

## ヒト多能性幹細胞の命名法の国際統一規格案について

\*\*\*\*\*

菅 三佳<sup>1)</sup> 高田 圭<sup>2)</sup> 小原有弘<sup>1)</sup> 末盛 博文<sup>3)</sup>  
 青井 貴之<sup>4)</sup> 中村 幸夫<sup>5)</sup> 古江-楠田 美保<sup>1) 2)</sup>

- 1) 独立行政法人 医薬基盤研究所 難病・疾患資源研究部 培養資源研究室
- 2) 京都大学再生医科学研究所附属幹細胞医学研究センター 細胞プロセッシング研究領域
- 3) 京都大学再生医科学研究所附属幹細胞医学研究センター 霊長類胚性幹細胞研究領域
- 4) 京都大学 iPS 細胞研究所 規制科学研究部門
- 5) 独立行政法人 理化学研究所バイオリソースセンター 細胞材料開発室

**Keywords :** embryonic stem cells induced pluripotent stem cells standardization

## summary

In a few years, thousands of human embryonic stem (ES) / induced pluripotent stem (iPS) cell lines have been established in laboratories around the world. To date, confusions have arisen due to duplicate or redundant naming of cell lines. In addition, not all the important information such as provenance, derivation method and characterization are provided by researchers. To address these issues, a convention for naming and reporting human ES/iPS cell lines is urgently called. Recently Stem Cell Banks and researchers in the US, UK, China, Australia and the other countries proposed a new nomenclature system and a minimum set of criteria for reporting newly generated human ES/iPS cell lines. In this review, we have introduced their recommendations for developing a rule for naming and reporting of human ES/iPS cell lines.

## はじめに

1998年にヒト胚性幹細胞(embryonic stem cell : ES細胞)<sup>1)</sup>が樹立され、2007年には、ヒト人工多能性幹細胞(induced pluripotent stem cell : iPS細胞)<sup>2)</sup>が開発された。これらの多能性幹細胞は、発生や疾患メカニズム解明など基礎研究のみならず、再生医療や創薬、毒性評価、ワクチン作製などへ応用の期待が高まっている。ヒトES/iPS細胞の株数は急ピッチで増加しており、すでに数千株にも及ぶ。実用化への研究を進めるために、国際幹細胞バンキングイニシアティブ(International Stem Cell Banking Initiative : ISCBI)では各国の細胞バンクや樹立機関が協力して世界中の研究者が相互に利用できる環境の整備を推進している。ところが、ヒトES/iPS細胞株の命名法について整備されておらず、混乱が生じている。このような現状から、2011年4月に、米国、英国、オーストラリア、中国などの幹細胞バンクや幹細胞研究者らから、「ヒトES/iPS細胞株の命名法および発表に関する標準化」<sup>3)</sup>が提案され、さらにその提案に対する意見<sup>4)5)</sup>が寄せられた。ISCBIや国際細胞バンク・ワーキンググループに参加する筆者らが、その内容を概説したい。

Suga, Mika<sup>1)</sup> / Takada, Kei<sup>2)</sup> / Kohara, Arihiro<sup>1)</sup> / Suemori, Hirofumi<sup>3)</sup> / Aoi, Takashi<sup>4)</sup> / Nakamura, Yukio<sup>5)</sup> / Kusuda Furue, Miho<sup>1)2)</sup>

1) Laboratory of Cell Cultures, Department of Disease Bioresources, National Institute of Biomedical Innovation

2) Laboratory of Cell Processing, Stem Cell Research Center, Institute for Frontier Medical Sciences, Kyoto University

3) Laboratory of Embryonic Stem Cell Research, Stem Cell Research Center, Institute for Frontier Medical Sciences, Kyoto University

4) Department of Regulatory Science, Center for iPS Cell Research and Application (CiRA), Kyoto University

