

再生医療実現拠点ネットワークプログラム
研究開発課題評価(平成 29 年度 中間・事後評価) 評価報告書

(1)再生医療の実現化ハイウェイ 課題 A

【事後評価】

事業名	再生医療の実現化ハイウェイ
研究題目名	磁性化骨髄間葉系細胞の磁気ターゲティングによる骨・軟骨再生
代表機関名	広島大学
代表研究者名	越智 光夫

1. 研究概要

高齢者が要介護になる主な原因として、「関節疾患」と「骨折」が挙げられる。これら 2 つの疾患の予防と治療が超高齢化社会を迎える我が国の医療における喫緊の課題である。本課題では、「関節疾患」である関節軟骨欠損を対象として低侵襲で有効性の高い細胞移植治療の確立を目的に、磁性化した骨髄間葉系幹細胞を用い、体外から外磁場で細胞の位置をコントロールすることで損傷部へ移植細胞を集積させる方法(以下、磁気ターゲティングと呼ぶ)を開発し、その臨床応用を目指すものである。これまでに関節軟骨欠損の動物モデルに対して磁性化間葉系幹細胞の磁気ターゲティングを行い、組織再生促進における有効性を明らかにしている。これまでの基礎となる研究の成果に加えて、臨床試験のために必要な磁性化間葉系幹細胞の品質評価と安全性評価に関する研究を行っている。

2. 評価結果

①研究開発達成状況

骨髄間葉系幹細胞の磁気ターゲティングによる関節軟骨再生治療の実用化に向けた取り組みは、着実に進められている。即ち、軟骨欠損モデル系での前臨床研究および臨床研究を実施し、安全性および有効性の確認ができた。また、ジャパン・ティッシュ・エンジニアリング (J-TEC) 社の協力を得て医師主導治験の臨床計画が策定されるとともに、今年度中に医薬品医療機器総合機構 (PMDA) とのレギュラトリーサイエンス (RS) 戦略相談が計画されている。一方、品質基準項目が確定しているかについては報告内容からは十分明らかではない。磁性化に用いるフェルカルボトランの体内動態評価等一部の研究項目について現時点では達成されていないが、今年度中に達成見込みである。

以上により、本研究開発課題の研究開発進捗は「優れている」と評価される。

②研究開発成果

本研究で開発中の磁気ターゲティング法の開発は、独創性および新規性の高い治療法である。既存の関節軟骨欠損の治療法に比較して、原因治療的、かつ、低侵襲である点で優位性が認められ、医学的にも社会的にもニーズに資するものである。さらに、磁気ターゲティングという手法は他疾患への応用の可能性も期待できる。今後の研究により、骨髄間葉系幹細胞と軟骨細胞の相互作用機構や磁気ターゲティングによる間葉系細胞治療の Mode of action などが解明されることが期待される。一方、細胞の磁性化に関しては早期の知的財産面での対応が求められる。

以上により、本研究開発課題の研究開発成果は「優れている」と評価される。

③実施体制

生物統計家等の専門家の参画もあり、また代表機関と分担機関との課題内分担体制は適切にマネジメントされている。実用化に向けた企業との連携も、細胞加工の業務は J-TEC が実施し、事業化は大学発ベンチャーが実施する計画となっている。しかしながら、フェルカルボトランによる磁性化に関する知的財産面の対応に関しては更なる体制強化が必要といえる。

以上により、本研究開発課題の実施体制は「優れている」と評価される。

④今後の見通し

臨床研究に次いで PMDA との RS 戦略相談を活用し治験実施を検討していること、実用化に向けて J-TEC に細胞樹立を委託するべく輸送条件の検討が行われていること、事業化に向けて広島大産学・地域連携センターとの連携による大学発ベンチャーの活用を計画していることなど、研究の発展および成果の普及を目指した戦略により進められている点は優れている。また、軟骨疾患での磁性化細胞の局所集積および治療効果が証明されれば、当該コンセプトの他疾患領域への応用も期待できる。磁場発生装置の医療機器としての承認および製品化は今後の課題である。

以上により、本研究開発課題の今後の見通しは「優れている」と評価される。

⑤事業で定める項目及び総合的に勘案すべき項目

規制対応、生命倫理等に対しては、関連法令等に基づき適切に対応している。成果発表は活発に行われた。アウトリーチ活動は適切に行われた。しかしながら、若手キャリアパス支援については、十分とは言えず、今後の課題である。

以上により、本研究開発課題の事業で定める項目及び総合的に勘案すべき項目は「良い」と評価される。

⑥総合評価

治験に向けた着実な進捗が認められる。骨髄間葉系幹細胞を用いた軟骨再生治療は国内外で複数実施されているが、当該研究は磁性化骨髄間葉系幹細胞の磁気ターゲティングによる関節軟骨再生治療という新たな発想の低侵襲療法である点で優位性が期待できる。動物モデルでの前臨床研究や臨床研究において、磁気粒子・磁場装置等の安全性・有効性試験に一定の成果が認められているものの、フェルカルボトラン含有細胞の体内動態や品質評価基準など明らかにすべき点も残されている。また、企業との更なる協力関係構築も必要である。

以上により、本研究開発課題は「優れている」と評価される。

(2) 再生医療の実現化ハイウェイ 課題 B

【中間評価】

事業名	再生医療の実現化ハイウェイ
研究題目名	iPS 細胞技術を基盤とする血小板製剤の開発と臨床試験
代表機関名	京都大学
代表研究者名	江藤 浩之

1. 研究概要

本課題は、将来の献血者不足を考慮し献血に頼らない血液製剤供給を目的とした、ヒト iPS 細胞から作製する血小板の研究開発を目指す。具体的には、稀な血液型で献血者を得ることが難しい血小板輸血不応症患者に対し、自己の細胞から作製した iPS 細胞から血小板を作製し投与する自家輸血の臨床研究を行い、安全性を確認する。次に、健常ドナーから作製された iPS 細胞から血小板を作製した同種輸血の臨床試験での安全性・有効性確認、及び大量供給システムを確立する。血小板は保存可能期間が 4 日程度と短く、安定した供給を続けることが難しい状況である。繰り返し輸血が必要な血小板では治療不応症を呈する患者に対応するためのドナー確保は益々厳しい状況下になることが想定され、iPS 細胞技術をもとに新規治療法のフィージビリティを示すことが希求されている。

2. 評価結果

①研究開発達成状況

自家輸血の臨床研究については、既に樹立したマスターセルバンク細胞を用い、小スケールでの条件検討、ウサギモデルによる前臨床薬効薬理試験の実施、50L スケールバイオリアクターによる製造法、製造工程の SOP (標準業務手順書) 作成等は順調に進められた。京都大学第三者委員会への対応を進め、来年度の FIH (First in Human) 試験に向けて順調に進捗している。

同種輸血の臨床試験については、使用予定であった臍帯血由来の iPS 細胞ストックの供給の一時停止により、株の変更を余儀なくされたが、日本赤十字社より入手した需要 1 位、需要 4 位の iPS 細胞を樹立した。また使用するラミニンの工夫等により、臨床試験用の巨核球株作製方法を確立している。

担がん患者が FIH 試験の被験者になることに対する倫理的な懸念はあるが、基盤研究は大きく進捗していると評価される。

以上により、本研究開発課題の研究開発達成状況は概ね「大変優れている」と評価される。

②研究開発成果

ウサギ出血時間測定法及び輸血後の循環血小板数測定による半減期定量化システム開発、この評価系での有効性確認、血小板産生促進に働く 6 因子を用いる等、新規性の高い技術開発がなされている。

高効率で巨核球細胞から血小板を産生・放出させる“高性能培養システム”の開発は欧米の競争相手からの優位性を維持しつつ、早期に目標を達成できる環境にある。

細胞の超大量調製のためのチャレンジングな諸課題を着実に解決してきており、本研究は、血小板輸血のドナー不足に応える等、医療的、社会的にも意義の高い研究と言える。

特許出願件数 17 件と知的財産の確保も積極的になされている。

以上により、本研究開発課題の研究開発成果は概ね「大変優れている」と評価される。

③実施体制

京都大学が中核となり、慶應義塾大学、日本赤十字社、開発企業との連携を積極的に行い、適切に課題マネジメントがなされながら研究開発を進めている。プロジェクト発足時より企業経験者を取り込み、製造や企業との連携に向けて体制を強化してきた。

以上により、本研究開発課題の実施体制は「優れている」と評価される。

④今後の見通し

バイオリジクスの製造工程開発の基本的なステップを踏みながら、規格や製造工程を作成し、また製品細胞の特性をよく理解した上で製法の開発を進めている。基本技術についてはほぼ完成しており、自家輸血の臨床研究開始を待つ状態にある。

製品の品質の優位性については、海外に後れを取らぬよう、積極的に国際学会等で発信していくべきであると考え。

以上により、本研究開発課題の今後の見通しは「優れている」と評価される。

⑤事業で定める項目及び総合的に勘案すべき項目

規制対応としては、関連法令等に則り、また、医薬品医療機器総合機構(PMDA)との面談を通じながら、適切に進められている。生命倫理等の課題についても、基本指針等に則り、倫理委員会等学内委員会の承認を受けて研究を遂行している。若手のキャリアパス支援、成果発表、アウトリーチ活動は活発に行われた。

以上により、本研究開発課題の事業で定める項目及び総合的に勘案すべき項目は「優れている」と評価される。

⑥総合評価

iPS 細胞由来の血小板製剤の開発を色々な工夫を凝らして進めている。巨核球からの血小板切断機構の解明、TPO ミメティックスや ADAM17 阻害薬の開発、HLA 欠損血小板は NK 細胞に攻撃されないこと等の血小板の生物学に新しい知見を得たことは高く評価できる。

臍帯血由来の iPS 細胞ストックの一時供給停止や開発企業との連携体制の変更、患者状態等による研究開発の遅れはあるが、技術的には適切に進められている。自家輸血の臨床研究について、来年度の FIH 試験に向けて順調に進捗している。

以上により、本研究開発課題は概ね「大変優れている」と評価される。

【事後評価】

事業名	再生医療の実現化ハイウェイ
研究題目名	iPS細胞を用いた再生心筋細胞移植による重症心不全治療法の確立
代表機関名	慶應義塾大学 医学部
代表研究者名	福田 恵一

1. 研究概要

本課題では臨床応用に向けたトランスレーショナルリサーチとしてブタを中心とする大型動物にヒト iPS 細胞由来の心筋細胞を移植することで再生心筋細胞移植の安全性および有効性を評価する。iPS 細胞の心筋細胞への分化誘導および大量培養を実施し、純化精製した後に健常マイクロミニブタへの移植を行い、純化の程度が充分かどうか、未分化幹細胞の混入がどの頻度でどの程度生じるかを評価し、培養系での心筋分化誘導のプロセスが適切かどうかフィードバックすることで、臨床応用に向けたヒト iPS 細胞由来心筋細胞培養および移植法のプロトコルを確立することを目指す。

2. 評価結果

①研究開発達成状況

心筋球を移植する実用化への必要な要素技術として、iPS 細胞樹立法、未分化細胞の除去法、大量培養法（培地、培養装置）、品質管理基準の策定等、臨床研究に向けた非臨床試験、移植デバイス等の開発がなされ、個々の項目については高い達成状況と言える。一方、FIH (First in Human) 試験に使用するデバイスの安全性評価等の非臨床データの不足、急性期の不整脈低減の対策および対象患者の選定基準等、臨床研究開始に向けては更に検討が必要な点も残されている。特定認定再生医療等委員会への対応を進め、FIH 試験の開始に向けて着実に進捗していることは高く評価できるが、平成 29 年度末までに難治性慢性心不全症例に対し再生心筋細胞移植治療の FIH 試験を実施することが目標であり、全体のスケジュールには懸念も残る。

以上により、本研究開発課題の研究開発進捗は「優れている」と評価される。

②研究開発成果

分化誘導や純化等の基盤技術に関する多数の論文がトップジャーナルに発表され、多くの成果を創出した。具体的には、ヒト iPS 細胞におけるグルタミン代謝の特徴を利用し高い安全性の心筋細胞を安価かつ簡便に入手することに成功した。また、H1foo という因子を用いて、より高い多分化能の iPS 細胞を高効率に作製できることを発見し、iPS 細胞および分化心筋細胞における新規な二次元大量培養法も確立した。さらに、移植デバイスの開発も行い、重症心不全患者が増加する中、本治療法が根本的治療法となることが期待され、医療分野の進展や社会的ニーズに応える価値は高い。なお、知的財産の確保が適切になされている。一方、大動物での POC (Proof of Concept) は得られているものの、今後ヒトでの効果を検証しないと、真に臨床的に有用な技術に現段階で到達できているかは判断できないが、将来の発展の基盤は築いたものと考えられる。

以上により、本研究開発課題の研究開発成果は概ね「大変優れている」と評価される。

③実施体制

多岐にわたる研究開発内容を含む課題であったが、全体の統括が適切に行われた。培養、大量生産等の技術開発では企業の協力を得て確実に進められ、また、再生医療実現拠点ネットワークプログラム事業内の課題

間の連携、事業内の連携等も適切にすすめられた。より安全な iPS 細胞樹立法に向けて、京都大学 iPS 細胞研究所 (CiRA) との連携が進み、研究員の派遣も行われていることは高く評価される。

