

第26章 脂肪幹細胞を用いた研究

三森朋行*1、岩畔英樹*2

1 はじめに

脂肪組織に幹細胞が存在する事が明らかになってから約13年の月日が経つ。再生医学そして再生医療の発展と期待の波を受けて、細胞治療の一つの選択肢として、脂肪幹細胞を用いた基礎から臨床までの試行錯誤が様々な疾患や損傷に対して行われ始めている。本章においては脂肪組織に由来する幹細胞、特に脂肪幹細胞を含む多様な細胞集団を用いた臨床応用への背景、基礎的な知見そして最新の臨床応用への試みについて述べる。

2 脂肪幹細胞の特徴

脂肪幹細胞とは殆ど全ての場合において、脂肪組織の中から抽出された後に培養プレート上で観察される間葉系幹細胞の事を指す。この存在はカンフォルニア大学ロサンゼルス校の研究グループによる2001年と2002年の一連の発表により証明された^{1),2)}。骨、軟骨そして脂肪などのいわゆる間葉系組織内に存在し、これら間葉系細胞への選択的な分化能力を有する幹細胞を間葉系幹細胞と呼ぶ。この間葉系幹細胞は脂肪組織の間質に存在し、脂肪細胞の間を走行する血管周囲に位置すると考えられている³⁾。脂肪組織由来間葉系幹細胞は骨髄中に存在する間葉系幹細胞と類似した分子生物学的な性質を備えている⁴⁾。今でこそ成人の様々な臓器に幹細胞が存在する事が明らかにされ、これら体性幹細胞の多様な臨床応用が考えられているが、一昔前までは、骨髄内の造血幹細胞などを除いて、成人の身体に幹細胞は殆ど存在しないと考えられてきた。脂肪の中に幹細胞が存在する事自体も驚きをもって受け止められたが、その内在的役割は何であろうか。脂肪組織は物理的に柔軟な組織で、体重の増減に合わせてその組織重量を変化させる。脂肪細胞は自身の体積を拡大縮小する事で体積変化に対応する事は良く知られているが、この他に細胞数を伴う調節もすると考えられている⁵⁾。細胞増殖のソースとして脂肪組織に存在する幹細胞が候補の一つとして考えられるが、その他に、脂肪幹細胞は新たに拡張された脂肪組織に血管組織を供給する役目を果たしていると考えられている。再生医療の視点で重要と考えられるのは、これら細胞が低酸素状態において幹細胞としての能力をより発揮または維持すると考えられている事で⁶⁾、損傷などによる虚血状態における幹細胞の役割の解明はこの細胞の臨床応用に向けた更なる研究開発の一助となり、重要な研究課題である。

骨髄の間葉系幹細胞と類似している脂肪幹細胞だが、その後の研究により脂肪組織からより豊富な数の幹細胞が採取出来る事が明らかになった。例えば、30代の成人であれば骨髄穿刺により採取した骨髄液中に含まれる有

*1 Tomoyuki Mitsumori
サイトリ・セラピューティクス(株) サイエントフィックアフェアーズ アソシエイトマネージャー
*2 Hideki Iwaguro
サイトリ・セラピューティクス(株) 再生医療開発部 ディレクター

核細胞の約25万個に1個が間葉系幹細胞であるのに対して⁷⁾、皮下脂肪組織では約100個に1個が同様の細胞として観察され⁴⁾、その比率の差は約2500倍になる。更に、同等量のそれぞれの組織から間葉系幹細胞を採取した場合、その差は約10~100倍になる。

