

平成19年度厚生科学研究費補助金（特別研究事業）  
分担研究報告書

ドイツ及びEUに於ける細胞治療薬の規制状況

分担研究者 山口照英 国立医薬品食品衛生研究所

EUでは、細胞治療薬に関する新たなガイドライン案の公表と、細胞組織工学製品を含めた細胞治療薬の全ての審査をEMAで行ういわゆる中央審査化を進めようとしている。このような細胞治療薬の規制上の大きな変革は、2008年から2009年にかけて完結しようとしている。この細胞治療薬の根幹を成すガイドラインは、2008年度中の確定に向けた作業が行われているが、EUにおける細胞治療薬の開発動向の大きな特徴として、我が国とは異なりがん治療を対象とした細胞免疫療法製品の開発が最も多いことがあげられる。このために、EMAは2006年に、「がん細胞治療に関する力価測定のためのガイドライン」案を提示し、パブリックコメントを経て2007年10月に正式にガイドラインを発出した。

本研究では、「がん細胞治療に関する力価測定のためのガイドライン」の背景を含めた調査を行うとともに、EUにおけるがん細胞治療に関する調査研究を行った。

このような検討と平行して、ポールエーリッヒ研究に調査研究に赴き、EUの細胞治療に関する改革とドイツでの取り組みについても調査検討を行った。

#### A.序文

バイオテクノロジーの進歩や発生学、細胞生物学の驚異的な進展により細胞そのものを用いて疾病の治療を行うという細胞治療（再生医療）の開発が急速に進んでいる。この細胞治療（再生医療）に用いられる細胞組織利用医薬品等については、その主体である細胞のもつ特殊な性質、すなわち細胞という極めて複雑な構造を持ち、かつ生きていく細胞とうダイナミックな特性を併せ持つことから、従来の医薬品に適用されていた品質管理や、非臨床試験や臨床試験の必要事項は必ずしも適用出来るわけではない。従って、細胞組織利用医薬品の品質・安全性・有効性確保については、独自の規

制が必要とされ我が国においても細胞組織利用医薬品等に適用される指針や基本的考え方から出されてきている。また、同様の指針が欧米からも出されており、基本的要件については大きな差異はない。しかしながらここ数年、欧米でも細胞治療薬の開発の進展を図るために、ガイドライン等の改正の動きも出ており、我が国でも、その開発の進展に伴い必要な事項について改訂していくことが望まれている。

細胞治療薬の開発は世界的レベルで実施されており、欧米ではベンチャー企業のみならずいくつかの大きな製薬企業も開発を進めている。ドイツやEUでは細胞治療薬の中でがん治療のための細胞免疫療法薬の

開発が大きく進んでいることから、本年度は、ドイツに於ける細胞治療薬の規制動向と EU の関連するがん細胞免疫治療薬の力価測定のためのガイドラインの背景についての、調査研究を行った。特に、規制の枠組みや、自己由来製品と同種由来製品との規制の違い、企業が製造する細胞組織利用医薬品・医療用具と大学や病院等が医療行為として実施する細胞治療との規制の差異、ドイツ国内での規制と EU 全体の規制の違いなどについても明らかにするように試みた。

## B.方法

ポールエーリッヒ研究所・所長Johannes Löwig教授、副所長のKlaus Cichutek教授、細胞治療製品の責任者のEgbert Flory博士と同チームのRalf Sanzenbacher博士、その他、遺伝治療薬部門や血液製剤部門、微生物学部門、臨床担当部門の各責任者と、ドイツ及びEUの細胞治療薬の規制状況や関連分野についての説明を受け、日本の規制状況との対比しながら、意見交換を行った。意見交換の内容は次のとおりである。

- ▶ 細胞治療薬の規制の範囲（企業による製品開発と病院等のNPO組織による臨床研究）と分類（自己、同種、異種細胞治療薬）
- ▶ 細胞治療薬の分類に応じた品質・安全性確保のポイント
- ▶ ウイルス等の感染因子に対する安全性確保（原料である細胞と製造に用いる血清や試薬、機器等から感染因子伝達の防止）
- ▶ 細胞治療薬の非臨床試験
- ▶ 細胞治療薬の基礎開発から非臨床試

験を受けて、IND申請や承認申請で、それぞれの段階に必要なデータと審査のポイント

## C.結果及び考察

### 1. ポールエーリッヒ研究所での細胞治療薬の審査に関連する部門

ドイツで医薬品の承認審査に関わっている研究機関は、Federal Institute for Drugs and Medical (BfArM) とポールエーリッヒ研究所である。前者は、2000人の職員が在籍しており、主として化学医薬品や組換え等のタンパク性医薬品等を所掌している。ポールエーリッヒ研究所は750人の職員が在籍しており、血液製剤やワクチンに加え、細胞治療薬や遺伝子組換え医薬品等の先端医薬品(図1)を所掌している。両研究所を統括しているのがLöwig教授であり、ドイツでのIND申請に対する承認は同教授の名前で発出される。両研究所からは、EMAのCommittee for Medical Products for Human Use (CHMP)の専門家として多数の職員が参加している。

ポールエーリッヒ研究所の各部門の構成は図2の通りである。先端医薬品の細胞治療薬、細胞工学製品、あるいは遺伝子治療薬はバイオテクノロジー部門(Medical Biotechnology)が担当している。この部門ではこれらの先端医薬品のIND申請の審査を担当している。

IND申請では、化学薬品では1ヶ月の審査期間が設定されているが、生物薬品はその審査期間が60日とされている。体細胞治療薬や遺伝子治療薬では90日と設定されている。化学薬品や通常のバイオ医薬品に比較して長いIND審査期間を設定して



いるのは、これらの製品についての経験の蓄積があまり無いことや、複雑な品質特性や安全性の懸念が多きことに他ならない。ちなみに、異種細胞治療薬はこのような IND 申請における審査期間の制限は設けられていない (図 3)。これらの審査期間の限定は迅速な審査を促すものであるが、企業側から出された申請資料について疑義がある場合にその回答を求めている間の期間は含まれず、その間審査期間として許される時計は停止していることになる。

## 2. ドイツにおける細胞治療薬・細胞組織工学製品の審査の対象

我が国では、企業が業として行う細胞組織工学製品の製造は、薬事法の規制下に置かれているが、大学等で実施される臨床研究については、薬事法の規制を受けない。

「ヒト幹細胞を用いる臨床研究に関する指針」に該当する研究の実施に当たっては、厚生労働大臣の意見を聞くこととされている。しかし、これに該当しない研究や細胞治療は医師の裁量の元に臨床が実施されている。

一方、ドイツでは、大学や病院等で実施されている医師による臨床研究も、ポールエーリッヒ研究所への申請が必要とされている。例外的に、医師が担当する一人の患者に限って、自ら細胞の採取を行い、担当医師の管理の元細胞の加工を行うと共に、投与も含めて一連の医療行為を担当医師の責任の元も行う場合に限って、ポールエーリッヒ研究所への申請が不要とされている。

