

ルスについての否定試験の実施を考慮すべき場合もあるかも知れない。しかし可能な限り、もとの成分段階での試験やプロセス評価で迷入が否定されていることが望ましい。

なお、患者においてウイルス等の感染が認められた場合、医療従事者や製造工程における作業従事者における安全性確保について十分な配慮を払うべきは言うまでもない。

C-6-2 同種細胞由来製品の場合

同種由来細胞の場合、自己由来細胞と根本的に異なるのは、不特定多数の候補者からドナーを自由に選択出来ることである。この場合、それを細胞基材として製品を開発した場合に感染性物質の混入をはじめとする安全性等に関して少しでも問題があるようなドナーをあえて選択する理由はない。年齢、性別、民族学的特徴、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、免疫適合性等に関して最適なドナーを選ぶことを前提として、選択基準、適格性基準を定め、その妥当性を明らかにすべきである。生物原料基準に従うほか、MCPとして以下の要件が充たされるべきであると考えられる。

特に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感染症については、問診及び検査(血清学的試験や核酸増幅法等)により否定すること。

また、サイトメガロウイルス感染、EBウイルス感染及びウエストナイルウイルス感染については必要に応じて検査により否定すること。

この他、次に掲げるものについては既往歴の聴取、問診等を行うとともに、輸血、移植医療を受けた経験の有無等からドナーとしての適格性を判断すること。

- ◆ 梅毒トレポネーマ、クラミジア、淋菌、結核菌等の細菌による感染症
- ◆ 敗血症及びその疑い
- ◆ 悪性腫瘍
- ◆ 重篤な代謝及び内分泌疾患
- ◆ 膠原病及び血液疾患
- ◆ 肝疾患
- ◆ 伝達性海綿状脳症及びその疑い並びにその他の認知症
- ◆ 特定の遺伝性疾患や家族歴

C-7 製造工程の妥当性、一定性

ヒト細胞・組織加工医薬品等の製造に当たっては、製造方法を明確にし、可能な範囲でその妥当性を以下の項目で検証し、品質の一定性を保持する必要がある。とくに自己由来細胞製品の場合には、それぞれの患者から得られる原材料としての細胞の品質、機能においてある程度の個人差があることは避けがたく、また、得られる最終目的製品においても品質にある程度のばらつきが生じることは否めない。安全性、有効性において影響を及ぼさない範囲であれば、そうしたばらつきは許容すべきと考えられるが、少なくとも製造工程に原因するば

らつきは最小限度に抑えることは必要であると考えられる。そのような観点からも製造工程の妥当性を明らかにして、可能な限り一定性を保持することは重要な方策である。以下、MCP としての留意点を示す。先述の MCPGTP と重複する箇所も少なからずあるが、製造工程に沿った流れとして考える上で重要な要素を多く含むので改めて記述する。

C-7-1 製造方法

ヒト細胞・組織の受け入れから細胞の単離を経て最終製品に至る製造の方法の概要を示すとともに、具体的な処理内容及び必要な工程管理、品質管理の内容を明らかにする。

(7) 受入検査

原材料となる細胞・組織について、細胞・組織の種類や使用目的に応じて実施する受入のための試験検査の項目（例えば、目視検査、顕微鏡検査、採取収率、生存率、細胞・組織の特性解析及び微生物試験等）と各項目の判定基準を設定すること。治験開始前段階にあつては、それまでに得られた試験検体での実測値を提示し、これらを踏まえた暫定値を示す。

(8) 組織の細切、細胞の分離、特定細胞の単離等

原材料となる細胞・組織から製品を製造する初期の過程で行われる組織の消毒、細切、細胞の分離や単離及びそれらの洗浄等の方法を明らかにする。

(9) 最終製品の構成要素となる細胞の作製

ヒト細胞・組織の採取から細胞の単離を経て、最終製品の構成要素となる細胞を取得するまでの方法（分化誘導方法、目的とする細胞の分離・培養の方法、培養の各段階での培地、培養条件、培養期間及び収率等）を明確にし、可能な範囲でその妥当性を明らかにする。

(10) 細胞株の樹立と使用

細胞株を樹立する際にはその方法を明確にし、可能な範囲でその妥当性を明らかにする。

株化細胞の品質の均質性及び安定性を保持するため、必要な特性解析要件（細胞純度、形態学的評価、表現型特異的マーカー、核型など）を同定してその基準を設定するとともに、安定性を維持したまま増殖が可能な継代数を示す。

(11) 細胞のバンク化

ヒト細胞・組織加工製品の製造のいずれかの過程で、細胞をバンク化する場合には、その理由、セル・バンクの作製方法及びセル・バンクの特性解析、保存・維持・管理方法・更新方法その他の各作業工程や試験に関する手順等について明らかにし、妥当性を示すこと。平成12年7月14日付け医薬審第873号厚生省医薬安全局審査管理課長通知「生物薬品（バイオテクノロジー応用医薬品／生物起源由来医薬品）製造用細胞基剤の由来、調製及び特性解析について」等を参考とすること。

(12) 製造工程中の取り違え及びクロス
コンタミネーション防止対策

ヒト細胞・組織加工製品の製造にあ
たっては、製造工程中の取り違え及びク
ロスコンタミネーションの防止が重要
であり、工程管理における防止対策を明
らかにすること。

C-7-2 最終製品の構成要素となる細胞の特性解析

最終製品の構成要素となる細胞につい
ては、既存の薬事法関連指針では、「例えば、
目的外の細胞の混入を規定するための細胞
純度をはじめとして、細胞生存率、形態学
的特徴、細胞増殖特性、生化学的指標、免
疫学的指標、特徴的産生物質、核型、その
他適切な遺伝型又は表現型の指標を解析す
るとともに、必要に応じて機能解析を行う
こと。また、培養期間の妥当性及び細胞の
安定性を評価するために、予定の培養期間
を超えて培養した細胞において目的外の変
化がないことを適切な細胞特性指標等を用
いて示すこと。これらの検討結果から患者
に製品を適用する際に選択すべき重要細胞
特性指標を明らかにしておくこと。これら
の検討に際しては、あらかじめ試験的検体
を用いた検討によって実施・検証しておく
ことでも良いが、これらの検討結果から患
者由来の細胞に適用する際に選択すべき重
要細胞特性指標を明らかにしておくこと。
検討に際しては、検体の量的制限や技術的
限界もあり、可能な範囲で考慮すればよ
い。」と記述されている。

これはもちろん例示であって MCP では
ない。ここで着目すべきは、「重要細胞特性
指標」ということである。最も製品のこと
を理解し、最終製品の臨床用途すなわち対
象とする疾病や患者の状況およびその治療
のためにどのような細胞製品が必要かとい
うことを最もよく理解している研究者・開
発者が、その有効性・安全性と直接にかつ
密接に関係している「重要細胞特性指標」
を想定し得る立場にある。本項の趣旨は、
この「重要細胞特性指標」を絞り込み、定
めるために必要な細胞特性を幅広にとつて、
まず検討しようというところにあると考え
られる。もとより個々の製品毎の MCP を示
すわけにはいかないが、あえて表現すると
すれば、一般には「細胞純度、細胞生存率、
形態学的特徴 プラス 個別細胞の重要細胞
特性指標」が MCP であろう。

なお、適用後に体内での増殖等を期待す
る場合には、設定された基準による継代数
又は分裂回数で期待された機能を発揮する
ことを明らかにすること。

C-7-3 最終製品の形態、包装

最終製品の形態、包装は、製品の品質を
確保できるものでなければならない。

C-7-4 製品の保存及び運搬

中間製品又は最終製品を保存及び運搬
する必要がある場合には、保存方法や期間
及び運搬容器、運搬手段（温度管理等を含
む。）を定め、その妥当性を明らかにするこ
と（C. 13.6 参照）。

