

進行がんで治療方法の選択肢が限られた患者の治療を目的とするバイオ医薬品の場合は、ICH S9 ガイドラインに従う。十分な科学的情報が得られている既知の毒素又は毒物については、単体での評価は必要ない。動物とヒトにおける ADC の安定性を比較するデータは提示されるべきある。

注3： 試験結果の解釈においては、妊娠中の胚・胎児への曝露プロファイルの種特異性を考慮しなければならない。高分子量のタンパク質 (> 5,000 D) は、単純拡散では胎盤を通過しない。分子量が 150,000 D 程度であるモノクローナル抗体については、新生児型 Fc 受容体 (FcRn) を介した輸送機構により胎児での曝露量が決定されるが、その機構には種差がある。

NHP 及びヒトでの IgG の胎盤通過性は、器官形成期には低い、妊娠第 2 三半期の初期から増加し、妊娠第 3 三半期の後期に最大となる (5)。従って、NHP の場合、妊娠初期から妊娠 50 日まで投薬する標準的な胚・胎児試験を実施しても、母動物への影響を介した胚・胎児発生への間接的影響は評価できるが、器官形成期における胚・胎児への直接的影響の評価する上での有用な情報は得られないと考えられる。さらに、IgG は初乳に移行するものの、以降の授乳期には乳汁中に移行しないため、NHP では分娩後の母動物への投薬は概して適切ではない。

NHP やヒトと異なり、げっ歯類では、FcRn を介した輸送機構により IgG が卵黄嚢を通過するために、妊娠中の胎児は比較的早い時期から IgG に曝露される。また、げっ歯類の出生児は NHP やヒトの新生児ほど発達しない段階で出生することから、ラットやマウスの場合には、出生児がヒトの新生児と同等の発達段階に達する少なくとも生後 9 日までは、乳汁を介して出生児に曝露させるように、授乳期間中にも母動物に投薬しなければならない。

注4： 出生後早期の機能試験（例えば、成長及び行動）には、最低 1 ヶ月の観察期間が必要である。

通常、一般毒性試験において免疫系（又は免疫機能）に有害作用が認められる場合は、ePPND 試験において出生児の免疫機能検査が必要である。免疫フェノタイピングを実施する場合には、生後 28 日前後での評価も可能である。免疫機能の評価するための出生後の観察期間は、実施する検査に応じて 3~6 ヶ月とすることが可能である。

神経行動学的評価は臨床学的な行動観察に限定することが可能である。試験装置を用いた学習試験は訓練期間を要し、出生後の観察期間が少なくとも 9 ヶ月に及ぶため推奨されない。

注5： カニクイザルを用いた ePPND 試験における各群の動物数を決定する方法は、Jarvis

らにより報告されている(6)。ePPND試験における各群の動物数は、出生後の発達を評価し、さらに追加の検査(例えば、免疫機能検査)が必要となる場合を考慮すると、生後7日に各群6~8例の出生児が得られるよう設定すべきである。

通常、ePPND試験では妊娠動物を数週間から数ヶ月にわたって徐々に試験へ組み入れる。試験実施中に投薬の影響として胚・胎児の死亡が確認された場合には、その段階で妊娠動物の追加組み入れを中止し、試験デザインの変更(例えば、帝王切開の実施)を考慮すべきである。

溶媒対照群に用いた母動物は再利用することが推奨される。

バイオ医薬品の作用機序から、胚・胎児発生や流産に影響を及ぼす懸念がある場合は、より少数の動物を用いた生殖発生毒性試験を実施することで、懸念される有害性を確認することが可能である。

注6: NHPを用いたePPND試験の中間報告書に含めるべき評価項目:

- 母動物のデータ: 生存率、一般状態、体重、可能な場合には妊娠期間中の曝露量や何らかのPD評価項目。
- 妊娠に関するデータ: 試験開始時の妊娠動物数、器官形成期末期(妊娠50日)及び妊娠100日における妊娠状況、流産の発現率及び発現時期。出生児体重の実測値が得られるため、中間報告書では、超音波検査で得られる胎児の体長に関するデータは必須ではない。
- 出生児に関するデータ: 生存児数、死産児数、出生時体重、生後7日の生存率及び体重、外表異常検査(外観が正常範囲内であることの確認)、可能な場合には出生児の曝露量や何らかのPD評価項目。

8. 参考文献

1. 「医薬品の生殖発生毒性試験に係るガイドラインの改定について」(平成9年4月14日付け薬審第316号厚生省薬務局審査課長通知)及び「医薬品の生殖発生毒性試験についてのガイドライン改正について」(平成12年12月27日付け医薬審第1834号厚生省医薬安全局審査管理課長通知)
2. 「医薬品におけるがん原性試験の必要性に関するガイダンスについて」(平成9年4月14日付け薬審第315号厚生省薬務局審査課長通知)及び「医薬品のがん原性試験に関するガイドラインの改正について」(平成20年11月27日付け薬食審査発第1127001号厚生労働省医薬食品局審査管理課長通知)
3. 「医薬品の臨床試験及び製造販売承認申請のための非臨床安全性試験の実施についてのガイダンスについて」(平成22年2月19日付け薬食審査発0219第4号厚生労働省医薬食品局審査管理課長通知)
4. 「抗悪性腫瘍薬の非臨床評価に関するガイドラインについて」(平成22年6月4日付け)

薬食審査発0604第1号厚生労働省医薬食品局審査管理課長通知)

5. Pentsuk N, van der Laan JW. An interspecies comparison of placental antibody transfer: new insights into developmental toxicity testing of monoclonal antibodies. *Birth Defects Research (Part B)* 2009; 86: 328-344.
6. Jarvis P, Srivastav S, Vogelwedde E, Stewart J, Mitchard T, Weinbauer G. The Cynomolgous monkey as a model for developmental toxicity studies: variability of pregnancy losses, statistical power estimates, and group size considerations. *Birth Defects Research (Part B)*, 2010, 89: 175-187.

