iPS 細胞由来ドパミン神経前駆細胞を用いたパーキンソン病に対する細胞移植治療

京都大学 iPS 細胞研究所 臨床応用研究部門*

土井大輔*・高橋 淳*

Cell transplantation therapy using induced pluripotent stem cell-derived dopaminergic progenitors for Parkinson's disease

Cell transplantation therapy for Parkinson's disease has been shown to be effective in some cases in clinical trials of fetal cell transplantation. Based on these results, research has been conducted by using pluripotent stem cells, such as embryonic stem (ES) cells and induced pluripotent stem (iPS) cells, as a cell supply source. Clinical trials of cell transplantation therapy using pluripotent stem cells have recently been initiated around the world, and in Japan, a Physician-led clinical trial using iPS cells were initiated in 2018. In this article, we discuss the history of cell transplantation therapy for Parkinson's disease and details of development of cell transplantation therapy using pluripotent stem cells, including pre-clinical studies for the clinical trial. The indications, methods, and risks in the clinical trials are also outlined.

パーキンソン病に対する細胞移植治療は、胎児細胞移植の臨床試験で症例によっては有効であるという結果をもとに、ES細胞やiPS細胞などの多能性幹細胞を細胞供給源として研究が進められてきた。最近、世界で多能性幹細胞を使用した細胞移植治療の臨床試験が開始されており、筆者らは2018年からiPS細胞を使用した医師主導治験を開始した。本稿ではパーキンソン病に対する細胞移植治療の歴史、多能性幹細胞を用いた細胞移植治療の開発経緯と、臨床試験での適応、移植方法、リスクについて概説する。

Daisuke Doi, Jun Takahashi**

Keywords: Cell transplantation, Human induced pluripotent stem cells, Parkinson's disease, Dopaminergic progenitor cells

1. はじめに

パーキンソン病は、多能性幹細胞を用いた細胞移植治療のターゲットとして、神経系疾患では網膜色素変性や脊髄損傷と並んで注目され、それぞれ臨床応用への扉が開かれたところである。筆者らは2018年から「パーキンソン病に対するヒト iPS 細胞由来ドパミン神経前駆細胞の細胞移植による安全性および有効性を確認する医師主導治験(第I/II相、JMA-IIA00384,UMIN000033564)」を実施している。

2. パーキンソン病

1817年にJames Parkinsonにより“Shaking palsy”として初めて報告されたパーキンソン病は、中脳黒質のドパミン神経細胞が選択的に障害され、運動緩慢、振戦、筋強剛を特徴とする運動障害を主体とする進行性の神経変性疾患である¹⁾。運動症状以外にも睡眠障害、嗅覚障害、自律神経障害(頻尿、便秘、起立性低血圧など)、うつ状態などの精神症状などの多彩な非運動症状を呈し、患者QOLは著しく低下する。本邦では約16.2万人(平成29年患者調査)の患者がおり、有病率は10万人あたり100~180人程度であるが、年齢とともに患者数は増加し、人口の高齢化に伴い患者人口は今後も増加すると予想される。患者のほとんどは特定の遺伝子

* Department of Clinical Application,
Center for iPS Cell Research and Application, Kyoto University

異常を伴わない孤発型であり、家族内発症者が存在する遺伝性パーキンソン病は5~10%である。

患者のほとんどは40~50歳代以降に発症するが、発症初期にはL-ドパ、ドパミンアゴニストを中心とした薬物治療が第一選択となる。病初期には著効するが、病期の進行や長期間の薬物治療に伴い薬効の減弱や日内変動(wearing off, on-off)、不随意運動(dyskinesia)などの合併症が生じるようになる。進行期には外科的治療が考慮され、視床下核(STN)や淡蒼球内節(GPi)、視床腹中間核(Vim)をターゲットとし、電極で刺激する脳深部刺激治療(Deep Brain Stimulation: DBS)が行われる。DBSは運動症状や薬物療法の合併症に対する有効性が示されているが、ドパミン神経の変性脱落は進行するため長期間にわたり症状をコントロールすることは困難である。

