

ある。薬事法下での細胞・組織加工医薬品等の治験における GCTP (Good Cell・Tissue Practice) については「細胞・組織利用医薬品等の取扱い及び使用に関する基本的考え方」(厚生省医薬安全局長通知 医薬発第 1314 号別添 1, 平成 12 年 12 月 26 日) (<別添 1>) に含まれるとされる。医師法下での新ヒト幹指針では、治験薬 GMP と GCTP に準拠したもので治験開始時と同じレベルの品質管理と安全性確保を求める基準が整備され、厚生労働大臣の確認を受けた臨床研究の実施計画書と同一の内容で治験開始ラインへ移行が可能となった。さらに、再生医療の進展とともに、自己及び同種細胞由来の細胞製品に関する技術要件をより明確にするために、医薬発第 1314 号が改正され「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)」「自己指針」及び「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)」「同種指針」が発せられた。近年、ヒト間葉系幹細胞、ヒト ES 細胞、さらにヒト iPS 細胞による臨床応用を目指した研究の進展はめざましく、これらに特化した留意事項について検討しそれぞれの品質と安全性に根ざした指針整備が必要となる状況になっている。ヒト ES 細胞に関する指針は、ヒト ES 細胞はいずれに対しても同種移植となることからヒト同種由来細胞の系譜として細胞治療の品質及び安全性に関する基本的な技術要件について「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—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—」が提示され、ヒト ES 細胞に対する具体的な指針が示されてきた。

### C3.3 ヒト ES 細胞を用いる臨床研究の現状(応用)

ヒト ES 細胞は生殖補助医療の過程で治療に用いられなくなった胚(余剰胚)

から樹立される。現在、本邦においては、ヒト ES 細胞樹立は、「ヒト ES 細胞の樹立及び分配に関する指針(文部科学省告示第八十六号)」に則って行われる。臨床研究に用いることを考慮した場合のインフォームド・コンセントを含めた倫理的手続きと安全性確保に関する技術的課題に関しては、「再生医療実用化加速に資する評価基準ミニマム・コンセンサス・パッケージ策定に関する研究」の平成 21 年度分担報告書(末盛博文:P70-)に詳しい。ここでは、胚盤胞から ES 細胞を樹立する過程を初期の細胞株化過程と拡大培養過程に分け、臨床研究応用を見据えた場合考慮しなければならない項目について述べる。例えば成育医療センターでは、ヒト ES 細胞樹立研究を行っているが、初期の細胞株化過程とは、胚盤胞の内部細胞塊から増殖を認めた細胞塊を非酵素的に分離・継代していく過程である。非酵素的に細胞継代を行うため、細胞を増やすことの確実性はあるが十分な細胞数を得ることはできない。細胞が一定数得られ、酵素的細胞継代によっても培養維持できるようになることを拡大培養過程としている。この過程で、出発原料としての各種検査を行い、細胞を増やし保存するマスターセルバンク化を行う。フィーダー細胞を使用する場合はガイドラインを参考にして、その特性と微生物学的安全性を担保する必要がある。

マスターセルバンク化する細胞の品質管理では規格試験と特性解析試験が行われる。セルバンクの安全性と品質に係る試験をすることで最終製品までの製造工程における安全性を担保することを本質的な目的としている。規格試験項目については、ACT 社臨床試験でヒト ES 細胞由来網膜色素上皮細胞を作製し治験を行った報告を参考にすると、核型試験、無菌試験、マイコプラズマ否定試験、各種ウイルス試験が上げられる。特性解析試験としては、未分化度試験(マーカー; OCT4, SOX2, NANOG, REX1 等の定量解析)と形態観察(ヒト ES 細胞に

特徴的な扁平円形コロニー集団を維持している)による細胞純度試験が考えられる。

ヒト ES 細胞の培養にはフィーダー細胞が必要となる。我が国での代表的な培養工程においては、フィーダー細胞としてマウス 13 日齢胎児由来の線維芽細胞 (MEF 細胞) を使用している。MEF 細胞のバンク化の必要性も想定され、生物由来原料基準:動物由来細胞組織製品原料基準への適合が求められる。

ヒト ES 細胞およびフィーダー細胞の培養に使用する製品の品質証明の確保は必須であり、特に牛由来製品の場合原産地証明も必要である。細胞外基質成分、細胞継代時に使用する酵素や凍結保存液についても品質証明が求められる。

#### C.3.4 ヒト ES 細胞の再生医療应用到に必要な技術的要件

ヒト ES 細胞を臨床应用到に用いるために必要な技術的要件として主に以下の4つが上げられる。①均一な細胞性質を保つ培養工程を確立することが必要で、培養過程で未分化状態が維持されている性質の保証が必要である。通常、基本的な技術として十分に備わっているはずである。②細胞の品質基準と管理体制を整備する。細胞の品質検査としては、規格試験とミニマムな特性解析試験が行われる。③長期培養工程における細胞品質の管理と評価法の確立と④感染性因子混入リスクの管理である。

ES 細胞の内在する特性として分化多能性があるが、細胞移植の際に懸念される腫瘍化の試験を出発原料の段階で行う意義があるか検討が必要である。分化誘導して得られる最終製品内に奇形腫形成能を有する細胞の混入の有無を確認することは重要であるが、出発原料としての段階で内在特性である造腫瘍性確認試験に意義を見出すことは難しい。ただし、ES 細胞が移植対象になるような条件であれば、造腫瘍性試験として形成した奇形腫内に明らかな悪性組織の有無や移植したレシピエント免疫不全

マウスの移植以外の組織や臓器に転移性を示す所見の有無等を行う必要はあるかもしれない。

#### C.3.5 ヒト ES 細胞を用いる臨床応用の課題

臨床応用を見据えたヒト ES 細胞の出発原料は、初期の細胞株化段階におくことで既存の細胞株をゼノフリー培養環境、フィーダーフリー培地や無血清培地などの特定の条件に適応化させた細胞株を規格試験と特性解析を行いマスターセルバンク化することが可能と考えられる。

我が国の例では、上記④感染性因子混入リスクの管理として、品質・安全性向上のため、次世代の培養システムであるヒト ES 細胞樹立と培養維持工程全てにおいて異種成分にふれることがない培養システムを構築し、樹立した ES 細胞 (SEES4) の特性解析では非ヒト型のシアル酸 (Neu5Gc) の発現も検出できない品質であることを示している。次世代の製造工程と細胞品質評価へ発展していく基盤が整備されている。

