

2.1.4 幹細胞治療（再生医療）

（1）研究開発領域の定義

疾患や外傷、加齢などによって、生体本来の修復機能では自然回復が困難なほどに組織・臓器が損傷・変性し生体機能が失われた時に、幹細胞や組織・臓器の移植などによって当該組織・臓器の再生を目指す医療を、本報告書では「幹細胞治療（再生医療）」とする。なお、生体外で細胞に遺伝子改変を施し生体内に投与する*ex vivo* 遺伝子治療（CAR-Tほか）については、次章「遺伝子治療（*ex vivo/in vivo*）」にて述べる。

本研究開発領域では、移植対象物である細胞や組織・臓器、足場材料などの研究開発、およびそれらの基盤となる基礎研究を含む。近年では移植治療ではなく、生体ナノ粒子や化合物などを活用した再生誘導研究、創薬評価への幹細胞の活用（オルガノイド、organ-on-a-chip、疾患iPS細胞など）、さらには未来の食として期待される培養肉の研究開発など、これまでの幹細胞治療（再生医療）研究で得られたさまざまな知見や技術を新たな方向へ展開しようとする研究に大きな注目が集まっており、本研究開発領域ではそれらも全て包含する。

（2）キーワード

組織修復、臓器修復、移植、組織幹細胞、間葉系幹細胞（MSC）、ES細胞、iPS細胞、創薬、組織工学、オルガノイド、organ-on-a-chip、ダイレクトリプログラミング、エクソソーム/EV、培養肉、異種移植、MPS（Microphysiological system）

（3）研究開発領域の概要

〔本領域の意義〕

疾患や外傷などにより失われた人体の細胞や組織・臓器の機能を補填または回復するため、20世紀後半より、臓器移植医療や人工臓器の開発が行われてきた。臓器移植は臓器不全症に対する有効な治療法であるが、深刻なドナー臓器の不足、免疫拒絶をはじめ、多くの医学的・社会的・倫理的問題を抱える。人工臓器は、技術的に開発途上段階にあり、多様な疾患への対応は難しい。21世紀に入りヒト細胞の大量培養技術が確立されると、体外で作製した正常な細胞、或いは細胞の集合体である組織・臓器を、損傷部位に移植することによる組織・臓器機能の再生が期待された。中でも、皮膚（2次元シート状）と軟骨（細胞）については早い段階から臨床開発が進展し、一定の治療効果を示す製品が20世紀末より複数上市された。

2007年の山中によるヒトiPS細胞作製技術の発表は、生命科学研究や医学研究における画期的な技術として世界中のアカデミア/企業研究者の注目を集めた。また、自家iPS細胞を用いることで、免疫拒絶の問題がクリアされると考えられることから、全身のさまざまな疾患に対する自家移植・幹細胞治療の実現の加速も期待された。わが国では、日本発の技術ということも相俟って、iPS細胞をベースとした幹細胞治療（再生医療）に対し、長年に亘って特に重点的に研究開発資金が投入され続けてきた。その結果、間葉系幹細胞や組織幹細胞などの臨床試験では欧米が世界をリードしているが、iPS細胞をベースとした臨床試験ではわが国は存在感を示している。

現在、間葉系幹細胞や組織幹細胞の移植治療（再生医療）について、上市製品数は着実に増加しているが、世界の市場規模は2000年頃から現在に至るまで微増で、数百億円規模で推移している。一方で、2010年代後半に入り、核酸医薬や*in vivo/ex vivo* 遺伝子治療など他の新興モダリティが続々と登場し、数千億円規模の巨大市場を形成し急拡大している。それらと比べると、再生医療の市場は長らく伸び悩んでいる。その背景としては、重度熱傷に対する培養皮膚シート移植のように優れた治療効果を示す製品もあるが患者数が少なく売上げが小さいこと、さまざまな臓器の疾患に対して幹細胞治療の臨床試験が数多く進み製品も一部登場しているが突出した治療効果を示すに至っていないこと、製造・提供のサプライチェーン構築という新たな問題があること、などが考えられる。先行する間葉系幹細胞や組織幹細胞ベースの製品が苦戦を続ける

中、iPS細胞をベースとした臨床試験が国内外で進む。iPS細胞ベースの臨床試験が根治に至る目覚ましい有効性（および安全性）を示し、国内外の規制当局において承認されれば、巨大市場の形成も期待される。現在進行中の臨床試験の結果が注目される。

幹細胞治療（再生医療）研究から派生する形で、エクソソーム/EV（extracellular Vesicle: 細胞外小胞）に着目した治療法の開発が期待され、多くの臨床試験が進められたが、現時点では、当初期待されたようなインパクトの大きな結果は得られていない。しかし、エクソソーム/EVが生体内の情報伝達において重要な役割をもつことに疑いは無い。エクソソームの計測・解析・評価・操作・制御などにおける品質評価が重要である。まずは基礎的なメカニズム研究や計測・解析・評価技術開発などを着実に進めつつ、優れた治療効果が期待されるシーズを厳選し、少しずつ臨床応用を進めていくことで、治療モダリティの1つとして存在感を発揮する可能性がある。2022年、日本再生医療学会がエクソソームの取扱いに関するPosition Paperを発表しており¹⁾、研究開発の推進と並行して、国内外のレギュラトリーサイエンスの動向も踏まえた活動が重要である。

このほか、組織・臓器の修復を促す分子などを投与することで治療を目指すアプローチ、生体適合材料や無細胞化組織などのバイオマテリアル（細胞との組合せ含む）で治療を目指すアプローチもみられる。また、幹細胞を特定の細胞（免疫細胞など）に分化させ、*ex vivo* 遺伝子治療（CAR-Tなど）により治療を目指すアプローチ（次章を参照）は大きな注目を集め、世界中で研究開発競争が激化している。移植用の高品質な3次元臓器をiPS細胞などの幹細胞から培養し構築する研究はこれからも重要であるが、3次元臓器の構築としては、ブタなどの体内で動物にヒト移植用臓器を作製し、ヒトへ移植するという異種移植治療の研究開発も活発である。治療のみならず、患者由来iPS細胞を用いた医学研究および創薬研究、さまざまな幹細胞から作出したオルガノイドを用いた創薬評価、ヒト発生学研究など、多方面に大きなインパクトを与えている。さらに、医療以外の分野では、再生医療研究で培われた組織工学技術を動物細胞に応用し、牛/鳥/魚の肉を作製する培養肉の研究開発が世界中で活性化しており、将来的なタンパク質不足を解決する手段として期待されている。

これまで、わが国では幹細胞ベースの移植治療（再生医療）ばかりが注目されてきた。しかし、それら研究を通じて生まれた技術や科学的知見を元に、ライフサイエンス全般の基礎研究、創薬モダリティおよび基盤技術開発、さらには未来の食に至るまで、多方面に大きなインパクトを与えつつあることは、大いに注目すべきである。

