

- CBRC, Harvard Medical School, Boston, U.S.A.
45. 野村昇吾, 森山麻里子, 松山晃文, 早川堯夫, 森山博由. 「表皮分化過程における Forkhead box タンパク質の関与」 June 12-15, 2013, 第 4 回生命機能研究会, 滋賀.
 46. 曾根千晶, 森山麻里子, 大倉華雪, 松山晃文, 早川堯夫, 森山博由. 「ヒト脂肪組織由来多系統前駆細胞 (hADMPC) を用いたインスリン産生細胞の作製」 June 12-15, 2013, 第 4 回生命機能研究会, 滋賀.
 47. 大森重成, 森山麻里子, 大倉華雪, 松山晃文, 早川堯夫, 森山博由. 「ヒト脂肪組織由来多系統前駆細胞 (hADMPC) を用いた効率的なドパミン産生細胞作製」 June 12-15, 2013, 第 4 回生命機能研究会, 滋賀.
 48. 石原 慎, 森山麻里子, 大倉華雪, 松山晃文, 早川堯夫, 森山博由. 「低酸素培養における Notch シグナルを介した解糖系調節機能の解明」 June 12-15, 2013, 第 4 回生命機能研究会, 滋賀.
 49. 森山麻里子, 宇田純輝, 北川綾弓, 野村昇吾, 早川堯夫, 森山博由. Bcl-2 ファミリー分子 BNIP3 が表皮構築に及ぼす影響. 第 63 回日本薬学会近畿支部総会・大会. 10/12, 2013, 同志社女子大, 京都.
 50. 古谷圭史, 村上健太, 雨宮有佑, 北野亮介, 森山麻里子, 早川堯夫, 森山博由. バイオテクノロジー応用医薬品の非臨床段階における指針について. 第 63 回日本薬学会近畿支部総会・大会. 10/12, 2013, 同志社女子大, 京都.
 51. 村上健太, 古谷圭史, 雨宮有佑, 北野亮介, 森山麻里子, 早川堯夫, 森山博由. ヒト幹細胞加工医薬品開発をめざしたヒト体性幹細胞樹立のための基準. 第 63 回日本薬学会近畿支部総会・大会. 10/12, 2013, 同志社女子大, 京都.
 52. 北川綾弓, 森山麻里子, 宇田純輝, 野村昇吾, 早川堯夫, 森山博由. Bcl-2 ファミリー分子 BNIP3 が表皮構築に及ぼす影響. 第 63 回日本薬学会近畿支部総会・大会. 10/12, 2013, 同志社女子大, 京都.
 53. Junki Uda, Mariko Moriyama, Hanayuki Okura, Akifumi Matsuyama, Takao Hayakawa, Hiroyuki Moriyama. Indispensable roles of BNIP3, an inducer of autophagy, in both differentiation and maintenance of epidermal keratinocytes. The 35th annual meeting of the molecular biology society of Japan. Dec 3-6, Kobe, Japan.
 54. Hiroyuki Moriyama, Mariko Moriyama, Akifumi Matsuyama, Takao Hayakawa. 低酸素暴露を介する脂肪由来間葉系幹細胞のドパミン産生細胞分化. Mar, 4-6, 2013. 第 13 回日本再生医療学会総会. 京都.
 55. Mariko Moriyama, Hiroyuki Moriyama, Akifumi Matsuyama, Takao Hayakawa. 低酸素暴露下における脂肪由来間葉系幹細胞の Notch 進と解糖系調節機構の解明. Mar, 4-6, 2013. 第 13 回日本再生医療学会総会. 京都.
 56. Takao Hayakawa. Overview on core technical element for early product development, evaluation and control of cell-based product, IABS-JST Joint Workshop on “Challenges towards sound scientific regulation of cell therapy products”, March 7-8, 2014, Kyoto, Japan.
 57. 早川堯夫: 再生医療の規制制度の現状と今後の展望. (独) 日本学術振興会 (JSPS) 第 9 回「再生医療の実用化」に関する研究開発専門委員会, 東京(平成 23 年 5 月 26 日)
 58. 早川堯夫: 規制環境を再生医療実用化の水先案内, 牽引力, 推進力にするために.JSPS「再生医療の実用化」に関する研究開発専門委員シンポジウム「オールジャパンで目指す再生医療実用化」, 東京 (平成 23 年 7 月 30 日)
 59. 早川堯夫: 再生医療の現状と課題. 兵庫県製薬協会創立 70 周年記念行事, 神戸(平成 23 年 6 月 10 日)
 60. Saga A, Okura H, Soeda M, Tani J, Moriyama M, Moriyama H, Yamashita S, Ichinose A, Tahara S, Hayakawa T and 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. The 9th Annual Meeting of the International Society for Stem Cell Research, Tronto, Canada (2011.6.15-18)
61. Soeda M, Okura H, Saga A, Tani J, Moriyama M, Moriyama H, Yamashita S, Ichinose A, Tahara S, Hayakawa T and 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. The 9th Annual Meeting of the International Society for Stem Cell Research, Tronto, Canada (2011.6.15-18)
 62. Okura H, Saga A, Soeda M, Tani J, Moriyama M, Moriyama H, Miyagawa S, Sawa Y, Ichinose A, Tahara S, Hayakawa T and 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, The 9th Annual Meeting of the International Society for Stem Cell Research, Tronto, Canada (2011.6.15-18)
 63. Okura H, Saga A, Soeda M, Tani J, Moriyama M, Moriyama H, Yamashita S, Ichinose A, Tahara S, Hayakawa T and 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, 84th American Heart Association Scientific Sessions, Orlando, USA(2011.11.12-16)
 64. Okura H, Saga A, Soeda M, Tani J, Moriyama M, Moriyama H, Yamashita S, Ichinose A, Tahara S, Hayakawa T and Matsuyama A: Transplantation of adipose tissue-derived multi-lineage progenitor cells reduces serum cholesterol in hyperlipidemic Watanabe rabbits, 84th American Heart Association Scientific Sessions, Orlando, USA(2011.11.12-16)
 65. 早川堯夫 : 規制環境を再生医療実用化の水先案内, 牽引力, 推進力にするために「幹細胞医薬の薬事法下の開発ガイドラインの現状」. バイオフィナンスギルド 第10期第5回セミナー「幹細胞は, 本当に医薬品になるのか?」, 東京 (平成23年12月16日)
 66. 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, KFDA, Seoul, Korea (2012.3.27-29)
 67. Hayakawa T.: Biosimilar Products: Scientific Principles, Challenges, Opportunities, FDA/CASSS CMC Strategy Forum (Invited Panelist) ,San Francisco, USA(2012.1.22)
 68. 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)
 69. 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)
 70. 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)
 71. 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)
 72. 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)
 73. 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)
74. 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)
75. 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)
76. 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)
77. 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)
78. 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)
79. 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)
80. 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.
81. 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
82. 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)
83. 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
84. 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
85. 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.
86. 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.
87. Hiroyuki Moriyama, Nomura, Chiaki Sone, Mariko Moriyama, Ayaka Ueda, Ryousuke 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.
88. 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.
89. 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.
90. 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.
91. 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】
92. 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】
93. 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)
94. 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. 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. 日本薬学会第 132 年会 3 月, 札幌
95. 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. 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. 日本薬学会第 132 年会 3 月, 札幌
96. 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. 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. 日本薬学会第 132 年会 3 月, 札幌
97. 木下充弘, 能登啓介, 奥田茜, 小南有加, 早川堯夫, 掛樋一晃. エイジングマーカーとしての糖鎖の可能性 第 30 回日本糖質学会年会, 平成 23 年 7 月 11 日, 長岡
98. 橋本浩志, 仲西暁良, 木下充弘, 鈴木匡, 早川堯夫, 掛樋一晃. 細胞外遊離 N-グリコシルノイラミン酸のヒト培養癌細胞への取り込み 第 30 回日本糖質学会年会, 平成 23 年 7 月 11 日, 長岡
99. 原沙弥香, 山田佳太, 三ツ井洋輔, 木下充弘, 早川堯夫, 掛樋一晃. ヒト胃癌細胞中高フコシル化糖タンパク質のグライコプロテオーム解析 第 30 回日本糖質学会年会, 平成 23 年 7 月 11 日, 長岡
100. 神末和哉, 大河原周平, 山田佳太, 岩塚欣也, 木下充弘, 早川堯夫, 掛樋一晃. ヒト胃癌細胞 MKN45 細胞は糖タンパク質由来の遊離糖鎖を細胞外へ分泌する 第 30 回日本糖質学会年会, 平成 23 年 7 月 11 日, 長岡
101. 原沙弥香, 山田佳太, 三ツ井洋輔, 木下充弘, 早川堯夫, 掛樋一晃. ヒト胃癌細胞中の高フコシル化糖タンパク質の探索 第 61 回日本薬学会近畿支部, 平成 23 年 10 月 22 日, 神戸
102. 神末和哉, 大河原周平, 山田佳太, 岩塚欣也, 木下充弘, 早川堯夫, 掛樋一晃. ヒト胃癌細胞 MKN45 による糖タンパク質由来遊離糖鎖の細胞外分泌 第 61 回日本薬学会近畿支部, 平成 23 年 10 月 22 日, 神戸

