

# 幹細胞培養上清液 順化培養上清液のご案内



**NACSA**  
不老細胞サイエンス協会

## 幹細胞培養上清液選びは慎重に行ってください！

様々な培養メーカーから幹細胞培養上清液が製造販売されていますが、それぞれのサイトカインについて特徴を持たせるために、ある特定のサイトカインのみを人為的に増やしたり、目的別にある一定のサイトカインを多くしたりと、**明らかに組み替えたんぱく製品と予想される製品が流通しています。**

※現在国内で流通している幹細胞培養上清液の殆どがドナースクリーニングを行われておりません。  
※また「研究用試薬」としてメーカーから供給される幹細胞培養上清液を臨床で使用されておられます。

弊社の方針としましては、個々の含有サイトカインの評価ではなく、あくまでも幹細胞培養上清液全体の評価に着目し、**高い安全性と有効性に富んだ製品をご提供することを目標としています。**

サイトカインバランスを崩した製品の中には、

※**サイトカインストーム**をむやみに巻き起こしてしまう結果につながりかねません。  
※**(細胞のがん化)**

このようなことを踏まえ、原液にこだわった製法を採用しています。



## 製品の安全性について

製造メーカーとして、安全性の担保は、ドナースクリーニングを徹底して行っているところといえます。

品質管理体制として、大元となる幹細胞の安全性をどこまで担保するかが大きなポイントとなってくると思います。

市販の細胞や培地から製造している場合、このような培地は研究用に販売されているため、ドナー情報やウイルス検査等の項目は、かなりあいまいです。日本人・海外ドナーであることもさながら、既往歴などのトレーサビリティが取れないというリスクがあります。

国内でいえば、薬機法の生物由来原料基準に合致しないものを使って製造しているメーカーがほとんどかもしれません。

培養上清液に関する法令法規がないのが現状なので、責任の所在がどこにあるのかが明確にされないため、現場で実際に患者様へ治療を行う先生方へのリスク管理として、セルプロ社ではドナースクリーニングを徹底して行っています。

セルプロジャパンは、どのような体制を整えているかという点、再生医療等製品、細胞移植治療等で使えるような製品、すなわち細胞の品質基準を構築するような生物由来原料基準にもっとも適した状態の原料を使って製造する体制を整えています。

胎児由来組織でいえば、臍帯と羊膜を例にすると、ドナーである、国内指定医療機関の妊婦の方から同意書をいただいて、医師の問診から開始し、医師がドナーとして適格かどうかを判断します。検査に合格した方から、組織採取を行っていきます。さらに、採取後、92日間のウインドウピリオド期間を経て、再度、ドナーの方に採血を行っています。

1回目の採血の偽陰性を払拭するために、3か月後にも採血を実施して、ドナーのウイルス感染の有無を調べます。

# 製品の安全性について

ヒト臍帯

生物由来原料基準を満たすことによって、本来の細胞のストックがドナーの提供者からみても**安全性が担保**できる！

ここの上流にこだわる必要がある！

細胞(ストック)・・・購入した細胞

日本製？韓国製？わからないetc...

培養

上清液

・・・成分のみにこだわるetc...

