

再生医療研究室

室長 金村米博

【概要】

再生医療研究室では、各種ヒト細胞を応用した「細胞治療」を新しい先進的な医療として確立させることを目標に、治療に使用する各種ヒト細胞の培養・加工プロセスの開発、治療用ヒト細胞の品質管理並びに安全性評価に関する技術開発などの研究を行なっています。また、ヒト幹細胞を応用した薬剤毒性評価系の開発と新規治療薬候補化合物の探索を目指した基礎的研究を実施しています。

【主な研究テーマ】

1. 治療用ヒト細胞培養プロセスの開発

治療に使用する各種ヒト細胞を培養・加工するヒト細胞培養専用施設（セルプロセッシングセンター）の管理・運用を担当し、セルプロセッシングセンター内でのヒト細胞培養プロトコルの開発を行っています。また、細菌・真菌検査や遺伝子検査などを組み込んだ治療用ヒト細胞の品質検査法の開発などを行なっています。

2. 医療用ヒト幹細胞の品質管理技術の開発

再生医療に使用する細胞として、組織幹細胞であるヒト神経幹細胞および間葉系幹細胞さらにヒト iPS 細胞由来神経前駆細胞などを主な研究対象として、細胞増殖能、染色体構造、細胞表面マーカー発現様式、細胞分化能等を詳細に解析してこれら細胞の生物学的特性を明らかにし、医療応用するための細胞の品質管理に必要な項目の策定とその検査方法の開発を行っています。

3. 悪性脳腫瘍に対する細胞免疫療法の開発

脳神経外科との共同事業として、悪性脳腫瘍の症例を対象に、末梢血中のリンパ球を抗 CD3 抗体とインターロイキン 2 を用いて活性化させて後に点滴投与する細胞治療（活性化リンパ球療法）を実施しています。

4. ヒト幹細胞を応用した薬剤毒性評価系の開発と新規治療薬候補化合物の探索

ヒト iPS 細胞由来神経前駆細胞を主に使用して、各種薬剤の毒性評価をハイスループットで評価するシステムの開発を行っています。また、ヒト神経前駆細胞やグリオーマ幹細胞を標的とする新規治療薬候補化合物の探索を実施しています。

【2016年度 研究発表業績】

A-0

Umehara T, Okita Y, Nonaka M, Kanemura Y, Kodama Y, Mano M, Nakajima S, Fujinaka T: A case of pilocytic astrocytoma requiring tumor resection during pregnancy. 「Mol Clin Oncol」4(4): 567-570、2016年4月

Fukusumi H, Shofuda T, Bamba Y, Yamamoto A, Kanematsu D, Handa Y, Okita K, Nakamura M, Yamanaka S, Okano H, Kanemura Y: Establishment of human neural progenitor cells from human induced pluripotent stem cells with diverse tissue origins. 「Stem Cells Int」 2016: 7235757, 10pages、2016年4月

Ichimura K, Fukushima S, Totoki Y, Matsushita Y, Otsuka A, Tomiyama A, Niwa T, Takami H, Nakamura T, Suzuki T, Fukuoka K, Yanagisawa T, Mishima K, Nakazato Y, Hosoda F, Narita Y, Shibui S, Yoshida A, Mukasa A, Saito N, Kumabe T, Kanamori M, Tominaga T, Kobayashi K, Shimizu S, Nagane M, Iuchi T, Mizoguchi M, Yoshimoto K, Tamura K, Maehara T, Sugiyama K, Nakada M, Sakai K, Kanemura Y, Nonaka M, Asai A, Yokogami K, Takeshima H, Kawahara N, Takayama T, Yao M, Kato M, Nakamura H, Hama N, Sakai R, Ushijima T, Matsutani M, Shibata T, Nishikawa R; Intracranial Germ Cell Tumor Genome Analysis Consortium: Recurrent neomorphic mutations of MTOR in central nervous system and testicular germ cell tumors may be targeted for therapy. 「Acta Neuropathol」 131(6): 889-901、2016年6月

Hori I, Miya F, Ohashi K, Negishi Y, Hattori A, Ando N, Okamoto N, Kato M, Tsunoda T, Yamasaki M, Kanemura Y, Kosaki K, Saitoh S: Novel Splicing Mutation in the ASXL3 Gene Causing Bainbridge-Ropers Syndrome. 「Am J Med Genet A」 170(7): 1863-1867、2016年7月

Bamba Y, Shofuda T, Kato M, Pooh RK, Tateishi Y, Takanashi J, Utsunomiya H, Sumida M, Kanematsu D, Suemizu H, Higuchi Y, Akamatsu W, Gallagher D, Miller FD, Yamasaki M, Kanemura Y, Okano H: In vitro characterization of neurite extension using induced pluripotent stem cells derived from lissencephaly patients with TUBA1A missense mutations. 「Molecular Brain」 9(1): 70, 14pages、2016年7月

Fukai J, Nishibayashi H, Uematsu Y, Kanemura Y, Fujita K, Nakao N: Rapid regression of glioblastoma following carmustine wafer implantation: A case report. 「Mol Clin Oncol」 5(1): 153-157、2016年7月

Arita H, Yamasaki K, Matsushita Y, Nakamura T, Shimokawa A, Takami H, Tanaka S, Mukasa A, Shirahata M, Shimizu S, Suzuki K, Saito K, Kobayashi K, Higuchi F, Uzuka T, Otani R, Tamura K, Sumita K, Ohno M, Miyakita Y, Kagawa N, Hashimoto N, Hatae R, Yoshimoto K, Shinojima N, Nakamura H, Kanemura Y, Okita Y, Kinoshita M, Ishibashi K, Shofuda T, Kodama Y, Mori K, Tomogane Y, Fukai J, Fujita K, Terakawa Y, Tsuyuguchi N, Moriuchi S, Nonaka M, Suzuki H, Shibuya M, Maehara T, Saito N, Nagane M, Kawahara N, Ueki K, Yoshimine T, Miyaoka E, Nishikawa R, Komori T, Narita Y, Ichimura K: A combination of TERT promoter mutation and MGMT methylation status predicts clinically relevant subgroups of newly diagnosed glioblastomas. 「Acta Neuropathol Commun」 4(1): 79, 14pages、2016年8月

