

※本資料は、神戸市政記者クラブ、神戸経済記者クラブ、大阪科学・大学記者クラブに同時資料提供しています。

記者資料提供（令和元年6月27日）

公益財団法人神戸医療産業都市推進機構

クラスター推進センター 都市運営・広報課 塚口・西田

TEL：078-306-2231 E-mail：kbic-pr“AT” fbri-kobe.org



## ヒト iPS 細胞や ES 細胞の分化状態を培養液の解析だけで判断が可能に！ iPS 細胞の大量培養に向けた細胞の品質管理検査にも応用可能

公益財団法人神戸医療産業都市推進機構（理事長：本庶 佑）の細胞療法研究開発センター（川真田 伸センター長）は、株式会社島津製作所（代表取締役社長：上田 輝久）と、東京エレクトロン株式会社（代表取締役社長：河合 利樹）との共同研究で、質量分析装置 LC-MS/MS を用い、ヒト iPS 細胞（人工多能性幹細胞）、ES 細胞（胚性幹細胞）の培養培地を経時的に分析することにより、未分化維持及び分化を開始する際の指標となる分泌代謝物成分を突き止めました。

本研究成果は、6月26日に、国際学術誌「Science Signaling」のオンライン版に掲載されました。具体的な内容につきましては、添付資料をご参照ください。

### 【Science Signaling 掲載先】

（細胞療法研究開発センター英語 HP よりご確認ください）

<https://www.fbri-kobe.org/english/rdc/>

※E-mail は上記アドレス“AT”の部分を@に変えてください。

※報道（取材等）に関する件は、神戸医療産業都市推進機構 都市運営・広報課までお問合せ下さい。



令和元年 6 月 27 日

公益財団法人神戸医療産業都市推進機構

## ヒト iPS 細胞や ES 細胞の分化状態を培養液の解析だけで判断が可能に！ iPS 細胞の大量培養に向けた細胞の品質管理検査にも応用可能

### 概要

#### 1. 背景

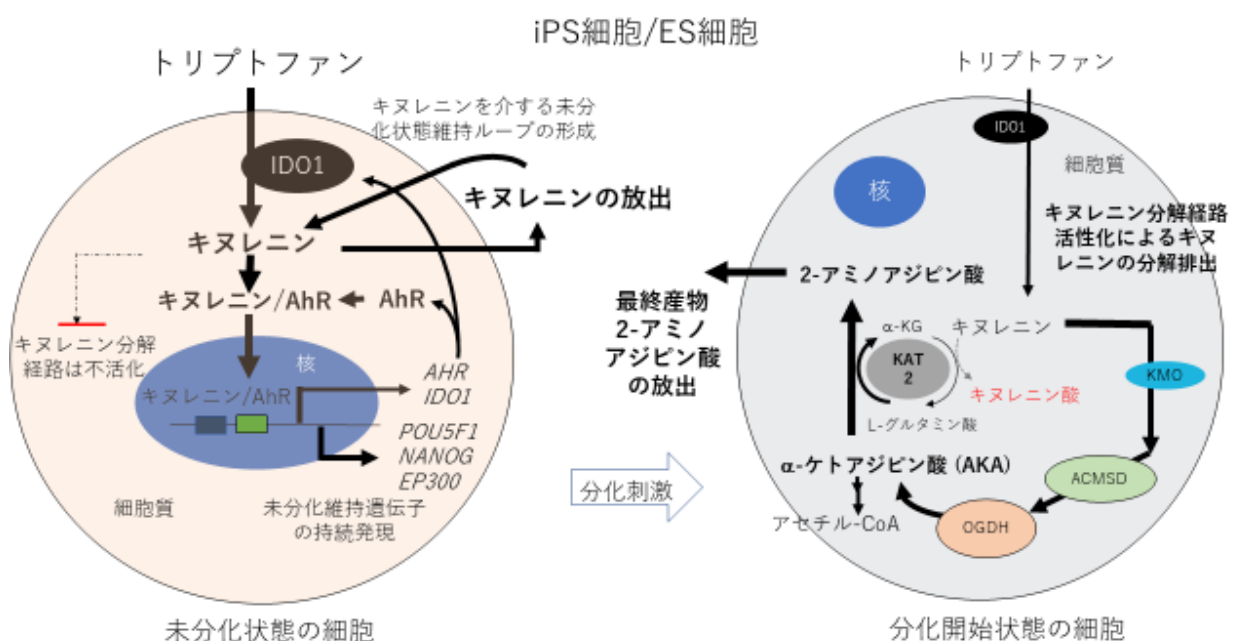
ヒト iPS 細胞と ES 細胞は、あらゆる細胞や臓器に分化が可能な大もとの細胞、多能性幹細胞と呼ばれ、それぞれ人工的に作成していますが、この細胞は相反する 2 つの能力を持っています。1 つは特定の細胞に分化をしていない状態（未分化状態）を保ちながらほぼ無限に増殖する能力で、2 つめは、細胞に刺激を与えるといろいろな細胞や組織に分かれていく能力、すなわち分化する能力です。私たちは、この 2 つの能力を利用して多能性幹細胞から移植に必要な細胞数をコントロールしながら、再生医療に使用される分化細胞を製造しています。ただ未分化の状態の細胞は未分化の状態を維持する培地で培養されていますが、培地の交換の頻度が適切でなかったり、細胞が過剰に増えた状態になったりすると、未分化細胞は自然に分化を始めます。このように、分化を始めてしまった細胞と未分化細胞が混ざった状態で、細胞に刺激を与える（以後、分化誘導という）と、目的の細胞に 100% 分化しないことが想定され、これを細胞移植に使った場合は十分な効果が期待出来ないことも想定されます。このため iPS 細胞や ES 細胞を用いて安全且つ有効な細胞治療を実施する為に、培養中の細胞が未分化状態にあり、分化が始まっていないことを培養液の解析で簡単に知ることが出来れば、細胞の品質管理上、非常に有用であると考えています。しかしながら、どのような機序で細胞は未分化状態を脱して分化を開始するのか、また未分化状態/分化状態に応じてどのような成分がそれぞれ細胞培地中に排出され、その成分を指標にして分化状態を知ることが出来るのか、長年の研究課題でした。

