

II. 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

細胞や組織を原材料としたヒト疾患の治療には、自己(Autologous)、同種(Allogeneic)あるいは異種(Xenogenic)の細胞や組織の利用が考えられる。

このうち一般に細胞・組織移植や臓器移植として知られている治療技術には、骨髄移植、皮膚移植、心臓弁移植、角膜移植、骨移植、腎臓移植、肝臓移植等がある。これらは、ドナーから提供された細胞・組織・臓器を直接患者に移植するか、あるいは最小限の操作を加えたり、選別を行った後に、ヒト疾患の治療に用いるものである。こうした治療を科学的、倫理的に適正に実施するための規制には、臓器移植法といった法的な規制の枠組み、組織バンクといったいわば自主的規制の枠組みや運営方式がある。

また、細胞・組織・臓器の採取から利用に至る一連の医療行為の過程に企業活動的要素が存在しない場合、細胞・組織・臓器の取扱いや使用に関しては医療行為の一部として臨床現場の医療機関及び医師等の裁量に委ねるとするのが共通認識である。ドナーから患者への関係も1対1あるいは1対数名の関係にとどまる。

全血採血や血液成分採血による従来型の全血輸血や成分輸血も細胞等利用の代表的医療技術であるが、これにはすでに独自のルールが適用されている。すなわち、全血輸血や成分輸血のための非自己である末梢からの採血(献血)における採血業務、処理業務等には、採血及び供血あつせん業取締法や薬事法の規制が適用されている。一方、自家造血幹細胞移植や免疫担当細胞輸注等を含む自己採血や骨髄採取による様々な療法は、専ら医師や医療機関が行う限り一連の医療行為の線上にある。また、非自己である骨髄、臍帯血、末梢血幹細胞などを用いた治療も、バンクを経由するケースもあるが、企業が介在しない限り医療行為とし

て医師や医療機関の裁量にまかされている。

近年、細胞・組織の人為的な増殖、細胞・組織の活性化等を目的とした薬剤処理、生物学的特性改変、遺伝子工学的改変、非細胞・組織成分との組み合わせ等を施した後、すなわち細胞・組織を加工した後、製品を疾患の治療や組織の修復又は再建に利用しようとするアプローチが急速な展開をみせつつある。

これらのアプローチは臨床現場における医師の裁量による治療研究として実践されるケースもあるが、細胞・組織の加工を企業活動として実施しようとするケースが増加しつつあり、今後もその傾向は拡大するものと考えられる。

ドナーから患者への関係も自己由来の細胞・組織加工医薬品等の利用のように1対1もあるが、1対不特定多数の関係もある。細胞・組織を医薬品等の原材料として利用するのであるから、ドナーが企業と向き合う局面もあり得る。これを含めて企業活動として細胞・組織を採取、加工し、医薬品や医療機器へ応用しようとする一連の活動に対しては、製品の品質及び安全性の確保という観点から何らかの薬事規制が適用されなければならない。

皮膚移植でも、培養表皮、培養真皮、培養皮膚などの培養細胞を応用した人工皮膚移植は、この範疇に入る。

また、血液等を材料としても、

- ① 全血球細胞への分化能を保持した増殖性細胞(造血幹/前駆細胞)を純化分離した後、適切なサイトカインと培養することによる造血幹細胞、リンパ球、巨核球などの特定の血球細胞への分化
- ② IL-2によるリンパ球の増殖・活性化(LAK)
- ③ 正常骨髄、末梢血、白血病細胞をソースとして分離あるいはサイトカインを組み合わせた培養により抗原提示細胞である樹状細胞を得ることやこの細胞の特定抗原による刺激
- ④ 造血幹細胞やリンパ球の遺伝子工学的改変などの加工処理を企業活動として行い、製品を治

療に用いる場合には、輸血や血液製剤に対する規制とは別の新たな薬事規制の枠組みで品質・安全性等の確保を図る必要がある。

現行の「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」（「旧指針」）は、このような背景で必要とされるガイドラインの1つとして作成された。細胞・組織には、自己、同種、異種が考えられるが、当面実用化に関する検討が進んでいるヒト由来のもの（自己及び同種由来）に焦点をあてることとした。

ヒト由来の細胞・組織医薬品等には、すでに一部を述べたように、例えば、

- ・ バイオ人工皮膚
- ・ ヒトの骨髄、末梢血、又は臍帯血由来の造血幹／前駆細胞を純化した細胞群、又はこれを骨髄造血系の再構築を目的として加工したもの
- ・ リンホカイン活性化キラー細胞(LAK)や腫瘍浸潤リンパ球(TIL)、細胞障害性T細胞、抗原刺激樹状細胞などの免疫担当細胞
- ・ *ex vivo* で遺伝子導入した細胞
- ・ 複雑な生体機能を発揮させるための肝細胞、筋肉細胞や心筋細胞、膵臓細胞、神経細胞
- ・ 酵素、サイトカイン、凝固因子といった生理活性物質の供給源としての細胞
- ・ 同質な組織構造の「修復・再建」を目的として自己由来の細胞を体外で加工した細胞（例：局所的軟骨損傷修復に用いる軟骨細胞や形成外科に用いる脂肪細胞、下肢虚血や虚血性心疾患改善の役割を果たす血管内皮前駆細胞や骨髄、臍帯血を始めとする種々の組織由来間葉系幹細胞、重症の眼表面疾患の治療に用いる自己輪部上皮細胞、自己結膜上皮細胞、自己口腔粘膜上皮細胞、他家輪部上皮細胞、角膜実質の治療に用いる角膜実質細胞、歯根部利用人工角膜、重症心不全の治療に用いる骨髄由来細胞や筋芽細胞、心筋シート）

などがある。いずれも、ヒト疾患の治療を目的として業として製造され、臨床研究、治験、臨床治療に使用される可能性があるもので規制を必要とする。規制としては、これら、個々のケースにおいて品質・安全性確保上留意すべき点の詳細は自ずと異なることから、個別の事項ごとか、バイオ人工皮膚とか造血幹細胞、免疫担当細胞というグループ別に特化した指針が作成されることが望ましいのかもしれない。しかし、その一方でそれぞれの分野が急速な発展を続けているという中で、細部にわたり、指針を定めることの是非に関する議論もある。結局、ヒト由来細胞・組織の個別事項ごとに指針を定めることや異種動物由来の細胞・組織加工医薬品等についても指針を定めることは将来の課題で、まず第一歩を踏み出すことが必要であるとして、現行のより一般的な指針が定められた。その後、初めに述べたように「指針」については、

- 1) 自己と同種由来製品における品質及び安全性確保のために必要な基本的要件の書き分け
- 2) 確認申請に必要な基本的要件の明確化
- 3) 確認申請の記載要領の提示
- 4) 指針の記載や内容に関する理解や解釈に関する関係者間での共通化の推進

などに留意した改訂作業が続けられ、現在、「自己由来製品に関する新指針(案)」、記載要領(案)、Q&A(案)など自己由来製品に関連する文書が意見募集中である。また、「同種由来製品に関する新指針(案)」についても鋭意作成作業が続けられている。したがって、「旧指針」はやがて別の2つの新指針として生まれ変わり、また意見募集中の「自己由来製品に関する新指針(案)」の内容や作成作業中の「同種由来製品に関する新指針(案)」も細部については修正が加えられることになるが、本質は大幅に変わらないと思われるので、「旧指針」及び両新指針の中から必要と考えられる事項を適宜ピックアップして概説する。なお、本稿で単に指針と記述するときは、「旧指針」、「自己由来製品

に関する新指針(案)」、「同種由来製品に関する新指針(案)」いずれの目的や趣旨に合致し、内容的にも整合性がある場合や、指針総体のコンセプトや内容を共通に反映することを意図するときである。

1. 指針の目的と趣旨

指針の目的は、“自己(又は)同種由来のヒト細胞・組織を加工した医薬品又は医療機器(以下「細胞・組織加工医薬品等」という。)の品質及び安全性の確保のために必要な基本的要件を定めることである”，とされている。

しかし、「細胞・組織加工医薬品等の種類や特性、臨床上の適用法は多種多様であり、また、本分野における科学的進歩や経験の蓄積は日進月歩であるところから、指針を一律に適用したり、指針の内容が必要事項すべてを包含しているとみなすことが必ずしも適切でない場合もある。したがって、個々の医薬品等についての試験の実施や評価に際しては指針の目的を踏まえ、その時点の学問の進歩を反映した合理的根拠に基づき、ケース・バイ・ケースの原則で柔軟に対応することが必要である。」という指針を利用する際の前提となる考え方が、明確に述べられている点にも着目する必要がある。

