

特集：再生医療の未来を支える新技術②

高品質な国産ヒト細胞原料供給事業

(株)ジャパン・ティッシュエンジニアリング 竹内 俊祐・渡部 正利喜・井家 益和

はじめに

わが国では国策として再生医療の推進が図られている。しかし、これまでに薬事承認された再生

医療等製品は20品目程度と少なく、患者自身の細胞（自家細胞）を用いた製品は小ロットの製造にとどまるため、その販売数は極めて限定的である。再生医療の発展には大量生産を前提とする他人の細胞（同種細胞）を用いた再生医療等製品の開発



(a)J-TECの概要（外観と製品開発実績）



(b)ヒト細胞原料供給体制の概要

図1 高品質な国産ヒト細胞原料供給事業の概要

が期待されている。その実現には産業利用可能な国産のヒト細胞原料の供給システムの構築が急務である。製品開発者が大量生産に対応できるヒト細胞原料にオープンアクセスできれば、再生医療等製品の迅速な開発と適正な販売数が見込めるところから、多くの企業の参入が容易となる。

このような背景の下、同種細胞を用いた製品開発の推進を目的として、平成30年から国立研究開発法人日本医療研究開発機構（AMED）の「再生医療・遺伝子治療の産業化に向けた基盤技術開発事業」において、再生医療等製品の製造に利用可能なヒト（同種）体性幹細胞の安定的な供給を実現する事業（「国内医療機関からのヒト（同種）体性幹細胞原料の安定供給モデル事業」及びその継続事業である「再生医療等製品用ヒト（同種）体性幹細胞原料の安定供給促進事業」）が開始された。

我々は、これまでに再生医療等製品5品目を上市し、3,000例以上のヒト組織を採取して培養した経験を有している（図1(a)）。この中で得られた、ヒト組織の採取や輸送、細胞培養工程の標準化や品質評価に関するノウハウを活かして、平成30年から下記の課題名で当該事業（以下、安定供給事業）に参画した。

- 同種細胞を用いた再生医療のための産業利用を目的としたヒト細胞及び組織の安定供給の実証（平成30年～令和2年度）
- 再生医療等製品用ヒト（同種）体性幹細胞原料となる高品質な細胞原料の安定供給体制の構築に関する研究開発（令和3年～令和5年度）

これらの事業において、我々は、開発者の様々なニーズに迅速に対応できるヒト組織及び細胞の供給体制を構築することを目指した。再生医療等製品の原材料組織として使用されることの多い骨髓や脂肪に加えて、歯髄、胎児付属物などの多様な組織について複数の医療機関と連携して提供する体制を整備するとともに、国産のヒト細胞を安定供給できることを実証した（図1(b)）。本稿では、その具体的な取り組みについて解説する。

ヒト組織及び 細胞の安定供給体制の構築

我々は以下の四つの視点でヒト組織及び細胞の

提供に関する運用を最適化し、安定供給体制を構築した。

（1）包括的な産業利用に関する倫理対応

従来、ヒト組織入手するためには目的（対象疾患）ごとに医療機関の倫理委員会による承認が必要であるが、計画書やインフォームドコンセント（IC）に用いる資料の作成が煩雑であり、審査に数ヶ月の時間を要していた。我々は、対象疾患を限定しない包括的な産業利用が可能なヒト組織の入手に関して検討し、開発者の多様なニーズに迅速に対応できる提供体制を構築した。

ヒト組織の提供は善意による無償提供が原則である一方で、提供された組織が営利企業へ譲渡される可能性もあることから、ヒト組織の所有権の所在や同意撤回の取扱いについて明確に取り決めを行う必要がある。そのため、ドナーが安定供給事業を適切に理解し、自由意志に基づいて同意判断するための説明資料に加えて、視覚的に理解を深めるための動画やパンフレットも作成した。これらの資料は、多様なヒト組織や複数の医療機関にも展開できるように文書体系を一般化した。

