

【研究目的】

万一の有害事例発生時に細胞検証する際に、正しい細胞評価が行わなければ、原因探索や再発防止を考察するに十分な科学的結果が反映できず、細胞移植治療に対する安全性の検証ができない。このような原因探索のための細胞評価手法を考案するためには、最終産物に近い細胞あるいは移植後の細胞・組織から移植時の細胞情報をフィードバックできる評価法を開発する必要がある。当該年度の細胞評価研究では、移植後の細胞検証と原因追究を可能とする評価研究方法として、メチル化解析、オミックス解析、代謝解析を実施した。

【研究方法】

移植後の細胞組織から移植時の細胞情報をフィードバックできる評価法として、皮下移植試験後の組織から細胞情報を獲得、評価した。具体的には、昨年度のJST「多能性幹細胞由来移植細胞の安全性評価研究」実施時に得た3th RPE移植組織片（非造腫瘍性分化中間体混入が著明なRPE細胞）と4th RPE移植組織片（非造腫瘍性分化中間体混入が見られない最終RPE移植細胞）を提供

頂き、上記2種の組織からDNAを抽出し、Illumina Infinium HD Methylationにて比較解析した。

【結果】

Terminal differentiationした4th RPE細胞で非メチル化、3th RPE細胞でメチル化が確認できた領域を抽出した。(Table 1) PFKM, TNFSF8, LFNG, DMD, ETV1などの領域は、ヒトMSC細胞でもメチル化していることを確認し、さらにRPE細胞でメチル化されていると考えられるEpithelial cell transforing sequence 2 oncogene-like (ECT2L) は、3th RPE細胞と4th RPE細胞の両方でメチル化に差が見られなかった。PFKM, TNFSF8, LFNG, DMD, ETV1領域のMethylation評価(不純物混入を評価した手法)は、RPE細胞の移植後の経過観察試験として有効な評価系となる可能性を示唆した。

【考察】

今後、n数を増やして検証する必要性もあると考えている。以上の結果より、移植後の有害事例発生時における細胞検査項目としてMethylation解析は、有用な手段である可能性を示唆した。

