

プルで受領後、解凍して 2 日間培養し、トリプシン処理して細胞を分散し、0.33%軟寒天培地にディッシュあたり 2×10^4 個播種した。3 週間培養後に、コロニー数を数えて軟寒天培地におけるコロニー形成率を求めた。同時に、液体培地にディッシュあたり 100 細胞播種し、8 日目に固定・染色してコロニー数を数えて液体培地におけるコロニー形成率を求めた。

ロット番号:070927 F:

その結果、軟寒天培地および液体培地それぞれにおけるコロニー形成率から求めた軟寒天コロニー形成率は 0%であり、陽性判定基準の 1%以下であった。また、被験細胞がコロニーを形成するために必要な細胞増殖性の有無を確認するために、ファイブロネクチンコートディッシュと、コートされていないディッシュの 2 種類を用いて細胞を継代培養し、細胞分裂回数を調べた。その結果、いずれの種類のディッシュでも軟寒天コロニー形成試験の培養期間である 3 週間で 6 回以上の分裂を示し、コロニーの判定基準である 50 細胞以上より成る細胞集団を形成するのに必要な増殖能 ($2^6=64$ 細胞) を有することが示された。陰性対照に用いた BALB/3T3 A31-1-1 細胞および陽性対照に用いた BMT50 細胞 (BALB/3T3 A31-1-1 細胞由来の形質転換株) の軟寒天コロニー形成率は、それぞれ 0%と 86.3%と試験成立条件を満たしたことから、本試験条件において軟寒天コロニー形成能を正しく評価できていると判断した。

ロット番号:081009 M:

その結果、軟寒天培地および液体培地それぞれにおけるコロニー形成率から求めた軟寒天コロニー形成率は 0%であり、陽性判定基準の 1%以下であった。

また、被験細胞がコロニーを形成するために必要な細胞増殖性の有無を確認するために、ファイブロネクチンコートディッシュと、コートされていないディッシュの 2 種類を用いて細胞を

継代培養し、細胞分裂回数を調べた。その結果、いずれの種類のディッシュでも 6 回以上の分裂を示し、コロニーの判定基準である 50 細胞以上より成る細胞集団を形成するのに必要な増殖能 ($2^6=64$ 細胞) を有することが示された。

陰性対照に用いた BALB/3T3 A31-1-1 細胞および陽性対照に用いた BMT50 細胞 (BALB/3T3 A31-1-1 細胞由来) の軟寒天コロニー形成率は、それぞれ 0%と 86.3%と試験成立条件を満たしたことから、本試験条件において軟寒天コロニー形成能を正しく評価できていると判断した。

ロット番号:090420 F:

その結果、軟寒天培地および液体培地それぞれにおけるコロニー形成率から求めた軟寒天コロニー形成率は 0.00167%であり、陽性判定基準の 1%以下であった。また、被験細胞がコロニーを形成するために必要な細胞増殖性の有無を確認するために、ファイブロネクチンコートディッシュと、コートされていないディッシュの 2 種類を用いて細胞を継代培養し、細胞分裂回数を調べた。その結果、いずれの種類のディッシュでも軟寒天コロニー形成試験の培養期間である 3 週間で 6 回以上の分裂を示し、コロニーの判定基準である 50 細胞以上より成る細胞集団を形成するのに必要な増殖能 ($2^6=64$ 細胞) を有することが示された。陰性対照に用いた BALB/3T3 A31-1-1 細胞および陽性対照に用いた BMT50 細胞 (BALB/3T3 A31-1-1 細胞由来の形質転換株) の軟寒天コロニー形成率は、それぞれ 0%と 86.3%と試験成立条件を満たしたことから、本試験条件において軟寒天コロニー形成能を正しく評価できていると判断した。

以上の結果から、P5-ADMPC (ロット番号: 070927 F) (ロット番号:081009 M) (ロット番号: 090420 F) は、本試験条件下において、形質転

換の指標の一つである足場非依存性を示さないと結論した。

3.2.4.核型分析試験

培養過程における脂肪組織由来多系統前駆細胞の染色体の変化の有無を調べるために、核型分析試験を実施した。

ADMPCの培養過程で、細胞の細胞遺伝学的性状に変化が認められるか否かを調べるために、3ロットのADMPC（ロット番号：070927 F）（ロット番号：090420 F）（ロット番号：081009 M）を3、5、8継代にて核型分析を行った。1ロットのADMPC（ロット番号：070927 F）については3、5、8継代にて核型分析が実施可能であったが、2ロットのADMPC（ロット番号：090420 F）（ロット番号：081009 M）については、8継代にて作製した標本にて分裂細胞が認められなかったため、標本観察は実施しなかった。3ロットで染色体数の最頻染色体数は46本であり、2ロット（ロット番号：070927 F）（ロット番号：090420 F）に関しては、その頻度は培養にて変化せず、培養工程で細胞遺伝学的性状に変化は生じていないと結論した。1ロット（ロット番号：081009 M）については、8継代での染色体数の観察はできなかったが、培養過程で染色体数の最頻染色体数は46本であるもののその頻度が低下しており、細胞遺伝学的性状の変化が生じているものの、これら3ロットでの造腫瘍試験は陰性であり、安全性にかかる問題はないと考えられる。