これらの資料を含む事業内容について、2020年2月に京都大学大学院医学研究科・医学部及び医学部附属病院 医の倫理委員会（京大医の倫理委員会）の承認を得た。次いで、京大医の倫理委員会を中心倫理委員会として名古屋大学及び愛知学院大学の倫理審査を受けて三つの医療機関から承認を得ることができた。これにより、J-TECを仲介業者として以下の診療科から再生医療等製品の原材料として対象疾患を限定せずに使用可能なヒト組織の供給体制を構築した。

• 京都大学 形成外科：

皮膚組織（脂肪／表皮／真皮）、腸骨骨髓、多指症拇指（表皮／真皮／骨髓／軟骨）

• 名古屋大学 総合周産期母子医療センター：

胎児付属物（羊膜／臍帯／胎盤）

• 愛知学院大学 口腔外科：

歯髄（乳歯／永久歯）、歯周組織（歯肉／口腔粘膜）

（2）薬事規制への対応

再生医療等製品の開発経験が少ない開発者にとって原材料組織の入手における薬事的な要求事項を完全に把握することは容易ではない。そのため、開発者の負担が最小限となるように、提供体

制の中に薬事的に必要な対応を組み込むこととした。「ヒト幹細胞等加工再生医療製品の品質及び安全性等評価に共通の基本となる技術要件・基準・留意事項」(ミニマム・コンセンサス・パッケージ；MCP：合理的、効率的、効果的な再生医療等製品の開発を促進し、再生医療実用化の推進に寄与することを目的に、日本再生医療学会が大多数のヒト細胞加工製品の品質・安全性等の評価に共通の基本となる技術要件や基準を示した指針⁽¹⁾)で規定されている内容に基づき、ウイルスドナースクリーニングや問診内容を定めた（表1）。

(3) コスト構造の最適化

複数の医療機関から様々なヒト組織入手する際に開発者ごとに一から供給体制を構築するのは効率が悪い。そのため、ヒト組織の採取から提供までの一連の工程において多様な組織に適応できる共通手順と、個別対応が必要な手順を明確に区別して標準手順書に反映させた。これによりヒト組織の種類や開発者の要望に応じて必要な調整を最小限にするとともに、一連の調整作業を仲介機関であるJ-TECに集約し、体制の構築から組織提供までワンストップで実現するように体制を整備

表1 MCP記載内容と本事業における対応（抜粋）

大項目	中項目	小項目	記載内容	対応
2.1 原材料及び 製造関連物質	2.1.1 目的製品製造の初期工程での原材料となるヒト細胞・組織	2.1.1.2 特性と適格性	同種由来細胞を原材料として使用する場合は、特にHBV、HCV、HIV感染症、HTLVに加えて、パルボウイルスB19感染症については、問診及び検査(血清学的試験や核酸増幅法等)により否定すること。また、サイトメガロウイルス感染、EBウイルス感染及びウエストナイルウイルス感染については、製品の臨床用途などを考慮して必要に応じて検査により否定すること。 …(略)	ドナーの血液検体を採取し、左記ウイルスの血清学的試験や核酸増幅法を実施。 ドナースクリーニング時に問診を行い、感染症や主要疾患の感染歴や治療経験の有無等を確認している。
		2.1.1.3 ドナーに関する記録	原材料となる細胞・組織について、安全性を確保するために必要な情報が確認できるよう、ドナーに関する記録が整備、保管されていること。また、その具体的方策を示すこと。	ドナーの問診表やウイルス検査結果等の記録を適切に保管している。
		2.1.1.4 細胞・組織の採取・製造用細胞基材の作製及び保存・運搬	① 細胞・組織の採取者及び採取医療機関等に求めるべき技術的要件について明らかにすること。 ② 採取部位・採取方法及び製造用細胞基材の作製方法の妥当性 ③ 細胞・組織の採取部位の選定基準及び採取方法を示し、これらが科学的及び倫理的に適切に選択されたものであることを明らかにすること。 ④ 細胞・組織のドナーに対する説明及び同意の内容を、臨床応用も含めて規定すること。 ⑤ ドナーの個人情報の保護方策について具体的に規定すること。 …(略)	①～③各組織で条件を設定。 ④ドナーへの説明文書及びアセント文書を作成し、同意を得ている。 ⑤ドナーの個人情報は担当医師のみが取り扱い、対応表を施設内の施錠可能な場所に保管。仲介機関では、年齢・性別・疾患名等の情報をのみを管理番号を付与し、共有。
2.2 製造工程と各段階での製品	2.2.1 製造方法	2.2.1.2 細菌、真菌及びウイルス等の不活性化・除去	原材料となるヒト細胞・組織、ヒト幹細胞について、その細胞生存率や表現型、遺伝形質及び特有の機能その他の特性及び品質に影響を及ぼさない範囲で、必要かつ可能な場合は細菌、真菌及びウイルス等を不活性又は除去する処理を行うこと。 …(略)	輸送液には抗生剤を添加し、皮膚や抜去歯等の常在菌がある組織の組織処理前にはイソジンによる消毒を実施。
		2.2.1.3 組織の細切、細胞の分離、特定細胞の単離等	採取したヒト細胞・組織から製品を製造する初期の過程で行われる組織の分離、組織の細切、細胞の分離、特定細胞の単離、抗生物質による処理、洗浄、ガンマ線等による滅菌、冷凍、解凍等のうち用いた方法を明らかにすること。特定細胞の単離を行う場合には、その確認方法を設定すること。	採取したヒト組織の分離や細切、目的細胞の分離、洗浄等の手順を組織ごとに設定している。

