

201406021A(1/2)

厚生労働科学研究費補助金

再生医療実用化研究事業

ヒト幹細胞を用いた再生医療の  
臨床実用化のための基盤構築に関する研究

平成26年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 中井 謙太

平成 27 (2015) 年 3 月

1 / 2 冊

# 目 次

(1/2冊)

## I. 総括研究報告

ヒト幹細胞を用いた再生医療の臨床実用化のための基盤構築に関する研究 中井 謙太 (東京大学医科学研究所) .....	3
---	---

## II. 分担研究報告

1. 統括・情報基盤 .....	11
中井 謙太 (東京大学医科学研究所)	
2. 臨床情報提供 .....	17
今井 浩三 (東京大学医科学研究所)	
3. 情報システム・情報解析 .....	28
藤渕 航 (京都大学iPS細胞研究所)	
4. 分化誘導 .....	36
中畑 龍俊 (京都大学iPS細胞研究所)	
5. 臨床用ヒトES細胞株の樹立 .....	45
中辻 憲夫 (京都大学再生医科学研究所)	
6. iPS細胞等分化誘導 .....	49
岡野 栄之 (慶應義塾大学)	
7. ES細胞のマニピレーション .....	65
梅澤 明弘 (国立成育医療研究センター 再生医療センター)	
8. 輸送 .....	68
西田 幸二 (大阪大学)	
9. 移植、分化誘導 .....	72
高橋 政代 (理化学研究所 多細胞システム形成研究センター)	
10. 体性幹細胞分化誘導 .....	75
大和 雅之 (東京女子医科大学 先端生命医科学研究所)	

III 研究成果の刊行に関する一覧表 .....	85
--------------------------	----

IV. 研究成果の刊行物・別刷 .....	105
-----------------------	-----

# I. 総括研究報告

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

研究分担者

中井 謙太

東京大学医科学研究所 教授

研究要旨

本研究の目的は、ヒト等の幹細胞を用いた再生医療技術の早期実用化に向け、再生医療に関わる我が国の研究機関がセキュアな情報共有を図ることによって、オールジャパンともいべき体制で新しい研究を触媒し、加速させるための情報基盤を構築することである。平成26年度は、システムの継続的運用を見すえ、一部再構成を行うなどして、完成度を向上させ、また新たなメンバーが最小の必要経費で参加できることを目指したクラウド等の仕組みを整備した。また、システムを利用した班員所属拠点間の情報共有を促進するために、中核拠点主導で17の共同研究を展開した。システムに蓄えられたデータの横断的解析による新知識獲得でも成果をあげ、再生医療新法などの要請にこたえる形で、実験ノートや標準手順書等の研究データの電子化推進にも尽力した。

A. 研究目的

現在、国内での再生医療に関する研究開発の多くは、研究機関単位で自立的に行われている。その結果、研究機関同士での情報共有・活用が十分でなく、研究の加速の妨げとなっている。例えば、ある研究機関に存在するデータはその場での関心の下でしか価値判断されないため、多角的な分析が十分に行われないうまま埋もれてしまうケースや、他の機関との研究の重複によるリソースの浪費、研究内容の相違の確認に基づく研究の深化の実施不能等の課題が存在する。さらに今後、国内の研究機関において再生医療の臨床応用に向け治験などの手

続きが急増することが予想されるが、その際に必要な知識や経験が研究機関間で十分に共有されないと、現場の研究者に不必要な労力を強いてしまい、結果的に臨床実用化を遅らせることにもなりかねない。このような構造的な課題を乗り越え、早期の臨床応用実現と持続的研究開発能力を確保するためにも、自律分散した研究機関間の連携を情報通信技術等の活用によって図り、機関間で研究結果の効率的活用を行う、一種の Open Innovation 環境を構築することが不可欠である。そこで、本研究ではヒト等の幹細胞を用いた再生医療技術の早期実用化に向け、再生医療に関わる我が国の研

究機関が情報共有を図ることによって、オールジャパンともいうべき体制で研究を加速させるための情報基盤の構築を目的とする。

## B. 研究方法

### 1. システムの運用・整備・再編成

計算機の利用に不慣れな利用者への対応をきちんと行い、システムを安定的に運用した。利用者からの要望を反映させた形でシステムをより安全で使いやすくするために、ソフト開発、セキュリティ規定の整備、倫理申請手順の整備などを進めた。また、システムの継続的な運用を見すえ、セキュリティを犠牲にしない範囲で、データセンターのサーバの一部を中核拠点に移設したり、システムの利用ログ管理の一元化を行ったりした。

### 2. データ共有と再利用の活性化

もともとの研究計画では、的を絞らないデータを様々に共有することで、自然発生的に再利用や共同研究が進むことを期待していたが、評価委員会からのご意見もあり、またある程度システムを活用してもらうことから始めた方がよいとも考え、中核拠点主導で班員同士、拠点同士の共同研究を積極的に企画した。