Table 1. 非造腫瘍性分化中間体混入 RPE 細胞と最終分化 RPE 細胞とのメチル化の違い

UTR--Index	hMSC	59G 3hRPE	59G 4hRPE	ProbeID	ENTREZ_GENEID	TYPE_OF_GENE	GENE_SYMBOL	DESCRIPTION	倍率			範囲内			変動幅		結果
									59G 3hRPE VS 59G 4hRPE	59G 3hRPE VS MISC	59G 4hRPE VS MISC	MISC 59G 3hRPE 59G 4hRPE の最大値と最小値の幅が指	59G 3hRPE と 59G 4hRPE が共通している MISC の m 倍以内の回数				
									59G 3hRPE が n 倍大きい!	1.5	二つの数字が m 倍以内	1.5	二つの数字が m 倍以内	0	指定値以上	10	
									59G 4hRPE が n 倍大きい!								
									回数	770	回数	12648	回数	0	回数	8068	116
									判定		判定		判定		判定		判定
206	85.7	67.2	38.0	cg10508111:cg162	5213	protein-coding	PFKM	phosphofruktokinase, muscle		0	1.3	0	2.3		47.7	0	0
380	31.1	33.2	8.6	cg14725537	5354	protein-coding	PLP1	proteolipid protein 1		0	1.1	0	3.6		24.6	0	0
522	32.3	31.4	10.7	cg05726661	1140	protein-coding	CHRNB1	cholinergic receptor, nicotinic, beta 1 (muscle)		0	1.0	0	3.0		21.7	0	0
890	67.0	59.6	28.5	cg27631256	944	protein-coding	TNFSF8	tumor necrosis factor (ligand) superfamily, member 8		0	1.1	0	2.3		38.5	0	0
1229	49.3	65.0	20.7	cg15016628	680	protein-coding	BRS3	bombesin-like receptor 3		0	1.3	0	2.4		44.3	0	0
1268	56.1	51.6	20.8	cg12971694	971	protein-coding	CD72	CD72 molecule		0	1.1	0	2.7		35.3	0	0
1542	60.5	82.8	51.3	cg19807685	3294	protein-coding	HSD17B2	hydroxysteroid (17-beta) dehydrogenase 2		0	1.4	0	1.2		31.5	0	0
1650	84.0	81.0	46.5	cg20572537	3955	protein-coding	LFNG	LFNG O-fucosylpeptide 3-beta-N-acetylglucosaminyltransferase		0	1.0	0	1.8		37.5	0	0
1762	53.0	52.8	14.2	cg20171297	4618	protein-coding	MYF6	myogenic factor 6 (herculin)		0	1.0	0	3.7		38.7	0	0
1865	90.5	66.8	30.9	cg26266308	5150	protein-coding	PDE7A	phosphodiesterase 7A		0	1.4	0	2.9		59.6	0	0
2222	77.4	80.3	52.7	cg01634964:cg023	6597	protein-coding	SMARCA4	SWI/SNF related, matrix associated, actin dependent regulator of chromatin, subfamily a, member 4		0	1.0	0	1.5		27.6	0	0
2371	75.7	66.4	42.6	cg08485937	7134	protein-coding	TNNC1	troponin C type 1 (slow)		0	1.1	0	1.8		33.1	0	0
2432	80.9	78.3	50.3	cg0239030:cg070	7378	protein-coding	UPP1	uridine phosphorylase 1		0	1.0	0	1.6		30.7	0	0
2572	69.7	82.5	53.0	cg10533161	8428	protein-coding	STK24	serine/threonine kinase 24		0	1.2	0	1.3		29.5	0	0
2879	57.8	73.1	42.0	cg02629615:cg261	1756	protein-coding	DMD	dystrophin		0	1.3	0	1.4		31.1	0	0
3204	55.6	73.7	46.3	cg00346556:cg019	2059	protein-coding	EP8	epidermal growth factor receptor pathway substrate 8		0	1.3	0	1.2		27.4	0	0
3546	54.5	65.7	34.5	cg02151632:cg047	9583	protein-coding	ENTPD4	ectonucleoside triphosphate diphosphohydrolase 4		0	1.2	0	1.6		31.2	0	0
3637	55.7	69.4	45.5	cg03512369:cg047	5358	protein-coding	PLS3	plastin 3		0	1.2	0	1.2		23.9	0	0
3817	65.6	74.2	47.0	cg22148297	2841	protein-coding	GPR18	G protein-coupled receptor 18		0	1.1	0	1.4		27.2	0	0
4000	50.7	68.3	43.4	cg04036101:cg040	3801	protein-coding	KIFC3	kinesin family member C3		0	1.3	0	1.2		24.9	0	0
4414	49.0	38.5	25.4	cg21166775	10411	protein-coding	RAPGEF3	Rap guanine nucleotide exchange factor (GEF) 3		0	1.3	0	1.9		23.6	0	0
4905	54.3	39.0	14.1	cg17548735	10930	protein-coding	APOBEC2	apolipoprotein B mRNA editing enzyme, catalytic polypeptide-like 2		0	1.4	0	3.9		40.2	0	0
5020	72.1	62.9	40.1	cg21573263	6536	protein-coding	SLC6A9	solute carrier family 6 (neurotransmitter transporter, glycine), member 9		0	1.1	0	1.8		32.0	0	0
5234	40.2	33.7	11.6	cg23051598	11273	protein-coding	ATXN2L	ataxin 2-like		0	1.2	0	3.5		28.6	0	0
5523	47.3	42.3	27.0	cg02294539:cg219	23548	protein-coding	TTC33	tetratricopeptide repeat domain 33		0	1.1	0	1.8		20.3	0	0
5657	58.7	55.4	29.4	cg02290197:cg066	29887	protein-coding	SNX10	sorting nexin 10		0	1.1	0	2.0		29.2	0	0
6041	44.1	59.0	34.7	cg25447894	27254	protein-coding	CSDC2	cold shock domain containing 2, RNA binding		0	1.3	0	1.3		24.3	0	0
7106	55.9	39.1	25.2	cg03509901	51701	protein-coding	NLK	nemo-like kinase		0	1.4	0	2.2		30.7	0	0
7179	67.9	61.5	40.6	cg02059867:cg027	51195	protein-coding	RAPGEFL1	Rap guanine nucleotide exchange factor (GEF)-like 1		0	1.1	0	1.7		27.3	0	0
8382	27.9	39.7	14.7	cg01003803:cg068	26281	protein-coding	FGF20	fibroblast growth factor 20		0	1.4	0	1.9		24.9	0	0

Table 1(続き).

