

**Fig. 7** – Sphere-derived cells developed into cardiomyocytes and displayed improved cardiac function in a myocardial infarction model. Retroviral transduction of sphere-derived cells with GFP in FACS analysis (A). Upper and lower panels show untransduced and transduced cells, respectively. A total of  $1 \times 10^6$  GFP-transduced cells were injected directly into a peri-infarcted area of infarcted myocardium ( $n=5$ ). Assessment of cardiac function with catheterization demonstrated significant improvement in +dP/dt (B) and LVEDP (C) compared with the non-injected infarcted-mice group and PBS-injected group, respectively ( $*p < 0.01$ ,  $**0.01 < p < 0.05$ ; a: normal control; b: infarcted mice; c: infarcted mice injected with  $10 \mu\text{l}$  PBS; d: infarcted mice injected with  $10 \mu\text{l}$  PBS containing  $1 \times 10^6$  GFP-transduced cells). Engraftment of implanted cells as cardiomyocytes was detected 28 days after surgery by immunofluorescence (D: Hoechst33342; E: GFP; F: troponin I-Cy3; G: merged image). Enhanced angiogenesis of CD31-positive and GFP-negative vessels was detected in the peri-infarct area of cell-injected mice compared to that in infarcted-mice and PBS-injected mice (H,  $**0.01 < p < 0.05$ ).

characteristics of beating cardiomyocytes and acquired cardiomyogenic potential *in vivo*. Since Makino et al. [4] first reported the cardiomyogenic potential of murine bone mar-

row stromal cells (CMG cells), several researchers have shown differentiation of murine marrow-derived cells into cardiomyocytes *in vitro* and *in vivo* [49]. However, no group has

generated stem/progenitor cells or multipotent cell populations from bone marrow that can be subsequently induced to differentiate *in vitro* into beating cardiomyocytes. Like CMG cells, the sphere-derived cells underwent *in vitro* acquisition of the beating cardiomyocyte similar to CMG cells. This cardiomyogenic potential could be due to nuclear reprogramming by 5-aza-2'-deoxycytidine, a demethylating agent capable of altering gene expression [50]. Considering that no beating cardiomyocytes could be obtained under identical induction conditions without selection by sphere formation, the bone marrow-derived cells must have acquired cardiomyocytic potential during sphere formation.

Recently, CMG cells were found to be capable of differentiating into cardiomyocytes *in vivo* but no functional assessment of these cells was made [51]. BMCs [52] and MSCs [53] have also been reported to be capable of differentiating into cardiomyocytes *in vivo*. Although such cells improved cardiac function in AMI models in rat and swine, there has been little assessment of improved cardiac function in mice [49]. Our study is unique in that we performed catheterization in mice to undertake precise analysis of the effect of implanted cells on cardiac function. After transplantation into the heart of an AMI mouse, sphere-derived cells significantly improved cardiac function, although the engraftment frequency as cardiomyocytes was quite low. A similar outcome has been reported after transplantation of whole BMCs [54] or MSCs [55] in AMI models without engrafting as cardiomyocytes. Stimulation of host angiogenesis by donor cell-related factors has been reported as one of the reasons for the functional benefit [9,52,54]. Immunofluorescent analysis of CD 31 revealed enhanced host angiogenesis in cell-transplanted hearts, and this might partially contribute to the improved cardiac function in our model.

In summary, we present here a new method using sphere formation to isolate multipotent marrow progenitors in mice. After selection for sphere formation ability, cells showed multi-differentiation potential by crossing cell lineage boundaries *in vitro*. They also improved cardiac function when injected into an AMI model heart. When selection for sphere-forming ability was omitted, the cells lacked multipotentiality. These findings show that our three-step method based on sphere formation enhances the formation of multipotent progenitors from murine bone marrow.

## Acknowledgments

This study was supported by the Program for Promotion of Fundamental Studies in Health Science of the National Institute of Biomedical Innovation (NIBIO) (03-2) and Research of Japan, and by a Grant-in-Aid for Creative Scientific Research (13GS0009).

## REFERENCES

- [1] A.J. Friedenstein, J.F. Gorskaja, N.N. Kulagina, Fibroblast precursors in normal and irradiated mouse hematopoietic organs, *Exp. Hematol.* 4 (1976) 267–274.
- [2] M.F. Pittenger, A.M. Mackay, S.C. Beck, R.K. Jaiswal, R. Douglas, J.D. Mosca, M.A. Moorman, D.W. Simonetti, S. Craig, D.R. Marshak, Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells, *Science* 284 (1999) 143–147.
- [3] A. Hermann, R. Gastl, S. Liebau, M.O. Poppa, J. Fiedler, B.O. Boehm, M. Maisel, H. Lerche, J. Schwarz, R. Brenner, A. Storch, Efficient generation of neural stem cell-like cells from adult human bone marrow stromal cells, *J. Cell Sci.* 117 (2004) 4411–4422.
- [4] S. Makino, K. Fukuda, S. Miyoshi, F. Konishi, H. Kodama, J. Pan, M. Sano, T. Takahashi, S. Hori, H. Abe, J. Hata, A. Umezawa, S. Ogawa, Cardiomyocytes can be generated from marrow stromal cells *in vitro*, *J. Clin. Invest.* 103 (1999) 697–705.
- [5] E.M. Horwitz, D.J. Prockop, L.A. Fitzpatrick, W.W. Koo, P.L. Gordon, M. Neel, M. Sussman, P. Orchard, J.C. Marx, R.E. Pyeritz, M.K. Brenner, Transplantability and therapeutic effects of bone marrow-derived mesenchymal cells in children with osteogenesis imperfecta, *Nat. Med.* 5 (1999) 309–313.
- [6] C. Stamm, B. Westphal, H.D. Kleine, M. Petzsch, C. Kittner, H. Klinge, C. Schumichen, C.A. Nienaber, M. Freund, G. Steinhoff, Autologous bone-marrow stem-cell transplantation for myocardial regeneration, *Lancet* 361 (2003) 45–46.
- [7] G. D'Ippolito, S. Diabira, G.A. Howard, P. Menei, B.A. Roos, P.C. Schiller, Marrow-isolated adult multilineage inducible (MIAMI) cells, a unique population of postnatal young and old human cells with extensive expansion and differentiation potential, *J. Cell Sci.* 117 (2004) 2971–2981.
- [8] M. Reyes, T. Lund, T. Lenvik, D. Aguiar, L. Koodie, C.M. Verfaillie, Purification and *ex vivo* expansion of postnatal human marrow mesodermal progenitor cells, *Blood* 98 (2001) 2615–2625.
- [9] Y.S. Yoon, A. Wecker, L. Heyd, J.S. Park, T. Tkebuchava, K. Kusano, A. Hanley, H. Scadova, G. Qin, D.H. Cha, K.L. Johnson, R. Aikawa, T. Asahara, D.W. Losordo, Clonally expanded novel multipotent stem cells from human bone marrow regenerate myocardium after myocardial infarction, *J. Clin. Invest.* 115 (2005) 326–338.
- [10] E.H. Javazon, K.J. Beggs, A.W. Flake, Mesenchymal stem cells: paradoxes of passaging, *Exp. Hematol.* 32 (2004) 414–425.
- [11] P.L. Witte, M. Robinson, A. Henley, M.G. Low, D.L. Stiers, S. Perkins, R.A. Fleischman, P.W. Kincade, Relationships between B-lineage lymphocytes and stromal cells in long-term bone marrow cultures, *Eur. J. Immunol.* 17 (1987) 1473–1484.
- [12] I. Sekiya, B.L. Larson, J.R. Smith, R. Pochampally, J.G. Cui, D.J. Prockop, Expansion of human adult stem cells from bone marrow stroma: conditions that maximize the yields of early progenitors and evaluate their quality, *Stem. Cells* 20 (2002) 530–541.
- [13] S. Sun, Z. Guo, X. Xiao, B. Liu, X. Liu, P.H. Tang, N. Mao, Isolation of mouse marrow mesenchymal progenitors by a novel and reliable method, *Stem. Cells* 21 (2003) 527–535.
- [14] P. Tropel, D. Noel, N. Platet, P. Legrand, A.L. Benabid, F. Berger, Isolation and characterisation of mesenchymal stem cells from adult mouse bone marrow, *Exp. Cell Res.* 295 (2004) 395–406.
- [15] A. Peister, J.A. Mellad, B.L. Larson, B.M. Hall, L.F. Gibson, D.J. Prockop, Adult stem cells from bone marrow (MSCs) isolated from different strains of inbred mice vary in surface epitopes, rates of proliferation, and differentiation potential, *Blood* 103 (2004) 1662–1668.
- [16] J.G. Toma, M. Akhavan, K.J. Fernandes, F. Barnabe-Heider, A. Sadikot, D.R. Kaplan, F.D. Miller, Isolation of multipotent adult stem cells from the dermis of mammalian skin, *Nat. Cell Biol.* 3 (2001) 778–784.
- [17] G. Dontu, W.M. Abdallah, J.M. Foley, K.W. Jackson, M.F. Clarke, M.J. Kawamura, M.S. Wicha, *In vitro* propagation and

