

応時間は3分で行った。細胞から得られた糖ペプチド分画の水溶液(50 µl)をAGC-2に導入し、得られたムチン型糖鎖を回収し凍結乾燥した。上記操作により遊離されたムチン型糖鎖の凍結乾燥物に2AAおよびNaBH₃CNをそれぞれ3%の濃度で含む2%ホウ酸/4%酢酸ナトリウム/メタノール溶液(100 µl)を加えて80°Cで1時間加温した。反応後SephadexLH-20のゲルろ過クロマトグラフィーにより最初に溶出される蛍光性画分を回収し細胞由来の糖鎖とした。

B-3-4 N-結合型糖鎖の遊離と蛍光標識

総タンパク質分画をSDS、2-メルカプトエタノール、NP-40を1%ずつ含むリン酸緩衝液(pH 7.5、50 µl)で懸濁した後、N-glycanase F(2 unit)を加え、37°Cで12時間酵素反応を行った。反応後、冷エタノール(50 µl)を加え12000 gで15分間遠心分離し上清を濃縮乾固した。回収した試料に2アミノ安息香酸およびNaBH₃CNをそれぞれ3%含む2%ホウ酸/4%酢酸ナトリウム/メタノール溶液を100 µl加えて80°Cで1時間加温した。反応後SephadexLH-20のゲルろ過クロマトグラフィーにより最初に溶出される蛍光性画分を回収し細胞膜タンパク質由来N結合型糖鎖とした。

B-3-5 セロトニンアフィニティークロマトグラフィーによる糖タンパク質糖鎖の分画

ポンプにはJASCO PU-980型、検出器にはJASCO FP-920型蛍光検出器を使用し、流速0.5 mL/minで分析した。カラムはLA-Serotonin(Japan Oil Mills, 4.6 x 150 mm)を用い、カラム温度は25°Cとした。検出は励起波長(Ex) 350 nm、蛍光波長(Em) 425 nmにより行った。移動相の溶液Aには水、溶液Bには50 mM酢酸アンモニウム水溶液

を用いた。グラジエント条件は、試料注入後2分間溶出液B 5%とし、溶出液Bが37分後に75%となるように直線グラジエント溶出を行い、その後10分間で溶出液Bが100%となるようにした。

B-3-6 順相分配型 HPLC による糖タンパク質糖鎖の分析

カラムにはShodex NH2P-50 4E(4.6 mm x 250 mm、昭和電工)を用い、溶離液Aを2% CH₃COOH/CH₃CN、溶離液Bに5% CH₃COOH、3% Triethylamine/H₂Oを用いた。溶出は70%の溶離液Aによりあらかじめ平衡化した後、80分で溶離液Bが95%となるように直線グラジエント溶出を行った。また、検出は励起波長350 nm、蛍光波長425 nmで蛍光検出した。

B-3-7 キャピラリー電気泳動による N-結合型糖鎖の分析

装置にはBeckman MDQ(Beckman Coulter)を用い、キャピラリーはDB-1キャピラリー(内径100 µm、全長40 cm)、緩衝液は10%PEG70000を含む0.1 M トリスホウ酸緩衝液(pH 8.3)を用いた。印加電圧は25 kV、カラム温度は25°C、試料注入は加圧法(1 psi)により5秒間とした。また、検出はヘリウムカドミウムレーザー励起蛍光検出(励起325 nm、蛍光405 nm)で行った。

B-3-8 MALDI-TOF MS

装置にはAXIMA-Resonance(Shimadzu製)を用い、リニア/ポジティブイオンモードにより測定した。試料はDHB/メタノール溶液と等量混合し試料プレート上で風乾させた。

B-4 未承認製品の品質・安全性

Table 4 に掲げる欧米の各研究機関の担当者にインタビューを実施するとともに、出版物・インターネット上にある情報を収集した。

B-5 品質・非臨床データの最低要件

欧州医薬品庁 (EMA) の先端医療委員会 (CAT, Committee for Advanced Therapies) の事務局にインタビューを実施すると同時に、出版物・インターネット上にある情報を収集した。

(倫理面への配慮)

ヒト由来の生体試料を用いる場合は、試料提供者に一切不利益、危険性が伴わないように配慮し、人権擁護を含めたインフォームドコンセントのもとに採取された試料を使用するとともに、研究目的を含め、研究内容の倫理的、科学的妥当性について適正な倫理委員会等による審査・承認を得た上で研究を実施した。

C. 研究結果

C-1 ヒト多能性幹細胞の臨床応用における課題(1)

C-1-1 ヒト胚の提供に関わる問題点

ES 細胞作成の「原材料」となるヒト胚に関してはヒト由来組織の利用という観点からの倫理的問題と、安全性確保にかんする技術上の問題の二つについて適切な基準を設定する必要がある。

C-1-1-1 指針上の問題点

ヒト ES 細胞の作成はこれまで文科省指針である「ヒト胚性幹細胞の樹立及び分配に関する指針」により行われている。臨床

研究に用いるヒト ES 細胞の作成も原則としてこの文科省指針と同様の基準で行うことが妥当であると考えられる。文科省指針はこれに基づき作成された ES 細胞を医療に利用することを禁じるものではないが、基本的に基礎研究を想定した指針になっており、たとえば細胞株の分配は ES 細胞の使用研究指針 (文科省) に従い届け出のあった研究計画に対してのみ可能とされている。臨床研究を実施する研究機関は文科省指針に従いすでにヒト ES 細胞研究を行っている場合がほとんどであると考えられるため、文科省指針に基づき作成された細胞株であっても、臨床利用が不可能とするわけでは必ずしもないと言える。いずれにせよ基礎から臨床に至るまで細胞株を途切れることなく使用できる環境を整備することが、ES 細胞の臨床利用に必要な不可欠である。そのためには、これまでに作成されている細胞株に関しても、それ自体、あるいはそれに由来する中間段階の製品や最終製品の安全性に関わる適切な管理基準を定めたいえで臨床利用を可能とすべきである。

C-1-1-2 インフォームド・コンセント (IC) に関わる問題

凍結胚の提供の同意を得るために必要となる説明内容は文科省指針に規定されており、基本的には同様の説明がなされれば問題ないと考えられる。説明の際に臨床目的や医薬品製造などへの利用が将来的に想定されることが説明文書等に記載されていれば、同意書の項目として「臨床利用に同意」を設定する必要性はないと考えられる。

C-1-1-3 凍結胚の安全性に関する問題

凍結胚の提供者は体性幹細胞の臨床利用

などで想定されるドナーとは本質的に異なり、その病歴は ES 細胞の安全性に直接影響する感染症や遺伝性疾患等を除いては必ずしも必要不可欠なものではない。また、不妊治療の患者は通常 HCV,HIV などの感染についてスクリーニングされており、凍結胚のこれらのウイルスによる汚染の可能性は相当に低いと言える。その一方で、凍結胚の提供の手続きは不妊治療終了後に開始されるため、求められる検査項目等を完全に満たしていないケースもあり得る。

上記に加え不妊治療で用いられる手技は医療機関ごとにまちまちであり、またたとえば用いた薬品類のロットなどの記録が不完全である場合も予想される。

これらを考慮して、凍結胚については品質管理基準をあらかじめ一律にかつ厳格に設定することは適切でなく、個々の事例について合理的に判断されるべきである。

C-1-1-4 匿名化に関する問題

ドナーと提供された組織の連結可能性が求められる理由のうち大きなものとして、提供後にドナーが何らかの疾患を発病した場合に、レシピエントへの対応が必要となる場合が想定されていることがある。たとえば、遺伝性疾患を発病したような場合が挙げられるだろう。しかしながら ES 細胞の場合はドナーと胚は遺伝的には親子関係にあり、連結可能とする必要性はほとんど存在しない。よってドナーと ES 細胞の連結情報を保持する必要性は乏しい。

