

201306006A

厚生労働省科学研究費補助金
再生医療実用化研究事業

表皮水疱症に対する間葉系幹細胞移植再生医療の実用化研究

平成 25 年度 総括研究報告書

研究代表者 玉井克人

平成 26 (2014) 年 5 月

目 次

I. 総括・分担研究報告書

『表皮水疱症に対する間葉系幹細胞移植再生医療の実用化研究』

研究代表者 玉井克人
研究分担者 金田安史
研究分担者 片山一朗
研究分担者 金田眞理
研究分担者 金倉 譲
研究分担者 出澤眞理
研究分担者 早川堯夫

II. 研究成果の刊行に関する一覧表

III. 資 料

- 1) ヒト幹細胞臨床研究の審査結果報告書（平成 25 年 6 月 12 日発行）
- 2) ヒト幹細胞臨床研究に関する通知書（平成 25 年 6 月 12 日発行）
- 3) 新旧対照表
- 4) 手順書（初版：平成 25 年 6 月 17 日発行）
- 5) ヒト幹細胞臨床研究の審査結果報告書（平成 25 年 9 月 11 日発行）
- 6) ヒト幹細胞臨床研究に関する通知書（平成 25 年 9 月 17 日発行）
- 7) 新旧対照表

I. 総括・分担研究報告書

厚生労働科学研究費補助金（再生医療実用化研究事業）
平成25年度総括・分担研究報告書

表皮水疱症患者に対する骨髄間葉系幹細胞移植再生医療の実用化研究

研究分担者 玉井克人 大阪大学大学院医学系研究科再生誘導医学教授
研究分担者 金田安史 大阪大学大学院医学系研究科遺伝子治療学講座教授
研究分担者 片山一朗 大阪大学大学院医学系研究科皮膚科学講座教授
研究分担者 金田眞理 大阪大学大学院医学系研究科皮膚科学講座講師
研究分担者 金倉 讓 大阪大学大学院医学系研究科血液内科学講座教授
研究分担者 出澤眞理 東北大学大学院医学系研究科組織学講座教授
研究分担者 早川堯夫 近畿大学薬学総合研究科薬学総合研究所長

研究要旨 これまで我々は表皮水疱症モデルマウスを用いた基礎研究により表皮水疱症の皮膚病態改善に骨髄由来間葉系幹細胞移植が有効である可能性を検証し、その結果を基にしてヒト幹細胞移植臨床研究「表皮水疱症患者を対象とした骨髄間葉系幹細胞移植臨床研究」を申請し、昨年度末（平成25年2月7日）に実施承認を得た。平成25年度は、さらに実施計画書の一部を改訂した改訂版実施計画書を提出し、平成25年6月12日に改訂版計画書に沿った臨床研究の実施承認を得て臨床研究を開始した。平成25年度中に3例の栄養障害型表皮水疱症患者に家族内健常者ドナー由来骨髄間葉系幹細胞移植を終了した。本報告書作成時点において、いずれの症例においても重篤な有害事象は認めていない。一方、全身性骨髄間葉系幹細胞移植治療法開発のための基礎研究として末梢循環性間葉系幹細胞の性質について検討し、間葉系幹細胞マーカーであるPDGFR α 及びMuse細胞マーカーであるSSEA3の両者が陽性である細胞が末梢循環血液中に存在すること、このSSEA3陽性PDGFR α 陽性細胞はVII型コラーゲンを発現し得ることを明らかにした。

A. 研究目的

これまで我々は、表皮水疱症病態で骨髄内間葉系幹細胞が剥離表皮部に集積して皮膚再生に寄与していることから骨髄間葉系幹細胞移植が表皮水疱症治療に有効である可能性を見出した。これらの研究成果を基に「表皮水疱症患者を対象とした骨髄間葉系幹細胞移植臨床研究」の実施を目的として研究を進めている。

平成25年度は、コールドラン結果を基に改定した実施計画書の承認を得て、臨床研究を開始した。

B. 研究方法

1) 骨髄間葉系幹細胞移植臨床研究の実施

実施計画書の改定・承認：昨年度に実施した骨髄間葉系幹細胞培養コールドランの結果を踏まえて平成24年度10月に実施計画書の改訂版を作成・提出していた。その後さらに実施計画書内容の一部変更申請を行って、平成25年6月に最終改訂版実施計画書の承認を得、その内容に従って臨床研究を開始した（玉井、金倉、金田（眞）、片山、早川）。

2) 骨髄間葉系幹細胞の全身性移植の妥当性評価

全身性骨髄間葉系幹細胞移植の妥当性を証明する目的で、組織壊死因子由来の骨髄間葉系幹細胞血中動員因子である high mobility group box 1 をマウス尾静脈より血中投与し、末梢血中に出現する骨髄由来細胞における間葉系幹細胞について、間葉系幹細胞マーカーである血小板増殖因子受容体 α (platelet-derived growth factor α , PDGFR α) 及び多能性 Muse 細胞マーカーである SSEA3 を用いて評価した。さらに、GFP 骨髄移植マウスへの皮膚移植モデルを用いて HMGB1 投与により移植皮膚片に集積した骨髄由来間葉系細胞の皮膚再生誘導効果について解析を進めた(玉井、金田、出澤)。

