

2014年2月6日

報道関係者各位

慶應義塾大学医学部
味の素株式会社

未分化ヒト iPS 細胞の安価かつ高性能の大量培養培地の開発に成功

- iPS 細胞を用いた再生医療の実現化に向けて -

心筋梗塞、拡張型心筋症（注1）などの重症心不全では、数億個もの心筋細胞が失われていますが、ヒトは失われた心筋細胞を元に戻す自己再生能力がありません。このため、幹細胞から心筋細胞を再生し、これを患者の心臓に移植する再生医療が注目されています。胚性幹細胞（ES細胞）（注2）や人工多能性幹細胞（iPS細胞）（注3）は、神経細胞や心筋細胞などあらゆる細胞種へと分化できる能力を持つことから、再生医療の細胞源として期待されています。しかし、iPS細胞の多分化能を維持しつつ培養するには繊細な注意が必要であるとともに、維持培養液の品質にも通常の癌細胞や正常細胞用の培養液とは比較にならないほど高品質な性能が求められます。これまでヒトES、iPS細胞用として販売されていた培養液はどれも極めて高価であり、大量の細胞培養を必要とする心臓等の再生医療では、臨床応用への大きな障害となっていました。また、多額の日本のiPS細胞研究費が海外メーカーが作製した培養液へと費やされてきました。我が国ではiPS細胞を用いた難治性疾患治療への挑戦がAll JapanのProjectとして進められていますが、ヒトiPS細胞を用いた臨床応用を普及させるためには、基礎研究から臨床応用に至るまで幅広く活用できる実践的な培養液の開発が必須となっています。

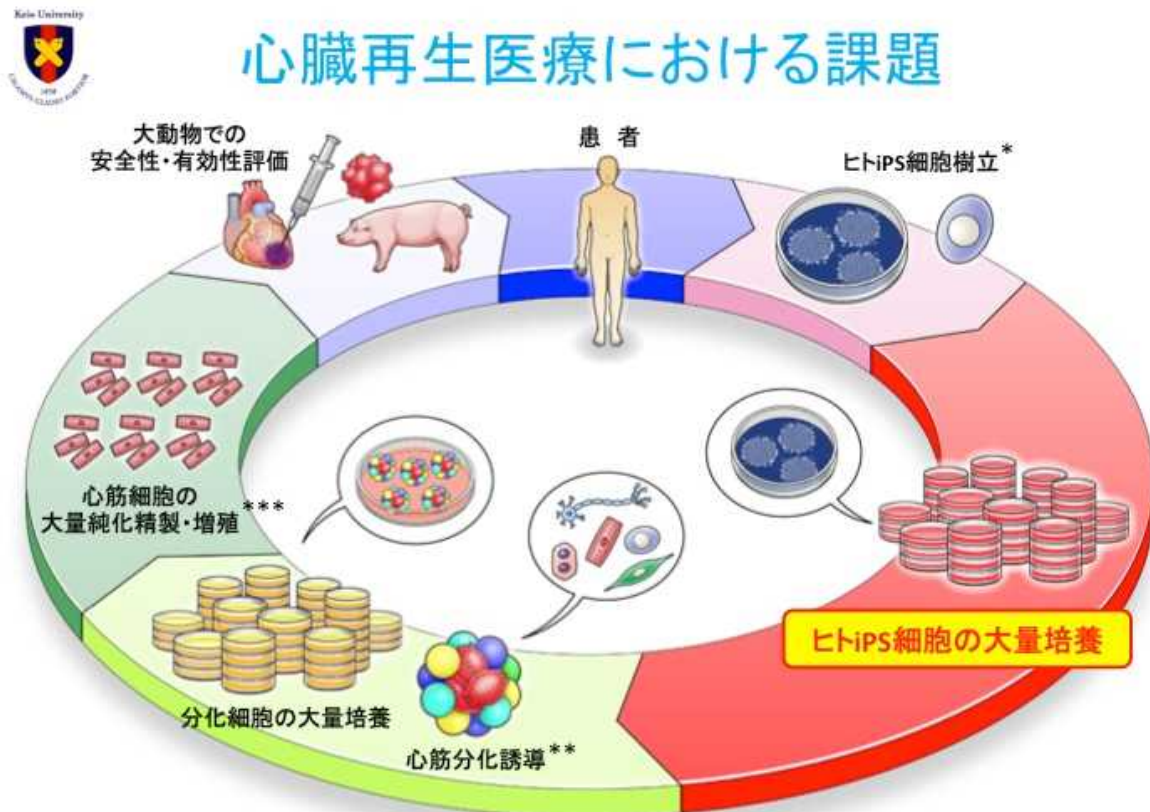
今回、慶應義塾大学医学部循環器内科の福田恵一教授、藤田淳特任講師、遠山周吾助教らおよび味の素株式会社（本社：東京都中央区、社長：伊藤雅俊）の岡元訓主任研究員らの研究グループは、未分化iPS細胞を安価に大量培養するための汎用培地の開発に成功しました。iPS細胞の未分化維持や増殖に必要な栄養素を詳細に解析することにより、必須な成分と不要な成分を明らかにしました。この結果から、培養液の必須成分および有用な成分のみを巧みに組み合わせることで高品質な培養液の作製に成功しました。また、製造の上で高コストとなる原因を究明し、さらに低コストで効率的に培養が出来る方法を考案し、低価格化を実現しました。この培養液を用いることにより、iPS細胞を用いた再生医療の基礎研究と臨床応用が強く推進されるものと考えます。

