

201406026A

厚生労働科学研究費補助金

再生医療実用化研究事業

有害事象発生時の科学的な細胞検証を通じて細胞治療の安全性向上を目指す

臨床用細胞保管・検査拠点の構築

平成26年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 川真田 伸

平成27(2015)年 3月

厚生労働科学研究費補助金

再生医療実用化研究事業

有害事象発生時の科学的な細胞検証を通じて細胞治療の安全性向上を目指す

臨床用細胞保管・検査拠点の構築

平成26年度 総括・分担研究報告書

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

研究代表者 川真田 伸

目 次

I. はじめに	1
II. 研究組織	5
III. 平成26年度 総括研究報告書	9
川真田 伸	
IV. 平成26年度 分担研究報告書	
1. ヒト幹細胞アーカイブ運用における細胞保管業務の実施	15
西下 直希 / 今里 栄男	
2. 細胞検査のための染色体解析技術の確立	25
郷 正博 / 田村 尚	
3. 細胞凍結保存法の技術の確立	29
西下 直希	
V. 会 議 記 録	35
VI. 研究成果の刊行物・印刷物	39

はじめに

本報告書は、厚生労働科学研究費補助金 再生医療実用化研究事業の一つである「有害事象発生時の科学的な細胞検証を通じて細胞治療の安全性向上を目指す臨床用細胞保管・検査拠点の構築」研究班における平成26年度の研究成果をまとめたものである。

平成24年度にiPS細胞等の臨床研究安全基盤整備事業として、iPS細胞等を活用した細胞移植治療におけるヒト幹細胞アーカイブが整備された。本研究は、移植に用いたヒト幹細胞の一部を「ヒト幹細胞アーカイブ」に保管しておき、移植から時間が経過した後に、移植に用いたヒト幹細胞について溯って調べることを可能にしておくことで、ヒト幹細胞移植の安全性・有効性を長期的にフォローアップでき、安全かつ有効な再生医療の実現、臨床研究の促進を目的としている。本目的を達成するために、平成26年度では下記のテーマの分担研究を行い、「有害事象発生時の科学的な細胞検証を通じて細胞治療の安全性向上を目指す臨床用細胞保管・検査拠点の構築」に関する研究を実施した。

1. 移植細胞検体の保管業務実施 (細胞委託業務の円滑な実施、細胞保管業務の実施、保管拠点の広報活動、HP web site運営)
2. 細胞検体検査方法の確立 (real time で遺伝子の異常検出)
3. 細胞保管方法の確立 (単細胞懸濁, sheet状での緩慢凍結/解凍法の最適化研究)

II 研究組織

平成26年度厚生労働科学研究「有害事象発生時の科学的な細胞検証を通じて細胞治療の安全性向上を目指す臨床用細胞保管・検査拠点の構築」研究班

研究組織

	役割	氏名	所属
研究代表者	研究総括	川真田 伸	(公財) 先端医療振興財団 細胞療法研究開発センター
分担研究者	細胞検査技術(染色体解析)の検討・最適化・標準化研究の責任者	郷 正博	(公財) 先端医療振興財団 細胞療法研究開発センター 細胞療法開発グループ
分担研究者	細胞保管(ES/iPS細胞・分化細胞・細胞保存研究)の責任者	西下 直希	(公財) 先端医療振興財団 細胞療法研究開発センター 研究・細胞評価グループ
分担研究者	細胞検査技術(染色体解析)の検討・最適化・標準化研究の責任者	田村 尚	(公財) 先端医療振興財団 細胞療法研究開発センター 研究・細胞評価グループ
分担研究者	細胞保管(ES/iPS細胞・分化細胞・細胞保存研究)の責任者	今里 栄男	(公財) 先端医療振興財団 細胞療法研究開発センター 研究・細胞評価グループ
協力研究者	細胞品質検査SOP作成	金村 星余	(公財) 先端医療振興財団 細胞療法研究開発センター 研究・細胞評価グループ
協力研究者	機器管理SOP作成	鹿村 真之	(公財) 先端医療振興財団 細胞療法研究開発センター 研究・細胞評価グループ
協力研究者	iPS細胞細胞試料管理SOP作成	村松 万里江	(公財) 先端医療振興財団 細胞療法研究開発センター 研究・細胞評価グループ
協力研究者	iPS細胞細胞試料管理SOP作成	山本 貴子	(公財) 先端医療振興財団 細胞療法研究開発センター 研究・細胞評価グループ
協力研究者	iPS細胞細胞試料管理SOP作成	竹中 ちえみ	(公財) 先端医療振興財団 細胞療法研究開発センター 研究・細胞評価グループ
協力研究者	iPS細胞細胞試料管理SOP作成	伊藤 朋美	(公財) 先端医療振興財団 細胞療法研究開発センター 研究・細胞評価グループ
協力研究者	細胞保管事務局	清水 良雄	(公財) 先端医療振興財団 細胞療法開発事業推進課
協力研究者	細胞保管事務局	林 直哉	(公財) 先端医療振興財団 細胞療法開発事業推進課
協力研究者	細胞保管事務局	渡邊 亜紀子	(公財) 先端医療振興財団 細胞療法開発事業推進課

