

—総説—

特集：卵子学会トピックス 2018

ヒトES細胞の臨床応用

Human embryonic stem cells in regenerative medicine

阿久津 英憲

Hidenori Akutsu

国立成育医療研究センター研究所再生医療センター生殖医療研究部 〒157-8535 世田谷区

Department of Reproductive Medicine, Center for Regenerative Medicine, National Center for Child Health and Development (NCCHD), Okura 2-10-1, Setagaya-ku, Tokyo 157-8535, Japan

要旨：再生医療とは、病気やけがで機能不全になった組織や臓器を再生、あるいは補助する医療であり、再生医療技術は創薬などへの応用も期待されている。再生医療が注目される理由は、難病を克服するという医療や生命科学の発展だけでなく、慢性疾患や高齢化にともなう疾患を治癒することによって、社会保障費の抑制など医療経済的な観点と新たな産業を生み出す可能性が大いに期待されることにもある。わが国では、再生医療の実用化を促進する制度的枠組みが整い、医療のみならず再生医学や再生医療関連産業のさらなる発展が期待されている。多能性幹細胞であるヒト胚性幹細胞は、1998年に樹立が報告され、2010年には米国で脊髄損傷患者に対して臨床試験（First in Human Trial）が開始された。これまで有効な治療法がなかった疾患にも効果が期待できる画期的な治療法となることが期待される。本稿では、再生医療の開発の概略についてES細胞を中心に概説しその期待と課題について述べる。

キーワード：ES細胞, 再生医療, 臨床試験, 幹細胞

Abstract: The aim of regenerative medicine is to restore normal function of damaged tissues, and the application of stem cell technology to drug discovery is also expected. Advancement of regenerative medicine is expected not only in the development of clinical application for intractable diseases, but also in generating biomedical industry. In Japan, the systematic frame which promotes the practical application of regeneration medicine has been arranged to support safe and effective regenerative medicine. The establishment of human embryonic stem (hES) cells was reported in 1998, and a clinical trial (First in Human Trial) using hES cells was conducted in the United States for patients with spinal cord injury in 2010. It is expected to become an epoch-making therapy which can expect the effect for the incurable disease. In this paper, the outline of the development of regenerative medicine is outlined and the perspective in stem cell-based regenerative therapy are described.

Key words: Human embryonic stem cells, Regenerative medicine, Clinical trial, Stem cells

はじめに

胚性幹細胞 (embryonic stem cells : ES細胞) は着床直前の胚 (胚盤胞) から樹立する分化多能性の幹細胞である。ヒトES細胞は1998年に樹立が報告され¹⁾、個体のあらゆる細

胞に分化する能力 (pluripotency : 分化多能性) を持ち、無限に細胞増殖を繰り返すことができる能力 (self-renewal : 自己複製能) をもつ幹細胞である。ヒトES細胞は正常な染色体核型で無限に増殖する細胞であり、均一な細胞特性で拡大培養が可能のため細胞品質のロット管理が容易である。このことは細胞移植による再生医療への応用には極めて有用な点である。

有効な治療法がない疾患に対する新たな治療法として、ヒト多能性幹細胞を用いた再生医療が期待されてきた。2010年に垂急性期の胸部脊髄損傷患者に対して、ヒトES細胞を用いた初めての臨床試験 (first in human trial : FIH試験)

(受付 2019年7月14日 / 受理 2019年8月20日)

別刷請求先 : 〒157-8535 東京都世田谷区大蔵2-10-1

国立成育医療研究センター研究所

再生医療センター生殖医療研究部

e-mail: akutsu-h@ncchd.go.jp

が米国で開始された。同じ多能性幹細胞である人工多能性幹細胞 (induced pluripotent stem cells : iPS細胞) による再生医療を先導するかたちでヒトES細胞による臨床応用が進んでいる。

