

	06-6879-2932	
北垣 次郎太	大阪大学歯学部附属病院 (口腔治療・歯周科、近未来歯科医療センター) 特任講師 06-6879-2932	自己脂肪組織由来幹細胞の調製
小笹 匡雄	大阪大学歯学部附属病院 口腔治療・歯周科 (口腔治療・歯周科、近未来歯科医療センター) 医員 06-6879-2932	自己脂肪組織由来幹細胞の採取補助および調製
柏木 陽一郎	大阪大学歯学部附属病院 口腔治療・歯周科 (口腔治療・歯周科、近未来歯科医療センター) 医員 06-6879-2932	自己脂肪組織由来幹細胞の採取補助および調製
沢田 啓吾	大阪大学大学院歯学研究科 口腔分子免疫制御学講座 口腔治療学教室 (口腔治療・歯周科、近未来歯科医療センター) 医員 06-6879-2932	自己脂肪組織由来幹細胞の調製
栗田 敏仁	大阪大学大学院歯学研究科 口腔分子免疫制御学講座 口腔治療学教室 (口腔治療・歯周科、近未来歯科医療センター) 医員 06-6879-2932	自己脂肪組織由来幹細胞の調製補助
森 健太	大阪大学大学院歯学研究科 口腔分子免疫制御学講座 口腔治療学教室 (口腔治療・歯周科、近未来歯科医療センター) 特任研究員 06-6879-2932	自己脂肪組織由来幹細胞の調製補助
中村 友美	大阪大学大学院歯学研究科 口腔分子免疫制御学講座 口腔治療学教室 (口腔治療・歯周科、近未来歯科医療センター) 大学院生 06-6879-2932	自己脂肪組織由来幹細胞の調製補助
山羽 聡子	大阪大学大学院歯学研究科 口腔分子免疫制御学講座 口腔治療学教室 (口腔治療・歯周科、近未来歯科医療センター) 大学院生 06-6879-2932	自己脂肪組織由来幹細胞の調製補助
久保田 実木子	大阪大学大学院歯学研究科	自己脂肪組織由来幹細胞の調製補助

	口腔分子免疫制御学講座 口腔治療学教室（口腔治療・歯周科、近未来歯科医療センター） 大学院生 06-6879-2932	助
山本 智美	大阪大学大学院歯学研究科 口腔分子免疫制御学講座 口腔治療学教室（口腔治療・歯周科、近未来歯科医療センター） 大学院生 06-6879-2932	自己脂肪組織由来幹細胞の調製補助
阪下 裕美	大阪大学大学院歯学研究科 口腔分子免疫制御学講座 口腔治療学教室（口腔治療・歯周科、近未来歯科医療センター） 大学院生 06-6879-2932	自己脂肪組織由来幹細胞の調製補助
池上 久仁子	大阪大学大学院歯学研究科 口腔分子免疫制御学講座 口腔治療学教室（口腔治療・歯周科、近未来歯科医療センター） 大学院生 06-6879-2932	自己脂肪組織由来幹細胞の調製補助
森本 千晶	大阪大学大学院歯学研究科 口腔分子免疫制御学講座 口腔治療学教室（口腔治療・歯周科、近未来歯科医療センター） 大学院生 06-6879-2932	自己脂肪組織由来幹細胞の調製補助
李 千萬	大阪大学医学部附属病院 未来医療開発部 未来医療センター 特任准教授 06-6210-8289	自己脂肪組織由来幹細胞の採取
大阪大学医学部附属病院 未来医療開発部 未来医療センター		共同研究

3)研究協力者

(1)大阪大学医学部附属病院未来医療センター協力者

氏名	機関名、部署・所属、役職、電話番号	臨床研究において果たす役割
江副 幸子	大阪大学医学部附属病院 未来医療開発部 未来医療センター 特任講師	プロジェクトマネジメント

	06-6210-8289	
名井 陽	大阪大学医学部附属病院 未来医療開発部 未来医療センター 副センター長・准教授 06-6210-8289	臨床研究品質管理
大河原 弘達	大阪大学医学部附属病院 未来医療開発部 未来医療センター 臨床検査技師 06-6210-8289	感染症検査 品質管理責任者
山地 学	大阪大学医学部附属病院 未来医療開発部 未来医療センター 上級オフィサー 06-6210-8289	プロトコール作成支援
花井 達広	大阪大学医学部附属病院 未来医療開発部 未来医療センター 特任研究員 06-6210-8289	プロトコール作成支援
大倉 華雪	独立行政法人 医薬基盤研究所 難病・疾患資源研究部 078-304-6177	プロトコール作成支援

(2)臨床研究コーディネーター

氏名	機関名、部署・所属、役職、電話番号	臨床研究において果たす役割
砂山 陽子	大阪大学医学部附属病院 未来医療開発部 未来医療センター コーディネーター 06-6210-8289	コーディネート
丸山 秩弘	大阪大学医学部附属病院 未来医療開発部 未来医療センター コーディネーター 06-6210-8289	コーディネート

(3)モニター

氏名	機関名、部署・所属、役職、電話番号	臨床研究において果たす役割
渡邊 貴恵	大阪大学医学部附属病院 未来医療開発部 未来医療センター モニター 06-6210-8289	モニタリング業務
迫田 美香	大阪大学医学部附属病院 未来医療開発部 未来医療センター モニター 06-6210-8289	モニタリング業務
加藤 奈津弥	大阪大学医学部附属病院 未来医療開発部 未来医療センター モニター 06-6210-8289	モニタリング業務

