

平成28年度 委託研究開発成果報告書

I. 基本情報

事業名： (日本語) 再生医療実用化研究事業
(英語) Research Project for Practical Applications of Regenerative Medicine

研究開発課題名： (日本語) ヒト幹細胞の造腫瘍性における病態解明とその克服に関する研究
(英語) Etiological approaches for prevention of malignant tumors derived from human stem cell-based products

研究開発担当者 (日本語) 近畿大学 薬学総合研究所 研究所顧問/客員教授 早川堯夫
所属 役職 氏名： (英語) TAKAO HAYAKAWA, Adviser/Visiting professor, Pharmaceutical research and technology institute, KINDAI UNIVERSITY

実施期間： 平成28年 4月 1日 ~ 平成29年 3月31日

分担研究 (日本語) 研究統括と各種細胞の調製・特性評価および行政指針案の作成
開発課題名： (英語) Research managing and supervise; Preparation and characterization of various test-cells and preparation of a draft guidance document

研究開発分担者 (日本語) 近畿大学 薬学総合研究所 研究所顧問/客員教授 早川堯夫
所属 役職 氏名： (英語) TAKAO HAYAKAWA, Adviser/Visiting Professor, Pharmaceutical research and technology institute, KINDAI UNIVERSITY

II. 成果の概要 (総括研究報告)

本研究では、主に造腫瘍性リスクの質的把握に関して、とくに、原材料としての各種ヒト iPS/ES 細胞の造腫瘍性に関する発生頻度、病理学的特性の差異と機序、その検査方法の観点から検討し、対応策等の研究開発を行うことを目的としている。当該年度(H28年度)は以下のような研究開発を行った。

1. ヒト iPS/ES 細胞株に由来する腫瘍の発生頻度、病理学的特性の差異と機序、検査法の検討について

1.1 ヒト iPS/ES 細胞株の種類及び起源が異なることによる影響について

ヒト iPS 細胞 10 株を一定条件下で継代・培養し、重度免疫不全動物 NOG マウスに皮下投与し、腫瘍形成のモニターを既に行っている。1) 昨年度からサンプルを追加して、形成が認められたすべての腫瘍において病理学的評価を行ったが、悪性像は認められなかった。2) 投与に用いた iPS 細胞 10 株の網羅的遺伝子発現データを用いて、発現量と造腫瘍性に有意に相関する 22 遺伝子を統計学的手法により同定した。3) 投与に用いたヒト iPS 細胞 10 株のエクソン領域の DNA 配列データを次世代シーケンサーによって取得し、計 614 のがん関連遺伝子において変異の解析を行った。

1.2 培養条件の差異が奇形腫悪性化へ及ぼす影響について

ヒト iPS 細胞株を、異なる培地を用いたシングルセル培養により培養・継代したところ、細胞の未分化細胞マーカーの発現量は同等であるが、形態と増殖性が著しく異なることが昨年度までに分かっている。これらの iPS 細胞を NOG マウスに皮下投与し、造腫瘍性の比較を行ったが、ほとんど差は見られなかった。形成腫瘍の病理学的評価も行ったが、培養条件による違いは認められなかった。

1.3 ゲノム編集によるがん関連遺伝子変異ヒト iPS/ES 細胞株の作製とその活用について

CRISPR/Cas9 システムを用いたゲノム編集によって、ヒト iPS 細胞株の特定のがん関連遺伝子に変異を挿入した細胞株を、昨年度までの研究において作製した。これらのヒト iPS 細胞がん関連遺伝子変異株について、解析に用いるため拡大培養と再シーケンシングによる変異挿入の再確認を行った。その結果を踏まえて、造腫瘍性試験に使用する変異株を 9 株選定し、NOG マウスの皮下に投与し、腫瘍形成をモニターした。また、これら変異株の網羅的遺伝子発現データをジーンチップを用いて取得した。

2. ヒト iPS/ES 細胞に由来する腫瘍の病理学的特性検査方法の確立と予防策（対策）の検討について

本年度まで原材料としてのヒト iPS 細胞の病理学的特性検査法の提示と予防策の提示を目指して研究を行った結果、ヒト iPS 細胞の種類・起源や培養条件の差にかかわらず病理学的評価において悪性像は見られないことが明らかになったため、この得られた知見を学会・論文発表する準備を行っている。

3. ヒト iPS/ES 細胞等に由来する再生医療製品の造腫瘍性に関する行政指針案の作成について

本年度までの結果を総合的に検討し、また、他の AMED 研究課題との連携を図り、次年度（最終年度）終了までに行政指針案をまとめることを目指す。現時点では、その体系化に向けての多角的な検討を繰り返しているところであり、まずは素案作成のための検討を重ねている段階である。

In this research project, we aim to prepare measures to understand qualitative tumorigenicity risks, particularly regarding incidence, difference in and mechanism by pathological attribute, and testing associated with tumorigenicity of various human iPS cells (iPSCs) and ES cells (ESCs) as raw materials. In this year, we worked on the following subjects.

1. Studies on incidence, difference in and mechanism by pathological attribute, and testing associated with tumorigenicity of human iPSC/ESC lines

1.1 Effects of difference in types and origins of human iPSCs/ESCs on tumorigenicity

NOG mice were subcutaneously injected with ten iPSC lines passaged and cultured under the same condition, and their tumor formation was observed. i) Pathological evaluation did not exhibit malignancy in specimens prepared from all of the isolated tumors. ii) We extracted 22 genes statistically related to tumorigenicity of iPSC lines using data of the tumorigenicity testing and the comprehensive gene expression analysis. iii) Mutations in the 614 cancer-associated genes were investigated in ten human iPSC lines used for tumorigenicity testing with whole exome sequencing data analysis.

1.2 Effects of difference in culture conditions of human iPSCs/ESCs on tumorigenicity

Difference in culture medium used for single-cell passages of human iPSCs markedly influenced morphology and proliferation of cells but not levels of pluripotency markers. Human iPSCs cultured under these conditions were subcutaneously injected into NOG mice, and the tumor formation was examined. However, we observed no difference in the incidence of tumor formation between iPSCs cultured in the different medium. Pathological evaluation also identified no difference in germ layer differentiation and degrees of maturation between iPSCs cultured under the indicated conditions.