C-7-5 製造方法の恒常性

ヒト細胞加工製品の製造に当たっては、製造工程を通じて、個別に加工した製品の細胞数、細胞生存率並びに製品の使用目的及び適用方法等からみた特徴(表現型の適切な指標、遺伝型の適切な指標、機能特性及び目的とする細胞の含有率等)が製品(ロット)間で本質的に損なわれないことを、あらかじめ評価しておくこと。この際、試験的検体を用いても良い。また、中間製品で評価することが、原材料としての細胞・組織の適格性や中間製品までの製造過程の妥当性をよく反映し、また、最終製品に向けての適正な道標となるなど、合理的な場合もあるので、必要に応じて選択肢とすること。

製造工程中の凍結保存期間や加工に伴う細胞培養の期間が長期に及ぶ場合には一定期間ごとに無菌試験を行うなど、無菌性が確保されることを確認すること。

C-8 最終製品の品質管理

C-8-1 基本的考え方

既に述べたように、ヒト体性幹細胞加工医薬品等の品質管理全体の方策としては、最終製品の規格及び試験方法の設定、個別患者への適用ごとの原材料の品質管理、製造工程の妥当性の検証と一定性の維持管理のほか、中間製品の品質管理を適正に行うこと等が挙げられる (Fig. 1)。

最終製品の規格及び試験方法については、対象とする細胞・組織の種類及び性質、

製造方法、各製品の臨床使用目的や使用方法、安定性、利用可能な試験法等によって異なると考えられるため、取り扱う細胞・組織によってこれらの違いを十分に考慮して設定する必要がある。また、製造工程の妥当性の検証と一定性の維持管理法、中間製品の品質管理等との相互補完関係を考慮に入れて、全体として品質管理の目的が達成されるとの観点から、合理的に規格及び試験方法を設定し、その根拠を示すことが肝要である。

なお、治験開始前の評価は、治験を実施する製品の品質として問題がないとみなせることを確認することを目的としている。したがって、無菌性やマイコプラズマの否定など必須なものを除き、治験後に臨床試験成績と品質の関係を論ずるために必要な品質特性については、やむを得ない場合は少数の試験的検体の実測値をもとにその変動をしかるべき範囲内に設定する暫定的な規格及び試験方法を設定することで差し支えない。ただし、規格及び試験方法を含む品質管理法は治験の進行とともに充実・整備を図る必要がある。

C-8-2 最終製品の品質管理法

最終製品について、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必要がある。

ロットを構成しない製品を製造する場合は個別製品ごとに、ロットを構成する製品を製造する場合には、通常、各個別製品ではなく各ロットが品質管理の対象となるの

で、これを踏まえてそれぞれ適切な規格、試験方法を設定する必要がある。

関連指針には一般的な品質管理項目及び試験が参考として挙げられている。それらは、①細胞数並びに生存率、②確認試験、③細胞の純度試験、④細胞由来の目的外生理活性物質に関する試験、⑤製造工程由来不純物試験、⑥無菌試験及びマイコプラズマ否定試験、⑦エンドトキシン試験、⑧ウイルス試験、⑨効能試験、⑩力価試験、⑪力学的適合性試験であるが、このうち、MCPと考えられるのは、①細胞数並びに生存率、②確認試験、⑥無菌試験及びマイコプラズマ否定試験、⑦エンドトキシン試験であり、その他の項目については、3.8.1に示したような基本的考え方にに基づき、ケース・バイ・ケースで適宜設定することになる (Table 1)。

なお、治験開始時においては、少数の試験的検体による実測値を踏まえた暫定的な規格を設定することでも良いとされている。

C-8-3 製品レベルと製法レベルでの適切な組合せによる品質管理

製品レベルと製法レベルでの適切な組合せによる品質管理が概念としても、また実体としても品質面からみた MCP の中核をなすことは既述のとおりである (Fig. 1)。

C-9 ヒト細胞・組織加工製品の安定性

ヒト細胞・組織加工製品や重要中間製品について、保存・流通期間及び保存形態を

十分考慮して、細胞の生存率及び力価等に基づく適切な安定性試験を実施し、貯法及び有効期限を設定し、その妥当性を明らかにする必要がある。

特に凍結保管及び解凍を行う場合には、凍結及び解凍操作による製品の安定性や規格への影響がないかを確認する。

また、製品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、その妥当性について明らかにする必要がある。

なお、製品化後直ちに使用するような場合はこの限りではない。

D. 考察

本分担研究では、製品の製造方法と品質 (試験・評価・管理) に関する MCP を案出した。本 MCP は必要に応じてガイドライン化されるべきものである。MCP を共通のプラットフォームとし、次に製品の種類・特性、対象疾患、開発段階を考慮し、既存の網羅的指針等を参考にしつつ、当該ケースに応じて上乘せすべき試験・評価項目を選択するというアプローチを適用すれば、学・産の研究・開発の実施、官での薬事戦略相談などの円滑な進行、医療法下でのヒト幹臨床研究等の薬事法下での開発への切れ目のない移行、的確な承認審査などが可能となる。その結果、再生医療等製品の品質及び安全性を確保しつつ、合理的、効率的、効果的な製品開発を促進し、再生医療の実用化の推進に寄与することにより、厚生労働行政上きわめて大きな意義を持つと期待さ

れる。わが国が欧米を上回るスピードで実用化していくためにも研究成果の果たす役割は大きい。

E. 結論

MCP は再生医療等安全性確保法下でのヒト特定細胞加工物の利用から薬機法の下でのヒト細胞加工製品の開発への切れ目のない移行、行政での薬事戦略相談や承認審査などの円滑な進行を可能にする共通のプラットフォームともなる。欧米ではこのようなアプローチは系統化されていない。わが国が今後、わが国のシーズを欧米を上回るスピードで実用化していくためには、系統化されたガイダンスの存在や今回提言するアプローチの活用がきわめて大きな役割を果たすと考えられる。

F. 研究危険情報

なし

G. 研究発表

G-1 論文発表

1. 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 IL2R γ^{null} mice for detection of tumorigenic cellular impurities in human cell-processed therapeutic products. *Regen Ther.*, in press.
2. 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.*, in press.

3. Tano K, Yasuda S, Kuroda T, Saito H, Umezawa A, Sato Y. A novel *in vitro* method for detecting undifferentiated human pluripotent stem cells as impurities in cell therapy products using a highly efficient culture system. *PLoS One*. 2014;9:e110496.
4. 佐藤陽治 再生医療と薬学 ファルマシア 2014;50:1213-5.
5. 佐藤陽治 ヒト多能性幹細胞加工製品に残存する未分化多能性幹細胞の高感度検出法の開発 *再生医療* 2014;13:432-5.
6. 村岡ひとみ, 佐藤陽治 再生医療・細胞治療の規制動向とレギュラトリーサイエンス DDS. 2014;29:207-16.
7. 中島啓行, 佐藤陽治 薬事法改正と再生医療等安全性確保法を踏まえた再生医療／細胞治療の開発 ファームステージ 2014;10:1-5.
8. 三浦巧, 佐藤陽治 再生医療・細胞治療に使用する細胞加工物の品質・安全性評価の原則と造腫瘍性の考え方 谷本学校毒性質問箱 2014;16:1-10.
9. 佐藤陽治 再生医療／細胞治療における細胞培養に関する規制 『再生医療の細胞培養技術開発と応用展開』（監修：紀ノ岡正博）株式会社シーエムシー出版，東京（2014），pp. 27-36.
10. 草川森士, 佐藤陽治 再生医療製品の造腫瘍性評価 *最新医学* 2014;69(3)増刊号:745.
11. 佐藤大作, 佐藤陽治 規制関連 『再生医療用語集』（印刷中）
12. 村岡ひとみ, 佐藤陽治 再生医療・細胞治療の臨床研究から実用化までの道のり *Geriatric Medicine (老年医学)* 2014;52(3):237-239.
13. 佐藤陽治 ヒト iPS 細胞由来移植細胞中に混入する造腫瘍性細胞／未分化細胞の *in vitro* 検出法 *Cytometry Research* 2014;24(1): 7-11.
14. 安田智, 佐藤陽治 再生医療製品の品

