

**厚生労働科学研究委託費
再生医療実用化研究事業**

**脂肪組織由来多系統前駆細胞を用いた
抗炎症・肝線維溶解療法の開発**

平成26年度 委託業務成果報告書

業務主任者 松山 晃文

平成27（2015）年 3月

本報告書は、厚生労働省の厚生労働科学研究
委託事業による委託業務として、独立行政法
人医薬基盤研究所 理事長 米田 悦啓が実
施した平成26年度「脂肪組織由来多系統前
駆細胞を用いた抗炎症・肝線維溶解療法の開
発」の成果を取りまとめたものです。

目次

・ 委託業務成果報告（総括）

「脂肪組織由来多系統前駆細胞を用いた抗炎症・肝線維溶解療法の開発に関する研究 脂肪組織由来多系統前駆細胞試験物概要書の策定」

業務主任者

（独）医薬基盤研究所 難病・疾患資源研究部 部長心得 松山晃文

・・ 5

・ 委託業務成果報告（業務項目）

1. 「ADMPC 細胞製剤の有用性の検証・検討に関する研究」

（独）医薬基盤研究所 難病・疾患資源研究部 部長心得 松山晃文

同 難治性疾患治療開発・支援室 研究調整専門員 大倉華雪

・・ 31

2. 「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」

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 一瀬晃洋

国立大学法人神戸大学医学研究科内科系講座 特命教授 青井貴之

・・ 41

3. 「臨床試験（治験）プロトコール策定・薬事戦略相談

再生医療等製品の治験実施体制整備に関して」

神戸国際フロンティアメディカルセンター 理事長・院長 田中紘一

（独）医薬基盤研究所 難病・疾患資源研究部 部長心得 松山晃文

・・ 57

4. 「臨床試験（治験）プロトコール策定・薬事戦略相談

再生医療等製品の臨床試験及び製造販売承認申請のための非臨床試験の実施にかかる基本的考え方の提示に関して」

（独）医薬基盤研究所 難病・疾患資源研究部 部長心得 松山晃文

・・ 81

・ 学会等発表実績

..... 93

. 研究成果の刊行物・別刷

..... 99

厚生労働科学研究委託費（再生医療実用化研究事業）委託業務成果報告書（総括）

脂肪組織由来多系統前駆細胞を用いた 抗炎症・肝線維溶解療法の開発に関する研究 脂肪組織由来多系統前駆細胞試験物概要書の策定

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）

研究要旨

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。

A．研究目的

本研究の到達点は治験届 package 構築であり、その一環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することを目的とする。

B．研究方法

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

「脂肪組織由来多系統前駆細胞試験物概要書」

1 物理的・化学的および薬剤学的性質

脂肪組織由来多系統前駆細胞懸濁液（以下、本試験物）は、健常ドナー皮下脂肪組織から約100~200g採取した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

CELLBANKERにて細胞を懸濁し凍結したものであって、医療機関にて融解後に経冠動脈的に患者心臓の障害部位に投与するヒト（同種）由来再生医療等製品である。

本試験物は、被験者に対して経冠動脈的に障害された冠動脈領域に投与する細胞製剤である。本試験物の外観は、乳白色半透明の懸濁液であり、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。

2 非臨床試験

2.1 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。

2) 副次的薬理試験

副次的薬理試験の目的は、期待した治療標的に関連しない被験物質の作用もしくは効果の機序に関する試験である。当該作用は単回毒性試験にて観察しうると考え、本試験物を用いた副次的薬理試験は実施していない。

3) 安全性薬理試験

当該試験の目的は単回毒性試験にて達しうると考え、本試験物を用いた安全性薬理試験は実施していない。

4) その他の薬理試験

本試験物を用いたその他の薬理試験は実施していない。

2.2 毒性試験

1) ADMPCのヌードラットを用いる単回投与毒性試験の予備試験（株式会社日本バイオリサーチセンターにて実施）

ADMPCを雄ヌードラットに 1.7×10^6 、 5.0×10^6 、 1.5×10^7 cells/kgを尾静脈内に単回投与した。対照は、生理食塩液を投与した。尾静脈内投与では、ADMPC各投与群とも死亡発現は認められず、一般状態、体重推移及び剖検所見に異常は認められなかった。最小致死量は、 1.5×10^7 cells/kg以上と考えら

