

C and D, and acetophenone glycosides, kaempferiaosides E and F, from the rhizomes of *Kaempferia parviflora*. *J Nat Med*. 2012 Jul;66(3):486-92.

- 15) Yagi Y, Kakehi K, Hayakawa T, Ohyama Y, Suzuki S: Specific detection of N-glycolylneuraminic acid and Gal α 1-3Gal epitopes of therapeutic antibodies by partial-filling capillary electrophoresis Original Research Article Analytical Biochemistry, Volume 431, Issue 2, 15 December 2012, Pages 120-126
- 16) 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.*, 2012 Mar;8(2):300-11. Epub 2011 Sep 16. PMID: 22000550 [PubMed - indexed for MEDLINE]
- 17) Takayama K, Inamura M., Kawabata K., Katayama K., Higuchi M., Tashiro K., Nonaka A., Sakurai F., Hayakawa T, Furue MK., 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).
- 18) Yamada K, Mitsui Y, Kakoi N, Kinoshita M, Hayakawa T, Kakehi 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 2011 Dec 14. PMID: 22212498 [PubMed - indexed for MEDLINE]

2. 研究発表

- 1) Hayakawa T.: Biosimilar Products: Scientific Principles, Challenges,

Opportunities, FDA/CASSS CMC Strategy Forum (Invited Panelist) ,San Francisco, USA(2012.1.22)

- 2) 早川堯夫 : バイオ医薬品としての糖タンパク質の我が国でのさらなる発展を目指して.第5回先導技術交流会(基調講演),東京(2012.1.16)
- 3) 早川堯夫 : 日本における後続タンパク質性医薬品の課題と展望:日本で考えるバイオ後続品開発の明日.第14回ヒューマンサイエンス総合研究ワークショップ(基調講演),東京(2012.1.25)
- 4) 早川堯夫 : ミニマム・コンセンサス・パッケージ(MCP)策定に向けて.第1回ミニマム・コンセンサス・パッケージ(MCP)策定会議:第1回再生医療薬事講習会(基調講演),神戸(2012.2.06)
- 5) Hayakawa T.:Some Aspects of Development, Evaluation and Control of Cell/Tissue-Based Products in Japan. International Forum on Challenges and Opportunities Posed by Biopharmaceuticals(Invited Speaker), Seoul, Korea (2012.3.29)
- 6) 早川堯夫 : ヒト幹細胞加工製品の品質及び安全性の確保について.厚生労働省第18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(招聘講演),東京(2012.5.09)
- 7) Hayakawa T.:Some Aspects of Development, Evaluation and Control of Cells/tissue-based Products in Japan. International Symposium on Regulatory Perspective on Cell/Tissue-based Products in a Global Framework:The 11th Congress of the Japanese Society for Regenerative Medicine(Invited Speaker and Chair Person), Yokohama (2012.6.14)
- 8) 早川堯夫 : 再生医療の産業化に向けた課題.再生医療イノベーションフォーラム(FIRM)セミナー(特別講演),東京(2012.8.09)
- 9) Hayakawa T.:Some Aspects of

- Development, Evaluation and Control of Biologics in Japan. Japan-Canada Seminar 2012 for Development and Production of Biopharmaceutical(1), Tront, Canada(2012.9.10)
- 10) Hayakawa T.: Some Aspects of Development, Evaluation and Control of Biologics in Japan. Japan-Canada Seminar 2012 for Development and Production of Biopharmaceutical(2), Montreall, Canada(2012.9.11)
- 11) 早川堯夫: 再生医療の産業化に向けた課題. BIOJAPAN 2012 (特別講演), 東京(2012.10.12)
- 12) 早川堯夫: 日本における細胞培養技術応用医薬品の開発と評価. 創立 90 周年記念第 64 回日本生物工学会大会 (招待講演), 神戸(2012.10.24)
- 13) Takao Hayakawa, Takashi Aoi, Akihiro Umezawa, Keiya Ozawa, Yoji Sato, Yoshiki Sawa, Akifumi Matsuyama, Shinya Yamanaka, Masayuki Yamato: Japanese Guidelines on Ensuring Quality and Safety of Products Derived from Engineered Human Stem Cells — after Public Consultation—. 3rd TERMIS Word Congress, Vienna, Austria(2012.9.5)
- 14) Takao Hayakawa, Takashi Aoi, Akihiro Umezawa, Keiya Ozawa, Yoji Sato, Yoshiki Sawa, Akifumi Matsuyama, Shinya Yamanaka, Masayuki Yamato: The Final Version of Japanese Guidelines on Ensuring Quality and Safety of Products Derived from Processing of Various Human Stem Cells. World Stem Cell Summit 2012, West Palm Beach, USA(2012.12.3)
- 15) Moriyama Hiroyuki, Moriyama Mariko, Ueda Ayaka, Nishibata Yusuke, Okura Hanayuki, Matsuyama Akifumi, Hayakawa Takao. Transplantation of human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells reduces serum cholesterol in hyperlipidemic watanabe rabbits. June 13 – 16, 2012, 10th ISSCR at Yokohama, Japan.
- 16) 一志春樹, 森山麻里子, 榎木 佳, 大倉華雪, 松山晃文, 森山博由, 早川堯夫. 低酸素下における Notch シグナルによる解糖系調節機構の解明. 第 6 2 回 日本薬学会近畿支部総会・大会
- 17) 宇田純輝, 森山麻里子, 北川 綾, 野村昇吾, 松山晃文, 森山博由, 早川堯夫. Bcl2 ファミリー分子 BNIP3 が表皮構築に及ぼす影響. 第 6 2 回 日本薬学会近畿支部総会・大会 (ポスター賞受賞)
- 18) 西端勇介, 森山麻里子, 西川彩菜, 深瀬堯哉, 福井承子, 本庄清貴, 上田彩加, 大倉華雪, 松山晃文, 森山博由, 早川堯夫. 酸化ストレスを負荷したヒト脂肪組織由来多系統前駆細胞を介する神経分化誘導メカニズムの解明. 第 6 2 回 日本薬学会近畿支部総会・大会
- 19) 田村暁識, 森山麻里子, 服部直穂, 日浦麻理衣, 細谷有希, 中北和樹, 曾根千晶, 大倉華雪, 松山晃文, 森山博由, 早川堯夫. ヒト脂肪組織由来幹細胞を用いた効率的なインスリン産生細胞への分化誘導系の構築. 第 6 2 回 日本薬学会近畿支部総会・大会
- 20) Mariko Moriyama, Junki Uda, Akifumi Matsuyama, Hiroyuki Moriyama, Takao Hayakawa. Indispensable roles of BNIP3, an inducer of autophagy, in both differentiation and maintenance of epidermal keratinocytes. 【Poster】 The 34th annual meeting of the Japanese Society for Investigative Dermatology. Okinawa, Japan.
- 21) Mariko Moriyama, Junki Uda, Akifumi Matsuyama, Hiroyuki Moriyama, Takao Hayakawa. Indispensable roles of BNIP3, an inducer of autophagy, in both differentiation and maintenance of epidermal keratinocytes. 【Oral presentation】 The 34th annual meeting of the Japanese Society for Investigative

