

紹介1

再生医療・細胞治療研究用培地の技術開発

機能化学品カンパニー
セルカルチャーマテリアルユニット ICC & CT グループ

おのづか あらた
小野塚 新



1. はじめに

再生医療・細胞治療とは、事故や病気によって失われた身体の細胞、組織、器官の再生や機能の回復を目的とした医療であり、今までの治療法では対応困難であった疾患に対する新たな治療法になり得るものとして期待されている。

特に、2012年の京都大学 iPS 細胞研究所長・山中伸弥教授のノーベル生理学・医学賞の受賞以降、研究者や医療関係者のみならず、多くの人々が関心を寄せている。

本稿は、当社が進めている培地事業を紹介するとともに、再生医療・細胞治療研究用培地の技術開発を紹介する。

2. 培地とは

培地とは、本来は生体内で増殖する細胞を体外で増殖させるための栄養源と生体環境 (pH、浸透圧) を供給するものである。培地は、培養対象の細胞の種類に合わせ、エネルギー源となるブドウ糖やタンパク源としてのアミノ酸を主体に、ビタミン、無機塩およびその他の微量必須栄養素など数十種類の成分からなる。これらの原料を秤量後、粉碎混合の上、粉末培地 (ユーザーが使用時に水に溶解) または液体培地として販売される。

3. 当社の培地事業

3.1 石油事業と培地事業の接点

当社は、1970年代から微生物発酵などのバイオ技術を用いた石油精製留分の高付加価値化の研究開発を開始した。さらにその研究開発の展開の過程で、細胞培養技術における培地の重要性に着目して、1987年に培地メーカーであるアーバイン・サイエンティフィック社 (米国) (以下、IS 社) を買収した。

IS 社は米国カリフォルニア州サンタアナ市 (ロサンゼルス) の南に所在し、培地製品の研究開発、製造および販売を行っている。また、米国内はもとより、同社事務所 (アイルランド、フランス、オランダ、ロンドン、上海) および主要各国の販売代理店を通じて世界に培地製品を販売している。

当社機能化学品カンパニーセルカルチャーマテリアルユニット (埼玉県戸田市) は、IS 社を主管するとともに、IS 社製品の日本、韓国および中国への培地製品の販売拠点でもある。

図1にIS社の世界の事業拠点を示す。

IS 社は、1970年の創業以来、生殖補助医療 (ART: Assisted Reproductive Technology) 用培地およびバイオ医薬品製造 (ICC: Industrial Cell Culture) 用無血清培地を主要製品として、研究開発と製造販売を行ってきたが、その経験と実績を基盤として、再生医療・細胞治療用培地の研究開発と販売を2012年に開始した。

