

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指揮。

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指揮することである。

B．研究方法

1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の作製を指揮した。移植を完了した症例に対する臨床スコア、MRI、レントゲン等による経時的評価を指揮した。また昨年度移植を行った3例に対して再鏡視、組織生検を指揮した。

（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

本年度滑膜から細胞を分離し培養を行った1例に対するTECの移植、移植後症例の関節鏡視、生検した組織標本作成、臨床スコア等の各種の評価、いずれも問題なく行うことができた。

D．考察

全体を把握した的確な指揮により、臨床研究が円滑に行うことが分かった。

E．結論

特に問題なく臨床研究を円滑に行うことができた。

F．健康危険情報

特になし

G．研究発表

1. 論文発表

1. Kaneshiro, S., Ebina, K., Shi, K., Higuchi, C., Hirao, M., Okamoto, M., Koizumi, K., Morimoto, T., Yoshikawa, H., Hashimoto, J.: IL-6 negatively regulates osteoblast differentiation through the SHP2/MEK2 and SHP2/Akt2 pathways in vitro. J Bone Miner Metab, 32:378-392, 2014.

2. Minegishi, Y., Sakai, Y., Yahara, Y., Akiyama, H., Yoshikawa, H., Hosokawa, K., Tsumaki, N.: Cyp26b1 within the growth plate regulates bone growth in juvenile mice. Biochem Biophys Res Commun, 454:12-18, 2014.

3. 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.

2. 研究発表

1. 第 87 回日本整形外科学会学術総会(教育研修講演): 人工骨による骨再生 -過去から未来へ(平成 26 年 5 月 24 日、神戸)

2. 第 28 回大阪大学医工情報連携シンポジウム-医工情報連携による新産業の創出と人材育成: 最先端金属造形技術・再生医療融合によるハイブリッド人工関節の開発(平成 26 年 10 月 29 日、東京)

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

臨床試験の実施に関する研究

研究分担者 名井 陽 大阪大学大学院医学系研究科 整形外科学 准教授

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

1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3例に対して再鏡視、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

本年度滑膜から細胞を分離し培養を行った1例で、良好な細胞増殖を認め、TECの移植を完了した。

移植症例の関節鏡視では、軟骨損傷部は白色軟骨様組織で被覆されていた。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。生検した1～4例目の組織標本上サフラニンOで染色される軟骨組織再生を認め、再生組織は軟骨仮骨と良好な接触を形成していた。

また全5症例において臨床スコア、MRI評価において改善傾向を認めた。

移植を完了した全5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。

D．考察

関節鏡視、生検組織、臨床スコア、MRI評価いずれにおいても良好な結果が得られておりTECによる軟骨損傷治療の有効性が示唆された。

また 有害事象が起こっていないことから安全性も示唆される。

E．結論

TECの移植により軟骨損傷を安全に治療できる可能性が示唆された。

F．健康危険情報

特になし

G．研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

なし

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

データセンター及び統計解析業務支援体制整備

研究分担者 山本紘司 大阪大学大学院医学系研究科
臨床統計疫学寄附講座 寄附講座准教授

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整備に加え、とくに統計解析業務支援のために必要な各種文書類および解析環境を整備した。

A．研究目的

これまで整備してきたデータセンターにてより効率のよいデータマネジメント及び統計解析を行うための体制整備に取り組む。

B．研究方法

データマネジメント業務においては、SOP改訂とEDCシステムの導入を検討し、解析業務ではテンプレートの整備を行い業の効率化を図る。

C．研究結果

SOP改訂については年度末に再度改訂予定である。EDCシステムとしては米国Vanderbilt大学が開発したREDCapシステムを導入し、サーバーをレンタルする形での運用を可能とした。解析業務における各種テンプレート作成では、解析計画書、バリデーション計画書などの雛形を作成した。

D．考察

REDCapシステムについては、レンタル使用だけでなく、阪大内のサーバーを利用できるよう検討する。解析業務ではさらに解析プログラムの標準化等にも取り組み、さらなる業務効率化を目指す。

E．結論

当初目標としていた拠点としてのデータセンター整備については一定の成果が得られた。ただし、引き続き業務効率化等に取り組む必要はあると考える。

F．健康危険情報

特になし

G．研究発表

1. 論文発表

・Hirose, T. et al. (2014). Presence of Neutrophil extracellular traps and Citrullinated histone H3 in the Bloodstream of critically ill patients. PLOS ONE, 9(11):e111755.

・Hirose, T. et al. (2014). Effectiveness of a simplified cardiopulmonary resuscitation training program for the non-medical staff of a university hospital. Scandinavian Journal of Trauma, Resuscitation and Emergency Medicine, 22:31(10, May 2014).

・Yamamoto, K. and Murakami, H. (2014). Model based on skew normal distribution for square contingency tables with ordinal categories. Computational Statistics and Data Analysis, 78, 135-140.

