

201231104A

厚生労働科学研究費補助金
難治性疾患等克服研究事業

小児重症拡張型心筋症への
bridge-to-transplantation/recovery を目指した
骨格筋芽細胞シートの開発と実践

平成24年度 総括研究報告書

研究代表者 澤 芳樹

平成25(2013)年5月

厚生労働科学研究費補助金
難治性疾患等克服研究事業

小児重症拡張型心筋症への
bridge-to-transplantation/recovery を目指した
骨格筋芽細胞シートの開発と実践

平成24年度 総括研究報告書

研究代表者 澤 芳樹

平成24（2012）年 5月

目次

I. 総括研究報告

小児重症拡張型心筋症への bridge-to-transplantation/recovery を目指した骨格筋芽細胞シートの開発と実践	1
--	---

大阪大学医学系研究科心臓血管外科 澤 芳樹

II. 分担研究報告

1. 小児重症拡張型心筋症への bridge-to-transplantation/recovery を目指した骨格筋芽細胞シートの開発と実践	5
---	---

大阪大学医学系研究科心臓血管外科 宮川 繁

2. 再生医療製品の品質管理と規制への対応	9
-----------------------------	---

大阪大学臨床医工学融合研究教育センター 松山 晃文

3. 再生医療製品の品質・安全性確保において「最低限必要とされる要求事項」MCP (Minimum Consensus Package)の提案	18
---	----

近畿大学薬学総合研究所 早川 堯夫

III. 研究成果の刊行に関する一覧表（別紙4）	23
--------------------------------	----

IV. 研究成果の別刷

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患等克服研究事業）

総括研究報告書（平成 24 年度）

小児重症拡張型心筋症への bridge-to-transplantation/recovery を目指した 骨格筋芽細胞シートの開発と実践

研究代表者 大阪大学大学院医学系研究科 澤 芳樹

研究要旨

拡張型心不全は予後不良な難治性疾患であり、重症例に対しては心臓移植が究極の治療法である。臓器移植法の改正をみたものの小児ドナーからの臓器提供は進まず、WHO イスタンブール宣言により海外渡航による移植も原則禁止され、本邦での小児心移植の実施例は稀有であり、新たな治療法の開発・我が国での保険医療化は喫緊の課題である

本研究期間においては、澤らがテルモ株式会社と共同で開発・実践してきた骨格筋芽細胞シート移植を、研究終了後目途として小児拡張型心筋症を適応症とする医師主導型治験に展開すべく、小児を適応症とするために希求される非臨床安全性試験・薬効薬理試験および品質管理試験を実施、ヒト幹細胞臨床研究指針にのっとり厚生労働大臣の意見を聞き、pilot study として小児を対象とする場合の最適なエンドポイントを設定、医師主導型治験関連文書作成に資する。

A. 研究目的

自己骨格筋芽細胞シートは、澤らが臨床研究として開発、成人虚血性心疾患を適応としてテルモ株式会社が引き受けて確認申請（当時）を取得、治験が実施される。一方、市場性が小さいために小児の拡張型心筋症の unmet medical needs は満たされていない。そこで本研究では、医師主導型治験により適応の拡大を図り、産業界の力を借りて幅広く小児拡張型心筋症の治療に資することを射程に入れる。特に本申請においては、小児に適応するために必須な幼若動物（ブタ）での非臨床不毒性試験・非臨床安全性薬理試験等を実施し、小児拡張型心筋症への適応拡大を図るための非臨床試

験・品質試験を実施することを目的とする。

B. 研究方法

1) 幼若ブタ心不全モデル動物作成、骨格筋芽細胞シート移植と短期有効性検証（澤・宮川）

離乳早期幼若ブタを用い、骨格筋芽細胞シート移植の 1 カ月間の短期有効性に関して検証する。

2) 非臨床急性・亜急性安全性試験パッケージの構築（宮川・松山）

成人を対象とした非臨床急性・亜急性安全性試験のパッケージは、テルモ株式会社が確認申請取得に用いたものが参考

となる。小児に関しては、成長の過程にあるということ、生殖器の獲得の過程であることから、上乘せ試験が求められる。この点に留意して、パッケージ構築を行う。

3) cGMP 対応の細胞培養システムの構築 (松山・早川)

製品標準書、製造手順書、製造指図書、製造記録書を策定にむけたデータ収集を行なうとともに、患者さんに投与する前のいわゆる cold run を開始、品質に関して早川が検討を行う。

(倫理面への配慮)

1. 臨床試験の実施に際しては、研究計画書（プロトコール）に関して医学部医学倫理委員会での承認を受け、「遺伝子治療臨床研究に関する指針」あるいは「ヒト幹細胞を用いる臨床研究に関する指針」に基づき厚生労働大臣の意見を聴いた後、医学系研究科長の責任のもと実施することとし、本人の書面による informed consent を取得した患者のみを研究対象とする。
2. 基礎的研究において、遺伝子改変動物、プラスミド DNA あるいは遺伝子導入ウイルス等を用いる場合は、使用に際して遺伝子組み換え生物などの使用等の規制による生物多様性の確保に関する法律、カルタヘナ条約等各種法令・告示・通知に基づき研究を実施する。非臨床動物試験に関しては、GLP 各種通知にのっとり実施する。
3. 動物操作に当たっては、本学の動物実験規定に従って行なう。

