



ONLINE METHODS

Design of study. Laboratories that agreed to contribute cell lines to the study were asked to provide four preparations of DNA from a culture of each cell line to be analyzed, two preparations from as early a passage as possible and two from as late a passage as possible (**Supplementary Note 1**, protocol for DNA preparation). The samples were coded and shipped directly, one pair of early- and late-passage DNA for SNP analysis to the Genome Institute, A*STAR, Singapore, and one pair of samples for DNA methylation analysis to the University of Southern California. The laboratories were also asked to prepare fixed hypotonic-treated samples of cells at both passage levels, following culture in colcemid, according to a specified protocol (**Supplementary Note 2**). These samples were shipped to the University of Sheffield for preparation and karyotypic analysis of metaphase spreads. Ideally the laboratories were asked to provide the material for both DNA analyses and the cytogenetic analysis from the same cultures of the cells. In a few cases this could not be done, for example, when a first sample did not meet quality control criteria and additional samples had to be prepared, but all samples were provided from as close a passage as possible. The full details of each cell line included in the study, the passage levels of each sample and culture details, including split ratios, culture time between passages, and medium and subculture methodology, are provided in **Supplementary Table 1**.

Karyology. Chromosome analysis was carried out in accord with the general principles developed by the International Stem Cell Banking Initiative⁶⁵. Briefly, cells were to be cultured in the presence of 0.1 µg/ml colcemid (Invitrogen) for up to 4 h, followed by dissociation with 0.25% trypsin/versene (Invitrogen). The cells were pelleted by centrifugation and resuspended in prewarmed 0.0375 M KCl hypotonic solution and incubated for 10 min. After centrifugation the cells were resuspended in fixative (3:1 methanol/acetic acid) and sent to the central karyotyping facility, where metaphase spreads were prepared on glass microscope slides and G-banded by brief exposure to trypsin and stained with 4:1 Gurr's/Leishmann's stain (Sigma-Aldrich). (See **Supplementary Note 2** for detailed protocols.) A minimum of 10 metaphase spreads were analyzed in detail and a further 20 counted and scored from both the early- and late-passage cultures. A 30-cell examination can exclude mosaicism at the 10% level with 95% confidence⁶⁶. Analysis was performed by a Health Professionals Council registered Clinical Cytogeneticist in a CPA accredited laboratory (Duncan Baker DipRCPath, Sheffield Diagnostic Genetic Services, Sheffield Children's NHS Foundation Trust and the CSCB, University of Sheffield). A representative image of each cell line was captured using Applied Imaging's Cytovision system. All abnormal karyotype results were confirmed by two other experienced analysts (Tamar Golan-Lev, Hebrew University, Jerusalem, and Karen Montgomery, WiCell).

Cell lines were described as abnormal if at least two cells were found with the same chromosome aberration. Fluorescent *in situ* hybridization (FISH) was used to characterize abnormalities when appropriate. Abnormalities confined to a single cell were recorded (**Supplementary Table 2**). For those in which the single cell abnormality involved chromosomes 1, 12, 17 or 20, interphase FISH analysis with appropriate probes (**Supplementary Table 2**) was performed to confirm or exclude low level mosaicism. FISH analysis was also performed, on the early-passage cultures of those cell lines with normal early cultures and abnormal late cultures to confirm or exclude low-level mosaicism in the early passage.

SNP array analysis. To analyze genomic structural variations below the resolution of standard chromosomal banding analysis, we chose the Illumina 1M Quad SNP array technology. In addition to providing the ability to detect structural variants by virtue of appropriately spaced invariant genetic features, the SNP features allowed characterization of the population structure between all human ES cell lines analyzed. The samples received were run on the Illumina 1M Quad platform and the data were subjected to structural variant quality control (QC) assessment in which the minimum number SNP/structural variant = 10, the minimum length of structural variant = 1 kb, the minimum confidence score for structural variant call = 10, the Log R Ratio s.d. < 0.35, the B allele freq s.d. < 0.06 and the waviness factor $-0.04 < WF < 0.04$.

PLINK⁶⁷ was used to detect genetically related samples (early- and late-passage paired samples and other sibling relationships) and the related samples

with the lower call-rate were removed. QC was performed on these samples, by excluding structural variant probes, nonautosomal SNPs, and samples and SNPs with call-rates <95%. Thereafter, 982,351 SNPs from 114 unrelated samples were merged with three publicly available data sets: HGDP, Hapmap Phase 2 (release 23) and the Pan-Asian SNP Initiative (PASNPI). Additional QC was then performed on the merged data set by exclusion of samples and SNPs with call-rates <95% and monomorphic SNPs. Furthermore, we excluded the extremely diverse southeast-Asian samples in PASNPI, to focus the analyses on human ES cell origins in Africa, Europe, Central-south Asia and East Asia. Ultimately, the merged data set contained 1,967 samples and 11,279 SNPs. Subsequently, a series of PC analyses (PCAs) were performed. The PCAs were performed using smartpca from the software EIGENSTRAT⁶⁸ (found in EIGENSOFT, <http://genepath.med.harvard.edu/~reich/Software.htm>).

The first PCA was performed on the entire final merged data set. The scatter plot of PC2 against PC1 of this PCA was then dissected into four sectors, based primarily on the global regions of Africa ($PC2 < -0.04$), Middle East-Europe-Central-South Asia ($PC1 > 0.005$ and $PC2 > 0.008$), Oceania-America-Central-South Asia ($-0.015 < PC1 < 0.005$) and East Asia ($PC1 < -0.015$). (**Fig. 1a**). PCAs were then reperformed on the samples found in these four sectors. Notably, most of the human ES cell samples were concentrated in the European sector (with the HGDP-Europe and HapMap European cluster).

Hence, to further elucidate the origins of the human ES cell lines in Europe, we removed 16 human ES cell European outliers in the Central-south Asia-Europe-Middle East sector (**Fig. 1d**); these are considered to be of dubious ancestry, suspected to originate from two groups: Central-south Asian or Southern European or mixed from both; Middle Eastern or Eastern European or mixed from both. Lack of reference populations and insufficient SNPs could be possible reasons for this uncertainty in determination of ancestry. The remaining human ES cell samples (found in the European cluster) were then merged with 1,385 samples and 168,352 SNPs from the POPRES European data set⁴⁵. (The sample and SNP lists were obtained through correspondence with the author.) This second merged data set between human ES cell and POPRES European data yielded 1,448 samples and 55,972 SNPs, after excluding samples and SNPs with call rates <95% and monomorphic SNPs. PCA was then performed again on this data set (**Fig. 1b**). Color coding was deliberately implemented in a similar manner to that of reference⁴⁵.

The human ES cell lines were classified into broad categories of European, Asian, African and other ancestries and then further subclassified into ethnicities listed in **Table 1**. Human ES cell samples that are full siblings of the 114 samples were included, resulting in a total of 120 human ES cell lines.

Frequency and mapping analysis of SNP data. The PennCNV⁴⁷ Hidden-Markov model algorithm was used to identify structural variants in the ISCI samples with human hg18 as the reference genome. High-quality structural variant calls were filtered as follows: first, samples were checked for overall quality using the following criteria from the PennCNV output: $0.01 < BAF_drift < 0.01$; $-0.05 < WF < 0.05$; $LRR_SD < 0.35$. Second, individual structural variant calls for samples passing QC were assessed as follows: minimum SNPs per structural variant > 10; structural variant Length > 1K; PennCNV confidence threshold > 10. Most samples that failed quality control either exhibited extensive karyotypic abnormalities and/or bad SNP call rates, both of which could contribute to difficulties in structural variant detection. The samples that did pass quality control identified 39,926 deletions of an average size of 23.1 kb and 14,351 duplications of an average size of 117.4 kb in length. These size and total number differences between deletions and duplications is consistent with previous structural variant studies of human populations⁴⁷. The sensitivity of detection was in the 5–10% range based on CNV calls in regions identified as amplified by karyotype analysis.

DNA methylation analysis. 1 µg of genomic DNA was treated with sodium bisulfite using the Zymo EZ-96 DNA Methylation Kit (Zymo Research) following the manufacturer's recommended protocol. DNA methylation measurements were generated using the Illumina GoldenGate DNA methylation platform as previously described⁶⁹, at the University of Southern California Epigenome Center production facility. The sequences assayed were previously identified⁵³ as targets of SUZ12, a subunit of the Polycomb Repressive Complex 2, in the nonrepetitive portion of the genome in human

ES cells (**Supplementary Table 4** array loci, sequences, etc). DNA methylation measurements (β -values) were generated for 1,452 autosome and 84 X-linked loci.