3. パーキンソン病に対する細胞移植治療

細胞移植治療はドパミン神経細胞の減少というパーキンソン病の根本原因に対して、外から細胞を補充する目的で行われる。細胞移植により局所でのドパミン神経によるドパミン合成・分泌および機能ネットワークの構築が期待される。また薬効の維持のため、つまりL-ドパを脳内でドパミンに代謝するためにもドパミン神経細胞が必要である。1987年にスウェーデンで初めての胎児中脳細胞移植が行われ²⁾、その後欧米でいくつかのグループが臨床試験を行っている。オープンラベルの臨床試験では良好な運動症状の改善が認められた^{3~6)}が、米国の2つのRCT試験ではプラセボ群に対して有意な運動症状の改善が得られなかった^{7,8)}。これらの試験では軽症例・若年齢(60歳以下)、移植細胞数のサブ解析では有効性が認められたことから⁷⁾、移植した細胞の量・質や患者の重症度が不均一であった可能性が指摘されている。2000年代になり細胞移植の剖検例や長期成績が報告されるようになり、移植10~20年後も薬物療法が不要で移植細胞が生着している症例も報告されている。一方で、移植された細胞にもパーキンソン病の特徴的であるレヴィ小体様の病理変化が認められ、移植細胞が患者脳の病的

な環境の影響を受けることが示されている^{9,10)}。これまでに行われた臨床試験の結果を踏まえ、ヨーロッパでは2015年から始まったTRANSEURO(<http://www.transeuro.org.uk/>)というプロジェクトで、新しい胎児細胞移植の臨床試験が進められている¹¹⁾。この試験では対象症例や移植細胞の品質などのプロトコルがより厳格に設定されており、胎児細胞移植の有効性を再検証しようとするものである。

4. 多能性幹細胞を用いた細胞移植治療の研究(図1)

胎児細胞移植は中絶された胎児細胞を患者1人あたり数体使用するため、ドナー細胞の供給が困難であり、倫理的問題もある。さらに臨床試験では移植後に不随意運動の合併症が生じたが、これは移植細胞に混入したセロトニン神経が原因の1つと考えられている^{12,13)}。これらの細胞の質・量の問題から、ドナー細胞の供給源として受精卵から樹立された胚性幹細胞(ES細胞、embryonic stem cells)¹⁴⁾や人工多能性幹細胞(iPS細胞、induced pluripotent stem cells)¹⁵⁾といった多能性幹細胞が胎児細胞に代わる細胞の供給源として注目され、研究が進められてきた。iPS細胞は体細胞をリプログラミングと呼ばれる技術により初期胚に近い状態に戻した(初期化)後に目的の細胞に分化誘導して自分に戻す自家移植が可能であることや、ES細胞で問題となる倫理的問題をクリアできることから特に注目されてきた。多能性幹細胞からドパミン神経細胞を分化誘導する方法は、Dual-SMAD inhibition¹⁶⁾とよばれるBMPシグナル、Activin/TGF-betaシグナルの阻害剤を使用して効率よく神経分化を行い、線維芽細胞増殖因子(FGF8)やShh(sonic hedgehog)、Wnt活性化剤といった領域誘導因子を加えて、ドパミン神経の発生母地である中脳腹側のfloor plateとよばれる組織を誘導する方法が主流となっている¹⁷⁾。筆者らのグループでは細胞移植に使用する臨床応用可能な分化誘導方法を検討し、合成ラミニン(Laminin 511-E8 fragment)上で分化誘導を行い、セルソーティングによって中脳腹側のfloor plateをソーティ

図1 多能性幹細胞を用いた細胞移植治療の非臨床試験と臨床試験

HLA ホモ接合体ドナーの末梢血からiPS細胞株を樹立し、セルバンク(iPS細胞ストック)を作製する。iPS細胞から分化誘導および必要な細胞を選別するセルソーティングを行って作製した細胞製剤を用いて、疾患モデル動物に対する非臨床試験を実施する。動物での安全性および有効性を確認した上で、非臨床試験と同じ方法で作製した細胞を用いて臨床試験に進む。

