

## 2. ヒト iPS 細胞由来移植細胞の品質・安全性確保の上での課題

現在、ヒト iPS 細胞由来移植細胞のような「細胞・組織加工製品」（最近は「再生医療製品」ともいう）の国内実用化には、主に2つのルートがある。1つは、治験を行った上で厚生労働省の製造販売承認を受けて保険適用医療として実現するルート、言い換えれば薬事法上の「業」としての実用化である。もう1つは、「ヒト幹細胞を用いる臨床研究に関する指針」（平成22年厚生労働省告示第380号）に則った臨床研究（ヒト幹細胞臨床研究）の成果に基づく先進医療・高度医療評価制度による医療、若しくは保険適用外医療としての実用化であり、これらは医療法・医師法の下で行われる「医療行為」として実施される。ヒト幹細胞臨床研究は、手続きや費用などの面で治験よりも実施が比較的容易であるものの、治験の国際ガイドライン（ICH-GCP）に沿った国内 good clinical practice（GCP）ガイドラインの準拠が義務ではなく、得られたデータを薬事承認申請資料としてそのまま使用できない場合が多い。また臨床研究と自由診療全般において言えることであるが、医療費が高額になりやすいことに加えて、長期フォローアップが困難であり、有効性のネガティブデータも公開され難い傾向があるという問題点があり、安全性・有効性情報が蓄積されないことが指摘されている。

いずれのルートをとるにせよ、ヒト iPS 細胞由来移植細胞の製造の流れは、大まかに、原材料となる体細胞の採取、体細胞の培養、iPS 細胞株の樹立、目的とする機能細胞への誘導、製剤化ということになる。こうした製造工程の中での品質・安全性上の主要な課題としては例えば、「体細胞やその他の原材料のウイルス等による汚染の有無の評価」、「体細胞やその他の原材料の品質特性評価」、「樹立した iPS 細胞の品質特性の評価・管理」、「分化誘導後の目的細胞の品質特性の評価・管理」、「目的細胞投与後の免疫応答対策」といったものが挙げられるが、中でも、ヒト iPS 細胞由来移植細胞に懸念されている課題は、「細胞の造腫瘍性の評価・管理」である。

## 3. ヒト ES/iPS 細胞由来移植細胞の造腫瘍性の評価

「造腫瘍性」（tumorigenicity）とは、動物に移植

された細胞集団が増殖することにより悪性又は良性の腫瘍を形成する能力を言う。ヒト ES 細胞株やヒト iPS 細胞株を樹立した際には、どのくらい初期胚内の多能性幹細胞の性質を保っているかを確認する必要があるが、その際、細胞の多能性の証明は通常、免疫不全動物に細胞を移植して動物体内でのテラトーマ（teratoma, 奇形腫）の形成を確認し、移植した細胞が内・中・外胚葉系の様々な細胞種に分化することを示すことによってなされている。つまり、ヒト ES/iPS 細胞は造腫瘍性を元来の特性として保持しており、この点がヒト体細胞・体性幹細胞とは大きく異なる。したがって、ヒト ES/iPS 細胞を加工して製造される医薬品・医療機器（平成25年5月衆議院提出の薬事法改正案では「再生医療等製品」の一種となる）においては、未分化細胞の混入・残留により異所性組織形成や腫瘍形成が惹起されるリスクがあり、最終製品の造腫瘍性の評価と管理が重要な課題となる。このことは、可能な限り最終製品で用いられる目的細胞を純化し、残存する未分化な ES/iPS 細胞を除去する工夫が必要であることを意味し、実際、その取り組みに関する報告はこれまでに多く存在する。<sup>1-6)</sup>

注意しなければならないことは、ヒト ES/iPS 細胞由来移植細胞の実用化・品質評価においては、こうした取り組みと同時に、未分化の ES/iPS 細胞の混入・残留量を高感度で確認する方法や、最終製品に混入・残留した未分化の ES/iPS 細胞等の造腫瘍性細胞に起因する安全性上の問題の評価方法が必要だということである。しかしながら、ヒト ES/iPS 細胞由来移植細胞に関する造腫瘍性評価方法の開発とその体系化・標準化は、ES/iPS 細胞から特定の細胞種への効率的な分化誘導法の開発や、残存 ES/iPS 細胞の除去方法の開発などに比べて著しく立ち遅れており、ヒト ES/iPS 細胞由来移植細胞を用いた再生医療・細胞治療の実現における最大の隘路と



佐藤陽治

国立医薬品食品衛生研究所・遺伝子細胞医薬部・部長、博士（薬学）。1995年に東京大学大学院薬学系研究科博士課程修了後、米国シンシナティ大学医学部・ポスドク。'98年に国立医薬品食品衛生研究所代謝生化学部・研究員として着任の後、遺伝子細胞医薬部・主任研究官、同・室長を経て、'12年より現職。