1.3 Establishment and application of human iPSCs/ESCs having mutations in cancer-associated genes generated with a genome editing technology

We prepared human iPSC lines having mutations in the cancer-associated genes using CRISPR/Cas9 genome editing system. These iPSC mutants were expanded, and the sequence inserted into target genes was reconfirmed by resequencing. Nine iPSC mutant lines were selected and used for tumorigenicity testing with NOG mice. We also obtained comprehensive gene expression data of the nine iPSC mutant lines using GeneChip.

2. Establishment of pathological attribute testing of tumor derived from human iPSCs/ESCs and studies on preventive measures

As the results of our research to aim at reporting pathological attribute testing of tumor derived from human iPSCs/ESCs and the preventive measures, pathological evaluation did not show malignancy of formed tumor derived from iPSCs even though the difference in types, origins, and culture conditions of iPSCs. We are preparing to report these results.

3. Preparation of a draft guidance document on tumorigenicity of regenerative medical products derived from human iPSCs/ESCs

Totally considering the obtained results, we will coordinate with other AMED projects and aim to summarize a draft guideline document by the end of this research project. At present, we repeatedly consider from multiple points of view to prepare a draft.

III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧（国内誌 3 件、国際誌 10 件）

1. Report of the International Regulatory Forum on Human Cell Therapy and Gene Therapy Products. Hayakawa T, Harris I, Joung J, Kanai N, Kawamata S, Kellathur S, Koga J, Lin YC, Maruyama Y, McBlane J, Nishimura T, Renner M, Ridgway A, Salmikangas P, Sakamoto N, Sato D, Sato Y, Toda Y, Umezawa A, Werner M, Wicks S. *Biologicals*. 2016 Sep;44(5):467-79.
2. Report of the international conference on regulatory endeavors towards the sound development of human cell therapy products. Hayakawa T, Aoi T, Bravery C, Hoogendoorn K, Knezevic I, Koga J, Maeda D, Matsuyama A, McBlane J, Morio T, Petricciani J, Rao M, Ridgway A, Sato D, Sato Y, Stacey G, Sakamoto N, Trouvin JH, Umezawa A, Yamato M, Yano K, Yokote H, Yoshimatsu K, Zorzi-Morre P. *Biologicals*. 2016 Sep;43(5):283-97.
3. BNIP3 upregulation via stimulation of ERK and JNK activity is required for the protection of keratinocytes from UVB-induced apoptosis. M Moriyama, H Moriyama, J Uda, H Kubo, A Goto, Y Nakajima, T Morita, T Hayakawa. *Cell Death Dis*. 2017 Feb 2;8(2):e2576.
4. Beneficial Effects of the Genus Aloe on Wound Healing, Cell Proliferation, and Differentiation of Epidermal Keratinocytes. Moriyama M, Moriyama H, Uda J, Kubo H, Nakajima Y, Goto A, Akaki J, Yoshida I, Matsuoka N, Hayakawa T. *PLoS One*. 2016 Oct 13;11(10):e0164799.
5. Inhibitory Effects of Oligostilbenoids from the Bark of *Shorea roxburghii* on Malignant Melanoma Cell Growth: Implications for Novel Topical Anticancer Candidates. Moriyama H, Moriyama M, Ninomiya K, Morikawa T, Hayakawa T. *Biol Pharm Bull*. 2016;39(10):1675-1682.
6. 適切な規制による再生医療実用化促進. 早川堯夫: 再生医療, 15, 67-81 (2016)
7. 再生医療等の産業化促進と課題. 早川堯夫: 再生医療等製品の開発と実用化展望, (株) シーエムシー出版 東京 p. 23-31 (2016)
8. TRPC3 positively regulates reactive oxygen species driving maladaptive cardiac remodeling. Kitajima N, Numaga-Tomita T, Watanabe M, Kuroda T, Nishimura A, Miyano K, Yasuda S, Kuwahara K, Sato Y, Ide T, Birnbaumer L, Sumimoto H, Mori Y, Nishida M. (2016) *Sci. Rep.* 6, 37001.
9. TRPC3-GEF-H1 axis mediates pressure overload-induced cardiac fibrosis. Numaga-Tomita T, Kitajima N, Kuroda T, Nishimura A, Miyano K, Yasuda S, Kuwahara K, Sato Y, Ide T, Birnbaumer L, Sumimoto H, Mori Y, Nishida M. (2016) *Sci. Rep.* 6, 39383.
10. 日本発の再生医療技術によるイノベーションを進めるには 佐藤陽治 (2016) 再生医療 15 (3), 241.
11. Application of cell growth analysis to the quality assessment of human cell-processed therapeutic products as a testing method for immortalized cellular impurities. Hasebe-Takada N, Kono K, Yasuda S, Sawada R, Matsuyama A, Sato Y. (2016) *Regen. Ther.* 5, 49-54.

12. Glutamine oxidation is indispensable for survival of human pluripotent stem cells. Tohyama S, Fujita J, Hishiki T, Matsuura T, Hattori F, Ohno R, Kanazawa H, Seki T, Nakajima K, Kishino Y, Okada M, Hirano A, Kuroda T, Yasuda S, Sato Y, Yuasa S, Sano M, Suematsu M, Fukuda K. (2016) *Cell Metab.* 23, 1-12.
13. TRPC3 positively regulates reactive oxygen species driving maladaptive cardiac remodeling. Kitajima N, Numaga-Tomita T, Watanabe M, Kuroda T, Nishimura A, Miyano K, Yasuda S, Kuwahara K, Sato Y, Ide T, Birnbaumer L, Sumimoto H, Mori Y, Nishida M. (2016) *Sci. Rep.* 6, 37001.