- transcriptional profiling of human mammary stem/progenitor cells, *Genes Dev.* 17 (2003) 1253–1270.
- [18] A. Tsuchiya, T. Heike, H. Fujino, M. Shiota, K. Umeda, M. Yoshimoto, Y. Matsuda, T. Ichida, Y. Aoyagi, T. Nakahata, Long-term extensive expansion of mouse hepatic stem/progenitor cells in a novel serum-free culture system, *Gastroenterology* 128 (2005) 2089–2104.
- [19] Y. Torrente, M. Belicchi, F. Pisati, S.F. Pagano, F. Fortunato, M. Sironi, M.G. D'Angelo, E.A. Parati, G. Scarlato, N. Bresolin, Alternative sources of neurons and glia from somatic stem cells, *Cell Transplant* 11 (2002) 25–34.
- [20] M. Yoshimoto, T. Shinohara, T. Heike, M. Shiota, M. Kanatsu-Shinohara, T. Nakahata, Direct visualization of transplanted hematopoietic cell reconstitution in intact mouse organs indicates the presence of a niche, *Exp. Hematol.* 31 (2003) 733–740.
- [21] H. Hiramatsu, R. Nishikomori, T. Heike, M. Ito, K. Kobayashi, K. Katamura, T. Nakahata, Complete reconstitution of human lymphocytes from cord blood CD34+ cells using the NOD/SCID/gammacnull mice model, *Blood* 102 (2003) 873–880.
- [22] C. Shukunami, C. Shigeno, T. Atsumi, K. Ishizeki, F. Suzuki, Y. Hiraki, Chondrogenic differentiation of clonal mouse embryonic cell line ATDC5 in vitro: differentiation-dependent gene expression of parathyroid hormone (PTH)/PTH-related peptide receptor, *J. Cell Biol.* 133 (1996) 457–468.
- [23] J.R. Sanchez-Ramos, S. Song, S.G. Kamath, T. Zigova, A. Willing, F. Cardozo-Pelaez, T. Stedeford, M. Chopp, P.R. Sanberg, Expression of neural markers in human umbilical cord blood, *Exp. Neurol.* 171 (2001) 109–115.
- [24] T. Kato, T. Heike, K. Okawa, M. Haruyama, K. Shiraishi, M. Yoshimoto, M. Nagato, M. Shibata, T. Kumada, Y. Yamanaka, H. Hattori, T. Nakahata, A neurosphere-derived factor, cystatin C, supports differentiation of ES cells into neural stem cells, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 103 (2006) 6019–6024.
- [25] S. Wakitani, T. Saito, A.I. Caplan, Myogenic cells derived from rat bone marrow mesenchymal stem cells exposed to 5-azacytidine, *Muscle Nerve* 18 (1995) 1417–1426.
- [26] M. Kanatsu-Shinohara, K. Inoue, J. Lee, M. Yoshimoto, N. Ogonuki, H. Miki, S. Baba, T. Kato, Y. Kazuki, S. Toyokuni, M. Toyoshima, O. Niwa, M. Oshimura, T. Heike, T. Nakahata, F. Ishino, A. Ogura, T. Shinohara, Generation of pluripotent stem cells from neonatal mouse testis, *Cell* 119 (2004) 1001–1012.
- [27] K. Umeda, T. Heike, M. Yoshimoto, M. Shiota, H. Suemori, H.Y. Luo, D.H. Chui, R. Torii, M. Shibuya, N. Nakatsuji, T. Nakahata, Development of primitive and definitive hematopoiesis from nonhuman primate embryonic stem cells in vitro, *Development* 131 (2004) 1869–1879.
- [28] W.S. Pear, G.P. Nolan, M.L. Scott, D. Baltimore, Production of high-titer helper-free retroviruses by transient transfection, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 90 (1993) 8392–8396.
- [29] B. de Crombrughe, V. Lefebvre, R.R. Behringer, W. Bi, S. Murakami, W. Huang, Transcriptional mechanisms of chondrocyte differentiation, *Matrix Biol.* 19 (2000) 389–394.
- [30] T.X. O'Brien, K.J. Lee, K.R. Chien, Positional specification of ventricular myosin light chain 2 expression in the primitive murine heart tube, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 90 (1993) 5157–5161.
- [31] S.W. Kubalak, W.C. Miller-Hance, T.X. O'Brien, E. Dyson, K.R. Chien, Chamber specification of atrial myosin light chain-2 expression precedes septation during murine cardiogenesis, *J. Biol. Chem.* 269 (1994) 16961–16970.
- [32] H. Niwa, Molecular mechanism to maintain stem cell renewal of ES cells, *Cell Struct. Funct.* 26 (2001) 137–148.
- [33] E. Ben-Shushan, J.R. Thompson, L.J. Gudas, Y. Bergman, Rex-1, a gene encoding a transcription factor expressed in the early embryo, is regulated via Oct-3/4 and Oct-6 binding to an octamer site and a novel protein, Rox-1, binding to an adjacent site, *Mol. Cell. Biol.* 18 (1998) 1866–1878.
- [34] A. Kispert, B. Koschorz, B.G. Herrmann, The T protein encoded by Brachyury is a tissue-specific transcription factor, *EMBO J.* 14 (1995) 4763–4772.
- [35] P. Tontonoz, E. Hu, B.M. Spiegelman, Stimulation of adipogenesis in fibroblasts by PPAR gamma 2, a lipid-activated transcription factor, *Cell* 79 (1994) 1147–1156.
- [36] P. Ducy, R. Zhang, V. Geoffroy, A.L. Ridall, G. Karsenty, Osf2/Cbfa1: a transcriptional activator of osteoblast differentiation, *Cell* 89 (1997) 747–754.
- [37] V. Lefebvre, P. Li, B. de Crombrughe, A new long form of Sox5 (L-Sox5), Sox6 and Sox9 are coexpressed in chondrogenesis and cooperatively activate the type II collagen gene, *EMBO J.* 17 (1998) 5718–5733.
- [38] H.H. Arnold, B. Winter, Muscle differentiation: more complexity to the network of myogenic regulators, *Curr. Opin. Genet. Dev.* 8 (1998) 539–544.
- [39] T.J. Lints, L.M. Parsons, L. Hartley, I. Lyons, R.P. Harvey, Nkx-2.5: a novel murine homeobox gene expressed in early heart progenitor cells and their myogenic descendants, *Development* 119 (1993) 419–431.
- [40] U. Lendahl, L.B. Zimmerman, R.D. McKay, CNS stem cells express a new class of intermediate filament protein, *Cell* 60 (1990) 585–595.
- [41] P. Tropel, N. Platet, J.C. Platel, D. Noel, M. Albricieux, A.L. Benabid, F. Berger, Functional neuronal differentiation of bone marrow-derived mesenchymal stem cells, *Stem. Cells* (2006).
- [42] J. Sanchez-Ramos, S. Song, F. Cardozo-Pelaez, C. Hazzi, T. Stedeford, A. Willing, T.B. Freeman, S. Saporta, W. Janssen, N. Patel, D.R. Cooper, P.R. Sanberg, Adult bone marrow stromal cells differentiate into neural cells in vitro, *Exp. Neurol.* 164 (2000) 247–256.
- [43] R.M. Seaberg, S.R. Smukler, T.J. Kieffer, G. Enikolopov, Z. Asghar, M.B. Wheeler, G. Korbitt, D. van der Kooy, Clonal identification of multipotent precursors from adult mouse pancreas that generate neural and pancreatic lineages, *Nat. Biotechnol.* 22 (2004) 1115–1124.
- [44] F.M. Lamoury, J. Croitoru-Lamoury, B.J. Brew, Undifferentiated mouse mesenchymal stem cells spontaneously express neural and stem cell markers Oct-4 and Rex-1, *Cytherapy* 8 (2006) 228–242.
- [45] J. Deng, B.E. Petersen, D.A. Steindler, M.L. Jorgensen, E.D. Laywell, Mesenchymal stem cells spontaneously express neural proteins in culture and are neurogenic after transplantation, *Stem. Cells* 24 (2006) 1054–1064.
- [46] A.R. Alexanian, Neural stem cells induce bone-marrow-derived mesenchymal stem cells to generate neural stem-like cells via juxtacrine and paracrine interactions, *Exp. Cell Res.* 310 (2005) 383–391.
- [47] S. Wislet-Gendebien, P. Leprince, G. Moonen, B. Rogister, Regulation of neural markers nestin and GFAP expression by cultivated bone marrow stromal cells, *J. Cell Sci.* 116 (2003) 3295–3302.
- [48] M. Baddoo, K. Hill, R. Wilkinson, D. Gaupp, C. Hughes, G.C. Kopen, D.G. Phinney, Characterization of mesenchymal stem cells isolated from murine bone marrow by negative selection, *J. Cell. Biochem.* 89 (2003) 1235–1249.
- [49] D. Orlic, J. Kajstura, S. Chimenti, I. Jakoniuk, S.M. Anderson, B. Li, J. Pickel, R. McKay, B. Nadal-Ginard, D.M. Bodine, A. Leri, P. Anversa, Bone marrow cells regenerate infarcted myocardium, *Nature* 410 (2001) 701–705.
- [50] K. Fukuda, Progress in myocardial regeneration and cell transplantation, *Circ. J.* 69 (2005) 1431–1446.
- [51] H. Kawada, J. Fujita, K. Kinjo, Y. Matsuzaki, M. Tsuma, H. Miyatake, Y. Muguruma, K. Tsuboi, Y. Itabashi, Y. Ikeda, S. Ogawa, H. Okano, T. Hotta, K. Ando, K. Fukuda, Nonhematopoietic mesenchymal stem cells can be mobilized and differentiate into cardiomyocytes after myocardial infarction, *Blood* 104 (2004) 3581–3587.

