

# . 統括研究報告書

厚生労働科学研究費補助金  
難病・がん等の疾患分野の医療の実用化研究事業  
再生医療関係研究分野

総括研究報告書

**ヒト胚性幹細胞を用いた臨床利用の安全性検証のための  
試料保存と分析システムの構築**

研究代表者 末盛 博文 京都大学 再生医科学研究所 准教授

**研究要旨：** ヒト ES 細胞を用いた再生医療の安全性を長期間にわたって検証可能とする基盤構築をめざし、臨床研究に関わる細胞試料やデータを主な対象とした保存システムの構築と、有害事象の原因究明に関連する分析技術およびこれらにかかわるノウハウを蓄積することにより、移植医療の安全性向上に資することを目標とする。これまでに整備された、試料の保存設備・検体管理システム・分析機器等を活用し、まず試料を安定的に保存するために必要となるモニタリングシステムの検証を行い、冷凍保存設備の温度記録や異常時の警報などが正常に動作することを確認した。またこれと並行して、細胞バンク事業において実施している品質管理技術を臨床研究機関に適切に技術移転する仕組みの構築を開始した。

**A . 研究目的**

本研究はES細胞を用いた臨床研究において特に安全性を担保する上で必要となる研究の各段階での試料の保存と分析を行うシステムを確立し、将来的により安全な再生医療を実現する研究基盤を構築することを目的とする。

ヒトES細胞を用いた再生医療はすでに欧米では臨床試験が開始されており、今後より広範な医療領域での利用が

期待されている。しかしながら、従来の細胞移植医療と異なり、ES細胞を用いた移植医療では、1ドナーに由来する細胞を様々な疾患を対象として多数の患者に適用することになる。そのため移植組織細胞の腫瘍化や、これに由来する感染性因子の伝搬は、被験者/患者のみならず公衆衛生上の問題を生じうるのではないかと懸念がもたれており、これらの課題

への対応は、ES細胞を含めて幹細胞医療の普及を促進する上で、重要性・必要性が非常に高い。

従来のヒト幹細胞の臨床利用に関わる指針に代わり、再生医療安全確保法に基づく政省令により、ヒトES細胞の臨床利用にかかわる各種の基準が明らかにされると予想されている。これに適合した、ES細胞作成研究の申請にむけての作業が26年にも開始されると思われる。本研究では提供医療機関と連携し、ドナー情報等の取扱/保存について検討、また、実施が想定される細胞の検査法の感度や精度について検証を行うことにより、将来のヒトES細胞を用いた再生医療の安全性の担保を推進する他の事業に資することができると思われる。

## B . 研究方法

現在ヒトES/iPS細胞の臨床利用を目指し多くの機関が基礎/前臨床研究を進めており、我々は早期の再生医療の実現を目指して臨床用ES細胞作製の基盤研究を他の研究経費により進めている。本研究計画と別途進めている臨床用ES細胞株の樹立と分配では、臨床研究機関に細胞を分配するためのセルバンクが構築される。本事業ではこの時、臨床研究機関へ供給されるものと同ロットの複数サンプルを将来の検証が必要になった場合に備え保存する。また、保存が適切に行われるように、その検証システムを整備する。

臨床研究機関での未分化細胞の増幅/凍結保存が行われることも想

定されるが、その場合は培養履歴とともに一部試料の寄託を求めるよう調整に努める。分化誘導後移植に用いる機能細胞が作出されるが、この途中段階で組織幹細胞や前駆細胞が作出される場合は必要に応じてその一部の寄託を求める。

臨床試験において有害事象が発生した場合に、品質管理上の問題の有無について、必要に応じて寄託された試料のウイルス等の検査や遺伝子解析を行えるよう解析技術の開発検証を行う。

(倫理面への配慮)

ヒトES細胞を用いる研究に関しては、文部科学省「ヒトES細胞の樹立および分配に関する指針」「ヒトES細胞の使用に関する指針」に従い実施された。

## C . 研究結果

本研究を実施する京都大学再生医科学研究所では、基礎研究用のヒトES細胞株の樹立と特性解析を行ってきた。このような研究の過程で蓄積した培養/解析技術をもとに、臨床用ヒトES細胞株を作成・利用する上で必要となる細胞バンク構築を別途実施している。本事業はこの臨床用ヒトES細胞樹立研究及び医療機関等での臨床研究/治験と連動して行われるものである。

