

平成 28年度 委託研究開発成果報告書

I. 基本情報

事業名 : 再生医療の産業化に向けた評価基盤技術開発事業  
Project Focused on Developing Key Evaluation Technology: Manufacturing  
Technology for Industrialization in the Field of Regenerative Medicine

研究開発課題名 : 再生医療の産業化に向けた細胞製造・加工システムの開発  
Development of Cell Production and Processing Systems for Commercialization  
of Regenerative Medicine

研究開発担当者 幹細胞評価基盤技術研究組合 理事長 吉岡 康弘  
所属 役職 氏名 : Stem Cell Evaluation Technology Research Association President  
Yasuhiro Yoshioka

実施期間 : 平成 28年 4月 1日 ~ 平成 29年 3月 31日

分担研究① ヒト多能性幹細胞由来の再生医療製品製造システムの開発(網膜色素上皮・肝細胞)  
開発課題名 : Development of Cell Production and Processing Systems for human pluripotent  
stem cells of Regenerative Medicine (Retinal pigment epithelium, Liver cells)  
研究開発分担者 大阪大学大学院工学研究科 生命先端工学 教授 紀ノ岡 正博  
所属 役職 氏名 : Division of Advanced Science and Biotechnology Graduate School of Engineering,  
Osaka University Professor Masahiro Kino-oka

分担研究② ヒト間葉系幹細胞由来の再生医療製品製造システムの開発  
開発課題名 : Development of Cell Production and Processing Systems for Mesenchymal stem cell  
of Regenerative Medicine  
研究開発分担者 国立成育医療研究センター 部長 阿久津 英憲  
所属 役職 氏名 : National Center for Child Health and Development  
Director Hidenor Akutsu

分担研究③ ヒト多能性幹細胞由来の再生医療製品製造システムの開発（心筋・神経）  
開発課題名： Development of a regenerative medicine product manufacturing system of human pluripotent stem cell origin (Cardiomyocytes and Nerve)  
研究開発分担者 京都大学 ウイルス・再生医科学研究所 特任教授 中辻 憲夫  
所属 役職 氏名： Institute for Frontier Life and Medical Sciences  
kyoto University Professor Emeritus Norio Nakatsuji

## II. 成果の概要（総括研究報告）

### ① ヒト多能性幹細胞由来の再生医療製品製造システムの開発(網膜色素上皮・肝細胞)

iPS細胞を原料とする網膜色素上皮細胞の製造技術開発では、大阪大学集中研究所（以下、阪大集中研）にて、省スケール自動培養モジュールとインキュベータモジュールを中心とした、製造システム試作機による工程自動化を進めている。平成28年度は、システムの内での手作業による全ての工程の標準操作（SOP）準備を完了した。自動操作に最適化できた工程については、澁谷工業にてプログラミングを実施し、検証を進めた。並行して、観察装置付インキュベータモジュールを阪大集中研に搬入し、工程内において運用を実施することで検証を進めた。

大量培養モジュール開発では、阪大集中研にて未分化iPS細胞の拡大培養手順構築を行っている。方式の異なる500 mLと1 Lの培養装置による培養培地交換の工程手順構築に向け、デバイスの準備と操作条件の検討を行った。20 Lの培養装置でのシングルユース培養容器開発では、新たに開発したpHセンサーの組み込みを実施し、検証を行った。基本手順では、5 Lの培養容器を用いて $6 \times 10^9$ 個のiPS細胞の培養を達成し、目標とする $10^{10}$ 個/バッチ以上の細胞を回収可能とする技術を構築する知見を得ることができた。並行して、高密度集塊培養の可能なディンプル容器や、細胞回収が容易な細胞集塊作製の容器の開発に係る、基礎技術の構築に向けた試作・検討を行った。

製造システム構築に必要な培養基質やデバイス等の開発も順調に進んでいる。特に、ラミニン511-E8を用いた容器コート剤については、希釈工程の不要な1×コーティング剤およびプレコート培養容器の開発を達成した。本技術は、調整費の活用により、市販に向けた検証も完了することができた。また、未分化iPS細胞の浮遊攪拌では、ヘマグルチニンによる無継代培養の条件最適化のための検討が行われた。

さらに、評価技術についても、接着培養における未分化細胞の評価ソフトウェアの構築や、浮遊攪拌培養における細胞集塊評価ソフトウェアの作成を実施した。分離・精製工程の開発では、レクチンを応用した未分化除去技術の評価や、これまでに探索した分離能要素の有効性検証が行われた。また、下工程（梱包・形成および保存）に係る技術では、これら一連の工程を見据え、製造のロットスケールの決定（考え方）に係る技術の構築を開始した。

製造システムの構築に向けたつなぐ技術の開発では、阪大集中研において、試作されたモジュール群を用いて未分化iPS細胞培養工程の一貫した自動製造と、キャリブレーションを利用した各工程の操作・動作の検証を実施した。モジュール群には、サンプリングユニットとして、培地成分測定装置と細胞カウンターが連携し、液送デバイスがアイソレータ内から無菌的に少量のサンプリングが行えることを確認した。並行して、搬入用のポッドに係る開発や、工程間のインターフェイス除染時間短縮のための検討も実施された。製造システムの開発に不可欠な、スケジューラの開発も進められ、実工程での連携に向けた評価テストが実施された。また、複数のアカデミア機関（東大、産総研、名大、阪大）で連携し、実用を見据えた大量培養・分化系の評価・予測技術の確立に向けて、シミュレーターの構築に係る検討が行われた。

市場獲得戦略では、産業化・事業化を巡る動向の分析と製造コスト評価を実施した。阿久津グループと共同にて、戦略ワーキングを定期的実施し、平成29年2月には顧客候補となる企業を対象に第三回ユーザーフォーラムを開催した。また、標準化においても、細胞システムを効率的に運用するために不可欠な、無菌性維持に係る汚染リスクの考え方や細胞加工におけるプロセスシミュレーションの考え方について検討を行い、標準化や指針案作成に係る他プロジェクト（経産省ガイドライン、ISO、厚労科研、等）との連携を行った。

## **Development of Cell Production and Processing Systems for human pluripotent stem cells of Regenerative Medicine (Retinal pigment epithelium, Liver cells)**

We are going on a development of the cell production system, which is composed of automated cell processing manipulators and various functional isolator modules connectable aseptically in the Osaka University centralized R&D laboratory (OCL). In the FY 2016, standard operation procedures of all the processes for a product (retinal pigment epithelium), which are for manual manipulations in a processing module of the system, have been prepared. When the procedures were optimized for automated manipulation, they were installed to the system in phases. After the installation, program verifications were carried out by practices of the cell processing processes.

A process procedure design for iPS cell expansion is also proceeded in the OCL. Two medium change procedures, which are two different methods using single-use vessels of 500 mL or 1 L, were tried in parallel to construct the optimized condition of the operation procedures. A new pH sensor for the large scale single-use culture bag (20 L) was developed and verified in the OCL. For the purpose of 10<sup>10</sup> cells expansion, 6×10<sup>9</sup> of iPS cells could be obtained by culturing up to a bioreactor of 5 L scale and the problems, which were occurred in the process, were picked out. In addition, two types of culture vessel, having a bottom of many small dimples, have been developed for high-density culture of agglomerative cells. Furthermore the investigation of particulars to hurdle in the downstream process design also have been carried out.

We have gotten a good result in the development of essential substrates for culture. A 1x coating reagent of the laminin 511-E8 fragment, which is unnecessary dilution and optimized for automation, has been developed, and certificated by iPS cell culture. In parallel, a laminin pre-coated culture vessel has been also developed, and both were decided to be on sale. We have become to obtain the hemagglutinin reagent stably, and the functional characteristics are being investigated for development of the culture method without passage culture.

For quality control or process control, two application software for parametric analysis of live human iPS cells (colony or agglomeration) have been developed. Furthermore, an elimination method of tumorigenic human iPS cells using a recombinant lectin derivative was investigated to clarify the possibility for adopting in the cell production process.

To construct a production control and management system, some cell manufacturing trials of the partial process and the observational study of operational movement using a calibrator equipment were carried out in the OCL. A sampling device has been developed and installed in an isolator module, and a sampling of small amount of cell suspension or culture medium was successfully realized. For simplification of the process operations, a prototype of material loading pod was developed, and the amount time of an interface decontamination was shortened by modification of the pipe laying. In parallel, a prototype of production/process scheduler and some programs of simulator for process design were developed.

In the marketing and strategy for industrialization, an analysis of the market and a production cost simulation were carried out. For a direct marketing and an outreach, the 3th User Forum was held in February 2017, collaborated with the Akutsu (MSC) group. Furthermore, the findings obtained in this project have been used for standardization (ISO) and preparation of guidelines.

## ② ヒト間葉系幹細胞由来の再生医療製品製造システムの開発

本事業では、「間葉系幹細胞を用いた再生医療」の高度化を目指し、ヒト間葉系幹細胞由来の再生医療製品製造システムの開発を行うことを目的とした。本事業の成果は、骨髄／臍帯／軟骨由来の間葉系幹細胞を、変形性関節症に対する臨床1回に必要な細胞量の約70倍に相当する細胞数を確保することが可能なシステムを完成し、さらに新規細胞評価法や凍結保存の質向上と保存・移送工程の細胞環境管理システムを製品化まで達成したことで社会が享受できる間葉系幹細胞の再生医療の発展に貢献できた。

3-1. 3種類の由来が異なるヒト体性幹細胞の採取／提供：3種類の由来が異なる（骨髄、臍帯、軟骨）体性幹細胞株を新たに樹立した。骨髄、脂肪、臍帯由来間葉系幹細胞及び増殖性軟骨細胞について、本プロジェクトで開発した培地での培養を行い、増殖能、分化能（骨、脂肪、軟骨）を検証し、本プロジェクトの研究機関へ提供した。

3-2. 間葉系幹細胞の分離精製装置の開発：本体開発では、純度90%以上のソート性能の分離精製用アイソレータ本体設計・作製を完了した。さらに、細胞製造アイソレータ連動分離精製装置の高効率化使用を達成するアイソレータ用大型インキュベータを開発し全システムの稼働実証を達成し、特許化し製品化への目処がたった。

3-3. ヒト間葉系幹細胞の品質評価システムの研究開発：間葉系幹細胞の骨/軟骨分化能ポテンシャルを評価できる遺伝子発現測定キットおよびレクチン（ELISA法）測定キット開発を行った。骨/軟骨分化能判別マーカー遺伝子の発現を検出するqPCR用キットを開発し製品化上市に至った。さらに、培養培地のみで細胞品質評価可能な測定キットの実用化を達成した。細胞ゲノム品質評価キットの開発では、PMDA科学委員会等が公表した腫瘍関連プローブを高密度に搭載したアレイCGH法を構築し、培養工程および細胞製品でのゲノムコピー数異常を高精度に行う品質評価サービス（C3チェックサービス）を上市することが出来た。

3-4. 間葉系幹細胞維持培養法・自動培養技術に係わる研究開発：バック培養法を用いた自動培養装置で変形性関節症に対する約70細胞シート製造に相当する $1 \times 10^8$  cellsを目標細胞量とした拡大培養プログラム化の構築を行い、幹細胞用自動培養装置を上市した。培養環境の効率化では、培地とGMP準拠のリコンビナントタンパク質（RCP）の添加方法及び処方量を検討し間葉系幹細胞の接着および初期増殖を促進することを見出し、特許出願を行った。また、軟骨分化能を維持したまま培養可能な、再生医療用培地の開発に成功した。

3-5. 移植用細胞の輸送可能な保存技術の研究開発：複数種の間葉系幹細胞を用いた凍結保存・融解試験から最も効果の高い組成培地を選定できた。さらに、この培地組成でGMPに準拠した生産体制を整え、日本初のGMP準拠凍結保存液2種を上市した。温度履歴情報統合管理システムを開発し、ヒト間葉系幹細胞を用いて試料の凍結保存、搬送、解凍に至る温度履歴情報の収集が可能な事を実証し、製品化した。また試料搬送に利用可能な簡易凍結搬送容器を試作し特許申請を行った。

3-6. 変形性関節症に対する適用検証：膝軟骨再生医療非臨床試験として日本白色家兎の膝軟骨全層欠損モデルを構築し異種移植によるヒト細胞の評価系を確立し、関節軟骨再生に関する評価指標（厚生労働省課長通知薬生機審発0630第1号）の策定に貢献した。

3-7. 市場獲得戦略の構築：アウトリーチ活動の一環としてユーザーフォーラムは各年度開催した。また、コスト計算調査、標準化連携、内外動向調査等により総合戦略の構築を進めた。

## **Development of Cell Production and Processing Systems for Mesenchymal stem cell of Regenerative Medicine**

In this project, with the aim of improving "regenerative medicine using MSCs", we are developing a manufacturing system for cellular products derived from human MSCs. The outcome of this project is a system that can secure mesenchymal stem cells derived from bone marrow / umbilical cord / cartilage, the number of cells equivalent to about 70 times the amount of cells required for one clinical treatment for osteoarthritis. Furthermore, we successfully achieved the product development of new cell evaluation method, quality improvement of cryopreservation and cell environment management system in storage and transfer process, so our project could contribute to further development of regenerative medicine industry.

Primary cell lines (from bone marrow, umbilical cord and cartilage tissues) were originally derived and provided to this project. These cell lines were examined biological characteristics and used to verify our developing products.

We designed and developed a cell sorter system joined in the isolater to achieve purification target cells with 90% purification. And a novel large-scale incubator suited for an isolater was originally developed to achieve ten times volume than commercial product.

We developed a gene expression measurement kit and a lectin (ELISA) assay kit that can evaluate differentiation potential of MSCs. Regarding genomic stability assay of MSCs, a custom array CGH kit with high density mounting of tumor-related probes which were including all recommendations of the PMDA Scientific Committee. The array CGH kit (C3 check service) was confirmed detectability of genomic copy number abnormality against cellular products with high accuracy.

Appropriate program for scalable MSCs was developed into an automated cell culture system by using closed culture bags. Large volume equivalent of  $1 \times 10^8$  cells to production of 70 transplantable cell sheets was achieved. To improve the efficiency of the culture environment, a novel application was found that a prescription of GMP compliant recombinant protein (RCP) promotes adhesion and initial proliferation of MSCs. Moreover, culture medium for regenerative medicine is developed. Cryoprotectants have prepared under GMP conditions, and launched two kinds of Japan's first GMP-compliant cryopreservation media. We have developed a temperature information chronologically integrated management system and demonstrated that such system was suitable for cell product preservation/transportation. And a prototype simple freezing transport container was developed and filed a patent application.

Application validation for osteoarthritis: knee cartilage regeneration medicine As a nonclinical study for gaining POC, a model of knee cartilage full layer deficiency in Japanese white rabbits was established. The xenotransplantation model for cartilage regeneration medicine was finalized.

As outreach activities, user forums were held each fiscal year. We also proceeded with the construction of a comprehensive strategy by cost calculation survey, standardization collaboration, internal and external trend survey.