C-1-2 ES細胞株の樹立と培養に関する問題

以下に培養技術上の問題点をあげる。

C-1-2-1 胚培養と細胞株樹立

ES 細胞株の樹立、凍結胚の解凍・培養、

胚盤胞からの内部細胞塊の単離、内部細胞塊の培養と株化、のステップから構成される。

凍結胚を解凍し胚盤胞まで培養する工程は胚を提供する医療機関により異なる可能性があり、またそれぞれの医療機関でとられている手法をそのまま導入することになる。そのため、品質管理が困難な試薬等が使用されている場合も想定される。個別に評価することが必要になるだろう。

内部細胞塊の単離には、抗血清や動物補体を用いた免疫手術法や機械的に分離する手法などが用いられている。機械的分離法が好ましいと考えられるが、免疫手術法など他の方法も排除されるべきではない。一般に樹立過程ではマウス繊維芽細胞などをフィーダーとして用いることで、効率よく細胞株を作成することができると考えられている。一旦樹立された細胞株は、後述するようなフィーダーフリーでの培養が可能であると考えられる。これら、動物由来成分・細胞などを用いる場合の安全性確保については、後工程での品質管理により担保する方法が有効であると考えられる。

C-1-2-2 完全合成培地によるヒト ES 細胞の培養

ES 細胞の医療利用には培養行程の品質管理が重要である。従来は FBS や純度の低いヒトを含めた動物由来成分などを含む培養液が用いられてきたが、これらは品質管理の観点から様々な問題があるため、化学合成品や組換えタンパク質を使用することが望ましいと考えられる。このような目的でこれまでに様々な合成系培養液が開発され、市販品としても流通している。hESF9 (Cell Science & Technology Institute)、

mTeSRTM1 (Stemcell Technologies)、StemPro hESC SFM (Invitrogen)、HESc-GRO (Millipore)などが代表的なものである。

今回我々はこれらの培養液についてその性能の評価を行った。

それぞれの培養液について、数継代~10継代程度の培養を行い、未分化状態の維持を形態的に判別した。mTeSR1とStemPro培養液については比較的安定的に未分化性を維持した培養は可能であったが、他の培養液について、用いる細胞株により、分化傾向が認められ、安定に培養できない場合があった。株毎に適切な培地を選択することで培養が可能になると考えられる。培養基質については、ヒト細胞を用いるものその他、多くでマウスガン細胞由来のマトリックスが使用されており、これらを原材料としての適合性の検討、代替物の開発などが必要である。

C-1-2-3 感染性物質の混入の可能性

原材料レベルであるいは樹立培養過程で用いられた原材料が規定を満足していることを示せない可能性が考えられる。またマウスなど異種細胞をフィーダーに使用した履歴がある場合も考えられる。しかしながら、その後十分な品質管理下で一定期間培養後に、ウイルス検査をおこなう、またマウスゲノムの混入について否定試験で示されたならば、マウス細胞をフィーダーとして培養した履歴があっても問題はないと考えられる。

C-2 ヒト多能性幹細胞の臨床応用における課題(2)

C-2-1 多能性幹細胞について

「ヒト幹細胞を用いる臨床研究に関する指針」はヒト幹細胞を用いた臨床研究を対象としており、この適応となるヒト幹細胞は、ヒトから採取された細胞又はそれより由来する細胞で多分化能と自己複製能力を有する細胞である。造血系幹細胞や間葉系幹細胞などの体性幹細胞及びそれらを含む細胞集団が主な対象となる。分化能力の観点から体性幹細胞は外胚葉、中胚葉、内胚葉の三胚葉系組織全てに分化する能力を持つとする報告は無いものの、胚葉を越えて様々な細胞へ分化することができ可塑性も示すものが存在することが報告されている。体性幹細胞は多分化能性 (Multipotency) 幹細胞である。一方、ES細胞やiPS細胞は三胚葉系組織全てに分化する能力を持ち、体性幹細胞より高多分化能性 (Pluripotency) を持つ幹細胞である。更に、ES/iPS細胞は適切な培養環境下では無限に増殖可能な自己複製能を持つ。細胞治療を主とした再生医療の確実な成功には、大量の正常な細胞を獲得することが要求され増殖能の高いES/iPS細胞は大いに期待される。高多分化能性 (Pluripotency) を保持したまま無限に増殖可能なES/iPS細胞は生物学的性質としては非常に興味深く、より臨床に根ざした医科学研究領域でも非常に有用なツールであると考えられるが、細胞治療などの再生医療へ応用する場合ES/iPS細胞が高い多分化能性及び自己複製能を持つが故に含有する腫瘍化などの問題を考慮し臨床研究 (First in Man) の際には、体性幹細胞とは若干異なる評価が必要である。

C-2-2 ES/iPS細胞を用いる臨床研究の現状 (制度)

ES/iPS 細胞を用いる細胞治療の臨床研究を行うに当たっては、薬事法の下で確認申請ののち治験を行う方法と臨床研究により First in Man trial を行う場合が想定される。現段階において医師法の範囲内で行われるヒト幹細胞臨床研究を対象とする「ヒト幹細胞を用いる臨床研究に関する指針」では ES 及び iPS 細胞に関する規制要件は示されていないが、「ヒト ES 細胞加工医薬品等の品質及び安全性の確保に関する指針案（中間報告）」と自己及び同種に関する「ヒト iPS（様）細胞加工医薬品等の品質及び安全性の確保に関する指針案（中間報告）」のヒト多能性幹細胞を用いた再生医療へ向け指針案の中間報告が提出された。

基礎研究及び臨床応用に関しても iPS 細胞を先導する形で進んでいる ES 細胞に関して報告する。わが国ではヒト ES 細胞を用いる細胞治療に対して薬事法上の治験届けがなされたものは無く、臨床研究に関しても指針が策定中である。国際的にみると、ヒト ES 細胞樹立が報告されて 10 年後の 2008 年に国際幹細胞学会（ISSCR）が ES 細胞を含むヒト幹細胞を用いる臨床研究に関するガイドライン（Guidelines for the Clinical Translation of Stem Cell Research）を公表した。

C-2-3 ES/iPS 細胞を用いる臨床研究の現状（応用）

ヒト ES 細胞株由来細胞による臨床研究に関しては、既に米国 Geron 社による ES 細胞株由来オリゴデンドロサイト（Oligodendrocyte）前駆細胞による脊髄損傷患者への臨床研究に対して米国 FDA が IND として承認を与えている。第二例目

として米国 ACT（Advanced Cell Technology）社がヒト ES 細胞株由来網膜色素上皮細胞を用いる遺伝性黄斑ジストロフィー（シュタルガット病）に対する臨床研究を申請中である。

C-2-4 ES/iPS 細胞を用いる臨床研究の課題

十分な治療効果と安全性を担保した細胞治療にとって重要な課題は、治療に足る十分な細胞数を得ることであり、その細胞と細胞由来製品調製工程では品質管理と追跡可能性が確保され、各種の汚染等を防いで良質な細胞を提供しなければならない。通常自己移植利用が多く保存を必要とするケースが極めて少ない体性幹細胞とは異なり、ヒト ES/iPS 細胞は基本的に未分化幹細胞のマスター細胞バンクが必須であり、また、細胞治療に供する製品の実質的製造原料細胞基材となる ES/iPS 細胞株由来細胞（幹細胞または前駆細胞）あるいは適切な中間体のセルバンク化も不可欠である。バンク化する細胞は規格化された明確な基準に則って、目的の機能をもつ十分量の細胞を創出することを保証しなければならない。ヒト多能性幹細胞の場合、培養で未分化状態を維持されている性質と細胞調製工程でも細胞の品質を迅速に評価する品質管理施策を策定することは重要である。細胞は品質検査（染色体核型解析、特異マーカー解析（RNA からタンパク質レベル）や生物学的特徴評価も含めた細胞機能性評価、網羅的遺伝子発現プロファイリング、CGH などのゲノム安定性評価、エピジェネティクス（DNA メチル化）解析などがあり、最近では糖鎖に関してもアレイやチップ等による網羅的な解析や細胞の糖鎖プロファイル解

