

201306009A

厚生労働科学研究費補助金

再生医療実用化研究事業

関節軟骨病変に対する自己滑膜間葉系幹細胞由来三次元人工組織移植法

平成25年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 中村 憲正

平成26 (2014) 年 3月

厚生労働科学研究費補助金

再生医療実用化研究事業

関節軟骨病変に対する自己滑膜間葉系幹細胞由来三次元人工組織移植法

平成25年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 中村 憲正

平成26（2014）年 3月

目 次

I. 総括研究報告		
関節軟骨病変に対する自己滑膜間葉系幹細胞由来三次元人工組織移植法に関する研究	-----	1
中村憲正		
II. 分担研究報告		
1. 臨床試験の実施・総指揮に関する研究	-----	6
吉川 秀樹		
2. 臨床試験の企画・支援 に関する研究	-----	8
濱崎 俊光		
3. 再生組織の製造管理・支援 に関する研究	-----	9
齋藤 充弘		
4. 薬事戦略 支援 に関する研究	-----	11
早川 堯夫		
5. 産業化支援 に関する研究	-----	16
辻 紘一郎		
6. 外科的移植手技の開発・改良 に関する研究	-----	17
堀部 秀二		
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	-----	19
IV. 研究成果の刊行物・別刷	-----	25

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）
総括研究報告書

関節軟骨病変に対する自己滑膜間葉系幹細胞由来三次元人工組織移植法に関する研究

研究代表者 中村 憲正 大阪大学招聘教授

研究要旨

我々は軟骨に対する新規再生医療法として、スキャフォールドを用いず関節軟骨欠損に応じて自在に三次元形態を成型できる間葉系幹細胞（MSC）由来人工組織（TEC）を開発し、大動物を用いた前臨床試験、さらに安全性・毒性試験（GLP 準拠）を終了させた。将来の産業化を見据え、本研究では、ヒト幹細胞臨床研究実施と安全で確実な医療体系構築を目的とする。特に、厚生労働省の高度医療申請に必要なエビデンスを確立させる。

平成 24-26 年度で 1) ヒト幹細胞臨床研究の実施、2) 安全性・有効性のデータ収集、3) 産業化を見据えた医薬品医療機器総合機構（PMDA）との薬事戦略相談、4) 高度医療申請に向けた医療体制の構築を行う。

上記の目的達成のために、臨床医（中村、吉川）、生物統計学者（濱崎）、トランスレーショナルリサーチ専門家（斉藤）、薬事専門家（早川）が連携し、研究の効率化、加速化に寄与できる体制を構築する。本研究においては産業化を目的に、ツーセル社と連携する。同社長、辻は分担研究者として早川とともにPMDAとの薬事戦略相談を担当し、高度医療への移行、将来の治験実施へ反映させる。

TEC の軟骨再生研究は、先端医療開発特区「先進的外科系インプラントとしての 3 次元複合再生組織製品の早期普及を目指した開発プロジェクト」として採択（分担研究）されている。本研究が実施、完結に至れば、自主臨床研究では得られない、薬事審査に直接使用できる高いエビデンスが収集できる。TEC の first in man の臨床試験を本研究で実現し、高度医療制度、さらには加速的な開発や円滑な企業主導治験への移行ができれば、再生医療の発展に大きく貢献でき、医学的、社会的意義も大きいと考えられる。また、再生型関節治療の実用化は年間 1000 億円とされる人工関節市場を再生型医療に変換する可能性があり、新産業創出の経済効果も期待される。

本研究は平成 24 年 2 月 10 日に厚生労働大臣より研究実施の承認を得た。

A. 研究目的

本研究の目的は、ヒト幹細胞臨床研究を質の高い管理体制の下遂行し、安全性、有効性の科学的根拠を蓄積し、高度医療への移行を円滑に完了させることである。

B. 研究方法

ヒト幹細胞臨床研究実施と安全で確実な医療体

系構築を目指し、再生軟骨組織の安全性・有効性データを収集し、厚生労働省の高度医療申請に必要な資料を取り揃える。技術開発者の中村、吉川が臨床の実施を担当、臨床試験オーガナイザーの濱崎がモニタリング、データマネジメント、統計解析を担当、細胞調製等品質管理担当をトランスレーショナルリサーチ専門家の斉藤が担当、滑膜由来間葉系幹細胞（MSC）を用いた再生医療のレギュトリーサイエンスについての国内外の情報収集、解析独立行政法人医薬品医療機器総合機構（PMDA）との協議、折衝（薬事戦略相談）を

薬事専門家の早川、さらに本研究に関する技術移転と将来の産業化を希望する企業担当者の辻（株式会社ツーセル）

が担当、実際TECを移植する際の外科的手術手技の開発・改良を過去に間葉系幹細胞による軟骨修復治療の臨床経験を持つ堀部が担当し、共同、協力して研究を実施する。また早川は（倫理面への配慮）

本臨床研究は、ヘルシンキ宣言に基づく倫理的原則に留意し、「ヒト幹細胞を用いる臨床研究に関する指針」を遵守して実施する。

ヒト幹細胞臨床研究審査委員会

ヒト幹細胞臨床研究審査委員会は、病院長の諮問を受け、臨床研究実施計画書、説明文書（患者さんへ）、症例報告書の様式の記載内容にもとづき、倫理的、科学的及び医学的妥当性の観点から臨床研究の実施及び継続について審議を行う。本臨床研究の実施期間中少なくとも1年に1回以上は進捗状況を上記ヒト幹細胞臨床研究審査委員会に報告する。（「ヒト幹細胞を用いる臨床研究規程」を遵守）

被験者の人権及び個人情報の保護に関する事項

研究責任者及び分担者は、被験者の人権の保護の観点から被験者の健康状態、症状、年齢、性別、同意能力等を十分考慮し、本研究への参加を求めることの適否については慎重に検討する。また、社会的に弱い立場にある者を被験者とする場合には、特に慎重な配慮を払うこととする。被験者の同意取得後はデータ管理、製造管理など、症例の取り扱いにおいては全て連結可能匿名化された被験者識別コード又は登録番号により管理され、匿名化コードと氏名の対照表及び氏名記載同意書は施錠可能な書類保管庫に厳重に保管する。また、公表に際しては被験者の名前が直接公表されることがない等、被験者の個人情報の保護については十分に配慮する。

同意取得

スクリーニングを行う前に外来において同意説明を行い、被験者本人による同意を得る。

研究責任者又は分担者は、本研究への参加候補となる被験者本人に対して、同意説明文書（添付文書「患者さんへ」参照）を提供し、口頭で十分な説明を行った後、本研究への参加の同意を文書で取得する。（「ヒト幹細胞を用いる臨床研究におけるインフォームド・コンセントに関する手順書」を遵守）

被験者本人の自由意思に基づく文書による同意を得る。

同意取得にあたり研究責任者等は被験者強制するなどにより、不利益、危険性等、被験者に不当な影響を及ぼすことの無いよう留意する。

C. 研究結果

平成24年2月に第1例目の臨床研究を開始し、平成26年3月までに4例の移植を終了した。5例目の移植も本年度中に終了する予定であったが、5例目のマトリックス形成が不良でありTECの出荷基準を満たさず、移植を中止した。

移植1例目の関節鏡視では、軟骨損傷部は隣接組織との癒合良好な修復組織を認め、現在生検組織標本を作製中である。

また将来の事業化を見据えた薬事戦略相談においては、分担研究者の辻・早川がPMDAとの薬事戦略相談を実施し、安全性の観点から必要とされる培地原材料の基準を確認した。加えてGLPによる非臨床試験の試験デザインを確認した。