3.2.5.Comparative Genomic Hybridization (CGH)試験

ADMPCの培養過程で、細胞の細胞遺伝学的性状に変化が認められるか否かを調べるために、3ロットのADMPC（ロット番号：

070927 F）（ロット番号：090420 F）（ロット番号：081009 M）を3、5、8継代にてCGH試験を実施した。核型分析にて細胞遺伝学的性状に変化を認めたロットを含む3ロットすべてで、3継代と5継代の比較、5継代と8継代の比較、および3継代と8継代の比較で、遺伝子の重複、欠損を認めなかった。

3.2.6.核型分析試験

ADMPC（ロット番号：081009M）（ロット番号：090420F）（ロット番号：070927F）を10匹のヌードマウスの皮下に 10^7 個/匹接種し、85日間、造腫瘍性の有無を観察した結果、全例で腫瘍性増殖はみられなかった。また、試験系の確認のために陽性細胞としてヒト子宮頸部癌細胞（HeLaS3）あるいは陰性細胞としてヒト胎児肺正常2倍体（MRC-5）を接種する群を設定した。その結果、陽性細胞接種群の全例の接種部位皮下に腫瘍性増殖が認められた。一方、陰性細胞接種群の全例で腫瘍性増殖は認められなかったことから、この試験は成立すると判断した。

以上の結果から、本試験条件下ではADMPC（ロット番号：081009M）（ロット番号：090420F）（ロット番号：070927F）を接種することにより、腫瘍形成は認められなかった。従って、ADMPC（ロット番号：081009M）（ロット番号：090420F）（ロット番号：070927F）は造腫瘍性を有さないことが明らかとなった。

なお、本試験はWHO-TRS878の改定が行われる前に（財）食品薬品安全性センターにてGLP試験として旧ガイドラインのもと行われている。

参考文献

- 1) WHO Expert Committee on Biological Standardization 47th Report. WHO Technical Report

Series No. 878. 1998. p. 41-3.

- 2) 小林茂保、早川 堯夫ら. バイオ医薬品及び産生細胞の品質・安全性評価方法. 株式会社エル・アイ・シー; 1992. p. 88.

3.3. 薬物動態及び薬物代謝

本試験物の体内動態試験は現在計画中である。薬物代謝に関しては、本試験物は吸収・分布・排泄の経路を介してその効果を発揮するものではないため、当該試験は不要と判断した。またADMPCのヌードラットを用いた単回投与毒性試験、同種移植への外挿性を担保するラット同等製剤である脂肪組織由来多系統前駆細胞 (mlewrADMPC) のBrown Norwayラットにおける単回静脈内投与毒性試験においても、本試験物投与に起因する全身への影響は認められなかった。したがって、安全性の観点からも、本試験物が投与部位以外に作用し影響を及ぼす可能性はないと考え、当該試験の実施は不要と判断した。

4. 臨床成績

4.1. 薬物動態及び薬物代謝

本試験物では、健常人または患者における薬物動態試験及び薬物代謝試験は実施していない。

4.2. 安全性及び有効性

4.2.1. 先行する治験にて得られた安全性、薬力学、有効性及びに用量反応性に関する情報の要約

これまで、国内及び海外において本試験物の臨床試験は実施していない。

4.2.2. 可能性のある危険性及び予期される副作用

本試験物投与に関する副作用の発生状況

に関しては、現段階では、参考となる情報はないが、これまでに本試験物とは投与形態が異なるが、山口大学や山形大学にて骨髓由来非培養単核球移植が実施されており、それらの臨床研究における有害事象などから、以下のような有害事象や副作用が発生する可能性があるると予測される（頻度不明）。

- 1) 肺塞栓症
- 2) 血栓症
- 3) 胸痛
- 4) 感染症
- 5) アレルギー反応
- 6) 高血圧
- 7) 呼吸困難
- 8) 持続性心室頻拍
- 9) 死亡
- 21) 低血圧
- 24) 脳血管イベント
- 27) 不快感

4.3. 併用薬剤に係わる予測される副作用

本試験においては、施術前から施術後にかけて、肝硬変症への一般的対症療法が行われる。これらの治療時に用いる併用薬剤の使用により予測される副作用および対処法に関しては、現在検討中である。

5. データの要約及び研究責任者へのガイダンス

5.1. データの要約

5.1.1. 物理的・化学的ならびに薬学的性質

本試験物は、健常ボランティア（ドナー）の腹部皮下脂肪組織に含まれる脂肪組織由来多系統前駆細胞を、体外で培養して増殖させた後にSTEM CELL BANKERにて細胞を懸濁し凍結したものであって、医療機関