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. 再生医療の実用化のための適切な規制について, 早川堯夫 :シスメックス再生医療セミナー 2016, 東京 (2016.9.1)
2. Specifications / Potency: Test Procedures and Acceptance Criteria for Cell-based Products, Hayakawa T, Uchida K: CMC Strategy Forum Japan 2016, Workshop Session (2016.12.5, Tokyo)
3. 「再生医療実用化加速のための幹細胞等由来製品評価に最低限必須・共通の技術要件・基準に関する研究」ならびに「ヒト幹細胞の造腫瘍性における病態解明とその克服に関する研究」 早川堯夫、佐藤陽治 (口頭およびポスター) 2016年度AMED再生医療情報交換会. (2016. 5.30)
4. ヒト脂肪を由来とした再生医療に資する細胞原材料の開発. 森山博由, 早川堯夫. 甲南大学FIRST/FIBER産学連携サロン=Part 10=, 神戸医療産業都市クラスター交流会・第50回 甲南ニューフロンティアサロン,神戸 (2016.6.10) 国内 (口頭発表)
5. Role of Notch signaling in glycolysis regulation under hypoxic conditions. H. Moriyama, M. Moriyama, T. Hayakawa. 14th International Society for Stem Cell Research 2016, Moscone West, San Francisco, CA USA, 2016.6.22. 国外. (小口頭発表, ポスター発表)
6. BNIP3 ACTIVATION VIA STIMULATION OF ERK AND JNK ACTIVITIES IS REQUIRED FOR THE PROTECTION OF KERATINOCYTES FROM UVB-INDUCED APOPTOSIS. M. Moriyama, H. Moriyama, T. Hayakawa. 14th International Society for Stem Cell Research 2016, Moscone West, San Francisco, CA USA, 2016.6.22. 国外. (小口頭発表, ポスター発表)
7. 生命科学 research カットニングエッジ ～皮膚組織とヒト生体間葉系幹細胞～. 森山博由, 森山麻里子, 早川堯夫. 生命機能研究会. 同志社大学,京都 (2016.8.6)
8. ヒト脂肪由来間葉系幹細胞の糖代謝制御機構. 森山博由, 森山麻里子, 早川堯夫. 同志社大学リトリート, 同志社大学リトリートセンター,滋賀 (2016.8.21)
9. ヒト脂肪組織由来間葉系幹細胞(hADSC)を用いたメラノサイトの作製. 奥田真悠, 森山博由, 森山麻里子, 早川堯夫.同志社大学リトリート, 同志社大学リトリートセンター,滋賀 (2016.8.21)
10. オートファジーと皮膚構築. 森山麻里子, 森山博由, 早川堯夫.同志社大学リトリート, 同志社大学リトリートセンター,滋賀 (2016.8.22)

11. ヒト脂肪組織由来間葉系幹細胞(hADSC)を用いたメラノサイトの作製. 奥田真悠, 森山博由, 森山麻里子, 早川堯夫. 第66回日本薬学会近畿支部会. 大阪薬科大学,大阪 (2016.10.15)
12. 低酸素状態下でのヒト脂肪由来間葉系幹細胞における Notch シグナルの役割. 野沢一樹, 森山博由, 森山麻里子, 早川堯夫. 第66回日本薬学会近畿支部会. 大阪薬科大学,大阪 (2016.10.15)
13. Inhibitory Effects of Oligostilbenoids from Bark of *Shorea roxburghii* on Malignant Melanoma Cell Growth: Implications for a Candidate of Novel Topical Anticancer Agents. T Morita, S Inoue, Y Marutani, H Moriyama, M Moriyama, K Ninomiya, T Morikawa, T Hayakawa. 12th ICCP. KINDAI UNIV, Osaka (Japan) (2016.10.29)
14. BNIP3 is required for the protection of keratinocytes from UVB-induced apoptosis through induction of autophagy. Mariko Moriyama, Hirokazu Kubo, Yuka Nakajima, Arisa Goto, Takao Hayakawa, Hiroyuki Moriyama. The 27th CDB Meeting, Body Surface Tactics – Cellular crosstalk for the generation of super-biointerfaces. RIKEN CDB, Kobe(Japan). Nov.17.2016.
15. BNIP3 PLAYS CRUCIAL ROLES IN THE DIFFERENTIATION AND MAINTENANCE OF EPIDERMAL KERATINOCYTES. Takashi Morita, Mariko Moriyama, Yuka Nakajima, Arisa Goto, Ryo Morita¹, Ken Natsuga, Takao Hayakawa, Hiroyuki Moriyama. The 39th Annual meeting of the Molecular biology society of Japan. Pacifico YOKOHAMA (Japan). Dec.1.2016.
16. BNIP3 is required for the protection of keratinocytes from UVB-induced apoptosis through induction of autophagy. Mariko Moriyama, Hirokazu Kubo, Yuka Nakajima, Arisa Goto,Takao Hayakawa, Hiroyuki Moriyama. 41th Annual Meeting of the Japanese Society for Investigative Dermatology. Sendai Convention Center, Miyagi, Japan (2016.12.8-11) Dec.9.2016.
17. 低酸素状態下のヒト間葉系幹細胞維持機構における Notch シグナルの役割. 森山博由, 森山麻里子, 早川堯夫. 第16回日本再生医療学会総会. 仙台国際センター, 宮城 (2017.3.6)
18. オートファジーを担う BNIP3 は健全な皮膚形成に必要である. 森山麻里子, 森山博由, 早川堯夫. 第16回日本再生医療学会総会. 仙台国際センター, 宮城 (2017.3.9)
19. 再生医療等製品(細胞加工製品)の品質・安全性・有効性確保のための科学, 口頭, 佐藤陽治, 第16回日本再生医療学会総会, 2017/3/8, 国内.
20. 不死化網膜色素上皮細胞マーカーIRM1の機能解析, 口頭, 黒田拓也, 安田智, 中島啓行, 松山さと子, 高田のぞみ, 草川森士, 梅澤明弘, 松山晃文, 川真田伸, 佐藤陽治, 第16回日本再生医療学会総会, 2017/3/8, 国内.
21. 再生医療等臨床研究データベースシステム(RMeD-Japan)の整備, 口頭, 佐藤陽治, 第16回日本再生医療学会総会, 2017/3/7, 国内.
22. 次世代シーケンサーによる細胞加工製品の新規ウイルス試験法の開発, 口頭, 遊佐敬介, 前田洋助, 佐藤陽治, 苑宇哲, 第16回日本再生医療学会総会, 2017/3/7, 国内.
23. 臨床応用に向けたヒト iPS 細胞由来心筋細胞の凍結保存法の開発, ポスター, 大橋文哉, 宮川繁, 吉田昇平, 齋藤充弘, 福嶋五月, 増田茂夫, 伊東絵望子, 伊勢岡弘子, 石川烈, 鮫島正, 佐藤陽治, 澤芳樹, 第16回日本再生医療学会総会, 2017/3/7, 国内.

