

201106008A

厚生労働省科学研究費補助金
再生医療実用化研究事業

再生医療実用化加速に資する評価基準
ミニマム・コンセンサス・パッケージ
策定に関する研究

平成 23 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 早川 堯 夫

平成 24(2012)年 3 月

厚生労働科学研究費補助金

再生医療実用化研究事業

再生医療実用化加速に資する評価基準
ミニマム・コンセンサス・パッケージ
策定に関する研究

平成 23 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 早 川 堯 夫

平成 24 (2012) 年 3 月

目 次

I.	総括研究報告書	1
	再生医療実用化に資する評価基準ミニマム・コンセンサス・パッケージの策定に関する研究	2
	早川 堯夫	
II.	分担研究報告書	143
	1. 多能性幹細胞ミニマム・コンセンサス・パッケージ策定にかかる検討……	144
	末盛 博文	
	2. 再生医療実用化加速に資する評価基準 ミニマム・コンセンサス・パッケージ策定に関する研究……	150
	阿久津 英憲	
	3. 糖鎖を用いるミニマム・コンセンサス・パッケージ策定にかかる検討……	158
	掛樋 一晃	
	4. ヒト細胞・組織加工製品の造腫瘍性試験の現状に関する調査研究……	173
	佐藤 陽治	
	5. ヒト細胞・組織加工製品（ヒト細胞調製品）の臨床研究と薬事開発に共通して必要な品質・ 安全性確保の技術要件およびケース別上乘せ評価方策の同定法に関する研究……	189
	佐藤 陽治	
	6. EUにおけるヒト細胞・組織加工製品の規制の原則に関する研究……	249
	佐藤 陽治	
III.	研究成果の刊行に関する一覧表……	260
IV.	研究成果の刊行物・別刷……	264

I. 平成 23 年度総括研究報告書

再生医療評価基準ミニマム・コンセンサス・パッケージの策定に関する研究

早川 堯夫

厚生労働科学研究費補助金（再生医療実用化研究事業）
「再生医療実用化加速に資する評価基準ミニマム・コンセンサス・パッケージ策定に関する研究」
総合研究報告書

研究代表者：早川 堯夫 近畿大学薬学総合研究所・所長

研究要旨

再生医療の速やかな実用化を望む声が強い。我が国で再生医療実用化を加速するには、ヒト幹細胞臨床研究の推進から薬事上の確認申請、製造販売承認への切れ目のない展開を効率的、効果的、合理的に行う方策を策定する必要がある。そのためには、現行の各種規制環境の中で個別に設定されている科学的方策や基準を共通のプラットフォームで取り扱えるようにすることがきわめて重要である。具体的には、ヒト幹細胞臨床研究及び産業化研究開発のいずれの場合においても共通する製造施設、製造工程、製品評価、製品管理面、倫理面、臨床適用面などでの留意事項、関連する評価基準、評価技術等について最少限必要な要件・要素を明らかにするとともに、それらを産・学・官が共通に参照でき、活用できるよう再生医療評価基準ミニマム・コンセンサス・パッケージ（MCP）として策定し、提示する必要がある。また、再生医療では、多種多様で固有の特性を有するヒト幹細胞加工製品及び多様な疾患や患者が対象となるので、実用化加速方策には、ミニマム・コンセンサス・パッケージに加え、個別製品や治療毎に最も適切な評価方策を共通化、標準化し、上乘せすべきものとして提示する必要がある。本研究では、MCPの対象及び認識を共有すべき主な事項として、1）一般原則、2）GTP（Good Tissue Practice）、3）製品の製造方法&品質（試験・評価・管理）、4）非臨床安全性試験、5）非臨床有効性（POC）試験、6）臨床試験、7）細胞種別、8）細胞バンクの概念と技術要件、9）普遍的に利用可能な新規細胞特性解析手法及び品質評価手法、10）ウイルス安全性、11）造腫瘍性試験、12）抗原性、13）リスク評価によるケース・バイ・ケースアプローチなどについて逐次取り上げ検討した。以下の成果を得た。1）一般原則として5項目を提示した。2）製品の製造方法&品質（試験・評価・管理）MCP項目として、①原材料となる細胞・組織とその特性解析、特性指標の把握、適格性、②その他の原材料、製造関連物質の適格性と品質管理（特に生物由来物質、複合製品の非細胞・組織成分等）、③微生物、とくにウイルス安全性、④製造工程の妥当性、一定性、⑤最終製品の品質管理、⑥安定性（貯法・有効期限設定、凍結/解凍、運搬する場合等）、⑦製品レベルと製法レベルでの適切な組合せによる品質管理を挙げ、それぞれについてさらに詳細な留意事項や技術要素を提示した。3）非臨床安全性試験についてはケース・バイ・ケースが原則であるものの、概念として関係者が共有すべきMCPとして4項目、技術的な観点で関係者が共有すべきMCPあるいは留意点と

