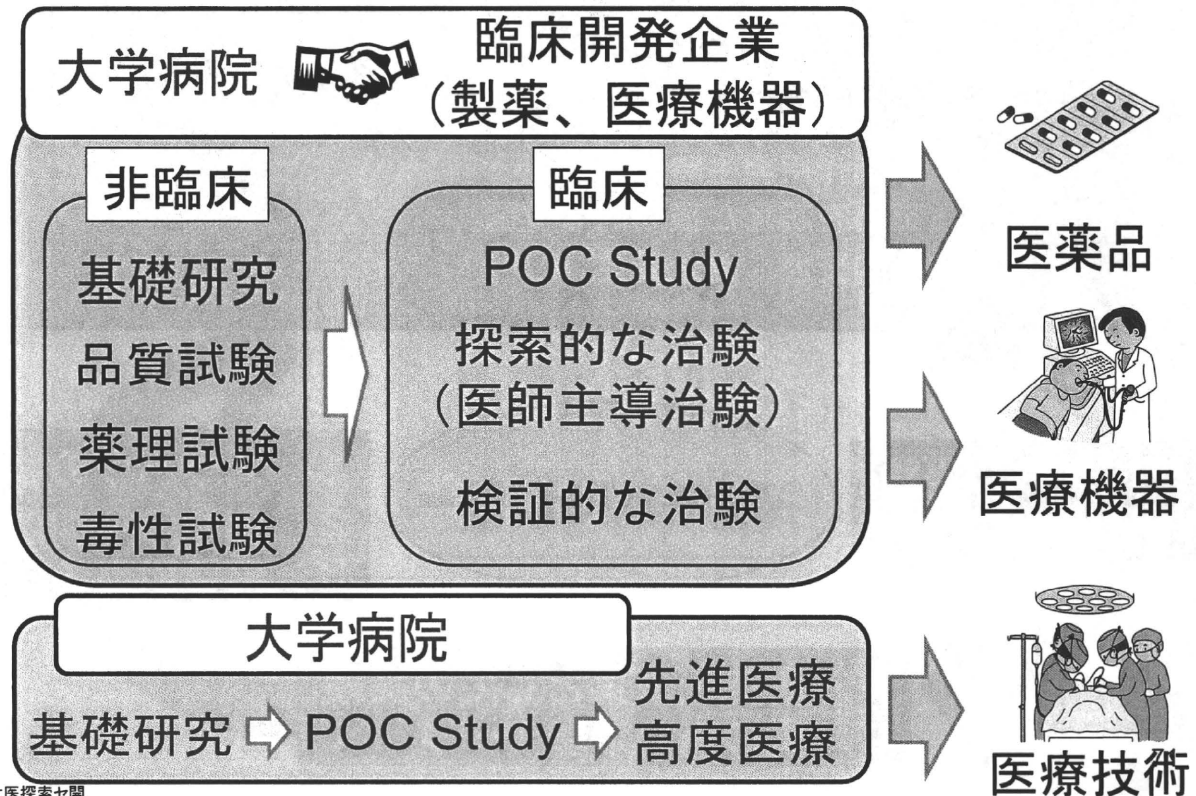


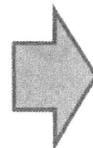
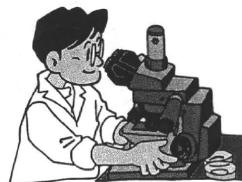
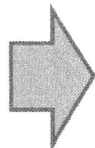
京都大学病院探索医療センターが 目指す臨床開発



京大医探索セ開

細胞育成士が期待される能力

- 高度な医療技術である細胞・組織加工製剤の早期に習得することができる。
- 臨床研究の倫理指針やヒト幹指針などを熟知した上で、細胞・組織の品質、出荷基準などを管理ができ、またドキュメント作成ができる。
- 確認申請の際に、規制当局側の内容を理解し、早急な対応ができる。
- 医師をはじめとする医療スタッフとのコミュニケーション力が長けている



京大医探索セ開

ご静聴ありがとうございました。



ご不明な点がある方、この分野に興味のある方は
下記の連絡先へ

E-mail: taito@kuhp.kyoto-u.ac.jp

TEL: 075-751-4722

細胞治療における臨床検査技師の役割

- GMPに準拠したCPCの運営 -

京都大学医学部附属病院
分子細胞治療センター

笠井泰成

細胞育成学連続講演会 2010 10.13

最新の技術を実用化するためには、

細胞治療
再生治療

専用の施設や
人の教育訓練

GMP, GCP,
GLPなど

技術開発

➔

インフラの
整備

➔

規制






「高い品質」の保証と「安全性」の確保

細胞治療

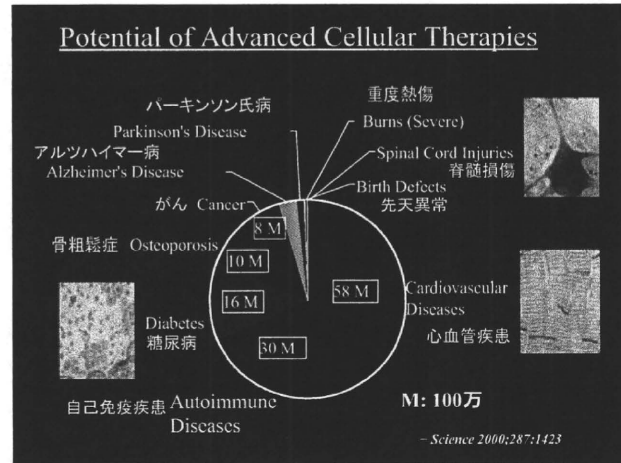
- 再生治療
- 遺伝子治療
- 細胞免疫療法
etc.

➔



臨床応用

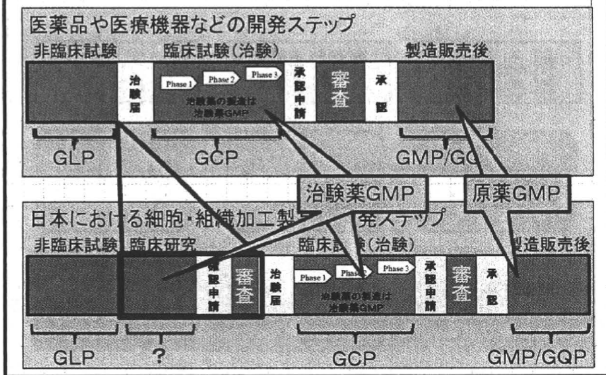
基礎研究



- 細胞治療に対する規制
- インフラの整備
- 新しい医療技術の開発

- 細胞治療に対する規制
- インフラの整備
- 新しい医療技術の開発

「医薬品や医療機器」と「細胞・組織加工製品」の開発ステップの違い



GMPの基本概念

GMP (Good Manufacturing Practice)とは、「医薬品の製造管理および品質管理に関する国際基準」

医療機器や化粧品、食品の一部にも適用が広がっている。

理由：
人体や動物へ投与するため、人間や動物への影響が大きい。
また、効き目が強い薬は毒(有害)にもなる。

- 高い信頼性が要求される
- 出荷する際に品質が十分確認できない(例えば、無菌検査)
=> 衛生的に製造しなければならない

GMPの基本概念

GMPの目的は、「確実に良いものを製造する」

=> GMPの基本的な3要件

- ① 人為的な誤りを最小限にする
- ② 医薬品に対する汚染および品質低下を防止すること
- ③ 医薬品の高品質を保証するシステムの設計

そこで、GMPは・・・

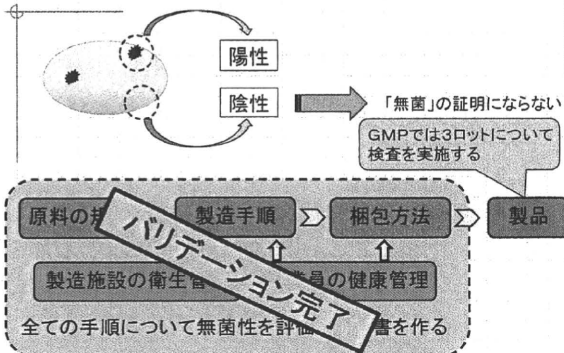
GMPの基本概念

GMPの要求に沿った運用は、

- ① 重要な事項は予め検証しておく。
- ② 検証された手順に従って作業をする。
- ③ パリデーションとは、

「製造や品質管理に係わる設備・機器やその手順などが、期待される結果を与えることを事前に検証し、これを文書化すること。」

パリデーションの例 (目的: 製品の無菌性を担保する)



