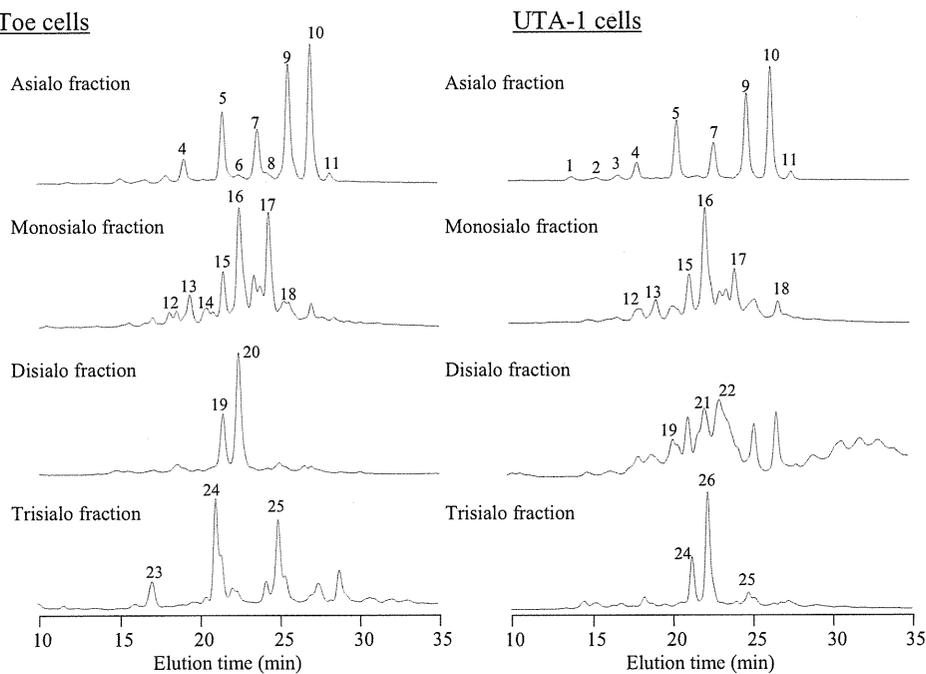
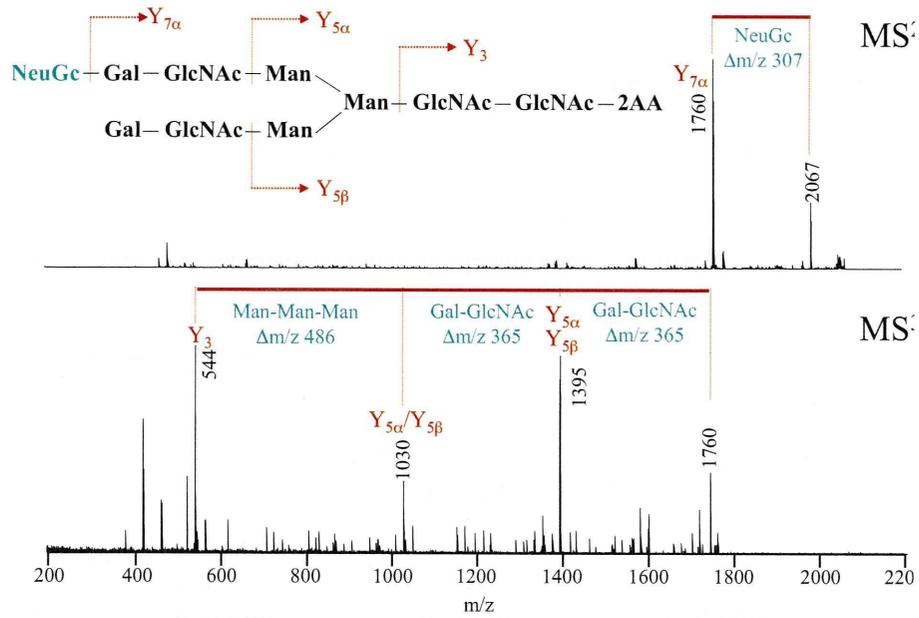