ングしドーパミン神経前駆細胞を濃縮する方法を確立した¹⁸⁾。また最終的に分化したドーパミン神経細胞を移植するよりも、成熟前のドーパミン神経前駆細胞の時点で移植の方が脳内でのドーパミン神経としての生着がよいことを確認し、筆者らの方法で作製したドーパミン神経前駆細胞はパーキンソン病動物モデルラットの脳内に生着し、ドーパミン神経として機能することが確認された。また霊長類パーキンソン病モデル(カニクイザル)への移植実験では臨床で想定される量の細胞移植を行い、MRI(magnetic resonance imaging)やPET(positron emission tomography)によるモニタリングを行った。その結果、移植3カ月後から運動症状スコアの改善が認められ、PETで $[^{18}\text{F}]\text{DOPA}$ や $[^{11}\text{C}]\text{PE2I}$ の移植片への取り込み、つまり移植片のドーパミン合成・再取り込みが確認された。最長で2年間の観察を行い腫瘍形成や増殖細胞の集団は認められず、脳内にドーパミン神経細胞が生着していることを確認した¹⁹⁾。これらの実験結果により、多能性幹細胞が細胞移植治療のドナー細胞として使用できることが確認された。

5. iPS細胞ストックを用いた HLA(human leukocyte antigen)適合移植

前述のようにiPS細胞は自家移植が可能であり、移植後に生じる免疫反応の観点からは自家移植が理想的な細胞移植方法であるが、パーキンソン病患者から作製したドーパミン神経細胞が長期間正常に機能するか不明であること、患者ごとにiPS細胞を作製する必要があるとその製造、品質試験などに現時点では多大な時間と費用を要することから、1種類の細胞で複数の患者を治療できる他家移植が現実的と考えられる。

中枢神経系は他臓器と比較すると免疫反応が弱いとされているが、脳への他家移植後の免疫反応を検討するため、筆者らのグループではサルのiPS細胞を用いた腫瘍組織適合抗原(MHC、major histocompatibility complex)適合移植と非適合移植の比較を行っている²⁰⁾。MHC適合移植では免疫抑制剤なしでもミクログリアを介した免疫反応は少なく、ドーパミン神経は生着した。一方、非適合移植で

は免疫抑制剤を使用すればドパミン神経細胞は生着しており、脳への神経細胞移植では HLA (human leukocyte antigen) 非適合移植でも免疫抑制剤の使用によって神経細胞を生着させることは可能と考えられ、先に行われた胎児細胞移植の臨床試験でも免疫抑制剤の使用により細胞が生着することが確認されている。

京都大学 iPS 細胞研究財団では、再生医療用 iPS 細胞ストックプロジェクトとして、他家移植に使用するための医療用 iPS 細胞ストックの作製・保存が行われている。移植後の拒絶反応に主に関与する HLA-A、-B、-DR の 3 座ホモ接合体をもつ健康人ドナーから末梢血の提供をうけ、高い確率で HLA 適合移植が可能な iPS 細胞株の保存を進めている。試算では、日本人に最も高頻度にみられる HLA3 座ホモ接合体の iPS 細胞株 1 株で人口の約 17% の HLA 適合移植をカバーできる²¹⁾。2020 年 7 月時点で、4 種類の HLA 型の iPS 細胞ストックが作製され、日本人の約 40% をカバーできると考えられる。さらにまだ研究段階ではあるが、ゲノム編集技術を用いて HLA-A/B と CTIIA 遺伝子をノックアウトし、T 細胞のみならず NK 細胞からの攻撃を回避し免疫拒絶のリスクを小さくした iPS 細胞を作製する試みも行われている²²⁾。HLA ゲノム編集による iPS 細胞では、7 株で日本人の約 95% を、12 株で世界の 90% 以上をカバーできるとされている。一方で、ゲノム編集技術によって標的遺伝子以外の部位へ意図しない変異が起きるオフターゲット変異リスクが存在するため、作製された iPS 細胞の品質評価が今後の課題である。このように他家移植を前提とした研究が進んでいるが、iPS 細胞の最大の利点は自家移植が可能なことであり、将来的に自分の iPS 細胞を低コスト・高品質で容易に作製できるようになることが理想的である。

