

安全な不死化細胞によるエクソソーム製造 上流から下流までをワンストップでサポート

昨今、エクソソームをはじめとする細胞外小胞 (EVs) を治療薬として利用することに注目が集まっている。オーストリアに拠点を置く Evercyte 社と Phoenestra 社は、姉妹会社として連携しながら、独自の技術による安全な不死化 EV 生産細胞株の樹立から、GMP 製造、特性評価までをワンストップサービスでサポートする。Evercyte 社 CTO の Regina Grillari 氏と Phoenestra 社 CEO の Klaus Graumann 氏に、EV ベースの治療薬の現状やサービスの概要などについて話を伺った。

——細胞外小胞 (EVs) を利用した治療薬の現状について教えてください。

Regina 氏 細胞外小胞 (EVs) は、細胞から分泌される脂質二重膜構造を有する小胞の総称です。さまざまな細胞種から生成され、細胞間でタンパク質、脂質、遺伝物質 (DNA、RNA など) といった生物活性分子を輸送することで、細胞間コミュニケーションにおいて重要な役割を果たします。この生物活性分子を輸送する能力により、がんや神経変性疾患など広範な疾患においてバイオマーカーや DDS などの有望な解決策を示すほか、再生医療分野での活用も期待されています。欧州および米国では、これらの治療法の開発が積極的に進められており、臨床試験も行われています。製造および規制の課題を克服しながら、革新的な治療法を臨床現場にもたらしことに重点を置いています。



Evercyte・CTO
Regina Grillari 氏

——Evercyte 社・Phoenestra 社はどのような事業を展開しているのでしょうか。

Regina 氏 Evercyte 社は、生物活性を有する EVs を安定的に製造できる多様なヒト組織由来の間葉系幹細胞 (MSC) の樹立に注力しています。具体的にいうと、臍帯、胎盤組織、羊膜、骨髄、歯髄、脂肪組織由来の不死化細胞株をすでに樹立してカタログ品として分譲しています。さらに、これら既存の MSC ラインアップに加えて、お客様の要望に合わせた不死化細胞株の樹立サービスも提供しています。このサービスでは、まず商業・臨床用途のための倫理承認およびインフォームドコンセントを得たヒト組織の調達を行い、そこから初代細胞の分離および特性評価を実施します。その後、初代細胞の寿命延長処理 (不死化処理) を施し、セルバンクを構築。単一クローンを分離し、個々のクローンについてさらに詳細な特性評価を行います。

特性評価の項目には、増殖能力、形態、特異的マーカー (表面抗原である CD 抗原が主) の発現、分化能力、汚染物質 (菌、ウイルスなど) の否定試験、STR プロファイリングによる認証 (元の初代組織との比較)、mRNA プロファイリングおよびプロテオミクス解析 (姉妹会社である TAmiRNA 社との協力)、腫瘍

形成能試験、顧客の要求によるオプション試験などが含まれます。

このほか、小規模な EV 製造サービスおよび細胞培養上清からの EV 濃縮、抗炎症活性や抗線維化活性といった EVs の生物活性をテストするための *in vitro* バイオアッセイの開発といったサービスも提供しています。

Klaus 氏 Phoenestra 社は、EVs などの幹細胞由来製品を社会実装するうえでの課題に対処するため設立しました。運営開始以来、iPS 細胞株および間葉系幹細胞の作製およびスケラブルな培養、これらの細胞種からの EVs の製造、分離、精製、特性評価のための技術プラットフォームを開発してきました。これらの技術プラットフォームに基づき、EV ベースの治療薬に関連するプロセスおよび製品開発サービスを提供しています。



Phoenestra・CEO
Klaus Graumann 氏

姉妹会社である Evercyte 社および TAmiRNA 社 (RNA シーケンシングを行う CRO) とともに開発したエンドツーエンドのアプローチは、「EVscale™」というブランド名で展開しています (図)。ワンストップショップとして、標準化可能な EV 製造用細胞株の樹立から、EVs の大量製造、濃縮・精製、EVs の特性評価までを一貫して提供します。

——Evercyte 社が提供する不死化細胞株について詳しく教えてください。

Regina 氏 現在 EVs の製造には初代細胞が使用されることが多いのですが、初代細胞は *in vivo* の対応する組織・細胞と似た表現型を示すものの、限られた回数 of 細胞分裂後に不可逆的な増殖停止 (複製老化と呼ばれる) に至るため、EV 製造では頻繁な交換が必要となります。また、初代細胞は細胞分裂ごとに表現型が変化し、初期と後期の継代細胞を比較すると分化能力にも変化が見られ、培養が進むと非常に異質な細胞集団を形成します。初代細胞の場合、単一クローンの分離は困難であり、一方でサブクローニングを行うと多くの増殖回数を失い、細胞集団が老化してしまいます。