にて解凍後に経静脈的投与するヒト（同種）由来細胞・組織加工医薬品である。

本試験物の外観は、乳白色半透明の懸濁液凍結剤であり、次に示すような性質を持つ。また、本試験物は、無菌試験、マイコプラズマ否定試験、エンドトキシン試験に適合する。

5.1.2. 薬理、毒性、薬物動態及び薬物代謝

1) 効力を裏付ける試験

四塩化炭素（CCl₄）慢性肝障害モデルを用い、その血中マーカーと肝線維化を組織学的に検討することで、本試験物の有効成分たるADMPCの有効性を検証した。血中Albumin、AST、ALTおよびT-Bil値を測定比較したところ、Albumin値に差は認められなかったが、肝逸脱酵素であるASTおよびALTはADMPC投与群で抑制されており、解毒の指標の一つである総ビリルビン値も抑制されていた。肝組織線維化の程度を比較評価ところ、ADMPC投与群で有意に肝線維化が抑制されていた。以上のように、本試験物投与の有効性が示唆されている。

2) 全身毒性試験

脂肪組織由来多系統前駆細胞懸濁液をNudeラットの尾静脈に投与した。投与後、一般状態観察、血液検査、病理解剖学的検査において、特筆すべき所見は認められていない。

3) 腫瘍化否定試験

継代数5の脂肪組織由来多系統前駆細胞を用いて作製した脂肪組織由来多系統前駆細胞懸濁液の細胞を被験物質として、Nudeマウスを用いた腫瘍化否定試験を実施した結果、いずれのロットを投与しても、投与した全てのマウスにおいて結節の増大は認

められなかった。

4) 軟寒天コロニー形成確認試験

継代数5の脂肪組織由来多系統前駆細胞を用いて作製した脂肪組織由来多系統前駆細胞懸濁液の細胞を被験物質として軟寒天コロニー形成確認試験を実施した結果、いずれのロットの細胞においても、足場非依存性の増殖を示すコロニーは出現しなかった。

5) 核型分析試験

ADMPCの培養過程で、細胞の細胞遺伝学的性状に変化が認められるか否かを調べるために、3ロットのADMPCを3、5、8継代にて核型分析を行った。1ロットについては3、5、8継代にて核型分析が実施可能であったが、2ロットについては、8継代にて作製した標本にて分裂細胞が認められなかったため、標本観察は実施しなかった。3ロットで染色体数の最頻染色体数は46本であり、2ロットに関しては、その頻度は培養にて変化せず、培養工程で細胞遺伝学的性状に変化は生じていないと結論した。1ロットについては、8継代での染色体数の観察はできなかったが、培養過程で染色体数の最頻染色体数は46本であるもののその頻度が低下しており、細胞遺伝学的性状の変化が生じているものの、これら3ロットでの造腫瘍試験は陰性であり、安全性にかかる問題はなとと考えられる。

6) Comparative Genomic Hybridization (CGH) 試験

ADMPCの培養過程で、細胞の細胞遺伝学的性状に変化が認められるか否かを調べるために、腫瘍化否定試験、軟寒天コロニー形成確認試験、核型分析試験と同一の3ロッ

トのADMPCを3、5、8継代にてCGH試験を実施した。3ロットすべてで、3継代と5継代の比較、5継代と8継代の比較、および3継代と8継代の比較で、遺伝子の重複、欠損を認めなかった。

7) 先行する臨床試験

これまで、国内及び海外において本試験物の臨床試験は実施していない。

5.2. 期待される効能効果・用法用量

5.2.1. 期待される効能効果

対象疾患は肝硬変である。

本試験物を肝硬変患者に経静脈的に投与することにより、肝炎・肝硬変における肝線維化の進行を抑制あるいは改善することが期待される。

5.2.2. 用法、用量

静脈より投与する。用量については現在検討中である。

5.3. 予想される禁忌、相互作用、副作用、過量投与に対する処置

5.3.1. 投与禁忌の患者

- 1) ウシにアレルギーのある患者
- 2) 抗生物質（アムホテリシンB、ゲンタマイシン）にアレルギーのある患者

5.3.2. 医薬品間及び食事の影響等による相互作用

臨床使用の経験がないことから、本試験物及び類似品（脂肪組織由来多系統前駆細胞）で相互作用は報告されていない。

5.3.3. 予想される副作用及びこれに対処す

るためのガイダンス

脂肪組織由来多系統前駆細胞懸濁液投与に関する副作用の発生状況に関しては、臨床試験が未実施であるため不明である。しかしながら、現段階では、参考となる情報が限られているため、本試験物とは態様が異なるが、非培養骨髄由来単核球を点滴静脈投与する臨床研究における細胞投与後の有害事象を以下に整理し、今後検討を加えることとする。

5.3.4. 過剰投与の影響及びこれに対処するためのガイダンス

免疫不全ラット（Nudeラット）を用いた全身毒性試験において、毒性学的意義のある変化は検出されていない。

D. 考察

これまで再生医療等製品の開発が進んでいなかった要因として、本研究報告にあるような概要書などの書式が提示されておらず、またHPなどでも入手できなかったことにある。本研究事業は、公的研究費により行われたものであり、ひとつの事業としてのoutputの未ならず、再生医療全体へのインパクトを与えるというoutcomeをもつ。本様式は常に使用できるわけではないが、これを参考に、わが国の再生医療の裾野が広がることが期待される。