- 質関連規制と対応の留意点 『動物細胞培養の手法と細胞死・増殖不良・細胞変異を防止する技術』（編集：技術情報協会）技術情報協会，東京（2014），pp. 517-22.
15. Takao Hayakawa, Takashi Aoi, Akihiro Umezawa, Keiya Ozawa, Yoji Sato, Yoshiki Sawa, Akifumi Matsuyama, Shinya Yamanaka, and Masayuki Yamato. Study on Ensuring the Quality and Safety of Pharmaceuticals and Medical Devices Derived from the Processing of Autologous Human Somatic Stem Cells. *Regenerative Therapy* 2015 in press.
 16. Takao Hayakawa, Takashi Aoi, Akihiro Umezawa, Keiya Ozawa, Yoji Sato, Yoshiki Sawa, Akifumi Matsuyama, Shinya Yamanaka, and Masayuki Yamato. Study on Ensuring the Quality and Safety of Pharmaceuticals and Medical Devices Derived from the Processing of Allogenic Human Somatic Stem Cells. *Regenerative Therapy* 2015 in press.
 17. Takao Hayakawa, Takashi Aoi, Akihiro Umezawa, Keiya Ozawa, Yoji Sato, Yoshiki Sawa, Akifumi Matsuyama, Shinya Yamanaka, and Masayuki Yamato. Study on Ensuring the Quality and Safety of Pharmaceuticals and Medical Devices Derived from Processing of Autologous Human Induced Pluripotent Stem Cell (-Like Cells). *Regenerative Therapy* 2015 in press.
 18. Takao Hayakawa, Takashi Aoi, Akihiro Umezawa, Keiya Ozawa, Yoji Sato, Yoshiki Sawa, Akifumi Matsuyama, Shinya Yamanaka, and Masayuki Yamato. Study on Ensuring the Quality and Safety of Pharmaceuticals and Medical Devices Derived from Processing of Allogenic Human Induced Pluripotent Stem Cell (-Like Cells). *Regenerative Therapy* 2015 in press.
 19. Takao Hayakawa, Takashi Aoi, Akihiro Umezawa, Keiya Ozawa, Yoji Sato, Yoshiki Sawa, Akifumi Matsuyama, Shinya Yamanaka, and Masayuki Yamato. Study on Ensuring the Safety and Quality of Pharmaceuticals and Medical Devices Derived from the Processing of Human Embryonic Stem Cells. *Regenerative Therapy* 2015 in press.
 20. 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;23(18):2211-24.
 21. 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.
 22. Takayama K, Kawabata K, Nagamoto Y, Inamura M, Ohashi K, Okuno H, Yamaguchi T, Tashiro K, Sakurai F, Hayakawa T, Okano T, Furue MK, Mizuguchi H. CCAAT/enhancer binding protein-mediated regulation of TGF β receptor 2 expression determines the hepatoblast fate decision. *Development.* 2014 Jan;141(1):91-100.
 23. Yagi Y, Kakehi K, Hayakawa T, Suzuki S. Application of microchip electrophoresis sodium dodecyl sulfate for the evaluation of change of degradation species of therapeutic antibodies in stability testing. *Anal Sci.* 2014;30(4):483-8.
 24. Toshio Morikawa, Kiyofumi Ninomiya, Katsuya Imura, Takahiro Yamaguchi, Yoshinori Akagi, Masayuki Yoshikawa, Takao Hayakawa, Osamu Muraoka, Hepatoprotective triterpenes from traditional Tibetan medicine *Potentilla anserina*. *Phytochemistry*, **102**, 169—181 (2014).
 25. Toshio Morikawa, Yusuke Nakanishi, Kiyofumi Ninomiya, Hisashi Matsuda, Souichi Nakashima, Hisako Miki, Yu Miyashita, Masayuki Yoshikawa, Takao Hayakawa, Osamu Muraoka, Dimeric pyrrolidinoindoline-type alkaloids with melanogenesis inhibitory activity in flower buds of *Chimonanthus praecox*. *J. Nat. Med.*, **68**, 539—549 (2014).

G-2 学会発表

- 1) 早川 堯夫：科学的合理性に基づくバイオ医薬品開発のあり方について－規制面からの視点、BIOJAPAN 2014、Oct.15, 2014、横浜。
- 2) Takao Hayakawa: Aspects of Quality Evaluation and Control Corresponding to the Type of Cell-based Products for Regenerative Medicine. CMC Strategy

- Forum Japan 2014, December 8, 2014, Tokyo, JAPAN
- 3) Takao Hayakawa: Acceptance of William Hancock Award. WCBP2015 - 4th William Hancock Award Ceremony, January 27-29, 2015, Washington, DC. USA.
 - 4) Takao Hayakawa: Challenges for developing a minimum consensus package plus case by case approaches for evaluating cell therapy products. IABS Tokyo 2015 meeting [International Regulatory Endeavor towards Sound Development of Human Cell Therapy Products], February 18-19th, 2015, Tokyo, Japan.
 - 5) Takao Hayakawa, Norihisa Sakamoto: Specifications. IABS Tokyo 2015 meeting [International Regulatory Endeavor towards Sound Development of Human Cell Therapy Products], February 18-19th, 2015, Tokyo, Japan.
 - 6) 草川森士, 安田智, 黒田拓也, 川真田伸, 佐藤陽治 軟寒天コロニー形成試験を応用した再生医療製品に混在する悪性形質転換細胞の高感度検出法 第14回再生医療学会総会, 横浜 (2015年3月19-21日)
 - 7) 田埜慶子, 安田智, 黒田拓也, 梅澤明弘, 佐藤陽治 ヒト多能性幹細胞由来再生医療製品中に残存する未分化細胞をダイレクトに検出する方法の開発 第14回再生医療学会総会, 横浜 (2015年3月19-21日)
 - 8) 高田のぞみ, 河野健, 安田智, 澤田留美, 新見伸吾, 松山晃文, 佐藤陽治 細胞増殖特性を利用した不死化細胞検出試験法の性能評価 第14回再生医療学会総会, 横浜 (2015年3月19-21日)
 - 9) Sato Y. Tumorigenicity Tests for the Quality and Safety of Cell-Based Therapeutic Products. IABS Workshop, kyoto (2015年2月18-19日)
 - 10) Yasuda S. The New Japanese Regulatory Framework for Regenerative Medicine & Cell Therapy. World Stem Cell Summit 14, San Antonio (2014年12月3-5日)
 - 11) 佐藤陽治 ヒト/動物細胞加工製品の品質確保に関する基本的考え方 レギュラトリーサイエンス学会シンポジウム～再生医療等製品の承認審査と再生医療新法～, 東京 (2014年11月25日)
 - 12) 佐藤陽治 細胞技術の許認可の実情-再生医療に関する日本の新しい規制の枠組み- 第36回日本バイオマテリアル学会大会, 東京 (2014年11月18日)
 - 13) Kusakawa S, Yasuda S, Kuroda T, Kawamata S, Sato Y. A new soft agar colony formation assay based on high-content imaging for sensitive detection of tumorigenic cellular impurities in human cell-processed therapeutic products. Global Controls in Stem Cells, Singapore (2014年11月5-7日)
 - 14) 佐藤陽治 ヒト由来移植細胞に混入する多能性幹細胞・造腫瘍性細胞の検出法の性能評価 第87回日本生化学大会, 京都 (2014年10月15-18日)
 - 15) Kuroda T, Tachi S, Yasuda S, Kusakawa S, Sato Y. Profiling of Human Induced Pluripotent Stem Cell Lines for Predicting the Differentiation Propensity. International Society for Stem Cell Research 12 th Annual Meeting, Vancouver (2014年6月18-21日)
 - 16) Tano K, Yasuda S, Umezawa A, Sato Y. A highly efficient culture method for growth and detection of undifferentiated human pluripotent stem cells present as impurities in cell-processed therapeutic products. 20 th International Society for Cellular Therapy, Paris (2014年4月23-26日)
 - 17) Hiroyuki Moriyama, Mariko Moriyama, Akifumi Matsuyama, Takao Hayakawa. 低酸素暴露を介する脂肪由来間葉系幹細胞のドーパミン産生細胞分化誘導. Mar, 4-6, 2014. 第13回日本再生医療学会総会. 京都.