今後 FIH 試験に向けて、外科的な連携体制の構築が必要と考えられる。

以上により、本研究開発課題の実施体制は概ね「大変優れている」と評価される。

④今後の見通し

本事業で形成された多くの基盤の上に立ち、臨床試験到達に向けて進捗が認められる一方、細胞を心筋に直接注射することの安全性評価、デバイスの医療機器としての承認等については課題が残されており、平成 29 年度末までの FIH 試験開始に向けて、スケジュールには懸念も残る。また、将来の治験に向けて疾患とデバイスの組み合わせの検討を更に詳細に行うことが必要である。

ベンチャー企業である Heartseed 社による虚血性心筋症から拡張型心筋症治験等への治験を視野に、成果の普及、事業化が計画されていることは高く評価される。今後、既存の治療法との差別化をどのように行っていくか、また、コスト面での検討が必要である。

以上により、本研究開発課題の今後の見通しは「優れている」と評価される。

⑤事業で定める項目及び総合的に勘案すべき項目

規制対応、生命倫理等に対しては、関連法令等に基づき適切に実施している。成果発表は活発に行われた。アウトリーチ活動は適切に行われた。また、若手研究者のキャリアパス支援として、ポスドク、大学院生への支援と指導を行っている。

以上により、本研究開発課題の事業で定める項目及び総合的に勘案すべき項目は「優れている」と評価される。

⑥総合評価

多数の企業との共同研究を実施し連携を取りながら、挑戦的で精力的な取り組みが行われた。基盤技術について数多くのハイレベルの成果が創出され、研究開始時点から大きく進展したことは高く評価される。

ヒト iPS 細胞由来心筋球の移植による心筋梗塞モデルの心機能回復を実証し、当該心筋がレシピエント心筋と組織学的に癒合し心機能回復に貢献することを証明する一方、安全性や患者選定等、臨床研究に向けては課題も残るが、将来の発展の基盤を築いたことは高く評価される。

以上により、本研究開発課題は「優れている」と評価される。

(3) 技術開発個別課題

【事後評価】

事業名	技術開発個別課題
研究題目名	難治性筋疾患に対する細胞移植治療法の開発
代表機関名	国立精神・神経医療研究センター 神経研究所 遺伝子疾患治療研究部
代表研究者名	武田 伸一

1. 研究概要

本課題では、筋ジストロフィーなどの難治性筋疾患に対する再生医療の実現化に向け、ヒト iPS 細胞由来の骨格筋系譜幹細胞移植法の確立を目指す。ジストロフィン欠損による Duchenne 型筋ジストロフィー(DMD)は代表的な遺伝性筋疾患であり、その治療法に関しては様々な研究が進められているが、いまだ普遍的な治療法はない。DMD モデルマウスを用いた先行研究により、骨格筋系譜幹細胞移植は有効な治療法になりうると期待されているが、ヒトにおいては治療に十分な質と量の骨格筋系譜幹細胞を調製することが困難であった。そこで本研究は、ヒト iPS 細胞からの骨格筋系譜幹細胞の分化誘導法、増殖培養法、純化法、移植法の開発研究を進め、多くの難治性筋疾患に対する普遍的な治療法になりうると期待される幹細胞移植再生治療法を確立する。

2. 評価結果

①研究開発達成状況

発生段階の模倣による iPS 細胞からの骨格筋系譜幹細胞の分化誘導法の検討において、iPS 細胞ストック株からの分化誘導に成功し、特定の分画を分離する方法を確立した。また、骨格筋系譜幹細胞分離マーカの確立とその純化法の開発においては、各種分離マーカを組み合わせることにより純化法を確立し、計画通りの進捗が認められる。一方、移植細胞の生着率を向上させる培養法と移植法の検討においては、生着率を向上し、移植細胞の分化を促進する効果がある薬剤を見出しはいるが、計画進捗の遅れが認められる。iPS 細胞ストック株から誘導した骨格筋系譜幹細胞を用いた DMD モデルマウスにおける移植評価法の確立と移植による有効性の評価においては、DMD モデルマウスでの最大筋収縮力評価法および易疲労性試験方法を確立し、その方法を用いて現在本年度末までに POC (Proof of Concept) を取得すべく試験中であるが、現状では一部のサンプルにおいて筋張力の改善効果が認められるに留まっている。

また、一部の研究項目は研究項目絞り込みのため中止となり、当初目標に到達していない。

以上により、本研究開発課題の研究開発進捗は概ね「良い」と評価される。

②研究開発成果

iPS 細胞から治療に用いる骨格筋系譜細胞の分化誘導法を確立し、維持培養法、移植法は改善されてきている。また DMD モデルマウスへの移植により移植 12 週間における筋再生能、細胞生着は確認できた。今後、病態解明や創薬に向けた研究の加速が期待されるが、現段階で可能な治療は手指の動作性を回復する程度であり、患者 QOL の改善には貢献が期待できるものの、生命予後の改善を目指した呼吸筋を対象とした細胞移植治療の実現にはまだ距離がある。さらに、骨格筋系譜幹細胞の分化誘導法の頑健性、品質評価法、安全性等について更なる検討が必要で、臨床応用の実現には多くの課題が残されている。

知的財産の確保については適切になされている。

以上により、本研究開発課題の研究開発成果は概ね「良い」と評価される。

③実施体制

研究開発項目の見直しに伴い、代表機関及び分担機関の実施体制も概ね適切に見直されて、研究開発が推進されてきた。また、研究機関間で進捗状況の把握と情報交換は適切に実施された。一方、実用化に向けて適切な体制であるかについては疑問が残る。実用化と研究とを総合的にマネジメントする体制が今後必要と考える。

以上により、本研究開発課題の実施体制は「良い」と評価される。

④今後の見通し

iPS 細胞から治療に用いる骨格筋系譜細胞の分化誘導法を確立し、維持培養法、移植法は改善されている。DMD モデルマウスにおいて筋張力の改善効果が認められ、今年度中に POC を取得する予定である。一方、臨床応用に向けては、骨格筋系譜幹細胞の分化誘導法の頑健性、品質評価法、安全性等更なる検討が必要である。これらの検討が進めば、将来的に臨床応用も実現可能と考えられるが、そのロードマップは現時点では明確ではない。

以上により、本研究開発課題の今後の見通しは概ね「良い」と評価される。

⑤事業で定める項目及び総合的に勘案すべき項目

規制対応、生命倫理等に対しては、関連法令等に基づき適切に対応している。成果発表、アウトリーチ活動は活発に行われた。特に、若手研究者のキャリアパス支援においては、国内外の学会発表や iPS 細胞関係の技術講習会等への参加を促し、若手研究者の育成が十分に行われている。

以上により、本研究開発課題の事業で定める項目及び総合的に勘案すべき項目は「良い」と評価される。

⑥総合評価

本課題は、全身性の難病である筋ジストロフィーを対象としたチャレンジングな研究課題で、臨床までの道のりは遠いが、iPS 細胞ストック株からの骨格筋系譜幹細胞を安定的に分化誘導できるようになり、DMD モデルマウスにおいて筋張力の改善効果が認められ、DMD の治療法としての未来像が示されたことは評価できる。しかし、臨床応用に向けては複数の課題が残されている。

以上により、本研究開発課題は概ね「良い」と評価される。

【事後評価】

事業名	技術開発個別課題
研究題目名	iPS 細胞を用いた新規糖尿病治療法開発
代表機関名	京都大学 iPS 細胞研究所
代表研究者名	川口 義弥

1. 研究概要

本課題では、iPS 細胞を用いた機能的な膵臓細胞の作製方法の樹立を目指す。糖尿病は腎症、網膜症、神経障害、心血管障害等を含む様々な病態の基礎疾患である。糖尿病に対する薬物療法は進歩してきたが、インスリン不足によって生じる1型糖尿病の根本的治療には、膵臓移植や膵島移植が必要と考えられる。移植を待つ患者数は多いにもかかわらず、現実には慢性的なドナー不足状態である。発生学の知見と臨床膵島移植の長期成績から、「機能的な膵島細胞を作るためには、膵外分泌組織との共存により立体的膵構築(疑似膵島様構築)を形成する必要がある」という仮説に立って、“膵臓を丸ごと作る”技術を確立し、新規糖尿病治療法の開発を行う。

2. 評価結果

①研究開発達成状況

生体内の膵臓発生を再現・模倣することにより、iPS細胞から膵島細胞を分化誘導するという発想で研究が行われた。分化に係わる新規のメカニズムとしてPtf1a、TFF2、Foxo1阻害、NGN3等の関与について解明し、原腸オルガノイドを元にして膵内外分泌細胞の分化誘導および膵島細胞を作製する方法を見出した。また、内分泌細胞の分化に外分泌細胞由来の因子が必要である可能性を明らかにし、分化誘導プロトコールへの応用を試みた。しかし、作製された膵島オルガノイドの機能評価では、移植後機能発現までかなりの時間がかかっていること、個体によって血糖推移にばらつきが認められる等検討すべき事項が多く残されており、設定した目標には到達していない。

以上により、本研究開発課題の研究開発達成状況は「やや良い」と評価される。

②研究開発成果

膵臓発生の過程を模倣し、丸ごとの膵臓を生体外で作製するという新しいアプローチで研究を進め、分化誘導法の新しい方法を創出した。原腸から膵に分化させる Ptf1a の発現を誘導する化合物 (Na-Butyrate と Forskolin) を同定し特許出願を行った点は高く評価される。インスリン陽性細胞の立体構築(疑似膵島様構築)の必要性、膵島細胞の脱分化に関する因子の解析、及び外分泌細胞との共存について調べ関与する因子を明らかにした。iPS 細胞から分化誘導した原腸を経て原腸オルガノイドを作り、立体的膵組織を構築する技術をほぼ確立し、原腸オルガノイドについては、膵臓以外の内臓の再生医療に活用できる可能性もある。一方、この方法で得られた細胞塊を糖尿病マウスに移植する実験が行われたが、機能性評価では、結論が得られるには至らず、今後の課題が多く残されている。

以上により、本研究開発課題の研究開発成果は「やや良い」と評価される。

③実施体制

研究開発は代表機関単独で実施されこともあり、チーム内の研究は円滑に実施された。ネットワークプログラ

ム事業内の他拠点・課題との連携については、膵臓関係のプロジェクトとの間で情報交換が行われるにとどまった。

以上により、本研究開発課題の実施体制は概ね「良い」と評価される。

④今後の見通し

膵内外分泌細胞の分化誘導法について方法を検討した。その機能評価は途中の段階であり、実験動物への細胞移植は腎被膜下を移植部位として行われたものの、その適切性、機能発現までの期間（生体内の成熟化）、機能がどの程度の期間維持できるのかなどについて、まだ解決すべき課題が多く残されている。膵臓発生のプロセスを忠実に再現する手法はユニークであり、膵組織分化のメカニズム研究としては期待できるが、臨床応用にはほど遠いと言わざるを得ない。

原腸オルガノイド等の細胞分化に関する知見は、今後、他の再生医療研究にも活用される可能性が期待できる。一方、グルコース応答性のインスリン産生細胞を用いた再生医療では、海外において臨床開発が進んでいることから、他の手法に対する優位性を明らかにし、将来的な研究開発戦略について検討する必要がある。

以上により、本研究開発課題の今後の見通しは概ね「やや良い」と評価される。

⑤事業で定める項目及び総合的に勘案すべき項目

成果発表については、本課題は基礎研究的側面が強いことを踏まえると、より積極的な論文発表が求められた。学会発表と論文執筆では、若手研究者の活躍の機会が少なかった。アウトリーチ活動は適切に行われた。

以上により、本研究開発課題の事業で定める項目及び総合的に勘案すべき項目は概ね「良い」と評価される。

⑥総合評価

膵島細胞の分化に係わる新規のメカニズムの解明等、基礎発生学の研究としては一定の成果を上げた。一方、膵島細胞の分化誘導では十分な細胞数が確保できず、動物実験での機能性評価もまだ不十分であり、移植方法や移植部位の検討も今後必要であることから、実用化に繋げるためには取り組むべき事項が多く残されている。

以上により、本研究開発課題は概ね「やや良い」と評価される。

【事後評価】

事業名	技術開発個別課題
研究題目名	幹細胞パッケージングを用いた臓器再生技術と新規移植医療の開発
代表機関名	慶應義塾大学 医学部
代表研究者名	北川 雄光

1. 研究概要

本課題は、従来の組織/細胞再生技術を進化させた新しい移植可能臓器再生技術、すなわち細胞を除去し骨格のみを再生利用する手法「脱細胞化」を基盤とし、これまで培ったヒトスケールでの臓器骨格の構造維持と、大動物への移植技術を元に、iPS 細胞を用いた肝臓移植の臨床応用を目指す。各研究拠点によって創出される再生組織/細胞を臨床現場へ届ける最終段階として汎用性の高い技術を提供するため、脱細胞化から移植に至るすべての工程を規格化し、製品化が可能な無菌的パッケージング法を確立する。本開発により、組織・臓器を越えて血液循環を実現化する 3 次元骨格と移植までの工程を確立し、再生医療実現化を加速する基盤技術へと発展することを目指す。