ドイツで実施されている細胞治療薬・細胞組織工学製品の 80% は治験として行われており、医師による臨床研究は 20% 程

である。上記したように、医師による臨床研究もポールエーリッヒ研究所に申請する必要がある、また GCP に従った臨床研究の実施が求められる。

## 3. 細胞治療薬の EU 及びドイツでの動向

EU 細胞治療薬に関する新たなガイドライン案の公表と、細胞組織工学製品を含めた細胞治療薬の全ての審査を EMEA で行ういわゆる中央審査化を進めようとしている。このような細胞治療薬の規制上の大きな変革は、2008 年から 2009 年にかけて完結しようとしている。この細胞治療薬の根幹をなすガイドラインは、2008 年度中の確定に向けた作業が行われているが、EU における細胞治療薬の規制の大きな特徴として、表 1 に示すように、EU での最も大きく開発が進んでいる対象ががん治療のための細胞免疫療法であることがあげられる。このために、EMEA は 2006 年に、「がん細胞治療に関する力価測定のためのガイドライン」案を提示し、パブリックコメントを経て 2007 年 10 月に正式にガイドラインを発出した。本ガイドラインの要約については後述する。

ガン細胞免疫療法としては、表 2 にあげたような種々の細胞を用いた治療開発が行われている。この中で、日本でも盛んに行われているリンフォカイン活性化キラー細胞療法や活性化 NK 細胞療法などの非特異的活性化リンパ球療法は、ドイツではこれまでの多くの成績からあまり有効性がないとされつつあるようで、ドイツや EU でのガン細胞免疫療法の開発動向としては、がん抗原特異的樹状細胞療法やがん抗原特異的 T リンパ球療法などの、ターゲットする

がんの抗原特異的に活性化された抗原提示細胞や抗原特異的活性化Tリンパ球を用いた医薬品の開発が中心になってきているようである。

一方、このようなガン細胞免疫療法の開発で最も議論になっているのが、その有効性を担保するための力価試験の設定である。これらの力価試験としては、表3にあげるような多種多様な手法が用いられており、それぞれの長所と欠点を持っている。特に、免疫という非常に高度なネットワークにより効果が発揮される場合が多く、インビボでの複雑な細胞同士の相互作用が重要となってくる。しかし、このようなインビボでの生物活性を、測定することが困難な場合が多く、また、モデル動物を用いた系では種差の問題を十分考慮する必要がある。

本報告書では、以下に昨年発出されたEMAのガン細胞免疫療法の力価試験法に関するガイドラインの仮訳を示し、ガイドラインの背景にある要素を明らかにすることを試みた。

\*\*\*\*\*

EMA/CHMP/BWP/271475/2006

がん治療のための細胞を用いた免疫療法の活性測定のための指針

## 1. 概要

承認されるバイオ医薬品は、容状、確認試験、純度、生物活性や製剤の品質などの規格を設定しておかなければならない。活

性の本質は、細胞全体であり、これらの製品の活性は、ある特定の細胞にのみ依存しているわけではない。このために、細胞を用いた免疫治療薬の生物活性を規定することは容易ではない。がん治療のための細胞を用いた免疫療法薬の力価（生物活性の定量的測定値）は、インビボあるいはインビトロの試験により測定することができる。適切にバリデートされた力価測定法は、目的とする生物学的効果と理想的には臨床反応に基づいていることが求められる。目的とする検体の生物活性を示す力価の代替となる指標を、開発することも可能である。細胞を用いた免疫治療薬の生物活性の試験法の開発とバリデーションでは、特別な配慮が求められる。本文書は、このような細胞を用いた免疫治療薬の生物活性試験において考慮すべき事項を述べたものである。

## 2. 序論（背景）

細胞を用いた免疫治療は、自己あるいは同種細胞を用いて患者の免疫システムを活性化することにより治療を行うとするものである。がん免疫療法は、腫瘍特異的あるいは腫瘍関連抗原をターゲットして免疫反応を惹起させ、その結果として腫瘍細胞の破壊を引き起こす効果を目的としている。免疫システムを利用して腫瘍をターゲットとする生体反応においては、未だにその正確な作用機構が十分に解明されていない過程を含んでいる。

科学論文では、抗腫瘍活性を目的とした細胞免疫治療薬を、細胞を用いた腫瘍ワクチンあるいはがんワクチンと称されている。



生物特性の評価は、バイオ医薬品の全ての特性解析プロファイルを確立するための基本的要件である。その複雑な特性故に、細胞免疫治療薬は一般の組換え DNA タンパク質製品のように十分な特性解析を行うことが困難である。しかしながら、どのような生物薬品であっても、その生物活性は、最も重要な特性であり、細胞免疫治療薬では値付けが必要となる。

ICH ガイドラインによれば、生物活性を特定の生物学的効果を発揮するための製品の特異的な機能や能力と規定されている。さらに、力価は製品の特性に基づく生物活性を定量的に表した活性であり、目的とする生物学的特性に密接に関連するものとされている。

細胞治療薬に関する最近のガイダンスとしては、ヒト体細胞治療薬の製造と品質管理に関するCPMPの基本的考え方

(CHMP/BWP/41450/98)に代わるヒト細胞治療薬ガイドライン

(CHMP/410869/2006)に示されている。この最新の細胞治療薬ガイドラインに従えば、細胞治療薬の最終製品に関して、その製品の有効期間を評価するための試験と共に、品質管理や出荷試験を実施することが求められている。このような試験には、十分に評価された力価試験が含まれなければならない。しかし、そのような力価試験の開発とその評価に関するガイドラインは発出されていない。

本文書は、細胞免疫療法薬のための力価試験の開発とそのバリデーションに必要な

追加的要件について明らかにすることを目的としている。試験法に関する他の既存のガイドラインが関連する場合もあるので、必要に応じて参考にするべきである。

### 3. 範囲

本ガイドライン、自己あるいは同種由来の癌免疫療法のための生きている細胞を用いた製品に適用する。これらの製品としては、例えば、腫瘍特異的な細胞障害活性を誘導するためのガン細胞そのものやガン特異抗原で活性化した自己由来樹状細胞があげられるが、それぞれの免疫活性化経路は製品ごとに異なっていると考えられる。体外で活性化した T 細胞のような受動免疫反応を引き起こすことを目指したガン特異的細胞も含まれる。本文書で示したいいくつかの基本的原則は、腫瘍細胞破砕液を用いた製品にも適用出来るかもしれない。

インビトロで化学的処理を行ったり、遺伝子改変したりすることにより不死化した細胞や、増殖因子やガン特異的抗原を発現するようにした細胞も含まれるであろう。もし、製品が遺伝子治療薬と見なされる場合には、「遺伝子治療薬の品質、非臨床試験、臨床試験に関するガイダンス」を参照するべきである。

