

第18回 日本再生医療学会総会  
味の素株式会社 共催学術セミナー 16 (SES -16)

# 「ヒト iPS 細胞を用いた肝疾患に対する 新規治療法の開発 ーオルガノイドの臨床応用ー」

会場  
神戸国際会議場(1F)  
第5会場  
「メインホール」

日時 | 2019年3月22日(金)  
12:10-13:00

本総会共催学術セミナーは整理券制となります。

■配布場所：神戸国際展示場 2号館 1F ロビー

■配布時間：3月22日(金) 7:30～11:00

※整理券はセミナー開始5分後に無効となります。

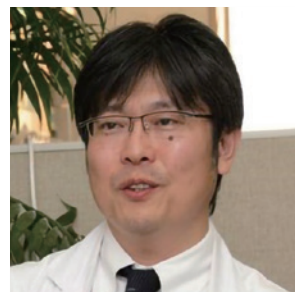
## 座長

大阪大学大学院工学研究科 生命先端工学専攻  
生物工学コース  
生物プロセスシステム工学研究室 教授  
**紀ノ岡 正博** 先生



## 演者

東京大学医科学研究所 幹細胞治療研究センター  
再生医学分野 教授  
横浜市立大学大学院 医学研究科  
臓器再生医学 教授  
**谷口 英樹** 先生



# iPS 細胞を用いた 肝疾患に対する新規治療法の開発

東京大学医科学研究所 幹細胞治療研究センター 再生医学分野  
横浜市立大学大学院 医学系研究科 臓器再生医学  
教授 **谷口 英樹** 先生

本セミナーでは今後、臨床研究を計画している  
iPS細胞を用いた臓器再生プロジェクトの準備状況に関して紹介する。

再生医療開発のロードマップ(ミレニアムプロジェクト)は、西暦2000年に制定され25カ年のプログラムで推進されている。網膜や血小板、パーキンソン病の領域で臨床試験を開始することが実現しつつある(図1)。これらはロードマップの第二段階に設定されているが、その先の第三段階の領域こそが再生医療の「本丸」である。しかしながら、それは簡単には達成できない領域であり、そのために革新的なブレイクスルー技術を開発する必要がある。再生医療の本丸とは、他に治療法が無く、再生医療でないと治療が困難であり、競合する技術が無い疾患領域である。この領域には、複雑な神経ネットワークを再構成する脊髄損傷治療などが含まれるが、もう一つは「ヒト臓器の創出」であり、とくに肝臓や腎臓において強い期待とニーズがある。我々はヒト臓器の創出の中でも、とくに肝臓をターゲットとして、この数年間にわたり研究開発を進めてきており、臨床研究の開始が間近という状況までできている。

私が何故肝臓を創る研究をしているか、という背景から紹介する。私は元々移植外科医であり、筑波大学臨床医学系で仕事をしていた。その時のメンターが岩崎洋治教授である。岩崎教授は、本邦初の肝臓移植を実施され、また、本邦初の腎臓移植の長期生着に成功された方である。さらに、本邦初となる膵腎同時移植(脳死移植)も実施されている。困難性があっても、やるべきことはしっかりと推進してこられたという点において、私は非常に尊敬している。20世紀の先進医療開発の代表的な事例は移植医療であるが、私は岩崎先生の成果を辿りながら、再生医療開発に挑んできているという状況である。私が平

成元年に筑波大学医学専門学群を卒業した年に、肝再生因子(HGF)が発見され、それに触発された岩崎教授が、「谷口君、肝臓を創れませんか？お前さんなら出来るだろう！」と言われた。この一言が私の人生を決め、平成元年から肝臓を創る研究を地道に続け、今まさに、岩崎先生が目指していた患者さんを助ける研究になりつつある。ヒトの臓器を創ることを目標とする技術開発は、世代を越えて取り組むべき研究であると考えている。

