

再生医療の実現化プロジェクト（第Ⅱ期） 成果報告票

（ヒト iPS 細胞等研究拠点）＜中間評価＞

課 題 名	ヒト多能性幹細胞の分化誘導・移植の技術開発と技術支援のための総合拠点
代 表 機 関 名	独立行政法人理化学研究所
代 表 研 究 者 名	笹井 芳樹
分担機関・分担研究者名	財団法人先端医療振興財団 川真田 伸

1. 課題開始時における達成目標

本研究拠点では、代表および分担研究者らによるこれまでの動物・ヒト ES 細胞での国際的研究開発の実績を元に、ヒト ES 細胞・iPS 細胞を用いた神経系・感覚器系・血液系細胞の高効率の分化誘導技術開発を実施する。同時に、その安全性を向上させる培養技術開発や、産生された有用細胞の純化技術の基盤確立を行う。さらに、動物での移植研究を通し、その in vivo での機能性を解析し、細胞治療などの医学応用への基盤を確立する。特に、網膜細胞（色素上皮細胞等）の移植については、ヒト iPS 細胞の利用を念頭に置いた前臨床研究を、中型動物のレベルで強力的に推進し、加齢黄斑変性や網膜色素変性の治療に臨床応用可能な技術的確立を行う。

また、主拠点（発生・再生科学総合研究センター；CDB）と副拠点（バイオリソースセンター；BRC）の連携・協力により、iPS 細胞等のヒト幹細胞を幅広く本邦の再生医学研究に応用できるように、国内研究者への技術講習・移転、有用細胞株の作成・バンキング・分配、プロトコール整備などを行う支援拠点として技術・材料・情報インフラ整備に貢献する。併せて、プロジェクト事業全体の推進、情報発信、プロジェクト内情報交換などの支援業務を行う。

このように理化学研究所拠点では、その拠点研究開発の重点目標として、分化・培養技術の開発、移植治療技術の開発、ヒト幹細胞技術の支援を実施するが、より具体的な要点は下記の通りである。

① 分化・培養技術の開発

- ・ ES 細胞および iPS 細胞を用いた大脳、小脳、網膜等の前駆細胞および神経細胞の選択分化培養の最適化（CDB）
- ・ 大脳等の立体組織培養の技術開発（CDB）
- ・ 臨床応用に向けたヒト ES/iPS 細胞の安全な培養法（動物成分フリー）の開発（CDB）
- ・ 臨床応用や創薬／病因研究に資する神経細胞の選別・純化技術の開発（CDB）
- ・ 「輸血可能な赤血球」を人工生産する技術の樹立（BRC）

② 移植治療技術の開発

- ・ 網膜色素上皮細胞のヒト iPS 細胞等からの効率の良い高機能細胞の調整法（分化・分離・加工）の確立（CDB）
- ・ 視細胞のヒト ES/iPS 細胞等からの効率の良い高機能細胞の調整法（分化・分離）の確立（CDB）
- ・ 網膜色素上皮細胞および視細胞の動物への細胞移植技術の確立（CDB）
- ・ 加齢黄斑変性および網膜色素変性モデル（ラット・サル）に対する iPS・ES 細胞由来の網膜色素上皮シート移植の治療効果（CDB）
- ・ 網膜色素変性モデル（マウス・ラット・ウサギ）に対する iPS・ES 細胞由来の視細胞移植の治療

効果 (CDB)

③ ヒト幹細胞技術の支援

- ・ 維持培養・分化誘導等に関する簡便プロトコル化 (CDB)
- ・ 有用なヒト ES 細胞および iPS 細胞の理研 BRC へのバンキングと配布 (BRC)
- ・ ヒト ES/iPS 細胞の管理ノウハウを分かりやすい形で紹介・導入指導 (CDB、BRC)
- ・ 技術支援や情報発信のためのホームページ設置 (CDB、BRC)

さらに、「iPS 細胞技術プラットフォーム (以下、「技術プラットフォーム」という)」では国内の技術普及のため、各拠点が下記の業務を連携して実施するが、本拠点の重点目標は下記のとおりである。

④ 細胞の標準化

- ・ iPS 細胞の特性・品質・純度を確実化する技術の標準化とその技術整備 (BRC)
- ・ 分化誘導した神経細胞や血液細胞の機能的特性、品質の管理、純度検定の標準化のための技術開発 (CDB、BRC)
- ・ 臨床応用に向けたヒト化細胞外マトリクスの利用のための整備 (CDB)
- ・ 幹細胞由来の脳組織の創薬応用のための標準化基盤技術 (CDB)

⑤ 技術講習会・培養トレーニングプログラム (H20年度では③に内包)

- ・ iPS 細胞の技術講習会の実施 (CDB、BRC)
- ・ 培養トレーニングプログラムの実施 (CDB、BRC)
- ・ 技術普及や各地での講習会のための教材(プロトコル本や DVD を含む)を開発 (CDB、BRC)

⑥ 疾患特異的 iPS 細胞の樹立・提供

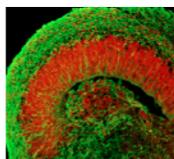
- ・ 網膜変性の患者から提供される体細胞から、高品質の疾患特異的 iPS 細胞を樹立 (CDB)
- ・ 同上のバンキング (CDB、BRC)
- ・ その他の機関からの疾患特異的 iPS 細胞のバンキングと提供のための施設およびソフト整備 (BRC)

2. 平成22年4月末時点における課題全体の事業計画に対する研究成果

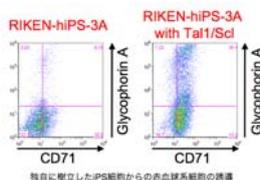
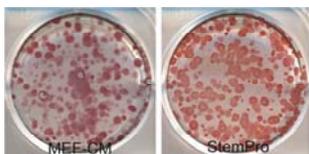
(1) 成果概要

① 分化・培養技術の開発

- ・ マウスおよびヒト ES/iPS 細胞を用いた大脳皮質ニューロンの選択的分化誘導と大脳皮質の立体組織形成の成功



- ・ ヒト ES/iPS 細胞の維持培養からの動物由来の未同定因子の除去の成功
- ・ ヒト ES/iPS 細胞の細胞死の原因解明
- ・ ヒト ES/iPS 細胞からの赤血球分化技術の樹立

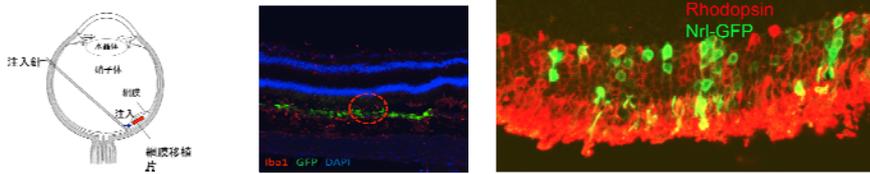


ヒト型マトリクスによるヒト ES 細胞培養

ヒト iPS 細胞からの赤血球細胞の分化成功

② 移植治療技術の開発

- ・ 網膜色素上皮細胞のヒト iPS 細胞からの効率調整法の確立とサルへの移植
- ・ 視細胞のヒト ES/iPS 細胞等からの効率の良い高機能細胞の分化法の確立
- ・ 視細胞の網膜移植の高生着率での成功



網膜下移植法（左）、網膜色素上皮のサル移植後生着（中）、視細胞のマウス網膜移植法確立（右）

③ ヒト幹細胞技術の支援

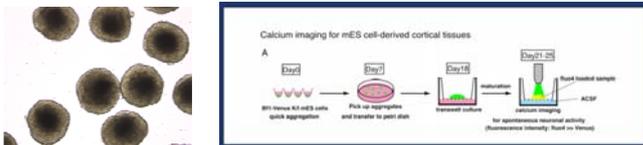
- ・ 有用なヒト ES 細胞および iPS 細胞の理研 BRC からの配布開始
- ・ ホームページからの技術や管理情報の発信