国内外での情報収集や交流を行い、本研究事業の薬事戦略支援を進める上で必要な情報収集ネットワークを強化し、有用な知見を蓄積した。

移植の際の低侵襲手術手技についても検討をすすめ、今後、関節鏡による移植手技も検討している。

D. 考察

1例目の関節鏡視により、TEC移植によりヒトでも軟骨修復促進が示唆された。また現在移植に伴う大きな有害事象は認めておらず、安全性に関しても良好な結果が得られることが期待される。TECの形成が悪かった1例に関しては、直前の顔面神経麻痺に対するステロイドパルス等の影響が考えられ、現在同症例細胞を用いた特性解析を進めている。

E. 結論

4例のTEC移植が完了し1例に関しては最終評価を行うことができた。試験と並行したPMDAとの薬事戦略相談、情報収集、さらには手術手技改良も順調に推移している。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Nakamura N. Platelet-rich plasma added to the patellar tendon harvest site during anterior cruciate ligament reconstruction enhanced healing. *J Bone Joint Surg Am.* 2013 95:942.
2. Fujie H, Nakamura N. Frictional properties of articular cartilage-like tissues repaired with a mesenchymal stem cell-based tissue engineered construct. *Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc.* 2013 Jul;2013:401-4.
3. Hui JH, Goyal D, Nakamura N, Ochi M. Cartilage repair in Asia: selected reports on research and clinical trials. *Arthroscopy.* 2013 Dec;29(12):1991.
4. Hui JH, Goyal D, Nakamura N, Ochi M; Asian Cartilage Society. Cartilage repair: 2013 asian update. *Arthroscopy.* 2013 Dec;29(12):1992-2000.
5. Shino K, Gobbi A, Nakamura N, Kumar A, Mae T. How to Handle a Poorly Placed Femoral Tunnel in ACL Revision Surgery. (Ed) Marx RG. *Reconstruction: Indications and Technique.* Springer 2013
6. 大家 溪, 佐藤慶秀, 青木 峻, 下村和範, 鈴木健司, 中村憲正, 藤江裕道, 培養表面のマイクロ周期構造が間葉系幹細胞自己生成組織の力学特性におよぼす影響, *材料の科学と工学*, 2013; 50(1): 34-39.
7. 杉田憲彦 中村憲正 アスリートの関節軟骨損傷、その病態と治療の overveiw *臨床スポーツ医学* 第30巻 第4号 P303-308
8. 小泉宏太, 杉田憲彦, 安井行彦, 吉川秀樹, 中村憲正: 半月板変性に対する治療法、国際的現況, *Bone Joint Nerve*, 4: 133-139, 2014.

2. 研究発表

- ・ Annual meeting of Orthopaedic Research Society 2013, San Antonio, January 26, 2013
Yu Moriguchi, Takeshi Teramura, Haruko Hasegawa, Morito Sakaue, Ryota Chijimatsu, Norihiko Sugita, Kota Koizumi, Hideki Yoshikawa, Akira Myoui, Norimasa Nakamura Development of Sca-old-Free Tissue-Engineered Construct (TEC) with Chondrogenic Differentiation Capacity Using Rabbit Embryonic Stem Cell-Derived Mesenchymal Stem Cells
- ・ 11th International Cartilage Repair Society 2013, Izmir, September 12, 2013
Shimomura K, Moriguchi Y, Ando W, Nansai R, Fujie H, Horibe S, Shino K, Yoshikawa H, Nakamura N. Comparison of hydroxyapatite and beta-tricalcium phosphate-based

biphasic implant for osteochondral repair.

- ・ 11th International Cartilage Repair Society 2013, Izmir, September 12, 2013
Moriguchi Y, Shimomura K, Teramura T, Ando W, Sakaue M, Hasegawa H, Sugita N, Shino K, Yoshikawa H, Nakamura N Development of scaffold-free tissue-engineered construct (TEC) with chondrogenic differentiation capacity using rabbit embryonic stem cell-derived mesenchymal stem cells.

- ・ 11th International Cartilage Repair Society 2013, Izmir, September 12, 2013
Morito Sakaue, Y. Moriguchi, N. Sugita, H. Hasegawa, R. Chidimatsu, K. Koizumi, Y. Yasui, H. Yoshikawa, N. Nakamura Effect of preservation conditions of human synovial mesenchymal stem cell (MSC) derived tissue engineer construct (TEC) on its chondrogenic differentiation.

- ・ 11th International Cartilage Repair Society 2013, Izmir, September 12, 2013
W. Ando, Y. Moriguchi, R. Nansai, R. Chijimatsu, K. Shimomura, H. Yoshikawa, H. Fujie, N. Nakamura, Abnormalities in the superficial zone of repair cartilage using a tissue engineered construct (TEC) derived from mesenchymal stem cells

- ・ 阪上守人 森口悠 杉田憲彦 千々松良太 安井行彦 小泉宏太 吉川秀樹 中村憲正 ヒト滑膜由来間葉系幹細胞から作成した三次元人工組織(TEC)の移植前保存条件の検討 第12回 日本再生医療学会学術集会 平成25年3月21日 横浜

- ・ 青木 峻, 大家 溪, 杉田憲彦, 中村憲正, 藤江裕道, ナノ周期構造表面を用いた幹細胞自己生成組織の創成, 第4回日本材料科学会医用・生体材料分科会講演会講演予稿集, 32, 2013, 3: 八王子.

- ・ 谷 優樹, 大家 溪, 中村憲正, 杉田憲彦, 藤江裕道, フェムト秒レーザによりチタン表面に形成したナノ周期構造が間葉系幹細胞の接着特性に及ぼす影響, 第4回日本材料科学会医用・生体材料分科会講演会講演予稿集, 33, 2013, 3: 八王子.

- ・ 池谷基志, 大家 溪, 杉田憲彦, 中村憲正, 藤江裕道, 幹細胞自己生成組織の多層化, 第4回日本材料科学会医用・生体材料分科会講演会講演予稿集, 34, 2013, 3: 八王子.

- ・ 中村亮介, 藤江裕道, 中村憲正, ウサギ修復軟骨のナノスケール摩擦特性, 第4回日本材料科学会医用・生体材料分科会講演会講演

予稿集, 35, 2013, 3: 八王子.

・谷 優樹, 大家 溪, 杉田憲彦, 中村憲正, 藤江裕道, フェムト秒レーザーにより加工したナノ周期構造が間葉系幹細胞の接着特性に及ぼす影響, 日本機械学会関東支部講演会抄録, 75, 76, 2013, 3: 東京.

・池谷 基志, 大家 溪, 杉田 憲彦, 中村 憲正, 藤江 裕道, 多層化した幹細胞自己生成組織の力学特性, 日本材料科学会学術講演大会予稿集, ??, 2013, 6: 東京.

・谷 優樹, 大家 溪, 杉田 憲彦, 中村 憲正, 藤江 裕道, ナノ周期構造の形状の違いが間葉系幹細胞の接着特性におよぼす影響, 日本材料科学会学術講演大会予稿集, ??, 2013, 6: 東京.

・大家 溪, 谷 優樹, 中村憲正, 藤江裕道, ナノ・マイクロ加工表面における幹細胞培養と基質生成, 日本機械学会機械材料・材料加工部門講演会 (M&P2013) ワークショップ: 関節のバイオメカニクスー生体医工学における材料と加工ー, WS2, 2013, 11: 八王子.

