

厚生労働科学研究費補助金
難治性疾患等克服研究事業

家族性 LCAT 欠損症患者に対する細胞加工
医薬品「LCAT 遺伝子導入ヒト前脂肪細胞」
の早期実用化にむけた非臨床試験

平成 25 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 武城 英明

平成 26 (2014) 年 3 月

目次

・総括研究報告書

家族性 LCAT 欠損症患者に対する細胞加工医薬品「LCAT 遺伝子導入ヒト前脂肪細胞」の
早期実用化にむけた非臨床試験

東邦大学医療センター佐倉病院 武城 英明
千葉大学医学部附属病院未来開拓センター 黒田 正幸

1

・分担研究報告書

1．原発性高脂血症の診療実態予備調査

自治医科大学内分泌学講座内分泌代謝学部門 石橋 俊

11

2．遺伝子治療に適した脂肪細胞移植技術の開発

千葉大学大学院医学研究院形成外科学 佐藤 兼重

16

3．科学的・倫理的配慮に基づく遺伝子治療臨床研究への円滑な橋渡しに関する研究

千葉大学医学部附属病院臨床試験部 花岡 英紀

20

・研究成果の刊行に関する一覧表

25

・研究成果の刊行物・別冊

29

**厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患等克服研究事業）
総括研究報告書**

**家族性 LCAT 欠損症患者に対する細胞加工医薬品
「LCAT 遺伝子導入ヒト前脂肪細胞」の早期実用化にむけた非臨床試験
研究代表者 武城 英明（東邦大学医療センター佐倉病院 教授）
分担研究者 黒田 正幸（千葉大学医学部附属病院 特任准教授）**

研究要旨 本研究は根本的治療法のない難治性血清蛋白欠損症である家族性LCAT欠損症に持続的蛋白補充に基づく細胞医薬品を患者へ早期に提供することを目指し、遺伝子治療技術の有効性と安全性にかかわる臨床研究、臨床試験（治験）を経て、国内での医薬品製造・販売承認（薬事承認）へ円滑に繋げる非臨床試験成績を収集することを目的とする。今年度、厚生労働省より、これまでの一連の研究成果をもとに患者さんへの遺伝子治療臨床研究が認可された。このことにより初めて患者を対象とした移植治療研究と患者脂肪組織を用いた非臨床試験を行うこととなった。本年度、LCAT遺伝子導入前脂肪細胞の品質に関するPMDA相談を受け、今後の検討事項が定められた。H26年度は、千葉大学に新たに設置される細胞調製室（CPC）におけるGMP製造体制を構築し、各種品質・特性試験を改善し、確立する予定である。

本年度、非臨床動物試験の遂行に向けた検討を行った。薬効・薬理試験用の病態モデルマウスとしてLCAT遺伝子欠損とヒトApoAI遺伝子を有するマウスを作出した。薬効・薬理試験に必要な個体数を確保するための繁殖を実施している。また安全性試験のモデルとして、免疫不全マウスとイヌ（ビーグル）を評価した。免疫不全マウスとしてNOD/SCIDマウスを使用し、LCAT遺伝子導入ヒト前脂肪細胞の移植によりhLCATの血中への持続分泌が認められた。これまで大動物としてカニクイザルやミニブタを評価してきたが、細胞の増殖性が悪く十分量の移植細胞数が得られていなかった。一方、イヌ前脂肪細胞は獲得細胞数や増殖特性がヒト前脂肪細胞と類似し、自家移植個体で少なくとも移植14日目まで血中にhLCAT蛋白が検出された。このことから安全性をイヌで評価することが適当であると考えられた。さらに、LCAT蛋白のELISA試験と、細胞移植後のクローナリティー試験（LAM-PCR法）を確立するための試験結果を得た。H26年度は本年度の予備試験成果に基づきPMDA相談を行い、非臨床動物試験を実施する予定である。

武城 英明（東邦大学医療センター佐倉病院）、石橋 俊（自治医科大学）、佐藤 兼重（千葉大学大学院医学研究院）、花岡 英紀（千葉大学医学部附属病院）、黒田 正幸（千葉大学医学部附属病院）

A．研究目的

難治性遺伝病は根本的な治療法がなく欠損蛋白質を持続的に補充する新規治療法を開発することが求められてきた。申請者らは、このような医学的課題を克服することを目的に、患者脂肪組織由来の初代培養

細胞（前脂肪細胞）に治療目的遺伝子を導入しこれを自家移植する遺伝子細胞治療法の開発し、これを実用化するための研究に着手してきた。このような背景をもとに、家族性 LCAT 欠損症を対象とする LCAT 遺伝子導入ヒト前脂肪細胞の調製に成功し、移植細胞の GMP 製造法、品質試験法を確立し、更にがん化否定試験など細胞の安全性も示した。千葉大学医学部附属病院で承認された遺伝子治療臨床研究実施計画書を厚生労働省へ申請し、厚生科学審議会における審議・指導のもとで、持続的 LCAT 産生と本細胞医薬品の有効性を確認し、現在、遺伝子治療臨床研究を実施する現況である。

本課題研究は、家族性 LCAT 欠損症患者の予後を向上するための医療技術を迅速に確立し、本細胞医薬品を患者さんへ早期に提供することを目指し、遺伝子治療技術の有効性と安全性にかかわる臨床研究、臨床試験（治験）そして国内での医薬品製造・販売承認（薬事承認）へ円滑に繋げることを目的とした非臨床試験を実施する。

B．研究方法

< 遺伝子治療臨床研究状況 >

平成 25 年度は、本課題とともに遂行する予定である「LCAT 遺伝子導入ヒト前脂肪細胞」医薬品の患者自家移植による遺伝子治療臨床研究（課題名：家族性 LCAT（レシチン：コレステロールアシルトランスフェラーゼ）欠損症を対象とした LCAT 遺伝子導入ヒト前脂肪細胞の自家移植に関する臨床研究）実施承認に向け、第 2 回遺伝子治療作業委員会（H24.12.6）での指摘を受けて改訂した実施申請資料の提出し第 77 回厚生科学審議会科学技術部会（H25.4.18）での審議を受けた。

< 薬事戦略相談 >

薬事戦略相談については、H25 年 10 月 11 日に移植用細胞の品質に関する相談申込みを行い、書面での審査を受けた。相談資料の内容に関するやり取りの中で、医薬品機器総合機構（PMDA）との間で大

きな意見・解釈・理解等の隔たりがなく、書面審査のみで相談を終了した。相談結果については以下の項で記載する。

< 非臨床試験 >

1) 薬効・薬理試験

昨年度導入したヒト ApoAI 遺伝子のトランスジェニックマウスと LCAT 欠損マウスの交配を実施し、両方のジェノタイプをホモで有するマウスの作出を試みた。

2) 安全性・体内動態試験、毒性試験

昨年度の検討において代替えの大動物における移植試験の可能性を検討するためイヌ、ミニブタから採取した脂肪組織を用いた細胞培養、遺伝子導入検討を行った。その結果、イヌ（ビーグル）由来の前脂肪細胞が、ヒト前脂肪細胞と同様の特性を持っていることが明らかになった。その結果を受けて H25 年度は、少数のイヌ個体での自家移植探索試験を実施した。

（倫理面への配慮）

移植細胞の薬効薬理、生着性、毒性に関する研究は、国で定められている、ヒト生体由来細胞を用いた実験、組み換え DNA 実験、動物取り扱いに関する指針ならびに千葉大学大学院医学研究院の規定に従い、千葉大学で開催される各委員会でも実験許可を受けて実施した。