非造腫瘍性分化中間体混入 RPE 細胞と最終分化 RPE 細胞とのメチル化の違い

8598	83.1	84.5	54.4	cg10565645	2589	protein-coding	GALNT1	UDP-N-acetyl-alpha-D-galactosamine:polypeptide N-acylgalactosaminyltransferase 1 (GalNAc-T1)		0	1.0	0	1.5		30.1	0	0
8720	74.3	80.1	33.0	cg10578828	57554	protein-coding	LRRC7	leucine rich repeat containing 7		0	1.1	0	2.3		47.1	0	0
9127	57.2	66.7	40.0	cg02458882:cg060	10133	protein-coding	OPTN	optineurin		0	1.2	0	1.4		26.7	0	0
10125	79.9	59.5	34.5	cg02218324:cg179	81492	protein-coding	RSPH6A	radial spoke head 6 homolog A (Chlamydomonas)		0	1.3	0	2.3		45.4	0	0
10624	80.8	86.0	52.5	cg11081809						0	1.1	0	1.5		33.6	0	0
10691	61.4	75.7	40.1	cg02391387:cg027	83943	protein-coding	IMP2L	IMP2 inner mitochondrial membrane peptidase-like (S. cerevisiae)		0	1.2	0	1.5		35.6	0	0
10722	65.6	62.7	41.1	cg00831247:cg089	84695	protein-coding	LOXL3	lysyl oxidase-like 3		0	1.0	0	1.6		24.6	0	0
10817	69.7	62.6	41.3	cg00677195	80760	protein-coding	ITH5	inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain family, member 5		0	1.1	0	1.7		28.4	0	0
11157	75.7	70.5	43.4	cg06494770:cg074	90293	protein-coding	KLHL13	kelch-like 13 (Drosophila)		0	1.1	0	1.7		32.3	0	0
11787	80.6	61.4	40.8	cg01513802	23345	protein-coding	SYNE1	spectrin repeat containing, nuclear envelope 1		0	1.3	0	2.0		39.8	0	0
11972	83.1	86.6	54.8	cg04908300:cg161	5468	protein-coding	PPARG	peroxisome proliferator-activated receptor gamma		0	1.0	0	1.5		31.7	0	0
12056	87.0	67.1	44.1	cg02462253:cg182	5602	protein-coding	MAPK10	mitogen-activated protein kinase 10		0	1.3	0	2.0		42.8	0	0
12525	40.2	33.7	11.6	cg23051598	11273	protein-coding	ATXN2L	ataxin 2-like		0	1.2	0	3.5		28.6	0	0
12543	79.6	58.8	23.6	cg00609333:cg045	4257	protein-coding	MGST1	microsomal glutathione S-transferase 1		0	1.4	0	3.4		56.0	0	0
12579	37.9	31.2	17.2	cg01745499:cg026	3159	protein-coding	HMGAI	high mobility group AT-hook 1		0	1.2	0	2.2		20.7	0	0
12580	37.9	31.2	17.2	cg01745499:cg026	3159	protein-coding	HMGAI	high mobility group AT-hook 1		0	1.2	0	2.2		20.7	0	0
12585	37.2	24.8	16.5	cg00561081:cg013	7571	protein-coding	ZNF23	zinc finger protein 23		0	1.5	0	2.2		20.7	0	0
12628	87.0	64.7	43.0	cg11395414	115290	protein-coding	FBXO17	F-box protein 17		0	1.3	0	2.0		44.0	0	0
12636	40.2	33.7	11.6	cg23051598	11273	protein-coding	ATXN2L	ataxin 2-like		0	1.2	0	3.5		28.6	0	0
12637	40.2	33.7	11.6	cg23051598	11273	protein-coding	ATXN2L	ataxin 2-like		0	1.2	0	3.5		28.6	0	0
12638	40.2	33.7	11.6	cg23051598	11273	protein-coding	ATXN2L	ataxin 2-like		0	1.2	0	3.5		28.6	0	0
13154	61.7	54.7	33.5	cg18953104	167838	protein-coding	TXLNB	taxilin beta		0	1.1	0	1.8		28.3	0	0
13406	75.6	60.2	33.3	cg26367031	27094	protein-coding	KCNMB3	potassium large conductance calcium-activated channel, subfamily M beta member 3		0	1.3	0	2.3		42.3	0	0
13705	56.7	48.2	23.1	cg00964137:cg021	285600	protein-coding	KIAA0825	KIAA0825		0	1.2	0	2.5		33.6	0	0
14584	50.3	68.9	38.6	cg00004817:cg004	1390	protein-coding	CREM	cAMP responsive element modulator		0	1.4	0	1.3		30.3	0	0
14587	50.3	68.9	38.6	cg00004817:cg004	1390	protein-coding	CREM	cAMP responsive element modulator		0	1.4	0	1.3		30.3	0	0
14801	48.3	37.9	24.9	cg03508235	84962	protein-coding	AJUBA	ajuba LIM protein		0	1.3	0	1.9		23.4	0	0
14805	42.7	43.1	10.1	cg11827925:cg180	358	protein-coding	AQP1	aquaporin 1 (Colton blood group)		0	1.0	0	4.2		33.0	0	0