#### C.3.6 臨床用 ES 細胞で考慮すべき点

ヒト ES 細胞を用いた細胞治療における細胞及び細胞調整工程で考慮すべき点としては大きく2つに分けられる。一つは、他の組織幹細胞を用いる場合のように細胞の調整・加工工程や移植・投与工程等に係る多くの細胞治療が含有するリスクであり、もう一つはこのヒト ES 細胞の性質に起因する事象である。前者については、組織幹細胞を用いた臨床研究において細胞・組織を製品化する際の取扱いに関する基準として細胞組織由来製品の採取、調製、出荷において、感染、試料取違えや異物混入等の予防策をまとめた GCTP が整備される。細胞の調製・加工工程や移植・投与工程等に係る安全性を担保するために、ヒト幹細胞や調整工程に由来する感染症の伝播の危険性が懸念されるため、細菌、真菌、

ウイルス等に汚染されていない原料の使用、調整工程中における汚染の防止等を図ることは当然ながらヒト ES 細胞を用いた細胞治療にも必須である。ヒト ES 細胞は臨床応用に用いるマスター ES 細胞株が整備される必要がある。次に、臨床応用に際し考慮する事項として ES 細胞の性質がある。ヒト ES 細胞は正常染色体核型をもつ多能性幹細胞であり、適切な培養条件の下、高度な多分化能性を保持したまま無限に増殖できる細胞である。しかし、通常の細胞治療では多能性を保持した細胞状態で投与することはなく、目的とする機能を有する細胞への分化を行い治療に用いることになる。1) 異所性の分化や目的としない細胞への分化、2) 腫瘍化(奇形種)、3) 他家移植になるため GVHD、4) 免疫抑制剤等の服用による影響などが考えられる。ヒト ES 細胞は分化誘導処置をして移植することになり、具体的には ES 細胞そのものではなく標的分化途上の幹細胞あるいは前駆細胞が評価・移植の対象となる。腫瘍化の危険性に関しては、これまでのマウスやヒト ES 細胞研究において癌化した報告は一例もない。細胞治療における腫瘍化のリスクは奇形種(良性腫瘍)の形成であり、万が一奇形種が形成されたら移植する場所により解剖学的、組織学的、機能的な障害を引き起こす可能性がある。分化誘導した細胞の現在の腫瘍化形成能を否定する可能な品質評価解析をおこないつつ、完全にその可能性を排除できない点も考慮し ES 細胞株由来細胞の製造工程や工程管理を先端の知見と技術を応用しより安全性の高い最終製造物を提供することが重要であり、当然ながら移植後の被投与患者のフォローアップは一定年数行うべきである。Geron 社の治験では、移植後 1 年のフォローアップ検査で細胞移植による合併症、移植部位の変化、移植免疫反応や移植による想定外の神経学的症状は無く、安全性に関する問題は認められていないと報告されている。

ヒト ES 細胞のように新しい幹細胞技

術を用いた臨床応用は、人体への影響について未知の部分もあるため、その安全性及び倫理性の確保に対して盤石な体制をとらなければならない。一方で、これまでに治療法すらなかった疾患にも効果が期待できる治療法となりうる。対象疾患毎で様々なケースが考えられ、欧米におけるヒト細胞・組織加工製品の規制原則とされる Risk-Based Approach の考え方も本邦におけるヒト ES 細胞の臨床試験の申請と施行に重要であると考えられる。

### C.3.7 臨床使用を目的とした人工多能性幹細胞(iPS細胞)又は人工多能性幹細胞様細胞(iPS様細胞)

#### C.3.7.1 再生医療の素材としてのヒトiPS細胞とヒトiPS様細胞

言うまでもなく再生医療の究極の目的は治療である。したがって、常に治療(目的)から発想する考え方、アプローチが肝要であり、どのような疾患を対象に、どのような製品を開発するかが第一義的課題である。iPS細胞の作製による細胞の分化・脱分化に関するパラダイムシフトは、再生医療への応用に無限の可能性(手段)を提供するが、このことは、初期化の程度や特定iPS細胞の標準化が全ての再生医療への応用の前提であるということ必ずしも意味する訳ではない。初期化の程度を一定にすることができ、iPS細胞の標準化ができることは、再生医療に利用される細胞・組織加工医薬品等の創製のための特性が明かな原材料、すなわち重要な素材(手段)の1つの提供という大きな意義を持つ。しかし、全ての製品のもとが、特定のiPS細胞でなければならないという必然性はない。ある個別の製品に対して、素材として適切な細胞があれば、それで良い。重要なことは、細胞の分化・脱分化が人為的に操作できるというパラダイムの中で、ある特定の治療(目的)に叶う品質・有効性・安全性を有する最終製品を製造するのに適切な素材として人工的に誘導された多能性の細胞が適切に位置づけられることである。どの細胞から、どの手段で、どの程

度初期化(多能性化)した細胞を得て、どのような分化誘導で、どのような細胞を経て目的細胞に至るかが、各開発研究関係者の挑戦課題であると思われる。

以上のような趣旨のもと、「ヒト iPS 細胞」に加え、「ヒト iPS 様細胞」という概念が出されている。それぞれの細胞は暫定的に次のように定義されている。「ヒト iPS 細胞」とは、ヒト体細胞を遺伝子導入・タンパク質導入・薬剤処理等により人為的に初期化して得られる細胞又は当該細胞の分裂により生ずる細胞であって、内胚葉、中胚葉及び外胚葉の細胞に分化する性質を有し、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能力を有することが推定されるものをいう。また、「ヒト iPS 様細胞」とは、ヒト体細胞を遺伝子導入・タンパク質導入・薬剤処理等により人為的に脱分化して得られる細胞又は当該細胞の分裂により生ずる細胞であって、少なくとも内胚葉、中胚葉又は外胚葉の一部の細胞に分化する性質を有し、自己複製能を維持しているもの又はそれに類する能力を有することが推定されるものを指す。

### C.3.7.2 iPS(様)細胞と医薬品製造基材／中間細胞株

「医薬品等製造基材」は一般に製品製造の出発原料たる「細胞バンク」として樹立され、管理される。中間細胞株がバンクとして利用されることもある。

iPS(様)細胞そのものが上記のような意味での安定的な「医薬品製造基材/バンク」と位置づけられることは必ずしも一般的ではないかも知れない。

### C.3.7.3 より安全なヒトiPS(様)細胞の作成とその限界

iPS 細胞又は iPS 様細胞(以下いずれかを指して iPS(様)細胞という)由来製品においては、最終製品における未分化細胞の存在が異所性組織形成や腫瘍形成・がん化の可能性など安全性上の重要な関心事である。これは元来 iPS 細胞の最大の特徴の裏返しであり、iPS 細胞のレベルで、これに対策を講ずることは、きわめて困難で