指針は、確認申請だけでなく承認申請も念頭においている。しかし、確認申請時点における指針への適合性の確認の趣旨は、当該細胞・組織加工医薬品等の治験を開始するにあたって支障となる品質及び安全性上の問題が存在するか否かの確認にある。したがって確認申請の場合、申請にあたって添付すべき資料について指針に示された要件や内容の深さをすべて満たすことを必ずしも求めている訳ではない。品質及び安全性の確保のための必要十分な資料は治験の進行とともに指針に沿って充実整備されることを前提に、確認申請ではその趣旨に適う必要条件を充たし、合理的に

作成された適切な資料を提出すればよいということである。また、確認に必要とされる資料の範囲、程度については、当該製品の由来、対象疾患、対象患者、適用部位、適用方法、加工方法等により異なり、指針では具体的に明らかなでないことも少なくないので、個別に独立行政法人医薬品医療機器総合機構の相談を受けることが望ましい、とされている。

確認申請に必要なデータについては、実際の患者由来の細胞・組織を用いたデータは必ずしも必要としない。患者以外の細胞・組織(「試験的検体」)を原材料として得たデータを用いてもよいが、その場合には患者由来の細胞・組織を用いた場合へ外挿することの妥当性について説明が必要である、ということである。

自己由来と同種由来の製品、両者の根本的な差異は、自己由来の細胞・組織を用いる場合には、その細胞・組織を介する感染症伝播のリスク及び免疫学的な問題が理論上ないことである。しかし、自己由来であっても、製造工程におけるクロスコンタミネーションの問題や製造従事者、医療従事者の安全上の問題は同種由来の場合と同様に存在する。また、培養工程においてウイルスが増殖するリスクを考慮することが必要な場合もある。さらに自己由来の場合、個別製品の製造となるので、それらの品質のばらつきを最小限度にとどめる工夫が必要な反面、製品レベルでの各種試験の実施に試験検体の量的制約がある。それらに留意した合理的品質確保の方策、例えば製造工程のより厳密な恒常性維持・管理など、を採用する必要がある。なお、自己由来であっても、遺伝子改変細胞の場合には相応の留意が必要である。

指針は、当然のことながら研究開発を実施する企業、研究者、審査員が当該分野に関して共通の認識と理解、解釈を持つことを意図している。

2. 定義

「細胞・組織の加工」、「表現型」、「HLA タイピング」、「ドナー」、「遺伝子導入構成体」などの用語が定義されている。このうち、「細胞・組織の加工」とは、疾患の治療や組織の修復又は再建を目的として、細胞・組織の人為的な増殖、細胞・組織の活性化等を目的とした薬剤処理、生物学的特性改変、非細胞・組織成分との組み合わせ、遺伝子工学的改変等を施すことをいう。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、解凍等は加工とみなさない。

「ドナー」とは、細胞・組織加工医薬品等の原料となる細胞・組織を提供するヒトをいう。同種の場合はもとより、自己由来製品を対象とする場合も、開発段階等において、試験製造を行う場合には、患者以外のドナーから採取した細胞・組織(「試験的検体」)を使用する場合も想定されるのでこのような定義になった。自己由来製品を対象とする場合、実際の治療においては患者がドナーとなる。そこで、「自己由来製品に関する新指針(案)」では、“自己由来細胞・組織加工医薬品等にあつては、患者はドナーである。”との文言を付加することとなった。なお、新旧指針とも動物由来の細胞・組織を対象としていないが、本稿Ⅰ部に述べた「基本的考え方」では、細胞・組織を提供する動物を「ドナー動物」として、ヒトを指す「ドナー」とは区別している。

「HLA タイピング」とは、ヒトの主要組織適合性抗原系である HLA(ヒト白血球抗原)のタイプを特定することをいうが、「同種由来製品に関する新指針(案)」のみに定義されることになる。

3. 製造方法

細胞・組織加工医薬品等の製造について、その

詳細と妥当性を明らかにすること、製造方法の一定性を示すことは、品質、安全性の確保、品質恒常性の維持にとって特に重要とされる事項の1つである。

指針では、製造に関する留意事項や明確にすべき事項が示されている。製造方法関連事項には、

- 1) 原材料と製造関連物質
- 2) 製造工程
- 3) 最終製品の品質管理

など次元の異なる事項が含まれる。「原材料と製造関連物質」は、

- ① 目的とする細胞・組織
- ② 目的とする細胞・組織以外の原材料及び製造関連物質

に、「製造工程」は、

- ① ロット構成の有無とロットの規定
- ② 細胞・組織の加工方法
- ③ 加工した細胞の特性解析
- ④ 最終製品
- ⑤ 製造方法の恒常性
- ⑥ 製造方法の変更

などの事項に大別したのち、さらにそれぞれの事項に含まれる要素についての留意点などが示されている。

なお、指針にはその性格上特に明確に記載されていないが、細胞の培養方法や培地成分、標準操作手順書、製造施設・設備及び器材等の適格性、職員の適格性、製造工程で用いる試薬・試液等の適格性や品質保証、品質管理法についても、それぞれの必要度に応じて詳細を明らかにして妥当性を示す必要がある。このうち、細胞の培養方法や培地成分については、次項で詳細に述べている。試薬に関しては、本稿Ⅰ部の3.4項を参照すること。製造工程の各操作は、標準操作手順書として、緊急時の作業手順とともに文書化され、責任の所在を明らかにしておくことが必要であることを本稿Ⅰ部の3.2項に述べている。その手順書には、必要に応じて最新の技術を反映したものに改定さ

れる手順に関する記述を含むべきである。製造施設及び設備等の適格性については、本稿 I 部の 3.1 項で参考にすべき留意事項を述べている。職員の適格性については、本稿 I 部の 2.1 項及び 4 項で述べている。製造施設・設備及び器材等の適格性、職員の適格性については、必ずしも確認申請のための必須資料ではないが、製品の品質・安全性を評価する上で必要な場合には、提出が求められることがあると思われる。

3.1 原材料と製造関連物質

原材料と製造関連物質には、大別して

- ① 目的とする細胞・組織
- ② 目的とする細胞・組織以外の原材料及び製造関連物質

があり、それぞれについては以下に示すような対応が必要である。

(1) 目的とする細胞・組織について

原材料として用いられる細胞・組織についての主な事項は、一般に、

- 1) 起源及び由来、選択理由
- 2) 細胞・組織の特性
- 3) ドナーの選択基準、適格性
- 4) 株化細胞を用いる場合の留意事項
- 5) ドナーに関する記録
- 6) 細胞・組織の採取・保存・運搬

などである。ただし、自己由来の細胞・組織の場合、1)、3)の一部及び4)、5)は該当しない。

1) 起源及び由来、選択理由

細胞・組織の入手方法及びその生物学的特徴について説明し、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。

2) 細胞・組織の特性

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・機能等の特徴を、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、HLA タイピング、その他適切な遺伝型あるいは表現型の指標から適宜選択して解析すること。ここにあげた指標は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。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。なお、自己由来の細胞・組織の場合、当然 HLA タイピングを選択する必要はない。また、少数の「試験的検体」を用いたデータを示すことでよい。遺伝型の指標の代表例としては核型分析、縦列型反復配列、遺伝子発現プロファイル等、表現型では細胞特異的表面マーカー、産生物質等がある。

3) ドナーの選択基準、適格性

ドナーが倫理的に適切に選択されたことを示すこと。また、年齢、性別、民俗学的特徴、病歴や健康状態、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に関する検査項目、免疫適合性等を考慮して、基準を定め、その妥当性を明らかにする必要がある。その際の留意点は、本稿 I 部の 2.4 項に述べたとおりである。自己由来の細胞・組織を用いる場合、ドナーの選択基準、適格性に関しては同種由来の場合と同様の要件は必ずしも必要としない。しかし、ドナーが何らかの感染症に罹患しているかどうかは、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配慮が必要である。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のうち、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) により否定されていることが望ましく、その結果を前提にして、細胞・組織の使用の是非、あるいはその後の対応策を示して、その妥当性を明らかにする必要がある。