GMPの主要項目

- ① 品質マネジメント
- ② 従業員、組織、コンサルタント
- ③ 施設や設備の構造
- ④ 文書化及び記録
- ⑤ 原材料、製造中間体、製品の管理
- ⑥ 製造工程内管理
- ⑦ 試験室管理
- ⑧ パリデーション
- ⑨ 逸脱記録、変更管理
- ⑩ 苦情及び回収の処理

GMPの主要項目

製造作業や品質管理業務を行う作業者は、事前に必要な教育訓練を受け、一定レベルの技術と知識を身につけておく必要がある。

製造物の品質に影響を及ぼす全ての作業は、標準作業手順書に沿って作業を実施する。設備・機器を使用した場合には運転記録を維持する。

各製造工程は、適切なパラメータとその管理値を定め、各工程が期待されたとおり稼働していることを監視する。

先ず使用する設備や機器の適合性検証が完了していることが必要。その後、製造工程の妥当性を検証する。

出荷された製造物について異常が発見された場合、その情報を収集し、可能であれば製造物の回収を行う。

品質を保証し、安全性を確保するためには、品質マネジメントシステムを構築し、そのシステムを継続的に運用する必要がある。

使用する設備や機器類は、適切にバリデートされ、期待される機能が常に維持されていることが保証されなければならない。

適切な工程内管理を実施することにより、製造物の品質および信頼性を更に向上させることが可能となる。

原材料や製造中間体の検査、出荷検査など、多くの試験検査が実施される。この信頼性を確保するために試験室での品質管理も重要。

全ての操作は手順書の指示に従って実施する。指示された作業手順から逸脱する場合には、作業記録簿に記載し、責任者へ報告する。

⑩ 苦情及び回収の処理

逸脱の事例

製品Aと製品Bの滅菌工程をそれぞれ実施する。

- 製品Aの滅菌温度は、140℃である。
- 製品Bの滅菌温度は、120℃である。

作業担当者は、製品Bの滅菌を誤って140℃で行ってしまった。しかし、滅菌温度が120℃よりも高い140℃であったので、滅菌の効果には影響ないと勝手に判断し、逸脱の報告をせず、次の作業工程に進めてしまった。

出荷判定の際、その製品の品質検査を行ったところ、有効成分の含有量が規定より低いことが判明した。その有効成分は、熱に対して不安定な物質であり、滅菌温度が高すぎたために、誤った滅菌条件によって成分が分解したと思われる。

「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7月3日

6 研究機関の基準

研究機関は、次に掲げる研究段階において、それぞれ次に掲げる要件を満たすほか、第1章第5に規定する基本原則を遂行する体制が整備されていなければならない。

(2) 調製機関 調製機関は、次に掲げる要件を満たすものとする。

- ヒト幹細胞の調製及び保存に必要な衛生上の管理がなされており、医薬品の臨床試験の実施の基準に関する省令(平成9年厚生省令第28号)第17条第1項に求められる水準に達していること。
- 調製に関する十分な知識及び技術を有していること。

「医薬品の臨床試験の実施の基準に関する省令」

「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)」

細胞・組織加工製品の評価基準等の見直し(厚生労働省)

- 治験薬用幹細胞の適合化
 - 治験薬用(心臓)幹細胞の適合化(平成18年10月29日)
 - 治験薬用(心臓)幹細胞の適合化(平成18年11月)
- 細胞・組織加工製品の審査体制の拡充
 - 審査の体制を強化するため、医薬品審査部(細胞・組織加工製品)を設置(平成18年10月)
 - 細胞・組織加工製品の申請に関するガイドライン(細胞・組織加工製品)を策定(平成18年4月)
- 細胞・組織加工製品の承認等の状況
 - 治験薬用幹細胞(心臓)の適合化(平成18年10月29日)
 - 治験薬用幹細胞(心臓)の適合化(平成18年11月)
 - 治験薬用幹細胞(心臓)の適合化(平成18年11月)
 - 治験薬用幹細胞(心臓)の適合化(平成18年11月)
 - 治験薬用幹細胞(心臓)の適合化(平成18年11月)
 - 治験薬用幹細胞(心臓)の適合化(平成18年11月)
- 安全性評価基準等の整備
 - ① 上(ヒト)由来細胞・組織加工製品等の品質及び安全性の評価について(平成18年11月)
 - ② 治験薬用幹細胞(心臓)の適合化(平成18年11月)
 - ③ 治験薬用幹細胞(心臓)の適合化(平成18年11月)
 - ④ 治験薬用幹細胞(心臓)の適合化(平成18年11月)
 - ⑤ 治験薬用幹細胞(心臓)の適合化(平成18年11月)
 - ⑥ 治験薬用幹細胞(心臓)の適合化(平成18年11月)

平成22年度の取り組み

「ヒト幹細胞を用いる臨床研究に関する指針」の改正

- 平成18年度に作成した、自家及び他家の細胞・組織加工製品の安全性評価基準をベースに、幹細胞由来製品に関してより具体的な評価の考え方の作成を進める。
- 肺炎やけがで失われた臓器や組織の再生を目的とするものを対象とすることを明記された。
- 従来の指針はヒト体性幹細胞を主な対象としたものであったが、iPS細胞及びヒトES細胞を指針の対象に加えた。

品質試験

「日本薬局方」は、薬事法第41条に基づき、医薬品の性状および品質の適正を定める規格。

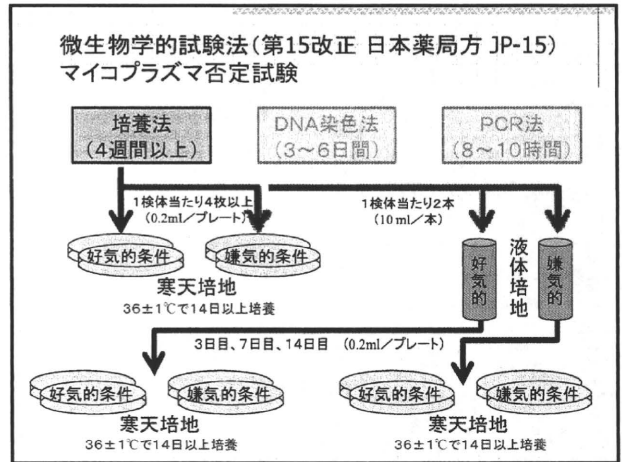
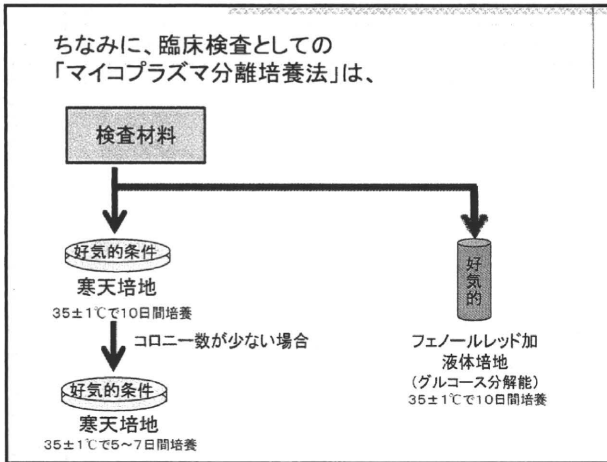
細胞や組織は、医薬品と性質や特徴が異なるので、局方の方法では正確に検査できない場合がある。

無菌試験、エンドトキシン量測定などは必須。その他、...