した。また、ヒト組織及びその提供体制を多角的に活用することによって、各プロセスにかかるコストを分散することを試みた。例えば、新鮮ヒト組織をオンデマンド型で提供する事業形態に加えて、同じ医療機関で得られたヒト組織から培養した間葉系間質細胞（MSC）を用いたセルバンク事業を展開することによって、それぞれのコストが抑えられる試算結果も得られた。

(4) QbD形式による品質管理戦略

近年、Quality by Design (QbD) に基づいた再生医療等製品の開発が求められており、細胞の重要な品質特性 (CQA) を指標として製造プロセスを最適化することが製品の安定製造のために重要である。QbDによる品質管理戦略に向けて、「細胞原料としてのCQA」と「それらに影響し得る工程パラメータ」を設定し、QbDの形式で整理した(図2)。これらの関連を分析する目的で、各パラメータの実測値を蓄積するデータベースを構築するとともに、ビジネスインテリジェンス (BI) ツールで可視化するシステムを構築した。本事業の検討ではCQAに大きく影響する要因として「輸送温度」と「患者年齢」を特定した。輸送温度については、羊膜では低温で保存した場合に初代培養時の回収細胞数が最も多かった一方で、腸骨骨髄

では逆に低値となり、組織によって適切な輸送温度の設定が必要であることを確認した。患者年齢については、例えば歯髄において若年者では得られる歯髄の量や初代培養時の回収細胞数が多い傾向が認められた。これらの結果はデータベースに蓄積して“見える化”することにより、開発者が高品質なヒト細胞原料を効率よく入手し、製造プロセスを検討するための情報として活用している。

安定供給体制の妥当性の検証

上記で構築したヒト組織供給体制における各工程の妥当性を検証するために、ヒト組織の採取、輸送及び細胞培養の実績を積み重ねた。令和3～5年度で採取したヒト組織は、多指症拇指3例、腸骨骨髄2例、脂肪3例、臍帯5例、羊膜5例、胎盤3例、抜去歯17例の計30症例であった。

ICには説明用パンフレットが非常に効果的であり、多くのドナー患者は本事業に協力的であった。ドナースクリーニングを実施した全30症例のうち、ウイルス検査において19症例が適合した。不適合となった計11症例は、乳児のため採血が困難で必要量の血液が得られなかつた例、患者都合で採血

