

⑧ 記録の作成及び保管方法

①～⑦に関する事項について、実施の記録を文書で作成し、適切に保管する方法について明らかにすること。

ES 細胞由来分化細胞を原材料とした場合は、当該細胞について可能な限り、上記に関する情報を収集することで良い。

2 体外受精胚、既存の ES 細胞及び ES 細胞由来分化細胞以外の原材料及び製造関連物質並びに製造関連事項

体外受精胚、既存の ES 細胞及び ES 細胞由来分化細胞以外の原材料及び製造関連物質並びに製造関連事項を明らかにし、その適格性を示すとともに、必要に応じて規格を設定し、適切な品質管理を行うことが必要である。

生物由来製品又は特定生物由来製品を原材料として使用する場合は、その使用量を必要最小限とし、「生物由来原料基準」(平成 15 年厚生労働省告示第 210 号)をはじめとする関連法令及び通知を遵守すること。特に、ウイルス不活化及び除去に関する情報を十分に評価する必要があるほか、遡及調査等を確保する方策についても明らかにすること。

なお、この項に記載された技術要件は、ES 細胞作製の原材料となる配偶子から体外受精杯の作製、ES 細胞から ES 細胞由来分化細胞、最終製品に至る分化誘導過程において該当する場合に留意されるべき事項である。

(4) 細胞の培養を行う場合

① 培地、添加成分(血清、成長因子及び抗生物質等)及び細胞の処理に用いる試薬等のすべての成分等についてその適格性を明らかにし、必要に応じて規格を設定すること。各成分等の適格性の判定及び規格の設

定に当たっては、最終製品の適用経路等を考慮すること。

② 培地成分については、以下の点に留意すること。

ア 培地に使用する成分及び水は、可能な範囲で医薬品又は医薬品原料に相当する基準で品質管理されている生物学的純度の高い品質のものを使用すること。

イ 培地に使用する成分は主成分のみでなく使用するすべての成分について明らかにし、選択理由及び必要に応じて品質管理法等を明確にすること。ただし、培地の構成成分が周知のもので、市販品等が一般的に使用されている DMEM、MCDB、HAM、RPMI のような培地は 1 つのものと考えてよい。

ウ すべての成分を含有した培地の最終品については、無菌性及び目的とした培養に適していることを判定するための性能試験を実施する必要がある。その他、工程管理上必要と思われる試験項目を規格として設定し、適切な品質管理を行う必要がある。

③ 異種血清及び異種もしくは同種の血清に由来する成分については、細胞活性化又は増殖等の加工に必須でなければ使用しないこと。特に繰り返し使用して使用可能な製品では可能な限り使用を避けるよう検討すること。血清等の使用が避けられない場合には、以下の点を考慮し、血清等からの細菌、真菌、ウイルス及び異常プリオン等の混入・伝播を防止するとともに、最終製品から可能な限り除去するよう処理方法等を検討すること。

ア 血清等の由来を明確にすること。

イ 牛海綿状脳症発生地域からの血清を極力避ける等感染症リスクの低減に努めること。

ウ 由来動物種に特異的なウイルスやマイコプラズマに関する適切

な否定試験を行い、ウイルス等に汚染されていないことを確認した上で使用すること。

エ 細胞の活性化、増殖に影響を与えない範囲で細菌、真菌及びウイルス等に対する適切な不活化処理及び除去処理を行う。例えば、潜在的なウイルス混入の危険性を避けるために、必要に応じて加熱処理、フィルター処理、放射線処理又は紫外線処理等を組み合わせて行うこと。

オ 培養細胞でのウイルス感染のモニター、患者レベルでのウイルス性疾患の発症に対するモニター及び異種血清成分に対する抗体産生等の調査のために、使用した血清の一部を保管すること。

- ④ フィーダー細胞を使用する場合には、平成 12 年 7 月 14 日付け医薬審第 873 号厚生労働省医薬食品局審査管理課長通知「生物薬品（バイオテクノロジー応用医薬品／生物起源由来医薬品）製造用細胞基材の由来、調製及び特性解析」、平成 14 年 7 月 9 日付け医政研発第 0709001 号厚生労働省医政局研究開発振興課長通知「異種移植の実施に伴う公衆衛生上の感染症問題に関する指針」及び平成 16 年 7 月 2 日付け医政研発第 0702001 号厚生労働省医政局研究開発振興課長通知「「異種移植の実施に伴う公衆衛生上の感染症問題に関する指針」に基づく 3T3J2 株及び 3T3NIH 株をフィーダー細胞として利用する上皮系の再生医療への指針」を参考にして品質評価を行い、フィーダー細胞からの細菌、真菌、ウイルス、異常プリオン等の混入・伝播を防止する策を講じるとともに、使用時の分裂能不活化方法及び細胞密度等の条件について明らかにすること。ただし、例えば既に臨床使用されているヒト細胞・組織製品の製造に使用され、その特性や微生物学的安全性等に

ついて評価が定まっているフィーダー細胞と同一の細胞を利用する場合には、その妥当性を示すことによってウイルス否定試験等、試験の一部を省略することができるかも知れない。

- ⑤ 抗生物質の使用は極力避けるべきである。ただし製造初期の工程において抗生物質の使用が不可欠と考えられる場合には、その後の工程で可能な限り漸減を図るほか、その科学的理由、最終製品での推定残存量、患者に及ぼす影響などの面から妥当性を説明すること。なお、抗生物質を使用する場合でも十分に除去されることが立証される場合には、その使用を妨げるものではない。一方、原則として、用いる抗生物質に過敏症の既往歴のある患者の場合には、本治療を適応すべきではない。やむを得ず適用する際には十分な注意を払うと同時に、患者からインフォームド・コンセントを得る必要がある。
- ⑥ 成長因子を用いる場合には、細胞培養特性の再現性を保証するために、例えば純度及び力価に関する規格を設定する等適切な品質管理法を示すこと。
- ⑦ 最終製品に含有する可能性のある培地成分や操作のために用いられたその他の成分等については、生体に悪影響を及ぼさないものを選択すること。

(5) 非細胞成分と組み合わせる場合

- ① 細胞以外の原材料の品質及び安全性について

細胞とともに最終製品の一部を構成する非細胞の原材料(マトリックス、医療材料、スキャフォールド、支持膜、ファイバー及びビーズ等)がある場合には、その品質及び安全性に関する知見について明らかにすること。

当該原材料の種類と特性、最終製品における形態・機能及び想定される臨床適応の観点から見た品質、安全性及び有効性評価との関連を勘案して、適切な情報を提供すること。生体吸収性材料を用いる場合には、分解生成物に関して必要な試験を実施すること。

なお、必要な試験等については、平成15年2月13日付け医薬審発第0213001号厚生労働省医薬食品局審査管理課長通知「医療用具の製造(輸入)承認申請に必要な生物学的試験の基本的考え方について」等を参照し、試験結果及び当該原材料を使用することの妥当性を示すこと。文献からの知見、情報を合理的に活用すること。

② 目的とする細胞との相互作用について

最終製品中または中間製品中の細胞との相互作用に関し、以下の事項について、確認方法及び確認結果を示すこと。

- ア 非細胞成分が、想定される臨床適応に必要な最終製品中または中間製品中の細胞の機能、生育能力、活性及び安定性に悪影響を与えないこと。
- イ 非細胞成分との相互作用によって起こり得る、最終製品中または中間製品中の細胞の変異、形質転換及び脱分化等を考慮し、その影響を可能な範囲で評価すること。
- ウ 想定される臨床適応において期待される非細胞成分の性質が、最終製品中または中間製品中の細胞との相互作用によって損なわれないこと。

