

培養（細胞）製品の品質管理

畠 賢一郎

再生医療の名のもと、移植することを目的に培養された細胞は、いわゆる製品として品質管理が求められるようになった。かつては患者治療を担当する医師自身が培養していたため、医療行為の一環として考えることができた。しかし、最近では企業などの生産活動として、これをつくる可能性がある。さらに、培養細胞のさまざまなリスクが提唱され、実際の治療に用いる妥当性が見直された結果でもある。

もとより生きた細胞は個人差があるだろうし、同じ培養条件であっても、完成したものにはさまざまなバラツキを生じる可能性がある。細胞製品の品質管理については、必然的に化合物を中心とした医薬品とは異なった品質管理の考え方が必要であろう。さらに、患者自身の細胞を培養した場合には、それが仮に不適合であったとしても、廃棄することに躊躇せざるを得ない。再生医療製品がいわゆる工業製品なのか、個別の医療行為なのか、解決には多くの議論を要するだろう。

筆者らは、わが国初の再生医療製品である自家培養表皮『ジェイス』の製造販売承認を、厚生労働省から得た。『ジェイス』は米国のGreenらが1975年に報告した自家培養表皮を製品化したもので、わが国では医療機器の分類に属する。患者自身の細胞を使っているために、通常の医薬品や医療機器とは異なった対応が必要であるため、規制当局とのやりとりを通じて品質管理方法を定めてきた。決して標準的な対応とはいえないが、参考にできる事例であろう。

本稿では、培養製品の品質管理に主眼を置いて、筆者らの経験事例をもとに解説する。しかし一方では、細胞を用いた再生医療製品の品質管理の標準的考え方について、さらなる経験をもとに追加・構築していく必要があると日々痛感しているのも現状である。

品質管理の基本的考え方

製品の規格を考える上で最も重要な点は、それが安全性を確保するためのものか、有効性を確保するためのものかということである。医療に用いられた場合、当然、患者の安全を脅かすことがあってはならない。安全性に関する規格は最も重要である。これに対し、「所望の治療効果が担保される」ための条件も必要である。これは有

効性のための規格として求められることになる。

細胞の安全性

培養された細胞が患者に移植された際、それが安全であることをどのように証明すべきか。たとえば、医薬品であれば投与された化合物が身体の臓器や組織に悪影響がないことを示さなくてはならない。その代謝メカニズムと、代謝物が排泄されるまでの経路に注目し、関与する臓器への影響を詳細に評価すべきである。

一方、生きた細胞の場合には通常の化合物とは異なった考えが必要となる。たとえば、表皮角化細胞を培養した自家培養表皮の場合、主な材料は患者自身の細胞を培養したものであり、移植された部位にとどまることを目的としている。薬剤のように直接腎毒性や肝毒性を示す可能性は低いとはいえ、生きた細胞特有の考慮すべき問題もある。

感染性物質の混入 培養細胞を用いた製品の安全性を考える場合、感染性物質からのクリアランス確保はきわめて重要である。細胞が患者自身に由来する場合には、それほど厳密なものではなくなるが、細胞が患者以外のものであれば、ドナーとなる個体が有している感染性物質を否定しなくてはならない。

細胞培養工程において、使用する材料に由来する感染性物質も否定すべきである。細胞培養には、しばしばウシ胎児血清などの動物由来物が用いられる。また、直接的には動物由来物でなくても、多くの薬剤において製造工程で動物由来物を用いている。細胞培養に用いる培地や試薬などすべてにおいて問題となる動物由来物が使われていないことを調べる必要がある。厚生労働省は、動物由来原材料を用いるためのガイドラインを設定している²⁾。再生医療製品の品質管理においては、これらリスクの評価を十分に行うことが最重要である。

免疫反応の惹起 細胞を含む製品では、さまざまな化合物同様に予期せぬ免疫反応を惹起することがある。いわゆるアレルギー反応である。これら反応を惹起するには個体差があり、その必然性を評価することは現実的でない。しかし発生しやすさなどについては十分に配慮すべきであろう。臨床研究など患者への移植の際には注意深く監視するとともに、これらリスクについて事前に

十分に説明すべきである。

まれに免疫反応を惹起することを理由に、当該再生医療製品すべてを使用できないとする考えには疑問がある。発生確率をもとに、科学的合理性をもって評価すべきであろう。手術にて移植されるもののように、入院下で全身管理のうえ使用するものの場合には、万一の体制が整っている。使用状況に応じたりスクマネジメントも重要である。