被験物の名称：ICES

予定される一般名称：ヒト胚性幹細胞

相談区分：医薬品戦略相談

(別に定める要件を満たす大学・研究機関、ベンチャー企業)

相談予定日：2012年8月21日(火) 16時00分より

相談者：絵野沢 伸(独立行政法人国立成育医療研究センター)

1 相談概要

相談事項 1 フィーダー細胞セルバンクの試験項目の充足性について

本剤の製造工程では Jcl:ICR マウス(日本クレア)12.5~13.5 日齢胎仔から樹立したフィーダー細胞を用います(図 1.3)。フィーダー細胞はすべてワーキングセルバンクとして凍結保存し、用時解凍し培養に用います(図 1.2)。

フィーダー細胞のセルバンク化に際しては表 1.1 に示した試験を実施する予定です。試験項目は、平成 16 年 7 月 2 日 医政研発第 0702001 号「「異種移植の実施に伴う公衆衛生上の感染症問題に関する指針」に基づく 3T3J2 株及び 3T3NIH 株をフィーダー細胞として利用する上皮系の再生医療への指針について」を参考に設定しました。

設定した試験項目の妥当性についてご助言いただければと存じます。

相談事項 2 ヒト ES 細胞セルバンクの試験項目の充足性について

本剤の原材料として用いるヒト ES 細胞セルバンクについて、表 1.3 に示した試験を実施する予定です。試験項目は、「1.2.5 pICES セルバンク試験項目の充足性について」に記載しましたヒト ES 細胞の特性および各種安全性(無菌性、マイコプラズマ、各種ウイルス試験)を担保する目的で設定しました。

試験項目の設定に際しては、平成 20 年 9 月 12 日 薬食発第 0912006 号「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」、平成 12 年 2 月 22 日 医薬審第 329 号「「ヒト又は動物細胞株を用いて製造されるバイオテクノロジー応用医薬品のウイルス安全性評価」について」(ICH Q5A)、平成 12 年 7 月 14 日 医薬審第 873 号「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)製造用細胞基材の由来、調製及び特性解析について」(ICH Q5D)、平成 15 年 5 月 20 日 厚生労働省告示第 210 号「生物由来原料基準」を参考にしました。

また、試験を実施する時期については表 1.5 に記載した時期に実施する予定です。

設定した試験項目の妥当性についてご助言いただければと存じます。

1.1 相談事項 1 フィーダー細胞セルバンクの試験項目の充足性について

1.1.1 製造工程におけるフィーダー細胞の概要

ムコリピドーシス II 型に対する ES 細胞(以下 ICES)の原材料として使用予定のヒト ES 細胞株(以下 SEES)の樹立およびセルバンク(以下 pICES)の作製には、X 線照射(30Gy)により増殖を停止させたマウス胎仔由来線維芽細胞をフィーダー細胞として使用している。SEES 培養時の顕微鏡写真像を図 1.1 に示す。

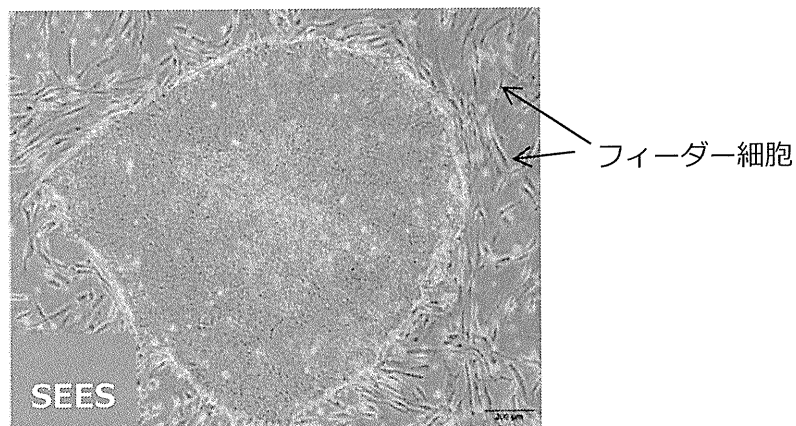


図 1.1 SEES 培養時の顕微鏡写真像

SEES 又は pICES の作製では、10cm dish にフィーダー細胞 1×10^6 細胞を播種している。一方、SEES 又は pICES は $4 \sim 10 \times 10^5$ 細胞程度の細胞密度で播種し、1 週間後の継代時に 10 倍の $4 \sim 10 \times 10^6$ 細胞/10cm dish 程度となる。フィーダー細胞は増殖を停止させているため、細胞数は増えず、SEES 又は pICES の増殖を妨げない。また、SEES 又は pICES がコロニー状に増殖するのに伴ってフィーダー細胞が押し分けられるため、両者間には明瞭な境界が形成される。

フィーダー細胞はヒト ES 細胞の安定的な培養に重要であるため、SEES、pICES および ICES の製造工程においても使用する予定である(図 1.2.1、1.2.2)。セルバンク化したフィーダー細胞を使用するのは MCB、WCB、最終製品の製造工程である。

