

平成 28 年度 委託研究開発成果報告書

I. 基本情報

事業名： (日本語) 再生医療等の産業化に向けた評価基盤技術開発事業
(英語) Project Focused on Developing Key Evaluation Technology.

研究開発課題名： (日本語) 再生医療等の産業化に向けた評価手法等の開発
(英語) Evaluation for Industrialization in the Field of Regenerative
Medicine

研究開発担当者 (日本語) 創薬資源部 部長 松山 晃文
所属 役職 氏名： (英語) Akifumi Matsuyama , Director , Department of Bioresources for Drug
Discovery.

実施期間： 平成 28 年 5 月 24 日 ～ 平成 29 年 3 月 31 日

分担研究 (日本語) cell-based bio-actives delivery を作用機序とする脂肪組織由来多系統
前駆細胞製剤の生物学的同等性評価手法の開発

開発課題名： (英語) Development of evaluation method for bioequivalence of adipose
tissue-derived multilineage progenitor cell dose whose mode of
action should be cell-based bio-actives delivery.

研究開発分担者 (日本語) 創薬資源部 部長 松山 晃文
所属 役職 氏名： (英語) Akifumi Matsuyama , Director , Department of Bioresources for Drug
Discovery.

分担研究 (日本語) 安全性の観点からみた生物学的同等性評価手法の提案と検証
開発課題名： (英語) Proposal and verification of evaluation method for bioequivalence in

研究開発分担者 (日本語) 難治性疾患治療開発・支援室 研究サブリーダー 大倉 華雪
所属 役職 氏名： (英語) Hanayuki Okura, Deputy Director, Platform of Therapeutics for Rare
Disease.

分担研究 (日本語) 体内動態パターンによる生物学的同等性評価手法の提案と検証
開発課題名: (英語) Proposal and verification of evaluation methods for biological
equivalency of cell preparation for cell therapy by *in vivo* kinetics.
研究開発分担者 (日本語) 疾患モデル小動物研究室 研究リーダー 鈴木 治
所属 役職 氏名: (英語) Osamu Suzuki, Research leader, Laboratory of Animal Models for Human
Diseases.

II. 成果の概要 (総括研究報告)

・ 研究開発代表者による報告の場合

有効性からみた IVIVC の検証可能性とその同等性評価への適用可能性の検証、その提示を行った。具体的には、モデル動物への細胞製剤の投与の成績から、有効性にかかる IVIVC を反映する評価項目が、当初想定していた MMP-9、HGF、Cox-2 ではないことを見出し、その基準値については下限閾値をもって同等性/同質性を評価しようとの成果を得た。

安全性からみた同等性評価手法策定のため、細胞の体内動態を検証した。本研究開発細胞製剤はウイルス導入が困難であり、また PHK 標識にても追跡できなかった。そこで、遠赤外線長波長蛍光色素である DiR を選択、定性的な体内動態の評価に成功した。DiR 標識細胞製剤は、経静脈的投与後に肺に集積し、ほとんどの細胞が肝に移行することが明らかとなった。肝臓以外の臓器に関しては、細胞凝集を認める細胞製剤に関しては、肺、肝に加え、腎臓にも分布するパターンを示すことが明らかとなった。また、細胞凝集 (*in vitro* 評価) を認める細胞製剤にあっては肺塞栓像を示すことから、安全性の観点から体内動態試験 (*in vivo* 評価) は同等性/同質性評価 (IVIVC; *in vitro* - *in vivo* correlation) へ適用が可能であることが示し得た。

We have showed the possibility of verification of *in vitro* – *in vivo* correlation (IVIVC) from the viewpoint of effectiveness and its applicability to equivalence evaluation. Briefly, from the result of administration of the cell dose to the model animals of liver diseases, we have found that the evaluation item reflecting the IVIVC related to the effectiveness is not the originally assumed MMP-9, HGF, Cox-2.

In order to formulate the equality evaluation method from the viewpoint of safety, we examined the *in vivo* dynamics of the cell after transplantation. It was difficult to introduce virus into the cells, and PHK labeling could not follow it. Then, we have selected DiR which is a long-wavelength far-infrared fluorescent pigment and successfully evaluated qualitatively the *in vivo* dynamics. The DiR labeled cells accumulated in the lungs just after intravenous administration, and then most of the cells migrate from the lungs into the liver. The aggregated cells show patterns that are distributed not only to the lungs, liver but also to the kidneys. In addition, the aggregated cells in their *in vitro* evaluation show the massive pulmonary embolisms. Therefore, we have concluded that the pharmacokinetics test (*in vivo* evaluation) can be applied to the equality evaluation I could show.

