

「再生医療評価研究開発事業/心筋再生治療研究開発」  
事後評価報告書

平成23年3月

独立行政法人新エネルギー・産業技術総合開発機構  
研究評価委員会

平成23年3月

独立行政法人新エネルギー・産業技術総合開発機構  
理事長 村田 成二 殿

独立行政法人新エネルギー・産業技術総合開発機構  
研究評価委員会 委員長 西村 吉雄

NEDO技術委員・技術委員会等規程第32条の規定に基づき、別添のとおり  
評価結果について報告します。

## 目 次

はじめに	1
分科会委員名簿	2
審議経過	3
評価概要	4
研究評価委員会におけるコメント	7
研究評価委員会委員名簿	8
第1章 評価	
1. プロジェクト全体に関する評価結果	1-1
1. 1 総論	
1. 2 各論	
2. 個別テーマに関する評価結果	1-18
2. 1 細胞源・増殖因子の探索	
2. 2 バイオ心筋の機能性向上技術の開発	
2. 3 バイオ心筋の評価技術の開発	
3. 評点結果	1-35
第2章 評価対象プロジェクト	
1. 事業原簿	2-1
2. 分科会における説明資料	2-2
参考資料1 評価の実施方法	参考資料 1-1
参考資料2 評価に係る被評価者意見	参考資料 2-1

## はじめに

独立行政法人新エネルギー・産業技術総合開発機構においては、被評価プロジェクトごとに当該技術の外部専門家、有識者等によって構成される研究評価分科会を研究評価委員会によって設置し、同分科会にて被評価対象プロジェクトの研究評価を行い、評価報告書案を策定の上、研究評価委員会において確定している。

本書は、「再生医療評価研究開発事業／心筋再生治療研究開発」の事後評価報告書であり、第25回研究評価委員会において設置された「再生医療評価研究開発事業／心筋再生治療研究開発」（事後評価）研究評価分科会において評価報告書案を策定し、第28回研究評価委員会（平成23年3月30日）に諮り、確定されたものである。

平成23年3月  
独立行政法人新エネルギー・産業技術総合開発機構  
研究評価委員会

「再生医療評価研究開発事業／心筋再生治療研究開発」

事後評価分科会委員名簿

(平成22年12月現在)

	氏名	所属、役職
分科会長	ふくだ けいいち 福田 恵一	慶應義塾大学医学部 循環器内科 教授
分科会長 代理	いそべ みつあき 磯部 光章	東京医科歯科大学 大学院医歯学総合研究科 循環制御内科学 教授
委員	さとう まさあき 佐藤 正明	東北大学 大学院 医工学研究科 研究科長 教授
	はた けんいちろう 畠 賢一郎	株式会社 ジャパン・ティッシュ・エンジニアリング 常務取締役 研究開発部長
	まつばら ひろあき 松原 弘明	京都府立医科大学 大学院医学研究科 循環器内科学 教授
	やました じゅん 山下 潤	京都大学 再生医科学研究所 幹細胞分化制御研究領域 准教授

敬称略、五十音順

## 審議経過

### ● 第1回 分科会（平成22年12月21日）

#### 公開セッション

1. 開会、分科会の設置、資料の確認
2. 分科会の公開について
3. 評価の実施方法について
4. 評価報告書の構成について
5. プロジェクトの概要説明

#### 非公開セッション

6. プロジェクトの詳細説明
7. 全体を通しての質疑

#### 公開セッション

8. まとめ・講評
9. 今後の予定、その他、閉会

### ● 第28回研究評価委員会（平成23年3月30日）

## 評価概要

### 1. 総論

#### 1) 総合評価

本プロジェクトは、臨床的、社会的に重要であり、国際的に評価される技術開発である。これらの技術は、細胞シートの作出技術、移植へ向けた組織構築、評価技術等は概ね十分な成果を挙げており、発展性、基盤技術として応用性があり、革新的な技術領域の開拓につながる可能性がある。筋幹細胞と間葉系幹細胞を同時に心筋に導入、筋芽細胞と内皮細胞の組み合わせによる共培養も有望な技術であり、大網を利用した心筋シートの重層化は臨床応用で期待できる。また、バイオ心筋を作製するための製造工程の確立は、今後の再生医療において重要となる種々の基盤技術開発であり、生物学や工学から医学へ、学際的な展開が見られることも高く評価できる。

しかし、骨格筋芽細胞シートの移植では心筋収縮力の向上は限界があり、十分な量の心筋を再生する技術の開発が必要不可欠である。また、治療が細胞自体によるものか細胞の産生する生理活性物質によるものか、もう少し深く掘り下げるべきであった。心筋分化能のない骨格筋細胞シートによる心機能改善効果メカニズムを探索する研究が不足している。この問題点を解明しなければ、臨床での副作用が出現した際の原因検索などに対処が困難となる。

#### 2) 今後に対する提言

シート技術、細胞培養技術は多領域に応用も可能であり、将来的に発展が見込める大きな成果が得られた。さらに臨床的に意味のある厚さと機能を持った心筋シートの作製をさらに目指していただきたい。筋芽細胞+間葉系幹細胞+内皮細胞、大網の利用の組み合わせが大変重要であり、これを推し進めるべきである。これら基礎レベルの研究での成果をもとに、今後は心筋細胞の再生へ向けた取り組みが必要である。

本治療方法は、既に臨床応用の段階にあるが、広く普及するための活動に入るために適応症を具体的に設定し、安全性・有効性の具体的評価項目を提示し、わが国の再生医療製品評価の標準化などを進めることが必要である。

### 2. 各論

#### 1) 事業の位置付け・必要性について

心筋再生による心不全治療は、対象となる疾患患者の多さから見て公共性が高く、また多様なバイオ産業の基盤となるべき技術開発の側面もあり、健康イ

ノーベションプログラムの事業として NEDO が支援する必要性があると判断される。再生医療は、世界的に見ても、多くの国や機関が先陣争いをしている領域である。国際競争力などの視点からも、心筋再生というテーマは基礎研究と臨床研究を一体化して進める必要があり、民間企業のみでは実施困難である。また、基盤技術は我が国で開発されたものであり、NEDO 事業とする意義は十分にあることから、事業目的が達成されれば、市場や国際的な観点から貢献する部分が大いいと期待される。

しかしながら、今後は事業内容を適切に取捨選択したり、他の研究事業との整合性などを勘案して柔軟に対応し、コストをかけるべき研究に集約を図ることが望まれる。急速に事業化、臨床応用が期待できる内容ではない。このプロジェクトを通して得られた技術や知識を特許という形で保持しておくことは、成果の重要な側面である。知的財産の蓄積が、将来、我が国のこの分野の底上げ、産業の基盤になると認識すべきである。

## 2) 研究開発マネジメントについて

難治性心不全の治療に臨床応用可能な技術としての心筋再生シートの作製という心筋再生事業の目標は妥当である。研究開発計画も当初の研究範囲は戦略的には広すぎたが、その後は目標を絞り、統一性のとれた計画に修正されており、概ね妥当である。また事業体制についても、プロジェクトリーダーならびに研究開発チームも、わが国のこの領域をリードする研究者であり、プロジェクトリーダーを中心に各研究者が連携を取って目標を定めて研究を進めている。また製造機器や細胞製品の開発に取り組んでいる企業をチームに組み込んでいくことは、評価できる。

一方では、具体的数値 1mm、5mm、5%という数値の設定根拠や、その前提条件などが不明確である。技術シーズからの設定と考えるが、臨床使用上のニーズをどの程度ふまえているかわかりにくい。今後、国際的に事業として拡大するには、骨格筋細胞シートによる心機能改善効果メカニズムを必ず明らかにすべきである。また、知財マネジメントについては、NEDO の戦略とも大いに関係するが、その方針が明確にしめされているとは言い難い。プロジェクトで上がった成果、特許を使って、ビジネスプランを考え、必要な技術開発を絞り込んで事業を組み立てる必要がある。

## 3) 研究開発成果について

個別のテーマでは、細胞シート技術、移植組織の構築技術、ゲノムの評価技術、細胞シート評価工程、IGFBP-4 (IGF 結合蛋白質 4) 等の発見は、十分な成果と言える。これら成果は世界最高水準であり、この成果を積み上げること



により、新たな基盤技術の開発につながり、市場の創造、国際的な競争力を持つ革新的な技術領域の開拓につながる可能性がある。大網を使用した心筋組織を作製する技術は、着想も結果も大いに評価できる。また、血管の再構築など、シート内の細胞の挙動について得られた知見は、今後、細胞シート工学領域において、汎用性の高いものとなる。特許の出願に関しても、要所にて申請、取得しており、また、質の高い論文も散見され、適切に情報発信が行われている。今後、様々な局面で応用可能な基礎技術が開発されており、将来的発展が期待される。

一方では、DDS（薬物送達システム）として優れた細胞を探すのか、心筋を作るために有用なものを探すのか、研究内容が整理仕切れていない。また、細胞ソースが未確定で、iPS 細胞研究が大きく進展した現在の研究環境を考えると、柔軟な対応ができたのではないか。産業化に寄与するかどうかはなお今後の基盤技術の発展と臨床研究に負うところが多い。

#### 4) 実用化の見通しについて

細胞シートの作出技術は実用化され、普及するであろう。シート作製技術は、角膜などの他分野への波及効果が大きく期待される。細胞シート移植に関しては、治療のスキームは明確である。症例の選択など、適切な適応症の設定が行われることが望まれる。わが国の規制環境に関する課題を除けば、企業が参入しやすいところまで達成できた。また、大網を使用した心筋組織を作製し、臨床応用する実用化のプランは、出口イメージが比較的明確に示されている。

一方では、バイオ心筋を開発するという当初の目標を考えれば、筋芽細胞を使用する技術にまでしか至っていないことが、プロジェクトの大きな問題点である。また、前臨床試験や臨床試験で認められた心機能の改善効果の機序を見定める作業は、是非必要である。サイトカイン効果であるとするなら、必ずしも厚いシート開発にこだわる必要はない。また、その際、細胞機能や生理活性物質など当該治療（治癒）のメカニズムについて、もう少し多くの知見が必要である。なお、骨格筋芽細胞シートだけで心筋再生を継続することは困難であり、今後はヒト心筋の再生の研究が必要不可欠である。

## 研究評価委員会におけるコメント

第28回研究評価委員会（平成23年3月30日開催）に諮り、了承された。  
研究評価委員会からのコメントは特になし。

## 研究評価委員会

委員名簿（敬称略、五十音順）

職 位	氏 名	所属、役職
委員長	西村 吉雄	学校法人早稲田大学大学院 政治学研究科 (科学技術ジャーナリスト養成プログラム) 客員教授
委員長 代理	吉原 一紘	オミクロンテクノロジージャパン株式会社 最高顧問
委員	安宅 龍明	オリンパスビジネスクリエイツ株式会社 事業企画本部 戦略探索部 探索2グループ シニアマネージャー
	伊東 弘一	学校法人早稲田大学 理工学術院総合研究所 客員教授（専任）
	稲葉 陽二	日本大学 法学部 教授
	大西 優	株式会社カネカ 顧問
	尾形 仁士	三菱電機エンジニアリング株式会社 相談役
	小林 直人	学校法人早稲田大学 研究戦略センター 教授
	小柳 光正	東北大学未来科学技術共同研究センター 教授
	佐久間一郎	国立大学法人東京大学大学院 工学系研究科 精密機械工学専攻 教授
	菅野 純夫	国立大学法人東京大学大学院 新領域創成科学研究科 メディカルゲノム専攻 教授
	架谷 昌信	愛知工業大学 工学部機械学科 教授・総合技術研究所所長
宮島 篤	国立大学法人東京大学 分子細胞生物学研究所 教授	

## 第1章 評価

この章では、分科会の総意である評価結果を枠内に掲載している。なお、枠の下の「○」「●」「・」が付された箇条書きは、評価委員のコメントを原文のまま、参考として掲載したものである。

## 1. プロジェクト全体に関する評価結果

### 1. 1 総論

#### 1) 総合評価

本プロジェクトは、臨床的、社会的に重要であり、国際的に評価される技術開発である。これらの技術は、細胞シートの作出技術、移植へ向けた組織構築、評価技術等は概ね十分な成果を挙げており、発展性、基盤技術として応用性があり、革新的な技術領域の開拓につながる可能性がある。筋幹細胞と間葉系幹細胞を同時に心筋に導入、筋芽細胞と内皮細胞の組み合わせによる共培養も有望な技術であり、大網を利用した心筋シートの重層化は臨床応用で期待できる。また、バイオ心筋を作製するための製造工程の確立は、今後の再生医療において重要となる種々の基盤技術開発であり、生物学や工学から医学へ、学際的な展開が見られることも高く評価できる。

しかし、骨格筋芽細胞シートの移植では心筋収縮力の向上は限界があり、十分な量の心筋を再生する技術の開発が必要不可欠である。また、治療が細胞自体によるものか細胞の産生する生理活性物質によるものか、もう少し深く掘り下げるべきであった。心筋分化能のない骨格筋細胞シートによる心機能改善効果メカニズムを探索する研究が不足している。この問題点を解明しなければ、臨床での副作用が出現した際の原因検索などに対処が困難となる。

#### 〈肯定的意見〉

- 細胞シートの作出技術、移植へ向けての組織構築、評価技術等は概ね十分な成果を挙げている。
- バイオ心筋を作製するための製造工程を確立した工業的開発は概ね確立された域に達している。
- 今後の再生医療において重要となる種々の基盤技術開発を行ったものでその意義は大きい。
- 実用化の観点から魅力的な研究内容であり、その独自性から国際競争力もきわめて高いと考える。
- 臨床的、社会的に重要であり、また国際的に評価される技術の開発事業である。研究期間内で、心筋シートの開発、培養技術の開発の点で大きな成果が認められる。これらの技術は発展性があり、基盤技術として応用性があり革新的な技術領域の開拓につながる可能性がある。当該分野の研究開発や人材育成にも波及することが期待できる。
- 細胞シート工学と心筋再生に関する内容を有機的に組み合わせ、多くの有意義な知見を導き出している。基礎から臨床へ、生物学や工学から医

学へ、学際的な展開が見られることも高く評価できる。

- 筋幹細胞と間葉系幹細胞を同時に心筋に導入することで、複合的相乗的な効果が生まれることが期待される成果は大変興味深い。この技術が心筋シートの作製に十分に生かされる技術へ展開されることが期待される。心筋シートを重層化して、厚みのある組織の作製に当たっては、大網を利用して血液から酸素や栄養分を筋芽細胞に供給するという発想は大変ユニークであり、かつ臨床応用を考えると近道となるアイデアである。これについては、心筋組織に変わっていると的確たる証拠はないが、心機能の改善の点からは心筋組織の機能回復が起こっていることが期待できる。
- 筋芽細胞と内皮細胞の組み合わせによる共培養の効果も大いに期待の持てる技術であり、生体内では想像以上の効果を発揮して生体組織と同化しているようであり、将来的にも有望な技術であろう。
- 本研究を通じて、再生医療共通のテーマである血管網の構築（三次元的に大きな組織の作製）に関して示唆を加えている。
- 開発された技術も様々な形で臨床に応用されうるレベルの成果があがっていると考えられる。今後の研究成果の発展が期待される。
- 計画デザインがしっかりしており、目標にむけての周辺準備および臨床試験プロトコル計画と臨床での試験実施がなされている。

#### 〈問題点・改善すべき点〉

- 細胞源に関するプロジェクトは学術的に大きな成果を上げていると評価されるが、目標を考えるとなお **primitive** である。
- 最終的な目標である一般的な臨床技術としての応用を考えると、細胞源が骨格筋芽細胞を用いることが大きな障害となろう。
- 骨格筋芽細胞シートの移植では心筋収縮力の向上は限界があり、充分な量の心筋を再生する技術の開発が必要不可欠である。
- 心筋分化能のない骨格筋細胞シートによる心機能改善効果メカニズムを探索する研究が不足している。この問題点を解明しなければ、臨床での副作用が出現した際の原因検索などに対処が困難となる。
- 骨格筋細胞シートへの血流増強のために腹膜（大網）を使用しているが、心筋表面への腹膜（大網）装着における臨床上の有効性や副作用についての検索が不足している。
- 培養した心筋シートの機能評価の点が不十分であり、特に収縮・弛緩の力学特性は心筋の機能を考えると必須である。
- 治療が、細胞自体によるものか細胞の産生する生理活性物質によるもの

か、もう少し深く掘り下げるべきであったと思う。さらに、細胞自体による治療を目的とすることで、厚い組織構築に対する要求が高まると考えた。

- プロジェクトの最終目標が多様化して同床異夢のようになっている。筋芽細胞移植による治療効果の増進を目指すことと、厚い心筋組織を作って再生医療応用しようとするのが平行して走る形になり、プロジェクトとしての一体感がやや散漫で、最終的にどのような形で実用化しようとしているのかが不明瞭になっている。
- 心筋シートに筋芽細胞と間葉系幹細胞を同時に培養する系については、基礎的研究からみて大変有望であると思われるが、あまり掘り下げた研究がみられなかった。この同時培養による心筋シートと大網の組み合わせの結果は大変良さそうであるが、その分析を十分に行っておく必要がある。結果によっては、さらに大きな飛躍が可能であろう。ただし、この結果が大変にいい場合には、筋芽細胞や間葉系幹細胞を心筋細胞に分化させる技術を *in vitro* で開発する必要に関しては、疑問となる。すなわち、筋芽細胞などの源細胞の供給のみで、機能的には生体内での分化を期待することになる。いずれにしても、筋芽細胞などの供給源、大量培養の方法については、実用化の点からは今後とも検討が必要であろう。
- バイオ心筋内に血管網を構築するための足場となるバイオ血管床の開発に当たっては、生体組織を利用した場合はうまくいっているが、これはある面では当然であり、将来的な臨床応用を考えると、コラーゲンゲル血管床の技術をもっともっと発展させる必要がある。
- 研究の方向として、シートや細胞のデリバリーは臨床応用や市場規模を考える上で、非常に重要である。より侵襲度の低い方法に発展させることも今後の課題として残る。
- 事業全体としてプロジェクトサイズが過大で、見合った成果が得られていない印象を受ける。機能面・安全面に関するさらなる評価技術の開発が重要である。
- 安全性に対する評価項目の設定がやや不明確である。規制対応を含め、所望のリスクマネジメントを行うための基盤を構築できるとよかったと思う。

#### 〈その他の意見〉

- ・ 中間評価でもかかかれているが、目標については、1mm、5mm、5%という数値設定は臨床応用を考えた場合に必ずしも現実的ではない。
- ・ また市場規模に関して明らかに過大な評価がなされている。

## 2) 今後に対する提言

シート技術、細胞培養技術は多領域に応用も可能であり、将来的に発展が見込める大きな成果が得られた。さらに臨床的に意味のある厚さと機能を持った心筋シートの作製をさらに目指していただきたい。筋芽細胞＋間葉系幹細胞＋内皮細胞、大網の利用の組み合わせが大変重要であり、これを推し進めるべきである。これら基礎レベルの研究での成果をもとに、今後は心筋細胞の再生へ向けた取り組みが必要である。

本治療方法は、既に臨床応用の段階にあるが、広く普及するための活動に入るために適応症を具体的に設定し、安全性・有効性の具体的評価項目を提示し、わが国の再生医療製品評価の標準化などを進める必要がある。

### 〈今後に対する提言〉

- ・ シートの開発、培養技術については大きな成果が得られた。しかし、現状では、細胞源が骨格筋芽細胞であることから、臨床応用面では一般化することが困難かもしれない。厚みは二次的な目標であり、さらに臨床的に意味のある厚さと機能を持った心筋シートの作製をさらに目指していただきたい。
- ・ これまでの成果を拝見し、早い実用化・臨床応用を考えると、筋芽細胞＋間葉系幹細胞＋内皮細胞、大網の利用の組み合わせが大変重要であり、これを推し進めて行くべきだと思う。この際、心筋シートが心筋組織へ適応変化していること、併せて十分な機能を発揮できる状態になっていることなどを検証しておく必要がある。もし、筋芽細胞や間葉系幹細胞の心筋細胞への分化を前もってやっておいた方がいいという結果が得られるのであれば、分化促進の研究も実施した方がいいが、早い機会の実用化の視点からは、この点は断念して、基礎研究者に任せ、むしろ源細胞の供給源と大量培養系の確立を急いだ方がいいであろう。
- ・ 心筋分化能のない骨格筋細胞シートによる基礎・臨床での心機能改善効果がみられているが、そのメカニズムを探索する研究が不足している。厳密には心筋再生医療ではない。骨格筋細胞由来のどのような因子が心筋保護作用をはっきりしているのか、この点は今後必ず明らかにするべき問題点であろう。
- ・ IGF-BP4 の心筋再生への利用など、基礎レベルの研究では成果が得られており、今後は心筋細胞の再生へ向けた取り組みが必要である。
- ・ 本治療方法はすでに臨床応用の段階に入っているため、適応症を具体的に設定し、広く普及するための活動に入ることが望ましい。



- ・ 安全性・有効性の具体的評価項目を提示し、わが国の再生医療製品評価の標準を示すことが求められる。
- ・ **NEDO** のプロジェクトは技術の実用化事業化を目標としていること、そのためには特許は必須であり、事業の成果としても特許を求めていること、世界的競争を勝ち抜くには一刻も早い特許申請が必要であること、重要な基本技術の特許を抑えておくことは、単に企業のためでなく国益に資するものであること、などの理由より、**NEDO** プロジェクトによる成果の特許申請を同プロジェクトの研究費を使って行えるようにすべきである。プロジェクト全体の費用からするとごく僅かである特許申請費用を認めないことで、せつかく多額の研究費を投じて得た成果の特許という形で押さえておくことを難しくしているのは、逆に研究費の無駄遣いであり、プロジェクトとして画竜点睛を欠く。

〈その他の意見〉

- ・ シート技術、細胞培養技術は多領域に応用も可能であり、将来的に発展が見込める研究であると判断される。

## 1. 2 各論

### 1) 事業の位置付け・必要性について

心筋再生による心不全治療は、対象となる疾患患者の多さから見て公共性が高く、また多様なバイオ産業の基盤となるべき技術開発の側面もあり、健康イノベーションプログラムの事業として NEDO が支援する必要があると判断される。再生医療は、世界的に見ても、多くの国や機関が先陣争いをしている領域である。国際競争力などの視点からも、心筋再生というテーマは基礎研究と臨床研究を一体化して進める必要があり、民間企業のみでは実施困難である。また、基盤技術は我が国で開発されたものであり、NEDO 事業とする意義は十分にあることから、事業目的が達成されれば、市場や国際的な観点から貢献する部分が大い期待される。

しかしながら、今後は事業内容を適切に取捨選択したり、他の研究事業との整合性などを勘案して柔軟に対応し、コストをかけるべき研究に集約を図ることが望まれる。急速に事業化、臨床応用が期待できる内容ではない。このプロジェクトを通して得られた技術や知識を特許という形で保持しておくことは、成果の重要な側面である。知的財産の蓄積が、将来、我が国のこの分野の底上げ、産業の基盤になると認識すべきである。

#### 〈肯定的意見〉

- この領域は対象となる疾患患者の多さから見て NEDO の取り上げる事業として重要な領域である。健康イノベーションプログラムの観点から見て、極めて妥当なものである。
- 心筋再生というテーマは、再生医療の実現においてきわめて重要な課題である。意義深い事業と考える。
- 心筋再生による心不全治療は国民の福祉の観点から重要であり、事業として妥当である。公共性が高く、また多様なバイオ産業の基盤となるべき技術開発の側面もある。かかる事業は NEDO が支援する必要があると判断される。
- 再生医療実現のために必要と考えられるいくつかの基本技術開発を行うもので、NEDO 事業として妥当である。現在日本が持っている先進的技術を活かそうとするもので事業目的も妥当と考えられる。
- 当初の目的が達成されれば、市場や国際的な観点から貢献する部分が大い期待される。応用される領域も広範である。
- 基盤技術がわが国で開発されたものであるため、国際競争力の観点からも NEDO 事業とする意義は十分にある。

- 国際競争力などの視点からは、この領域は世界的に見ても多くの国や機関が先陣争いをしている領域であり、事業の目的は半ば妥当であるが、単に目的としている心筋組織ができたということだけを評価基準にすべきではない。
- 細胞シートの作製技術の確立、事業としての開発はよくデザインされている。この温度感受性細胞シートは日本独自のシーズであり、国際的に充分競争できる技術である。今後の各分野での広がりが期待される。
- 基礎研究と臨床研究を一体化してすすめる必要があり、民間企業のみでは実施困難な内容である。
- 健康安心の視点からは、寄与していると考えられるが、短期間で成果の評価が得られる性質のものではないので、少し長いスパンで観る必要がある。
- 本プロジェクトのような研究は、すぐに結果がでるものではなく、基礎的な研究の積み重ねが必要であり、民間企業にとっては大変にリスクのある内容である。米国などでは、大学発の技術をもとにベンチャー企業を立ち上げることが一般的にその際に大企業が関与することはあるが、日本ではこのような活動には企業の十分な理解が無く、NEDOのような組織が支援する必要がある。
- 細胞生物学的評価から臨床的有用性の検討、並びに機械類の設計など多岐にわたっている。事業規模は妥当と考える。

#### 〈問題点・改善すべき点〉

- 概してプロジェクトサイズが事業内容や目標に照らして過大である。心筋再生療法に必要な基盤技術の多分野を広く包含する研究課題をこの事業でカバーすることは現実的でない。今後は事業内容を適切に取捨選択したり、他の研究事業との整合性などを勘案して柔軟に対応し、コストをかけるべき研究に集約を図ることが望まれる。
- 今回のような事業に関しては、短期的な成果の有無のみに目が行きがちであるが、内容から見てもそんなに急速に事業化、臨床応用が期待できる内容ではない。事業の妥当性等についても、ある程度大局的にみて評価する必要がある。
- 心筋再生の基礎・臨床研究は様々な施設で、多様な研究事業のもとに行われている。当事業計画では細胞ソースが確定していないということが大きな障害となっている。
- 事業目的の視点からは、臨床応用といった実利的な視点のみではなく、このプロジェクトを通して得られた技術や知識を特許という形で保持し

ておくことは、成果の重要な側面である。このような知的財産の蓄積が将来我が国のこの分野の底上げ、産業の基盤になると認識すべきである。

- 医療技術開発に共通する課題ではあるが、本事業の達成目標をどの段階におくかが不明確である。確立された医療技術にするには、規制への対応が不可避である。可能であれば、社会に普及するところまで目指すものであって欲しいテーマである。
- 研究の方向として、シートや細胞のデリバリーは臨床応用や市場規模を考える上で、重要である。より侵襲度の低い方法も同時に検討することが望まれる。
- 今後、この心筋保護医療を国際的に事業として拡大するには、心筋分化能のない骨格筋細胞シートによる心機能改善効果メカニズムを探索する研究が不足している。骨格筋細胞由来のどのような因子が心筋保護作用をはっきしているのか、この点は今後必ず明らかにすべき問題点であろう。でなければ、臨床試験での副作用に対応が困難となるのではないだろうか。
- 骨格筋細胞シートへの血流増強のために腹膜（大網）を使用しているが、心筋表面への腹膜（大網）装着における臨床上的有効性や副作用についての検索が不足している。
- 今後の実用化に関しての具体的見通しは不透明な部分もあり、対費用効果に関しては現時点では評価が難しい。

#### 〈その他の意見〉

- ・ 競争と進歩の激しい分野であり、計画立案当初の見込み通りにならないことは当然である。iPS 細胞研究の発展など予期し得ない展開もあった。市場規模に関して過大な評価がなされているが、その点は事前審査の段階でのチェックも可能であったと考えられる。

## 2) 研究開発マネジメントについて

難治性心不全の治療に臨床応用可能な技術としての心筋再生シートの作製という心筋再生事業の目標は妥当である。研究開発計画も当初の研究範囲は戦略的には広すぎたが、その後は目標を絞り、統一性のとれた計画に修正されており、概ね妥当である。また事業体制についても、プロジェクトリーダーならびに研究開発チームも、わが国のこの領域をリードする研究者であり、プロジェクトリーダーを中心に各研究者が連携を取って目標を定めて研究を進めている。また製造機器や細胞製品の開発に取り組んでいる企業をチームに組み込んでいることは、評価できる。

一方では、具体的数値 1mm、5mm、5%という数値の設定根拠や、その前提条件などが不明確である。技術シーズからの設定と考えるが、臨床使用上のニーズをどの程度ふまえているかわかりにくい。今後、国際的に事業として拡大するには、骨格筋細胞シートによる心機能改善効果メカニズムを必ず明らかにすべきである。また、知財マネジメントについては、NEDO の戦略とも大いに関係するが、その方針が明確にしめされているとは言い難い。プロジェクトで上がった成果、特許を使って、ビジネスプランを考え、必要な技術開発を絞り込んで事業を組み立てる必要がある。

### 〈肯定的意見〉

- 研究開発目標としての心筋再生事業は妥当であると考えられる。
- 研究開発計画は概ね妥当である。
- 難治性心不全の治療に臨床応用可能な技術としての心筋再生シートの作製という目標設定は妥当である。本邦で開発された技術であり、世界的な市場も見込まれる。
- 再生医療実現過程において必要であるが必ずしも容易ではないテーマに関して意欲的に取り組んでいる。
- 研究開発の目標は具体的であり、この領域では設定が難しいとおもわれる定量的目標を取り入れている。
- 研究開発実施の事業体制としても妥当である。
- 事業体制についても、役割分担については概ね妥当である。
- またプロジェクトリーダーは全体をよくまとめている。チーム内の各研究者も連携を取って目標を定めて研究を進めていたと評価される。
- 従事するプロジェクトリーダーならびに研究開発チームも、わが国のこの領域をリードする研究者である。
- 中間評価の時点までは、目標の設定がやや中途半端であり、あまりにも

広範な目標を設定していた嫌いがある。しかしながら、その後は目標を絞り、統一性のとれた計画に修正された。

- 目標達成のために細胞シートの作製技術の確立・開発はよくデザインされている。この温度感受性細胞シートは日本独自のシーズであり、国際的に充分競争できる技術である。今後の各分野での広がりが期待される。研究開発成果の実用化・情勢変化への対応も、よく練られている。心筋再生技術は国際的にもスタートした新しい分野であり、今後の臨床試験の結果が待たれる。
- 実用化を目指した企業との連携も十分にとられている。製造機器や細胞製品の開発に取り組んでいる企業をチームに組み込んでいることは、品質管理手法の構築など産業化の観点から評価できる。
- 心筋組織の厚さに関する目標について、大網を用いたものに変更した。この方法の有用性が確立された場合、柔軟性をもった研究計画の見直しができたと考える。

#### 〈問題点・改善すべき点〉

- 世界的には骨格筋芽細胞を心筋再生に利用する取り組みは殆ど断念されている。細胞シートとしてもその成果は限局的であり、世界情勢から見ても妥当ではないと思われる。
- 今後、この心筋保護医療を国際的に事業として拡大するには、心筋分化能のない骨格筋細胞シートによる心機能改善効果メカニズムを探索する研究が不足している。骨格筋細胞由来のどのような因子が心筋保護作用をはっきりしているのか、この点は今後必ず明らかにするべき問題点であろう。でなければ、臨床試験での副作用に対応が困難となるのではないだろうか。同様に、骨格筋細胞シートへの血流増強のために腹膜（大網）を使用しているが、心筋表面への腹膜（大網）装着における臨床上の有効性や副作用についての検索が不足している。
- 本研究による技術目標を達した場合、治療方法自体が一般に普及することのできるレベルになるのか、あるいは治療として普及するためにはさらなる技術開発（臨床開発など薬事申請に関する技術を除く）が必要なのか不明確である。
- 目標については、1mm、5mm、5%という数値設定は必ずしも最終目標である臨床応用を考えた場合に現実的ではない。当初の目標の根拠が薄い。同様のことは細胞源についてもいえる。柔軟に目標設定を考えることが必要であったと思われる。
- 研究目標となった具体的数値の設定根拠やその前提条件などが不明確で

ある。技術シーズからの設定と考えるが、臨床使用上のニーズをどの程度ふまえているかわかりにくい。

- 知財マネジメントについては、NEDO の戦略とも大いに関係するが、その方針が明確にしめされているとは言い難い。
- 戦略的には当初の研究範囲は広すぎたと言える。関わる施設が過多であり、そのため全体にプロジェクトサイズが過大なのではないか。
- 実用化につなげる戦略については、研究開発の実施内容と結果に依存するところがあり、本プロジェクトの場合長期に亘っての戦略は難しいと思われる。
- 本プロジェクトでは事業化までは求められていないが、プロジェクトで上がった成果、特許を使って、実際にはどのような事業化、ビジネスモデルができるのかというイメージがあった方がよいのではないか。そうしたイメージは NEDO 側からも研究者側からもあまり見えてこない。その辺りもう一歩踏み込めると成果の有効活用ができ、事業の意義が上がるのではないか。
- さらに、プロジェクト立ち上げの段階からビジネスプランを考え、特許のポートフォリオから必要な技術開発を絞り込んで事業を組み立てる必要があるのではないか。

#### 〈その他の意見〉

- ・ 細胞シートは単に心筋再生にとどまらず、多方面の再生医療にも応用可能な、本邦独自の基盤技術である。この点を中心にして技術の開発に集中する選択枝もあったと思われる。また最終的な目標が心不全に臨床応用可能なシートの作製であるなら、必ずしもシートの厚さの数値目標にとらわれない生物学的な目標を再設定すればよいのではないか。

### 3) 研究開発成果について

個別のテーマでは、細胞シート技術、移植組織の構築技術、ゲノムの評価技術、細胞シート評価工程、IGFBP-4 (IGF 結合蛋白質 4) 等の発見は、十分な成果と言える。これら成果は世界最高水準であり、この成果を積み上げることにより、新たな基盤技術の開発につながり、市場の創造、国際的な競争力を持つ革新的な技術領域の開拓につながる可能性がある。大網を使用した心筋組織を作製する技術は、着想も結果も大いに評価できる。また、血管の再構築など、シート内の細胞の挙動について得られた知見は、今後、細胞シート工学領域において、汎用性の高いものとなる。特許の出願に関しても、要所にて申請、取得しており、また、質の高い論文も散見され、適切に情報発信が行われている。今後、様々な局面で応用可能な基礎技術が開発されており、将来的発展が期待される。

一方では、DDS (薬物送達システム) として優れた細胞を探すのか、心筋を作るために有用なものを探すのか、研究内容が整理仕切れていない。また、細胞ソースが未確定で、iPS 細胞研究が大きく進展した現在の研究環境を考えると、柔軟な対応ができたのではないか。産業化に寄与するかどうかはなお今後の基盤技術の発展と臨床研究に負うところが多い。

#### 〈肯定的意見〉

- 細胞シート技術、移植組織の構築技術、ゲノムの評価技術、工程に関する評価技術等は概ね十分な成果を挙げていると考えられる。
- 成果は具体的目標値を達成したと言える。
- 困難な課題に関して、一定以上 (期待以上) の成果を着実に上げている。今後様々な局面で応用可能な基礎技術が開発されており、将来的発展が期待される。
- 類似領域の世界的水準と比べても、全く遜色なく先導している。
- 血管の再構築など、シート内の細胞の挙動について得られた知見は、今後、細胞シート工学領域において、汎用性の高いものとなるだろう。
- 成果の実用化の可能性は (薬事承認の不確実性を除き) 十分にあり、症例を選ぶことによって有用な治療法を提供できると考える。
- 細胞シートの開発の面では期待された成果が上がっている。評価システムについても後半の 2 年間で成果を上げたと言える。成果は世界最高水準であり、評価ができる。この成果を積み上げることにより、新たな基盤技術の開発につながり、市場の創造、国際的な競争力を持つ革新的な技術領域の開拓につながる可能性がある。



- 所期の目標は概ね達成しており、その程度は約 90%である。個々の成果は、学術的にも優れたものが多く、特に大網を使用して厚みのある心筋組織を作製する技術は着想の点でも結果としても大いに評価できる。また、筋芽細胞と間葉系幹細胞を同時にブタ心筋に入れた場合の細胞による線維化や血管新生等の点においてプラスαの効果、血管内皮細胞を付与することによって生まれる血管形成の促進効果などは、その機構解明に向けての研究がより一層発展することが期待される。
- IGF-BP4 等の発見は十分な成果が得られたと言える。
- 目標・成果は臨床試験まで到達したことより、評価される。論文は基礎研究に関しては、発表されている。
- 特許の出願に関しても、要所要所において申請、取得してきている。また、論文の発表に関しても質の高い論文も散見され、適切に情報発信が行われている。
- 論文等、学術領域の活動は妥当である。
- 知的財産権の取得等に関しては概ね評価できる。

#### 〈問題点・改善すべき点〉

- 市場規模の見積もり方が不明確である。本治療の効果をふまえた上で市場規模を見直し、事業計画を立案することが望まれる。
- 細胞ソースが未確定であることは申請時と大きな変化はなく、特に iPS 細胞研究が大きく進展した現在の研究環境を考えると、研究期間内により柔軟な対応ができたのではないかと思われる。世界的にこの技術が一般化して、産業化に寄与するかどうかはなお今後の基盤技術の発展と臨床研究に負うところが多い。全体に投入予算に見合った成果が得られているかについては判断の分かれるところであろう。
- これまでの成果の中で、ハニカム構造をもった基質を培養に使うことの意義が不十分である。増殖能の増加は認められるが、本来目的とするところは、細胞の大量培養であり、今回の成果をもとに発展的に進めることはできない。また、所期の目的では、細胞の分化制御も行われるはずであったが、ハニカム構造からくる分化制御については十分な成果は得られていない。一部材料への塗布による改質から筋芽細胞の制御等が可能のようであるが、成果の内容が不十分である。
- 培養系の細胞シートで本来目的とする心筋の収縮特性が得られていないためか、力学計測において目的として掲げていた収縮能を計測する装置が開発されていない。力学計測が行われたとしている装置はあまりにも初歩的な内容のものであって、これでは製品化は無理であろう。

- 厚さ 5mm の組織の作製が大網を用いることで達成できたが、この方法で完成した移植組織の意義を追求すべきである。
- 筋芽細胞を中心に、ドラッグデリバリーシステムとしてでも治療効果が上がればよい、という路線と、当初の厚いバイオ心筋を作る、という二つの話が独立して走り、研究内容が整理仕切れていない。(例えば、細胞源の探索は、DDS として優れた細胞を探すのか、心筋を作るために有用なものを探すのか、目的が曖昧)

〈その他の意見〉

- ・ 情報発信については論文発表などを通じて適切に行われたと判断される。

#### 4) 実用化の見通しについて

細胞シートの作出技術は実用化され、普及するであろう。シート作製技術は、角膜などの他分野への波及効果が大きく期待される。細胞シート移植に関しては、治療のスキームは明確である。症例の選択など、適切な適応症の設定が行われることが望まれる。わが国の規制環境に関する課題を除けば、企業が参入しやすいところまで達成できた。また、大網を使用した心筋組織を作製し、臨床応用する実用化のプランは、出口イメージが比較的明確に示されている。

一方では、バイオ心筋を開発するという当初の目標を考えれば、筋芽細胞を使用する技術にまでしか至っていないことが、プロジェクトの大きな問題点である。また、前臨床試験や臨床試験で認められた心機能の改善効果の機序を見定める作業は、是非必要である。サイトカイン効果であるとするなら、必ずしも厚いシート開発にこだわる必要はない。また、その際、細胞機能や生理活性物質など当該治療（治癒）のメカニズムについて、もう少し多くの知見が必要である。なお、骨格筋芽細胞シートだけで心筋再生を継続することは困難であり、今後はヒト心筋の再生の研究が必要不可欠である。

#### 〈肯定的意見〉

- 細胞シートの作出技術は実用化され、普及するであろう。
- 細胞シート移植に関しては、大網の応用も含め、大動物からヒトへの応用を明確に目指している。
- 他の領域への波及効果も期待できる。
- 細胞源が確定することを前提として実用化のイメージは明確である。最終的な開発目標は明確であり、その道筋も見えている。細胞シートは基盤技術として多方面に応用可能な成果になると期待される。当該分野の研究開発や人材育成にも波及することが予想される。
- 一部大網を使用した比較的厚い心筋組織を作製して、臨床応用する実用化のプランは、実用化イメージと出口イメージが比較的明確に示されている。
- 実用化は臨床試験まで到達したことより、評価される。シート作製技術の開発は、角膜など他分野への波及効果が大きく、期待される。
- 培養シート作製においては、実用化を想定するとコラーゲンを用いた血管床の活用であり、工学的にもスケールアップにつながりやすい技術である。
- 治療のスキームは明確である。症例の選択など、適切な適応症の設定が

行われることが望まれる。

- 実用化について具体的にイメージしやすい。わが国の規制環境に関する課題を除けば、企業が参入しやすいところまで達成できたと考える。
- 再生医療の有用性を示す事例としては、海外にも類を見ない成果である。本件が実用化されることで、再生医療の他の分野に対しても波及効果が期待できる。

〈問題点・改善すべき点〉

- 骨格筋芽細胞シートだけで心筋再生を継続することは困難であり、ヒト心筋の再生が必要不可欠である。
- バイオ心筋を開発するという当初の目標を考えれば筋芽細胞を使用する技術にまでしか至っていないことがプロジェクトの大きな問題点である。
- 細胞機能や生理活性物質など、当該治療（治癒）のメカニズムについて、もう少し多くの知見が必要となると考える
- 厚いバイオ心筋に関しては、利用目的がやや不明瞭。直接的な移植への利用だけでなく *in vitro* における種々の解析にも利用可能と考えられるが、どのような形で実用化するかが明らかでない。
- また、前臨床試験や臨床試験で認められた心機能の改善効果の機序を見定める作業は是非必要である。サイトカイン効果であるとするなら、必ずしも厚いシート開発にこだわる必要はない。
- 筋芽細胞と間葉系幹細胞の培養系の研究においては、実用化の視点からは見通しが得られない。最終的な臨床応用を考えた場合、それぞれ細胞源をどうするのか、手術対象者自身の細胞を使うという前提であれば、もっともっと大量培養が短期間でできる技術が必要であろうし、ブタなどの動物を対象にした場合は人畜感染の問題などが生じるであろう。今後将来の実用化に向けた展開がない。
- バイオ血管床の作製においては、生体由来血管床とコラーゲンをを用いた人工的な血管床が提案されている。学術的には、生体由来のシステムも大変興味深い内容をもっているが、実用化を考えると人工的なコラーゲンをを用いたシステムが選択されることになるが、最終的には血液の循環を必要とするのか。実用化を考えると、今回の成果がそのまま発展していくことは期待できないのではないか。

〈その他の意見〉

- ・ 開発に関わる企業である、セルシードがよりイニシアチブをとってシートの開発に関わることが望まれる。現時点では、市場規模を過大に評価している。

## 2. 個別テーマに関する評価結果

### 2. 1 細胞源・増殖因子の探索

#### 1) 成果に関する評価

個別の研究テーマでは、それぞれ学術的に重要な進展があり、今後の発展により心筋シートに利用可能となる基盤的知見が集積した。筋芽細胞、骨格筋内幹細胞、間葉系幹細胞のいずれも心筋に分化する可能性が示され、中でも筋芽細胞と間葉系幹細胞の共培養によって相乗効果が生まれ、心機能改善に結びつく可能性が示されたことの意義は大きい。心筋分化誘導に関する IGF-BP4 の発見やバイオ心筋の安全性の評価に関するゲノムレベルでの解析によるゲノム異常解析法の確立などは世界レベルの研究である。

しかし、心筋細胞への分化の可能性が示されたが、収縮能を有する細胞まで分化したという結果は得られていない。心筋細胞の作出技術という観点では、研究はなお基礎的なレベルに止まり、初期の目的には達成しておらず、今後の大幅な技術革新が求められる。現状では、将来利用が可能となる細胞源の確定に至らず、細胞源探索の目的が、「生着し心筋になることを期待する」のか、「生理活性物質の供給源」かが、不明確である。開発中の細胞源については腫瘍化等の安全面についても同時に検討が必要である。骨格筋芽細胞についてはやはり不整脈の危険についての評価が必要であり、また強度面で必要な性能についての評価も十全とはいえない。また、心筋分化能のない骨格筋芽細胞シートの移植では、基礎・臨床での心機能改善効果がみられているが、心筋内で何が起きているかブラックボックスになっていて、将来の展開に結びついてくるのかどうか不明である。

#### 〈肯定的意見〉

- 個別のプロジェクトグループでそれぞれ学術的に重要な進展があったといえる。今後の発展により心筋シートに利用可能となる基盤的知見が集積した。
- 細胞源の探索は様々な可能性を検討しながら効率よく取捨選択することが必要であり、その点プロジェクトの途上での切り替えがあったのは妥当である。
- 心筋への分化・増殖因子の発見は大変すばらしい成果である。
- 目的組織や細胞を広く探索できたと考える。特に MSC に対して IGFBP-4 の応用は興味深い。
- 心筋分化誘導に関する IGF-BP4 の発見やゲノム異常解析法の確立等の部分は世界レベルの研究であり評価できる。洗浄シートの積層能、細胞機

能評価等は初期の目的を達成したと考えられる。実際の患者への移植が出来ている点は評価される。

- 今回調査の対象とした、筋芽細胞、骨格筋内幹細胞、間葉系幹細胞のいずれも心筋に分化する可能性が示された。中でも筋芽細胞と間葉系幹細胞の両方をブタ心臓に入れることによって相乗効果が生まれ、心機能改善に結び付く可能性が示されたことの意義は大きい。
- 洗浄方法に関するアプローチは、実用化をふまえると具体的である。今後の再生医療製品開発に対して啓蒙的である。
- バイオ心筋の安全性の評価に関しては、ゲノムレベルでの解析が進められ、評価方法として確立した内容となっている。

#### 〈問題点・改善すべき点〉

- 心筋細胞への分化の可能性が示されたのみであって、現実には収縮能を有する細胞まで分化したという結果は得られていない。この研究で示されたように、細胞を心筋に入れる方法だと、心筋内で何が起こっているかブラックボックスになっていて、将来の展開に結びついてくるのかどうか不明である。
- 心筋への分化・増殖因子の有効性については、検証が不十分であるので、早期の解決を期待したい。
- 心筋分化能のない骨格筋細胞シートによる基礎・臨床での心機能改善効果がみられているが、そのメカニズムを探索する研究が不足している。厳密には心筋再生医療ではない。骨格筋細胞由来のどのような因子が心筋保護作用をはっきしているのか、この点は今後必ず明らかにするべき問題点であろう。
- ハニカム構造のシートを使った細胞増殖の効果は、期待したほどの効果があるものではないので、このシートの使用にあまりこだわる必要はない。
- 骨格筋芽細胞シートの移植では、心臓の収縮に寄与することは難しいのではないかと考えられる。また、個々の研究はそれぞれ進められているものの、全体的な統合がなされておらず、寄せ集めの成果である点は否めない。具体的な心筋の再生に至っておらず、骨格筋の細胞シートでは大きな臨床効果の達成は困難である。
- 目標とする機能が、心筋細胞としての収縮力を持つものなのか、パラクライン作用として有効に心機能の回復をもたらすものなのか、ということが曖昧。それにより細胞源の探索の仕方は根本的に異なるはず。
- 研究はなお基礎的なレベルにとどまっている。1mmのシートの作製以前

に、将来利用が可能となる細胞源の確定に至っていない。細胞源によってシートの性能や応用性に影響が及ぶものと考えられ、その点では本事業全体の大きな問題点である。その意味では予算に見合った成果が得られているとは言えない。開発中の細胞源については腫瘍化等の安全面についても同時に検討が必要である。骨格筋芽細胞についてはやはり不整脈の危険についての評価が必要であり、また強度面で必要な性能についての評価も十全とはいえない。単に細胞数が少ない、心外膜側だから安全だと思われるという推測では臨床応用に不安が残るところである。

- 細胞源探索の目的が、「生着し心筋になることを期待する」のか、「生理活性物質の供給源」かが不明確である。
- 安全性評価のスキームと、本研究を通じて得られた結論がわかりにくい。

#### 〈その他の意見〉

- ・ 時代の流れは万能細胞に向かっている。本事業との連携も視野においた研究が必要である。



## 2) 実用化の見通しに関する評価

本研究成果の実用化については、適切な適応症の設定を行うことで実施可能と考える。厚生労働省の幹細胞委員会により承認された臨床試験を実施しており、評価される。確立したプロトコルおよび評価法を用いているため、臨床試験の結果が期待される。

しかしながら、心筋細胞の作出技術という観点では、初期の目的には達成しておらず、今後の大幅な技術革新が求められる。得られた成果がバイオ心筋の製品化に応用可能なレベルに達していないため、実用化については未知数である。iPS 細胞研究が大きく進展していることから、実用化については軌道修正が必要となろう。

