

平成 28 年度 委託研究開発成果報告書

I. 基本情報

事業名： (日本語) 再生医療実用化研究事業
(英語) Research Project for Practical Applications of Regenerative Medicine

研究開発課題名： (日本語) iPS 細胞等を用いた移植細胞の安全性データパッケージ構築に関する研究
(英語) Setting up safety test data package for iPSCs and its derivatives.

研究開発担当者 (日本語) 細胞療法研究開発センター センター長 川真田 伸
所属 役職 氏名： (英語) R & D Center for Cell Therapy, Director, Shin Kawamata

実施期間： 平成 28 年 4 月 1 日 ～ 平成 29 年 3 月 31 日

分担研究 (日本語) 多能性幹細胞由来分化細胞の造腫瘍能の検討と iPS 細胞および iPS 細胞由来分化細胞の規格化研究

開発課題名： (英語) Evaluation of tumorigenic potential of Pluripotent Stem Cell-derived differentiated cell and standardization of cell specification of iPS cell and its derivatives.

研究開発分担者 (日本語) 国立研究開発法人理化学研究所 ライフサイエンス技術基盤研究センター 生体機能評価研究チーム・チームリーダー 尾上 浩隆

所属 役職 氏名： (英語) RIKEN Center for Life Science Technologies, Bio-Function Imaging Team, Team Leader Hirotaka Onoe

II. 成果の概要 (総括研究報告)

- ・ 研究開発代表者による報告の場合

和文

多能性幹細胞由来分化細胞の造腫瘍能の検討として、慶應義塾大学医学部整形外科学教室が臨床を計画している iPS 細胞由来神経幹細胞 (NSC) の腫瘍形成能を、NOG マウスを用いて評価した。昨年度より引き続き経過観察を行っていた非臨床用ヒト iPS 細胞 1210B2 由来 NSC と臨床用ヒト iPS 細胞 Ff-I01 由来 NSC の脳組織標本の評価を行った。陽性対照として患者由来 glioblastoma や

astrocytoma 由来細胞株 U251、ヒト iPS 細胞 Ff-I01 株を、NOG マウス脳線条体に移植し、腫瘍形成期間、組織像、神経系組織分化度を評価出来る抗体による組織染色や Ki67 陽性率などの検討を行った。その結果非臨床用ヒト iPS 細胞 1210B2 由来 NSC の脳線条体移植では、移植後 12 ヶ月の時点で、腫瘍形成は見られず、移植部位から脳内に進展する glia 組織像が観察された。

iPS 細胞、iPS 細胞由来細胞規格研究では、Custom CGH array を改良した。また培養条件で分化能特性が変容する責任因子を抽出し、その因子の誘導や knock down などの機能試験を行い、論文化し投稿した。

移植細胞遺伝子標識技術開発では、移植後の体内転移が最も考えられる自家 iPS 細胞移植モデルを用いて体内動態評価を行った。具体的には Luciferase 遺伝子を導入した B6 マウス由来 iPS 細胞を B6 マウスに種々の route で投与し、IVIS system を用いて体内動態の評価を実施した。移植ルートとしては、心筋シート移植を想定したマウスの心臓に近接した縦隔腔への投与、脊椎損傷モデルへの細胞移植を想定したマウス脳線条体への投与について検討した。また体深部の微少転移巣を想定し、より発光強度の高い基質を用いたイメージングの方法について検討した。

英文

Keio University School of Medicine pediatric surgery Dept. plan to start a clinical study for the treatment of spinal cord injury using iPS cell-derived neural stem cell (NSC). This study aims to provide the report for the tumorigenic potential iPS cell-derived NSC by transplanting 1.0×10^6 iPSC-derived NSCs (final products) into striatum of NOG mice and monitoring them for 12 months. We conducted tumorigenicity test of non-clinical human iPS cell 1210B2-derived NSC and clinical homozygous HLA iPS cell Ff-I01-derived NSC by transplanting them into striatum. As a positive control, we transplanted patient-derived glioblastoma, astrocytoma-derived cell line U251 and iPSC cell line Ff-I01 in several doses. Cell proliferation potential was evaluated by the staining with anti-Ki67 Antibody. As the result, we could not observe any tumorigenic event by transplanting 1.0×10^6 1210B2-derived NSCs.

