

再生医療用iPS細胞セルバンクの GMP製造及び レギュレーション対応



大日本住友製薬株式会社

再生・細胞医薬神戸センター

大 原 英 剛

安 藤 覚

岸 野 晶 祥

GMP Manufacturing of iPS Cells and Cell Bank for Regenerative Medicine

Sumitomo Dainippon Pharma Co., Ltd.

Regenerative & Cellular Medicine Kobe Center

Hidetaka OHARA

Satoshi ANDO

Akiyoshi KISHINO

Induced pluripotent stem cells (iPSC) can differentiate into a large variety of cells in the body. iPSC is expected to be applied in the field of regenerative medicine. Sumitomo Dainippon Pharma Co., Ltd. is now developing some iPSC derived cellular therapeutic products for treatment of nervous system and eye diseases. In this article, we report on the establishment of iPSC using Sendai virus vectors and on the construction of cell banks for clinical use under GMP compliance.

はじめに

人工多能性幹細胞（iPS細胞）は、体内の様々な組織や臓器の細胞に分化することが可能であり、創薬や農薬・化学物質の安全性評価への利用にとどまらず、分化誘導した細胞・組織を患者に投与する再生医療に活用することが期待されている（Fig. 1）。

当社ではセマフォリン阻害剤等を用いた中枢神経系の再生研究に従前より取り組んでおり、また、住友化学株式会社においては安全性評価研究の一環としてES細胞の高度な取り扱いや分化誘導の技術が蓄積されてきた。これらのバックグラウンドを活用し、当社では神経系疾患領域や眼疾患領域を対象とした複数のiPS細胞由来細胞加工製品（再生医療等製品）の開発を進めている。

iPS細胞から分化した細胞・組織を再生医療に用いるにあたり、患者本人の細胞由来のiPS細胞を用いる自家移植と健常ドナーの細胞由来のiPS細胞を用いる他家移植の選択肢があるが、当社は、安定した品質の細胞加工製品を長期的に製造可能な点や製造コスト面を考慮し、他家移植を再生医療ビジネスの最初のアプローチとした。

再生医療目的にて患者に投与する細胞加工製品を製造する際には、GMP（Good Manufacturing Practice）

等の関連するレギュレーションに従う必要があり、原料細胞となるiPS細胞についても同様である。当社は事業規模拡大の観点から日本に加えて米国においても細胞加工製品の開発を目指しており、そのためには日米双方のレギュレーションに適合したiPS細胞が必要となる。今回、日米双方にて臨床用途に使用可能な他家iPS細胞をセンダイウイルスベクター法で樹立し、セルバンク化を完了した。これによって高品質の細胞加工製品を安定的に製造するための原料が確保されたことになる。

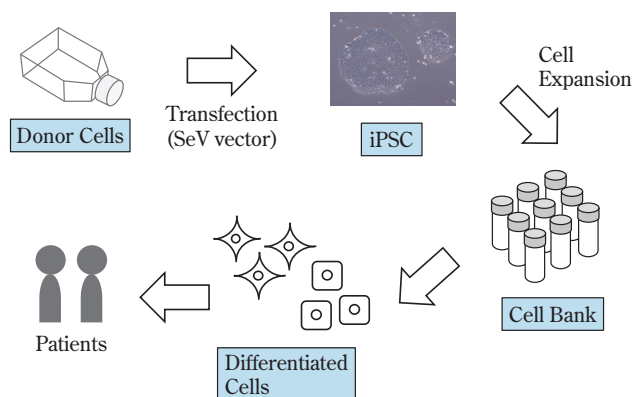


Fig. 1 Clinical application of iPS

ドナー細胞

1. ドナーに対する要件

他家移植として再生医療に用いるiPS細胞を樹立するには、その原料細胞として健常ドナーから採取した細胞が必要となる。

ドナーに対して要求される条件は、日米双方にてレギュレーションに規定がある。すなわち、日本では「生物由来原料基準（平成26年9月26日制定、厚生労働省告示第375号）」や「ヒト（同種）iPS（様）細胞加工医薬品等の品質及び安全性の確保について（平成24年9月7日薬食発0907第5号）」等に、米国では「Code of Federal Regulations Title 21 Part 1271 Subpart C」等にドナー候補者に対して確認すべき事項（健康状態や病歴等）が規定されている。これらの規定に加え、当社独自の条件として、年齢や性別、開発対象疾患に関する病歴（血縁者も含む）等を追加し、ドナーに対して要求するクライテリアを設定した。

