

動物性集合胚の取扱いに係る科学的観点からの調査・検討の結果について

平成 28 年 1 月 19 日

特定胚等研究専門委員会

動物性集合胚の取扱いに関する作業部会

科学技術・学術審議会生命倫理・安全部会特定胚及びヒト ES 細胞等研究専門委員会（現・特定胚等研究専門委員会）は、平成 25 年 8 月に示された総合科学技術会議（現・総合科学技術・イノベーション会議）生命倫理専門調査会の見解「動物性集合胚を用いた研究の取扱いについて」（以下「見解」という。）を受けて、まず科学的観点からの調査・検討を重点的に進めるべく、その下に動物性集合胚の取扱いに関する作業部会（以下「作業部会」という。）を設置した。

作業部会は、平成 25 年 12 月から議論を開始し、委員・有識者からのヒアリング等を通じて、科学的観点からみた動物性集合胚の取扱いについて調査・検討を行った。本資料は作業部会における 11 回にわたるこれまでの議論を踏まえ、その結果について、別添のとおり整理を行ったものである。

動物性集合胚の取扱いに係る科学的観点からの調査・検討の結果について (概要)

1. 動物性集合胚の作成目的

- 現行の特定胚の取扱いに関する指針では、ヒトに移植することが可能なヒトの細胞からなる臓器の作成に関する基礎的研究に限られているが、他の作成目的として、疾患メカニズムの解明、創薬、新たな治療法の開発、多能性幹細胞の分化能等の検証について意義があると考えられる。

2. 動物性集合胚関連研究の進捗

- 動物間のキメラ胚に関しては、国内外でキメラ個体が作成されている。例えば、日本では、胚盤胞補完法を用いて膵臓欠損マウス内にラットES細胞に由来する機能的な膵臓の作成に成功している。一方、ヒトと動物のキメラ胚(動物性集合胚)に関しては、国外においては多能性幹細胞の集合胚作成能の検証等が行われている。国内ではヒトiPS細胞の集合胚作成が行われている。

3. 動物性集合胚により得られると期待される科学的知見

- 原始線条出現前までは、多能性幹細胞の分化能及び動態等について新たな知見が得られる可能性がある。胎内移植により、目的臓器の生体内における発生メカニズム、疾患の発症や治癒のメカニズム等について新たな知見が得られる可能性がある。

4. 動物性集合胚以外の手法との比較

- 臨床用ヒト臓器の作成については、細胞を立体的に培養する方法、初期胚ではなく、胎仔期以降、発生が進んだ段階の動物にヒト細胞を入れる方法、バイオ3Dプリンタで臓器を作成する方法等が研究されており、目的外のヒト細胞の分化・分布を制限できる可能性が高い点では集合胚よりも優位であるが、いずれも機能・構造が正常な臓器を作成するには至っていない。一方、生体内における発生プロセスを通じて、機能・構造が正常な臓器を作成できる可能性がある点では動物性集合胚による手法が優位である。
- 非臨床モデル動物の作成については、免疫不全動物にヒト細胞を移植したヒト化動物や、疾患関連遺伝子の当該動物における類似遺伝子を改変させる技術がマウス等すでに確立しており、取扱いも比較的容易な点で優位であるが、ヒトの疾患に近い病態をその発生過程を含めて再現することが期待できる点や、生体内における細胞同士の

相互作用を踏まえた解析が期待できる点で、動物性集合胚による方法が優位である。

- 多能性幹細胞の分化能の検証については、上記2つの目的を達成するための前提と考えられる。分子基盤等を解析する上では培養系の方が解析因子が限定されているため優位であるが、発生プロセスに沿った分化動態を時空間的にも観察、検証できる点で動物性集合胚が優位である。
- 臓器別では、腎臓、心臓、肺、消化管については、動物性集合胚による方法では臓器全体を作成できる可能性がある等の優位性がある。ただし、ヒトへの移植を考慮する際は、臓器が血管等の細胞からも構成されることを検討する必要がある。脳や脊椎等の神経系については、多能性幹細胞から分化誘導した細胞の移植研究等が進んでいるが、動物性集合胚を通じて動物の体内で脳神経系を作成することは、倫理面、社会面から問題が大きい。

5. 動物性集合胚の作成に用いる動物や作成する臓器等の種類

- 移植用臓器の作成については、ブタはヒトと在胎日数や臓器の大きさが近い等のメリットが認められるが、霊長類は臓器が小さいこと等の理由から不適當な場合がある。
- 移植用臓器の作成については、ドナーが不足している臓器（肝臓や腎臓等）について作成の必要性は高い。また、難治性の疾患についてモデル動物の作成の必要性は高い。脳神経細胞や生殖細胞については、他の方法によることが安全面、倫理面、社会面からは妥当と考えられる。

6. 分化制御技術の精度

- 現在は目的細胞に分化誘導することを目指した研究が進められている段階であり、目的細胞以外への分化状況の解析など分化制御技術に関する研究は十分に行われていない。現段階では、内胚葉へ分化誘導する方法が開発されているが、目的外の細胞等に分化しないような制御方法は生殖細胞以外では開発されていない。

7. 人や動物の安全確保

- 動物性集合胚の移植先の動物（母胎）や動物性集合胚に由来する個体の安全面については、動物間のキメラ個体と変わらないと考えられるため、現行の動物実験に関する法令・基準に従うことが必要である。

動物性集合胚の取扱いに係る科学的観点からの調査・検討結果

平成 28 年 1 月 19 日
 特定胚等研究専門委員会
 動物性集合胚の取扱いに関する作業部会

目次

1.	動物性集合胚の作成目的として、何が考えられるか？	2
2.	集合胚に関する研究は、どこまで進んでいるか？	3
3.	動物性集合胚により、どのような科学的知見等が得られると期待されるか？	4
4.	動物性集合胚以外の手法で、上記目的の達成や知見の獲得はできないのか？	5
	<目的別の分析>	5
	<臓器等別の分析>	10
5.	動物性集合胚の作成に用いる動物や、動物性集合胚により作成する臓器等の種類についてどう考えるか？制限を設けるべきか？	12
6.	目的とする臓器等以外への分化制御技術の精度は、どの程度あるか？	13
7.	動物性集合胚を用いる研究を行う場合、ヒトや動物の安全確保等をどのように図るか？	14
	参考文献	15

1. 動物性集合胚の作成目的として、何が考えられるか？

作成目的	多能性幹細胞の分化能の検証	非臨床用モデル動物の作成	臨床用ヒト臓器の作成
<p>概要</p>	<p>ヒト多能性幹細胞（ES、iPS細胞等）の分化能及び動態を検証するため、当該細胞を動物の胚[※]に導入し、動物性集合胚を作成。 （右記2つの目的を達成するための前提となると考えられる）</p>	<p>疾患メカニズムの解明や創薬、新たな治療法の開発等のため、患者由来の、又は変異を誘導したiPS細胞等を動物の胚[※]に導入した動物性集合胚を発生させたり、発生の過程で外的刺激を加えたりすること等により、ヒトの疾患に近い病態を再現させたモデル動物や、ヒトの細胞からなる臓器等をもつモデル動物を作成。</p>	<p>ヒトに移植可能な臓器を確保するため、遺伝子改変技術等によって当該臓器を作る能力を欠損させた動物の胚[※]にヒト多能性幹細胞を導入した動物性集合胚を発生させること等により、動物の体内にヒトの細胞からなる臓器を作成。 （現行指針で、上記に関する基礎的研究は認められている）</p>

※「胚」とは、「ヒトに関するクローン技術等の規制に関する法律」において、「一の細胞（生殖細胞を除く。）又は細胞群であって、そのまま人又は動物の胎内において発生の過程を経ることにより一の個体に成長する可能性のあるもののうち、胎盤の形成を開始する前のもの」と定義されている。（胎盤の形成の開始以後は、「胎児」として定義）

