

- 松山晃文：「再生医療と薬事法」移植医療のこれから：第2部Ⅲ 13：町野朔・山本輝之・辰井聡子編 信山社 2011. p185-194.
- 松山晃文：「再生医療の保険診療化 path」移植医療のこれから：第2部Ⅲ 14：町野朔・山本輝之・辰井聡子編 信山社 2011. p195-206.
- 早川堯夫・青井貴之・梅澤明弘・小澤敬也・佐藤陽治・澤芳樹・松山晃文・大和雅之・山中伸弥：「ヒト幹細胞を用いた細胞・組織加工医薬品等の品質及び安全性確保に関する研究（その1）ヒト幹細胞を用いた細胞・組織加工医薬品等の品質・安全性確保に関する指針整備と主なポイント」再生医療 2011;10(3)206-210.
- 早川堯夫・青井貴之・梅澤明弘・小澤敬也・佐藤陽治・澤芳樹・松山晃文・大和雅之・山中伸弥：「ヒト幹細胞を用いた細胞・組織加工医薬品等の品質及び安全性確保に関する研究（その2）ヒト（自己）体性幹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）」再生医療 2011;10(3)211-218.
- 早川堯夫・青井貴之・梅澤明弘・小澤敬也・佐藤陽治・澤芳樹・松山晃文・大和雅之・山中伸弥：「ヒト幹細胞を用いた細胞・組織加工医薬品等の品質及び安全性確保に関する研究（その3）ヒト（同種）体性幹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）」再生医療 2011;10(3)219-226.
- 早川堯夫・青井貴之・梅澤明弘・小澤敬也・佐藤陽治・澤芳樹・松山晃文・大和雅之・山中伸弥：「ヒト幹細胞を用いた細胞・組織加工医薬品等の品質及び安全性確保に関する研究（その4）ヒト（自己）iPS（様）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）」再生医療 2011;10(3)227-237.
- 早川堯夫・青井貴之・梅澤明弘・小澤敬也・佐藤陽治・澤芳樹・松山晃文・大和雅之・山中伸弥：「ヒト幹細胞を用いた細胞・組織加工医薬品等の品質及び安全性確保に関する研究（その5）ヒト（同種）iPS（様）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）」再生医療 2011;10(3)238-248.
- 早川堯夫・青井貴之・梅澤明弘・小澤敬也・佐藤陽治・澤芳樹・松山晃文・大和雅之・山中伸弥：「ヒト幹細胞を用いた細胞・組織加工医薬品等の品質及び安全性確保に関する研究（その6）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）」再生医療 2011;10(3)249-260.
- 早川堯夫・青井貴之・梅澤明弘・小澤敬也・佐藤陽治・澤芳樹・松山晃文・大和雅之・山中伸弥：「ヒト幹細胞を用いた細胞・組織加工医薬品等の品質及び安全性確保に関する研究（その7）ヒト幹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）—ヒト体性幹細胞、iPS（様）細胞又はES細胞を加工して製造される医薬品等（ヒト幹細胞加工医薬品等）の最終製品の品質管理—」再生医療 2011;10(3)261-266.
- 早川堯夫・青井貴之・梅澤明弘・小澤敬也・佐藤陽治・澤芳樹・松山晃文・大和雅之・山中伸弥：「ヒト幹細胞を用いた細胞・組織加工医薬品等の品質及び安全性確保に関する研究（その8）—ヒト体性幹細胞、iPS（様）細胞又はES細胞を加工して製造される医薬品等（ヒト幹細胞加工医薬品等）の非臨床試験及び臨床試験について—」再生医療 2011;10(3)267-272.
- 松山晃文：「再生医療と行政施策」Organ Biology. 2011.Vol.18(1). 53-58
- 松山晃文：「再生医療の一般化にむけて」幹細胞の特許戦略 12章 p239-252. 社団法人発明協会 2011.

- 早川堯夫・梅澤明弘・山中伸弥・小澤敬也・大和雅之・澤芳樹・山口照英・松山晃文・佐藤陽治・中内啓光：「ヒト幹細胞を用いた細胞・組織加工医薬品等の品質及び安全性確保に関する研究（その1）ヒト（自己）体性幹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（中間報告）」再生医療 2010;9(1)116-127.
- 早川堯夫・梅澤明弘・山中伸弥・小澤敬也・大和雅之・澤芳樹・山口照英・松山晃文・佐藤陽治・中内啓光：「ヒト幹細胞を用いた細胞・組織加工医薬品等の品質及び安全性確保に関する研究（その2）ヒト（同種）体性幹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（中間報告）」再生医療 2010;9(1)128-138.
- 早川堯夫・梅澤明弘・山中伸弥・小澤敬也・大和雅之・澤芳樹・山口照英・松山晃文・佐藤陽治・中内啓光：「ヒト幹細胞を用いた細胞・組織加工医薬品等の品質及び安全性確保に関する研究（その3）ヒト（自己）iPS（様）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（中間報告）」再生医療 2010;9(1)139-151.
- 早川堯夫・梅澤明弘・山中伸弥・小澤敬也・大和雅之・澤芳樹・山口照英・松山晃文・佐藤陽治・中内啓光：「ヒト幹細胞を用いた細胞・組織加工医薬品等の品質及び安全性確保に関する研究（その4）ヒト（同種）iPS（様）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（中間報告）」再生医療 2010;9(1)152-165.
- 早川堯夫・梅澤明弘・山中伸弥・小澤敬也・大和雅之・澤芳樹・山口照英・松山晃文・佐藤陽治・中内啓光：「ヒト幹細胞を用いた細胞・組織加工医薬品等の品質及び安全性確保に関する研究（その5）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（中間報告）」再生医療 2010;9(1)166-180.
- 松山晃文：「再生医療とそれに伴う行政施策」今日の移植 2010;23(2)印刷中
- 松山晃文：「大動脈炎症候群 —その臨床症状と検査所見」医学のあゆみ 233(4) 274-278. 2010
- 松山晃文：「再生医療とそれに伴う行政施策」今日の移植 23(2)：165-172. 2010
- 松山晃文：「臓器移植・組織移植から再生医療へ—臓器・組織・細胞の procurement の観点から」臓器移植法の研究：第3章8：町野朔編 上智大学出版 2010 印刷中
- 松山晃文：「再生医療と薬事法」臓器移植法の研究：第3章9：町野朔編 上智大学出版 2010 印刷中
- 松山晃文：「再生医療とそれに伴う行政施策」今日の移植 2010;23(2)印刷中
- 松山晃文：「再生医療の保険診療化 path」臓器移植法の研究：第3章10：町野朔編 上智大学出版 2010 印刷中
- 松山晃文：「再生医療実用化にむけた産学連携の新しいかたち—技術研究組合制度活用による再生医療イノベーションへの提案—」再生医療 2010;9(1)95-99.
- 松山晃文：「最低限必要とされる要求事項」の明示による再生医療実現と社会還元加速を目指して—再生医療研究大国につぼんの再生医療大国への道のり— 再生医療 2010;9(1)100-104.
- 松山晃文：「再生医療の現状」再生医療 2009;8(4)67-72
- 松山晃文：「再生医療の実現化—制度論的検討—」再生医療 2009;8(3)85-89.
- 松山晃文：「大学発シーズが成果を挙げられないのは何故か—知的財産の観点からの検討—」再生医療

2. 学会発表

- Saga A, Okura H, Soeda M, Tani J, Moriyama M, Moriyama H, Yamashita S, Ichinose A, Tahara S, Hayakawa T, Matsuyama A. Transplantation of human adipose tissue-derived multi-lineage progenitor cells reduces serum cholesterol and the effects could be augmented by HMG-CoA reductase inhibitor in hyperlipidemic Watanabe rabbits. International Society for Stem Cell Research (ISSCR). June 15-18. Toronto, Canada.
- Okura H, Saga A, Soeda M, Tani J, Moriyama M, Moriyama H, Yamashita S, Ichinose A, Tahara S, Hayakawa T, Matsuyama A. Transplantation of human adipose tissue-derived multi-lineage progenitor cells but not adipose tissue-derived stromal/stem cells reduces serum cholesterol in hyperlipidemic Watanabe rabbits. International Society for Stem Cell Research (ISSCR). June 15-18. Toronto, Canada.
- Okura H, Saga A, Soeda M, Tani J, Moriyama M, Moriyama H, Miyagawa S, Sawa Y, Ichinose A, Tahara S, Hayakawa T, Matsuyama A. Cardiomyoblast-like cells differentiated from human adipose tissue-derived multilineage progenitor cells improve left ventricular dysfunction and survival in a swine chronic myocardial infarction model. International Society for Stem Cell Research (ISSCR). June 15-18. Toronto, Canada.
- Matsuyama A. A history of the guidelines for clinical translation of Regenerative Medicine released by Ministry of Health, Labor and Welfare, Japan. –Lesson from Health Policy for Regenerative Medicine in Japan. International Society for Stem Cell Research (ISSCR). June 15-18. Toronto, Canada.
- Okura H, Saga A, Soeda M, Matsuyama A. Non-Clinical Studies (GLP) for Clinical Application of human adipose tissue-derived multilineage progenitor cells for the patients with severe familial hypercholesterolemia. International Society for Stem Cell Research (ISSCR). June 15-18. Toronto, Canada.
- Okura H, Saga A, Soeda M, Matsuyama A. Non-Clinical Studies (GLP) for Clinical Application of Cardiomyoblast-like cells differentiated from human adipose tissue-derived multilineage progenitor cells. International Society for Stem Cell Research (ISSCR). June 15-18. Toronto, Canada.
- Okura H, Saga A, Soeda M, Tani J, Yamashita S, Ichinose A, Yamashita S, Hayakawa T, Matsuyama A. *In situ* stem cell therapy using human adipose tissue-derived multi-lineage progenitor cells combined with HMG-CoA reductase inhibitor synergistically reduce serum cholesterol level in hyperlipidemic Watanabe rabbits. American Heart Association Scientific Meeting (AHA). Nov 12-16. Orland, FL, USA.
- Okura H, Saga A, Soeda M, Tani J, Yamashita S, Ichinose A, Yamashita S, Hayakawa T, Matsuyama A. Transplantation of adipose tissue-derived

