

## 平成 23 年度実施方針

バイオテクノロジー・医療技術部

1. 件名： プログラム名： 健康安心イノベーションプログラム  
(大項目) 次世代機能代替技術の研究開発

## 2. 根拠法

独立行政法人新エネルギー・産業技術総合開発機構法第 15 条第 1 項第 2 号

## 3. 背景及び目的・目標

医療技術の進歩により多くの疾病に対する治療法が確立されてきたものの、臓器や器官の完全な機能回復が困難な疾病が残されており、それらの疾病の克服や患者の QOL 向上が求められている。

現在、細胞・組織を生体外で長期間培養し生体内へ戻すという再生医療技術により、失われた機能を回復させる試みが行われており、一定の成果が挙げられてきているが、こうした技術を患者に迅速に提供していくことが課題となっている。

さらに、移植医療の急速な進展が望めない我が国の実情に鑑み、臓器の機能を代替する機器による治療の可能性を広げることが重要となっている。特に、重篤な心疾患に対して用いられる植込み型補助人工心臓は、主として欧米成人の体格に合わせた機器が多く、小柄な日本人でも長期的に使用可能な植込み型補助人工心臓の実現が求められている。

本プロジェクトは、再生医療の可能性を広げ、有効性・安全性の高い次世代再生医療技術を早期に社会へ普及させるために、生体内で自己組織の再生を促すセルフリー型再生デバイスや、少量の細胞により生体内で自律的に成熟する自律成熟型再生デバイスの実用化を推進するとともに、これら再生デバイスにおける有効性・安全性の評価技術等を確立する。また、小柄な体格にも適用可能な小型の製品で、血栓形成や感染を防ぎ、長期在宅使用が可能な植込み型補助人工心臓を開発する。

本研究開発では、以下の中間及び最終目標を定めた研究開発について実施する。

## 研究開発項目① 「次世代再生医療技術の研究開発」

## 【中間目標（平成 24 年度）】

## (1) 生体内で自己組織の再生を促すセルフリー型再生デバイスの開発

## (ア) セルフリー型再生デバイスの基盤研究開発[委託事業]

生体内で自己組織の再生を促進するための細胞外マトリックス、幹細胞誘導・分化促進因子等の候補因子の効果を確認する。

(イ) セルフリー型再生デバイスの実用化研究開発[共同研究事業 (NEDO 負担:2/3)]  
セルフリー型再生デバイスの大動物実験を開始できるプロトタイプを作製する。

## (2) 少量の細胞により生体内で自己組織の再生を促す自律成熟型再生デバイスの開発

## (ア) 自律成熟型再生デバイスの基盤研究開発[委託事業]

少量の細胞を生体内で増殖・成熟させるための細胞増殖因子等の候補因子の効果を確認する。

(イ) 自律成熟型再生デバイスの実用化研究開発[共同研究事業 (NEDO 負担:2/3)]  
自律成熟型再生デバイスの大動物実験を開始できるプロトタイプを作製する。

(3) 有効性・安全性評価技術等の開発 [委託事業]

- ・開発する再生デバイスを用いて再生した組織等の有効性・安全性に関して、低侵襲で高精度な評価技術を選定する。
- ・開発する再生デバイスを低侵襲に植込む技術を選定する。

【最終目標（平成 26 年度末）】

(1) 生体内で自己組織の再生を促すセルフリー型再生デバイスの開発

- ・細胞外マトリックス、幹細胞誘導・分化促進因子等を確定し、これらの組み合わせたセルフリー型再生デバイスを完成する。
- ・さらに、本事業を終了する時点で臨床試験を開始するのに必要な有効性・安全性を客観的に評価する十分な前臨床試験データを蓄積し、実用化を進める。

(2) 少量の細胞により生体内で自己組織の再生を促す自律成熟型再生デバイスの開発

- ・細胞増殖因子等を確定し、自律成熟型再生デバイスを完成する。
- ・さらに、本事業を終了する時点で臨床試験を開始するのに必要な有効性・安全性を客観的に評価する十分な前臨床試験データを蓄積し、実用化を進める。

