

- cardiomyocytes by the combination of cell sheets with the pedicled omental flap technique in a porcine heart. *Circulation*. 2013 Sep 10;128(11 Suppl 1):S87-94. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.112.000366. PubMed PMID: 24030425.
112. Shudo Y, Cohen JE, Macarthur JW, Atluri P, Hsiao PF, Yang EC, Fairman AS, Trubelja A, Patel J, Miyagawa S, Sawa Y, Woo YJ. Spatially oriented, temporally sequential smooth muscle cell-endothelial progenitor cell bi-level cell sheet neovascularizes ischemic myocardium. *Circulation*. 2013 Sep 10;128(11 Suppl 1):S59-68. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.112.000293. PubMed PMID: 24030422.
113. Maeda K, Kuratani T, Torikai K, Shimamura K, Ueno T, Toda K, Sawa Y. Successful Transcatheter Aortic Valve Replacement for Bicuspid Aortic Valve. *Ann Thorac Cardiovasc Surg*. 2013 Aug 30. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 23995345.
114. Maeda K, Nishi H, Sakaguchi T, Miyagawa S, Ueno T, Kuratani T, Sawa Y. Coronary Artery Bypass Grafting in a Patient Initially Presenting with Systemic Lupus Erythematosus. *Ann Thorac Cardiovasc Surg*. 2013 Aug 30. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 23995344.
115. Nishi H, Toda K, Miyagawa S, Yoshikawa Y, Fukushima S, Yoshioka D, Saito T, Saito S, Sakaguchi T, Ueno T, Kuratani T, Sawa Y. Prediction of outcome in patients with liver dysfunction after left ventricular assist device implantation. *J Artif Organs*. 2013 Dec;16(4):404-10. doi: 10.1007/s10047-013-0724-2. Epub 2013 Aug 29. PubMed PMID: 23989898. Yoshioka D, Sawa Y. [Clinical results of continuous-flow left ventricular assist device(LVAD) for severe heart failure patients]. *Kyobu Geka*. 2013 Jan;66(1):57-61. Japanese. PubMed PMID: 23985406.
116. Shirakawa Y, Kuratani T, Shimamura K, Torikai K, Sakamoto T, Shijo T, Sawa Y. The efficacy and short-term results of hybrid thoracic endovascular repair into the ascending aorta for aortic arch pathologies. *Eur J Cardiothorac Surg*. 2014 Feb;45(2):298-304; discussion 304. doi: 10.1093/ejcts/ezt391. Epub 2013 Aug 2. PubMed PMID: 23913243.
117. Imanishi Y, Miyagawa S, Fukushima S, Ishimaru K, Sougawa N, Saito A, Sakai Y, Sawa Y. Sustained-release delivery of prostacyclin analogue enhances bone marrow-cell recruitment and yields functional benefits for acute myocardial infarction in mice. *PLoS One*. 2013 Jul 19;8(7):e69302. doi: 10.1371/journal.pone.0069302. Print 2013. PubMed PMID: 23894446; PubMed Central PMCID: PMC3716598.
118. Maeda K, Kuratani T, Torikai K, Shimamura K, Mizote I, Ichibori Y, Takeda Y, Daimon T, Nakatani S, Nanto S, Sawa Y. Impact of electrocardiogram-gated multi-slice computed tomography-based aortic annular measurement in the evaluation of paravalvular

- leakage following transcatheter aortic valvere placement: the efficacy of the OverSized AortiC Annular ratio (OSACA ratio) in TAVR. *J Card Surg.* 2013 Jul;28(4):373-9. doi: 10.1111/jocs.12143. PubMed PMID: 23879340.
119. Sakaguchi T, Saito S, Yoshioka D, Sawa Y. Long-term biventricular support with rotary blood pumps in a patient with a noncontractile heart. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2013 Oct;146(4):e29-30. doi: 10.1016/j.jtcvs.2013.06.015. Epub 2013 Jul 18. PubMed PMID: 23871142.
120. Uchinaka A, Kawaguchi N, Hamada Y, Mori S, Miyagawa S, Saito A, Sawa Y, Matsuura N. Transplantation of myoblast sheets that secrete the novel peptide SVVYGLR improves cardiac function in failing hearts. *Cardiovasc Res.* 2013 Jul 1;99(1):102-10. doi: 10.1093/cvr/cvt088. Epub 2013 Apr 23. PubMed PMID: 23615564.
121. Sakaguchi T, Matsumiya G, Yoshioka D, Miyagawa S, Nishi H, Yoshikawa Y, Fukushima S, Saito S, Ueno T, Sawa Y. DuraHeart™ magnetically levitated left ventricular assist device: Osaka University experience. *Circ J.* 2013;77(7):1736-41. Epub 2013 Apr 18. PubMed PMID: 23595087.
122. Maeda K, Yoshikawa Y, Miyagawa S, Nishi H, Fukushima S, Ueno T, Toda K, Kuratani T, Sawa Y. Surgical treatment of coronary arteriovenous fistulas and aortic valve insufficiency. *J Card Surg.* 2013 Jul;28(4):380-2. doi: 10.1111/jocs.12102. Epub 2013 Apr 18. PubMed PMID: 23594082.
123. Yoshioka D, Toda K, Sakaguchi T, Miyagawa S, Nishi H, Yoshikawa Y, Fukushima S, Saito S, Saito T, Shibasaki I, Sakata Y, Ohtani T, Sawa Y. Initial report of bridge to recovery in a patient with DuraHeart LVAD. *J Artif Organs.* 2013 Sep;16(3):386-8. doi: 10.1007/s10047-013-0704-6. Epub 2013 Mar 20. PubMed PMID: 23512310.
124. Fukushima S, Sawa Y, Suzuki K. Choice of cell-delivery route for successful cell transplantation therapy for the heart. *Future Cardiol.* 2013 Mar;9(2):215-27. doi: 10.2217/fca.12.85. Review. PubMed PMID: 23463974.
125. Kainuma S, Funatsu T, Kondoh H, Mitsuno M, Daimon T, Toda K, Sawa Y, Taniguchi K. Novel surgical ablation through a septal-superior approach for valvular atrial fibrillation: 7-year single-centre experience. *Eur J Cardiothorac Surg.* 2013 Dec;44(6):1013-22; discussion 1022. doi: 10.1093/ejcts/ezt117. Epub 2013 Mar 13. PubMed PMID: 23487535.
126. Alshammary S, Fukushima S, Miyagawa S, Matsuda T, Nishi H, Saito A, Kamata S, Asahara T, Sawa Y. Impact of cardiac stem cell sheet transplantation on myocardial infarction. *Surg Today.* 2013 Sep;43(9):970-6. doi: 10.1007/s00595-013-0528-2. Epub 2013 Mar 5. PubMed PMID: 23459789.
127. Sawa Y, Tatsumi E, Tsukiya T, Matsuda K, Fukunaga K, Kishida A, Masuzawa T, Matsumiya G, Myoui A, Nishimura M, Nishimura T,