6. iPS 細胞由来ドパミン神経前駆細胞の臨床応用への準備(図2)

臨床応用に向けた具体的な準備として、研究で確立されたドパミン神経前駆細胞の分化誘導工程を、臨床用の製造工程に移行させた。培養に使用する試

薬、資材、セルソーターなどを臨床使用可能なものに変更し、原料は iPS 細胞ストックの日本人最頻度 HLA ホモ接合体の iPS 細胞株を使用して、数百本のマスターセルバンクを構築した。臨床ではセルバンクを 1 本ずつ融解して分化誘導を行い凍結せずに直接細胞移植する計画のため、製造工程を何度も繰り返して再現性を確認した。製造工程では複数の工程内検査項目を設定し、特性解析を実施し、同等の製品が製造できることを確認した。これらの製造工程および最終製品での暫定的な規格値を設定し、次に述べる非臨床安全性試験の結果でその規格値の妥当性を確認した。このような臨床への準備は、規制当局である医薬品医療機器総合機構 (PMDA) との対面助言・事前面談等を活用し、規制当局に説明・合意の上プロジェクトを進めた。

iPS 細胞を用いた細胞製剤に関する特有のリスクとして、①移植片に残存した未分化 iPS 細胞が奇形腫を形成すること、②残存した増殖性の神経幹細胞が過増大すること、③形質転換した細胞ががん化することがあげられる。③については iPS 細胞の樹立時には核型解析を行い、分化誘導途中および最終製品の段階でそれぞれコピー数多型、全ゲノム解析、プラスミド残存試験などを行い、がん関連遺伝子の変異がないこと、樹立に使用したプラスミドの残存がないことを確認し、①、②については分化細胞において未分化細胞の残存や未熟な神経細胞の混入がないことを確認している。

非臨床安全性試験では、がん化リスク、過増大のリスクを評価する目的で、免疫不全マウス (NOG マウス) を用いた造腫瘍性試験を行った(表1)。投与部位は臨床と同じ脳線条体とし、マウス脳内に投与可能な最大投与量を移植した。PMDA との協議の結果、生涯観察を行うこととし、結果的にマウスが寿命で減少し評価匹数が 10 匹以上確保できた移植後 52 週の時点で組織学的評価を行った。組織学的悪性所見や増殖像は認められず、脳内にドパミン神経細胞の生着が確認され、造腫瘍性はないものと考えられた。また、同時に実施した一般毒性試験では移植された動物に移植が原因と思われる異常所見は認められず、ヒト細胞の分布は脳内にとどまり他臓器への転移は認められなかった。また、未分

図2 ヒト iPS 細胞由来ドパミン神経前駆細胞の製造工程

約7週間の工程で、iPS細胞、分化細胞中間体、最終製品の3つのチェックポイントを設定し、それぞれ工程内試験、品質試験を実施する。

表1 造腫瘍性試験の設定

目的	がん化リスク評価	奇形腫形成リスク評価
宿主	NOGマウス	
投与部位	脳(線条体)	皮下(マトリゲル包埋)
投与量	2×10^5 細胞 (マウス脳最大投与量)	6×10^5 細胞 (ヒト1投与経路量)
陽性対照	設定なし	未分化iPS細胞
匹数	n=40	n=20 iPS細胞スパイク n=10 (10~0.001%)
観察期間	生涯観察(移植後52週間)	26週間
評価項目	脳および全身の組織学的評価 (HE染色、免疫染色)	組織学的評価(HE染色) 移植片サイズ