Okita Y, Narita Y, Miyakita Y, Miyahara R, Ohno M, Takahashi M, Nonaka M, Kanemura Y, Nakajima S, Fujinaka T: Health-related quality of life in outpatients with primary central nervous system lymphoma after radiotherapy and high dose methotrexate chemotherapy. 「Mol Clin Oncol」

5(3): 179-185、2016年9月

Sugai K, Fukuzawa R, Shofuda T, Fukusumi H, Kawabata S, Nishiyama Y, Higuchi Y, Kawai K, Isoda M, Kanematsu D, Hashimoto-Tamaoki T, Kohyama J, Iwanami A, Suemizu H, Ikeda E, Matsumoto M, Kanemura Y, Nakamura M, Okano H: Pathological classification of human iPSC-derived neural stem/progenitor cells towards safety assessment of transplantation therapy for CNS diseases. 「Mol Brain」 9(1): 85, 15pages、2016年9月

Kinoshita M, Sakai M, Arita H, Shofuda T, Chiba Y, Kagawa N, Watanabe Y, Hashimoto N, Fujimoto Y, Yoshimine T, Nakanishi K, Kanemura Y: Introduction of High Throughput Magnetic Resonance T2-Weighted Image Texture Analysis for WHO Grade 2 and 3 Gliomas. 「PLoS One」 11(10): e0164268, 13pages、2016年10月

Kijima N, Kanemura Y: Molecular Classification of Medulloblastoma. 「Neurol Med Chir (Tokyo)」 56: 687-697、2016年11月

Ishibashi K, Inoue T, Fukushima H, Watanabe Y, Iwai Y, Sakamoto H, Yamasaki K, Hara J, Shofuda T, Kanematsu D, Yoshioka E, Kanemura Y: Pediatric thalamic glioma with H3F3A K27M mutation, which was detected before and after malignant transformation: a case report. 「Childs Nerv Syst」 32(12): 2433-2438、2016年12月

Tsutsumi M, Yokoi S, Miya F, Miyata M, Kato M, Okamoto N, Tsunoda T, Yamasaki M, Kanemura Y, Kosaki K, Saitoh S, Kurahashi H: Novel compound heterozygous variants in PLK4 identified in a patient with autosomal recessive microcephaly and chorioretinopathy. 「Eur J Hum Genet」 24(12): 1702-1706、2016年12月

Kijima N, Kanemura Y: Different intellectual outcomes in molecular subgroups of medulloblastoma. 「Transl Cancer Res」 5(7): S1311-S1314、2016年12月

Negishi Y, Miya F, Hattori A, Johmura Y, Nakagawa M, Ando N, Hori I, Togawa T, Aoyama K, Ohashi K, Fukumura S, Mizuno S, Umemura A, Kishimoto Y, Okamoto N, Kato M, Tsunoda T, Yamasaki M, Kanemura Y, Kosaki K, Nakanishi M, Saitoh S: A combination of genetic and biochemical analyses for the diagnosis of PI3K-AKT-mTOR pathway-associated megalencephaly. 「BMC Med Genet」 18(1): 4, 10pages、2017年1月

Pajtler KW, Mack SC, Ramaswamy V, Smith CA, Witt H, Smith A, Hansford JR, von Hoff K, Wright KD, Hwang E, Frappaz D, Kanemura Y, Massimino M, Faure-Contier C, Modena P, Tabori U, Warren KE, Holland EC, Ichimura K, Giangaspero F, Castel D, von Deimling A, Kool M, Dirks PB, Grundy RG, Foreman NK, Gajjar A, Korshunov A, Finlay J, Gilbertson RJ, Ellison DW, Aldape KD, Merchant TE, Bouffet E, Pfister SM, Taylor MD: The current consensus on the clinical management of intracranial ependymoma and its distinct molecular variants. 「Acta Neuropathol」 133(1): 5-12、2017年1月

Hamada N, Negishi Y, Mizuno M, Miya F, Hattori A, Okamoto N, Kato M, Tsunoda T, Yamasaki M, Kanemura Y, Kosaki K, Tabata H, Saitoh S, Nagata KI: Role of a heterotrimeric G-protein, Gi2, in the corticogenesis: Possible involvement in periventricular nodular heterotopia and intellectual disability. 「J Neurochem」 140(1): 82-95、2017年1月

Fukushima S, Yamashita S, Kobayashi H, Takami H, Fukuoka K, Nakamura T, Yamasaki K, Matsushita Y, Nakamura H, Totoki Y, Kato M, Suzuki T, Mishima K, Yanagisawa T, Mukasa A, Saito N, Kanamori M, Kumabe T, Tominaga T, Nagane M, Iuchi T, Yoshimoto K, Mizoguchi M, Tamura K, Sakai K, Sugiyama K, Nakada M, Yokogami K, Takeshima H, Kanemura Y, Matsuda M, Matsumura A, Kurozumi K, Ueki K, Nonaka M, Asai A, Kawahara N, Hirose Y, Takayama T, Nakazato Y, Narita Y, Shibata T, Matsutani M, Ushijima T, Nishikawa R, Ichimura K; Intracranial Germ Cell Tumor Genome Analysis Consortium (The iGCT Consortium): Genome-wide methylation profiles in primary intracranial germ cell tumors indicate a primordial germ cell origin for germinomas. 「Acta Neuropathol」 133(3): 445-462、2017年3月

A-2

金村米博: 家族性腫瘍 (遺伝性腫瘍症候群) 「第4版 EBM に基づく脳神経疾患の基本治療指針」 田村晃、松谷雅生、清水輝夫、辻貞俊、塩川芳昭、成田善孝 編集、P.197-209、メジカルビュー社、東京、2016年4月1日

金村米博: 髄芽腫に対する遺伝子診断 「脳神経外科診療プラクティス7 グリオーマ治療の Decision Making」 橋本信夫 監修、三國信啓 編集、P.268-271、文光堂、東京、2016年5月3日