To obtain a global view of the DNA methylation changes undergone by each cell line pair from the early to the late passage, CDF curves were generated. CDF curves were chosen because they are able to concomitantly capture and visually represent the changes detected in all loci analyzed in a single line. To test whether increased passage number correlated with increase in the number of loci gaining DNA methylation, we calculated the difference in passage number between the early and the late member of each cell line pair, ranked these differences and divided the samples into quartiles based on passage-number difference. To investigate whether sibling lines behaved similarly in terms of DNA methylation changes, we calculated the number of loci with an absolute DNA methylation difference $\geq 10\%$ between the early and late member of each pair of sibling lines. We then compared whether the total number of loci with the specified absolute change in DNA methylation differed significantly from the number of loci undergoing a similar change

in pairs of unrelated lines using a Wilcoxon signed-rank test. The data were analyzed using the R statistical programming package version 2.12.1 (<http://www.r-project.org/>).

Cell line availability. **Supplementary Table 5** provides contact information and conditions of availability for the cell lines described in this study.

65. The International Stem Cell Banking Initiative. Consensus guidance for banking and supply of human embryonic stem cell lines for research purposes. *Stem Cell Rev.* **5**, 301–314 (2009).
66. Hook, E.B. Exclusion of chromosomal mosaicism: tables of 90%, 95% and 99% confidence limits and comments on use. *Am. J. Hum. Genet.* **29**, 94–97 (1977).
67. Purcell, S. *et al.* PLINK: a tool set for whole-genome association and population-based linkage analyses. *Am. J. Hum. Genet.* **81**, 559–575 (2007).
68. Price, A.L. *et al.* Principal components analysis corrects for stratification in genome-wide association studies. *Nat. Genet.* **38**, 904–909 (2006).
69. Bibikova, M. *et al.* High-throughput DNA methylation profiling using universal bead arrays. *Genome Res.* **16**, 383–393 (2006).



**特別
掲載**

ヒト幹細胞を用いた細胞・組織加工医薬品等の品質・安全性確保に関する研究（その1）

ヒト幹細胞を用いた細胞・組織加工医薬品等の品質・安全性確保に関する指針整備と主なポイント

早川 堯夫（近畿大学薬学総合研究所所長）

青井 貴之（京都大学iPS細胞研究所教授）

梅澤 明弘（国立成育医療センター生殖医療研究部部長）

小澤 敬也（自治医科大学医学部内科学講座血液学部門教授）

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室長）

澤 芳樹（大阪大学大学院医学系研究科外科学講座教授）

松山 晃文（(財)先端医療振興財団再生医療研究開発部門部門

長補佐）

大和 雅之（東京女子医科大学先端生命医科学研究所教授）

山中 伸弥（京都大学iPS細胞研究所所長）

はじめに

細胞・組織加工医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増えつつ強くなっている。

また、平成19年11月の総合科学技術会議において、その研究成果が目まぐるしく目されている人工多能性幹細胞(iPS細胞)について意見交換が行われ、今後、再生医療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の意見が出された。その後わが国を挙げて再生医療の実用化に向けた動きが急速に進められる中で、ヒト由来の多能性細胞、すなわち間葉系幹細胞などの体性幹細胞、胚性幹細胞(ES細胞)、さらには人工多能性幹細胞(iPS細胞)について、近い将来に予想される製品の評価を円滑に進めるための準備を早期に行う必要があると考えられた。

再生医療におけるヒト幹細胞の活用について、ヒト胚性幹細胞は倫理上使用が限定され実用化は困難とされていたが、最近、米国ではその使用が認められ、製品も次々に開発されつつある。さらに間葉系幹細胞やiPS細胞由来製品については国際的に実用化に向けた研究開発が活発に行われている。各種幹細胞の実用化の為に必要な要件を行政当局が開発早期から示すことは、研究開発者、企業、規制側にとり有用であり、幹細胞を用いた再生医療をより迅速に実用化するために規制環境整備という面から支えるという意味で必要不可欠である。

1. ヒト幹細胞を用いる再生医療 関連指針整備

現在のところ、再生医療には主に2つのアプローチがある。1つは薬事法下における細胞・組織加工製品の製造販売承認を目指したものである。すなわち、企業による研究開発、治験に入る前にヒトに適用する(First-in-Man)に際して支障がないという確認を公的に規制当局から得るための評価に供する「確認申請(注：現行制度上のステップ。但し平成22年11月1日付け906号通知一部改正通知(薬食発1101第3号2)により、後述するヒト幹臨床研究指針に適合していれば確認申請はスキップできることになった。また、きわめて近い将来に薬事戦略相談制度をもって代替することとなっているが、本稿中では同様の趣旨を示す用語として確認申請を用いている)」、そして「治験」、「製造販売承認」、「臨床利用」という段階を踏むアプローチである。このようなアプローチをとる際の基本的考え方や、基本的技術要件については、平成12年12月26日医薬発第1314号「ヒト又は動物由来成分を原料として製造される医薬品等の品質及び安全性確保について」に示されていた。2つ目は、ひとまず医師法下で行われる「ヒト幹細胞臨床研究」で、これは平成18年7月3日付け厚生労働省告示第425号「ヒト幹細胞を用いる臨床研究に関する指針」及び平成18年7月3日付け厚生労働省健康局長通知健発第0703003号「ヒト幹細胞を用いる臨床研究に関する指針の施行等について」(注：改訂版が平成22年11月に出された[厚生労働省告示第380号])に従って行うことになっているが、この科学的内容は、おおそ医薬発第1314号及び後述する平成20年の「自己」及び「同種」改訂版に準じたものとなっている。「ヒト幹細胞臨床研究」の実施の是非は、厚生労働省

厚生科学審議会(審査実務の大半は担当委員会等)の議を経て、大臣から意見を聴くこととなっている。ヒト幹細胞臨床研究を進めていく過程において、有効性及び安全性の観点から公的保険制度における評価療養に該当すると評価された場合には「高度/先進医療」として公的医療給付の対象となる。このヒト幹細胞臨床研究が、さらにはシームレスに企業による製品開発につながることも期待されている。

前述の医薬発第1314号のうち、別添2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」については、急速に発展する学問・技術、倫理上の観点、国際的動向等を反映して評価基準を見直し、わが国の再生医療を適正な規制のもと推進していくべきことが強く要望されたため、平成18・19年度の厚生労働科学研究事業(研究代表者：早川堯夫)で、通知の改定案作成が検討された。この改定案では、もともと1つの指針であったものを、自己及び同種細胞由来の製品に関する技術要件をより明確にするために、2つの指針案として書き分けられた。この案を基に、平成20年2月に「ヒト(自己)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(薬食発第0208003号)(以下「ヒト自己親指針」と称す)」¹⁾及び平成20年9月に「ヒト(同種)由来細胞・組織加工医薬品等の品質及び安全性の確保に関する指針(薬食発第0912006号)(以下「ヒト同種親指針」と称す)」²⁾がそれぞれ通知された。しかし、これらの改定案は治療に使用される細胞・組織加工医薬品等全般に関するものである。近年その研究成果が注目されているヒト間葉系幹細胞、ヒトiPS細胞等のヒト幹細胞をより早期に実用化するためには、これらに特化した留意事項についてさらに深く検討する必要がある。

そこで、厚生労働省は平成20年度から厚生労働科学研究事業として「ヒト幹細胞を用いた細胞・組織加工医薬品等の品質・安全性確保に関する研究班(研究代表者：早川堯夫)」を立ち上げ、検討を行うこととした。

すなわち研究の目的は、ヒト幹細胞の細胞・組織加工医薬品等への利用に関連した学問・技術の進歩、倫理上の重要ポイント、各種規制、国際動向等を調査・研究し、適切な安全性評価基準の作成や規制のあり方を検討する