E. 結論

肝硬変を対象疾患とし、経静脈的投与脂肪組織由来多系統前駆細胞を細胞医薬品として開発するため研究開発を実施してきた。本研究の到達点は治験届 package 構築であり、これまでに実施した有効性試験、非臨床安全性試験、ならびに品質にかかる part を統合し、試験物概要書として脂肪組織由来多系統前

駆細胞試験物概要書を提示した。本研究成果として提示することで、今後多くの再生医療等製品が開発され、多くの国民を救うと信じている。

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, Umezaw A, Ozaw 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, Umezaw A, Ozaw 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, Umezaw A, Ozaw 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, Umezaw A, Ozaw 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, Umezaw A, Ozaw 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) Kusakawa S, Machida K, Yasuda S, Takada N,; Kuroda T, Sawada R,; **Okura H**, Tsutsumi H, Kawamata S, Sato Y. Characterization of in vivo tumorigenicity tests using severe immunodeficient NOD/Shi-scid IL2Rgnull mice for detection of tumorigenic cellular impurities in human cell-processed therapeutic products
- K) 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
- L) 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. 情報機構 (印刷中)
- M) 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)

N) 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】

- A) 「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
- B) 「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
- C) 「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
- D) 「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
- E) 「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
- F) 「再生医療のこれから」島津製作所内部セミナー・2014/07/25
- G) 「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
- H) 「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
- I) 「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 その展望と課題ーアカデミアの立場からー」(招待講演)・2014/9/6
- J) 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
- K) 「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
- L) 「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
- M) 「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
- N) 「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
- O) 「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
- P) 「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
- Q) 「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
- R) 「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
- S) 「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
- T) 「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

Ⅱ. 委託業務成果報告（業務報告）

ADMPC 細胞製剤の有用性の検証・検討に関する研究

業務主任者 松山晃文 （（独）医薬基盤研究所 難病・疾患資源研究部 部長心得）
担当責任者 大倉華雪 （ 同部 難治性疾患治療開発・支援室 研究調整専門員）

研究要旨

これまで再生医療等製品の開発が進んでいなかった要因として、本研究報告にあるような概要書記載のためのフォーマットで有用性試験の報告をしてこなかったことにある。本研究事業では、ADMPC 細胞製剤の有用性の検証・検討の結果を取りまとめ、試験物概要書にて活用できる format として、報告する。

A. 研究目的

本分担研究では、脂肪組織由来多系統前駆細胞の有用性を示し、総括報告書として提示する製品概要書の主要 part を提示することにある。その研究期間終了時の到達点は治験届 package 構築である。

B. 研究方法

これまでに実施した有効性試験および非臨床安全性試験にかかる part を統合し、有用性の報告とする。

（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

序文

1 非臨床試験

1.1 薬理作用

1) 効力を裏付ける試験

四塩化炭素（CCl₄）による慢性肝炎モデルを用い、その肝線維化を組織学的に検討することで、本試験物の有効成分たる ADMPC の有効性を検証することとした。四塩化炭素モデルの特徴は、その持続投与により慢性肝障害環境下にあること、本剤後も四塩化炭素投与を継続することで、炎症

環境を維持することにある。(1, 2)

本モデルでは、ヒト由来細胞であるADMPCを投与するため、免疫不全動物を用いることとし、具体的にはNudeマウスを選択した。免疫不全状態は、NOD/SCIDマウスあるいはNOGマウスの方が厳しいものの、B細胞が欠損している場合は四塩化炭素投与による慢性肝障害が十分に評価できないと知られているためである。

8週齢のNudeマウスに四塩化炭素 (0.3 mL/kg) を週2回、6週間 (計12回) 腹腔内投与し、慢性肝障害モデルを作製する (レシピエント)。これにADMPCを尾静脈より投与した。この後も四塩化炭素投与は同様に6週間継続し、肝組織をマッソン・トリクローム染色とシリウス・レッド染色を実施、線維化の程度はシリウス・レッドにて染色される領域を線維化とし、組織面積に対するシリウス・レッド被染色領域の比率をもってADMPC投与・非投与対照群を比較評価した。コントロール群での線維化比率11%に対してADMPC投与群で2%と肝線維化が抑制されており、本試験物投与の有効性が示唆された。

1.2 毒性試験

1) ラット脂肪組織由来多系統前駆細胞 (mlewrADMPC) のBrown Norwayラットにおける単回静脈内投与毒性試験のための予備試験 ((財) 食品薬品安全性センターにて実施)

脂肪組織由来多系統前駆細胞の同種医薬品としての安全性評価を目的として、ラットにおける単回静脈内投与毒性試験を実施するにあたり、投与量ならびに投与速度を設定することを目的に予備試験を実施した。観察は投与日を観察第1日として観察第4日まで行った。2×10⁶ cells/mLの被験細胞

(male Lewis rat由来ADMPC: mlewrADMPC) を20 mL/kg、合計3例の雌ラットに87.0 mL/hrの投与速度で投与した結果、一般状態の観察では、いずれの動物にも異常はみられず、観察最終日まで死亡は認められなかった。また、観察期間中の体重も3例とも順調に推移した。病理学検査の結果、3例とも腎臓に両側性の腎盂の拡張が観察されたほか、2例で肺に暗色域あるいは暗色点がみられ、軽度であるが気腫様を呈していた。以上の結果から、2×10⁶ cells/mLのmlewrADMPCを20 mL/kgの容量、87.0 mL/hrの投与速度で投与しても、死亡を引き起こす可能性は少ないと考えられた。この試験の結果から本試験における投与容量を20 mL/kg、投与速度は87.0 mL/hrに設定した。