ヒトES細胞の臨床研究指針は平成25年度中の施行が期待されていたが、依然として沈現されていない。さらにES細胞を用いた臨床応用が再

生医療法のもと行われることとなり、関連する規定等の施行にはさらに時間がかかると思われる。詳細が明らかになり次第、臨床用ヒトES細胞株作製研究の申請準備が行われるが、現時点では想定される基準等への対応のため、臨床用細胞バンクの構築と連携して、本事業の一貫として、試料保存システムの運用の規則、SOPなどの整備を行うとともに、品質管理の手法、規格の検証を行った。これらと並行して試料保存システムの適切な稼働を担保するため、機能の確認を順次行っている。

バンキングにおける安全性試験にかかわる基準の検証については、別途進められている臨床用ヒトES細胞のバンキングシステムの実証試験のなかで開発が進められている。安全性にかかわる試験では、大きく12の大項目をもうけている。外部機関との連携を考えた場合これらについて方法、規格値の妥当性や技術移転の方法について検討が必要であり、これを順次進めている。今年度は無菌試験、エンドトキシン試験についてSOPや規格について検討をおこなった。これらの検査は方法が確立され、また規格も明確であり、現時点でバンクの品質管理として実施する上での問題は見いだされなかった。

また、特性解析試験基準の検証を同様に進めている。特性解析についてはInternational Stem Cell Banking Initiativeから提起されている特性試験内容に基づき行われている。これは、大きく7項目

に分類されるが、形態および細胞増殖速度の2項目について、バンキング時のSOP案に従い実施解析した。その結果、従前の試験と同様のデータが得られそのプロトコールの妥当性について一定の検証ができた。

これらに加え、凍結保存容器のモニタリングシステムの検証を順次実施している。臨床研究に関わる試料は長期間にわたり保存が必要である。24年度補助事業において整備された保存・培養システムについて、温度等の運転状況のモニタリングシステムを導入したが、これをもちいて監視を実施している機器のなかから、超低温保存容器と、細胞培養装置についてシステムの動作を検証した。その結果、必要な仕様を満たした記録が行われていることを確認した。

## D. 考察

本研究事業では臨床用ヒトES細胞バンキング事業において実施されている品質管理をもとに、これを標準的な技法として提供することを目的としている。品質解析技術の多くはすでに確立されているものも多いが、適切な実施には相応のノウハウが要求されると思われる。これを様々な機関において再現性良く実施することが重要である。

また、再生医療で移植される細胞製品やその原材料の保存に関してはその安定性などは実証されておらず今後長期にわたり検証を続ける必

要がある。

## E . 結論

バンキングにおける品質管理を基本とし、規格化された試験方法などをバンクから細胞を供与する臨床研究機関にスムーズに移行し共通の基準で細胞の品質管理を行うことを目指す。これは長期的な細胞の利用が前提となるES細胞の臨床応用の実用化において重要である。確立された試験法について、臨床研究機関においても同様の基準で適切に実施されることが、長期的な評価には有用であると考えられるため、これを研究機関との連携のもと実施する方法論を確立する必要がある。

## F . 健康危険情報

該当なし。

## G . 研究発表

### 1 . 論文発表

(1) A Chemical Probe that Labels Human Pluripotent Stem Cells.

Hirata N, Nakagawa M, Fujibayashi Y, Yamauchi K, Murata A, Minami I, Tomioka M, Kondo T, Kuo TF, Endo H, Inoue H, Sato SI, Ando S, Kawazoe Y, Aiba K, Nagata K, Kawase E, Chang YT, Suemori H, Eto K, Nakauchi H, Yamanaka S, Nakatsuji N, Ueda K, Uesugi M. *Cell Reports* 6, 1165-1174 (2014)

(2) Miyazaki T., Nakatsuji, N., Suemori, H. Optimization of slow cooling cryopreservation for human pluripotent stem cells. *Genesis* 52, 49-55. (2014)

### 2 . 学会発表

(1) ヒト ES/iPS 細胞における凍結保存の解析：コロニーの高頻度の細胞内氷晶形成

高田圭、平井雅子、川瀬栄八郎、末盛博文、中辻憲夫、高橋恒夫  
第13回日本再生医療学会総会(3/3-6, 京都)

(2) 高効率なヒト多能性幹細胞の緩慢凍結法

宮崎隆道、中辻憲夫、末盛博文  
第13回日本再生医療学会総会(3/3-6, 京都)

(3) ヒト ES/iPS 細胞調製における残存マウスフィーダー細胞の測定法の開発

高橋恒夫、田中啓二、奥田真治、平井雅子、高田圭、川瀬栄八郎、末盛博文、中辻憲夫、北川正成  
第13回日本再生医療学会総会(3/3-6, 京都)

(4) 再生医療製品の間mediateとしてのES/iPS 細胞とその製造関連材料の品質

末盛 博文

バイオロジクスフォーラム第11回  
学術集会 (1/24, 東京)

**H . 知的財産権の出願・登録状況**  
**(予定を含む。)**  
該当なし