C. 研究結果

1) 間葉系幹細胞移植臨床研究

本年7月から、大阪大学附属病院皮膚科表皮水疱症外来を受診中の、本臨床研究参加を希望する患者およびその家族に改定版臨床研究プロトコルを説明し、臨床研究参加を希望する患者およびその家族のエントリーを開始し、以後実施計画書に従って骨髄間葉系幹細胞移植を実施した。各症例の詳細は以下の通り。

1例目：8月に38歳女性の劣性栄養障害型表皮水疱症患者および性の異なる健常家族ドナー（弟）から臨床研究参加の同意を文章にて取得し、ドナーからの骨髄血20mlを採取して間葉系幹細胞の培養を開始。9月に後頸部から上背部にかけて存在する難治性皮膚潰瘍周囲に培養間葉系幹細胞を移植。

2例目：9月に27歳男性の劣性栄養障害型表皮水疱症患者および性の異なる健常家族ドナー（母親）から臨床研究参加の同意取得し、ドナー骨

髄間葉系幹細胞培養開始。10月に右顔面から頸部にかけて存在する難治性皮膚潰瘍周囲に培養間葉系幹細胞を移植。

3例目：11月に40歳女性の劣性栄養障害型表皮水疱症および性の異なる健常家族ドナー（兄）から臨床研究参加の同意を得、ドナー骨髄間葉系幹細胞培養開始。12月に右上背部の難治性皮膚潰瘍周囲に培養間葉系幹細胞を移植。

以後、3症例ともに安全性（主評価）および有効性（副次評価）について定期評価中。平成26年度10月までに全6症例をエントリーする予定。

2) 全身性間葉系幹細胞移植の妥当性評価

我々は、核内クロマチン構造制御蛋白である high mobility group box 1 (HMGB1) が生体内壊死組織から血液中に放出され、骨髄内間葉系細胞を刺激して末梢血を介して壊死組織に誘導する活性を持つことを見出した。この活性を利用して、マウス尾静脈内に HMGB1 を投与して血中に動員される骨髄間葉系細胞の性質をフローサイトメトリーにより検討した。その結果、HMGB1 により血中に動員される間葉系細胞は、細胞表面に間葉系細胞のマーカーである PDGFR α を発現すること、その一部は多能性幹細胞 Muse 細胞のマーカーである SSEA3 を発現していることが明らかとなった。

GFP 骨髄移植マウス背部に新生 VII 型コラーゲンマウス皮膚を移植した後、HMGB1 を尾静脈より投与し、移植片に集積した骨髄由来 GFP 陽性間葉系細胞の性質と機能について検討した。その結果、HMGB1 投与群では非投与群と比較して骨髄由来 GFP 陽性かつ PDGFR α 陽性細胞が移植皮膚片内に有意に増加していた。さらに、組織学的観察では HMGB1 投与群で皮膚基底膜部位に VII 型コラーゲン

の発現が観察され、また皮膚炎症状の抑制、血管新生亢進が観察された。植皮片から回収した細胞分画の中で、骨髄由来GFP陽性PDGFR α 陽性間葉系細胞では、炎症抑制因子TSG-6、血管新生促進因子angiopoietin、成長因子IGF、VII型コラーゲンの発現が確認された。

D. 考察

平成25年12月までに、3例の栄養障害型表皮水疱症患者に対し健常家族由来骨髄間葉系幹細胞移植を実施した。いずれも、健常家族腸骨より20mlの骨髄血採血後、2継代で移植実施に必要な最低細胞数(1×10^7 個)を得るために3~4週間の培養期間が必要であったことから、今回の実施計画書で規定した培養期間(最大30日は)、必要十分であった。

現時点でいずれの症例においても、自覚的、他覚的異常は認められていない一方で、数ヶ月~数年間上皮化の認められていない難治性皮膚潰瘍が、移植後1月以内に縮小傾向を示している。しかし、3症例ともにHLA主要3遺伝子座のいずれも少なくとも片方のアリルがミスマッチであったことから、移植細胞の長期生着の可能性については現時点では不明である。今後の評価により表皮水疱症に対する骨髄間葉系幹細胞移植の安全性・有効性が確認されることを期待したい。

今回の臨床研究では、局所の難治性皮膚潰瘍を1箇所選択し、その周囲に培養骨髄間葉系幹細胞を移植している。しかし実際には全身皮膚に多数の難治性皮膚潰瘍が存在し、また食道狭窄や開口障害など、癩痕に伴う皮膚外の合併症状が存在するため、局所治療のみではこれらの症状に対処することは困難で、全身性間葉系幹細胞移植治療の確立が必要である。今年度の研究で、HMGB1により血中