して6項目を提示した。4) 非臨床有効性 (POC) 試験に関しては必然的にケース・バイ・ケースが原則であるものの、概念として関係者が共有すべき MCP として3項目を提示した。5) 臨床試験については、個々の製品に関する臨床試験の技術要件自体は、まさにケース・バイ・ケースで扱われるべきものであるが、先端医療である再生医療を適正に推進するための臨床試験の入り口に至るまでと開始に至る隘路を解消し、科学的合理性、倫理的妥当性、社会的理解、認知をいかに得るかについて検討した。検討内容は、①臨床試験開始の決定に際してのリスク分析の留意点と倫理、②先端医療としての再生医療のリスク・ベネフィット概念、③先端医療としての再生医療のリスク・ベネフィット概念などであった。6) 細胞種別 MCP と上乗せ方策については、「自己又は同種体性幹細胞」、「自己又は同種 iPS (様) 細胞」、「ES 細胞」すべての細胞種間に通底し適用されるべき MCP とカテゴリーを同じくする細胞種内での MCP あるいは上乗せ分について検討した。7) 細胞バンクの概念と技術要件 MCP を提示した。8) 個別細胞特性解析、品質評価・管理、未分化細胞等混在細胞検出、目的細胞精製 (又は目的外細胞除去) 技術等、品質・安全性確保等すべてに渡って分析法が必須であり、産・学・官が共通に参照でき活用できる評価技術としてのコンセンサス・パッケージを策定することの意義、重要性に鑑み、普遍的な新規細胞解析技術開発例として網羅的糖鎖プロファイリング法を開発し、その有用性と適用可能性について検討した。9) ウイルス安全性 MCP として5項目を提示した。10) 造腫瘍性問題を、「品質：細胞特性問題」及び「安全性問題」面から、「安全性問題」には品質面 (*in vitro*) からのアプローチと生物学的な面 (*in vivo*) からのアプローチがあると整理して、MCP と上乗せにかかわるコンセプト及び評価技術要素を提示した。11) 抗原性に対処する MCP は製造関連物質から極力ヒトへの抗原性を示す可能性のある物質を用いないか、あるいは製造工程中で懸念ある物質を可能な限り除去すること、そのモニターを確実にすべきことを論考した。12) リスク評価によるケース・バイ・ケースアプローチでケース別/開発段階別上乗せ評価方策を例示的に策定し、提示した。13) 関連指針の相互比較からみたヒト細胞・組織加工製品 (ヒト細胞調製品) の臨床研究と薬事開発に共通して参照可能な品質・安全性確保の技術要件の抽出・同定およびリスク・ベース・アプローチに基づいたケース別上乗せ評価方策に関する考察を行った。14) リスク・ベース・アプローチを中心に再生医療製品にかかわる国際動向を調査研究し、MCP 等策定のための参考とした。

研究分担者

佐藤 陽治

国立医薬品食品衛生研究所
遺伝子細胞医薬部・第2室・室長

末盛 博文

京都大学・再生医学研究所・准教授

阿久津 英憲

(独) 国立成育医療研究センター研究所
生殖・細胞医療研究部・室長

掛樋 一晃

近畿大学薬学部・薬学総合研究所・教授

研究協力者

澤 芳樹

大阪大学大学院医学系研究科
外科学講座・心臓血管外科・教授

梅垣 昌士

大阪大学医学部附属病院 未来医療センター・
准教授

田邊 裕貴

厚生労働省医政局
元研究開発振興課・ヒト幹細胞臨床研究対策
専門官

嶽北 和宏

(独) 医薬品医療機器総合機構・
生物系審査第2部

亀田 隆

(独) 医薬品医療機器総合機構・
生物系審査第2部

水口 裕之

大阪大学大学院薬学研究科
分子生物学分野・教授

森山博由

近畿大学薬学総合研究所
先端バイオ医薬研究室・准教授

西田 幸二

大阪大学大学院医学研究科
脳神経感覚器外科学講座・眼科学・教授

古江一楠田 美保

(独) 医薬基盤研究所
難病疾患資源研究部・培養資源研究室
研究室リーダー

高橋 政代

理化学研究所
発生・再生科学総合研究センター
網膜再生医療研究チームリーダー

梅澤 明弘

(独) 国立成育医療研究センター研究所
生殖医療研究部・部長

朝比奈 泉

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科
顎・口腔再生外科学分野 教授

A. 研究目的

細胞・組織加工薬品等による再生医療は、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強く期待されており、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。また、2007年11月の総合科学技術会議において、人工多能性幹細胞について意見交換が行われ、再生医療臨床研究の加速のための支援のあり方等を検討することが必要とされるなど、臨床研究やそれに繋がる産業開発研究を円滑に進めるため速やかな対応が期待されている。

本研究プロジェクトは、ヒト幹細胞臨床研究の推進から薬事上の品質・安全性評価や治験申請、製造販売承認への切れ目のない展開を効率的、効果的、合理的に行い、再生医療実用化を加速する方策を策定することを目的とする。

そのためには、現行の各種規制環境の中で個別に設定されている科学的方策や基準を共通のプラットフォームで取り扱えるようにすることがきわめて重要である。具体的には、ヒト幹細胞臨床研究であれ、産業開発であれ、例えば製造施設、製造工程、製品評価、製品管理面、倫理面、臨床適用面での留意事項、関連する評価基準、評価技術等について産・学・官が共通に参照でき、活用できる評価基準ミニマム・コンセンサス・パッケージ (MCP) を策定することである。また、再生医療では、多種多様で固有の特性を有するヒト幹細胞加工製品及び多様な疾患や患者が対象となるので、実用化加速方策には、ミニマム・コンセンサス・