iPS細胞の原料細胞として当社ではドナーより採取した血液から分離して得られるPBMC（末梢血単核球）を用いた。血液からPBMCを分離する工程は、細胞加工製品の原料となるものであることからGMP又はそれに準じた管理下で実施する必要があると考えられたが、日本国内では実施可能な受託施設が見つからず、また、米国レギュレーションに適合したドナー候補者のリクルートも困難であった。そこで、当社にて検討した方針や実施計画に基づき、ドナー選定からPBMCの分離までの実際の作業を米国の大手製造受託会社に委託した。

ドナー候補者のリクルートに先立ち、本案件が倫理上の観点より妥当であるとの承認を当社及び受託会社側の双方の倫理審査委員会にて受けた。ドナー候補者からはインフォームドコンセントとして、自由意志による同意を文書にて得た。個人情報保護の観点より、受託会社において匿名化された状態のPBMCを受領し、当社にてiPS細胞を樹立した。

2. ドナーに対するウイルス検査

細胞加工製品は細胞そのものを人体に投与するため、その細胞がウイルスに感染している場合は重篤な健康被害の原因となる可能性がある。ドナーが過去に持続感染性のウイルスに感染した経歴を有する場合、現在の健康状態が良好であっても細胞がウイルスに感染しているリスクがあり、更に、細胞に対してウイルスろ過やガンマ線照射等のウイルス除去作業を実施することも困難である。従って、ドナー候補者が持続感染性ウイルスに感染していないかどうかを確認することが重要であり、日米双方のレギュレーションの要求事項でもある。

ドナー候補者に対して実施すべきウイルス検査については、検査が必要なウイルスの種類や検査方法がレギュレーションに規定されている。HIV（ヒト免疫不全ウイルス）や肝炎ウイルスのように重篤な疾病の要因となり、かつ、分布地域が全世界的であるウイルスは日米双方において検査が要求される。一方で分布地域が限定的なウイルス、例えばウエストナイルウイルスについては、米国では多くの地域に分布していることからレギュレーションに検査の必要性が規定されているが、日本では現在のところ国内感染報告はなくドナー候補者の海外渡航歴等を参考に実施の要否を判断すればよい。このように双方のレギュレーションの要求事項が完全には一致していない部分はあるが、当社が樹立するiPS細胞は日米双方にて使用することを想定しているため、片方のレギュレーションのみに規定されているウイルスについても全て検査対象に含めた。

さらに、ウイルスに感染した直後には、体内でウイルスが十分には増殖していないため、検査結果が陰性となるケースを考慮し、ドナー候補者に対するウイルス検査は2回実施することが必要と判断した。具体的には、1回目の検査はPBMC分離用の採血前に実施し、一定の期間（ウインドウピリオド）を空けた後に2回目の検査を実施した。ウインドウピリオドの期間については、ウイルスの感染後の体内動態や免疫応答を考慮し、「輸血用血液等の選別と調査に関するガイドライン（日本赤十字社 血液事業本部）」も参考にウイルスを検出可能となる期間を設定した。ウインドウピリオド前後のいずれの検査においてもクライテリアを満たしたドナー由来のPBMCをiPS細胞の樹立に使用した。

原材料

1. センダイウイルスベクター

ドナーから採取した細胞を用いてiPS細胞を樹立する際には、適切な方法により細胞を発生初期の段階に戻すための遺伝子（初期化遺伝子）を細胞内に導入する必要がある。遺伝子導入の方法は種々の方法があるが、導入遺伝子やベクターがゲノムに挿入されてしまうと発がんリスクが高くなる恐れがあることから、医療用として使用する観点からはそのようなゲノム挿入が発生しないことが重要である。また、安全性の観点から遺伝子導入に使用した試薬や導入された遺伝子が製品に残存しないことが望ましい。今回、当社ではこれらの条件に合致する方法として、センダイウイルスベクターによる遺伝子導入法を採用した。

