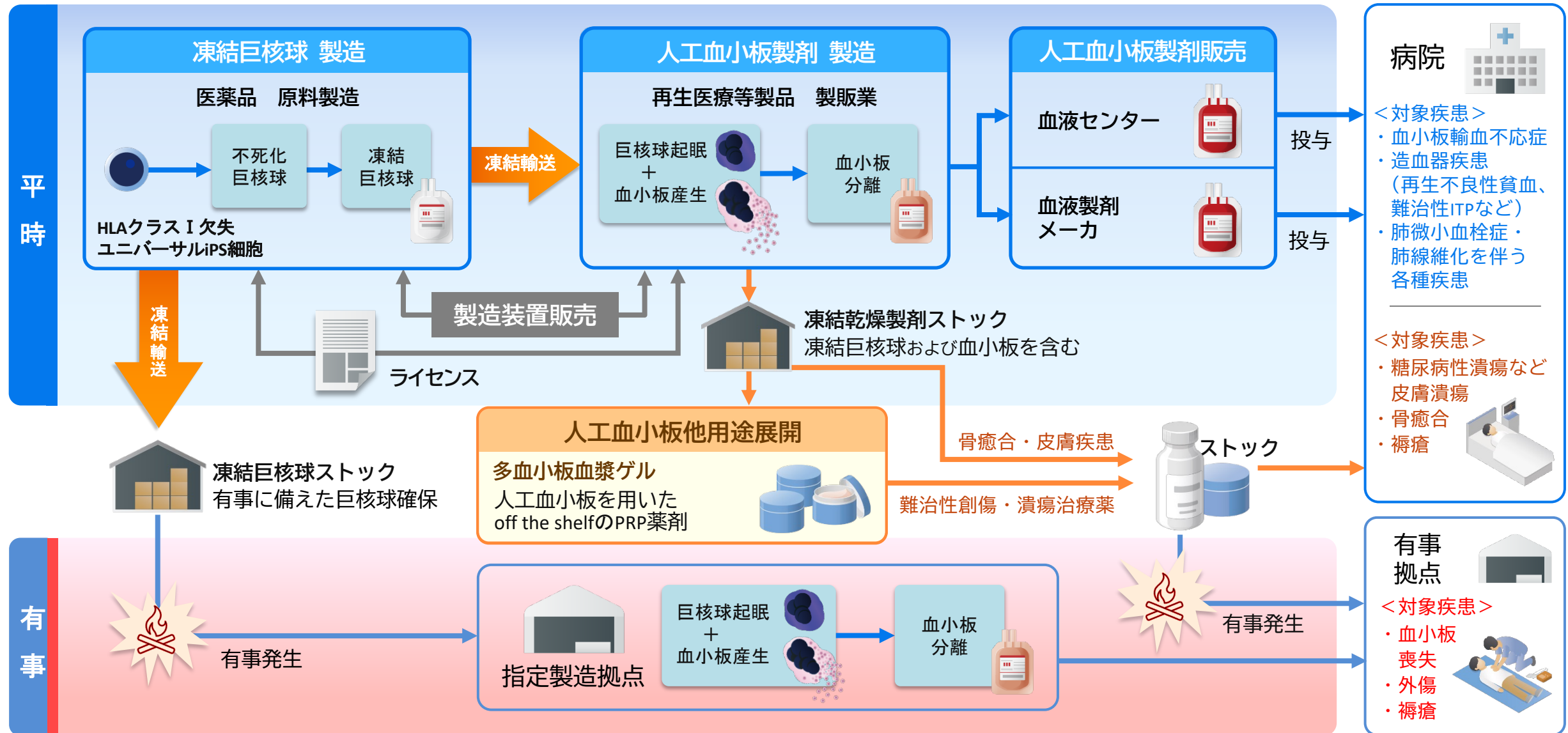
Cell, 2018

45Lスケール:ブレード(インペラ)構成の変更による乱流刺激の最適化

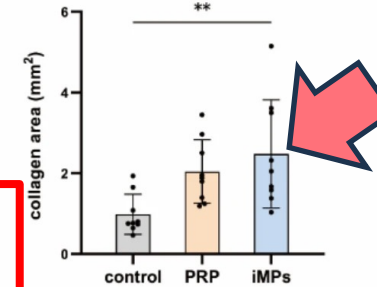
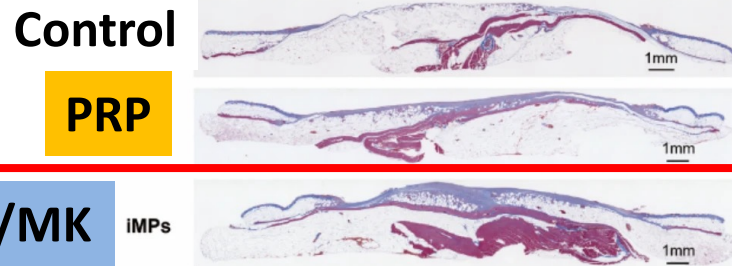