移植細胞の調製は、「遺伝子治療用医薬品の品質及び安全性の確保に関する指針について」、「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(自己)由来細胞・組織加工医薬品等の製造管理・品質管理の考え方について」、「医薬品の臨床試験の実施の基準に関する省令」に基づく「治験薬の製造管理及び品質管理基準および治験薬の製造施設の構造設備基準（治験薬 GMP)について」を満たす製造設備及び手順に遵守し製造した。

遺伝子治療臨床研究実施に向けて、「臨床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」

「ヒト幹細胞を用いる臨床研究に関する指針」及び「遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律」に基づく第一種使用規程を遵守し、また「医薬品の臨床試験の実施の基準に関する省令」および「その一部を改正する省令ならびにそれらの関連通知」に準拠し研究を実施した。

C & D (研究結果と考察)

< 遺伝子治療臨床研究状況 >

平成 25 年度は、本課題とともに遂行する予定である「LCAT 遺伝子導入ヒト前脂肪細胞」医薬品の患者自家移植による遺伝子治療臨床研究(課題名: 家族性 LCAT (レシチン: コレステロールアシルトランスフェラーゼ) 欠損症を対象とした LCAT 遺伝子導入ヒト前脂肪細胞の自家移植に関する臨床研究) 実施承認に向け、第 2 回遺伝子治療作業委員会 (H24.12.6) での指摘を受けて改訂した実施申請資料の提出し第 77 回厚生科学審議会科学技術部会 (H25.4.18) での審議を受けた。その結果、H25.5.13 付で遺伝子治療臨床研究の実施が承認された(厚生労働省発科 0513 第 1 号)。今後は本遺伝子治療臨床研究を本非臨床試験と並行して可能な限り GCP 準拠で実施し、治験に向けた (first in human の) 臨床 DATA を取得する予定である。

< 薬事戦略相談 >

LCAT 遺伝子導入ヒト前脂肪細胞の品質に関して、平成 25 年 10 月 11 日付で相談申込みをし、書面審査の後、平成 26 年 1 月 22 日付で PMDA より意見を受理した。申請資料のやり取りの中で PMDA からの意見等に意見や考え方の相違がなかったため、PMDA と相談者(千葉大学)との間で、対面助言は実施する必要がないと判断し、書面審査のみとなった。

1) LCAT 遺伝子導入前脂肪細胞の規格の設定方針

規格決定の方針として、これまでの研究で得られている成果に基づく暫定規格値、今後 GMP 製造を行う 3 ロットの規格試験結果、遺伝子治療臨床研究

で製造する家族性 LCAT 欠損症患者 3 ロットの規格試験結果、の 3 者を総合的に検討し、最終的な規格決定を行う方針について、PMDA からは特に異論はなかった。今後はこの方針に従って研究を進めていく予定である。

2) 品質試験、工程内管理試験について

PMDA からの意見を製造・品質管理工程に沿って、図 1 にまとめた。それぞれについて以下に記載する。

(1) 脂肪幹細胞混入のリスク評価

細胞は未分化であればあるほどリスクが高いと考えられることから、未分化であると考えられる脂肪組織幹細胞の混入を評価する必要がある。

(2) 過継代細胞のリスク評価

患者さんに移植する細胞の品質を確保するため、過継代細胞の評価をし、移植用細胞との比較検討を実施する必要がある。

(3) 工程由来不純物の設定と評価系の確立

コラゲナーゼ、トリプシン、BSA、ゲンタマイシンに加えて、培地由来の増殖因子などの最終製剤への残存のリスクを評価するための試験系の確立が必要である。

(4) 過剰導入細胞のリスク評価

平均 1 コピー、陽性率 30%程度であることから、3~5 コピー/細胞の混在があった時のリスク評価が必要である。

(5) RCR 出現のリスク評価

RCR が混在することを否定する評価系の確立において、ウイルス粒子からの核酸抽出効率に関する評価が必要である。

(6) LCAT 力価試験法の変更

現状の力価測定法はアイソトープを使い、またステップが多いアッセイ系であり、バリデーションが取りづらい。このような現状のため力価試験を LCAT 蛋白定量試験に移行することに関して助言を受けた。

(7) 細菌混入のリスク評価

最初の摘出脂肪組織に菌が含まれてくることの

回避が必須である。その上で、工程内管理試験として無菌試験を考慮すべきである。

- (8) マイコプラズマ混入のリスク評価
 マイコプラズマ否定のための評価検体の再検討と複数の試験の採用を考慮すべきである。

3) 移植用製剤の組成について

これまでの検討から医療用組織接着剤であるフィブリンゲルを細胞と混和して患者皮下に注入移植するプロトコルを考えている。そこで、認可されている用途以外でのフィブリンゲルの使用について意見を伺った。

- (1) フィブリンゲル(フィブリノゲンとトロンピン)の使用について
 臨床での適用とは異なるため、細胞製剤キットのコンポーネントとして扱い、注射剤としての要件を満たすような検討が必要である。

<非臨床動物試験>

治験に向けた GLP 準拠ないしは信頼性基準対応非臨床動物試験を実施する目的で、以下の検討を進めた。

1) 薬効・薬理試験

LCAT の活性発現の共役因子として ApoAI が知られている。LCAT と ApoAI との相互作用には種差があることが知られており、ヒト LCAT の機能を評価するには ApoAI もヒト型であることが必要であると考えられる。そこでこれまで薬効試験モデルとして考えていた LCAT-KO マウスにさらにヒト ApoAI (hApoAI) を保有するマウスを薬効・薬理作用のモデルとして作出することとした。

昨年度導入したヒト ApoAI 遺伝子のトランスジェニックマウス (hApoAI-Tg マウス) と LCAT 欠損マウス (LCAT-KO マウス) の交配を実施し、両方のジェノタイプをホモで有するマウスの作出を試みた。今年度は hApoAI-Tg マウスと LCAT-KO マウスの交配、で作出される両遺伝子型をヘテロ (Ht) で保有するマウス (hApoAI-Tg-Ht/LCAT-KO-Ht マウス) の交配、を行い、両方の遺伝子型をホモ (Ho) で保有

するマウス (hApoAI-Tg-Ho/LCAT-KO-Ho マウス) の作出を進めた。

の交配で得られた産仔マウス 147 匹の内、飼育途中で死亡したマウス 4 匹を除き、産仔として 72 匹、71 匹についてジェノタイピングを行った (表 1)。その結果 hApoAI-Tg-Ho/LCAT-KO-Ho マウスが 3 匹、6 匹得られた。hApoAI-Tg マウスにおける hApoAI 遺伝子領域の挿入部位は明らかとはなっていないため、hApoAI 遺伝子の挿入箇所に基づいた通常の PCR によるジェノタイピングができず、Real-time PCR によるコピー数測定が必要でありかなり煩雑な作業が必要であった。一方 LCAT-KO は PCR によるジェノタイピングが可能となっており、判定は容易であった。このような理由から産仔の内、明らかに hApoAI-Tg-Ho のみ (表 1 . 黄色ハイライト) をそれ以降の繁殖に用いることとした。現在、薬効・薬理試験実施に向けて繁殖を行っている。