体性幹細胞

ここでES細胞を幹細胞生物学的観点から捉えてみたい。幹細胞は自己複製能と分化能を合わせ持つ細胞であり、そもそも体内組織に内在する幹細胞 (組織幹細胞あるいは体性幹細胞) と体外で作製する幹細胞 (ES細胞やiPS細胞など) に分けられる。哺乳類が生存する限りにおいて、臓器・組織が恒常性を保ち機能的に働き維持されるために、組織幹細胞は極めて重要な働きを担う。組織幹細胞は、長期にわたり (一生涯にもおよぶ) 一定数の細胞数が維持されなければならない。同時に組織を構成する複数の細胞 (分化細胞) を生み出す能力を有するものである²⁾。しかし、多能性幹細胞 (pluripotent stem cells; PSCs) とは異なり、組織幹細胞は分化能でも特定の組織を構成する細胞を生み出す能力に限られている (multipotency)。組織幹細胞では、ゆっくりとしか分裂しない静止期が大勢を占めるが、分化細胞を生み出すために分裂が活発な段階 (分裂期) へ移行する必要がある。分裂期の幹細胞では、分裂する際幹細胞自身を生み出す自己複製と分化細胞を生み出していく非対称性分裂を行う (図1)。非対称性分裂では、幹細胞はいったん活発に増殖する段階である Transiently amplify (TA) 細胞を経て分裂能を失いつつ分化細胞に行き着く。組織幹細胞の静止期および非対称性分裂期への移行には、幹細胞を支持する周囲の環境 (幹細胞ニッチ) との相互応答により制御されている³⁾。組織から体性幹細胞 (adult stem cells) を分離し、基礎および応用研究が活発に行われている。体外培養系において体性幹細胞は、自己複製能はあるもののその増殖能力には限界があり、分化能も特定の胚葉組織に限られている。その幹細胞特性に関しPSCsと比較して劣点はあるものの、利活用の利便的な面や用途によっては十分な特性を有していることなどから、すでに再生医療の分野で活用されている。体性幹細胞のなかでも、間葉系幹細胞 (mesenchymal stem cells; MSC) または間質系幹細胞 (mesenchymal stromal cells) は、脂肪、胎盤、臍帯膠質、骨髄や歯髄などあらゆる組織から得ることが可能である (図2)。各組織は複数の細胞種から構成され、そこから樹立する細胞は均一な集団とすることが非常に難しい。このことは、不死化幹細胞であるES細胞やiPS細胞と異なる点である。MSCは、細胞膜のバイオマーカーによりある程度同定することは可能であり、最低限のマーカーとして、陽性マーカー: CD70, CD90, CD105, 陰性マーカー: CD34としている⁴⁾。しかし、各組織は複数の細胞種から構成され、そこから樹立する細胞は均一な集団とすることが非常に難しく、実際に樹立される過程では、各マーカーの発現が一様でなくヘテロな集団となっている。ほかに多くの細胞を同定するバイオマーカーが報告されているものの、同じ組織由来でも培養条件が異なるとバイオマーカーの発

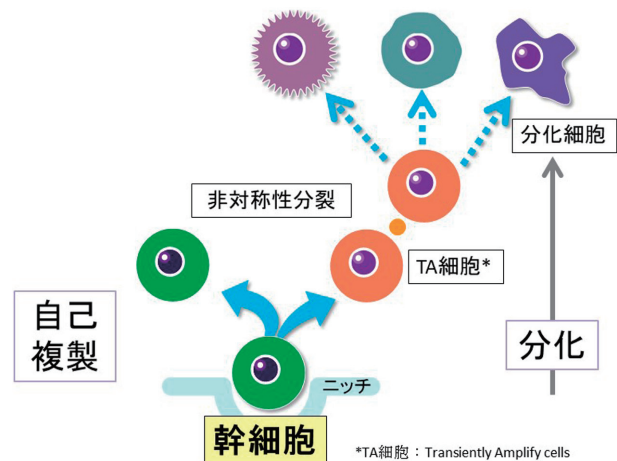


図1 体性幹細胞の細胞分裂

生体組織のなかで体性幹細胞は自己複製能と分化能を有している。幹細胞は、分裂する際自己複製と分化細胞を生み出す非対称性分裂を行う。非対称性分裂では、幹細胞は一端活発に増殖する段階である Transiently Amplify (TA) 細胞を経て分裂能を失いつつ分化細胞に行き着く。体性幹細胞の活動は、幹細胞を支持する周囲の環境 (幹細胞ニッチ) との相互応答により制御されている。

現も異なることもあり、課題としてバイオマーカーの取扱いを再考する必要がある。MSCは再生医療や医薬、化粧品開発等の産業応用でも期待されているため、国際的な枠組で間葉系幹細胞バイオマーカーを再考する動きが進んでいる⁵⁾。

