

201308014A

厚生労働科学研究費補助金

医療機器開発推進研究事業

気管・喉頭再生治療法の実用化推進研究

平成25年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 大森 孝一

平成26（2014）年 3月

厚生労働科学研究費補助金

医療機器開発推進研究事業

気管・喉頭再生治療法の実用化推進研究

平成25年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 大森 孝一

平成26（2014）年 3月

班 員 名 簿

区 分	氏 名	所 属	職 名
研究代表者	大 森 孝 一	福島県立医科大学医学部耳鼻咽喉科	教 授
研究分担者	中 村 達 雄	京都大学再生医科学研究所臓器再建応用分野	准 教 授
	川 上 浩 司	京都大学大学院医学研究科薬剤疫学	教 授
研究協力者	多 田 靖 宏	福島県立医科大学医学部耳鼻咽喉科	講 師
	野 本 幸 男	福島県立医科大学医学部耳鼻咽喉科	講 師
	鈴 木 亮	福島県立医科大学医学部耳鼻咽喉科	助 手
	仲江川 雄太	福島県立医科大学医学部耳鼻咽喉科	助 手
	浜 田 将 太	京都大学大学院医学研究科薬剤疫学	助 教

目 次

I.総括研究報告

気管・喉頭再生治療法の実用化推進研究

大森 孝一…… 1

II.分担研究報告

1. 人工気管の非臨床試験に向けた医療機器製造クリーンルーム構築に関する研究

中村 達雄…… 9

2. 人工気管の生物学的安全性試験に関する研究

大森 孝一…… 33

3. 医療機器開発薬事戦略に関する研究

川上 浩司…… 52

III.研究成果の刊行に関する一覧表

IV.研究成果の刊行物・別刷

気管・喉頭再生治療法の実用化推進研究

研究代表者 大森 孝一（福島県立医科大学医学部）

研究要旨

われわれはポリプロピレンメッシュとブタコラーゲンスポンジからなる材料を用いた気管・喉頭の再生治療法を開発し動物実験で最長5年間の観察で安全性、有効性を検証し、施設内倫理委員会の承認のもと成人10例の気管・喉頭再建に使用し良好な成績を上げている。われわれは既に人工気管の製造技術を有しており、本研究ではこれを実用化することを目標にしている。平成24年度はGMP/QMS準拠にて製造するプロトコルを作成し、常に画一された医療機器が生産できるように製造作業標準・製造記録を準備し、医療機器製造クリーンルームと製造ラインの構築を行った。平成25年度はクリーンルームのサニテーション、バリデーションを行い清浄度を担保した。組織体制の構築及び施設運営（QMS）における文書化を行った。医療機器の安全性を確認するために必要な生物学的安全性試験が医療機器ガイドラインにより定められているが、人工気管の性質を考慮し、必要な試験を検討し、実施の内容、方法について医薬品医療機器総合機構（PMDA）との事前面談を行って開始した。医療機器の開発についての薬事制度の調査に引き続き、国内の臨床研究の実施環境について調査検討した。人工気管の適応となる患者を考慮し、臨床試験計画の骨子案を作成した。

A. 研究目的

気管や喉頭は呼吸、発声、嚥下という生命維持に重要な機能を担っている。甲状腺癌進行例などの悪性腫瘍や狭窄症などの炎症性疾患で気管や喉頭を切除されると重大な機能障害を来し、生活の質（Quality of Life: QOL）が著しく低下する。

わが国の甲状腺癌の年間推定罹患数は約8,000例で死亡数は約1,500例である。福島県では原子力発電所の過酷事故により放射性ヨウ素などが飛散した。チェルノブイリ周辺では百万人に一人という稀な小児甲状腺癌が激増し、25年間で6,000例近く発症し手術を受けた（山下俊一：日本原子力学会誌2011）。福島県では甲状腺癌の増加が懸念されており、進行例の治療法を準備しておく必要がある。

従来、気管・喉頭の再建には、①骨、軟骨、皮膚、粘膜などの移植、②気管端々吻合術、③人工材料、などの方法があったが、複雑な手術術式、成績が不安定、低い成功率などの問題があり、最も難しい外科治療の一つである。

本研究の目的は、気管・喉頭病変に対して、QOLの低下を来さない質の高い治療法を確立し、実用化につなげることにある。これにより日本発の医療を世界に提供できる。

われわれは既に、ポリプロピレンメッシュとブタコラーゲンスポンジを用いた気管・喉頭の再生治療法を開発した（Nakamura: Int J Artif Organs 2000, Omori: Ann Otol Rhinol Laryngol 2004）。動物実験で最長5年間の観察で安全性、有効性を検証し、施設内倫理委員会の承認のもと成人10例の気管・喉頭再建に使用した。最長6年の経過観察で気管内腔は上皮化し良好な結果を得ている。本研究ではこの治療法の実用化を推進する。

われわれの治療法は細胞を使わずに足場のみで自己組織の再生を誘導する特色があり、気道の枠組みと内腔粘膜を同時に再生させる点が独創的である。この技術を基盤にして、課題を解決して臨床研究や治験に橋渡しし、その後に実用化まで進めていくことが目標である。なおPMDAの薬事戦略相談を受けている。

本研究では人工気管をGMP/QMSに準じて製造するシステムを構築する。施設内にクリーンルームを設置し、その中で上記の人工気管の製造工程を円滑に進めることができるように生産ラインを設置し、クリーンルームは空気清浄度を保ち、製造管理および品質管理を実施し、それらに必要なGMP/QMS文書などの書類、体制を準備する。医療機器の販売においてその医療機器としての用途を考慮して必要な非臨床試験について検討し、PMDAとの事前面談を実施することで、試験を円滑にすすめるための方法を確認する。その確認事

項をもとに生物学的安全性試験のロードマップを作成し一部試験については実施を開始する。

医療機器開発についての薬事制度、臨床研究の実施にかかる最近の動向について調査継続し、国内の臨床研究の実施環境についても併せて調査検討する。また、製造販売を委託できる医療機器メーカーとの面談を継続して行う。

B. 研究方法

平成24年度は人工気管作製のスペースを大学施設内に確保してGMP準拠のクリーンルームを設計し、設置したが、平成25年度はクリーンルームのサンテーション、バリデーションを行い清浄度を担保する。組織体制の構築及び施設運営（QMS）における文書化を行う。

