

ヒト MSCs の凍結保存と融解

📅 August 22, 2016

👤 Nancy Andon



メリーランド州ベセスダにあるアメリカ国立衛生研究所（NIH）内のアメリカ食品医薬品局研究室（FDA labo）で、幹細胞研究を行う科学者。

（写真提供：Wikimedia）

デンマークのコペンハーゲンの Cardiology Stem Cell Center が発行した包括的な新しいプロトコル^[1]では、Medcison 社の [ThawSTAR 細胞融解システム](#)が不可欠な要素として挙げられています。

読者の大半がご存じのように、ヒト間葉系幹細胞（hMSCs）は、現在臨床研究下で熱い注目を浴びている、多くの新しい細胞を用いた療法の基礎となっています。それらの療法の可能性は、免疫抑制能および再生能という特性に基づいています。凍結保存が“現場の”細胞療法において、実践的に必須であるということはほぼ全ての研究者が同意しており、現代の凍結保存や融解方法は、これらの治療特性を保護することを目的としなければなりません。

コペンハーゲンの研究者達は、凍結保存用培地、凍結保護剤（CPAs）、凍結容器、凍結温度、冷却および加温速度のような様々な要素を考慮して有効な臨床的幹細胞保存プロトコルを定義しました。

適切な凍結保護剤を選択する際に、最も難しい問題の一つとして、細胞を透過し、かつ毒性が低い凍結保護剤を見つけることが挙げられます。当然、DMSO は細胞透過性が高く、細胞生存率の保護に優れた実績を持つことから、最も広く使用されている凍結保護剤です。しかし、DMSO は毒性が高く、臨床環境においては融解後の洗浄や細胞投与前の希釈が必要で、それゆえに、DMSO の代わりに代替の凍結保護剤を使用したり、または、より一般的には DMSO 濃度を下げるため、別の凍結保護剤を DMSO と組み合わせて使用します。冷却速度もまた、hMSC の生存率において重要な要素です。氷晶形成による細胞破壊を回避するため、冷却速度は慎重にコントロールしなければなりません。

著者らは、受動的な凍結の方が冷却速度制御型フリーザーを使うよりも安価であるとしており、特に[イソプロパノール不要の受動的凍結容器](#)を推奨しています。

凍結細胞の保存温度はその生存率に影響を及ぼすため、凍結後 1 日以内に液体窒素へ移動し、化学的な変化が起こらない温度である-196℃で保存することが推奨されます。

細胞の生存率を守る上では、凍結速度と同じように融解速度も重要です。著者らは、融解に従来のウォーターバスを使用することを大まかに述べていますが、より確実に加温速度

をコントロールする技術（特に Mecision 社の ThawSTAR システム）が利用できることについて述べています。ThawSTAR は現在様々なバイアル形状に対応しており、臨床での使用に対する適応性が向上しています。

著者らは、結局のところ、融解直後の生存率が細胞の回復や機能を本当に反映しているわけではないと注意しています。「不可視の」ダメージが、アポトーシスなどを引き起こす可能性があり、そのため予測不能な温度変動から細胞を保護することが非常に重要です。初期の臨床試験では、凍結保存した MSCs が、新鮮な分離されたばかりの細胞と機能的に同じなのかという議論が噴出しましたが、最近の研究により、これらの懸念が杞憂であったとの結果が出ています。^[2] 凍結保存した MSCs が、新鮮な細胞と同程度の機能を有していないのではないかという不安を投げかけるよりも、凍結保存したものが、新鮮なものと同等に良好であり、将来のアプリケーションの為に機能的な能力が保持されていることを保証する技術の導入を提案する方が、合理的ではないでしょうか。

参考文献:

- [1] Haack-Sorensen M., et al. Cryopreservation and Revival of Human Mesenchymal Stromal Cells. Mesenchymal Stem Cells: Methods in Molecular Biology 1416: 357-374 29 May 2016.
- [2] Gramlich, O. W., et al. Cryopreserved Mesenchymal Stromal Cells Maintain Potency in a Retinal Ischemia/Reperfusion Injury Model: Toward an off-the-shelf Therapy. Nature: Scientific Reports 6, Article number: 26463, 1-12. 2016.

元記事 : <http://www.mecision.com/cryopreservation-thawing-human-mscs/>