- [52] S. Tomita, D.A. Mickle, R.D. Weisel, Z.Q. Jia, L.C. Tumiati, Y. Allidina, P. Liu, R.K. Li, Improved heart function with myogenesis and angiogenesis after autologous porcine bone marrow stromal cell transplantation, *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 123 (2002) 1132–1140.
- [53] A.A. Mangi, N. Noiseux, D. Kong, H. He, M. Rezvani, J.S. Ingwall, V.J. Dzau, Mesenchymal stem cells modified with Akt prevent remodeling and restore performance of infarcted hearts, *Nat. Med.* 9 (2003) 1195–1201.
- [54] H.F. Tse, Y.L. Kwong, J.K. Chan, G. Lo, C.L. Ho, C.P. Lau, Angiogenesis in ischaemic myocardium by intramyocardial autologous bone marrow mononuclear cell implantation, *Lancet* 361 (2003) 47–49.
- [55] J.G. Shake, P.J. Gruber, W.A. Baumgartner, G. Senechal, J. Meyers, J.M. Redmond, M.F. Pittenger, B.J. Martin, Mesenchymal stem cell implantation in a swine myocardial infarct model: engraftment and functional effects, *Ann. Thorac. Surg.* 73 (2002) 1919–1925 (discussion 1926).

## 第13章 再生医療分野における海外動向

### 1 アメリカFDAの提唱する phase I CGMP と日本の現状

笠井泰成\*<sup>1</sup>, 中川陽子\*<sup>2</sup>, 松岡玲子\*<sup>3</sup>, 芦原英司\*<sup>4</sup>, 木村晋也\*<sup>5</sup>, 前川 平\*<sup>6</sup>

#### 1.1 はじめに

細胞治療とは、輸血、造血幹細胞移植、細胞免疫療法などのヒト細胞を輸注、移植することにより行う治療法の総称である。再生治療や遺伝子治療の多くも、幹細胞を増幅させたり、分化させ機能を強化したりといった加工を受けた細胞を疾病の治療に用いようとするものである。この意味で、多くの再生治療や遺伝子治療は細胞治療として包括される(図1)。

細胞治療はあたらしい医療技術として、従来治療が困難であった疾病に対する革新的な医療技術として大いに期待されているが、その実現に向けて、細胞や組織の評価と安全性の確保が喫緊の課題である。わが国における一般的な医薬品や医療機器を開発するためには、薬事法に従い医薬品医療機器総合機構(Pharmaceutical and Medical Devices Agency: PMDA)へ治験計画を事

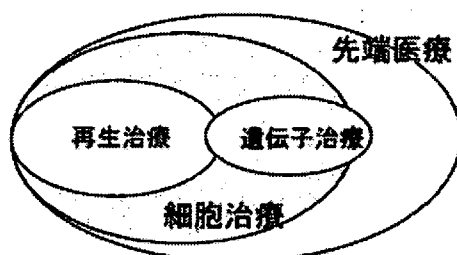


図1 細胞治療、再生治療、遺伝子治療、先端医療—言葉の定義—

- \* 1 Yasunari Kasai 京都大学 医学部附属病院 分子細胞治療センター 主任技師
- \* 2 Yoko Nakagawa 京都大学 医学部附属病院 分子細胞治療センター 教務補佐員
- \* 3 Reiko Matsuoka 京都大学 医学部附属病院 分子細胞治療センター 技術補佐員
- \* 4 Eishi Ashihara 京都大学 医学部附属病院 輸血細胞治療部 助教
- \* 5 Shinya Kimura 京都大学 医学部附属病院 輸血細胞治療部 講師
- \* 6 Taira Maekawa 京都大学 医学部附属病院 輸血細胞治療部 教授  
分子細胞治療センター センター長

前に届け出て承認を受けて実施しなければならない。しかし、細胞治療に用いるヒト由来の組織や細胞は一般的な医薬品とは異なる特性を持つため、再生医療や細胞治療に用いる細胞の特殊性を理解して種々の規制を柔軟に適応させる必要がある。