当社は2014年9月にセンダイウイルスベクターを用

いた初期化法によりヒト再生医療用途の臨床用iPS細胞を作製する技術に関する特許実施許諾契約を株式会社IDファーマと締結しており、同社の開発した「CytoTune®-iPS 2.0LG」(SeVベクター)¹⁾をiPS細胞の樹立に使用した。本キットには、**Fig. 2** (株式会社IDファーマの許諾を受けて掲載) に示す3種のベクターが含まれている。SeVベクターは当時、研究グレード品のみが市販されていた状況であったため、市販前の臨床グレード品の提供を受けて使用した。

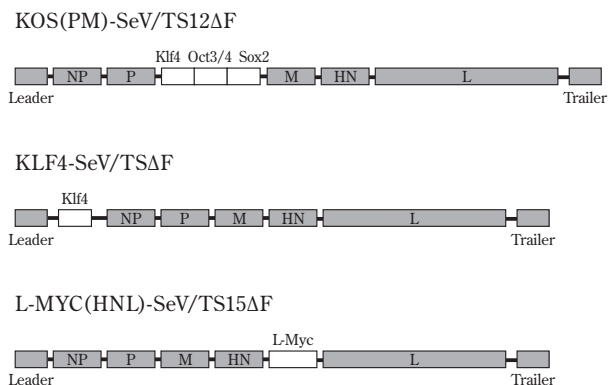


Fig. 2 Structure of SeV vector

SeVベクターはRNAウイルスベクターであり、細胞質にて複製、転写、翻訳が行われる。導入遺伝子が細胞内にDNAの状態で存在することはなく、宿主のDNA配列の中に組み込まれることが原理上ないことから、宿主ゲノムの変異リスクが低いベクターであり、遺伝子治療への利用も検討されている。

更に、このSeVベクターは、感染に必要なFタンパク質をコードする遺伝子を欠失(ΔF)させることにより、感染した細胞から感染性ウイルス粒子が産生されない非伝播性ベクターである²⁾。また、ゲノムRNAの複製に必要なポリメラーゼ関連遺伝子に温度感受性変異が導入されており、特定の条件(温度)で培養することにより細胞に導入されたゲノムRNAの複製が抑制されるため、培養条件を調整することにより細胞内の残存を減らすことが可能である³⁾。

2. 原料

細胞加工製品は、従来の医薬品と比較し多種類の原料(培地、培地に添加する因子、凍結保存用溶液等)を用いて製造される。細胞加工製品は体内に直接投与されるものであることから、製品は無菌である必要がある。一般的な医薬品の製造工程では無菌化のために無菌ろ過又はオートクレーブといった手法が用いられるが、細胞加工製品にこれらを適応す

ることは困難である。従って、仮に原料が菌で汚染されていた場合には、製造中に菌を除去することが現実的に不可能であり、無菌である原料を使用することが無菌保証の観点から極めて重要である。これに加え、動物に由来する原料については、マイコプラズマやウイルスによる汚染リスクが高いため、試験にてこれらによる汚染がないことを確認する必要がある。これらの原料の汚染に関しては、日米双方のレギュレーションにも必要な試験等が定められている。

そこで、今回の製造には、原料細胞(PBMC)やSeVベクターを含め、全て無菌性が事前に確認された原料を使用した。更に、生物由来の原料については、マイコプラズマやウイルス否定試験の実施に加え、牛海綿状脳症(BSE)や伝染性海綿状脳症(TSE)の観点にて対応すべき内容、例えば反芻動物において高リスク部位である脊髄等に由来する原料は使用できないといった規定が「生物由来原料基準」に定められており、これに適合するものを使用した。

また、GMP製造においては、原料メーカーの製造環境や管理体制、品質試験の実施状況等に問題がないことを確認することも重要であり、監査等により原料メーカーの評価を実施した。評価結果やメーカーが実施している出荷試験の内容等により各原料のリスク度合いを評価し、リスクが高い可能性がある原料については、必要に応じて自社にて試験を追加実施してリスクが低いことを確認した。