103. 中辻佑強, 岸本昌太, 木下充弘, 早川堯夫, 荒井昭博, 中村伸, 掛樋一晃. マイクロチップ等電気泳動法によるタンパク質製剤の迅速解析技術の開発 第 61 回日本薬学会近畿支部, 平成 23 年 10 月 22 日, 神戸
104. 神末和哉, 木下充弘, 掛樋一晃. ESI-MS によるペプチド・タンパク質分析 第 31 回キャピラリー電気泳動シンポジウム, 平成 23 年 11 月 11 日, 鶴岡
105. 神末和哉, 木下充弘, 早川堯夫, 掛樋一晃. シースレス CE-ESI-TOF MS によるペプチド・タンパク質の分析 日本薬学会第 132 年会 3 月, 札幌
106. 岸本昌太, 前田瑛起, 木下充弘, 早川堯夫, 掛樋一晃. PEG 修飾タンパク質の分子不均一性評価に関する研究 日本薬学会第 132 年会 3 月, 札幌
107. 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. 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 日本薬学会第 132 年会 3 月, 札幌
108. 木下充弘, 中辻佑強, 北莊一郎, 荒井昭博, 中村伸, 早川堯夫, 掛樋一晃. 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 第 31 回日本糖質学会年会 9 月, 鹿児島
109. 岩塚欣也, 岩本裕貴, 木下充弘, 稲田勝弘, 安枝真一, 掛樋一晃. ウサギ角膜上皮及びSIRC細胞中のN-型糖鎖の比 第31回日本糖質学会年会 9月, 鹿児島
110. 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. 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 第 31 回日本糖質学会年会 9 月, 鹿児島
111. 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. 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 第 32 回キャピラリー電気泳動シンポジウム 11 月, 大阪
112. 岩本裕貴, 安井裕太郎, 岩塚欣也, 鈴木茂生, 早川堯夫, 掛樋一晃. ウサギ角膜上皮細胞の糖鎖生合成に対する外的物理的ストレスの影響 2014 年 3 月 第 134 回日本薬学会年会
113. 山田佳太, 栢原春奈, 稲垣瑞穂, 金丸義敬, 矢部富雄, 鈴木徹, 中込治, 中込とよ子, 木下充弘, 掛樋一晃: ヒトロタウイルス感染機構の解明に向けたグライコムクス解析 2013 年 8 月 第 32 回日本糖質学会年会

H. 知的財産権の出願・登録状況

H-1 取得特許

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

H-2 実用新案登録

なし

H-3 その他

なし

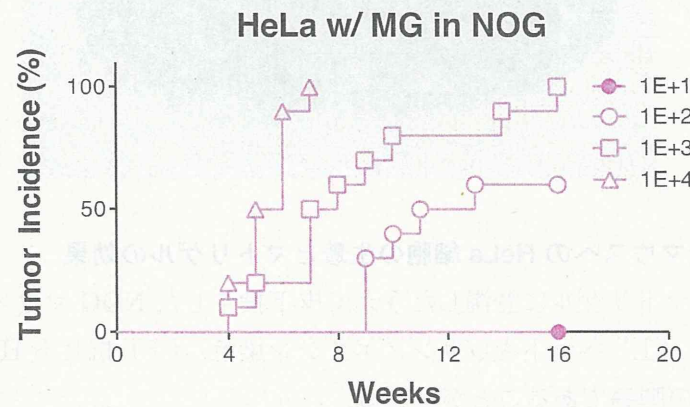
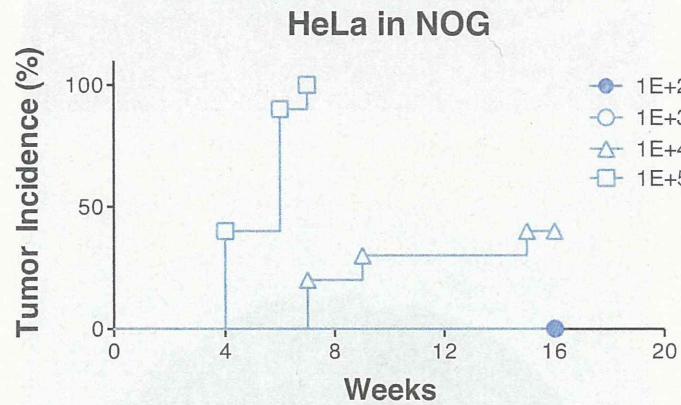
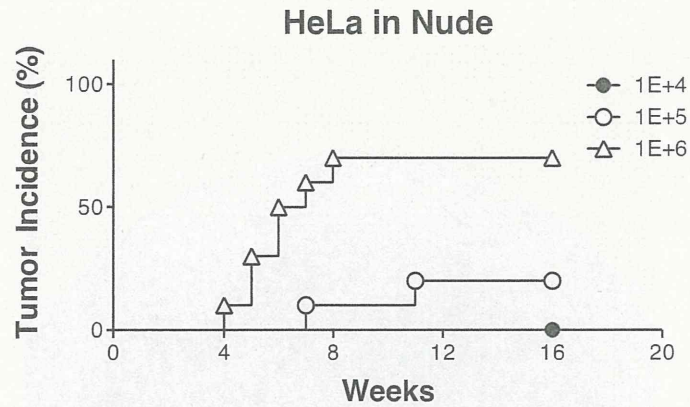