一般的な  
培養上清液の工程

## お鍋で例えるなら・・・

具材にこだわっている！



生物由来原料基準に合致した  
ヒト臍帯組織ということ

新鮮な具材で取れた出汁！



高品質な培養上清液が完成する！

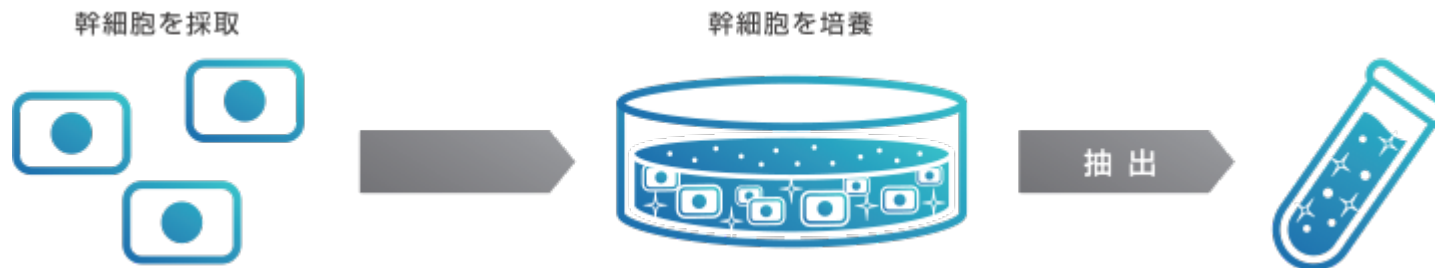


## 幹細胞培養上清液とは？

幹細胞培養上清液とは、幹細胞を培養した際に生じる分泌液で、たんぱく質や成長因子（サイトカイン）などの有効成分を多数含んでいます。

幹細胞移植などの再生医療治療は高額である上に規制が厳しく、まだまだ一般的になるには時間がかかる可能性があります。幹細胞の上清液を活用した幹細胞培養上清液治療やエクソソーム療法は製品の規格が統一されている上に価格も抑えられているため今後より注目されていくと思われます。

幹細胞培養上清液には、成長因子（サイトカイン）、アミノ酸、ビタミン、ミネラルなどの老化の進行を妨げる効果が期待できる様々な成分が含まれていますが、その中でもここ数年で特に注目されているのがエクソソームです。



### POINT1

培養上清液に細胞は含まれていません。

### POINT2

幹細胞から分泌されるサイトカインが豊富に含まれています。

## エクソソームとは？

エクソソームは、近年の研究においてマイクロRNAなどを含んだ核酸物質を他細胞へ受け渡す「メッセンジャー」的な役割を果たしていることが判明し、それ以降で急速に研究が進んでいる物質です。

細胞外小胞のひとつであるエクソソームには、マイクロRNA・メッセンジャーRNAといった遺伝子の働きに関与するタンパク質を含んだ「核酸」が含まれており、この核酸が細胞と細胞の間で情報伝達を行う際にとっても重要な役割を果たすことが明らかになっています。幹細胞培養上清液には成長因子やタンパク質などの様々な成分が含まれていますが、これらの物質を細胞間に届けるにはエクソソームによる遺伝子伝達（メッセンジャー的役割）が必要とされています。

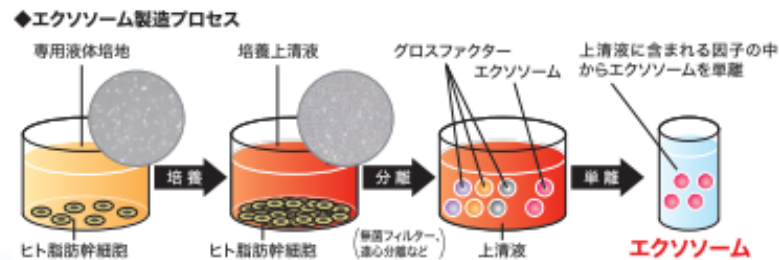
その中でも幹細胞培養上清液（幹細胞を特殊培養した際に生じる上澄み液）に含まれるエクソソームは、全身の体性幹細胞を活性化する他、高い皮膚再生・血管再生作用、複数の抗炎症作用などが確認されています。例えば皮膚再生という点に着目すると、エクソソームは皮膚のターンオーバー（新陳代謝）を促進する表皮細胞やコラーゲン、エラスチンを生成する線維芽細胞などの細胞間を移動して細胞の活性化に必要な物質を届けることで、美肌（抗炎症、皮膚バリア再生、創傷治癒など）、しわ・しみの改善（細胞増殖、皮膚再生）といった作用をもたらす効果が期待できます。

なお、エクソソームには以下3種類の抗炎症サイトカインが存在することが確認されており、**アトピー性皮膚炎**などの炎症性疾患に効果が期待されています。

**IL-1Ra（インターロイキン1受容体アンタゴニスト）**

**BDNF（脳由来神経栄養因子）**

**CNTF（毛様体神経栄養因子）**



## 培養上清液は、機能回復を促し、細胞を活性化させます

加齢による幹細胞の減少や老化などでさまざまな悩みを抱えている患者様のために、細胞の機能回復を促し、細胞の活性化につながる培養上清液治療が非常に注目されています。体の衰えに対して、体質改善や、全身の若返りを行う究極のエイジングケアと呼ばれ、健康と美容に対して多くの効果が期待されています。