微生物学的試験法(第15改正 日本薬局方 JP-15)

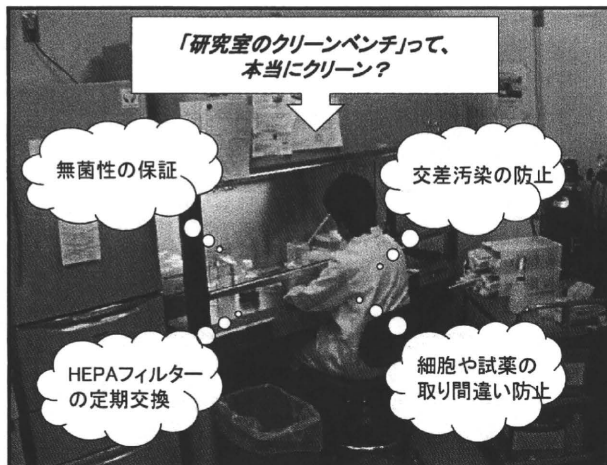
マイコプラズマ否定試験

培養法 (4週間以上)	DNA染色法 (3~6日間)	PCR法 (8~10時間)
1検体当たり4枚以上 (0.2ml/プレート)	1検体当たり2本 (10ml/本)	1検体当たり2本 (10ml/本)
好気的・嫌气的	好気的・嫌气的	好気的・嫌气的
寒天培地	寒天培地	液体培地
36±1℃で14日以上培養	3日、7日、14日 (0.2ml/プレート)	36±1℃で14日以上培養
好気的・嫌气的	好気的・嫌气的	好気的・嫌气的
寒天培地	寒天培地	寒天培地
36±1℃で14日以上培養	36±1℃で14日以上培養	36±1℃で14日以上培養

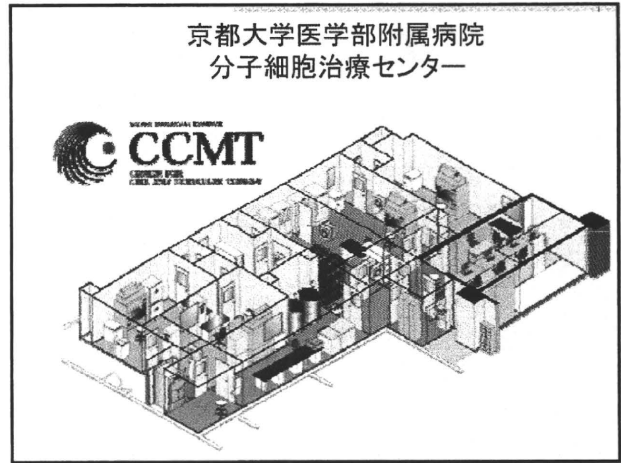
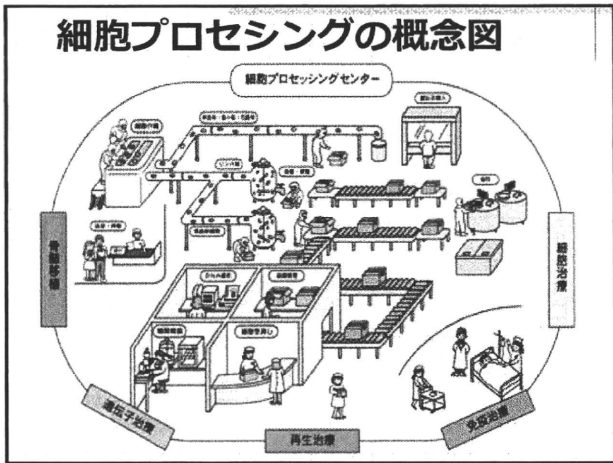


- 細胞治療に対する規制
- インフラの整備
- 新しい医療技術の開発

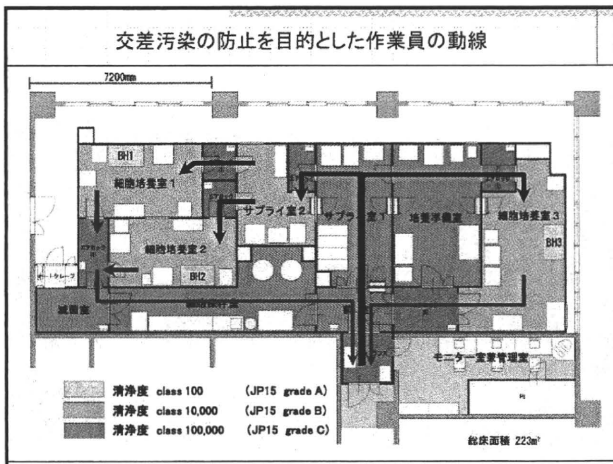
- ### 細胞プロセッシングに求められるもの
- 無菌環境の維持と感染防止
 - 交差汚染の防止
 - 設備・機器の妥当性評価 (設備・機器の稼働状況の監視)
 - 製造工程の妥当性評価
 - 品質検査の妥当性評価 (正確さの保証と精密さの管理)
 - 作業者の教育訓練 (ヒューマン・エラーの防止)



- ### CPC (Cell Processing Center) とは
- 細胞治療や再生治療に用いられるヒト由来の細胞や組織のプロセッシング(調整や加工)を行うための専用の施設。
 - CPCから出荷される細胞や組織は、治療を目的として患者さんへ移植されるものであるため、安全性の確保と高い品質が求められる。
 - CPC内の全ての設備機器や、製造工程、品質管理は厳密な管理のもとで行わなければならない。



細胞プロセッシングセンター(CPC)での 環境管理(無菌管理)



CCMT 製造衛生管理基準書

衛生管理区域立ち入り条件

衛生管理区域	立入許容人数 (最大人数)	立ち入り条件
無菌区域		<p>CCMTの教育訓練を受けた者 (品質管理者が立ち入りを認めた場合を除く)</p>
バイオガードネット内		
清浄区域: A		
培養室1	3	
培養室2	3	
培養室3	6	
清浄区域: B, C		
培養準備室	3	
細胞保存室	4	
サブライム1・2	4	
前室	4	
滅菌室	4	
エアロック1~6	2	
一般作業区域		
モニター室		
エントランス2		

着衣・動作別発塵量

動作\着衣	普通作業服	無塵白衣型	無塵オーバーオール型
起立	339,000	113,000	5,580
腕の上下	2,980,000	298,000	18,600
上体の前屈	2,240,000	538,000	24,200
首上下左右	631,000	151,000	11,000
上体ひねり	850,000	266,000	14,900
屈伸	3,120,000	605,000	37,400
足踏み	2,800,000	861,000	44,600
歩行	2,920,000	1,010,000	56,000

CCMT 製造衛生管理基準書

4.2. 清浄度試験

4.2.1. 清浄区域および清浄区域に設置したクリーンベンチまたは安全キャビネット内において細胞調製を衛生的に行うために、清浄度を測定し、衛生状態を点検する。

1) 清浄度試験を行う場所と時期

場 所	清浄度	時 期
細胞培養室のバイオハザードキャビネット内	grade A	連続モニター
細胞培養室1、2、3	grade B	
サブライ室2	grade C	
サブライ室1、培養準備室、前室	grade C	必要時
培養準備室内のバイオハザードキャビネット内	grade C	
細胞保存室、滅菌室、エアロック1~6	grade C	

2) 清浄度測定の方法

空气中パーティクル多点モニタリングシステムにて測定する。微粒子は浮遊状態のまま常時連続的に採取し、単位立方当たりの塵埃数を測定する。

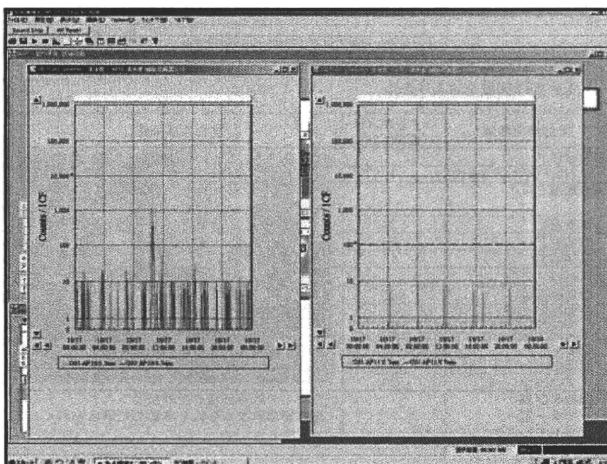
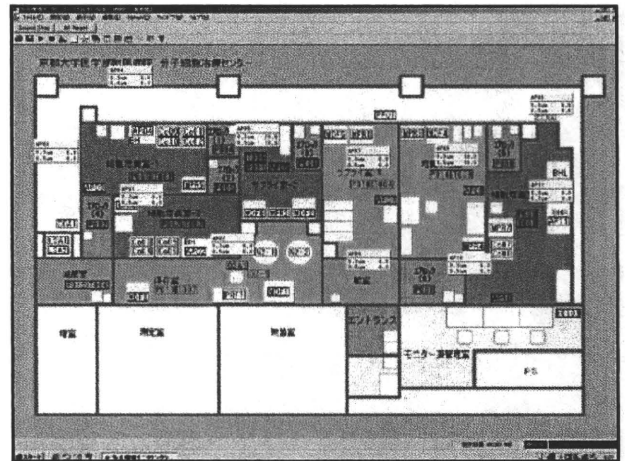
無菌製造施設に求められる清浄度

清浄度試験の判定および不合格時の措置は以下の要領で行う。

場 所	清浄度	非作業時(/m ³) (0.5 μm)	作業時(/m ³) (0.5 μm)
無菌区域 A	grade A*	3,500 以下	3,500 以下
清浄区域 B	grade B*	3,500 以下	350,000 以下
清浄区域 C	grade C*	350,000 以下	3,500,000 以下