### 3. ポストプロジェクト体制の模索

本研究で構築しているシステムを持続的に維持していくために、現班員以外の研究者が追加費用をできるだけ抑えた形で参加できるようにする方策（準会員制度）をハ

ード・ソフト両面で検討し、意欲のある若手研究者との交流を進めた。また、将来の企業からの参加の可能性も見すえ、そのニーズを探った。

### 4. データマイニングその他

デポジットされたデータを IT 技術を使って横断的に検索・解析し、新しい知見を得るための研究を行った。また、再生医療新法の要請などにこたえるために、過去の実験ノートなどの一次資料を電子化して保存するためのプロトコルなどを開発し、試験的に情報を蓄え始めた。

(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低いと考えられるが、本研究に従事する者全員が従う旨の誓約書を提出することになっているデータ共有・公開に関するルールで以下のように定めている。

(データ共有時において、情報共有システムの) 情報管理者は、国の研究倫理指針の対象となるデータが共有又は公開される場合、情報システムへの提供前に、データ提供者の所属機関の倫理審査委員会において審査を受け、承認されていることを確認しなければならない。

また、本研究では、研究倫理等に関する専門家を含む専門委員会 (ELSI 委員会) を擁しており、研究上のさまざまな問題に関

して助言を受けることができる体制にある。

さらに、上述のように、本研究では機動的にデポジットされたデータを介した共同研究を行うので、必要な倫理申請手続きにかかる時間をできるだけ少なくすることが、研究そのものの目標の一つになっている。

ここ数年間の試行錯誤でかなり手続きの流れもこなれてきたが、三者以上の拠点に関係する場合は手続きが依然として複雑であるために、適切に管理された知財ガイドラインとセキュリティを担保として、共通のデータベースを利用するという包括的な形式を認めてもらえるように、各拠点の倫理担当部局と協議するなど、所定の手続きを踏みつつ、研究の実を上げるために努力している。

## C. 研究結果

### 1. システムの運用・整備・再編成

第一線の研究者が安心して効率的に情報共有を行えるように、システム説明会（今年度は2回）や日々の相談などを通して班員（現場の研究者を含む）からの要望を聞き、システムの安定的運用と改善に努めた。詳細は中核拠点としての報告書にゆずるが、今年度は4種類のソフトウェア開発・改良を行った。また、前年度に引き続き、より下位層の（現場に近い）セキュリティ規定の整備を行い、パイロット的に中核拠点と1箇所の分担者所属拠点（東大医科研病院）において、セキュリティ監査を実施した。

上述のように、3拠点以上が関与する場合の倫理申請手順の大幅スピードアップを実現した。また、システムの継続的な運用を見すえ、セキュリティを犠牲にしない範囲で、札幌の外部データセンターにおいているサーバの一部を中核拠点に移設した。

### 2. データ共有と再利用の活性化

システムの利便性が向上したこともあり、現在17の拠点間共同研究が進行中である。中でも、当初班員からのそれぞれ独立な発案により計画された、間葉系幹細胞の品質変化に関するマーカー遺伝子探索研究と、同一株由来のES細胞の培養条件等の違いによる性質変化の比較研究が融合して、データ共有班員が拡大しているのは、本システム利用の特徴的成果と言える。理化学研究所拠点から提供されたiPS細胞臨床試験のための申請書類も、共有を開始している。さらに、再生医療のいわゆるウェット研究に対して、大量データのコンピュータ解析を伴うドライ研究を融合させるという観点からみても、論文投稿・発表段階まで進んだものがいくつか出ている。また、論文発表はまだだが、細胞の分化万能性をみるテラトーマ作成実験結果の画像データを収集したデータベースOpenTeinを構築し、外部に公開した。このデータは今後の画像解析研究のための有用なリソースになると期待される。

### 3. ポストプロジェクト体制の模索

いわゆる準会員制度を実現するために、ownCloudというシステムを導入した。通常の商用クラウドサービスが、どこにデー

タを置いているのかわからないという、セキュリティ上の不安を抱えているのに対して、このオープンソースのソフトウェアでは、自前の計算機システム内部で専用のオンラインストレージを実現するものであり、安全性の点で優れている。ただし、本格的運用を行うためには、単にハード的な設定を整えるだけではならず、運用体制の充実や規則の整備などが必要であるため、実際の運用実験は次年度の課題とすることとしたが、「つくしの会」なる幹細胞若手研究者の会との交流を通して、本プロジェクトへの積極的参加を希望する若手研究者を数名スカウトしている。また、将来少しでも自律的運用に近づけていくためには、企業会員に有料で参加してもらう形が望ましいと考え、FIRM や iPS 細胞ビジネス協議会の関係者との交流を通して、関連企業のニーズを調査した。その結果、今後の国のガイドライン策定のための基礎データ収集という点では、我々と企業の関心が大きくオーバーラップすることを見出した。

#### 4. データマイニングその他

以前から開発してきた、細胞間の類似性をその遺伝子発現プロファイルの比較により判定。検索するシステムのうち、検索を公共データに対して行うパートを外部公開し、非公開データ（約 100 サンプル）を横断的に検索するパートを内部向けに整備している。また、体内の種々の細胞の遺伝子発現パターンを多次元空間に投影し、がん細胞のそれと合わせて表示してみたところ、別班員提供の論文未発表の幹細胞の一部が

がん細胞と似ていることが予想外に発見された。これは今後の幹細胞やその誘導細胞の移植を行う際の造腫瘍性をあらかじめ、遺伝子発現情報から予測できる可能性を示すもので、新しい共同研究として展開中である。

