

再生医療実用化に向けた幹細胞の安全性評価－複合糖質糖鎖の網羅解析の適用－
○保村 佳孝¹, 木下 充弘¹, 館山 大揮², 菅 三佳², 古江 美保², 森山 博由³,
早川 堯夫³, 掛樋 一晃¹(¹近畿大薬, ²医薬基盤研・難病・疾患資源, ³近畿大薬総研)

【目的】iPS細胞などの幹細胞を用いる再生医療実用化に向けた研究が精力的に行われているが、その臨床応用に向けて異種動物種由来成分の混入による抗原性などの安全性に関する幾つかの課題が指摘されている。本研究では、再生医療の実用化における安全性を担保するための方策として、各種 iPS 細胞の糖鎖を精密に解析し、同時に培養に使用するフィダー細胞 (MEF)、培養液、血清代替物 (KSR) などの外来因子が糖鎖プロファイルに与える影響を検討した。

【方法】糖タンパク質糖鎖の解析: iPS および MEF から得られた総タンパク質分画、培養液と KSR の凍結乾燥物から得られた N-結合型糖鎖を蛍光標識後、順相 HPLC と MALDI-TOF MS を組み合わせて解析した。シアル酸の分子種分析: 糖タンパク質糖鎖試料の一部および培養液と KSR の凍結乾燥物を 0.2M 塩酸中で加水分解し、1,2-Diamino-4,5-methylenedioxybenzene (DMB) で蛍光標識後、逆相 HPLC によりシアル酸分子種を分析した。

【結果】MEF および KSR を用いて培養した iPS 細胞の N-型糖鎖ならびに、シアル酸分子種の分析結果から、すべての iPS 細胞から通常ヒトには発現しない異種動物由来の N-Glycolylneuraminic acid (NeuGc) を含む糖鎖などが観察された。異種動物由来糖鎖の混入量は、癌細胞などの株化細胞をウシ血清を含む培養条件で培養した場合と比べ圧倒的に高く、iPS 細胞で観察された異種動物由来糖鎖は培養液や血清代替物を使用する培養条件に起因すると考えられた。一方、MEF や KSR の糖鎖解析の結果、KSR 中に NeuGc が観察された。異種動物由来糖鎖の混入については、単糖のサルベージ経路での混入の他、細胞表面への非特異的吸着なども考えられ、今後さらにその原因を追究しなければならない。