4) 株化細胞を用いる場合の留意事項

次の事項に留意する必要がある。

- (1) 株化細胞の樹立にあたっては、その方法を明確にし、可能な限りその妥当性を検証すること。
- (2) 株化細胞を用いて細胞・組織加工医薬品等を製造する場合は、後述する本稿Ⅱ部3.2「製造工程」を参考にすること。
- (3) 株化細胞の品質確保及び恒常性を保持するため、後述する本稿Ⅱ部3.3「最終製品の品質管理」を参考にすること。特に必要な特性解析要件(細胞純度、形態学的評価、表現型特異的マーカー、核型など)を同定してその基準を設定するとともに、安定性を維持したまま可能な継代数を示すこと。
- (4) 株化細胞あるいは株化細胞を中間製造物として用いた細胞・組織加工医薬品等に関しては、適切な動物モデル等を利用し、異形成、異常増殖あるいは奇形腫形成など腫瘍化能の検証に関して配慮すること。
- (5) 株化細胞を用いた細胞・組織加工医薬品等は、ドナーの遺伝的特性を理解した上で用いること。

5) ドナーに関する記録

原材料となる細胞・組織について、安全性確保上必要な情報が確認できるよう、整備、保管されていることや、その具体的方策を示すことが必要である。

6) 細胞・組織の採取・保存・運搬

以下の諸点に特に留意した資料を整備する必要がある。

- (1) 採取者及び採取医療機関等の適格性について、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を明らかにすること。
- (2) 採取部位及び採取方法の妥当性について、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明らかにすること。

- (3) 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しておくこと。
- (4) ドナーの個人情報の保護方策について具体的に規定しておくこと。
- (5) 細胞・組織採取時にドナーの安全性確保のために行われる試験検査の内容、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こと。
- (6) 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) 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) (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。

(2) 目的とする細胞・組織以外の原材料及び製造関連物質

目的とする細胞・組織以外の原材料及び製造関連物質を明らかにし、その適格性を示すとともに、必要により規格を設定し、適切な品質管理を行うことが必要である。

なお、特定生物由来製品又は生物由来製品を原材料として使用する場合は、その使用量を可能な限り低減し、必要最小限とし、「生物由来原料基準」(平成15年5月20日厚生労働省告示第210号)を始め、関連する法令、通知に対応すること。特に、ウイルス不活化・除去に関する情報を十分に評価する必要があるほか、遡及調査等の確保策についても明らかにする必要がある。

目的とする細胞・組織以外の原材料及び製造関連物質が使用される場合での典型的な例は、

- 1) 細胞の培養を行う場合
 - 2) 最終製品の一部を非細胞・組織成分として構成する場合
 - 3) 細胞に遺伝子改変を加える場合
- などである。以下、それぞれの場合について概説する。

1) 細胞の培養を行う場合

(1) 培地、添加成分(血清、成長因子、抗生物質等)、細胞の処理に用いる試薬等のすべての成分等についてその適格性を明らかにし、必要に応じて規格を設定すること。各成分等の適格性の判定、規格の設定にあたっては、最終製品の適用経路等を考慮すること。

(2) 培地成分については、以下の点に留意すること。

① 培地に使用する成分及び水は、医薬品又は医薬品原料に匹敵する基準で品質管理されている生物学的純度の高い品質のものを使用すること。

② 培地に使用する成分は主成分のみでなく使用するすべての成分について説明し、選択理由及び必要に応じて品質管理法等を明確にすること。ただし、培地の構成成分が周知のもので市販品等が一般的に使用されているDMEMのようなものは1つのものと考えてよい。

③ すべての成分を含有した培地の最終品については、各ロットにおいて無菌性及び目的とした培養に適していることを判定するための性能試験を実施する必要がある。その他、工程管理上必要と思われる試験項目を規格として設定し、適切な品質管理を行う必要がある。

(3) 異種血清や血清由来成分については、細胞活性化又は増殖等の加工に必須でなければ使用しないこと。特に繰り返して使用する可能性

のある製品では可能な限り使用を避けるよう検討すること。血清等の使用が避けられない場合には、以下の点を考慮し、血清等からの細菌、真菌、ウイルス、プリオン等の混入・伝播を防止するとともに、最終製品から可能な限り除くよう処理方法等を検討すること。

① 由来を明確にすること。

② ウシ海綿状脳症発症地域からの血清を極力避ける等感染症リスクの低減に努める。

③ 由来動物種に特異的なウイルスやマイコプラズマに関する適切な否定試験を行い、ウイルス等に汚染されていないことを確認した上で使用すること。

④ 細胞の活性化、増殖に影響を与えない範囲で細菌、真菌、ウイルス等に対する適切な不活化処理及び除去処理を行う。例えば、潜在的なウイルス混入の危険性を避けるために、必要に応じて加熱処理、フィルター処理、放射線処理、UV処理等を組み合わせて行うこと。

⑤ 培養細胞でのウイルス感染のモニター、患者レベルでのウイルス性疾患の発症に対するモニター、異種血清成分に対する抗体産生等の調査のために、使用した血清の一部を保管すること。

(4) 自己血清を使用する際には、他の方策に比較してのメリット、量的確保に倫理的・技術的な問題がないか、細胞培養工程の恒常性確保に影響を及ぼさないかなど、使用の妥当性について適切な説明がなされる必要がある。

(5) 抗生物質の使用は極力避けるべきである。特にβラクタム系抗生物質は極力使用すべきでない。自己由来製品による治療で、抗生物質が定められた製造方法に不可避免的に使用されている場合、用いる抗生物質に過敏症の患者は、当該治療の対象外とすべきである。同種由来の製品で製造方法に抗生物質を使用せざるを得ない場合、製品に表示し、用いる抗生

物質に過敏症の患者は、当該治療の対象外とすべきである。ただし、不可避免的に抗生物質を使用した場合でも、その後の工程で可能な限り暫減を図り、十分に除去されたことが立証される場合には、自己由来製品、同種由来製品いずれの場合にも、当該抗生物質過敏症の患者への適用を許容できることもある。そのようなケースを選択しようとする際には、その科学的・医学的理由、最終製品での推定残存量、患者に及ぼす影響などの面から妥当性を説明する必要がある。

- (6) 成長因子を用いる場合には、細胞培養特性の再現性を保証するために、例えば純度及び力価に関する規格を設定する等適切な品質管理法を示すこと。
- (7) 最終製品に含有している可能性のある培地成分や操作のために用いられたその他の成分等については、生体に悪影響を及ぼさないものを選択すること。
- (8) フィーダー細胞として異種動物由来の細胞を用いる場合には、平成16年7月2日医政研発第0702001号医政局研究開発振興課長通知「異種移植の実施に伴う公衆衛生上の感染症問題に関する指針」に基づく3T3J2株及び3T3NIH株をフィーダー細胞として利用する上皮系の再生医療への指針について」等を参考に安全性を確保すること。

なお、指針には特に記載されていないが、血清等培地成分に関して留意しておいた方が望ましいこととして、次のような事項が挙げられる。

血清は、培養液に加える前にフィルターによる濾過により滅菌を図るとともにフィブリン等の不溶性物質の除去を図るべきである。さらに濾過後に血清中あるいは培養液中において不溶性物質が析出しないような処理を行い、凝集塊についても注意を払うこと。凝固因子の除去等に用いられた方法についても明らかにする必要がある。

可能な限りコンディションドメディウムの使用

及び他の細胞との共培養は避けるべきである。そのため、できればコンディションドメディウム中あるいは共培養系の必須成分を同定し、その成分を使用すべきである。コンディションドメディウムの使用あるいは共培養が避けられない場合は由来を明確にし、適正な品質管理又はその妥当性を示し、血清に準じた検討を考慮することが必要である。使用する血清、コンディションドメディウム並びにすべての成分を含有した培地の最終品については、各ロットにおいて無菌性及び目的とした培養に適していることを判定するための性能試験を実施する必要がある。その他、工程管理上必要と思われる試験、無菌試験、エンドトキシン試験等を行うべきである。

細胞を培養する場合の細胞自体からみた場合の関心事は、培養細胞の安定性である。どのような細胞培養であれ、所定の製造条件を超えて培養、増殖させた細胞について、培養前の細胞の特性を参考に、目的外の変化を起こしていないことを確認する必要がある。

