

# 総括研究報告書

1. 研究開発課題名：再生医療等製品の原料等となる細胞等の品質及び安全性の評価に関する研究
2. 研究開発代表者：佐藤 陽治（国立医薬品食品衛生研究所 再生・細胞医療製品部 部長）
3. 研究開発の成果

再生医療等製品の早期実用化のための評価技術ガイドライン案策定に向けて、本研究開発では再生医療等製品およびその原料となる細胞等の品質及び安全性の評価手法の開発を行うことを目指す。今年度の研究開発成果内容は以下の通り：

## ①原料等の造腫瘍性等に関する評価手法の確立

1.1 新たな戦略に基づく造腫瘍性未分化 ES/iPS 細胞の高感度検出法の開発：細胞障害性を有するがヒト ES/iPS 細胞には障害性を示さない選択的ウイルスベクターの作製のために、分化した細胞では働くが未分化な iPS 細胞では駆動しないプロモーター下流に薬剤誘導型自殺遺伝子を組み込んだウイルスベクターを作製した。神経前駆細胞にこの選択的ウイルスベクターを感染させたところ高い自殺効果を示した。一方で、選択的ウイルスベクターを感染させた iPS 細胞では薬剤誘導型自殺遺伝子の発現は見られず、薬剤添加によっても全く自殺効果は見られなかった。以上の結果をもとに、神経前駆細胞に iPS 細胞をスパイクして選択的ウイルスベクターを感染させたところ、神経前駆細胞に対して特異的な自殺効果を示し、今回作製した選択的ウイルスベクターは未分化細胞の濃縮のために有効に機能することが判明した。

1.2 最終製品の特性に応じた原材料の適切な品質評価のための分析ツールの開発：外胚葉分化および中胚葉分化に相関する遺伝子 X を同定し、遺伝子 X の発現抑制による三胚葉系への分化に対する影響を検討したところ、外胚葉分化のマーカー遺伝子および中胚葉分化のマーカー遺伝子の発現量に有意な変化が認められ、遺伝子 X による三胚葉系分化の制御が明らかになった。また遺伝子 X の発現抑制は、iPS 細胞の未分化性にはほとんど影響を及ぼさなかった。以上のことより、遺伝子 X は単に発現量が分化プロペンシティと相関するだけではなく、機能的にも分化プロペンシティと繋がっていることが明らかになった。

## ②製造工程が製品に及ぼす品質及び安全性への影響に関する評価手法の開発

2.1 日本人由来細胞の同一性・ゲノム安定性評価法の確立：健常日本人男性 1 名からのリファレンス配列の作製を目指し、全ゲノム・リシークエンシングにより検出されたホモの全ヴァリエントで既存のリファレンス配列 GRCh37 を入れ換えた日本人ゲノム配列 (ncchd1)、ペアエンドおよびメイトペア・ライブラリから得られたショート・リードを de novo アセンブリすることによって得られた日本人ゲノム配列 (ncchd2)、さらに、PacBio によって得られたロングリード・データを利用し、ncchd2 のギャップを埋めた日本人ゲノム配列 (ncchd3) を決定した。また、この日本人ゲノム配列から新規マイクロサテライトの候補と考えられた配列を数箇所同定した。

## ③ウイルス安全性に関する評価手法の開発

3.1 ウイルス安全性の迅速評価法の確立：再生医療関連指針に記載されているウイルスや原材料への混入の可能性が高いウイルス 17 種類をリストアップした。それらウイルスの同時検査の実施を目指し、12 well type PCR チューブに試薬を固相化した検査試薬を作成した。また、複数の逆転写酵素の中から固相化可能かつ RT-PCR が可能な耐熱性逆転写酵素を選択することができた。

3.2 再生医療等製品用生物由来原料のウイルス安全性確保のための試験法開発：ハイスループットのウイルス検出系を樹立し、この検出系を用いて生物由来原料である FBS からウイルスの核酸を検出した。これによって現在国内で使われている FBS に含まれているウイルス核酸の状況が明らかになった。同時に次世代シーケンサーを使った生物由来原料や細胞加工製品のウイルス評価法を樹立するためにパイプラインの整備を行った。