【幹細胞移植（再生医療）に関する研究開発の歴史】

1957年に確立した、血液疾患における骨髄移植治療が、幹細胞治療（再生医療）のはじまりとも言える。当時、発生学では、カエルの卵における体細胞核移植による胚発生や、マウスの精巣テラトーマにおける多能性の発見など、数多くの重要な萌芽的発見があった。

現在の幹細胞治療（再生医療）につながる技術革新は、1975年、ハーバード大学のGreenによる、世界初のヒト表皮角化細胞の大量培養成功である。1980年、Greenらはこの技術をもとに自家培養表皮を用いた重度熱傷治療を試みた。1980年代中盤に組織工学（tissue engineering）と呼ばれる新しい学問領域が誕生し、1990年代には組織工学と幹細胞生物学を両輪とする幹細胞治療（再生医療）というコンセプトが広く認識され始めた。1998年、ウィスコンシン大学のThomsonがヒトES細胞株の樹立に世界で初めて成功した。2007年、理化学研究所の笹井がES細胞の大量培養法の開発に成功したことで、ES細胞による再生医療の実現への期待が大きく高まった。2007年、京都大学の山中によりヒトiPS細胞樹立が報告されると、ヒトiPS細胞作製技術が、革新的な研究ツールとして世界中へ広がり、幹細胞治療（再生医療）の実現に向けた期待も高まった。2013年、2014年にヒトクローン胚からのES細胞樹立が相次いで報告された^{2,3)}。

【研究開発の動向】

・間葉系幹細胞 (MSC) の細胞移植治療

MSCの移植による治療を目指した臨床試験が数多く推進されている。MSCは骨髄、骨格筋、皮膚、さらには脂肪組織、歯髄、臍帯、胎盤など医療廃棄物からも採取できる。主に骨、軟骨、脂肪、骨格筋への分化能を持つが、外胚葉や内胚葉由来の組織細胞へも分化しうることが報告されている。また、サイトカイン、ケモカイン、増殖因子、エクソソームなどのさまざまな因子を産生し、抗炎症、免疫制御、血管新生など多様な効果が報告されている。低抗原性で他家細胞でも免疫抑制剤なしに投与できること、簡便な培養法が確立されていることがメリットである。

MSCを用いた治療戦略は、種々の液性因子、エクソソームによるパラクライン効果を期待するものが多い。また、免疫原性が低いことを利用した同種他家移植が中心である。例えば、骨髄移植を受けた患者における移植片対宿主病 (GVHD) の治療にMSCが用いられ、特に重度のステロイド抵抗性の患者で有効性が示されている^{4,6)}。わが国においても、JCRファーマ社の他家由来MSCによる急性GVHD治療用製品として「テムセル[®]HS注」が製造販売承認されている。最近では、新潟大学の寺井らによりMSCとマクロファージを混合投与することで、相乗効果によりマウス肝臓の線維化が改善することが報告され⁷⁾、そのメカニズムとして、IFN γ でMSCから誘導されたエクソソームが当該マクロファージの抗炎症に関与することが見出される⁸⁾など、新たな可能性を探る研究成果も見られる。MSCの局所投与法の開発や臨床試験も活発であり、2021年にはクローン病に伴う複雑痔瘻に対する患部局所治療として他家脂肪組織由来間葉系幹細胞「アロフィセル[®]」(武田薬品工業社)が上市された。

MSCについて、一定の治療効果は見られる。近年、MSCから分泌されるエクソソームを中心とした作用機序の理解が進んでいる。作用機序に関する基礎研究を重点的に推進することで、MSCによる治療戦略を精緻化でき、結果的に優れたMSCの臨床シーズの創出にもつながると考えられる。

・ES細胞ベースの細胞移植治療

多能性幹細胞を用いた幹細胞治療 (再生医療) は、技術的なハードルが高いものの期待は大きい。わが国では、京都大学再生医科学研究所が2017年3月に医療用ヒトES細胞の樹立計画を国に申請し2018年7月から配布を開始した。2017年9月には国立成育医療研究センターの医療用ES細胞樹立計画が承認され、樹立が開始された。これによって、国内で臨床用ES細胞の樹立機関が2か所整備された。ES細胞はヒト胚を用いる点で倫理的ハードルが指摘されており、各国でガイドラインや法によって樹立や使用についての規制が行われている。

一方で、既に海外では臨床応用も少しずつ進められている。2014年、米国ViaCyte社がヒトES細胞由来膵 β 細胞を免疫保護カプセルに包埋して移植する臨床試験が開始された。わが国では2018年3月に先天性代謝異常症である尿素サイクル異常症児に対する移植について医師主導治験が開始され、2023年にPMDAに承認申請がなされた。ただし、ES細胞をベースとした臨床試験数は、先述のMSCの臨床試験数と比較すると非常に少ない状況が今も続いている。

iPS細胞の登場によりES細胞の有用性は下がると見る向きが当初あったが、現在でもES細胞はヒトの発生初期や分化誘導の基礎研究において利用価値は高い。臨床応用の観点からは、多能性幹細胞 (iPS細胞、ES細胞など) がこれからどの程度の存在感を発揮できるかが未知数であるが、ES細胞とiPS細胞は性質が異なるため、得意とする分野を棲み分けて共存する可能性がある。

・iPS細胞ベースの細胞移植治療

移植細胞の定着という点で、自家細胞の移植に勝るものはない。iPS細胞は自家移植の可能性を開いたという点で画期的である。ただし、幹細胞治療 (再生医療) の臨床試験が海外では一定数行われているものの、その大半はMSCや組織幹細胞 (体細胞含む)、造血幹細胞などをベースとしており、iPS細胞をベースとした臨床試験数は少ない。

iPS細胞の実用化には大きな期待が寄せられているが、一方で、iPS細胞特有のゲノム不安定性が、安全

性確保の上での懸念点として指摘する見方もある。この点に対応するため、全ゲノムシーケンシングでゲノム不安定性の起源についての解析が進み、発がん性遺伝子のコピー数が細胞継代中に増加することや、iPS細胞の元となる体細胞のゲノム変異に由来する変異があることなどが明らかにされてきた。iPS細胞の作製に適した細胞種の探索、安全なリプログラミング方法、分化方法などに関する検討が続けられている。ゲノム変異とリスクの関係を明らかにするため、iPS細胞バンクのゲノムデータベースと臨床とを紐づけた検討も重要であろう^{9, 10)}。山中らが最初に報告したiPS細胞樹立法ではレトロウイルスベクターが用いられたが、その後はゲノムへの組込みが少ない方法としてエピソードベクターが本格的に採用され、現在に至る。同ベクターは知財面の問題があるため、代替手法として、センダイウイルス（RNAウイルスでありゲノムへの組込みは殆ど無いとされる）によるiPS樹立の検討も進められている。高品質化のためにはよりナイブ（未分化）な状態のiPS細胞作出を実現するための基礎研究が重要である。

