

2019年度 生物工学功績賞 受賞



再生医療に資する
細胞製造性に関する研究

紀ノ岡正博



Study on cell manufacturability toward regenerative medicine

Masahiro KINO-OKA (Department of Biotechnology, Graduate School of Engineering, Osaka University, Yamadaoka, Suita 565-0871, Japan) Seibutsu-kogaku 98: 14-21, 2020.

はじめに

再生医療とは、失われた器官・臓器を再生することを目的とした治療であり、これまでの医療概念を根底から変革する「根治治療」への道を拓くことが期待されている。近年の胚性幹（ES）細胞や人工多能性幹（iPS）細胞をはじめとする幹細胞の研究開発の進展がその可能性を一層高めており、再生医療技術の開発競争が世界的に始まっている。その一方で、現状で治療に適用される再生医療は、骨・軟骨・皮膚などの比較的単純な構造の部位を対象としたもの、または、間葉系幹細胞を用いた細胞治療がほとんどで、本格的な実用化および産業化はこれから始まるものと考えられている。

再生医療製品の国内市場規模は、2012年に約90億円と算出され、今後、iPS細胞などの出現により、2030年には1兆円（世界市場規模12兆円）と大幅に飛躍することが期待されている¹⁾。しかし、細胞製造の観点からは、細胞特性・培養特性が十分に把握されておらず、学問の体系化を含め、細胞工学、発生工学、培養工学、プロセス工学などの工学領域における一層の貢献が望まれている。

本格的かつ汎用的医療としての再生医療の実現には、グランドデザイン（体系化）の構築と、それに基づく適切な管理技術や運用指針ならびに人材育成への支援、いわゆる社会システムの構築としての「コトづくり」が不可欠であり、再生医療の実用化および関連の産業化は始まったにすぎない。複雑で多様化する医療行為や細胞加工からなる再生医療に対し、自分一人ではできないこと

を認識し、異なる考え方、人そして技術の「つながり」により体系化を導くことが重要である。

本稿では、再生医療における社会システム（コトづくり）、生物化学工学者としての学問の体系化、および、移植細胞の製造を目指したシステム構築への取組みについて紹介する。

再生医療技術産業におけるコトづくり

再生医療は、図1Aに示すように、医療を「受ける人（患者）」、医療を「施す人」、そして「応援する人（ボランティア）」からなる再生医療技術産業に資するステークホルダーと技術の結集により実現される。また、医療を「施す人」は再生医療技術を創出・開発する「創る人」、医師などの治療する「行う人」、さらには、病院や細胞製造企業において細胞を調製する「支える人」からなる。

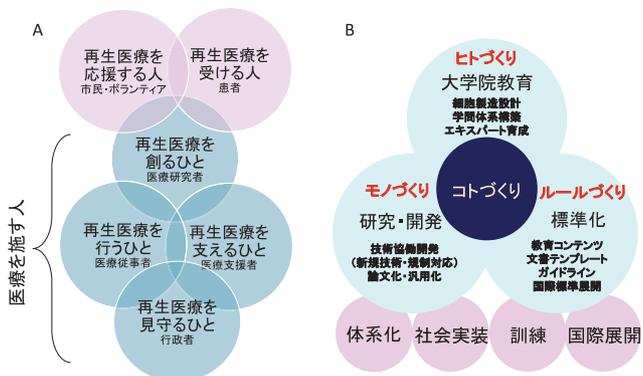


図1. 再生医療技術産業に資するステークホルダー (A) と細胞製造におけるコトづくり (B)

これらの人が、細胞加工を経るなどの複雑で多様な治療に対し、「受ける人」の利益を導くための努力を惜しみなく提供することで再生医療は実現すると考えられる。さらに、これらの社会醸成とともに、技術に基づく産業化が不可欠である。図1Bに示すように、治療設計や製造設計、治療を患者に安定供給するための技術開発「モノづくり」のみならず、その技術を活用できるための規制や国際標準の策定「ルールづくり」、これらの仕組みを活かすための人材育成「ヒトづくり」を、医学や工学、薬学、経済学などの学際領域と各省庁、そして産業界が連携して、社会全体で同時に進める「コトづくり」が求められている。

「ヒトづくり」については、学問の体系化から考え、大学院などの教育機関がグランドデザインを構築する必要がある。その際、体系化には、「施す人」が「受ける人」の利益を導くにあって、いつ(when)、どこで(when)、だれが(who)、なにを(what)、なぜ(why)、どのように(how)の5W1H、そして、どの程度(how much)を鑑み、あるべき姿を描き、デザインすることが重要である。