パッケージに加え、個別製品や治療毎に最も適切な評価方策を共通化、標準化し、上乘せすべきものとして提示する必要がある。この上乘せすべき要素、留意事項や基準を臨床開発のステージに応じて提示することも重要なポイントとなる。

さらに技術的視点とは別に、関係者間の認識、解釈、運用の共有化も MCP の活用にあたってはきわめて重要な要素である。

これらがわが国の再生医療実用化の水先案内、牽引力、推進力となることを最終的な目的として本研究を実施した。

B. 研究方法

ミニマム・コンセンサス・パッケージ (MCP) の対象及び認識を共有すべき主な事項は、1) 一般原則、2) GTP (Good Tissue Practice)、3) 製品の製造方法&品質 (試験・評価・管理)、4) 非臨床安全性試験、5) 非臨床有効性 (POC) 試験、6) 臨床試験、7) 細胞種別、8) 細胞バンクの概念と技術要件、9) 細胞特性解析手法及び品質評価手法 MCP、10) ウイルス安全性、11) 造腫瘍性試験、12) 抗原性、13) リスク評価によるケース・バイ・ケースアプローチである (Table 1)。これらについて逐次取り上げ検討した。

なお、このうち2) GTP については昨年度までに検討を終えている。

B-1 一般原則

MCP の将来の活用の仕方として細胞・組織加工製品コモンテクニカルドキュメントのようなものを作成し、その中で MCP を示し、関係者の理解と活用に資す、という考え方があり。そこで MCP の一般原則を定め

るための検討を行った。

B-2 製品の製造方法&品質(試験・評価・管理)

各種関連資料やデータ及び国際的動向さらには独自の見解を総合的に勘案して MCP を提示する。

B-3 非臨床安全性試験

各種関連資料やデータ及び国際的動向さらには独自の見解を総合的に勘案して、概念として関係者が共有すべき MCP 及び技術的な観点で関係者が共有すべき MCP あるいは留意点を提示する。

B-4 非臨床有効性(POC)試験

各種関連資料やデータ及び国際的動向さらには独自の見解を総合的に勘案、必然的にケース・バイ・ケースが原則であるものの、概念として関係者が共有すべき MCP を提示する。

B-5 臨床試験

各種関連資料やデータ及び国際的動向さらには独自の見解を総合的に勘案して検討する。個々の製品に関する臨床試験の技術要件自体は、まさにケース・バイ・ケースで扱われるべきものであるが、先端医療である再生医療を適正に推進するための臨床試験の入り口に至るまでと開始に至る隘路を解消し、科学的合理性、倫理的妥当性、社会的理解、認知をいかに得るかについて検討する。

B-6 細胞種別

各種関連資料やデータ及び国際的動向さ

らには独自の見解を総合的に勘案して検討する。細胞種別 MCP と上乗せ方策については、「自己又は同種体性幹細胞」、「自己又は同種 iPS(様)細胞」、「ES 細胞」すべての細胞種間に通底し適用されるべき MCP とカテゴリーを同じくする細胞種内での MCP あるいは上乗せ分について検討する。

ヒト ES 細胞に関して再生医科学研究所では、ヒト胚の提供をうけてヒト ES 細胞の作成から培養、研究者への細胞株の分配を行うバンク事業に至るまでの行程を一貫して行っている。これらの確立されたプロセスについて、ヒト ES 細胞を中心に、まず臨床応用の初期段階において必要となるその品質や安全性の確保のための要件を、関連する法規・指針、最新の科学技術、国際的動向などをふまえて、標準化を目指した分析を行うと同時のその妥当性について検証を行い、必要であれば改良を行う。

臨床利用を目的としたヒト ES 細胞の Master Cell Bank (MCB)の構築を想定した場合、その評価基準策定は以下の様なステップに分割することができる。

1. ヒト胚の提供
2. ES 細胞株の樹立
3. 増殖と凍結保存、融解

およびこれらに加え適当な段階で細胞の品質評価を行うことになる。

それぞれの段階について、関連する指針等や技術的要件を分析・評価する

B-7 細胞バンクの概念

各種関連資料やデータ及び国際的動向さらには独自の見解を総合的に勘案して細胞バンクの概念と技術要件 MCP を提示する。

B-8 細胞特性解析手法

個別細胞特性解析、品質評価・管理、未分化細胞等混在細胞検出、目的細胞精製（又は目的外細胞除去）技術等、品質・安全性確保等すべてに渡って分析法が必須であり、産・学・官が共通に参照でき活用できる評価技術としてのコンセンサス・パッケージを策定することの意義、重要性に鑑み、普遍的な新規細胞解析技術開発例として網羅的糖鎖プロファイリング法を開発し、その有用性と適用可能性について検討する。

B-8-1 iPS 細胞の培養

2種類のiPS細胞(Toe、UTA-1)はマイトマイシンC処理したマウスフィダー細胞(MEF, Reprcell)を播種した培養ディッシュ上で血清代替物(Knockout Serum Replacment: KSR)を含む培養液を用いて培養した。細胞はPBS(-)で3回洗浄後、PBS/1 mM-EDTAを加え37°Cで5分間静置後、培養ディッシュ全体を水平方向に叩きながら、コロニーを形成する細胞のみを剥離させた。剥離させた細胞は15mLチューブに回収した。5分間遠心(800 rpm)し細胞を回収した。上清を捨て新たにPBS(-)10mLを加えて細胞を分散させながら洗浄し、5分間遠心(800 rpm)した。遠心分離後、上清のPBSを捨て細胞を回収した。