して残されたままの状態にある。この問題の解決なしには、ほとんどの場合、ヒト ES/iPS 細胞由来移植細胞の実用化・産業化の達成はほぼ不可能である。

#### 4. WHO の造腫瘍性試験ガイドライン

「造腫瘍性評価方法の開発とその体系化・標準化が立ち遅れている」と上で述べたが、現在、細胞の造腫瘍性試験に関する国際的なガイドラインが1つだけ存在する。それは、世界保健機関 (World Health Organization; WHO) の生物薬品標準化専門委員会第47次報告 (1998) (Technical Report Series No. 878, TRS 878) にある Annex I 「生物薬品製造用の *in vitro* 基材としての動物細胞の使用の要件」<sup>7)</sup> というものである。WHO TRS 878 にある造腫瘍性試験の内容は、極めて大雑把に言えば、「ヌードマウス等の動物 10 匹に  $10^7$  個の細胞を投与して 16 週間観察し、陽性対照としては HeLa 細胞などを用いる」というものであるが、注意しなければならないのはその適用対象と目的である。

WHO TRS 878 の造腫瘍性試験の適用対象は、あくまでワクチンやタンパク質製剤など、ヒトを対象に *in vivo* 又は *ex vivo* で投与される生物薬品を製造する際に *in vitro* 基材として用いられるヒト又は動物由来の細胞株である。「患者に移植する細胞」及び「治療を目的に患者に移植する細胞株の原料となる細胞」は、WHO TRS 878 の対象外とされており、その特性解析においては規制当局等との議論が必要とされている。

WHO TRS 878 における造腫瘍性試験の目的は、生物薬品用細胞基材となる細胞株の均一なバンク (セル・バンク) の造腫瘍性の程度又は有無を正確に把握することにある。造腫瘍性の程度の大幅な変化又はその有無に変化が生じた場合、細胞特性になんらかの異常が起こったという指標となる。つまり、既知あるいは未知のウイルス感染、変異原性物質やストレスによる遺伝子変異・発がん遺伝子活性化など、原因はいずれにせよ、セル・バンクの安定性上の異常が発生したことを検出するための方策として、セル・バンクの造腫瘍性を細胞特性指標の1つとして評価し、品質管理に活用することが必要とされているわけであり、試験の目的が非常に限定されたものであることに注意しなければならない。

#### 5. ヒト ES/iPS 細胞由来移植細胞の造腫瘍性試験

ヒト ES/iPS 細胞由来移植細胞の製造における造腫瘍性試験の目的は何か、ということについて、改めて考えてみたい。実は、ヒト ES/iPS 細胞由来移植細胞の製造における造腫瘍性試験には、目的別に以下の3種類があり得る。①原料の品質管理のための造腫瘍性試験、②製造工程管理のための造腫瘍性試験、③最終製品の安全性評価のための造腫瘍性試験、である。以下にこれら3種の造腫瘍性試験の特徴と方法について述べる。

**5-1. 原料 (細胞基材) の品質管理のための造腫瘍性試験** ヒト ES 細胞株やヒト iPS 細胞株は、文字通り、ヒト ES/iPS 細胞由来移植細胞の原料である。これらはヒト ES/iPS 細胞由来移植細胞という生物製剤の一種を製造するための細胞基材である。したがって、これらにおける「造腫瘍性」とは、すなわち生物製剤の原材料 (細胞基材) の品質特性の1つと捉えることができる。

ヒト ES/iPS 細胞由来移植細胞の原料としてのヒト ES/iPS 細胞バンクの造腫瘍性における懸念事項は、WHO TRS 878 におけるセル・バンクの品質管理の考え方と同様に、「セル・バンクの造腫瘍性が既定の範囲内にあるか？」ということになる。ヒト ES/iPS 細胞由来移植細胞の原料としてのヒト ES/iPS 細胞バンクの造腫瘍性の意味づけは WHO TRS 878 における細胞基材の造腫瘍性の意味づけとほぼ同じであることから、その評価方法についても、WHO TRS 878 の方法を準用することが可能であると考えられる。

**5-2. 製造工程 (中間製品) 管理のための造腫瘍性試験** ヒト ES/iPS 細胞由来移植細胞の中間製品となる細胞集団には、目的細胞ないしその前駆細胞に加え残存多能性幹細胞及びその他の目的外細胞が含まれている可能性がある。中間製品の造腫瘍性試験における「造腫瘍性」とは、製造工程管理のための指標としての意味合いがある。製造工程管理における造腫瘍性関連の懸念事項には、「どのくらいヒト ES/iPS 細胞が残存しているか」ということと「目的外細胞として造腫瘍性形質転換細胞が含まれているか」という2点がある。

中間製品の中に「どのくらいヒト ES/iPS 細胞が残存しているか」ということに関しては、ES/iPS

細胞のマーカー遺伝子ないしマーカータンパク質を利用した方法により評価することが可能である。手技としては後述する定量 RT-PCR やフローサイトメトリーなどが挙げられる。これらの方法の詳細については後で述べる。