### 点滴で全身の細胞に届ける



- ・培養上清液には数多くのサイトカインが凝縮されています。それらを点滴によって体内に行き渡らせることで減少したサイトカインを補充します。全身の細胞組織の再生を活性化させる効果が期待できます。点滴による投与方法では、肌だけではなく、体全体のエイジングケアが可能です。

### 美容機器を使用して肌に直接アプローチする

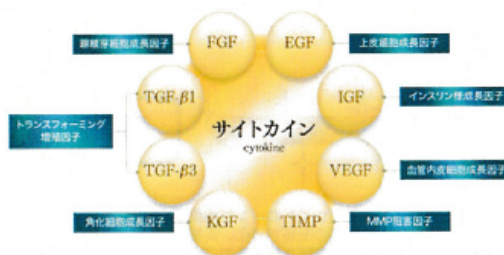


- ・ダーマペンや、メソガンなどの機器を使用して培養上清液を直接導入します。直接、針で原液を投与したり、ダーマペンなどではジェル状のヒアルロン酸などと混ぜてお使いいただいても高い効果は期待ができます。サイトカインによって、幹細胞の修復力が改善し、細胞の再生を促進させます。年齢などの影響を受けやすい顔や頭皮に直接サイトカインを導入することでその効果を効率よく得ることができます。



## 代表的なサイトカイン

- ・ EGF 肌の上皮の成長、再生、修復を行い、新しい細胞の生産を促進するサイトカイン。
- ・ IGF 細胞のDNA合成を調整する働きをもつ。壊れた細胞の再生を助ける作用により新しい皮膚の細胞を作る。
- ・ VEGF 血管新生に重要な役割を果たす。
- ・ KGF ターンオーバーを整え、皮膚の水分保持やバリア機能を維持する役割を持つ。

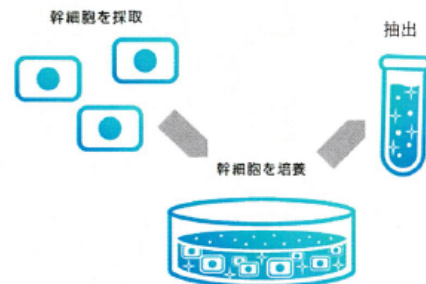


- ・ TGF- $\beta$ 1・ $\beta$ 3 コラーゲンのような結合組織の合成・増殖を促進。
- ・ FGF しわ改善や美白、創傷治癒に効果を発揮する。

