

医薬品等(医薬品、医薬部外品、化粧品及び医療機器)について、その製法・性状・品質・貯法等に関し、必要な基準を示したものとして策定されたものである。本基準は、医薬品などに使用されるヒトその他の生物(植物を除く)に由来する原料または材料(添加剤、培地等として製造工程において使用されるものを含む)を対象とし、医薬品等の製造に使用される際に講ずべき必要な措置に関する基準(standard)を定め、医薬品等の品質、有効性及び安全性を確保することを目的としている。

### 3) 製造販売承認の要件としての基準

『薬事法』には同第42条に基づく基準(standard)の他に、医薬品等の製造販売承認の要件として、その製造販売業者が遵守しなければならない基準(good practice)がある。これらには、同法第14条第2項第4号に基づく『医薬品及び医薬部外品の製造管理及び品質管理の基準に関する省令』(GMP省令)、『医療機器及び体外診断用医薬品の製造管理及び品質管理の基準に関する省令』(QMS省令)や、製造販売承認申請を行う際の申請資料作成のためのデータの信頼性基準である『医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準に関する省令』、『医療機器の安全性に関する非臨床試験の実施の基準に関する省令』(上記2省令を併せてGLP省令と呼ぶ)、『医薬品の臨床試験の実施の基準に関する省令』、『医療機器の臨床試験の実施の基準に関する省令』(上記2省令をあわせてGCP省令と呼ぶ)、さらにGCP省令を根拠にした『治験薬の製造管理、品質管理等に関する基準(治験薬GMP)』などがある。なかでも、再生医療等における細胞培養に関して重要なのは、医薬品等の製造・施設基準であるGMP/QMSおよび治験薬GMPである。

### 4) 細胞・組織利用医薬品等の取扱い及び使用に関する基本的考え方

『細胞・組織利用医薬品等の取扱い及び使用に関する基本的考え方』は、細胞・組織を取り扱う際の基本的要件を示すとともに、細胞・組織を利用した製品の品質・安全性、ならびに細胞・組織の取り扱いに関する科学的および倫理的妥当性を確保するこ

とを目的とし、製品の承認後のみならず、治験時においても適用される。この『基本的考え方』の中で、製品の安全性に関して最も強調されているのは、細菌・真菌・ウイルスなどの汚染の危険性への対策である。なお、我が国のGTP(good tissue practice)の根幹は、この『基本的考え方』と生物由来原料基準から形成されている。

### 5) ヒト(自己/同種)由来細胞や組織を加工した医薬品又は医療機器の品質及び安全性の確保に関する指針

『ヒト(自己)由来細胞や組織を加工した医薬品又は医療機器の品質及び安全性の確保に関する指針』と『ヒト(同種)由来細胞や組織を加工した医薬品又は医療機器の品質及び安全性の確保に関する指針』は、ヒト細胞・組織を加工した医薬品または医療機器について品質および安全性確保のための技術要件についてまとめたもので、製造販売承認申請時のみならず、治験開始の際に求められる資料についても記されている。ヒト(自己)由来製品とヒト(同種)由来製品との間の根本的な差異は、自己由来の細胞・組織を用いる場合には、その細胞・組織を介する感染症伝播のリスクおよび免疫学的な問題が理論上ないことである。しかし、自己由来であっても製造工程におけるクロスコンタミネーションの問題や、製造従事者・医療従事者などの安全上の問題は同種由来の場合と同様に存在する。また、培養工程においてウイルスが増殖するリスクを考慮することが必要な場合もある。さらに、自己由来の場合は個別製品の製造となるので、それらの品質のばらつきを最小限にとどめる工夫が必要な反面、製品レベルでの各種試験の実施に試験検体の量的制約がある。それらに留意した合理的な品質確保の方策(製造工程のより厳密な恒常性維持・管理など)を採用する必要がある。また、自己由来であっても、遺伝子改変細胞の場合には相応の留意が必要である。

