

## ための造腫瘍性試験

ヒト ES/iPS 細胞加工製品の最終製品中の細胞集団、すなわち「投与細胞」には、目的細胞に加え、混入する前駆細胞や残存多能性幹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。さらに、最終製品の造腫瘍性試験における「造腫瘍性」には、ヒトでの生着部位での腫瘍形成能を考察する材料であることが要求される。したがって、最終製品における造腫瘍性関連の懸念事項には、①「どのくらいヒト多能性幹細胞が残存しているか」、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」ということに加え、③「投与細胞が、生着する微小環境で腫瘍を形成するか」ということが挙げられる。①、②については、中間製品評価の場合と同様、多能性幹細胞のマーカータンパク質／マーカー遺伝子の検出（①）、不死化細胞の検出や足場非依存性増殖細胞の検出など（②）でそれぞれ評価が可能であると考えられる。一方、③「投与細胞が、生着する微小環境で腫瘍を形成するか」という懸念については、*in vivo* 造腫瘍性試験が必要となる。その場合に考慮すべき点としては、a) 試験系の検出限界、b) 投与細胞数、c) 投与部位、d) 例数、e) 観察期間、f) 陽性・陰性コントロールのあり方などが挙げられる。特に、投与部位は、可能な限りヒトでの投与部位に相当する部位を選択すべきである。これは、生着部位の違いによって腫瘍形成能や、腫瘍のタイプが異なるおそれがあり、ヒトへの外挿性を考えるときに問題となる可能性があるためである。もしも、物理学的障害を生ずるなどの理由により当該

部位に対する投与細胞数に限界がある場合には、可能であれば投与部位を変更するのではなく、動物とヒトとの間の当該投与部位の相対的スケール比に応じた投与細胞数の調節などが必要となる。すなわち、生着する微小環境と投与細胞との相互作用による腫瘍形成の可能性を考察することを優先する。免疫特権、炎症、虚血など、特殊な投与環境における細胞の挙動は動物モデルにおける *in vivo* での評価でなければ、考察することが困難だからである。

## C-2-4-4 ヒト iPS 細胞加工製品の課題

近年わが国では、ヒト iPS 細胞に由来する細胞加工物（ヒト iPS 細胞加工製品）の開発に特に期待が高まっているが、ヒト iPS 細胞加工製品の場合、原料・原材料としての iPS 細胞が持つ造腫瘍性、および最終製品に残存する未分化 iPS 細胞の造腫瘍性には様々な要素が関わってくる。すなわち、ヒト iPS 細胞の由来となる体細胞の種類、ヒト iPS 細胞中における初期化因子残存の有無、さらにはその細胞株自身の目的細胞への分化抵抗性などが、造腫瘍性に影響すると考えられる。目的細胞に効率的に分化するような細胞株、または悪性腫瘍を形成しやすい細胞株の判定方法を明らかにすることが今後の課題である。

しかしながら、このような判定の根拠となるような特性（例えば特定遺伝子の変異や発現など）が、あらゆるヒト iPS 細胞加工製品の安全性の必要十分条件であるわけではない。つまり、ヒト iPS 細胞加工製品の造腫瘍性を評価する上では、「原料・原材料となる幹細胞

の造腫瘍性と最終製品の造腫瘍性との相関・因果関係の有無は未解明あるいは最終製品次第」という点に最大の注意が必要である。即ち、臨床適用に際しては、原料・原材料ではなくあくまで最終製品としてのヒト iPS 細胞加工製品の造腫瘍性評価が最も重要であることに常に留意しなければならない<sup>9)</sup>。

#### C-2-5 ヒト体細胞・体性幹細胞加工製品

移植医療の現場では細胞・組織の造腫瘍性の評価がほとんど行われていないことから、ヒト体細胞・体性幹細胞に由来する再生医療製品についても、原料・原材料となる未加工の体細胞・体性幹細胞には一般的に造腫瘍性がないと考えられる。したがって、ヒト体細胞・体性幹細胞加工製品の造腫瘍性に関しては、「最終製品（ないし中間製品）の中に目的外細胞として造腫瘍性形質転換細胞が混入しているか」という懸念と「投与細胞が、生着する微小環境において腫瘍を形成するか」という懸念についてのみ検討すればよいということになる。