iPS細胞の最大の利点は、自家細胞移植が可能であるところにある。しかし、近年はiPS細胞の同種他家移植が積極的に検討されている¹¹⁾。国内では京都大学iPS細胞研究所（CiRA）が2013年から、他家移植の臨床応用を想定したiPS細胞ストックプロジェクトを実施している（現在は公益財団法人京都大学iPS細胞研究財団）。他家iPS細胞移植を目指した、HLA拘束性に依存しないユニバーサルiPS細胞を樹立する試みも数多くなされている。しかし、既に多数のHLA改変特許（WO091/001140、WO92/009668、WO2012/145384など）が海外で成立しており、厳しい状況にあるとも言える。同種他家移植に向けた動きが活発になった背景には、患者由来iPS細胞の作製に膨大な時間とコストがかかってしまう点が大い。ただし、次章で述べる*ex vivo* 遺伝子治療（CAR-Tなど）については、自家細胞由来の遺伝子組換え細胞製品が巨大な市場を形成しつつあり、治療ニーズの大きさ、きわめて高い有効性の実証などの条件が揃えば、自家移植であっても医療として成立すると言える。

iPS細胞のリプログラミング、分化、成熟を効率的かつ高い安全性で行う手法についても引き続き基礎的な研究開発が続けられている。将来「my iPS」細胞による再生医療が本当の意味で実現するためには、幅広く重厚な基礎研究を中長期的に継続する必要がある。

・ダイレクトリプログラミング

特定の遺伝子や化合物などを細胞へ導入することで、体細胞から多能性幹細胞を経由せずに特定の分化細胞へ直接誘導させるダイレクトリプログラミング研究が近年徐々に活性化している¹²⁻¹⁵⁾。

生体内でダイレクトリプログラミングを行う際、投与物は細胞ではなく遺伝子ベクターや化合物などであるため、厳密には幹細胞などの移植による治療（再生医療）ではない。しかし、外部から細胞を投与するのではなく、体内で目的の（幹）細胞を作り出すことで治療を目指す、という点では幹細胞治療（再生医療）の新たなアプローチとも言える。高コストな細胞ではなく、安価な化合物などを投与することで目的の（幹）細胞を生体内で誘導できれば、幹細胞治療（再生医療）と比べて大幅なコストダウンが期待される。特に、低分子化合物やタンパク質など分子によるダイレクトリプログラミングが実現すると、遺伝子導入に伴うリスクを回避できる点も大きい。現時点でダイレクトリプログラミングによる治療を明確に謳った上市製品は見られないが、期待感が大きい治療コンセプトと言える。ダイレクトリプログラミングの創薬を実現するためには、高い有効性に加えて、例えば企図した通りの細胞へと生体内で分化誘導がなされたか、など、計測・評価の観点も含めた多面的な視点からの基礎研究も必要になると思われる。

・自己修復機構の活性化による組織・臓器修復

上述の研究動向と同様に、細胞移植ではなく、分子を投与する治療アプローチとして、生体に本来備わっている自己修復機構を利用して組織再生を促す方法がみられる。例えば、壊死細胞から放出される核内クロマチン結合タンパク質high mobility group box1（HMGB1）は、骨髄内PDGFR陽性細胞（多能性間葉系細胞）を壊死組織周囲に誘導し、組織幹細胞の補充を促進することで修復に寄与していることが見出された¹⁶⁾。当該発見をベースとして、わが国で臨床試験が次々と進められている（例：2020年12月、新潟大学で肝線維症を対象としたPhase2の医師主導治験が開始。2022年7月、栄養障害型表皮水泡症患者を対象

としたPhase2臨床試験が開始。)。これらは細胞ではなく分子を投与するため、もし実現すれば、治療コストを大幅に抑えることも可能となる。

生体内の組織・臓器では、日常的に損傷・修復が繰り返され、恒常性が維持されていると考えられる。それらの基礎的なメカニズムを解き明かすことで、自己修復機構の活性化に着目した創薬標的が次々と発見される可能性がある。

・オルガノイド

2007年、オランダのClevers (当時・Hub研究所)、佐藤 (現・慶応大) らのグループは 腸幹細胞を Wntシグナル、EGFシグナルなどのアゴニストを用いて培養することにより、腸オルガノイドを作成することに成功した。腸オルガノイド内には上皮細胞、ゴブレット細胞、パネート細胞、分泌細胞など腸上皮に存在するさまざまな細胞が存在し、機能的な組織の原器を形成していることが示された。2008年に理化学研究所の笹井らは、マウスES細胞から無血清浮遊培地内で4層の大脳皮質構造を分化誘導することに成功した。笹井らはさらに網膜の原器に類似した構造を作り出した。この技術は、立体培養、自己組織化と呼ばれ、その後、肝、腸、胃、腎臓などさまざまな臓器においても同様の培養方法が開発され医療応用も検討されている。近年、最も分化誘導が難しいとされていた腎臓 (糸球体、尿細管) の自己組織化も可能となり、急速に技術開発が進んでいる。オルガノイドは血管網を有していないため、300 μ m を超すサイズになると内部がネクロシスを起こすことが長年の問題であった。最近、血管内皮細胞との共培養や中胚葉系の前駆細胞との共分化誘導により血管網の導入が報告され^{17, 18)}、さらに血管オルガノイドの作製も報告された¹⁹⁾。

オルガノイド技術は、生体に移植可能な組織・臓器を構築する技術としての洗練が期待されるものの、一方で多方面に大きなインパクトをもたらしている。例えば、ヒトの組織・臓器を模したオルガノイドを対象として、創薬スクリーニング、毒性評価、さらには患者iPS細胞をベースとすることで薬剤感受性の個体差の検出などへの応用が期待されている。発生学の基礎研究 (ヒト含む) に重要な研究ツールとしても期待が大きい。医学的用途ではなく、3次元培養技術を活用した、未来の食としての培養肉研究への展開も注目を集めている。

・わが国における臨床開発および上市動向 (ex vivo/in vivo 遺伝子治療除く)

皮膚や軟骨については、2000年代、複数の製品が登場し医療現場で活用されている。近年、複雑痔瘻を対象としたアロフィセル (武田薬品工業社、2021年)、角膜上皮幹細胞疲弊症を対象としたオキュラル (J-TEC社、2021年)、サクラシー (ひろさきLI社、2022年) などの製品も通常の臨床試験を経て承認された。条件および期限付き承認がなされた製品としては、心疾患を対象としたハートシート (テルモ社、2015年から8年間)、脊髄損傷を対象としたステミラック (ニプロ社、2019年から7年間) がみられる。前者は2024年7月に開催された厚生労働省 薬事審議会において承認は適切で無いとの結論が出された。