2) 非細胞・組織成分と組み合わせる場合

1) 細胞・組織とともに最終製品の一部を構成する細胞・組織以外の原材料(マトリックス、医療材料、スキャフォールド、支持膜、ファイバー、ビーズ等)がある場合には、その品質及び安全性に関する知見について明らかにする必要がある。当該原材料の種類と特性、最終製品における形態・機能、想定される臨床適応の観点から見た品質、安全性及び有効性評価との関連を勘案して、必要な事項を選択し、適切な情報を提供する必要がある。事項としては、例えば、

(1) 物理的・化学的性質等

(①原料化学物質、添加剤、製造過程からの混入物、それらの残留量、②溶出物、③分解生成物、④当該原材料の性質、特徴を含む)

(2) 細胞毒性試験

(3) 感作性試験

(4)刺激性・皮内反応試験

(5)急性全身毒性試験

(6)亜急性毒性試験

(7)遺伝毒性試験

(8)エンドトキシン試験

(9)埋植試験

(10)血液適合性試験

などが挙げられる。生体吸収性材料を用いる場合には、分解生成物に関して、上記のうち必要な試験を実施する必要がある。なお、必要な試験等については、平成15年2月13日医薬審発第0213001号医薬局審査管理課長通知「医療用具の製造(輸入)承認申請に必要な生物学的試験の基本的考え方について」等を参照し、試験結果及び当該原材料を使用することの妥当性を示す必要がある。文献からの知見、情報を合理的に活用すべきである。

2) 目的とする細胞・組織との相互作用については、

- ① 非細胞・組織成分が、想定される臨床適応に必要な細胞・組織の機能、生育能力、活性及び安定性に悪影響を与えないこと。
- ② 非細胞・組織成分との相互作用によって起こり得る、細胞の変異、形質転換、脱分化等を考慮し、その影響を評価すること。
- ③ 細胞との相互作用によって、想定される臨床適応において非細胞・組織成分に期待される性質が損なわれないこと。

などについて、確認あるいは評価し、確認方法と結果を示す必要がある。

また、細胞・組織と適用部位を隔離する目的で非細胞・組織成分を使用する場合には、

- ① 免疫隔離の程度
- ② 栄養成分及び排泄物の拡散
- ③ 細胞由来の生理活性物質の膜透過キネティクスと薬理効果
- ④ 被適用者等由来の生理活性物質の細胞への有害作用
- ⑤ 栄養成分及び排泄物の拡散

などを念頭に置きながら、効果、安全性を確認す

る必要がある。

3) 細胞に遺伝子工学的改変を加える場合

細胞に遺伝子を導入して目的細胞を得ようとする場合は、

- ① 目的遺伝子の由来、入手方法、クローニング方法及び細胞バンクの調製方法、管理方法、更新方法等に関する情報
- ② 目的遺伝子の構造
- ③ 導入遺伝子の性質
- ④ 目的遺伝子産物の構造、生物活性及び性質
- ⑤ 遺伝子導入構成体(すなわち目的遺伝子を標的細胞に導入するための運搬体、目的遺伝子及びその機能発現に必要な要素をコードする塩基配列等から構成されるもの)を作製するために必要なすべての原材料、性質、手順(遺伝子導入用ベクターの由来、性質、入手方法等を含む作製過程)
- ⑥ 遺伝子導入構成体の構造や特性
- ⑦ ベクターや遺伝子導入構成体を作製するための細胞やウイルスのバンク化、バンクの管理方法

などに関する詳細な情報を示す必要がある。

遺伝子導入細胞の製造方法については、平成7年11月15日薬発第1062号厚生省薬務局長通知「遺伝子治療用医薬品の品質及び安全性の確保に関する指針について」の別添第2章等を参照すること。また、同通知の別記に準じて設定の妥当性等を説明する必要がある。

なお、「ヒトの細胞等」もしくは「分化する能力を有する、又は分化した細胞等であって、自然条件において個体に成育しないもの」以外の細胞等、「ウイルス」及び「ウイロイド」に対して遺伝子工学的改変を加える場合には、平成15年6月18日法律第97号(最終改正：平成19年3月30日法律第8号)「遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律」に基づく手続きが必要となるので留意すること。

3.2 製造工程

細胞・組織加工医薬品等の製造にあたっては、製造方法を明確にし、可能な限りその妥当性を検証し、品質の一定性を保持する必要がある。関連する事項例には以下のようなものが挙げられる。

- 1) ロット構成の有無とロットの規定
- 2) 細胞・組織の加工方法
- 3) 加工した細胞の特性解析
- 4) 最終製品の形態、包装等
- 5) 製造方法の恒常性
- 6) 製造方法の変更

ここで留意すべきポイントの1つは、自己由来細胞・組織加工医薬品等の場合、臨床的にはドナーは患者であるので、ドナー個々の状態によって原材料たる細胞・組織は必ずしも一様ではないということである。これが原材料たる細胞は例えばバンク化された均質な状態からスタートする同種移植の場合とは異なる。しかし、加工され、患者に適用される製品は可能な限り均質なものであることが当然望まれる。この意味では、自己細胞・組織加工製品の場合には均質な製品を恒常的に生産するために製造工程に依存する程度は極めて高いといえる。製品開発段階では、患者への投与を前提としない患者からの試験用試料の採取はなかなか困難であり、ボランティアからの試料(「試験的検体」)により製造工程の設定が行われることになるが、上記の点に配慮したrobustnessの高い製造工程の設定が望まれる。

(1) ロット構成の有無とロットの規定

製品がロットを構成するか否かを明らかにすること。ロットを構成する場合には、ロットの内容について規定しておく必要がある。ちなみにGMP省令で1ロットとは、“同一の製造期間内に一連の製造工程により均質性を有するように製造された製品の一群”をいう。多くの製品はロットを構成する。例えば自家培養表皮において、原料

となる自身の皮膚組織の採取も含め同一の製造工程で同時に10枚の製品が製造された場合にはこの10枚は同一ロットとみなすことができる。一方、別の部位、別の日時に採取された皮膚から製造された場合にはそれぞれが別ロットの製品となる。また、一連の培養工程で製造された製品とは別に、工程の途中で細胞をいったん凍結し、後日製品を製造した場合には別ロットの製品と考えるべきである。一方、1バイアルの製品のみが製造される場合にはロットを構成しない。

(2) 細胞・組織の加工方法

原材料となる細胞・組織の受け入れから最終製品にいたる加工の方法の概要を示すとともに、具体的な処理内容及び必要な工程管理、品質管理の内容を明らかにする必要がある。なお、確認申請段階と承認申請段階では、前者において、試験ロット数が限られていることや治験前で治験結果との照合が不可能である等の理由により、判定基準設定などが最終的に確定していないことはやむを得ない。細胞・組織利用医薬品等の製造工程は個々の製品や治療目的などによって非常に多様であろうと予測される。しかし、あらゆる場合や局面において常に基本とすべきは、目的細胞・組織の生存率や目的とする本質的な特徴(表現型、遺伝型、機能特性、細胞活性等)が保持あるいは獲得されており、また、細菌、真菌、マイコプラズマ、迷入ウイルスはもとよりその他の汚染物質により汚染されないことである。なお、細胞の生存率等に具体的な数値目標がある訳ではない。数値目標というより、品質の恒常性確保の観点からは、臨床試験で有効性及び安全性を確認した製品の品質と同等・同質のものが再現性よく製造されることが基本である。臨床的な有効性を発揮し、かつ安全性面での問題を生じさせないために必要な品質の規格項目の1つとして規定すればよく、目的とする細胞によって規格値は異なるものであり、超えなければならない一定の基準値があるわけで

はない。ただし設定値についてはその妥当性に関する相応の説明が必要である。ちなみに、FDAが発出したドラフトガイダンス(2003年)では細胞生存率では一応70%を目安としているが、「このレベルを達成できない場合、生存能力の規格が低くても、死亡した細胞と細胞残屑が、その薬剤の安全な投与や治療の効果に影響しないことを示すデータを提出すること」とされている。

1) 受け入れ検査

採取した細胞・組織について実施する受け入れのための試験検査の項目(例えば、採取収率、生存率、細胞・組織の特性解析、微生物試験等)と各項目の基準値を設定すること。確認申請段階にあつては、それまでに得られた試験検体での実測値を提示し、これらを踏まえた暫定値を示す必要がある。

