

事業化へ向けた研究開発材料としてのCHO細胞の樹立

(株式会社 chromocenter) 源治 尚久

私たち株式会社 chromocenter は染色体工学を基盤として人工染色体ベクターの事業化を目指すバイオベンチャーです。人工染色体ベクターの事業化を進める中で、動物細胞関連のバイオテクノロジーの入り口（アカデミアの研究成果など）と出口（事業化）がうまくつながらないことの一因が、既存の商業利用可能な動物細胞のライセンスにあると感じさせられる出来事にいくつか遭遇しました。そこで、今振り返ると無知ゆえに挑戦できたことでしたが、動物細胞の一種であるCHO細胞の樹立を試みたところ、想定外にさまざまな困難に遭遇しつつも最終的には樹立できた過程を、僭越ながら本稿にてご紹介いたします。

樹立検討前

チャイニーズハムスター卵巣由来細胞（CHO細胞）はバイオ医薬品の生産細胞として使用されることで知られています。その抗体生産能力の高さは特筆に値し、現在では培養方法や生産細胞作製技術などの発展により、他の細胞と比べて文字通り桁違いの抗体生産能力を提示し、同時にその開発コストもその能力相応であることが知られています。その強い印象ゆえ、高コストのタンパク質生産系の代名詞として、より安価なタンパク質生産技術開発のイントロダクション中に対比対象として必ずと言っていいほど登場する細胞でもあります。CHO細胞は当然抗体だけしか作れないわけではありません。しかし、ビジネスとして見た場合、その使用料を含めた開発コストを払っても尚、収益を上げることができるのは抗体医薬品など相応規模の市場がすでに存在している標的に限られる状況にあります。つまり、CHO細胞はタンパク質発現系として見た場合に、翻訳後修飾や分泌が得意というバイオ医薬品製造にとって有利な特徴を有していたことで、その用途が商業的理由で制限され、結果としてバイオテクノロジーの研究開発素材としての可能性が制限されているとも言えます。私たちも自分達の技術をCHO細胞で活用することを検討したことがありましたが、使用ライセンス料と予想される市場規模の比較から、ビジネスとして成り立たないと判断したことがありました。それなら自分達で作ろうと決めたとき、科学

的動機とビジネス的動機の後ろに、ある種の反骨精神がひっそりとあったように思います。

組織到着まで

～9か月前　CHO細胞の樹立の実現可能性を探るため、樹立経験のある先生や研究者からお話を聞かせていただくことから始めました。CHO細胞を樹立した経験のある日本人研究者はごく限られていますので、動物種を限らず、細胞樹立の経験がある方々からお話を聞かせていただき、弊社内で規則的・技術的に可能かを検討しました。特に大学の研究者からはオープンにアドバイスを頂けることが多く、具体的なイメージを持って検討することができました。幸いなことにインタビューを続けているうちに、チャイニーズハムスターの卵巣の購入に関する情報も得ることができ、この時はまだ非常に幸運の良いスタートを切ることができたと思っていました。

～8か月前　情報収集が一段落し、購入に向けて動き出した矢先、チャイニーズハムスターの販売元が倒産寸前でもう販売を停止したという連絡が入ってきました。この時は他をあたると簡単に考えていましたが、この時すでにチャイニーズハムスター購入までの長い道のりが始まっていました。国内の実験動物を扱っている会社に順に連絡をとっていききましたが、チャイニーズハムスターが実験動物として活躍していたのは一昔前までだったようで、販売会社に連絡を取れども取れども、現在は取り扱っていない旨の返事を受け続けました。最終的には恐らく国内すべての会社をリストアップできていたと思いますが、すべての会社から、現在販売はしていないという連絡を受けました。ペットとしてのハムスターは人気が高く、非常に身近な存在なのですが、それが実験動物として管理されており、なおかつ、営利企業に販売可能な状態となると、国内ではすでに入手不可能となっていたようです。

～7か月前　国内を調べ尽くしてダメなら海外を探すしかない、ということになり、調査の対象を海外にまで広げました。この時は流石に販売代理店を利用して連絡をとってもらいました。私たちもインターネットでの検索をメインに調査を続けました。しかし海外も状況は



同じで、ホームページでは販売しているように見える会社を見つけたとしても、連絡をとってみるとすでに取扱いは止めている、という連絡が続きました。そんなある時、すでに代理店から取り扱っていないという連絡を受けていた会社に、チームの中で英語が得意な一人がメールではなく電話を直接かけたところ、理由はわかりませんが今も取り扱っていて売れることもできる、という返事をもらうことができ、早速見積もりをお願いしました。なぜ一度は取り扱っていないと返事がきたのに売ってもらえることになったのかわかりませんが、とにかく諦めの悪さがプロジェクトを大きく前進させました。

～5か月前 見積もりをお願いしてからあつという間に2か月が経ち、1か月前に生まれた中から分けてもらえるとの連絡と、待ちに待った見積書が届きました。

～4か月前 ここからは海外の企業と取引をする難しさを、身をもって経験することになりました。まず、分けてもらえるとしていた個体の輸入許可書の入手に時間がかかり、その間にハムスターは高齢になり、ファイティングをするようになるので出荷できない、次の出産を待ってくれ、と言われました。その2日後、ファイティング承知なら販売してもいいと言われました。その4日後、3匹を1箱で送るから大丈夫だ、と言われました。なぜか“本来は、雌は売ってないからな”みたいなことも言われました。こんなやり取りをしているうちに見積書の期限が切れてしまって再発行をお願いすることになりました。すると金額を確認している最中に連絡がとれなくなってしまいました。代理店に現地の代理店経由で連絡を取ってもらおうとしたのですがうまくいかず、状況把握ができないまま3週間近く四苦八苦していたところ、“やっと退院できたよ、参った参った(入院していたため連絡がつかなかったようです)”という連絡が来ました。色々言いたいことはありましたが、他に選択肢がない私たちにとっては取引を前に進めることが何よりも大切でした。