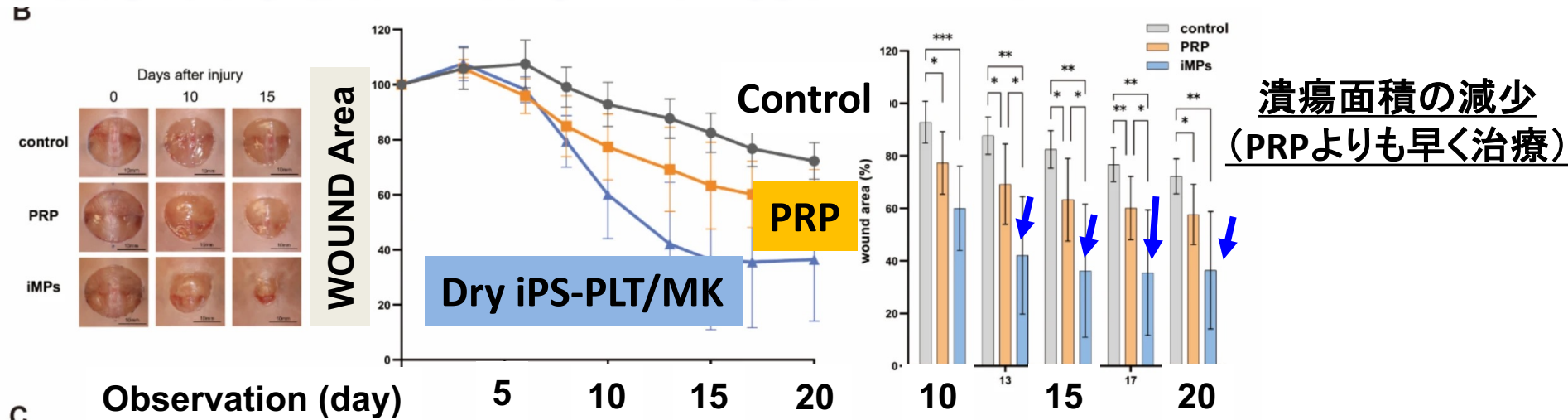


CFDシミュレーションにおいて、3枚ブレード(インペラ)構成が有効であることを示唆

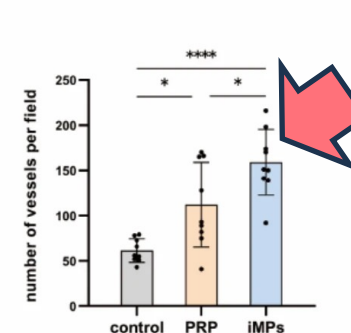
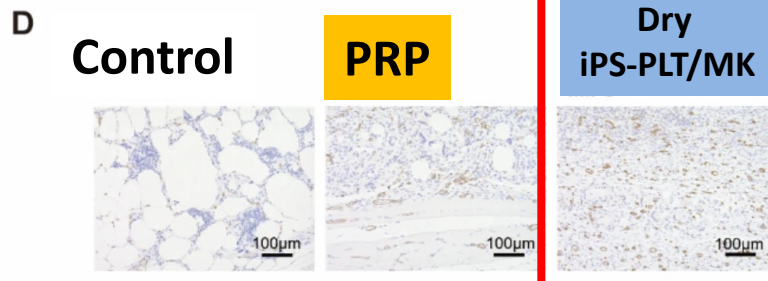
iPS細胞由来 人工血小板製剤 想定エコシステム ～社会実装に必要な事業要素～