・今出久一郎, 望月翔太, 中村亮介, 中村憲正, 藤江裕道, 間葉系幹細胞を用いた軟骨修復, 日本機械学会機械材料・材料加工部門講演会 (M&P2013) ワークショップ: 関節のバイオメカニクスー生体医工学における材料と加工ー, WS3, 2013, 11: 八王子.

・谷 優樹, 大家 溪, 杉田憲彦, 中村憲正, 藤江裕道, フェムト秒レーザー加工によるナノ周期構造の創成と間葉系幹細胞の接着特性, 日本機械学会機械材料・材料加工部門講演会 (M&P2013), 512, 2013, 11: 八王子.

・中村 亮介, 望月 翔太, 中村 憲正, 藤江 裕道, 滑膜由来間葉系幹細胞より生成した組織再生材料と人工骨補填材を用いた軟骨修復ーナノスケール力学特性ー, 日本臨床バイオメカニクス学会抄録集, 157, 2013, 11: 神戸.

・望月 翔太, 中村 亮介, 中村 憲正, 藤江 裕道, 滑膜由来間葉系細胞より生成した組織再生材料と人工骨補填剤を用いた軟骨修復ーマクロスケール力学特性ー, 日本臨床バイオメカニクス学会抄録集, 157, 2013, 11: 神戸.

・今出久一郎, 望月翔太, 柳田 駿, 藤江 裕, 道線維強化多孔質弾性体モデルを用いた変性軟骨の力学特性解析, 日本臨床バイオメカニクス学会抄録集, 166, 2013, 11: 神戸

3. 講演

・ The 16th US-Japan Cellular and Gene Therapy Conference -Potential Applications of Mesenchymal Multipotent Stromal Cells- Thursday, February 28, 2013, National

Institutes of Health, Maryland, USA

Nakamura N. Cartilage Repair using a scaffold-free tissue engineered construct derived from synovial mesenchymal stem cells

・広島大学歯学部特別講義 2013年2月6日
広島大学

中村憲正 間葉系幹細胞による軟骨再生ー現状と展望ー

・第39回九州膝関節研究会 平成25年3月9日 福岡

中村憲正 関節の再生医療ーその最先端と未来像ー

・第11回日本再生医療学会 パネルディスカッション4 広範囲軟骨欠損を再生医療でどこまで直せるか?

横浜 平成25年4月12日

中村憲正 下村和範 森口悠 藤江裕道 吉川秀樹

スキャフォールドフリー滑膜間葉系幹細胞由来三次元人工組織・人工骨複合体を用いた軟骨再生

・第11回日本再生医療学会、ランチョンセミナー 横浜 平成25年4月12日

中村憲正 スキャフォールドフリー間葉系幹細胞由来三次元人工組織(TEC)移植による軟骨修復

・第86回 日本整形外科学会学術集会 教育研修講演 平成25年5月24日 広島

中村憲正 スキャフォールドフリー間葉系幹細胞由来人工組織による軟骨再生

・第7回 医療機器レギュラトリーサイエンス研究会 平成25年5月28日(火) 東京

中村憲正 関節軟骨再生医療に関するガイドライン構築にむけて

・NEDO公開シンポジウム～再生医療の産業化を支える技術開発～ 2013年10月10日 横浜

中村憲正 スキャフォールドフリー間葉系幹細胞由来三次元人工組織による軟骨再生

・第51回 日本人工臓器学会大会 2013年9月29日 横浜

中村憲正 関節軟骨再生医療の評価指標・ガイドラインの構築

・第28回 日本整形外科学会基礎学術集会シンポジウム 平成25年10月18日 千葉

中村憲正 森口悠 下村和範 寺村岳士 千々松良太 安井行彦 小泉宏太 福田寛二 吉川秀樹

ウサギ胚性幹細胞由来間葉系幹細胞由来スキ
ャフォールドフリー三次元人工組織による軟
骨再生

・第2回 北海道大学 ORS 平成25年10月
28日

中村憲正 関節軟骨の再生医療 ―その現状
と未来像―

・第2回 Knee Osteotomy フォーラム
平成25年10月19日 東京

中村憲正 軟骨再生の現状と将来展望 ―H
TOとの関連について―

・大阪大学大学院医学系研究科 English
lecture 平成25年12月13日 大阪

Nakamura N. Scaffold-free Tissue
Engineered Construct (TEC) derived from
synovial mesenchymal stem cells to repair
and regenerate cartilage

・9th Biennial Congress of ISAKOS
Pre-course “Study Design” May 11, 2013,
Toronto, Canada

Nakamura N. Assessment of Biological
Outcomes in Clinical Research -Cartilage
repair as a model-

・9th Biennial Congress of ISAKOS May
12-16, 2013, Toronto, Canada

Nakamura N, Shinomura K, Moriguchi Y,
Yoshikawa H, Shino K Biological resurfacing
of osteochondral lesions using a novel
biphasic implant made of scaffold-free tissue
engineered construct derived from synovial
mesenchymal stem cells and
hydroxyapatite-based artificial bone. -A
potential future option-

・International Society of Cartilage Repair in
Ankle 2013 Asian meeting, August 2, 2013,
Tokyo

Nakamura N. Stem cell therapy in Cartilage
repair

・11th International Cartilage Repair Society
2013, Izmir, September 12, 2013

N. Nakamura Evolution and Implementation
of Clinical Cartilage Tissue Engineering
Strategies

・World Summit of Regenerative Medicine
October 21, 2013, Xian, China

Nakamura N. Stem cell-based therapy in
Cartilage Repair

・2nd Combined Congress of Asian Cartilage
Repair Society and Indian Cartilage Society

Nakamura N Yasui Y Koizumi K Synovial
mesenchymal stem cell-based cartilage
repair -In vitro characterization of Tissue
Engineered Construct (TEC)-

2nd Combined Congress of Asian Cartilage
Repair Society and Indian Cartilage
Society

Nakamura N Yonetani Y Management of
Chondral Fracture of the Knee

・ICRS Focus meeting on Stem Cells and
Scaffolds December 5, 6 Bologna, Italy

Nakamura N. Scaffold-free Tissue
Engineered Construct (TEC) derived from
synovial mesenchymal stem cells to repair
and regenerate cartilage

H. 知的財産権の出願・登録状況

・胚性幹細胞由来間葉系幹細胞による3次元人
工組織の作成とそれを用いた骨軟骨再生治療
出願中 PCT

・骨軟骨再生のためのスキャフォールドフリー
自己組織化三次元人工組織と人工骨複合体
出願中 PCT/JP2012/008410

厚生労働科学研究費補助金（再生医療実用化研究事業）
分担研究報告書

臨床試験の実施・総指揮に関する研究

研究分担者 吉川 秀樹 大阪大学大学院医学系研究科 整形外科学 教授

研究要旨

患者から採取した滑膜より分離したMSCを培養しTECを作製、患者に移植するというヒト幹細胞臨床研究の実施。

研究分担者氏名・所属研究機関名及び所属研究機関における職名

(分担研究報告書の場合は、省略)

A. 研究目的

TECを用いた臨床研究を実施することである。

B. 研究方法

4例の患者から滑膜を採取し、未来医療センターのCell Processing Center (CPC)内で細胞の培養、TECの作製を行なった。移植を完了した症例は経過を臨床スコア、MRI、レントゲン等により経時的に評価した。また昨年度移植を行った1例目に対して再鏡視、組織生検を行った。