使用動物・投与部位は臨床投与部位または最も感度の高い方法を選択した。生涯観察を行うが組織学的評価にn=10は必要であり、途中死亡を考慮した多めの匹数に投与を行った。

化iPS細胞の混入による奇形腫形成リスク評価のために、NOGマウスの皮下にマトリゲル包埋した細胞製剤を移植した。陽性対照であるHeLa細胞や他のiPS細胞株では皮下腫瘍(iPS細胞では奇形腫)を形成したのに対して、細胞製剤や未分化iPS細胞を

0.001~10%混入させた製品でも腫瘍は形成されず、製品への未分化iPS細胞の混入はなく、混入しても腫瘍を形成しないことが確認された。

また、細胞製剤の有効性を確認するために、6-ヒドロキシドパミンで片側のドパミン神経細胞を脱落

させたパーキンソン病モデルラットの線条体へ移植した。このモデルラットではメタンフェタミン負荷によって左右のドーパミン不均衡による異常回転運動が認められるが、移植後16週以降で異常回転運動が正常化し、線条体にドーパミン神経細胞の生着、周辺の脳組織への神経突起の進展が認められた²³⁾。

これらの結果によりヒト iPS細胞由来ドーパミン神経前駆細胞の細胞製剤の安全性、有効性を確認し、京都大学医学部附属病院での医師主導治験を開始した。

7. 細胞移植治療の適応と方法

進行期パーキンソン病患者が対象となるが、胎児細胞移植の臨床試験の結果からあまり重症すぎる患者は有効性が期待できない。少なくともL-ドーパに対する反応性が保たれていることが重要と考えられる。また、病初期には薬物治療が有効であるため、あまり早期の患者は対象となりにくい。進行中の医師主導治験での適応は、50～70歳、罹病期間5年以上、Hoehn & Yahr重症度分類がオフ時Stage III以上、オン時III以下、L-ドーパ反応性が30%以上となっており、DBSの適応とほぼ同等である。胎児細胞移植では60歳以下の若年例での有効性が確認されており、臨床試験で有効性が確認されれば適応は拡大されていくものと考えられる。

細胞移植手術は、DBSと同じように定位脳手術のシステムを使用して正確にターゲットに細胞移植を行うことができる。術前にMRI画像やPET画像をもとに移植手術のシミュレーションを行い、ターゲットを設定しておく。術前のF-DOPA PETやドーパミントランスポーターシンチ(¹²³I-Ioflupane)で取り込みの低下している、つまりドーパミン神経が脱落している部位をターゲットにすると有効性が高いと考えられる。通常パーキンソン病患者では被殻の後背側のドーパミン神経が脱落している。手術当日は全身麻酔下で定位脳手術用のフレームを頭部に装着し、CT画像を撮影してMRIと合成し、術前シミュレーションどおりに座標を設定する。穿頭術または小開頭を行い、細胞の注入には直径1 mm程度の専用の細胞移植針を用いて、細胞懸濁液または細胞塊

を吸引して行う。

胎児細胞移植の臨床試験では、片側に4.3～13.8万個のドーパミン神経細胞が生着すれば有効であったとされている^{24,25)}。細胞の生着率や生着した神経の軸索進展の程度、脳の環境によって変わるが、片側約10万細胞が目安とされている²⁶⁾。研究用のヒトiPS細胞由来ドーパミン神経前駆細胞をパーキンソン病モデルサルに移植した実験では平均 6.4 ± 4.9 万細胞が生着しており¹⁹⁾、細胞株によっても生着率は異なるが異種移植の結果であることを考慮すると、胎児細胞移植と比較して遜色ない結果といえる。この実験では片側240万細胞を移植しており、医師主導治験でも同等の細胞数を移植する計画である。