協力研究者	細胞保管事務局	竹内 勝信	(公財) 先端医療振興財団 細胞療法開発 事業推進課
協力研究者	細胞保管事務局	ジェイコブス いずみ	(公財) 先端医療振興財団 細胞療法開発 事業推進課

Ⅲ 平成26年度 総括研究報告書

厚生労働科学研究費補助金（再生医療実用化研究事業）

総括研究報告書

有害事象発生時の科学的な細胞検証を通じて細胞治療の安全性向上を目指す
臨床用細胞保管・検査拠点の構築

研究代表者：川真田 伸

（公財）先端医療振興財団 細胞療法研究開発センター

研究要旨

再生医療を普及させる上で重要な社会基盤の一つとして、「細胞移植治療の安全性、信頼性を担保する基盤構築」が挙げられる。移植に用いたヒト幹細胞の一部を「ヒト幹細胞アーカイブ」に保管しておき、有害事象が発生した際、移植に用いたヒト幹細胞を調べ、有害事象時の治療方針に反映させることが出来る。また同様の幹細胞治療を申請する際の細胞規格や protocol 策定に反映させることができる。これらの細胞保管・検査研究を通じて、細胞移植の安全性・有効性が担保され、細胞治療がさらに普及されることを目指す。

本事業では上記の実現のために、1. 移植細胞検体の保管業務の確立 2. 遺伝子検査技術の開発 3. 細胞保管技術の開発と標準化を統合的に構築する。

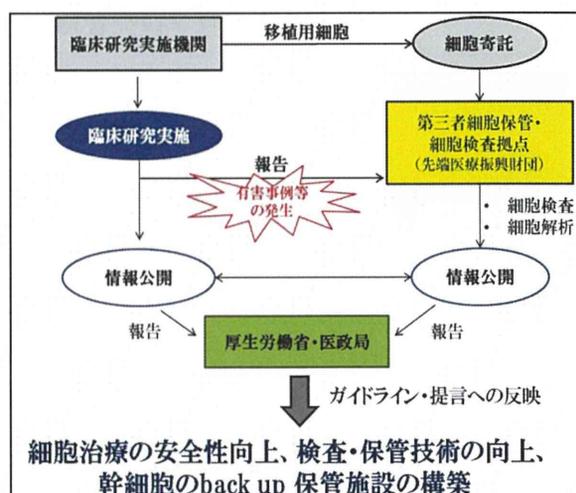
本年度の成果としては、細胞療法研究開発センター内にて細胞保管業務と細胞検査業務の組織を構築し、ヒト幹細胞アーカイブ用 HP と細胞保管事務局の運営、細胞保管業務を実施し、理研 CDB の iPS 細胞由来網膜の保存、臨床に用いた山口大学の骨髄幹細胞の保管、国立長寿研究センターの歯髄幹細胞の保管契約締結を行った。その他、細胞保管技術として on feeder, feeder-less での iPS/ES 細胞保存技術の開発を行い論文・protocol 集として公表した (in press)。また細胞評価研究についても染色体解析業務を自施設で実施可能とした、m-FISH や m-BAND 等の検査体制を構築した。

