

6) Hideyuki Okano: Modelling  
pediatric and late-onset neurological  
disorders using reprogramming  
technologies : COLD SPRING  
HARBOR ASIA CONFERENCES,  
CSHA/ISSCR Joint Meeting on Stem  
Cells in Science and Medicine ,  
2013.10.17\*2013.10.14-17 (Suzhou  
Dushu Lake Conference Center,  
Shuzhou, People's Republic of China)

3.その他  
なし

7) Hideyuki Okano: Neuroscience  
using iPS cell technologies and  
Transgenic Non-human Primates:  
Pathology Research Lecture Series,  
Health Science, UC San Diego,  
2013.11.13\* 2013.11.13 (University of  
California San Diego, San Diego, CA,  
USA)

8) Hideyuki Okano: Regeneration  
and Modeling of Central Nervous  
System Disorders using iPS cell  
Technologies: 2013 World Alliance  
Forum in San Francisco,  
2013.11.15\*2013.11.15 (Golden Gate  
Club at the Presidio, San Francisco,  
CA, USA)

G. 知的財産権の出願・登録状況  
(予定を含む。)

1. 特許取得  
なし

2. 実用新案登録  
なし

厚生労働科学研究費補助金（難病・がん等の疾患分野の臨床実用化研究事業）  
分担研究報告書

研究分担者

梅澤明弘

独) 国立成育医療研究センター再生医療センター センター長

研究要旨

社会の期待が大きい再生医療では、安全性・有効性を高めるための研究開発を進めていく必要がある。そのため臨床応用への実用化に向けた共通課題に対する各研究機関の連携が重要となる。こうした再生医療研究における基礎～臨床応用研究をカバーするビックデータの集積は、継続的新知見及び新技術創出、具体的研究データに基づく臨床利用のためのヒト幹細胞の品質（製造工程等を含む。）基準等を得て、より安全で有効で倫理面を考慮したヒト幹細胞を用いた再生医療の実用化につながっていく。本研究では、ヒトES加工医薬品を対象としたマニピレーション（幹細胞機能維持・分化制御）に関して、製造工程などを含む品質管理のデータベース構築をすすめ、品質管理基準の選定を行っている。本年度は、ヒトES細胞におけるin vivo分化能評価で得られるテラトーマ組織像の集積と検証を進めた。またヒトES加工医薬品の原材料として用いるES細胞樹立時および維持・培養時等に取得したデータを記録し、さらにそれらを検証した上で手順書へ反映させた。

A. 研究目的

ヒト幹細胞を用いた再生医療の臨床応用にあたって開発される技術の早期実用化をはかり、国民に還元すると共に、安全性・有効性をより高めていく研究の継続性が必要である。そのための革新的な研究開発を持続的に行うことができる体制の構築にあたり、本研究ではES細胞のマニピレーションに関する情報提供を行う。

ヒトES加工医薬品製造にあたりES細胞の維持・培養時等の記録データの電子化を進めで、それに基づく手順書の見直し、従事者への教育訓練の実施をおこなう。

2) 多能性評価としてのテラトーマ組織画像のデータベース化

ES細胞品質評価の一つとしてin vivoでの多分化能検定で得られたテラトーマの切片画像の集積を進めていく。

B. 研究方法

1) 細胞製造工程の電子化

ヒトES加工医薬品を対象としたマニピレーション（幹細胞機能維持・分化制御）に関して、製造工程などを含む品質管理についてデータベース構築をおこなう。特に

（倫理面への配慮）

国立成育医療研究センターでは「ヒトES細胞の樹立及び使用に関する指針」に基づきヒトES細胞に関する医学研究が適性に行われるよう、ヒトES細胞研究倫理審査委員会が組織されている。ヒトES細胞

研究に関する各種規程（「ヒト ES 細胞研究倫理審査委員会規程」、「ヒト ES 細胞樹立に関する規程」、「ヒト ES 細胞分配に関する規程」、「ヒト ES 細胞使用に関する規程」）も整備され、機関全体として生命倫理及び医の倫理に基づき適切に行う。申請者らは、当該センターが定期的（年 2 回以上）に開催している生命倫理に関する講演を受講し、適切な生命倫理観をみにつけ常に配慮し研究を実施する。国立成育医療研究センター研究所（機関内番号 ES 倫 2） 文部科学大臣確認番号:18 諸文科振第 832 号

### C. 研究結果

#### 1) 細胞製造工程の電子化

ヒト ES 細胞製造の作業工程で得られる一次情報（作業記録、細胞情報、解析生データ等）の電子化を進めた。さらに作業実施者に対する教育訓練を行い、作業行程、データ取得とその管理体制の統一的な基準を設定し、電子化の有用性を活かした共有化をはかった。

#### 2) 多能性評価としてのテラトーマ組織画像のデータベース化

ヒト ES 細胞評価においては、細胞特性評価の一つである in vivo 多能性試験（テラトーマ形成能）で得られる組織画像のデータベース化を進めた。具体的には移植日、組織採取日、腫瘍の大きさ（画像を含む）等の情報に加え、組織切片の HE 染色像の取り込みを行った。その一部においては、組織像から得られる三胚葉分化の割合の定量化を進めた。

