

動物細胞培養の操作因子 としての圧力

高 木 睦

動物細胞は微生物細胞と異なり機械的な力に弱く深部通気（スパージング）や高速攪拌混合ができないため、医薬品などの生産を目的とした細胞培養プロセスをスケールアップする際に酸素供給がしばしば問題となる。溶存酸素供給速度 (dC/dt) は次式で示される。

$$dC/dt = kLa \times (C^* - C) - OUR$$

C : 溶存酸素濃度 (mmol/l)

t : 培養時間 (h)

kLa : 酸素移動容量係数 (1/h)

C^* : 飽和溶存酸素濃度 (mmol/l)

OUR : 酸素消費速度 (呼吸速度) (mmol/l/h)

この式で示されるように加圧により C^* を上げて溶存酸素供給速度を高めることは原理的には可能だが、動物細胞に対する圧力の影響の解明が加圧培養実用化のための課題として残されている。さらに、これらの研究の結果、圧力を操作することで生産性などを積極的に改善できるようになるかもしれない。

検討されている圧力の範囲が報告により種々異なるものの、細胞に対する生体内での圧力の影響に関連した報告は比較的多い。たとえば、血液流により生じる剪断力で細胞が伸長する、プロスタサイクリンやティッシュプラスミノゲンアクティベータ (tPA) の分泌増加を起こすなど内皮細胞は機械的な力に対してさまざまな反応を示す。また、ウシの肺動脈内皮細胞の接着培養において最高 15 cmH₂O の低い静水圧（絶対圧 0.1015 MPa）をかけるとコントロール (0.3 cmH₂O) と比べて繊維芽細胞成長因子の分泌が促進されるとともに細胞が伸長することが報告されている。¹⁾ 一方、マウス骨髄細胞の培養において 1.37 atm の圧力 (0.137 MPa) をかけるとコントロール (0.1 MPa) に比べてマクロファージコロニー刺激因子の分泌が減少し、破骨細胞への分化が抑制されること²⁾ が、運動による骨発達の一因と推測されている。また、深海を想定した超高圧のヒト皮膚繊維芽細胞への影響に関する最近の研究では、20分間、70 MPa 加圧した後、インターロイキン 6 の産生量が130倍に達したが、mRNA 量に変化は認められなかったことが報告されている。³⁾

大阪大学生物工学国際交流センター（助教授）

〒565-0871 吹田市山田丘2-1

Tel: 06-6879-7456 Fax: 06-6879-7454

E-mail: takagi@icb.osaka-u.ac.jp

http://www.icb.osaka-u.ac.jp

1981年 大阪大学大学院工学研究科前期課程修了、工学博士

現在の興味：動物細胞培養工学の医薬・医療分野への応用

一方、物質生産に関する報告では、tPA を産生するヒト胎児肺由来繊維芽細胞の 50 l スケールのマイクロキャリアー培養において、絶対圧 0.25 MPa で培養するとコントロール (0.12 MPa) に比べてグルコース比消費速度が85%に低下したが、比増殖速度には影響せず、tPA 生産量も約15%増加した例がある。⁴⁾ またハイブリドーマ細胞の T フラスコ中での浮遊培養において大気圧 (0.1 MPa) から最高 0.9 MPa まで圧力を変えた結果、細胞増殖には影響がなかったが、グルコースから乳酸への変換率が低下し、グルタミン比消費速度など一次代謝速度が圧力に応じて上がり、抗体比生産速度も圧力増加にほぼ比例して増加し、0.9 MPa で大気圧下に比べて20%増となった。⁵⁾ なお、これらの実験では、全圧のいかんにかかわらず培養上面の気相中の酸素分圧、炭酸ガス分圧は一定に設定されているので、培養中の溶存酸素濃度や培養液 pH に圧力は影響しておらず、実験結果が純粹に圧力の影響を反映したものであることが確認されている。

ところで圧力同様にタンパク質生成に影響する物理的環境因子であるせん断力、張力、浸透圧などはその作用機作がかなり解明されつつある。圧力のシグナル伝達に関しては、50 MPa 以上に加圧した場合の細胞株のアポトーシスに関する報告⁶⁾ がある以外はほとんど研究例がなく、圧力がタンパク質生産性に影響する作用機作の解明は今後の課題であろう。

- 1) Arlene, D. *et al.*: *J. Cell. Phys.*, **157**, 603 (1993).
- 2) Rubin, J. *et al.*: *J. Cell. Phys.*, **170**, 81 (1997).
- 3) Koyama, S. *et al.*: 日本生物工学会大会講演要旨集, p. 282 (2000).
- 4) Takagi, M. *et al.*: *J. Ferment. Bioeng.*, **77**, 301 (1994).
- 5) Takagi, M. *et al.*: *J. Ferment. Bioeng.*, **80**, 619 (1995).
- 6) Takano, K. J. *et al.*: *Exp. Cell Res.*, **235**, 155 (1997).