動員され、損傷皮膚に集積するPDGFR α 陽性間葉系幹細胞にはSSEA3陽性多能性幹細胞が含まれることが示された。さらに、骨髄由来で末梢循環を介して損傷皮膚に集積するPDGFR α 陽性間葉系幹細胞はVII型コラーゲンノックアウトマウス皮膚にVII型コラーゲンを供給しつつ、TSG-6を産生して炎症を抑制し、angiopoietinを分泌して血管新生による血流改善を促進して損傷組織の再生を誘導することが示唆された。以上の結果は、骨髄間葉系幹細胞を全身性に投与することにより、表皮水疱症患者の全身皮膚にVII型コラーゲンを供給して表皮剥離を抑制するのみならず、炎症抑制、血管新生など間葉系幹細胞が持つtrophic activityによる皮膚病態の改善効果が期待される。

E. 結論

表皮水疱症患者を対象とした骨髄間葉系幹細胞移植を開始し、3症例への移植を終了した。また、全身性間葉系幹細胞移植治療の妥当性について情報を集積した。

F. 健康危険情報

特記すべきことなし。

G. 研究発表 (平成25年度)

論文発表

1. Furumoto T, Ozawa N, Inami Y, Toyoshima M, Fujita K, Zaiki K, Sahara S, Akita M, Kitamura K, Nakaoji K, Hamada K, Tamai K, Kaneda Y, Maeda A. Mallotus philippinensis bark extracts promote preferential migration of mesenchymal stem cells and improve wound healing in mice. *Phytomedicine*. 2013 Oct 29. pii: S0944-7113(13)00360-7. doi:

- 10.1016/j.phymed.2013.09.003.
[Epub ahead of print]
2. Umegaki-Arao N, Tamai K, Nimura K, Serada S, Naka T, Nakano H, Katayama I. Karyopherin Alpha2 Is Essential for rRNA Transcription and Protein Synthesis in Proliferative Keratinocytes. *PLoS One*. 2013 Oct 3;8(10):e76416. doi: 10.1371/journal.pone.0076416.
 3. Tanemura A, Kiyohara E, Katayama I, Kaneda Y. Recent advances and developments in the antitumor effect of the HVJ envelope vector on malignant melanoma: from the bench to clinical application. *Cancer Gene Ther*. 2013 Nov;20(11):599-605
 4. Sugiyama D, Nishikawa H, Katayama I, Sakaguchi S. (6 番目 13 人中) Anti-CCR4 mAb selectively depletes effector-type FoxP3+CD4+ regulatory T cells, evoking antitumor immune responses in humans. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2013 Oct 29;110(44):17945-50.
 5. Itoi S, Terao M, Murota H, Katayama I. 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase-1 contributes to the pro-inflammatory response of keratinocytes. *Biochem Biophys Res Commun*. 2013 Oct 18;440(2):265-70. doi: 10.1016/j.bbrc.2013.09.065. Epub 2013 Sep 19
 6. Matsui S, Murota H, Katayama I. (10 名中 10 番目) Dynamic analysis of histamine-mediated attenuation of acetylcholine induced sweating via GSK3 β activation. *J Invest Dermatol*. 2014 Feb;134(2):326-34. doi: 10.1038/jid.2013.323. Epub 2013 Jul 30.
 7. Wataya-Kaneda M, Tanaka M, Hamasaki T, Katayama I. Trends in the prevalence of tuberous sclerosis complex manifestations: an epidemiological study of 166 Japanese patients. *PLoS One*. 2013 May 17;8(5):e63910.
 8. Nakajima K, Terao M, Katayama I. (16名中14番目) Barrier Abnormality Due to Ceramide Deficiency Leads to Psoriasiform Inflammation in a Mouse Model. *J Invest Dermatol*. 2013 Nov;133(11):2555-65. doi: 10.1038/jid.2013.199. Epub 2013 Apr 30.
 9. Murakami Y, Wataya-Kaneda M, Tanaka M, Katayama I. A case of tuberous sclerosis complex complicated by segmental neurofibromatosis type 1. *Journal of Dermatology*. 413-414, 2013.
 10. Oiso N, Suzuki T, Wataya-Kaneda M, Tanemura A, Tanioa M, Katayama I. Guidelines for the diagnosis and treatment of vitiligo in Japan. *Journal of Dermatology*. 40;344-354, 2013.
 11. Okita M, Nakanishi G, Fujimoto N, Shiomi M, Yamada T, Wataya-Kaneda M, Takijiri C, Yokoyama Y, Sunohara A, Tanaka T. NEMO gene rearrangement (exon 4-10 deletion) and genotype-phenotype relationship in Japanese patients with incontinentia pigmenti and review of published work in Japanese patients. *J Dermatol*. Apr;40(4):272-6, 2013.
 12. Nishimura J, Yamamoto M, Hayashi S, Ohyashiki K, Ando K, Brodsky AL, Noji H, Kitamura K, Eto T, Takahashi T, Masuko M, Matsumoto T, Wano Y, Shichishima T, Shibayama H, Hase M, Li L, Johnson K, Lazarowski A,