れる。本試験の高用量は 1.5×10^7 cells/kg以上と考えられる。

2) ADMPCのヌードラットを用いる単回静脈内投与毒性試験（GLP試験：株式会社日本バイオリサーチセンターにて実施）

ADMPCを雌雄ヌードラットに 1.7×10^6 、 5.0×10^6 、 1.5×10^7 cells/kgを静脈内に1回投与した。投与後の観察期間は14日間とした。対照は、陰性対照としてリンゲル液を、媒体対照として3.3%ヘパリン加リンゲル液を投与した。ADMPC各投与群の雌雄とも死亡発現は認められず、一般状態、体重推移及び剖検に異常は認められなかった。最小致死量は、雌雄とも 1.5×10^7 cells/kg以上と考えられる。ADMPCの 1.5×10^7 cells/kgまでの単回静脈内投与では、一般状態、体重推移及び剖検に異常は認められず、本試験物の臨床使用時において、重篤な全身毒性が発現するリスクはないと判断した。

3) 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。 2×10^6 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。

4) 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。

5)造腫瘍試験 (GLP試験：(財)食品薬品安全性センターにて実施)

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107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。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実施されたため、旧ガイドラインのもと行われている。

6)軟寒天コロニー形成確認試験 (GLP試験：(財)食品薬品安全性センターにて実施)

軟寒天コロニー形成試験を実施することにより、P5-ADMPC(ロット番号：070927F)(ロット番号：081009M)(ロット番号：090420F)の形質転換の有無を評価した。被験細胞は凍結アンプルで受領後、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：070927Fでは、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。ロット番号：081009Mでは、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。ロット番号：090420Fでは、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。以上の結果から、P5-ADMPC(ロット番号：070927F)(ロット番号：081009M)(ロット番号：090420F)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。

7) 核型分析試験 (GLP試験：(財)食品薬品安全性センターにて実施)

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。

8) Comparative Genomic Hybridization (CGH)試験 (タカラバイオにて実施)

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。

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、現在計画中有である。

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。

3 臨床での使用成績

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ライアルについて、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。非培養の骨髄由来単核球を肝硬変患者に投与する臨床研究に関しては、我が国で山口大学及び山形大学にて実施されている。骨髄も脂肪組織も間葉系組織であるが、本申請における細胞製剤は培養工程を経たものであり、細胞培養工程を経ない

非培養の骨髄由来単核球とは異なる。また金沢大学にて、肝硬変を対象とした脂肪組織由来間質細胞（非培養）を経肝動脈的投与あるいは経静脈的に投与する臨床研究が開始されている。なお、詳細は「1.4.6.脂肪組織由来多系統前駆細胞懸濁液による治療」を参照されたい。

1. 序文

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. 薬理学上の分類と分類内での期待される位置付け

本試験物は、健常ボランティア（ドナー）からの腹部皮下脂肪組織の提供を受け、当該脂肪組織からコラーゲン分解酵素にて Stromal Vascular Fraction（以下SVF）を分離回収し、SVFから単離したのちに増殖させた脂肪組織由来多系統前駆細胞(ADMPC)を本質とする、ヒト（同種）由来細胞・組織加工医薬品に該当する。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、肝硬変症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。

ドナー腹部皮下脂肪組織採取から本試験物の投与までの概略を以下に示す。

腹部皮下脂肪組織の提供
脂肪吸引手術時に、医療廃棄物として廃棄される脂肪組織を約
100~200g提供をうける。

搬送
提供された脂肪組織は、専用容器で

AMT-Cell Manufacturing Unit（以下CMUと略）へ搬送される。

製造と品質管理

CMUでは、搬送された組織から酵素処理によってStromal Vascular Fraction (SVF)を分離回収し、24時間後に脂肪組織由来多系統前駆細胞を単離培養し回収する。

投与

医療機関内で解凍され、被験者に対し、本試験物を障害された冠動脈領域に経冠動脈的に投与される。

1.4. 本臨床研究実施の根拠

1.4.1. 対象疾患

肝硬変症

1.4.2. 概念・定義・病因・病態

肝硬変は、炎症による細胞の破壊と再生を繰り返した結果、病理組織学的に慢性の肝細胞の障害により線維性隔壁に囲まれた再生結節（偽小葉）が形成された肝障害の終末像である。本邦ではウイルス肝炎、特にC型肝炎ウイルス感染が原因の肝硬変の割合が最も高いが、最近ではメタボリックシンドロームに関連した非アルコール性脂肪肝炎（NASH）の占める割合が少しずつ増加している。肝硬変は肝癌の発癌危険因子であり、その予防・治療法の開発などは非常に重要な課題である。

