

株式会社chromocenter

事業実施期間：開始 平成30年4月1日～終了 令和2年3月31日

共同研究・共同事業者

株式会社ファイセル

研究・事業名

再生医療等製品用の臨床検体への染色体検査

交付申請内容

研究・事業の目的及び意義

臨床検体の取り扱いに長年の実績とノウハウを有する株式会社ファイセル（以下、ファイセル）と、再生医療で用いるiPS細胞などの幹細胞（研究用細胞および細胞製品等）について安全性試験としての染色体検査に長年の実績とノウハウを有する株式会社chromocenter（以下、chromocenter）が本事業を立ち上げるにより、臨床検体からiPS細胞までの作製工程を一貫して染色体検査が実施できる新たなビジネスモデルを構築する。

再生医療で用いるiPS細胞などの幹細胞（研究用細胞および細胞製品等）を対象にした安全性試験についてchromocenterは染色体解析に特化して受託サービスを提供している【補足図表1 及び2】。

iPS細胞等は、全身の様々な細胞に分化する能力と、ほぼ無限に増殖する能力を持っている。それらの細胞は体外培養や遺伝子操作を施すことで、突然変異による癌化の可能性等を有するため、安全面での十分な配慮が必要と考えられている。現状では、iPS細胞等の品質及び安全性基準は確立されていないものの、厚生労働省が定めた「ヒトiPS細胞加工医薬品等の品質及び安全性確保に関する指針」に基づいて各種研究開発が進められており、当社の提供する染色体解析（核型解析）技術による評価も多面的・複合的な評価項目の一つとして指針に記載されている。染色体解析は、細胞の未分化検出やゲノムの配列異常検査では判明しない染色体の構造異常を検出できるため、品質及び安全性評価項目としては不可欠なものとなっている。

chromocenterでは細胞から染色体標本（スライドグラス）

を作製した後、顕微鏡とカールツァイスIsis解析端末を利用して画像を撮影しコンピュータに取り込む【補足図表3の上の画像】。

正常なヒトiPS細胞の場合、染色体を46本（常染色体1～22番が2本ずつ、性染色体XXかXY）持つ。個々の染色体は特有の縞模様（バンドパターン）と大きさが異なるので、この2つの特徴を目視で判断しながら【補足図表3の下画像】の様に1番染色体から22番染色体、そして性染色体へと順番に整列させる作業をコンピュータ画面上で行う。この作業を行うことで染色体の一部が欠失、染色体の一部が上下逆、染色体間に入れ替わり（転座）などの構造異常や染色体本数の増減の解析しやすくなることができる。

以上の作業を実施するには長年の染色体解析に携わってきた経験と知識が必要である【補足図表3】。

chromocenterの染色体解析への顧客は再生医療やバイオ医薬品の研究開発に携わる日本国内のほぼ全ての製薬企業と大学や研究機関である。特に再生医療で用いるiPS細胞などの幹細胞を対象にした安全性試験は京大の山中教授がiPS細胞を世界で最初に発表された頃から取り組んでいることもこのような状況を生み出した理由の一つと考えている。

これらの受託サービスの利用は、顧客側で開発した細胞の特性解析の他に、PMDA（医薬品医療機器の審査業務を行う独立行政法人医薬品医療機器総合機構）やFDA（アメリカ食品医薬品局）などへの当局申請をして認可を得ることが目的となるケースが増加しており、chromocenterでは当局申請で求められる再生医療等製品の安全性に関する非臨床試験の実施基準であるGLP基準に準拠した信頼性保証体制で対応している。

このような染色体解析に特化し、信頼性保証体制で受託サービスを提供している企業は国内ではchromocenterが唯

一である。以上の事業を現在は国内のみならず海外へも規模を拡大している。

現在、chromocenterではiPS細胞などの幹細胞（研究用細胞および細胞製品等）を作製するための原材料となる臨床検体の受け入れに対応していない。その理由として臨床検体の輸送から施設への受け入れと、さらに臨床検体の取り扱い等に関するノウハウやレギュレーションに則した体制が整っていないからである。臨床検体は主に血液、胎盤、腫瘍などであり、人体から得られる為に倫理面や個人情報の保護に関する法的な規制の他に、取り扱い作業へのウイルスや細菌等の感染事故防止の策を講じて取り扱う必要がある。