- Tamburini P, Inazawa J, Kinoshita T, Kanakura Y. Genetic Variants in C5 and Poor Response to Eculizumab in PNH. *New Engl J Med*. 2014 Feb 13;370(7):632-9. doi: 10.1056/NEJMoa1311084.
13. Yokota T, Sudo T, Ishibashi T, Doi Y, Ichii M, Orirani K, Kanakura Y. Complementary regulation of early B-lymphoid differentiation by genetic and epigenetic mechanisms. *Int J Hematol*. 98(4): 382-389. 2013
 14. Kanakura Y, Ohyashiki K, Shichishima T, Okamoto S, Ando K, Ninomiya H, Kawaguchi T, Nakao S, Nakakuma H, Nishimura J, Kinoshita T, Bedrosian CL, Ozawa K, Omine M. Long-term efficacy and safety of eculizumab in Japanese patients with PNH: AEGIS trial. *Int J Hematol*. 98(4). 406-416. 2013.
 15. Katsutani S, Tomiyama Y, Kimura A, Miyakawa Y, Okamoto S, Okoshi Y, Ninomiya H, Kosugi H, Ishii K, Ikeda Y, Hattori T, Katsura K, Kanakura Y. Oral eltrombopag for up to three years is safe and well-tolerated in Japanese patients with previously treated chronic immune thrombocytopenia: an open-label, extension study. *Int J Hematol*. 98(3). 323-330. 2013
 16. Moriyama M, Moriyama H, Uda J, Matsuyama A, Osawa M and Hayakawa T. BNIP3 Plays Crucial Roles in the Differentiation and Maintenance of Epidermal Keratinocytes. *J Invest Dermatol* 2014 Jan 8. doi: 10.1038/ jid. 2014.11. [Epub ahead of print], 2014.11.
 17. Moriyama H, Moriyama M, Sawaragi K, Okura H, Ichinose A, Matsuyama A, Hayakawa T. Tightly regulated and homogeneous transgene expression in human adipose-derived mesenchymal stem cells by lentivirus with tet-off system. *PLoS One*. 2013 Jun 12;8(6):e66274.
 18. Takayama K, Kawabata K, Nagamoto Y, Inamura M, Ohashi K, Okuno H, Yamaguchi T, Tashiro K, Sakurai F, Hayakawa T, Okano T, Furue MK, Mizuguchi H. CCAAT/enhancer binding protein-mediated regulation of TGF β receptor 2 expression determines the hepatoblast fate decision. *Development*. 2014 Jan;141(1):91-100. doi: 10. 1242/ dev.103168. Epub 2013 Nov 27.
 19. Kinoshita M, Nakatsuji Y, Suzuki S, Hayakawa T, Kakehi K. Quality assurance of monoclonal antibody pharmaceuticals based on their charge variants using microchip isoelectric focusing method. *J Chromatogr A*. 2013 Sep 27;1309:76-83.
 20. Iwatsuka K, Watanabe S, Kinoshita M, Kamisue K, Yamada K, Hayakawa T, Suzuki T, Kakehi K. Free glycans derived from glycoproteins present in human sera. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*. 2013 Jun 1;928:16-21.
 21. Wakao S, Akashi H, Kushida Y, Dezawa M. Muse cells, a novel type of non-tumorigenic pluripotent stem cells, reside in human mesenchymal tissues. *Pathology International*, 2014 64 (1), 1-9. doi: 10.1111/pin.12129.
 22. Y. Kuroda, M. Dezawa. Mesenchymal stem cells and their subpopulation, pluripotent Muse cells, in basic research and regenerative medicine. *Anat Rec*, 2014 Jan;297(1):98-110. doi:

- 10.1002/ar.22798. Epub 2013 Dec 2.
23. Ogura F, Wakao S, Kuroda Y, Tsuchiyama K, Bagheri M, Heneidi S, Chazenbalk G, Aiba S, Dezawa M. Human adipose tissue possesses a unique population of pluripotent stem cells with non-tumorigenic and low telomerase activities: potential implications in regenerative medicine. *Stem Cells Dev*, doi: 10.1089/scd.2013. 0473. Epub 2014 Jan 17.
 24. Ishikawa H, Tajiri N, Shinozuka K, Vasconcellos J, Kaneko Y, Lee HJ, Mimura O, Dezawa M, Kim SU, Borlongan CV. Vasculogenesis in Experimental Stroke After Human Cerebral Endothelial Cell Transplantation.. *Stroke*, 2013 Dec;44(12):3473-81. doi: 10.1161/STROKEAHA.113.001943. Epub 2013 Oct 15
 25. Ishikawa H, Tajiri N, Vasconcellos J, Kaneko Y, Mimura O, Dezawa M, Borlongan CV. Ischemic Stroke Brain Sends Indirect Cell Death Signals to the Heart. *Stroke*, 2013 Nov;44(11):3175-82. doi: 10.1161/STROKEAHA.113.001714. Epub 2013 Sep 5.
 26. Kanemaru SI, Kitani Y, Ohno S, Shigemoto T, Kojima T, Ishikawa S, Mizuta M, Hirano S, Nakamura T, Dezawa M. Functional regeneration of laryngeal muscle using bone marrow-derived stromal cells. *Laryngoscope*, 2013, 123(11):2728-34.
 27. Furuya T, Hashimoto M, Koda M, Murata A, Okawa A, Dezawa M, Matsuse D, Tabata Y, Takahashi K, Yamazaki M. Treatment with basic fibroblast growth factor-incorporated gelatin hydrogel does not exacerbate mechanical allodynia after spinal cord contusion injury in rats. *J Spinal Cord Med*, 2013, 36(2):134-9.
 28. Aizawa-Kohama M, Endo T, Kitada M, Wakao S, Sumiyoshi A, Matsuse D, Kuroda Y, Morita T, Riera J.J, Kawashima R, Tominaga T, Dezawa M. Transplantation of bone marrow stromal cells-derived neural precursor cells ameliorates deficits in a rat model of complete spinal cord transaction. *Cell Transplantation*, 2013, 22(9):1613-25.
 29. Kuroda Y, Wakao S, Kitada M, Murakami T, Nojima M, and Dezawa M. Isolation, culture and evaluation of Multilineage-differentiating Stress Enduring (Muse) cells. *Nature Protocols*, 2013, 8(7):1391-415.
 30. Shigemoto T, Kuroda Y, Wakao S, Dezawa M. A novel approach to collect satellite cells from adult skeletal muscles based on their stress tolerance. *STEM CELLS Translational Medicine*, 2013, 2(7):488-98.
 31. Tsuchiyama K, Wakao S, Kuroda Y, Ogura F, Nojima M, Sawaya N, Yamazaki K, Aiba S, Dezawa M. Functional melanocytes are readily reprogrammable from multilineage-differentiating stress-enduring (Muse) cells, distinct stem cells in human fibroblasts. *J Invest. Dermatol*, 2013, 133(10):2425-35.
- H. 知的所有権の出願・登録状況(予定を含む)
- 無し

