



GE Healthcare
Life Sciences

細胞治療與新藥開發漫漫長路： 您的培養基 選對了嗎？

撰文：鄭倩芸

以細胞作為治療方式或醫藥組成物統稱為「細胞治療」，為目前新興的醫療方式且受到全球的高度重視，被視為癌症、心血管、再生醫學等重大疾病的希望，各類細胞治療在技術上具前瞻性，絕對是新一代治療趨勢。

為推動精準醫療產業發展，我國衛福部所擬定的「再生醫療產品管理條例草案」（簡稱再生醫療條例），總算於今年9月通過，預計將開放「自體細胞治療」並公布「特定醫療技術檢查檢驗醫療儀器施行或使用管理辦法」修正案，開放已證明有初步療效的六項細胞治療，包括自體周邊血幹細胞移植、自體免疫細胞治療、自體脂肪幹細胞移植、自體纖維母細胞移植、自體間質幹細胞移植、自體軟骨細胞移植。

細胞治療其中最重要的一個過程就是細胞的培養，而細胞之所以能在體外存活生長其主要就是依靠培養基中的養分，因此培養基在細胞治療中扮演著非常關鍵的角色，不僅為細胞治療研究的基礎，更是重要的輔助性材料，因此針對細胞的特性以及研究階段的需求，選擇正確還有合適的培養基便成為最重要的環節。

培養基百百種，到底怎麼選？

培養基內的成份是支持細胞存活、增殖以及影響細胞代謝功能的關鍵，這也代表著如何挑選適合的培養基會直接影響產率以致產物的品質與新藥療效等結果。培養基從來源來區分，可概分為天然培養基(Natural Medium)與合成培養基(Artificial or Synthetic Medium)兩大類，前者代表的是培養基成份完全由天然的物質所組成，此類的培養基營養豐富但成份相對複雜且不穩定，對於產物的品質難以掌控；後者則是透過額外添加化學合成的有機或無機鹽類、維生素以及碳水化合物等生長輔助因子，以達到細胞周期延長或增殖等目的。而合成培養基根據添加的成份又可概分為含血清培養基(Serum Based, SB)、無血清培養基(Serum Free, SF)與非異種來源培養基(Xeno Free, XF)三大類。

含血清培養基的優點在於具有豐富的生長因子，有助於促進細胞生長與分化，同時也提供培養基較好的pH緩衝效果，藉此減低對於細胞的物理與化學性傷害，提供細胞相對容易適應的體外培養環境。然而含血清培養基也可能因為批次與來源上的差異造成細胞表現的不一致性，或是含有生長抑制因子與污染等風險，因此在血清的挑選上也必須特別留意。




幹細胞新藥，是細胞治療技術還是新藥研發？

常被應用於細胞治療的細胞類型包含免疫細胞及幹細胞，其中又以造血和間質幹細胞被廣泛應用於細胞治療藥物的研發。歐、美、韓及台灣等新藥研發蓬勃的國家均將幹細胞視為藥物，並公告人類細胞治療產品查驗登記審查基準、人類細胞治療產品臨床試驗申請作業及審查基準等法規。嚴格規範幹細胞藥物的化學、製造與管制(Chemistry, Manufacturing and Controls)、非臨床藥理、毒理以及人體臨床試驗等，所以幹細胞研究既是細胞治療技術同時也屬於再生醫學的新藥開發範疇。