### 〈肯定的意見〉

- 個別の研究テーマでは学術的に大きな成果が得られたと評価される。
- 細胞シートの作製技術に関しては実用化できている。実際の患者への移植も現状で出来ている。
- 本研究成果の実用化については、適切な適応症の設定を行うことで実施可能と考える。
- 厚生労働省の幹細胞委員会により承認された臨床試験を実施しており、評価される。確立したプロトコルおよび評価法を用いているため、臨床試験の結果が期待される。
- 少々皮肉な話になるが、現在の結果からいえば、筋芽細胞と間葉系幹細胞を直接患部となる心筋組織に入れることによって改善効果が期待されるようであるので、この方法を推進するという選択肢もあるのではないか。
- 患者に対するベネフィットを考えると、実用化の意義は少なくない。
- 脂肪由来間葉系幹細胞のシートに関して特許が取られているがこれが有効なら新たな有望な細胞源となりうる。大網の利用は細胞源とは異なるが有用な技術となる可能性がある。

### 〈問題点・改善すべき点〉

- 心筋細胞の作出技術という観点では、初期の目的には達成しておらず、今後の大幅な技術革新が求められる。
- 得られた成果がバイオ心筋の製品化に応用可能なレベルに達していないため、実用化については未知数である。iPS 細胞研究が大きく進展していることから、実用化については軌道修正が必要となろう。

- 将来的には、心筋細胞に分化して心筋シートを作製し、重層化、移植という手順を踏んでいくものと思われるが、心筋細胞への分化については現時点では十分な検証が行われていないので、この点をもっと明確にしておく必要がある。
- 骨格筋細胞由来のどのような因子が心筋保護作用をはっきしているのか、この点は今後必ず明らかにするべき問題点であろう。でなければ、臨床試験での副作用に対応が困難となるのではないだろうか。
- 現時点で明らかに実用化が可能、または有望な新たな細胞源や増殖因子は見いだせていない。
- 安全性評価について、さらに網羅的に評価基準を設定すべきではないだろうか。

〈その他の意見〉

- ・ ただし、iPS 細胞についても将来性、発展性に十分な展望が開けているとはいえ、その点本プロジェクトで得られた成果が実用化に結びつかないとは断言できない。

### 3) 今後に対する提言

本プロジェクトの臨床応用に当たって最も重要な点は安全で実用化可能な細胞源の同定である。細胞の自己心筋化か生理活性物質によるサポートかを明確にし、これに準じた細胞源の探索を行うべきである。一定の治療効果が得られているので、現状における技術の利用を前提に治療の目的とその限界を明らかにし、当該治療のリスクマネジメントを通じた品質目標を設定し、実用化の準備に入ることが望ましい。

また、移植後の細胞シートがどれぐらいまで生存しているかに関して、評価を行うべきである。筋芽細胞や間葉系幹細胞などを心筋細胞に分化して心筋組織を作製するに当たっては、ヒト由来を想定した場合速い速度で大量の細胞培養を行う必要があり、この点の技術は実用化を想定すると早期に解決しておく必要がある。

#### 〈今後に対する提言〉

- ・ 一定の治療効果が得られているので、当該治療のリスクマネジメントを通じた品質目標を設定し、実用化の準備に入ることが望ましいと考える。
- ・ 現状における技術の利用を前提に、治療の目的とその限界を明らかにすることが必要である。
- ・ 臨床成績の解析によりこの治療法へのよい適応患者の条件などを検討すべきである。
- ・ 筋芽細胞と間葉系幹細胞を心筋の導入する手法については、その成果が大いに期待されるので、実用化を目指した検討も視野に入れたらいいのではないか。
- ・ 移植後の細胞シートがどれぐらいまで生存しているかに関して、評価を行うべきである。
- ・ 本プロジェクトの臨床応用に当たって最も重要な点は安全で実用化可能な細胞源の同定である。その点でこの個別テーマが他のテーマと解離してしまった印象がある。
- ・ 筋芽細胞や間葉系幹細胞などを心筋細胞に分化して心筋組織を作製するに当たっては、ヒト由来を想定した場合速い速度で大量の細胞培養を行う必要があり、この点の技術は実用化を想定すると早期に解決しておく必要がある。
- ・ 細胞の自己心筋化か生理活性物質によるサポートかを明確にし、これに準じた細胞の探索を行うべきではないか。
- ・ プロジェクトの途中で iPS 細胞の樹立が行われたが、iPS 細胞が移植用

細胞として万全であるわけではなく、その他の有望な細胞源の探索は今後も継続して行うべきである。

〈その他の意見〉

- ・ 異なった省庁から多額の研究費が多数の施設に出されているようである。多様な研究が必要なことは事実であるが、目標は限られており、集約化を検討すべき時期ではないかと思われる。

## 2. 2 バイオ心筋の機能性向上技術の開発

### 1) 成果に関する評価

心筋細胞の細胞シートの作製に関しては、積層化技術、血管網付与技術、自動化に向けた積層化装置、大網を利用した重層化などで十分な成果を挙げている。ヒト筋芽細胞シートを用いた血管内皮細胞との共培養による血管新生機能能力の付与は、*in vitro* で厚い心筋組織を構築しようとする試みにおいて、大変有意義な成果であり、世界最高水準の本邦独自の技術である。内皮細胞をこのような形で導入するだけで、機能が発揮されてくることは大変な驚きであり、*in vitro* における厚い組織構築への可能性を開き、本研究課題のみでなく他の再生医療にも影響をもたらすものである。また、手術時に大網を用いるアイデアも独創性があり、実用を目指した研究として大いに評価できる内容である。

一方、細胞シートと生体心筋との整合性、即ち新生した血管の機能、**Gap junction** 形成、収縮力への寄与の定量的評価など臨床応用に必要な基礎的検討が期待される。実用化に求められる機能と開発された技術が整合しているかについての評価は今後の課題である。

#### 〈肯定的意見〉

- 心筋細胞の細胞シートの作製に関しては積層化、自動化、バイオリアクターの活用など十分な成果を挙げている。
- 小型の細胞シート自動積層化装置は、システムとしても大変良くできており、ある程度確立された技術となっている。
- 大網を利用して、心筋組織を重層化し、厚い組織を作製する技術は発想としても大変興味があり、実用を目指した研究として大いに評価できる内容である。
- 当初の目標であった積層化と血管網付与技術の開発に成果があったと判断される。目標をクリアしていると評価される。内皮細胞との共培養は独創的な発見であり、世界最高水準の本邦独自の技術である。自動化に向けた積層化装置も開発されたことは評価される。手術時に大網を用いるアイデアも独創性があり、実用化に向けて大きな成果である。
- ヒト筋芽細胞シートを用いて、積層化と血管内皮細胞との共培養系による血管新生機能能力の付与は大変有意義な成果である。内皮細胞をこのような形で導入するだけで機能が発揮されてくることは大変な驚きであり、かつ今後の発展に期待が持てる内容である。
- 血管内皮細胞を用いた一連のシート内血管再構築は、本研究課題のみで

なく、他の再生医療にも影響をもたらすものである。

- バイオ血管床の応用によるスケールアップは十分に興味深い技術である。  
**in-vitro**における厚い組織構築への可能性を開いた。
- 特にバイオ血管床を用いて完全に **in vitro** で厚い心筋組織を構築しようとする試みは意欲的だがかなり困難と考えられるが、期待以上の成果が上がっており、将来の発展が期待される。

#### 〈問題点・改善すべき点〉

- 細胞シートと生体心筋との整合性、即ち新生した血管の機能、**Gap junction** 形成、収縮力への寄与の定量的評価など臨床応用に必要な基礎的検討が期待される。また実用化に求められる機能と開発された技術が整合しているかについての評価は今後の課題である。厚い心筋作製に向けていくつかのアイデアを検証している。それぞれに斬新で有望な技術であるが、実用化に向けての道筋をつけた開発が求められる。
- 心筋シートとしては、筋芽細胞のみあるいは血管内皮細胞との共培養系を用いているが、細胞源の研究において筋芽細胞と間葉系幹細胞の同時導入によるすばらしい効果が期待されるので、この方法をなぜ培養系に適用しなかったのか。
- 大網に筋芽細胞と間葉系幹細胞を同時に付加した系を実験しており、形成された組織の収縮能や筋肉組織の同定など早期に実施することによって所期の目的に到達する可能性を示すことができるのではないかと期待する。
- 厚い心組織を作ったとしてその将来的な使用目的や使用方法が不明瞭。どのような形で移植に用いるのか、厚い組織でないとできない応用方法にはどんなことがあるのか、など具体的なイメージがやや不足。
- 安全性や有効性のモニタリングについて、その具体的内容についてもう少し深い考察が必要である。

#### 〈その他の意見〉

- ・ 事業化に向けてさらに具体的な展望が望まれる。

## 2) 実用化、事業化の見通しに関する評価

細胞シートの積層化技術は臨床応用での必要性が高く、実用化可能な細胞源が開発されれば実用化の見込みは高い。また、毛細血管系の構築は再生医療共通の課題であり、大網組織による血管付与は実用化の見通しの高い成果であり、実用化への期待は大きい。

一方、ヒトの心筋細胞でこの技術を応用できていない点が問題であり、動物実験の成功がヒトの心筋での成功に繋がるかどうかの見通しが必要である。

また実用化に向けては、導入した細胞源の心筋細胞への分化誘導の必然性の明確化、デバイスの機能面でのバリデーション、要素技術における特許網の構築、临床上の有効性や副作用についての検討、実用化に必要な機能の設定やその評価法の開発、培養技術の最適化、規格化と大量生産技術など克服すべき点が少なくない。

### 〈肯定的意見〉

- 細胞シートの作出と移植組織への応用等に関する技術は十分な成果を挙げている。
- 積層化技術は臨床応用に必要性が高く、実用化可能な細胞源が開発されれば、実用化の見込みは高いと思われる。
- 大網組織による血管付与の考え方は、実用化の見通しの大いなる成果であると思われる。今後の見通しなどを拝見すると、開発研究の実施者も同様の視点をもっているようである。
- 毛細血管系の構築は再生医療共通の課題であり、本方法の実用化への期待は大きい。
- バイオ血管床を含むバイオリアクター、自動積層装置など、技術シーズとしては興味深いデバイスが開発できた。本研究における実用化の可能性は高いと考える。
- 厚生労働省の承認した臨床試験に入っているため、特に問題はない。
- **Mass** としてヒトサイズに適う大きなものを作る、というのは心臓に限らず組織工学の医学応用における大きな課題であり、本プロジェクトの素要素技術、特に血流をどのように確保するかという試みは様々に応用可能であると考えられる。

### 〈問題点・改善すべき点〉

- ヒトの心筋細胞でこの技術を応用できていない点が問題であり、動物実験の成功がヒトの心筋での成功に繋がるかどうかの見通しを出して欲しい

い。

- 具体的な実用化イメージに少し欠ける。夢として面白そう、というところからもう一歩抜け出せていない。
- 実用化に必要な機能の設定やその評価法の開発、培養技術の最適化、規格化と大量生産技術など克服すべき点が少なくない。
- 本研究にて確立できたデバイスについて、性能面でのバリデーションが必要である。機能的に信頼性を増すことで、より実用化が近くなる。
- 現在の時点では、大網組織を利用する場合も筋芽細胞や間葉系幹細胞をそのまま使用しており、培養系において心筋細胞への分化誘導の必然性を明確にしておく必要がある。もしも、細胞を生体内へ誘導後心筋への分化を期待するのであれば、当初から目的を絞った方が効率的である。
- 本個別テーマを通じて多くのデバイスが開発できている。しかし、それらに関する特許が少ないように思う。要素技術を中心に特許網を構築することが望まれる。
- 骨格筋細胞シートへの血流増強のために腹膜（大網）を使用しているが、心筋表面への腹膜（大網）装着における基礎実験を含め、臨床上の有効性や副作用についての検討が不足している。
- 安全性に対する具体的評価内容を設定した後、これをモニタリングする必要がある。特に、本件のような心筋再生においてモニタリングすべき項目は何かを明らかにすべきである。

#### 〈その他の意見〉

- ・ 本事業で得られた最も期待が持てる基盤技術である。



### 3) 今後に対する提言

実用化という視点からは、大網を利用した心筋組織の重層化と再生が注目されるが、心筋細胞まで分化したものをを使うべきなのか、あるいは筋芽細胞などの源細胞で十分なのかを早期に判断する検討が必須である。また、毛細血管網の再構築はデバイスを含めて汎用性のある技術であり、これらに関する知財戦略がきわめて重要である。

今後、心筋と血管という単純な構造から、心筋、血管、間質細胞による心組織の模倣などにより、より完全な組織の再構成ができるとすばらしい。

#### 〈今後に対する提言〉

- ・ ヒトの心筋細胞で同様なものを作出する技術を開発して欲しいものである。
- ・ 前項に記したとおり、我が国独自の技術として高い評価が得られると期待される。
- ・ 実用化という視点からは、やはり大網を利用した心筋組織の重層化と再生に焦点を絞って取り組むべきだと思います。その際、使用する細胞については、心筋細胞まで分化したものをを使うべきなのか、あるいは筋芽細胞などの源細胞で十分なのかを早期に判断する検討が必須である。
- ・ 研究内容は大変興味深い。特に毛細血管網の再構築についてはデバイスを含めて、汎用性のある技術と判断した。特許など、これらに関する知財戦略がきわめて重要であると考えます。
- ・ 心筋と血管、という単純な構造からさらに複雑なものへの挑戦、例えば心臓であれば、心筋、血管、間質細胞による心組織の模倣などにより、より完全な組織の再構成ができるとすばらしい。

#### 〈その他の意見〉

- ・ 心筋だけでなく、他領域へも応用可能な技術として検討内容を広げるとよいのではないかと。

## 2. 3 バイオ心筋の評価技術の開発

### 1) 成果に関する評価

心筋シート内の増殖可能な細胞の密度や空間的分布評価、血管ネットワーク形成の定量的評価、並びに細胞シート内の三次元的細胞遊走能評価など、多方面からの評価法が開発された。評価項目を具体的且つ論理的網羅的に設定し、細胞材料の評価基準作りに貢献していると考えられる。

しかしながら、心筋シートの機能評価の点では、ほとんど進んでいないようである。将来的に必要な、特に腫瘍化、不整脈源性、異常蛋白産生などの安全面の評価、収縮・弛緩などの力学計測などの機能評価では、精細な技術が開発されたとは言い難い。また、今後は *in vivo* での評価も視野においた技術開発が期待される。

#### 〈肯定的意見〉

- 細胞シートに関する技術評価は十分に出来ている。血管構築組織での評価も概ね出来ている。
- 評価項目を具体的且つ論理的網羅的に設定し、それぞれ検討したことは評価できる。細胞材料の評価基準作りに貢献していると考えられる。
- 高度な画像解析技術を用いて、バイオ心筋が評価できたことは高く評価できる。
- 血管ネットワーク形成の定量的評価、並びに細胞シート内の三次元的細胞遊走能評価は、他に類を見ない成果である。
- バイオ心筋の立体的評価法について、形態面、サイトカイン産生能（パラクライン機能）、血管形成など多方面からの評価法が開発された。
- 心筋シート内の増殖可能な細胞の密度や空間的分布を評価したり、細胞の3次元的な移動状態を解析し、物質の拡散係数に相当するパラメータを導入して定量的に評価できる手法は大変有効であり、評価できる。

#### 〈問題点・改善すべき点〉

- 筋芽細胞が使用されている制限があり、将来的に必要な安全面、特に腫瘍化、不整脈源性、異常蛋白産生などの点で精細な技術が開発されたとは言い難い。特にシートの力学的強度、収縮力についての評価技術を開発することが期待される。
- 心筋シートの機能評価の点では、ほとんど進んでいないようである。収縮・弛緩などの力学機能や電気生理学的特性の重要性を指摘しているが、これはいわば当たり前のことであって、心筋シートの収縮特性が得られ

ていないのであれば、他の細胞を使ってでも評価できるシステムを構築すべきである。今回報告されている力学計測のシステムは、その名に値しない陳腐なものである。

- 当初の目的であった有効性・安全性に関する具体的目標と、本テーマのような三次元的定量的評価との関連が明らかでない。
- シートの現在の状態を描写するものが主体で、機能的ポテンシャルの評価があまりできていない。例えば、拍動する心筋シートというならば、単なる張力強度ではなく、どれだけの駆出力を出しうるシート（組織）か、というような評価が必要では。
- 単なる張力強度では、線維芽細胞のシートを解析しているのと意味が変わらない。マトリックス濃度などが関わるだけで、収縮することが反映される値ではないのでは。

〈その他の意見〉

- ・ *in vivo* での評価も視野においた技術開発が期待される。

## 2) 実用化、事業化の見通しに関する評価

細胞の3次元形態計測に関する画像解析技術の多くは、細胞源が骨格筋芽細胞から万能細胞などに変わったとしても再生医療製品の評価の基盤技術として有用であり、特にシミュレーション技術を用いた製品品質評価は、非侵襲的評価への道筋を示すものである。

しかし、実用化および製品化に当たっては、不整脈源性、収縮機能の評価、異常蛋白の検出、腫瘍化などを総合的に評価する技術が必要である。

### 〈肯定的意見〉

- 筋芽細胞等の腫瘍化する可能性がない組織での評価であれば、概ね達成されている。
- 評価基準の設定ができれば、素技術は実用化することは可能なレベルであると考えられる。
- 将来細胞源が骨格筋芽細胞から万能細胞などに変わったとしても基盤技術としての評価技術としては応用が可能であり、実用化の見込みはある。
- 細胞の3次元形態計測に関しては、市販の機器の十分な利用が可能であり、概ねできあがっている状態にある。
- 厚生労働省の幹細胞委員会により承認された臨床試験を実施しており、評価される。確立したプロトコルおよび評価法を用いているため、臨床試験の結果が期待される。
- 本件で提示された画像解析技術の多くは、再生医療製品の評価には有用である。特に、シミュレーション技術を用いた製品品質評価は、非侵襲的評価への道筋を示すものとする。

### 〈問題点・改善すべき点〉

- 前述したように、不整脈源性、収縮機能の評価、異常蛋白の検出、腫瘍化などを総合的に評価する技術に展開しないと実用化は困難であろう。
- 心筋シートの機能評価システムについては、特に力学計測に関する技術開発が不十分であるので、実用化および製品化に当たっては、この点を十分に配慮しておく必要がある。
- 本評価技術が製品製造の品質評価においてどのような位置づけになるのか不明確である。細胞生物学的な基礎研究としての意義は大きいものの、実際の製品製造に対してどのような示唆を加えるものかが明らかでない。
- 実際の品質の可否判断に用いることができるようなレベルの評価技術や評価基準にまでは至っていない。

〈その他の意見〉

- ・ なし

### 3) 今後に対する提言

臨床応用に際しては、細胞シートが生体に使われた場合の安全性（腫瘍化）と機能（力学的・電氣的）を含めた、さらに多面的な総合評価が可能となる評価技術の開発が求められる。力学システム評価系では、MEMS やマイクロロボットシステム分野の工学者との連携により、小型化や高機能化などに充分に対応可能であろう。

また本プロジェクトの成果は、細胞生物学の基礎検討としても極めて意義深く、これら検討項目と品質の関連を求めることにより、再生医療製品共通の品質管理手法を提供できる可能性を有していると考えます。今後は、ES 細胞等の腫瘍化する可能性のある組織での評価法の構築が期待される。

#### 〈今後に対する提言〉

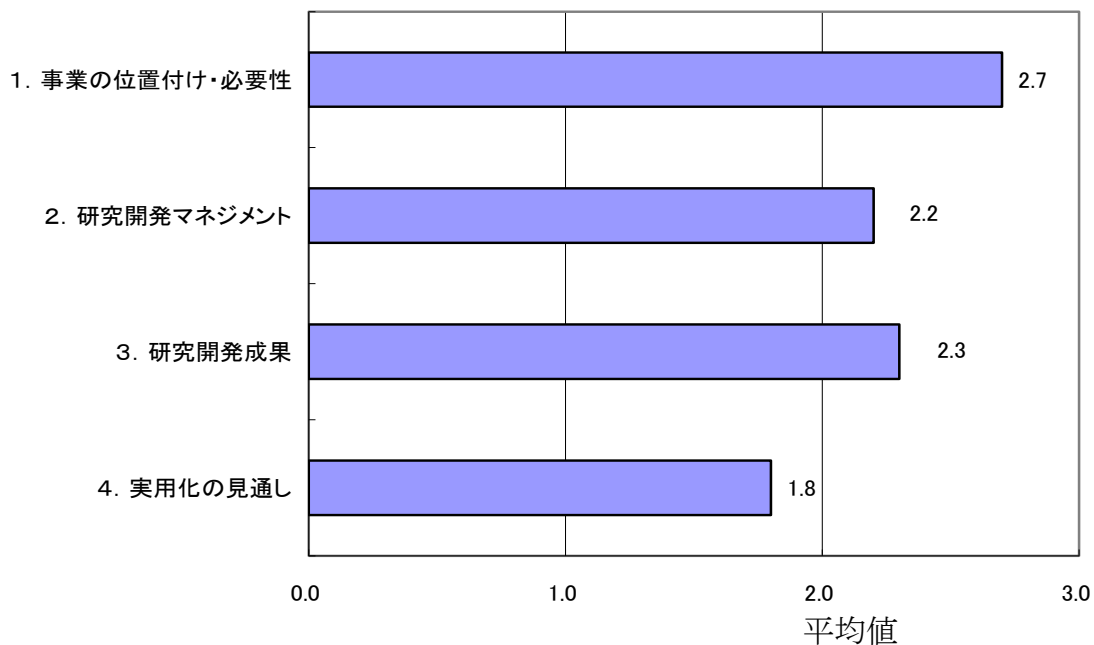
- ・ ES 細胞等の腫瘍化する可能性のある組織での評価法を今後は構築してゆくべきであろう。
- ・ 臨床応用に際しては、細胞シートが生体に使われた場合の安全性（腫瘍化）、力学的・電氣的安全性についても評価が必要になってくると思われる。実用化についての項に記載したように、さらに多面的な総合評価が可能となる技術を開発されたい。
- ・ 力学システムの評価系に関しては、電気生理学的特性については最近の MEMS 技術などを取り入れれば、十分に小型化と高機能化を図ることができるので、この分野の工学者と共同開発をするといいい。収縮・弛緩特性に関しても、マイクロロボットシステムを開発している工学者は多いので、今回の内容については、十分に対応可能であろう。
- ・ 本テーマは細胞生物学の基礎検討としてはきわめて意義深いと考える。さらなる評価を通じて、これら検討項目と品質の関連を求めることが望ましい。再生医療製品共通の品質管理手法を提供できる可能性を有していると考えた。
- ・ 細胞の流動性など面白い知見も得られている。細胞種、分裂、遊走などの現象をリアルタイムで追跡・評価できるシステムができれば、組織工学と生物学に新しい可能性を生み出すことができるかも知れない。

#### 〈その他の意見〉

なし

### 3. 評点結果

#### 3. 1 プロジェクト全体



評価項目	平均値	素点 (注)					
		A	A	A	A	B	B
1. 事業の位置付け・必要性について	2.7	A	A	A	A	B	B
2. 研究開発マネジメントについて	2.2	A	B	A	B	B	C
3. 研究開発成果について	2.3	A	B	B	B	B	A
4. 実用化の見通しについて	1.8	B	A	C	B	B	C

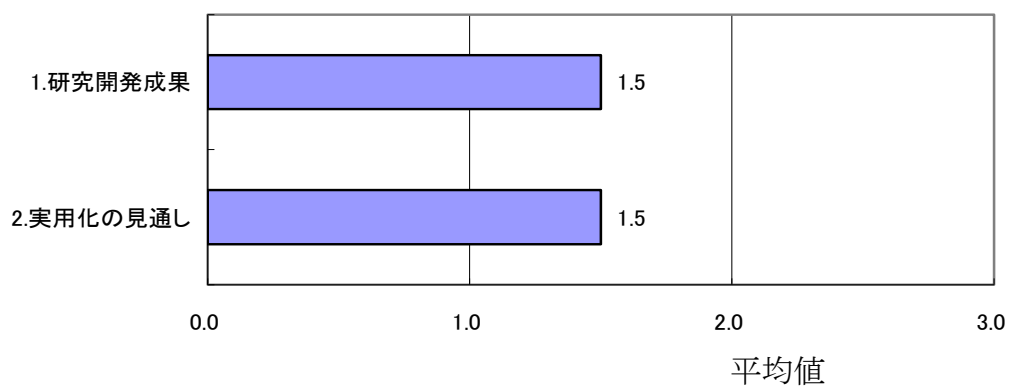
(注) A=3, B=2, C=1, D=0 として事務局が数値に換算し、平均値を算出。

#### 〈判定基準〉

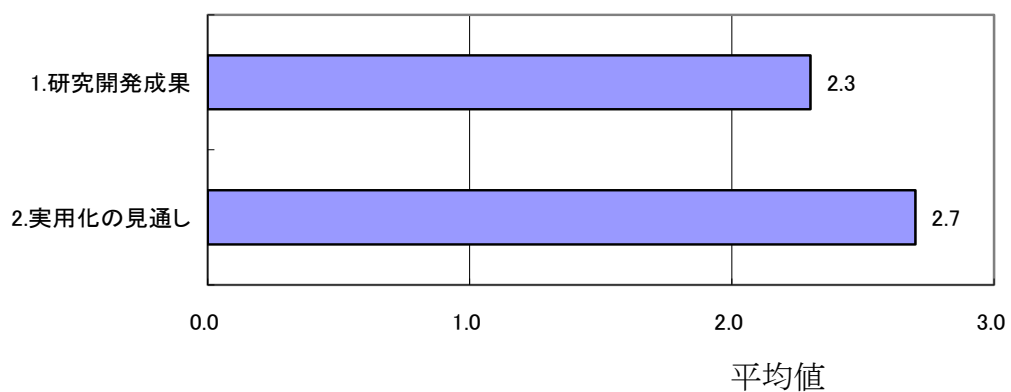
1. 事業の位置付け・必要性について	3. 研究開発成果について
・非常に重要 →A	・非常によい →A
・重要 →B	・よい →B
・概ね妥当 →C	・概ね妥当 →C
・妥当性がない、又は失われた→D	・妥当とはいえない →D
2. 研究開発マネジメントについて	4. 実用化の見通しについて
・非常によい →A	・明確 →A
・よい →B	・妥当 →B
・概ね適切 →C	・概ね妥当であるが、課題あり →C
・適切とはいえない →D	・見通しが不明 →D

### 3. 2 個別テーマ

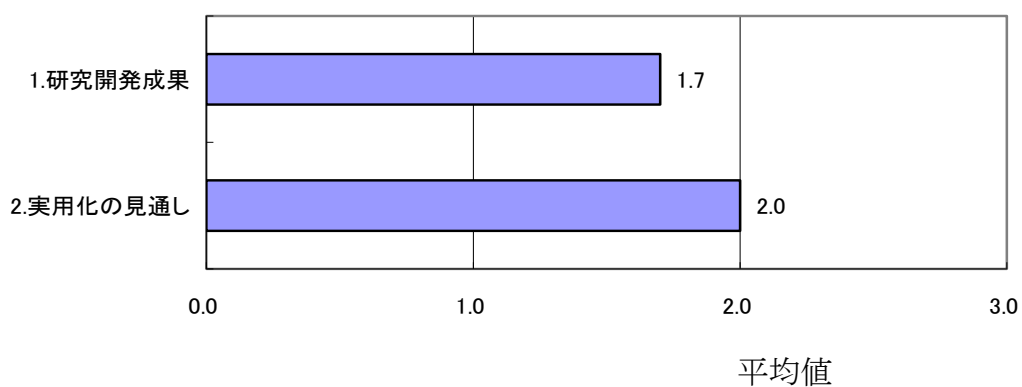
#### 3. 2. 1 細胞源・増殖因子の探索



#### 3. 2. 2 バイオ心筋の機能性向上技術の開発



#### 3. 2. 3 バイオ心筋の評価技術の開発





個別テーマ名と評価項目	平均値	素点 (注)					
3. 2. 1 細胞源・増殖因子の探索							
1. 研究開発成果について	1.5	A	B	B	C	C	D
2. 実用化の見通しについて	1.5	B	B	C	C	C	B
3. 2. 2 バイオ心筋の機能性向上技術の開発							
1. 研究開発成果について	2.3	A	A	A	B	B	C
2. 実用化の見通しについて	2.7	A	A	A	A	B	B
3. 2. 3 バイオ心筋の評価技術の開発							
1. 研究開発成果について	1.7	B	B	B	B	C	C
2. 実用化の見通しについて	2.0	A	B	B	B	B	C

(注) A=3, B=2, C=1, D=0 として事務局が数値に換算し、平均値を算出。

〈判定基準〉

1. 研究開発成果について

- ・ 非常によい →A
- ・ よい →B
- ・ 概ね適切 →C
- ・ 適切とはいえない →D

2. 実用化の見通しについて

- ・ 明確 →A
- ・ 妥当 →B
- ・ 概ね妥当であるが、課題あり →C
- ・ 見通しが不明 →D

## 第2章 評価対象プロジェクト

## 1. 事業原簿

次ページより、当該事業の事業原簿を示す。

「再生医療評価研究開発事業  
／心筋再生治療研究開発」

事業原簿  
(公開)

担当部	独立行政法人新エネルギー・産業技術総合開発機構 バイオテクノロジー・医療技術部
-----	--

## —目次—

概 要.....	i
プロジェクト基本計画.....	v
プログラム基本計画.....	x
技術戦略マップ（分野別技術ロードマップ）.....	xx
事前評価関連資料（事前評価書、パブリックコメント募集の結果）.....	xxi
プロジェクト用語集.....	xxiv
I. 事業の位置付け・必要性について	
1. NEDOの関与の必要性・制度への適合性.....	1
1.1 NEDOが関与することの意義.....	1
1.2 実施の効果（費用対効果）.....	2
2. 事業の背景・目的・位置づけ.....	3
II. 研究開発マネジメントについて	
1. 事業の目標.....	4
2. 事業の計画内容.....	4
2.1 事業内容の概要.....	4
2.2 研究開発内容.....	6
2.3 研究開発計画.....	13
2.4 研究開発の実施体制.....	17
2.5 研究開発の運営管理.....	19
3. 情勢変化への対応.....	22
4. 中間評価結果への対応.....	23
5. 評価に関する事項.....	23
III. 研究開発成果について	
1. 事業全体の成果.....	24
2. 目的に照らした達成状況.....	24
3. 研究開発項目毎の成果.....	25
4. 知財と標準化.....	31
5. 波及効果.....	32
IV. 実用化、事業化の見通しについて.....	33
（実用化の見通しについて）	
別紙1 研究開発項目と達成目標（マイルストーン）.....	35
別紙2 研究発表・講演、文献、特許等の状況（共同研究、再委託研究も含む）.....	36

概要

		作成日	平成22年12月13日
プログラム（又は施策）名	健康安心プログラム		
プロジェクト名	再生医療評価研究開発事業 ／心筋再生治療研究開発	プロジェクト番号	P06044
担当推進部/ 担当者	バイオテクノロジー・医療技術部 / 齊藤 泰男		
0. 事業の 概要	<p>患者 QOL (Quality of Life) の改善が急がれている難治性循環器系疾患、特に重症心不全の有効治療を目的として、シート状の細胞が積層化し、血管構築を伴った三次元的な移植用心筋組織（バイオ心筋）の開発を行う。この目標達成のため以下の開発を実施する。</p> <p>A. 平成18年度～19年度</p> <p>① バイオ心筋の機能向上技術の開発 血管網を付与した肉厚で高機能なバイオ心筋の作製技術を確立するとともに、その製造工程のシステムを構築する。さらに、前臨床試験により有効性及び安全性の評価を行う。</p> <p>② バイオ心筋の評価技術の開発 作製されたバイオ心筋の安全性、機能、形態、組織学的評価システムを構築する。</p> <p>③ 細胞源・増殖因子の開発 移植用バイオ心筋組織に適した細胞源の樹立確保のため、医学的に患者への移植に適し、倫理的にも受容され、安全性の高い細胞供給源を開発する。</p> <p>④ 細胞機能制御技術の開発 安全・簡便・安価なバイオ心筋用の細胞源の生産供給を行うため、培養器材の表面形状を操作することにより細胞の機能を制する培養システムを開発する。</p> <p>B. 平成20年度～21年度</p> <p>① 細胞源・増殖因子の探索 平成18年度から19年度の成果をもとに、バイオ心筋を製造するための細胞源に関する標準的な培養・分化方法を確立する。その上で、安全かつより心機能改善効果の高いバイオ心筋の増殖分化・機能制御のシステム化を行う。</p> <p>② バイオ心筋の機能向上技術の開発</p> <p>③ バイオ心筋の評価技術の開発 平成18年度からの目標を継続的に実施する。</p>		
I. 事業の 位置付け・必要性について	<p>近年、我が国の疾病構造は、感染症などの急性疾患が減少した反面、がんや循環器病、糖尿病などの生活習慣病をはじめ高齢化に伴う障害が増加する傾向にある。特に、食生活の欧米化並びに高齢化に伴い、今後虚血性心疾患に伴う重症心不全患者がさらに増加することが予想されている。また、拡張型心筋症に伴う重症心不全患者に対する治療も循環器分野で大きな課題となっている。このような重症心不全に対し、これまでの補助人工心臓や心臓移植などの置換型治療に代わって、遺伝子工学や細胞組織工学、再生医学等を用いた再生型治療が新しい治療法として期待されている。</p> <p>これまでに開発された筋芽細胞をシート化して移植する技術は、虚血性心筋症のみならず、グローバルな心筋変性疾患である拡張型心筋症に対しても心機能改善効果が認められ、新たな治療法として期待されている。</p> <p>この心筋再生シートによる心筋再生治療の早期実現化を目指すためには、心筋再生シートの機能と実用性をさらに向上させ、厚い心筋組織で構築された内部に酸素や栄養を供給できるような血管網を有するバイオ心筋を作製するティッシュエンジニアリング技術が必要である。これにより、重症な心不全症例に対しても心臓移植に代わる有効な再生治療法を確立することが可能となる。</p> <p>この高機能なバイオ心筋を安全かつ簡便に作製し安定して供給するためには、新たな技術・装置の開発が必要であるとともに、臨床応用に向けた製品化やその作製装置、治療効果の評価技術の確立および細胞源や増殖因子の開発・解明が必須である。</p> <p>このような再生型治療は新しい治療法として期待されているが、新しい医療であるために規制上のガイドラインがあいまいなこと、大量生産が難しいこと、生物安全性、品質管</p>		

理が難しいことなどから、大手製薬企業等は参入をためらっており、大学・医療機関と手を組んで新しく立ち上がった経済基盤の脆弱なベンチャー型の企業が担い手になっているのが現状である。従って、このような未知の要素が多く開発リスクの高い新しい医療を発展させるためには国の機関が率先して、産業界や大学・医療機関をけん引していく必要がある。

また、これらの企業を支援することにより、従来の産業構造を変え、新しい産業構造を創造する起爆剤となることが期待できる。

## II. 研究開発マネジメントについて

**事業の目標** 血管網を有する厚さ 5 mm 以上のバイオ心筋を作製し、左室駆出率 (EF) 5%以上の心機能を改善する。

事業の計画内容	主な実施事項	H 1 8 fy	H 1 9 fy	H 2 0 fy	H 2 1 fy		
	バイオ心筋の機能向上技術の開発	—————→					
	バイオ心筋の評価技術	—————→					
	細胞源・増殖因子の開発	—————→					
	細胞機能制御技術の開発	—————→					
	成果とりまとめ				—————→		

開発予算 (単位：百万円)	会計・勘定	H 1 8 fy	H 1 9 fy	H 2 0 fy	H 2 1 fy	総額
	一般会計	3 0 0	3 0 1	2 6 9	2 7 0	1, 1 3 9
	特別会計 (電多・高度化・石油の別)	0	0	0	0	0
	総予算額	3 0 0	3 0 1	2 6 9	2 7 0	1, 1 3 9

開発体制	経産省担当原課	商務情報政策局 サービス産業課 医療・福祉機器産業室
	プロジェクトリーダー	大阪大学大学院医学系研科 外科学講座心臓血管・呼吸器外科 教授 澤 芳樹
	委託先	国立大学法人 大阪大学医学部附属病院 学校法人 東京女子医科大学 株式会社 セルシード

**情勢変化への対応**

1. 推進委員会からの助言及び国内外の情勢の変化に対応し、厚みのあるバイオ心筋を製造するシステムを完成させることを主軸とし、プロジェクト内容を一部変更または追加した。
2. 中間評価のコメント等を参考にして優先順位をつけ研究項目の絞り込みを実施した。

## III. 研究開発成果について

本研究開発では、細胞生物学的な手法、工学的な手法さらに新規の移植技術により血管網を増生し、より効果的なバイオ心筋を作製するとともに、安全かつ有効なバイオ心筋の製造工程システムを構築し、臨床応用に向けてバイオ心筋医療の基盤を確立することを目的とした。

平成18年度から19年度では、バイオ心筋への血管網付与を目的に積層化細胞シート間に血管の構成細胞である血管内皮細胞を挟み込み、作製組織内には血管内皮細胞による網目構造が形成され、その一部分には生体の毛細血管に類似した管腔構造が認められた。この結果は血管構成細胞との積層化共培養の有用性を示した。

そして、積層化細胞シートの安定した維持培養を実現するための還流型バイオリアクターを試作した。培養液の状態をリアルタイムでモニタリングするための酸素および pH センサーを組み込んだ。その結果、試作したバイオリアクターを用い、酸素および pH を安定した状態に維持したまま1週間還流培養可能であることが確認できた。

さらに、厚いバイオ心筋を作製する技術の一つとして、積層化細胞シートを十分な血管網の誘導を待って繰り返し移植する技術を確立した。小動物を用いた実験では皮下組織に細胞シート3層を毎日繰り返し移植することにより厚さ1mmの血管網を有する組織の作製が可能となった。

以上の結果から、中間目標を達成する成果を得た。

III. 研究開発 成果に ついて	<p>平成20年度から21年度では、次世代の再生医療として組織工学的な手法により三次元的な心筋組織（バイオ心筋）を作製することを目的とし、課題となるより厚く機能的なバイオ心筋を作製するためには、いかに血管新生を促進し生体と同様な豊富な血管網を組織内に再構築するかを目標に検討を実施した。</p> <p>細胞源・増殖因子の探索では、従来の方ですでに臨床応用している筋芽細胞において、細胞制御技術、および、安全性評価技術を確立したことで、事業化に向けた道筋が大きく進んだものとする。一方、間葉系幹細胞については、心筋への分化の可能性を踏まえつつ、筋芽細胞に足して使用することで非常に大きなポテンシャルをもった方法として臨床応用できる可能性が示唆された。</p> <p>最終目標である、血管網を有する厚い組織の構築については、本研究期間で <i>in vivo</i>、<i>in vitro</i> 両方で行なわれ、<i>in vitro</i> では1週間以上組織を維持培養できるような血管床の技術を得ることができ、毛細血管が導入された三次元組織が得られることが確認できた。一方、<i>in vivo</i> では、大網を使って血流をフィーディングすることによって、目標値である厚さ5mm以上の組織を構築ということが可能となった。心機能の改善も、30%ぐらいのEF値を60%ぐらいまで回復することが確認され、十分なポテンシャルが得られた。</p> <p>評価技術については、バイオ心筋の立体的評価、それから、細胞流動性を指標としたバイオ心筋の機能評価技術を開発し、その血管ネットワークを有する疑似組織体の解析、それから、薬剤スクリーニングなどへの応用を含めた展開が期待できる。</p> <p>さらに、細胞シート積層化工程をより緻密かつ安定に実施することができる温度応答性培養容器の開発や、小型自動積層化装置の開発を行い、バイオ心筋作製の工程確立に向けた検討が行われた。</p> <p>筋芽細胞で始まった治療が、本プロジェクトを経て、間葉系幹細胞との組み合わせ、もしくは、大網を利用した治療として次の世代でさらにポテンシャルを強くしていくと考えられ、最終的にはES/iPS細胞というものも加わってまた新たな細胞治療が展開できるので技術が確立できたと考察する。一方、この臨床の基礎を支える基盤技術として、<i>in vitro</i> での組織構築技術の確立、分化誘導、細胞制御、安全性評価、機能評価という技術がこのプロジェクトの中で完成しており、これらは心筋治療のみならず色々な分野でも応用可能と考えられる。</p> <p>以上の結果から、最終目標を達成する成果を得た。</p>	
	投稿論文	「査読付き」45件、「その他」10件
	特許	「出願済」8件、「登録」0件、「実施」0件（うち国際出願2件）
IV. 実用化、 事業化の 見通しに ついて	<p>バイオ心筋の製造工程・システムを実用化し、バイオ心筋を再生医療製品として製造するには要素技術の確立だけでなく、それらが組み合わされた製造工程への工程管理・品質管理システムの導入が必要となる。そこで本研究開発終了後は、ベンチャー企業等への技術移転を視野に、製品化を目指した研究開発を行う。まず安定した製造技術（製造システム）を確立し、要求される品質を満たすバイオ心筋の製品設計を行い、数値化可能なパラメーターにより各製造工程の管理が可能な製造・品質管理システムを構築する。次にプロジェクトにおける医療機関との共同研究体制を維持することにより、バイオ心筋の臨床研究、国内外での臨床治験を進めて製造承認を目指す。現実的には臨床治験第2相後に、大手の製薬会社への実施権等を譲渡（完全譲渡、共同事業、地域別販売権譲渡など）を視野に入れ、事業資金の調達を行い、治験の完了を目指すことも視野に含める。</p> <p>バイオ心筋の医薬品としての実用化とは別に、本研究開発の要素技術であり成果である細胞シート自動積層化装置や維持培養装置、細胞シート高機能化バイオリクター等の装置は、バイオ心筋製造システムに組み入れるのみならず、研究用装置あるいは臨床用の製造用機器としてそれぞれの製品化を目指す。</p> <p>バイオ心筋評価技術に関しては、再生医療製品の安全性確認検査や品質保証検査等の委託サービス業務、あるいは、創薬スクリーニング技術としての実用化を目指す。</p>	
V. 評価に 関する 事項	事前評価	17年度実施 担当部バイオテクノロジー・医療技術開発部
	中間評価以降	19年度 中間評価実施 22年度 事後評価実施予定



VI. 基本計画 に関する 事項	作成時期	平成18年3月1作成
	変更履歴	なし

## (健康安心プログラム)

## 「再生医療評価研究開発事業/心筋再生治療研究開発」 基本計画

バイオテクノロジー・医療技術開発部

## 1. 研究開発の目的・目標・内容

## (1) 研究開発の目的

本研究開発は、遺伝子やタンパク質等の生体分子の機能・構造解析等を行うとともに、それらの研究を強力に推進するためのバイオツールやバイオインフォマティクスの開発、成果を高度に利用するためのデータベース整備や先端技術を応用した高度医療機器開発等により、テーラーメイド医療・予防医療・再生医療の実現や画期的な新薬の開発、医療機器、福祉機器等の開発・実用化を促進することによって健康寿命を延伸し、今後、世界に類を見ない少子高齢化社会を迎える我が国において、国民が健康で安心して暮らせる社会の実現を目指すことを目的とする「健康安心プログラム」の一環として実施する。

近年、我が国の疾病構造は、感染症などの急性疾患が減少した反面、がんや循環器病、糖尿病などの生活習慣病をはじめ高齢化に伴う障害も増加している。これらの疾患・障害は療養に長期を要し、身体機能や Quality of Life (QOL) を著しく低下させる。また、少子高齢化社会の到来により我が国の労働人口は現在の約 6,800 万人から 2030 年までに約 1,000 万人減少する状況にある。これが労働者の医療費負担や家族の介護負担の増加といった国民生活にとって重要な課題を生じさせている。このため、患者の日常生活や社会復帰を支援し生活の質の著しい改善に寄与するため、従来の医療技術では回復が期待できない失われた身体機能を、人工的に代替・修復する技術を研究開発、実用化する必要がある。

特に、食生活の欧米化並びに高齢化に伴い今後、虚血性心疾患に伴う重症心不全患者がさらに増加することが予想されている。また、拡張型心筋症に伴う重症心不全患者に対する治療も循環器分野で大きな課題となっている。このような重症心不全に対し、これまでの補助人工心臓や、心臓移植などの置換型治療から、遺伝子工学や細胞組織工学、再生医学等を用いた再生型治療が新しい治療法として期待されている。近年、患者自身の自己組織から採取可能で、筋細胞に分化しうる前駆細胞である骨格筋芽細胞を移植する方法は、拒絶反応もなく、非常に有用な方法と考えられている。これまでに開発された筋芽細胞をシート化して移植する技術は、虚血性心筋症のみならず、グローバルな心筋変性疾患である拡張型心筋症に対しても心機能改善効果が認められ、新たな治療法として期待されている。

この心筋再生シートによる心筋再生治療の早期実現化を目指すためには、内部に酸素や栄養を供給できるような血管網を有し、心筋組織の欠損部を補てんするための十分な強度と機能を持つ心筋再生組織（以下、バイオ心筋と言う。）を作製する組織工学的な技術が必要である。これにより、重症な心不全症例に対しても心臓移植に代わる有効な再生治療法を確立することが可能となる。

このバイオ心筋を安全かつ簡便に作製し安定して供給するためには、新たな技術・装置の開発が必要であるとともに、臨床応用に向けた製品化やその作製装置、治療効果の評価技術の確立及び細胞源や増殖因子の開発・解明が必須である。これらのことを併行・連携して行うことにより本治療法の迅速な普及と関連技術の産業化を推進する。

## (2) 研究開発の目標

中間目標（平成19年度末）：

- ・ 厚さ1mmのバイオ心筋を作製する。
- ・ バイオ心筋に酸素、栄養を供給できる血管網を付与する。

最終目標（平成21年度末）：

- ・ 厚さ5mm以上のバイオ心筋を作製する。
- ・ 血管網を有し、左室駆出率（EF）5%以上の心機能を改善しうるバイオ心筋を作製する。

### (3) 研究開発の内容

上記の目標を達成するために、以下の項目について、別紙の研究開発計画に基づき研究開発を実施する。

研究開発項目 ①「心筋再生治療研究開発」

## 2. 研究開発の実施方式

### (1) 研究開発の実施体制

本研究開発は、独立行政法人新エネルギー・産業技術総合開発機構（以下「NEDO技術開発機構」という。）が、単独ないし複数の原則、本邦の企業、研究組合、公益法人等の研究機関（原則、国内に研究機関を有していること。ただし、国外企業の特別な研究開発能力、研究施設等の活用あるいは国際標準獲得の観点からの国外企業との連携が必要な場合はこの限りでない。）から公募によって研究開発実施者を選定後、共同研究契約等を締結する研究体を構築し、委託して実施する。

共同研究開発に参加する各研究開発グループの有する研究開発ポテンシャルを最大限に活用することにより効率的な研究開発の推進を図る観点から、研究体にはNEDO技術開発機構が委託先決定後に指名する研究開発責任者（プロジェクトリーダー）を置き、効率的な研究開発を実施する。

### (2) 研究開発の運営管理

研究開発全体の管理・執行に責任を有するNEDO技術開発機構は、経済産業省及び研究開発責任者と密接な関係を維持しつつ、プログラムの目的及び目標、並びに本研究開発の目的及び目標に照らして適切な運営管理を実施する。具体的には、必要に応じて、技術検討委員会等、外部有識者の意見を運営管理に反映させるほか、四半期に一回程度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. 研究開発の実施期間

本研究開発の実施期間は、平成18年度から平成21年度までの4年間とする。

## 4. 評価に関する事項

NEDO技術開発機構は、技術的及び政策的観点から、研究開発の意義、目標達成度、成果の技術的意義並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自主中間評価を平成19年度、事後評価を平成22年度に実施する。なお、評価の時期については、当該研究開発に係る技術動向、政策動向や当該研究開発の進捗状況等に応じて、前倒しする等、適宜見直すものとする。

## 5. その他重要事項

### (1) 研究開発成果の取扱い

#### ① 共通基盤技術の形成に資する成果の普及

得られた研究開発成果については、NEDO技術開発機構、受託者とも普及に努めるものとする。

#### ② 知的財産権の帰属

委託研究開発の成果に関わる知的財産権については、「独立行政法人新エネルギー・産業技術総合開発機構新エネルギー・産業技術業務方法書」第27条の規定等に基づき、原則として、すべて委託先に帰属させることとする。

#### ③ 成果の産業化

a) 受託者は、本研究開発から得られる研究開発成果の産業面での着実な活用を図るため、本研究開発の終了後に実施すべき取り組みのあり方や研究開発成果の産業面での活用のビジネスモデルを立案するとともに、立案した取り組みのあり方とビジネスモデルについて、研究開発の進捗等を考慮して、本研究開発期間中に必要な見直しを行う。

b) 受託者は、上記a)で立案した取り組みとビジネスモデルを本研究開発終了後、実行に移し、成果の産業面での活用に努めるものとする。

(2) 基本計画の変更

NEDO技術開発機構は、研究開発内容の妥当性を確保するため、社会・経済的状況、国内外の研究開発動向、政策動向、プログラム基本計画の変更、第三者の視点からの評価結果、研究開発費の確保状況、当該研究開発の進捗状況等を総合的に勘案し、達成目標、実施期間、研究開発体制等について、基本計画の見直しを弾力的に行うものとする。

