

細胞組織医療機器開発総論

土屋利江

Development of Cell/Tissue-Based Medical Products

Toshie TSUCHIYA

*Division of Medical Devices, National Institute of Health Sciences, 1-18-1
Kamiyoga, Setagaya-ku, Tokyo 158-8501, Japan*

(Received January 17, 2007)

Biodegradable polymers are often used as scaffolds for tissue engineering and these polymers are in class IV under the revised Pharmaceutical Affairs Law. From the point of view of safety and efficacy, recent problems in the development of tissue-engineered products using biodegradable polymers are summarized in this report.

Key words—regenerative medicine; cell/tissue-engineered medical products; biodegradable materials; safety; efficacy; scaffolds

1. はじめに

細胞組織医療機器等において注意すべき概論は、平成 11 年 12 月 26 日 医薬発第 1314 号「ヒト由来細胞・組織加工医薬品等の品質及び安全性の確保に関する指針」等で定められているので、本稿では、細胞組織医療機器の開発において特に問題となっている事項を中心に記載する。

再生医療品である細胞組織医療機器においては、まず、再生医療に使用される細胞の品質・安全性・有効性評価が必要となる。細胞の品質が安全性と有効性の観点から、確保されていることが第 1 のステップとして重要である。具体的には、今後、ヒト間葉系幹細胞の使用製品が多くなると考えられる。この場合特に、ヒト間葉系幹細胞の同一性や品質評価指標が重要となる。これらの指標については、現在、再生医療事業の研究班で検討しており、複数個の遺伝子セットが候補となっている。ヒト間葉系幹細胞の老化や癌化に関する安全性については、澤田らが記載しており、本稿では、省略する。

ヒト骨芽細胞においては、採取される年齢に依存して、骨分化能のレベルが著しく異なることを、わ

れわれは、年齢の異なるヒト骨芽細胞を用いた比較実験で明らかにしてきた。したがって、老齢のヒト骨芽細胞からの骨再生には、細胞の増殖・分化能において限界があるため、最近では、ヒト間葉系幹細胞からの骨誘導による骨再生が試みられている。骨再生には、人工骨材料であるハイドロキシンアパタイトや β TCP の多孔体に細胞を播種したものを、移植する研究が、活発に行われている。しかし、その治療成績は、劇的に治癒成績が向上しているとは、言い難い現実がある。また、骨再生医療においても、若年層と老年層では、治療効果は著しく異なることも容易に想定できる。骨再生分野においては、BMP などのサイトカインと材料との組み合わせによる骨再生材料が、海外では、コンビネーション医療機器として販売されている。細胞なしで、薬とのコンビネーション材料による骨再生材料の方が、コスト面、輸送性、安定性などにおいて優れているため、コンビネーション医療機器が先行製品となる可能性もある。しかし、最近、既存のハイドロキシンアパタイトや β TCP に比べて、骨分化能や、組織侵入性の優れた新規セラミックスを、産官学連携で開発した。この開発には、安全性の観点から、また、作用機構を考慮した材料設計を行った結果、生み出された新規材料である。

軟骨細胞等を採取し、増殖させる過程において使用される個々の培地成分の安全性が重要であること

国立医薬品食品衛生研究所療品部 (〒158-8501 世田谷区上用賀 1-18-1)

e-mail: tsuchiya@nihs.go.jp

本総説は、日本薬学会第 126 年会シンポジウム S4 で発表したものを中心に記述したものである。

は、当然であるが、培地に添加される血清の安全性についても、特に重要な必須事項となる。特に牛胎児血清については、感染因子のリスクとともに、血清使用によって残留する異種タンパクの量に応じて、惹起されるアレルギー反応のリスク評価が重要なポイントとなる。

各種血清が各種細胞に及ぼす影響については、間葉系幹細胞の培養には、自己のヒト血清（患者自身の血清）で培養可能であるが、分化した軟骨細胞の培養には、患者由来の軟骨細胞を培養した成績と比べて、牛胎児血清の方が、培養成績が安定していると昨年の学会で報告があった。しかし、牛血清の代替品や、無血清培地の開発が特に最近進んでいる。われわれの再生医療事業の研究班では、ヒト間葉系幹細胞においては、既に無血清培地での培養に成功しており、製品化される計画が進んでいる。

