

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））

「iPS 細胞等の安定供給と臨床利用のための基盤整備」

分担研究報告書

「体性幹細胞、iPS 細胞等を用いる臨床研究支援技術開発」

研究代表者	西田 幸二	大阪大学 脳神経感覚器外科学（眼科）	教授
研究協力者	川崎 諭	大阪大学 眼免疫再生医学共同研究講座	特任准教授
研究協力者	林 竜平	大阪大学 幹細胞応用医学寄附講座	准教授
研究協力者	小林 由紀	大阪大学 脳神経感覚器外科学（眼科）	研究員
研究協力者	本田 愛	大阪大学 脳神経感覚器外科学（眼科）	研究員

【研究要旨】

ヒト幹細胞を用いる臨床研究に関する指針において、移植を受ける被験者等が感染症を発症した場合等の原因究明のために、採取したヒト幹細胞又はヒト分化細胞の一部等の適当な試料について、適切な期間保存しなければならないと定められている。しかしながら、移植した細胞の保管や情報管理を各臨床施設に任せただけの場合、不確実な保管や情報の損失の可能性が危惧され、再生医療の発展の障壁となりうる。本研究では確実な保管・情報管理を達成するための基盤整備として、移植された体性幹細胞を統合的に管理・保存するシステムを構築することとする。

今年度は、実際の運用に向けたシステムの最終調整を行った。その中で、細胞の運搬および保管を円滑に運営するために、凍結保存試料の輸送及び保存に関する標準手順書を作成し、またその手順書に従ってコールドランを実施した。また、取り扱う保管サンプルの臨床データの管理として REDCap ベースのデータベースを構築した。構築したシステムが安定していることを確認したうえで、大阪大学で行っている再生医療臨床研究のサンプルの保管を開始した。来年度中には学外のサンプルについても受け入れが可能となる予定である。

A. 研究目的

ヒト幹細胞を用いる臨床研究に関する指針において、移植を受ける被験者等が感染症を発症した場合等の原因究明のために、採取したヒト幹細胞又はヒト分化細胞の一部等の適当な試料について、適切な期間保存しなければならないと定められている。しかしながら液体窒素保管庫における出納管理は通常人の手で行っており、human

error による管理ミスの発生が危惧される。human error を減らすための対策としては、高額なコンピュータ管理の液体窒素保管庫を専任のオペレータにより管理運営することなどが考えられるが、初期設備投資や年間の人件費、ランニングコストなどを考慮すると全国の各大学に設置することは現実的に難しい。そこで本研究ではコンピュータ管理の液体窒素保管庫を専任のオペレー

タとともに大阪大学に設置して、全国から再生医療に使用した体性幹細胞ならびに iPS 細胞を受け入れ、厳密に管理することとする。本研究により再生医療の品質管理や追跡に関する体制が整備できれば今後の再生医療の発展に大きく寄与するものと考えられる。

B. 研究方法

1. 細胞保管、細胞運搬および幹細胞付帯情報管理システムの運営に関する標準手順書 (SOP) の作成

体性幹細胞ならびに iPS 細胞等貯蔵を安全かつ確実にこなうために、当機関内に電子錠を備えた専用のストックルームの設置、コンピュータと連動した自動入出庫管理システムを実現する細胞凍結保管庫 (クライオライブラリ) の設置を昨年度までに行った。今年度はこのシステムの運用に伴い、細胞サンプルの送り手側でのサンプル取扱及び大阪大学への送付手順、大阪大学でのサンプル受取から出入庫の運営手順及びサンプルの管理方法に関する標準手順書 (SOP) を作成する。凍結細胞サンプルの受入に際して、エントリーシートを作成し、輸送予定のサンプルについての情報を事前に把握することとした。また、相手側でのサンプルの輸送時において、大阪大学への輸送時でのチェックシートを作成し、輸送前のサンプルの保管状態の確認可能にする。