析の有用性も報告されている。エピジェネティック解析ではヒストンタンパク質の修飾解析も幹細胞の特異性を見出す解析として汎用化されてきている。また、細胞由来製品として応用する細胞集団から不適切な細胞を除去する方法を確立することも重要である。未分化細胞のままでは治療に適さないことがあり、分化誘導した細胞を細胞治療ツールとして用いる方が適切であることが多い。適切な細胞集団を抽出していくにはポジティブセレクションによる方法で現時点での最善の方法により選択していくべきである。

C-3 新規細胞特性評価法の検討

C-3-1-1 細胞グリコサミノグリカン鎖の解析

糖タンパク質糖鎖のうちタンパク質のアスパラギン残基に結合するN結合型糖鎖の解析については、コアタンパク質よりN-グリカナーゼFにより糖鎖を切断し、2-アミノピリジン(2-AP)や2-アミノ安息香酸(2-AA)で蛍光標識化しHPLCやMSを解析する手法が広く浸透している。一方、O-結合型糖鎖の解析は、アルカリ還元法によりO-結合型糖鎖を遊離し、HPLCやMSにより解析する方法が一般的である。しかしながら同じO結合型糖鎖でも、GalNAcを介しコアタンパク質に結合するムチン型糖鎖とXylを介しコアタンパク質に結合するGAG型糖鎖は、糖鎖の物理化学的な特性の違いから、分離分析については異なる手法を用いて行われてきた。一方、我々はムチン型糖タンパク質からO結合型糖鎖を切り離し分析する方法を開発している。我々はその研究過程で、幸運にもムチン型糖タンパク質の糖鎖切り離しに加えてプロテオグ

リカン(PG)中のグリコサミノグリカン(GAG)鎖も効率よく切り離されることを発見した。そこで、本年度は我々の研究室で開発した高速糖鎖自動切断装置“AutoGlycoCutter (AGC)”とセロトニンアフィニティークロマトグラフィーを組合わせたムチン型糖鎖の比較糖鎖プロファイリング技術をPG型糖鎖解析へ応用を図った。

C-3-1-2 培養細胞のO-結合型糖鎖の解析

最初にウシフェツイン由来ムチン型糖鎖とヒアルロン酸オリゴ糖混合物をモデル試料として、ムチン型糖鎖とGAG型糖鎖のセロトニンアフィニティークロマトグラフィーによる分離について検討した。結果をFig.1に示す。ウシフェツイン由来ムチン型糖鎖のうち、シアル酸を1残基持つシアリルT (NeuAc α 2-3Gal β 1-3GalNAc)が8分、シアリルTのGalNAc6位に更にシアル酸1残基が付加したシアル酸を2残基持つジシアリルT (NeuAc α 2-3Gal β 1-3[NeuAc α 2-6]GalNAc)が15分に観察された。一方、ヒアルロン酸オリゴ糖は15分~30分の間に4糖から順に重合度の小さなものから観察された。セロトニンアフィニティークロマトグラフィーは弱イオン相互作用により糖タンパク質糖鎖をシアル酸残基数の違いにより分離できる手法であるが、GAG型糖鎖のようなカルボキシル基や硫酸基を持つ糖鎖とも相互作用し、分離分析に応用できることがわかった。

次にヒト大腸癌細胞HCT116のO結合型糖鎖混合物についてセロトニンアフィニティークロマトグラフィーによる分画を試みた。結果をFig.2に示す。その結果、3分~16分の間にシアル酸残基数の異なるムチン型糖鎖と考えられる6つのピークが観察さ

れた。一方、1M NaCl の溶出により 22 分～26 分に GAG 型糖鎖と考えられるピークが観察された。観察された各ピークを分画し、順相 HPLC とキャピラリー電気泳動により分析した。

順相 HPLC では、M1～M6 の全ての分画においてムチン型糖鎖が観察された (Fig.3, Table 1)。M1 分画ではムチン型 Core2 構造を持つ 4 糖 (Gal β 1-3[Gal β 1-4GlcNAc β 1-6]GalNAc) を主とし、さらにラクトサミンユニット (Gal β 1-4GlcNAc) が 1~2 ユニット付加したオリゴ糖が観察された。M2 分画では Core2 骨格を持つ 4 糖のいずれかの Galactose 残基に N-アセチルノイラミン酸が付加したモノシアロオリゴ糖を主とし、これらのオリゴ糖にさらにラクトサミンユニットが 1~2 ユニット付加したオリゴ糖が観察された (Fig.3, Table 1)。M3 分画では約 20 分にシアリル T 抗原糖鎖 (NeuAc α 2-3Gal β 1-3GalNAc) が観察され、シアリル T 抗原糖鎖に N-acetylglucosamine が付加したオリゴ糖の含量が最も高かった。10 分以降に溶出された M4～M6 のうち、M4 分画は、N-アセチルノイラミン酸と Galactose から構成されるオリゴ糖であり、AGC においてピーリング反応により生じた分解物であった (Fig.3, Table 1)。一方、M5 と M6 分画のオリゴ糖はいずれも N-アセチルノイラミン酸を 2 残基持つジシアロオリゴ糖であり、M5 は Core2 骨格を持つ 4 糖およびさらにラクトサミンユニット 2 ユニットが付加した 6 糖の非還元末端に N-アセチルノイラミン酸を 2 残基持つオリゴ糖であった (Fig.3, Table 1)。一方、M6 はシアリル T 抗原糖鎖 (NeuAc α 2-3Gal β 1-3[NeuAc α 2-6]GalNAc) が主要なオリゴ糖であった。一方、1M NaCl

によって溶出される 20 分以降の分画にはムチン型糖鎖は全く観察されなかった。

1M NaCl によって溶出される 20 分以降の分画は、脱塩濃縮後、3 種類の GAG 型糖鎖加水分解酵素を組合わせて不飽和二糖とし蛍光標識化して、キャピラリー電気泳動法による 2 糖組成分析を実施した。Fig.4a に HCT116 細胞由来の 1M NaCl 溶出分画を Chondroitinase ABC により消化し、蛍光標識後 CE により分析した結果を示す。また、フェログラム上で観察された各不飽和二糖の構造を Fig.5 に示す。不飽和二糖標準品の分析結果との比較、および標準品の添加実験により各ピークを同定した結果、12 分付近のピークは硫酸基を持たない Δ di-HA および Δ diCS-0S、7 分付近のピークは硫酸基を 1 残基有する Δ diCS-4S および Δ diCS-6S、そして 5 分付近のピークは硫酸基を 2 残基有する Δ diCS-SE であった。また、Heparitinase 1 および Heparitinase 2 の同時消化で得られた HS 由来の不飽和二糖を CE により分析した結果 (Fig.4b)、15 分に硫酸基を持たない Δ diHS-0S が、7 分に硫酸基を 1 残基有する Δ diHS-NS、 Δ diHS-6S、 Δ diHS-2S が、4.5 分に硫酸基を 2 残基有する Δ diHS-S1、 Δ diHS-S2、 Δ diHS-S3 が、そして 3.7 分に Δ diHS-TriS が観察された。以上の結果、HCT116 では硫酸基を持たない Δ diCS-0S や Δ diHS-0S により構成される GAG 鎖を多く含むと考えられた。培養癌細胞をはじめとする生体試料から抽出したサンプルを解析する際、試料由来と考えられる不純物のピークなどが観察され、ピークの同定や定量が困難となることが多い。しかし、セロトニンアフィニティークロマトグラフィーにより分画された GAG 糖鎖分画では培養癌細胞由来の GAGs 不飽和二糖を高精度に解析できた。なお、ムチン型糖鎖分画 (M1～