Figure 1-1 免疫不全マウスへの HeLa 細胞の生着とマトリゲルの効果

HeLa 細胞移植後 3 週間後まではいずれの群においても移植細胞由来と推定される明らかな結節形成は認められなかったが、4 週間後からは結節が認められ、9 週間後までには結節形成の用量依存性が明らかになった。

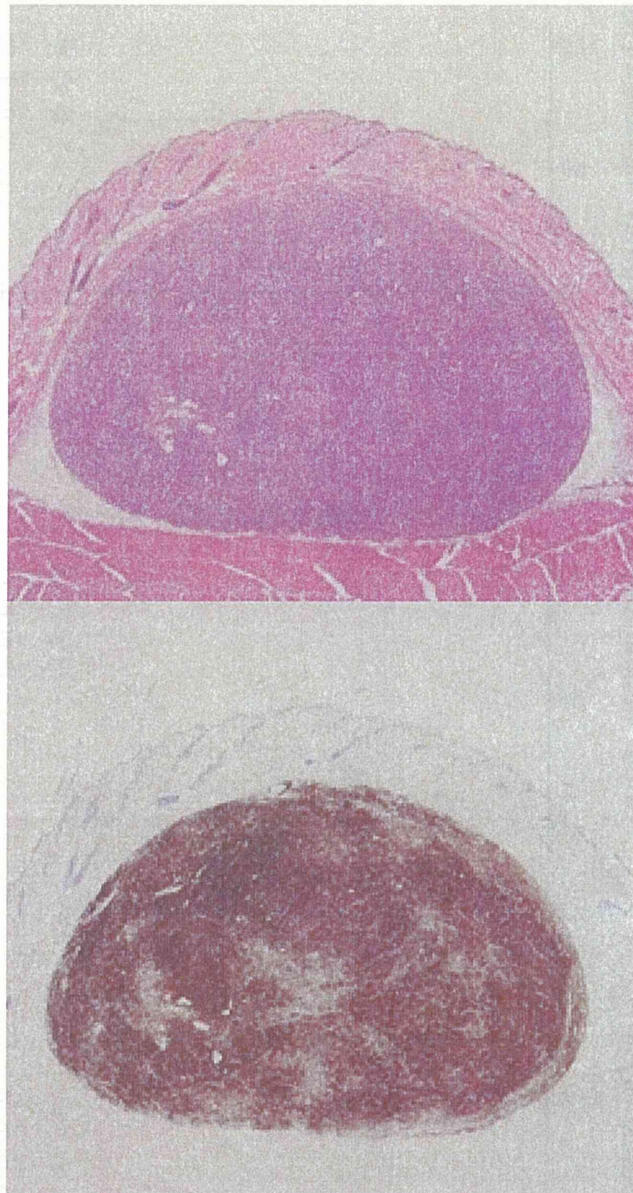


Figure 1-2 免疫不全マウスへの HeLa 細胞の生着とマトリゲルの効果

HeLa 細胞(10^2 個)をマトリゲルに懸濁したうえで皮下投与した NOG マウスの投与部位における結節(腫瘍)の断面。(上)ヘマトキシリン/エオジン染色,(下)抗ヒト HLA 抗体による染色。結節はヒト細胞由来の腫瘍であることが分かる。