8. 細胞移植治療のリスク

移植細胞に由来するリスクとして、前述した腫瘍化の他に、移植片に由来する不随意運動(graft-induced dyskinesia : GID)がある。これはL-ドーパの副作用で生じる不随意運動(levodopa-induced dyskinesia)とは区別され、L-ドーパの内服とは無関係に生じる。胎児細胞移植後の副作用として報告され、胎児細胞組織に含まれるセロトニン神経の混入が原因と考えられている^{12,13)}が、iPS細胞由来の細胞製剤ではドーパミン神経前駆細胞のみが濃縮されセロトニン神経の混入は認められないため生じる可能性は低いと考えられる。

定位脳手術の脳や頭蓋への侵襲は低く、手術に伴う一般的な全身合併症(肺炎、肺塞栓など)は、他の定位脳外科手術と同等であると考えられる。後述するように免疫抑制剤を使用するための感染や薬剤の副作用に伴うリスクは存在する。また、直径1 mm程度の微細な針ではあるが脳への穿刺は複数回行われるため、被殻の深部に存在するレンズ核線条体動脈などの細い動脈を損傷することによる脳出血には注意が必要である。電極を穿刺する脳深部刺激手術では脳内出血合併症は0～5.0%(症候性は0～2.0%)とされている²⁷⁾。術前のMRIを用いたシミュレーションが合併症回避のためには有用と考えられる。

9. 細胞移植手術後のフォローアップ

細胞移植後は2年間にわたり、一般的な身体所見、血液所見等の他に、MDS-UPDRS、ジスキネジアスコア、症状日誌による off時間の確認などパーキンソン病の運動症状を中心に身体所見の観察を行い、有害事象の有無や有効性を検討する計画である。画像検査としてはMRIで移植片のサイズを経時的に測定し、糖代謝を反映する $^{[18F]}$ FDG-PETや細胞増殖の指標である $^{[18F]}$ FLT-PETを行い腫瘍性増殖の有無をモニタリングする。有効性の客観的指標として $^{[18F]}$ DOPA-PETを行い、移植部位でのドパミン合成を測定する。

また、手術後は約1年間免疫抑制剤を使用する。日本人の最頻度HLA ホモ接合体ドナー由来のiPS細胞を使用しているが、HLA適合移植は前述のとおり1/6程度の患者でのみ可能であり、サルでの実験結果²⁰⁾からHLA不適合移植でも免疫抑制剤を使用すればドパミン神経細胞の生着は可能と考えられるからである。HLA ホモ接合体ドナー由来のiPS細胞は胎児細胞よりは免疫反応を生じにくいと考えられることから、治験では血中濃度のモニタリングを行いながらタクロリムス単剤による免疫抑制を行い、活性化したミクログリアに集積する $^{[18F]}$ GE180²⁸⁾を用いたPETで炎症反応のモニタリングを行う。

10. 世界の動向

パーキンソン病に対する多能性幹細胞を使用した

細胞移植治療の臨床試験は、すでにオーストラリアや中国のチームで開始されたとの報告がある^{29,30)}が、これらの試験はドパミン神経に特異的な細胞ではなく、神経前駆細胞の移植である。米国やヨーロッパでもヒトES細胞やiPS細胞を用いた細胞移植治療の臨床試験が計画されているが、筆者らのチームはこれらの研究チームと臨床応用に関する課題や解決策を議論するコンソーシアム(G-Force PD^{31,32)})をつくり、情報交換を行っている。また、1例のみではあるが、自家iPS細胞を用いた細胞移植治療が2017年米国で行われ、2年間の観察期間で安全性に問題はなかったとの報告³³⁾があり、今後も同様の報告が増えてくるものと思われる。

11. おわりに

パーキンソン病に対する細胞移植治療と特にiPS細胞を使用した細胞移植治療の臨床試験についてまとめた。パーキンソン病に対する細胞移植治療の臨床試験が世界中で始まりつつある。薬物治療、DBSが現在のパーキンソン病治療のスタンダードであるが、今後、細胞移植治療が治療オプションの1つとなり、患者のQOL向上に資することを期待したい。