### 6) ヒト幹細胞加工医薬品等の品質及び安全性確保に関する5指針

ヒト体性幹細胞、ヒトES細胞、ヒトiPS細胞等のヒト幹細胞を加工した製品のより早期の実用化の

ために、これらに特化した品質および安全性確保に関する留意事項について記した、ヒト幹細胞加工医薬品等の品質及び安全性確保に関する5指針(自己体性幹細胞、同種体性幹細胞、自己iPS(様)細胞、同種iPS(様)細胞、ES細胞)が平成24年9月に発出された。

これらの指針の前書きには、治験開始における基本的な考え方として、明らかに想定される製品のリスクを現在の学問・技術を駆使して排除し、その科学的妥当性を明らかにしたうえで、製品に付随するリスクの「所在」と「その重み」だけではなく、「患者さんが新たな治療機会を失うことにより被るかもしれないリスク」、すなわち、医療としてのリスクを勘案することとある。また、リスク・期待されるベネフィットの情報を開示したうえで、治験に入るかどうかは患者の自己決定権に委ねるという視点を併せて評価することの重要性が示されている。iPS(様)細胞加工製品においては、原材料の細胞は特定の治療(目的)に適う品質・有効性・安全性を有する最終製品を製造するのに適切な細胞であれば良く、三胚葉系への分化などは必須ではないことから、iPS細胞ではなくiPS(様)細胞と表記されている。言い換えると、製品製造における最も理想的な素材は、十分に解析され、安定で増殖性を有し、更新も安定供給も可能で、目的細胞に適切に分化できる細胞(セルバンク)や中間細胞株ということである。セルバンク樹立の目的は、最終製品の品質の安定性・継続性の確保にあり、これは他の生物製剤の製造にも共通する。さらに、iPS(様)細胞加工製品の安全性においては、最終製品における未分化細胞の存在による異所性組織形成や腫瘍形成・がん化の可能性などが重要な関心事であるが、混在の可能性を否定するか、目的細胞からの未分化細胞の除去/不活性化による混在の可能性を最小限にする努力が求められることが示されている。

#### 7) 薬事法改正に伴う新しい基準・指針の策定作業

『医薬品医療機器等法』の中では、再生医療等製品が新たに独立したカテゴリーとなった。平成26年5月現在、厚生労働省では医薬食品局を中心に、同法律の施行に向けた基準等の策定が進んでいるところ

である。再生医療等製品の特徴として、最終製品に含まれる細胞が、複雑な構造およびダイナミックな特性を持ち、他の生物薬品において実施されるような高度な精製やウイルス等感染因子の不活化・除去の過程を製造工程中に組み込むことが非常に困難、もしくは不可能であるということがある。つまり、再生医療等製品の品質・安全性確保の観点から最終製品への感染因子の混入を防止するためには、製造工程の入り口の段階にあたる原料・材料および原材料の選択と適格性評価、および製造工程における品質管理が非常に重要なポイントとなる。したがって、同法第42条に基づいた基準として、医薬品および医療機器を対象とした『生物由来原料基準』とは別に、再生医療等製品の原料・材料および原材料に関する基準、すなわち、『再生医療等製品原料基準』を策定する必要があると考えられる。また、再生医療等製品に特化した製造基準・施設基準、いわば『再生医療等製品GMP』をはじめ、再生医療等製品という新カテゴリー創出に伴う各基準・指針の見直し作業も急ピッチで進める必要がある。再生医療等製品の条件付承認制度に対応した有効性・安全性データの取得方法および評価方法に関する基準・指針も必要である。

筆者らは、厚生労働省の「革新的医薬品・医療機器・再生医療製品実用化促進事業」の一環として、「『再生医療等製品原料基準』のあり方に関する検討ワーキンググループ」を組織し、再生医療等製品の製造の現実にそぐわない要件を整理し、現実的かつ合理的と考えられる方策で、最終製品のリスクを低減するための原料基準のあり方を提言している。興味のある方は同ワーキンググループの報告書<sup>1)</sup>を参照していただきたい。