### 4. 規制的位置づけ

本ガイドラインは、EU 指令 2001/83/CE の補講 I に示されている先進医療用治療薬の Part IV 及び一般的承認申請資料の序論及び一般的原則(4)及び Part I とともに読まれるべきものである。

## 5. 細胞免疫治療薬の力価試験法の概要

適切にデザインされた力価試験法は、医薬品原薬や製剤のいずれのレベルでもその有効性を担う成分の生物学的活性を、正確性、信頼性、再現性をもって、適切に示すことができる。原則的に力価試験の結果は、製品の活性有効成分の量が目的とする反応を引き起こすのに十分な量がバッチごとに含まれていることを担保するものでなければならない。そう言った観点から、力価試験は、製品のヒトへの適用において有効成分が臨床上目的とする変化を患者にもたらし、それに足る量が含まれていることを検出出来るものでなければならない。

細胞免疫療法薬は細胞そのものから構成され、その製品の活性は、一つの特異的な細胞の活性によってのみ特徴づけられるものではないために、細胞免疫療法薬の生物活性の同定はそれほど容易ではない。免疫療法薬の生物活性測定は、未だに十分な理解されていない複雑な免疫反応や基づいており、多価抗原の形成や出発材料の多様性に由来する複雑な免疫反応にも基づいている。

しかしながら、患者に投与される医薬品の機能活性を恒常性を担保するために、やむを得ない限界はあるなかで、製品の力価については、臨床上の作用や反応性の機構と可能な限り近い生物学的効果に基づいたバイオアッセイとして測定される必要がある。

生物学的な作用機序を明確にしておくために、目的とする細胞の生物学的特性を十

分に理解しておくことが必要となる。目的とする細胞の表現型や機能的特性を十分に明らかにしておくことが必要である。これらの特性解析や非臨床試験で確立された作用機構に基づいて、測定法のコンセプトを構築する必要がある。明らかにされた作用機構に基づいて、1つまたは複数の抗原が選択されることにならざるを得ないであろう。一般的に、免疫学的な腫瘍溶解作用では細胞性免疫が中心的な役割を担っていることが知られている。従って、開発段階では、複数の試験法がこのような細胞性免疫を測定するために設定されている。細胞性免疫と液性免疫が含まれている場合にはその作用機構はより複雑となる。特定の抗原に対する抗体の出現や出現してくる抗体の量的増加を指標とする試験法の原理は容易に理解されやすい。しかしながら、選択した力価試験法の妥当性を十分にサポート出来るようなデータが求められる。製品を投与した動物で、目的としない免疫反応（例えば、想定している生物学的効果に関連しないような抗体の産生）は、一般的には力価の測定としては受け入れられないであろう。

理想的には、適切なデザインされ、十分にバリデーションされた1種類の力価試験法を製品の特性解析とバッチ出荷基準として適用することが望ましい。しかし、一般的には目的に応じて複数の異なる試験法が必要になると思われる。すなわち、活性成分の特性解析や製造工程のバリデーション、バッチごとの恒常性を示すための試験、さらには出荷後の有効期間での安定性を明らかにするためなど、それぞれ異なる力価試験法が必要となってくる場合があると考え



られる。力価試験は、製品の開発ステージを通じて、生物学的特性に変化がないことの保証するために非常に有用なツールとなる。このことは、非臨床試験や中心となる臨床試験に使用した製品に関して製造方法の変更を行った場合に、特に重要なポイントとなる。

製品の臨床効果に密接に関連する複数の力価試験を平行して開発することは、非常に有用である。想定される試験としては、細胞の機能に関連するバイオアッセイや適応可能であれば定量的な抗原提示を指標とする力価試験などがあげられる。

適切な力価試験は、最初の臨床試験に用いる製品を製造する時まで設定しておくことが望ましい。また、臨床試験第Ⅲ相の開始までにはバリデーションを行っておくことが求められる。製品のロット出荷試験や有効性の指標としての力価を設定し、開発を通じて最適化していくことが求められる。適切な力価試験の開発はできるだけ早い段階で行うことが強く奨励される。

細胞免疫療法薬の力価は、インビボ、インビトロ試験システムを含め、複数の力価試験法を設定することが可能である。

#### 5. 1 インビボ（動物を用いた）力価試験

インビボ力価試験法は、製品中の有効成分の生物活性を立証する上で有用である。しかし、細胞免疫療法薬のためのインビボ力価試験法は、基本的にヒトと動物との免疫的な種差が存在するために適切なモデル動物の利用が非常に困難である。適切なモ

デル動物を探索していくことに加えて、インビボ力価試験法は、一般的に測定結果が大きく変動するために精度の良い測定を行うことが困難であることがよく知られている。また、インビボ力価試験は、実施に長い時間を要し、ロット出荷試験としては実用的な試験法とはなりぬくであろう。しかし、適切なモデル動物を用いた日常的に実施するアッセイとして適応できないかについては十分な検討を行うべきである。さらにインビボ力価試験は、製造工程の変更、あるいは製品の品質に影響を与えるようなあらゆる変更を導入する際に、変更前後の製品に関して同等性／同質性評価を行う場合に、特性解析法としても有用と考えられる。例えば、ヒト主要組織適応抗原もつモデル動物を用いて、その免疫系に対してヒト抗原を提示させることを指標とした試験に用いることが可能である。同様に、免疫抑制動物（例えば無胸腺動物）は、力価測定法としてヒト T 細胞を投与した時に機能反応を見ることに使えるであろう。

どのような動物を用いた力価試験に関しても、適切なバリデーションを行った上で、試験に用いる動物は適切なコンディショニングを行うべきである。「予防ワクチンの生物活性測定試験とその統計処理に関する最新のガイドライン」（例えば、Ph. Eur. 2.7 & 5.3.6）に書かれた基本原則が利用出来る場合もあると思われる。

#### 5. 2 インビトロ力価試験

インビトロ力価試験では、細胞レベルでの応答性を生化学的あるいは生理学的に測定することが行われている。インビトロ力

力価試験では、例えば日常的に行われるようなバッチの出荷試験としての製品の恒常性を担保するために生物活性を直接測定するのに適している。例えば、腫瘍特異的なCD8陽性T細胞によるターゲット細胞の溶解や、リンパ球などの特定の細胞からのサイトカイン放出、あるいは樹状細胞の協調刺激による反応性などを指標として測定することが考えられる。

力価を直接測定することが難しい場合には、製品の生物活性を反映する力価の代替指標を用いた測定法を開発することも可能であろう。この場合には、代替指標と製品の生物活性の相関性を十分に示すことが必要である。代替指標としては、細胞表面マーカーの発現、細胞活性化マーカー、特定の因子の分泌、特定の遺伝子の発現、タンパク質発現プロファイルなど多様な試験法が考えられる。力価の代替指標は、インビトロばかりでなくインビボ試験において用いることができるであろう。