### ③ ヒト多能性幹細胞由来の再生医療製品製造システムの開発(心筋・神経細胞)

再生医療製品、及びその原料となるヒト幹細胞を製造・加工する上で必要となる、拡大培養、分化誘導（培養）、品質管理（評価）、加工、保存（凍結・解凍）等の各プロセス及びプロセスの正確性・確実性を担保するための工程管理技術について、個別要素技術の自動化装置や培地・基材等の周辺製品を開発する。更に、これらを最適に組み合わせ連携させた製造システムの構築を行う。以下具体的な成果について記載する。

#### (1) 拡大培養関係

培地と培養法の開発：複数化合物による安定品質の低コスト培地開発においては大量自動培養に適した培地開発に向けた進捗が得られた。また心筋及び神経細胞の分化についても大量自動培養に適した分化法の開発を行った。

大量自動培養装置の開発：自動培養装置を用いた拡大培養及びパーキンソン病治療に用いられるドーパミン神経細胞の作製を予定通り実施できた。また無攪拌浮遊培養大量自動培養装置開発では 10L スケール（ $10^{10}$ 個の多能性幹細胞の拡大培養）の装置改良を実施した。

分離・精製：ヒト多能性幹細胞を選択的に死滅させる化合物を開発し、優れた選択性を示した。また滅菌閉鎖系使い捨てマイクロ流路チップでの分化細胞を高純度で分取する技術を確立した。

加工及び評価：心筋については配向性ナノファイバーと組み合わせた心筋-材料融合型組織片を作製し、ラット心筋梗塞モデル動物への移植による心機能の改善がみられた。また心筋細胞の心筋への注入による移植と定着は、心筋梗塞モデルサルで確認された。一方、細胞積層技術による脊髄領域特異的な神経三次元組織の構築に成功し、脊髄損傷モデルラットへの移植による評価を実施中である。

品質管理/評価：ヒト多能性幹細胞および分化細胞の各種品質管理に関わる検査項目の設定を行うと共に、本プロジェクトの無攪拌浮遊培養および自動培養装置により得られた細胞サンプルのデータ取得（機能評価、安全性リスク評価）と解析および装置開発へのフィードバックを行った。また核型、ゲノム、エピゲノム解析等のための新規解析技術の開発や自動化装置を作成すると共に、細胞製造システムにおける品質管理工程の文書体系およびその運用方法の設計と構築を進めた。

保存及び輸送：製品化されたヒト多能性幹細胞の凍結保存液を分化細胞についても開発を進めた。

また、液体窒素の混入を防ぐ細胞凍結容器についても製品化を進めた。細胞製品の搬送システム開発では、長期搬送可能な搬送用細胞容器を開発、市販化した。

市場・競合の評価・予測：本プロジェクトが対象とする疾患（心筋梗塞、神経疾患）について、事業計画立案に関する市場・競合情報の調査と評価を行った。製造コストについて試算を実施した。またこれらの調査結果を再生医療用細胞製品の事業化検討に用いた。

#### (2) システム構築関係

細胞製品製造システムの構築：集中研（神奈川県殿町ライフイノベーションセンター 1 階に構築）については、集中研に設置される各種製造装置と製造工程管理システムのインタフェースについて具体的な設計を進め、必要最小機能の施設構成で半分が完成した。また製造工程管理システムの保守運用面のコストとセキュリティを考慮した IT システムの設計を進めた。

製造工程における品質管理：細胞製造に関わる原材料、製造工程、品質検査などの各種の管理項目を抽出したソフトウェアシステムのプロトタイプを作成し主に京都大学にて試行運用を実施した。並行して、細胞製品製造施設で稼働する統合システムの実証版について検討を進めた。

再生医療用細胞製品の事業化検討

集中研の計画は上記の研究開発項目（細胞製品製造システム構築・製造工程品質管理）を中心に進行中である。

併せて経済性予測を進めるとともに現在、事業化へ向けた連携計画の検討を進めている。

## **Development of a regenerative medicine product manufacturing system of human pluripotent stem cell origin (Cardiomyocytes and Nerve)**

In this project we develop regenerative medical products such automated devices, culture media and substrates as individual elemental technologies concerning each process control technology for ensuring process accuracy and reliability. Furthermore, we construct a manufacturing system in which these are optimally combined and linked.

### **(1) Large scale production**

**Culture medium and methods development:** About low-cost medium of stable quality with multiple compounds and the methods of differentiation for cardiomyocytes & neurons we obtained the developmental results suitable for large-scale automatic culture. **Large scale automatic culture equipment development:** Expansion culture using an automatic culture device and preparation of dopaminergic neurons could be carried out on schedule. And in the no-stirring suspension culture large-scale automatic culture bioreactor (10<sup>10</sup> cells/10L scale) has been improved. **Separation and purification:** We developed a compound that selectively kills human pluripotent stem cells and showed excellent selectivity. **Processing and evaluation:** Regarding cardiomyocytes, construct cardiac tissue-like graft by biodegradable polymer aligned nanofiber were prepared and cardiac function was improved by transplantation into a rat myocardial infarction model. **Quality control / evaluation:** We conducted data acquisition of cell samples obtained by non-stirring suspension culture and automatic culture apparatus of this project and feedbacked to analysis and device development. We developed new analytical techniques for karyotype, genome, epigenome analysis etc. and we have advanced the design and construction of the document system of the quality control process in the cell manufacturing system and its operation method. **Preservation and transportation:** We developed a cryopreservation solution of human pluripotent stem cells and differentiated cells. We also promoted commercialization of cell freezing containers that prevent liquid nitrogen contamination. In the development of a transport system for cell products, we developed and marketed a cell container for transport that can be transported for a long time. **Evaluation and prediction of the market and competition:** For the diseases (myocardial infarction and neurological diseases) targeted by this project, we surveyed and evaluated market and competitive information on business plan planning. We estimated the manufacturing cost.

### **(2) Manufacturing system construction**

**Construction of cell product manufacturing system:** Concerning the interface between various manufacturing equipment and manufacturing process management system installed in the Intensive Research Laboratory of Nakatsuji Kyoto University (IRLNKU), the concrete design was advanced about IRLNKU and half was completed at the facility by minimum required function. **Quality control in manufacturing process:** We created a prototype of a software system that extracted various control items by mainly at Kyoto University. In parallel, we proceeded with a study of a demonstration version of an integrated system that operates at a cell product manufacturing facility. **Investigation of commercialization of regenerative medicine cell products:** The plan of IRLNKU is underway mainly on the above-mentioned research and development items. In addition to promoting prediction of economic efficiency, we are currently examining cooperation plans for commercialization.



### 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 2 件、国際誌 16 件）

【分担研究①】

著者名	タイトル	掲載誌名	発表年、巻、号、 頁
<u>Mika Suga</u> , Saoko Tachikawa, Daiki Tateyama, Kiyoshi Ohnuma, <u>Miho K. Furue</u>	Imaging-cytometry revealed spatial heterogeneities of marker expression in undifferentiated human pluripotent stem cells	In Vitro Cell Dev. Biol.—Animal	(2016)doi:10.1007/s11626-016-0084-3
<u>Ikki Horiguchi</u> , <u>Yasuyuki Sakai</u>	Serum replacement with albumin-associated lipids prevents excess aggregation and enhances growth of induced pluripotent stem cell in suspension culture	Biotechnology Progress	doi:10.1002/btpr.2301
<u>Manabu Mizutani</u> , Hazuki Samejima, Hiroshi Terunuma, <u>Masahiro Kino-oka</u>	Experience of contamination during autologous cell manufacturing in cell processing facility under the Japanese Medical Practitioners Act and the Medical Care Act	Regenerative Therapy	5; 25-30 (2016) doi:10.1016/j.reth.2016.06.004
<u>Ryuji Kato</u> , Megumi Matsumoto, Hiroto Sasaki, Risako Joto, Mai Okada, Yurika Ikeda, <u>Kei Kanie</u> , <u>Mika Suga</u> , Masaki Kinehara, Kana Yanagihara, Yujung Liu, Kozue Uchio-Yamada, <u>Takayuki Fukuda</u> , <u>Hiroaki Kii</u> , Takayuki Uozumi,	Parametric analysis of colony morphology of non-labelled live human pluripotent stem cells for cell quality control	Scientific Reports	6, 34009; doi:10.1038/srep34009 (2016)

Hiroyuki Honda, <u>Yasujiro Kiyota</u> , <u>Miho K Furue</u>			
Suman Chandra Nath, Eiji Nagamori, Masanobu Horie, Masahiro Kino-oka	Culture medium refinement by dialysis for the expansion of human induced pluripotent stem cells in suspension culture	Bioprocess and Biosystems Engineering	doi 10.1007/s00449-016-1680-z
Masaki Yano, Takuya Yamamoto, <u>Yasunori Okano</u> , <u>Toshiyuki Kanamori</u> , <u>Masahiro Kino-oka</u>	Investigation of particle behavior in a stirred tank for optimization of suspension culture of iPS cell	Proceedings of the 27th International Symposium on Transport Phenomena	2016/9/22
Yuki Kagawa, <u>Masahiro Kino-oka</u>	An <i>in silico</i> prediction tool for the expansion culture of human skeletal muscle myoblasts	Royal Society Open Science	<i>R. Soc. open sci.</i> 3: 160500. <a href="http://dx.doi.org/10.1098/rsos.160500">http://dx.doi.org/10.1098/rsos.160500</a>
Masaki Yano, Takuya Yamamoto, <u>Yasunori Okano</u> , <u>Toshiyuki Kanamori</u> , <u>Masahiro Kino-oka</u>	Numerical study of fluid dynamics and particle behavior in an iPS cell culture tank	Proceedings of the 23th Regional Symposium on Chemical Engineering	2016/10/28
Risako Nagasaka, Yuto Gotou, Kei Yoshida, <u>Kei Kanie</u> , <u>Kazunori Shimizu</u> , Hiroyuki Honda, <u>Ryuji Kato</u>	Image-based cell quality evaluation to detect irregularities under same culture process of human induced pluripotent stem cells	J. Biosci. Bioeng.	pii:S1389-1723(16)30358-9. doi:10.1016/j.jbiosc.2016.12.015. 2017/2/8
Risako Nagasaka, Megumi Matsumoto, Mai Okada, Hiroto Sasaki, <u>Kei Kanie</u> , <u>Hiroaki Kii</u> , Takayuki Uozumi, <u>Yasujiro Kiyota</u> , Hiroyuki Honda, <u>Ryuji Kato</u>	Visualization of morphological categories of colonies for monitoring of effect on induced pluripotent stem cell culture status	Regenerative Therapy	6, 41–51 (2017)

<u>Mee-Hae Kim</u> , Yo Sugawara, <u>Yukako Fujinaga</u> , <u>Masahiro Kino-oka</u>	Botulinum hemagglutinin- mediated selective removal of cells deviating from the undifferentiated state in hiPSC colonies	Scientific Reports	7: 93 DOI:10.1038/s4159 8-017-00083-1
--	--	--------------------	---

[分担研究②]

タイトル	著者名	掲載誌名	発表年、巻、号、頁
Defining quality attributes to enable measurements assurance for cell therapy products	Sheng Lin-Gibson, Sumona Sarkar, <u>Yuzuru Ito</u>	Cytotherapy	(2016) 18:1241-1244
4 節 ヒト iPS 細胞自動培養装置の 開発とその利用	<u>伊藤弓弦</u>	i P S 細胞の安全・高 品質な作製技術 ～移植臓器の開発、創 薬活用、量産技術な ど、臨床応用／産業化 までのロードマップ ～ (技術情報協会)	(2016) pp314-319

【分担研究③】

タイトル	著者名	掲載誌名	発表年、巻、号、頁
Allogeneic transplantation of iPS cell-derived cardiomyocytes regenerates primate hearts	<u>Yuji Shiba</u> , Toshihito Gomibuchi, Tatsuichiro Seto, Yuko Wada, Hajime Ichimura, Yuki Tanaka, Tatsuki Ogasawara, Kenji Okada, Naoko Shiba, Kengo Sakamoto, Daisuke Ido, Takashi Shiina, Masamichi Ohkura, Junichi Nakai, Narumi Uno,	Nature	2016,538: 388-391

	Yasuhiro Kazuki, Mitsuo Oshimura, <u>Itsunari Minami</u> , Uichi Ikeda		
Efficient adhesion culture of human pluripotent stem cells using laminin fragments in an uncoated manner	<u>Takamichi Miyazaki</u> , Takehisa Isobe, <u>Norio Nakatsuji</u> , <u>Hirofumi Suemori</u>	Scientific Reports	2017; 7: 41165-41172.
Efficient induction of dopaminergic neuron differentiation from induced pluripotent stem cells reveals impaired mitophagy in PARK2 neurons	Sadafumi Suzuki, <u>Wado Akamatsu</u> , Fumihiko Kisa, Takefumi Sone, Kei-Ichi Ishikawa, Naoko Kuzumaki, Hiroyuki Katayama, Atsushi Miyawaki, Nobutaka Hattori, <u>Hideyuki Okano</u>	Biochem. Biophys. Res. Commun.	2017, 483,88-93
A synthetic hybrid molecule for the selective removal of human pluripotent stem cells from cell mixtures	Di Mao, Shin Ando, Shin-ichi Sato, Ying Qin, Nao Hirata, Yousuke Katsuda, <u>Eihachiro Kawase</u> , Ting-Fang Kuo, <u>Itsunari Minami</u> , <u>Yuji Shiba</u> , Kazumitsu Ueda, <u>Norio Nakatsuji</u> , <u>Motonari Uesugi</u>	Angew. Chem. Int. Ed.	2017,56 (7):1765-1770
応用利用へ向けた低分子化合物によるヒト iPS 細胞の培養	<u>池田達彦</u> 、 <u>長</u> <u>谷川光一</u>	The Chemical Times	2016. 3. 7-11

## (2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

## 【分担研究①】

発表題目	口頭・ポスターの別	発表者氏名	発表した場所	発表した時期	国内・外の別
Development of culture strategies for stem cell maintenance and differentiation through regulation of cell behaviors	口頭	<u>Mee-Hae Kim</u>	韓国生物工学会 (KSBB) (慶州、韓国)	2016/4/22	国外
Glycan-targeted elimination of tumorigenic human pluripotent stem cells by an engineered lectin-toxin fusion protein drug	ポスター	<u>Hiroaki Tateno</u> , <u>Yasuko Onuma</u> , <u>Yuzuru Ito</u> , <u>Jun Hirabayashi</u>	International Society for Stem Cell Research 2016 (ISSCR 2016) Annual Meeting (San Francisco, California)	2016/6/22	国外
Development of a robust human iPSC culture-propagation strategy through botulinum hemagglutinin-mediated selective removal of deviated cells	ポスター	<u>Mee-Hae Kim</u> , <u>Masahiro Kino-oka</u>	International Society for Stem Cell Research 2016 (ISSCR 2016) Annual Meeting (San Francisco, California)	2016/6/23	国外
Effect of cell migration behavior on deviation from the undifferentiated state in colony of human induced pluripotent stem cells	ポスター	Eri Shizui, <u>Mee-Hae Kim</u> , <u>Masahiro Kino-oka</u>	International Society for Stem Cell Research 2016 (ISSCR 2016) Annual Meeting (San Francisco, California)	2016/6/22	国外
Novel <i>in vitro</i> assay system for incipient functional impairment of retinal toxicity using retina epithelial pigment cells	ポスター	Xie Yucheng, <u>Mee-Hae Kim</u> , <u>Masahiro Kino-oka</u>	International Society for Stem Cell Research 2016 (ISSCR 2016) Annual Meeting (San Francisco,	2016/6/24	国外