本稿では、ART用培地とICC用無血清培地の概略を説明し、再生医療・細胞治療用培地への展開を紹介する。

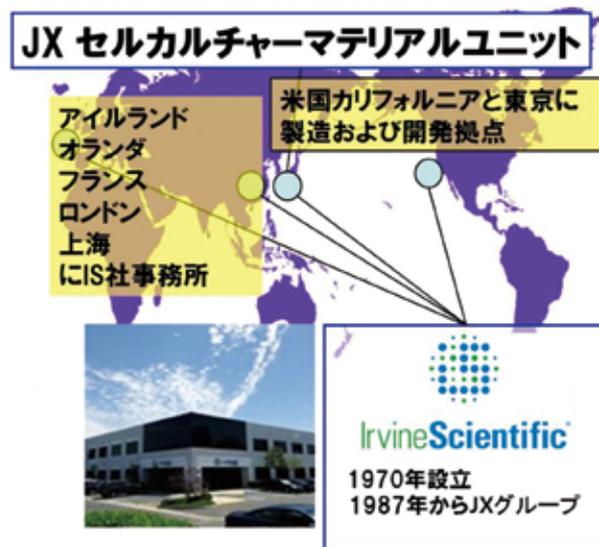


図1 IS社の世界の事業拠点

3.2 生殖補助医療 (ART) 用培地

生殖補助医療は、通常は体内で進行する受精から着床までの過程を、体外の培地中で受精卵を培養したのち子宮内に移植することで代替し、妊娠を補助する医療技術である。

ARTは1978年に英国で初めてヒトに実施された後、急速に技術が進歩し、現在では不妊症に対する必要不可

欠な治療手段になっている。IS社はART用培地を1985年に世界で初めて上市した。

ART用培地は、米国ではFDA (Food and Drug Administration: 米国食品医薬品局) の定めた510 (k) の規制対象である医療機器に分類されている。

IS社のART用培地は医薬品の製造品質管理基準であるcGMP (適正製造規範) に準拠して製造されており、すべてFDA510 (k) に基づく手続きは実施済みである。さらに、IS社は品質マネジメントシステムISO13485:2003の認証を取得している。

ART用培地の顧客は不妊治療を実施している病院や専門クリニックである。本製品は、命の萌芽に関わる製品であるため、安定した品質と的確な製品情報の提供が求められる。写真1に、IS社のART用培地製品群を示す。



写真1 IS社のART用培地製品群

3.3 バイオ医薬品製造 (ICC) 用無血清培地

バイオ医薬品とは、その生産に微生物や動物細胞が利用されるもので、ヒトインスリンや成長ホルモンなどが薬剤として開発されてきた。現在では、がんや関節リュウマチなどの治療薬として抗体医薬品の適用範囲が広がり、製造技術も急速な発展を遂げている。培地は、それらの生産過程で微生物や動物細胞を培養する際に使用される。

特に、ICC用培地は、過去にはウシ胎児血清等の動物由来成分が使用されていたが、ロット間差の問題や狂牛病等の感染リスクを避ける目的で、動物由来成分を含まない (Animal Component-free) 培地や、化学的に同定された成分のみで構成される完全合成 (Chemically Defined) 培地に対するニーズが高まっている。

さらに、動物細胞による医薬品生産は、酵母や大腸菌に比べて生産性が低いため、顧客である製薬会社は、自社が保有する動物細胞の目的生産物 (抗体など) の生産性を最大にするため、培地組成の最適化を強く求めている。

IS社および当社は実験計画法やメタボローム解析技術を利用した培地組成の最適化に多くの知見を有している。また、両社それぞれが研究開発機能を持つことから、連携して欧米、日本およびアジアの顧客のニーズ、例えば、

培地開発やサンプル提供などに迅速に対応でき、それが両社の強みとなっている。写真2にICC用粉末培地および液体培地を示す。

また培地の世界的な需要増加への対応と安定供給のため、IS社は従来のカリフォルニア工場に加えて2010年7月にIS東京工場を竣工し、日米2工場体制によって、立地と製造能力の両面から顧客のニーズに応えることが可能となった。



写真2 ICC用粉末培地および液体培地

3.4 再生医療・細胞治療研究における培地の重要性

はじめに述べたように、再生医療・細胞治療とは、事故や病気によって失われた身体の細胞、組織、器官の再生や機能の回復を目的とした医療である。図2に再生医療・細胞治療の概念を示す。

再生医療では、ヒトの細胞を体外に取り出し、培養して組織の形にしてから、患部に移植する。すでに日本では、培養表皮、培養軟骨や心筋シートなどが薬事承認を受けている。

細胞治療では、ヒトの細胞を体外に取り出して培養した後、細胞の形のまま、静脈から注入したり、患部に直接注入する。白血病の治療にすでに用いられている骨髄移植も骨髄中に含まれる造血細胞を利用した細胞治療と考えることができる。また、免疫細胞を用いたがん治療などすでに実用化されているものもある。

再生医療、細胞治療のいずれの場合も、ヒトの体から採取したわずかな数の細胞を培養によって、体外で数万倍以上の量に増やす必要がある。さらに、その細胞は、目的とする品質 (目的細胞の性質を保有しているか、ウイルス等に汚染されていないか) を確保している必要がある。