もしiPS細胞の原材料となる臨床検体の時点で染色体解析が実施されれば、無駄なく効率的にiPS細胞などの幹細胞（研究用細胞および細胞製品等）が作製可能となる。例えば、臨床検体の状態で染色体検査を実施して、染色体異常が発見されれば、その臨床検体からのiPS細胞作製は不適であるとの判断が可能である。また仮に染色体異常が発見された臨床検体であっても、染色体異常が原因で疾患に関与することが明確な場合には、疾患モデル研究用のiPS細胞をその臨床検体からは作成が可能であるとの判断もできる。他にも細胞の安定性試験として、原材料の臨床検体、それから作製したiPS細胞のセルバンク、さらにそのセルバンクから拡大培養した治療用のiPS細胞の各々の時点で染色体検査を実施することで染色体検査の結果が同一であるかの試験も可能になる。以上のような考えからchromocenterには、臨床検体の状態での染色体検査の引き合いは過去に幾度となくあったが、すべて断らざるを得なかった。

そこで臨床検体の取り扱いに長年の実績とノウハウを有するファイセルと共同で本事業を着手することにより、現在よりも幅広く顧客ニーズに対応することで事業を拡大させて、さらには海外からの顧客獲得を目指す考えである。

研究・事業の方法及び手段

病院等で採取された臨床検体について、その輸送から施設への受け入れと、さらに臨床検体の取り扱い等に関するノウハウやレギュレーションに則した体制がファイセルには整っている。そこでファイセルでは臨床検体を自社の研究所まで輸送し、細胞培養、コルセミド処理、低張処理、カルノア固定までの一連の作業を実施する【前項の補足図表2】。カルノア固定まで作業の済んだ臨床検体は作業等へのヒトに感染する恐れのあるウイルスや細菌類は完全に不活性化されている。この状態でファイセルの研究所からchromocenterの研究所へ検体を送り、その後の染色体解析の工程をchromocenterが担当する。

染色体検査のために特化した細胞培養、コルセミド処理、低張処理、カルノア固定までの一連の作業についてはchromocenterが長年の受託事業によって培ったノウハウを有する。そこでこの一連の作業についてはchromocenterがファイセルへノウハウを教授する。また、これらの作業に必要な機器・機材がファイセルには整ってはならず、本補助金を利用して新たに購入する予定である。

臨床検体の輸送から最終的な染色体検査の結果報告までには様々な作業があり、そのすべてを信頼性保証体制で統一する必要がある。その為、両社が保証体制の基準をすり合わせてゆくことも必要となる。

以上のような一貫した体制について、その有利性を前面に出したプロモーションを実施する。具体的には再生医療に関する展示会や学会での展示ブースによるアピールを計画する。

販売体制についてchromocenterは現在、タカラバイオ株式会社（設立：平成14年4月1日、資本金：149億6,582万8,496円、本社：滋賀県草津市野路東七丁目4番38号、従業員数：タカラバイオグループ1,344名）、及び富士フィルム和光純薬工業株式会社（設立：大正11年（1922年）6月、資本金：23億3,956万円、本社：大阪市中央区道修町三丁目1番2号、従業員数：1,549人）の2社と代理店契約を締結している。

以上2社の営業員および販売ネットワークは本事業のターゲットユーザーである国内の製薬企業ならびに大学等の研究機関のほぼ全てをカバーしていると言っても過言ではない。このような販売ネットワークも積極的にプロモーション活動に活用する。

研究・事業の特徴（新規性、独自性 等）

再生医療で用いるiPS細胞などの幹細胞（研究用細胞および細胞製品等）を対象にした安全性試験についてchromocenterは染色体解析に特化して受託サービスを提供している。

顧客は再生医療やバイオ医薬品の研究開発に携わる日本国内のほぼ全ての製薬企業と大学や研究機関である。特に再生医療で用いるiPS細胞などの幹細胞を対象にした安全性試験は京大の山中教授がiPS細胞を世界で最初に発表された頃から取り組んでいることもこのような状況を生み出した理由の一つと考えている。