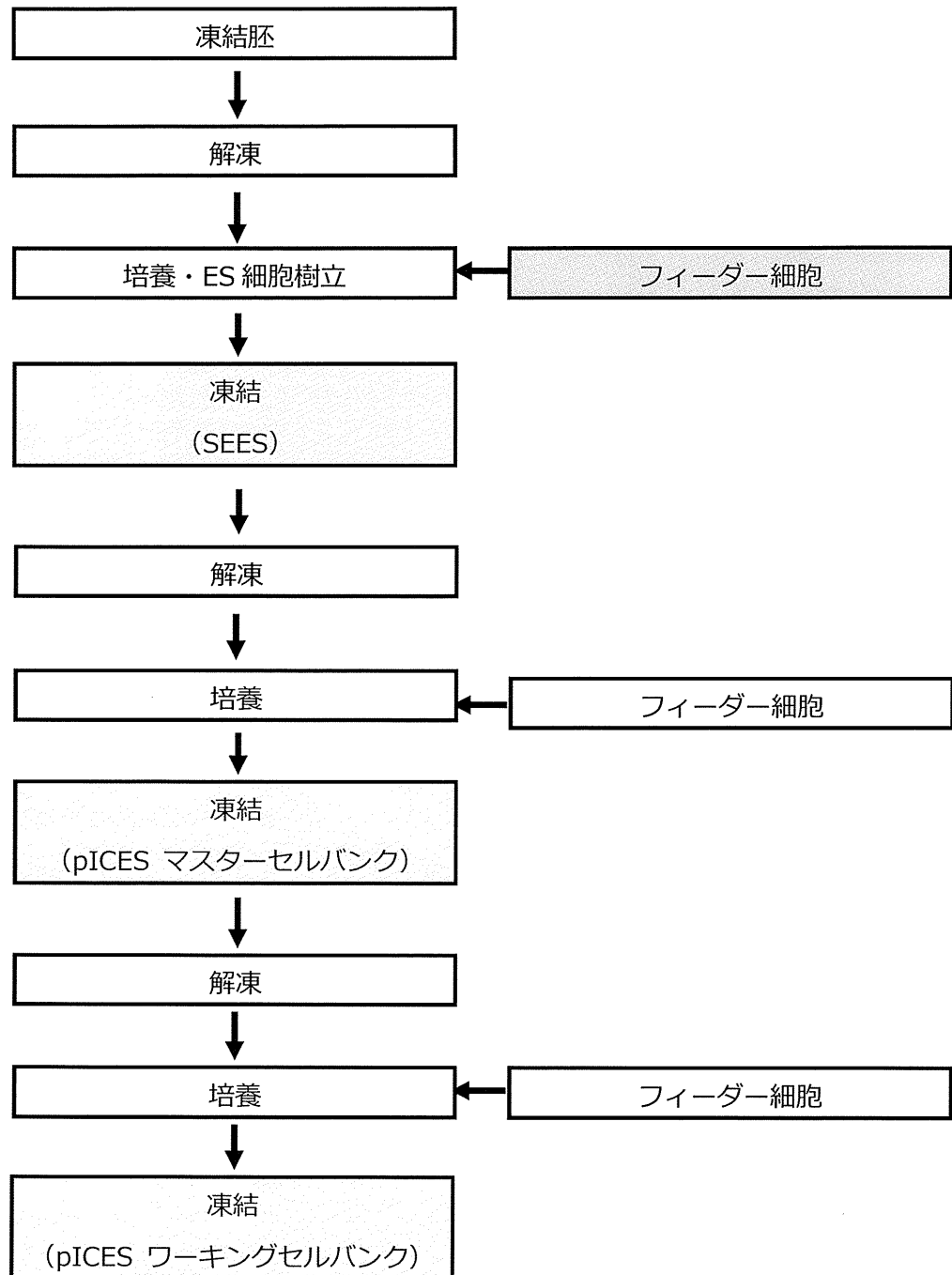


図 1.2.1 ICES 製造工程のフローチャート(案)
(凍結胚から pICES セルバンク作製まで)

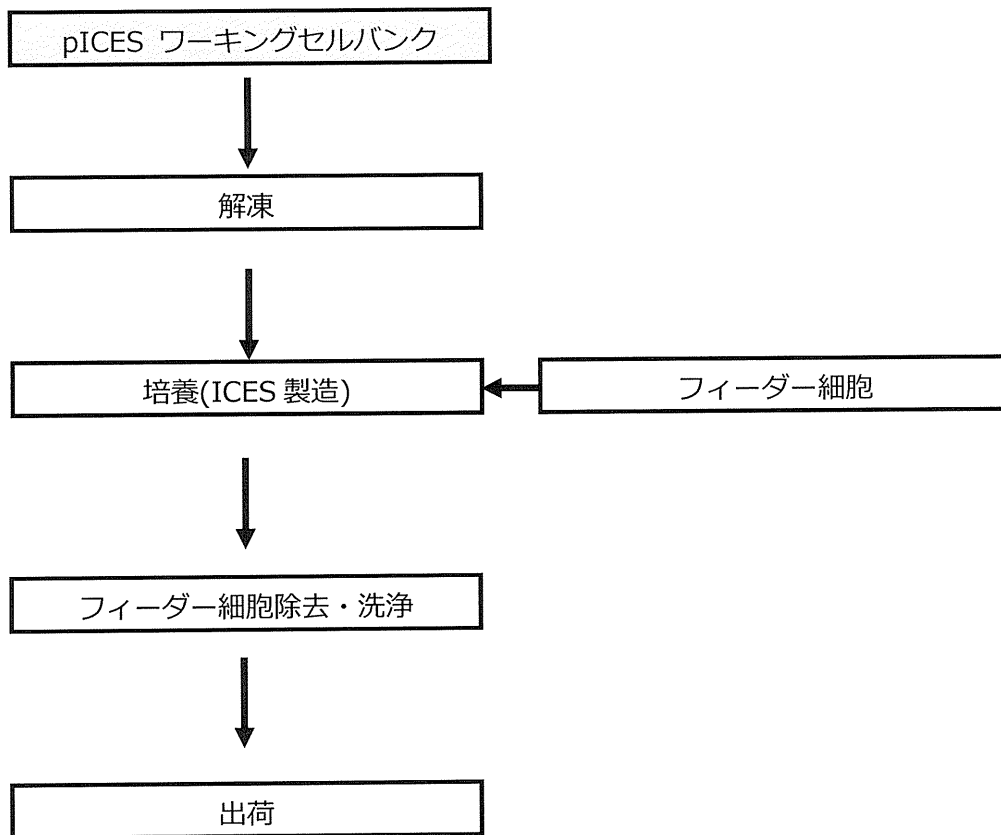


図 1.2.2 ICES 製造工程のフローチャート(案)

