

厚生労働科学研究費補助金（医療技術実用化総合研究事業）
分担研究報告書

重症心不全を適応症とする経冠動脈的投与再生医療等製品に関する評価指標

研究分担者

大阪大学臨床医工学融合研究教育センター 招聘教授 松山晃文

研究要旨

平成 24 年 5 指針の非臨床試験 part はハイレベルなガイドラインとなっている。本評価指標では、経冠動脈手的に投与される再生医療等製品に特化し、循環動態評価のための安全性コアバッテリー評価に関し、詳細に書き込みを行った。本評価指標の提案により、経冠動脈手的に投与される再生医療等製品の研究開発の加速がもたらされる。

A．研究目的

重症心不全を適応症とする経冠動脈的投与再生医療等製品に特化した評価指標はなく、研究開発に逡巡を与えるものだった。本研究により、開発者側から詳細な基準を提示することを目標とする。

B．研究方法

本研究分担者である早川堯夫らが主体となった作成したいわゆる平成 24 年 5 指針をベースに、重症心不全を適応症とする経冠動脈的投与再生医療等製品に関する評価指標に特化して詳細な基準を提示することとする。

（倫理面への配慮）

1. 非臨床試験（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。

2. 動物操作に当たっては、（独）医薬基盤研究所の動物実験規定に従って行なう。
3. 臨床試験の実施にあつては、計画書（プロトコール）に関して医学倫理委員会での承認を受け、本人の書面による informed consent を取得した患者のみを対象とする。

C．研究結果

1．はじめに

ヒト由来細胞・組織を加工した再生医療等製品（以下「再生医療等製品」という。）の品質及び安全性を確保するための基本的な技術要件は、平成24年9月7日付け薬食発0907第2~6号厚生労働省医薬食品局長通知に定められているところである。

本評価指標は、ヒト由来再生医療等製品

のうち特に重症心不全等の治療を目的として心臓に適用されるものであって経冠動脈的に投与する細胞懸濁製品について、上述の基本的な技術要件のうち当該製品に特有の留意すべき事項を示すものである。

2．本評価指標の対象

本評価指標は、重症心不全治療を目的として適用される再生医療等製品のうち、特に経冠動脈的に投与する細胞懸濁製品について、基本的な技術要件に加えて品質、有効性及び安全性の評価にあたって留意すべき事項を示したものである。重症心不全とは、一般にNYHA 分類で Ⅱ度以上のものをいうが、製品の適応疾患については、単に重症心不全とするのではなく、例えば、NYHA 分類で Ⅲ度以上、左室駆出率(LVEF) 40%未満、内科的には治療手段がない等、既存の治療方法も考慮し、適切かつ具体的な基準を設定すること。

3．本評価指標の位置づけ

本評価指標は、技術開発の著しいヒト由来再生医療等製品を対象とするものであることを勘案し、留意すべき事項を網羅的に示したのではなく、現時点で考えられる点について示している。よって、今後の更なる技術革新や知見の集積等を踏まえ改訂されるものであり、申請内容に関して拘束力を有するものではない。

製品の評価にあたっては、個別の製品の特性を十分理解した上で、科学的な合理性をもって柔軟に対応することが必要である。なお、本評価指標の他、国内外のその他の関連ガイドラインを参考にすることも考慮すべきである。

4．用語の定義

本評価指標における用語の定義は平成24年9月7日付け薬食発0907第2-6号厚生労働省医薬食品局長通知の定義による他、以下のとおりとする。

(1) 心不全：心臓自体の障害により心臓のポンプ機能が低下した結果生じる循環不全であって、組織・臓器が必要とする酸素や血液を十分に供給できな

くなった状態をいう。心不全の重症度の評価方法としてはNYHA 分類等臨床症状による方法や血清学的検討、ないし心筋運動の画像的評価等による方法等が考えられる。

(2) 細胞懸濁液：目的細胞を細胞基液に懸濁させたものをいう。

(3) 細胞基液：目的細胞を懸濁するためのものをいう。

5．評価に当たって留意すべき事項

(1) 製品の品質管理

細胞懸濁液の品質管理における留意点として、例えば以下に挙げた事項が考えられるが、必要かつ適切であれば別の試験項目の採用又は追加を検討すること。なお、各試験項目の設定根拠及び試験方法の妥当性については説明する必要がある。