【研究目的】

我が国では、昨年にはiPS細胞由来網膜色素上皮細胞を用いた加齢黄斑変性症の治療など多くの細胞治療が実施された。しかし細胞治療はまだ始まったばかりで、細胞治療の有効性を検証すると同時に、移植細胞の安全性に関するデータの集積とその情報の開示・共有がまず臨床実施医療機関と規制当局間に必要である。このような要望に答えるため、先端医療振興財団では、臨床研究に供された細胞を研究者からヒト幹細胞アーカイブとして細胞の寄託をうけ、冷凍保管を実施する。さらに有害事象発生時に解凍し必要な検査を実施し、厚生省医政局、臨床実施機関に報告し、被験者の治療計画に役立て、将来的の細胞治療立案時の参照としてfeed backされるシステムの構築を目指す。

【研究方法】

本事業では、臨床研究実施機関に加え、第三者機関として移植細胞の保管・細胞検査を集約的に実施し、検査手法・結果判定の規格化と検査内容公開による情報共有の



(図) 有害事象発生時の科学的な細胞検証をする細胞の保管、検査拠点の役割

仕組を作ることで、安全性向上に貢献することを課題としている（上図参照）。

【研究結果】

細胞療法研究開発センターにて細胞保管業務と細胞検査業務チームを構築し、細胞保管研究/細胞評価研究/細胞保管・管理業務と細胞検査の実施/細胞検査技術の開発/細胞標準化・規格化の業務を実施した。加えて、細胞保管に対する契約/細胞情報保管/ホームページの運営管理等の業務を行う事務局を設置し、保管業務に対する事務業務を支援する体制も同時に細胞療法研究開発センター内に整えた。

今年度iPS細胞由来網膜色素上皮の臨床研究が理研CDB(当時)で実施され、当施設での細胞の寄託が始まった。これを受けて構築したシステムの作動確認を行い、運用上の書類やSOPの不具合などの精査・改訂を行った。CDBの上記案件での細胞保存は、Fibroblast細胞(細胞源:①)、Fibroblast細胞から樹立したiPS細胞(樹立iPS細胞:②)、iPS細胞から分化させたRPE細胞(iPS由来RPE細胞:③)、RPE細胞のマウス皮下移植試験後の組織細胞)造腫瘍性実施細胞:④)、移植使用したRPE細胞(最終分化細胞:⑤)の各ステップの細胞を保管になっている。さらに今年度は山口大学医学部(消化器内科)、国立長寿医療研究センター(研究所)と細胞寄託契約を交わし、次年度より細胞保管業務を行う予定である。

【考察と予定】

本事業は、幹細胞治療に使われた細胞の保管事業だけでなく、有害事象発生時の検査を第三者機関として実施することで、細胞治療の安全性向上に大いに寄与すると考える。今後はさらに細胞寄託を促進するため、

HP や作成したパンフレット及びUMIN・CTRを通じ、iPS細胞以外の体性幹細胞由来の細胞寄託にも注力する予定である。

ヒト幹細胞アーカイブ
Archive of Human Stem cell in Clinical Research

ヒト幹細胞アーカイブについて

iPS細胞研究/ヘルパル受容など、再生医療研究に関する国際競争は、激化しており、我が国においても、世界に先駆けてiPS細胞等幹細胞を用いた細胞治療を臨床応用するべく、研究開発されています。そのため平成24年度より、移植に用いた幹細胞を保管して、移植から時間が経過した後に、移植に用いたヒト幹細胞について調べることができる「ヒト幹細胞アーカイブ」が整備されました。「ヒト幹細胞アーカイブ」は、iPS細胞等幹細胞を用いた再生医療に対する安全対策、医療の質の向上を目的としています。