24. ヒト間葉系幹細胞の分化フラストレート培養における網羅的遺伝子発現解析, 澤田留美, 森山幸祐, 河野健, 田中和沙, 佐藤陽治, 江端宏之, 佐々木沙織, 久保木タッサニーヤ, 木戸秋悟, ポスター, 第 16 回日本再生医療学会総会, 2017/3/7, 国内.
25. ヒト神経前駆細胞の悪性形質転換細胞検出試験, ポスター, 草川森士, 安田智, 黒田拓也, 佐藤陽治, 第 16 回日本再生医療学会総会, 2017/3/8, 国内.
26. フィーダー細胞 SNL76/7 が産生する内在性レトロウイルスの安全性について, ポスター, 苑宇哲, 前田洋助, 佐藤陽治, 遊佐敬介, 第 16 回日本再生医療学会総会, 2017/3/8, 国内.
27. Scientific challenges for the safety of cell-based therapeutic products–Development of testing methods for tumorigenicity assessment–, 口頭, 佐藤陽治, World Stem Cell Summit 16, 2016/12/8, 国外.
28. ヒト間葉系幹細胞の培養力学場応答性に関する網羅的遺伝子発現解析, ポスター, 澤田留美, 河野 健, 田中和沙, 佐藤陽治, 森山幸祐, 江端宏之, 佐々木沙織, 久保木タッサニーヤ, 木戸秋悟, 日本バイオマテリアル学会シンポジウム 2016, 2016/11/22, 国内.
29. Recent developments in regulation for cell therapy in Japans, 口頭, 佐藤陽治, 3rd International Alliance for Biological Standardization Conference on Cell Therapy, 2016/11/2, 国外.
30. Japanese guidance on risk assessment of raw materials, 口頭, 佐藤陽治, 3rd International Alliance for Biological Standardization Conference on Cell Therapy, 2016/11/2, 国外.
31. 再生・細胞医療の実用化におけるレギュラトリーサイエンスの役割, 口頭, 佐藤陽治, 「かながわ再生・細胞治療産業化ネットワーク」キックオフフォーラム, 2016/10/27, 国内.
32. Current regulatory issues on tumorigenicity assessment of human pluripotent stem cell-derived products in Japan, 口頭, Sato Y, ISCI workshop: origins & implications of pluripotent stem cell (epi)genetic instability and a symposium: to honor the work of Leroy Stevens, 2016/10/15, 国外.
33. 再生医療等製品の造腫瘍性関連試験法, 口頭, 佐藤陽治, 第 22 回 GLP 研修会 (大阪), 2016/9/30, 国内.
34. 再生・細胞医療製品の品質と安全性の評価について, 口頭, 佐藤陽治, 創薬薬理フォーラム第 24 回シンポジウム, 2016/9/29, 国内.
35. 遺伝子治療の安全性評価–ゲノム編集技術の応用における留意点–, 口頭, 佐藤陽治, 第 68 回日本生物工学会大会, 2016/9/28, 国内.
36. 再生医療等製品 (細胞加工製品) の品質・安全性確保と規制, 口頭, 佐藤陽治, 第 26 回日本医療薬学会年会, 2016/9/19, 国内.
37. Scientific Challenges for the safety, efficacy and quality of cell-based therapeutic products, 口頭, Sato Y, Tissue Engineering and Regenerative Medicine International Society-Asia Pacific meeting 2016, 2016/9/5, 国外.
38. Update on Japan's regulation of cell-based therapeutic products, 口頭, Sato Y, Stem Cell & Regenerative Medicine Global Congress 2016, 2016/8/23, 国外.
39. ヒト細胞加工製品の造腫瘍性試験及び造腫瘍性細胞検出試験–関連ガイドラインの作成状況–, 口頭, 佐藤陽治, 第 43 回日本毒性学会学術年会, 2016/7/1, 国内.

40. Assessment of genetic instability in human induced pluripotent stem cells during long-term cell culture, ポスター, Miura T, Okamura K, Yasuda S, Umezawa A, Sato Y, International Society for Stem Cell Research 2016 Annual Meeting, 2016/6/23, 国外.
41. Association of line-1s expression with apobec3b genotypes in human mesenchymal stem cells. ポスター, Kono K, Sawada R, Sato Y. International Society for Stem Cell Research 2016, 2016/6/23, 国外.
42. 再生医療等製品（細胞加工物）の品質とその確保のための規制, 口頭, 佐藤陽治, 神戸医療産業都市クラスター交流会, 2016/4/27, 国内.
43. Challenges for standardization of tumorigenicity-associated testing methods for human cell-based therapeutic products: introduction of a draft guidance document, 口頭, 安田智, 第16回日本再生医療学会総会, 2017/3/7, 国内.
44. 不死化網膜色素上皮細胞マーカーIRM1の機能解析, 口頭, 黒田拓也, 安田智, 中島啓行, 松山さと子, 高田のぞみ, 草川森士, 梅澤明弘, 松山晃文, 川真田伸, 佐藤陽治, 第16回日本再生医療学会総会, 2017/3/8, 国内.
45. ヒト神経前駆細胞の悪性形質転換細胞検出試験, ポスター, 草川森士, 安田智, 黒田拓也, 佐藤陽治, 第16回日本再生医療学会総会, 2017/3/8, 国内.
46. 再生医療に関連するレギュラトリーサイエンス, 口頭, 安田智, 第27回クロマトグラフィー科学会議, 2016/11/17, 国内.
47. 再生医療等製品の造腫瘍性関連試験法, 口頭, 安田智, 第22回GLP研修会（東京）, 2016/9/26, 国内.
48. Assessment of genetic instability in human induced pluripotent stem cells during long-term cell culture, Miura T, Okamura K, Yasuda S, Umezawa A, Sato Y, ポスター, International Society for Stem Cell Research 2016 Annual Meeting, 2016/6/23, 国外.

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

1. 再生医療の安全性評価のための科学-新しい医療製品のリスクの発生源をどう測るか-, 口頭, 佐藤陽治, 「リスクコミュニケーションのモデル形成事業」市民シンポジウム 再生医療の未来を創る～リスクとベネフィットを考える～, 2016/12/23, 国内.
2. 再生医療の安全性評価のための科学-新しい医療製品のリスクの発生源をどう測るか-, 口頭, 佐藤陽治, 「リスクコミュニケーションのモデル形成事業」市民シンポジウム 再生医療・遺伝子治療の未来へ～リスクとベネフィットを考える～, 2016/7/23, 国内.