II. 研究成果の刊行に関する一覧

研究成果の刊行に関する一覧

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Furumoto T, Ozawa N, Inami Y, Toyoshima M, Fujita K, Zaiki K, Sahara S, Akita M, Kitamura K, Nakaoji K, Hamada K, <u>Tamai K</u> , <u>Kaneda Y</u> , Maeda A.	Mallotus philippinensis bark extracts promote preferential migration of mesenchymal stem cells and improve wound healing in mice.	Phytomedicine.	21 (3)	247-253	2014
Umegaki-Arao N, <u>Tamai K</u> , Nimura K, Serada S, Naka T, Nakano H, <u>Katayama I</u> .	Karyopherin Alpha2 Is Essential for rRNA Transcription and Protein Synthesis in Proliferative Keratinocytes.	PLoS One.	8(10)	e76416	2013
Tanemura A, Kiyohara E, <u>Katayama I</u> , <u>Kaneda Y</u> .	Recent advances and developments in the antitumor effect of the HVJ envelope vector on malignant melanoma: from the bench to clinical application.	Cancer Gene Ther.	20(11)	599-605	2013
Sugiyama D, Nishikawa H, <u>Katayama I</u> , Sakaguchi S. (6番目13人中)	Anti-CCR4 mAb selectively depletes effector-type FoxP3+CD4+ regulatory T cells, evoking antitumor immune responses in humans.	Proc Natl Acad Sci U S A.	110(44)	17945-17950	2013
Itoi S, Terao M, Murota H, <u>Katayama I</u> .	11 β -hydroxysteroid dehydrogenase-1 contributes to the pro-inflammatory response of keratinocytes.	Biochem Biophys Res Commun.	440(2)	265-270	2013
Matsui S, Murota H, <u>Katayama I</u> . (10名中10番目)	Dynamic analysis of histamine-mediated attenuation of acetylcholine induced sweating via GSK3 β activation.	J Invest Dermatol.	134(2)	326-34	2014
Wataya-Kaneda M, Tanaka M, Hamasaki T, <u>Katayama I</u> .	Trends in the prevalence of tuberous sclerosis complex manifestations: an epidemiological study of 166 Japanese patients.	PLoS One.	8(5)	e63910	2013
Nakajima K, Terao M, <u>Katayama I</u> . (16名中14番目)	Barrier Abnormality Due to Ceramide Deficiency Leads to Psoriasiform Inflammation in a Mouse Model.	J Invest Dermatol.	133(11)	2555-2565	2013

Murakami Y, Wataya-Kaneda M, Tanaka M, <u>Katayama I</u>	A case of tuberous sclerosis complex complicated by segmental neurofibromatosis type 1.	Journal of Dermatology.	40(5)	413-414	2013
Oiso N, Suzuki T, <u>Wataya-Kaneda M</u> , Tanemura A, Tanioa M, <u>Katayama I</u> .	Guidelines for the diagnosis and treatment of vitiligo in Japan.	Journal of Dermatology.	40	344-354	2013
Okita M, Nakanishi G, Fujimoto N, Shiomi M, Yamada T, <u>Wataya-Kaneda M</u> , Takijiri C, Yokoyama Y, Sunohara A, Tanaka T.	NEMO gene rearrangement (exon 4-10 deletion) and genotype-phenotype relationship in Japanese patients with incontinentia pigmenti and review of published work in Japanese patients.	J Dermatol.	40(4)	272-276	2013
Nishimura J, Yamamoto M, Hayashi S, Ohyashiki K, Ando K, Brodsky AL, Noji H, Kitamura K, Eto T, Takahashi T, Masuko M, Matsumoto T, Wano Y, Shichishima T, Shibayama H, Hase M, Li L, Johnson K, Lazarowski A, Tamburini P, Inazawa J, Kinoshita T, <u>Kanakura Y</u> .	Genetic Variants in C5 and Poor Response to Eculizumab in PNH.	New Engl J Med.	370(7)	632-639	2014
Yokota T, Sudo T, Ishibashi T, Doi Y, Ichii M, Orirani K, <u>Kanakura Y</u> .	Complementary regulation of early B-lymphoid differentiation by genetic and epigenetic mechanisms.	Int J Hematol.	98(4)	382-389	2013
<u>Kanakura Y</u> , Ohyashiki K, Shichishima T, Okamoto S, Ando K, Ninomiya H, Kawaguchi T, Nakao S, Nakakuma H, Nishimura J, Kinoshita T, Bedrosian CL, Ozawa K, Omine M.	Long-term efficacy and safety of eculizumab in Japanese patients with PNH: AEGIS trial.	Int J Hematol.	98(4)	406-416	2013