一個新藥的研發從探索至上市平均需要10-15年。根據2014年美國塔夫茨藥物研究研究中心(Tufts Center for the Study of Drug Development)的調查統計，自1997年至2007年間進行初次臨床試驗的藥物，開發一個新藥處方平均的花費為26億美元，其中培養基的使用更佔了40-60%的成本。進入臨床試驗階段後更是對於在細胞、組織及基因治療的產品中的輔助性材料(Ancillary Materials, AM)殘留量具有嚴格的控管與規範，而在細胞治療的生產過程中培養基便是最關鍵的素材之一。另外，根據統計全球生產近60萬公升的胎牛血清，僅三分之一符合監管單位對於細胞治療的要求。GE HyClone血清為Biological research and manufacturing等級，從生產、血清來源收集、製造以至於品質管理與運輸皆具備完整且嚴格控管的產線供應鏈，透過True pooling技術堅持，每一批次的血清量高達2000公升以上，並通過繁複的過濾確保血源批次的一致性，更大幅降低污染及變異性。同時通過由歐洲藥物品質審查委員會(European Directorate for the Quality of Medicines, EDQM)以及血清國際工業協會頒布的CEP(Certification of Suitability to the monographs of the European Pharmacopoeia)和ISIA認證，2017年更獲頒由第三方公信獨立組織Oritain認可的產地證明，原物料的安全性審核、製程均通過cGMP、ISO 9001及ISO 13485規範，產品穩定性以及產品可追溯性皆受到嚴格管控與監測(表一)，適用於研究與臨床前試驗之應用，同時GE HyClone的血清產品亦為全球首間具備此三大認證的品牌。

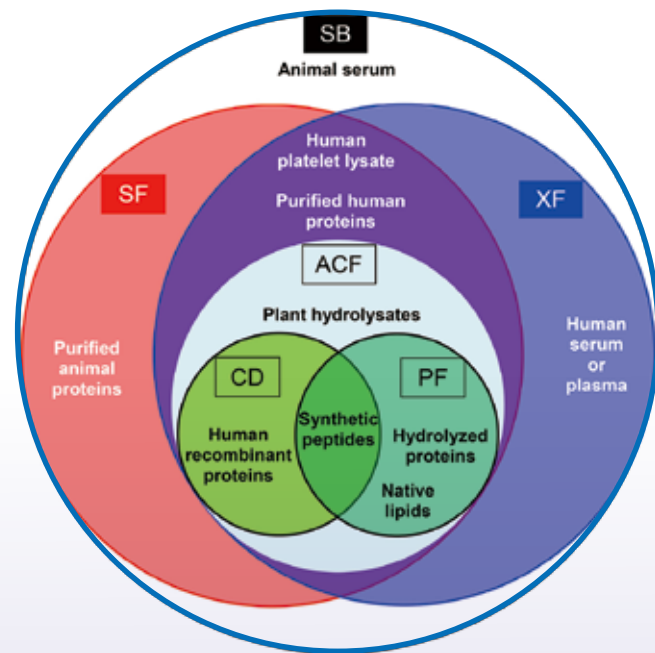
表一、GE HyClone血清品質通過三大認證系統

認證縮寫 標誌	 CEP / COS or CofS		
審核單位	歐洲藥物品質 審查委員會(EDQM)	國際血清工業 協會(ISTA)	ORITAIN
認證內容	由歐洲藥物品質審查委員會(European Directorate for the Quality of Medicines, EDQM)依歐洲藥典規範進行審查後頒布。強調原料藥本身性質，包括化學結構、性質、雜質(純度)、限量、品質管制、藥品穩定性與安全性評估。該認證受到美國FDA、加拿大HPFB、澳洲TGA及歐洲藥典公約38會員國認可。	生產須依照GMP相關規範，並保有產地與製程的可追溯性及認證的不可轉讓性(ex: 與通過認證企業相關採買或上下游企業皆不得宣稱獲得該認證)，以維持認證的正當性與公正力，保證獲得該認證企業單位之生產品質與穩定。	由ORITAIN頒布的產地認證，採用科學的分析方法，針對樣品本身進行審核，不受到外包裝產地的宣稱的描述影響，自生產到終端成品各階段隨機抽樣，透過ORITAIN的資料庫進行分子比對，須經反複驗證確認其產地始授頒該認證。