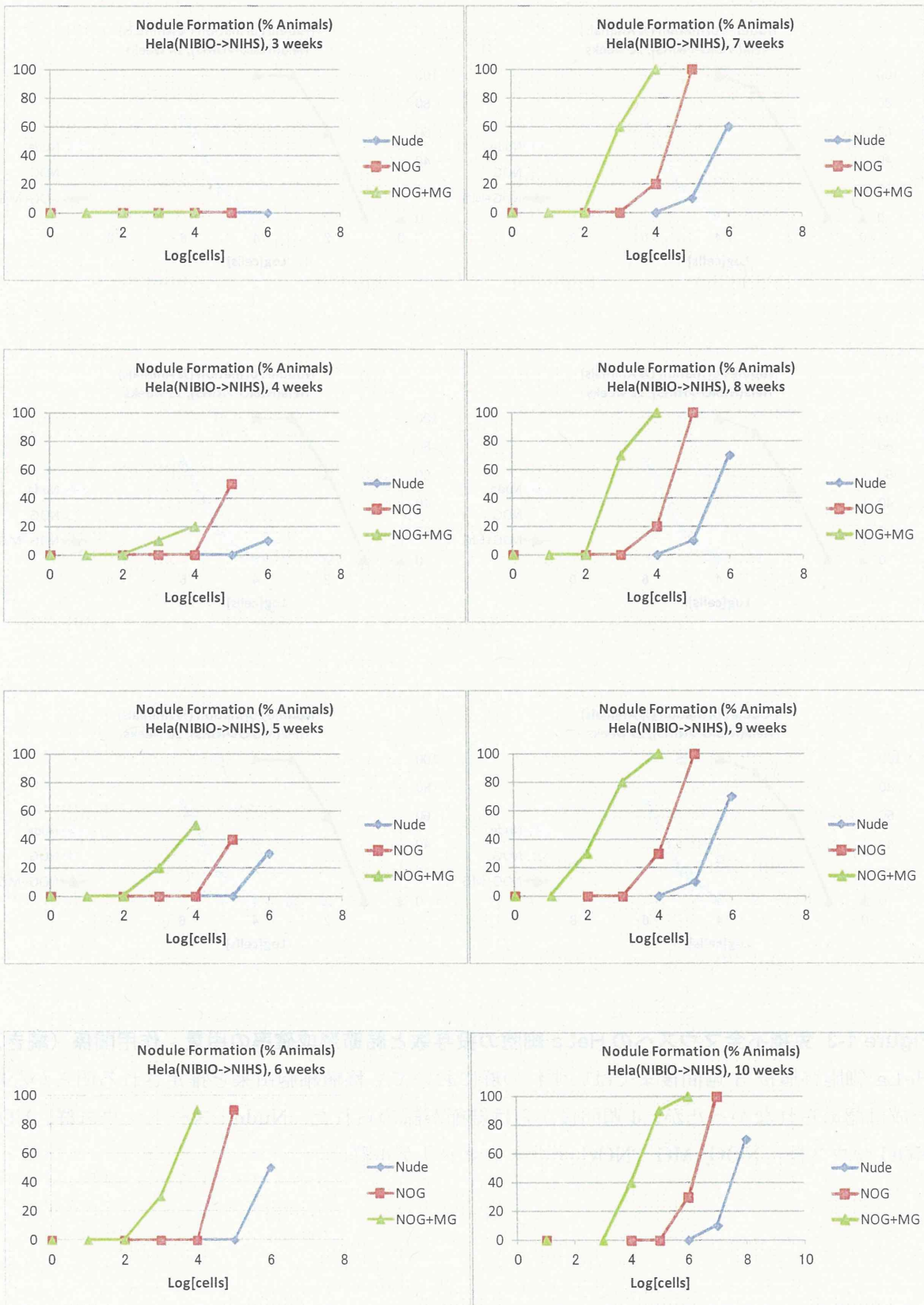


Figure 1-3 免疫不全マウスへの HeLa 細胞の投与数と結節形成確率の用量 - 作用関係

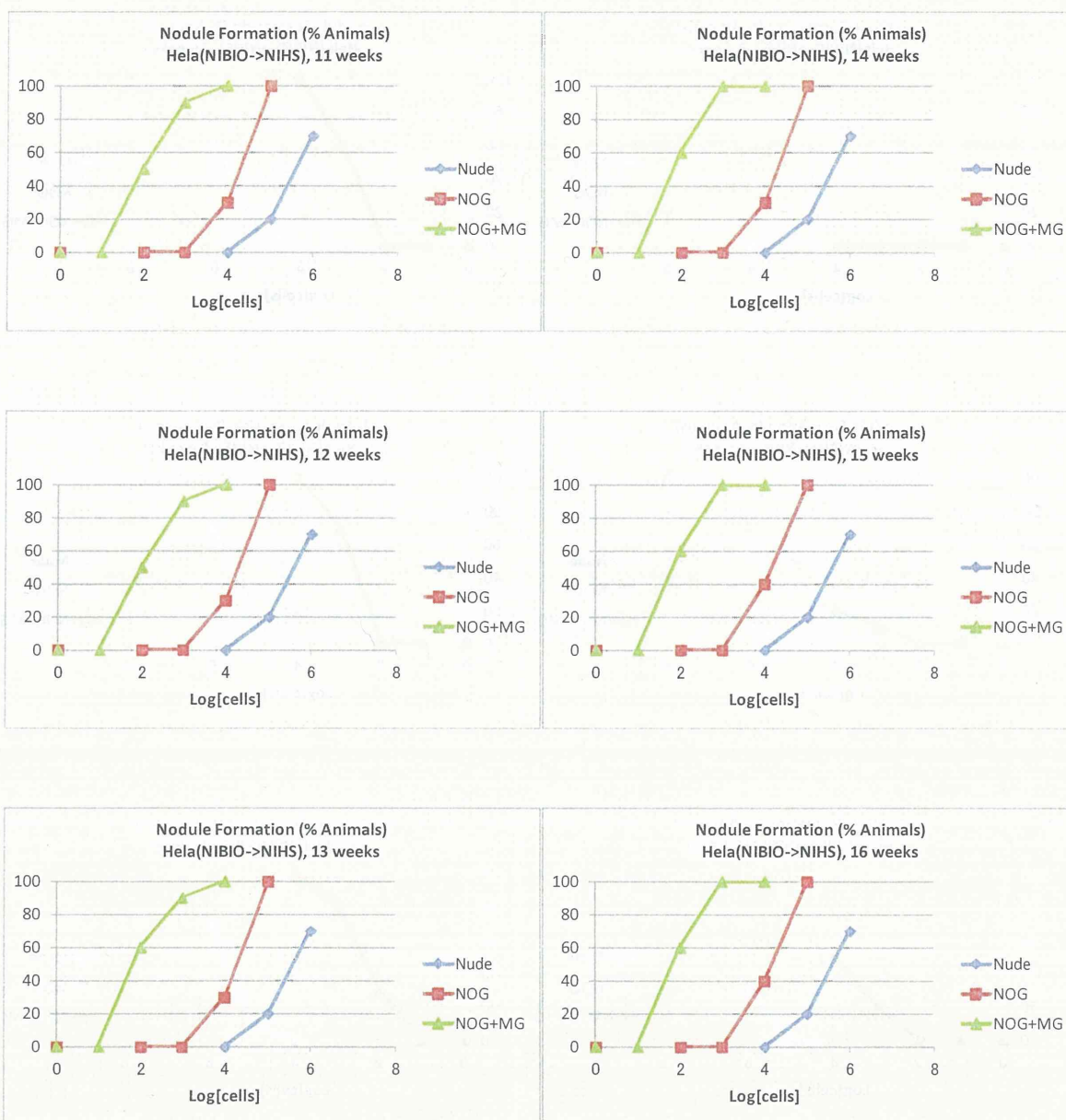


Figure 1-3 免疫不全マウスへの HeLa 細胞の投与数と結節形成確率の用量 - 作用関係 (続き)

HeLa 細胞移植後 3 週間後まではいずれの群においても移植細胞由来と推定される明らかな結節形成は認められなかったが、4 週間後からは結節が認められた。Nude : ノードマウス群, NOG : NOG マウス群, NOG+MG : NOG マウス+マトリゲル群。

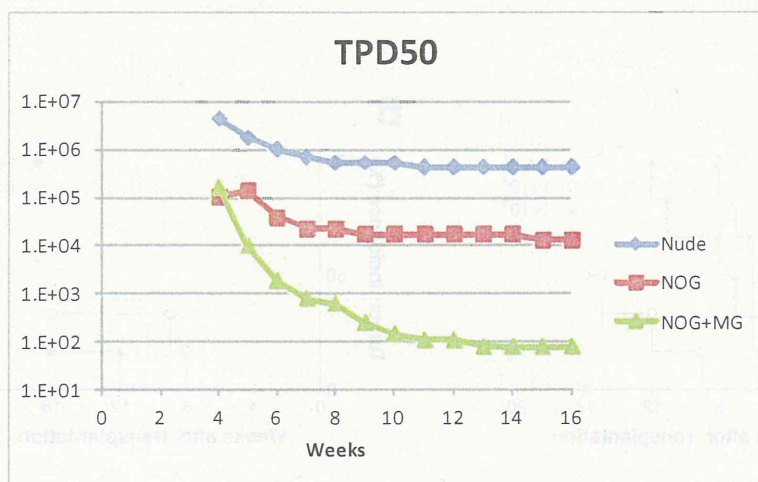


Figure 1-4 免疫不全マウスへの HeLa 細胞単独投与における TPD₅₀ 値の推移

ヌードマウス群 (Nude) および NOG マウス群 (NOG) では約 12 週目の時点以降で TPD₅₀ 値はほぼ安定した. マトリゲルに懸濁した細胞を NOG マウスに投与した群 (HeLa+MG) ではこれら 2 群よりも若干遅く, TPD₅₀ 値は 13-16 週目の時点でほぼ安定した.