- Dermatology, Okinawa, Japan.
- 22) Hiroyuki Moriyama, Nomura, Chiaki Sone, Mariko Moriyama, Ayaka Ueda, Ryouzuke Nishibata, Kouji Fukase, Hanayuki Okura, Akifumi Matsuyama, Takao Hayakawa. Human adipose tissue-derived multilineage progenitor cells exposed to oxidative stress induce neurite outgrowth in PC12 cells through p38 MAPK signaling. The 34th annual meeting of the molecular biology society of Japan. Fukuoka, Japan.
- 23) Haruki Isshi, Mariko Moriyama, Kei Sawaragi, Hanayuki Okura, Akifumi Matsuyama, Hiroyuki Moriyama, Takao Hayakawa. Role of Notch signaling in glycolysis regulation under hypoxic conditions. The 34th annual meeting of the molecular biology society of Japan. Fukuoka, Japan.
- 24) Junko Uda, Mariko Moriyama, Hanayuki Okura, Akifumi Matsuyama, Hiroyuki Moriyama, Takao Hayakawa. Indispensable roles of BNIP3, an inducer of autophagy, in both differentiation and maintenance of epidermal keratinocytes. The 34th annual meeting of the molecular biology society of Japan. Fukuoka, Japan.
- 25) Kei Sawaragi, Satoshi Tamura, Mariko Moriyama, Hanayuki Okura, Akifumi Matsuyama, Hiroyuki Moriyama, Takao Hayakawa. Development of a single tet-off lentiviral vector system with tightly regulated and homogeneous expression of target genes in human adipose-derived mesenchymal stem cells. The 34th annual meeting of the molecular biology society of Japan. Fukuoka, Japan.
- 26) Hiroyuki Moriyama, Mariko Moriyama, Haruki Isshi, Akifumi Matsuyama, Takao Hayakawa. Role of Notch signaling in the maintenance of human mesenchymal stem cells under hypoxic conditions. The 7th Notch meeting. National Institute of Genetics, Mishima, Japan 【Invited oral presentation】
- 27) Hiroyuki Moriyama, Mariko Moriyama, Haruki Isshi, Akifumi Matsuyama, Takao Hayakawa. Role of Notch signaling in the maintenance of human mesenchymal stem cells under hypoxic conditions. The 7th Notch meeting. National Institute of Genetics, Mishima, Japan 【Poster】
- 28) Hiroyuki Moriyama, Mariko Moriyama, Akifumi Matsuyama, Takao Hayakawa. 「脂肪組織由来体性幹細胞の製造方法」 関西8私大新技術開発説明会, JST本部本館ホール, 東京
- 29) 森山博由, 森山麻里子, 一志春樹, 大倉華雪, 松山晃文, 早川堯夫. 低酸素暴露下における脂肪由来間葉系幹細胞の Notch シグナル亢進と解糖系調節機構の解明. 第12回日本再生医療学会 The 12th Congress of the Japanese Society for Regenerative Medicine. 2013.3.21-23. パシフィコ横浜 (会議センター)
- 30) 再生医療実用化に向けた幹細胞の安全性評価における複合糖質糖鎖の利用. 保村佳孝, 木下充弘, 館山大揮, 古江美保, 森山博由, 早川堯夫, 掛樋一晃, 日本薬学会第132年会 3月, 札幌
- 31) 消化器系癌細胞に発現するCEA上の高フコシル化糖鎖の比較解析. 原沙弥香, 三ツ井洋輔, 山田佳太, 木下充弘, 早川堯夫, 掛樋一晃, 日本薬学会第132年会 3月, 札幌
- 32) ヒト胃癌由来 MKN45 細胞における糖タンパク質由来遊離糖鎖の細胞外分泌. 神末和哉, 大河原周平, 岩塚欣也, 山田佳太, 木下充弘, 早川堯夫, 掛樋一晃, 日本薬学会第132年会 3月, 札幌
- 33) シースレス CE-ESI-TOF MS によるペプチド・タンパク質の分析. 神末和哉, 木下充弘, 早川堯夫, 掛樋一晃, 日本薬学会第132年会 3月, 札幌
- 34) PEG 修飾タンパク質の分子不均一性評価に関する研究. 岸本昌太, 前田瑛起,

- 木下充弘、早川堯夫、掛樋一晃、日本薬学会第132年会 3月、札幌
- 35) マイクロチップ等電点電気泳動によるタンパク質製剤の迅速解析技術の開発。中辻佑強、岸本昌太、木下充弘、荒井昭博、中村 伸、早川堯夫、掛樋一晃、日本薬学会第132年会 3月、札幌
- 36) キャピラリー/マイクロチップ電気泳動のグライコバイオロジクスへの展開。木下充弘、中辻佑強、北荘一郎、荒井昭博、中村 伸、早川堯夫、掛樋一晃、第31回日本糖質学会年会 9月、鹿児島
- 37) マイクロチップ等電点電気泳動によるタンパク質製剤の迅速解析。中辻佑強、岸本昌太、松村千恵美、木下充弘、荒井昭博、中村伸、早川堯夫、掛樋一晃、第31回日本糖質学会年会 9月、鹿児島
- 38) マイクロチップ等電点電気泳動による糖タンパク質性バイオ医薬品の不均一性評価。中辻佑強、前田瑛起、岸本昌太、松村千恵美、木下充弘、早川堯夫、掛樋一晃、第32回キャピラリー電気泳動シンポジウム、11月、大阪

- の品質及び安全性の確保について（平成24年9月7日薬食発0907第4号）
- 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ついて（平成24年9月7日薬食発0907第5号）
- 5) ヒト ES 細胞加工医薬品等の品質及び安全性の確保について（平成24年9月7日薬食発0907第6号）

(URL)

<http://www.nihs.go.jp/cgtp/cgtp/sec2/sispsc/html/regulation.html>

【政策提言】

- 1) 厚生科学審議会ヒト幹細胞を用いる臨床研究に関する検討の見直しに関する専門委員会での提言
- 2) 厚生労働省医薬食品局「薬事法改正における再生医療製品の位置づけに関する意見交換会」での提言
- 3) 経済産業省「再生医療の実用化・産業化に関する研究会」での提言（最終報告書は2月公表）
- 4) 厚生科学審議会科学技術部会「再生医療の安全性確保と推進に関する専門委員会」での提言

G. 知的財産権の出願・登録状況

- 1) 発明の名称：「脂肪組織由来体性幹細胞の製造方法」発明人：森山 博由、森山 麻里子、松山 晃文、○早川 堯夫。平成24年7月11日登録（特願2012-155584）出願人；近畿大学

I. 政策への提言等

【ヒト幹細胞由来製品の品質及び安全性の確保に関する5つの指針】の草案作成

- 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ついて（平成24年9月7日薬食発0907第2号）
- 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ついて（平成24年9月7日薬食発0907第3号）
- 3) ヒト（自己）iPS（様）細胞加工医薬品等

Set 1	RT primer ; A12RT379R	GCTAGTCAA AATTTA ACCGAATTTTTTCCCAT
	ICANF ; 295FN3	GGAGGCTAGAAGGAGAG(<i>AGA</i>)
	ICANR ; 374RN3	CGAATTTTTTCCCATCG(<i>CGA</i>)
	Probe ; E-326A-F	GCGTC(<i>A</i>)GTATTA
Set 2	RT primer ; A12RT379R	GCTAGTCAA AATTTA ACCGAATTTTTTCCCAT
	ICANF ; 295FN3	GGAGGCTAGAAGGAGAG(<i>AGA</i>)
	ICANR ; 374RN3	CGAATTTTTTCCCATCG(<i>CGA</i>)
	Probe ; E-326G-F	GCGTCA(<i>G</i>)TATTA
Set 3	RT primer ; A12RT384R	GCTAGTCAA AATTGGCCTTA ACCGAATTTTTT
	ICANF ; 295FN3	GGAGGCTAGAAGGAGAG(<i>AGA</i>)
	ICANR ; 379RN3	TTA ACCGAATTTTTTCC(<i>CAU</i>)
	Probe ; E-326G-F	GCGTCA(<i>G</i>)TATTA

表 1 : Cycleave RT-ICAN 法で用いた primer 配列。(斜字) は RNA 配列を示す。

Set 1	RT primer ; A12RT379R	GCTAGTCAAATTTAACCGAATTTTTTCCCAT
	PCRf ; 295F	GGAGGCTAGAAGGAGAGAGA
	PCRr ; 374R	CGAATTTTTTCCCATCGCGA
	Probe ; E-326A-F	GCGTC(A)GTATTA
Set 2	RT primer ; A12RT379R	GCTAGTCAAATTTAACCGAATTTTTTCCCAT
	PCRf ; 295F	GGAGGCTAGAAGGAGAGAGA
	PCRr ; 374R	CGAATTTTTTCCCATCGCGA
	Probe ; E-326G-F	GCGTCA(G)TATTA
Set 3	RT primer ; A12RT384R	GCTAGTCAAATTTGGCCTTAACCGAATTTTTT
	PCRf ; 295F	GGAGGCTAGAAGGAGAGAGA
	PCRr ; 379R	TTAACCGAATTTTTTCCCAT
	Probe ; E-326G-F	GCGTCA(G)TATTA