細胞・材料とのハイブリッド製品については、細胞以外に、材料の品質・安全性・有効性評価が必要となる。既に、医療機器・医用材料として薬事承認された材料の場合、一般的に安全性試験は不要と考え易い。しかし、使用・製造方法や適用部位も異なることから、材料について、最新の科学的知見に基づいた安全性評価が必要である。特に、医用材料の中でも、生分解性・吸収性材料の評価は、重要となる。これらの材料は、細胞との培養過程で細胞に吸収されるので、安全性・有効性の両面において、材料が細胞・組織に与える影響が大きい。

われわれの経験では、生分解性材料において、同名のモノマーから合成された同名のポリマーにおいて、細胞の増殖や、分化に及ぼす影響が異なっていた。¹⁾細胞の増殖、分化には、生分解性材料の組成、分子量、重合時使用された触媒の種類、残留量、各種添加剤等が影響する。

最近、共重合型の生分解性材料とハイブリッド化された再生医療候補品において、動物実験を実施したところ、有効性が認められず、あらためて、生分解性材料の安全性を評価した結果、遺伝毒性が陽性となった例がある。3次元スキャホールドへの加工前の原料についても、安全性を評価した結果、遺伝毒性陽性であった（未発表データ）。製造メーカーの情報では、遺伝毒性陽性となるものは、加えていないと説明している。原料に既に遺伝毒性物質が混在していた可能性がある。使用する原材料について

は、自らが事前にチェックし、安全性を確認したのち、研究を開始することが特に重要である。この当たり前のことが、ほとんどなされていないため、高度な技術がありながら時間的ロスとコスト面で大きな損失をしている例が多い。

この生分解性材料は、*in vitro* 実験では、細胞分化を促進し、優れた材料であると、関係者の間では、期待されていたものであった。

上記した失敗をさけるためにも、早期の段階で、材料の安全性評価を実施しておく必要がある。

ここで、安全性評価を委託機関に任せて、試験を実施すれば、評価できると考えていると判断ミス招く。薬とは異なり、医療材料においては、試験に導入するためのサンプル調製をどのように行ったかによって、試験結果が左右される。

すなわち、安全性評価の実施においては、生分解性高分子材料の場合、ISO 10993 シリーズで記載されている水や、植物油による抽出液で評価しても、試験結果は、偽陰性となる。この点に特に注意すべきである。有機溶媒で抽出した抽出物について試験を実施する必要がある。信じがたいことに高分子を水洗した液について、試験した結果のみで安全だと宣言しているケースが多い。

また、生分解性高分子材料の場合、その種類によっては、埋植部位で炎症反応を起こすことが知られている。使用する部位、使用する量、分解速度、材料の崩壊・分解パターンなどにより、その影響は異なる。したがって、事前の綿密な材料設計が、再生医療品開発において重要なキーポイントとなる。

前述したように、*in vitro* での評価が *in vivo* での評価とかならずしも一致しない点は、製品化を進める上で留意すべき点である。また、動物種によっては、自然治癒効果が高く、ヒトでの治療効果のモデルとならない場合もあることも注意すべき重要な点である。



土屋利江

国立医薬品食品衛生研究所療品部長。
九州大学薬学部卒業。1988年国立衛生試験所療品部室長、2000年国立医薬品食品衛生研究所療品部長。この間スイス・ベルン大学留学。生体適合性評価法開発研究、生体機能性材料開発研究、再生医療・医療機器の各種ガイドライン作成により、安全・安心・有効性の高い先端医療の製品化を心がけている。

これまでに、われわれは、ゲッシ類の胎児由来の細胞とヒト細胞では、軟骨細胞の増殖分化において、異なる結果を得ている。同じ生分解性材料と比較した結果、前者の細胞では、増殖・分化機能の亢進作用を、後者の細胞では、逆に阻害作用を検出している。²⁾

