
今日の医学

再生医療の細胞製造における上流工程に関する概説

永井寛之^{1, 2)}, 高見太郎³⁾

山口大学大学院医学系研究科 保健学専攻¹⁾ 宇部市南小串1丁目1-1 (〒755-8505)

澁谷工業株式会社 再生医療システム本部²⁾ 金沢市大豆田本町甲58 (〒920-8681)

山口大学大学院医学系研究科 消化器内科学³⁾ 宇部市南小串1丁目1-1 (〒755-8505)

Key words : 再生医療, 再生医療等製品, 製造, 細胞培養技術, 商業化

和文抄録

日本の再生医療は、過去10年に渡り、臨床研究や商業化の動きが活発化し、大きな成長を遂げてきた。今後さらに成長するには、市場の形成や再生医療等製品の低コスト化・品質の安定化が求められる。そして、それらを達成するには細胞を製造する人材の育成や製造技術基盤の確立が必要である。そこで本稿では、再生医療等製品の製造工程を概説し、製造工程のうち上流工程にあたる細胞の拡大培養技術に焦点をあて、代表的な培養技術（平面培養法、攪拌型バイオリアクター、固定床バイオリアクター）の特徴を紹介する。また、研究開発の段階において、複数の拡大培養技術の中から一つを選択し、開発方針を決定することは重要な課題である。そこで、各培養技術を一連の製造工程に当てはめ、シミュレーションを行い、製造原価を算出した。導いた結果をもとに、細胞が製品となる製造に適した上流工程について考察した。

1. はじめに

失われた組織や臓器を修復・再生する再生医療は、ここ10年に渡り、大きな成長を遂げてきた。2012年、人工多能性幹細胞（induced Pluripotent Stem cell : iPS細胞）を樹立した京都大学 山中伸弥

教授に対して、ノーベル医学・生理学賞が贈られ、その後、日本で再生医療の実用化を進める動きが活発化した。2014年、「再生医療の安全性の確保等に関する法律（再生医療等安全性確保法）」と「医薬品、医療機器等の品質、有効性及び安全性の確保等に関する法律（薬機法）」の2つの法律が施行され、再生医療を迅速に国民に提供するための法整備が進んだ。法律の整備とともに、大学の研究機関や企業で臨床研究や実用化に向けた技術開発が進んだ。また文部科学省・厚生労働省・経済産業省が連携した国立研究開発法人日本医療研究開発機構（AMED）により、再生医療の基礎研究から実用化までの研究開発が円滑に進むように大きな後押しがあった。その結果、iPS細胞を細胞源とする網膜色素上皮細胞シートの移植や再生医療用iPS細胞のストックプロジェクトなど、世界初の試みが次々となされてきた^{1, 2)}。それと並行し、毎年のように、新しい再生医療等製品が誕生し、2023年1月現在、承認された製品は17品目にのぼる（表1）³⁾。温度応答性培養皿によりシート状に加工された細胞シート、遺伝子改変技術によりがん細胞への攻撃性を強めたキメラ抗原受容体T細胞（CAR-T細胞）、抗炎症性作用や組織修復を行う間葉系幹細胞等、様々な製品がある。骨髄由来間葉系幹細胞から構成させる治療薬テムセルHS注（JCRファーマ（株））が、急性移植片対宿主病（急性GVHD）に対して使用された症例数は、2017年、100症例を満たなかったが、年々、使用件数は伸び、2021年度には882症例に達した（図1）⁴⁾。

今後も需要は伸びるだろうと予想され、大量製造に向けた製造施設の拡充や製造工程の変更が行われると思われる。

2022年5月、文部科学省・厚生労働省・経済産業省・アカデミアや産業界の各代表者が集まった「再生・細胞医療・遺伝子治療開発協議会」において、今後の再生医療の取り組みの方向性が報告された⁵⁾。目的の遺伝子を投入した遺伝子治療薬を使用するin-vivo遺伝子治療、CAR-T細胞を使用したex-vivo遺伝子治療、次いで、間葉系幹細胞を使用した細胞移植治療が市場を形成しつつあり、成長期の段階に差し掛かっている。臨床でこれらの治療法の安全性・有効性が証明されてきており、研究開発から市場への橋渡しが重要な段階である。その橋渡しを円滑に行う為の課題の一つとして、製造人材の育成や製造技術基盤の確立が挙げられた。現在の製造現場では、培養プロセス研究、スケールアップ/製造を担う人材が不足している。これまでの製品開発の流れとして、アカデミアで行われた研究からバイオベンチャー・企業へ技術が移管され、治験がPhase I, Phase II, Phase IIIへと移行するに伴って登録症例数は増加する為、生産規模を拡大していく必要があった。また、生産規模の拡大に合わせて、細胞

培養をスケールアップする必要があるものの、製品の同等性・同質性が担保できず、開発がストップするケースがある。加えて、製造手順の大きな変更は容易でない。その為、研究開発の段階から、治療法や対象疾患の市場規模、将来的な商業製品のイメージを意識しながら、研究開発を進めることが望ましい。そこで本稿では、その課題に対する一助となるべく、細胞の製造工程の概要を説明する。次に、製造工程のうち、細胞を拡大培養する上流工程に着目