#### D. 考察

本研究の評価委員会からは、本研究が予算規模に見合うだけのデータの蓄積や再利用が十分に実現していないのではという厳しいご意見を頂戴している。研究代表者ももっと指導力を発揮しなさいというご意見も以前頂戴した。これらのご批判は真摯に受けとめているが、もともと本研究が4年前に開始された時から、本研究は指定研究であり、研究分担者の顔ぶれも、予算額も初めから決まっていたことは指摘しておきたい。研究分担者は、いずれも再生医療分野において優れた実績をもち、年齢もほとんどが研究代表者より上であったのに対して、研究代表者は再生医療分野には新参者で、分担者とはほとんど面識もなかった。そのような立場で、分担者の先生方に「強い指導力」を発揮することは難しく、むしろ（北風政策でない）太陽政策をとることが有効であると考えられる。しかし、この政策の欠点は成果がでるまでに時間がかかることである。もちろん、たとえば研究の3年目などの機会をとらえて、最初から共同研究実績のあるグループにメンバーになってもらうなどの方策をとれば、見かけ上、データの蓄積や共同研究の実績はもっと顕

著なものになったはずである。しかし、本研究の目標は、再生医療の研究者に広く使っていただくための汎用的システムの構築であったため、あえてプロジェクトに対して温度差のあるメンバー構成を保ち、粘り強くシステムに対する信頼感の醸成に努めてきた。その結果、すべての分担者からの協力体制を築き上げ、17件ほどの共同研究が立ち上がるころまで来ている。再生医療研究とゲノム科学研究との融合という点でも先駆的な貢献をしてきた。また、プロジェクト開始の2年には、現在の数倍もの規模の予算がついていたことを考えると、一概に現在のシステム維持経費が多額に過ぎると言うこともできないのではなかろうか。単なる自画自賛になることは慎まなければならないが、本研究は現在の予算枠で扱われている他の研究とは大きく性格を異にするものであり、そのことに起因する数々の困難を乗り越え、十分な成果をあげていることは、この報告書からも明らかであると、ここで再度訴えたい。

#### E. 結論

ヒト幹細胞とそれに基づく再生医療研究については、非常に注目度が高く、その日々の進歩はマスコミを通して過剰なほどに報道されている。しかし、個々の研究室の規模は医療に求められる信頼性を確保するには小さ過ぎ、再生医療の一般化・実用化への壁が懸念される。我々は次世代の再生医療研究に必要なキーワードの一つは「IT技術を用いた情報共有と研究の情報科学化」

であると考えている。これによって、たとえば、再生医療研究にビッグデータ情報解析技術を応用したり、複数の研究室がデータを出し合って、幹細胞研究の品質管理基準をつくったり、研究成果を産業化していったりすることが加速していきはざである。本研究は、この「情報共有型再生医療研究」とも言うべき新しいアプローチを先導してきた。残り1年でそのための体制を、その後の運用を意識した完成形にもっていきたい。

#### ★健康危険情報

特になし

#### F. 研究発表

1. 論文発表  
(各班員の報告を参照されたい)
2. 学会発表  
(各班員の報告を参照されたい)

#### G. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得  
(各班員の報告を参照されたい)
2. 実用新案登録  
(各班員の報告を参照されたい)
3. その他  
(各班員の報告を参照されたい)

## II. 分担研究報告

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

研究分担者

中井 謙太

東京大学医科学研究所 教授

研究要旨

研究代表者として行った主な活動は、総括研究報告書に記した。それ以外の活動を研究分担者としての活動とすると、それらは（一部は総括班報告書とも重複するが）、システム管理に伴う諸々の懸案事項の解決、システム再編成などに関する仕様策定、ソフトウェア開発、インシデント対応などの情報セキュリティ対策実施手順書等の策定、ヒトゲノムに関する倫理問題への対応、班員との共同研究におけるデータ解析とデータベース構築などである。これらの努力により、情報共有や再利用の実績が飛躍的に伸び始めた。また、本研究計画終了後の運用体制を見据えたシステムの再構築に関しても、助走を開始できた。

A. 研究目的

ヒト等の幹細胞を用いた再生医療技術の早期実用化に向け、再生医療に関わる我が国の研究機関が情報共有を図ることによって、オールジャパンともいえるべき体制で研究を加速させるための情報基盤の構築を目的とする。

黒澤 隆（契約関係・ソフトウェア担当、  
情報管理者）

込山悠介（ソフトウェア・システム設計担  
当）

齊藤友紀（事務・報告書担当）

鈴木 穰（シーケンシング担当）

朴 聖俊（研究担当）

福岡良忠（アドバイザー・関西拠点対応担  
当）

B. 研究方法

0. 中核拠点におけるスタッフ

中核拠点における研究を主に担ったスタッフは以下の通り（五十音順）：

足立美保子（研究倫理・データキュレーション・研究担当）

池田恵美（システム管理担当）

Liang, Kuo-ching（研究担当）

この他、中核機関に所属する多くの関係者、特に武藤香織教授、神里彩子特任准教授から多大なご支援をいただいた。

1. システムの日常管理

システムの日常管理は、ハードウェア・

ソフトウェア保守と運用および管理支援（稼働維持支援）業務を業者に委託した上で、上記の関係スタッフが行った。2週間に一度の合同の打合せを行ったほか、毎週中井研究室の関係者の間で打合せを行った。