<http://www.cdb.riken.jp/hsct/protocol.html>

④ 細胞の標準化

- ・ 細胞バンクでの iPS 細胞の品質管理ための検定のパイプライン化
- ・ 分化誘導した神経細胞や血液細胞の品質の管理標準化に向けたロックイン技術開発
- ・ 臨床応用に向けたヒト化細胞外マトリクスを用いた hiPS 細胞の Xeno-free 樹立法の確立
- ・ 幹細胞由来の脳組織の創薬応用のためのイメージング技術開発



均一化された ES 細胞由来の脳皮質組織とそれを用いた神経活動のモニター化

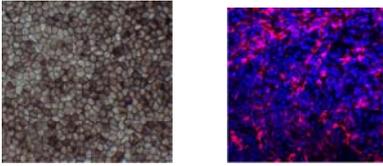
⑤ 技術講習会・培養トレーニングプログラム

- ・ ヒト iPS/ES 細胞の培養トレーニング講習会の実施
- ・ 技術普及や各地での講習会のための教材をセットで開発



⑥ 疾患特異的 iPS 細胞の樹立・提供

網膜変性の疾患特異的 iPS 細胞を樹立



色素変性患者 hiPS 細胞から網膜色素上皮 (左)、視細胞 (ロドプシン陽性; 右)。

患者細胞→hiPS 細胞樹立→網膜分化誘導のパイプライン化に成功。

(2) 研究の進捗及び成果

① 分化・培養技術の開発

1) 神経分化技術: マウスおよびヒト ES/iPS 細胞由来の大脳前駆細胞 (Bf1 陽性) を長期培養し、大脳皮質ニューロンへの選択的分化誘導 (60-70%) に成功させ、皮質に存在する少なくとも 5 種類のニューロンの分化も確認された (Eiraku et al, 2008)。さらに、マウス大脳皮質への移植での生着にも成功し、その軸索の錐体路への投射が認められた。さらに、ヒト ES 細胞由来の大脳皮質組織の長期立体培養により胎児の大脳皮質に酷似した層構造をもった大脳皮質組織の形成にも成功した (Eiraku et al, 2008)。これまで分化誘導が不可能であった間脳視床下部の内分泌神経細胞の *in vitro* 産生にも成功した (Wataya et al, 2008)。尿崩症に関係するバソプレシンを大量産生する内分泌ニューロンも約 1 割の効率で産生可能である。「内分泌領域での再生医療」の可能性を拓く成果として注目された。小脳発生の微小環境の再現により、マウス ES 細胞からのプルキンエ細胞の高効率 (>30%) の分化とその前駆細胞の FACS 精製に成功した。さらに小脳への移植により、プルキンエ細胞層への選択的な生着と小脳核への選択的な投射を確認した (Muguruma et al, 改訂中)。脊髄小脳変性症 (特に SCA 6 型) の治療や発症研究に大きく寄与することが期待される。また、ES 細胞からの初期神経分化を決定する核内因子を発見し、神経分化の更なる選択性向上を合理的にデザインした (Sasai et al, 2008; Kamiya et al, 2010)。

2) 赤血球を産生する前駆細胞の株化: ヒト ES 又は iPS 細胞から赤血球産生能を有する不死化細胞株を樹立することが、「輸血可能な赤血球」の幹細胞からの産生の必須技術である。独自にヒト iPS 細胞株の樹立を実施した (3 人由来、合計 24 株を樹立)。当該ヒト iPS 細胞はすべて細胞バンク事業に寄託をした (現在提供準備中)。さらに、ヒト ES 及び iPS 細胞から、効率よく血液系細胞を誘導できる培養系を確立し、再現性をよく血液系不死化細胞株を樹立できる系を確立した。上記血液系不死化細胞株 (複数) を解析した結果、赤血球系細胞株であることを確認し、また、遺伝子操作等によりヘモグロビン産生を伴う分化段階まで分化誘導できることも確認した。

3) 安全な培養法の開発: ヒト多能性幹細胞の培養は未だ多くの未知要素に依存しており、これまで Xeno-free 化は限定的な成功しか得られていなかった。ヒト脱落膜由来間葉細胞より抽出した細胞外マトリクスに非常に強いヒト ES/iPS 細胞の維持培養の支持活性があることを明らかにし、このマトリクス上で、ヒト ES/iPS 細胞を 10 継代以上、市販の完全合成培地で培養できることも示した。ヒト多能性幹細胞の大きな技術課題に対するプラクティカルな解決をもたらした (Nagase et al, 2009)。

4) 効率の良い大量培養のための分散培養技術基盤: ヒト ES/iPS 細胞の培養のもう一つの大きな障害は、培養過程 (特に分散培養) で起こる強い細胞死である。この細胞死に関して、ヒト ES/iPS 細胞の生存/増殖に E-cadherin 依存的な細胞間接着が必須であり、その下流に Abr という GEF/GAP タンパクを介する Rho-Rho キナーゼの過活性誘導機構があることを分子的に解明した (Ohgushi, 2010)。さらに、Rho キナーゼの下流エフェクターがミオシンであることも発見し、その阻害剤 Blebbistatin でも細胞死が抑制できることも明らかにした (Ohgushi, 2010)。細胞死が特に強いヒト iPS 細胞の分散培養も効率化で

きた。

② 移植治療技術の開発

1) 加齢黄斑変性等への網膜色素上皮細胞移植技術：この2年間で、網膜色素上皮細胞のヒト ES/iPS 細胞からの試験管内調製技術を開発し、ヒト iPS 細胞の樹立、分化誘導、細胞選別、拡大培養などを一貫した再現性の高いシステムとして機能させるための各要素技術をほぼ完成することができた。さらに、網膜下移植のための手術技術、検証技術およびデバイス開発もサル移植のレベルでの効果判定に十分対応できるシステムを確立した。別途予算（厚労省や戦略イノベーション）などで病院、企業との連携で進める安全性検証のシステム化とセットとして、臨床試験への要素技術の個別開発が目標より早く達成できたので、今後それらをつなげてプロトコル化(SOP)を行なう段階に至った。

一つの残された質問として、細胞ソースは iPS 細胞であるべきか、ES 細胞でもよいのか？である。今後、カニクイサルの iPS 細胞を作成し、また、網膜色素上皮細胞障害モデルを作成した。今後サルの ES 細胞を含め他家移植と自家移植を検討する。

2) 網膜色素変性等への視細胞移植技術：マウス幼弱網膜視細胞を用いて移植条件の検討を変性モデルマウスで行った。視細胞変性 rd マウスにおいて、移植はマイクログリアの集積がなくなる期間(生後8週から12週)が最適であり、コンドロイチナーゼや抗炎症剤とともに移植することが重要と考えられた。これらの結果をもとに中型動物モデルウサギモデルへの移植に着手した。また、視細胞移植後の機能効果の客観判定のため、電気生理学的に効果判定ができる体制を整えた。

③ ヒト幹細胞技術の支援

1) 細胞分配：ヒトES細胞バンク事業については、国内初のヒトES細胞分配専門機関として、文部科学大臣の確認のもと、京大樹立株(中辻株)の寄託を受け、提供用細胞を整備した。現時点で3株(KhES-1, KhES-2, KhES-3)が即時提供可能な提供ラインに乗っている。マウスiPS細胞バンク事業については、京大樹立株(山中株)の寄託を順次受け、4株につき提供を実施した。第二期プロジェクト内での累積提供総数は483件であった。ヒトiPS細胞バンク事業についても、京大樹立株(山中株)の寄託を順次受け、2株につき提供を実施した。第二期プロジェクト内での累積提供総数は255件であった。

2) 技術支援/技術普及：(H21年度から講習等は⑤のカテゴリーに統一)

理研 CDB および BRC ホームページからのヒト ES/iPS 細胞培養技術や管理情報の発信を行い、多くの利用者に活用された。また、実習のための詳細な図付きのプロトコル本を1000部作製し、ほぼすべてが21年度末までに一般配布され、公表を得た。さらに主要な技術については順次、ビデオ化を行い、HPよりのダウンロードできるようにした。また、複数の大学・企業でのヒト ES 細胞使用の開始のアドバイスや講習を行い、また技術コンサルテーションを行なった。