表 2 : Cycleave RT-PCR 法で用いた primer 配列。(斜字) は RNA 配列を示す。

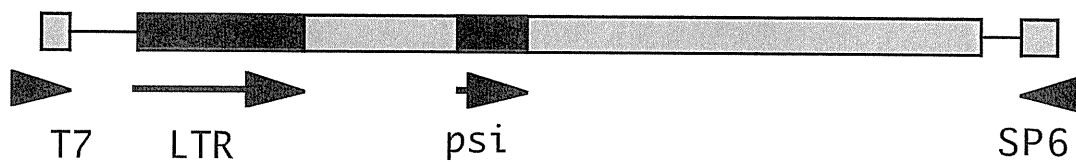


図1：モデルレトロウイルス核酸を作製するために利用した鋳型 DNA

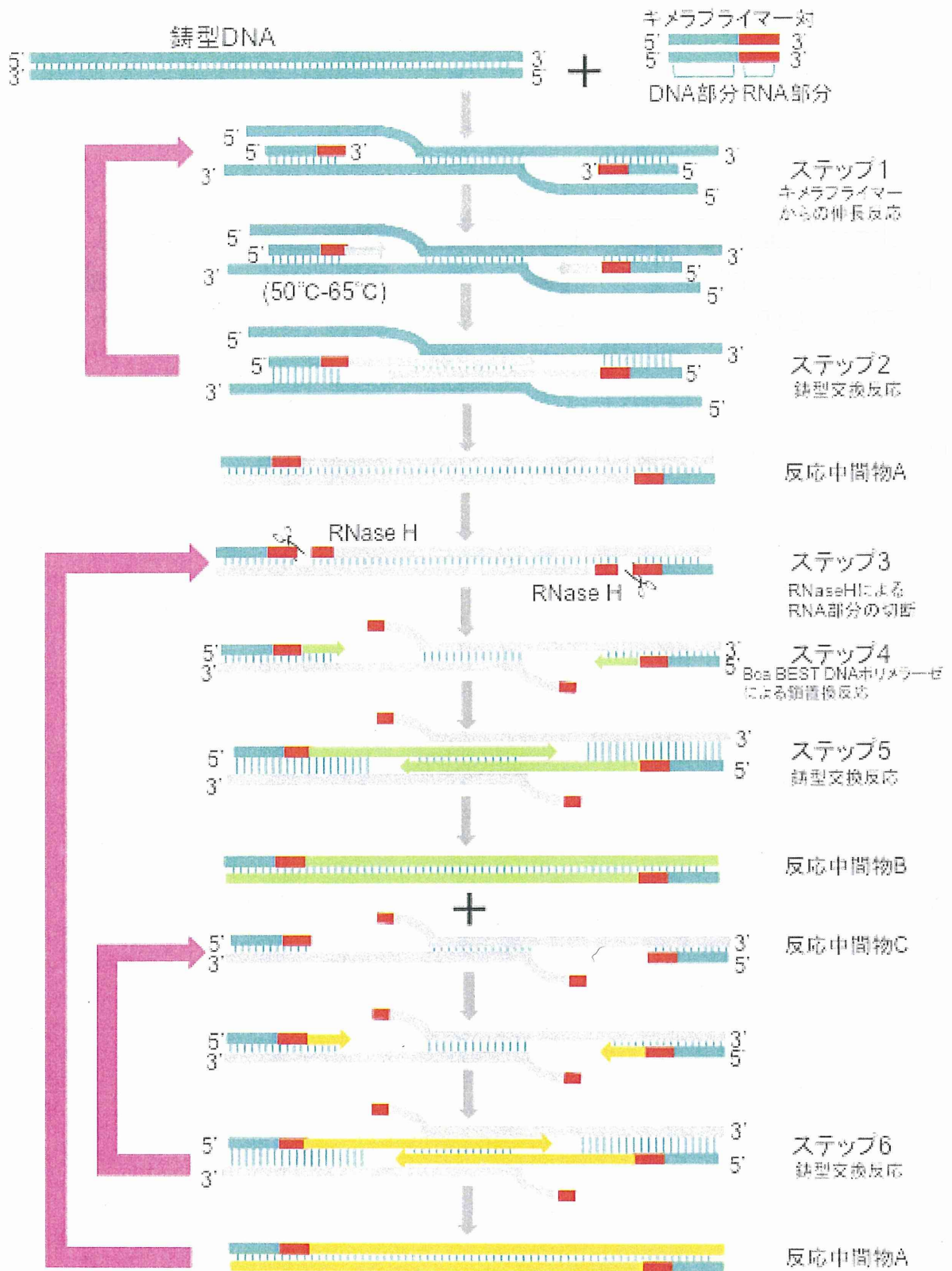


図2：ICAN 反応の基本原理

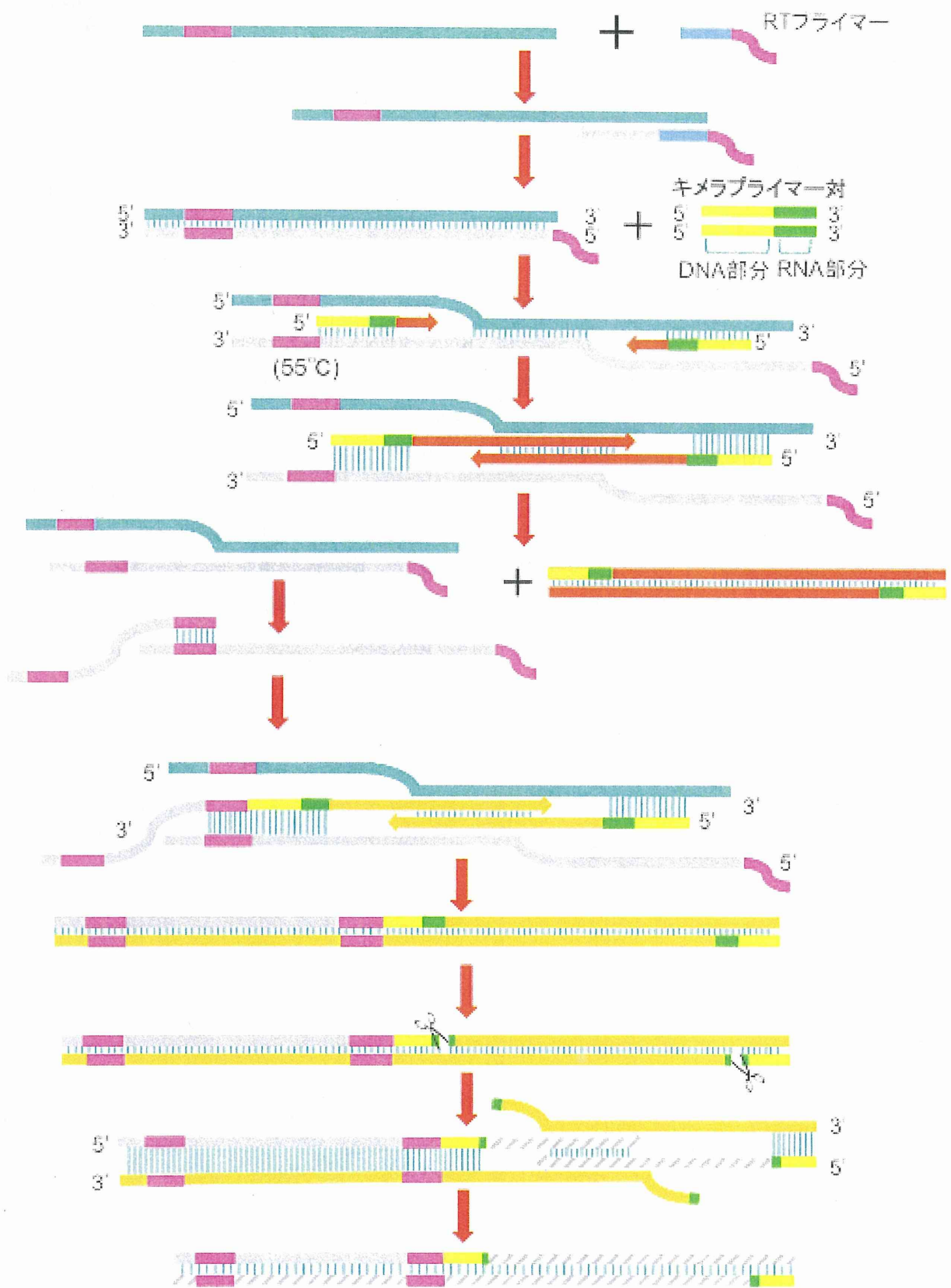


図 3 : Ladder Forming ICAN 法の原理

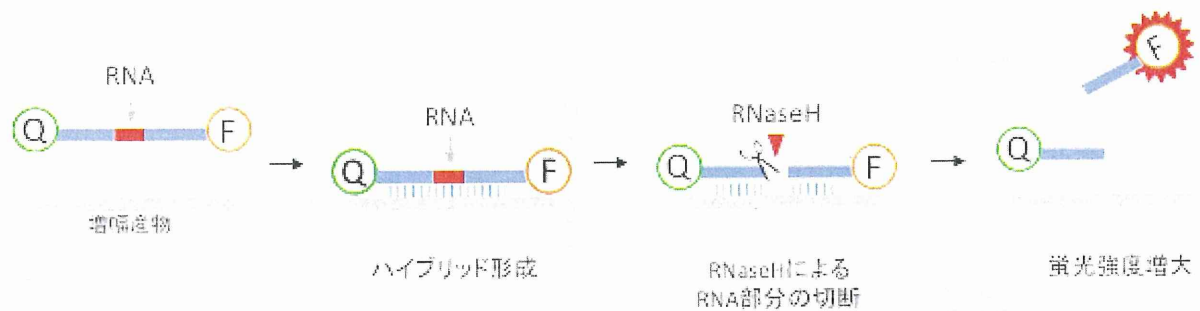
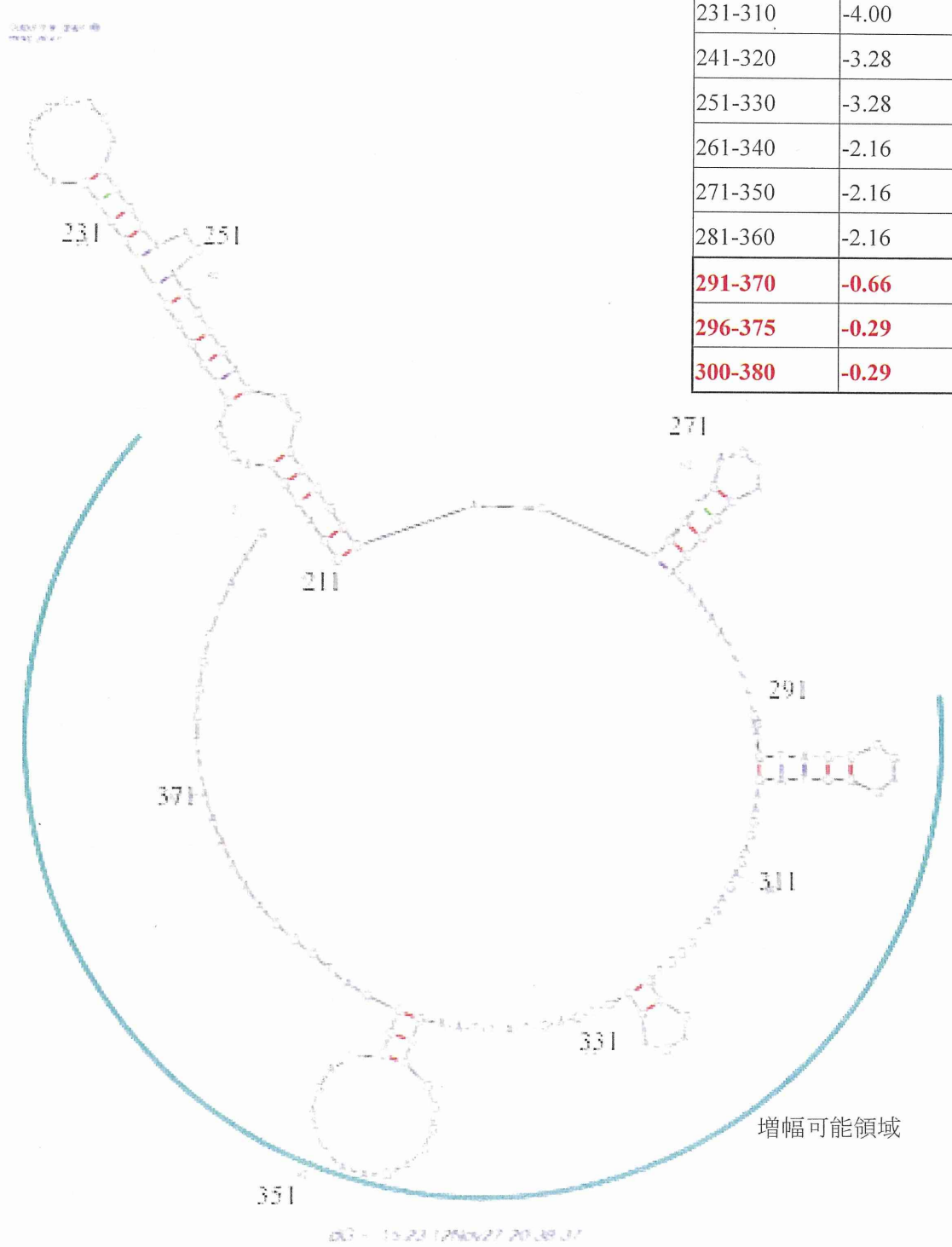


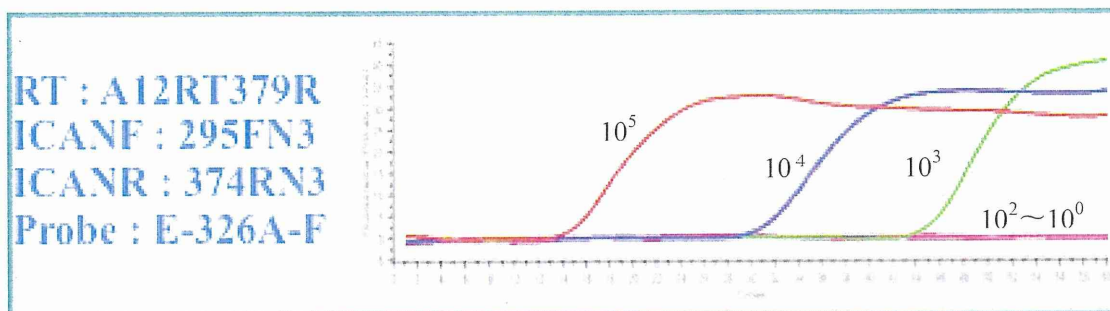
図 4 : Cyclecleave PCR 法の原理。CyclecleavePCR 法とは、サイクリングプローブ法を使用したリアルタイム PCR である。サイクリングプローブ法は、RNA と DNA からなるキメラプローブと RNase H の組み合わせによる検出法で、増幅中や増幅後の遺伝子断片の特定配列を効率良く検出することができる。プローブは RNA 部分を挟んで一方が蛍光物質（図中の F）で、もう一方がその蛍光物質の発する蛍光を消光する物質（クエンチャー：図中の Q）で標識されている。