

厚生労働科学研究費補助金
(医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス政策研究事業)
総括研究報告書
再生医療等製品(安全性等の評価方法)に関する国際標準化

研究代表者：佐藤 陽治 国立医薬品食品衛生研究所 再生・細胞医療製品部 部長

研究要旨

細胞加工製品の臨床応用における品質・安全性上の課題として造腫瘍性が挙げられ、特にiPS細胞加工製品において適切に評価される必要があり、試験法の検証が速やかになされることが重要である。細胞加工製品の实用化促進が期待される国際展開においては、検証された造腫瘍性評価法の標準プロトコールの国際的な共有が強く望まれるが、造腫瘍性評価の国際標準化や国際規制調和は未だなく、国際ガイドラインも未発出である。本研究は、臨床応用が進むiPS細胞加工製品について、品質・安全性確保上の大きな課題である造腫瘍性とゲノム不安定性の評価法の開発・検証を促進し、先行主導的に国際標準を獲得することで、再生医療等製品分野での薬事規制における国際調和を促し、日本企業が開発するiPS細胞加工製品の国際競争優位を獲得することを目的とする。国際標準化を目指した活動として、以下の研究を実施した。①in vitro 造腫瘍性試験法の国際標準プロトコールの確立および多施設検証については、国立医薬品食品衛生研究所 (NIHS) と再生医療イノベーションフォーラムの多能性幹細胞安全性評価委員会 (FIRM-CoNCEPT) が協働して、浮遊培養細胞のIL-2非依存的細胞増殖特性解析試験法の検討を行った。標準プロトコールを作成し、参加4施設において、0.01%の割合で正常T細胞に混在する形質転換細胞株MOLT-4の検出を、28日間の培養で達成した。②標準陽性対照細胞に資するゲノム不安定性誘導iPS細胞株作製については、ゲノムに挿入するプラスミドのデザインとそのiPS細胞への導入を行い、薬剤に応答してがん抑制遺伝子TP53をCRISPR/Cas9で切断するiPS細胞のクローンを得た。③官民での国際競争戦略と知財・標準化戦略の検討では、iPS細胞加工製品の各国の規制と標準化の動向に関する調査研究を行い、総説論文を作成した。iPS細胞加工製品の造腫瘍性試験法の国際標準化の実現には、国際プラットフォームで試験法のテーマ化を日本として提案し、国際合意を得ることが鍵になる。国際的認知を得るには、議論の深化に必要な科学的なエビデンスが不可欠であり、本研究の成果は、細胞加工製品の造腫瘍性評価およびゲノム不安定性評価の国際コンセンサスの熟成に資するものであり、国際標準化の促進が期待される。

担当協力者（順不同）

| | |
|-------|--|
| 渡辺 武志 | 再生医療イノベーションフォーラム多能性幹細胞安全性評価委員会 委員長 |
| 三浦 巧 | 国立医薬品食品衛生研究所 再生・細胞医療製品部 第1室 室長 |
| 澤田 留美 | 国立医薬品食品衛生研究所 再生・細胞医療製品部 第2室 室長 |
| 安田 智 | 研究副代表者 国立医薬品食品衛生研究所 再生・細胞医療製品部 第3室 室長 |
| 黒田 拓也 | 国立医薬品食品衛生研究所 再生・細胞医療製品部 主任研究官 |
| 草川 森士 | 国立医薬品食品衛生研究所 再生・細胞医療製品部 主任研究官 |
| 田埜 慶子 | 国立医薬品食品衛生研究所 再生・細胞医療製品部 主任研究官 |
| 平井 孝昌 | 国立医薬品食品衛生研究所 再生・細胞医療製品部 任期付研究員 |