*規格: 第15改訂 日本薬局方

場 所	清浄度	作業時(/cf) (0.5 μm)
無菌区域 A	class 100	100 個以下
清浄区域 B	class 10,000	10,000 個以下
清浄区域 C	class 100,000	100,000 個以下



日常の運営管理(空中浮遊菌検査)

CCMT 浮遊菌検査試験結果記録書

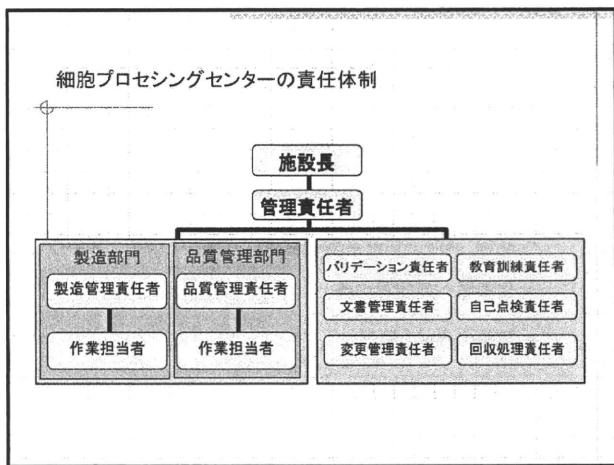
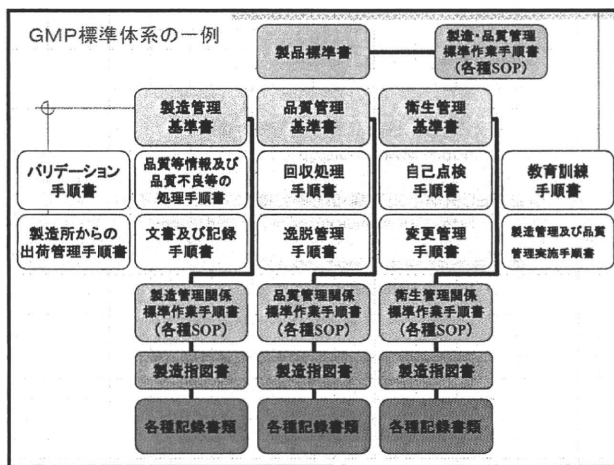
検査点	検査日時	浮遊菌数	検査者
マウラック室	2011.03.15	10	山田
培養室	2011.03.15	5	山田
マウラック室	2011.03.15	12	山田
培養室	2011.03.15	8	山田
マウラック室	2011.03.15	15	山田
培養室	2011.03.15	10	山田
マウラック室	2011.03.15	18	山田
培養室	2011.03.15	12	山田
マウラック室	2011.03.15	20	山田
培養室	2011.03.15	15	山田
マウラック室	2011.03.15	25	山田
培養室	2011.03.15	18	山田
マウラック室	2011.03.15	30	山田
培養室	2011.03.15	22	山田
マウラック室	2011.03.15	35	山田
培養室	2011.03.15	25	山田
マウラック室	2011.03.15	40	山田
培養室	2011.03.15	30	山田
マウラック室	2011.03.15	45	山田
培養室	2011.03.15	35	山田
マウラック室	2011.03.15	50	山田
培養室	2011.03.15	40	山田
マウラック室	2011.03.15	55	山田
培養室	2011.03.15	45	山田
マウラック室	2011.03.15	60	山田
培養室	2011.03.15	50	山田
マウラック室	2011.03.15	65	山田
培養室	2011.03.15	55	山田
マウラック室	2011.03.15	70	山田
培養室	2011.03.15	60	山田
マウラック室	2011.03.15	75	山田
培養室	2011.03.15	65	山田
マウラック室	2011.03.15	80	山田
培養室	2011.03.15	70	山田
マウラック室	2011.03.15	85	山田
培養室	2011.03.15	75	山田
マウラック室	2011.03.15	90	山田
培養室	2011.03.15	80	山田
マウラック室	2011.03.15	95	山田
培養室	2011.03.15	85	山田
マウラック室	2011.03.15	100	山田
培養室	2011.03.15	90	山田

環境微生物の評価基準

レベル	CFU/m ³	CFU/21-25cm ²
A	<1	<1
B	10	5
C	100	20

更衣・無菌作業時の注意事項

1. 作業者は、エアロックを通して更衣区域に入る。
2. 専用の服と靴を着用する。
3. 頭髮ネットは、必要に応じて、エアロックの段階で取り付ける。
4. 無菌管理区域内の作業者は、定められた作業区域内で作業を行う。
5. 充てん区域の作業者は、他の作業を同時に行わない。
6. 原料や容器の準備作業者は、充てん区域に入らない。
7. 暴露状態にある原料、製品、容器の上に手を伸ばしたりしない。
8. 作業者は床、壁、機器の表面に不用意に触れない。
9. 気流の乱れを防ぐため不必要な動作をしない。
10. 作業者同士の会話もなるべく避ける。
11. 化粧品・アクセサリーの使用を禁止する。
12. 更衣手順について正しく出来るかテストする。
13. 発熱や皮膚に生傷を負った作業者は無菌区域内の作業から除く。
14. 年1回培地充てん試験に参加する。



- 細胞治療に対する規制
- インフラの整備
- 新しい医療技術の開発

京都大学医学部附属病院 分子細胞治療センター

CCMT

樹状細胞による細胞免疫療法 (血液・腫瘍内科)

重症1型糖尿病患者に対する膵島移植 (移植外科)

骨髄間葉系幹細胞を用いた骨再生治療 (整形外科・再生研)

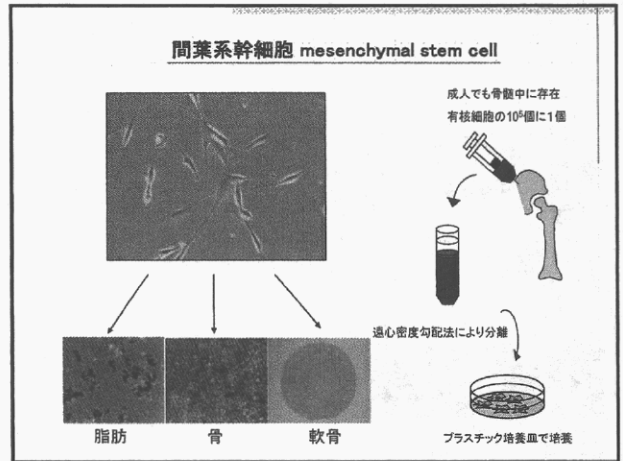
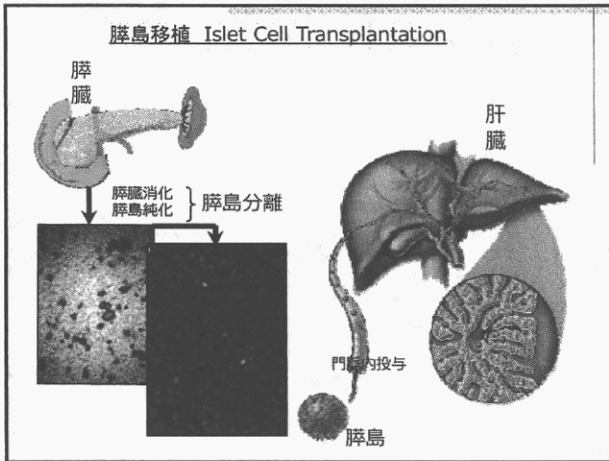
皮膚難治性潰瘍に対する創床形成療法 (形成外科)

運営会議

文書管理

教育訓練

ロット管理



細胞治療の実用化に向けて

- 新しい技術の開発 (製造と品質)
- GMPに準拠した運用基準の設定 (安全性と高い品質)
- 設備・機器や作業工程の妥当性評価 (バリデーション)
- 作業員への教育訓練
- 記録の作成と管理
- 継続的な品質改善

CPC運用に関する情報元

- > 厚生労働省
<http://www.mhlw.go.jp/>
- > 独立行政法人 医薬品医療機器総合機構
<http://www.pmda.go.jp/>
- > 日米EU医薬品規制調和国際会議 (ICHガイドライン)
http://www.pmda.go.jp/ich/ich_index.html
- > 第十五改正 日本薬局方 (JP 15)
<http://jpdn.nihs.go.jp/jp15/>
- > 京都大学医学部附属病院 分子細胞治療センター
<http://www.kuhp.kyoto-u.ac.jp/~ccmt/>
リンク・資料集
<http://www.kuhp.kyoto-u.ac.jp/~ccmt/links.html>

「細胞治療に向けたiPS細胞の現状と課題」

京都大学 iPS細胞研究所

Center for iPS research and application (CiRA)

青井 貴之

2010年10月19日

京都大学医学部人間健康科学科

細胞育成学連続講演会

(於 高井ホール)

本日のテーマ

iPS細胞

医学において

どういうものか？

なぜ必要なのか？

何ができるのか？

どんな課題があるか？

臓器不全：多くの死亡、QOLの低下



再生医療の必要性

肝疾患 15,885
(肝癌を除く)
腎不全 19,117
糖尿病 12,637

総死亡数 1,028,602

(平成16年度 厚労省)

肝移植
5千(累計)

腎移植
5~600/年

糖尿病患者
850万

糖尿病関連の失明
4千/年

糖尿病性腎症による
透析導入
1.5万以上/年

ラ氏島移植
17(累計)?