中間製品の中に「目的外細胞として造腫瘍性形質転換細胞が含まれているか」ということを評価するための方法としては、例えば細胞増殖特性の評価（不死化細胞の検出）や軟寒天コロニー形成試験（足場非依存性増殖細胞の検出、後述）が挙げられる。造腫瘍性形質転換細胞の検出に *in vivo* 造腫瘍性試験系を活用することも考えられるが、最終製品（ないし中間製品）の中に含まれるわずかな造腫瘍性細胞を検出する必要があるため、WHO TRS 878 の方法よりも十分に低い検出限界を備えている必要がある。検出限界の低い試験系としては、T細胞、B細胞及びNK細胞を欠失したNOD/SCID/ $\gamma$ Cnull (NOG) など、ヌードマウスよりも免疫力の低下した重度免疫不全マウスシステムを利用することが考えられる。<sup>8-10)</sup> ただし新規動物モデルを用いた科学的リスク評価のためには、細胞・組織加工製品の造腫瘍性の定量化方法の検討と、その標準化が必要である。

**5-3. 最終製品の安全性評価のための造腫瘍性試験** ヒト ES/iPS 細胞由来移植細胞の最終製品中の細胞集団、すなわち「投与細胞」には、目的細胞に加え、混入する前駆細胞や残存多能性幹細胞及びその他の目的外細胞が含まれている可能性がある。また、最終製品の造腫瘍性試験における「造腫瘍性」には、ヒトでの生着部位での腫瘍形成能を考察する材料であることが要求される。すなわち、最終製品における造腫瘍性関連の懸念事項には、「どのくらいヒト ES/iPS 細胞が残存しているか」ということと「目的外細胞として造腫瘍性形質転換細胞が含まれているか」ということに加え、「投与細胞が、生着する微小環境で腫瘍を形成するか」ということが挙げられる。最終製品の中に「どのくらいヒト ES/iPS 細胞が残存しているか」、「目的外細胞として造腫瘍性形質転換細胞が含まれているか」ということに関しては、ES/iPS 細胞のマーカー遺伝子又はマーカータンパク質の検出、細胞増殖特性の評価、軟寒天コロニー形成試験などで評価できる可能性がある。

一方、「投与細胞が、生着する微小環境で腫瘍を

形成するか」という懸念については、*in vivo* 造腫瘍性試験が必要となる。その場合に考慮すべき点としては、①試験系の検出限界、②投与細胞数、③投与部位などが挙げられる。投与部位については可能ならばヒトでの投与部位に相当する部位を選択すべきである。もしも、物理学的障害を生ずるなどの理由により当該部位に対する投与細胞数に限界がある場合には、可能であれば投与部位を変更するのではなく、動物とヒトとの間の当該投与部位の相対的スケール比に応じて投与細胞数を調節する。すなわち、生着する微小環境と投与細胞との相互作用による腫瘍形成の可能性を考察することを優先する。免疫特権、炎症、虚血など、特殊な投与環境における細胞の挙動は動物モデルにおける *in vivo* での評価でなければ、考察することが困難だからである。

## 6. 造腫瘍性関連 *in vitro* 試験—われわれの検討の結果—<sup>11)</sup>

細胞集団の造腫瘍性、あるいは細胞集団中の造腫瘍性細胞を検出する系としていくつかの *in vitro* 試験系があるが、それぞれに長所と短所がある。この点についてわれわれが検討した結果を *in vivo* 試験法と併せて Table 1 にまとめた。なお、核型分析などの染色体異常を検出することを目的とする試験については、技術的に確立されているものの、得られた結果と細胞の造腫瘍性との相関性が低いことが多く、最終製品の造腫瘍性を評価するというよりも、原材料の品質又は製造過程における製品の遺伝的安定性を評価するという目的で実施されるべきものと言える。

軟寒天コロニー形成試験は、がん細胞の多くが足場非依存的に増殖するのに対して接着性正常細胞は足場が存在しないとアポトーシス（アノイキス）を起こすという性質を生かした試験系で、細胞を分散して軟寒天に封入し、足場非依存的な細胞増殖を検出する試験である。この試験系では、細胞のクランプ残存や寒天中での凝集による足場依存的細胞増殖を防ぐためには単一細胞への分散が重要である。一方、ヒト ES 細胞やヒト iPS 細胞はトリプシン処理などによる分散によってアポトーシスを起こす特異な性質を持つことが知られている。そこで、ヒト iPS 細胞が軟寒天培地中で増殖するかどうかについてわれわれが検討したところ、単一細胞に分散したヒト iPS 細胞は軟寒天培地中では増殖しないこと

Table 1. Comparison of the Tumorigenicity-associated Assays

Assay	Soft agar colony formation assay	Flow cytometry	qRT-PCR	<i>In vivo</i> tumorigenicity assay using SCID mice <sup>12)</sup>
Measurement standard	Colony formation	Expression of marker protein for pluripotency	Expression of marker gene for pluripotency	Tumor formation
Purpose	Detection of anchorage independent growth	Detection of undifferentiated pluripotent cells	Detection of undifferentiated pluripotent cells	Detection of tumorigenic or undifferentiated pluripotent cells
Time	30 d	1 d	6 h	12–16 w
Advantage	Inexpensive	Rapid Analyzing individual cells	Rapid and simple Quantitative  Highly sensitive	Direct Analyzing tumor formation in a specific microenvironment
Disadvantage	Indirect Not applicable to hiPSCs	Indirect Detecting only the cells that express the known marker molecules Gating techniques strongly influence the result	Indirect Detecting only the cells that express the known marker genes	Costly Time-consuming
LLOD	1% of PA-1	0.1% of hiPSC (TRA-1-60)	$\approx < 0.002\%$ of hiPSC* (Lin28)	245 undifferentiated hESCs with $10^6$ feeder fibroblasts (0.025%)

\* Not based on the calculation found in Ref. 13) because the background signal from the negative controls (primary RPE cells) was not detectable.