## 2. システム再編成に関する仕様策定

札幌データセンターにあるサーバの一部を中核拠点に移設した他、準会員制度導入などに向けて、データ共有・ログ収集及び管理システムの構築、並びにメール環境の構築を行った。

## 3. ソフトウェア開発

前年度に開発した遺伝子発現プロファイルによる細胞の類似性検索システムを外部公開用と内部公開用に機能分化させたほか、3点のソフトウェアを開発し、基盤システム中への実装を行った。

## 4. セキュリティ対策実施手順書策定等

昨年度までに、情報セキュリティに関する運用基本方針や運用・管理規定などを整備してきたので、今年度はさらに具体的なインシデント対応などのセキュリティ対策実施手順書類を整備し、さらにそれらに基づき、一部の拠点に対してパイロット的な監査を行った。

## 5. 倫理問題への対応

本プロジェクトでは、デポジットされたデータの山からいわゆるセレンディピティ的に新しい発見をして、データの再利用や共同研究に進んでいくのが理想であり、そのために倫理審査などによる時間の停滞はできるだけ避けたいところである。そこで、拠点の倫理担当者との協議する等して、より

簡便な手続きで共同研究に進めるように努力した。

## 6. データ解析とデータベース構築など

今年度は分担者が本研究費で行ういわゆるウェット実験については、原則として拠点間でデータを持ち寄って行う共同研究に限ったが、それらのデータの解析はもちろん、本研究費によらない研究データの解析などにも参加した。

## 7. 実験ノートの電子アーカイブ化推進

過去の紙媒体で保存されている大量の実験ノートを電子化し、アーカイブ化するための研究を行った。

（倫理面への配慮）

上述のように、倫理面への配慮は、中核機関と拠点機関におけるそれぞれの倫理委員会と、密接に連携をとることによって、遺漏のないように万全を期した。

## C. 研究結果

### 1. システムの日常管理

システムの日常管理では年間 200 件近い数のユーザからの問い合わせに対応する必要があり、その他、障害対応や予防保守作業など、予算の関係で十分に外注業者からの支援を受けることができない状態の中で、日々のシステムの安定稼働を実現している。その他、今年度は年 2 回のユーザ説明会なども実施して、利用者からの生の声に耳を傾けている。

### 2. システム再編成に関する仕様策定

以下で、三項目に分けて説明する。

(i) データ共有では基盤システムの利用者は研究事業の各拠点所属の者に限られてきた。しかしながら、これでは全国で広く使われている再生医療の基盤システムとはいえない。そこで、利用者の拡充を図るために中核拠点においてネットワークを分離し、既存システムのセキュリティを担保した上でプライベート・ストレージ・クラウド（ownCloud）をシステムに導入した。これによって、PC・タブレットから Web ブラウザや専用クライアントアプリを使い、インターネット経由でのデータの保存やグループ内外での共有が容易になった。一般の無償のプライベート・ストレージ・クラウドとの違いは、中核拠点においてユーザ登録やデータの所在が制御・管理されている点である。

(ii) ログ収集・管理システムでは、基盤システム全般の Linux/Windows サーバおよびファイアウォールのシステム、通信、アプリケーションのログ等を一元的に集約し、膨大な量のシステムイベントの検索・解析を可能にした。システムの状態監視を可視化した。これによって、インシデント時に過去ログを検索し原因を迅速に追求できるようになった。また、ログの可視化によって将来的なスケーラビリティの予測も可能になり、将来の利用者増加に備えることができるようになった。

(iii) メール環境の構築では、基盤システムの VPN（Virtual Private Network）中から、外部メールサーバと電子メールを送受するための、ネットワークの論理構成やサーバ

ソフトの環境設定を行い、公開に向けた準備を整えた。これによって、基盤システムの解析サーバやアプリケーションでの計算結果を、外部メールサーバへ送信できることが可能になり、ユーザの利便性が向上した。

### 3. ソフトウェア開発

以下、今年度に開発した 3 点について記す。

(i) 『実験データの共有とアプリケーションの集約に向けた統合システムの開発』では、前年度にプロトタイプを設計した統合システムを、実際の基盤システム上で稼働させるための開発を行った。これによって、データ登録から共有までのプロセスが Web ブラウザ上で実現された。また、プロジェクトのポータルサイトとしてシングルサインオン・システムを持たせたことで、一度のログインで他の開発ソフトウェアも利用できるようになった。

(ii) 『再生医療における電子標準作業手順書作成・管理・運用支援システムの次世代化』では、細胞調整センター（Cell Processing Center）内で標準作業手順書（SOP: Standard Operating Procedure）にもとづいて実験・作業を行う際に、タブレット端末で電子的に記録を取るためのシステムを開発した。また、その標準作業手順書の編集・認可プロセスにおいても PC の Web ブラウザ上で実現されたことで、迅速な処理が可能になった。また、これに関連して、数名の班員から提供を受けたサンプルの SOP を集めて、将来のライブラリづくりのひな形とした。