2. 学会発表

なし

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

再生組織の製造管理・支援に関する研究

研究分担者 齋藤 充弘

大阪大学大学院医学系研究科
未来細胞医療学共同研究講座特任准教授

研究要旨

T E C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

T E C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

関係書類の整備を行った。
（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

関係書類の細かい不備を修正した。よ
り整合性の取れた書類となった。

D . 考察

関係書類の修正により臨床研究自体
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、治験等に進む際の際にも今回整備
した書類が有用であると思われる。

F . 健康危険情報
特になし

G . 研究発表

1. 論文発表

1. Higuchi T, Miyagawa S, Pearson JT, Fukushima S, Saito A, Tsuchimochi H, Sonobe T, Fujii Y, Yagi N, Astolfo A, Shirai M, Sawa Y. Functional and Electrical Integration of Induced Pluripotent Stem Cell-Derived Cardiomyocytes in a Myocardial Infarction Rat Heart. Cell Transplant. 2015 in press
2. Kainuma S, Miyagawa S, Fukushima S, Pearson J, Chen YC, Saito A, Harada A, Shiozaki M, Iseoka H, Watabe T, Watabe H, Horitsugi G, Ishibashi M, Ikeda H, Tsuchimochi H, Sonobe T, Fujii Y, Naito H, Umetani K, Shimizu T, Okano T, Kobayashi E, Daimon T, Ueno T, Kuratani T, Toda K, Takakura N, Hatazawa J, Shirai M, Sawa Y. Cell-sheet therapy with omentopexy promotes arteriogenesis and improves coronary circulation physiology in failing heart. Mol Ther. 23(2) 374-86 (2015)
3. Kamata S, Miyagawa S, Fukushima S, Imanishi Y, Saito A, Maeda N, Shimomura I, Sawa Y. Targeted Delivery of Adipocytokines Into the Heart by Induced Adipocyte Cell-Sheet Transplantation Yields Immune Tolerance and Functional Recovery in Autoimmune-Associated Myocarditis in Rats. Circ J. 79(1) 169-79 (2014)
4. Kawamura T, Miyagawa S, Fukushima S, Yoshida A, Kashiyama N, Kawamura A, Ito E, Saito A, Maeda A, Eguchi H, Toda K, Lee JK, Miyagawa S, Sawa Y. N-Glycans: Phenotypic Homology and Structural Differences between Myocardial Cells and Induced Pluripotent Stem Cell-Derived Cardiomyocytes. PLoS One. 9(10) e111064 (2014)

5. Uchinaka A, Kawaguchi N, Mori S, Hamada Y, Miyagawa S, Saito A, Sawa Y, Matsuura N. Tissue Inhibitor of Metalloproteinase-1 and -3 Improves Cardiac Function in an Ischemic Cardiomyopathy Model Rat. Tissue Eng Part A. 20(21-22) 3073-3084 (2014)

2. 研究発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況
特になし

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（gMSC）」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（gMSC）」の事前相談、厚生労働省医薬食品局、厚生労働省医政局への相談をふまえ、当該年度に於いても引き続き、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の検討と最終的な考察を行う。

また、2014年IABS理事会[国際生物製剤標準化連盟理事会]（ストラスブルグ・フランス）、2014年ISSCR[第12回国際幹細胞学会]（カナダ・バンクーバー）、Translational Regenerative Medicine Congress 2014(再生医療実用化推進会議)2014（ドイツ・ライプツヒ）、国際脂肪療法科学会議 2014（International Federation for Adipose Therapeutics and Science (IFATS) 2014）（オランダ・アムステルダム）、生体組織工学及び再生医療治療薬学会年会議 2014（Tissue Engineering and Regenerative Medicine International Society [Termis] Annual Conference - meeting 2014）（アメリカ合衆国ワシントンDC）に参加し、調査研究活動を実施する。それらの知見を加味し、研究分担者である早川堯夫が理事を務めるIABS（国際生物製剤標準化連盟）ミーティングを主催し、国内外の研究者とともに国際調和を目指した研究発表および議論を行う。

これらの研究から得られた成果を参考とし、再生医療に大きく貢献する幹細胞5指針案への充当、ならびに現時点までに体系化された指針案の英文

での情報発進をおこなうことで、本研究課題に肝要な戦略支援のための参考指針を取り纏める。

C. 研究結果

当該年度までに継続している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打ち合わせにより、より実用的な仕様、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・助言を受けるに至った。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、本相談へのステップアップが決定された。