ES細胞とiPS細胞

ES細胞は、胚盤胞の分化多能性細胞集団である内部細胞塊 (inner cell mass; ICM) より直接、特定の細胞培養条件下で樹立される細胞である (図3)。ヒトES細胞の樹立に関しては、受精胚を用いるため日本ではヒトES細胞樹立のためのヒト受精胚の取扱いは、特定のガイドラインの下慎重に執り行われている⁶⁾。ヒトES細胞の樹立には、適切なインフォームド・コンセント手続きを行い、不妊治療の過程で治療に用いられなくなった凍結保存胚をES細胞樹立に用いている。一方、ヒト胚以外の細胞に対して4つの転写因子 (遺伝子名: Oct3/4, Sox2, Klf4, c-Myc) を導入し、ES細胞と同等の性質を持つ多能性幹細胞としてiPS細胞は樹立された (図3)^{7,8)}。ヒトiPS細胞は、様々な細胞種 (線維芽細胞、リンパ球、ケラチノ細胞、子宮内膜細胞、羊膜細胞、臍帯血など) に対して、いったん分化へと進んだエピジェネティック状態を未分化の状態へリセットさせる初期化 (リプログラミング) 機構を応用することにより樹立される。このリプログラミング研究・応用の成果に対して、体細胞クローン研究とともに2012年にノーベル医学生理学賞を受賞した。iPS細胞を樹立する方法として、当初レトロウィルスベクターやレンチウィルスベクターを用いて転写因子を細胞に

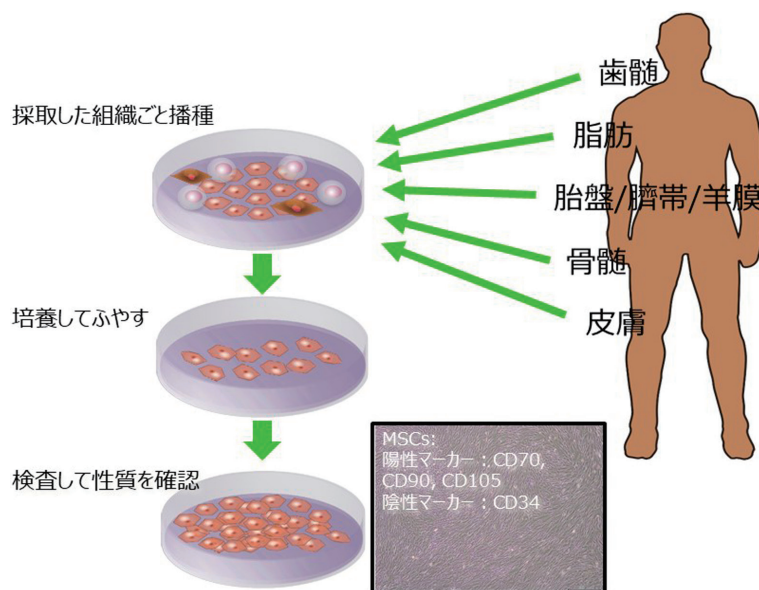


図2 体性幹細胞の樹立

各組織には組織特異的な幹細胞を内在し組織の恒常性維持に寄与している。組織を採取し単離してくる過程で、意図するしないにかかわらず培地による細胞選択が行われる。各組織は複数の細胞種から構成されそこから樹立する細胞はヘテロな集団である。汎用される間質細胞(MSCs)の細胞は、一般的な細胞膜のバイオマーカーが指定されているが、これらは個々の組織幹細胞を同定するものではない。