(3) 根拠法

本プロジェクトは、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号に基づき実施する。

6. 基本計画の改訂履歴

(1) 平成18年3月制定

(2) 平成20年3月改訂。平成20年1月開催の自主中間評価結果の反映によるもの。

(別紙) 研究開発計画  
研究開発項目 ①「心筋再生治療研究開発」

1. 研究開発の必要性

高齢化の進展に伴い、我が国の疾病構成は、従来の悪性新生物（がん）に加えて、生活習慣病が大きな比重を占めつつある。生活習慣病は多くの場合、虚血性心疾患を代表とする重篤な循環器系疾患や、脳卒中を代表とする難治性中枢神経系疾患を併発するケースが多く、心臓病、脳卒中はがんと合わせて、現在の我が国の3大国民病であり、今後の患者数の急速な増加が見込まれる。

重症循環器系疾患、難治性中枢神経系疾患は、迅速な対応を欠いた場合、患者の臓器不全症状は不可逆的状态に進行する。これらは生命が助かったとしても多くの患者に社会生活が困難となる高度の機能障害等を後遺する疾患であり、患者の Quality of Life (QOL) の観点から大きな課題を有している。加えて、後遺症を有する患者が社会復帰に至るまでに要する治療費を始めとしたコストは膨大なものとなることから、コストパフォーマンスの高い有効な新たな治療法の確立及びそれを支える基盤医療産業の育成は、医療のみならず社会・経済的にも極めて緊急性を有する課題である。

重症心不全患者に対する新たな治療法として細胞移植療法が注目を集め、血管新生を目的とした自己骨髄単核球細胞移植や心筋細胞の代替としての自己骨格筋芽細胞移植が臨床応用され、成果をあげている。一方、これら単離した細胞の直接注入に関しては、移植位置の制御が困難であること、流出・壊死により細胞が損失すること、広範な心筋壊死に対する治療が困難であることなど新たな課題が生じており、虚血性心疾患に対する次世代の再生医療として組織工学的な手法により、三次元的な心筋再生組織を体外で再構築し移植する研究が始まっている。しかしながら、作製可能な心筋再生組織の厚みには酸素・栄養の透過性に起因する限界があり、より厚く機能的な心筋再生組織を作製するためには、いかに血管新生を促進し生体と同様な豊富な血管網を組織内に再構築するかが最大の課題となっている。

本研究開発では、この問題を解決すべく細胞生物学的な手法、工学的な手法さらに新規の移植技術により血管網を有し、心筋組織の欠損部を補てんするための十分な強度と機能を持つバイオ心筋を作製するとともに、臨床応用に向けてバイオ心筋医療の基盤を確立することを目的とする。

2. 研究開発の具体的内容

これまでに開発されている細胞シートによる心筋再生治療をさらに発展させ、内部に酸素や栄養を供給できるような血管網を有する厚いバイオ心筋の構築を目指す。バイオ心筋を安全・簡便に構築し安定に供給するためには、以下に示す新たな技術・装置の確立と細胞源や増殖因子の開発が必要である。

(1) 細胞源・増殖因子の探索

① 細胞源の開発

バイオ心筋の細胞源としては、筋芽細胞、間葉系幹細胞、心筋内幹細胞、ES細胞等が考えられるが、実用化の面から考えて、筋芽細胞、間葉系幹細胞を中心に探索を行う。筋芽細胞については、骨格筋間質に存在する幹細胞から探索を行い、より厚みのあるバイオ心筋を作製し、大動物にて心筋梗塞部位に直接移植することで心機能改善効果を検討する。また、間葉系幹細胞については、バイオ心筋を作製し、大動物にて心機能の回復を評価するとともに筋芽細胞シートとの効果を比較し、候補を選択する。

② 細胞源の安全性、細胞機能制御技術の開発

バイオ心筋の細胞源の安全性や機能向上のための技術開発は不可欠である。バイオ心筋の安全性に関して、細胞腫瘍化の分析、生物由来原料の残存分析、あるいは、細胞の安定性確認など、臨床応用上必要な安全性確認方法を確立する。

さらに、細胞機能制御技術の開発として、ハニカムフィルム技術等を応用し、構造制御された足場を用いることで細胞の分化、誘導、増殖、あるいは増殖抑制などの機能制御を行う。

③ 増殖因子の解明

心筋細胞への増殖、分化の機序を解明し、各種細胞源への効果を検討する。

## (2) バイオ心筋の機能向上技術の開発

バイオ心筋を実用化するため、①厚みのあるより心機能改善効果の高いバイオ心筋組織作製を実現するための技術の確立、及び②安全かつ有効なバイオ心筋の製造工程のシステム化を目指す。

本研究開発ではシート状の細胞を積層化することにより足場を用いずに 3 次元組織を構築する手法「細胞シート工学」を基盤技術としてバイオ心筋を開発する。

バイオ心筋の作製においては開発済みの細胞シート積層化装置プロトタイプの改良、精緻化を行う。一方、作製されたバイオ心筋を維持培養できるように還流や物理的負荷が可能なバイオリアクタを開発する。また、培地組成、溶存酸素濃度などに加え、組織の機能や構造をモニタリングできるデバイスをバイオリアクタに組み込み、安定・安全な培養を可能とするシステムを構築する。併行して血管網導入を目的に血管内皮細胞を積層化細胞シートと共培養する。血管新生因子の導入やバイオリアクタを用いた生体環境の模倣により血管網の促進を試みる。移植に関しても血管網促進を目的に大網の利用や反復移植を試み、より心機能改善効果の高い移植法を確立する。最終的には、細胞播種から、培養、組織化、肉厚化に至るまでの工程を連続化させ、さらに工程のモニタリングシステムを確立することで、バイオ心筋を安定に安全に製造する技術を完成させる。さらに開発された個々の技術を統合し、大動物による自己細胞を用いた前臨床試験を行う。長期的な有効性に加え、不整脈の有無など安全性を詳細に評価し臨床応用への礎とする。

## (3) バイオ心筋の評価技術の開発

構築されたバイオ心筋の移植後の心機能改善効果を担保することは、患者の QOL や術後長期管理の上で、大変重要である。従って、バイオ心筋を構成する細胞の形態、純度、分化度、及び収縮・弛緩などの力学的機能等を簡便、迅速かつ低侵襲で確認する技術や装置の開発を行い、評価法を確立する。

## 3. 達成目標

中間目標（平成 19 年度末）：

- ・ 厚さ 1 mm のバイオ心筋を作製する。
- ・ バイオ心筋に酸素、栄養を供給できる血管網を付与する。

最終目標（平成 21 年度末）：

- ・ 厚さ 5 mm 以上のバイオ心筋を作製する。
- ・ 血管網を有し、左室駆出率（EF）5 %以上の心機能を改善しうるバイオ心筋を作製する。

## 健康安心プログラム基本計画

### 1. 目的

今後、世界に類を見ない少子高齢社会を迎える我が国において、国民が健康で安心して暮らせる社会を実現するため、遺伝子やタンパク質、糖鎖、RNA等の生体分子の機能・構造・ネットワーク解析等を行うとともに、それら研究を強力に推進するためのバイオツールやバイオインフォマティクスの開発、成果を高度に活用するためのデータベース整備や先端技術を応用した高度医療機器開発等を行う。これらにより、テーラーメイド医療・予防医療・再生医療の実現や画期的な新薬の開発、健康維持・増進に係る新しい産業の創出につなげる。さらに、医療機器、福祉機器等の開発・実用化を促進し「健康寿命の延伸」を実現する。

一方、こうした研究開発プロジェクトと平行して、ゲノム研究等の実施やその産業化に伴う安全性及び法的・社会的・倫理的問題について研究等を行い、その成果を必要な措置に活用することにより、安全面・倫理面での適切な対応を図る。

### 2. 政策的位置付け

○科学技術の振興及び成果の社会への還元に向けた制度改革について（2006年12月総合科学技術会議）

科学技術の振興や成果還元上障害となる制度的な阻害要因として研究現場等で顕在化している諸問題を解決するための制度改革の実現に向け、制度所管省庁等が取り組むべき工程表とともに意見具申を行っている。

この中で、「治験を含む臨床研究の総合的推進」として、①支援体制等の整備増強、②臨床研究者・臨床研究支援人材の確保と育成、③研究推進や承認審査のための環境整備、④国民の参画の4つの観点から改革の方向を示している。

○ライフサイエンス推進議員連盟決議（2006年12月）

イノベーションの成果である革新的な医薬品・医療機器を迅速に国民に提供するため、①治験を含む臨床研究の活性化、②新たな医薬品等の承認審査の迅速化、③①及び②に関して総合的に検討を行い、当該問題を国全体で取り組むためのハイレベルな政策対話の実現に向け、政府として早急な対応を図るべきであることを決議している。

○経済成長戦略大綱（2006年7月財政・経済一体改革会議）

がん等の生活習慣病や感染症等各種疾病対策の推進等国民の保健医療水準の向上に資する医薬品・医療機器産業について、関係府省・機関、企業等の双方向の連携の下、特に、基礎・基盤研究、臨床研究及び基礎研究から臨床研究への橋渡し研究を推進するとともに、臨床研究基盤の整備、治験環境の充実等の国民に医薬品・医療機器を迅速に届けるための環境整備を行うことが提示されている。

○新経済成長戦略（2006年6月経済産業省とりまとめ）

産業界、学界、公的機関、政府が連携し、研究から市場へ、市場から研究へと、双方向で鋭い軸が通るようなシステム改革（イノベーションの加速化～「イノベーション・スーパーハイウェイ構想」）を実現するための施策として「がん対策等に資する先進医療機器・技術」の推進、「医薬分野での官民一体の対話の場」など事業化に向けた環境の整備が提示されている。

○第3期科学技術基本計画（2006年3月閣議決定）

第2期計画において、優先的に資源を配分することとされたライフサイエンス分野を、引き続き、特に重点的に研究開発を推進すべき分野（重点推進4分野）として位置づけ。また、研究分野の重点化にとどまらず、分野内の重点化も進め、選択と集中による戦略性の強化を図り、基本理念の下で新たに設定する6つの政策目標（イノベーター日本ー革新を続ける強靱な経済・産業を実現、生涯はつらつ生活ー子供から高齢者まで健康な日本を実現等）との関係を明確化することとしている。

○バイオテクノロジー戦略大綱（2002年12月BT戦略会議取りまとめ）及び産業発掘戦略一

技術革新（「経済財政運営と構造改革に関する基本方針2002」（2002年6月閣議決定）に基づき2002年12月取りまとめ）

健康・バイオテクノロジー分野における3つの戦略目標（「研究開発の圧倒的充実」、「産業プロセスの抜本的強化」及び「国民理解の徹底的浸透」）に対応している。

○経済財政運営と構造改革に関する基本方針2005（2005年6月閣議決定）

2006年度までの2年間（重点強化期間）における重点課題として、「新しい躍動の時代に向けて、少子高齢化とグローバル化を乗り切る基盤をつくること」という課題を掲げ、その課題に対し、「3. 持続的な社会保障制度の構築（健康・予防介護等の推進）」や「6. グローバル戦略の強化（「新産業創造戦略2005」の推進）」を取り組むべき事項としている。

○「新産業創造戦略2005」（2005年6月経済産業省取りまとめ、同月13日経済財政諮問会議に報告）

社会ニーズに対応する新産業分野として、「(5)健康・福祉・機器・サービス」を戦略7分野の1つとしており、2010年の市場規模として約75兆円を掲げ、それに向けたアクションプログラムとし取り組むこととしている5つの課題には、「バイオ技術を活用した個別化医療や予防医療等の実現・普及」、「革新的な医療・福祉機器の開発・普及の促進」が提示されている。

### 3. 目標

健康で安心して暮らせる社会を実現するため、高度医療機器や高齢者等の健康で積極的な社会参加を支援する機器等の開発、疾患関連遺伝子やタンパク質等の生体分子の機能・構造等の解明に基づくテーラーメイド医療・予防医療・再生医療の実現に寄与する。さらに、バイオテクノロジーの応用によって幅広い分野における産業の創出につなげ、画期的な治療を可能とする新薬等の開発に寄与する。これらにより、2010年までに健康で安心して暮らせる質の高い生活を実現するとともに、「健康寿命の延伸」を実現する。また、2010年における健康安心分野のバイオテクノロジー関連市場の市場規模16兆円の実現に寄与する。

### 4. 研究開発内容

#### 【プロジェクト】

#### I. バイオテクノロジー技術／研究開発の産業化の加速

#### 【多様な技術・研究成果の融合による先進医療技術の創出】

(1) 基礎研究から臨床研究への橋渡し促進技術開発（運営費交付金）

i) 橋渡し及び臨床研究拠点を活用した研究開発（運営費交付金）

##### ①概要

がん対策等の国民医療高度化を目指し、急速に発展している多様なバイオ技術の融合と医療現場への円滑な橋渡しによるイノベーションの創出・加速のため、総合科学技術会議のもと文部科学省及び厚生労働省と連携し、橋渡し研究の強化に一体的に取り組む。具体的には、橋渡し研究の拠点において臨床研究機関と民間企業が一体となっていく、医薬品、医療機器、診断ツール等の開発を推進する。

##### ②技術目標及び達成時期

2011年度までに医療現場及び臨床研究からのフィードバックに基づく研究開発により、医薬品、医療機器、診断ツール等の研究開発成果を円滑に実用化につなげる仕組みを確立する。

##### ③研究開発期間

2007年度～2011年度

ii) バイオ診断ツール実用化開発（運営費交付金）

##### ①概要

我が国が有する微細加工技術・表面処理技術といったナノテク等の強みを活かし、微量サンプルから高感度・安価で再現性よく多様な遺伝情報（SNPs、mRNA、タンパク質等）を検出するためのバイオ診断機器を開発し、臨床現場において有効性を検証することにより個別化医療の実現に寄与する。

##### ②技術目標及び達成時期

SNPs、mRNA、タンパク質等の遺伝情報を計測対象とするバイオ診断機器の実用化開



発を行い、2008年度までに、許認可データ取得可能な技術レベルに達することを目指す。

③研究開発期間

2006年度～2008年度

【ポストゲノム研究の産業化の加速】

(1) ゲノム創薬加速化支援バイオ基盤技術開発（化合物等を活用した生物システム制御基盤技術開発）（運営費交付金）

①概要

我が国が強みとする完全長 cDNA リソースや国内の優れた技術を結集し、ゲノム情報から高効率に疾患関連遺伝子を同定する技術からタンパク質の相互作用解析等により創薬ターゲット・メカニズムを解析する技術及び生物機能を制御する化合物等を探索・評価する画期的な技術の開発までの一貫した技術開発を行う。

②技術目標及び達成時期

2010年度までに、超高速・高感度にタンパク質の相互作用を解析する技術や疾患を制御する化合物の探索・評価技術を開発する。

③研究開発期間

2006年度～2010年度

(2) ゲノム創薬加速化支援バイオ基盤技術開発（創薬加速に向けたタンパク質構造解析基盤技術開発）

①概要

創薬上重要な膜タンパク質は複合体を形成していることも多く、その構造解析及び相互作用の情報を取得することは創薬研究において重要であるが、その解析は非常に困難である。そこで、膜タンパク質やその複合体の構造情報を取得する新たな技術等の開発に向けて、タンパク質の立体構造及びその構造変化や膜タンパク質複合体の構造情報等の解析及び構造情報を基にした高精度なシミュレーション技術を開発する。

②技術目標及び達成時期

2011年度までに生体内に近い状態での膜タンパク質及びその複合体の構造解析手法、リガンド分子との相互作用解析手法を確立するとともに、当該技術から得られた情報に基づく in silico スクリーニング手法を確立する。

③研究開発期間

2007年度～2011年度

(3) ゲノム創薬加速化支援バイオ基盤技術開発（モデル細胞を用いた遺伝子機能等解析技術開発）（運営費交付金）

i) 研究用モデル細胞の創製技術開発

①概要

医薬品開発における安全性や薬理評価の確実性の向上等、創薬に向けた研究開発を加速するためには、ヒト生体内における様々な反応や遺伝子の機能をより高い精度で解析するツールの開発が重要である。そのため、人体の組織や疾病等の様々なヒトモデル細胞株を創製するための基盤となる技術開発を行う。

②技術目標及び達成時期

2009年度までに、創薬等の研究開発に資する研究用細胞の創製技術を確立し、複数種の研究用のヒトモデル細胞を創製する。

③研究開発期間

2005年度～2009年度

ii) 細胞アレイ等による遺伝子機能の解析技術開発

①概要

世界的にゲノム創薬が競争激化しているが、創薬のターゲットとなる遺伝子を絞り込みいち早く特許を押さえてしまうことが産業競争力強化のためには重要である。このためには、生体

内で非常に複雑に制御されている遺伝子ネットワークシステムを高速・高感度に解析するシステムを開発し、創薬のターゲットの効率的な絞り込みを行うことが必要である。具体的には、多数の細胞に同時に異なる遺伝子を高効率で導入することにより、複数の遺伝子発現等の時系列計測を行い、得られる種々の細胞応答データから遺伝子ネットワークを解析する細胞アレイ技術を確立し、疾患関連遺伝子等、特定の創薬ターゲットの同定に有用な汎用性の高い解析ツールの開発を行う。

②技術目標及び達成時期

2009年度までに、細胞イベント（遺伝子発現、たんぱく質の細胞内局在性等）を測定するための網羅的なレポーターシステム並びに測定装置を新規に開発し、得られるデータから遺伝子ネットワークの解析システムを確立する。

③研究開発期間

2005年度～2009年度

(4) 新機能抗体創製技術開発（運営費交付金）

①概要

ポストゲノム研究や診断・創薬等において重要となっている機能を有する抗体を創製するため、創薬標的として産業利用上重要だが、解析が困難な膜タンパク質やタンパク質複合体を特異的に認識できる抗体を系統的に作成する技術や抗体の分離・精製を高効率に行うための技術の開発を行う。

②技術目標及び達成時期

2010年度までに、産業上有用と考えられるタンパク質やその複合体を特異的に認識する抗体を創製するための基盤技術、及び、製造コスト低減に向けた抗体の分離・精製を高効率に行う技術を開発する。

③研究開発期間

2006年度～2010年度

(5) 個別化医療実現のための技術融合バイオ診断技術開発（運営費交付金）

①概要

我が国が有する微細加工技術・表面処理技術といったナノテク等の強みを活かし、染色体異常を高感度、高精度かつ迅速、安価で非コード領域までを検出するゲノムアレイや解析基盤技術開発を行うとともに、全自動解析システムの解析を行う。

②技術目標及び達成時期

2010年度までに、BACを用いた非コード領域を含むゲノム全領域を検出できる高精度ゲノムアレイを開発する。さらに、臨床現場において、微量サンプル（数ナノグラム）から、12時間以内に染色体異常（増幅、欠失、コピー数多型等）を、低コストかつ定量性・再現性を確保して検出ができる自動染色体異常解析システムのプロトタイプを開発する。

③研究開発期間

2006年度～2010年度

II. タンパク質、糖鎖、RNA等の機能・構造解析及びそれらの形成するネットワーク解析

(1) 糖鎖機能活用技術開発（運営費交付金）

①概要

我が国が強みを持つ糖鎖工学分野において、これまでに取得・開発した「糖鎖遺伝子ライブラリー」「糖鎖構造統合解析システム」「糖鎖合成装置」を活用し、癌や感染症など様々な疾病に関与する糖鎖の機能を解析する基盤技術を確立し、我が国の優位性を維持するとともに、創薬・診断等の分野における糖鎖機能の産業利用の促進を図る。

②技術目標及び達成時期

2010年度までに、糖鎖や糖タンパク質などの機能を分子レベルで効率的に解明するための基盤技術、糖鎖の機能解析・検証技術、及び、有用性が認められた糖鎖機能を産業利用するための基盤技術を開発する。

③研究開発期間

2006年度～2010年度

(2) 機能性RNAプロジェクト (運営費交付金)

①概要

近年の研究成果により、タンパク質の合成に関与する既知のRNAとは異なり、発生分化等の重要な生命現象に関与する機能性RNAの存在が明らかになってきており、世界中の注目を集めている。機能性RNAは再生医療やRNA医薬等への応用化にもつながることが期待されていることから、機能性RNA解析のための新規ツールを開発し、機能解析を行うことにより、本分野における我が国の優位性を確立する。

②技術目標及び達成時期

2009年度までに、機能性RNAの候補となるRNAをゲノム配列上から探索するバイオインフォマティクス技術の開発や、機能性RNAを解析するための支援機器やツールの開発を行い、機能性RNAの機能解析を行う。

③研究開発期間

2005年度～2009年度

(3) ゲノム創薬加速化支援バイオ基盤技術開発 (化合物等を活用した生物システム制御基盤技術開発) (運営費交付金) 【再掲】

(4) ゲノム創薬加速化支援バイオ基盤技術開発 (創薬加速に向けたタンパク質構造解析基盤技術開発) 【再掲】

(5) ゲノム創薬加速化支援バイオ基盤技術開発 (モデル細胞を用いた遺伝子機能等解析技術開発) (運営費交付金) 【再掲】

III. バイオインフォマティクス

(1) ゲノム情報統合プロジェクト

①概要

ヒトゲノム情報等、バイオテクノロジーに関連する種々の情報が世界中に膨大に存在するが、その情報を有効に活用出来る情報基盤を整備することは、バイオ分野における産業化を促進するために非常に重要である。2000年度より、バイオインフォマティクス知的基盤整備において、ヒト完全長cDNAの遺伝子配列をベースに、有用な情報を付加したデータベースを構築。本事業では、ヒト完全長cDNA等遺伝子の機能情報、創薬等の開発を行う上で必要となる疾患情報、並びに新たな研究成果等のデータベースへの付加を行い、国際的に急増するバイオ情報に対応したより有用性の高い生物情報基盤を構築する。

②技術目標及び達成時期

2007年度までに、ヒト完全長cDNA等遺伝子配列に、遺伝子機能情報や疾患との関連情報、並びにタンパク質相互作用及び発現頻度等の有用な情報を格納した統合データベースを構築する。また、遺伝子機能情報や疾患との関連情報等を抽出・予測するための技術開発を行い、膨大なバイオ情報から有用な情報を簡便に取り出すことのできる利便性の高いデータベースを構築する。具体的には、月平均アクセス並びに月平均参照ページ数を、2005年度から2007年度までの3年間で倍増させる(2004年度のデータを基準とし、対前年比25パーセント程度の増加を目安とする)。また、2007年度までに、3～4万個と言われるヒト全遺伝子をデータベースへ格納する。

③研究開発期間

2005年度～2007年度

IV. 医療福祉機器関連

(1) インテリジェント手術機器研究開発プロジェクト

①概要

低侵襲で診断と治療が一体となったインテリジェント手術機器の実現を図るため、手術中に

がん細胞等の病巣部の位置や動きを正確に診断しながら、必要最小限の切除を可能とする先進医療機器、具体的には「リアルタイムセンシング系」、「情報処理系」、「精密駆動系」の3つの医療技術要素の高度化を図るとともにそれらを有機的に統合する研究開発等を実施する。

②技術目標及び達成時期

低侵襲で診断と治療が一体となったインテリジェント手術機器の実現を図るため、以下の目標を達成する。

・主要部位対象機器研究開発

健常部を機能温存して病変部だけを低侵襲に、かつ高い位置精度で安全に治療する手術の実現に向け、脳神経外科領域、胸部外科領域、及び消化器外科領域を対象に、基盤技術を確立し、それらの技術を融合化して、製品化・実用化の目処をつける。非臨床試験を実施し、その有効性と安全性を確認する試験結果を得ることを目標とする。

・研究連携型機器開発

画像技術等を活用した低侵襲手術機器の開発に関する医学・工学両分野にまたがる横断的な研究開発を実施する。非臨床試験を実施し、その有効性と安全性を確認する試験結果を得ることを目標とする。

③研究開発期間

2007年度～2011年度（研究連携型機器開発は、2007年度～2009年度）

(2) 次世代DDS型悪性腫瘍治療システムの研究開発事業（運営費交付金）

i) 中性子捕捉療法技術の開発

①概要

小型粒子加速器とナノレベルの薬物搬送システム（DDS）の融合によって、人体内のがん細胞のみを選択的に消滅させるがん治療システムを実現する。

②技術目標及び達成時期

2007年度までに、薬物伝達方式で、がん細胞等の病巣に集積させた抗がん剤やホウ素等の薬剤を中性子で活性化し、体内のがん細胞等の病巣を消滅させるシステムを開発する。

③研究開発期間

2005年度～2007年度

ii) 深部治療に対応した次世代DDS型治療システムの研究開発事業

①概要

DDSのさらなる裾野の拡大、及び早期実用化を目指し、様々な外部エネルギー（機器技術）と薬剤技術を組み合わせることにより、比較的人体の深部にある臓器（肺、消化器）等のがんを対象としたDDS型治療システムの開発を行う。

②技術目標及び達成時期

光線力学治療システムの前臨床試験の開始及び治療効果・安全性の検証と、超音波診断・治療システムの前臨床試験を可能とする薬剤及び装置の完成に関する開発を難治性がんの治療に向けて行う。

③研究開発期間

2006年度～2009年度

(3) 分子イメージング機器研究開発プロジェクト（運営費交付金）

i) 生活習慣病超早期診断眼底イメージング機器研究開発プロジェクト

①概要

細小血管の分子レベルでの代謝機能を非侵襲で可視化する細胞代謝イメージングを実現し、代謝異常を細胞レベルで観察することにより、循環器系疾患等の早期の診断・治療を図る。

②技術目標及び達成時期

2009年度までに、ナノテクノロジーを活用した光学基盤技術等を確立することにより、細胞やタンパク質レベルの組織診断を可能とする機器を開発する。

③研究開発期間

2005年度～2009年度

ii) 悪性腫瘍等治療支援分子イメージング機器研究開発プロジェクト

①概要

良性・悪性の区別も含めた腫瘍の超早期診断を実現するため、悪性腫瘍に特異的に反応する標的物質を利用することにより生体細胞の分子レベルの機能変化を抽出・検出できる機器の開発を行う。

②技術目標及び達成時期

2009年度までに、全身で3mm、局所で1mmの分解能を有する分子イメージング機器を開発する。

③研究開発期間

2005年度～2009年度

(4) 再生医療評価研究開発事業（運営費交付金）

i) 評価技術の開発

①概要

ヒトから細胞を採取し、これを体外で培養、必要に応じて組織に分化させ、これを患者に移植・治療する再生医療の国内での早期実用化、産業化を目指し、患者自身の細胞の採取・培養から組織形成・治療までの評価プロセス及び基準を開発、体系化する。

②技術目標及び達成時期

2009年度までに、再生医療の早期実用化、産業化のための、細胞培養評価法の開発、組織形成評価法の開発、実用化レベルでの評価基準の確立を行う。

③研究開発期間

2005年度～2009年度

ii) 心筋再生治療研究開発プロジェクト

①概要

心筋再生治療の早期実用化を目指すために、厚い心筋組織で構築された内部に酸素や栄養を供給できるような血管網を有するバイオ心筋の作成技術を開発する。

②技術目標及び達成時期

2009年度までに厚さが5mm以上、酸素、栄養を供給できる血管網を有した心筋組織を開発する。

③研究開発期間

2006年度～2009年度

iii) 三次元複合臓器構造体研究開発プロジェクト

①概要

生体適合性等を備えた三次元複合臓器構造体を開発し、従来のティッシュエンジニアリング技術では適用できない臓器の再生を可能にするため、大型化、三次元構造化、自己組織化及び計測評価法の確立のための技術基盤の開発を行う。

②技術目標及び達成時期

2009年度までに従来のティッシュエンジニアリング技術による単層構造に比べて再生組織の厚さが10倍以上及び構造体積は100倍以上、含有組織は従来の単一組織から3種類以上の複合組織化技術を開発する。

③研究開発期間

2006年度～2009年度

(5) 医療機器開発ガイドライン策定事業

①概要

医療機器産業への投資、新規企業参入、研究開発の促進及び薬事法審査の円滑化にも資する「医療機器開発ガイドライン」を産学官の連携で策定し、国内での機器開発促進の環境整備を図る。

②技術目標及び達成時期

2007年度までに、新しい医療機器に関して開発の段階に必要な工学的安定性にかかわる評価基準とともに、薬事法審査での生物学的安定性評価基準と連動した「技術ガイドライン」及び、新しい医療機器のメリットやコストを医療経済面で評価する「経済社会ガイドライン」を作成する。

③研究開発期間

2005年度～2007年度

(6) 福祉用具実用化開発推進事業（運営費交付金）

①概要

「福祉用具の研究開発及び普及の促進に関する法律」（福祉用具法）に基づき、高齢者・心身障害者及び介護者の生活の質の向上を目的として、生活支援分野、社会活動支援分野を中心とした福祉用具の実用化開発を行う民間企業等に対し、研究開発費用の2/3以内を補助することで、多様な福祉ニーズに対応するとともに、当該分野における新産業の創出、成長の促進に資する。

②技術目標及び達成時期

高齢者、障害者の生活支援、社会参加支援に資する福祉用具の実用化開発を促進することにより、高齢者等の生活における負担の軽減を図り、安全で安心のできる生活を実現する。より具体的な目標として、各々の補助対象事業終了後3年経過した時点で50パーセント以上を製品化する。

③研究開発期間

1993年度～

V. 融合領域（ナノテクノロジーとの融合：ナノバイオテクノロジープロジェクト）

(1) 個別化医療実現のための技術融合バイオ診断技術開発（運営費交付金）【再掲】

(2) 分子イメージング機器研究開発プロジェクト（運営費交付金）【再掲】

(3) 次世代DDS型悪性腫瘍治療システムの研究開発事業（運営費交付金）【再掲】

5. 政策目標の実現に向けた環境整備（成果の実用化、導入普及に向けた取組）

○バイオテクノロジーに係る研究開発・産業化関連

[調査研究]

1) バイオインダストリー安全対策調査（2000～2009年度）

バイオテクノロジーの安全性を確保するため、これまで得られている知見を基に、安全性関連データベースの整備、安全性評価手法の高度化に必要な事項の検討及びガイドラインの作成を行う。

2) バイオ事業化に伴う生命倫理問題等に関する研究（2007～2011年度）

バイオテクノロジーの実用化に際して、新たな技術に対する国民の理解と合意を得るため、新たな技術の産業化に伴って発生する、我が国の社会における様々な問題を、文献の収集、海外調査等を行うことにより研究する。さらに、研究成果等を普及啓発するためのシンポジウム等の開催等、社会的受容（public acceptance）を高めるための活動を支援する。

[標準化]

・各プロジェクトで得られた成果のうち、標準化すべきものについては、適切な標準化活動（国際規格（ISO/IEC）、日本工業規格（JIS）、その他国際的に認知された標準の提案等）を実施する。具体的には、統合データベースの情報やインターネットに公開されている情報資源等を相互運用するために、必要なデータ形式、フォーマット等の標準化を推進する。また、2004年度に、適切な標準化活動の実施に資するために策定したバイオ分野の標準化戦略に則った活動を着実に実施していく。

#### [導入普及促進]

- ・個人遺伝情報保護ガイドラインの適切な運用

ゲノム研究の進展は、個人遺伝情報を用い、情報技術を駆使した幅広い医療・健康サービスによる人々の健康や福祉の向上、さらには新しい医療・健康サービス産業の育成に重要な役割を果たそうとしているが、その際、人権を尊重し、社会の理解と協力を得て、個人遺伝情報の厳格な管理の下で適正に事業を実施することが不可欠である。そのため、個人遺伝情報を安全に保護するために作成した事業者が遵守すべきルール「経済産業分野のうち個人遺伝情報を用いた事業分野における個人情報保護ガイドライン（2004年12月17日告示）」（個人遺伝情報保護ガイドラインという）を適切に運用する。

#### [産業間連携]

- ・研究開発型ベンチャー支援

バイオベンチャーは商品を市場に送り出すまでに長期間を要する、研究開発のために多額の資金調達を必要とする、事業を行うために様々な規制・審査を経る必要がある等、他業種のベンチャー企業と比較して困難な問題を抱えていることが多い。そのため、バイオベンチャーの様々な問題に対して施策への反映を検討し、補助金等の施策の紹介を通じてバイオベンチャー振興を図る。

また、「産業クラスター計画」に基づき、全国のバイオクラスターにおいて、企業間のネットワーク形成の支援、産学連携による研究開発プロジェクトの支援、地域系ベンチャーファンドによる資金調達支援等を実施していく。

- ・基礎研究から臨床研究への橋渡し促進技術開発（運営費交付金）【再掲】

#### [プロジェクト等間の連携について]

- ・ゲノム創薬加速化支援バイオ基盤技術開発（化合物等を活用した生物システム制御基盤技術開発）については、タンパク質機能解析・活用プロジェクトの成果を活用することで、超高速・高感度にタンパク質の相互作用を解析する技術を開発する。
- ・ゲノム創薬加速化支援バイオ基盤技術開発（創薬加速に向けたタンパク質構造解析基盤技術開発）については、「生体高分子立体構造情報解析」の成果を活用することで、膜タンパク質やその複合体の構造情報を取得する新たな技術等の開発に向けて、タンパク質の立体構造及びその構造変化や膜タンパク質複合体の構造情報等の解析及び構造情報を基にした高精度なシミュレーション技術を開発する。
- ・糖鎖機能活用技術開発については、糖鎖合成関連遺伝子ライブラリー構築、糖鎖エンジニアリングプロジェクトの成果を活用することで、糖鎖の機能を効率的に解析するための基盤技術を開発する。
- ・ゲノム創薬加速化支援バイオ基盤技術開発の「化合物等を活用した生物システム制御基盤技術開発」、「創薬加速に向けたタンパク質構造解析基盤技術開発」、「モデル細胞を用いた遺伝子機能等解析技術開発」については、必要に応じ、各々の成果を活用し、効率的、効果的な研究開発を図る。

#### [関係機関との連携]

- ・総合科学技術会議が推進する基本政策推進専門調査会 分野別推進総合PT ライフサイエンスPT及び科学技術連携施策（「生命科学の基礎・基盤」、「臨床研究・臨床への橋渡し研究」）の下、各プロジェクトについて、関係府省との適切な連携を図る。

#### [その他]

- ・特許への取組

一段と激化する特許戦争の中、成果実用化・効率的な研究開発を推進するため、プロジェクト企画段階から、研究テーマ周辺の論文及び特許状況のサーベイ実施やプロジェクト実施段階における特許出願後の事業化構想等、特許に関する戦略的取組（プロパテントアプローチの導入）を

実施する。

## ○医療福祉機器関連

### [標準化]

高齢者等支援機器については、関係省庁との緊密な連携の下、標準化等の手法による実用化及び普及の方策を検討する。

### [導入普及促進]

- ・福祉機器情報収集・分析・提供事業（1993年度～）

福祉用具法に基づき、民間による福祉機器の実用化のための研究開発を促進するため、福祉機器に関する産業技術に係る情報の収集・分析・提供事業を実施することで、当該分野における福祉機器の普及や新規産業の創出・成長の促進を図る。

- ・福祉医療関連機器普及促進（財政投融资制度）

医療・福祉関連機器の開発、生産、流通、販売等の関連する供給体制を強化するために必要となる設備に対し、長期かつ低金利な融資制度により支援を行い、さらなる製品の高品質化、低価格化を実現し、安定的な供給体制を確保する。

### [その他]

- ・薬事法審査の迅速化

医療機器の審査体制の強化による薬事法審査の迅速化の観点から、2004年から独立行政法人産業技術総合開発機構の工学系研究者を独立行政法人医薬品医療機器総合機構へ派遣したところである。

## 6. 研究開発の実施に当たっての留意事項

事業の全部又は一部について独立行政法人の運営費交付金により実施されるもの（事業名に（運営費交付金）と記載したものは、中期目標、中期計画等に基づき、運営費交付金の総額の範囲内で、当該独立行政法人の裁量によって実施されるものである。  
なお、適切な時期に、実用化・市場化状況等について検証する。

## 7. プログラムの期間

プログラムの期間は2007年度から2011年度まで。

## 8. 改訂履歴

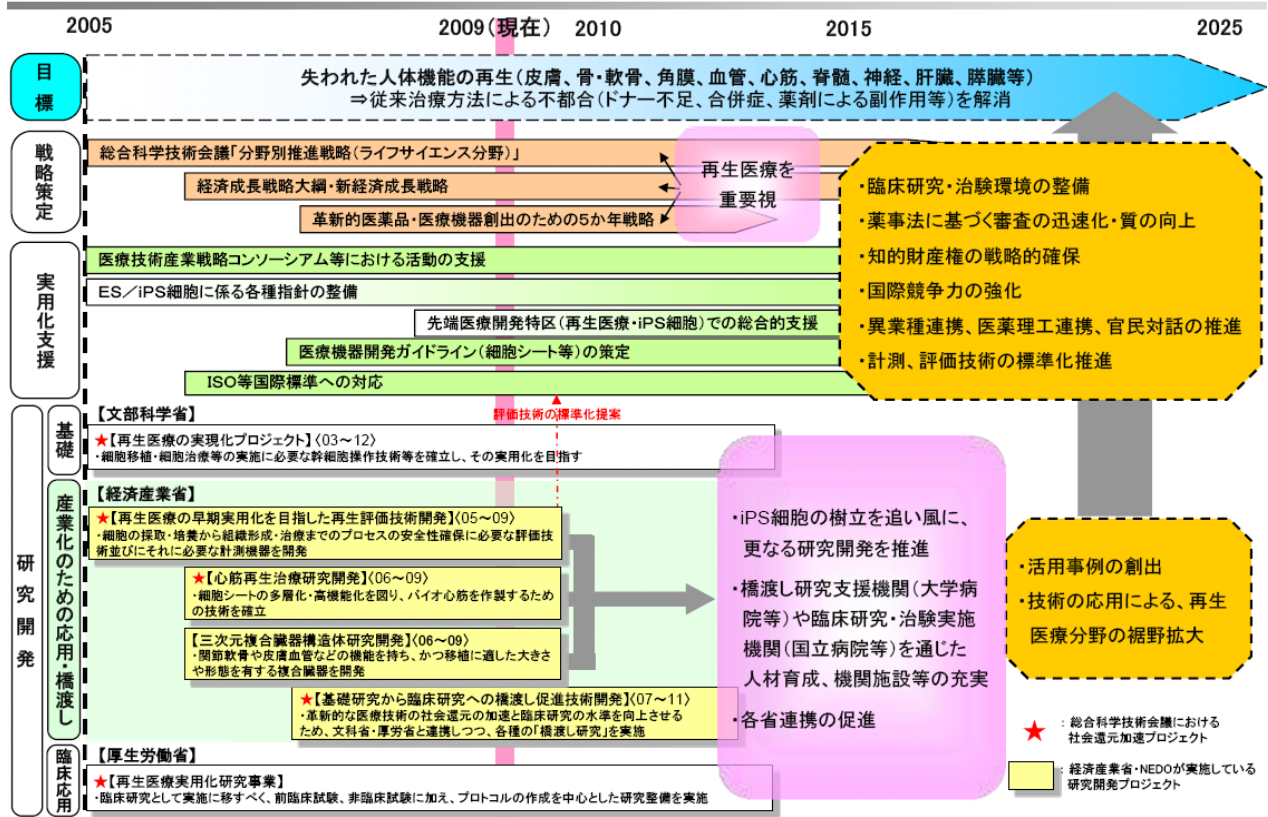
- (1) 平成12年12月28日付けがん・心疾患等対応高度医療機器プログラム制定。
- (2) 平成14年2月26日付け健康維持・増進のためのバイオテクノロジー基盤研究プログラム基本計画制定。
- (3) 平成14年2月28日付け健康寿命延伸のための医療福祉機器高度化プログラム基本計画制定。がん・心疾患等対応高度医療機器プログラム（平成12・12・27工総第13号）は、廃止。
- (4) 平成15年1月27日付け健康維持・増進のためのバイオテクノロジー基盤研究プログラム基本計画制定。健康維持・増進のためのバイオテクノロジー基盤研究プログラム基本計画（平成14・02・25産局第4号）は、廃止。
- (5) 平成15年3月10日付け健康寿命延伸のための医療福祉機器高度化プログラム基本計画制定。健康寿命延伸のための医療福祉機器高度化プログラム基本計画（平成14・02・05産局第2号）は、廃止。
- (6) 平成16年2月3日付け制定。健康維持・増進のためのバイオテクノロジー基盤研究プログラム基本計画（平成15・01・23産局第4号）及び健康寿命延伸のための医療福祉機器高度化プログラム基本計画（平成15・03・07産局第17号）は、本プログラム基本計画に統



合することとし、廃止。

- (7) 平成17年3月31日付け制定。健康安心プログラム基本計画（平成16・02・03産局第12号）は、廃止。
- (8) 平成18年3月31日付け制定。健康安心プログラム基本計画（平成17・03・25産局第1号）は、廃止。
- (9) 平成19年4月2日付け制定。健康安心プログラム基本計画（平成18・03・31産局第2号）は、廃止。

## 再生医療分野の導入シナリオ



事前評価書

		作成日	平成18年1月13日
1. 事業名称 (コード番号)	心筋再生治療開発プロジェクト		
2. 推進部署名	バイオテクノロジー・医療技術開発部		
3. 事業概要	<p>(1) 概要：我が国発の新技术である細胞シート工学技術を応用し、細胞シートをより発展させ、多層化及び血管配向も含めた高機能化を図るとともに、その適合性を評価する。これにより、心機能が改善し重篤な心不全症例にも有効で心臓移植に代わる再生治療法を確立する。</p> <p>(2) 事業規模：平成18年度事業費 3億円程度</p> <p>(3) 事業期間：平成18年度～21年度（4年間）</p>		
4. 評価の検討状況			
<p>(1) 事業の位置付け・必要性</p> <p>現在、虚血性心疾患や拡張型心筋症に伴う重症心不全患者に対する治療法として心臓移植、人工心臓での代替等の代替療法がとられているが、ドナー不足、感染等の問題があり、十分に有効な治療法とはなっていないのが現状である。このため、より有効な治療法として、再生組織を移植する方法の確立が望まれている。</p> <p>また、本プロジェクトは「技術戦略マップ（平成17年3月経済産業省策定）において「再生医療分野」に位置づけられる。本分野の「技術マップと重要技術」における「③細胞および組織の調整・形成」という治療の流れを達成するための、「1. 細胞培養装置」、「3. 移植用組織作成技術（材料・システム）」、「4. 細胞・組織の評価装置・技術」の開発に資するものである。</p>			
<p>(2) 研究開発目標の妥当性</p> <p>&lt;目標&gt;</p> <p>臨床応用が可能なレベルの多層化・高機能化を実現し、安全かつ簡便に作製して供給するための技術・装置の開発と評価技術の開発を実現することを目標とする。厚さ5mm以上の血管網を有する心筋組織を作製する。これをクリアすれば、正常ヒト心筋壁厚である約1cmの厚さに到達し、心臓移植に代わる治療法が確立することも可能と考えられる。</p> <p>&lt;妥当性&gt;</p> <p>NEDO POST2やワークショップ等での意見等を反映し、さらにNEDO POST3で意見を聴取し、妥当性についてさらなる検討をおこなう。</p>			
<p>(3) 研究開発マネジメント</p> <p>公募を行い最適な研究開発体制を構築する。プロジェクトリーダーを選定し、プロジェクトリーダーと協議して研究管理を行う。また、研究開発委員会を年2～3回開催し、研究テーマ間の連携強化、進捗状況を踏まえた予算配分・事業計画の策定を行う。</p>			
<p>(4) 研究開発成果</p> <p>① 増殖因子・酸素・栄養・血管配向などの恒常性の維持を図る製造工程のシステム化の実現</p> <p>② シート積層枚数や機能強化法に関する最適化の実現</p> <p>本技術開発の成果は、肝臓等の他のバイオ臓器の再生に応用可能である。</p>			

(5) 実用化・事業化の見通し

本プロジェクトと並行して、心筋シートの心筋梗塞モデルおよび拡張型心筋症モデルを用いた前臨床試験を実施し、その成功により臨床試験まで進めていく。本プロジェクト終了後、本プロジェクトの成果をもとに治験を開始し、薬事申請を行う予定である。

(6) その他特記事項

5. 総合評価

従来の技術では治療困難であった重症心不全患者に対する有効な治療方法となり、心臓移植にとって代わる治療法として多くの人命を救い、早期の社会復帰を可能とする。高価かつ大規模な設備を必要とせず、細胞を投入するだけでも移植組織を安全かつ大量に自動的に製造できることから他組織にも応用可能であり産業化につながる。また、医療産業としての再生医療の実現、組織再生による再生医療支援機器市場の創出、バイオ心筋を利用した創薬スクリーニングシステム、薬効評価システム、テーラーメイド治療といったビジネスモデルの形成も大いに期待される。

## 「心筋再生治療開発基本計画（案）」に対するパブリックコメント募集の結果について

平成18年2月27日  
NEDO技術開発機構  
バイオテクノロジー・医療技術開発部

NEDO POST 3において標記基本計画（案）に対するパブリックコメントの募集を行いました結果をご報告いたします。

お寄せいただきましたご意見を検討し、別添の基本計画に反映させていただきました。  
みなさまからのご協力を頂き、ありがとうございました。

### 1. パブリックコメント募集期間

平成18年1月31日～平成18年2月7日

### 2. パブリックコメント投稿数＜有効のもの＞

計 0件

プロジェクト用語集

	プロジェクト用語	解説
1	バイオ心筋	血管網を有する厚みのある心移植用組織
2	GFP(マウス)	Green Fluorescent protaineまたはその遺伝子を導入したマウス
3	Collagenase処理	繊維蛋白分解酵素Collagenaseを用いた検体組織から細胞を分離する方法
4	細胞表面抗原 (CD34、CD45)	CD34は造血幹細胞、幹細胞及び血管内皮細胞のマーカー、CD45は単球及び単球由来細胞のマーカー
5	FACS	蛍光抗体で染色した細胞の表面抗原量を測ったり、それらの細胞を分離する技術
6	SK-34,SK-DN	筋肉由来幹細胞:SK-34はCD34+/CD45-,SK-DNはCD34-/CD45-
7	clone レベル(クローンレベル)	単一細胞レベル
8	mRNA	メッセンジャーRNAのこと。DNAの遺伝子情報が転写されたRNA
9	デスモソーム	上皮細胞などにみられる細胞間結合様式の一つ。細胞外に出たカドヘリン同士が結合して細胞同士をつなげている
10	ギャップジャンクション	細胞間結合様式の一つで隣接した細胞同士をつなぐチャンネル構造体。細胞間の物質移動を行い細胞間コミュニケーションを担う
11	RT-PCR解析	発現したmRNAの量を定量的に測定する分析方法
12	clonal culture	クローン培養。クローニングを行った細胞を培養すること
13	GFP Tgマウス	GFP遺伝子を染色体に導入したマウス(Tg:トランスジェニック)
14	ヌードラット	胸腺がないため免疫反応を起こさない移植実験用のラット
15	PI	propidium iodide。蛍光色素で死細胞を染色する
16	脂肪組織由来多系統前駆細胞	脂肪組織より分離した複数の細胞種に分化誘導可能な前駆細胞
17	逆転写反応	逆転写酵素の働きにより、RNAを鋳型にDNAを合成する反応
18	cDNA	クローニングDNA:スプライシングによりイントロン配列が除去された遺伝子情報のみのDNA
19	F344/NJcl-rnu/rnu免疫不全ラット	ヌードラットの種類
20	M-mode法	心臓超音波検査法の一つ。反射対象と探触子との距離の時間的経過を表示する
21	ミクロトーム	顕微鏡観察用に組織を極薄の切片に切り出す装置
22	未分化細胞表面マーカー	未分化な細胞(幹細胞)に特異的なマーカー
23	心筋分化マーカー	心筋細胞への分化課程において発現してくるマーカー
24	細胞プロファイリング	細胞同士がどのような関係性で互いを規定し、システムとして統合されているか、その細胞のシステム内での役割を明らかにすること
25	DMSO	Dimethyl Sulfoxide(ジメチルスルホキシド)のこと
26	P19CL6細胞	マウス胚性腫瘍細胞から樹立された細胞株
27	cell line	不死化した細胞、株化細胞
28	OP9細胞	骨髄間質細胞株
29	吸着タンパク質	タンパク質の吸着のこと?
30	伸展ハニカムフィルム	ハニカムフィルムを伸展したもの
31	デスミン	筋由来細胞(平滑筋、骨格筋、心筋)に特異的に発現する細胞骨格蛋白の一種
32	WST	細胞増殖測定用試薬
33	CPC	Cell Processing Centerの略。細胞をGMP下にて培養する施設
34	コンフルエント状態	細胞培養器材の有効培養面積に対して、培養下にある接着細胞の専有面積率が100%に達した状態。
35	ハイドロゲル	水を吸収して膨潤するゲル
36	グラフト	移植用の組織
37	ELISA法	酵素免疫測定法
38	マイクロアレイ法	ジーンチップ上に固定したcDNAのオリゴマーと、試料のmRNAまたはそのcDNAとのハイブリッド形成による蛍光強度を指標にして、各遺伝子の転写量を測定する方法
39	カスパーゼアッセイ法	アポトーシス刺激に対して活性化されるカスパーゼのプロテアーゼ活性を検出する方法
40	アメロイドコンストリクター	虚血モデル作製に使用する血管を閉塞させるための閉鎖具
41	染色体核型解析	染色体の異常(転座や異数性)を解析する方法
42	Comparative genomic hybridization(CGHi)法	ゲノムDNAの過剰、欠損、増幅などのコピー数異常を短時間で検出する方法
43	フローサイトメトリー	多量の細胞を1個ずつ定量測定する統計的精度の高い細胞測定法
44	核型	各々の生物種に特有な、細胞核にある染色体の数や形態、配列
45	FISH	Fluorescent In Situ Hybridization:組織や細胞において、特定のDNAやmRNAの分布や量を蛍光検出する方法
46	CGH	Comparative Genomic Hybridization (CGH)。全染色体を対象にしてゲノムDNAの過剰、欠失、増幅などのコピー数異常を短時間で検出する方法
47	オートクレーブ滅菌	オートクレーブ(耐熱・耐圧の容器)を用いて滅菌すること

