

## 総括研究報告書

1. 研究開発課題名：ES 細胞等を用いた臨床研究に対する安全基盤の確立
2. 研究開発代表者：梅澤 明弘（国立研究開発法人国立成育医療研究センター・再生医療センター長）
3. 研究開発の成果

本事業における最終的なゴールは、既存 ES 細胞を対象とした我が国の再生医療製品の「原材料」としての資産管理体制を構築することである。ここでいう「原材料」とは、再生医療等製品の製造に使用する原料または、原材料の由来となるものであり、到達目標とする ES 細胞をバンク・ストック製品として、構築を目指すべき具体的な管理体制を構築し、提供体制を設立する。すなわち、製剤の原料、原材料または、原材料の元となる細胞にかかるバンクを想定している。現在、進めている ES 細胞に由来する製品のバンク・ストックを、製造販売を行う企業に対し、産業界から提供できるようにする。対価を得る形の提供システムや個別のバンク構築も視野に入れて作業を進めた。本目標達成のために、製造に用いるヒト ES 細胞を保管・保存用タンクに保管し、製造から時間が経過した後に、製造に用いたヒト ES 細胞を遡って検証が可能となる体制を構築することを同時に進める。トレーサビリティに関しては、属人的な体制から組織的な保管体制を構築した。バンク作製工程毎の ES 細胞の長期的保管体制を構築することで、製造から時間が経過した後に製造に用いた再生医療等製品の原材料の元となる細胞を検証できる体制を構築した。本事業は、製剤の原料、原材料または、原材料の元となる細胞にかかるバンクを想定している。ヒト ES 細胞に関して、学問・技術の進歩、国際的動向、関係法規指針、様々な提言等、関係する諸要素を踏まえて、製造技術、製造工程、製品評価、製品管理面で、保管・保存における留意事項、関連する評価基準、評価技術等について検討した。

### 細胞・組織加工医薬品等の有効性を損なわない保管、保存技術の確立について

ヒト ES 細胞の分化能検定システムの開発ならびに分化形質発現システムを通じた情報収集を行い、有効性を担保する原材料ないしは、原材料の元となる細胞としての細胞の保管・保存技術を確認した。ヒト ES 細胞の分化能検定システムについては、細胞培養系での分化誘導法の決定と免疫不全動物への移植による生着、機能発揮、組織構築能に関する検討を行い、それぞれの能力を有していることを確認した。

### 原材料及び製造関連物質、製造工程、加工した細胞の保管・保存プロセスの構築

1. ヒト ES 細胞に対する網羅的発現遺伝子解析  
網羅的な遺伝子発現解析ならびにモノクローナル抗体を用いた既知の分子発現解析を行い、NCBI のデータベースに公開した(SEES1-3、Accession: GSM1319241-51, ID: 301319241-51, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gds/?term=SEES+human+embryonic+stem+cells>)。
2. ヒト ES 細胞におけるゲノム変異解析  
ヒト ES 細胞における網羅的なゲノム変異を以下のプラットフォームにおいて解析し、公的情報バンクに公開した(<ftp://ftp.ncbi.nlm.nih.gov/geo/series/GSE54nnn/GSE54576/> Accession: GSE54576 ID: 200054576)。これらの情報に基づき、製剤開発におけるゲノム変異の標準となる情報基盤の整備がなされた。
3. ヒト幹細胞特異的マーカー発現にかかる検証  
糖脂質である Stage specific embryonic antigen (SSEA)-4 抗原は ISCI study にも使用されており、ヒト ES 細胞（未分化）に発現する表面マーカーとして広く認知されている。SSEA4、Tumor Rejection Antigen 1 (TRA1-60, TRA 1-81)を用いるとともに、転写因子である Oct3/4 と Sox2 も加えてヒト ES 細胞であることを明確にした (Akutsu H, et al. *Regenerative Therapy*, 1, 18-29, 2015)。フローサイトメトリー解析において SSEA4、TRA1-60、TRA1-81 が陽性であった。
4. 奇形腫病理画像の情報公開  
奇形腫病理画像についての情報公開し (<http://opentein.hgc.jp/>)、リファレンスとしての役割を担っている。

ES 細胞等を用いた臨床研究に対する安全基盤の確立がなされ、再生医療の原材料アーカイブモデルを提示することができた。