### D. 考察

作業工程記録の電子化、教育訓練の徹底を進めた結果、細胞培養に集中できるなどで効率的な運用が可能となり、作業者の意識の共有化も図られた。細胞評価においては、ヒト ES 細胞の in vivo 多分化能性検定での組織画像のデータベース化は、iPS 細胞や造腫瘍性試験における検証につながる基盤となると考えられ、今後さらにデータ活用に向けた改善を進めていくことが求められる。

### E. 結論

ヒト ES 細胞製造過程における安全性担保に重要となる作業工程の効率的運用を可能となる体制が整ってきた。

テラトーマ画像のデータベース化に向けた基盤が構築できた。

### F. 研究発表

#### 1. 論文発表

Fukami M, Tsuchiya T, Vollbach H, Brown KA, Abe S, Ohtsu S, Wabitsch M, Burger H, Simpson ER, **Umezawa A**, Shihara D, Nakabayashi K, Bulun SE, Shozu M, Ogata T. Genomic basis of aromatase excess syndrome: recombination- and replication-mediated rearrangements leading to CYP19A1 overexpression. *J Clin Endocrinol Metab.* 98(12):E2013-2021, 2013.

Higuchi A, Ling QD, Chang Y, Hsu ST, **Umezawa A**. Physical cues of biomaterials guide stem cell differentiation fate. *Chem Rev.* 113(5):3297-3328, 2013.

2. 学会発表

該当なし

G. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし

厚生労働科学研究費補助金（難病・がん等の疾患分野の臨床実用化研究事業）

分担研究報告書

研究分担者

西田幸二

大阪大学大学院医学系研究科脳神経感覚器外科（眼科学）教授

#### 研究要旨

医療用 iPS 細胞ストックの輸送技術開発を行った。専用輸送容器に求められる仕様について詳細を京都大学 iPS 細胞研究所と共に決定し、専用輸送容器を作製した。複数施設における再生医療技術についての情報共有に対する基盤として、各拠点を結ぶネットワークシステムを導入した。このシステムを用いて角膜上皮、内皮に特異的なマーカー検索のために RNA-seq、Chip-seq による解析を東大・中井と共同で行った。

#### A. 研究目的

本研究の目的は情報通信技術等を活用することによって、自律（自立）分散した研究機関の連携を図り、研究結果及び成果の効率的活用を可能とする研究開発機関間の Open Innovation 環境を構築することである。これにより、継続的新知見及び新技術創出、具体的研究データに基づく臨床利用のためのヒト幹細胞の品質（製造工程等を含む。）基準等を得て、より安全で有効で倫理面を考慮したヒト幹細胞を用いた再生医療の実用化が可能となる。

再生医療の普及に当たっては組織・細胞採取あるいは保存場所から細胞培養施設への、組織や凍結バンク細胞の搬送、また細胞培養施設から移植施設への再生医療製品の搬送が極めて重要なステップとなる。しかしながら、現在までのところ搬送に関する手順、基準などが確立されていないため、本研究では搬送に関する手順や基準の確立を行い、これに関する情報共有ネットワークの構築を

行って、情報を広く活用できる基盤を構築する。

#### B. 研究方法

##### 1) 医療用凍結 iPS 細胞ストックのための輸送技術開発

医療用凍結 iPS 細胞ストックを用いる臨床試験では、ストックしている施設から CPC を持つ治療実施施設へ凍結 iPS 細胞ストックを輸送する必要がある。我々が現在までに培養口腔粘膜上皮細胞シートについて開発した輸送技術を応用して、凍結 iPS 細胞ストック用の輸送技術を京都大学 iPS 細胞研究所と共同で開発を行った。

医療用凍結 iPS 細胞ストックの航空機による輸送を可能とする技術開発を行った。具体的には凍結 iPS 細胞ストック専用の輸送容器に求められる仕様について、詳細を京都大学 iPS 細胞研究所とともに決定し、専用輸送容器を作製した。さらに京都大学 iPS 細胞研究所で行う予

定の医療用 iPS 細胞の評価と同様の項目で iPS 細胞の評価を行い、評価系の確立を行った。

## 2) 再生医療技術に関する情報共有のためのネットワークシステム構築

細胞輸送技術に関する情報共有のために中核機関（東京大学）との間で、株式会社日立製作所製の情報共有ネットワークシステムを導入した。また角膜上皮、内皮に特異的なマーカー及び発生に重要な遺伝子を検索するために次世代シーケンサーによる網羅的解析を東大・中井と共同で実施した。具体的にはマウス角膜上皮、角膜内皮、マウス口腔粘膜上皮、ヒト口腔粘膜上皮のサンプルについて RNA-seq、Chip-seq を依頼した。

（倫理面への配慮）

「臨床研究に関する倫理指針」、「ヒト幹細胞を用いる臨床研究に関する指針」、「厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針」、「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」、「ヒト（自己）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」、「ヒト組織を利用する医療行為の安全性確保・保存・使用に関するガイドライン」、「ヒト由来組織・組織加工医薬品等の品質及び安全性確保に関する指針」、「医療機関における自家細胞・組織を用いた再生・細胞医療の実施について」、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」、「疫学研究に関する倫理指針」、「遺伝子治療臨床研究