5) Cell Engineering Division, RIKEN BioResource Center

E-mail : mikasuga@nibio.go.jp / mkfurue@nibio.go.jp

## ヒトES/iPS細胞の国際的な相互利用に向けて

2003年に設置された日本を含む22カ国からなる国際幹細胞フォーラム (<http://www.stem-cell-forum.net/ISCF/>)からの助成を受けて、2005年から英国シェフィールド大学Andrews教授が中心となって推進しているInternational Stem Cell Initiatives (ISCI)プロジェクトでは、日本(京都大学再生医科学研究所・中辻憲夫教授)を含めた世界11カ国のヒトES細胞樹立研究者らが連携して、ヒトES細胞株を登録し、樹立の方法、未分化/分化マーカーの発現などの解析方法とその結果を公表し<sup>6)7)</sup>、ヒトES細胞研究の標準化を進めてきた (<http://www.stem-cell-forum.net/ISCF/initiatives/>)。ISCIワークショップには筆者らも加わり標準化についての議論を行った。2008年からは、ヒトiPS細胞も含めて検討されている。さらに、ヒトES/iPS細胞株を各国間で相互に利用する体制を構築する必要があるとの認識のもとに、2007年から英国UK Stem cell Bankをはじめとする世界各国の細胞バンクが連携し、ISCBIプロジェクトが開始され、筆者らが参加している。このプロジェクトにおいては、ヒトES細胞のドナーの情報管理、資源化、品質管理法や分譲について、国際的にコンセンサスを図ってヒトES細胞を資源化するためのガイドラインを作成している<sup>8)9)</sup>(和訳は、京都大学再生医科学研究所・細胞プロセッシング・高田らより本誌Vol.10 No.4, p79-96, 2011に掲載されているので参照されたい)。さらに、相互利用するためには不可欠な細胞登録における「細胞株の命名法」に関しても統一規定を設けることが現在の重要課題であり、国際的に活発な議論が展開されている。

### これまでの現状

国内において細胞バンクが整備される1984年以前は、日本組織培養学会が細胞株を認定してJTCの番号

を付与して登録する事業を実施していた。現在は、細胞バンクが整備され、JCRB(医薬基盤研究所細胞バンク)、旧国立医薬品食品衛生研究所細胞バンク)、RCB(理化学研究所バイオリソースセンター細胞バンク)に、研究者が細胞株を寄託し、バンクの略称とともに登録番号で管理され、データベース上で公開されている。海外においても、米国のATCC、国立がん研究所(National Cancer Institute: NCI)、欧州細胞培養コレクション(European Collection of Animal Cell Cultures: ECACC)などの細胞バンクが各機関の略称や独自の登録番号(カタログ番号)を用いて管理し、情報を公開している。このように整備されていても、細胞株の情報や原著論文を検索するときに不都合が起こる。たとえば、“3T3 Swiss Albino”“3T3-Swiss albino”“Swiss-3T3”は同種の細胞株名であるが、データベースや論文での記載方法は他にも何通りも存在する。3T3と入力して検索すると、“3T3(+3)”、“3T3-L1”、“3T3-SV40”など、別種の細胞株やサブクローンも検索にかかる。

まだ歴史の浅いヒトES/iPS細胞株においても、異なる研究機関で樹立された別個の細胞に全く同じ名前がつくといった問題がすでに生じている。たとえば、全く別の患者から採取した羊水(amniotic fluid: AF)に由来する2つのiPS細胞株の両方ともが“AF-iPS”と命名されたり<sup>10)11)</sup>、ジストロフィン遺伝子に異なる箇所に変異をもつ2人のデュシェンヌ型筋ジストロフィー(Duchenne muscular dystrophy: DMD)患者から樹立した全く別のiPS細胞であるにも関わらず、両方ともが“DMD-iPS1”と命名されたりしている<sup>12)13)</sup>。“iPS-1”や“iPS-WT”といった名称は汎用され、その名称のみから細胞株を特定することはできない<sup>4)</sup>。また、“KhES-1”“KhES-3”“HES-3”など、ヒトES細胞の名称に汎用される“HES”は、ヒト胎児皮膚(human embryonic skin: HES)由来線維芽細胞の株名“HES5”<sup>14)</sup>などとも同じ表記であるため混同されやすい。細胞株を混同してしまえば、研究成果の妥当性、重要性