#### 8) 『再生医療等提供基準』等の策定作業

医療としての再生医療等を規制する『再生医療等安全性確保法』にも従うべき基準についての記述がある。同法3条には、「厚生労働大臣は、厚生労働省令で、再生医療等の提供に関する基準(以下「再生医療等提供基準」という。)を定めなければならない。」とあり、第一種再生医療等、第二種再生医療等および第三種再生医療等のそれぞれにつき、次に掲

げる事項(第三種再生医療等にあつては、第一号に掲げる事項を除く。)について定めることとされている。

一	再生医療等を提供する病院(医療法(昭和二十三年法律第二百五号)第一条の五第一項に規定する病院をいう。以下同じ。)又は診療所(同条第二項に規定する診療所をいう。以下同じ。)が有すべき人員及び構造設備その他の施設に関する事項
二	再生医療等に用いる細胞の入手の方法並びに特定細胞加工物の製造及び品質管理の方法に関する事項
三	前二号に掲げるもののほか、再生医療等技術の安全性の確保等に関する措置に関する事項
四	再生医療等に用いる細胞を提供する者及び再生医療等(研究として行われる場合その他の厚生労働省令で定める場合に係るものに限る。)を受ける者に対する健康被害の補償の方法に関する事項
五	その他再生医療等の提供に関し必要な事項

平成26年5月現在、厚生労働省では医政局を中心に、『再生医療等提供基準』の他、『構造設備基準』(第42条)、『管理者基準』(第43条)等の策定作業が進められている。なお、経済産業省も「グローバル認証基盤整備事業」の一環として「再生医療等基準検討委員会」を立ち上げ、細胞加工事業者および再生医療等に係る装置・機器等の製造事業者の事業環境の整備という観点から、培養加工施設や培養加工装置・機器の国際標準化・国際展開のあり方を検討し、その成果を『再生医療等提供基準』等の策定作業にインプットしている。

本稿の「はじめに」で、「既存の規制の枠組みに囚われすぎることが、こうした先端的・革新的技術の実用化を阻害しているのではないか」という議論も存在する」と述べた。「規制緩和」という言葉は耳ざわりが良く、不合理な規制は先端的医薬品等の実用化を確かに阻害すると考えられる。ただし、全ての規制は開発の妨げとなるのかといえば、決してそうではない。再生医療等製品/特性細胞加工物のような先端的医薬品等の実用化における最大の課題は、他の医薬品等と同様にその「有効性」と「安全性」の確保であり、これらを確保するための「品質」、「規格設定」のあり方である。そこに規制(ルール)がなければ、何をどこまで示せば十分なのか、開発側にも、そして審査側にもわかるはずがない。「ルールなくして製品なし」である。では、「規制」は誰がつくるのか。実は、対象とする製品が先端的であればあるほど、「官」だけでは「規制」はつくれなくなる。先端的医薬品等は、開発側にとって先端的なだけでなく、審査側にとってはなおのこと先端的であり、未踏の領域だからである。したがって、先端的医薬品等を社会の中でいち早く実用化するためには、当該製品の有効性・安全性・品質に関する科学的な議論を、早い段階からオープンに開始して、社会的に合意可能な原則(プリンシプル)を構築し、この原則に沿い、かつ科学的に合理的な考え方(パラダイム)と規制

表2 再生医療等製品(特に細胞・組織加工製品)/特定細胞加工物の品質評価の上での留意点

1. 細胞の形質は置かれる(微小)環境に依存する
① 種特異性(ヒトの細胞の安全性を異種動物中(非臨床試験)で評価するのは難しい)
② 病態特異性(例: 正常環境 vs. 虚血環境)
2. 細胞は周囲の環境に対して作用する(薬理的・免疫学的・物理的作用等)
3. 培養により均一性が低下する可能性がある(例: 長期培養中)
4. 脱分化する可能性がある(例: 長期培養中)
5. 遊走する可能性がある(体内動態把握の問題)
6. 壊れやすい・寿命が有限である場合が多い(輸送・有効期間の問題)
7. 高度な精製、ウイルス不活化・除去が困難
8. 製品の多様性が高く、リスクの在り処と重みが様々