## I. 事業の位置付け・必要性について

### I-1 NEDO の関与の必要性・制度への適合性

#### 1.1 NEDO が関与することの意義

本研究開発は、遺伝子やタンパク質等の生体分子の機能・構造解析等を行うとともに、それらの研究を強力に推進するためのバイオツールやバイオインフォマティクスの開発、成果を高度に利用するためのデータベース整備や先端技術を応用した高度医療機器開発等により、テーラーメイド医療・予防医療・再生医療の実現や画期的な新薬の開発、医療機器、福祉機器等の開発・実用化を促進することによって健康寿命を延伸し、今後、世界に類を見ない少子高齢化社会を迎える我が国において、国民が健康で安心して暮らせる社会の実現を目指すことを目的とする「健康安心プログラム」の一環として実施する。

我が国の疾病構成は、高齢化の進展に伴い、従来の悪性新生物（がん）に加えて、生活習慣病が大きな比重を占めつつある。生活習慣病は多くの場合、虚血性心疾患を代表とする重篤な循環器系疾患や、脳卒中を代表とする難治性中枢神経系疾患を併発する 경우가多く、心疾患は、脳卒中とがんと合わせて、現在の我が国の3大国民病であり、2005年現在年間死亡者数は約17万1千人であり、増加傾向にある（厚生労働省「平成17年人口動態調査」。今後、団塊世代が好発年齢にさしかかるために、患者数の増加が見込まれる（Ann. Rep. Tokyo. Metr. Inst. P.H. 57:395, 2006）。

重症循環器系疾患、難治性中枢神経系疾患は、迅速な対応を欠いた場合、患者の臓器不全症状は不可逆的状态に進行する。これらは生命が助かったとしても、社会生活が困難となる高度の機能障害等を多くの患者に後遺する疾患であり、患者の Quality of Life (QOL) の観点から大きな課題を有している。加えて、後遺症を有する患者が社会復帰に至るまでに要する治療費を始めとしたコストは膨大なものとなることから、コストパフォーマンスの高い有効な新たな治療法の確立及びそれを支える基盤医療産業の育成が、医療のみならず社会経済的にも極めて緊急性を有する課題である。

重症心不全患者に対する新たな治療法として細胞移植療法が注目を集め、血管新生を目的とした自己骨髄単核球細胞移植や心筋細胞の代替としての自己骨格筋芽細胞移植が臨床応用され、成果をあげている。一方、これら単離した細胞の直接注入に関しては、移植位置の制御が困難であること、流出・壊死により細胞が損失すること、広範な心筋壊死に対する治療が困難であることなど、新たな課題が生じており、虚血性心疾患に対する次世代の再生医療として組織工学的な手法により、三次元的な心筋組織（バイオ心筋）を体外で再構築し移植する研究が始まっている。しかしながら、作製可能なバイオ心筋の厚みには酸素・栄養の透過性に起因する限界があり、より厚く機能的なバイオ心筋を作製するためには、いかに血管新生を促進し、生体と同様な豊富な血管網を組織内に再構築するかが最大の課題となっている。

この高機能的なバイオ心筋を安全かつ簡便に作製し安定して供給するためには、新たな技術・装置の開発が必要であるとともに、臨床応用に向けた製品化やその作製装置、治療効果の評価技術の確立および細胞源や増殖因子の開発・解明が必須である。

細胞組織工学、再生医学等を用いたこのような再生型治療は新しい治療法として期待されているが、新しい医療であるために日本のみならず世界的に規制上のガイドラインがあいまいなこと、当初は自己組織によるオーダーメイド医療となり大量生産が難しいこと、生物材料を原料としているために生物安全性、品質管理が難しいことなどから、大手の製薬企業や医療機器メーカーの多くは参入をためらっているのが現状である。従って、このような未知の要素が多く開発リスクの高い新しい医療を進展させるためには国の機関が率先して、産業界や大学・医療機関をけん引していく必要がある。

また、このような新しい医療の開発については、大手製薬会社が二の足を踏んでいる一方で、大学・医療機関と手を組んで新しく立ち上がった経済基盤の脆弱なベンチャー型の企業が担い手になっており、国の機関による支援を必要としている。そこで、これらの企業を支援することにより、従来の産業構造を変え、新しい産業構造を創造する起爆剤となることが期待できる。

## 1.2 実施の効果（費用対効果）

本プロジェクトが対象とする心疾患（心不全）の現状は以下のとおりである。

1. 虚血性心疾患は、欧米人の死亡原因の第1位であり、米国では年46万人が死亡している。米国の患者総数は1,240万人と推定されており、年65万人の患者が発症している。ただし、米国は日本と異なり、発症率は低下傾向にある（2001 Heart and Stroke Statistical Update）。
2. 日本では、心疾患は悪性新生物について死亡原因の第2位となっている（厚生労働省平成17年度「人口動態調査」）。平成17年度の虚血性心疾患の患者数は86万人程度である（厚生労働省平成17年「患者調査」）。そのうち虚血性心疾患死亡者数は年間約7万5千人で、高齢化とともに増大傾向にある（厚生労働省平成18年「人口動態調査」）。血栓溶解療法や冠動脈形成術が主な治療法であるが、長期的には再発を防止することが困難であり、患者のQOLの改善に繋がっていない。心筋梗塞などにいつ襲われるかわからない恐怖から一日も早く開放する治療法が強く望まれる。
3. 傷病分類別心筋梗塞の発症数の3割が死亡、その後の7割が治療を受ける（東京都CCUネットワーク <http://www.ccunet-tokyo.jp/doukou/index.html>）。血管バイパス手術など、外科的手術が必要な患者に心筋再生治療が有効であると考えている。
4. 心筋の収縮する力が落ち、結果として心臓が著しく拡張してしまう「拡張型心筋症」もこの治療の適用になりうるものが、動物実験で示されている（Cardiovascular Res. 69:466, 2006）。

このような疾患の治療を産業規模としてとらえると以下のように概算される。

国内の循環器系疾患の医療費は5兆3,792億円で傷病分類別医療費の中で最も高く、そのうちの虚血性心疾患の医療費は6,635億円である。（厚生労働省平成17年「国民医療費の概況」）。この医療費の高騰傾向は続くと考えられ、欧米並みに近づきつつある。患者数は年20万人の発症とされており、心筋梗塞からの生存者の内既存の治療では治癒の見込めない患者及び心筋症患者から推計する本バイオ心筋移植対象患者数は、28,000人/年である。バイオ心筋の単価を200万円とすると国内だけでも予想市場は年560億円になる。

米国では、その治療として血管バイパス手術は57万件（1999）、血管形成再建 angioplasty は107万件行われており、1979年から1998年までに384%の増大であった。虚血性心疾患の治療費は13兆円になり、巨大市場が存在している（2001Heartand Stroke Statistical Update）。

本プロジェクトの進展により心筋シートによる虚血性心疾患及び心筋症に対する治療は、従来の対症療法的な医療と異なり、根本治癒を目指すものである。従って、この治療による経済効果は、従来のものに比べて大きく二つの点において優っている。ひとつは、来るべき高齢化社会の医療費の削減そのものに対する効果である。図1に示すように、生きた細胞を用いる再生医療は、製造、品質管理に経費がかかり、当初要する治療費は高くつくと考えられる。しかし、根本的治癒を得られることから従来の薬物による治療に比べ、その後の医療費が格段に安くすむと考えられる。また、もう一つの観点として図2に示すように、患者のQOLの向上がある。従来の外科的治療や対症療法的な薬物治療では完治が見込めない患者に対して、この治療法を用いることにより、QOLを向上させ、社会復帰を営むことが可能となり、社会の生産性を高める効果が期待できる。そのような細胞組織工学、再生医学等を用いた再生型治療は、これからの超少子高齢化社会における医療問題を解決する有力な医療技術であるといえる。バイオ心筋だけに着目しても対象患者から予想される国内市場は年間560億円にのぼり、米国では、その約8倍の需要が見込まれる。この数値は、本研究プロジェクトの研究開発経費（年間約3億円）にくらべ、圧倒的に高く、開発費用に対する経済的効果は非常に高い。

さらに、維持培養装置および高機能化バイオリクターはバイオ心筋の製造に不可欠であり、それ自体の販売による経済的効果も期待できる。一台で年間26件（1台で1日1件の製造、装置を使って14日の維持培養すると仮定）のバイオ心筋が製造可能であり、28,000人/年の治療を行うと仮定すると、約1,000台の装置が必要であり、バイオ心筋維持・高機能化バイオリクター1セット当たりの価格を1,000万円と考えると、装置のみでもトータル100億円の売上を見込むことができる。

また、本研究で開発を目指している心筋維持培養リアクターは、組織や器官の長期培養装置として薬物動態研究等へのビジネス展開が期待できる。国内における医薬品スクリーニング市場は全体で2100億円と推計され（平成14年6月 NEDO「医用化合物スクリーニング支援システム」中間評価報告書）、米国においては、循環器疾患関連医薬の研究開発だけで毎年およそ4,800億円（41億ドル）



が費やされている（平成14年6月 NEDO「医用化合物スクリーニング支援システム」中間評価報告書）。これらに加えて本プロジェクトから生み出される機械装置により、その他の、基礎研究分野や再生医療分野が活性化されることを考え合わせると本プロジェクトの産業における波及効果は莫大なものとなる。国民生活においても、新薬の開発が盛んになることによって疾患治癒確率の向上や、治療薬の選択肢が広がる等の利益が期待される。

## 心筋再生治療と従来医療のコストイメージ

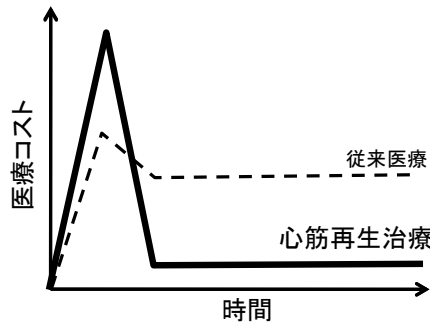


図1. 医療コストの比較

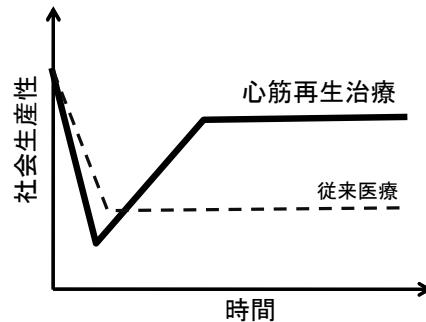


図2. 社会生産性の比較

### I-2 事業の背景・目的・位置づけ

近年、我が国の疾病構造は、感染症などの急性疾患が減少した反面、がんや循環器病、糖尿病などの生活習慣病をはじめ高齢化に伴う障害が増加する傾向にある。これらの疾患・障害は療養に長期を要し、身体機能や Quality of Life (QOL) を著しく低下させる。また、少子高齢社会の到来により、我が国の労働人口は、現在の約6,800万人から2030年までに約1,000万人減少する状況にある（国立社会保険・人口問題研究所「将来人口推計」（平成9年）厚生労働省 {労働力調査特別調査}）。これが労働者の医療費負担や家族の介護負担の増加といった国民生活にとって重要な課題を生じさせている。このため、患者の日常生活や社会復帰を支援し、生活の質の著しい改善に寄与するため、従来の医療技術では回復が期待できない失われた身体機能を、人工的に代替・修復する技術を研究開発し、実用化する必要がある。

日本において、心疾患は死因別死亡率で第2位、また虚血性心疾患患者数は年間約86万人となっている。（平成17年度厚生労働省人口動態統計）。そのうち国内の心筋梗塞発症数は年20万人で、高齢化とともに増大傾向にある。特に、食生活の欧米化並びに高齢化に伴い今後、虚血性心疾患に伴う重症心不全患者が、さらに増加することが予想されている（池田、矢野、日本における死因別死亡数の動向予測、東京健安研セ年報、2006）。また、拡張型心筋症に伴う重症心不全患者に対する治療も循環器分野で大きな課題となっている。このような重症心不全に対し、これまでの補助人工心臓や、心臓移植などの置換型治療に代わって、遺伝子工学や細胞組織工学、再生医学等を用いた再生型治療が新しい治療法として期待されている。近年、患者自身の自己組織から採取可能で、筋細胞に分化しうる前駆細胞である骨格筋芽細胞を移植する方法が、拒絶反応もなく、非常に有用な方法と考えられてきている。しかしながら、細胞を懸濁液のまま移植すると、多くの細胞は短時間のうちに死亡したり、患部から漏れ出ていったりしてしまうため、効果が減弱してしまう問題点が指摘されている。また、細胞の移植部位を制御できないために不整脈の原因になる問題が指摘されている。

これらの細胞療法における問題点を克服できる技術として細胞をシート化する方法が本邦で考案され、開発されている（細胞シート工学）。これを心疾患の治療に応用して開発された筋芽細胞をシート化して移植する技術は、虚血性心筋症のみならず、グローバルな心筋変性疾患である拡張型心筋症に対しても心機能改善効果が認められ、新たな治療法として期待されている。

この心筋再生シートによる心筋再生治療の早期実現化を目指すためには、心筋再生シートの機能

と実用性をさらに向上させ、厚い心筋組織で構築された内部に酸素や栄養を供給できるような血管網を有し、心筋組織の欠損部を補てんするための十分な強度と機能を持つ心筋再生組織（以下、**バイオ心筋**と言う）を作製するティッシュエンジニアリング技術が必要である。これにより、重症な心不全症例に対しても心臓移植に代わる有効な再生治療法を確立することが可能となる。

この高機能なバイオ心筋を安全かつ簡便に作製し安定して供給するためには、新たな技術・装置の開発が必要であるとともに、臨床応用に向けた製品化やその作製装置、治療効果の評価技術の確立および細胞源や増殖因子の開発・解明が必須である。

本研究開発では、この問題を解決すべく細胞生物学的な手法、工学的な手法さらに新規の移植技術によりバイオ心筋を作製するとともに、安全かつ有効なバイオ心筋の製造工程システムを構築し、臨床応用に向けてバイオ心筋医療の基盤を確立することを目的とする。

## II. 研究開発マネジメントについて

### II-1 事業の目標

中間目標（平成19年度末）：

- ・ 厚さ1 mm のバイオ心筋を作製する。
- ・ バイオ心筋に酸素、栄養を供給できる血管網を付与する。  
（最終目標に至るマイルストーンとして到達すべきバイオ心筋の性能基準である。）

最終目標（平成21年度末）：

- ・ 厚さ5 mm 以上のバイオ心筋を作製する。
- ・ 血管網を有し、左室駆出率（EF）5%以上の心機能を改善しうるバイオ心筋を作製する。  
（この目標値は、ヒトの心筋組織の厚さ（8~11 mm）から考えて、心筋組織欠損部を補てんするために十分な強度と機能を持つ厚さであり、既存の細胞療法によって得られている最大の効果（EF 2~3%上昇）を超えるものである。）

### II-2 事業の計画内容

#### 2.1 事業内容の概要

平成18年度から19年度までに以下①~④の各研究項目を実施する。（A）

##### ① バイオ心筋機能向上技術の開発

細胞シートを用いた移植技術により、心不全モデルにおける心機能改善効果が明らかとなっている。この細胞シートを用いた組織再生技術をさらに発展させ、肉厚で血管網を有する高機能なバイオ心筋の開発と、製造工程のシステム化を図る。動物心不全モデルを用い、有効性に関して、科学的な有意性を評価する。

##### ② バイオ心筋評価技術の開発

再生医療の分野において、完成された人工臓器・組織の品質評価することは、移植後の治療効果を予測する上でも重要である。そこで、バイオ心筋を対象とした製造工程における原料（採取細胞）のポテンシャル評価ならびに製品（培養組織）品質評価の指針（基準値設定）についての手法構築を目指し、腫瘍化検出を主眼とした安全性評価、電気的応答を主とした機能評価、組織内均一性を考慮した立体的評価について検討する。

##### ③ 細胞源の開発

社会的に許容可能でかつ移植の有効性の高いバイオ心筋の細胞源の開発は、心筋再生医療の臨床応用の確立とともに産業化の必須項目であるといえる。具体的な細胞源として骨髄や脂肪由来間葉系幹

細胞、筋細胞に分化しうる前駆細胞である骨格筋芽細胞、骨格筋内幹細胞、あるいは同種幹細胞を起源とする子宮内膜・月経血、脂肪由来間葉系幹細胞に関する研究開発を行う。さらに、有効性の高い細胞源を、目的の機能を有する細胞群へ分化・誘導するための増殖因子の開発を行う。そして、バイオ心筋の安全性向上にむけて、異種由来物質を排除したヒト細胞培養系を検討し、品質の高い、安全な細胞を提供する技術開発を行う。

#### ④ 細胞機能制御技術の開発

構造制御された足場材を用いることで、細胞の接着、分化、増殖あるいは分化制御を行うことが可能である。実際、細胞源の機能を向上させるためには、*ex vivo* での分化増殖能を自在に制御しながら培養する方法が必要である。細胞に足場依存的な負荷を加え、細胞機能の制御が可能な細胞培養システムの検討を行う。

さらに、平成20年度から平成21年度には、以下①～③の各研究項目を実施する。(B)

#### ① 細胞源・増殖因子の探索

細胞シートの細胞源として、実用化の面から考えて筋由来細胞群（筋芽細胞、骨格筋内幹細胞）、間葉系幹細胞を中心に探索する。小動物心筋梗塞モデルでの細胞シート移植による分化状態と新機能改善効果についての検討を経て、特定された心筋分化能を持つ候補細胞群を用いて作製されたバイオ心筋について、大動物での心機能改善効果の確認を行う。

さらに、機能制御技術の開発に関しては、ハニカムフィルムのような構造制御された足場を用いて、上記細胞源に対してする増殖・分化に効果的な培養表面の構築を行う。

増殖因子の解明として、骨髄間葉系由来の細胞株 OP9 の培養上清に含まれる新規心筋分化誘導因子について、上記細胞源に対しての心筋分化誘導能を確認し、免疫不全小動物などでの分化能検討を進める。

細胞源の安全性については、バイオ心筋を対象とした加工・製造工程における原料（採取細胞）の細胞腫（筋由来細胞群、間葉系幹細胞）、心筋分化誘導方法などに対応した安全性の評価を行う。さらに、加工した細胞シートの安全性について、細胞腫瘍化の分析、生物由来原料の残存分析を行い、安全性確認方法を確立し、最終的に、バイオ心筋を製造するための上記細胞源に関する標準的な培養・分化方法を確立し、安全でより心機能改善効果の高いバイオ心筋の増殖分化・機能制御の手順化を行う。

#### ② バイオ心筋の機能向上技術の開発

コンパクト化した細胞シート積層化装置とバイオリアクターに加え、バイオ心筋評価技術を取り入れた加工工程の検討及び試作を行う。さらにバイオ心筋への血管網導入に関しては、形成された網目構造の管腔化を促進する培養系の開発を進め、組織内に形成された血管様構造への還流を実現する技術の開発を行う。バイオ心筋への血管網付与・促進を可能とする組織工学的手法ならびに外科的手技により最終的に厚さ5 mmのバイオ心筋を目指したスケールアップを行う。動物への移植試験では、有効と考えられる細胞群で作製されたバイオ心筋の比較検討を同一プロトコールにて複数の施設で実施する。

各開発項目で開発された技術および得られた知見を基盤とし、バイオ心筋の作製・積層化、バイオリアクターによる維持培養・高機能化、血管網の付与、さらに評価技術という一連のバイオ心筋作製（加工・製造）工程を統合したシステム化を行う。

#### ③ バイオ心筋の評価技術の開発

再生医療の分野において、完成された人工臓器・組織の品質評価することは、移植後の治療効果を予測する上でも重要である。そこで、バイオ心筋（培養組織）を対象とした品質評価の指針（基準値設定）についての手法構築を目指し、基本的な情報となる構成する細胞の数や形態、純度に加え、分化度、サイトカイン分泌能、電気的応答、力学的応答を主とした機能評価及び組織内均一性を考慮した立体的評価技術を開発する。

また、得られた評価技術については、バイオ心筋作製システムに取り入れられるよう最適化を行う。

## 2.2 研究開発内容

### A. 平成18年度～19年度

#### ① バイオ心筋機能向上技術の開発

##### ①-1. 積層化装置精緻化・コンパクト化システムの開発 (株式会社セルシード)

細胞シートを用いたバイオ心筋の作製においては温度応答性培養皿から温度降下処理により細胞シートを回収し積層化を行うが、臨床応用や産業化に向けてその工程を安全かつ安定に行う必要がある。これまでに株式会社セルシードは細胞シート自動積層化装置のプロトタイプを試作しヒト筋芽細胞シートを5層積層化することを実現した。本研究開発項目においては筋芽細胞以外にも間葉系幹細胞や血管網構築を目的とした血管構成細胞との共培養系を用いることから種々の細胞シートの安全かつ安定な積層化を可能とするように既存の装置の改良および条件設定を行う。具体的にはスタンプ状細胞シート回収デバイスの改良、それぞれ異なる積層化工程の実行を可能とする装置駆動ソフトの改変、積層化処理温度や時間の最適化を図る。平成18年度には、各細胞シートの積層化に最適な脱着温度・時間を設定し、平成19年度には積層化するための条件を決定する。

一方、バイオ心筋の臨床応用および産業化にはバイオ心筋作製技術の汎用化が重要である。そこで、細胞シート自動積層化装置のコンパクト化を行う。具体的には、安全キャビネット内で使用可能なように動作空間をコンパクト化するなどの改良設計を平成18年度に行い、平成19年度にその試作を行う。さらに、CPC内での使用を前提とした装置の設計について検討を行う。

##### ①-2. バイオ心筋維持・高機能化バイオリアクターの開発 (大阪大学、東京女子医科大学)

バイオ心筋の細胞源に関しては個人差があるため作製時間に相違が生じるものと予測される。また重症心不全患者に関しては病状が不安定なため予定通り移植を行えない可能性もある。従ってバイオ心筋の臨床応用に関しては時間的余裕をもって作製し、患者の状態に合わせて移植できるよう一定の期間、保存・温存できるような技術開発が望まれる。現状では厚みのある再生組織の凍結保存は困難と考えられる。そこで本研究開発項目はバイオ心筋を安定に維持培養できるバイオリアクターの開発を行い、必要時にバイオ心筋を供給できるようにすることを目的とする。具体的には温度、酸素分圧、pH、グルコース、乳酸などの計測システムを組み込んだ代謝計測可能な還流バイオリアクターを作製する。これにより培養系の最適化を行い、平成18年度には3日間、平成19年度には1週間維持培養できるバイオリアクターの開発を行う。

また、生体内において組織は常に応力負荷(物理的負荷)を受けているが、通常の培養系は、静置培養であるため、これを欠いており大きな相違点である。そこで維持培養機能に加え、静水圧、ずり応力、伸展負荷などの応力負荷が可能なバイオリアクターの設計・開発を開始する。これにより組織厚や強度、細胞外マトリクスの種類や量、サイトカイン分泌量、遺伝子発現などに変化があるか比較検討し、バイオ心筋高機能化にむけた基礎検討を行う。

上記開発項目について、「②バイオ心筋評価技術の開発」を行う大阪大学の開発内容と連携しつつ東京女子医科大学が行う。

##### ①-3. 血管網を付与したバイオ心筋の開発 (東京女子医科大学)

作製可能なバイオ心筋の厚みには酸素・栄養の透過性に起因する限界があり、より厚く機能的なバイオ心筋を作製するためにはいかに血管新生を促進し生体と同様な豊富な血管網を組織内に再構築するかが課題である。*in vitro*での血管網の再構築に関しては近年、血管内皮細胞との共培養により血管網を再構築しうる可能性が示されており東京女子医科大学でもラット新生仔の心筋細胞と血管内皮細胞の共培養により再生組織内に血管内皮細胞の網目構造が再構築できることを確認している。しかしながらこれらの研究では網目構造は再構築されるものの、管腔化は不十分であり生体のように内部に液体が流れることはない。

そこで本研究項目ではこの問題を解決すべく目的の細胞(心筋細胞・筋芽細胞・間葉系幹細胞)と血管を構成する血管内皮細胞、平滑筋細胞(あるいは壁細胞)、線維芽細胞を種々の比率で混和し共培養細胞シートを作製し積層化を行い、さらにバイオリアクターを用いて生体と類似の3次元環境を作り出すことでバイオ心筋内に管腔化した血管網の再構築を図る。平成18年度には、共培養細胞シートを積層化することで血管構成細胞の網目構造を伴った5層までのバイオ心筋を作製し、平成19年度には形成された網目構造の管腔化を促進する培養系の開発を行う。

##### ①-4. バイオ心筋製造工程・システムの確立

(大阪大学、東京女子医科大学、株式会社セルシード)

細胞シート製造に関する標準操作方法を確立する。その上で、上述の項目①-1～3で開発された技術および得られた知見を基盤として細胞シートの作製・積層化、バイオリアクターによる維持培養・高機能化、さらに血管網の付与という一連のバイオ心筋製造工程を統合したシステム構築を行う。さらに項目②の評価技術を組み込みこむことで安全性・有効性をモニタリングできるような GLP に準拠した製造工程とする。製造工程は可能な限り自動化を図り、平成19年度後半には高機能化バイオ心筋製造装置の開発に着手する。

上記開発項目について、細胞シート製造に関する条件検討を大阪大学が、バイオリアクターによるバイオ心筋製造工程のシステム化を東京女子医科大学が、細胞シートの作製・積層化の検討をセルシードが行う。

#### ①-5. 血管網を誘導する移植技術の確立

(大阪大学、東京女子医科大学、再委託先：国立循環器病センター)

これまでに、小動物心不全モデルにおいて効果ありと判定された細胞源を用いた細胞シートの最適な移植方法を検索する。まず平成18年度には単層細胞シートを積層化して移植した場合、その積層化による効果の検討ならびに積層化の限界点を検討し、細胞シートの体内インキュベート効果の解析を行う。次に、血管網再構築を促進する目的でバイオ心筋と血管網の豊富な大網の同時移植や、細胞シートの皮下移植を行い血管構築させた後、再び同部位に細胞シートを移植し、生体内で段階的に血管構築を誘導する反復移植法を試みる。各方法にてバイオ心筋組織を移植した後、心臓超音波による経時的な心機能測定、心筋血流量の定量的評価、組織学的な血管新生評価、不整脈の有無の解析等を行いその有効性を評価する。

さらに、動物実験において積層化による有効性および積層化の限界点と心機能改善効果とそのメカニズムについて検討を重ねる。そして移植細胞のアポトーシスを抑制するために関連タンパク質の機構解析を行う。これにより血管網を誘導する移植技術ならびに、「①-3. 血管網を付与したバイオ心筋の開発」の血管網付与・促進を可能とする組織工学的手法により、平成19年度には厚さ1 mmのバイオ心筋を作製する。

上記開発項目について、大阪大学、東京女子医科大学、国立循環器病センターのそれぞれが、動物実験での評価を行い、各施設間での結果を比較検討することで、結果の有意性を判定する。

#### ①-6. 有効性に関する比較試験および最適化

(大阪大学、東京女子医科大学、再委託先：国立循環器病センター)

細胞源、移植法に関して他の研究項目で得られる知見をもとに、有効と考えられるバイオ心筋ならびに移植法を用い、大動物心不全モデルを用いた前臨床試験を同一のプロトコールで行う。それぞれの効果を機能的組織的に判定することにより、最適なバイオ心筋組織・移植法を模索する。

具体的には、ブタ左前下降枝にアミロイドリングを植え込んだ慢性期心筋梗塞モデルと、高速ペーシングによるイヌ拡張型心筋症モデルを対象疾患モデルとし、小動物における実験で、最も効果的であり、臨床を行う上で技術的に最適である移植法を用いる。小動物心不全モデルへの移植により組織再生効果が高いと推測される細胞源を用いて、移植バイオ心筋組織を作製し、本プロジェクトが開発したバイオ心筋作製システムにて作製されたバイオ心筋組織を移植する。心臓超音波にて経時的に長期にわたり心機能評価を行い、核医学的手法を用いた心筋血流量の定量的評価、組織学的な血管新生の評価を行う。移植組織の分化、生存に関する組織学的評価を行い、また壊死組織の程度に関しても、組織学的に検討する。長期的なレシピエント梗塞心内でバイオ組織の生着性、移植したバイオ心筋組織の厚さを検討する。

上記研究開発の内容を他の研究項目と併行して平成19年度まで行う。大阪大学、東京女子医科大学、国立循環器病センターのそれぞれが、動物実験での評価を行い、各施設間での結果を比較検討することで、結果の有意性を判定する。

### ② バイオ心筋評価技術の開発

#### ②-1. バイオ心筋の安全性評価技術の開発

(大阪大学、株式会社セルシード、再委託先：テルモ株式会社、国立成育医療センター)

バイオ心筋の作製過程で使用されるウシ胎児血清の除去は、臨床応用での安全性確認の際に重要となる。安全性の観点から、細胞培養の工程において使用する全ての原材料はその適格性を明らかにする必要があるが、特に、ウシ胎児血清を作製過程に使用している場合は、細菌、真菌、ウイルス、プ

リオン等の混入・伝播を防止する必要がある。

本研究開発においてウシ胎児血清を使用する場合は、現在までに BSE 発生が報告されていない原産国由来の製品を選択することとするが、さらに、細胞の活性化、増殖に影響を与えない範囲で細菌、真菌、ウイルス等に対する適切な不活性化処理及び除去処理を行った製品を選択する予定である。その上で、作製したバイオ心筋に残存するウシ血清由来の蛋白質を測定するために、ELISA 法等の検出感度の高い方法を用いて評価方法を開発する。さらに、この評価方法で測定された結果から、残存するウシ血清由来物を最大限に減らすために、バイオ心筋の製造工程における細胞の洗浄条件及び方法について開発を行う。

また、現在の培養系において、ヒト細胞は継代数が進むほどゲノムレベルでの異常が蓄積していくことが報告された。つまり、必然的に継代数が増えていくとゲノムレベルで異常が蓄積した細胞を使用せざるを得ない危険性が極めて高い。ゲノムレベルでの異常を検出する方法としては、染色体核型解析および Comparative genomic hybridization (CGH) 法を用いて解析を進め、臨床応用のための、ゲノムレベルでの変異を生じない安全なヒト細胞の安全性確認技術を開発する。

上記研究開発内容を、平成 19 年度まで行う。バイオ心筋の残存ウシ血清由来蛋白質の測定をテルモ株式会社が、ゲノムレベルでの異常検出方法の検討を国立成育医療センターが行う。

#### ②-2. バイオ心筋の機能評価技術の開発 (大阪大学)

バイオ心筋の電気生理学的特性を評価することは、バイオ心筋移植後のホスト心筋との接続や、バイオ心筋を原因とする不整脈を回避する上でも重要である。電位感受性色素などを用いた蛍光イメージングや刺入電極により、迅速かつ低侵襲で確認する技術を、平成 18 年度に検討する。そして、重層化細胞シートでの機能評価を可能とするための基礎技術の検討を、平成 19 年度に行う。

#### ②-3. バイオ心筋の立体的評価技術の開発 (大阪大学、東京女子医科大学)

立体的構造を有するバイオ心筋内では、生存細胞、分化、代謝活性などの種々の品質に関連する指標が、3 次元的分布を有し、品質の立体的な不均一性を引き起こす。そこで、バイオ心筋の厚み、面積測定を含む外観解析を検討する。

さらに、細胞機能を、ミトコンドリア活性を測定可能な蛍光色素を使用し、蛍光グルコースの取り込み量により代謝活性を評価する。構築された血管網は、細胞の連結性やヘモグロビンなどを指標として評価する。また、バイオ心筋内の酸素濃度分布を測定し、シート内の構造評価を行う。

これらの得られた情報と動物実験データとを連携・比較しながら評価基準を設定する。バイオ心筋の立体解析について実施可能なシステムの検討を行い、さらに細胞の生死細胞判定による生存率および異常増殖細胞頻度の算出を可能とするシステムの基本設計を平成 19 年度に行う。

上記開発項目について、外観解析技術開発を大阪大学が、バイオ心筋の構造解析技術開発を東京女子医科大学が行う。また、上記開発項目を「①-2. バイオ心筋維持・高機能化バイオリクターの開発」を行う東京女子医科大学の開発内容と連携しつつ大阪大学が行う。

### ③ 細胞源の開発

#### ③-1. 筋芽細胞、骨格筋内幹細胞の開発 (大阪大学、再委託先：東海大学)

マウス骨格筋間質に存在する新たな幹細胞群である、CD34 陽性で CD45 陰性分画 (Sk-34 Cells) と CD34、CD45 とともに陰性 (Double Negative) の分画 (Sk-DN Cells) に着目する。この細胞群は、培養系で筋芽細胞 (骨格筋)、内皮細胞、脂肪細胞に分化する。さらに、最近の研究結果から、培養系のクローンレベルで、すでに心筋特異的アクチンの mRNA を発現していること、さらに心筋梗塞モデルに移植することによって心筋そのものへ分化し、移植細胞間あるいは既存の細胞間でデスモソームを形成することを確認している。

本研究開発項目では、筋芽細胞、骨格筋内幹細胞を効率よく回収し、心筋へ移植する実験系を基本として、組織や心機能の改善効果の高い細胞群の供給法を開発する。

上記研究開発内容を、平成 19 年度まで行う。マウスでの細胞単離技術開発を東海大学が行い、その単離技術についてヒト細胞での検討を大阪大学が行う。

#### ③-2. 間葉系幹細胞の開発

(大阪大学、株式会社セルシード、再委託先：国立成育医療センター)

申請者らは、ヒト子宮内膜、月経血及び、胎盤、羊膜に非常に高い心筋への分化誘導能力があることを報告している。そこで、本研究開発では、液性因子を中心とした *in vitro* での間葉系幹細胞からの心筋分化誘導法の開発を行う。子宮内膜・月経血由来間葉系幹細胞は心筋分化能力がほぼ 90% と

極めて高い事が特徴で、培養条件の違いによる心筋誘導率の変化のダイナミックレンジが大きく、誘導因子の同定することで、短期間で新規心筋分化誘導法を開発する。

また、脂肪組織に含まれる間葉系幹細胞に着目し、ヒト脂肪組織より幹細胞を採取単離し、それを心筋細胞あるいは心筋芽細胞へと分化させる技術を開発する。具体的には、心筋分化へのマーカーである転写因子 Nkx2.5 ならびに GATA-4 を発現する幹細胞の採取培養法を確立し、培養手法ならびに培養液組成、あるいは項目③-3により同定された心筋分化促進因子を培養に用い、心筋細胞への分化、ついで心筋細胞シートの作製を試みる。

上記研究開発内容について、平成18年度に候補細胞群を選び出し、平成19年度には、候補細胞群の培養条件の最適化を検討する。そして、これら候補細胞の機能を心筋梗塞モデルなどの小動物実験等で解析し、心機能改善効果について比較検討し、効果の高い細胞群を選びだす。その細胞群の心筋分化能の詳細について解析を進める。子宮内膜、月経血等からの細胞単離技術開発を国立成育医療センターが、脂肪組織からの細胞単離技術開発を大阪大学が行う。

さらに、これらの細胞について、至適培養条件及び細胞シート作製技術を確立する。細胞シートの安全性に関しては、細胞腫瘍化の分析として、シート化した筋芽細胞の核型分析による遺伝的安定性を、また、生物由来原料の残存分析として、培養に用いるウシ胎仔血清の残量確認を検討し、臨床応用上必要な安全性確認方法の技術開発を行う。項目②-1と合わせて、細胞源からバイオ心筋までの安全性を確認する技術を開発する。

上記研究内容について、国立成育医療センターが行う。

#### ③-3. 分化・増殖因子の開発 (大阪大学、再委託先：千葉大学)

細胞移植療法の確立のためには幹細胞から十分な数の心筋細胞を新たにつくり出す必要がある。しかしながら胎性幹細胞 (Embryonic Stem Cell (ES 細胞))、間葉系幹細胞、心臓幹細胞などの幹細胞から心筋細胞を分化誘導する際の誘導効率は現時点では極めて低いものであり、心筋再生治療を実際に臨床応用するためには心筋細胞分化を強力に誘導する液性因子の単離同定が必要である。ES 細胞や P19CL6 細胞を高率に心筋分化誘導する因子を、骨髄由来ストローマ細胞 OP9 の膜タンパク質もしくは培養上清に分泌される因子から探索し、その遺伝子と機能解析を行う。組換えタンパク質や中和抗体を用いた細胞レベルの評価に加え、マウス心筋梗塞モデルなどの動物実験等で解析する。

上記研究開発内容について、千葉大学が行う。平成18年度に候補因子の特定とその機能を検証し、平成19年度には、これらの因子が心筋分化誘導を起こす分子メカニズムを解明することにより、高効率かつ純度の高い心筋細胞分化誘導法の開発を行う。さらに、③-1,2. 筋芽、間葉系候補細胞群に対する心筋分化誘導評価し、バイオ心筋の細胞源としての有用性を検討する。

#### ④ 細胞機能制御技術の開発 (大阪大学、再委託先：北海道大学、東北大学)

ハニカムフィルムのような構造制御された足場を用いて、その材質や孔径の制御により、細胞-足場間、細胞-細胞間の接着強度を変化させることで、細胞の選別や分化・増殖の制御を行う。また延伸ハニカムフィルムによる間葉系幹細胞・筋芽細胞・骨格筋内幹細胞の異方性培養や孔貫通ハニカムフィルムによる3次元配向積層培養などを行う。足場表面の構造が心筋細胞や筋芽細胞の接着形態、増殖、細胞骨格 (アクチンフィラメント)、焦点接着 (ピンキュリン)、細胞の配向、細胞外マトリクスの産生、細胞間の相互作用などに及ぼす影響について、平成18年度に検討する。

さらに、細胞源の開発において細胞シートの候補となる細胞の接着形態や配向、細胞間の相互作用の解析を進める。そして、細胞と表面に吸着するタンパク質、表面構造、孔径などの相関を検討し、細胞の機能制御が可能な表面構造を持つ培養システムの開発を平成19年度に行う。上記開発項目について、ハニカムフィルムの開発と、吸着タンパク質の基礎的解析を北海道大学と東北大学が行い、細胞での評価・解析と培養システムの開発を大阪大学が行う。

#### ⑤ 学会発表・情報収集 (各委託、再委託先)

本研究開発の成果を日本循環器学会、アメリカ心臓協会学術集会、国際再生医療学会、ヨーロッパ組織工学会等の国内外での学会で発表する。また国内外研究施設の視察や諸学会への参加により研究開発に必要な情報の収集活動を行う

#### ⑥ 運営・管理 (大阪大学、株式会社セルシード)

本分野に関する医学・工学等の専門家から構成される推進委員会を開催し、開発進捗状況の把握と

問題点の検討等を行う。また、再委託先への検査を行い、適正な運用がなされていることを確認する。

#### ⑦スケジュール

平成19年3月末までに自主中間評価（外部有識者による、中間目標の達成度の評価及び絞り込み等についての提案）を実施し、平成20年度からの事業に反映させる。

### B. 平成20年度～21年度

#### ①細胞源・増殖因子の探索

##### ①-1. 筋芽細胞、骨格筋内幹細胞の開発（大阪大学、再委託先：東海大学）

筋芽細胞については、平成18-19年度に引き続き、積層化、血管網付与等によって、より心機能改善効果の高いバイオ心筋構築のための細胞源として研究開発を進める。平成20年度は、表面抗原等によるキャラクタリゼーションを行い、骨格筋内幹細胞との違いを明確にする。平成21年度は、キャラクタライズされた筋由来細胞群と心機能改善効果の相関について大動物実験にて検討する。

骨格筋内幹細胞については、これまで（平成18-19年度）にマウス骨格筋を対象として得られた細胞単離・培養技術、細胞分化能の同定法を基本として、ヒト骨格筋を用いて検討する。具体的には、1）より死細胞の少ない細胞単離条件（酵素濃度、処理時間、添加物）を決定する（単離条件の最適化）、2）より適切な細胞表面マーカーを決定する（純化に伴う細胞マーカーの検討とその最適化）、3）効率よい細胞増殖法（増殖因子の添加等）を検討する（培養条件の最適化）、4）免疫組織化学、RT-PCR あるいは免疫不全小動物への移植実験で心筋細胞への分化能の検討する、5）バイオ心筋への応用、等を行う。マウスとヒトでは細胞表面マーカーの持つ意味や細胞増殖能に若干の違いがあることが予想されるが、そのギャップをできるだけ速やかに埋めることを当面の目標とする。平成20年度に1）～3）を行い、平成21年度には4）～5）を行う。

上記開発項目について、筋芽細胞の開発を大阪大学が、骨格筋内幹細胞の開発を東海大学が行う。

##### ①-2. 間葉系幹細胞の開発（大阪大学）

間葉系幹細胞については、脂肪組織に含まれる細胞群について検討を行う。これまで（平成18-19年度）に得られた細胞単離・培養技術、細胞分化能の同定法を基本として、平成20年度は、小動物心筋梗塞モデルへの細胞シート移植により、心筋組織内での生着、分化状態と心機能改善効果について検討を行う。さらに血管内皮細胞との共培養による移植等により、血管網の効果について検討する。平成21年度は、前臨床研究を目指した、大動物での細胞単離・培養系の確立と心機能改善効果の確認を行う。

##### ①-3. 分化・増殖因子の開発（大阪大学、再委託先：千葉大学）

平成20年度は、骨髄間葉系由来の細胞株 OP9 の培養上清に含まれる新規心筋分化誘導因子による筋芽細胞・間葉系幹細胞に対する心筋分化誘導能を確認し、心筋分化誘導が確認された細胞源について、分化誘導条件の最適化をおこなう。平成21年度は、本因子を発現するアデノウイルスベクターを作製し、筋芽細胞・間葉系幹細胞等に対する *in vivo* での心筋分化誘導能の検討を行う

##### ①-4. バイオ心筋の安全性評価技術の開発

（大阪大学、株式会社セルシード、再委託先：テルモ株式会社、国立成育医療センター）

バイオ心筋の作製に用いる細胞源と、それを用いて培養した細胞シート、バイオ心筋の安全性について検討を行う。

細胞腫瘍化の分析、生物由来原料の残存分析を上記細胞源について行い、安全性確認方法を確立する。具体的には、ゲノムレベルでの異常を検出する方法としては、Comparative genomic hybridization(CGH)法等を用いて解析を行う。生物由来原料の残存分析としては、異種血清由来糖鎖とタンパク質の解析を行う。CGH 法によるゲノム異常検出と異種由来糖鎖の解析については、平成20年度は、筋芽細胞と間葉系幹細胞を中心に解析法を確立し、平成21年度に細胞シート、バイオ心筋での解析法を確立し、臨床応用のためのゲノムレベルでの変異を生じない安全なヒト細胞の安全性確認技術を開発する。（国立成育医療センター）

異種由来タンパク質の解析については、平成20年度は、平成19年度に行った骨格筋芽細胞シートでの検討結果をもとにして、生物由来原料の残存分析によって安全性確認方法の確立を行い、平成21年度に残存物除去方法の改良を実施する。（テルモ株式会社）

##### ①-5. 機能制御技術の開発（大阪大学、再委託先：東北大学）



細胞シートの細胞源である筋由来細胞群（筋芽細胞、骨格筋内幹細胞）や間葉系幹細胞に対して、増殖・分化に効果的な培養表面の構築を行う。平成20年度は、筋由来細胞群や間葉系幹細胞に対して、ハニカム構造フィルムの孔径、孔の貫通・非貫通、膜厚、延伸構造、表面処理等と、接着形態、骨格タンパク質、接着班、細胞間接着、増殖性、分化、機能発現について検討する。平成21年度は、細胞源の増殖・分化制御を制御可能な培養表面の構築を行う。ハニカム構造フィルムの材質や3次元構造の最適化を行い、未分化状態もしくは多分化能を保持した細胞を効率よく増殖可能な培養表面を構築し、これによりバイオ心筋作製に適した細胞源の提供を支援する培養基材の開発を行う。

上記開発項目について、ハニカムフィルムの開発と、吸着タンパク質と細胞を用いた基礎的解析を東北大学が行い、筋由来細胞群や間葉系幹細胞での評価・解析を大阪大学が行う。

## ② バイオ心筋の機能向上技術の開発

### ②-1. 血管網を付与したバイオ心筋の開発 （東京女子医大）

細胞シート積層化により作製可能な心筋再生組織の厚さには酸素・栄養の透過性に起因する限界があり、より厚く機能的なバイオ心筋を作製するためにはいかに血管新生を促進し生体と同様な豊富な血管網を組織内に再構築するかが課題である。平成18-19年度の研究開発では酸素・栄養の拡散のみで生存する細胞シート数層の再生心筋組織を生体内に移植後、組織内に血管網が新生されるのを待って新たな再生心筋組織を繰り返し移植する技術により厚さ約1mmのバイオ心筋の作製を実現した。一方、生体外においても血管の構成細胞である血管内皮細胞を細胞シートと共培養することにより血管内皮細胞が網目構造を形成し一部管腔化することが示された。そこで平成20-21年度においては生体外においてこの血管内皮細胞の網目構造の管腔化を促進し、培地を還流することで酸素・栄養を供給できる血管網とし生体内と同様な厚みのあるバイオ心筋を作製する技術開発を行う。

具体的には培地還流可能な毛細血管あるいは毛細血管様構造を持った支持組織（バイオ血管床）を作製し、その上に内皮細胞を共培養した積層化細胞シートを移植、さらにバイオリアクターを用いて生体と類似の3次元環境を作り出すことでバイオ血管床と積層化細胞シート間での血管網の結合ならびに細胞シート内への培地還流を実現する。さらに生体内における繰り返し移植と同様にバイオ血管床に積層化細胞シートを繰り返し移植することで生体外でのスケールアップを図る。

平成20年度には、生体を模擬したバイオ血管床の作製、組織還流用バイオリアクターの設計・作製と還流条件の最適化、バイオ血管床への積層化細胞シートの移植実験を行う。平成21年度には積層化細胞シート内血管網新生促進に向けた培養条件の最適化と繰り返し移植を行う。これら生体外におけるバイオ心筋への血管網付与・促進を可能とする組織工学的手法ならびに外科的手技により最終的に心筋欠損部を補てんできるような厚さ5mmのバイオ心筋の実現を目指す。

### ②-2. バイオ心筋加工工程・システムの確立

（大阪大学、東京女子医大、株式会社セルシード、再委託先：エイブル株式会社）

バイオ心筋の臨床応用ならびに産業化に向けて細胞培養、細胞シートの回収、積層化、バイオリアクターによる組織培養、さらに血管網付与といった一連の工程を安全かつ安定に行う必要があるそれぞれの工程における装置開発ならびに標準操作方法の確立が重要である。平成18-19年度の研究開発では種々の細胞シートの積層化を実現するコンパクト化細胞シート自動積層化装置の開発（株式会社セルシード）ならびに積層化細胞シートの生体外での維持培養を可能とする還流バイオリアクターのプロトタイプを製作し（東京女子医大）1週間までの維持培養を実現した。平成20-21年度においては一連のバイオ心筋加工工程を統合したシステム構築を行うことを目的に加工工程に共通な積層化細胞シート移送デバイスの開発を行うとともにモニタリングデータに基づいた還流量の調節など制御機構を有したバイオリアクターの開発を行う。またバイオリアクターのポンプ・タンク・モニタリングおよび制御機構など各パーツに関しては項目②-1の血管網付与技術に必要なバイオリアクター（高機能化バイオリアクター）と共通な形で設計・開発を行う。さらに項目③で開発される評価技術を順次組み込みこむことで安全性・有効性をモニタリングできるような加工工程を構築する。また②-3における移植実験結果と対比することで安全性・有効性を予測しうる評価項目の抽出を行う。

平成20年度には、細胞シート移送デバイスの開発（株式会社セルシード）ならびに制御機構を有したバイオリアクターの開発（エイブル株式会社）を行い自動積層化装置を用いて作製した積層化細胞シートの移送ならびに還流培養条件の最適化を行う（東京女子医大、株式会社セルシード）。平成21年度には血管網付与技術ならびに評価技術を組み込んだ加工工程を構築する（大阪大学、東京女子医大、株式会社セルシード、再委託先：エイブル株式会社）とともにバイオ心筋作製の標準操作法、安全性・有効性に関する評価項目の選定を行う（株式会社セルシード）。