2. 評価結果

①研究開発達成状況

対象疾患を肝硬変とし、肝臓移植までのブリッジとして活用することを目的として、補助肝臓としての再生部分肝臓に明確化した。これを具体化するため、(1)ブタ肝障害モデルを作製した。(2)脱細胞化は標準作業手順書(SOP)作成等により標準的手法を確立したが規格化には至っていない。(3)細胞充填方法についてはプロトコール設定まで実施した。(4)正常ブタおよび肝障害モデルブタへの移植手技・術後管理は確立した。(5)ヒトiPS細胞由来ヒト肝前駆細胞等を充填した組織の正常ブタへの移植実験も実施した。一部の肝機能については確認出来たが、十分な機能発現、機能的な肝小葉、胆管等の微細構造の構築には至っていない。肝障害モデルブタへの再生部分肝臓移植のPOC(Proof of Concept)取得については現時点では未達だが、ブタ新鮮肝細胞、ヒトiPS細胞由来幹細胞それぞれを充填した再生部分肝臓を本年度内に移植予定である。

以上により、本研究開発課題の研究開発進捗は概ね「優れている」と評価される。

②研究開発成果

挑戦的な課題に挑み、正常および肝障害モデルブタへの再生部分肝臓の安定的な移植が可能となり、また移植した肝細胞が体内で増殖し、胆汁産生することを世界で始めて実証した成果は高く評価できる。また、この手法により肝障害モデルブタの一部の肝機能が上昇したことは、新たな再生医療実現に繋がることが期待できる成果である。一方、十分な機能発現が確認されたとは言えず、機能的な肝小葉、胆管等の微細構造の構築や、組織や細胞の規格化には至っていない点や免疫抑制等、臨床応用に向けては多くの課題が残されている。

また、今後実用化を進める上で、海外の基本特許に依存している点が懸念される。

以上により、本研究開発課題の研究開発成果は概ね「優れている」と評価される。

③実施体制

脱細胞組織作製のための還流装置等、企業協力により開発が進められている。ヒト iPS 細胞由来肝細胞の入手をネットワーク内の協力で進める等、他研究機関との協力が図られた。

一方、脱細胞組織の規格化等、臨床応用に向けては課題が残されている。POC 取得に向けた各検討項目実施体制が十分とは言えない。

以上により、本研究開発課題の実施体制は「優れている」と評価される。

④今後の見通し

脱細胞化技術を用いた再生医療技術の開発は本課題が唯一であり、独創性、新規性のある挑戦的な課題である。臨床応用には課題が残されているが、5年間の事業期間中において、本技術のもつ潜在的な可能性を示す結果は得られており、臓器骨格とマトリクスの効果により、他の細胞治療より高い治療効果も期待できる。本研究の成果は今後の肝障害への医療研究のみならず脱細胞化技術としての拡がりも期待できることから、医療ニーズ、社会的ニーズは高い。また、ネットワークプログラム事業内の他課題で進んでいる分化誘導細胞の受け皿として今後、重要な役割を果たすことも期待される。一方で、知的財産面や、他の治療法の進歩により、将来的な肝硬変患者の減少が予測される中、本技術の優位性や他の対象疾患への応用についてもさらに検討する必要がある。

以上により、本研究開発課題の今後の見通しは「良い」と評価される。

⑤事業で定める項目及び総合的に勘案すべき項目

規制対応、生命倫理等に対して関連法令等に基づき適切に対応がなされている。若手女性研究者の積極的な採用等のキャリアパス支援も十分である。成果発表、アウトリーチ活動は適切に行われた。

以上により、本研究開発課題の事業で定める項目及び総合的に勘案すべき項目は概ね「優れている」と評価される。

⑥総合評価

挑戦的な課題に対し、多くの努力がなされ、一定の成果が創出された。特に、ブタ新鮮肝細胞や iPS 細胞由来幹細胞等を充填した部分再生肝臓を移植し、胆汁産生を確認した点は高く評価される。POC 取得は今年度内の見込みであり、また、臨床応用までは多くの課題が残されているが、これらの成果から、新たな再生医療の実現が期待されるものである。

以上により、本研究開発課題は概ね「優れている」と評価される。

【事後評価】

事業名	技術開発個別課題
研究題目名	幹細胞培養用基材の開発
代表機関名	大阪大学 蛋白質研究所
代表研究者名	関口 清俊

1. 研究概要

本課題は、再生医療用ヒト iPS 細胞の培養および分化誘導に適した培養基材の開発と当該基材を安定供給できる態勢の確立を目指す。iPS 細胞等のヒト多能性幹細胞を医療応用するためには、これらの細胞を安全かつ安定に培養・増幅し、特定の細胞に効率よく分化誘導する培養技術が不可欠である。生体内では、細胞が足場とする蛋白質は細胞ごとに異なっており、培養基材として使用する蛋白質も細胞ごとに最適化する必要がある。そこで、本課題では、細胞ごとに最適な足場蛋白質を探索し、iPS 細胞のための未分化性維持用培養基材、iPS 細胞のための分化誘導用培養基材、分化誘導した細胞のための上皮様細胞シート加工用培養基材の開発を目指す。さらには、これら培養基材を Good Manufacturing Practice (GMP) 規格で製品化する技術の開発を目指す。

2. 評価結果

①研究開発達成状況

本課題は、(1)医療用ラミニン 511E8 断片の製造、(2)コラーゲン結合型 CBD-511E8 断片の製造と活性評価、(3)ラミニン 511 以外のアイソフォーム E8 断片の製造と活性評価、の 3 つの研究項目で構成される。(1) iPS 細胞の多分化能を保ったまま増幅が可能な 511E8 断片は、採択時の平成 25 年に「iMatrix-511」として研究用グレードが市販されていたが、製造方法を改良して生物由来原料基準に適合した臨床用グレード「iMatrix-511MG」を平成 27 年に製品化し、安定供給する体制を確立した。さらに、従来は CHO 細胞株であったが、トランスジェニックカイコによる製造方法を確立し、より安価な「iMatrix-511 silk」を平成 28 年に製品化した。(2) CBD-511E8 断片の大量製造技術を確立し、この断片とコラーゲンを組み合わせた三次元培養基材上で iPS 細胞由来網膜色素上皮細胞の細胞シートが形成されることを確認した。(3) 111E8、121E8、221E8、332E8、411E8、511E8 の 6 種のラミニンアイソフォーム E8 断片の安定生産株を樹立し、これら断片を拠点・課題に供給することで iPS 細胞を種々の細胞へ分化誘導する活性を評価した。なお、その一つは平成 29 年に「iMatrix-411」として製品化された。それぞれの項目で目標を達成しているが、特に項目 (3) で目標を大きく超えて進捗した。

以上により、本研究開発課題の研究開発進捗は「大変優れている」と評価される。

②研究開発成果

医療用ラミニン 511E8 断片は、京都大学 iPS 細胞研究所 (CiRA) での再生医療用 iPS 細胞ストックの製造に使われているほか、臨床試験用のドーパミン産生神経細胞や網膜色素上皮細胞の製造にも採用され、再生医療の実用化推進に大きく貢献している。ラミニンアイソフォーム E8 断片に関して、iPS 細胞から種々の細胞ごとに異なるラミニンタイプが分化を誘導することを報告し、科学的に高く評価されている。16 件の特許出願を行い 11 件の特許 (審査中を含む) を取得しており、産業化のための知的財産が確保されている。

以上により、本研究開発課題の研究開発成果は「大変優れている」と評価される。

③実施体制

代表機関の研究成果を分担機関であるニッピ社が速やかに製品化しており、産学連携の模範となる体制のもと研究開発が行われた。ネットワークプログラム事業内の他の拠点・課題と 19 件もの共同研究体制を構築し、その成果は 8 報の論文に報告された。

以上により、本研究開発課題の実施体制は「大変優れている」と評価される。

④今後の見通し

樹立済みの 6 種類のラミニンアイソフォーム E8 断片の安定生産株に加えて、5 種の生産株を樹立し、全 11 種のヒト型ラミニンタイプをカバーするラミニン E8 断片パネルの完成を目指している。また、次世代型の増殖因子結合型ラミニン E8 断片の開発を進めている。コストダウンを進めて世界での再生医療技術として一般化されることを期待する。

以上により、本研究開発課題の今後の見通しは「大変優れている」と評価される。

⑤事業で定める項目及び総合的に勘案すべき項目

臨床用ラミニン 511E8 断片は生物由来原料基準に準拠している。若手研究者のキャリアパス支援では、アカデミアと企業のどちらでも活躍できる人材の育成が図られている。成果発表は適切に行われた。アウトリーチ活動は活発に行われた。

以上により、本研究開発課題の事業で定める項目及び総合的に勘案すべき項目は「優れている」と評価される。

⑥総合評価

本課題は、代表研究者が独創的に開発したラミニン 511E8 断片を軸足として、その周辺技術を 5 年間の研究期間で開発し、国際競争力の高い優れた成果を挙げた。まず、緊密な産学連携のもと医療用ラミニン 511E8 断片を速やかに社会実装し、日本における iPS 細胞培養の標準化や再生医療の実用化推進に大きく貢献した。今後、グローバル展開が期待される。次に、ラミニンアイソフォーム E8 断片を多数の研究機関に提供し、iPS 細胞の分化誘導研究の進展に大きく貢献した。この分野はまだ成長過程にあり、今後、ますます科学的な発見や臨床応用が期待される。

以上により、本研究開発課題は「大変優れている」と評価される。

【事後評価】

事業名	技術開発個別課題
研究題目名	慢性腎臓病に対する再生医療開発に向けたヒト iPS 細胞から機能的な腎細胞と腎組織の作製
代表機関名	京都大学 iPS 細胞研究所
代表研究者名	長船 健二

1. 研究概要

本課題は、慢性腎臓病に対する再生医療の実現に向けてヒト iPS 細胞から機能的な腎細胞と腎組織の作製法を開発し、腎細胞や腎組織の移植による再生医療の基盤研究を行う。慢性腎臓病は、我が国の成人の 8 人に 1 人が罹患していると推定されるほど頻度が高く、末期慢性腎不全では透析治療が必要となり、根治的な治療は腎臓移植のみである。しかしドナー不足が問題であり、臓器移植を代替する再生医療の開発が期待されている。ES/iPS 細胞から腎細胞への分化誘導法と移植への応用については世界的にも確立されていない。そこで本研究は、ヒト iPS 細胞から腎前駆細胞への分化誘導法の技術を確立するとともに、再生医療の効果の確認に用いる慢性腎臓病動物モデルを作製する。さらに、ドナー臓器の不足の問題を抜本的に解決することを目指して、血管化され尿を産生する再生腎組織を異所性に作製する技術を開発する。

2. 評価結果

①研究開発達成状況

腎前駆細胞の分化誘導及び分離方法の開発では、独自の二次元培養方法により分化誘導したネフロン前駆細胞が、糸球体から遠位尿細管を含む腎オルガノイドを形成し、さらに免疫不全マウスの腎被膜下に移植しネフロン前駆細胞としての発生物学的機能を有することを確認した。また、尿管芽細胞から尿管芽組織を作製することができ、腎疾患動物モデルの樹立と細胞療法の開発については、虚血再灌流による急性腎障害モデルの確立、免疫不全マウスに対して2種類の慢性腎臓病モデルを樹立し概ね目標は達成された。一方、POC (Proof of Concept) が取得されたとは言えない段階である。また、一部の研究項目は研究項目絞り込みのため中止となり、当初目標を達成していない。

以上により、本研究開発課題の研究開発達成状況は概ね「良い」と評価される。

②研究開発成果

ヒト iPS 細胞からの腎前駆細胞の分化誘導法では、80%以上という高効率の方法を確立し、尿管芽細胞等の分離技術、三次元組織化等についても独自の方法論を確立し、6 件の特許を取得した。さらに急性腎障害および慢性腎臓病の病態モデルマウスの作製技術の確立、異所性のヒト腎組織の作製、ホスト血流との統合、糸球体と尿細管の連結等に成功した成果は高く評価される。一方、実用化に向けては急性腎障害と慢性腎臓病のモデル動物を使って、腎前駆細胞の移植による再生療法が試みられ、急性腎障害に対する病態改善などの有効性が示されたものの、予備的な研究に止まり POC 取得には至っていない。臨床応用に向けて取り組むべき課題は多く残されている。

以上により、本研究開発課題の研究開発成果は概ね「良い」と評価される。

③実施体制

事業内の肝臓、膵臓の研究グループと情報交換等、積極的に行っている。分担機関である横浜市立大学、医薬基盤研究所と連携していたが、最終年度は代表機関単独で研究を行った。今後は実用化に向けて、臨床家との連携が期待される。ネットワークプログラム事業内の連携に関しては、中核拠点をはじめ他の拠点・課題との連携に積極的に取り組んだ。