(4) 特許出願

特記事項なし

平成 28 年度 医療研究開発推進事業費補助金
成果報告書

I. 基本情報

事業名 : 再生医療実用化研究事業
Research Project for Practical Applications of Regenerative Medicine

補助事業課題名 : ヒト幹細胞の造腫瘍性における病態解明とその克服に関する研究
Etiological approaches for prevention of malignant tumors derived from human stem cell-based products

補助事業担当者 国立医薬品食品衛生研究所 再生・細胞医療製品部 部長 佐藤 陽治
所属 役職 氏名 : Yoji Sato, Head, Division of Cell-Based Therapeutic Products, National Institute of Health Sciences

実施期間 : 平成 28 年 4 月 1 日 ～ 平成 29 年 3 月 31 日

分担研究 細胞・腫瘍の各種分子生物学的評価手法の開発と活用および行政指針案の作成
分担課題名 : Development and application of evaluation methods for cells and tumor with a molecular biology approach and preparation of a draft guidance document

補助事業分担者 国立医薬品食品衛生研究所 再生・細胞医療製品部 部長 佐藤 陽治
所属 役職 氏名 : Yoji Sato, Head, Division of Cell-Based Therapeutic Products, National Institute of Health Sciences

II. 成果の概要（総括研究報告）

本研究では、主に造腫瘍性リスクの質的把握に関して、とくに、原材料としての各種ヒト iPS/ES 細胞の造腫瘍性に関する発生頻度、病理学的特性の差異と機序、その検査方法の観点から検討し、対応策等の研究開発を行うことを目的としている。当該年度(H28 年度)は以下のような研究開発を行った。

1. ヒト iPS/ES 細胞株に由来する腫瘍の発生頻度、病理学的特性の差異と機序、検査法の検討について

1.1 ヒト iPS/ES 細胞株の種類及び起源が異なることによる影響について

ヒト iPS 細胞 10 株を一定条件下で継代・培養し、重度免疫不全動物 NOG マウスに皮下投与し、腫瘍形成のモニターを既に行っている。1) 昨年度からサンプルを追加して、形成が認められたすべての腫瘍において病理学的評価を行ったが、悪性像は認められなかった。2) 投与に用いた iPS 細胞 10 株の網羅的遺伝子発現データを用いて、発現量と造腫瘍性に有意に相関する 22 遺伝子を統計学的手法により同定した。3) 投与に用いたヒト iPS 細胞 10 株のエクソン領域の DNA 配列データを次世代シーケンサーによって取得し、計 614 のがん関連遺伝子において変異の解析を行った。

1.2 培養条件の差異が奇形腫悪性化へ及ぼす影響について

ヒト iPS 細胞株を、異なる培地を用いたシングルセル培養により培養・継代したところ、細胞の未分化細胞マーカーの発現量は同等であるが、形態と増殖性が著しく異なることが昨年度までに分かっている。これらの iPS 細胞を NOG マウスに皮下投与し、造腫瘍性の比較を行ったが、ほとんど差は見られなかった。形成腫瘍の病理学的評価も行ったが、培養条件による違いは認められなかった。

1.3 ゲノム編集によるがん関連遺伝子変異ヒト iPS/ES 細胞株の作製とその活用について

CRISPR/Cas9 システムを用いたゲノム編集によって、ヒト iPS 細胞株の特定のがん関連遺伝子に変異を挿入した細胞株を、昨年度までの研究において作製した。これらのヒト iPS 細胞のがん関連遺伝子変異株について、解析に用いるため拡大培養と再シーケンシングによる変異挿入の再確認を行った。その結果を踏まえて、造腫瘍性試験に使用する変異株を 9 株選定し、NOG マウスの皮下に投与し、腫瘍形成をモニターした。また、これら変異株の網羅的遺伝子発現データをジーンチップを用いて取得した。

2. ヒト iPS/ES 細胞に由来する腫瘍の病理学的特性検査方法の確立と予防策（対策）の検討について

本年度まで原材料としてのヒト iPS 細胞の病理学的特性検査法の提示と予防策の提示を目指して研究を行った結果、ヒト iPS 細胞の種類・起源や培養条件の差にかかわらず病理学的評価において悪性像は見られないことが明らかになったため、この得られた知見を学会・論文発表する準備を行っている。

3. ヒト iPS/ES 細胞等に由来する再生医療製品の造腫瘍性に関する行政指針案の作成について

本年度までの結果を総合的に検討し、また、他の AMED 研究課題との連携を図り、次年度（最終年度）終了までに行政指針案をまとめることを目指す。現時点では、その体系化に向けての多角的な検討を繰り返しているところであり、まずは素案作成のための検討を重ねている段階である。

In this research project, we aim to prepare measures to understand qualitative tumorigenicity risks, particularly regarding incidence, difference in and mechanism by pathological attribute, and testing associated with tumorigenicity of various human iPSC cells (iPSCs) and ES cells (ESCs) as raw materials. In this year, we worked on the following subjects.

1. Studies on incidence, difference in and mechanism by pathological attribute, and testing associated with tumorigenicity of human iPSC/ESC lines

1.1 Effects of difference in types and origins of human iPSCs/ESCs on tumorigenicity

NOG mice were subcutaneously injected with ten iPSC lines passaged and cultured under the same condition, and their tumor formation was observed. i) Pathological evaluation did not exhibited malignancy in specimens prepared from all of the isolated tumor. ii) We extracted 22 genes statistically related to tumorigenicity of iPSC lines using data of the tumorigenicity testing and the comprehensive gene expression analysis. iii) Mutations in the 614 cancer-associated genes was investigated in ten human iPSC lines used for tumorigenicity testing with whole exome sequencing data analysis.

1.2 Effects of difference in culture conditions of human iPSCs/ESCs on tumorigenicity

Difference in culture medium used for single-cell passages of human iPSCs markedly influenced on morphology and proliferation of cells but not levels of pluripotency markers. Human iPSCs cultured under these conditions were subcutaneously injected into NOG mice, and the tumor formation was examined. However, we observed no difference in the incidence of tumor formation between iPSCs cultured in the different medium. Pathological evaluation also identified no difference in germ layer differentiation and degrees of maturation between iPSCs cultured under the indicated conditions.

1.3 Establishment and application of human iPSCs/ESCs having mutations in cancer-associated genes generated with a genome editing technology

We prepared human iPSC lines having mutations in the cancer-associated genes using CRISPR/Cas9 genome editing system. These iPSC mutants were expanded, and the sequence inserted into target genes was reconfirmed by resequencing. Nine iPSC mutant lines were selected and used for tumorigenicity testing with NOG mice. We also obtained comprehensive gene expression data of the nine iPSC mutant lines using GeneChip.

2. Establishment of pathological attribute testing of tumor derived from human iPSCs/ESCs and studies on preventive measures

As the results of our research to aim at reporting pathological attribute testing of tumor derived from human iPSCs/ESCs and the preventive measures, pathological evaluation did not show malignancy of formed tumor derived from iPSCs even though the difference in types, origins, and culture conditions of iPSCs. We are preparing to report these results.