金村米博: 神経と再生療法 「先進医療 NAVIGATOR 今日の再生医療」 先進医療フォーラム 編集、P.21-28、日本医学出版、東京、2016年6月30日

金村米博: 脳腫瘍の分子生物学: 概論 「脳腫瘍学—基礎研究と臨床研究の進歩—日本臨牀74巻増刊号7」 P.103-111、日本臨牀社、大阪、2016年9月20日

沖田典子、成田善孝、金村米博: 悪性神経膠腫に対するインターフェロンの有用性 「脳腫瘍学—基礎研究と臨床研究の進歩—日本臨牀74巻増刊号7」 P.695-698、日本臨牀社、大阪、2016年9月20日

A-3

原田敦子、西山健一、吉村淳一、金村米博、岡本伸彦、宇都宮英綱、山崎麻美、藤井幸彦: 頭蓋骨膜洞を合併した Saethre-Chotzen syndrome の1例 「小児の脳神経」 40(6): P.460-464、2016年7月31日

A-4

山崎麻美、金村米博: 胎児診断における難治性脳形成障害症の診断基準の作成 「京都府立医科大学雑誌」 125(4): P.223-232、2016年4月25日

金村米博 : 分子遺伝学的診断に基づく髄芽腫の治療法選択「脳神経外科ジャーナル」25(4): P.307-314、2016年4月20日

B-2

Miya F, Kato M, Shiohama T, Okamoto N, Saitoh S, Yamasaki M, Shigemizu D, Abe T, Morizono T, Boroevich KA, Kosaki K, Kanemura Y, Tsunoda T: A combination of targeted enrichment methodologies for whole-exome sequencing reveals novel pathogenic mutations. The 13th International Congress of Human Genetics, Kyoto, Japan, 2016年4月4日

Kanemura Y, Miya F, Shofuda T, Yoshioka E, Kanematsu D, Itoh K, Fushiki S, Okinaga T, Sago H, Kosaki R, Minagawa K, Okamoto N, Tsunoda T, Kato M, Saitoh S, Kosaki K, Yamasaki M: Novel compound heterozygous mutations in ISPD gene from two cases of Japanese Walker-Warburg syndrome identified by whole-exome sequencing. The 13th International Congress of Human Genetics, Kyoto, Japan, 2016年4月5日

Hori I, Miya F, Ohashi K, Negishi Y, Hattori A, Ando N, Okamoto N, Kato M, Tsunoda T, Yamasaki M, Kanemura Y, Kosaki K, Saitoh S: Novel Splicing Mutation in the ASXL3 gene causing Bainbridge-Ropers Syndrome. The 13th International Congress of Human Genetics, Kyoto, Japan, 2016年4月5日

Okamoto N, Miya F, Nishioka K, Soejima H, Tsunoda T, Kato M, Saitoh S, Yamasaki M, Kanemura Y, Kosaki K: Novel MCA/ID syndrome with ASH1L mutation. The 13th International Congress of Human Genetics, Kyoto, Japan, 2016年4月5日

Osuka S, Goto M, Kotani T, Moriyama Y, Ito Y, Utsumi F, Muramatsu Y, Kanemura Y, Kikkawa F: Three cases of fetal cerebral ventriculomegaly suggesting inherited hydrocephalus. The 13th International Congress of Human Genetics, Kyoto, Japan, 2016年4月6日

Negishi Y, Miya F, Hattori A, Ando N, Hori I, Togawa T, Aoyama K, Ohashi K, Fukumura S, Mizuno S, Umemura A, Kishimoto Y, Okamoto N, Kato M, Tsunoda T, Yamasaki M, Kanemura Y, Kosaki K, Saitoh S: Combination of genetic and biochemical analyses for the diagnosis of PI3K-AKT-mTOR pathway associated megalencephaly syndromes. The 13th International Congress of Human Genetics, Kyoto, Japan, 2016年4月6日

Okamoto N, Miya F, Tsunoda T, Kato M, Saitoh S, Yamasaki M, Kanemura Y, Kosaki K: Homozygous ADCY5 mutation causes movement disorder with severe intellectual disability. The 13th International Congress of Human Genetics, Kyoto, Japan, 2016年4月6日

Kanemura Y, Ichimura K, Shofuda T, Yamasaki M, Shibui S, Sakamoto H, Arai H, Nishikawa R: Establishment of a nationwide molecular diagnostic network for pediatric malignant brain tumors in Japan. 21st International Conference on Brain Tumor Research and Therapy, Okinawa, Japan, 2016年4月12日

Tsutsumi M, Yokoi S, Miya F, Miyata M, Kato M, Okamoto N, Tsunoda T, Yamasaki M, Kanemura Y, Kosaki K, Saitoh S, Kurahashi H: Missense mutations in the PLK4 gene identified in a patient with autosomal recessive microcephaly and chorioretinopathy. The 66th Annual Meeting of the American Society of Human Genetics, Vancouver, Canada, 2016年10月19日

Hori I, Miya F, Negishi Y, Hattori A, Okamoto N, Kato M, Tsunoda T, Yamasaki M, Kanemura Y, Kosaki K, Saitoh S: Novel homozygous missense mutation in a SH3 binding motif of the STAMBP gene causing microcephaly-capillary malformation syndrome. The 66th Annual Meeting of the American Society of Human Genetics, Vancouver, Canada, 2016年10月21日

Mori K, Shofuda T, Okita Y, Arita H, Kinoshita M, Terakawa Y, Tsuyuguchi N, Tomogane Y, Fukai J, Ishibashi K, Nishida N, Taki T, Nonaka M, Izumoto S, Moriuchi S, Nakajima Y, Hashimoto N, Kodama Y, Kanemura Y: ACTIVITY REPORT OF A REGIONAL MOLECULAR DIAGNOSTIC NETWORK FOR CENTRAL NERVOUS SYSTEM (CNS) TUMORS IN JAPAN. 21st Annual Scientific Meeting and Education Day of the Society for Neuro-Oncology, Scottsdale, Arizona, USA, 2016年11月18日