この事実は、現在、世界の再生医療に関わる臨床研究・試験において最も使われている間葉系幹細胞を得る細胞ソースとして、2つの点に於いて脂肪組織が優れている事を提示している。まず1点目は組織採取の簡便さである。脂肪組織の採取に最も標準的に用いられる方法は脂肪吸引術であり、米国などに於いては形成外科医の習得技術の一つとされ汎用的である。本邦に於いては主に美容外科領域のみにおいて実践されている技術であるが、きちんとしたトレーニングを受ければ習得する事は比較的容易である。また脂肪吸引は骨髄穿刺と比較してもより安全で簡便と考えられている。2点目は得られる間葉系幹細胞の細胞数の豊富さである。細胞の採取後、体外での培養による間葉系幹細胞の純化と増殖を行う際にスタートの幹細胞数が多い事は利点となる。これら細胞培養及び加工などにおいて高い品質管理と安全性の維持に欠かせないGMP (Good Manufacturing Practice) レベルの研究開発施設である細胞処理センター (Cell Processing Center、以下CPCと略す)は、近年、細胞治療を目的としている施設での設置が急増した。しかしながら、当初から懸念されていた①CPC施設運営に関わるコスト、②管理・運営を遂行していく為の人材の確保、③施設内で作業を行う人間への教育研修、④資材保管や清潔度維持の為の環境管理、⑤社会還元を目的とした円滑運営の為のインフラ整備、など解決整備しなければならない問題がまだ残っている。この様な状況のなか、平成21年8月に厚生労働省の再生医療における制度枠組みに関する検討会が開催され、細胞加工機関や共同再生医療チームについての要件、再生医療関連学会の役割などについて議論された「CPC実態調査」の結果も発表され「CPC稼働率の低さ」が浮き彫りになっている⁸⁾。その一方で、脂肪組織がもたらす高い幹細胞数は培養及び加工の工程を省いた細胞治療の可能性をも提示している。

3 非培養の脂肪組織由来細胞を用いた臨床応用の可能性

脂肪幹細胞の分離は比較的単純な工程である。皮下脂肪組織を脂肪吸引術などの方法で採取した後に、コラゲナーゼなどの酵素処理により細胞の分離を行う。その後、比重により上層を形成した脂肪細胞や線維を選択的に廃棄し、下層の間質細胞を主とする細胞群を回収する。酵素洗浄の為の洗浄を繰り返し、遠心分離により細胞群を集め、適当な溶液にて懸濁する。この細胞群の中に間葉系幹細胞が含まれ、培養による純化と増殖を経て均一な脂肪幹細胞を得る事が出来る。皮下脂肪組織から単離されてくる細胞群はStromal Vascular Fraction (SVF) と呼ばれ、主に血管内皮細胞、平滑筋細胞、組織マクロファージ、間葉系幹細胞などの間質細胞と、血球や血管内皮前駆細胞などの血液中の細胞が混入した多様な細胞群である⁹⁾。非培養で行う場合はこのSVFを直接投与する。SVFの分離工程は上記のごとく極めてシンプルではあるが、手作業で行うとなるとかなりの労力と時間を要する為、自動処理を行う機器が開発されてきた。

Celution® SystemはSVFの自動分離を行う装置として、自家移植用の細胞を分離する目的で開発された。採取した皮下脂肪は、①滅菌した単回使い捨ての閉鎖系回路内で、簡単なボタン操作のみで分離でき、②装置は移動可能で、臨床現場ではオペ室内で稼働する。即ち、脂肪採取、細胞分離、細胞移植の全てがオペ室内にて一連の工程として完結し、複雑な移植工程などを含まない場合は通常は半日で全てが終了できる(図1)。このCelution® Systemで分離されたSVFの有核細胞群を脂肪組織由来再生細胞 (Adipose Derived Regenerative Cells、以下ADRCsと略す)と名付け様々な疾患に対して臨床開発が行われている。基礎研究の結果から、ヒト組織では1グラム当たりの脂肪組織から平均約 3×10^5 個のADRCsの分離が可能で細胞生存率は85%以上を保ち¹⁰⁾、その細

胞構成と割合は表1の通りである。現在、一度で処理できる最大脂肪組織量が360 mLなので、最大約 1×10^8 個のADRCsの分離が期待できる(その内、間葉系幹細胞は約 1×10^6 個)。