2. 集合胚に関する研究は、どこまで進んでいるか？

作成目的	多能性幹細胞の分化能の検証	非臨床用モデル動物の作成	臨床用ヒト臓器の作成
動物とヒト (動物性 集合胚)	<p>○マウス胚-ヒト細胞 (海外)</p> <ul style="list-style-type: none"> 2006年、アメリカで、ヒトES細胞がキメラ形成能を持つか否かを評価するために動物性集合胚を作成。マウス胎内に移植し、妊娠中期(胎生8.5日)まで発生させ、Neural fold(神経ヒダ)にヒトES細胞に由来する細胞を確認¹⁾。 2013年、イスラエルで、ナীব型ヒトiPS細胞がキメラ形成能(多分化能)を持つか否かを評価するために動物性集合胚を作成。マウス胎内に移植し、妊娠中期(胎生10.5日)まで発生させ、Craniofacial tissues(頭蓋顔面組織)とNeural fold(神経ヒダ)にヒトiPS細胞に由来する細胞を確認²⁾。 2014年、イギリスで、リセット細胞(ナীব型ヒトiPS細胞)がキメラ形成能(多分化能)を持つか否かを評価するために動物性集合胚を作成。マウス桑実胚および胚盤胞を用いて動物性集合胚を作成し体外で培養。いずれの方法でも内部細胞塊やエピプラストにリセット細胞を確認³⁾。 		<p>○マウス胚-ヒト細胞 (日本)</p> <ul style="list-style-type: none"> 2015年、マウス胚にヒトナীব型iPS細胞を導入して動物性集合胚作成を試みたが、シャーレでの培養ではキメラ形成は確認されなかった⁴⁾。
動物と動物 (同種・異種 の集合胚)	<p>○同種間 (海外)</p> <ul style="list-style-type: none"> 2012年、アメリカで、アカゲザルの初期胚を集合させ、母胎へ移植し、キメラ個体を作成⁵⁾。 <p>○異種間 (日本)</p> <ul style="list-style-type: none"> 2011年、胸腺の欠損マウス内にラットES細胞由来の胸腺を作成。キメラ個体にラット由来の生殖細胞を確認⁶⁾。 <p>(海外)</p> <ul style="list-style-type: none"> 1984年、イギリスとドイツで、ヒツジとヤギの胚を用いたキメラ個体を作成^{7,8)}。 2011年、アメリカで、サルES細胞をマウス胚へ導入したが、キメラ胎児へのサルES細胞の寄与は少なかった⁹⁾。 		<p>○同種間 (日本)</p> <ul style="list-style-type: none"> 2013年、脾臓欠損ブタの胚盤胞へ他のブタ細胞を導入し、欠損した臓器が導入した細胞で補われた個体を産生¹⁰⁾。 2012年、腎臓欠損マウスの胚盤胞へ他のマウス細胞を導入し、欠損した臓器が導入した細胞で補われた個体を産生¹¹⁾(なお、補完法によって生まれたマウスは、成体までは成長しなかった)。 <p>○異種間 (日本)</p> <ul style="list-style-type: none"> 2010年、脾臓欠損マウス内にラットES細胞由来の脾臓を作成することに成功¹²⁾。

3. 動物性集合胚により、どのような科学的知見等が得られると期待されるか？

作成目的		多能性幹細胞の分化能の検証	非臨床用モデル動物の作成	臨床用ヒト臓器の作成
胎外培養	原始線条出現前 (受精後14日まで)	○ 発生の初期段階における多能性幹細胞の分化能及び動態等について、新たな知見が得られる可能性がある。	○ 最終的な目的は、キメラ個体として非臨床用モデル動物を作成することにあるが、その前提として、発生の初期段階における多能性幹細胞の分化能及び動態等について、新たな知見が得られる可能性がある。	○ 最終的な目的は、キメラ個体内に臨床用ヒト臓器を作成することにあるが、その前提として、発生の初期段階における多能性幹細胞の分化能及び動態等について、新たな知見が得られる可能性がある。(現行指針では、この時期まで研究が認められている)
	原始線条出現以降 (受精後15日以降)	現在の技術では、マウス以外の動物について、胎外で原始線条が現れるまで胚を培養することは困難。マウスについても、原始線条出現以降、正常な発生を維持したまま胎外で胚を培養することは困難。ただし、今後の技術開発によって培養期間を延ばすことが可能になれば、組織形成の状況等に関する、新たな知見が得られる可能性がある。		
胎内移植	原始線条出現前 (受精後14日まで)	○ 発生の初期段階における多能性幹細胞の分化能及び動態等について、生体内における細胞同士の相互作用や母体から受ける因子の影響等も踏まえた観点から、新たな知見が得られる可能性がある。	○ 最終的な目標は、キメラ個体として非臨床用モデル動物を作成することにあるが、その前提として、発生の初期段階における多能性幹細胞の分化能及び動態等について、生体内における細胞同士の相互作用や母体から受ける因子の影響等も踏まえた観点から、新たな知見が得られる可能性がある。	○ 最終的な目標は、キメラ個体内に臨床用ヒト臓器を作成することにあるが、その前提として、発生の初期段階における多能性幹細胞の分化能及び動態等について、生体内における細胞同士の相互作用や母体から受ける因子の影響等も踏まえた観点から、新たな知見が得られる可能性がある。
	原始線条出現以降 (受精後15日以降)	○ 胎児期における各臓器・組織等の形成状況に応じ、多能性幹細胞の分化能及び動態等について、新たな知見が得られる可能性がある。	○ ヒトの細胞からなる臓器・組織等を持つ動物胎仔を用いることにより、胎児期における疾患の発症や治癒 [※] のメカニズム等について、新たな知見が得られる可能性がある。 ○ ヒトの細胞からなる臓器・組織等を持つ動物胎仔を用いることにより、非臨床試験において、毒性等に関し、よりヒトに近いデータが得られる可能性がある。	○ 目的臓器の生体内における発生メカニズムやその機能等について、新たな知見が得られる可能性がある。
個体産生 ^{※1}		○ 個体産生後における臓器・組織等の形成状況に応じ、多能性幹細胞の分化能及び動態等について、新たな知見が得られる可能性がある。	○ 個体産生後における疾患の発症や治癒 ^{※2} のメカニズム等について、新たな知見が得られる可能性がある。 ○ ヒトの細胞からなる臓器・組織等を持つ動物を用いることにより、非臨床試験において、毒性等に関し、よりヒトに近いデータが得られる可能性がある。	○ 目的臓器の生体内における形成メカニズムやその機能等について、新たな知見が得られる可能性がある。 ○ ヒトに移植可能な臓器が作成され、不足する移植臓器等を補うことができる可能性がある。 ○ 臓器全体ではなく、その一部(組織・細胞)の作成を目的とする場合、胎外で培養に時間を要する当該組織・細胞(例えば、脾臓、肝細胞)を大量に取得できる可能性がある。

※1：個体産生後における臓器等の形成や疾患の発症等については、臓器、疾患等ごとに時期が異なるため、それらに対応した研究期間が必要となる。

※2：疾患モデル動物由来のiPS細胞等を用いて作成したキメラ動物では、iPS細胞等由来の疾患が再現されない(ことがある)ということ踏まえ、疾患が再現されないことを含めて「治癒」と表記している。

4. 動物性集合胚以外の手法で、上記目的の達成や知見の獲得はできないのか？ ①

〈目的別の分析〉

目的	その他の方法 (例)	動物性集合胚の優劣
<p>多能性幹細胞の分化能の検証</p>	<p>1. 生体外 (<i>in vitro</i>) で多能性幹細胞を培養する方法¹⁾</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ 多能性幹細胞を生体外の特殊な環境で培養し、胚葉体を形成したり、様々な組織・細胞等に分化したりすることを検証。 ○ マウスの子宮から取り出した着床後の胚の後極に、ヒト ES・iPS 細胞を移植する研究 (当該細胞が定着・増殖・拡散し、神経や筋肉の前駆細胞等に分化したことを確認)¹³⁾。 <p>2. 動物体内でテラトーマ (奇形腫) を形成する方法^{1,2)}</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ マウス等の動物皮下や腎皮膜下に多能性幹細胞を移植し、腫瘍を形成させ、当該腫瘍を観察し、様々な細胞等に分化していることを確認。 	<p>1. 生体外 (<i>in vitro</i>) で多能性幹細胞を培養する方法</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ 生体内における発生プロセスに沿って分化動態を空間的に観察、検証することが期待できる点、動物の胚にヒトの細胞を導入するという比較的簡単な方法である点、移植してから比較的短時間で分化能の検証ができる点で、動物性集合胚が優位。 ○ 複雑な構造を持つ臓器等については、生体外での培養が困難であるため、動物性集合胚が優位。 ○ 動物性集合胚による場合は、生体内 (<i>in vivo</i>) での解析となるため、分子基盤等を解析する上では、試験管内など生体外での培養 (<i>in vitro</i>) が優位。 <p>2. 動物体内でテラトーマ (奇形腫) を形成する方法^{1,2)}</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ 個体形成能 (正常な器官が形成されるかどうか) については、テラトーマ試験で評価することは困難であるため、動物性集合胚が優位。