A. 研究目的

細胞加工製品の臨床応用における品質・安全性上の課題として造腫瘍性が挙げられ、特に iPS 細胞加工製品において適切に評価される必要があり、試験法の検証が速やかになされることが重要である。細胞加工製品の実用化促進が期待される国際展開においては、検証された造腫瘍性評価法の標準プロトコルの国際的な共有が強く望まれるが、造腫瘍性評価の国際標準化や国際規制調和は未だなく、国際ガイドラインも未発出である。日本では、iPS 細胞加工製品の造腫瘍性評価について、評価法の確立と国際標準化を迅速に図るべく、世界に先駆けて国内で展開され、留意点がいち早くガイドライン化・共有されている。国立医薬品食品衛生研究所(国立衛研)と再生医療イノベーションフォーラム(FIRM)の多能性幹細胞安全性評価委員会(FIRM-CoNCEPT)では、AMED 研究課題において iPS 細胞由来製品の造腫瘍性評価に係る多施設検証

(MEASURE プロジェクト)を協働して実施しており、Health and Environmental Sciences Institute (HESI)の細胞治療委員会(CT-TRACS)の国際コンソーシアム活動にも参加している。しかしながら、iPS 細胞加工製品の造腫瘍性に関する種々の評価法の能力と限界に関する検証と国際的認知・科学的議論がまだ不足しており、最終目標とする ISO や ICH の国際プラットフォームでの具体的な提案や議論に至っていない。さらに iPS 細胞加工製品の造腫瘍性について考慮すべき点として、腫瘍形成を惹起するハザードであるゲノム不安定性があるが、その評価に際して、汎用性・安定性・品質管理の要求基準を満たす陽性対照細胞が存在しないことから、製品の腫瘍形成との関連性における科学的エビデンスが不足している。本研究は、臨床応用が進む iPS 細胞加工製品について、品質・安全性確保上の大きな課題である造腫瘍性とゲノム不安定性の評価法の開発・検証を促進し、先行主導的に

国際標準を獲得することで、再生医療等製品分野での薬事規制における国際調和を促し、日本企業が開発する iPS 細胞加工製品の国際競争優位を獲得することを目的とする。さらに、再生医療等製品のプラットフォーム技術の国際標準化と国際標準の活用により、国際市場展開を行う技術の知財確保を併せた知財・標準化戦略を産学官連携体制で推進することを目指す。

B. 研究方法

iPS 細胞加工製品の造腫瘍性試験法の国際標準化の実現には、ISO や ICH といった国際プラットフォームで、試験法のテーマ化を日本として提案し、国際合意を得ることが鍵になる。国際的認知を得るには、議論の深化に必要な科学的なエビデンスが不可欠であるため、①標準プロトコールに沿って *in vitro* 造腫瘍性試験法の多施設検証をまず実施し、評価方法の能力と限界を示した。同時に、造腫瘍性との関連が深いゲノム不安定性試験法について、②試験法としての妥当性を判断する陽性対照細胞の作製を開始した。また、③造腫瘍性およびゲノム不安定性評価についての国際標準化戦略に向けた調査研究も実施した。

B-1 *in vitro* 造腫瘍性試験法の国際標準プロトコールの確立および多施設検証

T 細胞は浮遊細胞であるため、混在する形質転換細胞を検出する際に、足場非依存的に増殖する悪性形質転換細胞を検出する軟寒天コロニー形成試験法は適用できない。

したがって、不死化細胞を検出する際に用いる細胞増殖特性解析法を適用することになる。HTLV-1 に感染した T 細胞に形質転換が生じるとインターロイキン 2 (IL-2) 非依存的な増殖を示すようになることが報告されている (Science 1995;269(5220):79-81.)。このことから T 細胞の IL-2 非依存的な増殖特性が、形質転換細胞を検出する一つの指標になると考えられている (図 1)。この IL-2 非依存的増殖をモニターする試験法は、開発現場で CAR-T 細胞製品の非臨床試験として既に利用されているが、陽性対照細胞の同定とそのスパイク試験は実施されていないことから、検出感度や再現性といった試験法の性能は確認されていない。標準化においては、試験法の性能を確認する多施設検証が必要であるため、FIRM-CoNCEPT の協力のもと、Axcelead Drug Discovery Partners 株式会社、株式会社ボゾリサーチセンター、シミック株式会社および株式会社 Ig-M の 4 施設において、T 細胞の IL-2 非依存的細胞増殖特性解析試験を実施した。