3. 資材

細胞加工製品の製造に使用するフラスコやピペット等の資材についても、細胞等が直接接触するものであることから、原料と同様に適切な品質管理が必要となる。無菌であることは資材においても重要な品質特性であり、今回の製造で使用した全ての資材について、ガンマ線照射等により適切なレベルの滅菌処理が実施されていることを確認した。また、原料と同様、牛海綿状脳症(BSE)や伝染性海綿状脳症(TSE)に関連するリスクが低いことを確認した。

今回の製造においては全てプラスチック製のディスプレイザブル資材を使用した。プラスチックに含まれる可塑剤やその他の成分が細胞に影響を及ぼす可能性があることから、USP Class VIや日本薬局方プラスチック製医薬品用容器試験等に従い、容器からの溶出成分が細胞毒性を示さないことが確認されたものを使用した。

また、異物が細胞に混入してしまうと、異物が体内に移行するリスクに繋がることから、重要な資材については異物が認められないことを目視で全数確認した上で製造に使用した。

製造

1. GMP管理

iPS細胞及びそのセルバンクは、当社の再生・細胞医薬神戸センターの細胞加工施設（CPC：Cell Processing Center）にて作製した。セルバンクは臨床用途で使用するものであることから、製品の有効性及び安全性を保証するため、医薬品等の製造及び品質管理に関するレギュレーションであるGMPの管理下にて製造した。国内のGMP要件のみならず、米国でのGMP規制であるcGMP（Code of Federal Regulations Title 21 Part 210-211）にも準拠した体制及び設備を構築した。

細胞加工製品に対してGMPをどのように適応するかについては、先進的な分野であることから細部のレギュレーションが充足しておらず、社内での経験も蓄積されていない状況であった。そこで、独立行政法人医薬品医療機器総合機構（PMDA）との当局相談も活用し、必要な対応を判断した。更に、日米で規制要件に差があることから、当社米国子会社（Sunovion Pharmaceuticals Inc.）にも参画を依頼し、海外コンサルタントの見解も参考にした。

施設の管理においては、細胞加工製品の微生物学的汚染を防ぐため、製造環境を清浄に保つことが重要なポイントである。CPC内の清浄度は日本薬局方参考情報の無菌医薬品製造区域の環境モニタリング法や米国レギュレーション（cGMP等）に従い管理した。細胞はグレードA（ISO14644-1 Class5に相当）にて管理された安全キャビネット内にて取り扱い、安全キャビネットが設置された作業室の環境はグレードB（ISO14644-1 Class6に相当）にて管理した。

2. セルバンク

細胞加工製品の製造においては、細胞自体の均一性、恒常性を維持することが難しいことから、一定の品質の製品を得るためには製造方法や原料のコントロールが重要である。特に原料となる細胞は製品の品質に及ぼす影響度が大きく、原料細胞を大量にストックすることで同一の原料細胞から安定した品質の製品を長年に渡って繰り返し製造することが可能となる。この細胞ストックは「セルバンク」と呼ばれ、従来のバイオ医薬品製造においても一般的に使用されるシステムである。種細胞（シードストック）よりマスターセルバンク（MCB）が作製され、更にMCBを原料としてワーキングセルバンク（WCB）が作製され、WCBを製品の製造に使用する2段階のセルバンクシステムが多くのケースで採用される。

当社で開発中の細胞加工製品は他家製品であり、iPS細胞を分化させて複数品目の細胞加工製品を製造することを想定している。そこで、PBMCを原料としてSeV

ベクターを用いてiPS細胞を樹立した後、iPS細胞を拡大培養してMCB、WCBを作製することにした。開発中の細胞加工製品の製造スケールや市場規模等を考慮すると、MCB、WCBはそれぞれ数百本レベルで必要と考えられ、更に、10年単位のレベルで保管することを考慮すると凍結細胞であることが必須なことから、これらに合致するセルバンク製造方法（Fig. 3）を検討、構築した。