本研究は、独立行政法人 科学技術振興機構 再生医療実現拠点ネットワークプログラム「再生医療の実現化ハイウェイ」等の助成によって行われました。

1. 研究の背景

ヒト iPS 細胞は、あらゆる細胞に分化出来る能力（多分化能）を持っています。しかし、その一方でこの能力を完全に保ちながら iPS 細胞を大量に増殖させることは実は難しいとされています。培養条件に問題がある場合には iPS 細胞はその能力を失ってしまい、目的の細胞へと分化させることができなくなります。細胞の培養は培養液という細胞の生存にとって重要な栄養素を含む液体中で行いますが、その必要成分は細胞の種類によって大きく異なっています。ヒト iPS 細胞を培養するには専用の特殊培養液を使用することが必要ですが、国内外より販売されている培養液は極めて高価であるため、大量の再生細胞を移植することが必要とされる場合（例えば、心筋細胞など）にはコスト面で大きな障害となっていました。

成人の心臓は 1×10^9 個から 10^{10} 個の心筋細胞からできています。難治性重症心不全を治療するには 1×10^8 個から 1×10^9 個の心筋細胞を移植する必要があります。慶應義塾大学医学部が取り組んでいる再生心筋細胞移植による重症心不全治療を行う場合、大量の細胞を生産する必要があるため、実用化のためには可能な限り培養液のコストを下げる必要があります（図 1）。そこで慶應義塾大学医学部と味の素株式会社は共同で、iPS 細胞の多分化能の維持に優れ、かつ増殖能の良い高性能培地を低コストで作製することに数年前から取り組んできました。慶應義塾大学医学部が提供した高品質の iPS 細胞株、培養技術、未分化性評価法、細胞代謝解析技術に加えて味の素株式会社の培地解析に関するノウハウを併せ、高機能と低コストの両者を兼ね備えた培地の作製を目指して研究を行いました。