形状について

必要な細胞の分散性、凝集性等の適切な項目を製品の特性に応じて設定すること。

細胞濃度について

細胞濃度等について規格を設定すること。特に、経冠動脈的投与においては、微小塞栓症状のリスクがあることから、細胞濃度の一貫性は重要である。

構成細胞及び細胞の分化度について

構成細胞のポピュレーション分布の定量的規格を設定し、定量的PCR法あるいはフロ

ーサイトメトリー法等により、それを確認すること。また、細胞特異的マーカーに対する定量的PCRあるいは抗体等を用いて目的細胞の分化状態を確認し、可能であれば製品に必要とされる細胞特性についても規格を設定すること。細胞から産生される因子等が有効性に寄与する可能性が想定される場合には、産生量と臨床試験効果との相関性に関する情報を収集すること。

細胞懸濁液の運搬について

細胞懸濁液を運搬する場合には、運搬容器及び運搬手順（温度管理等を含む。）等を定め、容器内の環境等が適切に管理され、製品の品質、有効性及び安全性が確保されることを示すこと。

細胞懸濁液の投与について

経冠動脈的投与により細胞懸濁液を投与する場合、臨床利用と同一あるいは同等である投与機器を用い、投与機器通過前と通過後の生存率および純度に関して、あらかじめ評価しなければならない。

（2）非臨床試験

動物に細胞懸濁液を経冠動脈的に適用して安全性及び有効性を評価する際には、対象疾患を考慮して健常動物あるいは疾患モデル動物を利用すること。

疾患モデル動物作製方法の例として、冠動脈結紮、血管閉塞あるいはクライオ傷害法による心筋梗塞モデル又はoverdriving法による心筋梗塞モデル又は薬剤による拡張型心筋症モデル等が挙げられるが、用いた動物モデルについては、その選択の根拠をMOAから議論し、試験系の妥当性及び得られた結果のヒトへの外挿性について説明する必要がある。なお、安全性の評価については、細胞懸濁液投与で懸念される事項である微小塞栓症とそれに続く心筋梗塞について安全性およびその

回復について評価する必要があることから、心筋の状態が健常である動物を利用することが合理的である。ただし、疾患モデル動物を用いることがより合意理的であると議論される場合には、この限りではない。

安全性および有効性の評価のために、細胞懸濁液を適用した群、細胞基液を適用した対照群、さらに必要であればsham オペ群を用いた比較試験を実施すること。評価期間についても、その設定根拠について説明すること。投与した細胞懸濁製品とそれによってもたらされる効能について、細胞懸濁液に含まれる細胞の心筋組織内における局在性を確認するなど経時的に評価し、その関連性について考察すること。また、動物試験は投与機器に関する試験の意味合いも含んでいることから、動物への適用は、可能な限り臨床での投与機器で行うことが望ましい。評価項目としては、例えば以下を検討することが考えられるが、必要かつ適切であれば別の試験項目の採用又は追加を検討すること。

形態学的評価

細胞懸濁製品を適用した部位の組織学的検討を行い、適用部位及び周辺組織の状態を評価すること。例えば、適用部位における投与細胞の生着あるいは生着分化、適用心筋内の線維変性及び炎症細胞の浸潤の有無、心筋組織の変化（形状、厚み、細胞数、あるいは分化状態など）の検討を行うことも考えられる。

催不整脈性の評価

催不整脈性に関しては、普遍的に受容されたモデル動物は確立されていないため、（イヌまたはブタなど健常中大動物あるいは対象疾患等を考慮して作成した疾患モデル中大動物を用いて評価すること。