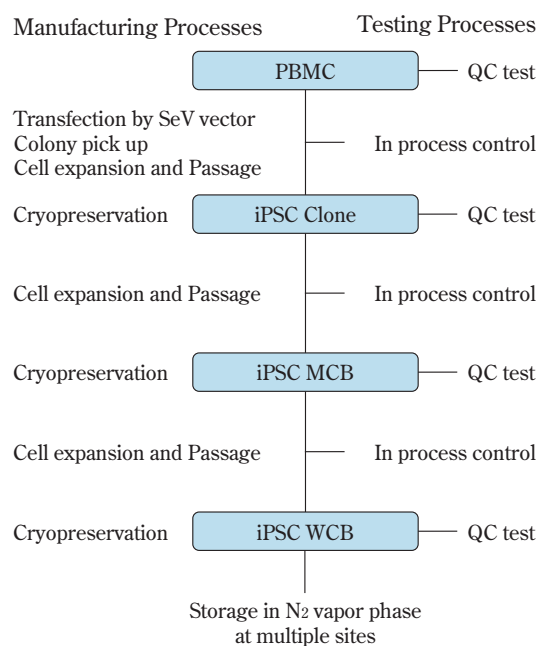


Fig. 3 Manufacturing process of iPS cell bank

3. 製造方法の検討

(1) iPS細胞樹立

SeVベクターを用いてPBMCに初期化遺伝子を導入し、iPS細胞を樹立する工程については、SeVベクター開発元のプロトコルをベースにしたが、以下に述べるような種々の検討を経て当社独自の樹立方法を構築した。

iPS細胞の樹立に使用したSeVベクターである「CytoTune®-iPS 2.0LG」には上述の通り3種のベクターが含まれている。各ベクターの使用濃度については、遺伝子導入の対象となる細胞の種類やその他の条件に応じて最適な濃度が存在するため、複数の濃度でPBMCよりiPS細胞を実際に樹立し、樹立効率や導入遺伝子の残存等を比較した。また、導入遺伝子の細胞内残存についても培養温度に依存して変動するため、培養温度の最適化検討を実施したところ、極めてわずかな温度の違いで残存レベルが大きく変化し得ることを示唆する結果が得られた。そこで、実際のiPS細胞の樹立においてはキャリプレートされた温度計を用い、インキュベータ内の温度を通常の培養と比較して更に厳密に管理した状態で細胞を培養した。

また、培養容器については、一般の研究ラボでは細胞操作の容易性等を考慮し、蓋を開閉しやすいシャーレやプレートが使用されることが多いが、培養中に汚染因子が細胞に混入するリスクを低減するため、閉鎖系の細胞培養容器が望ましいと考えた。そこで、閉鎖系容器であるフラスコ（ペントフィルター付き）を全製造工程にて使用する製造方法を確立した。フラスコを使用した場合、一部の製造工程では通常の培養用器具では操作が困難であったことから、フラスコに適した形状の器具を使用することで操作性を確保した。

このようにして確立された樹立方法により、複数のドナーから採取したPBMCを用いて実際にiPS細胞を樹立したところ、いずれのドナー由来細胞からもiPS細胞を安定して樹立することが可能であった。従って、頑健性の高いiPS細胞の樹立方法を確立できたものと考えられた。

(2) セルバンクの製造

樹立したiPS細胞を拡大培養し、凍結保存する方法については、京都大学iPS細胞研究所（CiRA）が公開しているプロトコルをベースに、商用製造の原料とする当社のニーズに合わせた製造方法を構築した。

iPS細胞のセルバンクの製造スケールは一般的には数十本レベルであるが、当社での必要本数を考慮した場合の製造スケールはその10倍以上となるため、スケールアップが重要な検討課題であった。凍結保存の工程においては、iPS細胞を凍結保存用溶液に懸濁させた後に容器に分注して凍結するが、その間、細胞が凍結保存用溶液に暴露された状態となるため、細胞凍結用溶液の成分が細胞の品質に与える影響をできるだけ少なくするために可能な限り短時間で作業を実施する必要があった。大量本数のセルバンクを作製する場合、1名で凍結作業を実施していたのでは相当の時間が必要であったことから、複数名で並行作業する製法を確立した。各作業者が操作した細胞の品質が同等であることは後述のバリフィケーションにて検証した。

4. 製造方法のバリデーション・バリフィケーション

医薬品の製造におけるバリデーションとは、設計した製造方法に従って製造した製品が期待される品質を有することを検証（事前検証）することであり、レギュレーションにも規定された考え方である。