B-1-1 IL-2 非依存的細胞増殖特性解析試験法

ヒト末梢血単核細胞 (Lonza) から EasySep Human T cell Isolation Kit (StemCell Technologies) で T 細胞を精製した後、3 日間 CD3/CD28 ビーズ (StemCell Technologies) で活性化した。マグネットビーズを除去した後、 1×10^6 個の T 細胞に 10 個 (0.001%)、100 個 (0.01%)、1000 個 (0.1%) または 10000 個 (1%) の MOLT-4 細胞 (ATCC) をスパイ

クした (3 日目)。これらの細胞を IL-2 非存在下で培養を開始し、5 日目に 2 倍希釈した。7 日目に 10 倍希釈し、21 日目 (多施設検証 1 回目) または 28 日目 (多施設検証 2 回目) まで培養した。継時的に細胞計数を行い、3、5、7、10、14、17、21、24 および 28 日目の生細胞数をグラフ化し、増殖曲線を作成した。統計解析は、生細胞数を対数変換し、two way repeated measures ANOVA の後、post-hoc テストとして Dunnett's Method を行い、 $p < 0.05$ を有意差ありとした。

B-2 標準陽性対照細胞に資するゲノム不安定性誘導 iPS 細胞株作製

ゲノム不安定性試験の標準陽性対照細胞として、コンディショナルにゲノム編集を起こして、がん関連遺伝子に変異が導入される iPS 細胞株を作製した。薬剤等でがん関連遺伝子に適時に変異を誘導するため、長期の培養・継代による変異蓄積の影響を除外でき、培養期間や継代数が異なっても、施設間で品質の揃った細胞の使用が可能になる。ゲノム不安定性誘導 iPS 細胞株の作製に用いる細胞は、一般的に入手可能で臨床株と同様な方法で樹立された研究用 iPS 細胞株から選択した。また変異を導入するがん関連遺伝子としては、がん組織で最も変異が報告されているがん抑制遺伝子 TP53 を採用した。ゲノム不安定性誘導 iPS 細胞株の作製は、株式会社 GenAhead Bio で行った。

B-2-1 Single Guide RNA 発現プラスミド

Dの調製

AAVS1 site へのゲノム編集報告例 (Cell Stem Cell 2014;15(2):215-226.) より、Single Guide RNA (sgRNA) の標的配列として以下のものとした。

AAVS1-T2: TGACTGCTTGTTAGATGGCCA

上記配列をもとにオリゴ DNA を化学合成し、U6 Promotor の下流にライゲーションすることにより sgRNA 発現プラスミドを作製した。

B-2-2 ドナープラスミドの作製

Inducible-Cas9 発現カセット及び Tet-on 調節因子発現カセットを挿入配列とするドナープラスミドを作製した。Inducible-Cas9 発現カセット挿入ドナープラスミド (TRE-Cas9/sgRNA donor) は、(1) 上流 homology arm (HA1) 断片、(2) splicing acceptor (SA) 及び T2A peptide による puromycin-N-acetyltransferase (PuroR) 発現カセット、(3) U6 promoter 制御の sgRNA 発現カセット、(4) inducible (TRE3G promoter)-Cas9 発現カセット、(5) 下流 homology arm (HA2) 断片に分けて調製した。(1)、(5) の HA 断片は、ヒト iPSC 1231A3 (hiPSC-A3) より Tissue Genomic DNA Extraction Mini Kit (FAVORGEN) を用いて調製したゲノム DNA を鋳型に、sgRNA の上流配列、下流配列 (各約 1,500 bp) を増幅して調製した。(2) PuroR 発現カセットは、SA-T2A を PuroR の上流に配置したプライマーを用い、PuroR 発現プラスミドを鋳型とした PCR 増幅により調製した。(3) U6-sgRNA 発現カセットは、