<Fig. 7>



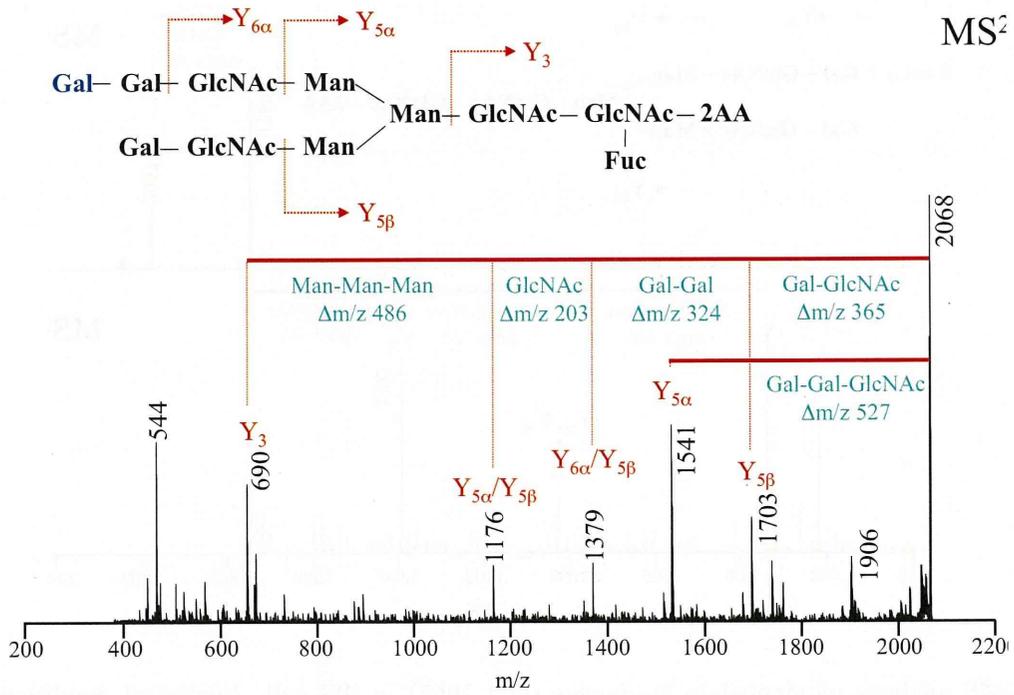
NP-HPLC analysis of N-glycans fractionated by serotonin affinity chromatography. Analytical conditions: column, TSK-GEL Amide-80 (4.6 x 250 mm). flow rate, 0.8 mL/min. eluent, solvent A, 0.1% CH₃COOH in MeCN. solvent B, 0.2% CH₃COOH/0.2% triethylamine in water. gradient conditions: a linear gradient (15-50 % solvent B) from 5 to 85 min.

<Fig. 8>



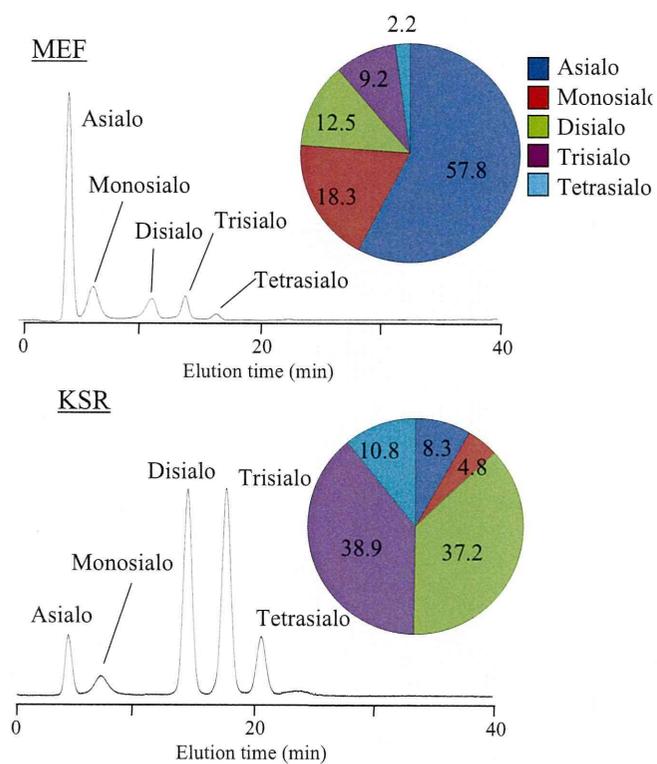
MSMS analysis of monosialo N-glycans (m/z 2067) in iPS cell. Analytical conditions: apparatus, AXIMA resonance; polarity, negative ion mode; matrix, 2, 5-dihydroxybenzoic acid.

<Fig. 9>



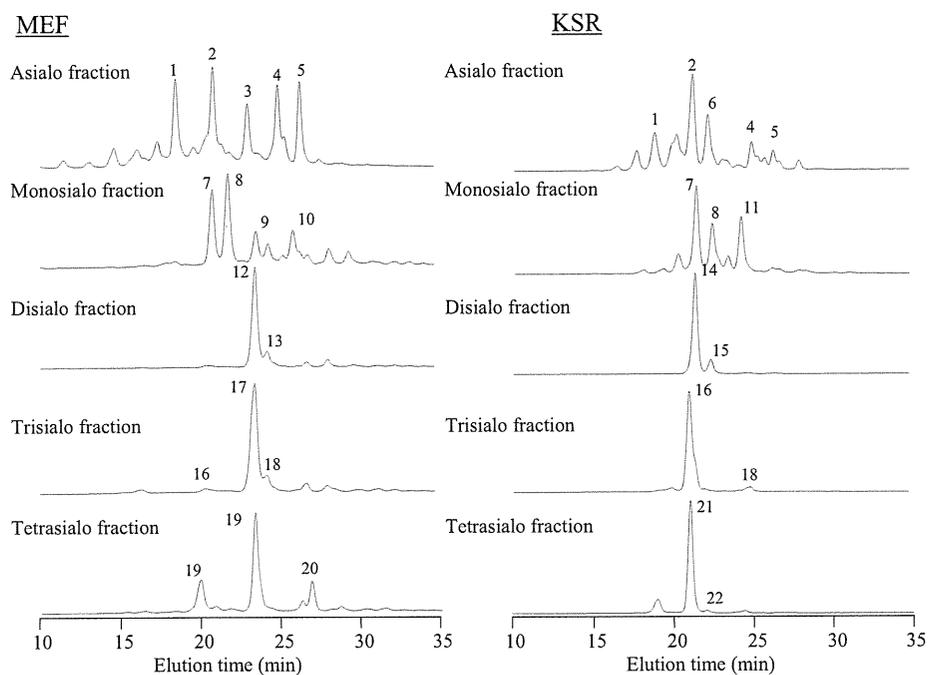
MSMS analysis of N-glycans (m/z 2068) in iPS cell. Analytical conditions: apparatus, AXIMA resonance; polarity, negative ion mode; matrix, 2, 5-dihydroxybenzoic acid.