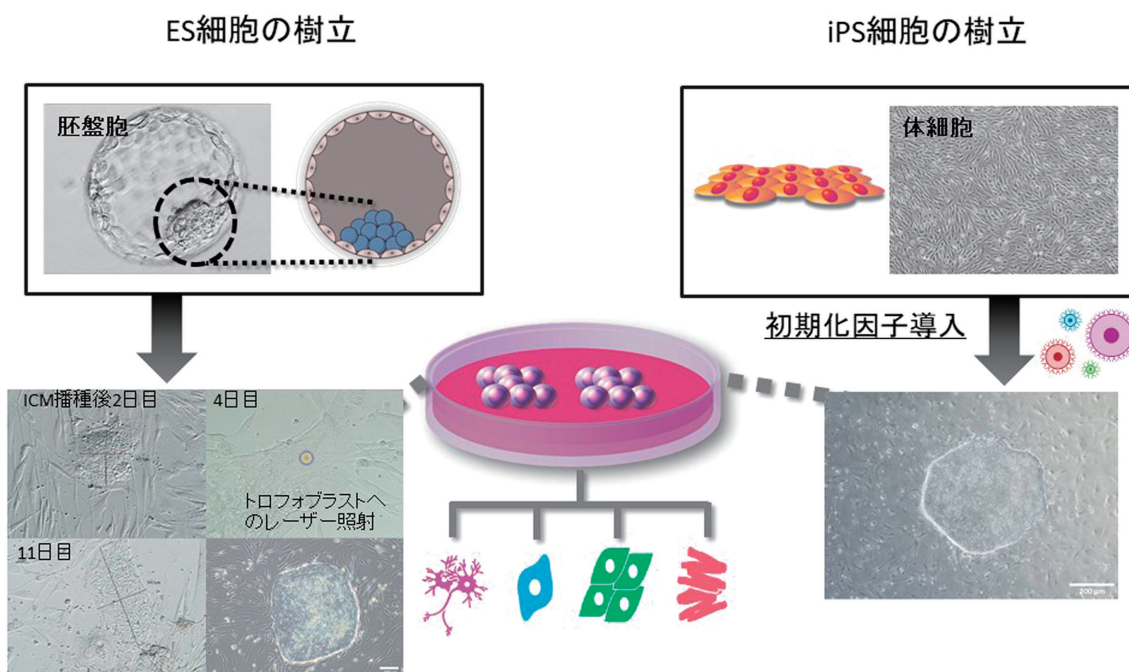


図3 ヒトES細胞とiPS細胞の樹立

ヒトES細胞とiPS細胞の大きな違いは、その由来と樹立過程にある。ES細胞は胚盤胞の内部細胞塊(ICM)を直接幹細胞化したものであり、iPS細胞は着床前期胚以外の細胞を人為的に初期化(reprogramming)したものである。ヒトES細胞の樹立では、トロフォブラスト細胞を排除することが必須であり、レーザー照射などが活用されている。

導入する方法が汎用されていたが、これらのウイルスベクターを用いた遺伝子導入法は宿主細胞のゲノムにランダムな外来遺伝子挿入が起こることから、遺伝子変異を起こし、腫瘍形成などの原因になることが指摘されてきた。そこで、より安全で安定的なiPS細胞樹立方法の開発が世界中で活発に行われ、エピソームベクターやセンダイウイルスベクターによる遺伝子導入やリプログラミング因子のmRNAを導入する方法など、ゲノムに傷をつけない方法でiPS細胞が樹立できるようになってきた⁹⁾。

ES細胞とiPS細胞は、ともに正常な染色体核型を保ったまま無限の自己複製能を有している細胞である。そのため、産業応用の観点からすると均一な細胞特性のため管理がしやすく、安定的で再現性が得られる基礎研究に有用であり、さらに医薬応用の分野でもロット管理を可能とする点が極めて重要である。一方で、体外培養系で細胞が増殖し続けることなどから細胞ゲノムの安定性に課題がある¹⁰⁻¹³⁾。高い分化能力からくる懸念は造腫瘍性が挙げられる。造腫瘍性に関しては大きく二つの観点がある。一つは悪性化の懸念ともう一つは、分化誘導後に混在する未分化細胞による腫瘍化(奇形腫形成)であり、細胞移植を想定した際移植部位によっては良性腫瘍であっても医療上致命的になり得る。筆者らは、ヒトES細胞を免疫不全動物(マウス)へ移植し形成した腫瘍を様々な観点から評価したが悪性化は認められなかった¹⁴⁾。ヒトES細胞の樹立は、1998年に初めて報告されたが、これまで悪性化の報告は1例もない。分化誘導法の開発は日々進められている。体外培養系の研究成果で分化細胞の中に0.1-0.01%でも未分化細胞が混在すると、未分化細胞がコロニー状に顕在化してくると報告されている¹⁵⁾。

一般的に再生医療の開発にあたっては、どの疾患、病態をターゲットにするのか、そしてその治療戦略として有効性(Proof of Concept; POC)が確認できているかが大前提である。細胞を含めた原料/原材料の品質などを含め、細胞調製/加工工程の安全性を前臨床研究または非臨床試験で検証していく。再生医療の成功のためには、①ドナー組織(細胞)から大量の正常な目的細胞が獲得できることと、②病気の進行を止めるか症状の改善または治癒を達成しその効果が持続するために、移植した細胞が生体内で維持され適切な機能を果たすことが求められる。ヒトES細胞による再生医療では、②における特定の疾患に対する臨床応用の安全性と有効性を担保するための規格化された移植細胞(再生医療製品)を作り出す工程の構築が重要である。ヒトES細胞は非常に高い増殖能をもつ細胞であり、均一な特性でスケールアップが可能のため、細胞製造上細胞品質と安全性のバッチ/ロット管理が比較的容易である。ヒトES細胞を応用すれば、特定の細胞へ分化誘導することで治療に十分な量、かつ品質の均一性が担保された細胞を得ることが可能である。