B-8-2 細胞糖タンパク質分画の調製

iPS細胞は1MEDTAを含むPBS(50 µL)中に懸濁し、2M Thioureaおよび5M Urea水溶液(267 µL)、1M DTT(16.7 µL)およびBenzonase溶液(125 units)を加え室温で30分間インキュベートした。インキュベート後、12000g、15分間遠心分離後の上清を回収した。回収した上清に5%酢酸、5%水、5%トリエチルアミンを含むアセトン溶液を加え、-20°Cで30分間タンパク質を沈殿

させたのち、12000g、15分間遠心分離した。得られた沈殿に75%EtOHを加え、12000g、15分間遠心分離後の沈殿を細胞総タンパク質として糖鎖分析に用いた。

B-8-3 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-ME、NP-40を1%ずつ含むリン酸緩衝液(pH 7.5、50µl)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EtOH(50 µl)を加え12000g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/MeOH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-8-4 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Shimadzu LC10-ADVP、検出器にはWaters 2475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B5%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-8-5 順相分配型 HPLC による N-結合型糖鎖の分析

カラムには TOSOH Amide80 (4.6 mm x 250 mm、東ソー) 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。分離された糖鎖は AXIMA-Resonance (Shimadzu) を用い、2,5-dihydroxybenzoic acid (DHB) を試料マトリックスとしてリニア-ネガティブイオンモードにより測定した。

B-8-6 MALDI-TOF MS

装置には AXIMA-Resonance (Shimadzu) 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 10 mg/mL DHB/MeOH 溶液と等量混合し試料プレート上で風乾させた。

B-8-7 iPS 細胞のシアル酸分析

細胞より回収した N-結合型糖鎖混合物の凍結乾燥物に水に 10 μL と 0.2 M HCl (10 μL) を加え、80 °C で 40 分間加水分解を行った。加水分解後、室温まで冷却後、0.7 M DMB 試薬(80 μL)加え、50 °C で 150 分間誘導体化反応を行った。反応後、10 μL を HPLC に注入し、シアル酸分析を行った。ポンプには Shimadzu LC10-ADVP、検出器には Waters 2475 型蛍光検出器を使用し、流速は 0.9 ml/min とした。カラムは逆相分配 (ODS) カラム(COSMOSIL 5C18-AR-II; 4.6 x 150 mm) を用い、検出波長は励起波長 375 nm、蛍光波長 448 nm とした。溶出は 2%MeCN/14%MeOH 溶液を用い、アイソク

ラティック溶出にて行った。

B-9 ウイルス安全性

各種関連資料やデータ及び国際的動向さらには独自の見解を総合的に勘案して MCP を提示する。

B-10 造腫瘍性試験

各種関連資料やデータ及び国際的動向さらには独自の見解を総合的に勘案して検討する。具体的には、造腫瘍性問題を、「品質：細胞特性問題」及び「安全性問題」面から、「安全性問題」には品質面 (*in vitro*) からのアプローチと生物学的な面 (*in vivo*) からのアプローチがあると整理して、MCP と上乘せにかかわるコンセプト及び評価技術要素を提示する。

B-11 抗原性

各種関連資料やデータ及び国際的動向さらには独自の見解を総合的に勘案して MCP を提示する。

B-12 ケース別上乘せ評価方策の策定 (リスク評価によるケース・バイ・ケースアプローチ)

関連資料やデータ及び国際的動向さらには独自の見解を総合的に勘案して考察する。

B-13 関連指針の相互比較からみたヒト細胞・組織加工製品(ヒト細胞調製品)の臨床研究と薬事開発に共通して参照可能な品質・安全性確保の技術要件の抽出・同定およびリスク・ベース・アプローチに基づいたケース別上乘せ評価方策

各種関連資料やデータ及び国際的動向さらには独自の見解を総合的に勘案して検討・考察を行う。

B-14 欧米における規制やその原則等の国際動向の調査研究

再生医療製品にかかわる欧米における規制やその原則等の国際動向を調査研究し、MCP等策定のための参考とする。

米国のヒト細胞、組織または細胞・組織利用製品(HCT/P)に関しては米国食品医薬品局(FDA)の生物製剤評価研究センター(CBER)、Steven Bauer博士ら、EUの先端医療製品(ATMP)に関しては欧州医薬品庁(EMA)の先端医療委員会(CAT)の委員・事務局員およびEU加盟各国の規制当局者(独
国PEIのEgbert Flory博士・Bettina Klug博士ら、仏国AFSSAPS、伊国ISS/AIFA)らに聞き取り調査を行った。これと同時に各種メディア中の公開情報の収集を行った。

(倫理面への配慮)

京都大学再生医科学研究所や国立成育医療センターにおけるヒトES細胞株の樹立研究と使用研究は、政府指針に沿った文部科学大臣からの確認をすでに受けている。本研究はこれらの研究に含まれるものである。動物・ヒト試料等を用いる研究においては、近畿大学、国立医薬品食品衛生研究所等の各施設の動物実験指針、研究倫理審査委員会規程等に沿った倫理面の審査・承認を得てのち実施した。