が明らかとなった。ヒト ES/iPS 細胞の分散誘導性アポトーシスを抑制すると言われている ROCK 阻害剤 Y-27632 存在下で検討した場合も、軟寒天培地中での増殖は認められなかった。これらの結果から、軟寒天コロニー形成試験は未分化なヒト iPS 細胞の混入を検出する目的には適さないということが示唆された。

次に、試験系が機能していない可能性を否定するため、及び正常細胞中への悪性形質転換細胞の混入に関する検出限界を検討するために、軟寒天培地中でのヒト卵巣テラトカルシノーマ細胞 PA-1 のコロニー形成を評価したところ、播種した細胞数が多くなるに伴って検出された PA-1 細胞のコロニーの数も多くなっていた。一方、陰性コントロールとして初代培養ヒト網膜色素上皮 (retinal pigment epithelium; RPE) 細胞を用い、ウェルあたり  $1 \times 10^4$  個の細胞を播種したところ、30 日間の培養でもコロニーは認められなかった。次に今回の軟寒天コロニー形成試験系における PA-1 細胞の検出感度を評価した。正常細胞のモデルケースとして初代培養 RPE 細胞を用い、試験系の検出限界を求める目的で、これに 1%、0.5%、0.25% の割合で PA-1 細胞を添加するスパイク実験を実施した。その結果、1

% の割合で PA-1 細胞を添加することにより、20 日の間にコロニー形成が認められたが、0.5% ないし 0.25% の割合で PA-1 細胞を添加した場合は、コロニー形成が検出されるまでに 30 日を要した。ネガティブコントロール (初代培養 RPE 細胞のみ) と比較して計算した場合、軟寒天コロニー形成試験系を用いて正常細胞 (初代培養 RPE 細胞) 中に混入する PA-1 細胞を検出するには、混入率が RPE 細胞の数の 1% 以上必要であることが明らかとなった。

特定のマーカータンパク質を指標に未分化ヒト iPS 細胞を検出する系として、フローサイトメトリーがある。正常細胞のモデルケースとして初代培養 RPE 細胞を用いてわれわれが検討したところでは、未分化細胞マーカーとされる Oct3/4, Sox2 及び TRA-1-60 に対する特異的抗体によって、未分化 iPS 細胞と分化細胞とが峻別できることが確認された。特に、TRA-1-60 は未分化 iPS 細胞だけでなく、胚性がん細胞 (embryonal carcinoma) でも発現しているとされており、品質・安全性評価の上で有用と考えられる。初代培養 RPE 細胞に iPS 細胞をスパイクする実験により、正常細胞 (初代培養 RPE 細胞) に混入する未分化細胞の検出限界を検

討した結果、0.1%以上の混入量であれば有意な検出シグナルが得られることが明らかとなった。

定量性 RT-PCR は、特定のマーカー遺伝子発現を指標に未分化ヒト iPS 細胞を検出する高感度な系だと当然のように考えられるが、どのマーカーが最適であるか、そして検出感度はどのくらいか、ということに関する情報は意外なことにほとんどない。そこでわれわれは、未分化細胞に選択的に発現するとされる遺伝子として *OCT3/4*, *KLF4*, *C-MYC*, *SOX2*, *NANOG*, *LIN28*, *REX1* を選び、これらの中でどの遺伝子発現が未分化細胞の混入指標として最適か、最適な遺伝子を使用した場合の混入未分化細胞の検出限界はどのくらいかを、検討した。正常細胞のモデルケースとしては、軟寒天コロニー形成試験及びフローサイトメトリーのときと同様に初代培養 RPE 細胞を用いた。検討の結果、初代培養 RPE 細胞であっても、*C-MYC*, *KLF4* 及び *REX1* は、ヒト iPS 細胞での発現を 100%とした場合、数%~25%のレベルで発現していることが明らかとなった。基礎科学としての細胞生物学・分子生物学の視点に立てば、この程度の発現量の差でも「未分化細胞選択的発現」と言えるかもしれない。しかしながら、患者あたりの 1 回の投与量が  $10^4$ ~ $10^9$  個とされる iPS 細胞由来移植細胞の中にわずかに残留する iPS 細胞の検出を行うには、この程度の選択性では全く不十分である。一方、*OCT3/4*, *SOX2*, *NANOG*, *LIN28* の初代培養 RPE における遺伝子発現量は、対 iPS 細胞比で 1/1000 未満であった。RPE 細胞に iPS 細胞をスパイクして検討した結果、*OCT3/4*, *SOX2*, *NANOG* を指標にした iPS 細胞の検出限界はそれぞれ、0.01%, 0.06%, 0.07%であった。*LIN28* については、初代培養 RPE 中の発現が全く検出されなかったため、「ネガティブコントロールのシグナル値の平均値+標準偏差の 3 倍」という通常の方法により下方検出限界を求めることはできなかった。しかしながら、スパイク実験及びヒト iPS 細胞由来 RPE 細胞を用いた検討から、0.002%程度の iPS 細胞が混入した際にも *LIN28* の有意な発現シグナルが観測されることが明らかとなっている。すなわち、*LIN28* を指標にすれば、約 5 万個 RPE 中に 1 個の割合で混入する未分化 iPS 細胞を検出できることになる。この方法は、われわれの知り得る限り、分化細胞中の残存ヒト iPS 細胞の検出方