Katsutani S, Tomiyama Y, Kimura A, Miyakawa Y, Okamoto S, Okoshi Y, Ninomiya H, Kosugi H, Ishii K, Ikeda Y, Hattori T, Katsura K, <u>Kanakura Y.</u>	Oral eltrombopag for up to three years is safe and well-tolerated in Japanese patients with previously treated chronic immune thrombocytopenia: an open-label, extension study.	Int J Hematol.	98(3)	323-330	2013
Moriyama M, Moriyama H, Uda J, Matsuyama A, Osawa M and <u>Hayakawa T.</u>	BNIP3 Plays Crucial Roles in the Differentiation and Maintenance of Epidermal Keratinocytes.	J Invest Dermatol	doi: 10.1038/jid.2014.11.	[Epub ahead of print]	2014
Moriyama H, Moriyama M, Sawaragi K, Okura H, Ichinose A, Matsuyama A, <u>Hayakawa T.</u>	Tightly regulated and homogeneous transgene expression in human adipose-derived mesenchymal stem cells by lentivirus with tet-off system.	PLoS One.	8(6)	e66274	2013
Takayama K, Kawabata K, Nagamoto Y, Inamura M, Ohashi K, Okuno H, Yamaguchi T, Tashiro K, Sakurai F, <u>Hayakawa T.</u> , Okano T, Furue MK, Mizuguchi H.	CCAAT/enhancer binding protein-mediated regulation of TGF β receptor 2 expression determines the hepatoblast fate decision.	Development.	141(1)	91-100	2014
Kinoshita M, Nakatsuji Y, Suzuki S, <u>Hayakawa T.</u> , Kakehi K.	Quality assurance of monoclonal antibody pharmaceuticals based on their charge variants using microchip isoelectric focusing method.	J Chromatogr A.	1309	76-83	2013
Iwatsuka K, Watanabe S, Kinoshita M, Kamisue K, Yamada K, <u>Hayakawa T.</u> , Suzuki T, Kakehi K.	Free glycans derived from glycoproteins present in human sera.	J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.	928	16-21	2013
Wakao S, Akashi H, Kushida Y, <u>Dezawa M.</u>	Muse cells, a novel type of non-tumorigenic pluripotent stem cells, reside in human mesenchymal tissues.	Pathology International.	64 (1)	1-9	2014
Y. Kuroda, <u>M. Dezawa.</u>	Mesenchymal stem cells and their subpopulation, pluripotent Muse cells, in basic research and regenerative medicine.	Anat Rec.	297(1)	98-110	2014

Ogura F, Wakao S, Kuroda Y, Tsuchiyama K, Bagheri M, Heneidi S, Chazenbalk G, Aiba S, <u>Dezawa M.</u>	Human adipose tissue possesses a unique population of pluripotent stem cells with non-tumorigenic and low telomerase activities: potential implications in regenerative medicine.	Stem Cells Dev.	doi: 10.1089/scd.2013.0473.	[Epub ahead of print]	2014
Ishikawa H, Tajiri N, Shinozuka K, Vasconcellos J, Kaneko Y, Lee HJ, Mimura O, <u>Dezawa M.</u> , Kim SU, Borlongan CV.	Vasculogenesis in Experimental Stroke After Human Cerebral Endothelial Cell Transplantation.	Stroke.	44(12)	3473-3481	2013
Kanemaru SI, Kitani Y, Ohno S, Shigemoto T, Kojima T, Ishikawa S, Mizuta M, Hirano S, Nakamura T, <u>Dezawa M.</u>	Functional regeneration of laryngeal muscle using bone marrow-derived stromal cells.	Laryngoscope.	123(11)	2728-2734	2013
Furuya T, Hashimoto M, Koda M, Murata A, Okawa A, <u>Dezawa M.</u> , Matsuse D, Tabata Y, Takahashi K, Yamazaki M.	Treatment with basic fibroblast growth factor-incorporated gelatin hydrogel does not exacerbate mechanical allodynia after spinal cord contusion injury in rats.	J Spinal Cord Med.	36(2)	134-139	2013
Aizawa-Kohama M, Endo T, Kitada M, Wakao S, Sumiyoshi A, Matsuse D, Kuroda Y, Morita T, Riera J.J, Kawashima R, Tominaga T, <u>Dezawa M.</u>	Transplantation of bone marrow stromal cells-derived neural precursor cells ameliorates deficits in a rat model of complete spinal cord transaction.	Cell Transplantation.	22(9)	1613-1625	2013
Kuroda Y, Wakao S, Kitada M, Murakami T, Nojima M, and <u>Dezawa M.</u>	Isolation, culture and evaluation of Multilineage-differentiating Stress Enduring (Muse) cells.	Nature Protocols.	8(7)	1391-1415	2013
Shigemoto T, Kuroda Y, Wakao S, <u>Dezawa M.</u>	A novel approach to collect satellite cells from adult skeletal muscles based on their stress tolerance.	STEM CELLS Translational Medicine.	2(7)	488-498	2013
Tsuchiyama K, Wakao S, Kuroda Y, Ogura F, Nojima M, Sawaya N, Yamazaki K, Aiba S, <u>Dezawa M.</u>	Functional melanocytes are readily reprogrammable from multilineage-differentiating stress-enduring (Muse) cells, distinct stem cells in human fibroblasts.	J Invest. Dermatol.	133(10)	2425-35	2013