(iii) 『ユニバーサル実験画像ビューワの開発』では、実験画像データや実験ノートのアーカイブを目的とした画像閲覧ソフトを開発した。閲覧ソフトに登録された画像はテーマごとに自由に再編纂することができ、集めた画像には図形やコメントなどのアノテーションを付けて閲覧・保存することが可能である。これにより、これまで困難であった実験画像データに関する知識構造化および知識共有を支援することができるようになった。

#### 4. セキュリティ対策実施手順書策定等

以下の手順書を整備した。

- (i) インシデント対応手順
- (ii) システム変更管理手順
- (iii) ハードウェア、ソフトウェア資産管理手順
- (iv) 情報資産取扱手順
- (v) システム利用基準
- (vi) 職場環境セキュリティ対策基準
- (vii) ソフトウェア開発管理基準
- (viii) 外部委託先管理手順
- (ix) サーバルーム・セキュリティ対策基準
- (x) ログ管理手順(補足資料付き)
- (xi) 内部監査手順
- (xii) 是正処置手順

また専門業者に一部の拠点（中核拠点と医科研病院拠点）に対して監査を実施した。来年度は今年度の経験を踏まえ、全拠点で実施して、システムの安全性を高めていく。

#### 5. 倫理問題への対応

これについては、総括班の報告書で述べたので、ここでは割愛する。

#### 6. データ解析とデータベース構築など

各データ解析については、それぞれの共同研究相手の報告書を参照されたい。

ここで特筆しておきたいのは、主に国立成育医療研究センター拠点との共同研究によって開発した、テラトーマ画像データベース OpenTein である。このデータベースの大きな特徴は、画像データ管理ソフトを自前で開発したことであり、そのため、ソフトを必要に応じて手直ししたり、発展させていったりすることが容易である。また、画像表示が商用ソフト並に高速なことも、利用者から評価されている。データベースはすでに一般に公開されており、今後さらに改良を重ねていく予定である。

#### 7. 実験ノートの電子アーカイブ化推進

中核拠点に比較的安価なスキャナーを導入し、部屋の照明の具合などを含む条件検討を行い、学生がアルバイトなどでノートのスキャンを行った場合でも一定の品質が得られるような手順を策定した。これに基づき、提供を受けた実験ノートのスキャン実験を行い、A4 サイズで合計 6324 ページ分のスキャンデータを蓄積した。

#### D. 考察

評価委員会からもお問い合わせいただいているので、ここで現時点での本プロジェクト終了後のあり方について、簡単に述べておきたい。

まず、収集するデータ範囲についてであるが、上述のように、これまではいわゆる予期せぬ発見（セレンディピティ）を狙っ

て、収集するデータの種類には制限をつけてこなかったが、閲覧の容易性やデータマイニング研究の効率などを考えると、収集すべきデータをもう少し絞ることが有益であろう。そこで、平成 28 年度以降は、間葉系幹細胞等の体性幹細胞の臨床応用に関する共通基盤的情報、たとえば幹細胞の継代を重ねた時等、様々な条件に対する品質評価情報などの再生医療の安全性や信頼性を担保するのに有用な情報、に焦点を絞ることとしたい。

次に、データ利用者の範囲についてであるが、これも上述したことだが、意欲的な若手研究者（ドライ系を含む）の参加を募る他に、企業研究者の参加を模索したい。できれば、再生医療イノベーションフォーラム（FIRM）のような業界団体と協力関係を築きたい。さらに可能なら、PMDA 等、規制当局関係者にも参加してもらって、このシステムを通して、産官学が情報交換できるようにしていきたい。

最後に、システム維持に必要な予算についてであるが、100%国からの支援なしでやっていく見通しは立っていない。現時点でできることは、システム構成の見直しなどを通して、維持経費をできるだけスリム化することと、扱う情報を企業参加者にとって魅力的なものにすることによって、企業会員から何らかの形で参加費用を徴収する可能性を検討することである。このようなことを行うためには、組織自体の形態も検討する必要がある。これらの努力は、平成 27 年度に行う予定である。

## E. 結論

本研究は、従来の再生医療研究プロジェクトとはかなり異質な性格をもっており、これまで4年間にはかなりの混乱や苦労があった。しかし、班員一同と関係するスタッフ諸氏らの献身的な努力により、システムもほぼ完成し、これを通じた成果も続々とあがりつつある。平成 27 年度はこの流れを完成させるとともに、それ以後のあり方をきっちり設計し、それに合わせてモデルチェンジをしていきたい。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) Sung-Joon Park, Terumasa Umemoto, Mihoko Saito-Adachi, Yoshiko Shiratsuchi, Masayuki Yamato, and Kenta Nakai, Computational promoter modeling identifies the modes of transcriptional regulation in hematopoietic stem cells, *PLoS One*, **9**(4), e93853 (2014).
- 2) Yosvany López, Alexis Vandebon, and Kenta Nakai, A Set of Structural Features Defines the *Cis*-Regulatory Modules of Antenna-Expressed Genes in *Drosophila melanogaster*, *PLoS One* **9**(8), e104342 (2014).
- 3) Sung-Joon Park, Katsuhiko Shirahige, Miho Ohsugi and Kenta Nakai, DBTMEE: a database of

transcriptome in mouse early embryos. *Nucl. Acids Res.*, **43**, D771-776 (2015).