ことにより、ヒト幹細胞由来製品の実用化の推進を図ることであった。

20年度中に得られた結果は、以下のようなものであった。

- ①ヒト体性幹細胞、ヒトES細胞、ヒトiPS細胞を利用する細胞・組織利用製品の製造と臨床応用に関する科学技術面からみた現状と将来について、最新の研究や知見をもとに明らかにした。とくに、ヒト間葉系幹細胞の供給源、各種疾病に対する細胞治療・再生医療や遺伝子治療を含む臨床応用、iPS細胞の樹立から分化誘導、臨床応用における課題と展望、再生医療実用化に向けた医療組織工学の必要性やその現状と展望などについての検討結果を提示した。
- ②わが国における「ヒト幹細胞を用いる臨床研究に関する指針」の内容や意義について詳細な解析、検討を行うとともに、ヒト幹細胞臨床研究の審査についても考察し、今後、向かうべき方向や展望について提言をまとめた。
- ③平成20年2月及び9月にそれぞれ通知された「ヒト自己親指針」及び対応する「ヒト同種親指針」、平成20年末に公表された国際幹細胞研究学会(International society for stem cell research：ISSCR)による幹細胞臨床研究のガイドライン、平成20年4月にFDAで実施された第45回細胞治療遺伝子治療諮問会議におけるヒトES細胞由来細胞加工製品の品質特性、非臨床試験、患者モニタリングに関するレポート、などについて詳細な解析、検討を行い、ヒト幹細胞、ES細胞、iPS細胞及び由来製品に求められる品質・安全性確保のための要件・要素を抽出した。
- ④平成21年欧州医薬品庁(EMA)が先端医療に関する委員会(Committee for Advanced Therapy：CAT)を立ち上げ、活動を開始したので、組織面、運用面等に関する情報収集を行い、わが国の制度、規制のあり方と比較し、評価・解析した。
- ⑤これらを研究会議において総合的に解析、討議、整理した。その結果、ヒト間葉系幹細胞等を中心とする体性幹細胞、iPS細胞、ES細胞などに由来する製品の薬事法下での臨床応用に向けて、研究・開発、確認申

請、評価等を効率的、効果的、合理的に行う上で、必要と思われる技術、製造方法、特性解析方法、品質管理方法及び安定性評価に関する具体的留意事項、並びに安全性及び有効性に関する各種データとしてどのようなものがあるかに関しては、これらの3種類の原料細胞それぞれに特化した形でまとめる方向性が打ち出された。

この方向性と科学的原則の一貫性という観点から、平成21年度には、ヒト自己由来細胞・組織加工医薬品等全般に関する指針、いわゆる「ヒト自己親指針」をベースとして、①ヒト(自己)体性幹細胞及び②ヒト(自己)iPS細胞加工医薬品等の品質及び安全性の確保に関するそれぞれの指針案(中間報告)を作成した。また「ヒト同種親指針」をベースとして、③ヒト(同種)体性幹細胞、④ヒトES細胞及び⑤ヒト(同種)iPS細胞に関するそれぞれの指針案(中間報告)を作成した。これら5つの指針案については、さらにさまざまな観点からの論議を経て最終案とされるべきものであったが、いち早く広く関係者に公開し、ことの推移を周知のものとするとともに、コメントを頂く機会とすることは非常に意義があると考え、日本再生医療学会の学会誌に5件の論文として公表した(再生医療9(1):116-180,2010)³⁾⁻⁷⁾。

平成22年度は、海外の動向、学問・技術の進歩、幹細胞由来製品の実用化に関する議論の深まり、再生医療枠組み検討会でのとくに審査のあり方に関する討論結果などを踏まえて、中間案を精査し、最終案とすることを目指した研究を行った。全体を通して特に留意すべきと考えた点は以下のとおりである。

2. 主なポイント

提示した指針案について一般的にあるいは個別例で特に留意すべきと考えた点は以下のとおりである。

- (1) 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本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・ケースで柔軟に対応すること
- (2) ヒト体性幹細胞加工医薬品等の治験を開始する(First-

in-Man)に当たっての基本的留意点は、当該製品にヒトへの適用により支障となる品質及び安全性上の明らかな問題が存在するか否か、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が把握され、その一定範囲の恒常性が確保されているか否かを確認することにあること

- (3) 明らかに想定される製品のリスクを現在の学問・技術を駆使して排除し、その科学的妥当性を明らかにした上で、なお残る「未知のリスク」と、患者が新たな治療機会を失うことにより被るかも知れないリスク」とのリスクの大小を勘案し、かつ、これらすべ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った視点を持つことも重要であること
- (4) 製造販売承認申請時における品質及び安全性の確保のための資料は治験の進行とともに本指針に沿って充実整備されることを前提に、治験開始(First-in-Man)時点でその趣旨に合う条件を充たし、合理的に作成された適切な資料を提出すればよいこと
- (5) 治験開始(First-in-Man)時及び承認申請時に必要とされる資料の範囲及び程度については、当該製品の由来、対象疾患、対象患者、適用部位、適用方法及び加工方法等により異なること
- (6) 指針記載の事項、試験方法、基準その他の技術要件は、それぞれの目的に合う内容と程度をもとに考慮、選択、適用、及び評価されるべきことを意図しており、必ずしも常に同一(最高)水準での解釈、運用を求めている訳ではないこと
- (7) この趣旨を踏まえ、申請者は、考慮した背景、選択、適用、及び評価した内容と程度がそれぞれの目的に相応しく、科学的合理性からみて妥当であることを明らかにすること
- (8) 品質・安全性を確保しつつ可能な限り体性幹細胞について原材料として有用な分化能を有することの立証や元来とは異なる可能性のある細胞環境での挙動への関心
- (9) iPS細胞については、iPS様細胞の概念の提示と、治療目的から素材としてみる視点や細胞バンク又は中間細胞株設定の重要性

- (10) ES細胞については分化細胞株の有効活用
- (11) iPS/ES由来製品における未分化細胞の存在についての関心と対応。

さらに、上記の留意事項でも触れているが、本指針案すべてについて、これを解釈し、運用していくにあたって、前提と考えるべき、繰り返し強調すべきことがある。本来の目的は再生医療という新たな医療によって病に苦しむ患者さんが救われる機会を提供することである。指針の役割は、最も効率的、効果的に所定の目標に達するための要素と方策の提示である。指針にはさまざまな事態、状況を想定して、網羅的に留意事項が記述されているが、これらは、細胞の特性や臨床目的、適用法等によって取捨選択されるべきものであり、また適用項目についても適切、柔軟に解釈・運用すべきものである。新たな治療法への可能性が期待できること（Proof of Concept：POC）、ヒトに初めて適用しても差し支えない程度に既存の知見の中で想定し得る安全性上の問題がクリアされていること、倫理的妥当性の確保・堅持（ヘルシンキ宣言遵守、ドナー/患者に対する徹底的な説明と同意や自己決定権が前提）は当然であるが、手段である指針への遵守が主となり、他に代え難い患者さんへの医療機会の提供という目標が従になるような解釈や運用は本末転倒であり、避けなければならない。

おわりに

再生医療実用化の推進が、国民の保健衛生の維持・向上のために重要課題であることは、自明の理である。革新的医薬品等や医療技術の開発は、国(民)益に叶い、国際益(公衆衛生益)にもなる。人類共通の遺産の創出という平和的な国際貢献に繋がるからである。ここにおける国の役割は、臨床研究や産業化推進のアシスト役であり、規制や指針はこうした共通のゴールに向かって科学的、合理的、効率的、効果的に進むための方策である。全関係者は同じピッチに立ち、共にゴールに向かうプレーヤーであり、英知を結集して、より早く患者さんのもとに画期的な細胞・組織加工医薬品等や革新的医療技術が届

けられるよう、より高い達成度を目指して努力する必要がある。

謝辞

本研究は、平成20年度、21年及び22年度厚生労働科学研究費補助金(医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業)により、研究課題名(課題番号)：ヒト幹細胞を用いた細胞・組織加工医薬品等の品質及び安全性の確保のあり方に関する研究(H20-医薬-指定-028)として実施された。

本研究にご協力を頂いた中内啓光教授(東京大学医科学研究所幹細胞治療研究センター長)、山口照英博士(国立医薬品食品衛生研究所 前生物薬品部部長)、掛樋一晃教授(近畿大学 薬学部)、森山博由準教授(近畿大学薬学総合研究所 先端バイオ医薬研究室)、石井哲也博士(京都大学 物質-細胞統合システム拠点 iPS細胞研究センターフェロー)、梅垣昌士博士(大阪大学医学部附属病院未来医療センター 特任講師)、成田昌稔氏(前独立行政法人医薬品医療機器総合機構 上席審議役、現厚生労働省 医薬食品局 審査管理課長)、安藤 剛博士(元独立行政法人医薬品医療機器総合機構 生物系審査第一部 審査専門員)、鹿野真弓博士(独立行政法人 医薬品医療機器総合機構 生物系審査第二部 部長)、嶽北和宏修士(元独立行政法人 医薬品医療機器総合機構 生物系審査第二部 審査専門員)、亀田 隆博士(独立行政法人 医薬品医療機器総合機構 生物系審査第二部 審査専門員)、田中克平氏(元独立行政法人 医薬品医療機器総合機構 生物系審査第一部 部長)、俵木登美子氏(厚生労働省 医薬局 前医療機器室長)、広瀬 誠氏(厚生労働省 医薬局 前医療機器室補佐)、関野秀人氏(厚生労働省 医薬局 医療機器室長)、江原輝喜氏(厚生労働省 医薬食品局 前審査管理課医療機器審査管理室長補佐)、高江慎一氏(厚生労働省 医薬食品局 審査管理課医療機器審査管理室長補佐)に深く感謝いたします。