例えば、細胞懸濁製品の適用前後における、各群の長時間の心電図記録をホルター心電図等を用いて比較し、不整脈の有無と重症度について検討すること等が考えられる。ヒト心臓とイヌあるいはブタの心臓の解剖学的位置を勘案し、不整脈を評価するためにもっとも適切な誘導での心電図情報の収集がなされること。不整脈にかかる重症度分類に関しては、ヒト不整脈の評価に一般的に用いられている手法を援用することにより。

血清学的評価

一般的に利用されているマーカー因子を用いて、腎機能、肝機能、急性心筋障害、慢性心筋障害等について評価すること。当該血清学的評価指標は、非臨床試験から臨床試験へ外挿性を有するものであるべきである。なお、細胞懸濁製品の経冠動脈的投与でもっとも議論される微小塞栓による梗塞発症を評価するため、製品投与以外の非臨床試験における介入がbaselineに影響を与えないかを議論し、与える可能性の少ない指標を選択して議論を進める必要がある。

心機能、血流評価

心機能に関しては、心臓超音波検査や造影MRI等によって壁局所を含む収縮能ないしは拡張能を評価する必要がある。その他要すれば左室内腔短縮率、左室壁運動等の評価を検討すること。また、血行再建が作用態様である場合、目的とする疾患、効能及び効果に応じて細胞懸濁製品適用後における血流を評価すること。評価法としては、例えばFDG-PETによる検討、あるいは心臓超音波検査等が考えられる。また、当該有効性が持続する期間についても検討すること。

細胞懸濁液の使用方法、使用量等に関する評価

梗塞・拡張等の部位・面積等に対し、適切な細胞投与用量等を検討すること。

(3) 臨床試験 (治験)

治験実施計画書 (安全性及び有効性の評価項目を含む。) は、対象疾患、目的とする効能及び効果、当該治療法に期待される臨床上的位置付け等を明確にした上で、それらに応じた評価項目を設定し、非臨床データ等も踏まえて適切に計画されるべきである。

重症心不全患者は重篤であって、placebo controlを置いたdouble blind試験が、倫理的に許容的ない場合がある。その際には、生物統計的手法を用いて適切な値および値が設定され望ましい症例数が算定できるなら、同一症例の前後比較を評価指標としたsingle arm試験で実施されることを妨げない。

有効性の評価にあっては、投与局所を含む心筋壁運動の改善を指標とするばあいがあるが、壁運動が改善されなくとも心不全が改善されている場合がある。

心不全とは、心機能の異常によって末梢臓器組織の需要に応じた血液の供給ができない、あるいは臓器間での血液分布の不均衡が生じた結果生じる「臨床症候群」と定義される疾患であり、高拍出型心不全も臨床的に認められるように、心壁運動が改善されていないからといって一概に有効性の否定はできない。そのため、有効性にかかるend-pointに関しては、ケースバイケースであることを念頭に、事前に相談されることを推奨する。

安全性の評価にあっては、特に被験者の心筋と適用した細胞懸濁液の細胞の間での不適切な電氣的結合等の原因により、致死的不整脈が誘発される可能性が否定できな

いことから、細胞懸濁液製品の適用前後の適切な時期に継続的に心電図等の不整脈に関する電気生理学的検査等を実施すること。検査方法としては、標準12誘導心電図、ホルター心電図、加算平均心電図、T波交互脈(T wave alternans)などがある。また、必要に応じて抗不整脈薬の投与または植込み型除細動器の挿入等の緊急時の対応についても検討すること。また、用いる細胞によっては腫瘍または異所性組織分化の有無を確認すべき場合もあるため、必要に応じて、細胞懸濁液製品の適用後に定期的に検査等(例えばCT検査等)を実施することを検討すること。

