

# 総括研究報告書

1. 研究開発課題名：ヒト間葉系幹細胞由来の再生医療製品製造システムの開発
2. 研究開発代表者：阿久津 英憲（国立研究開発法人国立成育医療研究センター）
3. 研究開発の成果

## 1) 3種類の由来が異なるヒト体性幹細胞の採取／提供

骨髄、臍帯由来幹細胞及び増殖性軟骨細胞等について、本プロジェクトで開発した培地で培養し、増殖能、分化能(骨、脂肪、軟骨)を検証した。組織からの樹立条件も検証を行ってきた。

## 2) 分離精製装置の開発

シース液、サンプルの流送系およびフローセルユニットの改良を行い、設計・試作を完了した。分離精製用アイソレータの設計を反映した前処理用アイソレータの試作を完了した。現有の細胞製造アイソレータに連結可能、かつ臨床用途に十分な細胞数の培養を可能とする大型インキュベータを設計し、試作した。

## 3) 品質評価システムの研究開発

抽出した骨／軟骨分化能を判別する糖鎖マーカーを見出した成果を論文としてまとめ、国際専門誌へ投稿した。その成果を元に、培養上清を用いて骨／軟骨分化能を非破壊で測定できるレクチン-ELISA法を開発した。さらに、分化能判別マーカーの糖鎖検出レクチンを用いた検出プローブ1種の製品化の目途をつけることができた。様々な体性幹細胞に対する網羅的遺伝子発現解析と幹細胞特性解析から体性細胞特性とリンクする新たなバイオマーカー候補を複数見出してきた。今年度は、軟骨分化能を判別する新規マーカーを用いた遺伝子発現測定キットの製品化の目途をつけることができた。品質評価のなかでも細胞のゲノム性状をゲノムワイドに解析できるアレイCGHを用いた品質評価法を構築した。間葉系幹細胞のアレイCGHによる品質評価について、全ゲノムを網羅かつ、1376の癌関連遺伝子領域の検出プローブ数を高密度に搭載し迅速かつ微細なゲノム構造変化を捉えることができるC3チェックサービスを上市した。

## 4) 維持培養法・自動培養技術に係わる研究開発

小型培養バッグの条件検討結果を用い、自動培養装置で間葉系幹細胞を拡大培養するプログラムを検証した。由来が異なる体性幹細胞の自動培養プロトコルを最適化した。細胞培養時のRCP(リコンビナントペプチド)処方量を概ね決定し、その処方量における器材への細胞接着改善効果を見出した。増殖した細胞の軟骨分化能が低いことについて、メタボローム解析等により軟骨分化能に関係する因子を推定した。バッグ培養に関して、酸素供給の観点で最適化するための改良点を抽出できた。

## 5) 移植用細胞の輸送可能な保存技術の研究開発

間葉系幹細胞の凍結保存に適用可能な処方を構築した。GMPに準拠した生産体制を整え、従来品との同等性評価を開始した。液体窒素気相での凍結保存、搬送の実用性を計画通り実証できた。温度履歴情報統合管理システム(CryoLibrary iMaster®)試作により、試料の凍結保存、搬送、解凍に至る温度履歴情報の収集が可能なることを実証した。試料搬送に利用可能な簡易凍結搬送容器を試作した。

## 6) 変形性関節症に対する適用検証

日本白色家兎の膝軟骨全層欠損モデルへの異種移植によるヒト細胞の評価系を確立した。移植後から患肢荷重配分比を測定し、移植後4週間で組織学的評価を行うことと決定した。

## 7) 市場獲得戦略の構築

AMED 再生医療産業化プロジェクト(紀ノ岡・阿久津グループ)の第2回ユーザーフォーラムを開催した。コスト計算調査、標準化連携、国内外動向調査等により総合戦略の構築を進めた。