肝硬変であると診断するには、黄疸、腹水、肝性脳症などの肝不全症候を認める非代償性肝硬変では容易である。しかし、代償性肝硬変では自覚症状を認めないことも多く、その前段階である慢性肝炎との鑑別が重要であり、実際の臨床の場においては、進行した慢性肝炎なのか、初期の肝硬変（代償性肝硬変）であるのかを鑑別する

のはしばしば困難な場合があり、肝生検，腹腔鏡検査により初めて可能となる例も多い。

肝細胞が壊死・脱落を繰り返し、線維化が顕著となり隔壁形成が起り、再生結節が完成した状態、つまり肝硬変を、血液検査所見のみで診断することは困難である。慢性肝炎の進行した状態の判別、肝硬変の重症度、潜在性肝硬変の発見など、従来の古典的な検査とアミノ酸分画、線維化マーカー、胆汁酸など比較的新しい検査を組み合わせ、いかに組織をみなくても肝硬変が診断できるか総合的に診断を進めることとなる。

肝機能（AST(GOT)、ALT(GPT)等）は軽度異常であることが多く、肝硬変の程度をはかる指標にはならない。肝硬変の程度を測る指標としては、血清アルブミン濃度の低下、総ビリルビン濃度の上昇、プロトロンビン時間の延長、蛋白合成能を反映する非特異的コリンエステラーゼの低下がある。

他に、肝硬変に特有の検査として、肝臓の線維化マーカーであるヒアルロン酸やIV型コラーゲン7S、プロコラーゲンIIIペプチド(P-III-P)も用いられる。これらの異常は肝硬変であることを強く示唆する。排泄能の評価にはインドシアニングリーン静注後15分の停滞率を測定することが多い（略号ICG₁₅）。そのほか、血液中の血小板数の減少（C型肝炎において肝線維化との相関が強い）、白血球減少、貧血の上昇を認める。

肝硬変の画像所見は、肝自体の線維化に伴う形態変化、肝硬変によってもたらされる血行動態変化（門脈圧亢進）に伴う画像所見、肝機能低下によって起る画像所見に大別される。

1.4.3. 疫学

日本には40万人の肝硬変患者がおり、病因は60%がC型肝炎、15%がB型肝炎、12%がアルコール性、その他（ヘモクロマトーシス、ウイルソン病、原発性胆汁性肝硬変、Budd-Chiari症候群、うっ血性心不全）である。人口10万人あたりの死亡率は12.5人で、45-59歳の男性では死亡順位第4位である。

1.4.4. 標準治療と予後

治療のゴールは、(1)肝疾患の進展を遅らせる、あるいは治癒させること、(2)他の原因による肝臓障害を予防すること、(3)合併症の予防、(4)肝移植の時期を決定することである。肝炎に対する抗ウイルス治療に加え、生活管理、次いで薬物治療、肝移植である。

生活管理

肝臓は糖質、脂肪、タンパク質、アミノ酸およびエネルギー代謝の中心臓器であることから、肝硬変患者では低栄養状態（PEM）が高頻度に出現し、この状態が患者の予後、あるいはQOLに影響を及ぼす。したがって、肝硬変における栄養代謝について理解したうえで、患者の栄養状態を評価し、適正な栄養療法や運動療法を選択・実施することとなる。

薬物治療・選択基準

肝硬変は臨床的に、代償性（期）と非代償性（期）とに分けられ、黄疸、腹水、浮腫、肝性昏睡、消化管出血などの徴候のある非代償性肝硬変では積極的な薬物療法が必要となる。薬物投与に際しては、必ずしも欧米の基準があてはまらないこともあり、症例ごとに臨床兆候や血液生化学検査値を参考に投与量を加減する。また、肝予備能の低下例では薬物療法の効果に限界がある

