

平成 2 4 年度実施方針

バイオテクノロジー・医療技術部

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

2. 根拠法

独立行政法人新エネルギー・産業技術総合開発機構法第 1 5 条第 1 項第 2 号

3. 背景及び目的・目標

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

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

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

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

本研究開発では、以下の中間及び最終目標を定めた研究開発について実施する。

研究開発項目① 「次世代再生医療技術の研究開発」

【中間目標（平成 2 4 年度）】

(1) 生体内で自己組織の再生を促すセルフリー型再生デバイスの開発

(ア) セルフリー型再生デバイスの基盤研究開発[委託事業]

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

(イ) セルフリー型再生デバイスの実用化研究開発[共同研究事業（N E D O 負担：2 / 3）]

セルフリー型再生デバイスの大動物実験を開始できるプロトタイプを作製する。

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

(ア) 自律成熟型再生デバイスの基盤研究開発[委託事業]

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

(イ) 自律成熟型再生デバイスの実用化研究開発[共同研究事業（N E D O 負担：2 / 3）]

自立成熟型再生デバイスの第動物実験を開始できるプロトタイプを作製する。

(3) 有効性・安全性評価技術等の開発 [委託事業]

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

【最終目標（平成26年度末）】

(1) 生体内で自己組織の再生を促すセルフリー型再生デバイスの開発

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

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

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

(3) 有効性・安全性評価技術等の開発

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

研究開発項目② 「次世代心機能代替治療技術の研究開発」

【中間目標（平成24年度）】

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

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

- (ア) 低補助血流量からの幅広い補助血流量変更に対応できる技術の開発
1～4 L/分の補助血流量に対応可能なポンプの実現に向けた技術を検討する。
- (イ) 抗血栓性を高める技術の開発
優れた抗血栓性を有するデザインや表面処理技術等を検討する。
- (ウ) 長期使用を可能とする技術の開発
 - ・感染対策及び溶血対策ならびに耐久性の向上技術を検討する。
 - ・成長への対応を可能とする技術を検討する。
 - ・コントローラ等も含めた装置の小型・軽量化技術を検討する。

(2) 有効性及び安全性の評価 [委託事業]

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

【最終目標（平成26年度末）】

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

さらに、プロトタイプ of 植込み型補助人工心臓としての有効性及び機械的・電氣的・生物学的な安全性の評価を行い、大動物において、プロトタイプを用いて3ヶ月の生存を達成する。

4. 実施内容及び進捗状況

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

4. 1 平成23年度事業内容

研究開発項目①「次世代再生医療技術の研究開発」

(1) 生体内で自己組織の再生を促すセルフリー型再生デバイスの開発

(ア) セルフリー型再生デバイスの基盤研究開発

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

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

幹細胞誘導と分化因子の徐放に適した薬物包含ハイドロゲル及び細胞接着に最適な徐放化ハイドロゲルの細胞足場の作製を行い、ドラッグデリバリーシステムとしてのデバイスデザインを決定した。(実施体制-ニプロ株式会社、国立大学法人大阪大学、再委託-独立行政法人国立成育医療研究センター、国立大学法人京都大学、小野薬品工業株式会社)

(イ) セルフリー型再生デバイスの実用化研究開発

セルフリー型再生デバイスの実用化に向け、デバイスの材料の選定と加工技術の検討を行い、その結果に基づいて、心血管デバイスの骨格製造を再現性良く、かつ安定的に行うための製造技術の検討を行った。(実施体制-ニプロ株式会社)

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

(ア) 自律成熟型再生デバイスの基盤研究開発

(i) 生体内で自律的に成熟する臓器再生デバイスのための基盤研究開発

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

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

関節用再生デバイスでは、血漿タンパク質・人工骨複合体の軟骨下骨再生への有用性に関する動物実験を実施した。また、無血清培地を用いた間葉系幹細胞の増幅効果、及び軟骨分化能の最適化を検討した。

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

(ii) Muse細胞を用いた in situ stem cell therapy の基盤研究開発

Muse細胞の損傷部位への誘導に関する研究開発として、疾患モデルマウス

を作製し、当該マウスから採取した末梢血での増加因子及び遊走細胞の同定のためのアッセイ系の確立を行うとともに、他の細胞遊走モデルを参考にした遊走因子候補について検証した。この結果、M u s e 細胞の遊走因子として有力な候補物質を発見した。当該遊走因子候補につき、T A X I S c a n 等による *in vitro* での細胞の遊走状態の解析システムの立ち上げを行った。また、*in vivo* でもマウスを用いた M u s e 細胞の遊走の検証を行う系の検討を行った。

