

研究課題別中間評価結果

1. 研究課題名：網膜細胞移植医療に用いるヒトiPS細胞から移植細胞への分化誘導に係わる工程および品質管理技術の開発

2. プロジェクトマネージャー：紀ノ岡 正博（大阪大学大学院工学研究科 教授）

3. 研究概要

将来、iPS細胞を用いた種々の疾患への適用を実現するため、「ヒトiPS未分化維持大量培養の効率化に関する研究」にて、細胞の大量調製を試みる。低コストの大量調製を、次に掲げる5つの主な技術構築およびそれらの統合により実現する。5つの技術としては、製造設備の省スペースを目指した「立体的に培養する」技術、新鮮培地の削減を目指した「細胞密度を保つ」技術、サイトカインなどの付加価値の高い培地成分の最小使用を目指した「培地を再利用する」技術、細胞数増大に伴うスケールアップを実現する「継代操作を省く」技術、最終的な未分化細胞の収率向上を目指した「未分化を維持する」技術が挙げられる。それぞれに対応して、「立体的な（懸濁）培養により高密度化を行い、省スペース化を目指す」、「細胞密度が一定となるよう培地を流加（流加培養）し、新鮮培地量を削減する」、「老廃物の除去と消費成分の添加することで廃棄培地量を減らす」「培養中に細胞集塊を適度に分割し継代操作を省く（単培養）」、「培養中に細胞集塊内で脱未分化を防ぐ」ことで実現を目指す。

4. 評価結果

（1）研究開発の進捗状況と今後の見込み

ヒトiPS細胞の懸濁培養技術を確立するため、96ウェルVボトムプレートを用いた単一集塊形成により、集塊当たりの初期細胞数や培養期間が増殖に与える影響を解析した。この解析から、Vボトムプレートを用いた自然沈降による早期集塊形成によってアポトーシスを阻害できるとともに、遠心プロセスでより高いアポトーシス阻害が期待出来ることを明らかにした。また、集塊形成プロセス全体を機械化することで、より大量に均一な集塊を作成することが可能となった。

さらに、谷口グループで開発したディンプル膜を用いることで、マイクロフレイディクス技術を応用したパッシブに培地交換可能なデバイスを設計・試作し、その効果を確認した。

一方、細胞密度データに関しては、整理集積された画像データおよび免疫染色データから画像データの相関分析を行い、画像から得られるシグナルデータの意味の解釈および、非破壊細胞品質予測に向けて重要な画像内情報に関しての絞り込みを行った。その結果、ZO-1と非常に高い相関を示す指標が確認され、明視野画像から得られる指標の情報だけをモニタリングすればその際のZO-1の染色度を定量予測することが可能となった。

（２）研究開発成果の現状と今後の見込み

大量培養に向け、複数の企業の特徴を生かした緻密な技術改良を重ねており、個々の要素技術についてはすばらしい成果が得られている。また、継代操作、細胞集塊操作などを含む工程は完成しつつあり、全体の培養装置設計も順調に進んでいる。次年度中には、マルチディンプル式培養皿と新規の培地交換システムを用い、単位培地容積当たりの細胞密度を増やした単集塊培養技術 超大量懸濁培養可能な培養システムの構築が可能になるものと期待される。

（３）競合技術、社会情勢との比較

大面積での培養を可能にする技術についても日々進歩は認められるが、平面培養の細胞濃度が飛躍的に上昇し、懸濁培養と競合する技術となりえる可能性は低いと考えられる。本研究開発で取り組んでいる懸濁培養法では、単位培地容積当たりの細胞密度を増やすことで培地コストの低減が高いレベルで見込まれるとともに、区切られた区画の中でそれぞれの単集塊が増殖を行うため、集塊同士の合一の心配がないなど、新しい利点を有する点で画期的である。

（４）課題間での情報共有の活用状況と今後の見込み

大量培養システムに関しては、紀ノ岡グループの研究分担企業と谷口グループ協力企業とが共同開発によりヒト肝芽用三次元培養用ベッセルの開発に着手するなど、自動培養装置システム開発に向けた共同研究が加速されており、この点は高く評価できる。今後は、情報共有はもちろんのこと、実際のユニットの供給を視野に研究開発を継続して進めて欲しい。

（５）総合評価

本研究開発課題の大量培養システムについては、個別技術の研究開発は順調に進んでいる。今後は、「高密度・大量集塊の臓器培養」に的を絞ってシステム化を目指すことを望む。以上の結果から、総合評価をAとする。