2) ラット脂肪組織由来多系統前駆細胞 (mlewrADMPC) のBrown Norwayラットにおける単回静脈内投与毒性試験 (GLP試験: (財) 食品薬品安全性センターにて実施)

脂肪組織由来多系統前駆細胞の同種医薬品としての安全性評価を目的として、Brown Norway系雌ラットに、同種異系統であるWistar Lewis雄ラット脂肪組織由来多系統前駆細胞 (以下、mlewrADMPC) あるいは、同種同系統であるBrown Norway系雄ラット脂肪組織由来多系統前駆細胞 (以下、mbnrADMPC) を単回静脈内投与し、2週間にわたって観察する毒性試験を実施した。2×10⁶ cells/mLのmlewrADMPC、mbnrADMPCあるいは媒体であるヘパリン加リンゲル液を、20 mL/kgの割合でそれぞれ10例ずつのBrown Norway系雌ラットに87.0 mL/hrの投与速度で投与し、観察は投与日を観察第1日として観察第15日まで行った。第15日に剖検した結果、腎臓の糸球体におい

て限局的な塞栓が、肺においてはmbnrADMPC投与群で重量の増加、mbnrADMPC投与群およびmlewrADMPC投与群で肺実質内に肉芽組織が観察された。これらの所見から、静脈内に投与された細胞は血流によって運ばれ、肺あるいは腎臓に定着した可能性が考えられた。一方、他の器官における組織像には、定着した細胞により引き起こされた毒性変化はみられなかった。その他、一般状態、体重、血液学的検査所見に毒性変化を伺わせる変化は認められなかった。

異個体異系統由来細胞投与により懸念される免疫反応については、胸腺、脾臓、下顎ならびに腸間膜リンパ節の組織には免疫異常を示唆する所見はなく、血中総タンパク量、アルブミン量および両者から算出されるグロブリン量、白血球数ならびに白血球百分率には変化はみられなかったことから、同種同系統および同種異系統由来の多系統前駆細胞の単回静脈内投与により、望ましくない免疫反応が生じる可能性は低いものと考えられた。

2.3 薬物動態及び薬物代謝

薬物動態に関しては、体内動態試験として実施することとしており、現在計画中である。

薬物代謝に関しては、本試験物は吸収・分布・排泄の経路を介してその効果を発揮するものではないため、当該試験は不要と判断した。またADMPCのヌードラットを用いた単回投与毒性試験、同種移植への外挿性を担保するラット同等製剤である脂肪組織由来多系統前駆細胞（mlewrADMPC）のBrown Norwayラットにおける単回静脈内投与毒性試験においても、本試験物投与に起因する全身への影響は認められなかった。

したがって、安全性の観点からも、本試験物が投与部位以外に作用し影響を及ぼす可能性はないと考え、当該試験の実施は不要と判断した。

試験物概要書記載事項

1.1. 試験物の化学名又は識別する記号等

識別する記号：脂肪組織由来多系統前駆細胞

1.2. 活性成分（本質）

脂肪組織由来多系統前駆細胞

1.3. 本臨床研究実施の根拠

1.3.1. 対象疾患

肝硬変症

1.3.2. 脂肪組織由来多系統前駆細胞懸濁液による治療

1) 動物を用いた試験系

四塩化炭素（CCl₄）による肝細胞直接障害モデルを用い、その肝線維化を組織学的に検討することで、本試験物の有効成分たるADMPCの有効性を検証することとした。四塩化炭素モデルの特徴は、その持続投与により慢性肝障害環境下にあること、ADMPC移植後も四塩化炭素投与を継続することで、炎症環境を維持することにある。

本モデルでは、ヒト由来細胞であるADMPCを投与するため、免疫不全動物を用いることとし、具体的にはNudeマウスを選択した。免疫不全状態は、NOD/SCIDマウスあるいはNOGマウスの方が厳しいものの、B細胞が欠損している場合は四塩化炭素投与による慢性肝障害が十分に評価できないとの報告があるためである。

8週齢のNudeマウスに四塩化炭素（0.3

mL/kg) を週2回、6週間(計12回)腹腔内投与し、慢性肝障害モデルを作製する(レシピエント)。これにADMPCを尾静脈より投与した。

この後も四塩化炭素投与は同様に6週間継続した。採血にて血中Albumin、AST、ALTおよびT-Bil値を測定比較するとともに、肝組織をマッソン・トリクローム染色とシリウス・レッド染色を実施、線維化の程度はシリウス・レッドにて染色される領域を線維化とし、組織面積に対するシリウス・レッド被染色領域の比率をもってADMPC投与・非投与対照群を比較評価した。なお、マッソン・トリクローム染色では、線維は青色に染色され、シリウス・レッド染色では線維は赤色で染色される。