米国において、第I相臨床試験で使用される薬物や生物製剤を製造する場合には、連邦食品医薬品化粧品法 (Food, Drug, and Cosmetic Act : FDCA) で要求される CGMP (current good manufacturing practice, 製造に関する基準) に従わなければならないとされてきた。第I相試験に用いるための臨床研究新薬 (治験薬) (Investigational New Drug : IND) の製造に対する規制は、被験者の安全性を保証することを主たる目的としている。さらに、米国食品医薬品局 (Food and Drug Administration : FDA) は、CGMP にかかわる品質管理原則を臨床試験で用いる新薬の製造に適用することで、あたらしい治療法の開発が促進されるとともに、被験者保護につながると考えている。しかし米国でも、大学やベンチャー企業で行われている探索的臨床試験研究 (トランスレーショナル・リサーチ, TR) に用いる研究用 IND<sup>\*1</sup> の製造に、市販されている医薬品と同様の規制をかけていたのでは開発のスピードが上がらないことが懸念されるようになった。このようななかで米国 FDA は、2006年1月に FDCA で要求されている CGMP に従った第I相臨床試験のための薬品や生物製剤の製造を支援することを目的としたあたらしいガイダンス [INDs-Approaches to Complying with CGMP During Phase 1] の草案を公表した<sup>1)</sup>。本稿では、このガイダンス (以下、Phase 1 GMP ガイダンス) に基づいて米国 FDA の提唱する CGMP 準拠のアプローチの概要を解説するとともに、わが国の薬事法などの規制の現状を考慮し、著者らの考え方も適宜折り込みながら述べてみたい。したがって、上記のガイダンス原文の内容と異なる著者ら独自の見解も含まれていることをご理解いただきたい。Phase 1 GMP ガイダンスの原文、あるいは著者らが邦訳したものを参照して頂ければ幸いである<sup>2)</sup>。

## 1.2 背景

米国では TR に用いる研究用 IND の製造に対して FDA は柔軟な指導を行っている。1991年に、「(ヒトと動物の) 研究用医薬品の準備におけるガイドライン」が FDA から交付された。しかし、このガイドラインは、規模の小さい、または実験室規模での IND 製造を含めたすべての製造状況について考慮しているわけではなかった。このような経緯を踏まえて、2006年1月には FDCA で要求されている CGMP に従った第I相臨床試験のための臨床研究新薬や生物製剤の製造を支援することを目的とした Phase 1 GMP ガイダンスの草案が FDA から公表されたわけである。

---

\*1 本稿では探索的な臨床試験 (TR) にもちいる臨床研究新薬 (治験薬) を研究用 IND と呼び、化合物のみでなくヒト細胞を含むものとする。なお、とくに治療用ヒト細胞のことに特化した記述の必要がある場合には、研究用 IND (細胞) とした。

Phase 1 GMP ガイダンスでは、適切な品質の研究用 IND を得るために必要な管理とその程度は、それが探索的試験研究 (TR) 段階の製造である場合と、市販段階の製造である場合とで異なるべきであると言う考え方が提唱されている。すなわち、研究用 IND の製造と管理は、臨床試験の各相に応じて異なるべきであると言う考え方を示したものである (stepwise approach : 図 2)。FDA 当局が定めた CGMP に従えば、研究用 IND であっても、製造者には可能な限り、製品と製造目的、開発過程と製品情報、そして製造過程を反映するような管理方法を実行することが求められている<sup>3)</sup>。

Phase 1 GMP ガイダンスは、「適用範囲」の項で説明されているとおり、第 I 相臨床試験のために製造される研究用 IND について、その特殊な製造状況 (例えば、研究室レベルのものであるか、探索的試験レベルのものであるか、多品目を製造し多種類のロットを検査する必要があるのか)、また特殊な製品 (例えば、生物製剤/バイオテクノロジー製品、無菌処理製剤) における管理について、現時点での FDA の考え方を説明したものとなっている。Phase 1 GMP ガイダンスでは、第 I 相臨床試験用に製造される探索的段階の製品には、従来の Part 211 (21CFR211) において要求されている項目を全てにわたっては適用する必要がないとしている。ただし、研究用 IND がすでにスポンサー (臨床試験に対して責任を負い、これを主導する者<sup>\*2)</sup>) により、第 II 相、第 III 相の治験のために製造されたものである場合や、あるいはすでに合法的に医薬品として市販されているものである場合には、第 I 相臨床試験で使用するものであっても、試験の規模や期間に関係なく、その製造は 21CFR Part211 項に従わねばならないとしている<sup>\*3)</sup>。

Phase 1 GMP ガイダンスは、最終決定されれば「適用範囲」の項で述べるような第 I 相臨床試験用の研究用 IND 製造については、1991 年に FDA から出されたガイドラインに代わって適用されると考えられる。

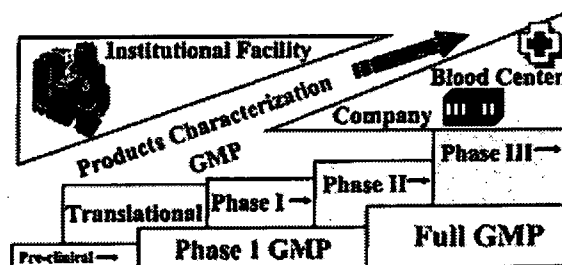


図 2 Phase 1 GMP で提唱されている stepwise approach の概念

\* 2 多くの場合は製薬企業。いわゆる医師主導型治験や臨床試験では、医師あるいは研究者を指す。

\* 3 市販されている医薬品の適応外使用のことを指すと考えられる。

### 1.3 FDAの提唱するPhase 1 GMPの概要

#### 1.3.1 適用範囲

Phase 1 GMP ガイダンスは次のような研究に適用される。すなわち、第I相臨床試験としてヒトに使用する研究用INDや生物由来製剤(プラセボとして投与される薬剤も含む)、例えば、探索段階の組換え型または非組換え型治療用製品、ワクチン製剤、アレルギー製剤、生体内診断薬、血漿製剤、血液や血液成分、遺伝子療法製剤、体細胞療法剤(異種移植製剤を含む)などである。しかしながら、Phase 1 GMP ガイダンスは以下のものには適用されないとしている。

- ・公衆保健サービス法(PLS Act) 361項でのみ規制されるヒト由来の細胞や組織の製剤\*4
- ・FDCAにおける医療機器承認規定の対象となる製品に対する臨床試験
- ・第II相および第III相臨床試験のために製造された研究用IND
- ・既に第I相臨床試験における使用が承認された製剤(例えば、それを新たな適応のために使用する場合など)\*5

#### 1.3.2 法令準拠のための提言

Phase 1 GMP ガイダンスは、INDの第I相臨床試験を行うスポンサーと製造者がCGMPの要件に準拠するためにどのような方法をとるべきかについて述べている。製品開発の過程での研究用INDの品質や安全性は、適切な品質管理が有効に行われることによってある程度維持される。また、確立あるいは標準化された手順を用いることで、その後続く第II相、第III相の臨床試験において必要とされる治療用製品と同等、またはそれに匹敵する研究用INDの製造が促されることになる。以下の要件を満たせば、おおむね第I相臨床試験における品質管理手順を遵守することができると考えられる。

- ・明確に文書化された手順書(Standards Operating Procedure : SOP)
- ・適切に管理された施設
- ・検査または製造過程で得られた正確かつ一貫して記録されたデータ

製造者は、この3点以外に、Phase 1 GMP ガイダンスで述べられている目標に見合った代替案を提案することもできる\*6。INDが安全性、均一性、強さ、品質、純度の基準に見合ったものであることを保証するためには、スポンサーや製造業者が責任をもって、適切な方法を定め、設備を準備し、管理運用する必要がある。研究用INDの製造者は、特定の製品・製造業務に対

---

\*4 いわゆる“minimally manipulated”とされる。通常の治療法としてすでに確立している骨髄移植や末梢血幹細胞に用いる細胞などのことを指すと考えられる。

\*5 INDの適応外使用とでも言うべきものと考えられる。

\*6 製造者とFDAの間で行われるこのような議論(コミュニケーション)が、TRにおけるCGMPの適応を柔軟なものにしていると思われる。



再生医療に用いられる細胞・再生組織の評価と安全性

する CGMP に適合した基準、教育訓練、作業手順の実施を保證する最適な方法を慎重に検討しなければならない。

1.3.3 Phase 1 GMP ガイダンスとわが国の治験薬 GMP に基づく規定との関係

Phase 1 GMP ガイダンスをわが国の現状と比較すればどのようになるであろうか。Phase 1 GMP ガイダンスにおける研究用 IND の製造も、TR が主に行われる大学などの事情、TR の開発段階に伴う stepwise approach の必要性を考慮したものではあるが、わが国の現状に演繹して考えた場合、治験薬 GMP にできるだけ準拠することを要求することになるであろう。実際、平成 18 年 9 月から施行された「ヒト幹細胞を用いる臨床研究に関する指針」では、細胞の調整は治験薬 GMP に準拠することが要求されている<sup>4)</sup>。