あると考えられる。iPS 細胞を作製するために用いる誘導剤の改良などにより、安全性上懸念される外因的な要因を取り除くことで「より安全な iPS 細胞」を作製することは可能であり、望ましいことと考えられる。しかし、iPS 細胞を特徴できる固有の内因性の要素を取り除くことは原理的に二律背反であり、困難である。また、「外因性因子の改良により樹立されたより安全な iPS 細胞」は改良前のものに比較して、「より安全な最終製品の出発原材料」にはなりえるが、テートマ形成にアイデンティティがあるような内因性の固有の特性によるものに関しては、「より安全な iPS 細胞」というものそのものが存在しないのではないかと考えられる。したがって、将来的には iPS 細胞レベルでの安全性を主題にするのではなく、製品からみた対策、すなわち、ある製品によっては iPS 細胞そのものよりも、iPS 細胞が持つ特性の必要部分を取り出したような「iPS 様細胞」を原材料にしたり、製造工程や工程管理を工夫することにより、より安全性の高い最終製品を創出する戦略や戦術が大きな意味を持つてくるのではないかと考えられる。それ故、可能な限り、セル・バンクや中間製品段階等での徹底的な解析により、目的外の未分化細胞混在の可能性を否定するか、あるいは、目的細胞から未分化細胞の効果的分離・除去法や不活化法の開発、適用により、混在の可能性を最小限にする努力が求められる。さらに、投与経路等の選択も安全性上の懸念を最小限にするための有用な方策であると思われる。適切な体性幹細胞から iPS(様)細胞、iPS(様)細胞からより安全、安定、特性が明確で、適切な原材料となり得る任意の体性幹細胞の作製を可能にする技術や品質・特性解析技術の開発も重要である。個々の細胞由来 iPS(様)細胞の多能性や分化できる細胞の種類を予め見極める「検査技術」や、効率よく確実に目的とする細胞に分化誘導したり、分化細胞を未分化細胞から分離する「加工技術」の研究開発は、新たなビジネスチャンスを生むことになると考えられる。

#### C.3.7.4 ヒト(自己・同種)iPS(様)細胞加工製品特有の製造・評価のポイント

ヒト iPS (様) 細胞加工製品は、ヒト体細胞より人為的に作製された各種 iPS (様) 細胞を人為的に分化誘導し、得られた特定の細胞をそのまま利用、あるいはさらに加工することにより製造されること、また、その製造方法、中間製品や目的細胞の種類及び特性、臨床上の適用法は多種多様であることに特徴がある。また、当然、その増殖性の高さ、多機能性に起因する長所と短所がある。iPS細胞加工医薬品等の場合、①細胞(出発素材)の特性としての造腫瘍性、製品における未分化細胞の残存などによる②異所性の組織形成、③不適切な分化/造腫瘍性、④目的外の表現型発現に特に留意すべきことは言うまでもない。また、④同種の場合に免疫原性/免疫拒絶反応に対する留意も必要である。iPS細胞株樹立や増殖、分化等の過程で使用される動物由来成分による動物抗原が検出される製品における抗原性にも注意する必要がある。なお、自己由来 iPS 細胞と同種由来 iPS 細胞に対する技術要件の違いについては、すでに他項で示したとおりである。

#### C.3.8 再生医療用同種 iPS 細胞ストックのドナー適格性判断とインフォームドコンセントについて

ヒト iPS 細胞は、ヒト体細胞にウイルスベクター(文献 1)やプラスミドベクター(文献 2, 3)などを用いて遺伝子を導入する方法を用いて誘導される多能性幹細胞である。iPS 細胞は、形態、自己複製能、多分化能および遺伝子発現プロファイルなどから胚性幹細胞 (Embryonic stem cells: ES 細胞) に極めて類似しているが、樹立が非常に困難な ES 細胞と異なり、手順に従えば、基本的にあらゆるドナーの体細胞から作製できるという大きなメリットを有する。このため、(1) iPS 細胞由来分化細胞を用いた薬物の毒性/有効性評価試験系の開発、(2) 疾患特異的 iPS 細胞の病態解明や創薬への応用、(3) 細胞移

植治療用ソースとしての利用、などの幅広い医療分野への貢献が期待されている。特に、細胞移植治療用ソースとしての利用は、ES 細胞の持つ倫理的問題(ヒトの胚を滅失して作製する)と免疫学的問題(樹立された ES 細胞株が数株のみであり HLA 型の適合性が担保出来ない)を回避できることから、極めて大きな期待がもたれている。

iPS 細胞を用いた細胞移植医療を移植免疫の観点からみると、自分の iPS 細胞由来の目的細胞を自分に移植するといった、自家移植が最も望ましい。しかし、自家移植にもいくつかの問題がある。例えば、1) iPS 細胞の樹立及び品質評価と目的細胞への分化に 1 年近くかかるので、疾病・創傷の発生後に速やかに細胞移植を行わないと効果が期待できない場合、発生後に iPS 細胞を作製開始しても間に合わない、2) 患者が遺伝疾患を持っている場合、作製した iPS 細胞も同じ遺伝子変異を持つので、細胞レベルでの遺伝子治療が必要になる、3) すべての人に自家移植用の iPS 細胞を作製するのは、コスト面から不可能である、といった理由である。このため、HLA 適合ドナーからの同種(他家)移植を選択肢に入れる必要がある。

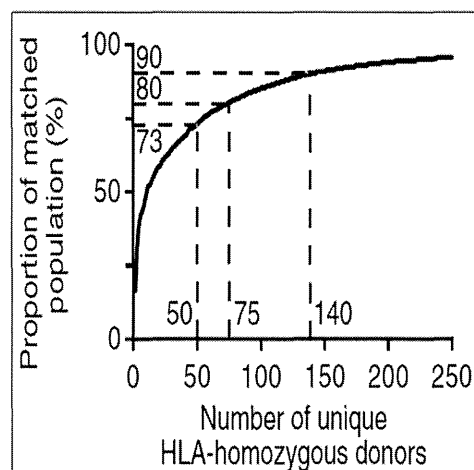
iPS 細胞由来分化細胞が同種(他家)移植後に十分に生着し機能を発揮するためには、患者/ドナー間 HLA 完全一致が理想的である。その場合、骨髄バンクやさい帯血バンクのように HLA ドナーからの細胞供与をうけたストックの整備が必要となるが、骨髄やさい帯血とは異なり iPS 細胞の製造および品質管理には多くの時間とコストがかかるため、実現性に乏しい。そこで京都大学 iPS 細胞研究所では、HLA-A, -B, -DR の 3 座においてホモ接合体のドナー(国民の約 2%) から樹立した複数の iPS 細胞株を樹立し、将来の細胞移植医療に利用可能な医療用 iPS 細胞ストックを確立することを計画している。日本人で高頻度に見られる HLA ハプロタイプをホモ接合体として持つドナー (HLA ホモ接