### ②-3. 有効性に関する比較試験および最適化

(大阪大学、東京女子医大、再委託先：国立循環器病センター)

最適なバイオ心筋ならびにその移植法の選定を目的に小動物あるいは大動物心不全モデルへの移植実験を行う。平成18-19年度までの小動物実験においては積層化枚数の限界、血管内皮細胞共培養シート移植の有効性、大網移植の有用性を確認し、また大動物実験においては間葉系幹細胞シート移植の心機能改善効果を確認した。平成20-21年度は主にブタ心筋梗塞モデルを用いてこれまでに開発された細胞源の違いによる積層化細胞シートの移植効果の比較実験を行う。また血管内皮細胞共培養シートの有効性に関して大動物実験における有効性を確認する。また②-2で開発される加工工程で作製されたバイオ心筋の移植実験を随時行いその安全性・有効性を評価するとともに安全性・有効性を予測しうる評価項目の抽出を行う。移植後の評価においては心臓超音波による心機能測定に加えPET、SPECTなどの高度先進画像診断装置を利用することで心筋血流量の定量的評価を行う。

平成20年度には細胞源に関する比較実験ならびに大動物を用いた内皮細胞共培養細胞シートの移植実験を行う(大阪大学、国立循環器病センター)。平成21年度には②-2で作製されるバイオ心筋の移植試験を行い最も有効なバイオ心筋を選定するとともに最適な移植法を確立する(大阪大学、東京女子医大、再委託先：国立循環器病センター)。

### ③ バイオ心筋評価技術の開発

#### ③-1. バイオ心筋の機能評価技術の開発 (大阪大学)

バイオ心筋の機能に応じた、最適な評価項目について開発を行い、サイトカイン分泌能を評価可能な技術等を構築する。また、シート内には、筋芽細胞や血管内皮細胞だけではなく、繊維芽細胞が存在することが知られており、細胞純度測定はシートの機能性に大きく依存すると考えられる。そこで、平成20年度内に細胞純度を評価できる手法を構築し、平成21年度では、純度とサイトカイン分泌能、力学的応答特性、電気的応答特性の関係を導き、最適なシート構造について検討する。

また、バイオ心筋の力学的応答特性は、移植後の重層化細胞シートの安定性を示す重要な評価パラメータであると考えられる。そこで、平成20年度において、力学的応答特性を測定できる技術を構築し、収縮・弛緩などの力学的機能を評価する。平成21年度では、積層の程度と力学的特性の関係を導き、バイオ心筋の機能評価指標としての可能性を検討する。さらに、バイオ心筋の電気生理学的特性を評価することは、バイオ心筋移植後の宿主心筋との接続や、バイオ心筋を原因とする不整脈を回避する上でも重要である。平成19年度までに電位感受性色素などを用いた蛍光イメージングや刺入電極により、迅速かつ低侵襲で確認する技術を構築した。そこで、平成20年度は、侵襲の程度の異なる積層化細胞シートでの電気的機能評価を行い、平成21年度では、バイオ心筋を対象とした電気的応答と力学的応答について検討を行い、それぞれの相関関係を導出する。

#### ③-2. バイオ心筋の立体的評価技術の開発 (大阪大学、東京女子医科大学)

立体的構造を有するバイオ心筋内では、生存細胞、分化、代謝活性などの種々の品質に関連する指標が、3次元的分布を有し、品質の立体的な不均一性を引き起こす。

平成19年度までに、バイオ心筋の立体解析について実施可能なシステムの検討を行い、シート内の細胞密度計測、死細胞および増殖細胞頻度の算出を可能とするシステムを構築した。そこで、平成20-21年度は、②-1で「バイオ心筋維持・高機能化バイオリクターの開発」を行う東京女子医科大学の開発内容と連携し、バイオリクターで作成されたバイオ心筋への適用を実施する。さらに、血管内皮細胞による血管ネットワーク形成の定量的評価が可能なシステムの構築を平成21年度までに構築し、血管形成評価技術を確立する。

### ④ 学会発表・情報収集 (各委託、再委託先)

本研究開発の成果を国内学会や、アメリカ心臓協会学術集会、国際再生医療学会等に発表する。発表手段としては、個別の成果の発表に加え、必要ならば全体の成果発表会等を行い、本事業の目的であるバイオ心筋医療の基盤確立についての周知と議論を求めることも考慮する。あわせて、これらの学会等を通して、研究開発に必要な情報の収集活動を行う。

### ⑥ 運営・管理 (大阪大学、株式会社セルシード)

本分野に関する医学・工学等の専門家から構成される推進委員会を年に3回程度開催し、開発進捗状況の把握と問題点の検討等を行う。また、再委託先への検査を行い、適正な運用がなされているこ

とを確認する。

2.3 研究開発計画

A. 平成18年～19年度

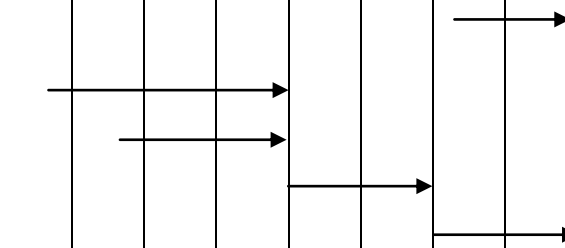
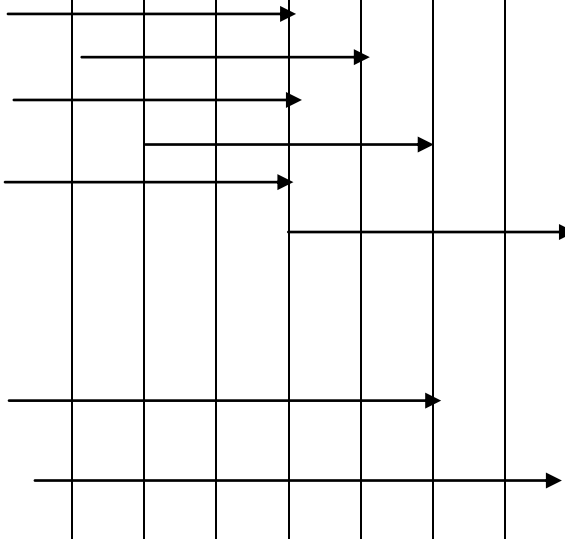
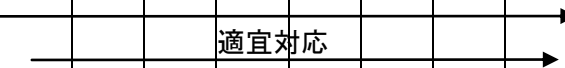
事業項目	H18年度				H19年度			
	第1 四 半 期	第2 四 半 期	第3 四 半 期	第4 四 半 期	第1 四 半 期	第2 四 半 期	第3 四 半 期	第4 四 半 期
<b>①バイオ心筋機能向上技術の開発</b> ①-1. 積層化装置精緻化・コンパクト化システムの開発 ①-1-1. 積層化条件の検討 ①-1-2. 積層化装置のコンパクト化 ①-2. バイオ心筋維持・高機能化バイオリアクターの開発 ①-3. 血管網を付与したバイオ心筋の開発 ①-4. バイオ心筋製造工程・システムの確立 ①-5. 血管網を誘導する移植技術の確立 ①-6. 有効性に関する比較試験および最適化								
<b>②バイオ心筋評価技術の開発</b> ②-1. バイオ心筋の安全性評価技術の開発 ②-1-1. 血清残存量、細胞腫瘍化の評価系比較検討 ②-1-2. ゲノムレベルでの安全性評価 ②-2. バイオ心筋の機能評価技術の開発 ②-2-1. 単層細胞シートカルシウム伝播の評価 ②-2-2. 多層細胞シート評価技術の基礎検討 ②-3. バイオ心筋の立体的評価技術の開発 ②-3-1. 外観解析システムの構築 ②-3-2. 内部構造解析システムの構築 ②-4. 学会発表・情報収集								

<b>③細胞源の開発</b> ③-1. 筋芽細胞、骨格筋内幹細胞の開発 ③-1-1.候補細胞群の特定 ③-1-2.細胞単離、培養条件の最適化  ③-2. 間葉系幹細胞の開発 ③-2-1.候補細胞群の特定 ③-2-2.細胞単離、培養条件の最適化  ③-3. 分化・増殖因子の開発 ③-3-1.心筋分化誘導因子候補の同定 ③-3-2.作用機序の解明				→				→
<b>④細胞機能制御技術の開発</b> ④-1.細胞の接着挙動と機能の解明 ④-2.細胞機能制御できる培養システムの開発				→				→
<b>⑤学会発表・情報収集</b>			○		○		○	
<b>⑥運営・管理</b> ⑥-1.研究推進委員会開催 ⑥-2.検査等管理					適宜開催			→
					適宜対応			→

B. 平成20年～21年度

事業項目	H20年度				H21年度			
	第1 四半 期	第2 四半 期	第3 四半 期	第4 四半 期	第1 四半 期	第2 四半 期	第3 四半 期	第4 四半 期
<b>①細胞源・増殖因子の探索</b> ①-1. 筋芽細胞、骨格筋内幹細胞の開発 ①-1-1. 筋芽細胞のキャラクタリゼーション ①-1-2. 骨格筋内幹細胞群での心機能改善効果の比較 ①-1-3. ヒト骨格筋幹細胞の単離条件検討 ①-1-4. 移植実験による分化能検討 ①-2. 間葉系幹細胞の開発 ①-2-1. 分化能と心機能の相関検討 ①-2-2. 血管内皮細胞との共培養による機能向上 ①-2-3. 大動物での心機能改善効果の検討 ①-3. 分化・増殖因子の開発 ①-3-1. 細胞源における分化誘導能の検討 ①-3-2. <i>in vivo</i> における心筋分化誘導能の検討 ①-4. バイオ心筋の安全性評価技術の開発 ①-4-1. ゲノム異常の解析法の確立 ①-4-2. バイオ心筋への応用 ①-4-3. 異種由来原料の解析法確立 ①-4-4. バイオ心筋への応用 ①-5. 機能制御技術の開発 ①-5-1. フィルム構造と細胞源の相関 ①-5-2. 細胞制御可能な培養表面の構築								
<b>②バイオ心筋の機能向上技術の開発</b> ②-1. 血管網を付与したバイオ心筋の開発 ②-1-1 生体を模擬した血管床の作製 ②-1-2 組織還流用バイオリアクターの作製 ②-1-3 還流用バイオリアクター還流条件の最適化 ②-1-4 バイオ血管床への積層化細胞シート移植 ②-1-5 血管網新生促進のための培養条件最適化 ②-1-6 バイオ血管床への繰り返し移植 ②-2. バイオ心筋製造工程・システムの確立 ②-2-1 細胞シート移送デバイスの開発 ②-2-2 制御機構付きバイオリアクターの作製 ②-2-3 移送ならびに培養条件の最適化 ②-2-4 血管網付与技術を組み込んだ加工工程の構築 ②-2-5 評価技術を組み込んだ加工工程の構築								

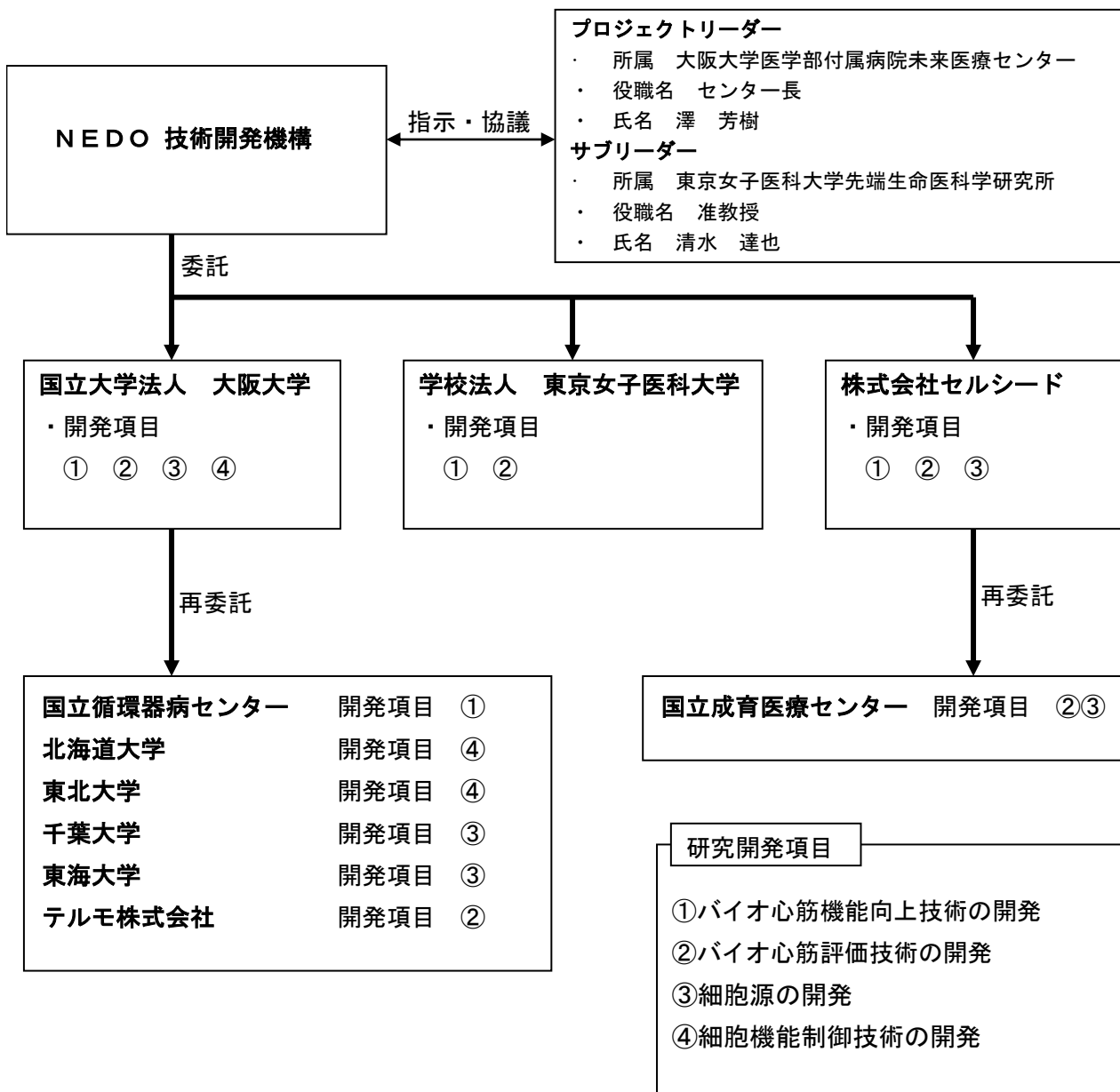


<p>②-2-6 バイオ心筋標準操作法の作製          ②-2-7 バイオ心筋安全性・有効性評価項目の選定          ②-3. 有効性に関する比較試験および最適化          ②-3-1 細胞源に関する比較実験          ②-3-2 内皮細胞共培養シート移植実験          ②-3-3 バイオ心筋移植法の最適化          ②-3-4 バイオ心筋移植有効性評価</p>							
<p><b>③バイオ心筋評価技術の開発</b>           ③-2. バイオ心筋の機能評価技術の開発          ③-2-1. サイトカイン分泌能評価技術の開発          ③-2-2. 細胞純度測定技術の構築          ③-2-3. 力学的応答特性評価技術の構築          ③-2-4. 収縮・弛緩などの力学的機能評価          ③-2-5. 電氣的機能評価          ③-2-6. 細胞純度に対するサイトカイン分泌，電氣的          応答，力学的応答との相関比較           ③-3. バイオ心筋の立体的評価技術の開発          ③-3-1. バイオリアクターで作成されたバイオ心筋へ          の適用          ③-3-2. 血管内皮細胞による血管ネットワーク形成の          定量的評価可能なシステム構築</p>							
<p><b>④学会発表・情報収集</b></p>		○	○	○			
<p><b>⑤運営・管理</b>          ⑤-1.研究推進委員会開催          ⑤-2.検査等管理</p>			年3回程度開催				

2.4 研究開発の実施体制

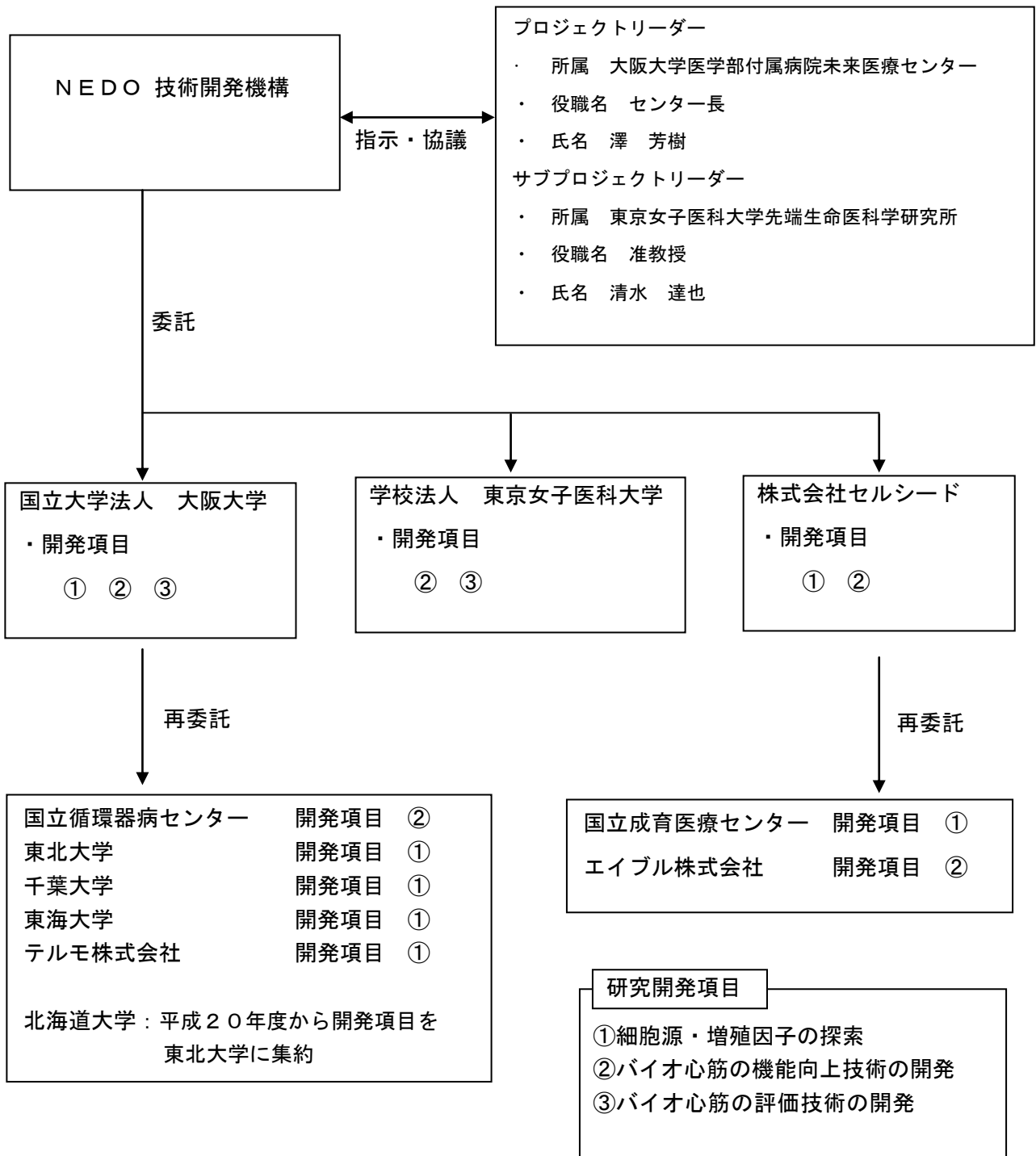
A. 平成18年度～19年度

本プロジェクトの実施にあたってはNEDO 技術開発機構（NEDO）が指名等を行ったプロジェクトリーダー（PL）及びサブプロジェクトリーダー（サブPL）から、当該PL及びサブPLとNEDO担当部室との間で了解されたミッションに基づき、適宜指導・助言を受ける。





B. 平成20年度～21年度



## 2.5 研究開発の運営管理

研究開発全体の管理・執行に責任を有するNEDO技術開発機構は、経済産業省および研究開発責任者と密接な関係を維持しつつ、プログラムの目的及び目標、並びに本研究開発の目的及び目標に照らして適切な運営管理を実施している。全体のとりまとめは、澤 芳樹プロジェクトリーダー、清水達也サブプロジェクトリーダーがNEDOと連携して実施している。

### 2.5.1 心筋再生治療研究開発推進委員会

本事業を計画的かつ効率的に推進するために委託研究機関に対し、1) 必要な研究開発計画の立案・変更、2) 研究開発成果の評価、3) その他研究開発活動の推進に必要な事項に関する必要な助言等を行う機関として設置され、各年度2回、計8回実施された。

委員メンバー	所属・役職
大野 邦夫	株式会社テラ 監査役
大橋 武久	奈良先端科学技術大学院大学 バイオサイエンス研究科 客員教授
岡野 光夫	東京女子医科大学 先端生命医科学研究所 所長
楠岡 英雄	国立病院機構 大阪医療センター 病院長
田口 隆久	産業技術総合研究所 関西センター 所長
西川 伸一	理化学研究所 発生・再生科学総合研究センター 副センター長
山岡 哲二	国立循環器病センター研究所 生体工学部 部長

主な助言として、「プロジェクトの進行は全般として順調ではあるが、細胞ソースから移植方法まで全体的に散逸的になりがちなプロジェクトとなっているため、基幹技術を明確に打ち出し重要性を序列づけるように」との指摘があった他、筋芽細胞の純度と治療効果、細胞注入による不整脈の発生と安全性、筋芽細胞以外の細胞源、筋芽細胞の培養、移植サイズ、移植組織への血管導入、生体への生着、効果の評価方法に関する助言があり、これらを受け、今後の研究開発に反映する。

### 2.5.2 進捗ヒアリング

年間2～3回、委託先、再委託先全機関の研究代表者が集まり、プロジェクトの達成目標・分担を明確化した上で、その研究進行状況を報告し合い、問題点の共有化・解決に向けた議論を行い、目標達成までの道筋を明らかにする。平成22年3月までに8回実施した。

メンバーは、プロジェクトリーダー、サブリーダー、委託先（大阪大学、東京女子医科大学、株式会社セルシード）及び、再委託先（国立循環器病センター、北海道大学、東北大学、千葉大学、東海大学、テルモ株式会社、国立成育医療センター、エイブル株式会社）の研究代表者である。

また、この全体会議を補完するために、研究の進捗に合わせて、各個別のワーキング・グループによる会合を随時実施した。

### 2.5.3 マイルストーンの設定

各委託先、再委託先の研究項目を有機的に結びつけ、効率的に開発を進め、事業最終目標を期限内に達成するために、各研究テーマ毎に年度ごとのマイルストーンを設定し、研究の進捗を管理している。各項目のマイルストーンを以下のとおりである。

#### A. 平成18年度～19年度

##### ① バイオ心筋機能向上技術の開発

##### ①-1 積層化装置精緻化・コンパクト化システムの開発 (株式会社セルシード)

平成18年度： 各細胞シートの積層化に最適な脱着温度・時間を設定、コンパクト化のための改良設計

- 平成19年度： 積層化条件の決定と CPC 内での使用を前提とした装置の試作
- ①-2 バイオ心筋維持・高機能化バイオリクターの開発 (大阪大学、東京女子医科大学)  
 平成18年度： 3日間維持培養できるバイオリクターの開発  
 平成19年度： 1週間維持培養できるバイオリクターの開発
- ①-3 血管網を付与したバイオ心筋の開発 (東京女子医科大学)  
 平成18年度： 共培養細胞シートを積層化することで血管構成細胞の網目構造を伴った5層までのバイオ心筋を作製  
 平成19年度： 形成された血管構成細胞の網目構造の管腔化を促進する培養系の開発の実現
- ①-4 バイオ心筋製造工程・システムの確立 (大阪大学、東京女子医科大学、株式会社セルシード)  
 平成19年度： バイオ心筋製造工程・システムの開発に着手する
- ①-5 血管網を誘導する移植技術の確立 (大阪大学、東京女子医科大学、再委託先：国立循環器病センター)  
 平成18年度： 積層化細胞シートの移植実験による積層可能枚数の明確化と体内とインキュベート効果の解析。血管網誘導移植技術の検討。  
 平成19年度： 積層化による有効性および積層化の限界点と心機能改善効果とそのメカニズムについて検討、血管網誘導移植技術の開発と厚さ1mmのバイオ心筋の作製
- ①-6 有効性に関する比較試験および最適化 (大阪大学、東京女子医科大学、再委託先：国立循環器病センター)  
 平成18年度： 実験プロトコールの統一化  
 平成19年度： 有効と考えられる細胞シートの比較検討
- ② バイオ心筋評価技術の開発
- ②-1 バイオ心筋の安全性評価技術の開発 (大阪大学、株式会社セルシード、再委託先：テルモ株式会社、国立成育医療センター)  
 平成18年度： バイオ心筋の残存ウシ血清由来蛋白質の測定とゲノムレベルでの異常検出方法の予備検討  
 平成19年度： バイオ心筋の残存ウシ血清由来蛋白質の測定とゲノムレベルでの異常検出方法の確立
- ②-2 バイオ心筋の機能評価技術の開発 (大阪大学)  
 平成18年度： 単層細胞シートの電気生理学的評価技術の検討  
 平成19年度： 多層化細胞シートでの評価技術の検討
- ②-3 バイオ心筋の立体的評価技術の開発 (大阪大学、東京女子医科大学)  
 平成18年度： バイオ心筋の外観解析、構造評価の予備検討  
 平成19年度： 細胞の生死細胞判定による生存率および異常増殖細胞頻度の算出を可能とするシステムの基本設計
- ③ 細胞源の開発
- ③-1 筋芽細胞、骨格筋内幹細胞の開発 (大阪大学、再委託先：東海大学)  
 平成18年度： 候補細胞群の特定とその機能を検証  
 平成19年度： 候補細胞群の単離・培養条件の最適化、候補細胞間での心機能改善効果について比較検討、心筋分化能の解析
- ③-2 間葉系幹細胞の開発 (大阪大学、株式会社セルシード、再委託先：国立成育医療センター)  
 平成18年度： 候補細胞群の特定とその機能を検証  
 平成19年度： 候補細胞群の単離・培養条件の最適化、候補細胞間での心機能改善効果について比較検討、心筋分化能の解析
- ③-3 分化・増殖因子の開発 (大阪大学、再委託先：千葉大学)  
 平成18年度： 候補因子の特定とその機能を検証  
 平成19年度： 候補因子が心筋分化誘導を起こす分子メカニズムの検討、筋芽、間葉系候補細胞群に対する心筋分化誘導評価

- ④ 細胞機能制御技術の開発 (大阪大学、再委託先：北海道大学)  
平成18年度： 基材が細胞間の相互作用などに及ぼす影響について検討  
平成19年度： 細胞と表面に吸着するタンパク質、表面構造、孔径などの相関を検討、細胞の機能制御が可能な表面構造を持つ足場を用いた培養システムの基礎検討

## B. 平成20年度～21年度

- ① 細胞源・増殖因子の探索
- ①-1 筋芽細胞、骨格筋内幹細胞の開発 (大阪大学、再委託先：東海大学)  
平成20年度： ヒト筋芽細胞の表面抗原等によるキャラクタリゼーション、ヒト骨格筋幹細胞の単離条件検討の確立  
平成21年度： ヒト骨格筋幹細胞の培養条件確立と移植実験による分化能の検討、および筋芽細胞との比較
- ①-2 間葉系幹細胞の開発 (大阪大学)  
平成20年度： 小動物への移植で心機能改善効果を検討し、血管内皮細胞との共培養による血管網の効果を検討  
平成21年度： 前臨床研究を目指した、大動物での細胞単離・培養系の確立と心機能改善効果の確認
- ①-3 分化・増殖因子の開発 (大阪大学、再委託先：千葉大学)  
平成20年度： 心筋分化効率の高い細胞を選定し、さらに分化誘導法の最適化を試みる  
平成21年度： 心不全モデルに対し幹細胞・前駆細胞から分化誘導した心筋細胞を移植し、心機能改善効果を検討
- ①-4 バイオ心筋の安全性評価技術の開発  
(大阪大学、セルシード、再委託先：テルモ、国立成育医療センター)  
平成20年度： 残存ウシ血清由来蛋白質の残存原因を解明し洗浄条件を改良、および異種血清由来糖鎖とタンパク質の解析法を確立  
平成21年度： バイオ心筋の洗浄方法確立、およびゲノムレベルでの変異を生じない安全なヒト細胞の安全性確認技術を開発
- ①-5 機能制御技術の開発 (大阪大学、再委託先：北海道大学、東北大学)  
平成20年度： ハニカム構造フィルムの加工処理条件を確定し、筋由来細胞群や間葉系幹細胞に対して機能評価を検討  
平成21年度： ハニカム構造フィルムの材質や3次元構造の最適化を行い、細胞源の増殖・分化制御を検討
- ② バイオ心筋の機能向上技術の開発
- ②-1 血管網を付与したバイオ心筋の開発 (東京女子医科大学)  
平成20年度： バイオ心筋内に血管網を誘導するための足場となるバイオ血管床の作製  
組織還流用バイオリアクターによる還流培養条件の最適化  
バイオ血管床上へのバイオ心筋の移植条件の検討  
平成21年度： バイオ心筋内への血管網新生促進のための還流培養条件の最適化  
血管床上へのバイオ心筋の多段階移植による厚さ5mmの組織作製
- ②-2 バイオ心筋製造工程・システムの確立  
(大阪大、東京女子医科大学、セルシード、再委託先：エイブル)  
平成20年度： 積層化スタンプゲルの改良バイオリアクターへの移送(繰り返し積層化)に最適化、および移送条件の検討  
維持培養装置(還流装置)およびチャンバーの仕様決定および作製、スタンプからの移送方法検討  
平成21年度： 改良スタンプ・治具での移送実験(評価)、およびバイオ血管床への生着を促進させる培養条件の検討  
維持培養装置全体の改良(最適化)と評価。

安全性・有効性をモニタリングできるような加工工程を構築し、加工装置を設計・試作する

バイオ心筋作製の標準操作法の確立、安全性・有効性に関する評価項目の決定

②-3 有効性に関する比較試験および最適化

(大阪大学、東京女子医科大学、再委託先：国立循環器病センター)

平成20年度： 大動物実験による細胞源の違いによる移植効果の比較、および内皮細胞共培養細胞シートの効果を検討

平成21年度： バイオ心筋の移植実験法を確立するとともに安全性・有効性を評価し、最も効果の高いバイオ心筋の選択

③ バイオ心筋評価技術の開発

③-1 バイオ心筋の機能評価技術の開発 (大阪大学)

平成20年度： 細胞純度測定技術の構築、サイトカイン分泌能評価技術の開発、力学的応答特性評価に対する基礎技術の構築

平成21年度： 力学的機能評価、電気的機能評価、細胞純度に対するサイトカイン分泌、電気的応答、力学的応答との相関比較

③-2 バイオ心筋の立体的評価技術の開発 (大阪大学、東京女子医科大学)

平成20年度： バイオリアクターで作成されたバイオ心筋への適用、筋芽細胞シート内の血管内皮細胞分布評価に対する基礎構築

平成21年度： 血管ネットワーク形成の定量的評価可能なシステム構築 (最適化された培養条件での総合的検討)

2.5.4 有識者からの指導・助言

氏名	所属・役職	指導・助言等の内容
鈴木 憲	Professor of Translational Cardiovascular Therapeutics, William Harvey Research Institute, Barts and The London Hospital, Queen Mary's School of Medicine and Dentistry, University of London	心筋再生における細胞源、および細胞移植の方法について指導・助言をいただく

鈴木 憲教授から、平成19年9月までに2度、バイオ心筋の移植等に係る会議を実施し、筋芽細胞の細胞移植と細胞シート移植の場合による不整脈発生頻度の違い、移植による炎症反応が心機能改善効果に及ぼす影響、筋芽細胞の表面マーカーなどによる性格付けとその心機能改善効果、不整脈や炎症などの関連性などが今後の検討課題である、との指導・助言を得た。

II-3 情勢変化への対応

開発推進委員会からの助言及び国内外の情勢の変化に対応し、プロジェクトの実施内容を一部変更または追加した。

1. 採択条件である「提案内容は網羅的であり冗長的な面も見受けられるので、散漫にならないように課題の集約化を図る必要がある。成果等を踏まえて中間評価にて検討を行う。」、さらに開発委員会での「プロジェクトの進行は全般として順調ではあるが、細胞ソースから移植方法まで全体的に散逸的になりがちなプロジェクトとなっているため、基幹技術を明確に打ち出し重要性を序列づけるように」との指摘に対応し、厚みのあるバイオ心筋を製造するシステムを完成させることを主軸にして開発を進めていく。一方、それに付随した分化・増殖因子の開発、

細胞機能制御の開発及び心筋評価技術の開発については、中間評価のコメント・提言を踏まえて優先順位をつけ実施内容の絞り込み等を行った。

2. 「本プロジェクトは再生医療に関する世界的に最先端の研究であり、公開シンポジウムを開催してはどうか」との指摘に対して、平成19年度の第29回日本バイオマテリアル学会大会のサテライトシンポジウムとして開催した。

また、本事業における成果を広く周知させるとともに、最終目標に対して必要な補完事項を確認することを目的として、平成21年度の第31回日本バイオマテリアル学会大会において発表会を実施した。また平成22年3月に単独の公開シンポジウムを開催した。

#### II-4 中間評価結果への対応

平成19年度に実施された自主中間評価で得られた指摘事項、1) 提案課題が総合的・網羅的でありプロジェクト前期において技術集約が十分に果されていない、2) 細胞源の開発では多少機能的に不満足な幹細胞種を用いても臨床応用のための研究を強力に推進することが必要と考える、3) 細胞機能制御技術の開発では開発体制の重点化必要と考える、に対応して研究課題の重点化と集中化を目的とする項目の変更を実施した。

具体的には、細胞源の開発および細胞機能制御技術の開発について、細胞源を筋芽細胞、骨格筋内幹細胞、間葉系幹細胞の3つに限定し、その分化・増殖因子、機能制御、および安全性の検討することで課題を再構成した。(別紙1参照) これに伴い、バイオ心筋の評価技術についても、安全性・機能性・立体的評価の検討項目のうち安全性評価を選択した細胞源に絞り実施することで、機能性および立体的評価の2点への重点化を可能とした。

#### II-5 評価に関する事項

「特になし」

### Ⅲ. 研究開発成果について

#### Ⅲ-1 事業全体の成果

細胞源・増殖因子の探索では、従来の方ですでに臨床応用している筋芽細胞において、細胞制御技術、および、安全性評価技術を確立したことで、事業化に向けた道筋が大きく進んだものとする。一方、間葉系幹細胞については、心筋への分化の可能性を踏まえつつ、筋芽細胞に足して使用することで非常に大きなポテンシャルをもった方法として臨床応用できる可能性が示唆された。

最終目標である、血管網を有する厚い組織の構築については、本研究期間で*in vivo*、*in vitro*両方で行なわれ、*in vitro*では1週間以上組織を維持培養できるような血管床の技術を得ることができた。一方、*in vivo*では、大網への移植、大網を使って血流をフィーディングすることで、これによって目標値である厚さ5 mm以上の組織を構築ということが可能となった。心機能の改善も、30%ぐらいのEFを55%程度まで回復することが確認され、十分なポテンシャルが得られていると考える。

評価技術については、バイオ心筋の立体的評価、それから、細胞流動性を指標としたバイオ心筋の機能評価技術を開発し、その血管ネットワークを有する疑似組織体の解析、それから、薬剤スクリーニングなどへの応用を含めた展開が期待できると考える。

筋芽細胞で始まった治療が、本プロジェクトを経て、間葉系幹細胞との組み合わせ、もしくは、大網を利用した治療として次の世代でさらにポテンシャルを強くしていくと考えられ、最終的にはES/iPS細胞というものも加わってまた新たな細胞治療が展開できるので技術が確立できたと考察する。一方、この臨床の基礎を支える基盤技術として、*in vitro*での組織構築技術の確立、分化誘導、細胞制御、安全性評価、機能評価という技術がこのプロジェクトの中で完成しており、これらは心筋治療のみならず色々な分野でも応用可能と考えられる。

#### Ⅲ-2 目的に照らした達成状況

目標の達成状況

達成時期	達成目標	研究開発の成果	達成度
中間評価時 (平成19年度末)	厚さ1 mmのバイオ心筋を作製する。	候補となる細胞の機能評価を実施し、心筋治療の細胞源となる細胞種の絞り込みを実施するとともに、小動物を用いた実験では皮下組織に細胞シート3層を毎日繰り返し移植することにより厚さ1 mmの組織の作製が可能となった。また、あらかじめ血管内皮細胞を細胞シート内へ導入しておくことで、血管新生能力ならびに心機能改善効果の高いバイオ心筋が作製可能であることを明らかとした。	○
	バイオ心筋に酸素、栄養を供給できる血管網を付与する。		○

<p>終了評価時 (平成21年度末)</p>	<p>厚さ5 mm以上のバイオ心筋を作製する。</p>	<p>バイオ心筋の細胞源として心筋細胞源を開発するとともに、筋芽細胞に間葉系幹細胞を付加した早期に臨床応用が可能と考えられる細胞種の利用法を開発し、ブタの心筋梗塞モデルに対し大網を用いた細胞シートの移植を実施し、少なくとも5 mm以上の厚さの心筋組織を形成させることができた。この時、心機能の改善について、約30%のEFを55%程度まで回復することを確認した。</p>	○
	<p>血管網を有し、左室駆出率(EF) 5%以上の心機能を改善しうるバイオ心筋を作製する。</p>	<p>また、<i>in vitro</i>において積層した細胞シートを維持培養することで、毛細血管網を付与し、組織化する技術を確立した。</p>	○

### Ⅲ-3 研究開発項目毎の成果

#### ① 細胞源・増殖因子の探索

##### ①-1 筋芽細胞、骨格筋内幹細胞の開発 (大阪大学、再委託先：東海大学)

候補細胞群は、当初では広く可能性を探索したが、早期の臨床応用ということを考慮し、一番ドナーを得やすいという面から、平成19年度までに筋肉(筋芽細胞、骨格筋内幹細胞)と脂肪(間葉系幹細胞)の2つに絞り込んだ。

心筋細胞源を開発する目的で、骨格筋間質由来幹細胞(CD34<sup>+</sup> cells)の単離と分化能を検討し、Sk-34、Sk-DN両細胞とも心筋細胞への分化能を有しており、骨格筋、平滑筋、心筋の3種類の筋肉へ分化可能なmulti-myogenic stem cellであることを明らかにした。

骨格筋内幹細胞は、死細胞の少ない、細胞分化能を維持した単離法を検討し、単離に有効な血清濃度、酵素処理時間、細胞保護のための添加物、及び単離に有効な細胞表面マーカーについての検討を行った。

骨格筋内幹細胞からは、少なくともIsl-1やGATA-4が確認され、例えば脂肪への分化の場合、骨への分化とともに筋肉系の細胞への分化は可能であるということが確認でき、質の良い筋芽細胞を作ることができる可能性があることが示唆された。候補細胞群を用いて作製された積層化細胞シートについては、小動物での心機能改善効果を確認した。

##### ①-2 間葉系幹細胞の開発 (大阪大学)

本開発では、脂肪由来の間葉系幹細胞に限定し検討を行った。ヒト組織由来間葉系幹細胞や脂肪組織由来多系統前駆細胞等を細胞源として、最適な培養条件及び個々の細胞に見合う最適な培養環境を検討し、高い分化効率で目的細胞が得られる培養法を樹立した。DMSO等で分化した細胞はIsl-1、Nkx2.5、GATA-4、alpha cardiac actinを発現する細胞が開発できた。最終的に、*in vitro*では拍動は確認できなかったが、これを移植したところ、従来の分化させないADMPC脂肪由来間葉系幹細胞に対して、心機能の改善が確認された。このとき、組織像では筋肉層が確認でき、これを蛍光染色で観察するとmyosin heavy chainのタンパク質がこのalpha cardiac actinと一致し、かつ、



ヒト由来であることを確認でき、従来の間葉系幹細胞の移植に比べて心筋組織の中で心筋細胞に近い状況に分化する可能性が示唆された。

さらに、筋芽細胞と間葉系幹細胞それぞれの異なる特徴・特色に着目し、筋芽細胞に間葉系幹細胞を加えることでどのような相乗効果が生じるかについて検討を実施した。すなわち、筋芽細胞はサイトカインセラピーという形で応用されるのに対し、間葉系幹細胞はある程度分化を促進しながら心筋という環境因子の中では心筋に近い細胞に分化する可能性、もしくは、血管新生等を加えたそれ以上の可能性もあることを検証した。筋芽細胞と間葉系幹細胞を両方入れるもの、筋芽細胞だけ、間葉系幹細胞だけのグループで検証したところ、筋芽細胞だけと間葉系幹細胞だけのデータは心臓の大きさの変化等に大きな差がないという程度の効果であったが、両方の細胞を用いて実施したものについては大きな相乗効果をもたらすということが確認された。これを組織学的に検証しても、これまでのfibrosisや細胞のサイズについて、どれも筋芽細胞単独、脂肪由来細胞単独に対しエンハンスするようなデータを得ることができた。すなわち、線維化も血管新生もより強い細胞治療の効果がでるとということが示唆された。このように、サイトカインをエンハンスするということは一つの大きなメカニズムであって、それはこのような相乗効果にも寄与しているということがわかった。細胞の生着についても、筋芽細胞単独よりも間葉系幹細胞を付加することで、生存率を圧倒的に改善することができた。これらは増殖因子、血管新生、等のメカニズムが関与して、細胞が生存する環境を向上させることができたという証であると考察する。

#### ①-3 分化・増殖因子の開発 (大阪大学、再委託先：千葉大学)

前プロジェクトから継続して研究を行ってきた増殖因子がIGFBP-4であるということを確認し、長期の研究成果からNature Letterに採用された。これは、P19CL6という細胞にDMSOを加えることで分化をさせることで心筋分化への可能性が示唆され、現時点で拍動は得られていないが、電気活動を含めて*in vitro*での心筋分化の可能性が検証された。また、これまではES細胞でのレベルでの検証であったが、間葉系幹細胞においても同様に応用できるという可能性が得られた。これについては、分化能を他の分化誘導因子に比較して検証を行った。

#### ①-4 バイオ心筋の安全性評価技術の開発

(大阪大学、セルシード、再委託先：テルモ、国立成育医療センター)

細胞源の安全性評価技術では、ゲノムレベルでの異常を検出する方法として、染色体核型解析およびComparative genomic hybridization (CGH) 法を用いて解析を進め、臨床応用のための、ゲノムレベルでの変異を生じないヒト細胞の安全性確認技術の開発を行い、両方による技術確立の見込みを得た。ヒトの筋芽細胞3種類についてこの方法で解析したところ、**deletion**がなく**amplification**も問題ないレベルであり、ヒト筋芽細胞シートでのゲノム異常の解析というものが可能であるということを確認し、評価のための技術を確認したと考える。一方、ウシ血清を添加するということから異種血清由来の糖鎖の含有というものをどう検証するかということで、一日で確認する方法を確立した。具体的には、異種由来物質のうちヒト細胞表面に認められるNアセチルノイラミン酸と非ヒト糖鎖であるNグリコシルノイラミン酸(NeuAc)を高感度に検証し、臨床応用可能な異種血清由来糖鎖とタンパク質の解析法について検討し、微量・高感度な検出方法を開発した。

一方、細胞シートの表面についたタンパクの除去の方法として、洗浄という方法がどのくらいの効果を有するかということ、ウシ血清アルブミン (BSA) を指標としてBSA残存量の測定方法を確立し、細胞シート形状を保持したまま残存BSAを低減できる洗浄条件を検討すると同時に、バイアビリティーや細胞の形態にどれだけ影響を及ぼすかということの検証も実施し、洗浄回数と細胞のダメージというものを確認した。具体的には、20回洗浄してもバイオ心筋の機能には問題ないということがわかった。

これらの手法については、今後、レギュラトリーサイエンス、特に現在の筋芽細胞シートでウシ血清を添加した培養方法を検証するレギュラトリーサイエンスに繋がるものであると考察する。

#### ①-5 機能制御技術の開発 (大阪大学、再委託先：北海道大学、東北大学、山形大学)

分化制御については、従来の技術であるハニカムフィルムの孔径の細胞増殖・分化への関与、すなわち分化・未分化、増殖の制御の可能性を検証した。検討の結果、筋芽細胞では孔径6ミクロンの場合に細胞増殖がピークに達するということがわかった。ハニカム孔径と細胞数の経時変化を検証

することで脂肪由来間葉系幹細胞に対する細胞増進効果についても評価することができた。

また、筋芽細胞の未分化を維持には細胞遊走性が重要であり、培養面へのラミニン塗布と培地へのEFG添加が相乗的に細胞遊走を増加させ、未分化のまま細胞増殖が可能であることを示した。さらに、間葉系幹細胞の心筋細胞への分化誘導の可能性について検討し、D-グルコース提示型デンドリマー培養面における細胞集塊形成は筋細胞の誘導を可能とすることを見出した。

## ② バイオ心筋の機能向上技術の開発

### ②-1 血管網を付与したバイオ心筋の開発 (東京女子医大)

これまでの検討にて、作製可能なバイオ心筋の厚みには、酸素および栄養素の透過性に起因する限界が存在することがわかっている。本研究開発項目では、酸素・栄養分を供給することのできる血管網を付与した厚く機能的なバイオ心筋を生体外 (*in vitro*) にて作製するための培養技術の確立を目指した。本研究開発ではその手順として、1) 細胞シートの移植後に宿主 (血管床) から血管網が新生することの確認、2) 細胞シート内に血管内皮細胞を混合し、共培養による血管網付与の検討、3) *in vivo* での多段階移植による血管網付与とスケールアップ、4) 生体を模倣した血管床模擬デバイスへの移植による *in vitro* での血管網付与とスケールアップの検討、を実施した。

平成18年度では、培養環境を計測・制御する目的で酸素および pH センサーを組み込んだバイオリアクターを試作し、培養液の酸素分圧および pH 値を安定に維持した状態でヒト筋芽細胞シートを5枚積層化したバイオ心筋組織を3日間還流培養することを可能とした。また、バイオ心筋への血管網を付与する方法として血管内皮細胞との共培養をにて検討し、一部管腔化を伴った毛細血管様の網目構造を有するバイオ心筋組織の作製方法も確立した。

平成19年度では、バイオリアクターの改良および培養条件の最適化を行い、ヒト筋芽細胞シートを5枚積層化したバイオ心筋組織に対して1週間の長期維持培養することに成功した。また、血管内皮細胞と心筋細胞からなる共培養細胞シートを積層化して作製したバイオ心筋組織をラット心筋梗塞モデルに移植して有用性を評価した結果、あらかじめ血管内皮細胞をバイオ心筋内へ導入しておくことで、血管新生能力ならびに心機能改善効果の高いバイオ心筋が作製可能であることを示した。

平成20年度では、生体組織ならびに高分子ハイドロゲルを用いてバイオ心筋内に血管網を誘導するための足場となるバイオ血管床を作製し、バイオリアクターによる還流培養条件ならびにバイオ心筋組織の移植条件の検討を行った。特に、コラーゲンゲル血管床上へ移植した積層化ラット心筋シートでは自律拍動を維持しながら5日間の環流培養を可能にした。さらに、積層化バイオ心筋と血管床の間に血管様構造物を介した送流も確認することができた。

平成21年度では、バイオ血管床へ移植した積層化バイオ心筋組織内への毛細血管網新生の評価および再生組織のスケールアップ技術としての有効性を検証した。大動静脈を含む大腿部筋組織を用いた生体組織由来血管床およびコラーゲンゲル血管床を用いた灌流培養において、ともに移植した積層化バイオ心筋組織内に機能的な毛細血管網を新生させることに成功した。(図2-1-13~14) また、再生組織のスケールアップ技術の有効性に関しては、コラーゲンゲル血管床へ積層化バイオ心筋組織を5日間おきに3段階の繰り返し積層を行うことで、積層化組織内への段階的な毛細血管網新生、それに伴う培養液の十分な供給により血管床上で長期的に再生組織を培養することが可能となった。従って、*in vitro* 培養系においても再生組織内に機能的な毛細血管網付与が可能であることが実証され、繰り返しの積層行程を経ることで再生組織のスケールアップが十分可能であることが示唆された。現時点では *in vitro* において厚さ 5 mm の心筋再生組織の作製には至ってはいないが、それを実施するための手法は確立できたものと考察する。

### ②-2 バイオ心筋製造工程・システムの確立

(大阪大、東京女子医大、セルシード、再委託先：エイブル)