非培養のADRCsは多様な細胞集団であり、培養を経て調整したより均一な間葉系幹細胞とは構成もまた性質も異なるので¹¹⁾、単純に比較する対照にはならないが、それぞれの利点について簡単に述べたい。ADRCsを用いる際の利点としては、採取後すぐに移植を行う事でCPCにかかる費用やマンパワーを省く事ができ、更に汚染や感染そして取り違えといったリスクも軽減する。また急性期の治療を行う事が可能である。更に調整は基本的に分離工程における最低限の操作で、培養及び加工を施していない分、余計な薬剤等を用いる必要が無く、自家移植における安全性のハードルは低いものと考えられる。反面、細胞の構成が多様で、更に構成の割合に個人差があるので、どの細胞がどれ程の効力を発揮しているかなどの作用機序の解明が容易ではない。一方で培養を介して調整した間葉系幹細胞は時間や労力はかかるが、品質の標準化が可能であり、安全性の検証や作用機序の解明がより容易で、治療プロトコルの標準化も確率しやすい。また、細胞投与前または投与後の細胞分化を誘導し組織の再生を促したい場合には均一な幹細胞集団の培養及び加工が有用である事は明白である。細胞治療自体が開発段階の時期にあるが、対象とする疾患や用途によって用いる細胞の特性の利点も変わるので、それぞれの利点を生かした適応疾患や方法の選択が必要である。

表1 Celution® System を用いて分離したADRCsの細胞構成の平均値

細胞の種類	CD34	CD31	CD146	CD45	割合
内皮細胞	+	+	+	-	7%
平滑筋/周皮細胞	-	-	+	-	9%
血球	-	-	-	+	22%
Mixed/other/内皮前駆細胞/幹細胞	+	-	-	-	38%
		CD206	CD14	CD45	
組織マクロファージ		+	+	+	23%
幹細胞 (CFU-F)					1-5%

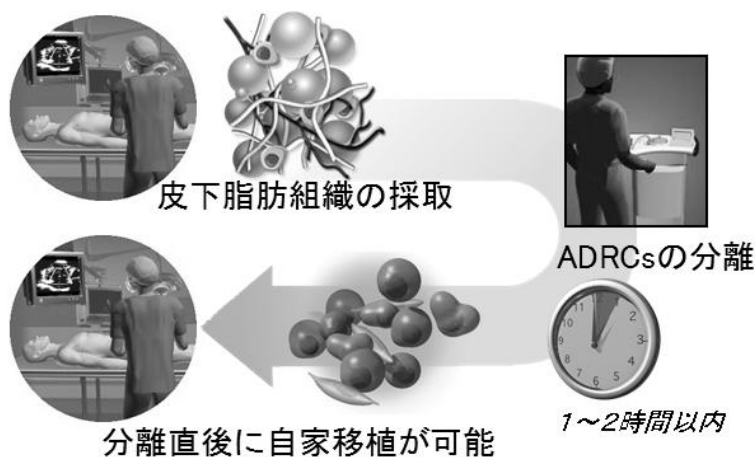


図1 ADRCsを用いた細胞治療のフロー

4 ADRCsに期待される作用機序

基礎的な研究から ADRCs の作用として血管新生と抗炎症という特徴が得られているので、それぞれについて簡単に述べる。

① 血管新生

*In vitro*にて ADRCs は非常に強い細管形成能を有している事が確認されている¹²⁾。小動物の実験では、ADRCs を下肢虚血モデルに投与すると虚血肢の血流を改善する事が確認され、更に、この効果は骨髄由来単核球細胞と同等以上であった¹³⁾。また、虚血部位の毛細血管密度も有意に増加しており、投与した ADRCs が新しく形成した血管の一部を構成していた事から、分化による脈管形成を示した^{12), 13)}。ただこの割合は実際には数が少なく、血流改善と血管密度増加はパラクライン効果による血管新生効果によるところが大きいと考えられた¹²⁾。実際に、血管新生に関わる遺伝子発現量を調べると、ADRCs において VEGF、HGF、IGF-1 といった重要なサイトカインの発現は骨髄由来単核球や末梢血由来単核球といった血管新生効果に優れる事で知られる細胞に比べて数倍から数十倍以上の高い発現を示し¹²⁾、ADRCs による血管新生の潜在的な効力の高さが示されている。