(4)統計解析及びデータマネジメント担当者

氏名	機関名、部署・所属、役職、電話番号	臨床研究において果たす役割
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 寄附講座講師 06-6210-8373	統計解析担当者
新谷 歩	大阪大学大学院医学系研究科 臨床統計疫学寄附講座 寄附講座教授 06-6210-8371	症例登録・割付グループリーダー
長尾 杏奈	大阪大学医学部附属病院 未来医療開発部 データセンター データマネージャー 06-6210-8318 FAX:06-6210-8320	データマネジメント担当

4)データセンター

名称	所在地、電話番号
大阪大学医学部附属病院 未来医療開発部 データセンター	大阪府吹田市山田丘 2-2 大阪大学大学院医学系研究科附属 最先端医療イノベーションセンター棟 4 階 06-6210-8318 FAX:06-6210-8320 受付時間 9:00~16:00 dcc-info@dmi.med.osaka-u.ac.jp

5)事務局

名称	所在地、電話番号
大阪大学医学部附属病院 未来医療開発部 未来医療センター	大阪府吹田市山田丘 2-2 最先端医療イノベーションセンター 06-6210-8289 irb-jimu@hp-mctr.med.osaka-u.ac.jp

6)緊急連絡先

名称	所属、代表者、所在地、電話番号
研究チーム	大阪大学歯学部附属病院 口腔治療・歯周科 村上 伸也、北村 正博、山田 聡、野崎 剛徳、柳田 学、山下 元三、 竹立 匡秀、北垣 次郎太、小笹 匡雄、柏木 陽一郎、沢田 啓吾、 粟田 敏仁、森 健太、中村 友美、山羽 聡子、久保田 実木子、山本 智美、阪下 裕美、池上 久仁子、森本 千晶 大阪府吹田市山田丘 1-8 06-6879-2932
	大阪大学医学部附属病院 未来医療開発部 未来医療センター 大阪府吹田市山田丘 2-2 06-6210-8289 irb-jimu@hp-mctr.med.osaka-u.ac.jp

25) 文献

- 1) 平成17年度 永久歯抜去原因調査報告書 (8020財団)
- 2) 平成8年 口腔保健と全身的な健康状態の関係に関する研究
- 3) Marshall-Day CD et al. Periodontal Disease: Prevalence and incidence. *J. Periodontol.*, 26:185, 1955.
- 4) 平成17年 歯科疾患実態調査結果 (厚生労働省統計一覽)
- 5) 平成18年度 社会医療診療行為別調査 (厚生労働省大臣官房統計情報部編)
- 6) Kitamura M, Nakashima K, Kowashi Y, Fujii T, Shimauchi H, Sasano T, Furuichi T, Fukuda M, Noguchi T, Shibutani T, Iwayama Y, Takashiba S, Kurihara H, Ninomiya M, Kido J, Nagata T, Hamachi T, Maeda K, Hara Y, Izumi Y, Hirofuji T, Imai E, Omae M, Watanuki M, Murakami S. Periodontal tissue regeneration using fibroblast growth factor-2: Randomized Controlled Phase II clinical trial. *PLoS One*, 3: e2611, 2008.
- 7) Consensus Reports from the 1996 World Workshop in Periodontics. The American academy of periodontology.

感染症検査 報告書

(報告書番号：MTR-CS-R02-00-1471)

報告日 2015年1月1日

プロジェクト名 自己脂肪組織由来幹細胞を用いた新しい歯周組織再生療法開発

品質管理責任者 大河原 弘達 殿

被験者識別コード H21E30-004 【凍結日 (2014.12.17) 採取分】について、下記の通り検査結果が出ましたので報告いたします。

記

無菌試験 中間 / 最終

*自動検出培養 (7日間培養中 7日目)

- ・好気培養ボトル 陰性
- ・嫌気培養ボトル 陰性

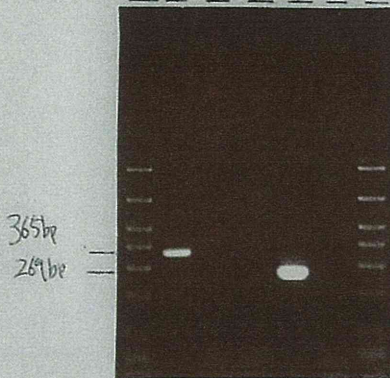
*無菌試験 (14日間培養中 14日目)

- ・SCD 培地 陰性
- ・TG 培地 陰性

備考：12/17の凍結作業が夕刻以降に及んだため、12/18に検査を実施した。

マイコプラズマ否定試験

[結果] M 1 2 3 4 5 M



M : size marker

- 1 : M.fermentans(Positive Control)
- 2 : H21E30-141217-1 (細胞培養液)
- 3 : H21E30-141217-2 (未使用洗浄液)
- 4 : M.salivarium (Positive Control)
- 5 : DW(Negative Control)

[判定]Lane1,4は陽性コントロールです。今回のサンプルではマイコプラズマの存在を示すバンド(200~400bp)は認められませんでした。したがって、今回の検査はマイコプラズマを否定します。

エンドトキシン試験

[結果] サンプル ≤ 0.02320 EU/ml
 陽性コントロール $=0.01542(98.66\%)$ EU/ml
 陰性コントロール ≤ 0.0007249 EU/ml