しかし、研究用 IND (細胞) は通常の錠剤とは異なる細胞プロセッシングと言う操作を必要とする。すなわち、錠剤などに適応される従来の治験薬 GMP をそのまま研究用 IND (細胞) に適応することは困難である。この議論に関連して、著者らは細胞治療用に特化した institutional GMP (iGMP) の必要性を提唱してきた<sup>5-7)</sup>。表 1 にわが国における治験薬 GMP、医薬品 GMP、

表 1 治験薬 GMP と医薬品 GMP の要求事項の相違点と、いわゆる iGMP の考え方

iGMP	治験薬 GMP	医薬品 GMP
同右 (査察必要)	治験薬の製造に許可は不要	医薬品製造業の許可の要件
同右 (iGMP の製造管理責任者は通常プロジェクト毎に異なり、常勤のものが行う)	品質管理者 (製造管理者に相当) は薬剤師のほか、大学で薬学、医学、歯学、獣医学、理学又は工学を修め、必要な教育訓練を受けた者等でもよい。	製造管理者は薬剤師に限る。
同右 (iGMP の品質管理責任者は人員面から各プロジェクトの業務が基本になり、常勤のものが行う)	治験薬品質管理者は治験薬の品目ごとに置く。複数の治験薬についての兼務を妨げない。治験薬製造施設に常駐していなくてもよい。	製造管理者は製造所毎に置く。
同右	製造等の記録類の保管期間は、他の治験関係記録と同様の期間 (5 年間)。	製造等の記録類の保管期間は 3 年 (生物 10 年、特生 30 年)
同右	他の試験検査機関等の利用は、治験薬品質管理者の判断に委ねられ、特に制限していない。	他の試験検査機関等の利用制限がある。
同右 (細胞治療に特化したバリデーションが必須)	治験薬開発段階の目的に応じたバリデーションを実施すればよい。	多岐にわたるバリデーションが要求されている。
同右	委委託製造：治験薬の製造については許可は不要である。全部委託や再委託を妨げない。原薬等を含め、工程分断を妨げない。	委委託製造：委託側、受託側とも製造業の許可が必要。全部委託や再委託は認めない。原薬等の工程分断の禁止。
同右	製造施設：製造用水供給設備、試験検査設備については備えなくてもよい。	製造所：製造用水供給設備、試験検査設備が必要。
大学、研究所など	製薬企業、治験薬 GMP 製造受託会社	製薬企業

それにiGMPの相違点をまとめたが、iGMPの概念は、細胞プロセッシングの特殊性、TRが主に行われる大学などの事情、それにTRの開発段階に伴うstepwise approachの必要性を考慮したものであるが、基本的にiGMPは治験薬GMPと同様であり、「研究用IND(細胞)に特化した治験薬GMP」、すなわち「治験薬GMPの細胞版」と言う位置づけである。

治験薬GMPの目的は、① 治験薬の品質の均一性を保証することで臨床試験の信頼性を確保すること、② 治験薬と市販後製品の同一性を保証することで製品の有効性と安全性を確保すること、③ 治験薬の品質を保証することで不良な治験薬から被験者を保護することにある。治験薬GMPのハードの基準は、医薬品GMPに比べ、一部の設備については要求事項が緩和されている。これは医薬品と異なり、治験薬の製造においては、製造ロット数が少ないことや、治験の進行に伴い製造施設や設備が異なっていくことに対する配慮がなされているためである<sup>8)</sup>。すなわち、米国FDAのPhase 1 GMPガイダンスで提唱されている研究用INDに関する“stepwise approach”の考え方を、わが国の治験薬GMPでは、概念的にはあるが、すでにとっていると言えよう。この意味で、Phase 1 GMPガイダンスにわが国の規制の枠組みを当てはめて考えれば、研究用INDは治験薬GMPに可及的準拠して製造することが望まれるわけである。

わが国においては、細胞治療や再生治療法に関するTRの場合、健康保険収載までを視野に入れた治療法としての確立を薬事法の枠内で目指す必要がある。すなわち、細胞プロセッシングの特殊性を十分理解した上で、治験薬GMPの「運用」のなかで解決されるべきである。厚生労働省や総合機構(PMDA)も錠剤などの製造と細胞プロセッシングは異なるものであることを十分認識しているし、如何にしてTRとしての在り方を、薬事法と言う現行の法律の枠組みのなかで構築し、推進させて行くのが今後の大きな課題である。

#### 1.3.4 Phase 1 GMPガイダンスの考え方をどのようにしてCGMPに適合させるか

多くの技術や既存のものを有効に組み合わせればCGMPに適合させることが容易になり、また製品開発を合理的に行うことができる。例えば、

- ・ディスプレイの設備や製造補助装置を使用すれば、清掃の負担を軽減できる。
- ・包装済みの注射用蒸留水や滅菌済み容器を使うことで、既存品を最適化するための付加的な設備や手順を省略できる。
- ・調整過程で製品が環境に暴露されない閉鎖系の設備を使うことで、作業室の空気清浄度を緩和できる。
- ・治験薬の製造を委託したり、その製品の試験検査を共有の施設や検査室を利用して行う。

などである。

「院内製剤」という概念のもとに、わが国においては、研究用INDの製造だけを目的として特別に設計されていない実験施設などで製造する場合も現時点ではあると考えられる。しかし、

Phase 1 GMP ガイダンスでは、このような場合、「研究用 IND の品質に悪影響を与える可能性のある製造環境が持つリスクに関して、スポンサーと製造者は十分に検討を加えなければならない」としている。すなわち、大学などで製造される研究用 IND も、原則的に CGMP に準拠することを求めているわけである。

以下にあげる内容について、Phase 1 GMP ガイダンスでは、製造者が特定の状況や用途に適した管理を導入できるように柔軟性をもたせている。

(1) 技術職員

わが国では、研究用 IND は製薬企業、ベンチャー企業、あるいは大学や研究所などの内部の施設において製造されていると思われる。企業はもちろんのこと、大学や研究所において、研究用 IND の製造にかかわるすべての技術職員または従業員、あるいは研究者は、職務を遂行するため十分な教育訓練を受け、品質管理の原則や CGMP での法的な要求事項を理解していなければならない。

(2) 品質管理

CGMP に従えば、すべての製造者がそれぞれ独自の品質管理 (Quality Control : QC) 計画を確立し、その計画を文書化する必要がある。例えば、QC 計画には以下にあげる事項が含まれていなければならない。

- ・製品生産中に使用される様々な構成材 (容器、密閉容器、中間材料、包装素材、ラベル等) が、定められた品質基準に適合することを保証する文書 (分析証明書、Certificate of Analysis: COA など) の確認
- ・製造手順、検査手順、承認基準の評価と承認に関する文書を作成し、実行させる責任の所在
- ・臨床用の各ロットに対する完全な製造記録やその他の関連情報 (逸脱記録、試験・検査記録、承認基準に基づいた判定結果など) の累積評価に基づいた出荷の合否判定に必要な文書の作成と、その判定に対する責任の所在
- ・製造中に予期せぬ結果や過失が生じた場合の調査と、是正処置の開始に必要な文書の作成と報告を遵守する責任の所在