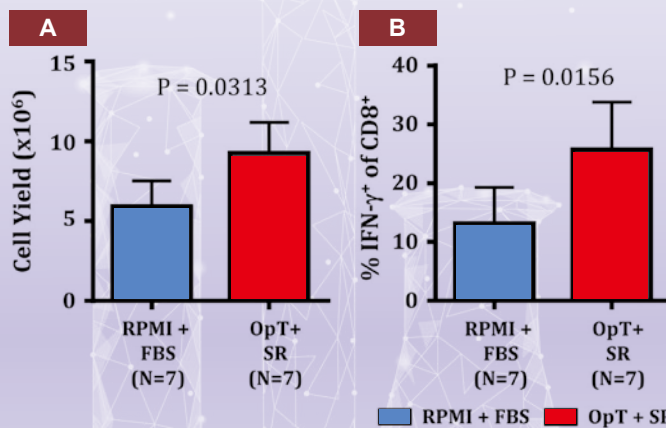
然而，隨著血清的需求每年達10-15%的成長幅度，可預見不久的將來便會面臨供不應求的局勢，而符合臨床使用的血清價格在近幾年來漲幅更高達三倍之多。為了尋求符合監管當局對於輔助性材料的要求，同時顧及研究成本的考量，血清替代物與無血清培養便成為當前研究的趨勢。

無血清培養基避免了血清批次間變動，以及其中複雜成分所影響細胞培養表現與重複性的問題，成分相對穩定使其細胞產物更易於純化。而根據細部的成分與配方差異又可再細分為無動物性來源、已知化學合成配方與無蛋白配方。無動物性來源(Animal Component Free, ACF)表示其培養基組成不含任何動物包含人類的血清與蛋白成分，已知化學合成配方(Chemical Defined, CD)顧名思義培養基中僅含有已知的化學結構物質，不含任何蛋白質、水解物以及生長因子等其他未知成分，無蛋白配方(Protein Free, PF)培養基內不含任何蛋白成分，然而不可排除可能含有水解蛋白、胜肽、生長因子與脂質分子等未知或不確定的成分分子。此外，為降低細胞治療可能造成的免疫排斥反應，無異種來源(Xeno Free)培養基僅包含人類來源的補充物，不含動物血清或非人源的蛋白，因此更成為重要的指標與要求之一(圖一)。



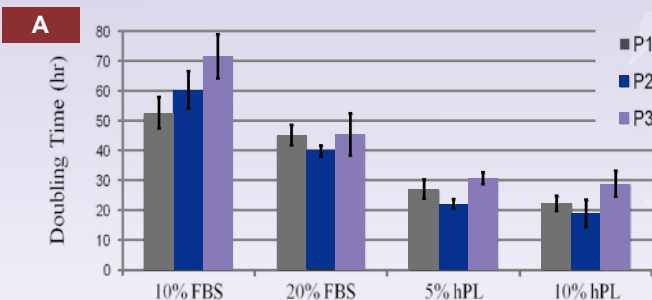
圖一、各種合成培養基成分差異示意圖
SB:含血清, SF:無血清, XF:無異種來源, ACF:無動物性來源, CD:已知化學合成配方, PF:無蛋白配方

近年來有越來越多無血清培養與血清替代物應用於細胞治療相關的研究，相較於含血清培養基，無血清培養細胞取得相當甚至更佳的增殖能力與細胞治療成效。2015年Corey S.等人發現以無異種來源血清替代物可促進T細胞的增生以及IFN- γ 產量的提升(圖二)，提供臨床免疫治療更具有潛力的細胞培養選擇平台。

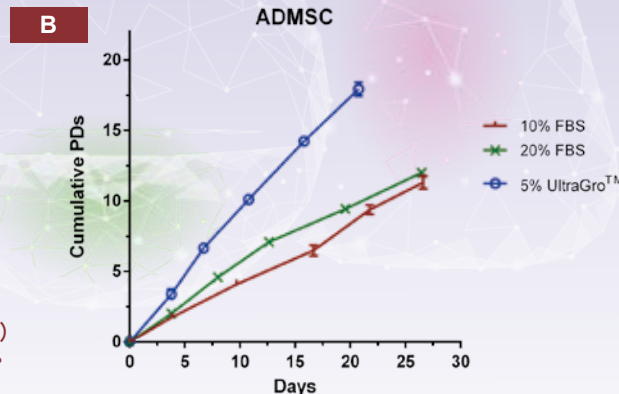


圖二、含胎牛血清(Fetal Bovine Serum, FBS)培養基與非異種來源血清替代物(Xeno Free Serum Replacement, SR)對於細胞總數(A圖)與IFN- γ 產量(B圖)的表現差異比較。