		♂ 72匹		
		LCAT		
		Homo	Hetero	Wild
hApoAI	Homo	3	7	3
	Hetero	11	20	9
	なし	3	9	7

		♀ 71匹		
		LCAT		
		Homo	Hetero	Wild
hApoAI	Homo	6	9	2
	Hetero	7	22	2
	なし	4	8	11

表 1. 産仔獲得状況とジェノタイピング結果
 での繁殖後の産仔数とジェノタイピング結果を示す。

得られた産仔について血清を採取し、ApoAI の血中濃度を測定した (図 2)。家族性 LCAT 欠損症では、ApoAI の血中濃度が減少していることが知られている。実際に野生型 B6 マウスと比較するとマウス ApoAI (mApoAI) の濃度が低下していることが確認された。また、hApoAI-Tg のジェノタイプを持つマウ

スでは hApoAI が検出され、mApoAI はほとんど検出されなくなっていた。hApoAI 遺伝子領域の染色体挿入部位が作出の原著論文からは不明であるため、mApoAI 遺伝子が破壊されているかどうか不明であるが、作出したマウスの血中では hApoAI が優位に存在することが分かり、また LCAT-KO のジェノタイプを持つマウスが LCAT-WT のジェノタイプを持つマウスより hApoAI の血中濃度が低下していたことから、家族性 LCAT 欠損症患者に類似した ApoAI の動態を示していると考えられた。

LCAT-KO のジェノタイプを持つマウスでは hApoAI-Tg-Ht と hApoAI-Tg-Ho のジェノタイプを有する群間で hApoAI の血中濃度に大きな差はなく、hApoAI-Tg-Ht/LCAT-KO-Ho マウスが薬効薬理試験実施前の予備試験に使えるのではないかと考え、現在移植実験を進めている。その結果を評価し、hApoAI-Tg が薬効評価に有利であるかどうかを評価したうえで、hApoAI-Tg-Ho/LCAT-KO-Ho マウスによる本試験に移行する予定である。

2) 安全性・体内動態試験、毒性試験

この試験に向けて、免疫不全マウスとイヌを動物として用いる方針の下検討を行った。

以前の研究から LCAT 遺伝子導入ヒト前脂肪細胞を移植した Nude マウスで移植 14 日目以降血中への hLCAT 分泌が消失したことから、さらに重度免疫不全のマウスである NOD/SCID マウスを用いて検討することとした。実際に移植し、血中への hLCAT 分泌を検討したところ、NOD/SCID マウスにおいて Nude マウスよりも長期に hLCAT 分泌が確認された(図3)。



図3. Nude マウス、NOD/SCID マウスへの LCAT 遺伝子導入ヒト前脂肪細胞の移植による LCAT 分泌

Nude マウスでは移植 14 日目に LCAT 蛋白が消失したが、NOD/SCID マウスでは持続した。

PMDA からの指摘に対応するため、ヒト前脂肪細胞で LCAT 遺伝子を過剰に導入した細胞の調製を行った。遺伝子導入補助試薬として今後予定する GMP 製造では承認薬である硫酸プロタミン(PS)を使う予定である。それに対して、現在の血球系細胞を用いた遺伝子治療で遺伝子導入補助試薬として使われているレトロネクチン(RN、タカラバイオ)を使用して、遺伝子導入様式を検討した(図4)。その結果、RN で PS に比べて3倍程度の平均導入コピー数が得られた。また分泌される LCAT タンパク量も増加した(図5)。

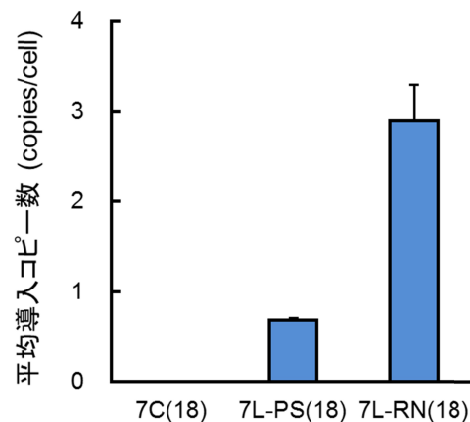


図4. レトロネクチンによる遺伝子導入効率の上昇

天井培養 7 日目の細胞に PS と RN で遺伝子導入を行い抽出 18 日目の細胞について平均導入コピー数を Real-time PCR 法により定量した。7C: 非導入細胞、7L-PS: PS で LCAT 遺伝子を導入した細胞、7L-RN: RN で LCAT 遺伝子を導入した細胞

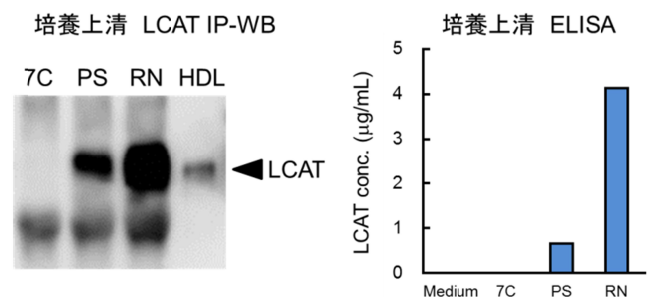


図5. レトロネクチンにより遺伝子導入したヒト前脂

肪細胞の LCAT 分泌能

図4で作製した細胞の培養上清について免疫沈降ウェスタンブロット、ELISA により LCAT 蛋白を検出した。7C: 非導入細胞、PS: PS で LCAT 遺伝子を導入した細胞、RN: RN で LCAT 遺伝子を導入した細胞、の培養上清を検出に用いた。

次に PS、RN で遺伝子導入したヒト前脂肪細胞を NOD/SCID マウスに移植し、安全性評価試験として LAM-PCR 法によるクローナリティー評価試験が可能かどうかを検討した。移植時の細胞と移植7日目の移植部位から抽出した細胞について LAM-PCR 解析を実施したところ、PS、RN による導入細胞いずれについてもシグナルが検出され、RN による遺伝子導入細胞を過剰導入細胞として評価できることが明らかとなった(図6)。現在、移植28日後までの移植部位から抽出した細胞について LAM-PCR による解析を実施している。

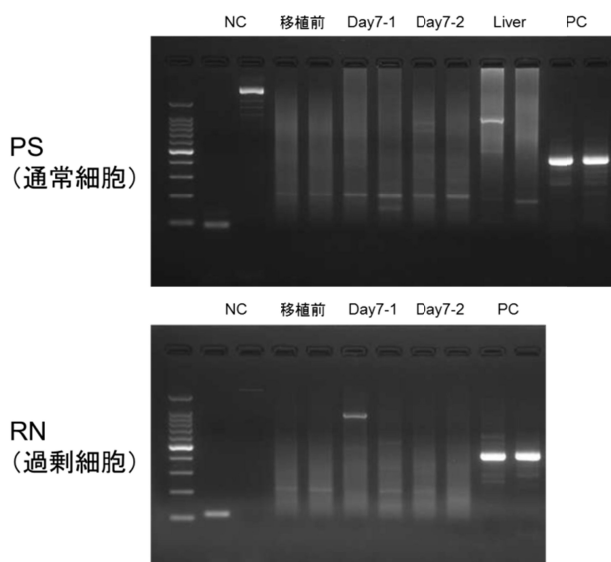


図6. NOD/SCID マウスに移植された LCAT 遺伝子導入ヒト前脂肪細胞を用いたクローナリティー解析
PS または RN を用いて遺伝子導入した細胞について、移植前と、移植7日後の移植部位より抽出した細胞 (Day7-1、Day7-2、各々2個体より抽出) についてゲノム DNA を調製し、LAM-PCR 解析を行った。NC: 陰性コントロール、PC: 陽性コントロール、Liver: NOD/SCID マウス肝臓由来 DNA