- Nishinaka T, Okamoto E, Tokunaga S, Tomo T, Yagi Y, Yamaoka T; Journal of Artificial Organs Editorial Committee. Journal of Artificial Organs 2012: the year in review. *J Artif Organs*. 2013 Mar;16(1):1-8. doi: 10.1007/s10047-013-0690-8. Epub 2013 Feb 28. Review. PubMed PMID: 23456197.
128. Ichibori Y, Nakatani D, Sakata Y, Tachibana K, Akasaka T, Saito S, Fukushima N, Sawa Y, Nanto S, Komuro I. Cardiac allograft vasculopathy progression associated with intraplaque neovascularization. *J Am Coll Cardiol*. 2013 Mar 5;61(9):e149. doi: 10.1016/j.jacc.2012.08.1036. PubMed PMID: 23449438.
129. Okazaki S, Yoshioka D, Sakaguchi M, Sawa Y, Mochizuki H, Kitagawa K. Acute ischemic brain lesions in infective endocarditis: incidence, related factors, and postoperative outcome. *Cerebrovasc Dis*. 2013;35(2):155-62. doi: 10.1159/000346101. Epub 2013 Feb 22. PubMed PMID: 23446361.
130. Sakaguchi T, Miyagawa S, Nishi H, Yoshikawa Y, Fukushima S, Saito S, Sawa Y. Rupture of valsalva sinus after aortic root replacement with freestyle stentless bioprosthesis. *Ann Thorac Surg*. 2013 Mar;95(3):1074-6. doi: 10.1016/j.athoracsur.2012.05.129. PubMed PMID: 23438535.
131. Sawa Y, Miyagawa S. Cell sheet technology for heart failure. *Curr Pharm Biotechnol*. 2013 Jan;14(1):61-6. Review. PubMed PMID: 23437937.
132. Sawa Y, Matsumiya G, Shigemura S, Nishi H, Ichikawa H, Minami M, Fukushima N, Inoue M, Ueno T, Sawabata A, Sakaguchi T, Saito S, Okumura M. First successful heart-lung transplantation in Japan: report of a case. *Surg Today*. 2013 Dec;43(12):1461-6. doi: 10.1007/s00595-013-0498-4. Epub 2013 Feb 20. PubMed PMID: 23423216.
133. Yoshitatsu M, Masai T, Yokoyama J, Matsunaga Y, Tanaka K, Kashiya N, Toda K, Sawa Y, Yamazaki K. Bridge-to-bridge conversion from Nipro-LVAS to EVAHEART implantable LVAS in a patient with severe acute myocardial infarction. *J Artif Organs*. 2013 Jun;16(2):263-5. doi: 10.1007/s10047-013-0688-2. Epub 2013 Feb 9. PubMed PMID: 23397122.
134. Yu T, Miyagawa S, Miki K, Saito A, Fukushima S, Higuchi T, Kawamura M, Kawamura T, Ito E, Kawaguchi N, Sawa Y, Matsuura N. In vivo differentiation of induced pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes. *Circ J*. 2013;77(5):1297-306. Epub 2013 Feb 8. PubMed PMID: 23392122.
135. Matsuyama A. Translational research in regenerative medicine: A translational gap. *Pharmaceuticals Policy and Law*. 2013;15: 163-172.
136. 松山晃文 再生医療とレギュラトリーサイエンス -早期実現にむけて合理的な理解を-」ヒューマンサイエンス 2013: (7). 28-31
137. 松山晃文 再生医療の規制と今後の動向 リーガルマインド 2013:337. 36-102

138. 松山晃文 再生医療の早期実現化と国際展開に向けた研究開発支援 再生医療 2013:12(2). 133-134.
139. 松山晃文:「再生医療とレギュラトリーサイエンス -早期実現にむけて合理的な理解を-」 ヒューマンサイエンス 2013: (7). 28-31.
140. 松山晃文:「再生医療の規制と今後の動向」 リーガルマインド 2013:337. 36-102.
2. 学会発表
- 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回先端技術交流会 (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 11<sup>th</sup> 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-. 3<sup>rd</sup> 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, 10<sup>th</sup> 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62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62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62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62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 34<sup>th</sup> 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 34<sup>th</sup> annual meeting of the Japanese Society for Investigative Dermatology. Okinawa, Japan.
  - 22) Hiroyuki Moriyama, Nomura, Chiaki Sone, Mariko Moriyama, Ayaka Ueda, Ryouyusuke 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 34<sup>th</sup> 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 34<sup>th</sup> annual meeting of the molecular biology society of Japan. Fukuoka, Japan.
  - 24) Junki 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

- 34<sup>th</sup> 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 34<sup>th</sup> 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) 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
- 30) 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
- 31) 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
- 32) 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
- 33) 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
- 34) 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
- 35) 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
- 36) 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
- 37) 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
- 38) 再生医療が拓く明日へー研究者の想いと産業界への願いー・松山晃文・東西合同薬事法規(研究)委員会・6 月 21 日
- 39) 高度医療とトランスレーショナルリサーチの実際・松山晃文・東大

- CRC 講習会・6月27日
- 40) 再生医療についての行政の取り組み・松山晃文・最高裁 再生医療研究会・7月3日
  - 41) iPS 細胞を用いた再生医療の現状と展望・松山晃文・DDS 学会・7月4日
  - 42) 再生医療研究と試薬・松山晃文・日本試薬協会講演会・7月9日
  - 43) 再生医療の動向・松山晃文・再生医療と法研究会・8月1日
  - 44) 再生医療の動向・松山晃文・厚生省全国薬務主管課長会議・9月20日
  - 45) 再生細胞治療と培地・松山晃文・FIRM 講演会・9月26日
  - 46) "Development of Regenerative Medicinal Products—From Bench—"・松山晃文・DIA 日本年会・11月7日
  - 47) 臨床薬理に期待すること—再生医療—一介の研究者として—・松山晃文・第34回臨床薬理学会学術総会・12月6日
  - 48) 再生医療の倫理と規制 (2)・松山晃文・東京大学生命倫理講習会・12月12日
  - 49) 臨床研究編臨床応用のためのiPS/ES/体性幹細胞の培養について・松山晃文・第10回医薬品RSフォーラム・12月14日
  - 50) 再生医療の動向・松山晃文・東京都薬事監視員協議会・1月29日
  - 51) アカデミアによる開発戦略「再生医療法制定下の医療技術開発」・松山晃文・国立大学附属病院臨床研究推進会議 第2回総会シンポジウム・2月7日
  - 52) "Proposal of the preclinical safety study-package for the cell therapy products"・松山晃文・IABS-JST Joint symposium・3月7日
- H. 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