動物細胞でも、細胞株であるマウス由来の MC3T3 E1 細胞は、骨分化機能を有する細胞として、多くの研究者に使用されているが、この細胞は、細胞株であり、その結果の解釈は、慎重に行う必要がある。例えば、ヒト正常骨芽細胞と MC3T3E1 細胞では、ポリ乳酸のオリゴマーに対する反応性が前者は、阻害的、後者は、促進作用を認め、両細胞間で明らかに異なっていた。^{3,4)}

細胞組織医療機器に特徴的な 3 次元スキャホールドへの細胞の接着率についても、検討した結果、細胞播種の方法によって、スキャホールドへの細胞接着率が大きく異なっていた。

また、3 次元スキャホールドの物理化学的性質、porosity, pore size, pore の連通性などが、3 次元製品の動物埋植実験において、血管進入や組織再生の程度が異なり、製品の有効性に関わってくるものが明らかになっている。3 次元多孔体の形状のみでなく、その化学的組成の違いも組織侵入性が異なる因子となることを、最近われわれが開発した新規セラミックスで確認している。

さらに、培養前と培養後では、スキャホールドの強度は、変化する。その変化の程度は、製品の材質、多孔体の形状、細胞侵入性、培養期間等によって異なる。

品質評価項目であるエンドトキシンについては、スキャホールドの材質によって、エンドトキシンの汚染状況や材料への吸着力は異なっている。材料によっては、クスリで使用されているエンドトキシン試験法では、材料中のエンドトキシンは、回収されないため、実際の汚染状況よりも低い値を示し、過少評価となる点に注意すべきである。^{5,6)} エンドトキシンの材料からの回収率の確認は、時間とコストが掛かるため、現在、抽出操作なしで、測定できる方法を開発中である（厚生労働科学研究：再生医療事業）。

臨床評価においては、特に有効性評価において、定量的な臨床評価が必要となる。さらに、患者様へ

の侵襲性の低い試験方法で評価されることが、患者の QOL を考える上で重要である。

力学的適合性評価において、現在、ASTM 文書に採用されている軟骨の測定方法は、多量の試料が必要であったり、測定に時間が掛かるため、再生医療品を試験品とする場合には、適切な方法とは言い難い。

わが国では、微量の試料で測定可能な測定機器の開発や、非侵襲的に測定できる方法が開発されつつある。⁷⁾

米国の American Society for Testing and Materials International (ASTM International) において、バイオマテリアル及び tissue engineered medical products (TEMPS) の生体適合性評価として、コネキシン機能評価が選ばれ、筆者は、現在文書作成中である。コネキシンが心筋再生の機能評価にも使用され、学会等で発表されている。今後、心筋以外の領域でも、活用され、この分野の横断的な生体適合性指標として使用可能となるべく、研究を継続している。⁸⁻¹⁴⁾

2. おわりに

筆者は、平成 16 年度からヒューマンサイエンス財団の政策創薬総合研究事業において「幹細胞等を用いた細胞組織医療機器の開発と評価技術の標準化」を研究課題として、産官学連携プロジェクトの体制で、材料開発、*in vitro* 試験、動物試験、臨床評価方法の標準化をめざして、軟骨・骨・心筋等を中心に検討してきた。本特集のシンポジウムで、ご講演をお願いした澤 芳樹先生（心筋再生）及び誌上発表して頂いた脇谷滋之先生（軟骨再生）は、本プロジェクトの分担研究者として、心筋再生、軟骨再生の臨床評価を中心に、活躍して頂いた。特に、細胞シートによる心筋再生においては、シート工学というわが国発の優れた材料技術が基になっている。この材料技術開発が、再生医療分野の多くの動物実験や臨床例において、有効性の優れた成績を挙げている。このシート工学で開発された材料上で培養した皮膚上皮細胞では、ギャップ結合細胞間連絡機能が上昇していた。¹²⁾ 組織の恒常性機能維持に重要なギャップ結合細胞間連絡機能向上が様々な組織での再生成功要因となっていると考えている。⁹⁾