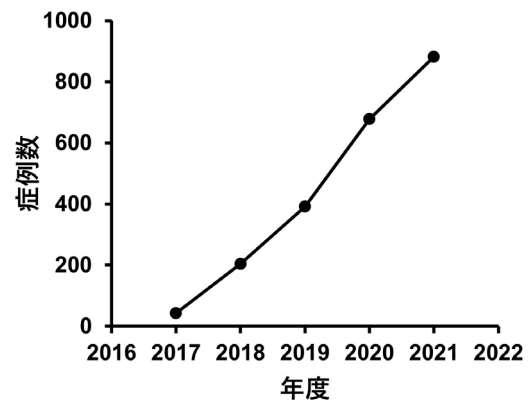


図1 テムセルHS注を使用した症例数の推移 (日本造血細胞移植データセンター/日本造血細胞移植学会。日本における造血細胞移植。2017-2021年度 全国調査報告書より引用)

表1 承認された再生医療等製品 (2023年1月 参照)

No	製品名 (承認された年)	一般的名称	製造販売業者	対象疾患
1	ジェイス (2007)	ヒト (自家) 表皮由来細胞シート	(株) ジャパン・テイク・エジニアグ	重症熱傷、先天性巨大色素性母斑、栄養障害型表皮水疱症及び接合部型表皮水疱症
2	ジャック (2012)	ヒト (自家) 軟骨由来組織	(株) ジャパン・テイク・エジニアグ	膝関節における外傷性軟骨欠損症又は離断性軟骨軟骨炎
3	テムセル®HS注 (2015)	ヒト (他家) 骨髄由来間葉系幹細胞	JCRファーマ (株)	造血幹細胞移植後の急性移植片対宿主病
4	ハートシート (2015※)	ヒト (自家) 骨格筋由来細胞シート	テルモ (株)	虚血性心疾患による重症心不全
5	ステミラック®注 (2018※)	ヒト (自家) 骨髄由来間葉系幹細胞	ニプロ (株)	脊髄損傷に伴う神経症候及び機能障害
6	キムリア点滴静注 (2019)	ヒト (自家) キメラ抗原受容体T細胞	バルビファーマ (株)	B細胞性急性リンパ芽球性白血病、びまん性大細胞型B細胞リンパ腫
7	コラジエン筋注用4mg (2019※)	プラスミドベクター	アンジェス (株)	慢性動脈閉塞症 (閉塞性動脈硬化症及びパーヴァー病)
8	ゾルゲンスマ点滴静注 (2020)	ウイルスベクター	バルビファーマ (株)	脊髄性筋萎縮症
9	ネビック (2020)	ヒト (自家) 角膜縁部由来角膜上皮細胞シート	(株) ジャパン・テイク・エジニアグ	角膜上皮幹細胞疲弊症
10	イエスカルタ点滴静注 (2021)	ヒト (自家) キメラ抗原受容体T細胞	第一三共 (株)	びまん性大細胞型B細胞リンパ腫、原発性縦隔大細胞型B細胞リンパ腫、形質転換濾胞性リンパ腫、高悪性度B細胞リンパ腫
11	ブレヤンジ静注 (2021)	ヒト (自家) キメラ抗原受容体T細胞	ブリスト・マーズ スカイ (株)	再発又は難治性の大細胞型B細胞リンパ腫、再発又は難治性の濾胞性リンパ腫
12	オキュラル (2021)	ヒト (自家) 口腔粘膜由来上皮細胞シート	(株) ジャパン・テイク・エジニアグ	角膜上皮幹細胞疲弊症
13	デリタクト注 (2021※)	遺伝子組み換えウイルス	第一三共 (株)	悪性神経膠腫
14	アロフィセル注 (2021)	ヒト (他家) 脂肪由来幹細胞	武田薬品工業 (株)	複雑痔瘻
15	サクラシー (2022)	ヒト (自家) 口腔粘膜由来上皮細胞シート	ひろさきし (株)	角膜上皮幹細胞疲弊症
16	アベクマ点滴静注 (2022)	ヒト (自家) キメラ抗原受容体T細胞	ブリスト・マーズ スカイ (株)	再発又は難治性の多発性骨髄腫
17	カービクティ点滴静注 (2022)	ヒト (自家) キメラ抗原受容体T細胞	ヤセファーマ (株)	再発又は難治性の多発性骨髄腫

※条件および期限付き承認

し培養技術を紹介する。さらに、各培養技術を一連の製造工程に当てはめ、商業生産の段階で重要である製造原価に関して評価した結果を報告する。その結果をもとに、細胞が製品となる製造に適した上流工程について考察する。

2. 再生医療等製品の製造工程について

再生医療等製品の製造工程は、製品の特長（原料が自己由来細胞か他家由来細胞か、遺伝子導入を行うか、最終製品の形態はシート状か細胞懸濁液か）により、様々である。ここでは説明を簡略化するため、間葉系幹細胞 (Mesenchymal stem/stromal cell) を例として、自家移植療法と他家移植療法、それぞれの製造工程の概要を説明する (図2)^{6, 7)}。間葉系幹細胞は免疫寛容能を持つことが明らかになっており、他家移植療法での活用例が増えてきた⁸⁾。全体の大まかな工程の流れとして、原料の入手から始まり、上流工程、下流工程、製品形態、保存、品質検査、輸送の順に進む。自家移植療法の場合、原料の入手は、患者自身の組織（骨髄液、脂肪組織など）を病院での採取から、スタートする。採取された組