			California)		
State of the art technology for cell manufacturing	口頭	<u>Masahiro Kino-oka</u>	2016 Tissue Engineering and Regenerative Medicine International Society- Asia Pacific Meeting (TERMIS-AP 2016) (Taipei, Taiwan)	2016/9/5	国外
Designing culture microenvironments to direct stem-cell fate in the regulation of cell behaviors	口頭	<u>Mee-Hae Kim,</u> <u>Yuuki Ogawa,</u> <u>Masahiro Kino-oka</u>	2016 Tissue Engineering and Regenerative Medicine International Society- Asia Pacific Meeting (TERMIS-AP 2016) (Taipei, Taiwan)	2016/9/6	国外
Assessment of the difference of cell growth rate 1: the individual differences at the manufacturing using autologous cells under the cancer immunotherapy in Japanese clinical	ポスタ ー	<u>Manabu Mizutani,</u> Hazuki Samejima, Hiroshi Terunuma, <u>Masahiro Kino-Oka</u>	2016 Tissue Engineering and Regenerative Medicine International Society- Asia Pacific Meeting (TERMIS-AP 2016) (Taipei, Taiwan)	2016/9/4	国外
Assessment of the difference of cell growth rate 2: the influence of the storage period after the collection of blood for immune cell manufacturing in Japanese clinical	ポスタ ー	Hazuki Samejima, <u>Manabu Mizutani,</u> <u>Masahiro Kino-Oka,</u> Keisuke Ashiba, Hiroshi Terunuma	2016 Tissue Engineering and Regenerative Medicine International Society- Asia Pacific Meeting (TERMIS-AP 2016) (Taipei, Taiwan)	2016/9/4	国外

Investigation of particle behavior in a stirred tank for optimization of suspension culture of iPS cell	口頭	Masaki Yano, Takuya Yamamoto, <u>Yasunori Okano</u> , <u>Toshiyuki Kanamori</u> , <u>Masahiro Kino-oka</u>	The 27th International Symposium on Transport Phenomena (Honolulu, Hawaii)	2016/9/22	国外
Numerical study of fluid dynamics and particle behavior in an iPS cell culture tank	口頭	Masaki Yano, Takuya Yamamoto, <u>Yasunori Okano</u> , <u>Toshiyuki Kanamori</u> , <u>Masahiro Kino-oka</u>	The 23th Regional Symposium on Chemical Engineering (RSCE2016) (Vung Tau City, Vietnam)	2016/10/28	国外
Pump-free perfusion tissue culture plate for large-scale production of liver bud	ポスタ ー	<u>Tomoki Ohkubo</u> , <u>Masaki Kanai</u> , <u>Hirohisa Abe</u> , <u>Satoshi Ayano</u> , Hideki Taniguchi, <u>Masahiro Kino-oka</u>	The 20th International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences (MicroTAS 2016) (Dublin, Ireland)	2016/10/11	国外
Comprehensive cell manufacturing system based on flexible modular platform	ポスタ ー	<u>Masahiro Kino-oka</u> , <u>Manabu Mizutani</u>	Scale-up and Manufacturing of Cell-based Therapies V; An ECI Conference Series (ECI; Engineering Conferences International) (San Diego, California)	2017/1/16	国外
High density culture of human induced pluripotent stem cells through the refinement of medium by dialysis in suspension	口頭	Suman Chandra Nath, <u>Masahiro Kino-oka</u>	Scale-up and Manufacturing of Cell-based Therapies V; An ECI Conference Series (ECI; Engineering Conferences International)	2017/1/16	国外

			(San Diego, California)		
顕微鏡画像を用いた細胞形態情報解析による非破壊評価	口頭	<u>加藤 竜司</u>	日本組織培養学会第89回大会（大阪府豊中市）	2016/ 5/26	国内
iPS 細胞コロニーの画像情報解析を用いた培養手技の定量評価	ポスター	長坂 理沙子、 <u>蟹江 慧</u> 、 <u>清田 泰次郎</u> 、 古江・楠田 美保、 本多 裕之、 <u>加藤 竜司</u>	日本組織培養学会第89回大会（大阪府豊中市）	2016/5/25	国内
ヒト多能性幹細胞特異的プローブ rBC2LCN を用いた品質管理技術開発	口頭	<u>伊藤 弓弦</u>	日本組織培養学会第89回大会（大阪府豊中市）	2016/5/25	国内
ヒト多能性幹細胞の形態画像を用いた培養工程管理技術とその応用	口頭	<u>清田 泰次郎</u>	日本組織培養学会第89回大会（大阪府豊中市）	2016/5/26	国内
ヒト多能性幹細胞の形態評価測定法開発とその利用	口頭	<u>古江・楠田 美保</u>	日本組織培養学会第89回大会（大阪府豊中市）	2016/5/26	国内
再生医療の普及に向けた組織ファクトリーの運用評価	ポスター	<u>菊地 鉄太郎</u> 、 <u>小川 徹也</u> 、 <u>清水 達也</u>	第37回日本炎症・再生医学会（京都市）	2016/6/17	国内
iPS 細胞懸濁培養最適化のための粒子挙動の数値解析	口頭	矢野 雅貴、 山本 卓也、 高木 洋平、 <u>岡野 泰則</u> 、 <u>杉浦 慎治</u> 、 <u>金森 敏幸</u> 、 <u>紀ノ岡 正博</u>	化学工学会第48回秋季大会（徳島市）	2016/9/6	国内
Small-scale high-cell-density iPS cell suspension culture device using dialysis membranes for optimization of	ポスター	Hanbin Kim, <u>Ikki Horiguchi</u> , <u>Yasuyuki Sakai</u> ,	化学工学会第48回秋季大会（徳島市）	2016/9/7	国内



operations conditions					
静水圧で培養液を自動交換可能な細胞培養プレートの開発	ポスター	田中 浩貴、 <u>大久保 智樹</u> 、 叶井 正樹、 阿部 浩久、 <u>紀ノ岡 正博</u>	化学とマイクロ・ナノシステム学会 第34回研究会（千葉市）	2016/9/7	国内
Analysis of cell migratory dispersion through spatial measurement of nucleus density	ポスター	Ziyu Chen, 金 美海、 <u>紀ノ岡 正博</u>	第68回日本生物工学会大会（富山市）	2016/9/29	国内
密着結合タンパクの機能特性に基づいた網膜毒性の新規 in vitro 毒性評価系の構築	ポスター	Xie Yucheng, <u>金 美海</u> 、 <u>紀ノ岡 正博</u>	第68回日本生物工学会大会（富山市）	2016/9/29	国内
クローン培養系を用いたヒト iPS 細胞培養中に生じる不均質性の解明	ポスター	近藤 伸彦、 <u>金 美海</u> 、 <u>紀ノ岡 正博</u>	第68回日本生物工学会大会（富山市）	2016/9/29	国内
ヒト iPS 細胞の継代培養中発生する逸脱細胞の簡便な除去法の構築	ポスター	<u>金 美海</u> 、 松原 佳史、 <u>紀ノ岡 正博</u>	第68回日本生物工学会大会（富山市）	2016/9/29	国内
ボツリヌス菌由来 Hemagglutinin を用いたヒト iPS 細胞の高密度懸濁培養法の確立	ポスター	山本 陸、 都倉 知浩、 Nath Suman Chandra、 <u>金 美海</u> 、 <u>紀ノ岡 正博</u>	第68回日本生物工学会大会（富山市）	2016/9/29	国内
細胞集塊挙動によるヒト間葉系幹細胞の心筋方向への分化指向性誘導	ポスター	<u>小川 祐樹</u> 、 <u>金 美海</u> 、 <u>紀ノ岡 正博</u>	第68回日本生物工学会大会（富山市）	2016/9/29	国内
単一集塊でのヒト iPS 細胞培養における高密度化の限界についての検討	ポスター	植野 真伍、 <u>紀ノ岡 正博</u>	第68回日本生物工学会大会（富山市）	2016/9/29	国内
再生医療ビジネスの概要と経営診断の可能性に関する一考察	口頭	神谷 卓郎、 <u>水谷 学</u> 、 <u>紀ノ岡 正博</u>	日本経営診断学会第49回全国大会（名古屋市）	2016/10/9	国内

細胞外マトリックスの多様性とテーラーメイド培養基材	口頭	<u>関口 清俊</u>	幹細胞の培養法・培養工学のためのコンソシアム 第1回シンポジウム (大阪府吹田市)	2016/10/15	国内
ヒト幹細胞の挙動制御に基づく未分化維持・分化誘導手法の開発	口頭	<u>金 美海</u>	幹細胞の培養法・培養工学のためのコンソシアム 第1回シンポジウム (大阪府吹田市)	2016/10/15	国内
離散要素法を用いたiPS細胞懸濁培養の数値シミュレーション	口頭	矢野 雅貴、 山本 卓也、 <u>岡野 泰則</u> 、 都倉 知浩、 <u>金森 敏幸</u> 、 <u>紀ノ岡 正博</u>	化学工学会第82年会 (東京都江東区)	2017/3/7	国内
懸濁培養最適化のための数値流体解析・離散要素法連成シミュレーション	ポスター	矢野 雅貴、 山本 卓也、 <u>岡野 泰則</u> 、 都倉 知浩、 <u>金森 敏幸</u> 、 <u>紀ノ岡 正博</u>	化学工学会第82年会 (東京都江東区)	2017/3/8	国内
画像解析に基づく振盪培養中のヒトiPS細胞の増殖挙動・剪断ストレス評価	ポスター	長手 武尊、 <u>堀口 一樹</u> 、 <u>酒井 康行</u>	化学工学会第82年会 (東京都江東区)	2017/3/7	国内
iPS浮遊培養技術に関する数値解析手法の構築	口頭	<u>岡野 泰則</u>	第16回日本再生医療学会総会 (仙台市)	2017/3/7	国内
細胞培養加工施設における無菌操作等区域の清浄度維持に係わるリスクの検討	ポスター	千葉 友樹、 天野 健太郎、 川下 泰範、 曾根 大二郎、 <u>野口 展土</u> 、 <u>水谷 学</u> 、 <u>紀ノ岡 正博</u>	第16回日本再生医療学会総会 (仙台市)	2017/3/7	国内
ヒトiPS細胞のコロニー形成機構の解明とクローン培養系の構築	ポスター	<u>金 美海</u> 、 近藤 伸彦、 <u>紀ノ岡 正博</u>	第16回日本再生医療学会総会 (仙台市)	2017/3/8	国内

ディンプル培養器を用いた細胞集塊培養の作業および機械作業の比較	ポスター	小北 真生、 植野 真伍、 <u>紀ノ岡 正博</u>	第 16 回日本再生医療学会総会（仙台市）	2017/3/8	国内
細胞製造性を考慮した iPS 細胞の大量・安定製造技術の構築	口頭	<u>紀ノ岡 正博</u>	第 16 回日本再生医療学会総会（仙台市）	2017/3/9	国内
Analysis of cell migratory behavior in colony of human iPS cells using cellular automation	ポスター	Thi Nhu Trang Nguyen、 佐々木 啓、 <u>紀ノ岡 正博</u>	第 16 回日本再生医療学会総会（仙台市）	2017/3/9	国内
非ニュートン流体を用いた hiPS 細胞凝集塊大量培養プロセスの構築	ポスター	山本 陸、 <u>紀ノ岡 正博</u>	第 16 回日本再生医療学会総会（仙台市）	2017/3/9	国内
ピペット操作における飛沫により発生するリスクに関する研究	ポスター	水谷 学、 野口 展土、 <u>紀ノ岡 正博</u>	第 16 回日本再生医療学会総会（仙台市）	2017/3/9	国内
細胞製造工程における新規評価指標の確立	ポスター	<u>福守 一浩</u> 、 Umbhorn Ungkulpasvich、 Kwanchanok Viravaidya-Pasuwat 、 <u>紀ノ岡 正博</u>	第 16 回日本再生医療学会総会（仙台市）	2017/3/9	国内
ヒト iPS 細胞の製造工程における時間依存的な品質変化を考慮に入れたロット形成基準の構築	ポスター	鎔廣 真司 <u>福守 一浩</u> 、 青木 拓也 <u>紀ノ岡 正博</u>	第 16 回日本再生医療学会総会（仙台市）	2017/3/9	国内
免疫細胞療法のためのリンパ球系細胞加工における末梢血採取後保存期間の影響の評価	ポスター	鮫島 葉月 水谷 学、 <u>紀ノ岡 正博</u> 、 芦葉 恵介、 照沼 裕	第 16 回日本再生医療学会総会（仙台市）	2017/3/9	国内
上皮間葉相互作用の場としての基底膜に着目した次世代培養基材の開発	口頭	<u>関口 清俊</u>	第 16 回日本再生医療学会総会（仙台市）	2017/3/9	国内

iPS 細胞凝集体の効率的な増幅分化誘導プロセスの確立に向けて	口頭	<u>酒井 康行</u>	第 16 回日本再生医療学会総会（仙台市）	2017/3/9	国内
iPS 細胞コロニー形態解析を用いた品質工学的解析の試み	口頭	吉田 啓、 長坂 理紗子、 <u>蟹江 慧</u> 、 <u>清田 泰次郎</u> 、 <u>古江・楠田 美保</u> 、 <u>清水 一憲</u> 、 本多 裕之、 <u>加藤 竜司</u>	第 16 回日本再生医療学会総会（仙台市）	2017/3/9	国内
画像情報解析を用いた培養環境の評価と未分化逸脱細胞の検出	口頭	長坂 理紗子、 後藤 優斗 吉田 啓、 <u>蟹江 慧</u> 、 <u>清水 一憲</u> 、 本多 裕之、 <u>加藤 竜司</u>	第 16 回日本再生医療学会総会（仙台市）	2017/3/9	国内
画像取得・解析技術を用いた培養工程の安定化	口頭	<u>加藤 竜司</u>	第 16 回日本再生医療学会総会（仙台市）	2017/3/9	国内
非破壊的な iPS 細胞品質評価法開発	ポスター	長坂 理紗子、 後藤 優斗 吉田 啓、 <u>蟹江 慧</u> 、 <u>清水 一憲</u> 、 本多 裕之、 <u>加藤 竜司</u>	第 90 回日本薬理学会年会（長崎市）	2017/3/17	国内
ISO/TC276 における再生医療等製品の国際標準化戦略	口頭	<u>伊藤 弓弦</u>	第 36 回日本動物細胞工学シンポジウム（東京都港区）	2017/3/29	国内
ヒト多能性幹細胞の細胞形態を用いた評価法の開発	口頭	<u>古江・楠田 美保</u>	神奈川歯科大学学会平成 28 年度第 11、12 回合同開催研究談話会（神奈川県横須賀市）	2017/3/31	国内