一方、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研究では、2014年IABS理事会[国際生物製剤標準化連盟理事会]（ストラスブルグ・フランス）、Translational Regenerative Medicine Congress 2014(再生医療実用化推進会議)2014（ドイツ・ライプツヒ）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い、討議と意見交換を深める中で、本研究事業の薬事戦略支援を進めるに肝要な情報交換ならびに国際的ネットワークの構築に至った。続いて、2014年ISSCR[第12回国際幹細胞学会]（カナダ・バンクーバー）、国際脂肪療法科学会議 2014（International Federation for Adipose Therapeutics and Science (IFATS) 2014）（オランダ・アムステルダム）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、生体組織工学及び再生医療治療薬学会年会議 2014（Tissue Engineering and Regenerative Medicine International Society [Termis] Annual Conference - meeting 2014）

(アメリカ合衆国ワシントン DC)に於いては、ヒト幹細胞の臨床応用に関する欧米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、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。

これらの成果を総合するとともに、当該年度が最終年度となる本研究課題の総括を含み、研究分担者である早川堯夫が理事を務める IABS(国際生物薬品標準化連盟)の東京ミーティングを主催し、国内外の幹細胞治療・基礎研究の専門家を含む、S産官学で活躍する第一線の再生医療規制科学関係者・研究者とともに、再生医療の国際調和を目指した研究発表および議論を行った。これは、本研究事業における薬事戦略支援に大きく貢献するものとなった。また、当研究課題を締めくくる当該年度において、これまでの研究成果から得られた知見や幹細胞を用いた再生医療に係る薬事戦略支援の指針案となる幹細胞 5 指針の内容の充実、ならびに、現時点で取り纏めに至っている同指針を英文化(論文発表の項 1~5)し、まとめるに至った。加えて、これらの成果は、当該年度の「再生医療等の安全性の確保等に関する法律」、「再生医療等の安全性の確保等に関する法律施行令」及び「再生医療等の安全性の確保等に関する法律施行規則」の取扱いについて(平成 26 年 10 月 31 日医政研発 1031 第 1 号厚生労働省医政局研究開発振興課長通知)、生物由来原料基準の一部を改正する件(平成 26 年厚生労働省告示第 375 号)の政策提言として反映された。

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。また、平成 26 年度の再生医療等の安全性の確保等に関する法律(関係法令等:再生医療等の安全性の確保等に関する法律施行令(平成 26 年 8 月 8 日政令第 278 号)、再生医療等の安全性の確保等に関する法律施行規則(厚生労働省令第 110 号)、再生医療の迅速かつ安全な研究開発及び提供並びに普及の促進に関する基本的な方針(平成 26 年 11 月 25 日閣議決定)など)や幹細胞 5 指針を踏まえた本研究の確認申請制度要項精査が肝要で

あると思われる。これにより、本研究の薬事戦略は効率的で洗練されたシステムにまで到達すると考察できる。

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、当該年度までに築いたネットワークを最大限に活用し、広く国内外での最新動向を把握し、世界と協調しつつ、より具体的な方策を乗じていくことこそが、先進医療へのスムーズな移行には重要であると結論づけられる。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Takao Hayakawa, Takashi Aoi, Akihiro Umezawa, Keiya Ozawa, Yoji Sato, Yoshiki Sawa, Akifumi Matsuyama, Shinya Yamanaka, and Masayuki Yamato. Study on Ensuring the Quality and Safety of Pharmaceuticals and Medical Devices Derived from the Processing of Autologous Human Somatic Stem Cells. Regenerative Therapy 2015 in press.
- 2) Takao Hayakawa, Takashi Aoi, Akihiro Umezawa, Keiya Ozawa, Yoji Sato, Yoshiki Sawa, Akifumi Matsuyama, Shinya Yamanaka, and Masayuki Yamato. Study on Ensuring the Quality and Safety of Pharmaceuticals and Medical Devices Derived from the Processing of Allogenic Human Somatic Stem Cells. Regenerative Therapy 2015 in press.
- 3) Takao Hayakawa, Takashi Aoi, Akihiro Umezawa, Keiya Ozawa, Yoji Sato, Yoshiki Sawa, Akifumi Matsuyama, Shinya Yamanaka, and Masayuki Yamato. Study on Ensuring the Quality and Safety of Pharmaceuticals and Medical Devices Derived from Processing of Autologous Human Induced Pluripotent Stem Cell (-Like Cells). Regenerative Therapy 2015 in press.
- 4) Takao Hayakawa, Takashi Aoi, Akihiro Umezawa, Keiya Ozawa, Yoji Sato, Yoshiki Sawa, Akifumi Matsuyama, Shinya Yamanaka, and Masayuki Yamato. Study on Ensuring the Quality and Safety of Pharmaceuticals and Medical Devices Derived from Processing of Allogenic Human Induced Pluripotent Stem Cell (-Like Cells). Regenerative Therapy 2015 in press.
- 5) Takao Hayakawa, Takashi Aoi, Akihiro Umezawa, Keiya Ozawa, Yoji Sato, Yoshiki