M6)を酵素消化し 2 糖組成分析した結果、GAGs 由来不飽和 2 糖のピークは観察されなかったことから、セロトニンアフィニティークロマトグラフィーを用いることで、培養癌細胞由来の O-結合型糖鎖群からムチン型糖鎖と GAGs を簡便に分画できることがわかった。また得られた各分画について NP-HPLC、MALDI-TOF MS、CE および各種酵素消化を組み合わせることで培養癌細胞中のムチン型糖鎖と GAG の両方を含む O-結合型糖鎖混合物を一挙に定量的かつ網羅的に解析できた。

C-3-2-1 新規細胞特性解析技術としての細胞表面糖鎖の適用可能性の検証

本項目では我々が既に開発済みの細胞の糖鎖解析技術の精度を評価するとともに、10 種類のヒト培養癌細胞をモデルとしてアスパラギン結合型糖鎖の比較糖鎖プロファイリングをキャピラリー電気泳動法を用いて行い、糖鎖を指標とする新規細胞特性解析技術としての適用可能性を検証し、細胞表面糖鎖マーカーの有用性と限界等も検討した。

C-3-2-2 ヒト胃腺癌細胞 MKN45 の N-結合型糖鎖の解析と解析精度

細胞表面の糖鎖を指標としてヒト幹細胞や多能性幹細胞の評価基準を策定するためには、広く一般的に用いられる糖鎖解析技術を利用して、細胞表面の糖鎖を解析し、その精度を明らかにするとともに、実行可能性の範囲を明らかにしなければならない。本研究では、糖鎖解析技術の精度について評価するため、ヒト胃腺癌細胞 MKN45 を 3 ロットに分けてそれぞれ培養し、各ロットから N-結合型糖鎖分画を調製し、各分画をキャピラリー電気泳動法により分析した。

結果を Fig.6 に示す。MKN45 には 50 種類以上のアスパラギン結合型糖鎖が発現していることが報告されている。キャピラリー電気泳動において観察されたピークのうち、細胞の種類に係わらず発現が認められるピーク a のモノシアロ糖鎖、ピーク c~e のハイマンノース型の M6、M7、M8 糖鎖と MKN45 に特徴的に発現するピーク b の過フコシル化糖鎖の相対ピーク面積比を算出した。なお、相対ピーク面積比はピーク a~e の総ピーク面積に対する各ピーク面積値とした。Table2 に示すように、各ピークの相対面積比の相対標準偏差 (RSD) は何れも 8%以下であり、各糖鎖の発現量は細胞ロットの違いによって変動しないことがわかった。以上の結果から、同一細胞中の糖鎖発現パターンは細胞固有であり、ロットを変更しても高い再現性で観察できることがわかった。また、今回検討した糖鎖解析技術を用いれば、細胞の糖タンパク質糖鎖を精度よく定量的に評価できることが示された。

C-3-2-3 セロトニンアフィニティークロマトグラフィーによる N-結合型糖鎖の分画の比較解析

10 種類の細胞の N-結合型糖鎖を LA-Serotonin カラムにより、シアル酸残基数に基づいて分画した結果を Fig.7 に示す。また、各分画の相対比と総糖鎖量をピーク面積値として Fig.8 にまとめた。最初に観察される主要なピークはハイマンノース型糖鎖およびシアル酸を持たない複合型糖鎖であり、5 分以降にシアル酸を非還元末端に持つ複合型糖鎖がシアル酸残基数に従い溶出された。得られたクロマトグラムから各細胞のハイマンノース/アシアロ糖鎖およびシアロ糖鎖の相対比を比較すると、HL-60、Panc1、HCT-15 を除く 7 種類の細胞ではハ

イマンノース/アシアロ糖鎖分画が 30～40%であったのに対し、HL-60、Pancl、HCT-15 では 50%以上がハイマンノース/アシアロ糖鎖であった。また、LS174T と MKN45 ではモノシアロ糖鎖が全体の 15%以上と高い含量を占めた。一方、100 万細胞から得られた N 結合型糖鎖総量を比較すると、U937、K562、Jurkat、HL-60 などの血球系細胞は発現する糖鎖量が他の 6 種類の上皮系細胞に比べ低いことがわかった。以上のように、細胞種ごとにシアロ糖鎖の発現量は大きく異なり、相対量だけでなく、その絶対量も細胞種ごとに大きく異なることがわかった。

C-3-2-4 細胞表面 N 結合型糖鎖の比較解析

セロトニンアフィニティークロマトグラフィーによる分析により、細胞種ごとに発現する N-結合型糖鎖量と糖鎖非還元末端のシアル酸修飾が大きく異なることがわかった。しかしながら、糖鎖解析技術を細胞特性解析技術として適用するためには、発現糖鎖パターンの細胞間での比較から細胞の特性を識別できるか否かを明らかにしなければならない。そこで、10 種類の癌細胞の N 結合型糖鎖をキャピラリー電気泳動法により分析し、それらの発現糖鎖パターンを比較した。結果を Fig.9 に示す。膵臓癌細胞である Pancl と BxPC3 については 15～20 分に観察されるハイマンノース型糖鎖は同様のパターンを示したが、BxPC3 では 20 分前後に特徴的なアシアロ複合型糖鎖が観察された。また、Pancl は BxPC3 に比べ、10 分前後のシアロ糖鎖が複雑なパターンを示した。大腸癌細胞である LS174T と HCT15 については 7分から 13 分付近に観察されるシアロ糖鎖のパターンが大きく異なり、また LS174T は 20 分以降のアシアロ複合型糖

鎖の含量が高いことが特徴的である。分化度の異なる 2 種類の胃腺癌細胞である MKN45 と MKN7 ではアシアロ複合型糖鎖以外のハイマンノース型糖鎖とシアロ複合型糖鎖のパターンが著しく異なっていた。特に、MKN7 では 5～10 分までのシアル酸含量の高い高分岐のトリシアロ、テトラシアロ糖鎖の含量が高かった。一方、4 種類の血球系細胞については、7分～14 分までのシアロ糖鎖のパターンが大きく異なり、HL-60 ではシアロ糖鎖含量が最も低いのに対し、U937 と Jurkat では多様なシアロ糖鎖の存在が伺えた。このように、細胞に発現する糖タンパク質糖鎖は、細胞種によって異なるだけでなく、同じ起源の癌細胞であっても、悪性度や分化度の違いなどにより発現する糖鎖パターンは大きく異なることがわかった。

C-3-2-5 細胞表面 N 結合型糖鎖の発現量比較

細胞由来の糖鎖はシアリルルイス X など、細胞の識別等に利用できる糖鎖も発現している。そこで、セロトニンアフィニティークロマトグラフィーで分画した各分画を MALDI-TOFMS を用いて解析し、バイセクティング GlcNAc を持つ糖鎖、Gal-GlcNAc の繰り返し構造を持つポリラクトサミン型糖鎖、硫酸基を有する糖鎖の発現の有無を 10 種類の細胞で比較した (Table 3)。バイセクティング GlcNAc は Jurkat を除くすべての細胞で観察され、癌細胞に恒常的に発現していることがわかった。ポリラクトサミン型糖鎖は MKN7 を除くすべての細胞で観察され、特に HL-60 では発現量が高いことが特徴的であった。一方、硫酸基を持つ糖鎖は HCT-15 と LS174T の 2 種類のみで観察された。以上のように、細胞の糖鎖として