再生医療

生体内での再生誘導

ほとんど全ての医療

(擦り傷、骨折、潰瘍、急性肝炎。)

組織工学、DDSなど新たな技術
治療としての“強さ”は?

臓器移植

既に実現。

侵襲大 拒絶反応

需要が満たされる日が訪れる?

細胞移植治療

細胞移植治療

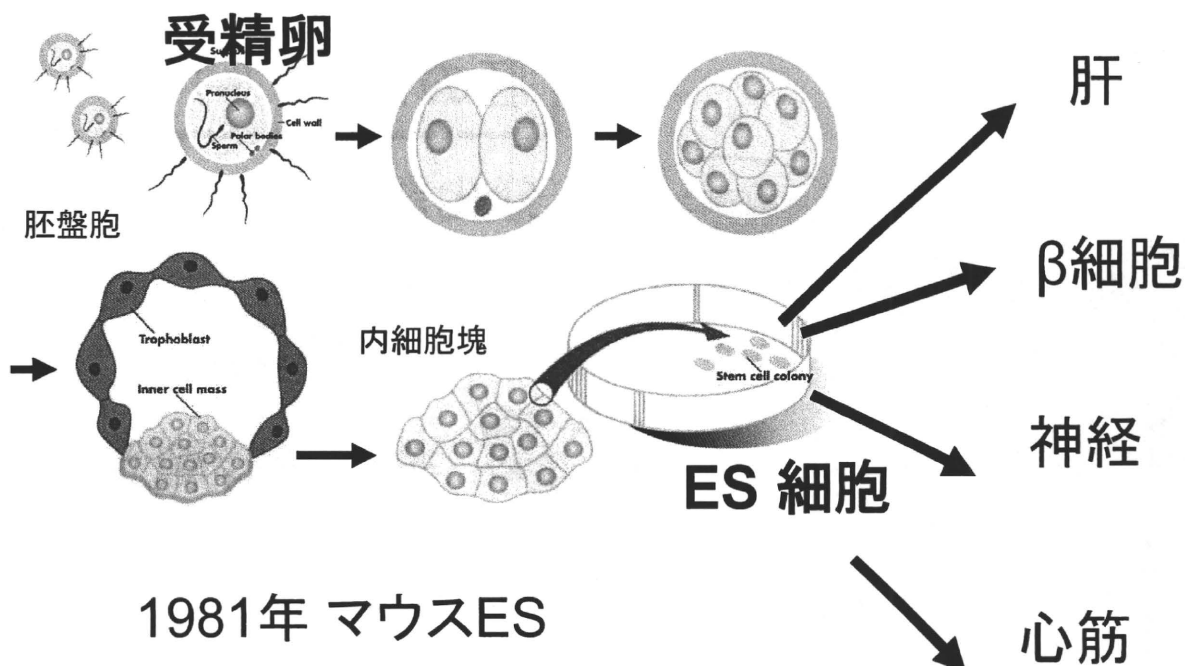
必要な種類の細胞を、必要な量、体内に移植。

何にでもなれる、いくらでも増える、という性質をもつ
「多分化能」 「自己複製能」

胚性幹細胞 (Embryonic Stem cell; ES細胞)
= 再生医療の資源として有力。

組織幹細胞: 限定的な多分化能と自己複製能

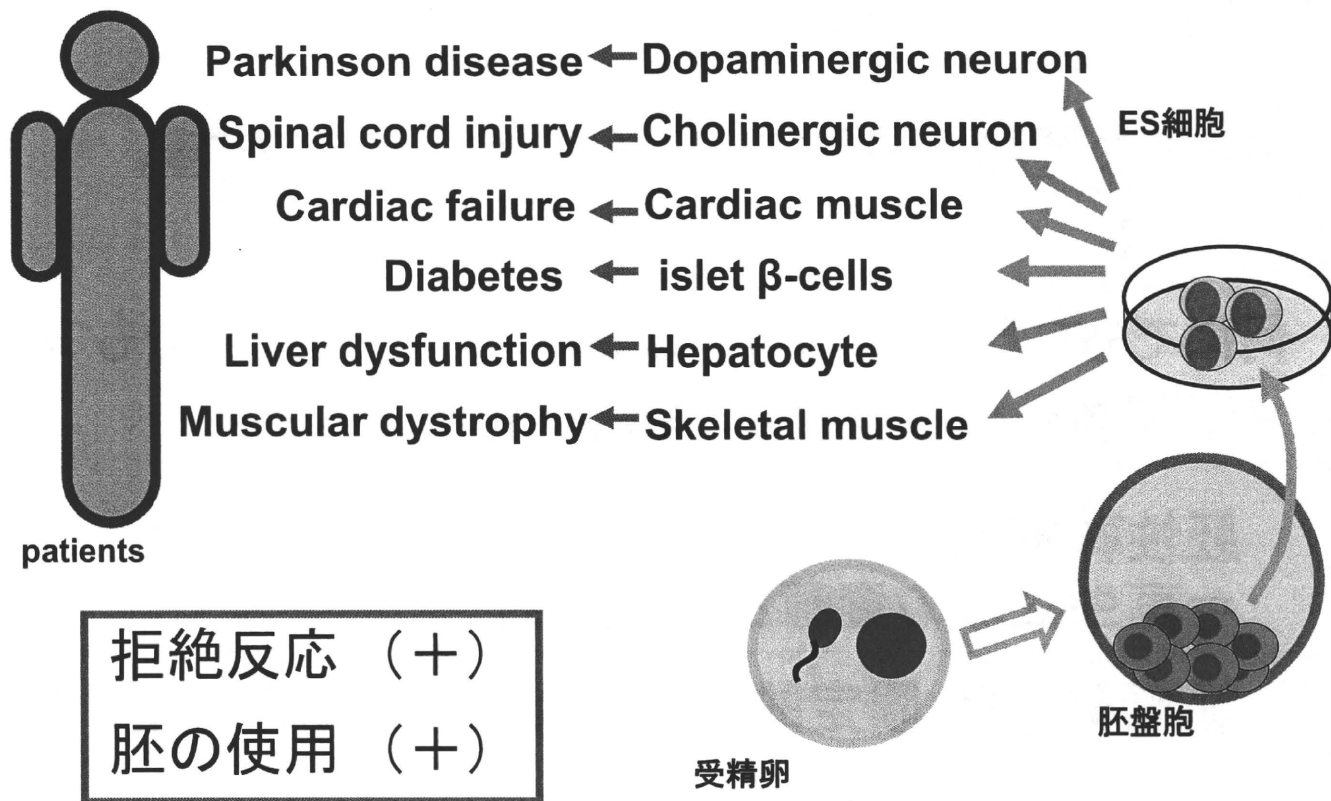
胚性幹細胞 (Embryonic Stem cell; ES細胞)