③ 細胞と適用部位を隔離する目的で非細胞成分を使用する場合

非細胞成分を細胞と適用部位を隔離する目的で使用する場合、下記の項目を参考に効果、安全性を確認すること。

- ア 免疫隔離が目的の場合、その程

度

イ 最終製品中の細胞由来の目的生理活性物質の膜透過キネティクスと薬理効果

ウ 栄養成分及び排泄物の拡散

エ 非細胞成分が適用部位周辺に及ぼす影響

オ 目的細胞由来の目的生理活性物質の薬理効果に期待し、かつ目的細胞や未分化細胞と適用部位との隔離を目的する場合、非細胞成分の崩壊等により細胞等が漏出しないこと。

(6) 細胞に遺伝子工学的改変を加える場合

細胞に遺伝子を導入する場合は、次に掲げる事項に関する詳細を示すこと。

- ① 目的遺伝子の構造、由来、入手方法、クローニング方法並びにセル・バンクの調製方法、管理方法及び更新方法等に関する情報
- ② 導入遺伝子の性質
- ③ 目的遺伝子産物の構造、生物活性及び性質
- ④ 遺伝子導入構成体を作製するために必要なすべての原材料、性質及び手順(遺伝子導入法並びに遺伝子導入用ベクターの由来、性質及び入手方法等)
- ⑤ 遺伝子導入構成体の構造や特性
- ⑥ ベクターや遺伝子導入構成体を作製するための細胞やウイルスのバンク化及びバンクの管理方法
遺伝子導入細胞の製造方法については、平成7年11月15日付け薬発第1062号厚生省薬務局長通知「遺伝子治療用医薬品の品質及び安全性の確保に関する指針について」(以下、「遺伝子治療用医薬品指針」という。)の別添「遺伝子治療用医薬品の品質及び安全性の確保に関する指針」第2章等を参照すること。また、同通知の別記に準じて

設定の妥当性等を明らかにすること。

なお、遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律(平成 15 年法律第 97 号)に基づき、「ヒトの細胞等」若しくは「分化する能力を有する、又は分化した細胞等であって、自然条件において個体に成育しないもの」以外の細胞、「ウイルス」及び「ウイロイド」に対して遺伝子工学的改変を加える場合には、別途手続きが必要となるので留意すること。

上記の記述にかかわらず、最新の知見に基づき、細胞に導入される遺伝子が、化学的にも、機能的にも最終製品の一部を構成せず、製造工程中の試薬として使用されると判断された場合は、使用の目的に合う品質及び安全性が確保されていることを明らかにすることによりよい。

3 ヒト ES 細胞株の樹立及びヒト ES 細胞由来分化細胞株

1 ヒト ES 細胞株の樹立

ヒト ES 細胞株の樹立に当たっては、体外受精胚の雄性及び雌性ドナーの遺伝的背景を可能な範囲で理解したうえで樹立すること。体外受精胚から ES 細胞株樹立までの方法(ヒト胚盤胞を得るための方法、胚盤胞からの内部細胞塊の分離・培養、未分化細胞の分離及び株化の方法、ヒト ES 細胞株樹立までの各段階での培地、培養条件、培養期間等)を明確にし、可能な範囲でその妥当性を明らかにすること。

ヒト ES 細胞株の品質の均質性及び安定性を保持するため、各種細胞特性指標(細胞純度、形態学的評価、HLA タイピング、表現型特異的マーカー、核型、DNA フィンガープリンティング、細胞増殖特性、多分化能など)のうちから重要細胞特性指標を同定してその基準を設定すると

ともに、設定された基準による品質を維持したまま増殖が可能な継代数又は分裂回数を示すこと。検討に際しては、検体の量的制限や技術的限界もあり、可能な範囲で考慮すればよい。ただし、樹立した細胞株をもとに別に細胞バンクを構築し、医薬品等製造用細胞基材として用いる場合は、当該バンクの段階で詳細な検討を行うことでもよい。

連結不可能匿名化等の理由でドナーの感染症に関する情報が得られない場合には、樹立したヒト ES 細胞株に関して特に B 型肝炎(HBV)、C 型肝炎(HCV)、ヒト免疫不全ウイルス(HIV)感染症、成人 T 細胞白血病(HTLV)、パルボウイルス B19 感染症について、検査により否定すること。また、サイトメガロウイルス感染、EB ウイルス感染及びウエストナイルウイルス感染については必要に応じて検査により否定すること。ドナーの遺伝的特徴が得られない場合は、ES 細胞株自体の遺伝情報から遺伝的疾患関連因子の有無に関する解析が必要となることがある。なお、これらの試験等は医薬品製造基材という面からは分化細胞株の段階で実施しても良いが、ヒト ES 細胞株の樹立という趣旨からは、ES 細胞株で実施されることが望ましい。

2 ヒト ES 細胞使用機関によるヒト ES 細胞由来分化細胞株の樹立

ヒト ES 細胞使用機関がヒト ES 細胞から分化段階の進んだ細胞株(分化細胞株:バンク)を樹立することが、安全な最終目的製品を安定的に製造する上で重要でむしろ科学的に合理的な場合がある。そのような方策を選択した場合は、そのヒト ES 細胞使用機関における使用目的及びヒト ES 細胞加工医薬品等の製造における利点と妥当性を説明しておくこと。別の表現型を示す細

胞株を段階的に樹立する際は、それぞれの細胞株樹立までの方法（分化誘導方法、目的とする細胞の分離・培養及び株化の方法、細胞株樹立までの各段階での培地、培養条件、培養期間及び収率等）を明確にし、ヒト ES 細胞加工医薬品等の製造における妥当性を明らかにすること。

分化細胞株の品質の均質性及び安定性を保持するため、各種特性指標（細胞純度、形態学的評価、表現型特異的マーカー、核型、細胞増殖特性、分化能など）のうちから重要細胞特性指標を同定してその基準を設定するとともに、設定された基準による品質を維持したまま増殖が可能な継代数又は分裂回数を示すこと。検討に際しては、検体の量的制限や技術的限界もあり、可能な範囲で考慮すればよい。ただし、樹立した細胞株をもとに別に細胞バンクを構築し、医薬品等製造用細胞基材として用いる場合は、当該バンクの段階で詳細な検討を行うことでもよい。

なお、輸入された ES 細胞株や古くに樹立された ES 細胞株等から樹立された分化細胞株においても満たすべき要件は同様である。しかし、その樹立・維持の過程が不明で「生物由来原料基準」の規定などを満たさない原材料が使用された履歴もしくは疑いのある場合が想定される。そのような細胞株の使用の妥当性については、製品ごとに個別の審査・評価となるので医薬品医療機器総合機構と相談すること。（注：使用しようとするヒト ES 細胞由来分化細胞株に関して感染症関連の情報が十分得られない場合は、特に B 型肝炎 (HBV)、C 型肝炎 (HCV)、ヒト免疫不全ウイルス (HIV) 感染症、成人 T 細胞白血病 (HTLV)、パルボウイルス B19 感染症について、検査により否定すること。また、サイトメガロウイルス感染、EB ウイルス感染

及びウエストナイルウイルス感染については必要に応じて検査により否定すること。ドナーの遺伝的特徴が得られない場合は、ES 細胞由来分化細胞株自体の遺伝情報から遺伝的疾患関連因子の有無に関する解析が必要となることがある。）

3 ヒト ES 細胞株及びヒト ES 細胞由来分化細胞株の保存及び運搬方法

ヒト ES 細胞株や製造に使用される場合のヒト ES 細胞由来分化細胞株について、保存・流通期間及び保存形態を十分考慮して、細胞の生存率及び力価等に基づく適切な安定性試験を実施し、貯法及び有効期限を設定し、その妥当性を明らかにすること。特に凍結保管及び解凍を行う場合には、凍結及び解凍操作による細胞株の安定性や規格への影響がないかを確認すること。また、必要に応じて標準的な保存期間を超える長期保存についても検討し、安定性の限界を可能な範囲で確認すること。ただし、細胞株を樹立後直ちに使用するような場合はこの限りではない。樹立した細胞株をもとに別に細胞バンクを構築し、医薬品等製造用細胞基材として用いる場合も、当該バンクの段階で詳細な検討を行うことでよい。

また、ヒト ES 細胞株やヒト ES 細胞由来分化細胞株を運搬する場合には、運搬容器及び運搬手順（温度管理等を含む）等を定め、その妥当性について明らかにすること。