織は、病院から製造施設に搬送後、クリーンルームなどの無菌環境を管理した部屋で、組織中の目的の細胞を分離し、培養容器に播種する。培養容器に接着した細胞を増殖させ、新しい培養容器に継代し、治療に必要な細胞数まで拡大培養する。これらの組織からの細胞分離や拡大培養工程までの工程を一般的に上流工程と呼ぶ。次に、必要量まで増やした細胞を容器からトリプシン等の剥離試薬で剥離し、細胞を回収する。培養時に使用された培養液や剥離試薬が、人体に影響しないレベルまで低減されるように洗浄工程を行う。その後、遠心分離等で細胞を濃縮し、冷凍保管用の凍結剤に置換する。これらの、細胞の回収から凍結剤への置換までの工程を、一般的に下流工程という。下流工程の後、凍結剤に置換した細胞懸濁液を製品専用のバックやバイアル等に充填し、冷凍保管する。冷凍保管の間、製品の一部に対して、無菌試験、マイコプラズマ否定試験等の品質検査を行い、製品規格を満たすことを確認する。合格した製品は、製造施設から病院に出荷され、患者本人に移植される。

次に、他家移植療法の製造工程について説明する。自家移植療法との違いとして、最初の原料の

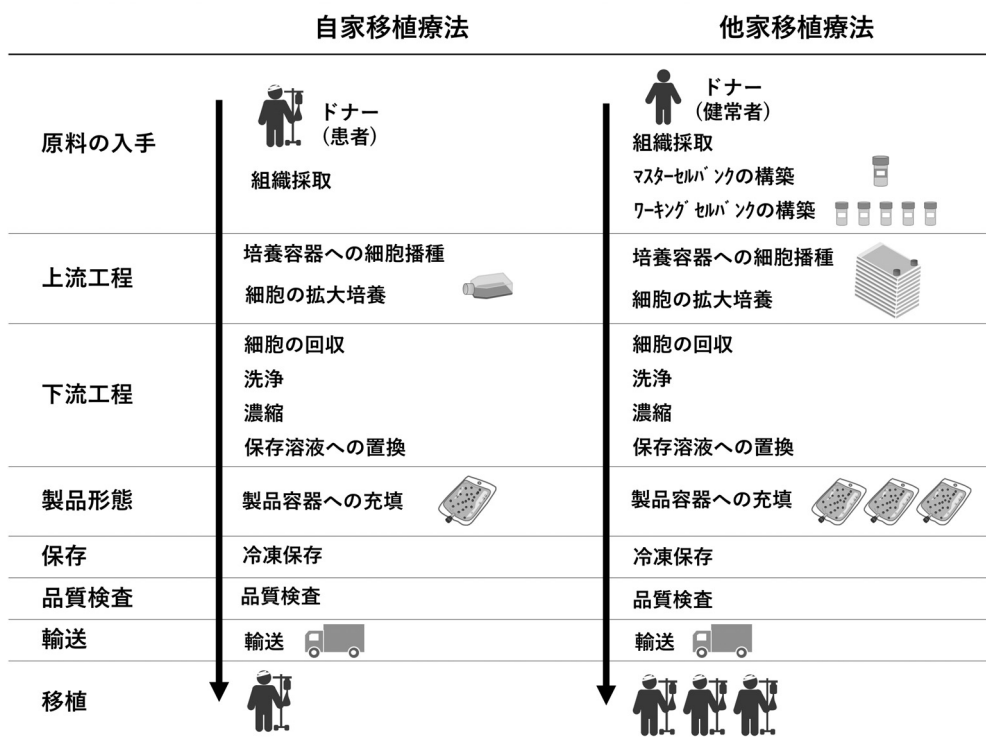


図2 間葉系幹細胞から構成される再生医療等製品の製造工程

入手の詳細が異なる。原料の入手は、ドナースクリーニングを行った健常者から組織を採取する。その後、採取した組織は製造施設に運ばれ、そこで、マスターセルバンク・ワーキングセルバンクを構築する。マスターセルバンクは採取した組織から分離した細胞を凍結保存し、ワーキングセルバンクはマスターセルバンクの一部を解凍し、増殖させた細胞を凍結保存する。ワーキングセルバンクとマスターセルバンクを構築していくことで、需要に応じて、製造開始のタイミングを調整でき、製品の安定供給に繋がる。

その他にも、自家移植療法と他家移植療法を比較すると異なる点は多々あるが、ここでは、上流工程に焦点を当て、説明する。まず、両者では生産規模が大きく異なり、扱う培養容器や使用する設備・機器が異なる。自家移植療法の場合、1回の製造で 10^7 - 10^8 個の細胞を培養し、1患者分の製品を製造する。この生産規模では、研究室でも使用されている培養容器や、顕微鏡・インキュベータ等の設備・機器でも製造可能である。他家移植療法の場合、1回の製造で 10^8 - 10^{10} 個の細胞を培養し、複数の患者分の製品が製造される。このスケールでは、大型の培養容器、又は大型のバイオリクターを使った製造が行われ、それに合わせ、周辺機器も変わってくる。

3. 上流工程における拡大培養技術

上流工程における培養技術として、様々な方法が開発されてきた。ここでは、間葉系幹細胞のような接着細胞の拡大培養を目的とした代表的な技術、平面培養法、攪拌型バイオリクター、固定床バイオリクターを紹介する。各培養法の特徴と注意すべき点を述べる⁹⁻¹⁰⁾。

3-1. 平面培養法

シャーレやフラスコ等を用いた平面培養法は、最も古典的で、多くの研究室・製造施設で使用されている(図3(A))。培養する細胞数が大きくなるにつれて、培養容器を大きくする(スケールアップ)、又は、培養容器の個数を増やすことで(スケールアウト)、ケースに応じて柔軟な培養作業が可能である。容器形状は、メーカーの努力により、人の作業性が向上するように改良されてきた。細胞が接着する培養容器の表面は、親水性、疎水性、正電荷・負電荷、蛋白質コートなどの様々な表面処理が施されており、目的の細胞に合わせ、最適化が可能である。自家移植療法で扱う培養スケール(10^7 - 10^8 個)では、必要な周辺機器として、安全キャビネット、CO₂インキュベータ、光学顕微鏡、冷蔵庫などの比較的、初期費用が少ない設備で運用できる。他家移植療法で扱うような大きい培養スケール(10^9 - 10^{10}