- Sawa, Akifumi Matsuyama, Shinya Yamanaka, and Masayuki Yamato. Study on Ensuring the Safety and Quality of Pharmaceuticals and Medical Devices Derived from the Processing of Human Embryonic Stem Cells. *Regenerative Therapy* 2015 in press.
- 6) Moriyama H, Moriyama M, Isshi H, Ishihara S, Okura H, Ichinose A, Ozawa T, Matsuyama A, Hayakawa T. Role of notch signaling in the maintenance of human mesenchymal stem cells under hypoxic conditions. *Stem Cells Dev.* 2014 Sep;23(18):2211-24.
 - 7) Moriyama M, Moriyama H, Uda J, Matsuyama A, Osawa M, Hayakawa T. BNIP3 plays crucial roles in the differentiation and maintenance of epidermal keratinocytes. *J Invest Dermatol.* 2014 Jun;134(6):1627-35.
 - 8) Takayama K, Kawabata K, Nagamoto Y, Inamura M, Ohashi K, Okuno H, Yamaguchi T, Tashiro K, Sakurai F, Hayakawa T, Okano T, Furue MK, Mizuguchi H. CCAAT/enhancer binding protein-mediated regulation of TGF receptor 2 expression determines the hepatoblast fate decision. *Development.* 2014 Jan;141(1):91-100.
 - 9) Yagi Y, Kakehi K, Hayakawa T, Suzuki S. Application of microchip electrophoresis sodium dodecyl sulfate for the evaluation of change of degradation species of therapeutic antibodies in stability testing. *Anal Sci.* 2014;30(4):483-8.
 - 10) Toshio Morikawa, Kiyofumi Ninomiya, Katsuya Imura, Takahiro Yamaguchi, Yoshinori Akagi, Masayuki Yoshikawa, Takao Hayakawa, Osamu Muraoka, Hepatoprotective triterpenes from traditional Tibetan medicine *Potentilla anserina*. *Phytochemistry*, **102**, 169—181 (2014).
 - 11) Toshio Morikawa, Yusuke Nakanishi, Kiyofumi Ninomiya, Hisashi Matsuda, Souichi Nakashima, Hisako Miki, Yu Miyashita, Masayuki Yoshikawa, Takao Hayakawa, Osamu Muraoka, Dimeric pyrrolidinoindoline-type alkaloids with melanogenesis inhibitory activity in flower buds of *Chimonanthus praecox*. *J. Nat. Med.*, **68**, 539—549 (2014).
2. 研究発表
- 1) 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誘導. Mar, 4-6, 2014. 第13回日本再生医療学会総会. 京都.
 - 2) Mariko Moriyama, Junki Uda, Hiroyuki Moriyama, Akifumi Matsuyama, Masatake Osawa, Takao Hayakawa. オートファジー関連分子 BNIP3 は、表皮分化ならびに表皮形態維持に重要な働きをする. Mar 4-6, 2014. 第13回日本再生医療学会総会. 京都.
 - 3) 森山麻里子, 宇田純輝, 松山晃文, 早川堯夫, 森山博由. オートファジーと皮膚構築. 皮膚の会(総会), Mar 15-16, 2014. 松山.
 - 4) 森山博由. 再生医療を照らす脂肪由来幹細胞の製造法と派生効果. 5/14~5/16, 2014, BIO tech 2014 -国際バイオテクノロジー展/技術会議-アカデミックフォーラム. 東京
 - 5) 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 18 - 21, 2014, 12th ISSCR at Vancouver, CANADA.
 - 6) Uda Junki, Moriyama Mariko, Moriyama Hiroyuki, Osawa Masatake, Hayakawa Takao. BNIP3 PLAYS CRUCIAL ROLES IN THE DIFFERENTIATION AND MAINTENANCE OF EPIDERMAL KERATINOCYTES. June 18 - 21, 2014, 12th ISSCR at Vancouver, CANADA.
 - 7) Moriyama Mariko, Moriyama Hiroyuki, Sawaragi Kei, Okura Hanayuki, Matsuyama Akifumi, Hayakawa Takao. 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. June 18 - 21, 2014, 12th ISSCR at Vancouver, CANADA.
 - 8) Ohmori Shigenari, Taniguchi Yuki, Moriyama Mariko, Moriyama Hiroyuki, Hayakawa Takao. DIFFERENTIATION OF DOPAMINERGIC NEURONAL CELLS FROM HUMAN ADIPOSE-DERIVED MULTILINEAGE PROGENITOR CELLS. June 18 - 21, 2014, 12th ISSCR at Vancouver, CANADA.
 - 9) 大森重成, 森山麻里子, 谷口祐紀, 深瀬堯哉, 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)を用いたドーパミン産生細胞への誘導法の確立. 2014年8月28~29日, 生体機能と創薬シンポジウム 2014. 東大阪.
 - 10) 大森重成, 森山麻里子, 谷口祐紀, 深瀬堯哉, 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)を用いたドーパミン産生細胞への誘導法の確立. 2014年8月28~29日, 生体機能と創薬シンポジウム 2014. 東大阪.