「ルールづくり」については、「再生医療を国民が迅速かつ安全に受けられるようにするための施策の総合的な推進に関する法律(再生医療推進法)」が2013年4月に成立し、生命倫理に配慮しつつ、安全な研究開発や普及に向けて総合的に取り組むことを基本理念に盛り込み、普及を促進する施策を策定・実施する責務が国にあると明記された²⁾。この議員立法を受け、同年11月に、2つの法律[「再生医療等の安全性の確保等に関する法律(再生医療法)」³⁾および「医薬品、医療機器等の品質、有効性及び安全性の確保等に関する法律(薬機法)」⁴⁾]が公布され、翌年11月に施行に至った。一般に、再生医療法は安全性を担保した医療行為に対する有効性を検証するための臨床研究を促進し、再生医療技術産業に資するステークホルダーがより多くの経験を積むことができる。その際、医師が外部の細胞培養加工事業者へ細胞培養加工を委託することが可能となり、培養加工の専門化による安全性の向上が見込まれる。薬機法においては、均質でない再生医療等製品についても、有効性が推定され、安全性が認められれば、早期に条件および期限を付して製造販売承認を得ること(早期承認制度)が記された。また、「日本再興戦略」改訂2014(2014年6月24日閣議決定)⁵⁾および「先駆けパッケージ戦略」(2014年6月17日厚生労働省取りまとめ)⁶⁾において、世界に先駆けて、革新的医薬品・医療機器・再生医療等製品を日本で早期に実用化すべく、その開発を促進するため、「既存の治療法より大幅な改善が期待されるものを指定し、相談・審査における優先的な取扱いの対象とすることで

更なる迅速な実用化を目指す」こととした新たな取り組み、「先駆け審査指定制度」⁷⁾が2015年より試行的に実施され、再生医療等製品もいくつか指定を受けて審査を行ってきた。現在では、5品目(うち2品目が早期承認)が承認され、これらの制度に合わせ、医薬品医療機器総合機構(PMDA)では、製品設計の初期段階から規制当局と相談可能な事前評価相談や優れた製品の迅速審査を目指した先駆け総合評価相談などの相談制度が開始され、製品化に向けた推進システムを構築している。一方、再生医療の実施には細胞製造を伴うため、製造における設備・機器の設計・運用に対するガイドラインの策定(医療機器等に関する開発ガイドライン策定事業)⁸⁾や国際標準化ISO TC198/WG9⁹⁾、TC276/WG3、WG4¹⁰⁾での文書化も行われた。このような規制改革や支援制度、標準化は、迅速な承認・展開を導き、必要な最先端の再生医療等技術が本邦で受けられる社会の実現を促すと考えられる¹¹⁾。

生物化学工学者としての貢献としては、細胞製造設計ができる再生医療技術を「創る人」および「支える人」としての活躍が期待されている。大学院や企業、そして現場である病院における連携した場において、細胞を含む原材料から細胞培養加工、移植材の製造、治療、予後の管理までのそれぞれの工程で、「モノづくり」として、技術を複数の協働により創出し、学術論文などで広め、汎用化に導くことや、「ルールづくり」として、実現に向けての規制・国際標準化を調整し、そのための教育コンテンツや文書テンプレート、ガイドラインを構築することが必要である。その際、「ヒトづくり」として、細胞および製造を知るエキスパートの育成により、細胞製造設計に関する学問の体系化、社会実装、訓練、国際展開を可能にすることができると考えられ、これらの学びの場の構築が望まれている。

細胞・組織・臓器・人体形成に向けた期待と モノづくりに資する学問の体系化

無限増殖および多能性を獲得した人工多能性幹細胞(iPS細胞)やES細胞の出現と、それらの培養技術の発展により、多種多様な分化細胞を大量に調製することが可能となった。さらに、人体を模擬した組織・臓器の形成への技術構築が一步ずつ進んでおり、これらの新技術は、再生医療や細胞治療、創薬スクリーニング、人体機能解明など新しい医療・産業分野へ展開されるものと期待されている。図2に示すように、展開の実現化には、単細胞のマイクロレベルから凝集体であるメソレベル、組織、オルガノイドのマクロレベル、臓器のメガレベル、そして人体であるホールレベルまでのマルチスケール



図2. マルチ発生レベルを有する発生工学プラットフォームに対する培養工学および細胞製造プラットフォームの創成

で、発生学の知識に基づき組織・臓器の構造・機能形成を目指した発生工学的プラットフォームが不可欠であり、多くの研究者が本分野を牽引している。これらの達成の効率化には、生物化学工学者の主たる領域である培養工学プラットフォームとの協働が基盤的技術の進展を加速する必要がある。

現状のプラットフォーム形成（体系化の進展）の多くは、発生学的研究と培養学的研究の進展において、マルチスケールでの技術開発と生物的ヘテロ（不均質性）解析によるデータ蓄積によって進められている。特に、培養工学プラットフォームにおける培養フォーマットと解析フォーマットに対しては、生物化学工学者の主たる領域であり、これまで、iPS細胞の大量培養ならびに細胞挙動に注目した運命制御¹²⁻¹⁴⁾を目指し、未分化状態での増幅工程の確立¹⁵⁻¹⁹⁾とシミュレーション²⁰⁻²⁴⁾さらに未分化状態からの逸脱現象に注目し、anomalyな発生メカニズムの理解²⁵⁾と逸脱細胞の除去^{26,27)}、発生抑制²⁸⁾に対する技術構築を行ってきた。また、網膜分化細胞の成熟培養においては、細胞挙動制御により均一な成熟過程を導く方法の開発²⁹⁻³²⁾や間葉系幹細胞の運命制御³³⁻³⁶⁾、筋芽細胞組織内の流動性と血管新生についての研究^{37,38)}を行ってきた。さらに、再生医療技術の産業化には、培養のみではなく、社会実装に向け、細胞製品の製造を目指した研究も必要である。しかし、体系化の概念がなく、細胞製造プラットフォームの構築が必要不可欠な領域と考えられた。