4. 動物性集合胚以外の手法で、上記目的の達成や知見の獲得はできないのか？ ②

〈目的別の分析〉

目的	その他の方法（例）	動物性集合胚の優劣
非臨床用モデル動物の作成	<ol style="list-style-type: none"> 1. 物理的処置により非臨床用モデル動物を作成する方法 <ul style="list-style-type: none"> ○ 脊髄損傷や心筋梗塞等のモデル動物を作成¹⁴⁻¹⁸。 2. 化学的処置により非臨床用モデル動物を作成する方法 <ul style="list-style-type: none"> ○ 薬剤投与等の化学的処置によりパーキンソン病や肝臓障害等のモデル動物を作成¹⁹⁻²⁰。 3. 遺伝子改変により非臨床用モデル動物を作成する方法 <ul style="list-style-type: none"> ○ 特定の疾患に関連する遺伝子を改変（遺伝子破壊、遺伝子導入など）することで、その遺伝子に起因する疾患を発症するモデル動物を作成²¹。 4. 免疫不全動物を用いて非臨床用モデル動物（ヒト化動物）を作成する方法 <ul style="list-style-type: none"> ○ ヒトの細胞等を拒絶しない免疫不全マウスに、ヒトの細胞等を移植し、臓器・組織等がヒトのものに置き換わった「ヒト化マウス」を作成²²。 5. 疾患特異的 iPS 細胞を活用する方法 <ul style="list-style-type: none"> ○ 希少難病等の患者の体細胞から作成した iPS 細胞（疾患特異的 iPS 細胞）を分化誘導し、病態解明や創薬等に活用²³。 	<ol style="list-style-type: none"> 1. 物理的処置により非臨床用モデル動物を作成する方法 2. 化学的処置により非臨床用モデル動物を作成する方法 3. 遺伝子改変により非臨床用モデル動物を作成する方法 <ul style="list-style-type: none"> ○ これらの方法は、技術的に確立し、取扱いも比較的容易。 ○ 一方、これらの方法によって生じる病態は、あくまで動物の臓器・組織等におけるもの。ヒトの臓器・組織等において、ヒトの疾患に近い病態を、その発生過程を含めて再現することが期待できる点で、動物性集合胚が優位。 4. 免疫不全動物を用いて非臨床用モデル動物（ヒト化動物）を作成する方法 <ul style="list-style-type: none"> ○ この方法は既に実用化され、取扱いも比較的容易。また、血液系（免疫系）をヒトのものに置き換えることが可能。さらに、免疫不全ブタの開発も進行中。 ○ 一方、動物性集合胚についても、技術的取扱いは比較的容易。ブタを用いた実用化も構想されている。ブタを用いることにより、ヒトに近いサイズの臓器・組織等における非臨床用モデル動物の作成が期待できる。 5. 疾患特異的 iPS 細胞を活用する方法 <ul style="list-style-type: none"> ○ この方法により、パーキンソン病、遺伝性心筋疾患等の難病について患者由来の疾患モデルが作成、分配され、創薬研究等に活用されている。また、試験管内など、体外環境下で容易に解析を行うことが可能な点や、動物を用いずに済む点で、この方法が優位。 ○ 一方、立体的な臓器・組織等の疾患モデルを生体内に作成することが期待できる点や、生体内における細胞同士の相互作用を踏まえた解析が期待できる点では、動物性集合胚が優位。（疾患特異的 iPS 細胞を導入して動物性集合胚を作成することも想定されるため、2つの方法は必ずしも相反するものではない。）

4. 動物性集合胚以外の手法で、上記目的の達成や知見の獲得はできないのか？ ③

〈目的別の分析〉

目的	その他の方法（例）	動物性集合胚の優劣
臨床用 ヒト臓器 等の作成	<p>1. 動物（胎仔期以降）にヒト細胞を導入する方法 （例）</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ ブタの胎仔段階から新生仔にかけて複数回にわたりヒトの肝細胞を導入する研究（当該細胞が定着し機能することを確認）²⁴⁾。 ○ ラット胎仔へ移植して作成したヒト間葉系幹細胞由来の腎臓原基を、さらに成獣ラットの大網（Omentum）へ移植することで、幼若な腎臓を作成する研究²⁵⁾。 ○ ヒト iPS 細胞から作成した造血幹細胞を免疫不全ブタ等の胎仔へ移植し、動物体内でヒト血液細胞を作成する研究²⁶⁾。 <p>2. ヒトの臓器等を利用する方法 （例）</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ 死体から膵臓細胞を採取し、糖尿病患者へ投与する臨床研究。 ○ ヒト iPS 細胞等を分化誘導して作成した膵臓細胞をカプセルに入れ、移植する研究。 ○ ヒト ES 細胞から立体的な網膜を構築する研究（胎児型網膜と似た構造を示す立体網膜を作製）^{27,28)}。 <p>3. ヒト臓器原基を作成する方法 （例）</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ ヒト iPS 細胞と間葉系幹細胞等を混合して培養することで、培養環境下でヒト肝臓原基を作成する研究（作成した肝臓原基を動物へ移植し機能することを確認）²⁹⁻³¹⁾。 	<p>1. 動物（胎仔期以降）にヒト細胞を導入する方法</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ 胎仔期以降、発生が進んだ段階の動物にヒト細胞を導入することは、発生初期（胚）に導入するよりも、目標とする箇所以外にヒト細胞が分布することを制限できる可能性が高いため、この方法が優位。 ○ 一方、複雑な構造をもつ臓器等を作成する上では、発生初期（胚）にヒト細胞を導入する動物性集合胚による方が実現可能性が高いと考えられるため、動物性集合胚が優位。 <p>2. ヒトの臓器等を利用する方法</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ 動物を用いずに済む点や、動物由来の感染症の発生リスク等の点からは、この方法が優位。 ○ 一方、臓器全体の形成が期待できる等の点からは、動物性集合胚が優位。 <p>3. ヒト臓器原基を作成する方法</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ ヒトの血管構造を持つ臓器作成が期待できる点や、動物を用いずに済む点、動物由来の感染症の発症リスク等の点からは、この方法が優位。 ○ 一方、生体内における発生プロセスを通じて、機能・構造が正常な臓器作成が期待できる点や、培養コスト等の点からは、動物性集合胚が優位。

