

添付文書②-6 製品標準書(抜粋)

2.3.S.4.2 試験方法

1. 最終試験

1.1 無菌試験

チオグリコール酸培地およびSoybean-Casein Digest (SCD) 培地の各100mLにサンプル(被験細胞の培養) 10mLずつ接種し、それぞれ30~25℃および20~25℃で14日間培養し、菌の増殖の有無を確認する。試験本数については全容器数の1%、ただし2本以上とする。

細胞製生物薬品は抗菌活性が無く、かつ得られるサンプルが少量のため、本手順では日本薬局方の無菌試験法のうち、直接法を採用する。しかし、発育阻止因子(抗生物質等)が含有されており、その影響が無視できない場合はメンブラン法を検討する。

詳細参照文書：無菌試験に関する手順書 *****.**

1.2 マイコプラズマ試験

JP16 に準拠して培養法および DNA 染色法にてマイコプラズマの存在を確認する。

検体について前処理を行い測定試料としたのち、培養法(マイコプラズマ否定試験用カンテン培地を用いた培養及びマイコプラズマ否定試験用液体培地を用いた培養を行いマイコプラズマの集落形成の有無を確認する)及びDNA染色法(住旨標細胞を用いて培養し、蛍光染色を行いマイコプラズマの存在を観察する)により試験を実施する。

合否判定基準は存在が否定されること。

詳細参照文書：マイコプラズマ否定試験に関する手順書 *****.**

1.3 エンドトキシン試験

JP16 のリムルス試験法に準拠する。和光純薬工業(株)の「リムルス ES-II テストコーワ」を用いる。校正はロット毎に日本薬局方標準エンドトキシンで検定した参考値(EU-vial)を基準として実施する。

合否判定基準は****EU/1mL以下とする。

詳細参照文書：エンドトキシン試験に関する手順書 *****.**

1.4 グリコサミノグリカン測定試験

*****.
*****.
*****.

詳細参照文書：グリコサミノグリカン測定試験に関する手順書 *****.**

2. 工程内試験

2.1 細胞数計測

*****.

添付文書②-7 製品標準書(抜粋)

2.2細胞観察

細胞観察モジュールを用いて以下の観察を行う。

異物の混入：観察されないこと。

生存性：生着していること。

コンフルーエント率：その工程に要求されるコンフルーエント率があること。

詳細参照文書：細胞観察に関する手順書 *****

2.3 分化の確認（表面抗原の確認）

免疫染色およびフローサイトメトリーで以下の確認を行う。

求める細胞は基質産生能をもつ骨幹細胞であり、下記特徴を持つ。

軟骨膜由来細胞はCD44、CD90の各抗原の陽性率が**%以上であること。

軟骨由来細胞はCD44、CD90の各抗原が陰性であること。または*****個中**個以下であること。

詳細参照文書：表面抗原測定に関する手順書 *****

2.3.S.4.3 試験方法のバリデーション

本プロセスにおいて、試験法のバリデーションの対象となる試験は、YCUH-CPC 内部にて行われる以下の試験である。

外部委託の試験は、本標準書内では対象としないとし、別途確認することとする。

試験法のタイプと評価が必要な分析能項目は以下の表の通り ICH の「分析法バリデーションのテキスト（実施項目）」より引用した。

表：試験法のタイプと評価が必要な分析能項目

試験法タイプ 分析能項目	確認試験	純度試験		定量法
		定量試験	限度試験	●含量・力価 ●溶出試験
特異性	+	+	+	+
真度	-	+	-	+
併行精度	-	+	-	+
室内再現精度	-	+	-	+
直線性	-	+	-	+
範囲	-	+	-	+

(ICH の「分析法バリデーションのテキスト（実施項目）」より引用)

1. 細胞数測定試験

測定誤差が 20%以内であること。

既知の細胞サンプルの標準品は存在しない。よって、バリデートされた細胞計測機に細胞懸濁液を 6 回測定し、その平均値を真値と想定できるとした。

添付文書②-8 製品標準書(抜粋)

特異性	生細胞は付着性を維持しているが、死細胞は浮遊している。計測時は死細胞を除去している。よって、生細胞数のみを計測していることは担保できる。
真度	既知の細胞数のサンプルを6回サンプリングと測定を行い、その測定値が±15%以内に収まった。
併行精度	一人の測定者が同じサンプルからサンプリング→染色→測定を6回を行い、その測定誤差が15%以内に収まった。
室内再現性	3人の測定者が同じサンプルから2回ずつサンプリング→染色→測定を行い、その誤差が15%以内に収束した。
直線性	細胞数 10^8 個のサンプルを1、10、100、1000倍に希釈し細胞数の測定を行った。どの濃度でも±15%の誤差範囲で収まっている。
範囲	10^5 ~ 10^8 個の細胞を測定範囲とした。