細胞製造性の体系化

従来の医薬品製造を含む、「モノづくり」技術の根幹を支える製造概念として、「製造における種々の変動を考慮する際の製造設計の容易性」を意味する「製造性」(manufacturability, 製造可能性)³⁹⁾があげられる。特に、製造における種々の変動を考慮する際、製造設計の容易性を考慮し設計すること、つまり、製造性設計 (Design for manufacturability, DFM) を考慮し、製造工程の構築がなされてきた。しかし、再生医療や細胞治療に用いる細胞の製造は、細胞を含む生産物の不確定要素が多い（評価があいまいであることが多い）ため、細胞製造固有の変動を考慮する必要がある。したがって、細胞の製造には固有の概念構築が要求され、従来の設計に対し、科学的根拠にもとづいた生物化学工学的観点からの体系化が不可欠となる。そこで、筆者らは、細胞を利用する製造に対しての製造性を「細胞製造性 (Cell manufacturability)」とし、図3に示すように、「生物学的見地と工学的見地を理解し橋渡しした工程による、細胞の製造に対する可

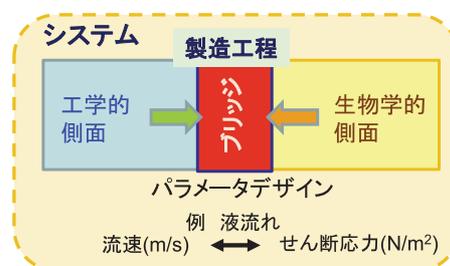


図3. 工程における側面とブリッジの重要性

能性」と定義した。製造工程の構築には、細胞製造性設計 [Design for cell manufacturability: 「顧客に対する安心と製品品質に対する安定を得つつ、製造所内外（原材料調達、搬送や病院での調製も含む）での簡易・安全・安価な工程にて、如何に簡単に製造するかを考える細胞製品の製造設計」] の考え方を提案した^{40,41)}。

再生医療製品の製造には、図4に示すように、同種（他家）培養細胞移植（ドナー由来の細胞を培養し移植する）と自家培養細胞移植（患者自身由来の細胞を培養し移植する）が存在する。同種移植のフローでは、無菌製剤製造と類似して、均質の原料から如何に大量に安定して生産し、多くの患者に提供するのが重要となる。いわゆる、スケールアップにより標準提供された製品を治療に使用する標準治療の展開が期待される。一方、自家移植フローは、病院において、患者より採取された細胞・組織から培養加工を経て、再び同一の病院で同一患者に個別提供される個別化医療となる。この個別提供は自家細胞の移植だけではなく、同種細胞を用いて患者に合わせた3次元組織など、いわゆる一品物の生産が想定される。その際、個々の患者が要求する細胞量を調製するスケールアウト技術が必要となり、如何に安定して個別で生産し、治療に使用するのがといった、一連のサービスの提供が重要となる。

医薬品の製造と同様に、細胞培養加工施設（CPF：Cell Processing Facility）内では、細胞増幅や分化誘導、形成加工を含めた培養を上工程（上流工程）、分離・精製や分注、凍結、梱包を下工程（下流工程）に分けられる。さらに、再生医療では、細胞採取からCPFまでの

細胞搬送や出荷後から病院までの細胞搬送、さらには、病院内での前処理などを含む工程（ここでは、「外工程」）の役割が今後、重要と考えられ、一貫した工程の技術構築が不可欠となる。図5に示すように、微生物を用いた物質生産と比べ、ヒト細胞を用いた製造は、1) 細胞自体が製品となるため品質が分子レベルで不確定であり、細胞品質に対し主観的判断に依存することがある。2) 工程の変動が品質に大きく影響し、製造期間が長期でその変動を助長する。3) 分離・精製などの下工程の技術に乏しい。4) バッチごとに、製品における不純物の混在割合が変化する。結果、その程度が大きい場合には、そのバッチでの製品すべてが不良品となり、いわゆるロットアウトする（従来の歩留まり生産とは異なり、生産損失が大きくなる）。5) 製品出荷後、病院などでの調製（外工程）を行うことが多く、移植までに品質が変動しやすい。6) 製造中、中間産物としての保存が困難であることが多く、連続した工程処理となる。自家の細胞培養移植の場合は、7) Master cellが存在せず原料の質が変動しやすい。8) 無菌保証のない原料にて無菌製品の製造を行うこととなる。9) 生産スケールが患者に依存する、などの固有の特徴を有する^{42,43)}。

抗体などのバイオロジックスの製造で言われている「The process is the product.」と同様、細胞製造においても、工程変動自体が製品特性を大きく作用させることが知られている。細胞製造性の設計を考える際、図6に示すように、細胞を用いた製造のための工程（加工や反応、形成などを含む）、入力（細胞や原材料、資材など）、出力（製品：細胞や産物など）からなる系（システム）と