- 18) Mariko Moriyama, Junki Uda, Hiroyuki Moriyama, Akifumi Matsuyama, Masatake Osawa, Takao Hayakawa. オートファジー関連分子BNIP3は、表皮分化ならびに表皮形態維持に重要な働きをする. Mar 4-6, 2014.第13回日本再生医療学会総会. 京都.
- 19) 森山麻里子,宇田純輝,松山晃文,早川堯夫,森山博由. オートファジーと皮膚構築. 皮膚の会(総会), Mar 15-16, 2014. 松山.
- 20) 森山博由. 再生医療を照らす脂肪由来幹細胞の製造法と派生効果. 5/14~5/16,2014, BIO tech 2014 -国際バイオテクノロジー展/技術会議-アカデミックフォーラム. 東京
- 21) Moriyama Hiroyuki, Moriyama Mariko, Ueda Ayaka, Nishibata Yusuke, Okura Hanayuki, Matsuyama Akifumi, Hayakawa Takao. ROLE OF NOTCH SIGNALING IN THE MAINTENANCE OF HUMAN MESENCHYMAL STEM CELLS UNDER HYPOXIC CONDITIONS. June 18 - 21, 2014, 12th ISSCR at Vancouver, CANADA.
- 22) Uda Junki, Moriyama Mariko, Moriyama Hiroyuki, Osawa Masatake, Hayakawa Takao. BNIP3 PLAYS CRUCIAL ROLES IN THE DIFFERENTIATION AND MAINTENANCE OF EPIDERMAL KERATINOCYTES. June 18 - 21, 2014, 12th ISSCR at Vancouver, CANADA.
- 23) Moriyama Mariko, Moriyama Hiroyuki, Sawaragi Kei, Okura Hanayuki, Matsuyama Akifumi, Hayakawa Takao. Development of a single tet-off lentiviral vector system with tightly regulated and homogeneous expression of target genes in human adipose-derived mesenchymal stem cells. June 18 - 21, 2014, 12th ISSCR at Vancouver, CANADA.
- 24) Ohmori Shigenari, Taniguchi Yuki, Moriyama Mariko, Moriyama Hiroyuki, Hayakawa Takao. DIFFERENTIATION OF DOPAMINERGIC NEURONAL CELLS FROM HUMAN ADIPOSE-DERIVED MULTILINEAGE PROGENITOR CELLS. June 18 - 21, 2014, 12th ISSCR at Vancouver, CANADA.
- 25) 大森重成、森山麻里子、谷口祐紀、深瀬堯哉、松山晃文、早川堯夫、森山博由. ヒト脂肪組織由来多系統前駆細胞(hADMPC)を用いたドパミン産生細胞への誘導法の確立. 2014年8月28~29日, 生体機能と創薬シンポジウム2014. 東大阪.
- 26) 大森重成、森山麻里子、谷口祐紀、深瀬堯哉、松山晃文、早川堯夫、森山博由. ヒト脂肪組織由来多系統前駆細胞(hADMPC)を用いたドパミン産生細胞への誘導法の確立. 2014年8月28~29日, 生体機能と創薬シンポジウム2014. 東大阪.
- 27) 河野真有香、森山麻里子、中北和樹、早川堯夫、森山博由. 幹細胞資材におけるウイルス混入及び残存試験法確立を目的とした高感度・高精度な新規核酸増幅基盤技術開発. 2014年8月28~29日, 生体機能と創薬シンポジウム2014. 東大阪.
- 28) 谷口祐紀、森山麻里子、大森重成、早川堯夫、森山博由. キンドラー症候群患者由来ヒト脂肪組織由来多系統前駆細胞(hADMPC)より樹立したiPS細胞の皮膚ケラチノサイトへの分化誘導法確立. 2014年8月28~29日生体機能と創薬シンポジウム2014. 東大阪.
- 29) 山田 翼,森山麻里子,宇田純輝,森山博由,早川堯夫. BCL-2ファミリー分子BNIP3が表皮分化および表皮形態維持に及ぼす影響. 2014年8月28~29日, 生体機能と創薬シンポジウム2014. 東大阪.
- 30) 百合祐樹,森山麻里子,森山博由,早川堯夫. 新規ヒト脂肪組織由来多能性前駆細胞に存在するOCT4陽性細胞は真の多能性幹細胞たりうるのか?. 2014年8月28~29日, 生体機能と創薬シンポジウム2014. 東大阪.

- 31) 石原慎、森山麻里子、阪口公一、石濱里穂、大倉華雪、松山晃文、早川堯夫、森山博由. 低酸素状態におけるNotchシグナルと解糖系の関係. 2014年8月28~29日, 生体機能と創薬シンポジウム2014. 東大阪.
- 32) 曾根千晶, 森山麻里子, 大倉華雪, 松山晃文, 早川堯夫, 森山博由. 新規ヒト脂肪組織由来多系統前駆細胞(hADMPC)を用いたインスリン産生細胞の作製. 2014年8月28~29日, 生体機能と創薬シンポジウム2014. 東大阪.
- 33) Tadashi Michiyama, Horoyuki Moriyama, Mario Moriyama, Takao Hayakawa, Kiyofumi Ninomiya, Osamu Muraoka, Saowanee Chaipech, Toshio Morikawa. Inhibitory effects of oligostilbenoids from bark of *Shorea roxburghii* on malignant melanoma cell growth: implications for a candidate of novel topical anticancer agents. The 27th International Conference on Polyphenols (ICP2014), (Nagoya, Japan), 2014.9.
- 34) MARIKO MORIYAMA, JUNKI UDA, MASATAKE OSAWA, TAKAO HAYAKAWA, HIROYUKI MORIYAMA. BNIP3 Plays Crucial Roles in the Differentiation and Maintenance of Epidermal Keratinocytes. Sept 11-15, 2014. European society for dermatological research (ESDR). Copenhagen, Denmark.
- 35) JUNKI UDA, MARIKO MORIYAMA, MASATAKE OSAWA, TAKAO HAYAKAWA, HIROYUKI MORIYAMA. BNIP3 PLAYS CRUCIAL ROLES IN THE DIFFERENTIATION AND MAINTENANCE OF EPIDERMAL KERATINOCYTES. Sept 22-26, 2014. Austrarian society for Dermatology Research (ASDR). Sydney, Australia.
- 36) 宇田純輝, 森山麻里子, 北川綾弓, 野村昇吾, 早川堯夫, 森山博由. Bcl-2ファミリー分子BNIP3が表皮構築に及ぼす影響. 第64回日本薬学会近畿支部総会・大会.[口頭発表] 10/11, 2011, 京都薬科大学, 京都.
- 37) 雨宮有佑, 北野亮介, 古谷圭史, 村上健太, 森山麻里子, 早川堯夫, 森山博由. 日本の新薬承認格差の現状とその打開策についての検討. [ポスター発表]第64回日本薬学会近畿支部総会・大会. 10/11, 2011, 京都薬科大学, 京都.
- 38) 山田翼, 森山麻里子, 宇田純輝, 早川堯夫, 森山博由. BCL-2ファミリー分子BNIP3と表皮分化および形態維持機構との関連性. [ポスター発表]第64回日本薬学会近畿支部総会・大会. 10/11, 2011, 京都薬科大学, 京都.
- 39) 石原慎, 森山麻里子, 阪口公一, 上村充香, 大石実央, 大倉華雪, 松山晃文, 早川堯夫, 森山博由. 低酸素状態におけるNotchシグナルと解糖系の相関性. [ポスター発表]第64回日本薬学会近畿支部総会・大会. 10/11, 2011, 京都薬科大学, 京都.
- 40) 石濱里穂, 森山麻里子, 鈴木格, 早川堯夫, 森山博由. ヒト脂肪組織由来多系統前駆細胞(hADMPC)を用いたメラノサイトの作製. [ポスター発表]第64回日本薬学会近畿支部総会・大会. 10/11, 2011, 京都薬科大学, 京都.
- 41) 曾根千晶, 森山麻里子, 大倉華雪, 松山晃文, 早川堯夫, 森山博由. 新規ヒト脂肪組織由来多系統前駆細胞(hADMPC)を用いたインスリン産生細胞の作成. [ポスター発表]第64回日本薬学会近畿支部総会・大会. 10/11, 2011, 京都薬科大学, 京都.
- 42) 大森重成, 森山麻里子, 谷口祐紀, 深瀬堯哉, 松山晃文, 早川堯夫, 森山博由. ヒト脂肪組織由来多系統前駆細胞(hADMPC)を用いたドパミン産生細胞への誘導法の確立. [ポスター発表]第64回日本薬学会近畿支部総会・大会. 10/11, 2011, 京都薬科大学, 京都.
- 43) 道山忠史, 森山麻里子, 二宮清文, Saowanee Chaipech, 村岡修, 森川敏生, 早川堯夫, 森山博由. 悪性黒色