C. 研究結果

1) 幼若ブタ心不全モデル動物作成、骨格筋芽細胞シート移植と有効性検証

生後2カ月齢の幼若ブタを使用した。生後2カ月齢を選択した理由は、離乳して、生殖機能が発達していない時期が、生後2カ月齢であり、臨床の現場で対象となる小児患者を想定した場合、ブタでの適正年齢は生後2カ月であることが推測されたからである。

幼若ブタと成獣ブタ（生後8カ月）の筋芽細胞の性質を比較検討したところ、幼若ブタの筋芽細胞は、成獣の筋芽細胞と比較して、Sirt-1、Sirt-7 といった抗アポトーシスシグナルを高発現しており、また、血管新生因子である VEGF の発現も有意に高値であった。また、幼若ブタの筋芽細胞はスクラッチテストにて、成獣の筋芽細胞と比較して、増殖能が高く、Ki67 陽性細胞も高値であった。

幼若ブタの前下行枝をカテーテルにて閉塞させ、心筋梗塞モデルを作成することが可能となった。自己筋芽細胞シートを4枚左室前壁から側壁に移植した。幼若ブタでは4枚の筋芽細胞シート移植が外科的に移植限界であった。移植後は正常と同等の体重増加を認め、筋芽細胞を採取した部位の歩行障害も認めず、成長は順調であった。正常移植後1カ月、2ヶ月後での心機能検査では、駆出率、心拍出量の増加を認め、また、梗塞部位の dyssynchrony が是正されており、短期間での効果が確認された。今後、移植後長期における効果ならびに、不整脈等の安全性を検討する予定である。

2) 非臨床慢性安全性試験・体内動態試験併合試験パッケージの構築

単回移植慢性毒性試験と体内動態試験を

併合試験にて1本の試験として実施可能となった。評価項目に関して検討を加え、パッケージを構築ができており、今後上記1)の幼若大動物試験に反映させる予定である。

3) cGMP 対応の細胞培養システムの構築

すでにテルモ社で作成されている GMP 基準を満たした筋芽細胞シートを本治験で使用する予定であり、製品標準書、製造手順書、製造指図書、製造記録書は作成されている。

4) 小児を対象とした骨格筋芽細胞シート移植による臨床研究の申請・実施

小児心不全患者に対する自己骨格筋筋芽細胞シートの臨床研究プロトコールが大阪大学未来医療センターにて承認され、現在厚生労働省ヒト幹細胞委員会に提出され、ヒト幹細胞委員会にて承認された。今後臨床研究の実施を行う予定であり、本臨床研究の結果を参照しながら、治験を目的とした計画書、SOP、患者説明文書を作成し、治験を行う予定である。また、筋芽細胞シートに関しては、テルモ社が作成している GMP 基準を満たした筋芽細胞シートを使用する予定である。

D. 考察

現在、GMP 基準を満たす筋芽細胞シートを作成することが可能であり、小児心不全に対する筋芽細胞シートの POC も獲得できている。また、本臨床研究はヒト幹細胞委員会に承認され、pilot study として数例の臨床研究が施行される予定である。臨床研究にて取得されたデータを還元し、適切なエンドポイント、治験プロトコールを探索し、それらの知見を反映させた医師主導型

治験の計画書を作成する予定である。そして、最終的には医師主導型治験への移行を行う。

E. 結論

本研究にて、小児心不全に対する筋芽細胞シートの POC を取得でき、また、GMP 基準を満たす筋芽細胞シートの使用も可能となっている。数例の臨床研究のデータを医師主導型治験に反映させ、良質な医師主導型治験を行う予定である。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Myoblast sheet can prevent the impairment of cardiac diastolic function and late remodeling after left ventricular restoration in ischemic cardiomyopathy. Saito S, Miyagawa S, Sakaguchi T, Imanishi Y, Iseoka H, Nishi H, Yoshikawa Y, Fukushima S, Saito A, Shimizu T, Okano T, Sawa Y. Transplantation. 2012 Jun 15;93(11):1108-15.

2. 学会発表

1. Sawa Y. Regenerative Cell Sheet Technology to Repair the Heart. AHA アメリカ 2012.11.3-7
2. Sawa Y. It's a Whole New Ball Game: Human Clinical Stem Cell Issue Engineering. AHA アメリカ 2012.11.3-7
3. Kainuma S. Effects of Pedicle Omentum Flap Combined With

- Cell Sheet Implantation on Vessel Stability, Myocardial Perfusion, and Left Ventricular Reverse Remodeling in Rat Myocardial Infarction Model. AHA アメリカ 2012.11.3-7
4. 宮川 繁。重症心不全における細胞シートを用いたトランスレーショナルリサーチ。日本再生医療学会総会 横浜 2012.6
 5. 宮川 繁。Transitional Research of Cell Sheet-based Myocardial Regeneration Therapy。日本循環器病学会 福岡 2012.3.16-18
 6. 宮川 繁。重症心不全に対する自己細胞シート移植と左室補助人工心臓を用いた集学的心筋再生治療。日本人工臓器学会 福岡 2012.11.22-24
 7. 宮川 繁。重症心不全における細胞シート移植治療の基礎研究及びその臨床応用。日本外科学会 千葉 2012.4.12-14
 8. 宮川 繁。細胞シートを用いた新しい心不全治療の現状と展望。日本老年医学会 学術集会 東京 2012.6.28-30
 9. シート移植治療の基礎研究及びその臨床応用。日本外科学会 千葉 2012.4.12-14
 10. 宮川 繁。細胞シートを用いた新しい心不全治療の現状と展望。日本老年医学会 学術集会 東京 2012.6.28-30
- H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)
1. 特許取得 該当なし
 2. 実用新案登録 該当なし
 3. その他 該当なし