これらの受託サービスの利用は、顧客側で開発した細胞の特性解析の他に、PMDA（医薬品医療機器の審査業務を行う独立行政法人医薬品医療機器総合機構）やFDA（アメリカ食品医薬品局）などへの当局申請をして認可を得ることが目的となるケースが増加しており、chromocenterでは当局申請で求められる再生医療等製品の安全性に関する非臨床試験の実施基準であるGLP基準に準拠した信頼性保証体制で対応

している。

このような染色体解析に特化し、信頼性保証体制で受託サービスを提供している企業は国内ではchromocenterが唯一である。以上の事業を現在は国内のみならず海外へも規模を拡大している。

一方、ファイセルは、医療・健康などの分野における基礎研究や医薬品・食品等の研究開発支援などを行っている企業で、臨床検体の保管およびそれに付随する業務（匿名化、分注、解析前処理などの業務）、臨床検体の解析業務などをGLP準拠で提供しており、現在GMP準拠での体制も整えている。そして、臨床検体の保管およびそれに付随する業務においては、公益財団法人神戸医療産業都市推進機構との共同事業にて長年蓄積されたノウハウや経験を有し、chromocenter同様に信頼性保証体制も構築し、ISO9001認証も取得している。

臨床検体を取り扱う業務に関しては、下記規制要件やガイドラインを考慮し作成した標準業務手順に沿って現在実施している。

- 医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準に関する省令(GLP)
- 医薬品の臨床試験の実施の基準に関する省令(GCP)
- 医薬品及び医薬部外品の製造管理及び品質管理の基準に関する省令(GMP)
- 医薬品、医療機器等の品質、有効性及び安全性の確保等に関する法律（医薬品医療機器法、旧薬事法）
- 人を対象とする医学系研究に関する倫理指針
- ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針
- 遺伝学的検査受託に関する倫理指針
- 個人情報の保護に関する法律
- 経済産業分野のうち個人遺伝情報を用いた事業分野における個人情報保護ガイドライン
- 医薬品の臨床試験におけるファーマコゲノミクス実施に際し考慮すべき事項
- ゲノム薬理学を適用する臨床研究と検査に関するガイドライン
- 再生医療等の安全性の確保等に関する法律（再生医療新法）
- 再生医療等製品の製造管理及び品質管理の基準に関する省令(GCTP)

また、ファイセルの親会社である株式会社セルート（以下、セルート）は、ライフサイエンス関連の輸送体制や品質体制を強化し、治験薬の輸送をはじめとして、近年は再生医療の発展に貢献すべく、細胞や細胞製品の輸送にも注力している。また、FIRM（一般社団法人再生医療イノベーションフォーラム）においては、再生医療の周辺産業部会内の物流ワーキンググループのリーダーとして輸送・物流の基準作りの活動を行っているとともに、細胞輸送に関する国際標準化活動などを行っている。

ファイセルは、そのセルートと営業協力や技術連携を行いながら、個別化医療や再生医療の促進のために、物流面において研究開発支援を行っている。さらに、ファイセルは遺伝子解析用の実験機器やノウハウや経験を有しているため、chromocenterの提供する染色体解析のオプションサービスとして、将来的に遺伝子レベルの詳細な解析も可能である。

現在、chromocenterではiPS細胞などの幹細胞（研究用細胞および細胞製品等）を作製するための原材料となる臨床検体の受け入れに対応していない。その理由として臨床検体の輸送から施設への受け入れと、さらに臨床検体の取り扱い等に関するノウハウやレギュレーションに則した体制が整っていないからである。

もし原材料となる臨床検体の時点で染色体解析が実施されれば、無駄なく効率的にiPS細胞などの幹細胞（研究用細胞および細胞製品等）が作製可能となる。以上のような考えからchromocenterには、臨床検体の状態での染色体検査の引き合いは過去に幾度となくあったが、すべて断らざるを得なかった。

そこで臨床検体の取り扱いに長年の実績を有し、物流面においても強みを有するファイセルと共同で事業を着手することにより、現在よりも幅広く顧客ニーズに対応することで事業を拡大させ、さらには海外からの顧客獲得を目指す考えである。