なお、凍結保存期間や加工に伴う細胞培養の期間が長期に及ぶ場合には一定期間ごとに無菌試験を行うことが望ましい。この場合、一般にはマスターセルバンクやワーキングセルバンクの凍結細胞を解凍し、使用を開始する際に試験を行うのが合理的である。申請者が必要に応じて凍結保存期間中の試験を設定すればよいが、製造工程中の凍結保存期間が数週間程度のような場合には、通常不要と思われる。

2) 細菌、真菌、ウイルス等の不活化・除去

採取した細胞・組織について、その細胞生存率や表現型、遺伝型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、ウイルス等を不活化又は除去する処理を行うこと。この点に関する方策と評価方法について明らかにすること。

3) 組織の細切、細胞の分離、特定細胞の単離等

採取した細胞・組織から製品を製造する初期の過程で行われる組織の細切、細胞の分離、特定細胞の単離、洗浄等の方法を具体的に明らかにする

こと。特定細胞の単離を行う場合には、その確認方法について設定すること。

4) 培養工程

製造工程中に培養工程が含まれる場合は、培地、培養条件、培養期間、収率等を具体的に明らかにすること。この培養方法は、ロット間で再現性のある至適培養条件に関する検討結果あるいはその他適切な予備検討に基づき設定されることが考えられるが、定めた方法の妥当性を、可能な範囲で、適切なデータにより示すことが望ましい。目的細胞を何らかの方法で選択する場合にはその方法と根拠を明らかにする必要がある。

5) 細胞・組織加工の方法について

例えば、原材料となる細胞・組織に対して薬剤処理、生物学的特性の改変もしくは遺伝子工学的改変等の加工を施した場合には、その概要及び具体的な処理内容について明らかにすること。臨床上の使用目的、用法や製品設計の最適化等の理由により医療材料と治療用細胞とを組合わせて加工し、最終製品とした場合は、その内容と根拠について明らかにする必要がある。

6) 細胞のバンク化について

細胞・組織加工医薬品等の製造のいずれかの過程で、細胞をバンク化する場合には、その理由、セル・バンクの作製方法及びセル・バンクの特性解析、保存・維持・管理方法・更新方法その他の各作業工程や試験に関する手順等について詳細を明らかにし、妥当性を示すこと。ICH品質ガイドラインQ5D等を参考とすること。

7) 加工工程中の取り違え及びクロスコンタミ

ネーション防止対策について

自己細胞の加工にあたっては、加工工程中の取り違え及びクロスコンタミネーションの防止が重要であり、工程管理における防止対策を明らかに

すること。

8) 採取した細胞・組織の一部保管

製品の製造や治療の成否の検証、患者等が感染症を発症した場合等の原因究明のために、採取した細胞・組織の一部等の適当な試料について、適切な期間これを保存することを考慮すること。

(3) 加工した細胞の特性解析

加工した細胞について、加工に伴う変化を調べるために、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あるいは表現型の指標を解析するとともに、必要に応じて機能解析を行うこと。

また、培養期間の妥当性及び細胞の安定性を評価するために、予定の培養期間を超えて培養した細胞において目的外の変化がないことを示すこと。

加工細胞の特性解析のうち、遺伝型の具体的指標としては、例えば、染色体のバンディング解析、染色体のバンディング解析による(細胞特有の)マーカー染色体の検出、遺伝子多型を検出するためのDNA分析、遺伝子発現プロファイル、縦列型反復配列等がある。表現型では細胞特異的表面マーカー、フローサイトメトリーによる表現型の分布の測定、種特異的抗血清による解析、アイソザイム分析、各種細胞産生物質などが考えられる。これらは、本稿Ⅱ部の3.1(1)項の2)の原材料となる細胞等の特性解析指標ともなり得る。細胞加工前後の指標を比較することが、目的、目的外のいずれにしても、加工細胞の性質の変化について評価するのに有用な場合もある。遺伝子発現構成体が染色体に導入された組換え体細胞においては、そのコピー数、挿入と欠失、組み込み部位の数の測定や遺伝子発現構成体中の目的タンパク質をコードする部分の塩基配列が正しいことを立証するのも遺伝型に関する指標の1つである。また、目的タンパク質の発現も細胞特性の指標の1つである。その他、当該細胞に特有な指標も含めて、

適切に指標を選択する。細胞の培養による細胞の特性の変動、歪型細胞の過剰増殖の発生を防止し、均一な性質を持った細胞を得るためには、細胞表面抗原、細胞活性、機能特性のモニター、細胞培養のバリデーションを実施する必要がある。また、培養細胞の本質的な特徴(細胞表面抗原等の表現型、遺伝型、機能特性、細胞活性等)を安定に発現できる培養期間、有効保存期間を設定する必要がある。これらの解析結果は、本稿Ⅱ部3.3(2)項2)の確認試験や同5項の非臨床安全性試験の1)加工細胞の性質の変化の解析に関しても有用な基礎データとなる。

培養工程を経て製造される細胞・組織製品では、目的とする細胞の形質を得るために必要な培養期間(継代数)はそれぞれの製品ごとに異なるが、培養条件の避けがたい変動があったり、細胞の供給源が個々に異なっても設定した期間で万が一にも目的外の変化が起きるようなことがあってはならない。予定の培養期間を超えて培養した細胞について目的外の変化がないことを立証することは、設定した培養期間の妥当性と培養細胞の安定性を検証する基本的方策である。

(4) 最終製品の形態、包装等

最終製品の形態、包装等は、製品の無菌性及び純度を確保できるものでなければならず、その方策を明らかにすること。

(5) 製造方法の妥当性と恒常性

細胞・組織加工医薬品等の製造方法及び各工程の諸条件を定めるに至った根拠を示して、各工程の妥当性を明らかにしておくことは重要である。また、製品の製造工程を通じて、加工した細胞の生存率や製品の使用目的、適用方法等からみた特徴(表現型の適切な指標、遺伝型の適切な指標、機能特性、目的とする細胞の含有率等)が製品(ロット)間で本質的に損なわれないことをあらかじめ評価しておく必要がある。また、製品の無菌性及

び純度を確保するための方法についても明らかにする必要があります。製造工程由来の混入物及び分解物として検出対象とした物質、検出対象とした理由、検出に用いた試験方法、検出感度並びに試験結果についても明らかにすることが望まれる。製造工程の恒常性については製品の品質の恒常性を評価するための試験は、数回の試験製造において製造された製品の品質が本質的に損なわれないことを評価すればよい。しかし、重要中間製品や最終製品の特性を示す規格及び試験方法の設定は各ロット又は個別製品全てについて実施する必要があります。また、製造工程由来不純物等に関して、適宜、各ロット又は個別製品全てについて適切な工程内管理試験を設定する方が望ましいこともある。設定を考慮する必要があるのは、製品の品質に影響を与える工程が機能していることを評価すべき場合、あるいは最終製品での試験が感度面、試験操作の煩雑さ、時間面からみて合理的でないと考えられる場合などである。工程内管理試験は、細胞・組織加工医薬品等の製造工程で、細胞の品質、安全性確保と製造の一定性をモニターするためであるが、選択した試験項目、規格及び試験方法内容と設定根拠及び妥当性を明らかにする必要があります。

なお、自己由来製品の製造方法の妥当性と恒常性については、「試験的検体」を用いてあらかじめ評価・検証し、確認申請することになるものと思われる。

培養細胞の培養期間中の安定性については、本稿Ⅱ部の3.1(2)1)項を参照すること。

(6) 製造方法の変更

開発途中に製造方法を変更した場合、変更前の製造方法による製品を用いて得た試験成績を確認申請や承認申請に使用するとき、製造方法変更前後の製品の同等性/同質性を示すこと。

細胞・組織の採取から最終製品の製造に至る過程で製造方法、作業手順、工程内管理試験などを変更した場合には、細胞・組織加工医薬品等の特

性、品質、安定性、安全性、効力などに何らかの影響を及ぼす可能性が考えられる。したがって、製品の製造販売承認後に承認書に記載された製造方法を変更する場合、その変更がこれらにどのような影響を及ぼすかについて再度検証する必要がある。製造方法等の変更にあたっては、その内容の詳細を示し、適切なデータに基づいてその妥当性を明らかにする必要があります。どの程度の新たなデータが必要かについては、変更の程度、及ぼす影響を勘案しながらケース・バイ・ケースで定める必要があるが、主な製造工程等が変更される場合には、本稿で述べられている事項の多くを改めて検討し直す必要があるかもしれない。確認申請や承認申請資料に直接関係しない製品開発途上で製造方法変更については、関連情報の提供は必要としない。