【分担研究②】

発表題目	口頭・ポスターの別	発表者氏名	発表した場所	発表した時期	国内・外の別
DMSO-free chemically defined cryopreservation of human mesenchymal stem cells and chondrocytes	ポスター	<u>Yasuko Onuma</u> , <u>Madoka Shimizu</u> , <u>Yasuhiko Ohgi</u> , <u>Yuzuru Ito</u>	International Society for Stem Cell Research 2016 (ISSCR 2016) Annual Meeting (San Francisco, California)	2016/6/22	国外
Alpha 2-6sialylation is a marker of the differentiation potential of human mesenchymal stem cells	ポスター	<u>Hiroaki Tateno</u> , <u>Masashi Toyoda</u> , <u>Yasuko Onuma</u> , <u>Yuzuru Ito</u> , <u>Hidenori Akutsu</u> , <u>Jun Hirabayashi</u>	International Society for Stem Cell Research 2016 (ISSCR 2016) Annual Meeting (San Francisco, California)	2016/6/22	国外
Enhancement of cellular adhesion and proliferation by direct instillation of type I collagen based recombinant protein solution into culture medium	ポスター	<u>Koji Muraya</u> , <u>Tomoyuki Kawasaki</u> , Toshihiko Maekawa, <u>Yasuhiro Yoshioka</u> , <u>Hidenori Akutsu</u>	International Society for Stem Cell Research 2016 (ISSCR 2016) Annual Meeting (San Francisco, California)	2016/6/22	国外
Rabbit xenotransplantation model for evaluating human chondrocyte sheets for articular cartilage repair at 12 weeks	口頭	<u>Takumi Takahashi</u> , <u>Masato Sato</u> , <u>Eriko Toyoda</u> , Hideyuki Maruki, Daichi Takizawa, Ayako Tominaga, Eri Okada, Miki Maehara, Masahiko Watanabe	2016 Tissue Engineering and Regenerative Medicine International Society- Asia Pacific Meeting (TERMIS-AP 2016) (Taipei, Taiwan)	2016/9/5	国外

Evaluation of culture conditions for allogeneic chondrocyte sheets in a rabbit xenotransplantation model	ポスター	<u>Takumi Takahashi</u> , <u>Masato Sato</u> , <u>Eriko Toyoda</u> , Miki Maehara, Daichi Takizawa, Yasuyuki Sogo, Hideyuki Maruki, Ayako Tominaga, Eri Okada, Tomomi Kotoku, Masahiko Watanabe	The Orthopaedic Research Society 2017 Annual Meeting (San Diego, California)	2017/3/20-21	国外
ヒト軟骨細胞シートの特異種移植モデルによる評価系の確立：成人膝軟骨細胞シートの特性評価	ポスター	<u>高橋 匠</u> 、 <u>佐藤 正人</u> 、 <u>豊田 恵利子</u> 、 丸木 秀行、 滝澤 大智、 岡田 恵理、 前原 美樹、 加藤 義治、 持田 讓治	第 37 回 日本炎症・再生医学会（京都市）	2016/6/16	国内
酸素透過性プレートを用いた多指症軟骨由来ヒト間葉系幹細胞培養における酸素濃度・供給の影響評価	口頭	<u>堀口 一樹</u> 、 下田 真也、 <u>古川 克子</u> 、 <u>酒井 康行</u>	化学工学会第 48 回秋季大会（徳島市）	2016/9/6	国内
ヒト軟骨細胞シートの特異種移植モデルによる評価系の確立：家兎 12 週評価	口頭	<u>高橋 匠</u> 、 <u>佐藤 正人</u> 、 <u>豊田 恵利子</u> 、 丸木 秀行、 滝澤 大智、 岡田 恵理、 前原 美樹、 加藤 義治、 持田 讓治	第 31 回日本整形外科学会基礎学術集会（福岡市）	2016/10/13	国内
再生医療を目指した間葉系幹細胞培養システムの開発	口頭	<u>阿久津 英憲</u>	幹細胞の培養法・培養工学のためのコンソシアム 第 1 回シンポジウム (大阪府吹田市)	2016/10/15	国内

自動培養技術は人を超える	口頭	<u>伊藤 弓弦</u>	第 6 回 CSJ 化学フェスタ 2016 (東京都江戸川区)	2016/11/15	国内
再生医療と国際標準化	口頭	<u>伊藤 弓弦</u>	第 4 回 JMAC シンポジウム (東京都澁谷区)	2017/1/13	国内
DMSO-free ケミカリーディファインドな凍結保存液によるヒト間葉系幹細胞および軟骨細胞の凍結保存	ポスター	<u>小沼 泰子</u> <u>清水 真都香</u> <u>相木 泰彦</u> <u>伊藤 弓弦</u>	第 16 回産総研・産技連 LS-BT 合同研究発表会 (茨城県つくば市)	2017/1/31	国内
間葉系幹細胞の骨形成関連遺伝子の解析	ポスター	<u>長 真優子</u> <u>原本 悦和</u> <u>清水 真都香</u> <u>相木 泰彦</u> <u>樋口 久美子</u> <u>小沼 泰子</u> <u>青柳 秀紀</u> <u>豊田 雅士</u> <u>阿久津 英憲</u> <u>伊藤 弓弦</u>	第 16 回産総研・産技連 LS-BT 合同研究発表会 (茨城県つくば市)	2017/1/31	国内
ヒト同種軟骨細胞シート of 移植モデルによる評価方法	口頭	<u>高橋 匠</u> 、 <u>豊田 恵利子</u> 、 <u>前原 美樹</u> 、 <u>岡田 恵理</u> 、 <u>滝澤 大智</u> 、 <u>十河 泰之</u> 、 <u>丸木 秀行</u> 、 <u>富永 絢子</u> 、 <u>渡辺 雅彦</u> <u>佐藤 正人</u>	第 16 回日本再生医療学会総会 (仙台市)	2017/3/7	国内
DMSO-free 無血清凍結保存液によるヒト間葉系幹細胞および軟骨細胞の凍結保存	ポスター	<u>小沼 泰子</u> <u>清水 真都香</u> <u>相木 泰彦</u> <u>伊藤 弓弦</u>	第 16 回日本再生医療学会総会 (仙台市)	2017/3/9	国内

【分担研究③】

発表題目	口頭・ポスターの別	発表者氏名	発表した場所	発表した時期	国内・外の別
Human iPS/ES cell self-renewal under growth factor- and ECM-free condition	ポスター —	<u>Kouichi Hasegawa</u> , <u>Noriko Yoshida</u> , Nami Asari, <u>Tatsuhiko Ikeda</u> , Hosein Shahsavarani, <u>Shin-ya Yasuda</u> , Neha Vartak-Sharma	International Society for Stem Cell Research 2016 (ISSCR 2016) Annual Meeting (San Francisco, California)	2016/6/22	国外
Scalable production of neuro-spheres from human pluripotent stem cells in a 3D culture system containing functional polymers	ポスター —	Haixin Zhang, <u>Wado Akamatsu</u> , <u>Takamichi Miyazaki</u> , Kazuhiro Aiba, <u>Hideyuki Okano</u> , <u>Norio Nakatsuji</u>	International Society for Stem Cell Research 2016 (ISSCR 2016) Annual Meeting (San Francisco, California)	2016/6/22	国外
Engineered functional anisotropic and 3-dimensional hiPS-derived cardiac tissue-like construct for drug assessment and cardiac disease repairing	ポスター —	Junjun Li, Itsunari Minami, Leqian Yu, <u>Yuji Shiba</u> , <u>Norio Nakatsuji</u> , Li Liu, Yong Chen	13 <sup>th</sup> International Society for Stem Cell Research (ISSCR 2016) Annual Meeting (San Francisco, California)	2016/6/23	国外
Human iPSCs-engineered anisotropic cardiac tissue-like construct for drug assessment and cardiac disease repairing	ポスター —	<u>Junjun Li</u> , <u>Itsunari Minami</u> , Leqian Yu, Motoko Shiozaki, Yuji Shiba, Shin Yajima, Satsuki Fukushima, Noburiro Morone, Hitetoshi Kotera, Shigeru Miyagawa, Yoshiki Sawa,	Cell Symposia 10 Years of iPSCs (Berkeley, California)	2016/9/26	国外



		<u>Norio Nakatsuji</u> , <u>Li Liu</u> , Yong Chen			
Introduction of AMED RM project: open innovation for large scale and cost effective cell production systems using human ES/iPS cell lines	口頭	<u>Takashi Asada</u>	Cell & Gene Meeting on the Mesa (La Jolla, California)	2016/10/6	国外
Novel platform of engineering functional tissues	口頭	<u>Koji Kuchishi</u>	Stem Cell Meeting on the Mesa (San Diego, California)	2016/10/9	国外
Xeno-free human induced pluripotent stem cell-derived cardiomyocyte cell sheet transplantation promise the safety and effectiveness in the treatment for heart failure	ポスター	<u>Motoko Shiozaki</u> , <u>Shigeru Miyagawa</u> , <u>Satsuki Fukushima</u> , <u>Itsunari Minami</u> , <u>Shin Yajima</u> , Keitaro Domae, Atsuhiko Saito, <u>Takashi Asada</u> , <u>Norio Nakatsuji</u> , <u>Yoshiki Sawa</u>	American Heart Association (AHA) Scientific Sessions 2016 (New Orleans, Louisiana)	2016/11/13	国外
iPS 細胞由来心筋細胞の応用研究	口頭	<u>南一成</u>	京都市ライフイノベーション創出支援センターシンポジウム	2016/11/2	国内
Allogeneic transplantation of iPS cell-derived cardiomyocytes regenerates non-human primate hearts	口頭	<u>Yuji Shiba</u>	World Stem Cell Summit 2016 5 <sup>th</sup> Annual Japan Symposium (West Palm Beach, Florida)	2016/12/8	国外
Preclinical transplantation study of iPS cell-derived cardiomyocytes for cardiac repair	口頭	<u>Yuji Shiba</u>	World Stem Cell Summit 2016 (West Palm Beach, Florida)	2016/12/8	国外

閉鎖系自動培養システム: CELLAFORTE	口頭	竹内誠亮 (ニプロ)	東京大学駒場キャンパスⅡ: バイオエンジニアリング研究会講演会「再生医療のエンジニアリング (東京都)	2016/12/13	国内
Large-scale stem cell production system by newly designed bioreactor	口頭	<u>Hideaki Kagawa</u> , <u>Shun Goto</u> , <u>Soichi Kohashi</u> , Tetsuya Yoshida, <u>Hidekazu Yamazaki</u>	Scale-up and Manufacturing of Cell-based Therapies V An ECI Conference Series (ECI: Engineering Conferences International) (San Diego, California)	2017/1/15-19	国外
心不全モデルラットに対する Xeno-free 分化誘導法を用いたヒト多能性幹細胞移植の治療効果の検討	ポスター	<u>塩崎 元子</u> 、 <u>宮川 繁</u> 、 <u>福寫 五月</u> 、 <u>南 一成</u> 、 <u>矢嶋 真心</u> 、 齋藤 充弘、 浅田 孝、 <u>中辻 憲夫</u> 、 <u>澤 芳樹</u>	第 16 回日本再生医療学会総会 (仙台市)	2017/3/7	国内
新規移植法を用いた多能性幹細胞由来心筋細胞移植	口頭	小笠原 達樹、 <u>南 一成</u> 、 <u>上杉 志成</u> 、 <u>市村 創</u> 、 和田 有子、 市原 由香、 田中 夕柝、 <u>唐津 優子</u> 、 岡野 怜己、 岡田 健次、 <u>柴 祐司</u>	第 16 回日本再生医療学会総会 (仙台市)	2017/3/9	国内

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

【分担研究①】

発表した演題等	発表者氏名	発表した場所	発表した時期	国内・外の別
「ヒト多能性幹細胞由来の再生医療製品製造システムの開発(網膜色素上皮・幹細胞)」の概要	<u>水谷 学</u>	再生医療 JAPAN 幹細胞評価基盤技術研究組合 成果発表会、パシフィコ横浜(横浜市)	平成 28 年 10 月	国内
iPS 細胞培養のための培地交換システムとスケールアップ方法の開発	<u>和田 昌憲</u>	再生医療 JAPAN 幹細胞評価基盤技術研究組合 成果発表会、パシフィコ横浜(横浜市)	平成 28 年 10 月	国内
培地交換機能付き細胞集塊培養プレートによる未分化 iPS 細胞拡大培養の検討	<u>綾野 賢</u>	再生医療 JAPAN 幹細胞評価基盤技術研究組合 成果発表会、パシフィコ横浜(横浜市)	平成 28 年 10 月	国内
顕微鏡画像解析を利用した iPS 細胞品質評価技術の紹介	<u>清田 泰治郎</u>	再生医療 JAPAN 幹細胞評価基盤技術研究組合 成果発表会、パシフィコ横浜(横浜市)	平成 28 年 10 月	国内
化学物質の発生神経毒性の検出を目標とするヒト iPS 細胞を利用した非侵襲的 <i>in vitro</i> 評価系の開発	<u>古江・楠田 美保</u>	22 世紀先端研究セミナー(東京都港区)	2016/10/21	国内

【分担研究②】

発表した演題等	発表者氏名	発表した場所(シンポジウム名等)	発表した時期	国内・外の別
「ヒト間葉系幹細胞由来の再生医療製品製造システムの開発」の概要	<u>伊藤 弓弦</u>	再生医療 JAPAN 幹細胞評価基盤技術研究組合 成果発表会、パシフィコ横浜(横浜市)	2016/10/13	国内

骨・軟骨分化ポテンシャルマーカー測定キット	<u>船岡 創平</u>	再生医療 JAPAN 幹細胞評価基盤技術 研究組合 成果発表、パシフィコ横浜 (横浜市)	2016/10/13	国内
温度履歴統合管理システム "CryoLibrary iMaster®"の開発	<u>吉村 滋弘</u>	再生医療 JAPAN 幹細胞評価基盤技術 研究組合 成果発表、パシフィコ横浜 (横浜市)	2016/10/13	国内
カスタムアレイ CGH を用いた間葉系幹細胞の品質	<u>的場 亮</u>	再生医療 JAPAN 幹細胞評価基盤技術 研究組合 成果発表、パシフィコ横浜 (横浜市)	2016/10/13	国内
軟骨細胞を用いた細胞治療のための間葉系幹細胞用培地とマーカーの開発	<u>天野 誠</u>	再生医療 JAPAN 幹細胞評価基盤技術 研究組合 成果発表、パシフィコ横浜 (横浜市)	2016/10/13	国内

【分担研究③】

発表した演題等	発表者氏名	発表した場所 (シンポジウム名等)	発表した時期	国内・外の別
Multidisciplinary academia-industry collaboration for production of human pluripotent stem cell-derived functional cells in industrial application	<u>Norio Nakatsuji</u>	スコットランド・神奈川 ライフサイエンス投資セミナー、川崎生命科学・環境研究センター (神奈川県川崎市)	2016/4/12	国内
Open innovative collaboration between Japan and UK (Scotland) & open innovation project in Japan (introduction of AMED project)	<u>Takashi Asada</u>	スコットランド・神奈川 ライフサイエンス投資セミナー、川崎生命科学・環境研究センター (神奈川県川崎市)	2016/4/12	国内

「ヒト多能性幹細胞由来の再生医療製品製造システムの開発（心筋・神経）」の概要	<u>浅田 孝</u>	再生医療 JAPAN 幹細胞評価基盤技術 研究組合 成果発表 会、パシフィコ横浜 (横浜市)	2016/10/13	国内
定温搬送容器の研究開発	<u>佐藤 圭司</u>	再生医療 JAPAN 幹細胞評価基盤技術 研究組合 成果発表 会、パシフィコ横浜 (横浜市)	2016/10/13	国内
再生医療にむけた未分化細胞用培地・凍結保存液の開発	<u>竹内 誠亮</u>	再生医療 JAPAN 幹細胞評価基盤技術 研究組合 成果発表 会、パシフィコ横浜 (横浜市)	2016/10/13	国内
再生医療にむけた未分化細胞用培地・凍結保存液の開発	<u>吉田 俊介</u>	再生医療 JAPAN 幹細胞評価基盤技術 研究組合 成果発表 会、パシフィコ横浜 (横浜市)	2016/10/13	国内
無限の可能性を保つ～暴れん坊細胞を躰ける	<u>長谷川光一, 池田 達彦, 吉田則子,</u> 日野基貴	第 20 回 iCeMS カ フェ (京都市)	2016/10/22	国内