Table 1-1 HeLa 細胞単独投与後 16 週目における TPD₅₀ 値

	TPD ₅₀	Fold
Nude	4.2 x 10 ⁵	1
NOG	1.3 x 10 ⁴	33
NOG+Matrigel	7.8 x 10	5,431

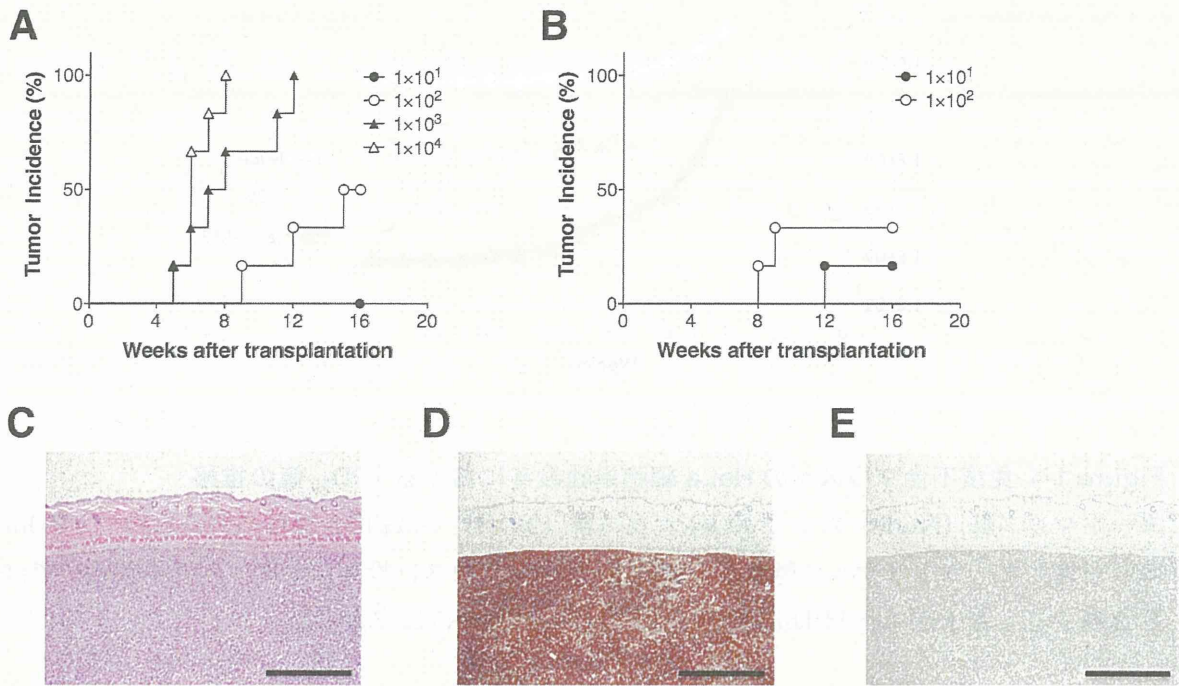


Figure 1-5 NOG マウスへの HeLa 細胞添加 hMSC の投与と結節形成

一定量の HeLa 細胞と 10^6 個または 10^7 個の hMSC とをマトリゲル内で混合した標品を NOG マウスに皮下投与し 16 週間観察した. 10^6 個の hMSC に HeLa 細胞を添加した群 (A) と 10^7 個の hMSC に HeLa 細胞を添加した群における, 腫瘍発生の時間経過を示す (N=6). 10^6 個の hMSC に 10^4 個の HeLa 細胞を添加した標品を投与した際に形成された腫瘍の H&E 染色像 (C), HLA 抗体による染色像 (D) およびビメンチン (間葉系細胞のマーカー) に対する抗体による染色像 (E). スケールは $500\mu\text{m}$



Figure 1-6 NOG マウスへの HeLa 細胞添加 hMSC の投与と結節形成確率の用量 - 作用関係

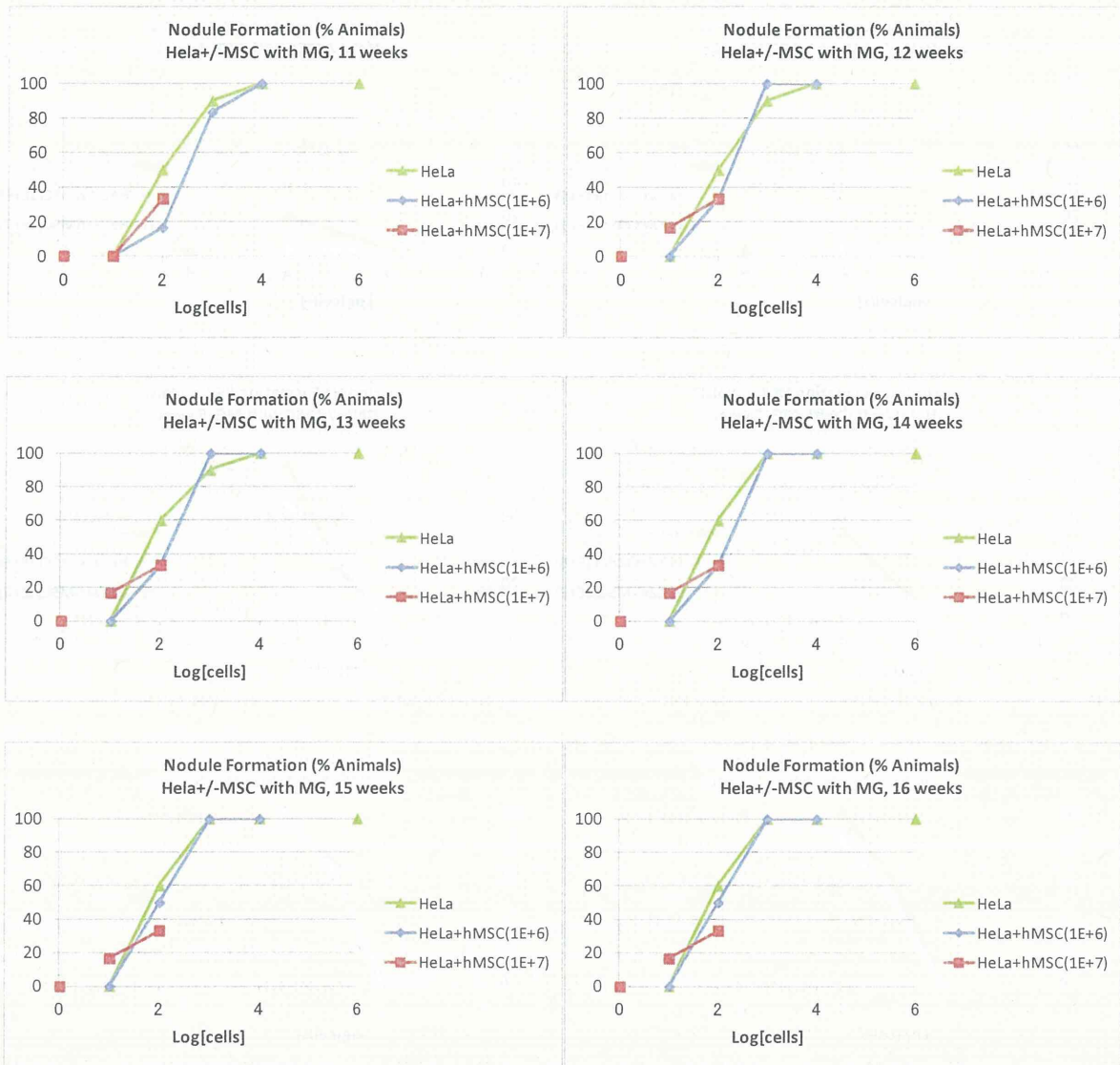


Figure 1-6 NOG マウスへの HeLa 細胞添加 hMSC の投与と結節形成確率の用量 - 作用関係 (続)
 縦軸は腫瘍発生率，横軸は投与された HeLa 細胞の数. 10^7 個の hMSC に一定量の HeLa 細胞をスパイクし，マトリゲルに懸濁した状態で NOG マウスの背部皮下に移植した後，腫瘍形成を観察した. その結果，細胞移植後 7 週間後までは HeLa 細胞 10^1 , 10^2 個/ 10^7 個 hMSC のいずれの群においても移植細胞由来と推定される結節の形成は認められなかったが，8 週間後において， 10^2 個混入群では結節の形成が認められ， 10^1 個投与群でも 10 週目において結節の形成が認められた. N=10 (HeLa 単独投与群) または 6 (hMSC との同時投与群)