1. 細胞の生育状況の確認

細胞観察モジュールに過去の写真（正常なケース、異常なケース）を各9枚投影し、その判断の特異性を確認した。

特異性	判定は、3人の判定者が同じ写真を観察して行った。 正常な細胞は、全数正常と判定された。 軟骨膜および軟骨膜由来以外の細胞にコンタミした細胞サンプルは、軟骨膜および軟骨膜由来細胞の特殊な形態により容易に判別がつき、全数以上と判定された。 以上により、細胞の生育状況観察は細胞評価に妥当性があると判定した。
真度	—
併行精度	—
室内再現性	—
直線性	—
範囲	—

2. グリコサミノグリカン測定試験

添付文書②-9 製品標準書(抜粋)

2.3.S.4.4 ロット分析

	ロット番号				
製造年月日					
製造方法	本手順書に準じる	本手順書に準じる	本手順書に準じる	本手順書に準じる	本手順書に準じる
製造場所	形成外科 実験室	形成外科 実験室	形成外科 実験室	形成外科 実験室	YCUH-CPC
項目	基礎研究	基礎研究	基礎研究	基礎研究	臨床研究

2.3.S.4.5 規格および試験法の妥当性

最終製品の品質を確認する試験（表：最終試験）は、グリコサミノグリカン測定試験を除いた全試験が日本薬局方で規定されており、その試験の妥当性において問題はない。

グリコサミノグリカン測定試験において、その妥当性は文献[*****]などに記載されている。

工程内試験において分化能確認試験は文献[*****]などでその妥当性が確認されている。

細胞数測定法は、細胞調製を行う機関で一般的に行われている方法であり、その妥当性は[*****]で確認されている。

2.3.S.6 容器及び施栓系

本製品の容器は、*****製注射筒および針であり医療機器として認可されている（5mL：*****）である。材質は注射筒は*****。針は*****である。

Pyrogen、RNase、DNA フリーであり、個別包装後ガンマー線滅菌され、メーカーにより無菌性が保証されている。

Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表

研究成果の刊行に関する一覧表

武部 貴則（総括）

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Takebe T*, Sekine K, Enomura M, Koike H, Zhang RR, Ueno Y, Zheng YW, Koike N, Taniguch H*. (*: equally correspondence)	Vascularized and functional human liver tissue from an induced pluripotent stem cell-derived organ bud transplant.	Nature			2013, in press
Hiroyasu Tanaka*, Shin Tanaka*, Keisuke Sekine*, Sayaka Kita, Ai Okamura, Takanori Takebe, Yun-wen Zheng, Yasuharu Ueno, Junzo Tanaka, Hideki Taniguchi (*; Equal contribution).	Efficient generation of pancreatic β -cell spheroids in a simulated microgravity culture system.	Biomaterials			2013, in press
Judee Grace Nemeno-Guanzon, Johan Robert Berg, Mitsuru Mizuno, Soojung Lee, Yong Hwa Jo, Jee Eun Yeo, Bo Mi Nam, Bo Young Kim, Dae-Hyun Kim, Yong-Gon Koh, Takanori Takebe* and JeongIk Lee>(*: equally correspondence).	Towards the advancement of blood vessel tissue engineering.	Internationa l Journal of Tissue Regeneration			2013, in press
Koike H, Kubota K, Sekine K, Takebe T, Ouchi R, Zheng YW, Ueno Y, Tanigawa N, Taniguchi H.	Establishment of Automated Culture System for Murine Induced Pluripotent Stem Cells.	BMC Biotechnolog y	12(1)	81	2012
Takebe T, Sekine K, Suzuki Y, Enomura M, Tanaka S, Ueno Y, Zheng YW,	Self-organization of human hepatic organoid by	Transplant Proc	44(4)	1018 -20	2012

Taniguchi H	recapitulating organogenesis in vitro.				
Sekine K, Takebe T, Enomura M, Matsui C, Tanaka H, Taniguchi H.	Regenerative medicine approach as an alternative treatment to islet transplantation.	Transplant Proc	44(4)	1104-6	2012
Takebe T, Kobayashi S, Kan H, Suzuki H, Mizuno M, Yabuki Y, Adegawa T, Yoshioka T, Junzo Tanaka J, Maegawa J, Taniguchi H.	Human elastic cartilage engineering from cartilage progenitor cells using rotating wall vessel bioreactor.	Transplant Proc	44(4)	1158-61	2012
Takebe T, Koike N, Sekine K, Enomura M, Ueno Y, Zheng YW, Taniguchi H.	Generation of human vascular network in vitro.	Transplant Proc	44(4)	1130-3	2012
Sekine K, Takebe T, Suzuki Y, Kamiya A, Nakauchi H, Taniguchi H.	Highly efficient generation of definitive endoderm lineage from human induced pluripotent stem cells.	Transplant Proc	44(4)	1127-9	2012
武部貴則、谷口英樹	細胞から臓器へ、再生医療研究が拓く近未来像	Organ Biology	19(1)	-	2012