以上により、本研究開発課題の実施体制は「良い」と評価される。

④今後の見通し

慢性腎臓病患者と、透析患者の増加を考えると、腎臓移植に代わる再生医療による治療方法の開発は期待されている。本研究開発では、腎前駆細胞等の分化誘導および細胞分離について技術を開発し、病態モデル動物を用いて細胞移植により病態が改善することが示されたので、将来の細胞移植治療の可能性を拓くものである。透析の代替治療を目標としているが、現在期待できる機能で治療可能な疾患もあると考えられることから、研究の出口はよく検討する必要があるのではないかと。臨床応用に向けては、再生腎組織の形成および移植法の検討など技術面で多くの課題が残されている。それらの課題が克服され、本細胞治療の優位性を示すことができれば、医療の進展及び社会のニーズに大きく貢献する研究課題となるだろう。

以上により、本研究開発課題の今後の見通しは「やや良い」と評価される。

⑤事業で定める項目及び総合的に勘案すべき項目

若手研究者の学位取得、昇進、海外への留学、国内外での積極的な発表等、若手キャリアパス支援が適切に実施された。成果発表、アウトリーチ活動も活発に行われた。

以上により、本研究開発課題の事業で定める項目及び総合的に勘案すべき項目は「良い」と評価される。

⑥総合評価

腎臓の再生医療は、まだ研究が十分に進んでいない領域であるが、先行技術を凌ぐ効率で目的細胞の分化誘導と分離技術を確立し、また、得られた細胞を急性腎障害動物モデルに移植して、腎障害が改善されることからある程度の有効性を確認した点、また、異所性の腎組織の作製では、マウスに移植して糸球体内に血管が侵入して腎組織が形成されることを確認した点等、チャレンジングな課題に挑戦し、一定の成果を挙げたが、予備的な研究に留まっている。慢性腎臓病を治療する再生医療の開発戦略については、POC 取得や移植法の検討等、さらなる検討が必要であり、臨床応用に向けて今後克服すべき課題は多い。

以上により、本研究開発課題は概ね「良い」と評価される。

【事後評価】

事業名	技術開発個別課題
研究題目名	移植免疫寛容カニクイザルコロニーの確立と再生医療への応用
代表機関名	滋賀医科大学 動物生命科学研究センター
代表研究者名	小笠原 一誠

1. 研究概要

本課題は、iPS 細胞ストック構想の前臨床試験モデルとして使用可能な移植免疫寛容カニクイザルを供給する体制の構築を目指す。MHC ホモ個体より作製した iPS 細胞由来細胞は、MHC ヘテロ個体への生体内移植に際し、免疫拒絶反応がほとんど生じないことが予想される。この考えから iPS 細胞ストック構想が生まれたが、臨床応用するためには前臨床試験モデルが必要になる。本研究者は、これまでにカニクイザル MHC ホモ個体より作製した iPS 細胞と MHC ヘテロ個体を有してきているが、この移植免疫寛容カニクイザルコロニーをさらに拡充させ、iPS 細胞由来細胞を用いる再生医療に向けた前臨床試験モデル動物として、再生医療実現拠点ネットワーク内外の研究者に幅広く提供できる体制を開発・構築する。

2. 評価結果

①研究開発達成状況

移植免疫寛容カニクイザルの探索において、フィリピン産カニクイザルの血液試料を用いて DNA タイピングにより MHC 遺伝子群のタイプを 1,804 頭の目標に対して 1,764 頭を調べ、MHC ホモ接合個体の血液より iPS 細胞を 40 株の目標に対して 39 株を樹立し、いずれも計画通りの進捗が認められる。また同一 MHC カニクイザルの計画的人工繁殖では、ホモ接合個体を年間1頭以上作出する目標に対し、繁殖効率を向上されるために各種機器を整備し、3頭を作出した。さらに、本年度中に DNA タイピングが可能となる個体を 4頭飼育中であり、ほぼ計画通りの進捗が認められる。一方、再生医療実現拠点ネットワーク内外の研究者への樹立 iPS 細胞と MHC ヘテロ個体の提供は、140 頭の目標に対して、フィリピンの検疫問題等によりサルの輸入が停止していたため、37 頭の提供にとどまり、目標に到達していない。

以上により、本研究開発課題の研究開発進捗は「良い」と評価される。

②研究開発成果

樹立された MHC ホモ iPS 細胞及びその MHC ヘテロ接合サルは、ヒト HLA ホモ iPS 細胞株を用いて臨床開発を目指すパーキンソン病、加齢黄斑変性、心筋症の各再生医療の動物実験モデルとして使用され、MHC 適合移植による免疫寛容が認められた。これらの結果により、iPS 細胞ストック構想の前臨床試験モデルとしての有用性が示唆された。

以上により、本研究開発課題の研究開発成果は「良い」と評価される。

③実施体制

代表機関及び分担機関は、それぞれの役割を適切に実施している。また、ネットワークプログラム事業内の他拠点・課題の5機関に MHC ホモ iPS 細胞と MHC ヘテロサルを提供し、サルの手術処置法の指導等、連携が適切に実施された。

以上により、本研究開発課題の実施体制は概ね「優れている」と評価される。

④今後の見通し

再生医療等の実用化に向けて、今後とも移植免疫寛容カニクイザルが前臨床試験モデルとしてさらに活用されることが期待されることから、国内における移植免疫寛容カニクイザルの安定供給のため、企業の知見を借りてのビジネスモデルの提案を期待する。

以上により、本研究開発課題の今後の見通しは「良い」と評価される。

⑤事業で定める項目及び総合的に勘案すべき項目

生命倫理等については関連法令等に基づいて適切に実施された。若手研究者のキャリアパス支援については一層の取り組みを期待したい。

以上により、本研究開発課題の事業で定める項目及び総合的に勘案すべき項目は「良い」と評価される。

⑥総合評価

iPS 細胞ストック構想の前臨床試験モデルとして使用可能な移植免疫寛容カニクイザルを供給し、HLA ホモ iPS 細胞ストックを用いるネットワークプログラム事業に対して大きく貢献した。樹立 iPS 細胞と MHC ヘテロ個体の提供が遅れたが、それ以外は概ね順調な進捗が認められる。移植免疫寛容カニクイザルの安定供給体制についてビジネスモデルの提案を期待する。

以上により、本研究開発課題は「良い」と評価される。

【事後評価】

事業名	技術開発個別課題
研究題目名	iPS 細胞分化・がん化の量子スイッチング <i>in vivo</i> Theranostics
代表機関名	名古屋大学大学院 工学研究科
代表研究者名	馬場 嘉信

1. 研究概要

本課題は、量子・磁気ナノハイブリッド材料を創成し、量子スイッチングによる iPS 細胞がん化・分化 *in vivo* Theranostics(生体内診断・治療の融合)の実現を目指している。iPS 細胞の臨床応用を進めるために、iPS 細胞の生体内動態に加えてがん化・分化を診断し、異常な細胞は死滅させる技術の確立が切望されている。本研究は、iPS 細胞に対して安全な量子ドット、磁性ナノ粒子と生体適合性材料によるカプセル化技術を開発し、量子スイッチング・磁気効果による生体内がん化・分化の診断、異常な細胞の死滅を可能とする量子・磁気ナノハイブリッド材料を創製する。骨・軟骨疾患・肝疾患を対象に本技術の有効性を確認するとともに、拠点と連携し臨床応用可能な技術開発を進め、iPS 細胞の臨床応用を加速する。

2. 評価結果

①研究開発達成状況

移植された幹細胞等の追跡が可能な新規量子ドットの開発に成功し、標識能の確認、がん化に伴う蛍光変化を確認した。量子ドット、磁性ナノ粒子、生体適合性カプセル材料を融合し、高い内包率を実現した量子・磁気ナノハイブリッド材料を創製した。解析力については深部臓器では検討すべき事項は残されているものの、目標を十分達成している。

また、量子スイッチング技術に関しては、磁性ナノ粒子と量子・磁気ナノハイブリッド材料について *in vitro* でがん細胞に対する死滅効果について確認した。その他一部で進行中の目標もあるが、年度末までに達成できる見込みである。ただし、安全性等、今後検討すべき項目は多く残されている。

中間評価への対応として、まずは研究用試薬としての計画を先行していること、商品展開も視野に入れて安全性試験について検討しているとの判断は妥当性がある。

以上により、本研究開発課題の研究開発進捗は「優れている」と評価される。

②研究開発成果

幹細胞標識や *in vivo* イメージングに最適な新規量子ドットと磁性ナノ粒子の開発、幹細胞のがん化・分化を量子スイッチングという蛍光変化で検知できる技術は、移植幹細胞の体内動態、生体内がん化、分化機構、及びその治療効果の診断を可能にするもので、先行技術に対する優位性が高く、全く新しい技術としてその成果は高く評価される。実用化に向けては、安全性の検証等課題は残されているものの、今後、移植前の幹細胞、再生細胞の安全性・有効性、移植後の生体内動態、生着効率、再生治癒効果等の細胞レベルでの解析に寄与し、医療分野の進展・社会ニーズに資することが期待される。知的財産の確保は適切になされている。

以上により、本研究開発課題の研究開発成果は「優れている」と評価される。

③実施体制

量子・磁性ナノハイブリッド材料の開発は企業及び京都大学との連携で進められた。また、臨床応用を見据え、

他の研究拠点と連携を進めている。課題内の連携、他の研究拠点との連携、産学連携も適切であった。

以上により、本研究開発課題の実施体制は「優れている」と評価される。

④今後の見通し

新規超低毒性量子ドットの安全性試験を進め、臨床応用に向けた流れが進むことが期待される。その中で、中・大動物の深部臓器内での移植細胞の検出についてはさらに検討が必要である。異常細胞をアポトーシスに導く方法については、原理開発までは進めてきているが、臨床応用するためのハードルが高く、今後の研究の積み重ねが必要と思われる。しかし、移植後のがん化や異常な細胞を選択的に死滅させる技術は非常に重要であり、成功すればインパクトが大きい。

また、量子ドット、磁性ナノ粒子、及び生体適合性材料の新規開発等は、実用化に向けた活動であり、国内の産業育成への貢献も期待される。

以上により、本研究開発課題の今後の見通しは「優れている」と評価される。

⑤事業で定める項目及び総合的に勘案すべき項目

規制対応、生命倫理等に対して適切に対応がなされている。

若手研究者のキャリアパス支援については、名古屋大学博士課程教育リーディングプログラム等の各種支援が実施されており、研究者育成環境の整備も行われ、積極的に行われた。

成果発表は活発に行われた。アウトリーチ活動は適切に行われた。

以上により、本研究開発課題の事業で定める項目及び総合的に勘案すべき項目は「優れている」と評価される。

⑥総合評価

量子・磁気ナノハイブリッド材料を創生し、移植細胞の生体内挙動を把握する方法として、ネットワーク内外の複数の拠点に技術提供した。臨床研究を目指す一部の研究機関においては、それを基として、非臨床実験が積み重ねられており、成果の創出に貢献した。また、これらの結果から、本技術の有用性が証明されたことは高く評価される。今後、安全性の検証を進めることが期待される。

量子スイッチングによりがん化した細胞を死滅させる技術については、今年度内に達成予定の *in vivo* 実験が成功し、*in vivo* Theranostics というコンセプトが実証されることを期待する。

以上により、本研究開発課題は「優れている」と評価される。

【事後評価】

事業名	技術開発個別課題
研究題目名	iPS・分化細胞集団の不均質性を1細胞・全遺伝子解像度で高速に測定する技術の開発
代表機関名	理化学研究所 情報基盤センター
代表研究者名	二階堂 愛

1. 研究概要

本課題は、ヒト iPS 細胞や iPS 細胞由来分化細胞の細胞状態の不均一性を認識・評価する技術を開発し、再生医療の安全性・有効性を飛躍的に高める。iPS 細胞や iPS 細胞由来分化細胞は、均一な培養条件の同一コロニーにあっても、細胞状態が異なる細胞が含まれる。しかし、この不均一性が、どの程度、細胞移植に影響があるかが、解明されていない。細胞状態の不均一性を認識し制御するために、まず、細胞集団が持つ不均一性を定量する必要がある。そのためには、細胞状態を、細胞集団の平均値でなく、1 細胞ごとに測定しなければならない。そこで本課題では、iPS 細胞由来分化細胞集団の不均一性を 1 細胞・全遺伝子解像度で高速に測定する技術を開発する。そのために、1 細胞発現量解析を精緻化し、そのデータから不均一性を判定するデータ解析手法の開発を目指す。

2. 評価結果

①研究開発達成状況

10,000 細胞の1細胞 RNA シークエンスについては、混合反応の開発、逆転写効率の向上、装置導入による効率化により、Quartz-Seq2 の開発に成功し、高精度化及び当初の目標を上回る低コスト化を実現し、本技術で 0.1%の検出限界で細胞集団の不均一性を認識することが示された。さらに、逆転写反応の改良を進め、低発現遺伝子の検出も可能とする RamDA-seq を開発した。細胞集団の不均一性を解析するシステムを構築し、実際に Quartz-Seq2 及び RamDA-seq で得たデータから神経前駆細胞または心筋の細胞集団において、造腫瘍性を検出しうる不均一マーカーを同定するなど、開発した技術を利用して、のべ 10 件の事業内連携を行った。本解析システムはインターネット上で公開されて、誰もが利用できる。上記のとおり、計画当初の目標がすべて達成され、目標以上の成果も得られている。