15204	31.1	33.2	8.6	cg14725537	5354	protein-coding	PLP1	proteolipid protein 1		0	1.1	0	3.6		24.6	0	0
15313	72.1	62.9	40.1	cg21573263	6536	protein-coding	SLC6A9	solute carrier family6 (neurotransmitter transporter, glycine), member 9		0	1.1	0	1.8		32.0	0	0
15646	86.5	83.4	49.6	cg05548349	401562	protein-coding	LCN1L	lipocalin-like 1		0	1.0	0	1.7		36.9	0	0
16243	57.2	66.7	40.0	cg02458882:cg060	10133	protein-coding	OPTN	optineurin		0	1.2	0	1.4		26.7	0	0
16244	57.2	66.7	40.0	cg02458882:cg060	10133	protein-coding	OPTN	optineurin		0	1.2	0	1.4		26.7	0	0
16245	57.2	66.7	40.0	cg02458882:cg060	10133	protein-coding	OPTN	optineurin		0	1.2	0	1.4		26.7	0	0
16649	68.6	79.5	33.6	cg03704673	388323	protein-coding	GLTPD2	glycolipid transfer protein domain containing 2		0	1.2	0	2.0		45.8	0	0
16939	53.4	42.8	25.8	cg16715129:cg236	272	protein-coding	AMPD3	adenosine monophosphate deaminase 3		0	1.2	0	2.1		27.6	0	0
16940	57.0	55.9	35.9	cg16715129:cg239	272	protein-coding	AMPD3	adenosine monophosphate deaminase 3		0	1.0	0	1.6		21.1	0	0
17842	75.4	89.6	56.9	cg15255042	345930	protein-coding	ECT2L	epithelial cell transforming sequence 2 oncogene-like		0	1.2	0	1.3		32.7	0	0
17854	54.7	41.5	6.9	cg03309770:cg269	780776	protein-coding	FAM18A	family with sequence similarity 18, member A		0	1.3	0	8.0		47.9	0	0
18167	65.6	74.2	47.0	cg22148297	2841	protein-coding	GPR18	G protein-coupled receptor 18		0	1.1	0	1.4		27.2	0	0
18448	56.9	73.8	36.2	cg00556627:cg012	26010	protein-coding	SPATS2L	spermatogenesis associated, serine-rich 2-like		0	1.3	0	1.6		37.5	0	0
18450	56.9	73.8	36.2	cg00556627:cg012	26010	protein-coding	SPATS2L	spermatogenesis associated, serine-rich 2-like		0	1.3	0	1.6		37.5	0	0
18785	77.3	93.0	61.7	cg02634187	441054	protein-coding	C4orf47	chromosome 4 open reading frame 47		0	1.2	0	1.3		21.4	0	0
19202	77.4	80.3	52.7	cg01634964:cg023	6597	protein-coding	SMARCA4	SWI/SNF related, matrix associated, actin dependent regulator of chromatin, subfamily a, member 4		0	1.0	0	1.5		37.6	0	0
19335	50.7	68.3	43.4	cg04038101:cg040	3801	protein-coding	KIFC3	kinesin family member C3		0	1.3	0	1.2		24.9	0	0
19585	78.4	88.5	56.4	cg03392679:cg094	317649	protein-coding	EIF4E3	eukaryotic translation initiation factor 4E family member 3		0	1.1	0	1.4		32.1	0	0
19815	53.6	75.7	45.5	cg04956382:cg069	9499	protein-coding	MYOT	myosin		0	1.4	0	1.2		30.2	0	0
20817	56.7	48.2	23.1	cg00964137:cg021	285600	protein-coding	KIAA0825	KIAA0825		0	1.2	0	2.5		33.6	0	0
21901	75.1	72.3	41.3	cg21463790	2115	protein-coding	ETV1	ets variant 1		0	1.0	0	1.8		33.8	0	0
21902	75.1	72.3	41.3	cg21463790	2115	protein-coding	ETV1	ets variant 1		0	1.0	0	1.8		33.8	0	0
21903	75.1	72.3	41.3	cg21463790	2115	protein-coding	ETV1	ets variant 1		0	1.0	0	1.8		33.8	0	0
21948	75.6	60.2	33.3	cg26367031	27094	protein-coding	KCNMB3	potassium large conductance calcium-activated channel, subfamily M beta member 3		0	1.3	0	2.3		42.3	0	0
21758	87.5	73.4	45.4	cg27446233	5213	protein-coding	PFKM	phosphofructokinase, muscle		0	1.2	0	1.9		42.1	0	0
21759	87.5	73.4	45.4	cg27446233	5213	protein-coding	PFKM	phosphofructokinase, muscle		0	1.2	0	1.9		42.1	0	0
21867	69.2	58.6	25.8	cg00412554:cg064	80293	protein-coding	KLHL13	kelch-like 13 (Drosophila)		0	1.2	0	2.7		43.5	0	0