② 抗炎症作用

ADRCs にはマクロファージが含まれる事から、投与により炎症を惹起するのではとの懸念がある。しかし、腎動・静脈の虚血再還流により誘導した急性腎障害モデルラットの腎動脈に ADRCs を急性期に投与すると、腎臓組織内へのマクロファージの集積が減弱し、IL-6 や CXCL-2 などの炎症性サイトカインの発現を抑え、ラットの死亡率やクレアチニンの濃度を有意に抑え、腎臓組織を保護する事が認められた¹⁴⁾。つまり ADRCs の投与は炎症に対してはむしろ抑性に作用する事が示されている。

上記の二つの特徴はどちらも投与した細胞から分泌されるサイトカインによるパラクライン作用だと考えられている。ADRCs に含まれる幹細胞による分化は全くないわけではないが、これまでの基礎データでは、細胞が溶液に懸濁された状態でそのまま投与する方法では分化作用による組織再生の割合は少ないと考えられる。ただ、足場剤などと ADRCs を組み合わせ骨欠損部位に移植すると骨再生を示す事などは動物モデルの実験でも示されてきており¹⁵⁾、臨床において同様の効果を示唆する症例報告も存在する¹⁶⁾。

上記の血管新生と抗炎症作用を踏まえると、ADRCs は虚血性で炎症を抑える事で改善を望める疾患や損傷に効力を発揮しやすいのではないかと考えられる。また、細胞の調整に時間がかからない事を考え併せると、急性期にこれらの作用が重要となる対象には有効性の期待が高まる技術である。

5 脂肪組織由来の細胞を用いた臨床応用への実際

米国の世界的な臨床試験データベースの ClinicalTrial.gov のサイト内の検索で intervention 欄に“adipose stem cell”と入力すると 2014 年 2 月時点で 93 試験が登録されている。これらは培養と非培養の両方の細胞を用いた試験が混ざっていると考えられるが、対象疾患は瘻孔、脊髄損傷、パーキンソン病そして糖尿病や重症下肢虚血と様々である。非培養の脂肪組織由来細胞の登録数を“adipose stromal vascular fraction”で検索するとヒットは 11 件で、糖尿病、関節リウマチや瘻孔などを対象とした試験が見つかり、脂肪由来の細胞を用いた試験は多くが、培養

及び加工を施した間葉系幹細胞を用いた治療である事が伺えるが、脂肪幹細胞また非培養の脂肪組織由来細胞を用いた臨床応用への実践は各国で行われている事がわかる。

6 脂肪幹細胞を用いた臨床研究

日本国内で脂肪組織に由来する細胞を用いた臨床試験の取り組みは行われていないが、大学などの医師・研究者の主導による臨床研究がいくつかの領域において行われている。幹細胞を用いた細胞治療はまだ開拓期の治療であり、その臨床研究は安全性や有効性においてきちんとした科学的根拠をもとにヒトでの検証を安全に行う必要がある。本邦においては幹細胞を用いた臨床研究に関して、厚生労働省から「ヒト幹細胞を用いる臨床研究に関わる指針」が出されている。この“ヒト幹”の審査委員会での審査を通り厚生労働大臣意見書の発出を得て開始された臨床研究は現在までに91施設60課題を数える¹⁷⁾。細胞ソースとして骨髄が最も使われているが、次いで多いのが脂肪組織で9施設8課題の研究に用いられている。この内、培養した脂肪幹細胞を用いているのが1施設1課題で、培養なしのADRCsを用いた細胞治療研究が8施設7課題数になる(全課題中12%を占める)。これらADRCsを用いたより詳細な臨床研究の内容は表2の通りで、対象は腹圧性尿失禁、乳房再建、重症虚血肢、難治性皮膚瘡、虚血性心不全、肝硬変と多岐に渡る。これらの臨床研究の殆どはADRCsを用いた初めての対象疾患であり、まずは治療の安全性確認からスタートしており、その後の有効性検証へのステップアップが期待されている。