生体内での分化制御に関する研究開発として、M u s e 細胞からの分化誘導に成功した細胞につき、支持体と一体化した医療デバイスの検討を行った。さらに他家 M u s e 細胞又は他家 M u s e 細胞から分化させた細胞の免疫応答についての検討を行った。(実施体制-株式会社 C l i o、国立大学法人京都大学、国立大学法人東北大学)

(イ) 自律成熟型再生デバイスの実用化研究開発

(i) 生体内で自律的に成熟する臓器再生デバイスのための実用化研究開発

軟骨用自律再生デバイスに関して、増殖刺激や分化刺激の検討を行い、これらの機能を担持した移植用培養モジュールを試作した。このモジュールを用いた際の細胞増殖・細胞の取り出し、ならびに移植方法に関して、開発を進め、実用化を追求した。(実施体制-株式会社スリー・ディー・マトリックス、野村ユニソン株式会社)

(ii) M u s e 細胞を用いた *in situ* stem cell therapy の実用化研究開発

M u s e 細胞の遊走及び分化制御に関する研究開発として、本研究開発項目で対象としている皮膚疾患と神経変性損傷疾患の中で、適切な疾患を検討したところ、皮膚疾患では白斑症を、神経変性損傷疾患では、脳梗塞をターゲットとすることにした。白斑症では、M u s e 細胞から分化誘導したメラノサイトを用いた培養皮膚の作製検討を行った。脳梗塞では、M u s e 細胞から分化誘導した神経前駆細胞の移植検討を行った。(実施体制-株式会社 C l i o、再委託-国立大学法人東北大学)

(3) 有効性・安全性評価技術等の開発

細胞の安全性に関しては、マーカー遺伝子の選出や軟寒天培養法の適応、NOG マウスの応用を検討した。製品の安全性に関しては、細胞形質変化の評価方法を検討した。評価ガイドライン確立に関しては、有効性評価項目ならびに評価方法の検討を行った。(実施体制-国立大学法人東京大学、株式会社ツーセル、学校法人福田学園大阪保健医療大学)

研究開発項目②「次世代心機能代替治療技術の研究開発」

(1) 小柄な患者に適用できる植込み型補助人工心臓の開発

体重 15-30 キロの患者にも体内植込み可能な補助人工心臓システムとして、低流量運転に向けた流路設計、流動解析に着手した。流動解析結果から低流量運転領域についての評価を進めた。性能試験評価羽根車の機械加工用 3 次元 CAD データの作成と機械加工を行った。性能試験用ポンプの組立に着手し、性能試験評価に向けた準備を進めた。

製作した 1 次試作機駆動装置小型化のための筐体/基板改造と、電源喪失時のアラーム機能追加を取り進めた。また、携帯バッテリーとその充電器の電磁環境両立性試験を着手した。(実施体制-ニプロ株式会社、三菱重工業株式会社)

(2) 有効性及び安全性の評価

耐久性試験・抗血栓性試験については、小児患者の循環を再現した高心拍数かつ小血流量の拍動血流波形を実現するための、血流量の日内変動を勘案した拍動機構を試作した。拍動機構の弁について検討し、駆動系の改良設計に着手した。モニタ

リング・警報システムの基本アルゴリズムを構築し、基本動作を確認した。また、粘弾性装置を使用して、せん断応力と血液凝固能の相関については、活性化凝固時間の低下およびせん断応力の低下にともなって、血液凝固が促進することが定量的に得られた。生物学的安全性試験に関しては、試験結果を評価するための構成部品の試作を行った。慢性動物実験による生体適合性評価については、小柄患者を対象とした補助人工心臓の評価法を確立するために必要な動物実験方法の確立のため、ヤギを用いてその解剖学的特徴から最適な送脱血管形状に関する検討を行った。また、トロンボエラストメトリー法によるヒトとヤギの血小板凝集能の違いについて検討し、ヤギの血小板凝集能は、ヒトと比較しC Tの延長およびC F Tの短縮、およびM C Fの増加が認められ、被検システムの抗血栓性評価や実験時の抗血小板療法の実施時に考慮すべきであると判断された。（実施体制-ニプロ株式会社、三菱重工業株式会社、独立行政法人国立循環器病研究センター、再委託-独立行政法人産業技術総合研究所）