3. Preparation of a draft guidance document on tumorigenicity of regenerative medical products derived from human iPSCs/ESCs

Totally considering the obtained results, we will coordinate with other AMED projects and aim to summarize a draft guideline document by the end of this research project. At present, we repeatedly consider from multiple points of view to prepare a draft.

III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧（国内誌 1 件、国際誌 5 件）

1. Application of cell growth analysis to the quality assessment of human cell-processed therapeutic products as a testing method for immortalized cellular impurities. Hasebe-Takada N, Kono K, Yasuda S, Sawada R, Matsuyama A, Sato Y. (2016) *Regen. Ther.* 5, 49-54.
2. Glutamine oxidation is indispensable for survival of human pluripotent stem cells. Tohyama S, Fujita J, Hishiki T, Matsuura T, Hattori F, Ohno R, Kanazawa H, Seki T, Nakajima K, Kishino Y, Okada M, Hirano A, Kuroda T, Yasuda S, Sato Y, Yuasa S, Sano M, Suematsu M, Fukuda K. (2016) *Cell Metab.* 23, 1-12.
3. Report of the International Regulatory Forum on Human Cell Therapy and Gene Therapy Products. Hayakawa T, Harris I, Joung J, Kanai N, Kawamata S, Kellathur S, Koga J, Lin YC, Maruyama Y, McBlane J, Nishimura T, Renner M, Ridgway A, Salmikangas P, Sakamoto N, Sato D, Sato Y, Toda Y, Umezawa A, Werner M, Wicks S. (2016) *Biologicals.* 44(5), 467-79.
4. TRPC3 positively regulates reactive oxygen species driving maladaptive cardiac remodeling. Kitajima N, Numaga-Tomita T, Watanabe M, Kuroda T, Nishimura A, Miyano K, Yasuda S, Kuwahara K, Sato Y, Ide T, Birnbaumer L, Sumimoto H, Mori Y, Nishida M. (2016) *Sci. Rep.* 6, 37001.
5. TRPC3-GEF-H1 axis mediates pressure overload-induced cardiac fibrosis. Numaga-Tomita T, Kitajima N, Kuroda T, Nishimura A, Miyano K, Yasuda S, Kuwahara K, Sato Y, Ide T, Birnbaumer L, Sumimoto H, Mori Y, Nishida M. (2016) *Sci. Rep.* 6, 39383.
6. 日本発の再生医療技術によるイノベーションを進めるには 佐藤陽治 (2016) 再生医療 15 (3), 241.

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. 再生医療等製品（細胞加工製品）の品質・安全性・有効性確保のための科学，口頭，佐藤陽治，第 16 回日本再生医療学会総会，2017/3/8，国内。
2. 不死化網膜色素上皮細胞マーカーIRM1 の機能解析，口頭，黒田拓也，安田智，中島啓行，松山さと子，高田のぞみ，草川森土，梅澤明弘，松山晃文，川真田伸，佐藤陽治，第 16 回日本再生医療学会総会，2017/3/8，国内。
3. 再生医療等臨床研究データベースシステム（RMeD-Japan）の整備，口頭，佐藤陽治，第 16 回日本再生医療学会総会，2017/3/7，国内。

4. 次世代シーケンサーによる細胞加工製品の新規ウイルス試験法の開発, 口頭, 遊佐敬介, 前田洋助, 佐藤陽治, 苑宇哲, 第 16 回日本再生医療学会総会, 2017/3/7, 国内.
5. 臨床応用に向けたヒト iPS 細胞由来心筋細胞の凍結保存法の開発, ポスター, 大橋文哉, 宮川繁, 吉田昇平, 齋藤充弘, 福寫五月, 増田茂夫, 伊東絵望子, 伊勢岡弘子, 石川烈, 鮫島正, 佐藤陽治, 澤芳樹, 第 16 回日本再生医療学会総会, 2017/3/7, 国内.
6. ヒト間葉系幹細胞の分化フラストレート培養における網羅的遺伝子発現解析, 澤田留美, 森山幸祐, 河野健, 田中和沙, 佐藤陽治, 江端宏之, 佐々木沙織, 久保木タッサニーヤ, 木戸秋悟, ポスター, 第 16 回日本再生医療学会総会, 2017/3/7, 国内.
7. ヒト神経前駆細胞の悪性形質転換細胞検出試験, ポスター, 草川森士, 安田智, 黒田拓也, 佐藤陽治, 第 16 回日本再生医療学会総会, 2017/3/8, 国内.
8. フィーダー細胞 SNL76/7 が産生する内在性レトロウイルスの安全性について, ポスター, 苑宇哲, 前田洋助, 佐藤陽治, 遊佐敬介, 第 16 回日本再生医療学会総会, 2017/3/8, 国内.
9. Scientific challenges for the safety of cell-based therapeutic products–Development of testing methods for tumorigenicity assessment–, 口頭, 佐藤陽治, World Stem Cell Summit 16, 2016/12/8, 国外.
10. ヒト間葉系幹細胞の培養力学場応答性に関する網羅的遺伝子発現解析, ポスター, 澤田留美, 河野 健, 田中和沙, 佐藤陽治, 森山幸祐, 江端宏之, 佐々木沙織, 久保木タッサニーヤ, 木戸秋悟, 日本バイオマテリアル学会シンポジウム 2016, 2016/11/22, 国内.
11. Recent developments in regulation for cell therapy in Japans, 口頭, 佐藤陽治, 3rd International Alliance for Biological Standardization Conference on Cell Therapy, 2016/11/2, 国外.
12. Japanese guidance on risk assessment of raw materials, 口頭, 佐藤陽治, 3rd International Alliance for Biological Standardization Conference on Cell Therapy, 2016/11/2, 国外.
13. 再生・細胞医療の実用化におけるレギュラトリーサイエンスの役割, 口頭, 佐藤陽治, 「かながわ再生・細胞治療産業化ネットワーク」キックオフフォーラム, 2016/10/27, 国内.
14. Current regulatory issues on tumorigenicity assessment of human pluripotent stem cell-derived products in Japan, 口頭, Sato Y, ISCI workshop: origins & implications of pluripotent stem cell (epi)genetic instability and a symposium: to honor the work of Leroy Stevens, 2016/10/15, 国外.
15. 再生医療等製品の造腫瘍性関連試験法, 口頭, 佐藤陽治, 第 22 回 GLP 研修会(大阪), 2016/9/30, 国内.
16. 再生・細胞医療製品の品質と安全性の評価について, 口頭, 佐藤陽治, 創薬薬理フォーラム第 24 回シンポジウム, 2016/9/29, 国内.
17. 遺伝子治療の安全性評価–ゲノム編集技術の応用における留意点–, 口頭, 佐藤陽治, 第 68 回日本生物工学会大会, 2016/9/28, 国内.
18. 再生医療等製品(細胞加工製品)の品質・安全性確保と規制, 口頭, 佐藤陽治, 第 26 回日本医療薬学会年会, 2016/9/19, 国内.
19. Scientific Challenges for the safety, efficacy and quality of cell-based therapeutic products, 口頭, Sato Y, Tissue Engineering and Regenerative Medicine International Society-Asia Pacific meeting 2016, 2016/9/5, 国外.