国外においてもADRCsを用いた医師主導による臨床研究がおこなわれており、欧州を中心として瘻孔、糖尿病性下肢潰瘍、スポーツ外傷、強皮症などで研究が行われている。

表2 本邦で“ヒト幹細胞を用いる臨床研究に関わる指針”で承認を得たADRCsを用いた臨床研究

申請機関	研究課題名
名古屋大学医学部附属病院	非培養自己ヒト皮下脂肪組織由来間葉系前駆細胞を用いた 腹圧性尿失禁治療 の有用性に関する研究
大阪大学医学部附属病院	消化器外科手術に伴う 難治性皮膚瘡 に対する自己脂肪組織由来間葉系前駆細胞を用いた組織再生医療の臨床応用
鳥取大学医学部附属病院	自己皮下脂肪組織由来細胞移植による乳癌手術後の 乳房再建法 の検討
名古屋大学医学部附属病院	ヒト皮下脂肪組織由来間葉系前駆細胞を用いた 重症虚血肢 に対する血管新生療法についての研究
金沢大学医薬保険研究域	自己脂肪組織由来間質細胞を用いた再生医療に関する臨床研究 - 虚血性心不全 に対して-
金沢大学医薬保険研究域	肝硬変 に対する自己脂肪組織由来間質細胞の経肝動脈投与による肝再生療法の臨床研究
信州大学医学部附属病院	ヒト皮下脂肪組織由来間葉系前駆細胞を用いた 重症虚血肢 に対する血管新生療法についての研究
湘南鎌倉総合病院	自己脂肪組織由来間葉系前駆細胞を用いた 乳癌術後変形に対する再建治療 の検討

厚生労働省ホームページ内 “ヒト幹指針への適合性が承認され我が国で実施されているヒト幹細胞臨床研究の一覧” より抜粋
<http://www.mhlw.go.jp/file/06-Seisakujouhou-10800000-lseikyoku/0000039999.pdf>

7 ADRCs を用いた臨床試験

7-1 急性心筋梗塞

オランダの Erasmus 大学を中心に欧州の規制当局の承認を得て ST 上昇型急性心筋梗塞患者に対する臨床試験 (APOLLO トライアル) が 2007 年から開始された (ClinicalTrials.gov Identifier NCT00442806)。本試験は ADRCs の冠動脈内投与における安全性検証を主な目的として行われた。この試験は明らかな心疾患の既往のない経皮的冠動脈インターベンション治療が成功した急性心筋梗塞患者で、経皮的冠動脈治療後の左心室駆出機能 (LVEF) が 30~50%、心筋梗塞発症後 36 時間以内及び経皮的冠動脈治療 24 時間以内の患者を対象に治療が行われた。経皮的冠動脈治療後、ADRCs を over-the-wire バルーンカテーテルで梗塞責任冠動脈内より移植注入する方法で、プラセボ群有りの二重盲検・無作為化 (フェーズ I/IIa) ・用量漸増試験である。14 名 (ADRCs 投与群 10 名、プラセボ群 4 名) が参加した本試験は治療 36 カ月後までの経過観察が完了し、急性期という病態に対して一連の工程 (脂肪吸引から細胞移植まで) を安全に行う事ができ、細胞投与後の塞栓などの明らかな有害事象は認められなかった。更に、安全性エンドポイントの検証では、①主要臓器における重症イベントの発生の有無、②冠動脈内投与に伴う全身への影響 (有害事象) の有無、③心不全合併等による入院期間の延長、の評価が行われ、これら項目における ADRCs 投与の安全性が確認された。また有効性に関しては、移植 6 カ月後の各種心臓機能検査における①左室駆出率 (LVEF)、②心筋梗塞部位の変化 (サイズ)、③梗塞部位における血流量の変化などが評価された。LVEF (核医学検査及び磁気共鳴血管造影検査) は細胞投与群で 4% の改善が確認されたのに対してプラセボ群では 1.7% の増悪がみられた。左心室の心筋梗塞のサイズは細胞投与群で梗塞部位が 52% 減少しているのに対しプラセボ群では変化がなく、心筋血流評価では細胞投与群で 6% と有意な増加に対しプラセボ群では 1.8% の減少を呈していた¹⁸⁾。従って、今回の治療は、既存療法により改善した心機能を維持し、心筋梗塞に伴う組織瘢痕の部位を最小限に留め、治療に伴う有害な心筋リモデリング (心筋形状の変化) を抑制し心不全進行を最大限に予防するという事が示唆された。今後はより大規模な患者群での検証が必須である。