特異的なレクチンや糖鎖認識抗体などによって認識できる特徴的な糖鎖についても、細胞の種類や分化度の違いにより特徴的なパターンを示すことがわかった。

C-4 未承認製品の品質・安全性

C-4-1 米国のコンパッションエート・ユース

米国では販売未承認の製品の臨床での使用を可能にする制度がいくつかある。これはあくまで例外的な措置であって、基本的には研究ではないものの、臨床試験として FDA に登録する必要がある。これらの制度は広い意味ではいわゆるコンパッションエート・ユースに相当するが、米国では“Compassionate Use”は狭義には、個人ないし少人数の患者への販売未承認の製品の例外的使用を認める制度である Single Patient IND (Individual Patient IND) (医薬品・生物製剤) および Single Patient/Small Group Access (医療機器) を指す。

C-4-1-1 医薬品・生物製剤

C-4-1-1-1 Emergency Use IND (緊急使用 IND)

21 CFR 312.36 にもとづく措置で、通常の 21 CFR 312.23 および 312.34 に従った IND 申請を行う時間がない緊急時に FDA が試験的な医薬品の使用を承認する制度。進行中の臨床試験プロトコルの被験者基準に合致しない患者、あるいは承認を受けた臨床試験が存在しない場合にも適用される。適用を受けようとする場合には医師は迅速な手段で FDA (生物製剤の場合は CBER) に連絡をする。当該製品の輸送・使用に関する承認は FDA 担当から電話で

伝達されることもある。

C-4-1-1-2 Treatment Use (未承認医薬品の治療目的使用)

21 CFR 312.34 にもとづく措置。他に同等もしくは満足な治療薬ないし治療法が存在しない患者の、重篤で生命の逼迫した病態に対し、販売未承認の医薬品が臨床試験段階にある場合があり、臨床試験の結果次第では、治療プロトコル(treatment protocol)ないし治療 IND (treatment IND) に従って、臨床試験プロトコル外の患者にも使用することが認められる。この制度は、有望な新薬を通常の販売承認よりも前の、可能な限り開発段階の早い時期から、重篤な疾患の患者が利用できるようにするためのものであり、当該医薬品の安全性や有効性についての追加的なデータを得ることも目的としている。重篤な疾患に対しては、本制度は通常、有効性・安全性を示す予備的根拠が揃う第 III 相臨床試験中か臨床試験がすべて完了した段階で適用されことになるが、適切と判断されるならば第 II 相試験の段階でも適用されうる。生命の逼迫した疾患に対しては、第 III 相試験よりも早い段階で適用されうるが、第 II 相試験よりも早い段階での適用は通常ありえない。この制度で言う Treatment Use には試験中の診断薬の使用も含まれる。また、セーフガードとしてインフォームドコンセントや施設倫理委員会 (IRB) の承認などが必要で、IND 安全性報告書を提出する必要がある。

C-4-1-1-3 Single Patient IND (Individual Patient IND, 個人患者 IND)

個人患者に使用する目的で販売未承認の

医薬品を得るためにも IND 申請が必要となる。その場合には医師はまず、当該医薬品の供給に関して医薬品製造業者の意思確認を行う必要があり、合意が成立した後、FDA に対して IND を提出しなければならない。緊急の場合には、上記 Emergency Use IND の制度を利用するが、緊急でない場合には、書面で IND 申請を行う。後者を Single Patient IND (または Individual Patient IND) という。Single Patient IND 申請には、

- 1) Emergency Use IND 申請か Single Patient IND 申請かの判断
- 2) 患者の症状・治療歴・治療効果・申請の必要性の説明 (他の選択肢等)
- 3) 治療計画
- 4) 製造法および品質管理関連 (CMC) の情報および薬理・毒性関連情報
- 5) インフォームドコンセント
- 6) 治療担当医の資格
- 7) FDA1571 様式 (IND 申請書)
- 8) 連絡先 (電話・FAX 番号)

に関する情報が必要となる。

C-4-1-2 医療機器

通常、販売未承認の医療機器は、一定の基準を満たしたヒトを対象とする承認済みの臨床試験を通じて、被験者に対してのみ使用される。また、そうした医療機器は、臨床試験に参加する臨床医によって、承認済みの試験プロトコルに従ってのみ使用される。しかし、医療製品業者には、患者の生命を救うため、あるいは他に治療法のない重篤な疾患・病態にある患者を支えるため、販売未承認の医療機器の使用を決意するような状況に置かれるようなことがあ

りうる。こうした状況に直面した患者および医師は、FDA が規定する 4 種の仕組み、すなわち i) Emergency Use, ii) Compassionate Use (Single Patient/Small Group Access), iii) Treatment Use, iv) Continued Access のいずれかを通じ、試験中の医療機器にアクセスすることができる。

C-4-1-2-1 Emergency Use (緊急使用)

承認済みの臨床試験計画にはない方法で、または臨床試験に参加していない医師により、試験中の医療機器を使う必要が生じた場合は、緊急の事態とみなされる。販売未承認の医療機器の Emergency Use は IDE 承認前でも承認後でもありうる。Emergency Use を実施するための要件は、

- 1) 命が危険にさらされている、または重篤な疾患・病態にあること
- 2) 他に治療の選択肢がないこと
- 3) FDA の承認を得る時間がないこと

が挙げられる。臨床試験中にプロトコル外の患者の命が危険にさらされ、かつインフォームドコンセントも取れないほど逼迫した状況にあるというのは、特殊なケースであり、インフォームドコンセントを免除するための特殊な規定に合致していなければならない。これに加えて、施設倫理委員会 (IRB) や試験に参加していない医師により、審査され承認される必要がある。また、申請者は緊急使用のための IDE 申請を別途 FDA に提出しなければならない。なお、インフォームドコンセントの免除の条件は、21CFR 50.24 に記されている。

C-4-1-2-2 Single Patient/Small Group Access (個人患者 / 小集団適用, Compassionate Use)

臨床試験の基準に合致しない患者 (または数名の患者集団) だが、担当医師がその患者の疾患・病態の治療・診断に有益だと判断した場合、試験中の医療機器を当該患者に使用するための規定である。基本的には個人患者に適用されるが、患者の小グループに対して適用されることもありうる。Single Patient/Small Group Access の要件は、

- 1) 重篤な疾患・病態にあること
- 2) 他に治療の選択肢がないこと

が挙げられる。

実施のタイミングは臨床試験が進行中の時となる。この規定により未承認医療機器を使用する場合には、申請者が事前に IDE サプリメントを FDA に提出する。IDE サプリメントには、

- 3) 患者の容態と治療を必要とする状況
- 4) 他の方法では不十分である理由および試験中の機器を使用することにより予想されるリスクが疾患・病態の予想されるリスクよりも大きくはないという理由
- 5) 当該患者を治療するためには、承認済み臨床プロトコルの中でどの点を変更すべきか
- 6) 患者を保護するために従うべき措置 (インフォームドコンセント、IRB 議長の同意、施設からの許可、関与しない医師からの独自の評価、IDE 申請者からの承認)
- 7) 対象患者数

が記載されていないなければならない。

なお、医師は FDA からの機器使用の承認があるまでサプリメントに記載のある患者の治療をしてはならない。また、フォローアップの報告を、患者の治療成績に関する概要を示した IDE サプリメントという形で FDA に提出しなくてはならない。

C4-1-2-3 Treatment Use (未承認医療機器の治療目的使用)

21 CFR 812.36 にもとづく措置。臨床試験が進行中または販売承認の最終判断が下りる前に実施される。

IDE 承認においては、臨床施設の最大数および被験者の最大数が決められている。ただし、臨床試験の途中で、対象機器の有効性を示唆するデータが出た場合、命が危険にさらされているか重篤な疾患をもつ患者を追加して試験を拡大することができる。 そのためには、

- 1) 患者の命が危険にさらされている、または重篤な疾患・病態にあること
- 2) 他に同等ないし十分な治療の選択肢がないこと
- 3) 管理の行き届いた臨床試験であること
- 4) 申請者が販売承認を目指していること
- 5) 承認された臨床試験の妨げにならないこと