4. 動物性集合胚以外の手法で、上記目的の達成や知見の獲得はできないのか？ ④

〈目的別の分析〉

目的	その他の方法（例）	動物性集合胚の優劣
<p>臨床用 ヒト臓器 等の作成</p>	<p>4. 動物の臓器等を利用する方法 （例）</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ ラットやサルへブタ膵臓原基を移植する研究（移植したブタ由来の細胞が機能することを確認³²⁾）。 ○ マウスの腎臓原基とヒト iPS 細胞から作成した中胚葉を混合して培養する研究（効率よく腎細胞を作成することに成功³³⁾）。 ○ ヒト多能性幹細胞から分化誘導した腎臓前駆細胞とマウス胎子の組織を共培養する研究（立体的な腎臓組織の構築に成功³⁴⁾）。 ○ 動物臓器から作成した、臓器の足場（スキャホールド）にヒトの細胞を充填することで、新たに臓器を作成する研究（心臓³⁵⁾、腎臓^{36,37)}、肝臓^{38,39)}、肺^{40,41)}について、動物実験等を実施）。 	<p>4. 動物の臓器等を利用する方法</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ 動物の臓器原基や臓器の足場（スキャホールド）等を利用することにより、目標とする臓器等に限ってヒト細胞を分布させることが可能な点では、この方法が優位。 ○ 一方、生体内における発生プロセスを通じて、機能・構造が正常な臓器作成が期待できる点や、培養コスト等の点からは、動物性集合胚が優位。
	<p>5. 動物の臓器等を移植する方法（異種移植） （例）</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ ブタ等の心臓弁のヒトへの移植が実用化。 ○ ブタの膵島、腎臓、肺等の移植に際しての免疫拒絶反応の制御に関する研究。 	<p>5. 動物の臓器等を移植する方法（異種移植）</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ 移植臓器等を安定的かつ容易に確保することが可能な点では、この方法が優位。 ○ 一方、あくまで動物の臓器等であり、免疫拒絶反応や未知の感染症の発生リスク等が懸念されるため、ヒトの細胞からなる臓器等の作成が期待できる動物性集合胚が優位。
	<p>6. 立体造形技術等を用いる方法 （例）</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ バイオ 3D プリンタや細胞シート積層技術等の立体造形技術を用い、iPS 細胞等から骨・血管・心臓などの立体組織・臓器を製造する研究⁴²⁾。 ○ 患者の骨格筋芽細胞や皮膚細胞を体外でシート状に培養し、患部に貼り付ける医療が実用化。 	<p>6. 立体造形技術等を用いる方法</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ 動物性集合胚では、血管系をヒト型に置き換えることは困難であるが、立体造形技術が進歩すれば、ヒト型の血管系を構築できる可能性がある。また、この手法によれば、動物を使わずに済むため、この方法が優位。 ○ 一方、生体内における発生プロセスを通じて、機能・構造が正常な臓器を作成できる可能性がある点や、生体外で人工的に造形等を行う方法に比べ、より容易に、より低コストで臓器を作成できる可能性がある点等では、動物性集合胚が優位。

4. 動物性集合胚以外の手法で、上記目的の達成や知見の獲得はできないのか？ ⑤

〈臓器等別の分析〉

臓器等の種類	その他の方法（例）	動物性集合胚の優劣
肝臓	<ul style="list-style-type: none"> ○ ブタの胎仔段階から新生仔にかけて複数回にわたりヒトの肝細胞を導入する研究（当該細胞が定着し機能することを確認）²⁴⁾。 ○ ヒト iPS 細胞と間葉系幹細胞等を混合して培養することで、培養環境下でヒト肝臓原基を作成する研究（作成した肝臓原基を動物へ移植し機能することを確認）²⁹⁻³¹⁾。 ○ 動物臓器から作成した、臓器の足場にヒトの細胞を充填することで、新たに臓器を作成する研究（肝臓）^{38,39)}。 	<ul style="list-style-type: none"> ○ 動物性集合胚には、①生体内における発生プロセスを通じてヒトの肝臓全体を形成できる可能性があること、②肝臓を欠損した動物（ブタ等）を作成できるのであれば、その後の技術的取扱いには比較的容易であること等の優位性がある。 ○ 一方で、血管系を全てヒト型に置き換えることは困難と考えられるなど、ヒトへの移植には大きな課題がある。なお、肝臓全体ではなく、細胞レベル（肝細胞）であれば、血管系は不要であり、動物性集合胚により、当該細胞を大量に取得できる可能性がある。 ○ 血管系の構築に関しては、培養環境下でヒト肝臓原基を作成・移植する研究において、サイズ的にはまだ小さいものの、ヒトの血管系を持つ機能的な肝臓への成長が確認されている。 ○ 今後さらに多能性幹細胞や組織幹細胞からの分化誘導技術の進展が見込まれることや、肝臓については部分移植でも相当な機能回復が期待できることを踏まえると、体外での培養による手法に優位性がある。
膵臓／ 膵島	<ul style="list-style-type: none"> ○ 死体から膵臓細胞を採取し、糖尿病患者へ投与する臨床研究。 ○ iPS 細胞等を分化誘導して作成した膵臓細胞をカプセルに入れ、移植する研究。 ○ ラットやサルへブタ膵臓原基を移植する研究（移植したブタ由来の細胞が機能することを確認）³²⁾。 ○ ブタの膵島等の移植に際しての免疫拒絶反応の制御に関する研究。 	<ul style="list-style-type: none"> ○ 動物実験において、導入した同種又は他種の動物細胞で補われた膵臓が形成^{10,12)}されるなど、動物性集合胚を用いたヒト膵臓作成の基礎となる技術（胚盤胞補完法）について、基礎研究が蓄積されてきた。 ○ 動物性集合胚には、①生体内における発生プロセスを通じてヒトの膵臓全体を形成できる可能性があること、②膵臓を欠損した動物（ブタ等）を作成できるのであれば、その後の技術的取扱いには比較的容易であること等の優位性がある。 ○ 一方で、血管系を全てヒト型に置き換えることは困難と考えられるなど、ヒトへの移植には大きな課題がある。 ○ なお、膵臓全体ではなく、細胞レベル（膵島）であれば、血管系は不要であり課題は比較的小さい。 ○ 動物性集合胚によれば、当該細胞を大量に取得できる可能性がある。一方で、多能性幹細胞や組織幹細胞からの分化誘導技術の進展により、当該細胞の効率的な培養も期待できる。

4. 動物性集合胚以外の手法で、上記目的の達成や知見の獲得はできないのか？ ⑥

〈臓器等別の分析〉

臓器等の種類	その他の方法（例）	動物性集合胚の優劣
腎臓	<ul style="list-style-type: none"> ○ マウスの腎臓原基とヒト iPS 細胞から作成した中胚葉を混合して培養する研究（効率よく腎細胞を作成することに成功）³³⁾。 ○ ヒト多能性幹細胞から分化誘導した腎臓前駆細胞とマウス胎子の組織を共培養する研究（立体的な腎臓組織の構築に成功）³⁴⁾。 ○ ラット胎子へ移植して作成したヒト間葉系幹細胞由来の腎臓原基を、さらに成獣ラットの大網（Omentum）へ移植することで、幼若な腎臓を作成する研究²⁵⁾。 ○ 動物臓器から作成した、臓器の足場にヒトの細胞を充填することで、新たに臓器を作成する研究（腎臓）^{36,37)}。 ○ ブタの腎臓等の移植に際しての免疫拒絶反応の制御に関する研究。 	<ul style="list-style-type: none"> ○ マウスを用いた動物実験において、他のマウスの細胞で補われた腎臓が形成される¹¹⁾など、動物性集合胚を用いたヒト腎臓作成の基礎となる技術（胚盤胞補完法）について、基礎研究が実施されている。 ○ 動物性集合胚には、①生体内における発生プロセスを通じてヒトの腎臓全体を形成できる可能性があること、②腎臓を欠損した動物（ブタ等）を作成できるのであれば、その後の技術的取扱いには比較的容易であること等の優位性がある。 ○ 一方で、血管系を全てヒト型に置き換えることは困難と考えられるなど、血管系が特に密に造成した腎臓のヒトへの移植には、極めて大きな課題がある。
心臓	<ul style="list-style-type: none"> ○ 人工心臓が臨床応用。 ○ 動物臓器から作成した、臓器の足場にヒトの細胞を充填することで、新たに臓器を作成する研究（心臓）³⁵⁾。 ○ 患者の骨格筋芽細胞を体外でシート状に培養し患部に貼付ける医療が実用化。 ○ ブタ等の心臓弁のヒトへの移植が実用化。 ○ バイオ 3D プリンタや細胞シート積層技術等の立体造形技術を用い、iPS 細胞等から骨・血管・心臓などの立体組織・臓器を製造する研究⁴²⁾。 	<ul style="list-style-type: none"> ○ 動物性集合胚には、①生体内における発生プロセスを通じてヒトの心臓全体を形成できる可能性があること、②心臓を欠損した動物（ブタ等）を作成できるのであれば、その後の技術的取扱いには比較的容易であること等の優位性がある。 ○ 一方で、血管系を全てヒト型に置き換えることは困難と考えられるなど、血管系が密に造成した心臓のヒトへの移植には大きな課題がある。 ○ 現状においては、血管系を含めた心臓そのものの構築よりも、細胞シートや補助人工心臓等により、心臓の機能を補完・代替していく方法が現実的であり、優位性が高い。
肺	<ul style="list-style-type: none"> ○ 動物臓器から作成した、臓器の足場にヒトの細胞を充填することで、新たに臓器を作成する研究（肺）^{40,41)}。 ○ ブタの肺等の移植に際しての免疫拒絶反応の制御に関する研究。 	<ul style="list-style-type: none"> ○ 動物性集合胚には、①生体内における発生プロセスを通じてヒトの肺全体を形成できる可能性があること、②肺を欠損した動物（ブタ等）を作成できるのであれば、技術的には比較的容易であること等の優位性がある。 ○ 一方で、血管系を全てヒト型に置き換えることは困難と考えられるなど、ヒトへの移植には大きな課題がある。 ○ 複雑な構造の肺を、血管系を含めてそのまま構築することは極めて困難であることを踏まえれば、細胞シート等により、肺の機能を補完・代替していく方法が現実的であり、優位性が高い。
消化管	<ul style="list-style-type: none"> ○ ヒト多能性幹細胞を分化誘導し、小腸上皮細胞を作成する研究⁴³⁾。 ○ ヒト多能性幹細胞を分化誘導し、小腸オルガノイドを作成し、移植する研究（マウスに移植し、機能することを確認）⁴⁴⁾。 ○ 大腸内視鏡生検検体から、腸管上皮幹細胞を分離し、オルガノイド形成により培養、増幅する研究⁴⁵⁾。 	<ul style="list-style-type: none"> ○ 動物性集合胚には、①生体内における発生プロセスを通じてヒトの消化管全体を形成できる可能性があること、②消化管を欠損した動物（ブタ等）を作成できるのであれば、その後の技術的取扱いには比較的容易であること等の優位性がある。 ○ 一方で、血管系を全てヒト型に置き換えることは困難と考えられるなど、消化管のヒトへの移植には、大きな課題がある。