に関する指針」を遵守して研究を遂行する。

## C. 研究結果

### 1) 医療用凍結 iPS 細胞ストックのための輸送技術開発

凍結 iPS 細胞ストック用の専用輸送容器を設計し、プロトタイプの作製を完了した。この輸送容器は、細胞を保存する一次容器、気密性保持機能を持つ二次容器、温度保持機能を持つ三次容器、衝撃緩衝機能を持つ四次容器から構成される。

また輸送前後の評価項目について、分析すべきパラメーターを京都大学の凍結 iPS 細胞ストック用の評価方法に準拠して設定した。大阪大学において同様の評価方法によって iPS 細胞の評価が可能であることを確認した。

### 2) 再生医療技術に関する情報共有のためのネットワークシステム構築

中核機関や拠点機関との間で細胞輸送技術に関する情報を共有するために情報共有ネットワークシステムを導入した。本システムの導入による次世代シーケンサーからのデータを含む、再生医療関連データの迅速な交換が可能となっている。本年度はこのシステムを利用して RNA-seq、Chip-seq およびエキソーム解析など次世代シーケンサーから得られたデータのやり取りを東大・中井との間で行った。解析結果により、既知の角膜マーカーであるケラチン 12 や COL8a2 が検出されており、実験系の妥当性を確認することが出来たため、現在マーカーの解析を進めているところである。また、凍結 iPS 細胞輸送技術開発の実験データを、電子ラボノートを

用いて電子記録媒体へ順次保管し、中核機関や拠点機関との情報共有に向けた実験データの蓄積を行っている。

#### D. 考察

医療用凍結 iPS 細胞の輸送技術を進めている。今後は、最初に大阪大学で作製した凍結細胞ストックの空輸試験を行い、輸送前後での凍結細胞の評価を行う予定である。本空輸試験で輸送前後の細胞の品質に変化がないことを検証したのちに、京都大学の医療用 iPS 細胞ストックを空輸して、評価を進める予定である。

また今後、情報共有ネットワークを用いて、中核機関や他拠点機関と再生医療技術の共有、共同解析をさらに進める予定である。

#### E. 結論

本研究によって医療用凍結 iPS 細胞ストック輸送技術の開発を進め、専用輸送容器の作製を行った。また、複数施設における再生医療技術についての情報共有に対する基盤として、各拠点を結ぶネットワークシステムを導入し、このシステムを用いて角膜上皮、内皮に特異的なマーカー解析を進めた。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) Oie Y, Nozaki T, Takayanagi H, Hara S, Hayashi R, Takeda S, Mori K, Moriya N, Soma T, Tsujikawa M, Saito K, Nishida K. Development of a cell sheet transportation technique for regenerative medicine. *Tissue Eng Part C Methods*. 2013, in press.

- 2) Oie Y, Nishida K. Regenerative medicine for the cornea. *Biomed Res Int*. 2013; 2013 in press
- 3) Hatou S, Higa K, Inagaki E, Yoshida S, Kimura E, Hayashi R, Tsujikawa M, Tsubota K, Nishida K, Shimmura S. Validation of Na,K-ATPase Pump Function of Corneal Endothelial Cells for Corneal Regenerative Medicine. *Tissue Eng Part C Methods*. 2013;19:901-10.
- 4) Kobayashi T, Kan K, Nishida K, Yamato M, Okano T. Corneal regeneration by transplantation of corneal epithelial cell sheets fabricated with automated cell culture system in rabbit model. *Biomaterials*. 2013;34:9010-7.

##### 2. 学会発表

- 1) 西田幸二、Application of stem cell technologies to corneal diseases、Grand Round presentation Jules Stein Eye Insitute、アメリカ、2013年5月1日
- 2) 西田幸二、角膜臨床のトピックス、第40回福岡大学眼科研究会 福岡大学メディカルホール、福岡、2013年5月18日
- 3) 西田幸二、角膜再生医療の現状と展望、第18回シェーグレン症候群セミナー URAKU青山、東京、2013年5月25日
- 4) 西田幸二、角膜再生～体性幹細胞からiPS細胞へ～、日本医学会シンポジウム 日本医師会館、東京、2013年6月6日