このプローブは、インタクトな状態ではクエンチングにより蛍光を発することはないが、増幅産物中の相補的な配列とハイブリッドを形成した後に RNase H により RNA 部分で切断されることにより、強い蛍光を発するようになる。この蛍光強度を測定することで、増幅産物量をモニターすることができる。プローブの RNA 部分がミスマッチであれば RNase H により切断されることはないので、一塩基の違いも認識できる非常に特異性の高い検出方法である。



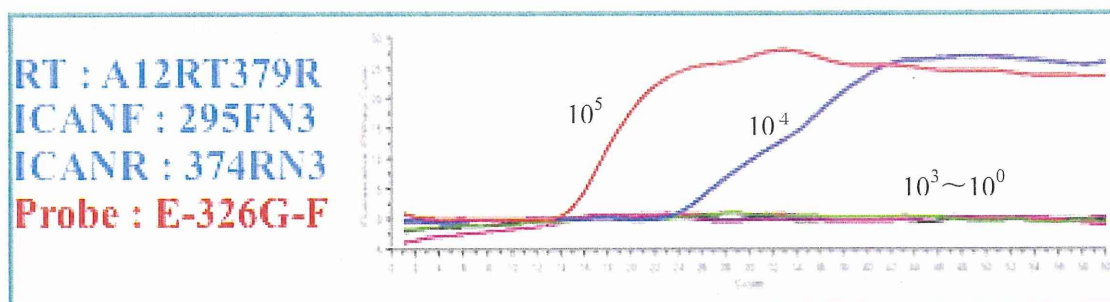
増幅領域	ΔG
211-290	-3.48
221-300	-2.95
231-310	-4.00
241-320	-3.28
251-330	-3.28
261-340	-2.16
271-350	-2.16
281-360	-2.16
291-370	-0.66
296-375	-0.29
300-380	-0.29

図 5 : 増幅可能領域の選定。

A Primer, Probe set 1



B Primer, Probe set 2



C Primer, Probe set 3

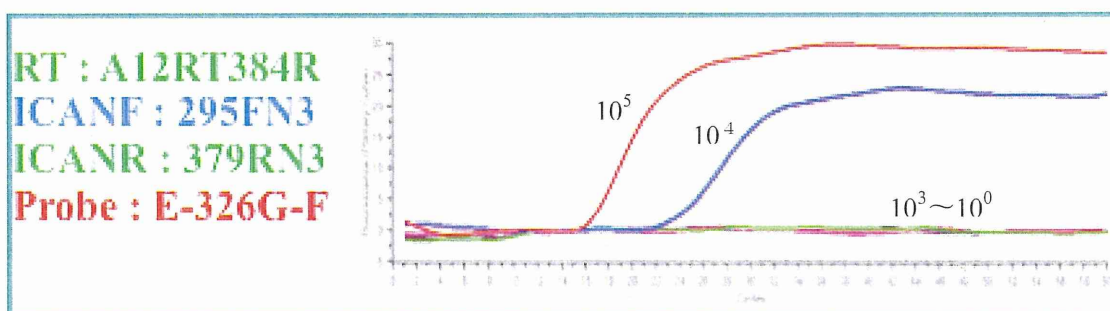


図 6 : Cycleave RT-ICAN 法における感度比較。(A) プライマー、プローブセット 1、(B) プライマー、プローブセット 2、(C) プライマー、プローブセット 3 での結果をそれぞれ示す。