◆参考文献

- 1) ヒト(自己)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(薬食発第0208003号)
- 2) ヒト(同種)由来細胞・組織加工医薬品等の品質及び安全性の確保に関する指針(薬食発第0912006号)
- 3) 早川堯夫, 梅澤明弘, 山中伸弥, 小澤敬也, 大和雅之, 澤芳樹, 山口照英, 松山晃文, 佐藤陽治, 中内啓光: ヒト幹細胞を用いた細胞・組織加工医薬品等の品質及び安全性確保に関する研究 (その1) ヒト(自己)体性幹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), 再生医療 9(1): 116-127, 2010
- 4) 早川堯夫, 梅澤明弘, 山中伸弥, 小澤敬也, 大和雅之, 澤芳樹, 山口照英, 松山晃文, 佐藤陽治, 中内啓光: ヒト幹細胞を用いた細胞・組織加工医薬品等の品質及び安全性確保に関する研究 (その2) ヒト(同種)体性幹細胞加工医薬

- 品等の品質及び安全性の確保に関する指針案(中間報告). 再生医療 9(1): 128-138, 2010
- 5) 早川堯夫, 梅澤明弘, 山中伸弥, 小澤敬也, 大和雅之, 澤芳樹, 山口照英, 松山晃文, 佐藤陽治, 中内啓光: ヒト幹細胞を用いた細胞・組織加工医薬品等の品質及び安全性確保に関する研究 (その3) ヒト(自己) 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). 再生医療 9(1): 139-151, 2010
- 6) 早川堯夫, 梅澤明弘, 山中伸弥, 小澤敬也, 大和雅之, 澤芳樹, 山口照英, 松山晃文, 佐藤陽治, 中内啓光: ヒト幹細胞を用いた細胞・組織加工医薬品等の品質及び安全性確保に関する研究(その4) ヒト(同種) 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). 再生医療 9(1): 152-165, 2010
- 7) 早川堯夫, 梅澤明弘, 山中伸弥, 小澤敬也, 大和雅之, 澤芳樹, 山口照英, 松山晃文, 佐藤陽治, 中内啓光: ヒト幹細胞を用いた細胞・組織加工医薬品等の品質及び安全性確保に関する研究 (その5) 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). 再生医療 9(1): 166-180, 2010

特別 掲載

ヒト幹細胞を用いた細胞・組織加工医薬品等の品質・安全性確保に関する研究(その2)

ヒト(自己)体性幹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)

—総則、原材料及び製造関連物質、製造工程に関する留意事項について—

早川 堯夫 (近畿大学薬学総合研究所所長)

青井 貴之 (京都大学iPS細胞研究所教授)

梅澤 明弘 (国立成育医療センター生殖医療研究部部長)

小澤 敬也 (自治医科大学医学部内科学講座血液学部門教授)

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室長)

澤 芳樹 (大阪大学大学院医学系研究科外科学講座教授)

松山 晃文 ((財)先端医療振興財団再生医療研究開発部門部門

長補佐)

大和 雅之 (東京女子医科大学先端生命医科学研究所教授)

山中 伸弥 (京都大学iPS細胞研究所所長)

研究の経緯と視点

本研究の経緯については、本シリーズ第1報¹⁾において詳細に述べた。本稿ではそのうちヒト(自己)体性幹細胞加工医薬品等の品質及び安全性の確保に関連の深い事項、特に総則、並びに製造方法のうち原材料及び製造関連物質、製造工程に関する留意事項についてその要約を述べる。

厚生労働省は平成20年度からヒト幹細胞の細胞・組織加工医薬品等への利用に関連した学問・技術の進歩、倫理上の重要ポイント、各種規制、国際動向等を調査・研究し、適切な安全性評価基準の作成や規制のあり方を検討することにより、ヒト幹細胞由来製品の実用化の推進を図ることを目的として厚生労働科学研究事業「ヒト幹細胞を用いた細胞・組織加工医薬品等の品質・安全性確保に関する研究班(研究代表者:早川堯夫)」を立ち上げ、検討を行うこととした。

20年度中における研究結果から、ヒト間葉系幹細胞等を中心とする体性幹細胞、iPS細胞、ES細胞などに由来する製品の薬事法下での臨床応用に向けて、研究・開発、確認申請(治験開始[First-in-Man])、評価等を効率的、効果的、合理的に行う上で、必要と思われる技術、製造方法、特性解析方法、品質管理方法及び安定性評価に関する具体的留意事項、安全性及び有効性に関する各種データとしてどのようなものがあるかに関しては、これらの3種類の原料細胞それぞれに特化した形でまとめる方向性が打ち出された。

この方向性と科学的原則の一貫性という観点から、平成21年度の研究活動では、平成20年2月及び9月に通知された自己細胞・組織加工医薬品等全般に関する指針

「ヒト(自己)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(薬食発第0208003号)(ヒト自己親指針)²⁾をベースとして、ヒト(自己)体性幹細胞及びヒト(自己)iPS(様)細胞加工医薬品等に関するそれぞれの指針案(中間報告)^{3,4)}を作成した(ヒト(自己)体性幹細胞関連:再生医療9(1):116-127,2010)。また、平成20年9月に通知された同種細胞・組織加工医薬品等全般に関する指針「ヒト(同種)由来細胞・組織加工医薬品等の品質及び安全性の確保に関する指針(薬食発第0912006号)(ヒト同種親指針)⁵⁾をベースとして、ヒト(同種)体性幹細胞、ヒト(同種)iPS細胞及びES細胞加工医薬品等に関する指針案(中間報告)を作成し、公表した⁶⁾⁻⁸⁾。平成22年度、これをベースにさらに諸外国での状況、その後の当該分野の進歩、さまざまな観点からの論議を踏まえて最終案を作成した。

以下に、ヒト(自己)体性幹細胞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のための基本的な技術要件に関する指針案作成のもととなる、総則、並びに製造方法のうち原材料及び製造関連物質、製造工程に関する留意事項について提示した。本稿における提示と、他報における「最終製品の品質管理」⁹⁾及び「非臨床試験及び臨床試験関連留意事項」¹⁰⁾とを併せてヒト(自己)体性幹細胞・組織加工医薬品等に関する指針最終案となる。

多分化能を有し、かつ自己複製能力を維持している体性幹細胞から加工した製品は、加工内容や適用部位によっては、たとえ自己に由来するものであっても、元来の細胞そのものではなく、また、存在していた、あるいは存在すべきであった細胞環境とは異なる状態のものとして臨床に適用される可能性がある。これらの点に関する留意事項がベースとなった「ヒト自己親指針:薬食発第0208003号」に付加された部分である。

なお、本指針を解釈し、運用していくにあたって、前提と考えるべきことがある。本来の目的は再生医療という新たな医療によって病に苦しむ患者さんが救われる機会を提供することである。指針の役割は、最も効率的、効果的に所定の目標に達するための要素と方策の提示である。指針にはさまざまな事態、状況を想定して、網羅的に留意事項が記述されているが、これらは、細胞の特性や臨床目的、適用法等によって取捨選択されるべきものであり、また適用項目についても適切、柔軟に解釈・運用すべきものである。新たな治療法への可能性が期待できること(Proof of Concept: POC)、ヒトに初めて適用しても差し支えない程度に既存の知見の中で想定し得る安全性上の問題がクリアされていること、倫理的妥当性の確保・堅持(ヘルシンキ宣言遵守、ドナー/患者に対する徹底的な説明と同意や自己決定権が前提)は当然であるが、手段である指針への遵守が主となり、他に代え難

い患者さんへの医療機会の提供という目標が従になるような解釈や運用は本末転倒であり、避けなければならない。

再生医療実用化の推進が、国民の保健衛生の維持・向上のために重要課題であることは、自明の理である。革新的医薬品等や医療技術の開発は、国(民)益に叶い、国際益(公衆衛生益)にもなる。人類共通の遺産の創出という平和的な国際貢献に繋がるからである。ここにおける国の役割は、臨床研究や産業化推進のアシスト役であり、規制や指針はこうした共通のゴールに向かって科学的、合理的、効率的、効果的に進むための方策である。全関係者は同じピッチに立ち、共にゴールに向かうプレーヤーであり、英知を結集して、より早く患者さんのもとに画期的な細胞・組織加工医薬品等や革新的医療技術が届けられるよう、より高い達成度を目指して努力する必要がある。