血球系の細胞を標的とした *ex vivo* 遺伝子治療では患者の末梢血から遺伝子導入細胞が継時的に採取できるため、マウスへの移植においても継時的な採血によるクローナリティー解析で安全性評価が可能である。一方、本 *ex vivo* 遺伝子治療では継時的な経過観察には biopsy が必要と考えられる。患者を対象とした場合、有効成分が biopsy によって取り除かれる可能性があること、また侵襲性があることが考慮されるべきであり、さらにマウスでの移植安全性試験において、biopsy は技術的に困難であると考えられる。これらの問題点については今後 PMDA と相談の上、安全性試験の計画を決める予定である。

本研究では大動物における安全性評価が重要な課題である。昨年度までの検討結果から、カニクイザル、ミニブタでの評価は脂肪細胞の培養に問題があることが分かっており、その一方イヌの脂肪細胞がヒトの脂肪細胞と類似した培養特性を示すことを確認した。またイヌ血清中に添加した hLCAT がイヌ由来の LCAT の存在下特異的に検出可能であることも確認した。H25 年度はイヌを用いて自家移植試験が可能かどうかを検討した。

ヒト前脂肪細胞と同様の方法により hLCAT 遺伝子導入イヌ前脂肪細胞を調製し、イヌ (ビーグル、雌、約 10 か月齢、約 10kg) を用い、日本バイオリサーチセンターで自家移植試験を実施した。脂肪組織からの脂肪細胞培養、hLCAT 遺伝子導入は千葉大学で実施し、移植用細胞の調製、移植、その後の経過観察を日本バイオリサーチセンターで実施した。移植用細胞の調製は現地で千葉大学担当者が実施した。

この試験では3頭のイヌを用い、投与細胞数として、個体1はヒトで想定している臨床投与量 (5×10^8 個 ~ 1×10^9 個) から体重換算で同等と考えられる 1×10^8 個/個体、個体2はその10倍量の 1×10^9 個/個体で自家移植を行った。残りの1頭は未処置の対照個体とした。イヌのフィブリンゲル製剤はないため、クエン酸

加自家血漿と 1%自家血清、トロンピンを含むリンゲル液で懸濁した細胞懸濁液を二筒性シリンジに充填し、臨床で使用されているフィブリンゲル製剤と同様の方法で鼠蹊部に注入移植した。

2 頭の個体から 7 日間の天井培養により、脂肪組織 1g あたりそれぞれ 3.87×10^6 個、 3.95×10^6 個の前脂肪細胞が調製され、また 2 頭の個体由来細胞間で、増殖性、表面抗原マーカーに著しい相違は認められなかった (図 7、8)。

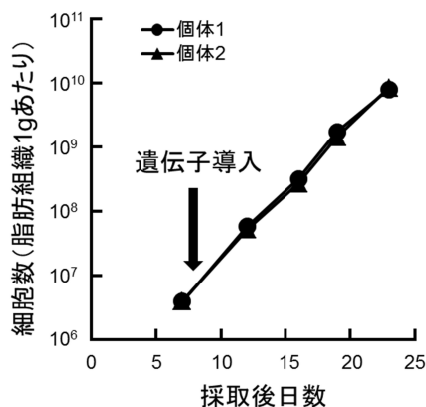


図 7. hLCAT 遺伝子導入イヌ前脂肪細胞の増殖
個体 1、2 由来の細胞間で増殖性に違いは認められなかった。

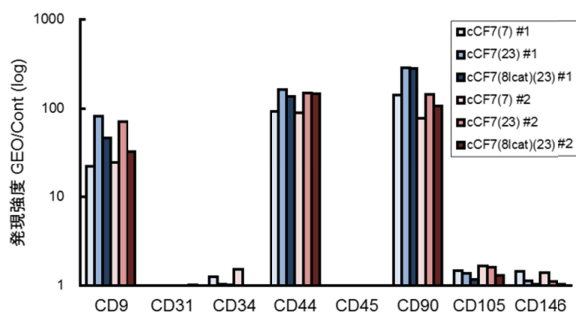


図 8. イヌ前脂肪細胞、hLCAT 遺伝子導入イヌ前脂肪細胞の表面抗原プロファイル

個体 1、2 間で大きな違いはなく、遺伝子導入による影響は認められなかった。cCF7: イヌ前脂肪細胞、cCF7(8lcat): hLCAT 遺伝子導入イヌ前脂肪細胞、()内は脂肪組織摘出後の日数を表す。

移植個体から経時的に血清を採取し、免疫沈降ウェスタンプロットにより hLCAT 蛋白を検出したところ、個体 2 においてかなり明瞭な hLCAT のバンドが移植

14 日まで観察された (図 9)。個体 1 ではシグナルは弱いものの hLCAT 特異的なバンドが観察された。この試験は移植 28 日後まで観察を予定しており、移植 28 日目の検体が得られ次第、hLCAT 蛋白の検出を行う予定である。

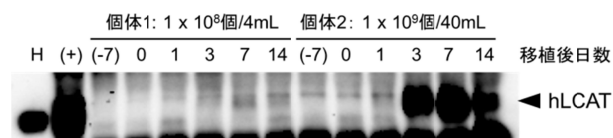


図 9. hLCAT 遺伝子導入前脂肪細胞の自家移植イヌモデルにおける血清中 hLCAT の検出

これらの結果から、イヌ (雌) が LCAT 遺伝子導入前脂肪細胞の安全性評価のみならず、用量反応性を解析することが可能な大動物であることが示唆された。今後イヌでの持続分泌が可能かどうか、もしくは抗体が出現しているかどうかを精査し、GLP 試験へと進める予定である。

E. 結論

本年度 LCAT 遺伝子導入前脂肪細胞の品質に関する PMDA 相談を受けたことで、治験を開始するための問題点や細胞の品質にかかわる検討事項が明らかになった。来年度はこれらの検討事項を一つ一つ解決し、千葉大学で新規に設置される細胞調製室 (CPC) で GMP 製造試験を進める予定である。

本年度の PMDA 相談で、製造にかかわる生物由来原料についてさらに相談を受けるように指示を受け、来年度、これに対する相談を予定している。

本年度の検討から、薬効・薬理試験を目指したモデルマウスの作出が完了した。作出した個体は ApoAI の血中動態が家族性 LCAT 欠損症患者と類似していた。今後の試験に必要な個体数の繁殖を実施中である。安全性評価試験に関しては NOD/SCID マウス、イヌを評価した。それぞれの動物が今後の GLP 試験に使用できることが示唆された。来年度はこれらの予備探索試験の結果に基づき非臨床試験デザインに関する PMDA 相談を行い、順次 GLP 試験へ移行する予定で

ある。

F . 研究発表

1. 論文発表

- 1) Naito S, Kamata M, Furuya M, Hayashi M, Kuroda M, Bujo H, Kamata K. Amelioration of circulating lipoprotein profile and proteinuria in a patient with LCAT deficiency due to a novel mutation (Cys74Tyr) in the lid region of LCAT under a fat-restricted diet and ARB treatment. *Atherosclerosis* 2013, 228; 193-197.

2. 総説

- 1) 黒田正幸、武城英明. 家族性 LCAT 欠損症, 日本臨牀増刊、2013, 71; 275-279.
- 2) 麻生雅是、黒田正幸. ヒト脂肪細胞の初代分離・培養と臨床応用, *Organ Biology*、2014, 21; 60-65.