腫瘍特異抗原や腫瘍関連抗原などのように目的とする医薬品の作用機構が特定の抗原の発現と明確に関連することが明らかな場合、力価試験は、フローサイトメーターのような適切な方法を用いて目的とする抗原の発現を測定することを指標とすることができるであろう。しかし、バッチ出荷試験に用いる場合などでは、方法の一般性などを十分に考慮し、バリデーションを行うべきであろう。

細胞の生存性や細胞マーカーの発現、あるいは特異抗原の提示などを複数を組み合

わせて指標として用いることも可能と考えられる。

### 5. 3 生細胞数

2003/63/EC (Annex I, partIV) 指令に含まれる要件の一つとして、ヒト体細胞治療薬は、一定量の生きている細胞から構成されるとされている。細胞の生存率（生細胞数）は、これらの製品の品質管理の重要なパラメーターであり、工程内管理試験の規格やサイトカイン処理などにより特定の抗原を細胞表面に発現させるような加工処理を行った後の細胞の特性を表す指標として用いることが可能である。細胞の生存率は、細胞治療薬の力価と密接に関連する指標でもある。しかし、細胞の生存率を力価と結びつけて測定する際には、抗原発現量の定量値やバイオアッセイでの生物活性など製品の生物学的能力を示すような力価測定法と密接に関連することが明らかにされていない。

### 5. 4 自己由来細胞製品

自己由来細胞からなる細胞免疫療法薬では、細胞数や細胞調製での時間的制限があるために、バッチの荷試験を全て実施することが困難な場合が多い。製造工程管理のみでは制御することの困難な自己細胞の生存率の大きな変動が認められるような場合には、生存率の大きく異なる細胞製品を臨床に用いることの妥当性は、それぞれの臨床の適用ごとに判断せざるを得ないであろう。細胞特性としての細胞生存率の差異は、力価測定における評価や力価試験の規格値の設定においても困難をきたすことになる。



しかし、より複雑な細胞集団からなる製品を扱う場合には、特性解析試験やバッチ出荷試験として適用可能な適切な力価試験を開発するように十分に検討する必要がある。原則的には、適切な力価試験を設定しないような開発は何らかの妥当性が示されない限り、申請は受け入れられないであろう。なぜならば、力価試験を設定しない場合には、製法を変更した場合や、製品の構成要素を変更した場合に、自己由来細胞製品が恒常性をもった製造が行われていることを科学的に示すことが困難であるといわざるを得ないためである。

#### 5. 5 参照品の調製

一般に生物製剤の力価試験においては、確立された力価に対応する参照品を用いることがきわめて重要である。細胞免疫療法薬はそれぞれ非常に特殊な製品であり、国際的な標準品が設定できるとは考えにくく、特に自己由来製品に関して参照品を設定することは困難であろう。インハウスの参照品を設定し、その構成、純度、生物活性について可能な限り物理化学的・生物学的手法で徹底的に解析しておくことが求められる。インハウスの参照品は臨床に用いられるのと同等の品質レベルであることが求められ、治験において有効性が認められた製品との同等性・同質性が示されている必要がある。

#### 5. 6 アジュバントを含む細胞免疫療法薬

免疫療法製品では、抗原性を高めるためにアジュバントが必要なケースがある。しかし、アジュバントは、目的とする力価試

験に対して干渉作用を持つ場合があることを十分念頭に置いておくべきである。例えば、Mycobacterium bovis (bacillus Calmette-Guérin – BCG) は、最もよく使用されるアジュバントであるが、BCGには単核球/マクロファージを活性化作用がある。アジュバントが製品の力価試験における特定の生物活性に干渉作用を有する場合、試験法の開発に置いて十分に考慮し、干渉が正確な力価の測定に影響を与えないように条件を設定するべきである。

#### 定義

##### 生物活性

製品の目的とする生物学的効果を達成する特定の機能や能力

##### 力価

製品の目的とする生物活性に密接に関連した製品の品質特性に基づき、いわゆる力価試験やバイオアッセイのような適切な定量的生物学的アッセイにより生物活性を測定する方法

\*\*\*\*\*

#### D. 結論

ドイツ及びEUでの細胞治療薬の開発動向、規制状況について調査研究を行った。特に、ドイツ国内での臨床研究と治験のあり方について調査を行い、すべての細胞治療薬の臨床研究・治験がポールエーリッヒ研究所で審査されていることが明らかになった。

また、EMA は 2007 年に最終版として確定した、「がん細胞治療に関する力価測定の

ためのガイドライン」について調査を行い、その背景としてドイツ、EUでは細胞治療薬の開発の中心にこのようなガン細胞免疫療法が進展していることが明らかになった。また、ガン細胞免疫療法の開発では、その力価をどのように評価するかが大きな課題であり、そのために本ガイドラインが提示されていることが明らかとなった。

## E. 業績

### 論文発表

- 1) 山口照英:ヒト細胞治療薬の品質と安全性確保について. *Bio Clinica*, 27, 67-74 (2007)
- 2) N. Kawasaki, S. Itoh, T. Yamaguchi: LC/MSn for glycoproteome analysis: Glycosylation analysis and peptide sequencing of glycopeptides, *Methods in Molecular Biology*, (in press)
- 3) S. Itoh, D. Takakura, N. Kawasaki, T. Yamaguchi: Glycopeptide analysis using LC/MS and LC/MS/MS, in *The Protein Protocols Handbook* (John Walker, ed.) Humana, Totowa, NJ. (in press)
- 4) N. Kawasaki, S. Itoh, T. Yamaguchi: LC/MS of oligosaccharides. *Glycoscience Lab. Manual.*, Ed. Naoyuki Taniguchi, (in press)
- 5) N. Mukai, T. Akahori, M. Komaki, T. Kanayasu-Toyoda, A. Ishii-Watabe, A. Kobayashi, T. Yamaguchi, M. Abe, T. Amagasa, I. Morita: A comparison of the tube forming potentials of early and late endothelial progenitor cells. *Exp. Cell Res.* (in press)
- 6) 石井明子、鈴木琢雄、川西 徹、山口照英、早川堯夫：植物を用いた医薬品の現状と品質・安全性の確保. *バイオ医薬品の品質・安全性評価* (増補改訂版) 印刷中
- 7) 山口照英、内田恵理子：日米 EU 医薬品規制調和国際会議遺伝子治療専門家会議の活動と遺伝子治療薬の規制に於ける国際動向. *Drug Delivery System* 22, 651-659 (2007)
- 8) Uchida E, Kogi M, Oshizawa T, Furuta B, Satoh K, Iwata A, Murata M, Hikata M, Yamaguchi T. Optimization of the virus concentration method using polyethyleneimine-conjugated magnetic beads and its application to the detection of human hepatitis A, B and C viruses. *J Virol Methods.* Jul;143(1):95-103. (2007)
- 9) Kanayasu-Toyoda, T, Suzuki, T., Oshizawa, T., Uchida, E., Hayakawa, T., Yamaguchi T : Granulocyte Colony-Stimulating Factor Promotes The Translocation of Protein Kinase C $\alpha$  in Neutrophilic Differentiation Cells, *Journal of Cellular Physiology.* 211, 189-196 (2007)
- 10) N. Hashii, N. Kawasaki, Y. Matsuishi, M. Toyoda, Y. Katagiri, S. Itoh, A. Harazono, A. Umezawa, T. Yamaguchi: Study on the quality control of cell therapy product: Determination of N-glycolylneuraminic acid incorporated into human cells by