以上により、本研究開発課題の研究開発進捗は「大変優れている」と評価される。

②研究開発成果

Quartz-Seq2 及び RamDA-seq の開発により、細胞の不均一性や成熟度の評価が可能になったことは、再生医療の安全性に関わるマーカー遺伝子や細胞叢集団の確認、また、移植細胞の分化誘導法や培養法の評価につながる新技術の開発であり、大きな進展である。検出限界や再現性については更なる検証が必要であるものの、今後、がんや免疫学、感染症の分野への応用も期待され、医療分野の進展及び、社会的ニーズにも資するものである。また、知的財産の確保もなされ、試薬市販に向けての技術指導契約に至っている。

以上により、本研究開発課題の研究開発成果は概ね「大変優れている」と評価される。

③実施体制

単独の研究機関による技術開発である。論理構成及び機器への実装は当課題で実施し、具体的な機器の開発及び搭載は数社の企業で実施されており、技術移転しやすい状態と考えられる。ネットワークプログラム事

業内の他拠点・課題との連携については、慶應義塾大学・岡野拠点、慶應義塾大学・福田課題との連携において、確立した 1 細胞 RNA シークエンスの実施及び解析システムの利用により、技術の有効性を確認したことをはじめとして、要望のあった複数の拠点へ技術移転し、各々の拠点で実証可能な体制づくりに貢献した。

以上により、本研究開発課題の実施体制は「優れている」と評価される。

④今後の見通し

本課題で開発した 1 細胞 RNA シークエンスは世界最高レベルの精度と低コストであり、多くの再生医療製品の品質管理に応用が期待できる。構築した解析システムは定期的にアップグレードされ、ユーザーにとって継続的に使用することが可能となっている。今後は、1細胞 RNA 解析技術のバリデーションの実施及び更なる低コスト化が望まれる。再生医療の進展のためには、分化細胞や成体組織等の解析データの蓄積が有用であり、本研究成果はこれに大きく寄与できる技術として期待される。また、1 細胞解析技術の国際比較研究に参加することにより、第三者に評価されることは今後の技術開発にとって重要である。

以上により、本研究開発課題の今後の見通しは概ね「大変優れている」と評価される。

⑤事業で定める項目及び総合的に勘案すべき項目

若手研究者で構成される課題であるが、拠点との連携を積極的に進め、技術活用も行われた。また成果発表、アウトリーチ活動は適切に行われた。また、生命倫理等への対応についても関連法令等に基づき適切に実施している。また、研究開発分担者が企業へ研究所長として転出しており、若手のキャリアパス支援も計られていた。

以上により、本研究開発課題の事業で定める項目及び総合的に勘案すべき項目は概ね「優れている」と評価される。

⑥総合評価

当初の計画通りに実施され、世界でも最高水準の精度とスループットを持ち、低コストで実施可能な 1 細胞解析技術を開発し、関わる装置の製品化や試薬キット等の試作をしたことは高く評価される。また、ネットワークプログラム事業内の技術移転と共同研究は積極的に行われた。今後、本技術が広く活用され、再生医療で移植する細胞集団の不均一性や成熟度等を評価可能とするだけでなく、細胞遺伝子発現データベースの構築、効率的な分化誘導系の確立など、さまざまな医療分野の進展に寄与し、グローバルに普及していくことが期待される。

以上により、本研究開発課題は概ね「大変優れている」と評価される。

【事後評価】

事業名	技術開発個別課題
研究題目名	再生医療に用いる iPS 細胞大量培養プラットフォームの開発
代表機関名	旭硝子株式会社 先端技術研究所
代表研究者名	熊谷 博道

1. 研究概要

本課題は未分化 iPS 細胞の大量培養・安定供給に必要なプラットフォーム技術を構築し、再生医療の早期実現と国際展開に貢献する事を目的とする。実用化のためには開発早期段階から高い安全性・堅牢性を考慮した各種規制に対応した製造基盤の構築が必要である。これまでに研究者らは厳密な医薬品製造管理・GMP に対応した各種タンパク質医薬品の製造を実施してきた。本開発では、外来ウイルス等の混在の危険性が少ない微生物宿主の遺伝子組換え技術を用いて、GMP に則った形でヒトのトランスフェリン・各種増殖因子・細胞外基質成分等の安価な製造を行うと共に、大容量の培養容器を開発し、iPS 細胞を大量培養するプラットフォーム技術を提供する。これらの研究開発は再生医療の早期実現に貢献するものである。

2. 評価結果

①研究開発達成状況

組換えタンパク質の製造技術開発については、医療グレードのヒトトランスフェリン (hTF) を 10 グラム規模で製造する技術を確認し、まもなく上市される見込みである。ヒトスーパーオキシドディスムターゼ (SOD)、ヒトカタラーゼ (CAT)、ヒトステムセルファクター (SCF) については、生物由来原料基準に合致した大量製造技術を確認し、上市に向けてメーカーと協議中である。当初目標の「3 種類以上」を超えて 4 種類の大量製造技術を確認した。

大量のスフェロイドを培養可能な培養容器の開発について、均一で高密度な iPS 細胞スフェロイド形成を可能にする容器および培養プロトコールはできているものの、容器の大型化はシミュレーションにとどまり、ウェットで評価可能なサンプル品はできていない。細胞非接着コート材の毒性評価を実施し、臨床使用において問題のないレベルの安全性情報を取得した。

以上により、本研究開発課題の研究開発進捗は「優れている」と評価される。

②研究開発成果

本課題では、動物由来成分を含まない微生物宿主の遺伝子組み換え技術を用いて、生物由来原料基準に適合した再生医療用タンパク質の大量製造技術を確認した。これらの組換えタンパク質は高品質、かつ、安価な製造が可能であることが示され、再生医療産業化のボトルネックの一つを解消する解決策となり得る。培養容器の開発では、簡便に均一性の高いスフェロイド形成を可能にした。形成したスフェロイドの分化能や機能についてはさらに検証が必要であるが、三次元培養の有用性は多く報告され、スフェロイド形成容器の需要は高まっている。今後細胞を用いた創薬スクリーニングや毒性試験などを含む再生医療の普及に役立つことが期待される。知的財産の確保は適切になされている。

以上により、本研究開発課題の研究開発成果は「優れている」と評価される。

③実施体制

ネットワークプログラム事業内の他拠点や関係機関(京都大学 iPS 細胞研究所、医薬基盤研究所、東京医科歯科大学、東京女子医科大学、大阪大学等)のニーズを踏まえ研究開発がすすめられ、サンプル提供と情報のフィードバックが積極的になされた。

以上により、本研究開発課題の実施体制は「優れている」と評価される。

④今後の見通し

組換えタンパク質については、原材料・試薬会社の販売ルートや培地成分として培地メーカーを介した上市実現に向けて積極的に取り組んでいる。国費が投入された成果であり、今回開発した 4 種類のタンパク質を継続供給すると共に、それ以外の再生医療向けタンパク質の製造技術開発にも取り組んで欲しい。

培養容器については、既にネットワークプログラム事業内で複数の臨床研究拠点に採用されている。いくつかの拠点では iPS 細胞を用いた再生医療の臨床試験に進む予定となっており、本課題で得られた均一で高密度なスフェロイド形成法や安全性情報が活用されている。スフェロイド形成容器の需要は拡大していることから、海外を見据えた事業の拡大や薬剤スクリーニング等に対応した改良も期待される。

以上により、本研究開発課題の今後の見通しは「優れている」と評価される。

⑤事業で定める項目及び総合的に勘案すべき項目

組換えタンパク質、培養容器共に関連するガイドラインに準拠している。若手研究者のキャリアパス支援は企業として妥当である。成果発表、アウトリーチ活動は適切に行われた。

以上により、本研究開発課題の事業で定める項目及び総合的に勘案すべき項目は概ね「優れている」と評価される。

⑥総合評価

高品質で低廉な組換えタンパク質の提供は再生医療の産業化に必須なプラットフォーム技術であり、研究開発期間内に目標を超える 4 種類のタンパク質大量製造技術を確立した点は高く評価される。本課題で開発したタンパク質は培地メーカー等と連携して供給を継続して欲しい。培養容器の開発では、形成したスフェロイドの分化能や機能についてはさらに検証が必要であるが、簡便に均一で高密度なスフェロイド形成を可能にし、再生医療の普及に役立つことが期待される。タンパク質、培養容器共に、ネットワークプログラム事業内の他拠点・課題と良好な協力体制を築き、成果の創出に貢献した。

以上により、本研究開発課題は「優れている」と評価される。

【事後評価】

事業名	技術開発個別課題
研究題目名	多能性幹細胞から多種類の分化細胞を、最短時間、高効率、高品質、大量、自在に生産するための基盤技術開発と産業化応用
代表機関名	慶應義塾大学 医学部
代表研究者名	洪 実

1. 研究概要

本課題では、ヒト多能性幹細胞 (ES/iPS 細胞) から多種類の分化細胞を効率よく誘導する基盤技術の開発を目指す。従来の細胞分化誘導法は、増殖因子や細胞培養条件を調整し、長期間の細胞培養で細胞の種類を作り分ける手法が主流であったが、再生医療の早期実現化のためには、ヒト多能性幹細胞から多種類の分化細胞を短い時間で高効率に作成する基盤技術が必要不可欠である。本開発では、ヒト多能性幹細胞から効率よく、さまざまな分化細胞を誘導できる転写調節因子を多数同定し、更にその組み合わせを検討する。また、これらの因子をヒト幹細胞に発現させるためのカクテルを開発し、その技術の産業化を目指す。

2. 評価結果

①研究開発達成状況

分化誘導キットの産業化という達成目標に関しては修正した数値目標を超えるキット数の商品化がなされた。具体的には、最終年度 9 月時点で4種類のキット(コリン作動性神経細胞、ドーパミン作動性神経細胞、骨格筋細胞および肝細胞)を市販するとともに、涙腺上皮細胞など更なる分化誘導キットの実用化が進行中である。ただし、本課題は、中間評価結果に基づき研究項目・内容が縮小・修正され、当初目標に到達していない。

以上により、本研究開発課題の研究開発進捗は「やや良い」と評価される。

②研究開発成果

ヒト転写因子を合成 mRNA として多能性細胞に導入して、目標細胞に分化させる技術、そのキット化、知的財産の適切な確保がなされているなど成果があった。一方、原料となる多能性幹細胞株の違いによる分化効率の違い等、方法の頑強性の検証は不足している。また、先行研究に対し本課題として行われた内容のインパクトは乏しいと言わざるを得ない。当該キットの有用性評価は未着手であり、最終的な価値は使用した研究者の評価を待たなければならない。

以上により、本研究開発課題の研究開発成果は「やや良い」と評価される。

③実施体制

科学技術振興機構の戦略的創造研究推進事業 CREST の研究成果を基盤とした単独の研究機関による研究体制であるが、学内研究グループ、かずさ DNA 研究所の遺伝子バンク、あるいは、ネットワークプログラム内の他課題との連携が実施されている。しかしながら、ネットワークプログラム事業内連携に関しては現時点ではその成果が十分現れているとは言えず、本技術の事業内他拠点・他課題での使用実績・利用成果は少ない。

以上により、本研究開発課題の実施体制は概ね「良い」と評価される。

④今後の見通し

当該技術は独創的であり高効率な分化誘導技術であることから、疾患モデル細胞の作製、および、それを用いたドラッグスクリーニング等への応用が期待される。さらに、今回と同様の手法で分化誘導キットを拡大していくことも期待できる。一方、再生医療分野への応用に関しては、分化誘導された目的細胞の機能性および安全性の評価次第である。

以上により、本研究開発課題の今後の見通しは「やや良い」と評価される。

⑤事業で定める項目及び総合的に勘案すべき項目

成果発表については、5年の事業期間を考慮した場合、より積極的な論文発表が期待された。また、何らかのアウトリーチ活動がなされるべきであった。グループ内研究者のキャリアアップ実績があるものの、若手研究者支援・若手登用という点で十分とはいえない。生命倫理等に対しては適切な対応がなされている。

以上により、本研究開発課題の事業で定める項目及び総合的に勘案すべき項目は概ね「良い」と評価される。

⑥総合評価

本課題は、多能性幹細胞を高効率に分化誘導させるヒト転写因子合成 mRNA よりなるツールを見出すとともに、当該ツールをキットとして産業化した点は評価される。一方、本技術で作製された細胞の実用性に関しては検証が不十分であり、当該キットを使用した研究者からの今後の評価に待たざるを得ない。少なくともネットワークプログラム事業内では、より早く共有し、活用されるような工夫・仕組みが必要であった。

以上により、本研究開発課題は「やや良い」と評価される。

【事後評価】

事業名	技術開発個別課題
研究題目名	iPS細胞・体性幹細胞由来再生医療製剤の新規品質評価技術法の開発
代表機関名	東京医科歯科大学大学院 発生発達病態学分野
代表研究者名	森尾 友宏

1. 研究概要

本課題では、iPS細胞・体性幹細胞由来再生医療製剤の次世代品質保証技術として、「体系的迅速微生物検出系」及び「遺伝的安定性検証系」を立ち上げ検証することを目指す。iPS細胞製剤での遺伝的不安定性や、細胞製剤での微生物の混在・増幅を高感度にかつ安価、迅速に検証する系が求められている。微生物検出系では重要なウイルスや日欧米三極局方掲載マイコプラズマ種を網羅するPCR系を立ち上げると共に、細菌・真菌では調製当日に判定可能な検査系を開発する。最終的には全微生物種を1プラットフォームで測定する系としてキット化するとともに、遺伝的安定性検証系では少数細胞での遺伝子変異の蓄積や遺伝子欠失・修飾を検出する先端的計測系を開発を目指す。