第 2 製造工程

ヒト ES 細胞加工医薬品等の製造に当たっては、製造方法を明確にし、可能な範囲でその妥当性を以下の項目で検証し、品質の一定性を保持すること。

- 1 ロット構成の有無とロットの規定
最終製品及び中間製品がロットを構成するか否かを明らかにすること。ロットを構成する場合には、

ロットの内容について規定しておくこと。

2 製造方法

配偶子の採取から体外受精胚の作製、ヒト ES 細胞株の樹立及び分化状態の進んだ細胞を経て最終製品に至る製造の方法の概要を示すとともに、具体的な処理内容及び必要な工程管理、品質管理の内容を明らかにすること。

(1) 受入検査

ヒト ES 細胞株又はヒト ES 細胞由来の分化細胞株を受入れる場合で、かつ受入のための試験検査を必要とする場合は、その項目(例えば、目視検査、顕微鏡検査、生存率等)と各項目の判定基準を設定すること。(注: ヒト ES 細胞由来医薬品等を製造する施設へのヒト ES 細胞株の受入れは、当該ヒト ES 細胞株の臨床使用が法規制の上で可能な場合に限る)。

(2) ヒト ES 細胞株の樹立

製造者が採用した製造方法中における位置づけを明確にすること。留意事項については第 2 章第 1 3(1)を参考にすること。

(3) ヒト ES 細胞由来分化細胞株の樹立

該当する事項がある場合には、製造者が採用した製造方法中における位置づけを明確にすること。留意事項については第 2 章第 1 3(2)を参考にすること。

(4) ヒト ES 細胞由来の中間細胞株の樹立

ヒト ES 細胞加工医薬品等の製造者が、受け入れたヒト ES 細胞株またはヒト ES 細胞由来の分化細胞株から中間製品としての細胞株(中間細胞株)を樹立する場合は、その利点と妥当性を明らかにしておくこと。別の表現型を示す細胞株を段階

的に樹立する際は、それぞれの細胞株樹立までの方法(分化誘導方法、目的とする細胞の分離・培養及び株化の方法、細胞株樹立までの各段階での培地、培養条件、培養期間及び収率等)を明確にし、その妥当性を明らかにすること。

中間細胞株の品質の均質性及び安定性を保持するため、各種細胞特性指標(細胞純度、形態学的評価、表現型特異的マーカー、核型、細胞増殖特性、分化能など)のうちから重要細胞特性指標を同定してその基準を設定するとともに、設定された基準による品質を維持したまま増殖が可能な継代数又は分裂回数を示すこと。検討に際しては、細胞の量的制限や技術的限界もあり、可能な範囲で考慮すれば良い。

なお、このように樹立した中間細胞株をバンク化して活用する場合も考えられるが、その際は、(6)を参照すること。

(5) 最終製品の構成要素となる細胞の作製

ヒト ES 細胞由来分化細胞株から直接、あるいはヒト ES 細胞由来中間細胞株を経て、最終製品の構成要素となる細胞を作製する方法(分化誘導方法、目的とする細胞の分離・培養の方法、培養の各段階での培地、培養条件、培養期間及び収率等)を明確にし、その妥当性を明らかにすること。

(6) 細胞のバンク化

ヒト ES 細胞加工医薬品等の製造のいずれかの過程で、細胞をバンク化する場合には、その理由、セル・バンクの作製方法及びセル・バンクの特性解析、保存・維持・管理方法・更新方法その他の各作業工程や試験に関する手順等について詳細を明らかにし、妥当性を示すこと。平成 12 年 7 月 14 日付け医薬審第 873

号厚生省医薬安全局審査管理課長通知「生物薬品(バイオテクノロジー応用医薬品/生物起源由来医薬品)製造用細胞基剤の由来、調製及び特性解析について」等を参考とすること。ただし、より上流の過程で評価されていることに起因する正当な理由により検討事項の一部を省略することは差し支えない。

- (7) 製造工程中の取り違い及びクロスコンタミネーション防止対策
ヒト ES 細胞由来分化細胞株からのヒト ES 細胞加工医薬品等の製造にあたっては、製造工程中の取り違い及びクロスコンタミネーションの防止が重要であり、工程管理における防止対策を明らかにすること。

- (8) 記録の作成及び保管方法
(1)～(7)に関する事項について、実施の記録を文書で作成し、適切に保管する方法について明らかにすること。

3 最終製品の構成要素となる細胞の特性解析

最終製品の構成要素となる細胞については、例えば、未分化細胞の混入や目的外の細胞の混入を規定するための細胞純度をはじめとして、細胞生存率、形態学的特徴、細胞増殖特性、生化学的指標、免疫学的指標、特徴的産生物質、核型、分化能その他適切な遺伝型又は表現型の指標を解析するとともに、必要に応じて機能解析を行うこと。また、培養期間の妥当性及び細胞の安定性を評価するために、予定の培養期間を超えて培養した細胞において目的外の変化がないことを、適切な細胞特性指標等を用いて示すこと。これらの検討に際しては、あらかじめ試験的検体を用いた検討によって実施・検証しておくことでも良いが、これらの検討結果から患者に製

品を適用する際に選択すべき重要細胞特性指標を明らかにしておくこと。検討に際しては、検体の量的制限や技術的境界もあり、可能な範囲で考慮すればよい。適用後に体内での増殖等を期待する場合には、設定された基準による継代数又は分裂回数で期待された機能を発揮することを明らかにすること。

4 最終製品の形態、包装

最終製品の形態、包装は、製品の品質を確保できるものでなければならない。

5 製品の保存及び運搬

中間製品又は最終製品を保存及び運搬する必要がある場合には、保存方法や期間及び運搬容器、運搬手段(温度管理等を含む。)を定め、その妥当性を明らかにすること(第3章参照)。

6 製造方法の恒常性

ヒト ES 細胞加工医薬品等の製造に当たっては、製造工程を通じて、個別に加工した製品の細胞数、細胞生存率並びに製品の使用目的及び適用方法等からみた特徴(表現型の適切な指標、遺伝型の適切な指標、機能特性及び目的とする細胞の含有率等)が製品(ロット)間で本質的に損なわれないことを、あらかじめ評価しておくこと。この際、試験的検体を用いても良い。また、中間製品で評価することが、原材料としての細胞の適格性や中間製品までの製造過程の妥当性をよく反映し、また、最終製品に向けての適正な道標となるなど、合理的な場合もあるので、必要に応じて選択肢とすること。

製造工程中の凍結保存期間や加工に伴う細胞培養の期間が長期に及ぶ場合には一定期間ごとに無菌試験を行うなど、無菌性が確保されることを確認すること。

7 製造方法の変更

開発途中に製造方法を変更した場合、変更前の製造方法による製品を用いて得た試験成績を治験開始時又は承認申請に使用するときは、製造方法変更前後の製品の同等性／同質性を示すこと。

第3 最終製品の品質管理

1 総論

ヒトES細胞加工医薬品等の品質管理全体の方策としては、最終製品の規格及び試験方法の設定、個別患者への適用ごとの原材料の品質管理、製造工程の妥当性の検証と一定性の維持管理のほか、中間製品の品質管理を適正に行うこと等が挙げられる。

ヒトES細胞加工医薬品等においては目的細胞以外の未分化細胞の混入を否定するための方策が最も重要な要件の一つである。可能な限り中間製品の段階で目的細胞以外の未分化細胞の混入を否定することが望ましい。

最終製品の規格及び試験方法については、対象とする細胞・組織の種類及び性質、製造方法、各製品の臨床使用目的や使用方法、安定性、利用可能な試験法等によって異なると考えられるため、取り扱う細胞・組織によってこれらの違いを十分に考慮して設定すること。また、製造工程の妥当性の検証と一定性の維持管理法、中間製品の品質管理等との相互補完関係を考慮に入れて、全体として品質管理の目的が達成されるとの観点から、合理的に規格及び試験方法を設定し、その根拠を示すこと。なお、治験開始前の評価は、治験を実施する製品の品質として問題がないとみなせることを確認することを目的としている。したがって、無菌性やマイコプラズマの否定など必須なものを除き、治験