研究・事業により期待される効果

iPS細胞等の再生医療用細胞の研究は再生医療の中心的な位置にあり、政府 も多大なバックアップを行っている。また、現在、多くの製薬会社をはじめとする民間企業が再生医療に関する事業に着手・拡大を進めている。現在、一部で実用化に向けた研究が始まった段階であり、安全性評価の需要も、今後さらに研究が進捗し実用化が近づくにつれて、急速かつ確実に拡大すると考えられる。更に、一旦再生医療用の製品としてiPS細胞等が実用化されれば、その製品は臨床段階での染色体解析を含む安全性評価が必須となることから、当社で安定的な受託売上を獲得できると見込まれる。

以上のような背景をもとに、ファイセルとの共同事業については今後の両社の顧客ネットワークが拡大すると見込まれる【補足図表1：染色体事業ビジネス展開】。

iPS細胞等の再生医療用細胞の染色体解析に限定した市場規模を示す統計資料は確認できないが、再生医療周辺市場の将来予想を参考にすると、国内に限っても2050年には2012年の76倍の市場規模が見込まれている【補足図表2：再生医療周辺市場の予測】

また、iPS細胞分野以外にも、細胞を用いたものづくりは様々な分野（医薬品・エネルギー・食糧・・・）への応用が期待されており、その研究で必須となるchromocenterの染色体解析技術は、今後も需要が拡大すると見込まれる。

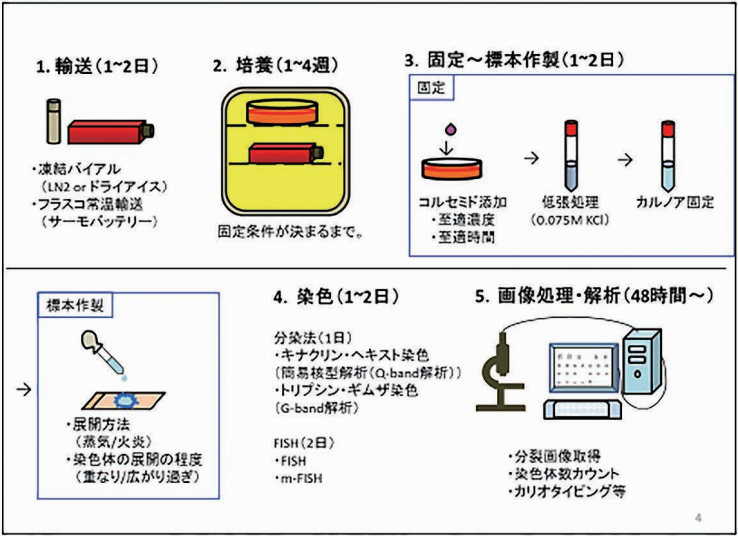
神戸医療産業都市エリア内に進出した企業同士が連携し、業務実施範囲を拡張し事業を拡大していくことは、連携企業のこのエリアへの定着、新たな雇用の創出、近隣ベンダーの活性

化、関連企業の進出などに繋がる。また、再生医療等製品の品質確認のためのゲノム解析がこのエリア内で可能となると、近隣の病院で再生医療を実施する際の利便性が高まる。さらに、再生医療等製品の製造等を実施する企業もこのエリア内に進出するメリットが増え、このエリアの再生医療の中心地としての価値も向上し地域発展に繋がる。