Arita H, Yamasaki K, Nakamura T, Shirahata M, Kobayashi K, Tamura K, Fukai J, Terakawa Y, Mori K, Nakamura H, Yoshimoto K, Kanemura Y, Mukasa A, Nagane M, Ueki K, Komori T, Nishikawa R, Narita Y, Ichimura K: TERT PROMOTER MUTATION IS A POOR PROGNOSTIC MARKER FOR GBMS AND INTERACTS WITH MGMT METHYLATION STATUS. 21st Annual Scientific Meeting and Education Day of the Society for Neuro-Oncology, Scottsdale, Arizona, USA, 2016年11月18日

Kanemura Y, Shofuda T, Ichimura K, Yoshioka E, Kanematsu D, Yamasaki M, Shibui S, Arai H, Taylor MD, Sakamoto H, Nishikawa R: MOLECULAR CLASSIFICATION AND CLINICAL CHARACTERISTICS OF MEDULLOBLASTOMAS IN JAPAN. 21st Annual Scientific Meeting and Education Day of the Society for Neuro-Oncology, Scottsdale, Arizona, USA, 2016年11月18日

Kinoshita M, Arita H, Yoshimine T, Takahashi M, Narita Y, Terakawa Y, Tsuyuguchi N, Okita Y, Nonaka M, Moriuchi S, Fukai J, Izumoto S, Ishibashi K, Nakajima Y, Takagaki M, Shofuda T, Kodama Y, Mori K, Ichimura K, Kanemura Y: IMPACT OF GENETIC ALTERATIONS ON TUMOR LOCATIONS AND LESION HETEROGENEITY FOR WHO GRADE 2 AND 3 GLIOMAS: A VOXEL-BASED LESION MAPPING AND IMAGE TEXTURE ANALYSIS OF 201 GLIOMAS. Scottsdale, Arizona, USA, 2016年11月19日

B-3

有田英之、山崎夏維、松下裕子、白畑充章、金村米博、吉本幸司、中村英夫、武笠晃丈、永根基雄、植木敬介、西川 亮、成田善孝、市村幸一、グリオーマ分子診断 共同研究グループ：膠芽腫における分子マーカーの予後因子としての意義～国内多施設大規模コホートの解析からの報告～。一般社団法人日本脳神経外科学会第75回学術総会、福岡、2016年10月1日

金村米博、正札智子、市村幸一、吉岡絵麻、兼松大介、山崎麻美、渋井壮一郎、新井 一、Michael D Taylor、坂本博昭、西川 亮、日本小児分子脳腫瘍グループ：日本小児分子脳腫瘍グループ：国内髄芽腫症例の分子遺伝学的特徴の解析。一般社団法人日本脳神経外科学会第75回学術総

会、福岡、2016年10月1日

金村米博：小児脳神経外科領域疾患の分子診断法。第11回小児神経放射線研究会、高槻、2016年10月29日

B-4

下村英毅、覚道真理子、佐藤智佳、三村博子、金村米博、正札智子、山崎麻美、岡本伸彦、山本悠斗、谷澤隆邦、山西清文、竹島泰弘、玉置（橋本）知子：MECP2重複症候群の2例。第40回日本遺伝カウンセリング学会、京都、2016年4月5日

木下 学、酒井美緒、有田英之、千葉泰良、香川尚己、渡辺嘉之、橋本直哉、藤本康倫、吉峰俊樹、中西克之、金村米博：Radiogenomics解析を目指したWHOグレード2、3神経膠腫のMRIテクスチャ解析。一般社団法人日本脳神経外科学会第75回学術総会、福岡、2016年9月29日

永井靖識、西田南海子、弓場吉哲、金村米博、正札智子、吉岡絵麻、兼松大介、吉本修也、箸方宏州、後藤正憲、三木義仁、多喜純也、岩崎孝一：当院における神経膠腫の遺伝子変異解析結果と今後の展望。一般社団法人日本脳神経外科学会第75回学術総会、福岡、2016年9月29日

三浦慎平、木嶋教行、沖田典子、井上信正、山田修平、中川智義、金村米博、中島 伸、藤中俊之：頭蓋内へ局所再発した乳腺原発悪性リンパ腫の一例。一般社団法人日本脳神経外科学会第75回学術総会、福岡、2016年9月29日

中川智義、沖田典子、笠井大介、小河原光正、児玉良典、眞能正幸、三浦慎平、山田修平、木嶋教行、金村米博、中島 伸、藤中俊之：HIV感染症に合併した肺腺癌からの転移性脳腫瘍に対し摘出術を行った1例。一般社団法人日本脳神経外科学会第75回学術総会、福岡、2016年9月29日

山田修平、藤中俊之、三浦慎平、中川智義、木嶋教行、沖田典子、金村米博、中島 伸：未破裂末梢性前下小脳動脈瘤に対して、ステントアシスト下コイル塞栓術を施行した1例。一般社団法人日本脳神経外科学会第75回学術総会、福岡、2016年9月30日

藤中俊之、中村 元、沖田典子、木嶋教行、山田修平、中川智義、三浦慎平、金村米博、中島 伸、吉峰俊樹：フローダイバーターステンント：Pipeline Flexを用いた大型脳動脈瘤治療の初期成績。一般社団法人日本脳神経外科学会第75回学術総会、福岡、2016年10月1日

西尾晋作、松林景子、村井 望、川端健二、金村米博：組織学的診断に難渋している小児悪性 glioma の1例。第34回日本脳腫瘍学会学術集会、甲府、2016年12月4日

中野嘉子、福岡講平、山崎夏維、正札智子、葛岡 桜、北原麻衣、義岡孝子、中澤温子、信澤純人、平戸純子、金村米博、坂本博昭、西川 亮、原 純一、市村幸一：小児脳腫瘍に対する中央分子診断システムの確立。第34回日本脳腫瘍学会学術集会、甲府、2016年12月4日