[判定] *判定基準は 1.0 EU/ml 以下です。
 今回の検査では 陰性
 と判定されました。 以上

検査担当者	大河原 弘達 (印)	所属	未来医療センター
-------	------------	----	----------

感染症検査 報告書

(報告書番号：MTR-CS-R02-00-1502)

報告日 2015年1月22日

プロジェクト名 自己脂肪組織由来幹細胞を用いた新しい歯周組織再生療法開発

品質管理責任者 大河原 弘達 殿

被験者識別コード **H21E30-004** 【出荷3日前(2014.1.19)採取分】について、下記の通り検査結果が出ましたので報告いたします。

記

無菌試験 中間 最終

*自動検出培養(7日間培養中 3 日目)

- ・好気培養ボトル 陰性
- ・嫌気培養ボトル 陰性

*無菌試験(14日間培養中 3 日目)

- ・SCD培地 陰性
- ・TG培地 陰性

備考

マイコプラズマ否定試験

[結果]



M : size marker

- 1 : M.fermentans(Positive Control)
- 2 : H21E30-150119-1 (細胞培養液)
- 3 : H21E30-150119-2 (未使用洗浄液)
- 4 : M.salivarium (Positive Control)
- 5 : DW(Negative Control)

[判定] Lane1,4は陽性コントロールです。今回のサンプルではマイコプラズマの存在を示すバンド(200~400bp)は認められませんでした。したがって、今回の検査はマイコプラズマを否定します。

エンドトキシン試験

[結果] サンプル ≤0.02406 EU/ml
 陽性コントロール =0.01630(104.31%)EU/ml
 陰性コントロール ≤0.0007518 EU/ml

[判定] *判定基準は 1.0 EU/ml 以下です。
 今回の検査では 陰性
 と判定されました。 以上

検査担当者 藤元 若菜 所属 未来医療センター

感染症検査 報告書

(報告書番号：MTR-CS-R02-00-1503)

報告日 2015年2月2日

プロジェクト名 自己脂肪組織由来幹細胞を用いた新しい歯周組織再生療法開発

品質管理責任者 大河原 弘達 殿

被験者識別コード H21E30-004 【出荷3日前(2015.1.19)採取分】について、下記の通り検査結果が出ましたので報告いたします。

記

無菌試験 中間 / 最終

*自動検出培養(7日間培養中 7日目)

- ・好気培養ボトル 陰性
- ・嫌気培養ボトル 陰性

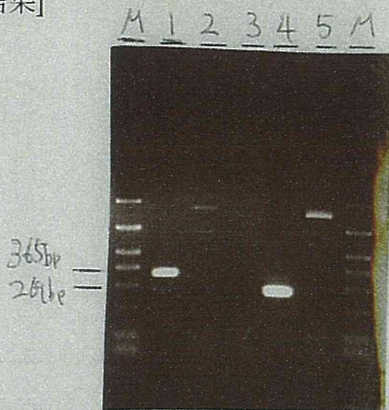
*無菌試験(14日間培養中 14日目)

- ・SCD培地 陰性
- ・TG培地 陰性

備考

マイコプラズマ否定試験

[結果]



M : size marker

- 1 : M.fermentans(Positive Control)
- 2 : H21E30-150119-1 (細胞培養液)
- 3 : H21E30-150119-2 (未使用洗浄液)
- 4 : M.salivarium (Positive Control)
- 5 : DW(Negative Control)

[判定] Lane1,4は陽性コントロールです。今回のサンプルではマイコプラズマの存在を示すバンド(200~400bp)は認められませんでした。したがって、今回の検査はマイコプラズマを否定します。

エンドトキシン試験

[結果] サンプル ≤ 0.02406 EU/ml
 陽性コントロール $= 0.01630(104.31\%)$ EU/ml
 陰性コントロール ≤ 0.0007518 EU/ml

[判定] *判定基準は 1.0 EU/ml 以下です。
 今回の検査では 陰性
 と判定されました。 以上

検査担当者	大河原弘達	所属	未来医療センター
-------	-------	----	----------

感染症検査 報告書

(報告書番号：MTR-CS-R02-00-1504)

報告日 2015年2月5日

プロジェクト名 自己脂肪組織由来幹細胞を用いた新しい歯周組織再生療法開発

品質管理責任者 大河原 弘達 殿

被験者識別コード H21E30-004 【移植日(2015.1.22)採取分】について、下記の通り検査結果が出ましたので報告いたします。

記

無菌試験 中間 / 最終

*自動検出培養(7日間培養中 7 日目)

- ・好気培養ボトル 陰性
- ・嫌気培養ボトル 陰性

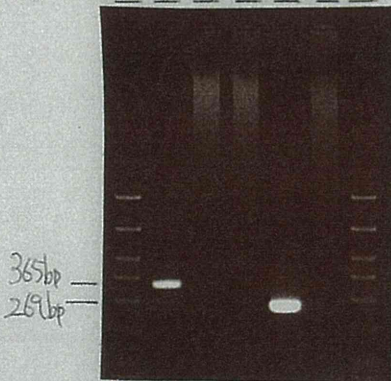
*無菌試験(14日間培養中 14 日目)

- ・SCD培地 陰性
- ・TG培地 陰性

備考

マイコプラズマ否定試験

[結果] M 1 2 3 4 5 M



M : size marker

- 1 : M.fermentans(Positive Control)
- 2 : H21E30-150122-1 (細胞培養液)
- 3 : H21E30-150122-2 (未使用洗浄液)
- 4 : M.salivarium (Positive Control)
- 5 : DW(Negative Control)