<Fig. 10>



Serotonin-affinity chromatography of N-glycans in Toe and UTA-1 cells. Analytical conditions; column, LA-serotonin (4.6 x 150 mm). flow rate, 0.5 mL/min. eluent; solvent A, water. solvent B, 50 mM Ammonium acetate in water. gradient conditions, a linear gradient (5-40 % solvent B) from 2 to 20 min and 1 M NaCl from 20 to 45 min.

<Fig. 11>



NP-HPLC analysis of N-glycans fractionated by serotonin affinity chromatography. Analytical conditions: column, TSK-GEL Amide-80 (4.6 x 250 mm). flow rate, 0.8 mL/min. eluent, solvent A, 0.1% CH₃COOH in MeCN. solvent B, 0.2% CH₃COOH/0.2% triethylamine in water. gradient conditions: a linear gradient (15-50 % solvent B) from 5 to 85 min.

II. 分担研究報告書

1. 多能性幹細胞ミニマム・コンセンサス・パッケージ策定にかかる検討

末盛 博文

2. 再生医療実用化加速に資する評価基準

ミニマム・コンセンサス・パッケージ策定に関する研究

阿久津 英憲

3. 糖鎖を用いるミニマム・コンセンサス・パッケージ策定にかかる検討

掛樋 一晃

4. ヒト細胞・組織加工製品の造腫瘍性試験の現状に関する調査研究

佐藤 陽治

5. ヒト細胞・組織加工製品(ヒト細胞調製品)の臨床研究と薬事開発に共通して必要な品質・安全性確保の技術要件およびケース別上乘せ評価方策の同定法に関する研究

佐藤 陽治

6. EUにおけるヒト細胞・組織加工製品の規制の原則に関する研究

佐藤 陽治

多能性幹細胞ミニマム・コンセンサス・パッケージ策定にかかる検討

末盛 博文 京都大学 再生医学研究所 准教授

要旨

ヒト ES 細胞を中心に、その樹立培養技術の現状をふまえて、その臨床利用において問題となりうる部分を抽出し検討を行った。培養技術に関しては多くは問題は解決されつつある。一方、基礎研究から臨床研究へスムーズに展開するための指針・規則等のさらなる検討が必要である。

A. 研究目的

ヒト ES/iPS 細胞を中心とした、多能性幹細胞の臨床研究や企業における製造承認を目指した開発を行う上で細胞由来製品の評価を効率的かつ合理的に行うために必要となる共通の施設、行程、評価や管理に関わる留意事項について、最新の科学的、技術的な知見を踏まえた整理/分析を行う。これにより、行程や管理基準についての標準化を目指して、必要に応じて各種技術の検証や改良を試みる。最終的に、産学官が共通に参照可能な、各要素に関する評価基準のミニマム・コンセンサス・パッケージの基盤とすることを目的とする。

B. 研究方法

再生医科学研究所では、ヒト胚の提供を受けてヒト ES 細胞の作成から培養、研究者への細胞株の分配を行うバンク事業に至るまでの行程を一貫して行っている。これらの確立されたプロセスについて、ヒト ES 細胞を中心に、まず臨床応用の初期段階において必要となるその品質や安全性の確保のための要件を、関連する法

規・指針、最新の科学技術、国際的動向などをふまえて、標準化を目指した分析を行うと同時のその妥当性について検証を行い、必要であれば改良を行う。

臨床利用を目的としたヒト ES 細胞の Master Cell Bank (MCB)の構築を想定した場合、その評価基準策定は以下の様なステップに分割することができる。

1. ヒト胚の提供
2. ES 細胞株の樹立
3. 増殖と凍結保存、融解

およびこれらに加え適当な段階で細胞の品質評価を行うことになる。

それぞれの段階について、関連する指針等や技術的要件を分析・評価する

(倫理面への配慮)

京都大学再生医科学研究所におけるヒト ES 細胞株の樹立研究と使用研究は、政府指針に沿った文部科学大臣からの確認をすでに受けている。本研究はこれらの研究に含まれるものである。

C. 研究結果

1. 既存の細胞株の取扱について

ヒト ES 細胞の臨床応用は欧米において開始されたばかりであり、安全性に関する知見の集積には今後多くの時間を要する。このような状況の中で、様々な研究に使用されその性質が多面的に分析されている既存の細胞株の使用は、治療の安全性を確保する上で重要な手段である。