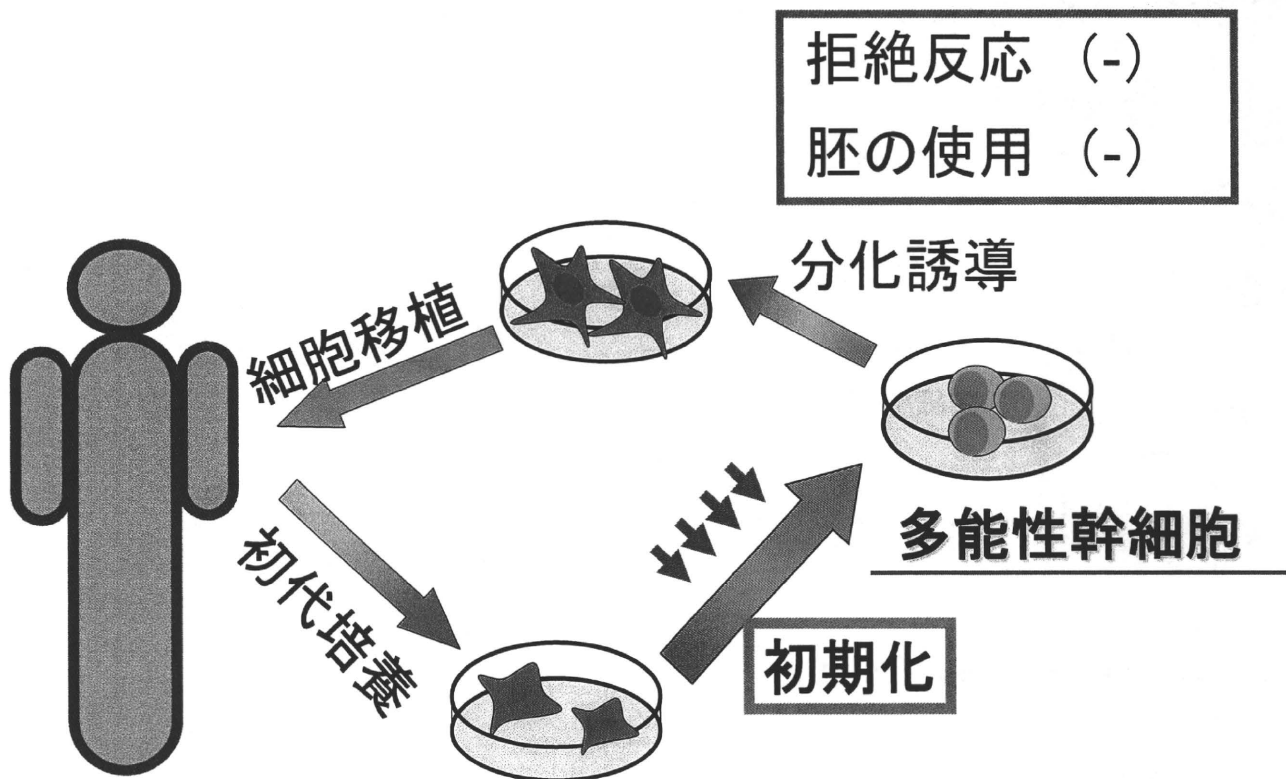
1981年 マウスES

1998年 ヒトES

ES細胞による細胞移植医療



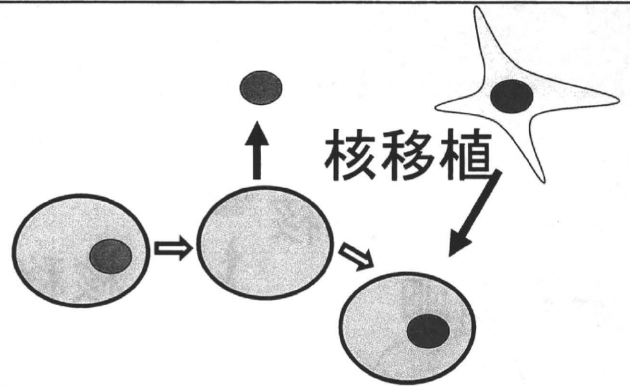
自己由来の多能性幹細胞を用いた再生医療



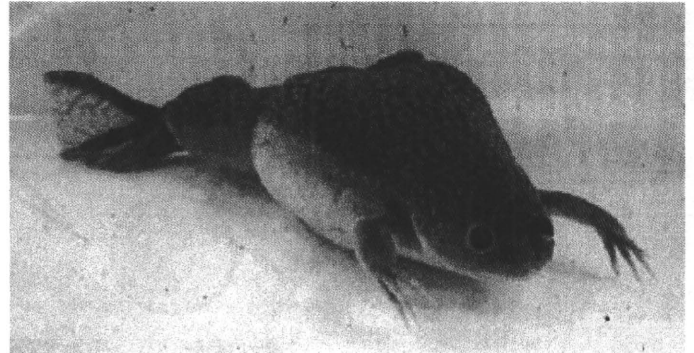



John Gurdon
クローンカエル

“Fertile” intestine nuclei
Nature. 1966



「カエルの小腸細胞が
オタマジャクシに」



 Gurdon JB. 2006.
Annu. Rev. Cell Dev. Biol. 22:1-22

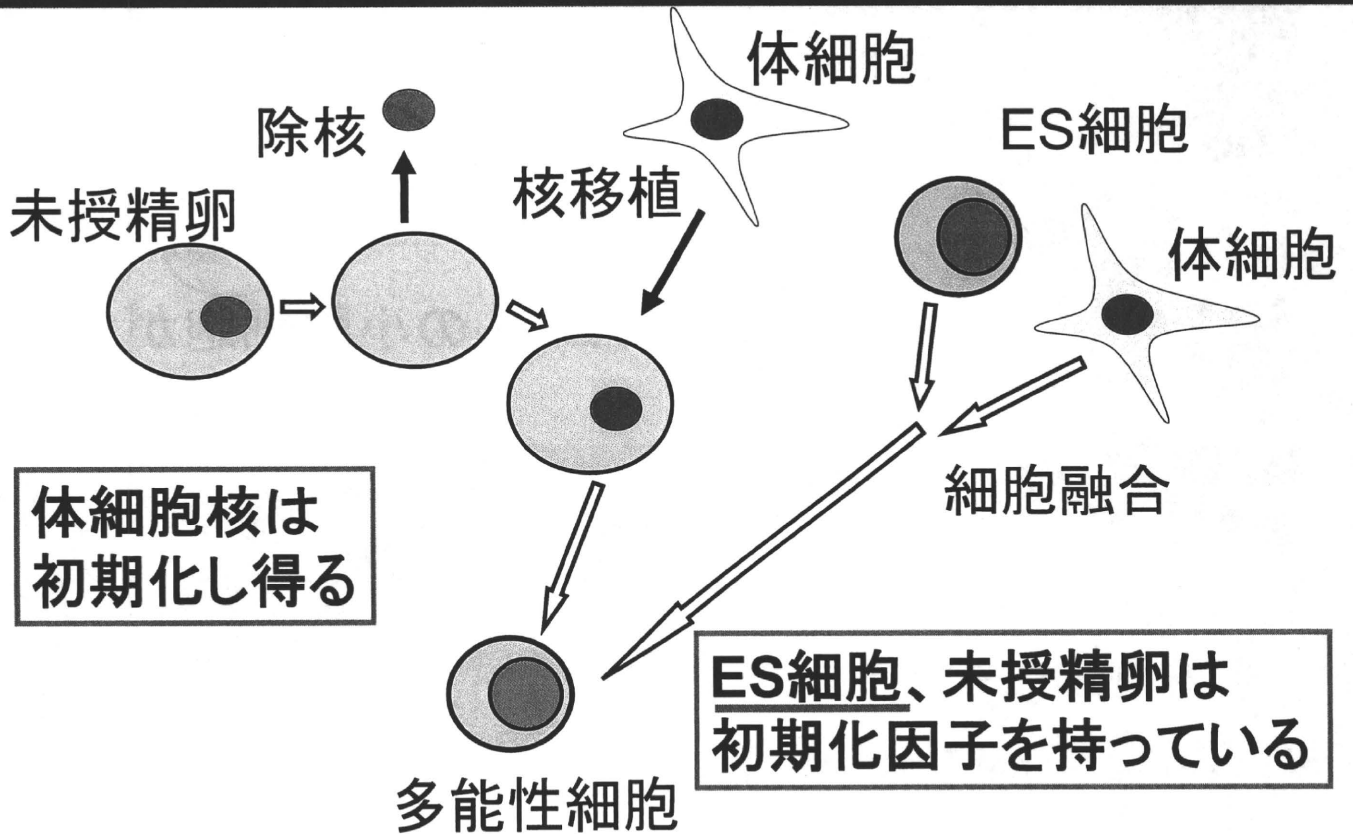
Ian Wilmut

羊の乳腺が羊に！