日本の再生医療に関する法制度

再生医療およびその開発を行うための制度上の枠組についてふれていきたい。日本では、再生医療に関する二つの重

要な法律が2014年11月25日に施行された。既存の治療法がない、または既存の治療法より高い効果が実証されたものが対象となるケースとして、薬事法下で再生医療の実用化を促進する枠組が提示された。再生医療の実用化に対応できるように薬事法が一部改正となり、再生医療製品の特性を踏まえた承認・許可制度が新設され、再生医療製品として新たに分類され、「医薬品、医療機器等の品質、有効性及び安全性の確保等に関する法律」(医薬品医療機器等法)として施行された。再生医療製品の早期承認制度が導入され、それらをより早く市場へ出す仕組みができあがり、世界に先駆けた革新的な制度である。もう一方の「再生医療等の安全性の確保等に関する法律」(再生医療等安全性確保法)は、臨床研究や自由診療として実施されてきた再生医療・細胞治療(がん免疫療法も含む)が対象となる。再生医療等安全性確保法では、ES細胞やiPS細胞のような新規的な多能性幹細胞から同種・自家体性細胞まで含まれる。人に対して与える影響(リスク)の程度に応じた三段階の提供基準、細胞培養加工施設の基準等を設け、安全な再生医療を迅速かつ円滑に社会へ提供するための法律である。第1種(高リスク)は、「ES細胞やiPS細胞、そして遺伝子導入を行った細胞など」が含まれ、第2種(中リスク)は、「培養操作を経た体性幹細胞や細胞移植が相同利用でないなど」、そして第3種(低リスク)は、「培養を行っていない体細胞や細胞移植が相同利用である場合など」とされている¹⁶⁾。

日本では、上記で説明したように再生医療の開発を制度上ダブルトラック(改正薬事法である医薬品医療機器等法と再生医療等安全性確保法)で進めることが可能となっている。ヒトES細胞は同種細胞であり再生医療製品製造上の利点などから、その再生医療製品を広く社会(国内・外)へ展開されることを目指すうえでも医薬品医療機器等法下の治験トラックで進む。

ヒトES細胞による再生医療

前述したように、ヒトES細胞は無限に増殖する細胞であり、均一な細胞特性で拡大培養が可能のため細胞品質のロット管理が容易である。生物薬品(バイオロジクス)製造に関するICH(日米EU医薬品規制調和国際会議)ガイドライン(ICH-Q5D)によると、「均一な組成の内容物をそれぞれに含む相当数の容器を集めた状態で、一定の条件下で保存し、個々の容器には、単一の細胞プールから分注された細胞が含まれている」とセル・バンクを定義している^{17,18)}。つまりヒトES細胞は、バイオロジクス製造におけるバンク化に適した性質を備えている。そのうえで臨床用ヒトES細胞バンクとして基本的な重要なことは、①混入物や感染性の外来因子などの汚染がないこと、②特定の対象疾患を治療するための品質、安全性そして有効性を備えた最終製品(目的細胞)が作り出せることの二つと考えられる(図4)。

2010年に世界で初めての多能性幹細胞による再生医療として、ヒトES細胞を用いた脊髄損傷に対する臨床試験(治験)が米国で始まり、現在までに亜急性胸部脊髄損傷、網膜

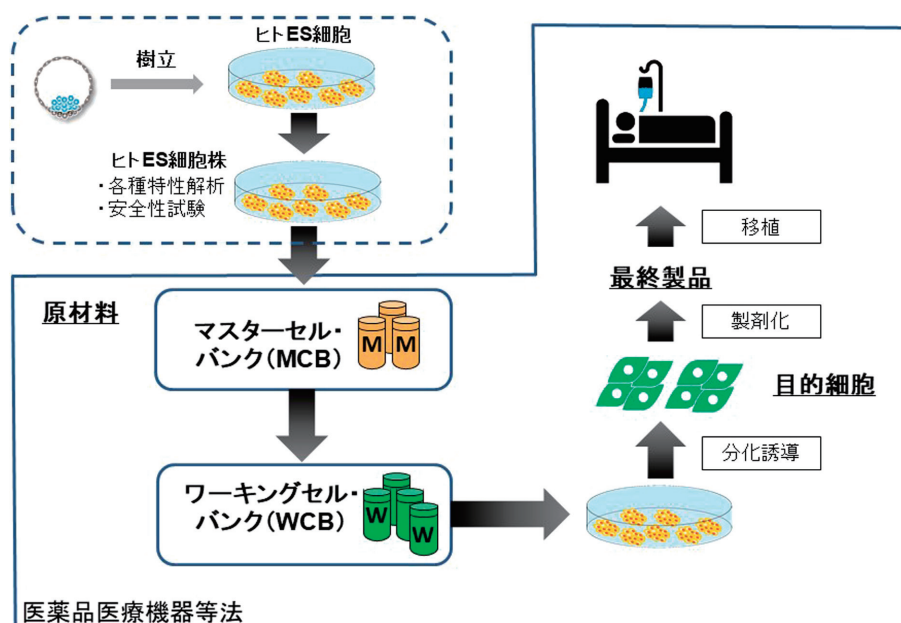


図4 ヒトES細胞の再生医療製品開発概略

対象疾患に対し、ヒトES細胞を原料に投与する最終製品である再生医療製品を製造していく工程を示す。マスターセルバンク(MCB)、ワーキングセルバンク(WCB)を構築する。再生医療製品の安全性、有効性を検証する上でも製造工程管理が極めて重要になる。日本では、原料・原材料や製造工程、製造施設基準などに関連する法令が整備されている。ヒトES細胞の治験開発では、実線枠内が医薬品医療機器等法の対象である。