3. 学会発表等

- 1) Kuroda M, Aso M, Saito Y, and Bujo H. Self-transplantation using therapeutic-enzyme secreting adipocytes for familial LCAT deficiency syndrome. 第 45 回日本動脈硬化学会総会・学術集会シンポジウム. H25.7.18-19 (東京)
- 2) 黒田正幸、浅田咲世、青柳靖之、石橋俊、山下静也、鎌田貢壽、AG. Holleboom、武城英明. LCAT 欠損症の腎不全に関わる異常リポ蛋白の同定と酵素添加による改善. 日本小児脂質研究会. H25.11.9-10 (福井)
- 3) 青柳靖之、黒田正幸、浅田咲世、麻生雅是、横手幸太郎. 遺伝子導入脂肪細胞のファブリー病治療への展開. 日本小児脂質研究会. H25.11.9-10 (福井)
- 4) 黒田正幸. 分泌型タンパク質の欠損による先天性遺伝病を対象とした脂肪細胞による *ex vivo*

遺伝子治療の実用化. 立命館大学薬学部セミナー. H25.11.11.

- 5) Kuroda M, Bujo H, Yokote K, Asada S, Aoyagi Y, Aso M, and Saito Y. Novel enzyme replacement therapy for LCAT deficiency syndromes through transplantation of *ex vivo* gene-transduced autologous adipocytes. 3rd Chiba-Uppsala Academia Joint Workshop. H26.2.20-21.

G . 知的財産権の出願・登録状況

特になし

2. 実用新案登録

特になし

3. その他

特になし

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患等克服研究事業）
家族性LCAT欠損症患者に対する細胞加工医薬品
「LCAT 遺伝子導入ヒト前脂肪細胞」の早期実用化にむけた非臨床試験
平成25年度 分担研究報告書

原発性高脂血症の診療実態予備調査
分担研究者 石橋 俊 自治医科大学内科学講座内分泌代謝学部門

研究要旨

LCAT 欠損症を含めた原発性高脂血症の診療実態調査に先立って、原発性高脂血症調査研究班の班員を対象に予備調査を実施した。のべ8例のLCAT欠損症の診療実績が報告されたが、現在も診療継続されているのは2例だけだった。

A. 研究目的

家族性LCAT欠損症の細胞加工医薬品を開発する為には、本邦における家族性LCAT欠損症の臨床像等に関する疫学調査に基づいた、新規治療に対するニーズと適応を明らかにする必要がある。本研究では、原発性高脂血症調査研究班の班員を対象に、家族性LCAT欠損症を含めた原発性高脂血症診療実態の予備調査を実施した。

B. 研究方法

原発性高脂血症調査研究班15施設を対象に別紙に示すアンケート調査を実施した。

C. 研究結果

集計結果を抜粋して示す。

- Q1. 以前から用いられている原発性高脂血症という名称よりも、原発性脂質異常症という名称に変更すべきとする意見が過半数を占めた。
- Q2. 原発性高脂血症の定義について、単一遺伝子疾患に限定すべきという意見もあるが、
- Q3. 分類も見直すべきという意見が過半数だった。
- Q4. 家族性高コレステロール血症(FH)はLDL受容体異常症だけでなく、PCSK9異常症も含む常染色体優性遺伝形式を示す高LDLコレステロール血症とする定義が妥当と全員が考えた。
- Q5. FHの診断基準について、遺伝子診断を含めた診断基準が妥当ではないかという意見があった。
- Q6. 家族性複合型高脂血症の診断基準基準にも問題点が指摘された。
- Q7. 家族性III型高脂血症の診断基準については大きな意見はなかった。
- Q8. FH、カイロミクロン血症、FCHL、CETP欠損症等は相当数の患者が班員施設において診療を受けているが、稀少疾患も少なくない。LCAT欠損症の累積経験数は8例だったが、現時点での患者数は2例しか報告されなかった。確定診断がなされていない患者も少なからず存在した。

D. 考察

脂質異常症の原因遺伝子の新たな発見や診断手法の進歩を反映して永年使われてきた原発性高脂血症という名称や定義も見直しの必要性がある。

原発性高脂血症を専門的に診療している原発性高脂血症調査研究班の班員施設においてすら LCAT 欠損症は稀少疾患である。今後、調査範囲を拡げて、LCAT 欠損症の診療実態を明らかにしていく必要がある。

E. 結論

家族性 LCAT 欠損症を含めた原発性高脂血症診療実態の予備調査を実施した。専門施設においても LCAT 欠損症は稀少疾患であることが確認された。

F. 研究発表

Takahashi M, Yagyu H, Tazoe F, Nagashima S, Ohshiro T, Okada K, Osuga J, Goldberg IJ, Ishibashi S. Macrophage lipoprotein lipase modulates the development of atherosclerosis but not adiposity. *J Lipid Res.* 2013 Apr;54(4):1124-34.

アンケート

「原発性高脂血症」の名称・定義・分類についてお尋ねします。

Q1 「原発性高脂血症」の名称について

「動脈硬化性疾患予防ガイドライン 2007 年度版」の中で「高脂血症」に代わって「脂質異常症」という名称が使用されるようになってから、診療現場では「脂質異常症」の呼称が定着しました。それに伴って「原発性高脂血症」も「原発性脂質異常症」と改めるべきとお考えですか？

- a はい
- b いいえ
- c わからない

Q2 「原発性高脂血症」の定義について

「原発性」は「続発性」に対比した概念ですが、基礎疾患がなくとも脂質異常症を呈する多遺伝子(polygenic)な病態が存在します。そのような病態も「原発性」に含めるべきでしょうか？あるいは、単一遺伝子(monogenic)疾患に限定すべきでしょうか？その場合、表 1 の中の原発性 V 型高脂血症、特発性高コレステロール血症、家族性 IV 型高脂血症、特発性高トリグリセリド血症は、原発性高脂血症から外れる事になります。

- a 単一遺伝子疾患に限定すべき
- b 多遺伝子疾患も包括すべき
- c わからない

Q3 「原発性高脂血症」の分類について

これまで原発性高脂血症調査研究班の提唱した分類が行われてきました(表 1)。一方、アメリカの教科書では原因遺伝子別に疾患を列挙する表を提示しています(表 2)。原因遺伝子の解明が進んだ現在、分類を見直す

べきでしょうか？

- a 見直すべき
- b 見直す必要はない
- c わからない

Q4 Q3 で a とお答えになった方へ。新しい分類についてご提案があれば、ご呈示ください。

「原発性高脂血症」は本質的に遺伝性疾患ですが、遺伝子診断ではなく臨床的特徴に基づいた診断基準による診断が普及しています。特に、家族性高コレステロール血症(FH)、家族性 III 型高脂血症、家族性複合型高脂血症(FCHL)の診断基準について改良に関するご提案があればお願いします。

Q5 家族性高コレステロール血症(FH)の診断基準(表3、4)

Q6 家族性 III 型高脂血症の診断基準(表5)

Q7 家族性複合型高脂血症の診断基準(表6)

Q8 家族性高コレステロール血症(FH)を常染色体優性の高 LDL コレステロール血症と定義すると、LDL レセプター以外に PCSK9 等の変異に起因するものも含まれます。一方、LDL レセプターの異常症のみを FH と定義する考え方があります。FH の定義としてどちらが適当でしょうか？