2. 評価結果

①研究開発達成状況

微生物検出系の開発に関して、指針等で検査が必要とされるDNAウイルス、RNAウイルス及びレトロウイルスの検査に必要な試薬全てを8wellストリップに固相化した検査試薬の作成法を開発し、企業に技術移転して検査試薬の販売と受託検査が開始された。また、持続感染ウイルス13種類の網羅的・迅速検査系を開発し、製品化された。更に、迅速マイコプラズマ検査系の開発にも成功し、製品化された。真菌・細菌については、DNA検査系を用いた迅速検査が可能な方法を技術確立し、検査キットを試薬メーカーと共同開発中である。本項目の目標はほぼ達成された。

遺伝的安定性検証系の開発として、加工細胞の遺伝子異常(異常増殖能獲得変異)、ゲノム不安定性にかかわる遺伝子変異の高感度検出系について、Shibataリストを基として設定した596遺伝子の稀少変異検出系を構築した。これを基にしたがん変異検出ソフトを開発し、これを用いてiPS細胞由来肝前駆細胞、滑膜由来間葉系幹細胞を解析し、596遺伝子の中では新規変異の検出されないことを実証している。目標としていたキット化については、解析すべき遺伝子パネルが固定されておらず費用対効果に懸念があるため、分担機関のかずさDNA研究所での受託検査の形態で社会実装できる見込みである。

以上により、本研究開発課題の研究開発進捗は「優れている」と評価される。

②研究開発成果

微生物検査系の開発については、ウイルス検査系は先行技術に比して、同一プラットフォームでの解析、試薬固相化による容易な検査手技、容易なモジュール追加、価格等の点で優位性がある。マイコプラズマ検査系は、先行技術と同等以上の感度で特異性に優れており、検査手技も容易である。これらの成果は製品化されており、安価・迅速な検査法の提供により、今後広く再生医療の開発に貢献することが期待される。

遺伝的安定性検証系の開発については、現在、系の確立を進める段階ではあるが、再生医療の次世代の品質管理につながるものであり、社会的ニーズが高い。今後さらに検証を進めることが期待される。

以上により、本研究開発課題の研究開発成果は「優れている」と評価される。

③実施体制

代表機関の東京医科歯科大学と、分担機関の国立医薬品食品衛生研究所、かずさ DNA 研究所との連携は良好に図られた。ネットワークプログラム事業内の他拠点・課題から iPS 細胞や分化細胞の検体を受け入れ、微生物検出や遺伝的安定性の検証を行っている。臨床研究の推進にも貢献している。また、複数の企業と積極的に連携して微生物検出系の社会実装を達成している。

以上により、本研究開発課題の実施体制は「優れている」と評価される。

④今後の見通し

製品化された成果については、国内のみならず海外も視野に事業を展開することが期待される。真菌・細菌検査については現時点で製品化に到達していないが、DNA 検査系を用いた迅速検査が可能な方法を技術確立し、検査キットを試薬メーカーと共同開発中であることから、製品化への目処がたっている。遺伝学的安定性検証系については、遺伝子レベルの解析と動物モデルでの造腫瘍性試験評価結果との関連についても確認する等、他の研究機関との連携体制を強化し、より踏み込んだ成果の創出を期待したい。

以上により、本研究開発課題の今後の見通しは「優れている」と評価される。

⑤事業で定める項目及び総合的に勘案すべき項目

規制対応、生命倫理等の対応については関連法令等に基づき適切に対応している。教育機関であるので、若手研究者のキャリアパス支援はより一層の努力が求められる。成果発表、アウトリーチ活動は適切に行われた。

以上により、本研究開発課題の事業で定める項目及び総合的に勘案すべき項目は概ね「優れている」と評価される。

⑥総合評価

本課題の目標は、再生医療の臨床応用・実用化に必要な品質評価技術の開発である。微生物検出系は、ウイルス、マイコプラズマはキット化され、連携企業から市販された。真菌・細菌検査系も企業と連携してキットが開発中である。ネットワークプログラム事業内の拠点・課題のみならず広く再生医療に貢献することが期待される。遺伝的安定性検証系は測定の技術基盤はできているので、今後、社会実装に向けた取り組みを期待する。

以上により、本研究開発課題は「優れている」と評価される。

【事後評価】

事業名	技術開発個別課題
研究題目名	ブタ等大型動物を利用する iPS 細胞技術の開発
代表機関名	自治医科大学 再生医学研究部
代表研究者名	花園 豊

1. 研究概要

本課題は、ブタ等大型動物を用いて、ヒト iPS 細胞由来の造血幹細胞・赤血球・血小板の作製を目指す。ヒト iPS 細胞から臓器再生を目指す研究は、現在のところ試験管内における分化誘導実験が中心だが、試験管内の分化誘導効率は必ずしも高くなく、試験管内では臓器発生や体内分化を完全には再現できない。そこで今後、動物体内での臓器づくりを目指す研究が望まれている。本研究は、まず増殖・分化能に優れ、安全性の高い医療用 iPS 細胞を作製し、iPS 細胞由来の造血幹細胞・赤血球・血小板をブタ・ヒツジの体内で作製することを目指す。

2. 評価結果

①研究開発達成状況

ヒト iPS 細胞をヒツジ胎仔肝へ移植し、臍帯血 CD34 陽性細胞と同等の比率で血球細胞キメラを作製できた点、ヒツジ体内で、ヒト赤芽球、骨髓球、巨核球、リンパ球を検出し、移植された動物に約 40 カ月にわたりヒツジ骨髓中に維持されていることが確認できた点は評価できる。一方、実医療に応用するためには多くの課題があり、例えば純度、精製方法等についての見通しを立てなければ実用化は困難との判断から、ヒト iPS 細胞由来の血液細胞をもつ動物の作製に計画を絞り込んで検討を行うこととしたが、修正後の目標について一定の成果は得られたものの、将来目標である純度 100%達成の目処は立っていない。また、一部の研究項目は研究項目絞り込みのため中止となり、当初目標を達成していない。

以上により、本研究開発課題の研究開発進捗は概ね「やや良い」と評価される。

②研究開発成果

移植医療のドナー不足に向けて、キメラの技術が一つの候補であるが、本課題内容はその新しい方法の一つである。特許出願件数は 9 件であり、知的財産の確保が適切になされている。一方、動物体内の造血発生環境を利用して、ヒト iPS 細胞からの分化細胞を造血細胞へ成熟・増殖させることを目標としていたが、十分成熟していない可能性がある。また、「生産」までにはさらに時間を要すると考えられる。加えて、ヒト細胞の取り出しについては、ヒツジ体内のヒト細胞の頻度が 0.001–1%であり、事業期間中に出口を見据えた議論を行うまでには至らなかった。

以上により、本研究開発課題の研究開発成果は「良いとも悪いともいえない」と評価される。

③実施体制

本課題は一機関による体制であるが、ヒツジに関しては協力機関として宇都宮大学農学部附属農場で飼育管理され、良好な連携体制である。一方で、実用化に向けて十分な体制であったかは疑問が残る。

以上により、本研究開発課題の実施体制は「やや良い」と評価される。

④今後の見通し

ヒツジからのヒト造血幹細胞の取り出しに関しては、動物体内における発現効率の向上、精製方法、動物由来細胞の機能評価につながる成果が不十分と言わざるを得ず、また事業化の面からも実用化への見通しが立っているとは言い難い。移植細胞への異種細胞の混入については、慎重に考えるべきであり、免疫拒絶応答やGVHDに付随した有害事象についての検討は必要である。移植医療のドナー不足解消に向けて、今後、進捗・成果が期待される。

以上により、本研究開発課題の今後の見通しは「良いとも悪いともいえない」と評価される。

⑤事業で定める項目及び総合的に勘案すべき項目

若手研究者の支援、アウトリーチ活動には適切に行われたものの、成果発表においては5年間という事業期間を考慮すると、より積極的な論文発表が期待された。

以上により、本研究開発課題の事業で定める項目及び総合的に勘案すべき項目は概ね「やや良い」と評価される。

⑥総合評価

移植医療のドナー不足解消に向けての一つの候補技術として期待される。一方で、製品の造腫瘍性などの安全性評価、純度、異種動物由来の感染症の否定等、実用化に向けてはクリアすべき課題が多く残されている。また、実用化に向けたロードマップを考える上では、今後のさらなる技術的ブレークスルー(数のみならず質的向上)が必須である。

以上により、本研究開発課題は「良いとも悪いともいえない」と評価される。

【事後評価】

事業名	技術開発個別課題
研究題目名	再生医療用製品の大量生産に向けたヒト iPS 細胞用培養装置開発
代表機関名	東京女子医科大学 先端生命医科学研究所
代表研究者名	松浦 勝久

1. 研究概要

本課題は、iPS 細胞を用いた再生医療用製品を大量生産する培養装置の開発を目指す。本研究者らは、既に、ヒト iPS 細胞に適した三次元浮遊懸濁攪拌培養技術、単一細胞状態を高密度未分化増幅する技術を開発した。さらには、ヒト iPS 細胞を高効率・高収量で心筋に分化誘導する技術、細胞シートをヒト心筋組織の構築に応用する技術を開発した。そこで、本課題では、本研究者らが培ってきた独自技術を改良発展させ、疾患・組織別実用化研究拠点とも連携し、ヒト iPS 細胞を用いた心筋の First in Human 試験において、供給面や技術面に関する寄与を目指す。さらに未分化培養および分化誘導培養の全工程を自動化する技術、再生医療用製品原材料を安定かつ安全確実に供給する培養装置の開発を目指す。

2. 評価結果

①研究開発達成状況

iPS 細胞由来心筋シート移植臨床試験を可能にする三次元浮遊攪拌懸濁培養装置をエイブル株式会社(以下、「エイブル」と)共同で開発し、連携する臨床研究拠点に技術支援を行った。小規模(5ml)から中・大規模(500ml)の段階的な容量のリアクター開発に成功し、三次元浮遊攪拌培養法により 10^6 個細胞から 10^9 個細胞までの大量培養を可能にし、本事業内において大量培養技術を必要とする複数拠点の研究推進に貢献した。実際の臨床で使用するのに足る細胞の生産に有用な技術開発である。透析培養装置については、技術提供が可能な原理開発・実証まで進めた。未分化 iPS 細胞残存に伴う腫瘍化の懸念に対して、 42°C 培養による未分化細胞の除去効果など顕著な進捗があった。培養中の pH および細胞凝集塊のモニタリング技術も開発されている。いずれの研究開発項目においても当初計画をほぼ達成している。

以上により、本研究開発課題の研究開発進捗は概ね「大変優れている」と評価される。

②研究開発成果

先行する事業で開発した攪拌培養装置について、剪断力を極力抑える攪拌翼形状の改良と回転数の調整を行い、臨床用の心筋細胞の大量培養に適した攪拌培養装置および、培養条件検討用の小容量多連培養装置を開発した。応用技術と科学的検証のバランスを保ちながら、有意義な成果を創出したと言える。大量培養に関わる新しい技術は再生医療の実用化における課題の解決に資するものであり、再生医療に期待する社会のニーズに応えるものである。研究期間終了後には、製品化されて海外でも販売される体制が整っている。連続培養のモニタリングに利用するディスプレイブルガラス pH 電極および細胞凝集塊観察装置の開発が進められている。本課題の成果に対して、代表研究者は日本再生医療学会において The Johnson and Johnson Innovation Award を受賞し、再生医療の実用化、産業化への貢献が評価された。知的財産の確保も適切になされている。

以上により、本研究開発課題の研究開発成果は概ね「大変優れている」と評価される。

③実施体制

代表機関と分担機関(旭化成株式会社(以下、「旭化成」)、エイブル)の研究者は、同一施設内で研究開発を行っており、密接な連携が行われた。旭化成については企業都合により研究期間途中での撤退となったが、エイブルは培養容器の製品化に至っている。ネットワークプログラム事業内の他拠点・課題との連携については、連携する臨床研究拠点において、開発した技術が臨床試験の移植細胞の作製方法に採用された他、複数の拠点への技術移転や資材提供が積極的に実施されており、本事業全体への貢献も大きいと考えられる。

以上により、本研究開発課題の実施体制は「優れている」と評価される。

④今後の見通し

事業内で要求された細胞の大量培養につながる攪拌培養装置の開発はほぼ終了し、エイブルにより研究開発期間終了後に、速やかに製品化して、国内外で販売する予定である。モニタリング技術および透析培養技術については、製品化には時間を要することが予想されるが、基礎となる情報は十分に得られている。本課題においては、iPS 細胞の未分化培養及び心筋への分化誘導であったが、今後は、さらに装置の改良やコストダウンを図り、iPS 細胞から他の分化誘導系の大量培養の確立のみならず様々な細胞の大量培養に応用されていくことが期待される。