- ・ 研究開発分担者による報告の場合

III. 成果の外部への発表

- (1) 学会誌・雑誌等における論文一覧 (国内誌 6 件、国際誌 6 件)

(英文業績)

1. **Okura H** and **Matsuyama A**. History of Development and Regulations for Regenerative Medicines in Japan. *J Stem Cell Res Ther*. 2017. 7:1.
2. **Okura H** and **Matsuyama A**. Current available rapid microbial tests for translational medicine. *Translational Biomedicine*. 2016. 7:3.
3. **Okura H** and **Matsuyama A**. Regulatory aspect of pre-clinical studies for regenerative medicine. *Translational Medicine*. 2016. 6:4.
4. **Okura H** and **Matsuyama A**. Critical Path Initiative for Regenerative Medicine in Japan. *Gene Therapy and Cell Therapy Through the Liver*. Springer Japan. 2016.139-146.
5. The effect of supplementation of amino acids and taurine to modified KSOM culture medium on rat embryo development. NAKAMURA K, MORIMOTO K, SHIMA K, YOSHIMURA Y, KAZUKI Y, **SUZUKI O**, MATSUDA J, OHBAYASHI T. *Theriogenology*, 2016. 86: p. 2083-2090.
6. Deletion of the transcriptional coactivator PGC1 α in skeletal muscles is associated with reduced expression of genes related to oxidative muscle function. HATAZAWA Y, MINAMI K, YOSHIMURA R, ONISHI T, MANIO MC, INOUE K, SAWADA N, **SUZUKI O**, MIURA S, KAMEI Y. *Biochem Biophys Res Commun*, 2016. 481(3-4): p. 251-258.

(和文業績)

1. **大倉華雪**・**松山晃文** 「新GMP微生物試験法第3版」第22章微生物迅速試験法の実際 P. 555-561
じほう 2016年9月刊行
2. **松山晃文** 「再生医療研究が果たしうる医療・社会変革」再生医療 2016 (15) p5 -OPINION-
3. **松山晃文** 「再生医療実現にむけた課題」 *BioClinica* 31 (3) 2016 (253) PP. 43-46
4. **松山晃文** 「再生医療のこれまでとこれから」年報医事法学 30号 日本評論社
5. **大倉華雪**・**松山晃文** : 「再生医療の開発および規制の歴史」再生医療. 情報機構
6. **大倉華雪**・**松山晃文** : 「再生医療にかかる規制の現状」日本臨床

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

【研究開発代表：松山晃文】

1. 「再生医療の実現化・行程管理への取り組み」, 口頭, 松山晃文, 日本再生医療学会 (仙台国際センター), 2017/3/9, 国内

【研究開発分担者：大倉華雪】

1. 「再生医療実現化にむけて乗り越えるべき課題」～お力をお貸しくださる方はおられませんか?, 口頭, 大倉華雪, エレクトロニクス実装学会(ラフォーレ琵琶湖), 2016/7/14, 国内
2. 「再生医療の向こう側」, 口頭, 大倉華雪, エレクトロニクス実装学会(ラフォーレ琵琶湖), 2016/7/15, 国内

【研究開発分担者：鈴木 治】

1. 多色蛍光標識プライマーを用いた SNP 遺伝子型判定 PCR と LNA の効果, ポスター, 鈴木治, 小浦美奈子, 内尾(山田)こずえ, 佐々木 光穂, 松田 潤一郎, 第 63 回日本実験動物学会総会, 2016/05/18-20, 国内.
2. 医薬基盤・健康・栄養研究所「実験動物研究資源バンク」-創薬支援への貢献-, ポスター, 小浦美奈子, 河相晶子, 田邊瑠里子, 佐々木光穂, 野口洋子, 松田潤一郎, 鈴木治, 第 63 回日本実験動物学会総会, 2016/05/18-20, 国内.
3. Cataract/Nakano マウスの繁殖コロニーの確立について-続報-, ポスター, 鶴見東志子, 河相晶子, 森石永子, 佐々木光穂, 小浦美奈子, 鈴木治, 第 50 回日本実験動物技術者協会総会, 一般演題, 2016/09/29-10/01, 国内.
4. 急速進行性糸球体腎炎モデル SCG/ThpNkc マウスの繁殖成績及び血管炎の発症状態について, ポスター, 河相晶子, 鶴見東志子, 小浦美奈子, 鈴木治, 鈴木和男, 亀岡洋祐, 第 50 回日本実験動物技術者協会総会, 一般演題, 2016/09/29-10/01, 国内.
5. 創薬・疾患研究用生物資源 (厚生労働省):薬用植物, 医学実験用霊長類, 培養細胞, 実験動物, 幹細胞, ヒト組織, 難病資源, ポスター, 川原信夫, 保富康宏, 小原有弘, 鈴木治, 古江-楠田美保, 小坂拓男. 第 39 回分子生物学会年会, 2016/11/30-12/02, 国内.
6. Search of capacitation-related surface proteins in mouse sperm by differential fluorescent two-dimension electrophoresis, ポスター, SUZUKI O, KOURA M, UCHIO-YAMADA K, SASAKI M. American Society for Cell Biology 2016 Annual Meeting, 2016/12/03-07, 国外.

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

1. 「再生医療等の安全性確保のためのリスク評価に係る現状と課題」, 口頭、松山晃文, 再生医療等提供に係る教育・研修会（京都大学）, 2016/7/13、国内
2. 「再生医療等製品における CMC について」, 口頭、松山晃文, （公財）ヒューマンサイエンス振興財団, 2016/8/2, 国内
3. 「イノベーションと再生医療」, 口頭、松山晃文, 旭化成, 2016/9/1, 国内
4. 「イノベーションと再生医療」, 口頭、大倉華雪, 三菱電機, 2016/11/15, 国内
5. 「イノベーションと再生医療」, 口頭、松山晃文, 神戸再生医療勉強会, 2016/11/22, 国内

(4) 特許出願

該当なし