- 11) 河野真由香、森山麻里子、中北和樹、早川堯夫、森山博由. 幹細胞資材におけるウイルス混入及び残存試験法確立を目的とした高感度・高精度な新規核酸増幅基盤技術開発. 2014年8月28~29日, 生体機能と創薬シンポジウム2014. 東大阪.
- 12) 谷口祐紀、森山麻里子、大森重成、早川堯夫、森山博由. キンドラー症候群患者由来ヒト脂肪組織由来多系統前駆細胞(hADMPC)より樹立したiPS細胞の皮膚ケラチノサイトへの分化誘導法確立. 2014年8月28~29日生体機能と創薬シンポジウム2014. 東大阪.
- 13) 山田 翼, 森山麻里子, 宇田純輝, 森山博由, 早川堯夫. BCL-2ファミリー分子BNIP3が表皮分化および表皮形態維持に及ぼす影響. 2014年8月28~29日, 生体機能と創薬シンポジウム2014. 東大阪.
- 14) 百合祐樹, 森山麻里子, 森山博由, 早川堯夫. 新規ヒト脂肪組織由来多能性前駆細胞に存在するOCT4陽性細胞は真の多能性幹細胞たりうるのか?. 2014年8月28~29日, 生体機能と創薬シンポジウム2014. 東大阪.
- 15) 石原慎、森山麻里子、阪口公一、石濱里穂、大倉華雪、松山晃文、早川堯夫、森山博由. 低酸素状態におけるNotchシグナルと解糖系の関係. 2014年8月28~29日, 生体機能と創薬シンポジウム2014. 東大阪.
- 16) 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. 新規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. 2014年8月28~29日, 生体機能と創薬シンポジウム2014. 東大阪.
- 17) Tadashi Michiyama, Horoyuki Moriyama, Mario Moriyama, Takao Hayakawa, Kiyofumi Ninomiya, Osamu Muraoka, Saowanee Chaipech, Toshio Morikawa. Inhibitory effects of oligostilbenoids from bark of *Shorea roxburghii* on malignant melanoma cell growth: implications for a candidate of novel topical anticancer agents. The 27th International Conference on Polyphenols (ICP2014), (Nagoya, Japan), 2014.9.
- 18) MARIKO MORIYAMA, JUNKI UDA, MASATAKE OSAWA, TAKAO HAYAKAWA, HIROYUKI MORIYAMA. BNIP3 Plays Crucial Roles in the Differentiation and Maintenance of Epidermal Keratinocytes. Sept 11-15, 2014. European society for dermatological research (ESDR). Copenhagen, Denmark.
- 19) JUNKI UDA, MARIKO MORIYAMA, MASATAKE OSAWA, TAKAO HAYAKAWA, HIROYUKI MORIYAMA. BNIP3 PLAYS CRUCIAL ROLES IN THE DIFFERENTIATION AND MAINTENANCE OF EPIDERMAL KERATINOCYTES. Sept 22-26, 2014. Austrarian society for Dermatology Research (ASDR). Sydney, Australia.
- 20) 宇田純輝, 森山麻里子, 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64回日本薬学会近畿支部総会・大会.[口頭発表] 10/11, 2011, 京都薬科大学, 京都.
- 21) 雨宮有佑, 北野亮介, 古谷圭史, 村上健太, 森山麻里子, 早川堯夫, 森山博由. 日本の新薬承認格差の現状とその打開策についての検討. [ポスター発表]第64回日本薬学会近畿支部総会・大会. 10/11, 2011, 京都薬科大学, 京都.
- 22) 山田翼, 森山麻里子, 宇田純輝, 早川堯夫, 森山博由. BCL-2ファミリー分子BNIP3と表皮分化および形態維持機構との関連性. [ポスター発表]第64回日本薬学会近畿支部総会・大会. 10/11, 2011, 京都薬科大学, 京都.
- 23) 石原慎, 森山麻里子, 阪口公一, 上村充香, 大石実央, 大倉華雪, 松山晃文, 早川堯夫, 森山博由. 低酸素状態におけるNotchシグナルと解糖系の相関性. [ポスター発表]第64回日本薬学会近畿支部総会・大会. 10/11, 2011, 京都薬科大学, 京都.
- 24) 石濱里穂, 森山麻里子, 鈴木格, 早川堯夫, 森山博由. ヒト脂肪組織由来多系統前駆細胞(hADMPC)を用いたメラノサイトの作製. [ポスター発表]第64回日本薬学会近畿支部総会・大会. 10/11, 2011, 京都薬科大学, 京都.
- 25) 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. 新規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成. [ポスター発表]第64回日本薬学会近畿支部総会・大会. 10/11, 2011, 京都薬科大学, 京都.
- 26) 大森重成, 森山麻里子, 谷口祐紀, 深瀬堯哉, 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)を用いたドパミン産生細胞への誘導法の確立. [ポスター発表]第64回日本薬学会近畿支部総会・大会. 10/11, 2011, 京都薬科大学, 京都.
- 27) 道山 忠史, 森山 麻里子, 二宮 清文, Saowanee Chaipech, 村岡 修, 森川 敏生, 早川堯夫, 森山 博由. 悪性黒色腫細胞に対する *Shorea roxburghii* 由来オリゴスチルベノイドの影響. 第64回日本薬学会近畿支部総会・大会. 10/11, 2011, 京都薬科大学, 京都.
- 28) 北野亮介, 雨宮有佑, 古谷圭史, 村上健太, 森山麻里子, 早川堯夫, 森山博由. 再生医療製品実用化における規制制度の課題について. [ポスター発表]第64回日本薬学会近畿支部総会・大会. 10/11, 2011, 京都薬科大学, 京都.
- 29) 野村昇吾, 森山麻里子, 宇田純輝, 早川堯夫, 森山博由. 表皮構築過程におけるFoxo3aの関与. [ポスター発表]第64回日本薬学会近畿支部総会・大会. 10/11, 2011, 京都薬科大学, 京都.
- 30) 森山 麻里子, 宇田 純輝, 石濱 里穂, 大森 重成, 石原 慎, 曾根 千晶, 谷口 祐紀, 百合 祐