法としては、学術論文として公表されている方法の中で最も感度が高く、平成 25 年 8 月から開始されている神戸の理化学研究所と先端医療センター病院の自己 iPS 細胞由来 RPE 細胞を用いた臨床研究計画の中でも品質管理試験として採用されるに至っている。現在われわれは、プローブや酵素などの反応条件及び測定方法の改良により、更なる感度の上昇を試みているところであり、将来的には、iPS 細胞由来 RPE 細胞だけでなく、より汎用性の高い iPS 細胞由来移植細胞の評価方法に発展することが期待される。

なお、不死化細胞を *in vitro* で検出する系としては、上に紹介した方法のほか、所定の培養期間を超えて細胞を培養し、その増殖特性を解析する試験がある。これらを組み合わせて未分化細胞及び不死化細胞の存在を否定できれば、最終製品の造腫瘍性はかなり低いことが示唆されるが、臨床試験に進むことの妥当性は、投与細胞数、投与部位、リスクマネジメントプラン、あるいは *in vivo* 造腫瘍性試験データ等によって製品毎に判断されるべきだと考えられる。

## 7. おわりに

ヒト ES/iPS 細胞由来移植細胞のような細胞・組織加工製品（再生医療製品）を対象にした造腫瘍性試験ガイドラインはいまだに存在しない。したがって、現時点では、細胞・組織加工製品の中でも特に造腫瘍性に関して懸念の強い製品について、本稿で挙げたタイプの異なる試験を複数実施し、総合的に判断すべきであると考えられる。なお、個別の製品で示すべき具体的評価事項は、原材料や製品の特性・対象疾患・リスクマネジメントプランなどを勘案して製品毎に判断されるものである。適切な試験（を組み合わせた）結果・評価についても、ヒトでの結果を完全に保証するものではなく、各試験法の能力と限界を理解したうえで、リスク評価・リスクマネジメント立案及びインフォームド・コンセントの受領を行うことが重要であると考えられる。

われわれが開発した定量性 RT-PCR の方法において iPS 細胞の混入の指標として用いられる *LIN28* は、幹細胞の自己複製能の維持に関与していると言われており、京都大学の山中伸弥博士のグループとヒト iPS 細胞の樹立で先陣争いをしていたウイスコンシン大学のジェームズ・トムソン博士のグルー

プがヒト体細胞から iPS 細胞を誘導する際に用いた初期化因子の 1 つとして有名な遺伝子である。また、細胞分化促進因子又はがん抑制因子として知られるマイクロ RNA の一種、let-7 のプロセッシングを阻害するとも言われている。<sup>14)</sup> ヒト生殖細胞腫瘍では LIN28 が過剰発現しているとの報告<sup>15)</sup>もあることから、LIN28 はヒト iPS 細胞の未分化性のマーカーとしてだけでなく生殖細胞腫瘍の悪性度のマーカーとしても有用であることが示唆される。われわれの予備的な定量性 RT-PCR を用いた検討によれば、LIN28 はヒト iPS 細胞においては高発現しているものの、生殖組織以外の多くのヒト組織において発現が全く認められていない。すなわち、分化細胞においては「極度に厳密な」発現制御が行われていることになる。しかしながら、その意義とメカニズムは全く明らかではない。これらを明らかにすることは、細胞の未分化性、多分化能、分化の制御機構という基礎研究の大きな課題に対して重要なインプットとなることが強く予想される。われわれの *in vitro* 評価法の開発目的は「薬学」としての iPS 細胞由来移植細胞の品質・安全性確保のためであったが、そうした視点からの技術開発研究（実用化研究）を続けることで、運よく、医薬品実用化の出口との関連を説明し易い、すなわち実用化の点からも基礎研究の対象としても重要と考えられる因子 (LIN28) を同定することができた。「薬学」の本質は安全で有効な医薬品を迅速に患者のもとに届ける方策を探ることである。したがって医薬品の実用化のための評価技術開発研究は「薬学」の要であって、非常に重要である。しかし、そうした視点のみならず、得られた成果の「生物学」的な意義づけを考え、それをきっかけに開始される基礎研究によって、新しい薬のシーズや標的分子の発見という新しいフロンティアに到達することができるかもしれないという希望を持つことも、「薬学」をエンジョイするには非常に重要な要素だと私は感じている。