- 4) Ayako Suzuki, Hiroyuki Wakaguri, Riu Yamashita, Shin Kawano, Katsuya Tsuchihara, Sumio Sugano, Yutaka Suzuki, and Kenta Nakai, DBTSS as an integrative platform for transcriptome, epigenome and genome sequence variation data. *Nucl. Acids Res.*, **43**, D87-91 (2015).
- 5) Sung-Joon Park and Kenta Nakai, Computational inference of gene regulation from whole-transcriptome analysis of early embryos (review). In I. Ivanov, X. Olan, and R. Pal eds., *Emerging Research in the Analysis and Modeling of Gene Regulatory Networks*, IGI Global, in press.

## 2. 学会発表

(以下は学会組織ではない研究会での発表であるが、参考までに記す)

- 1) 朴 聖俊, 「プライベートクラウドでつながりませんか?」, 第二回 幹細胞若手の会, 2014年11月26日 於 横浜みなとみらい
- 2) 中井謙太, 『iPS細胞や再生医療研究を加速するための情報共有』, シリー

ズ「薬づくりの新しいR&Dモデルを探る」, 第6回「トランスレーショナルリサーチを加速する～研究者の視点から」, 2015年1月8日 於 東京大学医科学研究所

- 3) 中井謙太, 『iPS細胞や再生医療研究を加速させるための情報共有システム』, iPS細胞ビジネス協議会 第13回 情報交換会, 2015年1月16日 於 京都市リサーチパーク

## G. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)

1. 特許取得  
該当無し
2. 実用新案登録  
該当無し
3. その他  
無し

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

研究分担者

今井浩三

東京大学医科学研究所 特任教授

研究要旨

医科研病院拠点では、歯槽骨再生プロジェクトと関節再生プロジェクトを進めようとしている。本年度は、研究費の削減により、前者についての研究を主としてすすめた。改良されたプロトコルを用いた第2世代歯槽骨再生臨床研究を実施中であり、本年度第I相15症例全例への中間評価が終了した。これまでのところ安全性に関する問題はなく、15例全例で骨再生が得られている。臨床研究に関する安全性データ、細胞データ、臨床データについては、ヒトゲノム倫理審査委員会およびヒト幹細胞委員会の承認を得て、本データベースへの提供を行った。また、間葉系幹細胞の品質管理に関する新たな基準を作成するため、遺伝子発現とゲノム解析に関する研究を計画した。ヒトゲノム倫理審査委員会にて承認を受け、ヒト骨髄由来間葉系幹細胞とヒト臍帯由来間葉系幹細胞の網羅的遺伝子発現解析を行い、データベースへの提供を行った。これらのデータについては拠点間での共有を可能とし、他の体性幹細胞に関するデータベースとの比較を行うことで、細胞劣化および骨分化の指標となる複数のマーカーを抽出した。また、再生医療の臨床研究および実用化を支援する技術として、細胞調製施設（CPC）内作業手順および承認作業を電子化し、ペーパーレスにて行うためのソフトウェア開発協力と、実験ノートの電子化に関する協力を行った。

研究協力者

各務 秀明 東京大学医科学研究所

分子療法分野・特任准教授

安全性、有効性および品質を有するヒト幹細胞治療の研究開発を行なっている。臨床研究を通じて蓄積された安全性データや細胞に関するデータを提供することで、体性幹細胞を用いた臨床研究の推進に貢献する。再生医療実用化支援技術として、治療用細胞の品質管理基準作成のため、ゲノム解析研究者との共同研究によって、網羅的

A. 研究目的

歯槽骨再生プロジェクト

本プロジェクトでは、体性幹細胞を用いた骨再生の基礎・臨床研究を通じて、高い

遺伝子発現に関するデータベースを構築して研究者に提供するとともに、品質管理に有用なマーカーに関する検討を行う。さらに、細胞調製作業を細胞調製施設内でペーパーレスで行なうためのソフトウェアの開発支援を行なう。以上の研究を通じて、再生医療の臨床研究および早期実用化を促進する。

## B. 研究方法

### 1. 歯槽骨再生プロジェクト

#### 1) 臨床研究

医科研拠点では、これまで自家骨髄間質細胞（間葉系幹細胞）を用いた歯槽骨再生治療の基礎および臨床研究を行ってきた。平成16年から21年までに第1世代となるプロトコルを用いた第I相臨床研究を行っており、平成23年からは、第1世代プロトコルの問題点を解消し、安定した骨再生の実現を目指した改良型の第2世代プロトコルによる新たな臨床研究を、ヒト幹細胞指針に基づいて実施している。本臨床研究は、高度の歯槽骨萎縮症患者を対象とし、顆粒状の担体に対して最適化された自家骨髄間質細胞の培養、分化誘導条件を用いて、「培養骨」の安全性と歯槽骨再生能を評価するものである。第I相試験における主要エンドポイントは安全性、副次エンドポイントは骨生検における骨形態計測量である。臨床研究申請時に必要とされる細胞の安全性データ、臨床研究時に得られた培養細胞の形態、増殖、分化に関するデータ、臨床研究の評価に関するデータを病院拠点サーバ