性疾患、インスリン依存性糖尿病、重症心筋梗塞やパーキンソン病などに対して臨床試験がアメリカ、カナダ、イギリス、フランス、韓国、イスラエルやオーストラリアで行われている^{19, 20)}。

脊髄損傷に対する再生医療は、米国のバイオベンチャー企業Geron社がヒトES細胞を原材料として分化誘導したオリゴデンドロサイト前駆細胞株を最終製品として開始された。この臨床試験は、現在までにGeron社からBio Time社(米国)を経てLINEAGE CELL THERAPEUTICS社(米国)へ引き継がれている²¹⁾。ヒトES細胞再生医療製品(OPC1)を用いた臨床試験(フェーズ1/2a; “SCiStar trial”)は、受傷後14日から30日内の亜急性期胸部脊髄損傷患者の損傷部位へ移植する治療であり、フェーズ1として安全性が確認され(ClinicalTrials.gov Identifier: #NCT02302157)²²⁾、フェーズ1/2aのSCiStar trialでは、現在までに22症例に行なわれている²¹⁾。

眼科領域では、米国Advanced Cell Technology社(2014年よりOcata Therapeutics社へ名称変更、2016年にAstellas Pharma USが買収)がヒトES細胞由来網膜色素上皮細胞を若年性遺伝性黄斑ジストロフィー症(スタルガルト病:SMD)と萎縮型加齢黄斑変性症(DRY-AMD)の2疾患に対して、2011年から臨床試験を実施している(SMD; ClinicalTrials.gov Identifier: #NCT01345006, DRY-AMD; ClinicalTrials.gov Identifier: #NCT01344993)^{23, 24)}。ヒトES

細胞から網膜色素上皮細胞を分化誘導し、移植に用いるヒトES細胞再生医療製品(MA09-hRPE)を作製する。MA09-hRPEによるSMDに対する臨床試験は英国と韓国でも行われている。ヒトES細胞を用いた臨床試験の成果がLancet誌で報告された^{25, 26)}。MA09-hRPE細胞の移植を受けたSMDとDRY-AMDそれぞれ9症例の計18症例に対する成果は、SMDの1例で重症の硝子体炎を起こし治療を中止した以外、移植手技と細胞自体の安全性に大きな問題はなく、さらに移植を受けた半数以上の患者視力で若干の改善が認められたと報告されている²⁷⁾。神経変性疾患であるパーキンソン病に対して、興味深い臨床試験がInternational Stem Cell社によりオーストラリアで行われている。ヒト単為発生胚(卵子ゲノムのみ2倍体胚)からES細胞を樹立し(ヒト単為発生-ES細胞)、神経幹細胞を分化誘導することで再生医療へ応用する。ヒト単為発生-ES細胞由来神経幹細胞によるパーキンソン病モデル動物での安全性と有効性を確認し^{28, 29)}、2016年にパーキンソン病に対する細胞治療が行なわれ(ClinicalTrials.gov Identifier: #NCT02452723)^{29, 30)}、現在までに3人への移植がなされた。ほかに、フランスでは心筋梗塞、韓国、中国やブラジルでも複数の網膜変性疾患に対するヒトES細胞再生医療が世界的にも進められている²⁰⁾。日本では、国立成育医療研究センターから新生児期発症型の先天性尿素サイクル異常症に対するヒトES細胞再生医療製品HAESによる治験届けがなされた³¹⁾。

おわりに

ヒトES細胞の作製では、不妊治療の過程で治療に用いられなくなった凍結胚が夫婦の同意を得て適切な手続きのもと、ES細胞の樹立に供される。そのためヒトES細胞樹立手続きは、倫理的、医学的そして社会的にも慎重に議論され関連法令に則り行われている。2014年11月25日に従来の指針が改正され臨床応用を明記したヒトES細胞樹立指針が告示、施行された⁶⁾。難治性の小児疾患には、十分な治療法がないものも多い。国立成育医療研究センターでは、治療法のない難治性小児疾患に対して、ヒトES細胞による細胞治療が有用な治療手段になるとの考えの開発研究を進めている。欧米では、100症例以上の臨床試験が行われている²⁰⁾。同種細胞移植となる多能性幹細胞再生医療として、その知見はヒトiPS細胞による再生医療へも貢献するものと考えられる。一方で、多能性幹細胞の特性の理解が深まることで発生、組織再生などの基礎医学や再生医療、創薬分野など幅広く研究が進むと考えられる。さらにゲノム編集技術の発展は、ヒトES細胞やiPS細胞による疾患研究、そして創薬開発の流れを大きく加速している。再生医療の分野でも安全性はもとより、確実な有効性も得られるよう今後ますます再生医学研究が進展することが期待される。