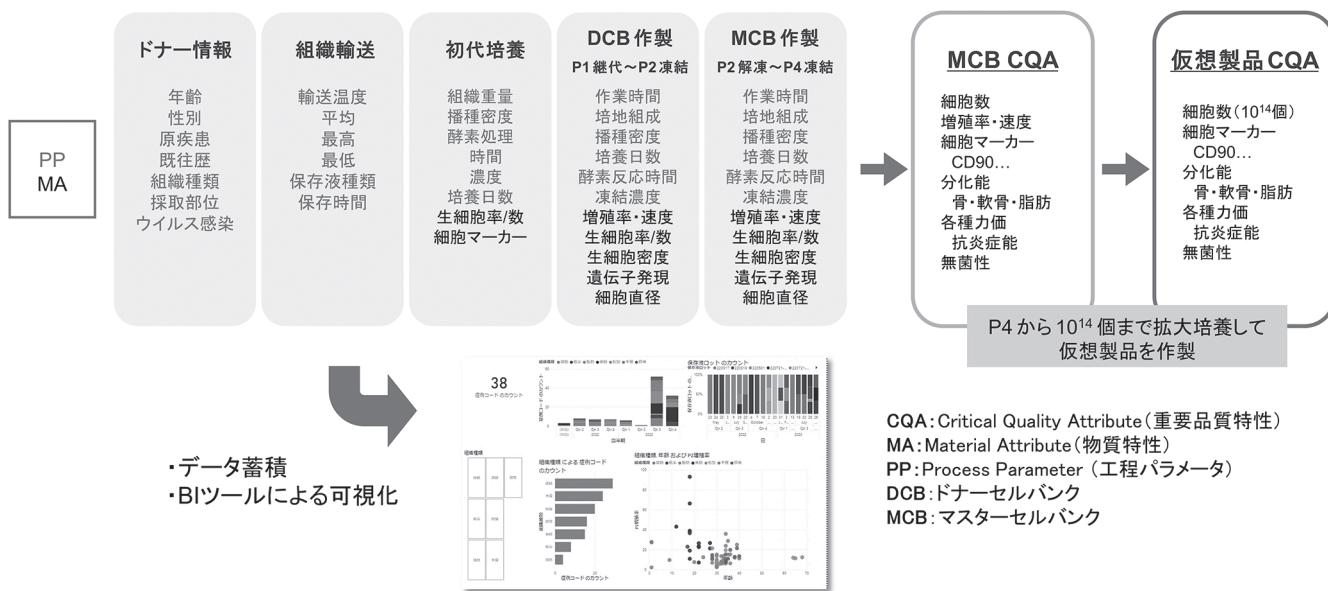


図2 QbD形式による品質管理戦略

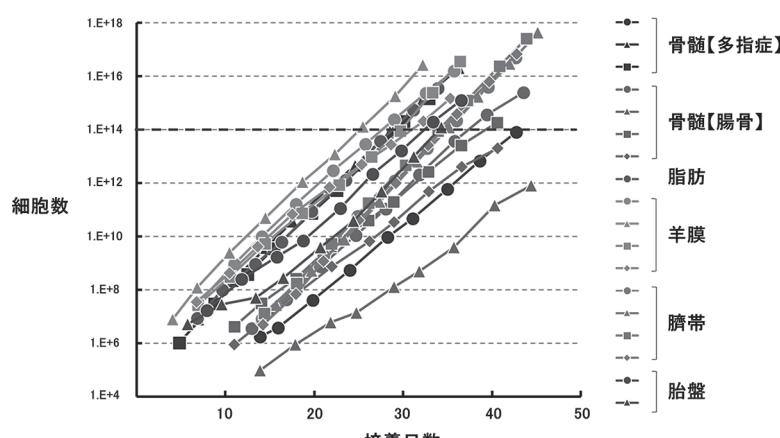
培養データをQbDの形式で整理して蓄積するデータベースを構築し、BIツールにより各因子の関連をリアルタイムに可視化するシステムを構築した。作製したMCB (P4) から10¹⁴個まで拡大培養して製造する仮想製品のCQAを設定し、これに影響を与える因子を特定した。