(3) 有効性・安全性評価技術等の開発

- ・開発する再生デバイスを用いて再生した組織等の有効性・安全性に関する、低侵襲で高精度な評価技術を確立する。
- ・確立した評価技術の標準化に向けた取り組みを行う。
- ・開発する再生デバイスを低侵襲に植込む技術を確立する。

研究開発項目② 「次世代心機能代替治療技術の研究開発」

【中間目標（平成 24 年度）】

(1) 小柄な患者に適用できる植込み型補助人工心臓の開発 [共同研究事業（NEDO 負担:2/3）]

以下（ア）～（ウ）の要素技術の少なくとも 1 つを組み込んだ植込み型補助人工心臓のプロトタイプを作製する。

（ア）低補助血流量からの幅広い補助血流量変更に対応できる技術の開発

1～4 L/分の補助血流量に対応可能なポンプの実現に向けた技術を検討する。

（イ）抗血栓性を高める技術の開発

優れた抗血栓性を有するデザインや表面処理技術等を検討する。

（ウ）長期使用を可能とする技術の開発

- ・感染対策及び溶血対策ならびに耐久性の向上技術を検討する。
- ・成長への対応を可能とする技術を検討する。
- ・コントローラ等も含めた装置の小型・軽量化技術を検討する。

(2) 有効性及び安全性の評価 [委託事業]

プロトタイプ of 植込み型補助人工心臓としての有効性及び機械的・電氣的・生物学的な安全性の評価を行う。

【最終目標（平成 26 年度末）】

上記各要素技術を総合的に組み合わせることにより、小児を含めた小柄な患者（体重 15～30 キロ程度）への適用を可能とする、長期使用可能な小型の植込み型補助人工心臓のプロトタイプを作製する。

さらに、プロトタイプ of 植込み型補助人工心臓としての有効性及び機械的・電氣的・

生物学的な安全性の評価を行い、大動物において、プロトタイプを用いて3ヶ月の生存を達成する。

#### 4. 実施内容及び進捗状況

東京女子医科大学教授 岡野光夫氏をプロジェクトリーダーとして、以下の研究開発を実施した。

##### 4. 1 平成22年度事業内容

##### 研究開発項目①「次世代再生医療技術の研究開発」

##### (1) 生体内で自己組織の再生を促すセルフリー型再生デバイスの開発

(ア) セルフリー型再生デバイスの基盤研究開発（実施体制-ニプロ株式会社、国立大学法人大阪大学、再委託-独立行政法人国立成育医療研究センター、国立大学法人千葉大学、国立大学法人京都大学）

組織幹細胞を可視化する「ラベル保持細胞標識法」を開発、対象臓器での幹細胞の局在部位を調べる技術を開発し、基底膜構成蛋白質の網羅的局在解析と組み合わせ、幹細胞ニッチの構成因子探索を行った。

幹細胞誘導因子 HMGB1 の機能発現メカニズムの詳細を、骨髄由来 L-P+間葉系幹細胞を用いて解析した。また将来のデバイス化応用を視野に HMGB1 を大量発現(生産)する方法の検討を行った。

心筋細胞への分化誘導因子として、過去に同定した IGFBP-4 の他にも複数の誘導因子を同定することに成功し、作用メカニズムの解析を行った。

また上記の幹誘導因子、分化誘導因子と同様の効果をもち、経口摂取も可能な低分子薬剤、ON01302 につき、動物実験(ラット、ハムスター、ブタ、イヌ)での効果確認試験を平行して実施した。

幹細胞誘導・分化制御因子のドラッグデリバリーシステムについては候補因子の徐放に適した薬物包含ハイドロゲルを、誘導した幹細胞を定着させるデバイスについては細胞接着に最適な徐放化ハイドロゲルの形状を、検討した。また、デバイスデザイン決定のための要素技術の抽出を行った。

候補因子の安全性評価、及び、有効性評価するための技術確立を、リファリンスとなる動物の正常細胞と組織、ヒト正常細胞を用いて立ち上げた。

(イ) セルフリー型再生デバイスの実用化研究開発（実施体制-ニプロ株式会社）

幹細胞及び分化誘導因子を乗せるデバイスとして、適度な柔軟性・伸縮性と強度をもつ心筋ジャケットを開発するため、ナイロン等の高分子素材で、及び成形法(編み方、織り方)について主に力学的性能を中心に検討した。