日本国内でこれまでにこれまでに樹立された細胞株の使用に関しては以下のような観点からの問題がありうる。

- ・インフォームド・コンセントに関する問題

- ・文科省指針上の問題点
- ・匿名化の方法

臨床利用についてインフォームドコンセントにがあるかどうかは、その取得時に臨床利用の可能性について説明文書に記載があるかどうかによる。このような説明は通常、作成された細胞株の使用目的・形態として行われている。同意書上では、一般的には「提供した組織・細胞の使用の目的・方法について同意」の形で行われると考えられ、独立して人への使用について項目をもうける必要は必ずしもないと考えられる。

文科省指針への適合性は、計画書や説明文書に将来的な臨床利用の可能性に言及されているかどうかで判断される。上記のように説明文書などに臨床利用されることが記載されている場合には、その研究計画が大臣確認のうえ実施されているこ

とから、樹立された細胞株が臨床目的に使用されることが、指針に適合していると判断されていることになり、臨床利用については問題無いことになる。

匿名化に関しては、臨床研究に用いられる試料については連結可能匿名化が原則とされているが、ES 細胞の場合は真の提供者が存在しないという特性から、連結情報の不在が被験者へのリスクとなる可能性は著しく低く、また臨床利用の過程で得られた遺伝子異常などの情報や、発生した問題を提供者にフィードバックする必然性も低い。連結情報が必要とされる局面は ES 細胞の臨床利用においてはほとんど考えられない。連結可能匿名化とする場合においては提供者への十分なリスクの説明など適切な対応がとられる必要がある。

2 ES 細胞株の樹立と培養に関する問題

2. 1 培養にかかわる問題

ES/iPS 細胞の臨床利用においてはその増殖過程で生じるゲノム・エピゲノム変化がどのような影響を及ぼすかを考慮する必要がある。細胞が分裂・増殖する過程でゲノムに何らかの変化が生じることは不可避であり、それ自体は人の体内でも起こる自然な現象である。実際大半の変化は中立的であり細胞の機能や生存・増殖には影響を及ぼすことはないと考えられるが、きわめてまれに発がんなどに至る

ことがあるのも事実である。よって、培養過程で起こるゲノム・エピゲノム変異のモニタリングとその評価をいかに行うかは重要な問題である。

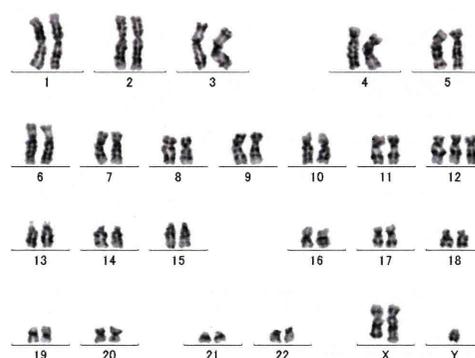
この問題への一つのアプローチとして、ISCI による国際共同研究として多数のヒト ES 細胞株について培養初期と長期継代後の細胞のゲノム解析が行われ、我々の ES 細胞についてのデータを含めその結果が論文発表された (Nature Biotechnology 2011 Nov 27;29(12):1132-1144)。その結果、核型のような巨視的なレベルにおいても高頻度に変異が認められる染色体や染色体領域が明らかにされた。この中には従来から知られている 12 番、17 番染色体のトリソミーも含まれていた。このほか 1 番、2 番染色体においても増幅が見られるなど、全体的には遺伝子増幅が主な変異であることが明らかにされている (図)。

また 20 番染色体のごく微少な領域の増幅も検出され、関与する遺伝子についても推定されている。これらの変異は、未分化細胞の増殖や生存に何らかのアドバンテージがある細胞が培養過程で濃縮されていったものと考えられている。その意味では、癌化などが懸念される変異である可能性も考えられるが、一方で分化誘導後の移植に用いられる細胞の安全性に及ぼす影響に関しては情報は得られない。

エピゲノム変異に関してはこれまでのところこのような大規模な比較研究は行われておらず、どのような傾向が見られ

るかは明らかでない。

現時点でこれらの情報は参照可能であることが好ましいが、有意な情報として利用可能でない状況を考えると、品質検査項目として挙げることは適切でない。



図：ES細胞で観察された染色体変異の一例。

12 番染色体トリソミーと X 染色体の重複が認められる。これらは比較的高頻度で観察される変異である。このほか 17 番染色体のトリソミーも観察されることの多い変異である。染色体変異のようなゲノム異常は細胞にとって最適化されていない培養条件で維持された場合により高頻度で観察される傾向があるようである。しかしながらこれらの変化が分化細胞にどのような影響があるか明らかでない。

2. 2 品質管理について

ES 細胞の品質管理に関しては大きく 2 つの側面に分けて行われる。第一に

ES 細胞としての特性であり、第二に安全性に関わる検査である。例えば細胞増殖速度のように両者に関連しうる検査項目もあると思われるが、大半はいずれかに分類されると考えて良い。

2. 2. 1 ES 細胞としての特性

I 形態

ES 細胞として正常な形態を維持していることを熟練者の目視による判定するなどによる。

II 遺伝子発現

NANOG, OCT4, SOX2, 等の未分化特異的遺伝子および AFP, PAX6, MIXL1, CDX2 など lineage 特異的遺伝子発現を RT-PCR によりマスターバンク細胞と比較などが考えられる。。