ことに留意し、タイミングを逸することなく治療を開始することが重要である。

腹水治療

肝硬変の腹水出現は低タンパク血症、門脈圧亢進症、内分泌異常、循環動態異常などの病態が複雑に絡み合っている。最初の治療は塩分制限、利尿薬でのコントロールとなる。しかし、利尿薬を投与しても効果がない症例、利尿薬の副作用により投与制限を必要とする症例といった難治性腹水に対しては別の治療が必要となる（腹水穿刺＋アルブミン静注、TIPS、Denver型シャント、肝移植など）。

高アンモニア血症治療

肝硬変における高アンモニア血症治療の目的は、肝性脳症の予防ならびに進展の阻止にある。治療においては昏睡度、誘因、臨床病型や肝細胞障害の程度を考慮して行うが、アンモニアの産生抑制とアミノ酸代謝異常などの是正が基本方針であり、誘因除去や食事・栄養管理などの一般療法と並行して行う。

門脈圧亢進症の薬物療法

門脈圧亢進は肝内血管抵抗の上昇と門脈血流量の増加によって生じる。また、肝内血管抵抗の上昇には組織的要因と動態的要因がある。組織的要因による肝内血管抵抗上昇を改善する薬剤には、インターフェロンやアンジオテンシン受容体拮抗薬などがあり、動態的要因による肝内血管抵抗上昇を改善する薬剤には亜硝酸製剤やプラズミンなどがある。門脈血流量を減少し門脈圧を低下させる薬剤には、バソプレシン、プロプラノロールなどがあり、食道静脈瘤の治療に広く用いられている。

肝移植

肝硬変は非可逆性慢性肝不全の病態を呈すると肝移植の適応となる。ウイルス性肝

硬変と非ウイルス性肝硬変では、その肝移植の成績は異なる。臨床的な問題点としては、いつの時点で肝移植のインフォームド・コンセント（IC）を得ることが必要なのか、そして肝移植の適切な実施時期がいつなのかの2点に集約されると考えられる。

術前、術後の抗ウイルス療法、原因疾患にもよるものの、肝硬変一般にはChild-Pugh分類のカテゴリーAで将来的な肝移植の必要性のICを得る努力を行い、Child-Pugh分類のカテゴリーBもしくはCで適応時期と考え、具体的にはMELDスコア

（<http://optn.transplant.hrsa.gov/resources/MeldPeldCaluculator.asp?index=98>）の20点までの実施が肝移植の予後を考えた点で望ましい。

代償性肝硬変の診断後の平均生存期間は7～10年で、診断後2～5年間はほぼ100%生存するが、合併症発症後の2生率は50%未満である。代償期から非代償期への移行は年率5～10%である。B型肝炎ウイルス（HBV）代償性肝硬変の5生率は80～85%で、非代償期になると1生率は55～70%、5生率は14～28%に落ち込む。C型肝炎ウイルス（HCV）代償性肝硬変の5、10生率はそれぞれ91%、79%で、肝癌発生率は我が国では5～7%と極めて高い。大酒家非代償性肝硬変が飲酒を続けると5生率は30%未満と禁酒時の1/2となる。

非代償性肝硬変の併存疾患として糖尿病が知られている。非代償性肝硬変で生じる合併症としては、腹水、食道静脈瘤、肝性脳症、肝細胞癌が挙げられる。腹水は、肝臓におけるアルブミン合成低下による血液浸透圧の低下と、門脈圧亢進による腸管膜の血管内圧の上昇とがあいまって、血漿成分が腹腔内に漏出したものである。自覚症

状としての腹部膨満感のみならず、突発性細菌性腹膜炎の原因ともなる。食道静脈瘤は、肝硬変が進行し、側副血行路である左胃静脈血流の増加により、左胃静脈が食道内腔に瘤を形成したものである。破裂による出血は、肝硬変の死亡原因の一つである。肝性脳症は、腸管内に発生した神経毒作用を有するアンモニアが、肝機能不全により代謝できず、その神経毒性によって、昏睡、異常行動、興奮などが惹起されたものである。肝硬変は、肝細胞癌の発生母地となり、肝細胞癌は合併症として重要な位置を占める。

1.4.6. 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)。

1.4.7. 本治療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。

1.5. 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

1.6. 被験薬を評価する上で留意すべき全般的事項

(1) 肺梗塞の危険性について

投与医療機関にて投与医師により融解投与されるため、懸濁を十分に行うように指導する。

(2) 感染性物質に対する安全性について

本試験物の原料である同種脂肪組織、製造工程中で使用している生物由来原料に関しては感染症の伝播を防止するための安全対策が講じられている。しかしながら、生物由来原料を原材料としていることに由来する感染症伝播のリスクを完全に排除することができないことを被験者に対して説明し、その理解を得る。また、本治験実施医療機関において本試験物の使用の記録を20年間保存する。