# ヒト幹細胞培養上清液の特徴

## ヒト幹細胞由来培養上清液

ヒトの幹細胞を培養する過程で生じる上澄み液だけを抽出したもの



- ① 培養上清液に細胞は含まれていない。
- ② 幹細胞から分泌されるサイトカインが豊富に含まれている。

## サイトカイン

幹細胞から分泌される機能性タンパク質の一種であり多数存在する。特に細胞の増殖を促す効果が強いものを成長因子や増殖因子と呼ぶ。

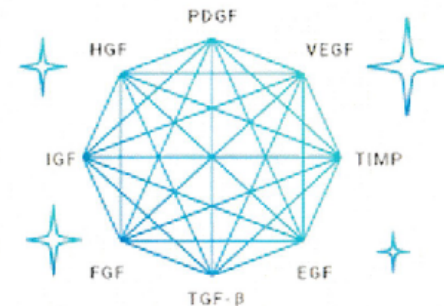


※パラクライン効果：サイトカインが細胞間の情報を伝達し、周囲の細胞の増殖や分化、炎症の調節、線維化の改善などを促す様々な働きのこと。

- ① 損傷箇所の治療や美容治療の効果が期待されている。
- ② 近年、再生医療において多く研究され注目を集めている。

## サイトカインオーケストラ

多数の性質が異なるサイトカインが相互に働き合っているという考え方。



- ① それぞれのサイトカインは、性質や濃度が異なる。
- ② サイトカイン群の総体だから意味がある。

## なぜ、臍帯由来なのか。

---

母体で卵子から幾重となく細胞分裂を重ね、赤ちゃんを育て上げる力をもつエネルギーは、臍帯を介してやりとりされます。

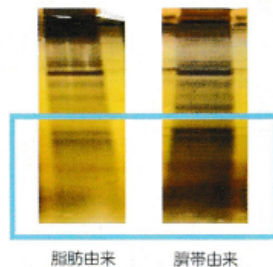
臍帯由来幹細胞は、赤ちゃんとも母体をつなぐ臍帯から採取した幹細胞です。

臍帯組織には成長因子に富んだ若い細胞が非常に多く含まれるため、その臍帯を由来とする培養上清液に関しても、ほかの組織由来の培養上清液に比べて、含有されるサイトカイン量が格段に違います。その他にも細胞の再生力や各組織・細胞間の調整に関して、非常に高いバランス力、再生能力をもちあわせています。

すなわち、培養上清液成分に関しても、パラクライン効果を最大限に活かすことができる培養上清液は、臍帯由来培養上清液であると言えるのです。

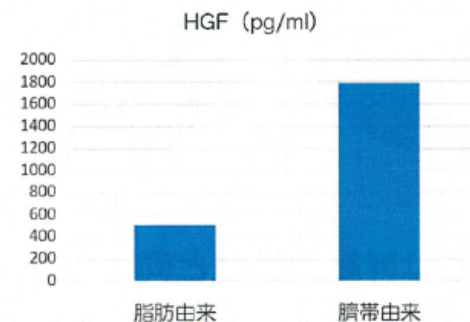
## 脂肪由来と臍帯由来の比較

ヒト臍帯由来の方が、タンパク質が高濃度



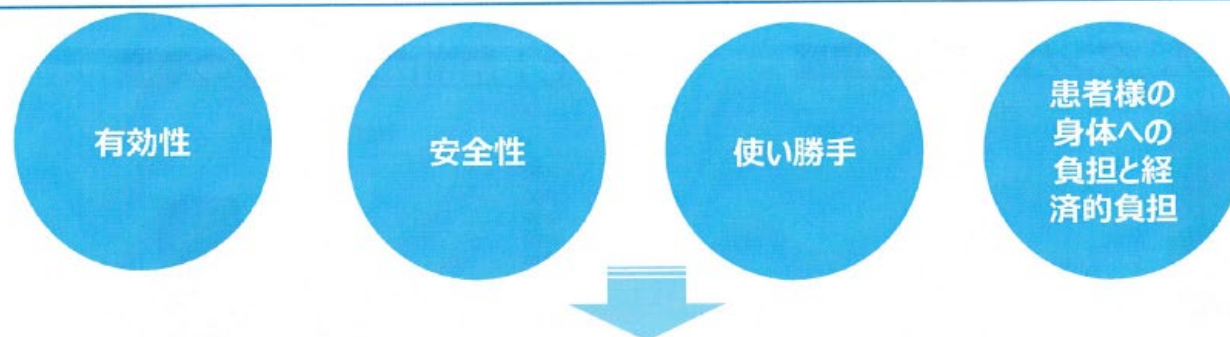
銀染色法でタンパク質の量を検出した結果です。  
一般的にサイトカインとされているタンパク質  
(30kDa以下)は、臍帯の方が高い結果となりました。  
サイトカインはタンパク質の一種のため、タンパク質  
の濃度が高い方がサイトカインの量が多いと想定でき  
ます。

ヒト臍帯由来のHGFの濃度



HGF（肝細胞増殖因子）は、細胞増殖促進の作用を促し、病気の治療から  
アンチエイジングまで、様々な効果が期待できると言われているサイトカイン  
です。HGFが脂肪に比べて臍帯の方が3.5倍多く含まれます。