U6 promoter と tracr 配列間に TP53 遺伝子を標的とする sgRNA 配列 (TP53-R175H-S1534, 5'-AGCACATGACGGAGGTTGTG-3') を挿入したプラスミドを人工合成し、PCR 増幅により調製した。(4) TRE3G-Cas9 発現カセットは、国立医薬品食品衛生研究所から提供された pTRE3G vector (TaKaRa Bio) に Cas9 遺伝子を挿入し、TRE3G-Cas9 発現プラスミドを鋳型とした PCR 増幅により調製した。TRE-Cas9/sgRNA donor は (1) から (5) を NEBuilder HiFi DNA Assembly キット (New England BioLabs) を用いて図 4 (a) の通り Gibson assembly して作製した。TRE-Cas9 donor は、(3) U6-sgRNA 発現カセットを除くフラグメントを TRE-Cas9/sgRNA donor と同様にアセンブルして作製した。

Tet-on 調節因子発現カセットを挿入配列とするドナープラスミド (Tet3G donor) は、(6) 上流 homology arm (HA1) 断片、(7) splicing acceptor (SA) 及び T2A peptide による aminoglycoside 3'-phosphotransferase (NeoR) 発現カセット、(8) Tet-on 調節因子 (Tet3G) 発現カセット、(9) 下流 homology arm (HA2) 断片に分けて調製した。(6), (9) の HA 断片は、hiPSC-A3 より Tissue Genomic DNA Extraction Mini Kit を用いて調製したゲノム DNA を鋳型に、sgRNA の上流配列、下流配列 (各約 1,500 bp) を増幅して調製した。(7) NeoR 発現カセットは、SA-T2A を NeoR の上流に配置したプライマーを用い、NeoR 発現プラスミドを鋳型とした PCR 増幅により調製した。(8) Tet3G 発現カセット

はまず、国立医薬品食品衛生研究所から提供された pCMV-Tet3G plasmid (TaKaRa Bio) を鋳型に Tet3G 及び rBGpA シグナル配列を PCR 増幅し、pCAG vector に NEBuilder HiFi DNA Assembly キットを用いて挿入して CAG-Tet3G 発現プラスミドを作製した。CAG-Tet3G 発現プラスミドを Sal I 制限酵素 (New England BioLabs) 及び AgeI 制限酵素 (New England BioLabs) で消化後、アガロースゲル電気泳動により目的断片の大きさのフラグメントを CAG-Tet3G 発現カセットとして調製した。Tet3G donor は、(6) から (9) の NEBuilder HiFi DNA Assembly キットを用いて Gibson assembly して作製した。

B-2-3 ドナープラスミドの作製

hiPSC-A3 及びヒト iPSC 1383D6 (hiPSC-D6) への transfection は、それぞれ表 1 及び表 2 に示す条件で、2. の sgRNA 発現プラスミド、Streptococcus pyogenes Cas9 発現プラスミド、3. の各ドナープラスミド、及び puromycin-*N*-acetyltransferase 発現プラスミドと共に NEPA21 (Nepagene) を用いて transfection した。transfection 後の細胞は、HDR Enhancer (Integrated DNA Technologies) を終濃度 0、又は 0.5 µg/mL で含む培地で 24 h 培養した。その後、puromycin を終濃度 0、0.35、0.6、又は 1.0 µg/mL で培養培地に添加した。

B-3 官民での国際競争戦略と知財・標準化戦略の検討

海外のステークホルダーとのコンセンサ

スの熟成を促すため、日米 EU の ICH3 極の薬事規制と標準化プラットフォームの動向について情報共有を行う必要がある。官民での国際競争戦略と知財・標準化戦略の検討に資する研究として、iPS 細胞加工製品の各国の規制と標準化の動向に関する調査研究を行った。

(倫理面への配慮)