造腫瘍性 移植される製品中に生きた細胞が含まれているため、これら細胞が「がん」などの腫瘍をつくる懸念がある。培養環境が生体内と異なるために、細胞が予期しない方向に変化するリスクである。さらに、使用(移植)時には「がん」となっていないとしても、これが将来「がん」となることも否定できない。現時点では、細胞単位で少量含まれている異常細胞を検出することも難しいし、今は正常であっても移植後に必然的に「がん」となる細胞を見つけ出す技術も確立できていない。すなわち、再生医療製品の安全性確保において、これら「がん化」は直接的な証明が最も難しいものである。

一般に、ヒトの細胞は他の動物細胞と比較して、培養中に「がん」とはなりにくいとされている。われわれの渉猟し得た範囲では、*in vitro*において相当数継代を重ねたヒト細胞が形質の変化をきたしたという報告³⁾や、細胞移植後の事象として、培養表皮を移植したおよそ13年後に皮膚がんを生じたという報告⁴⁾があった。後者は、症例が全身熱傷であるため、通常でも皮膚がんが発生しやすい状況であることに加え、移植した細胞に起因することを特定できていない。ともあれ、すでに数千例を超えるヒト培養細胞移植が行われている中で、これらはともにまれな事象である。冒頭で述べたとおり、造腫瘍性に関する安全性の確保には、ヒト細胞が「がん」になりにくいという間接的な事実に着目している。

一方、定型的な造腫瘍性を評価する方法もある。現時点では、軟寒天コロニー試験や免疫不全動物を用いた細胞移植試験、核型検査がこれに相当する。しかし、軟寒天コロニー試験や免疫不全動物を用いた試験は、感度に問題があり、悪性度の高いものや一定以上の量の細胞を含んでいることが条件である。さらに、成人の細胞中には核型異常を有する細胞を含んでおり、がん化の指標には参考にはなるものの、直接的な証明とはなっていない。

その他の配慮 細胞を用いた製品特有の安全性に関する品質管理を示してきた。他方、通常の薬剤と同様の考え方も必要である。すなわち、最終製品に混入する可能性のある種々の物質について、これらが生物学的に毒性を有さないことも示すべきである。最終製品には、細胞を

培養するための基剤や培養液が残留する可能性がある。また、細胞を移植する際の担体となる材料について、十分に安全性を確保すべきである。加えて、培養された細胞に残留している成分は可能ならば除かなくてはならない^{5,6)}。製品独自で適切な洗浄工程を確立すべきであろう。

細胞の有効性

生細胞数(生細胞密度)・生細胞率 細胞治療のための製品に対して、有効性の根拠となる指標は生細胞数(生細胞密度)や生細胞率である。生細胞数は目的の製品の一部を取り出して細胞を単離し、含まれる生細胞の数を計測し求める。また、同時に死細胞の数を計測し、生細胞との割合を示し、生細胞率として数値化する。生細胞数や生細胞密度は当該製品にどれくらい細胞が含まれるかを評価でき、あたかもクスリでいう「力価」のようなものである。また、生細胞率は有効性評価の基準になるとともに、死細胞の混入が引き起こすリスクの評価にも用いることができるため、安全性評価にもつながると考えることができる。

構成細胞の割合 周知のとおり、当該製品に含まれる細胞は単一ではない。複数の種類の細胞が混入しているヒト組織から作り出したものであるため、そもそも細胞腫の異なるものが混入している場合もある。また、同じ種類の細胞に端を発したものが別の分化をした結果、異なる機能を有するに至ったものもある。細胞種を特定する方法の進歩によるが、効果の機序をもたらす細胞の割合を評価することも、当該製品の有効性を述べるためには必要なものである。製品の純度と言うべきものだろう。

品質試験実施のタイミング

受け入れ検査 製品を製造する際に、原材料に課す試験である。対象となるのはヒト組織やヒト細胞、ならびにfeeder細胞として用いる動物細胞由来細胞などの生きた細胞や、培地成分などの試薬類などである。feeder細胞として3T3細胞を用いる場合、動物由来原材料を用いる場合には、それぞれ当局から指針が出されている⁷⁾。

工程検査 製造工程(細胞培養や継代時)において実施する項目である。試験実施における細胞の増殖率や、位相差顕微鏡を用いた細胞の形態観察など、非侵襲的に実施される試験を主とする。また、生菌数試験・無菌試験など微生物からのクリアランス確保を評価する試験も実施される。