We designed custom CGH array and conducted assay with it to establish the genetic abnormality detection system in our institution in a timely manner. We also conducted methylation study of ESC/iPSCs that showed differentiation resistance and extracted factors to confer the differentiation resistance to ESC/iPSCs. We found that expression level of the extracted factor gene determined the differentiation potential of ESC/iPSCs and further the potential to differentiate of ESC/iPSC can be modulated by the manipulation of the expression level of the extracted factor gene by over-expression or knock down. We submitted the manuscript for publication.

We conducted an *in vivo* pharmacokinetic evaluation using autologous iPS cell transplantation model, which is most likely to undergo metastasis in the body after transplantation. Specifically, iPS cells derived from B6 mouse transfected with Luciferase gene were administered to B6 mice at various routes and the pharmacokinetics were evaluated using the IVIS system. As a transplantation route, administration to the mediastinal space close to the heart of a mouse assumed for a cardiac muscle sheet transplantation and administration to mouse brain striatum assuming cell transplantation to a spinal injury model was studied. In addition, assuming a

microscopic metastasis lesion in the deep body, we examined a method of imaging using a substrate with a higher luminescence intensity.

III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧 (国内誌 0 件、国際誌 1 件)

Takao Hayakawa, Ian Harris, Jeewon Joung, Nobuo Kanai, Shin Kawamata, Srinivasan Kellathur, Junichi Koga, Yi-Chu Lin, Yoshiaki Maruyama, James McBlane, Takuya Nishimura, Matthias Renner, Anthony Ridgway, Paula Salmikangas, Norihisa Sakamoto, Daisaku Sato, Yoji Sato, Yuzo Toda, Akihiro Umezawa, Michael Werner, Stephen Wicks. Report of the International Regulatory Forum on Human Cell Therapy and Gene Therapy Products. *Biologicals*. 2016, 44, 5, 467-79

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表
なし

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み
なし

(4) 特許出願
なし

平成 28 年度 委託研究開発成果報告書

I. 基本情報

事業名： (日本語) 再生医療実用化研究事業
(英語)

研究開発課題名： (日本語) 標識ヒト iPS 細胞由来細胞の体内動態解析法の確立
(英語)

研究開発担当者 (日本語) 国立研究開発法人理化学研究所 ライフサイエンス技術基盤研究センター
生体機能評価研究チーム・チームリーダー 尾上 浩隆

所属 役職 氏名： (英語) RIKEN Center for Life Science Technologies, Bio-Function Imaging Team,
Team Leader Hirotaka Onoe

実施期間： 平成 28 年 4 月 1 日 ~ 平成 29 年 3 月 31 日

分担研究 (日本語) iPS 細胞等を用いた移植細胞の安全性データパッケージ構築に関する研究
開発課題名： (英語) Research on construction of safety data package for transplanted cells
using iPS cells

研究開発分担者 (日本語) 国立研究開発法人理化学研究所 ライフサイエンス技術基盤研究センター
生体機能評価研究チーム・チームリーダー 尾上 浩隆

所属 役職 氏名： (英語) RIKEN Center for Life Science Technologies, Bio-Function Imaging Team,
Team Leader Hirotaka Onoe

II. 成果の概要（総括研究報告）

- ・ 研究開発代表者による報告の場合

- ・ 研究開発分担者による報告の場合

研究開発代表者：公益財団法人先端医療振興財団・細胞療法研究開発センター・センター長 総括研究報告を参照。

III. 成果の外部への発表

- (1) 学会誌・雑誌等における論文一覧（国内誌 0 件、国際誌 0 件）

なし

- (2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

なし

- (3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

なし

- (4) 特許出願

なし