以上により、本研究開発課題の今後の見通しは「優れている」と評価される。

⑤事業で定める項目及び総合的に勘案すべき項目

規制面については、大阪大学・澤拠点及び再生医療の実現化ハイウェイ 課題 C から情報提供を受けながら進められている。また、生命倫理等に対して関連法令等に基づき適切に対応がなされている。

若手研究者のキャリアパス支援については、海外からの博士研究員を参画させ、iPS 細胞を用いた再生医療技術の国際的な普及に貢献している。成果発表、アウトリーチ活動は適切に行われた。

以上により、本研究開発課題の事業で定める項目及び総合的に勘案すべき項目は概ね「優れている」と評価される。

⑥総合評価

iPS 細胞の培養システム開発において、三次元浮遊攪拌培養法により 10^6 個細胞から 10^9 個細胞までの大量培養を可能にし、実際の臨床で使用するのに足る細胞の生産に有用であることを示した。エイブルとともに実用化し、培養リアクターは上市が間近である。事業内各拠点との連携に努め、それぞれの必要に応じた培養装置の開発と、それを用いた培養条件の設定に大きく貢献をした。ハード面(培養装置)、ソフト面(培養方法)の両面から技術を発展させたことは高く評価される。

今後も、さらに装置の改良やコストダウンをはかり、製造面で日本の再生医療をリードしていくことを期待される。

以上により、本研究開発課題は「優れている」と評価される。

【事後評価】

事業名	技術開発個別課題
研究題目名	歯・外分泌腺などの頭部外胚葉器官の上皮・間葉相互作用制御による立体形成技術の開発
代表機関名	理化学研究所 多細胞システム形成研究センター
代表研究者名	辻 孝

1. 研究概要

本課題は、iPS 細胞から上皮・間葉相互作用の精密制御による頭部外胚葉器官（外分泌腺）の立体形成技術と生体外器官育成技術の開発を目指す。分泌腺機能障害（口腔乾燥症など）では、人工物による代替療法や対症療法しか治療法がないため、本質的に機能回復する再生治療の開発が期待されている。本技術開発では、疾患・組織別実用化研究拠点と連携して、上皮性、間葉性幹細胞の精密操作技術である「器官原基法」を応用・発展させ、ヒト iPS 細胞から上皮性、および間葉性幹細胞を誘導し、人為的に頭部外胚葉性器官を再生する技術を開発する。また、三次元的に高度な複合化組織としての器官を育成し、機能器官の再生を実現する。

2. 評価結果

①研究開発達成状況

「iPS 細胞からの頭部器官誘導の「器官形成場」の一体形成の技術の開発」および「上皮性幹細胞と間葉性幹細胞の三次元的な組織からの頭部器官誘導技術の開発」に関しては、外分泌腺（唾液腺）の誘導、免疫組織化学的評価、外分泌腺誘導因子の同定、組織移植後の機能評価などを行うことではほぼ達成されている。一方、器官の形成頻度は低く、実用化に向けた研究開発の進捗は十分とはいえない。また、一部の研究項目は研究項目絞り込みのため中止となり、当初目標に到達していない。

以上により、本研究開発課題の研究開発進捗は「やや良い」と評価される。

②研究開発成果

iPS 細胞から形成した胚様体をコラーゲンゲル内に三次元的に配置し、腎皮膜下に移植することで器官誘導を評価する CDB (clustering-dependent embryoid body) 法の確立や誘導された再生唾液腺の機能解析のための唾液腺欠損マウスへの同所移植モデルは評価法として科学的に優れた成果である。しかしながら、マウス細胞での検討が主であり、ヒト iPS 細胞からヒト組織を形成するためには更なる研究が必要である。医療応用としてのロードマップが描けておらず、現段階においては基礎研究の段階である。

以上により、本研究開発課題の研究開発成果は「やや良い」と評価される。

③実施体制

iPS 細胞からの器官形成場の一体形成に関しては理化学研究所で、三次元的な器官形成誘導技術に関してはオルガンテクノロジーズ社で、研究が進められ、代表研究者は両者を統括し、代表機関と分担機関の連携のマネジメントは概ね適切になされた。一方、医療ニーズや臨床応用に向けた体制という点では必ずしも十分とは言えず、臨床家の早期からの参画が望まれた。

以上により、本研究開発課題の実施体制は「やや良い」と評価される。

④今後の見通し

in vitro 立体組織形成技術はわが国が世界をリードしている技術であり、代表研究者らの独自性のある器官誘導技術は基礎研究として着実に進捗していくことが期待できる。一方、今後の実用化に向けた臨床試験、品質管理、工程管理、GMP 製造等の作業についてのロードマップが不明確である。本事業における研究成果の社会還元として、出口戦略を定め、医薬品医療機器総合機構 (PMDA) とのレギュラトリーサイエンス (RS) 戦略相談等、規制当局対応やコスト削減のための取組みが望まれる。

以上により、本研究開発課題の今後の見通しは概ね「やや良い」と評価される。

⑤事業で定める項目及び総合的に勘案すべき項目

規制対応に関しては、適切に実施されている。若手研究者のキャリアパス支援としては、ポスドク採用、最先端再生医療研究の指導等が実施されているが、成果発表については、5 年の事業期間を考慮した場合、より積極的な論文発表が期待された。アウトリーチ活動は活発に実施された。

以上により、本研究開発課題の事業で定める項目及び総合的に勘案すべき項目は概ね「良い」と評価される。

⑥総合評価

本課題の研究対象としている三次元器官一体形成誘導技術は、再生医療分野での新規でユニークな技術であり、単独で器官再生が困難な組織の再生やより生体に近い組織形成など臨床応用が期待される挑戦的なテーマである。本課題では、研究対象組織を外分泌腺に絞り込むことで、修正後の目標をほぼ達成できた。特に、器官誘導評価系 CDB 法やマウス同所性外分泌腺移植モデルは、優れた成果である。しかしながら、実用化に向けた道筋やタイムラインが明確ではなかったこと、論文や知財面では不十分であった。

以上により、本研究開発課題は概ね「やや良い」と評価される。

【事後評価】

事業名	技術開発個別課題
研究題目名	再生医療のための細胞システム制御遺伝子発現リソースの構築
代表機関名	産業技術総合研究所 創薬分子プロファイリング研究センター
代表研究者名	五島 直樹

1. 研究概要

再生医療におけるiPS細胞の誘導、分化誘導、体細胞のダイレクトリプログラミング等では、遺伝子導入による細胞システム制御技術が極めて重要である。すでにヒト全遺伝子の約80%をカバーするヒト遺伝子発現リソースのライブラリーを構築しているが、本開発では細胞の初期化や分化等に関わる時空間特異的な細胞システム制御遺伝子発現クローン(スプライシングバリエーションも含む)を重点的に取得してデータベース化を行う。そして、各研究拠点との連携を取って細胞システム制御遺伝子発現クローンを整備し、供給体制を整えることによって再生医療研究の加速を進める。また、注目すべき細胞システム制御遺伝子の機能的プロテオミクス解析を独自のプロテインアレイを駆使して実施する。

2. 評価結果

①研究開発達成状況

本課題は、(1)代表研究者らが独自開発した約2万種のタンパク質を搭載するプロテインアレイによる移植細胞の安全性・品質評価 (2)代表研究者らが独自に整備した疾患・再生医療関連遺伝子のクローンリソースの提供、の大きく2つの研究項目から構成される。(1)において、プロテインアレイと市販検査薬の検出結果が相関関係にあることを確認した。免疫拒絶を受けにくい角膜内皮細胞の他家移植を受けた患者検体は、移植後に自己抗体の出現を認めなかった。移植片対宿主病(GVHD)を起こしやすい他家骨髄移植の患者検体は検討中である。サルモデルでの主要組織適合遺伝子複合体(MHC)適合・不適合移植の比較では、炎症や細胞接着の指標とアレイ評価値との相関が見られた。また、本プロテインアレイの応用展開として、リン酸化活性、血清成分を利用した移植細胞の品質評価技術の開発を開始し、システムの信頼性を検証中である。培養角膜内皮細胞の品質分別因子の同定は、今年度内に終了できる見込みである。(2)に関して、cDNAクローンの提供は9機関(273クローン)、遺伝子発現タンパク質の提供は3機関へ行った。

以上により、本研究開発課題の研究開発進捗は概ね「優れている」と評価される。

②研究開発成果

プロテインアレイは学術・医療への応用のみならず新規の革新的技術としても評価される。増殖因子添加やiPS細胞の各分化状態におけるリン酸化活性をプロファイリングし、特異的パターンの検出に成功し、また自己抗体を抗原別に検出することができる点等、従来法と比較した場合の優位性が見込まれるが、安全性・有効性との相関が偽陽性でないことを証明する方法や、因果関係の証明方法を確立するには、さらなる大規模な検討が必要である。

cDNAクローンリソースの提供については、クローンの活用が当初の期待通りでは無かったが、事業後半に事業内外の他研究拠点との連携による成果が急速に出たことは高く評価される。また、再生医療の分化誘導細胞の種類拡大に資するものであるだけでなく、国内外における様々な分野の研究に応用が期待できる。

特許出願件数は十分であり、必要な知的財産の確保もなされている。再生医療の実用化において品質・安

全性の確保は重要であり、本課題の社会的ニーズは高い。

以上により、本研究開発課題の研究開発成果は概ね「優れている」と評価される。

③実施体制

課題内で定期的な連絡会を開催し、課題内の連携は適切に行われた。事業内の拠点や課題との連携も適切に行われている。

以上により、本研究開発課題の実施体制は概ね「優れている」と評価される。

④今後の見通し

細胞や血清中のタンパク質の詳細なプロファイリングにより、非侵襲的に細胞特性や生体応答を検出する方法として有用であり、今後、社会実装に向けてプロテインアレイの製造コストを下げる事が重要である。また、精度・信頼性についてもさらに検証が必要である。今後実用化に向けては、それらの専門家を加えるなど、体制の強化が必要であろう。cDNA クローンリソースについては、今後もリソース拡大が進むことが期待される。

以上により、本研究開発課題の今後の見通しは「良い」と評価される。

⑤事業で定める項目及び総合的に勘案すべき項目

生命倫理等に対して関係法令に基づき適切に対応がなされている。若手研究者支援について、進捗会議等において人材育成について一定のレベルの情報が提供されているが、更なる取組が期待される。成果発表は活発に行われた。アウトリーチ活動は適切に行われた。

以上により、本研究開発課題の事業で定める項目及び総合的に勘案すべき項目は概ね「優れている」と評価される。

⑥総合評価

プロテインアレイの品質管理と移植患者の免疫応答モニタリング法は、再生医療やそれ以外の医療の重要な基盤となりうるものと期待される。安全性・有効性との相関が偽陽性でないことを証明する方法や、因果関係の証明方法を確立するには、さらなる大規模な検討が必要であり、コスト、精度・信頼性の向上等の課題は残されているが、今後、本事業成果をさらに発展させ、再生医療等の実用化に寄与することが期待される。

以上により、本研究開発課題は「良い」と評価される。

【事後評価】

事業名	技術開発個別課題
研究題目名	ヒトiPS細胞を用いた視床下部-下垂体ホルモン産生細胞の分化誘導法と移植方法の開発
代表機関名	名古屋大学 医学部附属病院
代表研究者名	須賀 英隆

1. 研究概要

本課題は、ヒト iPS 細胞から視床下部-下垂体系の組織構築と、臨床応用を目標とした効果的な移植術の確立を行う。視床下部-下垂体系は、生命の維持・全身の恒常性制御に必要不可欠であるが、多様な疾患により障害され、重篤な症状をもたらす。視床下部-下垂体系の複雑で緻密な制御を再現するために、多能性幹細胞を用いた再生医療に期待が集まる。ヒト iPS 細胞からの産生技術を開発、移植法を確立し、疾患モデル動物での前臨床研究を行い、臨床応用に向けた移植効果実証を目指す。

2. 評価結果

①研究開発達成状況

本課題は、(1)ヒト iPS 細胞からバソプレシン(AVP)産生細胞の分化誘導、(2)ヒト iPS 細胞から副腎皮質刺激ホルモン(ACTH)産生細胞および成長ホルモン(GH)産生細胞の分化誘導および純化、下垂体機能不全のサルモデル作成、の2つの研究項目より構成される。(1)では、ヒト ES 細胞から 80%以上の AVP 前駆細胞を分化誘導し、さらに 2%の AVP 産生細胞を誘導し、AVP の産生を確認した。ヒト iPS 細胞からでも 1%以上の AVP 産生細胞が分化誘導されることを確認し、目標はほぼ達成された。(2)では、ヒト ES 細胞から立体的なラトケ囊(下垂体原基)の形成法を開発し、そこから ACTH 産生細胞、GH 産生細胞をそれぞれ 10%の分化効率で作成することに成功し、ヒト iPS 細胞を用いても同様の結果を得ている。さらに ACTH 産生細胞の下垂体機能不全モデルマウスへの移植によって血中 ACTH 濃度上昇や生存率改善を観察し、POC(Proof of Concept)を獲得した。下垂体機能不全サルモデルは未だ完成していない。また、混入する未分化細胞の除去法も完成していない。