後に臨床試験成績と品質の関係を論ずるために必要な品質特性については、やむを得ない場合は少数の試験的検体の実測値をもとにその変動をしかるべき範囲内に設定する暫定的な規格及び試験方法を設定することで差し支えない。ただし、規格及び試験方法を含む品質管理法は治験の進行とともに充実・整備を図ること。

2 最終製品の品質管理法

最終製品について、以下に示す一般的な品質管理項目及び試験を参考として、必要で適切な規格及び試験方法を設定し、その根拠を明らかにすること。

ロットを構成しない製品を製造する場合は個別製品ごとに、ロットを構成する製品を製造する場合には、通常、各個別製品ではなく各ロットが品質管理の対象となるので、これを踏まえてそれぞれ適切な規格、試験方法を設定すること。

(1) 細胞数並びに生存率

得られた細胞の数と生存率は、最終製品又は必要に応じて適切な製造工程の製品で測定すること。なお、治験開始時においては、少数の試験的検体での実測値を踏まえた暫定的な規格を設定することでも良い。

(2) 確認試験

目的とする細胞・組織の形態学的特徴、生化学的指標、免疫学的指標、特徴的産生物質その他適切な遺伝型あるいは表現型のうち、重要細胞特性指標を選択して、目的とする細胞であることを確認すること。

(3) 細胞の純度試験

目的細胞以外の未分化細胞、異常増殖細胞、形質転換細胞の有無や混入細胞の有無等の細胞の純度について、目的とする細胞・組織の由来、培養条件等の製造工程、中間製品の

品質管理等を勘案し、必要に応じて試験項目、試験方法及び判定基準を示すこと。なお、治験開始時には、少数の試験的検体での実測値を踏まえた暫定的な規格を設定することでも良い。

(4) 細胞由来の目的外生理活性物質に関する試験

細胞由来の各種目的外生理活性物質のうち、製品中での存在量如何で患者に安全性上の重大な影響を及ぼす可能性が明らかに想定される場合には、適切な許容量限度試験を設定すること。なお、治験開始時には、少数の試験的検体での実測値を踏まえた暫定的な規格を設定することでも良い。

(5) 製造工程由来不純物試験

原材料に存在するか又は製造過程で非細胞成分、培地成分（フィーダー細胞を含む）、資材、試薬等に由来し、製品中に混入物、残留物、又は新たな生成物、分解物等として存在する可能性があるもので、かつ、品質及び安全性の面からみて望ましくない物質等（例えば、ウシ胎児血清由来のアルブミン、抗生物質等）については、当該物質の除去に関するプロセス評価や当該物質に対する工程内管理試験の結果を考慮してその存在を否定するか、又は適切な試験を設定して存在許容量を規定すること。試験対象物質の選定及び規格値の設定に当たっては、設定の妥当性について明らかにすること。

なお、治験開始時には、少数の試験的検体での実測値を踏まえた暫定的な規格を設定することでも良い。

(6) 無菌試験及びマイコプラズマ否定試験

最終製品の無菌性については、あ

らかじめモデル検体を用いて全製造工程を通じて無菌性を確保できることを十分に評価しておく必要がある。最終製品について、患者に適用する前に無菌性（一般細菌及び真菌否定）を試験により示すこと。また、適切なマイコプラズマ否定試験を実施すること。検証された核酸増幅法を用いることでもよい。最終製品の無菌試験等の結果が、患者への投与後にしか得られない場合には、投与後に無菌性等が否定された場合の対処方法をあらかじめ設定しておくこと。また、この場合、中間製品で無菌性を試験により示し、最終製品に至る工程の無菌性を厳密に管理する必要がある。また、同一施設・同一工程で以前に他の患者への適用例がある場合には、全例において試験により無菌性が確認されていること。ロットを構成する製品で密封性が保証されている場合には、代表例による試験でよい。適用ごとに試験を実施する必要がある場合で、無菌試験等の結果が、患者への投与後にしか得られない場合には、適用の可否は直近のデータを参考にすることになるが、この場合でも最終製品の無菌試験等は必ず行うこと。

抗生物質は細胞培養系で極力使用しないことが望まれるが、使用した場合には、無菌試験に影響を及ぼさないよう処置すること。

(7) エンドトキシン試験

試料中の夾雑物の影響を考慮して試験を実施すること。規格値は必ずしも実測値によらず、日本薬局方等で示されている最終製品の1回投与量を基にした安全域を考慮して設定すればよい。また、工程内管理試験として設定することも考えられるが、その場合には、バリデーションの結果を含めて基準等を設定し、その妥当性を説明すること。

(8) ウイルス試験

原材料ないし製造工程においてバンク化されておらず、ウインドウピリオドが否定できず、HBV、HCV、HIV、HTLVを増殖させる可能性のある細胞の場合には、中間製品、最終製品等について、増殖可能性のあるウイルスについてその存在量に関する試験を実施し、ES細胞加工医薬品等の投与が患者の不利益にならないことを確認する必要がある。また、製造工程中で生物由来成分を使用する場合には、最終製品で当該成分由来のウイルスについての否定試験の実施を考慮すべき場合もあるかも知れない。しかし可能な限り、もとの成分段階での試験やプロセス評価で迷入が否定されていることが望ましい。

(9) 効能試験

細胞種、臨床使用目的又は特性等に応じた適切な効能試験の実施を考慮すべき場合もある。なお、治験開始時においては、少数の試験的検体による実測値を踏まえた暫定的な規格を設定することでも良い。

(10) 力価試験

細胞・組織から分泌される特定の生理活性物質の分泌が当該ヒトES細胞加工医薬品等の効能又は効果の本質である場合には、その目的としている必要な効果を発揮することを示すために、当該生理活性物質に関する検査項目及び規格を設定すること。遺伝子を導入した場合の発現産物又は細胞から分泌される目的の生成物等について、力価、産生量等の規格を設定すること。なお、治験開始時においては、少数の試験的検体による実測値を踏まえた暫定的な規格を設定することでも良い。

(11) 力学的適合性試験

一定の力学的強度を必要とする製品については、適用部位を考慮した力学的適合性及び耐久性を確認するための規格を設定すること。なお、治験開始時においては、少数の試験的検体による実測値を踏まえた暫定的な規格を設定することでも良い。

第3章 ヒトES細胞加工医薬品等の安定性

製品化したヒトES細胞加工医薬品等又は重要なそれらの中間製品について、保存・流通期間及び保存形態を十分考慮して、細胞の生存率及び力価等に基づく適切な安定性試験を実施し、貯法及び有効期限を設定し、その妥当性を明らかにすること。特に凍結保管及び解凍を行う場合には、凍結及び解凍操作による製品の安定性や規格への影響がないかを確認すること。また、必要に応じて標準的な製造期間を超える場合や標準的な保存期間を超える長期保存についても検討し、安定性の限界を可能な範囲で確認すること。ただし、製品化後直ちに使用するような場合はこの限りではない。

また、製品化したヒトES細胞加工医薬品等を運搬する場合には、運搬容器及び運搬手順(温度管理等を含む)等を定め、その妥当性について明らかにすること。

第4章 ヒトES細胞加工医薬品等の非臨床安全性試験

製品の特性及び適用法から評価が必要と考えられる安全性関連事項について、技術的に可能であれば、科学的合理性のある範囲で、適切な動物を用いた試験又は *in vitro* での試験を実施すること。なお、非細胞成分及び製造工程由来の不純物等については、可能な限り、動物を用いた試験ではなく理化学的分析法により評価すること。また、最終製品

における未分化細胞の存在が異所性組織形成や腫瘍形成・がん化の可能性など安全性上の重要な関心事であるが、可能な限り、セル・バンクや中間製品段階等での徹底的な解析により、混在の可能性を否定するか、あるいは、目的細胞から未分化細胞の効果的分離・除去法や不活化法を開発し、活用することにより、混在の可能性を最小限にする努力が求められる。さらに、投与経路等の選択も安全性上の懸念を最小限にするための有用な方策であるかも知れない。