III 表面抗原

SSEA-3, SSEA-4, TRA1-60, TRA1-81, GCTM-2, CD30 などから適当なものを選択し、FACS 解析により陽性%で評価する。

細胞分化の指標として SSEA-1 などが使用可能である。

陽性/陰性%で評価されるが、数値をあらかじめ決めることは難しい。

そのほかアルカリ性フォスファターゼ活性の染色もよいマーカーであるが数値化が困難。

III 倍加時間

セルサイクル測定や細胞カウントによ

る増殖速度の測定を行い、マスターバンク細胞と比較。

IV 分化能

EB, teratoma 作成により三胚葉性の分化能を持つことを RT-PCR や組織学的解析により示す。分化能についてはその必要性があるかどうかは疑問なところも多いが、株毎に少なくとも一回は評価されていることが望ましい。

V. 核型・ゲノム

G バンドによる核型解析とマイクロアレイを用いたゲノムワイドのコピーナンバー解析が推奨されるが、特にコピーナンバー解析については解析結果とそれが及ぼす影響に関して関連づけが不十分である。従って、適切な時点でのデータは参照可能とされるべきであるが、これをもって品質管理を行うことは難しい。

2. 2. 2 安全性に関わる検査

I. 感染性因子

培養過程で混入しうる細菌やマイコプラズマに関しては適切な方法で否定試験が行われる必要がある。ドナー由来のヒトウイルスなどについてはドナースクリーニングによる否定が主体となるが、情報が得られないものについては培養過程の適当な時期に否定試験が行われればよいと考えられる。細菌性の感染症やガンなどの疾患に関わるドナー情報が ES 細胞の臨床利用上問題になる可能性はきわめて低く、不必要に多くの情報を要求するべきで

ない。

II. 移植組織の安全性

内在性のウイルスが細胞分化により活性化されることはあり得るが基本的にES細胞の段階で行われる否定試験で十分である。

移植組織の造腫瘍性の検定は

D. 考察

ES/iPS細胞のいずれの場合にも、比較的長期間にわたる培養増殖が想定されるため、培養期間を通じて感染性物質の混入などを排除するシステムの構築が必要であるが、過去に作製されたなど感染可能性のある環境で培養された細胞株の利用も否定されるべきではない。

過去の培養履歴などに応じて必要とされる検査項目をウシ (FBS などについて記録がないような場合)、ブタ (トリプシンなど)、齧歯類 (フィーダー細胞など) などについて個々に必要とされる感染性因子の項目・試験方法についての基準を策定することが望まれる。

また現に使用されている培養などで用いられる試薬等に対する管理基準と、履歴としてはあるが、培養・維持過程において希釈消滅が期待される因子については別途考慮する必要があることにも留意されるべきである。

E. 結論

ES/iPS細胞の臨床利用がもう

遠い将来の話では無くなっている以上、一定の科学的合理性をもって安全性の評価基準を具体的に設定することが必要となっている。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Tissue-specific demethylation in CpG-poor promoters during cellular differentiation. Nagae G, Isagawa T, Shiraki N, Fujita T, Yamamoto S, Tsutsumi S, Nonaka A, Yoshida S, Matsusaka K, Midorikawa Y, Ishikawa S, Soejima H, Fukayama M, Suemori H, Nakatsuji N, Kume S, Aburatani H. *Hum Mol Genet.* 2011 Jul 15;20(14):2710-21.
2. Screening ethnically diverse human embryonic stem cells identifies a chromosome 20 minimal amplicon conferring growth advantage. The International Stem Cell Initiative *Nat Biotechnol.* 2011 Nov 27;29(12):1132-1144.
3. A novel serum-free monolayer culture for orderly hematopoietic differentiation of human pluripotent cells via mesodermal progenitors. Niwa A, Heike T, Umeda K, Oshima K, Kato I, Sakai H, Suemori H, Nakahata T, Saito MK. *PLoS One.* 2011;6(7):e22261.

2. 学会発表

1. Fluorescent chemical probes for human stem cells. Nao Hirata, Masato Nakagawa, Yuto Fujibayashi, Kaori Yamauchi, Asako Murata, Eihachiro Kawase, Shin-ichi Sato, Shin Ando, Young-Tae Chang, Hirofumi Suemori, Norio Nakatsuji, Kazumitsu Ueda, Shinya Yamanaka, Motonari Uesugi. 8th AFMC

International Medicinal Chemistry
Symposium (11/29-12/2 Tokyo)

2. SnoN represses mesendodermal genes in human ES cells. Norihiro Tsuneyoshi, Tomoyuki Sumi, Akila Sadasivam, Jennica Tan Ee Kim, Norio Nakatsuji, Hirofumi Suemori, Norris Ray Dunn. Stem Cell Society Singapore (SCSS) Symposium 2011 (11/17 - 18, Singapore)
3. ヒトES細胞の未分化性維持因子の探索を目的とした high content analysis (HCA). 熊谷英明、末盛博文、上杉志成、中辻憲夫、川瀬栄八郎. 第34回日本分子生物学会年会 (12/13-16、横浜)
4. ヒトES細胞から definitive endodermへの高率な誘導方法の構築. 武内大輝、中辻憲夫、末盛博文. 第34回日本分子生物学会年会 (12/13-16、横浜)