・培養肉

近年、臓器様の構造物を構築する組織工学の技術を動物細胞に応用した培養肉の開発が注目されている。人口増加によるタンパク質供給不足 (タンパク質クライシス) が2050年頃に顕在化するとされているが、家畜が産出するメタンガスなどの環境汚染物質の問題により畜産を増加することは難しい。そこで注目されているのが代替フードである。培養肉は、植物由来の代替肉とは異なり動物細胞で構成されるため、食肉に近い味と食感が期待されている。分野黎明期では筋芽細胞を大量に集めて成形したミンチ様の肉が作られていたが、近年では3Dバイオプリントの組織工学技術を応用し、和牛の霜降り構造を再現した高精細培養肉の作製も報告されている²⁰⁾。急速に発展している分野である。

【論文・特許動向】

- ・論文数およびTop1%論文数について、中国の伸び率が大きく、世界を先導している。
- ・2021年における日本の論文数は3位であり、Top1%論文数は7位である。
- ・論文数上位機関Top10に日本の機関は無く、日本の機関で最も順位が高いのは京都大学の17位である。
- ・日本の特許ファミリー件数シェアは4位、Patent Asset Indexは4位である。

(4) 注目動向

【新展開・技術トピックス】

・ダイレクトリプログラミング

幹細胞治療（再生医療）においては、患者自身の細胞を用いて腫瘍化リスクの低い細胞を短期間に作製することが理想的である。1987年にマウス皮膚の線維芽細胞に筋分化特異的遺伝子のひとつであるMyoDを発現させ、筋芽細胞に誘導したことが報告²¹⁾されて以降、多くのグループがマウスだけでなくヒトにおいても体細胞から多能性幹細胞を経ずに直接特定の分化細胞へ誘導する方法について報告し、これらはダイレクトリプログラミングと呼ばれるようになった。未分化状態を経ないため、比較的短期間で目的細胞へ誘導可能かつ腫瘍形成リスクが低いと考えられ、幹細胞治療（再生医療）のみならず、ヒト疾患細胞モデルを利用した病態解明や薬剤スクリーニングなどへの応用が期待されている。

2019年、国立精神・神経医療センターの青木らは、デュシェンヌ型筋ジストロフィー患者の尿から非侵襲的に得られる細胞に筋制御因子であるMYOD1を導入するとともに、ヒストンメチル化酵素阻害剤共存下に培養することで、短期間に目的の器官に誘導することに成功し²²⁾、治療法開発加速への貢献が期待される。2020年、九州大の鈴木らは、終末分化した細胞は増殖能が低く応用が限られることから、ヒトの臍帯静脈や末梢血管由来血管内皮細胞に3つの転写因子（FOXA3、HNF1A、HNF）を導入することで、増殖可能な誘導肝前駆細胞（iHepPC）を作成した。iHepPCは三次元培養によって機能的な肝細胞と胆管上皮細胞へ分化することも確認されている²³⁾。筑波大の家田らは、心臓線維芽細胞から心筋細胞へのリプログラミングにおいて、生体心臓と同等の柔らかさの細胞外基質上で心筋誘導効率が向上することを報告し、メカノバイオロジー研究の必要性を示唆した²⁴⁾。

より安全で安価な方法として、化合物を使うケミカル・ダイレクトリプログラミングの研究も盛んである。2020年、京都府立医大の戴らは、骨形成因子7（Bone Morphogenetic Protein-7：BMP-7）と2種類の化合物を添加した無血清培地でヒト皮膚線維芽細胞から褐色脂肪細胞への誘導に成功した²⁵⁾。米ノーステキサス大のChavalaらは、5種の化合物で皮膚線維芽細胞を桿体視細胞様細胞に誘導し、これを移植した網膜変性マウスで視力が回復したことを報告している²⁶⁾。

広義にエピジェネティクス的人為的制御と捉えれば、グリコーゲン合成酵素キナーゼ3（Glycogen synthase kinase 3：GSK3）阻害剤とヒストン脱アセチル化酵素（Histone Deacetylase：HDAC）阻害剤の合剤であるFrequency Therapeutics社のFX-322は、細胞移植によらずに組織・臓器の再生を促す新たな治療コンセプトとして注目すべき開発品である。静止状態にある内耳の前駆細胞を有毛細胞へ分化誘導することで難聴治療を目指すものであり、Phase1/2において鼓室への単回投与で21ヶ月まで聴力の回復が持続した例が報告されている。

これらのアプローチは、新たな治療コンセプトのひとつ、*in situ* organ/tissue regenerationとして期待され、体外における細胞分化・成熟手法の低コスト化・高効率化という点でも注目されている。

・エクソソーム/EV

当初、再生医療は、移植した細胞や組織が患者の体内に長期に亘って定着し、失われた機能を代償する治療が想定された。しかし、患者の体内で十分に機能する複雑な3次元構造を持った臓器の作製は技術的に極めて高いハードルが数多く存在し、後述する異種動物を活用した移植用臓器の作製というアプローチを除くと、実現は遠い未来となる可能性が高い。比較的シンプルな細胞や組織の移植においても、狙った箇所に長期に亘って定着させ、機能を発揮させ続けることは容易ではない（皮膚・軟骨にのみ、高い有効性を示す製品が上市されている）。

移植した組織・臓器そのものによる機能代償ではなく、それらが産生する栄養因子・増殖因子などの間接的効果（パラクライン効果）による機能再生を期待した研究開発が近年増加している。中でも、病態部位に移植した間葉系幹細胞（MSC）が放出する細胞外小胞が重要な役割をもつことが示唆され、注目を集めている。MSCが放出する100 nm前後細胞外小胞の一種であるエクソソームは、膜部分にコレステロール、

スフィンゴミエリン、セラミド、脂質ラフト構成成分を含み、内部にはさまざまなタンパク質、mRNA、miRNAなどを含むことが知られている。間葉系幹細胞に限らず、あらゆる細胞からエクソソームが産生され、細胞間の情報伝達物質の運び手 (Cargo) として多様な生命現象と関係していることがわかってきており、エクソソームに着目した治療コンセプトへの期待感が高まっている²⁹⁻³²⁾。エクソソームによる治療を期待した臨床試験が複数開始されているが、当初期待されたほどの成果が見られない。基礎研究の強化を通じて、エクソソームの基盤的理解を改めて推進すべき時期にきているとも言える。また、臨床応用に向けた基盤整備として、例えば、わが国では日本再生医療学会において、エクソソームの利用に関するWGが立ち上げ、その利用法について議論が進められている。2022年にはPosition Paperも公開され、当該分野のこれからのレギュラトリーサイエンスについて、日本再生医療学会と、International Society for cell and gene therapy (ISCT) などとも連携した、世界の動向を踏まえた活動が開始された。