- 樹、早川 堯夫、森山 博由「贅肉は贅沢!? ヒト脂肪組織由来多系統前駆細胞の魅力」【講演】Nov 23, 2014, 第5回生命機能研究会, 甲南大学ポートアイランドキャンパス, 神戸.
- 31) 宇田 純輝、森山 麻里子、早川 堯夫、森山 博由. オートファジー制御関連分子 BNIP3 は表皮分化ならびに表皮形態維持に重要な働きをする. [口頭発表] Nov 23, 2014, 第5回生命機能研究会, 甲南大学ポートアイランドキャンパス, 神戸. **[最優秀口頭発表賞受賞]**
- 32) 大森重成, 森山麻里子, 谷口祐紀, 深瀬堯哉, 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) を用いたドパミン産生細胞への誘導法の確立. [ポスター発表] Nov 23, 2014, 第5回生命機能研究会, 甲南大学ポートアイランドキャンパス, 神戸.
- 33) 石濱里穂, 森山麻里子, 鈴木格, 早川堯夫, 森山博由. ヒト脂肪組織由来多系統前駆細胞 (hADMPC) を用いたメラノサイトの作製. [ポスター発表] Nov 23, 2014, 第5回生命機能研究会, 甲南大学ポートアイランドキャンパス, 神戸.
- 34) 百合祐樹, 森山麻里子, 早川堯夫, 森山博由. 新規ヒト脂肪組織由来多能性前駆細胞に存在する OCT4 陽性細胞は真の多能性幹細胞たりうるのか? [ポスター発表] Nov 23, 2014, 第5回生命機能研究会, 甲南大学ポートアイランドキャンパス, 神戸.
- 35) Junki Uda, Mariko Moriyama, Hiroyuki Moriyama, Takao Hayakawa. BNIP3 PLAYS CRUCIAL ROLES IN THE DIFFERENTIATION AND MAINTENANCE OF EPIDERMAL KERATINOCYTES. [Oral presentation] The 36th annual meeting of the molecular biology society of Japan. Nov 25-27, Pacifico-Yokohama, Yokohama, Japan.
- 36) Junki Uda, Mariko Moriyama, Hiroyuki Moriyama, Takao Hayakawa. BNIP3 PLAYS CRUCIAL ROLES IN THE DIFFERENTIATION AND MAINTENANCE OF EPIDERMAL KERATINOCYTES. [Poster presentation] The 36th annual meeting of the molecular biology society of Japan. Nov 25-27, Pacifico-Yokohama, Yokohama, Japan.
- 37) Shin Ishihara, Mariko Moriyama, Koichi Sakaguchi, Hanayuki Okura, Akifumi Matsuyama, Takao Hayakawa, Hiroyuki Moriyama. Role of Notch signaling in glycolysis regulation under hypoxic conditions. [Oral presentation] The 36th annual meeting of the molecular biology society of Japan. Nov 25-27, Pacifico-Yokohama, Yokohama, Japan.
- 38) Shin Ishihara, Mariko Moriyama, Koichi Sakaguchi, Hanayuki Okura, Akifumi Matsuyama, Takao Hayakawa, Hiroyuki Moriyama. Role of Notch signaling in glycolysis regulation under hypoxic conditions. [Poster presentation] The 36th annual meeting of the molecular biology society of Japan. Nov 25-27, Pacifico-Yokohama, Yokohama, Japan.
- 39) Riho Ishihama, Tadashi Michiyama, Hiroyuki Moriyama, Mariko Moriyama, Takao Hayakawa, Kiyofumi Ninomiya, Osamu Muraoka, Saowanee Chaipech^{1,2} and Toshio Morikawa. Inhibitory Effects of Oligostilbenoids from Bark of *Shorea roxburghii* on Malignant Melanoma Cell Growth: Implications for a Candidate of Novel Topical Anticancer Agents. [Poster presentation] The 36th annual meeting of the molecular biology society of Japan. Nov 25-27, Pacifico-Yokohama, Yokohama, Japan.
- 40) Chiaki Sone, Mariko Moriyama, Hanayuki Okura, Akifumi Matsuyama, Takao Hayakawa, Hiroyuki Moriyama. Transdifferentiation of human adipose tissue-derived multilineage progenitor cells into insulin-producing cells. [Poster presentation] The 36th annual meeting of the molecular biology society of Japan. Nov 25-27, Pacifico-Yokohama, Yokohama, Japan.
- 41) Junki Uda, Mariko Moriyama, Hiroyuki Moriyama, Takao Hayakawa. BNIP3 PLAYS CRUCIAL ROLES IN THE DIFFERENTIATION AND MAINTENANCE OF EPIDERMAL KERATINOCYTES. [Oral presentation] The 39th annual meeting of the Japanese society for Investigative Dermatology. Dec 12-14, Expopark-Hankyu Osaka, Japan.
- 42) Mariko Moriyama. BNIP3 Plays Crucial Roles in the Differentiation and Maintenance of Epidermal Keratinocytes. Looking to the future of Notch signaling. December 18th, 2014. Institute for Protein Research, Osaka University, Osaka, Japan.
- 43) Kiyofumi Ninomiya, Toshio Morikawa, Taku Matsumoto, Mayumi Sueyoshi, Seiya Miyazawa, Shunsuke Saeki, Saowanee Chaipech, Takao Hayakawa, Osamu Muraoka. Anti-inflammatory effects and mode of action of prenylcoumarins from Thai natural medicine *Mammea siamensis*. The 27th International Conference on Polyphenols (ICP2014), (Nagoya, Japan), 2014.9.
- 44) Toshio Morikawa, Ikuko Hachiman, Kiyofumi Ninomiya, Hisashi Matsuda, Yuki Hata, Kaoru Sugawara, Yuri Sakata, Masayuki Yoshikawa, Takao Hayakawa, Osamu Muraoka. Antiallergic principles from *Myristica fragrans*: inhibitors of degranulation and TNF- α release in RBL-2H3 cells. The 27th International Conference on Polyphenols (ICP2014), (Nagoya, Japan), 2014.9.
- 45) Tadashi Michiyama, Hiroyuki Moriyama, Mariko Moriyama, Takao Hayakawa, Kiyofumi Ninomiya, Osamu Muraoka, Saowanee Chaipech, Toshio Morikawa. Inhibitory effects of oligostilbenoids