小児重症拡張型心筋症への bridge-to-transplantation/recovery を目指した
骨格筋芽細胞シートの開発と実践

研究分担者 大阪大学心臓血管外科 宮川 繁

研究要旨

本研究においては、大阪大学がテルモ株式会社と共同で開発・実践してきた骨格筋芽細胞シート移植を、研究終了後目途として小児拡張型心筋症を適応症とする医師主導型治験に展開すべく、小児を適応症とするために希求される非臨床安全性試験・薬効薬理試験および品質管理試験を実施、ヒト幹細胞臨床研究指針にのっとり厚生労働大臣の意見を聞き、pilot study として小児を対象とする場合の最適なエンドポイントを設定、医師主導型治験関連文書作成に資することを目的とする。

本研究にて、筋芽細胞シートの幼弱動物心不全に対する筋芽細胞シートの薬効・薬理の POC を獲得することができ、また Pilot study として「小児拡張型心筋症患者に対する筋芽細胞シート治療」がヒト幹細胞委員会での承認を得ることができた。そのデータをもとに医師主導型治験における適正なエンドポイント、対象患者の選択基準等の策定が可能であり、最終目的とする医師主導型治験の貴重なデータになるものと思われる。

A. 研究目的

本研究においては、大阪大学がテルモ株式会社と共同で開発・実践してきた骨格筋芽細胞シート移植を、研究終了後目途として小児拡張型心筋症を適応症とする医師主導型治験に展開すべく、小児を適応症とするために希求される非臨床安全性試験・薬効薬理試験および品質管理試験を実施、ヒト幹細胞臨床研究指針にのっとり厚生労働大臣の意見を聞き、pilot study として小児を対象とする場合の最適なエンドポイントを設定、医師主導型治験関連文書作成に資することを目的とする。

B. 研究方法

1) 幼若ブタ心不全モデル動物作成、骨格筋芽細胞シート移植と短期有効性検証
(澤・宮川)

離乳早期幼若ブタを用い、骨格筋芽細胞シート移植の1カ月間の短期有効性に関して検証する。

2) 非臨床急性・亜急性安全性試験パッケージの構築 (宮川・松山)

成人を対象とした非臨床急性・亜急性安全性試験のパッケージは、テルモ株式会社が確認申請取得に用いたものが参考となる。小児に関しては、成長の過程に

あるということ、生殖器の獲得の過程であることから、上乘せ試験が求められる。この点に留意して、パッケージ構築を行う。

(倫理面への配慮)

1. 臨床試験の実施に際しては、研究計画書（プロトコール）に関して医学部医学倫理委員会での承認を受け、「遺伝子治療臨床研究に関する指針」あるいは「ヒト幹細胞を用いる臨床研究に関する指針」に基づき厚生労働大臣の意見を聴いた後、医学系研究科長の責任のもと実施することとし、本人の書面による informed consent を取得した患者のみを研究対象とする。
2. 基礎的研究において、遺伝子改変動物、プラスミド DNA あるいは遺伝子導入ウイルス等を用いる場合は、使用に際して遺伝子組み換え生物などの使用等の規制による生物多様性の確保に関する法律、カルタヘナ条約等各種法令・告示・通知に基づき研究を実施する。非臨床動物試験に関しては、GLP 各種通知にのっとり実施する。
3. 動物操作に当たっては、本学の動物実験規定に従って行なう。

C. 研究結果

1) 幼若ブタ心不全モデル動物作成、骨格筋芽細胞シート移植と有効性検証

生後2カ月齢の幼若ブタを使用した。生後2カ月齢を選択した理由は、離乳して、生殖機能が発達していない時期が、生後2カ月齢であり、臨床の現場で対象となる小児患者を想定した場合、ブタでの適正年齢は生後2カ月であることが推測されたから

である。

幼若ブタと成獣ブタ（生後8カ月）の筋芽細胞の性質を比較検討したところ、幼若ブタの筋芽細胞は、成獣の筋芽細胞と比較して、Sirt-1、Sirt-7 といった抗アポトーシスシグナルを高発現しており、また、血管新生因子である VEGF の発現も有意に高値であった。また、幼若ブタの筋芽細胞はスクラッチテストにて、成獣の筋芽細胞と比較して、増殖能が高く、Ki67 陽性細胞も高値であった。

幼若ブタの前下行枝をカテーテルにて閉塞させ、心筋梗塞モデルを作成することが可能となった。自己筋芽細胞シートを4枚左室前壁から側壁に移植した。幼若ブタでは4枚の筋芽細胞シート移植が外科的に移植限界であった。移植後は正常と同等の体重増加を認め、筋芽細胞を採取した部位の歩行障害も認めず、成長は順調であった。正常移植後1カ月、2ヶ月後での心機能検査では、駆出率、心拍出量の増加を認め、また、梗塞部位の dyssynchrony が是正されており、短期間での効果が確認された。また、犠死の際、主要臓器を摘出し、筋芽細胞シート移植による組織学的な異常所見がないか検討したところ、腫瘍形成等の所見は認められず、安全性が示唆された。今後、移植後長期における効果ならびに、不整脈等の安全性を検討する予定である。