がキャンセルされた例、ウイルスの陽性反応が認められた例であった。

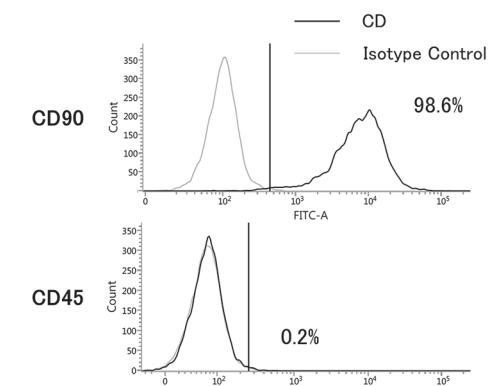
各ヒト組織から単離したMSCの拡大培養を試みた結果、ほとんどの細胞で 10^{14} 個まで増殖したことから、症例あたり 10^8 個のMSCを用いる再生医療製品を想定しても、 10^6 症例に提供できるスケールのセルバンクの製造が可能であることが示唆された（図3(a)）。また、各ヒト組織から単離・培養したMSCの表面抗原マーカーの発現を調べた。骨髓、羊膜及び胎盤由来のごく一部の細胞を除き、MSCとして規定される陽性マーカー（CD90、CD73、CD105）の陽性率は95%以上、且つ陰性マーカー（CD45、CD34、CD11b、CD19、HLA-DR）の陽性率は2%以下であり、The International Society for Cellular Therapyが定義したMSCの基準⁽²⁾を満たしていることを確認した（図3(b)）。さらに、拡大培養されたMSCの遺伝的安定性を確認するために、骨髓由来MSCのマスターセルバンク（P4）及び拡大培養後の仮想製品（P9）を検

体として核型解析を実施した。それぞれ50細胞の染色体数は、いずれも正常な46本の染色体数が認められ、培養工程で維持されるクローナルな核型異常は認められなかった（図3(c)）。これらの結果より、本事業で設定したヒト組織の採取、保存、輸送及び培養に至る一連の作業手順の妥当性を実証することができた。

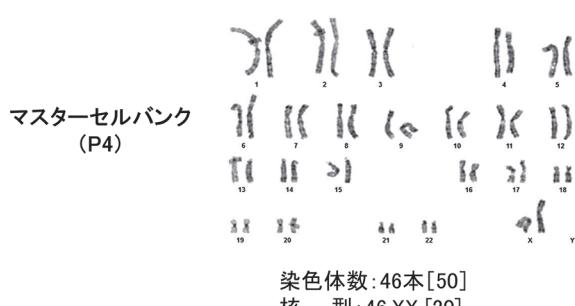
さらに、再生医療の細胞原料としてのMSCについて、採取部位、採取方法等による細胞の差異、分化傾向や機能特性について分析するため、今回得られた各種ヒト組織から単離・培養したMSCセルバンクの特性評価を試みた。MSCの機能として知られている分化能（骨・脂肪・軟骨）、抗炎症能（単核球増殖抑制能⁽³⁾、T_{reg}誘導能⁽⁴⁾、M2マクロファージ誘導能⁽⁵⁾）、サイトカイン効果（VEGF、HGFの產生、軟骨細胞へのパラクライン効果）等の各細胞の細胞特性を網羅的に評価した。その結果、多指症由来骨髓で分化能が高い傾向が認められた。各細胞特性は組織ごとに一定の傾向が認められた



