

総括研究報告書

1. 研究開発課題名：均質な培養ヒト角膜内皮細胞による安全な再生医療の確立のための革新的評価法の開発
2. 研究開発代表者：木下 茂（京都府公立大学法人京都府立医科大学）
3. 研究開発の成果

研究開発代表者らは水疱性角膜症に対する培養ヒト角膜内皮細胞を用いた角膜内皮再生医療の研究開発に取り組んでいる。細胞移植治療に用いる細胞は不均質細胞亜集団の混合物であり、目的細胞はその一部に限定されることが再生医療の実現化ハイウェイ事業で判明した。培養ヒト角膜内皮細胞は高品質目的細胞、目的外細胞亜集団 X, Y, Z など構成されている。細胞 (Seeds) の目的細胞の純度、非目的細胞の混在割合、移入細胞から分泌される、あるいは、細胞移入部位に内在する生理活性物質との類似性に基づき目的細胞の品質を評価するとともに、生体 (Soil) 側の因子を評価することが本事業の目的である。

当該 27 年度においては、本目的の達成に向けて、下記の 6 つの研究開発を中心に実施した。全ての研究項目について予定通りの進捗がなされた。連携企業との業務分担も具体化し、治験申請に向けて、PMDA との事前相談、個別相談も順調に進展している。

研究開発項目 1 は「外観試験を超える最終製造物たる培養細胞の品質評価法の実践検証」である。基盤研究で仮設定の品質規格項目並びに基準値を治験デザインに組み込めるよう新たな評価方法の策定を実施した。相転移細胞を排除した相対的に均質な細胞集団でも、目的細胞以外に非目的細胞が混在すると予想されたため、その混在の評価法の設定に取り組んだ。

研究開発項目 2・3 は「非侵襲的品質評価法としての分泌型 miRNA、代謝産物の有用性検証」である。培養細胞亜集団のうち、高品質目的細胞の構成割合・純度を非侵襲的に選別定量、評価できる分泌型 miRNA 分子種、培養細胞のエネルギー代謝産物について細胞プロセッシングセンター (CPC) 生産品を用いて品質評価法としての有用性を検証した。

研究開発項目 4 は「ハイブリッドセルカウント法による培養細胞の位相差像定量化技術による培養最終細胞産物の治験適用適合性評価」である。高品質目的細胞は 1 細胞あたりの面積が小さく、培養における細胞密度が最も高くなることが判明している。最終製造法に近い方法で作成した培養ヒト角膜内皮細胞でも細胞面積・細胞密度は正常角膜内皮組織の角膜内皮細胞と同じ水準の細胞面積、細胞密度を示した。

研究開発項目 5 は「プロテインマイクロアレイによる培養液、臨床検体中のタンパクの網羅的評価」である。国立研究開発法人 産業技術総合研究所 創薬分子プロファイリング研究センター (五島直樹チーム長) 研究チームと共同で実施した。同研究チームが有する約 2 万種のヒトタンパク質およびそれに対する特異的抗体を基板上に高密度に転写したプロテインマイクロアレイを用いて、水疱性角膜症患者の血清中に含まれるサイトカイン・タンパク成分の網羅的解析をした。

研究開発項目 6 は「培養細胞内の目的細胞、非目的細胞の選択的視覚化技術評価」である。名古屋大学ナノバイオロジー研究センター馬場嘉信研究室と共同で研究を進めた。培養細胞内の目的細胞、非目的細胞の選択的視覚化技術評価法の確立である。培養ヒト角膜内皮細胞への量子ドットラベリング条件を決定した。次いで京都府立医科大学で移植処置されたマウスを用い、名古屋大学にて *in vivo* 蛍光イメージングを試行した。