移植医療におけるドナー臓器の絶対的な不足は、我が国に限らず世界的に非常に重要な解決課題となっている。米国における臓器移植の分配機関であるUNOS (United Network for Organ Sharing) が示す統計データでは、臓器移植の実施件数は約3万件(2013年)である。我が国の状況からするとこれは非常に大きな数字であるが、これをはるかに上回る数字として waiting list(移植臓器を待っている患者数)に登録されている患者様の数が約13万人であり、その差は約10万人である。すなわち約10万個の臓器が現時点で足りていないということになる。さらに恐ろしいのは、この数字は右肩上がりの上昇トレンドを呈しており、将来、より深刻になっていくことが明らかであることである。ヒト臓器を創る研究が、21世紀における医療技術としていかに重要かということを示している統計データであるといえる。

我々は、iPS細胞研究からこの課題解決をしようと考えている。我々が研究を開始した当時は、世界中の研究者の大部分がiPS細胞から「細胞」を作る研究をしていた。肝臓の領域でも、iPS細胞から hepatocyte を作る研究が非常に多く実施されていたが、私は移植外科

医であったため、患者様を助けるための研究を行っているという思いが強く、臓器を創ることを目標にした。臓器を創ることができれば、臓器移植に応用することができ、患者様を助けることができる。非常に挑戦的であったが、当時、武部貴則君という非常にchallengingな若者がラボに来てくれたこともあり、一緒に臓器を創る研究を開始した。

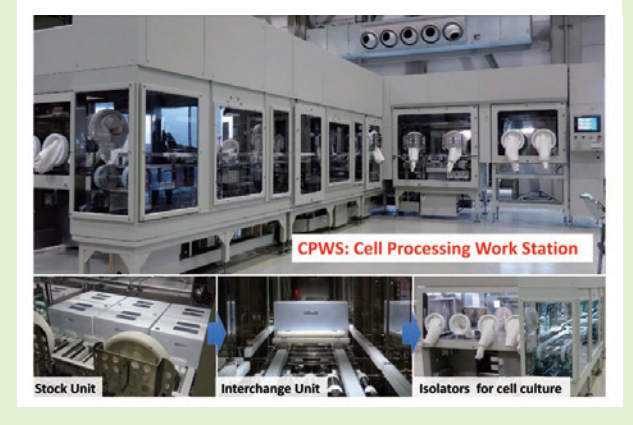
## iPS細胞から肝芽の作製に成功

まず、ヒトのiPS細胞から肝臓の前駆細胞を分化誘導し、そこに間葉系幹細胞と血管内皮細胞(HUVEC)の3種類の細胞を至適条件下で共培養することで、二次元平面上で自律的に三次元構造体(図2)を構築する技術の開発に成功した1)。これは細胞間の相互作用を効率良く発揮させるため、それに適した細胞を選択して混ぜることにより達成されている。この培養系では、in vivoで肝臓の芽が出る(出芽する)現象を、in vitroで再現することが可能である。さらに素晴らしいのは、肝臓の内部に三次元的に血管網の構造ができることであり、細胞がただ単に集まり三次元的な塊を作ることは一線を画している。オルガノイドとは、このような三次元的な組織構造を有するものである。

このオルガノイドに関して様々な角度から調べてきたが、一つの例として、シングルセルRNA シークエンス解析を行っている2)。作製した肝芽を一度ばらばらにし、細胞一個一個で発現している遺伝子発現情報を網羅的に整理整頓し、従来の平面培養でのiPS細胞からの分化誘導系と、我々の三次元培養の分化誘導系とを遺伝子発現パターンで比較した。その結果、三次元培養を開始した瞬間から、網羅的遺伝子発現シグニチャーが平面培養とは大きく変わっていることが判明した。そして、この変化する方向性を解析すると、三次元培養系で得られた細胞は、身体中の肝臓中の hepatocyte に近似性を高めるように変化することが示唆された。つまり、より身体の中の状態に近い細胞を創るためには、三次元培養は従来の二次元培養と比較して圧倒的なパワーを持っているのである。

このオルガノイドをin vivo(免疫不全マウス)に移植して様々な解析をした1)。オルガノイドは全てヒトの細胞できている。免疫染色画像から、オルガノイドの中ではヒトの血管系が形成され、その周辺ではマウスの血管系との効率的な血管吻合が生じていることが判明した。移植をしてわずか2,3日で血管吻合が成立し、血液灌流が早期に開始されていることが明らかとなった。通常、血液灌流が生じるまで10日以上要するが、わずか数日でオルガノイド内の血管内にマウスの血液