細胞加工製品においては無菌性が重要な品質特性であることから、無菌的な製造が実施可能であることの検証を重点的に実施した。細胞や試薬の代わりに混入した菌を検出するための専用培地を使用して製造工程を模倣的に実施（シミュレート）し、操作後の培地に菌が混入していないことを確認することで、実際の製造工程でも菌が混入しないことを検証した。この検証

方法はプロセスシミュレーションテスト（PST）と呼ばれ、医薬品の無菌製造プロセスの保証に一般的に使用されるものである。一般的な無菌医薬品では、充填時に無菌ろ過が実施可能であることからPSTの対象工程は一部の工程のみであるか、または、最終製品を滅菌できる場合はPSTを実施する必要はない。しかしながら、今回の製造においては、無菌ろ過や最終製品の滅菌が実施できないため、PBMCを起眠してiPS細胞を樹立し、WCBを凍結保存するまでの数ヵ月に渡る全ての無菌操作工程をPSTにて保証する必要があった。PSTは3回繰り返し実施し、いずれにおいても菌の混入が認められなかったことを確認した上でGMP製造を実施した。

また、バリフィケーションとは、設計した製造方法に従って製造した製品が期待される品質を有していることを実際に製造した製品を用いて検証（事後検証）することであり、細胞加工製品にて特に着目されている考え方である。今回のセルバンク製造においては、複数の作業員にて同時並行で凍結作業を実施するため、細胞の品質に作業員間で差がないことを検証する必要があった。そこで、バリフィケーションとして各作業員に由来する細胞をサンプリングし、作業員間で品質に差がないことを検証した。

5. GMP製造

製法検討にて条件を定め、バリデーションにて妥当性を確認した製造方法でGMP製造を実施した（製造施設内での作業イメージをFig. 4に示す）。

まず、iPS細胞の樹立は、凍結状態のPBMCを起眠し、一定期間培養した後、上述した方法にてSeVベクターを用いた初期化遺伝子の導入を行った。遺伝子導入後、所定の条件で培養し、複数のiPS細胞のコロニーを得た。コロニーをピックアップすることでiPS細胞をクローン化し、拡大培養したものを凍結保存した。得られたiPS細胞のクローンについて、品質評価や分化能の確認等を行い、これらの結果から細胞加工製品の原料として適したクローンを選別した。

セルバンク化は、選別したクローンを起眠し、拡大培養をした後に凍結保存することによりiPS細胞MCBを製造した。さらにMCB1本を原料とし、同様にiPS細胞WCBを製造した。バンク化にあたっては、iPS細胞は当社での培養条件では増殖速度が比較的早く、細胞密度が品質に大きく影響することから、最適な品質の細胞を得るために継代作業や凍結作業の実施時間を1時間の単位で調整した。PBMCの起眠からWCBの充填までは通算で数ヵ月の期間を要するため、その間、細胞の状態を良好に維持し、無菌製造を継続する必要があったが、品質に影響を及ぼす様な逸脱等の発生もなく製造を完遂した。

このようにして完成したMCB、WCBは液体窒素気相下にて保管した。災害発生時等のリスク分散の観点から、1箇所ですべて保管するのではなく、複数の場所に分散して保管することにした。



Fig. 4 Manufacturing operation in CPC

品質管理

1. 品質管理項目

医薬品における品質管理は、医薬品が意図した有効性と安全性を有することを確認するために実施されるものである。品質管理が適切に実施されていることは、医薬品が医薬品であるための大前提となる。

また、細胞加工製品の品質管理試験には、従来の医薬品の試験で汎用されていた分析手法のみでなく、例えばフローサイトメトリーのように医薬品分析ではあまり使用されてこなかった手法も用いる必要がある。このような新規の手法をGMP管理下で使用するための手順や管理方法の開発にも取り組んだ。

今回作製したセルバンクについて設定した管理項目及び管理値を**Table 1**に示す。これらの設定においてはセルバンクの品質規格に関する国際調和されたガイドラインである「生物薬品（バイオテクノロジー応用医薬品／生物起源由来医薬品）製造用細胞基剤の由来、調製及び特性解析（ICHガイドラインQ5D、平成12年7月14日、医薬審第873号）」やInternational Stem Cell Banking Initiative（ISCBI）の文献⁴⁾を参考とした。一部の項目については、PMDAとの当局相談で妥当性を確認した。