- nano-flow liquid chromatography/Fourier transformation ion cyclotron mass spectrometry. *J. Chromatogr. A*, 1160, 263-269 (2007)
- 11) Yamaguchi, T. Uchida, E. : Regulatory Aspects of Oncolytic Virus Products. *CCDT Journal*, 7, 203-208 (2007)
- 12) Mizuguchi H., Funakoshi N., Hosono T., Sakurai F., Kawabata K., Yamaguchi T., Hayakawa T. Rapid construction of small interfering RNA-expressing adenovirus vectors on the basis of direct cloning of short hairpin RNA-coding DNAs. *Hum. Gene Ther.*, 18, 74-80 (2007)
- 13) Koizumi N., Yamaguchi T., Kawabata K., Sakurai F., Sasaki T., Watanabe Y., Hayakawa T., Mizuguchi H. Fiber-modified adenovirus vectors decrease liver toxicity through reduced interleukin 6 production, *J. Immunol.*, 178, 1767-1773 (2007)
- 14) Ishii-Watabe, A., Kobayashi, T., Suzuki, T., Yamaguchi, T., Kawanishi, T.: Influences of the recombinant artificial cell adhesive proteins on the behavior of human umbilical vein endothelial cells in serum-free culture. *Biologicals*, 35, 247-257 (2007)
- 15) Kanayasu-Toyoda T, Ishii-Watabe A, Suzuki T, Oshizawa T, and Yamaguchi T. A new role of thrombopoietin enhancing ex vivo expansion of endothelial precursor cells derived from AC133 positive cells. *J Biol Chem.*, 282, 33507-33514 (2007)
- 16) Niimi, S., Harashima, M., Yamaguchi, T.: Study of hepatocytes using RNA interference. *Journal of Organ Dysfunction*, 3, 164-182 (2007)
- 17) 川崎ナナ, 伊藤さつき, 原園 景, 橋井則貴, 山口照英: 液体クロマトグラフィー/質量分析法を用いた糖タンパク質構造解析. *実験医学増刊号*, 25, 1127-1136 (2007)
- 18) 川崎ナナ, 橋井則貴, 伊藤さつき, 山口照英: 細胞治療薬の品質・安全性評価における糖鎖解析の重要性とLC/MSの応用可能性. *News Letter 糖鎖フラッシュ号*, *Functional Glycomics*, 9, 35-41 (2007)
- 19) 川崎ナナ, 伊藤さつき, 山口照英: 抗体医薬品の LC/MS. 「抗体医薬品の最前線」植田充美監修, シーエムシー出版, 東京, (2007)
- 20) 山口照英: Gene Therapy Discussion Group の動向について. *医薬品研究*, 38, 50-59, (2007)
- 21) 内田恵理子, 石井(渡部)明子, 山口照英: 遺伝子治療薬及び細胞治療薬のウイルス安全性確保. *臨床ウイルス学会誌*, 35, 278-290 (2007)
- 山口照英, 石井明子: 次世代バイオ医薬品の開発にあたっての非臨床・臨床試験についてー TGN1412 事故が医薬品開発に与えたインパクト. 「谷本学校毒性質問箱」, サイエンティスト社, 東京, 10, 1-34, (2007)
- 学会発表

- 1) 山口照英:先端技術応用医薬品のウイルス等の安全性確保. 第 47 回日本臨床ウイルス学会、特別講演 (2007.6.3.) 東京
- 2) 川崎ナナ, 高倉大輔, 中島 紫, 橋井則貴, 伊藤さつき, 原園 景, 山口照英: LC/MS<sup>n</sup> を用いた糖鎖抗原付加タンパク質の同定. 日本ヒトプロテオーム学会第 5 回大会(2007, 7, 30-31)東京
- 3) 橋井則貴, 川崎ナナ, 伊藤さつき, 中島紫, 原園 景, 山口照英: LC/MS<sup>n</sup> による目的部分糖鎖構造を持つ糖タンパク質の特異的同定. 第 27 回日本糖質学会年会(2007, 8, 1-3)福岡
- 4) 豊田淑江、石井明子、鈴木孝昌、押澤正、山口照英. トロンボポエチン(TPO)による、in vitro での血管内皮前駆細胞(EPC)の増幅作用. 第 28 回日本炎症・再生医学会 (2007.8.3.) 東京
- 5) 山口照英: バイオ医薬品の新しい潮流. 第 1 回 医薬品評価フォーラム (2007.8.10.) 東京
- 6) 山口照英: 核酸増幅法(NAT)によるウイルス検出とそのバリデーション-HEV 検出への NAT 法開発にあたっての留意点-. 酪農学園大学ハイテクリサーチセンタープロジェクト公開シンポジウム (2007.9.3.) 江別
- 7) 豊田淑江、石井明子、鈴木孝昌、押澤正、山口照英. トロンボポエチン(TPO)による、in vitro での血管内皮前駆細胞(EPC)の増幅作用. 第 80 回日本生化学大会 (2007.12.) 横浜
- 8) 内田恵理子、山口照英: バイオ医薬品/生物製品のウイルス安全性に関する国際動向. 第6回医薬品等ウイルス安全性シンポジウム (2007.12.1.) 東京
- 9) 山口照英: 細胞の品質管理の立場から. 第 30 回日本造血細胞移植学会総会 (2008.2.29-3.1)大阪
- 10) 豊田淑江、石井明子、山口照英: トロンボポエチン(TPO)の血管内皮前駆細胞(EPC)増幅作用における新しい役割. 第 7 回日本再生医療学会総会 (2008.3.13-14)名古屋
- 11) 内田恵理子、小木美恵子、村田充弘、日方幹雄、佐藤功栄、岩田明子、鈴木和博、山口照英: 医薬品のウイルス安全性確保のためのヒト肝炎ウイルスの濃縮・高感度検出法の開発. 日本薬学会第 128 年会 (2008. 3. 26-28) 横浜