multi-lineage progenitor cells reduces serum cholesterol in hyperlipidemic Watanabe rabbits. American Heart Association Scientific Meeting (AHA). Nov 12-16. Orland, FL, USA.

- 松山晃文：「幹細胞製剤の適応—Science・Translational R&D・Public への展開という観点から—」第14回日本適応医学会学術総会 東京 平成22年7月
- Okura H., Sawa Y and Matsuyama A. Cell-patches Composed with hADMPCs Derived Cardiomyoblasts (hCLCs) and Human Umbilical Cord Vein Endothelial Cells Improve Left Ventricular Dysfunction. (第9回再生医療学会学術集会)
- 第4回PMDA国際シンポジウム 平成21年10月9日 指定発言 「How to Translate Academic Seeds into Industries.」
- Points to Consider on Efficient Development of iPS Cells-Based Tissue Engineered Medical Products 寒川延子 松山晃文 第9回日本再生医療学会総会 平成22年3月18日
- 米国、日本および国際幹細胞学会の幹細胞を用いる臨床研究ガイドラインの比較 濱田陽子 松山晃文 第9回日本再生医療学会総会 平成22年3月18日
- わが国における再生医療関連規制 山本彩 松山晃文 第9回日本再生医療学会総会 平成22年3月18日
- 再生医療製品の品質・安全性確保において「最低限必要とされる要求事項」の明示による再生医療実現を目指して 嵯峨礼美 松山晃文 第9回日本再生医療学会総会 平成22年3月18日
- 再生医療実用化にむけた産学連携の新しいかたち—技術研究組合制度活用の提案— 大倉華雪 松山晃文 第9回日

本再生医療学会総会 平成22年3月18日

- 再生医療そのビジネスモデル-needs-oriented business modelの構築に向けて- 大山玲子 松山晃文 第9回日本再生医療学会総会 平成22年3月18日

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

大阪大学に発明届出書及び譲渡証明書を提出中。

2. 実用新案登録

なし

3. その他

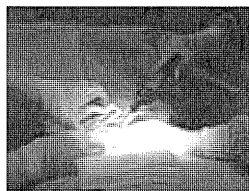
なし

DMSO加培養ヒト脂肪組織由来 多系統前駆細胞(hADMPCs)の 重症心不全治療細胞製剤としての開発

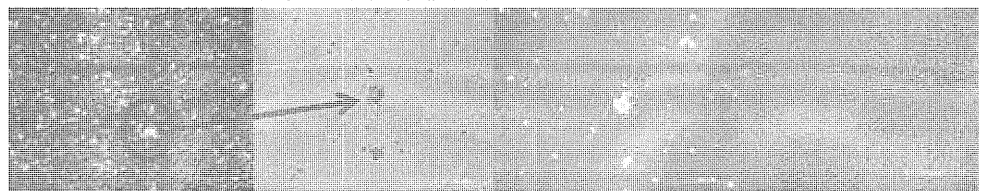
松山晃文

ヒト脂肪組織由来多系統前駆細胞 (hADMPC)

脂肪組織由来多系統前駆細胞



脂肪吸引

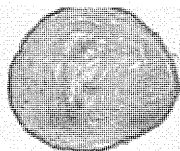


Stromal Vascular
Fraction

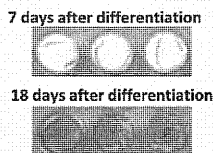
脂肪細胞分化



軟骨分化



骨分化



P1(day7)

P5

RT-PCR 解析

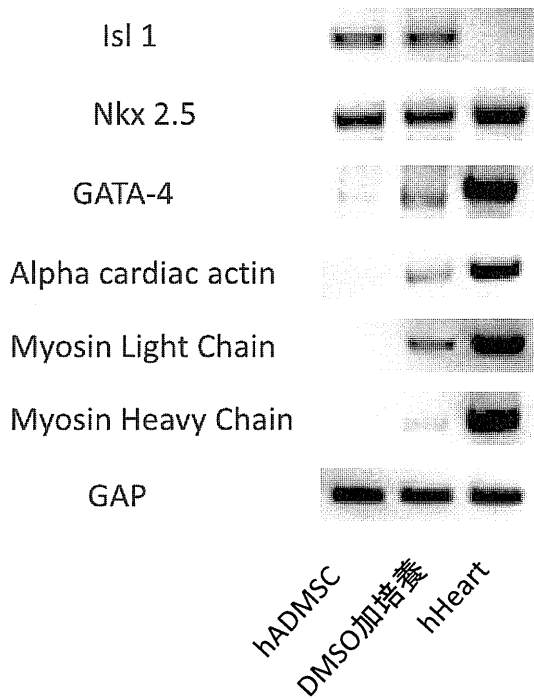


間質細胞
新規幹細胞

→ 間葉系幹細胞の定義を満たす

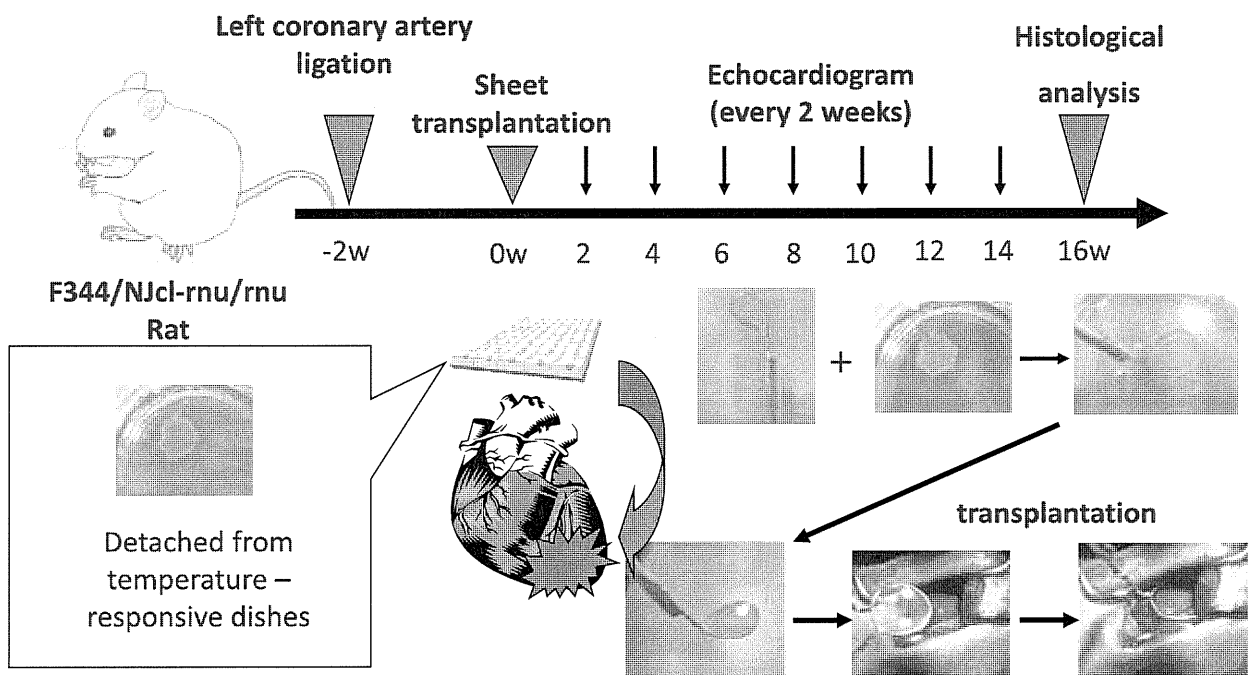
肝細胞・心筋細胞・膵beta細胞の前駆細胞はIsl-1陽性
→ Isl-1陽性の新規幹細胞は心筋細胞に分化可能?