G. 知的所有権の所得情報

1. 特許取得

該当なし

2. 実用新案登録

該当なし

3. その他

なし

平成 23 年度 厚生労働科学研究費補助金
「再生医療実用化加速に資する評価基準ミニマム・コンセンサス・パッケージ策定
に関する研究」

分担研究者 阿久津英憲 独立行政法人国立成育医療研究センター研究所
生殖・細胞医療研究部 室長

研究要旨：欧米ではヒト ES 細胞を用いた第 I/II 相臨床試験が症例を重ねている。国立成育医療研究センターでは、異種由来成分を排除した工程でヒト ES 細胞の樹立を報告した。再生医療応用へ向け細胞製造工程に関わる標準化に関し検討する。難治疾患に対してヒト ES 細胞を用いた細胞治療実現に向け、細胞治療に用いる最終産物を作成するのに必要なヒト ES 細胞を確保するのに最小限必要な要件を中心に報告する。

A. 研究目的

2010 年 10 月、ヒト ES 細胞を用いた第 1 相臨床試験が急性脊髄損傷に対して始まってから 1 年が経過した。米国 Geron 社を中心としたグループが、ヒト ES 細胞 H1 細胞株を原材料としたオリゴデンドロサイト前駆細胞株 (GRNOPC1) を対象に亜急性期の胸部脊髄損傷患者の病辺部に移植する試験であった。Geron 社臨床試験は計 4 症例に対して行われ、安全性に関して有害事象は報告されていない。さらに、米国 Advanced Cell Technology (ACT) 社は、ヒト ES 細胞由来網膜色素上皮 (RPE) 細胞を若年性遺伝性黄斑ジストロフィー症 (シュタルガルト病) と萎

縮型加齢黄斑変性症の 2 疾患に対して第 1/2 相臨床試験が開始され、シュタルガルト病に対して 4 例 (米国 3 例と英国 1 例) と萎縮型加齢黄斑変性症に対して 1 例 (米国) の 5 症例が実施されている。2012 年 1 月には、ACT 社臨床試験のプレリミナリーレポートとして安全性とともに治療の有効性もあったとの報告がなされた (Lancet, 2012; 参考 1)。この Lancet 誌上での報告では、ACT 社臨床試験で使用された細胞 (ヒト ES 細胞株、フィーダー (MEF) 細胞と分化 (網膜色素上皮) 細胞) の品質・安全性に関する試験項目が記されている。ヒト ES 細胞の樹立から最終製品にいたる過程では、そのもととな

る未分化な ES 細胞の安定した供給と最終製品を獲得するまでの工程をよりミニマムな工程とするために細胞バンクを構築することは妥当である。国立成育医療研究センターでは、現在まで4つのヒト ES 細胞株樹立を報告し、動物由来成分を除去した完全ゼノフリー環境で ES 細胞樹立にも成功している。難治疾患への細胞治療応用を見据え、ヒト ES 細胞を細胞治療へ応用するための現状と課題をミニマム・コンセンサス・パッケージ策定へ向けた基盤となるべく検討していく。

B. 研究方法及び研究結果

1. 細胞治療に用いるヒト ES 細胞

米国ですでに行われているヒト ES 細胞の臨床試験工程を参考にすると、出発原料としてのストックから、マスターセルバンクそして拡大培養とともに ES 細胞とは別の表現型を示す分化細胞株（特定組織幹細胞や前駆細胞を含む）作成とその最終製品としてのバンク、そして最終的に最終製品を用いた細胞治療が所定の医療機関で行われる。複数のステップを経てヒトへの投与となるが、「ヒト ES 細胞加工医薬品等の品質及び安全性の確保に関する指

針（案）－総則、原材料及び製造関連物質、製造工程に関する留意事項について－」にも指摘されているように、品質の確かさを担保した最終産物を安定して製造する工程で最も重要な要素は中間製品としての細胞や細胞バンクである。原材料はヒト胚細胞（余剰胚）から作製されるヒト ES 細胞（そのファーストストック）である。ヒト胚細胞は不妊治療過程での余剰胚であり、正常ヒト胚細胞採取の規定を「生物由来原料基準：人細胞組織製品原料基準」に照らし合わせるとすると、ヒト胚細胞のドナー（不妊治療の対象患者）に関する情報（不妊治療を享受する過程での）との充足性に関しては今後検討の余地があると考えられる。

当センターでは、ヒト ES 細胞樹立研究を行っているが、初期のヒト ES 細胞樹立過程とは、胚盤胞の内部細胞塊から増殖を認めた細胞塊を非酵素的に分離・継代していく過程である。非酵素的に細胞継代を行うため、細胞を増やすことの確実性はあるが十分な細胞数を得ることはできない。細胞が一定数得られ、酵素的細胞継代によっても培養維持できるようになることを初期の拡大培養過程としている。この過