【補足図表 1： iPS 細胞の作製・検査工程】



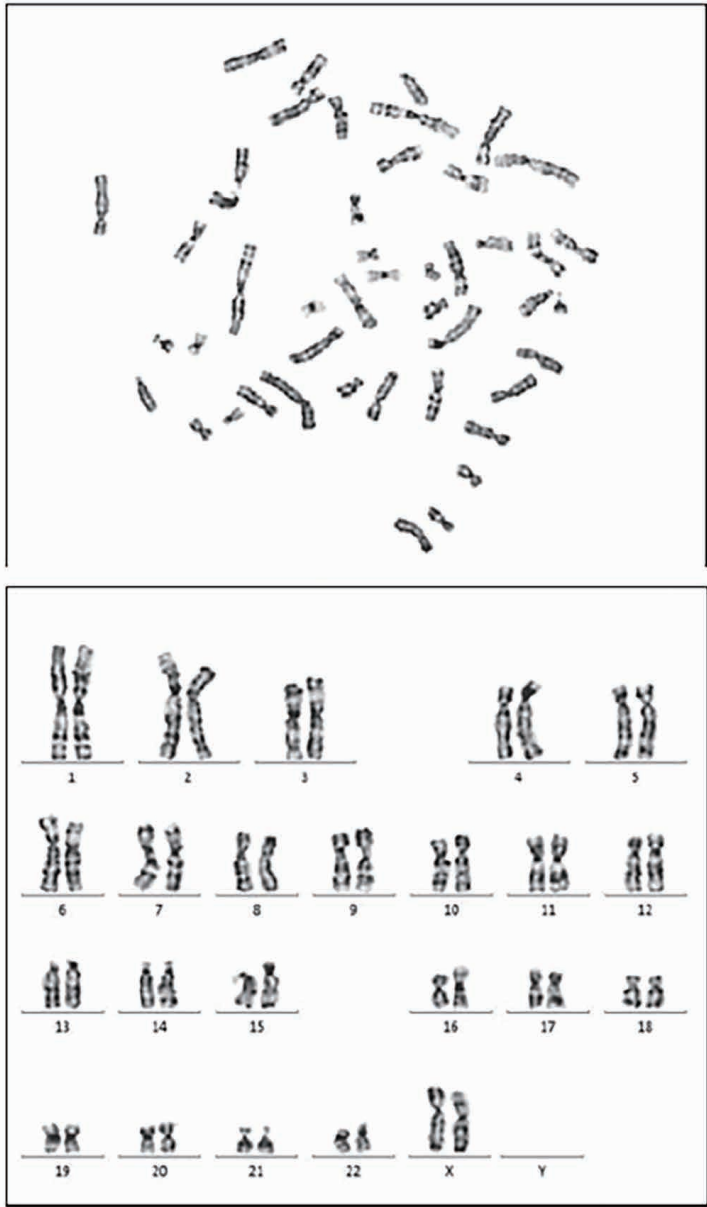
【補足図表 2：染色体解析の流れ】



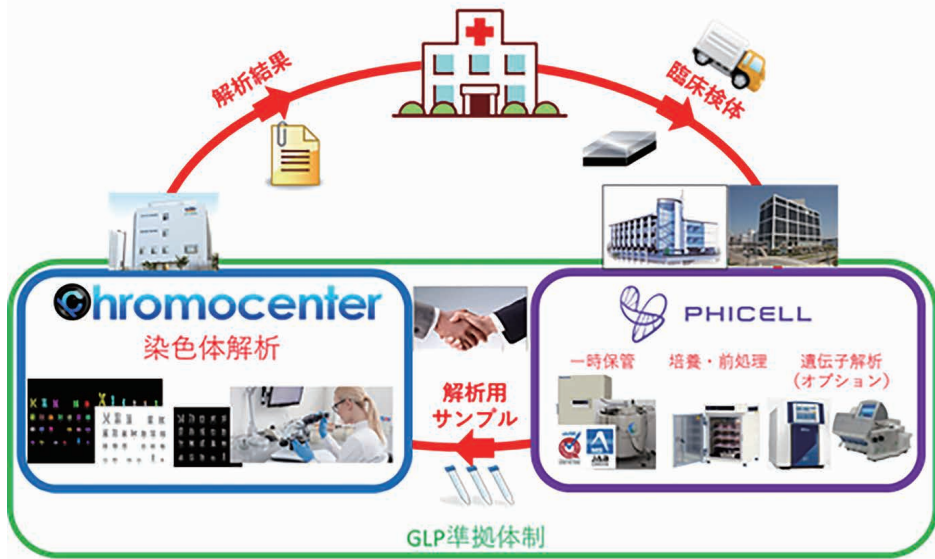
当社で行っている iPS 細胞等の染色体解析の工程は、下記に記載するように複数の技術経験を要するステップからなっている。

- 1) 解析細胞の輸送
細胞の生存率に影響するため、適切な温度管理のもと、顧客より iPS 細胞等の再生医療用細胞を受領する。
- 2) 培養
凍結保存されている場合は、所定の手順で解凍処理を行い、3) のステップで解析に適した固定条件が確定するまで適切に培養を行う。特に iPS 細胞等は、培養が不適切な場合は、分化多能性が失われるため、経験を要する。
- 3) 固定～標本作製
iPS 細胞を含め、一般的に細胞は株ごとに最適な固定条件が異なるため、複数回の条件検討を行い、解析水準に足る染色体固定サンプルを取得する。また、その固定サンプルをスライドガラス上に展開する際も、次の4) の染色のステップに影響を与えるため、経験が必要である。
- 4) 染色
前処理の温度や時間などを含め、様々な条件検討を行い、染色体をバンド状に染色する。
- 5) 画像取得、処理、解析
膨大な数の染色体画像の取得を行う。そのうち、解析に適した 20 細胞（標準）の染色体数をカウントし、8 細胞（標準）について、カリオタイピング（染色体の並べ替え）を行う。染色体数の増減や染色体のバンドパターンから、正常・異常を判定する。このステップが解析工程のうち最も経験と時間を要する部分である。