合体ドナー：表1) から iPS 細胞を樹立すると、この iPS 細胞由来の細胞は同じハプロタイプを持つヘテロ接合体レシピエントにも拒絶のリスクが少なく移植できる。HLA (3 座) ホモ・ドナー由来の iPS 細胞を 50 株樹立し、ストックとして供給できれば、国民の 7 割へ 3 座一致により拒絶反応のリスクを低減した移植が可能と試算される (図 1) (文献 3)。

表 1. 日本人HLAハプロタイプ頻度 (出典：HLA研究所  
<http://www.hla.or.jp/haplo/haplodl.php?lang=ja>)

順位	A	B	DRB1	ABR	ハプロタイプ頻度
1	*24:02	*52:01	*15:02	*24:02-*52:01-*15:02	8.275%
2	*33:03	*44:03	*13:02	*33:03-*44:03-*13:02	4.248%
3	*24:02	*07:02	*01:01	*24:02-*07:02-*01:01	3.769%
4	*24:02	*54:01	*04:05	*24:02-*54:01-*04:05	2.695%
5	*02:07	*46:01	*08:03	*02:07-*46:01-*08:03	1.940%
6	*11:01	*15:01	*04:06	*11:01-*15:01-*04:06	1.391%
7	*24:02	*59:01	*04:05	*24:02-*59:01-*04:05	1.097%
8	*11:01	*54:01	*04:05	*11:01-*54:01-*04:05	0.995%
9	*24:02	*40:06	*09:01	*24:02-*40:06-*09:01	0.857%
10	*26:01	*40:02	*09:01	*26:01-*40:02-*09:01	0.797%

図 1. HLAホモ接合体 (HLA-A,B,DRB1) ドナー数と日本人における人口カバー率の関連 (文献3より引用)。



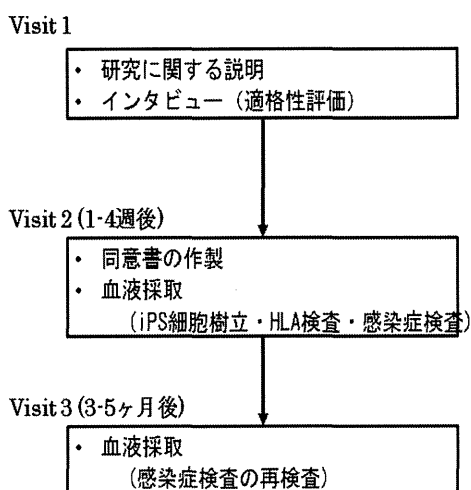
そこで iPS 細胞を用いた同種移植に必要な iPS 細胞ストックを確立するために当たって、ドナーのリクルートに必要なインフォームドコンセントの内容と、ドナー選択基準を設定した。

### C. 3. 8. 1 指針・法令との整合性について

日本ではヒトへの細胞移植治療の trial には、「治験」と「臨床研究」という 2 種類の経路が存在するので、両者に適合するようにドナー適格性基準を作製している。重要なことは、iPS 細胞ストックそのものは最終産物でないで、直接ヒトに投与されるわけではなく、従ってストックそれ自体ではどちらの申請も行うことができないということである。そのため、本プロジェクトでは、最終分化細胞を用いる研究者・医師がどちらの手段も執れるように、両者をカバーするように、研究計画を立案し、関係省庁と相談の上、ドナー選択基準を定めている。則っている指針は「ヒト幹細胞を用いた臨床研究に関する指針 (平成 22 年 11 月 1 日全部改正版)」、「生物原料由来基準」「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」である。ドナーの問診内容については、生物由来原料基準に基

づいて実際ヒトに使用されている、日本赤十字社の献血ドナーに対する問診票を元に作製している。幾つかの日本の指針では、ウインドウピリオドによる偽陰性を避けるため、試料採取数ヶ月後に再度感染症検査を行うよう求めているため、本プロジェクトでもこれに従って、感染症の再検査を行う(図2)。

図2. ドナー受診の流れ



### C.3.8.2 医療用 HLA ホモ iPS 細胞ストックのドナー適格性判定

医療用 HLA ホモ iPS 細胞ストック作製プロジェクト(以下、本プロジェクト)では、最終的に、向こう 10 年間で 100 種類程度の HLA ホモ接合体ドナーから iPS 細胞を樹立することを考えており、これで日本人人口の約 90%をカバーする。これを単純な公募で行った場合、上位 10 種まで行うのに 10 万人以上のスクリーニングが必要と推定され、物理的/金銭的なコストの面から非現実的である。そのため、何らかの目的で既に HLA 型を検査し、ハプロタイプが判明している方の情報を得、これらのドナー候補者のうち HLA ホモ接合体である方を対象として、研究への自由意思での参加をお願いする。現在までに、京都大学医学部医の倫理委員会で、このような HLA 検査

済みのドナー候補者からの iPS 細胞ストック樹立に関する研究計画が承認されている。また、iPS 細胞の樹立及び品質評価の詳細については現在検討中である。

ドナー(候補者)の受診の流れを図2に示す。ドナー適格性判定は以下の基準に従って行う。

#### C.3.8.2.1 選択基準

以下の基準をすべて満たす方を対象者とする。性別・人種は限定しない。

- 同意取得時の年齢が 20 歳以上。
- 本研究の参加にあたり十分な説明を受けた後、十分な理解の上、対象者本人の自由意思による文書同意が得られる人(代諾者を必要とするような方は対象としない)。
- HLA 検査において、A, B, DR の少なくとも三座についてホモ接合体であること。

#### C.3.8.2.2 除外基準

以下のいずれかに該当する方は対象者から除外する。ただし、これらの項目については、各種法制・指針の改定等があった場合など、必要に応じて検査項目を追加・変更する場合があります。

■下記の感染症については、問診及び血液検査を行い、陽性例については、除外する。血清学的検査については、ウインドウピリオドによる偽陰性を避けるため、試料採取数ヶ月後に感染症の再検査を行う(図2)。