【研究方法】

次に、多能性幹細胞の細胞規格方法として、ヒトES細胞とヒトiPS細胞のHuman Genome U133 plus 2.0を用いた網羅的遺伝子解析の結果より、遺伝子同士の関連性ネットワークをオミックス解析した。多能性維持に必要となる代表的な遺伝子群およびリプログラミング化で使用した遺伝子群を抽出し、ヒトES細胞に強く発現し、多能性維持を保持する因子(OCT3/4, NANOG, SOX2, KLF4 c-Myc, Lin28A) 間のネットワーク形成の様子と前遺伝子に加え、iPS細胞の樹立効率を向上させると報告された Glis-1 遺伝子を加えた遺伝子間のネットワーク形成の様子を比較した。(図4)

【結果】

Glis-1 遺伝子の発現を経由するiPS細胞のシグナルは、NogginやBMP Familyのシグナル経路とリンクしていることを明示する判明、NANOGやPOU5F1など多能性維持遺伝子群のネットワーク構築とは直接的な関係性がないことが示唆された。従って分化誘導後でも残ると思われるGlis-1の恒常的

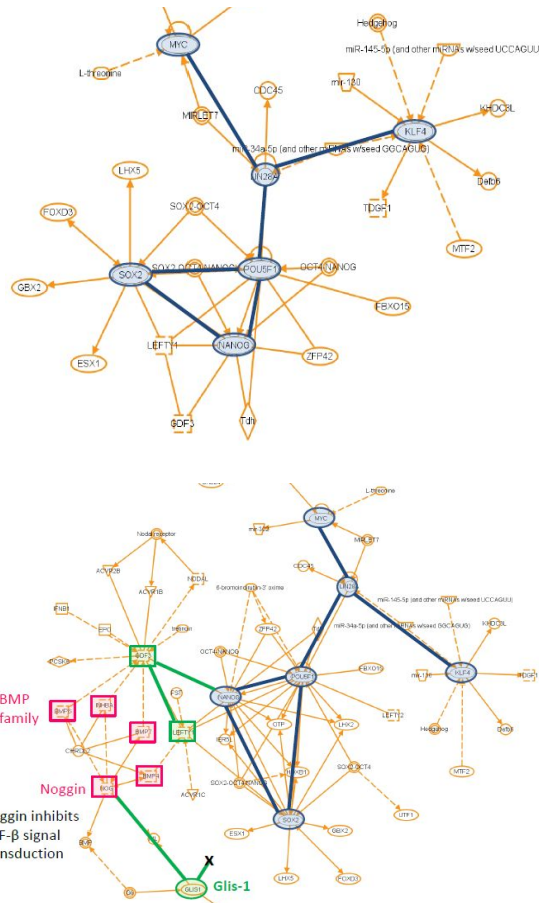


図4. 網羅的遺伝子発現データを用いた iPS多能性維持ネットワーク(NW)解析.

上) リプログラミング化 (POU5F1, NANOG, SOX2, Lin28A, KLF4, MCY) に利用されている主な遺伝子間の Controllability analysis.

下) Glis-1 を追加した場合の遺伝子間の Controllability analysis.