*注：関連文書としては、以下の文書を参照した。

① 「ヒト幹細胞を用いる臨床研究に関

する指針」(平成18年7月3日、全部改正平成22年11月1日、厚生労働省告示第380号)

- ② 細胞・組織利用医薬品等の取扱い及び使用に関する基本的考え方」(厚生省医薬安全局長通知平成12年12月26日医薬発第1314号別添1、一部改訂平成19年3月30日薬食発0330030号)
- ③ 「ヒト(自己)由来細胞・組織加工医薬品等の製造管理・品質管理の考え方について」(厚生労働省医薬食品局監視指導・麻薬対策課長通知薬食監麻発0327025号、平成20年3月27日)
- ④ 「ヒト(自己)由来細胞や組織を加工した医薬品又は医療機器の品質及び安全性の確保について」(厚生労働省医薬食品局長通知薬食発第0208003号、平成20年2月8日)(以下<自己指針>と略す)
- ⑤ 「ヒト(同種)由来細胞や組織を加工した医薬品又は医療機器の品質及び安全性の確保について」(厚生労働省医薬食品局長通知薬食発第0912006号、平成20年9月12日)(以下<同種指針>と略す)
- ⑥ 「ヒト組織を利用する医療行為の倫理的問題に関するガイドライン」(日本組織移植学会、平成20年8月23日改訂)(以下<組織移植学会GL>と略す)
- ⑦ 「医薬品の臨床試験の実施の基準に関する省令」(厚生労働省令第68号、平成21年3月31日改正)(以下<GCP省令>と略す)

- ⑧ 「ヒト（自己）由来細胞・組織加工医薬品等の製造管理・品質管理の考え方について」（厚生労働省医薬食品局監視指導・麻薬対策課長通知 薬食監麻発 0327025 号，平成 20 年 3 月 27 日）（以下＜自己 GMP＞と略す）

C. 研究結果

C-1 一般原則

MCP の一般原則として挙げるべきと考えたものを以下に列挙する。

1) MCP は最低限の必須・共通の要件や基準、評価技術だが、一律適用又は全てを包含とすべきではない。学問の進歩を反映した合理的根拠に基づき、ケース・バイ・ケースで柔軟に対応すること。

2) 臨床適用開始時の評価ポイントは、支障となる品質及び安全性上の明らかな問題の存在の有無、臨床知見との関係性を照合できる程度の品質特性の把握と一定範囲の恒常性の確保である。

3) 臨床適用すべきか否かの判断に際して、既知の明らかなリスクの排除は当然として、なお製品・技術のリスクが想定される場合にも、それと疾病リスクの大小を勘案し、全ての情報を開示した上で患者の自己決定権に委ねるという視点を入れて評価することを考慮する。なお、治験の進行とともに承認に必要な資料を充実整備する必要がある。

4) 資料の範囲及び程度は、製品の由来、対象疾患、対象患者、適用部位、適用方法及び加工方法等により異なる。

5) 試験事項、試験方法、基準その他の技術要件は、それぞれの目的に適う内容と程

度をもとに考慮、選択、適用、及び評価する。

C-2 製品の製造方法&品質（試験・評価・管理）

製品の製造方法&品質（試験・評価・管理）MCP 項目としては以下のものが挙げられる。これらの基本的な部分に関しては、当然のことながら、「C-2 GTP」の MCP とオーバーラップする事項、内容が含まれる。また、(MCP) GTP と相互補完的に留意、活用される必要があることは言うまでもない。

- 1) 原材料となる細胞・組織とその特性解析、特性指標の把握、適格性
- 2) その他の原材料、製造関連物質の適格性と品質管理（特に生物由来物質、複合製品の非細胞・組織成分等）
- 3) 微生物、とくにウイルス安全性
- 4) 製造工程の妥当性、一定性
- 5) 最終製品の品質管理
- 6) 安定性（貯法・有効期限設定、凍結/解凍、運搬する場合等）
- 7) 製品レベルと製法レベルでの適切な組合せによる品質管理

これらの項目は MCP を構成する必須のものであるが、さらにより詳細な技術要素としてどのような考え方でどのような内容を挙げるかが肝要になる。

まず物質的に最も核心に据えるべき目標対象は、最終製品である。上記 1) から 7) の検討項目は突き詰めればそのためにあるといって過言ではない。もちろん、非臨床安全性や非臨床有効性、臨床上の安全性、

有効性、市販後の安全性評価における中心的目標対象も最終製品である。

この最終製品において、かつ段階としては最初に臨床研究あるいは治験に入るときに必要な最小限度満たすべき要件構成が内容的には MCP となる。言い換えれば、当該製品をヒトへ適用するにあたって、支障となる品質（及び安全性）上の明らかな問題が存在しないこと、臨床で得られた知見との関係性を照合できる程度に品質特性を把握し、その一定範囲の恒常性が確保できることを満たせるよう上記1) から7) の技術要素を構成してパッケージ化したものが MCP となる。

ここでもうひとつ重要な概念は、上記1) から7) の技術要素の相互補完性ということである。これらは製品の品質確保方策全体を構成する要素であるとともに、その内容や程度がどうあるべきかが必ずしも絶対的ではなく、他の要素との相互補完的關係づけにおいて考えるべき相対的なものであるということである。その関係づけを Fig. 1 に示した。