生物学的安全性試験については平成24年3月1日に通知された「医療機器の製造販売承認申請等について必要な生物学的安全性評価の基本的考え方について」（薬食機発0301第20号）（以下、医療機器ガイドライン）に準じて医療機器の安全性を確認するために必要な試験が選択される。人工気管の生体への接触部位及び接触期間を考慮し、平成24年度は一般的な非臨床試験の内容を確認し選択を行った。平成25年度はPMDAとの事前面談を実施し試験の進め方について検討を行い、生物学的安全性試験のロードマップを作成し、一部試験について開始する。

医療機器の開発についての薬事制度の調査に引き続き国内の臨床研究の実施環境についても調査検討を行う。

非臨床試験の後に臨床試験が想定される。医薬品・医療機器の製造販売のためには臨床試験は必ずクリアしなければならない。実施するに当たり必要な項目は多岐にわたり、それに応じた書類も多数必要になる。必要な書類の代表としては、治験概要、説明書、同意書などが挙げられる。また、今後、治験計画の確定に向けてPMDAでの対面助言（治験相談）を受けることとなり、その対応を視野に入れた準備を進めていくことが必要である。本年度は臨床試験の計画骨子案を作成する。

（倫理面への配慮）
該当なし。

C. 研究結果

医療機器製造クリーンルーム

平成24年度は人工気管の製造工程内容を確認し、画一

した人工気管が製造される上で、各工程に必要なチェックポイントを設け、人工気管の製造作業標準・製造記録を作成し、実際に製造を行うための医療機器専用クリーンルームの設置を行った。

平成25年度はサンテーションを実施し、完了後、清浄度に関するバリデーションを行ない、フィルターリークの確認、清浄度の確認、空圧の確認、換気回数の確認、制御盤の確認、パスボックスの確認を行ない、総合判定で全て合格となった。

同室で人工気管作製に用いる装置として下記のものを調達して生産ラインを構築した。クリーンベンチ、超低温フリーザー、凍結乾燥機、自動公転ミキサー、角型真空乾燥機、ホモジナイザー、強力スターラーなどである。

生物学的安全性試験

医療機器の安全性を確認するために必要な試験の種類については、平成24年3月1日に通知された医療機器ガイドラインに準じて試験の選択を行う必要がある。医療機器ガイドラインでは、医療機器の市販前の安全性評価の一環として、生物学的有害作用（毒性ハザード）のリスク評価を行うための生物学的安全評価に関する基本的考え方を示したものであり、評価すべき試験の選択については医療機器ガイドライン中に示されている。医療機器ガイドライン中では医療機器の接触部位及び接触期間による分類に応じて試験が選択され、評価を行う必要がある。本研究事業で製造する人工気管は、分類として体内植込み機器・組織／骨に、接触期間としては長期的接触（30日を越える）に該当し、この分類では生物学的安全性評価項目として細胞毒性、感作性、刺激性／皮内反応、急性全身毒性、亜急性全身毒性、遺伝毒性、埋植についての評価が必要とされる。

以下にそれぞれの試験について概略を述べる。

◇細胞毒性試験

医療機器又は原材料の細胞毒性をほ乳類培養細胞を用いて評価するための試験。試験材料（最終製品又は原材料）の試験液（抽出液）又は試験材料そのものと細胞を接触させて培養することにより、試験材料から溶出する物質の細胞毒性を確認するための試験。

◇感作性試験

医療機器又は原材料が遅延型アレルギー反応の一つである感作性を引き起こす可能性を評価するための試験。

◇刺激性／皮内反応試験

試験材料（医療機器又は原材料）の抽出液による組織傷害性、刺激性を評価するもの。試験材料から抽出した抽出液を皮内投与し、組織傷害性や炎症誘発性の有無を確認するための試験。

◇急性、亜急性、亜慢性、慢性全身毒性試験

医療機器又は原材料の全身毒性を評価するための試験である。

急性毒性とは試験検体の単回、又は継続的暴露後24時間以内に生じる毒性を言う。

亜急性毒性とは試験検体の反復又は継続的暴露後24時間以降、28日間までの時期に生じる毒性作用を言う。

亜慢性毒性とは寿命の一部の期間、試験検体を反復又は継続的に暴露することにより生じる毒性作用を言う。

慢性毒性とは寿命の過半の期間（通常10%を超える期間）にわたり、試験検体を反復又は継続的に暴露することより生じる毒性作用を言う。

急性毒性試験は試験試料（最終製品又は原材料）から抽出した抽出液中に、急性全身毒性を有する物質が存在しないことを確認するための試験である。反復投与による全身毒性試験（亜急性、亜慢性、慢性全身毒性試験）は試験試料（最終製品又は原材料）から抽出した抽出液中に、亜急性（亜慢性）全身毒性を有する物質が存在しないことを確認するための試験である。

◇遺伝毒性試験

医療機器又は原材料の遺伝毒性評価を目的としている。1個の細胞に生じたDNA傷害から派生して、細胞や個体レベルで遺伝子突然変異や染色体異常を誘発する遺伝毒性物質の検出を目的とする試験。復帰突然変異試験、染色体異常試験が含まれる。

◇埋植試験

体内植込み機器又は原材料の局所への影響を動物試験により評価するものである。埋植材料の材質、表面性状、又は分解過程などによって、周囲組織に引き起こされる組織反応の種類と程度を評価する試験である。

人工気管の性質を考慮し、上記7種の試験が必要と考えた。その中で急性、亜急性、亜慢性、慢性全身毒性試験については、人工気管は移植術後、終生使用される医療機器であることを考慮すると、亜急性よりも亜慢性毒性試験が選択される。

昨年度は種々の検査で使用する抽出液の抽出条件を検討するために抽出条件予備検討試験を施行し、生物学的安全性試験に必要な人工気管の量が算出され、およそ110本必要になった。1本作製に数週程度要するため、本研究期間内に安全性試験に必要な数を準備する

ことは困難であることが予想された。材料の総重量、構成比を合致させることで、生物学的安全性試験を実施できるのではないかと考え、PMDAと事前面談で確認を行った。生物学的安全性試験を行う上で、各原材料の比率が同じであれば、最終製品と異なる形状（例えばシート状）で、試験を行うことも可能であり、最終製品と同じ清浄度で作製し、最終製品と同じ製造方法を模倣することが必要であることを確認した。

上記事項を確認後、被験物質の形態や作製方法を協議し、医療機器製造クリーンルーム内で作製を行った。また、生物学的安全性試験のロードマップを作成し、順次試験を開始した。