既に世界各地でヒト体細胞・体性幹細胞に由来する再生医療製品の臨床応用が進んでいるが、これらの製品の投与を原因とする腫瘍形成の学術論文としての報告は、ヒト胎児由来神経幹細胞を用いた毛細血管拡張性運動失調症の治療により脳腫瘍が形成されたとするもの<sup>10)</sup> や、自家嗅粘膜移植後の腫瘍形成事例<sup>11)</sup> など限られたものしかない。再生医療・細胞治療に汎用されるヒト間葉系幹細胞を原料とした製品に限れば、筆者らの知るところでは、投与による腫瘍形成の報告は少ない。過

去にヒト間葉系幹細胞の *in vitro* 培養時の自発的な悪性形質転換が 4 件報告されているが、このうち 2 件<sup>12,13)</sup> はがん細胞株のクロスコンタミネーションによるものであることが後に判明している。また、残りの 2 件<sup>14,15)</sup> では *in vitro* 培養時に細胞の不死化が確認されている。これらのことは、最終製品への悪性腫瘍細胞のクロスコンタミネーション防止および細胞増殖特性の把握<sup>16)</sup> が重要であることを示している。したがって、GMP に準拠した厳密な工程管理の下に培養・加工され、細胞増殖特性解析で異常がないことを確認したヒト間葉系幹細胞由来の細胞加工製品については、非臨床安全性試験として免疫不全マウスを用いた造腫瘍性試験を行う必要性は高くないと考えられる。

#### C-3 核型解析／オミクス／次世代シーケンサー

造腫瘍性試験の一種として、核型解析、オミクス、次世代シーケンサーといったツールが挙げられることがよくあるが、これには注意が必要である。

細胞加工製品の開発における造腫瘍性評価の目的は、手元の製品の開発・臨床利用上の意思決定にある。では、核型解析、オミクス、あるいは次世代シーケンサーの結果をもとに細胞加工製品の造腫瘍性を評価できるであろうか？ 評価できるとするならば、核型解析、オミクス、あるいは次世代シーケンサーのデータと最終製品の造腫瘍性との間に、意思決定の根拠となるに足る明確な相関があるという具体的証拠がなければならない。しかし、

通常、そのような証拠は見つからないのが現実である。つまり、現状では核型解析、オミクス、および次世代シーケンサーは製品の造腫瘍性の評価にはあまり役立たない。

むしろ核型解析、オミクス、および次世代シーケンサーは、ゲノムの安定性（遺伝的安定性）の評価に有用と考えるべきである。ただし、これらの技術をどのように利用すれば製品のゲノム安定性を定量的に評価することができるかという方法の確立・標準化は今後の課題である。

オミクスや次世代シーケンサーは、製品規格や製法を改善するための Reverse Translational Research に、有用となる可能性がある。つまり、取得しておけば将来、製品の改善・改良に役立つかもしれないという意味では有用である。ただし、そのような目的で利用するデータは薬事承認申請の要件（申請品目の品質・有効性・安全性を証明するデータ）ではないことに注意が必要である。

勿論、WHO TRS 878 および ICH-Q5D 的な考え方からすれば、核型解析、オミクス、および次世代シーケンサーは、ゲノムの高いインテグリティと安定性が要求される公的な細胞ストックや細胞加工製品製造用セル・バンクの品質管理には有用であると考えられる。

#### C-4 造腫瘍性に関するまとめ

細胞加工製品の開発を行う場合、「リスクベアスアプローチ」に基づいて、最終製品のリスクやリスク要因をプロファイリングすることで、想定される多くの懸念事項を整理することが可能となる。中でも、最終製品の「造