また、上記1) から7) における技術要件詳細や基準が、対象とする細胞・組織の種類及び性質、製造方法、各製品の臨床使用目的や使用方法、安定性、利用可能な試験法、あるいは製品開発段階等によって異なることは言うまでもない。

要は品質・安全性等の確保や品質の恒常性保証は、製造方法全体で相互補完的方策により達成され、その方策が合理的で合目的性に叶うことが最も肝要である。したがって、最終製品や中間製品における品質試験や管理あるいは製造過程における管理において、品質や安全性及びその恒常性の確

保という目的が達成されるという科学的妥当性を明示できることにつきていうことである。

これらの一般的留意事項を踏まえた上で、MCP を構成する各項目における技術要素及び関連する留意点について言及する。

C-2-1 原材料となる細胞・組織とその特性解析、特性指標の把握、適格性

C-2-1-1 原材料となる細胞・組織とその特性解析、特性指標の把握

原材料として用いられる細胞・組織の起源及び由来について説明し、また、その生物学的構造・機能の特徴を示して原材料として選択した理由を明らかにすることが必要である。特に最終目的製品あるいはそれに至る中間製品等との関係において、理由を明確にすることが必要である。この際、同種由来の細胞・組織についてより詳細な情報が提供されるべきは言うまでもない。ドナーの適格性、とくに感染性物質の存在に着目した適格性については後述する MCP が要件となる。

原材料として用いられる細胞・組織の生物学的構造・機能の特徴を示す指標としては、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又は表現型がある。さらには網羅的解析として、例えば1) CGH ゲノム、2) エピジェネティックス (DNA メチル化)、3) RNA、4) 糖鎖に関してアレイ、チップ、糖鎖プロファイル等を用いた解析が有用な場合もある。

この中で、「形態学的特徴」、「増殖特性」あるいは「生化学的指標」が必要最低限度 MCP であろうと考えられる。極端には、適

正な医療機関及び専門的医師によりヒトのしかるべき部位から細胞・組織採取が行われるということで、原材料としての資格要件をみたくも考えられる。しかし、以降の製造工程である細胞等の加工から最終目的製品に至る過程をより確実に、再現性よく運ぶためには、原材料の吟味が重要なポイントであることも事実である。このような趣旨から、それぞれの目的を考慮しながら適切な指標を選択して示し、その理由を説明することになる。また、自己細胞由来製品の場合のように、試験検体で予め指標を定めておき、本番では患者の細胞を採取して用いる場合や、原材料となる細胞を新たに調製する際の重要細胞特性指標は、予めやや幅広く検討された生物学的構造・機能の特徴を示す指標から選択されることが望ましい点も留意しておく必要がある。内外の文献等からその妥当性が明らかになる場合は、重要細胞特性指標が MCP そのものであるとしてもよいと考えられる。なお、ここで対象としているのは一般に体細胞・組織であり、体性幹細胞、ES 細胞あるいは iPS (様) 細胞については、それぞれの細胞特性に応じた MCP を設定する必要がある。これについては後述する。

C-2-1-2 ドナーの選択基準、適格性

ドナーの選択基準、適格性については、ドナーの選択が倫理的に適切に行われ、かつ適切な手続きで行われたことを示す必要がある。これは GTP の項で詳細に手順が述べられている。また、関連指針には、留意事項として、年齢、性別、民族学的特徴、遺伝的特徴、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、選択基準、適格性基準を定め、その妥当性を明らかにすることが述べられているが、臨床目的や最終目的物質の観点から考えて全ての要件を満たす必要は必ずしもない。自己由来をベースとする MCP としては、「病歴、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が相応し、同種の場合等ケースに応じてその他の項目に関する情報・データが必要になってくると考えられる。なお感染性物質問題については、後の項 (C-2-3 等) で詳述する。

C-2-1-3 ドナーに関する記録

原材料となる細胞・組織について、安全性を確保するために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、保管されていること。また、その具体的方策を示すこと。なお、試験的検体のドナー及び患者のそれぞれについて、それぞれの細胞の使用目的に応じた情報の整備及び保管方策でよい。

C-2-1-4 細胞・組織の採取・保存・運搬

① 採取者及び採取医療機関等の適格性

原材料となる細胞・組織の採取者及び採取医療機関等に求めるべき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・組織の採取部位の選定基準及び採取方法を示し、これらが科学的及び倫理的に適切に選択されたものであることを明らかにすること。細胞・組織の採取方法については、用いられる器具及び薬剤、微生物汚染防止、取り

違い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・組織のドナーに対する説明及び同意の内容を、臨床応用も含めて規定すること。

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。

⑥ 保存方法及び取り違い防止策

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、取り違いを避けるための手段や手順等について具体的に説明すること。

⑦ 運搬方法

採取した細胞・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。

C-2-2 目的とする細胞以外の原材料、製造関連物質の適格性と品質管理（特に生物由来物質、複合製品の

非細胞・組織成分等）

目的とする細胞・組織以外のすべての原材料及び製造関連物質について、その使用目的からみた選択理由及び適格性を示すことが必要である。また、必要に応じて規格を設定し、適切な品質管理を行うことが必要である。

なお、生物由来製品又は特定生物由来製品を原材料として使用する場合は、その使用量を必要最小限とし、「生物由来原料基準」（平成 15 年厚生労働省告示第 210 号）をはじめとする関連法令及び通知を遵守すること。特に、ウイルス不活化及び除去に関する情報を十分に評価する必要があるほか、遡及調査等を確保する方策についても明らかにする必要がある。