DMSO加培養で脂肪組織由来多系統前駆細胞は心筋芽(様)細胞にcommitmentする



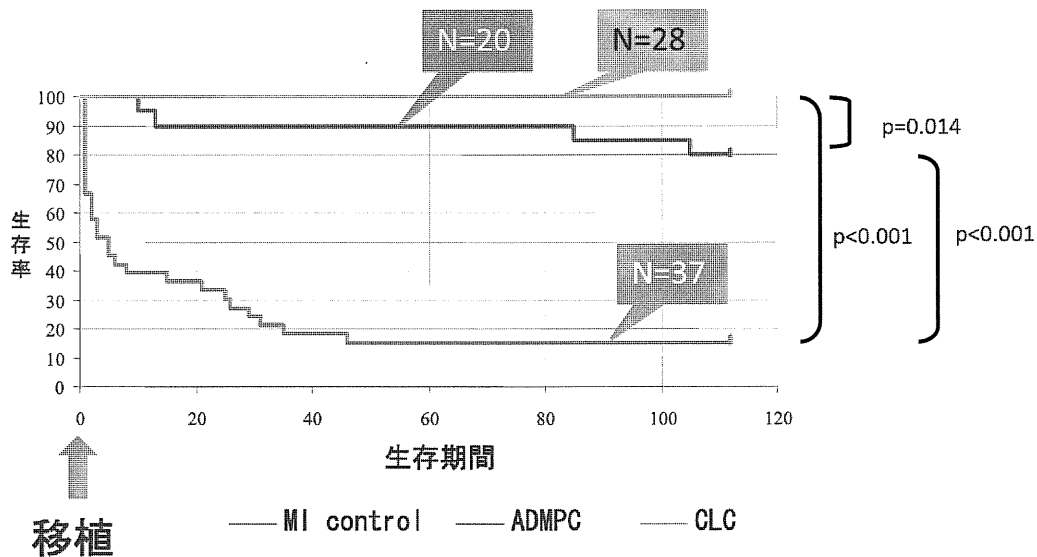
0.1% DMSO添加にて
48時間培養することで
心筋芽(様)細胞へ

DMSO加培養hADMPCsの慢性心不全ヌードラットへの移植

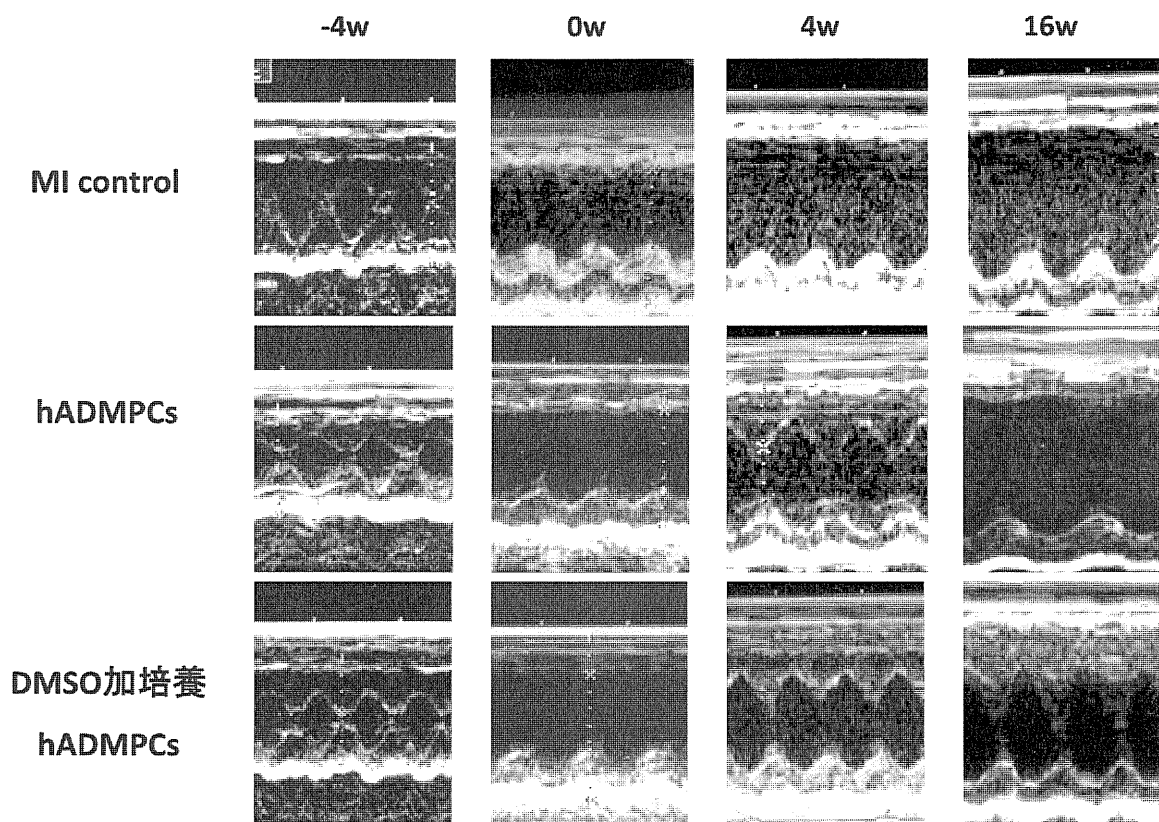


DMSO加培養hADMPCsによる長期予後改善効果

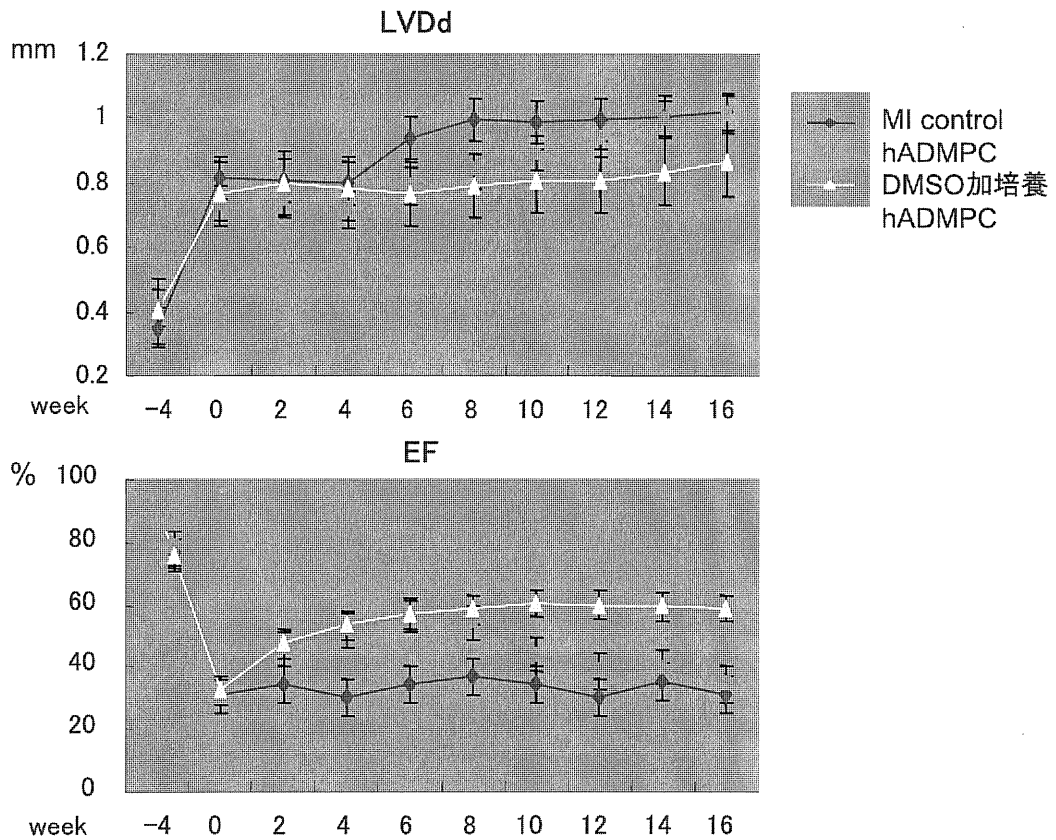
再生心筋芽(様)細胞: CLC (cardiomyoblast-like cell)