谷口 英樹（分担）（*研究総括・各研究分担との重複分は省略）

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍名	出版社	出版年	ページ
谷口英樹	臍島細胞の機能制御・分化誘導	再生医療叢書 5 代謝系臓器	朝倉書店	2012	24-33

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Sun L, Moritake T, Zheng YW, Kenshi Suzuki,	In vitro stemness Characterization of	Journal of Radiation	00	1-9	2012

Gerelchuluun A, Hong Z, Zenkoh J, Taniguchi H. Tsuboi K.	radio-resistant clones isolated from a medulloblastoma cell line ONS-76.	Research			
Koike H, Taniguchi H	Characteristics of hepatic stem/progenitor cells in the fetal and adult liver.	J Hepatobiliary Pancreat Sci	19(6)	587- 93	2012
Sekine K, Taniguchi H	Basics and applications of stem cells in the pancreas.	J Hepatobiliary Pancreat Sci	19(6)	594- 9	2012
Zheng YW, Tsuchida T, Taniguchi H	A novel concept of identifying precancerous cells to enhance anti-cancer therapies.	J Hepatobiliary Pancreat Sci	19(6)	621- 5	2012
谷口英樹	再生医学の現状と将 来展望	神奈川輸血研 究会誌	4	-	2012
谷口英樹	iPS 細胞の利用によ る再生医療のイノベ ーション	かながわ政策 研究大学連携 ジャーナル	3	90	2012

小林 眞司（分担）（*研究総括・各研究分担との重複分は省略）
雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Maegawa J, Kobayashi S, Yabuki Y, Hiroto K, Yasumura K, Iwai T.	Blepharoplasty in senile blepharoptosis: preoperative measurements and design for skin excision.	Aesthet Surg J	32(4)	441- 6	2012
Shinji Kobayashi, Mari Tanaka, Yukie Ohashi,	Functional reconstruction of	Cleft Palate Craniofac J	49(6)	e69- 74	2012

Yukichi Tanaka, Jiro Maegawa.	epignathus with cleft palate using part of a mature teratoma.				
Shinji Kobayashi, Takeshi Nishikouri, Jiro Maegawa, Takashi Hirakawa, Toshihiko Fukawa.	A novel craniofacial osteogenesis distraction system enabling control of distraction distance and vector for the treatment of syndromic craniosynostosis.	J of Craniofacial Surgery	23(2)	422- 25	2012

前川 二郎 (分担) (*研究総括・各研究分担との重複分は省略)
雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Yasumura K, Mikami T, Yabuki Y, Ooishi K, Hosono M, Yamamoto Y, Iwai T, Maegawa J.	Transzygomatic Kirschner wire fixation for the treatment of blowout fracture.	J Plast Reconstr Aesthet Surg	65	875- 82	2012
Maegawa J, Hosono M, Tomoeda H, Tosaki A, Kobayashi S, Iwai T.	Net effect of lymphaticovenous anastomosis on volume reduction of peripheral lymphoedema after complex decongestive physiotherapy.	Eur J Vasc Endovas c Surg	43	602- 8	2012
Maegawa J, Yabuki Y, Tomoeda H, Hosono M, Yasumura K.	Outcomes of lymphaticovenous side-to-end anastomosis in peripheral lymphedema.	J Vasc Surg	55(3)	753- 60	2012
Iwai T, Izumi T, Inoue T, Maegawa J, Fuwa N, Mitsudo K, Tohnai I.	Occipital artery arising from the anterior aspect of the internal carotid artery identified by three-dimensional computed tomography	Iran J Radiol	9(2)	103- 5	2012

	angiography.				
Hata M, Koike I, Maegawa J, Kaneko A, Odagiri K, Kasuya T, Minagawa Y, Kaizu H, Mukai Y, Inoue T.	Radiation therapy for primary carcinoma of the eyelid: tumor control and visual function.	Strahlen ther Onkol	188(12)	1102 -7	2012
Iwai T, Baba J, Murata S, Mitsudo K, Maegawa J, Nagahama K, Tohnai I.	Warthin tumor arising from the minor salivary gland.	J Craniofa c Surg	23(5)	e374 -6	2012
Iwai T, Tohnai I, Yasumura K, Maegawa J.	Role of 3-dimensional CT angiography for vascular assessment.	J Craniofa c Surg	23(4)	1223 -4	2012
Mikami T, Maegawa J, Kuroda M, Yamamoto Y, Yasumura K.	Subacute phase treatment of subperiosteal hematoma of the orbit with epidural hematoma in the frontal cranial fossa: Case report.	BMC Ophthal mol	28(1 2)	18	2012
Iwai T, Aoki N, Yamashita Y, Omura S, Matsui Y, Maegawa J, Tohnai I.	Endoscopic removal of bilateral supernumerary intranasal teeth.	J Oral Maxillofa c Surg	70(5)	1030 -4	2012