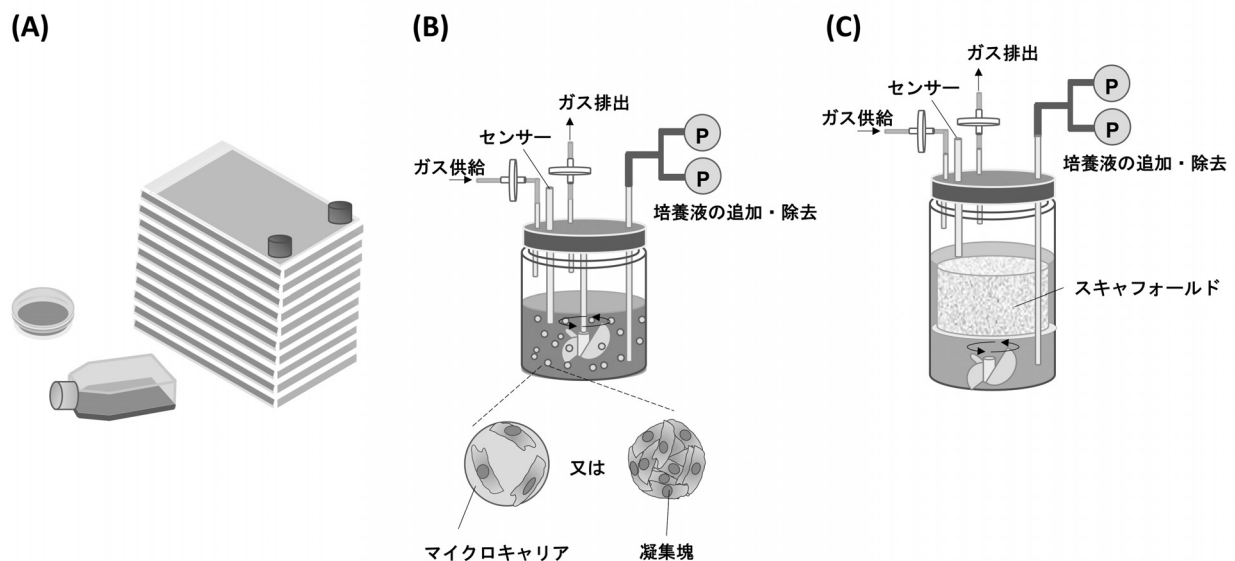


図3 細胞製造の上流工程における拡大培養技術
(A) 平面培養法, (B) 攪拌型バイオリクター, (C) 固定床バイオリクター。

個)では、大型培養容器(例えば、Corning社40段セルスタック、ハイパースタック、Thermo Fisher Scientific社40段セルファクトリー)が使用されるが、安全キャビネット内での操作が困難になる。その場合、専用のマニピレータや顕微鏡を使用する必要がある。さらに、培養液の供給・排出は無菌コネクタを使って、培地が入ったバックと連結し、培養液の置換を行う。

平面培養法の培養作業における不安材料として、蓋の開閉作業を頻繁に行う為、汚染リスクが比較的高い。さらに、培養容器はCO₂インキュベータ内に静置し、培養液の攪拌やガスの供給・排出を積極的に行わない為、培養環境(温度・pH、酸素、栄養素、代謝物)が不均一になりやすい。その結果、容器内で細胞が不均一に増殖するなど、容器が大型になればなるほど、その傾向は強くなる。対策として、容器内に強制的にガスの供給・排出を行うポートを設けるなどの専用インキュベータを利用し、培養環境を均一化する方法がある¹¹⁾。

3-2. 攪拌型バイオリアクター (Stirred Tank Bioreactor)

攪拌型バイオリアクターは、タンパク質・抗体製造を目的とした微生物やCHO細胞などの動物細胞の培養で広く利用されてきた。スピナーフラスコやタンク型バイオリアクターが最も使用される攪拌型培養システムである(図3(B))。攪拌翼が回転することで培養槽内の培地環境を均一に混合する。培養槽にセンサーを設置することで、pH、温度、酸素、二酸化炭素等の培養環境をモニタリングし、培養容器外部から培地・ガスの供給量・排出量を調整することで培養環境を制御できる。さらに、培地中のグルコース濃度や乳酸濃度を測定することで、細胞の成長具合を確認する。再生医療の製造への適用例として、間葉系幹細胞の場合、直径100 - 300 μ mのマイクロキャリアに間葉系幹細胞を接着させ、使用する。iPS細胞の場合、自ら凝集塊を形成し、浮遊するタイプがある(図3(B))。マイクロキャリアは、材質や直径サイズ、表面処理の異なるものが多数のメーカーから販売されており、最適化することができる。培養スケールを大きくするためには、使用するマイクロキャリアの投入量、培地量、容器体積を増やし、統一した規格でスケールアップでき