[判定]Lane1,4は陽性コントロールです。今回のサンプルではマイコプラズマの存在を示すバンド(200~400bp)は認められませんでした。したがって、今回の検査はマイコプラズマを否定します。

エンドトキシン試験

[結果] サンプル ≤0.1290 EU/ml

[判定]

陽性コントロール =0.01921(122.92%)EU/ml

*判定基準は 1.0 EU/ml 以下です。

陰性コントロール ≤0.001008 EU/ml

今回の検査では 陰性

と判定されました。 以上

検査担当者	大河原弘達 	所属	未来医療センター
-------	---	----	----------

Ⅱ. 委託業務成果報告（業務項目）

1. 臨床研究の評価と先進医療開発への準備

梅澤 明弘

2. ブタ脂肪組織由来幹細胞（ADSC）の採取と製剤化への試み

齋藤 正寛

3. 再生医療にかかる規制の現状

大倉 華雪

厚生労働科学研究委託費（再生医療実用化研究事業）
委託業務成果報告（業務報告）

臨床研究の評価と先進医療開発への準備

担当責任者 梅澤明弘 国立成育医療研究センター研究所再生医療センター長

研究要旨 我が国における成人の約80%が歯周病に罹患しており、同疾患が歯を喪失する第一の原因となっている。従って、「口と歯」が支えるQOLを維持・増進するためには、歯の早期喪失をもたらす重度歯周病に対応できる新規歯周組織再生療法の開発が社会的急務となっている。これらの疾患に対する新規治療法の開発において、薬事的見地からの情報収集を実施した。

A. 研究目的

我が国における成人の約80%が歯周病に罹患しており、同疾患が歯を喪失する第一の原因となっている。従って、「口と歯」が支えるQOLを維持・増進するためには、歯の早期喪失をもたらす重度歯周病に対応できる新規歯周組織再生療法の開発が社会的急務となっている。これらの疾患に対する新規治療法の開発において、薬事的見地からの情報収集を実施した。

B. 研究方法

業務主任者らと連携し、疾患の情報を収集し、新規治療法の開発における薬事的なポイントを整理し、有効性・安全性の両側面からアプローチするための研究環境の整備に関するモデルに対する薬事的な情報収集を行う。

（倫理面への配慮）

本分担課題は実際にヒト試料や動物を取り扱うものではないため、倫理的な取り組みは必要ないと判断した。

C. 研究結果

すでに業務主任者らが収集している歯周病に対する様々な情報を基盤とし、薬事審査に向けたプロセスに関する情報の整理を行った。特に、開発骨子、背景情報、対象疾患とエンドポイントの妥当性および治験プロトコルの妥当性に関する検討を実施した。

D. 考察

我国において、歯周病は成人の約80%が罹患し、歯を喪失する第一の原因となっている。また近年、歯周病が糖尿病、心臓・血管疾患、誤嚥性肺炎などの全身疾患のリスク因子になることが示され、歯周病に対する予防・治療が各種生活習慣病の改善をもたらすことが期待されている。歯周病に対する新規治療法の研究開発から治験、承認申請までの一連のプロセスにおいて、厚生労働科学研究として関与していくことは、厚生労働行政において重要な位置づけとなる。

E. 結論

歯周病に対する新規治療法の開発は社会からの期待が大きく、薬事的なプロセスを一つ一つ積み上げるための産官学一体となった開発体制の構築は非常に意義深いものとなる。

F. 健康危険情報

該当なし。

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

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

ブタ脂肪組織由来幹細胞（ADSC）の採取と製剤化の試み

担当責任者 齋藤正寛 東北大学歯学研究科 教授

研究要旨 「歯科再生医療拠点を活用した歯周組織再生療法の確立」を遂行するため、前臨床研究としてブタモデルを用いた研究を実施した。そのため期間内にブタ脂肪組織由来幹細胞（ADSC）を採取と製剤化を試みた。始めにブタ内臓脂肪を採取し脂肪幹細胞の分離培養を試みた。実験結果では、家畜ブタの大網中の脂肪組織から脂肪幹細胞の分離培養を行う事が出来た。これらの細胞を用いて次年度より歯周組織の再生能力の検討を行う予定である。

A. 研究目的

歯周病は、成人が歯を喪失する第一の原因である。しかし歯周病により失われた歯周組織は通常の治療では再生しない。そのため、「口と歯」が支えるQOLを維持・増進するためには、重度歯周病に対応できる新規歯周組織再生療法の開発が急務である。現在、歯周病で失われた歯周組織の再生にはハイドロキシアパタイトなどの生体模倣材料を用いていることが多いが、これは自己再生能に期待した再建であり、より積極的に顎骨再建を行う場合は細胞移植療法が必要となってくる。この際問題になるのはその細胞の採取場所であり、かつ顎骨再建が必要な患者の多くは高齢者であることを考慮して、我々は脂肪幹細胞に着目した。脂肪由来幹細胞は、骨髄由来幹細胞に類似し間葉系幹細胞（MSC）を含み、骨髄由来幹細胞よりも約10～100倍以上に豊富に細胞が採取可能である。また、脂肪組織は、高齢者においても骨髄に比べ採取が比較的安全で容易な点で幹細胞の供給源として非常に優れている。医科領域では現在、乳房の