腫瘍性」に関する課題は、細胞加工製品の安全性を確保するためにも適切に検討していく必要があると思われる。現在、ヒト多能性幹細胞加工製品を含む細胞加工製品を対象にした造腫瘍性試験ガイドラインは存在しない。現時点では、細胞加工製品の中でも特に造腫瘍性に関して懸念の強いものについて、本稿で挙げたタイプの異なる試験を複数実施し、総合的に判断すべきであると考えられている。さらに、個別の製品で示すべき具体的評価事項は、原材料・製造基材や製品の特性・対象疾患・リスクマネジメントプランなどを勘案して製品ごとに判断されるものである。適切な試験を組み合わせた結果・評価についても、ヒトでの結果を完全に保証するものではなく、各試験法の能力と限界を理解したうえで、リスク評価・リスクマネジメント立案およびインフォームド・コンセントの受領を行うことが重要である。

また、細胞加工製品の開発、各種試験法の開発・改良に関しては、臨床応用される最終製品の特性を踏まえて適用すべき試験を選択し、長期的に安全性・有効性を評価していく必要がある。今後、造腫瘍性の要因となるデータが集積された段階で、随時検討を重ねていかなければならない。

#### D. 考察

本分担研究では、非臨床安全性試験全般に関する MCP を案出すると同時に造腫瘍性試験の考え方を整理した。本 MCP および造腫瘍性に関する考え方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乗せすべき試験・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。

## <参考文献>

1. 安田智, 佐藤陽治: 安全性評価の総論、造腫瘍性試験の現状と展望。「幹細胞医療の実用化技術と産業展望」(監修: 江上美芽、水谷学). シーエムシー出版. (東京). 2013. pp247-255.
2. World Health Organization: Recommendations for the evaluation of animal cell cultures as substrates for the manufacture of biological medicinal products and for the characterization of cell banks (Proposed replacement of TRS 878, Annex 1). October 18-22, 2010.
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. Kuroda T, Yasuda S et al.: Highly sensitive *in vitro* methods for detection of residual undifferentiated cells in retinal pigment epithelial cells derived from human iPS cells. *PLoS One*. (2012) 7, e37342.
5. Ito M, Hiramatsu H et al.: NOD/SCID/gamma(c)(null) mouse: an excellent recipient mouse model for engraftment of human cells. *Blood* (2002) 100, 3175-3182.
6. Shultz LD, Lyons BL et al.: Human lymphoid and myeloid cell development in NOD/LtSz-scid IL2R gamma null mice engrafted with mobilized human hemopoietic stem cells. *J Immunol* (2005) 174, 6477-6489.
7. Machida K, Suemizu H et al.: Higher susceptibility of NOG mice to xenotransplanted tumors. *J Toxicol Sci* (2009) 34, 123-127.
8. 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 $\gamma^{\text{null}}$  mice for detection of tumorigenic cellular impurities in human cell-processed therapeutic products. *Regen Therapy*. 2015;1:30-7.
9. 細胞組織加工製品専門部会:iPS 細胞等をもとに製造される細胞組織加工製品の造腫瘍性に関する議論のまとめ. (独)医薬品医療機器総合機構科学委員会. 2013(平成25)年8月20日.
  10. Amariglio N, Hirshberg A et al.: Donor-derived brain tumor following neural stem cell transplantation in an ataxia telangiectasia patient. *PLoS Med* (2009) 6, e1000029.
  11. Mamelak AN, Eggerding FA et al.: Fatal cyst formation after fetal mesencephalic allograft transplant for Parkinson's disease. *J Neurosurg*. 1998;89:592-8.
  12. Garcia S, Bernad A et al.: Pitfalls in spontaneous in vitro transformation of human mesenchymal stem cells. *Exp Cell Res* (2010) 316, 1648-1650.
  13. Torsvik A, Røsland GV et al.: Spontaneous malignant transformation of human mesenchymal stem cells reflects cross-contamination: putting the research field on track - letter. *Cancer Res* (2010) 70, 6393-6396.
  14. Wang Y, Huso DL et al.: Outgrowth of a transformed cell population derived from normal human BM mesenchymal stem cell culture. *Cytherapy* (2005) 7, 509-19.
  15. Tang DQ, Wang Q et al.: In vitro generation of functional insulin-producing cells from human bone marrow-derived stem cells, but long-term culture running risk of malignant transformation. *Am J Stem Cells* (2012) 1, 114-127.
  16. 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*. 2015;43:146-9.
- 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 $\gamma^{\text{null}}$  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 Sep15;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 $\beta$  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*