謝辞

最後に、医師主導治験を実施いただいている京都大学脳神経内科 高橋良輔教授、脳神経外科 宮本 享教授、および放射線診断科 富樫かおり教授にこの場を借りて感謝申し上げます。

文献

- 1) パーキンソン病診療ガイドライン作成委員会, パーキンソン病診療ガイドライン2018, 医学書院, 東京(2018)
- 2) Lindvall, O., *et al.*, *Science*, **247**, 574-577 (1990)
- 3) Kordower, J.H., *et al.*, *N. Engl. J. Med.*, **332**, 1118-1124 (1995)
- 4) Olanow, C.W., *et al.*, *Trends Neurosci.*, **19**, 102-109 (1996)
- 5) Hauser, R.A., *et al.*, *Arch. Neurol.*, **56**, 179-187 (1999)
- 6) Kefalopoulou, Z., *et al.*, *JAMA Neurol.*, **71**, 83-87 (2014)
- 7) Freed, C.R., *et al.*, *N. Engl. J. Med.*, **344**, 710-719 (2001)
- 8) Olanow, C.W., *et al.*, *Ann. Neurol.*, **54**, 403-414 (2003)
- 9) Li, J.Y., *et al.*, *Nat. Med.*, **14**, 501-503 (2008)
- 10) Kordower, J.H., *et al.*, *Nat. Med.*, **14**, 504-506 (2008)
- 11) Barker, R.A., *et al.*, *Nat. Med.*, **25**, 1045-1053 (2019)
- 12) Politis, M., *et al.*, *Sci. Transl. Med.*, **2**, 38ra46 (2010)
- 13) Politis, M., *et al.*, *Mov. Disord.*, **26**, 1997-2003 (2011)
- 14) Thomson, J.A., *et al.*, *Science*, **282**, 1145-1147 (1998)
- 15) Takahashi, K., *et al.*, *Cell*, **131**, 861-872 (2007)
- 16) Chambers, S.M., *et al.*, *Nat. Biotechnol.*, **27**, 275-280 (2009)
- 17) Kriks, S., *et al.*, *Nature*, **480**, 547-551 (2011)
- 18) Doi, D., *et al.*, *Stem Cell Reports*, **2**, 337-350 (2014)
- 19) Kikuchi, T., *et al.*, *Nature*, **548**, 592-596 (2017)
- 20) Morizane, A., *et al.*, *Nat. Commun.*, **8**, 385 (2017)
- 21) Okita, K., *et al.*, *Nat. Methods*, **8**, 409-412 (2011)
- 22) Xu, H., *et al.*, *Cell Stem Cell*, **24**, 566-578.e7 (2019)
- 23) Doi, D., *et al.*, *Nat. Commun.*, **11**, 3369 (2020)
- 24) Li, W., *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **113**, 6544-6549 (2016)
- 25) Kordower, J.H., *et al.*, *Mov. Disord.*, **13**, 383-393 (1998)
- 26) Hagell, P., *et al.*, *J. Neuropathol. Exp. Neurol.*, **60**, 741-752 (2001)
- 27) 日本定位・機能神経外科治療ガイドライン作成委員会・実行委員会, 定位・機能神経外科治療ガイドライン第2版, 協和企画, 東京 (2013)
- 28) Wickström, T., *et al.*, *J. Labelled Comp. Radiopharm.*, **57**, 42-48 (2014)
- 29) Garitaonandia, I., *et al.*, *Stem Cells Dev.*, **27**, 951-957 (2018)
- 30) Wang, Y.K., *et al.*, *Stem Cell Reports*, **11**, 171-182 (2018)
- 31) Barker, R.A., *et al.*, *NPJ Parkinsons Dis.*, **1**, 15017 (2015)
- 32) Barker, R.A., *et al.*, *Cell Stem Cell*, **21**, 569-573 (2017)
- 33) Schweitzer, J.S., *et al.*, *N. Engl. J. Med.*, **382**, 1926-1932 (2020)