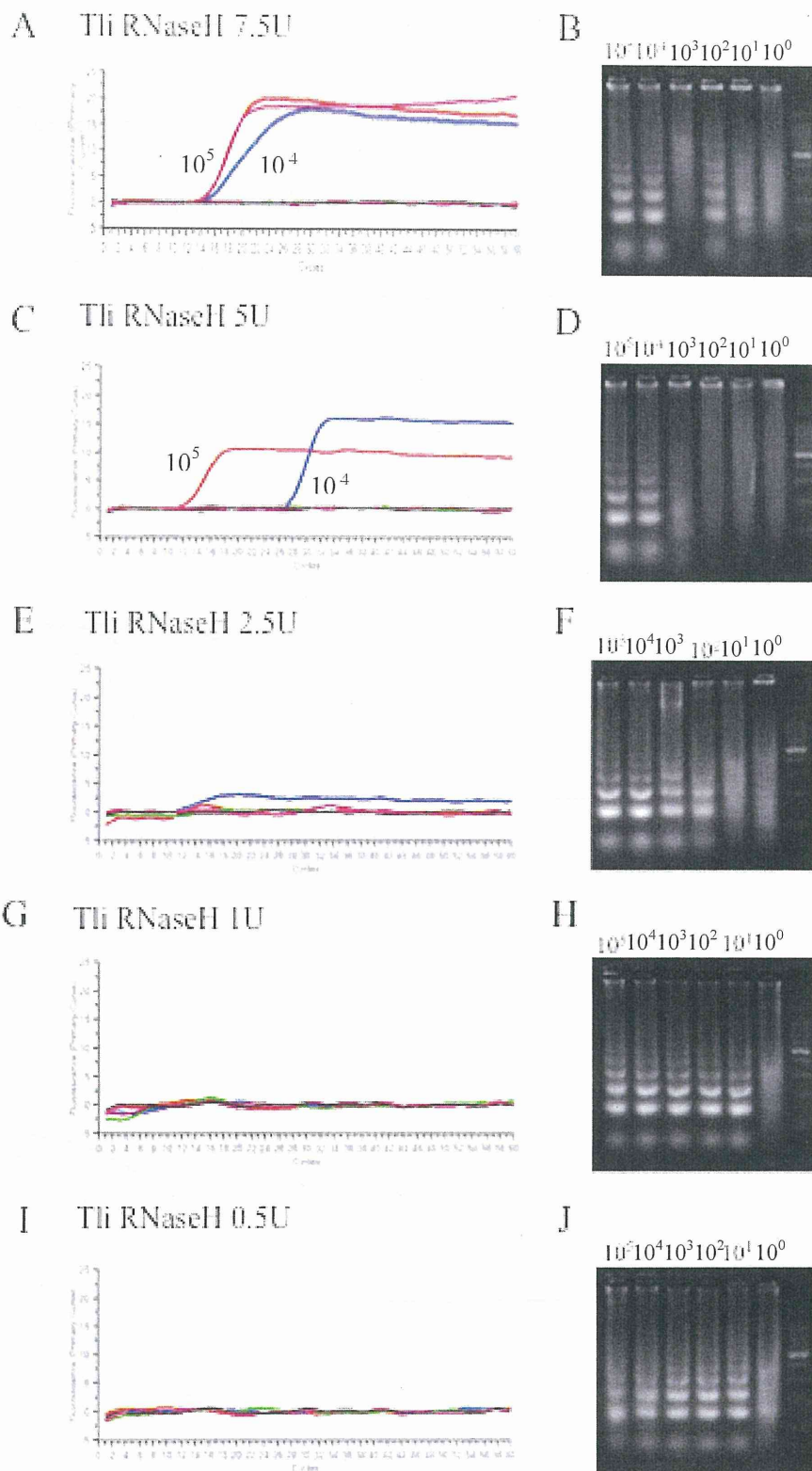
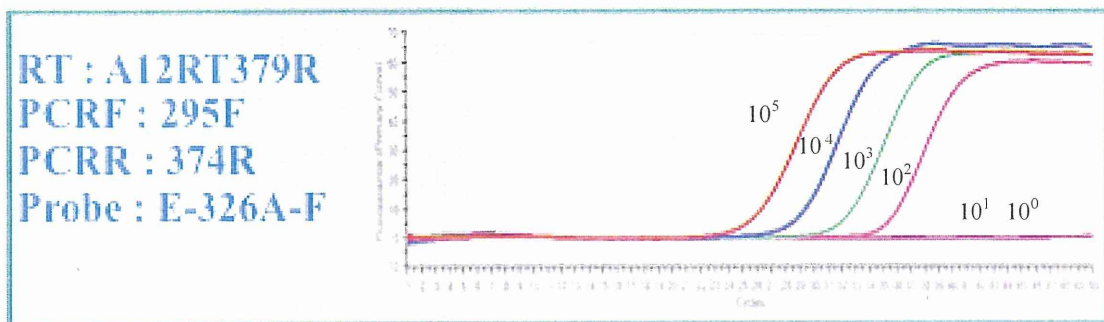
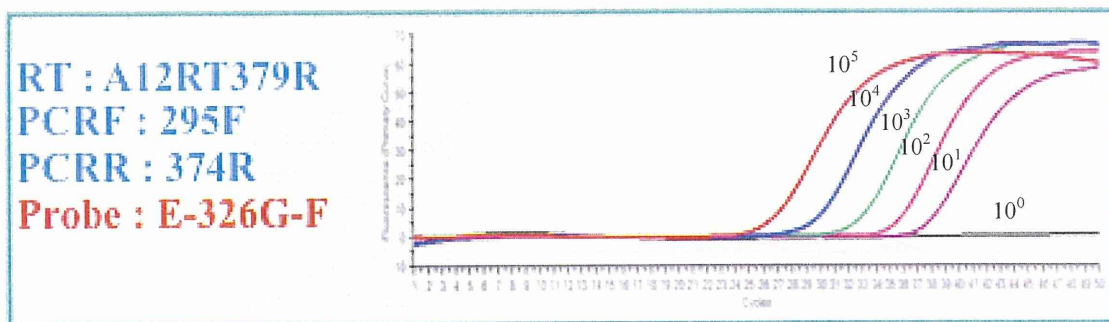


図7：Cyclecleave RT-ICAN法の反応条件検討。各 Tli RNaseH 濃度において、Cyclecleave RT-ICAN 反応を、リアルタイム蛍光検出法 (A, C, E, G, I) ならびにアガロースゲル電気泳動法 (B, D, F, H, J) による検出で確認した。(A, B) Tli RNaseH 濃度 7.5 ユニット、(C, D) Tli RNaseH 濃度 5 ユニット、(E, F) Tli RNaseH 濃度 2.5 ユニット、(G, H) Tli RNaseH 濃度 1 ユニット、(I, J) Tli RNaseH 濃度 0.5 ユニット使用での結果をそれぞれ示す。

A Primer, Probe set 1



B Primer, Probe set 2



C Primer, Probe set 3

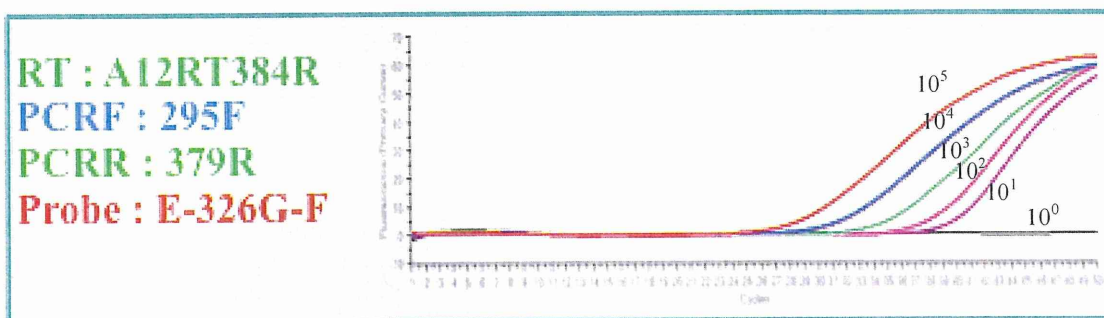


図 8 : Cycleleave RT-PCR 法の検出感度。各モデルレンチウイルス核酸コピー数において、Cycleleave RT-PCR 反応を行った。(A)プライマー、プローブセット 1、(B)プライマー、プローブセット 2、(C)プライマー、プローブセット 3 を用いた結果をそれぞれ示す。