- a LDL レセプター異常のみを FH と定義する
- b 常染色体優性の高 LDL コレステロール血症と定義する(従って PCSK9 異常症も含まれる)
- c わからない

Q9 原発性高脂血症の診療経験をお尋ねします。

表7に記載した疾患毎に、累積経験患者数、および、現在通院されているなど、直接連絡が可能な患者数をご記入いただけますか？概数で結構です。その場合「約」や「～」等でお示してください。(最終診断に至っていない症例については各表現型の最後にオレンジ色で原因未特定とある行にご記入ください。また、該当例がない場合等は空欄のまま結構です。)

Q10 これらの疾患の実態調査を計画中です。その場合、調査にご協力いただけますでしょうか？(Aと同じ質問です)

- a 協力できる(なんらかの形で)
- b 協力できない

Q11 Q10 で a(協力できる)とお答えいただいた方にお尋ねします。協力できる調査形態の種類についてご記載ください。(複数回答可)

- a 薬物介入(既存または開発中の薬剤を用いた介入)
- b レジストリー(登録後追跡し、合併症等の予後や治療実態を明らかにする)
- c 断面調査(一回だけの調査)
- d 遺伝子診断(遺伝子診断未実施の患者について変異を同定する)
- e その他

新規治療として、抗 PCSK9 モノクローナル抗体、アポ B アンチセンスオリゴヌクレオチド、MTP 阻害薬、LPL 遺伝子治療薬等が海外では承認されています。

Q12 各疾患に関して、現状の治療手段で十

分とお考えでしょうか？

表7に記載した疾患毎に「十分」が「不十分」に をご記入ください。(わからない場合は空欄のままで結構です。)

に をご記入ください。(コストがかからないと仮定してお答えください)

Q13 Q11 で不十分とお答えいただいた方にお尋ねします。海外で承認されているが日本には未導入の治療薬に加えて、具体的な治療法の提案があれば、表7に記載した疾患毎にご記入ください。

原発性高脂血症を診断には、酵素活性やLDL レセプター活性等が必要になる場合があります。

Q14 非遺伝子診断の検査の代行を希望する場合は、表7に記載した疾患毎に「外注を希望」に をご記入ください。(コストがかからないと仮定してお答えください)

Q15 他の施設から遺伝子診断の希望がある場合に、非遺伝子検査のサービスの受託が可能ですか？表7に記載した疾患毎に「受託可能」に をご記入ください。(コストがかからないと仮定してお答えください)

原発性高脂血症の診断を確定するには遺伝子診断が必要です。

Q16 遺伝子診断を代行してくれるサービスがあれば利用を希望しますか？表7に記載した疾患毎に「外注を希望」に をご記入ください。(コストがかからないと仮定してお答えください)

Q17 他の施設から遺伝子診断の希望がある場合に、遺伝子診断サービスの受託が可能ですか？表7に記載した疾患毎に「受託可能」

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患等克服研究事業）
家族性LCAT欠損症患者に対する細胞加工医薬品
「LCAT 遺伝子導入ヒト前脂肪細胞」の早期実用化にむけた非臨床試験
平成25年度 分担研究報告書

遺伝子治療に適した脂肪細胞移植技術の開発

分担研究者 佐藤兼重（千葉大学大学院医学研究院 形成外科学 教授）
研究協力者 窪田吉孝、安達直樹、笹原資太郎

研究要旨

細胞加工医薬品「LCAT 遺伝子導入ヒト前脂肪細胞」の移植は、培養細胞をフィブリン糊を足場として移植する点から、通常行われている確立された脂肪移植とは異なる要素がある。フィブリン糊を用いた移植において通常の脂肪移植に準じた微量分割注入法が行いいうること、また、生体イメージングを用いて、移植した培養細胞が移植初期の定着が不安定な時期に局在性を維持すること、が明らかになった。これらの結果は、細胞加工医薬品「LCAT 遺伝子導入ヒト前脂肪細胞」を用いた治療に特化した最適な移植法の確立に繋がる。

A. 研究目的

脂肪細胞移植は、歴史的には組織増量を目的とした治療に用いられたことから始まり、現在では、創傷治癒の質の改善や組織統合性の改善などの効果が明らかになり、移植材料としての応用性が広がりつつある。脂肪細胞移植による優れた効果の一部は脂肪細胞の高い分泌能によると考えられており、脂肪細胞は生着の過程で周囲の細胞や基質に積極的に働きかけることが可能である。家族性 LCAT 遺伝子欠損症患者に対する細胞加工医薬品「LCAT 遺伝子導入ヒト前脂肪細胞」は脂肪細胞の分泌性能を生かした画期的な遺伝子治療である。細胞加工医薬品「LCAT 遺伝子導入ヒト前脂肪細胞」においては、これまでに形成外科学領域で確立された脂肪採取と脂肪移植の原理及び手法が用いられ、安全性の高い手技と考えられる。しかし、LCAT 遺伝子導入ヒト前脂肪細胞を用いた遺伝子治療においては、通常行われている確立された脂肪移植とは異なる点がある。すなわち、

・通常の脂肪移植では細切した脂肪組織を移植するが、細胞加工医薬品「LCAT 遺伝子導入ヒト前脂肪細胞」では、培養細胞を用いる

・通常の脂肪移植では足場を必要としないが、単離された培養細胞を用いる細胞加工医薬品「LCAT 遺伝子導入ヒト前脂肪細胞」では、足場としてフィブリン糊を用いる

遺伝子導入用ヒト前駆脂肪細胞は、ヒト皮下組織からカニューレを用いた陰圧吸引法または切除採取した脂肪組織から天井培養法によって精製される。通常の脂肪移植では脂肪組織を細切するのみで注入するため、脂肪細胞は小さな組織塊として脂肪細胞周囲の結合組織や線維芽細胞・血管内皮細胞・周細胞等の構造中に埋め込まれたまま移植されることになる。よって、脂肪組織としての構造を保ちやすく、また、周囲組織との接着・統合も自然に行われると推定される。一方、細胞加工医薬品「LCAT 遺伝子導入ヒト前脂肪細胞」においては、コラゲナーゼ処理と遠心分離、天井培養にて細胞レベルに単

離された脂肪細胞を培養後に移植する。よって、生着の様態は通常の脂肪移植とは異なる。通常の状態では組織として生体内に存在している細胞を、細胞レベルに単離して培養し移植した場合、細胞周囲結合織などが存在しないことによる脆弱性が生着の障害となることはこれまで培養表皮移植などで指摘されている。そこで、細胞加工医薬品「LCAT 遺伝子導入ヒト前脂肪細胞」では細胞定着の足場としてフィブリン糊を用いる。

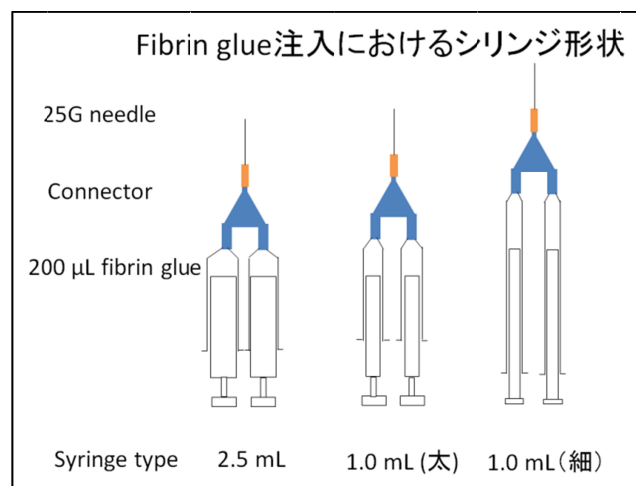
本研究の目的は、フィブリン糊を足場として用いた細胞加工医薬品「LCAT 遺伝子導入ヒト前脂肪細胞」の最適な移植法を明らかにすることである。