from bark of *Shorea roxburghii* on malignant melanoma cell growth: implications for a candidate of novel topical anticancer agents. The 27th International Conference on Polyphenols (ICP2014), (Nagoya, Japan), 2014.9.

- 46) Kiyofumi Ninomiya, Toru Minamino, Kaiten Ozeki, Natsuko Matsuo, Chihiro Kawabata, Takao Hayakawa, Toshio Morikawa. Effects of constituents from hooks of *Uncaria rhynchophylla* on neurite outgrowth and TNF- α -induced cell damage. The 8th JSP-CCTCM-KSP Joint Symposium on Pharmacognosy, (Fukuoka, Japan), 2014.9.
- 47) 第四回ウィリアムハンコック賞 (4th William Hancock Award) 受賞 基調講演, On January 27-29, 2015 WCBP2015 (the CASSS Board). Mayflower Renaissance Hotel, Washington, DC.
- 48) 2015 IABS meeting [International Regulatory Endeavor towards Sound Development of Human Cell Therapy Products], Challenges for developing a minimum consensus package plus case by case approaches for evaluating cell therapy products. February 18-19th, 2015. Hitotsubashi Hall, Tokyo, Japan.
- 49) 2015 IABS meeting [International Regulatory Endeavor towards Sound Development of Human Cell Therapy Products], Specifications. February 18-19th, 2015. Hitotsubashi Hall, Tokyo, Japan.