(倫理面への配慮)

ヘルシンキ宣言に基づく倫理的原則に留意、「ヒト幹細胞を用いる臨床研究に関する指針」を遵守した。

C. 研究結果

本年度培養を行った3例で、良好な細胞増殖を認め、TECの移植を完了した。1例は、細胞増殖は得られたものの、TECが形成されなかった。移植を完了した4例に関しては現在のところ大きな有害事象は認めていない。

移植1例目の関節鏡視では、軟骨損傷部は白色軟骨様組織で被覆されており、生検した組織の肉眼所見においても、軟骨下骨と連続する白色の再生組織を認めた。現在組織標本を作製中である。

D. 考察

現在4例は順調にTECの作製、移植が行っている。TECの形成が不良であった1例については、滑膜採取の直前に顔面神

経麻痺に対して行ったステロイドパルスの影響が疑われた。移植1例目の関節鏡視及び生検組織の肉眼像からTECの軟骨修復促進の可能性が示唆された。

E. 結論

今後、移植後の残り3例の関節鏡視、生検を随時行っていくとともに、5例目の組織移植を行う予定である。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Moriguchi, Y., Tateishi, K., Ando, W., Shimomura, K., Yonetani, Y., Tanaka Y., Kita, K., Hart, DA., Gobbi, A., Shino, K., Yoshikawa, H., Nakamura, N.: Repair of meniscal lesions using a scaffold-free tissue-engineered construct derived from allogenic synovial MSCs in a miniature swine model. *Biomaterials*, 34:2185-2193, 2013.

2. Honda, H., Tamai, N., Naka, N., Yoshikawa, H., Myoui, A.: Bone tissue engineering with bone marrow-derived stromal cells integrated with concentrated growth factor in *Rattus norvegicus* calvaria defect model. *Journal of Artificial Organs*, 16:305-315, 2013.

3. Noyama, Y., Nakano, T., Ishimoto, T., Sakai, T., Yoshikawa, H.: Design and optimization of the oriented

groove on the hip implant surface to promote bone microstructure integrity. Bone, 52:659-667, 2013.

4. Onishi, M., Fujita, Y., Yoshikawa, H., Yamashita, T.: Inhibition of Rac1 promotes BMP-2-induced osteoblastic differentiation. Cell Death and Disease, 4:e698, 2013.

5. Outani, H., Okada, M., Yamashita, A., Nakagawa, K., Yoshikawa, H., Tsumaki, N.: Direct induction of chondrogenic cells from human dermal fibroblast culture by defined factors. PLoS ONE, 8:e77365, 2013.

6. Okamoto, M., Tanaka, H., Okada, K., Kuroda, Y., Nishimoto, S., Murase, T., Yoshikawa, H.: Methylcobalamin promotes proliferation and migration and inhibits apoptosis of C2C12 cells via the Erk1/2 signaling pathway. Biochem Biophys Res Commun, 433:871-875, 2014.

7. 名井陽、吉川秀樹：『再生医療の現況と最前線』細胞・人工骨複合体による骨欠損補填治療法の開発、整形・災害外科, 56:515-524, 2013.

2. 研究発表

1. Osteoporosis Forum in Gunma (特別講演) : 骨粗鬆症に対する新しい治療戦略—全身治療と局所治療 (平成 25 年 12 月 4 日、前橋)

2. 第33回整形外科バイオマテリアル研究会 (特別講演) : 人工骨による骨再生 : 過去・現在・未来 (平成25年12月7日、奈良)

H. 知的財産権の出願・登録状況
特になし

厚生労働科学研究費補助金（再生医療実用化研究事業）
分担研究報告書

臨床試験の企画・支援に関する研究

研究分担者 濱崎俊光 大阪大学大学院医学系研究科 医学統計学 准教授

研究要旨

質の高い臨床試験を遂行するために必要なデータセンターを立ち上げ、それに伴う体制整備を行う。同時に業務遂行に必要な知識等獲得のための教育の機会を得る。

A. 研究目的

本事業の研究課題である臨床試験を科学的に実施し、質の高いエビデンスを得るためには、データマネジメントが必須であり、さらにその後の適切な統計解析が重要である。本年度は、昨年度立ちあげたデータセンターにおいて各種業務を遂行する上での業務の標準化及び効率化に取り組む。

B. 研究方法

質の高いデータマネジメント及び統計解析業務を行う上で必要なSOPの見直しを図りさらなる業務の標準化に努める。また、当該データセンターで業務を行う上で必要な知識・スキル等を得る。また、これらと並行して本事業の研究課題におけるプロトコルや必要関連文書等の作成を行う。

C. 研究結果

各種SOPについては現在改訂作業中であり、2014年度初めに改訂予定である。データマネジメント業務の標準化の1つとして、CDISC導入を検討し、関連セミナー等にも積極的に参加し、必要な知識・スキルの獲得に努めた。

D. 考察

データマネジメント及び統計解析業務を行うための体制は構築されつつあるが、

引き続き業務標準化及び効率化のために必要な活動を行う。

E. 結論

業務の標準化・効率化に向け一定の成果は得られた。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

・Tetsuo Minamino et al. (2012). Design and rationale of low-dose erythropoietin patients with ST-segment elevation myocardial infarction (EPO-AMI-II study): A randomized controlled clinical trial. *Cardiovascular Drugs and Therapy*, **26**, 409-416.

厚生労働科学研究費補助金（再生医療実用化研究事業）
分担研究報告書

再生組織の製造管理・支援

研究分担者 齋藤 充弘 大阪大学医学部附属病院未来医療センター 助教

研究要旨

TECを用いたヒト幹細胞臨床研究実施と安全で確実な医療体系構築のために関係書類、工程管理システム等の整備を行った。

研究分担者氏名・所属研究機関名及び所属研究機関における職名

(分担研究報告書の場合は、省略)

A. 研究目的

TECを用いた臨床研究を円滑に実施するために、関係書類、工程管理システム等を整備することである。

B. 研究方法

昨年度構築した工程管理システムを臨床研究に用いる中で、不備がないかをチェックした。

(倫理面への配慮)

ヘルシンキ宣言に基づく倫理的原則に留意、「ヒト幹細胞を用いる臨床研究に関する指針」を遵守した。

C. 研究結果

工程管理システムの細かい不備を確認した。微修正により不備を解消することができた。

D. 考察

工程管理システムの微修正により細胞培養がより円滑にかつ安全に行えるようになった。

E. 結論

今後、臨床研究を行っていく中で、さら微修正を行い、臨床研究の安全で確実な実施に努める。

F. 健康危険情報
特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Impact of cardiac support device combined with slow-release prostacyclin agonist in a canine ischemic cardiomyopathy model.

Kubota Y1, Miyagawa S1, Fukushima S1, Saito A1, Watabe H2, Daimon T3, Sakai Y1, Akita T4, Sawa Y5. J Thorac Cardiovasc Surg. 2014 Mar; 147(3):1081-7.

2. Synthetic prostacyclin agonist, ONO1301, enhances endogenous myocardial repair in a hamster model of dilated cardiomyopathy: a promising regenerative therapy for the failing heart.

Ishimaru K1, Miyagawa S, Fukushima S, Saito A, Sakai Y, Ueno T, Sawa Y. J Thorac Cardiovasc Surg. 2013 Dec;146(6):1516-25.