医療機器開発薬事戦略

薬事法等で定義されている医療機器は、開腹手術に用いられるハサミ、メス等の鋼製小物、在宅用医療機器、心電計、脳波計などの生体情報の検査装置、X線、CT、MRI、超音波、内視鏡などの画像診断装置から、リニアックなどの放射線治療装置、ペースメーカーなどの体内埋込機器、補助人工心臓に至るまで、医薬品とは異なり多種多様な形態で存在する。また、これらは改良・改善を繰り返すことで性能が大きく向上してきた。

この多様性のため、既存の医療機器は、その機器の人体等に及ぼす危険度に応じて、クラス分類が行われている。不具合が生じた場合でも、人体へのリスクが極めて低いと考えられるクラスⅠから、人体への侵襲度が高く、不具合が生じた場合、生命の危険に直結するおそれがあるクラスⅣまであり、薬事法は、医療機器の品質、有効性及び安全性の確保のために、これらに対して種々の規制を設けている。

クラスⅠは製造販売の「届出」を行うことで商品として販売することができる。また、クラスⅡで適合性認証基準がある品目については、第三者の民間登録認証機関による「認証」となるが、クラスⅡの一部、クラスⅢ、クラスⅣは薬事法に基づく「承認」が必要となる。このため、製造販売の「承認」、「認証」、又は「届出」が行われていない医療機器は全て「未承認医療機器」となる。また、承認等が得られた医療機器であっても、承認範囲外の目的で使用される場合（オフラベルユース）や形状・仕様等を変更した場合は未承認医療機器となり、これらは薬事法の規制によりその製造販売が厳しく制限されている。人工気管は気道に直接作用する医療機器であることを考慮するとクラスⅣに分類されると考える。

本研究では平成25年度に医療機器の開発にかかる臨

床研究の環境について治験中核病院・拠点医療機関を対象に調査を行った。その結果いくつかの課題が明らかになった。臨床研究を実施する際の手順書、規定等の文書化に関連して、2つの課題が見出された。1点目は、臨床研究の実施に際しては、GCPに準拠する必要はないが、準拠して行う施設が認められた。準拠することで必要以上の高い水準を求めることになり、時間、資金、労力の無駄が引き起こされることが懸念された。2点目は、医療機器と医薬品とで同一の手順書等を用いている医療機関がほとんどであったことである。本調査の回答者は、医薬品又は医療機器で臨床研究の方法が異なることを認識しており、医薬品を用いた臨床研究で培われたノウハウが活かされることが課題として挙げている。

医療機器を用いた臨床研究における専門家の不足も重要な課題である。医療機器の開発においては、広範な領域横断的な知識が求められる。医療機器開発を担う人材を養成することも急務である。

また、医薬品・医療機器の製造販売のためには臨床試験は必ずクリアしなければならない。臨床試験を実施するに当たり必要な項目は多岐にわたり、それに応じた書類も多数必要になる。まず必要な書類としては、臨床試験概要、説明書、同意書などが挙げられる。書類作成から実際に治験を行う上で、医師主導治験であっても、実際に医師だけが他施設を管理し書類を作成することは困難である。また、今後、治験計画の確定に向けてPMDAでの対面助言（治験相談）を受けることとなる。その対応を視野に入れた準備を進めていくことが必要であり、本年度は臨床試験計画の骨子案を作成した。

D. 考 察

医療機器はその種類・性質毎に生体との接触部位や接触期間が異なる。医療機器ガイドラインに準じると医療機器の接触部位による分類では非接触機器、表面接触機器、体内と体外とを連結する機器、体内植込み機器に分類され、接触期間による分類では一時的接触、短・中期的接触、長期的接触に分類される。医療機器の性質に応じて分類し必要な試験が考慮される。分類のいずれも該当しない医療機器を評価する場合は、最も近いと思われる分類を選択する。人工気管は気管軟骨の代用として頸部皮下・気管前面に移植され、移植後は半永久的に組織との接触が必要になる。よって人工気管は分類として体内植込み機器・組織／骨に、接触期間としては長期的接触（30日を越える）に該当す

る。必要な試験が細胞毒性、感作性、刺激性／皮内反応、急性全身毒性、亜慢性全身毒性、遺伝毒性（復帰突然変異、染色体異常）、埋植試験である。PMDAと事前面談を行い、試験方法などを確認したのちに生物学的安全性試験のロードマップを作成し試験を開始した。

医療機器を製造販売するには臨床試験、非臨床試験等クリアしなければならない試験が多く存在する。それらをクリアするためにも画一された医療機器の生産は必要と考える。われわれが有するポリプロピレンメッシュとブタコラーゲンスポンジからなる人工材料について、設計と製造の面から検討を行い、常に画一された医療機器が生産できるよう人工気管の製造作業標準・製造記録を作成した。昨年度設置したクリーンルームについて、本年度にサンテーション、バリデーションを施行し清浄度を担保した。生物学的安全性試験で使用する試験検体の作製を行っている。

わが国の制度上、医療機器開発にあたっては臨床研究と治験の2つの臨床試験が制度上存在する。治験の場合には企業と大学との契約によって実施されるが、クラス分類の低い低侵襲の医療機器の改良や改善を行う場合には治験とはならず臨床研究を実施することになる。この場合においては、「未承認医療機器を用いた臨床研究実施の手引き」などを活用して臨床試験を実施することが望ましい。

人工気管はクラスⅣの医療機器と考えられ、治験に橋渡しできるようにGMP/QMS準拠の医療機器クリーンルームの設置、生物学的安全性試験を行い、治験計画を作成していく必要がある。

E. 結 論

GMP/QMS準拠で人工気管を作製するために、平成24年度は医療機器クリーンルームを設置し、平成25年度はサンテーション、バリデーションを行い清浄度を担保した。その中で生物学的安全性試験に使用する検体の作製を行った。

医療機器の安全性を確認するために必要な試験の種類については、「医療機器の製造販売承認申請等について必要な生物学的安全性評価の基本的考え方について」に準じて試験の選択を行う必要がある。人工気管の性質から、細胞毒性、感作性、刺激性／皮内反応、急性全身毒性、亜慢性全身毒性、遺伝毒性、埋植試験が必要と考えられた。PMDAとの事前面談にて試験内容、方法について確認を行い、生物学的安全性試験のロードマップを作成の上、試験を順次開始した。

人工気管の医用材料の医療機器開発を念頭に、医療

機器の開発についての薬事制度の調査に引き続き、国内の臨床研究の実施環境について調査検討した。新規の医療機器開発にあたっては、これらの制度や潮流をよく理解する必要があると考えられた。