ヒト由来の生体試料を用いる場合は、国立医薬品食品衛生研究所「研究倫理審査委員会規程」を遵守した上で研究を実施した。

C. 研究結果

G-1 in vitro 造腫瘍性試験法の国際標準プロトコールの確立および多施設検証

本研究は、浮遊培養細胞である T 細胞に混在する形質転換細胞を、IL-2 非存在下で培養することによって検出する試験法の標準プロトコールの作成と感度を多施設で検証することを目的とする。ヒト末梢血単核細胞から単離した T 細胞を活性化し、 1×10^6 個の T 細胞に、MOLT-4 細胞を 1, 0.1, 0.01 または 0.001%スパイクした。IL-2 非存在下で 21 日目まで細胞数を計測し、細胞数の継時変化を観察した。また正常 T 細胞の IL-2 依存的増殖を確認するため、IL-2 存在化で培養するスパイクなしの正常 T 細胞サンプルも設けた。IL-2 存在下では、T 細胞は 14 日目まで増殖を示し、その後に緩やかな減少に転じた。また全 4 施設で同様な結果が得られることを確認できた。一方、IL-2 非存在下では、7 日目まで IL-2 存在下と同様

な増殖を示したが、それ以降生細胞数が著しく減少した。この減少は、IL-2 非存在下の培養による正常 T 細胞の死滅によるものである。増殖曲線のパターンは全施設で同様な結果が観察され、スパイクなしのサンプルと比較して、概ね 17 日目に 1%スパイクサンプルでの細胞数の有意な差が見られ、21 日目に 0.1%スパイクサンプルでの細胞数の有意な差が見られた。これらの結果は、施設の違いにも関わらず、21 日目までの観察で正常 T 細胞に 0.1%割合でのスパイクした MOLT-4 細胞が検出できることを示唆している。しかしながら、21 日目まで培養を行っても、0.01%スパイクサンプルの立ち上がりは、全施設において見られなかった。21 日間の培養では 0.01%スパイクサンプルの検出が難しいと判断されたため、2 回目の多施設検証試験では、標準プロトコールを改訂し、培養期間を延長して、24 日目と 28 日目の細胞計数を含めての検討を行った。2 回目の多施設検証においても、21 日目までの観察では同様な結果が得られた。IL-2 存在下では、T 細胞は 14 日目まで増殖を示し、その後に緩やかな減少に転じた。一方、IL-2 非存在下では、生細胞は 7 日目以降著しく減少し、28 日目では生存率数%もしくはは検出できないレベルまで下がった。また、概ね 17 日目に 1%スパイクサンプルでの生細胞数の立ち上がりが見られ、21 日目に 0.1%スパイクサンプルでの生細胞数の立ち上がりが見られた。1 回目の多施設検証で立ち上がり認められなかった 0.01%スパイクサンプルは、培養期間を延長することにより

増加が観察された。スパイクなしに比べて、施設 A においては 28 日目に、施設 B、C および D においては、24 と 28 日目に有意な差が確認できた。全施設で正常 T 細胞に混在する形質転換細胞 (MOLT-4) を 0.01% の高感度で検出する標準プロトコルを確立した。

C-2 標準陽性対照細胞に資するゲノム不安定性誘導 iPS 細胞株作製

先行実施した Tf No. 1-1 から 1-4 の puromycin 処理後の生存細胞は乏しかった。生存コロニーに乏しい場合、ドナープラスミド配列の挿入が検出された細胞群からは、少数のピックアップにより配列挿入株の取得が見込まれるため、これらの細胞群から親株配列と挿入ドナープラスミド配列とのつなぎ目領域を増幅する PCR (junction PCR) により配列挿入株が含まれる細胞群を選択することとした。hiPSC-D6 の TfNo. 1-2 及び 1-1 の細胞群でドナープラスミド配列の挿入で想定されるサイズの増幅産物が検出され、これらの細胞群に配列挿入株が含まれることが示唆された。

C-3 官民での国際競争戦略と知財・標準化戦略の検討

日米 EU の ICH3 極における多能性幹細胞由来製品に関する規制の概要と、その標準化に取り組んでいる代表的なコンソーシアムについて紹介した。本成果は、総説論文 “Country-specific regulation and international standardization of cell-based therapeutic

products derived from pluripotent stem cells.” のタイトル名で、国際科学雑誌 Stem Cell Reports に受理され、出版中である。要旨の日本語は以下の通りである。