を正当に評価できなくなる。このように細胞命名法の国際的な統一規定がなかったことがデータベースの管理・利用を不便なものにしている。

## ヒトES/iPS細胞の命名法の提案

2010年の国際幹細胞学会(International Society for Stem Cell Research: ISSCR, 2010年7月15日開催), およびISCI(2010年9月15日開催)のワークショップで議論された内容に準拠して, 米国マサチューセッツ医科大学ヒト幹細胞バンクのInternational stem cell registry (ISCR)が代表として提案する「ヒトES/iPS細胞株の命名法および細胞登録に関する統一規定の案」が米国科学誌「Cell Stem Cell」2011年4月8日号<sup>3)</sup>に掲載された。これに対し, 京都大学iPS細胞研究所(CiRA)山中伸弥所長らの意見<sup>4)</sup>と米国細胞バンクAmerican Type Culture Collection(ATCC) Brian Pollok所長らの意見<sup>5)</sup>が同誌の6月3日号に掲載された。両者ともISCRの提案に大筋で同意した上で, 幹細胞研究の将来展望をもとに想定される問題を提起し, 改善案を提示した。

## ヒトES/iPS細胞の命名法についての統一規定案

ISCRによる命名法の統一規定案(図)<sup>3)</sup>は, 特に次に示す5点に配慮したものである。①独自の識別方法(樹立機関IDと細胞株シリアル番号)を採用し, 細胞株間で混同しないようにすること。②細胞株に関する情報が直感的に認識できること。③既存の細胞株名の表記方法(例: KhES-1, KhES3, CT4, B124-2)と同じフォーマットを採用すること。④異なる系統の細胞株であること(例: TSRI68iとSHEF4e-ALS)や, 同じ系統の細胞株であること(例: SHEF3とSHEF5)を容易に認識できること。⑤柔軟性のあるルールにすること。

その細胞の名称の表記方法は図<sup>3)</sup>に示すような4つの構成要素からなるものであり, (a)細胞株の樹立機関

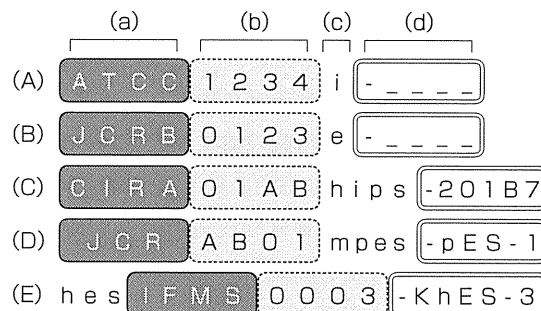


図1 ヒトES/iPS細胞株の命名法の案

(A) (B) ISCR<sup>3)</sup>, (C) (D) 山中教授ら<sup>4)</sup>, (E) 筆者らの案による細胞株名表記の例

(a) 細胞株を樹立した研究機関(研究室または研究所)のID

(b) 細胞株のID

(c) 細胞種や由来を識別する記号。ISCRの提案<sup>3)</sup>によると“iPS細胞”を“i”, “ES細胞”を“e”で表す。

(d) “- (ハイフン)”とその後に続くアルファベットまたは数字で細胞株の特徴やクローン番号等を表す。ISCR<sup>3)</sup>は, (c)と(d)の部分は任意とし, (a)と(b)のみで細胞名を表すことも考慮している。それぞれの要素を表す部分に使用する文字数と数字の桁数に自由度をもたせることも可能だが, データベース管理及び検索の便宜上, ①スペースを含まない, ②アルファベットの太文字や小文字の表記法, 数字の桁数, ハイフンの位置なども統一し, ③全体で14文字に限定したものが望ましいとしている。細胞株名の表記法については, さらに議論が必要である。(文献3より引用改変)

のID, (b)細胞株のシリアル番号(ID), (c)ES細胞またはiPS細胞を区別する略号, および(d)細胞の特徴を示す情報を記載する。さらに, データベース上で処理するため, 規定された場所にハイフンを使用する, 文字数と数字の桁数を規定する, スペースを使用しない, ハイフンを含めて14桁に統一することを提案<sup>3)</sup>している。

## ヒトES/iPS細胞サブクローン株の数への対応

iPS細胞は1種類のドナー細胞から100種類以上のクローンを作製することもある。山中所長らは, 細胞株を識別するためのIDの表記(図(b)の部分)は増大する株数に対応し得る方式でなければならないと提言<sup>4)</sup>