図1. ドイツの治験申請の承認における審査期間と審査プロセスの概略

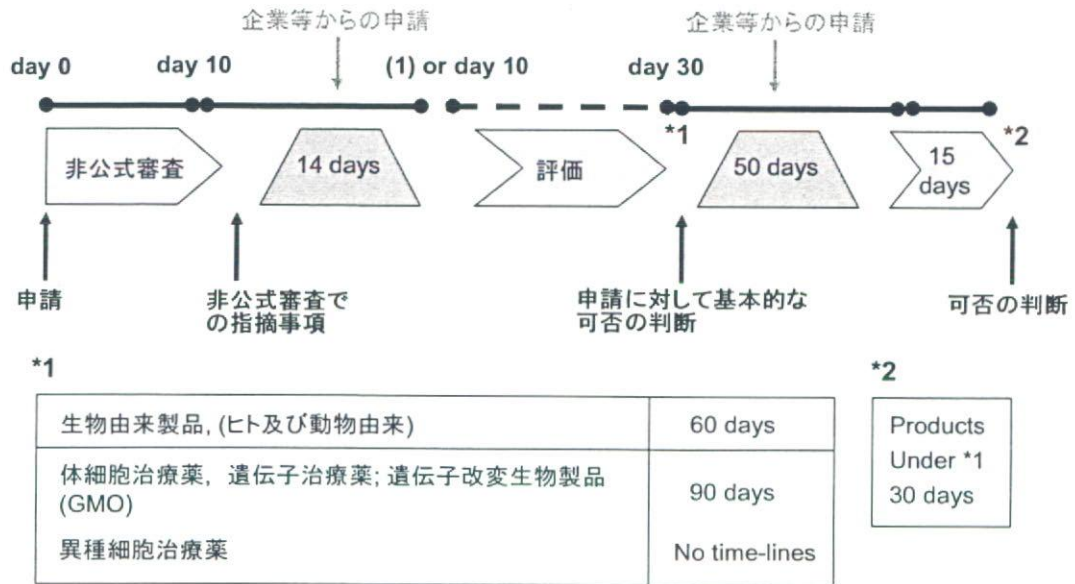
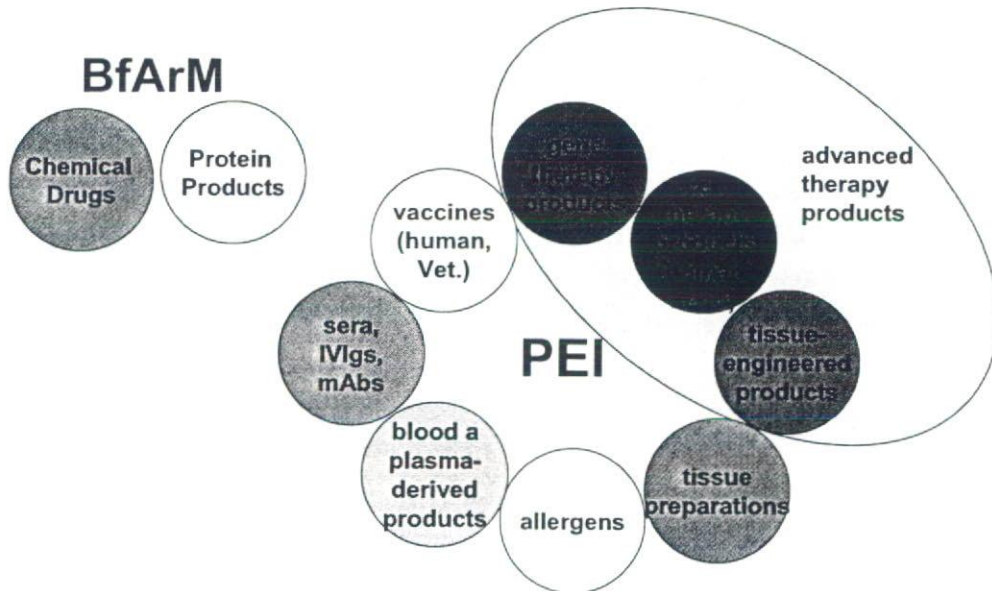


図2. BfArM と PEIのドイツにおける医薬品審査における役割分担



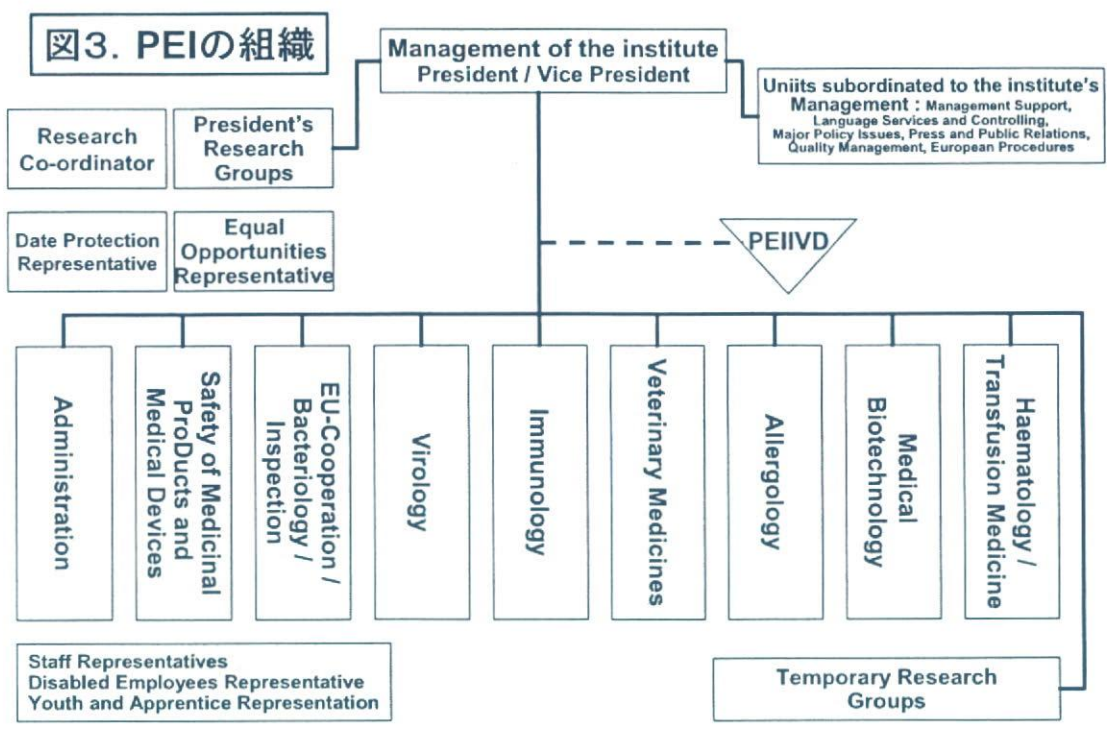




表1. ヨーロッパの先進医療の治験実施  
 状況細胞治療薬・組織工学製品  
 (2004.8~2007.8)

治療目的	件数
細胞治療製品	121 治験/ 101 製品
<ul style="list-style-type: none"> <li>• 癌免疫治療 39</li> <li>• 心血管系 29</li> <li>• 皮膚/肝臓/肺/糖尿病/腸/軟骨等 25</li> <li>• 神経系疾患 5</li> <li>• リンパ組織球増多症 1</li> <li>• HIV 1</li> <li>• 生殖 1</li> </ul>	