④ 細胞の標準化

1) 細胞バンクでの iPS/ES 細胞の品質管理のための検定のパイプライン化について、理研 BRC を中心に行なった。また理研 CDB を中心に、奇形腫形成の定量化を検討し、1000-5000 個のヒト ES/iPS 細胞の移植が腫瘍形成にクリティカルリミットであること、また細胞株で数倍程度の差があることを確認した。このような奇形腫形成実験の手順もプロトコル化し、ビデオ化を終了した(2010年夏公開予定)。

2) 分化誘導した神経細胞の品質の管理標準化に向けたモニター細胞の作成のため、これまで効率が低かったヒト ES 細胞での相同組み換え技術の高効率化(>20%)に成功し、各種マーカ遺伝子に GFP 等をノックインする技術のパイプライン化を行なった。また、イメージング技術開発を行い、誘導した大脳皮質組織内の神経ネットワークの自発活動をモニターし、創薬応用につなげる方法論を確立した。

3) 臨床応用に向けたヒト化細胞外マトリクスを用いた hiPS 細胞の Xeno-free 樹立法の確立に成功。

⑤ 技術講習会・培養トレーニングプログラム

理研 CDB では、BRC や京大拠点とも連携し、ヒト iPS/ES 細胞の培養トレーニング講習会の実施し、100 名を越える受講者へ導入実習という目標に到達した (2010 年 7 月時点)。③の技術普及のための教材の開発や配布とリンクさせることで、受講者がそれぞれの部署 (各地の大学等) で講習会を後日開くことを簡便にすることができ、好評を得た。

さらに、理研 BRC では指針に基づくヒト ES 細胞分配機関としてヒト ES 細胞技術研修事業を実施した。「ヒト ES 細胞指針」を遵守した研修体制を整備し、2008 年度から開始。年 3 回 (4 ヶ月に 1 回) の定期開催を計画し、実施。これまでの累積受講者総数は 4 人である。また、ヒト iPS 細胞凍結保存技術研修事業として、簡易ガラス化法による細胞の凍結及び融解法に係る技術研修の体制を整備し、2009 年 4 月から開始。これまでの累積受講者総数は 75 人であり、分配した細胞の有効利用に貢献した。

⑥ 疾患特異的 iPS 細胞の樹立・提供

疾患特異的 iPS 細胞バンク事業の整備を促進するための二つの委員会 (寄託促進委員会及び生命倫理検討委員会) を通じ、細胞の標準化の基準作りを行い、特に寄託促進委員会に関しては理研 BRC がその任を主体的に担った。

さらに、過去の遺伝子診断によって原因遺伝子の判明している網膜色素変性患者 5 家系 7 例からレトロウイルスを用いて iPS 細胞を作成した。200 以上の株の中から選択した各患者 3 株 (合計 21 株) において、すべての株で網膜色素上皮細胞や視細胞の分化が確認された。視細胞への分化の効率は患者によって異なった。これらの細胞株を細胞バンクに寄託できる状態にストックを作成した。

3. 課題全体の論文発表件数	34 件
4. 課題全体の特許出願件数	3 件 (うち国外 3 件)

5. 当初目標に対する達成度

上記のように、6 項目のすべてについて、順調に事業は展開しており、高い達成度を得ている。特に①の細胞調整法については、当初の達成目標を越す早い展開を見せており、また論文発表にも高いレベルでつながっている。さらに②の網膜移植についても、網膜色素上皮移植は、サル移植法を含めたほぼすべての要素技術が完成し、臨床応用に向けた SOP 化の段階に入っており、前臨床研究を 2-3 年以内にすべてクリアして、幹細胞指針に基づくヒト多能性幹細胞 (特に iPS 細胞) 由来の臨床試験の実施申請を行なう予定であり、当初の予定を先倒しする勢いである。③の技術支援/移転も順調に進んでおり、予定通りあるいはそれ以上の効果を生んでいる。④-⑥の技術プラットフォームは、2 年次からのものであるが、予定通り進んでおり、特に⑤ (③とも関係) のヒト iPS 細胞培養の導入講習は、予定を先倒しして、本年 7 月には通算 100 名を越える新規受講者に技術移転できたことは、本プラットフォームの趣旨である「ユーザーの裾野を広げる」観点から、重要な達成であると言える。

6. 拠点内の情報共有・連携体制

本拠点では、実施場所が神戸 (CDB) と筑波 (BRC) と離れているものの、緊密な連絡と情報の共有をリアルタイムで行なっており、既に多くの技術の統一化や技術講習の共催を行なってきた。笹井、中村、高橋は年間 10 回以上の会合を通して、ヒト ES/iPS 細胞の培養・分化技術、ヒト iPS 細胞の樹立技術、臨床応用に向けた GMP 化技術、技術移転のための標準化、疾患特異的 iPS 細胞のバンキングなどについて、議論し、次の計画に活かしてきたことが、5 に記載した高い達成度を拠点として持ってきた重要な

<p>原動力となっている。</p>
<p>7. 拠点外の課題との情報共有・連携</p>
<p>理研拠点以外の研究者とも積極的な情報交換や共同研究を行なっている。例えば、慶応拠点の金村博士とは、ヒト iPS 細胞の樹立および ES/iPS 細胞の維持培養のためのヒト型マトリクス（脱落膜由来）の開発を共同して行ない、GMP 管理のための情報交換を行なっている。さらに、こうした GMP 管理については、個別課題の阿久津博士とも密接に情報交換を行い、共同して公開テクニカルセミナーも開催した。また、ヒト iPS 細胞の樹立技術についても特に高橋、中村らを中心に、京大拠点、東大拠点との情報交換を行なっている。また、血液細胞分化についても東大拠点との頻繁な情報交換を行なっている。また、神経細胞の移植についても京大拠点と協力し、中動物への移植法の開発を行なっている。技術講習会や導入実習についても、京大拠点と協力、共催を進めている。</p> <p>さらに、早期の臨床応用を目指す網膜色素上皮の移植に関しては、非常にプラクティカルな技術の多様な集約が必要であるため、本プロジェクトの枠を超えて、多くの基礎／臨床研究者、企業（ニデック、J-TEC、DS ファーマ、住友化学、日本 BD、Invitrogen その他）の協力を得て、開発を進めている。</p> <p>また、ヒト ES/iPS 細胞の本邦における臨床応用例の第一号になる可能性が高いため、臨床試験を所轄する厚労省とも高橋、笹井を中心に議論を重ね、リギュラトリーサイエンスの観点からの安全性検証のためのシステム化に努力をしている。こうしたプロセスは、後続の国内研究のためにでもできるだけオープンな形で情報公開、ノウハウ移転を行なう予定である。</p>
<p>8. 人材育成</p>
<p>本拠点では、上記のように講習会、導入実習、コンサルテーションなどを通して、外部機関や企業でのヒト ES/iPS 細胞の利用促進と数多くの研究者のトレーニングを行なってきた。さらに、外部機関（海外を含む）や企業の研究者や院生を受け入れて、1月から1年間程度の技術移転プログラム（研修生）を実施してきた。その中からは、帰社後にヒト ES 細胞使用を自ら申請して、使用する中心になったケースもある。さらに、国内の技術支援のベースとなる拠点内での人材育成も行なっており、数多くの院生、テクニカルスタッフ、研究員が、ヒト ES あるいは iPS 細胞の培養技術に習熟したほか、核型解析などの標準化技術の共有を行なっている。</p>
<p>9. 生命倫理に係る対応</p>
<p>ヒト ES 細胞の使用については、理研神戸研究所および筑波研究所の倫理委員会(IRB)の審議を経て、文部科学大臣により確認された計画に基づいて行なっている。さらに、BRC では、ヒト ES 細胞の分配についても同様に文部科学大臣により確認された計画に基づいて実施している。今後の疾患特異的 iPS 細胞については、バンキングや配布の際における患者の疾患情報や個人情報とのリンク（連結性）について、その取扱いをプロジェクト全体で議論しており、本拠点の中村および京大拠点の中畑博士らにより、現在詳細な詰めを行なっている。高橋らによる臨床試験については、理研 CDB と隣接する先端医療センターで行なう計画であるが、そのための倫理委員会などの準備について、十分な調整を理研と同センターの間で調整を行なっている。</p>
<p>10. 今後の展望</p>
<p>① 分化・培養技術開発</p> <p>順調に展開しており、H22-24でさらに加速し、ヒト多能性幹細胞由来の脳、小脳、視床下部組織の高度な医学利用の技術基盤を確立したい。特に小脳、視床下部はマウス ES 細胞での分化技術はほぼ完成したので、ヒト ES/iPS 細胞からの分化技術の確立し、臨床／応用研究者へ技術移転を行う。大脳皮</p>

