

## 総括研究報告書

### 1. 研究開発課題名： 特定細胞加工物/再生医療等製品の品質確保に関する研究

#### 2. 研究開発の成果

##### (1) 細胞採取機関における採取環境・採取方法に関する実態把握をめざしたアンケート調査

再生医療等安全性確保法下での、特定細胞加工物の原料における微生物等汚染リスク低減のあり方を検討するため、原料となる細胞・組織採取の実態把握を目的としたアンケートを実施した。日本再生医療学会の協力を受けられたことで、38 機関より 60 例の採取に係る回答を得た。多くはヒト幹細胞を用いる臨床研究を行う公的機関であったが、がん免疫療法等の治療を実施する機関からの回答もあった。採取対象は、末梢血が最も多く、次に間葉系幹細胞の回収を目的とする骨髄や脂肪等であった。これらの採取対象ごとに採取場所とその清浄度管理方法について整理を行った。

##### (2) 無菌性保証及び工程等の微生物汚染リスク低減のあり方に関する研究

###### (2)-1 特定細胞加工物/再生医療等製品（細胞加工物等）の製造における微生物汚染リスクの検証実験

細胞培養加工施設においては、(1)インキュベータ内に汚染物が発生した場合、(2)安全キャビネット内に飛沫等の汚染物が残留していた場合、(3)作業者が外部の汚染物を付着させた着衣等とともに入室した場合、製品の微生物による汚染リスクが特に高くなると考える。そこで、これらの場合で汚染源が存在した場合、汚染物がどのように拡散し、製品や環境にどのような影響を及ぼすのかを検証した。各々で想定される汚染物の拡散を模擬できる実験系を構築し、周囲の環境へどのように拡散するかを追跡することで、リスクが生じた場合に影響を受ける可能性の範囲を確認し、各々のリスクを抑制するために必要な方法をまとめた。

###### (2)-2 無菌操作法による再生医療等製品の製造指針に係るガイドライン(案)の作成

再生医療等製品製造における無菌操作のあり方について、「無菌操作法による無菌医薬品の製造に関する指針」（平成 22 年度厚生労働科学研究）と対比させ文章を作成することで、無菌医薬品製造との違いを明瞭に、ガイドライン（案）の原案に相当する考え方をまとめた。

##### (3) 細胞加工物等の不均質性、運搬・輸送時の脆弱性、実生産における変動要因等を勘案した製品・原料資材の試験検査のあり方に関する研究

###### (3)-1 細胞加工物等における品質評価法の検証

###### (3)-1-1 次世代シーケンサーを用いた全エクソームシーケンシングによる細胞特性変化の検出

モデルケースとして、製造工程の上流に位置する iPS 細胞（原材料）の培養維持期におけるゲノム不安定性を指標にし、その評価手法の 1 つとして、次世代シーケンサーを用いたエクソーム解析を実施し、全エクソーム解析による一塩基変異（SNV）の変動について検討を行った。その結果、細胞加工物の継代ごとで蓄積される一塩基変異の箇所が、正常な細胞株においては数個のみであることが観察された。これら変異の存在比率は低頻度であり、今後は高頻度に変異を誘発するゲノム不安定性細胞株を用いて上記解析系の再現可能性を検証する。

###### (3)-1-2 工程内不純物としての造腫瘍性形質転換細胞の超高感度検出法の開発

ゲノム不安定性等により発生する造腫瘍細胞のこれまでの検出法を見直し、多量の細胞の中に少量の腫瘍細胞が存在する試料を、軟寒天培地の入った 96 穴プレートに播種し、各画分における腫瘍細胞のコロニーの有無を解析し、単一悪性形質転換細胞のコロニー形成の画像を、ハイコンテンツイメージングシステムを利用して各ウェルごとに取得し、多量の細胞内に潜む単一悪性形質転換細胞のコロニー形成率を推定する系の構築を試みた。その結果、従来法の感度を遥かに上回る超高感度検出法としてデジタル軟寒天コロニー試験法の開発に成功した。以上のような造腫瘍性細胞検出系の確立は、今後の細胞加工物等の実用化促進に多大に寄与すると考えられた。