程で、出発原料としての各種検査を行い、細胞を増やし保存するマスターセルバンク化を行う。フィーダー細胞を使用する場合はガイドラインを参考に、その特性と微生物学的安全性を担保する必要がある。マスターセルバンク化する細胞の品質管理では規格試験と特性解析試験が行われる。セルバンクの安全性と品質に係る試験をすることで最終製品までの製造工程における安全性を担保する。規格試験項目については、ACT 社臨床試験でヒト ES 細胞由来網膜色素上皮細胞を作製し治験を行った報告を参考にすると、核型試験、無菌試験、マイコプラズマ否定試験、各種ウイルス試験（参考 2）が上げられる。特性解析試験としては、未分化度試験（マーカー；OCT4, SOX2, NANOG, REX1 等の定量解析）と形態観察（ヒト ES 細胞に特徴的な扁平円形コロニー集団を維持している）による細胞純度試験が考えられる。

ヒト ES 細胞の培養にはフィーダー細胞が必要となる。我々の培養工程においては、フィーダー細胞としてマウス 13 日齢胎児由来の線維芽細胞（MEF 細胞）を使用した。MEF 細胞のバンク化の必要性も想定される。生物由来原

料基準：動物由来細胞組織製品原料基準への適合が求められる。

ヒト ES 細胞およびフィーダー細胞の培養に使用する製品の品質証明の確保は必須であり、特に牛由来製品の場合原産地証明も必要である。細胞外基質、細胞継代時に使用する酵素や凍結保存液についても品質証明が求められる。

2. ヒト ES 細胞の再生医療応用に必要な技術的要件

ヒト ES 細胞を臨床応用に用いるために必要な技術的要件として主に以下の 4 つが上げられる。①均一な細胞性質を保つ培養工程を確立することが必要で、培養過程で未分化状態が維持されている性質の保証が必要である。通常、基本的な技術として十分に備わっているはずである。②細胞の品質基準と管理体制を整備する。細胞の品質検査としては、規格試験とミニマムな特性解析試験が行われる。③長期培養工程における細胞品質の管理と評価法の確立と④感染性因子混入リスクの管理である。

ES 細胞の内在する特性として分化多能性があるが、細胞移植の際に懸念

される腫瘍化の試験を出発原料の段階で行う意義があるか検討が必要である。分化誘導して得られる最終製品内に奇形腫形成能を有する細胞の混入の有無を確認することは重要であるが、出発原料としての段階で内在特性である造腫瘍性確認試験に意義を見出すことは難しい。ただし、ES 細胞が移植対象になるような条件であれば、造腫瘍性試験として形成した奇形腫内に明らかな悪性組織の有無や移植したレシピエント免疫不全マウスの移植以外の組織や臓器に転移性を示す所見の有無等を行う必要はあるかもしれない。

3. ヒト ES 細胞を用いる臨床研究の課題

臨床研究を見据えたヒト ES 細胞の出発原料は、初期の細胞株化段階におくことで既存の細胞株をゼノフリー培養環境、フィーダーフリー培地や無血清培地などの特定の条件に適応化させた細胞株を規格試験と特性解析を行いマスターセルバンク化することが可能と考えられる。

我々は、ヒト ES 細胞樹立と培養維持工程全てにおいて異種成分にふれることがない培養システムを構築し、樹

立した ES 細胞 (SEES4) の特性解析では非ヒト型のシアル酸 (Neu5Gc) の発現は認められなかった (図)。次世代の製造工程と細胞品質評価へ発展していく基盤が整備されている。

C. 考察および結論

ヒト ES 細胞を用いた細胞治療における細胞及び細胞調整工程で考慮すべき点としては大きく 2 つに分けられる。一つは、他の組織幹細胞を用いる場合のように細胞の調整・加工工程や移植・投与工程等に係る多くの細胞治療が含有するリスクであり、もう一つはこの ES 細胞の性質に起因する事象である。前者については、組織幹細胞を用いた臨床研究において細胞・組織を製品化する際の取扱いに関する基準として細胞組織由来製品の採取、調整、出荷において、感染、試料取違いや異物混入等の予防策をまとめた GTP が整備される。細胞の調整・加工工程や移植・投与工程等に係る安全性を担保するために、ヒト幹細胞や調整工程に由来する感染症の伝播の危険性が懸念されるため、細菌、真菌、ウイルス等に汚染されていない原料の使用、調整工程中における汚染の防止等を図ること

は当然ながらヒト ES 細胞を用いた細胞治療にも必須である。ヒト ES 細胞は樹立の段階から考慮されるべきであるが、初期の細胞株化段階での各種条件への適応化をした細胞株を出発原料として特性解析し品質と安全性を確保することが有用であると思われる。ES 細胞株由来細胞の製造工程や工程管理を先端の知見と技術を応用しより安全性の高い最終製造物を提供することが重要である。

参考文献

1. Schwartz SD, Hubschman JP, Heilwell G, Franco-Cardenas V, Pan CK, Ostrick RM, Mickunas E, Gay R, Klimanskaya I, Lanza R. Embryonic stem cell trials for macular degeneration: a preliminary report. *Lancet*. 2012; 379(9817):713-720.
2. 『ヒト又は動物細胞株を用いて製造されるバイオテクノロジー応用医薬品のウイルス安全性評価』について（平成 12 年 2 月 22 日医薬審第 329 号）

D. 研究発表

1. 著書

1. 論文発表

1. Egli D, Akutsu H. Aging of the Female Reproductive System. *J Mamm Ova Res* 2011; 28: 118-125.
2. Takezawa Y, Yoshida K, Miyado K, Sato M, Nakamura A, Kawano N,

Sakakibara K, Kondo T, Harada Y, Ohnami N, Kanai S, Miyado M, Saito H, Takahashi Y, Akutsu H, Umezawa A. Beta-catenin is a molecular switch that regulates transition of cell-cell adhesion to fusion. *Scientific Reports* 2011; Article number: 68.