表3 再生医療等製品(特に細胞・組織加工製品)／特定細胞加工物の実用化に関するレギュラトリーサイエンス上の検討課題

1. ウイルス安全性(同種由来 vs. 自己由来)
2. 原材料として供される細胞の特性解析と適格性
3. 細胞基材以外のヒト又は動物起源由来製造関連物質の適格性
4. 細胞基材としてのセルバンクの樹立と管理のありかた
5. 最終製品の品質の再現性を達成するための包括的な製造戦略、製造工程評価
6. 最終製品を構成する細胞の有効成分としての特性解析
7. 最終製品の必須品質特性の同定と規格設定(最終製品の品質管理)
8. 非臨床安全性試験・非臨床POC試験のデザインと解釈
9. 造腫瘍性試験のデザインと解釈(特にES/iPS細胞由来製品)
10. 製法／セルバンクの変更による新旧製品の同等性の検証
11. 臨床試験のデザインと解釈
12. 有効性・安全性のフォローアップのあり方

(ルール)を定めることが最も重要かつ基本的な方策となる。これら一連の科学的議論は「レギュラトリーサイエンス」と呼ばれている。第4期科学技術基本計画(平成23年8月19日閣議決定)の定義によれば、「科学技術の成果を人と社会に役立てることを目的に、根拠に基づいた確かな予測、評価、判断を行い、科学技術の成果を人と社会との調和の上で最も望ましい姿に調整するための科学」となっている。もっと平易な言葉を使うなら、「有効性と安全性を評価するための科学」ということになる。

再生医療等に用いられる再生医療等製品／特性細胞加工物がこれまでの医薬品等と大きく異なる点は、それ自体がダイナミックな生命現象を営む複雑な構造体であり、ヒトの体内で長期間生存して機能を発揮し続ける点である。これに関係した品質評価のうえでの留意点を表2にまとめた。さらに、表2の留意点に関連し、再生医療等製品／特性細胞加工物のリスク低減および実用化のうえで解決しなければならない主な科学的課題、すなわち、レギュラトリーサイエンスにおける主な検討事項を表3にまとめた。再生医療等製品／特性細胞加工物の早期実用化を達成するためには、これらの課題のそれぞれについて、開かれた議論により、社会的合意の得られる原則のもと、科学的合理性のある考え方と規制を整備していくことが必須であると考えられる。

## 7. おわりに

わが国における再生医療・細胞治療の開発は、従来の医薬品や医療機器とは異なり、大学等の研究機関の研究者の臨床研究により行われるケースが多い。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づけられていない。このため、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場合が多く、再生医療等の最終的な出口である保険診療には結びつかない。

一方、「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。日本国内で行われる臨床研究の場合、ICHガイドラインに準拠していなければ、その成果をグローバルに普及させることは困難である。

わが国における「臨床研究」と「治験」の間の壁の問題解決の方法の1つとしては、日本の大学病院や研

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。我が国では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)。このような医師主導治験の積極的実施は、再生医療等の実用化においても効果的な方策になると考えられるが、現状では、まだ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至っていない。

このような状況下で、再生医療等の臨床研究を保険診療へ効率的に結びつけていくためには、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揃えることが必要である。そのためには、臨床研究か治験かを問わず、すべての再生医療等製品/特定細胞加工物に最低限必要な共通の要件や基準・評価技術を定め、これに各製品の種類・特性、対象疾患、開発段階等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)」<sup>2)</sup>と呼ばれており、再生医療等においては「医療としての開発」から「製品としての開発」において、切れ目なく移行することを可能にするプラットフォームとなる。再生医療等製品/特定細胞加工物のMCPについて、具体的な事項をすべての関係者が合意かつ共有し、開発早期段階から着実に進める体制を整備すること、また、状況に応じ柔軟に運用することが、再生医療等の真の実用化、すなわち、保険診療対象とするためのカギになると考えられる。

