

インフルエンザワクチン産生用高密度細胞培養技術

育成研究：JSTイノベーションサテライト岩手 平成18年度採択課題
「インフルエンザワクチン産生に適した3D高密度細胞培養法の研究」

代表研究者：岩手医科大学・医学部・細菌学講座
教授 佐藤成大



■ 研究概要

インフルエンザウイルスの増殖に適した新規細胞（TR7細胞）の高密度培養法を開発した。TR7細胞はビーズ培養（接着培養）と浮遊細胞を同時に行うことが可能であり、この特長を生かし、三次元（3D）高密度培養方式によるインフルエンザワクチンの大量生産を可能にした。

■ 研究内容、研究成果

インフルエンザウイルスの蔓延を防止するために必要なワクチンを、迅速に、安定的に、かつ安価に供給することができる三次元（3D）高密度細胞培養法の開発を目的とした。この目的に適した新規細胞（TR7細胞）は独自の選別技術により得られている。細胞培養用担体として開発されたプロネクチン結合ビーズは、既製品よりも細胞増殖に優れていることが示された（図1）。また、TR7細胞は浮遊状態にも順応しており、プロネクチン結合ビーズを用いた場合には、接着細胞と浮遊細胞の同時培養が可能である。従って、培養系全体での細胞数を増加させ、効率よく高密度三次元（3D）培養法を達成することができた。

TR7細胞は、インフルエンザウイルス感染後に抗ウイルス性遺伝子（MX1）の発現低下（図2）やアポトーシス（細胞死）の遅延が認められ、ウイルスの増殖を促進する細胞内環境が認められた。また、共同研究企業が開発した合成培地がTR7細胞のウイルス産生に適していることが示された（図3）。細胞の安全性については、世界的な検査機関であるBioReliance社によって、無菌性が保証された。また、ヌードマウス皮下移植試験による造腫瘍性は、軽度であることが国内機関によって示された。

TR7細胞は鳥および豚インフルエンザウイルスに対しても感受性が高いことが明らかになり、TR7細胞を用いることにより高増殖性インフルエンザウイルスを得ることが容易であることが判明した（図4）。以上の結果から、TR7細胞は、細胞培養方式のワクチン産生に適しており、海外ワクチンメーカーも共同研究・共同開発に興味を示している。本研究の成果に関する特許出願を行った。（平成22年3月出願）

■ 今後の展開、将来の展望

最終的なインフルエンザワクチンの実用化までには、培養のスケールアップに加え、細胞培養法により産生されたウイルスの精製法と定量法の開発が必要である。また、接種量の決定と免疫効果判定についても、今後いくつかの課題を解決しなければならない。今後、平成24年の実用化を目指して、国内企業とワクチンの精製技術の共同開発、ウイルスの定量法の確立、接種量の確定を行う計画である。また、臨床試験についてはワクチンメーカーが主導的に行うことを予定している。

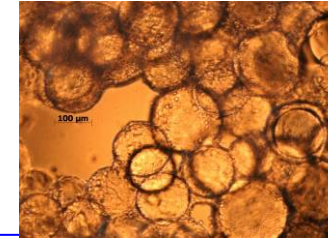


図1 マイクロキャリアー培養によるTR7細胞の増殖

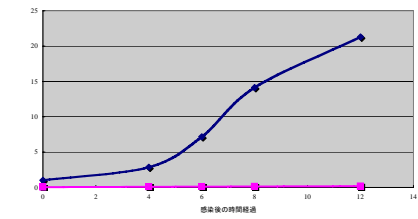


図2 TR7細胞におけるMX1遺伝子の発現低下

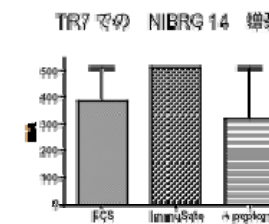


図3 各種培養液によるH5型インフルエンザワクチン株の増殖

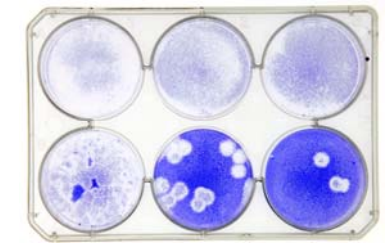


図4 プラークアッセイによる高増殖性株の選択

■ 研究体制

- ◆ 代表研究者
岩手医科大学医学部・細菌学講座 教授 佐藤成大
- ◆ 研究者
（独）科学技術振興機構 鈴木浩史
（独）科学技術振興機構 朴京玉
岩手医科大学細菌学講座 堤玲子
岩手医科大学細菌学講座 峯岸大輔
岩手医科大学細菌学講座 Ivo Novita Sahbandar
（株）エーシーバイオ 石塚保行
三洋化成工業（株） 黒川祐人
- ◆ 共同研究機関
共同研究企業名：（株）エーシーバイオテクノロジーズ、フューテック（株）、三洋化成工業（株）、
（株）細胞科学研究所

■ 研究期間

平成19年4月 ～ 平成22年3月