- 腫細胞に対する *Shorea roxburghii* 由来オリゴスチルベノイドの影響. 第64回 日本薬学会近畿支部総会・大会. 10/11, 2011, 京都薬科大学, 京都
- 44) 北野亮介, 雨宮有佑, 古谷圭史, 村上健太, 森山麻里子, 早川堯夫, 森山博由. 再生医療製品実用化における規制制度の課題について. [ポスター発表] 第64回 日本薬学会近畿支部総会・大会. 10/11, 2011, 京都薬科大学, 京都.
- 45) 野村昇吾, 森山麻里子, 宇田純輝, 早川堯夫, 森山博由. 表皮構築過程におけるFoxo3aの関与. [ポスター発表] 第64回 日本薬学会近畿支部総会・大会. 10/11, 2011, 京都薬科大学, 京都.
- 46) 森山 麻里子, 宇田 純輝, 石濱 里穂, 大森 重成, 石原 慎, 曾根 千晶, 谷口 祐紀, 百合 祐樹, 早川 堯夫, 森山 博由「贅肉は贅沢!? ヒト脂肪組織由来多系統前駆細胞の魅力」【講演】 Nov 23, 2014, 第5回生命機能研究会, 甲南大学ポートアイランドキャンパス, 神戸.
- 47) 宇田 純輝, 森山 麻里子, 早川 堯夫, 森山 博由. オートファジー制御関連分子BNIP3は表皮分化ならびに表皮形態維持に重要な働きをする. [口頭発表] Nov 23, 2014, 第5回生命機能研究会, 甲南大学ポートアイランドキャンパス, 神戸. [最優秀口頭発表賞受賞]
- 48) 大森重成, 森山麻里子, 谷口祐紀, 深瀬堯哉, 松山晃文, 早川堯夫, 森山博由. ヒト脂肪組織由来多系統前駆細胞(hADMPC)を用いたドパミン産生細胞への誘導法の確立. [ポスター発表] Nov 23, 2014, 第5回生命機能研究会, 甲南大学ポートアイランドキャンパス, 神戸.
- 49) 石濱里穂, 森山麻里子, 鈴木格, 早川堯夫, 森山博由. ヒト脂肪組織由来多系統前駆細胞(hADMPC)を用いたメラノサイトの作製. [ポスター発表] Nov 23, 2014, 第5回生命機能研究会, 甲南大学ポートアイランドキャンパス, 神戸.
- 50) 百合祐樹, 森山麻里子, 早川堯夫, 森山博由. 新規ヒト脂肪組織由来多能性前駆細胞に存在するOCT4陽性細胞は真の多能性幹細胞たりうるのか? [ポスター発表] Nov 23, 2014, 第5回生命機能研究会, 甲南大学ポートアイランドキャンパス, 神戸.
- 51) Junki Uda, Mariko Moriyama, Hiroyuki Moriyama, Takao Hayakawa. BNIP3 PLAYS CRUCIAL ROLES IN THE DIFFERENTIATION AND MAINTENANCE OF EPIDERMAL KERATINOCYTES. [Oral presentation] The 36th annual meeting of the molecular biology society of Japan. Nov 25-27, Pacifico-Yokohama, Yokohama, Japan.
- 52) Junki Uda, Mariko Moriyama, Hiroyuki Moriyama, Takao Hayakawa. BNIP3 PLAYS CRUCIAL ROLES IN THE DIFFERENTIATION AND MAINTENANCE OF EPIDERMAL KERATINOCYTES. [Poster presentation] The 36th annual meeting of the molecular biology society of Japan. Nov 25-27, Pacifico-Yokohama, Yokohama, Japan.
- 53) Shin Ishihara, Mariko Moriyama, Koichi Sakaguchi, Hanayuki Okura, Akifumi Matsuyama, Takao Hayakawa, Hiroyuki Moriyama. Role of Notch signaling in glycolysis regulation under hypoxic conditions. [Oral presentation] The 36th annual meeting of the molecular biology society of Japan. Nov 25-27, Pacifico-Yokohama, Yokohama, Japan.
- 54) Shin Ishihara, Mariko Moriyama, Koichi Sakaguchi, Hanayuki Okura, Akifumi Matsuyama, Takao Hayakawa, Hiroyuki Moriyama. Role of Notch signaling in glycolysis regulation under hypoxic conditions. [Poster presentation] The 36th annual meeting of the molecular biology society of Japan. Nov 25-27, Pacifico-Yokohama, Yokohama, Japan.