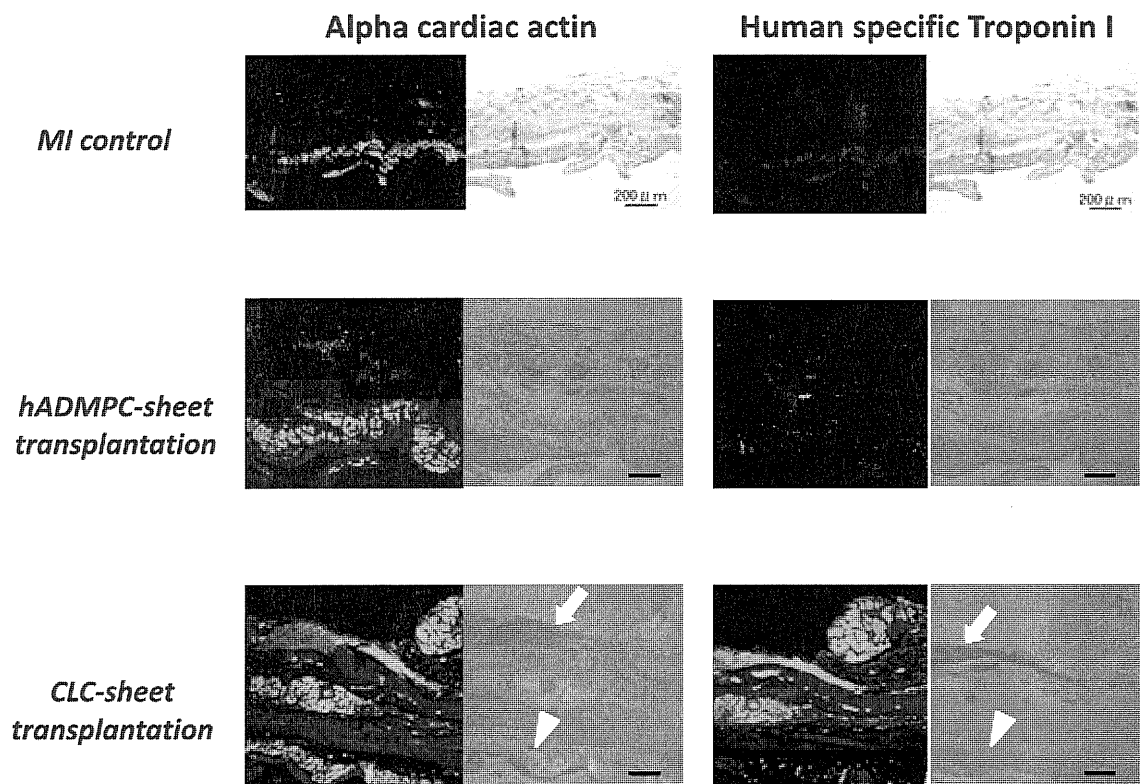
DMSO加培養hADMPCsによる長期心機能改善効果



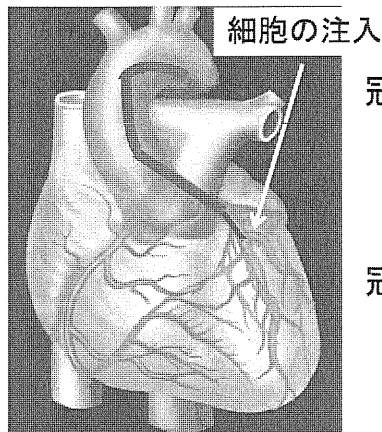
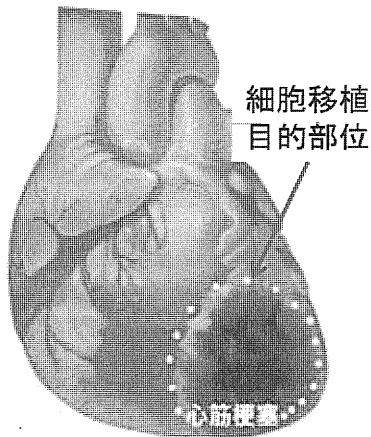
DMSO加培養hADMPGsによる長期心機能改善効果



DMSO加培養hADMPGsの生体内心筋分化



DMSO加培養hADMPCの冠動脈投与



冠動脈輸注によるベネフィット

- 投与手技の簡便さ
- 領域選択的に投与可
- 頻回投与可能

冠動脈輸注によるリスク

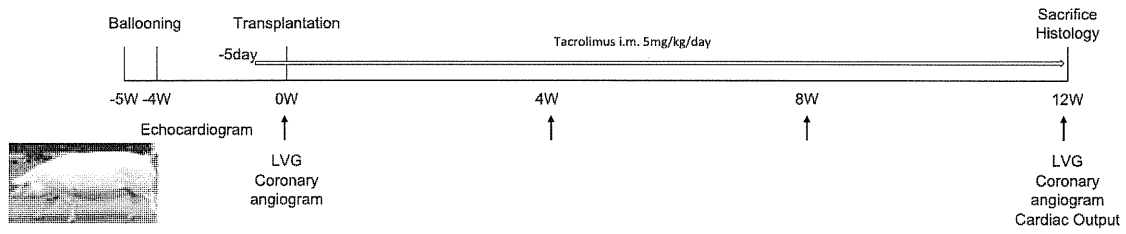
- 凝集による血管塞栓
- 微小塞栓による梗塞

細胞製剤の三要件

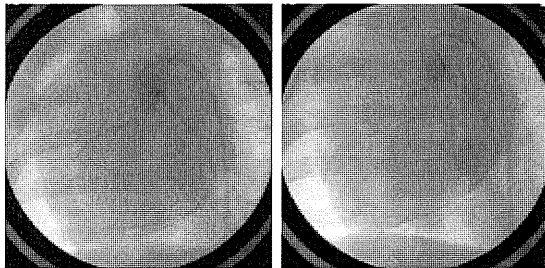
有効性

安全性

品質



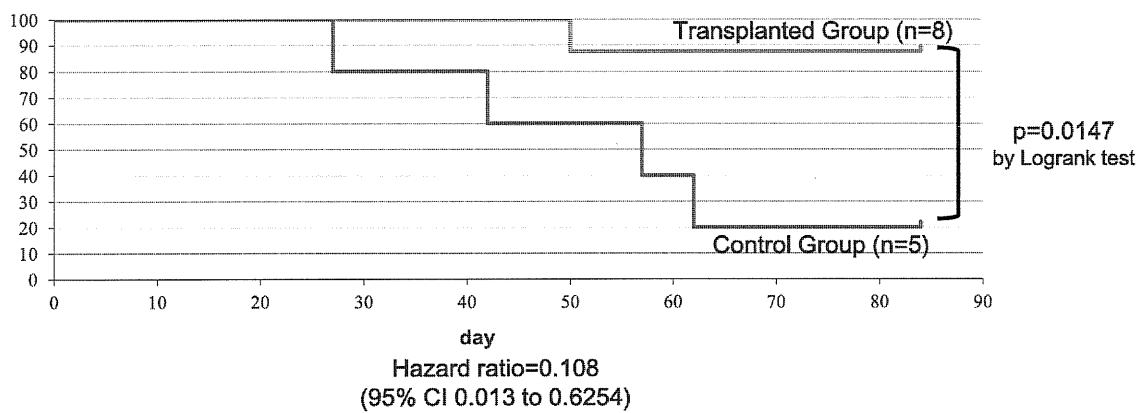
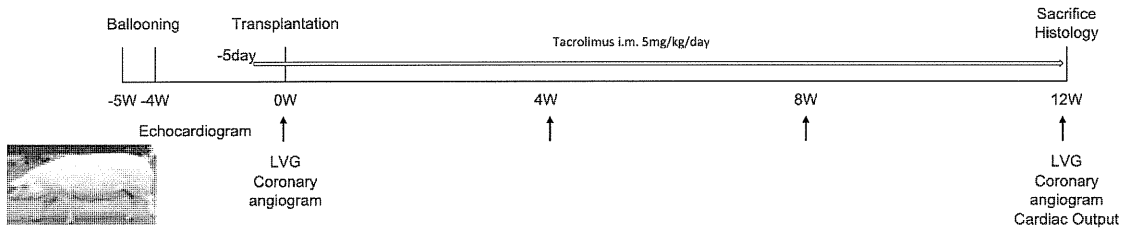
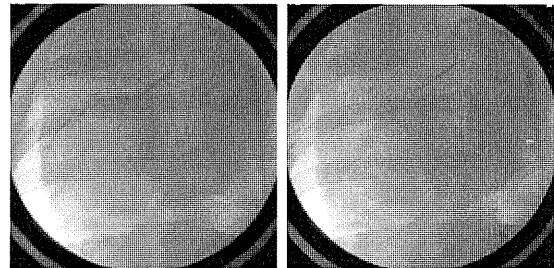
心筋梗塞の作製