##### (2) 少量の細胞により生体内で自己組織の再生を促す自律成熟型再生デバイスの開発

(ア) 自律成熟型再生デバイスの基盤研究開発

(i) 生体内で自律的に成熟する臓器再生デバイスのための基盤研究開発（実施体制-野村ユニソン株式会社、国立大学法人東京大学、国立大学法人大阪大学、国立大学法人神戸大学、学校法人福田学園大阪保健医療大学、学校法人東京理科大学）

軟骨用再生デバイスでは、マウス及びヒト耳介軟骨細胞、関節軟骨細胞、骨髄細胞、脂肪細胞を用いて合成ペプチド等のハイドロゲルと混和させ、3次元培養を行った。FGF-2等の軟骨細胞の増殖に影響を及ぼす薬剤を血清含有基礎培地(DMEM/F12)に添加し、最適な増殖刺激因子を探索した。ハイドロゲルに関しては、混合するだけでゲル化が生じること、細胞共存下においてもシステムが駆動すること、従来型ゲルよりも細胞生存率が向上できることを確認した。また、家兎へ再生デバイスを移植し、移植後4週で軟骨の再生を確認した。

骨用再生デバイスでは、 $\alpha$ -TCP 製テトラポッド形状微小人工骨と  $\beta$ -TCP 製顆

粒状微小人工骨を選定してイヌ大腿骨欠損部への埋植後の強度解析を行い、テトラポッド形状人工骨埋植群において、欠損部強度の亢進と骨再生因子の良好な徐放性を確認した。焼結積層造形法によって三次元形状を持つチタン製外殻を作製し、イヌへの長期埋植を行って性能を評価した。

関節用再生デバイスにおいてもこれらの人工骨を応用しての検討を行った。

- (ii) Muse細胞を用いた *in situ stem cell therapy* の基盤研究開発（実施体制-株式会社 Clio、国立大学法人京都大学、国立大学法人東北大学）

Muse細胞が損傷部位に誘導される際の遊走因子を決定するために、損傷部位で産生されている遊走因子を解析するとともに、マイクロアレイ等を用いた Muse細胞の膜タンパク質の解析により、対応する受容体の発現を確認し、遊走因子と思われる分子を絞り込でおり、施設に依存しない Muse細胞の精製・培養に関する一般的な方法と Muse細胞からの mRNAの採取方法に関する技術を確認した。また、評価系となるニワトリ胚盤胞を用いたアッセイ系の確立に関する技術開発を行った。

損傷部位での Muse細胞の生着に関する研究開発については、細胞外マトリックス及び DDSの選定に関して、検討の候補となる細胞外マトリックスについてリストアップを行うとともに、入手が容易なものについては、一部予備実験を行った。

生体内での分化制御に関する基礎研究開発では、Schwann細胞、神経前駆細胞、について Muse細胞からの誘導を試みた。

- (イ) 自律成熟型再生デバイスの実用化研究開発

- (i) 生体内で自律的に成熟する臓器再生デバイスのための実用化研究開発（実施体制-株式会社スリーディー・マトリックス、野村ユニソン株式会社）

軟骨細胞の生存性・増殖性の評価、強度の向上を試みた。新規配列の足場素材（KLD等）に関しては、今年度の結果を踏まえ、製造体制の目処をつけた。

モジュールに関しては、細胞培養用モジュールの小型製品の設計を実施した。

今回の設計は、細胞培養中に内部観察ができる設計とした。組立前まで行った。

- (ii) Muse細胞を用いた *in situ stem cell therapy* の実用化研究開発（実施体制-株式会社 Clio、再委託-国立大学法人東北大学）

生体内での分化制御に関する研究開発として、*In vitro*で Muse細胞より、皮膚上皮或いは神経に分化誘導した細胞又は誘導をしない Muse細胞そのものを免疫不全マウスの皮膚損傷モデル或いは脊髄損傷モデルに移植し、タンパク発現等の経過を観察中である。