質の立体組織培養の技術開発では、現在達成した4層形成から成体型の6層化を可能とし、高度な再構築技術として発展させる。大脳皮質産生技術は、再生医学のみならず、創薬でも有用なため、積極的に企業に技術移転を順次行なう。

幹細胞からの「輸血可能な赤血球の産生」は、稀少血液型への応用の点で、iPS細胞の利用が多いに期待される技術である。また、脱核細胞であるため、外因性遺伝子の悪影響や腫瘍化のリスクが少なく、またガンマー線処理のものを使う事で臨床利用へのハードルを下げることも可能である。一方で、大量な産生が必要であり、iPS細胞からの直接分化では効率は悪く、様々なiPS細胞から一旦脱核赤血球を産生する不死化細胞株を樹立し、それを大量培養することが現実的である。新規の血液系不死化細胞株の樹立をさらに協力を推進し、産生能の高い不死化細胞株を確立したい（特にRh-null, 0型）。

② 網膜移植

網膜色素上皮細胞移植： これまでに準備したサル iPS 細胞と網膜障害モデルを用いて、H22 は他家移植による拒絶解析を中心に、H23 は自家移植の検討を行い安全性確認のためにサルを長期に観察する。ヒト iPS 細胞由来の網膜色素上皮細胞移植の効果も検証し、本プロジェクト終了時までに臨床試験申請に必要なデータを完成させる。（安全性検証については、主に別予算で企業等との連携で実施）。

視細胞移植： ヒト ES あるいは iPS 細胞から分化誘導した視細胞を移植実験に使用するため十分な細胞数と純度を担保する細胞調整法を確立する。常時移植細胞を用意できる大量の培養体制、移植実験体制を作る。H22 は移植用細胞調整体制を整え、まずは網膜変性マウスへの移植を行う。H23-24 で、視細胞の純化法も完成させ、ウサギあるいはサルモデルへの移植で効果判定を行う。

③ 幹細胞技術支援

理研CDBとBRCが協力し、ヒト多能性幹細胞の基本技術の普及のため、さらに充実したコンテンツのHPやプロトコールのDVD化などを通して加速する。間もなく発行されるプロトコール2010（第2版）には、こうした動画情報も添付され、利便性を高め、また各地での自主的な講習会への利用も促進する。

また、理研BRCの細胞バンクとして、ヒトES細胞バンク事業では、KhES-4, -5の整備をH22年度に実施し、海外株への対応も整備。ヒトiPS細胞バンク事業では、京大拠点と連携し、比較対象群となる細胞の充実とメタデータの拡充を図る。臍帯血バンク事業では、寄託組織からの新鮮臍帯血提供に対応した整備を行なう。

④ 細胞の標準化

大脳等の神経組織の医学利用を広く促進するため、ES/iPS細胞由来の大脳等の前駆細胞の分離精製のための表面マーカーを同定し、簡易な精製法を普及させる。また、幹細胞由来の脳組織の創薬応用のための標準化基盤技術、特に神経活動モニター法のハイスループット化を企業と協力して行なう。すでに臨床応用に対応したヒト化細胞外マトリクスを用いたヒト iPS 細胞の樹立や維持法を開発したが、これを幅広く使ってもらうために、大阪医療センター、理研セルバンクとも協力して、材料の流通を促進する。

⑤ 技術講習会・培養トレーニングプログラム

理研 CDB（神戸）では、リクエストの多い従来の導入講習（基礎培養実習）を継続するとともに、H22-24の実習では、遺伝子導入、微小操作、イメージング、細胞分離などの高度技術について、上級者向けの企画により理研のノウハウの二次利用を促進する。また、企業とも連携して、国内の技術力アップのためのプラットフォームとして、専門ワークショップを継続して行なう。

理研BRCでは、ヒトES細胞に特化した技術研修を年3回程度、定期開催する（6月、10月、2月の第1金曜日に開催）。また、配布した細胞の有効活用のため、ヒトiPS細胞凍結保存技術の研修も当面

は2ヶ月に1回の開催は必要であると思われ、継続して定期開催する（奇数月の第1金曜日に開催）。

⑥ 疾患特異的 iPS 細胞

理研 BRC では、疾患特異的 iPS 細胞バンク事業のため、全参画機関と連携し、寄託促進のための活動を継続し、充実化のための主体的な活動を継続する。特に H22 年度は寄託条件の整備とそれにリンクした個人情報の取扱いについて、細胞バンクとしての経験を生かして提案し、国内のコンセンサスを得たい。

また、疾患特異的 iPS 細胞のバンキングの実例として、理研 CDB と協力して、樹立した網膜変性症の疾患特異的 iPS 細胞の寄託と分配を実現する。H22 年度内に、倫理委員会に承認された後、提供くださった患者の中で細胞バンクへの寄託の同意を得られた方の iPS 細胞を順に寄託を開始する。

1.1. 特記事項

各領域で順調に進んでおり、この展開を次の2年間でさらに強化し、1) 実際の臨床応用への先鞭をつけること、2) 新規の疾患治療法の基盤を確立すること、3) 日本の本領域における競争力の底上げに貢献すること、の3点について是非とも大きな貢献をしたいと願っている。

1.2. 委託研究費一覧

	20年度	21年度	22年度	計
設備備品費（千円）	31,424	85,781	15,466	132,671
（補正予算）	(398,484)	(1,436,108)	(0)	(1,834,592)
人件費（千円）	39,888	92,870	78,086	210,844
業務実施費（千円）	147,719	189,713	248,272	585,704
（補正予算）	(247)	(0)	(0)	(247)
間接経費・一般管理費（千円）	60,969	103,452	96,183	260,604
（補正予算）	(119,618)	430,833	(0)	(550,451)
合計（千円）	280,000	471,816	438,007	1,189,823
（補正予算）	(518,349)	(1,866,941)	(0)	(2,385,290)

(別紙1) 各分担研究者の進捗状況

分 担 研 究 者 名	高橋 政代
業 務 項 目 名	移植治療技術の開発、疾患特異的 iPS 細胞の樹立・提供
機 関 名	独立行政法人理化学研究所（発生・再生科学総合研究センター）

1. 課題開始時における達成目標

ヒト ES/iPS 細胞から分化誘導した網膜色素上皮細胞および視細胞を中型動物に移植し、条件検討を行い、臨床研究につなげる科学的妥当性を得る。視細胞においては移植条件検討と効果判定、純化を含めた細胞調整法の確立。網膜色素上皮細胞においては、拒絶反応の検討とサルでの機能確認を行う。また、網膜変性疾患の患者 iPS 細胞を作成し、細胞バンクに寄託する。

2. 平成22年4月末時点における課題全体の事業計画に対する研究成果

(1) 成果概要

視細胞移植についてマウス幼弱視細胞を用いた移植の条件検討がほぼ終了した。また、移植の効果を従来の間接的検討ではなく、電気生理学的に直接判定できる体制を整えた。これをヒト ES/iPS 細胞由来視細胞移植に適応する。網膜色素上皮細胞移植については、拒絶反応や移植細胞の機能を検討するためのサル iPS 細胞や網膜色素上皮細胞障害モデル作成に成功した。網膜色素変性患者 iPS 細胞については倫理面の承認を待って寄託する準備が整った。

(2) 研究の進捗及び成果

移植治療技術の開発

<視細胞>

マウス幼弱網膜視細胞を用いて移植条件の検討を変性モデルマウスで行った。視細胞変性 rd マウスにおいて、移植はマイクログリアの集積がなくなる期間（視細胞の変性の終息と双極細胞の変性開始の間の期間、マウスでは生後8週から12週）が最適であり、コンドロイチナーゼや抗炎症剤とともに移植することが重要と考えられた。ヒトの網膜色素変性ではマウスのように視細胞の変性は網膜全体で同時に進行するのではなく網膜周辺部から中心に向かって進行するので、視細胞の変性消失部位と残存している境界部が最も適していると考えられる。これらの結果をもとに中型動物モデルウサギモデルへの移植に着手した。また、視細胞移植後の機能効果判定は世界でもまだ信頼に足る結果が報告されていないので、電気生理学的に効果判定ができる体制を整えた。