全体の研究事業進行状況を改めて把握し、薬事承認や申請までのロードマップ（図1）を作成し、人工気管の実用化を実現するために必要な研究事業を実施している。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Hamada S, Yamauchi Y, Miyake O, Nakayama M, Yamamoto H, Kawakami K. Current environment for conducting clinical researches with medical devices in hospitals in Japan. *Journal of Clinical Trials*. 4(1): DOI 1000153 (in press), 2014.
- 2) Otsuki K, Imaizumi M, Nomoto Y, Nomoto M, Wada I, Miyake M, Omori K. Effective embryoid body formation from induced pluripotent stem cells for regeneration of respiratory epithelium. *Laryngoscope*. 124(1): E8-14, 2014.
- 3) Sato S, Miyake M, Hazama A, Omori K. Povidone-iodine-induced cell death in cultured human epithelial HeLa cells and rat oral mucosal tissue. *Drug and Chemical Toxicology*. (Epub ahead of print), 2013.
- 4) Tani A, Tada Y, Takezawa T, Wada I, Imaizumi M, Nomoto Y, Nomoto M, Omori K. Regenerative process of tracheal epithelium using a collagen vitrigel sponge scaffold. *Laryngoscope*. 123(6): 1469-1473, 2013.
- 5) Nomoto M, Nomoto Y, Tada Y, Tani A, Otsuki K, Suzuki R, Nakamura T, Omori K. Bioengineered trachea using autologous chondrocytes for regeneration of tracheal cartilage in a rabbit model. *Laryngoscope*. 123(9): 2195-2201, 2013.
- 6) Imaizumi M, Nomoto Y, Sugino T, Otsuki K, Omori K. Implantation site-dependent differences for tracheal regeneration with induced pluripotent stem cells (iPS cells). *Acta Oto-Laryngologica*. 133(4): 405-411, 2013.
- 7) Nakamura T, Kojima F, Sato T, Hamaji M, Kaneko M, Kanemaru S, Nakada A, Omori K, Shigeno K, Wakatsuki M, Endo K. Novel tracheal prosthesis using in situ Tissue Engineering. *Int J Artif Organs*. 36(8): 585, 2013.
- 8) Wakatsuki M, Kaneko M, Nakada A, Shigeno K, Nakamura T. Promotion of bone repairing by use of collagen scaffold incorporating recombinant human FGF-2 in rabbit skull defect model. *Int J Artif Organs*. 36(8): 551, 2013.
- 9) Machiguchi T, Nakamura T. Cellular interactions via conditioned media induce *in vivo* nephron generation from tubular epithelial cells or mesenchymal stem cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 435: 327-333, 2013.
- 10) Nakada A, Shigeno K, Sato T, Kobayashi T, Wakatsuki M, Uji M, Nakamura T. Manufacture of a weakly denatured collagen fiber scaffold with excellent biocompatibility and space maintenance ability. *Biomedical Materials*. 8: DOI 045010 (in press), 2013.
- 11) Uji M, Nakada A, Nakamura T. Intravenous administration of adipose-derived stromal cells does not ameliorate bleomycin-induced lung injury in rats. *Open Journal of Regenerative Medicine*. 2(2): 39-45, 2013.
- 12) Kojima F, Sato T, Takahata H, Okada M, Sugiura T, Oshiro O, Date H, Nakamura T. A novel surgical marking system for small peripheral lung nodules based on radio frequency identification technology: Feasibility study in a canine model. *J Thorac Cardiovasc Surg*. (in press), 2013.
- 13) Ohara K, Kohno M, Horibe T, Kawakami K. Local drug delivery to a human pancreatic tumor via a newly designed multiple injectable needle. *Molecular and clinical Oncology*. 1: 231-234, 2013.
- 14) Yamauchi Y, Kawashima Y, Urushihara H, Kita F, Kobayashi Y, Hinotsu S, Nakagawa M, Kawakami K. Survey to physician toward their understanding of regulatory environment of clinical trials in Japan. *General Medicine*. (in press), 2013.
- 15) Takabayashi N, Urushihara H, Kawakami K. Biased safety reporting in blinded randomized clinical trials: meta-analysis of angiotensin receptor blocker trials. *PLoS ONE*. (in press), 2013.
- 16) 大森孝一, 多田靖宏, 野本幸男, 谷 亜希子, 仲江川雄太, 金丸眞一, 中村達雄. 生体内組織再生誘導型の人工気管. *Surgery Frontier*. 21(1): 31-35,

2014.