3. Sustained-release delivery of prostacyclin analogue enhances bone marrow-cell recruitment and yields functional benefits for acute myocardial infarction in mice. Imanishi Y1, Miyagawa S, Fukushima S, Ishimaru K, Sougawa N, Saito A, Sakai Y, Sawa Y. PLoS One. 2013 Jul 19;8(7):e69302.

4. Transplantation of myoblast sheets that secrete the novel peptide SVVYGLR improves cardiac function in failing hearts. Uchinaka A1, Kawaguchi N, Hamada Y, Mori S, Miyagawa S, Saito A, Sawa Y, Matsuura N. Cardiovasc Res. 2013 Jul 1;99(1):102-10.

5. Improvement of Cardiac Stem Cell-Sheet Therapy for Chronic Ischemic Injury by Adding Endothelial Progenitor Cell Transplantation: Analysis of Layer

-Specific Regional Cardiac Function. Kamata S, Miyagawa S, Fukushima S, Nakatani S, Kawamoto A, Saito A, Harada A, Shimizu T, Daimon T, Okano T, Asahara T, Sawa Y. Cell Transplant. 2013 Apr 3.

6. Impact of cardiac stem cell sheet transplantation on myocardial infarction. Alshammary S1, Fukushima S, Miyagawa S, Matsuda T, Nishi H, Saito A, Kamata S, Asahara T, Sawa Y. Surg Today. 2013 Sep;43(9):970-6.

「関節軟骨病変に対する自己滑膜間葉系幹細胞由来三次元人工組織移植法」の
薬事戦略支援 に関する研究

研究分担者 早川堯夫 近畿大学薬学総合研究所

研究要旨

「関節軟骨病変に対する自己滑膜間葉系幹細胞由来三次元人工組織移植法」の実用化を目指し、その道筋にある厚生労働省の定める先進医療を進め、将来的には企業への技術移転から治験へスムーズな移行をさせるために、臨床研究の実施と併行し、技術移転に必要な要素を把握するべく「滑膜幹細胞を原材料とする軟骨移植材」に関する薬事戦略相談の実施をふまえた必要な事項の抽出や掌握及び国内外の状況調査、それらに対する対応策を検討した。

A.研究目的

滑膜由来間葉系幹細胞（MSC）を用いた再生医療のレギュラトリーサイエンスについて、国内外の情報を収集、解析をし、「関節軟骨病変に対する自己滑膜間葉系幹細胞由来三次元人工組織移植法」の実用化のための薬事戦略支援の方法を検討する。

B.研究方法

2012年8月にスタートした薬事戦略相談「滑膜幹細胞を原材料とする軟骨移植材」の事前相談(3回：2012年8月、2012年12月、2013年2月)、厚生労働省医薬食品局、厚生労働省医政局への相談(2回)をふまえ、引き続き、必要な事項の抽出や掌握及び国内外の状況調査、それらに対する対応策を検討した。また、2013年IABS理事会[国際生物製剤標準化連盟理事会]、細胞治療・遺伝子治療委員会(米国・メリーランド州・ロックビル)、2013年ISSCR[第11回国際幹細胞学会](米国・マサチューセッツ州・ボストン)、2013 Stem Cells in Translation [幹細胞の臨床応用国際会議]、ISSCR Conference Series 2013(イタリア・フローレンス・Palazzo dei Congressi)、World Stem Cell Summit 2013[国際幹細胞サミット](米国・カリフォルニア・サンディエゴ)に参加することで調査研究活動を実施した。

C.研究結果

薬事戦略相談の事前相談および厚生労働省医薬食品局、厚生労働省医政局との複数回の打ち合わせによ

り、仕様、デザイン、設計に係る試案の実現性調査と、必要な試験・治験に関する指導・助言を受け、また国内外の情報収集や交流を行い、これらを踏まえた対応策を検討した結果、2013年2月18日に本相談へのステップアップを決めた。2013年IABS理事会[国際生物製剤標準化連盟理事会]、細胞治療・遺伝子治療委員会(米国・メリーランド州・ロックビル)に出席し、ヒト幹細胞加工製品を含む先端医療医薬品等の品質・安全性確保に関する各国の最新の薬事規制の考え方についての意見交換と課題の抽出及び問題提起を行うことで、本研究事業の薬事戦略支援を進める上で必要な情報収集ネットワークを強化した。続いて、2013年ISSCR[第11回国際幹細胞学会](米国・マサチューセッツ州・ボストン)に出席し、ヒト幹細胞利用再生医療の研究開発動向の調査・研究及び製品の品質・安全性確保に関するわが国の指針の紹介と意見交換を行うことで、本研究事業の薬事戦略支援を進捗する上での有用な知見を蓄積した。同様に、2013 Stem Cells in Translation [幹細胞の臨床応用国際会議]、ISSCR Conference Series 2013(イタリア・フローレンス・Palazzo dei Congressi)に於いては、ヒト幹細胞の臨床応用に関する主に欧州における最新の研究開発動向についての調査研究を実施し、欧州の動向を参考にしつつ、わが国の再生医療の規制に対応する方策に関する検討を行った。加えて、World Stem Cell Summit 2013[国際幹細胞会議](米国・カリフォルニア・サンディエゴ)に参加し、ヒト幹細胞利用再生医療の米国を中心とした世界における最新の研究開発動

向、規制状況及び患者団体等を含めて開発支援を推進するアプローチを参考にして、本研究に活用すべく方策を講ずるなどの結果を得た。

D. 考察

「薬事戦略相談制度」は「確認申請制度」に代わり、平成 23 年 7 月 1 日に始まった。制度名は大幅に変化した。実施における検討内容と必要な作業はほぼ同じである。我々が別途草案し、平成 24 年 9 月に公表された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 つの薬事指針を含めて再生医療の実施において求められる基本要素（受け入れや規制）は、平成 25 年度中に成立した再生新法や改正薬事法でもほぼ同一であり、これは最新の国外での状況や受け止めとも同様であった。

E. 結論

「薬事戦略相談制度」で見えてきた基本要素（受け入れや規制）を的確に押さえつつ、国内外での最新動向を把握し、方策を講じていくことが、先進医療へのスムーズな移行には重要であると思われた。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Moriyama M, Moriyama, Uda J, Matsuyama A, Osawa M and Hayakawa T: BNIP3 Plays Crucial Roles in the Differentiation and Maintenance of Epidermal Keratinocytes in press, *J Invest Dermatol* (2013)
- 2) 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.
- 3) Takayama K, Nagamoto Y, Mimura N, Tashiro K, Sakurai F, Tachibana M, Hayakawa T, Kawabata K, Mizuguchi H.: Long-Term Self-Renewal of Human ES/iPS-Derived Hepatoblast-like Cells on Human Laminin 111-Coated Dishes. *Stem Cell Reports*. 2013 Oct 3;1(4):322-335. PMID: 24319667 [PubMed - as supplied by publisher]
- 4) 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 TGFβ

receptor 2 expression determines the hepatoblast fate decision. *Development*. 2013 Nov 27. [Epub ahead of print]