臨床応用ならびに産業化に向けたバイオ心筋の製造技術の確立を目的とし、平成19年度にはコンパクト化された小型細胞シート自動積層化装置 (40 × 40 × 110 cm) を開発するとともに、バイオ心筋を安定に1週間維持培養できるバイオリアクターを試作した。平成20年度では、バイオ心

筋評価技術を取り入れた製造工程の確立を目的とし、工程管理に適した温度応答性培養表面を得るための新たな加工技術を確立するとともに、血管床の還流状態をモニタリングできる環流培養用バイオリアクターの開発を行った。その結果、画像から組織の圧、流量など24時間モニターしながら繰り返し移植が検討できるようになった。さらに、細胞シート移送デバイスを作製し、積層化バイオ心筋を環流培養用バイオリアクターに組み込まれた血管床へ移動させる技術も確立した。

平成21年度では、バイオ心筋作製手順を確立するために、細胞シートの作製から繰り返し移植までの工程を反復し実施し、詳細な製造条件の確立するための検討を行った。工程確立の過程において、小型細胞シート自動積層化装置については、より小型化し簡略化した機能のものを安価に作製することにより、積層化技術を研究レベルにて普及させ、三次元化組織を用いた技術をベースとした研究を活性化できるものと考え、30×39×36 cmの研究用半自動小型細胞シート積層化装置の試作も行った。本装置は、「③ バイオ心筋評価技術の開発」の基本技術確立を促進するとともに、バイオ心筋以外の新規な評価技術確立の可能性にも寄与することができた。

### ②-3 有効性に関する比較試験および最適化

(大阪大学、東京女子医大、再委託先：国立循環器病センター)

1回の移植で作製可能なバイオ心筋の厚みに限界が存在する問題の解決策として、平成19年度までに *in vivo* における多段階移植による血管網付与とスケールアップの実施を試み、3層の積層化ラット心筋の繰り返し移植(2回)で4層目以降の細胞シート壊死が生じないことを確認した。さらに、3層×10回の多段階移植を実施することにより、厚さ1mmのバイオ心筋の作製(中間目標)を達成した。

バイオ心筋の細胞源ならびにその移植方法を比較検討するために、複数の施設で動物への移植試験を実施する上で必要なプロトコルを作成した。平成20年度では、梗塞領域の大きさが安定したブタ慢性心筋梗塞モデルの作製方法を確立し、自己由来ブタ筋芽細胞シート移植を行うことでプロトコルの確認を行った。さらに移植後の評価には、心臓超音波検査による心機能測定に加え、PET(ポジトロン断層法)による心筋血流量の定量的評価も導入した。

さらに、*in vivo* でバイオ心筋を簡便に作製する実践的な方法はどのようなものかということを考え、大網を血流のフィーダーとし、筋芽細胞に間葉系幹細胞を付加した細胞シートを移植する検討を実施した。その結果、これまで細胞シートの1回の移植4、5枚が限界であったが、大網で血流をフィーダーし、2つの細胞を一緒にしたシートを4枚ずつ折りたたんで行くような形で、最終的に1回で40枚の細胞シートをブタの心筋梗塞モデルに移植することができた。移植の効果については、大網のみを貼り付けてもほとんど変化がないが、細胞シートを移植した方では、前壁に非常に厚い組織が完成し、現時点でははっきりと筋肉の細胞とは確認されていないが、明らかに肉厚な心筋組織が構築された。このような結果は筋芽細胞シートを数層で貼り付けてもある程度は同様に得られていたが、本法により圧倒的に優位な心筋構築が可能となった。大網使って血流をフィーディングする移植法においては、最終目標値である厚さ5mm以上の組織を構築ということができた。ブタ心筋梗塞モデルでの心機能の改善も、30%ぐらいのEFを60%ぐらいまで回復することが確認された。今回、細胞数では従来の10倍の細胞数の移植を実施したが、ヒトの大網はかなり大きいので、まだ限界としてはもっと上の細胞数を移植することができると考えられ、早期の臨床応用に向けての可能性も示唆されたと考える。

### ③ バイオ心筋評価技術の開発

#### ③-1 バイオ心筋の機能評価技術の開発 (大阪大学)

バイオ心筋の評価技術は、平成18、19年度において外観解析及び内部構造解析を目的とした立体的評価技術を検討し、外観計測解析では細胞シートの面積・形状を非破壊評価することを可能とし、内部構造解析においては低侵襲的に立体的画像取得が可能な細胞シート内細胞密度測定システムを実現した。平成20年では、バイオ心筋の機能評価に必要な評価項目のうち、細胞純度測定技術、サイトカイン分泌能評価技術、及び力学的応答特性評価技術の開発を行った。具体的には、細胞シート培養時における測定項目を選択、全施設で測定情報を共有化するとともに、選択した測

定項目より重層化細胞シートのサイトカイン分泌能を評価できる技術を検討した結果、評価技術完成の見込みを得た。細胞純度測定技術として積層化細胞シートの相関比較検討を開始できる基礎技術を確認し、収縮・弛緩などの力学的機能の評価技術、電気生理学的特性評価技術も検討し、これら複数のパラメータを設定することが、より効果的な心筋シートを選択する上で重要であることを確認した。

平成21年度では力学的機能評価を実施し、力学的な耐久度の確認方法を確立すると同時に、筋芽細胞シート移植治療におけるサイトカイン分泌能が、細胞シートの積層化数によって、および原材料に混入する線維芽細胞の割合によってどのように変化するかについて検討を実施した。

### ③-2 バイオ心筋の立体的評価技術の開発 (大阪大学、東京女子医科大学)

増殖可能細胞に対する核染色にて、細胞シート内の増殖可能細胞の密度ならびに空間的分布を評価できることを示し、重層化細胞シートの立体解析技術として筋芽細胞シート内の血管内皮細胞分布評価に対する基礎技術を構築した。具体的には、5層の筋芽細胞シート内で、特に三次元方向において生じている、細胞の拡散現象の観察を実施し、拡散係数を求めて、物質移動という観点検証した。このとき、筋芽細胞には線維芽細胞が混じっているため、その割合を変えることによってどのような挙動を示すかということもあわせて検討した。その結果、筋芽細胞が多い状態を標準すると、線維芽細胞が混ざってくると、一旦この中の流動性、動きがより速くなるが、反対に線維芽細胞中心になってしまうとまた流動性が遅くなるということがわかった。さらに、血管形成に対してどう影響を及ぼしていくかということについて検討を実施し、血管形成を *in vitro* で簡単に観察できる系を作り上げた。筋芽細胞と内皮細胞の拡散係数を比較したところ、筋芽細胞の流動の動きよりも、内皮細胞はさらに速く流動しているということがわかり、*in vivo* 繰り返し移植における血管形成の早さについて裏づけがされたと考える。

細胞流動性評価は、垂直方向の動きのみではなく、実際にネットワークがどう作られているかということも検討した。ネットワーク形成については、筋芽細胞ができるだけ多い状態では48時間後のネットワーク形成はさほど良くないが、そこに線維芽細胞が混ざると、ネットワーク形成速度が変化し、上記の垂直方向の結果と一致した。実際に手術で用いられている心筋再生シートも筋芽細胞と線維芽細胞が混ざったものであり、本結果は実際の移植結果とも相関があることが確認できた。したがって、本技術は *in vivo* の系を *in vitro* にて反映させることができる技術として確立できたと考える。

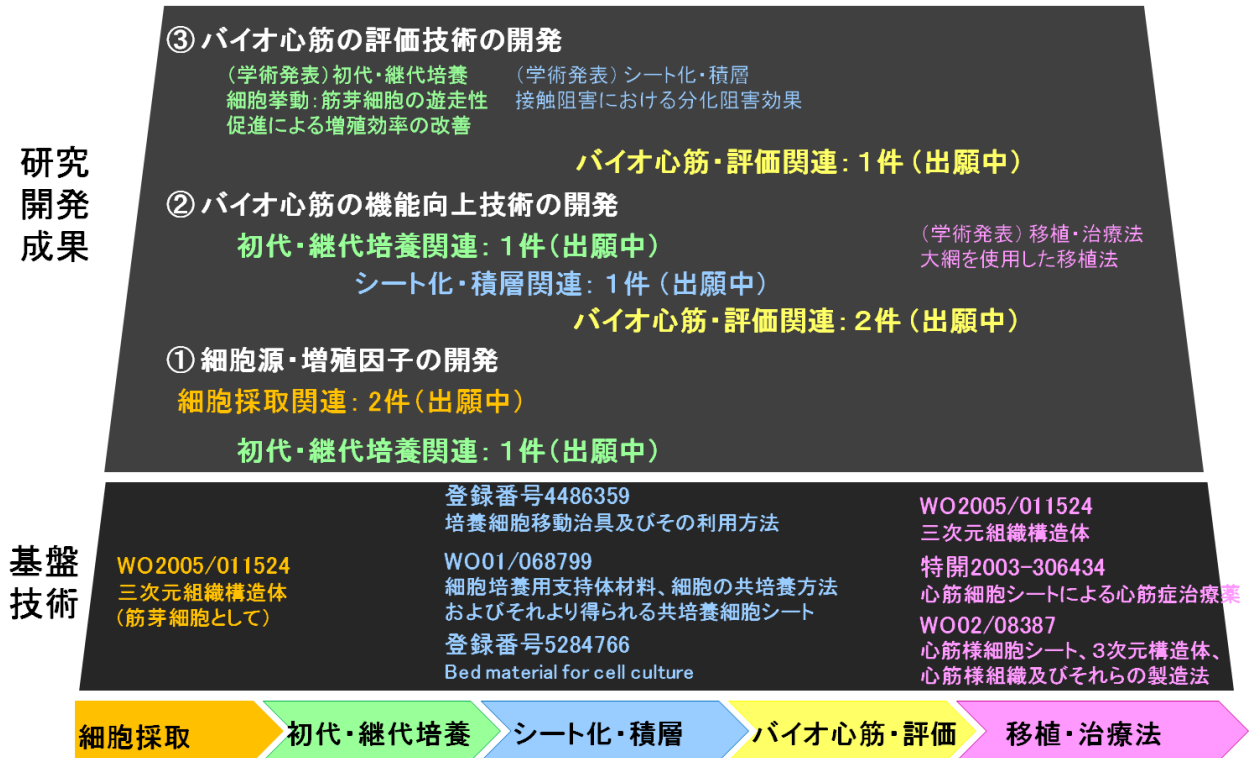
さらに、本技術確立のために採用した細胞シート積層技術を応用し、血管ネットワーク形成評価ツールとして創薬探索研究への汎用性拡大が示唆されることを確認するための検討を実施した。

研究開発項目	最終年度達成目標	研究開発の成果	達成度
①-1 筋芽細胞、骨格筋内幹細胞の開発	ヒト骨格筋幹細胞の培養条件確立と移植実験による分化能の検討、および筋芽細胞との比較	骨格筋内幹細胞からは質の良い筋芽細胞を作ることができると示唆された。	○
①-2 間葉系幹細胞の開発	前臨床研究を目指した、大動物での細胞単離・培養系の確立と心機能改善効果の確認	筋芽細胞と間葉系幹細胞、両方の細胞を用いて実施したものについては大きな相乗効果をもたらすということが確認された。	○
①-3 分化・増殖因子の開発	心不全モデルに対し幹細胞・前駆細胞から分化誘導した心筋細胞を	増殖因子IGFBP-4が、間葉系幹細胞においても応用でき	○

	移植し、心機能改善効果を検討	るという可能性が得られた。	
①-4 バイオ心筋の安全性評価技術の開発	バイオ心筋の洗浄方法確立、およびゲノムレベルでの変異を生じない安全なヒト細胞の安全性確認技術を開発	洗浄回数と細胞のダメージとを確認し、洗浄方法を確立するとともに、CGH法の技術を確認した。	○
①-5 機能制御技術の開発	：ハニカム構造フィルムの材質や3次元構造の最適化を行い、細胞源の増殖・分化制御を検討	ハニカム孔径と細胞数の経時変化（ピーク）を検証することができた。	○
②-1 血管網を付与したバイオ心筋の開発	血管網新生促進のための培養条件最適化し、厚さ約5 mmの組織を作製する	In vitroで血管新生を促進する培養条件を確立した。厚さ5 mmの組織は、大網を用いた移植において達成した。	○
②-2 バイオ心筋製造工程・システムの確立	改良スタンプ・治具での移送実験（評価）、およびバイオ血管床への生着を促進させる培養条件の検討	スタンプにより積層化した心筋細胞シートのバイオ血管床への移植実験を実施し、最適化を達成した。	○
	維持培養装置全体の改良（最適化）と評価	平成20年度に作製したバイオリアクターにて維持培養を実施し、その検討結果より装置の最適化を実施した。	○
	安全性・有効性をモニタリングできるような加工工程を構築し、加工装置を設計・試作する	平成21年度に作製したバイオリアクターにおいてモニタリングシステム等の追加を実施しリアルタイムの評価を達成した。	○
	バイオ心筋作製の標準操作法の確立、安全性・有効性に関する評価項目の決定	バイオ心筋作製工程を手順化し、自動化を前提とした条件の最適化を実施した。	○
②-3 有効性に関する比較試験および最適化	バイオ心筋の移植実験法を確立するとともに安全性・有効性を評価し、最も効果の高いバイオ心筋の選択	大網使って血流をフィーディングする移植法にて、厚さ5 mm以上の組織を構築ということができた。	○
③-1 バイオ心筋の機能評価技術の開発	力学的機能評価、電気的機能評価、細胞純度に対するサイトカイン分泌、電気的応答、力学的応答との関連比較	積層化細胞シートの関連比較検討を開始できる基礎技術を確立し、平成21年度までに各項目について検討を行った。	○
③-2 バイオ心筋の立体的評価技術の開発	血管ネットワーク形成の定量的評価可能なシステム構築（最適化された培養条件での総合的検討）	筋芽細胞シート内の血管内皮細胞分布評価に対する基礎技術を構築し、ネットワーク形成評価手順を確立した。	○

### Ⅲ-4 知財と標準化

知財については、前プロジェクトまでに構築された基盤技術において十分でなかった細胞源、初代・継代培養に係る特許を拡充し、新規な技術となるバイオ心筋作製・評価に係る特許を出願し、事業化において必要な技術の知財を確保した。

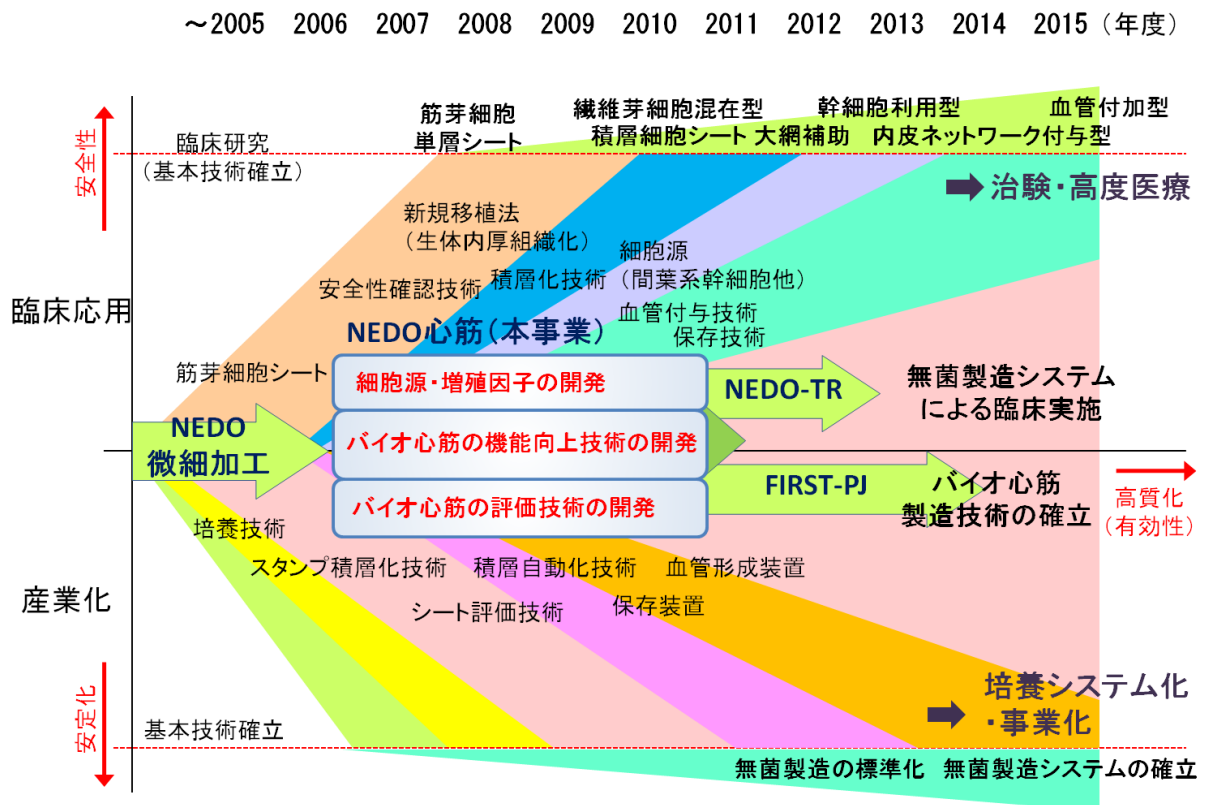


本研究開発で取得した知的財産

標準化については、本研究開発において検討を行った無菌製造システムの構築において得られた知見を元に、プロジェクト終了後に重要な共用技術（インターフェース等）において標準化の検討を開始する。

### III-5 波及効果

本研究開発で確立した技術は、以前のプロジェクトの成果の安全性・安定性の向上を達成し、より高品質な臨床用製品の製造、および、有効性の高い心筋再生治療の実施に貢献することができたと考察する。また、本研究開発において得られた成果は、(新たな研究プロジェクト等を活用し) 継続的に開発を行うことで、心筋再生治療のみに限らず、今後の再生医療の製造システム(製造コスト抑制)の礎となり、より安全性と有効性の高い治療に向けて拡大していくものとする。



#### IV. 実用化、事業化の見通しについて

##### バイオ心筋製造工程・臨床システムの実用化の見通し

バイオ心筋の製造工程・システムは、科学的に妥当性と合理性が確かめられた各製造工程の集結であり、その実用化には品質マネジメントシステムの導入が必須である。すなわち、バイオ心筋の製造について科学的に証明された考えに基づき、規定の品質を達成できるよう製造工程を検証し、これらを文書化することが必要となる。大学を中心とした研究機関が実施した基礎研究や臨床研究のデータをスムーズに臨床治験、製造承認申請～市販に結びつけるためには、臨床研究～臨床治験の段階において製造工程の確立を促進しつつ、まずは院内完結型の自家培養組織を用いた移植法として実用化を目指すことが重要であると考えられる。

本研究開発終了後は、当初に大綱を使用した心筋再生治療、および、間葉系幹細胞を用いた心筋再生治療では、製品化（高度医療）を目指した研究開発を進め、上記のように国内でのヒト幹臨床研究によって実用化へ向けた臨床データの取得を当面の目標と考える。次に、これらの臨床研究のデータや、今後新たに開発する培養技術を応用し、バイオ心筋の実用化に向けた臨床研究の開始に向けて着手する。

その後、医師主導の臨床治験、あるいは国内外を含めた多施設の臨床治験を経て、再生医療製品としての上市を目指すことが想定される。具体的には、プロジェクトにおける共同研究体制を維持することにより、バイオ心筋のヒト幹臨床研究、医師主導の臨床治験を進めて製造承認を目指すことが現実的であると考えられる。臨床治験第2相後に、権利を大手の製薬会社等に切り売り（完全譲渡、共同事業、地域別販売権譲渡など）を視野に入れ、事業資金の調達を行い、治験の完了を目指す。移転先としては、既存の装置・デバイスとは違うノウハウが必要な新規産業なので、各々の企業が独自の戦略にて開発を続けており、大企業でもベンチャーでも競争条件は変わらないと考えられる。

最終的な製品化の出口としては、製造施設の保有が可能な大手企業とライセンスングや企業合併等により技術移転を行うことが早期の産業化には必要であると考えているが、大学病院等とライセンスング提携を含め、製造システムの導入とその管理を販売することも想定される。課題としては、今後院外にて他家移植も含めたバイオ心筋の製造を受託できるような法整備が必要となることと、ヒト由来組織加工製品の製造工程に自動装置を導入した場合のガイドラインの構築と標準化の推進であると考えられる。

本研究開発において開発した細胞源および増殖因子の技術は、心筋再生医療への実用化以外の再生医療においても応用が可能である。開発した細胞源の成果を全て再生医療に実用化するには10年近くかかるが、細胞源の安全性評価技術にて開発したノムレベルでの異常を検出する方法、および、異種血清由来糖鎖の含有を確認する方法については、ヒト組織より採取した原料細胞や、細胞バンク、最終加工品（製品）における細胞ゲノム異常検査の受託サービスは、比較的早期に可能であると推測する。

本研究開発における細胞シート自動積層化装置や維持培養装置、バイオリアクターを組み合わせたバイオ心筋製造システムの成果は汎用性のある技術である。再生医療における自動化システムとして用途のみではなく、理化学的な研究用での用途を含め製品化を目指すことができると考える。

まず、プロジェクト終了数年後に前臨床研究支援装置として実用化を目指す。その後、再生医療製品製造装置としてヒト細胞での実用化を目指し、同時に法令等による規格の通達をもとに仕様検



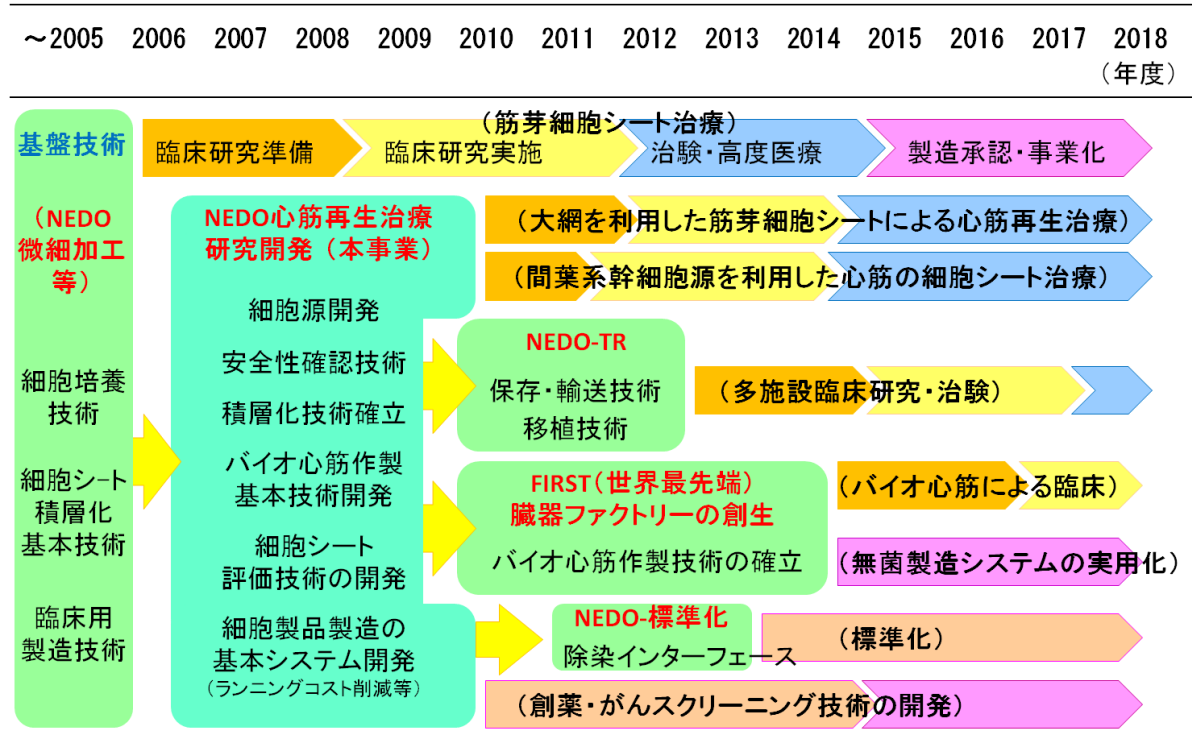
討を行い、臨床品製造用に必要な要素技術を集めながら進めていく。最終的には、ヒト幹細胞臨床用の製造システムとして実用化を達成し、製造用装置（システム）としての上市を目指す。従来の製造は、人がCPC（Cell Processing Center）内にて培養操作等を行うため、高い製造コストが課題となっている。今後の再生医療製品の普及と保険収載に向けて、適正な価格を目指した製造コストの抑制は必須課題である。そこで、他の産業製品と同様に製造工程の機械化・自動化は今後の再生医療の最優先開発項目となり、再生医療製品上市後の次世代産業として成長してゆくことが期待される。

実用化に向けての課題は、再生医療製品の製造工程に自動培養装置等の機械装置を導入する上で、適正な（人が入らないアイソレータ等による）無菌製造を行うことについての規格が十分に拡充されていないことである。要素技術を蓄積するとともに、培養システムのガイドライン化、インターフェースの標準化を促進できるよう積極的に働きかけていくことが必要であると考えられる

本研究開発において開発された評価技術は、バイオ心筋を含む再生医療製品の安全性確認検査や品質保証検査等に利用することができる。これらの早期の実用化を目指す。

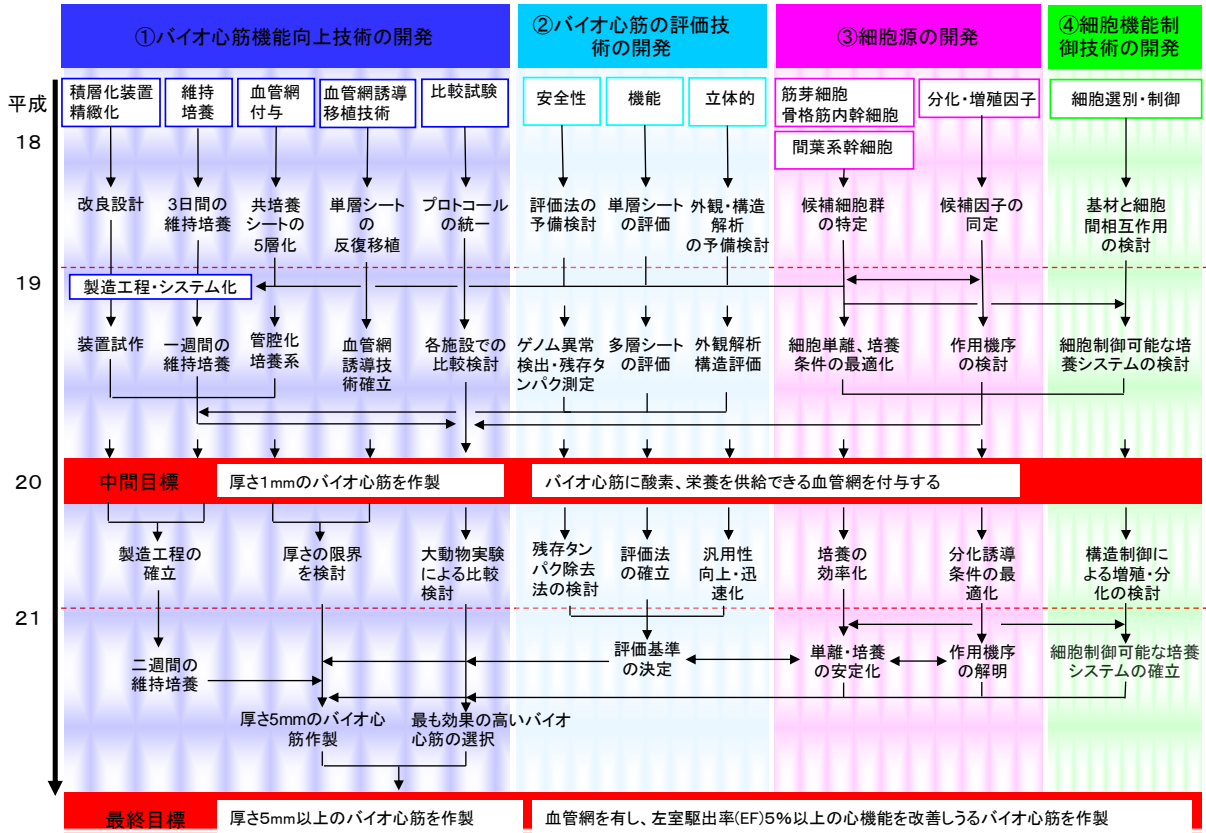
また、立体的評価技術については、本研究開発における積層化技術との組み合わせで、ガン細胞シート（ガン組織部）と擬似血管ネットワークを有する正常細胞シートからなる培養組織評価系（培養フォーマット）を構築することで、担ガン動物実験を模倣した評価手法の可能性が得られており、血管新生過程やガン細胞の遊走を指標とした浸潤・転移過程を定量的に評価できる、新規な抗ガン剤スクリーニングシステム（創薬スクリーニングシステム）の可能性が見出されている。プロジェクト終了後、本技術の実用化を目指した開発を進める。米国においては、循環器疾患関連医薬の研究開発だけで毎年およそ4,800億円（41億ドル）が費やされており、その30%がスクリーニングに費やされると想定すると、スクリーニングシステムによって、およそ1,440億円の市場が見込まれる。

実用化の見通しについて

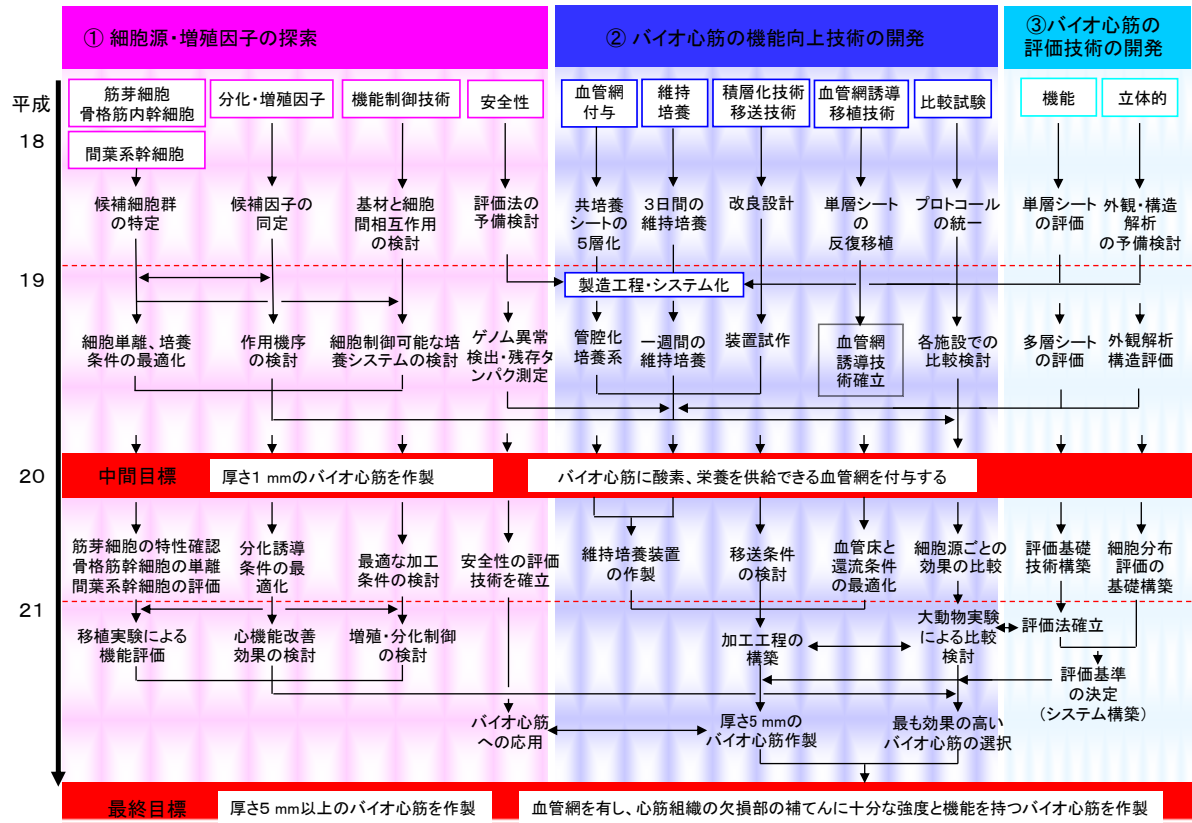


別紙 1 研究開発項目と達成目標 (マイルストーン)

A. 平成18年度～19年度



B. 平成20年度～21年度



別紙 2 研究発表・講演、文献、特許等の状況（共同研究、再委託研究も含む）

1 件数

	平成 18 年度	平成 19 年度	平成 20 年度	平成 21 年度	合計
(1) 研究発表・講演	13	18	12	27	70
(2) 文献	2	22	13	22	59
(3) 特許等	0	5	3	0	8
(4) その他の公表	5	4	1	4	14

2 内容

(1) 研究発表・講演

発表年月日	発表媒体	発表タイトル	発表者
2006.5	Leibniz Symposium (Hannover)	Myocardial regeneration therapy using autologous cells: A novel strategy of myocardial angiogenesis and regeneration therapy with bioengineered myoblast sheets and nets: Pre-clinical trial for the patients with ischemic cardiomyopathy.	Sawa. Y
2006.10	Tissue Engineering & Regenerative Medicine International Society, European Chapter Meeting 2006 (Rotterdam, The Netherlands)	A novel three-dimensional cell sheet manipulation system: fabrication of multi-layer cell-dense tissues and initiation of vascular formation via endothelial cell insertion	T. Shimizu, T. Sasagawa, S. Sekiya, M. Yamato and T. Okano
2006.6	第 54 回 日本輸血学会 総会（大阪）	重症心不全に対する自己細胞治療の現状と展望- Myocardial regeneration therapy using autologous cell for severe heart failure.	澤芳樹
2006.9	第 9 回 日本組織工学会（京都）	心筋再生用ハニカム構造スキャフォールドの筋芽細胞増殖分化に与える影響	齋藤充弘・井手秀宣・新井景子・田中賢・山本貞明・下村政嗣・澤 芳樹
2006.10	日本学術振興会 薄膜 第 131 委員会	自己組織化による医療用薄膜の作製	田中賢、山本貞明、下村政嗣
2006.11	第 28 回 日本バイオマテリアル学会（東京）	心筋再生用ハニカム構造スキャフォールドの筋芽細胞増殖分化に与える影響	齋藤充弘・新井景子・田中賢・山本貞明・下村政嗣・澤芳樹
2006.12	日本学術会議材料工学 連合講演会特別シンポ	医工連携による再生治療～臨床応用の現況と展望～	澤芳樹

	ジウム (京都)		
2007.2	日本化学会北海道支部 奨励賞 (受賞講演)	自己組織化による細胞機能 制御材料の創製	田中賢
2007.3	セルロース学会北海 道・東北支部セミナー (招待講演)	メソスコピックパターン フィルムの秘めた可能性・細 胞操作を目指した自己組織 化材料の設計	田中賢、山本貞 明、下村政嗣
2007.3	第 57 回医用高分子研究 会(招待講演)	細胞機能制御を目指した自 己組織化材料の設計	田中 賢、山本貞 明、下村政嗣
2007.3	第 6 回 日本再生医療学 会総会 (横浜)	細胞シートを用いた三次元 組織再生における新たな挑 戦	清水達也
2007.3	第 6 回 日本再生医療学 会総会 (横浜)	ブタ皮下脂肪組織由来間葉 系幹細胞シートの作製と積 層化	常 徳花・清水達 也・原口裕次・坂 口勝久・大和雅 之・梅津光生・岡 野光夫
2007.4	日本外科学会総会	筋芽細胞シートと大網移植 併用による心筋再生療法	関谷直純、宮川 繁、松宮護郎、吉 龍正雄、松江一、 帆足孝也、澤芳樹
2007.5	The 15th Annual Meeting of Asian Society for Cardio- Vascular Surgery (Beijing, China)	Production of a tissue engineered, multi-layered construct made from adipose derived mesenchymal stem cell.	D. Chang, T. Shimizu, Y. Haraguchi, K. Sakaguchi, M. Umezumi, T. Okano
2007.5	第 2 回東北大多元物質 科学研究所若手講演 会：生体材料の制御と 機能－異分野からバイ オ関連分野への挑戦	自己組織化による細胞機能 制御材料の創製	田中賢
2007.7	TERMIS North America 2007 Conference and Exposition (Toronto, Canada)	Engineering of a Monolayer from Mesenchymal Stem Cells from Bone Marrow of Pigs.	D. Chang, T. Shimizu, Y. Haraguchi, K. Sakaguchi, M. Yamato, M. Umezumi, T. Okano
2007.7	第 60 回日本胸部外科学 会総会	筋芽細胞シートと大網移植 併用による心筋再生療法	関谷直純、松宮護 郎、宮川繁、市川 肇、倉谷徹、榊雅 之、藤田知之、帆 足孝也、清水達 也、岡野光夫、澤 芳樹
2007.9	第 59 回日本生物工学会 大会	筋芽細胞シートの品質特性 評価	宗行優一, Shiplu Chowdhury, 紀ノ 岡正博, 田谷正仁
2007.9	第 59 回日本生物工学会 大会	筋芽細胞の遊走性が筋管形 成に及ぼす影響	網恵理子, 宗行優 一, Shiplu

			Chowdhury, 紀ノ 岡正博, 田谷正仁
2007.10	2007 Joint Congress (The 45th Annual Meeting of the Japanese Society for Artificial Organs. The 2nd Meeting of the International Federation for Artificial Organs	Optimal layered implantation of autologous myoblast seeds for infarcted heart.	Sekiya N. Miyagawa S. Matsumiya G. Hoashi T. Shimizu T. Okano T. Sawa Y.
2007.10	日本救急医学会総会	再生医療の現状と展望	澤芳樹
2007.11	American Heart Association Scientific Sessions 2007	Endothelial cell co-culture within tissue engineered cardiomyocyte sheets enhances neovascularization and cardiac function of ischemic hearts.	H. Sekine, T. Shimizu, S. Sekiya, K. Hobo, J. Yang, M. Yamato, H. kurosawa, T. Okano
2007.11	日本バイオマテリアル 学会	バイオマテリアルの産業化 に向けた NEDO の取り組み	澤芳樹
2007.12	TERMIS-AP 2007	Time required for cell sheet attachment to the heart was examined after transplantation.	D. Chang, T. Shimizu, Y. Haraguchi, K. Sakaguchi, M. Umezu, T. Okano
2007.12	TERMIS-AP 2007	Fabrication of bilayer human adipose-derived stem cell (hADSC) sheet constructs inserted the endothelial cells.	T. Sasagawa, T. Shimizu, S. Sekiya, M. Yamato, T. Okano
2007.12	TERMIS-AP 2007	Effect of Migration on Growth Properties of Human Skeletal Muscle Myoblasts	S. R. Chowdhury, Y. Muneyuki, M. Kino-oka, M. Taya
2007.12	TERMIS-AP 2007	Spatial Evaluation of Proliferative Cell Distribution in Sheet of Human Myoblast Cells	M. Kino-oka, Y. Muneyuki, Y. Takezawa, S. R. Chowdhury, M. Taya
2008.3	第 7 回日本再生医療学 会総会	重症心不全に対する骨格筋 筋芽細胞シート移植におけ る計測・評価技術の開発	齋藤充弘、嶽北和 宏、城間晋作、清 水達也、岡野光 夫、八木哲也、澤 芳樹
2008.3	第 7 回日本再生医療学 会総会	重症心不全に対する心筋再 生治療	澤芳樹、岡野光夫
2008. 3	第 1 回再生医療テクノ ロジーイノベーション	細胞シート積層化技術の開 発	水谷学、菊地鉄太 郎、舛田健、笹川

	研究会		忠、清水達也
2008.3	化学工学会第73年会 SCEJ 73th Annual Meeting	ヒト筋芽細胞シートの特性 評価手法の確立	紀ノ岡正博, 宗行 優一, 田谷正仁
2008.5	American College of Sports Medicine 55th Annual Meeting (米 国)	Skeletal muscle-derived CD34+/45- and CD34-/45- stem cells are situated hierarchically upstream of satellite cells.	玉木哲朗、他
2008.8	第60回日本生物工学会 大会	ヒト筋芽細胞と繊維芽細胞 の共培養におけるポピュ レーション変化	Chowdhury Shiplu R, 網理恵 子, 武澤康範, 紀 ノ岡正博, 田谷 正仁
2008.9	2008 American Physiological Society Intersociety Meeting: The Integrative Biology of Exercise-V (米国)	Skeletal muscle-derived stem cells are multi- myogenic stem cells that can give rise to skeletal, smooth and cardiac muscle cells.	玉木哲朗、他
2008.11	第2回再生医療テクノ ロジーイノベーション 研究会	細胞シート積層化技術のた めのデバイス開発	水谷学、渡邊広 也、北野百合子、 菊地鉄太郎、笹川 忠、清水達也、岡 野光夫
2008.11	第46回日本人工臓器学 会大会	血管前駆構造を有する積層 化細胞シート移植による血 管新生の検討	笹川忠、清水達 也、関谷佐智子、 大和雅之、岡野光 夫
2008.12	第16回日本血管生物医 学会学術集会	Vascular network formation in bioengineered three-dimensional tissues.	清水達也
2008.12	第16回日本血管生物医 学会学術集会	Fabrication of prevascularized cell-dense muscle-like tissue constructs using cell sheet stacking manipulation system.	笹川忠、清水達 也、関谷佐智子、 大和雅之、岡野光 夫
2009.3	第8回日本再生医療学 会総会	シンポジウム4 再生医療支 援技術 「培養細胞・組織 の評価技術の展望」	紀ノ岡正博
2009.3	第8回日本再生医療学 会総会	重症心不全に対する心筋再 生治療	菊地鉄太郎、水谷 学、舛田健、清水 達也、笹川忠、岡 野光夫
2009.3	第8回日本再生医療学 会総会	ランニングコスト抑制可能 な再生医療機器製造施設の 検討	能見淑子、水谷 学、他
2009.3	第8回日本再生医療学 会総会	ヒト筋芽細胞からなる積層 シートの培養特性の解析	武澤康範、宗行 優 一、Shiplu Roy

			Chowdhury、網理恵子、紀ノ岡正博、田谷正仁
2009.4	高分子学会ポリマーフロンティア 先端医療を牽引する高分子材料	生体適合性材料の設計ー水分子の構造・運動性制御による生体適合性の付与ー	田中賢
2009.4	Stem Cell Niche Interactions	Niche depend multi-differentiation of murine skeletal muscle-derived CD34+/45- and CD34-/45- stem cells	T. Tamaki, Y. Okada, Y. Uchiyama, A. Akatsuka
2009.5	8th International Symposium on Frontiers in Biomedical Polymers (FBPS 2009)	Fabrication of prevascularized cell-dense tissue constructs using cell sheet stacking manipulation system	笹川忠、清水達也、関谷佐智子、大和雅之、岡野光夫
2009.6	JSPS COLLOQUIUM -Frontiers in Nanobiotechnology from Engineering to Application for Cells	Control of cell behavior using self-organized 3-D honeycomb-patterned films	M.Tanaka
2009.7	Annual Conference of the Tissue and Cell Engineering Society	Control of Cell Fate Using Self-Organized Honeycomb-Patterned Films	M.Tanaka
2009.8	2nd World Congress of the Tissue Engineering and Regenerative Medicine International Society (TERMIS)	Development of a Novel Cell Sheet Layering Machine to Fabricate a Three-Dimensional Myocardial Tissue	水谷学、菊地鉄太郎、舛田健、笹川忠、清水達也、岡野光夫
2009.8	2nd World Congress of the Tissue Engineering and Regenerative Medicine International Society (TERMIS)	Prospective Facility for Manufacturing of Tissue Engineering Products Based on Isolator Technology	能見淑子、水谷学、紀ノ岡正博、大和雅之、清水達也、岡野光夫
2009.8	2nd World Congress of the Tissue Engineering and Regenerative Medicine International Society (TERMIS)	Neovascularization by transplantation of cell sheet-based tissue constructs containing endothelial cell networks	笹川忠、清水達也、関谷佐智子、大和雅之、岡野光夫
2009.8	2nd World Congress of the Tissue Engineering and Regenerative Medicine International Society (TERMIS)	Kinetic Analysis of <i>In Vitro</i> Vascularization in Fluid Cell Sheets	M. Kino-oka, Y. Takezawa, M. Taya
2009.8	2nd World Congress of the Tissue	Automated Processing Systems for cell Cultures	M. Kino-oka, M. Taya



	Engineering and Regenerative Medicine International Society (TERMIS)		
2009.9	第 61 回日本生物工学会大会	筋芽細胞培養における非増殖性細胞群の解析	浦柄信吾、Chowdhury Shiplu R., 紀ノ岡正博, 田谷 正仁
2009.9	第 61 回日本生物工学会大会	筋芽細胞シート内における流動状態評価	三宅億希、武澤康範、紀ノ岡正博、田谷正仁
2009.9	第 61 回日本生物工学会大会	筋芽細胞シート内における血管ネットワーク形成の評価	網理恵子、武澤康範、NgoTrung Xuan、田谷正仁、紀ノ岡正博
2009.11	International Symposium on Nanobio-Interfaces in Relation to Molecular Mobility	Design of novel bio-interfaces using self-organization to control cell functions	M.Tanaka
2009.11	第 47 回日本人工臓器学会大会	血管前駆構造を有する積層化再生組織が産生するマトリックスメタロプロテアーゼの同定	笹川忠、清水達也、関谷佐智子、大和雅之、岡野光夫
2009.11	第 31 回日本バイオマテリアル学会大会	血管前駆構造を有する積層化再生組織の作製および評価	笹川忠、清水達也、関谷佐智子、大和雅之、岡野光夫
2009.11	第 31 回日本バイオマテリアル学会大会	筋芽細胞シートのサイトカイン特性に対する線維芽細胞の効果	武澤 康範, 三宅億希, 紀ノ岡 正博, 田谷 正仁
2009.11	2009 高分子学会東北支部研究発表	新規生体適合性高分子表面・界面の設計	田中賢
2009.11	第 13 回日本心不全学会学術集会	脂肪組織由来幹細胞による心筋刺激伝導系再生	永井 敏雄
2009.12	東北テクノアーチ 特許技術ご紹介セミナー	多孔性高分子膜を用いた細胞培養技術	田中賢
2009.12	Transactions of the Materials Research Society of Japan	Design of Novel Bio-Interfaces using Self-Organization to Control Cell behavior	M.Tanaka
2009.12	APBioChEC'09	Cell Migration in Multilayer Cell Sheet	M. Kino-oka, Y. Takezawa, N. X. Trung, M. Taya
2010.3	第 9 回日本再生医療学会総会	心筋幹/前駆細胞移植効果の機序の解明	永井 敏雄
2010.3	第 9 回日本再生医療学会総会	自己組織化パターン化足場材料によるヒト脂肪由来間葉系幹細胞の増殖・分化制	田中賢、須藤理絵、齋藤充弘、宮川繁、澤芳樹、山

		御	本貞明、下村政嗣
2010.3	第9回日本再生医療学会総会	細胞シート自動積層化装置による積層化筋芽細胞シートの移植技術の開発	菊地鉄太郎、水谷学、舛田健、笹川忠、清水達也、岡野光夫
2010.3	第9回日本再生医療学会総会	ガン細胞シート内における血管内皮細胞の遊走性評価	舛田健、水谷学、武澤康範、齋藤充弘、澤芳樹、田谷正仁、紀ノ岡正博
2010.3	第9回日本再生医療学会総会	空間的不均一性に対する定量評価可能な立体的組織片解析技術の利用	紀ノ岡正博