再建に応用されていることから、安全性についても問題はほとんどないと言える。そこで脂肪幹細胞を用いて歯周病で失った骨再生を目的とした移植プロトコルの開発を行うこととした。

B. 研究方法

本研究では、ミニブタ（系統種マイクロミニピッグ）を使用する予定である。最終的にはヒト脂肪幹細胞を用いた再生を目指しており、すでに脂肪幹細胞は医科領域において臨床応用されていることから、げっ歯類による代替実験は必要ないと考えられる。またミニブタは他の実験動物と比較して治療形態や解剖学的形態がヒトに近似するため、本申請でミニブタを用いる意義は大きいと考えられる。また本実験に先立ち、本年度は予備実験として家畜ブタから内臓脂肪を採取し、脂肪由来幹細胞を確実に樹立できる条件を確立することで実験動物使用の削減を心掛けた。12時間時間の絶食と3時間前の絶水ののち、全身麻酔は保温マットで体温の維持に努めつつ、60ug/kgの塩酸メデ

トミジン(商品名ドミツール)とミタゾラム(0.2mg/kg)を混合した前投薬で麻酔を行う。その後0.02mg/kgのブプレノルフィン(商品名;レペタン)で耳静脈から麻酔を行った後、器官挿管によって呼吸を確保後、イソフルラン(商品名フォーレン)1.5~2%(1回換気量10ml/kg、15回/min)で維持する。全身麻酔管理下で脂肪の比較的豊富な雌ミニブタの開腹処置を行い、胃と脾臓の間若しくは腸管の大網から数グラムの内臓脂肪を採取する。採取した脂肪組織は、37°Cで1時間0.075%コラゲナーゼ(wako)によって分散する。採取した細胞は10%FBSを含むDMEM-HGで24時間培養を行う。その後細胞を回収し、ファイブロネクチンでコートされたdishに再播種し、ブタ由来脂肪幹細胞として実験に用いる。また同時にブタ顎骨に歯周病を想定した顎骨欠損モデルを作成することとした。詳細は、2%塩酸リドカインにて局所麻酔を追加した後、ブタ下顎臼歯(P3とP4)臼歯部の全層フラップを行い、歯肉を剥離したあと歯根分岐部を露出させる。露出した歯根の分岐した部位の歯槽骨を歯科用タービンで水平的に4mm、垂直的に3mm削除する。その際骨再生を妨げる目的に歯科用シリコン印象剤を欠損部に充填し、吸収性糸で縫合を行うこととした。

(倫理面への配慮)

本動物実験は、東北大学動物実験倫理委員会の承認を得た上で行われた。またブタの術後体調には最大限の配慮をし、頻回の観察や保温に努め、実験動物のストレス軽減に配慮する。食事はペレットを水でふやかして接触の負担にならないように考慮する。また術後に疼痛が予想されるため、レペタン注を鎮痛剤として用い、術後疼痛緩和に

配慮する。ただし、術後疼痛が著しく見られる場合(実験動物の表情や食事摂取状況)は、安楽死処分を施す。replacement(代替)やreduction(削減)に配慮し、重複実験や複数系統、複数種での実験は行わない。また最小限の実験数で行うため、動物の発注は複数回に分けて個別に行うこととした。

C. 研究結果

体重20Kgの家畜ブタから10g前後の大網が採取可能であった。本研究では、これらの脂肪組織から脂肪幹細胞の採取に成功した。形態は紡錘形を呈し、順調に増殖が確認された。

D. 考察

今後は今回採取した脂肪幹細胞の骨形成能を調べるため、石灰化誘導実験を行う予定である。具体的には、①骨芽細胞への分化誘導:アルカリフォスファターゼ活性を測定する。②石灰化能力の判定:アリザリンレッド染色にて石灰物形成能力の判定を行う。③骨形成関連遺伝子群の発現:Runx2、Osterix、Bone Sialoprotein、Osteocalcin、Osteopontinの発現をリアルタイムPCR法にて解析し判定する予定である。

E. 結論

家畜ブタから脂肪幹細胞の採取に成功した。今後はミニブタで同様の実験を行い、移植に向けたプロトコールの作成を行う予定である。

F. 健康危険情報

該当なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Aino M, Nishida E, Fujieda Y, Orimoto A, Mitani A, Noguchi T, Makino H, Murakami S, Umezawa A, Yoneda T, Saito M. Isolation and characterization of the human immature osteoblast culture system from the alveolar bones of aged donors for bone regeneration therapy. *Expert Opin Biol Ther.* 2014 Dec;14(12):1731-44. doi: 10.1517/14712598.2014.960387. Epub 2014 Sep 22

2. Oshima M, Inoue K, Nakajima K, Tachikawa T, Yamazaki H, Isobe T, Sugawara A, Ogawa M, Tanaka C, Saito M, Kasugai S, Takano-Yamamoto T, Inoue T, Tezuka K, Kuboki T, Yamaguchi A, Tsuji T. Functional tooth restoration by next-generation bio-hybrid implant as a bio-hybrid artificial organ replacement therapy. *Sci Rep.* 2014 Aug 13;4:6044. doi: 10.1038/srep06044.

