

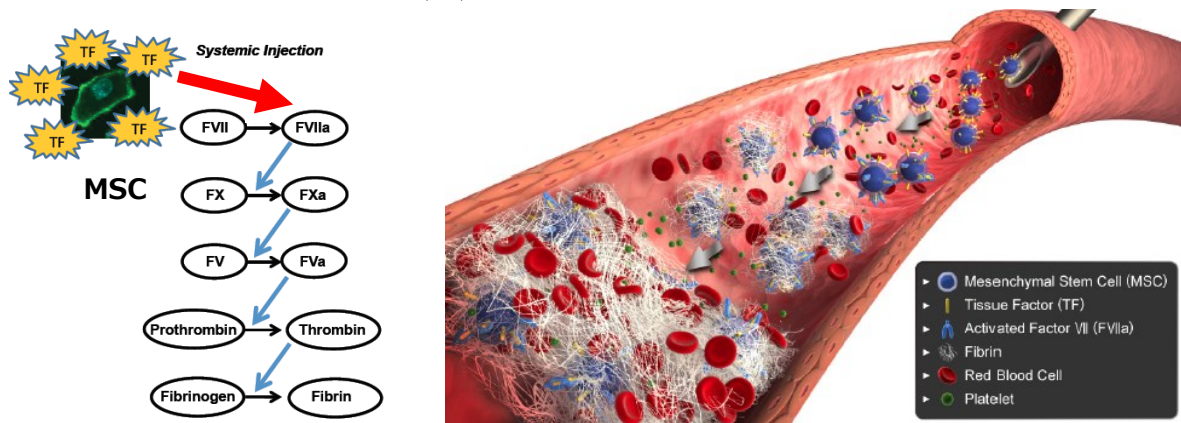
マイオリッジは、様々な培地成分を組み合わせることで目的の培地組成を構築する培地成分ライブラリと、96 well plateを用いたハイスループットなスクリーニング手法を活用して、お客様が抱える細胞培養の課題に対して、培地の最適化による課題解決を提案しています。

培地開発を経験した細胞種は様々なものがありますが、中でも間葉系幹細胞 (MSC) の培地最適化の経験を多く積み重ねており、本資料ではTissue Factor (TF) に着目した当社における培地スクリーニング試験の結果と、サービスをご紹介します。

MSCの安全性とTissue Factor (TF: CD142)の関わり

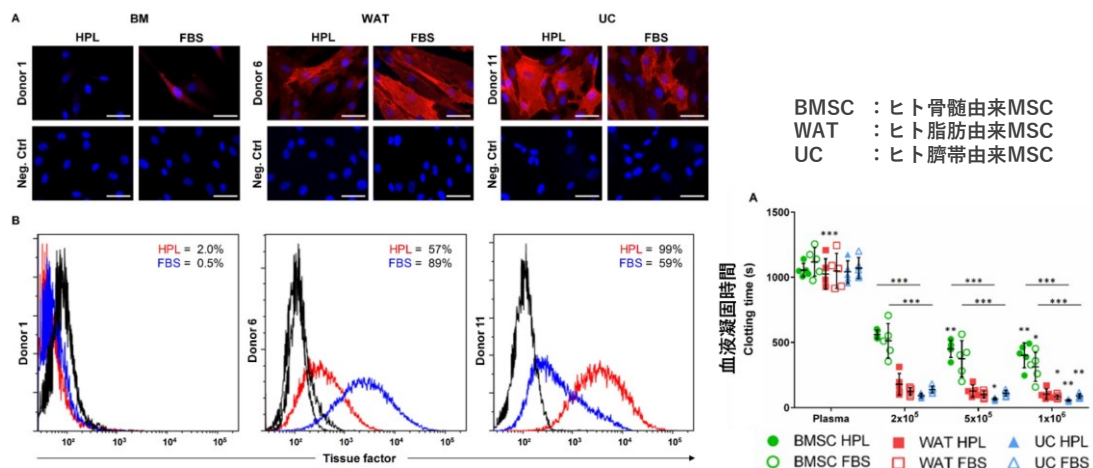
MSCは生体内に存在する幹細胞の1つであり、様々な細胞に分化する多能性や免疫抑制能、増殖因子の分泌等の機能に着目した臨床応用が世界的に期待され、国内の再生医療等製品としても既に実用化されている細胞です。一方、安全性の観点から、MSCの経静脈内投与においては特に塞栓症に留意する必要があるという提言*1がなされています。MSCが血管内に投与されると、その多くが肺などの毛細血管が発達した組織に運ばれ、血栓を生じるケースがあることが報告されています。その作用機序として、MSC表面に高発現したTissue Factor (TF: CD142) が血中の血液凝固因子と反応し、血栓を生じる主要因となることが指摘されています*2 (図1)。TFは外因系血液凝固カスケードの最上位に位置し、フィブリン形成のトリガー因子として知られています (図1)。

図1. MSC表面に高発現したTissue Factor (TF)に起因する血栓形成のイメージ*2



培地添加剤として広く用いられているFetal Bovine Serum (FBS) やHuman Platelet Lysate (HPL)はMSCのTF発現を強く誘導します (図2)。また、MSCは様々な組織から採取されますが、骨髄由来MSCと比較して脂肪由来MSCや臍帯由来MSCの方がTFの発現が上昇しやすいことが示されています (図2)。TF発現が高いMSCは血液凝固時間が短く、TFの発現上昇はMSCの血栓形成を促進すると考えられます (図2)。MSC静注による血栓形成はMSC治療において重要な課題であり、TFは臨床用MSCの安全性評価における新しい指標として近年注目されています。

図2. 培地サプリメントやMSCの由来組織がMSCのTF発現に与える影響*3



参考文献：

*1. 「間葉系幹細胞等の経静脈内投与の安全な実施への提言」厚生労働省医政局研究開発政策課資料 <https://www.mhlw.go.jp/content/001126080.pdf> 一般社団法人日本再生医療学会

資料 <https://www.mhlw.go.jp/content/10808000/000739664.pdf>

*2. Tatsumi K et al., *Biochem Biophys Res Commun.* 2013; 431(2):203-209. *1資料内にも引用

*3. Michaela O et al., *Theranostics.* 2018; 8(5): 1421-1434.