(pICES 細胞セルバンクの解凍から出荷まで)

1.1.2 フィーダー細胞セルバンクの製造

フィーダー細胞は Jcl:ICR マウス(日本クレア)12.5~13.5 日齢胎仔から樹立する。フィーダー細胞は国立成育医療研究センターCPC ルームにて製造する。セルバンク化し、性能の検証、安全性試験および純度試験として無菌試験、マイコプラズマ否定試験、ウイルス試験を施行する。製造の概要を図 1.3 に、フローチャートを図 1.4 に示す。

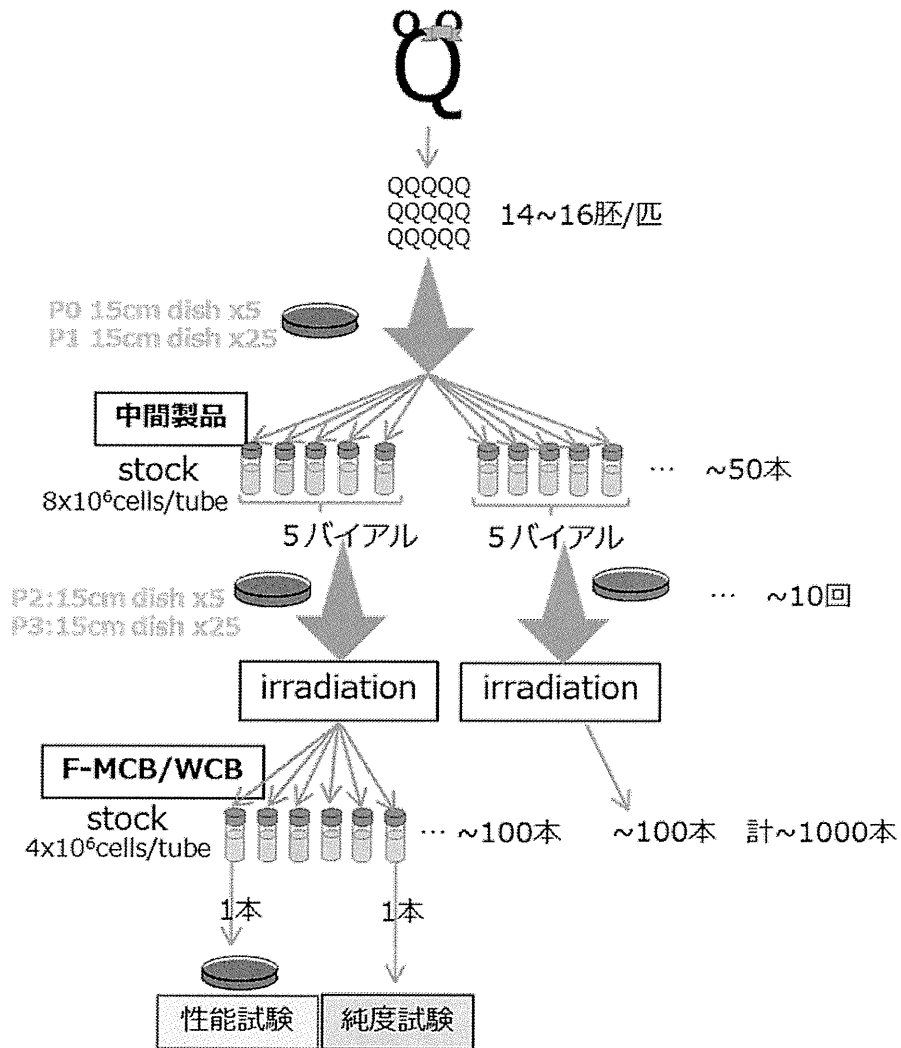


図 1.3 フィーダー細胞の製造概要(案)

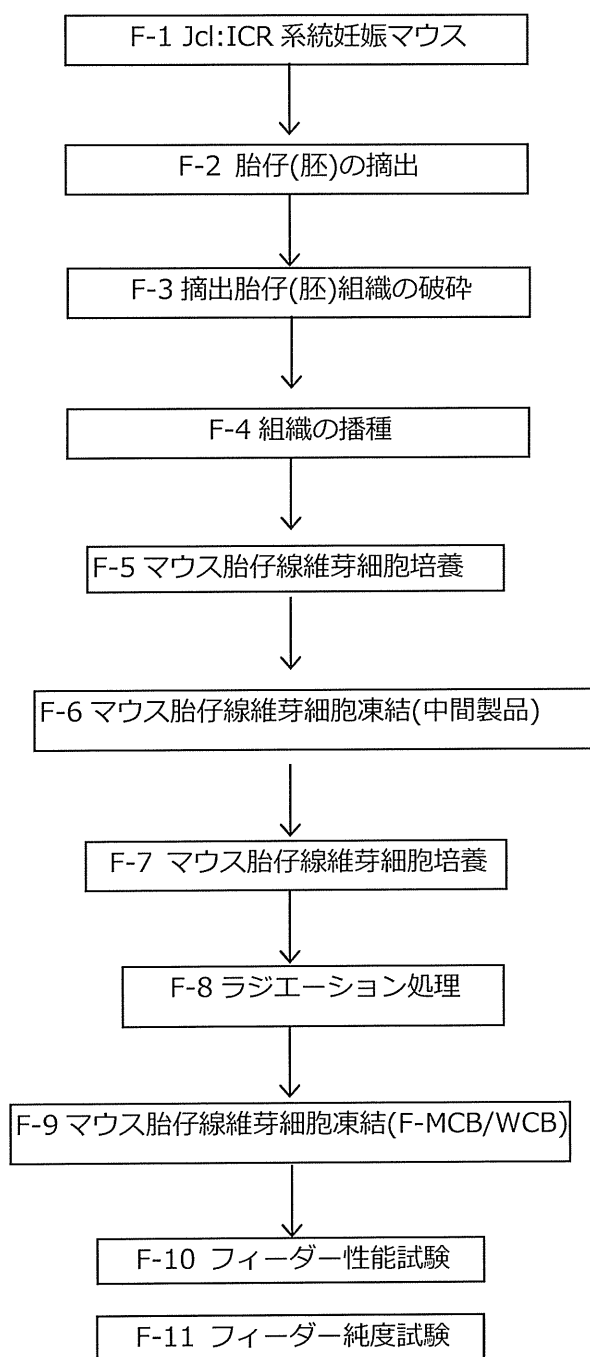
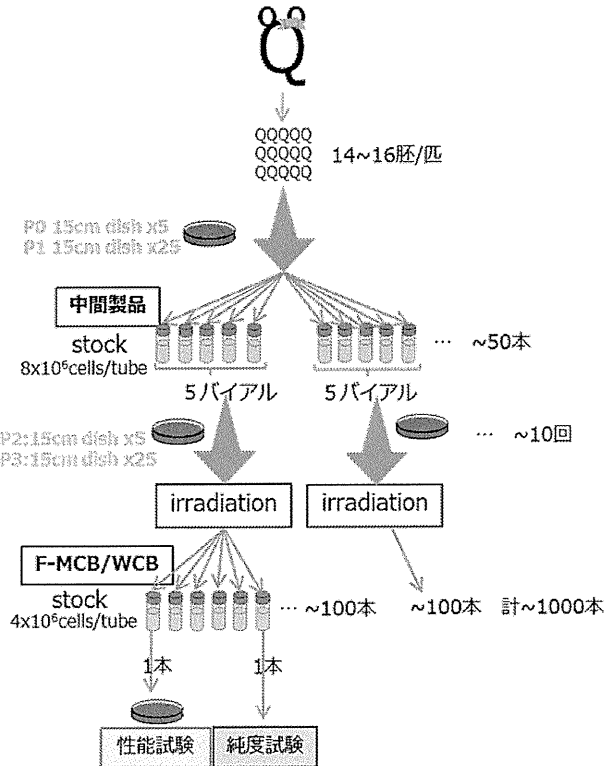