な発現は、分化誘導時にBMPやNogginシグナルの恒常的な活性を促し、中胚葉系への誘導促進と特定の分化段階での分化阻害をもたらす可能性が示唆された。

一方、RPE細胞自身も単一細胞で低密度培養を行うことで比較的緩和な培養条件下で中胚葉系細胞へと脱分化しやすいことが報告されている。¹⁾

Glis-1をリプログラミング化に使用することで、Fibroblastや間葉系幹細胞(MSC)からiPS細胞の樹立効率が向上すると報告²⁾されているものの、ヒト臍帯血を細胞源とした場合では、Glis-1を導入した場合でも、iPS細胞の樹立効率の向上は認められなかった。つまり、iPS細胞の樹立条件は、細胞源のエピゲノム状態と密接な関係があり、Glis-1を使用した場合のリプログラミング化とGlis-1を使用しないリプログラミング化では、リプログラミング経路が異なる事が推察できる。Glis-1は、特定細胞種に存在する遺伝領域のリプログラミング化を促進する役割を示すものの、Glis-1を使用して樹立したiPS細胞では、Glis-1が残存した場合、BMPやNongginシグナルの恒常的な活性を促し、中胚葉系への分化誘導の際は、中胚葉系中間体での分化異常細胞の出現が想定された。実際3次試験で出現した、MSCの性状と特性(脂肪、骨、軟骨分化)

X細胞の出現は、このOmics解析で予測できる可能性が示唆された。

【考察】

Glis-1を用いて樹立したiPS細胞をRPEに分化誘導した3th RPE移殖組織片(非造腫瘍性分化中間体混入が著明なRPE細胞)で特異的に出現した(中胚葉系mesenchymal stem cellの性質を有した)細胞が、RPE細胞の脱分化系で起こるものかあるいは、iPS細胞のリプログラミングプロセスで発生するX細胞であるか、Omics解析を含めた多面的に検証することで、iPS細胞の分化抵抗性の予測や細胞規格化の検討が可能になることが考えられた。

参考文献)

1. Enrique Salero, et.al., "Adult Human RPE Can Be Activated into a Multipotent Stem Cell that Produces Mesenchymal Derivatives", Cell Stem Cell, 10, 88-95 2012.
2. Momoko Maekawa, et.al. "Direct reprogramming of somatic cells is promoted by maternal transcription factor Glis1", Nature, 474, 225-229, 2011.

【研究方法】

細胞あるいは組織から抽出した RNA を基に遺伝子網羅解析を行い、その遺伝子情報から iPS 細胞の品質をフィードバックすることが可能について評価検討した。まず、253G1 由来の RPE 細胞と Primary RPE 細胞から RNA を抽出し、Human Genome U133 plus 2.0 を用いて網羅的遺伝子解析データを行った。これらの遺伝子情報を代謝情報に変換しヒートマップを作成した。

【結果】

Primary RPE 細胞は、Protein Synthesis 代謝に関する遺伝子が多く発現していることが分かり、RPE 細胞自体が様々なタンパク質を分泌している特性を有することが確認できた。一方、iPS 細胞由来 RPE 細胞においても、Primary 細胞と同様に多くの Protein Synthesis 代謝の結果が見られた。その他、遺伝子発現から Cell Death and Survival や Cellular Growth and Proliferation に関する代謝発現も Primary RPE と iPS 細胞由来 RPE 細胞で同様の結果が得られた。(図 5) これらの結果より、iPS 細胞由来 RPE 細胞と Primary RPE 細胞の細胞内代謝