2) 非臨床慢性安全性試験・体内動態試験併合試験パッケージの構築

単回移植慢性毒性試験と体内動態試験を併合試験にて1本の試験として実施可能となった。評価項目に関して検討を加え、パッケージを構築ができており、今後上記1)の幼若大動物試験に反映させ

る予定である。

3) cGMP 対応の細胞培養システムの構築

すでにテルモ社で作成されている GMP 基準を満たした筋芽細胞シートを本治験で使用する予定であり、製品標準書、製造手順書、製造指図書、製造記録書は作成されている。

4) 小児を対象とした骨格筋芽細胞シート移植による臨床研究の申請・実施

小児心不全患者に対する自己骨格筋筋芽細胞シートの臨床研究プロトコールが大阪大学未来医療センターにて承認され、現在厚労省ヒト幹細胞委員会に提出され、ヒト幹細胞委員会にて承認された。今後臨床研究の実施を行う予定であり、本臨床研究の結果を参照しながら、治験を目的とした計画書、SOP、患者説明文書を作成し、治験を行う予定である。また、筋芽細胞シートに関しては、テルモ社が作成している GMP 基準を満たした筋芽細胞シートを使用する予定である。

D. 考察

今回の非臨床試験にて、小児心臓に対する外科的手術手技が、成人の心臓への移植と比較して、心臓のサイズの問題で、多数の筋芽細胞シートを移植することは困難であることが判明し、実際の臨床研究での手術手技を確認することができた。また、本研究にて、幼弱ブタ心不全モデルを用いた筋芽細胞シートの薬効。薬理の POC を獲得し、移植する筋芽細胞シートはテルモ社が作成した GMP 基準の細胞シートであり、すでにその SOP、試験物概要書も作成されている。今回承認された臨床研究において探索される適切なエンドポイントと患者選択基準により、良質の医師主導型治験を行

うことが可能となると思われる。

E. 結論

本年度の本研究により、医師主導型治験に向けた基盤が確立しつつあり、数例の臨床研究を行うことにより、小児心不全に対する適正な治験デザインを確立することが可能になるとと思われる。

F. 健康危険情報

該当なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Myoblast sheet can prevent the impairment of cardiac diastolic function and late remodeling after left ventricular restoration in ischemic cardiomyopathy. Saito S, Miyagawa S, Sakaguchi T, Imanishi Y, Iseoka H, Nishi H, Yoshikawa Y, Fukushima S, Saito A, Shimizu T, Okano T, Sawa Y. Transplantation. 2012 Jun 15;93(11):1108-15.

2. 学会発表

1. Sawa Y. Regenerative Cell Sheet Technology to Repair the Heart. AHA アメリカ 2012.11.3-7
2. Sawa Y. It's a Whole New Ball Game: Human Clinical Stem Cell Issue Engineering. AHA アメリカ 2012.11.3-7
3. Kainuma S. Effects of Pedicle Omentum Flap Combined With Cell Sheet Implantation on Vessel Stability, Myocardial Perfusion, and Left Ventricular Reverse Remodeling in Rat Myocardial

- Infarction Model. AHA アメリカ
2012.11.3-7
4. 宮川 繁。重症心不全における細胞シートを用いたトランスレーショナルリサーチ。日本再生医療学会総会 横浜 2012.6
 5. 宮川 繁。Transitional Research of Cell Sheet-based Myocardial Regeneration Therapy。日本循環器病学会 福岡 2012.3.16-18
 6. 宮川 繁。重症心不全に対する自己細胞シート移植と左室補助人工心臓を用いた集学的心筋再生治療。日本人工臓器学会 福岡 2012.11.22-24
 7. 宮川 繁。重症心不全における細胞シート移植治療の基礎研究及びその臨床応用。日本外科学会 千葉 2012.4.12-14
 8. 宮川 繁。細胞シートを用いた新しい心不全治療の現状と展望。日本老年医学会 学術集会 東京 2012.6.28-30
- H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)
1. 特許取得 該当なし。
 2. 実用新案登録 該当なし。
 3. その他

「再生医療製品の品質管理と規制への対応」

研究分担者 大阪大学臨床医工学融合研究教育センター 松山晃文

研究要旨

有効性と安全性は臨床試験でしか評価ができないが、品質は臨床試験前に評価が可能であるからこそ、品質の確保は重要である。試験物、あるいは製品の品質管理を行わなくてはならないのは、研究開発段階での品質の役割としてお被験者保護（患者保護）の観点（倫理的妥当性）からの品質確保のためであり、承認申請・製造販売に向けた品質の知識・データの取得の観点から、臨床試験の質を高め、結果を正當に評価するためでもある。再生医療製品にあっても、品質についての考え方が変わるわけではない。細胞製剤の特性を考慮しつつ、安定した品質の再生医療製品が提供されるべきであろう。

A. 研究目的

小児重症拡張型心筋症へのbridge-to-transplantation/recoveryを旨とした骨格筋芽細胞シートの開発と実践のため、テルモ株式会社が確認申請取得に用いた成人を対象とした非臨床急性・亜急性安全性試験のパッケージを参考にしつつ、上乘せ試験が求められる項目に配慮しつつ、パッケージ構築を行うことを目的とし、そのために再生医療製品にかかる品質について議論を行うこととした。