表2. がん細胞免疫療法薬

<ul style="list-style-type: none"> <li>• 樹状細胞療法</li> <li>• ガン抗原特異的 T リンパ球療法</li> <li>• 非特異的活性化リンパ球療法               <ul style="list-style-type: none"> <li>• リンフォカイン活性化キラー細胞療法</li> <li>• 活性化 NK 細胞療法</li> </ul> </li> </ul>
---

がん細胞ワクチン療法剤の力価試験法代表例

試験法	測定指標	長所	弱点
血球算定盤を用いたトリパンブルー染色細胞	生細胞の定量	標準的方法	1. 細胞塊があると生細胞率を低く測定 2. 手動で目による観察
自動血球測定装置を用いたトリパンブルー染色細胞	生細胞の定量	正確性のある定量法で大量の細胞を測定できる	
FACS や ELISA 測定	定量的抗原測定	抗原発現の直接測定	1. 非常にバラエティーのある生物活性に関連する抗原発現を制御する困難さ 2. 選択した抗原が免疫反応の関連しない可能性
免疫付活化をした動物へのがん移植	インビボでの防御	目的とする効果の直接測定	1. 一般手に受け入れられるモデルが存在しない 2. バリデーションが困難
免疫付活化による動物での抗体産生	特異抗原に対する液性反応	目的とする生物活性の直接測定	ヒトでは同様の反応が起きない可能性
細胞障害性細胞によるがん細胞の溶解	特異的抗原等により免疫付活化したヒト T リンパ球活性	免疫付活化抗原に対する T リンパ球の反応	1. HLA 拘束のために適用が限られる 2. T 細胞クロローンは一つの抗原にしか反応しない 3. 試験法のバリデーションに必要な T 細胞株がない
抗原特異的補体反応	活活化細胞への補体除去患者血清の結合	免疫付活化細胞への補体除去患者血清の結合	免疫した患者由来のリンパ球が必要
サイトカイン産生や T 細胞活性化	多様な抗原に対する T 細胞の反応性	付活化に用いた抗原に対する T 細胞の反応	1. 活性に必要な特異抗原が不明 2. 動物リンパ球では人との反応性が異なる 3. 免疫した患者由来リンパ球が必要



研究課題名 医療機器・医用材料のリスクアセスメント手法開発に関する研究

分担研究項目 薬学領域、理工学領域、内科的領域の視点からみた検討、並びに倫理的視点からみた検討

分担研究者 野水 基義（東京薬科大学病態生化学教室 教授）

分担研究者 大和 雅之（東京女子医科大学医学部 准教授）

分担研究者 鄭 雄一（東京大学大学院工学系研究科 教授）

分担研究者 掛江 直子（国立成育医療センター 成育保健政策科学研究室長）

#### A. 研究要旨

薬学領域、理工学領域、内科的領域の科学技術面からみた検討、並びに倫理的視点からみた検討及び新たなガイドライン案と関連事項の提示を行なった。

#### B. 研究目的

細胞・組織利用製品による再生医療は、ヒトの臓器や組織の確保が難しいわが国の医療状況下において高く期待されており、研究の進歩に伴う技術的な実現可能性の高まりとともに、医療としての実用化を望む声がますます強くなっている。その一方で、これらの製品は新規性が高いためリスク予測が難しく知見も限られている。

本年7月の総合科学技術会議の「科学技術の振興及び成果の社会への還元に向けた制度改革について(中間報告)」において、再生医療などの細胞・組織利用製品についての安全評価基準の明確化や確認申請・治験計画届に係る調査における重複部分の簡素化について、早急に検討するよう求められており、至急対応する必要がある。(平成18年度中に検討を開始し平成19年夏までに結論を出すように求められている。)

また、先般、国会議員により、「自家細胞を用いた再生医療を推進する議員の会」が結成され、

再生医療の議員立法化に向けた検討が開始されたことなど、再生医療の規制の見直しに向けた動きが急速に進められており、これら社会的要請に基づく早急な対応が必要である。

現在、再生医療に使用される細胞・組織利用製品については、治験を開始する前に、品質・安全性に関する確認申請を行い、厚生労働大臣の確認を受ける必要があり、この諸手続きについては平成12年に示されているが、日進月歩の領域であるにもかかわらずその後の見直しがされていない。

また、この分野で先行する米国に続き、欧州においても細胞・組織利用製品の規制環境整備への動きがあり、わが国の規制を国際水準に整合させる観点から、欧米の動向を勘案した見直しも検討する必要がある。

本研究は、再生医療に使用される細胞・組織利用製品に関する現行規制を、急速に発展する学問・技術の進歩、倫理上の重要ポイント、国際

的動向など反映したものとするための見直し策について検討し、必要ならばより適切な安全評価基準を作成するなど規制環境のさらなる充実を図ることにより、わが国の再生医療の適正な推進基盤とすることを目的としている。

これらの研究成果により、再生医療の規制の枠組みなど、制度のあり方を行政的に検討する際の基本的な資料として活用し、安全評価のためのガイドラインの整備を行う。確認申請資料の内容やガイダンスの整備を行うことにより、細胞・組織利用製品等の申請や承認の円滑化が図られ、既存の医薬品や医療機器では治療が不可能であった疾患に対して、新たな治療法の開発が促進されるなど、わが国の再生医療の発展に寄与すると考えられる。その結果、ひいては国民の保健・医療の向上に大いに貢献する可能性につながるものと期待される。

## C. 研究結果

ヒト(自己又は同種)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を作成するにあたって、取り上げるべき主な事項及び構成は以下のようなものが適切と考えられた。

### 第1章 総則

#### 第1 目的

#### 第2 定義

### 第2章 製造方法

#### 第1 原材料と製造関連物質

##### 1 目的とする細胞・組織について

##### 2 目的とする細胞・組織以外の原材料及び製造関連物質

#### 第2 製造工程

##### 1 ロット構成の有無とロットの規定

##### 2 製造方法

##### 3 加工した細胞の特性解析

##### 4 最終製品の形態、包装

##### 5 製造方法の恒常性

##### 6 製造方法の変更

### 第3 最終製品の品質管理

#### 1 総論

#### 2 最終製品の品質管理法

### 第3章 細胞・組織加工医薬品等の安定性

### 第4章 細胞・組織加工医薬品等の非臨床安全性試験

### 第5章 細胞・組織加工医薬品等の効力又は性能を裏付ける試験

### 第6章 細胞・組織加工医薬品等の体内動態

### 第7章 臨床試験

## C.1 細胞・組織製品の原材料と製造関連物質について

原材料と製造関連物質については、まず、1) 目的とする細胞・組織と、2) 目的とする細胞・組織以外の原材料及び製造関連物質を大別して考えることとした。

### C.1.1 目的とする細胞・組織について

目的とする細胞・組織について必要な情報は、自己由来製品の場合、(1) 生物学的機能等の特徴と選択理由、(2) ドナーの感染症に対する配慮、(3)細胞・組織の採取・保存・運搬についてなどである。これらの基本的要件に加えて、同種由来製品の場合には、1) 起源及び由来とその選択理由、2)ドナーの選択基準、適格性、3)ドナーに関する記録などに留意する必要がある。これらに関連してまとめられた主な事項は以下のとおりである。