- 5) 西田幸二、Advances in Ocular Surface Stem Cell Research、26th APACRS Annual Meeting Suntec City Convention Centre、シンガポール、2013年7月11日
- 6) 西田幸二、角膜手術の未来、眼科サマーキャンプ かずさアカデミアパーク、千葉、2013年7月27日～28日
- 7) 西田幸二、眼とiPS細胞の未来、大阪大学シンポジウム「医の知の未来へ」コングレ・コンベンションセンター、大阪、2013年8月3日
- 8) 西田幸二、総論：上皮、3i角膜塾 ウェスティン都ホテル京都、京都、2013年8月10日～11日
- 9) 西田幸二、各論：角膜上皮障害（幹細胞疲弊、遷延性角膜上皮欠損）、3i角膜塾 ウェスティン都ホテル京都、京都、2013年8月10日～11日
- 10) 西田幸二、各論：角膜移植：全層角膜移植と角膜パーツ移植、3i角膜塾 ウェスティン都ホテル京都、京都、2013年8月10日～11日
- 11) 西田幸二、角膜再生医療、函館眼科研究会—Cornea Update Seminar—江口眼科病院、北海道、2013年8月14日
- 12) 西田幸二、角膜疾患のトピックス、近眼連夏季講習会 オーバルホール、大阪、2013年8月25日
- 13) 西田幸二、角膜難病による失明患者に対する再生医療の開発、日本・カタール ビジネスフォーラム Sheraton Doha Resort & Convention Hotel、カタール、2013年8月28日
- 14) 西田幸二、Development of stem cell-based therapy for corneal diseases: from tissue stem cell to iPS cell、Harvard Cornea Center of Excellence International Workshop Massachusetts Eye and Ear、アメリカ、2013年10月17日
- 15) 西田幸二、Perspectives on stem cell therapy for ocular surface diseases、28th Boston Biennial Cornea Conference Schepens Eye Research Institute、アメリカ、2013年10月18日～19日
- 16) 西田幸二、眼とiPS細胞の未来、愛媛県眼科学術講演会セッション 愛媛県医師会館、愛媛、2013年11月10日
- 17) 西田幸二、角膜再生医療の進歩、ムコスタ点眼記念講演会in福岡 博多日航ホテル、福岡、2013年11月21日
- 18) 西田幸二、Perspectives on stem cell therapy for ocular surface diseases、Annual meeting of Taiwan Academy of Ophthalmology National Taiwan University Hospital、台湾、2013年12月1日
- 19) 西田幸二、Development of stem cell-based therapy for corneal diseases-from tissue、Annual meeting of Taiwan Academy of Ophthalmology National Taiwan University Hospital、台湾、2013年12月1日
- 20) 西田幸二、ゴロゴロ 痛い 見えにくい 気になる目の症状、NHKエデュケーショナル 健康フォーラム 梅田スカイビル、大阪、2013年12月8日



G. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

厚生労働科学研究費補助金（難病・がん等の疾患分野の臨床実用化研究事業）

分担研究報告書

研究分担者

高橋 政代

独立行政法人理化学研究所 発生・再生科学総合研究センター

網膜再生医療研究開発プロジェクト プロジェクトリーダー

研究要旨

ヒト幹細胞を用いた再生医療技術を臨床（治療）、疾患研究、創薬、検査等（以下、「臨床応用」と言う。）に対して早期の実用化を図り国民への技術還元を行うと共に、安全性・有効性をより高めるための革新的なヒト幹細胞に関する研究開発を持続的に行うことが求められている。

現在の国内でのヒト幹細胞に関する研究体制の多くは研究機関単位で自立（自律）的に研究開発が行われており、臨床研究として患者に技術提供が行われている。しかし、自立（自律）性が優先された結果、個々の研究機関が研究開発活動や情報において孤立してしまうことにより、研究結果等の共有は学会や論文を介して行われることが多く、データは存在するが十分な分析等が行われず、結果に繋がらないまま共有もされずに失われている研究も多数存在していると考えられる。

目的とする早期実用化と持続的研究開発能力の確保を行うために、自立（自律）分散した研究機関の連携を図り、孤立化を防ぐことによって研究結果及び成果を効率的に活用することが必要不可欠と考える。まさに研究開発機関間におけるOpen Innovation環境構築が求められており、早期の臨床応用と持続的な研究開発を可能とするAll JAPAN体制を確立し、ヒト幹細胞を用いた再生医療技術の早期の臨床実用化を図ると共に、具体的な研究実験結果に基づく品質基準の構築を目標としており、我々はヒトiPS細胞から網膜色素上皮細胞へ分化・誘導し、安全な移植治療技術確立のために得られた研究情報を集積し、多施設間と連携・協力しながら研究情報を広く活用することで、最終的に新知見、新技術の継続的な創出が可能となる再生医療研究開発環境の確立を目指す。

A. 研究目的

ヒト幹細胞を用いた再生医療技術を臨床（治療）、疾患研究に対して早期の実用化を図り、安全性・有効性をより高めるための革新的なヒト幹細胞に関する研究開発を持続的に行うことができる研究開発体制構築を目指す。

ヒトiPS細胞から網膜色素上皮細胞へ分化・誘導し、安全な移植治療技術確立のために得られた研究情報を広く活用することで、多施設間の連携・協力を促進し、研究開発支援体制の強化と再生医療実用化に必要な環境の実現が可能となる。

## B. 研究方法

研究分担者である我々の施設に情報収集用のサーバーを設置し、蓄積されたデータは指定した共有条件の下、データセンターに設置されたサーバーに転送するなどし、本研究に参画する他機関と共に分析し、内容の検討を図る。本年度中に集積するデータは、ヒト幹細胞を用いた動物実験データ（移植前後の網膜断層図や網膜電図、行動解析結果など）はヒト幹細胞を用いた臨床研究及び医師主導治験に必要となる実験データである。これらのデータは他機関と共有することで相互に利益をもたらし、また、研究を推進することを目的として共有条件を設定するものである。

### （倫理面への配慮）

本研究においては、個別研究における数値情報、評価情報等を取り扱うことから、個人情報等の利用が研究遂行上で必須になる可能性は少ないと考えられるが、研究者等の個人情報や、ヒト細胞提供を行っていただいた方の情報が含まれることから被調査対象者等に対しては、口頭及び書面による研究の趣旨等に関してインフォームドコンセントを行ったうえ、書面による同意を得た者のみを調査の対象とする。また、研究における個人情報にかかわる情報については調査票及びデータ等に関する管理を厳重に行い、漏洩等不測の事態に備えるものとする。尚、本研究における個人情報を含む調査等に関しては、それぞれの研究者の所属する機関の倫理審査委員会等の承認を得た上で実施するものとする。