7-2 慢性心筋虚血

2007 年からスペインの Gregorio Maranon 大学を中心に慢性心筋虚血への ADRCs を用いた PRECISE トライアルが多施設で開始された (ClinicalTrials.gov Identifier NCT00426868)。本試験は、従来の外科的・内科的治療による血行再建術に不応で、LVEF が 45% 以下の難治の虚血性の心不全症患者を対象としている。NOGA Mapping システム (虚血冬眠心筋を電気的および機能的に同定する装置) を用いて ADRCs を左心室内膜側から心筋内直接注入し、プラセボを対照群とした二重盲検・無作為化用量漸増試験として行われた (フェーズ I)。27 名の患者が参加し (ADRCs 投与群 21 名、プラセボ群 6 名)、治療 36 カ月後までの経過観察が終了している。これら患者群での脂肪吸引術や細胞移植は問題なく遂行され、追跡期間中における有害事象は両群にて差は無く、また細胞投与に起因する有害事象は観察されず、小規模試験ではあるが、慢性心不全患者に対する ADRCs 投与の安全性が示された。また有効性の検証として、心臓移植への適合性の指標として標準的に用いられる運動時の最大の心筋酸素消費量を治療 6 カ月後と 18 カ月後で計測すると、両方の計測ポイントでプラセボ群と比較して ADRCs 投与群で有意に改善していた¹⁹⁾。更に左心室の梗塞部位が ADRCs 投与により減少しており、ADRCs 投与による有効性が示唆された。この PRECISE 試験を経て、現在、米国において FDA の承認の下に同様の慢性心筋虚血患者 45 名に対

する臨床試験が Texas Heart Institute や Scripps Memorial Hospital を中心とした多施設によるプラセボ対照群あり、二重盲検・無作為化試験として 2012 年より ATHENA として安全性検証を主眼とした試験(フェーズI/II)が開始されている(ClinicalTrials.gov Identifier NCT01556022)。

7-3 ハムストリングの損傷

米国FDAの承認の下にハムストリング損傷に対するADRCsの安全性臨床試験が2014年から開始される予定である(ClinicalTrials.gov Identifier NCT02045888)。このRECOVERトライアルではグレードIIのハムストリング損傷を負った10名の患者に対してADRCsを局所投与する予定で、非盲検・用量漸増式で行われる。ADRCsを損傷した筋肉内に投与し、その後の安全性が確認された時点で、本試験は60名のプラセボ群対照群あり、二重盲検・無作為化試験に移行できるオプションとなっている。本試験ではADRCsを用いる事によりスポーツなどで負傷したハムストリング再生を促進し、より早期の治癒を目指す治療の第一歩である。