・高度に初期化されたヒト多能性幹細胞の樹立

ヒトES細胞やiPS細胞は、奇形腫を作り試験管内で無限に増やせるといった点ではマウスの多能性幹細胞と同じであるが、発生学的にはマウスの多能性幹細胞よりも一段分化段階が進んだEpiblast stageの幹細胞である。そのため、胚盤胞に注入してもキメラを形成できないと考えられる。より未分化なヒトES細胞やiPS細胞の樹立培養技術の確立は、将来的にヒト多能性幹細胞の標準化や品質の向上に不可欠である。そこで多くの幹細胞研究者がマウスと同等なヒトES細胞やiPS細胞の樹立法の研究を行なっている。初期化因子として、卵細胞の細胞質に大量に含まれるリンカーヒストンH1fooを用いて従来の方法より高品質なiPS細胞を高効率に樹立する方法を慶応大の福田らが報告した³³⁾。順天堂大と慶応大のグループからマウス iPS細胞の分化成熟能力を高める技術が報告され、より分化成熟能力が高い細胞はより未成熟な状態である2細胞期のマーカーを多く発現していることが示されている³⁴⁾。

・異種キメラを利用した臓器再生法

臓器そのものの移植としては、ヒト以外の動物、特に臓器の大きさがヒトと近いことからブタの臓器をドナー臓器として使用するというアイデアがあり、長年研究されてきた。分子生物学の発達により抗原性を持つ α -1-3-galactose産生酵素などをノックアウトしたブタが作られ、免疫抑制剤と組み合わせることで、ブタ腎臓を移植されたヒビが8ヶ月以上生存するという結果が報告された³⁵⁾。ミュンヘン大学のグループからは、急性の免疫拒絶を克服すべく糖鎖抗原関連遺伝子をノックアウトしたブタの心臓を、慎重に検討されたプロトコルでサルに移植したところ、少なくとも195日間、良好な健康状態を保てたとの報告もあった³⁶⁾。また、10遺伝子を改変したブタの心臓をヒトへ移植したところ2ヶ月間生存したとの報告、69遺伝子を改変したブタの腎臓をサルに移植したところ2年以上生存しているとの報告など、注目すべき成果が次々と発表されている。

一方で、動物の臓器を移植するのではなく、遺伝子改変により特定の臓器を欠損する動物胚に、同種または異種の多能性幹細胞を移植し多能性幹細胞由来の臓器を作製しようとする研究アプローチが見られる。既に、マウスとラットのように進化的に近い種間では機能的な臓器が作られ、免疫抑制無しに移植により根治的治療が可能であることを東京大学の中内らが報告している^{37, 38)}。この方法は、臓器発生の機構を理解するための新たな方法論を提供するとともに、将来的に、異種個体内でヒト多能性幹細胞由来の臓器を作製するという、新たなコンセプトの移植治療の実現に貢献するものと期待される。現状、ヒトと動物のキメラ胚 (動物性集合胚) を作ることは日本では倫理的ハードルが高いため、中内らは米国においてヒトと羊のキメラ作製などを実施している。

・3D バイオプリンティング

臓器様の構造物を構築する技術として3Dプリンタを用いて細胞と足場材料を機能的に組み上げる3Dバイオプリンティング技術の開発も進む。3Dバイオプリントでは、細胞と足場材料の溶液を任意の形状に吐出して造形する必要があり、サポートバスと呼ばれる剪断減粘性を有する溶液の中にプリントする。最近では、コラーゲンを用いた心臓様の構造の作製と心筋細胞の培養³⁹⁾ やセメント様のインクを用いた*in situ* プリント⁴⁰⁾ などが報告されており、今後の発展が期待される。

・ヒト細胞加工品の製造における Quality by Design (QbD)

治療用細胞の純化には複数回の継代が必要とされ、数ヶ月間の長期にわたって培養・継代を行い、細胞の品質管理を実施することが多い。培養が長期間に渡る場合、細胞の機能が劣化し、化学合成による医薬品と比較してロットごとの機能が安定しないなどの問題点が指摘されている。これは製造のプロセスにおいて重要な課題である。製造ラインの自動化、多様な疾患・細胞腫に対応するモジュール化、安定供給のための輸送方法、凍結・解凍のプロトコルの標準化などの、ヒト細胞加工製品の製造に向けたQbDに基づく管理戦略プロジェクトが2020年度より国内で開始された。

・患者由来iPS細胞の創薬利用

患者から取得した体細胞をiPS細胞化し、病態解明、創薬シーズの探索・検証・評価などの用途へ活用しようとする、iPS創薬への期待が大きい。特に、希少難病や脳神経疾患など、患者由来のサンプルを取得しにくい疾患において、iPS創薬のアプローチは特に有用である。すでに慶応大の岡野らが、筋萎縮性側索硬化症(ALS)患者の細胞から樹立したiPS細胞から病態を示す神経細胞を再現し、既存薬をスクリーニングし有効な薬剤を突き止める⁴¹⁾など、臨床試験につながる成果も見られる。日米欧の各国で、大規模な疾患iPS細胞のバンキングプロジェクトも推進されている。

・培養肉

培養肉は、牛などの動物から採取した細胞を培養し、成形することで作製された肉を指す。2013年、オランダMaastricht大学のPostらにより、サテライト細胞の培養により作製された培養肉ハンバーガーの世界で最初の試食会がロンドンで行われた。当初は研究開発費込みで1個約3,000万円と非常に高額であったが、現在では食肉のハンバーガーとほぼ同等の1個1,300円程度での作製が可能になったと言われている。Postらは、牛サテライト細胞を大量に培養し、分化誘導によりリング状の筋線維を作製し、切断することで筋線維として回収した。この筋線維を大量に作製し、食紅などで着色することでミンチ状の培養肉としてハンバーガーを作製した。以後、ミンチ肉が培養肉の主流となった。近年、カット肉(ステーキ)の再構築が研究されており、東京大学の竹内らや東京女子医大の清水らはシート状のウシ筋組織を重ねた培養肉を報告しており⁴²⁾、大阪大学の松崎らは3Dプリントを用いて作製した筋線維、脂肪線維、血管線維を束ねたサシ入り和牛の培養肉を報告している⁴³⁾。

【注目すべき国内外のプロジェクト】

・日本医療研究開発機構(AMED)再生・細胞医療・遺伝子治療プロジェクト

2024年度は186億円で、再生・細胞医療・遺伝子治療実現加速化プログラム、再生医療・遺伝子治療の産業化に向けた基盤技術開発事業などが推進されている。

・Cell and Gene Therapy Catapult (CGT Catapult)