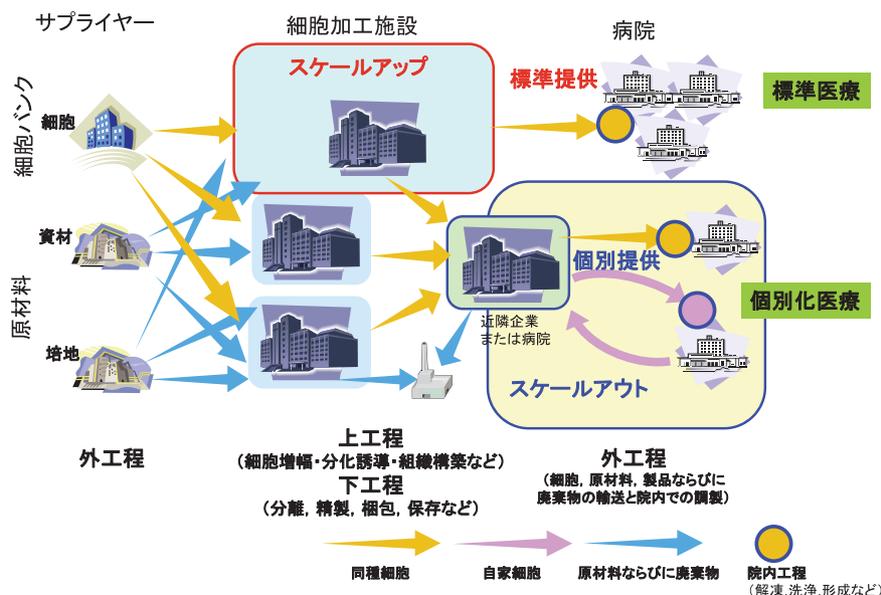


図4. 細胞製造の多様性

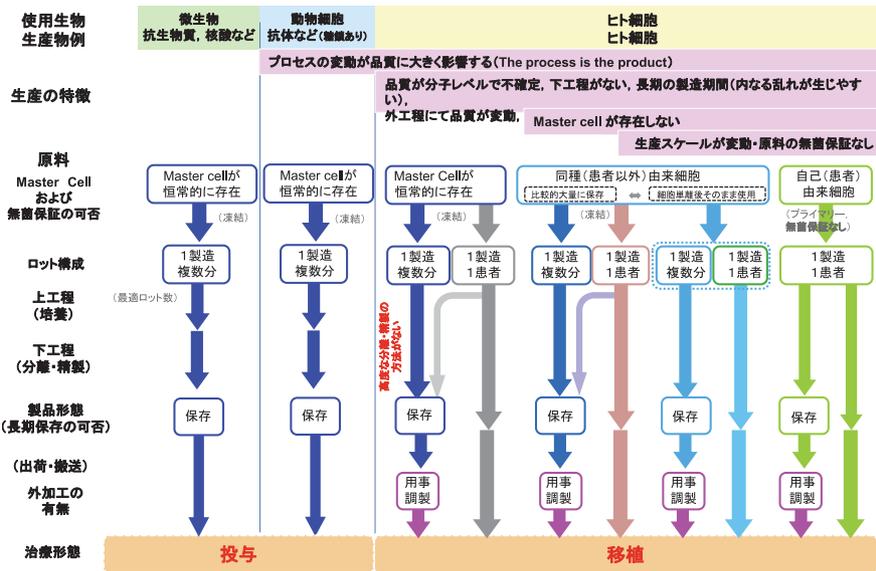


図5. 従来の細胞原料における製造と再生医療製品の製造の比較

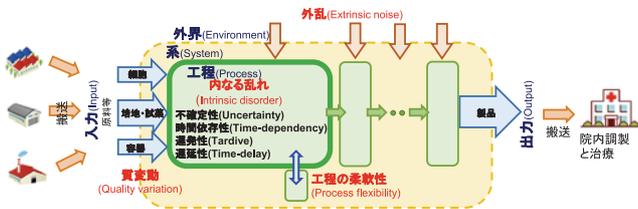


図6. 細胞製造系における変動

外界（環境）において、製品（出力）の安定化、高効率化、低コスト化などを考慮し、製造の最適化を行うことが重要となる。細胞製造性の観点から、工程の安定性を損なう変動として、1) 外界から系に対する外乱 (extrinsic error, 無菌環境など) 由来の変動, 2) 入力に対する細胞・原材料・資材由来の質変動, 3) 操作変動などによる工程内での自己変動 (内なる乱れ, intrinsic disorder) 由来の変動 (細胞製造固有の変動), 4) 実用化に向けた工程の柔軟性による変動 (スケールアップなどの開発時から実生産までの入力および工程の変更に伴う変動) があげられる。たとえば、出力である細胞製品の安定を目指して細胞増幅工程のシステムを構築する際には、種々のシステムに対する変動要因を最小限に留めることが主たる目的となる。その際、原料であり製品である細胞には不確定要素が多く、図7のような、細胞自らが細胞イベントを引き起こす。その結果、細胞は逐次に状態を変化し (時間依存性)、シグナル開始から表現型を提示するまでに時間がかかること (時間遅延性) などの時間に起因する変動を有す。また、目的細胞が得られたかの判定は、細胞イベントの実時間ではなく、検出してから結果が出るまでラグタイムが存在する (時間遅延性)。そ