具体的には、細胞がiPS細胞であることを確認するため、細胞形態の確認に加え、ヒトiPS細胞に特有の細胞表面マーカーをフローサイトメトリーで確認した。また、SeVベクターの残存及び微生物学的な汚染の有無を後述の通り確認した。更に染色体異常の有無を確認するための核型解析や別ドナーの細胞の混入がないことを保証するためのSTR（Short Tandem Repeat）解析を実施した。製造工程中の各ポイントでサンプリングした検体を評価対象として、無菌性の確認等の工程管理試験を実施した。試験の結果の一例を**Fig. 5**に示す。

試験方法が特異性、精度や感度等の観点で妥当であることを確認するため、必要に応じて分析法バリデーション（試験方法の妥当性の検証）を実施した。実施にあたっては「分析法バリデーションに関するテキスト（実施項目）について（ICHガイドラインQ2A、平成9年10月28日、医薬審第338号）」及び「分析法バリデーションに関するテキスト（実施方法）について（ICHガイドラインQ2B、平成9年10月28日、医薬審第338号）」を参考にした。

Table 1 Specification of iPS cell bank

Test item	Specification
Cell morphology	Human iPSC
Identification (Cell surface marker)	Positive
Purity (Residual RNA from SeV vector)	Negative
Sterility	No growth of microorganism
Endotoxin	< 0.5 EU/mL
Mycoplasma	Negative
Karyotype	Normal
STR	Identical to the cells from donor
Viral tests	Negative

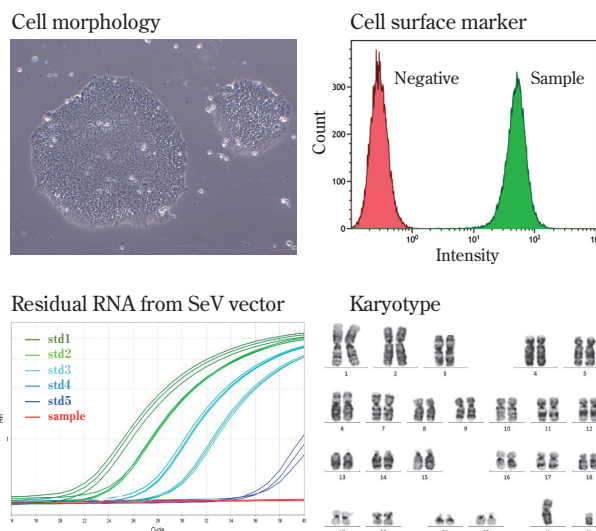


Fig. 5 Testing results (example) of iPS cell bank

2. ベクターの残存評価

iPS細胞の樹立に使用したSeVベクターは、ヒト細胞に初期化遺伝子を導入し得るものであることから、樹立したiPS細胞にベクターが残存すると安全性リスクとなる。従って、ベクターが残存していないことを保証することが重要である。

遺伝子導入工程で添加されたSeVベクターそのもの

の残存リスクについては、ベクターの安定性より説明可能と考えられた。すなわち、iPS細胞培養条件でのSeVベクターの安定性を評価したところ、数日で感染能が検出されないレベルにまで不活性化することが確認された。実際の製造工程は通算で数ヵ月に及ぶものであり、SeVベクターは製造の初期でのみ使用する。更に、製造工程中の培地交換等による希釈も考慮すると、セルバンクにSeVベクターそのものが残存するリスクは理論的に否定できるものと考えられた。

更に、SeVベクターが感染した細胞内に残存しないことについても、SeVベクターは培養温度で消失する温度感受性ベクターであり残存リスクを減らしたデザインになっている。実際に細胞内にSeVベクターが残存しないことを実験データにて示すため、SeVベクターを検出可能であることが検証された細胞アッセイを用い、樹立したiPS細胞に感染性因子は存在しないことを確認した。