図 1.4 フィーダー細胞の製造フローチャート (案)

1.1.3 フィーダーのロット構成(案)

フィーダーのロットの構成を以下に示す。



妊娠マウス 1 匹

↓

QQQQQ
QQQQQ 14~16胚/匹
QQQQQ

↓

P0:15cm dish x5
P1:15cm dish x25

中間製品
stock
8x10⁶cells/tube

↓

5バイアル 5バイアル ... ~50本

↓

P2:15cm dish x5
P3:15cm dish x25

irradiation irradiation ... ~10回

↓

F-MCB/WCB
stock
4x10⁶cells/tube

↓

1本 1本 ... ~100本 ~100本 計~1000本

性能試験 純度試験

↓

中間製品 50 本
MEF1~MEF50 (=同一ロット)

↓

・MEF1~5 をまとめて拡大培養し、irradiation

↓

F-MCB/WCB100 本
F1.1~F1.100 (=同一ロット)

↓

性能試験および純度試験を実施する

↓

・MEF6-10 をまとめて拡大培養し、irradiation

↓

F-MCB/WCB100 本
F2.1~F2.100 (=同一ロット)

1.1.4 フィーダー-MCB/WCB に関する試験の充足性について

フィーダー-MCB/WCB に関する試験は、平成 16 年 7 月 2 日 医政研発第 0702001 号「「異種移植の実施に伴う公衆衛生上の感染症問題に関する指針」に基づく 3T3J2 株及び 3T3NIH 株をフィーダー細胞として利用する上皮系の再生医療への指針について」を準用し、表 1.1 の項目を実施する予定である。

表 1.1 の試験の概略として、フィーダー細胞はヒト ES 細胞の未分化維持のために使用されるので、ヒト ES 細胞を実際に培養して未分化が維持されるかどうかを確認することで性能の充足性を担保する^{※1}。製造過程では形態観察によって線維芽細胞であることを確認する。また、製造工程中でマウス胎仔線維芽細胞以外の細胞の混入を防ぐ方策をとる予定である。安全性に関しては、マウスウイルス試験を行うことおよび、製造に用いる試薬の生物由来原料基準への適合状況を確認することで安全性を担保していく予定である。なお、ICHQ5D に従い、核型分析は実施しない。

<参考>

平成 12 年 7 月 14 日 医薬審 第 873 号「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（ICHQ5D）

2.3.4 核型分析及び造腫瘍性試験

齧歯類細胞株又は非二倍体であることが知られている新規細胞株について、核型分析を行う必要はない。

※1 フィーダーの性能試験として ES 細胞の形態学的観察を選択した理由

形態学的特徴は、分化多能性、未分化遺伝子発現、メチル化、糖鎖発現等の特性と相関しており、形態学的な特徴は生物学的性質(ヒト ES 細胞であること)の判断においてもっとも確実であるとも考えられている(別添資料 1 *Tiss Cul Res Commun* 27: 139-147(2008))ことより、ES 細胞の形態学的観察を採用した。