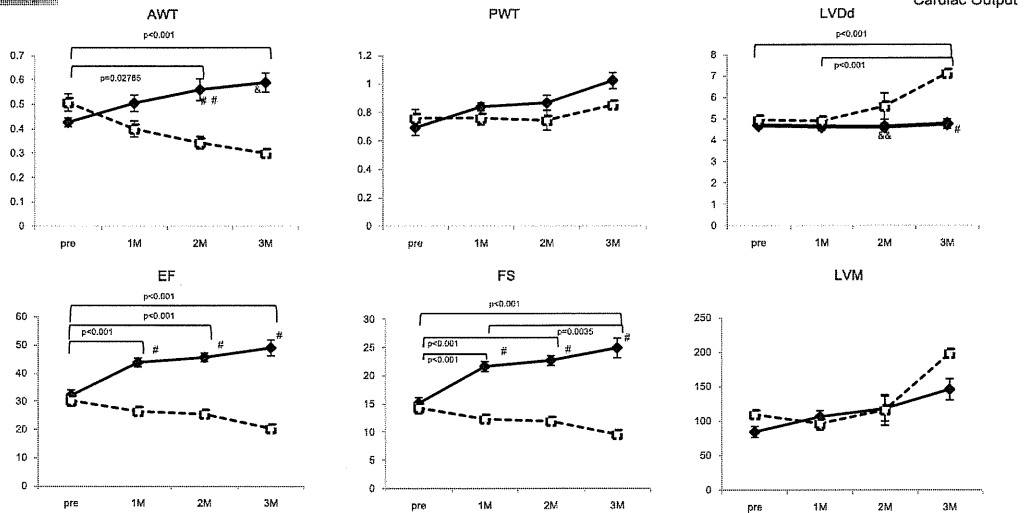
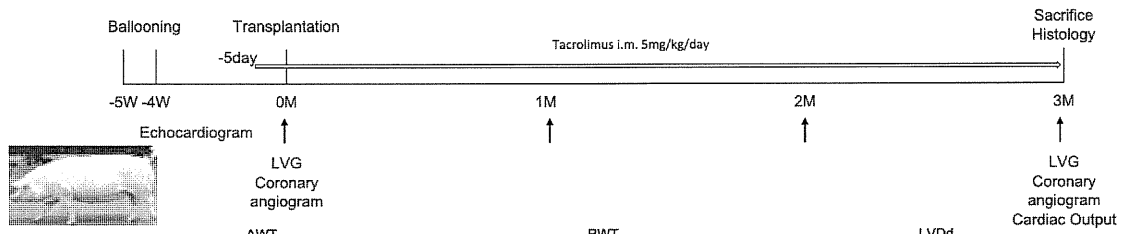


1st ballooning to D1 (#9)

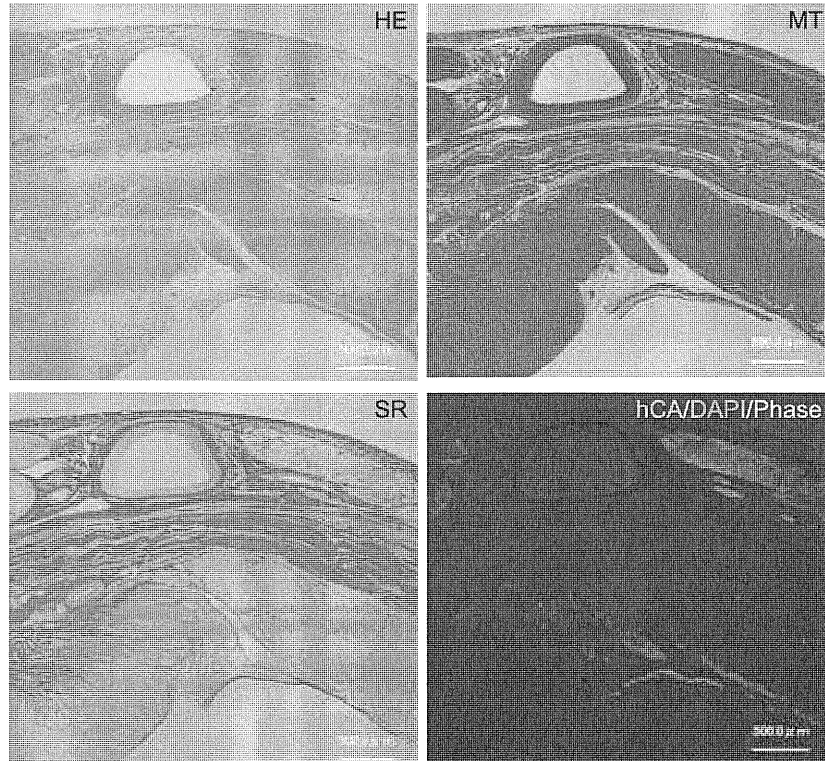
2nd ballooning to LAD (#6)

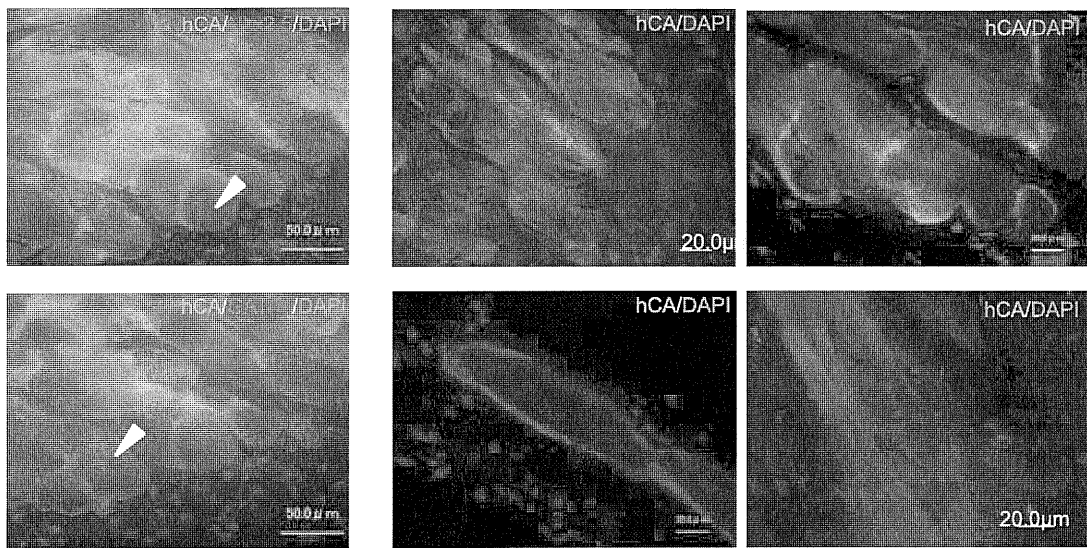
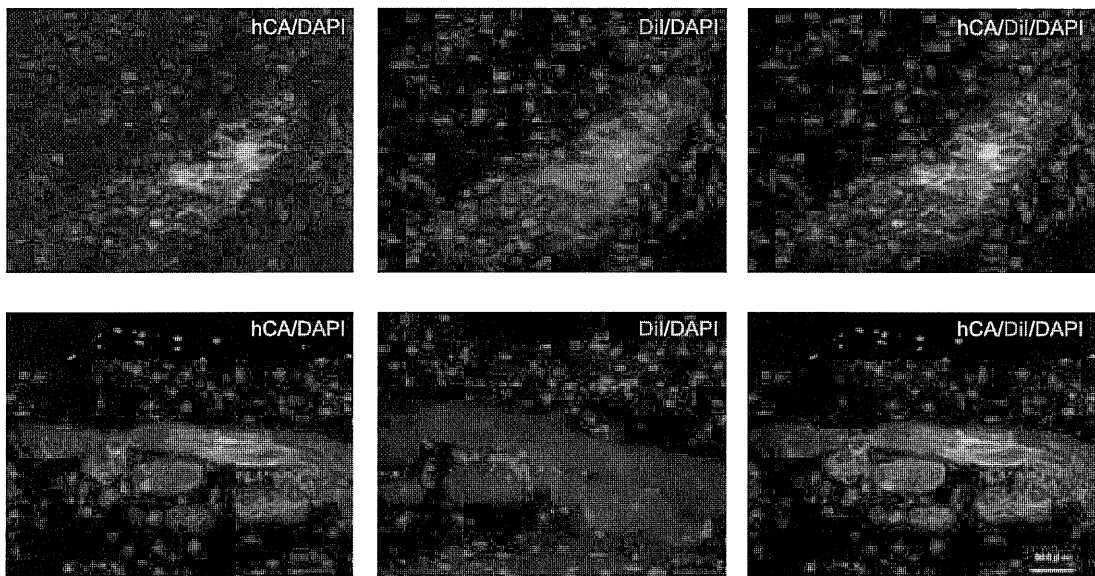
細胞の投与



