

総括研究報告書

1. 研究開発課題名：ヒト iPS 細胞等由来分化細胞の安全性に対するレシピエントの免疫状態の影響評価法の開発に関する研究
2. 研究開発代表者：氏名 佐藤 陽治（国立医薬品食品衛生研究所 再生・細胞医療製品部）
3. 研究開発の成果

ヒト iPS 細胞等の多能性幹細胞由来移植細胞の臨床応用にあたって、非臨床段階での造腫瘍性評価は、最大の隘路とされている。ところで、ヒト iPS 細胞等由来移植細胞は、その臨床適用法に応じて様ではない。例えば、移植細胞数の面からみると、心筋細胞のように 10 の 8~9 乗個から、網膜色素上皮細胞のように数万個のものがある。また、iPS 細胞として自己由来と同種由来のものがあり、これらに由来する移植細胞を投与しようとする際、免疫抑制剤の使用の有無やどのような種類・程度の免疫抑制剤を使用するかという点で様々なケースが考えられる。本研究では、ヒト iPS 細胞由来分化細胞を移植細胞モデルとし、異なる免疫抑制状態のモデル動物評価系を用いて、製品中の腫瘍性細胞の混在量や混在率と陽性検出の関係づけ、移植細胞総数・移植部位などの相異が検出感度を含む造腫瘍性評価に与える影響について検討した。1) ヒト iPS 細胞の NOG-IL2-Tg/ヒト NK 細胞マウスを用いた造腫瘍性試験：自然免疫において主要な役割を果たしている NK 細胞のヒト iPS 細胞への傷害性を、*in vivo* モデルで検討するため、NOG-IL2-Tg マウスに拡大培養ヒト NK 細胞を移植したマウスを作製した。NOG-IL2-Tg マウス (NK cells (-) 群) および NOG-IL2-Tg/ヒト NK 細胞マウス (NK cells (+) 群) に、ヒト iPS 細胞を皮下投与し、腫瘍形成を観察した。その結果、腫瘍形成は NK cells (+) 群においてのみ認められ、NK cells (-) 群における iPS 細胞の生着は認められなかった。本試験系では、ヒト iPS 細胞由来分化細胞の造腫瘍性に対するヒト NK 細胞の iPS 細胞傷害作用の影響を考察することが困難であることが明らかになった。2) 遺伝的背景が同一の、T 細胞、B 細胞または/かつ NK 細胞欠損マウスを用いたヒト iPS 細胞造腫瘍性試験の検討：遺伝的背景が同一で免疫抑制状態が異なる BALB/c-nude マウスと BRG (Rag2-IL2R γ -dKO) マウスを用いて、iPS 細胞の造腫瘍性試験を行った。ヌードマウスに比べて BRG マウスは、B 細胞と NK 細胞がさらに欠失しているにもかかわらず、これらのマウスを用いた iPS 細胞の生着性 (TPD₅₀) の違いは数倍程度であった。以上の結果より、T-B 細胞不全マウス (SCID) も加えて各血液細胞種の影響を評価することは、技術的に非常に困難であると考えられた。3) 遺伝的背景の異なる T-B-NK 欠損マウス系統間でのヒト iPS 細胞の生着性の差の検討：これまでの研究により、共に T、B、NK 細胞を欠失した NOG マウスと BRG マウスとを比較すると、悪性形質転換した不死化細胞である HeLa 細胞の生着性 (TPD₅₀) においてはほぼ同等であったが、不死化しているが悪性形質転換細胞ではないヒト iPS 細胞の生着性 (TPD₅₀) は NOG マウスの方が高く、大きな差があることが明らかになった。現在、他のヒト iPS 細胞株においても NOG マウスおよび BRG マウスにおける造腫瘍性の確認を行っている。今後においても、自己由来/同種由来の各種ヒト iPS 細胞等由来移植細胞の特性と臨床適用法、免疫抑制剤使用の有無や抑制作用の強弱に応じた適正な造腫瘍性評価法の体系化、ならびに First-in-Human での臨床適用の判断のための結果の解釈・対策を可能にするデータを蓄積して行きたいと考えている。