#### C.1.1.1 自己由来製品の生物学的構造・機能の特徴と選択理由



原材料として用いられる細胞・組織について、その生物学的構造・機能の特徴を、例えば、形態学的特徴、増殖特性、生化学的指標、免疫学的指標、特徴的産生物質その他適切な遺伝型又は表現型の指標から適宜選択して示し、当該細胞・組織を原料として選択した理由を説明すべきである。しかし、ここに挙げた指標はあくまで例として示したものであり、全ての指標について解析する必要はない。すなわち申請者が用いようとする細胞・組織の特性にあわせてケースバイケースで適切と考えられる指標を選択すればよいが、選択の妥当性については明らかにする必要がある。試験の例としては、細胞特異的表面マーカー、産生物質等の表現型、核型分析、縦列型反復配列、遺伝子発現プロファイル等の遺伝子型の指標などがある。なお、試験実施の際には、少数の試験検体を用いたデータを示すことでよい。

#### C.1.1.2 自己由来製品でのウイルス検査の意義

患者、製造従事者及び医療従事者の安全性を確保する観点等から、採取細胞・組織を介して感染する可能性がある各種感染症を考慮して感染症に関する検査項目を定め、その妥当性を明らかにするべきである。特に B 型肝炎 (HBV)、C 型肝炎 (HCV)、ヒト免疫不全ウイルス (HIV) 感染症、成人 T 細胞白血病に留意するべきである。

#### C.1.1.3 同種由来製品と自己由来製品の試験項目の相違点

自己由来細胞に比し、同種由来細胞を用いる場合に特に留意すべき点として、1) 原材料として用いられる細胞・組織の起源及び由来と当該細胞・組織を選択した理由の明確化、2) 原材料となる細胞・組織の特性と適格性 (HLA タイピング、ドナーの選択基準、適格性、株化細胞の使

用など) 及び3) ドナーに関する記録が挙げられる。

目的とする細胞・組織については、自己の場合と同様、生物学的構造・機能の特徴と選択理由を説明することはもちろんであるが、それ以前にその起源及び由来について説明し、当該細胞・組織を選択した理由を明らかにする必要がある。

同種由来製品の原材料となる細胞・組織の特性と適格性では、まず、ヒトの主要組織適合性抗原型である HLA (ヒト白血球抗原) のタイプを特定する (HLA タイピング) を実施するべきである。次に、ドナーの選択基準及び適格性については、ドナーが倫理的に適切に選択されたことを示すべきである。また、年齢、性別、民族学的特徴、病歴、健康状態、採取細胞・組織を介して感染する可能性のある各種感染症に関する検査、免疫適合性等を考慮して、選択基準、適格性基準を定め、その妥当性を明らかにするべきである。同種の場合、感染症では、B型肝炎 (HBV)、C型肝炎 (HCV)、ヒト免疫不全ウイルス (HIV) 感染症、成人 T 細胞白血病、パルボウイルス B19 感染症について問診及び検査 (血清学的試験や核酸増幅法等) により否定されるべきである。サイトメガロウイルス感染及び EB ウイルス感染については、必要に応じて検査により否定する必要がある。また、以下のものについて既往歴、問診等の診断を行うとともに、輸血、移植医療を受けた経験の有無等から、ドナーとして適格性を判断するべきである。

- ・梅毒トレポネーマ、クラミジア、淋菌、結核菌等の細菌による感染症
- ・敗血症及びその疑い
- ・悪性腫瘍
- ・重篤な代謝、内分泌疾患
- ・膠原病、血液疾患、肝疾患

・痴呆症(伝達性海綿状脳症及びその疑いのあるもの)

さらに、同種由来細胞組織製品のドナーに関する記録については、原材料となる細胞・組織について、安全性確保上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、保管されている必要があり、また、その具体的方策が示される必要がある。

なお、株化細胞の樹立と使用に際しての留意点については、C4.2.2.5で詳述する。

#### C.1.1.4 細胞・組織の採取・保存・運搬について

細胞・組織の採取・保存・運搬についての基本的要件や主な留意事項には、① 採取者及び採取医療機関等の適格性、② 採取部位及び採取方法の妥当性、③ ドナーに対する説明及び同意、④ ドナーの個人情報の保護、⑤ ドナーの安全性確保のための試験検査、⑥ 保存方法及び取り違え防止策、⑦ 運搬方法、⑧ 記録の作成及び保管方法などが挙げられる。

それぞれの項目について留意すべき点を以下に示した。

##### ① 採取者及び採取医療機関等の適格性

採取者及び採取医療機関等に求めるべき一定の技術的要件について、明らかにすること。

##### ② 採取部位及び採取方法の妥当性

細胞の採取部位の選定基準、採取方法を示し、これらが科学的及び倫理的に適切に選定されたものであることを明らかにすること。採取方法については、用いられる器具、微生物汚染防止、取り違えやクロスコンタミネーション防止のための方策等を具体的に示すこと。

##### ③ ドナーに対する説明及び同意

細胞・組織採取時のドナーに対する説明

及び同意の内容を規定すること。

##### ④ ドナーの個人情報の保護

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。

##### ⑤ ドナーの安全性確保のための試験検査

細胞・組織採取時にドナーの安全性確保のために採取部位の状態の確認など試験検査を行わなければならない場合には、その内容、検査結果等に問題があった場合の対処法について具体的に規定すること。ただしこれは、採取する細胞・組織の種類、部位により異なるものであり、細胞・組織に応じて、必要により設定するべきものである。例えば、採取に際して麻酔の使用が必要な場合の麻酔薬に対する過敏症の問診、採取部位の感染創の有無、全身状態を確認するための血液検査等が考えられる。その内容、検査結果等に問題があった場合の対処法について具体的に規定しておく必要がある。

##### ⑥ 保存方法及び取り違え防止策

採取した細胞・組織を一定期間保存する必要がある場合には、保存条件や保存期間及びその設定の妥当性について明らかにすること。また、取り違えを避けるための手段や手順等について具体的に規定すること。

##### ⑦ 運搬方法

採取細胞・組織を運搬する必要がある場合には、運搬容器、運搬手順(温度管理等を含む)を定め、その妥当性について明らかにすること。

##### ⑧ 記録の作成及び保管方法

①～⑦に関する事項について、実施の記録を文書で作成し、適切に保管する方法について明らかにすること。