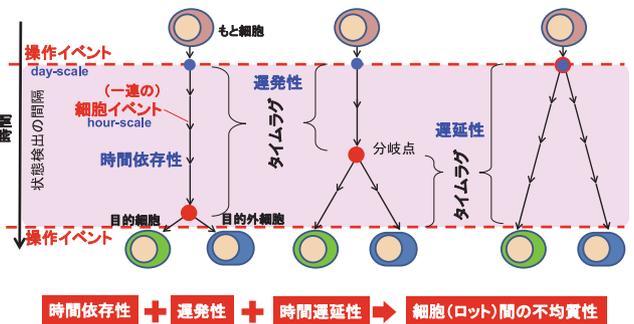


図7. 細胞特性の考え方

のため、day-scaleで行う工程中の操作イベントと hour-scaleでの一連の細胞イベントとの不一致により、得られる細胞群が不均質になり、ロット間にも変動が生じると考えられる。さらに、製造期間が長期かつ複数の一連工程からなり、その結果、個々の工程での内なる乱れが累積し、製品品質変動を助長すると考えられる。これまで筆者らは、上述の考え方にに基づき、工程の不安定性要因および細胞の質的変動機構について、入力変動の影響として細胞株間の影響⁴⁴⁻⁴⁶⁾、外乱として無菌操作⁴⁷⁻⁴⁹⁾や内なる乱れとして操作による遅延性⁵⁰⁾、時間依存性⁵¹⁻⁵³⁾についての検討を行ってきた。

以上のように、無菌環境などのシステムに対する外乱や原料 (培地や細胞など) のインプットの質変動、さらには、細胞製造固有では無視できない、培養操作における工程の内なる乱れ、そして、スケールアップ時の入力および出力量の再設定による工程の柔軟性により、既存の製造とは異なる概念の構築が不可欠である。今後、システムの変動要因を区別し解析することや、細胞製造固有

の工程構築法を体系化することが重要となる。本体系化は、再生医療に関する産業分野の促進のみならず、細胞工学や培養工学を含む広義の発生工学の進歩にも貢献できるものと期待される。

移植細胞の製造を目指したシステム構築

培養装置のような培養環境を調整するための道具は、場としての機能を有し、複数の要素技術が統合されたものであり、きわめて重要である。一般的に、培養装置の主たる役割は、「人手に代わる操作」や「人手ではできない操作」を実施できる道具である。細胞治療や再生医療のためのヒト細胞・組織を対象とする場合、これまでの微生物培養や動物細胞培養で培われてきた先行製造技術を活かしつつ、ヒト治療への利用という特殊性と使用する細胞・組織培養の固有の特徴とを考慮した新たな技術展開が望まれている。再生医療製品の製造には、1) 安定した品質確保の観点から安定操作の実現、2) 雑菌汚染防止の観点から無菌環境の維持、3) 交差汚染防止や混同防止の観点から細胞株独立性維持、4) 汚染物拡散防止の観点から汚染物の封じ込め、5) 細胞株の切り替え(チェンジオーバー)や製造開始時における不可欠な清掃に対する日常管理、が重要となり、上述の要件を満たした統合システムとしてのCPFが望まれている。再生医療産業の黎明期である現在は、CPFにおいて、目的とする加工物(品目)が変化し、小ロット生産であるため、単品目の製造用設備では高コストが予想される。よって、複数の細胞株にて多目的の製品を並行して製造できる(複細胞株・多品種・並列製造)より柔軟な施設を構築する必要がある。その際、複数のバッチで設備を共有してスループットの向上を試みるが、交差汚染防止などの運用は非常に煩雑となる。

そこで筆者らは、必要に応じて種々の装置が柔軟に連結・脱離可能なモジュール方式(flexible Modular Platform: fMP)を考案し、交差汚染リスクを限りなく低減することによって設備に係るコストを抑制する検討に取り組んでいる⁵⁴⁻⁵⁶⁾。

目的の加工(培養を含む)における各単位工程を要素と捉え、各要素を必要に応じ、組み上げることで最小の要素構成を作り、小ロット生産への対応や無菌空間の局所化、多検体かつ多種加工への柔軟性の実現、自動化など種々の要求への対応を目指している。図8に示すように、細胞加工を行うモジュールを、工程操作(細胞培養加工装置)、インキュベータ(培養細胞)、試薬・資材搬入(パスボックス)の3つに分離し、個別に清浄化できる独立した無菌空間(アイソレータ)とし、あらかじめ清浄化されたモジュール同士を除染可能なインター

フェースで無菌的に接続することで、1台の工程装置(モジュール)が並行する複数のバッチにおいて安全に共有可能となるシステムを提案している⁵⁷⁾。

本システムは、図9に示すように、同日に複数回、必要なモジュールを無菌のまま脱着させることにより、多検体の細胞加工物の製造を並行して実施することができ、少量多品種製造におけるコストを大幅に抑制することが期待できる。さらに、モジュール間のインターフェースを統一することによって、複数の製造ラインを柔軟に組み合わせることが可能なfMPを基本設計とした設備を提案している。各モジュールおよびインターフェースは個別に清浄化し、無菌性は個別に保証可能であり、除染バリデーションなど定期メンテナンスに係る費用も最小化できると考えられる。fMPにおける各工程のモジュールは、いわゆる玩具のブロックでさまざまな形を