- a. *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).
- 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)

## 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)
- 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回日本生化学会大会, 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<sup>th</sup> 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<sup>th</sup> 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, 12<sup>th</sup> 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, 12<sup>th</sup> 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, 12<sup>th</sup> 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, 12<sup>th</sup> 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)を用いたドー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)を用いたドー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 36<sup>th</sup> 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 36<sup>th</sup> 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 36<sup>th</sup> 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 36<sup>th</sup> 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 Chaiech<sup>1,2</sup> 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 36<sup>th</sup> 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 36<sup>th</sup> 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 39<sup>th</sup> 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 Chaiech, 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- $\alpha$  release in RBL-2H3 cells. The 27th International Conference on Polyphenols (ICP2014), (Nagoya, Japan), 2014.9.
- 61 ) Tadashi Michiyama, Hiroyuki Moriyama, Mariko Moriyama, Takao Hayakawa, Kiyofumi Ninomiya, Osamu Muraoka, Saowanee Chaiech, 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- $\alpha$ -induced cell damage. The 8th JSP-CCTCM-KSP Joint Symposium on Pharmacognosy, (Fukuoka, Japan), 2014.9.

件」(平成 26 年厚生労働省告示第 375 号) ;

## 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】

- 3) 「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)
- 4) 生物由来原料基準の一部を改正する

表 1 主な造腫瘍性関連試験

*in vivo* 試験法

試験法	測定事項	目的	利点	欠点
ヌードマウスへの移植	腫瘍形成	造腫瘍性細胞の検出	●定量化の方策が整備 (WHO TRS 878)	●時間(数週間～数カ月)・費用がかかる ●膀胱がん, 乳がん, グリア細胞腫, リンパ腫, 白血病細胞に由来する細胞株は腫瘍を形成しない ●僅かに含まれる造腫瘍性細胞を検出できない
NOD-SCID マウスへの移植			●ヌードマウスよりも高感度	●時間(数週間～数カ月)・費用がかかる ●定量化の方策が未整備 ●胸腺腫を自然発症
NOG/NSG マウスへの移植			●NOD-SCID よりも高感度/胸腺腫なし	●時間(数週間～数カ月)・費用がかかる ●定量化の方策が未整備

*in vitro* 試験法

試験法	測定事項	目的	利点	欠点
細胞増殖特性解析 (所定培養期間を超えた培養)	細胞増殖速度	不死化細胞の検出	●簡便・安価 ●時にはヌードマウスよりも『高感度』(不死化していても腫瘍形成のないケース)	●僅かな不死化細胞の混入の検出には時間がかかる
フローサイトメトリー	細胞マーカー蛋白質発現	造腫瘍性細胞・未分化細胞の検出	●短時間(～1日)、簡便 ●時には軟寒天コロニー試験よりも『高感度』 ●細胞を識別・分離・回収できる	●間接的、特定のマーカー発現細胞だけしか検出できない =マーカー(-)の造腫瘍性細胞を見逃すおそれ ●ゲートの掛け方で結果がばらつく
qRT-PCR	細胞マーカー遺伝子発現		●短時間(～1日)、簡便 ●時にはフローサイトメトリーよりも『高感度』	●間接的、特定のマーカー発現細胞だけしか検出できない =マーカー(-)の造腫瘍性細胞を見逃すおそれ
Essential-8 /ラミニン 521 直接培養増幅法	ヒト多能性幹細胞のコロニー形成	ヒト多能性幹細胞の検出	●直接的、簡便、 <i>in vivo</i> 試験より短時間 ●残存 iPS 細胞の特性解析が可能	●時間がかかる (約 1 週間)
軟寒天コロニー形成試験	コロニー形成	足場非依存的増殖の検出	● <i>in vivo</i> 試験より短時間(数週間～1カ月程度) ●安価 ●時にはヌードマウスよりも『高感度』	●浮遊系細胞に使用できない ●時間がかかる(数週間～1カ月程度) ●ヒト ES/iPS 細胞は検出不能(分散誘導性細胞死)
核型分析	染色体の数・サイズ・形	染色体/遺伝子異常の検出	●技術的に確立 ●外部機関による受	●相関性の問題 =「染色体や特定遺伝子の異常」