る。一つの培養バイオリアクターで数十人分の細胞を培養することで人件費を大幅に削減できるメリットがある。

一方、デメリットとして、攪拌翼によるシェアストレスや凝集塊同士の接着による大型の凝集体の発生が挙げられる。シェアストレスは細胞にダメージを与え、生存率の低下、又は増殖の遅延を引き起こす。シェアストレスを小さくする対策として、攪拌翼の回転速度・頻度を調整する、または攪拌翼の形状を工夫するなどの対策が取られる。一方、大型の凝集体の形成に関して、培養中、培養槽の一部で培養液の流れが滞留し、そこで凝集塊同士やマイクロキャリアに接着した細胞同士が接着し、大きな凝集体を形成しうる。凝集体が大きくなると、内部への栄養供給を妨げ、細胞の壊死、分化状態の逸脱が起こりうる。大きな凝集体の形成は、細胞を回収するときに、凝集体の内部にトリプシンなどの剥離試薬が行き届きにくくなる為、回収効率が落ちる要因になりうる。凝集体の形成を防止するために、攪拌速度を速くする、攪拌頻度を増やして、ビーズ同士の接触時間を短くするなどの対策が行われる。

3-3. 固定床バイオリアクター (Fixed Bed Bioreactor)

固定床バイオリアクターとは、細胞が接着し、増殖する足場(スキャフォールド)を培養槽に固定し、培養環境を均一化しながら培養する方法である(図3(C))。足場は、ビーズ状の足場を充填したカラム状タイプ、不織布を圧縮によりまとめた足場、多孔質等、様々なタイプがある。足場の材質は化学的に安定的なもの(PET、PS等)が使用され、表面積が大きい足場を使用することで、細胞を高密度に培養し、フットプリント(占有体積)を削減できる。平面培養法のような静置環境では、培地中のガス・栄養素濃度が不均一になる為、定期的に培養液を攪拌する機構を設ける。攪拌型バイオリアクターと同様の手法で培養環境のモニタリング・制御を行う。培養スケールを大きくする場合、足場を追加するか、もしくは、容器全体のサイズを大きくし、スケールアップする。スケールアップにより人件費を大幅に削減できるメリットがある。攪拌型バイオリアクターに対する優位点として、固定された足場に還流を行う為、強く攪拌する必要がなく、細胞へのシェア

ストレスを低減できる点が挙げられる。

一方、デメリットとして、足場内部の溶液の置換が難しく、細胞回収に時間がかかる、もしくは、回収率が安定しない問題が挙げられる。その為、細胞懸濁液を製品形態とする製品では固定床バイオリアクターは使用しづらく、培養上清や培養上清中に含まれる物質を生産するような培養系で活用される。近年、間葉系幹細胞の研究で、細胞から分泌されるエクソソームが生体で治療効果をもたらすことが分かってきており、今後、細胞回収の工程がない培養上清の製造で固定床バイオリアクターは活躍する可能性がある。加えて、足場の材質や立体構造に起因し、間葉系幹細胞からの分泌物の量が向上することも報告されており、今後の進展が期待される¹²⁾。

4. 経済的視点からみた拡大培養技術の選択

前述のように、上流工程の代表的な培養法を紹介した。今後、研究開発の方針を決める上で、どの培養法を選択すべきか重要な問題である。選択指標の

一つとして、経済的な観点から各培養法の評価を行った手法を紹介し、その解析結果をもとに、細胞が製品となる製造に適した培養法について考察する。近年、細胞製造の各工程における要素技術について、製造原価の面から評価した研究の報告が増えてきている¹³⁻¹⁵⁾。それらの文献を参考に、平面培養法、攪拌型バイオリアクター、固定床バイオリアクターの各培養技術について、間葉系幹細胞の他家療法をモデルケースとし、一連の製造工程を設定し、製造原価を算出した。1製品を構成する細胞数を 2.8×10^8 個とし、年間1,000個の製品を製造すると仮定した。患者の平均体重68.6kgとし、体重1kgあたり 4×10^6 個の細胞を使用する¹³⁾。扱う培養容器・装置として、平面培養法はCorning社ハイパースタック、攪拌型バイオリアクターは、マイクロキャリアを使ったSartorius社 BIOSTAT、固定床バイオリアクターはPall Life sciences社のiCellisを用いた。図4に各培養法の製造工程のイメージ図を記載する。培養パラメータ、消耗品、装置費用などの仮定で使用した数値は、Mizukami et al. のパラメータを参考に