* Seki et al. Cell Stem Cell 2010, ** Yuasa et al. Nature Biotechnology 2005

*** Tohyama et al. Cell Stem Cell 2013, Hattori et al. Nat Methods 2010, Shimoji et al. Cell Stem Cell 2010

図 1 iPS 細胞を用いた心疾患の再生医療には大量の分化心筋細胞が必要とされる。

2. 研究成果

まず、本研究グループは共同で、無血清培地（動物由来の成分を含まない培地）にどのような栄養素や細胞増殖因子等を添加することにより、iPS 細胞が未分化能を安定して維持しながら、効率よく増殖することが出来るかを研究しました。そして、ヒト iPS 細胞が必要とする培養液の栄養素（アミノ酸、ミネラル、ビタミン、糖、脂肪、成長因子）を科学的に精密に分析し、組成を最適化した培地を解明しました。さらに、各栄養素がどれだけの量が必要であり、コストがどれくらいかかるのかを詳細に解析しました。一部に高価な栄養素が含まれるためコストを押し上げており、特にコスト低減化の最も重要な点は培地中のどの栄養素であるかを検討しました。こうした基盤研究をもとに、iPS 細胞の維持培養に必須の成分を組み合わせた最適培養液を完成させ、約1年前より試験培養を開始しました（図2）。培養に必須な成分のみを組み合わせ、高コスト因子の低コスト化や代替因子への置き換えを行うことにより、既存の未分化 iPS 細胞用培地の 1/3 の製造コストで生産することを可能にしました。この培養液を用いて既存の高価な iPS 細胞用培地と比較しても、ヒト iPS 細胞の未分化状態を維持しながらフィーダー細胞（注4）の有無に関わらず、効率的に維持培養できることを確認しました（図3）。