ヒト由来の製品を実験動物等で試験して必ずしも意義ある結果が得られるとは限らない。このため、動物由来の製品モデルを作製し適切な実験動物に適用する試験系により試験を行うことで、より有用な知見が得られると考えられる場合には、むしろ、このような試験系を用いることに科学的合理性がある場合があるかも知れない。その際は、対象製品及び対象疾患ごとに適切なモデル動物を用いた試験の実施を積極的に考慮する（注：例えば神経疾患ならばサル等、循環器疾患ならばブタ・イヌ等が適している場合がある）。ただし、ヒトES細胞加工医薬品等を構成する細胞と同一の特徴を有する細胞集団が同一の手法にてヒト以外の動物種からも得られるとは限らず、また同様の培養条件等で同等／同質な製品が製造できるとも限らないことから、このような試験の採用、実施及び評価にあたっては、慎重な事前検討や対応が必要である。ヒト以外の動物種から得たES細胞加工製品を用いて動物実験を行った場合、その外挿可能性を説明すること。場合によっては細胞を用いる試験系も考慮し、このようなアプローチにより試験を行なった際には、その試験系の妥当性について明らかにすること。

以下に、必要に応じて非臨床的に安全性を確認する際の参考にすべき事項及び留意点の例を示す。これらは例示であって、合理性のない試験の実施を求める趣旨ではなく、製品の特性及び臨床適用

法等を考慮して、必要かつ適切な試験を実施し、その結果について総合的な観点から評価、考察すること。

- 1 培養期間を超えて培養した細胞について、目的外の形質転換を起こしていないことや目的細胞以外の細胞が異常増殖していないことを明らかにすること。
- 2 必要に応じて細胞・組織が産生する各種サイトカイン、成長因子等の生理活性物質の定量を行い、生体内へ適用したときの影響に関して考察を行うこと。
- 3 製品の適用が患者の正常な細胞又は組織に影響を与える可能性、及びその安全性について検討、考察すること。
- 4 患者への適用により、製品中の細胞や混入する未分化細胞が異所性組織を形成する可能性、及びその安全性について検討、考察すること。その際、製品の種類や特性、投与経路、対象疾患、及び試験系の妥当性等を総合的に勘案すること。
- 5 製品及び導入遺伝子の発現産物等による望ましくない免疫反応が生じる可能性、及びその安全性について検討、考察すること。
- 6 最終製品の細胞または中間製品の細胞について、適切な動物モデル等を利用し、良性腫瘍を含む腫瘍形成及びがん化の可能性に関して検討、考察すること。その際、製品の種類や特性、投与量・投与経路、生着部位、対象疾患、及び試験系の妥当性等を総合的に勘案すること。また、腫瘍形成またはがん化の可能性がある場合には、期待される有効性との関係等を勘案して、使用することの妥当性及び合理性について明らかにすること。

（注：造腫瘍性試験において最も重要なのは、最終製品が患者に適用された場合の製品の造腫瘍性を可能な限りの確に評価することである。しかし、十分な細胞数が得られない

等の理由により最終製品を構成する細胞を用いることができず、中間製品の細胞を用いて最終製品の造腫瘍性を評価しなければならない場合も想定される。また、動物モデルを使用した造腫瘍性試験においては、細胞の分散や足場への接着、細胞密度、投与部位等の条件が最終製品と必ずしも一致するものではない。さらに、動物の種・系統・免疫状態による感度差もある。これらの事情を総合的に勘案して、最終製品の造腫瘍性を評価する必要がある。また、最終製品の造腫瘍性に起因する患者へのリスクについては、対象疾患を治療することによる患者へのベネフィット等とのバランスを踏まえて合理的に評価すること。

- 7 製造工程で外来遺伝子の導入が行われ、最新の知見に基づき、最終製品中で機能している場合や残存していると判断された場合には、遺伝子治療用医薬品指針に定めるところに準じて試験を行うこと。特に、ウイルスベクターを使用した場合には増殖性ウイルスがどの程度存在するかを検査するとともに、検査方法が適切であることについても明らかにすること。

また、導入遺伝子及びその産物の性状について調査し、安全性について明らかにすること。細胞については、増殖性の変化、良性腫瘍を含む腫瘍形成及びがん化の可能性について考察し、明らかにすること。染色体への挿入の可能性のあるベクターを用いた場合には、挿入変異による細胞の異常増殖性や造腫瘍性についての評価や臨床適応に当たっての長期フォローアップの必要性を考慮すること。

- 8 動物由来のモデル製品を含めて製品の入手が容易であり、かつ臨床上の適用に関連する有用な安全性情報を得られる可能性がある場合に

は、合理的に設計された一般毒性試験の実施を考慮すること。

なお、一般毒性試験の実施に当たっては、平成元年9月11日付け薬審1第24号厚生省薬務局新医薬品課長・審査課長連名通知「医薬品の製造(輸入)承認申請に必要な毒性試験のガイドラインについて」の別添「医薬品毒性試験法ガイドライン」等を参照すること。

第5章 ヒトES細胞加工医薬品等の効力又は性能を裏付ける試験

- 1 技術的に可能かつ科学的に合理性のある範囲で、実験動物又は細胞等を用い、適切に設計された試験により、ヒトES細胞加工医薬品等の機能発現、作用持続性及び医薬品・医療機器として期待される臨床効果の実現可能性(Proof-of-Concept)を示すこと。
- 2 遺伝子導入細胞にあつては、導入遺伝子からの目的産物の発現効率及び発現の持続性、導入遺伝子の発現産物の生物活性並びに医薬品等として期待される臨床効果の実現可能性(Proof-of-Concept)を示すこと。
- 3 適当な動物由来細胞・組織製品モデル又は疾患モデル動物がある場合には、それを用いて治療効果を検討すること。
- 4 治験開始段階では、当該製品の効力又は性能による治療が他の治療法と比較したときはるかに優れて期待できることが国内外の文献又は知見等により合理的に明らかにされている場合には、必ずしも詳細な実験的検討は必要とされない。

第6章 ヒトES細胞加工医薬品等の体内動態

- 1 製品を構成する細胞・組織及び導入遺伝子の発現産物について、技術的

に可能で、かつ、科学的合理性がある範囲で、実験動物での吸収及び分布等の体内動態に関する試験等により、患者等に適用された製品中の細胞・組織の生存期間、効果持続期間を推測し、目的とする効果が十分得られることを明らかにすること

(注:体内動態に関する試験等には、例えば組織学的検討、AluPCR法、磁気共鳴画像診断法(MRI)、陽電子放射断層撮影法(PET)、単一光子放射断層撮影法(SPECT)、バイオイメージングなどがある)。

- 2 ヒト ES 細胞加工医薬品等の用法(投与方法)について、動物実験を通してその合理性を明らかとすること。特に、全身投与にあつては投与後の細胞の全身分布を動物実験などから外挿し、有用性の観点から議論すること(注:投与経路ごとにどこに生着するかは不明であるが、全身投与よりも局所投与が望ましいと想定される。しかし、全身投与であってもその有用性において被投与患者に有益であると合理的に説明が可能である場合には用法として設定可能である。例えば、生着を期待する臓器以外への分布を最低限に抑えることが合理的な投与方法であると想定される。また、異所性生着しても、被投与患者にとって不利益(生体機能への悪影響)が生じない場合は用法として肯定できるかも知れない。異所性分化による不利益とは、例えば当該細胞が心臓に異所性生着して骨形成する場合は想定され、それが不整脈を惹起したような場合である)。
- 3 当該細胞・組織が特定の部位(組織等)に直接適用又は到達して作用する場合には、その局在性を明らかにし、局在性が製品の有効性・安全性に及ぼす影響を考察すること。