**謝辞** 本総説で紹介した研究において終始多大なるご指導、ご鞭撻を賜りました西川伸一先生 (AASJ)、川真田 伸先生 (先端医療振興財団)、高橋政代先生 (理研 CDB)、また多くのご協力を頂きました国立医薬品食品衛生研究所の皆様にご感謝の意を表します。

## REFERENCES

- 1) Lee M. O., Moon S. H., Jeong H. C., Yi J. Y., Lee T. H., Shim S. H., Rhee Y. H., Lee S. H., Oh S. J., Lee M. Y., Han M. J., Cho Y. S., Chung H. M., Kim K. S., Cha H. J., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, **110**, E3281-E3290 (2013).
- 2) Schuldiner M., Itskovitz-Eldor J., Benvenisty N., *Stem Cells*, **21**, 257-265 (2003).
- 3) Chung S., Shin B. S., Hedlund E., Pruszek J., Ferree A., Kang U. J., Isacson O., Kim K. S., *J. Neurochem.*, **97**, 1467-1480 (2006).
- 4) Tang C., Lee A. S., Volkmer J. P., Sahoo D., Nag D., Mosley A. R., Inlay M. A., Ardehali R., Chavez S. L., Pera R. R., Behr B., Wu J. C., Weissman I. L., Drukker M., *Nat. Biotechnol.*, **29**, 829-834 (2011).
- 5) Choo A. B., Tan H. L., Ang S. N., Fong W. J., Chin A., Lo J., Zheng L., Hentze H., Philp R. J., Oh S. K., Yap M., *Stem Cells*, **26**, 1454-1463 (2008).
- 6) Tohyama S., Hattori F., Sano M., Hishiki T., Nagahata Y., Matsuura T., Hashimoto H., Suzuki T., Yamashita H., Satoh Y., Egashira T., Seki T., Muraoka N., Yamakawa H., Ohgino Y., Tanaka T., Yoichi M., Yuasa S., Murata M., Suematsu M., Fukuda K., *Cell Stem Cell*, **12**, 127-137 (2013).
- 7) World Health Organization (WHO). "Recommendations for the evaluation of animal cell cultures as substrates for the manufacture of biological medicinal products and for the characterization of cell banks, Proposed replacement of TRS 878, Annex 1.": ([http://www.who.int/biologicals/Cell\\_Substrates\\_clean\\_version\\_18\\_April.pdf](http://www.who.int/biologicals/Cell_Substrates_clean_version_18_April.pdf)), cited 26 October, 2013.
- 8) Ito M., Hiramatsu H., Kobayashi K., Suzue K., Kawahata M., Hioki K., Ueyama Y., Koyanagi Y., Sugamura K., Tsuji K., Heike T., Nakahata T., *Blood*, **100**, 3175-3182 (2002).
- 9) Machida K., Suemizu H., Kawai K., Ishikawa T., Sawada R., Ohnishi Y., Tsuchiya T., *J. Toxicol. Sci.*, **34**, 123-127 (2009).
- 10) Kanemura H., Go M. J., Nishishita N., Sakai N., Kamao H., Sato Y., Takahashi M.,

- Kawamata S., *Sci. Rep.*, **3**, 2334 (2013).
- 11) Kuroda T., Yasuda S., Kusakawa S., Hirata N., Kanda Y., Suzuki K., Takahashi M., Nishikawa S., Kawamata S., Sato Y., *PLoS One*, **7**, e37342 (2012).
- 12) Hentze H., Soong P. L., Wang S. T., Phillips B. W., Putti T. C., Dunn N. R., *Stem Cell Res.*, **2**, 198–210 (2009).
- 13) Miller J. N., Miller J. C., “Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry,” 5th ed., Person Education Limited, Harlow, 2005.
- 14) Nam Y., Chen C., Gregory R. I., Chou J. J., Sliz P., *Cell*, **147**, 1080–1091 (2011).
- 15) West J. A., Viswanathan S. R., Yabuuchi A., Cunniff K., Takeuchi A., Park I. H., Sero J. E., Zhu H., Perez-Atayde A., Frazier A. L., Surani M. A., Daley G. Q., *Nature*, **460**, 909–913 (2009).