製造後に余ったユニバーサルiPS血小板・巨核球残存物の凍結乾燥製剤の効果～皮膚再生の例



皮膚の再生
(PRPよりもiPS細胞由来
巨核球・血小板凍結乾燥
が効果高い)

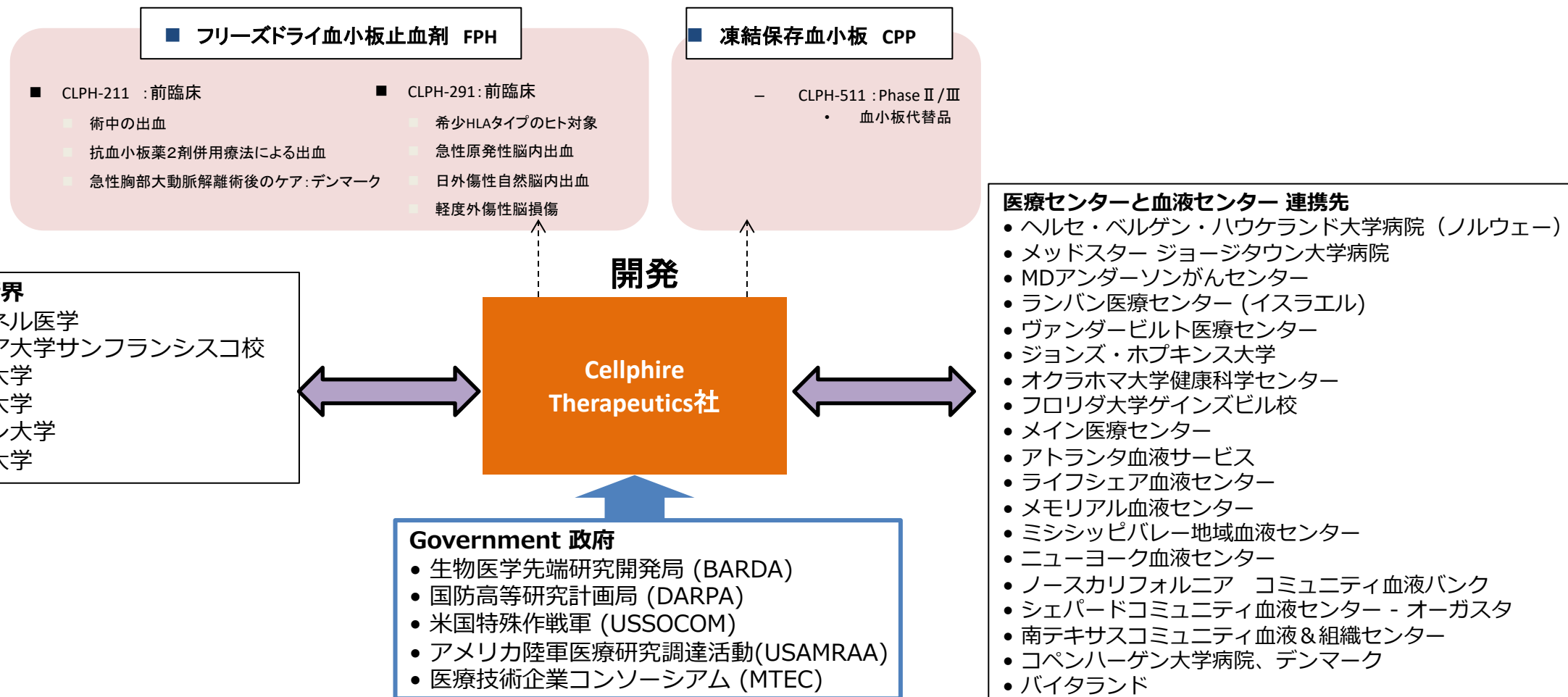


血管新生効果も
PRPよりも高い

血小板動向(グローバル需要)

米国事例 : Cellphire Therapeutics社

米国政府は、Cellphire Therapeutics社に対して、5700万ドルの資金を助成（2013年）
シリーズA資金調達 1500万ドル完了（2021年）、米国防総省と2,000万ドル契約（2024年）



(情報ソース)