また、QC 責任と製造責任とは当然独立して実施されねばならない。すでに承認され市販されている医薬品の場合、製造に関する試験検査などの業務は通常専任の品質管理担当者によって行われている。しかし、大学などで研究用 IND を製造する場合、組織の規模や構造によっては、限られた状況下で、すべての品質管理業務が同一の人物によって行われている可能性もある。また、ベンチャー企業や大学内の施設などでは、製造作業と各ロットに対する出荷の合否判定を含めた品質管理が同一人物によってなされるといったことも行わざるを得ない場合があると考えられる。このような状況下であっても、QC 責任と製造責任を独立させるために、製造業務に関わ

## 第13章 再生医療分野における海外動向

らない別の人物が製造記録の付加的、定期的な評価を行う品質管理者として権限を与えられるべきである。

### (3) 設備および装置

第I相臨床試験に用いられる研究用INDを製造するために使用される施設はすべて、たとえそれが大学や研究所における施設(研究室)であっても、以下にあげるような目的の作業に適した作業場所と設備を有するべきである。

- ・ 十分なスペース、清潔な環境(クリーンルーム)、適切な建造物
- ・ 適切な照明、換気、冷暖房設備
- ・ 適切な配管、洗浄、衛生設備
- ・ 汚染、交差汚染を防止するための適切な空気処理システム(層流式フード等)
- ・ 製品を汚染させず、製品に対する反応性、付着性、吸収性を持たず、正しく保管され、後述する手順に従い定期的に校正、清掃、衛生管理された設備

個々の工程で使用される設備はすべて特定し、製造記録に記録を残すことが推奨される。また、無菌処理を伴う研究用IND(細胞)については、後述する「無菌製品および無菌処理製剤」に従うことが推奨される。適切な施設において手順を管理することが、製品汚染や交差汚染、取り違えを防止するのに役立つ。

### (4) 成分材料の管理

研究用INDの製造段階で使用される成分材料の取扱い、評価、承認や管理に関して手順書(SOP)を作成することが推奨される。成分材料は、検査や試験が終了して製品製造のために出荷承認されるまでは他の材料から隔離しラベル表示などを行い保管管理されなければならない。また、成分材料の品質劣化や汚染防止のために個々の特性に則した基準を設け、保管や取り扱うことが重要である。すべての成分材料の関連情報を含む記録を残すことも必要であり、記録として残しておくべき事項としては、納品日、出荷用量、供給者の名前、成分材料のロット番号、研究用INDのロット番号、保管状態、使用期限などが挙げられる。

成分材料がその属性について設けられた承認基準に適合していることを保証するために、成分材料のロット毎の分析証明書(COA)またはその他の証明書を入手して確認することが推奨される。ヒト由来や動物由来など特定の原材料に対する証明書には、それらの供給元に関する情報あるいは感染症に関する検査結果が含まれるべきである。構成成分に対する証明書が不十分である場合には、不十分であった内容に関して検査することが望ましい。

### (5) 製造と文書化

研究用INDの製造は、以下の条項を含む製造手順書(SOP)に従って行うべきである。

- ・ 検査結果の記録や使用される成分材料、器具、操作手順などについての詳細な製造記録を保管

## 再生医療に用いられる細胞・再生組織の評価と安全性

する。スポンサーは製造工程を忠実に再現するために必要な手順をすべて文書化し、この書類を保管管理する。また、研究用 IND の製造が中断された場合には製造中断の理由を記載した記録書を残す。

- ・製造が中断された場合には、適用した処理手順の記録を残す。また、製造行程の変更が必要な場合には、変更に関するすべての論理的根拠と変更記録を残す。
- ・Phase 1 GMP ガイダンスの対象となる無菌処理の必要な研究用 IND (細胞) の製造に適応される文書化された手順と微生物学的管理記録を保管管理する。無菌操作の技術と、微生物やエンドトキシンなどによる汚染の防止を目的とした中間材料の管理を行う(「無菌製品および無菌処理製剤」の項を参照)。

### (6) 検査室の管理

#### ① 検査

製造工程の途中で行われる検査は一定の条件で管理され、文書化された検査手順書に従って実施されることが推奨される。研究用 IND の均一性、強度、効力、純度、品質などといった属性を評価する検査が適切に実施されなければならない。既に知られている安全性に関する事項については、個々の製品がそれに適合していることを確認する。しかし、製品によっては製品開発のこの段階においては適切な承認基準がすべて満たされるとは限らないが、その内容は研究用 IND 申請時に審査されることになる。

検査室で使用される測定機器は検査結果の信頼性を確保するため、常に適切な間隔で校正を実施する必要がある。文書化された手順に従って管理されるべきである(機器のバリデーションの必要性)。作業者が試料の分析や設備の適合性などの検査を行う際には、検査装置の稼働状態が正常であることを事前に確認する。

さらに製造ロット毎の代表サンプルを保管管理する際には、可能であれば出荷検査を行うのに必要な量の2倍量のサンプルを保存する。サンプルは臨床試験終了後または IND 申請取り下げ後、少なくとも2年間は適切に保管されるべきである。

#### ② 安定性

スポンサーは、臨床試験の期間中に製品の安定性と品質を監視するために、研究用 IND の代表サンプルを使って安定性の検査を開始することが推奨される。

### (7) 梱包とラベル添付

Phase 1 GMP ガイダンスの対象となる研究用 IND が保管中、あるいは出荷される場合、保管、取扱い、輸送の間に変性、汚染、損傷がないよう適切に梱包しなければならない。また、取り違いを防ぐためにラベルの添付と保管作業の整備が推奨される。

(8) 配給

第I相臨床試験に関する限り、「配給」という言葉は、Phase I GMP ガイダンスの対象となる試験段階の新製品（研究用 IND）が臨床研究者（医師）に、そして最終的には、その研究に登録されている被験者に投与されるまでを含んでいる。製品の品質を保証するために、製品はラベルに表示された保管条件に従って扱われるべきである。Phase I GMP ガイダンスの対象となるロット毎の研究用 IND 配給記録により、追跡調査ができ、必要に応じて製品の回収を容易にとなるので、正確に記録されなければならない。

(9) 記録保管

スポンサーは以下の要項を含む品質と製造工程での作業に関する完全な記録を保管すること。

- ・ 設備・機器の保守点検および校正記録
- ・ 製造記録および関連する分析検査の結果
- ・ 配給記録
- ・ すべての品質管理項目
- ・ 成分材料の記録

IND 規則の下では、医薬品として承認され、新薬申請書（New Drug Application : NDA）が受理された後少なくとも2年間、あるいはNDAとして承認されなくても、臨床試験に使用するための研究用 IND の出荷および配給が中止され、FDA にその旨が報告されてから2年間、スポンサーは記録を保管しなければならない。

1.3.5 特殊な製造状況

(i) 複数の研究用 IND 製造に使用される（多種類の研究用 IND を製造する）施設

ある製品が生産される区域や作業室は他の作業から隔離されていることが理想的である。しかし、適切な清掃や管理手続が的確に実施され、材料や製品の残留や混同がないことが保証されていれば、同じ区域や作業室が他の試験製品の製造あるいは検査を含む多目的に利用することは可能である。この場合、作業区域の設計や配置は材料や器具などが整然と配置されており、順序立てて取り扱うことができ、取り間違いの防止、以前に製造された製品などの混入、あるいは作業員や環境からの汚染防止に配慮されていることが推奨される。

研究用 IND の製造のために使用される試薬や成分材料には適切にラベルを貼り、取り違えや誤った使用を避けられる方法で整然と整理していれば、研究のために使用されるものと同じ区域内でも安全に保管できるであろう\*7。ただし、一つの試薬や成分材料はどの時点においても、

---

\*7 研究用 IND の製造を通常の実験室や研究室で行っても良いと言う意味ではない。試薬や成分材料の保管に関する記述であり、実際には、同じ区域内と言っても研究用 IND 専用の保管庫が必要である。できれば、研究用 IND 専用の保管区域を設けることが望ましい。