平成23年8月19日に政府閣議決定の『第4期科学技術基本計画』では、その3つの基本方針の1つ「ライフィノベーションの推進」の一環として、再生医療に関しては、iPS細胞、ES細胞、体性幹細胞等の

体内および体外での細胞増殖・分化技術を開発するとともに、その標準化と利用技術の開発、安全性評価技術に関する研究開発を推進することが挙げられている。また、同基本計画では、「ライフィノベーション推進のためのシステム改革」の方策として、「レギュラトリーサイエンスを充実、強化し、医薬品、医療機器の安全性、有効性、品質評価をはじめ、科学的合理性と社会的正当性に関する根拠に基づいた審査指針や基準の策定等につなげる」ことが挙げられている。また、平成25年6月閣議決定の『日本再興戦略』においても、「iPS細胞等の再生医療の研究と実用化推進のための研究を集中的かつ継続的に推進する」とある。さらに、平成26年5月に成立した『健康・医療戦略推進法』の第13条2には「国は、医療分野の研究開発の成果の実用化に際し、その品質、有効性及び安全性を科学的知見に基づき適正かつ迅速に予測、評価及び判断することに関する科学の振興に必要な体制の整備、人材の確保、養成及び資質の向上その他の施策を講ずるものとする」と明記され、レギュラトリーサイエンスの醸成に関して国が義務を負うことになった。こうした行政および立法の推進策のうえで、開発者をはじめとするすべてのステークホルダーの情熱により、レギュラトリーサイエンスの発展と、安全で有効な再生医療等の実用化が、近い将来に同時かつ相乗的に達成されることを期待している。

#### 文献

- 1) 『再生医療等製品原料基準』のあり方に関する検討WG報告書 <http://www.nihs.go.jp/cgtp/cgtp/sec2/sispsc/html/index.html> (平成26年5月25日アクセス)
- 2) 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5月25日アクセス)

## ● 再生医療普及のための基盤技術

## 再生医療製品の造腫瘍性評価

\*1 公益財団法人 先端医療振興財団

\*2 国立医薬品食品衛生研究所 遺伝子細胞医薬部 部長

草川 森 士\*1      佐藤 陽 治\*2

## 要 旨

“造腫瘍性”とは、動物体内に移植された細胞集団が、悪性または良性の腫瘍を形成する能力を言う。造腫瘍性は再生医療製品のリスクの1つであり、臨床適用される最終製品の造腫瘍性の評価と管理は、安全性確保のための重要な課題である。しかしながら、再生医療製品は、原料となる（幹）細胞の多様性に加え、最終製品の適用法についてもさまざまなケースが想定されるため、造腫瘍性の評価においては、総合的な考察が求められる。

## はじめに

“再生医療”とは、端的に言えば、病気やけがで機能不全になった組織や臓器を再生させる医療である。近年では革新的な医療として、ヒト体細胞、ヒト体性幹細胞、ヒト胚性幹細胞（ES細胞）あるいはヒト人工多能性幹細胞（iPS細胞）といった細胞を加工した製品（再生医療製品）を用いて再生医療を行おうとする取り組みが、国内外で急速に進んでいる。

2013年5月に、議員立法「再生医療を国民が迅速かつ安全に受けられるようにするための施策の総合的な推進に関する法律」が成立し

---

キーワード：造腫瘍性，再生医療製品，体性幹細胞，多能性幹細胞，  
免疫不全動物

た。その目的は、「再生医療を国民が迅速かつ安全に受けられるようにするために、その研究開発及び提供並びに普及の促進に関し、基本理念を定め、国、医師等、研究者及び事業者の責務を明らかにするとともに、再生医療の研究開発から実用化までの施策の総合的な推進を図り、もって国民が受ける医療の質及び保健衛生の向上に寄与すること」とされている。さらに、具体的な施策として、「薬事法」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」と名称も新たに改正され、再生医療製品は遺伝子治療薬と共に、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“再生医療等製品”(注1)として分類されることになった。また、“再生医療等製品”には、治験により有効性の推定と安全性の確認が行われれば条件および期限付きで製造販売承認を得ることができるようになるなど、特別な規制が設けられることとなっている。同時に成立した「再生医療等の安全性の確保等に関する法律」では、再生医療の臨床研究および自由診療が法律による規制を受けることになる。これらの法律は、現在施行に向けて準備が進められている。再生医療等製品の開発者、医療従事者らの安全性に対する意識がますます高まり、適切な対策がとられることが期待される。