2. 学会発表

シンポジウム

1. Saito, M. Attempt to develop realization of periodontal regenerative therapy. 2014 3rd International Symposium on Dental Implantology and Biomaterials of West Coast Strait, Fujian, China, 2014.11.23

2. Saito, M. Present state and progression of periodontal regeneration therapy 7th WCPM, 2014.10.2

3. 齋藤正寛 結合組織再生を目指した新規創薬の開発 ～歯からはじまり大動脈へ～ 日本歯科保存学会秋期学術大会 (第141回)

2014.10.31

4. 齋藤正寛 歯周組織再生医療の最前線平成26年度日本歯科理工学会 北海道・東北地方会夏期セミナー 2014 8.2

5. Saito, M. Extracellular matrix administration therapy as a potential therapy for microfibril disorder. 第46回日本結合組織学会第61回マトリックス研究会合同学術集会, 2014.6.7

6. Saito, M. Abnormal microfibril induced by ADAMTSL6b exacerbates inflammatory response of aortic aneurysm. 9th International Symposium on Marfan Syndrome and Related Disorders, Paris, France, 2014.9.26

学会発表

1. Iwamastu-Konbayashi Yoko, Orimoto Ai, Handa Keisuke and Saito Masahiro, Effect of S-PRG Filler Eluate on the Tissue Destruction of the Ligature-induced Periodontitis Model 大阪、2014.12.4

2. 藤枝宜泰、安部翔大、折本愛、半田慶介、齋藤正寛、微細線維の形成異常による大動脈瘤の炎症悪化機構の解析 第37回日本分子生物学会、横浜、2014.11.26

3. 小林 洋子、安倍 翔大、折本 愛、島内 英俊、齋藤 正寛 S-PRGフィラー抽出液によるマウス歯周炎モデル予防効果の解析、第141回日本歯科保存学会秋期学術大会、2014.10.30

4. Masahiro Saito, Makoto Aino, Eisaku Nishida, Akio Mitani, Toshihide Noguchi, Toshiyuki Yoneda, Establishment of a human immature osteoblast culture system obtained from middle-aged do

nors. IADR Cape Town, South Africa,
2014.6.26

5.齋藤 正寛、相野 誠、三谷 章雄、ヒト歯槽骨由来未分化骨芽細胞の骨原性維持に関わるマーカーの探索、第140回日本歯科保存学会春季学術大会、2014.6.19

6.藤枝宜泰、安倍翔太、折本 愛、原 真理、吉田利通、今中恭子、齋藤正寛、マウス大動脈壁発生過程における細胞外マトリックスネットワークの発現パターンニング第46回日本結合組織学会第61回マトリックス研究会合同学術集会、2014.6.8

H. 知的財産権の出願・登録状況
(予定を含む。)

1. 特許取得

特になし

2. 実用新案登録

特になし

3. その他

特になし

厚生労働科学研究委託費（再生医療実用化研究事業）
委託業務成果報告（業務項目）

再生医療にかかる規制の現状

担当責任者 大倉華雪（独）医薬基盤研究所 難治性疾患治療開発・支援室

研究要旨

「再生医療を国民が迅速かつ安全に受けられるようにするための施策の総合的な推進に関する法律（再生医療推進法）」の施行にともない、「再生医療等の安全性の確保に関する法律（再生医療安全性確保法）」および薬事法改正（医薬品医療機器等法）が行われた。本研究報告では、再生医療安全性確保法を中心に、改正薬事法（医薬品医療機器等法）にも触れ、脂肪組織由来多系統前駆細胞を臨床応用する際に満たすべき牛胎児血清の生物由来原料基準適合性について論じた。

A. 研究目的

2013年4月成立、5月施行された「再生医療を国民が迅速かつ安全に受けられるようにするための施策の総合的な推進に関する法律（再生医療推進法）」¹⁾の施行にともない、「再生医療等の安全性の確保に関する法律（再生医療安全性確保法）」²⁾および薬事法改正（医薬品医療機器等法）³⁾が行われた（2013年11月成立、2014年11月25日施行）。再生医療安全性確保法は、従来、臨床研究（ヒト幹指針等のルール有）と自由診療（事前規制なし）に分かれていた再生医療等技術をまとめて法規制するもので、臨床研究又は医療（自由診療を含む）としての再生医療を規制対象とし、実施状況の把握と安全性担保のための仕組みを作る法律であるといえる。薬事法改正では、医薬品、医療機器に加え新たなカテゴリーとして「再生医療等製品」が置かれ、その特性に応じた条件期限付き承認制度（特別に早期に承認する制度）の明文化と、患者にリスクを説明し同意を得ること、ならびに安全性確保のための市販後調査、売買・

使用の記録作成保存の義務付けが行われた。本項では、再生医療安全性確保法を中心に、改正薬事法（医薬品医療機器等法）にも触れ、日本における再生医療規制の枠組みについて言及し、本研究課題にて脂肪組織由来多系統前駆細胞を臨床応用する際に満たすべき牛胎児血清の生物由来原料基準適合性について論じることを目的とする。

B. 研究方法

「再生医療を国民が迅速かつ安全に受けられるようにするための施策の総合的な推進に関する法律」「再生医療等の安全性の確保に関する法律」ならびに「医薬品医療機器等法」からわが国の再生医療にかかわる法制度の現状を分析した。ついで、当該2法が求める生物由来原料基準に関し、脂肪組織由来多系統前駆細胞の培養に用いる牛胎児血清に関し、厚生労働省告示生物由来原料基準適合性について議論する。

（倫理面への配慮）

1. 非臨床試験（研究）において遺伝子改変動物、

プラスミドDNA あるいは遺伝子導入ウイルス等を用いる場合は、使用に際して遺伝子組み換え生物などの使用等の規制による生物多様性の確保に関する法律、カルタヘナ条約等各種法令・告示・通知に基づき研究を実施する。