- 55) Riho Ishihama, Tadashi Michiyama, Hiroyuki Moriyama, Mariko Moriyama, Takao Hayakawa, Kiyofumi Ninomiya, Osamu Muraoka, Saowanee Chaipech^{1,2} and Toshio Morikawa. Inhibitory Effects of Oligostilbenoids from Bark of *Shorea roxburghii* on Malignant Melanoma Cell Growth: Implications for a Candidate of Novel Topical Anticancer Agents. [Poster presentation] The 36th annual meeting of the molecular biology society of Japan. Nov 25-27, Pacifico-Yokohama, Yokohama, Japan.
- 56) Chiaki Sone, Mariko Moriyama, Hanayuki Okura, Akifumi Matsuyama, Takao Hayakawa, Hiroyuki Moriyama. Transdifferentiation of human adipose tissue-derived multilineage progenitor cells into insulin-producing cells. [Poster presentation] The 36th annual meeting of the molecular biology society of Japan. Nov 25-27, Pacifico-Yokohama, Yokohama, Japan.
- 57) Junki Uda, Mariko Moriyama, Hiroyuki Moriyama, Takao Hayakawa. BNIP3 PLAYS CRUCIAL ROLES IN THE DIFFERENTIATION AND MAINTENANCE OF EPIDERMAL KERATINOCYTES. [Oral presentation] The 39th annual meeting of the Japanese society for Investigative Dermatology. Dec 12-14, Expopark-Hankyu Osaka, Japan.
- 58) Mariko Moriyama. BNIP3 Plays Crucial Roles in the Differentiation and Maintenance of Epidermal Keratinocytes. Looking to the future of Notch signaling. December 18th, 2014. Institute for Protein Research, Osaka University, Osaka, Japan.
- 59) Kiyofumi Ninomiya, Toshio Morikawa, Taku Matsumoto, Mayumi Sueyoshi, Seiya Miyazawa, Shunsuke Saeki, Saowanee Chaipech, Takao Hayakawa, Osamu Muraoka. Anti-inflammatory effects and mode of action of prenylcoumarins from Thai natural medicine *Mammea siamensis*. The 27th International Conference on Polyphenols (ICP2014), (Nagoya, Japan), 2014.9.
- 60) Toshio Morikawa, Ikuko Hachiman, Kiyofumi Ninomiya, Hisashi Matsuda, Yuki Hata, Kaoru Sugawara, Yuri Sakata, Masayuki Yoshikawa, Takao Hayakawa, Osamu Muraoka. Antiallergic principles from *Myristica fragrans*: inhibitors of degranulation and TNF- α release in RBL-2H3 cells. The 27th International Conference on Polyphenols (ICP2014), (Nagoya, Japan), 2014.9.
- 61) Tadashi Michiyama, Horoyuki Moriyama, Mario Moriyama, Takao Hayakawa, Kiyofumi Ninomiya, Osamu Muraoka, Saowanee Chaipech, Toshio Morikawa. Inhibitory effects of oligostilbenoids from bark of *Shorea roxburghii* on malignant melanoma cell growth: implications for a candidate of novel topical anticancer agents. The 27th International Conference on Polyphenols (ICP2014), (Nagoya, Japan), 2014.9.
- 62) Kiyofumi Ninomiya, Toru Minamino, Kaiten Ozeki, Natsuko Matsuo, Chihiro Kawabata, Takao Hayakawa, Toshio Morikawa. Effects of constituents from hooks of *Uncaria rhynchophylla* on neurite outgrowth and TNF- α -induced cell damage. The 8th JSP-CCTCM-KSP Joint Symposium on Pharmacognosy, (Fukuoka, Japan), 2014.9.

H. 知的財産権の出願・登録状況

H-1. 取得特許

発明者 草川森士, 安田智, 佐藤陽治

出願人【識別番号】803000056

【名称】公益財団法人 ヒューマ

ンサイエンス振興財団

特許出願番号 特願2014-176861

発明の名称 悪性形質転換細胞の検出
方法

特許出願日 平成26年9月1日

H-2. 実用新案登録

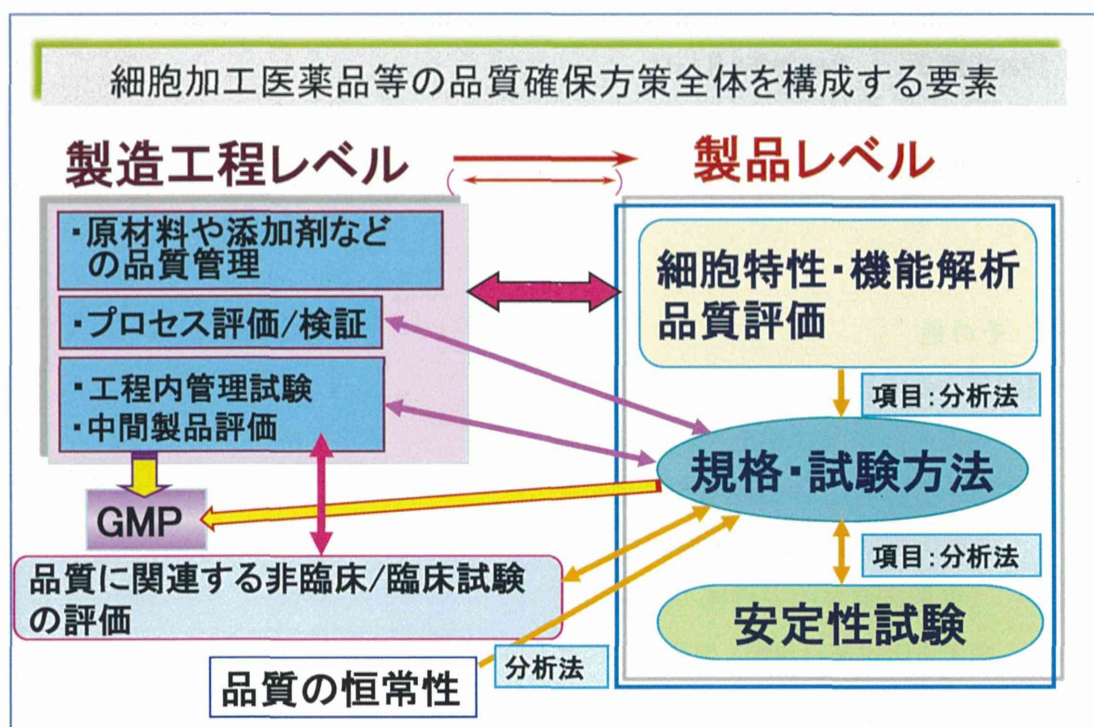
なし

H-3. その他

【政策への提言】

- 1) 「再生医療等の安全性の確保等に関する法律」、「再生医療等の安全性の確保等に関する法律施行令」及び「再生医療等の安全性の確保等に関する法律施行規則」の取扱いについて（平成26年10月31日医政研発1031第1号厚生労働省医政局研究開発振興課長通知）
- 2) 生物由来原料基準の一部を改正する件」（平成26年厚生労働省告示第375号）；

<Fig. 1>



<Table. 1>

最終製品の規格及び試験方法例:MCP項目(青字)

- (1)細胞数並びに生存率 * 暫定規格値
- (2)確認試験:重要細胞特性指標を選択
- (3)細胞の純度試験 * 暫定規格値
- (4)細胞由来の目的外生理活性物質に関する試験 * 暫定規格値:
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
- (5)製造工程由来不純物試験 * 暫定規格値: 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
- (6)無菌試験及びマイコプラズマ否定試験
- (7)エンドトキシン試験
- (8)ウイルス試験
- (9)効能試験 * 暫定規格値
- (10)力価試験 * 暫定規格値: 特定の生理活性物質が効能又は効果の本質
- (11)力学的適合性試験 * 暫定規格値: 一定の力学的強度を必要とする製品

平成26年度厚生労働科学研究委託費

医薬品等規制調和・評価研究事業

「再生医療実用化加速のための幹細胞等由来製品評価に最低限必須・
共通の技術要件・基準に関する研究」

委託業務成果報告書(分担)

非臨床安全性試験全般および造腫瘍性試験に関して

研究分担者

佐藤 陽治 国立医薬品食品衛生研究所 再生・細胞医療製品部 部長

早川 堯夫 近畿大学薬学総合研究所 所長

研究要旨

MCP はあらゆる再生医療等製品に最低限必須・共通の要件や基準・評価技術である。再生医療等製品のうちヒト細胞加工製品（ヒト特性細胞加工物）に関する MCP において考慮すべき項目には、①製品の特性及び適用法から評価が必要と考えられる安全性関連事項について、技術的に可能で、科学的合理性のある範囲で、適切な動物を用いた試験又は *in vitro* 試験を実施、②適切な製品モデル/疾患モデル動物の合理的活用、③非細胞成分及び製造工程由来の不純物等については、可能な限り、動物を用いた試験ではなく理化学的分析法により評価、④安全性評価は相対的なものであり細胞の種類・特性、適用法、適用量、適用部位、対象疾患、施術者の専門性、適切な安全性対策、有効性、臨床的意義等に依る、といったことが挙げられる。本研究では、これらの各項目においてヒト細胞加工製品（ヒト特性細胞加工物）の MCP として必要な要素を検討・抽出した。また、非臨床安全性試験としての造腫瘍性試験のありかたについても考察した。MCP 策定は厚生労働行政施策に直接反映させるための研究である。必要に応じてガイドライン化されるべきものである。MCP を共通のプラットフォームとし、次に製品の種類・特性、対象疾患、開発段階を考慮し、既存の網羅的指針等を参考にしつつ、当該ケースに応じて上乘せすべき試験・評価項目を選択するというアプローチを適用すれば、学・産の研究・開発の実施、官での薬事戦略相談などの円滑な進行、医療法下でのヒト幹臨床研究等の薬事法下での開発への切れ目のない移行、的確な承認審査などが可能となると考えられる。