英国は2012年に再生医療戦略(A Strategy for UK Regenerative Medicine; UKRM)を発表し、幹細胞治療(再生医療)への大型研究投資を開始した。UKRMのもと設立された細胞治療カタパルト(Cell Therapy Catapult)は、ロンドン中心部のガイ病院内に拠点を構え、英国全体の細胞治療商業化推進のハブとして重要な存在となっている。2018年には7,200m²のGMP製造センターをオープンし、政府は90億円規模の予算を投入している。2016年からは、新たに遺伝子治療も柱に据えた活動を開始し、名称もCell and Gene Therapy Catapultに変更された。2017年に開始された先端治療への患者アクセスを向上させるためのネットワーク事業Advanced Therapy Treatment Centers (ATTC)でも、CGTカタパルトがその中心を担っており、英国における幹細胞治療(再生医療)および遺伝子治療への商業化に向けて、CGTカタパルトは重要な位置づけにある。

・JST未来社会創造事業「持続可能な社会の実現」

未来社会創造事業は、社会・産業ニーズを踏まえて、経済・社会的にインパクトのあるターゲット(出口)を明確に見据えた技術的にチャレンジングな目標を設置し、実用化が可能かどうか見極められる段階を目指し

た研究開発を行っている。最大10年の長期にわたり、総額で数億円～数十億円規模の研究開発投資にて実施される、未来社会からバックキャスト型の研究開発事業である。2018年度から「持続可能な社会の実現」領域に「将来の環境変化に対応する革新的な食料生産技術の創出」テーマが設定され、探索加速型研究が開始した。その後、ステージゲート評価を経て本格研究に移行している。

（5）科学技術的課題

個体は1個の受精卵から遺伝情報に基づいて発生し形成される。従って、個体や臓器の発生を再現できる情報はゲノム解析により入手できているはずである。しかし、遺伝子発現制御をはじめとして、我々が現在把握している情報は極めて断片的で不完全であり、生体内に存在するさまざまな体細胞を、ES細胞を分化させることで完全に再現することすらできていない。幹細胞生物学、細胞生物学、発生生物学、免疫学などの基礎研究の統合的な進展が重要である。

幹細胞治療（再生医療）は、次章の遺伝子治療（*ex vivo/in vivo*）と同様に、既に上市された製品も含めて、治療メカニズムには未だに不明な部分が多い。臨床応用も重要ではあるが、幹細胞治療（再生医療）の本格的な実現にはまだまだ長い時間がかかると思われる。幹細胞生物学、細胞生物学、発生生物学、免疫学などの基礎研究の統合的な推進を通じてメカニズムの理解を深めることが、結果的に将来のインパクトの大きな臨床応用につながると考えられる。特に難易度の高い新規モダリティであるが故に、臨床応用を焦ることなく、急がば廻れで基礎的なメカニズム研究を改めて重点的に推進すべき時期にあると考えられる。

（6）その他の課題

臨床試験の国際的スタンダードはランダム化二重盲検試験であるが、希少疾患や症状が重篤な疾患を対象とする場合は、時間的な制約からも、倫理的にも、この方法をとることが難しい場合がある。2018年、札幌医大から条件付き早期承認申請がなされた再生医療等製品は、脊髄損傷患者の骨髄から自己MSCを抽出し静脈へ注射し治療効果を期待するものであり、世界に先駆けて臨床試験が進められた。しかし、この臨床試験に対して、Nature誌から疑義を呈する記事が出された⁴⁴⁾。条件付き早期承認制度は、わが国の独自の制度であるが、一方で、同制度に対する批判に応えることのできる、確かな実績を示していくことが重要と考えられる。これに対する対応として、日本再生医療学会と日本医学会が連携し再生医療等臨床登録システム（NRMD）が立ち上がり、データ集積が進められている。臨床例からの次の課題を探索するReverse Translational Researchの考え方が重要である。

近年、世界中で続々と承認されている遺伝子治療（CAR-Tほか）のように、少数患者を対象とした臨床試験でありながらも非常に高い有効性を示すような幹細胞治療（再生医療）製品が登場すると、巨大な世界市場を形成しうると期待できる。一方で、幹細胞治療（再生医療）は、次章の遺伝子治療（*ex vivo/in vivo*）と同様に、従来のモダリティと比較して高額となる傾向が強い。わが国の保険制度とその現状を考えれば、医療経済的観点からの議論は必須である。価格に見合った有効性が得られるか、より低コストの方法で同様の効果が期待できるものはないかなどの検討を、研究開発と並行して行っていくことが重要である。

（7）国際比較

国・地域	フェーズ	現状	トレンド	各国の状況、評価の際に参考にした根拠など
日本	基礎研究	○	→	・ヒトiPS細胞の樹立、ES細胞の大量培養技術の確立、さまざまな臓器のオルガノイド構築など、世界をリードする重要な研究成果がこれまでに多数報告されている ・iPS細胞研究への集中投資によって、周辺分野の研究者層が薄くなっているとの指摘がある
	応用研究・開発	○	→	・AMED再生・細胞医療・遺伝子治療プロジェクトの中で多くの臨床研究が推進されている ・世界に先駆けて、条件付き早期承認制度がわが国で開始され、幹細胞治療（再生医療）の複数の臨床シーズが同制度のもとで臨床試験が進められている ・製造に関して2020年度よりQbD事業が開始され、細胞加工製品の品質および製造に関する基準作りがなされている
米国	基礎研究	◎	→	・予算、人材、企業活動など、すべての面で世界を大きくリード ・政府予算のみならず、州政府からの支援も大きい ・件数は少ないものの、ES細胞のみならず、iPS細胞を利用した幹細胞治療（再生医療）の研究も徐々に活性化
	応用研究・開発	◎	↘	・多くのスタートアップとそれをバックアップする資金、人材、システムがあり、イノベーションを構造的に支えている。 ・カリフォルニア州のCIRMは、当初は幹細胞治療（再生医療）を中心とした支援を進めていたが、現在では遺伝子治療（ex vivo/in vivo 遺伝子治療）も重要な投資対象として、投資先のシフトが進んでいる ・カリフォルニア州やニューヨーク州を中心に、いくつかのiPS細胞バンクが存在する
欧州	基礎研究	○	→	・英国はClick研究所をロンドン中心部に設置し、資金と人材を集中させている ・ドイツ、スイスも豊富な資金をもとに人材を集めている。 ・英国は国家プロジェクトで2012年頃から幹細胞治療（再生医療）を重点的に支援してきたが、近年では、幹細胞治療（再生医療）を一定程度支援しつつも遺伝子治療への重点的な支援がなされている
	応用研究・開発	○	→	・欧州全体で一元管理される大規模ヒト多能性幹細胞バンク（EBiSC）とレジストリ（hPSCreg）、疾患iPSバンク（Stem BANCC）を有する ・EUと欧州制約団体連合会（EFPIA）が半分ずつ資金を出し合う官民パートナーシップによる医薬品開発イニシアティブ（IMI）が存在し、幹細胞治療（再生医療）に関するプロジェクトも推進されている ・英国CGT Catapult は英国再生医療の商業化のハブとして重要な役割を担っている ・EUでは“Hospital Exemption”として条件を満たした先端医療医薬品（ATMP）は中央審査の対象外となっている
中国	基礎研究	○	↗	・量はもちろんのこと、質も著しく向上している。一流誌に発表される論文数も増加し、学会などでのプレゼンスも格段に上がっている。 ・米国の大学に留学している学生、研究者の数も圧倒的で、中国本土の科学技術の向上に貢献している。
	応用研究・開発	○	↗	・中国の論文数、質の向上は臨床研究においても認められる。多能性幹細胞を用いた臨床試験も開始されている ・欧米や日本に比して人権や動物愛護に対する規制が厳しくなく、応用研究を推進しやすい環境であるとも言える
韓国	基礎研究	△	→	・目立った成果は見られない ・中国ほどではないが論文の質量ともに近年向上 ・米国などへの留学生も増加傾向で、基礎研究力の向上が予想される
	応用研究・開発	△	→	・美容関連製品を中心に再生医療製品を多数製造販売している ・多能性幹細胞の臨床試験も開始されている ・FDAに多くの人材を留学させて制度を学んでいる