【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】

- 6) 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 (2012-2013年)
- 7) 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 (2012-2013年)
- 8) 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 (2012-2013年)
- 9) 経済産業省「再生医療等基準検討委員会」での提言 (2013-2014年)
- 10) 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

## II. 分担研究報告

1. ヒト幹細胞利用の留意点 -細胞製剤指針に則ったヒト幹細胞医療応用の留意点に関する検討-

梅 澤 明 弘

2. ヒト幹細胞由来製品及び関連要素の品質及び安全性確保：遺伝子操作の視点

小 澤 敬 也

3. 再生医療用同種 iPS 細胞ストックのドナー適格性判断とインフォームドコンセントについて

山 中 伸 弥

4. ヒト（自己）幹細胞加工医薬品等の品質及び安全性の確保に関する研究の経緯と視点及び指針－国際社会への情報発信について－

大 和 雅 之

5. 共通の基本的要素・要件としての GCTP (Good Cell・Tissue Practice) について

澤 芳 樹

6. ヒト（同種）幹細胞加工医薬品等の品質及び安全性の確保に関する研究の経緯と視点及び指針－国際社会への情報発信について－

佐 藤 陽 治

7. 「再生医療等製品の品質管理と規制への対応」にかかる研究

松 山 晃 文

8. ヒト多能性幹細胞の臨床応用に向けた研究・開発の動向と留意点

青 井 貴 之



厚生労働科学研究補助金（医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業）

分担研究報告書

ヒト幹細胞利用の留意点

-細胞製剤指針に則ったヒト幹細胞医療応用の留意点に関する検討-

研究分担者 国立成育医療センター再生医療センター長 梅澤明弘

平成 25 年度には、再生医療関連法案が国会を通過し、それらの法律を意識した研究が必要となった。形成外科領域においては、「母斑」の細胞治療に関する治験届けを提出し、「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）」に基づき臨床試験が開始された。また、整形外科領域の細胞治療に関する議論が開始され、多指症由来細胞の細胞プロセッシングセンター（CPC）での検体受入、培養から出荷に関しての手順について、「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）」に基づき見直しが行われた。このガイドラインに基づき多施設における臨床利用に関する議論がかわされる予定である。さらに、「ヒト ES 細胞加工医薬品等の品質及び安全性の確保に関する指針（平成 24 年 9 月 7 日薬食発 0907 第 6 号）」に則り、ES 細胞、フィーダー細胞および体性幹細胞のバンク化に伴う特性解析（CGH, 染色体解析等）、純度試験が終了した。また、それぞれの細胞製剤の最終製品における非臨床安全性試験についての検討を開始した。特に「医薬品の臨床試験のための非臨床安全性試験の実施時期についてのガイドライン（医薬審第 1019 号）」に示されている（1）安全性薬理試験（2）トキシコキネティクス及び薬物動態試験（3）単回投与毒性試験（4）反復投与毒性試験（5）遺伝毒性試験（6）がん原性試験（7）生殖発生毒性試験（8）小児での臨床試験のそれぞれについて、「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）」、「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）」、「ヒト ES 細胞加工医薬品等の品質及び安全性の確保に関する指針（平成 24 年 9 月 7 日薬食発 0907 第 6 号）」との整合性を検討し、費用対効果が最も高く、かつ安全性を担保できる試験設定を行っていく。

A. 研究目的

本研究では、「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）」、「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）」、「ヒト ES 細胞加工医薬品等の品質及び安全性の確保に関する指針（平成 24 年 9 月 7 日薬食発 0907 第 6 号）」のガイダンスに従い、成育疾患に対する細胞医療の安全性及び有効性に

関するデータを蓄積し、様々な細胞製剤との関連を明確にした。移植細胞としては、肝細胞、軟骨細胞、角膜上皮・強膜細胞、骨髄造血細胞、骨髄間質細胞、脂肪細胞、筋芽細胞、表皮細胞があり、それらの細胞を用いることによって、先天性代謝異常症、尿素サイクル異常症、メチルマロン酸血症、心奇形、移植片対宿主病、小児角膜混濁（強膜化角膜、無虹彩症、Peter's anomaly）、先天性巨大色素性母斑、肋骨再建等の成育疾患への治療戦略を構築する。

## B. 研究方法

「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）」、「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）」、「ヒトES細胞加工医薬品等の品質及び安全性の確保に関する指針（平成24年9月7日薬食発0907第6号）」の各ガイドラインとの適合に留意し、臨床研究に必要な課題を明確にし、治療プロトコル作成を行った。同時に、GMPに基づく標準作業手順書を作成し、センター内に設置されている細胞加工センター（CPC）において細胞医療の供給源となる細胞製剤を準備する。移植細胞としては、肝細胞、軟骨細胞、角膜上皮・強膜細胞、骨髄造血細胞、骨髄間質細胞、脂肪細胞、筋芽細胞、表皮細胞から、間葉系幹細胞の単離・培養を行って、それらの細胞を安定供給し、細胞医療に供するための準備を行う。個々の症例に関する適応判定は、実態調査を基に判定項目を設定、適応外となる条件を明確にし、画一化を図る。

### B.1 移植細胞の供給

生体試料の提供を受けたヒト由来組織から、成育バイオリソースの間葉系幹細胞の培養経験に基づいた単離・培養を行い、それらの細胞を安定供給し、細胞医療に供する。

### B.2 細胞医療の実施に関する基礎研究

治療プロトコルに従い、細胞医療を実施に向けた準備を行う。細胞製剤の安全性については、最先端の技術を用いて担保するための基盤技術を確立する。

### B.3 成育疾患に対する細胞医療の安全性及び有効性の総合評価

成育疾患に対する細胞医療の安全性および有効性に関して、様々な角度から検証し、医師法、薬事法双方の視点で満足しうる評価技術、書類の整備を行っていく。

## C. 研究結果

### (1) 原材料及び製造関連物質、製造工程、加工した細胞の特性解析

「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）」、「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）」、「ヒトES細胞加工医薬品等の品質及び安全性の確保に関する指針（平成24年9月7日薬食発0907第6号）」に基づき、臨床試験研究に提供できる原材料となるヒト細胞の培養を行った。細胞製剤を安定状態に保つための維持培養に必須の要素について検討を行った。フィーダー細胞については、マウスフィーダー細胞バンクを作製し、その純度試験を終了した。培養に用いた培地等試薬は「生物由来原料基準」に合致する物のみを使用し、臨床応用を見据えたフィーダーバンクの作製に成功した。