という要件が満たされなければならない。絶望的な病気にある患者に可能な限り早く有望な新規医療機器を提供できると同時に、追加の安全性・有効性データを得ることが可能となる。Treatment Use としての使用は、重篤な疾患の場合には通常、すべての臨床試験が済んでから可能となるが、命が危険にさらされている場合 (放置すれば数

か月以内に死亡する可能性または夭逝する可能性のある場合)にはすべての臨床試験が終了しなくても可能となる場合がある。なお、この制度で言う Treatment Use には試験中の診断用機器の使用も含まれる。Treatment Use のためには申請者が FDA に対して Treatment IDE (治療 IDE) 申請をする必要がある。FDA は申請受理から 30 日以内に結論を下す。Treatment IDE の承認を受けた場合、当該機器を使用する医療従事者は「研究者」とみなされ、21 CFR 812 (IDE の規定)、21 CFR 50 (インフォームドコンセントの規定)、21 CFR 56 (施設内倫理委員会による審査の規定) に従わなければならない。また、Treatment IDE の申請者は販売承認が下りるまで、Treatment Use 実施施設のすべてと FDA に対し、半ば定期的に成果報告書を提出しなければならない。販売承認が下りた後は、成果報告書を定期的に (最低でも 1 年に 1 度) を提出するとともに、他の報告書に関しても IDE の規定(21 CFR 812.150)に従って提出する。

C-4-1-2-4 Continued Access (継続使用)

未承認医療機器の臨床試験が完了した後、申請者による販売承認申請の準備中ないし FDA による販売承認の申請中に当該機器が使用可能にする目的で、FDA は臨床試験の参加者の登録継続を許可することができる。これを Continued Access (継続使用) という。その要件として、

- 1) 公衆衛生上の必要性があること、または
- 2) 当該機器が有効であり安全上の重大な懸念がないという予備的な証拠があること

の 2 点が必要とされる。Continued Access 販売承認申請を申請者が準備している間、もしくは機器評価室が審査している間に臨床試験への登録継続を行うことを「試験延長」(extended investigation)と言う。試験延長により、患者および医師は当該機器を使用することができ、追加の安全性・有効性データを得て、販売承認を支持したり当該機器に関する新たな課題を提供したりすることができる。Continued Access には Continued Access Policy (継続使用政策: Continued Access to Investigational Devices During PMA Preparation and Review, 1996 年 7 月, D96-1/ODE/CDRH/FDA) が適用され、申請者は試験継続の請求を IDE サプリメントとして提出しなければならない。IDE サプリメントに記載すべき情報としては、

- 1) 継続の妥当性
- 2) IDE の下で得られた予備的な安全性・有効性データの概要
- 3) 当該機器によって生じるリスクに関する簡単な考察
- 4) 登録継続の予定規模 (施設数および参加者の数)
- 5) 元々の臨床試験のプロトコールとの違いと継続時の研究目的
- 6) 当該機器の販売承認/許可の取得に関する申請者側の状況に関する簡単な考察

が必要となる。Treatment IDE の規制と Continued Access Policy とはかなり重複がある。Treatment IDE は、有効性・安全性に関して有望な証拠が IDE による臨床試験で得られれば臨床試験の早期に申請できるため、IDE の早い段階で広範囲の患者に

機器を提供することができる。ただし、Treatment IDE の規制は Continued Access よりも適用範囲が狭く、生命が危機的ないし重篤な疾患・病態である場合のみを対象としている。一方、臨床試験の終了後に適用される Continued Access Policy は、あらゆる臨床試験が対象となる。

C-4-1-2-5 HDE (人道機器適用免除)

米国内で州を越えた流通を介して製造・販売される細胞・組織加工医療機器 (351HCT/P) については、原則的には連邦政府 (FDA) からの販売承認を受けなければならない。これを市販前承認申請 (Premarket Approval, PMA) という。ただし、希少疾病・障害のために使用する医療機器の開発促進策として、Humanitarian Device Exemption (人道機器適用免除, HDE) という制度がある (21 CFR 814.100-126)。HDE は正確にはコンパッションネート・ユースではなく、販売承認の一種であり、どちらかというところオーファンドラッグ開発促進策に近いものであるが、対象疾患が希少疾病ならば有効性の立証を免除して、すなわち通常の医療機器の承認要件を緩和したうえで販売承認を行うという点で、コンパッションネート・ユース制度の思想と重なる部分が多い。

米国内で年間 4 千人以下が罹患ないし発症する病気または状態の治療または診断において患者にとって有益で、他に有効な機器が存在しない医療機器は人道用機器 (HUD, Humanitarian Use Device) と呼ばれている。このような稀な疾患に対する医療機器の開発の費用は、患者の数が少ないゆえに売り上げによって回収することが

難しいことから、政府による開発振興策が講じられている。HUD 指定は Office of Orphan Products Development (OOPD) で行われる。HUD として販売するためには、HDE (人道機器適用免除) 申請を CDRH に提出し、承認を得なければならない。HDE 申請は内容的に PMA 申請に類似しているが、PMA にある有効性に関する要件の適用を免除され、予想されるベネフィットの説明で代えることができる点が特徴的である。HDE 申請では機器の適用について有効性を合理的に立証する臨床試験結果は必要とされない。ただし安全性についての評価は必要で、機器によって不合理または明らかでない病気・障害のリスクに患者をさらすようなことがないこと、想定されるベネフィットが病気・障害のリスクを上回ること、現在利用可能な機器や代替治療法のリスク・ベネフィットを考慮すること、が必要とされる。従って、安全性評価に関しては IDE 下での臨床試験 (治験) を実施する必要がある。他に HDE に特徴的なこととして、使用される医療施設の倫理委員会 (IRB) の承認が必要であることが挙げられる (21 CFR 814.124)。HDE の審査期間は 75 日以内と規定されている。

機器が HDE 承認を受けていれば、患者へのインフォームドコンセントは要求されない (ただし、承認されているが効果は立証されていないこと、および HUD であることを表示する義務がある)。また、HUD の使用量については、定期報告の義務がある。

なお HUD の製造については QSR 準拠が原則であるが、免除請求が可能で、FDA の判断で QSR 準拠を免除されることがある。

食品医薬品化粧品法 (FD&C Act) 第 520 条(m)項 (21 USC 360j) によって、HUD は実費以上の値段で販売して利益を得ることは禁止されている。機器あたり 250 米ドル以上請求する場合には、個別口座による報告、責任者が開発費等を超えないことを証明する必要がある。ただし、2007 年小児用医療機器安全性・改善法 (The Pediatric Medical Device Safety and Improvement Act of 2007, Public Law 110-85) により、小児の患者ないし小児の集団への適用を目的とし、2007 年 9 月 27 日以降に承認された HUD については、既定の出荷数を超えない範囲で利益目的に販売しても構わない。

HDE に関する更なる詳細は Draft Guidance for HDE Holders, Institutional Review Boards (IRBs), Clinical Investigators, and FDA Staff - Humanitarian Device Exemption (HDE) Regulation: Questions and Answers (2008 年 8 月) に記されている。

C-4-2 EU の例外的制度

EU では、医薬品の 1 類型として先端医療医薬品 (ATMP, advanced therapy medicinal product) というものがあり、これには、遺伝子治療薬、体細胞治療薬、組織工学製品が含まれる。細胞・組織を利用した製品のうち、自己、同種または異種の生きた細胞を含み、その細胞に「実質的加工」(細胞の機能または特性の改変、例えば、培養、活性化、機器・足場との複合化など) を施したもので、一定の工程で、工業的 (大規模・反復的) に製造したものであり、かつその作用の主様式が細胞の生化学的・免疫学的・代謝的機能によるものならば「体