特定の目的(すなわち研究のみ、あるいは製造のみ)のためだけに使用することが推奨される。

(2) 生物学的手法およびバイオテクノロジーによって製造された製品

生物学的手法、およびバイオテクノロジーによって製造された研究用 IND(病原性微生物、芽胞形成微生物、遺伝子導入動植物、生ウイルスワクチンと遺伝子治療ベクターから作られる製品を含む)は、特に封じ込めを考慮する必要がある。

製造工程を管理することは、生物学および生物工学的製品の正しい組成と安全性を確保するためにきわめて重要である。したがって、第 I 相臨床試験を開始する際には、同じ特性を有する研究用 IND を再現性よく製造するために、その製造工程と適切な検査方法が文書化され適切に管理されることがきわめて重要である。また、各製造過程で採取され保管されている異なるロットのサンプルを後で比較分析することにより、重要な情報を得ることができるであろう。

安全性に関連する機能(ウイルスの除去、ウイルスや毒素の弱毒化、低温殺菌など)を備えた装置が意図されたとおりに稼働していることを保証するために、適切な品質管理(設備や装置のバリデーション)が行われていることが必要である。ウイルス量、生物負荷量、細菌毒素の解毒、ウイルスの除去もしくは不活化、および抗生物質や化学薬品などの除去のような安全性を目的とした検査を生産時に行い、また感染症病原体に関する適切な試験手順を確立しておく必要がある。

製品の製造が行われる環境を評価する際、それ以前に行われた検査や製造工程の残留物(バクテリア、ウイルス、マイコプラズマなど)を含む感染性病原体による汚染をどの程度受けやすいかを評価することは特に重要である。

① 多品目を製造する施設

多品目を製造する施設は感染性病原体による汚染を予防するためのクリーニング方法の手順と、クリーニング後の評価検査手順を確立しておくことが推奨される。可能な限り専用の設備とディスプレイの物品(チューブ等)を使用することが望ましい。また、多品目を製造するエリアでは、交差汚染を防ぐための手順を確立し、またウイルスやベクターの加工が行われた場合などは、特に共有された設備機器や作業表面から、以前に製造されていた製品の残留物が取り除かれていることを証明することが求められる。

② 遺伝子治療および細胞治療製剤

研究用の遺伝子治療製剤や細胞治療製剤の製造様式は多様かつ特殊であるため、製造者は付加的な管理あるいは特化した管理の妥当性を考慮すべきである。細胞治療研究や遺伝子治療の治験に用いる製品は Phase 1 GMP ガイダンスに従い製造されることが推奨されるが、必ずしもそれに従うことができない場合も予想される。例えば、ある研究用 IND(細胞)では、入手可能な原材料の量が限られているため、最終細胞製剤の一部をサンプルとして保存が出来ないかもしれ

### 第13章 再生医療分野における海外動向

ない。その様な時には、その製造方法を採用した根拠が研究用 IND (細胞)に関する記録として保管されることが推奨される。

例えば、CGMPではバリデーションと呼ばれる項目がきわめて重要であるが、その中に製造手順が意図した通りに実施可能か検証する performance qualification (PQ)がある。これに従えば、肝臓移植の場合、ドナーから提供された臓器組織を用いて練習することが義務づけられるわけであるが、倫理上許されないのは自明である。細胞プロセッシングを実施するうえで、遵守することが難しいCGMPに関するバリデーションの例を表2にあげた。

#### ③ 複数ロットの製造

Phase 1 GMP ガイダンスの対象となる生物学的手法あるいはバイオテクノロジーによって製造された製品は、第I相臨床試験において一人の被験者につき1ロットしか製造できないケースがある(治療用ワクチン、細胞治療、遺伝子治療の場合など)。この場合には、複数ロットの生産によって初めて製造情報や検査情報などが蓄積されるであろう。また、適切な管理手順をもち、それを遵守することによって比較可能な研究用 IND (細胞)の製造が可能になる。一方、同じ研究用 IND で複数ロットを生産する場合には、製造責任者が定期的に製造工程を自己点検し記録を残すことが推奨される。この自己点検は、日常的な製造作業を休止して、製造された研究用 IND の検査成績から得られたデータを含めて、作業手順、工程、および種々の情報を評価することが望ましい。この自己点検結果に基づいて必要な修正や変更を行うことで、作業手順や製

表2 細胞プロセッシングにおけるCGMPバリデーションの問題点

○	DQ	材質、形状、寸法、容量、能力等が設備の使用条件に照らして妥当かどうかを検証する。設備完成後のトラブルを未然に防ぎ、使用目的に合致した設計の導入が目的。
○	IQ	設備が設計通り作製及び設置されているか等の仕様の確認。
△	Calibration	機器の校正。新規購入時には問題ないが、仕様後の校正には費用が必要。
△	OQ	設備の稼働状態での仕様の確認(IQは静止状態での確認)。新規購入時には問題ないが、仕様後の校正には費用が必要。
×	PQ	製造手順、製造施設等がワーストケースにおいて、意図したとおり稼働するかどうか検証。TRではドライランやウォーターランは可能だが、実原料を用いてのワーストケース(たとえば、バイオバーデン)は実施できないことあり。例えば、試験だけの目的で、ドナーの臓器を用いることはできない。
×	PV	設備、工程、手順等の適正化が終了後、SOP通りに3ロットの生産を行い、その品質が一定であることを確認すること。TRでは、1ロット、1ドナーであり実施不可。
×	CV	洗浄によって表面の残留物が適切に除去されていることを保証し、交叉汚染の可能性を極小化させることを目的としている。生物由来の原料の場合、病原体の検出限界もあり、厳密なCVは不可能。

DQ (Design Qualification : 設計の適格性)、IQ (Installation Qualification : 備付け状態の適格性)、OQ (Operation Qualification : 運転状態の適格性)、PQ (Performance Qualification : 稼働性能の適格性)、PV (Process Validation : 実生産規模での確認)、CV (Cleaning Validation)



造作業を管理することが可能となる。

(3) 無菌製品および無菌処理製剤

研究用 IND (細胞) の無菌化には、特別な予防措置を講じることが推奨される。無菌処理の管理には十二分な注意を払うべきであり、以下の要件に関して考慮することが推奨される。

- ・ 層流式無菌ワークステーション (清浄度 クラス 100) で無菌操作を行う<sup>\*8</sup>。
- ・ 適宜、無菌ワークステーション全体を消毒する。
- ・ 層流式無菌ワークステーションの中の物品が、気流を妨げていないことを確認する。
- ・ 層流式フードでの作業中には頻繁に手袋を消毒するか、または取り替える。
- ・ 試験管ラックおよび殺菌された注射器やフィルターの包装などの未殺菌物品の表面は、それらを層流フード内に置く前に消毒する。
- ・ 適切な条件の下で殺菌の段階を経た後に、薬剤もしくは成分材料の操作を行う。
- ・ 成分材料や中間材料、最終製品の無菌性を維持するために、すべての手順を文書化し、それを遵守する。
- ・ 無菌検査は、検査物品が検査自体による干渉を受けないことが明確にされている必要がある。
- ・ 微生物やエンドトキシンによる汚染防止を目的として設計された成分材料を用いて無菌操作を行い、微生物汚染を防止する。
- ・ 無菌操作を行う作業者に無菌操作の教育訓練を行う。
- ・ 滅菌作業に用いられる設備は使用に適したものでなければならない。例えば、定期的に保守点検および校正が行われ、保守管理記録が保管されている。
- ・ 無菌成分材料やディスプレイの装置 (フィルター、バック、容器など) を使用する際には、滅菌保証分析書、または滅菌方法が検証 (バリデーション) されていることを示す証明書を作成するか、あるいは保管しておく。
- ・ 品質管理部門または品質管理者による最終製品の出荷承認の際に、無菌の手順や予防措置に従ったことを示す製造記録が適切に審査されていることを確認する。
- ・ 最終製品の出荷承認は、無菌検査による条件に適した結果が確認されるまで行わない。しかし、放射性の研究用 IND や研究用 IND (細胞) のように貯蔵寿命の短い製品は、無菌検査の結果が出る前に他のそれに相当する類似の検査の結果 (例えば、バブルポイントフィルター完全性試験による除菌判定、研究用 IND (細胞) のグラム染色または他の迅速な微生物検出検査に