### (2) 細胞・組織加工医薬品の非臨床安全性試験

#### (ア) 腫瘍化の否定試験

免疫不全動物(NOD/SCID/IL-2R $\gamma$ 欠損マウス)を含めた動物モデルの皮下に培養細胞株を利用し、良性腫瘍を含む腫瘍形成およびがん化の可能性に関して検討した。現在までに腫瘍化した細胞株は確認しておらず、腫瘍化マーカーはすべて陰性であった。細胞株毎の腫瘍化否定試験は今後も継続して行なっていく。

#### (イ) 感染性の否定試験

培養を行なっている体性幹細胞、ES細胞に関して純度試験の一環として、B型肝炎(HBV)、C型肝炎(HCV)、ヒト免疫不全ウイルス(HIV)感染症、成人T細胞白血病(HTLV)、パルボウイルスB19感染症について検査し、否定試験をおこなった。また、本試験に加えて安全性の試験として、マイコプラズマ、エンドトキシン、細菌、真菌についても否定試験を実施している。現在までに陽性の細胞株はなく、作業工程の安全性バリデーション

ョンの一環として有用であることが示された。今後も培養している細胞株については、定期的に検査を行なっていく。臨床研究に用いる細胞株や原材料に関しては、GLP グレードの純度試験体制の構築を検討する。

### (3) 細胞・組織加工医薬品等の効力又は性能を裏付ける試験

細胞製剤の分化能検定システムの開発ならびに分化形質発現システムを通じた情報収集を行った。有効性の proof of concept を示すための試験系の構築に注力した。

### (4) 細胞加工医薬品等の体内動態

実験動物での吸収および分布等の体内動態に関する試験等により、患者等に適用された製品中の細胞・組織の生存期間、効果持続期間を推測した。特に移植細胞の目的臓器への生着（有効性）と目的臓器以外への生着（安全性）に関する検討は慎重に行う必要がある。そのため、実験動物の臓器ごとに Alu 解析を行った。現在までに有害事象が確認された例はない。

### (5) 小児難治性疾患に対する再生移植両方応用

疾患モデル動物を用いて効果裏付け試験を行った。また同様に完全ヒト型培養システムを確立するため培養環境の差異、細胞増殖へのアプローチ、遺伝子導入細胞寿命延長モデルから環境因子、添加因子、またヒトを細胞フィーダーとした培養モデルの作製を行った。これらのモデルを基に実際の臨床応用を想定した安全性の確認を行った。治療モデルはマウス、中動物（ブタ）を用いた。

## D. 考察

再生医療における5指針のうち、我々は、「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）」、「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）」、「ヒトES細胞加工医薬品等の品質及び安全性の確保に関する指針（平成24年9月7日薬食発0907第6号）」について、検討を行った。細胞の供給源として、胚性幹細胞（ES細胞）、体性幹細胞を対象とした。本研究班ではES細胞及び体性幹細胞、それぞれの指針に準拠した体制を構築した。ES細胞はその増殖能、多分化能より、将来的に期待されており、最適のドナー細胞の選択肢となりつつある。ヒトES細胞をはじめとする未分化性の非常に高いヒト細胞は、再生医療での重要な細胞ソースとなるばかりでなくその培養システムや発生分化研究等のヒト発生メカニズム探求や創薬開発研究の基盤となる。より安全性の高い再生医療基盤を社会へ提示することが可能となる。

## E. 結論

細胞・組織加工医薬品等による再生医療は、ヒトの臓器や組織の確保が難しいわが国の医療状況下において強く期待されており、研究の進歩に伴う技術的な実現可能性の高まりとともに、医療としての実用化を望む声がますます強くなっている。その中で、わが国をあげて再生医療の実用化に向けた動きが急速に進められており、特にヒト由来の体性幹細胞、ES細胞について近い将来に予想される製品の評価を円滑に進めるための準備を早期に行う必要がある。「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）」、「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）」、「ヒトES細胞加工医薬品等の品質及び安全性の確保に関する指針（平成24年9月7日薬食発0907第6号）」の各指針に基づきヒト細胞製剤の実用化のために必要な要件を開発初期から示すことは、これらをより迅速に実用化するために必須である。ヒト幹細胞の細胞・組織医薬品等への利用に関連した学問・技術の進歩、倫理上の重要ポイント、各種規制、国際動向等

を調査・研究し、適切な安全性評価基準の作成や規制のあり方をふまえて、原料細胞それぞれに特化した形でまとめる必要がある。ES細胞を用いて研究を行う事ができる施設は限られている。そうし

た社会的状況からも本研究成果は極めて独創的であり、我々の打ち立てる有効性、安全性評価の基準が世界標準となる可能性が高く、再生医療を大きく推進するための原動力となる。

厚生労働科学研究補助金（医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業）  
分担研究報告書

ヒト幹細胞由来製品及び関連要素の品質及び安全性確保：遺伝子操作の視点

研究分担者 自治医科大学分子病態治療研究センター遺伝子治療研究部 教授  
小澤敬也

研究要旨 薬事法の改正に伴い、遺伝子治療製品（遺伝子治療薬）は再生医療製品（細胞・組織加工医薬品等）と共に、医薬品からも医療機器からも独立した第3の категория「再生医療等製品」として分類されることになった。この「再生医療等製品」については、従来の化学合成医薬品やバイオ医薬品とは、原材料及び最終製品の特性、利用法、対象疾患、対象患者数などの性質が大きく異なっており、品質・有効性・安全性の確保の上で、従来の規制をそのまま適用することが困難な場合が多い。そこで、現行の「生物由来原料基準」を見直し、新たに再生医療等製品向けに特化した「再生医療等製品原料基準」の策定が議論される中で、日本遺伝子治療学会の理事並びに会員を対象としたアンケート調査を行った。その結果、様々な要望があることが分かった。特に、遺伝子治療の臨床試験の場合は、対象患者数が限定されることから、従来の医薬品と同様の対応をすることは現実的には困難であり、合理的な考え方に基づいた現実的対応の必要性が示された。

#### A. 研究目的

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

本研究プロジェクトは、ヒト幹細胞臨床研究の推進から薬事上の品質・安全性評価や治験申請、製造販売承認への切れ目のない展開を効率的、効果的、合理的に行い、再生医療実用化を加速する方策を策定することを目的とする。