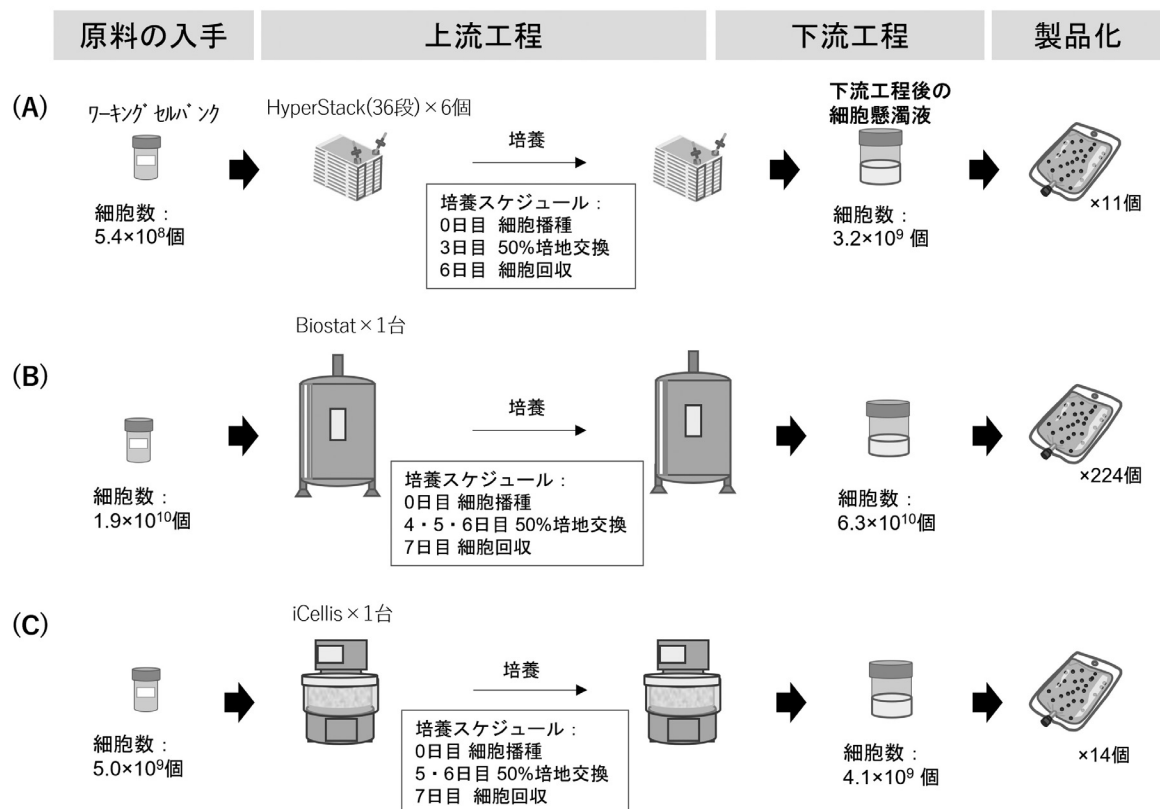


図4 各培養法における製造工程

(A) 平面培養法, (B) 攪拌型バイオリアクター, (C) 固定床バイオリアクター。

した¹³⁾。原材料費は、ヒト臍帯由来間葉系幹細胞から作製したワーキングセルバンクの使用量から算出した。

最初に、各培養法における主なパラメータ（播種密度、培養密度、回収密度）を図5（A）・（B）に示す。「播種密度」は細胞を培養容器・足場に播種するときの密度、「培養密度」は容器・足場に接着した細胞を増殖させ、コンフルエントに達したときの密度、「回収密度」は足場から細胞を剥離し、回収した細胞数を培養面積で割り算した値を用いた。それらの数値をもとに、各作業（播種、培養、回収）の効率を比較する為、播種密度を1とした場合の各工程の細胞密度の変化率を図5（B）に示した。回収の変化率をみると、平面培養の 8.6 ± 0.9 に対して、攪拌型バイオリアクターは 5.4 ± 0.2 、固定床バイオリアクターは 1.2 ± 0.24 と低い値になった。攪拌型バイオリアクターや固定床バイオリアクター

では、細胞剥離剤の浸透が不十分となり、足場に細胞が残存し、細胞回収量が低下したことが要因と考えられる。

次に、これらの培養パラメータをもとに製造原価を算出した結果を示す（図6）。攪拌型バイオリアクター、平面培養法、固定床バイオリアクターの順に製造原価が大きくなり、攪拌型バイオリアクターが有効であることが伺えた。製造原価の内訳に注目し、平面培養法と攪拌型バイオリアクターを比較すると、攪拌型バイオリアクターは原材料費が高く、人件費、および試薬費、消耗品資材費、品質検査費が低かった。原材料費について、攪拌型バイオリアクターは、図5（B）で示したように、回収の変化率が平面培養に比べ、低い為、同じ細胞数を製造する場合、原材料費が大きくなる。人件費は、大容量のバイオリアクター（約250L）を使用し、かつ装置による製造を行う為、大幅に削減できた。試薬・