～3か月前 販売業者の対応に振り回されながらも、国内輸送の業者と話を進めるなど、輸入後の段取りを進めていた私たちの前に、追い打ちをかけるように別の問題が発生しました。すでに輸入する日程も決定し輸送業者の予約も済んでいたタイミングで、なぜか獣医師がサインを拒んでいて出荷できないらしい、という情報が入ってきました。状況把握をするために連絡をとろうとしましたが、結局この後1か月以上連絡が取れなくなりました。

～1か月前 この期間の販売代理店の方のご尽力がなければプロジェクトは中止していたと思います。粘り強く協議していただき、最終的には当初の出荷予定日から2か月以上経ってしまいましたが、出荷のためのサイ

ンをもらうことができました。ハムスターはすでに初老になって、その子供達が大きくなっていました。

～到着当日 結局、サインをもらった後でも出荷予定日の決定と出荷直前でのドタキャンを3回繰り返し(その度に輸送業者に謝り)、最後の最後まで気を抜けないまま、遂に念願のチャイニーズハムスターの卵巣を入手することに成功しました。輸送業者から無事に受け取り、目の前にある米粒大の組織片を見ながら、ここまでのよくわからないドタバタを乗り越え、遂に手に入れたという充足感があったことを覚えています。しかし、このプロジェクトが失敗の瀬戸際まで追い込まれた最悪の危機は、実はこの6日後でした。

組織到着後

～6日後 最初の5日間は事前の調査からイメージしていた通りに物事が進みました。培養容器の底に、組織切片から細胞が元気よく広がっていました。しかし6日目の朝、いつもどおり培養容器を観察したところ、昨日まで順調に拡大していたコロニーが、まるで破裂したかのような痕を残して一斉に消えていました。この現象は特定の個体由来の組織や培養容器に限ったものではなく、文字通りすべての培養容器で同時に起きました。理由がまったくわからない、このプロジェクトが失敗した時のさまざまな損失が頭をよぎり血の気が引く中、原因を調べる時間的・材料的余裕もない状況で何が最善手かを判断しなければなりませんでした。研究者としての経験値と勘が問われた瞬間でした。

～4か月後 チームの一人が、見間違いだったら悲しいという思いで喜びたい気持ちを抑えながら、無限増殖を開始したクローンが出現したことを報告してくれました。4か月前の細胞の突然死は、たまたま社内にあった培地の一つと相性が良かったようで、なんとか細胞が全滅することは免れることができました。そして突然死の原因も、この頃には大方掴めていました。本来動物は生合成酵素をもっている栄養素の一つが、今回購入したチャイニーズハムスターはいずれの個体も要求性になっていたようです。長い間、限られた環境で繁殖を行った影響があったのかもしれませんが、転んでもただでは起きぬと言うわけではありませんが、現在は、一時プロジェクトを失敗の瀬戸際まで追い込んだこの要求性を、目的遺伝子導入後の選抜マーカーとして利用するテーマにも取り組んでいます。

～18か月後 その後も大量の培養容器で根気よく培養を続け、15か月後までに7個体由来の組織から、サイズ・形状・倍加時間がさまざまな18株を樹立することに成功しました。この18株の抗体安定発現株を作製し、接着培養・ヘテロセルプールという条件で抗体生産



能力を評価したところ、5株が研究用として入手できるCHO細胞よりも高い値を示し、そのうち2株は抗体濃度で約10倍、比生産速度で約20倍、細胞増殖速度は同等という成績でした。もともと染色体工学を事業化するための出発原料として他社のライセンスに縛られないCHO細胞が必要と考え、樹立に着手した私たちにとって、この値はこれ以上を望めないほど良いものでした。さらに幸運なことに、抗体生産量が高かった2株のうち1株は浮遊化にも成功することができました。CHO細胞についてアドバイスを頂いている先生からは、低栄養な培養条件であることを差し引いて考えると結構いい株が樹立できたのでは、というコメントを頂け、これまでの苦勞が報われた思いになりました。

樹立後

現在は思いのほか性能の良い株が樹立できたこともあり、樹立当初の目的に加え、“他の発現系でうまくいかなかったからちょっとCHO細胞で試したい”という声

にできるだけ応える試みをしています。私たちも自分達で樹立したCHO細胞で抗体以外を発現させたときの実際の具合を知りたいというのがありますし、微力ながらお手伝いをすることで仮に研究が進むことがあれば、一研究者として純粋な喜びでもあります。

今回、『生物工学会誌』の「プロジェクト・バイオ」のコーナーへ細胞樹立のストーリーの執筆依頼を頂いたとき、プロジェクトの苦勞話としてはある程度のボリュームがあるとは思いましたが、これまで本稿に掲載された記事と比べて余りにも学術的内容が少なかったため、最初はお断りするつもりでいました。しかし、樹立に至るまで数々の先生から快くご助言を賜り、業者の方には大いに迷惑をかけ、それらがあつたからこそ樹立できたわけですから、この場を借りて元気に頑張っていることをお伝えすることが、感謝をお伝えすることにつながるのではと思い直し、末席を汚すことを自覚しつつ執筆させていただきました。