している。また、サブクローンを作製した場合、オリジナルのクローン番号とサブクローン番号の両方を含むよう命名するべきであるとも提言している。現在、世界中の研究室でiPS細胞の樹立が進められており、その株数は数年のうちに数万という値に達することが予想される。シリアル番号やIDをつけていくとしたら、このような莫大な細胞株数に対応できるものではない。アラビア数字のみではなく、アルファベットなどの文字や記号とアラビア数字を組み合わせることでIDを表記すれば、細胞株数が膨大になっても対応できるのではないかと山中所長ら<sup>4)</sup>は提案している。

### ヒトES/iPS細胞の既存の細胞株について

山中所長ら<sup>4)</sup>は、すでに世界中に広く知られている細胞株(例：201B7, hFIB2-iPS2)に新規にシリアル番号等で設定し直す場合にも、オリジナルの名称およびクローンIDを継承することができるような柔軟性をもたせるべきであると提言している。オリジナルの名称から細胞株の情報や原著論文を簡単に収集できるなど、研究者にとって都合が良い点が多いとしている<sup>4)</sup>。すでに独自の方式で命名し、細胞株を管理している研究機関は多いため、すべての研究機関の樹立細胞株に対して公平にIDを分配するには多くの困難が予想される。しかし、集積された細胞情報や研究成果を活用するためにも、国際規格のIDを公平に付与できるよう整備し、細胞株のデータベース化を推進していく必要があるのではないだろうか。

### すべての多能性幹細胞へ適応

ISCRの提案は、図の(c)の部分には、“i”あるいは“e”を表記することによりその細胞株がヒトiPS細胞株とヒトES細胞株のいずれかであることを識別できるようにするというものである<sup>3)</sup>。この点に関して、山中所長らとPollok所長ら両者ともに、マウスiPS細胞、体細胞核移植ES細胞(NT-ESC)、単為発生胚由

来ES細胞(parthenogenetic-ESC)、胚性腫瘍細胞(embryonal carcinoma cell：ECC)、胚性生殖系細胞(embryonal germ cell：EGC)、エピブラスト幹細胞(epiblast stem cell：EpiSC)などの多能性細胞をすべてこの命名法規定の対象に含めるべきであり、これらを正確に識別できるよう動物種や由来細胞を表すコードを図の(c)に表記することを提案している<sup>4)5)</sup>。しかし、筆者らは、細胞種を識別するコードを頭につけたほうが分類しやすいのではないかと考える(図)。

### ヒトES/iPS細胞において特定の病名を表すのは適当ではない

名称に病名を含めることに関して、Pollok所長ら<sup>5)</sup>は懸念を抱いている。多くのヒトiPS細胞は、新生児表皮線維芽細胞(neonatal foreskin fibroblasts)から人工的に誘導され、“正常(non-diseased)”な指標細胞としても使用されている。しかしながら、組織を採取する段階でドナーの異常を検出できることは難しく、その匿名性からドナーの病歴の追跡は不可能である。現段階では、ヒトES/iPS細胞や分化させた細胞の病気にに対する感受性を明らかにすること(どのような病気になりやすいかを予測すること)も不可能である。細胞登録の際にはドナーの病歴などに関する情報もわかっている範囲で報告すべきであるが、遺伝子の変異や欠失などの確定された情報の表記を提案している。

### ヒトES/iPS細胞を培養する現場での作業

山中所長ら<sup>4)</sup>とPollok所長ら<sup>5)</sup>は両者とも、細胞株の名称に使用する文字数はできるだけ短くするよう主張している。データベース上で管理する際の利便性も重要だが、現場での作業も考慮すべきである。培養デッシュや凍結チューブにグローブをした手で書きやすく、読み取りやすくすることが重要である。ATCCで1.5mLチューブを用いる場合、細胞株の名称が10文字以下であることが理想的であるとPollok所長ら<sup>5)</sup>は述べている。山中所長ら<sup>4)</sup>も、ISCRの提案した14

