

再生医療にむけたiPS細胞の大量製造

堀口 一樹

2006年に樹立されて以降、人工多能性幹細胞（iPS細胞）は、その無限に増殖できる能力とさまざまな体細胞に分化できる能力から、再生医療や創薬スクリーニングなどへの応用が期待されてきた。実際、2014年に実施された滲出型加齢黄斑変性に対するiPS細胞由来の網膜色素上皮シートの移植を皮切りに、心筋シート移植、神経前駆細胞移植、血小板再生など、iPS細胞由来の細胞を用いたさまざまな臨床研究が進められている。

このようなiPS細胞由来の再生医療を実際に産業化させるためには、大量のiPS細胞を生産し、さらに対象の臓器細胞に分化・組織化して患者に移植するシステムの設計が必要である（図1）。Zweigerdtの試算によれば、心疾患を細胞移植によって治療するには患者一人当たり10–20億個の心筋細胞が、1型糖尿病の治療には患者一人当たり10億個近くの細胞が必要であると言われている¹⁾。研究室で一般的な、直径100 mmの細胞培養ディッシュを用いた培養法では、ディッシュ1枚あたりでおよそ数百万個の細胞が得られることを考慮すると、最低でもディッシュ1,000枚相当の細胞数の生産が求められる。さらに産業化にあたっては、ニーズに応じた細胞数を生産する必要がある。たとえば、前述の加齢黄斑変性の罹患者数は国内で約70万人と推定されており²⁾、このような要求を満たす数の細胞の生産が不可欠である。

細胞の大量培養は、バイオ医薬品などの生産を目的とし、広く行われている。しかし、再生医療においては、細胞そのものが製品であり、その品質は増殖・細胞死・代謝・分化などによって時間経過で変化していく。細胞の品質の変動を、許容できる範囲内に収めつつ、大量に培養できる系の設計が求められるため、従来の細胞生産物を対象にした生産プロセスとは異なる考え方が必要である。

大量培養には、高密度化・スケールアップが容易な浮遊懸濁培養がよく用いられる。iPS細胞も浮遊培養が可能であり、国内外で大量培養を見据えた浮遊培養系の構築に関

する研究が進められている³⁾。iPS細胞は単一細胞で浮遊状態に置かれるとアポトーシスを引き起こしてしまうため、数十個から数千個の細胞が寄り集まって形成される凝集体の状態での培養を行う。この状態では沈降速度が大きいため、浮遊状態を維持するために攪拌が必要である。一方で、iPS細胞は剪断応力に弱く、攪拌が強いと細胞死を引き起こしてしまう。また、iPS細胞は嫌気呼吸で代謝を賄っており、増殖時には大量のグルコースを消費し、乳酸を産生する。産生された乳酸はそれ自身の毒性やpHの低下によって、やはり細胞死を引き起こしてしまう。そのため、iPS細胞の大量培養においては、1)凝集体が沈まず、かつ剪断応力で細胞の増殖を阻害しない攪拌機能と、2)グルコースおよび増殖因子の供給と乳酸の除去を達成する培地交換機能とを備えたシステムの設計が必要である。

培養後には培養液を凍結保存液に交換し、およそ100万個～1億個ずつの細胞を0.5～2 mLのバイアルに分注し、急速冷凍または緩慢冷凍し、液体窒素中に保存する。この工程もまた十分な検討が必要である。たとえば前述の通り、細胞は時間経過で品質が変化するため、バイアルへの分注も迅速に行わなくてはならない。Kagihiroらの検討では、分注時間（凍結保存液に置換してから凍結開始までの時間）が長くなるほど、細胞の生存率は低下しており、8割以上の生存率を保つには、凍結保存液に置換してから1時間以内に凍結を開始する必要があることを示唆した⁴⁾。これはたとえば、10,000本のバイアルを1バッチで生産するためには、1秒にバイアル3本以上分注できる系が必要となることを意味する。

このように、再生医療に向けたiPS細胞の製造プロセスの構築は、時間経過で刻々と状態が変化する細胞そのものを製品とするという特性上、従来のバイオ医薬品などの生産とは異なる設計方針が必要となる。その設計には、生物学だけではなく、機械工学・熱力学・計算科学といった工学領域の貢献も不可欠であり、その役割はむしろ年々大きくなるものと予想される。

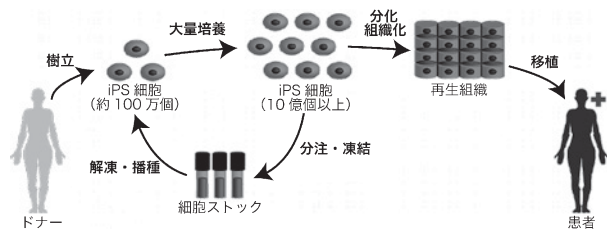


図1. iPS細胞を用いた再生医療のプロセスフロー概略

- 1) Zweigerdt, R.: *Adv. Biochem. Eng. Biotechnol.*, **114**, 201 (2008).
- 2) 安田美穂: *あたらしい眼科*, **26**, 25 (2009).
- 3) Kropp, C. et al.: *Process Biochem.*, **59** (2016).
- 4) Kagihiro, M. et al.: *Biochem. Eng. J.*, **131**, 31 (2018).