日

佐々木貴浩、深井順也、金村米博、森 鑑二、正札智子、沖田典子、友金祐介、木下 学、泉本修一、有田英之、森内秀祐、露口尚弘、寺川雄三、中島義和、西田南海子、埜中正博、石橋謙一、藤田浩二、上松右二、中尾直之：関西中枢神経腫瘍分子診断ネットワークでみる高齢者神経膠腫の臨床・病理像。第34回日本脳腫瘍学会学術集会、甲府、2016年12月5日

露口尚弘、寺川雄三、宇田武弘、正札智子、吉岡絵麻、兼松大介、金村米博：神経膠腫の遺伝子変異とMethionine-PETによるアミノ酸代謝についての検討。第34回日本脳腫瘍学会学術集会、甲府、2016年12月5日

木下 学、有田英之、高橋雅道、寺川雄三、沖田典子、高垣匡寿、深井順也、石橋謙一、児玉良典、埜中正博、露口尚弘、森内秀祐、泉本修一、中島義和、正札智子、成田善孝、市村幸一、森 鑑二、藤本康倫、金村米博：国内大規模コホートをを用いたRadiogenomicsによるGradeII-III神経膠腫の画像分子診断。第34回日本脳腫瘍学会学術集会、甲府、2016年12月6日

有田英之、木下 学、高橋雅道、寺川雄三、沖田典子、高垣匡寿、深井順也、石橋謙一、児玉良典、埜中正博、露口尚弘、森内秀祐、泉本修一、中島義和、正札智子、成田善孝、市村幸一、森 鑑二、藤本康倫、金村米博：Grade II-III 神経膠腫の遺伝子変異と発生部位：国内大規模コホート Radiogenomics 解析。第34回日本脳腫瘍学会学術集会、甲府、2016年12月6日

森 鑑二、正札智子、沖田典子、有田英之、木下 学、寺川雄三、露口尚弘、友金祐介、深井順也、石橋謙一、西田南海子、瀧 琢有、埜中正博、泉本修一、中島義和、児玉良典、兼松大介、森内秀祐、橋本直哉、金村米博：関西中枢神経系腫瘍分子診断ネットワークの腫瘍組織バンク的活動に関する報告。第34回日本脳腫瘍学会学術集会、甲府、2016年12月6日

有田英之、山崎夏維、松下裕子、中村大志、沖田典子、白畑充章、小林啓一、田村 郁、吉本幸司、中村英夫、田中将太、大野 誠、宮北康二、高見浩数、埜中正博、正札智子、武笠晃丈、金村米博、永根基雄、植木敬介、小森隆司、西川 亮、成田善孝、市村幸一、グリオーマ分子診断共同研究グループ：膠芽腫におけるTERTプロモーター変異とMGMTメチル化状態の予後因子としての意義。第34回日本脳腫瘍学会学術集会、甲府、2016年12月6日

沖田典子、正札智子、埜中正博、露口尚弘、寺川雄三、森 鑑二、友金祐介、石橋謙一、中島義和、木下 学、橋本直哉、渡邊 啓、兼松大介、吉岡絵麻、児玉良典、木嶋教行、藤中俊之、金村米博：ヒストン変異症例の臨床的背景について。第34回日本脳腫瘍学会学術集会、甲府、2016年12月6日

金村米博、隅田美穂、吉岡絵麻、山本篤世、兼松大介、半田有佳子、福角勇人、稲澤佑衣、高田 愛、埜中正博、沖田典子、中島 伸、森 鑑二、後藤重則、神垣 隆、正札智子、森内秀祐、山崎麻美：悪性脳腫瘍に対する自家 $\alpha\beta\text{T}$ 細胞療法の有用性の検討。第20回バイオ治療法研究会学術集会、福岡、2016年12月10日

B-5

金村米博：脳腫瘍の分子遺伝学。第76回日本病理学会近畿支部学術集会、高槻、2017年2月4日

B-6

山田修平、藤中俊之、中川智義、木嶋教行、沖田典子、金村米博、中島 伸：未破裂未梢性前下小脳動脈瘤に対し、ステントアシスト下コイル塞栓術を施行した1例。第71回日本脳神経外科学会近畿支部学術集会 第73回近畿脊髄外科研究会 合同開催、豊中、2016年4月2日

中川智義、沖田典子、笠井大介、小笠原光正、児玉良典、眞能正幸、木嶋教行、金村米博、中島 伸、藤中俊之：HIV感染症に合併した肺腺癌からの転移性脳腫瘍に対し摘出術を行った1例。第71回日本脳神経外科学会近畿支部学術集会 第73回近畿脊髄外科研究会 合同開催、豊中、2016年4月2日

B-8

金村米博：ヒトiPS細胞由来神経前駆細胞を用いたin vitro安全性薬理試験法の開発。シンポジウム 培養神経細胞の可能性「医薬品開発への応用を目指したモデル細胞の構築とその応用」、豊中、2016年5月27日

金村米博：悪性脳腫瘍に対する免疫細胞療法の実践。がん免疫細胞療法評価グループ(CITEG)研修会、東京、2016年11月26日

金村米博：悪性脳腫瘍に対する免疫細胞療法の実践。順天堂大学医学部 脳神経外科学講座 医局セミナー、東京、2017年3月16日

事業名	医薬品等規制調和・評価研究事業
研究開発課題名	ヒト iPS 分化細胞技術を活用した医薬品の次世代毒性・安全性評価試験系の開発と国際標準化に関する研究
研究開発担当者 所属 役職 氏名	臨床研究センター 先進医療研究開発部 再生医療研究室 室長 金村 米博

1. 研究開発の実績

(1) 研究開発の実施日程

研究開発項目	実施日程											
	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	1月	2月	3月
1. 次世代評価法開発と多施設間検証 (中枢神経系) ・プロトコルの整備 ・大規模検証試験												
	←											→
2. 評価法用標準細胞の開発 (中枢神経系) ・分化誘導法の最適化 ・成熟化												
	←											→