20. Update on Japan's regulation of cell-based therapeutic products, 口頭, Sato Y, Stem Cell & Regenerative Medicine Global Congress 2016, 2016/8/23, 国外.
21. ヒト細胞加工製品の造腫瘍性試験及び造腫瘍性細胞検出試験-関連ガイドラインの作成状況-, 口頭, 佐藤陽治, 第43回日本毒性学会学術年会, 2016/7/1, 国内.
22. Assessment of genetic instability in human induced pluripotent stem cells during long-term cell culture, ポスター, Miura T, Okamura K, Yasuda S, Umezawa A, Sato Y, International Society for Stem Cell Research 2016 Annual Meeting, 2016/6/23, 国外.
23. Association of line-1s expression with apobec3b genotypes in human mesenchymal stem cells. ポスター, Kono K, Sawada R, Sato Y. International Society for Stem Cell Research 2016, 2016/6/23, 国外.
24. 再生医療等製品（細胞加工物）の品質とその確保のための規制, 口頭, 佐藤陽治, 神戸医療産業都市クラスター交流会, 2016/4/27, 国内.

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

1. 再生医療の安全性評価のための科学-新しい医療製品のリスクの発生源をどう測るか-, 口頭, 佐藤陽治, 「リスクコミュニケーションのモデル形成事業」市民シンポジウム 再生医療の未来を創る～リスクとベネフィットを考える～, 2016/12/23, 国内.
2. 再生医療の安全性評価のための科学-新しい医療製品のリスクの発生源をどう測るか-, 口頭, 佐藤陽治, 「リスクコミュニケーションのモデル形成事業」市民シンポジウム 再生医療・遺伝子治療の未来へ～リスクとベネフィットを考える～, 2016/7/23, 国内.

(4) 特許出願

特記事項なし

平成 28 年度 医療研究開発推進事業費補助金
成果報告書

I. 基本情報

事業名 : 再生医療実用化研究事業
Research Project for Practical Applications of Regenerative Medicine

補助事業課題名 : ヒト幹細胞の造腫瘍性における病態解明とその克服に関する研究
Etiological approaches for prevention of malignant tumors derived from human stem cell-based products

補助事業担当者 国立医薬品食品衛生研究所 再生・細胞医療製品部 室長 安田 智
所属 役職 氏名 : Satoshi Yasuda, Chief, Division of Cell-Based Therapeutic Products, National Institute of Health Sciences

実施期間 : 平成 28 年 4 月 1 日 ～ 平成 29 年 3 月 31 日

分担研究 モデル動物による腫瘍形成と病理学的評価および行政指針案の作成
分担課題名 : Evaluation of tumor formed in model animals and preparation of a draft guidance document

補助事業分担者 国立医薬品食品衛生研究所 再生・細胞医療製品部 室長 安田 智
所属 役職 氏名 : Satoshi Yasuda, Chief, Division of Cell-Based Therapeutic Products, National Institute of Health Sciences

II. 成果の概要（総括研究報告）

本研究では、主に造腫瘍性リスクの質的把握に関して、とくに、原材料としての各種ヒト iPS/ES 細胞の造腫瘍性に関する発生頻度、病理学的特性の差異と機序、その検査方法の観点から検討し、対応策等の研究開発を行うことを目的としている。当該年度(H28 年度)は以下のような研究開発を行った。

1. ヒト iPS/ES 細胞株に由来する腫瘍の発生頻度、病理学的特性の差異と機序、検査法の検討について

1.1 ヒト iPS/ES 細胞株の種類及び起源が異なることによる影響について

ヒト iPS 細胞 10 株を一定条件下で継代・培養し、重度免疫不全動物 NOG マウスに皮下投与し、腫瘍形成のモニターを既に行っている。1) 昨年度からサンプルを追加して、形成が認められたすべての腫瘍において病理学的評価を行ったが、悪性像は認められなかった。2) 投与に用いた iPS 細胞 10 株の網羅的遺伝子発現データを用いて、発現量と造腫瘍性に有意に相関する 22 遺伝子を統計学的手法により同定した。3) 投与に用いたヒト iPS 細胞 10 株のエクソン領域の DNA 配列データを次世代シーケンサーによって取得し、計 614 のがん関連遺伝子において変異の解析を行った。

1.2 培養条件の差異が奇形腫悪性化へ及ぼす影響について

ヒト iPS 細胞株を、異なる培地を用いたシングルセル培養により培養・継代したところ、細胞の未分化細胞マーカーの発現量は同等であるが、形態と増殖性が著しく異なることが昨年度までに分かっている。これらの iPS 細胞を NOG マウスに皮下投与し、造腫瘍性の比較を行ったが、ほとんど差は見られなかった。形成腫瘍の病理学的評価も行ったが、培養条件による違いは認められなかった。

1.3 ゲノム編集によるがん関連遺伝子変異ヒト iPS/ES 細胞株の作製とその活用について

CRISPR/Cas9 システムを用いたゲノム編集によって、ヒト iPS 細胞株の特定のがん関連遺伝子に変異を挿入した細胞株を、昨年度までの研究において作製した。これらのヒト iPS 細胞ががん関連遺伝子変異株について、解析に用いるため拡大培養と再シーケンシングによる変異挿入の再確認を行った。その結果を踏まえて、造腫瘍性試験に使用する変異株を 9 株選定し、NOG マウスの皮下に投与し、腫瘍形成をモニターした。また、これら変異株の網羅的遺伝子発現データをジーンチップを用いて取得した。