重要なことは目的とする細胞以外の原材料、製造関連物質を選択するにあたり、それらが可能な限り最終製品の安全性に影響を及ぼさぬようなものを選択すること、及び最終製品での混入や残留を可能な限り最少限に止めること、それによりこれらに関する非臨床安全性試験の実施を極力必要なくすることである。

それぞれのケースについては、各種指針等で示されている留意事項を参照する必要があるが、以下に MCP としての考え方を示す。

C-2-2-1 培地等

1) 培地、添加成分（血清、成長因子及び抗生物質等）及び細胞の処理に用いる試薬等のすべての成分等について上記の考え方を適用する。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、MCDB、HAM、RPMI のような培地は1つのものと考えてよい。

- 2) すべての成分を含有した培地の最終品については、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。
 - 3) 異種血清及び異種もしくは同種の血清に由来する成分については、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、その理由を明確にすること。関連文書を参照しつつ血清等からの細菌、真菌、ウイルス及び異常プリオン等の混入・伝播の防止に万全を期すこと。
 - 4) 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及び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。
 - 5) フィーダー細胞を使用する場合には、平成12年7月14日付け医薬審第873号通知厚生労働省医薬食品局審査管理課長通知「生物薬品（バイオテクノロジー応用医薬品／生物起源由来医薬品）製造用細胞基剤の由来、調製及び特性解析」、平成14年7月9日付け医政研発第0709001号厚生労働省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」及び平成16年7月2日付け医政研発第0702001号厚生労働省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」を参考にして品質評価を行い、フィーダー細胞からの細菌、真菌、ウイルス、異常プリオン等の混入・伝播を防止する策を講じるとともに、使用時の分裂能不活化方法及び細胞密度等の条件について明らかにすること。ただし、例えば既に臨床使用されているヒト細胞・組織製品の製造に使用され、その特性や微生物学的安全性等について評価が定まっているフィーダー細胞と同一の細胞を利用する場合には、その妥当性を示すことによってウイルス否定試験等、試験の一部を省略することができるかも知れない。
 - 6) 抗生物質の使用は極力避けるべきである。ただし製造初期の工程において抗生物質の使用が不可欠と考えられる場合には、その後の工程で可能な限り漸減を図るほか、その科学的理由、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こと。なお、抗生物質を使用する場合でも十分に除去されることが立証される場合には、その使用を妨げるものではない。一方、原則として、用いる抗生物質に過敏症の既往歴のある患者の場合には、本治療を適応すべきではない。やむを得ず適用する際には十分な注意を払うと同時に、患者からインフォームド・コンセントを得る必要がある。
- C-2-2-2 非細胞成分と組み合わせる場合
- 1) 細胞以外の原材料の品質及び安全性について
細胞とともに最終製品の一部を構成す

る非細胞の原材料(マトリックス、医療材料、スキャフォールド、支持膜、ファイバー及びビーズ等)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こと。

当該原材料の種類と特性、最終製品における形態・機能及び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、適切な情報を提供すること。生体吸収性材料を用いる場合には、分解生成物に関して必要な試験を実施すること。

なお、必要な試験等については、平成15年2月13日付け医薬審発第0213001号厚生労働省医薬食品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こと。文献からの知見、情報を合理的に活用すること。

2) 目的とする細胞との相互作用について

最終製品中または中間製品中の細胞との相互作用に関し、以下の事項について、確認方法及び確認結果を示すこと。

- ア 非細胞成分が、想定される臨床適応に必要な最終製品中または中間製品中の細胞の機能、生育能力、活性及び安定性に悪影響を与えないこと。
- イ 非細胞成分との相互作用によって起こり得る、最終製品中または中間製品中の細胞の変異、形質転換及び脱分化等を考慮し、その影響を可能な範囲で評価すること。
- ウ 想定される臨床適応において期待される非細胞成分の性質が、最終製品中または中間製品中の細胞との相互

作用によって損なわれないこと。

3) 細胞と適用部位を隔離する目的で非細胞成分を使用する場合

非細胞成分を細胞と適用部位を隔離する目的で使用する場合、下記の項目を参考に効果、安全性を確認すること。

- ア 免疫隔離が目的の場合、その程度
- イ 最終製品中の細胞由来の目的生理活性物質の膜透過キネティクスと薬理効果
- ウ 栄養成分及び排泄物の拡散
- エ 非細胞成分が適用部位周辺に及ぼす影響
- オ 目的細胞由来の目的生理活性物質の薬理効果に期待し、かつ目的細胞や未分化細胞と適用部位との隔離を目的する場合、非細胞成分の崩壊等により細胞等が漏出しないこと。

C-2-2-3 細胞に遺伝子又はタンパク質導入あるいは薬剤処理等を施す場合

細胞に遺伝子又はタンパク質導入、あるいは薬剤処理等を施す場合、これらが、最新の知見に基づき、化学的にも、機能的にも最終製品の一部を構成せず、可能な限り最終製品の品質や安全性に影響を及ぼさぬような方策を選択すること。また、最終製品における混入や残留を可能な限り最少限に止めること。これらが製造工程中の試薬として使用されると判断された場合は、当該使用の目的に適う品質及び安全性が確保されていることを明らかにすること。それによりこれらに関する非臨床安全性試験の実施を極力必要なくすることが重要である。