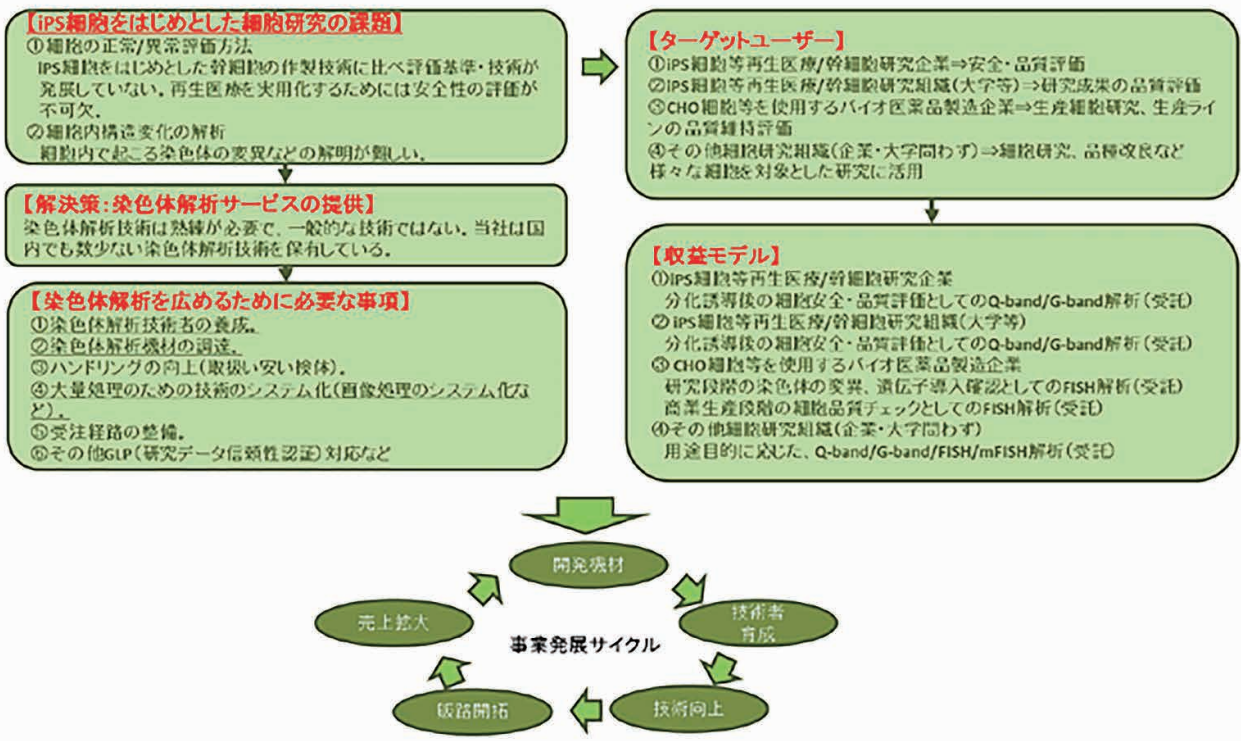
【補足図表3：ヒト iPS 細胞の染色体像】（画像上：整列前、画像下：整列後）



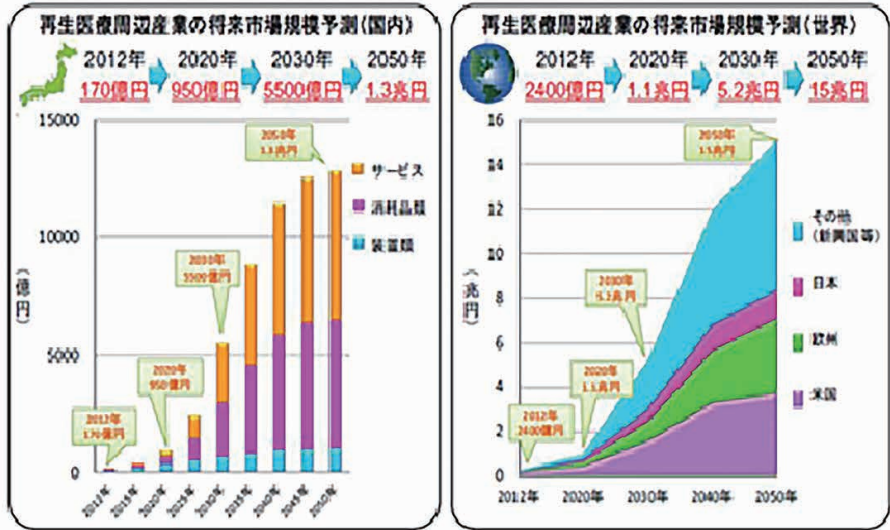
役割分担とフローイメージ



【補足図表1：染色体事業ビジネス展開】



【補足図表2：再生医療周辺市場の予測】



実績報告内容

研究・事業の内容及び目標達成状況

本研究・事業の目的は、臨床検体の取り扱いに長年の実績とノウハウを有するファイセルと、再生医療で用いるiPS細胞などの幹細胞(研究用細胞および細胞製品等)について安全性試験としての染色体検査に長年の実績とノウハウを有するchromocenterが本事業を立ち上げることにより、臨床検体からiPS細胞までの作製工程を一貫して染色体検査が実施できる新たなビジネスモデルを構築することである。この目的の達成のため、申請時に提出した「研究・事業計画書」(下記①～⑤の項目)に則り行った。

- ①設備の立ち上げ(備品購入、機器設置)
- ②カルノア固定作業の習得
- ③カルノア固定用サンプルの輸送とサンプル品質評価、技術検証、社内トレーニング
- ④SOPの作成、改良
- ⑤共同事業のプロモーション

本事業の実績報告として、下記に①～⑤の項目に分け、設備や血液入手体制の確立、カルノア固定作業の習得、臨床検体を用いた染色体検査の実施、これらの成果に基づいた手順書作成やプロモーション活動について報告する。

①設備の立ち上げ(備品購入、機器設置)