細胞治療薬」と呼ばれ、作用の主様式が細胞の物理的・構造的機能によるならば「組織工学製品」と分類される。しかしながら米国とは違って、いずれにしても、医薬品として規制を受け、販売承認に関しては欧州医薬品庁 (EMA) による中央審査を受ける必要がある。

EU 加盟国内でヒト細胞・組織加工医療製品 (体細胞治療薬ないし組織工学製品) を EU 加盟国の製造承認ならびに EMA の中央審査による販売承認の枠外で使用する根拠としては、Regulation (EC) No 1394/2007 Article 28 にある「病院免除」“Hospital Exemption”がある。また、ATMP に限らず広く販売未承認の医療製品に適用される使用の例外規定として、Directive 2001/83/EC Article 5 (1) を根拠とする「特別免除」“Special Exemption” (National Compassionate Use, Named Patient Exemption) および Regulation (EC) No 726/2004 Article 83 (1) を根拠とする “Compassionate Use” がある。広義には “Special Exemption” もコンパッショネート・ユースである。

Hospital Exemption は対象疾患に応じて適用されるものではなく、製造・対象患者の規模によって適用されるものであり、コンパッショネート・ユースとは異なる。

C-4-2-1 コンパッショネート・ユース (Reg (EC) No 726/2004 Article 83 (1))

Regulation (EC) No 726/2004 Article 83 (1) を根拠とする Compassionate Use は慢性的もしくは重度の衰弱をもたらす疾患や生命に関わると考えられる疾患を持ち、かつ既に承認済みの医療製品では十分な治療

ができない患者群（患者個人ではない）に対して未承認医療製品を使用することとされる。この意味での Compassionate Use の適用を受けることが可能な医療製品は、販売承認申請予定の品目もしくは臨床試験中の品目である必要があり、既に承認済みの医療製品の適用外使用（off-label use）であってはならない。また、EMA の中央審査の対象となる品目でなければならない（EMEA/27170/2006）。Compassionate Use の適用を決定した場合には EU 加盟国はその旨を EMA に連絡する。EMA のヒト向け医療製品委員会（CHMP）は使用条件・販売条件・患者に関する意見を述べることができる。製品の使用についてはデータを収集し、定期的に使用条件を更新する必要がある。Article 83 (1) に基づく Compassionate Use は各国独自の Compassionate Use のスキーム（後述の Special Exemption）と相反するものではなく、未承認医療製品を特定の患者のために使用できるようにする際の要件を各国間で調和させるためにある。

C-4-2-2 「特別免除」“Special Exemption”

Directive 2001/83/EC Article 5 (1)を根拠とする Special Exemption は「患者からの全くの自発的な要望 (*bona fide unsolicited order*) に応じて供される医療製品で、医療資格者の仕様に基づいて調製され、医療資格者が自らの直接的かつ個人的な責任において使用するためのもの」については販売承認を受ける必要がないという制度であり、EU 加盟各国の裁量で実施可能である。Special Exemption の枠組みでは製品の供給は *ad hoc* である必要があるが、

生産は *ad hoc* である必要はないと解釈されており、販売承認はないが入手可能といった医療製品の使用が可能とされる。National Compassionate Use と考えられ、患者個人が対象の場合には Named Patient Exemption とも言われる。医薬品開発のライフサイクルの中の様々なステップで患者が新薬・新規医療機器にアクセスできる機会を提供する意味合いがあり、例えば、臨床試験第 III 相にある医療製品を臨床試験参加基準に合致しなかった患者に使用する場合や、臨床試験第 III 相の修了した医療製品を販売承認が出る前に使用する場合、あるいは販売承認と保険適用が世界的に求められているにも拘わらず上市が進まない製品を使用する場合などが想定される。ただし、Special Exemption の枠組みによる未承認医療製品の使用に関しては、その科学的合理性、供給ルート、安全性及び品質が課題とされている。これら課題に関し、EU では仏国のように制度的な整備を進めている国も存在する（後述 ATU 制度参照）。

C-4-2-3 コンパッションエート・ユース vs. 臨床試験

“Guideline on compassionate use of medicinal products, pursuant to Article 83 of Regulation (EC) No 726/2004” (EMEA/27170/2006)によれば、「方法論的な観点からすれば、医療製品の有効性・安全性について信頼性が高くかつ意味あるデータを得る手段としては臨床試験以外の手段はありえない。Compassionate Use のプログラムの中で安全性データは集められるかもしれないが、十分にデザイン・コントロールされた臨床試験の代替とはなり得な

い。臨床試験は医療製品のリスク／ベネフィットのバランスに関する基本的な情報を引き出すために行われるものであり、その実施や継続が Compassionate Use により遅くなるようなことがあってはならない。したがって、患者には Compassionate Use の選択肢を採らせる前に臨床試験に参加してもらうことを考慮すべきである」とされている。

C-4-2-4 ホスピタル・イグゼンプション “Hospital Exemption”

ホスピタル・イグゼンプションは、販売未承認の ATMP について、

- 1) 特定の一患者向けの特注品の処方箋に従って、
- 2) 固有の品質基準に基づき
- 3) 非反復的に製造され、
- 4) 医療従事者の職務責任の下、
- 5) 同一加盟国内で
- 6) 単一病院において使用される

条件を満たす場合には EMA の中央審査の対象とならないという規定である (Regulation (EC) No 1394/2007 Article 28)。ただし、ホスピタル・イグゼンプションの枠組みにおいては、製造・使用国における製造・品質に関する承認、ファーマコビジランス、トレーサビリティの確保が必要となる。

ホスピタル・イグゼンプションの規定が EMA の規制の中に盛り込まれた背景には、医師には患者にとって最良の選択だと思える処方を行える自由 (Freedom of Prescription) があるという考え方が臨床現場で浸透しており、すでに小スケールで ATMP の開発を行う病院があつて、規制要

件と開発の自由度とのバランスについて EU 加盟国間で議論がまとまっていないということがある。したがって、EU 加盟国は、各国の状況に応じて Hospital Exemption の規定を国内規制の中に盛り込むことになっている。

C-4-3 英国におけるホスピタル・イグゼンプションの考え方

ホスピタル・イグゼンプションの根拠となる Regulation (EC) No 1394/2007 は比較的新しい規則であり、対応した国内規制の整備が完了していない EU 加盟国も多い中、英国はいち早くホスピタル・イグゼンプションの国内運用に関するガイダンス (案) を策定し、2009 年に公開している (Draft guidance for comment on the UK's arrangements under the hospital exemption scheme for advanced therapy medicinal products)。2008 年 12 月から 2011 年 12 月 (組織工学製品については 2012 年 12 月) までは ATMP に関する EMA 中央審査制度の移行期にあたり、イギリスのホスピタル・イグゼンプションに関する規定も最終版は近日中に定められる予定となっているが、このガイダンス (案) から、ホスピタル・イグゼンプション制度の運用・活用に関する MHRA の姿勢を伺うことができる。

C-4-3-1 ホスピタル・イグゼンプション (Hospital Exemption) と特別免除 (Special Exemption) との関係

Hospital Exemption と Special Exemption とは法的には全く異なる枠組みではあるが、内容の点で似通ったところも

ある。いずれの枠組みの場合も、イギリス国内での未承認医療製品の使用ということになるが、それぞれの枠組みに応じた製造者免許が必要となる。EU では治験薬の製造の際には QP (Qualified Person, 製造責任者) を立てることが必要だが、これら 2 つの枠組みにおいては必要とされない。

Special Exemption の枠組みでは、患者の特別な要望に応えるために、必要な未承認医療製品を医師（もしくはその他の処方者）が発注することを認めている。つまり、Special Exemption の枠組みは基本的には ATMP に限らず、いかなる医療製品に対しても適用され得る。処方者の要求に応じて未承認 ATMP が少量生産される状況としては、実際には様々な状況がありうるので、未承認 ATMP の使用については 2 つの枠組のうちどちらを適用すべきか、状況に応じて判断する必要がある。Table 5 に Hospital Exemption と Special Exemption の主な違いを挙げる。なお、2 つの Exemption の枠組みを使って行われた医療がイギリス国内の健康保険制度の対象になるかどうかは、遺伝子治療専門委員会(GTAC)の判断による。