『現在、胚性幹細胞や人工多能性幹細胞などの多能性幹細胞 (PSC) を由来とする細胞治療薬 (CTP) が多くの国で開発されており、一部は臨床試験段階にある。CTP は、国や地域によって分類が異なる。また、有効性・安全性・品質の評価も、従来の低分子医薬品やバイオ医薬品とは異なり、生きた細胞の複雑な特性やアンメットメディカルニーズを反映している。PSC 由来品を含む CTP の評価については、国際的なガイドラインがないため、国や地域による関連法規の違いに注意する必要がある。PSC 由来 CTP の開発・世界流通を促進するために、評価手法や規制の標準化・調和を図る国際コンソーシアムが組織され、活発に活動している。本稿では、米国、欧州連合 (および英国)、日本における PSC 由来 CTP の関連法規の概要と、その標準化に取り組んでいる代表的なコンソーシアムについて紹介する。』

D. 考察

再生医療のような先端的な医療モダリティについては、安全性や品質の確保のための個別の評価技術の国際標準化を推進することが、規制当局の評価・意思決定の効率化・迅速化に有効である。国際標準化により iPS 細胞加工製品の造腫瘍性およびゲノム不安定性評価法の妥当性が認められ、当該

評価法を用いた製品の評価が国内外の規制当局に受け入れられることで、承認申請に要する日本企業の負担軽減に寄与するとともに、製品の国際市場での迅速な普及展開を図ることができる。すなわち日本での試験方法・運用等を国際標準化することで、主要国の規制当局の審査に関する国際規制調和が促進され、日本で実施した試験と評価がそのまま海外での承認審査でも活用され易くなり、国際ビジネス展開の環境整備が進む。また国際標準化を行う造腫瘍性評価については、これまでの多施設検証に参加した日本の製薬企業・CROで試験方法に関するトレーニングと技術移転が進展し、製品の品質試験・非臨床試験でのデータ取得体制が国内で既に整備されている。国際標準化された試験方法として海外の規制当局に認知・受容されれば、海外での治験届・製造販売承認申請時の迅速な審査のみならず海外企業から国内CROへの試験委託増加が期待される。

E. 結論

iPS細胞加工製品の造腫瘍性試験法が国際的認知を得るには、議論の深化に必要な科学的なエビデンスが不可欠である。本研究では、*in vitro*造腫瘍性細胞検出試験法の標準プロトコールに沿った多施設検証データを取得して、試験法の頑健性を確認した。造腫瘍性のハザードであるゲノム不安定性を評価する試験法については、その妥当性判断に用いる標準陽性対照細胞の作製に取り組み、薬剤誘導ゲノム不安定性iPS細胞

株のクローンを得た。iPS細胞加工製品の各国の規制と標準化の動向に関しては、調査研究を行って総説論文を発表した。本研究成果は、細胞加工製品の造腫瘍性評価およびゲノム不安定性評価の国際コンセンサスの熟成に資するものであり、国際標準化の促進が強く期待される。

<参考文献>

Migone TS, Lin JX, Cereseto A, Mulloy JC, O'Shea JJ, Franchini G, Leonard WJ. Constitutively activated Jak-STAT pathway in T cells transformed with HTLV-I. *Science*. 1995 Jul 7;269(5220):79-81. doi: 10.1126/science.7604283.

González F, Zhu Z, Shi ZD, Lelli K, Verma N, Li QV, Huangfu D. An iCRISPR platform for rapid, multiplexable, and inducible genome editing in human pluripotent stem cells. *Cell Stem Cell*. 2014 Aug 7;15(2):215-226. doi: 10.1016/j.stem.2014.05.018.