(a)各種組織由来MSCの増殖曲線



(b)骨髓【多指症】由来MSC（P4）の表面抗原マーカーの発現



(c)骨髓【腸骨】由来MSCの核型解析試験（G-band分析）



図3 得られたMSCの各種細胞特性の評価

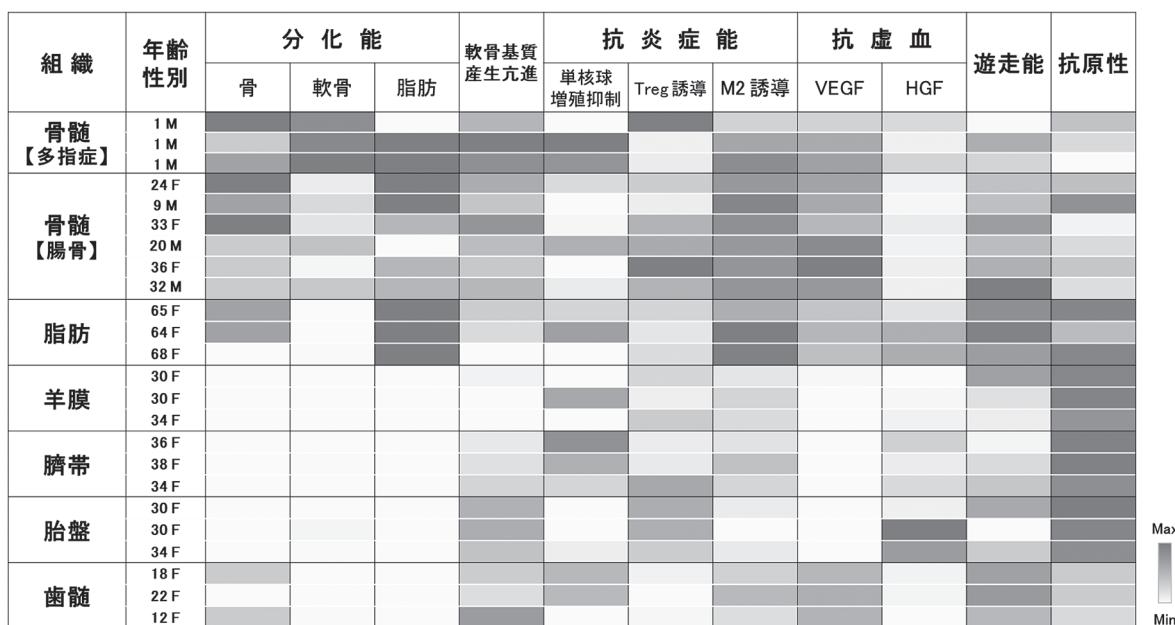


図4 MSCセルバンクの細胞特性カタログ

作製したMSCのセルバンクについて、MSCの機能として知られている分化能や抗炎症能などの各種細胞特性を *in vitro* で定量評価し、性能の高いものを濃い色で表示した。

ものの、症例による個体差が大きいことが示唆された。これらのMSCの細胞特性は「細胞特性カタログ」としてまとめており(図4)、開発者に組織ごとの傾向や症例間差を示すことにより、高品質なヒト細胞原料を効率よく入手するための参考情報として提供している。また、作製したセルバンクに詳細な特性が付与されていることから、開発者が目的疾患に対して適切な細胞を選択するために活用できる。



おわりに

再生医療等製品の原材料として包括的な産業利用が可能な国産のヒト組織及び細胞の安定的な供給体制を構築する取り組みについて紹介した。今後は、ヒト組織の種類を拡充し、多様なニーズに対応できる体制の整備を進めるとともに、セルバンク事業への展開も計画している。将来的には、ヒト細胞原料の使用目的をエクソソーム製剤や化粧品にも拡大することを視野に入れている。

我々は5つの再生医療等製品を上市した経験から、安定した品質のヒト細胞原料を入手することは製品開発において極めて重要なポイントの一つであると考える。まず、ヒト組織を海外から入手

する場合、輸送状況によって品質が低下し、必要な細胞数を得られないケースがある。また、開発時に研究用組織を用いて製造プロセスを検討しても、臨床用組織では細胞特性が異なっていたため、プロセスの再検討を余儀なくされた事例を経験している。さらに、図4に示すようにMSCの品質(細胞特性)は症例間差が大きいため、製品特性に適した細胞を選択するには複数のドナーの組織を入手することが重要である。