4. 動物性集合胚以外の手法で、上記目的の達成や知見の獲得はできないのか？ ⑦

〈臓器等別の分析〉

臓器等の種類		その他の方法（例）	動物性集合胚の優劣	
神経系	脳	○ 多能性幹細胞由来の神経幹細胞をパーキンソン病モデル動物へ移植し、治療法を開発する研究 ⁴⁶⁾ 。	○ ヒトの神経系の諸器官を動物性集合胚を通じて動物の体内で形成し、ヒトに移植することは、安全面においても、倫理的・社会的な面においても問題が大きい。 ○ 一方で、多能性幹細胞の体外における分化誘導技術等については、さらなる進展が見込まれるところであり、分化細胞の移植等によって特定の疾患からの機能回復が期待できる。	
	脊髄	○ 多能性幹細胞由来の神経幹細胞を脊髄損傷モデル動物へ移植し、治療法を開発する研究 ^{14,15)} 。		
	感覚器	視覚		○ 多能性幹細胞由来の立体網膜の構築 ^{27,28)} や視神経細胞（網膜神経節細胞） ⁴⁸⁾ を用いた治療法開発を目指した研究
		聴覚		○ 多能性幹細胞由来の内耳細胞の分化誘導法の開発 ⁴⁸⁾ や難聴モデル動物への神経幹細胞移植 ⁴⁹⁾ による治療法開発を目指した研究。
		嗅覚		○
骨	○ バイオ 3D プリンタや細胞シート積層技術等の立体造形技術を用い、iPS 細胞等から骨・血管・心臓などの立体組織・臓器を製造する研究 ⁴²⁾ 。 ○ ヒト iPS 細胞を体外で培養して作成した軟骨組織を、疾患モデル動物（ブタやラット）へ移植する研究 ⁵⁰⁾ 。	○ 左記の組織等を動物性集合胚を通じて作成するには、これを欠損する動物の開発や、ヒト型への置き換え等が課題。 ○ 一方で、多能性幹細胞等の体外における分化誘導技術については、さらなる進展が見込まれるところであり、軟骨のような比較的単純な組織を始め、今後さまざまな組織等の作成が期待できる。また、細胞以外の素材を用いた人工器官等の開発も期待できる。		
筋肉	○ 多能性幹細胞由来の骨格筋幹細胞を用いた筋ジストロフィーの細胞移植治療法の開発を目的とする研究 ^{51,52)} 。			
皮膚	○ 患者の皮膚細胞を体外でシート状に培養し、患部に貼り付ける医療が実用化。			
血管	○ バイオ 3D プリンタや細胞シート積層技術等の立体造形技術を用い、iPS 細胞等から骨・血管・心臓などの立体組織・臓器を製造する研究 ⁴²⁾ 。			
血液	○ ヒト iPS 細胞から作成した造血幹細胞を免疫不全ブタ等の胎仔へ移植し、動物体内でヒト血液細胞を作成する研究 ²⁶⁾ 。			

※動物性集合胚による臓器作成は再生医学的手法であるため、「その他の方法」については再生医学関連のものを中心に挙げた。当然ながら、当該臓器等に係る疾患については、再生医学関連以外でも新たな医薬品・医療機器、治療法等の開発が進められており、その成果が期待される。

5. 動物性集合胚の作成に用いる動物や、動物性集合胚により作成する臓器等の種類についてどう考えるか？制限を設けるべきか？

作成目的	多能性幹細胞の分化能の検証	非臨床用モデル動物の作成	臨床用ヒト臓器の作成
<p>ホストとして用いる動物の例* (特に霊長類を用いる必要性)</p>	<p>[げっ歯類] ○ 実験動物として取り扱いやすい。 ○ 一方で、ヒトと在胎日数が大きく異なるため、ヒト細胞の分化能を十分に検証できないおそれがある。</p> <p>[ブタ] ○ げっ歯類に比べ、実験動物として取り扱にくい。 ○ ヒトと在胎日数や臓器の大きさが近いこと、卵子を比較的容易に集められること、ヒトに対する免疫原性が低いこと等のメリットがある。</p> <p>[霊長類] ○ げっ歯類やブタに比べ、実験動物として取り扱にくく、卵子も集めにくい。 ○ 一方で、系統的にヒトと近縁であるため、ヒトに近い発生過程において分化能を評価できる等のメリットがある。</p>	<p>[げっ歯類] ○ 実験動物として取り扱いやすい。</p> <p>[ブタ] ○ げっ歯類に比べ、実験動物として取り扱にくい。 ○ ヒトと在胎日数や臓器の大きさが近いこと、卵子を比較的容易に集められること、ヒトに対する免疫原性が低いこと等のメリットがある。 ○ 高脂血症など、疾患によっては、よりヒトに近い症状を示すことも考えられる。</p> <p>[霊長類] ○ げっ歯類やブタに比べ、実験動物として取り扱にくく、卵子も集めにくい。 ○ 小児発達の初期段階における疾患など、疾患によっては、よりヒトに近い症状を示すことも考えられる。</p>	<p>[げっ歯類] ○ ヒトへの移植を考えるならば、臓器の大きさ、在胎日数の違い等の問題から不適。</p> <p>[ブタ] ○ ヒトと在胎日数や臓器の大きさが近いこと、卵子を比較的容易に集められること、ヒトに対する免疫原性が低いこと等のメリットがある。</p> <p>[霊長類] ○ 実験動物として取り扱われている種（アカゲザル、カニクイザル、マーモセット等）について、ヒトへの移植を考えるならば、臓器が小さいこと等の問題から不適。</p>
<p>目的とする臓器・細胞・疾患等 (特に脳神経細胞、生殖細胞を対象とする必要性)</p>	<p>○ 多能性を検証するためには、脳神経細胞や生殖細胞を含めて、ヒトのあらゆる細胞に分化するか否か、機能するか否かを評価する必要がある。 ○ ヒトの生殖細胞等の出現や、その動態を発生段階ごとに解析することは、科学的に重要。</p>	<p>○ 特に難治性の疾患について、モデル動物の必要性が高い。 ○ 生殖細胞については、始原生殖細胞を体外で作成可能であること等から、動物性集合胚を通じて作成する必要はない。 ○ 脳神経細胞については、周囲の多くの細胞等との相互関係中で分化、移動するものであり、生体内において当該細胞が機能するモデル動物が必要。</p>	<p>○ 特にドナーが不足している臓器（例えば肝臓、腎臓等）について作成の必要性が高い。 ○ 脳神経細胞や生殖細胞については、移植医療を考えると、動物性集合胚など動物を通じて作成する方法以外によることが、安全面のほか、倫理的、社会的にも妥当。</p>