F. 研究危険情報

なし

G. 研究発表

G-1 論文発表

1. Hirai T, Yasuda S, Umezawa A, Sato Y. Country-specific regulation and international standardization of cell-based therapeutic products derived from pluripotent stem cells. *Stem Cell Rep.*, in press.
2. Hirai T, Kono K, Kusakawa S, Yasuda S, Sawada R, Morishita A, Hata S, Wakita A, Kageyama T, Takahashi R, Watanabe S, Shiraishi N, Sato Y: Evaluation of the reproducibility and positive controls of cellular immortality test for the detection of immortalized cellular impurities in human cell-processed therapeutic products. *Regen Ther.* 2022; 21:540-46. doi: 10.1016/j.reth.2022.10.009.
3. Hirasawa R, Takakura M, Hirai T, Kono K, Sato Y: Attitude and perception survey for the Japanese pharmaceutical industry to utilize next-generation sequencing for virus safety assessment of biologics. *Translat Regulat Sci.* 2022; 4:61-7. doi: 10.33611/trs.2022-004.
4. Watanabe T, Yasuda S, Chen CL, Delsing L, Fellows MD, Foldes G, Kusakawa S, Mouries LP, Sato Y: International evaluation study of a highly efficient culture assay for detection of residual human pluripotent stem cells in cell therapies. *Regen Med.* 2022; 18:219-27. doi: 10.2217/rme-2022-0207.
5. Oda S, Nishiyama K, Furumoto Y, Yamaguchi Y, Nishimura A, Tang X, Kato Y, Numaga-Tomita T, Kaneko T, Mangmool S, Kuroda T, Okubo R, Sanbo M, Hirabayashi M, Sato Y, Nakagawa Y, Kuwahara K, Nagata R, Iribe G, Mori Y, Nishida M: Myocardial TRPC6-mediated Zn^{2+} influx induces beneficial positive inotropy through β -adrenoceptors. *Nat Commun.* 2022; 13:6374. doi: 10.1038/s41467-022-34194-9.
6. Shirasago Y, Fukazawa H, Nagase S, Shimizu Y, Mizukami T, Wakita T, Suzuki T, Tani H, Kondoh M, Kuroda T, Yasuda S, Sato Y, Hanada K, Fukasawa M: A single mutation in the E2 glycoprotein of hepatitis C virus broadens the claudin specificity for its infection. *Sci Rep.* 2022; 24:20243. doi: 10.1038/s41598-022-23824-3.
7. Andrews PW, Barbaric I, Benvenisty N, Draper JS, Ludwig T, Merkle FT, Sato Y, Spits C, Stacey GN, Wang H, Pera MF: The consequences of recurrent genetic and epigenetic variants in human pluripotent stem cells. *Cell Stem Cell.* 2022; 29:1624-1636. doi: 10.1016/j.stem.2022.11.006.
8. 高田のぞみ, 佐藤陽治: 再生医療におけるわが国の法令および規制. *日本医師会雑誌.* 2022; 151:556.
9. 佐藤陽治: ヒト細胞加工製品の製造における *in vitro* 細胞特性評価の重要性 *PHARM STAGE.* 2022; 22:1-3.
10. 平井孝昌, 佐藤陽治: 遺伝子改変されたブタ心臓のヒトへの移植について. *医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス.* 2022; 53:424-6.
11. 田中直子, 阿部浩幸, 荒木紀帆, 石井匡, 上野高嗣, 黒田拓也, 佐治大介, 中村和靖, 南保泰希, 西田仁, 坂東清子, 藤田大樹, 松浦哲也, 三浦巧, 三木健次, 望月秀美, 安田智, 吉本将成, 渡辺夏巳, 佐藤陽治: 細胞加工製品の腫瘍形成リスクの合理的評価を目標して(1). *再生医療.* 2023; 1:30-35.
12. 樋口ゆり子, 草森浩輔, 佐藤陽治, 坂東博人: 薬剤学で切り拓く創薬モダリティの未来 (3) 細胞医薬・細胞製剤の現状と薬剤学で切り拓く未来 *薬剤学.* 2023; 83:19-24. doi: <https://doi.org/10.14843/jpstj.83.19>.