上述のとおり、最近我が国では、iPS細胞に由来する再生医療製品のような、新しいタイプの再生医療製品の開発も精力的に進められている。しかし、その実用化には、幹細胞に関するイノベーションの進展とともに登場してくるリスクの評価法や、幹細胞加工製品に特有の品質・安全性確保のための基盤技術が必須である。とりわけ、ES細胞やiPS細胞といった多能性幹細胞は、動物体内に移植された際に腫瘍を形成する能力、いわゆる“造腫瘍性”を元来の特性として保持しているため、ヒトES細胞またはiPS細胞を原料とした再生医療製品

注1：“再生医療等製品”とは、『医療又は獣医療のうち「人又は動物の身体の構造又は機能の再建、修復又は形成」、又は「人又は動物の疾病の治療又は予防」に使用されることが目的とされている物のうち、人又は動物の細胞に培養その他の加工を施したもの』又は『人又は動物の疾病の治療に使用されることが目的とされている物のうち、人又は動物の細胞に導入され、これらの体内で発現する遺伝子を含むもの』であって政令で定めるものを言う。

(ヒト ES/iPS 細胞加工製品)においては、最終製品の造腫瘍性の評価と管理が重要な課題となる。しかしながら、患者に投与する動物またはヒト由来の生細胞を対象にした造腫瘍性試験のガイドラインは、今のところ存在しない。本稿では、再生医療製品において重要な品質管理上および安全性上の関心事である“造腫瘍性”に焦点を当て、造腫瘍性の評価法の現状と課題について概説する。

### “造腫瘍性”とは

再生医療製品のリスクの1つとして、“造腫瘍性”が挙げられる。“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、悪性また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、動物体内において良性腫瘍である奇形腫 (teratoma) が形成されることを確認し、移植した細胞が内・中・外胚葉系のさまざまな細胞種に分化することを示すことによって成されている。つまり、ヒト多能性幹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 細胞加工製品においては、未分化な ES/iPS 細胞の残留・混入に起因する腫瘍形成がリスクとなる。

### 造腫瘍性国際ガイドライン

世界保健機関 (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>1)</sup> は、現在唯一存在する造腫瘍性国際ガイドラインである (以下、WHO TRS 878 とする)。WHO TRS 878 にある造腫瘍性試験の内容は、大まかに言うと、「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 週間観察する。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。ただし、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製剤など、ヒトを対象に *in vivo*

または *ex vivo* で投与される生物薬品を製造する際に *in vitro* 細胞基材として用いられるヒトまたは動物由来の細胞株であり、患者に移植する生細胞、すなわち再生医療製品は、対象としていない。また、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セル・バンクの造腫瘍性の程度または有無を正確に把握することにある。セル・バンクの安定性に異常が生じたことを検出するための方策として、造腫瘍性を細胞特性の指標の1つとして評価し、品質管理に活用するということである。つまり、WHO TRS 878 の試験は、細胞株という均一な細胞集団の造腫瘍性評価を対象にしており、再生医療製品（中に極わずかに存在する造腫瘍性細胞に起因する）の造腫瘍性の評価とは目的が異なるため、そのまま転用することには、感度などの面で問題がある。

#### 再生医療製品における造腫瘍性

再生医療製品の由来細胞の種類（例：体細胞、体性幹細胞、iPS細胞など）は多様である。さらに、由来する細胞については、自己、同種、および HLA ホモ接合型の同種のもの、などが想定される。再生医療製品の臨床利用に際しては、その態様（例：細胞懸濁液や細胞シートなど）もさまざまなものとなり、最終製品ごとに必要な細胞数も異なる（例：網膜色素上皮細胞製品では  $10^4$  個、心筋細胞製品では  $10^8 \sim 10^9$  個）。そのうえ、適用の経路、適用部位、免疫抑制薬の使用の有無、患者の病状の緊急性などについても、さまざまなケースが想定される。したがって、このような多様性に基づき、造腫瘍性の評価においては、総合的な考察が求められる。