- 17) 今泉光雅, 大森孝一. iPS細胞を用いた喉頭・気管の再生医学研究. 喉頭. 25(2):30-35, 2013.
 - 18) 野本美香, 多田靖宏, 大森孝一. 喉頭外傷における気道確保の方針と実際. JOHNS 29(10):1766-1770, 2013.
 - 19) 大森孝一. 喉頭手術. JOHNS 29(7):1171-1174, 2013.
 - 20) 大森孝一. V. のど〈呼吸困難・喘鳴〉急性喉頭蓋炎はどう対処するか?耳鼻咽喉科診療 私のミニマム・エッセンシャル. 本庄 巖, 市川銀一郎編集. 全日本病院出版会. 東京. pp204-206, 2013.
 - 21) 大森孝一. V. のど〈呼吸困難・喘鳴〉外来で可能な気道確保の方法は?耳鼻咽喉科診療 私のミニマム・エッセンシャル. 本庄 巖, 市川銀一郎編集. 全日本病院出版会. 東京. pp207-209, 2013.
 - 22) 中村達雄, 萩原明於, 稲田有史, 金丸眞一. 末梢神経の再生医療. 岡野栄之, 出澤真理 編集. 朝倉書店. 東京. 再生医療叢書7 神経系. pp138-153, 2013.
 - 23) 川上浩司. アメリカにおける薬事規制の動向. 再生医療における臨床研究と製品開発. 技術情報協会. 東京. pp311-314, 2013.
 - 24) 川上浩司. 薬事から見た再生医療周辺技術とバイオマテリアル. 幹細胞医療の実用化技術と産業展望. 江上美芽, 水谷 学 編集. シーエムシー出版. 東京. pp11-15, 2013.
 - 25) 川上浩司. わが国の臨床研究の現状と未来. 医学のあゆみ. 244(13):1093-1097, 2013.
 - 26) 川上浩司. 医療イノベーションにおける創薬の出口戦略. 医薬ジャーナル増刊号「新薬展望2013」49(s-1):25-29, 2013.
2. 学会発表
- 1) 今泉光雅, 大森孝一. *in vitro*におけるヒトiPS細胞を用いた声帯上皮の組織再生. 第26回日本喉頭科学会; 2014 03 06-07; 那覇. 予稿集. 90.
 - 2) 多田靖宏, 仲江川雄太, 谷 亜希子, 野本美香, 今泉光雅, 大森孝一. コラーゲンビトリゲルを用いた喉頭気管の再生. 第26回日本喉頭科学会; 2014 03 06-07; 那覇. 予稿集. 92.
 - 3) 谷 亜希子, 多田靖宏, 松塚 崇, 柳川明弘, 鈴木 亮, 今泉光雅, 大森孝一. 救急外来を受診した喉頭・気管疾患. 第26回日本喉頭科学会; 2014 03 06-07; 那覇. 予稿集. 155.
 - 4) 大槻好史, 今泉光雅, 野本幸男, 野本美香, 大森孝一. iPS細胞を用いた気管上皮組織再生の可能性. 第13回日本再生医療学会; 2014 03 04-06; 京都. 再生医療. 13(Suppl):260.
 - 5) 野本幸男, 野本美香, 岡野 渉, 仲江川雄太, 鈴木 亮, 大槻好史, 谷 亜希子, 今泉光雅, 大森孝一. 組織再生誘導型人工材料に培養細胞を付加した新規気道再建材料の開発. 第13回日本再生医療学会; 2014 03 04-06; 京都. 再生医療. 13(Suppl):325.
 - 6) Omori K. 〈Keynote Lecture〉 Regenerative medicine of the larynx and trachea. 20th IFOS World Congress ; 2013 06 01-05; Seoul(Korea).
 - 7) Otsuki K, Imaizumi M, Nomoto Y, Wada I, Miyake M, Omori K. Effective embryoid body formation from induced pluripotent stem (iPS) cells for regeneration of respiratory epithelium. 134th American Laryngological Association; 2013 04 10-11; Orlando(USA). Abstracts. 54.
 - 8) 大槻好史, 今泉光雅, 野本幸男, 野本美香, 谷 亜希子, 多田靖宏, 大森孝一. iPS細胞を用いた気管上皮組織再生. 第65回日本気管食道科学会; 2013 10 31-11 01; 東京. 予稿集. 76.
 - 9) 野本美香, 野本幸男, 大森孝一. 〈Research Forum III〉自家軟骨細胞付加工気管を用いた気管再生. 第61回日本耳鼻咽喉科学会東北地方部会連合学術講演会; 2013 07 20-21; 弘前. 抄録集. 20.
 - 10) 野本幸男, 野本美香, 岡野 渉, 今泉光雅, 谷 亜希子, 大槻好史, 鈴木 亮, 仲江川雄太, 大森孝一. 培養細胞を付加した人工材料による気道再生. 第34回日本炎症・再生医学会; 2013 07 02-03; 京都. 予稿集. 165.

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む)

該当なし

図1 薬事承認や申請までのロードマップ

研究項目	H24年度	H25年度	H26年度	H27年度
I. 人工気管製造				
• 設計と製造方法・工程固定	←→			
• 作業日報作成	←→			
• クリーンルーム設置	←→			
• サニテーション・バリデーション		←→		
• GMP/QMS文書の作成	←→			
II. 非臨床試験				
• 抽出条件予備検討試験	←→			
• 生物学的安全性試験 GLP/非GLP試験		←→		
III. 臨床試験計画				
• 制度調査・計画書作成	←→			
• 製造販売企業と面談・交渉	←→			
IV. 治験開始				←→
V. データ解析・承認申請				→

平成25年度厚生労働科学研究費補助金
医療機器開発推進研究事業
気管・喉頭再生治療法の実用化推進研究に関連する会合

独立行政法人 医薬品医療機器総合機構（PMDA）事前面談

場 所：東京都千代田区霞が関3-3-2 新霞が関ビル6階、第5会議室

日 時：平成25年11月6日 14:00～15:00

参加者：橋本 裕介（PMDA、医療機器審査第一部 審査専門員、工学博士）

金澤由基子（PMDA、医療機器審査第一部 主任専門員、審査相談担当）

小池 和央（PMDA、再生医療製品等審査部、医療機器審査第一部(併任)審査専門員、薬学博士）

白土 治己（PMDA、医療機器審査第一部 審査役代理、理学博士）

大森 孝一、仲江川雄太（福島県立医科大学耳鼻咽喉科）

中村 達雄（京都大学再生医科学研究所）

高橋 義博、山下 祐介（新日本科学）

内 容：2. 人工気管の生物学的安全性試験に関する研究の資料1 参照

実地調査 事前準備会議

第1回GMP/QMS文書作成会議

場 所：京都大学再生医科学研究所東館、1階、小会議室（京都市）

日 時：平成25年12月2日 10:00～

参加者：福島県立医科大学：大森 孝一、仲江川雄太

京都大学再生医科学研究所：中村 達雄、石田 久恵

京都大学薬剤疫学：川上 浩司

パナソニック/バイオメディカ・ソリューション：中尾 敦平

内 容：GMP/QMSに関連した文書、体制について

実地調査

場 所：京都大学再生医科学研究所東館、4階、大会議室（京都市）

日 時：平成25年12月16日 13:00～15:30

参加者：福島県立医科大学：大森 孝一、多田 靖宏、仲江川雄太

京都大学再生医科学研究所：中村 達雄

京都大学薬剤疫学：川上 浩司

独立行政法人医薬基盤研究所：花井荘太郎、光島 健二、木下奈津美

次 第：プログラムオフィサーに対する平成24年度・平成25年度の本事業についての進行状況の説明
医療機器クリーンルーム施設見学

第1回班会議

場 所：京都大学再生医科学研究所東館、4階、大会議室（京都市）

日 時：平成25年12月16日 15:30～16:30

参加者：福島県立医科大学：大森 孝一、多田 靖宏、仲江川雄太

京都大学再生医科学研究所：中村 達雄

京都大学薬剤疫学：川上 浩司

内 容：実地調査を受け本年度中にすすめるべき課題についての確認
来年度実施予定の生物学的安全性試験等についての確認

人工気管の非臨床試験に向けた 医療機器製造クリーンルーム構築に関する研究

研究分担者 中村 達雄（京都大学再生医科学研究所）

研究要旨

京都大学再生医科学研究では既にポリプロピレンメッシュとブタコラーゲンスポンジからなる材料を用いた気管・喉頭の再生治療法を開発し動物実験で最長5年間の観察で安全性、有効性を検証し、施設内倫理委員会の承認のもと成人10例の気管・喉頭再建に使用し良好な成績を上げている。本研究では平成24年度にこの技術を基盤にして、人工気管の非臨床試験に向けたクリーンルームと製造ラインを構築した。平成25年度はサニテーション、バリデーションを実施し、組織体制の構築及び施設運営（QMS）における文書化を行った。