図4 我々が新しく構築した細胞加工施設



が灌流することは非常に驚きであり劇的な結果である。

我々が作製している肝芽は、あくまでも胎児期の器官原基に相当するものをin vitroで作製しているに過ぎないが、これを移植するとin vivoでも分化が進み、最終的には治療効果を発揮するほどの肝機能を有する肝臓へと分化することが示されている3)。我々が現在成功しているのは、徐々に死亡していく亜急性肝障害モデルでの治療であり、すぐに死亡する急性肝障害モデルで成功するには、さらに工夫が必要である。我々が使用した亜急性肝障害モデルでは、30日後の無処置のSham群では生存率が3割程度だが、移植群では約9割程度に向上することができ、移植した肝芽の治療効果が示された。

ここで非常に重要なのは、我々が新しい治療概念を提唱しているということである。「細胞」を作って再生医療をするというのは、従来の再生医療の主たる考え方である。あくまでも細胞療法という概念である。一方、臓器移植は、素晴らしい治療効果をもたらすが、臓器そのものを創ることはまだまだ難しいだろうと考えられている。我々は、その中間段階に相当するような第三の新しいコンセプトを世に初めて問うたのである(図3)。「臓器の芽」であれば、今の技術で創ることができ、その「臓器の芽」を移植することによって、治療効果をもたらすことが実際可能ではないか、というコンセプトの提案である。平たい言葉で表現すると、「臓器の芽であれば創ることができる。そしてその臓器の芽を患者様に移植をして、患者様の身体の中で、患者様ご自身に機能的な臓器に育てて頂く。」という、外科医の観点からの発想で行った研究である。このコンセプトは非常に高く評価され、Scienceが毎年10件ほど選ぶ「BREAKTHROUGH OF THE YEAR(2013)」に、選んで頂いた。ちなみにその時の1番目に選ばれたのは、Cancer Immunotherapy、すなわちオプシーボの臨床的成功である。それに次ぐ二番目として、ミニ臓器で臨床的な成果を上げることが、世界的に大きな期待を集めたのである。

## 臨床試験に向けた解決課題

臨床試験に向けた解決課題は、主として3つあった。一つは、マウスではなくヒトの治療ということで、肝芽を大量に製造しなければならなかった。二点目に、GCTP(Good Gene, Cell & Tissue Practice)に準拠し製造しなければならなかった。これは非常に苦労した点である。三点目は、ヒトに移植する上で安全性を担保した移植操作技術を確立することは極めて重要な課題であり、開発の焦点を絞って検討した。

図1 再生医療開発のロードマップ(ミレニアムプロジェクト)