Albumin値に差は認められなかったが、肝逸脱酵素であるASTおよびALTはADMPC投与群で抑制されており、解毒の指標の一つである総ビリルビン値も抑制されていた。

以上のように、今回用いた四塩化炭素慢性肝障害モデルでは、コントロール群での線維化比率11%に対してADMPC投与群で2%と肝線維化が抑制されており、本試験物投与の有効性が示唆された。これら結果は、本試験物の対象患者の治療にむけたPOCの取得を示唆するものである。

3)国内外における臨床試験・治験の状況

これまで国内及び海外において、同様あるいは同等の臨床試験・治験は報告されていない。進行中の関連するクリニカルトリアルについて、ClinicalTrials.govを用い、検索ワードに肝硬変および細胞治療として調査した(平成24年11月現在)。

1.3.3. 本治験実施が可能であると判断した理由

本試験物は、慢性肝炎モデルにおいて肝線維化の抑制、血中ALT、ビリルビン値のを改善を認め、有効性は検証されている。加えて、健常ヌードラットを用いた単回投与毒性試験、同種細胞投与への外挿性を確保した脂肪組織由来多系統前駆細胞

(mlewrADMPC)のBrown Norwayラットにおける単回静脈内投与毒性試験において、本試験物および動物由来同等試験物投与に起因する全身への影響は認められず、安全性に関しても担保されている。

以上のような非臨床研究の結果を踏まえ、治験の実施は可能と考えられた。

1.4. 予期される予防的、治療的又は診断的適応

肝硬変患者における肝線維化進行の抑制あるいは改善

2. 物理的・化学的及び薬剤学的性質並びに製剤組成

2.1. 薬剤学的性質並びに製剤組成

2.1.1. 薬剤学的性質

本試験物は、外観は白色の細胞懸濁であり、次に示すような性質を持つ。無菌試験、マイコプラズマ否定試験、エンドトキシン試験に適合する。基準及び試験方法は下表のとおりである。

3.1. 薬理作用

3.1.1. 効力を裏付ける試験

1) モデル動物

四塩化炭素(CCl₄)による肝細胞直接障害モデルを用い、その肝線維化を組織学的

に検討することで、本試験物の有効成分たるADMPCの有効性を検証することとした。四塩化炭素モデルの特徴は、その持続投与により慢性肝障害環境下にあること、ADMPC移植後も四塩化炭素投与を継続することで、炎症環境を維持することにある。

本モデルでは、ヒト由来細胞であるADMPCを投与するため、免疫不全動物を用いることとし、具体的にはNudeマウスを選んだ。免疫不全状態はNOD/SCIDマウスあるいはNOGマウスの方が厳しいものの、B細胞が欠損している場合は四塩化炭素投与による慢性肝障害が十分に評価できないとの報告があるためである（JCI. 2005）。

8週齢のNudeマウスに四塩化炭素（0.3 mL/kg）を週2回、6週間（計12回）腹腔内投与し、慢性肝障害モデルを作製する（レシピエント）。これにADMPCを尾静脈より投与した。

この後も四塩化炭素投与は同様に6週間継続した。採血にて血中Albumin、AST、ALTおよびT-Bil値を測定比較するとともに、肝組織をマッソン・トリクローム染色とシリウス・レッド染色を実施、線維化の程度はシリウス・レッドにて染色される領域を線維化とし、組織面積に対するシリウス・レッド被染色領域の比率をもってADMPC投与・非投与対照群を比較評価した。なお、マッソン・トリクローム染色では、線維は青色に染色され、シリウス・レッド染色では線維は赤色で染色される。

Albumin値に差は認められなかったが、肝逸脱酵素であるASTおよびALTはADMPC投与群で抑制されており、解毒の指標の一つである総ビリルビン値も抑制されていた。

以上のように、今回用いた四塩化炭素慢性肝障害モデルでは、コントロール群での線維化比率11%に対してADMPC投与群で

2%と肝線維化が抑制されており、本試験物投与の有効性が示唆された。

3.2. 毒性

3.2.1. 要約

本試験物の安全性を担保するため、1)本試験物を健常ヌードラットに、2)本試験物のラット類似細胞としてLewis ratからADMPCを調製し、syngenicとしてLewis rat、allogenicとしてNorway ratに、各々経尾静脈的に投与し、その全身毒性の発現について、単回投与毒性用量設定試験および単回投与毒性試験にて検討した。単回投与毒性用量設定試験は各々日本バイオリサーチ㈱と（財）食品薬品安全性センターにて、薬事法施行規則第43条「申請資料の信頼性の基準」に従って、単回投与毒性試験に関しては各々の施設でGLP適合にて実施した。なお、本試験物は初回届においては単回投与として治験計画が立案されたものであり、単回過量投与の安全性は単回投与毒性試験で担保するため反復投与毒性試験は実施していない。