3.3 最終製品の品質管理

(1) 総論

ヒト細胞・組織加工医薬品等の品質管理全体方策としては、最終製品の規格及び試験方法の設定、原材料の品質管理(適用ロットごと、あるいは自己製品では個別患者への適用ごとの管理となる場合がある)、製造工程の妥当性の評価/検証と一定性の維持管理の他、中間製品の品質管理を適正に行うこと等が挙げられる。各製品に採用したそれぞれの方法を示し、品質管理全体からみたその妥当性を明らかにする必要があります。

最終製品の規格及び試験方法については、原材料の品質管理とともに、対象とする細胞・組織の種類及び性質、製造方法、各製品の使用目的や使用方法、安定性、利用可能な試験法等によって異なると考えられるため、取り扱う細胞・組織によってこれらの違いを十分に考慮して設定する必要がある。また、原材料の品質管理、製造工程の妥当性の評価/検証と一定性の維持管理法、中間製品の品質管理等との相互補完関係を考慮に入れ

て、全体として品質管理の目的が達成されるとの観点から合理的に規格及び試験方法を設定し、その根拠を示す必要がある。なお、確認申請時には、製品の製造経験が豊富とは言えない場合も想定されること、申請の趣旨が治験を実施する製品の品質として問題がないとみなせることを確認するものであることなどから、無菌性やマイコプラズマの否定など必須なものを除き、必ずしも厳密に設定された最終的な品質規格である必要はない。重要なことは、治験後に臨床成績と品質の関係性を論ずるために必要な品質特性項目を明らかにしておくことである。これらの品質特性項目については、少数の(試験的)検体の実測値をもとにその変動をしかるべき範囲内に設定する暫定的な規格及び試験方法を設定することでもやむを得ない。少数の(試験的)検体とは、3～5人程度から得た検体でもやむを得ないことを指す。自己由来製品の開発段階のように実際の患者由来の細胞・組織を用いたデータを得ることが困難な場合は、健康ボランティア等からのモデルとしての「試験的検体」を原材料として得たデータを用いてもよい。その場合には患者由来の細胞・組織を用いた場合へ外挿することの妥当性について説明が必要である。

規格及び試験方法を含む品質管理法は治験の進行とともに充実・整備を図る必要がある。

(2) 最終製品の品質管理法

最終製品について、以下に示す一般的な品質管理項目及び試験を参考として、必要で適切な規格及び試験方法を設定し、その根拠を明らかにすること。

合理的な品質管理法を設定するため、ロットを構成しない製品の原材料及び最終製品等の場合と、ロットを構成するものの場合に分けて考える。ロットを構成しない製品を製造する場合は個別製品ごとに、ロットを構成する製品を製造する場合には、通常、各個別製品ではなくロットが品質管理の対象となるので、これを踏まえてそれぞれ適

切な規格、試験方法を設定すること。

同種由来ヒト細胞・組織加工医薬品等の多くはロットを構成する製品である。したがって、ロットごとにその使用目的や使用方法にどうか否かを判断できるよう、原材料、最終製品等、さらには必要に応じて中間段階の製品について適切な品質規格、出荷基準等を設定し、管理する必要がある。

ロットを構成しない細胞・組織加工医薬品等については、ロットごとの品質管理法とは異なり、個別製品ごとにその使用目的や使用方法にどうか否かを判断できるよう、原材料、最終製品等、さらには必要に応じて中間段階の製品について適切な品質規格、出荷基準等を設定し、管理する必要がある。

これらの点を踏まえ、以下に示す一般的な品質管理の項目及び試験を参考にそれぞれに必要な試験項目を選択し、適切な規格及び試験方法を設定する必要がある。選択した試験項目、試験方法、規格等についてはその妥当性や設定根拠をデータを基に説明する必要がある。

最終製品レベルにおける規格及び試験方法の例としては、

- 1) 回収率並びに生存率
 - 2) 確認試験
 - 3) 細胞の純度試験
 - 4) 細胞由来の目的外生理活性物質に関する考慮
 - 5) 製造工程由来不純物試験
 - 6) 無菌試験及びマイコプラズマ否定試験
 - 7) エンドトキシン試験
 - 8) ウイルス等の試験
 - 9) 効能試験
 - 10) 力価試験
 - 11) 力学的適合性試験
- などが挙げられる。

これらの、品質管理試験において比較対象物質を必要とする試験の場合には、定性、定量、力価測定など目的に叶う適切な標準物質が必要である。エンドトキシンなど標準品が公的に設定、供給されているものはこれを使用すること。公的な標準

物質以外のものについては、使用目的からみた品質及び管理方法の妥当性を示す必要がある。

1) 回収率並びに生存率

得られた細胞の数と生存率は、細胞採取及び製造工程全体が適切に実施されたか否かの指標の基本となるため、試験は最終製品等及び必要に応じて適切な製造工程の製品で測定する必要がある。なお、確認申請段階では、少数の(試験的)検体での実測値を踏まえた暫定規格を設定することでもよい。

2) 確認試験

目的とする細胞・組織の生化学的指標、免疫学的指標、特徴的産生物質、その他適切な遺伝型あるいは表現型の指標を選択して、目的とする細胞・組織であることを確認する必要がある。

細胞・組織採取や製造工程における取り違えを否定することは安全性を確保する際の最も重要な項目の1つである。したがって、定められた手順で工程管理を厳格に行い、最終製品等が最初の原材料たる細胞・組織に由来したものであることを確認すること。また、加工により意図的に表現型や遺伝型を改変した場合には、適切な指標を用いて目的とする細胞・組織加工医薬品等であることを確認すること。

また、輸送や保存解凍に伴い細胞が変化する可能性が完全に否定できない場合には、これをチェックする試験の設定を考慮すべきである。

3) 細胞の純度試験

目的細胞以外の異常増殖細胞、形質転換細胞の有無や混入細胞の有無等の細胞の純度について、目的とする細胞・組織の由来、培養条件等の製造工程等を勘案し、必要に応じて試験項目、試験方法、判定基準を示す必要がある。なお、確認申請段階では、少数の(試験的)検体での実測値を踏まえた暫定規格を設定することでもよいと思われる。

細胞の純度は、目的とする細胞集団がどの程度

均一に調製されているかどうかを試験することにより評価するという捉え方もできる。これは形態学的観察、生化学的手法、フローサイトメトリー等により調べる必要がある。試験項目、試験方法・手順、判定基準については、選択理由、設定根拠、妥当性などを示す必要がある。しかし、これは、場合によっては、細胞・組織の確認試験とオーバラップするところもあるので、細胞の純度という項目にとらわれず、他の試験項目との相互補完関係の中で、全体として適切な品質管理試験が設定できればよいとする。一方、下記に示すような細胞純度に関する問題点が明らかに想定される場合には、実施可能な範囲において、混入が予想される細胞を検出するための試験及び評価を行うことが望まれる。例えば、多くの細胞継代作業を経た細胞は内在性の増殖因子非依存性の表現型に形質転換する可能性が考えられる。もし細胞が成長因子依存性であり、2週間以上培養するのであれば、悪性腫瘍細胞や形質転換細胞の因子非依存性の増殖を試験するために、人体への投与以前に増殖因子の非存在下で適当な期間、細胞の一部を培養し試験するべきである。また、数継代を経て培養された細胞・組織加工医薬品等の中に、目的以外のタイプの細胞の汚染や生成がないことを保証するための適切な試験を実施することが望ましいこともある。さらに、目的の形質以外の細胞の混入が想定される場合、その比率を明らかにするとともに、その臨床上的意義並びに危険性について明らかにすることが望まれる。

4) 細胞由来の目的外生理活性物質に関する試験

細胞由来の各種目的外生理活性物質のうち、製品中での存在量如何では患者に安全性上の重大な影響を及ぼす可能性が明らかに想定される場合には、適切な許容量限度試験を設定する必要がある。最終製品におけるロットごとの純度試験が必要か否かは、プロセス評価の成績、工程内管理試験の実施状況などとの兼ね合いによる。