また、使用する iPS 細胞は患者由来皮膚細胞を用いるが、すでに患者 iPS 細胞作製研究は先端医療センター病院、理化学研究所のそれぞれの倫理委員会の承認を受けており、iPS 細胞作製のために提供された患者皮膚細胞は遺伝カウンセラーと研究分担者が先端医療センター病院において説明し、インフォームドコンセントを得た後、採取、連結可能匿名化され研究に携わる人員は個人情報を知り得ないしくみになっている。一方、網膜色素上皮細胞への分化誘導法の検討については、企業から提供されるヒト iPS 細胞を用いている。

## C. 研究結果

今年度は計画通り、施設内にサーバーの設置を行い、実験結果及び臨床データの集積を行った。データの内容としては我々が行なっている網膜再生研究の中で培養した細胞の移植を行う動物実験データである。

具体的には細胞移植前後の網膜の断層図や網膜電図、行動解析結果などである。

また、培養した網膜細胞特有の機能を解析したデータや培養方法のプロトコル、細胞培養施設における室内の温度や湿度、空調管理など環境測定データである。

このように我々は豊富なデータから得ることができる最適な移植条件、細胞の培養・分化条件を検討し、結果の裏付けのために必要となるデータの集積を行った。

## D. 考察

細胞移植を行う動物の実験データは今後行うヒトへの臨床応用において、基礎データとなるだけでなく、移植条件の検討や

移植技術の確立・安全性の評価など、様々な場面で必要となる。また、培養条件の検討・確立にも有用であることから、網膜細胞のみならず、他の細胞種の培養条件検討にも利用可能と考える。

また、網膜細胞特有の機能を解析したデータなどは、最適な分化誘導法の確立、効率の良い条件を検討する上で結果を裏付けるデータであり、次世代の培養方法開発につながるものである。

さらに、細胞培養施設の環境データは通常の培養室実験では測定及び記録を行わない場合が多く、環境が細胞の状態や効率の変化に及ぼす影響などを検討することができる点で貴重なデータであると言える。

#### E. 結論

今年度はデータの蓄積に留まったが、次年度以降はこれらのデータを他機関と共有し、意見交換だけでなく細胞培養におけるノウハウの検討を行うために情報セキュリティに配慮しつつ、情報共有の条件を検討する必要があると考えている。

網膜細胞特有の機能を解析したデータなどは、最適な分化誘導法の確立、効率の良い条件を検討する上で結果を裏付ける重要なデータとなるだけでなく、他の細胞種と比較検討することで、より高い培養技術の開発、さらにヒト幹細胞の実用化の道を開拓することにつながると考えられる。

単なる情報やデータの集積に終始することなく活用することは今後の日本の再生医療の現場でヒト幹細胞を用いる機会を増大させる可能性あるものと確信する。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

なし

##### 2. 学会発表

なし

#### G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

##### 1. 特許取得

なし

##### 2. 実用新案登録

なし

##### 3. その他

なし

厚生労働科学研究費補助金（難病・がん等の疾患分野の臨床実用化研究事業）

分担研究報告書

研究分担者

大和 雅之

東京女子医科大学 先端生命医科学研究所 教授

#### 研究要旨

情報通信技術等を活用することによって、自律（自立）分散した研究機関の連携を図り、研究結果及び成果の効率的活用を可能とする研究開発機関間の Open Innovation 環境を構築する。これにより、継続的新知見及び新技術創出、具体的研究データに基づく臨床利用のためのヒト幹細胞の品質（製造工程等を含む。）基準等を得て、より安全で有効で倫理面を考慮したヒト幹細胞を用いた再生医療の実用化を行う。

本研究では、体性幹細胞を対象として、幹細胞機能維持・分化制御の双方に関して、製造工程などを含む品質管理についてデータベース構築をおこない、品質管理基準を策定する。一連の研究を通じて、安全かつ有効なヒト幹細胞を用いた再生医療の実用化を促進する。

#### A. 研究目的

本研究は、ヒト体性幹細胞に関する培養条件、培養法、前臨床試験データ、臨床研究データ等の各種情報を蓄積し、データマイニングに供することを目的としている。

#### B. 研究方法

ヒト体性幹細胞の組織取得時、幹細胞単離時、培養時等に取得したデータを用いてデータベースの構築をおこなう。別途、細胞生物学的手法、実験動物への移植、可能であればヒト臨床研究により取得したデータとの相関を検討し、品質管理基準の策定のための材料とする。

（倫理面への配慮）

各種指針を遵守する。ヒトデータの取得、臨床研究に関しては院内倫理委員会の承

認を得る。

#### C. 研究結果

今年度は、手書きノートに代わる実験記録の入力法に関する研究を、さらに推進した。具体的には、昨年度に構築した市販の電子ペン（アノト社製、ボールペン付き）と Evernote を用いたデジタルデータの管理システムにおいて、実験ノート、生データ、数値等を纏めたデータ（Excel等）、論文等に使用する図表等をリンクさせるシステムを新たに考案した。さらに、一部の研究グループに留まっていた本システムの利用者数も他の研究グループでの利用を開始し始め、利用者数も順調に拡大した。一方で、これまで紙製ノートに記録されてきた実験記録等に関しては、新たに非接触型スキャナを購入し、デジタルの検討を進めた。