- 1 B 型肝炎(HBV) (HBs 抗原陽性例、HBV-DNA PCR 陽性例)
- 1 C 型肝炎(HCV) (HCV 抗体陽性例、HCV-RNA PCR 陽性例)
- 1 ヒト免疫不全ウイルス(HIV)感染症 (HIV-1 抗体及び HIV-2 抗体陽性例、HIV-1-RNA PCR 陽性例)
- 1 成人 T 細胞白血病ウイルス感染症(HTLV) (HTLV1 抗体陽性例、

HTLV-1 プロウイルス DNA PCR 陽性例)

- 1 パルボウイルス B19 感染症 (パルボウイルス B19-IgM 陽性例、パルボウイルス B19DNA PCR 陽性例)
- 1 梅毒 (TP) (STS 陽性例、TPHA 陽性例)

■ 下記については、問診により、既往歴・現病歴がある場合は除外する。

- 1 梅毒、クラミジア感染症、淋病、結核、マラリア、パペシア症、シャーガス病、リーシュマニア症、アフリカトリパノソーマ症等の細菌による感染症
- 1 悪性腫瘍
- 1 伝達性海綿状脳症及びその疑い並びにその他の認知症、脳卒中、てんかん
- 1 その他、iPS 細胞ストックの作製・使用に支障をきたしうる遺伝性の重篤な疾患を有すると判断される場合

■ その他

- 1 妊娠中・授乳中あるいは妊娠の可能性のある女性
- 1 その他、研究責任医師がドナーとして不適当と判断した人

### C. 3. 8. 3 インフォームドコンセントの詳細について

ドナー候補者への説明、インフォームドコンセントの取得及び試料採取は京都大学医学部附属病院で行う。対象者への説明、同意取得、試料採取などは、原則として京都大学医学部附属病院・iPS 細胞臨床開発部 iPS 細胞外来で行う。説明文書及び同意書を含む研究計画書は、京都大学医学部医の倫理委員会で承認を受けている。なお、以下の事項については、今後の法令・指針の改正や、国際的な議論により見直す可能性がある。

本プロジェクトでは、研究担当者のみが説明と同意取得を行うことによって、同意が強要されることを避け、対象者の

匿名性と任意性を担保するため、研究に対して利害関係の無いリサーチコーディネーターが説明と同意取得の補助、及び個人情報管理者の監督下での個人情報取り扱いに当たる。リサーチコーディネーターは、対象者に対して本研究の内容等を十分に説明する。ドナー候補者には、本研究への参加の可否を充分考慮していただく必要があることから、説明後一旦帰宅していただき、考慮期間を置いた後、日を改めて再度来院していただき、同意を取得する。

個人情報は、個人情報管理者によって厳密に管理される。

### C. 3. 8. 3. 1 インフォームドコンセントの内容

説明文書・同意書には、以下の項目を含む。

- 1) 研究の目的
- 2) 倫理委員会における審査について
- 3) 対象者の選択基準について
- 4) 研究期間
- 5) 医療用 iPS 細胞ストックについて
  - 1 iPS 細胞ストックとは
  - 1 iPS 細胞ストックの配布先
  - 1 研究への利用
  - 1 治療への利用
- 6) 具体的な手順
- 7) 研究に協力することによる利益と不利益
- 8) 提供に際しての危険や負担
  - 1 組織 (血液や皮膚など) の採取の危険性
  - 1 個人情報が漏えいする危険性
  - 1 その他の負担
- 9) 遺伝子解析について
- 10) 同意の任意性と同意撤回の期限
- 11) 検査結果の取り扱い
- 12) 検体の取扱方針
- 13) 研究の進捗と成果の公表
- 14) 知的財産権などの取り扱い
- 15) 研究組織と資金源
- 16) 問い合わせ先など

以下、個別の項目のうち幾つかについて



て詳細を記述する。

#### C.3.8.3.2 同意撤回について

同意撤回は文書を持って行う。医療用 iPS 細胞ストックを作製し、移植医療への利用が開始された後でも撤回は可能である。この場合、医療用 iPS 細胞ストックを含む、当該ドナー由来の全ての細胞と付随情報は破棄される。ただし、実際に特定のレシピエントへの細胞治療へ用いることが決まった後は、当該レシピエントに対する治療への影響が大きいことから、当該レシピエントへの治療については細胞の使用を中止することはできない、としている。また、医療用 iPS 細胞ストックを用いて製品化した場合、その製品については同意撤回はできない、としている。

#### C.3.8.3.3 禁止事項について

多能性幹細胞から生殖細胞や胚を作製することについては、倫理的な議論が継続して行われている。iPS 細胞から生殖細胞を作製し、これを同種移植（もしくはヒト個体の作製）に用いることは考えにくいいため、本プロジェクトでは医療用同種 iPS 細胞ストックから生殖細胞を作製することは行わないとしている。またこれに関連して、現行のヒト ES 細胞の使用に関する指針第 6 条における禁止行為の規定を準用し、医療用同種ヒト iPS 細胞ストックを用いた研究について、以下の行為を行わないものと定めている。

- 1) ヒト iPS 細胞を使用して作製した胚の人又は動物の胎内への移植その他の方法によりヒト iPS 細胞から個体を作製すること。
- 2) ヒト胚へヒト iPS 細胞を導入すること。
- 3) ヒト胎児へヒト iPS 細胞を導入すること。

#### C.3.8.3.4 知的財産権及び所有権について

ドナー候補者への説明として、このプロジェクトを含む一連の研究より知的財産権等が生じる場合、その権利は京都大学が管理し、本研究に参加した対象者には帰属しないこととしている。また、樹立した iPS 細胞の所有権についても、京都大学に帰属することとしている。

#### C.3.8.3.5 研究・治療への利用

このプロジェクトの目的は、多くの日本人をカバーする医療用の iPS 細胞ストックを作ることであるが、最終的には、配布先の機関で iPS 細胞を目的の細胞・組織へ分化させ、移植治療に用いることを想定している。このような場合、当該の機関で国が指針などで定める手続きに則って研究計画が申請される必要があるが、個々の計画についてドナーに再同意を得ることはしない旨説明している。また、分化細胞が医薬品などの製品として販売される場合があること、そのような場合にドナーが利益を得ることはない、と説明している。なお、対象者の死後も、生前の明示的な意思が存在せず、当該細胞を用いた移植医療の計画が存在する場合は、細胞の利用は継続される。