そのためには、現行の各種規制環境の中で個別に設定されている科学的方策や基準を共通のプラットフォームで取り扱えるようにすることがきわめて重要である。具体的には、ヒ

ト幹細胞臨床研究であれ、産業開発であれ、例えば製造施設、製造工程、製品評価、製品管理面、倫理面、臨床適用面での留意事項、関連する評価基準、評価技術等について産・学・官が共通に参照でき、活用できる評価基準ミニマム・コンセンサス・パッケージ(MCP)を策定することである。また、再生医療では、多種多様で固有の特性を有するヒト幹細胞加工製品及び多様な疾患や患者が対象となるので、実用化加速方策には、MCPに加え、個別製品や治療毎に最も適切な評価方策を共通化、標準化し、上乘せすべきものとして提示する必要がある。

このような状況の中で、平成25年に「再生医療推進法」が成立し、さらに「再生医療等製品」の審査手続きを簡素化し、早期の実用化を可能にする「薬事法改正案」が閣議決定され、「再生医療安全性確保法案」と共に、平成26年に成立することが見込まれている。こ

の「再生医療等製品」については、従来の化学合成医薬品やバイオ医薬品とは、原材料及び最終製品の特性、利用法、対象疾患、対象患者数などの性質が大きく異なっており、品質・有効性・安全性の確保の上で、従来の規制をそのまま適用することが困難な場合が多く、製品の性質に応じた規制が開発現場から望まれている。そこで、現行の「生物由来原料基準」を見直し、新たに再生医療等製品向けに特化した「再生医療等製品原料基準」の策定に向けて、『再生医療等製品原料基準』のあり方に関する検討ワーキンググループ〔代表：佐藤陽治博士（国立医薬品食品衛生研究所遺伝子細胞医薬部）〕による検討が行われた。この「再生医療等製品」の中には、遺伝子治療製品も含まれることになったため、遺伝子治療の観点から考慮すべき点に関して、日本遺伝子治療学会の理事並びに会員を対象としたアンケート調査を行った。

## B. 研究方法

再生医療製品（細胞・組織加工医薬品等）や遺伝子治療製品（遺伝子治療薬）の場合、他の生物薬品において実施されるような高度な精製やウイルス等感染因子の不活化・除去の過程を製造工程中に組み込むことは困難である。したがって、再生医療等製品の品質・安全性確保の観点から最終製品への感染因子の混入を防止するためには、製造工程の入り口の段階にある原料・材料及び原材料の選択と適格性評価が重要である。

そこで、遺伝子治療製品の場合を想定して、日本遺伝子治療学会（JSGT）の理事及び会員を対象としてアンケート調査を行った。尚、本調査では、再生医療や遺伝子治療などの目的に関わらず、細胞培養などを行う際に用いている試薬について、臨床応用する時の一般的な考え方という意味合いでの回答を依頼した。

（倫理面への配慮）

本研究は、上述のような内容のアンケート調査であり、倫理的な問題が生ずることはない。

## C. 研究結果

JSGT の理事及び会員を対象とした上記アンケートにおいて、主だったものとして、以下のようなコメントが寄せられた。

・「再生医療等製品用人血漿分画製剤総則」において、再生医療等製品の製造工程で用いる人血漿分画製剤が製造販売承認を取得した医薬品である場合には、当該人血漿分画製剤が血漿分画製剤総則（生物由来原料基準 第2「血液製剤総則」の2）に適合していることが自明であることから、本総則を適用しなくてもよいのではないか。また、さらに言えば、製造販売承認を取得した医薬品又は再生医療等製品を再生医療等製品の製造工程で用いる場合には、再生医療等製品用生物由来原料基準を適用しなくてもよいのではないか。

・「再生医療等製品用人由来原料基準」の規定(5)（以下参照）に相当する規定を、「再生医療等製品用動物由来原料基準」にも追加すべきではないか。

<参照>

(5) 再生医療等製品については、治療上の効果が当該原材料を用いることによるリスクを上回る場合その他必要な場合において、(1)から(4)のいずれかに適合しない原材料をやむを得ず使用する場合は、その妥当性について、薬事法に基づく製品の製造販売の承認の際に交付される承認書に記載することとする。

・「国際的な考え方とのハーモナイゼーションを取る」といった一文の追記は考えられないか？ 即ち、Early-phase clinical trialsにおいて使用される再生医療用治験薬の製造時の原料は、承認薬（製品）と同じレベルの品質を求めなくてもよい（Late-phase clinical trialsでは、承認薬と同じ品質の原料を必要とすることは受け入れるが）。

・生物由来原料基準は承認申請時に要求される条件ではあるものの、開発途中で同基準への不適合が判明して原材料を変更するような事態を避けるためには、開発初期から同基準への適合性を確認した上で製造方法を確立す

る必要がある。すなわち、再生医療等製品に同様の基準を適用することは、治験の開始前までに原材料供給元(多くの場合は海外企業)からの情報収集、契約交渉などに長い期間を要することとなり、再生医療等製品を早期に実用化するという薬事法改正のコンセプトに反する規制となってしまうことが想定される。

- ・生物由来原料基準は日本特有の規制であり、欧米の原材料に関する規制に比べてはるかに高いハードルとなっており、再生医療等製品に同様の基準を適用することは国際的な開発競争において不利な条件となることが容易に想定される。

- ・生物由来原料基準は、本来それ自身が直接体内に投与される場合に適用される。再生医療製品にもそういう製品はある(特に、同種=1人のドナー由来の細胞が多くの人に投与される)が、加工工程でのみ使用される原料については別途基準を考えるべきではないか。そして、加工工程で使用される生物由来原料については、その使用量、除去率(除去方法)、そして、当然、対象患者の重篤度、国内外での使用状況を考慮して、基準の適用範囲を判断できるようにしてほしい。

- ・再生医療において、Early-phase clinical trials のデザインに関する考え方を示してほしい。

参考：Guidance for Industry (draft guidance), Considerations for the Design for early-phase clinical trials of cellular and gene therapy products. July 2013.