ヒト(自己)体性幹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)

—総則、原材料及び製造関連物質、製造工程に関する留意事項について—

はじめに

1. 本指針は、ヒト由来の体性幹細胞のうち、自己由来体性幹細胞を加工した医薬品又は医療機器(以下「ヒト[自己]体性幹細胞加工医薬品等」という)の品質及び安全性の確保のための基本的な技術要件について定めるものである。

しかしながら、体性幹細胞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。本指針を一律に適用したり、本指針の内容が必要事項すべてを包含しているとみなしたりする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本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・ケースで柔軟に対応することが必要であること。

2. 平成11年7月30日付け医薬発第906号厚生省医薬安全局長通知「細胞・組織を利用した医療用具又は医薬品の品質及び安全性の確保について」による確認申請時点における本指針への

適合性の確認の趣旨は、当該ヒト体性幹細胞加工医薬品等の治験を開始する(First-in-Man)に当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。(薬事戦略相談等におけるヒト体性幹細胞加工医薬品等の治験を開始する[First-in-Man]に当たっての基本的留意点は、当該製品にヒトへの適用により支障となる品質及び安全性上の明らかな問題が存在するか否か、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が把握され、その一定範囲の恒常性が確保されているか否かを確認することにある。)その際、明らかに想定される製品のリスクを現在の学問・技術を駆使して排除し、その科学的妥当性を明らかにした上で、なお残る「未知のリスク」と、重篤で生命を脅かす疾患、身体の機能を著しく損なう疾患、身体の機能や形態を一定程度損なうことによりQOLを著しく損なう疾患などに罹患し、従来の治療法では限界があり、克服できない「患者が新たな治療機会を失うことにより被るかも知れないリスク」とのリスクの大小を勘案し、かつ、これらすべ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持つことも重要である。したがって、確認申請(治験開始[First-in-Man])の場合、その申請に当たって添付すべき資料について本指針に示された要件や内容をすべて満たすことを必ずしも求

めている訳ではない。製造販売承認申請時における品質及び安全性の確保のための資料は治験の進行とともに本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、当該(治験開始〔First-in-Man〕)時点でその趣旨に適う条件を充たし、合理的に作成された適切な資料を提出すること。

また、確認(治験開始〔First-in-Man〕)に必要とされる資料の範囲及び程度については、当該製品の由来、対象疾患、対象患者、適用部位、適用方法及び加工方法等により異なり、本指針では具体的に明らか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に相談することが望ましい。

3. 本指針に記述された事項、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、及び評価されるべきことを意図しており、必ずしも常に同一(最高)水準での解釈、運用を求めている訳ではない。この趣旨を踏まえ、申請者は、考慮した背景、選択、適用、及び評価した内容と程度がそれぞれの目的に相応しく、科学的合理性からみて妥当であることを明らかにすること。

第1章 総則

第1 目的

本指針は、ヒト体性幹細胞のうち、自己由来体性幹細胞を加工した医薬品又は医療機器(以下「ヒト〔自己〕体性幹細胞加工医薬品等」という)の品質及び安全性の確保のための基本的な技術要件について定めるものである。

第2 定義

本指針における用語の定義は以下のとおりとする。

1 「ヒト体性幹細胞」とは、ヒトから採取された細胞又は当該細胞の分裂により生ずる細胞であって、多分化能を有し、かつ自己複製能力を維持しているもの又はそれに類することが推定されるもの及びこれらに由来する細胞のうち、以下のものを指す。すなわち、組織幹細胞(例えば、造血幹細胞、神経幹細胞、間葉系幹細胞(骨髄間質幹細胞・脂肪組織由来幹細胞を含む。)、角膜上皮幹細胞、皮膚幹細胞、毛細胞、腸管幹細胞、肝幹細胞及び骨格筋幹細胞)及びこれを豊富に含む細胞集団(例えば、造血系幹細胞を含む全骨髄細胞)をいい、血管前駆細胞、臍帯血及び骨髄間質細胞を含む。また、体外でこれらの細胞を培養して得られた細胞を含む。ヒト胚性幹細胞(ES細胞)、ヒト人工多能性幹細胞(iPS細胞)、ヒト人工多能性幹細胞様細胞(iPS様細胞)、ヒト胚性生殖細胞(EG細胞)、ヒト多能性生殖系幹細胞(mGS細胞)、ヒト単為発生幹細胞、ヒト核移植幹細胞、ヒトがん細胞、ヒトがん幹細胞、及びこれらに由来する細胞は含まない(注:ヒト胚性幹細胞(ES細胞)、ヒト人工多能性幹細胞(iPS細胞)、ヒト人工多能性幹細胞様細胞(iPS様細胞)の定義はそれぞれ「ヒトES細胞加工医薬品等の品質及び安全性確保に

関する指針(案)」、「ヒト(同種/自己)iPS(様)細胞加工医薬品等の品質及び安全性確保に関する指針(案)」に従う)。

2 「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・分化、細胞の株化、細胞の活性化等を目的とした薬剤処理、生物学的特性改変、非細胞成分との組み合わせ又は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。

3 「製造」とは、加工に加え、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、当該細胞・組織の本来の性質を改変しない操作を含む行為で、最終製品であるヒト(自己)体性幹細胞加工医薬品等を出荷するまでに行う行為をいう。

4 「表現型」とは、ある一定の環境条件のもとで、ある遺伝子によって表現される形態学的及び生理学的な性質をいう。

5 「ドナー」とは、ヒト(自己)体性幹細胞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。自己由来体性幹細胞加工医薬品等にあつては、患者はドナーでもある。(注:実際の治療においては患者がドナーとなる。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・組織を使用する場合も想定される。)

6 「遺伝子導入構成体」とは、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いう。

第2章 製造方法

第1 原材料及び製造関連物質

1 原材料となるヒト細胞・組織

(1) 生物学的構造・機能の特徴と選択理由

原材料として用いられる細胞・組織について、その生物学的構造・機能の特徴を、例えば、形態学的特徴、増殖特性、生化学的指標、免疫学的指標、特徴的産生物質、その他適切な遺伝型又は表現型の指標から適宜選択して示し、当該細胞・組織を原料として選択した理由を説明すること。特に原材料となる体性幹細胞が有用な分化能を有することを明らかとすること。この場合の分化能とは、多系統への分化能を指しているわけではなく、生体内での機能を期待する細胞への分化能を有することを示すことで良い。また、*in vitro*での分化能の提示が望ましいが、合理的な説明がつけば*in vivo*での分化で示すことは可能で

ある。例えば、体性幹細胞の1つである心筋幹細胞を原材料とする場合には、心筋幹細胞が心筋細胞へと分化しうることを示すことで良い。

なお、確認申請時(治験開始〔First-in-Man〕前)には、試験的検体を用いた検討によっても良いが、これらの検討結果から患者の細胞に適用する際に選択すべき重要細胞特性指標を明らかにしておくこと。(注:試験的検体を用いた検討に際して、特異的マーカーに加えて、網羅的解析、例えば1)CGHゲノム、2)エピジェネティクス(DNAメチル化)、3)RNA、4)糖鎖に関してアレイやチップ等を用いた解析が有用な場合もあるが、検体の量的制限や技術的限界もあり、可能な範囲で考慮すれば良い)。

(2) ドナーに対する留意点

患者、製造従事者及び医療従事者の安全性を確保する観点等から、採取細胞・組織を介して感染する可能性がある各種感染症を考慮して感染症に関する検査項目を定め、その妥当性を明らかにすること。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)に留意すること。

また、病歴、健康状態等を考慮して適格性基準を定め、その妥当性を明らかにすること。ドナーのゲノム・遺伝子解析を行う場合は、平成16年12月28日全部改正文部科学省・厚生労働省・経済産業省「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」に従うこと。

(3) ドナーに関する記録

原材料となる細胞・組織について、安全性確保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。

(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、取り違えやクロスコンタミネーション防止のための方策等を具体的に示すこと。

③ドナーに対する説明及び同意

細胞・組織のドナーに対する説明及び同意の内容を規定すること。

④ドナーの個人情報の保護

ドナーの個人情報の保護方策について具体的に規定すること。

⑤ドナーの安全性確保のための試験検査

細胞・組織採取時にドナーの安全性確保のために採取部位の状態の確認など試験検査を行わなければならない場合には、その内容、検査結果等に問題があった場合の対処法について具体的に規定すること。