- (3) 有効性・安全性評価技術等の開発（実施体制-国立大学法人東京大学、株式会社ツーセル、学校法人福田学園大阪保健医療大学）

培養細胞の安全性評価を確立するため、遺伝子試験、軟寒天培養試験、発癌性否定試験などを、条件検討を行った。さらに、製品安全性に関して *in vitro* 自律再生実験モデルを検討するため、素材・細胞相互作用を評価できるモジュールを製造した。

## 研究開発項目②「次世代心機能代替治療技術の研究開発」

- (1) 小柄な患者に適用できる植込み型補助人工心臓の開発（実施体制-ニプロ株式会社、三菱重工業株式会社）

体重 15-30 キロの患者にも体内植込み可能な補助人工心臓システムとして、従来より開発している成人用補助人工心臓システムを改良するための具体的目標を設定し、開発に着手した。血液ポンプに関しては、低流量運転に最適化した流路設計に着手した。周辺機器に関しては小柄患者用として新規小型携帯バッテリーの設計、製作に着手した。成人用機器と共通化予定のドライバ、上位コントローラ、

電源装置は臨床モデルへ向けた改良設計、製作、安全性検証試験を実施した。使用する予定の材料に付き、確定しているものについては生物学的安全性試験を開始した。

- (2) 有効性及び安全性の評価（実施体制-ニプロ株式会社、三菱重工業株式会社、独立行政法人国立循環器病研究センター、再委託-独立行政法人産業技術総合研究所）

耐久性試験、抗血栓性試験については、小児患者の循環では、心拍数が 100bpm と成人の 1.5 倍程度あり、血流量が 2L/min と成人の半分以下であることから、小児量波形を再現した拍動血流波形を実現するための拍動機構を設計し、モニタリング・警報システムのアルゴリズムの基礎的検討を行った。また粘弾性装置を使用し、せん断応力と血液凝固能の相関を確認した。

慢性動物実験による生体適合性評価については、小柄患者を対象とした補助人工心臓の評価法を確立するために、体重 20 キロ台のヤギを用いて、その解剖学的特徴から最適な送脱血管形状に関する検討を行った。

#### 4. 2 実績推移

	22年度
実績額推移（百万円）	450
特許出願数（件）	15
発表数（件）	98

#### 5. 事業内容

東京女子医科大学教授 岡野光夫氏をプロジェクトリーダーとして、以下の研究開発を実施する。実施体制については、別紙を参照のこと。

##### 5. 1 平成23年度事業内容

研究開発項目①「次世代再生医療技術の研究開発」

- (1) 生体内で自己組織の再生を促すセルフリー型再生デバイスの開発

- (ア) セルフリー型再生デバイスの基盤研究開発（実施体制-ニプロ株式会社、国立大学法人大阪大学、再委託-独立行政法人国立成育医療研究センター、国立大学法人千葉大学、国立大学法人京都大学、小野薬品工業株式会社）

幹細胞ニッチを構築する基底膜分子候補を絞り込み、組織幹細胞を用いてその分子候補の機能評価系を立ち上げると共に、マトリックス因子と液性因子の結合特異性の解析を完了し、その結果を踏まえた人工幹細胞ニッチの構築戦略を策定する。

幹細胞誘導因子の開発として、L-P+MSC の心筋梗塞部位への集積促進のための分子及び徐放化技術とデバイスの組み合わせの最適化を行うと共に、分化誘導因子の開発として、心筋分化誘導因子の探索及び分化誘導機構の解明を行う。

幹細胞誘導と分化因子の徐放に適した薬物包含ハイドロゲル及び細胞接着に最適な徐放化ハイドロゲルの細胞足場の作製を行い、ドラッグデリバリーシステムとしてのデバイスデザインを基本検討する。

候補因子等で誘導された再生組織及び誘導集積する幹細胞に関わる有効性・安全性評価技術を確立する。

- (イ) セルフリー型再生デバイスの実用化研究開発（実施体制-ニプロ株式会社）

セルフリー型再生デバイスの実用化に向け、デバイスの材料の選定と加工技術の検討を行い、その結果に基づいて、心血管デバイスの骨格製造を再現性良く、かつ安定的に行うための製造技術の検討を行う。特に、心血管デバイスの骨格自身に分解吸収性を付与する場合には、製造技術・製造条件と完成したデバイスの生体内での分解挙動との相関関係を検討する。