(2) 研究開発の実績の説明

①研究開発成果の内容

Dual SMAD 法を用いて作製されたヒト iPS 細胞 (201B7 細胞) 由来神経前駆細胞 (iPS-NPC) を研究班内の多施設に提供し、共通培養プロトコルを用いて各施設で凍結細胞を起眠させ、一定数まで増幅培養を実施した後、3 種類の培養基材、3 種類の分化誘導培地の組み合わせから成る合計 9 種類の分化誘導条件で神経分化誘導を実施した。分化誘導 14 日目と 28 日目の遺伝子発現解析を定量的 RT-PCR 法を用いて行い、各分化誘導法の特徴を解析すると同時に、その妥当性を多施設共同で検証した。これら成果の結果、標準的安全性薬理試験法のための試験プロトコル整備のための基礎データが蓄積された。また、分化細胞後の成熟度評価のための品質評価法として、免疫染色法を用いて Drebrin、MAP2、Synaptophysin の発現様式を評価する共通プロトコルを作成し、研究班内の多施設共同でその妥当性を検証した。その結果、共通プロトコルを用いて作製した分化誘導後 28 日目の MAP2 陽性神経細胞は Drebrin と Synaptophysin を発現し、一定の成熟度を有することが確認された。これら成果の結果、評価法用細胞の標準化に必要なデータ蓄積を実施することができた。

②研究開発項目の実施状況及びマイルストーンの達成状況

研究開発項目 4：次世代評価法開発と多施設間検証 (中枢神経系)

マイルストーン 1 (プロトコル整備)：プロトコル整備のための基礎データが蓄積され、マイルストーンは達成された。

マイルストーン 2 (大規模検証実験)：多施設での検証実験を実施でき、マイルストーンは達成された。

研究開発項目 5：評価法用標準細胞の開発 (中枢神経系)

マイルストーン 1 (分化誘導法の最適化)：マイルストーンは達成された。

マイルストーン 2 (成熟化)：細胞の成熟度が確認でき、マイルストーンは達成された。

事業名	再生医療実用化研究事業
研究開発課題名	亜急性期脊髄損傷に対する iPS 細胞由来神経前駆細胞を用いた再生医療
研究開発担当者 所属 役職 氏名	臨床研究センター 先進医療研究開発部 再生医療研究室 室長 金村 米博

1. 研究開発の実績

(1) 研究開発の実施日程

研究開発項目	実施日程												
	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	1月	2月	3月	
再生医療用ヒト iPS-NPC の製造および品質管理と 治験へ向けた細胞の準備													←—————→

(2) 研究開発の実績の説明

iPS 細胞研究中核拠点で作成される臨床グレードの再生医療用 iPS 細胞ストックを原材料とする臨床研究用脊髄損傷治療用ヒト由来神経前駆細胞 (iPS-NPC) ストックの製造・in vitro 品質評価法に関して、リアルタイム定量 PCR 法を用いた品質試験法、フローサイトメーター法による各抗原マーカーを用いた純度試験、ヒト iPS 細胞培養環境下への戻し培養と蛍光細胞免疫染色法を用いたヒト iPS-NPC の未分化ヒト iPS 細胞残留量評価法に関する精度管理試験、および TaqMan を用いたコピー数異常判定法を応用した高感度核型解析法を実施し、細胞品質規格値と品質試験に使用する検体 (細胞) 量を定めた。また、臨床研究用脊髄損傷治療用ヒト iPS-NPC ストックの製造に必要な、iPS 細胞以外の原材料 (培地、分化誘導に使用する各種因子等) の規格、製造工程で使用する容器、器具、培養システム等を最終選定し、臨床研究用脊髄損傷治療用ヒト iPS-NPC ストック本製造で用いる細胞製造手法 (製造工程の確定、ロット構成法、培養スケール等) と各製造工程の詳細を定め、工程管理項目を決定した。これら結果を総合的にとりまとめ、特定細胞加工物標準書 (ヒト iPS 細胞由来神経前駆細胞)

【PMF-iPSNPC_R00】を完成させた。そして製造工程および品質試験を実施するために必要な各種手順書および記録書等の文書を作成し、完成させた。

(マイルストーンの達成状況)

中核拠点より供給される臨床グレードの再生医療用 iPS 細胞ストックを原材料として製造される臨床研究用脊髄損傷治療用ヒト iPS-NPC ストックの特定細胞加工物標準書 (ヒト iPS 細胞由来神経前駆細胞) 【PMF-iPSNPC_R00】を完成させ、特定細胞加工物標準書に規定された製造工程および品質試験を実施するために必要な各種手順書および記録書等の文書を作成し、完成させた。よってマイルストーンは 100% 達成された。

事業名	再生医療実現拠点ネットワークプログラム 疾患・組織別実用化研究拠点 (拠点A)
研究開発課題名	iPS 細胞由来神経前駆細胞を用いた脊髄損傷・脳梗塞の再生医療
研究開発担当者 所属 役職 氏名	臨床研究センター 先進医療研究開発部 再生医療研究室 室長 金村 米博

1. 研究開発の実績

(1) 研究開発の実施日程

研究開発項目	実施日程												
	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	1月	2月	3月	
1. 亜急性期脊髄損傷に対する臨床研究を開始 ・脊髄損傷治療用ヒト iPS 細胞由来神経前駆細胞ストックの確立	←												→
3. 亜急性期脳梗塞に対する臨床研究を開始 ・iPS 細胞由来神経前駆細胞を用いた脳梗塞に対する細胞移植療法の前臨床研究	←												→

(2) 研究開発の実績の説明

研究開発項目 1：亜急性期脊髄損傷に対する臨床研究を開始

1-1. 再生医療用 iPS 細胞由来神経前駆細胞ストックの構築

1-1-1. 脊髄損傷治療用ヒト iPS 細胞由来神経前駆細胞ストックの確立

中核拠点 (京都大学 CiRA) から供給された HLA ホモドナー由来 iPS 細胞ストックを原材料として製造された複数ロットの iPS 細胞由来神経前駆細胞を解析対象として、細胞数ならびに生存率評価、確認試験 (RT-PCR 法を用いた遺伝子発現解析、FACS 法を用いた細胞表面マーカー発現解析、免疫染色法を用いた細胞内マーカー分子発現解析)、分化抵抗性 iPS 細胞の残存がないことの確認を行う純度試験 (RT-PCR 法を用いた遺伝子発現解析、FACS 法を用いた細胞表面マーカー発現解析、免疫染色法を用いた細胞内マーカー分子発現解析、戻し培養試験)、染色体核型解析、体細胞コピー数解析、細胞増殖率解析、細胞周期解析等を実施し、その in vitro 細胞特性を詳細に解析し、最終製品としての妥当性を検証すると同時に、最終製品の規格値を確定させた。さらに通常のギムザ染色法および G バンド染色法では判定困難な微量の核型異常細胞を高感度に捕捉するシステムの開発として、間期核 FISH 法を応用した高感度核型解析法の開発を実施した。