A. 研究目的

われわれは既にポリプロピレンメッシュとブタコラーゲンスポンジからなる材料を用いた気管・喉頭の再生治療法を開発した。動物実験で最長5年間の観察で安全性、有効性を検証し、施設内倫理委員会の承認のもと成人10例の気管・喉頭再建に使用した。最長6年の経過観察で良好な結果を得ている。本研究ではこの治療法の実用化を推進する。なおPMDAの薬事戦略相談を受けている。われわれの治療法は細胞を使わずに足場のみで自己組織の再生を誘導する特色があり、気道の枠組みと内腔粘膜を同時に再生させる点で独創的である。この技術を基盤にして、課題を解決して臨床研究や治験に橋渡しし、その後に実用化まで進めていく。

施設内にクリーンルームを設置し、その中で上記の材料の製造工程を円滑に進めることができるように生産ラインを構築する。更にこれらの人工材料をGMP/QMSに準じて製造する方法を確立する。クリーンルームは空気清浄度を保ち、製造管理および品質管理を実施する。

B. 研究方法

人工気管作成のスペースを大学施設内に確保してGMP規格に合致したクリーンルームを設計した。人工気管作成に要するクリーンルームの仕様は医療器具製造にかかわるGMPの3原則に準じることとした。すなわち①人為的ミスの防止、②汚染防止、③高い品質保証システムである。具体的には

① 動線管理（モノ動線、ヒト動線分離）

② ゾーニング管理、ガウニングテクニック、サニテーション環境評価

③ 組織体制の確立、GMP文書の確立
ということが案件としてあげられる。

GMP省令で求めている構造設備としては清掃・保守が（手順書に基づいて）適切に行われている衛生的な設備であること。

有毒ガスを扱う施設では、その処理に必要な設備を有すること。

作業室は、製品の種類や剤形、製造工程に応じて埃や微生物の汚染を防ぐ施設であること。

行う作業の内容によって部屋を区別すること。（秤量作業、調製作業、充填作業、閉そく作業）

他の部屋に行くための廊下代わりにならないようにする。

作用の強い一部の医薬品は、作業の部屋を区別したり空調を他と別系統にしたりすること。

医薬品の製造に十分な水（質・量）を確保すること。があげられているが、本設備はこれに合致したものでなければならない。これに関しては、平成25年12月2日に京都大学において第一回文書作成会議を開催し、GMP基準について認識を深めた。

C. 研究結果

この条件で建築業者を選定して施行を発注して平成24年度にクリーンルーム施設を完成した。

平成25年度はサニテーションを実施し、完了後、清浄度に関するバリデーションを行い、フィルターリークの確認、清浄度の確認、空圧の確認、換気回数

認、制御盤の確認、パスボックスの確認を行い、総合判定で全て合格となった。(資料1)

同室で人工気管作製に用いる装置として下記のもの調達して生産ラインを構築した。クリーンベンチ、超低温フリーザー、凍結乾燥機、自動公転ミキサー、角型真空乾燥機、ホモジナイザー、強力スターラーなどである。

この施設において生物学的安全試験用のサンプル作製を平成25年12月より開始し、Lot 1を平成26年1月23日に完成した。以来サンプルの作製を続けている。

また、GMP/QMS関連の文書の作成も行った。(資料2)

この他予備実験として行うビーグル犬の頸部気管への埋込み手術の準備を行っている。

組織体制の構築及び施設運営(QMS)における文書化を行った。(資料2)

D. 考 察

当初の計画に添って人工気管の生産ラインの構築を行い、医療機器クリーンルームの清浄度を保った上で、生物学的安全性試験用の被験物質作製が可能となった。また、動物における頸部気管再建(人工気管による置換)実験の準備を当初の予定通りに行っている。

E. 結 論

GMP/QMS準拠の人工気管作製のためのクリーンルームを作製しサニテーション、バリデーションを完了した。また、組織体制の構築及び施設運営における文書化を行った。ビーグル犬をもちいた予備実験にも着手している。平成26年度には人工気管を製造し、安全性・有効性に関して評価をすすめる計画である。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) 中村達雄, 萩原明於, 稲田有史, 金丸眞一. 末梢神経の再生医療. 再生医療叢書7 神経系. 岡野栄之, 出澤真理編集. 朝倉書店. 東京. pp.138-153, 2013.

2) Nakada A, Shigeno K, Sato T, Kobayashi T, Wakatsuki M, Uji M, Nakamura T. Manufacture of a weakly denatured collagen fiber scaffold with excellent biocompatibility and space maintenance ability.

Biomedical Materials. 8 : DOI 045010 (in press), 2013

3) Uji M, Nakada A, Nakamura T. Intravenous administration of adipose-derived stromal cells does not ameliorate bleomycin-induced lung injury in rats. Open Journal of Regenerative Medicine. 2(2): 39-45 (2013)

2. 学会発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

該当なし

バリデーション・サニテーション成果報告

概要

1. 空調設備 (OQ)

- (1) HEPAフィルターリークの確認
- (2) 清浄度の確認
- (3) 室圧の確認
- (4) 風量・換気回数の確認

2. 製造機器 (OQ)

- (1) 超低温フリーザー
- (2) クリーンベンチ
- (3) 多本架冷却遠心機
- (4) 電子天秤

3. サニテーション

- (1) サニテーション
- (2) 環境評価

1. 空調設備 (OQ)

(1) HEPAフィルターリークの確認

- 目的 各室に取付けられたHEPAフィルタ取付部およびフィルタ濾材面からの塵埃の漏洩が許容値内であることを確認する。
- 測定方法 試験対下流側において、パンチング板の側面・下面をパーティクルカウンターに接続されたサンプリングプローブにて順次スキャンする。サンプリングプローブは、走査面から25mm以内に保持し、50mm/s以下の速さにて多少重複するストロークで動かす。

測定対象箇所

エア—供給先	取付機器記号
製造エリア	FFU-1A, 1B, 1C
サプライエリア	FFU-2
出荷エリア	FFU-3
2次ガウニング	FFU-4
1次ガウニング1	FFU-5
1次ガウニング2	FFU-6

*フィルターリークの確認

0.3 μ m以上の微粒子がカウントされた場合は、そのポイントにプローブを10秒間停止させる。10秒間にカウントが継続されない場合は浮遊粒子とし、フィルター部は異常なしと判断する。