⑥保存方法及び取り違え防止策

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

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。

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こと。

(1) 細胞の培養を行う場合

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及び規格の設定に当たっては、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。

ア 培地に使用する成分及び水は、可能な範囲で医薬品又は医薬品原料に相当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。

イ 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明らかにし、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、MCDB、HAM、RPMIのような培

地は1つのものと考えてよい。

- ウ 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。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、ウイルス及び異常プリオン等の混入・伝播を防止するとともに、最終製品から可能な限り除去するよう処理方法等を検討すること。
 - ア 血清等の由来を明確にすること。
 - イ 牛海綿状脳症発生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こと。
 - ウ 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。
 - エ 細胞の活性化、増殖に影響を与えない範囲で細菌、真菌及び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、放射線処理又は紫外線処理等を組み合わせて行うこと。
 - オ 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。
- ④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)製造用細胞薬剤の由来、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。

- ⑤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。
- 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最終製品に含有す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。

(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て、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 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
イ 栄養成分及び排泄物の拡散
ウ 非細胞成分が適用部位周辺に及ぼす影響

(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。

なお、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（平成15年法律第97号）に基づき、「ヒトの細胞等」若しくは「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、「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、別途手続きが必要となるので留意すること。

上記の記述にかかわらず、細胞に導入される遺伝子が、化学的にも、機能的にも最終製品の一部を構成せず、製造工程中の試薬として使用される場合は、使用の目的に合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により。

第2 製造工程

ヒト体性幹細胞加工医薬品等の製造に当たっては、製造方法を

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こと。

1 ロット構成の有無とロットの規定

最終製品及び中間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こと。

2 製造方法

原材料となる細胞・組織の受け入れから体性幹細胞の単離を経て最終製品に至る製造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こと。

(1) 受入検査

原材料となる細胞・組織について、細胞・組織の種類や使用目的に応じて実施する受入のための試験検査の項目（例えば、目視検査、顕微鏡検査、採取収率、生存率、細胞・組織の特性解析及び微生物試験等）と各項目の判定基準を設定すること。確認申請（治験開始〔First-in-Man〕）段階にあっては、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こと。

(2) 細菌、真菌及びウイルス等の不活化・除去

原材料となる細胞・組織について、その細胞生存率や表現型、遺伝形質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、真菌及びウイルス等を不活化又は除去する処理を行うこと。当該処理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、体性幹細胞の単離及びそれらの洗浄等の方法を明らかにすること。体性幹細胞の単離を行う場合には、その確認方法を設定すること。

(4) 最終製品の構成要素となる細胞の作製

ヒト細胞・組織の採取から体性幹細胞の単離を経て、最終製品の構成要素となる細胞を取得するまでの方法（分化誘導方法、目的とする細胞の分離・培養の方法、培養の各段階での培地、培養条件、培養期間及び収率等）を明確にし、可能な範囲でその妥当性を明らかにすること。

(5) 細胞のバンク化

ヒト体性幹細胞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。平成12年7月14日付け医薬審第873号厚生省医薬安全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、調製及び特性解析について」等を参考とすること。ただし、自己細胞由来であることに起因する正当な理由により検討事項の一部を省略することは差し支えない。

(6) 製造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

ヒト体性幹細胞加工医薬品等の製造にあたっては、製造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。

3 最終製品の構成要素となる細胞の特性解析

最終製品の構成要素となる細胞については、例えば、目的外の細胞の混入を規定するための細胞純度をはじめとして、細胞生存率、形態学的特徴、細胞増殖特性、生化学的指標、免疫学的指標、特徴的産生物質、核型、その他適切な遺伝型又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適切な細胞特性指標を用いて示すこと。これらの検討に際しては、あらかじめ試験的検体を用いた検討によって実施・検証しておくことでも良いが、これらの検討結果から患者由来の細胞に適用する際に選択すべき重要細胞特性指標を明らかにしておくこと(注：試験的検体を用いた検討に際して、特異的マーカーに加えて、網羅的解析、例えば1)CGHゲノム、2)エピジェネティクス(DNAメチル化)、3)RNA、4)糖鎖に関してアレイやチップ等を用いた解析が有用な場合もあるが、検体の量的制限や技術的限界もあり、可能な範囲で考慮すればよい)。適用後に体内での増殖等を期待する場合には、設定された基準による継代数又は分裂回数で期待された機能を発揮することを明らかにすること。

4 最終製品の形態、包装

最終製品の形態、包装は、製品の品質を確保できるものでなければならない。

5 製造方法の恒常性

ヒト体性幹細胞加工医薬品等の製造に当たっては、製造工程を通じて、個別に加工した製品の細胞数、細胞生存率並びに製品の使用目的及び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、機能特性及び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、試験的検体を用いてあらかじめ評価しておくこと。中間製品で評価することが、原材料としての細胞・組織の適格性や中間製品までの製造過程の妥当性をよく反映し、また、最終製品に向けて

の適正な道標となるなど、合理的な場合もあるので、必要に応じて選択肢とすること。

製造工程中の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など、無菌性が確保されることを確認すること。

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(治験開始(First-in-Man)時)又は承認申請に使用するときは、製造方法変更前後の製品の同等性/同質性を示すこと。

謝 辞

本研究は、平成20年度、21年及び22年度厚生労働科学研究費補助金(医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業)により、研究課題名(課題番号)：ヒト幹細胞を用いた細胞・組織加工医薬品等の品質及び安全性の確保のあり方に関する研究(H20-医薬-指定-028)として実施された。

本研究にご協力を頂いた中内啓光教授(東京大学医科学研究所幹細胞治療研究センター長)、山口照英博士(国立医薬品食品衛生研究所 前生物薬品部部長)、掛樋一晃教授(近畿大学 薬学部)、森山博由準教授(近畿大学薬学総合研究所 先端バイオ医薬研究室)、石井哲也博士(京都大学 物質・細胞統合システム拠点IPS細胞研究センターフェロー)、梅垣昌士博士(大阪大学医学部附属病院未来医療センター 特任講師)、成田昌稔氏(前独立行政法人医薬品医療機器総合機構 席審議役、現厚生労働省 医薬食品局 審査管理課長)、安藤 剛博士(元独立行政法人医薬品医療機器総合機構 生物系審査第一部 審査専門員)、鹿野真弓博士(独立行政法人 医薬品医療機器総合機構 生物系審査第二部 部長)、嶽北和宏修士(元独立行政法人 医薬品医療機器総合機構 生物系審査第二部 審査専門員)、亀田 隆博士(独立行政法人 医薬品医療機器総合機構 生物系審査第二部 審査専門員)、田中克平氏(元独立行政法人 医薬品医療機器総合機構 生物系審査第一部 部長)、俵木登美子氏(厚生労働省 医薬局 前医療機器室長)、広瀬 誠氏(厚生労働省 医薬局 前医療機器室補佐)、関野秀人氏(厚生労働省 医薬局 医療機器室長)、江原輝喜氏(厚生労働省 医薬食品局 前審査管理課 医療機器審査管理室長補佐)、高江慎一氏(厚生労働省 医薬食品局 審査管理課 医療機器審査管理室長補佐)に深く感謝いたします。

◆参考文献

- 1) 早川堯夫, 青井貴之, 梅澤明弘, 小澤敬也, 佐藤陽治, 澤芳樹, 松山晃文, 大和雅之, 山中伸弥: ヒト幹細胞を用いた細胞・組織加工医薬品等の品質・安全性確保に関する研究 (その1) ヒト幹細胞を用いた細胞・組織加工医薬品等の品質・安全性確保に関する指針整備と主なポイント. 再