1-1-2. 脳梗塞治療用ヒト iPS 細胞由来神経前駆細胞ストックの試験製造実施体制構築

27年度に実施した「iPS細胞由来神経前駆細胞を用いた脳梗塞に対する細胞移植療法の前臨床研究」の試験結果を踏まえ、原材料iPS細胞の規格、移植に使用したiPS細胞由来神経前駆細胞の規格に関して、それぞれ脊髄損傷治療用細胞（無フィーダー培養法iPS細胞）との比較検討を実施した。その結果に基づき、脊髄損傷治療用ヒトiPS細胞由来神経前駆細胞ストックの製造方法を基礎として、脳梗塞治療用ヒトiPS細胞由来神経前駆細胞ストックの製造各工程の手順書を作成し、再生医療用iPS細胞ストックを原材料として使用して、セルプロセッシングセンター（CPC）を用いてGMP準拠で脳梗塞治療用ヒトiPS細胞由来神経前駆細胞ストックの試験製造を実施するための体制を検討した。

研究開発項目3：亜急性期脳梗塞に対する臨床研究を開始

3-1. iPS細胞由来神経前駆細胞を用いた脳梗塞に対する細胞移植療法の前臨床研究

3-1-1. げっ歯類脳梗塞モデルにおけるiPS細胞由来神経前駆細胞移植療法の有用性の検証

27年度同様にげっ歯類（ラット）の中大脳動脈閉塞（MCAO）脳梗塞モデルを用いて、脳梗塞作製後急性期（2日目）と亜急性期（7日目）の異なる複数の時点において、①異なる細胞数（ 2×10^5 細胞/1ポイント、あるいは 2×10^4 細胞/1ポイント）、② γ セクレターゼ阻害剤（DAPT）処理の有無、の組み合わせを変えてヒトiPS細胞由来神経前駆細胞を移植し、その有用性の検証を実施した。評価項目としては、画像評価（MRI）による病巣評価、病理学的解析としてHE染色および免疫染色を用いた組織構造変化および移植細胞の組織内での定着、分化評価を実施した。神経行動学評価としては、神経症状スコア、ロータロッドテスト、ステップテスト、テープはがしテストを用いた神経機能評価を実施して多面的に評価した。これら試験から脳梗塞に対するiPS細胞由来神経前駆細胞を用いた移植治療における最適移植細胞数と最適移植時期を検証した。

（マイルストーンの達成状況）

研究開発項目1：亜急性期脊髄損傷に対する臨床研究を開始

HLAホモiPS細胞ストックからGMP準拠で試験製造された複数ラインの脊髄損傷治療用ヒトiPS細胞由来神経前駆細胞ストックのin vitro品質試験を実施し、臨床研究用細胞株としての最終規格値を確定した。よってマイルストーンは100%達成された。

研究開発項目3：亜急性期脳梗塞に対する臨床研究を開始

3-1. iPS細胞由来神経前駆細胞を用いた脳梗塞に対する細胞移植療法の前臨床研究

げっ歯類脳梗塞モデル動物にiPS細胞由来神経前駆細胞の移植実験を実施し、最適移植細胞数と最適移植時期を決定した。よってマイルストーンは100%達成された。

事業名	革新的がん医療実用化研究事業
研究開発課題名	小児脳腫瘍に対する多施設共同研究による治療開発
研究開発担当者 所属 役職 氏名	臨床研究センター 先進医療研究開発部 再生医療研究室 室長 金村 米博

1. 研究開発の実績

(1) 研究開発の実施日程

研究開発項目	実施日程												
	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	1月	2月	3月	
中央病理診断と遺伝子解析、検体保存システムの確立と運用	←												→

(2) 研究開発の実績の説明

①研究開発成果の内容

【成果の概要】

髄芽腫を解析対象として、遺伝子発現解析に基づく 4 分子亜群分類、サンガーシーケンス法を用いた *CTNNB1*、*TP53* および *TERT* プロモータ塩基配列解析体制を確立し、小児固形腫瘍観察研究に登録されている髄芽腫の 4 分子亜群分類を実施した。

②研究開発項目の実施状況及びマイルストーンの達成状況

【研究の実施状況】

前年度までに収集した検体も合わせて、小児固形腫瘍観察研究に登録されている髄芽腫 67 症例を解析対象に、凍結組織試料あるいはホルマリン固定パラフィン包埋 (FFPE) 組織試料から抽出された RNA 試料を用いて遺伝子発現解析に基づく 4 分子亜群分類、DNA 試料を用いてサンガーシーケンス法にて *CTNNB1* (exon 3)、*TP53* (凍結組織試料: exon2-exon11、FFPE 組織試料: exon5-exon8) および *TERT* プロモータ塩基配列解析をそれぞれ順次実施した。