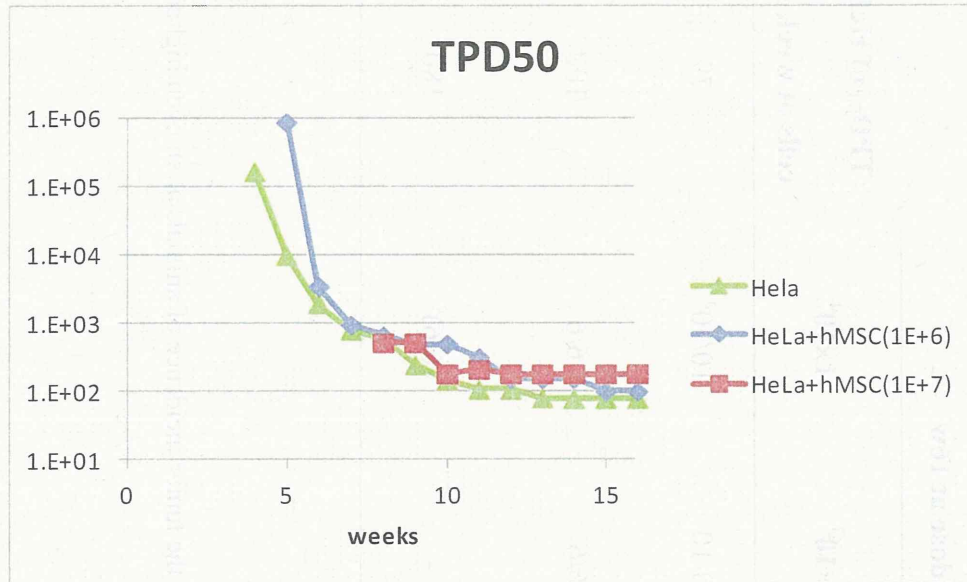


Figure 1-7 NOG マウスへの HeLa 細胞添加 hMSC の投与における TPD₅₀ 値の推移

縦軸は TPD₅₀ 値，横軸は細胞移植後の経過時間．細胞はマトリゲルに懸濁した状態で NOG マウスの背部皮下に移植．HeLa 細胞単独投与群， 10^6 個の hMSC との同時投与群， 10^7 個の hMSC との同時投与群のいずれにおいても約 16 週目の時点では TPD₅₀ 値はほぼ安定していた． 10^7 個の hMSC との同時投与群については，ダミー変数として HeLa 細胞 10^4 個を 10^7 個の hMSC と同時に投与した場合の腫瘍形成率を 100%と仮定して TPD₅₀ を計算した． N=10 (HeLa 単独投与群) または 6 (hMSC との同時投与群)

Table 1-2 HeLa 細胞単独投与後および hMSC との同時投与後 16 週目における TPD₅₀ 値

Strain	Group	Tumor incidence at indicated HeLa cell dose at 16w					TPD ₅₀ of HeLa cells at week 16
		0	1×10	1×10 ²	1×10 ³	1×10 ⁴	
NOG	HeLa	0/10	0/10	6/10	10/10	10/10 ^a	79
NOG	HeLa/hMSC (1×10 ⁶)	0/6	0/6	3/6	6/6	6/6	100
NOG	HeLa/hMSC (1×10 ⁷)	0/6	1/6	2/6	-	(6/6) ^c	180

^a: Positive control

^b: No. of mice in which tumors formed/total no. of mice inoculated

^c: Since not all animals inoculated with the highest dose (10²) have formed tumors, it was assumed that the tumor incidence of animals at an even higher dose step (a dummy set of data) would have been 100%.

-: Not tested.

ND: Not determined.