(2) 少量の細胞により生体内で自己組織の再生を促す自律成熟型再生デバイスの開発

(ア) 自律成熟型再生デバイスの基盤研究開発

- (i) 生体内で自律的に成熟する臓器再生デバイスのための基盤研究開発(実施体制-野村ユニソン株式会社、国立大学法人東京大学、国立大学法人大阪大学、国立大学法人神戸大学、学校法人福田学園大阪保健医療大学、学校法人東京理科大学)

軟骨用再生デバイスでは、増殖因子と分化因子の検討、及び足場素材が培養装置の役割をする培養モジュールを試作する。製膜条件を変化させ、孔径や透水量など種々の膜特性を有する培養モジュール用生分解性中空糸膜を作製するとともにその製造方法を確立する。さらに、生体内での成熟が可能となるコントロールリリースハイドロゲルを作製し、培養モジュールとによる組込型 one-piece 再生デバイスを試作する。またこれらの有効性を評価するための動物実験を行う。

骨用再生デバイスでは、微小人工骨の仕様(材質・形状・薬剤徐放性等)と外殻の仕様(素材・三次元造形法・デザイン等)の検討を継続する。

関節用再生デバイスでは、血漿タンパク質・人工骨複合体の軟骨下骨再生への有用性に関する動物実験を実施する。また、無血清培地を用いた間葉系幹細胞の増幅効果、及び軟骨分化能の至適化を目指す検討を行う。特に1検体(1グラム滑膜)より最大何個の細胞を得る事が出来るかその至適条件を検討する。

また、細胞の増殖・分化の効率をより向上させるために、これらのデバイスを移植する母床側において、接触状態(ドナー・ホスト・インターフェイス)の改善、幹細胞動員環境の改善、再生デバイスに対する免疫反応の抑制等を行う。

- (ii) Muse細胞を用いた *in situ stem cell therapy* の基盤研究開発(実施体制-株式会社 Clio、国立大学法人京都大学、国立大学法人東北大学)

Muse細胞の損傷部位への誘導に関する研究開発として、損傷モデルマウスを作製し、当該マウスから採取した末梢血での増加因子同定のためのアッセイ系の確立を行うとともに、Muse細胞とES細胞等で、マイクロアレイを用いた発現解析を行い、Muse細胞の遊走因子の同定を試みると共に、ニワトリ胚盤胞を用いたアッセイ系の評価を行い、Muse細胞を評価する。

損傷部位での Muse細胞の生着性を、間葉系幹細胞において確認されている細胞外マトリックスで検討する。

生体内での分化制御に関する研究開発として、Schwann細胞、神経前駆細胞に加え、神経細胞、骨格筋細胞、肝細胞等について Muse細胞からの誘導を試み、誘導に成功した細胞の機能性評価についてアッセイ系の確立を行う。

(イ) 自律成熟型再生デバイスの実用化研究開発

- (i) 生体内で自律的に成熟する臓器再生デバイスのための実用化研究開発(実施体制-株式会社スリーディー・マトリックス、野村ユニソン株式会社)

軟骨用自律再生デバイスに関して、増殖因子や分化因子の検討を行い、これらの機能を担持した移植用培養モジュールを試作するが、このモジュールを用いた際の細胞増殖・細胞の取り出し、ならびに移植方法に関して、開発を進め、実用化を追求する。

- (ii) Muse細胞を用いた *in situ stem cell therapy* の実用化研究開発(実施体制-株式会社 Clio、再委託-国立大学法人東北大学)

生体内での分化制御に関する研究開発として、*In vitro* で Muse細胞より、皮膚上皮或いは神経細胞に分化誘導した細胞又は誘導をしない Muse細胞そのものを、免疫不全マウスの皮膚損傷モデル或いは脊髄損傷(またはパーキンソン)モデルへの移植実験を継続し、有効性及び安全性の評価を行う。