- ・感染症に関するドナースクリーニングの検査項目および検査方法が「それらの利用の目的に応じ」「最新の知見に照らして適切なもの」とあるのに合わせて、「ヒト(同種)由来細胞や組織を加工した医薬品又は医療機器の品質及び安全性の確保について」(薬食発第0912006号、平成20年9月12日付医薬食品局長通知；以下、同種指針)の検査項目の記載を見直して欲しい。同種指針によればHBV、HCV、HIV、HTLV及びパルボウイルスB19の検査が必須とされているが、造血幹細胞移植や

ドナーリンパ球輸注においてはパルボウイルスB19の検査を行わないことが常識である

- ・基準に適合の可否に関する情報入手は、治験依頼者だけでなく、規制当局の協力(申請資料、マスターファイルの情報の確認等)を得られる状況の中で、進めて欲しい。

- ・原案記載「反芻動物に由来する原材料(乳を除く)を再生医療等製品に用いる場合には当該反芻動物の原産国は次に掲げる国でなければならない。」に対して、修正希望案として、「反芻動物に由来する原材料(乳及び血清を除く)を再生医療等製品に用いる場合には当該反芻動物の原産国は次に掲げる国でなければならない。」として欲しい。その理由は、EMEAガイドラインにおける臓器別リスク分類では、「リスクなし」のレベルに乳と血清が含まれているためである。

#### D. 考察

平成25年11月の国会で、「薬事法」が「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」として改正されたことに伴い、遺伝子治療製品(遺伝子治療薬)は再生医療製品(細胞・組織加工医薬品等)と共に、医薬品からも医療機器からも独立した第3のカテゴリー「再生医療等製品」として分類されることになった。この「再生医療等製品」については、新しい法律の下での治験により有効性の推定と安全性の確認が行われれば、条件及び期限付きで製造販売承認を得ることができるようになるなど、その実用化が円滑に進むようになることを目指したものである。この回のJSGT理事及び会員を対象としたアンケート調査で、現場サイドでは様々な要望があることが分かった。特に、遺伝子治療の臨床試験の場合は、対象患者数が限定されることから、従来化学合成医薬品やバイオ医薬品と同様の対応をすることは現実的には困難であり、合理的な考え方に基いた対応が必要である。アンケート調査結果の内容については、継続的な検討課題としていくことが望まれる。

## E. 結論

「再生医療等製品」の中に遺伝子治療製品（遺伝子治療薬）が含まれることになったため、遺伝子治療の観点から考慮すべき点に関して、JSGTの理事並びに会員を対象としたアンケート調査を行った。様々なコメントが寄せられ、今後、引き続き対応策について検討が必要であると考えられた。

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) Mimuro, J., Mizukami, H., Shima, M., Matsushita, T., Taki, M., Muto, S., Higasa, S., Sakai, M., Ohmori, T., Madoiwa, S., Ozawa, K., and Sakata, Y.: The prevalence of neutralizing antibodies against adeno-associated virus capsids is reduced in young Japanese individuals. *J. Med. Virol.* (in press)
- 2) Kashiwakura, Y., Ohmori, T., Mimuro, J., Madoiwa, S., Inoue, M., Hasegawa, M., Ozawa, K., and Sakata, Y.: Production of functional coagulation factor VIII from iPSCs using a lentiviral vector. *Haemophilia* 20: e40-44, 2014.
- 3) Uehara, T., Kanazawa, T., Mizukami, H., Uchibori, R., Tsukahara, T., Urabe, M., Kume, A., Misawa, K., Carey, T. E., Suzuki, M., Ichimura, K., and Ozawa, K.: Novel anti-tumor mechanism of galanin receptor type 2 in head and neck squamous cell carcinoma cells. *Cancer Sci* 105: 72-80, 2014.
- 4) Hata, K., Mizukami, H., Sadakane, O., Watakabe, A., Ohtsuka, M., Takaji, M., Kinoshita, M., Isa, T., Ozawa, K., Yamamori, T.: DNA methylation and methyl-binding proteins control differential gene expression in distinct cortical areas of macaque monkey. *J. Neurosci.* 33(50): 19704-19714, 2013.
- 5) Mimuro, J., Mizukami, H., Hishikawa, S., Ikemoto, T., Ishiwata, A., Sakata, A., Ohmori, T., Madoiwa, S., Ono, F., Ozawa, K., and Sakata, Y.: Minimizing the inhibitory effect of neutralizing antibody for efficient gene expression in the liver with adeno-associated virus 8 vectors. *Mol Ther* 21: 318-323, 2013.
- 6) Miyata, S., Urabe, M., Gomi, A., Nagai, M., Yamaguchi, T., Tsukahara, T., Mizukami, H., Kume, A., Ozawa, K., and Watanabe, E.: An R132H mutation in isocitrate dehydrogenase 1 enhances p21 expression and inhibits phosphorylation of retinoblastoma protein in glioma cells. *Neurol Med Chir (Tokyo)* 53: 645-654, 2013.
- 7) Shimada, M., Abe, S., Takahashi, T., Shiozaki, K., Okuda, M., Mizukami, H., Klinman, D. M., Ozawa, K., and Okuda, K.: Prophylaxis and treatment of Alzheimer's disease by delivery of an adeno-associated virus encoding a monoclonal antibody targeting the amyloid Beta protein. *PLoS One* 8: e57606, 2013.
- 8) Takahashi, K., Mizukami, H., Saga, Y., Takei, Y., Urabe, M., Kume, A., Machida, S., Fujiwara, H., Suzuki, M., and Ozawa, K.: Suppression of lymph node and lung metastases of endometrial cancer by muscle-mediated expression of soluble vascular endothelial growth factor receptor-3. *Cancer Sci* 104: 1107-1111, 2013.
- 9) Tsukahara, T., Ohmine, K., Yamamoto, C., Uchibori, R., Ido, H., Teruya, T., Urabe, M., Mizukami, H., Kume, A., Nakamura, M., Mineno, J., Takesako, K., Riviere, I., Sadelain, M., Brentjens, R., and Ozawa, K.: CD19 target-engineered T-cells accumulate at tumor lesions in human B-cell lymphoma xenograft mouse models. *Biochem Biophys Res Commun* 438: 84-89, 2013.
- 10) Yan, Y., Miyamoto, Y., Nitta, A., Muramatsu, S., Ozawa, K., Yamada, K., and Nabeshima, T.: Intrastriatal gene delivery of GDNF persistently attenuates methamphetamine self-administration and relapse in mice. *Int. J.*



Neuropsychopharmacol. 16(7): 1559-1567, 2013.

- 11) Muroi, K., Miyamura, K., Ohashi, K., Murata, M., Eto, T., Kobayashi, N., Taniguchi, S., Imamura, M., Ando, K., Kato, S., Mori, T., Teshima, T., Mori, M., and Ozawa, K.: Unrelated allogeneic bone marrow-derived mesenchymal stem cells for steroid-refractory acute graft-versus-host disease: a phase I/II study. *Int. J. Hematol.* 98(2): 206-213, 2013.
- 12) Yasumoto, A., Madoiwa, S., Kashiwakura, Y., Ishiwata, A., Ohmori, T., Mizukami, H., Ozawa, K., Sakata, Y., and Mimuro, J.: Overexpression of factor VII ameliorates bleeding diathesis of factor VIII-deficient mice with inhibitors. *Thromb. Res.* 131(5): 444-449, 2013.
- 13) Uchibori, R., Tsukahara, T., Mizuguchi, H., Saga, Y., Urabe, M., Mizukami, H., Kume, A., and Ozawa, K.: NF-kappa B activity regulates mesenchymal stem cell accumulation at tumor sites. *Cancer Res* 73: 364-372, 2013.