<網膜色素上皮細胞>

この2年間で、網膜色素上皮細胞のヒト ES/iPS 細胞からの試験管内調製技術を開発し、ヒト iPS 細胞の樹立、分化誘導、細胞選別、拡大培養などを一貫したシステムとして機能させるための各要素技術をほぼ完成することができた。さらに、網膜下移植のための手術技術、検証技術およびデバイス開発もサル移植のレベルでの効果判定に十分対応できるシステムを確立した。別途予算（厚労省や戦略イノベーション）などで病院、企業との連携で進める安全性検証のシステム化とセットとして、臨床試験への要素技術の個別開発が目標より早く達成できたので、今後それらをつなげてプロトコル化(SOP)を行なう段階に至った。

疾患特異的 iPS 細胞の樹立・提供

過去の遺伝子診断によって原因遺伝子の判明している網膜色素変性患者5家系7例からレトロウイルスを用いて iPS 細胞を作成した。200 以上の株の中から選択した各患者3株（合計21株）において、すべての株で網膜色素上皮細胞や視細胞の分化が確認された。視細胞への分化の効率は患者によって（変異遺伝子によって）異なった。これらの細胞株を細胞バンクに寄託できる状態にストックを作成した。

3. 課題全体の論文発表件数	8 件
----------------	-----

4. 課題全体の特許出願件数	0 件
----------------	-----

5. 当初目標に対する達成度

おおむね予定通りの達成である。

6. 今後の展望

<視細胞移植>

ヒト ES あるいは iPS 細胞から分化誘導した視細胞について移植実験に使える量を確保するための条件を検討し、常時移植細胞を用意できる大量の培養体制、移植実験体制を作る。22年度は移植用細胞調整体制を整え、まずは網膜変性マウスへの移植を行う。23,24年度で、ヒト ES/iPS 細胞由来視細胞の純化方法も含めて移植細胞調整手順を完成させ、ウサギあるいはサルモデルへの移植で効果判定を行う。

<網膜色素上皮細胞移植>

いままでに準備したサルの iPS 細胞と障害モデルを用いて、in vivo での拒絶反応と移植細胞の機能確認を行う。22年度は他家移植による拒絶反応の解析を中心に、23年度は22年度から引き続き自家移植の検討を行い安全性確認のためにサルを長期に観察する。

<患者 iPS 細胞>

現在は細胞バンクへの寄託を想定していないインフォームドコンセントになっているので、同意書などを変更し倫理委員会に諮る。承認された後、iPS 細胞を作成した患者の中で細胞バンクへの細胞寄託の同意を得られた患者の iPS 細胞のみを実際に寄託する。23年度以降は他の研究費による研究も含めて寄託できる患者 iPS 細胞が出来次第順次寄託していく。

7. 特記事項

サルの網膜色素上皮障害モデルは過去に検討されていない。臨床研究に移る前に必須である。

8. 委託研究費一覧 (補正：補正予算による細胞移植のための別途の施設整備)

	20年度	21年度	22年度	計
設備備品費 (千円)	4,160	8,969	3,895	17,024
(補正予算)	(24,990)	(126,697)	(0)	(151,687)
人件費 (千円)	5,041	16,565	11,879	33,485
業務実施費 (千円)	35,799	55,297	69,226	160,322
間接経費 (千円)	13,500	24,249	25,500	63,249
(補正予算)	(7,497)	(38,009)	(0)	(45,506)
合計 (千円)	58,500	105,080	110,500	274,080
(補正予算)	(32,487)	(164,706)	(0)	(197,193)

(別紙1) 各分担研究者の進捗状況

分 担 研 究 者 名	中村 幸夫
業 務 項 目 名	「ヒト多能性幹細胞の分化誘導・移植の技術開発と技術支援のための総合拠点」の分担
機 関 名	独立行政法人理化学研究所 (バイオリソースセンター)

1. 課題開始時における達成目標

幹細胞技術支援サブプロジェクト

iPS細胞等の幹細胞のバンク事業 (収集・培養・検査・保存・品質管理・提供) を実施することにより、幹細胞を円滑かつ迅速に使用できる体制を構築し、幹細胞を用いた基礎研究及び応用研究の発展に寄与することが目的である。研修事業を通して幹細胞培養技術の国内普及に努めることも目的とする。

分化・培養技術開発サブプロジェクト

ヒト多能性幹細胞 (ES 細胞及び iPS 細胞) から血液系細胞を効率良く分化誘導する技術の開発及び基礎研究・応用研究に有用な血液系細胞株を開発することを目的とする。

2. 平成22年4月末時点における課題全体の事業計画に対する研究成果

(1) 成果概要

幹細胞技術支援サブプロジェクト

- ・幹細胞バンク事業の基盤を整備し、多種類の細胞寄託を受け、品質管理をしっかりと実施した細胞を、国内外の多数の研究者に提供することができ、幹細胞研究分野に大きな貢献を果たすことができた。
- ・疾患特異的iPS細胞バンク事業の整備を促進するための二つの委員会 (寄託促進委員会及び生命倫理検討委員会) の委員として活動を実施し、当該事業整備に向けて進展を得ることができた。
- ・幹細胞に係る技術研修事業の体制を整備し、これを定期的に開催し、幹細胞培養関連技術の普及に大きな貢献を果たすことができた。

分化・培養技術開発サブプロジェクト

- ・ヒト多能性幹細胞 (ES 細胞及び iPS 細胞) から血液系細胞を効率良く分化誘導し、そこから血液系細胞株 (不死化細胞株) を、再現性をもって樹立できる系を確立できた。

(2) 研究の進捗及び成果

幹細胞技術支援サブプロジェクト

- ・ヒトES細胞バンク事業：第一期プロジェクトからの長年の準備を経て、2008年4月、国内初のヒトES細胞分配専門機関として、文部科学大臣の確認を得た。京大樹立株 (中辻株) の寄託を受け、提供用細胞を整備した。現時点で3株 (KhES-1, KhES-2, KhES-3) が即時提供可能な提供ラインに乗っている。
- ・マウスiPS細胞バンク事業：京大樹立株 (山中株) の寄託を順次受け、4株 (レトロウイルスベクター使用4因子導入細胞1株、レトロウイルスベクター使用3因子導入細胞1株、プラスミドベクター使用2株) につき提供を実施した。第二期プロジェクト内での累積提供総数は483件であった。
- ・ヒトiPS細胞バンク事業：京大樹立株 (山中株) の寄託を順次受け、2株 (レトロウイルスベクター使用4因子導入細胞1株、レトロウイルスベクター使用3因子導入細胞1株) につき提供を実施した。第二期プロジェクト内での累積提供総数は255件であった。
- ・疾患特異的iPS細胞バンク事業：当該細胞の整備を促進するための二つの委員会の双方の委員として、

全ての会合に出席した。また、寄託促進委員会に関しては、世話人として意見調整の役割を遂行した。

- ・臍帯血バンク事業：運営委員会の委員となり、全ての会合に出席した。また、寄託組織（5機関）から試料を受け入れる細胞バンク機関として、課題解決のために全面的な協力を図った。
- ・ヒトES細胞技術研修事業：「ヒトES細胞指針」を遵守した研修体制を整備し、2008年度から開始。年3回（4ヶ月に1回）の定期開催を計画し、実施。これまでの累積受講者総数は4人。
- ・ヒトiPS細胞凍結保存技術研修事業：簡易ガラス化法による細胞の凍結及び融解法に係る技術研修の体制を整備し、2009年4月から開始。当初は毎週開催。その後、隔週、一ヶ月に1回とし、現在は二ヶ月に1回の頻度で継続実施中。これまでの累積受講者総数は75人。