(2) 文献

「査読付き（英語）」

1. Yamamoto S, Tanaka M, Sunami H, Yamashita S, Morita Y, Shimomura M, Relationship between adsorbed fibronectin and cell adhesion on a honeycomb-patterned Film. *Surf.Sci.*, 600, 3785-3791(2006).
2. Tanaka M, Takayama A, Ito E, Sunami H, Yamamoto S, Shimomura M, Effect of Pore Size of Self-Organized Honeycomb-Patterned Polymer Films on Spreading, Focal Adhesion, Proliferation, and Function of Endothelial Cells. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 7, 763-772 (2007).
3. Igarashi T, Araki S, Mori H, Takeda S. Crystal structures of catrocollastatin/VAP2B reveal a dynamic, modular architecture of ADAM/adamalysin/reprolysin family proteins. *FEBS Lett.* 2007 May 29;581(13):2416-22.
4. Okamoto K, Miyoshi S, Toyoda M, Hida N, Ikegami Y, Makino H, Nishiyama N, Tsuji H, Cui CH, Segawa K, Uyama T, Kami D, Miyado K, Asada H, Matsumoto K, Saito H, Yoshimura Y, Ogawa S, Aeba R, Yozu R, \*Umezawa A.'Working' cardiomyocytes exhibiting plateau action potentials from human placenta-derived extraembryonic mesodermal cells. 313: 2550-2563, *Exp Cell Res*, 2007.
5. Toyoda M, Hamatani T, Matsumoto K, Saito H, \*Umezawa A. Get a cell dead to rights in reproduction. *Current Medicinal Chemistry*, 2007.
6. Toyoda M, Takahashi H, \*Umezawa A. Ways for a mesenchymal stem cell to live on its own: maintaining an undifferentiated state ex vivo. 86:1-4, *Int J Hematol.* 2007.
7. Takeuchi M, Takeuchi K, Kohara A, Satoh M, Shioda S, Ozawa Y, Ohtani A, Morita K, Hirano T, Terai M, Umezawa A, Mizusawa H. Chromosomal instability in human mesenchymal stem cells immortalized with human papilloma virus E6, E7, and hTERT genes. *In Vitro Cell Dev Biol Anim.* 2007
8. Hashii N, Kawasaki N, Nakajima Y, Toyoda M, Katagiri Y, Itoh S, Harazono A, Umezawa A, Yamaguchi T. Study on the quality control of cell therapy products Determination of N-glycolylneuraminic acid incorporated into human cells by nano-flow liquid chromatography/Fourier transformation ion cyclotron mass spectrometry. *J Chromatogr A.* 2007
9. Nishiyama N, Miyoshi S, Hida N, Miss, Uyama T, Okamoto K, Ikegami Y, Miyado K, Segawa K, Terai M, Sakamoto M, Ogawa S, Umezawa A. The Significant Cardiomyogenic Potential of Human Umbilical Cord Blood-Derived Mesenchymal Stem Cells in Vitro. *Stem Cells.* 2007
10. Cui CH, Uyama T, Miyado K, Terai M, Kyo S, Kiyono T, \*Umezawa A. Menstrual Blood-derived Cells Confer Human Dystrophin Expression in the Murine Model of Duchenne Muscular Dystrophy via Cell Fusion and Myogenic Transdifferentiation. 2007 18(5):1586-1594, *Mol Biol Cell.* 2007.
11. Yamada Y, Sakurada K, Takeda Y, Gojo S, \*Umezawa A.: Single-cell-derived mesenchymal stem cells overexpressing Csx/Nkx2.5 and GATA4 undergo the stochastic cardiomyogenic fate

- and behave like transient amplifying cells. 313(4): 698-706. *Exp Cell Res.* 2007.
12. Tamaki T, Okada Y, Uchiyama Y, Tono K, Masuda M, Wada M, Hoshi A, Ishikawa T, Akatsuka A. Clonal multipotency of skeletal muscle-derived stem cells between mesodermal and ectodermal lineage. 25(9), 2283-2290, *Stem Cells* 2007.
  13. Tamaki T, Okada Y, Uchiyama Y, Tono K, Masuda M, Wada M, Hoshi A, Akatsuka A. Synchronized reconstitution of muscle fibers, peripheral nerves and blood vessels by murine skeletal muscle-derived CD34+/45- cells. 128(4), 349-360, *Histochem Cell Biol* 2007.
  14. S. Yamamoto, M. Tanaka, H. Sunami, S. Yamashita, Y. Morita, M. Shimomura, Effect of a honeycomb-patterned film with adsorbed fibronectine on the adhesion of porcine aortic endothelial cells and on signal transduction, *Langmuir*; 23, 8114-8120, 2007.
  15. M. Tanaka, K. Yoshizawa, A. Tsuruma, H. Sunami, S. Yamamoto, M. Shimomura, Formation of hydroxyapatite on self-organized honeycomb-patterned polymer film, submitted to *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, Available online 9 June 2007.
  16. K Arai, M. Tanaka, S. Yamamoto, M. Shimomura, Effect of pore size of honeycomb films on the morphology, adhesion and cytoskeletal organization of cardiac myocytes, *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, Available online 2 June 2007.
  17. Y. Fukuhira, H. Kaneko, M. Yamaga, M. Tanaka, S. Yamamoto, M. Shimomura, Effect of honeycomb-patterned structure on chondrocyte behavior in vitro, *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, Available online 2 June 2007.
  18. Tsuruma, M. Tanaka, S. Yamamoto, Ma. Shimomura, Control of neural stem cell differentiation on honeycomb films, *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, Available online 7 June 2007.
  19. Sekine H. Shimizu T. Hobo K. Sekiya S. Yang J. Yamato M. Kurosawa H. Kobayashi E. Okano T. Endothelial cell coculture within tissue-engineered cardiomyocyte sheets enhances neovascularization and improves cardiac function of ischemic hearts. *Circulation* 118, S145-S152, 2008.
  20. Tetsuro Tamaki, Akira Akatsuka, Yoshinori Okada, Yoshiyasu Uchiyama, Kayoko Tono, Mika Wada, Akio Hoshi, Hideki Iwaguro, Hiroto Iwasaki, Akira Oyamada, Takayuki Asahara. Cardiomyocyte Formation by Skeletal Muscle-Derived Multi-Myogenic Stem Cells after Transplantation into Infarcted Myocardium. *PLoS ONE* 3:e1789, 2008.
  21. Tetsuro Tamaki, Yoshinori Okada, Yoshiyasu Uchiyama, Kayoko Tono, Maki Masuda, Akio Hoshi, Akira Akatsuka. Skeletal Muscle-Derived CD34+/45- and CD34-/45- Stem Cells Are Situated Hierarchically Upstream of Satellite Cells. *Stem Cells Dev* 17:653-667, 2008.
  22. Y. M. Chen, M. Tanaka, J. P. Gong, K. Yasuda, S. Yamamoto, M. Shimomura, Y. Osada, Tuning of cell proliferation on tough gels by critical charge effect *Biomaterials*, *J. Biomed. Mater. Res. A*, 88A(1), 74-83, 2008.
  23. M. Tanaka, K. Yoshizawa, A. Tsuruma, H. Sunami, S. Yamamoto, M. Shimomura, Formation of hydroxyapatite on self-organized honeycomb-patterned polymer film, submitted to *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 313-314, 515-519, 2008.
  24. K Arai, M. Tanaka, S. Yamamoto, M. Shimomura, Effect of pore size of honeycomb films on the morphology, adhesion and cytoskeletal organization of cardiac myocytes, *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 313-314, 530-535, 2008.
  25. A. Tsuruma, M. Tanaka, S. Yamamoto, M. Shimomura, Control of neural stem cell differentiation on honeycomb films, *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 313-314, 536-540, 2008.
  26. S. Yamamoto, M. Tanaka, H. Yabu, E. Ito, H. Maeda, Y. Morita, K. Ijio, M. Shimomura, Biomedical interface orchestrated by self-organized micro-patterned polymer films, *Hyomen* 46(8), 393-409, 2008.
  27. Y. Fukuhira, M. Ito, H. Kaneko, Y. Sumi, M. Tanaka, S. Yamamoto, M. Shimomura, Prevention of postoperative adhesions by honeycomb-patterned poly(lactide)film in rat experimental model, *J. Biomed. Mater. Res. B*, 86B, 353-359, 2008.
  28. S. Tsukiyama, M. Matsushita, M. Tanaka, H. Tamura, S. Todo, S. Yamamoto, M. Shimomura, Enhanced cell survival and yield of rat small hepatocytes by honeycomb-patterned films, *Jp. J. Appl. Phys.*, Vol. 47, No. 2, 1429-1434, 2008.
  29. Y. Fukuhira, H. Kaneko, M. Yamaga, M. Tanaka, S. Yamamoto, M. Shimomura, Effect of

- honeycomb-patterned structure on chondrocyte behavior in vitro, *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 313-314, 520-525, 2008.
30. S. R. Chowdhury, Y. Muneyuki, Y. Takezawa, M. Kino-oka, A. Saito, Y. Sawa, M. Taya, Synergic stimulation of laminin and epidermal growth factor facilitates the myoblast growth through promoting migration, *J. Biosci. Bioeng.*, 108(2), 174-177, 2009.
  31. M. Kino-oka, S. R. Chowdhury, Y. Muneyuki, M. Manabe, A. Saito, Y. Sawa, M. Taya, Automating the expansion process of human skeletal muscle myoblasts with suppression of myotube formation, *Tissue Eng.*, 15(4), 717-728, 2009.
  32. Tamaki T, Uchiyama Y, Okada Y, Tono K, Masuda M, Nitta M, Hoshi A, Akatsuka A, Clonal Differentiation of Skeletal Muscle-Derived CD34(-)/45(-) Stem Cells Into Cardiomyocytes In Vivo. *Stem Cells and Development* 2010 in press
  33. Matsuura K, Honda A, Nagai T, Fukushima N, Iwanaga K, Tokunaga M, Shimizu T, Okano T, Kasanuki H, Hagiwara N, Komuro I. (2009) Transplantation of cardiac progenitor cells ameliorates cardiac dysfunction after myocardial infarction in mice. *J Clin Invest.* 119, 2204-2217.
  34. Tamura A, Ogura T, Uemura H, Reien Y, Kishimoto T, Nagai T, Komuro I, Miyazaki M, Nakaya H. (2009) Effects of antiarrhythmic drugs on the hyperpolarization-activated cyclic nucleotide-gated channel current. *J Pharmacol Sci.* 110, 150-159.
  35. Asakawa N, Shimizu T, Tsuda Y, Sekiya S, Sasagawa T, Yamato M, Fukai F, Okano T., Pre-vascularization of in vitro three-dimensional tissues created by cell sheet engineering. *Biomaterials* 31, 3903–3909, 2010.
  36. Sasagawa T, Shimizu T, Sekiya S, Haraguchi Y, Yamato M, Sawa Y, Okano T., Design of prevascularized three-dimensional cell-dense tissues using a cell sheet stacking manipulation technology. *Biomaterials* 31, 1646-1654, 2010.
  37. M.Tanaka, M. Takebayashi, M. Shimomura, Fabrication of ordered arrays of biodegradable polymer pincushions using self-organized honeycomb-patterned film, *Macromol Symp*, (Invited original paper). 279, 175-182(2009).
  38. M.Tanaka, H. Sato, Y. Sasaya, S. Horinouchi, J. Hotta, Y. Matsuo, K. Ijro, K. Sasaki, M. Shimomura, Fabrication of Novel Biocompatible Surfaces by Two-photon Absorption with Femtosecond Laser, *Mol. Cryst. Liq. Cryst.*, 505, 219-230, 2009.
  39. M. Tanaka, A. Tsuruma, S. Yamamoto, M. Shimomura, Control of cell adhesion and functions using self-organized honeycomb patterned polymer films, *BIODEVICES*, p390-393, 2009.
  40. Yuko Miwa, Hiroyuki Ishida, Hazime Saito, Masaru Tanaka, Akira Mochizuki, Network structures and dynamics of dry and swollen poly(acrylate)s. Characterization of high- and low-frequency motions as revealed by suppressed or recovered intensities (SRI) analysis of <sup>13</sup>C NMR, *Polymer*, 50, 6091- 6099, 2009.
  41. S. R. Chowdhury, Y. Muneyuki, Y. Takezawa, M. Kino-oka, A. Saito, Y. Sawa, M. Taya, Growth and differentiation potentials in confluent state of culture of human skeletal muscle myoblasts, *J. Biosci. Bioeng.*, 109, 310–313, 2010.
  42. T. Sato, M. Tanaka, S. Yamamoto, E. Ito, K. Shimizu, Y. Igarashi, M. Shimomura, J. Inokuchi Effect of Honeycomb-Patterned Surface Topography on the Function of Mesenteric Adipocytes *Journal of Biomaterials Science: Polymer Edition*, in press.
  43. T. Hatakayama, M. Tanaka, H. Hatakayama, Studies on bound water restrained by poly(2-methacryloyloxyethyl phosphorylcholine) (PMPC): Comparison of the polysaccharides-water systems, *Acta Biomaterialia*, in press.
  44. M. Tanaka, A. Mochizuki, Clarification of blood compatible mechanism by controlling water structure, *Journal of Biomaterials Science: Polymer Edition*, accepted.
  45. S. Morita, M. Tanaka, K. Kitagawa, Y. Ozaki, Hydration Structure of Poly(2-Methoxyethyl Acrylate): Comparison with a Model Monomer of 2-Methoxyethyl Acetate, *Journal of Biomaterials Science: Polymer Edition*, accepted.
  46. Y. Miwa, H. Ishida, M. Tanaka, A. Mochizuki, <sup>2</sup>H NMR and <sup>13</sup>C NMR study of hydration behavior of poly(2-methoxyethyl acrylate) (PMEA), poly(2-hydroxyethyl methacrylate) (PHEMA) and poly(tetrahydrofurfuryl acrylate) (PTHFA) in relation to their blood compatibility as biomaterials, *Journal of Biomaterials Science: Polymer Edition*, accepted.
  47. A. Mochizuki, M. Kimura, A. Ina, Y. Tomono, M. Tanaka, Study on water structure and blood

compatibility of poly(acryloylmorpholine-r-butyl methacrylate), Journal of Biomaterials Science: Polymer Edition, accepted.

48. T. Hatakayama, M. Tanaka, H. Hatakayama, Thermal Properties of Freezing Bound Water Restrained by Polysaccharides, Journal of Biomaterials Science: Polymer Edition, accepted.

「査読付き（日本語）」

1. 山本貞明, 田中 賢, 伊藤絵美子, 森田由香, 角南 寛, 居城邦治, 下村政嗣, 血管内皮細胞の初期伸展に及ぼすハニカムフィルム細孔径の影響, 表面科学, vol28 No8, 433-439, 2007.

「査読なし（日本語）」

1. 清水達也, 「最先端医療 循環器系の再生医学 第4回 細胞シートによる心筋組織移植法の開発」CIRCULATION Up-to-Date, Vol.2, No.2, p106-111 (2007)
  2. 清水達也, 「細胞シート工学と循環器再生医療」循環器科, Vol.61, No.4, p378-384 (2007)
  3. 田中 賢, 山本貞明, 下村政嗣, 自己組織化多孔質薄膜による細胞の増殖・分化・機能制御, 21COE ナノとバイオを融合する新生命科学拠点, 北海道大学出版会, 201-214, 2007.
  4. 田中賢, 鶴間章典, 山本貞明, 下村政嗣, 細胞機能制御を目指した自己組織化材料の設計, ケミカルエンジニアリング, Vol 52(6), 2007.
  5. 山本貞明, 田中賢, 鶴間章典, 角南寛, 伊藤絵美子, 森田由香, 藪浩, 下村政嗣, ライフサイエンスにおける自己組織化技術: 自己組織化パターン表面と細胞との相互作用, Self-organization technology in life science: the interaction between cells and patterned surfaces, Materials Integration, Vol.20(5), 67-77, 2007.
  6. 清水達也「心筋のティッシュエンジニアリング」医学のあゆみ Vol. 232, No. 5, 620-625, 2010.
  7. 田中賢, 特集:平成21年度日本バイオマテリアル学会・科学奨励賞, バイオマテリアル生体材料-28-1, p34-45, 2010.
  8. Masaru TANAKA, Mark BIRCH, Emiko ITO, Sadaaki YAMAMOTO, Masatsugu SHIMOMURA, Hot Topics, Design of Bio-interface with Surface Topography using Self-organization, 高分子, 59(1), 5, 2010.
  9. M. Tanaka, Design of Novel 3D Bio-interfaces Using Self-Organization to Control Stem Cell Proliferation and Differentiation, Special Proceeding Book of International Symposium, JAIST Press, p.71-78, 2010.
  10. 田中 賢, 下村政嗣, ソフトマター分子設計: キャラクターライゼーションから機能性材料まで, 2章 10, 高分子のナノ・マイクロ加工, p114-124, 2009.
- (3) 特許等  
国内特許 8件
- (4) その他の公表 (プレス発表等)
- ・ Yahoo!NEWS (2006/7/12)「シート張り心筋症治療 大阪大、患者に応用へ」
  - ・ 朝日新聞 (2006/12/31)「患者の細胞培養 心筋シート」
  - ・ 朝日新聞(2007/1/9)に関連記事が掲載
  - ・ 日経工業新聞 (2007/2/21)「多孔質フィルム量産化 再生医療研究を後押し 臓器や筋肉の癒着防止 富士フィルムが試験販売」
  - ・ 北海道新聞(2007/3/8)「多孔フィルム大型化に成功 北大開発 手術時に患部保護」、
  - ・ 日本経済新聞 (2007/8/7)「患者細胞培養シートに再生」
  - ・ 日本経済新聞(2007/10/1)「幹細胞 心筋や角膜へ」
  - ・ 日経産業新聞(2007/10/1)「細胞シート作成自動化」
  - ・ 日経 BP 社 (2008/10/17)「セルシード、次世代型細胞培養器材『UpCell』を用いた『バイオ心筋作製向け培養細胞シートの積層化技術』を紹介」
  - ・ 日経産業新聞 (2009/4/8)「2030年への挑戦 次世代産業技術」
  - ・ 日経産業新聞 (2009/11/19)「先端人 細胞シートで心筋再生」
  - ・ 成果発表会 (シンポジウム等)  
第29回日本バイオマテリアル学会大会ランチョンセミナー (2007.11, 大阪)  
第31回日本バイオマテリアル学会大会ランチョンセミナー (2009.11, 京都)  
公開シンポジウム開催 (2010.3, 東京)

## 受賞実績

1. 2006年日本バイオマテリアル学会賞、澤 芳樹 (2006/11/27)
2. Annual Tissue Engineering & Regenerative Medicine International Society (TERMIS), European Chapter Meeting 2006, Rotterdam, the Netherlands. Tatsuya Shimizu, Best Oral Communication Award, First Prize, “A novel three-dimensional cell sheet manipulation system: fabrication of multi-layer cell-dense tissues and initiation of vascular formation via endothelial cell insertion.” 2006/10/11,
3. 2007年日本人工臓器学会第44回大会 オリジナル賞 築山周作、田中 賢、山本貞明、下村政嗣、ハニカムパターンによる成熟肝細胞・小肝細胞の接着形態および生存性の評価 (2006/11/1)
4. 2007年日本化学会北海道支部奨励賞 田中 賢 「自己組織化による細胞機能制御材料の創製」 (2007/2/6)
5. 2007年ナノバイオエキスポ ナノテク大賞 (バイオテクノロジー部門) (2007/2/22)
6. 2007年日本化学会若い世代の講演賞、田中 賢 (2007/3/26)
7. 2009年文部科学大臣表彰 科学技術賞、澤芳樹、清水達也 「細胞シート工学技術の開発とその臨床応用に関する研究」 (2009/4/14)
8. 第9回日本再生医療学会総会 ベストポスター賞 菊地鉄太郎 「細胞シート自動積層化装置による積層化筋芽細胞シートの移植技術の開発」 (2010/3/18)

## 2. 分科会における説明資料

次ページより、プロジェクト推進・実施者が、分科会においてプロジェクトを説明する際に使用した資料を示す。





健康安心プログラム  
「再生医療評価研究開発事業  
／心筋再生治療研究開発」  
(事後評価) 分科会

(2006年度～2009年度 4年間)

プロジェクトの概要説明 (公開)

NEDO技術開発機構  
バイオテクノロジー・医療技術部  
2010年12月21日

発表内容

公開

<b>I. 事業の位置付け</b> (1) 社会的背景 (2) 事業の目的 (3) 事業の位置付け (4) NEDOが関与する意義 (5) 研究開発の動向 (6) 実施の効果	NEDOバイオ・医療部
<b>II. 研究開発マネジメント</b> (1) 事業の目標 (2) 事業の計画内容 (3) 研究開発の実施体制 (4) 情勢変化への対応 (5) 中間評価結果への対応	NEDOバイオ・医療部
<b>III. 研究開発成果</b> (1) 開発目標と達成度 (2) 各個別テーマの成果 (3) 知財と標準化 (4) 成果の普及	PL:大阪大学 澤教授
<b>IV. 実用化、事業化の見通し</b> (1) 実用化、事業化までのシナリオ (2) 波及効果	PL:大阪大学 澤教授

## I. 事業の位置付け

NEDOバイオ・医療部

- (1) 社会的背景
- (2) 事業の目的
- (3) 事業の位置付け
- (4) NEDOが関与する意義
- (5) 研究開発の動向
- (6) 実施の効果

## II. 研究開発マネジメント

NEDOバイオ・医療部

- (1) 事業の目標
- (2) 事業の計画内容
- (3) 研究開発の実施体制
- (4) 情勢変化への対応
- (5) 中間評価結果への対応

## III. 研究開発成果

PL:大阪大学 澤教授

- (1) 開発目標と達成度
- (2) 各個別テーマの成果
- (3) 知財と標準化
- (4) 成果の普及

## IV. 実用化、事業化の見通し

PL:大阪大学 澤教授

- (1) 実用化、事業化までのシナリオ
- (2) 波及効果

2/49

## 1. 事業の位置付け (1)社会的背景

## 社会的背景

- 日本での心疾患による死亡者数:約17万人/年  
(死因別死亡率で第2位)
- 虚血性心疾患は約86万人/年、心筋梗塞発症:約20万人/年
- 虚血性心疾患に費やされる医療費:6,635億円/年
- 今後、高齢化や食生活の欧米化にともない、虚血性心疾患に伴う重症心不全患者の増加や医療費の増加が予想される
- 拡張型心筋症にともなう重症心不全患者に対する治療も大きな課題
- 移植など置換型治療はドナー不足や免疫抑制、合併症など解決すべき問題が多い。



移植に代わる治療法として、再生型治療の必要性

**事業の目的**

高機能なバイオ心筋を、安全かつ簡便に作製し、  
安定して供給する技術の確立



- ・細胞源及び増殖因子の開発
- ・血管網の構築技術の確立
- ・評価技術の確立
- ・製造・培養装置の開発と作製工程のシステム化

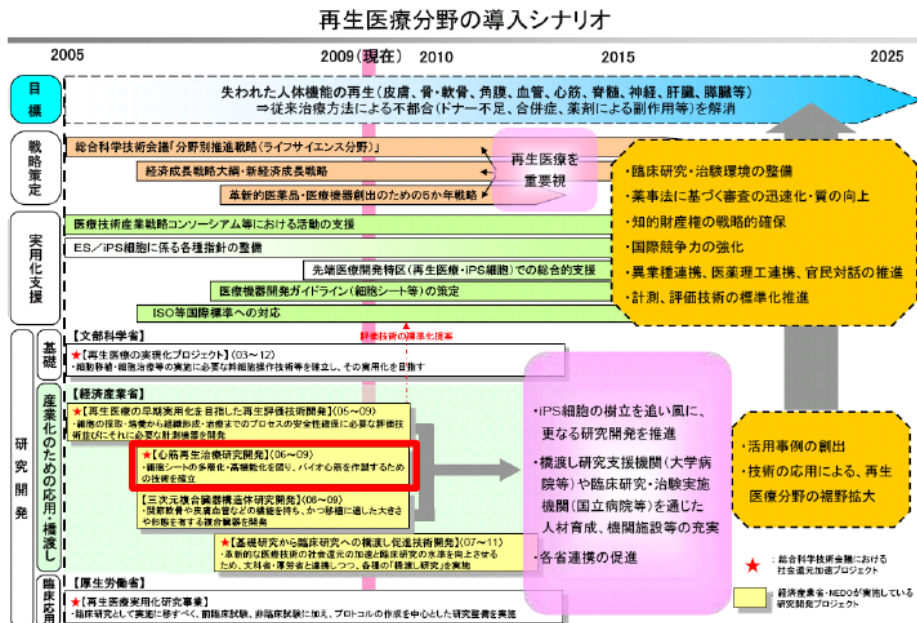
**健康安心プログラムプログラムでの位置付け**

- I. **バイオテクノロジー技術／研究開発の産業化の加速**  
 【多様な技術・研究成果の融合による先進医療技術の創出】  
 基礎研究から臨床研究への橋渡し促進技術開発  
 【ポストゲノム研究の産業化の加速】  
 ゲノム創薬加速化支援バイオ基盤技術開発(化合物等を活用した生物システム制御基盤技術開発)  
 ゲノム創薬加速化支援バイオ基盤技術開発(創薬加速に向けたタンパク質構造解析基盤技術開発)  
 ゲノム創薬加速化支援バイオ基盤技術開発(モデル細胞を用いた遺伝子機能等解析技術開発)  
 新機能抗体創製技術開発  
 個別化医療実現のための技術融合バイオ診断技術開発
- II. **タンパク質、糖鎖、RNA等の機能・構造解析及びそれらの形成するネットワーク解析**  
 糖鎖機能活用技術開発  
 機能性RNAプロジェクト  
 ゲノム創薬加速化支援バイオ基盤技術開発(化合物等を活用した生物システム制御基盤技術開発)  
 ゲノム創薬加速化支援バイオ基盤技術開発(創薬加速に向けたタンパク質構造解析基盤技術開発)  
 ゲノム創薬加速化支援バイオ基盤技術開発(モデル細胞を用いた遺伝子機能等解析技術開発)
- III. **バイオインフォマティクス**  
 ゲノム情報統合プロジェクト
- IV. **医療福祉機器関連**  
 インテリジェント手術機器研究開発プロジェクト  
 次世代DDS型悪性腫瘍治療システムの研究開発事業  
 分子イメージング機器研究開発プロジェクト  
 再生医療評価研究開発事業  
 医療機器開発ガイドライン策定事業  
 福祉用具実用化開発推進事業
- V. **融合領域(ナノテクノロジーとの融合:ナノバイオテクノロジープロジェクト)**

健康安心プログラムプログラムでの位置付け  
(医療福祉機器関連)



技術戦略マップ



NEDOが関与する意義

■医療、社会経済的ニーズ

- ・心疾患は死亡率も高く、死亡者数も多い。
- ・心疾患の治療のために多額の医療費が費やされている
- ・生命が助かったとしても高度の機能障害を後遺する疾患を併発しやすい

➡ **死亡率の低減や患者のQOLの向上と、  
早期社会復帰の実現による医療費の削減は緊急の課題**

■開発リスク

- ・新しい治療であるため、日本のみならず世界的にも規制上のガイドラインがあいまい
- ・当初は自己組織によるオーダーメイド医療となるため、大量生産が困難
- ・生物材料を原料としているため、安全性や品質管理が難しい

➡ **未知な要素が多く開発・産業化のリスクが高い**

■産業育成

- ・大手の製薬企業や医療機器メーカーの多くは参入をためらっており、  
経済基盤の脆弱なベンチャー型企業が担い手となっている

➡ **従来の産業構造を変え、新しい産業構造を創造する起爆剤**



NEDOがもつこれまでの知識、実績を活かして推進すべき事業

研究開発の動向

■再生型治療

☆細胞移植法 筋細胞に分化しうる骨格筋芽細胞を直接注入する方法

患者自身の自己組織から採取可能で、拒絶反応がない有用な方法だが、  
以下の問題がある。

- ・移植細胞の70%~80%が短時間で失われ、その効果が十分に発揮できない
- ・細胞の構造や機能、細胞間の相互関係が保持できない
- ・細胞の移植部位を制御できないために不整脈の原因になる
- ・局所的であり、拡張型心筋症のように広範囲で心機能低下した場合には限界



細胞移植法の問題点を克服

本邦発の細胞シート



■細胞シート

**筋芽細胞シートを移植する方法は、**  
虚血性心筋症のみならず、  
心臓全体の疾患である拡張型心筋症に対しても、  
心機能改善効果が認められている。



新たな治療法として期待  
(大阪大学では平成19年度より臨床研究を実施)

■細胞シートによる治療効果を十分なものにするには  
細胞シートの機能と実用性のさらなる向上が必要



・**厚い心筋組織**の構築  
・内部に酸素や栄養を供給できる**血管網**の構築



**強度と機能を備えたバイオ心筋**を開発

## 実施の効果 (費用対効果)

研究投資額: **11億円/4年**

## 市場の効果

## ■ バイオ心筋そのもの

: 国内で**560億円/年**想定実売単価: **200万円**移植対象患者: **28,000人/年**

- ・心筋梗塞発症(20万人/年)後、治療を受ける対象が**70%**、その内**20%**が対象と仮定

## ■ バイオ心筋製造装置(維持培養装置・高機能バイリアクター)

: 国内で**トータル100億円**想定実売単価: **1,000万円**必要台数: 約**1,000台**・対象患者**28,000人**(上記)・製造: **1日/件**、維持培養: **14日/件** → **26件/台・年**

## 発表内容

## I. 事業の位置付け

NEDOバイオ・医療部

- (1) 社会的背景
- (2) 事業の目的
- (3) 事業の位置付け
- (4) NEDOが関与する意義
- (5) 研究開発の動向
- (6) 実施の効果

## II. 研究開発マネジメント

NEDOバイオ・医療部

- (1) 事業の目標
- (2) 事業の計画内容
- (3) 研究開発の実施体制
- (4) 情勢変化への対応
- (5) 中間評価結果への対応

## III. 研究開発成果

PL:大阪大学 澤教授

- (1) 開発目標と達成度
- (2) 各個別テーマの成果
- (3) 知財と標準化
- (4) 成果の普及

## IV. 実用化、事業化の見通し

PL:大阪大学 澤教授

- (1) 実用化、事業化までのシナリオ
- (2) 波及効果

## 中間目標(平成19年度)

☆厚さ**1mm**のバイオ心筋を作製する

☆バイオ心筋に酸素、栄養を供給できる**血管網**を付与する

## 最終目標(平成21年度)

☆厚さ**5mm**以上のバイオ心筋を作製する

☆血管網を有し、**左室駆出率(EF)5%以上**の心機能を改善しうるバイオ心筋を作製する

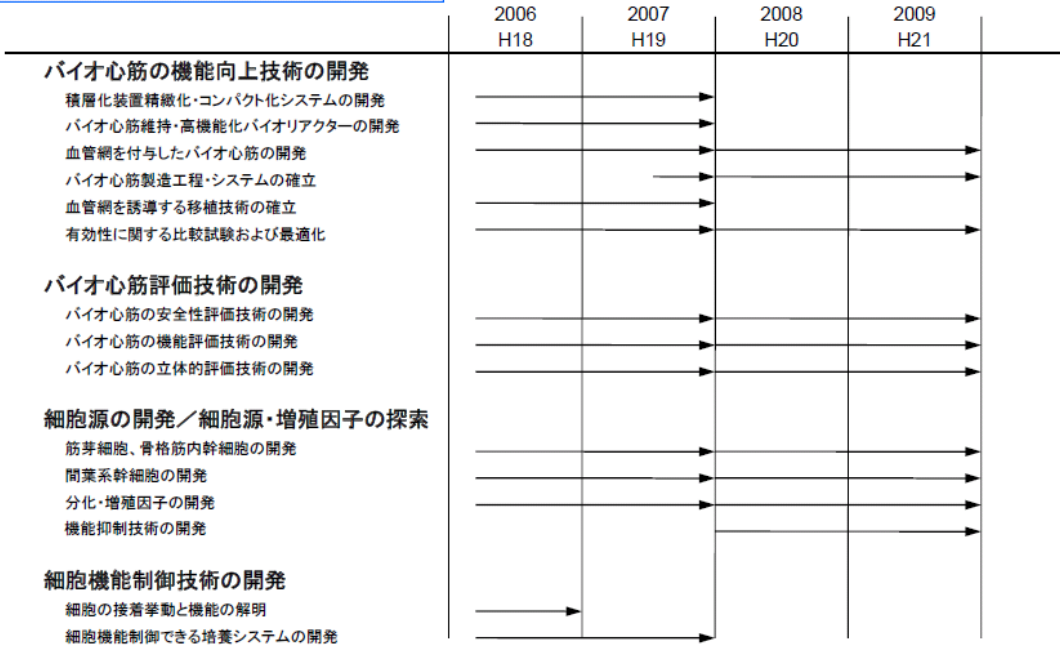
## 研究開発目標と根拠

研究開発項目	研究開発目標	根拠
バイオ心筋作製技術	厚さ <b>5mm</b> 以上のバイオ心筋を作製する	ヒトの心筋組織の厚さ( <b>8~11 mm</b> )から考えて、心筋組織欠損部を補てんするために十分な強度と機能を持つ厚さである。
	血管網を有し、 <b>左室駆出率(EF)5%以上</b> の心機能を改善しうるバイオ心筋を作製する	既存の細胞療法によって得られている最大の効果( <b>EF2~3%上昇</b> )を超える心機能改善効果。



研究開発のスケジュール

■開発期間: 2006年5月～2010年3月



事業原簿 13-16

△自主中間評価

16/49

開発予算

■開発費: 1,139百万円

単位:百万円

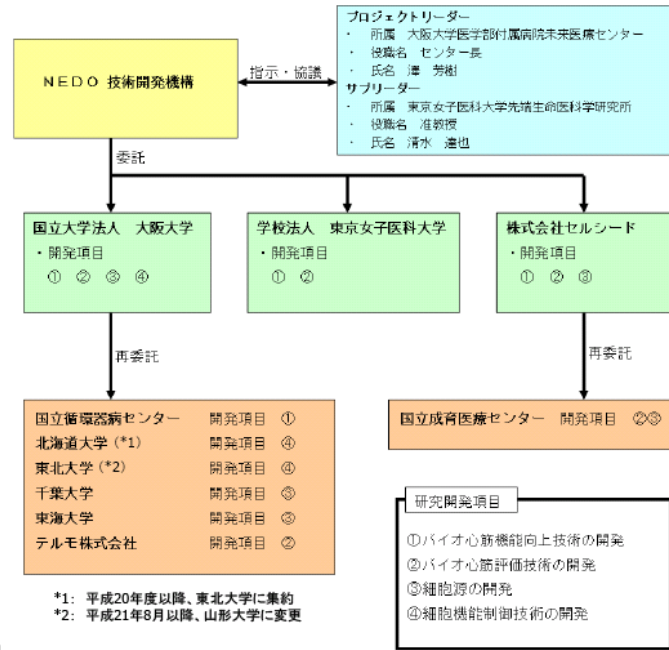
	18年度	19年度	20年度	21年度	合計
大阪大学	189	176	148	149	663
(再委託費)	(68)	(78)	(48)	(48)	(242)
東京女子医科大学	60	60	60	60	240
(再委託費)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)
株式会社 セルシート	51	65	60	60	236
(再委託費)	(0)	(10)	(30)	(30)	(70)
合計	300	301	269	270	1139

注) 再委託費は内数。端数の関係で合計は合わない。

事業原簿 ii

17/49

研究開発の実施体制



情勢変化等への対応

情勢	対応
<p>・「網羅的であり冗長的な面も見受けられるので、散漫にならないように課題の集約化を図る必要がある。成果等を踏まえて中間評価にて検討を行う。」「細胞ソースから移植方法まで全体的に散逸的になりがちなプロジェクトとなっているため、基幹技術を明確に打ち出し重要性を序列づけるように」との指摘を受けた。</p>	<p>・厚みのある<b>バイオ心筋を製造するシステム</b>を完成させることを主軸にして開発を進めた。                  ・分化・増殖因子の開発、細胞機能制御の開発及び心筋評価技術の開発について、<b>優先順位</b>をつけ実施内容の絞り込み等を行った。</p>
<p>・「本プロジェクトは再生医療に関する世界的に最先端の研究であり、<b>公開シンポジウム</b>を開催すべきである」との指摘を受けた。</p>	<p>・平成19年度の第29回日本バイオマテリアル学会大会のサテライトシンポジウムを開催した。                  ・平成21年度の第31回日本バイオマテリアル学会大会において発表会を実施した。                  ・平成22年3月に単独の公開シンポジウム(成果報告会)を開催した。</p>

## 中間評価結果への対応

「全体として初期の目標を達している。」との評価。  
下記は、主な指摘事項に対する対応。

指摘	対応
<ul style="list-style-type: none"> <li>・提案課題が総合的・網羅的でありプロジェクト前期において技術集約が十分に果されていない。</li> <li>・細胞源の開発では多少機能的に不満足な幹細胞種を用いてでも臨床応用のための研究を強力に推進することが必要と考える。</li> <li>・細胞機能制御技術の開発では開発体制の重点化必要と考える</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・研究課題の<b>重点化と集中化</b>を目的として、以下の変更を実施した。</li> <li>・細胞源の開発および細胞機能制御技術の開発について、細胞源を筋芽細胞、骨格筋内幹細胞、間葉系幹細胞の<b>3つに限定</b>し、その分化・増殖因子、機能制御、および安全性の検討することで課題を再構成した。</li> <li>・バイオ心筋の評価技術について、安全性評価の対象を、<b>選択した細胞源に絞る</b>ように変更し、機能性および立体的評価の2点に重点化を可能とした。</li> </ul>

## 発表内容

<b>I. 事業の位置付け</b> (1) 社会的背景 (2) 事業の目的 (3) 事業の位置付け (4) NEDOが関与する意義 (5) 研究開発の動向 (6) 実施の効果	NEDOバイオ・医療部
<b>II. 研究開発マネジメント</b> (1) 事業の目標 (2) 事業の計画内容 (3) 研究開発の実施体制 (4) 情勢変化への対応 (5) 中間評価結果への対応	NEDOバイオ・医療部
<b>III. 研究開発成果</b> (1) 開発目標と達成度 (2) 各個別テーマの成果 (3) 知財と標準化 (4) 成果の普及	PL:大阪大学 澤教授
<b>IV. 実用化、事業化の見通し</b> (1) 実用化、事業化までのシナリオ (2) 波及効果	PL:大阪大学 澤教授

## (1) 個別研究開発項目の目標と達成状況

研究開発項目	目標	成果	達成度
バイオ心筋作製技術	厚さ5mm以上のバイオ心筋を作製する	ブタの心筋梗塞モデルに対し大網を用いた細胞シートの移植を実施し、少なくとも5 mm以上の厚さの心筋組織を形成させることができた。	○
	血管網を有し、左室駆出率(EF)5%以上の心機能を改善するバイオ心筋を作製する	心機能の改善について、約30%のEFを55%程度まで回復することを確認した。	○

## ・プロジェクト(事業)の目標(目的)、及びプロジェクトとしての達成状況

## 細胞源・増殖因子の探索

- ・筋芽細胞において、細胞制御技術、および、安全性評価技術を確立した。  
→ 事業化に向けた道筋が大きく進んだものとする。
- ・間葉系幹細胞については、筋芽細胞に足して使用することで非常に大きなポテンシャルをもった方法として臨床応用できる可能性が示唆された。

## 血管網を有する厚い組織の構築

- ・*in vitro*で1週間以上組織を維持培養できるような血管床の技術を得ることができた。
- ・*in vivo*では、大網への移植、大網を使って血流をフィーディングすることで、厚さ5 mm以上の組織を構築することが可能となった。
- ・心機能の改善も、30%ぐらいのEFを55%程度まで回復することが確認され、十分なポテンシャルが得られていると考える。

## 評価技術

- 立体的評価、機能評価技術を開発した。  
→ 血管ネットワークを有する疑似組織体の解析、それから、薬剤スクリーニングなどへの応用を含めた展開が期待できると考える。

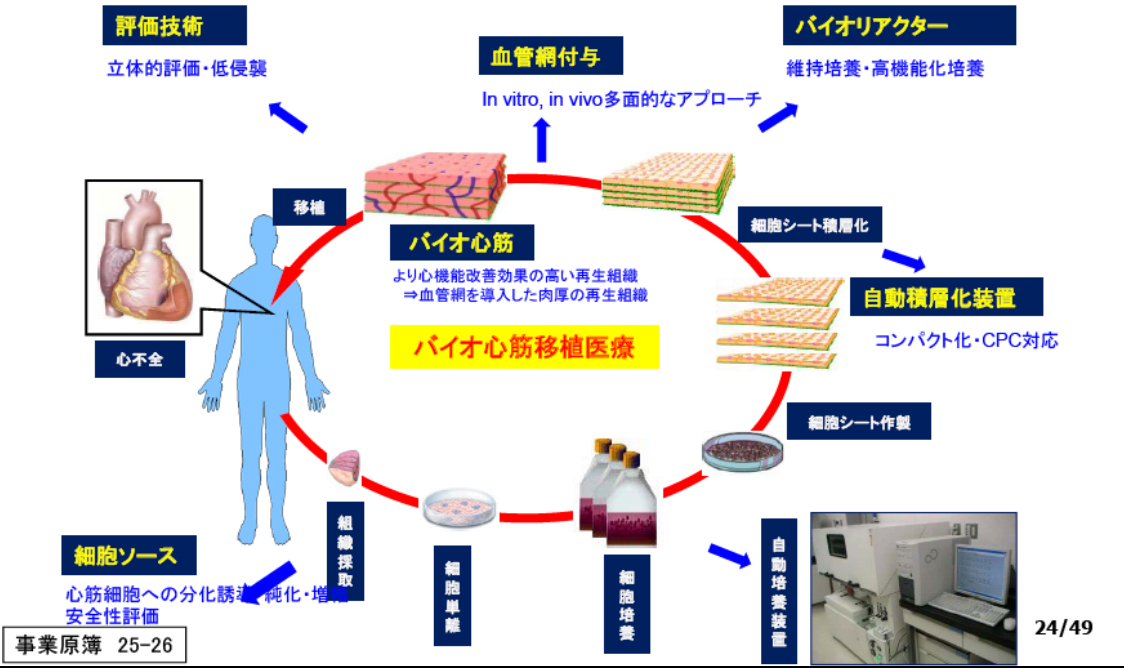
間葉系幹細胞との組み合わせ、もしくは、大網を利用した治療として、新たな細胞治療が展開できる技術が確立できた。

細胞治療の基礎を支える基盤技術として、*in vitro*での組織構築技術の確立、分化誘導、細胞制御、安全性評価、機能評価という技術が完成した。

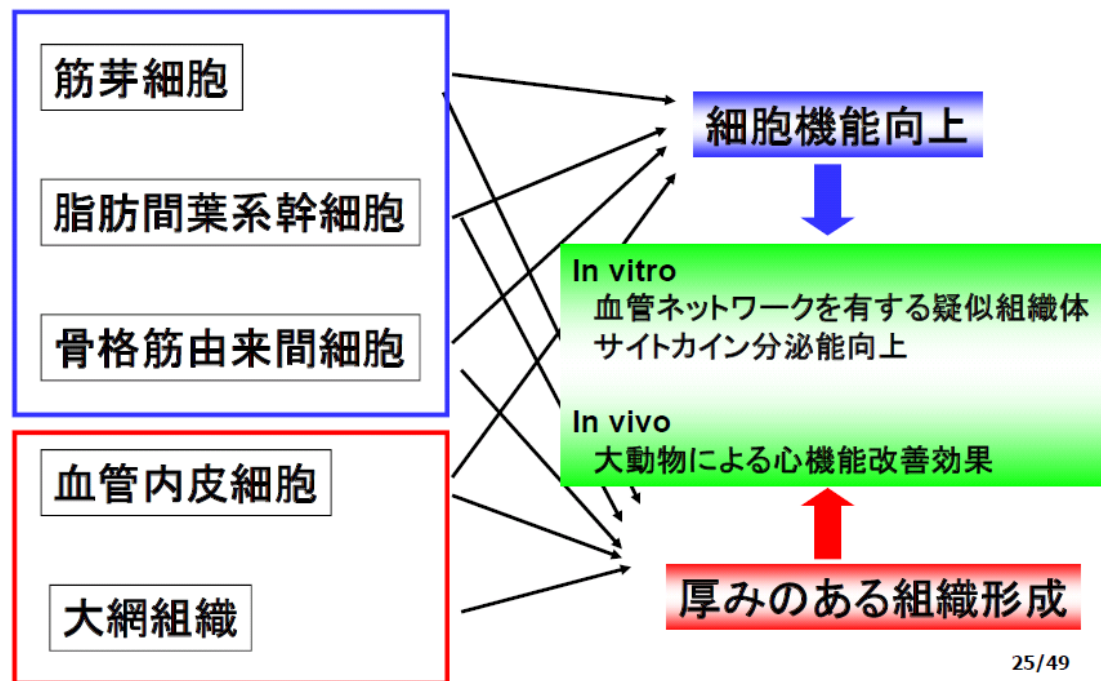
- 心筋治療のみならず色々な分野でも応用可能と考えられる。

各個別テーマの成果

心疾患に対するバイオ心筋移植医療の確立



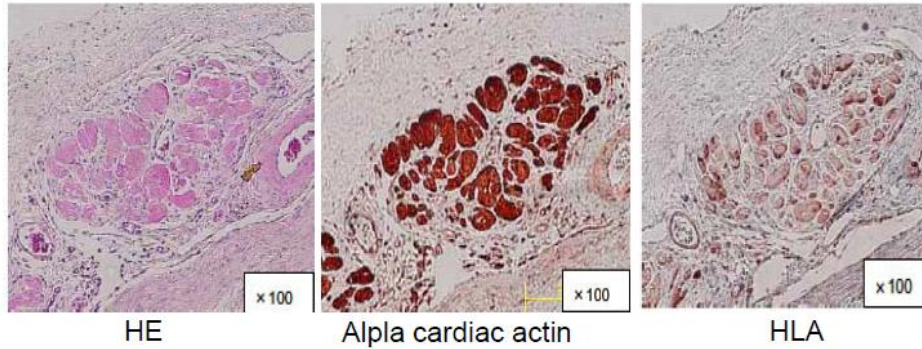
細胞源の選択





### 脂肪由来間葉系幹細胞の開発

脂肪由来Isl-1、GATA-4発現細胞から作製した心筋芽細胞シートの  
Nude Rat心筋梗塞モデルへの移植実験



**in vivoで心筋細胞への分化を確認  
内皮細胞混合により、細胞生着・心機能改善効果の増強**

特許出願番号:2007-157387 脂肪組織由来多系統前駆細胞  
特許出願番号:2007-157389 心筋芽細胞を含むシート

26/49

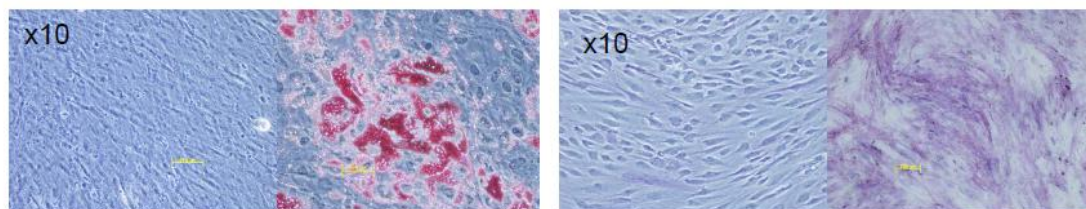
事業原簿 25-26

### 骨格筋内幹細胞の開発

ヒト骨格筋由来 CD34+ cells

- ✓ 骨格筋内幹細胞の単離条件の検討
- ✓ 多分化能を確認
- ✓ マウス梗塞部への移植・心機能改善効果

Culture medium	脂肪細胞分化誘導medium (16days)	Culture medium	骨芽細胞分化誘導medium (14days)
----------------	----------------------------	----------------	----------------------------



Oil red 染色

Alkaline phosphatase活性

多分化能を有する細胞群を単離

**心筋分化誘導因子(BMP、Activin、IGFBP-4)での心筋分化検討**

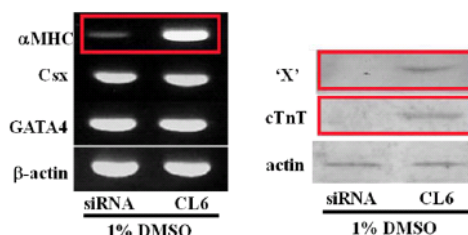
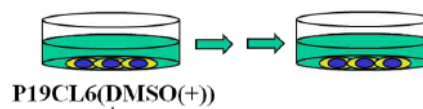
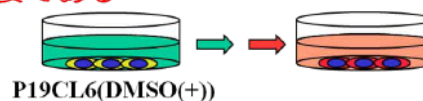
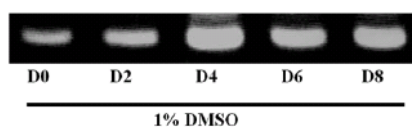
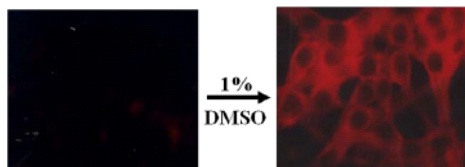
27/49

事業原簿 25-26

### 分化・増殖因子の開発

**IGFBP-4はP19CL6の心筋分化に必要である**

P19CL6



IGFBP-4はP19CL6の心筋分化過程においてその発現が増加する。

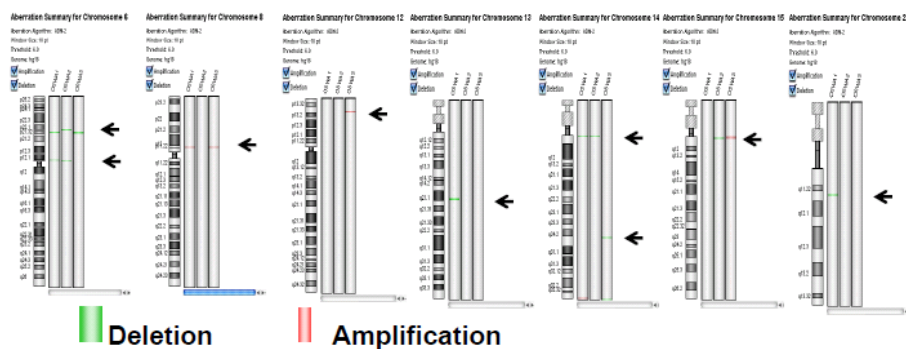
IGFBP-4はP19CL6の心筋分化に必要なである。

Zhu W. Nature 454 (17) 2008

### ゲノム異常の解析法の確立 → aCGH解析

試料：筋芽細胞

OSWA1(XX) OSWA2(XX) OSWA3(XY)