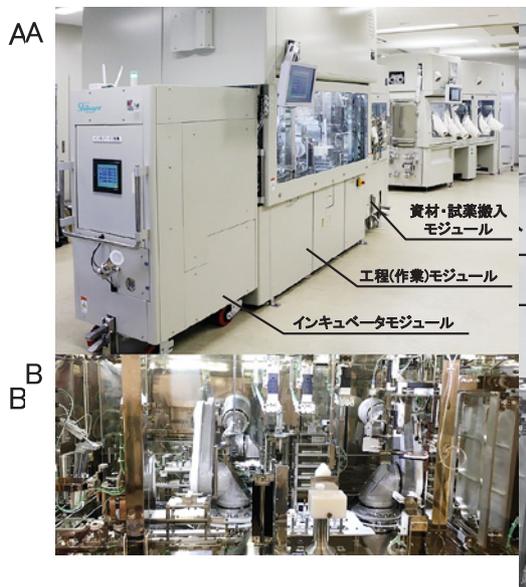


図8. アイソータ技術を活用した細胞製造システム (A: 装置全容, B: 装置内部)

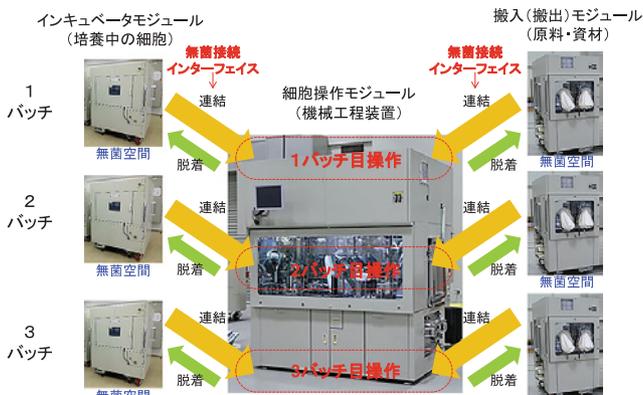


図9. fMPによる少量多品種製造への適用

創造することに類似しており、種々の培養手法（現状の培養法から将来的な工程変化）に対応可能な工程の柔軟性を実現できる。さらに、本システムは、各モジュールでの工程の安定および製品の安全を担保しつつ、初期設備に対する過大投資の防止（ビルトアップ式、追加式）、ランニングコストの低下（アイソレータ利用施設の確立）を目指し、省スペース、省人、さらに製造量のスケールアップに対する施設の段階的拡張を可能とし、その結果、製造コストの削減を実現できると考えている。

さらに、容器動作中の3次元方向の加速度を検出できる動作キャリブレーションを開発し⁵⁸⁾、操作者の手作業の安定性や手動と自動の作業比較を定量的に評価可能とし、動作の互換性を保証することを目指している。これらの技術を活用し、fMPを採用した製造システムを運用することで、GCTP（Good Gene, Cellular, and Tissue-based Products Manufacturing Practice）省令に適合しつつ、少量多品種製造におけるコストを大幅に抑制することを期待している。

おわりに

今後、再生医療等製品が増える中、増幅可能で多分化能を有するES細胞やiPS細胞を由来とする多様な分化細胞を用いた治療が期待される。一方、再生医療等の本格的な実現には、より複雑で多様化する細胞培養加工や医療行為に対し、適切な管理技術や運用指針ならびに人材育成や医療全体への支援が不可欠である。また、細胞製造性を鑑み、構築された新たな技術は、国内外への展開が期待される。技術の普及により、コストが低下し、患者の負担が軽減され、同時に企業における収益が増加する。その際、国際協調を通じて、モノ・ヒト・ルールの国際標準の構築や企業活躍の場の広がりなどを経て、再生医療が普及する、そこで我々は、2016年に、コトづくりの実践の場として「細胞製造コトづくり拠点」を設置し、多くの方々と具体的に活動を開始した。今後、「コトづくり」がなされることを期待したい。

謝 辞

この度、栄誉ある令和元年度生物工学功績賞を頂くこととなりました。多くの方々に、研究のみならず生きかたや楽しみかたなど多岐にわたりご指導いただいたおかげでこのような研究および学問の体系化につながったと思います。特に、博士になるにあたり化学工学の考えをご教授していただいた東稔節治先生（現・大阪大学名誉教授）、学生時代から見守っていただき博士としての素質を育てていただいた田谷正仁先生（現・大阪大学名誉教授）に、甚謝申し上げます。

また、現在の研究室を2009年4月に主宰することとなった受け入れ側の片倉啓雄先生（現・関西大学教授）には、スムーズな立ち上げに多大なご協力を賜り、深謝申し上げます。また、

研究室開設後、講師として協力をいただいた長森英二先生（現・大阪工業大学准教授）、助教として協力いただいた金美海先生（現・研究室准教授）、そして、新しく助教として加わった堀口一樹先生には、細胞製造性への理解と促進に感謝の意を表したい。