ヒト ES 細胞加工医薬品等の治験を開始するに当たって支障となる品質及び安全性上の問題が存在するか否かの段階においては、臨床上の有用性を勘案して評価されるものであり、ヒト ES 細胞加工医薬品等について予定されている国内の治験計画について以下の項目を踏まえて評価すること。その際、明らかに想定される製品のリスクを現在の学問・技術を駆使して排除し、その科学的妥当性を明らかにした上で、なお残る「未知のリスク」と、重篤で生命を脅かす疾患、身体の機能を著しく損なう疾患、身体の機能や形態を一定程度損なうことにより QOL を著しく損なう疾患などに罹患し、従来の治療法では限界があり、克服できない患者が「新たな医療機会を失うことにより被るかも知れないリスク」とのリスクの大小を勘案し、かつ、これらすべての情報を開示した上で患者の自己決定権に委ねるという視点を持つこと、すなわち、リスク・期待されるベネフィットの情報を開示した上で治験に入るかどうかの意思決定は患者が行うという視点を入れて評価することが望まれる。

- 1 対象疾患
- 2 対象とする被験者及び除外すべき被験者の考え方
- 3 ヒト ES 細胞加工医薬品等及び併用薬の適用を含めた、被験者に対して行われる治療内容(注:投与・移植した細胞の機能を維持・向上・発揮させるために併用する薬剤が想定される場合、当該薬剤の作用を *in vitro* あるいは *in vivo* で検証すること)。
- 4 既存の治療法との比較を踏まえた臨床試験実施の妥当性
- 5 現在得られている情報から想定される製品並びに患者のリスク及びベネフィットを含め、被験者への説明事項の案

なお、臨床試験は、適切な試験デザイン及びエンドポイントを設定して実施する必要があり、目的とす

る細胞・組織の由来、対象疾患及び適用方法等を踏まえて適切に計画すること。

D. 考察と結論

細胞・組織加工医薬品等による再生医療への適用において、基礎から臨床への効率的、効果的、合理的な実用化の為に必要な技術的要件や方策を出口である行政側が開発早期から示すことは、研究者、開発企業、規制側いずれにも有用であり、再生医療を国民のために円滑かつ迅速に提供するための必須要件である。

本研究は、わが国の再生医療実用化を推進するための適正な規制環境を世界に先駆けて整備し、国民の保健・医療の向上に資するとともに、当該分野の国際的優位性の確保を目差す行政施策活動の一環として位置づけられる。

総合科学技術会議等の要請による平成18・19年度の厚生労働科学研究事業では、平成20年に「ヒト由来（自己及び同種）細胞・組織加工医薬品等の品質及び安全性の確保に関する指針」と題する2つの基本的行政通知の発出に至った。平成20-22年度の研究事業では、ヒト幹細胞に特化した留意事項を明示するべく、「ヒト自己及び同種体性幹細胞、ヒト自己及び同種iPS細胞、並びにES細胞加工医薬品等の品質及び安全性の確保」に関する5つの指針案の作成に着手し、その最終局面に至っている。

平成23年度は、各種ヒト幹細胞加工医薬品等の品質・安全性確保指針案の充実、完成、施行及び解釈・運用の円滑化並びに国際社会への情報発信を目的に研究を実施した。主な研究成果を以下に示す。

1) ヒト幹細胞由来製品の品質・安全性確保指針案（5種類）の中間報告書を行政通知のための最終原案として完成させるために、学問・学術の進捗、海外の動向、幹細胞由来製品の実用化に関する国内での議論、再生医療枠組み検討会でのとくに審査のあり方に関する討論結果などをもとに調査・研究した。その結果を以下のようにまとめ、専門学術誌に公

表し、世に広く明らかにした。

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10巻（2011）86-90頁）

② ヒト（自己）体性幹細胞加工医薬品等の品質・安全性確保に関する指針（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—（同誌、91-98頁）

③ ヒト（同種）体性幹細胞加工医薬品等の品質・安全性確保に関する指針（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—（同誌、99-106頁）

④ ヒト（自己）iPS（様）細胞加工医薬品等の品質・安全性確保に関する指針（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—（同誌、107-117頁）

⑤ ヒト（同種）iPS（様）細胞加工医薬品等の品質・安全性確保に関する指針（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—（同誌、118-128頁）

⑥ ヒトES細胞加工医薬品等の品質・安全性確保に関する指針（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—（同誌、129-140頁）

⑦ ヒト幹細胞加工医薬品等の品質・安全性確保に関する指針（案）—ヒト幹細胞加工医薬品等の最終製品の品質管理—（同誌、141-146頁）

⑧ ヒト幹細胞加工医薬品等の品質・安全性確保に関する指針（案）—ヒト幹細胞加工医薬品等の非臨床試験及び臨床試験—（同誌、147-152頁）

2) 上記成果を行政通知化し、またパブコメ対応やQ&Aを作成することによる施行及び解釈・運用の円滑化を図るため、行政当局との意見交換をはじめ、必要な科学的検討を行い、情報提供を行った。その結果、5指針が平成24年2月2日にパブコメに出され、3月2日に18のコメントが

寄せられてきた。現在その回答作りを行っているところである。

3) 国際社会への情報発信については、2011年10月開催の世界幹細胞サミット及び2011年11月開催の再生医療世界会議において、5指針(案)の概要を発表するとともに、米国FDAやEUの規制担当者に直接面会して情報提供し、意見交換を行った。また、5指針案全文の英文仮訳版を作成し、国際社会に発表すべく完成度を高めつつある。

なお、これらいずれの指針案についても、これを解釈し、運用していくにあたって、前提と考えるべきことがある。本来の目的は再生医療という新たな医療によって病に苦しむ患者さんが救われる機会を提供することである。指針の役割は、最も効率的、効果的に所定の目標に達するための要素と方策の提示である。指針にはさまざまな事態、状況を想定して、網羅的に留意事項が記述されているが、これらは、細胞の特性や臨床目的、適用法等によって取捨選択されるべきものであり、また適用項目についても適切、柔軟に解釈・運用すべきものである。新たな治療法への可能性が期待できること(Proof of Concept: POC)、ヒトに初めて適用しても差し支えない程度に既存の知見の中で想定し得る安全性上の問題がクリアされていること、倫理的妥当性の確保・堅持(ヘルシンキ宣言遵守、ドナー/患者に対する徹底的な説明と同意や自己決定権が前提)は当然であるが、手段である指針への遵守が主となり、他に代え難い患者さんへの医療機会の提供という目標が従になるような解釈や運用は本末転倒であり、避けなければならない。

再生医療実用化の推進が、国民の保健衛生の維持・向上のために重要課題であることは、自明の理である。革新的医薬品等や医療技術の開発は、国益に叶い、国際益にもなる。人類共通の遺産の創出という平和的な国際貢献に繋がるからである。ここにおける国の役割は、臨床

研究や産業化推進のアシスト役であり、規制や指針はこうした共通のゴールに向かって科学的、合理的、効率的、効果的に進むための方策である。全関係者は同じピッチに立ち、共にゴールに向かうプレーヤーであり、英知を結集して、より早く患者さんのもとに画期的な細胞。組織加工医薬品等や革新的医療技術が届けられるよう、より高い達成度を目指して努力する必要がある。

E. 健康危機情報

なし

F. 参考文献及び資料

1. ヒト(自己)由来細胞・組織加工医薬品等の品質及び安全性の確保に関する指針(薬食発第0208003号)
2. ヒト(同種)由来細胞・組織加工医薬品等の品質及び安全性の確保に関する指針(薬食発第0912006号)

G. 研究発表

1. 論文発表

(著書)

1. Hayakawa T, Ishii-Watabe A: Japanese Regulatory Perspective on Immunogenicity. *Detection and Quantification of Antibodies to Biopharmaceuticals: Practical and Applied Considerations* (ed. by Michael G. Tovey), pp.57-72 (2011) John Wiley & Sons, Inc., New Jersey, USA
2. 早川堯夫: バイオ医薬品開発の主流を占める糖タンパク質. バイオ医薬品開発における糖鎖技術(早川堯夫、掛樋一晃、平林 淳監修)、pp. 00 (2011)、シーエムシー出版、東京.
3. 早川堯夫: 後続タンパク質性バイオ医薬品の CMC のポイント. バイオシミラー・バイオバターの開発・事業化 支援マニュアル、pp.47-81 (2011)、技術情報協会、東京.
4. 早川堯夫: タンパク質性バイオ医薬