特集 高齢者医療における再生医療の可能性

総説

## 2. 再生医療・細胞治療の臨床研究から実用化までの道のり

村岡ひとみ 佐藤 陽治

KEY WORD

■再生医療 ■臨床研究 ■先進医療 ■治験 ■薬事法

SUMMARY

■わが国では、再生医療など(再生医療または細胞治療)の実用化には、「臨床研究」を経て「先進医療」や「保険外診療」に向かうルートと、「再生医療等製品」の治験を経て薬事承認を受けるルートがあるが、国民のアクセシビリティや国際展開という面から考えると、前者のルートの真の出口も後者を経た保険診療だとされている。ただし、わが国における再生医療などの開発は、医薬品などの国際ガイドラインに沿った国内基準への準拠が義務ではない臨床研究からスタートすることが多く、得られたデータを製品の薬事承認申請資料としてそのまま使用できないという問題を克服することが大きな課題となっている。

### はじめに

超高齢化社会では、加齢に伴って引き起こされる種々の難治性疾患に対する医療の提供が課題であり、特に、失われた機能の回復への期待は大きい。近年のヒト胚性幹細胞(ES細胞)や人工多能性幹細胞(iPS細胞)などの多能性幹細胞の登場によって、失われた組織の再生を目指す再生医療が現実のものとして考えられるようになってきたが、このような新しい概念をこれまでの医療や医薬品の規制の枠組みの中で実用化することは容易ではない。

### 再生医療・細胞治療の開発の道筋

わが国において、ヒトまたは動物の細胞に培養そのほかの加工を施したものをを用いた再生医療など(再生医療または細胞治療)を実用化するための道筋には、「医療としての開発トラック」

と「製品としての開発トラック」との2つがある。医師・歯科医師が自らの患者に「医療」を施すことを目的に、ヒトまたは動物の細胞に医師・歯科医師が自ら加工を施し、これを患者に投与することはこれまで、「医師法」「医療法」などの医事関連法規や「ヒト幹細胞を用いる臨床研究に関する指針」などの行政指針に従い、「臨床研究」およびその結果を踏まえた「先進医療」(保険診療との併用が認められる保険外診療)あるいは「保険外診療」として行われてきた。ちなみに、平成25年成立の「再生医療等の安全性の確保等に関する法律」(通称「再生医療新法」)施行後は、医師・歯科医師は細胞の加工を外部の「特定細胞加工物製造業者」に委託することが可能となる一方で、そのリスク区分に応じて、再生医療等提供計画を厚生労働大臣などに提出しなければならない。

一方、ヒトまたは動物の細胞に培養そのほかの加工を施し、再生医療などに用いられること

■むらおか ひとみ(国立医薬品食品衛生研究所遺伝子細胞医薬部、さとう ようじ(国立医薬品食品衛生研究所遺伝子細胞医薬部部長、名古屋市立大学大学院薬学研究所客員教授、大阪大学大学院薬学研究所招聘教授、九州大学大学院薬学研究所客員教授)



を目的とした製品(再生医療等製品)を開発するトラックでは、「薬事法」の規制を受け、薬事法に基づき、治験を行った上で品質、有効性および安全性を示し、厚生労働省の製造販売承認を受けなければならない。なお、平成25年改正の「薬事法」の施行に伴い、法律名が「医薬品、医療機器等の品質、有効性及び安全性の確保等に関する法律」(略称「医薬品医療機器等法」)に変更されるとともに、再生医療等製品(遺伝子治療用製品を含む)は、医薬品からも医療機器からも独立した第3のカテゴリーとして分類される。再生医療等製品のうち、申請に関わる再生医療等製品が均一でない場合、治験により効能、効果または性能を有すると推定され、安全性の確認が行われたものは、条件および期限付製造販売承認を得ることができるようになるなど、特別な規制が適用される。

「製品としての開発トラック」では、薬事法に記載され、かつ医薬品国際ガイドライン(ICHガイドライン)に沿った国内基準(例えば Good Laboratory Practice (GLP), Good Manufacturing Practice (GMP)/Quality Management System (QMS), Good Clinical Practice (GCP) など)に従う必要がある。すなわち、その必要がない「医療としての開発トラック」と比べ、費用も時間も余計にかかる。ただし、「医療」としての「臨床研究」は、研究費が尽きれば実施不可能になるという点で持続可能な医療ではないことが問題である。「先進医療」では実施可能な医療機関が限定されると同時に、製品の品質にばらつきが生じるおそれがあり、また「保険外診療」は、開発に多くの投資を要する新規製品を用いるために高額となりやすく、いずれの場合も多くの国民が享受できないおそれがある。したがって、国民が広くアクセスできるようにするためには、治験を通じて薬事法上の承認を得て保険診療として実施されることが好ましい。

「先進医療」は、再生医療などの「医療としての開発トラック」における実用化の出口ととらえられることもあるが、実は「健康保険法等の一部を改正する法律」において「先進医療」は「厚生労働大臣が定める高度の医療技術を用い

た療養その他の療養であって、保険給付の対象とすべきものであるか否かについて、適正な医療の効率的な提供を図る観点から評価を行うことが必要な療養」とされており、真の出口とはされていない。同法律の示す真の実用化の出口はあくまで「保険診療」である。

なお、欧米では緊急時や治験などの例外を除き、ヒト・動物の細胞に培養そのほかの加工を施したものを臨床適用する場合には、「医療」か「製品」かの区別なく、ICHガイドラインに沿った薬事の基準に則って開発した上で、その有効性、安全性および品質について製品ごとに、規制当局の審査を受け承認を受けなければならない。したがって、日本国内で開発された再生医療などを国際的に展開することを考えた場合も、治験を通じて薬事法上の承認を得る方が好ましい。