※上記以外にも、疾患によってはより人に近い症状を示す動物（例えば、筋ジストロフィーに近い症状を示すイヌ）が存在するなど、ホストとして用いることが考えられる動物は他にもある。

6. 目的とする臓器等以外への分化制御技術の精度は、どの程度あるか？

体外	分化制御技術	<ul style="list-style-type: none"> ○ 現在は、高い分化能を持つヒト多能性幹細胞の作成¹⁻³⁾や、当該幹細胞を様々な目的細胞に分化誘導することを目指した研究が進められている段階^{14,18,29-31,40,46,47,53-63)}。当該幹細胞の目的細胞以外への分化状況の解析など、分化制御技術に関する研究は、十分に行われていない。 ○ 様々な臓器の形成に寄与するほど高い分化能を持つ細胞は、脳神経細胞や生殖細胞を含め目的外の細胞等に分化しないよう制御することも困難となる。 ○ 細胞の導入時期が発生の初期であるほど、当該細胞が全身に分布する可能性が高くなる。 ○ 脳神経細胞や生殖細胞など目的外の細胞等に分化した場合には、当該細胞等が消滅するような仕掛け（例えば、自殺遺伝子の導入など）も可能と考えられる。
	検証技術	<ul style="list-style-type: none"> ○ 目的とする細胞等が作成されたか否かは、その細胞で特徴的に発現する遺伝子の状態を調べることで確認することが可能。 ○ 例えば、肝臓については代謝産物の解析、膵臓（β細胞）についてはグルコース応答性など、機能面で確認することが可能。
体内	分化制御技術	<ul style="list-style-type: none"> ○ 生体内における分化制御は、体外培養時よりもさらに困難となる。 ○ 体外で神経幹細胞まで分化させたものを疾患モデル動物へ移植した例¹⁴⁾や、マウスの体内にヒト iPS 細胞を移植し造血幹細胞を作成した例⁶⁴⁾があるが、目的外細胞への分化状況は調べられていない。 ○ ヒト ES 細胞由来オリゴデンドロサイトの体内分布解析試験で、移植部位以外への分布がないことが確認されている⁶⁵⁾。 ○ 臓器欠損動物の胚へ正常な動物の多能性幹細胞を導入して動物キメラ個体を作成する方法（胚盤胞補充法）により、導入した細胞が欠損した臓器を補充したが、他の組織への分布も見られた^{6,12)} ○ マウスの系で胚盤胞補充法と内胚葉系への分化決定因子の導入を組み合わせることにより、内胚葉以外への分化制御の向上が確認された⁶⁶⁾。 ○ 脳神経細胞や生殖細胞など目的外の細胞等に分化した場合には、当該細胞等が消滅するような仕掛け（例えば、自殺遺伝子の導入など）も可能と考えられる。 ○ 細胞の自殺遺伝子（HSV-tk 遺伝子）を細胞に遺伝子導入する方法を利用した、がんに対する遺伝子治療臨床研究が行われている。 ○ 細胞の自殺遺伝子（Caspase-9）を導入した iPS 細胞由来 T 細胞がマウス体内において薬剤で制御されることを確認⁶⁷⁾。
	検証技術	<ul style="list-style-type: none"> ○ 目的とする細胞等が作成されたか否かは、その細胞で特徴的に発現する遺伝子の状態を調べることで確認することが可能。 ○ 例えば肝臓については代謝産物の解析、膵臓（β細胞）についてはグルコース応答性など、機能面で確認することが可能。 ○ 導入した細胞の分布状況は、導入する細胞に蛍光タンパク質等を発現させる等の目印を付与することで、生体内においても把握することが可能。 ○ 外見に関わる変化については、胎仔期においても観察することが可能。 ○ 胎仔期においても、生殖細胞への分化状況は検証可能。ただし、胎仔の段階ではまだ分化（成熟）し切っていないため、（子孫を生むという意味で）機能するかどうかを検証することは不可能。 ○ 導入したヒト細胞からヒトの思考が生み出されたのかどうか、検証することは不可能。

※目的とする臓器等以外への分化を、どの程度まで容認し得るのか（どの程度までなら「交雑個体」ではないと考えられるのか）については、倫理的、法的、社会的な視点を含めて別途検討。

7. 動物性集合胚を用いる研究を行う場合、ヒトや動物の安全確保等をどのように図るか？

移植先の動物	○ 動物性集合胚の移植先の動物（母体）への影響は、異種動物間のキメラ胚など、他の胚の移植と変わらないと考えられる。このため、現行の動物実験に関する法令・基準等に適切に従うことが必要。
産生された個体	○ 動物性集合胚由来の個体であっても、当該個体の安全面については、動物間のキメラ個体と変わらないと考えられる。このため、現行の動物実験に関する法令・基準等に加え、家畜伝染病予防法に適切に従うことが必要。
実験者等	○ 異種動物に由来する感染症の発生可能性があるなど、実験者及び周辺環境の安全等に影響を及ぼすことが考えられる。このため、感染症予防法、など関係する法令・基準等に基づき、適切に安全管理を行うことが必要。