変異領域内にある遺伝子

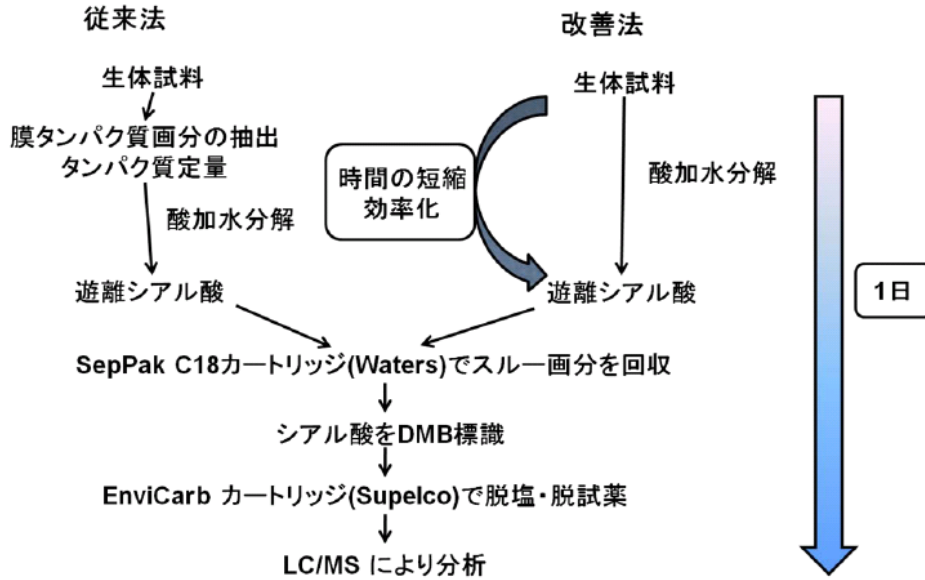
Deletion : なし

Amplification: CNVとして報告されている領域

Promega社:human genomic DNAをリファレンスとして使用

異種血清由来糖鎖解析法の確立 : LC-MS解析

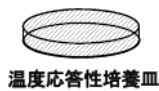
測定迅速化: 前処理法の見直し



Neu5Gcの含有量にも個人差→細胞採取後と移植前で比較

洗浄シートの積層能・細胞機能評価

ヒト筋芽細胞シート



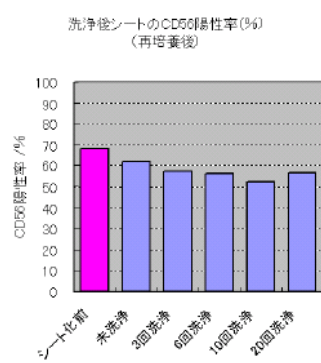
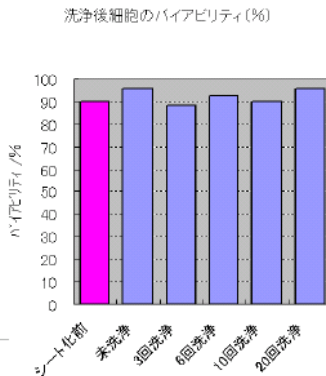
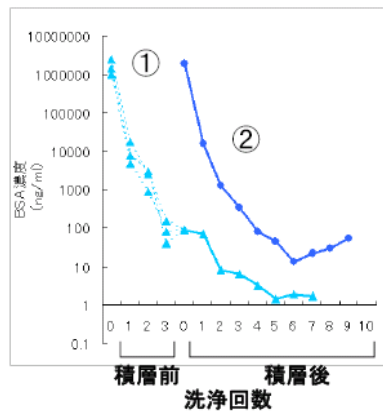
シート作製

単層シート洗浄

3回洗浄  
6回洗浄  
10回洗浄  
20回洗浄

シート積層

細胞機能  
の評価

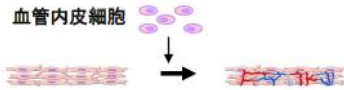


洗浄後の純度、バイアビリティ、細胞形態に問題なし

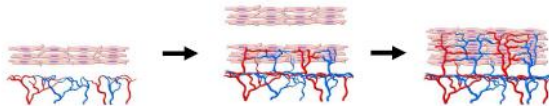


### 血管網を付与したバイオ心筋の開発

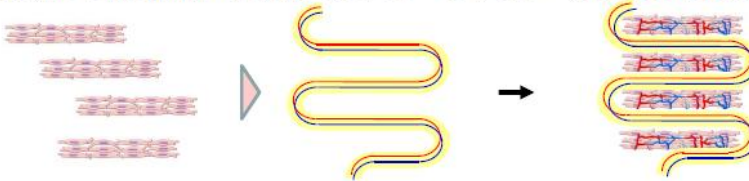
- 血管内皮細胞の導入による血管網形成の促進



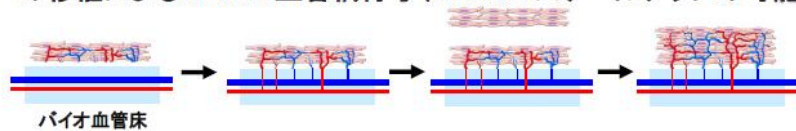
- 多段階移植によるin vivo血管網付与とスケールアップ (in vivo で1mm 達成)



- 大網を用いたin vivo血管網付与とスケールアップ (in vivoで5mm達成)



- バイオ血管床への移植によるin vitro血管網付与(in vitro スケールアップの可能性)



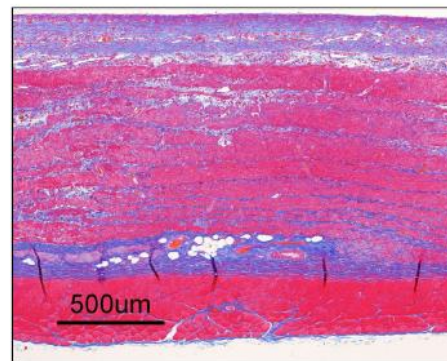
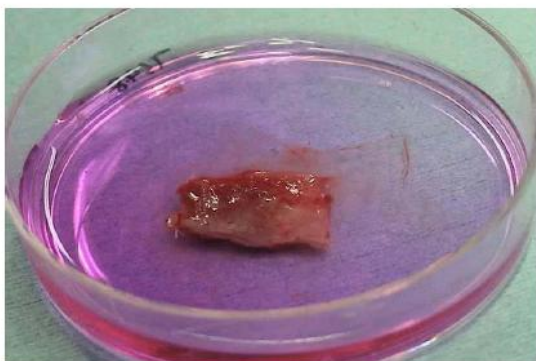
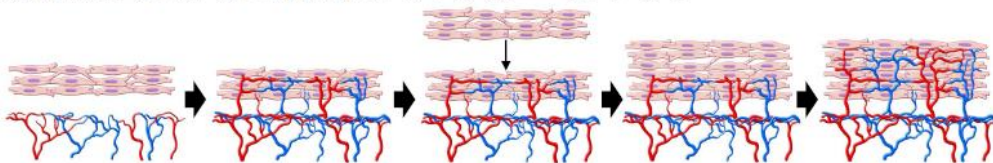
事業原簿 27-28

バイオ血管床

32/49

### 血管網を誘導する移植技術①

#### 多段階移植による血管網付与とスケールアップ

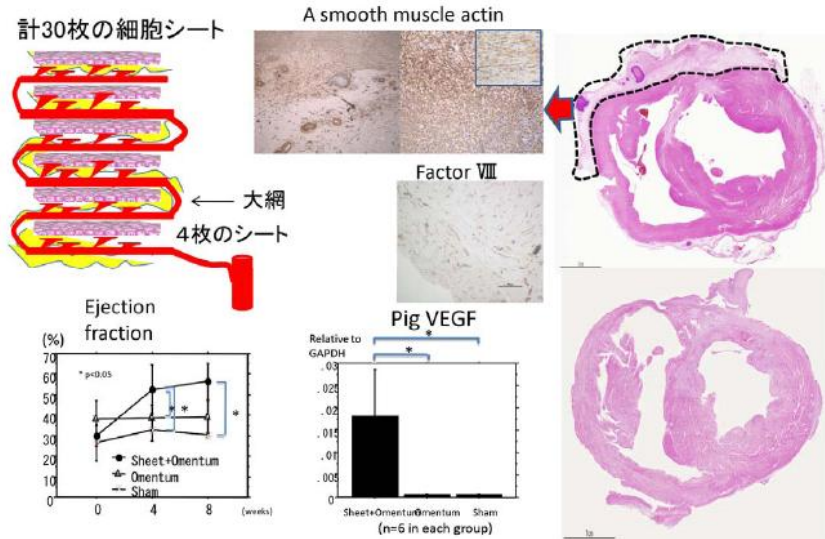


ラット心筋シート3層 x 10回 移植  
厚さ1mm の心筋組織

事業原簿 27-28

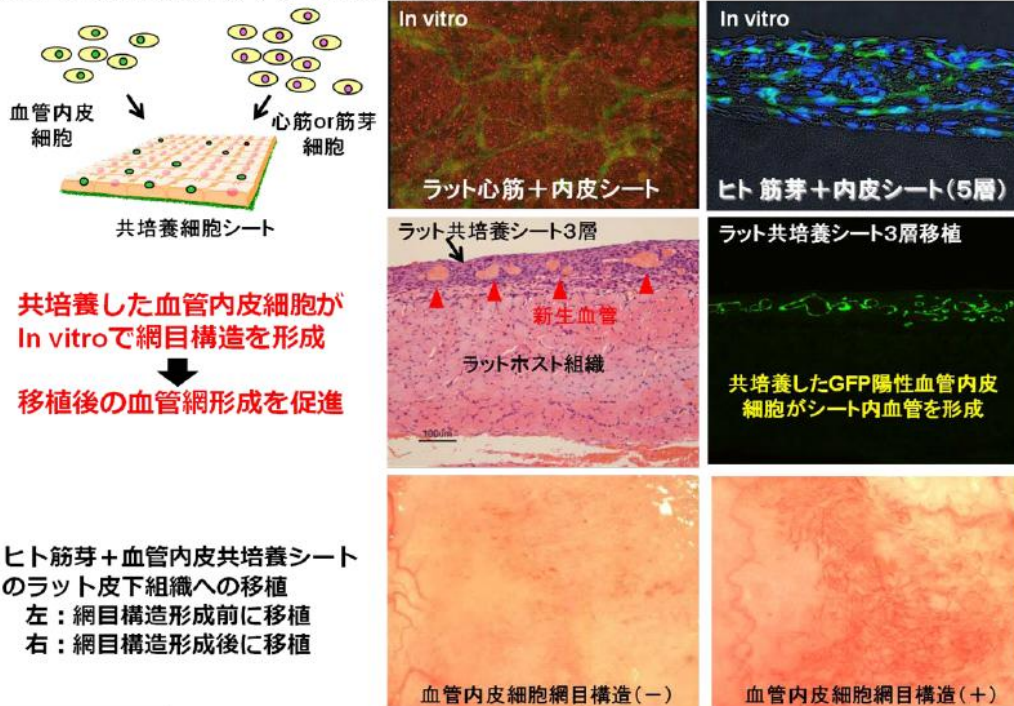
33/49

## 血管網を誘導する移植技術② 大網を用いたin vivo血管網付与とスケールアップ



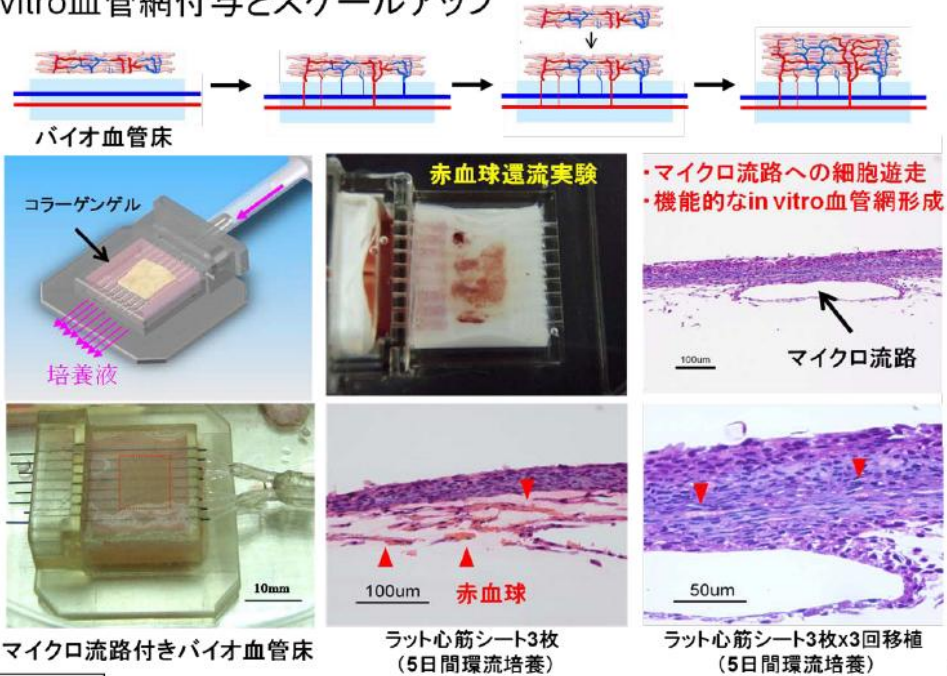
**ブタ筋芽細胞シート4層 x 30枚 大網に移植  
厚さ>5mm の組織**

## 血管内皮細胞導入による血管網形成の促進

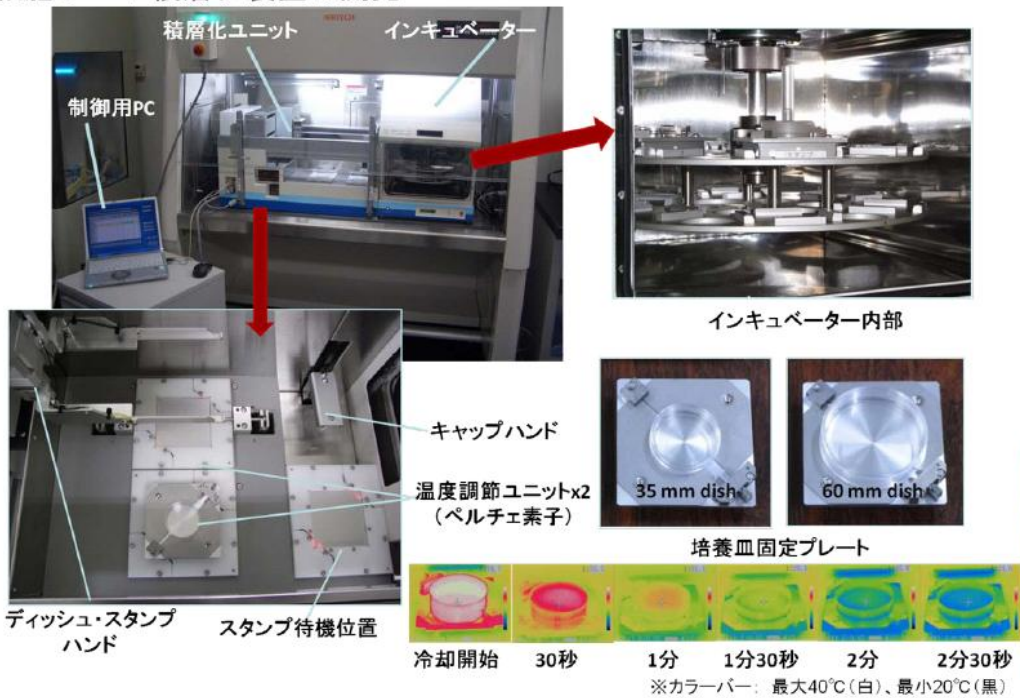




生体を模倣したバイオ血管床への移植による  
in vitro血管網付与とスケールアップ



細胞シート積層化装置の開発

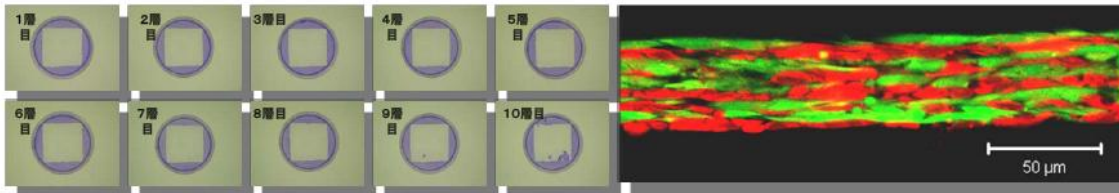


### 細胞シート積層化装置の開発 安全キャビネット内設置型自動積層化装置



**研究用普及型積層化装置**

サイズ: 30X36X39cm  
・アタッチメント交換により種々の培養器材に対応



事業原簿 27-28 ヒト筋芽細胞シート10層積層 38/49

### バイオ心筋評価技術の開発

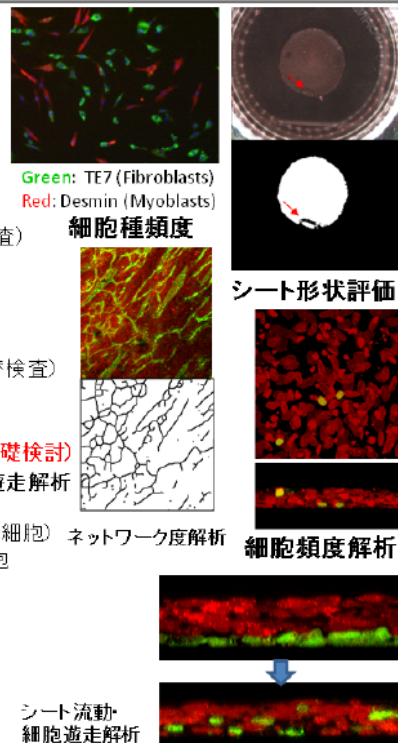
**シート原料特性**(侵襲的検査)  
**細胞種類度**  
(筋芽細胞, 繊維芽細胞, 内皮細胞)

**細胞分布・形態**  
シート形状評価(面積, 穴空き)(非侵襲的検査)  
**細胞頻度解析**  
(細胞密度, 増殖細胞頻度, 死細胞頻度)  
(弱侵襲的または代替検査)  
**ネットワーク度解析**  
(立体的蛍光組織観察)(弱侵襲的または代替検査)

**パラクライン特性**(非侵襲的または弱侵襲的検査)  
サイトカイン生成(遺伝子発現, 分泌速度)  
(real-time PCR, ELISA)  
候補マーカー: VEGF, HGF, FGF-2, SDF-1 $\alpha$ , MMP-2, 3, 9, EGF

**分化特性**(弱侵襲的または代替検査)  
分化度解析(遺伝子発現)(real-time PCR)  
候補マーカー: Myogenin, Myosin Heavy Chain-2, MyoD1, Myf-5

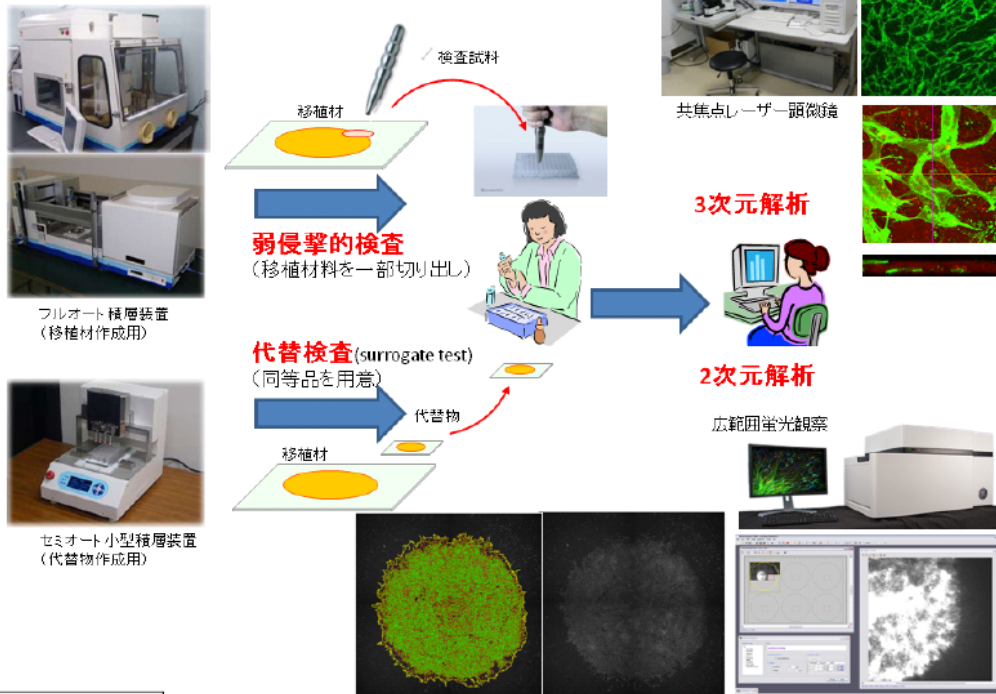
**力学特性**(侵襲的検査)  
力学的応答・機能  
電気的応答(Ca<sup>2+</sup>応答)



事業原簿 28-29 39/49



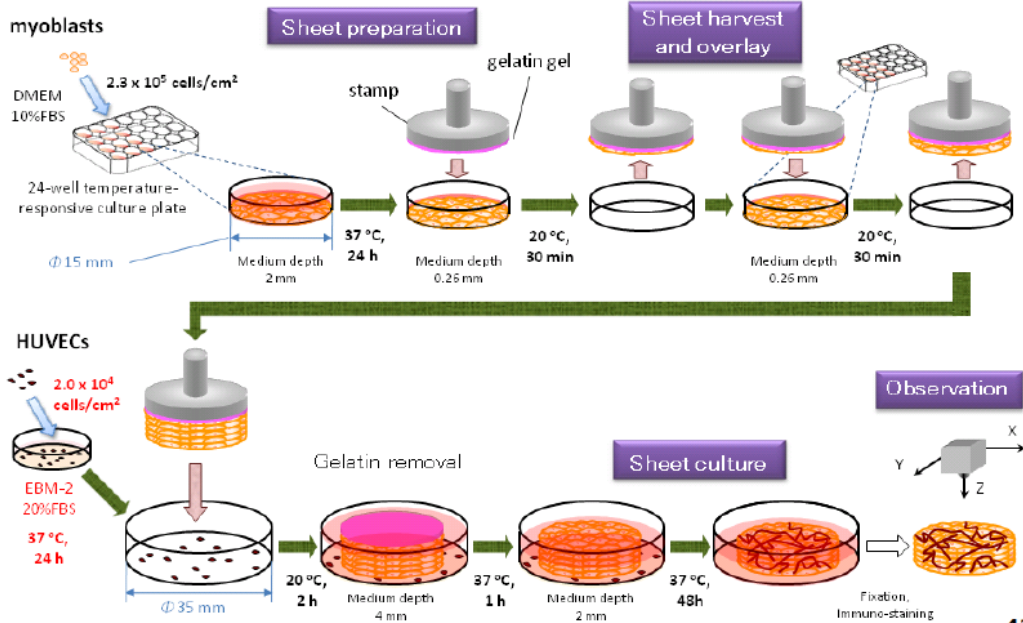
実際の細胞シート評価工程に関する考察



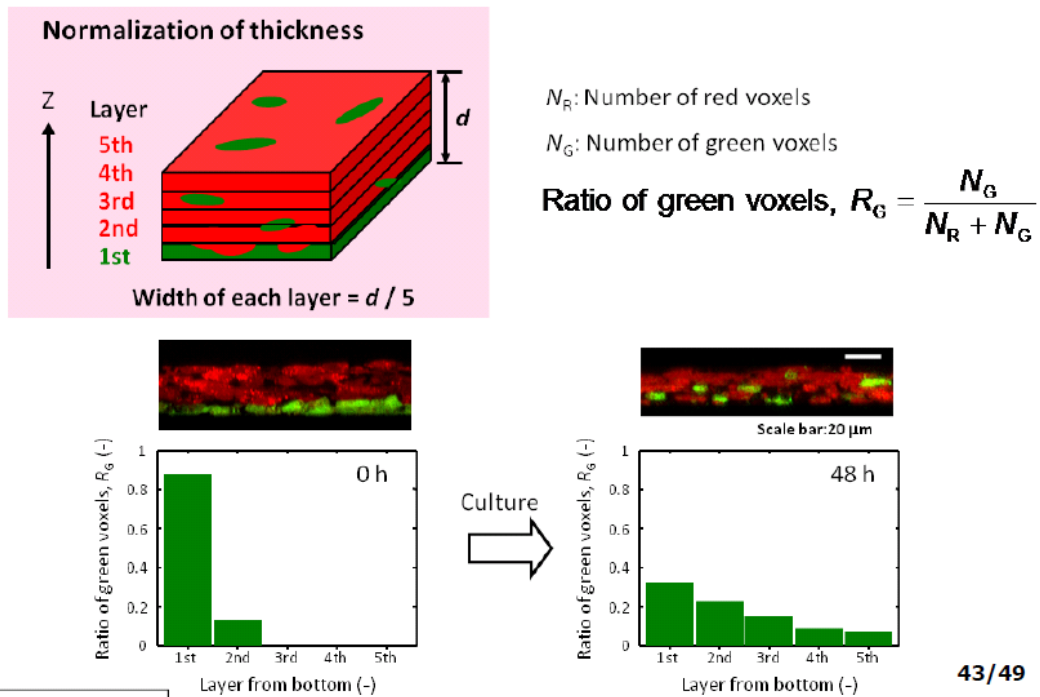
代替検査用細胞シート作成方法の確立



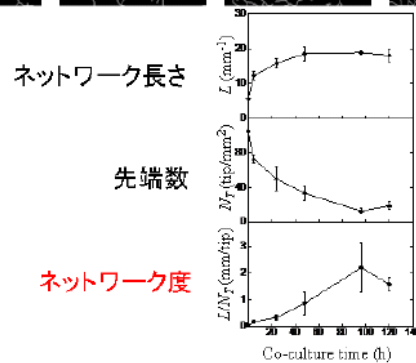
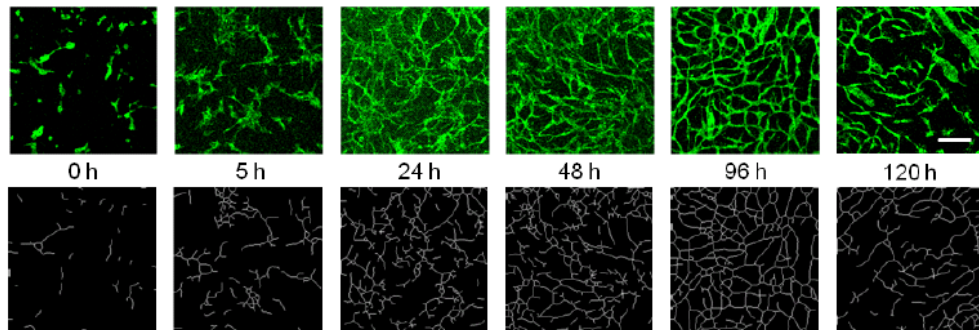
血管内皮細胞前培養を改良した共培養シート作製プロトコル



5層細胞シート内の流動性評価



筋芽細胞シート内の血管内皮細胞ネットワーク形成機構とネットワーク度による評価



Scale bar: 200 μm

知的財産権、成果の普及

	H18	H19	H20	H21	計
特許出願	0	5	3	0	8件
論文(査読付き)	2	17	13	17	49件
研究発表・講演	13	18	12	27	70件
受賞実績	6	0	0	2	8件
新聞・雑誌等への掲載	5	3	1	2	11件
公開シンポジウム	0	1	0	2	3件

知的財産の戦略的取得

研究  
開発  
成果

③ バイオ心筋の評価技術の開発

(学術発表)初代・継代培養 (学術発表)シート化・積層  
細胞挙動:筋芽細胞の遊走性 接触阻害における分化阻害効果  
促進による増殖効率の改善

バイオ心筋・評価関連: 1件(出願中)

② バイオ心筋の機能向上技術の開発

初代・継代培養関連: 1件(出願中)

(学術発表)移植・治療法  
大綱を使用した移植法

シート化・積層関連: 1件(出願中)

バイオ心筋・評価関連: 2件(出願中)

① 細胞源・増殖因子の開発

細胞採取関連: 2件(出願中)

初代・継代培養関連: 1件(出願中)

基盤  
技術

WO2005/011524  
三次元組織構造体  
(筋芽細胞として)

登録番号4486359  
培養細胞移動治具及びその利用方法

WO01/068799  
細胞培養用支持体材料、細胞の共培養方法  
およびそれより得られる共培養細胞シート

登録番号5284766  
Bed material for cell culture

WO2005/011524  
三次元組織構造体

特開2003-306434

心筋細胞シートによる心筋症治療薬

WO02/08387

心筋様細胞シート、3次元構造体、  
心筋様組織及びそれらの製造法

細胞採取

初代・継代培養

シート化・積層

バイオ心筋・評価

移植・治療法

発表内容

I. 事業の位置付け

NEDOバイオ・医療部

- (1) 社会的背景
- (2) 事業の目的
- (3) 事業の位置付け
- (4) NEDOが関与する意義
- (5) 研究開発の動向
- (6) 実施の効果

II. 研究開発マネジメント

NEDOバイオ・医療部

- (1) 事業の目標
- (2) 事業の計画内容
- (3) 研究開発の実施体制
- (4) 研究の運営管理
- (5) 情勢変化への対応
- (6) 中間評価結果への対応

III. 研究開発成果

PL:大阪大学 澤教授

- (1) 開発目標と達成度
- (2) 各個別テーマの成果
- (3) 知財と標準化
- (4) 成果の普及

IV. 実用化、事業化の見通し

PL:大阪大学 澤教授

- (1) 実用化、事業化までのシナリオ
- (2) 波及効果



IV. 実用化、事業化の見通し (1) 実用化、事業化までのシナリオ

公開

実用化、事業化までのシナリオ

~2005 2006 2007 2008 2009 2010 2011 2012 2013 2014 2015 2016 2017 2018 (年度)

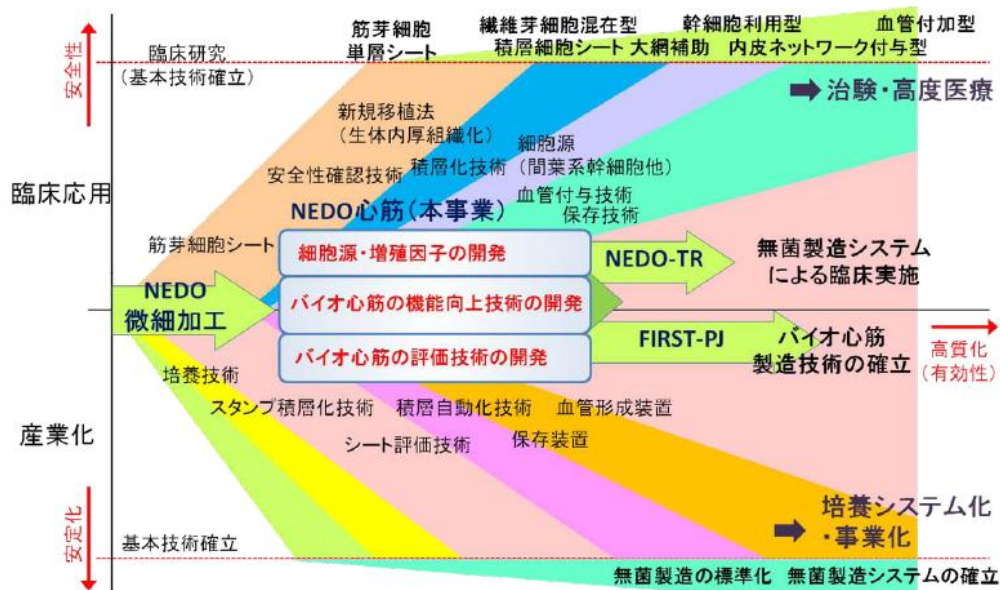


IV. 実用化、事業化の見通し (2) 波及効果

公開

波及効果

~2005 2006 2007 2008 2009 2010 2011 2012 2013 2014 2015 (年度)

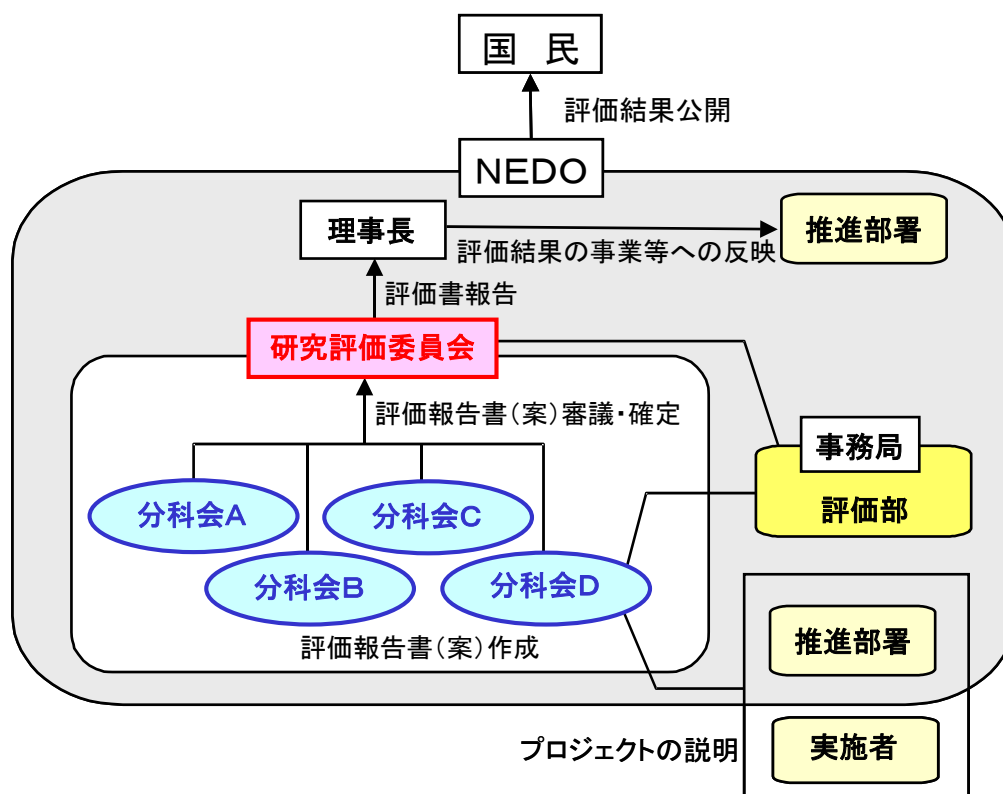


## 参考資料 1 評価の実施方法

本評価は、「技術評価実施規程」（平成 15 年 10 月制定）に基づいて研究評価を実施する。

独立行政法人新エネルギー・産業技術総合開発機構（NEDO）における研究評価の手順は、以下のように被評価プロジェクトごとに分科会を設置し、同分科会にて研究評価を行い、評価報告書（案）を策定の上、研究評価委員会において確定している。

- 「NEDO 技術委員・技術委員会等規程」に基づき研究評価委員会を設置
- 研究評価委員会はその下に分科会を設置



## 1. 評価の目的

評価の目的は「技術評価実施規程」において。

- 業務の高度化等の自己改革を促進する
- 社会に対する説明責任を履行するとともに、  
経済・社会ニーズを取り込む
- 評価結果を資源配分に反映させ、資源の重点化及び業務の効率化を  
促進する

としている。

本評価においては、この趣旨を踏まえ、本事業の意義、研究開発目標・計画の妥当性、計画を比較した達成度、成果の意義、成果の実用化の可能性等について検討・評価した。

## 2. 評価者

技術評価実施規程に基づき、事業の目的や態様に即した外部の専門家、有識者からなる委員会方式により評価を行う。分科会委員選定に当たっては以下の事項に配慮して行う。

- 科学技術全般に知見のある専門家、有識者
- 当該研究開発の分野の知見を有する専門家
- 研究開発マネジメントの専門家、経済学、環境問題、国際標準、その他社会的ニーズ関連の専門家、有識者
- 産業界の専門家、有識者
- ジャーナリスト

また、評価に対する中立性確保の観点から事業の推進側関係者を選任対象から除外し、また、事前評価の妥当性を判断するとの側面にかんがみ、事前評価に関与していない者を主体とする。

これらに基づき、分科会委員名簿にある6名を選任した。

なお、本分科会の事務局については、独立行政法人新エネルギー・産業技術総合開発機構評価部が担当した。

## 3. 評価対象

平成18年度に開始された「再生医療評価研究開発事業／心筋再生治療研究開発技術開発」プロジェクトを評価対象とした。

なお、分科会においては、当該事業の推進部署から提出された事業原簿、プ

プロジェクトの内容、成果に関する資料をもって評価した。

#### 4. 評価方法

分科会においては、当該事業の推進部署及び研究実施者からのヒアリングと、それを踏まえた分科会委員による評価コメント作成、評点法による評価及び実施者側等との議論等により評価作業を進めた。

なお、評価の透明性確保の観点から、知的財産保護の上で支障が生じると認められる場合等を除き、原則として分科会は公開とし、研究実施者と意見を交換する形で審議を行うこととした。

#### 5. 評価項目・評価基準

分科会においては、次に掲げる「評価項目・評価基準」で評価を行った。これは、研究評価委員会による『各分科会における評価項目・評価基準は、被評価プロジェクトの性格、中間・事後評価の別等に応じて、各分科会において判断すべきものである。』との考え方に従い、第1回分科会において、事務局が、研究評価委員会により示された「標準的評価項目・評価基準」（参考資料 1-7 頁参照）をもとに改定案を提示し、承認されたものである。

プロジェクト全体に係わる評価においては、主に事業の目的、計画、運営、達成度、成果の意義や実用化への見通し等について評価した。各個別テーマに係る評価については、主にその目標に対する達成度等について評価した。

## 評価項目・評価基準

### 1. 事業の位置付け・必要性について

#### (1) NEDOの事業としての妥当性

- ・ 健康安心イノベーションプログラムの施策・制度の目標達成のために寄与しているか。
- ・ 民間活動のみでは改善できないものであること、又は公共性が高いことにより、NEDOの関与が必要とされる事業か。
- ・ 当該事業を実施することによりもたらされる効果が、投じた予算との比較において十分であるか。

#### (2) 事業目的の妥当性

- ・ 内外の技術開発動向、国際競争力の状況、市場動向、政策動向、国際貢献の可能性等から見て、事業の目的は妥当か。

### 2. 研究開発マネジメントについて

#### (1) 研究開発目標の妥当性

- ・ 内外の技術動向、市場動向等を踏まえて、戦略的な目標が設定されているか。
- ・ 具体的かつ明確な開発目標を可能な限り定量的に設定しているか。
- ・ 目標達成度を測定・判断するための適切な指標が設定されているか。

#### (2) 研究開発計画の妥当性

- ・ 目標達成のために妥当なスケジュール、予算（各個別研究テーマ毎の配分を含む）となっているか。
- ・ 目標達成に必要な要素技術を取り上げているか。
- ・ 研究開発フローにおける要素技術間の関係、順序は適切か。
- ・ 継続プロジェクトや長期プロジェクトの場合、技術蓄積を、実用化の観点から絞り込んだうえで活用が図られているか。

#### (3) 研究開発実施の事業体制の妥当性

- ・ 適切な研究開発チーム構成での実施体制になっているか。
- ・ 真に技術力と事業化能力を有する企業を実施者として選定しているか。
- ・ 研究管理法人を経由する場合、研究管理法人が真に必要な役割を担っているか。

- ・ 全体を統括するプロジェクトリーダー等が選任され、十分に活躍できる環境が整備されているか。
  - ・ 目標達成及び効率的実施のために必要な実施者間の連携が十分に行われる体制となっているか。
  - ・ 実用化シナリオに基づき、成果の受け取り手（ユーザー、活用・実用化の想定者等）に対して、関与を求める体制を整えているか。
- (4) 研究開発成果の実用化に向けたマネジメントの妥当性
- ・ 成果の実用化につなげる戦略が明確になっているか。
  - ・ 成果の実用化につなげる知財マネジメントの方針が明確に示され、かつ妥当なものか。
- (5) 情勢変化への対応等
- ・ 進捗状況を常に把握し、社会・経済の情勢の変化及び政策・技術動向に機敏かつ適切に対応しているか。
  - ・ 計画見直しの方針は一貫しているか（中途半端な計画見直しが研究方針の揺らぎとなっていないか）。計画見直しを適切に実施しているか。

### 3. 研究開発成果について

- (1) 目標の達成度
- ・ 成果は目標値をクリアしているか。
  - ・ 全体としての目標達成はどの程度か。
  - ・ 目標未達成の場合、目標達成までの課題を把握し、課題解決の方針が明確になっているか。
- (2) 成果の意義
- ・ 成果は市場の拡大或いは市場の創造につながる事が期待できるか。
  - ・ 成果は、世界初あるいは世界最高水準か。
  - ・ 成果は、新たな技術領域を開拓することが期待できるか。
  - ・ 成果は汎用性があるか。
  - ・ 投入された予算に見合った成果が得られているか。
  - ・ 成果は、他の競合技術と比較して優位性があるか。
- (3) 知的財産権等の取得及び標準化の取組
- ・ 知的財産権等の取扱（特許や意匠登録出願、著作権の登録、品種登録出願、営業機密の管理等）は事業戦略、または実用化計画に沿って国内外

に適切に行われているか。

(4) 成果の普及

- ・ 論文の発表は、研究内容を踏まえ適切に行われているか。
- ・ 成果の受取手（ユーザー、活用・実用化の想定者等）に対して、適切に成果を普及しているか。また、普及の見通しは立っているか。
- ・ 一般に向けて広く情報発信をしているか。

4. 実用化の見通しについて

(1) 成果の実用化可能性

- ・ 実用化イメージ・出口イメージが明確になっているか。
- ・ 実用化イメージ・出口イメージに基づき、開発の各段階でマイルストーンを明確にしているか。それを踏まえ、引き続き研究開発が行われる見通しは立っているか。

(2) 波及効果

- ・ 成果は関連分野への波及効果（技術的・経済的・社会的）を期待できるものか。
- ・ プロジェクトの実施自体が当該分野の研究開発や人材育成等を促進するなどの波及効果を生じているか。



## 標準的評価項目・評価基準（事後評価）

2010. 3. 26

### 【事後評価 標準的評価項目・評価基準の位置付け（基本的考え方）】

標準的評価項目・評価基準は、第25回研究評価委員会（平成22年3月26日付）において以下のとおり定められている。（本文中の記載例による1…、2…、3…、4…が標準的評価項目、それぞれの項目中の(1)…、(2)…が標準的評価基準、それぞれの基準中の…が視点）

ただし、これらの標準的評価項目・評価基準は、研究開発プロジェクトの事後評価における標準的な評価の視点であり、各分科会における評価項目・評価基準は、被評価プロジェクトの性格等に応じて、各分科会において判断すべきものである。

#### 1. 事業の位置付け・必要性について

##### (1) NEDOの事業としての妥当性

- ・ 特定の施策（プログラム）、制度の下で実施する事業の場合、当該施策・制度の目標達成のために寄与しているか。
- ・ 民間活動のみでは改善できないものであること、又は公共性が高いことにより、NEDOの関与が必要とされる事業か。
- ・ 当該事業を実施することによりもたらされる効果が、投じた予算との比較において十分であるか。

##### (2) 事業目的の妥当性

- ・ 内外の技術開発動向、国際競争力の状況、エネルギー需給動向、市場動向、政策動向、国際貢献の可能性等から見て、事業の目的は妥当か。

#### 2. 研究開発マネジメントについて

##### (1) 研究開発目標の妥当性

- ・ 内外の技術動向、市場動向等を踏まえて、戦略的な目標が設定されているか。
- ・ 具体的かつ明確な開発目標を可能な限り定量的に設定しているか。
- ・ 目標達成度を測定・判断するための適切な指標が設定されているか。

## (2)研究開発計画の妥当性

- ・ 目標達成のために妥当なスケジュール、予算（各個別研究テーマ毎の配分を含む）となっているか。
- ・ 目標達成に必要な要素技術を取り上げているか。
- ・ 研究開発フローにおける要素技術間の関係、順序は適切か。
- ・ 継続プロジェクトや長期プロジェクトの場合、技術蓄積を、実用化の観点から絞り込んだうえで活用が図られているか。

## (3)研究開発実施の事業体制の妥当性

- ・ 適切な研究開発チーム構成での実施体制になっているか。
- ・ 真に技術力と事業化能力を有する企業を実施者として選定しているか。
- ・ 研究管理法人を経由する場合、研究管理法人が真に必要な役割を担っているか。
- ・ 全体を統括するプロジェクトリーダー等が選任され、十分に活躍できる環境が整備されているか。
- ・ 目標達成及び効率的実施のために必要な実施者間の連携 and/or 競争が十分に行われる体制となっているか。
- ・ 実用化シナリオに基づき、成果の受け取り手（ユーザー、活用・実用化の想定者等）に対して、関与を求める体制を整えているか。

## (4) 研究開発成果の実用化に向けたマネジメントの妥当性

- ・ 成果の実用化につなげる戦略が明確になっているか。
- ・ 成果の実用化につなげる知財マネジメントの方針が明確に示され、かつ妥当なものか。

## (5)情勢変化への対応等

- ・ 進捗状況を常に把握し、社会・経済の情勢の変化及び政策・技術動向に機敏かつ適切に対応しているか。
- ・ 計画見直しの方針は一貫しているか（中途半端な計画見直しが研究方針の揺らぎとなっていないか）。計画見直しを適切に実施しているか。

## 3. 研究開発成果について

### (1)目標の達成度

- ・ 成果は目標値をクリアしているか。（※）  
（※事後評価前倒し実施の場合は、「成果は目標値をクリアする見込みか。」）

- ・ 全体としての目標達成はどの程度か。
- ・ 目標未達成の場合、目標達成までの課題を把握し、課題解決の方針が明確になっているか。

## (2)成果の意義

- ・ 成果は市場の拡大或いは市場の創造につながる事が期待できるか。
- ・ 成果は、世界初あるいは世界最高水準か。
- ・ 成果は、新たな技術領域を開拓することが期待できるか。
- ・ 成果は汎用性があるか。
- ・ 投入された予算に見合った成果が得られているか。
- ・ 成果は、他の競合技術と比較して優位性があるか。

## (3)知的財産権等の取得及び標準化の取組

- ・ 知的財産権等の取扱（特許や意匠登録出願、著作権や回路配置利用権の登録、品種登録出願、営業機密の管理等）は事業戦略、または実用化計画に沿って国内外に適切に行われているか。
- ・ 国際標準化に関する事項が計画されている場合、得られた研究開発の成果に基づく国際標準化に向けた提案等の取組が適切に行われているか。

## (4)成果の普及

- ・ 論文の発表は、研究内容を踏まえ適切に行われているか。
- ・ 成果の受取手（ユーザー、活用・実用化の想定者等）に対して、適切に成果を普及しているか。また、普及の見通しは立っているか。
- ・ 一般に向けて広く情報発信をしているか。

# 4. 実用化の見通しについて

## (1)成果の実用化可能性

- ・ 実用化イメージ・出口イメージが明確になっているか。
- ・ 実用化イメージ・出口イメージに基づき、開発の各段階でマイルストーンを明確にしているか。それを踏まえ、引き続き研究開発が行われる見通しは立っているか。
- ・ 国際標準化に関する事項が計画されている場合、国際規格化等、標準整備に向けた見通しが得られているか。

## (2)波及効果

- ・ 成果は関連分野への波及効果（技術的・経済的・社会的）を期待できるものか。
- ・ プロジェクトの実施自体が当該分野の研究開発や人材育成等を促進するなどの波及効果を生じているか。

## 参考資料 2 評価に係る被評価者意見

研究評価委員会（分科会）は、評価結果を確定するにあたり、あらかじめ当該実施者に対して評価結果を示し、その内容が、事実関係から正確性を欠くなどの意見がある場合に、補足説明、反論などの意見を求めた。研究評価委員会（分科会）では、意見があったものに対し、必要に応じて評価結果を修正の上、最終的な評価結果を確定した。

評価結果に対する被評価者意見は全て反映された。

本研究評価委員会報告は、独立行政法人新エネルギー・産業技術総合開発機構（NEDO）評価部が委員会の事務局として編集しています。

平成23年3月

NEDO 評価部

部長 竹下 満

主幹 寺門 守

担当 上田 尚郎

\* 研究評価委員会に関する情報は NEDO のホームページに掲載しています。

(<http://www.nedo.go.jp/iinkai/kenkyuu/index.html>)

〒212-8554 神奈川県川崎市幸区大宮町1310番地

ミュージアム川崎セントラルタワー20F

TEL 044-520-5161 FAX 044-520-5162