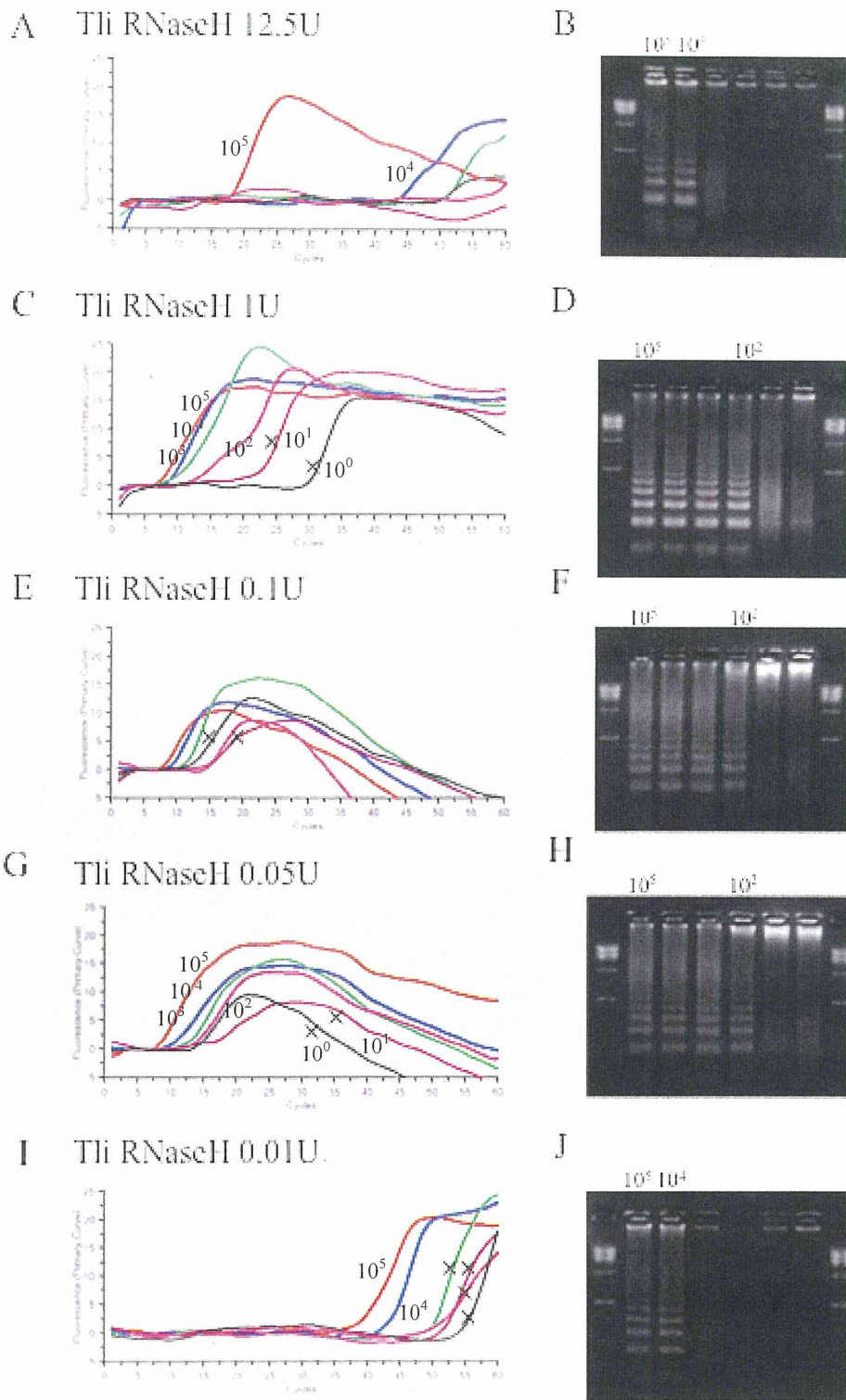


図9: SYBR Green 検出系を用いた RT-ICAN 法による検出感度。各 Tli RNaseH 濃度において、SYBR RT-ICAN 反応を、リアルタイム蛍光検出法 (A, C, E, G, I) ならびにアガロースゲル電気泳動法 (B, D, F, H, J) による検出で確認した。(A, B) Tli RNaseH 濃度 12.5 ユニット、(C, D) Tli RNaseH 濃度 1 ユニット、(E, F) Tli RNaseH 濃度 0.1 ユニット、(G, H) Tli RNaseH 濃度 0.05 ユニット、(I, J) Tli RNaseH 濃度 0.01 ユニット使用での結果をそれぞれ示す。