事業概要

厚生労働省から認定された「ヒト幹細胞アーカイブ」の設置等に伴い、幹細胞治療の安全性を確保する観点から、下記の体制を整備しています。

1. 移植に用いたヒト幹細胞の長期的保管体制
2. 医療機関等と連携し、ヒト幹細胞を受け入れる体制
3. 移植から時間が経過した後に移植に用いたヒト幹細胞を検証する体制

ヒトに投与される細胞を「ヒト幹細胞アーカイブ」として保存タンクに保管しておき、iPS細胞等移植後の細胞のうち、避けて細胞品質検証が必要とされた場合、臨床実施機関とは別に独立した検査が実施できる第三者機関が、細胞保管できることを目的としています。

事業目的

ヒト幹細胞アーカイブを用いて先端医療展開を図るには、有害事象発生時の科学的な細胞検証を通じて細胞治療の安全性を高めることを目的とした事業を行う。主に、臨床試験用移植細胞の保管施設の構築、細胞評価検査システムの構築により、第三者細胞評価検査拠点の役割を担う。

実際の細胞保管の流れ

ご依頼者様	先端医療展開財団
1 依頼者様の情報登録	1 ご依頼/依頼内容の確認
2 依頼書にサイン・押印後、原本を返送	2 ご依頼書等に依頼書を送付
3 発行したIDで、ヒト幹細胞アーカイブへログイン	3 ご依頼書等にIDとパスワードを発行
4 細胞保管依頼書と細胞とを共に発送	4 細胞を保管
5 細胞検証結果、受取書を送送	5 細胞検証結果を返送
6 完了	6 完了

管理者情報 公益財団法人先端医療展開財団 細胞療法開発事業部門

作製したパンフレット

IV 平成26年度 分担研究報告書

厚生労働科学研究費補助金（再生医療実用化研究事業）

分担研究報告書

ヒト幹細胞アーカイブ運用における細胞保管業務の実施

分担研究者：西下 直希 / 今里 栄男

（公財）先端医療振興財団 細胞療法研究開発センター 研究・細胞評価グループ

研究要旨

理研および当財団間で、ヒト幹細胞アーカイブへの細胞寄託として、細胞寄託契約を締結した。寄託細胞の Web 管理を行うために、細胞寄託者(理研)にログイン ID を発行した。9月13日当財団病院で実施した加齢黄斑変性治療用 iPS 細胞由来 RPE 細胞、およびその親株の iPS 細胞等の凍結細胞バイアルを理研から寄託され、ヒト幹細胞アーカイブで保管している。

今後は、ヒト幹細胞アーカイブ用の HP (<http://stemcell-archive.fbri.org/>)や UMIN-CTR や細胞の寄託促進に向けた案内パンフレットを通じ、iPS 細胞以外の体性幹細胞由来の細胞寄託にも注力する予定である。

【研究要旨】

昨年度に構築した細胞情報管理、細胞保管場所管理、保管機器の監視、細胞保管施設の維持管理を行い、SOPなどの運営に関するSOP、細胞寄託から保管までのSOPの改訂を行った。また Bio Tech Japan 2014 にヒト幹細胞アーカイブ用ブースを設け、臨床実施機関への広報活動・情報発信を行った。また、(公財)先端医療振興財団のHPにヒト幹細胞アーカイブ用のsiteを設け(<http://stemcell-archive.fbri.org/>)、細胞寄託の流れをHP上で公開している。細胞の寄託促進に向けた案内のポスターも作成した。

【研究目的】

幹細胞指針適合臨床研究で用いられた細胞の保管業務を実施し、有害事例発生時に

おける細胞検査を迅速に行える体制の構築を図る。また施設の利用も含めた広報活動を充実させる。

【研究方法】

昨年度整備した、細胞保管施設の維持管理を行い。運用上のSOPの改訂も行った。財団内に保存専門ヒト幹細胞アーカイブへの細胞寄託として、細胞寄託契約保管業務を遂行するために必要な契約書の管理やヒト幹細胞アーカイブ用のsiteを設け(<http://stemcell-archive.fbri.org/>) HP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】