- 品開発の現状とこれから. バイオ医薬品の処方設計と開発技術(森下真莉子監修)、pp. 1-14 (2011)、シーエムシー出版、東京.
5. 早川堯夫: 医薬品等の製造とウイルス安全性確認の基本的考え方. 医薬品の品質管理とウイルス安全性 (日本医薬品等ウイルス安全性研究会編)、pp. 30-41 (2011)、文光堂、東京.
- (論文: 英文)
1. Yagi Y, Yamamoto S, Takehi K, Hayakawa T, Ohyama Y, Suzuki S. Application of partial-filling capillary electrophoresis using lectins and glycosidases for the characterization of oligosaccharides in a therapeutic antibody. *Electrophoresis*. 32(21):2979-85 (2011)
 2. Yamada K, Mitsui Y, Kakoi N, Kinoshita M, Hayakawa T, Takehi K: One-pot characterization of cancer cells by the analysis of mucin-type glycans and glycosaminoglycans. *Anal. Biochem.*, 2011 Dec 14. [Epub ahead of print], PMID: 22212498 [PubMed - as supplied by publisher]
 3. Takayama K, Inamura M, Kawabata K, Katayama K, Higuchi M, Tashiro K, Nonaka A, Sakurai F, Hayakawa T, Kusuda Furue M, Mizuguchi H. Efficient Generation of Functional Hepatocytes From Human Embryonic Stem Cells and Induced Pluripotent Stem Cells by HNF4 α Transduction. *Mol Ther*. 20(1) 127-137 (2012)
 4. Tashiro K, Kawabata K, Omori M, Yamaguchi T, Sakurai F, Katayama K, Hayakawa T, Mizuguchi H. Promotion of hematopoietic differentiation from mouse induced pluripotent stem cells by transient HoxB4 transduction. *Stem Cell Res*. 2011 Sep 16. [Epub ahead of print]
 5. Oyama T, Yodohsi M, Yamane A, Takehi K, Hayakawa T, Suzuki S. Rapid and sensitive analyses of glycoprotein-derived oligosaccharides by liquid chromatography and laser-induced fluorometric detection capillary electrophoresis. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.*, 879(27), 2928-34 (2011)
 6. Saga A, Okura H, Soeda M, Tani J, Fumimoto Y, Komoda H, Moriyama M, Moriyama H, Yamashita S, Ichinose A, Daimon T, Hayakawa T, Matsuyama A. HMG-CoA reductase inhibitor augments the serum total cholesterol-lowering effect of human adipose tissue-derived multilineage progenitor cells in hyperlipidemic homozygous Watanabe rabbits. *Biochem Biophys Res Commun*. 412(1), 50-4 (2011)
 7. Takayama K, Inamura M, Kawabata K, Tashiro K, Katayama K, Sakurai F, Hayakawa T, Furue MK, Mizuguchi H. Efficient and directive generation of two distinct endoderm lineages from human ESCs and iPSCs by differentiation stage-specific SOX17 transduction. *PLoS One*. 2011, 6(7):e21780.
 8. Yamamoto S, Shinohara C, Fukushima E, Takehi K, Hayakawa T, Suzuki S. Partial-filling affinity capillary electrophoresis of glycoprotein

- oligosaccharides derivatized with 8-aminopyrene-1,3,6-trisulfonic acid. *J Chromatogr A.*, 218(29):, 4772-8 (2011)
9. Yasuda S, Hasegawa T, Hosono T, Satoh M, Watanabe K, Ono K, Shimizu S, Hayakawa T, Yamaguchi T, Suzuki K, Sato Y: AW551984: a novel regulator of cardiomyogenesis from pluripotent embryonic cells. *Biochem J.*, 437(2), 345-55(2011)
 10. Yodoshi M, Oyama T, Masaki K, Takehi K, Hayakawa T, Suzuki S.: Affinity entrapment of oligosaccharides and glycopeptides using free lectin solution. *Anal Sci.*, 2011;27(4):395.
 11. Suzuki T, Sasaki T, Yano K, Sakurai F, Kawabata K, Kondoh M, Hayakawa T, Yagi K, Mizuguchi H. Development of a recombinant adenovirus vector production system free of replication-competent adenovirus by utilizing a packaging size limit of the viral genome. *Virus Res.*, 158(1-2), 154-60 (2011)
 12. Sugio K, Sakurai F, Katayama K, Tashiro K, Ma H, Kawabata K, Kawase A, Iwaki M, Hayakawa T, Fujiwara T, Mizuguchi H. Enhanced safety profiles of the telomerase-specific replication-competent adenovirus by incorporation of normal cell-specific microRNA-targeted sequences. *Clin Cancer Res.*, 17(9), 2807-18(2011)
 13. Kinoshita M, Kakoi N, Matsuno YK, Hayakawa T, Takehi K. Determination of sulfate ester content in sulfated oligo- and poly-saccharides by capillary electrophoresis with indirect UV detection. *Biomed Chromatogr.* 2011. 25(5):588-93
 14. Inamura M, Kawabata K, Takayama K, Tashiro K, Sakurai F, Katayama K, Toyoda M, Akutsu H, Miyagawa Y, Okita H, Kiyokawa N, Umezawa A, Hayakawa T, Furue MK, Mizuguchi H. Efficient generation of hepatoblasts from human ES cells and iPS cells by transient overexpression of homeobox gene HEX. *Mol. Ther.*, 19(2), 400-7(2011)
 15. Okura H, Saga A, Fumimoto Y, Soeda M, Moriyama M, Moriyama H, Nagai K, Lee CM, Yamashita S, Ichinose A, Hayakawa T, Matsuyama A. Transplantation of human adipose tissue-derived multilineage progenitor cells reduces serum cholesterol in hyperlipidemic Watanabe rabbits. *Tissue Eng Part C Methods.*, 17(2), 145-54(2011)
 16. Nagamoto Y., Tashiro K., Takayama K., Ohashi K., Kawabata K., Sakurai F., Tachibana M., Hayakawa T., Hayakawa H., Furue MK., Mizuguchi H. Promotion of hepatic maturation of human pluripotent stem cells in 3D co-culture using Type I collagen and Swiss 3T3 cell sheets. *Biomaterials*, (in press).
 17. Yamada K, Mitsui Y, Kakoi N, Kinoshita M, Hayakawa T, Takehi K. One-pot characterization of cancer cells by the analysis of mucin-type glycans and glycosaminoglycans. *Anal Biochem.* 2012 Feb 15;421(2):595-606. Epub 201
 18. Umezawa A, Miyamoto Y.

- [Regenerative medicine, cell therapy and stem cells]. *Nihon Jibiinkoka Gakkai Kaiho*. 2011 Jul;114(7):593-601. Review.
19. ○Numasawa Y, Kimura T, Miyoshi S, Nishiyama N, Hida N, Tsuji H, Tsuruta H, Segawa K, Ogawa S, Umezawa A. Treatment of human mesenchymal stem cells with angiotensin receptor blocker improved efficiency of cardiomyogenic transdifferentiation and improved cardiac function via angiogenesis. *Stem Cells*. 2011 Sep;29(9):1405-14.
 20. Shinmura D, Togashi I, Miyoshi S, Nishiyama N, Hida N, Tsuji H, Tsuruta H, Segawa K, Tsukada Y, Ogawa S, Umezawa A. Pretreatment of human mesenchymal stem cells with pioglitazone improved efficiency of cardiomyogenic transdifferentiation and cardiac function. *Stem Cells*. 2011 Feb;29(2):357-66.
 21. Isshiki H, Sato K, Horiuchi K, Tsutsumi S, Kano M, Ikegami H, Abe H, Umezawa A, Aburatani H, Toyama Y. Gene expression profiling of mouse growth plate cartilage by laser microdissection and microarray analysis. *J Orthop Sci*. 2011 Sep;16(5):670-2.
 22. 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 Aug;13(4):361-70.
 23. Saito S, Onuma Y, Ito Y, Tateno H, Toyoda M, Hidenori A, Nishino K, Chikazawa E, Fukawatase Y, Miyagawa Y, Okita H, Kiyokawa N, Shimma Y, Umezawa A, Hirabayashi J, Horimoto K, Asashima M. Possible linkages between the inner and outer cellular states of human induced pluripotent stem cells. *BMC Syst Biol*. 2011 Jun 20;5 Suppl 1:S17.
 24. ○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 May;7(5):e1002085.
 25. Hankowski KE, Hamazaki T, Umezawa A, Terada N. Induced pluripotent stem cells as a next-generation biomedical interface. *Lab Invest*. 2011 Jul;91(7):972-7.
 26. 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 Jun 10;286(23):20345-53.
 27. Suzuki K, Sun R, Origuchi M, Kanehira M, Takahata T, Itoh J, Umezawa A, Kijima H, Fukuda S, Saijo Y. Mesenchymal stromal cells promote tumor growth through the enhancement of neovascularization. *Mol Med*. 2011;17(7-8):579-87.
 28. Toyoda M, Yamazaki-Inoue M,