染色体 CGH およびアレイ CGH	ゲノム DNA のコピー数異常		託解析もあり ●細胞の遺伝的安定性について評価可能	と「造腫瘍性」との相関は未解明 ●僅かに含まれる造腫瘍性細胞を検出できない
蛍光 in situ ハイブリダイゼーション (FISH)分析	特定遺伝子の位置・コピー数			
次世代シーケンサー	遺伝子配列		●外部機関による受託解析もあり ●細胞の遺伝的安定性について評価可能	

## 非臨床有効性（POC）試験M C P

研究分担者

梅澤 明弘 国立成育医療研究センター 生殖・細胞医療研究部/再生医療センター  
研究センター長

早川 堯夫 近畿大学薬学総合研究所所長

非臨床有効性（POC）試験M C Pとして挙げられるのは、以下のようなものであった。

1) 技術的に可能で、科学的に合理的な範囲で、実験動物や細胞等を用いて、期待される効果や体内動態等を検討。POCを示す

2) 適切な製品モデル/疾患モデル動物の合理的活用

3) 当該製品の効力又は性能による治療が他の治療法と比較したときはるかに優れて期待できることが国内外の文献又は知見等により合理的に明らかにされている場合には、治験開始段階では、必ずしも詳細な実験的検討は必要とされない。

なお、非臨床有効性（POC）試験は、その特質から個別製品毎に方策を決めていく、ケース別上乘せ方策をいかにするかが、課題である。しかし、きわめて広汎な種類の製品や特性を有するヒトの生きた細胞があり、そのさまざまな製品様態や移植法・移植部位・移植経路、疾病や患者の状態などの要素を考慮するとき、そのバリエーションは数多く、さらに知識や経験の蓄積も乏しいことから、ケース別上乘せ方策として直ちに答えが出せないケースも多い。非臨床有効性試験についてさまざまな問題点が班会議で挙げられた。これらの問題は衆知を結集してその時点における解を得ていく以外にない。

### 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。業務主任者らはこれまで、薬事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く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いる。

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（ミニマム・コンセンサス・パッケージ：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。MCPは、これを共通のプラットフォームとし、これに現行の網羅的指針等を参考に各製品の特性等を踏まえた技術的要件を選択して上乗せする、という合理的アプローチを可能にする特色を持つ独創的なものであり、諸外国では類をみず、規制面から国際的優位性を確保するための方策である。本分担研究では、非臨床有効性（POC）試験MCP及び非臨床有効性（POC）試験を実施する上での問題点及び未解決課題について検討を加えた。

## B. 研究方法

本研究の目標は、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、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に確保し、再生医療実用化加速を図ることである。そのため、プロジェクトを総合的に推進すべく、業務主任者が業務分担者を統括しながら実施する。当該年度のMCP

P策定のための研究対象項目対象項目の概略は次の通りである。各々について、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、その要項を、まとめる。

### B-1 非臨床有効性（POC）試験MCP

非臨床有効性（POC）試験MCPについて、以下の基本要件・基準項目を挙げ、その要項をまとめる。

## C. 研究結果

### C-1 非臨床有効性（POC）試験MCP

非臨床有効性試験は、開発された個別の新規製品が対象とする疾病に対して期待される機能発現、作用持続性及び医療製品として期待される臨床効果の実現可能性(Proof-of-Concept:POC)を示すこと、体内動態に関する試験等により、製品中の細胞・組織の生存期間、効果持続期間を推測し、目的とする効果が十分得られることを明らかにすること、製品の用法(投与方法)について、動物実験を通してその合理性を明らかとすること、特定の部位(組織等)に直接適用又は到達して作用する場合には、その局在性を明らかにすることなどを目的に試験、評価するものであり、ケース・バイ・ケースのアプローチになることはむしろ必然とさえいえる。このような中で、あえてMCPを挙げるとすれば、次の様な事項であろう。