表 1.1 フィーダー-MCB/WCB に関する試験の内容

項目		試験方法	
安全性試験および純度試験	無菌試験	EP/USP 直接法およびメンブランフィルター法	
	マイコプラズマ否定試験	JP A. 培養法, B. 指標細胞を用いた DNA 染色法, C. ポリメラーゼ連鎖反応 (PCR) による検出法。B 法で陽性を示した場合のみ C 法を実施。	
	マウス	感染性試験	レトロウイルスに感受性の高い Dunning 細胞および PG-4 細胞との共培養法
		逆転写活性試験	レトロウイルスのポリメラーゼ連鎖反応 (PCR) による検出
		電子顕微鏡観察	電子顕微鏡による細胞形態観察及びレトロウイルス様粒子の検出
		<i>in vitro</i> 試験	MRC-5 細胞、Vero 細胞及び NIH-3T3 細胞に接種し、細胞変性誘発作用、赤血球吸着反応及び赤血球凝集反応を確認
		<i>in vivo</i> 試験	乳飲みマウス、マウス離乳仔及びモルモットに接種し、発病及び生存数を確認する。マウス離乳仔及びモルモットは接種後 28 日間。発育鶏卵の漿尿膜嚢液内に播種し、赤血球凝集活性と生育胚の割合を求める。
抗体産生試験 (マウス)	マウス抗体産生試験 (マウスに接種し、血清中の乳酸脱水素酵素活性を測定する。また接種 14 日目に致死量のリンパ球性脈絡髄膜炎ウイルス (LCMV) を投与する。接種した血清中の 17 種のウイルス (Sendai Virus、Pneumonia Virus of Mice、Mouse Hepatitis Virus、Minute Virus of Mice、Mouse Parvovirus、Mouse Poliovirus (GDVII)、Reovirus Type3、Epizootic Diarrhea of Infant Mice、Mouse Pneumonitis Virus (K virus)、Ectromelia、Polyoma Virus、Mouse Adenovirus、Lymphocytic Choriomeningitis Virus (LCMV)、Mouse Cytomegalovirus、Mouse Thymic Virus、Hantaan Virus、Prospect Hill Virus) 抗体アッセイを行う。		
性能試験	位相差顕微鏡形態観察 SEES の培養にフィーダー細胞として使用し、ヒト ES 細胞に特徴的な扁平状のコロニー形成が維持されることを確認する。同時にフィーダー細胞が線維芽細胞に特徴的な紡錘系を有していることと、異常に増殖しないことも確認する。		

1.1.5 フィーダー-MCB/WCB の規模および安定性について

F-MCB/WCB は液化窒素を満たしたタンク中に保存する。F-MCB/WCB 専用のタンクとする。タンク内温度を継続的に記録する。フィーダー細胞としての性能はタンク内温度が -100℃ 以下に保持される場合、一般的に 10 年以上安定である。F-MCB/WCB の規模は 1000 バイアル程度であり、1-3 年程度で消費される。凍結期間と細胞の品質のデータを収集し、バンクの安定性及び保存期間を検討する。

1.1.6 フィーダーセルバンク試験を行う時期

フィーダー-MCB/WCB に関する試験は、ICH Q5D 2.3 セル・バンクの特性解析及び品質評価に際しての一般的留意事項(下に記載)を参考にして、F-MCB/WCB の段階で行う。

<参考>

平成 12 年 7 月 14 日 医薬審 第 873 号「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 (ICHQ5D)

2.3 セル・バンクの特性解析及び品質評価に際しての一般的留意事項

製造業者は、細胞の特性解析試験及び純度試験を、MCB ごとに 1 回実施すべきであり、医薬品製造のための培養期間中の細胞の安定性試験を、承認申請品目ごとに 1 回実施すべきである。更に、純度試験及び一部の特性解析試験を、WCB ごとに 1 回実施すべきである。

1.2 相談事項 2 ヒト ES 細胞セルバンクの試験項目の充足性について

1.2.1 ヒト ES 細胞セルバンクを設定する理由

ES 細胞製品(ICES)の製造工程を構築するに当たり、本剤の安定的な供給のため、また最終製品までの作製工程ステップ数を少なくするために、セルバンクを設定するのが妥当であると判断した。以下にセルバンクの設定箇所について検討した内容を示す。

ヒト ES 細胞の培養方法は確立されており、均一で安定的な状態を保つことが可能である。ヒト ES 細胞の培養/増殖過程では、週に 1 度の継代作業を行い、継代作業ごとに細胞を回収する作業が含まれる(図 1.4)。

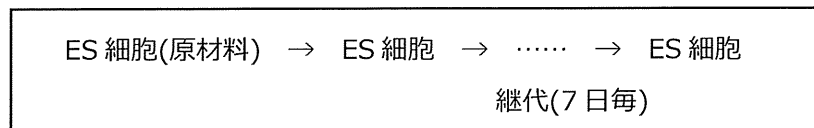


図 1.4 ES 細胞の培養の流れ

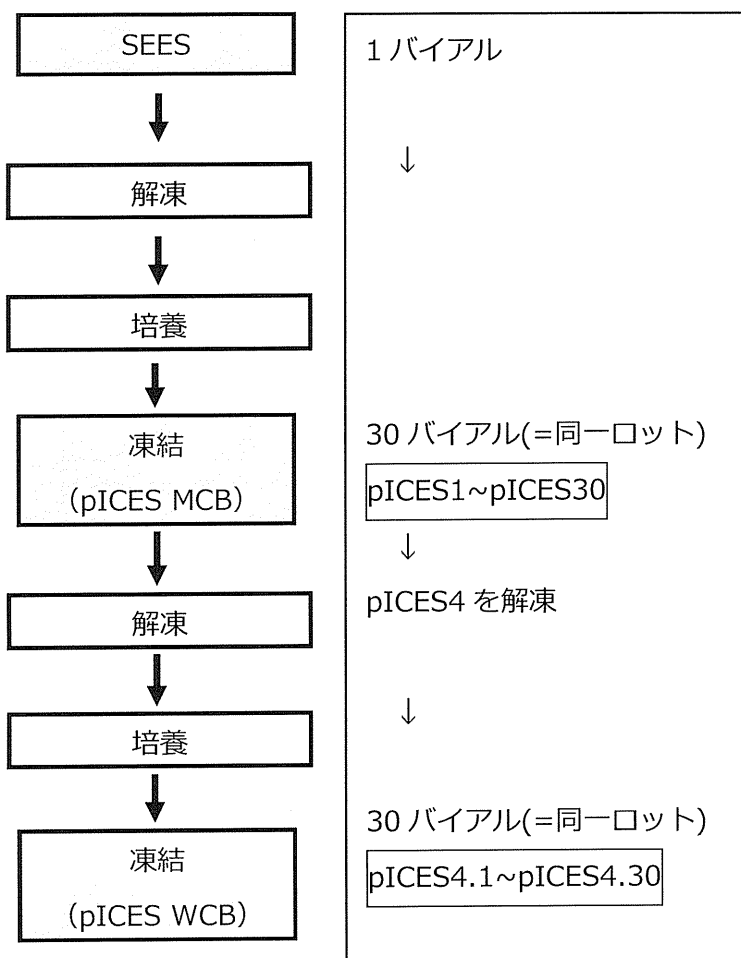
そのため、ES 細胞の継代作業の細胞を回収する作業に合わせて、凍結保存処理を行うことで、セルバンク(MCB および WCB)を設定することが可能であると判断した。