※医療利用の際の患者の安全確保については、再生医療等安全性確保法又は医薬品医療機器等法による検討が必要。

※意図しない個体が産生された場合の対応については、倫理的、法的、社会的な視点を含めて別途検討が必要。

参考文献

1. ヒトES細胞のマウス胚盤胞への寄与 : James D, *et al.* Contribution of human embryonic stem cells to mouse blastocysts. *Dev Biol.* 295: 90-102 (2006).
2. 新規ヒト基底状態ナープ多能性幹細胞の樹立 : Gafni O, *et al.* Derivation of novel human ground state naive pluripotent stem cells. *Nature.* 504: 282-6 (2013).
3. ヒト基底状態多能性幹細胞へ向け転写因子制御ネットワークをリセットする : Takashima Y, *et al.* Resetting transcription factor control circuitry toward ground-state pluripotency in human. *Cell.* 158: 1254-69 (2014).
4. ヒト多能性幹細胞のキメラ形成能のための異種間 *in vitro* アッセイ : Masaki H, *et al.* Interspecific *in vitro* assay for the chimera-forming ability of human pluripotent stem cells. *Development.* 142: 3222-30 (2015).
5. キメラアカゲザルの作製 : Tachibana M, *et al.* Generation of chimeric rhesus monkeys. *Cell.* 148: 285-95 (2012).
6. 異種ヌードマウスラットESキメラによるラットES細胞からの胸腺の形成 : Isotani A, *et al.* Formation of a thymus from rat ES cells in xenogeneic nude mouse ↔ rat ES chimeras. *Genes Cells.* 16: 397-405 (2011).
7. ヒツジヤギ異種間キメラ : Fehilly, CB., Willadsen, SM. & Tucker, EM. Interspecific chimaerism between sheep and goat. *Nature.* 307: 634-6 (1984).
8. 実験的キメラ-ヒツジとヤギ間の生殖バリアの除去 : Meinecke-Tillmann, S. & Meinecke, B. Experimental chimaeras--removal of reproductive barrier between sheep and goat. *Nature.* 307: 637-8(1984).
9. 霊長類ES細胞とマウス胚の異種間キメラ : サルES細胞はマウス胚に生着したが、着床後胎仔には生着しなかった Simeriy C, *et al.* Interspecies chimera between primate embryonic stem cells and mouse embryos: monkey ESCs engraft into mouse embryos, but not post-implantation fetuses. *Stem Cell Res.* 7: 28-40(2011).
10. 胚盤胞補完を利用したすい臓欠損ブタ内における外来性細胞由来すい臓の作製 : Matsunari, H. *et al.* Blastocyst complementation generates exogenic pancreas in vivo in apancreatic cloned pigs. *Proc Natl Acad Sci USA.* 110: 4557-62 (2013).
11. 胚盤胞補完法による多能性幹細胞からの腎臓の作製 : Usui, J. *et al.* Generation of kidney from pluripotent stem cells via blastocyst complementation (. *Am J Pathol.* 180: 2417-26 (2012).
12. 多能性幹細胞の異種間の胚盤胞注入によりマウス生体内にラット膵臓を作製する : Kobayashi T. *et al.* Generation of rat pancreas in mouse by interspecific blastocyst injection of pluripotent stem cells (. *Cell.*142: 787-99(2010).
13. 新規多能性によってもたらされた異種間キメラ形成能 : Wu J, *et al.* An alternative pluripotent state confers interspecies chimaeric competency (*Nature.* (2015).
14. 安全性評価されたヒトiPS細胞由来神経幹細胞は腫瘍形成無くマーマセットの脊髄損傷の機能的な回復を促進する : Kobayashi, Y. *et al.* Pre-evaluated safe human iPSC-derived neural stem cells promote functional recovery after spinal cord injury in common marmoset without tumorigenicity (. *PLoS One.* 7: e52787(2012).
15. *In vitro* で拡大培養された胎児神経前駆細胞の移植による脊髄損傷成獣ラットの神経新生と回復 : Ogawa, Y. *et al.* Transplantation of *in vitro*-expanded fetal neural progenitor cells results in neurogenesis and functional recovery after spinal cord contusion injury in adult rats. *J Neurosci Res.* 69: 925-33(2002).
16. *Gata4*, *Mef2c*, *Tbx5* 遺伝子の導入による梗塞を起こした心臓における心筋様細胞の誘導 : Inagawa K, *et al.* Induction of cardiomyocyte-like cells in infarct hearts by gene transfer of *Gata4*, *Mef2c*, and *Tbx5*. *Circ Res.* 111: 1147-56 (2012).
17. 多能性幹細胞から作製された特定の心血管集団を再構成した細胞シートは、心筋による血管新生を通じて梗塞を起こした心臓の機能の減少を改善する : Masumoto H, *et al.* Pluripotent stem cell-engineered cell sheets reassembled with defined cardiovascular populations ameliorate reduction in infarct heart function through cardiomyocyte-mediated neovascularization. *Stem Cells.* 30: 1196-205 (2012).
18. ヒトiPS細胞由来心筋シートのブタ虚血性心筋症モデルにおける実行可能性、安全性、治療効果 : Kawamura M, *et al.* Feasibility, safety, and therapeutic efficacy of human induced pluripotent stem cell-derived cardiomyocyte sheets in a porcine ischemic cardiomyopathy model. *Circulation.* 126: S29-37(2012).
19. 霊長類パーキンソン病モデルにおけるヒトiPS細胞由来中脳ドーパミン作動性ニューロンの生存 : Kikuchi T, *et al.* Survival of human induced pluripotent stem cell-derived midbrain dopaminergic neurons in the brain of a primate model of Parkinson's disease. *J Parkinsons Dis.* 1: 395-412 (2011).
20. MPTP 誘導パーキンソン病モデルにおける Caspase-11 を介した炎症性のドーパミン細胞死 : Furuya T, *et al.* Caspase-11 mediates inflammatory dopaminergic cell death in the 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine mouse model of Parkinson's disease. *J Neurosci.* 24: 1865-72 (2004).
21. 国立遺伝学研究所 疾患モデル動物データベース関連サイト集 : <http://www.shigen.nig.ac.jp/animal/diseaseInformation.html>

22. TK-NOG マウスに再構築された“ヒト化肝臓”は成熟しており機能性を有する: Hasegawa, M. *et al.* The reconstituted 'humanized liver' in TK-NOG mice is mature and functional. *Biochem Biophys Res Commun.* 405: 405-10 (2011).
23. 独立行政法人科学技術振興機構 (JST) 再生医療研究推進部 再生医療実現拠点ネットワークプログラム 疾患特異的 iPS 細胞を活用した難病研究 : http://www.jst.go.jp/saisei-nw/kadai_04.html
24. ブタ子宮内移植されたヒト肝細胞は出生後のヒト肝細胞の生着を許容する : Fisher, JE. *et al.* In utero transplanted human hepatocytes allow postnatal engraftment of human hepatocytes in pigs. *Liver Transpl.* 19: 328-35 (2013).
25. げっ歯類胎子を用いたヒト間葉系幹細胞からの腎臓形成 : Yokoo, T. *et al.* Xenobiotic kidney organogenesis from human mesenchymal stem cells using a growing rodent embryo. *J Am Soc Nephrol.* 17:1026-34 (2006).
26. 独立行政法人科学技術振興機構 (JST) 再生医療研究推進部 再生医療実現拠点ネットワークプログラム 技術開発個別課題 : http://www.jst.go.jp/saisei-nw/kadai_06.html
27. ヒト ES 細胞からの眼杯および保存可能な多層網膜組織の自己組織化 : Nakano T, *et al.* Self-formation of optic cups and storable stratified neural retina from human ESCs. *Cell Stem Cell.* 10: 771-85 (2012).
28. 自己組織化ヒト網膜組織からの毛様体縁幹細胞ニッチの作製 : Kuwahara A, *et al.* Generation of a ciliary margin-like stem cell niche from self-organizing human retinal tissue. *Nature Commun.* 6: 6286.(2015).
29. *In vitro* での組織化再現によるヒト肝オルガノイドの自己組織化 Takebe T, *et al.* Self-organization of human hepatic organoid by recapitulating organogenesis *in vitro*. *Transplant Proc.* 44:1018-20 (2012).
30. iPS 細胞由来器官原器移植体からの血管構造と機能を持つヒト肝臓 : Takebe T, *et al.* Vascularized and functional human liver from an iPSC-derived organ bud transplant. *Nature.* 499: 481-4 (2013).
31. iPS 細胞由来器官原器移植体からの血管構造と機能を持つヒト肝臓の作製 : Takebe T, *et al.* Generation of a vascularized and functional human liver from an iPSC-derived organ bud transplant. *Nat Protoc.* 9: 396-409 (2013).
32. 2 型糖尿病治療のための新規異種移植原理の開発 : Hammerman MR. Development of a novel xenotransplantation strategy for treatment of diabetes mellitus in rat hosts and translation to non-human primates. *Organogenesis.* 8: 41-8 (2012).
33. ヒト多能性幹細胞からの腎前中間胚葉の誘導 : Mae S, *et al.* Monitoring and robust induction of nephrogenic intermediate mesoderm from human pluripotent stem cells. *Nat Commun.* 4: 1367(2013).
34. 後腎ネフロン前腎細胞の起原の再定義は多能性幹細胞から腎臓の複合構造の作製を可能にする : Taguchi A, *et al.* Redefining the *in vivo* origin of metanephric nephron progenitors enables generation of complex kidney structures from pluripotent stem cells. *Cell Stem Cell.* 14: 53-67(2014).
35. 灌流脱細胞化基質:自然のプラットフォームを用いてバイオ人工心臓を設計する: Ott HC, *et al.* Perfusion-decellularized matrix: using nature's platform to engineer a bioartificial heart. *Nat Med.* 14: 213-21(2008).
36. 腎スキャフォールドに播種した ES 細胞の増殖と分化 : Ross EA, *et al.* Embryonic stem cells proliferate and differentiate when seeded into kidney scaffolds. *J Am Soc Nephrol.* 20: 2338-47 (2009).
37. 腎臓バイオエンジニアリング解明のプラットフォームとしてのブタ腎細胞外基質スキャフォールドの作製と埋め込み : Orlando G, *et al.* Production and implantation of renal extracellular matrix scaffolds from porcine kidneys as a platform for renal bioengineering investigations. *Ann Surg.* 256: 363-70(2012).
38. 再生医療的アプローチによる肝臓移植用ヒト器官バイオエンジニアリング : Yagi H, *et al.* Human-scale whole-organ bioengineering for liver transplantation: a regenerative medicine approach. *Cell Transplant.* 22, 231-42 (2013).
39. 脱細胞化肝臓マトリックスを用いた移植可能な再細胞化肝臓片の作製による臓器再構築 : Uygun BE, *et al.* Organ reengineering through development of a transplantable recellularized liver graft using decellularized liver matrix. *Nat Med.* 16: 814-20 (2010).
40. ヒト iPS 細胞由来肺胞上皮細胞を肺細胞外マトリックスへ再配置する : Ghaedi M, *et al.* Human iPS cell-derived alveolar epithelium repopulates lung extracellular matrix. *J Clin Invest.* 123: 4950-62 (2013).
41. バイオ人工肺の再建と同位移植 : Ott HC, *et al.* Regeneration and orthotopic transplantation of a bioartificial lung. *Nat Med.* 16: 927-33 (2010).
42. 独立行政法人新エネルギー・産業技術総合開発機構 (NEDO) iPS 細胞等を用いた立体組織・臓器の開発に着手(http://www.nedo.go.jp/news/press/AA5_100328.html) ニュースリリース 2014 年 11 月 7 日
43. Wnt シグナルと Notch シグナルが小腸上皮細胞への分化を導く : Ogaki S, *et al.* Wnt and Notch signals guide embryonic stem cell differentiation into the intestinal lineages. *Stem Cells.* 31: 1086-1096 (2013).
44. 多能性幹細胞を用いたヒト小腸の *in vivo* モデル : Carey LW, *et al.* An *in vivo* model of human small intestine using pluripotent stem cells. *Nat Med.* 20: 1310-1314 (2014).
45. ヒト腸管上皮, 大腸癌, バレット上皮からのオルガノイド培養の確立 : Sato T, *et al.* Long-term Expansion of Epithelial Organoids From Human Colon, Adenoma, Adenocarcinoma, and Barrett's Epithelium. *Gastroenterol.* 141: 1762-1772 (2011).
46. 培養期間を延長して成熟させたヒト ES 細胞由来神経細胞は霊長類パーキンソン病モデルにおいて腫瘍を形成せずドーパミン神経として機能する : Doi D, *et al.* Prolonged maturation culture favors a reduction in the tumorigenicity and the dopaminergic function of human ESC-derived neural cells in a primate model of Parkinson's disease. *Stem Cells.* 30: 935-45 (2012).