2. ヒト iPS/ES 細胞に由来する腫瘍の病理学的特性検査方法の確立と予防策（対策）の検討について

本年度まで原材料としてのヒト iPS 細胞の病理学的特性検査法の提示と予防策の提示を目指して研究を行った結果、ヒト iPS 細胞の種類・起源や培養条件の差にかかわらず病理学的評価において悪性像は見られないことが明らかになったため、この得られた知見を学会・論文発表する準備を行っている。

3. ヒト iPS/ES 細胞等に由来する再生医療製品の造腫瘍性に関する行政指針案の作成について

本年度までの結果を総合的に検討し、また、他の AMED 研究課題との連携を図り、次年度（最終年度）終了までに行政指針案をまとめることを目指す。現時点では、その体系化に向けての多角的な検討を繰り返しているところであり、まずは素案作成のための検討を重ねている段階である。

In this research project, we aim to prepare measures to understand qualitative tumorigenicity risks, particularly regarding incidence, difference in and mechanism by pathological attribute, and testing associated with tumorigenicity of various human iPSC cells (iPSCs) and ES cells (ESCs) as raw materials. In this year, we worked on the following subjects.

1. Studies on incidence, difference in and mechanism by pathological attribute, and testing associated with tumorigenicity of human iPSC/ESC lines

1.1 Effects of difference in types and origins of human iPSCs/ESCs on tumorigenicity

NOG mice were subcutaneously injected with ten iPSC lines passaged and cultured under the same condition, and their tumor formation was observed. i) Pathological evaluation did not exhibited malignancy in specimens prepared from all of the isolated tumor. ii) We extracted 22 genes statistically related to tumorigenicity of iPSC lines using data of the tumorigenicity testing and the comprehensive gene expression analysis. iii) Mutations in the 614 cancer-associated genes was investigated in ten human iPSC lines used for tumorigenicity testing with whole exome sequencing data analysis.

1.2 Effects of difference in culture conditions of human iPSCs/ESCs on tumorigenicity

Difference in culture medium used for single-cell passages of human iPSCs markedly influenced on morphology and proliferation of cells but not levels of pluripotency markers. Human iPSCs cultured under these conditions were subcutaneously injected into NOG mice, and the tumor formation was examined. However, we observed no difference in the incidence of tumor formation between iPSCs cultured in the different medium. Pathological evaluation also identified no difference in germ layer differentiation and degrees of maturation between iPSCs cultured under the indicated conditions.

1.3 Establishment and application of human iPSCs/ESCs having mutations in cancer-associated genes generated with a genome editing technology

We prepared human iPSC lines having mutations in the cancer-associated genes using CRISPR/Cas9 genome editing system. These iPSC mutants were expanded, and the sequence inserted into target genes was reconfirmed by resequencing. Nine iPSC mutant lines were selected and used for tumorigenicity testing with NOG mice. We also obtained comprehensive gene expression data of the nine iPSC mutant lines using GeneChip.

2. Establishment of pathological attribute testing of tumor derived from human iPSCs/ESCs and studies on preventive measures

As the results of our research to aim at reporting pathological attribute testing of tumor derived from human iPSCs/ESCs and the preventive measures, pathological evaluation did not show malignancy of formed tumor derived from iPSCs even though the difference in types, origins, and culture conditions of iPSCs. We are preparing to report these results.

3. Preparation of a draft guidance document on tumorigenicity of regenerative medical products derived from human iPSCs/ESCs

Totally considering the obtained results, we will coordinate with other AMED projects and aim to summarize a draft guideline document by the end of this research project. At present, we repeatedly consider from multiple points of view to prepare a draft.

III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧（国内誌 0 件、国際誌 4 件）

1. Application of cell growth analysis to the quality assessment of human cell-processed therapeutic products as a testing method for immortalized cellular impurities. Hasebe-Takada N, Kono K, Yasuda S, Sawada R, Matsuyama A, Sato Y. (2016) *Regen. Ther.* 5, 49-54.
2. Glutamine oxidation is indispensable for survival of human pluripotent stem cells. Tohyama S, Fujita J, Hishiki T, Matsuura T, Hattori F, Ohno R, Kanazawa H, Seki T, Nakajima K, Kishino Y, Okada M, Hirano A, Kuroda T, Yasuda S, Sato Y, Yuasa S, Sano M, Suematsu M, Fukuda K. (2016) *Cell Metab.* 23, 1-12.
3. TRPC3 positively regulates reactive oxygen species driving maladaptive cardiac remodeling. Kitajima N, Numaga-Tomita T, Watanabe M, Kuroda T, Nishimura A, Miyano K, Yasuda S, Kuwahara K, Sato Y, Ide T, Birnbaumer L, Sumimoto H, Mori Y, Nishida M. (2016) *Sci. Rep.* 6, 37001.
4. TRPC3-GEF-H1 axis mediates pressure overload-induced cardiac fibrosis. Numaga-Tomita T, Kitajima N, Kuroda T, Nishimura A, Miyano K, Yasuda S, Kuwahara K, Sato Y, Ide T, Birnbaumer L, Sumimoto H, Mori Y, Nishida M. (2016) *Sci. Rep.* 6, 39383.

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. Challenges for standardization of tumorigenicity-associated testing methods for human cell-based therapeutic products: introduction of a draft guidance document, 口頭, 安田智, 第 16 回日本再生医療学会総会, 2017/3/7, 国内.
2. 不死化網膜色素上皮細胞マーカーIRM1 の機能解析, 口頭, 黒田拓也, 安田智, 中島啓行, 松山さと子, 高田のぞみ, 草川森士, 梅澤明弘, 松山晃文, 川真田伸, 佐藤陽治, 第 16 回日本再生医療学会総会, 2017/3/8, 国内.
3. ヒト神経前駆細胞の悪性形質転換細胞検出試験, ポスター, 草川森士, 安田智, 黒田拓也, 佐藤陽治, 第 16 回日本再生医療学会総会, 2017/3/8, 国内.
4. 再生医療に関連するレギュラトリーサイエンス, 口頭, 安田智, 第 27 回クロマトグラフィー科学会議, 2016/11/17, 国内.
5. 再生医療等製品の造腫瘍性関連試験法, 口頭, 安田智, 第 22 回 GLP 研修会(東京), 2016/9/26, 国内.
6. Assessment of genetic instability in human induced pluripotent stem cells during long-term

cell culture, Miura T, Okamura K, Yasuda S, Umezawa A, Sato Y, ポスター, International Society for Stem Cell Research 2016 Annual Meeting, 2016/6/23, 国外.

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み
特記事項なし

(4) 特許出願
特記事項なし