#### C.3.8.4 小括

免疫拒絶の観点からは、同種移植よりは自家移植の方が望ましく、iPS 細胞を用いた細胞移植治療においても、同様の考え方がありうる。しかし、現状の技術では、iPS 細胞の株毎に質のばらつきが生じるため、1 株の品質管理・保証には大きなコストや時間を要する。一方、iPS 細胞はほぼ無限の自己複製能を有する。従って、できるだけ汎用性の高い株を樹立し、徹底した品質管理のもと供給できる体制を構築することが現実的な方策である。この観点からも、オーダーメイドで iPS 細胞を作製し、品質管理を行うより、HLA ホモ接合体ドナー由来の医療用 iPS 細胞ストックを作製し、厳密な品質管理を行う方が望ましいと考えられる。

近い将来、様々な細胞を医療用 iPS 細胞ストックから分化誘導し、実際に細胞移植に用いることになるだろう。多能性幹細胞からの分化誘導法とそれを細胞治療に用いる戦略は驚異的な速度で発展しており、多くの傷病に対する再生医療が提供される日も遠くないと想像される。医療用 iPS 細胞ストックのドナーは、すなわち全ての iPS 細胞由来細胞移植治療のドナーとなり得るため、その適格性判断とインフォームド Consent 取得には相当の配慮が要求される。幹細胞医療を巡る規制や倫理、あるいは社会的情勢は刻々と変化しており、適切に対応しながら、ドナーの人権に配慮しつつ、ドナー選択を進めることが肝要である。

### C. 3.9 ヒト幹細胞利用の留意点 - ヒト幹細胞加工製品指針に則ったヒト幹細胞医療応用の留意点に関する検討

平成 25 年度には、再生医療関連法案が国会を通過し、それらの法律を意識した研究が必要となった。

成育医療センター形成外科領域においては、「母斑」の細胞治療に関する治験届けを提出し、「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ついて（平成 24 年 9 月 7 日薬食発 0907 第 2 号）」に基づき臨床試験が開始された。また、整形外科領域の細胞治療に関する議論が開始され、多指症由来細胞の細胞プロセッシングセンター（CPC）での検体受入、培養から出荷に関しての手順について、「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ついて（平成 24 年 9 月 7 日薬食発 0907 第 3 号）」に基づき見直しが行われた。このガイドラインに基づき多施設における臨床利用に関する議論がかわされる予定である。

さらに、「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（平成 24 年 9 月 7 日薬食発 0907 第 6 号）」に則り、ES 細胞、フィーダー細胞およ

び体性幹細胞のバンク化に伴う特性解析（CGH, 染色体解析等）、純度試験が終了した。また、それぞれの細胞製剤の最終製品における非臨床安全性試験についての検討を開始した。特に「医薬品の臨床試験のための非臨床安全性試験の実施時期についてのガイドライン（医薬審第 1019 号）」に示されている（1）安全性薬理試験（2）トキシコキネティクス及び薬物動態試験（3）単回投与毒性試験（4）反復投与毒性試験（5）遺伝毒性試験（6）がん原性試験（7）生殖発生毒性試験（8）小児での臨床試験のそれぞれについて、「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ついて（平成 24 年 9 月 7 日薬食発 0907 第 2 号）」、「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ついて（平成 24 年 9 月 7 日薬食発 0907 第 3 号）」、「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（平成 24 年 9 月 7 日薬食発 0907 第 6 号）」との整合性を検討し、費用対効果が最も高く、かつ安全性を担保できる試験設定を行なっていく。

#### C. 3.9.1 成育疾患に対する細胞医療においてヒト幹細胞加工製品指針は活用できるか

本研究では、「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ついて（平成 24 年 9 月 7 日薬食発 0907 第 2 号）」、「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ついて（平成 24 年 9 月 7 日薬食発 0907 第 3 号）」、「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（平成 24 年 9 月 7 日薬食発 0907 第 6 号）」のガイダンスに従い、成育疾患に対する細胞医療の安全性及び有効性に関するデータを蓄積し、様々な細胞製剤との関連を明確にした。移植細胞としては、肝細胞、軟骨細胞、角膜上皮・強膜細胞、骨髄造血細胞、骨髄間質細胞、脂肪細胞、筋芽細胞、表皮細胞があり、それらの細胞を用いることによって、先

天性代謝異常症、尿素サイクル異常症、メチルマロン酸血症、心奇形、移植片対宿主病、小児角膜混濁（強膜化角膜、無虹彩症、Peter's anomaly）、先天性巨大色素性母斑、肋骨再建等の成育疾患への治療戦略を構築する。

### C.3.9.2 成育疾患に対する細胞医療におけるヒト幹細胞加工製品指針等の活用実践方法

「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ついて（平成24年9月7日薬食発0907第2号）」、「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ついて（平成24年9月7日薬食発0907第3号）」、「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（平成24年9月7日薬食発0907第6号）」の各ガイドラインとの適合に留意し、臨床研究に必要な課題を明確にし、治療プロトコル作成を行った。同時に、GMPに基づく標準作業手順書を作成し、センター内に設置されている細胞加工センター（CPC）において細胞医療の供給源となる細胞製剤を準備する。移植細胞としては、肝細胞、軟骨細胞、角膜上皮・強膜細胞、骨髓造血細胞、骨髓間質細胞、脂肪細胞、筋芽細胞、表皮細胞から、間葉系幹細胞の単離・培養を行って、それらの細胞を安定供給し、細胞医療に供するための準備を行う。個々の症例に関する適応判定は、実態調査を基に判定項目を設定、適応外となる条件を明確にし、画一化を図る。

#### C.3.9.2.1 移植細胞の供給

生体試料の提供を受けたヒト由来組織から、成育バイオリソースの間葉系幹細胞の培養経験に基づいた単離・培養を行い、それらの細胞を安定供給し、細胞医療に供する。

#### C.3.9.2.2 細胞医療の実施に関する基礎研究

治療プロトコルに従い、細胞医療を

実施に向けた準備を行う。細胞製剤の安全性については、最先端の技術を用いて担保するための基盤技術を確立する。

#### C.3.9.2.3 成育疾患に対する細胞医療の安全性及び有効性の総合評価

成育疾患に対する細胞医療の安全性および有効性に関して、様々な角度から検証し、医師法、薬事法双方の視点で満足しうる評価技術、書類の整備を行っていく。

#### C.3.9.3 成育疾患に対する細胞医療におけるヒト幹細胞加工製品指針等の活用実践結果

##### C.3.9.3.1 原材料及び製造関連物質、製造工程、加工した細胞の特性解析

「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ついて（平成24年9月7日薬食発0907第2号）」、「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ついて（平成24年9月7日薬食発0907第3号）」、「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（平成24年9月7日薬食発0907第6号）」に基づき、臨床試験研究に提供できる原材料となるヒト細胞の培養を行った。細胞製剤を安定状態に保つための維持培養に必須の要素について検討を行った。フィーダー細胞については、マウスフィーダー細胞バンクを作製し、その純度試験を終了した。培養に用いた培地等試薬は「生物由来原料基準」に合致する物のみを使用し、臨床応用を見据えたフィーダーバンクの作製に成功した。