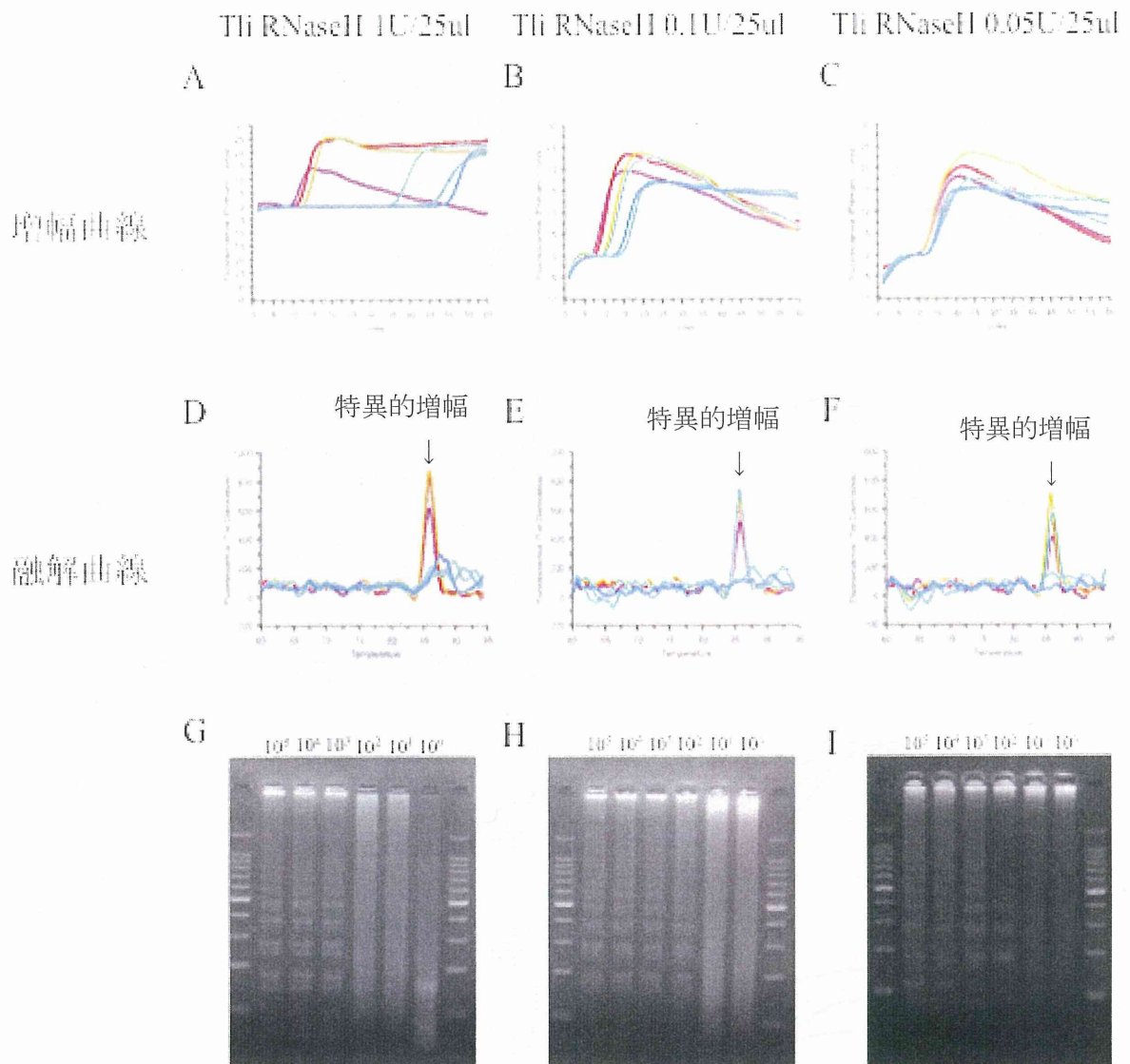
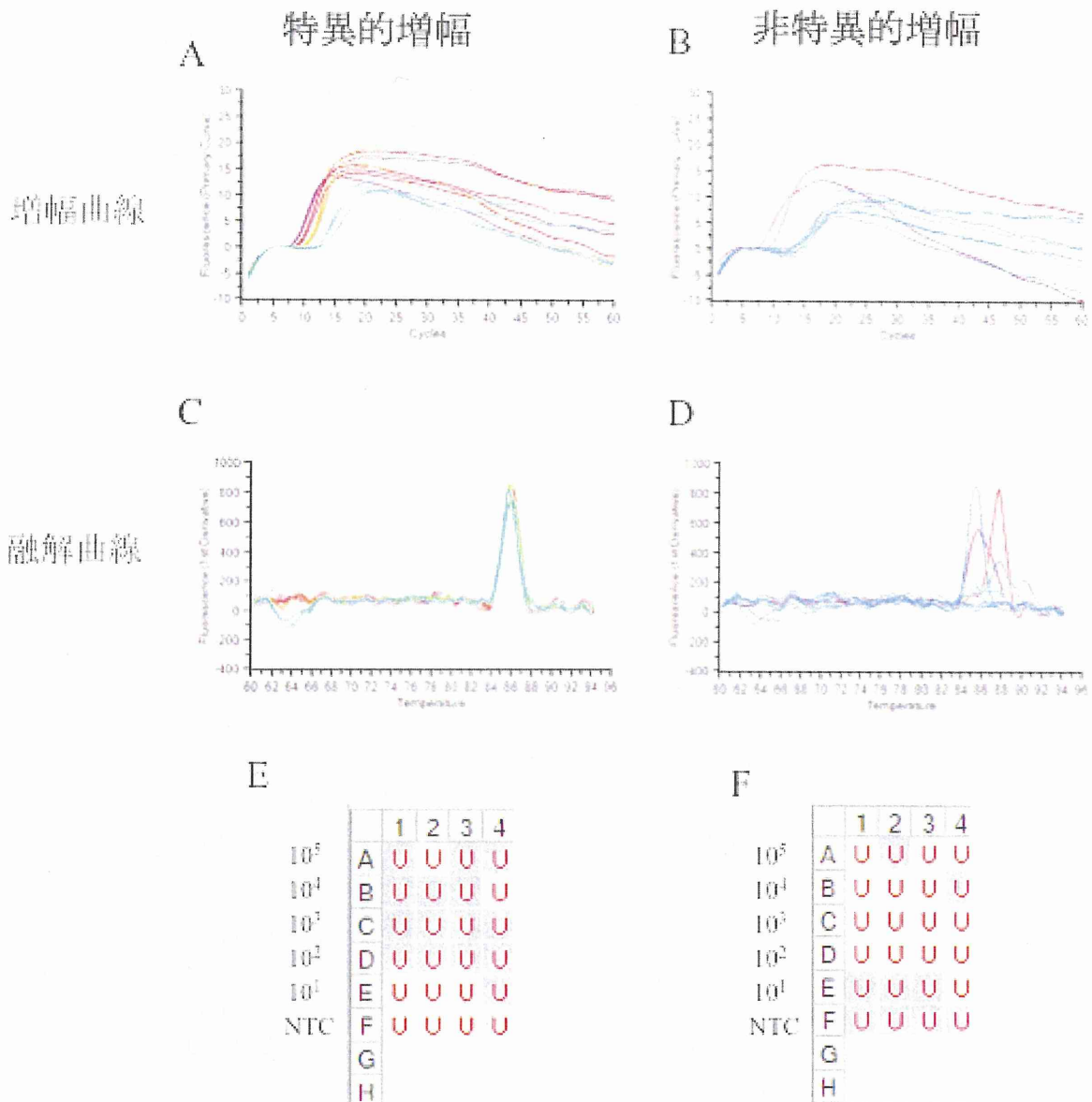


図 10 : SYBR Green 検出系における、融解曲線による特異的増幅と非特異的増幅の識別。反応系あたり 1 ユニットの RNaseH (A, D, G)、0.1 ユニットの RNaseH (B, E, H)、0.05 ユニットの RNaseH (C, F, I) を使用して SYBR Green 法を用いた RT-ICAN 反応を行った。(A-C) 増殖曲線、(D-F) 融解曲線、(G-I) RT-ICAN 反応産物のアガロースゲル電気泳動結果を示す。(A-F) 図中の赤線は 10^5 コピーを、橙線は 10^4 コピーを、黄線は 10^3 コピーを、紫線は 10^2 コピーを、水色線は 10^1 コピーを、青線は 10^0 コピーでの結果をそれぞれ示す。

反応液量25 μ lにおける感度 Tli RNaseH: 0.05U/25 μ l



反応液量200 μ lにおける感度 Tli RNaseH: 0.4U/200 μ l

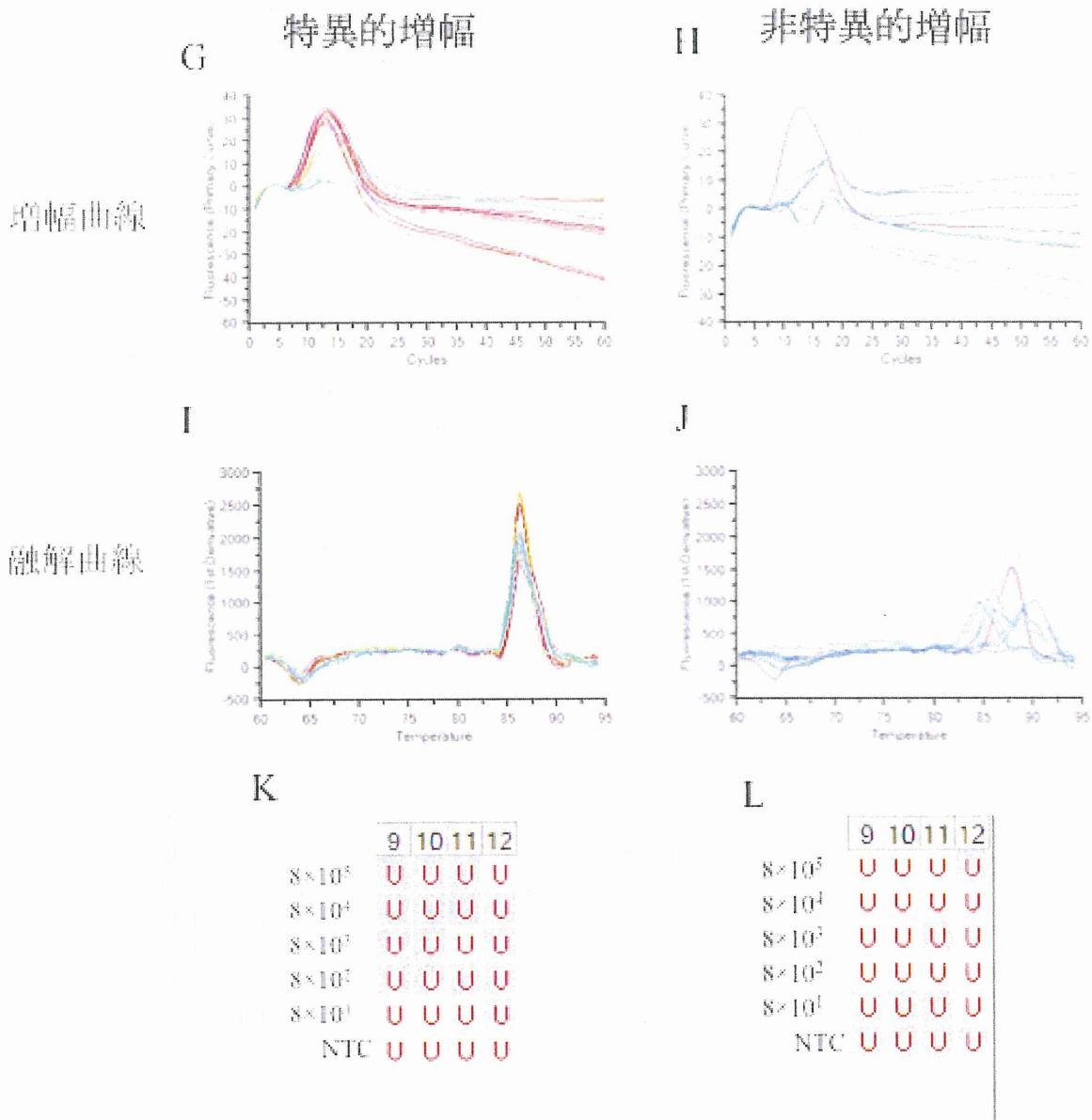


図 11 : SYBR Green 検出系を用いた RT-ICAN 法の反応液量における条件検討。(A-F) 反応液量 25 μ l における RT-ICAN 反応。(G-L) 反応液量 200 μ l における RT-ICAN 反応。(E, F, K, L) それぞれ、モデルレンチウイルス核酸の各希釈系列を鋳型に、反応を quadruplicate (4 重) で行った。(A, B, G, H) 増殖曲線、(C, D, I, J) 融解曲線を示す。(A, C, G, I) は融解曲線から判断した特異的増幅を、(B, D, H, J) は融解曲線から判断した非特異的増幅を示す。(E, K) は特異的増幅を示したウェルを水色で示した。(F, L) は非特異的増幅を示したウェルを水色で示した。

