

総括研究報告書

1. 研究開発課題名：セル・バンク等を構築する幹細胞等由来製品のウイルス否定試験における評価技術要件に関する研究
2. 研究開発代表者： 山口照英（学校法人都築学園日本薬科大学 客員教授）
3. 研究開発の成果：

再生医療製品に用いられる幹細胞のウイルス安全性を確保するためには多面的な方策が必要であるが、特にセル・バンク等での外来性ウイルス試験としてのインビトロ試験の実施には、細胞の適切な管理を行うと共に感度・精度の確認を行う必要がある。さらに各試験が適切に実施されていることを、ランコントロールを用いて確認することが求められる。

本研究では、1) インビトロウイルス試験の基盤整備を行うと共に、試験期間の迅速化や高感度化による最適化を目指す。また、2) 再生医療に用いられる原材料を取り上げ、利用可能なクリアランス値を提案する。また、これまでウイルス不活化としては放射線処理法が主であったが、原材料の活性に影響を与えにくい UV によるウイルス不活化とその処理によっても原材料に求められる機能が担保されていることを明らかにする。このような検討を通じて再生医療製品のウイルス安全性を側面から支援し、開発促進につなげることを目指す。3) 潜在性ウイルスの評価法について検討することとした。

27年度は、再生医療製品の原材料のウイルス安全性確保を目的として、1) インビトロウイルス試験の基盤整備を行った。具体的には、試験に用いるウイルス感受性細胞として Vero 細胞や HuH7 細胞の遺伝子改変による最適化やランコントロールとして使用可能なワクチン株の設定を行った。

さらに、2) 再生医療製品の製造に用いる原材料の安全性確保のために原材料の UV による不活化工程の導入とその照射条件の標準化のために NaI を用いた検討を行うと共に、最適条件で解析した3つのウイルスで 4log 以上の不活化能があることを確認した。さらにはカラムクロマトグラフィーを用いたウイルス不活化工程として Heparin カラムや陰イオンカラムによる精製工程とそのウイルスクリアランス能を評価し、頑健性のあるクリアランスが達成されることを確認した。

3) 潜在性ウイルスの検出手法の標準化として EB ウイルスが潜在していることが知られている細胞を用いて薬剤による負荷をかけることにより EB ウイルスが顕在化してくる条件を検討した。いくつかの細胞での顕在化が確認され、本系を用いることにより潜在性ウイルスの検出のための陽性コントロールとしての有用性が確認された。