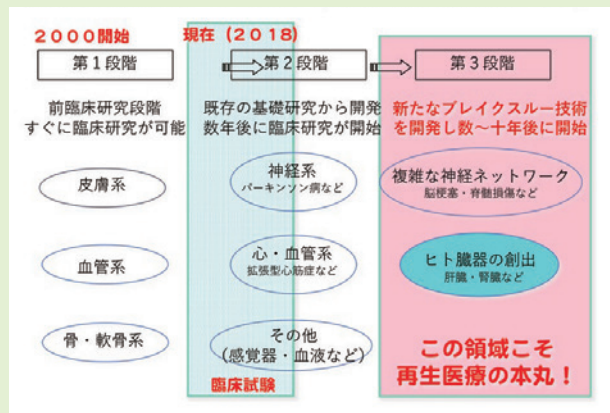


図2 肝芽とその血管網構造

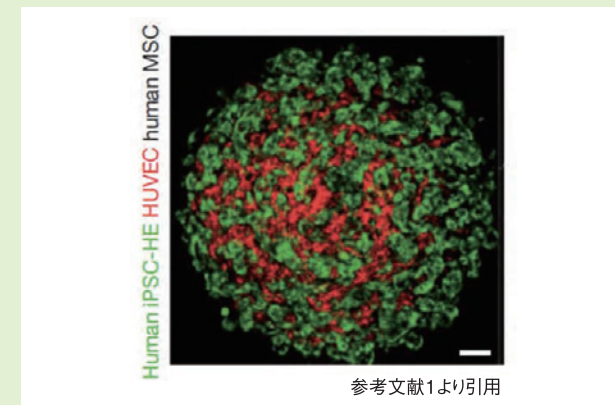
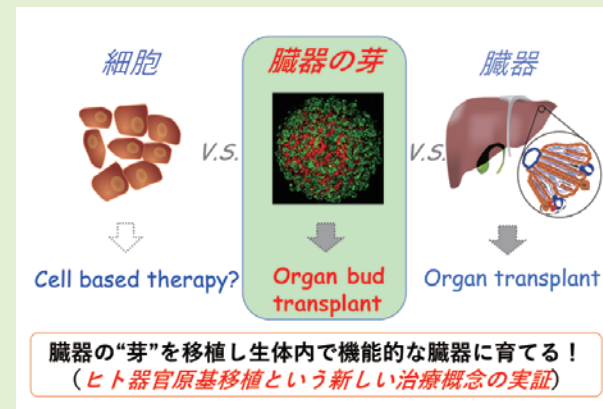


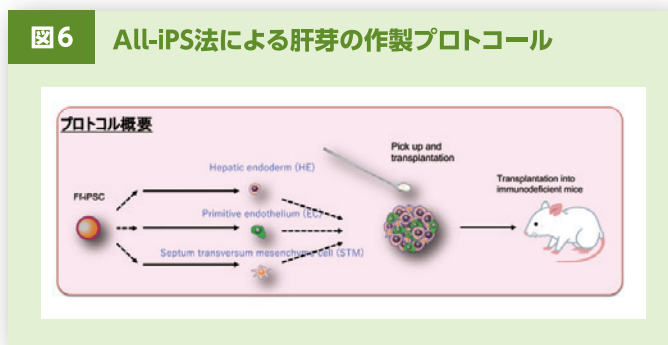
図3 臓器の芽を用いた新しい治療概念



一点目の大量細胞製造に関しては、細胞加工施設の整備が必須であるが、当時、施設内にクリーンルームを造ることは困難であったため、複数(最終的には4台)のアイソレーターをインターチェンジユニットで連結することでCell Processing Work Stationの設備を整えた(図4)。最大の工夫はストックユニットであり、アイソレーター内の清潔環境下に様々なものをストックすることを可能とし、特許出願した技術である(特願2014-197443)。私が規格として要求したのは、どの2地点間をとっても30秒以内に物品輸送を可能にして欲しいという点であり、紀ノ岡先生のご協力もあり、様々な工夫が施され、最終的に素晴らしい融合型のアイソレーターユニットを作製することが可能となった。本設備に関しては、現在まで50回以上の試験稼働を行っているが、現状の課題を解決し次の開発に繋げていくことも並行して行っている。

株式会社クラレと共同開発した特殊培養プレートに関して紹介する(図5)。これによって、肝芽をより短期間に、より少数の細胞で、より低コストで作製することが可能となった。さらに、門脈内投与という血管内に肝芽を投与するため、肝芽サイズのコントロールが非常に重要であるが、このプレートによって実現可能となり、一期的製造の基盤技術を確立することができた。

もう一点根幹的な課題として、細胞ソースをどうするかという問題があった。前述の通り、原法ではiPS細胞から肝臓の前駆細胞であるHepatic endoderm(HE)を作り出し、血管系の細胞はヒト臍帯静脈内皮細胞(HUVEC)を用い、間葉系の細胞は、基礎研究においては骨髄由来の間葉系幹細胞を、また臨床試験においては臍帯由来の間葉系幹細胞幹細胞を用いて、iPS細胞と体性幹細胞のハイブリット肝芽を作製しようというのが当初の計画であった。しかしながら、大量製造を検討していく上で、ヒト由来の体性幹細胞はロット差があることや、樹立成功率が100%ではないことから、規格化していくことが非常に困難であろうと考えた。そこで、iPS細胞からすべての細胞を分化誘導するAll-iPS型の肝芽を作製することにし、非常に困難性は高かったが、大量製造を規格化する上でやるべきこととして取り組んだ。とくに安全性の確保が極めて重要であり、品質評価法の開発など、これまでに色々な手を打ち、現在では概ね解決の目途が立っていると考えている。非常に重要なのは、胎児期の肝芽を作製しようとしているため、すべての細胞が胎児期の細胞であった方が良いだろうという点である。組織の特異性も考慮し、例えば間葉系細胞であれば、最終的に横中隔の細胞であるSeptum transversum mesenchymal cell(STM)を肝臓の初期発生に関与する間葉系細胞を作製することによって、至適条件に