以上により、本研究開発課題の研究開発進捗は概ね「優れている」と評価される。

②研究開発成果

ヒト多能性幹細胞から立体的な下垂体原基を誘導し、下垂体前葉から分泌される6種類のホルモン分泌細胞の分化に成功し、ACTH 産生細胞を下垂体機能不全モデルマウスへの移植によって POC を確立した。発生過程を再現する立体培養がヒト多能性幹細胞を用いた場合でも可能であることを示す等、幹細胞生物学として優れた成果を挙げている。下垂体前葉細胞分化誘導技術で3件の特許を出願し、成果発表も積極的に行っており十分に評価される内容である。

下垂体機能不全に対する再生医療として社会的ニーズに応えるものである。また、立体培養システムにより多種類の細胞が多能性幹細胞より同時に誘導でき、生体により近い環境が提供される方法は技術的にも評価される。

以上により、本研究開発課題の研究開発成果は「優れている」と評価される。

③実施体制

代表機関内ならびに分担機関とのコミュニケーションは良好であり、研究代表者のマネジメントは適切に行わ

れている。ネットワークプログラム事業内の他課題とは、名古屋大学・馬場課題、理化学研究所・辻課題、東京女子医科大学・松浦課題など多くの研究室と技術連携を活発に行った。

以上により、本研究開発課題の実施体制は概ね「優れている」と評価される。

④今後の見通し

ヒト iPS 細胞由来 ACTH 細胞の臨床応用に向けた技術改良を予定しており、企業へのライセンスも進んでいる。一方、細胞塊の仕様設定、非臨床試験の実施、カプセル化の必要性、移植部位の最終設定等、臨床研究に向けて実施すべき事項は多く、実用化には時間がかかることが想定される。規制当局との対話を頻繁に行い、方向性を確認しながら開発を進めることが重要である。

以上により、本研究開発課題の今後の見通しは「良い」と評価される。

⑤事業で定める項目及び総合的に勘案すべき項目

規制面への対応として、再生医療の実現化ハイウエイ 課題 C との相談がなされているが、今後、臨床応用に向けた規制当局との相談は必須である。また、生命倫理等に対して適切に対応がなされている。

大学院生などの若手育成も課題遂行の中で行っている。成果発表は活発に行われた。アウトリーチ活動は適切に行われた。

以上により、本研究開発課題の事業で定める項目及び総合的に勘案すべき項目は概ね「優れている」と評価される。

⑥総合評価

挑戦的なテーマへ意欲的に取り組み、科学的価値の高い成果を着実にあげていると評価される。理化学研究所で開発した手法を発展させ、着実に分化誘導の効率を上げている。先端的な基礎研究を基盤として臨床応用へと繋げていける可能性を持つ重要な研究である。下垂体前葉、後葉細胞の分化誘導技術を確立し、企業とも連携して特許出願に至ったことは評価できる。一方で実用化に関してはこれから取り組むべき課題が多い。

以上により、本研究開発課題は概ね「優れている」と評価される。

【事後評価】

事業名	技術開発個別課題
研究題目名	肝細胞移植に向けたヒト iPS 細胞由来肝幹前駆細胞の維持・増殖技術の開発
代表機関名	大阪大学大学院 薬学研究科
代表研究者名	水口 裕之

1. 研究概要

本課題は、ほぼ無限の増殖能を有するヒト iPS 細胞から移植可能な肝細胞の作製を目指す。肝硬変などの各種肝疾患の根治的治療法として、肝細胞移植が効果的であるが、1人の患者に対して大量の細胞を必要とするため、ドナー不足が問題となっている。肝細胞の新たな供給源として、ヒト iPS 細胞由来肝細胞が注目されているが、現在のところ、ヒト iPS 細胞から肝細胞への分化には長い時間を要し、大量生産が困難であるという問題がある。そこで、本課題では、肝細胞の前駆細胞である肝幹前駆細胞を、成分が明確な培地と最適化されたラミニンを用いて、維持・増幅する技術を開発し、肝細胞移植等の再生医療への大量の細胞供給を目指す。

2. 評価結果

①研究開発達成状況

「再生医療等の安全性の確保等に関する法律」を満たす培養条件下で、HLA 型ホモのヒト iPS 細胞株から肝幹前駆細胞、さらには肝細胞への分化誘導方法を確立した。得られた肝細胞はヒト初代培養肝細胞に匹敵する成熟した肝機能基準を示し、急性肝不全・慢性肝障害それぞれのモデルマウスへの移植により治療有効性が示され、iPS 細胞由来肝細胞移植療法の POC (Proof of Concept) を確立した。慶應義塾大学との連携による、大量調製したヒト iPS 細胞由来肝細胞を充填した脱細胞化ブタ肝臓の検討では、正常ブタへの移植を2回実施し、1か月の体内残存や胆汁産生能を確認した。HLA 型ホモ iPS 細胞由来の肝幹前駆細胞・肝細胞の未分化細胞表面抗原解析、免疫不全マウスへの移植試験等により安全性を示した。

当初計画した目標を前倒して達成したため、肝線維化に対する有効性が知られる間葉系幹細胞との比較試験を追加項目として実施した。慢性肝障害モデルマウスにおいて、ヒト iPS 細胞由来肝細胞はヒト骨髄由来間葉系幹細胞よりも優れた肝線維化改善指標を示した。

以上により、本研究開発課題の研究開発進捗は概ね「大変優れている」と評価される。

②研究開発成果

臨床応用が可能な HLA 型ホモのヒト iPS 細胞株を用いて、初代培養肝細胞に遜色ない機能を有する肝細胞を作製し、安全性確認および肝細胞移植療法の POC を確立したことは高く評価される。ドナーが不足する肝細胞移植の新たな細胞供給源として医療分野の進展及び社会的ニーズに資する成果である。また、知的財産の確保が適切になされている。

以上により、本研究開発課題の研究開発成果は概ね「大変優れている」と評価される。

③実施体制

株式会社リプロセルが分担機関として参画し、脱細胞化ブタ肝臓に用いる大量の肝細胞の提供や凍結技術の開発に貢献した。ネットワークプログラム事業内の他拠点・課題との連携に関しては、中核拠点をはじめ、複数の課題と緊密な連携が行われ、成果を挙げている。

以上により、本研究開発課題の実施体制は「優れている」と評価される。

④今後の見通し

慢性肝障害マウスを用いた検討で、ヒト iPS 細胞由来肝細胞はヒト骨髄由来間葉系幹細胞よりも優れた肝線維化改善効果を示したため、ヒト iPS 細胞由来肝細胞の臨床的有用性は高く期待される。また、ヒト iPS 細胞由来肝細胞はバイオ人工肝臓(BAL)に充填する細胞として、急性肝不全に対する有用性が期待される。今後は大動物を用いた移植実験を継続し有用性を検証するとともに、臨床応用の具体的な計画を立案し再生医療製品の開発に繋げてほしい。薬剤スクリーニング系、肝毒性評価系への応用も期待できる。細胞の品質の頑健性を示し、世界へ発信していただきたい。

以上により、本研究開発課題の今後の見通しは「優れている」と評価される。

⑤事業で定める項目及び総合的に勘案すべき項目

規制面、生命倫理等への対応については関連法令等に基づき適切に行われた。本課題に参加した若手研究者のアカデミアポジションへの就任や製薬企業への就職は順調であり、キャリアパス指導が十分に行われている。成果発表については、5年の事業期間を考慮した場合、より積極的な論文発表が期待された。アウトリーチ活動は活発に行われた。

以上により、本研究開発課題の事業で定める項目及び総合的に勘案すべき項目は概ね「優れている」と評価される。

⑥総合評価

医療ニーズ・社会ニーズの高い肝細胞移植用途として、ヒト iPS 細胞から成熟度の高い肝細胞の製造法を開発し、急性肝不全モデル及び慢性肝障害モデルへの細胞移植により有効性を示し、肝細胞移植療法の POC を確立した。大量調製法や凍結保存法を確立し、大動物への移植後の肝機能を確認している。既に本技術の事業化に興味を示す企業もあり、今後、細胞の有用性の検証や品質の頑健性を示し、再生医療製品の開発や創薬研究に繋がることを期待する。

以上により、本研究開発課題は「優れている」と評価される。

【事後評価】

事業名	技術開発個別課題
研究題目名	再生医療における血管形成制御技術の開発
代表機関名	大阪大学 微生物病研究所
代表研究者名	高倉 伸幸

1. 研究概要

本課題は、血管形成は臓器再生において必須の現象であることに鑑み、再生臓器と体循環との連結のみならず、肝臓の類洞血管等の再生臓器内の臓器特異的血管を迅速に誘導する技術の開発を目指す。本研究者らは、最近、既存の血管内に内皮幹細胞が存在することを見出し、この幹細胞により臓器特有の血管構造が形成され、血管径の太い血管がこの幹細胞のみから形成されるという知見を得た。そこで、本課題では、上記知見に基づき、生体内で僅少な内皮幹細胞を試験管内増幅させる技術、内皮幹細胞を大量に回収する技術の開発を目指す。さらに内皮幹細胞を細胞源とし、血管成熟化のメカニズムを応用して、臓器特異的な血管形成を可能とする技術の開発を目指す。

2. 評価結果

①研究開発達成状況

血管内皮幹細胞の単離技術の開発において、新規 2 分子の血管内皮幹細胞マーカー (SPEC1、SPEC2) の単離に成功した。血管内皮幹細胞の試験管内増幅技術の開発において、ストローマ細胞フリーでも増殖する条件を見いだしてはいるが、臨床応用に必要な細胞数の確保が見込める内皮幹細胞の効率的な細胞増幅技術の開発は未達である。マウス下肢虚血モデルを用い、血管内皮幹細胞の虚血部位への移植により血流が改善することを確認し、EPC (骨髄の血管内皮前駆細胞) よりも優位性があることを示した。また、肝臓における内皮幹細胞移植により肝類洞血管の再生が起こることを示し、血友病モデルマウスを用いて、内皮幹細胞の移植により、第Ⅷ因子の発現が正常マウスの 70%までに改善していることを示した。これらは、目標をほぼ達成している結果である。

以上により、本研究開発課題の研究開発進捗は「良い」と評価される。

②研究開発成果

ヒト血管内皮幹細胞を濃縮できるマーカーを見出した。従来、血管内皮細胞の分化系譜は明らかではなかったが、幹細胞、前駆細胞、分化内皮細胞の階層性の存在が明確に示されたことは科学的に重要な成果である。再生医療において血管再生は重要な課題であり、社会的ニーズも高い成果と言える。マウスの血友病モデル及び虚血モデルにおいて血管内皮幹細胞移植による病態改善効果が示されたが、現段階では、マウスにおける検証がようやくできた段階にあり、臨床応用するためには、まだ多くの解決すべき課題が残されている。

2 件の特許出願が計画されており、必要な知的財産の確保がなされるものと期待される。

以上により、本研究開発課題の研究開発成果は「良い」と評価される。

③実施体制

単独の機関による体制であるが、毎月の研究進捗の会議等により適切に情報の共有が図られた。ネットワークプログラム事業内においては、各拠点・課題と密に連携し、培養基材の検討及び血管内皮幹細胞の特性解

析のための情報交換が行われた。しかし、臨床拠点に提供できるような細胞の確保ができる段階にはなく、臨床拠点との積極的な連携がみられない。

以上により、本研究開発課題の実施体制は「良い」と評価される。

④今後の見通し

基礎研究としてのレベルは高く、ハイインパクトの論文が発表される可能性が高い。臨床応用に向けて、ヒトの血管内皮幹細胞を純化及び増殖する方法は、いまだ確立できたわけではないため、今後更に確実に技術の向上を進め、実臨床に向けたPOC (Proof of Concept)の取得が必要と考えられる。研究の加速のため、適応疾患を具体的に絞ること、大型動物の取扱いが可能な臨床拠点や臨床家との連携強化等が必要と考えられる。また、実用化に向けては血管内皮幹細胞の規格設定や安全性評価、大量培養技術、コストパフォーマンスの面で他技術に対する優位性等を示すことが重要である。

以上により、本研究開発課題の今後の見通しは「良い」と評価される。

⑤事業で定める項目及び総合的に勘案すべき項目

生命倫理等に対して関連法令等に基づき適切に対応がなされている。若手キャリアパス支援については、若手の学会発表を奨励する等、適切に実施され、1名について他研究室で採用があったが、教育機関としては更なる取組が期待される。成果発表、アウトリーチ活動は適切に行われた。

以上により、本研究開発課題の事業で定める項目及び総合的に勘案すべき項目は概ね「優れている」と評価される。

⑥総合評価

移植用再生組織の血管導入の必要性は以前より言われており、本課題で開発中の血管内皮幹細胞がそれを解決できる可能性を持っていると考えられる。当初計画に沿って成果は上げつつあるが、いまだ研究の最終段階には達しておらず、今後、更に、ヒトの血管内皮幹細胞の純化・増幅法を確実なものとして、実臨床に向けたPOCの取得まで迅速に進める必要がある。中間評価での指摘事項に対応し、マウス下肢虚血モデルへの移植により、血管内皮幹細胞は、骨髄の血管内皮前駆細胞移植に比べより早期に血流を改善させること、また、血友病モデルでは血管内皮幹細胞の治療効果と有用性を確認したことは、新しい治療法の可能性を見つけたこととして評価される。

以上により、本研究開発課題は「良い」と評価される。