- Itakura Y, Kuno A, Ogawa T, Yamada M, Akutsu H, Takahashi Y, Kanzaki S, Narimatsu H, Hirabayashi J, Umezawa A. Lectin microarray analysis of pluripotent and multipotent stem cells. *Genes Cells*. 2011 Jan;16(1):1-11.
29. O Miyamoto K, Yazawa T, Mizutani T, Imamichi Y, Kawabe SY, Kanno M, Matsumura T, Ju Y, Umezawa A. Stem cell differentiation into steroidogenic cell lineages by NR5A family. *Mol Cell Endocrinol*. 2011 Apr 10;336(1-2):123-6.
30. Yazawa T, Kawabe S, Inaoka Y, Okada R, Mizutani T, Imamichi Y, Ju Y, Yamazaki Y, Usami Y, Kuribayashi M, Umezawa A, Miyamoto K. Differentiation of mesenchymal stem cells and embryonic stem cells into steroidogenic cells using steroidogenic factor-1 and liver receptor homolog-1. *Mol Cell Endocrinol*. 2011 Apr 10;336(1-2):127-32.
31. Inamura M, Kawabata K, Takayama K, Tashiro K, Sakurai F, Katayama K, Toyoda M, Akutsu H, Miyagawa Y, Okita H, Kiyokawa N, Umezawa A, Hayakawa T, Furue MK, Mizuguchi H. Efficient generation of hepatoblasts from human ES cells and iPS cells by transient overexpression of homeobox gene HEX. *Mol Ther*. 2011 Feb;19(2):400-7.
32. O Umezawa A. [Review on cell banking system in Japan]. *Nihon Rinsho*. 2010 Aug;68 Suppl 8:322-6. Review.
33. Cui CH, Miyoshi S, Tsuji H, Makino H, Kanzaki S, Kami D, Terai M, Suzuki H, Umezawa A. Dystrophin conferral using human endothelium expressing HLA-E in the non-immunosuppressive murine model of Duchenne muscular dystrophy. *Hum Mol Genet*. 2011 Jan 15;20(2):235-44.
34. Takezawa Y, Yoshida K, Miyado K, Sato M, Nakamura A, Kawano N, Sakakibara K, Kondo T, Harada Y, Ohnami N, Miyado M, Saito H, Takahashi Y, Akutsu H, Umezawa A. β -catenin is a molecular switch that regulates transition of cell-cell adhesion to fusion. *Scientific Reports*. 2011, 1:68.
35. Nakamura A, Miyado K, Takezawa Y, Ohnami N, Sato M, Ono C, Harada Y, Yoshida K, Kawano N, Kanai S, Miyado M, Umezawa A. Innate immune system still works at diapause, a physiological state of dormancy in insects. *Biochem Biophys Res Commun*. 2011, 410:351-357.
36. Higuchi A, Ling QD, Ko YA, Chang Y, Umezawa A. Biomaterials for the feeder-free culture of human embryonic stem cells and induced pluripotent stem cells. *Chem Rev*. 111(5):3021-3035, 2011.
37. The International Stem Cell Initiative, Amps K, Andrews PW, Anyfantis G, Weisenberger DJ, Wu Y, Yamanaka S, Young L, Zhou Q, et al. Screening ethnically diverse human embryonic stem cells identifies a chromosome 20 minimal amplicon conferring growth advantage. *Nat Biotechnol*. 2011 29(12) p1132-44.
38. Lahti AL, Kujala VJ, Chapman H,

- Koivisto AP, Pekkanen-Mattila M, Kerkelä E, Hyttinen J, Kontula K, Swan H, Conklin BR, Yamanaka S, Silvennoinen O, Aalto-Setälä K. Model for long QT syndrome type 2 using human iPSC cells demonstrates arrhythmogenic characteristics in cell culture. *Dis Model Mech*. 2011 Nov 22. [Epub ahead of print]
39. OMaekawa M, Yamanaka S. Glis1, a unique pro-reprogramming factor, may facilitate clinical applications of iPSC technology. *Cell Cycle*. 2011 Nov 1;10(21). [Epub ahead of print]
40. Hiratsuka M, Uno N, Ueda K, Kurosaki H, Imaoka N, Kazuki K, Ueno E, Akakura Y, Katoh M, Osaki M, Kazuki Y, Nakagawa M, Yamanaka S, Oshimura M. Integration-free iPSC cells engineered using human artificial chromosome vectors. *PLoS One*. 2011;6(10):e25961.
41. Yahata N, Asai M, Kitaoka S, Takahashi K, Asaka I, Hioki H, Kaneko T, Maruyama K, Saido TC, Nakahata T, Asada T, Yamanaka S, Iwata N, Inoue H. Anti-A β drug screening platform using human iPSC cell-derived neurons for the treatment of Alzheimer's disease. *PLoS One*. 2011;6(9):e25788
42. Nori S, Okada Y, Yasuda A, Tsuji O, Takahashi Y, Kobayashi Y, Fujiyoshi K, Koike M, Uchiyama Y, Ikeda E, Toyama Y, Yamanaka S, Nakamura M, Okano H. Grafted human-induced pluripotent stem-cell-derived neurospheres promote motor functional recovery after spinal cord injury in mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2011 Oct 4;108(40):16825-30.
43. Okita K, Nagata N, Yamanaka S. Immunogenicity of induced pluripotent stem cells. *Circ Res*. 2011 Sep 16;109(7):720-1.
44. Yagi T, Ito D, Okada Y, Akamatsu W, Nihei Y, Yoshizaki T, Yamanaka S, Okano H, Suzuki N. Modeling familial Alzheimer's disease with induced pluripotent stem cells. *Hum Mol Genet*. 2011 Dec 1;20(23):4530-9.
45. Nakamura T, Nakagawa M, Ichisaka T, Shiota A, Yamanaka S. Essential roles of ECAT15-2/Dppa2 in functional lung development. *Mol Cell Biol*. 2011 Nov;31(21):4366-78.
46. Wang YC, Nakagawa M, Garitaonandia I, Slavin I, Altun G, Lacharite RM, Nazor KL, Tran HT, Lynch CL, Leonardo TR, Liu Y, Peterson SE, Laurent LC, Yamanaka S, Loring JF. Specific lectin biomarkers for isolation of human pluripotent stem cells identified through array-based glycomic analysis. *Cell Res*. 2011 Nov;21(11):1551-63.
47. Uosaki H, Fukushima H, Takeuchi A, Matsuoka S, Nakatsuji N, Yamanaka S, Yamashita JK. Efficient and scalable purification of cardiomyocytes from human embryonic and induced pluripotent stem cells by VCAM1 surface expression. *PLoS One*. 2011;6(8):e23657.
48. Okita K, Yamanaka S. Induced pluripotent stem cells: opportunities and challenges. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*. 2011 Aug