ーを通じて本プロジェクトのデータベースへ入力し、一部を共有とすることで再生医療研究の進展に寄与する。

#### 2) 網羅的遺伝子発現解析、ゲノム解析による骨髄間質細胞（間葉系幹細胞）の新たな品質管理手法の開発

再生医療において必要となる細胞機能や分化能（骨分化能）については、現在品質管理上有用な指標に乏しい。網羅的遺伝子発現およびゲノム解析により細胞の個体差の原因を探るとともに、骨髄間質細胞に共通した品質管理マーカーの選択を試みる。具体的には細胞劣化の指標として、1継代および4継代の細胞について比較を行う。また、分化誘導による遺伝子発現についても比較を行う。同様に医科研病院拠点内細胞リソースセンターにて提供される臍帯由来間葉系幹細胞についても3継代と10継代の細胞を用いて遺伝子発現解析を行い（それぞれ9サンプル、計18サンプル）、品質劣化につながるマーカー遺伝子意の検索とともに、データベースへの提供を行う。さらに、拠点内で体性幹細胞に関する遺伝子発現データを共有し、拠点内バイオインフォマティクスの研究者との共同研究により、それぞれの幹細胞に特有なマーカーや共通するマーカーを抽出し、その利有用性について検討を行う。

#### 3) 細胞調製施設（CPC）内作業手順および承認作業に関するペーパーレス化の検討

細胞調製施設（CPC）内における作業には標準手順書が必要となり、またGMP基準に準拠して行なうため、作業員以外の第

3者による確認手順、および責任者による承認のステップが必要となる。これまでは印刷物を用いた確認作業や承認が行なわれていたが、細胞調製施設内への紙の持ち込みは好ましくなく、またバージョン管理も複雑になるなどの問題や、記録の長期保存をどのように実施するかという問題があった。臨床研究に実際に使用されている標準作業手順書を提供するとともに、本プロジェクトのために開発されたソフトウェアを用いて既存の作業手順および承認手順をペーパーレス化するための検討を行ない、ソフトウェアの改善を通じて実用的なプログラムの提供につなげる。

(倫理面への配慮)

動物実験を行なう際には、動物に苦痛やストレスを与えないように細心の注意を払い動物に対する尊厳を重んじて実験に供する。前提としてRussell とBurch の3R 思想を念頭に計画し実行する。

- (1) Replacement (代替) : 動物個体を使わず培養細胞を用いることで代替できるものは、細胞培養法を用いて結果を出すよう努力する。
- (2) Reduction (縮小) : 適切な実験動物数で実験を行う。
- (3) Refinement(洗練) : 人道的に適切な実験手技や麻酔法を用い実験動物に苦痛やストレスを与えないようにする。

動物実験に関しては、「研究機関等における動物実験等に関する基本指針」(平成

18年告示)に基づいて、「東京大学医科学研究所実験動物委員会」による承認済みである。

ボランティア由来の細胞を用いた実験に関しては、東京大学医科学研究所倫理審査委員会および東京大学医科学研究所ゲノム倫理審査委員会にて承認済みである。

臨床研究については、ヘルシンキ宣言、臨床研究に関する倫理指針、およびヒト幹細胞を用いる臨床研究に関する指針を遵守し、被験者の尊厳と人権を尊重し、被験者の不利益が利益を越えることがないように十分に配慮して実施される。東大医科研ヒト幹細胞臨床研究審査委員会および厚生労働省にて承認済みであり、遺伝子発現解析に関する説明事項を現行の説明同意文書と実施計画書に加え、変更についての承認を得ている。被験者には、事前に、研究責任者又は研究分担者から、本研究の意義、目的、方法、予期される危険、いつでも同意を撤回できること等を平易な用語で説明し、自由意志に基づいて被験者となることを、文書により同意を受ける。

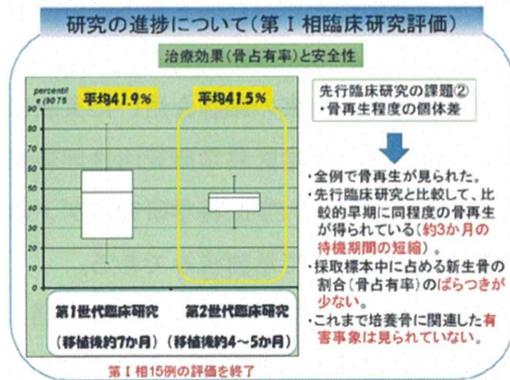
被験者の個人情報、個人情報管理者を置き、鍵のかかるロッカー等で厳重に保管される。