## 2. 学会発表

- 1) Urabe, M., Miyata, S., Tominaga, T., Tshukahara, T., Mizukami, H., Kume, A., Ozawa, K.: Generation of transgenic mice with human AAVS1 sequence. The 19<sup>th</sup> Annual Meeting of the Japan Society of Gene Therapy, Jul. 4-6, 2013, Okayama . (Abstracts p147)
- 2) Urabe, M., Miyata, S., Tominaga, T., Tshukahara, T., Mizukami, H., Kume, A.,

Ozawa, K.: Gene targeting in iPS cells derived from AAVS1-transgenic mice. 第75回日本血液学会学術集会 2013年10月11-13日, 札幌. (臨床血液 第54巻 9号 p432)

- 3) Urabe, M., Miyata, S., Tominaga, T., Tshukahara, T., Mizukami, H., Kume, A., Ozawa, K.: Generation of transgenic mice bearing human AAVS1 site, a safe harbor for gene insertion. 第36回日本分子生物学会年会2013年12月3-6日, 神戸.
- 4) Mizukami, H., Mimuro, J., Hishikawa, S., Ikemoto, T., Uchibori, R., Tsukahara, T., Urabe, M., Kume, A., Sakata, A., Ohmori, T., Madoiwa, S., Sakata, Y., Ozawa, K.: Precise evaluation of NAb status against adeno-associated viral vectors and an approach toward managing its inhibitory effect. The 16th Annual meeting, American Society for Gene and Cell Therapy, Salt Lake City, UA, May 15-18, 2013.
- 5) Mizukami, H., Mimuro, J., Hishikawa, S., Ikemoto, T., Uchibori, R., Tsukahara, T., Urabe, M., Kume, A., Sakata, A., Ohmori, T., Madoiwa, S., Sakata, Y., Ozawa, K.: Accurate measurement of NAb status against AAV vector capsids and an approach toward managing its inhibitory effect. The 21st Annual meeting, European Society of Gene and Cell Therapy, Madrid, Spain, October 25-28, 2013.

H. 知的所有権の出願・取得状況  
(予定を含む)  
特になし

厚生労働科学研究補助金（医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業）

分担研究報告書

再生医療用同種 iPS 細胞ストックのドナー適格性判断とインフォームドコンセントについて

研究分担者 京都大学 iPS 細胞研究所長 教授 山中 伸弥

はじめに

我々は、ヒト人工多能性幹細胞 (induced pluripotent stem cells: iPS 細胞) を用いた細胞・組織移植治療を実現化すべく、研究を進めている。ヒト iPS 細胞は、ヒト体細胞にウイルスベクター (1) やプラスミドベクター (2, 3) などを用いて遺伝子を導入するなどの方法を用いて誘導される多能性幹細胞である。iPS 細胞は、形態、自己複製能、多分化能および遺伝子発現プロファイルなどから胚性幹細胞 (Embryonic stem cells: ES 細胞) に極めて類似しているが、樹立が非常に困難な ES 細胞と異なり、手順に従えば、基本的にあらゆるドナーの体細胞から作製できるという大きなメリットを有する。このため、(1) iPS 細胞由来分化細胞を用いた薬物の毒性/有効性評価試験系の開発、(2) 疾患特異的 iPS 細胞の病態解明や創薬への応用、(3) 細胞移植治療用ソースとしての利用、などの幅広い医療分野への貢献が期待されている。特に、細胞移植治療用ソースとしての利用は、ES 細胞の持つ倫理的問題 (ヒトの胚を滅失して作製する) と免疫学的問題 (樹立された ES 細胞株が数株のみであり HLA 型の適合性が担保出来ない) を回避できることから、極めて大きな期待がもたれている。

iPS 細胞を用いた細胞移植医療を移植免疫の観点からみると、自分の iPS 細胞由来の目的細胞を自分に移植するといっ

た、自家移植が最も望ましい。しかし、自家移植にもいくつかの問題がある。例えば、1) iPS 細胞の樹立及び品質評価と目的細胞への分化に1年近くかかるので、疾病・創傷の発生後に速やかに細胞移植を行わないと効果が期待できない場合、発生後に iPS 細胞を作製開始しても間に合わない、2) 患者が遺伝疾患を持っている場合、作製した iPS 細胞も同じ遺伝子変異を持つので、細胞レベルでの遺伝子治療が必要になる、3) すべての人に自家移植用の iPS 細胞を作製するのは、コスト面から不可能である、といった理由である。このため、HLA 適合ドナーからの同種 (他家) 移植を選択肢に入れる必要がある。

iPS 細胞由来分化細胞が同種 (他家) 移植後に十分に生着し機能を発揮するためには、患者/ドナー間 HLA 完全一致が理想的である。その場合、骨髄バンクやさい帯血バンクのように HLA ドナーからの細胞供与をうけたストックの整備が必要となるが、骨髄やさい帯血とは異なり iPS 細胞の製造および品質管理には多くの時間とコストがかかるため、実現性に乏しい。そこで京都大学 iPS 細胞研究所では、HLA-A, -B, -DR の3座においてホモ接合体のドナー (国民の約2%) から樹立した複数の iPS 細胞株を樹立し、将来の細胞移植医療に利用可能な医療用 iPS 細胞ストックを確立することを計画している。日本人で高頻度に見られる HLA ハプロタイプをホモ接合体として持

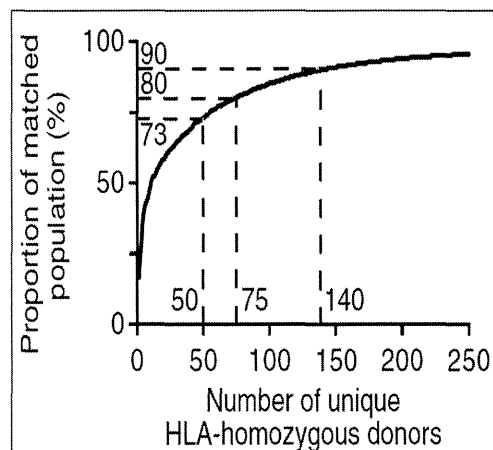
つドナー（HLA ホモ接合体ドナー：表 1）から iPS 細胞を樹立すると、この iPS 細胞由来の細胞は同じハプロタイプを持つヘテロ接合体レシピエントにも拒絶のリスクが少なく移植できる。HLA（3 座）ホモ・ドナー由来の iPS 細胞を 50 株樹立し、ストックとして供給できれば、国民の 7 割へ 3 座一致により拒絶反応のリスクを低減した移植が可能と試算される（図 1）（3）。

iPS 細胞を用いた同種移植に必要な iPS 細胞ストックを確立するに当たって、ドナーのリクルートに必要なインフォームドコンセントの内容と、ドナー選択基準を設定した。本報告書では、これらの要点について報告する。