- 5) Takayama K, Kawabata K, Nagamoto Y, Kishimoto K, Tashiro K, Sakurai F, Tachibana M, Kanda K, Hayakawa T, Furue MK, Mizuguchi H.: 3D spheroid culture of hESC/hiPSC-derived hepatocyte-like cells for drug toxicity testing. *Biomaterials*. 2013 Feb;34(7):1781-9.X
- 6) 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.
- 7) 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.
- 8) Yodoshi M, Iikeda N, Yamaguchi N, Nagata M, Nishida N, Kakehi K, Hayakawa T, Suzuki S.: A novel condition for capillary electrophoretic analysis of reductively aminated saccharides without removal of excess reagents, *Electrophoresis*, 2013, 34, 3198-3205 566)
- 9) Kinoshita M, Mitsui Y, Kakoi N, Yamada K, Hayakawa T, Kakehi K.: Common Glycoproteins Expressing Poly-lactosamine-Type Glycans on Matched Patient Primary and Metastatic Melanoma Cells Show Different Glycan Profiles. *J Proteome Res*. 2013 Dec 26. [Epub ahead of print] PMID: 24354860 [PubMed - as supplied by publisher].
- 10) Moriyama H, Moriyama M, Isshi H, Ishihara S, Okura H, Ichinose A, Matsuyama A and Hayakawa T: Role of Notch signaling in the maintenance of human mesenchymal stem cells under hypoxic conditions. *STEM CELLS & DEV* (2014) in press.
- 11) 森山博由, 森山麻里子, 早川堯夫. 『ヒト脂肪由来間葉系幹細胞における効率的かつ厳密に発現制御可能なレンチウイルス発現システムの構築』 (Sept, 18, 2013. BioMed circus)

2. 研究発表

- 1) 早川堯夫: 再生医療製品・遺伝子治療薬等の品質評価の上での科学的妥当性とは. 第 10 回医薬品レギュラトリーサイエンスフォーラム (基調講演), 東京 (2013.12.12)
- 2) 木下充弘, 三ツ井洋介, 原沙也香, 山田佳太, 早川堯夫, 掛樋一晃: ヒトメラノーマ細胞のグライコフォームフォーカストプロテオミクス, 2013

- 年 8 月 第 32 回日本糖質学会年会 (2013.8.)
- 3) 神末和哉、木下充弘、早川堯夫、掛樋一晃：シースレスインターフェースを備えた CE-ESI-MS による糖タンパク質分析とその応用。2013 年 11 月第 33 回キャピラリー電気泳動シンポジウム (2013.11.)
 - 4) 木下充弘、鈴木茂生、早川堯夫、掛樋一晃：レーザー回折法を用いる Sub-visible 領域タンパク質凝集体の解析。第 134 年回日本薬学会年会 (2014.3.)
 - 5) 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合成に対する外的物理的ストレスの影響 (2014.3.)
 - 6) 桑原侑己、東江直樹、瀧川義浩、早川堯夫、角谷晃司：カンゾウ (*Glycyrrhiza glabra* L.) のフラボノイド系ポリフェノール配糖化酵素遺伝子の単離と解析日本農芸化学会 2013 年度大会 (仙台 口頭), 2013.3.
 - 7) 森川敏生、二宮清文、李 雪征、西田枝里子、山下千裕、山田友視、松田久司、中村誠宏、吉川雅之、早川堯夫、村岡 修：デイジーフラワー (*Bellis perennis*, 花部) 成分の脂質代謝改善作用。日本農芸化学会 2013 年度大会 (仙台), 2013.3.
 - 8) 高森康暢、森川敏生、二宮清文、李 雪征、西田枝里子、松田久司、中村誠宏、吉川雅之、早川堯夫、村岡 修：デイジーフラワー (*Bellis perennis*, 花部) 成分のコラーゲン産生促進作用。日本農芸化学会 2013 年度大会 (仙台), 2013.3.
 - 9) 中西勇介、森川敏生、二宮清文、松田久司、中嶋聡一、三木尚子、宮下 優、吉川雅之、早川堯夫、村岡 修：漢薬 蠟梅花 (*Chimonanthus praecox*, 花部) のメラニン産生抑制活性成分。日本農芸化学会 2013 年度大会 (仙台), 2013.3.
 - 10) 二宮清文、高森康暢、沖野健二、王 立波、中村誠宏、松田久司、呉 立軍、早川堯夫、吉川雅之、村岡 修、森川敏生：エバーラスティングフラワー (*Helichrysum arenarium*, 花部) の機能性成分 (5) -含有フラボノイドのコラーゲン産生促進活性-。日本薬学会第 133 年会 (横浜) 2013.3.
 - 11) 二宮清文、松本友里恵、柿原なみ子、赤木淳二、王 立波、中村誠宏、松田久司、呉 立軍、早川堯夫、吉川雅之、村岡 修、森川敏生：エバーラスティングフラワー (*Helichrysum arenarium*, 花部) の機能性成分 (6) -含有フラボノイドの DPP-4 阻害活性-。日本薬学会第 133 年会 (横浜) 2013.3.
 - 12) 森川敏生、中西勇介、二宮清文、沖野健二、高森康暢、松浦豪之、早川堯夫、吉川雅之、村岡 修：漢薬 胡黄連 (*Picrorrhiza kurroa*, 根茎) の機能性成分 (4) -含有フェニルエタノイドおよびイリドイドのコラーゲン産生促進活性-。日本薬学会第 133 年会 (横浜) 2013.3.
 - 13) 森川敏生、金敷辰之介、二宮清文、早川堯夫、吉川雅之、村岡 修：タイ天然薬物 *Mimusops elengi* L. 花部の機能性成分 (1) -新規フェニルプロパノイド配糖体の化学構造-。日本薬学会第 133 年会 (横浜) 2013.3.
 - 14) 八幡郁子、西田枝里子、松田久司、畑 裕基、菅原かおる、吉川雅之、二宮清文、村岡 修、早川堯夫、森川敏生：メース (*Myristica fragrans*, 仮種皮) の脱顆粒抑制作用成分。第 67 回日本栄養・食糧学会大会 (名古屋), 2013.5
 - 15) 森川敏生、西田枝里子、李 雪征、二宮清文、松田久司、山下千裕、伊藤友紀、中村誠宏、村岡 修、早川堯夫、吉川雅之：デイジーフラワー (*Bellis perennis*, 花部) の中性脂質上昇抑制作用成分。第 67 回日本栄養・食糧学会大会 (名古屋), 2013.5.
 - 16) Toshio Morikawa, Mayumi Sueyoshi, Saowanee Chaipech, Hisashi Matsuda, Yukiko Nomura, Mikuko Yabe, Tomoko Matsumoto, Kiyofumi Ninomiya, Masayuki Yoshikawa, Yutana Pongpiriyadacha, Takao Hayakawa, Osamu Muraoka: Suppressive effects of prenylcoumarins from *Mammea siamensis* on iNOS synthase expression in RAW264.7 cells. 14th Tetrahedron Symposium, (Vienna, Austria), 2013.6.
 - 17) 萬瀬貴昭、二宮清文、酒井千恵、西 亮介、村岡 修、早川堯夫、Chaipech Saowanee, 森川敏生：紅豆蔻 (*Alpinia galanga*, 果実) 由来フェニルプロパノイド成分の中性脂肪代謝促進活性。第 30 回和漢医薬学会大会 (金沢), 2013.08.
 - 18) 酒井千恵、二宮清文、中西勇介、宮本陸平、早川堯夫、木下充弘、掛樋一晃、宮田信吾、遠山正彌、森川敏生：川芎 (*Cnidium officinale*, 根茎) の脂肪代謝促進活性成分。第 30 回和漢医薬学会大会 (金沢), 2013.08.
 - 19) 二宮清文、萬瀬貴昭、西 亮介、酒井千恵、Chaipech Saowanee, 早川堯夫、村岡 修、森川敏生：紅豆蔻 (*Alpinia galanga*, 果実) の機能性成分 (2) -新規フェニルプロパノイドおよびジテルペン成分の構造と中性脂肪代謝促進活性-。日本生薬学会第 60 回年会 (北海道), 2013.9.
 - 20) 二宮清文、八幡郁子、西田枝里子、尾関快天、早川堯夫、村岡 修、森川敏生：メース (*Myristica fragrans*, 仮種皮) の機能性成分 (3) -含有ネオリグナン成分の一酸化窒素産生抑制活性-。日本生薬学会第 60 回年会 (北海道), 2013.9.
 - 21) 森川敏生、金敷辰之介、牛尾名恵花、二宮清文、松田久司、松本朋子、一川怜史、袴田祐里、三宅史織、吉川雅之、早川堯夫、Chaipech Saowanee, 村岡 修：タイ天然薬物 *Melodrum fruticosum* 花部の機能性成分 (2) -含有ブテノリド成分の一酸化窒素産生抑制活性-。日本生薬学会第 60 回年会 (北海道), 2013.9.
 - 22) 二宮清文、中西勇介、木内恵理、赤木淳二、早川堯夫、村岡 修、森川敏生：漢薬 胡黄連 (*Picrorrhiza kurroa*, 根茎) の機能性成分 (5) -含有フェニルエタノイド配当体のアルドース還元酵素新規阻害活性-。日本生薬学会第 60 回年会 (北海道), 2013.9.
 - 23) 二宮清文、酒井千恵、中西勇介、宮本陸平、早川堯夫、木下充弘、掛樋一晃、宮田信吾、遠山正彌、森川敏生：川芎 (*Cnidium officinale*, 根茎) の機能性成分 (2) -含有フタリド成分の脂肪代謝促進活性-。日本生薬学会第 60 回年会 (北海道), 2013.9.
 - 24) 二宮清文、居村克弥、坂本幸栄、十川慶太、早川堯夫、村岡 修、森川敏生：漢薬 女貞子