##### C.3.9.3.2 細胞・組織加工医薬品の非臨床安全性試験

###### (ア) 腫瘍化の否定試験

免疫不全動物(NOD/SCID/IL-2R $\gamma$ 欠損マウス)を含めた動物モデルの皮下に培養細胞株を利用し、良性腫瘍を含む腫瘍形成およびがん化の可能性に関して検討した。現在までに腫瘍化した細胞株は確認しておらず、腫瘍化マーカーはすべ

て陰性であった。細胞株毎の腫瘍化否定試験は今後も継続して行なっていく。

#### (イ) 感染性の否定試験

培養を行なっている体性幹細胞、ES細胞に関して純度試験の一環として、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 感染症について検査し、否定試験をおこなった。また、本試験に加えて安全性の試験として、マイコプラズマ、エンドトキシン、細菌、真菌に関しても否定試験を実施している。現在までに陽性の細胞株はなく、作業工程の安全性バリデーションの一環として有用であることが示された。今後も培養している細胞株については、定期的に検査を行なっていく。臨床研究に用いる細胞株や原材料に関しては、GLP グレードの純度試験体制の構築を検討する。

#### C. 3. 9. 3. 3 細胞・組織加工医薬品等の効力又は性能を裏付ける試験

細胞製剤の分化能検定システムの開発ならびに分化形質発現システムを通じた情報収集を行った。有効性の proof of concept を示すための試験系の構築に注力した。

#### C. 3. 9. 3. 4 細胞加工医薬品等の体内動態

実験動物での吸収および分布等の体内動態に関する試験等により、患者等に適用された製品中の細胞・組織の生存期間、効果持続期間を推測した。特に移植細胞の目的臓器への生着 (有効性) と目的臓器以外への生着 (安全性) に関する検討は慎重に行う必要がある。そのため、実験動物の臓器ごとに Alu 解析を行った。現在までに有害事象が確認された例はない。

#### C. 3. 9. 3. 5 小児難治性疾患に対する再生移植療法応用

疾患モデル動物を用いて効果裏付け試験を行った。また同様に完全ヒト型培

養システムを確立するため培養環境の差異、細胞増殖へのアプローチ、遺伝子導入細胞寿命延長モデルから環境因子、添加因子、またヒトを細胞フィーダーとした培養モデルの作製を行った。これらのモデルを基に実際の臨床応用を想定した安全性の確認を行った。治療モデルはマウス、中動物 (ブタ) を用いた。

#### C. 3. 9. 4 成育疾患に対する細胞医療におけるヒト幹細胞加工製品指針等の活用実践からみた考察

再生医療における 5 指針のうち、我々は、「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ついて (平成 24 年 9 月 7 日薬食発 0907 第 2 号)」、「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ついて (平成 24 年 9 月 7 日薬食発 0907 第 3 号)」、「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 (平成 24 年 9 月 7 日薬食発 0907 第 6 号)」について、検討を行った。細胞の供給源として、胚性幹細胞 (ES 細胞)、体性幹細胞を対象とした。本研究班では ES 細胞及び体性幹細胞、それぞれの指針に準拠した体制を構築した。ES 細胞はその増殖能、多分化能より、将来的に期待されており、最適のドナー細胞の選択肢となりつつある。ヒト ES 細胞をはじめとする未分化性の非常に高いヒト細胞は、再生医療での重要な細胞ソースとなるばかりでなくその培養システムや発生分化研究等のヒト発生メカニズム探求や創薬開発研究の基盤となる。より安全性の高い再生医療基盤を社会へ提示することが可能となる。

#### C. 3. 9. 5 成育疾患に対する細胞医療におけるヒト幹細胞加工製品指針等の活用実践小括

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ますます強くなっている。その中で、わが国をあげて再生医療の実用化に向けた動きが急速に進められており、特にヒト由来の体性幹細胞、ES 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。「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ついて（平成 24 年 9 月 7 日薬食発 0907 第 2 号）」、「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ついて（平成 24 年 9 月 7 日薬食発 0907 第 3 号）」、「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（平成 24 年 9 月 7 日薬食発 0907 第 6 号）」の各指針に基づきヒト細胞製剤の実用化のために必要な要件を開発初期から示すことは、これらをより迅速に実用化するために必須である。ヒト幹細胞の細胞・組織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ふまえて、原料細胞それぞれに特化した形でまとめる必要がある。ES 細胞を用いて研究を行う事ができる施設は限られている。そうした社会的状況からも本研究成果は極めて独創的であり、我々の打ち立てる有効性、安全性評価の基準が世界標準となる可能性が高く、再生医療を大きく推進するための原動力となる。

### C. 3. 10 再生医療等製品の品質管理と規制への対応

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。本研究分担では、再生医療等製品の品質管理と規制への対応を、低分子医薬品を参考にしつつ検討を加えた。とくに、再生医療等製品は、承認経験がほぼ皆無であるため、承認申請フォーマットもいまだ整備されていない。本分担研究では、脂肪組織由来多系統前駆細胞を用いる細胞製剤に適合させた承認申請 package について議論することを目的とする。

#### C. 3. 10. 1 申請 package は CTD で

再生医療等製品の申請にあたり、低分子医薬品の申請 package である CTD と医療機器の申請 package である STED のいずれかを採用して参考にすることとなろう。本研究では、薬剤加培養脂肪組織由来多系統前駆細胞を用いた経冠動脈的投与であるため、医薬品の申請 package である CTD を参考に議論を進めることとした。

#### C. 3. 10. 2 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の

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。

### C. 3. 10. 3 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。品質・有効性・安全性のデータをいかに信頼性のあるものに積み上げていくか、開発の時系列に沿って示した（図1）。