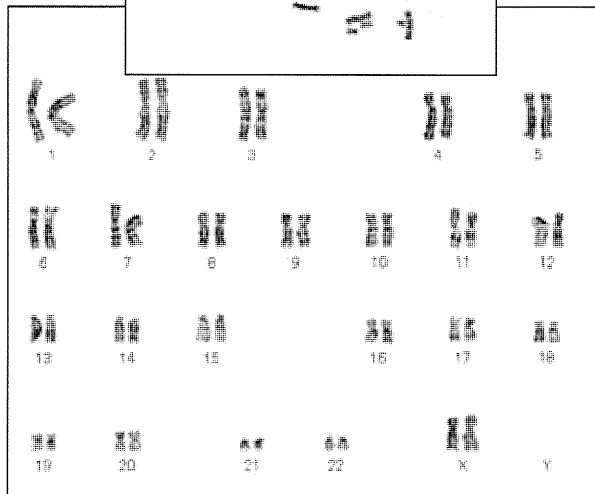
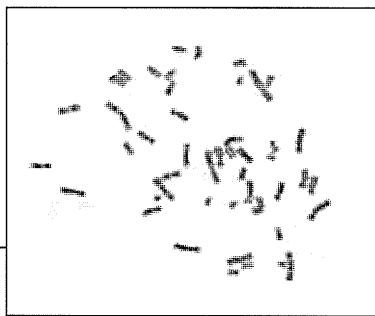
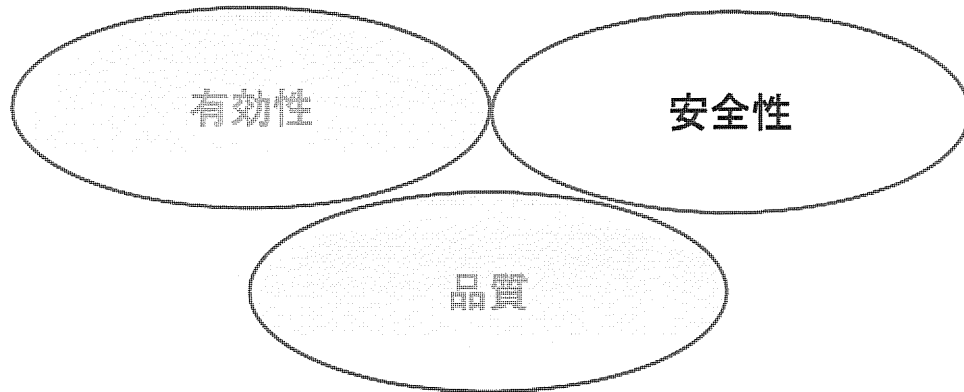


#: $p < 0.001$ transplanted vs control
 &: $p = 0.015$ transplanted vs control
 &&: $p = 0.027$ transplanted vs control





細胞製剤の三要件



核型分析検査

hADMPC

各々P3、P5、P8にて実施
(GLPにて実施)

P3:2Lot異常認めず

P5:2Lot異常認めず

P8:1Lotで異常認めず

2Lotで解析不能

(分裂速度低下のため)

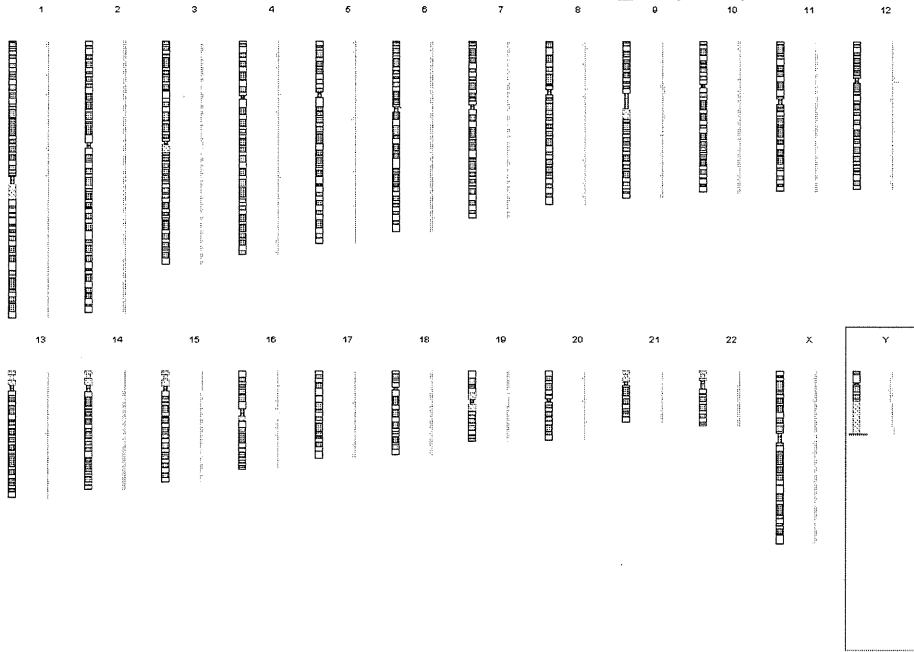
→CGHにて代用

平成20年医薬発

第0912006号通知に準拠

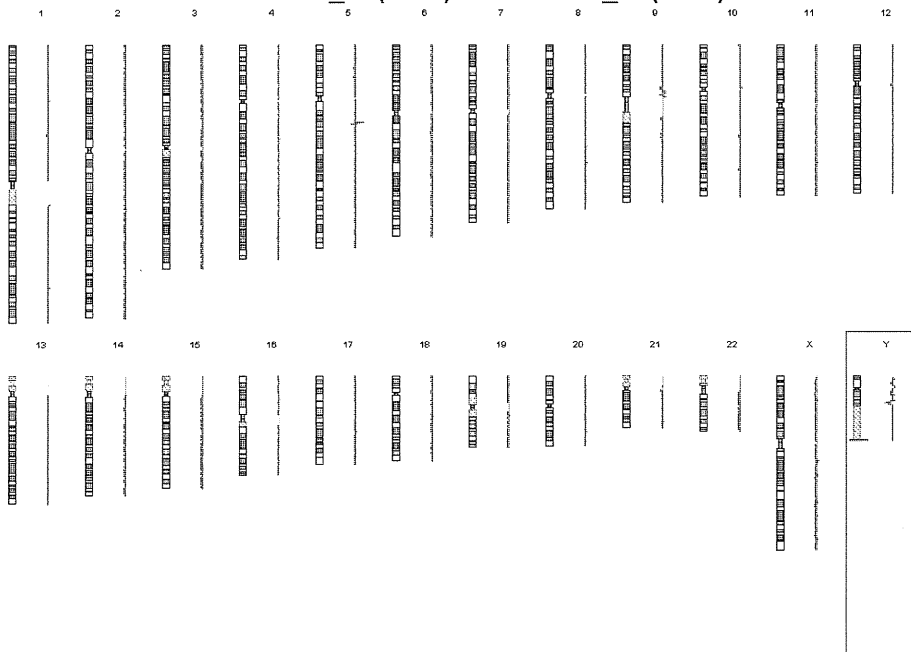
ゲノム全域にわたるCGH結果 (Lot a ; representative data)

Set01: AD0019_10(1-P3) vs. AD0019_01 (1-P5)



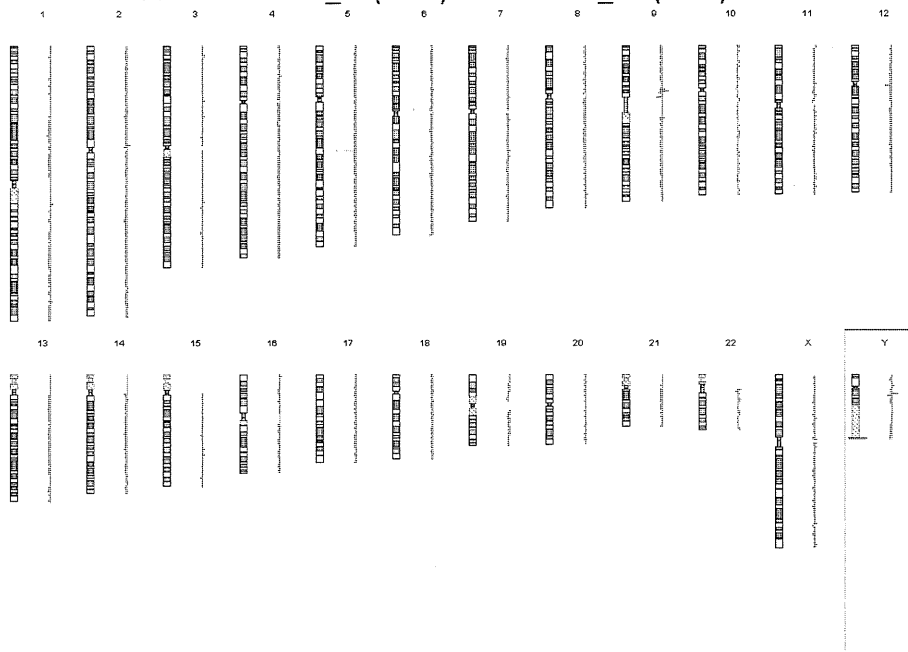
ゲノム全域にわたるCGH結果 (Lot a ; representative data)