- <https://www.defensedaily.com/contract-awards/contract-award-cellphire-inc-rockville-maryland-20000000/>
- <https://www.defensedaily.com/contract-awards/contract-award-cellphire-inc-rockville-maryland-20000000/>

血小板動向(グローバル需要)

米国事例 : Haima Therapeutics社

- 血小板の機能を模倣し、出血を制御する設計により、合成血小板技術(SynthoPlate)を開発

- 特長

- Case Western Reserve Universityから独占ライセンスを取得
- 合成血小板のため、大量製造が可能
- 凍結乾燥(フリーズドライ)された状態で保存。
- 血液型の一致が不要で、持ち運びや保管が容易

- ファンド

- 米国国立科学財団(NSF):

- 2020年に、NSFから75万ドルのフェーズII助成金

- オハイオ州第三フロンティア技術検証およびスタートアップ基金(TVSF):

- 2020年に、オハイオ州から15万ドルのフェーズII助成金。この助成金は、SynthoPlateの獣医療用途の評価が目的

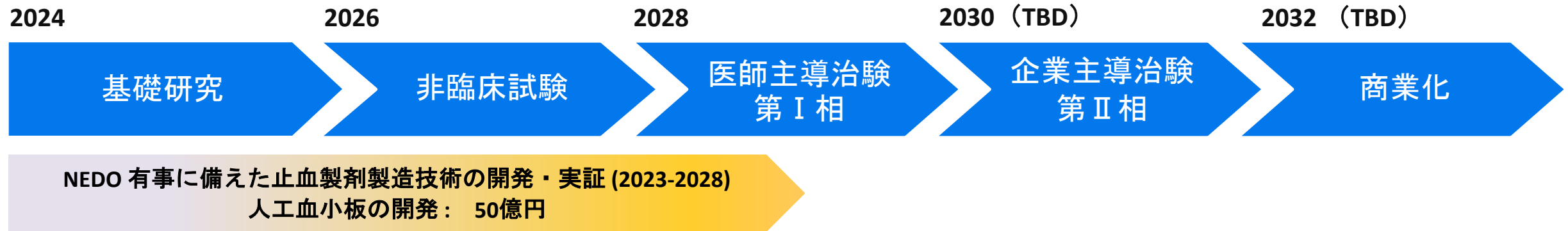
- 米国防総省(DoD):

- 2023年に、米国防総省から46.4百万ドルの助成金。この助成金は、SynthoPlateの開発と臨床試験を支援

(情報ソース)

- <https://www.haimatherapeutics.com/synthoplate>
- https://dc.engconfintl.org/nanotech_med/15/
- <https://legacy.www.sbir.gov/node/1161337>

iPS血小板製剤 開発スケジュール



謝辞

Kyoto University

CiRA

Koji Eto (PI)

Naoshi Sugimoto

Sou Nakamura

Yasuo Harada

Haruki Okamoto

Emiri Nakamura

Kazuya Hashimoto

Kimiko Nonomura

Natsumi Higashi

Shin Shimizu

Akiko Shigemasa

Hirohide Saito (PI)

Takuya Yamamoto (PI)

IAC

Shinobu Suzuki

Yurie Nakaya

Akito Maeda

Kyoto Univ. Hospital

Department of Hematology

Akifumi Kondo-Takaori

Junya Kanda

Toshio Kitawaki

Institute for Advancement of Clinical and Translational Science (iACT)

Manabu Minami

Harue Tada

Sumimasa Nagai

Clinical Trial

Jichi Medical University

Satoshi Nishimura

Live imaging

Chiba University

Si Jing Chen

Naoya Takayama

Emiko Sakaida

Immune MK
Clinical Trial

Yamanashi University

Katsue Suzuki-Inoue

Clinical Trial

The Jikei Univ. School of Med.

Kotaro Kida

Non-clinical test

National Inst. of Health Sciences (NIHS)

Yasunari Kanda

Regulations

Satake Multimix

Yoshikazu Kato

VerMES
Bioreactor

Canon inc.

Akira Nabetani

Automated
Production
system

Ebara Corp.

Koji Hattori

Minaris Advanced Therapies

Takuya Muramoto

CDMO

CMIC Pharma Science

Yasuki Akie

Non-clinical test