すなわち、再生医療・細胞治療に使用される細胞の量と質を確保するために、高い培養性能と高い品質を有する培地が必須となる。

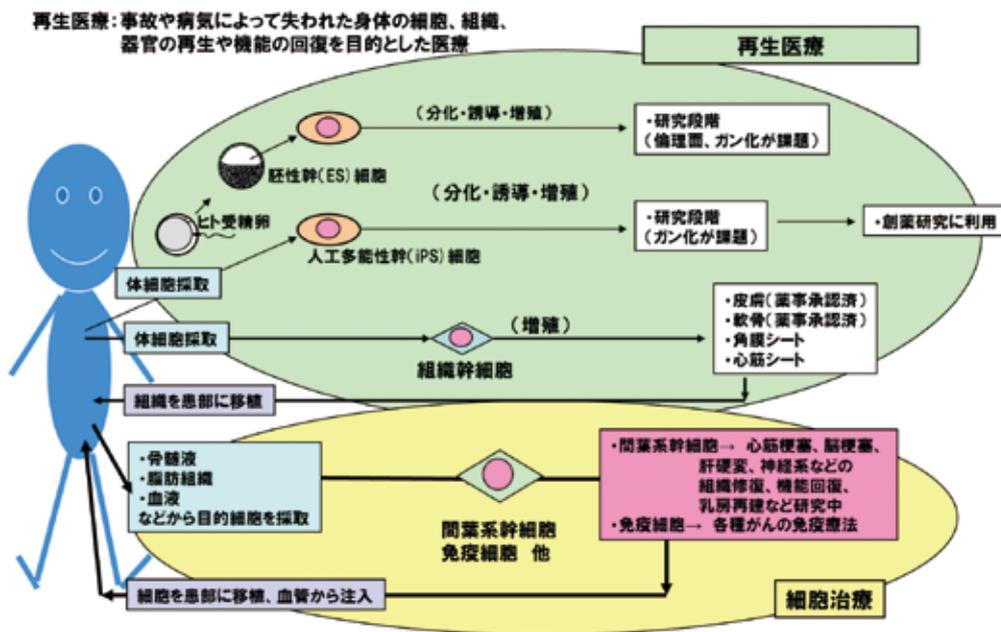


図2 再生医療・細胞治療の概念

3.5 IS社の再生医療・細胞治療研究用培地の開発

表1に、当社での再生医療・細胞治療研究用培地の販売状況を示す。IS社は、疾患治療研究のニーズの高い細胞種に対応した培地を開発し、品ぞろえの充実を図っている。

表1 当社でのIS社製品販売状況

用途	細胞種	カタログ番号	製品名
再生医療・細胞治療関連研究	間葉系幹細胞	91135-250mL	PRIME-XV® MSC Expansion SFM
		91149-250mL	PRIME-XV® MSC Expansion XSFM
	神経前駆細胞	91131-250mL	PRIME-XV® NPC Expansion XSFM
	脂肪細胞(誘導)	91137-100mL	PRIME-XV® Adipogenic Differentiation SFM (近日発売)
	軟骨細胞(誘導)	91138-100mL	PRIME-XV® Chondrogenic Differentiation XSFMS (近日発売)
	免疫細胞	91141-1L	PRIME-XV® T cell Expansion XSFM
創薬	がん幹細胞	91130-100mL	PRIME-XV® Tumorsphere SFM
細胞凍結試薬	間葉系幹細胞	91140-10mL, 100mL	PRIME-XV® FreezIS DMSO-free

2012年に、間葉系幹細胞用無血清培地、神経前駆細胞用無血清培地の販売を始めた。2014年には、間葉系幹細胞を骨芽細胞や軟骨細胞、脂肪細胞へ分化誘導するための分化誘導培地の開発を完了し販売を開始、さらに2015年には免疫細胞用培地などの品ぞろえを広げた。