Set02: AD0019_10(1-P3) vs. AD0019_07(1-P8)



ゲノム全域にわたるCGH結果 (Lot a; representative data)

Set03: AD0019_01(1-P5) vs. AD0019_07 (1-P8)

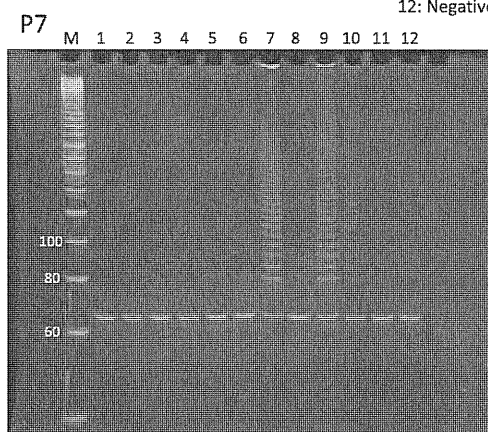
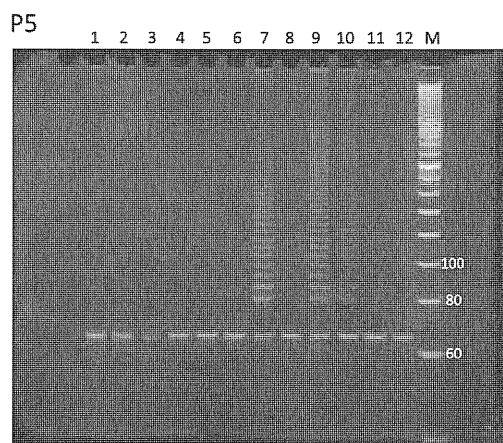


Telomerase Assay

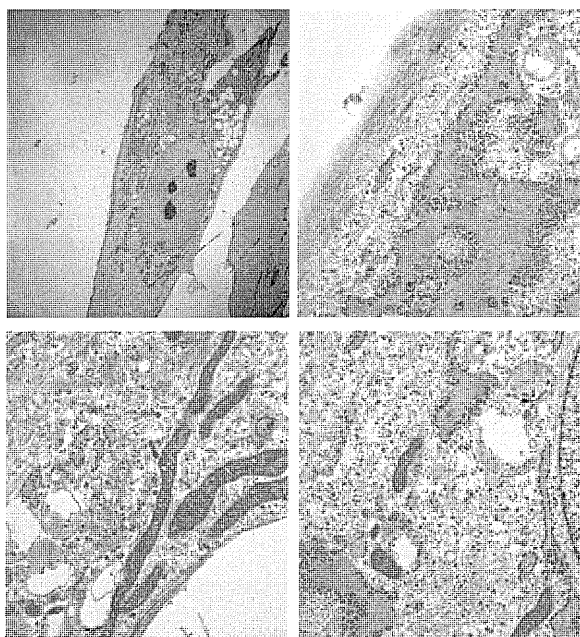
The telomerase activity per 2.5×10^4 cells was assayed by the stretch PCR method with TeloChaser (Toyobo, Osaka, Japan) according to the manufacturer's instructions. Briefly, the cells were washed with PBS, pelleted by centrifugation, lysed, and centrifuged at 15,000 rpm for 20 min. The supernatants were subjected to telomerase reactions at 30°C for 60 min. The products were denatured at 95°C for 2 min 30 s, amplified by PCR (30 cycles of 95°C 30 s, 68°C 30 s, and 72°C 45 s) using rTaq polymerase and anti-Taq high (Toyobo), electrophoresed in 10% polyacrylamide gels in TBE buffer at 100 V, stained with 0.5 µg/ml ethidium bromide.

M: 20bp ladder marker (BIO RAD)

- 1: ADMPC #1 heat (-)
- 2: ADMPC #1 heat (+)
- 3: ADMPC #2 heat (-)
- 4: ADMPC #2 heat (+)
- 5: ADMPC #3 heat (-)
- 6: ADMPC #3 heat (+)
- 7: 293T cell heat (-)
- 8: 293T cell heat (+)
- 9: 2.5×10^4 HeLa cell (positive control)
- 10: 5×10^3 HeLa cell (positive control)
- 11: 1×10^3 HeLa cell (positive control)
- 12: Negative Control



hADMPCsはTERT活性を有しない



電子顕微鏡観察による Viral particle有無の検討

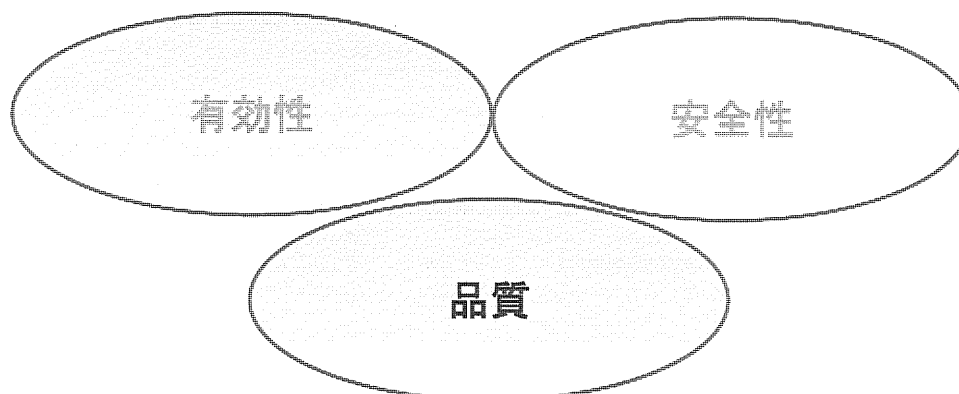
3LotのhADMPC
各々P5にて実施
(non-GLP)

3Lotともvirus-like particle認めず

試験項目	水準	検体	試験系	試験結果
核型分析試験	GLP	P3 hADMPCs	核型分析	Lot a, b: 正常
		P5 hADMPCs	核型分析	Lot a, b: 正常
		P8 hADMPCs	核型分析	Lot a: 正常 Lot b, c 検討できず
CGH	non-GLP	hADMPCs P3 vs P5, P3 vs P5, P3 vs P5	遺伝子重複欠損の検索	Lot a-c: 異常認めず
Viral Particle試験	non-GLP	hADMPCs P5	電子顕微鏡的観察	Lot a-c: Virus-like particle認めず
造腫瘍試験	GLP	DMSO加培養P5 hADMPCs	ヌードマウスへの移植	Lot a-c: 腫瘍形成認めず
軟寒天コロニー形成確認試験	GLP	P5 hADMPCs		Lot a-c: コロニー形成認めず
単回投与毒性用量設定試験	non-GLP	DMSO加培養P5 hADMPCs	ヌードラット	経左心室腔内投与で、死亡発現は認められず、一般状態に異常は認められなかった。体重推移及び剖検では投与操作に起因する傷害が認められたが、重篤な変化ではなかった。最小致死量は、 1.5×10^7 cells/kg以上と考えられる。
単回投与毒性試験	GLP	DMSO加培養P5 hADMPCs	ヌードラット	hADMPC各投与群の雌雄とも死亡発現は認められなかった。一般状態、体重推移及び剖検では、hADMPCに起因する異常は認められなかった。hADMPCの単回経左心室腔内投与では、一般状態、体重及び剖検にhADMPCに起因する異常は認められなかった。最小致死量は雌雄とも 1.5×10^7 cells/kg以上と考えられる。

試験項目	水準	検体	試験系	試験結果
安全性薬理試験	GLP	DMSO加培養P5 hADMPCs	中枢毒性	異常認めず
		DMSO加培養P5 hADMPCs	呼吸毒性	異常認めず
		DMSO加培養P5 hADMPCs	循環毒性	要相談
体内動態試験 (運命試験)	non-GLP	DMSO加培養P5 hADMPCs		異常認めず
		Tracer遺伝子導入DMSO加培養hADMPCs	組織学的検索(定性)	要相談
		DMSO加培養P5 hADMPCs	Alb遺伝子発現量検索	要相談
凍結融解試験	non-GLP	DMSO加培養P5 hADMPCs	無血清凍結保存	コールドランにて製造した製剤を用いる予定
保存安定性試験	non-GLP	DMSO加培養P5 hADMPCs	凍結保存	コールドランにて製造した製剤を用いる予定
融解後安定性試験	non-GLP	DMSO加培養P5 hADMPCs	生存率等	コールドランにて製造した製剤を用いる予定
Lot恒常性試験	治験薬 GMP	DMSO加培養P5 hADMPCs	恒常性試験	プレコールドラン2例終了