- 1) 技術的に可能で、科学的に合理的な範囲で、実験動物や細胞等を用いて、期待される効果や体内動態等を検討。



POCを示す

- 2) 適切な製品モデル/疾患モデル動物の合理的活用
- 3) 当該製品の効力又は性能による治療が他の治療法と比較したときはるかに優れて期待できることが国内外の文献又は知見等により合理的に明らかにされている場合には、治験開始段階では、必ずしも詳細な実験的検討は必要とされない

## C-2 非臨床有効性 (POC) 試験を実施する上での問題点及び未解決課題

非臨床有効性 (POC) 試験は、その特質から個別製品毎に方策を決めていく、ケース別上乘せ方策をいかにするかが、課題である。しかし、きわめて広汎な種類の製品や特性を有するヒトの生きた細胞があり、そのさまざまな製品様態や移植法・移植部位・移植経路、疾病や患者の状態などの要素を考慮するとき、そのバリエーションは数多く、さらに知識や経験の蓄積も乏しいことから、ケース別上乘せ方策として直ちに答えが出せないケースも多い。現在、非臨床有効性試験について班会議で提示されている問題点等を以下に列挙する。これらの問題は衆知を結集してその時点における解を得ていく以外にない。

1. 動物実験が用意できない場合がある。  
例えば、動物実験において視力の回復について検討する適切なモデルが提示できない。
2. 自己由来体細胞製品の場合、ドナー毎に製品の品質に幅がある。例えば、表皮製品は製造過程において、細胞増殖

がドナーの年齢に影響されることが知られている。

3. すべての製造工程を標準作業手順書に従って作製した治験薬にて動物実験ができない場合がある。例えば、軟骨製品や皮膚製品を非臨床有効性試験実施のために作製する場合ボランティアからの採取を含めた製造工程を取ることが困難である。
4. iPS 細胞製品の原材料に由来する細胞株毎に非臨床有効性試験を行うことは必要ないとしてよいか。
5. ES 細胞製品の原材料に由来する細胞株毎に非臨床有効性試験を行うことは必要ないとしてよいか。
6. ヒト細胞製品を用いて、非臨床有効性試験を行うことが困難な場合、抗体医薬のようにマウス等の動物由来製品で非臨床有効性試験をデザインできるか。
7. *in vitro* における非臨床有効性試験を行うことが困難な場合もある。例えば、虚血下肢に対する骨髄間質細胞移植のように薬効成分を規定できない場合や、一つに定めることができないことがあり得る。
8. 効能・効果のメカニズムが科学的に明らかにならない場合がありえる。例えば、虚血下肢に対する骨髄間質細胞移植のように薬効成分を規定できない場合や、一つに定めることができないこ

とがあり得る。

9. ヒトにおいて、治験薬の類似薬が臨床研究で行われている場合、製造工程が異なっただとしても、非臨床有効性試験が必要ないのではないか。骨髄間質細胞で論文等で報告がされている場合、改めて、当該治験薬を用いて、非臨床有効性試験を行う必要性がない場合があるのではないか。

#### [追加的問題点]

- 効力裏付け試験の設計の問題
  - in vivo で実施する効力裏付け試験について
  - ◇ 試験用動物のあり方や評価について
    - ✓ 試験用に用いるモデル動物がヒトの疾患を模倣できているか（ヒトへの外挿性説明）。
    - ✓ モデル動物で疾患の奏効の確認ができたことまでしないと臨床にもっていけないか。エンドポイントとは？
    - ✓ Mode of Action が細胞の産生物（酵素補充療法におきかわるコンセプトの製品等）や力学的作用である場合は医薬品レベル、医療機器レベルまで求めるべきか。
    - ✓ 治験にあたっては最低限、試験用動物を「生きた試験管」としてとらえ、その動物内での挙動（生着等、モノに応じた特性を確認できればなおよし）を解析する