表1 海外の細胞登録サイト

	機関	アドレス
Stem Cell Registry	ISCI	<a href="http://www.stem-cell-forum.net/ISCF/initiatives/iscli/stem-cell-registry/">http://www.stem-cell-forum.net/ISCF/initiatives/iscli/stem-cell-registry/</a>
ISCR	UMass	<a href="http://www.umassmed.edu/iscr/index.aspx">http://www.umassmed.edu/iscr/index.aspx</a>
hESCReg	EU連携	<a href="http://www.hescreg.eu/">http://www.hescreg.eu/</a>
NIH Human Embryonic Stem Cell Registry	NIH	<a href="http://grants.nih.gov/stem_cells/registry/current.htm">http://grants.nih.gov/stem_cells/registry/current.htm</a>

ISCI : The International Stem Cell Initiative

ISCR : The International Stem Cell Registry

UMass : The University of Massachusetts Medical School, Human Stem Cell Bank and Registry

hESCReg : European Human Embryonic Stem Cell Registry

文字<sup>3)</sup>は不便を感じる長さであり、簡略化した名称を使用し始めるようになることを危惧する。簡略化した名称の使用は、細胞の混同のリスクにつながる。医薬基盤研JCRB細胞バンクや理化学研究所バイオリソースセンター細胞バンクでは、場合によってバーコードラベルを用いて管理している。最近では安価なバーコードリーダーもあり、研究室レベルにおいても利用が可能ではないだろうか。

これまでに命名法が規定され、広く活用されている例がある<sup>3)</sup>。分化抗原群は、“CD42a”“CD42b”のようにCD番号で表記され、個別の抗原が認識される。また、遺伝子や蛋白質などについてはさまざまな名称が使用されるが、データベースに登録されたアクセッション番号によって識別され、容易にその原著論文まで確認できる。利便性の高い命名法の策定とデータベースの構築を行い、現場のニーズに対応する鍵となるのが、やはり細胞登録システムの整備である。細胞株の名称やIDとともに細胞情報を登録し、管理していくことが必要であろう。

## ヒトES/iPS細胞の登録

ヒトES/iPS細胞を樹立した際、具体的な報告方法に関する国際的な統一規定はなく、新規の細胞の樹立を含めた研究成果の報告項目などは研究者やジャーナルの査読者に任されている。今後、産業応用される可

能性があることから、各国の倫理規定を尊重して共有できるよう倫理的妥当性および科学的合理性を将来にわたって確保することが肝要である。表1の記載の通り、海外のヒトES細胞については、ISCBI、EUヒトES細胞登録(European Human Embryonic Stem Cell Registry : hESCReg)が連携して、それぞれのホームページで公開をしている。また、NIHヒトES細胞登録(NIH Human Embryonic Stem Cell Registry)では、NIHの研究費を使用して研究が可能な細胞が掲載されている。細胞登録に必要な情報として、表2に示す5つの項目が提案されている<sup>3)8)</sup>。このようなヒトES/iPS細胞の情報整備は、新規細胞株の樹立に必要な基本データ作成とその情報公開の推進につながると思われる。

## おわりに

幹細胞研究者の方々には、細胞樹立の際に前記の問題をご一考いただければ幸いである。一方で、幹細胞研究者らの声をさらに集約し、想定される問題を回避し、かつ利便性の高い命名法を早期に確立することが望まれる。ES/iPS細胞株を含む多能性幹細胞の命名法および発表に関するルールを設け、情報をデータベース化し、世界中で共有することは、幹細胞研究の推進につながる。本総説が日本の幹細胞研究推進の一助となれば幸いである。

表2 ES/iPS細胞の登録や研究成果の報告の際に必要な情報

<p>細胞株の由来 (source)</p> <p>細胞のタイプ, 由来組織, 継代数など                  ドナーから採取された場合: ドナーの年齢, 性別, 人種 (自己報告または解析結果)*                  細胞バンクや民間企業から入手した場合: 細胞株のアクセッション番号</p>
<p>樹立方法 (derivation method)</p> <p>細胞の株化までの方法, 培地および添加物, 培養期間, 継代数など詳細な培養方法                  ES細胞の場合: 胚の取り扱い方法, 胚盤胞を得るための透明帯除去方法, 胚盤胞からの内部細胞塊の単離方法                  iPS細胞の場合: リプログラミングに用いたベクターシステム, 低分子, 蛋白質, mRNAやmiRNAとその導入・誘導方法</p>
<p>細胞特性 (characterization)</p> <p>未分化状態の確認 (免疫染色, フローサイトメトリー, 遺伝子発現プロファイリングなど)                  多能性の確認 (<i>in vitro</i>分化, テラトーマ形成, 遺伝子発現プロファイリングなど)                  核型, SNP (一塩基多型) によるゲノム解析結果*</p>
<p>細胞同一確認 (genetic identity) と無菌性 (sterility)</p> <p>STR (short tandem repeat) やSNP解析による細胞認証試験結果*                  無菌試験結果およびマイコプラズマ否定試験結果</p>
<p>細胞の来歴 (provenance)</p> <p>ドナーに対する説明および同意 (インフォームド・コンセント), 利益相反についての確認</p>