D . 考察

平成24年5指針は、特に非臨床試験 part がハイレベルなガイドラインとなっており、開発者側も規制側も審査に頭を悩ませていた。本評価指標では、一般安全性(毒性)試験に加え、循環動態評価のための安全性コアバッテリー評価に関し、詳細に書き込みを行うことができた。

E . 結論

本評価指標の提案により、経冠動脈手的に投与される再生医療等製品の研究開発の加速がもたらされる。

F . 健康危険情報

該当なし

G . 研究発表

1 . 論文発表

A) Hayakawa T, Aoi T, Umezawa A, Ozawa K, Yoji Sato, Sawa Y, **Matsuyama A**, Yamanaka S, Yamato M. Study on ensuring the quality and safety of pharmaceuticals

and medical devices derived from processing of autologous human somatic stem cells, Regenerative Therapy 1, in press

B) Hayakawa T, Aoi T, Umezawa A, Ozawa K, Yoji Sato, Sawa Y, **Matsuyama A**, Yamanaka S, Yamato M. Study on ensuring the quality and safety of pharmaceuticals and medical devices derived from processing of allogenic human somatic stem cells. Regenerative Therapy 1, in press

C) Hayakawa T, Aoi T, Umezawa A, Ozawa K, Yoji Sato, Sawa Y, **Matsuyama A**, Yamanaka S, Yamato M. Study on ensuring the quality and safety of pharmaceuticals and medical devices derived from processing of autologous human induced pluripotent stem (-like) cells. Regenerative Therapy 1, in press

D) Hayakawa T, Aoi T, Umezawa A, Ozawa K, Yoji Sato, Sawa Y, **Matsuyama A**, Yamanaka S, Yamato M. Study on ensuring the quality and safety of pharmaceuticals and medical devices derived from processing of allogenic human induced pluripotent stem (-like) cells. Regenerative Therapy 1, in press

E) Hayakawa T, Aoi T, Umezawa A, Ozawa K, Yoji Sato, Sawa Y, **Matsuyama A**, Yamanaka S, Yamato M. Study on ensuring the quality and safety of pharmaceuticals and medical devices derived from processing of human embryonic stem (-like) cells. Regenerative Therapy 1, in press

F) Kono K, Takada N, Yasuda S, Sawada R, Niimi S, **Matsuyama A**, Sato Y. Characterization of the cell growth analysis for detection of immortal cellular impurities in human mesenchymal stem cells. Biologicals. 2014 Dec 16.

G) Okura H, Soeda M, Morita M, Fujita M, Naba K, Ito C, Ichinose A, **Matsuyama A**. Therapeutic potential of human adipose tissue-derived multi-lineage progenitor cells in liver fibrosis. Biochem Biophys Res Commun. 2014 Dec 6

H) Moriyama H, Moriyama M, Isshi H, Ishihara S, Okura H, Ichinose A, Ozawa T, **Matsuyama A**, Hayakawa T. Role of notch

signaling in the maintenance of human mesenchymal stem cells under hypoxic conditions. *Stem Cells Dev.* 2014 Sep 15;23(18):2211-24.