#### ヒト ES/iPS 細胞加工製品における造腫瘍性評価

ヒト ES/iPS 細胞加工製品の製造における造腫瘍性試験には、目的別に、① 原料・原材料（注2）の品質管理のための造腫瘍性試験、② 製造工程（中間製品）評価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、の3種類が想定される。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、幾つかの *in vitro* 試験系または *in vivo* 試験法がある（表1）ので、

表1 主な造腫瘍性関連試験

## in vivo 試験法

試験法	測定事項	目的	利点	欠点
ヌードマウスへの移植	腫瘍形成	造腫瘍性細胞の検出	● 定量化の方策が整備 (WHO TRS 878)	● 時間 (数週間 ~ 数ヵ月)・費用がかかる ● 膵がん、乳がん、グリア細胞腫、リンパ腫、白血病細胞に由来する細胞株は腫瘍を形成しない ● わずかに含まれる造腫瘍性細胞を検出できない
NOD-SCID マウスへの移植			● ヌードマウスよりも『高感度』	● 時間 (数週間 ~ 数ヵ月)・費用がかかる ● 定量化の方策が未整備 ● 胸腺腫を自然発症
NOG/NSG マウスへの移植			● NOD-SCID マウスよりも『高感度』/ 胸腺腫なし	● 時間 (数週間 ~ 数ヵ月)・費用がかかる ● 定量化の方策が未整備

## in vitro 試験法

試験法	測定事項	目的	利点	欠点
細胞増殖特性解析 (所定培養期間を超えた培養)	細胞増殖速度	不死化細胞の検出	● 簡便・安価 ● 時にはヌードマウスよりも『高感度』 (不死化していても腫瘍形成のないケース)	● わずかな不死化細胞の混入の検出には時間がかかる
フローサイトメトリー	細胞マーカータンパク発現	造腫瘍性細胞・未分化細胞の検出	● 短時間 (~ 1 日)・簡便 ● 時には軟寒天コロニー試験よりも『高感度』 ● 細胞を識別・分離・回収できる	● 特定のマーカー発現細胞だけが検出できない = マーカー(-) の造腫瘍性細胞を見逃すおそれ ● ゲートの掛け方で結果がばらつく
定量 RT-PCR	細胞マーカー遺伝子発現		● 短時間 (~ 1 日)・簡便 ● 時にはフローサイトメトリーよりも『高感度』	● 特定のマーカー発現細胞だけが検出できない = マーカー(-) の造腫瘍性細胞を見逃すおそれ
軟寒天コロニー形成試験	コロニー形成	足場非依存的増殖の検出	● in vivo 試験より短時間 (数週間 ~ 1 ヶ月程度) ● 安価 ● 時にはヌードマウスよりも『高感度』	● 浮遊系細胞に使用できない ● わずかに含まれる造腫瘍性細胞を検出できない ● ヒト ES/iPS 細胞は検出不能 (分散誘導性細胞死)
核型分析	染色体の数・サイズ・形	染色体/遺伝子異常の検出	● 技術的に確立 ● 外部機関による受託解析もあり ● 細胞の遺伝的安定性について評価可能	● 相関性の問題 = “染色体や特定遺伝子の異常” と “造腫瘍性” との相関は未解明 ● わずかに含まれる造腫瘍性細胞を検出できない
染色体 CGH およびアレイ CGH	ゲノム DNA のコピー数異常			
蛍光 in situ ハイブリダイゼーション (FISH) 分析	特定遺伝子の位置・コピー数			
次世代シーケンサー	遺伝子配列		● 外部機関による受託解析もあり ● 細胞の遺伝的安定性について評価可能	