- 生医療 10(3):2011 (印刷中)
- 2) ヒト (自己) 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 (薬食発第 0208003 号)
 - 3) 早川堯夫, 梅澤明弘, 山中伸弥, 小澤敬也, 大和雅之, 澤芳樹, 山口照英, 松山晃文, 佐藤陽治, 中内啓光: ヒト幹細胞を用いた細胞・組織加工医薬品等の品質及び安全性確保に関する研究 (その 1) ヒト (自己) 体性幹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). 再生医療 9(1): 116-127, 2010
 - 4) 早川堯夫, 梅澤明弘, 山中伸弥, 小澤敬也, 大和雅之, 澤芳樹, 山口照英, 松山晃文, 佐藤陽治, 中内啓光: ヒト幹細胞を用いた細胞・組織加工医薬品等の品質及び安全性確保に関する研究 (その 3) ヒト (自己) 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). 再生医療 9(1): 139-151, 2010
 - 5) ヒト (同種) 由来細胞・組織加工医薬品等の品質及び安全性の確保に関する指針 (薬食発第 0912006 号)
 - 6) 早川堯夫, 梅澤明弘, 山中伸弥, 小澤敬也, 大和雅之, 澤芳樹, 山口照英, 松山晃文, 佐藤陽治, 中内啓光: ヒト幹細胞を用いた細胞・組織加工医薬品等の品質及び安全性確保に関する研究 (その 2) ヒト (同種) 体性幹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). 再生医療 9(1): 128-138, 2010
 - 7) 早川堯夫, 梅澤明弘, 山中伸弥, 小澤敬也, 大和雅之, 澤芳樹, 山口照英, 松山晃文, 佐藤陽治, 中内啓光: ヒト幹細胞を用いた細胞・組織加工医薬品等の品質及び安全性確保に関する研究 (その 4) ヒト (同種) 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). 再生医療 9(1): 152-165, 2010
 - 8) 早川堯夫, 梅澤明弘, 山中伸弥, 小澤敬也, 大和雅之, 澤芳樹, 山口照英, 松山晃文, 佐藤陽治, 中内啓光: ヒト幹細胞を用いた細胞・組織加工医薬品等の品質及び安全性確保に関する研究 (その 5) 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). 再生医療 9(1): 166-180, 2010
 - 9) 早川堯夫, 青井貴之, 梅澤明弘, 小澤敬也, 佐藤陽治, 澤芳樹, 松山晃文, 大和雅之, 山中伸弥: ヒト幹細胞を用いた細胞・組織加工医薬品等の品質・安全性確保に関する研究 (その 7) ヒト体性幹細胞, iPS (様) 細胞又は ES 細胞を加工して製造される医薬品等 (ヒト幹細胞加工医薬品等) の最終製品の品質管理. 再生医療 10(3):2011 (印刷中)
 - 10) 早川堯夫, 青井貴之, 梅澤明弘, 小澤敬也, 佐藤陽治, 澤芳樹, 松山晃文, 大和雅之, 山中伸弥: ヒト幹細胞を用いた細胞・組織加工医薬品等の品質・安全性確保に関する研究 (その 8) ヒト体性幹細胞, iPS (様) 細胞又は ES 細胞を加工して製造される医薬品等 (ヒト幹細胞加工医薬品等) の非臨床試験及び臨床試験について. 再生医療 10(3): 2011 (印刷中)

特別
掲載

ヒト幹細胞を用いた細胞・組織加工医薬品等の品質・安全性確保に関する研究(その3)

ヒト(同種)体性幹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)

—総則、原材料及び製造関連物質、製造工程に関する留意事項について—

早川 堯夫 (近畿大学薬学総合研究所所長)

青井 貴之 (京都大学iPS細胞研究所教授)

梅澤 明弘 (国立成育医療センター生殖医療研究部部長)

小澤 敬也 (自治医科大学医学部内科学講座血液学部門教授)

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室長)

澤 芳樹 (大阪大学大学院医学系研究科外科学講座教授)

松山 晃文 ((財)先端医療振興財団再生医療研究開発部門部長補佐)

大和 雅之 (東京女子医科大学先端生命医学研究所教授)

山中 伸弥 (京都大学iPS細胞研究所所長)

研究の経緯と視点

本研究の経緯については、本シリーズ第1報¹⁾において詳細に述べた。本稿ではそのうちヒト(同種)体性幹細胞加工医薬品等の品質及び安全性の確保に関連の深い事項、特に総則、並びに製造方法のうち原材料及び製造関連物質、製造工程に関する留意事項についてその要約を述べる。

厚生労働省は平成20年度からヒト幹細胞の細胞・組織加工医薬品等への利用に関連した学問・技術の進歩、倫理上の重要ポイント、各種規制、国際動向等を調査・研究し、適切な安全性評価基準の作成や規制のあり方を検討することにより、ヒト幹細胞由来製品の実用化の推進を図ることを目的として厚生労働科学研究事業「ヒト幹細胞を用いた細胞・組織加工医薬品等の品質・安全性確保に関する研究班(研究代表者:早川堯夫)」を立ち上げ、検討を行うこととした。

20年度中における研究結果から、ヒト間葉系幹細胞等を中心とする体性幹細胞、iPS細胞、ES細胞などに由来する製品の薬事法下での臨床応用に向けて、研究・開発、確認申請(治験開始[First-in-Man])、評価等を効率的、効果的、合理的に行う上で、必要と思われる技術、製造方法、特性解析方法、品質管理方法及び安定性評価に関する具体的留意事項、安全性及び有効性に関する各種データとしてどのようなものがあるかに関しては、これらの3種類の原料細胞それぞれに特化した形でまとめる方向性が打ち出された。

この方向性と科学的原則の一貫性という観点から、平成21年度の研究活動では、平成20年2月及び9月に通知された自己細胞・組織加工医薬品等全般に関する指針

「ヒト(自己)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(薬食発第0208003号)(ヒト自己親指針)²⁾をベースとして、ヒト(自己)体性幹細胞及びヒト(自己)iPS(様)細胞加工医薬品等に関するそれぞれの指針案(中間報告)^{3,4)}を作成した。また、平成20年9月に通知された同種細胞・組織加工医薬品等全般に関する指針「ヒト(同種)由来細胞・組織加工医薬品等の品質及び安全性の確保に関する指針(薬食発第0912006号)(ヒト同種親指針)⁵⁾をベースとして、ヒト(同種)体性幹細胞、ヒト(同種)iPS細胞及びES細胞加工医薬品等に関する指針案(中間報告)を作成し、公表した⁶⁾⁻⁸⁾(ヒト(同種)体性幹細胞関連:再生医療9(1):128-138,2010)。平成22年度、これをベースにさらに諸外国での状況、その後の当該分野の進歩、さまざまな観点からの論議を踏まえて最終案を作成した。

以下に、ヒト(同種)体性幹細胞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のための基本的な技術要件に関する指針案作成のもととなる、総則、並びに製造方法のうち原材料及び製造関連物質、製造工程に関する留意事項について提示した。本稿における提示と、他報における「最終製品の品質管理」⁹⁾及び「非臨床試験及び臨床試験関連留意事項」¹⁰⁾とを併せてヒト(同種)体性幹細胞・組織加工医薬品等に関する指針最終案となる。

多分化能を有し、かつ自己複製能力を維持している体性幹細胞から加工した製品は、加工内容や適用部位に応じて、元来の細胞とは異なり、また、存在していた、あるいは存在すべきであった細胞環境とは異なる状態のものとして临床上適用される可能性がある。これらの点に関する留意事項がベースとなった「ヒト同種親指針:薬食発第0912006号」に付加された部分である。

なお、本指針を解釈し、運用していくにあたって、前

提と考えるべきことがある。本来の目的は再生医療という新たな医療によって病に苦しむ患者さんが救われる機会を提供することである。指針の役割は、最も効率的、効果的に所定の目標に達するための要素と方策の提示である。指針にはさまざまな事態、状況を想定して、網羅的に留意事項が記述されているが、これらは、細胞の特性や臨床目的、適用法等によって取捨選択されるべきものであり、また適用項目についても適切、柔軟に解釈・運用すべきものである。新たな治療法への可能性が期待できること(Proof of Concept: POC)、ヒトに初めて適用しても差し支えない程度に既存の知見の中で想定し得る安全性上の問題がクリアされていること、倫理的妥当性の確保・堅持(ヘルシンキ宣言遵守、ドナー/患者に対する徹底的な説明と同意や自己決定権が前提)は当然であるが、手段である指針への遵守が主となり、他に代え難い

患者さんへの医療機会の提供という目標が従になるような解釈や運用は本末転倒であり、避けなければならない。

再生医療実用化の推進が、国民の保健衛生の維持・向上のために重要課題であることは、自明の理である。革新的医薬品等や医療技術の開発は、国(民)益に叶い、国際益(公衆衛生益)にもなる。人類共通の遺産の創出という平和的な国際貢献に繋がるからである。ここにおける国の役割は、臨床研究や産業化推進のアシスト役であり、規制や指針はこうした共通のゴールに向かって科学的、合理的、効率的、効果的に進むための方策である。全関係者は同じピッチに立ち、共にゴールに向かうプレーヤーであり、英知を結集して、より早く患者さんのもとに画期的な細胞・組織加工医薬品等や革新的医療技術が届けられるよう、より高い達成度を目指して努力する必要がある。

ヒト(同種)体性幹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)