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) 「再生医療等の安全性の確保等に関する法律」, 「再生医療等の安全性の確保等に関する法律施行令」及び「再生医療等の安全性の確保等に関する法律施行規則」の取扱いについて(平成26年10月31日医政研発1031第1号厚生労働省医政局研究開発振興課長通知)
- 2) 生物由来原料基準の一部を改正する件」(平成26年厚生労働省告示第375号);
- 3) ヒト幹細胞を用いる臨床研究に関する指針(平成25年厚生労働省告示第317号)
- 4) 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)
- 5) 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)
- 6) 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)
- 7) 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)

- 8) 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>)
- 9) 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
- 10) 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

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

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（gMSC）」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」の先進医療への道筋を描き、実用化を目指す。

B. 研究方法

2014年度は5月、10月、1月に「滑膜幹細胞を原材料とする軟骨移植材（gMSC）」の薬事戦略相談を実施。また、国際学会「World Stem Cell Summit 2014」（米国・サンアントニオ、12月）で再生医療の非臨床・臨床研究について情報収集を行った。

C. 研究結果

大阪大学未来医療センターCPCにおいて、臨床試験に供する検体の製造場所として、模擬的な治験薬GMP査察を1月に実施し、PMDAによる指導・助言を受け、情報収集を行った。その結果、移植体の製造においては、高いレベルのペリフィケーションが必要となることを確認した。ペリフィケーションとは、検査や、特定の要求事項が満たされるということ客観的証拠で確認をすることである。欧州・北米ではこれに対応したシステム構築が進んでいる。国内は、品質は良質であるにもかかわらず、ペリフィケーションの不足により製造に供する材料として選択できない事例があり、諸外国に比べて立ち遅れていると考える。

D. 考察

細胞は培地や材料の影響を受けてその性質が変わることから、製造材料が重要視されると考える。材料において、一貫性のある優れた品質のものを選択し、品質に関する明確な文書を収集し、さらにそ

のことを文書化することが、治療の品質を保証するという観点で重要であると考え。品質基準に個体差がある血清成分はこの対応が難しいと考える。

E. 結論

先進医療として「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」を実施し、普及をめざすにあたっては、治療データの分析等を行うことと並行して、ウシ血清を用いた製造方法を、一貫性のある品質であり、そのことが明確な文書で証明できる無血清培地を用いた製造方法に切り替えることが課題となる。また、培地や洗浄液、細胞剥離剤、細胞保存液等を精査し、ペリフィケーションの観点から選択することも課題となる。

従って、本研究で実施した「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」の臨床研究をブラッシュアップさせて承認を得ることが、先進医療での実施の近道であり、最適な筋道であると考え。

F. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 研究発表

- 1) 2014/3/4; 無血清培地 STK1 及び STK2 を用いて増殖したイヌ滑膜由来間葉系幹細胞の特徴と他家移植による軟骨修復; 第 13 回再生医療学会総会; 前田悟, 森川寛, 長谷川森一, 邵金昌, 大森亜樹, 北山唯, 高尾昌人, 三木慎也, 印南健, 松下隆, 辻紘一郎
- 2) 2014/3/5; 軟骨組織再生治療材 gMSC (guaranteed MSC) の保存条件の検討; 第 13 回再生医療学会総会; 岩本佳央梨, 邵金昌, 長谷川森一, 鈴木美紀, 松本昌也, 前田悟, 桂由紀, 北山唯, 谷川俊輔, 加藤幸夫, 辻紘一郎

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・改良に関する研究

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

自己滑膜間葉系幹細胞を用いた軟骨再生治療の低侵襲の移植手技の確立のための調査、研究を行った

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

自己滑膜間葉系幹細胞由来人工組織（TEC）を用いた軟骨再生治療の低侵襲手術手技確立のための調査・研究を行なうことである。

B．研究方法

TECを用いた軟骨再生治療の低侵襲手術手技確立のため、新しい外科手術の創出と共に、国内外の現状把握並びに情報交換を行った。

（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

C．研究結果

TECを用いた軟骨再生治療の低侵襲手術手技方法を完成し、今後それを実践していく。

D．考察

TECを用いた軟骨再生治療の臨床応用の場で、出てくる可能性のある問題に十分留意し、情報収集する必要がある。

E．結論

今後、TECを用いた軟骨再生治療の臨床応用を、実践していく。

F．健康危険情報

なし

G．研究発表

1. 論文発表

AP-SMART 1:42-46, January 2014

Bone Joint Res. 3:241-5, 2014

J Orthop Sci. 19:925-32, 2014

J Orthop Traumatol. Jun 4, 2014

KSSSTA, Jul 1, 2014

2. 学会発表

APKASS meeting (2014.4, Nara)

ESSKA Congress (2014.5, Amsterdam)

JOA 2014 (2014.5, 神戸)

JOSKAS2014 (2014.7, 広島)

ASPI Congress (2014.8, Tokyo)

H．知的財産権の出願・登録状況

（予定を含む。）

なし