図 非接触型スキャナとスキャンした実験ノート

また、昨年度に導入した本プロジェクト専用のサーバーシステムを利用して、東京大学医科学研究所中井先生と実験データ（主にシークエンスデータ）の共有化を行った。本システムを利用して約400 GBのシークエンスデータの共有化に成功し、このデータの共有によって、新たに展開した体性幹細胞の研究成果は現在、論文投稿中である。さらに、女子医大の導入した次世代シークエンサー（Ion proton, ライフテクノロジー社製）のデータ解析システムと本プロジェクトのサーバーシステムを直接リンクさせ、次世代シークエンサーのデータをスムーズに本プロジェクトで共有できるシステムを構築した。

さらに、これらのシークエンスデータに加えて、本学病院で実施された「歯根膜細胞由来細胞シートを用いた歯周組織再生の臨床研究」に使用された細胞の各種解析データ（品質管理試験、分化誘導能の確認等）に関しても、本プロジェクトの基盤システムへの提供の検討を進めており、近日中に、データを提供し、共有化を図る予定

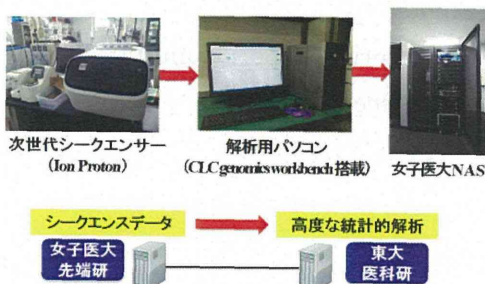


図 サーバーシステムの利用法の1例

である。

#### D. 考察

Evernoteを用いた電子ノートシステムは、実験ノート、生データ、数値等を纏めたデータ、論文等に使用する図表等をリンクさせるシステムを新たに構築したことによって、研究活動はより効率化が図られた。しかしながら、Evernoteのインターフェイスは他のクラウドサービスと比較して、個性の強いものになっているため、初心者が進んで利用できるようにするためには、丁寧な説明等が必要であった。加えて、電子ペンは依然 Mac OS に対応しておらず、Macユーザーの利便性を損なうものとなっている。一部のMac利用者にはEvernoteをインストールしたWindowsを搭載したPCを提供し、WindowsのPCで取り込んだデータをMac OS搭載したPCと同期させることによって、対応しているが、やはりMac OS X対応ドライバーのいち早い開発が望まれる。また、知財管理の点において課題があった電子ペンも、①ノートの画像データが作成される時に同時に、筆記した時刻が記録されるようになる、②後日、上書きした部分が明確に区別できる、といった点で改善はされてきているが、依然、改竄の防止や発見・発明日の厳格な同定のためにはより一層の工夫が必要される。

また、プロジェクト専用サーバーが設置され、スムーズなシークエンサーデータの共有が行われ、実際に共同研究を推進する結果となった。従って、シークエンスデータ以外のデータ、情報等の共有もさらなる研究の推進、並びに新規プロジェクトの立

ち上げ等に大きく貢献すると期待される。よって、過去のデジタルデータのサーバーへのアップロードをはじめ、本サーバーシステムにデータを提供する研究者数を拡大が、より一層望まれるが、同時にセキュリティ等の問題に対する対策も講じる必要があると思われる。

#### E. 結論

電子ペンと Evernote を中心にした電子ノートシステム及び電子データ管理システムはグループ内の情報共有、研究連携の推進だけにとどまらず、論文等に使用する図から迅速に生データを追跡できるツールとしても非常に有効で、極めて効率的に貢献した。今後、研究所内での本システムの利用者数のさらなる拡大を進めていく。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) Obokata H, Wakayama T, Sasai Y, Kojima K, Vacanti MP, Niwa H, Yamato M, Vacanti CA. Stimulus-triggered fate conversion of somatic cells into pluripotency. *Nature*. 2014;505(7485):641-7.
- 2) A role for c-Kit in the maintenance of undifferentiated human mesenchymal stromal cells. Suphanantachat S, Iwata T, Ishihara J, Yamato M, Okano T, Izumi Y. *Biomaterials*. 2014 Apr;35(11):3618-26.
- 3) Washio K, Kuroda H, Iwata T, Yoshida T, Yamato M, Okano T. Improved enzymatic treatment for accurate cell counting from

extracellular matrix-rich periodontal ligament cell sheets. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2014;29(1):e117-21.