出荷検査 完成したものを提供(出荷)する前に実施する試験である。先に述べた有効性に関する試験として、生細胞数や構成細胞の割合などに加え、安全性を確

保する試験として、微生物からのクリアランス試験がこれに相当する。さらに、製品が十分に洗浄され、培養に用いた成分を減らしていることを示す試験を実施する。ウシの血清残留評価に、ウシアルブミン残留量評価を行うなど、必要に応じて試験を設定し実施する。

確認試験 自家細胞を用いた再生医療製品の場合、凍結保存などの特別な場合を除き、保存期間がきわめて短い。一方、マイコプラズマ否定試験などの品質試験には数日間を要する。そのため、最終製品を対象とした品質検査のうち一部は、検査結果が得られる前に使用されることを想定しなくてはならない。

上記の状況下、筆者らは確認試験と称する試験を追加した。すなわち、使用後に結果が判明することを承知の上で、出荷時のサンプルを用いて検査（確認試験）を実施している。万一、使用後に何らかの不具合が生じた際に、出荷時の製品性能を把握しておくことが目的である。言うまでもなく、同様の評価項目については、出荷時に当該検査の結果がわかるよう、あらかじめ製造中のサンプルにて検査（工程検査）を行うことが前提である。

品質管理に関する課題

生きた細胞の同一性について 細胞の品質を論じる前提としては、細胞の同一性・均質性が重要である。通常の化合物とは異なり、培養細胞は生きているために一定のばらつきを生じる。細胞が同一・均質という状態であるためには、細胞の由来が同一であったり、細胞表面に存在するタンパク質が同じであったり、培養方法が同じであったり、見解はさまざまである。また、これらすべてが同じであっても、偶然的な要素から異なった細胞がみられることもある。製造工程を適切に評価するためには、同じものが作られることを前提としている。ならば、同じ細胞というためには、何が同じでなくてはならないか、また何が違ってよいのか、基本的かつ現実的な考え方を定める必要がある。

規格値設定と臨床試験 これまで述べてきた品質試験を行うにあたり、その合格点である規格値の設定根拠をどこに置いたらよいのだろうか。安全性確保の観点から、生物学的毒性を呈するような量を投与すべきでないことは容易に理解できる。しかし、有効性を担保するための規格値のように、細胞がどの程度生存していれば（死んでいなければ）よいのか、また、どの程度分化を維持

していれば（脱分化していなければ）よいのかなど、具体的な設定根拠を見つけることは意外に難しい。医薬品であれば、臨床試験において健常者への投与を含め最適投与量や極量の検討を行うことができる。おそらく細胞を使った製品についても、ヒトへの試験的投与を通じて規格値の設定が望ましいだろう。しかし、試験的に組織を採取しこれを健常者に移植したり、規格値を決定するため、その上限値や下限値を移植する臨床試験は現実的でないだろう。やはり、これら規格値の設定はそれなりの判断にゆだねざるを得ないのである。

おわりに

再生医療が普及し、細胞を使った製品なるものが使われ始めている。わが国ではこれらを医薬品または医療機器の範疇に加え、規制当局によって審査が行われている。しかし、新しい細胞製品、とりわけ自家細胞を使った製品を、これまでの医薬品や医療機器として扱うには、多くの矛盾をはらんでいると言わざるを得ない。一部の細胞生物学者は、細胞の品質なるものの研究成果を報告している。また、一部の分析機器の開発者は、細胞の品質なるものを評価できる機械を考案し具体化している。しかし一方では、本文中にも述べたとおり、規格値の設定をいかに行うかなど、決めるべきところが決まっていないように思う。

残念ながら細胞を使った製品として承認されたものは、わが国では筆者らの培養表皮のみである。そのため、筆者らは毎日この品質規格に内在するジレンマと闘わざるを得ない。さまざまな細胞製品が上市し、これら経験を持って、より合理的な品質確保が可能となる。タマゴが先か鶏が先か。いずれにせよ、まずは製品を提供するリアリティーがなくては議論が進まないと言わざるを得ない。

文 献

- 1) Rheinwald, J. G. and Green, H.: *Cell*, **6**, 331 (1975).
- 2) 厚生労働省告示第210号, 平成15年5月20日
- 3) Rubio, D. *et al.*: *Cancer Res.*, **65**, 3035 (2005).
- 4) Theopold, C. *et al.*: *Plast Reconstr Surg.*, **114**, 1215 (2004).
- 5) 厚生労働省指針 薬食発第0208003号 H20.2.8
- 6) 厚生労働省指針 薬食発第0912006号 H20.9.12
- 7) 厚生労働省指針 医政研発第0702001号 H16.7.2