研究者から提供される細胞株の情報を名称・登録番号と合わせて管理していくべきだが, 特に個人を特定できる情報 (\*)は, 各国の倫理規定を尊重し, 慎重に管理されなければならない。

謝 辞

ヒト iPS細胞研究に関与している独・医薬基盤研のすべての皆様に感謝します。なお, ヒト ES, iPS細胞に関する本研究は, 厚生労働省科学研究費補助金によりサポートされています。

●文 献

- 1) Thomson JA, Itskovitz-Eldor J, Shapiro SS, et al : Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. *Science* **282** : 1145-1147, 1998
- 2) Takahashi K, Tanabe K, Ohnuki M, et al : Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. *Cell* **131** : 861-872, 2007
- 3) Luong MX, Auerbach J, Crook JM, et al : A call for standardized naming and reporting of human ESC and iPS cell lines. *Cell Stem Cell* **8** : 357-359, 2011
- 4) Higashi H, Brüstle O, Daley G, et al : The nomenclature system should be sustainable, but also practical. *Cell Stem Cell* **8** : 606-607, 2011
- 5) Rust W, Pollok B : Reaching for consensus on a naming convention for pluripotent cells. *Cell Stem Cell* **8** : 607-608, 2011
- 6) The International Stem Cell Initiative : Characterization of human embryonic stem cell lines by the International Stem Cell Initiative. *Nat Biotech* **25** : 803-816, 2007
- 7) Narva E, Autio R, Rahkonen N, et al : High-resolution DNA analysis of human embryonic stem cell lines reveals culture-induced copy number changes and loss of heterozygosity. *Nat Biotech* **28** : 371-377, 2010
- 8) The International Stem Cell Banking Initiative : Consensus guidance for banking and supply of human embryonic stem cell lines for research purposes. *Stem Cell Rev* **5** : 301-314, 2009
- 9) Crook J, Hei D, Stacey G : The International Stem Cell Banking Initiative (ISCBi) : raising standards to bank on. *In Vitro Cell Dev Biol Anim* **46** : 169-172, 2010
- 10) Ye L, Chang JC, Lin C, et al : Induced pluripotent stem cells offer new approach to therapy in thalassemia and sickle cell anemia and option in prenatal diagnosis in genetic diseases. *Proc Natl Acad Sci U S A* **106** : 9826-9830, 2009.
- 11) Galende E, Karakikes I, Edelmann L, et al : Amniotic



fluid cells are more efficiently reprogrammed to pluripotency than adult cells. *Cell Reprogram* **12** : 117-125, 2010

- 12) Park IH, Arora N, Huo H, et al : Disease-specific induced pluripotent stem cells. *Cell* **134** : 877-886, 2008
- 13) Kazuki Y, Hiratsuka, M, Takiguchi, M, et al : Complete genetic correction of iPS cells from Duchenne muscular dystrophy. *Mol Ther* **18** : 386-393, 2009
- 14) Röehme D : Quantitative Cell Fusion : The fusion sensitivity (FS) potential. *J Cell Sci* **49** : 87-97, 1981

厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患克服研究事業  
難治性疾患克服のための難病研究資源バンク開発研究  
平成23年度 総括・分担研究報告書

発行 平成24年3月31日

発行所 難治性疾患克服のための難病研究資源バンク開発研究班事務局  
独立行政法人 医薬基盤研究所 難病・疾患資源研究部難病資源研究室  
〒567-0085 大阪府茨木市彩都あさぎ7-6-8  
TEL/FAX 072-641-9019