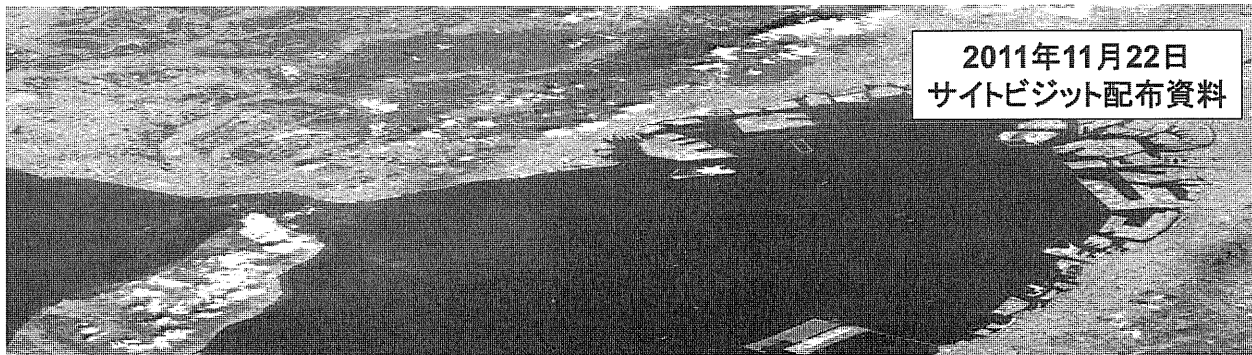
細胞製剤の三要件



出荷規格と細胞(製品)特性

製品出荷規格

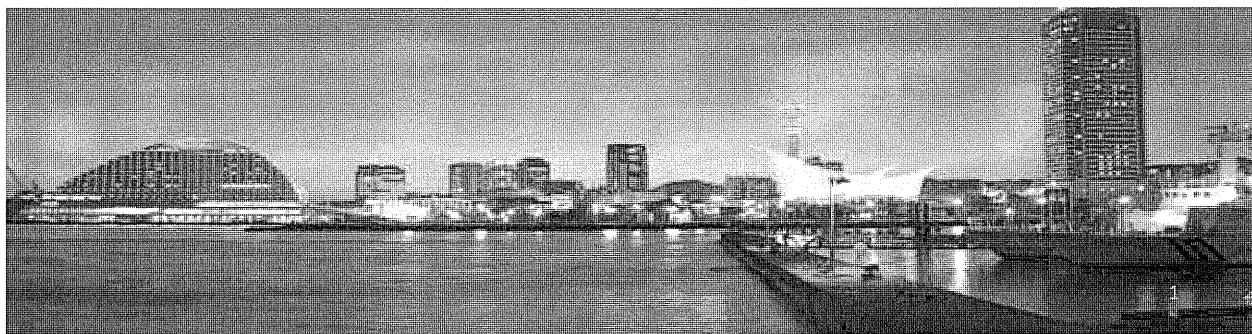
試験	判定基準
外観	
細胞濃度	
細胞生存率	
粒度分布	
純度(細胞表面マーカ)	
転写因子陽性確認試験(RT-PCR法)	
マイコプラズマ	
エンドトキシン	
無菌	
培地由来成分否定試験	



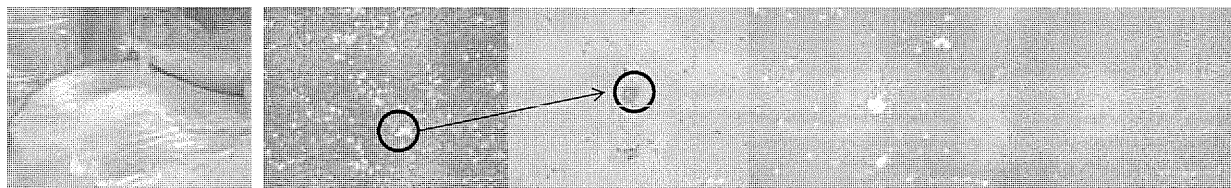
2011年11月22日
サイトビジット配布資料

ヒト脂肪組織由来多系統前駆細胞の 重症心不全治療細胞製剤としての開発

松山晃文



脂肪組織由来新規幹細胞: 脂肪組織由来多系統前駆細胞
(ADMPC: Adipose tissue-Derived Multilineage (multipotent) Progenitor Cells)
PCT/JP2008/060977



Lipoaspiration Stromal Vascular Fractions ADMPC P1 (day1) ADMPC P1 (day7) ADMPC P5

EDTAでのみ分離回収可能な細胞集団

RT-PCR Analysis



ADSC(従来)
ADMPC(新規)

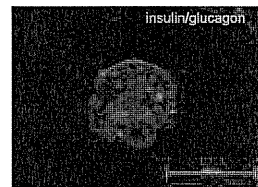
肝細胞



神経系細胞



胰岛細胞



毛細胞



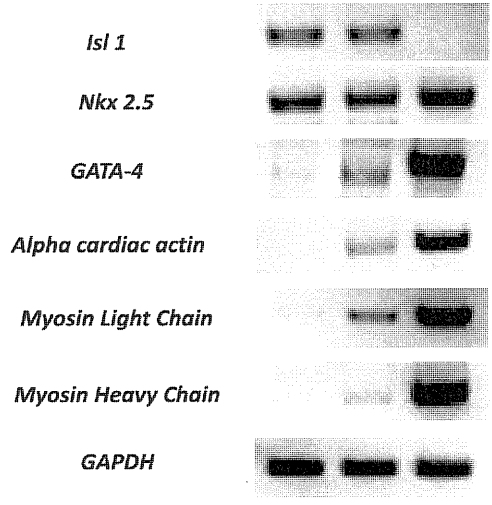
2

脂肪組織由来多系統前駆細胞(ADMPC) 知財評価

知的財産評価	PCT/JP2008/060977 (財)先端医療振興財団	サイトリ社特許 特開2002-537849 Univ. of Pittsburgh Univ. of California	WO97/026326 (Depuy Orthopaedics, Inc.)	WO99/002654 (Depuy Orthopaedics, Inc.)	WO99/028444 Zen Bio, Inc. 1999年6月10日	WO99/025813 Biocoral Inc. 1999年5月27日	公知文献 Biomaterials 1997 Lecoeur et al.	公知文献 Exp Cell Res. 1987 Deslex et al.
由来+単離細胞	「脂肪組織由来多系統前駆細胞」	脂肪組織由来幹細胞	ラット副睾丸脂肪パッド由来微小血管細胞 =前駆細胞 epididymal fat pads microvascular cells precursor cells	ラット精巣上体脂肪パッド由来微小血管細胞 =前駆体 epididymal fat pads microvascular cells precursor cells	ヒト脂肪組織由来間質細胞	脂肪組織	脂肪組織由来細胞 Stroma vascular cell	Rat epididymal fat由来stromal-vascular cell adipose precursor cells
単離方法	コラゲナーゼ処理 遠心分離 Ficoll遠心分離 播種24~36時間後EDTA処理にて回収	コラゲナーゼ処理 遠心分離 赤血球溶解 遠心分離	コラゲナーゼ処理 遠心分離	コラゲナーゼ処理 遠心分離	コラゲナーゼ処理 遠心分離	コラゲナーゼ処理 PS付着細胞を回収	コラゲナーゼ処理 遠心分離	コラゲナーゼ処理 遠心分離
評価	脂肪・骨・軟骨分化 肝小葉様細胞塊分化 心筋芽細胞分化	脂肪生成 骨発生 筋発生(多核細胞) 軟骨発生	コラーゲンと混合して、 冠動脈欠損部に移植(効果の確認なし)	コラーゲンと混合して、 冠動脈欠損部に移植 骨・軟骨再生	骨芽細胞へ分化 コラーゲン又はMatrigelと共に骨折部位に移植(仮想実施例)	骨生成	脂肪への分化誘導	
備考	先行脂肪組織由来幹細胞とは異なる	5-アザシチジンで筋原性分化は誘導されない点が骨髄由来幹細胞と異なる	ラット骨髄/血液由来CD34+の骨再生				BMP2とデキサメタゾンで骨生成の初期マーカーALP活性を誘導	無血清培地に特定の低分子化合物を添加して脂肪へ分化誘導

CLCs: Cardiomyoblast-like cells
0.1% DMSO加濃縮培養で
心筋細胞へと方向付け

RT-PCR Analysis



多系統 心筋芽
前駆細胞 細胞
(ADMPC) (CLC) hHeart