- I) Ozasa M, Sawada K, Iwayama T, Yamamoto S, Morimoto C, Okura H, **Matsuyama A**, Komoda H, Lee CM, Sawa Y, Kitamura M, Hashikawa T, Takedachi M and Murakami S. Periodontal tissue regeneration by transplantation of adipose tissue-derived multi-lineage progenitor cells. *Inflammation and Regeneration*, 2014, in press
- J) Moriyama M, Moriyama H, Uda J, **Matsuyama A**, Osawa M, Hayakawa T. BNIP3 plays crucial roles in the differentiation and maintenance of epidermal keratinocytes. *J Invest Dermatol.* 2014 Jun;134(6):1627-35. doi: 10.1038/jid.2014.11. Epub 2014 Jan 8.
- K) Shudo Y, Miyagawa S, Ohkura H, Fukushima S, Saito A, Shiozaki M, Kawaguchi N, Matsuura N, Shimizu T, Okano T, **Matsuyama A**, Sawa Y. Addition of Mesenchymal Stem Cells Enhances the Therapeutic Effects of Skeletal Myoblast Cell-Sheet Transplantation in a Rat Ischemic Cardiomyopathy Model. *Tissue Eng Part A* 20(3-4) 728-39 2014
- L) 大倉華雪・**松山晃文** 細胞医療での申請にあたっての注意点—品質の観点から— 先進医療 NAVIGATOR II 再生医療・がん領域の実用化への TOPICS 2014. pp5-8
- M) 大倉華雪 **松山晃文** :「再生医療の開発および規制の歴史」再生医療規制の動向と製品開発および産業化の注意点. 情報機構 (印刷中)
- N) 大倉華雪 **松山晃文** :「再生医療にかかる規制の現状」日本臨床 (印刷中)
- O) 大倉華雪 **松山晃文** :「再生医療製品の品質管理と規制への対応」再生医療事業の課題解決のための手引書. 技術情報協会 (印刷中)

2. 学会発表

【松山晃文】

1. 「ヒト ES/iPS 細胞由来細胞製剤の品質管理」(招待講演)NPO バイオチップコンソーシアム事務局・2014/4/22
2. 「再生医療からみた規制政策・知財戦略」(独) 医薬基盤研究所・2014/06/06
3. 「再生医療とレギュレーション」(招待講演) 神戸ポートアイランド創薬フォーラム・2014/6/16
4. 「先進医療 B とトランスレーショナルリサーチの実際」東京大学 CRC 講習会 2014/06/26
5. 「創薬支援に向けたヒト由来試料の位置付けについて」厚労科研 (創薬支援のためのバイオリソースデータベースのネットワーク整備と政策・倫理課題に関する研究) 班会議・2014/07/09
6. 「再生医療のこれから」島津製作所内部セミナー・2014/07/25
7. 「再生医療のビジネスモデル」(招待講演) ヒューマンサイエンス振興財団・2014/7/22
8. 「再生医療とレギュラトリーサイエンス」(招待講演) 第 67 回日本酸化ストレス学会学術集会・2014/9/5
9. 「再生医療法の成立と薬事法の再生医療等製品区分の創設 その展望と課題 - アカデミアの立場から - 」(招待講演)・2014/9/6
10. 第 4 回学術大会シンポジウム 一般社団法人レギュラトリーサイエンス学会・2014/9/6
11. 「再生医療分野における法規制のフレームについて」(招待講演) 第 14 回 CRC と臨床試験のあり方を考える会議 2014 日本 SMO 協会・2014/10/4
12. 「再生医療と非臨床試験」(招待講演) 第 10 回霊長類医科学フォーラム 医薬基盤研究所霊長類医科学研究センター2014/11/12
13. 「ヒト由来の生物資源の知財等の環境について」ワークショップ、TKP 品川カンファレンスセンター・2014/11/17
14. 「再生医療のこれまでとこれから」(招待講演)

第 44 回日本医事法学会大会 日本医事法学会・2014/11/30

15. 「ヒト多能性幹細胞を用いる再生医療製品での品質管理 A Case Study」(招待講演)バイオロジクスフォーラム第 12 回学術集会・2014/12/12
16. 「再生医療における品質管理の考え方」(招待講演)第 1 回再生医療産業化展セミナー・2015/2/4
17. 「創薬・再生医療と知財」(講義)東京大学大学院教育学研究科・2015/2/14
18. 「再生医療 その規制と知財」(講義)東京医科歯科大学セミナー・2015/2/24
19. 「再生医療 その規制と知財」(招待講演)熊本大学平成 26 年度臨床研究センター/付属病院総合臨床研究部キックオフ合同シンポジウム・2015/3/6
20. 「iPS 細胞由来再生医療等製品の品質と安全性」(招待講演)第 18 回バイオメディカル研究室・2015/3/17

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