本事業で得られた軟骨再生・骨再生等の成果のガイドライン化は、再生医療の早期ガイドライン化研

究（土屋班）で、現在進めている。

平成17年度からスタートした厚生労働省の次世代医療機器評価指標検討会において、再生医療分野の対象品として心筋再生（細胞シート）が選ばれた。

国立医薬品食品衛生研究所は、審査WGの事務局を担当している。審査WGは、シート工学の専門家、細胞の専門家、臨床評価の専門家、倫理の専門家等で構成された委員により、活発かつ迅速に評価指標を作成中である。平成18年度からは、医薬品医療機器総合機構の生物系審査部、品質管理部からも関係者が委員となって出席して頂く体制となっている。評価指標は、合同検討会を得たのち、学会等からのパブリックコメントを得たのち、審議会にかけて、室長通知となる予定である。再生医療・次世代医療機器のガイドライン化の道筋ができた。平成17年度の報告書は次世代医療機器評価指標作成ホームページに掲載中である。（次世代医療機器評価指標作成事業ホームページ：<http://dmd.nihs.go.jp/jisedai/>）。

厚生労働省の次世代医療機器評価指標検討会は、経済産業省の医療機器開発ガイドライン評価検討会との合同検討会を年に3回開催している。開発WGの事務局は、産業技術総合研究所で担当し、厚生労働省と経済産業省との合同検討会において、評価ガイドライン設定の対象候補等を決定している。開発WGは、開発の迅速化の観点から、開発ガイドラインを作成することとなっている。

このような状況下で、評価指標作成事業等も活用しつつ、安全で有効性の高い再生医療用細胞組織が製品化されることを進めるための努力を、厚生労働省医療機器審査管理室、総合機構を始め、所内外の専門家との連携を行い、関係者・関係機関一丸となって進めていきたいと考えている。

謝辞 最後に、日本薬学会レギュラトリーサイエンス部会長の長尾 拓 前国立医薬品食品衛生研

究所長に、本シンポジウムを企画し、講演する機会を与えて頂いたことを感謝申し上げる。

REFERENCES

- 1) Banu N., Banu Y., Sakai M., Mashino T., Tsuchiya T., *J. Artif. Organs*, **8**(3), 184–191 (2005).
- 2) Tsuchiya T., *Bioindustry*, **7**, 30–37 (2002).
- 3) Isama K., Tsuchiya T., *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.*, **13**, 153–166 (2002).
- 4) Isama K., Ikarashi Y., Tsuchiya T., *Bioindustry*, **7**, 21–29 (2002).
- 5) Nakagawa Y., Murai T., Hasegawa C., Hirata M., Tsuchiya T., Yagami T., Haishima Y., *J. Biomed. Mater. Res. Appl. Biomater.*, **66B**, 347–355 (2003).
- 6) Haishima Y., Hasegawa C., Yagami T., Tsuchiya T., Matsuda R., Hayashi Y., *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **32**(3), 495–503 (2003).
- 7) Jung D.-Y., Kang Y.-B., Tsuchiya T., Tsutsumi S., *Key Eng.*, **342–343**, 853–856 (2007).
- 8) Yang J., Ichikawa A., Tsuchiya T., *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **307**, 80–85 (2003).
- 9) Tsuchiya T., *ASTM STP*, **1452**, 254–261 (2004).
- 10) Nagahata M., Tsuchiya T., Ishiguro T., Matsuda N., Nakatsuchi Y., Teramoto A., Hachimori A., Abe K., *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **315**(3), 603–611 (2004).
- 11) Nakaoka R., Ahmed S., Tsuchiya T., *J. Biomed. Mater. Res. A*, **74**(2), 181–186 (2005).
- 12) Nagira T., Matthew S. B., Yamakoshi Y., Tsuchiya T., *Tissue Eng.*, **11**(9–10), 1393–1397 (2005).
- 13) Li Y., Nagira T., Tsuchiya T., *Biomaterials*, **27**, 1437–1443 (2006).
- 14) Nagira T., Nagahata-Ishiguro M., Tsuchiya T., *Biomaterials*, **28**, 844–850 (2007).