### 再生医療の実用化の問題点と 医師主導治験

わが国における再生医療・細胞治療の開発は、大学などの研究機関の研究者の臨床研究により行われる場合が多い。「医療としての開発トラック」における臨床研究は、手続きや費用などの面で治験よりも実施が比較的容易であるものの、ICHガイドラインに沿った国内基準への準拠が義務ではない。このため、再生医療などの実用化の最終的な出口が保険診療だということになると、得られたデータを製品の薬事承認申請資料としてそのまま使用できないことが多いことが問題である。

つまり、新規の再生医療・細胞治療に関して、臨床研究で有効性・安全性を確認してから産業化を目指して薬事承認を得ようとしても、多くの場合には、国際ガイドラインと整合性のある国内基準に則った治験をやり直さなければならない。また、臨床研究を行った結果を基に実施される先進医療も、前述の通り、法的には保険診療(と薬事承認)を最終的な出口としているが、出口に至るための具体的な道筋はどこにも示されていない。このため、保険診療という出口にたどり着くために乗り越えるべき技術的要件は

薬事法(および関連する基準・指針など)で明らかにされていても、臨床研究から始まった開発の場合、いかにすれば効率的にその要件を満たすことができるかという点が乗り越えられない壁となっている。

「医療」と「製品」の区別のない欧米では、「臨床研究」(医療・研究目的の臨床試験)と「治験」(商業目的の臨床試験)という区別はなく、すべての臨床試験は医薬品の国際ガイドラインに準じた各国の規制に従う必要がある。したがって、大学などにおける非商業的な臨床試験にも多くの資金・労力が必要となるものの、企業への技術移転が日本よりスムーズに進みやすい仕組みだといわれている。つまり、上記課題の解決の方法の1つとしては、大学病院や研究機関であっても、欧米のように最初から治験として開発するということが考えられる。わが国では10年ほど前まで、治験を企画・実施する主体は企業のみということになっていたが、平成14年7月公布の改正薬事法により、医師・歯科医師も自ら主体となって治験を企画・実施することが可能となった(医師主導治験)。医師主導治験の積極的な実施は、医師が開発した治療法・製品を一般に普及するための効果的な方策となると考えられる。医師主導治験の実施には、医師のデータ・技術の企業への橋渡しの仕組み(実施医療機関の体制整備費、治験薬の製造、プロトコル作成、データ管理業務、治験相談などの費用を補助するなどの支援、研究費など)をさらに充実させる必要があることから、文部科学省・厚生労働省は「臨床研究・治験活性化5か年計画2012」などの中で、日本医師会治験促進センターや中核病院・拠点医療機関などと協力し、医師主導治験を含めたわが国の治験実施の環境整備に努めている。しかしわが国の現状としては、欧米のようにすべての臨床研究を医師主導治験に置換する環境にはなっていない。

### 「医療としての開発」と「製品としての開発」をつなぐ道

こうした状況下で、再生医療などの臨床研究

を効率的に保険診療へ結びつけていくために必要なのは、臨床研究におけるデータと製品の質を、重要なポイントだけでも、できる限り治験グレードにそろえることだと考えられる。そのためには、臨床研究であっても治験であっても再生医療等製品のすべてに最低限必須・共通の要件や基準・評価技術を定め、これに各製品の種類・特性、対象疾患、開発段階などに応じた上乘せ方策を適用するというアプローチが有効だと考えられる。こうした最低限の要件などは「ミニマム・コンセンサス・パッケージ(MCP)」と呼ばれている<sup>1)</sup>。再生医療などの開発においてMCPは、例えば臨床研究そのほかの「医療としての開発」と「製品としての開発」の切れ目のない移行を可能にする共通のプラットフォームともなると考えられ、その充実が重要と考えられる。

平成25年11月に「再生医療新法」と「医薬品医療機器等法」が成立したことに伴い、日本の再生医療などの開発環境は大きな転換期を迎えようとしている。平成26年2月現在、厚生労働省ではこれらの法律の施行に向けた政省令や基準・指針などの策定が進んでいるところである。こうした規制の中において、MCPの具体像の認識をすべてのステークホルダーで共有し、「再生医療新法」下の臨床研究であっても、少なくともそのMCPについては開発の早期から着実に踏まえることが可能となるような体制を整備し、柔軟に運用することが、今後、再生医療・細胞治療の臨床研究から真の実用化の出口としての保険診療に効率的に結びつけるためのカギになると筆者らは考えている。

### 文 献

- 1) 早川堯夫: ヒト幹細胞加工製品の品質及び安全性の確保について、厚生労働省 厚生科学審議会科学技術部会第18回ヒト幹細胞を用いる臨床研究に関する指針の見直しに関する専門委員会(平成24年5月9日)。 <http://www.mhlw.go.jp/stf/shingi/2r98520000029kw0-att/2r9852000002a0tg.pdf> (平成26年2月15日アクセス)

(執筆者連絡先) 佐藤陽治 〒158-8501 東京都世田谷区上用賀 1-18-1 国立医薬品食品衛生研究所遺伝子細胞医薬部

---

---

---

---