3. Gokoh M, Nishio M, Nakamura N, Matsuyama S, Nakahara M, Suzuki S, Mitsumoto M, Akutsu H, Umezawa A, Yasuda K, Yuo A, Saeki K. Early senescence is not an inevitable fate of human-induced pluripotent stem-derived cells. *Cell Reprogram*. 2011;13(4):361-370.
4. ○ Tateno H, Toyota M, Saito S, Onuma Y, Ito Y, Hiemori K, Fukumura M, Matsushima A, Nakanishi M, Ohnuma K, Akutsu H, Umezawa A, Horimoto K, Hirabayashi J, Asashima M. Glycome diagnosis of human induced pluripotent stem cells using lectin microarray. *J Biol Chem*. 2011; 286(23):20345-20353.
5. ○ Nishino K, Toyoda M, Yamazaki-Inoue M, Fukawatase Y, Chikazawa E, Sakaguchi H, Akutsu H, Umezawa A. DNA methylation dynamics in human induced pluripotent stem cells over time. *PLoS Genet*. 2011; 7(5):e1002085.
6. ○ Sato B, Katagiri YU, Miyado K, Okino N, Ito M, Akutsu H, Okita H,

- Umezawa A, Fujimoto J, Toshimori K, Kiyokawa N. Lipid rafts enriched in monosialylGb5Cer carrying the stage-specific embryonic antigen-4 epitope are involved in development of mouse preimplantation embryos at cleavage stage. *BMC Dev Biol.* 2011;11:22.
7. ○ Nishi M, Akutsu H, Masui S, Kondo A, Nagashima Y, Kimura H, Perrem K, Shigeri Y, Toyoda M, Okayama A, Hirano H, Umezawa A, Yamamoto N, Lee SW, Ryo A. A distinct role for Pin1 in the induction and maintenance of pluripotency. *J Biol Chem.* 2011; 286(13):11593-11603.
8. ○ Sugawara T, Nishino K, Umezawa A, Akutsu H. Investigating cellular identity and manipulating cell fate using induced pluripotent stem cells. *Stem Cell Res Ther.* 2012 Mar 8;3(2):8.
- (邦文)
9. 阿久津英憲, 草川森士, 梅澤明弘:「ヒトES細胞を用いた臨床試験」感染・炎症・免疫, 41(4):68-72, 2011.
10. 阿久津英憲, 佐藤星子:「ヒトES細胞, iPS細胞」生命の誕生に向けて(第二版)編集; 日本哺乳類動物卵子学会: 268-272, 2011.
11. 三浦巧, 阿久津英憲:「目で見る生殖と再生 iPS細胞(図説)」HORMONE FRONTIER IN GYNECOLOGY, 18(3):232-236, 2011.
3. 学会発表
1. H Akutsu. "Development of xeno-free culture systems of human embryonic stem cells for cell therapy", JST/CIRM Workshop "Early translational research on stem cells", Kobe, 16th May, 2011
2. 阿久津英憲:「特別講演 再生医療を見すえたヒト ES細胞の樹立」日本組織培養学会 第84回大会, 東京, 5月28日, 2011年
3. H Akutsu. "Human ES cell and iPS cell derivation: Clinical application and biological characterization", 16th World Congress on In Vitro Fertilization, Tokyo, 13th Sep, 2011.
4. 阿久津英憲:「臨床グレードES細胞の作製を目指して」理化学研究所筑波研究所, つくば, 11月7日, 2011年
5. 阿久津英憲:「新たなヒト胚作製技術の報告(米国)について」第64回生命倫理専門調査会, 中央合同庁舎第4号館第2特別会議室, 1月17日, 2012年
6. 阿久津英憲:「臨床応用を目指すヒトES細胞研究の現状」第15回ヒト幹細胞を用いる臨床研究に関する指針の見直しに関する専門委員会, 厚生労働省 17階 専用第18-20会議室, 1月25日, 2012年
7. 阿久津英憲:「新たなヒト胚作成技術について～SCNT法による3倍体ES細胞論文の背景～」科学技術・学術審議会 生命倫理・安全部会 特定胚

- 及びヒトES細胞等研究専門委員会（第80回）、文部科学省16階 特別会議室、1月25日、2012年
8. 阿久津英憲：「ヒトES細胞の臨床応用へ向けた取り組み」バイオリジクスフォーラム第9回学術集会、東京タワーホール船堀、2月22日、2012年

況

- 1) 特許取得
なし
- 2) 実用新案登録
なし
- 3) その他
なし

E. 知的財産権の出願・登録状

図 SEES4 と Neu5Gc の発現解析