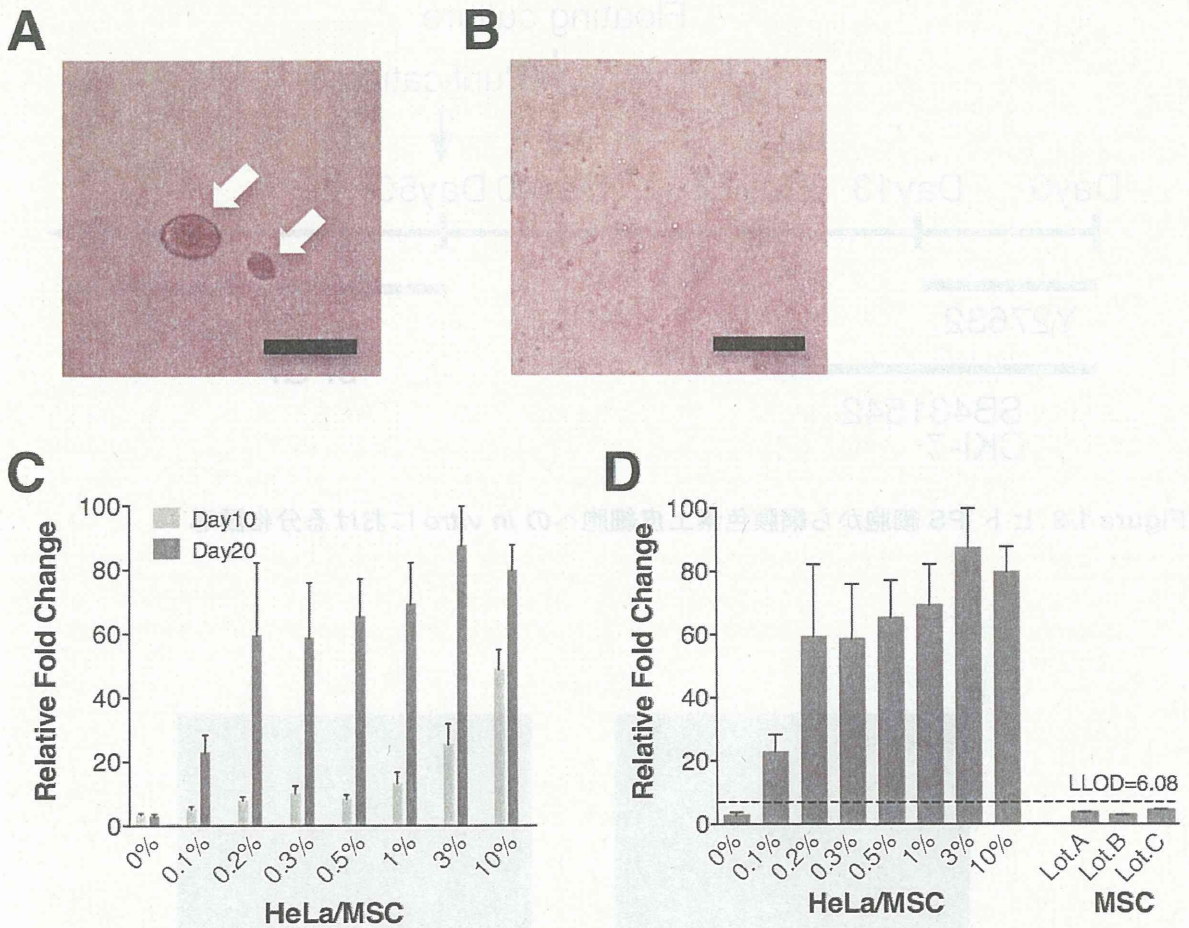


Figure 1-8 HeLa 細胞を添加した hMSC での軟寒天コロニー形成試験

軟寒天中では 20 日間の間に HeLa 細胞はコロニーを形成するが (A), hMSC (1.0×10^4 cells/well) は全くコロニーを形成しない (B). 矢印は HeLa 細胞由来のコロニーを指す. スケールは $250\mu\text{m}$. 1.0×10^4 個の hMSC に一定の混入率で HeLa 細胞をスパイクした際のコロニー形成を, 10 日間ないし 20 日間観察した (C). HeLa 細胞をスパイクした hMSC および 3 ロットの hMSC (HeLa 細胞添加なし) を軟寒天中で 20 日間培養した際の生細胞シグナル (D). 生細胞数は, CytoSelect™ キットを用いて評価した. 下方検出限界は 3 ロットの hMSC の生細胞シグナルの平均値にその標準偏差の 3.3 倍を足した数値として算出した. 数値はブランク (細胞添加なしの軟寒天ウェル) の値でノーマライズし, 平均値 \pm 標準偏差として表示した (N=3).

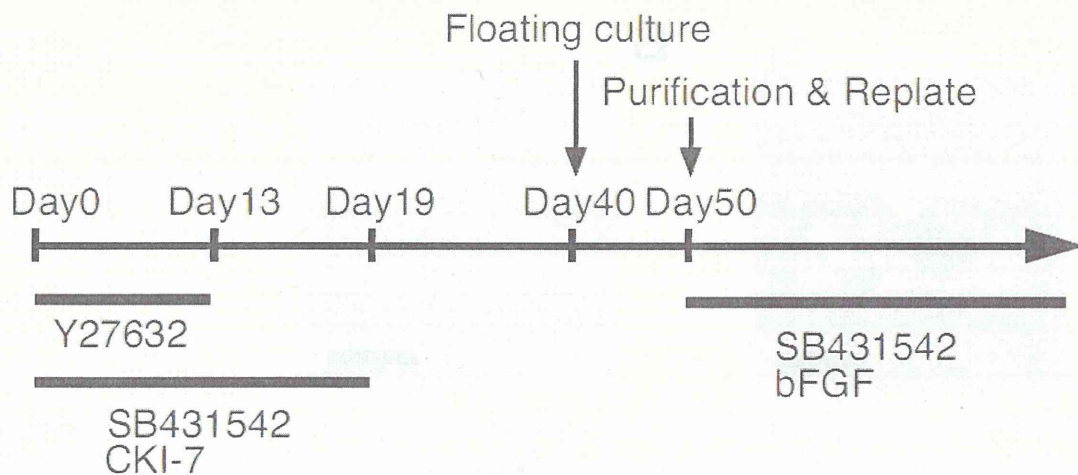


Figure 1-9 ヒト iPS 細胞から網膜色素上皮細胞への *in vitro* における分化誘導

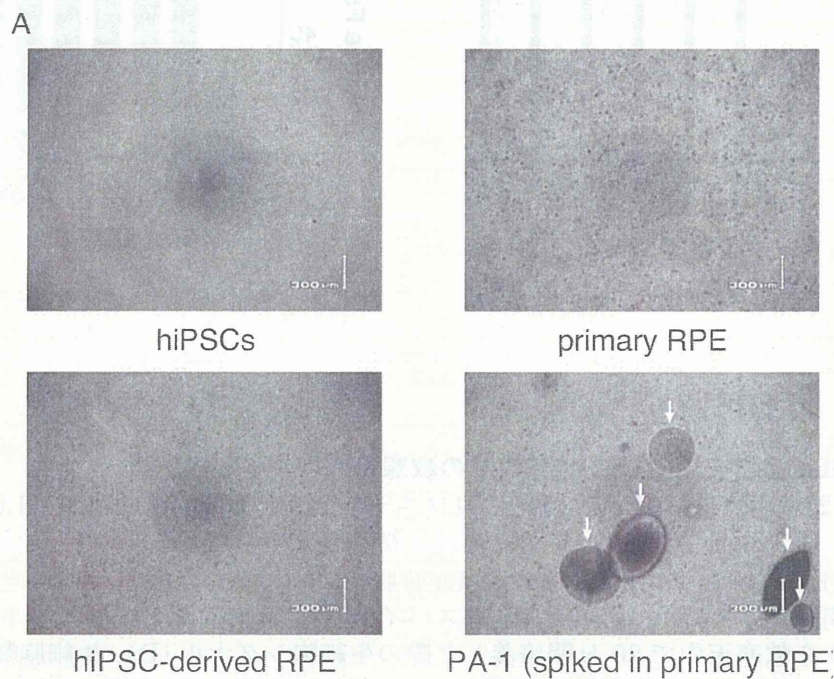


Figure 1-10 ヒト iPS 細胞およびヒトテラトカルシノーマ細胞株 PA-1 の軟寒天コロニー形成試験

(A) ヒト iPS 細胞, 初代培養ヒト網膜色素上皮細胞 (RPE), 初代培養ヒト RPE 細胞にスパイクしたヒト iPS 細胞由来 RPE 細胞および PA-1 細胞 (1%) を軟寒天培地中で 30 日間培養した際の位相差顕微鏡造像.