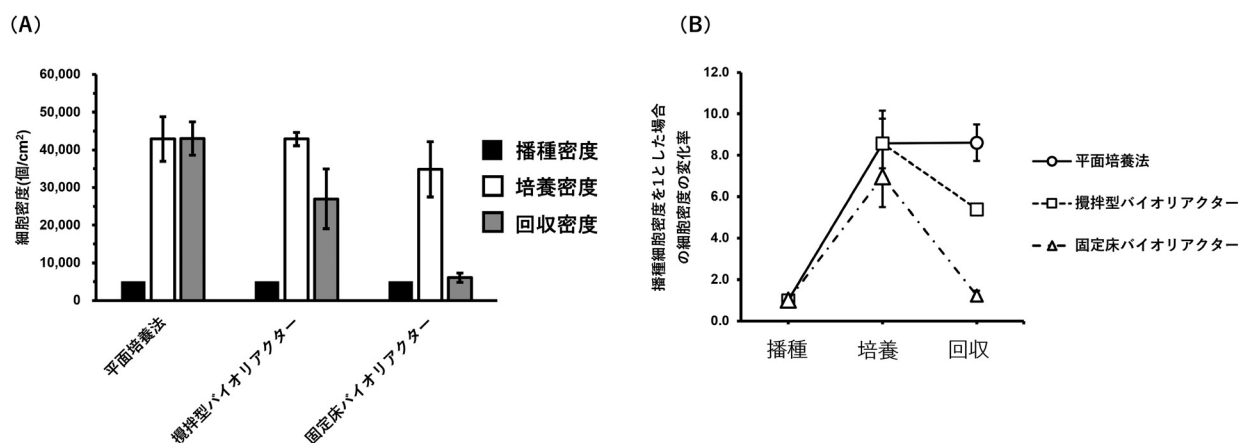


図5 各拡大培養技術における細胞密度の推移

(A) 播種・培養・回収における細胞密度 (Mizukami A et al. Biochem Eng J 2018より引用)。

(B) 播種細胞密度を1とした場合の各工程の細胞密度の変化率。各グラフのエラーバーはS.D.を表す ($n=3$)。

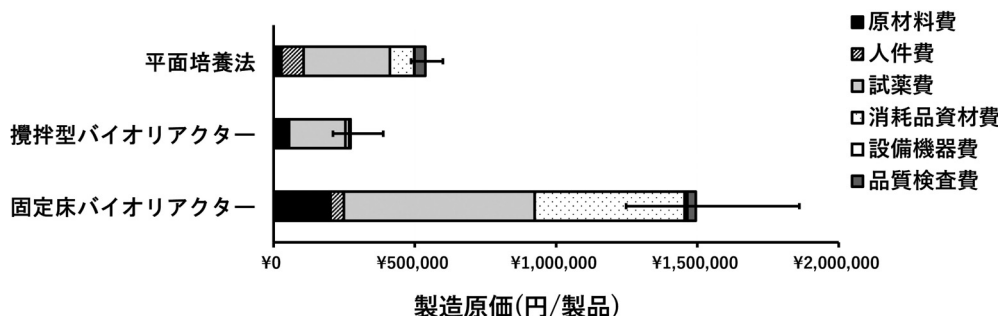


図6 上流工程の各培養法における製造原価と内訳

図5の結果をもとに、一連の製造工程に当てはめ、製造原価を算出した。エラーバーはS.D.を表す ($n=3$)。

消耗品資材の費用は、表2に示すように、他の技術に比べ、攪拌型バイオリクターで培養面積に対して使用する培地量・消耗品の費用が低い為、製品として特長の差が影響したと考える。1製品あたりで使用した培地量を算出し、培地使用量を比較したところ、平面培養法は4.1L、攪拌型バイオリクターは3.3L、固定床バイオリクターは14.1Lとなり、攪拌型バイオリクターが最も使用量が少なかった。それが試薬費の削減に繋がったと考える。品質検査費は、攪拌型バイオリクターで製造あたりのロット数が最も大きいため、低減した。無菌試験やマイコプラズマ否定試験等の品質検査は、製造時に一定量分取した細胞を使用して行い、製造毎で検査費は一律である。その為、製造あたりのロット数が大きくなると、品質検査費の割合が小さくなる。

一方、最も製造原価が大きくなった固定床バイオリクターでは、図5(B)で示した回収における変化率が他の培養法に比べ、極めて低い。同じ細胞数を製造する場合、消費する原材料、培地、消耗品が顕著に増加し、製造原価が大きくなった。今回、固定床バイオリクターは回収効率の悪さが大きく影響し、製造原価が大きくなるのが浮き彫りにな

ったが、市場には様々な特徴の足場が存在する。対策として回収効率が良い足場を選択する、もしくは、剥離剤の浸透を促進する機構を設けることで、製造原価を削減できる可能性がある。仮に、固定床バイオリクターの回収効率を改善した場合を想定した製造原価を図7に示す。元々の回収効率18%に対して、回収効率を60%、100%まで改善させた結果、回収効率60%では平面培養法と同程度となり、回収効率100%では、攪拌型バイオリクターと同程度の製造原価となった。一方、回収効率が60%を下回る場合、固定床バイオリクターは、製造原価において、細胞を製品とする製造に使用するメリットが小さい。その為、回収効率に左右されない培養上清の製造等に使用することが望ましいと考える。

上記のように、一貫した製造工程を考えた場合に、各培養法の特徴が、製造原価に大きな影響を与えうる。その為、研究段階から、検討する培養法の効率や解決すべき課題を十分に検討しておく必要がある。

表2 単位培養面積当たりの培地量と消耗品資材費 (Mizukami A et al. Biochem Eng J 2018より引用)

パラメータ	平面培養法	攪拌型バイオリクター	固定床バイオリクター
単位培養面積当たりの培地量 (mL/cm ²)	0.2	0.05	0.085
単位培養面積当たり消耗品資材費 (円/cm ²)	7.6	0.3	7.4

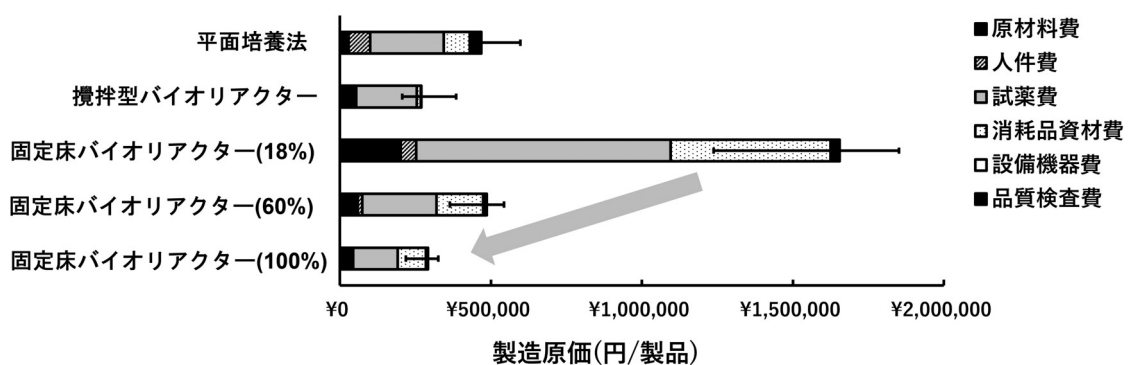


図7 固定床バイオリクターの回収効率を向上させた場合の製造原価

固定床バイオリクターの回収効率 (18%) を60%、100%に改善した場合を想定し、製造原価を算出した。エラーバーはS.D.を表す ($n=3$)。

5. おわりに

本稿では、再生医療等製品の製造工程を概説し、上流工程に焦点を当て、培養技術の特徴を紹介した。さらに、培養技術の特徴が、一連の製造工程を想定したときに、製造原価に大きく影響する事例を紹介した。研究開発中の再生医療等製品が将来、広く普及する為に、治療での安全性・有効性を示す臨床データの取得と並行し、将来的な製造工程をイメージしたデータを蓄積していく必要がある。対象疾患の市場規模の把握、製造スケールの決定、製造の安定化や低コスト化を実現する為の技術の検討等、やるべき課題は多々あるが、再生医療の発展に向けて、医学・工学・生物学・法律など多くの専門家で一丸となり、取り組んでいきたい。