- (*Ligustrum lucidum*, 果実) の機能性成分 (3) – 含有トリテルペン成分のアロマトーゼ阻害活性 –. 日本生薬学会第 60 回年会 (北海道), 2013.9.
- 25) 二宮清文, 尾関快天, 南野 享, 早川堯夫, 木下 充弘, 掛樋一晃, 宮田信吾, 遠山正彌, 森川敏生: 鈎藤鈎の機能性成分 (1) – 含有アルカロイドおよびトリテルペンの抗 TNF- α 活性成分 –. 日本生薬学会第 60 回年会 (北海道), 2013.9.
- 26) 森川敏生, 末吉真弓, 松本 拓, Saowanee Chaipech, 二宮清文, 松田久司, 野村友起子, 梅山美樹子, 吉川雅之, 向井秀仁, 木曾良明, 早川堯夫, 村岡修: タイ天然薬物 *Mammea siamensis* 由来プレニルクマリン mammeasin 類の iNOS 合成酵素発現抑制作用および好中球様細胞活性化抑制作用. 第 55 回天然有機化合物討論会 (京都), 2013.9.
- 27) 森川敏生, 萬瀬貴昭, 二宮清文, 西 亮介, 酒井千恵, Chaipech Saowanee, 早川堯夫, 村岡 修: 紅豆蔻 (*Alpinia galanga*, 果実) の中性脂肪代謝促進活性成分 –. 第 57 回香料・テルペンおよび精油化学に関する討論会 (埼玉), 2013.10.
- 28) 森川敏生, 金敷辰之介, 二宮清文, 牛尾名恵花, 松田久司, 松本朋子, 一川怜史, 袴田祐里, 三宅史織, 吉川雅之, 早川堯夫, Chaipech Saowanee, 村岡 修: タイ天然薬物 *Melodrum fruticosum* 花部の一酸化窒素産生抑制活性成分. 第 57 回香料・テルペンおよび精油化学に関する討論会 (埼玉), 2013.10.
- 29) 二宮清文, 南野 享, 尾関快天, 早川堯夫, 木下 充弘, 掛樋一晃, 宮田信吾, 遠山正彌, 森川敏生: 鈎藤鈎の機能性成分 (2) – 含有アルカロイドおよびトリテルペンの抗炎症作用 –. 第 63 回日本薬学会近畿支部総会・大会 (京都), 2013.10.
- 30) 森川敏生, 二宮清文, Chaipech Saowanee, 三宅荘八郎, 坪山晃大, 早川堯夫, 村岡修: タイ天然薬物 *Kaempferia parviflora* 由来メトキシフラボノイド成分のメラニン産生抑制作用. 第 5 回食品薬学シンポジウム (京都), 2013.11.
- 31) 森川敏生, 二宮清文, Chaipech Saowanee, 三宅荘八郎, 坪山晃大, 早川堯夫, 村岡修: タイ天然薬物 *Kaempferia parviflora* 由来メトキシフラボノイド成分のメラニン産生抑制作用. 第 5 回食品薬学シンポジウム (京都), 2013.11.
- 32) 二宮清文, 奥村尚道, 村岡 修, 許 鳳鳴, 松田久司, 吉川雅之, 早川堯夫, 森川敏生: エジプト天然薬物 *Nigella sativa* の肝脂肪低減作用物質. 第 31 回メディシナルケミストリーシンポジウム (広島), 2013.11.
- 33) Hiroyuki Moriyama, Mariko Moriyama, Akifumi Matsuyama, Takao Hayakawa. Role of Notch signaling in the maintenance of human mesenchymal stem cells under hypoxic conditions. The 7th Notch meeting. Feb. 14-15, 2013. National Institute of Genetics, Mishima.
- 34) 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, Mar, 1, 2013. JST 本部本館ホール, 東京.
- 35) 森山麻里子, 宇田純輝, 松山晃文, 早川堯夫, 森山博由. Notch シグナルが皮膚を正しく構築する仕組み. 皮膚の会 (総会), Mar, 16-17, 下呂, 岐阜.
- 36) Hiroyuki Moriyama, Mariko 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 シグナル亢進と解糖系調節機構の解明. Mar, 21-23, 2013. 第 12 回日本再生医療学会総会.
- 37) Moriyama Mariko, Moriyama Hiroyuki, Uda Junki, Matsuyama Akifumi, Osawa Masatake, Hayakawa Takao. INDISPENSABLE ROLES OF BNIP3, AN INDUCER OF AUTOPHAGY, IN BOTH DIFFERENTIATION AND MAINTENANCE OF EPIDERMAL KERATINOCYTES. May 8–11, 2013, 2013 International Investigative Dermatology Meeting, Edinburgh International Conference Center, Edinburgh, Scotland
- 38) Moriyama Hiroyuki, Moriyama Mariko, Ueda Ayaka, Nishibata Yusuke, Okura Hanayuki, Matsuyama Akifumi, Hayakawa Takao. ROLE OF NOTCH SIGNALING IN THE MAINTENANCE OF HUMAN MESENCHYMAL STEM CELLS UNDER HYPOXIC CONDITIONS. June 12–15, 2013, 11th ISSCR at BOSTON, U.S.A.
- 39) Moriyama Mariko, Moriyama Hiroyuki, Uda Junki, Matsuyama Akifumi, Osawa Masatake, Hayakawa Takao. INDISPENSABLE ROLES OF BNIP3, AN INDUCER OF AUTOPHAGY, IN BOTH DIFFERENTIATION AND MAINTENANCE OF EPIDERMAL KERATINOCYTES. June 12–15, 2013, 11th ISSCR at BOSTON, U.S.A.
- 40) Moriyama Hiroyuki, Moriyama Mariko, Ueda Ayaka, Nishibata Yusuke, Okura Hanayuki, Matsuyama Akifumi, Hayakawa Takao. ROLE OF NOTCH SIGNALING IN THE MAINTENANCE OF HUMAN MESENCHYMAL STEM CELLS UNDER HYPOXIC CONDITIONS. June 13, 2013, CBRC, Harvard Medical School, Boston, U.S.A.
- 41) 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.
- 42) 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.
- 43) 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.
- 44) 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.
- 45) 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.