表 1. 日本人HLAハプロタイプ頻度 (出典: HLA研究所  
<http://www.hla.or.jp/haplo/haplodl.php?lang=ja>)

順位	A	B	DRB1	ABR	ハプロタイプ頻度
1	*24:02	*52:01	*15:02	*24:02.*52:01.*15:02	8.275%
2	*33:03	*44:03	*13:02	*33:03.*44:03.*13:02	4.248%
3	*24:02	*07:02	*01:01	*24:02.*07:02.*01:01	3.769%
4	*24:02	*54:01	*04:05	*24:02.*54:01.*04:05	2.695%
5	*02:07	*46:01	*08:03	*02:07.*46:01.*08:03	1.940%
6	*11:01	*15:01	*04:06	*11:01.*15:01.*04:06	1.391%
7	*24:02	*59:01	*04:05	*24:02.*59:01.*04:05	1.097%
8	*11:01	*54:01	*04:05	*11:01.*54:01.*04:05	0.995%
9	*24:02	*40:06	*09:01	*24:02.*40:06.*09:01	0.857%
10	*26:01	*40:02	*09:01	*26:01.*40:02.*09:01	0.797%

図 1. HLAホモ接合体 (HLA-A,B,DRB1) ドナー数と日本人における人口カバー率の関連 (文献3より引用)。

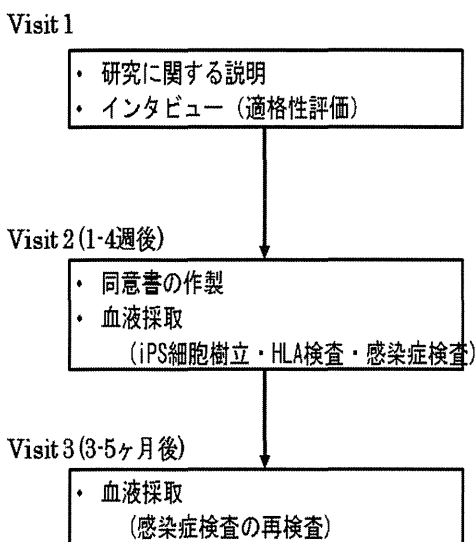


#### 指針・法令との整合性について

日本ではヒトへの細胞移植治療の trial には、「治験」と「臨床研究」という 2 種類の経路が存在するので、両者に適合するようにドナー適格性基準を作製している。重要なことは、iPS 細胞ストックそのものは最終産物でないで、直接ヒトに投与されるわけではなく、従ってストックそれ自体ではどちらの申請も行うことができないということである。そのため、本プロジェクトでは、最終分化細胞を用いる研究者・医師がどちらの手段も執れるように、両者をカバーするように、研究計画を立案し、関係省庁と相談の上、ドナー選択基準を定めている。則っている指針は「ヒト幹細胞を用いた臨床研究に関する指針（平成 22 年 11 月 1 日全部改正版）」、「生物原料由来基準」「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関する指針」である。ドナーの問診内容については、生物由来原料基準に基づいて実際ヒトに使用されている、日本赤十字社の献血ドナーに対する問診票を元に作製している。幾つかの日本の指針では、ウインドウピリオドによる偽陰性を避けるため、試料採取数ヶ月後に再度感染症検査を行うよう求めているため、本プロ

ジェクトでもこれに従って、感染症の再検査を行う(図2)。

図2. ドナー受診の流れ



### 医療用 HLA ホモ iPS 細胞ストックのドナー適格性判定

医療用 HLA ホモ iPS 細胞ストック作製プロジェクト(以下、本プロジェクト)では、最終的に、向こう 10 年間で 100 種類程度の HLA ホモ接合体ドナーから iPS 細胞を樹立することを考えており、これで日本人人口の約 90% をカバーする。これを単純な公募で行った場合、上位 10 種まで行うのに 10 万人以上のスクリーニングが必要と推定され、物理的/金銭的なコストの面から非現実的である。そのため、何らかの目的で既に HLA 型を検査し、ハプロタイプが判明している方の情報を得、これらのドナー候補者のうち HLA ホモ接合体である方を対象として、研究への自由意思での参加をお願いする。現在までに、京都大学医学部医の倫理委員会で、このような HLA 検査済みのドナー候補者からの iPS 細胞ストック樹立に関する研究計画が承認されている。また、iPS 細胞の樹立及び品質評価の詳細については現在検討中である。

細については現在検討中である。

ドナー(候補者)の受診の流れを図2に示す。ドナー適格性判定は以下の基準に従って行う。

#### 選択基準

以下の基準をすべて満たす方を対象者とする。性別・人種は限定しない。

- 同意取得時の年齢が 20 歳以上。
- 本研究の参加にあたり十分な説明を受けた後、十分な理解の上、対象者本人の自由意思による文書同意が得られる人(代諾者を必要とするような方は対象としない)。
- HLA 検査において、A, B, DR の少なくとも三座についてホモ接合体であること。

#### 除外基準

以下のいずれかに該当する方は対象者から除外する。ただし、これらの項目については、各種法制・指針の改定等があった場合など、必要に応じて検査項目を追加・変更する場合があります。

■下記の感染症については、問診及び血液検査を行い、陽性例については、除外する。血清学的検査については、ウィンドウピリオドによる偽陰性を避けるため、試料採取数ヶ月後に感染症の再検査を行う(図2)。

- B 型肝炎(HBV) (HBs 抗原陽性例、HBV-DNA PCR 陽性例)
- C 型肝炎(HCV) (HCV 抗体陽性例、HCV-RNA PCR 陽性例)
- ヒト免疫不全ウイルス(HIV)感染症 (HIV-1 抗体及び HIV-2 抗体陽性例、HIV-1-RNA PCR 陽性例)
- 成人 T 細胞白血病ウイルス感染症(HTLV) (HTLV1 抗体陽性例、HTLV-1 プロウイルス DNA PCR 陽性例)
- パルボウイルス B19 感染症 (パルボウイルス B19-IgM 陽性例、パルボウイルス B19DNA PCR 陽性例)