分化・培養技術開発サブプロジェクト

- ・最終目的は、ヒトES又はiPS細胞から、赤血球産生能を有する不死化細胞株を樹立することである。株間の特性の差が目標達成の鍵を握ると考え、独自にヒトiPS細胞株の樹立を実施した(3人由来、合計24株を樹立)。当該ヒトiPS細胞はすべて細胞バンク事業に寄託をした（現在提供準備中）。
- ・ヒトES及びiPS細胞から、効率よく血液系細胞を誘導できる系を確立し、当該実験系を用いて、再現性をもって血液系不死化細胞株を樹立できる系を確立できた。
- ・上記血液系不死化細胞株（複数）を解析した結果、赤血球系細胞株であることを確認し、また、遺伝子操作等によりヘモグロビン産生を伴う分化段階まで分化誘導できることも確認できた。

3. 課題全体の論文発表件数	17件
4. 課題全体の特許出願件数	0件

5. 当初目標に対する達成度

幹細胞技術支援サブプロジェクト

- ・ヒトES細胞バンク事業：京大株3株をすべて即時提供可能な状態にまで整備でき、当初目標を達成。
- ・マウス及びヒトiPS細胞バンク事業：山中研から寄託を受けた全細胞を即時提供可能な状態にまで整備し、各々約500件及び約250件の提供実績を残したことから、当初目標を十分に達成できたと言える。
- ・疾患特異的iPS細胞バンク事業：疾患特異的iPS細胞は、樹立された後に、樹立した研究者による研究を経た後に寄託されることを考えると、現時点でまだ寄託がないことは致し方ないことかと考える。平成22年度から寄託が始まる予定である。
- ・臍帯血バンク事業：使用目的の拡大（再生医学研究に限定していたものを、医学研究全般に拡大）、及び、機関内倫理審査委員会を保有しない機関のための審査体制を構築したことなどは、ユーザー研究者の利便性を大きく向上させた点であり、特筆に値する。
- ・ヒトES細胞技術研修事業：即時提供可能な細胞を整備できたのと期を同じくして当該研修を開始できたので、目標通りの進捗である。
- ・ヒトiPS細胞凍結保存技術研修事業：ヒトiPS細胞の提供開始に併せて当該研修を開始したものであり、ニーズ（受講希望者数）に合わせた頻度で開催を継続しており、目標どおりの進捗であると言える。

分化・培養技術開発サブプロジェクト

- ・ヘモグロビン産生を伴う分化段階まで分化誘導できる血液系不死化細胞株の樹立に既に成功しており、複数のiPS細胞株から再現性よく成功しており、当初目標の半ば近くまで達したと考える。

6. 今後の展望

幹細胞技術支援サブプロジェクト

- ・ヒトES細胞バンク事業：KhES-4, -5の整備を平成22年度に実施する。今後は海外株も視野に入れる。

- ・ヒトiPS細胞バンク事業：京大拠点と連携し、比較対象群となる細胞の充実化を図る。
- ・疾患特異的iPS細胞バンク事業：全参画機関と連携し、寄託促進のための活動を継続し、充実化を図る。国際連携（疾患のシェア）の動きもあり、そうした動向にも注視しながら、適切な活動を行う。
- ・臍帯血バンク事業：寄託組織では新鮮臍帯血提供等の新しい試みを計画しており、全面的に協力する。
- ・ヒトES細胞技術研修事業：受講希望者数の多寡によらず、年3回程度の開催は必要であると思われ、継続して定期開催に努める（6月、10月、2月の第1金曜日に開催）。
- ・ヒトiPS細胞凍結保存技術研修事業：現状のヒトiPS細胞技術の普及度から判断して、当面は2ヶ月に1回の開催は必要であると思われ、継続して定期開催に努める（奇数月の第1金曜日に開催）。

分化・培養技術開発サブプロジェクト

- ・これまでに樹立した血液系不死化細胞株の特性解析、特に脱核赤血球の産生能につき、精力的に解析を進める。また、もっと多種類のiPS細胞から血液系不死化細胞株の樹立を試みることで、比較的容易に脱核赤血球を産生する不死化細胞株を樹立できる可能性も高いため、新規の血液系不死化細胞株の樹立も継続して実施する。加えて、不死化細胞株から脱核赤血球を効率的に産生する技術を開発することを目的として、赤血球前駆細胞（赤芽球）の脱核の分子機構の制御法も開発する。

7. 特記事項

- ・世界初となるiPS細胞バンク事業を日本で開始できたことには大きな意義がある。世界標準となるiPS細胞株（山中株）を世界で唯一提供している細胞バンク機関であることは大きな意義がある。
- ・ヒトES細胞分配専門機関が日本に整備できたことも、今後の幹細胞研究の発展を支えるうえで、大きな基盤になるものと自負する。今後は、海外で樹立された株も視野に入れて活動を進める。
- ・平成21年度補正予算にて、細胞バンク事業用の新規施設を建設中であり、平成23年3月に竣工の予定である。当該施設が完成後は、十分な細胞培養環境が整備されるため、従事者の増員も十分に可能となる。今後、疾患特異的iPS細胞や比較対象用の正常細胞由来iPS細胞等の寄託が急増し、また、これに対するニーズも急増する可能性が高いため、ヒトiPS細胞バンク事業に従事できる人材の育成を図り、十分な人員を確保できるように努める予定である。
- ・ヒトES及びiPS細胞の標準化に関しては国際的な動きも多く、これまで同様に、International Stem Cell Initiative (ISCI), International Stem Cell Bank Initiative (ISCB), Stem Cell Network of Asia-Pacific (SNAP)等のメンバーとして、会合に参加し、国際連携、国際協調を図っていく。

8. 委託研究費一覧（補正予算：細胞品質管理や疾患特異的iPS細胞バンクのための別途の施設整備）

	20年度	21年度	22年度	計
設備備品費（千円）	20,645	26,191	0	46,836
（補正予算）	(110,802)	(636,785)	(0)	(747,587)
人件費（千円）	14,605	39,109	31,793	85,507
業務実施費（千円）	14,750	31,650	40,130	86,530
間接経費（千円）	15,000	29,085	21,577	65,662
（補正予算）	(33,241)	(191,036)	(0)	(224,277)
合計（千円）	65,000	126,035	93,500	284,535
（補正予算）	(144,043)	(827,821)	(0)	(971,864)

(別紙1) 各分担研究者の進捗状況

分 担 研 究 者 名	川真田 伸
業 務 項 目 名	プロジェクト全体にかかる事業推進
機 関 名	財団法人先端医療振興財団

1. 課題開始時における達成目標

国民の再生医療への理解増進を図るための事業を行うと共に、本プロジェクトにおかれるプログラムディレクター (PD) 及びプログラムオフィサー (PO) と連携し、各領域間における情報を一本化し、領域間の研究交流の窓口等として「再生医療の実現化プロジェクト」の推進に必要な業務を行う。

2. 平成22年4月末時点における課題全体の事業計画に対する研究成果

(1) 成果概要

再生医療の実現化プロジェクト(以下「本プロジェクト」)全体の事務局として、PD 及び PO と連携し、
①本プロジェクトの円滑な運営や事業推進を図るため、PD が主催する拡大運営委員会、ワークショップ、成果報告会の開催・運営等の業務
②国民の再生医療への理解増進を図るための事業や本プロジェクトの情報発信事業として、本プロジェクトについて分かり易く説明した「事業案内」の作成、プロジェクトのホームページの開設・運営、市民を対象とした公開シンポジウムの開催等の業務
③その他、事業推進に資するための業務として、iPS 細胞技術プラットフォームの構築に関する支援・調整業務や文部科学省 iPS 細胞等研究ネットワークの構築・活動支援業務等を行った。

(2) 研究の進捗及び成果

①プロジェクトの円滑な運営や事業推進等に関する業務

1) 拡大運営委員会等の開催

プロジェクト開始時のキックオフ会議や、プロジェクト内の連絡調整及び事業推進・運営に関する検討を行うために設置された拡大運営委員会 (PD、PO、研究代表者らで構成) の会議事務局業務を行った。

平成20年度；キックオフ会議 (H20/6/19)、第1回会議 (H20/8/28)、第2回会議 (H21/1/29)

平成21年度；第3回会議 (H21/7/16)、第4回会議 (H22/1/28)