引用文献

- 1) Mandai M, Watanabe A, Kurimoto Y, Hiramitsu Y., et al. Autologous Induced Stem-Cell-Derived Retinal Cells for Macular Degeneration. *N Engl J Med* 2017 ; 376 : 1038-1046.
- 2) 京都大学iPS細胞研究財団. iPS細胞ストックプロジェクト <https://www.cira-foundation.or.jp/j/research-institution/ips-stock-project/> (参照 : 2023-01-08)
- 3) 行政独立法人 医薬品医療機器総合機構. 新再生医療等製品の承認品目一覧. <https://www.pmda.go.jp/review-services/drug-reviews/review-information/ctp/0004.html>. (参照2022-12-13)
- 4) 日本造血細胞移植データセンター/日本造血細胞移植学会. 日本における造血細胞移植. 2017-2021年度 全国調査報告書
- 5) 第8回 再生・細胞医療・遺伝子治療開発協議会. 議事概要. https://www.kantei.go.jp/jp/singi/kenkouiryuu/saisei_saibou_idensi/dai8/gijisidai.html (参照 : 2023-01-08)
- 6) 紀ノ岡正博. 細胞製造性を鑑みたヒト細胞加工の特徴と工程による品質変動. *Drug Delivery System* 2021 ; vol.36 no.5
- 7) Jossen V, Bos C, Eibl R, Eibl D. Manufacturing human mesenchymal stem cells at clinical scale : process and regulatory challenges. *Appl Microbiol Biotechnol* 2018 ; 102 (9) : 3981-3994.
- 8) Squillaro T, Peluso G, Galderisi U. Clinical Trials with Mesenchymal Stem Cells : An Update. *Cell Transpl* 2016 ; 25 (5) : 829-848.
- 9) Abbasalizadeh S, Pakzad M, Cabral J and Baharvand H. Allogeneic Cell Therapy Manufacturing : Process Development Technologies and Facility Design Options. *Expert Opin Biol Ther* 2017 ; 17 (10) : 1201-1219.
- 10) Mizukami A and Swiech K. Mesenchymal Stromal Cells : From Discovery to Manufacturing and Commercialization. *Stem Cells Int* 2018 Apr
- 11) Tohyama S, Fujita J, Fujita C, Yamaguchi M, et al. Efficient Large-Scale 2D Culture System for Human Induced Pluripotent Stem Cells and Differentiated Cardiomyocytes. *Stem Cell Reports* 2017 ; 9 (5) : 1406-1414.
- 12) Doron G and Temenof SJ. Culture Substrates for Improved Manufacture of Mesenchymal Stromal Cell Therapies. *Adv Healthc Mater* 2021 ; 10 (15) : e2100016.
- 13) Mizukami A, Chilima TDP, Orellana MD, Neto MA, et al. Technologies for large-scale umbilical cord-derived MSC expansion : Experimental performance and cost of goods analysis. *Biochem Eng J* 2018 ; 36-48 Contents.
- 14) Chilima TDP, Moncaubeig F and Farid SS. Impact of allogeneic stem cell manufacturing decisions on cost of goods, process robustness and reimbursement. *Biochem Eng J* 2018 ; 137 : 132-151.
- 15) Hassan S, Simaria AS, Varadaraju H, Gupta S, et al. Allogeneic cell therapy bioprocess economics and optimization : downstream processing decisions. *Regen Med* 2015 ; 10 (5) : 591-609.

Upstream Processes in Cell Manufacturing for Regenerative Medicine

Hiroyuki NAGAI^{1, 2)} and Taro TAKAMI³⁾

1) Department of Clinical Laboratory Science, Faculty of Health Science, Yamaguchi University Graduate School of Medicine, 1-1-1 Minami Kogushi, Ube, Yamaguchi 755-8505, Japan

2) Shibuya Corporation, Ko-58 Mameda-honmachi, Kanazawa, Ishikawa 920-8681, Japan

3) Department of Gastroenterology and Hepatology, Yamaguchi University Graduate School of Medicine, 1-1-1 Minami Kogushi, Ube, Yamaguchi 755-8505, Japan

SUMMARY

In Japan, the field of regenerative medicine has experienced substantial growth over the past decade with increased clinical research and commercialization. Market formation, lower costs,

and quality control of regenerative medicine and other products are required for further growth. To achieve these goals, it is necessary to develop human resources for manufacturing cells and establish a manufacturing technology infrastructure. This article outlines the manufacturing processes of regenerative medicine products and focuses on cell expansion culture technology, an upstream process in the manufacturing process, and introduces the characteristics of representative culture technologies (plane culture method, stirred tank bioreactor, fixed-bed bioreactor). In research and development stages, it is important to select one of several expansion culture technologies and determine a development strategy. Therefore, we applied each culture technology to a series of manufacturing processes and conducted simulations to evaluate manufacturing costs. Based on the results, we discussed upstream processes suitable for cell manufacturing.