細胞はその種類によって、必要な栄養成分や成長因子(ホルモンに似た働きを持つタンパク質)の種類や濃度が異なるため、最新の知見とICC用培地開発のノウハウ等を用いて、それらの成分の組成の最適化、無血清化等各細胞種に最適な培地の開発を進めている。

間葉系幹細胞と呼ばれる細胞は、骨髓液、脂肪組織や

歯髄(親不知)などから比較的容易に採取できる。また間葉系幹細胞を培養後、疾患部位に直接注入したり静脈に注入したりすることで、様々な疾患(自己免疫疾患、神経疾患、骨・軟骨損傷等)に対し高い治療効果を出すための研究がなされており、今後の細胞治療用細胞として期待されている。

細胞治療用培地についても、ICC用培地と同様に無血清化のニーズがある。IS社はICC用培地の開発における知見等を活かし、牛胎児血清(FBS)を添加した競合他社品と比較して、同等以上の性能が得られる無血清培地で、他種動物由来成分を含まない無血清(Xenogenic-free)培地「PRIME-XV® MSC Expansion XSFM」(写真3)を開発した(以下、本培地)。また、これらの製品は即時使用が可能(顧客側での調製が不要との意)であり、使用時に基礎培地と添加剤を混合させて使用する競合他社品に対して利便性を向上させている。



写真3 「PRIME-XV® MSC Expansion XSFM」間葉系幹細胞培養用無血清培地

図3に本培地での脂肪組織由来（AD）および骨髄液由来（BM）間葉系幹細胞（MSC）の増殖性能の比較を示す。間葉系幹細胞は、採取する組織毎に細胞の性質が若干異なることが知られており、培地によっては、それらの細胞が十分増殖しないことがある。本培地を加えた培養容器中に6,000個/cm²で細胞を播種し、容器表面が80%覆われた状態での生細胞密度と生細胞率を調べた結果、脂肪組織由来（AD）および骨髄液由来（BM）間葉系幹細胞のどちらも、高い生細胞率を維持した状態で、その数が大きく増えていくことがわかる。

これらの結果から、本培地は脂肪組織由来および骨髄液由来の間葉系幹細胞を安定的に増やすことができる培地であることが判る。

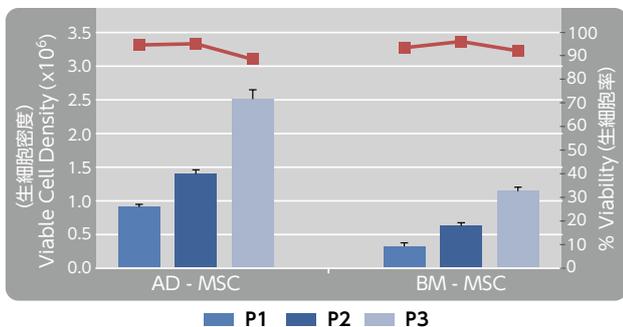


図3 脂肪組織由来（AD）および骨髄液由来（BM）間葉系幹細胞（MSC：Mesenchymal Stem Cells）の増殖性能の比較（P1,P2,P3は継代^注回数を示している）

注）継代（Passage）：培地を入れた容器に細胞を播種し、一定期間培養後、増えた細胞を薬剤処理により単一細胞へと分散後、その一部を取り出して、新たな容器で同様の培養を繰り返す。この操作を継代培養という。

図4に、骨髄液から採取した間葉系幹細胞の本培地および他社培地（Xenogenic-free）による増殖性能の比較結果を示す。同じ数の間葉系幹細胞を各培養液で3継代の間培養した結果、本培地の細胞増殖性能は、競合他社培地に比べ高いことから、本培地は他社培地に比べ短期間で間葉系幹細胞の数を大きく増やすことができる培地であることがわかる。

脂肪組織や骨髄液中には間葉系幹細胞以外にも多種類の細胞が存在する。図3及び4で示したように、本培地で培養した結果、増幅された細胞が間葉系幹細胞であることを確認するため、本培地で培養した細胞が間葉系幹細胞に特徴的な表面マーカーを発現するか否かを確認した結果を図5に示す。