近い肝臓を作製できるのではないかと考えている。このように、All-iPS法の方が、製造する肝芽の高機能化が可能だろうと考えている。実際に検討してみると、従来法よりもAll-iPS法の方が、機能が高まることも確認することができている。

どの細胞株を使用するかという点も非常に重要であるが、我々が確立した最終的なプロトコールでは、どの細胞株を使用しても、ほぼ同じデータが得られる。このことから、我々のプロトコールは非常に安定しており、製造という観点からも非常に良い方法であると考えている。

All-iPS型肝芽の最終的な作製方法を検討し、Hepatic endoderm (HE), primitive endothelium (EC), Septum transversum mesenchymal cell (STM)という3種類の細胞をすべて一種類のiPS細胞から作り出すことに成功し、従来法で作製した肝芽との同等性を担保できることを確認した4)(図6)。同等性の担保データとしては、in vitroにおけるタンパク質分泌能やアンモニア代謝能、in vivoで移植した際の血管吻合の効率や、肝機能に関する指標で確認した。

All-iPS型肝芽作製方法をGCTPに準拠したプロトコールで実施することが非常に大変であったが、味の素㈱と共同研究をして、非常に良いプロトコールを作成することができた(図7)。StemFit AS400(開発品)ならびにStemFit Basic03という培地を使用すると、生物由来性原料基準に対応した肝臓製造プロトコールを実現させることができる。さらに、絶対を外すことができないサイトカインとしてアクチビンAに関して、臨床使用可能な製品を味の素からご提供いただき、臨床試験を実施できるプロトコールが完成した。非常に重要なのは、このStemFit AS400により生物由来性原料基準に対応していないB27をプロトコールから排除できた点である。

図7 生物由来性原料基準に対応したプロトコール

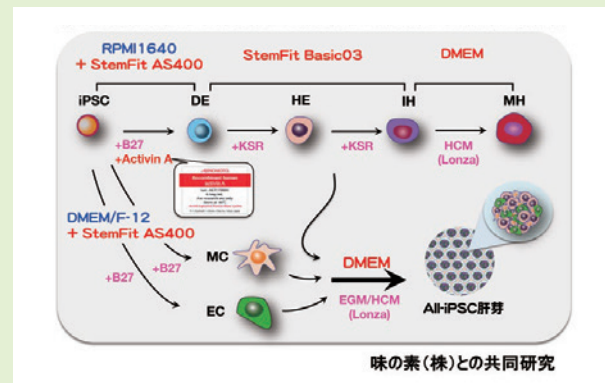
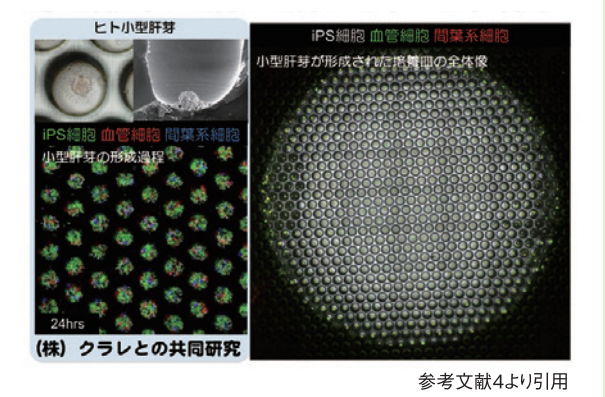