2. 動物操作に当たっては、(独)医薬基盤研究所の動物実験規定に従って行なう。
3. 臨床試研究の実施にあつては、計画書(プロトコール)に関して医学倫理委員会での承認を受け、本人の書面によるinformed consentを取得した患者のみを対象とする。

C. 研究結果

1. 医薬品医療機器等法(改正薬事法)

平成24年薬事法改正(医薬品医療機器等法)の概要は、医薬品、医療機器等の安全かつ迅速な提供の確保を図るため、添付文書の届出義務の創設、医療機器の登録認証機関による認証範囲の拡大、再生医療等製品の条件及び期限付承認制度の創設等の所要の措置を講ずることにあつた。特に再生医療に関しては、その特性を踏まえた規制の構築が指向され、「再生医療等製品」を新たに定義するとともに、その特性を踏まえた安全対策等の規制が設けられた。特筆すべきは、均質でない再生医療等製品にあつては、有効性が推定され、安全性が認められれば、特別に早期に、条件及び期限を付して製造販売承認を与えることを可能としている。特別早期条件付承認制度は従前の薬事法にも条項が存在していたが、再生医療等製品として新たなカテゴリーが置かれるにともない、明文化されたところである。「均質でない」再生医療等製品というのが、自己由来細胞製剤を指すのか、再生医療等製品はそもそも均質でないと解釈するのか不明である。また、「有効性の推定」をどのように解釈すべきか議論があり、多数症例のなかに複数例確実な有効反応症例があればよしとするのかの議論もある。これら解釈に関してQA通知が発出されていないため、今後の審査の仮定で輪

郭が明らかとなると思われる。

2. 再生医療安全性確保法

1) 法律策定の経緯

再生医療安全性確保法は、再生医療等に用いられる再生医療等技術の安全性確保及び生命倫理への配慮に関する措置その他の再生医療等を提供しようとする者が講ずべき措置を明らかにするとともに、特定細胞加工物の製造の許可等の制度を定めること等により、再生医療等の迅速かつ安全な提供及び普及の促進を図り、もって医療の質及び保健衛生の向上に寄与することを目的としている(第1条)。

その成立の経緯は、再生医療を標榜するクリニックにおける死亡事故等を契機とし、再生医療において医療を含む規制の必要性が求められたことから立法化された。

2012年6月の医療イノベーション5カ年戦略、同7月の日本再生戦略を受け、2012年8月20日厚生科学審議会科学技術部会 再生医療の安全性に確保と推進に関する専門部会 が設置され、同9月に専門委員会の第1回会合が開催された。本法立法にむけた初動においては、ヒト幹細胞臨床研究指針の改定で対応するのか、あるいは立法を行うのかの方向性は明確ではなく、2013年夏を目処に取りまとめをすることとされた。同10月8日の山中伸弥教授ノーベル賞受賞から急を告げ、10月23日の3党有志議員「再生医療推進法案」の次期通常国会提出で合意とともに、再生医療に関する個別法の翌年度通常国会提出に向け話し合いが行われ、これに呼応する形で11月第2回会合ではガイドラインに止まらず法制化に向けて議論を加速することとなった。12月第3回会合で法制化の方針が確認され、2013年4には7回の議論を経て、報告書「再生医療の安全性確保と推進のための枠組み構築について」が取りまとめられ、再生医療安全性確保法案は2013年5月に薬事法改正法案とともに提出され、満場一致で成立したところである。再生医療安全性確保法と薬事法改正が同日成立

、同日施行であることは、わが国の再生医療が当面この2つの path を通るということを明確化したメッセージであると考えている。

2)法律の概要

再生医療安全性確保法の大きなポイントは2つあり、ひとつは「再生医療等提供基準」(省令)の遵守義務と大臣の中止・改善等命令違反に罰則規定を備えたことであり、もうひとつは「再生医療等委員会」による事前審査制をしくこととしたことにある。再生医療提供基準は、法第3条に規定のとおりで、具体的は42条および44条の委託による省令(各々いわゆる42条基準および44条基準)に則らなければならない。また、法3条には、再生医療等について、人の生命及び健康に与える影響の程度に応じ、「第1種再生医療等」「第2種再生医療等」「第3種再生医療等」に3分類して、それぞれ必要な手続を定めている。第1種再生医療は同種由来細胞を用いた場合と、多能性幹細胞あるいはその類似細胞を利用した再生医療と解し、第3種再生医療はがん免疫療法および minimal manipulation での再生医療と考えると、理解しやすい。その考え方は、フローチャートとして可視化され、QA 通知として発出されている。

第1種再生医療等提供計画については特定認定再生医療等委員会の意見を聴いた上で、厚生労働大臣に提出して実施されることとなっている。90日間の実施制限期間が設けられており、その期間内に、厚生労働大臣が厚生科学審議会の意見を聴いて安全性等について確認。安全性等の基準に適合していないときは、計画の変更を命令できるとされている。すなわち、①特定認定再生医療等委員会による審査、②再生医療等提供計画を大臣に提出、③90日間待って実施(厚生科学審議会再生医療等審査部会による中央審査)が注目すべき点であり、ヒト幹細胞臨床研究指針での審査と大幅な変更はない。実質的な許可制である。第2種再生医療等提供計画について、特定認定再生医療等委員会の意見を聴いた上で、厚生労働大臣