ことさえすればよいのではないか？

- ◇ ヒト由来製品（実製品）と動物由来同等品について
  - ✓ 動物由来同等品を使用→拒絶の問題（実製品が自己由来だから）、レシピエントとの親和性の問題（例えば少しでも有効性を高く示したい等）等から。
  - ✓ 動物由来同等品の取扱い
    - 製造方法（材料、工程、管理等）を変更してまで動物由来同等品をヒト由来同等品と同じ CQA または規格の範囲内に入るように製造したものを同じとして取扱うには MOA 次第？
    - そもそも MOA に関連する Critical Quality Attributes が同じであれば外挿可能？同じでなければ外挿不可？MOA と関連づけられる CQA が不明の場合における外挿のアプローチは？
  - ✓ ガン免疫細胞治療のようにヒト由来製品を投与すると GVHD を起こすもの等、ヒト由来製品のほうがむしろ適切に評価できないケースについて。GVHD を起こすこと自体活性を持っている（プラセボではない）証拠？
- 品質特性/規格に関連する問題
  - in vivo で実施する規格試験（力価試験）について
  - ◇ 力価試験等として設定できるのは、MOA を踏まえて試験用動物の生理

的挙動が明らかかつ鋭敏な場合のみか。

◇ 都度ドナーから取り出した組織から製造する自己／同種製品ではその製造量から MOA に関する規格の設定は破壊試験は不可が多い問題について。可能なのはセル・バンクを構築する場合のみか。

◇ 上記がクリアできた場合でも製品の安定性の問題。

● その他：目的外作用について

➤ 評価不能な場合が多いので、安全性試験・臨床試験での事象での確認をもって包括的に評価することであり、治験開始にあたってはケース・バイ・ケース。

◇ いわゆる安全性薬理：局所投与部位、投与経路、非臨床安全性試験（動態の考察含む）でコアバッテリーへの影響がありそうな場合に限り議論。

◇ いわゆる副次的薬理：加工細胞がきちんと性能を有する場合、off-target 効果が出そうな場合に限り話。

D. 考察

非臨床有効性（POC）試験は、その特質から個別製品毎に方策を決めていく、ケース別上乘せ方策をいかにするかが、課題である。しかし、きわめて広汎な種類の製品や特性を有するヒトの生きた細胞があり、そのさまざまな製品様態や移植法・移植部位・移植経路、疾病や患者の状態などの要素を考慮するとき、そのバリエーションは数多く、さらに知識や経験の蓄積も乏しい

ことから、ケース別上乘せ方策として直ちに答えが出せないケースも多い。現在、非臨床有効性試験について班会議で提示されている問題点等を列挙したが。これらの問題は衆知を結集してその時点における解を得ていく以外にない。

E. 結論

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

G-1 論文発表

- 1) Takao Hayakawa, Takashi Aoi, Akihiro Umezawa, Keiya Ozawa, Yoji Sato, Yoshiki Sawa, Akifumi Matsuyama, Shinya Yamanaka, and Masayuki Yamato. A 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.
- 2) Takao Hayakawa, Takashi Aoi, Akihiro Umezawa, Keiya Ozawa, Yoji Sato, Yoshiki Sawa, Akifumi Matsuyama, Shinya Yamanaka, and Masayuki Yamato. A 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.
- 3) Takao Hayakawa, Takashi Aoi, Akihiro Umezawa, Keiya Ozawa, Yoji Sato, Yoshiki Sawa, Akifumi Matsuyama, Shinya Yamanaka,

- and Masayuki Yamato. A 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.
- 4) Takao Hayakawa, Takashi Aoi, Akihiro Umezawa, Keiya Ozawa, Yoji Sato, Yoshiki Sawa, Akifumi Matsuyama, Shinya Yamanaka, and Masayuki Yamato. A 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.
  - 5) Takao Hayakawa, Takashi Aoi, Akihiro Umezawa, Keiya Ozawa, Yoji Sato, Yoshiki Sawa, Akifumi Matsuyama, Shinya Yamanaka, and Masayuki Yamato. A 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.
  - 6) 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.
  - 7) 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.
  - 8) 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  $\beta$  receptor 2 expression determines the hepatoblast fate decision. *Development.* 2014 Jan;141(1):91-100.
  - 9) 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.
  - 10) 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).
  - 11) 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).
  - 12) Inoue T, Umezawa A, Takenaka T, Suzuki H, Okada H. The contribution of epithelial-mesenchymal transition to renal fibrosis differs among