(4) 特許出願  
該当なし

平成 28年度 委託研究開発成果報告書

I. 基本情報

事業名 : 再生医療の産業化に向けた評価基盤技術開発事業  
Project Focused on Developing Key Evaluation Technology: Manufacturing  
Technology for Industrialization in the Field of Regenerative Medicine

研究開発課題名 : 再生医療の産業化に向けた細胞製造・加工システムの開発  
Development of Cell Production and Processing Systems for Commercialization  
of Regenerative Medicine

研究開発担当者 幹細胞評価基盤技術研究組合 理事長 吉岡 康弘  
所属 役職 氏名 : Stem Cell Evaluation Technology Research Association President  
Yasuhiro Yoshioka

実施期間 : 平成 28年 4月 1日 ~ 平成 29年 3月 31日

分担研究① ヒト多能性幹細胞由来の再生医療製品製造システムの開発(網膜色素上皮・肝細胞)  
開発課題名 : Development of Cell Production and Processing Systems for human pluripotent  
stem cells of Regenerative Medicine (Retinal pigment epithelium, Liver cells)  
研究開発分担者 大阪大学大学院工学研究科 生命先端工学 教授 紀ノ岡 正博  
所属 役職 氏名 : Division of Advanced Science and Biotechnology Graduate School of Engineering,  
Osaka University Professor Masahiro Kino-oka

分担研究② ヒト間葉系幹細胞由来の再生医療製品製造システムの開発  
開発課題名 : Development of Cell Production and Processing Systems for Mesenchymal stem  
cell of Regenerative Medicine  
研究開発分担者 国立成育医療研究センター 部長 阿久津 英憲  
所属 役職 氏名 : National Center for Child Health and Development  
Director Hidenor Akutsu

分担研究③ ヒト多能性幹細胞由来の再生医療製品製造システムの開発（心筋・神経）  
開発課題名： Development of a regenerative medicine product manufacturing system of human pluripotent stem cell origin (Cardiomyocytes and Nerve)  
研究開発分担者 京都大学 ウイルス・再生医科学研究所 特任教授 中辻 憲夫  
所属 役職 氏名： Institute for Frontier Life and Medical Sciences  
kyoto University Professor Emeritus Norio Nakatsuji

## II. 成果の概要（総括研究報告）

### 1. ヒト多能性幹細胞由来の再生医療製品製造システムの開発(網膜色素上皮・肝細胞)

iPS 細胞を原料とする網膜色素上皮細胞の製造技術開発では、大阪大学集中研究所（以下、阪大集中研）にて、省スケール自動培養モジュールとインキュベータモジュールを中心とした、製造システム試作機による工程自動化を進めている。平成 28 年度は、システムのモジュール内での手作業による全ての工程の標準操作（SOP）準備を完了した。自動操作用に最適化できた工程については、澁谷工業にてプログラミングを実施し、検証を進めた。並行して、観察装置付インキュベータモジュールを阪大集中研に搬入し、工程内において運用を実施することで検証を進めた。

大量培養モジュール開発では、阪大集中研にて未分化 iPS 細胞の拡大培養手順構築を行っている。方式の異なる 500 mL と 1 L の培養装置による培養培地交換の工程手順構築に向け、デバイスの準備と操作条件の検討を行った。20 L の培養装置でのシングルユース培養容器開発では、新たに開発した pH センサーの組み込みを実施し、検証を行った。基本手順では、5 L の培養容器を用いて  $6 \times 10^9$  個の iPS 細胞の培養を達成し、目標とする  $10^{10}$  個/バッチ以上の細胞を回収可能とする技術を構築する知見を得ることができた。並行して、高密度集塊培養の可能なディンプル容器や、細胞回収が容易な細胞集塊作製の容器の開発に係る、基礎技術の構築に向けた試作・検討を行った。

製造システム構築に必要な培養基質やデバイス等の開発も順調に進んでいる。特に、ラミニン 511-E8 を用いた容器コート剤については、希釈工程の不要な 1 × コーティング剤およびプレコート培養容器の開発を達成した。本技術は、調整費の活用により、市販に向けた検証も完了することができた。また、未分化 iPS 細胞の浮遊攪拌では、ヘマグルチニンによる無継代培養の条件最適化のための検討が行われた。

さらに、評価技術についても、接着培養における未分化細胞の評価ソフトウェアの構築や、浮遊攪拌培養における細胞集塊評価ソフトウェアの作成を実施した。分離・精製工程の開発では、レクチンを応用した未分化除去技術の評価や、これまでに探索した分離能要素の有効性検証が行われた。また、下工程（梱包・形成および保存）に係る技術では、これら一連の工程を見据え、製造のロットスケールの決定（考え方）に係る技術の構築を開始した。

製造システムの構築に向けたつなぐ技術の開発では、阪大集中研において、試作されたモジュール群を用いて未分化 iPS 細胞培養工程の一貫した自動製造と、キャリブレーションを利用した各工程の操作・動作の検証を実施した。モジュール群には、サンプリングユニットとして、培地成分測定装置と細胞カウンターが連携し、液送デバイスがアイソレータ内から無菌的に少量のサンプリングが行えることを確認した。並行して、搬入用のポッドに係る開発や、工程間のインターフェイス除染時間短縮のための検討も実施された。製造システムの開発に不可欠な、スケジューラの開発も進められ、実工程での連携に向けた評価テストが実施された。また、複数のアカデミア機関（東大、産総研、名大、阪大）で連携し、実用を見据えた大量培養・分化系の評価・予測技術の確立に向けて、シミュレーターの構築に係る検討が行われた。

市場獲得戦略では、産業化・事業化を巡る動向の分析と製造コスト評価を実施した。阿久津グループと共同にて、戦略ワーキングを定期的実施し、平成 29 年 2 月には顧客候補となる企業を対象に第三回ユーザーフォーラムを開催した。また、標準化においても、細胞システムを効率的に運用するために不可欠な、無菌性維持に係る汚染リスクの考え方や細胞加工におけるプロセスシミュレーションの考え方について検討を行い、標準化や指針案作成に係る他プロジェクト（経産省ガイドライン、ISO、厚労科研、等）との連携を行った。



## **Development of Cell Production and Processing Systems for human pluripotent stem cells of Regenerative Medicine (Retinal pigment epithelium, Liver cells)**

We are going on a development of the cell production system, which is composed of automated cell processing manipulators and various functional isolator modules connectable aseptically in the Osaka University centralized R&D laboratory (OCL). In the FY 2016, standard operation procedures of all the processes for a product (retinal pigment epithelium), which are for manual manipulations in a processing module of the system, have been prepared. When the procedures were optimized for automated manipulation, they were installed to the system in phases. After the installation, program verifications were carried out by practices of the cell processing processes.

A process procedure design for iPS cell expansion is also proceeded in the OCL. Two medium change procedures, which are two different methods using single-use vessels of 500 mL or 1 L, were tried in parallel to construct the optimized condition of the operation procedures. A new pH sensor for the large scale single-use culture bag (20 L) was developed and verified in the OCL. For the purpose of 10<sup>10</sup> cells expansion, 6×10<sup>9</sup> of iPS cells could be obtained by culturing up to a bioreactor of 5 L scale and the problems, which were occurred in the process, were picked out. In addition, two types of culture vessel, having a bottom of many small dimples, have been developed for high-density culture of agglomerative cells. Furthermore the investigation of particulars to hurdle in the downstream process design also have been carried out.

We have gotten a good result in the development of essential substrates for culture. A 1x coating reagent of the laminin 511-E8 fragment, which is unnecessary dilution and optimized for automation, has been developed, and certificated by iPS cell culture. In parallel, a laminin pre-coated culture vessel has been also developed, and both were decided to be on sale. We have become to obtain the hemagglutinin reagent stably, and the functional characteristics are being investigated for development of the culture method without passage culture.

For quality control or process control, two application software for parametric analysis of live human iPS cells (colony or agglomeration) have been developed. Furthermore, an elimination method of tumorigenic human iPS cells using a recombinant lectin derivative was investigated to clarify the possibility for adopting in the cell production process.

To construct a production control and management system, some cell manufacturing trials of the partial process and the observational study of operational movement using a calibrator equipment were carried out in the OCL. A sampling device has been developed and installed in an isolator module, and a sampling of small amount of cell suspension or culture medium was successfully realized. For simplification of the process operations, a prototype of material loading pod was developed, and the amount time of an interface decontamination was shortened by modification of the pipe laying. In parallel, a prototype of production/process scheduler and some programs of simulator for process design were developed.

In the marketing and strategy for industrialization, an analysis of the market and a production cost simulation were carried out. For a direct marketing and an outreach, the 3th User Forum was held in February 2017, collaborated with the Akutsu (MSC) group. Furthermore, the findings obtained in this project have been used for standardization (ISO) and preparation of guidelines.

## 2. ヒト間葉系幹細胞由来の再生医療製品製造システムの開発

本事業では、「間葉系幹細胞を用いた再生医療」の高度化を目指し、ヒト間葉系幹細胞由来の再生医療製品製造システムの開発を行うことを目的とした。本事業の成果は、骨髄／臍帯／軟骨由来の間葉系幹細胞を、変形性関節症に対する臨床1回に必要な細胞量の約70倍に相当する細胞数を確保することが可能なシステムを完成し、さらに新規細胞評価法や凍結保存の質向上と保存・移送工程の細胞環境管理システムを製品化まで達成したことで社会が享受できる間葉系幹細胞の再生医療の発展に貢献できた。

3-1. 3種類の由来が異なるヒト体性幹細胞の採取／提供：3種類の由来が異なる（骨髄、臍帯、軟骨）体性幹細胞株を新たに樹立した。骨髄、脂肪、臍帯由来間葉系幹細胞及び増殖性軟骨細胞について、本プロジェクトで開発した培地での培養を行い、増殖能、分化能（骨、脂肪、軟骨）を検証し、本プロジェクトの研究機関へ提供した。

3-2. 間葉系幹細胞の分離精製装置の開発：本体開発では、純度90%以上のソート性能の分離精製用アイソレータ本体設計・作製を完了した。さらに、細胞製造アイソレータ連動分離精製装置の高効率化使用を達成するアイソレータ用大型インキュベータを開発し全システムの稼働実証を達成し、特許化し製品化への目処がたった。

3-3. ヒト間葉系幹細胞の品質評価システムの研究開発：間葉系幹細胞の骨/軟骨分化能ポテンシャルを評価できる遺伝子発現測定キットおよびレクチン（ELISA法）測定キット開発を行った。骨/軟骨分化能判別マーカー遺伝子の発現を検出するqPCR用キットを開発し製品化上市に至った。さらに、培養培地のみで細胞品質評価可能な測定キットの実用化を達成した。細胞ゲノム品質評価キットの開発では、PMDA科学委員会等が公表した腫瘍関連プローブを高密度に搭載したアレイCGH法を構築し、培養工程および細胞製品でのゲノムコピー数異常を高精度に行う品質評価サービス（C3チェックサービス）を上市することが出来た。

3-4. 間葉系幹細胞維持培養法・自動培養技術に係わる研究開発：バック培養法を用いた自動培養装置で変形性関節症に対する約70細胞シート製造に相当する1x10<sup>8</sup>cellsを目標細胞量とした拡大培養プログラム化の構築を行い、幹細胞用自動培養装置を上市した。培養環境の効率化では、培地とGMP準拠のリコンビナントタンパク質（RCP）の添加方法及び処方量を検討し間葉系幹細胞の接着および初期増殖を促進することを見出し、特許出願を行った。また、軟骨分化能を維持したまま培養可能な、再生医療用培地の開発に成功した。

3-5. 移植用細胞の輸送可能な保存技術の研究開発：複数種の間葉系幹細胞を用いた凍結保存・融解試験から最も効果の高い組成培地を選定できた。さらに、この培地組成でGMPに準拠した生産体制を整え、日本初のGMP準拠凍結保存液2種を上市した。温度履歴情報統合管理システムを開発し、ヒト間葉系幹細胞を用いて試料の凍結保存、搬送、解凍に至る温度履歴情報の収集が可能な事を実証し、製品化した。また試料搬送に利用可能な簡易凍結搬送容器を試作し特許申請を行った。

3-6. 変形性関節症に対する適用検証：膝軟骨再生医療非臨床試験として日本白色家兎の膝軟骨全層欠損モデルを構築し異種移植によるヒト細胞の評価系を確立し、関節軟骨再生に関する評価指標（厚生労働省課長通知 薬生機審発0630第1号）の策定に貢献した。

3-7. 市場獲得戦略の構築：アウトリーチ活動の一環としてユーザーフォーラムは各年度開催した。また、コスト計算調査、標準化連携、内外動向調査等により総合戦略の構築を進めた。

## **Development of Cell Production and Processing Systems for Mesenchymal stem cell of Regenerative Medicine**

In this project, with the aim of improving "regenerative medicine using MSCs", we are developing a manufacturing system for cellular products derived from human MSCs. The outcome of this project is a system that can secure mesenchymal stem cells derived from bone marrow / umbilical cord / cartilage, the number of cells equivalent to about 70 times the amount of cells required for one clinical treatment for osteoarthritis. Furthermore, we successfully achieved the product development of new cell evaluation method, quality improvement of cryopreservation and cell environment management system in storage and transfer process, so our project could contribute to further development of regenerative medicine industry.

Primary cell lines (from bone marrow, umbilical cord and cartilage tissues) were originally derived and provided to this project. These cell lines were examined biological characteristics and used to verify our developing products.

We designed and developed a cell sorter system joined in the isolater to achieve purification target cells with 90% purification. And a novel large-scale incubator suited for an isolater was originally developed to achieve ten times volume than commercial product.

We developed a gene expression measurement kit and a lectin (ELISA) assay kit that can evaluate differentiation potential of MSCs. Regarding genomic stability assay of MSCs, a custom array CGH kit with high density mounting of tumor-related probes which were including all recommendations of the PMDA Scientific Committee. The array CGH kit (C3 check service) was confirmed detectability of genomic copy number abnormality against cellular products with high accuracy. Appropriate program for scalable MSCs was developed into an automated cell culture system by using closed culture bags. Large volume equivalent of  $1 \times 10^8$  cells to production of 70 transplantable cell sheets was achieved. To improve the efficiency of the culture environment, a novel application was found that a prescription of GMP compliant recombinant protein (RCP) promotes adhesion and initial proliferation of MSCs. Moreover, culture medium for regenerative medicine is developed.

Cryoprotectants have prepared under GMP conditions, and launched two kinds of Japan's first GMP-compliant cryopreservation media. We have developed a temperature information chronologically integrated management system and demonstrated that such system was suitable for cell product preservation/transportation. And a prototype simple freezing transport container was developed and filed a patent application.

Application validation for osteoarthritis: knee cartilage regeneration medicine As a nonclinical study for gaining POC, a model of knee cartilage full layer deficiency in Japanese white rabbits was established. The xenotransplantation model for cartilage regeneration medicine was finalized. As outreach activities, user forums were held each fiscal year. We also proceeded with the construction of a comprehensive strategy by cost calculation survey, standardization collaboration, internal and external trend survey.