艾瑞生醫提供GMP等級的人類血小板裂解液(Human Platelet Lysate, hPL)作為血清替代物，可供幹細胞與免疫細胞研究使用，內含豐富的生長因子維持細胞的正常生長，經實驗證明較胎牛血清(FBS)具有更短的增殖時間與提高細胞總數(圖三)。



圖三、間質幹細胞分別以血小板裂解液(UltraGro)與胎牛血清(FBS)培養對於細胞增殖時間(圖A)與細胞總數(圖B)的影響比較。





GE HyClone提供無血清且無動物性來源的HyCryo凍存液，經測試適用於VERO、CHO-K1、MDCK及HEK293等多種細胞株，適合工業研究使用；另有專為神經前驅細胞(Neural Progenitor Cells)、幹細胞(Stem Cells)、胚胎幹細胞(ESCs)、誘導多能性細胞(iPSCs)以及纖維母細胞(Fibroblast)等所設計使用的HyCryo-STEM凍存液，其無血清來源特殊配方能保護細胞在凍存過程中不受傷害，並降低其細胞自體分化現象，高度維持細胞凍存品質與一致性，存活率可達95%以上。特殊2X濃縮液設計，將細胞凍存液與細胞培養後之上清液(Condition Medium)以1:1的比例混合，使其浸置於本身分泌的細胞因子與最熟悉的環境，維持到最佳的保存條件而達到最佳回復率。此外，GE HyClone更考量實驗室研究級與量產階段所在意的配方案差異，將其無血清培養系統更細分為無蛋白來源、無動物性成分、已知化學合成物等內含物配方，並研發了符合各種規格需求的無血清培養基，適用新藥開發進入臨床階段的研究與應用，同時也提供即時的客製服務(Rapid Response Production, RRP)，快速供應並且小量客製化Prototype培養基、營養補充物與試劑，提供各種彈性規格如粉劑、液劑以及Single Use Container，縮短細胞治療研發階段優化細胞培養條件所需反復調整的時間、協助開發最適合的專屬培養基，更可提供在進入cGMP產程前的各項測試驗證流程服務，加速產程推進。更多RRP相關服務內容詳洽當區業務深入了解。

相關產品

HyClone血清及細胞基礎培養基

品名	規格	貨號
Standard FBS	500 mL	SH30088.03
HyCryo	100 mL	SR30001.02
HyCryo-STEM	100 mL	SR30002.02
Penicillin/ Streptomycin solution	100 mL	SV30010
Trypsin, 0.25% (1X)	100 mL	SH30042.01
AdvanceSTEM ES Qualified Non-Essential Amino Acids (100X)	100 mL	SH30853.01
RPMI 1640	500 mL	SH30027.01
DMEM, High Glucose	500 mL	SH30022.01
DMEM, High Glucose w/ Sodium pyruvate	500 mL	SH30243.01
DMEM, Low Glucose	500 mL	SH30021.01
MEM/EBSS	500 mL	SH30024.01
McCoy's 5A	500 mL	SH30200.01
M199/ EBSS	500 mL	SH30253.01
IMDM, w/ L-Glutamine	500 mL	SH30228.01

艾瑞生醫血清替代物

品名	成份	規格	貨號
UltraGRO	無異種來源 (需額外添加 heparin)	50 mL	HPCPLCGL05
		100 mL	HPCPLCGL10
		500 mL	HPCPLCGL50
UltraGRO Advanced	無血清配方	50 mL	HPCFDCGL05
		100 mL	HPCFDCGL10
		500 mL	HPCFDCGL50
UltraGRO PURE	無異種來源	50 mL	HPCHXCGL05
		100 mL	HPCHXCGL10
		500 mL	HPCHXCGL50

REFERENCE :

1. Corey S. et al. (2015) Ex vivo expansion of human T cells for adoptive immunotherapy using the novel Xeno-free CTS Immune Cell Serum Replacement. Clinical & Translational Immunology. Vol.4
2. Ohad K. et al. (2016) A consensus introduction to serum replacements and serum-free media for cellular therapies. Cytotherapy