染色体検査の前処理部分を実施する上で根幹となる技術は細胞培養であるが、それに必要な機器・機材がファイセルには備わっていなかったため、必要な機器・機材の選定および手配を行い、ファイセルのラボにおいてヒト細胞株を用いて問題なく培養が実施できることを確認した。また、項目③の検証にヒト血液が必要となるため、ヒト血液入手のための同意取得文書一式を作成し、病院や外部コーディネーターと連携して個人情報や倫理面に配慮したヒト血液の入手ルートや体制を構築した。

②カルノア固定作業の習得

設備の立上げ後、ファイセルのカルノア固定技術習得のため、ヒト細胞株およびヒトPBMC(図1)を用いたカルノア固定作業を実施した。染色体検査には解析対象のサンプルに増殖能があることが重要であるため、初めに増殖の安定的なヒト細胞株を用いて一連の作業の予備検証を行った後、ヒトPBMCを用いた技術検証を行った。ヒトPBMCはヒトの末梢血より分離し

た単球やリンパ球を含む単核球であるが、技術検証に使用する臨床検体を選ぶに当たっては比較的入手が容易であるヒト血液を初めの候補として想定したからであり、本項目で使ったヒトPBMCは研究開発用途として市販され、ヒト血液より分離されたものを選択した。培養液はヒトリンパ系細胞の培養に用いられるものをいくつか検討した上で最適なものを選択し、ヒトPBMCの場合はそれに増殖因子を添加したものを使用し、カルノア固定作業については技術情報、プロトコル、試薬などをchromocenterからファイセルに提供し条件検討を重ねた。その結果、下の染色体展開図のような染色体検査に用いるに良好なサンプルが得られ、ヒト細胞株だけでなくヒトPBMCにおいても染色体検査用のサンプルの作製に成功した。