ここで、Hospital Exemption と中央審査の対象となりうる医療製品製造行為とのバランスを規定するものとして問題となるのは、「非反復的」(non-routine) という言葉の定義である。後述するように、MHRA の見解としては、「反復的」と「非反復的」とを明確に分けるような単純な数的基準を設けるのは適切ではないとしている。

C-4-3-2 「非反復的」という言葉の考え方

C-4-3-2-1 製品の同一性

Hospital Exemption を規定する「非反復的」(non-routine) という言葉の定義では、2 つの点、すなわち①製造される複数の製品が「同一製品である」ということの意味と、②製造のスケールならびに頻度、を考慮する必要がある。

様々な製品が考えられるので、製品の製造が非反復的であるかどうかという問題については、製造者との関係で個別に考える必要がある。ある製造者が製品 X を製造する場合、製造の頻度が上がってくるということは、製品 X の製造が「反復的」であるかどうかを考えるうえで重要である。しかしこれは、同じ製造者が別の製品 Y の製造を反復的に製造しているかどうかということとは関係がない。従来製の製品に改変を加えた新しい製品の場合、その新製品が反復的に生産されたものかどうかは、その生産様式を基に判断され、旧製品の生産様式を基に判断されることはない。

同一製品とは何かを考える上で、MHRA は考慮すべき ATMP の特性として、作用様式、使用目的（適用、投与方法、態様（液状、粉状、シリンジ充填剤など））、最終製品までの製造工程、中間製品、原材料（個々の患者向けの幹細胞を作成するための遺伝子改変レトロウイルスなども含む）を挙げているが、これらがすべてではないとも言っている。「自己由来原材料を用いた ATMP（患者由来であり個々患者向けのオーダーメイド）は、使用目的、製造工程ならびに最終製品の態様が同じであろうと、定義により全て互いに別個の製品である」ということを前提にするような主張には MHRA は与していない。

C-4-3-2-2 製造のスケールと頻度

ある製造者が同一製品を繰り返し製造することになると、それは Hospital Exemption 的な意味での「非反復的」とみなされなくなる可能性が出てくる。製造が「非反復的」であるかどうかを判断するに際し、MHRA は以下のような考え方をしている。

- 1) ①製造者が製造する特定の製品の総数、
②製造の間隔の規則性・頻度、および
③製造方法が確立されるのに要した時間、を考慮する
- 2) 製品の製造のスケール／頻度が最初はとて小さく／低く、時間を経るにつれて次第に製造の頻度が上がってくるようなケースでは、製造のスケール／頻度に注意していれば、製造が明らかに「反復的」になったと判断できる時期が 1-3 年のうちに出てくるはずだ、と今のところ MHRA は見通している。
- 3) ただし、製造が非常に小スケールで間欠的であり続けるような場合（例えば、個々の製造行為の間が数カ月も空くような場合）、もっと長期間かけなければ「反復的」とみなすことができない恐れもある。
- 4) 一方、もし大きなスケールでの製造が開始されれば、「反復的製造」だと即座に（一年もたたないうちに）みなされることもありうる。

C-4-3-3 Exemption の枠組みにおける製品の製造・品質

イギリスで ATMP をヒトに投与する場合には、たとえ販売未承認であっても（つま

り Hospital Exemption ないし Special Exemption の枠組みの範囲内でも）、当該 ATMP は医薬品製造基準である GMP (Good Manufacturing Practice) に従って製造されなければならない。また、販売未承認 ATMP の場合でも承認済み ATMP と同様に、ファーマコビジランス（有害反応の記録および報告）を実施(GPvP, Good Pharmacovigilance Practice)すると同時に、製品の適切な流通（GDP, Good Distribution Practice）が必要とされる。

C-4-3-3-1 Exemption の枠組みにおける GMP

Hospital Exemption ないし Special Exemption の枠組みを利用する場合には、製造者は MHRA から製造者免許を取得しなくてはならない。これらの枠組みにおいて製造者免許により許可されるのは、通常とは異なり、個々の品目ごとではなく、特定のカテゴリーの ATMP（遺伝子治療薬、細胞治療薬、または組織工学製品）の製品の製造となる。Exemption の枠組みにおいて使用される ATMP は GMP の原則に従って製造されなければならない。製造が GMP に従っているかどうかは、免許交付前および免許の有効期間中、MHRA の査察によりチェックされる。なお現段階では一般の医療製品向けの GMP を参照する他は無いが、EMA は ATMP に特化した GMP 基準を策定中である。

C-4-3-3-2 Exemption の枠組みにおけるファーマコビジランス

Hospital Exemption ないし Special Exemption の枠組みにおける ATMP の製

造者は、当該 ATMP のすべての有害反応を記録し、MHRA に報告しなければならない。Exemption の枠組みの下での ATMP 使用において、必要があれば MHRA は、当該製品のリスクマネジメントプランを確立することを製造者に要求する。当該製品を用いる臨床医／医療従事者も、全有害反応の記録が要求されると同時に、重大な有害反応については MHRA への報告が要求されている。

C-4-3-3-3 Exemption の枠組みにおけるトレーサビリティ

販売承認の有無に関わらず、ヒトに投与される ATMP に関しては、ATMP 規制 (Regulation (EC) No 1394/2007)、組織細胞指令 (Directive 2004/23/EC)、および血液指令 (Directive 2002/98/EC) でトレーサビリティが要求されており、製造者はこれに従わなければならない。ATMP が使用される医療機関においても、患者と製品のトレーサビリティを維持し、ATMP を投与される患者の情報と ATMP の製造において細胞・組織を提供したドナーの情報が照合できる程度のトレーサビリティが確保されなければならない。なお、破産等により ATMP のトレーサビリティ情報を 30 年維持できない場合には、EMA の販売承認があれば EMA が引き継ぎ、Exemption の枠組みによる未承認 ATMP のケースでは製造者と医療機関の情報をまとめて MHRA が引き継ぐことになる。

C-4-3-4 報告義務

Exemption の枠組みにおける ATMP 製造者は、免許によって製造許可されている

製品分野ごとに、バッチおよびユニットの内容と数を MHRA へ定期的に報告しなければならない。

C-4-3-5 卸販売業者の要件

Exemption の枠組みの中での ATMP の流通は、当該 ATMP を製造する製造者免許を持つ者か、卸販売業者免許保持者に限って行うことができる。ATMP のトレーサビリティ確保のため、免許保持者はその流通記録を保管しなければならない。また、Exemption の枠組みの中で使用する ATMP は輸出入禁止であり、製造と使用が同一の国内でなければならない。

C-4-3-6 倫理面

Exemption の枠組みの中で製造・使用される ATMP に関する倫理的側面については、新規の規制はない。異種移植を含むものではなく、また研究目的の製造・使用でもないならば、患者の治療の一環として ATMP を投与する行為に研究倫理委員会の同意が必要とされない。臨床における ATMP の使用についての臨床倫理の問題は、NHS トラスト*の臨床ガバナンス構造により確保されている。(*注：NHS トラスト…保健省下にあった NHS (国営保険サービス) のサービスを地域ごとに独立させ、サービスの効率を上げることを目的としたもので、病院や地域医療サービスの中核となっている。)

GTAC (遺伝子治療専門委員会) はイギリス国内の遺伝子治療および幹細胞治療の臨床試験の倫理審査を行う組織であるが、遺伝子治療薬及び幹細胞利用製品を Exemption の枠組みの中で使用する開業医に対して倫理面でのアドバイスを行う目的