状況は、非常に性質の近い細胞であることが確認された。

以上、移殖細胞や組織より RNA を抽出し、遺伝子網羅解析を行う事により、iPS 細胞由来分化細胞のさらなる細胞評価を行った。

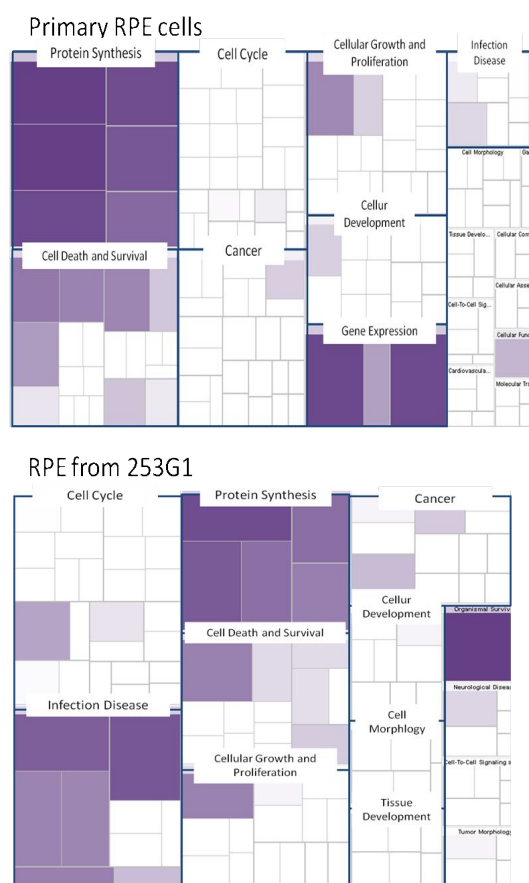


図 5. Primary RPE および 253G1 由来 RPE 細胞のオミックス解析での細胞内代謝の Heatmap

【研究目的】

細胞保管業務では、当初予想していた移植細胞の保管だけでは有害事例発生時における細胞検査で十分な原因追究ができず再生医療の安全に推進するに繋がらない可能性が示唆されたことから、昨年度に作成した細胞情報管理、細胞保管場所管理、保管機器の監視、細胞保管施設の維持などに関する運用規定を、多種細胞の保管/管理する事を想定した運用規定および細胞保管/管理規定を改正し、多検体の保管が可能な運用方法の改正を行った。

【研究方法】

保管業務を遂行するために必要な契約書の管理やデータ・ホームページ管理、広報活動等の業務を支援するために事務局を設置し、必要人員を確保することでヒト幹細胞アーカイブの全体的な運用体制を確定した。

【結果】

細胞寄託に関する情報発信および細胞寄託時の個人情報管理等のヒューマンエラー防止、国民への広報活動のためヒト幹細胞アーカイブ【[Archive of Human Stemcell in Clinical research; AHSC](http://stemcell-archive.fbri.org)】用ホームページ

(<http://stemcell-archive.fbri.org>) を作成し、次年度より医療機関ネットワークへの幹細胞の寄託依頼の手続きを開始する状況を整えた。また、細胞提供機関と寄託を受ける財団双方間で実運用のための契約締結準備中である。2014年3月には、臨床用細胞検体の保管シミュレーションを実施し、運用マニュアル、管理マニュアルの最終確認を行った。ヒト幹細胞アーカイブ広報活動としては、細胞保管事業目的および細胞保管に対する契約内容(案)を理化学研究所 高橋政代先生らの細胞製造グループとMeetingし、細胞寄託について確認を頂いた(2012年11月11日)。

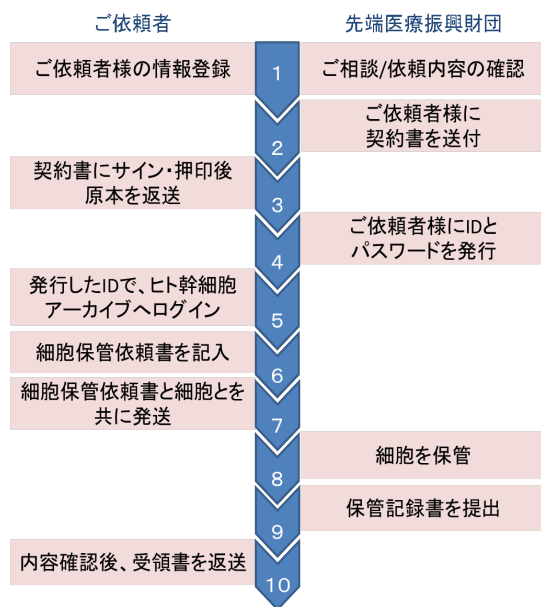


図6. ヒト幹細胞アーカイブを活用した細胞保管業務のフローチャート*

*財団内のサーバーで公開型と非公開型に分類してセキュリティ面を担保しているため、細胞情報管理等の流れに関しては非公開しない。

細胞保管事務局としては、細胞提供機関と細胞寄託に関する契約書の作成や細胞寄託に対する広報活動、ヒト幹細胞アーカイブ用ホームページの立ち上げを行い、ホームページ上に、細胞寄託者が細胞寄託するまでの手順をフローチャートとして明記し、容易に寄託依頼できるよう情報発信している。(図6)