5) 製造工程由来不純物試験

原材料に存在するか、又は製造過程で非細胞・組織成分、培地成分、資材、試薬などに由来し、製品中に混入物、残留物、あるいは新たな生成物、分解物等として存在する可能性があるもので、かつ品質、安全性面からみて望ましくない物質等(例えば、培地に使用されるウシ胎児血清由来のアルブミンや抗生物質、細胞・組織を分散する目的で使用した酵素等)については、適切な試験を設定し、その存在を否定するか、又は存在許容量を規定する必要がある。試験対象物質の選定や規格値の設定にあたっては、当該物質の除去に関するプロセス評価や当該物質に対する工程内管理試験の結果を考慮するとともに、設定の妥当性について明らかにする必要がある。

確認申請段階では、少数の(試験的)検体での実測値を踏まえた暫定規格を設定することでもよい。

アルブミン等、製造工程由来不純物量の存在許容量は製品ごとに異なる。確認申請の段階ではヒトに対する各不純物の安全性は不明な場合も考えられるが、不純物については製造工程で可能な限り減らすよう製造工程を検討する必要がある。確認申請においては非臨床試験、文献・報告、国内外における類似品等の情報等に基づき可能な限りその安全性と許容量について考察する必要がある。その上で、確認申請段階では実測値をもとに暫定値をおきつつ、治験中に暫定値の妥当性についても評価していくことが望ましい。

6) 無菌試験及びマイコプラズマ否定試験

最終製品について、患者に適用する前に無菌性(一般細菌、真菌否定)を試験により示すべきである。また、適切なマイコプラズマ否定試験を実施する必要がある。一般に無菌試験及びマイコプラズマ否定試験は、日本薬局方に従って実施する。他の試験法を用いる場合、試験法の妥当性を示す必要がある。マイコプラズマ否定試験については、日本薬局方の趣旨にのっとりまず2試験法を選択

する必要がある。製造工程中でのモニターや最終製品の暫定的出荷判定には短時間で実施可能なPCRによる検出法を用いることも考えられるが、正式な判定は日本薬局方に従い行うことになる。細胞・組織加工医薬品等の無菌試験は、最終製品を患者に注入する約24時間前位までに実施するべきであると思われる。しかし、最終製品の無菌試験等の結果が、患者への投与後にしか得られない場合には、投与後に無菌性等が否定された場合の対処方法をあらかじめ設定しておくべきである。また、この場合、中間製品で無菌性を試験により示し、最終製品に至る工程の無菌性を厳密に管理する必要がある。さらに、あらかじめモデル検体を用いて全製造工程を通じて無菌性を確保できることを十分に評価しておく必要がある。また、以前に他の患者への適用例がある場合には、全例において試験により無菌性が確認されていること。ロットを構成する製品で密封性が保証されている場合には、代表例による試験でよい。自己由来製品のように適用ごとに試験を実施する必要がある場合で、無菌試験等の結果が患者への投与後にしか得られない場合には、適用の可否は直近のデータを参考にすることになるが、この場合でも最終製品の無菌試験等は必ず行う必要がある。

抗生物質は細胞培養系で極力使用しないことが望まれるが、万一、使用した場合には、無菌試験に影響を及ぼさないよう処置する必要がある。すなわち、抗生物質が汚染している微生物の生育を阻害しないように適当に希釈するか、他の処理を行った後、無菌試験に供するよう注意を払わなければならない。

7) エンドトキシン試験

エンドトキシンによる汚染のないことを適切な試験法により示す必要がある。試料中の夾雑物の影響を考慮して試験を実施すること。また、原料となる細胞や最終製品で試験を行うことのほか、工程内管理試験として設定することも考えられる。

後者の場合、パリエーションの結果を含めて基準等を設定すること。試験の実施要領は、日本薬局方 参考情報 エンドトキシンに従う。この際、試料中の夾雑物の影響を考慮して試験を実施することが必要である。規格値は必ずしも実測値によらず、日本薬局方で示されている最終製品の1回投与量をもとにした安全域を考慮して設定すればよいと考えられる。

なお、日本薬局方の参考情報で注射剤のエンドトキシン規格値は、K/Mで設定され、Kは発熱を誘起するといわれる体重1kgあたりのエンドトキシン量(EU/kg)であり、静脈内投与の場合は5.0 EU/kg以下、髄腔内投与の場合は0.2 EU/kg以下とされている。また、Mは体重1kgあたり1時間以内に投与する注射剤の最大量とされている。なお、Mの単位は、投与量が製剤の容量に基づく場合はmL/kg、主薬の質量に基づく場合はmg/kg、主薬の生物学的単位に基づく場合は単位/kgで表される。

8) ウイルス等の試験

HBV, HCV, HIV等のヒト由来のウイルス等については、細胞・組織採取時にドナーに対する検査を行うが、製造工程中に増幅の可能性がある場合には、中間製品、最終製品等について存在量に関する試験を実施する必要がある。また、製造工程中で生物由来成分を使用する場合には、最終製品で当該成分由来のウイルス否定試験の実施を考慮すべき場合もあるかもしれない。しかし可能な限り、もとの成分段階での試験やプロセス評価で迷入が否定されていることが望ましい。

9) 効能試験

幹細胞、リンパ球、遺伝子改変細胞、その他の細胞など、臨床使用目的や特性に応じた適切な効能試験の実施を考慮すべき場合もある。なお、確認申請段階では、少数の(試験的)検体による実測値を踏まえた暫定規格を設定することでもよい。

10) 力価試験

細胞・組織から分泌される特定の生理活性物質の分泌が当該細胞・組織加工医薬品等の効能又は効果の本質である場合には、その目的としている必要な効果を発揮することを示すために、当該生理活性物質に関する検査項目及び規格を設定すること。遺伝子を導入した場合の発現産物又は細胞から分泌される目的の生成物等について、力価、生産量等の規格を設定すること。なお、確認申請段階では、少数の(試験的)検体による実測値を踏まえた暫定規格を設定することでもよい。

11) 力学的適合性試験

一定の力学的強度を必要とする製品については、適用部位を考慮した力学的適合性及び耐久性を確認するための規格を設定すること。なお、確認申請段階では、少数の(試験的)検体による実測値を踏まえた暫定規格を設定することでもよい。

4. 細胞・組織加工医薬品等の安定性

製品化した細胞・組織加工医薬品等又は重要な中間製品について、保存・流通期間や保存形態を十分考慮して、細胞の生存率、力価等に基づく適切な安定性試験を実施し、貯法及び有効期限を設定し、その妥当性を明らかにする必要がある。特に凍結保管、解凍を行う場合には、凍結及び解凍操作による製品の安定性や規格への影響がないかを確認するべきである。また、必要に応じて標準的な製造期間を超える場合や標準的な保存期間を超える長期保存についても検討し、安定性の限界を確認する必要がある。ただし、製品化後直ちに使用するような場合はこの限りではない。

また、製品化した細胞・組織加工医薬品等を運搬する場合には、運搬容器、運搬手順(温度管理等を含む)等を定め、その妥当性について明らかにする必要がある。

各試験において用いたロット数の妥当性を明らかにする必要がある。これは、通常の医薬品の場合と異なり、多数のロットからの安定性試験成績が得られないケースを想定している。極端には、申請資料作成時まで、とりあえず1ロットしか安定性試験に使用できない場合もある。生産規模、ロットの規定、臨床試験計画などから当面1~2ロット程度しか生産しないことも十分に考えられるので、その旨の事情説明が必要ということである。

5. 細胞・組織加工医薬品等の非臨床安全性試験

製品の特性及び適用法から評価が必要と考えられる安全性関連事項について、技術的に可能であれば、科学的合理性のある範囲で、適切な動物を用いた試験又は *in vitro* での試験を実施する必要がある。一方、適宜、文献的知見等より非臨床安全性について考察、説明することが可能で、合理的であれば、そうしたアプローチを活用して評価することも妥当であると考えられる。なお、非細胞・組織成分や製造工程由来の不純物等については、可能な限り、理化学的分析法により評価すべきである。ちなみに理化学的分析法とは、生物学的試験に対置する用語である。すなわち、細胞やまるごとの動物 (*in vitro* や *in vivo*) を用いた試験ではなく、液体クロマトグラフィーやイムノアッセイなど一般的な分析法でのアプローチを指している。

ヒト由来の試験用検体は貴重であり、またヒト由来の製品を実験動物等で試験して必ずしも意義ある結果が得られるとは限らない。したがって、動物由来の製品モデルを作製し適切な実験動物に適用する試験系により試験を行うことで、より有用な知見が得られると考えられる場合には、そのようなアプローチの方がむしろ科学的合理性があるかもしれない。場合によっては動物細胞を用い