図5 三次元細胞培養容器Elplasia®



そのようなプロトコールで製造した肝芽のマウスでの有効性を評価すると、N数が100以上のデータで、先ほど示したモデルよりも重篤な肝障害モデルであったが、統計的な有意差を以て明確な有効性を示すことができた4)。また肝芽の製造バッチ間の比較を行ったところ、肝芽移植後のin vivoでのアルブミン分泌を評価した結果、一定の数値を示すことが明らかとなった。

さらにHepatic endoderm(HE)やSeptum transversum mesenchymal cell(STM)の一般的な確認試験を実施している。この評価のうち、肝芽凝集能の確認に関しては、我々しか実施できない重要な評価項目として考えている。最終的な肝芽の確認試験としては、様々な指標で評価しており、すでに行った試験製造25回分のデータに、現在取得済みのデータを更に重ねていくと、結果のエラーバーが徐々に小さくなり、最終的にはかなり均一なデータが得られるようになってきている。アカデミアが行っている製造施設としては、究極的なところまで到達できていると考えている。

これらは品質管理としては一般的な方法だが、それに加えて、以下のようなことを実施している。肝臓は人体の中で最大の臓器であるため、治療効果を出すためには投与する細胞数が最も多くなければならない。そのためには、未分化状態のiPS細胞をきちんと排除しなければならず、この排除する手法を重要な研究開発項目として実施してきた。一般的に未分化状態の最も良いマーカーとして知られているのがLIN28Aという因子だが、確かに未分化細胞に限定的に発現しているのが確認されたが、iPS細胞から肝臓へと分化する初期段階Definitive endoderm(DE)でもLIN28Aがある程度発現していることが明らかとなった2)。その先に分化を進めると発現しなくなるが、LIN28AではiPS細胞とDEとを区別することはできない。よって、純度試験に使用できるより良いマーカーを独自に探してきた。因みにSOX2およびNANOG、OCT3/4も未分化iPS細胞の非常に特異的なマーカーであるが、これらは発現レベルの絶対値が低すぎて、実際の現場における評価指標としては使用することができない。現在我々は、独自に選出した3つの遺伝子を主として品質評価に使用しているが、これらの遺伝子はiPS細胞の微量スパイク試験での整合性をきれいに取ることができる。3種類のうち1種類のマーカーを使用すると、検出限界が0.005%であり、3種類を組み合わせ使用してさらに特異度を上げる検討を現在行っている。

もう一つの課題として、製造した細胞のばらつきがある。分化誘導した細胞は、ある程度の均一性はあるが、生き物を扱っているため一定のばらつきがあり、従来の低分子創薬とは異なる点である。それをいかにして純度試験に落とし込むかが課題だが、最終的には抜き取り試験で得られた細胞をシングルセル化してRNAシーケンスをすることで確認している。未分化のiPS細胞を分化誘導させ成熟化させたhepatocyteでは、遺伝子発現パターンの結果からかなりのばらつきが認められる2)。これは分化誘導の問題なのか、実際の生体内の成熟化したhepatocyteが実は異なる細胞集団から成るのかということが考えられ、我々は後者だと考えている。よってこれらは解決課題ではなく、このようなものと捉え、このようなデータから、我々はDefinitive endoderm(DE)やHepatic endoderm(HE)といった均一性の高いステージの細胞によって肝芽製造の規格化を達成しようとしている。

## OTC欠損症への肝芽の応用

有効性評価に関しては、質量分析装置を使用して代謝フラックス解

析を行っている。これを用いて、ヒトのiPS細胞のin vitroでのPOCを取得した。我々は、OTC欠損症(尿素サイクルの一部のオルニチンをシトルリンに変換する酵素OTCを欠損した代謝性疾患)の治療をターゲットとしているため、このあたりの代謝解析を行った。この結果より、primary hepatocyteのOTC活性よりは劣るが、我々の肝芽でもOTC活性が認められた。これらのデータは、慶応大学の末松先生との共同研究により取得することができた。これによって、我々の作製した肝芽はOTC活性を有することが判明し、それによりOTC欠損症の治療に踏み出す科学的根拠があることが示された。