- (3) 有効性・安全性評価技術等の開発（実施体制-国立大学法人東京大学、株式会社ツール、学校法人福田学園大阪保健医療大学）

細胞の安全性に関しては、マーカー遺伝子の選出検討を行う。また、簡便な *in vitro* での試験法の確立では、滑膜由来間葉系幹細胞の軟寒天培養法を用いて安全性の検討を行う。さらに、発癌性否定試験の確立では、NOG マウスを用いて滑膜由来間葉系幹細胞の培養法と安全性の検討を行う。

製品の安全性に関しては、原材料と細胞の相互作用の評価系をもちいて、細胞形質変化の評価方法を検討する。さらに、形質変化の情報を基に、安全性の評価方法を検討する。

評価ガイドライン確立に関しては、有効性評価項目ならびに評価方法の選定を継続する。海外（特に欧州、米国）における細胞含有軟骨移植デバイスの審査評価項目の細目に関する最新情報、及び 2010 年度厚生労働省通達（軟骨再生評価ガイドライン）等を検討し、合理的で国際的評価に耐えうる評価ガイドライン作成のための評価項目を選定する。

#### 研究開発項目②「次世代心機能代替治療技術の研究開発」

- (1) 小柄な患者に適用できる植込み型補助人工心臓の開発（実施体制-ニプロ株式会社、三菱重工業株式会社）

軸流ポンプ 1 次試作機の数値流体解析を完了させ、改良設計を行い、試作機の製作に着手する。携帯バッテリーの試作機の製作を完了させる。成人機器と共通化を予定しているその他の機器については電気的安全性試験、電磁環境両立性試験用の機器製作を完了させる。製作した 1 次試作機のポンプ及び駆動装置について機械的・電気的安全性試験に着手し、問題点を抽出する。また、使用する材料が確定したもの、ならびに構成部品の仕様が確定したものについても生物学的安全性試験を行う。

- (2) 有効性及び安全性の評価（実施体制-ニプロ株式会社、三菱重工業株式会社、独立行政法人国立循環器病研究センター、再委託-独立行政法人産業技術総合研究所）

耐久性試験、抗血栓性試験として、小柄患者の拍動血流波形を実現するための拍動機構を製作する。また、血流量の日内変動を勘案した耐久試験システムとしての設計を行う。モニタリング・警報システムの基礎実験を行う。また粘弾性装置を使用し、せん断応力と血液凝固能の相関を定量的に明らかにすると共に、1 次試作機の模擬血栓試験を実施する。

慢性動物実験による生体適合性評価として、体重 20 キロ台のヤギを用いて、現在の成人用ポンプを利用した慢性動物実験を実施する。成人用ポンプを低流量で用いた場合の抗血栓性評価、体重に応じた送血管・脱血管の形状決定、小柄体重動物の抗凝固療法に関する検討を行い、体内埋込モデルの仕様を決定する。

#### 5. 2 平成 23 年度事業規模

[委託事業]及び[共同研究 (NEDO負担: 2/3)]

一般勘定 519 百万円

※事業規模については、変動があり得る。

#### 6. その他重要事項

- (1) 評価の方法

NEDO は、技術的及び政策的観点から、研究開発の意義、目標達成度、成果の技術的意義ならびに将来の産業への波及効果等について、外部有識者による研究開発の中間評価を平成 24 年度に実施する。

(2) 運営・管理

プロジェクト全体の運営会議を1年に一回程度、研究開発毎の開発委員会を半期に一回以上設置し、外部有識者の意見を運営管理に反映させる他、四半期に一回以上、プロジェクトリーダー等を通じてプロジェクトの進捗について報告を受けること等を行う。

(3) 複数年度契約の実施

平成22～24年度の複数年度契約を行う。

7. スケジュール

平成23年度のスケジュールは以下のとおりである。

平成23年	4月中旬	・・・全体運営会議
	8月中旬	・・・プロジェクトリーダーヒアリング
	8月中旬	・・・研究開発別開発委員会
平成24年	2月中旬	・・・プロジェクトリーダーヒアリング
	2月中旬	・・・研究開発別開発委員会

8. 実施方針の改定履歴

- (1) 平成23年3月10日、制定
- (2) 平成23年10月31日、改訂



「次世代機能代替技術の研究開発」プロジェクトの実施体制