B. 研究方法

再生医療製品の品質について議論するため、低分子化合物における品質管理項目を渉猟し、それを参考にして再生医療製品への展開を図ることとした。

（倫理面への配慮）

該当なし

C. 研究結果

1. 品質概論

1.1 研究開発時における品質と有効性・安全性の関係

再生医療製品に限らず、医薬品等においては品質、有効性、安全性の3つが確保されて初めて製品として成立する。研究者あるいは医師にとって品質は製薬会社が医薬品あるいは治験薬を提供する治験や臨床試験ではあまり意識されないが、その品質保証は有効性と安全性検証の根幹である。治験に期待されるデータの信頼性の観点から述べれば、一定の品質が保証された「モノ」

が投与されていることが、データの信頼性を保証する第一歩となるからである。

有効性と安全性は臨床試験でしか評価ができないが（安全性の一部は非臨床試験で評価する）、品質は臨床試験前に評価が可能であるからこそ、品質の確保は重要である。試験物、あるいは製品の品質管理を行わなくてはならないのは、研究開発段階での品質の役割としてお被験者保護（患者保護）の観点（倫理的妥当性）からの品質確保のためであり、承認申請・製造販売に向けた品質の知識・データの取得の観点から、臨床試験の質を高め、結果を正当に評価するためでもある。

1.2 臨床試験段階から製造販売までの品質保証

再生医療製品の研究開発にあたって、臨床試験（治験）段階から製造販売までの品質保証の方策について述べる。試験物製造と非臨床試験をそれぞれの段階（相）に応じて品質管理・品質保証を行い、大学等研究機関あるいはベンチャー企業にあつては、企業主導の治験ができる状態にすることが目標となる。

当然のこととして、開発段階では製品の品質管理も試験・研究状態にある。品質に関しては、開発期間中を通して品質の一貫性が求められる。ここで言う「一貫性」とは、「違いがあっても良いが、どこが違うのかわかっている状態」ととらえればよい。開発後期である第Ⅲ相あるいは検証型治験においては市販品との「同等性」が要求される。「同等性」とは、「科学的に有意差が認められず、同等と判断しうる状態」ととらえればよい。承認審査では複数の臨床試

験間での結果の再現性は重視される。特に低分子化合物医薬品にあつては、承認のためには2つ以上の無作為化比較試験で有効性が検証されることが望ましいとされ試験間で結果が安定して再現性があることが必要とされている。なかには、医師主導型治験1つで承認を受けているような申請もあるが、既に海外等の臨床試験で有効性が検証されている場合や、適応拡大である場合のみである。

1.3 医薬品品質の規制に関する考え方の変化

2003年のICH（日米EU医薬品規制調和国際会議）は、品質についての考え方においてエポックメイキングであった。品質リスクマネジメントと科学を統合したアプローチを重視した、製品のライフサイクルを通して適用が可能な調和した医薬品品質システムを開発する（品質の作り込）という考え方であり、サイエンスベース・リスクベースのアプローチへのパラダイムシフトであると言える。ICHの品質ガイドラインにも変化が認められ、安定性試験を行う具体的な試験条件など具体的な試験法や規格設定を3極で調和させた内容をガイドライン化するという流れから、考え方や方法論などを具体的な数値的基準を持たない概念的な指針をガイドライン化するという流れになった。

この流れに沿って我が国でも薬事法が改正され（2005年施行）、品質保証の方向性が示されている。改正前は、適切な規格の設定に基づく品質管理に重点が置かれていたが、改正後には、開発段階から製造段階までを見通した品質保証体制の確立し、「製

品ライフサイクル」に応じた継続的改善と柔軟な品質保証をおこなうこととなった。治験薬 GMP (2008 年改正) の基本的考え方としては、GCP 省令にて「(略) 本基準が医薬品開発の重要な期間に対して適応されることから、製品ライフサイクルを見据えた品質マネジメントの一環として活用することが望ましい」とされ、状況やリスクを考慮し、適切だと判断される要件を柔軟に運用することとなった。

1.4 CTD(Common Technical Document)

CTD (Common Technical Document)とは、ICH で合意された承認申請資料の構成であり、医薬品に提供される。編集作業の重複を軽減するのが目的であり、あくまでも構成に関する取り決めであって内容まで共通化されているわけではない。品質に関しては、第 2 部の「品質概括資料」部分と第 3 部「品質に関する文書」が該当する。なお、品質概括資料の構成については他書を参考にされたい。

1.5 規制当局が「品質」を評価するポイントと承認に必要な品質関連の資料

申請から承認までに品質が評価されるのは 2 か所、承認審査と GMP 調査である。承認審査ではチーム審査と信頼性調査が行われ、GMP 調査では製造書への立ち入り調査が行われる。承認審査では、承認申請書に記載された「第 2 部品質に関する概括資料」を対象として審査され、CTD 第 3 部は参照に使われる。GMP 審査では、製造所の実地調査とともに製品標準書や作業手順書等が調査されることとなっている。承認申請書には、

提出年月日、提出者、担当者、名称（販売名）などの事項

成分及び分量又は本質

別紙規格

成分・分量・本質で別紙規格とした有効成分・賦形剤などの規格を記載

成分ごとに「名称」「製造方法」

「貯蔵方法及び有効期間」「規格及び試験方法」を記載

製造方法

用法及び用量

効能又は効果

貯蔵方法及び有効期間

規格及び試験方法

製造所

備考

別紙（図表・数式など）

が記載される。

1. 再生医療製品における品質の確保

2.1 品質の確保のために

「品質」の定義は、ICH-Q6A によれば、「原薬あるいは製剤の意図した用途への適切さのこと。同一性、含量、物質の純度のような特性を指すこともある。」とされる。承認段階での品質が保証されている状態を、平易に述べれば、「いつ・誰が・どこで・作っても、同じ品質のものをつくれる仕組みができていること」といえる。「同じ品質のもの」であることは、製造方法と最終製品の規格で管理・保証することとしており、主に承認審査で確認するものである。「いつ・誰が・どこで」に関しては、何らかの制限を設けて管理する必要があり、主に