導入遺伝子等が、化学的にも、機能的にも最終製品の一部を構成する場合は、各種指針等で示されている留意事項を参照する必要がある

細胞に遺伝子を導入する場合は、次に掲げる事項に関する詳細を示すこと。

- ① 目的遺伝子の構造、由来、入手方法、クローニング方法並びにセル・バンクの調製方法、管理方法及び更新方法等に関する情報
- ② 導入遺伝子の性質
- ③ 目的遺伝子産物の構造、生物活性及び性質
- ④ 遺伝子導入構成体を作製するために必要なすべての原材料、性質及び手順(遺伝子導入法並びに遺伝子導入用ベクターの由来、性質及び入手方法等)
- ⑤ 遺伝子導入構成体の構造や特性
- ⑥ 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及びバンクの管理方法

遺伝子導入細胞の製造方法については、平成7年11月15日付け薬発第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」(以下、「遺伝子治療用医薬品指針」という。)の別添「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」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明らかにすること。

C-2-3 微生物、とくにウイルス安全性
製品の品質及び安全性確保の中で、最も重要な留意事項は、微生物汚染の排除、特

にウイルス安全性である。チェックすべき対象としては、ドナー、培地の成分、フィーダー細胞、その他製造工程に使用される生物起源の試薬、添加剤、そして中間製品や最終製品等がある。また、環境要因も考慮の対象となる。

C-2-3-1 自己細胞由来製品の場合

自己由来製品の場合には、ドナーは患者であり、細胞・組織自体は患者から採取されて、患者に移植されるという構図である。したがって、患者から何らかの感染性物質が検出されたとしても、そのことをもって直ちに適用中止ということにはならない。問題になるとすれば、まず、採取した段階における患者の感染状態と移植段階における状態に差異が生ずる場合である。その際少なくとも3つのパターンがある。第1に、もともと患者に存在していた感染性物質が増殖、増幅された状態で移植というケースである。第2には、患者に存在していなかった感染性物質が移植時に混入してくるケースである。第3には第1と第2のケースが複合して発生するケースである。もちろん、いずれのケースも適用不可となる。こうした事態を避ける方策としては、第2、第3のケースの場合、工程に用いる資材からの感染性物質の汚染が無いよう素材の選択とチェックを徹底的に行うこと及び製造工程管理を万全にする以外にない。先述の生物原料基準やGTPの中核部分はまさにそのためにある。第1のケースで特に問題になるのは、患者におけるスクリーニングの段階でB型肝炎ウイルス(HBV)、C型肝炎ウイルス(HCV)、ヒト免疫不全ウイルス(HIV)感染症、成人T細胞白血病ウイルス(HTLV)の検査は必須事項であるが、そこでこれらのウイル

スの存在を否定出来ない場合である。その上、目的とする細胞がこれらのウイルスを増殖させる可能性のある場合には、増殖可能性のあるウイルスについてその存在量に関する試験を実施し、最終製品の投与が患者の不利益にならないことを確認する必要がある。セル・バンクや中間製品においてウイルス否定試験が実施されている場合はこの限りではない。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についての否定試験の実施を考慮すべき場合もあるかも知れない。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。

なお、患者においてウイルス等の感染が認められた場合、医療従事者や製造工程における作業従事者における安全性確保について十分な配慮を払うべきは言うまでもない。

C-2-3-2 同種細胞由来製品の場合

同種由来細胞の場合、自己由来細胞と根本的に異なるのは、不特定多数の候補者からドナーを自由に選択出来ることである。この場合、それを細胞基材として製品を開発した場合に感染性物質の混入をはじめとする安全性等に関して少しでも問題があるようなドナーをあえて選択する理由はない。年齢、性別、民族学的特徴、遺伝的特徴、病歴、健康状態、採取細胞・組織を介して感染する可能性がある各種感染症に関する検査項目、免疫適合性等に関して最適なドナーを選ぶことを前提として、選択基準、適格性基準を定め、その妥当性を明らかにすべきである。生物原料基準に従うほか、MCP として以下の要件が充たされるべきであると考えられる。

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 (HTLV)、パルボウイルス B19 感染症については、問診及び検査 (血清学的試験や核酸増幅法等) により否定すること。また、サイトメガロウイルス感染、EB ウイルス感染及びウエストナイル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こと。この他、次に掲げるものについては既往歴の聴取、問診等を行うとともに、輸血、移植医療を受けた経験の有無等からドナーとしての適格性を判断すること。

- ・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
 - ・重篤な代謝及び内分泌疾患
 - ・膠原病及び血液疾患
 - ・肝疾患
- ・伝達性海綿状脳症及びその疑い並びにその他の認知症
- ・特定の遺伝性疾患や家族歴

C-2-4 製造工程の妥当性、一定性

ヒト細胞・組織加工医薬品等の製造に当たっては、製造方法を明確にし、可能な範囲でその妥当性を以下の項目で検証し、品質の一定性を保持する必要がある。とくに自己由来細胞製品の場合には、それぞれの患者から得られる原材料としての細胞の品質、機能においてある程度の個人差があることは避けがたく、また、得られる最終目的製品においても品質にある程度のばらつきが生じることは否めない。安全性、有効性において影響を及ぼさない範囲であれば、そうしたばらつきは許容すべきと考えら