## 幹細胞移植と、培養上清の比較



培養上清は幹細胞移植と同等の効果を得られる治療法ということが示されています。

有効性	幹細胞移植は再生医療の中で一番長い歴史があり、実際に臨床の現場で有効性が示されています。培養上清は臨床例こそ、まだ多くありませんが、幹細胞移植と同等、もしくはそれ以上の有効性があることがわかってきました。実用医療としての条件を備えているのは培養上清だともいわれています。
安全性	幹細胞移植には、がん化や血栓形成のリスクが伴うことがあります。それに対して培養上清には現在の所、深刻な副作用は起きていません。
使い勝手	幹細胞移植やiPS細胞の場合、培養や目的の細胞を作り出したりと、特殊医療としての価値は認められますが、実用医療には程遠いと言わざるを得ません。それに対して培養上清は大量生産可能、長期冷凍保存可能、急性期であれ慢性期であれ柔軟に対応が可能です。また、鼻の粘膜への噴霧、静脈への点滴静注、皮膚への塗布など、多彩な使い方が出来ます。
患者様身体への負担と経済的負担	幹細胞移植と比べて、体への負担は全くないものと同じです。コストは100分の1。

抜粋引用：書籍 翼の再生医療 ～培養上清とは何か～ 上田実（医学博士）著



## 1. 日本品質へのこだわり

日本人ドナーから幹細胞を採取し、培養及び製造も全て日本国内で行います。



## 2. 安全性へのこだわり

製造工場で5つの検査を行い、全ての検査基準をクリアした製品のみを扱います



## 3. 濃度へのこだわり

培養上清液を希釈することなく、原液をそのまま製品としてお使います。



## 4. 無調整へのこだわり

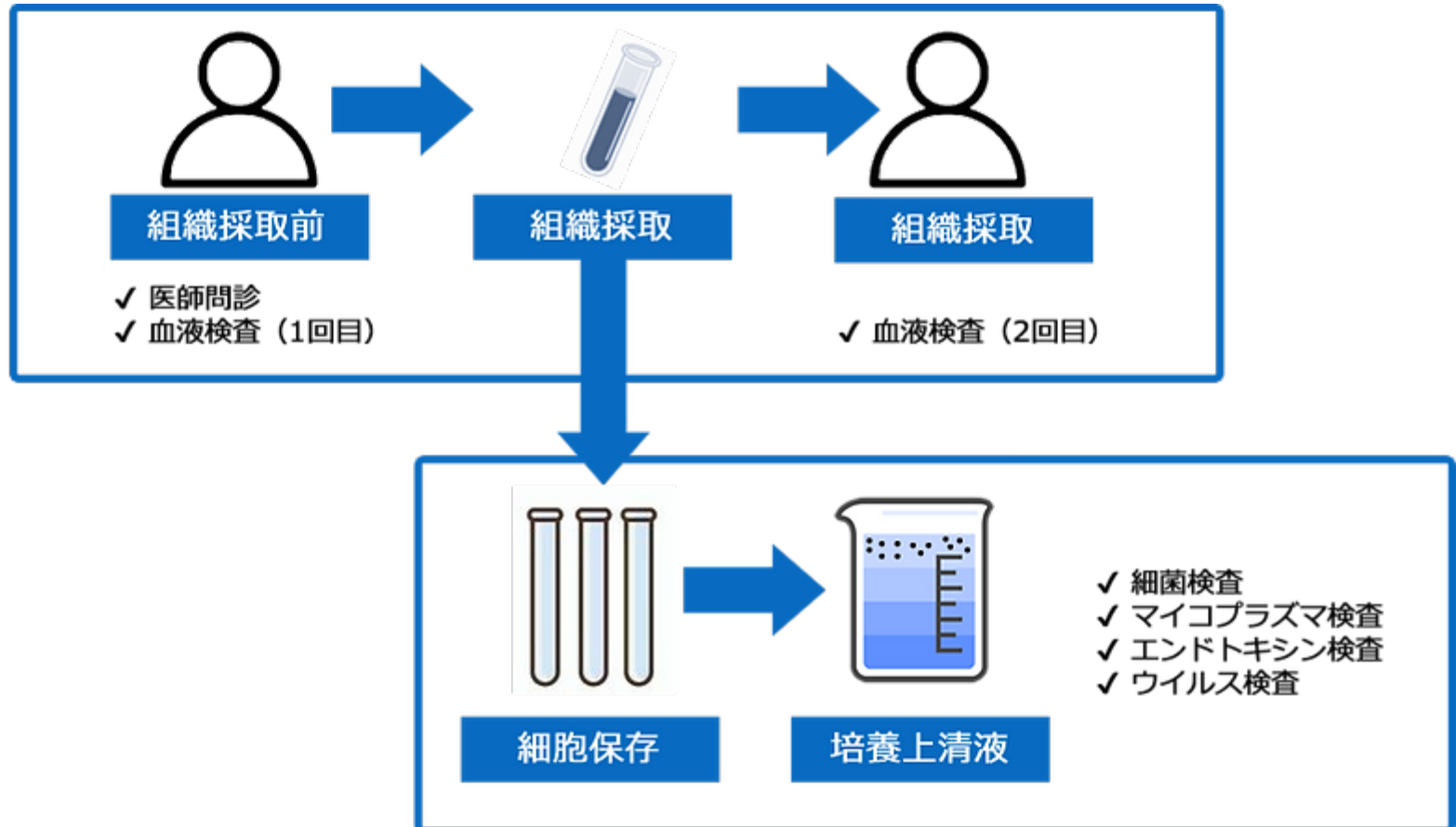
サイトカインオーケストラの考えをもとに、サイトカインの調整を行いません。ヒトの身体本来の黄金比を崩さず、そのまま製品としてご提供致します。