GMP 調査で確認することとなる。

研究開発時の品質確保には GMP の手法がとられる。これは、通知、指針等に記載されている品質確保の方法は GMP の手法に基づいているからである。治験薬であれば、「治験薬の製造管理、品質管理等に関する基準」や平成 24 年のいわゆる 5 指針が挙げられ、その中でも第 2 章第 3 「最終製品の品質管理」の 2 「最終製品の品質管理法」に最終製品の品質に関する記載がある。

2.2 最終製品の品質管理項目

最終製品について、細胞数並びに生存率・確認試験・純度試験・細胞由来の目的外生理活性物質に関する試験・製造工程由来不純物試験・無菌試験・マイコプラズマ否定試験・エンドトキシン試験・効能試験・力価試験・力学的適合性試験といった一般的な品質管理項目及び試験を参考として、必要で適切な規格及び試験方法を設定し、その根拠を明らかにすることとなっている。

細胞数並びに生存率については、細胞の生存率が低いことによる有効性の減弱を阻止するという観点と、死滅細胞は血栓形成促進傾向にあること等による安全性の観点から議論される。細胞数として通知状に記載されているが、投与時に細胞懸濁液として投与する場合、その濃度についての評価が必須である。なんとなれば、細胞濃度が濃すぎると血栓症の危険性が上昇すると想定され、安全性と有効性を支える品質の担保として重要な評価項目となるからである。

確認試験とは、目的とする細胞・組織の形態学的特徴、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あるいは表現型のうち、重要細胞特性指標を

選択して、目的とする細胞であることを確認することである。「目的とする」細胞・組織であると強調されている通り、確認試験で不純物としての夾雑細胞については言及されていない。この点が、次項での純度試験との違いである。ただし、目的である細胞として単に間葉系幹細胞としての規格設定では十分とは言えない。なんとなれば、品質項目は、安全性と有効性を担保するために確認する項目であるからである。間葉系幹細胞であれば、紡錘状 (spindle shape) の付着細胞であり、免疫学的には CD44/CD90/CD105 等が陽性で、CD45 等が陰性として定義されよう。また、MHC class II の発現を認めないという品質指標も想定される。当該間葉系幹細胞が効能として肝線維化の抑制あるいは改善が期待されるのであれば、MMP のようなコラーゲン分解酵素の分泌も品質評価項目としてあげられる。確認試験には、細胞そのものを同定するための指標 (CD44 陽性等) と、が安全性の観点から期待される指標 (MHC class II 陰性等)、有効性を期待させる指標 (MMP 発現) が検討されるべきである。

細胞の純度試験では、目的細胞以外の未分化細胞、異常増殖細胞、形質転換細胞の有無や混入細胞の有無等の細胞の純度について、目的とする細胞・組織の由来、培養条件等の製造工程、中間製品の品質管理等を勘案し、試験項目、試験方法及び判定基準を示すこととなっている。特に多能性幹細胞由来細胞製剤にあつては、分化抵抗性多能性幹細胞の残存が議論されることとなり、その残存比率の評価法と規格値の設定が必須である。低分子化合物での純度試験と異なり、すべての目的以外の細胞を同定

することは困難であり、目的細胞以外の細胞による毒性の発揮などを非臨床安全性試験で検証したうえで、marginをかけたうえでの規格値設定とならざるを得ない。非臨床試験でのワーストケースを活用し、最も不純物比率が高い細胞製剤で、かつ投与用量に非線形性をもたせた過剰用量にて得られた毒性試験でも安全性が確認することが現実的である。

細胞由来の目的外生理活性物質に関する試験は、確認試験での目的生理活性物質評価と相対するものである。もし、細胞由来の各種目的外生理活性物質のうち、製品中での存在量如何で患者に安全性上の重大な影響を及ぼす可能性が明らかに想定される場合には、適切な許容量限度試験を設定することとなっている。「明らかに想定される」という通知上の記載に行間を読んでもらいたい。細胞特性によってはこれら試験が求められることとなるが、非臨床試験で毒性が発揮されなければ検討する必要はないのではないかと考えている。

製造工程由来不純物試験については、通知に記載の通り、原材料に存在するか又は製造過程で非細胞成分、培地成分、資材、試薬等に由来し、製品中に混入物、残留物、又は新たな生成物、分解物等として存在する可能性があるもので、かつ、品質及び安全性の面からみて望ましくない物質等については、当該物質の除去に関するプロセス評価や当該物質に対する工程内管理試験の結果を考慮してその存在を否定するか、又は適切な試験を設定して存在許容量を規定することとなっている。また、試験対象物質の選定及び規格値の設定に当たっては、設定の妥当性について明らかにすることが

求められている。「品質及び安全性の面からみて望ましくない物質等」については評価されることとなっている。この記載の通り、品質及び安全性の面からみて望ましくないと考えられない物質等については、出荷時の品質規格として設定する必要はない。医薬品等を細胞製造工程で使用し、その残存が想定される場合であっても、使用した資材のすべてが最終製品に残存していると過程しても（全く洗浄除去されていないと仮定しても）、1回臨床投与量よりも少ない場合には、議論したうえで品質規格として設定しないという考えもあろう。たとえば、製造工程でROCK阻害剤を使用したと仮定、それが医薬品である場合などである。