私の研究は一人ではできない研究である。つまり、これまでの成果は、私の主宰する研究室のスタッフ、学生各位との共同研究の賜物である。特に、特任研究員として研究推進に貢献していただいた、蟹江慧博士、金鍾弼博士、曹溢華博士、稲森雅和博士、堀江正信博士、北島英樹博士、Ngo Trung Xuan博士、加川友己博士、Retno Wahyu Nurhayati博士、野口展士博士、石井貴晃博士にもこの場を借りて御礼申し上げたい。また、私の活動を理解いただき、ご協力いただいている共同研究講座、協働研究所、細胞製造コトづくり拠点、さらに、他学部・他大学の先生や多くの企業の方々を支えていただきました。謹んで謝意を示したい。最後に、研究室の卒業生を含めた学生諸氏、教職員の努力の賜物です。心よりお礼申し上げます。

文 献

- 1) 再生医療の実用化・産業化に関する研究会「再生医療の実用化・産業化に関する報告書 最終取りまとめ」平成25年2月22日（経済産業省製造産業局生物化学産業課）。
- 2) https://elaws.e-gov.go.jp/search/elawsSearch/elaws_search/lsg0500/detail?lawId=425AC1000000013 (2019/10/28).
- 3) https://elaws.e-gov.go.jp/search/elawsSearch/elaws_search/lsg0500/detail?lawId=425AC0000000085 (2019/10/28).
- 4) https://elaws.e-gov.go.jp/search/elawsSearch/elaws_search/lsg0500/detail?lawId=335AC0000000145 (2019/10/28).
- 5) <https://www.kantei.go.jp/jp/singi/keizaisaisei/dai14/siryuu.pdf#search=%27%E6%97%A5%E6%9C%AC%E5%86%8D%E8%88%88%E6%88%A6%E7%95%A52014%27> (2019/10/28).
- 6) 厚生労働省：<https://www.mhlw.go.jp/stf/houdou/0000048461.html> (2019/10/28).
- 7) 厚生労働省：https://www.mhlw.go.jp/seisakunitsuite/bunya/kenkou_iryuu/iyakuhin/topics/tp150514-01.html (2019/10/28).
- 8) 経済産業省：https://www.meti.go.jp/policy/mono_info_service/healthcare/report_iryuu_fukushi.html (2019/10/28).
- 9) ISO: <https://www.iso.org/committee/54576.html> (2019/10/28).
- 10) ISO: <https://www.iso.org/committee/4514241.html> (2019/10/28).
- 11) 廣瀬志弘, 伊藤弓弦: 生物工学, **96**, 320–323 (2018).
- 12) Kim, M. -H. and Kino-oka, M.: *J. Biosci. Bioeng.*, **119**, 617–622 (2015).
- 13) Kim, M. -H. and Kino-oka, M.: *Trends Biotechnol.*, **36**, 89–104 (2018).
- 14) Chang, J., Kim, M. -H., Agung, E., Senda, S., and Kino-oka, M.: *Regen. Ther.*, **10**, 27–35 (2019).
- 15) Nath, S. C., Horie, M., Nagamori, E., and Kino-oka, M.:

- J. Biosci. Bioeng.*, **124**, 469–475 (2017).
- 16) Galvanauskas, V., Grincas, V., Simutis, R., Kagawa, Y., and Kino-oka, M.: *Biotechnol. Prog.*, **33**, 355–364 (2017).
 - 17) Nath, S. C., Nagamori, E., Horie, M., and Kino-oka, M.: *Bioprocess Biosyst. Eng.*, **40**, 123–131 (2017).
 - 18) Nath, S. C., Tokura, T., Nagamori, E., Kim, M. -H., and Kino-oka, M.: *Biotechnol. Bioeng.*, **115**, 910–920 (2018).
 - 19) Kim, M. -H., Masuda, E., and Kino-oka M.: *Biotechnol. Bioeng.*, **111**, 1128–1138 (2014).
 - 20) Nguyen, T. N. T., Sasaki, K., and Kino-oka, M.: *J. Biosci. Bioeng.*, **127**, 625–632 (2019).
 - 21) Galvanauskas, V., Simutis, V., Nath, S. C., and Kino-oka M.: *Regen. Ther.*, **12**, 88–93 (2019).
 - 22) Yamamoto, T., Yano, M., Okano, Y., and Kino-oka, M.: *J. Chem. Eng. Jpn.*, **51**, 423–430 (2018).
 - 23) Sekimoto, A., Kanemaru, Y., Okano, Y., Kanie, K., Kato, R., and Kino-oka, M.: *Regen. Ther.*, **12**, 83–97 (2019).
 - 24) Suigyama, H., Shiokaramatsu, M., and Kino-oka, M.: *Regen. Ther.*, **12**, 94–101 (2019).
 - 25) Shuzui, E., Kim, M. -H., and Kino-oka, M.: *J. Biosci. Bioeng.*, **127**, 246–255 (2019).
 - 26) Kim, M. -H., Sugawara, Y., Fujinaga, Y., and Kino-oka, M.: *Sci. Rep.*, **7**, 93 (2017).
 - 27) Kim, M. -H., Matsubara, Y., Fujinaga, Y., and Kino-oka, M.: *Biotechnol. J.*, **13**, 1700384 (2018).
 - 28) Shuzui, E., Kim, M. -H., Azuma, K., Fujinaga, Y., and Kino-oka, M.: *J. Biosci. Bioeng.*, **127**, 744–751 (2019).
 - 29) Sono, R., Kim, M. -H., and Kino-oka, M.: *J. Biosci. Bioeng.*, **119**, 107–112 (2015).
 - 30) Sono, R., Kim, M. -H., and Kino-oka, M.: *J. Biosci. Bioeng.*, **121**, 220–226 (2016).
 - 31) Sono, R., Kim, M. -H., Yamada, K., and Kino-oka, M.: *J. Biosci. Bioeng.*, **124**, 227–233 (2017).
 - 32) Kim, M. -H., Inamori, M., Akechi, M., Abe, H., Yagi, Y., and Kino-oka, M.: *AIMS Bioengineering*, **4**, 402–417 (2017).
 - 33) Ogawa, Y., Kim, M. -H., and Kino-oka, M.: *J. Biosci. Bioeng.*, **120**, 709–714 (2015).
 - 34) Ogawa, Y., Kim, M. -H., and Kino-oka, M.: *J. Biosci. Bioeng.*, **122**, 627–632 (2016).
 - 35) Wongin, S., Ogawa, Y., Kim, M. -H., Viravaidya-Pasuwat, K., and Kino-oka, M.: *Biotechnol. Lett.*, **39**, 1253–1261 (2017).
 - 36) Wongin, S., Waikakul, S., Chotiyarnwong, P., Siriwatwechakul, W., Kino-oka M., Kim, M. -H., Viravaidya-Pasuwat, K.: *BMC Biotechnol.*, **18**, 14 (2018).
 - 37) Li, M., Nagamori, E., and Kino-oka, M.: *J. Biosci. Bioeng.*, **123**, 259–264 (2017).
 - 38) Li, M. and Kino-oka, M.: *J. Biosci. Bioeng.*, **123**, 748–753 (2017).
 - 39) Anderson, D. M.: *Design for manufacturability: How to use concurrent engineering to rapidly develop low-cost, high-quality products for lean production*, CRC press, Boca Raton, FL (2014).
 - 40) Kino-oka, M. and Sakai, Y.: *Regen. Ther.*, **12**, 1 (2019).
 - 41) Kino-oka, M., Mizutani, M., and Medcalf, N.: *Cell & Gene Therapy Insights*, **5**, 1347–1359 (2019).
 - 42) Kino-oka, M. and Taya, M.: *J. Biosci. Bioeng.*, **108**, 267–276 (2009).
 - 43) Kino-oka, M.: *Innovative Strategies in Tissue Engineering* (Prasad, M. S. and Nardo, P. eds.), pp. 97–106, River Publishers, Denmark (2014).
 - 44) Kato, Y., Kim, M. -H., and Kino-oka, M.: *J. Biosci. Bioeng.*, **125**, 736–740 (2018).
 - 45) Kim, M. -H., Takeuchi, K., and Kino-oka, M.: *J. Biosci. Bioeng.*, **127**, 372–380 (2019).
 - 46) Mizutani, M., Terunuma, H., Samejima, H., Ashiba, K., and Kino-oka, M.: *Regen. Ther.*, **12**, 102–107 (2019).
 - 47) Chihara, R., Kitajima, H., Ogawa, Y., Nakamura, H., Tsutsui, S., Mizutani, M., Kino-oka, M., and Ezoe, S.: *Regen. Ther.*, **9**, 111–115 (2018).
 - 48) Ogawa, Y., Mizutani, M., Okamoto, R., Kitajima, H., Ezoe, S., and Kino-oka, M.: *Regen. Ther.*, **12**, 36–42 (2019).
 - 49) Mizutani, M., Samejima, H., Terunuma, H., and Kino-oka, M.: *Regen. Ther.*, **5**, 25–30 (2016).
 - 50) Kato, Y., Matsumoto, T., and Kino-oka, M.: *Regen. Ther.*, **12**, 20–26 (2019).
 - 51) Kagihiro, M., Fukumori, K., Aoki, T., Ungkulpasvich, U., Mizutani, M., Viravaidya-Pasuwat, K., and Kino-oka, M.: *Biochem. Eng. J.*, **131**, 31–38 (2018).
 - 52) 水谷 学, 紀ノ岡正博: バイオサイエンスとインダストリー, **76**, 484–485 (2018).
 - 53) Hayashi, Y., Horiguchi, I., Kino-oka, M., and Sugiyama, H.: *Comput. Chem. Eng.*, **132**, 106597 (2019).
 - 54) 稲森雅和, 澤田昌典: 生物工学, **96**, 391–395 (2018).
 - 55) 紀ノ岡正博: 化学工学, **81**, 140–143 (2017).
 - 56) Kikuchi, T., Kino-oka, M., Wada, M., Kobayashi, T., Kato, M., Takeda, S., Kubo, H., Ogawa, T., Sunayama, H., Tanimoto, K., Mizutani, M., Shimizu, T., and Okano, T.: *Regen. Ther.*, **9**, 89–99 (2018).
 - 57) 水谷 学, 紀ノ岡正博: 生物工学, **96**, 317–319 (2018).
 - 58) 久保寛嗣, 牧野穂高: 生物工学, **96**, 324–327 (2018).