### 3. ヒト多能性幹細胞由来の再生医療製品製造システムの開発(心筋・神経細胞)

再生医療製品、及びその原料となるヒト幹細胞を製造・加工する上で必要となる、拡大培養、分化誘導（培養）、品質管理（評価）、加工、保存（凍結・解凍）等の各プロセス及びプロセスの正確性・確実性を担保するための工程管理技術について、個別要素技術の自動化装置や培地・基材等の周辺製品を開発する。更に、これらを最適に組み合わせ連携させた製造システムの構築を行う。以下具体的な成果について記載する。

#### (1) 拡大培養関係

培地と培養法の開発：複数化合物による安定品質の低コスト培地開発においては大量自動培養に適した培地開発に向けた進捗が得られた。また心筋及び神経細胞の分化についても大量自動培養に適した分化法の開発を行った。

大量自動培養装置の開発：自動培養装置を用いた拡大培養及びパーキンソン病治療に用いられるドーパミン神経細胞の作製を予定通り実施できた。また無攪拌浮遊培養大量自動培養装置開発では 10L スケール（1010 個の多能性幹細胞の拡大培養）の装置改良を実施した。

分離・精製：ヒト多能性幹細胞を選択的に死滅させる化合物を開発し、優れた選択性を示した。また滅菌閉鎖系使い捨てマイクロ流路チップでの分化細胞を高純度で分取する技術を確認した。

加工及び評価：心筋については配向性ナノファイバーと組み合わせた心筋-材料融合型組織片を作製し、ラット心筋梗塞モデル動物への移植による心機能の改善がみられた。また心筋細胞の心筋への注入による移植と定着は、心筋梗塞モデルサルで確認された。一方、細胞積層技術による脊髄領域特異的な神経三次元組織の構築に成功し、脊髄損傷モデルラットへの移植による評価を実施中である。

品質管理/評価：ヒト多能性幹細胞および分化細胞の各種品質管理に関わる検査項目の設定を行うと共に、本プロジェクトの無攪拌浮遊培養および自動培養装置により得られた細胞サンプルのデータ取得（機能評価、安全性リスク評価）と解析および装置開発へのフィードバックを行った。また核型、ゲノム、エピゲノム解析等のための新規解析技術の開発や自動化装置を作成すると共に、細胞製造システムにおける品質管理工程の文書体系およびその運用方法の設計と構築を進めた。

保存及び輸送：製品化されたヒト多能性幹細胞の凍結保存液を分化細胞についても開発を進めた。

また、液体窒素の混入を防ぐ細胞凍結容器についても製品化を進めた。細胞製品の搬送システム開発では、長期搬送可能な搬送用細胞容器を開発、市販化した。

市場・競合の評価・予測：本プロジェクトが対象とする疾患（心筋梗塞、神経疾患）について、事業計画立案に関する市場・競合情報の調査と評価を行った。製造コストについて試算を実施した。またこれらの調査結果を再生医療用細胞製品の事業化検討に用いた。

#### (2) システム構築関係

細胞製品製造システムの構築：集中研（神奈川県殿町ライフイノベーションセンター 1 階に構築）については、集中研に設置される各種製造装置と製造工程管理システムのインターフェースについて具体的な設計を進め、必要最小機能の施設構成で半分が完成した。また製造工程管理システムの保守運用面のコストとセキュリティを考慮した IT システムの設計を進めた。

製造工程における品質管理：細胞製造に関わる原材料、製造工程、品質検査などの各種の管理項目を抽出したソフトウェアシステムのプロトタイプを作成し主に京都大学にて試行運用を実施した。並行して、細胞製品製造施設で稼働する統合システムの実証版について検討を進めた。

再生医療用細胞製品の事業化検討

集中研の計画は上記の研究開発項目（細胞製品製造システム構築・製造工程品質管理）を中心に進行中である。併せて経済性予測を進めるとともに現在、事業化へ向けた連携計画の検討を進めている。

## **Development of a regenerative medicine product manufacturing system of human pluripotent stem cell origin (Cardiomyocytes and Nerve)**

In this project we develop regenerative medical products such automated devices, culture media and substrates as individual elemental technologies concerning each process control technology for ensuring process accuracy and reliability. Furthermore, we construct a manufacturing system in which these are optimally combined and linked.

### **(1) Large scale production**

**Culture medium and methods development:** About low-cost medium of stable quality with multiple compounds and the methods of differentiation for cardiomyocytes & neurons we obtained the developmental results suitable for large-scale automatic culture. **Large scale automatic culture equipment development:** Expansion culture using an automatic culture device and preparation of dopaminergic neurons could be carried out on schedule. And in the no-stirring suspension culture large-scale automatic culture bioreactor (1010 cells/10L scale) has been improved. **Separation and purification:** We developed a compound that selectively kills human pluripotent stem cells and showed excellent selectivity. **Processing and evaluation:** Regarding cardiomyocytes, construct cardiac tissue-like graft by biodegradable polymer aligned nanofiber were prepared and cardiac function was improved by transplantation into a rat myocardial infarction model. **Quality control / evaluation:** We conducted data acquisition of cell samples obtained by non-stirring suspension culture and automatic culture apparatus of this project and feedbacked to analysis and device development. We developed new analytical techniques for karyotype, genome, epigenome analysis etc. and we have advanced the design and construction of the document system of the quality control process in the cell manufacturing system and its operation method. **Preservation and transportation:** We developed a cryopreservation solution of human pluripotent stem cells and differentiated cells. We also promoted commercialization of cell freezing containers that prevent liquid nitrogen contamination. In the development of a transport system for cell products, we developed and marketed a cell container for transport that can be transported for a long time. **Evaluation and prediction of the market and competition:** For the diseases (myocardial infarction and neurological diseases) targeted by this project, we surveyed and evaluated market and competitive information on business plan planning. We estimated the manufacturing cost.

### **(2) Manufacturing system construction**

**Construction of cell product manufacturing system:** Concerning the interface between various manufacturing equipment and manufacturing process management system installed in the Intensive Research Laboratory of Nakatsuji Kyoto University (IRLNKU), the concrete design was advanced about IRLNKU and half was completed at the facility by minimum required function. **Quality control in manufacturing process:** We created a prototype of a software system that extracted various control items by mainly at Kyoto University. In parallel, we proceeded with a study of a demonstration version of an integrated system that operates at a cell product manufacturing facility. **Investigation of commercialization of regenerative medicine cell products:** The plan of IRLNKU is underway mainly on the above-mentioned research and development items. In addition to promoting prediction of economic efficiency, we are currently examining cooperation plans for commercialization.

### 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 2 件、国際誌 16 件）

[分担研究①]

著者名	タイトル	掲載誌名	発表年、巻、号、 頁
<u>Mika Suga</u> , Saoko Tachikawa, Daiki Tateyama, Kiyoshi Ohnuma, <u>Miho K. Furue</u>	Imaging-cytometry revealed spatial heterogeneities of marker expression in undifferentiated human pluripotent stem cells	In Vitro Cell Dev. Biol.—Animal	(2016)doi:10.1007/s11626-016-0084-3
<u>Ikki Horiguchi</u> , <u>Yasuyuki Sakai</u>	Serum replacement with albumin-associated lipids prevents excess aggregation and enhances growth of induced pluripotent stem cell in suspension culture	Biotechnology Progress	doi:10.1002/btpr.2301
<u>Manabu Mizutani</u> , Hazuki Samejima, Hiroshi Terunuma, <u>Masahiro Kino-oka</u>	Experience of contamination during autologous cell manufacturing in cell processing facility under the Japanese Medical Practitioners Act and the Medical Care Act	Regenerative Therapy	5; 25-30 (2016) doi:10.1016/j.reth.2016.06.004
<u>Ryuji Kato</u> , Megumi Matsumoto, Hiroto Sasaki, Risako Joto, Mai Okada, Yurika Ikeda, <u>Kei Kanie</u> , <u>Mika Suga</u> , Masaki Kinehara, Kana Yanagihara, Yujung Liu, Kozue Uchio- Yamada, <u>Takayuki</u> <u>Fukuda</u> , <u>Hiroaki Kii</u> , Takayuki Uozumi, Hiroyuki Honda,	Parametric analysis of colony morphology of non-labelled live human pluripotent stem cells for cell quality control	Scientific Reports	6, 34009; doi:10.1038/srep34009 (2016)

<u>Yasujiro Kiyota,</u> <u>Miho K Furue</u>			
Suman Chandra Nath, Eiji Nagamori, Masanobu Horie, Masahiro Kino-oka	Culture medium refinement by dialysis for the expansion of human induced pluripotent stem cells in suspension culture	Bioprocess and Biosystems Engineering	doi 10.1007/s00449-016-1680-z
Masaki Yano, Takuya Yamamoto, <u>Yasunori Okano,</u> <u>Toshiyuki Kanamori,</u> <u>Masahiro Kino-oka</u>	Investigation of particle behavior in a stirred tank for optimization of suspension culture of iPS cell	Proceedings of the 27th International Symposium on Transport Phenomena	2016/9/22
Yuki Kagawa, <u>Masahiro Kino-oka</u>	An <i>in silico</i> prediction tool for the expansion culture of human skeletal muscle myoblasts	Royal Society Open Science	<i>R. Soc. open sci.</i> 3: 160500. <a href="http://dx.doi.org/10.1098/rsos.160500">http://dx.doi.org/10.1098/rsos.160500</a>
Masaki Yano, Takuya Yamamoto, <u>Yasunori Okano,</u> <u>Toshiyuki Kanamori,</u> <u>Masahiro Kino-oka</u>	Numerical study of fluid dynamics and particle behavior in an iPS cell culture tank	Proceedings of the 23th Regional Symposium on Chemical Engineering	2016/10/28
Risako Nagasaka, Yuto Gotou, Kei Yoshida, <u>Kei Kanie,</u> <u>Kazunori Shimizu,</u> Hiroyuki Honda, <u>Ryuji Kato</u>	Image-based cell quality evaluation to detect irregularities under same culture process of human induced pluripotent stem cells	J. Biosci. Bioeng.	pii:S1389-1723(16)30358-9. doi:10.1016/j.jbiosc.2016.12.015. 2017/2/8
Risako Nagasaka, Megumi Matsumoto, Mai Okada, Hiroto Sasaki, <u>Kei Kanie,</u> <u>Hiroaki Kii,</u> Takayuki Uozumi, <u>Yasujiro Kiyota,</u> Hiroyuki Honda, <u>Ryuji Kato</u>	Visualization of morphological categories of colonies for monitoring of effect on induced pluripotent stem cell culture status	Regenerative Therapy	6, 41–51 (2017)

<u>Mee-Hae Kim</u> , Yo Sugawara, <u>Yukako Fujinaga</u> , <u>Masahiro Kino-oka</u>	Botulinum hemagglutinin-mediated selective removal of cells deviating from the undifferentiated state in hiPSC colonies	Scientific Reports	7: 93 DOI:10.1038/s41598-017-00083-1
--	---	--------------------	---

【分担研究②】

タイトル	著者名	掲載誌名	発表年、巻、号、頁
Defining quality attributes to enable measurements assurance for cell therapy products	Sheng Lin-Gibson, Sumona Sarkar, <u>Yuzuru Ito</u>	Cytherapy	(2016) 18:1241-1244
4節 ヒト iPS 細胞自動培養装置の開発とその利用	<u>伊藤弓弦</u>	i P S細胞の安全・高品質な作製技術～移植臓器の開発、創薬活用、量産技術など、臨床応用／産業化までのロードマップ～（技術情報協会）	(2016) pp314-319

【分担研究③】

タイトル	著者名	掲載誌名	発表年、巻、号、頁
Allogeneic transplantation of iPS cell-derived cardiomyocytes regenerates primate hearts	<u>Yuji Shiba</u> , Toshihito Gomibuchi, Tatsuichiro Seto, Yuko Wada, Hajime Ichimura, Yuki Tanaka, Tatsuki Ogasawara, Kenji Okada, Naoko Shiba, Kengo Sakamoto, Daisuke Ido, Takashi Shiina, Masamichi Ohkura, Junichi Nakai,	Nature	2016,538: 388–391



	Narumi Uno, Yasuhiro Kazuki, Mitsuo Oshimura, <u>Itsunari Minami</u> , Uichi Ikeda		
Efficient adhesion culture of human pluripotent stem cells using laminin fragments in an uncoated manner	<u>Takamichi Miyazaki</u> , Takehisa Isobe, <u>Norio Nakatsuji</u> , <u>Hirofumi Suemori</u>	Scientific Reports	2017; 7: 41165-41172.
Efficient induction of dopaminergic neuron differentiation from induced pluripotent stem cells reveals impaired mitophagy in PARK2 neurons	Sadafumi Suzuki, <u>Wado Akamatsu</u> , Fumihiko Kisa, Takefumi Sone, Kei- Ichi Ishikawa, Naoko Kuzumaki, Hiroyuki Katayama, Atsushi Miyawaki, Nobutaka Hattori, <u>Hideyuki Okano</u>	Biochem. Biophys. Res. Commun.	2017, 483,88-93
A synthetic hybrid molecule for the selective removal of human pluripotent stem cells from cell mixtures	Di Mao, Shin Ando, Shin-ichi Sato, Ying Qin, Nao Hirata, Yousuke Katsuda, <u>Eihachiro Kawase</u> , Ting-Fang Kuo, <u>Itsunari Minami</u> , <u>Yuji Shiba</u> , Kazumitsu Ueda, <u>Norio Nakatsuji</u> , <u>Motonari Uesugi</u>	Angew. Chem. Int. Ed.	2017,56 (7):1765-1770
応用利用へ向けた低分子化合物によるヒト iPS 細胞の培養	池田達彦、 <u>長谷川光一</u>	The Chemical Times	2016. 3. 7-11