無菌試験・マイコプラズマ否定試験およびエンドトキシン試験にあつては、局法に基づいて行うのが望ましい。ただし、局法と同等であると確認された試験法であれば、局法でなくとも品質管理に用いることが可能である。局法でなければならぬのではなく、局法であれば試験方法についての議論が不要で、審査期間の短縮が期待されるということである。

効能試験・力価試験・力学的適合性試験については、細胞製剤の特性を考慮したうえでいずれかを選択すればよいとされている。たとえば、胚性幹細胞から肝細胞を再生して投与し、低アルブミン血症の改善を期待する場合、アルブミンを産生分泌する程度を品質管理項目とすればよい。細胞・組織から分泌される特定の生理活性物質の分泌が当該ヒト体性幹細胞加工医薬品等の効能又は効果の本質である場合（例えばインスリン分泌細胞等）には、その目的としている必要な効果を発揮することを示すた

めに、当該生理活性物質に関する検査項目及び規格を設定することが力価試験として品質管理項目となろう。再生軟骨細胞組織のように力学的強度をその製品特性として期待される場合には、適用部位を考慮した力学的適合性及び耐久性を確認するための規格を設定することとなる。加重部位への投与が期待される製品にあっては、より厳格な品質管理が求められる。

2.3 品質の作り込みとしての GMP

GMP とは、Good Manufacturing Practice であり製造管理および品質管理に関する基準である。GMP では、従業員、原材料、設備、製造、製品、試験、文書、廃棄物等の責務、取り扱い、実施方法等を定めている。

GMP の 3 原則は、

1. 間違い防止・・・人為的な誤りを最小限にする
2. 汚染防止・・・汚染・品質低下を防止する
3. 品質保証システム・・・高い品質を保証するシステムを設計する

であり、実行して記録に残すことが辞意要である。

GMP ではハードウェアとソフトウェアの両立が必要で、ハードとしての施設・設備・機器と、ソフトとしての文書・製造・試験方法・清掃・組織・教育訓練を両輪として初めて成り立つ品質保証システムであると言える。

ついで、GMP ではルールを決めることが肝心である。膨大な文書量であるため、Great Mountains of Paper と揶揄される所以である。ルールを決めることとは、それを基準書、標準書、手順書などといった文書体系に落とし込む作業であり、ルールを決め（文書

化）、ルール通りに実行し（記録化）、チェックし（評価・検討）、改善する（ルール見直し）というサイクルで品質として作りこんでいく作業に他ならない。

ここで、サイクルを回して品質を作りこむと述べた。これは、品質がいわば螺旋状に向上していくことを意味し、換言すれば GMP 管理の程度には強弱があつて良いということを示す。製造の GMP は開発段階や工程の重要度に応じて使い分けることとすれば、第 I 相試験では「SOP があり、記録を保存する」で十分だが、第 II 相試験では「SOP があり、工程、作業、設備が評価され、記録を確認し、保存する」ことが求められる。第 III 相になれば、製造販売承認後と同等性が求められるため、「SOP があり、工程、作業のバリデーションが実施・記録され、品質保証部門がその記録を承認し、保存する」こととなろう。いずれにせよ、GMP 管理には手順書を作り、記録を残すのが基本である。SOP (Standard Operation Procedure : 標準作業手順書) は、あらゆる作業に策定が求められる文書である。通常発生しない作業（規格外になったものの処理等）にも必要で、実行しない作業（再測定は不可等）には実行しないことを明記されなければならない。作業を勝手に変えないことは、品質管理上必須であり、SOP を改善したいあるいは変更したい際には変更管理を行う必要がある。SOP 通りに作業できないとき（逸脱）は逸脱管理が求められ、改善・変更は手順を踏んでおこなうこととなり、変更管理・逸脱管理にも手順を決めなければならない。SOP に求められる要素は、それがどのような作業であれ、わかりやすく、必要なことはすべて書かれている

こと。作業ごとにかつすべての作業に存在し、すぐ見ることができ、そして最新であることである。これらを念頭に、SOP 文書体系の構築をされたい。

2.4 再生医療製品における GMP

品質管理の手段として、承認申請で審査される品質と、GMP にて評価される品質がある。後者については、平成 24 年のいわゆる 5 指針の第 2 章「製造方法」の第 1 および第 2 に記載があると考えると理解しやすい。原材料及び製造関連物質については、原材料となるヒト細胞・組織と、目的とする細胞・組織以外の原材料及び製造関連物質とに分けられる。前者が受け入れから出荷まで一貫して存在するものであって、後者がそこに振りかけられ洗浄されるというイメージが理解しやすい。GMP 上は、原材料等の受け入れ管理に該当するものである。

原材料となるヒト細胞・組織については、起源及び由来、選択理由、原材料となる細胞・組織の特性と適格性に関しては、出発原材料となる細胞について、文献的な考察を交えつつ、申請者らの研究成果を踏まえ議論すればよい。次いで、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、適切な指標から適宜選択して示し、当該細胞・組織を原材料として選択した理由を説明することと通知にはある。起源及び由来、選択理由、原材料となる細胞・組織の特性と適格性については、出発細胞・組織そのものに重点がおかれた記載となるべきであり、原材料として用いられる細胞・組織について、当該細胞・組織を原材料として選択した理由を説明することとは、例えば分化誘導における