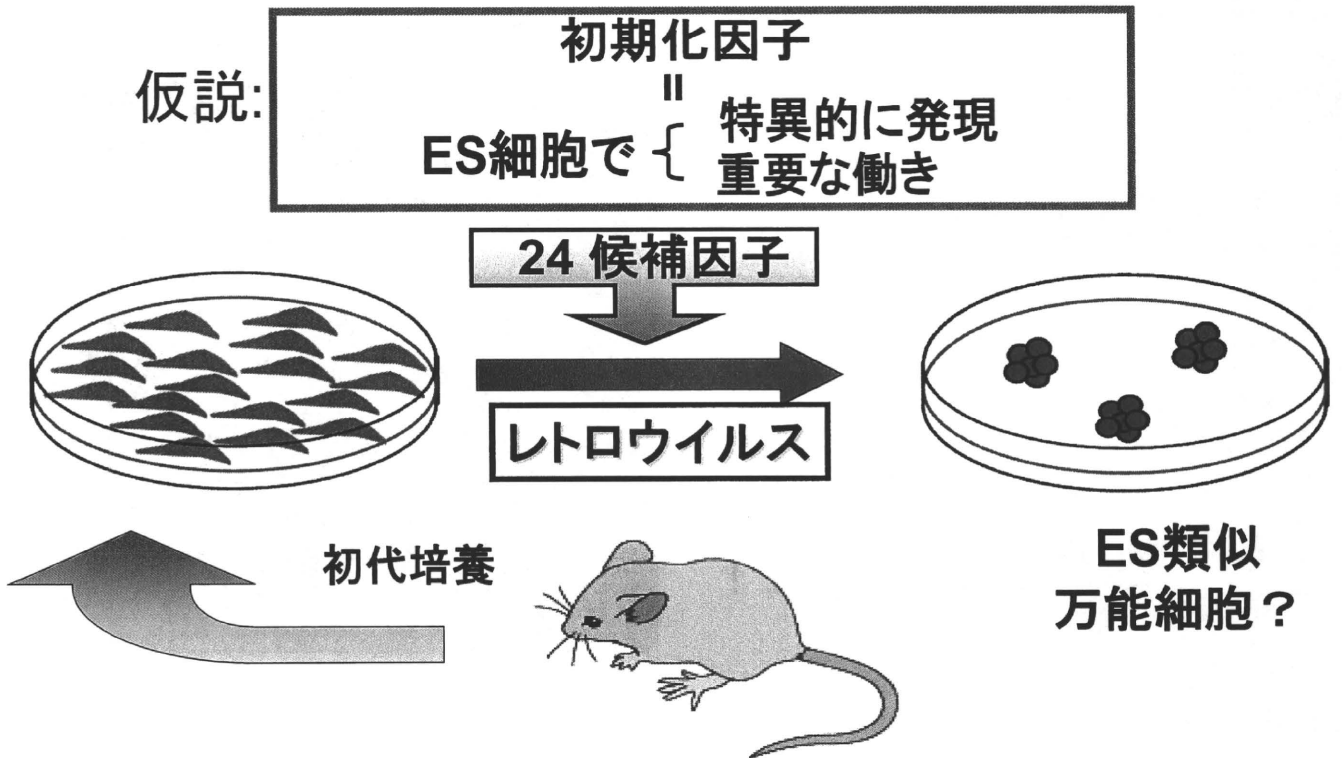


ドリー

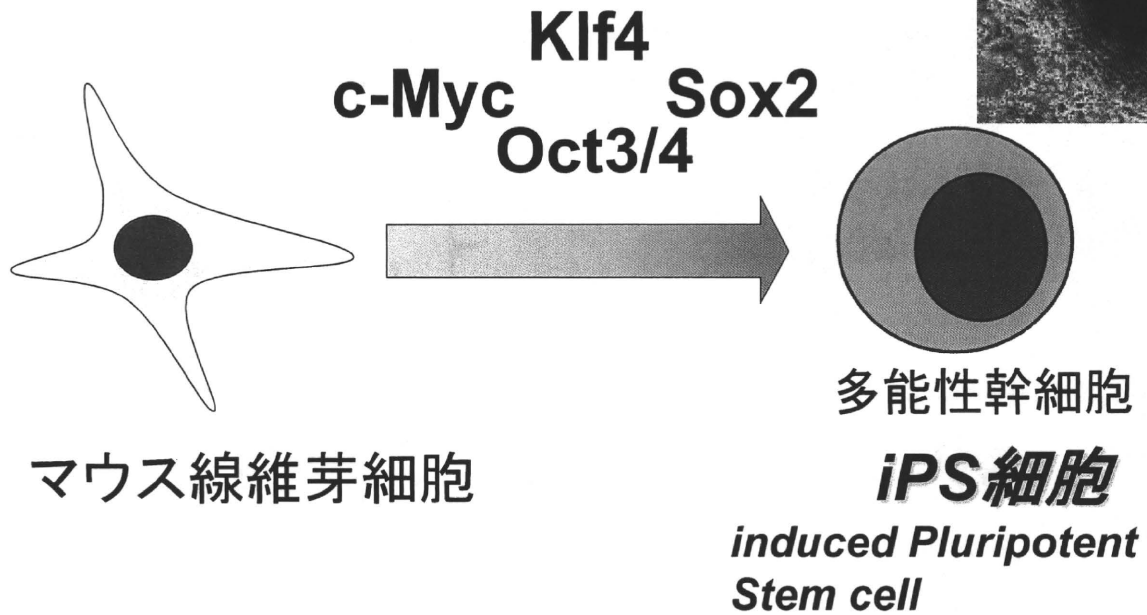
体細胞クローンと細胞融合



初期化因子の探索

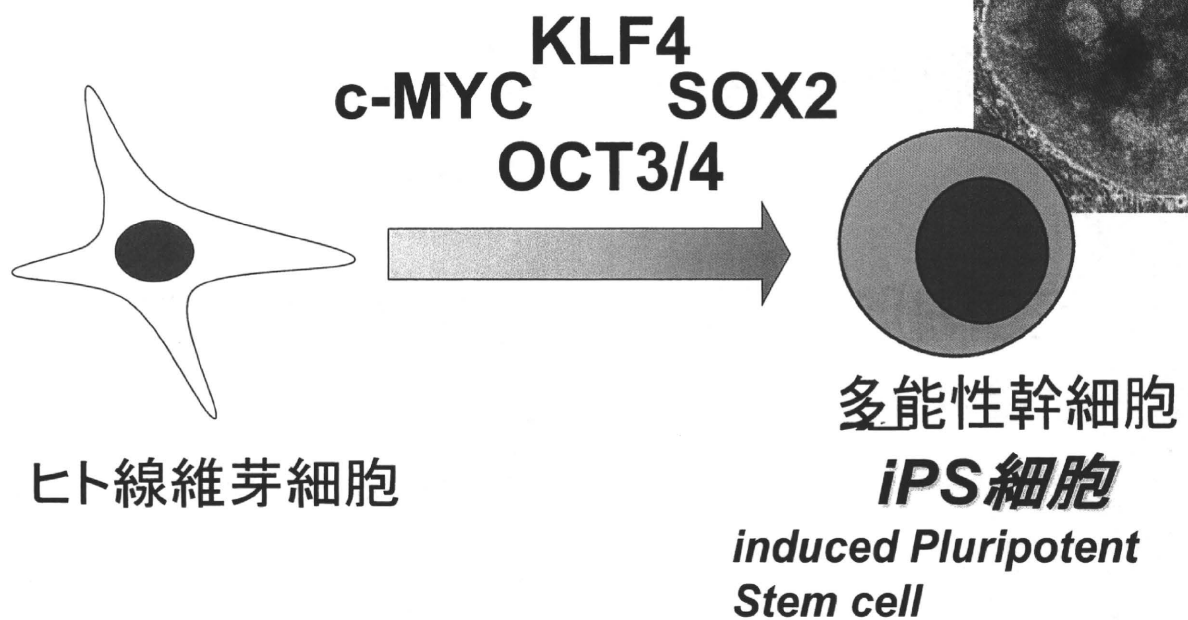


マウスiPS細胞



Takahashi and Yamanaka *Cell* 2006

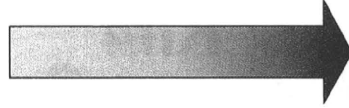
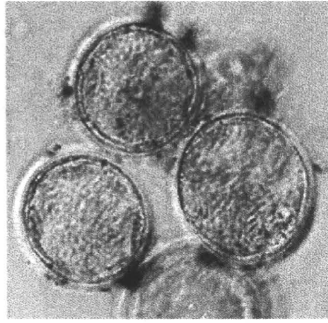
ヒトiPS細胞



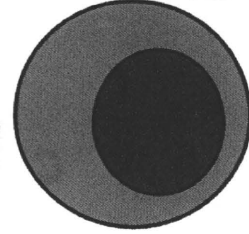
Takahashi et al. *Cell* 2007

二つの多能性幹細胞

胚(受精卵)