4. 2 実績推移

	22年度	23年度
実績額推移（百万円）	394	665
特許出願数（件）	15	6
発表数（件）	98	67

5. 事業内容

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

5. 1 平成24年度事業内容

研究開発項目①「次世代再生医療技術の研究開発」

(1) 生体内で自己組織の再生を促すセルフリー型再生デバイスの開発

(ア) セルフリー型再生デバイスの基盤研究開発

同定した幹細胞ニッチを構築する細胞外マトリックスの候補分子について、その活性を *in vitro* で詳細に検討するとともに、これまでの成果から明らかとなった人工幹細胞ニッチの構築戦略を基に、具体的な幹細胞ニッチ構築を目指して、ニッチ候補分子とマトリックス因子、液性因子の結合、固相化、徐放特性を最適化する。

候補幹細胞誘導・分化促進因子の治療効果を確認し、心不全モデル動物で治療効果の得られるプロトタイプを作製する。

候補因子等で誘導された再生組織及び誘導集積する幹細胞に関わる有効性・安全性評価技術を確立する。（実施体制-ニプロ株式会社、国立大学法人大阪大学、再委託-独立行政法人国立成育医療研究センター、国立大学法人京都大学、小野薬品工業株式会社）

(イ) セルフリー型再生デバイスの実用化研究開発

セルフリー型再生デバイスの実用化に向け、デバイスの材料、基本骨格、加工技術を確認し、動物モデルで評価可能なプロトタイプの作製を行なう。（実施体制-ニプロ株式会社）

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

(ア) 自律成熟型再生デバイスの基盤研究開発

(i) 生体内で自律的に成熟する臓器再生デバイスのための基盤研究開発

軟骨用再生デバイスでは、4週間で30倍程度細胞を増殖させ、移植後軟骨基

質の蓄積量が生体軟骨と比較して10分の1程度をしめすデバイスを試作し、動物実験で有効性を確認する。

骨用再生デバイスでは、微小人工骨エレメントの選定、外殻の仕様決定(素材、形状、脱着の有無など)、細胞配置法の検討結果をまとめ、予備的に動物試験を行う。

関節用再生デバイスでは、1000億個の細胞から構成されるTECは8平方センチメートルの軟骨欠損に対する補てんが可能で、膝関節内側、あるいは外側荷重面全体の軟損傷に対応できるサイズを作成する。コンストラクトは動物由来材料、合成高分子化合物を含まず、また補助固定用具を必要とせず骨再生エレメントとの接着、癒合により複合素材化が可能であり、また、移植先組織との生物学的癒合が可能であるものとし、動物実験で有効性を確認する。(実施体制-野村ユニソン株式会社、国立大学法人東京大学、国立大学法人大阪大学、国立大学法人神戸大学、学校法人福田学園大阪保健医療大学、学校法人東京理科大学)

(ii) Muse細胞を用いたin situ stem cell therapyの基盤研究開発

Muse細胞の損傷部位への誘導に関する研究開発として、平成23年度に候補となった遊走因子について、TAXIScanやマウスを用いた細胞の遊走についての検討を継続するとともに、疾患モデルマウスの末梢血の解析や他の細胞遊走モデルを参考にし、新たな遊走因子の探索を行う。

損傷部位でのMuse細胞の生着に関する研究開発として、候補となる細胞外マトリックスについてMuse細胞を用いた検討を引き続き行うとともに、遊走因子候補についてのDDSに関する検討を行う。

生体内での分化制御に関する研究開発として、Muse細胞から誘導された少なくとも1種類の細胞について、機能性評価及び誘導効率の測定を行う。また、Muse細胞からの誘導に成功した細胞を用いた支持体と一体化した医療デバイスの試作の検討を継続する。さらに、他家Muse細胞または他家Muse細胞から分化させた細胞の免疫応答について検討を引き続き行う。(実施体制-株式会社Clio、国立大学法人京都大学、国立大学法人東北大学)

(イ) 自律成熟型再生デバイスの実用化研究開発

(i) 生体内で自律的に成熟する臓器再生デバイスのための実用化研究開発

自律再生を実現する足場素材ハイドロゲルの生物学的特性や安全性、安定性などを評価するとともに、その供給体制を検討する。さらに、生分解性ポリマー製中空糸モジュールを試作し、5cm程度の大きさまで拡張する。この様な大きさの中空糸モジュールを用いて、細胞を増殖させ、増殖細胞を取り出し、安全に移植できる培養モジュールを実現する。(実施体制-株式会社スリー・ディー・マトリックス、野村ユニソン株式会社)