文 献

- 1) Thomson, J.A., Itskovitz-Eldor, J., Shapiro, S.S., Waknitz, M.A., Swiergiel, J.J., Marshall, V.S. and Jones, J.M. (1998): Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. *Science*, 282, 1145–1147.
- 2) Slack, J.M.W. (2008): Origin of stem cells in organogenesis. *Science*, 322, 1498–1501.
- 3) Vining, K.H. and Mooney, D.J. (2017): Mechanical forces direct stem cell behaviour in development and regeneration. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, 18, 728–742.
- 4) Dominici, M., Le Blanc, K., Mueller, I., Slaper-Cortenbach, I., Marini, F., Krause, D., Deans, R., Keating, A., Prockop, D.J. and Horwitz, E. (2006): Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement. *Cytotherapy*, 8, 315–317.
- 5) Mendicino, M., Bailey, A.M., Wonnacott, K., Puri, R.K. and Bauer, S.R. (2014): MSC-based product characterization for clinical trials: an FDA perspective. *Cell Stem Cell*, 14, 141–145.
- 6) 文部科学省・厚生労働省：ヒトES細胞の樹立に関する指針（文部科学省・厚生労働省告示第二号 平成26年11月25日）。http://www.lifescience.mext.go.jp/files/pdf/n1430_01.pdf
- 7) Takahashi, K. and Yamanaka, S. (2006): Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell*, 126, 663–676.
- 8) Takahashi, K., Tanabe, K., Ohnuki, M., Narita, M., Ichisaka, T., Tomoda, K. and Yamanaka, S. (2007): Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. *Cell*, 131, 861–872.
- 9) Schlaeger, T.M., Daheron, L., Brickler, T.R., Entwisle, S., Chan, K., Cianci, A., DeVine, A., Ettenger, A., Fitzgerald, K., Godfrey, M., Gupta, D., McPherson, J., Malwadkar, P., Gupta, M., Bell, B., Doi, A., Jung, N., Li, X., Lynes, M.S., Brookes, E., Cherry, A.B., Demirbas, D., Tsankov, A.M., Zon, L.I., Rubin, L.L., Feinberg, A.P., Meissner, A., Cowan, C.A. and Daley, G.Q. (2015): A comparison of non-integrating reprogramming methods. *Nat. Biotechnol.*, 33, 58–63.
- 10) Kobold, S., Guhr, A., Kurtz, A. and Löser, P. (2015): Human Embryonic and Induced Pluripotent Stem Cell Research Trends: Complementation and Diversification of the Field. *Stem Cell Reports*, 4, 914–925.
- 11) Martins-Taylor, K. and Xu, R.H. (2012): Genomic stability of human induced pluripotent stem cells. *Stem Cells*, 30, 22–27.
- 12) Lamm, N., Ben-David, U., Golan-Lev, T., Storchová, Z., Benvenisty, N. and Kerem, B. (2016): Genomic Instability in Human Pluripotent Stem Cells Arises from Replicative Stress and Chromosome Condensation Defects. *Cell Stem Cell*, 18, 253–261.
- 13) Merkle, F.T., Ghosh, S., Kamitaki, N., Mitchell, J., Avior Y, Mello, C., Kashin, S., Mekhoubad, S., Ilic, D., Charlton, M., Saphier, G., Handsaker, R.E., Genovese, G., Bar, S., Benvenisty, N., McCarroll, S.A. and Eggan, K. (2017): Human pluripotent stem cells recurrently acquire and expand dominant negative P53 mutations. *Nature*, 545, 229–233.
- 14) Akutsu, H., Nasu, M., Morinaga, S., Motoyama, T., Homma, N., Machida, M., Yamazaki-Inoue, M., Okamura, K., Nakabayashi, K., Takada, S., Nakamura, N., Kanzaki, S., Hata, K. and Umezawa, A. (2016): In vivo maturation of human embryonic stem cell-derived teratoma over time. *Regen. Ther.*, 5, 31–39.
- 15) Tano, K., Yasuda, S., Kuroda, T., Saito, H., Umezawa, A. and Sato, Y. (2014): A Novel In Vitro Method for Detecting Undifferentiated Human Pluripotent Stem Cells as Impurities in Cell Therapy Products Using a Highly Efficient Culture System. *PloS One*, 9, e110496.
- 16) 厚生労働省：再生医療等の安全性の確保等に関する法律施行規則（厚生労働省令第110号 平成26年9月26日）。<http://www.mhlw.go.jp/file/06-Seisakujouhou-10800000-Iseikyoku/0000065532.pdf>
- 17) 独立行政法人医薬品医療機器総合機構：ICH品質に関するガイドライン。<https://www.pmda.go.jp/int-activities/int-harmony/ich/0045.html>（閲覧日2019.8.28）。
- 18) 厚生省医薬安全局審査管理課長通知：生物薬品（バイオテクノロジー応用医薬品／生物起源由来医薬品）製造用細胞基剤の由来、調製および特性解析について（医薬審第873号；平成12年7月14日）。
- 19) Trounson, A. and DeWitt, N.D. (2016): Pluripotent stem cells progressing to the clinic. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, 17, 194–200.
- 20) Eguizabal, C., Aran, B., Chuva de Sousa Lopes, S.M.,