我々が構築したヒト細胞の供給体制を利用すれば、開発者は海外から入手するよりも比較的安価かつ安定的にヒト細胞原料入手することができる。また、開発初期では研究用としてヒト組織入手し、開発が進んだ段階で産業利用が可能なヒト組織の入手に切り替えることも可能なため、基礎研究から製品開発、市販後製造に至るシームレスな検討が可能である。さらに、我々は、複数の再生医療等製品を上市した経験に基づいて、基礎検討から製品開発(プロセス設計・非臨床試験)、治験製造、市販後製造まで受託するCDMO事業も展開している(図5)。本事業で構築したヒト組織の供給体制はCDMO事業においても活用可能であり、再生医療等製品の開発から上市までの製品ライフサイクル全体をワンストップかつシームレス

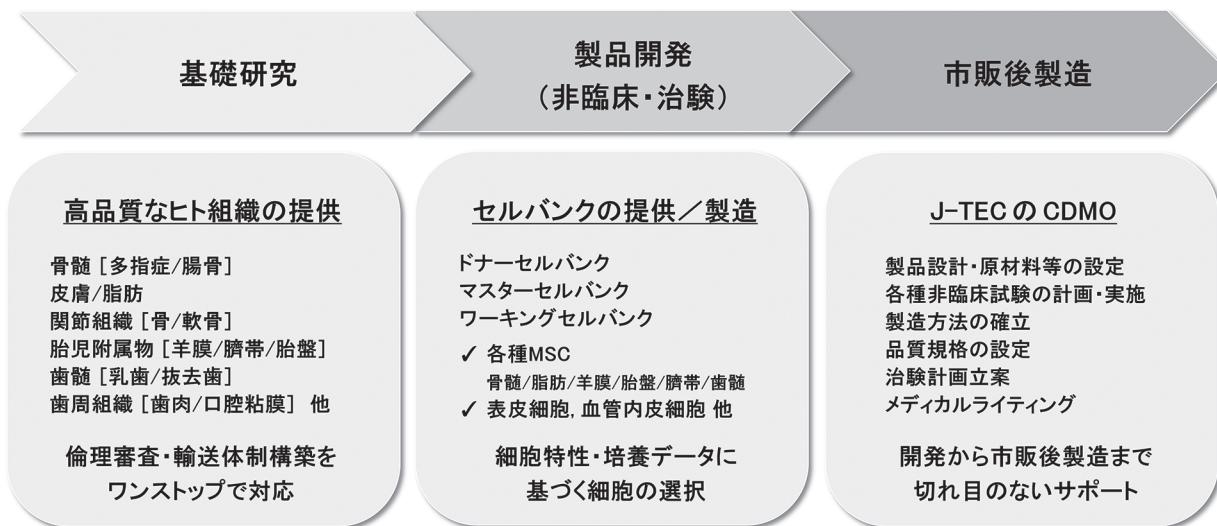


図5 J-TECのCDMO事業

にサポートすることができる。特にMSCを用いた製品については、本事業において得られた多様な組織由来MSCの培養実績に基づく製造プロセスや品質設計の提案が可能であり、最も貢献できる領域と自負している。我々が実証したヒト組織の安定供給事業は、CDMO事業と併せて様々な再生医療等製品の実用化に繋がるものと確信する。

〈参考文献〉

- (1) 早川堯夫・他：再生医療, 19 (4): 409-44 (2020)
- (2) Dominici M, et al : Cytotherapy, 8: 315-31 (2006)
- (3) Samsonraj RM, et al : Stem Cells, 33 (6): 1878-91 (2015)
- (4) English K, et al : Clin Exp Immunol, 156 (1): 149-60 (2009)
- (5) Watanabe Y, et al : Stem Cells Transl Med, 8 (3): 271-284 (2019)

筆者紹介

竹内俊祐・渡部正利喜

㈱ジャパン・ティッシュエンジニアリング
再生医療受託事業部

井家益和

㈱ジャパン・ティッシュエンジニアリング 顧問