ヒトiPS細胞大量培養用培地の作製

味の素株式会社との共同開発

味の素株式会社
AJINOMOTO



- ヒトiPS細胞にとって**必要な栄養素を厳選**
- 高コストな成分を**低コストで同様の機能を有する成分**に置き換える

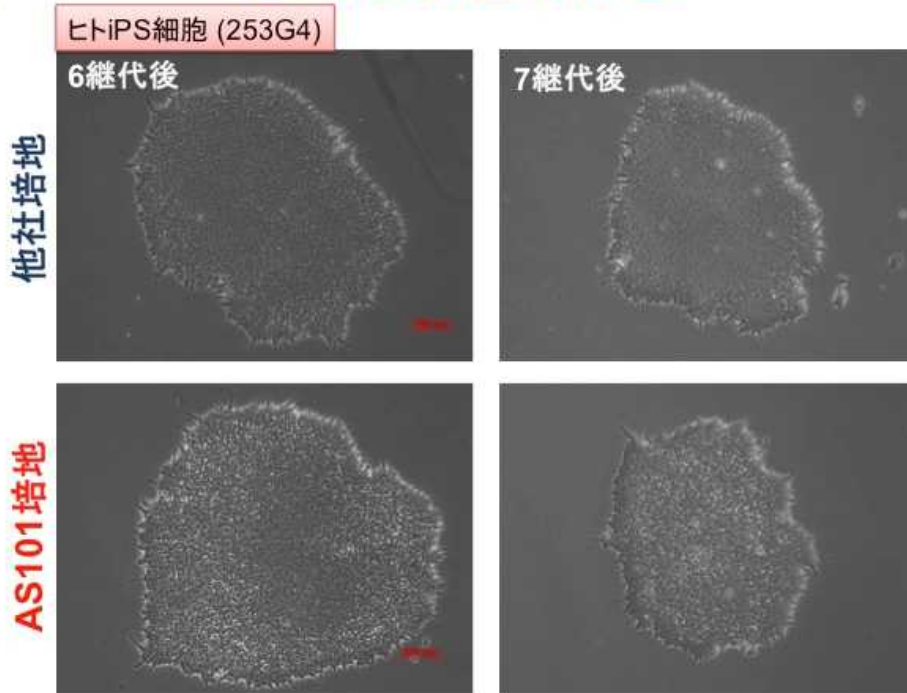
※詳細は味の素株式会社より報告

安価かつ高性能の培養液作製に成功！

図2 未分化 iPS 細胞に必須な栄養素を解析し、汎用大量培養液の開発に成功した。



ヒトiPS細胞の形態



※他社培地にはウシ血清由来のアルブミンを使用。AS101培地はヒト血清由来のアルブミンを使用。

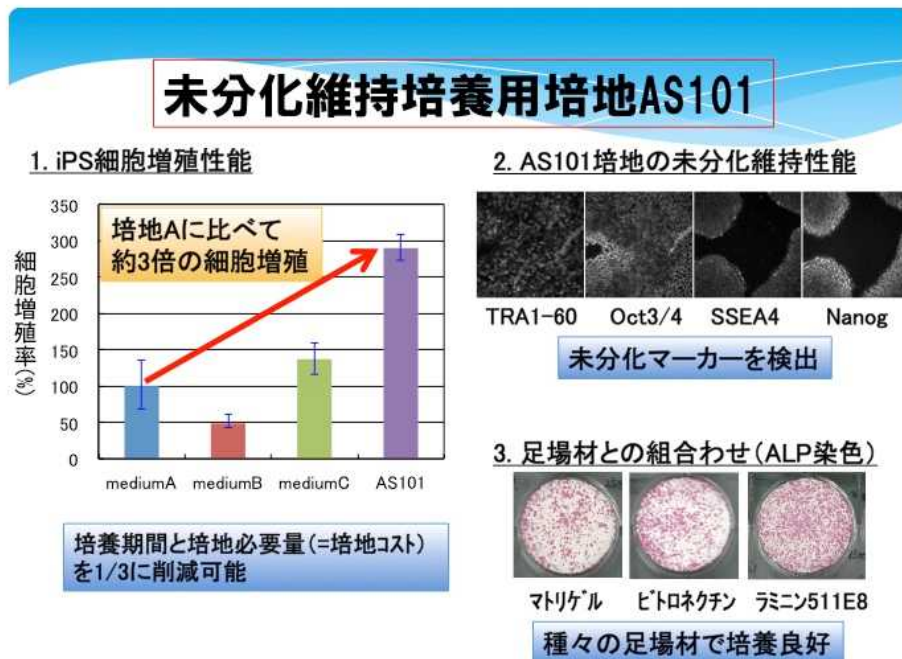


図3 慶應義塾大学医学部と味の素株式会社で共同開発したAS101培地を用いてヒトiPS細胞を培養し、未分化維持を確認した。

また、ヒト iPS 細胞の細胞株を増やしてどのタイプのヒト iPS 細胞に対しても有効であるかを
確認しました。さらに現在、培地中の栄養成分の種類、量、濃度を調整し、有効成分を添加する
ことで増殖率、未分化状態の維持の安定化等を解析し、培養液のさらなる最適化を目指していま
す。培地中の様々な**栄養成分**を iPS 細胞に届ける**有望な新規物質も開発中**で、これを培地中に組
み合わせた場合、再生医療に必要な iPS 細胞の培養コストは更に改善されることが期待されます
(図 4)。