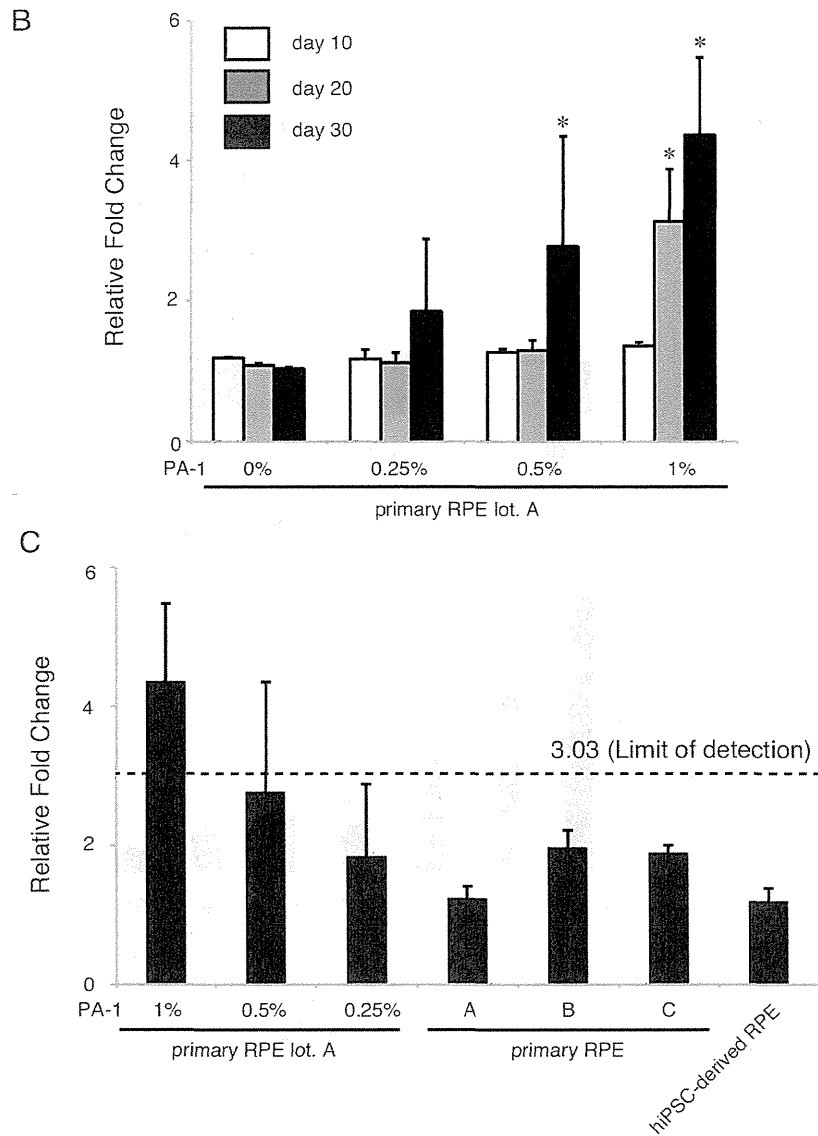


Figure 1-10 (続き) ヒト iPS 細胞およびヒトテラトカルシノーマ細胞株 PA-1 の軟寒天コロニー形成試験

(B) PA-1 細胞を 10^4 個のヒト初代培養ヒト RPE 細胞に 1% (100 個), 0.5% (50 個), 0.25% (25 個), および 0% (0 個) の割合でスパイクし, 軟寒天培地中で 10, 20 ないし 30 日間培養した. 細胞数は CytoSelect キットにより定量化し, ブランクの値に対する相対値として表示した. 統計的有意差は, Two-way ANOVA と Bonferroni 多重検定により算出した. (* $P < 0.05$ vs. 0% コントロール) (C) PA-1 細胞をヒト初代培養ヒト RPE 細胞 (ロット A) に一定の割合でスパイクしたもの, 3 ロットのヒト初代培養ヒト RPE 細胞およびヒト iPS 細胞由来 RPE 細胞を軟寒天培地中で 30 日間培養した. 細胞数は上の (B) と同様に表した. 検出限界は点線で示す. 棒グラフのエラーバーは標準偏差 ($n=3$).

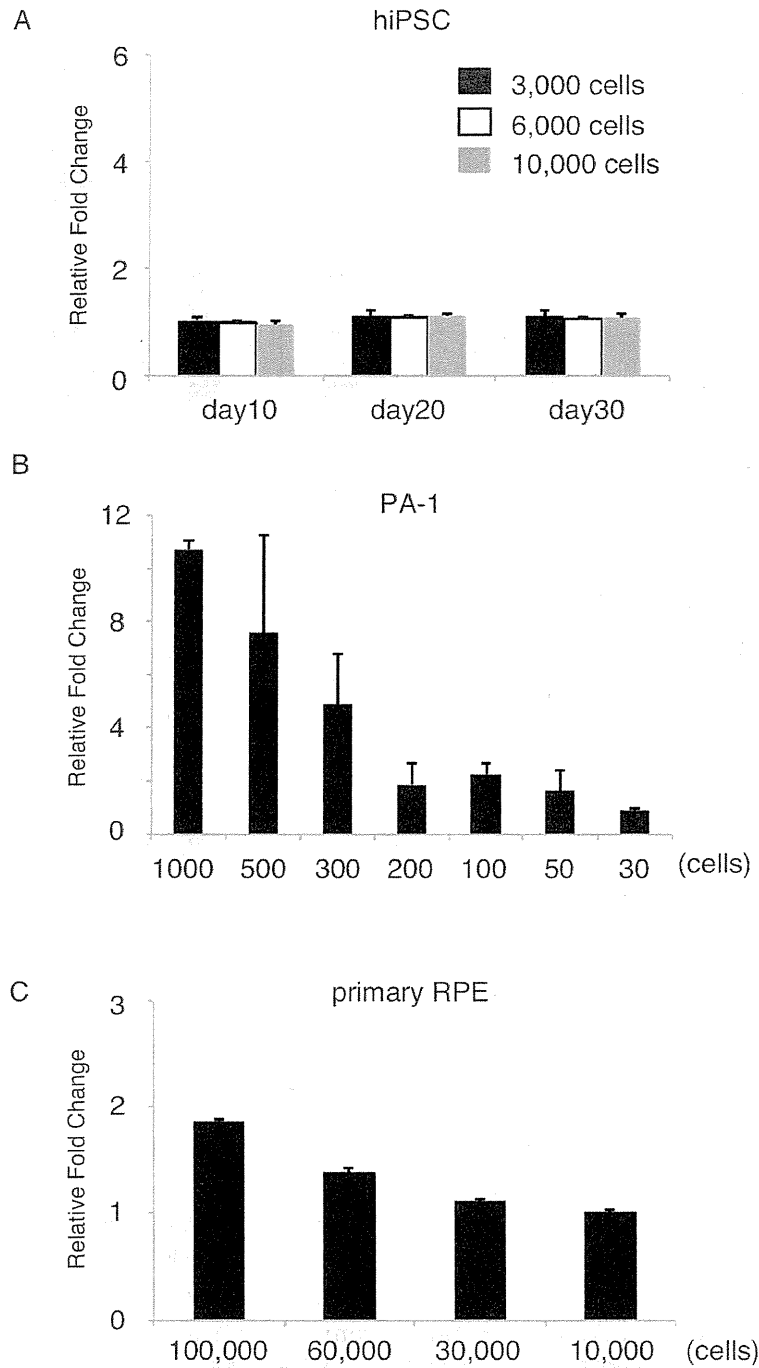


Figure 1-11 ヒト iPS 細胞, PA-1 細胞および初代培養 RPE 細胞の軟寒天コロニー形成試験

(A) ヒト iPS 細胞 (10,000 個, 6,000 個, 3,000 個/ウェル) を 10 μ M Y-27632 存在下に 10, 20 ないし 30 日間培養した. (B) PA-1 細胞 (1,000~30 個/ウェル) を軟寒天培地中で 20 日間培養した. (C) 初代培養 RPE 細胞 (ロット A : 100,000~10,000 個/ウェル) を軟寒天培地中で 30 日間培養した. (A-C) 細胞数は CytoSelect キットにより定量化し, ブランクの値に対する相対値として表示した. 棒グラフのエラーバーは標準偏差 (n=3).

Set 1	RT primer ; A12RT379R	GCTAGTCAAATTTAACCGAATTTTTTCCCAT
	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	GCTAGTCAAATTTAACCGAATTTTTTCCCAT
	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	GCTAGTCAAATTTGGCCTTAACCGAATTTTTT
	ICANF ; 295FN3	GGAGGCTAGAAGGAGAG(<i>AGA</i>)
	ICANR ; 379RN3	TTAACCGAATTTTTTCC(<i>CAU</i>)
	Probe ; E-326G-F	GCGTCA(<i>G</i>)TATTA

表 2-1 : Cycleave RT-ICAN 法で用いた primer 配列. (斜字) は RNA 配列を示す.