---

\*8 ワークステーションとは、安全キャビネット (米国ではすべて安全キャビネットであり、いわゆるクリーンベンチは細胞プロセッシングでは基本的に用いられていない)、またはバリアアイソレータ・システムなどのことを指す。

における陰性とエンドトキシン判定試験における陰性)に基づいて、出荷承認しなければならない場合もある。無菌テストや他の関連検査の結果が陽性だった場合には、汚染の原因を確定するための調査を行い、原因が同定された場合には、それに続く是正措置がとられることが推奨される。

#### 1.4 わが国の現状

従来、治験は製薬企業などが医療機関などに依頼して実施されてきたが、医師や医療機関が主導で行う臨床研究についても条件を満たせば「治験」として位置づけられることが可能となった(医師主導型の治験)。これにより、臨床試験で用いられる最新の技術を迅速に医薬品や医療機器の承認申請に反映できるようになった。その反面、従来から行われてきた「高度先進医療」は「先進医療」へ置き換わり、国内で未承認の医薬品や既承認の医薬品であっても適応外の使用は「先進医療」の中では使用が認められておらず、それらの医薬品については改めて治験を行わなければならない。例えば、先進医療は既承認の薬物しか用いてはならないとしており、未承認の薬物を使用した「先進的な」治療法は先進医療としては認められないという矛盾を抱えている。

米国における新薬や新規治療法を開発しようとする場合、わが国で言う治験であろうと、臨床試験(TR)であろうと、すべからくINDとしてFDAに登録し、審査を受け承認を得ることが必要である。すなわち、米国ではどんな臨床試験や治験であってもFDAがINDとして把握して指導を行っている。この点「治験」として申請されたもの以外は、いわゆる「院内製剤」として特段把握もされず、また安全性も検証されず、薬事法の守備範囲外であるとして、医師の自主規制に任されているわが国とは大きく事情が異なっている。わが国の薬事法はもともと新薬を承認するために、企業側から提出される資料の収集とその審査および規制を目的とするものであり、TRから育成して開発に繋げることを考慮したものではない。このことが、米国FDAに比べれば驚くほど人員の少ない総合機構(PMDA)のかかえる問題と相まって、新規治療法開発の隘路となっている<sup>9, 10)</sup>。

米国ではTRの段階からINDとして把握され、品質管理に関してFDAの指導を受ける。したがって、TRで有望な結果が得られれば、スムーズにphase 2, phase 3へと移行する。では、わが国の場合はどのようなになるであろうか。「院内製剤」を用いた臨床試験では、たとえ良好な結果が得られたとしても、そのままでは総合機構で審査されることはなく、保険収載など到底不可能である。したがって、大学などで品質管理のされない「院内製剤」を用いて行われている臨床試験の成績をもとに、いざ承認申請を目的とした「治験」の段階に入ろうとしても、もう一度最初に戻って、安全性が検証され、品質の確保されたGMPグレードの治験薬を用いて前臨床試験からやり直さなければならない(図3)。

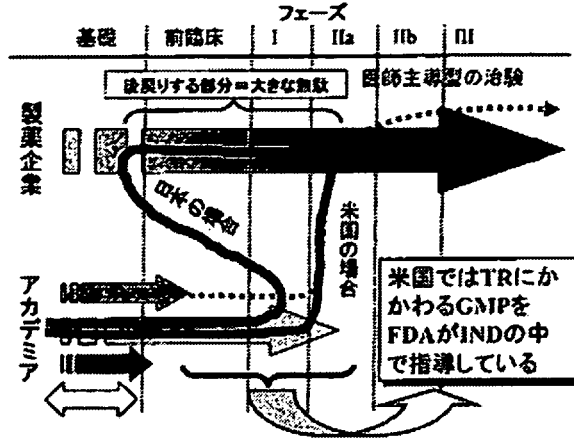


図3 臨床研究と治験システム—日米の比較—

わが国では、上述したようなきわめて複雑なシステムが存在する。この出口のない迷路のような規制体系を整理し、米国のINDシステムのようにシンプルで効率的な体系を構築することが必要である。幸い、わが国には「医師主導型の治験」と言うトラックがあり、これをわが国独自のINDシステムとして育て上げ、このなかにTRのコンセプトを落とし込んで行くことが大切である。

### 1.5 おわりに

米国FDAはTRの積極的な推進と共に、第I相臨床試験での被験者の安全性を守るためにCGMPに準拠したあたらしい規制を作成しようとしている。米国では我が国で言う「治験」や「臨床試験」が、すべてINDとして包括されFDAに登録をして審査を受けるシステムとなっており、どんな治験や臨床試験であってもFDAがその内容を把握し指導を行っており、わが国の「院内製剤」のような特別扱いはありません。わが国においても基礎研究から生み出される最新の治療技術をより早くかつ安全に臨床の現場に提供できるようなシステムを、如何にして薬事法の枠内で構築するかが喫緊の課題である。したがって、米国FDAの提唱するphase I GMPガイダンスをわが国の実情を考慮して眺めてみれば、治験薬GMPにできるだけ準拠した製造と品質管理システムをTRのトラックのなかに持ち込む必要があろう。

文 献

- 1) Guidance for Industry. INDs — Approaches to complying with CGMP During Phase 1. FDA, CDER, CBER. January 2006 (<http://www.fda.gov/Cder/guidance/6164dft.htm>)
- 2) 江副幸子ほか, 産業界のためのガイダンス, INDs—第I相試験におけるCGMPに準拠したアプローチ, 臨床評価, 33(3), 603-624(2006)
- 3) Summary Progress Report. Pharmaceutical cGMPs for the 21st Century. A Risk-Based Approach. February 2003 (<http://www.fda.gov/cder/gmp/21stcenturysummary.htm>) / Previous Reports, Guidances and Additional Information (<http://www.fda.gov/cder/gmp/index.htm>)
- 4) 「ヒト幹細胞を用いる臨床研究に関する指針」(厚生労働省)(平成18年9月1日) (<http://www.mhlw.go.jp/shingi/2006/07/dl/s0727-4l.pdf>)
- 5) Maekawa T., Current good manufacturing practices (cGMP) controlled cell processing for the development of novel advanced cell and gene therapy. Education program book pp. 43-48 (2003). The 65<sup>th</sup> Annual meeting of Japanese Society of Hematology and The 45<sup>th</sup> Annual meeting of Japanese Society of Clinical Hematology.
- 6) 前川平, 先端医療開発に必要なGMP準拠細胞プロセッシング—Institutional GMP構築の必要性—, 臨床血液, 45, 32-38(2004)
- 7) Maekawa T, Kimura S, Kasai Y., Development of novel advanced cell and gene therapy and GMP-controlled cell processing. *JMAJ*, 48(2), 1-4(2005)
- 8) 平成9年5月20日付薬監第73号厚生省薬務局監視指導課長通知「[治験薬の製造管理及び品質管理基準]及び「治験薬の製造施設の構造設備基準(治験薬GMP)」の運用について」([http://www.whoirei.mhlw.go.jp/cgi-bin/\\_docframe.cgi?MODE=tsuchi&DMODE=CONTENTS&SMODE=NORMAL&KEYWORD=&EFSNO=3210](http://www.whoirei.mhlw.go.jp/cgi-bin/_docframe.cgi?MODE=tsuchi&DMODE=CONTENTS&SMODE=NORMAL&KEYWORD=&EFSNO=3210))
- 9) 大串賢一ほか, 再生医療と規制, 再生医療, 5, 16-21(2005)
- 10) 田中克平, 医薬品医療機器総合機構と再生医療の今後—私案も含めて—, 再生医療, 5, 50-59(2005)