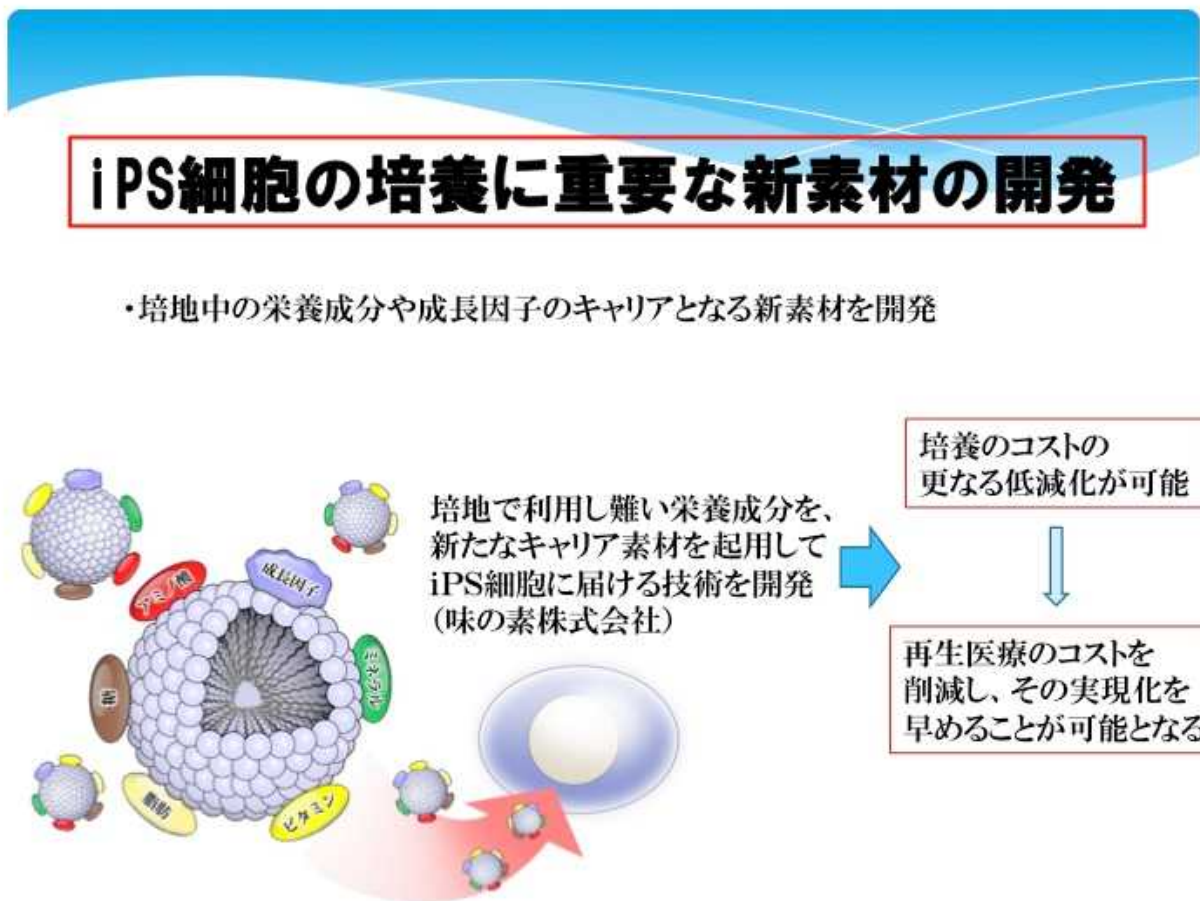


図 4 新規キャリア素材を起用して iPS 細胞に栄養成分を届ける技術を開発している。

3. 今後の展開

今回の iPS 細胞の大量培養に利用出来る高性能安価培地の開発により、国内外での iPS 細胞研
究が大きく促進されるものと期待されます。また、心筋等の大量の細胞を必要とする再生医療で
は大量の培養液が必要であり、本培地の開発は臨床応用を促進する上で必須の条件でした。今回
の成果は、我々が目指す iPS 細胞を用いた重症心不全の再生医療の具現化に大きな一歩をもたら
すものと考えており、さらなる技術開発に繋げて行きたいと思えます。

4. 本研究への支援

本研究は、下記機関より支援を受けて実施されました。

- ・独立行政法人 科学技術振興機構 再生医療実現拠点ネットワークプログラム
「再生医療の実現化ハイウェイ」

<用語解説>

注1：拡張型心筋症

心筋細胞の異常により心筋細胞が失われ、心室の筋肉の収縮能が著しく低下し、心臓が拡張する疾患。心臓移植の適応疾患の一つ。

注2：胚性幹細胞（ES細胞：embryonic stem cell）

ES細胞は受精後6、7日目の胚盤胞から細胞を取り出し、それを培養することによって作製される多能性幹細胞の一つで、あらゆる組織の細胞に分化することができる。

注3：人工多能性幹細胞（iPS細胞：induced pluripotent stem cell）

体細胞に特定因子を導入することにより樹立される、ES細胞に類似した多能性幹細胞。2006年に京都大学山中教授の研究グループにより世界で初めてマウス体細胞を用いて樹立された。受精卵を破壊する必要がなく、患者自身の細胞から作製することが可能なため、免疫拒絶の問題が理論上無い。

注4：フィーダー細胞

ES、iPS細胞を培養する際に培養条件を整えるために基質となる線維芽細胞。マウスの胎児由来の線維芽細胞が用いられることが多い。

ご取材の際には、事前に下記までご一報くださいますようお願い申し上げます。

【本発表資料のお問い合わせ先】

慶應義塾大学医学部循環器内科
福田恵一（ふくだけいいち）教授
TEL:03-5363-3874 FAX 03-5356-3875
E-mail: kfukuda@a2.keio.jp

【本リリースの発信元】

慶應義塾大学信濃町キャンパス総務課:富田
〒160-8582 東京都新宿区信濃町35
TEL 03-5363-3611 FAX 03-5363-3612
E-mail: med-koho@adst.keio.ac.jp
<http://www.med.keio.ac.jp/>