(3) 品質に関する試験について

不適合の項目があることが判明した場合には、本試験物は出荷しない。

2. 物理的・化学的及び薬剤学的性質並びに製剤組成

2.1. 物理的・化学的性質

本試験物の本質は細胞であるため、本項は該当しない。

2.2. 生物学的性質

2.2.1. 脂肪組織由来多系統前駆細胞懸濁凍結液（本試験物）の出荷判定規格

2.2.1.1. 出荷判定規格及び試験方法

2.2.1.2. 試験方法

1) 性状

Countessによる撮影結果により凝集のない事を確認、記録保存のために写真撮影を行なうことを規格として設定した。

2) 定量

Countessにて生存細胞数を測定する。その結果を全体量に換算して細胞数を定量する。

3) 純度

現在の技術で幹細胞の確認する方法は表面マーカーの特異性を計る方法が有力である。剥離した細胞の表面マーカーを染色し、Flowcytometryにて陽性細胞が各々70%以上であることを規格として設定した。

4) Viability

剥離した細胞をトリパンブルーにて染色しCountessにて測定、70%以上のViabilityがあることを

規格として設定した。

2.2.2. 組織、細胞、製剤の保存

採取した脂肪組織の一部	10年間
凍結保存細胞製剤	10年間

2.3. 薬剤学的性質並びに製剤組成

2.3.1. 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。

2.3.2. 製造関連物質の安全性評価

被験者に投与した際に安全性と有効性に影響する可能性が考えられる製造関連物質について議論する。

原材料に存在するか又は製造過程で非細胞成分、培地成分、資材、試薬等に由来し、製品中に混入物、残留物、又は新たな生成物、分解物等として存在する可能性があるもので、品質及び安全性の面からみて望ましくない物質等として議論すべきは、抗生物質（ゲンタマイシンおよびアムホテリシンB）、スペルミン、ウシ胎児血清である。

ゲンタマイシンおよびアムホテリシンBについては、初期培養までは使用しているが、後期培養以降は使用していない。

ゲンタマイシンの臨床での一日使用量は80-100mgとされ、製造工程で使用されたゲンタマイシンが希釈されずに全量が細胞製剤に残留していても安全性上懸念は生じないと考える。アムホテリシンBの一日使用量は0.25～0.5mg/kgであり、製造工程で使用されたアムホテリシンBが希釈されずに全量

が細胞製剤に残留していても安全性上大きな懸念は生じないと考える。しかしながら、ゲンタマイシン硫酸塩、アムホテリシンBとも、アレルギー反応の惹起を完全には否定できないため、これらの抗生物質に対して過敏症の既往歴がない患者のみを本品の適用対象とする。

牛胎児血清に検しては、残留量を測定するために牛血清アルブミン（Bovien Serum Albumin; BSA）を指標とし、試験検体を用いてELISAにより残留濃度を測定し、今後評価する。また、牛胎児由来血清を製造工程で用いていることは説明同意文書で説明してICを取得するとともに、アレルギーのないことを問診にて確認する。

牛胎児血清、上皮成長因子、抗生物質（ゲンタマイシン硫酸塩、アムホテリシンB）及びスペルミン以外の成分については、その一般的な用法・用量に比べ製造での使用量が少ないこと、製造の初期工程のみの使用であること、以降の工程で洗浄・置換操作を繰り返し行うことから、最終的に本試験物への残存量は極めて少ないと考えられる。

2.3.3. 感染性物質の安全性評価

感染性物質に対する安全性に影響を与える可能性が考えられる製造関連物質として、牛胎児血清、レトロネクチン、インスリン、EGF、トランスフェリン、コラーゲン分解酵素、抗生物質に含まれるアムホテリシンBに関し議論する。

インスリン、EGF、トランスフェリン、コラゲナーゼ、アムホテリシンBは微生物由来である。インスリンは医薬品として既承認のものを原料として用いる。

EGF、トランスフェリンに関しては、製造の過程でanimal freeである。

アムホテリシンBは添加物としてウシ由来のデオキシコール酸を含んでいるが、医薬品として既承認品であり、かつ最大残留想定量は臨床使用量を下回るため、リスクは著しく低いと考えられる。