- 4) Itoga K, Kobayashi J, Yamato M, Okano T. Micropatterning with a liquid crystal display (LCD) projector. *Methods Cell Biol*. 2014;119:141-58.
- 5) Kikuchi T, Shimizu T, Wada M, Yamato M, Okano T. Automatic fabrication of 3-dimensional tissues using cell sheet manipulator technique. *Biomaterials*. 2014;35(8):2428-35.
- 6) Takaku Y, Murai K, Ukai T, Ito S, Kokubo M, Satoh M, Kobayashi E, Yamato M, Okano T, Takeuchi M, Mochida J, Sato M. In vivo cell tracking by bioluminescence imaging after transplantation of bioengineered cell sheets to the knee joint. *Biomaterials*. 2014;35(7):2199-206.
- 7) Sekine W, Haraguchi Y, Shimizu T, Yamato M, Umezawa A, Okano T. Chondrocyte differentiation of human endometrial gland-derived MSCs in layered cell sheets. *ScientificWorldJournal*. 2013;2013:359109.
- 8) Iwata T, Yamato M, Ishikawa I, Ando T, Okano T. Tissue engineering in periodontal tissue. *Anat Rec (Hoboken)*. 2014;297(1):16-25.

- 9) Sakuma M, Kumashiro Y, Nakayama M, Tanaka N, Umemura K, Yamato M, Okano T. Control of cell adhesion and detachment on Langmuir-Schaefer surface composed of dodecyl-terminated thermo-responsive polymers. *J Biomater Sci Polym Ed.* 2014;25(5):431-43.
- 10) Sato M, Yamato M, Hamahashi K, Okano T, Mochida J. Articular cartilage regeneration using cell sheet technology. *Anat Rec (Hoboken)*. 2014 Jan;297(1):36-43.
- 11) Egami M, Haraguchi Y, Shimizu T, Yamato M, Okano T. Latest status of the clinical and industrial applications of cell sheet engineering and regenerative medicine. *Arch Pharm Res.* 2014;37(1):96-106.
- 12) Matsumine H, Sasaki R, Takeuchi Y, Miyata M, Yamato M, Okano T, Sakurai H. Vascularized versus Nonvascularized Island Median Nerve Grafts in the Facial Nerve Regeneration and Functional Recovery of Rats for Facial Nerve Reconstruction Study. *J Reconstr Microsurg.* 2014;30(2):127-36.
- 13) Yoshimitsu K, Muragaki Y, Maruyama T, Yamato M, Iseki H. Development and Initial Clinical Testing of "OPECT": An Innovative Device for Fully Intangible Control of the Intraoperative Image-Displaying Monitor by the Surgeon. *Neurosurgery.* 2014;10 Suppl 1:46-50.
- 14) Sasagawa T, Shimizu T, Yamato M, Okano T. Expression profiles of angiogenesis-related proteins in prevascular three-dimensional tissues using cell-sheet engineering. *Biomaterials.* 2014;35(1):206-13.
- 15) Tanaka N, Kondo M, Uchida R, Kaneko M, Sugiyama H, Yamato M, Okano T. Splitting culture medium by air-jet and rewetting for the assessment of the wettability of cultured epithelial cell surfaces. *Biomaterials.* 2013;34(36):9082-8.
- 16) Nagase K, Hatakeyama Y, Shimizu T, Matsuura K, Yamato M, Takeda N, Okano T. Hydrophobized thermoresponsive copolymer brushes for cell separation by multistep temperature change. *Biomacromolecules.* 2013;14(10):3423-33.
- 17) Kobayashi T, Kan K, Nishida K, Yamato M, Okano T. Corneal regeneration by transplantation of corneal epithelial cell sheets fabricated with automated cell culture system in rabbit model. *Biomaterials.* 2013;34(36):9010-7.
- 18) Arisaka Y, Kobayashi J, Yamato M, Akiyama Y, Okano T. Heparin-functionalized thermoresponsive surface: a versatile cell culture substrate for regulating multivalent affinity binding with



- heparin-binding proteins by temperature changes. *Organogenesis*. 2013;9(3):125-7.
- 19) Tadakuma K, Tanaka N, Haraguchi Y, Higashimori M, Kaneko M, Shimizu T, Yamato M, Okano T. A device for the rapid transfer/transplantation of living cell sheets with the absence of cell damage. *Biomaterials*. 2013;34(36):9018-25.
- 20) Matsuzaka N, Nakayama M, Takahashi H, Yamato M, Kikuchi A, Okano T. Terminal-functionality effect of poly(N-isopropylacrylamide) brush surfaces on temperature-controlled cell adhesion/detachment. *Biomacromolecules*. 2013 Sep 9;14(9):3164-71.
- 21) Takahashi H, Shimizu T, Nakayama M, Yamato M, Okano T. The use of anisotropic cell sheets to control orientation during the self-organization of 3D muscle tissue. *Biomaterials*. 2013;34(30):7372-80.
- 22) Yoshida T, Iwata T, Umemoto T, Shiratsuchi Y, Kawashima N, Sugiyama T, Yamato M, Okano T. Promotion of mouse ameloblast proliferation by Lgr5 mediated integrin signaling. *J Cell Biochem*. 2013;114(9):2138-47.
- 23) Sasagawa T, Shimizu T, Sekiya S, Yamato M, Okano T. Comparison of angiogenic potential between prevascular and non-prevascular layered adipose-derived stem cell-sheets in early post-transplanted period. *J Biomed Mater Res A*. 2014;102(2):358-65
2. 学会発表
- 1) Annual spring meeting of Korean Bronchoesophagology Society 2012年4月13日 Soul (韓国)  
“Current status of cell sheet-based esophageal regenerative medicine”
- 2) 東京慈恵会医科大学耳鼻咽喉科医局会 2013年4月20日 東京  
「再生医療本格化のための細胞シート工学」
- 3) 熊本大学大学院医学教育学部セミナー 2013年4月22日 熊本  
「細胞シートを用いた再生医療・臨床応用の現状」
- 4) 2013 IEEE International Conference on Robotics and Automation (ICRA) 2013年5月6日 Karlsruhe (ドイツ)  
“Robotics for cell sheet based regenerative medicine”
- 5) Tenth International Symposium on FRONTIERS IN BIOMEDICAL POLYMERS 2013年6月3日 Vancouver (カナダ)  
“Cell sheet-based regenerative medicine: its current status and future of clinical applications”
- 6) 第38回日本外科系連合学会学術集会 2013年6月7日 東京

