

# 細胞医薬品の安全性を支える核型解析 ～chromocenterの独自技術とノウハウをそのままに～

クロモセンター 田地野 浩司・山内 清司・尾家 彩加

## 1 はじめに

再生医療等製品には、ヒトまたは動物の細胞に培養等の加工を施した細胞加工製品と *in vivo* 遺伝子治療用製品があります。本稿では、前者のヒト細胞加工製品（以下、「細胞医薬品」とします）の安全性評価のための重要な試験の一つ、核型解析について紹介します。

クロモセンターは核型解析のトップランナーであった(株) chromocenter の染色体解析部門を当社が事業承継し本年誕生しました。

細胞医薬品のその他の品質・安全性評価試験<sup>\*1</sup>の詳細および核型解析<sup>\*2</sup>については、当社ホームページをご参照ください。

## 2 核型解析の重要性

ヒト多能性幹細胞は拡大培養や分化誘導で核型異常を生じる可能性があり、実際にヒト多能性幹細胞 839 株のうち 2 割が核型異常により不適格であったとの報告があります<sup>1)</sup>。核型異常は造腫瘍性（がん化の可能性）に関連があることから、規制当局は製造販売承認申請を審査する際、対象が核型異常を生じていないことを確認するよう求めています<sup>2)</sup>。

核型異常の有無を評価する方法として、細胞ごとに染色体の状態（形・数）を明らかにする核型解析があります。核型解析は「各細胞の全ゲノム情報である核型を概観できる点」と「正常核型という人類に普遍的な基準がある点」で優れており、これらの特長はヒト多能性幹細胞などを原材料とする細胞医薬品の遺伝的安定性や安全性を議論する上で重要です。

## 3 核型解析の流れ

核型解析の流れは図1の通りです。まず、お客様から輸送いただいた細胞を培養し、その後、染色体が出現する分裂中期で細胞の活動を停止させます（固定）。固定した細胞をスライドガラス上に滴下してスライド標本を作製します。このスライド標本を染色し、専用の顕微鏡で撮影して画像を解析します。

代表的な核型解析の手法と特長を表1に示します。最も一般的な解析法は、トリプシン処理後にギムザ染色を行うことで染色体を縞（バンド）状に染色する G-band 解析です。そのバンドパターンから個々の染色体を同定し、異常の有無を解析します。G-band 解析は申請用のデータ取得によく使用されます。ほぼ同様の情報が得られる解析として、ヘキストやキナクリン

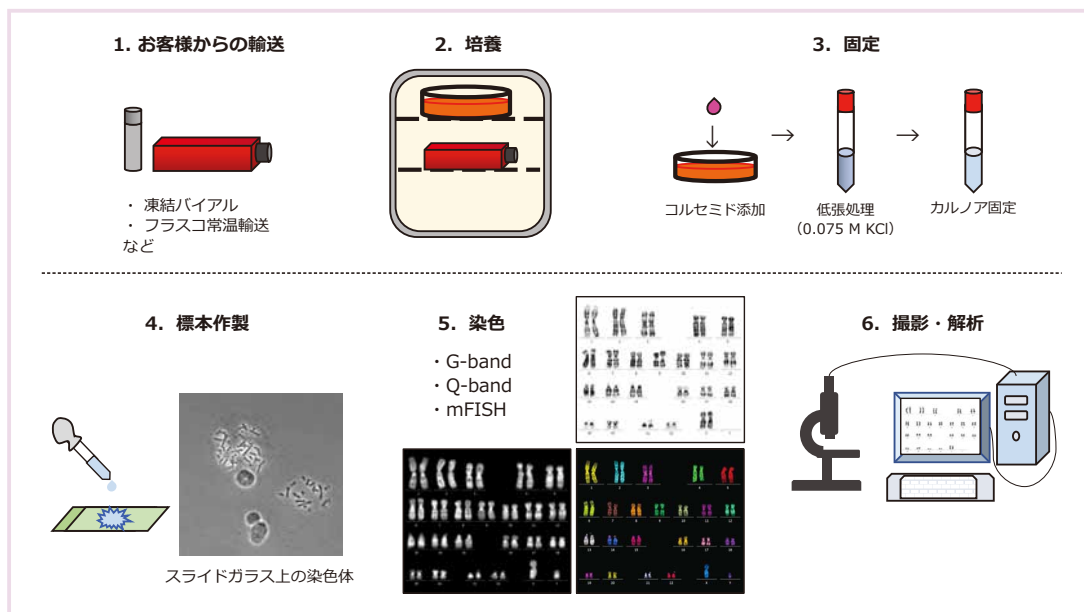
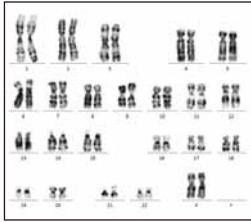
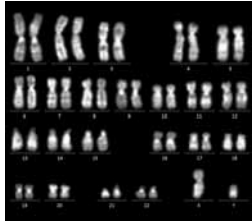
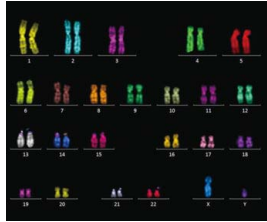