- 46) 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.
- 47) 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.
- 48) 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.
- 49) 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.
- 50) 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ー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.
- 51) 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.

I. 知的財産権の出願・登録状況

- 1) 記載事項なし

II. 政策への提言

- 1) 厚生労働省医薬食品局「再生医療等製品原料基準」のあり方に関する検討」での提言
- 2) 経済産業省「グローバル認証基盤整備事業再生医療等基準検討委員会」での提言

「関節軟骨病変に対する自己滑膜間葉系幹細胞由来三次元人工組織移植法」の
産業化支援に関する研究

研究分担者 辻 紘一郎 株式会社ツーセル 代表取締役社長

研究要旨

「関節軟骨病変に対する自己滑膜間葉系幹細胞由来三次元人工組織移植法」を、実用化の道筋にある厚生労働省の定める先進医療へスムーズな移行をさせるために、「滑膜幹細胞を原材料とする軟骨移植材」の薬事戦略相談を継続し、先進医療の申請準備をした。

A.研究目的

滑膜由来間葉系幹細胞（MSC）を用いた再生医療のレギュラトリーサイエンスについて、国内外の情報を収集、解析をし、「関節軟骨病変に対する自己滑膜間葉系幹細胞由来三次元人工組織移植法」の実用化を目指す。

B.研究方法

2013年度は6月、7月、8月に「滑膜幹細胞を原材料とする軟骨移植材」薬事戦略相談を実施。また、国際学会「ISSCR11th」（米国・ボストン）と「World Stem Cell Summit 2013」（米国・サンディエゴ）などで再生医療の非臨床研究と臨床研究について情報収集を行った。

C.研究結果

「滑膜幹細胞を原材料とする軟骨移植材」の複数回の薬事戦略相談による指導・助言と情報収集の結果、安全性の観点から必要とされる培地原材料の基準を確認した。また、GLPによる非臨床試験の試験デザインを確認した。

D.考察

実用化においては、細胞の品質管理規準と規格値が設定でき、臨床研究使用の適否を判定することが必要である。規格値設定には細胞の個体差を少なくする必要がある。細胞は培地や材料の影響を受けてその性質が変わる。培地や材料の選択が重要となる。これは国外での受け止めも同様であった。

E.結論

「薬事戦略相談制度」で見えてきた安全性確保を的確に押さえることが、先進医療へのスムーズな移行には重要である。培地を「生物由来原料基準」（平

成15年厚生労働省告示第210号）の規定を満す原材料だけで製造されたものにするのと、個体差がある血清成分を用いない無血清培地を用いた培養を行うことが必要となる。また、2013年度は再生医療三法（「再生医療を国民が迅速かつ安全に受けられるようにするための施策の総合的な推進に関する法律：（略）再生医療推進法」「再生医療等の安全性の確保等に関する法律：（略）再生医療安全性確保法または再生医療新法、安全法」「医薬品、医療機器等の品質、有効性及び安全性の確保等に関する法律：（略）医薬品医療機器等法または改正薬事法」が成立した。今後は再生医療三法の影響について調査が必要となる。

F.研究発表

1. 論文発表

なし

2. 研究発表

- 1) "CHARACTERIZATION OF SYNOVIUM-DERIVED CANINE MESENCHYMAL STEM CELLS (MSCS) USING CHEMICALLY DEFINED SERUM FREE MEDIA STK1® AND STK2®" ISSCR ボストン 2013/6/12 Satoshi Maeda, Minoru Morikawa, Shin-ichi Hasegawa, Jinchang Shao, Aki Ohmoril, Yui Kitayama, Masato Takao, Shinya Miki, Ken-ichiro Nakajima, Ken Innami, Koichiro Tsuji, Takashi Matsushita,
- 2) "Scaffold-free tissue-engineered construct (TEC : gMSC®) derived from human synovial mesenchymal stem cells (MSCs) with chemically defined serum-free media, STK1 and STK2" ISSCR ボストン 2013/6/13 Miki Suzuki, Jinchang Shao, Shin-ichi Hasegawa, Yuki Katsura, Maiko Hara, Masaya Matumoto, Norihiko Sugita, Yu Moriguchi, Kazunori Shimomura, Hideki Yoshikawa, Koichiro Tsuji, Yukio Kato, and Norimasa Nakamura,

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

厚生労働科学研究費補助金（再生医療実用化研究事業）
分担研究報告書

外科的移植手技の開発・改良

研究分担者 堀部 秀二 大阪府立大学 総合リハビリテーション 教授

研究要旨

T E Cの移植に際しては、脱落の予防のためT E Cを移植部位に一定時間静置する必要がある。通常の関節鏡手術では視野の確保のため関節内を液体で満たし作業を行うが、T E C移植の際には、その水流により脱落の恐れがある。そこで、安定しかつ低侵襲なT E Cの移植手技の確立を目的とした調査を行った。

A. 研究目的

T E Cの移植の際の手術手技の確立のための調査・検討を行なうことである。

B. 研究方法

関節鏡手術の際に、腹腔鏡手術等でも使用される二酸化炭素ガス還流下におけるT E Cの移植が可能か検討した。

(倫理面への配慮)

ヘルシンキ宣言に基づく倫理的原則に留意、「ヒト幹細胞を用いる臨床研究に関する指針」を遵守した。

C. 研究結果

20l/minの還流速度による二酸化炭素ガスの関節内の充満により、T E C移植の際に必要な視野、および作業空間が確保できることを確認できた。

D. 考察

二酸化炭素ガスの使用により、低侵襲かつ確実なT E Cの移植が可能となる可能性が示唆された。

E. 結論

二酸化炭素ガス還流を用いた関節鏡手術によりT E Cをより低侵襲で移植できる可能性が示された。5例目の移植の際に用いる予定である。

F. 健康危険情報
特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Hamada M, Matsui T, Kinugasa K, Yoneda K, Horibe S, Shino K. Change of signal intensity in the displaced medial meniscus after its reduction on MRI. Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc. 21:736-739,2013
2. Matsui Y, Kadoya Y, Horibe S. The intact posterior cruciate ligament not only controls posterior displacement but also maintains the flexion gap. Clin Orthop Relat Res. 471:1299-304, 2013
3. Takao R, Oguro H, Yamashita E, Kawakami Y, Horibe S. Epidemiological study of the relationship between high-sensitive C-reactive protein levels and diabetes in Japanese adults. Medicine and Biology, 2013
4. Tanaka Y, Yonetani Y, Shiozaki Y, Kanamoto T, Kita K, Amano H, Kusano M, Hirakawa M, Horibe S. MRI analysis of single-, double-, and triple-bundle anterior cruciate ligament grafts. Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc 2013
5. 西村脩平、小川彩音、石室屋美