47. ヒト多能性幹細胞から機能的な軸索突起を有する網膜神経節細胞の作製 : Tanaka T, *et al.* Generation of retinal ganglion cells with functional axons from human induced pluripotent stem cells. *Sci Rep.* 5: 8344 (2015).
48. ES 細胞、iPS 細胞からの機械的刺激反応を示す内耳有毛細胞 : Oshima K, *et al.* Mechanosensitive hair cell-like cells from embryonic and induced pluripotent stem cells. *Cell.* 141(4): 704-716 (2010).
49. ヒト ES 細胞由来耳前脳神経細胞による聴覚誘発反応の回復 : Chen W, *et al.* Restoration of auditory evoked responses by human ES-cell-derived otic progenitors. *Nature.* 490(7419):278-82 (2012).
50. ヒト iPS 細胞から硝子軟骨の作製 : Yamashita K, *et al.* Generation of scaffoldless hyaline cartilaginous tissue from human iPSCs. *Stem Cell Reports.* 4 (2015)
51. iPS 細胞由来の沿軸中胚葉前脳神経細胞の *in vitro* モデリング Sakurai H, *et al.* *In vitro* modeling of paraxial mesodermal progenitors derived from induced pluripotent stem cells. *PLoS ONE.* 7: e47078 (2012).
52. マウス iPS 細胞からの骨格筋幹細胞の作製 : Mizuno, Y. *et al.* Generation of skeletal muscle stem/progenitor cells from murine induced pluripotent stem cells. *FASEB J.* 24:2245-53 (2010).
53. ヒト iPS 細胞からの血管細胞の誘導と単離-短報:Taura, D. *et al.* Induction and isolation of vascular cells from human induced pluripotent stem cells—brief report. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 29: 1100-3 (2009).
54. ヒト ES 細胞からの造血系の発生における SOX17 の役割 Nakajima-Takagi, Y. *et al.* Role of SOX17 in hematopoietic development from human embryonic stem cells. *Blood.* 121: 447-58 (2013).
55. *c-MYC*, *BCL-XL* による赤芽球の不死化はヒト多能性幹細胞から赤血球の大量産生を可能にする : Hirose S, *et al.* Immortalization of erythroblasts by *c-MYC* and *BCL-XL* enables large-scale erythrocyte production from human pluripotent stem cells. *Stem Cell Reports.* 1: 499-508 (2013).
56. 複製可能な巨核球細胞株はヒト iPS 細胞から臨床利用可能な血小板の作製を可能にする : Nakamura S, *et al.* Expandable megakaryocyte cell lines enable clinically applicable generation of platelets from human induced pluripotent stem cells. *Cell Stem Cell.* 14: 535-48 (2014).
57. ヒト ES 細胞およびヒト iPS 細胞のステロイド産生細胞への分化 : Sonoyama T, *et al.* Differentiation of human embryonic stem cells and human induced pluripotent stem cells into steroid-producing cells. *Endocrinology.* 153: 4336-45 (2012).
58. ヒト ES 細胞および iPS 細胞由来骨格筋芽細胞はジストロフィンを修復し、ジストロフィーマウスの筋収縮性を改善する : Darabi R, *et al.* Human ES- and iPS-derived myogenic progenitors restore DYSTROPHIN and improve contractility upon transplantation in dystrophic mice. *Cell Stem Cell.* 10: 610-9 (2012).
59. ヒト ES 細胞の胚様体形成ステップ無しの培養は *in vitro* の骨形成を促進する : Karp JM, *et al.* Cultivation of human embryonic stem cells without the embryoid body step enhances osteogenesis *in vitro.* *Stem Cells.* 24: 835-43 (2006).
60. ハイドロゲル中の機械的圧縮への成体及び胎生間葉系前駆細胞の分化応答 : Terraciano V, *et al.* Differential response of adult and embryonic mesenchymal progenitor cells to mechanical compression in hydrogels. *Stem Cells.* 25: 2730-8 (2007).
61. 後期間葉系前駆細胞のレギュレーター VMAT2 の同定 : Sakano D, *et al.* VMAT2 identified as a regulator of late-stage mesenchymal progenitor cells. *Chem Biol.* 10: 141-8 (2014).
62. *In vitro* でのヒト多能性幹細胞の小腸組織へのダイレクト分化 : Spence JR, *et al.* Directed differentiation of human pluripotent stem cells into intestinal tissue *in vitro.* *Nature.* 470: 105-9 (2011).
63. 人の脳の発達と小頭症の大脳オルガノイドモデル : Lancaster MA, *et al.* Cerebral organoids model human brain development and microcephaly. *Nature.* 501: 373-9 (2013).
64. テラトーマ形成による iPS 細胞からの生着可能な造血幹細胞の作製 : Suzuki K, *et al.* Generation of engraftable hematopoietic stem cells from induced pluripotent stem cells by way of teratoma formation. *Mol Ther.* 21, 1424-31(2013).
65. 脊髄損傷の臨床試験をサポートするヒト ES 細胞由来オリゴデンドロサイト前駆細胞の前臨床安全性 : Priest CA, *et al.* Preclinical safety of human embryonic stem cell-derived oligodendrocyte progenitors supporting clinical trials in spinal cord injury. *Regen Med.* 10: 939-58 (2015).
66. 胚盤胞補充に *Mixl1* 誘導マウス多能性幹細胞を用いた標的器官の作製 : Kobayashi *et al.* Targeted organ generation using *Mixl1*-inducible mouse pluripotent stem cells in blastocyst complementation. *Stem Cells and Development.* 24: 182-9 (2014).
67. iPS 細胞由来の若返り T 細胞治療のための安全制御機構 : Ando M, *et al.* A Safeguard System for Induced Pluripotent Stem Cell-Derived Rejuvenated T Cell Therapy. *Stem Cell Reports.* 5: 597-608 (2015).