こうした問題の解決策が、細胞寿命を延長させた不死化細胞株です。ヒトテロメア逆転写酵素 (hTERT) などの不死化因子の導入によりテロメアが延長されることで、初代細胞が不死化します。細胞は長期間、安

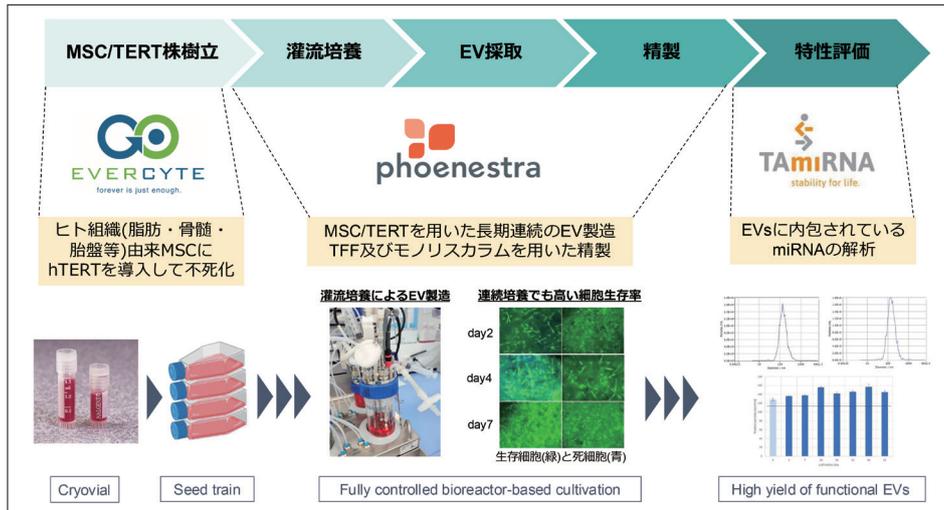


図 EVscale™ (EV製造のone stopサービス) の概要

定的に増殖可能となり、hTERTは細胞周期制御経路に影響を与えないため、元の初代細胞に似た表現型を維持することができます。hTERTで不死化したMSC (hTERT-MSC) を使用することで、長期間にわたってEVsを供給するためのセルバンクを確立することが可能です。

—EVscale™の具体的な内容を教えてください。

Klaus氏 EVscale™は、hTERT-MSCを基盤としています。hTERT-MSCの各製造工程は文書管理されており、GMPセルバンキングに直接利用可能です。

Phoenestra社では、樹立済みのhTERT-MSCを用いて、新しい灌流バイオリアクタープラットフォームプロセスを開発しました。このプロセスは、hTERT-MSCを制御下で保持しながら、数週間にわたってEVsを連続製造することが可能で、長期培養における細胞の生存率にも影響がないことを確認しています。

EVsは培養上清から分離され、ダウンストリームで分析やさらなる処理が行われます。すでに陰イオン交換カラムをはじめとした、いくつかのクロマトグラフィー分離手法を確立しており、不純物を減少させたり、特定の成分を濃縮したりすることができます。また、細胞・EVsの品質管理や分析方法は顧客のニーズに合わせて柔軟にカスタマイズ可能です。

EVs中の搭載分子の詳細な調査も可能で、RNAseqやプロテオミクス、またはリピドミクスなどの-omics手法は、TAmiRNA社を通じて提供されます。

なお、2025年からはEVsのGMP製造にも対応できるようになる予定です。

—今後、日本においてはどのようなサービスを展開していく方針でしょうか。

Regina氏・Klaus氏 われわれはEVscale™によっ

て、EVベースの治療法の開発における主要な課題を克服できると考えています。EVscale™は非常に生産性が高く、すでに小規模なベンチトップバイオリアクター (0.25 L) から臨床研究に適した量のEVsを製造することができています。

新規医薬品原料への採用と持続可能性においてはコスト面も重要な要素です。技術面、コスト面の両方においてEV分野をリードしているEVscale™によって、われわれは日本の顧客によりよいサービスを提供していきます。さらに、顧客のニーズに基づいて特定の不死化細胞株が必要な場合など、カスタマイズしたサービスの提供も行います。

顧客とのコミュニケーションにおいては、住商ファーマインターナショナル株式会社が日本国内の総代理店として、フレキシブルな交渉についても専門的な知見をもって対応可能ですので、まずは同社までお気軽にご相談ください。



住商ファーマインターナショナル株式会社はEvercyte社・Phoenestra社の総代理店です



住商ファーマインターナショナル株式会社

創薬支援部 新規モダリティ支援グループ

〒100-0003

東京都千代田区一ツ橋一丁目2番2号 住友商事竹橋ビル12階

TEL : 03-5220-1560 FAX : 03-5220-1501

Email : alliance@summitpharma.co.jp