- Geens, M., Heindryckx, B., Panula, S., Popovic, M., Vassena, R. and Veiga, A. (2019): Two decades of embryonic stem cells: a historical overview. *Hum. Reprod. Open*, 2019, hoy024.
- 21) LINEAGE CELL THERAPEUTICS社ホームページ : OPC1製品. <https://lineagecell.com/products-pipeline/opc1/> (閲覧日2019.8.28).
- 22) ClinicalTrials.gov Identifier: #NCT02302157. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02302157>
- 23) ClinicalTrials.gov Identifier: #NCT01345006. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01345006>
- 24) ClinicalTrials.gov Identifier: #NCT01344993. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01344993?term=rpe+advanced+cell+technology&rank=1>
- 25) Schwartz, S.D., Hubschman, J.P., Heilwell, G., Franco-Cardenas, V., Pan, C.K., Ostrick, R.M., Mickunas, E., Gay, R., Klimanskaya, I. and Lanza, R. (2012): Embryonic stem cell trials for macular degeneration: a preliminary report. *Lancet*, 379, 713–720.
- 26) Schwartz, S.D., Regillo, C.D., Lam, B.L., Elliott, D., Rosenfeld, P.J., Gregori, N.Z., Hubschman, J.P., Davis, J.L., Heilwell, G., Sprin, M., Maguire, J., Gay, R., Bateman, J., Ostrick, R.M., Morris, D., Vincent, M., Anglade, E., Del Prore, L.V. and Lanza, R. (2015): Human embryonic stem cell-derived retinal pigment epithelium in patients with age-related macular degeneration and Stargardt’s macular dystrophy: follow-up of two open-label phase 1/2 studies. *Lancet*, 385, 509–516.
- 27) Gonzalez, R., Garitaonandia, I., Crain, A., Poustovoitov, M., Abramihina, T., Noskov, A., Jiang, C., Morey, R., Laurent, L.C., Elsworth, J.D., Snyder, E.Y., Redmond, D.E Jr. and Semechkin, R. (2015): Proof of concept studies exploring the safety and functional activity of human parthenogenetic-derived neural stem cells for the treatment of Parkinson's disease. *Cell Transplant.*, 24, 681–690.
- 28) Gonzalez, R., Garitaonandia, I., Poustovoitov, M., Abramihina, T., McEntire, C., Culp, B., Attwood, J., Noskov, A., Christiansen-Weber, T.I., Khater, M., Mora-Castilla, S., To, C., Crain, A., Sherman, G., Semechkin, A., Laurent, L.C., Elsworth, J.D., Sladek, J., Snyder, E.Y., Redmond, D.E.Jr. and Kern, R.A. (2016): Neural Stem Cells Derived from Human Parthenogenetic Stem Cells Engraft and Promote Recovery in a Nonhuman Primate Model of Parkinson's Disease. *Cell Transplant.*, 25, 1945–1966.
- 29) Garitaonandia, I., Gonzalez, R., Christiansen-Weber, T., Abramihina, T., Poustovoitov, M., Noskov, A., Sherman, G., Semechkin, R., Snyder, E.Y. and Kern, R. (2016): Neural Stem Cell Tumorigenicity and Biodistribution Assessment for Phase I Clinical Trial in Parkinson's Disease. *Sci. Rep.*, 6, 34478.
- 30) ClinicalTrials.gov Identifier: NCT02452723. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/record/NCT02452723>
- 31) 主たる治験情報 (薬物) : 国立成育医療センターによるヒトES細胞治験届. <https://www.pmda.go.jp/review-services/trials/0019.html> (閲覧日2019.8.28).