TF発現解析受託試験 - マイオリッジにおける実施例 -

1. 試験系

細胞：ユーザー様 指定のMSC (比較群として、マイオリッジ所有のヒトMSCのデータも同時に解析可能)
 培地：ユーザー様 指定の培地 (比較群として、他社培地、マイオリッジ社培地を同時に実施可能)

2. 試験方法

・ MSCを指定の培地で起眠し、コンフルエントとなるまで培養

【共焦点定量イメージサイトメーター (CQ1, 横河電機)での評価】

・ 96 well plateにMSCを播種 (1500 cells/well 程度), 37°C、5% CO₂条件で3日培養
 ・ CQ1を用いて、DAPI及び抗ヒトTF抗体で染色したMSCを撮影
 ・ 解析ソフトを用いて各wellの細胞数TF陽性面積を定量

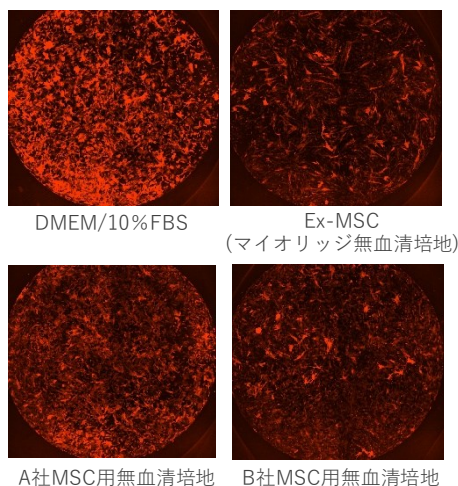
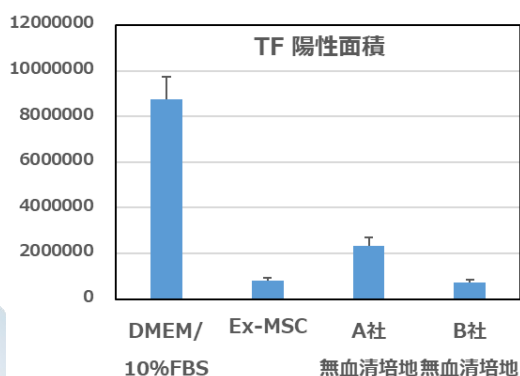
【フローサイトメーター (FCM; BD Accuri)での評価】

・ 6 cm dishにMSCを播種 (2 × 10⁵ cells/dish程度), 37°C、5% CO₂条件で3日培養
 ・ BD Accuriを用いて、抗ヒトTF抗体で染色したMSCのTF発現を解析

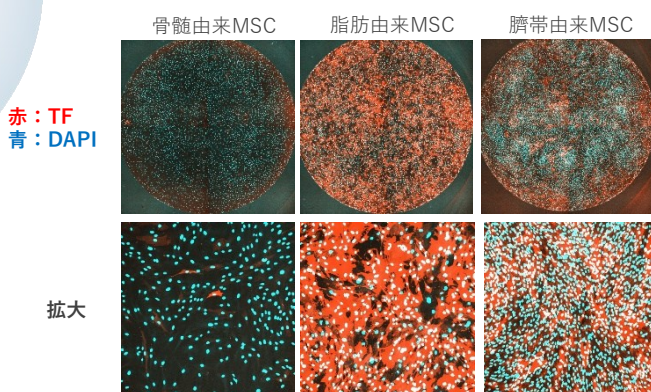
3. 試験結果例

■CQ1解析① (ヒト脂肪由来MSC)

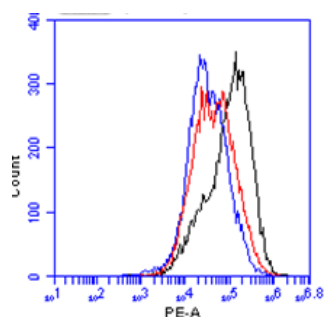
赤:TF陽性エリア



■CQ1解析② (各ヒト MSC + DMEM/10%FBS)



■FCM解析 (脂肪由来ヒトMSC)



【TF蛍光強度平均値】
 DMEM + 10%FBS : 160013
 Ex-MSC : 54256
 B社培地 : 77936

当社での試験の結果からも、MSCの由来組織や培地成分によってMSCのTF発現は大きく変化することが示されました。

マイオリッジが提案する関連サービス

TF発現の評価： ご使用の培地で培養した目的細胞におけるTF発現をCQ1、FCM解析で評価します。当社保有の細胞、培地、過去データとの比較が可能です。

TF低減に着目した培地開発： 目的細胞のTF発現が高い場合、TF低発現である当社培地の使用、又は要望に応じたオリジナルの培地組成を試験により探索します。

株式会社マイオリッジ

京都府京都市左京区吉田河原町14番地

公益財団法人京都技術科学センター本館B5号室

TEL: 075-585-4560 Mail: sales@myoridge.co.jp



<https://myoridge.co.jp/>

■取扱販売店名