3.2.2.ヌードラットを用いた全身毒性試験

本試験物の安全性を担保するための非臨床安全性試験の一環として、本試験物を健常ラットに経尾静脈的に投与し、その全身毒性の発現について評価することとした。

1) ラット脂肪組織由来多系統前駆細胞 (mlewrADMPC) のBrown Norwayラットにおける単回静脈内投与毒性試験のための予備試験

脂肪組織由来多系統前駆細胞の医薬品としての安全性評価を目的として、ラットに

おける単回静脈内投与毒性試験を実施するにあたり、投与量ならびに投与速度を設定することを目的に予備試験を実施した。

観察は投与日を観察第1日として観察第4日まで行った。 2×10^6 cells/mLの被験細胞 (male Lewis rat 由来 ADMPC: mlewrADMPC) を 20 mL/kg、合計3例の雌ラットに 87.0 mL/hr の投与速度で投与した結果、一般状態の観察では、いずれの動物にも異常はみられず、観察最終日まで死亡は認められなかった。また、観察期間中の体重も3例とも順調に推移した。病理学検査の結果、3例とも腎臓に両側性の腎盂の拡張が観察されたほか、2例で肺に暗色域あるいは暗色点がみられ、軽度であるが気腫様を呈していた。

以上の結果から、 2×10^6 cells/mL の mlewrADMPC を 20 mL/kg の容量、87.0 mL/hr の投与速度で投与しても、死亡を引き起こす可能性は少ないと考えられた。この試験の結果から本試験における投与容量を 20 mL/kg、投与速度は 87.0 mL/hr に設定した。

2) ラット脂肪組織由来多系統前駆細胞

(mlewrADMPC) の Brown Norway ラットにおける単回静脈内投与毒性試験 (GLP 試験)

脂肪組織由来多系統前駆細胞の医薬品としての安全性評価を目的として、Brown Norway 系雌ラットに、同種異系統である Wistar Lewis 雄ラット脂肪組織由来多系統前駆細胞 (以下、mlewrADMPC) あるいは、同種同系統である Brown Norway 系雄ラット脂肪組織由来多系統前駆細胞 (以下、mbnrADMPC) を単回静脈内投与し、2週間にわたって観察する毒性試験を実施した。

2×10^6 cells/mL の mlewrADMPC、mbnrADMPC あるいは媒体であるヘパリン

加リンゲル液を、20 mL/kg の割合でそれぞれ10例ずつの Brown Norway 系雌ラットに 87.0 mL/hr の投与速度で投与し、観察は投与日を観察第1日として観察第15日まで行った。

第15日に剖検した結果、腎臓の糸球体において限局的な塞栓が、肺においては mbnrADMPC 投与群で重量の増加、mbnrADMPC 投与群および mlewrADMPC 投与群で肺実質内に肉芽組織が観察された。これらの所見から、静脈内に投与された細胞は血流によって運ばれ、肺あるいは腎臓に定着した可能性が考えられた。

一方、他の器官における組織像には、定着した細胞により引き起こされた毒性変化はみられなかった。その他、一般状態、体重、血液学的検査所見に毒性変化を伺わせる変化は認められなかった。

異個体由来細胞投与により懸念される免疫反応については、胸腺、脾臓、下顎ならびに腸間膜リンパ節の組織には免疫異常を示唆する所見はなく、血中総タンパク量、アルブミン量および両者から算出されるグロブリン量、白血球数ならびに白血球百分率には変化はみられなかったことから、同種同系統および同種異系統由来の多系統前駆細胞の単回静脈内投与により、望ましくない免疫反応が生じる可能性は低いものと考えられた。

3.3. 薬物動態及び薬物代謝

本試験物の体内動態試験は現在計画中である。薬物代謝に関しては、本試験物は吸収・分布・排泄の経路を介してその効果を発揮するものではないため、当該試験は不要と判断した。またADMPCのヌードラットを用いた単回投与毒性試験、同種移植への外挿性を担保するラット同等製剤である脂肪組織由来多系統前駆細胞 (mlewrADMPC)

のBrown Norwayラットにおける単回静脈内投与毒性試験においても、本試験物投与に起因する全身への影響は認められなかった。したがって、安全性の観点からも、本試験物が投与部位以外に作用し影響を及ぼす可能性はないと考え、当該試験の実施は不要と判断した。

D. 考察

これまで再生医療等製品の開発が進んでいなかった要因として、本研究報告にあるような概要書記載のためのフォーマットで有用性試験の報告をしてこなかったことにある。本研究事業は、公的研究費により行われたものであり、ひとつの事業としてのoutputのみならず、再生医療全体へのインパクトを与えるというoutcomeをもつ。本研究成果は常に使用できるわけではないが、これを参考に、わが国の再生医療の裾野が広がることが期待される。

E. 結論

肝硬変を対象疾患とし、経静脈的投与脂肪組織由来多系統前駆細胞を細胞医薬品として開発するため研究開発を実施してきた。本研究の到達点は治験届 package 構築であり、これまでに実施した有効性試験および非臨床安全性試験にかかる part を統合した。本研究成果として提示することで、今後多くの再生医療等製品が開発され、多くの国民を救うと信じている。