優位性など ex vivo での細胞特性や、細胞製剤投与後の活性などに重点が置かれている

自己由来細胞製剤でない場合には、ドナーに関する記録については、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、整備、保管されていることが求められている。感染症の伝播のリスクの低減が求められるので、いわゆる GTP 通知である平成 12 年医薬発第 1314 号別添 1 を参照とすべきであり、加えて、通知には記載はないが平成 15 年厚生労働省告示第 210 号（生物由来原料基準）への適合性についても念頭に入れる必要がある。

細胞・組織の採取・保存・運搬について、採取者及び採取医療機関等の適格性については、ドナーの安全性・倫理性の確保に加え、採取された細胞組織への contamination の否定が念頭に入れられた規定である。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は、明らかにすることとは、採取者が医師であり、望ましくは該当領域の専門医など十分な修練を積んでいる事、採取機関が医療機関に限定されており contamination の危険性を低減できる施設を有することを示す必要がある。

目的とする細胞・組織以外の原材料及び製造関連物質とは、培地であったりサイトカインであったり、場合によってはフィーダー細胞もこれに該当する。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と記載されている。受け入れ規格の設定と受け入れ試験が

製造の場では行われることとなる。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、「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となっている。同告示は薬事法42条に基づく告示であるため、生物製剤基準とともに薬事法42条基準ともいわれ、これに合致しない資材を用いている場合には、製造販売承認を取得できない。治験に入る前に、十分に検討すべきである。

製造工程の項には、受け入れ検査、細菌、真菌及びウイルス等の不活化・除去、組織の細切、細胞の分離、特定細胞の単離等、最終製品の構成要素となる細胞の作成、細胞株の樹立と使用、細胞のバンク化、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の各章項目がある。これらは、GMPとして管理される品質に深く関係し、すべてSOPに記載され管理されるべき項目である。各小項目については通知の記載を涉猟されたい。

D. 考察

承認申請書の記載事項はすなわち承認事項となるため、申請書の製造方法欄に操作条件などの具体的な管理値やパラメーターを記載してしまうと逸脱が薬事法違反になってしまうため、承認申請書と製品標準書(GMP)の違いには、配慮が必要である。承認までの品質確保の要素を示した(図3)。申請書には製造工程の一連の操作手順のうち品質の恒常性確保の為に必要な事項を選択して記述すべきで、申請書には「目標値/設定値」を記載し、実際の管理範囲は製品

標準書に記載し GMP で管理することを考慮すべきであろう。

E. 結論

有効性と安全性は臨床試験でしか評価ができないが(安全性の一部は非臨床試験で評価する)、品質は臨床試験前に評価が可能であるからこそ、品質の確保は重要である。試験物、あるいは製品の品質管理を行わなくてはならないのは、研究開発段階での品質の役割としてお被験者保護(患者保護)の観点(倫理的妥当性)からの品質確保のためであり、承認申請・製造販売に向けた品質の知識・データの取得の観点から、臨床試験の質を高め、結果を正当に評価するためでもある。再生医療製品にあっても、品質についての考え方が変わるわけではない。細胞製剤の特性を考慮しつつ、安定した品質の再生医療製品が提供されるべきであろう。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Okura H, Saga A, Soeda M, Miyagawa S, Sawa Y, Daimon T, Ichinose A, Matsuyama A. Intracoronary artery transplantation of cardiomyoblast-like cells from human adipose tissue-derived multi-lineage progenitor cells improve left ventricular dysfunction and survival in a swine model of chronic myocardial

- infarction. *Biochem Biophys Res Commun.* 2012;425(4):859-65.
2. Moriyama M, Moriyama H, Ueda A, Nishibata Y, Okura H, Ichinose A, Matsuyama A, Hayakawa T. Human adipose tissue-derived multilineage progenitor cells exposed to oxidative stress induce neurite outgrowth in PC12 cells through p38 MAPK signaling. *BMC Cell Biol.* 2012;13:21
 3. Okura H, Saga A, Soeda M, Ichinose A, Matsuyama A. Adipose Tissue-Derived Multi-lineage Progenitor Cells as a Promising Tool for In Situ Stem Cell Therapy. *Current Tissue Engineering,* 2012;1(1):43.
 4. 松山晃文：「再生細胞治療とレギュラトリーサイエンス」臨床血液 2012;53(10). 1801-1807.
 5. 大倉華雪 松山晃文：「再生医療とレギュラトリーサイエンス」*Medical Science Digest.* 2012; 39(11). 486-489.
 6. 松山晃文：「ものづくり特許戦略」：ものづくり技術からみる再生医療－細胞研究・創薬・治療－，田端泰彦監修. pp264-268
 7. 松山晃文：「トランスレーショナルリサーチと生命倫理」生命倫理のフロンティア：
シリーズ生命倫理学 第IV期 第20巻 栗屋剛・金森修編 丸善書店，東京，2012年11月刊行
 8. 松山晃文：「再生医療における臨床試験のあり方」最新医学 67(11), 2660-2664, 2012.
 9. 大倉華雪 松山晃文：「再生医療とレギュラトリーサイエンス」整形・災害外科 *in press.*
2. 学会発表
 - 該当なし
 - H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)
 1. 特許取得
該当なし
 2. 実用新案登録
該当なし
 3. その他
該当なし