図1 核型解析の流れ

\*1) 再生医療等製品・細胞医薬品の品質評価  
<https://www.scas.co.jp/services/lifescience/pharmaceuticals/regenerative/regenerative.html>

\*2) 核型解析  
<https://www.scas.co.jp/services/lifescience/pharmaceuticals/chromosome/karyotype.html>

表1 代表的な核型解析技術のまとめ

	G-band	Q-band	マルチカラー FISH (mFISH)
染色方法	トリブシン処理とギムザ染色	ヘキストやキナクリンマスタードで染色	各染色体をそれぞれに特異的な5種類の蛍光標識で染色し、蛍光の組み合わせに応じて疑似カラーで色付け
解析方法	バンドパターン	バンドパターン	各染色体に対応した疑似カラー
分解能	> 5 Mb (Q-band より鮮明)	> 5 Mb	> 1.5 Mb
特長	<ul style="list-style-type: none"> <li>最も一般的な手法</li> <li>バンドパターンが明瞭</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>細胞の残渣に影響を受けにくい</li> <li>染色が安定している</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>微細領域の転座などについても判定可能</li> </ul>
解析画像例	<p>G-band カリオグラム</p> 	<p>Q-band カリオグラム</p> 	<p>mFISH カリオグラム</p> 

マスタードなどの蛍光色素で染色する Q-band 解析があります。Q-band 解析は、染色が細胞の残渣の影響を受けにくいいため、研究目的でよく用いられます。また、疑似カラーで微細領域の転座などの由来を明らかにする、マルチカラー FISH (mFISH) 解析が用いられることもあります。mFISH は申請用と研究用の両方の目的で使用されます。

#### 4 細胞医薬品の核型解析の特殊性

細胞医薬品の核型解析は、二つの理由により誰もが容易にできるものではありません。一つ目の理由は、核型解析は約 50 年前からある技術にもかかわらず、習熟に時間がかかることです。染色体のバンドパターンから個々の染色体を同定し、染色体異常の有無を見分け、さらにその異常を国際規約 ISCN 2020 (International System for Human Cytogenomic Nomenclature<sup>3)</sup>) に基づいて適切に記述する、これらの専門的能力を習得するには多くの時間と経験を要します。

二つ目の理由は、細胞医薬品では細胞の性質が核型解析の結果に影響を及ぼす事例が多いことです。例えば、核型解析では染色体を明瞭に染色できるかどうか解析の質に大きく影響しますが、脂肪組織由来の細胞の解析では、残っている脂肪滴が染色を阻害することがあります。また、通常、解析には十分量の分裂期の細胞が必要ですが、細胞が殆ど分裂していない分化誘導後の細胞が解析対象となることもあります。

(株) chromocenter では、上記のような解析が非常に困難な場合においても、豊富な経験から解決法を提案し、申請資料として使用できる質の高い結果をお客様に提供してまいりました。その評価レベルは製造販売承認申請でも受け入れられており、細胞医薬品の出荷試験も受託しています。これらは他社では真似できない独自の技術とノウハウです。

現在、核型解析の解析細胞数などは各社で統一されて

おりません。当社は細胞の特性に応じてケース・バイ・ケースの対応を行うだけでなく、これまでの経験を活かして、国際規格などの標準化に携わることで、より安全な細胞医薬品の開発に貢献いたします。

#### 5 おわりに

今後は(株) chromocenter で培ってきた高度な解析技術はそのままに、住化分析センターの幅広い分析技術と規制対応力とを融合させ、細胞医薬品の評価技術をさらに深化させてまいります。より高品質で安全な細胞医薬品の開発においてお客様を支援できるよう、さらなる技術開発に努めます。

#### 文献

- 1) D. Felkner, J. Brehm, E. McIntire, S. Minter, A. Paguirigan, K. Remondini, S. Taapken, T.E. Ludwig: "Human pluripotent stem cell quality: A scientific wake-up call," poster presentation at ISSCR 2019 Annual Meeting. (2019).
- 2) 厚生労働省: 医政研発0309 第1号, "「特定認定再生医療等委員会におけるヒト多能性幹細胞を用いる再生医療等提供計画の造腫瘍性評価の審査のポイント」の改訂について" (令和3年3月9日).
- 3) J. McGowan-Jordan, R. J. Hastings, S. Moore: "ISCN 2020: An International System for Human Cytogenomic Nomenclature 2020", (2020), (Karger).



田地野 浩司  
(たじの こうじ)  
クロモセンター



山内 清司  
(やまうち せいじ)  
クロモセンター



尾家 彩加  
(おいえ あやか)  
クロモセンター