る試験系も考えられるかもしれない。このようなアプローチにより試験を行った際には、その妥当性を明らかにする必要がある。

以下には必要に応じて非臨床的に安全性を確認する際の参考にすべき事項と留意点の例を示した。これらは例示であって、合理性のない試験の実施を求める趣旨ではなく、製品の特性等を考慮して適切な試験を検討することを推奨するという趣旨に基づくものである。

- (1) 培養期間を超えて培養した細胞について、目的外の形質転換を起こしていないことを明らかにすること。
- (2) 必要に応じて細胞・組織が産生する各種サイトカイン、成長因子等の生理活性物質の定量を行い、生体内へ適用したときの影響に関して考察を行うこと。
- (3) 製品の適用が患者等の正常な細胞又は組織に影響を与える可能性について検討、考察すること。
- (4) 製品、導入遺伝子の発現産物等による望ましくない免疫反応が生じる可能性について検討、考察すること。
- (5) 製造工程で外来遺伝子の導入が行われている場合には、平成7年11月15日薬発第1062号厚生省薬務局長通知「遺伝子治療用医薬品の品質及び安全性の確保に関する指針について」に定めるところに準じて試験を行うこと。特に、ウイルスベクターを使用した場合には増殖性ウイルスがどの程度存在するかを検査するとともに、検査方法の適切性についても明らかにすること。また、導入遺伝子並びにその産物の性状について調査し、安全性についての説明を行うこと。細胞については、増殖性の変化、腫瘍形成及び癌化の可能性について考察し、説明を行うこと。
- (6) 動物由来のモデル製品を含めて製品の入手が容易であり、かつ臨床上の適用に関連する有用な安全性情報が得られる可能性がある場合には、合理的に設計された一般毒性試験の実

施を考慮すること。

なお、一般毒性試験の実施にあたっては、平成元年9月11日薬審1第24号等「医薬品の製造(輸入)承認申請に必要な毒性試験のガイドラインについて」の別添「医薬品毒性試験法ガイドライン」等を参照すること。

製品の特性及び臨床適用法を念頭においた安全性評価が必要であるとする第1の趣旨は、非臨床安全性試験の実施にあたって一律の試験が必要ということではなく、製品の特性及び臨床適用法から勘案して、必要と思われる安全性関連事項に着目して試験の実施を考慮するべきということである。これはある製品の開発を目指し、製品の特性及びその適用の関係について最も熟知している製造業者が可能な限り安全な製品を患者に供するという視点に立ち、それぞれのケースに応じて考えるべきことであって、一般的な回答が存在しているというものではない。開発側、評価側いずれにも挑戦的な領域であり、技術的に不可能なこと、科学的に非合理的なことを求めている訳ではないが、将来に向けて有用な知見や経験を蓄積していきたいところでもある。必要度の高さや内容面から言えば、例えば生体における本来の成長・修復機能から離れ、いわゆる補充療法的な使用から乖離するほど、それを念頭においた非臨床試験成績に基づく評価の必要度が高いと考えられる。すなわち、本来当該部位に存在しない細胞の種類や成熟段階のものを移植する場合は、非臨床試験の内容の範囲や実施をより広くより深く考慮する必要性が高い。また、多分化能を有する幹細胞(ES細胞)等は、体細胞と比較して腫瘍化の可能性が高いとも思われるので、それに配慮した試験を計画する必要があると考えられる。

なお、確認申請時には、その趣旨が、当該製品の治験を開始するにあたって支障となる品質、安全性上の大きな問題があるかどうかの評価にあることを考慮して、製品の臨床上の有用性や治験開始の必要度の高さとの関係において実施した非臨床安全性試験の内容の範囲や必要度の妥当性を合

理的に説明できることが重要である。さらに承認申請に必要な非臨床安全性試験は治験の進行度に応じて実施するという方策も考えられる。この点に関しては、医薬品医療機器総合機構の相談を活用することが推奨されている。

試験法のうちでは、造腫瘍性試験に関心が高い。遺伝子改変細胞や幹細胞(ES細胞)を用いる場合の留意点はすでに述べたが、本試験を全製品一律に課すのは合理的ではないと思われる。例えば自己由来細胞で文献上の知見や類似品の使用経験などから造腫瘍性が考えにくいものについては、培養期間を超えて培養した細胞について、目的外の形質転換を起こしていないことを明らかにすることでよいと考えられる。

6. 細胞・組織加工医薬品等の効力又は性能を裏付ける試験

細胞・組織加工医薬品等の効力又は性能を裏付ける試験に関する主な留意点は以下のとおりである。

- (1) 技術的に可能かつ科学的に合理性のある範囲で、実験動物、細胞等を用い、適切に設計された試験により、細胞・組織加工医薬品等の機能発現、作用持続性、医薬品・医療機器として期待される効果を検討すること。
- (2) 遺伝子導入細胞にあつては、導入遺伝子からの目的産物の発現効率、発現の持続性、導入遺伝子の発現産物の生物活性、医薬品等として期待される効果等を検討すること。
- (3) 適当な動物由来細胞・組織製品モデルや疾患モデル動物がある場合には、それを用いて治療効果を検討すること。
- (4) 確認申請段階では、当該製品の効力又は性能による治療が他の治療法と比較したとき、はるかに勝れて期待できることが国内外の文献や知見等により合理的に明らかにされれば、必ずしも詳細な実験的検討は必要とされない。

なお、非臨床試験により細胞・組織加工医薬品等としての用法・用量設定の根拠を提示する中で、細胞数の設定はどのように行えばよいかという点については、通常の医薬品開発と同様に、非臨床試験の結果から、ヒトに投与した場合の安全性、有効性を検討したうえで設定すればよいと思われる。

7. 細胞・組織加工医薬品等の体内動態

製品を構成する細胞・組織及び導入遺伝子の発現産物について、技術的に可能で科学的合理性がある範囲で、実験動物での吸収、分布等の体内動態に関する試験等により、患者等に適用された製品中の細胞・組織の生存期間、効果持続期間(導入遺伝子の発現産物の持続期間を含む)を推測し、目的とする効果が十分得られることを明らかにすること。とくに当該細胞・組織が特定の部位(組織等)に到達して作用する場合には、その局在性を明らかにすること。

8. 臨床試験

確認申請の際の安全性の評価は、有効性との比較考量により行われるものであり、細胞・組織加工医薬品等の予定している国内の治験計画について以下の項目を踏まえて評価する必要がある。

- (1) 対象疾患
 - (2) 対象とする被験者及び被験者から除外すべき患者の考え方
 - (3) 細胞・組織加工医薬品等の適用を含め、被験者に対して行われる治療内容
 - (4) 既存の治療法との比較を踏まえた臨床試験実施の妥当性
 - (5) 現在得られている情報から想定されるリスクやベネフィットを含め、被験者への説明事項の案
- なお、臨床試験は、当該細胞・組織加工医薬品

等の目的とする細胞の由来、適用方法、対象疾患、対象疾患に対する既存の治療法等を踏まえて適切にデザインする必要があるが、必ずしも比較臨床試験でならなければならないというものではない。例えば、自己細胞・組織を採取部位と同じ部位に異所的でなく適用する場合で、評価指標が明らかであるような場合には、必ずしも比較臨床試験を実施する必要はない。

III. 確認申請の記載要領等

当初、述べたように、「旧指針」については、自己と同種由来製品における品質及び安全性確保のために必要な基本的要件の書き分け、確認申請に必要な基本的要件の明確化、確認申請の記載要領の提示、指針の記載や内容に関する理解や解釈に関する関係者間での共通化の推進、などに留意した改訂作業が続けられている。表1には、「自己由来製品に関する新指針(案)」の、表2には確認申請の記載要領の主な目次を示している。表2をみると基本的には表1で示した新指針(案)の項目に対応した項目が挙げられている。しかし、新指針案が製品における品質及び安全性確保のために必要な基本的要件の内容や背景となる考え方を示しているのに対し、後者では、申請資料に添付すべき資料に焦点をあて、記載要領を示しているという違いがある。

前項までに詳細に述べていない事項で、確認申請資料に記載すべき主な事項、申請に際しての留意事項、及び報告事項等は以下のとおりである。

1. 起源又は発見の経緯及び外国等における使用状況について

1.1 開発の経緯

製品の概略を示し、対象とする疾患に関する知