B. 研究方法

・ フィブリン糊を用いた細胞移植における微量分割注入法の検討

かつての脂肪移植においては、一箇所大量注入法が行われ嚢腫形成、感染、硬化などの合併症を多発し、脂肪移植そのものが禁忌的の手技とみなされた時期があった。脂肪移植が現在のように安全な、幅広く受け入れられる確立した手技とみなされるようになったのは、微量分割注入法が登場してからである (Coleman et al. *Plast Reconstr Surg*, 2007)。微量分割注入法を用いて極少量ずつ注入された脂肪組織は周囲からの血管新生を受けやすく生着しやすい。フィブリン糊にて培養細胞を混和して移植する細胞加工医薬品「LCAT 遺伝子導入ヒト前脂肪細胞」においても微量分割注入法が有用であると考えられる。微量分割注入法においては、シリンジサイズ、針径、注入物の粘稠度などが可能な最小微量を規定する。しかし、細胞加工医薬品「LCAT 遺伝子導入ヒト前脂肪細胞」では、アダプターで連結された二連筒を用いること、シリンジサイズが通常の脂肪移植で最も良いとされる 1 mL シリンジがコネクターの一部に適合しないこと、注

射筒内容物の粘稠度が通常の脂肪移植とことなることなどから、微量分割注入法の実行可能性と最少注入量を検討した。



比較するシリンジには、2.5 mL, 1.0 mL(太) (ポルヒール®1.0 mL キットに付属), 1.0 mL(細) (ツベルクリン針) を用いた。フィブリン糊(ポルヒール®) A 液、B 液をそれぞれ 200 μL 充填し、フォークコネクターで連結したのち 25G 針を装着した。100 μL を分割注入し、最少注入量を測定した。

・ フィブリン糊を用いた細胞移植後の細胞局在解析

細胞加工医薬品「LCAT 遺伝子導入ヒト前脂肪細胞」の移植においては、遺伝子治療であることから移植培養細胞が移植後、移植した場所にとどまることについて、通常の脂肪移植よりも、厳密に求められる。細胞膜を標的分子とする蛍光試薬で標識した培養細胞をフィブリン糊で移植した後、生体イメージシステム (IVIS® Imaging system) で経時的観察を行った。

培養 3T3-L1 (P10) 細胞 3×10^6 個を 1,1'-dioctadecyltetramethylindotricarbocyanine iodide (XenoLight DiR®) で標識した後、フィブリン糊 1 mL に懸濁し、balb/c nude マウスの背部皮下に

注入した。Day 3, 10 に IVIS で観察した。

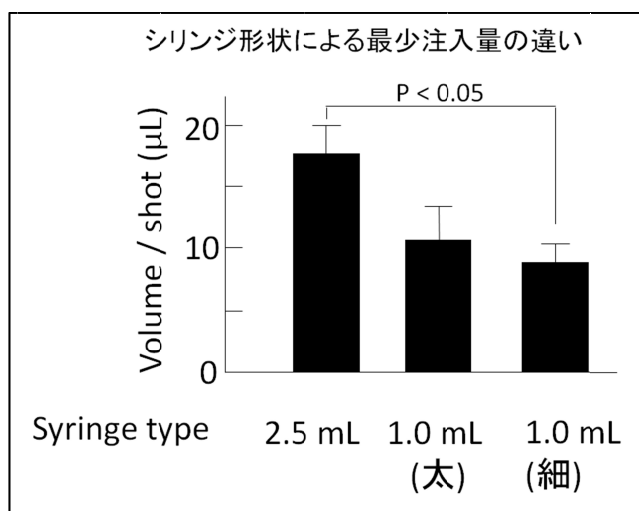
(倫理面への配慮)

研究内容は千葉大学動物実験委員会の承認の下、動物の福祉と人道的取り扱いに細心の注意を払い行われた。

C. 研究結果

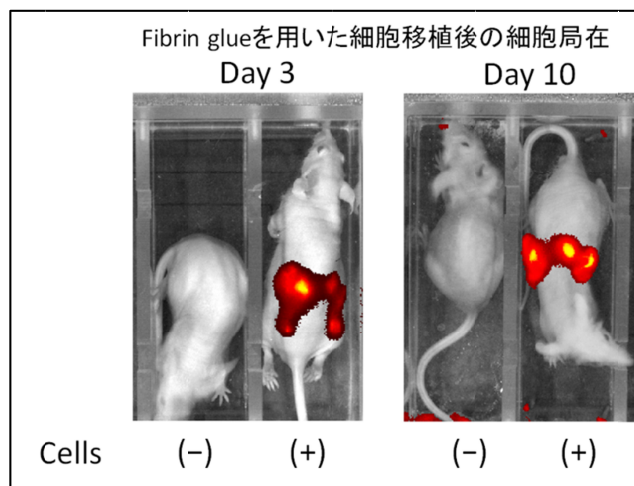
シリンジ形状による最少注入量の違い

シリンジ形状において径が細いほど最少注入量が少なくなる傾向があり、2.5 mL シリンジと 1.0 mL シリンジとの間では有意な差がみられた (17.0 ± 2.9 vs 8.7 ± 1.5 μL / shot, $P < 0.05$)。



フィブリン糊を用いた細胞移植後の細胞局在

Day 3 で、注入部位に一致して蛍光が観察された。注入部位以外へ細胞移動を示す蛍光はみられなかった。Day 10 において、蛍光は day3 より減少していたが、注入部位に一致して蛍光が観察された。注入部位以外では蛍光はみられなかった。



D. 考察

脂肪移植の臨床では、脂肪を注入する際、1 ショットごとの注入量をなるべく少なくして、広い範囲に分割して注入する方法の有効性と安全性が明らかになっている (Coleman et al., *PlastReconstrSurg*, 2007)。これは、少量ずつ広い範囲に注入することにより、個々の注入された脂肪組織塊に血管新生がしやすくなるためと考えられている。細胞加工医薬品「LCAT 遺伝子導入ヒト前脂肪細胞」においても、少量ずつ場所をずらしながら注入するのが望ましいと考えられる。我々の結果からは、フィブリン糊と連結管を用いた注入においても微量分割注入は可能であり、用いるシリンジは径が細い方が最少注入量が少なく望ましいことが明らかになった。しかし、今回最も最少注入量が少なく望ましいと考えられた 1.0 mL ツベルクリンシリンジは、市販されているフィブリン糊のキットにて、コネクタの一部が装着できないため、今後の検討を要する。

細胞加工医薬品「LCAT 遺伝子導入ヒト前脂肪細胞」の注入においては、遺伝子治療であるため、移植細胞が移植後に想定される分布範囲にとどまることが、通常の脂肪移植と比較して、とりわけ重要である。想定される分布範囲にとどまることで切除

による安全性確保のオプションを保つことが可能になるからである。我々の生体イメージングを用いた解析結果からは、フィブリン糊を用いた培養細胞の移植法は、注入直後の細胞定着が不安定な時期に細胞局在を保つことを明らかにした。長期的な局在性維持は今後の検討課題である。

E. 結論

フィブリン糊を用いて、通常確立された脂肪移植と同様に微量分割注入が可能である。また、フィブリン糊に培養細胞を懸濁して注入する方法は注入後早期の定着が不安定な時期に局在性を保つことが可能である。

F. 研究発表

1. 論文発表

1) Kubota Y, Mitsukawa N, Akita S, Hasegawa M, Satoh K. Postoperative patency of the retrograde internal mammary vein anastomosis in free flap transfer. *J Plast Reconstr Aesthet Surg.* 2014 Feb;67(2):205-11. doi: 10.1016/j.bjps.2013.10.013. Epub 2013 Oct 26. PubMed PMID: 24211113.