2) ワークショップの開催

研究者間の情報交換や意見交換、研究交流の推進等を目的としたワークショップの企画、連絡調整、開催・運営業務を行った。なお、平成21年度は、文部科学省 iPS 細胞等研究ネットワークの枠組みを活用し、本プロジェクト以外 (JST の CREST・さきがけ・山中特別PJ) の研究者も参加した。

平成20年度 H20/8/28～8/29 開催 (於：KKR ホテル熱海) 127名参加

平成21年度 H21/7/16～7/17 開催 (於：KKR ホテル熱海) 184名参加

3) 成果報告会の開催

PD 及び PO による研究進捗管理や年度評価に資すること、また研究者の情報共有・意見交換などを目的とした成果報告会の企画、連絡調整、開催・運営業務等を行った。また資料として、「成果報告会報告書」を作成した。なお、平成21年度は文部科学省 iPS 細胞等研究ネットワークの枠組みを

活用し、本プロジェクト以外（JSTのCREST・さきがけ・山中特別PJ）の研究者も参加した。

平成20年度 H21/1/29～30 開催（於：東京国際フォーラム） 138名参加

平成21年度 H22/1/28～29 開催（於：ベルサール九段） 186名参加

②プロジェクトの情報発信等に関する業務

1) 事業案内の作成

プロジェクトに関する国民や関係者の理解を深めることを目的として、平成20年度（初年度）に「事業案内」を作成し、関係機関やシンポジウム等で配付した。

2) ホームページの開設・運営

プロジェクト内外への情報発信等を目的として、平成20年8月に本プロジェクトのホームページ（Webサイト）を開設した。（<http://www.stemcellproject.mext.go.jp/>）

本サイトでは、プロジェクトや各課題の概要についての紹介や、催事に関する情報提供を行うとともに、プロジェクトに関する意見募集をおこなっている。

3) シンポジウムの開催

再生医療への理解や本プロジェクト成果の情報発信等を目的として、市民を対象とした公開シンポジウムを開催した。また、講演内容を取りまとめた「報告書」を作成して希望者や関係機関に配布するとともに、ホームページでの動画配信を行った。なお平成21年度は、文部科学省iPS細胞等研究ネットワークの枠組みを活用し、JSTのCREST・さきがけ・山中特別PJと協力し、ネットワークの「第1回合同シンポジウム」という形で開催した。

平成20年度 H21/1/30開催（於：東京国際フォーラム）

テーマ：「明日の再生医療」 参加者：266名

平成21年度 H22/1/16開催（於：東京国際フォーラム）

テーマ：「再生医学研究の最先端」参加者：518名

4) 学会でのブース出展

プロジェクト外の研究者や企業への情報発信として、第9回再生医療学会総会（H22/3/18-19）においてブース出展し、本プロジェクトやiPS細胞技術プラットフォームの取り組みなどについて紹介した。

③その他事業推進のための業務

1) 文部科学省 iPS 細胞等研究ネットワークの構築、活動に関する支援等業務

文部科学省 iPS 細胞等研究ネットワークに関し、その構築を支援するとともに、本プロジェクト内の連絡・調整などの支援業務を行った。

2) iPS 細胞技術プラットフォームの構築・活動に関する支援等業務

iPS 細胞等研究4拠点が実施する実務者連絡会（H20/11/25 開催）、疾患特異的 iPS 細胞寄託促進委員会及び生命倫理問題検討委員会（H22/3/23, 4/16 開催）の会議事務局業務を行った。

iPS細胞等研究拠点が実施する技術移転等の講習会について、課題内外に開催情報の発信を行った。

iPS 技術プラットフォーム活動支援業務の一環として、iPS 細胞等研究連絡会（H21/7/17, 8/11, 9/24 開催）の会議事務局業務を行った。

3. 課題全体の論文発表件数

0件

4. 課題全体の特許出願件数

0件

5. 当初目標に対する達成度

本課題はプロジェクト全体の事務局業務であり、当初目標に対する達成度という物指しはなじまないと考えているが、当初掲げていた目標（業務内容）全て実施し、さらに、プロジェクトの進捗や拡充に伴い、当初予定していなかった業務にも取組んできている。なお、領域間のネットワークの形成につい

ては、その発展形として、iPS 細胞等研究ネットワークの構築を支援した。

6. 今後の展望

引き続き PD 及び PO と連携し、プロジェクト全体の事務局機能の業務を実施していく。

【平成 22 年度～平成 24 年度の業務計画】

①プロジェクトの円滑な運営や事業推進等に関する業務

拡大運営委員会（年 2 回）、ワークショップ（年 1 回）、成果報告会（年 1 回）を定期的で開催する。
なお、ワークショップ、成果報告会の開催に当っては iPS 細胞等研究ネットワークの枠組みの有効活用を図る。

②プロジェクトの情報発信等に関する業務

引き続きプロジェクトホームページを運営する。また、iPS 細胞等研究ネットワークの枠組みでの市民向け公開シンポジウムを定期的（年 1 回）に開催する。さらに、再生医療関係の学会等への出展、および患者会・企業等を対象とした意見交換会や説明会の実施を検討する。

③その他事業推進のためのに関する業務

引き続き、iPS 細胞技術プラットフォームに関する支援・調整業務、iPS 細胞等研究ネットワークの活動支援業務を行う。

7. 特記事項

プロジェクト事務局として、PD、PO、文部科学省と密接に連携し、業務を行っている。

8. 委託研究費一覧

	20 年度	21 年度	22 年度	計
設備備品費（千円）	0	181	0	181
人件費（千円）	13,736	17,932	15,178	46,846
業務実施費（千円）	9,964	17,174	16,646	43,784
一般管理費（千円）	2,370	3,529	3,183	9,082
合計（千円）	26,070	38,816	35,007	99,893

(別紙 2)

1. 論文リスト

◎◎Ohgushi, M., Matsumura, M., Eiraku, M., Murakami, K., Aramaki, T., Nishiyama, A., Muguruma, K., Nakano, T., Suga, H., Ueno, M., Ishizaki, T., Suemori, H., Narumiya, S., Niwa, H. and Sasai, Y. Molecular Pathway and Cell State Responsible for Dissociation-Induced Apoptosis in Human Embryonic Stem Cells. *Cell Stem Cell* (in press) (2010)

◎◎Nagase T, Ueno M, Matsumura M, Muguruma K, Ohgushi M, Kondo N, Kanematsu D, Kanemura Y, Sasai Y. Pericellular matrix of decidua-derived mesenchymal cells: a potent human-derived substrate for the maintenance culture of human ES cells. *Dev Dyn.* 238, 1118-1130. (2009)

◎◎Eiraku, M, Watanabe, K., Matsuo-Takasaki, M., Kawada, M., Yonemura, S., Matsumura, M., Wataya, T., Nishiyama, A., Muguruma, K. and Sasai, Y. Self-Organized Formation of Polarized Cortical Tissues from ES cells and its Active Manipulation by Extrinsic Signals. *Cell Stem Cell* 3, 519-532 (2008)

◎◎Wataya, T., Ando, S., Muguruma, K., Ikeda, H., Watanabe, K., Eiraku, M., Kawada, M., Takahashi, J., Hashimoto, N. and Sasai, Y. Minimization of Exogenous Signals in ES Cell Culture Induces Rostral Hypothalamic Differentiation. *Proc Natl Acad Sci USA* 105, 11796-11801 (2008)

○Sasai, N., Yakura, R., Kamiya, D., Nakazawa, Y. and Sasai, Y. Ectodermal Factor Restricts Mesoderm Differentiation by Inhibiting p53. *Cell* 133, 878–890 (2008)

◎Osakada F, Jin ZB, Hiram Y, Ikeda H, Danjyo T, Watanabe K, Sasai Y, Takahashi M. In vitro differentiation of retinal cells from human pluripotent stem cells by small-molecule induction. *J Cell Sci.* 122(Pt 17):3169-79 (2009)

◎Hiram Y, Osakada F, Takahashi K, Okita K, Yamanaka S, Ikeda H, Yoshimura N, Takahashi M. Generation of retinal cells from mouse and human induced pluripotent stem cells. *Neurosci Lett.* 458(3):126-31 (2009)

◎Hiroyama, T., Miharada, K., Sudo, K., Danjo, I., Aoki, N., and Nakamura, Y. Establishment of mouse embryonic stem cell-derived erythroid progenitor cell lines able to produce functional red blood cells. *PLoS ONE* 3: e1544 (open access journal) (2008).