理研および当財団間で、ヒト幹細胞アーカイブへの細胞寄託として、細胞寄託契約を締結

した。寄託細胞のWeb管理を行うために、細胞寄託者(理研)にログインIDを発行した。



ヒト幹細胞アーカイブ HP top pageより

ヒト幹細胞アーカイブ	Version: 1st		
ヒト幹細胞アーカイブ ID・パスワード通知書			
<p>この度は細胞保管依頼者登録をいただきありがとうございます。細胞情報の登録はヒト幹細胞アーカイブホームページ(http://stemcell-archive.fbri.org/)より本通知書に記載されておりますID・パスワードをご入力の上専用サイトにログインいただき、細胞登録フォームよりご登録ください。</p>			
細胞保管依頼者登録日: 2014 年 08 月 04 日			
細胞保管依頼者情報			
ID	1003		
パスワード	fasc6fe5		
ご依頼者氏名	西下 直希		
施設名	FBRI		
所属名	Cell Therapy		
ご住所	〒650 - 0047 兵庫県神戸市中央区港島南町1-5-8		
TEL	078-306-0680		
FAX	078-306-0681		
E-mail	nishishita@fbri.org		
緊急連絡先			
お名前	西下 直希		
TEL	078-306-0680		
E-mail	nishishita@fbri.org		
<連絡先>	公益財団法人先端医療振興財団 経営企画部 細胞療法開発事業推進課 E-mail: clinical_cellarchive@fbri.org 〒650-0047 神戸市中央区港島南町1丁目5番4 Tel. 078-306-3650 (内線: 2822) Fax. 078-306-0391		

9月13日当財団病院で実施した加齢黄斑変性治療用iPS細胞由来RPE細胞、およびその親株のiPS細胞等の凍結細胞バイアルを理研から寄託され、ヒト幹細胞アーカイブで保管している。また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、医療機関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】用ホームページ(http://stemcell-archive.fbri.org)を作成

し、幹細胞を用いた臨床研究を実施している医療機関への幹細胞の寄託依頼の手続きを促進する体制を整えた。2014年11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と改訂を行った。理研CDB以外にも山口大学医学部第2内科の自家骨髄培養細胞、国立長寿医療研究センター研究部の歯髄幹細胞の委託に向けた契約が完了し、細胞保管準備を行っている。

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



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。 具体的には：

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する。
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発送する。
3. 依頼者が契約書に捺印後、財団に返送する。

4. 契約締結を確認後、財団側で ID・パスワードを発行する。
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. 細胞を受け取る。
11. 依頼者に細胞保管受領書を送る。

その他、各種規定書・手順書の作成を行った。

1. 作業者の教育等の管理規定
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
 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
 13. 検体保管手順書
 14. 検体保管記録書
 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
 19. ヒト幹細胞アーカイブのHP運用規定
 20. 検体保管容器取扱説明書
- なお、参考までに「20.検体保管容器取扱い説明書」を添付する。

検体保管容器 取扱い説明書



以下手順に従い、検体保管容器に検体を保存してください。

1. 同封しています以下4点をご確認ください。

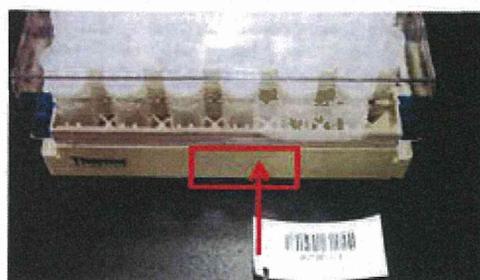
- ① トレイ付き検体保存用バイアル
- ② トレイ ID シール (送付状に添付)
- ③ 作業記録書
- ④ 検体保管容器取扱い説明書 (本紙)



2. 梱包からトレイ付き検体保存用バイアルを取り出します。



3. トレイ ID シールを BOX 前面(赤枠部)に貼ります。



4. トレイの開閉方法

トレイ両側にある青色のロック(赤丸部)を手前に引き、ロックを解除します。



蓋を手前から空けます。赤丸部で止まります。