8 ADRCsを用いた今後の新たな臨床開発の展望

2012年、米国保健福祉省の生物医学先端研究開発局から放射線障害による熱傷に対してADRCsを用いた治療の技術開発、非臨床試験、臨床試験そしてFDAの承認までを見据えた政府資金の助成が始まった。これは集団災害等において大勢の患者に対して迅速かつ一斉に治療活動を行う事を想起したプログラムであり、現在、動物実験による非臨床試験が進んでいる。より効率の良い細胞分離装置の開発も併せて進んでおり、ADRCsを用いた治療の更なる開発が期待されている。

9 最後に

本章では細胞の分離後に培養及び加工を経ないで投与を行う非培養の細胞治療に関して最近の知見を述べた。ただ、そうは言っても現在の細胞治療の開発では採取した細胞の増殖や加工を行い、細胞製品を製造する事が主流であり、国の規制や法律また学会や業界団体の活動もこれら培養・加工製品を主軸に急速に整備が進んでいる。治療に用いる製品の品質の均一化や性能の高付加、そして持続的な細胞治療を供給していくためのビジネスモデルの観点から、培養及び加工を行う事は自然な流れであり、これら細胞治療の安全な供給に対する技術開発と法整備の進展は再生医療の発展を促進し引いては再生医療を待ち望む多くの患者の恩恵となる。反面、非培養で行うADRCsを用いた治療には培養細胞にない特徴があり、対象疾患や損傷によっては最適な治療の選択肢となる可能性もある。現在、細胞源や細胞種そして細胞特性の違う様々な細胞を用いた治療の試みが開始され始めているが、今後も新たな発見や技術革新が続く事が期待される。それぞれの細胞や技術には一長一短があり、最終的には開発段階での淘汰を得て、それぞれの疾患や損傷に対して安全で最良の方法が患者に届けられる事を祈念するばかりである。

文献

- 1) P.A. Zuk *et al.*, *Tissue Eng.*, **7**, 211(2001)
- 2) P.A. Zuk *et al.*, *Mol. Biol. Cell*, **13**, 4279(2002)
- 3) M. Maumus *et al.*, *Int. J. Obes (Lond)*, **35**, 1141(2011)
- 4) J.K. Fraser *et al.*, *Nat. Clin. Pract. Cardiovasc. Med.*, **3** Suppl, S33(2006)
- 5) 杉原甫、肥満の科学、71 (2004)
- 6) A. Mahyeldin *et al.*, *Cell Stem Cell*, **7**, 150(2010)
- 7) A.I. Caplan, *J. Cell. Physiol.*, **213**, 341(2007)
- 8) 厚生労働省 第3回再生医療における制度的枠組みに関する検討会(委員長 永井良三 東京大学大学院医学系研究科循環器内科教授)平成21年8月24日
- 9) K. Yoshimura *et al.*, *J Cell. Physiol.*, **208**, 64(2006)
- 10) K. Lin *et al.*, *Cytotherapy*, **10**, 417(2008)
- 11) Boquest AC *et al.*, *Mol. Biol. Cell*, **16**, 1131(2005)
- 12) M. Zhu *et al.*, *Ann. Plast. Surg.*, **64**, 222(2010)
- 13) A. Miranville *et al.*, *Circulation*, **110**, 349(2004)
- 14) Z. Feng *et al.*, *Nephrol. Dial. Transplant.*, **25**, 3874(2010)
- 15) M.T. Chung *et al.*, *Stem Cells Trans. Med.*, **2**, 808(2013)
- 16) S. Lendeckel *et al.*, *J. Cranio-Maxillofacial Surg.*, **32**, 370(2004)
- 17) 厚生労働省 ヒト幹細胞を用いる臨床研究について www.mhlw.go.jp/bunya/iryou/iryousaisei.html
- 18) J.H. Houtgraaf *et al.*, *J. Am. Coll. Cardiol.*, **59**, 539(2012)
- 19) E. C. Perin *et al.*, *Am. Heart J.*, in press