(ii) Muse細胞を用いたin situ stem cell therapyの実用化研究開発

Muse細胞の遊走及び分化制御に関する研究開発として、皮膚疾患では、白斑症をターゲットとした研究開発を継続する。Muse細胞から分化誘導したメラノサイトを用いて作製した培養皮膚の評価を行うとともに、皮膚損傷モデルマウスへの移植を検討する。神経変性損傷疾患では、脳梗塞について、Muse細胞から分化誘導した神経前駆細胞、その支持体等との定位置植についての検討を継続するとともに、遊走因子候補を用いたステント等の医療デバイスについて検討を行う。(実施体制-株式会社Clio、再委託-国立大学法人東北大学)

(3) 有効性・安全性評価技術等の開発

培養細胞の安全性に関する評価技術として、特定のマーカー遺伝子、簡便な in vitro での試験法、動物による発癌性否定試験を確立する。製品の安全性に関しては、3週間程度で自律再生デバイスの生体内変化を再現できる実験モデルや、細胞形質変化の評価リストを確立する。評価ガイドライン確立に関しては、材料、細胞、組織特性の評価項目の選定と、移植後の組織成熟評価法の選定、およびその至適条件の確立を行う。(実施体制-国立大学法人東京大学、株式会社ツーセル、学校法人福田学園大阪保健医療大学)

研究開発項目②「次世代心機能代替治療技術の研究開発」

(1) 小柄な患者に適用できる植込み型補助人工心臓の開発

1次試作機の性能試験を実施し、流動解析結果と併せて低流量運転での性能評価を行う。有効性および安全性評価用の1次試作機の製作を進める。1次試作機の改良点を整理し最終プロトタイプ機の設計に着手する

1次試作機駆動装置の小型化とアラーム機能追加を完成させ、電気的安全性試験に着手する。また、携帯バッテリーとその充電器での電磁環境両立性試験での問題点対策を実施する。(実施体制-ニプロ株式会社、三菱重工業株式会社)

(2) 有効性及び安全性の評価

流動解析を継続して行い、低流量運転時の詳細な解析評価を行い、最終プロトタイプ機の設計に反映させる。耐久性試験・抗血栓性試験として、拍動機構の改良設計を進め、小柄患者の拍動血流波形を実現する耐久性試験システムを確定する。モニタリング・警報システムの小柄患者用の諸設定値を検討し確定する。構築した試験システムと1次試作ポンプを用いた長期耐久性試験を試行し、システムの信頼性を評価する。また粘弾性装置を使用した、せん断応力と血液凝固能の実験では、血液凝固因子、特に血小板の影響について詳細に調べるとともに、1次試作機の模擬血栓試験を実施する。1次試作機を用いてシステムの体内埋込慢性実験を行い、システムの生体適合性、特に運転流量の違いによる血栓形成への影響について重点的に評価する。その際に、本システム装着時における血小板機能の変化を経時的にモニタリングし、本システムの抗血栓性の評価および本システムに最適な抗凝固療法について検討を行う。生物学的安全性試験に関しては引き続き生物学的安全性試験を評価するための構成部品の試作を行い、その試作品を用いて社内で生物学的安全性試験を行う。(実施体制-ニプロ株式会社、三菱重工業株式会社、独立行政法人国立循環器病研究センター、再委託-独立行政法人産業技術総合研究所)

5. 2 平成24年度事業規模

[委託事業]及び[共同研究 (NEDO負担: 2/3)]

一般勘定 533百万円

※事業規模については、変動があり得る。

6. その他重要事項

(1) 評価の方法

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

(2) 運営・管理

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

う。

(3) 複数年度契約の実施

平成22～24年度の複数年度契約を行う。

7. スケジュール

平成24年度のスケジュールは以下のとおりである。

平成24年	6月上旬・・・中間評価	分科会
	8月中旬・・・プロジェクトリーダーヒアリング	
	8月中旬・・・研究開発別開発委員会	
平成25年	2月中旬・・・プロジェクトリーダーヒアリング	
	2月中旬・・・研究開発別開発委員会	
	3月下旬・・・運営会議	

8. 実施方針の改定履歴

(1) 平成24年3月1日、制定

