

プログラム名： セレンディピティの計画的創出による新価値創造

PM名： 合田 圭介

プロジェクト名： 高精度血液検査技術開発の実証評価

委 託 研 究 開 発

実 施 状 況 報 告 書 (成 果)

平成 28 年度

研究開発課題名：

セレンディピターを用いた細胞検出技術の確立

研究開発機関名：

国立大学法人東北大学

研究開発責任者

富永 悌二

# I 当該年度における計画と成果

## 1. 当該年度の担当研究開発課題の目標と計画

チーム1に関しては、ソーティング対象である Muse 細胞自体、核、核小体の大きさや形状などの形態的特徴を解析し、さらにラマン分光による測定も行いタンパク質などの構成要素の割合を解析し、他の細胞との相違点を検討することを当該年度の目的としていた。

これらにより、平成 29 年度以降は、開発されたセレンディピターのプロトタイプを用いて、Muse 細胞分離精度や、セレンディピターを使用したことによる Muse 細胞の変異などの検証、既存の手法との比較検討を行い、平成 29 年度以降に実験的脳梗塞に対する Muse 細胞移植治療研究を開始するとともに、他モデルへの水平展開を検討する。セレンディピターを用いてソースとして確立した上で Muse 細胞移植治療を動物実験で検証し、そこから脳梗塞に対する新規治療法を確立することを最終的な到達目標とする。

チーム2に関しては、造血器腫瘍の微小残存病変を高感度に検出する新たな検査技術を開発することを目的としている。各要素技術及びセレンディピターを用いて造血器腫瘍細胞の形態解析・構成分子解析を通じて高精度の検出法を確立し、かつその分離精度を検証する。各要素技術及びセレンディピターの開発状況に依存するため、今年度は各プロジェクトの研究状況の把握及び連携体制について確認するとともに、正常末梢血液の観察を通じて現状の各要素技術の理解を深めることを目標とした。

## 2. 当該年度の担当研究開発課題の進捗状況と成果

### 2-1 進捗状況

チーム1に関しては、脳梗塞に対する Muse 細胞移植の臨床応用を見据え、動物由来の抗体を用いない手法での分離法の開発を行った。Muse 細胞を、ソースとなる骨髄間葉系幹細胞から分離して、Muse 細胞と Non-Muse 細胞を得て、以下の点を解析し、セレンディピターによる Muse 細胞ソーティングの基礎データとした。ソーティング対象である Muse 細胞の形態学的、分子生物学的特徴を解析し、その他の細胞との差異を詳細に検討した (Project3 鈴木チームに解析を依頼)。また、プロジェクト 2-6 の要素技術で Muse 細胞を分離できない可能性も考え、臨床応用が可能な品質の、Muse 細胞を認識する抗体の開発に着手した (Project8 渡会チームに依頼)。抗体を使わない手法が理想ではあるが、抗体とセレンディピターの組み合わせでも、臨床応用が可能な品質の細胞分離が可能と考えられる。そもそもの Muse 細胞の形態学的、非形態学的特徴解析がまだまだ不十分であるため、Muse 細胞のソースとしては、臨床上もっとも用いられると考えられる骨髄間葉系幹細胞由来のものを第一に用いることとした。今後、解析が進み次第、ソースによる違いを検証する研究を追加し、どのソースが将来の移植治療に適切かどうかを判断する。

チーム2に関しては、昨年度に行った、東京大学の合田研・小関研における正常末梢血液の観察を行った結果を踏まえて、セレンディピターで検出可能な腫瘍細胞の形態的特徴を検討した。また従来の手法 (定量 RT-PCR、FISH など) での微小残存病変検出法を in house で行えるよう確立しておき、将来的にセレンディピターが稼働した際の検出感度の比較対象にする準備を進めている。

## 2-2 成果

チーム1に関しては、Muse細胞の形態学的特徴や、細胞内構成要素に関しては現段階では解析中であり、その結果はまだ完全には出ていない。一方、Muse細胞自体に関しては、他分化能、神経分化能などを確認し、脳梗塞巣に移植することにより治療効果があることは確認できている。

現状では、明らかにセレンディピターを用いてMuse細胞を分離できるという段階にはない。

チーム2に関しては、末梢血の観察ではほとんどが赤血球であるため、観察前に溶血あるいは単核球の分離を行うことが必要と考えられた。また定期的にプロジェクト会議に参加することで、各プロジェクトの状況把握を行った。

## 2-3 新たな課題など

チーム1に関しては、Muse細胞自体の特性の解析を継続して行っている。現状では、ミトコンドリアの数が手掛かりとなる可能性を考えているが、セレンディピターに搭載されるスペックのラマン分光ではミトコンドリアの信号 (cytochrome c) が得られないと考えられる。形態的な情報から分離できるようにするため、セレンディピター1.0の段階から、形態画像を多数得て、間葉系幹細胞とMuse細胞の形態的な違いを明らかにする必要があるため、積極的に、本年度は細胞供給をして携帯画像取得に努める。

その他の事項としては、治療応用を要する細胞分離の場合には（診断や研究目的でない場合）セレンディピターで分離した細胞の安全性自体が保障されていなければならない。GMP対応という点が避けて通れない課題となるため、これについても、セレンディピター開発と同時並行で検討を要すると考えられた。

チーム2に関しては、今回の研究で対象とする造血器悪性疾患は1つの疾患の中でも多くの分類があることから、異常細胞の認識に先立って、まず正常像の認識が重要であると考えられた。また保存検体でなく、採取後の新鮮検体で解析を行うのが望ましいため、その検体授受のタイミングも課題であると考えられた。

具体的にどの造血器腫瘍を対象とするかについては、従来の微小残存病変検出法が既に確立されている白血病が望ましいものと想定しているが、上述の様に検査受託業者でなく in house で FISH 法などが行えるようにする必要があると考えられた。

## 3. アウトリーチ活動報告

特になし。