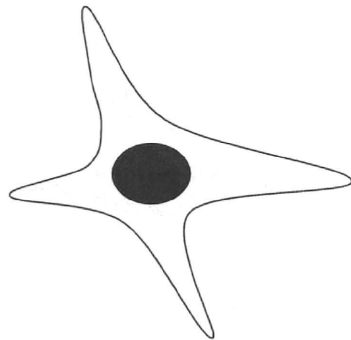


ES細胞

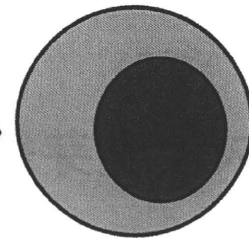


マウス
1981
ヒト
1998

{ 何にでもなれる
いくらでも増える



体細胞



iPS細胞

マウス
2006
ヒト
2007

iPS細胞:何ができるのか?

iPS細胞の利点

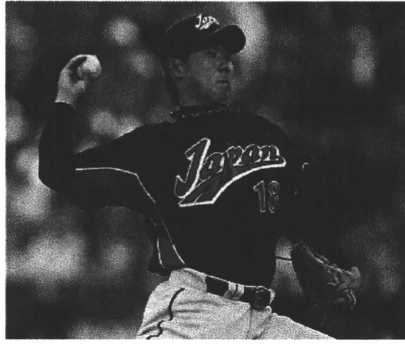
ES細胞と同じく、ほぼ無限に増殖
多能性

ES細胞と異なり、胚を使用しない

様々な患者、健常者
から樹立可能

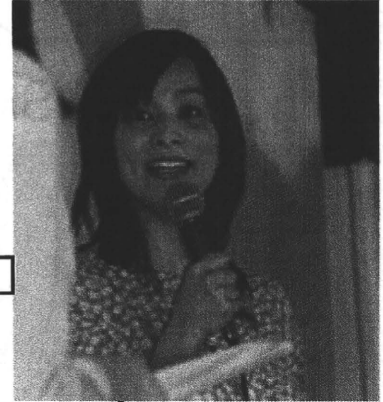
iPS細胞：何ができるのか？

プロ野球選手

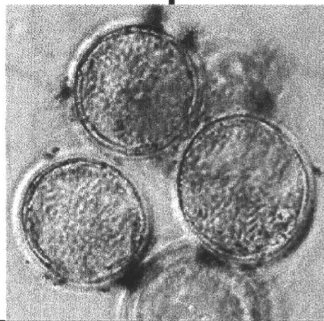


iPS細胞

アナウンサー



iPS細胞



ES細胞



野球上手？
話すのが上手？

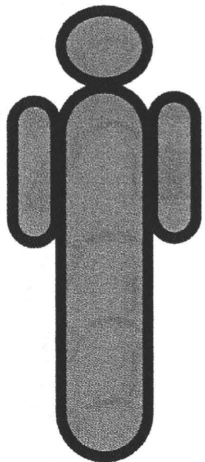
iPS細胞：何ができるのか？

多くの人(健常者・患者さん)
から樹立が可能

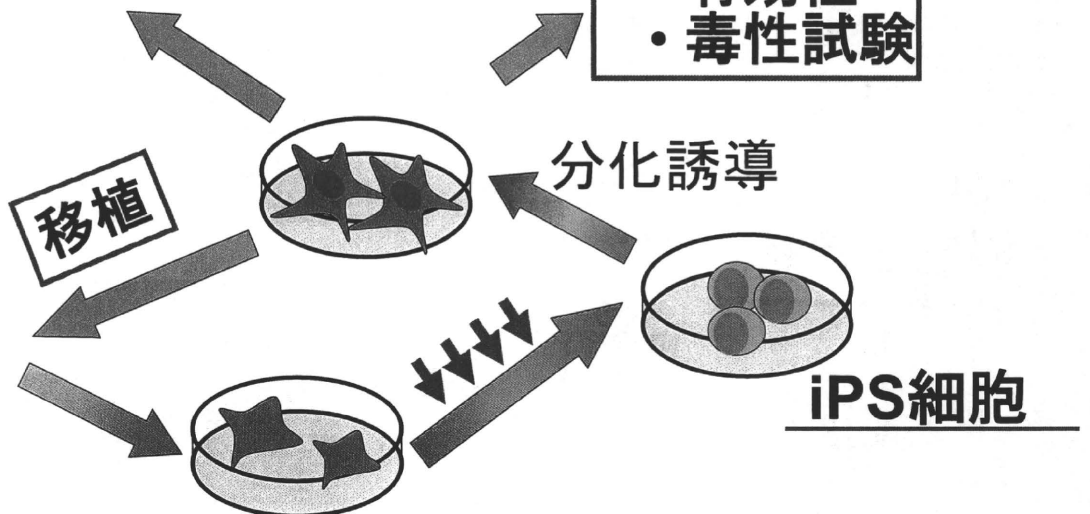
拒絶反応 (-)
胚の使用 (-)

病態研究(疾患iPS)

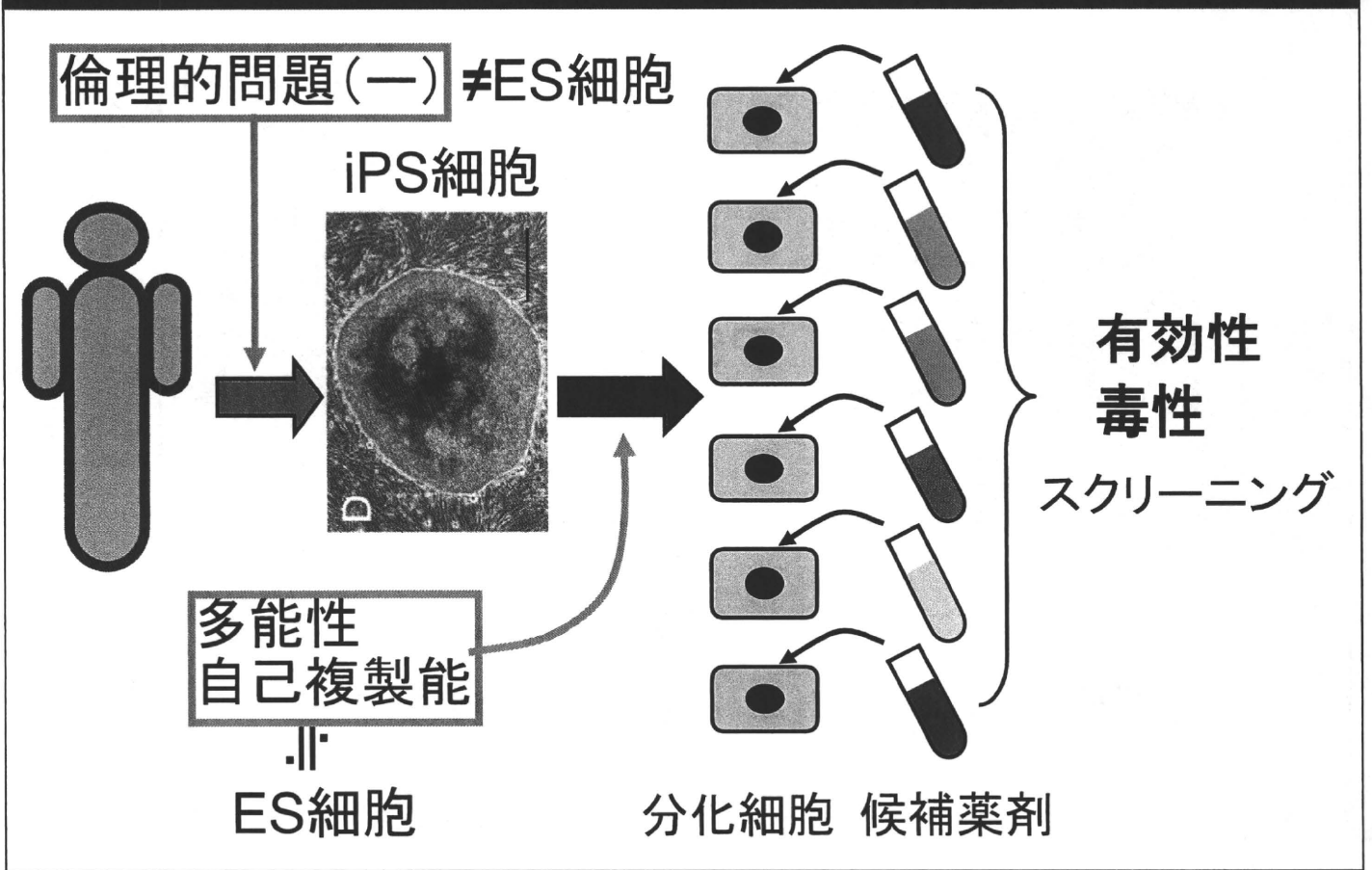
創薬
・有効性
・毒性試験



patients



ヒトiPS細胞を用いた創薬モデル



ヒトiPS細胞を用いた患者特異的創薬モデル