細胞寄託までの操作

1. 細胞保管依頼者（以下；依頼者）にヒト幹細胞アーカイブ HP にアクセスして頂き、依頼者情報等を入力。
2. 細胞保管事務局で依頼登録内容に問題がない事を確認後、依頼者に細胞保管業務委託契約書を送付する。
3. 依頼者が契約書に捺印後、財団に返送。
4. 契約締結を確認後、財団側で ID・パスワードを発行。
5. 依頼者に ID・パスワードを送付する。
6. 依頼者は、ID・パスワードでログインし、専用フォームの細胞情報記入欄を記入して、細胞発送日を指定する。
7. 細胞保管事務局は、細胞受取り可能であることを確認し連絡する。
8. 細胞を受け取り、細胞保管作業手順書に準じ細胞を保管する。
9. 細胞情報に ID を付与し保管場所と細胞保管記録書として保管する。
10. 細胞を受取り
11. 依頼者に細胞保管受領書を送る。

細胞保管施設の整備状況は、ES細胞/ iPS細胞の細胞保存用液体窒素タンク・超低温フリーザー・温度管理システム・室内酸素濃度センサー・検体管理システム整備を構築し、細胞保管機器の運転状況などの管理体制を整えた。(図7)

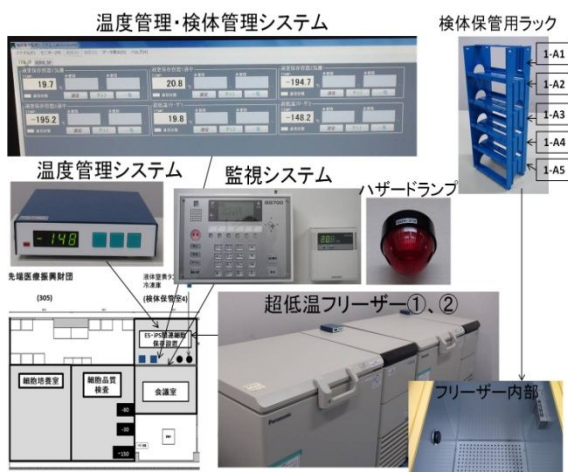


図7. 細胞保管施設の整備状況

その他、Table 2 に示した各種規定書・手順書を作成した。

Table 2. 細胞保管保管情報の管理規定、手順書

1. 作業者の教育等の管理規定を設定。
2. 細胞保管事業に関する業務および契約規定、

3. 検体保管室管理規定 (受入細胞に関する入庫判定、入庫記録管理, 細胞保管不適合時の処置、細胞の取出し管理)
4. 検体保管室入室記録
5. 検体保管室の警戒発報に対する対応規定
6. 細胞保管場所アドレス入力規定
7. 検体保管室内細胞保管機器の作動監視規定
8. 検体保管依頼者の個人情報保護法の取り扱い規定
9. 検体保管依頼書の作成
10. 依頼蛮行発行規定
11. 検体情報の管理規定
12. 検体発送手順書の作成
13. 検体保管手順書の作成
14. 検体保管記録書の作成
15. 検体管理ID発行規定
16. 検体保管記録書の管理規定
17. セキュリティ侵害時の対応規定
18. 細胞返還依頼書の作成
19. ヒト幹細胞アーカイブのHP運用規定

【今後の予定】次年度には、慶応義塾大学 中村雅也先生や京都大学 高橋淳先生らの

研究進捗に応じて、本事業への細胞寄託にご協力頂けるよう広報を行う予定である。具体的には、ヒト幹細胞アーカイブHPを活用し広報を行い細胞寄託を開始する。(図8)

広報活動としては、学術会議・シンポジウム・展示会等への出展を行い将来、臨床研究を実施される先生方への細胞寄託協力を求める。加えて、次年度に広報活動用としてヒト幹細胞アーカイブ用配布資料のA4 x 1 頁程度を作成する予定である。文部科学省「橋渡し研究」等の臨床研究実施、実施予定の先生方に配布資料を送付予定である。臨床研究 に使用されたiPS細胞由来

RPE細胞の細胞寄託を開始。

次年度より、CGH array等を用いたCopy Numbers Variation (CNV)も染色体解析技術に導入し、gene stabilityと造腫瘍性に関する移植後検査法の開発に着手した。



図 8. ヒト幹細胞アーカイブの HP TOP 画面