1.2.2 ヒト ES 細胞セルバンクの規模および安定性について

原材料である SEES から約 2×10^6 細胞/vial の pICES MCB を製造する。ヒト ES 細胞は、コロニーを完全に分散すると細胞がアポトーシスを起こすため、1 コロニー(数千細胞)を~100 程度の塊に分けて継代および凍結を行う。そのため、1 バイアル中の細胞数は概算値となる。セルバンク(MCB 及び WCB)は液化窒素を満たしたタンク中に保存される。タンク内温度を継時的に記録する。6 ヶ月ごとにタンクに保存されていたバイアルを解凍し、ヒト ES 細胞の特性として位相差顕微鏡観察を行いセルバンクの安定性および保存期間を検討する。現段階では 30 年以上製造可能であると推定している。

1.2.3 ロットの構成

pICES MCB から約 2×10^6 細胞/vial の pICES WCB を製造する。SEES から同一ロットの pICES MCB を 30 本程度製造する予定である。MCB1 本から同一ロットの pICES WCB を 30 本程度製造する予定である。



1.2.4 pICES MCB から pICES WCB の製造に要する培養期間

ヒト ES 細胞の培養では週に 1 度継代作業を行っている。MCB から WCB の製造予定表(例)を表 1.2 に示す。

表 1.2 pICES WCB の製造予定表(例)

第 x 回細胞調製 工程表						
月	日	曜日	培養 日数	作 業		備 考
				Feeder	hES cells	
x	3 1	水				
	1	木	1	Feeder準備		
	2	金	2		セルバンク解凍 P1: 10cm dish x1	
	3	土	3		(2x10 ⁶ cells 1vial)	
	4	日	4			
	5	月	5		medium change	
	6	火	6		medium change	
	7	水	7		medium change	
	8	木	8	Feeder準備	medium change	
	9	金	9		passage P2: 10cm dish x1	形態の良好なコロニーを選別
	1 0	土	10			
	1 1	日	11			
	1 2	月	12		medium change	
	1 3	火	13		medium change	
	1 4	水	14		medium change	
	1 5	木	15	Feeder準備	medium change	
	1 6	金	16		passage P3: 10cm dish x1	形態の良好なコロニーを選別
	1 7	土	17			
	1 8	日	18			
	1 9	月	19		medium change	
	2 0	火	20		medium change	
	2 1	水	21		medium change	
	2 2	木	22	Feeder準備	medium change	
	2 3	金	23		passage P4: 10cm dish x1	形態の良好なコロニーを選別
	2 4	土	24			
	2 5	日	25			
	2 6	月	26		medium change	
	2 7	火	27		medium change	
	2 8	水	28		medium change	
	2 9	木	29	Feeder準備	medium change	
	3 0	金	30		passage P5: 10cm dish x10	拡大培養
	3 1	土	31			
xx	1	日	32			
	2	月	33		medium change	
	3	火	34		medium change	
	4	水	35		medium change	
	5	木	36	Feeder準備	medium change	
	6	金	37		passage P5: stock 30vials	
	7	土	38			(@2x10 ⁶ cells/vial)

解凍直後は未分化性を維持できない細胞が多いので、解凍後 2~3 継代(P2,3,4)のうち継代ごとに形態的に未分化な細胞を選択していく。選択基準を資料「SEES 選択」に示す。判定は多能性幹細胞の培養を 6 ヶ月以上経験した者が行う。P5 において拡大培養を行う。表 1.2 の通り、MCB から起算し 4 回継代を繰り返した細胞(P5)を凍結したものを WCB とする。

1.2.5 pICES セルバンク試験項目の充足性について

1.2.5.1 pICES セルバンクにおいて確認すべき重要事項

pICES セルバンクには本剤が安定的に製造可能であることが求められる。本剤を安定的に製造するために重要な事項について以下に述べる。

特性および有効性に係る重要事項

本剤の目的とする細胞は分化多能性を持つヒト ES 細胞であり、本剤を製造するためのセルバンクもヒト ES 細胞とする予定である(1.2.1 参照)。ヒト ES 細胞は(1)細胞の形態(2)奇形腫形成能(3)胚葉体形成能(4)メチル化(5)糖鎖発現(6)未分化マーカー発現等で特徴付けられている。特に形態学的な特徴はヒト ES 細胞であることの判断においてももっとも確実であるとも考えられている(参考資料 1 *Tiss Cul Res Commun* 27: 139-147(2008))。また、本剤はヒト ES 細胞のもう一つの大きな特徴である奇形腫を形成することで効果・効能を発揮することを想定していることより、セルバンクの段階で奇形腫を形成することを確認することが重要であると考えられる。また、SEES およびフィーダー細胞以外の細胞が混入していないことを確認する。

安全性に係る重要事項

本剤は同種細胞製剤であり、他の細胞、細菌、真菌、マイコプラズマ、ウイルスに汚染されていないことが重要となる。これらの条件を満たすために、製造においては以下の方策をとる予定である。