## 5. 品質管理へのこだわり

品質の安定性を保つため、製造後は-70℃以下で保管します。また、製造から半年以内の製品のみをご提供致します。

## 品質評価体制



## 日本人ドナーに対する検査

### ドナースクリーニング

ドナーに対して、計2回の血液検査を行い、感染症が無いことを確認します。ドナーが特定できているからこそ実現できる検査です。※現在国内で流通している幹細胞培養上清液の殆どがドナースクリーニングを行われておりません。また、研究用試薬としてメーカーから供給される幹細胞培養上清液を臨床で使用されておられます。

血液検査1回目



組織採取前



組織採取

92日後

血液検査2回目



組織採取

感染症検査項目（HBV,HCV,HTLV,PVB19,梅毒）⇒陰性



## 培養中の細胞に関する検査

### ①細胞のウイルス検査

✓ 細胞を培養する工程で、ウイルス感染が生じていないことを確認します。

※ウイルス検査項目は厚生労働省（ヒト体性幹細胞加工医療薬品等の品質及び安全性の確保について（平成24年9月7日薬食発0907第3号別添）に準拠

ウイルス検査項目

（HBV,HCV,HIV,HTLV,PVB19,CMV,EB,WNV）⇒陰性

### ②マイコプラズマ否定試験

✓ 細胞を培養する工程でマイコプラズマ汚染が生じていないことを確認します。

検査項目（マイコプラズマ）⇒陽性

## 抽出した培養上清に対する検査

### ①微生物（無菌）検査

✓ 培養上清中に、真菌及び最近が混入していないことを確認します。

各種菌の増殖⇒陽性（いずれも菌の増殖がない）

### ②エンドトキシン（発熱物質）検査

✓ 培養上清中に、基準以上のエンドトキシンが含まれていないことを確認します。

培養上清に含まれるエンドトキシン濃度⇒0.5EU/ml以下

## 品質に影響する5つの要素

- ✓ 日本人由来の細胞⇒安全性のトレーサビリティが取れる。
- ✓ 市販研究用細胞由来ではない⇒徹底した品質管理と安定した原料供給が可能に
- ✓ 関連法規遵守に関して⇒臨床培養士有資格者が再生医療安全性確保法おける遵守事項を守り製造
- ✓ 製造工程での安全性、有効性を配慮した品質管理⇒臍帯幹細胞培養上清液のポテンシャルを最大限引き出すことに成功
- ✓ 完全無血血清培地での製造⇒より安全性が高く、製造ロットごとの安全性が高く、製造ロットごとの安定性が非常に高い