## (2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

## 【分担研究①】

発表題目	口頭・ポスターの別	発表者氏名	発表した場所	発表した時期	国内・外の別
Development of culture strategies for stem cell maintenance and differentiation through regulation of cell behaviors	口頭	<u>Mee-Hae Kim</u>	韓国生物工学会 (KSBB) (慶州、韓国)	2016/4/22	国外
Glycan-targeted elimination of tumorigenic human pluripotent stem cells by an engineered lectin-toxin fusion protein drug	ポスター	<u>Hiroaki Tateno</u> , <u>Yasuko Onuma</u> , <u>Yuzuru Ito</u> , <u>Jun Hirabayashi</u>	International Society for Stem Cell Research 2016 (ISSCR 2016) Annual Meeting (San Francisco, California)	2016/6/22	国外
Development of a robust human iPSC culture-propagation strategy through botulinum hemagglutinin-mediate selective removal of deviated cells	ポスター	<u>Mee-Hae Kim</u> , <u>Masahiro Kino-oka</u>	International Society for Stem Cell Research 2016 (ISSCR 2016) Annual Meeting (San Francisco, California)	2016/6/23	国外
Effect of cell migration behavior on deviation from the undifferentiated state in colony of human induced pluripotent stem cells	ポスター	Eri Shizui, <u>Mee-Hae Kim</u> , <u>Masahiro Kino-oka</u>	International Society for Stem Cell Research 2016 (ISSCR 2016) Annual Meeting (San Francisco, California)	2016/6/22	国外
Novel <i>in vitro</i> assay system for incipient functional impairment of retinal toxicity using retina epithelial	ポスター	Xie Yucheng, <u>Mee-Hae Kim</u> , <u>Masahiro Kino-oka</u>	International Society for Stem Cell Research 2016 (ISSCR 2016) Annual Meeting	2016/6/24	国外

pigment cells			(San Francisco, California)		
State of the art technology for cell manufacturing	口頭	<u>Masahiro Kino-oka</u>	2016 Tissue Engineering and Regenerative Medicine International Society- Asia Pacific Meeting (TERMIS-AP 2016) (Taipei, Taiwan)	2016/9/5	国外
Designing culture microenvironments to direct stem-cell fate in the regulation of cell behaviors	口頭	<u>Mee-Hae Kim,</u> <u>Yuuki Ogawa,</u> <u>Masahiro Kino-oka</u>	2016 Tissue Engineering and Regenerative Medicine International Society- Asia Pacific Meeting (TERMIS-AP 2016) (Taipei, Taiwan)	2016/9/6	国外
Assessment of the difference of cell growth rate 1: the individual differences at the manufacturing using autologous cells under the cancer immunotherapy in Japanese clinical	ポスター	<u>Manabu Mizutani,</u> Hazuki Samejima, Hiroshi Terunuma, <u>Masahiro Kino-Oka</u>	2016 Tissue Engineering and Regenerative Medicine International Society- Asia Pacific Meeting (TERMIS-AP 2016) (Taipei, Taiwan)	2016/9/4	国外
Assessment of the difference of cell growth rate 2: the influence of the storage period after the collection of blood for immune cell manufacturing in Japanese clinical	ポスター	Hazuki Samejima, <u>Manabu Mizutani,</u> <u>Masahiro Kino-Oka,</u> Keisuke Ashiba, Hiroshi Terunuma	2016 Tissue Engineering and Regenerative Medicine International Society- Asia Pacific Meeting (TERMIS-AP 2016) (Taipei, Taiwan)	2016/9/4	国外

Investigation of particle behavior in a stirred tank for optimization of suspension culture of iPS cell	口頭	Masaki Yano, Takuya Yamamoto, <u>Yasunori Okano</u> , <u>Toshiyuki Kanamori</u> , <u>Masahiro Kino-oka</u>	The 27th International Symposium on Transport Phenomena (Honolulu, Hawaii)	2016/9/22	国外
Numerical study of fluid dynamics and particle behavior in an iPS cell culture tank	口頭	Masaki Yano, Takuya Yamamoto, <u>Yasunori Okano</u> , <u>Toshiyuki Kanamori</u> , <u>Masahiro Kino-oka</u>	The 23th Regional Symposium on Chemical Engineering (RSCE2016) (Vung Tau City, Vietnam)	2016/10/28	国外
Pump-free perfusion tissue culture plate for large-scale production of liver bud	ポスター	<u>Tomoki Ohkubo</u> , <u>Masaki Kanai</u> , <u>Hirohisa Abe</u> , <u>Satoshi Ayano</u> , Hideki Taniguchi, <u>Masahiro Kino-oka</u>	The 20th International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences (MicroTAS 2016) (Dublin, Ireland)	2016/10/11	国外
Comprehensive cell manufacturing system based on flexible modular platform	ポスター	<u>Masahiro Kino-oka</u> , <u>Manabu Mizutani</u>	Scale-up and Manufacturing of Cell-based Therapies V; An ECI Conference Series (ECI; Engineering Conferences International) (San Diego, California)	2017/1/16	国外
High density culture of human induced pluripotent stem cells through the refinement of medium by dialysis in suspension	口頭	Suman Chandra Nath, <u>Masahiro Kino-oka</u>	Scale-up and Manufacturing of Cell-based Therapies V; An ECI Conference Series (ECI; Engineering	2017/1/16	国外

			Conferences International) (San Diego, California)		
顕微鏡画像を用いた細胞形態情報解析による非破壊評価	口頭	<u>加藤 竜司</u>	日本組織培養学会第89回大会（大阪府豊中市）	2016/ 5/26	国内
iPS 細胞コロニーの画像情報解析を用いた培養手技の定量評価	ポスター	長坂 理沙子、 <u>蟹江 慧</u> 、 清田 泰次郎、 <u>古江・楠田 美保</u> 、 本多 裕之、 <u>加藤 竜司</u>	日本組織培養学会第89回大会（大阪府豊中市）	2016/5/25	国内
ヒト多能性幹細胞特異的プローブ rBC2LCN を用いた品質管理技術開発	口頭	<u>伊藤 弓弦</u>	日本組織培養学会第89回大会（大阪府豊中市）	2016/5/25	国内
ヒト多能性幹細胞の形態画像を用いた培養工程管理技術とその応用	口頭	<u>清田 泰次郎</u>	日本組織培養学会第89回大会（大阪府豊中市）	2016/5/26	国内
ヒト多能性幹細胞の形態評価測定法開発とその利用	口頭	<u>古江・楠田 美保</u>	日本組織培養学会第89回大会（大阪府豊中市）	2016/5/26	国内
再生医療の普及に向けた組織ファクトリーの運用評価	ポスター	<u>菊地 鉄太郎</u> 、 <u>小川 徹也</u> 、 <u>清水 達也</u>	第 37 回日本炎症・再生医学会（京都市）	2016/6/17	国内
iPS 細胞懸濁培養最適化のための粒子挙動の数値解析	口頭	矢野 雅貴、 山本 卓也、 高木 洋平、 <u>岡野 泰則</u> 、 <u>杉浦 慎治</u> 、 <u>金森 敏幸</u> 、 <u>紀ノ岡 正博</u>	化学工学会第 48 回秋季大会（徳島市）	2016/9/6	国内
Small-scale high-cell-density iPS cell suspension culture device using dialysis	ポスター	<u>Hanbin Kim</u> 、 <u>Ikki Horiguchi</u> 、 <u>Yasuyuki Sakai</u> 、	化学工学会第 48 回秋季大会（徳島市）	2016/9/7	国内

membranes for optimization of operations conditions					
静水圧で培養液を自動交換可能な細胞培養プレートの開発	ポスター	田中 浩貴、 大久保 智樹、 叶井 正樹、 阿部 浩久、 紀ノ岡 正博	化学とマイクロ・ナノシステム学会 第34回研究会（千葉市）	2016/9/7	国内
Analysis of cell migratory dispersion through spatial measurement of nucleus density	ポスター	Ziyu Chen, 金 美海、 紀ノ岡 正博	第 68 回日本生物工学会大会（富山市）	2016/9/29	国内
密着結合タンパクの機能特性に基づいた網膜毒性の新規 in vitro 毒性評価系の構築	ポスター	Xie Yucheng, 金 美海、 紀ノ岡 正博	第 68 回日本生物工学会大会（富山市）	2016/9/29	国内
クローン培養系を用いたヒト iPS 細胞培養中に生じる不均質性の解明	ポスター	近藤 伸彦、 金 美海、 紀ノ岡 正博	第 68 回日本生物工学会大会（富山市）	2016/9/29	国内
ヒト iPS 細胞の継代培養中発生する逸脱細胞の簡便な除去法の構築	ポスター	金 美海、 松原 佳史、 紀ノ岡 正博	第 68 回日本生物工学会大会（富山市）	2016/9/29	国内
ボツリヌス菌由来 Hemagglutinin を用いたヒト iPS 細胞の高密度懸濁培養法の確立	ポスター	山本 陸、 都倉 知浩、 Nath Suman Chandra、 金 美海、 紀ノ岡 正博	第 68 回日本生物工学会大会（富山市）	2016/9/29	国内
細胞集塊挙動によるヒト間葉系幹細胞の心筋方向への分化指向性誘導	ポスター	小川 祐樹、 金 美海、 紀ノ岡 正博	第 68 回日本生物工学会大会（富山市）	2016/9/29	国内
単一集塊でのヒト iPS 細胞培養における高密度化の限界についての検討	ポスター	植野 真伍、 紀ノ岡 正博	第 68 回日本生物工学会大会（富山市）	2016/9/29	国内

再生医療ビジネスの概要と経営診断の可能性に関する一考察	口頭	神谷 卓郎、 水谷 学、 紀ノ岡 正博	日本経営診断学会第49回全国大会（名古屋市）	2016/10/9	国内
細胞外マトリックスの多様性とテラーメイド培養基材	口頭	関口 清俊	幹細胞の培養法・培養工学のためのコンソーシアム 第1回シンポジウム（大阪府吹田市）	2016/10/15	国内
ヒト幹細胞の挙動制御に基づく未分化維持・分化誘導手法の開発	口頭	金 美海	幹細胞の培養法・培養工学のためのコンソーシアム 第1回シンポジウム（大阪府吹田市）	2016/10/15	国内
離散要素法を用いたiPS細胞懸濁培養の数値シミュレーション	口頭	矢野 雅貴、 山本 卓也、 岡野 泰則、 都倉 知浩、 金森 敏幸、 紀ノ岡 正博	化学工学会第82年会（東京都江東区）	2017/3/7	国内
懸濁培養最適化のための数値流体解析・離散要素法連成シミュレーション	ポスター	矢野 雅貴、 山本 卓也、 岡野 泰則、 都倉 知浩、 金森 敏幸、 紀ノ岡 正博	化学工学会第82年会（東京都江東区）	2017/3/8	国内
画像解析に基づく振盪培養中のヒトiPS細胞の増殖挙動・剪断ストレス評価	ポスター	長手 武尊、 堀口 一樹、 酒井 康行	化学工学会第82年会（東京都江東区）	2017/3/7	国内
iPS浮遊培養技術に関する数値解析手法の構築	口頭	岡野 泰則	第16回日本再生医療学会総会（仙台市）	2017/3/7	国内
細胞培養加工施設における無菌操作等区域の清浄度維持に係わるリスクの検討	ポスター	千葉 友樹、 天野 健太郎、 川下 泰範、 曾根 大二郎、 野口 展土、 水谷 学、 紀ノ岡 正博	第16回日本再生医療学会総会（仙台市）	2017/3/7	国内

ヒト iPS 細胞のコロニー形成機構の解明とクローン培養系の構築	ポスター	金 美梅、 近藤 伸彦、 紀ノ岡 正博	第 16 回日本再生医療学会総会（仙台市）	2017/3/8	国内
ディンプル培養器を用いた細胞集塊培養の手作業および機械作業の比較	ポスター	小北 真生、 植野 真伍、 紀ノ岡 正博	第 16 回日本再生医療学会総会（仙台市）	2017/3/8	国内
細胞製造性を考慮した iPS 細胞の大量・安定製造技術の構築	口頭	紀ノ岡 正博	第 16 回日本再生医療学会総会（仙台市）	2017/3/9	国内
Analysis of cell migratory behavior in colony of human iPS cells using cellular automation	ポスター	Thi Nhu Trang Nguyen、 佐々木 啓、 紀ノ岡 正博	第 16 回日本再生医療学会総会（仙台市）	2017/3/9	国内
非ニュートン流体を用いた hiPS 細胞凝集塊大量培養プロセスの構築	ポスター	山本 陸、 紀ノ岡 正博	第 16 回日本再生医療学会総会（仙台市）	2017/3/9	国内
ピペット操作における飛沫により発生するリスクに関する研究	ポスター	水谷 学、 野口 展土、 紀ノ岡 正博	第 16 回日本再生医療学会総会（仙台市）	2017/3/9	国内
細胞製造工程における新規評価指標の確立	ポスター	福守 一浩、 Umbhorn Ungkulpasvich、 Kwanchanok Viravaidya- Pasuwat、 紀ノ岡 正博	第 16 回日本再生医療学会総会（仙台市）	2017/3/9	国内
ヒト iPS 細胞の製造工程における時間依存的な品質変化を考慮に入れたロット形成基準の構築	ポスター	鑑廣 真司 福守 一浩、 青木 拓也 紀ノ岡 正博	第 16 回日本再生医療学会総会（仙台市）	2017/3/9	国内
免疫細胞療法のためのリンパ球系細胞加工における末梢血採取後保存期間の影響の評価	ポスター	鮫島 葉月 水谷 学、 紀ノ岡 正博、 芦葉 恵介、 照沼 裕	第 16 回日本再生医療学会総会（仙台市）	2017/3/9	国内



上皮間葉相互作用の場としての基底膜に着目した次世代培養基材の開発	口頭	<u>関口 清俊</u>	第 16 回日本再生医療学会総会（仙台市）	2017/3/9	国内
iPS 細胞凝集体の効率的な増幅分化誘導プロセスの確立に向けて	口頭	<u>酒井 康行</u>	第 16 回日本再生医療学会総会（仙台市）	2017/3/9	国内
iPS 細胞コロニー形態解析を用いた品質工学的解析の試み	口頭	吉田 啓、 長坂 理紗子、 <u>蟹江 慧</u> 、 清田 泰次郎、 <u>古江・楠田 美保</u> 、 清水 一憲、 本多 裕之、 加藤 竜司	第 16 回日本再生医療学会総会（仙台市）	2017/3/9	国内
画像情報解析を用いた培養環境の評価と未分化逸脱細胞の検出	口頭	長坂 理紗子、 後藤 優斗 吉田 啓、 <u>蟹江 慧</u> 、 清水 一憲、 本多 裕之、 加藤 竜司	第 16 回日本再生医療学会総会（仙台市）	2017/3/9	国内
画像取得・解析技術を用いた培養工程の安定化	口頭	<u>加藤 竜司</u>	第 16 回日本再生医療学会総会（仙台市）	2017/3/9	国内
非破壊的な iPS 細胞品質評価法開発	ポスター	長坂 理紗子、 後藤 優斗 吉田 啓、 <u>蟹江 慧</u> 、 清水 一憲、 本多 裕之、 加藤 竜司	第 90 回日本薬理学会年会（長崎市）	2017/3/17	国内
ISO/TC276 における再生医療等製品の国際標準化戦略	口頭	<u>伊藤 弓弦</u>	第 36 回日本動物細胞工学シンポジウム（東京都港区）	2017/3/29	国内
ヒト多能性幹細胞の細胞形態を用いた評価法の開発	口頭	<u>古江・楠田 美保</u>	神奈川歯科大学学会平成 28 年度第 11、12 回合同開催研究談話会（神奈川県横須賀市）	2017/3/31	国内

【分担研究②】

発表題目	口頭・ポスターの別	発表者氏名	発表した場所	発表した時期	国内・外の別
DMSO-free chemically defined cryopreservation of human mesenchymal stem cells and chondrocytes	ポスター	<u>Yasuko Onuma</u> , <u>Madoka Shimizu</u> , <u>Yasuhiko Ohgi</u> , <u>Yuzuru Ito</u>	International Society for Stem Cell Research 2016 (ISSCR 2016) Annual Meeting (San Francisco, California)	2016/6/22	国外
Alpha 2-6sialylation is a marker of the differentiation potential of human mesenchymal stem cells	ポスター	<u>Hiroaki Tateno</u> , <u>Masashi Toyoda</u> , <u>Yasuko Onuma</u> , <u>Yuzuru Ito</u> , <u>Hidenori Akutsu</u> , <u>Jun Hirabayashi</u>	International Society for Stem Cell Research 2016 (ISSCR 2016) Annual Meeting (San Francisco, California)	2016/6/22	国外
Enhancement of cellular adhesion and proliferation by direct instillation of type I collagen based recombinant protein solution into culture medium	ポスター	<u>Koji Muraya</u> , <u>Tomoyuki Kawasaki</u> , Toshihiko Maekawa, <u>Yasuhiro Yoshioka</u> , <u>Hidenori Akutsu</u>	International Society for Stem Cell Research 2016 (ISSCR 2016) Annual Meeting (San Francisco, California)	2016/6/22	国外
Rabbit xenotransplantation model for evaluating human chondrocyte sheets for articular cartilage repair at 12 weeks	口頭	<u>Takumi Takahashi</u> , <u>Masato Sato</u> , <u>Eriko Toyoda</u> , Hideyuki Maruki, Daichi Takizawa, Ayako Tominaga, Eri Okada, Miki Maehara, Masahiko Watanabe	2016 Tissue Engineering and Regenerative Medicine International Society- Asia Pacific Meeting (TERMIS-AP 2016) (Taipei, Taiwan)	2016/9/5	国外