2) Kubota Y, Mitsukawa N, Uchida M, Uchida Y, Akita S, Hasegawa M, Satoh K. Low-level mesodermal somatic mutation mosaicism: Late-onset craniofacial and cervical spinal hyperostoses. *Am J Med Genet A.* 2013 Dec 19. doi:10.1002/ajmg.a.36310. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 24357582.

2. 学会発表

1) 窪田吉孝、安達直樹、笹原資太郎、小泉智恵、長谷川正和、黒田正幸、三川信之、武城英明、横手幸太郎、佐藤兼重。Ex vivo 遺伝子導入した脂肪細胞移植による難治性・希少疾患治療の展望 第22回日本形成外科学会基礎学術集会、2013年11月7日、新潟

G. 知的財産権の出願・登録状況

該当無し

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患等克服研究事業）
家族性LCAT欠損症患者に対する細胞加工医薬品
「LCAT 遺伝子導入ヒト前脂肪細胞」の早期実用化にむけた非臨床試験
平成25年度 分担研究報告書

科学的・倫理的配慮に基づく遺伝子治療臨床研究への円滑な橋渡しに関する研究
分担研究者 花岡英紀（千葉大学医学部附属病院臨床試験部長）

研究要旨

遺伝子治療を実施するにあたって適切な臨床研究基盤を整備する必要がある。そこで、先進医療 B の臨床試験あるいは今後予定される医師主導治験を視野に入れながら、先行する遺伝子治療臨床研究の体制整備に取り組んだ。

A. 研究目的

治験実施計画書作成のため、遺伝子治療臨床研究と今後予定される医師主導治験の実施体制について比較検討する。

マネジメントにより、細胞調製の基礎研究者、臨床担当の内科医師、脂肪細胞摘出および移植担当の整形外科医師が合同で会議を重ね、臨床研究における具体的な手順や役割分担について検討した。

B. 研究方法

本研究においては、以下の3項目につき研究に取り組んだ。

- (1) プロジェクト管理
- (2) GMP 準拠環境整備
- (3) データ管理体制
(倫理面への配慮)

本研究は試験実施の準備のため、直接被験者への影響はない。実施される臨床研究は遺伝子治療臨床研究に関する倫理指針に基づいて実施される。

特に遺伝子を扱う治療であるため、遵守すべき法令に基づいて、手技が行われる場所や方法について多角的な検討を行った。

(2) GMP 準拠環境整備

今後先進医療 B の臨床試験あるいは医師主導治験を実施するためには GMP 対応の CPC 整備が必要となる。臨床研究では GMP 準拠の整備がまず必要であり、新たに CPC 建設を計画し、今年度末に完成予定である。設計において、先端医療振興財団及び CPC 整備企業のコンサルタントを受け、それらのアドバイスを反映した。また、遺伝子を扱う上で CPC に必要な注意事項のアドバイスを確認した。

C. 研究結果

(1) プロジェクト管理

試験期間内の適切な症例の組み入れ等、試験遂行のためプロジェクト管理は不可欠である。臨床試験部プロジェクト

CPCの運営管理およびSOPの整備が大きな課題であり、この点を克服するために、専任の運営管理担当者を来年度より採用予定とした。SOPの整備および作成を、専門のCPC整備企業に委託することとし、現状の説明を行い、SOPの一部については今年度内に納品予定である。

(3) データ管理体制

データの管理については、臨床試験部に新しく設置されたデータセンターにおける電子データシステムによりデータを保管する予定である。症例報告書の作成に向けて、基礎研究者、臨床担当医師、データ管理責任者等がより詳細な必要項目の精査を行った。

D. 考察

遺伝子治療臨床研究は「遺伝子治療臨床研究に関する指針」に従い実施されるが、正しいデータを取得し、正しい評価を行うため、プロジェクトマネジメント、モニタリング、データマネジメント、CRC業務等を取り入れ、可能な限り治験の実施体制と同様とすべきであると考え。特に、安全性を確保するためにCPCにおける細胞調製においてGMP準拠の管理は不可欠であり、そのためのハードおよびソフト面の充実に向けて今年度は取り組んだ。また、臨床研究に関わる基礎研究者、内科医師、外科担当、データ管理等の連携を構築し、今後さらに関わる担当者を広げてチーム構築に取り組んで行く。

E. 結論

治験実施計画書作成のため、遺伝子治療臨床研究と今後予定される先進医療Bあるいは医師主導治験の実施体制について比較検討した。治験は薬事法のもとで実施するため、CPCはGMP対応が必須であるが、GMP準拠で行う臨床試験においてはGMP準拠のSOPの整備が必要である。そのため現在SOPの作成に取り組んでいる。今後、臨床試験および非臨床試験で得られたデータを適切に治験実施計画書に反映し、質の高いプロトコール作成を目指すものである。

F. 研究発表

なし

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
黒田正幸、武城英明	家族性LCAT欠損症	日本臨床	71, 増刊号3	275-279	2013
Naito S, Kamata M, Furuya M, Hayashi M, Kuroda M, Bujo H, Kamata K.	Amelioration of circulating lipoprotein profile and proteinuria in a patient with LCAT deficiency due to a novel mutation (Cys74Tyr) in the lid region of LCAT under a fat-restricted diet and ARB treatment	Atherosclerosis	228	193-197	2013
麻生雅是、黒田正幸	ヒト脂肪細胞の初代分離・培養と臨床応用	Organ Biology	21	60-65	2014
Miyamoto M, Kotani K, Okada K, Ando A, Hasegawa H, Kangai H, Ishibashi S, Yamada T, Taniguchi N.	Arterial wall elasticity measured using the phased tracking method and atherosclerotic risk factors in patients with type 2 diabetes	J Atheroscler Thromb.	20(8)	678-87	2013
Okada K, Yagyu H, Kotani K, Yamazaki H, Ozaki K, Takahashi M, Nagashima S, Osuga J, Ishibashi S	Effects of miglitol versus sitagliptin on postprandial glucose and lipoprotein metabolism in patients with type 2 diabetes mellitus	Endocr J.	60(7)	913-922	2013

Takahashi M, Yagyu H, Tazoe F, Nagashima S, Ohshiro T, Okada K, Osuga J, Goldberg IJ, Ishibashi S	Macrophage lipoprotein lipase modulates the development of atherosclerosis but not adiposity	J Lipid Res.	54(4)	1124-34	2013
Kubota Y, Mitsukawa N, Uchida M, Uchida Y, Akita S, Hasegawa M, Satoh K	Low-level mesodermal somatic mutation mosaicism: Late-onset craniofacial and cervical spinal hyperostoses	Am J Med Genet A.	164(3)	741-7	2013
Kubota Y, Mitsukawa N, Akita S, Hasegawa M, Satoh K.	Postoperative patency of the retrograde internal mammary vein anastomosis in free flap transfer.	J Plast Reconstr Aesthet Surg.	67(2)	205-11	2014