またシステムの緊急停止や異常時において、作業者の安全確保を考慮した上で、対応可能なクライオライブラリ緊急対応マニュアルも作成した。

2. 標準手順書に基づいて細胞運搬・保管のコールドランの実施

細胞運搬は、東京大学と京都府立医科大学の協力の下、作成した SOP の手順に従事して実施した。

まず大阪大学にて準備した凍結細胞をドライアイス内で梱包した箱及び、細胞とは別に -190℃以下に保持した空のドライシッパーを東京大学と京都府立医科大学の2大学にそれぞれ郵送し、各大学で凍結細胞を指示通りドライシッパー内へ移動し大阪大学へ再輸送する工程を行った。大阪大学への輸送時には、輸送前チェックシートの記入を依頼した。受取後、サンプル受入の入庫情報をシステムに入力し、連結可能匿名化するバーコードシールをサンプルバイアルに貼付して、4日間クライオライブラリ内で保管した。4日後、細胞状態を比較検討するため、大阪大学で輸送した細胞バイアルと同様に凍結したサンプルをコントロールとして、2大学からのそれぞれの細胞に生存率及び形状に差異はないかを培養によって比較を行った。

3. 幹細胞付帯情報管理データベースの構築

本研究では再生医療臨床研究で用いた幹細胞の安全かつ確実な保存場所を構築するのに平行して、保管する幹細胞に関する臨床および培養情報を入力するためのデータベースの構築も行う。データベースとしては REDcap データベースを用いる。REDCap データベースは米国 Vanderbilt 大学で開発され、世界中で広く利用されているもので、インターネットを介して多施設で on site で入力が可能であり、保管する幹細胞に匿名化することが義務付けられている本研究においては極めて便利なシステムであ

る。

（倫理面への配慮）

本研究においては関連指針等を遵守し、大阪大学倫理委員会の承認を経て慎重に研究を進める。常に人権を尊重した研究を実行し、患者の不利益とならないよう最大限の配慮を行うこととする。

C. 研究結果

作成した SOP（参考資料-1）に従いコールドランを実施した結果、液体窒素を充填し、各大学に輸送して返却されるまで 3 日経過していたが、どちらのドライシッパーも -190℃以下を保てており、生細胞率と細胞形状についてコントロールと大差はなかった。（参考資料-2）

今回協力が得られた 2 大学の実務担当者に輸送前チェックシートの記載を行ってもらったが、記載内容の難しさや疑問点に関しての指摘はなかった。

以上のことから、ドライシッパーによる輸送とクライオライブラリでの保管による細胞への影響はないものと考えられた。

クライオライブラリの稼動サンプル保管時に、クライオライブラリの誤作動によって緊急停止したが、緊急時対応マニュアルによって、迅速に対応できたことから、作成したマニュアルは緊急時にも対応可能であったと考える。また、緊急連絡体制表に従って、クライオライブラリの製造業者との早急な連絡にも対応可能であった。

移植した幹細胞に関する臨床情報を管理する REDcap データベースの構築を大阪大学臨床統計疫学寄附講座と共同で行った。入力項目を研究班内で議論して決定し、入力時には簡便に入力できるように、プルダ

ウンメニューとするなどの工夫を凝らした。

D. 考按

京都府立医科大学へ輸送した方は、到着時に保護ケースのフック錠が片方開きかけていた。輸送途中でフック錠のタブが上がってしまったと考えられる。対策として、フック錠のタブにテープを貼り付ける作業を SOP へ追加し、タブに物が当たらないようにすることを検討している。

ドライシッパーの取扱いについては、取扱い説明書を作成して事前に両大学へ送付した。特に取扱いが難しいという意見もなかったため、ドライシッパーを使用したことがなくても、説明書を添付することによって問題なく作業は行い得ると判断する。

今回は、大阪大学からサンプルを各大学に送付してコールドランを行ったため、サンプルの受入時に使用するエントリーシートを用いなかった。よって、このシートの使用に関する問題点がある可能性は否定できず、実際の運用後に修正する可能性もあると考える。

緊急連絡体制表については、業者内での人事異動などがあるため、最新の情報であるかの確認が必要であると考えた。

E. 結論

我々が構築した細胞輸送システムとクライオライブラリによる保管システムは、作成した作業手順書に準じて細胞運搬および保管を管理可能であり、またシステムの動作も問題なく稼動し、今後国内で行われる再生医療サンプルを確実に保管・管理するために適したシステムであると言える。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

なし

H. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案特許

なし

3. その他

なし