2.1

俯瞰区分と研究開発領域
健康・医療

- (註1) フェーズ
- 基礎研究：大学・国研などでの基礎研究の範囲
- 応用研究・開発：技術開発（プロトタイプの開発含む）の範囲
- (註2) 現状 ※日本の現状を基準にした評価ではなく、CRDS の調査・見解による評価
- ◎：特に顕著な活動・成果が見えている ○：顕著な活動・成果が見えている
- △：顕著な活動・成果が見えていない ×：特筆すべき活動・成果が見えていない
- (註3) トレンド ※ここ1～2年の研究開発水準の変化
- ↗：上昇傾向、→：現状維持、↘：下降傾向

関連する他の研究開発領域

・ 遺伝子治療 (*in vivo* 遺伝子治療 / *ex vivo* 遺伝子治療) (ライフ・臨床医学分野 2.1.5)

参考文献

1) Tsuchiya A et al., “Working Group of Attitudes for Preparation and Treatment of Exosomes of Japanese Society of Regenerative Medicine. Basic points to consider regarding the preparation of extracellular vesicles and their clinical applications in Japan”, *Regen Ther.*, (2022): 19;21:19-24. doi: 10.1016/j.reth.2022.05.003

2) M. Tachibana et al., “Human embryonic stem cells derived by somatic cell nuclear transfer”, *Cell* 153, no. 6 (2013): 1228-1238. doi: 10.1016/j.cell.2013.05.006

3) M. Yamada et al., “Human oocytes reprogram adult somatic nuclei of a type 1 diabetic to diploid pluripotent stem cells”, *Nature* 510, no. 7506 (2014): 533-536. doi: 10.1038/nature13287

4) P. Kebriaei et al., “Adult human mesenchymal stem cells added to corticosteroid therapy for the treatment of acute graft-versus-host disease”, *Biol. Blood Marrow Transplant* 15, no. 7 (2009): 804-811. doi: 10.1016/j.bbmt.2008.03.012

5) K. -H. Wu et al., “Effective treatment of severe steroid-resistant acute graft-versus-host disease with umbilical cord-derived mesenchymal stem cells”, *Transplantation* 91, no. 12 (2011): 1412-1416. doi: 10.1097/tp.0b013e31821aba18

6) K. Le Blanc et al., “Mesenchymal stem cells for treatment of steroid-resistant, severe, acute graft-versus-host disease: a phase II study”, *Lancet* 371, no. 9624 (2008): 1579-1586. doi: 10.1016/S0140-6736(08)60690-X

7) Y. Watanabe et al., “Mesenchymal Stem Cells and Induced Bone Marrow-Derived Macrophages Synergistically Improve Liver Fibrosis in Mice”, *Stem Cells Transl. Med.* 8, no. 3 (2018): 271. doi: 10.1002/sctm.18-0105

8) Takeuchi S et al., “Small extracellular vesicles derived from interferon- γ pre-conditioned mesenchymal stromal cells effectively treat liver fibrosis.”, *NPJ Regen Med.*, (2021), 30;6(1):19. doi: 10.1038/s41536-021-00132-4

9) C. de Rham and J. Villard, “Potential and limitation of HLA-based banking of human pluripotent stem cells for cell therapies”, *J. Immunol. Res.* 2014 (2014): 518135. doi: 10.1155/2014/518135

10) S. Solomon, F. Pitossi and M. S. Rao, “Banking on iPSC- is it doable and is it worthwhile”, *Stem Cell Reviews* 11, no. 1 (2015): 1-10. doi: 10.1007/s12015-014-9574-4

11) N. F. Blair and R. A. Barker, “Making it personal: the prospects for autologous pluripotent