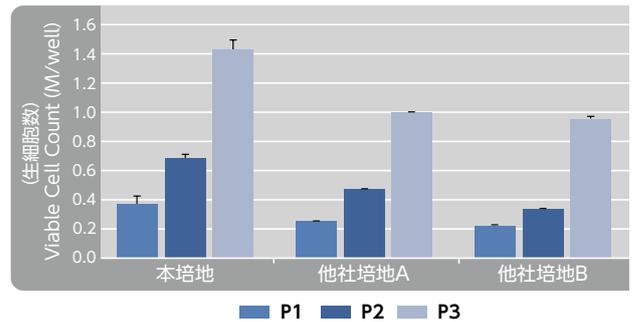


図4 骨髄液から採取した間葉系幹細胞の本培地および他社培地（Xenogenic-free）による増殖の性能比較

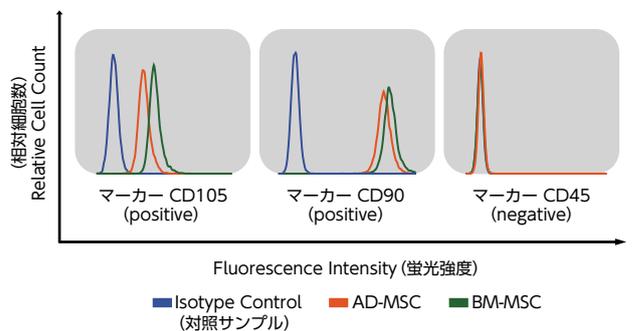


図5 培養後の間葉系幹細胞の特徴的な表面マーカー^注の発現を細胞源（AD：脂肪組織由来およびBM：骨髄液由来）を替えて比較した結果

注）表面マーカー：各種細胞の性質を示す細胞表面の特徴的なたんぱく質を用いた指標

本培地で培養した細胞は、間葉系幹細胞の特長を示すPositive Marker（CD90, CD105）の蛍光（発現）強度（赤線および緑線）はIsotype control（対照サンプル）の蛍光（発現）強度（青線）に対して強い一方、Negative Marker（CD45）では蛍光（発現）強度に変化がない（青線と赤線および緑線が重なっている）ことから、本培地で増えてきた細胞は間葉系幹細胞の性質を持つ細胞であることが分かる。

上記の二つの結果から、本培地は、間葉系幹細胞の性質を維持したまま、他社品に対し、短期間で間葉系幹細胞の数を大きく増やすことができ、他社製品を凌駕する特性を得ていることが分かる。

4. 再生医療・細胞治療研究の実用化への対応

近年、大きく研究開発が進展する再生医療・細胞治療分野では、細胞治療の実用化に向け数多くの臨床研究や臨床試験が実施されている。特に臨床応用には各国の規制当局（国内では、厚生労働省）への申請が必要となり、その際培地メーカーは的確な製品情報の提供が求められる。このような場合にも、IS社はART分野で培ったこれ

までの経験を活かし、顧客の求める製品情報を的確に提供することが可能である。

また、顧客の特注培地製造や特注培地開発の要望に対しても、IS社のcGMPに準拠した製造設備や品質管理システムに加え、これまでのICC用培地開発等で培ったノウハウを活かすことで対応が可能である。

当社はIS社と協力し、これらの経験と実績を活かして再生医療・細胞治療技術の実用化に貢献していきたい。

5. おわりに

IS社の再生医療・細胞治療研究用培地は、生殖補助医療用培地やバイオ医薬品製造用無血清培地とともに医療に関わる製品であり、我々の取り組みが世界の人々の生活の質の向上や健康増進に寄与できる事は大きな喜びである。

当社はIS社と協力して、高い品質と安定供給を維持し、顧客満足の向上を図るとともに、さらに世界で販売先を拡大し、セルカルチャーマテリアル事業の発展を目指す。