補修箇所の最大径は30mmを超えないこと。

また、補修箇所の合計がフィルタ面積の1%を超えないこと。

○測定結果及び判定

0.3 μ m以上のリーク量（透過率：判定基準 0.01%以下）

エア供給先	フィルタ ユニット 記 号	上流側濃度 ※1			下流側濃度 ※2			下流側許容値	判定
		(1cf当たり)			(1cf当たり)			(1cf当たり)	
製 造 エ リ ア	FFU-1A	1,085,980.0	1,136,650.0	1,156,030.0	0.0	0.0	0.0	112.6	合格
	FFU-1B	1,253,050.0	1,268,880.0	1,233,270.0	10.0	20.0	0.0	125.2	合格
	FFU-1C	1,237,670.0	1,176,080.0	1,142,710.0	0.0	0.0	10.0	118.5	合格
サプライエリア	FFU-2	1,323,590.0	1,272,080.0	1,277,530.0	0.0	0.0	10.0	129.1	合格
出 荷 エ リ ア	FFU-3	1,047,520.0	1,023,140.0	1,021,670.0	10.0	0.0	0.0	103.1	合格
2次ガウニング	FFU-4	1,102,000.0	1,099,470.0	1,111,830.0	10.0	10.0	0.0	110.4	合格
1次ガウニング1	FFU-5	1,261,860.0	1,222,550.0	1,253,930.0	10.0	10.0	0.0	124.6	合格
1次ガウニング2	FFU-6	1,138,010.0	1,129,900.0	1,161,090.0	20.0	10.0	0.0	114.3	合格

※2：下流側濃度値は計測器にて1cf値に換算のためそのまま記載しています。

(2) 清浄度の確認

○目 的 各室の清浄度が基準値以下であることを確認する。

○測定方法（微粒子測定）

*測定：容量0.1cf（約1分間）のサンプリングを2回以上行い、1cfあたりの平均微粒子数を用いる。

*測定（ROOM）：高さ：床上1m（作業面高さ）。

*負荷：室内に無塵衣着用の人間2名及び設置機器が運転状態である最大負荷とする。

*測定：モニタリングしている場合は、モニタリング測定箇所の直近を測定し、比較を行う。

○対象箇所

部屋名称	部屋面積(m ²)	清浄度クラス	基準値(0.5 μ m) 非作業時(1cf)
1次ガウニング1	1.3	100,000 (C)	10,000
サプライエリア	4.0	100,000 (C)	10,000
2次ガウニング	2.0	10,000 (B)	100
製 造 エ リ ア	12.0	10,000 (B)	100
1次ガウニング2	1.8	100,000 (C)	10,000
出 荷 エ リ ア	1.6	100,000 (C)	10,000

○測定結果及び判定

室 名	部屋面積 (m ²)	測定点数	清 浄 度 ク ラ ス	グレード	基 準 値 (0.5 μ m) 非作業時 (1ft ³)	測 定 平均値	95 % UCL値	判定
1次ガウニング1	1.3	1	100,000	(C)	10,000	0	0	合格
サプライエリア	4.0	2	100,000	(C)	10,000	19	126	合格
2次ガウニング	2.0	1	10,000	(B)	100	14	14	合格
製 造 エ リ ア	12.0	3	10,000	(B)	100	5	17	合格
1次ガウニング2	1.8	1	100,000	(C)	10,000	0	0	合格
出 荷 エ リ ア	1.6	1	100,000	(C)	10,000	0	0	合格

(3) 室圧の確認

○目的 各装置内の空調設備を運転し、設定された室圧であることを確認する。

○測定方法（微粒子測定）

*空調系統の風量調整が終了していることを確認する。

*校正済の圧力測定器にて測定を行う。

*測定位置は、各室任意の1点とする。

○対象箇所

部屋名称	設計室圧(陽圧)	判定基準値
1次ガウニング1	+	前室より5Pa以上高い事
サプライエリア	++	1次ガウニング1より5Pa以上高い事
2次ガウニング	+++	サプライエリアより5Pa以上高い事
製造エリア	++++	2次ガウニングより5Pa以上高い事
1次ガウニング2	+	前室より5Pa以上高い事
出荷エリア	++	1次ガウニング2より5Pa以上高い事

○測定結果及び判定

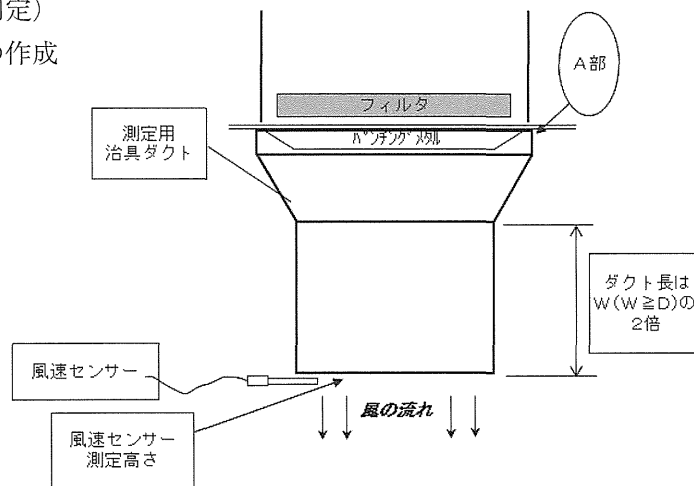
部屋名称	設計室圧(陽圧)	判定基準値	測定値(Pa)	表示値(Pa)	判定
1次ガウニング1	+	前室より5Pa以上高い事	+10	+10	合格
サプライエリア	++	1次ガウニング1より5Pa以上高い事	+20	+20	合格
2次ガウニング	+++	サプライエリアより5Pa以上高い事	+30	+30	合格
製造エリア	++++	2次ガウニングより5Pa以上高い事	+41	+40	合格
1次ガウニング2	+	前室より5Pa以上高い事	+12	+11	合格
出荷エリア	++	1次ガウニング2より5Pa以上高い事	+20	+20	合格

(4) 風量・換気回数の確認

○目的 室内の空調設備を運転し、風量、換気回数を確認する。

○測定方法（微粒子測定）

*測定用ダクトの作成



*風速測定治具を給気口にセットする。

(治具上端周囲：A部から風が漏れないようセットすること)

*測定位置は、上図の丸印位置を5点測定する。

○対象箇所

部屋名称	部屋内容積 (m ³)	基準換気回数 (回/hr)	基準給気風量 (m ³ /hr)
製造エリア	25.80	40	1032
サプライエリア	8.60	20	172
出荷エリア	3.87	20	77
2次ガウニング	4.30	40	172
1次ガウニング1	2.80	20	56
1次ガウニング2	3.44	20	69