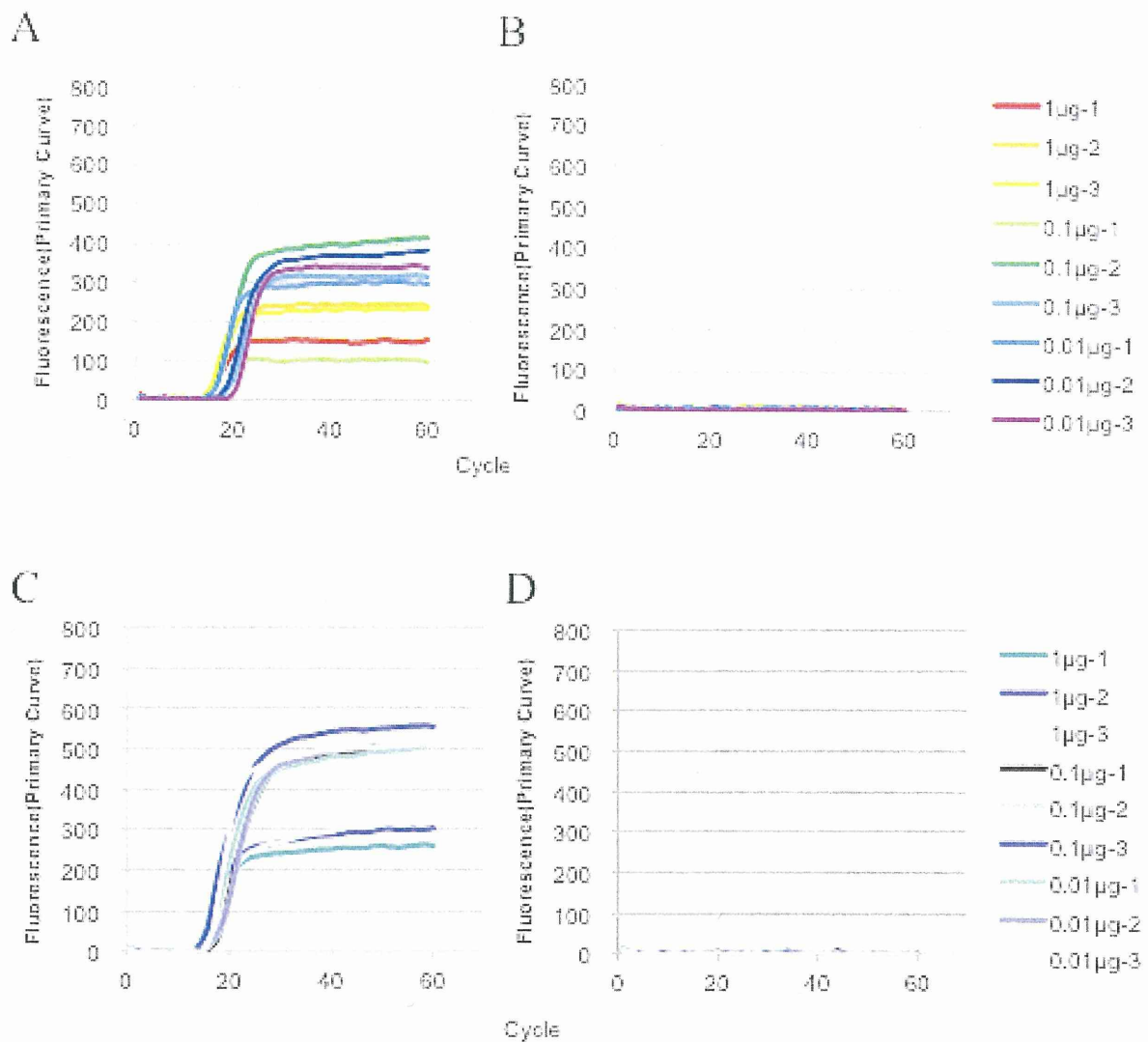


図 12：幹細胞を用いたウイルス否定試験の実施例。(A, B) hADMPC 細胞、(C, D) iPS 細胞（Tic、動物成分不含・フィーダーフリー培養）の結果を示す。(A, C) それぞれの細胞より採取した RNA 各重量に、 10^4 コピーのモデルウイルス核酸を混入させたもので Cycleave RT-ICAN を行った増殖曲線。(B, D) それぞれの細胞より採取した RNA より Cycleave RT-ICAN を行った増殖曲線。

再生医療早期実用化促進及び汎用性向上のための周辺基盤技術開発

（分担研究課題名）細胞・組織加工製品の免疫原性制御法の開発

研究分担者 掛樋一晃 近畿大学薬学部・薬学総合研究所

研究要旨：細胞・組織加工製品を用いた再生医療は、有効な治療法に乏しい疾病・損傷に対する有効な治療法として期待されており、世界的にも研究・開発競争が熾烈なものとなっている。一方、国際的な再生医療の開発競争においてわが国が主導的地位を得るためには、細胞・組織加工製品の品質と安全性に関する汎用性の高い評価技術の開発を行い、高品質で安全性及び有効性の高い製品を開発するための周辺基盤技術の開発が急務となっている。

細胞・組織加工製品の安全性と品質の確保を図る上で、各種幹細胞の樹立時や未分化能維持の目的で異種動物由来成分を使用する場合においては、最終製品においても異種動物由来成分混入の有無を確認することと、混入しうる異種動物由来成分とその原因を明らかにしておくことは極めて重要な項目である。これらの周辺基盤技術は将来の開発動向を見据えた場合、細胞・組織加工製品の汎評価技術・製造法の開発にも繋がり、高品質で安全性及び有効性の高い製品の開発・実用化を国内で推進し、わが国における再生医療早期実用化を促進する基盤となりうる。このような背景の下、本研究では「細胞・組織加工製品の免疫原性制御法の開発」に繋がる周辺基盤技術として、各種幹細胞の培養工程からの異種動物由来成分の混入について糖鎖を指標として明らかにするとともに、異種動物由来成分の混入を防ぐ方策としての完全ヒト化培養法の効果について糖鎖レベルで評価した結果について報告する。

A. 研究目的

治療効果を有する細胞を直接あるいは増殖、薬剤処理、遺伝子改変、分化などの加工を行い治療目的のための細胞を作製し体内に移植する「再生医療」分野で、その技術の実用化に向けた研究が活発となっている。一方、「再生医療」の実用化に向けては、製品の品質や安全性等を確保する上で、原材料としての細胞、中間製品としての細胞、最終製品としての特定の細胞、あるいは混在する可能性がある細胞や成分の特性を把握し、細胞の品質を管理する方法論の確立が急務となりつつある。

iPS細胞などの各種幹細胞の臨床応用に向けては細胞治療材料としての有用性だけでなく、異種動物由来成分等の混入による免疫原性などの安全性の面において、解決すべき問題も残されている。一般に各種幹細胞の培養では、細

胞の樹立段階さらに未分化能を維持するために、異種動物由来成分を含む培養環境下培養されるが、それらの成分が iPS 細胞等に混入し、抗原性を示す可能性は否定できない。再生医療に用いる各種幹細胞の特性・品質の管理では、細胞の分化・未分化の程度、移植に用いる細胞集団としての均一性などだけに留まらず、生物由来製品としての免疫原性を含めた安全性にも十分に留意しなければならない。ヒトにおいて免疫原性を示しうる異種動物抗原糖鎖としては、N-グリコシルノイラミン酸 (NeuGc) や α Gal エピトープ (Gal α 1-3Gal) が知られている。いずれもヒト細胞内にこれらの生合成にかかわる酵素がないにも関わらず、細胞を基材として用いて生産される培養細胞由来の複合糖質糖鎖中に観察される場合がある。このようなヒト細胞における異種動物抗原糖鎖の存在は、