—総則、原材料及び製造関連物質、製造工程に関する留意事項について—

はじめに

1. 本指針は、ヒト由来の体性幹細胞のうち、同種由来体性幹細胞(自己由来体性幹細胞を除く)を加工した医薬品又は医療機器(以下「ヒト(同種)体性幹細胞加工医薬品等」という)の品質及び安全性の確保のための基本的な技術要件について定めるものである。

しかしながら、体性幹細胞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。本指針を一律に適用したり、本指針の内容が必要事項すべてを包含しているとみなしたりする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本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・ケースで柔軟に対応することが必要であること。

2. 平成11年7月30日付け医薬発第906号厚生省医薬安全局長通知「細胞・組織を利用した医療用具又は医薬品の品質及び安全性の確保について」による確認申請時点における本指針への適合性の確認の趣旨は、当該ヒト体性幹細胞加工医薬品等の治

験を開始する(First-in-Man)に当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。(薬事戦略相談等におけるヒト体性幹細胞加工医薬品等の治験を開始する(First-in-Man)に当たっての基本的留意点は、当該製品にヒトへの適用により支障となる品質及び安全性上の明らかな問題が存在するか否か、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が把握され、その一定範囲の恒常性が確保されているか否かを確認することにある。)その際、明らかに想定される製品のリスクを現在の学問・技術を駆使して排除し、その科学的妥当性を明らかにした上で、なお残る未知のリスクと、重篤で生命を脅かす疾患、身体の機能を著しく損なう疾患、身体の機能や形態を一定程度損なうことによりQOLを著しく損なう疾患などに罹患し、従来の治療法では限界があり、克服できない「患者が新たな治療機会を失うことにより被るかも知れないリスク」とのリスクの大小を勘案し、かつ、これらすべ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持つことも重要である。したがって、確認申請(治験開始(First-in-Man))の場合、その申請に当たって添付すべき資料について本指針に示された要件や内容をすべて満たすことを必ずしも求めている訳ではない。製造販売承認申請時における品質及び安全性の確保のための資料は治験の進行とともに本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、当該(治験開始(First-in-

Man))時点でその趣旨に合う条件を充たし、合理的に作成された適切な資料を提出すること。

また、確認(治験開始(First-in-Man))に必要とされる資料の範囲及び程度については、当該製品の由来、対象疾患、対象患者、適用部位、適用方法及び加工方法等により異なり、本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に相談することが望ましい。

3. 本指針に記述された事項、試験方法、基準その他の技術要件は、それぞれの目的に合う内容と程度をもとに考慮、選択、適用、及び評価されるべきことを意図しており、必ずしも常に同一(最高)水準での解釈、運用を求めている訳ではない。この趣旨を踏まえ、申請者は、考慮した背景、選択、適用、及び評価した内容と程度がそれぞれの目的に相応しく、科学的合理性からみて妥当であることを明らかにすること。

第1章 総則

第1 目的

本指針は、ヒト体性幹細胞のうち、同種由来体性幹細胞(自己由来のものを除く)を加工した医薬品又は医療機器(以下「ヒト(同種)体性幹細胞加工医薬品等」という)の品質及び安全性の確保のための基本的な技術要件について定めるものである。

第2 定義

本指針における用語の定義は以下のとおりとする。

1 「ヒト体性幹細胞」とは、ヒトから採取された細胞又は当該細胞の分裂により生ずる細胞であって、多分化能を有し、かつ自己複製能力を維持しているもの又はそれに類することが推定されるもの及びこれらに由来する細胞のうち、以下のものを指す。すなわち、組織幹細胞(例えば、造血幹細胞、神経幹細胞、間葉系幹細胞(骨髄間質幹細胞・脂肪組織由来幹細胞を含む。)、角膜上皮幹細胞、皮膚幹細胞、毛胞幹細胞、腸管幹細胞、肝幹細胞及び骨格筋幹細胞)及びこれを豊富に含む細胞集団(例えば、造血系幹細胞を含む全骨髄細胞)をいい、血管前駆細胞、臍帯血及び骨髄間質細胞を含む。また、体外でこれらの細胞を培養して得られた細胞を含む。ヒト胚性幹細胞(ES細胞)、ヒト人工多能性幹細胞(iPS細胞)、ヒト人工多能性幹細胞様細胞(iPS様細胞)、ヒト胚性生殖細胞(EG細胞)、ヒト多能性生殖系幹細胞(mGS細胞)、ヒト単為発生幹細胞、ヒト核移植幹細胞、ヒトがん細胞、ヒトがん幹細胞、及びこれらに由来する細胞は含まない(注:ヒト胚性幹細胞(ES細胞)、ヒト人工多能性幹細胞(iPS細胞)、ヒト人工多能性幹細胞様細胞(iPS様細胞)の定義はそれぞれ「ヒトES細胞加工医薬品等の品質及び安全性確保に関する指針(案)」,「ヒト(同種/自己)iPS(様)細胞加工医薬品等の品質及び安全性確保に関する指針(案)」に従う)。

2 「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・分化、細胞の株化、細胞の活性化等を目的とした薬剤処理、生物学的特性改変、非細胞成分との組み合わせ又は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。

3 「製造」とは、加工に加え、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、当該細胞・組織の本来の性質を改変しない操作を含む行為で、最終製品であるヒト(同種)体性幹細胞加工医薬品等を出荷するまでに行う行為をいう。

4 「表現型」とは、ある一定の環境条件のもとで、ある遺伝子によって表現される形態学的及び生理学的な性質をいう。

5 「HLAタイピング」とは、ヒトの主要組織適合性抗原型であるHLA(ヒト白血球抗原)のタイプを特定することをいう。

6 「ドナー」とは、ヒト(同種)体性幹細胞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。

7 「遺伝子導入構成体」とは、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いう。

第2章 製造方法

第1 原材料及び製造関連物質

1 原材料となるヒト細胞・組織

(1) 起源及び由来、選択理由

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、当該細胞・組織を選択した理由を明らかにすること。

(2) 原材料となる細胞・組織の特性と適格性

① 生物学的構造・機能の特徴と選択理由

原材料として用いられる細胞・組織について、その生物学的構造・機能の特徴を、例えば、形態学的特徴、増殖特性、生化学的指標、免疫学的指標、特徴的産生物質、HLAタイピング、その他適切な遺伝型又は表現型の指標から適宜選択して示し、当該細胞を原料として選択した理由を説明すること。特に原材料となる体性幹細胞が有用な分化能を有することを明らかにすること。この場合の分化能とは、多系統への分化能を指しているわけではなく、生体内での機能を期待する細胞への分化能を有することを示すことで良い。また、in vitroでの分化能の提示が望ましいが、合理的な説明がつけばin vivoでの分化を示すことは可能である。例えば、体性幹細胞の1つである心筋幹細胞を原材料とする場合には、心筋幹細胞が心筋細胞へと分化しうることを示すことで良い。

これらの検討結果から原材料となる細胞を新たに調製す

る際に選択すべき重要細胞特性指標を明らかにしておくこと。(注：特異的マーカーに加えて、網羅的解析、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やチップ等を用いた解析が有用な場合もあるが、検体の量的制限や技術的限界もあり、可能な範囲で考慮すれば良い)。

②ドナーの選択基準、適格性

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こと。また、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。ドナーのゲノム・遺伝子解析を行う場合は、平成16年12月28日全部改正文部科学省・厚生労働省・経済産業省「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」に従うこと。

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

(3)ドナーに関する記録

原材料となる細胞・組織について、安全性確保上必要な情報が確認できるよう、ドナーに関する記録が整備、保管されていること。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。

(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、取り違えやクロスコンタミネーション防止のための方策等を具体的に示すこと。

③ドナーに対する説明及び同意

細胞・組織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え防止策

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

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。

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こと。

(1)細胞の培養を行う場合

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及び規格の設定に当たっては、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。

ア 培地に使用する成分及び水は、可能な範囲で医薬品又は医薬品原料に相当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。

イ 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明らかにし、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, MCDB, HAM, RPMIのような培地は1つのものと考えてよい。

ウ 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。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、以下の点を考慮し、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・伝播を防止するとともに、最終製品から可能な限り除去するよう処理方法等を検討すること。

ア 血清等の由来を明確にすること。

イ 牛海綿状脳症発生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こと。

ウ 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。

エ 細胞の活性化、増殖に影響を与えない範囲で細菌、真菌及び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、放射線処理又は紫外線処理等を組み合わせて行うこと。

オ 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。

④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)製造用細胞薬剤の由来、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

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。

⑤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。

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最終製品に含有す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。

(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