

医療分野研究成果展開事業/研究成果最適展開支援プログラム (AMED・A-STEP)

平成 27 年度終了課題 事後評価報告書

プロジェクトリーダー (企業責任者)	新田ゼラチン株式会社 経営企画部ライフサイエンス室 室長 平岡 陽介
研究責任者	学校法人近畿大学 生物理工学部 教授 森本 康一
支援タイプ	ハイリスク挑戦タイプ
研究開発課題	再生医療を加速させるスフェロイド形成能を有する I 型コラーゲンの開発

1. 研究開発の目的

再生医療分野の要素技術として、培養細胞の 3 次元化が可能となる細胞凝集塊（スフェロイド）の形成技術が注目されている。スフェロイドは生体内に近い細胞の性質をもつことから、細胞の機能解析や次世代の細胞移植に必要とされる。しかし、スフェロイドを形成する安全な生物材料は未だ開発されていない。よって、再生医療を加速させるためには新しい生物材料の開発が急務である。

本研究課題では、スフェロイド形成促進作用をもつ新規な I 型コラーゲンをシーズとし、再生医療分野の研究開発を進展させる新規の高機能性細胞足場を開発することを目的とする。

2. 研究開発の概要

①成果

細胞を培養すると自発的に集まりスフェロイドを形成する新規 I 型コラーゲン（以下 LASCoi と略）をシーズ（近畿大学森本康一教授が開発）とし、LASCoi を工場レベルで製造すること（新田ゼラチン（株））を目標とした。その結果、LASCoi 製造プロセスの最適化とスケールアップに成功し、数 g/ロットを安定的に製造する方法を確立した。また、LASCoi の品質管理試験なども仮決定し、基礎的な物性データを蓄積することができた。LASCoi は、多くの細胞株で再現性良くスフェロイド形成を誘導し、細胞の運動能を亢進することを示した。細胞機能を著しく変化させることから再生医療分野での活用の可能性が高まった。

研究開発目標	達成度
① LASCoi の調製法の改良と物性評価 1) LASCoi 調製に必要な酵素の精製法を確立し、品質規格を設定する。 2) 原材料のブタ I 型コラーゲンの重量を 100 としたとき、最終調製した LASCoi の重量が 80 以上となる調製法の改良。	① 1) 酵素の精製法を確立し、評価法を確立した。具体的には、精製品の SDS-PAGE、紫外吸収スペクトル測定、酵素活性測定などである。また合否判定も決定した。 2) 反応条件を検討した結果、大量製造のスケールで 80%以上の回収率を達成した。

<p>②スフェロイド形成法の簡便化と機能検証 NIH/3T3 線維芽細胞などを LASCoi 上で培養して、スフェロイド形成率を 90%以上に維持する。</p> <p>③ LASCoi の <i>in vivo</i>での機能解析と評価 LASCoi をラットの骨欠損部に埋植し、仮骨形成の促進作用を少なくとも力学的試験で数値化し、また組織標本を作製・観察して評価する。</p> <p>④ LASCoi の製造スケールアップ 原材料のブタ I 型コラーゲン 500 mg 以上のロットを 3 つ以上製造する。</p> <p>⑤ LASCoi 製造品の品質評価 品質規格を決定する。</p> <p>⑥ LASCoi 製造品の安全性 LASCoi の安全性試験を非 GLP で実施し、いずれも陰性を目標とする。</p> <p>⑦ LASCoi のサンプル品の評価</p>	<p>② LASCoi 培養で NIH/3T3 細胞のスフェロイド形成を確認した。</p> <p>③ ラットの脛骨欠損モデルに LASCoi を埋植する実験を実施した。LASCoi 埋植群は新生骨形成を促進することが示された。力学試験の結果、LASCoi で硬い骨ができていることが示唆された。</p> <p>④ 新田ゼラチン（株）で製造の最適化を実施し、LASCoi を数 g/ロットで安定製造する実績を残した。さらに 3 ロット以上製造することに成功した。</p> <p>⑤ 複数の製造ロットを用いて、品質試験法を検討し、仮の合否判定法を決定することができた。</p> <p>⑥ LASCoi はカビやバクテリアが陰性であることが確認された。また、抗原性試験結果も陰性であった。</p> <p>⑦ 複数の企業、大学、公立研究所で LASCoi サンプル評価を開始した。</p>
---	--

②今後の展開

さらに LASCoi の再生医療分野と幹細胞研究分野での実用性を検証するため、1) スフェロイド形成足場としての優位性（差別化）の実証、2) 骨・軟骨細胞分化に特化した培養試薬の開発、3) コストダウンを考慮した再現性を向上するための大量製造技術の確立、4) 分子メカニズムの解明、の 4 つを目標とし、5) 外部研究機関による分化制御試薬としての評価、を含めて研究開発を進める。

3. 総合所見

安全で高い止血効果とスフェロイド形成促進作用を持つ酵素処理Ⅰ型コラーゲンによる再生医療用高機能足場の開発を目指し、LASCoi 製品化の目処をつけるべく特徴機能/有用性の検証、安全性/品質検証、安定量産の確保などについて検討を進め、ウイルスバリデーション以外の材料設定をほぼ達成している。スフェロイド形成能、骨・軟骨細胞分化特性、幹細胞分化制御等、特徴のある素材であり、新しい足場材として、再生医療および細胞の機能解析などへ広く展開することが期待され、早期に実用化されることが強く望まれる。

※記載の情報は平成28年1月時点の情報です。