③カルノア固定用サンプルの輸送とサンプル品質評価、技術検証、社内トレーニング

技術習得後、臨床検体からの染色体検査サンプル作製を目指し、ヒト血液を用いてPBMCの分離、培養、カルノア固定、染色体検査の一連の作業を実施した。ヒト血液は個人情報保護や倫理面への配慮の下、本研究利用の同意を得た上でファイセル社内のボランティアから匿名化された状態で提供されたものを使用した。PBMCの分離試薬は広くヒト血液からの単核球分離に用いられるものを使用し、培養液とカルノア固定方法の条件は項目②の成果を基にして染色体検査サンプル作製を試みた。その結果、項目②で示した図と同様な染色体検査に用いるに良好な品質のサンプルを作製でき、続く染色体検査においても解析に成功した。これにより、本事業の目標の一つであった臨床検体から染色体検査を行う技術目標を達成した。本技術検証の染色体展開図および染色体検査結果の詳細は個人情報保護、倫理面に配慮し記載しないが、ヒト血液からのPBMCの分離、培養、カルノア固定の方法は本事業の成果の一つとして手順書を作成した。また、依頼者への解析結果の報告として報告書の雛形も作成した。

④SOPの作成、改良

本事業の成果の一つである項目③で検証したヒト血液からのPBMCの分離、培養、カルノア固定作業の手順書を作成した。本格的に事業拡大するには、ヒト血液受領から解析結果の返却までの一連の手順を最適化する必要がある。

⑤共同事業のプロモーション

様々な展示会・学会等に出向き、調査、クライアントへのヒアリングなどを実施した。

本サービスは、ニーズは少なからず存在することが判ったが、これまでにない受託内容という事もあり、積極的な販促活動が必要である事も分かった。

プロモーション活動としては、再生医療に関連する企業および研究機関を対象に据え、令和2年3月の第19回日本再生医療学会総会での出展を予定していたが、新型コロナウイルスの影響による開催見送りとなり、本事業実施期間内の学会等でのプロモーションは叶わなかった。今後、本事業実施期間外になっってしまうが学会等でのプロモーションは続けていきたい。また、ニーズの掘り起こしにつなげるべく、雑誌「細胞」への記事掲載も実施した。また、chromocenterおよびファイセルの既存サービスのターゲットユーザーである製薬企業・研究機関も本事業のターゲットユーザーになる。今後、既存サービスの販売ネットワーク、営業活動を活用しプロモーションに取り組んでいく。

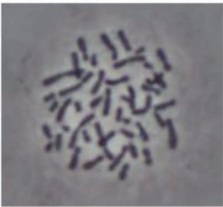
今後の展開

本研究・事業により、chromocenterおよびファイセルが連携して、ヒト血液から細胞培養、コルセミド処理、低張処理、カルノア固定、染色体検査までの一連のサービスが提供できるようになった。

今後については技術面の向上の展開として以下を考えている。広く知られるようにPBMCに含む白血球などの数は個人差が大きく、本研究・事業の根幹技術である細胞培養にとってこの個人差の影響は小さくないと考えられ、例えば、採血量や培養日数、培養条件、カルノア固定条件などサンプル作製の複数のステップに影響が生じる可能性があり、品質・コスト・スループット等においてまだ課題がある。そのような課題に関しては、今後実績や経験を積み重ねながら適宜最適化していく予定である。また、技術検証が必須であるが、検査の効率化や再検査による患者負担軽減のため、血液もしくはPBMCの一部を凍結保存しておく方法を開発すれば、品質・コスト・スループット改善になると考えている。

本研究・事業においてヒトPBMCを培養する際に主にT細胞に作用する増殖因子を用いて技術検証を行ったが、他の細胞種を対象とする場合はその対象にあった培養日数や培養条件、カルノア固定条件などサンプル作製の条件検討が必要である。さらに、臨床検体は様々な細胞種が混在するのが特徴であるが、品質検査を目的とする染色体検査においては作製したサンプル中に異なる細胞種の混在は避けなければならない、サンプルの品質を考慮した条件の確立が求められる。これについても今後実績や経験を重ね、さらに最適化した染色体検査の提供をしていきたい。また、顧客ニーズが多いうであれば、他の臨床検体(組織等)までサービス範囲を拡げていきたい。

(図1)



染色体展開図 (ヒトPBMC)