実際に試算した細胞数をOTC欠損モデルマウスに投与し評価した。OTC欠損症の患者さんは軽症の患者さんが多いが、これまでこの良いモデルマウスが無かったため、川崎市にある実験動物中央研究所と共同開発し、臨床例に近い軽症型であり、且つ、移植実験をするため免疫不全(NOG)マウスでもあるOTC欠損マウスを作製した。これらのモデルマウスでは尿中オロト酸が高値を示すが、肝芽を移植すると、この値が低減することが認められた。これらの結果からin vivoでもPOCが得られたと考えている。また、OTC欠損症は変異が入る場所によってphenotype(症状)がかなり異なり、実際には重症型の患者さんもいらっしゃる。重症型に関しては、従来からモデルがあり、野生型と比較すると体格も異なり何とか生きていくという状態だが、そのマウスに移植したところ、まだN数が十分でないため統計的な有意差が得られていないが、生存率の結果では明らかに差が認められている。検討を継続することで近日中に明確な効果が得られると考えている。

## 肝芽移植に向けた検討

開発当初から、肝芽は門脈内に投与するべきであると考えていた。初期の臨床試験において最も重要なのは、有効性以上に患者さんの安全性を保つことである。臨床の先行研究として、臍島移植という方法があり世界中でこれまで1000例くらいの治療実績があるが、その移植操作としては肝臓の門脈内にカテーテルを挿入して、そのカテーテルから臍島を投与する方法である5)。投与臍島数は約50万個と非常に大量の臍島を移植しているが、これまで肝障害等による死亡例は一例も無く、この臍島に近いサイズの肝芽を作製すれば、少なくとも移植手技に基づくリスクを排除できると考え、肝門脈投与を採用し開発している。

そして、一定の条件を整えると、移植した肝芽が生体内で増えることを確認しており、条件次第では肝臓を完全に創り直すことができる方法ともなることを確認している。臨床応用するためには前処置を色々検討する必要はあるが、造血幹細胞移植の様に肝芽移植をする時代は決して夢ではないと考えられるようなデータが得られている。すなわち肝移植を肝芽移植が代替することは夢ではないと考える。OTC欠損症は酵素欠損の病態であって、肝障害が起きるわけではない。その為、肝芽移植した際の生着率は低い、臨床における幾つかの先行研究から、生着率1~3%で、肝移植ブリッジという治療効果が得られることが示されている。我々は、肝芽を全く前処置しない状態で移植しても生着し、これら先行研究の生着率を上回ることを確認できている。この点からも我々の肝芽移植は臨床試験に進めると判断している。

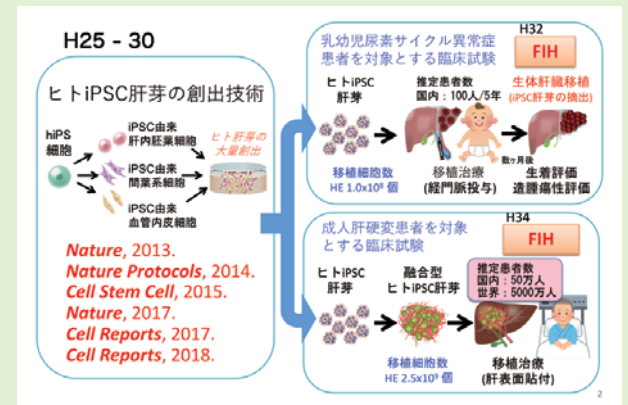
肝芽の一般毒性試験では、様々な検討をしている。例えば肝芽のサイズが変わるとどうなるかという検討では、ある一定のサイズを上回ると血管に詰まり危険であることを把握できているため、製造の品質

評価基準として、サイズ項目を取り入れている。また移植方法の検討では、門脈の一番太い部位である本幹から大量の細胞を投与すると危険であるが、選択的門脈移植(カテーテルのチップの先端の位置を血管のより深い箇所に進めていくことで、より限定された部位に細胞移植すること)によって、門脈本幹からの投与時よりも更に高用量の細胞数を投与しても安全性を担保できるという、想定した通りの結果が得られている。よって手技的な安全性はかなり担保できていると考えている。また移植細胞の他臓器移行が懸念されていたが、我々は徹底的に検討を行った。その結果、シングルセルを移植した際は、肝臓以上に肺に移行することが確認されており(脳、腎臓、脾臓への移行は認められなかった)、想定した以上にシングルセル移植の場合は生体内の肝臓を潜り抜けてしまうことがわかった。一方、肝芽移植では細胞の塊を移植するため、血管内にしっかりと留まり、調べてみるとほとんどの移植細胞が肝臓に留まることが確認された。これらの結果より、手技的な安全性を担保するという点と、万が一造腫瘍性があった場合のリスク拡散という観点からも、この肝芽移植には優位性があり、将来的にシングルセル移植よりもこのオルガノイド移植が有効になることが示唆されるデータであると考えている。