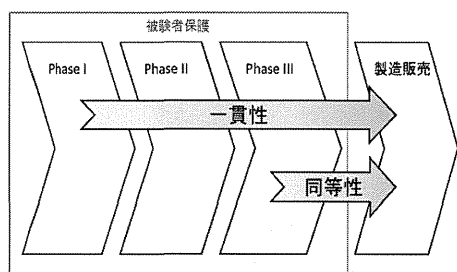


図1 一貫性と同等性

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。

### C. 3. 10. 4 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。

### C. 3. 10. 5 CTD(Common Technical

## Document)

CTD (Common Technical Document) (図2)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。

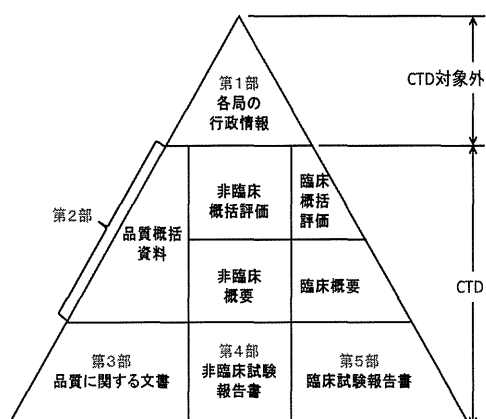


図2 CTD package

### C. 3. 10. 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。

### C. 3. 10. 6 再生医療製品における品質の確保

#### C. 3. 10. 6. 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る、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、指針等に書か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。

### C. 3. 10. 6. 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は記載されているが、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塞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仮定しても（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っては、局方に基づいて行うのが望ましい。ただし、局方と同等であると確認された試験法であれば、局方でなくとも品質管理に用いることが可能である。局方でなければならないのではなく、局方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。

#### C.3.10.6.3 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重要である。

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っ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」こととなる。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。

#### C. 3. 10. 6. 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、明らかにすることは、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。

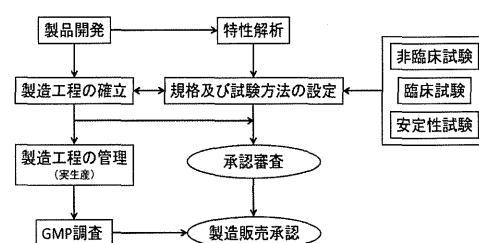
目的とする細胞・組織以外の原材料及び製造関連物質とは、培地であったりサイトカインであったり、場合によってはフィーダー細胞もこれに該当する。目的とする細胞・組織以外の原材料及び製造関連物質を明らかにし、その適格性を示すとともに、必要に応じて規格を設定し、適切な品質管理を行うことが必要であると記載されている。受け入れ規格の設定と受け入れ試験が製造の間では行われることとなる。生物由来製品又は特定生物由来製品を原材料として使用する場合は、「生物由来原料基準」(平成15年厚生労働省告示第210号)をはじめとする関連法令及び通知を遵守することとなっている。同告示は薬事法42条に基づく告示であるため、生物製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い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。

### C.3.10.7 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。



### C.3.10.8 小括

開発している脂肪組織由来多系統前駆細胞は、経冠動脈的に重症心不全患者に投与される自己由来体性幹細胞製剤である。投与方法から鑑みると、医薬品申請 package になじむと想定される。議論を進めても、CTD package に載せても不都合はないとの結論になった。

### C.3.11 ヒト多能性幹細胞の臨床応用に向けた研究・開発の動向と留意点

ヒト多能性幹細胞すなわち、ヒト胚性幹（embryonic stem, ES）細胞およびヒト人工多能性幹（induced pluripotent stem, iPS）細胞の臨床応用

への期待は大きく、関連する規制整備を適切かつ早急に推進することが求められている。一般に規制、特に品質および安全性の確保にかかる規制については、科学的小および技術的な状況に立脚した現実的なものである必要がある。従って、再生医療等製品の原材料としてのヒト多能性幹細胞については、それらが従来には臨床目的で使用されたことがなかった新しいものであることに加え、現時点でも研究および開発の面で急速な進歩を遂げているものであるということは、当該分野の規制整備を行う上で常に強く意識されなければならないことである。

具体的方策の一つとして、指針等の文中にこの考え方を明示しておくことによって、実際の製品開発案件ごとの運用を行う際にこの考え方を反映させることができる。例えば、2012年9月7日に発出された「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」および「ヒト(自己/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」においては、「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」との記載が「はじめに」として指針の冒頭部分に掲げられている。

もう一つの方策は、研究・開発の動向を常に収集し、規制科学の専門的見地からこれを分析して一般性を持ち得る内容を抽出し考察を加え、適切なオーソライズがなされた上で規制に反映してゆくことによって科学的合理性を確保してゆくことである。ここで扱われるべき情報はいわゆる科学論文にとどまらず多岐にわたり、また、様々な立場や観点から発信されるものであるため、これらを規制科学の立場からレビューする作業が重要となる。

### C, 3. 11, 1 ヒト多能性幹細胞由来製

#### 品の品質および安全性確保の観点からみた原材料としてのヒト多能性幹細胞の留意点

ES細胞及びiPS細胞の品質管理は、それらを用いた再生医療の実現における重要な関心事項となっている。当該分野は基礎研究の革新的成果が短期間のうちに臨床応用の実現という文脈で議論されるに至ったことから、通常、製品の原材料の品質管理という議論に参画している規制当局の担当者や製造業者の開発担当者に加えて、製品開発(ものづくり)には無縁であったアカデミア等の基礎研究者も議論に中核的に参画しているという特徴がある。このことが原因であるか否かはここで論ずるべきことではないが、ES細胞およびiPS細胞の品質管理についての議論にしばしば混乱が生じることに注意が必要である。

この理由の一つとして、以下のことが考えられる。ES細胞やiPS細胞の重要な特性として、分化多能性と自己複製能がある。従って、ある細胞株を増幅し、これを様々な用途に用いることができるし、実際、そのような使い方を想定して、具体的な用途は未定のままに細胞株を樹立、保管、分配する計画が進められている。UK stem cell bankによるものや、京都大学iPS細胞研究所によるものなどである<sup>35)</sup>。一方、規制における「品質」の語は、「意図した用途への適切さのこと。あるいは、製品等において、性質の組み合わせが要求事項を満たす程度のこと」と定義される。すなわち、「品質」とは用途や製品が具体的に決まってい初めて論じることができるという立場である。このことから、用途あるいはそれを原材料とする製品が未確定なままであるES細胞やiPS細胞に関して、「品質」の語をあてて論じすることは、規制における「品質」の定義に沿うならば矛盾が生じざるを得ないことになる。勿論、提供者への説明・同意取得が適切になされていることや、培養関連試薬等のうち生物由来であるもののトレーサビリティが確保されていること、微生物