## 幹細胞培養上清液による細胞増殖活性化

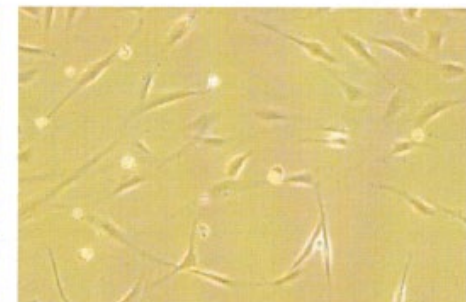
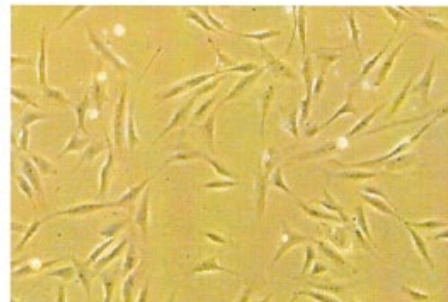
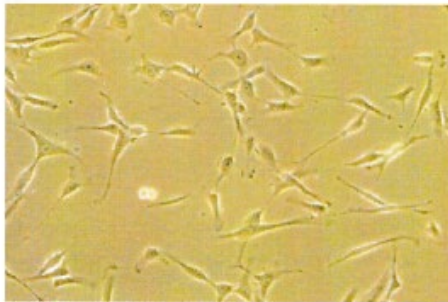
基礎培地に培養上清液を加えることで、細胞の増殖が促進されることが確認されます。

0日目

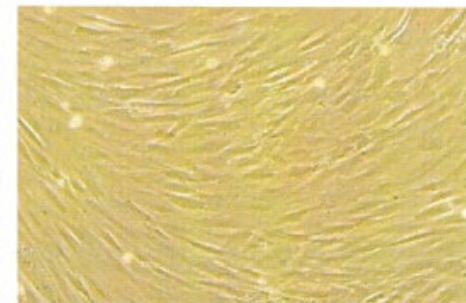
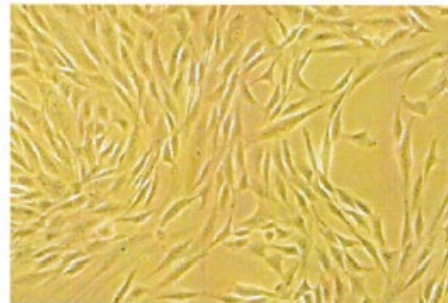
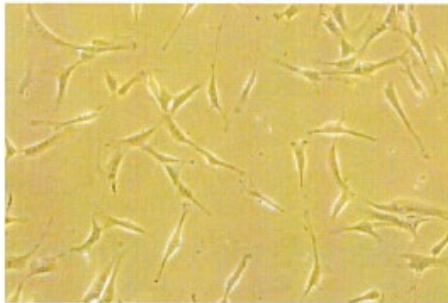
1日目

5日目

培地のみ



臍帯由来培  
養上清液



※評価はヒトMSCを用いて行った

安心してご利用いただける‘本物’の培養上清液をお選び下さい。

比較内容	弊社取り扱い製品	A社製品	B社製品	C社製品
製造責任者	アカデミアでの再生医療 幹細胞研究10年の研究者	情報なし	情報なし	情報なし
製造内容	原液	原液	希釈液	配合液
製造国	日本	日本	日本	韓国
ドナー	日本人	欧米人	日本人	韓国人
ドナースクリーニング	6項目	5項目	8項目	項目情報なし
ドナー血液検査回数	2回	1回	1回	1回
ウイルス試験（製造工程）	8項目	検査なし	検査なし	情報なし
マイコプラズマ検査	陰性	陰性	陰性	情報なし
無菌試験（真菌・細菌）	陰性	陰性	陰性	情報なし
エンドトキシン検査	0.5EU/ml以下	情報なし	情報なし	情報なし
製品管理	ロット毎	ロット毎	ロット毎	情報なし

## 導入のメリット

幹細胞治療は、様々な疾患に効果が認められその適応も広がりつつありますが、培養コストが高額であることや細胞採取に伴う患者様への身体負担などの課題があります。一方、**幹細胞治療と同様の効果が期待できる培養上清液治療**は、これらの課題をクリアすることができます。

コストや手間、時間の課題を考慮した場合、培養上清液治療の選択は、貴院や患者様の双方にとって、大きなメリットとなります。