1. SEES の由来となった凍結胚のドナーに関する情報は連結不可能匿名化されており、遺伝情報や感染情報を得ることができないため、セルバンクの段階で想定されるウイルスについて確認する。また、SEES の樹立においてフィーダー細胞を使用しているため、ヒト ES 細胞セルバンクでもフィーダーに由来するウイルスの有無を確認する。
2. pICES および ICES の製造に使用されるフィーダー細胞はセルバンク化し、フィーダー細胞セルバンクの無菌試験等(純度試験)を行う(1.1.4 参照)。
3. 製造に使用するすべての試薬について製造業者から生物由来原料基準の適合について情報提供を得ることにより、本剤の安全性を担保していく予定である。また、本剤の対象疾患は希少疾患であり、被験者を全例フォローアップする。

セルバンクに求められる要件は、バンクから上記の性能を満たす本剤を安定的に製造可能であるということである。そこで、上記の性能を満たす本剤を製造可能なセルバンクであることを確認するための試験として、表 1.3 の試験を設定する予定である。表 1.3 の試験を行えば、セルバンクから定められた製造工程によって本剤が安定的に製造可能であることが担保され则认为する。

表 1.3 pICES セルバンクの規格試験項目一覧(案)

	試験名	試験の目的
特 性 解 析	①形態/増殖観察	形態及び増殖観察によりヒト ES 細胞であることを確認する
	②奇形腫形成試験	分化多能性を確認する
	③DNA fingerprinting(STR)	細胞の同一性、コンタミの有無を確認する
純 度 試 験	④無菌試験	原材料および製造工程が無菌であることを確認する
	⑤マイコプラズマ試験	原材料および製造工程がマイコプラズマに汚染されていないことを確認する
	⑥ヒトウイルス試験	SEES の由来となった凍結胚のドナーに関する情報は連結不可能匿名化されており、遺伝情報や感染情報を得ることができないため感染性のヒト由来ウイルスが存在しないことを確認する
	⑦マウスウイルス試験	SEES の樹立段階でマウスフィーダーを使用しているため、マウス由来のウイルス安全性を確認する

薬食発第 0912006 号(同種指針)・医薬審第 329 号 (ICH Q5A) ・医薬審第 873 号 (ICH Q5D) ・「生物由来原料基準」を参考にした。特性解析の詳細については 1.2.7、純度試験の詳細については表 1.7 を参照。

また、本剤の有効性との関連性が不明確であることよりセルバンクの規格としては採用を予定していないが、表 1.4 に示す試験を特性解析試験として実施する予定である。

表 1.4 pICES セルバンクの特性解析試験項目(案)

試験名	試験の目的
⑧ 胚 葉 体 形 成 試 験 (<i>in vitro</i>)	三胚葉への分化能を見ることでヒト ES 細胞であることを確認する
⑨メチル化アレイ(Agilent メチル化解析チップ)	メチル化パターンによりヒト ES 細胞であることを確認する
⑩糖鎖アレイ(レクチン解析チップ)	糖鎖発現パターンによりヒト ES 細胞であることを確認する
⑪未分化マーカータンパク発現解析(組織学的)	未分化マーカータンパク質の発現解析でヒト ES 細胞であることを確認する
⑫未分化マーカー遺伝子発現解析(mRNA)	未分化マーカー遺伝子の発現解析でヒト ES 細胞であることを確認する
⑬hTERT 遺伝子発現解析	細胞齢を確認する
⑭核型分析	ゲノムの完全性、安定性 (欠失等) を確認する
⑮CGH 解析	ゲノムの完全性、安定性 (欠失等) を確認する
⑯遺伝子発現チップ解析	遺伝子発現解析によりヒト ES 細胞であることを確認する
⑰エキソーム解析	エキソン(遺伝子)の配列、安定性を確認する

1.2.6 pICES セルバンク試験を行う時期

表 1.3 の試験をセルバンクのどの段階で行うかについて以下のように検討した。

特性解析の形態/増殖観察試験および奇形腫形成試験および DNA fingerprinting については、MCB で 1 回実施する。ICH Q5D 2.3 セル・バンクの特性解析及び品質評価に際しての一般的留意事項(下に記載)を参考にした。また、「純度試験及び一部の特性解析試験を、WCB ごとに 1 回実施すべきであること。」より、WCB で形態/増殖観察試験を実施する。

純度に関しては、MCB および WCB の製造工程は同一であり、工程中に不純物(細胞、細菌、真菌、マイコプラズマ、ウイルス)の除去工程は含まれていないため、製造工程のより下流で行った試験結果が陰性であれば、それよりも上流の MCB, WCB、さらに製造工程の純度も担保可能だと考える。我々は製造工程の下流の細胞として予定の培養期間を超えて培養した細胞に対して純度試験を行う予定である(図 1.5、表 1.5)。予定の培養期間を超えて培養したバンク細胞は、WCB より起算し、MCB および WCB と同一の製造方法で 6 継代以上経過した細胞とする予定である。

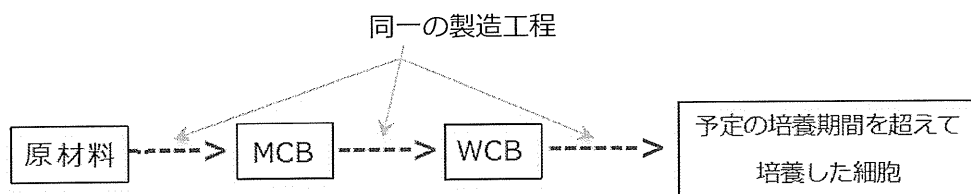


図 1.5 MCB, WCB, 予定の培養期間を超えて培養した細胞の位置関係

<参考>

平成 12 年 7 月 14 日 医薬審 第 873 号「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 (ICHQ5D)

2.3 セル・バンクの特性解析及び品質評価に際しての一般的留意事項

製造業者は、細胞の特性解析試験及び純度試験を、MCB ごとに 1 回実施すべきであり、医薬品製造のための培養期間中の細胞の安定性試験を、承認申請品目ごとに 1 回実施すべきである。更に、純度試験及び一部の特性解析試験を、WCB ごとに 1 回実施すべきである。