また、SeVベクターにて細胞内に導入される遺伝子(RNA)は、本来ヒト体内には存在しないものであることから、安全性の観点より細胞内の残存レベルを管理することも必要となる。細胞内に導入された遺伝子(RNA)の残存レベルを高感度で評価するため、RT-PCR(逆転写ポリメラーゼ連鎖反応)法による限度試験法を開発した。バリデーションした方法により、細胞に残存する遺伝子が検出されない(検出限界未満である)ことを確認した。

3. 微生物学的汚染検査

無菌性をはじめとする微生物学的な汚染がないことは細胞加工製品の重要な品質特性であることから、作製したセルバンクについて、無菌試験、エンドトキシン試験及びマイコプラズマ否定試験を実施した。ウイルス否定に関しては、前述のドナーに対するウイルス検査に加え、セルバンクに対しても網羅的な試験を実施することが「ヒト又は動物細胞株を用いて製造されるバイオテクノロジー応用医薬品のウイルス安全性評価(ICHガイドラインQ5A、平成12年2月22日、医薬審第329号)」に規定されている。同ガイドラインを参照し、PCR法による10種以上の特定ウイルスの評価に加え、動物や指標細胞への感染がないことを確認する非特異的試験を実施した。

4. 分化能

樹立したiPS細胞が分化多能性を有することを示すため、*in vitro*の評価系で三胚葉(内胚葉、中胚葉、外胚葉)に分化することを確認した。更に、今回作製したセルバンクは開発中の各製品の原料細胞として使用予定であることから、目的とする細胞に実際に分化することを確認した(Fig. 6)。

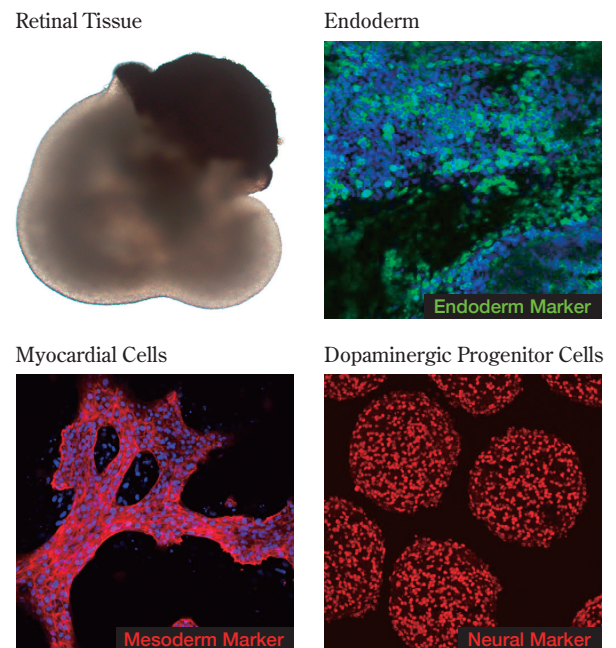


Fig. 6 Pluripotency of iPSC

まとめ

日米双方にて臨床用途に使用可能なiPS細胞及びそのセルバンクをGMP管理下にて作製し、当社が目指す日米における細胞加工製品の製造販売の原料となるセルバンクが完成した。今回作製したiPS細胞及びそのセルバンクが当社での再生・細胞医薬事業の礎となり、アンメットメディカルニーズに応える革新的な再生医療の提供を通じた社会への貢献に繋がるものと信じている。

引用文献

- 1) 川口 実太郎・弘中 孝史, 細胞, **48**(2), 30 (2016).
- 2) Hai-Ou Li *et al.*, *J. Virol.*, **74**, 6564 (2000).
- 3) M. Inoue *et al.*, *J. Virol.*, **77**, 3238 (2003).
- 4) P. W. Andrews *et al.*, *Regen. Med.*, **10**(2)s, 1 (2015).

PROFILE



大原 英剛
Hidetaka OHARA

大日本住友製薬株式会社
再生・細胞医薬神戸センター
主任研究員



岸野 晶祥
Akiyoshi KISHINO

大日本住友製薬株式会社
再生・細胞医薬神戸センター長
理学博士



安藤 覚
Satoshi ANDO

大日本住友製薬株式会社
再生・細胞医薬神戸センター
グループマネージャー
理学博士