Evaluation of culture conditions for allogeneic chondrocyte sheets in a rabbit xenotransplantation model	ポスター	<u>Takumi Takahashi</u> , <u>Masato Sato</u> , <u>Eriko Toyoda</u> , Miki Maehara, Daichi Takizawa, Yasuyuki Sogo, Hideyuki Maruki, Ayako Tominaga, Eri Okada, Tomomi Kotoku, Masahiko Watanabe	The Orthopaedic Research Society 2017 Annual Meeting (San Diego, California)	2017/3/20-21	国外
ヒト軟骨細胞シートの特異種移植モデルによる評価系の確立：成人膝軟骨細胞シートの特性評価	ポスター	<u>高橋 匠</u> 、 <u>佐藤 正人</u> 、 <u>豊田 恵利子</u> 、 丸木 秀行、 滝澤 大智、 岡田 恵里、 前原 美樹、 加藤 義治、 持田 讓治	第 37 回 日本炎症・再生医学会（京都市）	2016/6/16	国内
酸素透過性プレートを用いた多指症軟骨由来ヒト間葉系幹細胞培養における酸素濃度・供給の影響評価	口頭	<u>堀口 一樹</u> 、 下田 真也、 <u>古川 克子</u> 、 <u>酒井 康行</u>	化学工学会第 48 回秋季大会（徳島市）	2016/9/6	国内
ヒト軟骨細胞シートの特異種移植モデルによる評価系の確立：家兎 12 週評価	口頭	<u>高橋 匠</u> 、 <u>佐藤 正人</u> 、 <u>豊田 恵利子</u> 、 丸木 秀行、 滝澤 大智、 岡田 恵理、 前原 美樹、 加藤 義治、 持田 讓治	第 31 回日本整形外科学会基礎学術集会（福岡市）	2016/10/13	国内
再生医療を目指した間葉系幹細胞培養システムの開発	口頭	<u>阿久津 英憲</u>	幹細胞の培養法・培養工学のためのコンソーシアム 第 1 回シンポジウム（大阪府吹田市）	2016/10/15	国内

自動培養技術は人を超える	口頭	<u>伊藤 弓弦</u>	第 6 回 CSJ 化学フェスタ 2016 (東京都江戸川区)	2016/11/15	国内
再生医療と国際標準化	口頭	<u>伊藤 弓弦</u>	第 4 回 JMAC シンポジウム (東京都澁谷区)	2017/1/13	国内
DMSO-free ケミカリーディファインドな凍結保存液によるヒト間葉系幹細胞および軟骨細胞の凍結保存	ポスター	<u>小沼 泰子</u> <u>清水 真都香</u> <u>相木 泰彦</u> <u>伊藤 弓弦</u>	第 16 回産総研・産技連 LS-BT 合同研究発表会 (茨城県つくば市)	2017/1/31	国内
間葉系幹細胞の骨形成関連遺伝子の解析	ポスター	<u>長 真優子</u> <u>原本 悦和</u> <u>清水 真都香</u> <u>相木 泰彦</u> <u>樋口 久美子</u> <u>小沼 泰子</u> <u>青柳 秀紀</u> <u>豊田 雅士</u> <u>阿久津 英憲</u> <u>伊藤 弓弦</u>	第 16 回産総研・産技連 LS-BT 合同研究発表会 (茨城県つくば市)	2017/1/31	国内
ヒト同種軟骨細胞シートの移植モデルによる評価方法	口頭	<u>高橋 匠</u> 、 <u>豊田 恵利子</u> 、 <u>前原 美樹</u> 、 <u>岡田 恵理</u> 、 <u>滝澤 大智</u> 、 <u>十河 泰之</u> 、 <u>丸木 秀行</u> 、 <u>富永 絢子</u> 、 <u>渡辺 雅彦</u> <u>佐藤 正人</u>	第 16 回日本再生医療学会総会 (仙台市)	2017/3/7	国内
DMSO-free 無血清凍結保存液によるヒト間葉系幹細胞および軟骨細胞の凍結保存	ポスター	<u>小沼 泰子</u> <u>清水 真都香</u> <u>相木 泰彦</u> <u>伊藤 弓弦</u>	第 16 回日本再生医療学会総会 (仙台市)	2017/3/9	国内

【分担研究③】

発表題目	口頭・ポスターの別	発表者氏名	発表した場所	発表した時期	国内・外の別
Human iPS/ES cell self-renewal under growth factor- and ECM-free condition	ポスター	<u>Kouichi Hasegawa</u> , <u>Noriko Yoshida</u> , Nami Asari, <u>Tatsuhiko Ikeda</u> , Hosein Shahsavarani, <u>Shin-ya Yasuda</u> , Neha Vartak- Sharma	International Society for Stem Cell Research 2016 (ISSCR 2016) Annual Meeting (San Francisco, California)	2016/6/22	国外
Scalable production of neuro-spheres from human pluripotent stem cells in a 3D culture system containing functional polymers	ポスター	Haixin Zhang, <u>Wado Akamatsu</u> , <u>Takamichi Miyazaki</u> , Kazuhiro Aiba, <u>Hideyuki Okano</u> , <u>Norio Nakatsuji</u>	International Society for Stem Cell Research 2016 (ISSCR 2016) Annual Meeting (San Francisco, California)	2016/6/22	国外
Engineered functional anisotropic and 3-dimensional hiPS-derived cardiac tissue-like construct for drug assessment and cardiac disease repairing	ポスター	Junjun Li, Itsunari Minami, Leqian Yu, <u>Yuji Shiba</u> , <u>Norio Nakatsuji</u> , Li Liu, Yong Chen	13 <sup>th</sup> International Society for Stem Cell Research (ISSCR 2016) Annual Meeting (San Francisco, California)	2016/6/23	国外
Human iPSCs-engineered anisotropic cardiac tissue-like construct for drug assessment and cardiac disease repairing	ポスター	<u>Junjun Li</u> , <u>Itsunari Minami</u> , Leqian Yu, Motoko Shiozaki, Yuji Shiba, Shin Yajima, Satsuki Fukushima, Noburiro Morone, Hitetoshi Kotera, Shigeru Miyagawa, Yoshiki Sawa,	Cell Symposia 10 Years of iPSCs (Berkeley, California)	2016/9/26	国外

		<u>Norio Nakatsuji</u> , <u>Li Liu</u> , Yong Chen			
Introduction of AMED RM project: open innovation for large scale and cost effective cell production systems using human ES/iPS cell lines	口頭	<u>Takashi Asada</u>	Cell & Gene Meeting on the Mesa (La Jolla, California)	2016/10/6	国外
Novel platform of engineering functional tissues	口頭	<u>Koji Kuchishi</u>	Stem Cell Meeting on the Mesa (San Diego, California)	2016/10/9	国外
Xeno-free human induced pluripotent stem cell-derived cardiomyocyte cell sheet transplantation promise the safety and effectiveness in the treatment for heart failure	ポスター	<u>Motoko Shiozaki</u> , <u>Shigeru Miyagawa</u> , <u>Satsuki Fukushima</u> , <u>Itsunari Minami</u> , <u>Shin Yajima</u> , Keitaro Domae, Atsuhiko Saito, <u>Takashi Asada</u> , <u>Norio Nakatsuji</u> , <u>Yoshiki Sawa</u>	American Heart Association (AHA) Scientific Sessions 2016 (New Orleans, Louisiana)	2016/11/13	国外
iPS 細胞由来心筋細胞の応用研究	口頭	<u>南一成</u>	京都市ライフイノベーション創出支援センターシンポジウム	2016/11/2	国内
Allogeneic transplantation of iPS cell-derived cardiomyocytes regenerates non-human primate hearts	口頭	<u>Yuji Shiba</u>	World Stem Cell Summit 2016 5 <sup>th</sup> Annual Japan Symposium (West Palm Beach, Florida)	2016/12/8	国外
Preclinical transplantation study of iPS cell-derived cardiomyocytes for cardiac repair	口頭	<u>Yuji Shiba</u>	World Stem Cell Summit 2016 (West Palm Beach, Florida)	2016/12/8	国外

閉鎖系自動培養システム： CELLAFORTE	口頭	竹内誠亮（ニプロ）	東京大学駒場キャンパスⅡ：バイオエンジニアリング研究会講演会「再生医療のエンジニアリング（東京都）	2016/12/13	国内
Large-scale stem cell production system by newly designed bioreactor	口頭	<u>Hideaki Kagawa</u> , <u>Shun Goto</u> , <u>Soichi Kohashi</u> , Tetsuya Yoshida, <u>Hidekazu Yamazaki</u>	Scale-up and Manufacturing of Cell-based Therapies V An ECI Conference Series (ECI; Engineering Conferences International) (San Diego, California)	2017/1/15-19	国外
心不全モデルラットに対する Xeno-free 分化誘導法を用いたヒト多能性幹細胞移植の治療効果の検討	ポスター	<u>塩崎 元子</u> 、 <u>宮川 繁</u> 、 <u>福寫 五月</u> 、 <u>南 一成</u> 、 <u>矢嶋 真心</u> 、 齋藤 充弘、 浅田 孝、 <u>中辻 憲夫</u> 、 <u>澤 芳樹</u>	第 16 回日本再生医療学会総会（仙台市）	2017/3/7	国内
新規移植法を用いた多能性幹細胞由来心筋細胞移植	口頭	小笠原 達樹、 <u>南 一成</u> 、 <u>上杉 志成</u> 、 <u>市村 創</u> 、 和田 有子、 市原 由香、 田中 夕祈、 <u>唐津 優子</u> 、 岡野 怜己、 岡田 健次、 <u>柴 祐司</u>	第 16 回日本再生医療学会総会（仙台市）	2017/3/9	国内

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

【分担研究①】

発表した演題等	発表者氏名	発表した場所	発表した時期	国内・外の別
「ヒト多能性幹細胞由来の再生医療製品製造システムの開発(網膜色素上皮・幹細胞)」の概要	<u>水谷 学</u>	再生医療 JAPAN 幹細胞評価基盤技術研究組合 成果発表会、パシフィコ横浜(横浜市)	平成 28 年 10 月	国内
iPS 細胞培養のための培地交換システムとスケールアップ方法の開発	<u>和田 昌憲</u>	再生医療 JAPAN 幹細胞評価基盤技術研究組合 成果発表会、パシフィコ横浜(横浜市)	平成 28 年 10 月	国内
培地交換機能付き細胞集塊培養プレートによる未分化 iPS 細胞拡大培養の検討	<u>綾野 賢</u>	再生医療 JAPAN 幹細胞評価基盤技術研究組合 成果発表会、パシフィコ横浜(横浜市)	平成 28 年 10 月	国内
顕微鏡画像解析を利用した iPS 細胞品質評価技術の紹介	<u>清田 泰治郎</u>	再生医療 JAPAN 幹細胞評価基盤技術研究組合 成果発表会、パシフィコ横浜(横浜市)	平成 28 年 10 月	国内
化学物質の発生神経毒性の検出を目標とするヒト iPS 細胞を利用した非侵襲的 <i>in vitro</i> 評価系の開発	<u>古江・楠田 美保</u>	22 世紀先端研究セミナー(東京都港区)	2016/10/21	国内

【分担研究②】

発表した演題等	発表者氏名	発表した場所(シンポジウム名等)	発表した時期	国内・外の別
「ヒト間葉系幹細胞由来の再生医療製品製造システムの開発」の概要	<u>伊藤 弓弦</u>	再生医療 JAPAN 幹細胞評価基盤技術研究組合 成果発表会、パシフィコ横浜(横浜市)	2016/10/13	国内



骨・軟骨分化ポテンシャルマーカー測定キット	<u>船岡 創平</u>	再生医療 JAPAN 幹細胞評価基盤技術 研究組合 成果発表、パシフィコ横浜 (横浜市)	2016/10/13	国内
温度履歴統合管理システム "CryoLibrary iMaster®"の開発	<u>吉村 滋弘</u>	再生医療 JAPAN 幹細胞評価基盤技術 研究組合 成果発表、パシフィコ横浜 (横浜市)	2016/10/13	国内
カスタムアレイ CGH を用いた間葉系幹細胞の品質	<u>的場 亮</u>	再生医療 JAPAN 幹細胞評価基盤技術 研究組合 成果発表、パシフィコ横浜 (横浜市)	2016/10/13	国内
軟骨細胞を用いた細胞治療のための間葉系幹細胞用培地とマーカーの開発	<u>天野 誠</u>	再生医療 JAPAN 幹細胞評価基盤技術 研究組合 成果発表、パシフィコ横浜 (横浜市)	2016/10/13	国内

【分担研究③】

発表した演題等	発表者氏名	発表した場所（シンポジウム名等）	発表した時期	国内・外の別
Multidisciplinary academia-industry collaboration for production of human pluripotent stem cell-derived functional cells in industrial application	<u>Norio Nakatsuji</u>	スコットランド・神奈川 ライフサイエンス投資セミナー、川崎生命科学・環境研究センター（神奈川県川崎市）	2016/4/12	国内
Open innovative collaboration between Japan and UK (Scotland) & open innovation project in Japan (introduction of AMED project)	<u>Takashi Asada</u>	スコットランド・神奈川 ライフサイエンス投資セミナー、川崎生命科学・環境研究センター（神奈川県川崎市）	2016/4/12	国内

「ヒト多能性幹細胞由来の再生医療製品製造システムの開発（心筋・神経）」の概要	<u>浅田 孝</u>	再生医療 JAPAN 幹細胞評価基盤技術 研究組合 成果発表 会、パシフィコ横浜 (横浜市)	2016/10/13	国内
定温搬送容器の研究開発	<u>佐藤 圭司</u>	再生医療 JAPAN 幹細胞評価基盤技術 研究組合 成果発表 会、パシフィコ横浜 (横浜市)	2016/10/13	国内
再生医療にむけた未分化細胞用培地・凍結保存液の開発	<u>竹内 誠亮</u>	再生医療 JAPAN 幹細胞評価基盤技術 研究組合 成果発表 会、パシフィコ横浜 (横浜市)	2016/10/13	国内
再生医療にむけた未分化細胞用培地・凍結保存液の開発	<u>吉田 俊介</u>	再生医療 JAPAN 幹細胞評価基盤技術 研究組合 成果発表 会、パシフィコ横浜 (横浜市)	2016/10/13	国内
無限の可能性を保つ～暴れん坊細胞を躰ける	<u>長谷川光一</u> , <u>池田 達彦</u> , <u>吉田則子</u> , 日野基貴	第 20 回 iCeMS カ フェ (京都市)	2016/10/22	国内

(4) 特許出願  
該当なし