研究協力者（順不同）

三浦 巧	国立医薬品食品衛生研究所	再生・細胞医療製品部	第1室	室長
田埜 慶子	国立医薬品食品衛生研究所	再生・細胞医療製品部	第1室	研究員
澤田 留美	国立医薬品食品衛生研究所	再生・細胞医療製品部	第2室	室長
河野 健	国立医薬品食品衛生研究所	再生・細胞医療製品部	第2室	主任研究官
安田 智	国立医薬品食品衛生研究所	再生・細胞医療製品部	第3室	室長
黒田 拓也	国立医薬品食品衛生研究所	再生・細胞医療製品部	第3室	研究員
草川 森士	公益財団法人 先端医療振興財団	細胞療法開発事業部門		研究員
中島 啓行	公益財団法人 先端医療振興財団	細胞療法開発事業部門		研究員
高田 のぞみ	独立行政法人基盤研究所	難病・疾患資源研究部		研究員
松山 さと子	国立医薬品食品衛生研究所	再生・細胞医療製品部		技術補助員

A. 研究目的

再生医療実用化推進と安全性確保には研究開発の推進と規制環境の整備が車の両輪である。申請者らはこれまで、薬事法（薬機法）及び医療法下のヒト細胞加工製品の品質・安全性確保に関する研究に従事し、現行の全ての関連指針の通知化に寄与してきた。これらの指針は、多種多様な製品で想定しうるあらゆる可能性を網羅できるよう作成されたものである。ところで、個別製品の研究開発や承認審査にあたっては、その品質及び安全性を的確にかつ合理的に確保するために、各製品の種類や特性、臨床適用法などをふまえた製品のリスクに基づき適切な試験の実施やデータの評価がなされるべきであり、過剰な試験やデータが求められるべきではない。しかし、現行の指針等で示されている網羅的事項の中から、個別製品の品質及び安全性を確保するために必要かつ十分な項目の選択及びデータの

評価を開発者自身で判断することは容易ではなく、開発の隘路となっており、その解決策提示の必要度は極めて高い。

そこで本研究では、あらゆる製品に最低限必須・共通の要件や基準・評価技術（MCP）を提言し、現行指針と合わせて活用することにより、より合理的、効率的、効果的な製品開発を促進し、再生医療実用化の推進に寄与することを目的とする。本分担研究では、非臨床安全性試験全般に関する MCP の有り方を検討すると同時に造腫瘍性試験の考え方の整理を行った。

B. 研究方法

あらゆる製品に最低限必須・共通の要件や基準・評価技術（MCP）を提言し、これに各製品の特性や臨床適用法をふまえたケース別の上乗せをする方策により、各再生医療等製品の品質及び安全性を的確かつ合理的

的に確保し、再生医療実用化加速を図る。方策は、各種製品の開発状況、知見の蓄積、科学・技術の進歩、国際動向等を勘案しながら策定する。本分担研究では特に非臨床安全性試験全般に関する MCP の有り方を検討すると同時に造腫瘍性試験の考え方の整理を行った。

C. 研究結果

C-1 非臨床安全性試験全般

非臨床安全性試験は、製品の種類、投与方法、対象疾患などにより評価すべき内容が異なり、また実験動物を用いてヒト由来細胞のヒトでの安全性をどこまでの確に評価できるのかという限界もあり、さらに本分野での経験や知見の蓄積にも乏しいところから技術的な観点からみた確固とした MCP はない。必須技術要件に近い概念の MCP を無理に適用すると不合理を生ずることもある。そのために、ケース・バイ・ケースの原則で望むのが最も合理的なアプローチとされている。しかし、こうした状況の中でも、関係者が概念としても技術要件としても認識を共有して、可能な限り不合理、不都合に陥らず、合理的、効率的に開発を進める方策を講じることは重要である。

現時点で概念として関係者が共有すべき MCP としては、次の様な事項が挙げられる。

- 1) 製品の特性及び適用法から評価が必要と考えられる安全性関連事項について、技術的に可能で、科学的合理性のある範囲で、適切な動物を用いた試験又は

in vitro 試験を実施

- 2) 適切な製品モデル/疾患モデル動物の合理的活用
- 3) 非細胞成分及び製造工程由来の不純物等については、可能な限り、動物を用いた試験ではなく理化学的分析法により評価
- 4) 安全性評価は相対的なもの。細胞の種類・特性、適用法、適用量、適用部位、対象疾患、施術者の専門性、適切な安全性対策、有効性、臨床的意義等に依る

また、より技術的な観点で関係者が共有すべき MCP あるいは留意点としては、次の様な事項が挙げられる

- 1) 培養期間を超えて培養した細胞が目的外の形質転換や異常増殖を起していないことを明らかにする
- 2) 必要に応じ、製品が産生する各種サイトカイン、成長因子等の生理活性物質の生体への影響を考察
- 3) 製品の適用が患者の正常な細胞又は組織に影響を与える可能性、及びその安全性について検討、考察
- 4) 製品の種類に応じて、異所性組織を形成する可能性、及びその安全性について検討、考察
- 5) 望ましくない免疫反応が生じる可能性、及びその安全性について検討、考察
- 6) 良性腫瘍を含む腫瘍形成及びがん化の可能性

このうち、抗原性の問題、造腫瘍性の課題については後年度にまとめて考察する。2) 及び 3) に関連しては、いわゆる安全性薬理試験のようなアプローチとして考えるのが適切かも知れない。なお、評価すべき製品がヒト由来のものであるので、一般に実験動物としては免疫不全動物を用いるのが適切と思われる。

C-2 造腫瘍性試験

C-2-1 造腫瘍性とは

「造腫瘍性」は、多くの生物由来医薬品等に関わるリスクの中でも、再生医療等に用いられる細胞加工物に特徴的なリスクとして挙げられる。「造腫瘍性 (tumorigenicity)」の意味は、動物に移植された細胞集団が増殖することにより悪性または良性の腫瘍を形成する能力のことであり、「腫瘍原性 (Oncogenicity)」や「がん原性 (Carcinogenicity)」とは区別される。ヒト ES 細胞株やヒト iPS 細胞株を樹立した際には、初期胚内の多能性幹細胞の性質をどのくらい保っているかを確認する必要がある。その際、細胞の多能性を評価する一つの手法として、免疫不全動物に未分化な多能性幹細胞を移植後に形成された腫瘍 (テラトーマ) が、内・中・外胚葉系の様々な細胞種から構成されていることを確認することにより、移植した細胞の多能性を評価する解析法がある。つまり、ヒト多能性幹細胞は造腫瘍性を元来の特性として保持しており、この点がヒト体細胞・体幹細胞とは大きく異なる。したがって、ヒ