- 「再生医療本格化のための細胞シート工学」
- 7) 大阪未来フォーラム 2013 2013年6月30日 大阪  
「再生医療本格化のための細胞シート工学」
- 8) 第29回日本DDS学会学術集会 2013年7月5日 京都  
「再生医療と新規材料」
- 9) サーモフィッシャー セミナー「幹細胞研究の最前線」 2013年7月17日 東京  
「再生医療本格化のための細胞シート工学」
- 10) 第20回外科フォーラム 2013年7月20日 東京  
「消化器外科領域の再生医療最前線～細胞シートの応用」
- 11) 13<sup>th</sup> IEEE International Conference on Nanotechnology 2013年8月7日 Beijing (中国)  
“Nanotechnology-based cell sheet engineering for regenerative medicine”
- 12) 第31回日本ヒト細胞学会学術集会 2013年8月11日 埼玉  
「再生医療本格化のための細胞シート工学」
- 13) 第5回レギュラトリーサイエンス学会学術大会 2013年9月6日 東京  
「迅速承認に対する期待と懸念」
- 14) 第4回 Molecular Cardiovascular Conference II 2013年9月7日 北海道  
「心臓再生のための組織工学的考察」
- 15) 女子中高生の理系選択支援プログラム 第5回最先端研究の進歩と女性研究者の活躍 2013年9月15日 東京  
「再生医療ってどんな医療？」
- 16) 日本化学会関東支部講演会「再生医療と化学」 2013年9月18日 東京  
「再生医療を支える化学 現状とこれからの課題」
- 17) 東京工業大学バイオマテリアルシンポジウム「医学・薬学分野を革新するバイオマテリアル研究者への熱きメッセージ」 2013年9月19日 東京  
「再生医療本格化のための細胞シート工学」
- 18) 第56回秋期日本歯周病学会 2013年9月22日 群馬  
「再生医療の展望と課題」
- 19) レギュラトリーサイエンス学会 第8回シンポジウム～再生医療の早期実現に向けて～ 2013年10月3日 東京  
「アカデミアの取組」
- 20) (独) 科学技術振興機構「再生医療実現拠点ネットワークプログラム」第5回ミニマム・コンセンサス・パッケージ (MCP) 策定会議および第5回再生医療薬事講習会 2013年10月4日 東京  
「ヒト幹細胞臨床研究から産業化へ」
- 21) 臓器提供・移植を考える神奈川の会 2013年10月13日 神奈川  
「再生医療本格化のための細胞シート工学」

- 22) Xi'an World Summit on Regenerative Medicine 2013年10月21日 Xi'an (中国)  
 “Translation from Academia to Industry”
- 23) 第19回 VISION TIMES セミナー  
 ここまできた iPS 細胞による再生医療  
 ～何を目標に、いつ実現するのか～  
 2013年10月31日 東京  
 「日本と海外の再生医療について」
- 24) 2013 IEEE/RSJ International Conference on Intelligent Robots and Systems (IROS) 2013年11月5日  
 “Robotics-Assisted Automatic Fabrication of Cellsheets for Regenerative Medicine”
- 25) NEDO 技術フォーラム in 中部  
 2013年11月6日 愛知  
 「再生医療本格化のための細胞シート工学」
- 26) 最先端研究開発支援 (FIRST) プログラム 市民公開シンポジウム 細胞シートが拓く新しい再生医療 ～科学技術革新による未来医療の産業化と世界普及～ 2013年11月23日 東京  
 「細胞シート再生医療の臨床」
- 27) 第35回日本バイオマテリアル学会大会 2013年11月26日 東京  
 「新学術領域 バイオアセンブラ」
- 28) 京都リサーチパーク「解説講座」  
 2013年12月4日 京都  
 「再生医療本格化のための細胞シート工学」
- 29) 日本生体医工学会関西支部50周年記念講演会 2013年12月7日 大阪  
 「再生医療本格化のための細胞シート工学」
- 30) 日本臨床研究支援ユニット第14期全体会 2013年12月9日 東京  
 「再生医療について」
- 31) 第4回東海大学テニユアトラック制度シンポジウム 異分野融合で切り拓く次世代医療への挑戦 2013年12月14日 神奈川  
 「再生医療本格化のための細胞シート工学」
- G. 知的財産権の出願・登録状況  
 (予定を含む。)
1. 特許取得  
なし
  2. 実用新案登録  
なし
  3. その他  
なし

### III. 研究成果の刊行に関する一覧表