G-2 学会発表

1. Sato Y: Japan's Recent Progress in Induced Pluripotent Stem Cell (iPSC)-based Therapies. The 2022 World Stem Cell Summit (2022.6.11)

2. Sato Y: Regulatory Science for Ensuring the Quality and Safety of Cell Therapy Products and its Interface with Basic Stem Cell Science. International Society for Stem Cell Research 2022 (2022.6.15)
3. Henry M, Lemmens M, Sato Y, Marginean D, Harada K, Watanabe T, Bando K, Terai O, Moss D, Chen C, Nicholas N, Mouriès LP, Smart M, Libertini S, Yasuda S: Safety of cell therapy products: *In-vitro* methods to assess the tumorigenicity of human cell-based therapeutic products. International Society for Stem Cell Research 2022 Annual Meeting (2022.6.17)
4. Sato Y: Regulatory Science Research for Clinical Applications of Products Derived from Human Induced Pluripotent Stem Cells. KSSCR 2022 Annual Meeting (2022.8.12)
5. 佐藤陽治: ICH Q5A(R2) 「ヒト又は動物細胞株を用いて製造されるバイオテクノロジー応用医薬品のウイルス安全性評価」のステップ2 公開ドラフトの概要について. 日本PDA製薬学会第29回年会 (2022.11.29)
6. 三浦巧, 河野掌, 高野慈美, 黒田拓也, 山本由美子, 草川森士, 森岡勝樹, 菅原亨, 平井孝昌, 安田智, 澤田留美, 松山さと子, 川路英哉, 粕川雄也, 伊藤昌可, Jay W Shin, 梅澤明弘, 河合純, 佐藤陽治: 間葉系幹細胞の薬理効果に寄与するバイオマーカーの効率的な同定法の開発. 日本再生医療学会第2回科学シンポジウム (2022.12.2)
7. 草川森士, 安田智, 佐藤陽治: 細胞加工製品の品質評価におけるサンプルサイズの設定について. 日本再生医療学会第2回科学シンポジウム (2022.12.2)
8. 黒田拓也, 安田智, 松山さと子, 三浦巧, 澤田留美, 松山晃文, 森岡勝樹, 粕川雄也, 山本由美子, 川路英哉, 伊藤昌可, 阿久津英憲, 河合純, 佐藤陽治: 神経細胞製造の原料としてのヒト多能性幹細胞の品質試験法の開発. 日本再生医療学会第2回科学シンポジウム (2022.12.2)
9. 三浦巧, 河野掌, 高野慈美, 黒田拓也, 山本由美子, 草川森士, 森岡勝樹, 菅原亨, 平井孝昌, 安田智, 澤田留美, 松山さと子, 川路英哉, 粕川雄也, 伊藤昌可, Jay W Shin, 梅澤明弘, 河合純, 佐藤陽治: 単一細胞遺伝子発現解析による間葉系幹細胞の血管新生能予測バイオマーカーの探索. 第22回日本再生医療学会総会 (2023.3.23)
10. 黒田拓也, 安田智, 松山さと子, 三浦巧, 澤田留美, 松山晃文, 森岡勝樹, 粕川雄也, 山本由美子, 川路英哉, 伊藤昌可, 阿久津英憲, 河合純, 佐藤陽治: ヒトiPS細胞における神経分化予測マーカーによる神経分化調節機構の解明. 第22回日本再生医療学会総会 (2023.3.24)
11. 草川森士, 安田智, 佐藤陽治: 細胞加工製品の品質評価におけるサンプルサイズの設定について—形質転換細胞検出試験を例に—. 第22回日本再生医療学会総会 (2023.3.25)
12. 平井孝昌, 河野健, 片岡清子, 遊佐敬介, 内田和久, 佐藤陽治: 次世代シーケンサーを用いた細胞加工製品におけるウイルス検出法の開発. 第22回日本再生医療学会総会 (2023.3.25)
13. 水上智晴, 白砂圭崇, 深澤秀輔, 長瀬翔太郎, 清水芳実, 脇田隆宇, 鈴木哲朗, 谷英樹, 近藤昌夫, 黒田拓也, 安田智, 佐藤陽治, 花田賢太郎, 深澤征義: iPS細胞に感染できるC型肝炎ウイルス亜株の分離と性状解析. 日本薬学会第143年会 (2023.3.28)

H. 知的財産権の出願・登録状況

H-1. 取得特許

なし

H-2. 実用新案登録

なし

H-3. その他

なし