ト ES/iPS 細胞加工製品においては、未分化な ES/iPS 細胞の残留・混入に起因する腫瘍形成がリスクとなる¹⁾。

C-2-2 造腫瘍性国際ガイドライン

現在唯一存在する造腫瘍性国際ガイドラインは、世界保健機関 (WHO) の生物薬品標準化専門委員会第 47 次報告 (1998) (Technical Report Series No. 878、TRS 878) にある Annex I 「生物薬品製造用の *in vitro* 基材としての動物細胞の使用の要件」の 2010 年改訂版²⁾ である (以下、WHO TRS 878 とする)。この WHO TRS 878 にある造腫瘍性試験の概要は、「ヌードマウス等の動物 10 匹に 10^7 個の細胞を投与して 16 週間観察する。陽性対照としては HeLa 細胞などを用いる。」というものである。ただし、WHO TRS 878 の造腫瘍性試験の適用対象は、あくまでワクチンやタンパク質製剤など、ヒトを対象に *in vivo* または *ex vivo* で投与される生物薬品を製造する際に *in vitro* 細胞基材として用いられるヒトまたは動物由来の細胞株であり、その目的はこれらの細胞株の品質管理である。つまり、患者に移植する生細胞は、再生医療等での利用を目的とした細胞加工物を含め対象外となる。WHO TRS 878 における造腫瘍性試験の目的は、より具体的には、生物薬品用細胞基材となるセル・バンクの造腫瘍性の程度または有無を正確に把握することにある。セル・バンクの安定性に異常が生じたことを検出するための方策として、造腫瘍性を細胞特性の指標の一つとして評価し、品質管理に活用するということである。つまり、WHO TRS 878 の試験は、細胞株とい

う均一な細胞集団の造腫瘍性評価を対象としており、細胞加工物（中に極僅かに存在する造腫瘍性細胞に起因する）の造腫瘍性の評価とは目的が異なるため、そのまま転用することには感度等の面で問題がある。

C-2-3 細胞加工物における造腫瘍性

細胞加工物の由来細胞の種類（例：体細胞、体性幹細胞、iPS 細胞等）は多様である。さらに、由来する細胞については、自己、同種、および HLA ホモ接合型の同種のものなどが想定される。再生医療製品の臨床利用に際しては、その態様（例：細胞懸濁液や細胞シート等）もさまざまなものとなり、最終製品ごとに必要な細胞数も異なる（例：網膜色素上皮細胞製品では 10^4 個、心筋細胞製品では $10^8 \sim 10^9$ 個）。その上、適用の経路、適用部位、免疫抑制剤の使用の有無、患者の病状の緊急性等についても、様々なケースが想定される。したがって、このような多様性に基づき、造腫瘍性の評価においては、総合的な考察が求められる。

C-2-4 ヒト ES/iPS 細胞加工製品における造腫瘍性評価

ヒト ES/iPS 細胞加工製品の製造における造腫瘍性試験には、目的別に、①原料・原材料の品質管理のための造腫瘍性試験、②製造工程（中間製品）評価のための造腫瘍性試験、③最終製品の安全性評価のための造腫瘍性試験、の 3 種類が想定される。細胞集団の造腫瘍性あるいは細胞集団中の造腫瘍性細胞を検出する系としていくつかの *in vitro* 試験系ま

たは *in vivo* 試験法がある（表 1）ので、これらを利用（時に組み合わせて利用）することで、それぞれの目的に応じた評価が可能であると考えられる。

C-2-4-1 原料・原材料の品質管理のための造腫瘍性試験

ヒト ES 細胞株やヒト iPS 細胞株等は、文字通り、ヒト ES/iPS 細胞加工製品の原料または原材料である。したがって、ヒト ES/iPS 細胞加工製品という生物製剤の一種を製造するための原料・原材料として、それらのセル・バンクの造腫瘍性を評価し、品質特性の一つとして捉えておくことが重要である。ヒト ES/iPS 細胞加工製品の原料・原材料の品質管理のための造腫瘍性における懸念事項は、WHO TRS 878 におけるセル・バンクの品質管理の考え方と同様に、「セル・バンクの造腫瘍性が既定の範囲内にあるか？」ということになる。ヒト ES/iPS 細胞バンクの造腫瘍性の程度に大幅な変化が生じた場合、細胞特性に何らかの異常が起こったということが示唆される。つまり、原因はいずれにせよ、ヒト ES/iPS 細胞バンクの安定性に異常が生じたことを検出するための方策として、ヒト ES/iPS 細胞バンクの造腫瘍性を細胞特性指標の一つとして評価すれば、品質管理に活用できることになる。その評価方法については、WHO TRS 878 の方法を準用することが可能であると考えられる。

C-2-4-2 中間製品・最終製品の品質評価のための造腫瘍性試験

ヒト ES/iPS 細胞加工製品の中間製品・最終

製品となる細胞集団には、目的細胞ないしその前駆細胞に加え、残存する未分化 ES/iPS 細胞およびその他の目的外細胞が含まれている可能性がある。したがって、中間製品・最終製品に、①「どのくらい未分化のヒト ES/iPS 細胞が残存しているか」ということと、②「目的外細胞として造腫瘍性形質転換細胞が含まれているか」という 2 点が、製造工程上での懸念事項となる。これらを検討するということは、要するに純度試験としての位置づけということになる。

中間製品・最終製品の中に、①「どのくらい未分化のヒト ES/iPS 細胞が残存しているか」ということに関しては、ES/iPS 細胞のマーカータンパク質/マーカー遺伝子を検出することによって評価することが可能である。方法としてはフローサイトメトリーや定量 RT-PCR、およびラミニン 521 によるヒト多能性幹細胞直接培養増幅法³⁾などが挙げられる。これらは感度が高いことが利点である。

一方、中間製品の中に、②「目的外細胞として造腫瘍性形質転換細胞が含まれているか」ということに関しては、細胞増殖特性解析（不死化細胞の検出）や、軟寒天コロニー形成試験による足場非依存性増殖細胞の検出などによって評価が可能である。ただし、ヒト ES/iPS 細胞はトリプシン処理等による単一細胞への分散によりアポトーシスを起こす特異な性質を持つため、残存するヒト ES/iPS 細胞の検出のために、軟寒天コロニー形成試験は不向きであることに注意が必要である⁴⁾。

また、中間製品の中に、②「目的外細胞として造腫瘍性形質転換細胞が含まれている

か」ということを検証するために *in vivo* の方法を活用することも可能である。しかし、WHO TRS 878 にある方法（ヌードマウス等の動物 10 匹に 10^7 個の細胞を投与して 16 週間観察する方法）では、再生医療製品に僅かに含まれる造腫瘍性細胞を検出できない可能性が高く、結果が偽陰性になってしまう恐れがある。そのため、WHO TRS 878 の方法よりも十分に感度の高い系を用いる必要がある。そこで有力な選択肢として挙げられるのが、NOD/SCID/ γ Cnu11 (NOG)⁵⁾、NOD/SCID/IL-2r γ KO (NSG)⁶⁾などの重度免疫不全マウス系統を利用する、従来よりも高感度な検出系である。これらのマウスは T 細胞、B 細胞および NK 細胞を欠失しており、ヌードマウスなどの従来の免疫不全マウスと比べてヒトの細胞や組織の生着性が高く、ヒトがん細胞を非常に高い効率で生着させることが可能である^{7,8)}。これらの重度免疫不全マウスを利用することにより、再生医療製品中に残留・混入する僅かな造腫瘍性細胞を検出できる可能性は高い。ただし、現時点ではその方法は各国規制当局間で調和されておらず、科学的リスク評価のためには再生医療製品の造腫瘍性の定量化の方策の検討と、その標準化が必要である。試験系開発における検討課題としては、a) 試験系の検出限界・感度・精度の分析的検討、b) 陽性・陰性コントロールのあり方、c) 投与細胞数、d) 投与経路、e) 投与方法、f) 観察期間、g) ヌードマウスとの比較などが挙げられる。

C-2-4-3 最終製品の非臨床安全性評価の