○測定結果及び判定

部屋名	部屋内容積 (m ³)	基準換気回数 (回/hr)	基準給気風量 (m ³ /hr)	測定値給気風量 (m ³ /hr)	測定値換気回数 (回/hr)	合否判定
製造エリア	25.80	40	1,032	3,381.12	131.1	合格
サプライエリア	8.60	20	172	549.50	63.9	合格
出荷エリア	3.87	20	77	1,237.25	319.7	合格
2次ガウニング	4.30	40	172	501.12	116.5	合格
1次ガウニング1	2.80	20	56	484.99	173.5	合格
1次ガウニング2	3.44	20	69	427.39	124.2	合格

• 換気回数 = 風量 (m³/hr) / 部屋内容積 (m³)

2. 製造関連機器 (OQ)

(1) 超低温フリーザー MDF-193-PJ (稼働性適確性確認)

○目的 運転状態での庫内の温度性能を確認

○対象となる機器

品名：超低温フリーザー

品番：MDF-193-PJ

製造番号：130015

○検証の方法

測温抵抗体、記録計（又は指示計器付き温度計）で測定し確認する。

○測定条件

*負荷：庫内の負荷は0%とする。

「負荷0%」とは庫内に、サンプルを置く棚および温度センサー以外のものが無い状態をいう。

*測定：設定温度-80℃とする。

温度測定は1点測定とする。

*テスト品の周囲温度は20±5℃程度とする

*温度センサーを設置後に記録計をONにする

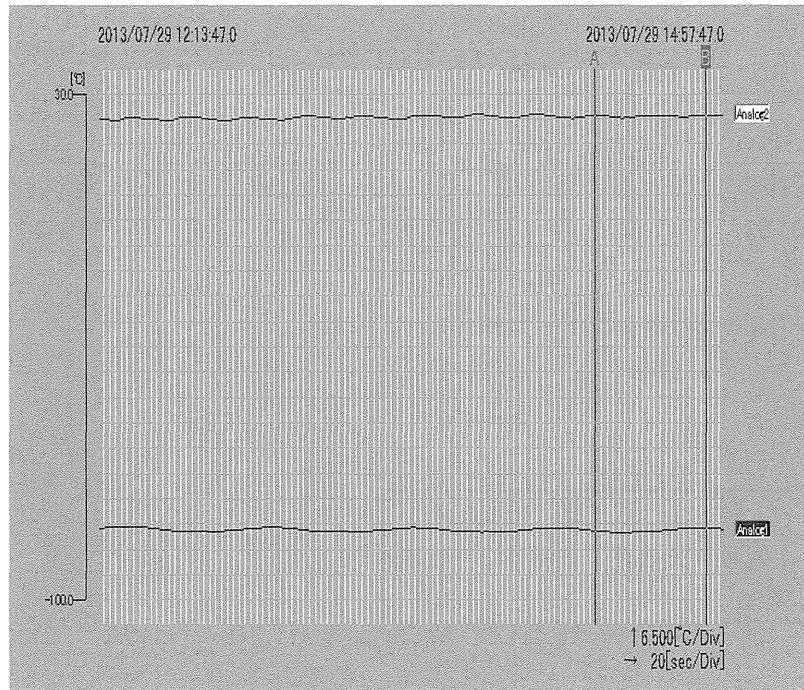
温度が安定状態となった時間を記録開始時間とし、1分間隔以上で10回の連続記録を行う。

扉の開閉はないものとする。

○測定結果まとめ

項目	規格	検査結果	判定
温度精度 (フリーザー)	設定温度-80℃に対し 庫内平均温度との差 ±3℃	-2.5℃	合格

○温度グラフデータ



(2) クリーンベンチ MCV-131BNU (稼働性適確性確認)

○目的 クリーンベンチの性能を確認する。

○対象となる機器

品名：クリーンベンチ

品番：MCV-131BNU

製造番号：130001

○検証の方法

清浄度

* 前面パネルを200mm開ける。

* 作業台上300mmで作業台を3等分したゾーンの中心(3点)の清浄度を測定する。

吹出平均風速

* 前面パネルを200mm開ける。

* 吹出しパンチング下100mmの位置で作業台を12等分したゾーンの中心(12点)の風速を測定する。

HEAP性能試験

* 給気フィルタ面より25mmの位置で50mm/sの速度で走査する。

○判定基準・測定結果

清浄度

* 0.5μmを対象とする。

* 測定値は、100個以下/1cfであること。

対象	測定位置	1回目	2回目	3回目	平均	清浄度設計値	判定条件 (0.5μm)	合否判定
クリーンベンチ	1	0	0	0	0.0	100 (グレードA)	100 個以下/cf	合格
	2	0	0	0	0.0			
	3	0	0	0	0.0			

吹出平均風速

* 平均吹出し風速は、0.2m/s以上

* 各ゾーンのバラツキの範囲が平均値の±30%以内にあること。

	1	2	3	4	5	6	平均
奥列	0.71	0.55	0.56	0.68	0.52	0.50	0.563
手前列	0.62	0.52	0.56	0.60	0.41	0.53	

	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨	⑩
	設定値	平均値	①-②	判定	②×0.7	最低値	判定	②×1.3	最高値	判定
平均	0.200	0.563	-0.363	合格	0.394	0.45	合格	0.732	0.71	合格

HEAP性能試験 *0.3以上の粒子のリーク率0.01%以下

(A) 上流側濃度測定結果

対象粒径 $\geq 0.3\mu\text{m}$

フィルター	上流濃度 (0.1cft)			
	1回目	2回目	3回目	平均値
循環フィルター	280	180	470	310

(B) 下流濃度測定結果

フィルター	下流濃度 (0.1cft)		
	1回目	2回目	3回目
循環フィルター	0	0	0
	4回目	5回目	平均値
	0	0	0

(C) 測定結果

下流濃度/上流濃度	リーク率 (%)
	0.000000

判定	合格
----	----

(3) 多本架冷却遠心機 AX-311 (稼働性適確性確認)

○目的 運転中の多本架冷却遠心機の性能を確認する。

○対象となる機器

品名：多本架冷却遠心機

品番：AX-311

製造番号：48397127

○検証の方法

回転数制御精度

回転数表示精度

* 指定の回転数に設定シトロボスコープにより回転数を測定する。

(対象とする回転数500, 1000, 1500, 2000, 2500, [rpm])

温度制御精度

* 設定温度は4℃とする。

外部温度センサーを用いて測定する。

1分間隔以上で10回の連続記録を行う。扉の開閉はないものとする。