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, Umezaw A, Ozaw 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, Umezaw A, Ozaw 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, Umezaw A, Ozaw 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, Umezaw A, Ozaw 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, Umezaw A, Ozaw 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) Kusakawa S, Machida K, Yasuda S, Takada N,; Kuroda T, Sawada R,; **Okura H**, Tsutsumi H, Kawamata S, Sato Y. Characterization of in vivo tumorigenicity tests using severe immunodeficient NOD/Shi-scid IL2Rgnull mice for detection of tumorigenic cellular impurities in human cell-processed therapeutic products
- K) 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.
- 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. 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】

- A) 「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
- B) 「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
- C) 「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
- D) 「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
- E) 「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
- F) 「再生医療のこれから」島津製作所内部セミナー・2014/07/25
- G) 「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
- H) 「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
- I) 「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
- J) 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
- K) 「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

- L) 「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
- M) 「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
- N) 「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
- O) 「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
- P) 「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
- Q) 「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
- R) 「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
- S) 「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/附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
- T) 「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

厚生労働科学研究委託費(再生医療実用化研究事業)委託業務成果報告(業務項目)

CPCでのコールドラン開始に関する研究 —原材料となる脂肪組織の特性と適格性に関して—

担当責任者 一瀬晃洋(国立大学法人神戸大学医学研究科 形成外科学 特命准教授)

担当責任者 青井貴之(国立大学法人神戸大学医学研究科 内科系講座 特命教授)

研究要旨

本研究にて開発を進めている脂肪組織由来多系統前駆細胞は、形成外科手術時に医療廃棄物として処理される皮下脂肪組織を、ICを取得して利用するものである。薬事規制適合性については、薬事戦略相談対面助言戦確 P30にてPMDAと合意に至っており、皮下脂肪を用いることの科学的合理性と、規制適合性の確認、検証がなされた。

A. 研究目的

本研究事業で開発している肝硬変を適応症とする脂肪組織由来多系統前駆細胞は、その原料として健常ヒト皮下脂肪を用いる。皮下脂肪を用いることの科学的合理性と、規制適合性の確認、検証は、今後の開発にとって喫緊の課題である。健常ヒトをドナーとするにあたり、規制適合性について、生物由来原料基準などを踏まえて検討することを本分担研究の目的とする。

B. 研究方法

本研究開発品は、治験ののちに製造販売承認取得を目指すため、薬事法(改正薬事法・薬機法)、特に42条基準を逐条的に渉猟し、規制適合性を治験届フォーマットとして記載することとした。

(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

原材料となる細胞・組織の特性と適格性

- ① 生物学的構造・機能の特徴と選択理由

【選択した原材料となる細胞・組織】

脂肪吸引の際に得られた余剰組織

【生物学的構造・機能の特徴】

脂肪組織は肉眼上黄～黄白色を呈しており、単胞性の脂肪滴を内包した球形の成熟脂肪細胞が集合して脂肪組織小葉を形成している。小葉は豊富な膠原線維と毛細血管に富む被膜にて覆われている。皮下に存在し保温や機械的侵襲に対する防御機能を有する皮下脂肪組織と、消化管周囲に存在する内臓脂肪組織とに分けられる。本品の原材料となる細胞・組織としては皮下脂肪組織を選択した。

【適格性】

倫理的適格性：

脂肪組織は脂肪吸引など形成外科手術の際の余剰組織として採取することは容易であり、侵襲も少なく局所麻酔下で採取可能である。採取後の疼痛も極めて少なく、脂肪組織吸引後のドナーサイトの変形・欠損も少なく行なえる。ドナーに対して原材料となる細胞・組織の採取を目的としての侵襲を与える必要はなく、かつ廃棄物として処理される余剰組織であるため、法的倫理的問題はなく、本品の原材料となる細胞・組織として選択することは適格である。

② ドナーの選択基準、適格性

性別、免疫適合性、年齢、遺伝的特徴、病歴、健康状態、採取細胞・組織を介して感染する可能性がある各種感染症に関する検査項目、を考慮し、献血採血基準を参考に、下記表に記載のとおり選択基準を定め、その妥当性を示した（ドナー選択基準）。

ドナー選択基準

	選択基準	妥当性
年齢	20～64 歳	献血採血基準のうち全血400mL献血の採血基準である18～64歳を参考に、ICの取得が可能な成人に限定し選択基準とした。
体重	50kg 以上	脂肪組織吸引後の皮下出血の観点から、献血採血基準のうち全血400mL献血の採血基準である体重50kg以上を選択基準とした。
血色素量	12.5g/dL 以上	脂肪組織吸引後の皮下出血の観点から、献血採血基準のうち全血400mL 献血の採血基準である血色素量12.5g/dL以上を選択基準とした。
血小板数	15 万/ μ L 以上 60 万/ μ L 以下	献血採血基準のうち、脂肪組織吸引後の止血機能の観点から血小板成分献血の採血基準である血小板数 15 万/ μ L 以上 60 万/ μ L 以下を選択した。
最高血圧	90mmHg 以上	皮下脂肪組織採取をしている間に血管迷走神経反応を含む副作用が起こる可能性があるため、献血採血基準のうち全血400mL献血の採血基準を参考に、最高血圧90mmHg以上を選択基準とした。
脂肪吸引	脂肪組織提供時に	脂肪組織吸引後の皮下出血の観点から、献血