◎Hiroyama, T., Sudo, K., Aoki, N., Miharada, K., Danjo, I., Fujioka, T., Nagasawa, T., and Nakamura, Y. Human umbilical cord-derived cells can often serve as feeder cells to maintain primate embryonic stem cells in a state capable of producing hematopoietic cells. *Cell Biol. Int.* 32: 1-7 (2008)

◎◎ Ishigaki, T., Sudo, K., Hiroyama, T., Miharada, K., Ninomiya, H., Chiba, S., Nagasawa, T., and Nakamura, Y. Human hematopoietic stem cells can survive *in vitro* for several months. *Advances in Hematology* **2009**: ID936761 (open access journal) (2009)

2. 特許出願リスト

表題	概要	出願年月日
幹細胞の培養法	多能性幹細胞からの三次元構造をもった部位特異的な大脳組織への分化誘導培養法	平成 20 年 10 月 31 日
ヒト卵膜由来細胞の細胞外マトリクスを用いたヒト多能性幹細胞の培養法	ヒト ES 細胞の xeno-free 培養法	平成 20 年 12 月 24 日
幹細胞の分化誘導方法	網膜の効率の良い分化法と分離法	平成 21 年 11 月 5 日

(別紙3)

他制度等による助成

他制度（公的資金）による助成を受けているものがある場合には、以下に必要事項を記載してください。該当がない場合には、「助成制度」の欄に「なし」と記入してください。

1. 実施中又は平成20年度以降に実施した研究テーマ

1	助成制度	科学研究費補助金 基盤研究 (B)		
	研究者氏名	笹井 芳樹	当該研究者の役割	代表研究者
	研究テーマ	Zn フィンガータンパクによる外胚葉分化決定の分子機序		
	研究期間	平成 21 年 4 月 ~ 平成 23 年 3 月		
	助成金合計 (見込み)	20年度 0 千円 22年度 5,980 千円	21年度 7,020 千円 期間全体 13,000 千円	
	本プロジェクトとの違い	基本的にカエル胚の多能性細胞からの神経分化制御解析が主であり、ほ乳類幹細胞件研究へのヒントは与えてくれるものの、別次元の基礎研究支援である。		
2	助成制度	戦略的イノベーション創成事業		
	研究者氏名	笹井 芳樹	当該研究者の役割	分担研究者
	研究テーマ	遺伝子・細胞操作を駆使したヒト ES/iPS 細胞利用基盤技術の開発		
	研究期間	平成 22 年 1 月 ~ 平成 24 年 3 月		
	助成金合計 (見込み)	20年度 0 千円 22年度 9,100 千円	21年度 6,500 千円 期間全体 24,000 千円	
	本プロジェクトとの違い	このプロジェクトは、ヒト ES 細胞由来の網膜色素上皮の毒性試験利用のために、住友化学 (株) を中心とするグループへの技術移転のためのものであり、技術移転に必要な人件費および消耗品費が産学連携のプロジェクトとして JST から支援されている。		
3	助成制度	知的クラスター創成事業		
	研究者氏名	笹井 芳樹	当該研究者の役割	分担研究者
	研究テーマ	臨床応用可能な安全な培養条件によるヒト ES 細胞由来の神経細胞調製法の開発		
	研究期間	平成 20 年 4 月 ~ 平成 24 年 3 月		
	助成金合計 (見込み)	20年度 15,000 千円 22年度 12,000 千円	21年度 12,000 千円 期間全体 60,000 千円	
	本プロジェクトとの違い	この知的クラスター創成事業は、本プロジェクトでは理研拠点の主な対象疾患としていないパーキンソン病の細胞治療に特化した技術開発で、代表研究者の京大再生研の高橋淳博士からの依頼でヒト ES 細胞からの中脳ドーパミン神経細胞への分化誘導を臨床グレードで行なうための培養条件の最適化を行なっている。		
助成制度	厚生労働省科学研究費補助金 (再生医療実用化研究事業)			
研究者氏名	高橋 政代	当該研究者の役割	研究総括	

4	研究テーマ	ヒト iPS 細胞由来網膜色素上皮細胞移植の実用化研究		
	研究期間	平成 21 年 4 月 ～ 平成 24 年 3 月		
	助成金合計 (見込み)	21 年度 30,000 千円	22 年度 61,490 千円	
		23 年度 61,490 千円	期間全体 152,980 千円	
	本プロジェクトとの違い	ヒト iPS 細胞由来網膜色素上皮細胞を実際に臨床応用する際の GMP 基準細胞プロセッシングセンターの使用手順決定と運営のための研究であり、臨床研究そのものであり、前臨床研究主体の本再生医療実現化プロジェクト研究に含まれない内容である。		
5	助成制度	厚生労働省科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）		
	研究者氏名	高橋 政代	当該研究者の役割	研究総括
	研究テーマ	網膜変性疾患の多施設遺伝子診断システムの構築		
	研究期間	平成 21 年 4 月 ～ 平成 22 年 3 月		
	助成金合計 (見込み)	21 年度 5,000 千円	期間全体 5,000 千円	
		本プロジェクトとの違い	網膜変性疾患の遺伝子診断システムの構築であり、本研究と異なる内容である。	
6	助成制度	厚生労働省科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）		
	研究者氏名	高橋 政代	当該研究者の役割	研究分担者
	研究テーマ	疾患特異的 iPS 細胞を用いた難治性疾患の画期的診断・治療法の開発		
	研究期間	平成 21 年 10 月 ～ 平成 24 年 3 月		
	助成金合計 (見込み)	21 年度 15,000 千円	22 年度 12,000 千円	
		23 年度 12,000 千円	期間全体 39,000 千円	
	本プロジェクトとの違い	網膜変性疾患の患者 iPS 細胞を用いた疾患の病態解析の研究であり、内容が大きく異なる。		
7	助成制度	厚生労働省科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）		
	研究者氏名	高橋 政代	当該研究者の役割	研究分担者
	研究テーマ	網膜脈絡膜・視神経萎縮症に関する研究調査		
	研究期間	平成 20 年 4 月 ～ 平成 23 年 3 月		
	助成金合計 (見込み)	20 年度 3,000 千円	21 年度 3,000 千円	
		22 年度 3,000 千円	期間全体 9,000 千円	
	本プロジェクトとの違い	細胞移植の対象となる網膜色素変性と加齢黄斑変性の臨床的解析であり、本研究とは内容が大きく異なる。		
8	助成制度	戦略的イノベーション創出推進事業		
	研究者氏名	高橋 政代	当該研究者の役割	プロジェクトマネージャー
	研究テーマ	細胞移植による網膜機能再生		
	研究期間	平成 22 年 1 月 ～ 平成 31 年 3 月		
	助成金合計 (見込み)	21 年度 28,495 千円	22 年度 73,948 千円	
	23 年度 52,844 千円	期間全体 623,033 千円		

	本プロジェクトとの違い	本研究の成果である iPS/ES 細胞由来網膜細胞移植を実際の臨床応用するためのプロトコールや手順の決定と企業への技術移転による産業への橋渡し研究であり、再生医療実現化プロジェクトの目指す前臨床研究の完成とは目的・内容が大きく異なる。		
9	助成制度	厚生労働省科学研究費補助金（厚労省科研費）		
	研究者氏名	中村 幸夫	当該研究者の役割	研究代表者
	研究テーマ	生体試料等の効率的提供の方法に関する研究		
	研究期間	平成21年11月 ～ 平成24年3月		
	助成金合計（見込み）	20年度 0千円	21年度 98,800千円	22年度 91,000千円 23年度（見込み）91,000千円 期間全体（見込み）280,800千円
	本プロジェクトとの違い	厚労省科研費「難治性疾患克服研究事業・生体試料等の収集に関する研究」に採択された機関において収集された生体試料（血液、遺伝子、尿、細胞等の生体試料すべてが対象）に係るリソース事業を、医薬基盤研究所及び熊本大学と連携して実施するものである。		