## C. 研究結果

### 1) 歯槽骨再生プロジェクト

これまでに再生骨の骨生検による評価を15例全例で行い、移植後4ヶ月と比較的早期に自家骨移植と同程度の安定した骨再生が得られており、有効性と安全性が

示されている。



データベースへの貢献

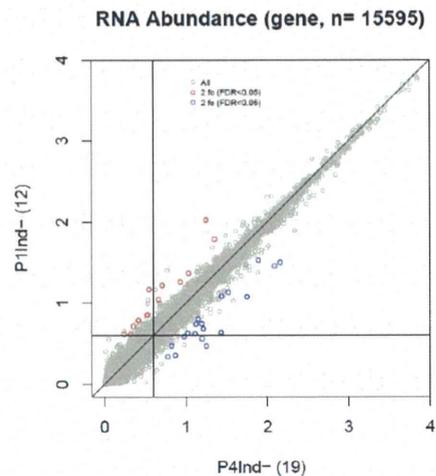
- ①安全性データ：核型分析，造腫瘍試験，軟寒天コロニー形成試験，無菌試験，マイコプラズマ否定試験，エンドトキシン試験
- ②臨床データ：細胞増殖，分化マーカー発現，再生骨組織データ，CTデータ，骨量解析データ，チェックシート，CRF

2) 網羅的遺伝子発現解析、ゲノム解析による骨髄間質細胞(間葉系幹細胞)の新たな品質管理手法の開発

また、骨髄間質細胞および骨芽細胞様細胞(培養骨)に関する新たな品質管理基準の作成を目指して、ヒト細胞に関する遺伝子発現とゲノム解析に関する研究の申請を行なった。倫理委員会は平成25年9月29日、ゲノム倫理審査委員会は平成25年12月12日にそれぞれ承認が得られた。また、同様に医科研細胞リソースセンターにて提供された臍帯由来間葉系幹細胞を用いた遺伝子発現解析研究についても、ゲノム倫理審査委員会の承認を得た。細胞の劣化に関する検討のため、骨髄間質細胞ではP1とP4、臍帯MSCではP3とP10の比較が適当で

あることを確認し、すべての条件で4サンプルのRNAseqによる網羅的遺伝子発現解析を行った。また、骨髄間質細胞では、分化誘導による遺伝子発現の変動について検討を行った。

- ・ P1 分化誘導なしーP4 分化誘導なし



骨髄間質細胞の継代による遺伝子発現の変化

Up-regulated 328

Down-regulated 251

複数サンプル間での比較より抽出

Up-regulated 11

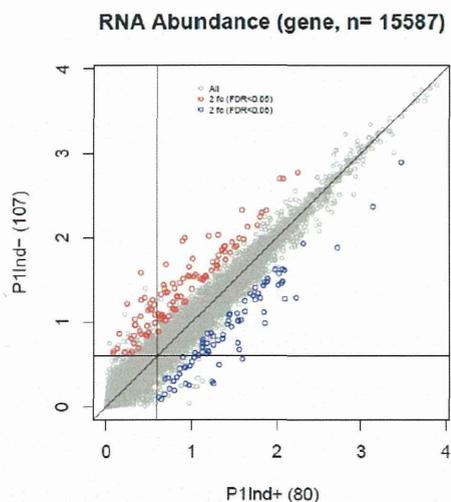
Tissue differentiation and maintenance.

osteoblastic inhibitor

Down-regulated 5

ALPL, cell adhesion, cell migration

- ・ P1 分化誘導なしーP1 分化誘導あり



骨髄間質細胞の分化による遺伝子発現の変化

Up-regulated 343

Down-regulated 193

以上の解析から抽出された候補遺伝子について、細胞劣化マーカーについては5遺伝子、細胞機能マーカーとしては③遺伝子に絞り込み、現在その有用性を検証中である。

### 3) 細胞調製施設 (CPC) 内作業手順および承認作業に関するペーパーレス化の検討

・ソフトウェアの開発段階から、必要とされる要件について以下の提案を行った。

- 1) 作業手順書の電子化
- 2) 作業手順書編集、承認の電子化
- 3) 作業者が使用する SOP、フローチャート、チェックリストを同一の端末から呼び出して操作。  
→ タブレット型端末、相互編集機能
- 4) 手順確認者は行った行為をチェックリストに手入力  
→ 紙と同様のユーザビリティ
- 5) 細胞培養ステップの承認、検査結果も

含め、統一のデータベースに移行

→ ソフトウェアによる一元管理

・開発されたソフトウェアについて以下の改善点の指摘を行った。

- 1) SOP の提供による検証
- 2) SOP 管理方法の提案—新旧バージョン管理の必要性
- 3) 承認手続きを電子的に行なう事
- 4) 作業手順の確認操作を可能にする
- 5) 患者毎のデータ管理とすること
- 6) 作業工程における手書き項目の追加

・以上の改善提案から、ソフトウェアの開発段階として以下の項目が達成された。

- 1) CPC 内作業のペーパーレス化 (清潔環境の維持に貢献)
- 2) タブレット端末による SOP の読み込み (MS ワードより直接読み込み可能)
- 3) 手順確認者は作業をチェックリストに手入力 紙と同様のユーザビリティ
- 4) 細胞培養ステップの承認、検査結果も含め、統一のデータベースに移行

以上から、臨床研究の手順書および臨床データに関しては、医科研病院拠点データベースによる一元管理が可能な体制が構築された。

### D. 考察

われわれのプロジェクトは、自己骨髄間質細胞(間葉系幹細胞)を用いた骨再生治療を基盤しており、これまでのところ改良版の第2世代プロトコルでは高い安全性と安定した治療効果が示されている。その理由として、先行臨床研究である第1世代のプ