に提出して実施されることとなっている。第2種は前述の①、②のみで現行の二重審査を緩和しているといつてよく、実質的な届出制となっている。一方で、特定認定再生医療等委員会の室の担保は喫緊の課題であり、現実的には審査水準が低い委員会にあつては、淘汰されていくこととなる。第3種再生医療等提供計画については、認定再生医療等委員会の意見を聴いた上で、厚生労働大臣に提出して実施することとなっている。認定再生医療等委員会は、医療機関ごとに設置可能であるため、その水準は玉石混交となるのは火を見るより明らかである。適正な審議が行われているのか、その担保は、再生医療の未来を左右すると考えられる。特定認定再生医療等委員会は、特に高度な審査能力と第三者性を有するものと定義されており、すべての医療機関が設置するものとは想定されおらず、central IRB に近い運用をなされ、有償で審査を請け負うこととなろう。

再生医療の適正な提供のための措置等として、インフォームド・コンセント、個人情報保護のための措置等について定められるとともに、有害事象の発生においては、厚生労働大臣への速やかな報告を求め、厚生労働大臣は、厚生科学審議会の意見を聴いて、必要な措置をとることとしており、再生医療が未だ確立した医療ではないことに対する手当てをしている。厚生労働大臣は、安全性確保等のため必要なときは、改善命令を発出し、改善命令違反の場合は再生医療等の提供を制限するとともに、保健衛生上の危害の発生拡大防止のため必要なときは、再生医療等の提供の一時停止など応急措置を命令することができるとされた。医療法上で立ち入り権限が与えられたことは、これまでの自由診療などでの死亡事案への反省が認められている。

細胞製剤(法令では特定細胞加工物と定義)の製造に関し、法第四十二条は、細胞培養加工施設の構造設備は、厚生労働省令で定める基準に適合したものでなければならないと規定されており、

製造にかかる構造設備の基準が省令委託されることが明示されている（いわゆる 42 条基準）。法第四十四条では、厚生労働大臣は、厚生労働省令で、細胞培養加工施設における特定細胞加工物の製造及び品質管理の方法、試験検査の実施方法、保管の方法並びに輸送の方法その他特定細胞加工物製造事業者がその業務に関し遵守すべき事項を定めることができると規定され、特定細胞加工物製造事業者の遵守事項を省令で定めることを明示している（いわゆる 44 条基準）。これら基準は、ヒト幹細胞臨床研究に関する指針とほぼ同等の水準であるため、これまで当該指針にのっとりヒト幹細胞臨床研究を行ってきた研究機関、医療機関にとって、新法施行で負担が増加しているわけではない。一方で、これら細胞加工施設の設置や維持は非常にコストがかかることから、再生医療安全性確保法では特定細胞加工物製造の委託を行えることとした。製造能力のある外部機関が受託するほうが、品質の安定した特定細胞加工物の患者さんへの適用が可能であるとの想定による。そのため、受託製造機関に求められる水準は高くならざるを得ず、法の枠組みとして、医療機関では届出制となっているのに対し、受託製造機関では許可制がとられていることに着目されたい。また、医療機関が特定細胞加工物の製造を委託する場合には、許可等を受けた者又は届出をした者に委託しなければならないこととなっている。特定細胞加工物製造所の許可に関し、どのように審査を行うのか、どの程度の水準を想定しているのかは、法が運用された後の結果を見て議論することとなるが、(独)医薬品医療機器総合機構が確認することが想定されていることから見るに、薬事法での製造所基準と同等の水準が求められると解するべきであろう。特定細胞加工物製造の委託に関し、投与するのは医師であるため、すべての責任は投与医師と医療機関の管理者に帰せられるものであり、特定細胞加工物の瑕疵を医師等が証明できなければ、民事上・刑事上のすべての責任は医師が負う。また、

企業等が薬事規制を回避するために、医療機関医師に受託を持ちかけることも想定されるが、薬事法違反のそしりはまぬがれない。

4. 牛胎児血清の生物由来原料基準適合性 動物種及び使用部位:牛胎児由来血液 原料について:

当該牛胎児血清は、ウシ胎児の血液に由来する。Certificate of Analysis の Origin に記載の通り、清浄国を原産とする健康な動物に由来する原料を使用している。また、原料は当該国政府に登録された屠畜場から入手しており、BSE に感染している動物由来の原料及び EC 規定中 (REGULATION (EC) No 999/2001 OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL of 22 May 2001) の Annex V に記載される特定危険部位を原材料としていない。当該牛胎児血清は、妊娠雌牛を屠殺したのちに胎児を取り出し、閉鎖かつ無菌的に取り出した血液を原料として使用し、無菌的に製造されている。表 1 に製造元規格を示した。Certificate of Analysis に記載の通り、当該 Lot は、製造元規格を満たしている。

なお、本申請細胞製剤の製造に用いるウシ胎児血清にあつては、 γ 線照射 (25kGy-35kGy) にてウイルスの不活性化を行う。

表 1 製造元規格

検査項目	検査方法	判定基準
無菌試験	Quality Control Tests:-Certified FBS No.30参照	Negative
マイコプラズマ否定試験	Quality Control Tests:-Certified FBS No.22参照	Negative
ウイルス	BTV Quality Control Tests:-Certified FBS No.34参照	Negative
	BVD Quality Control Tests:-Certified	Negative