III. 資料

平成 25 年 6 月 12 日

大阪大学医学部附属病院長 殿

ヒト幹細胞臨床研究審査委員会委員長

氏名 澤 芳樹



ヒト幹細胞臨床研究の審査結果報告書

さきに審査依頼のあった承認番号 HM1102 号のヒト幹細胞臨床研究について、当委員会（第 回委員会・迅速審査）における審査結果を、下記のとおり報告いたします。

記

研究 題 目	表皮水疱症患者を対象とした骨髄間葉系幹細胞移植臨床研究
研究 期 間	-
登 録 期 間	2011年10月14日から2年
審 議 事 項	<input type="checkbox"/> 臨床研究実施の可否 <input checked="" type="checkbox"/> 実施計画書等の変更 <input type="checkbox"/> 重篤な有害事象の発生 <input type="checkbox"/> 研究責任者の変更 <input type="checkbox"/> 臨床研究の経過の公表 <input type="checkbox"/> その他（ ） <input type="checkbox"/> 臨床研究継続の可否 <input type="checkbox"/> 部分逸脱事象の報告 <input type="checkbox"/> 新たな安全性に関する情報の入手 <input type="checkbox"/> 臨床研究の中止又は中断の報告
委 員 会 名 称 及 び 所 在 地	大阪大学医学附属病院ヒト幹細胞臨床研究審査委員会 吹田市山田丘2番15号
委員会開催年月日	平成 25 年 6 月 12 日
審 査 結 果	<input checked="" type="radio"/> (1) 承認する <input type="radio"/> (2) 修正の上承認する <input type="radio"/> (3) 承認しない <input type="radio"/> (4) 既に承認した事項を取り消し等（臨床研究の中止、中断又は終了を含む） <input type="radio"/> (5) 保留
理由又は指示事項	
研 究 責 任 者	部署・職名 再生誘導医学 教授 氏 名 玉井 克人
承 認 番 号	第 HM1102 号

ヒト幹細胞審査委員会は、ヒト幹細胞を用いる臨床研究に関する指針・大阪大学医学部附属病院ヒト幹細胞臨床研究審査委員会規程に基づいて組織され活動していることを確認し、保証します。

平成 25 年 6 月 12 日

再生誘導医学 教授
玉井 克人 殿

大阪大学医学部附属病院長
氏名 吉川 秀樹



ヒト幹細胞臨床研究に関する通知書

承認番号第 HM1102 号の臨床研究について、ヒト幹細胞臨床研究審査委員会よりの審査結果を受け、以下の病院長の指示、決定を通知する。

研究 題 目	表皮水疱症患者を対象とした骨髄間葉系幹細胞移植臨床研究
研究 期 間	-
登 録 期 間	2011年10月14日から2年
<p>(1) 承認する (2) 修正の上承認する (3) 承認しない (4) 既に承認した事項を取り消し等（臨床研究の中止、中断又は終了を含む） (5) 保留</p>	