解析が終了した 50 症例での検討において、各分子亜群の比率は、WNT 亜群 5 症例 (10%)、SHH 亜群 11 症例 (22%)、Group3 亜群 9 症例 (18%)、Group4 亜群 25 症例 (50%) であり、海外報告と比較して概ね同等の分布であった。年齢との関連性においては、乳幼児 (4 歳未満) 11 症例においては、SHH 亜群 7 症例 (63.6%)、Group4 亜群 4 症例 (36.4%)、児童 (4 歳以上 16 歳未満) 39 症例においては、WNT 亜群 5 症例 (12.8%)、SHH 亜群 4 症例 (10.3%)、Group3 亜群 9 症例 (23.1%)、Group4 亜群 21 症例 (53.8%) であった。遺伝子変異との関連においては、*CTNNB1* 変異は WNT 亜群の全例にのみ同定され、*TP53* 変異は WNT 亜群 3 症例 (60%)、SHH 亜群 5 症例 (45.5%)、Group3 亜群 2 症例 (22.2%)、Group4 亜群 1 症例 (4%)、*TERT* 変異は SHH 亜群 1 症例 (9.1%) のみにそれぞれ同定された。解析結果は書面を用いて事務局に順次報告した。

【マイルストーンの達成状況】

28 年度実施予定のマイルストーンは全て達成された。

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）実施状況報告書（研究実施状況報告書）（平成28年度）

1. 機関番号

8	4	4	1	4
---	---	---	---	---

 2. 研究機関名 独立行政法人国立病院機構大阪医療センター（臨床研究センター）
3. 研究種目名 挑戦的萌芽研究 4. 補助事業期間 平成27年度～平成29年度
5. 課題番号

1	5	K	1	5	5	3	4
---	---	---	---	---	---	---	---
6. 研究課題名 成人低悪性度グリオーマ関連ドライバー遺伝子変異とグリオーマ幹細胞発生の関連性検証
7. 研究代表者

研究者番号	研究代表者名	所属部局名	職名
8 0 3 4 4 1 7 5	カネムラ ヨネヒロ 金村 米博	先進医療研究開発部 再生医療研究室	室長

8. 研究分担者

研究者番号	研究分担者名	所属研究機関名・部局名	職名
4 0 4 5 0 8 9 5	ショウワダ トモコ 正札 智子	先進医療研究開発部 幹細胞医療研究室	室長

9. 研究実績の概要

前年度に作製したTet-On 3G transactivator protein (Tet3G) 発現vectorを導入したヒトiPS細胞（409B2株）に、gene of interest (GOI) として、2種類の低悪性度グリオーマ関連ドライバー変異遺伝子（IDH1-R132H変異型、BRAF-K11A1549融合遺伝子）を選択し、発現ベクター作製を実施した。Lower grade astrocytoma (LGA) およびpilocytic astrocytoma (PA) 腫瘍組織からRNAを抽出した後、cDNAを合成し、IDH1-R132H変異型（LGA）及びBRAF-K11A1549融合遺伝子（PA）を各々クローニングし、pTRE3G-BI-ZsGreenベクターへ組み込んだ。

低悪性度グリオーマ関連ドライバー遺伝子変異がヒトiPS細胞由来神経前駆細胞のエピジェネティクスに及ぼす影響を評価するため、遺伝子導入前段階のヒトiPS細胞由来神経前駆細胞のDNAメチル化状態を、マイクロアレイ（illumina社製）を用いて評価し、神経組織由来正常ヒト神経幹/前駆細胞のDNAメチル化状態との比較検討を実施した。

遺伝子導入されたヒトiPS細胞由来神経前駆細胞の造腫瘍能を評価するためのin vivo実験系の構築として、免疫不全マウス（NOGマウス）の線条体への定位的細胞移植手法と移植細胞数の検討を実施した。また、マウス脳組織内で移植されたヒト細胞を同定するため、ヒト細胞を選択的に認識する抗体（STEM121抗体、抗ヒト核抗体）を用いた免疫組織学的手法の有用性を評価した。

10. キーワード

- (1) 低悪性度グリオーマ (2) 神経前駆細胞 (3) Tet-onシステム (4) ドライバー遺伝子変異
 (5) _____ (6) _____ (7) _____ (8) _____

11. 現在までの進捗状況

(区分) (3) やや遅れている。

(理由)

2年目は、正常ヒト神経幹/前駆細胞へ成人低悪性度グリオーマ関連ドライバー変異遺伝子を導入し、その機能をin vitroおよびin vivoで評価する計画としていた。細胞移植法等やその他の周辺in vivo評価技術の開発については先行して確立することができた。しかし、DNAメチル化解析等のin vitro解析により、Tet3Gを導入したヒトiPS細胞株409B2が今後の解析に不適な株であることが判明したために、細胞を選定し直して遺伝子導入株の再作製を行ったために、Tet-On 3G誘導発現系の構築は十分には実施されなかった。ただ既に遺伝子導入ヒトiPS細胞株の作製を終了して解析準備を整えることができている上、in vivo評価系の構築は終了していることから、総合的には当初の計画にやや遅れが見られる程度である。正常ヒト神経幹/前駆細胞において成人低悪性度グリオーマ関連ドライバー遺伝子変異の機能を評価するためのプラットフォームの構築は概ね達成されたと判断され、研究進捗としては当初目標よりはやや遅れているが最終年度で十分に回復が可能なレベルにあると判断する。

12. 今後の研究の推進方策 等

(今後の推進方策)

最終年度は、今年度作製した低悪性度グリオーマ関連ドライバー変異遺伝子ベクターをヒトiPS細胞由来神経前駆細胞に導入して発現させ、in vitroにおける機能解析、NOGマウス脳内移植系を用いてin vivoでの腫瘍形成能を評価し、正常ヒトiPS細胞由来神経前駆細胞からのグリオーマ発生に関わる機能を解析すると同時に、導入されたドライバー変異遺伝子がヒトiPS細胞由来神経前駆細胞のエピジェネティクスに及ぼす機能を解析していきたいと考える。

(次年度使用額が生じた理由と使用計画)

(理由)

物品費において予定より支出が少なく済み、次年度使用額が生じた。

(使用計画)

研究に必要な細胞培養関連、遺伝子解析関連、動物実験関連の資材等の消耗品購入のための物品費、遠方の連携研究者との共同研究を円滑に実施するため会議に関わる国内旅費、国際学会での情報収集・成果発表のための国際旅費、および論文作成に関わるその他経費を計上した。これらは研究を円滑に実施し、かつ研究成果を世界に発信するために必要なものと考え、妥当な範囲内のものとする。

(課題番号: 15K15534)