#### 2. 研究手法・成果

（公財）神戸医療産業都市推進機構の細胞療法研究開発センターは、数年前から iPS 細胞由来の網膜色素上皮細胞や神経幹細胞の臨床実験に向け、これらの分化細胞をマウスやラットに移植して腫瘍が起これないことを確認する安全性試験を実施しています。このたび、当センターでは、株式会社島津製作所と東京エレクトロン株式会社との共同研究で、細胞の培養培地の成分の解析を通じて分化状態を判断できる因子の同定に成功しました。具体的には、質量分析装置 LC-MS/MS を使って、未分化状態である iPS 細胞/ES 細胞と分化が始まった状態の iPS 細胞/ES 細胞の培養培地を経時的に分析し、その結果細胞が未分化な状態で維持されているときには、培養液中にキヌレニンと

いう成分が分泌されており、未分化細胞が分化を始めるときには2-アミノアジピン酸という成分が分泌されるようになること示しました。この2つの因子を指標にすることで、細胞の分化状態を判断できることが可能になります。

その機序として、未分化細胞は培養中の必須アミノ酸であるトリプトファンを細胞内に取り入れてキヌレニンを作ります。このキヌレニンは、細胞質内のAhR(芳香族炭化水素受容体)と結合して複合体を形成した後、細胞の核に移行し、未分化状態を維持する遺伝子群の持続的な発現を誘導します。またそれらの結合に使われなかった余剰のキヌレニンは、細胞外に放出され培地中に貯蔵されることで、培地交換が適切に行われずトリプトワンの供給が枯渇した場合でも、貯蔵されたキヌレニンを使って細胞の未分化維持状態を一定時間保持できることが分かりました。一方、細胞は分化刺激を受けると分化を開始しますが、未分化状態から脱するためにキヌレニンを分解し細胞外に排泄する必要があります。そのためのキヌレニン分解経路が働き始め、その分化経路の最終産物である2-アミノアジピン酸を細胞外に放出するようになります。この結果、細胞培地の中に2-アミノアジピン酸を検出するようになれば、細胞の分化にスイッチが入ったことを知ることができるようになります。個々の細胞は、私たちの身体と同じように何を食べ、何を排泄しているかを知ることによって、細胞の分化状態を含む代謝状態を知ることができます。今回の研究成果で細胞移植に使われるiPS細胞の製造中の品質管理を、培養液に分泌される特定の成分をモニターすることで簡便かつリアルタイムに実施することが可能になり、安全なiPS細胞由来の移植医療に大きく貢献できるものと考えています。今回の成果は、細胞培養工程の自動化が進む細胞製造分野に於いても、培養培地の分析を通じた製造中の細胞の持続的な品質監視(in process monitoring)が、いかに有効な品質管理手法になり得るかを示す良い事例にもなると考えています。



### 3. 波及効果および今後の予定

今回の成果は、細胞培養工程の自動化が進む細胞製造分野に於いても、培養培地の分析を通じた製造中の細胞の持続的な品質監視(in process monitoring)が、いかに有効な品質管理手法になり得るかを示す良い事例にもなると考えています。

本成果は、6月26日に国際学術誌「Science Signaling」のオンライン版で掲載されました。

#### <論文タイトルと著者>

Kynurenine signaling through the aryl hydrocarbon receptor maintains the undifferentiated state of human embryonic stem cells

Takako Yamamoto, Kunitada Hatabayashi, Mao Arita, Nobuyuki Yajima, Chiemi Takenaka, Takashi Suzuki, Masatoshi Takahashi, Yasuhiro Oshima, Keisuke Hara, Kenichi Kagawa, Shin Kawamata

#### <発表者・機関窓口>

(発表者)

川真田 伸

公益財団法人神戸医療産業都市推進機構 細胞療法研究開発センター

(機関窓口) ※報道（取材等）に関するお問合せは、広報課にお問合せ下さい

公益財団法人神戸医療産業都市推進機構

クラスター推進センター 都市運営・広報課

TEL：078-306-2231 FAX：078-306-0752

E-mail：kbic-pr“AT” fbri-kobe.org