添付書類

1. 様式 3 「ヒト幹細胞臨床研究の審査結果報告書」の写し

承認番号：第 HN1102 号

研究課題名：表皮水疱症患者を対象とした骨髄間葉系幹細胞移植臨床研究

文書名：実施計画書

新旧対照表

変更箇所	変更前	変更後	変更理由
P8 4.2.2. 製造方法 2)ドナーからの骨髄液採取	(1)未来医療センター治療区手術室において、局所麻酔下、ドナー腸骨より骨髄穿刺針を用いて骨髄液採取を行う。	(1)皮膚科処置室において、局所麻酔下、ドナー腸骨より骨髄穿刺針を用いて骨髄液採取を行う。	未来医療センター治療区手術室が使用できなくなったため。
P8 4.2.2. 製造方法 3)ドナー骨髄液から骨髄間葉系幹細胞の培養	(9) 移植の前日までに被験者から5mLの血液を採取し、滅菌チューブで血清分離を行い、血清をフリーザーで保管す移植の当日に、細胞培養上清を吸引し、その一部（10mL）を感染症検査のために品質管理責任者に提出すフラスコ1つを取り出し、試験移植のために細胞の一部（約100個分）を生理食塩水100μLに懸濁し、注射筒に充填する。残りの細胞、純度（fluorescence-activated cell sorter (FACS) 解析）、規格を満たすことが確認された場合は	(9) 移植の前日までに被験者から5mLの血液を採取し、滅菌チューブで血清分離を行い、血清をフリーザーで保管する。移植の当日に、細胞培養上清を吸引し、その一部（10mL）を感染症検査のために品質管理責任者に提出すフラスコ1つを取り出し、試験移植のために細胞の一部（約100個分）を生理食塩水100μLに懸濁し、注射筒に充填する。残りの細胞で細胞数、純度（fluorescence-activated cell sorter (FACS) 解析)、細胞生存率が規格を満たすことが確認さ	記載整備のため。

	試験移植を行う。	れた場合は試験移植を行う。	
P9 4.4. 交付・搬送	研究責任者または分担者は、上記試験物を出荷判定書とともに搬送用クーラーボックスに入れ、 <u>未来医療センター治療区手術室</u> に搬送する。	研究責任者または分担者は、上記試験物を出荷判定書とともに搬送用クーラーボックスに入れ、 <u>皮膚科処置室</u> に搬送する。	未来医療センター治療区手術室が使用できなくなったため。
P9 4.5. 管理・保管	製品は搬送後速やかに使用する。 <u>手術室</u> においては研究責任者または分担者の監視下にて管理・保管する。	製品は搬送後速やかに使用する。 <u>皮膚科処置室</u> においては研究責任者または分担者の監視下にて管理・保管する。	未来医療センター治療区手術室が使用できなくなったため。
P19 8.3 有害事象の評価	臨床研究の実施中に観察された有害事象の重症度は Common Terminology Criteria for Adverse Events (CTC-AE Ver4.0 日本語版 2011年12月17日版) に基づいて決定する。 <u>Grade 1 軽症；症状がない、または軽度の症状がある；臨床所見または検査所見のみ；治療を要さない</u> <u>Grade 2 中等症；最小限/局所的/非侵襲的治療を要する；年齢相応の身の回り以外の日常生活動作の制限</u> <u>Grade 3 重症または医学的に重大であるが、ただちに生命を脅かすものではない；入院または入院期間の延長を要する；活動不能/動作不能；身の回りの日常生活動作の制限</u> <u>Grade 4 生命を脅かす；緊急処置を要する</u> <u>Grade 5 有害事象による死亡</u>	臨床研究の実施中に観察された有害事象の重症度は Common Terminology Criteria for Adverse Events (CTC-AE Ver4.0 日本語版 2011年12月17日版) に基づいて決定する。 (削除)	不要な記載を削除した。

<p>P24 14.5 症例報告書の確認</p>	<p>研究責任者、分担者、研究協力者は、ドナーの骨髄採取1週後観察終了後、および当該症例の4週後、12週後、24週後、48週後観察終了後それぞれ6週以内、又は臨床研究中止後6週以内に症例報告書を作成し、記名捺印又は署名した上で<u>データセンター</u>へ提出する。</p>	<p>研究責任者、分担者、研究協力者は、ドナーの骨髄採取1週後観察終了後、および当該症例の4週後、12週後、24週後、48週後観察終了後それぞれ6週以内、又は臨床研究中止後6週以内に症例報告書を作成し、記名捺印又は署名した上で<u>モニター</u>へ提出する。<u>モニタリングが終了し、データセンターへ提出する際には写しを保存する。</u></p>	<p>記載整備のため追記。</p>
<p>P28 24. 臨床研究実施体制 1)研究責任者</p>	<p>玉井 克人 大阪大学大学院医学系研究科 <u>病態制御医学専攻分子治療学講座</u> <u>遺伝子治療学内、再生誘導医学 教授</u> 06-6879-3901 臨床研究の総指揮</p>	<p>玉井 克人 大阪大学大学院医学系研究科 <u>再生誘導医学寄附講座、寄附講座教授</u> 06-6879-3901 臨床研究の総指揮</p>	<p>所属変更のため。</p>
<p>P28 24. 臨床研究実施体制 2)研究分担者</p>	<p>-</p>	<p>谷 守 大阪大学大学院医学系研究科 <u>情報統合医学・皮膚科学・助教</u> 06-6879-3031 臨床研究の実施、評価</p>	<p>人事変更のため。</p>
<p>P28 24. 臨床研究実施体制 2)研究分担者</p>	<p>-</p>	<p>小豆澤 宏明 大阪大学大学院医学系研究科 <u>情報統合医学・皮膚科学・助教</u> 06-6879-3031 臨床研究の実施、評価</p>	<p>人事変更のため。</p>
<p>P28 24. 臨床研究実施体制</p>	<p>-</p>	<p>小紫 雄貴 大阪大学大学院医学系研究科 <u>情報統合医学・皮膚科学・医員</u> 06-6879-3031</p>	<p>人事変更のため。</p>