

## 統括研究報告書

1. 研究開発課題名： ヒト胚性幹細胞を用いた臨床利用の安全性検証のための試料保存と分析システムの構築
2. 研究開発代表者： 末盛博文（京都大学 再生医科学研究所）
3. 研究開発の成果

我々は早期の再生医療の実現を目指して臨床用 ES 細胞作製の基盤研究を進めている。臨床用 ES 細胞株の細胞ストックの構築にあわせて、本事業では臨床研究機関へ供給されるものと同一ロットの複数サンプルを保存する。また臨床研究機関で増殖・保存される未分化細胞や、分化誘導後移植に用いる機能細胞の製造で組織幹細胞や前駆細胞が作出される場合は必要に応じてその一部の寄託を求める。これらの試料等は将来起こりうる有害事象の原因究明に備えた長期間にわたり安全に保存する。

この目的のため臨床用 ES 細胞ストックの構築と連携し試料保存システムの運用の規則、SOP などの整備を行うとともに、品質管理の手法、規格の検証を行った。臨床研究に関わる試料は長期間にわたり保存が必要である。保存・培養システムについて、温度等の運転状況のモニタリングシステムを導入したが、システムの動作を検証・確認した。細胞ストック構築における安全性試験にかかわる基準については、ヒト多能性幹細胞の国際連携研究組織である International Stem Cell Banking Initiative から提案されている特性試験もふまえて実施している。品質試験は、大きく 7 項目に分類されるが細胞形態や増殖速度のような基本的特性試験から、順次分析方法や判定基準の確定をすすめた。25 年度は基本的な検査項目である、無菌試験、エンドトキシン試験について SOP や規格について検討をおこなった。特性解析試験基準については形態および細胞増殖速度の 2 項目について、臨床用細胞バンクの SOP 案に従い実施解析した。その結果、従前の試験と同様のデータが得られそのプロトコールの妥当性について検証できた。26 年度事業においては、品質管理項目の中から、異種動物由来成分残存試験、マーカー遺伝子発現解析についてプロトコールの検討および基準値の妥当性を検証した。細胞株の樹立過程で持いられた異種由来成分はバンク化の初期段階で検出限界以下になり、その後の工程により理論的にはほぼ存在を否定できるレベルに達すると推定された。ES 細胞の品質を評価するうえで分化マーカー遺伝子の発現状態は重要な評価指標とされている。そのため評価方法と指標となる値を提示することを目的に遺伝子発現解析方法を確立を進めた。27 年度事業では qPCR アレイを用いて培養条件や調製方法を変動させたサンプルで遺伝子発現を定量的に調べた。同一サンプルでの実験誤差は非常に小さく、高い再現性が期待され、適切に培養されたサンプルでは、未分化マーカー遺伝子の発現は平均値から一定の幅に収斂することなどが明らかになった。これらの結果から適切に遺伝子を選択すれば、比較的少数の遺伝子発現を解析することで精度良く細胞の品質を検定することができるようになると考えられる。ヒト ES 細胞の臨床利用に向けた再生医療安全確保法や ES 細胞の樹立に関する指針、これらに関わる諸規則などが 26 年末に整備され、27 年度はこれらへの対応を進めた。樹立に使用する施設を細胞加工施設として許可をえることが要求され、当初想定されていなかったため許可申請手続きの準備に本事業として協力し、申請への作業を加速した。また並行して臨床用 ES 細胞の樹立計画の申請に対しては、本研究事業では臨床利用を想定した IC や分配に関わる規定の作成をおこなうことで速やかな申請書類の作成に貢献している。保存システムの動作の検証として、実際の収集に先立ち培地等の試薬を複数選定しパイロット保存を開始した。