- stem cell-derived therapies”, *Regen. Med.* 11, no. 5 (2016): 423-425. doi: 10.2217/rme-2016-0057
- 12) S. Miura and A. Suzuki, “Generation of Mouse and Human Organoid-Forming Intestinal Progenitor Cells by Direct Lineage Reprogramming”, *Cell Stem Cell* 21, no. 4 (2017): 456-471. doi: 10.1016/j.stem.2017.08.020
 - 13) T. Sadahiro et al., “Tbx6 Induces Nascent Mesoderm from Pluripotent Stem Cells and Temporally Controls Cardiac versus Somite Lineage Diversification”, *Cell Stem Cell* 23, no. 3 (2018): 382-395. doi: 10.1016/j.stem.2018.07.001
 - 14) Y. Takeda et al., “Direct conversion of human fibroblasts to brown adipocytes by small chemical compounds”, *Sci. Rep.* 7, no. 1 (2017): 4304. doi: 10.1038/s41598-017-04665-x
 - 15) T. Katsuda et al., “Conversion of terminally committed hepatocytes to culturable bipotent progenitor cells with regenerative capacity”, *Cell Stem Cell* 20, no. 1 (2017): 20-55. doi: 10.1016/j.stem.2016.10.007
 - 16) K. Tamai et al., “PDGFR α -positive cells in bone marrow are mobilized by high mobility group box 1 (HMGB1) to regenerate injured epithelia”, *Proc. Natl. Acad. Sci.* 108, no. 16 (2011): 6609-6614. doi: 10.1073/pnas.1016753108
 - 17) Kimberly A Homan et al., “Flow-enhanced vascularization and maturation of kidney organoids in vitro.”, *Nature Methods*, 2019, 255-262. doi: 10.1038/s41592-019-0325-y.
 - 18) Bilal Cakir et al., “Engineering of human brain organoids with a functional vascular-like system.”, *Nature Methods*, 2019, 1169-1175. doi: 10.1038/s41592-019-0586-5.
 - 19) Reiner A Wimmer et al., “Human blood vessel organoids as a model of diabetic vasculopathy.”, *Nature*, 2019, 505-510. doi: 10.1038/s41586-018-0858-8.
 - 20) Dong-Hee Kang et al., “Engineered whole cut meat-like tissue by the assembly of cell fibers using tendon-gel integrated bioprinting.”, *Nature Communications*, 2021, 5059. doi: 10.1038/s41467-021-25236-9.
 - 21) R. L. Davis et al., “Expression of a single transfected cDNA converts fibroblasts to myoblasts”, *Cell* 51, no. 6 (1987): 987-1000. doi: 10.1016/0092-8674(87)90585-x
 - 22) H. Takizawa et al., “Modelling Duchenne muscular dystrophy in MYOD1-converted urine-derived cells treated with 3-deazaneplanocin A hydrochloride”, *Sci. Rep.* 9, no. 1 (2019): 3807. doi: 10.1038/s41598-019-40421-z
 - 23) H. Inada et al., “Direct reprogramming of human umbilical vein- and peripheral blood-derived endothelial cells into hepatic progenitor cells”, *Nat. Commun.* 11, no. 1 (2020): 5292. doi: 10.1038/s41467-020-19041-z
 - 24) S. Kurotsu et al., “Soft Matrix Promotes Cardiac Reprogramming via Inhibition of YAP/TAZ and Suppression of Fibroblast Signatures”, *Stem Cell Rep.* 15, no. 3 (2020): 612-628. doi: 10.1016/j.stemcr.2020.07.022
 - 25) Y. Takeda et al., “A developed serum-free medium and an optimized chemical cocktail for direct conversion of human dermal fibroblasts into brown adipocytes”, *Sci. Rep.* 10, no. 1 (2020): 3775. doi: 10.1038/s41598-020-60769-x
 - 26) B. Mahato et al., “Pharmacologic fibroblast reprogramming into photoreceptors restores vision”, *Nature* 581, no. 7806 (2020): 83-88. doi: 10.1038/s41586-020-2201-4
 - 27) H. Zhou et al., “Glia-to-Neuron Conversion by CRISPR-CasRx Alleviates Symptoms of Neurological Disease in Mice”, *Cell* 181, no. 3 (2020): 590-603.e16. doi: 10.1016/

j.cell.2020.03.024

- 28) H. Qian et al., “Reversing a model of Parkinson’s disease with in situ converted nigral neurons”, *Nature* 582, no. 7813 (2020): 550-556. doi: 10.1038/s41586-020-2388-4
- 29) R. Kalluri and V. S. LeBleu, “The biology, function, and biomedical applications of exosomes”, *Science* 367, no. 6478 (2020): eaau6977. doi: 10.1126/science.aau6977
- 30) D. Allan et al., “Mesenchymal stromal cell-derived extracellular vesicles for regenerative therapy and immune modulation: Progress and challenges toward clinical application”, *Stem Cells Transl. Med.* 9, no. 1 (2020): 39-46. doi: 10.1002/sctm.19-0114
- 31) A. E. Russell et al., “Biological membranes in EV biogenesis, stability, uptake, and cargo transfer: an ISEV position paper arising from the ISEV membranes and EVs workshop”, *J. Extracell Vesicles* 8, no. 1 (2019): 1684862. doi: 10.1080/20013078.2019.1684862
- 32) K. W. Witwer et al., “Defining mesenchymal stromal cell (MSC)-derived small extracellular vesicles for therapeutic applications”, *J. Extracell Vesicles* 8, no. 1 (2019): 1609206. doi: 10.1080/20013078.2019.1609206
- 33) A. Kunitomi et al., “H1foo Has a Pivotal Role in Qualifying Induced Pluripotent Stem Cells”, *Stem Cell Rep.* 6, no. 6 (2016): 825-833. doi: 10.1016/j.stemcr.2016.04.015
- 34) K. Nishihara et al., “Induced Pluripotent Stem Cells Reprogrammed with Three Inhibitors Show Accelerated Differentiation Potentials with High Levels of 2-Cell Stage Marker Expression”, *Stem Cell Rep.* 12, no. 2 (2019): 305-318. doi: 10.1016/j.stemcr.2018.12.018
- 35) H. Iwase et al., “Immunological and physiological observations in baboons with life-supporting genetically engineered pig kidney grafts”, *Xenotransplantation* 24, no. 2 (2017): e12293. doi: 10.1111/xen.12293
- 36) M. Längin et al., “Consistent success in life-supporting porcine cardiac xenotransplantation”, *Nature* 564, no. 7736 (2018): 430-433. doi: 10.1038/s41586-018-0765-z
- 37) T. Yamaguchi et al., “Interspecies organogenesis generates autologous functional islets”, *Nature* 542, no. 7640 (2017): 191-196. doi: 10.1038/nature21070
- 38) T. Goto et al., “Generation of pluripotent stem cell-derived mouse kidneys in Sall1-targeted anephric rats”, *Nature Communications* 10, no. 1 (2019): 451. doi: 10.1038/s41467-019-08394-9
- 39) A Lee et al., “3D bioprinting of collagen to rebuild components of the human heart”, *Science*, 2019, 482-487. doi: 10.1126/science.aav9051.
- 40) Mingjun Xie et al., “In situ 3D bioprinting with bioconcrete bioink”, *Nature Communications*, 2022, 13(1):3597. doi: 10.1038/s41467-022-30997-y.
- 41) Y. Tabata et al., “T-type calcium channels determine the vulnerability of dopaminergic neurons to mitochondrial stress in familial Parkinson’s disease”, *Stem Cell Rep.* 11, no. 5 (2018): 1171-1184. doi: 10.1016/j.stemcr.2018.09.006
- 42) Mai Furuhashi et al., “Formation of contractile 3D bovine muscle tissue for construction of millimetre-thick cultured steak”, *NPJ Sci. Food* 5, 2021, 5(1):6. doi: 10.1038/s41538-021-00090-7.
- 43) Dong-Hee Kang et al., “Engineered whole cut meat-like tissue by the assembly of cell fibers using tendon-gel integrated bioprinting”, *Nature Communications*, 2021, 12(1):5059. doi: 10.1038/s41467-021-25236-9.
- 44) Nature editorial, “Japan should put the brakes on stem-cell sales”, *Nature*, January 30, 2019, 535-536. doi: 10.1038/d41586-019-00332-5

2.1