臨床試験を行う上では、まず大動物(実際には中型動物であるブタ)に投与する試験で確認することが必要となる。我々は今、国立成育医療研究センターの先生とともに手術をしており、移植部位に色素を注入し移植部位を同定して、そこを狙って肝芽を移植することを行っている。移植投与量に関しても、実際の投与量の約10倍量まで安全性評価試験を行っている。血管内に投与するため、懸念事項としては、血管の内圧が上昇することがあったが、移植直後に門脈内圧は上がるものの一過性であり、移植一週間後には正常値に戻り、その間肝機能マーカーの異常は起きないことが確認されている。これらの結果より、移植操作技術としても、臨床に進める段階となったと考えている。

しかしながら、これでもまだ未分化iPS細胞混入だけでなく思わぬ遺伝子変化が発生するリスクも完全に排除することはできないと考え、尿素サイクル異常症を対象とした臨床研究にのぞむ予定である。この臨床研究のデザインを工夫することによって、最終的には患者さんの安全性を完全に担保できると考えている(図8)。安全性評価試験としては、肝芽を移植した後、肝移植ブリッジの成功あるいは高アンモニアアタック頻度の改善を評価する(他に副次項目あり)。さらに数か月後に、肝臓移植時に患者肝臓の摘出し、体外に摘出する。これま

## 図9 今後の臨床試験の計画



での検討より、iPS由来の肝芽は肝臓内に留まっていることが確認できているため、iPS細胞由来細胞は数か月後には体内から全て摘出されることになる。それによって完全な安全性を担保する。一方で摘出した肝臓をよく調べることが可能となり、これは多くあるiPS細胞を用いた臨床研究プログラムの中でも、我々が初めてである。ヒトiPS細胞をヒトに投与し、それがどうなったかということ、特に造腫瘍性リスクについて臨床データで示すことができ、我々はこのステップをきちんと踏みたいと考えている。これらによって安全性がしっかりと担保されることにより、初めて有効性評価に移行し、投与細胞数を段階的に増加させるdose escalation試験をすることができる。このように臨床研究を二段階構成で実施しようと考えている。

我々は平成24年からこの開発を始めたが、平成30年まで、様々な基礎データや課題解決を行い、必要な準備は揃ってきたと考えている。そして平成32年(令和2年)に、乳幼児尿素サイクル異常症の患者さんを対象とした臨床試験の開始を予定している。この疾患は5年間で100名ほどの患者発生という希少疾患である。さらに本セミナーでは詳細を紹介することはできないが、平成34年(令和4年)の臨床試験の実施を目標に、成人の肝硬変患者への治療法の開発も進めている(図9)。この疾患は、推定患者数が国内で50万人、世界で5000万人といった大きな市場である。この開発に関しても、すでに複数のモデルでPOCを取得できており順調に開発が進んでいる。このように我々は、これらの二つの臨床試験の実施を目標に現在開発を進めている。

### 【参考文献】

- 1) Takebe T. et al., Nature. 2013 Jul. 25 ;499(7459):481-4
- 2) Camp. JG. et al., Nature. 2017 Jun 22 ;546(7659):533-538.
- 3) Takebe T., et al. Nat Protoc. 2014 Feb 9(2):396-409.
- 4) Takebe T., et al. Cell Rep. 2017 Dec 5;21(10):2661-2670
- 5) Robertson RP. N. Engl. J. Med. 2004 Feb 12 ;350(7):694-705.

## 図8 尿素サイクル異常症を対象とした臨床研究のデザイン