動物種及び使用部位：牛胎児由来血液
原料について：

当該牛胎児血清は、ウシ胎児の血液に由来する。Certificate of Analysis の Origin に記載の通り、BSE 発生の報告がない国を原産とする健康な動物に由来する原料を使用している。また、原料は当該政府に登録された屠畜場から入手しており、BSE に感染している動物由来の原料及び EC 規定中 (REGULATION (EC) No 999/2001 OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL of 22 May 2001) の Annex V に記載される特定危険部位を原材料としていない。当該牛胎児血清は、妊娠雌牛を屠殺したのちに胎児を取り出し、閉鎖かつ無菌的に取り出した血液を原料として使用し、無菌的に製造されている)。無菌試験及びマイコプラズマ否定試験、米国連邦規則 9CFR113.53 に従ったウイルス試験を実施し、これら全ての試験に合格したものを使用する。さらに、ウイルス不活化を目的として 25-35kGy の γ 線照射処理を実施している。

2.3.4. 安定性

本試験物3ロットについて、長期凍結保存による影響、解凍時、解凍後10時間保存後、24時間保存後に外観確認を行い、本試験物のバイアビリティ、フローサイトメトリー解析を実施する予定である。

3. 薬理、毒性、薬物動態及び薬物代謝

3. 薬理、毒性、薬物動態及び薬物代謝

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 (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) 副次的薬理試験

単回投与毒性試験において毒性が出現していないため、本試験物の副次的薬理試験は実施していない。

4) 安全性薬理試験

単回投与毒性試験において毒性が出現していないため、本試験物の安全性薬理試験は実施していない。

5) その他の薬理試験

本試験物を用いたその他の薬理試験は実施していない。

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。

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ロットでは3、5、8継代に核型異常を認めなかった。一方、2ロットでは3、5継代では核型異常を認めず、8継代では細胞増殖速度の低下により分裂中期像を得られず、解析は不能であった。この2ロットのうち1つのロットで解析できた3および5継代で核型異常を認めた。異常比率に差はなく、CGH解析にて差を認めないこと、当該試料が胃がん患者の体網脂肪組織由来であることから、培養の工程で核型異常が生じたものではないと判断した。

軟寒天コロニー形成確率試験では、3ロットのADMPCは形質転換の指標の一つである足場非依存性を示さなかった。

一般的に、間葉系細胞では通常の培養過程においても染色体異常を生じうるが、免疫不全動物への投与で腫瘍を形成するという報告はなく、染色体異常が生じても実際の腫瘍化に至る確率は極めて低いと考えられていること⁵⁾、成人ドナーから得られる間葉系幹細胞は、腫瘍化することなく50回以上分裂する能力を有するという報告があること⁶⁾、特に脂肪組織のような間葉系細胞では、遺伝子等の導入なしではがん化や不死

化した報告はないこと⁵⁾、混入する可能性がある線維芽細胞に関しても、マウスやラットでは培養の過程で不死化能を獲得する場合もあるが⁷⁻⁹⁾、ヒト細胞では変異は起こらずに老化していくことが知られている¹⁰⁻¹³⁾。これらのことを総合的に考え合わせ、本細胞が腫瘍化するリスクは極めて低いと考えられるものの、造腫瘍試験を3ロットのADMPCについて実施した。ADMPC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いとの結果が、3ロットすべてで得られた。このことより、ADMPC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実施されたため、旧ガイドラインのもと行われている。

また、自己細胞である本試験物が遺伝毒性や生殖発生毒性を有する可能性は考え難く、細胞が引き起こす遺伝毒性や生殖発生毒性を検出する試験系は存在しないため遺伝毒性試験や生殖発生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) ADMPCのヌードラットを用いる単回投与毒性試験の予備試験

ADMPCを雄ヌードラットに 1.7×10^6 、 5.0×10^6 、 1.5×10^7 cells/kgを尾静脈内に単回投与した。1群の動物数は5匹とした。対照は、

生理食塩液を投与した。

尾静脈内投与では、ADMPC各投与群とも死亡発現は認められず、一般状態、体重推移及び剖検所見に異常は認められなかった。最小致死量は、 1.5×10^7 cells/kg以上と考えられる。本試験の高用量は 1.5×10^7 cells/kg以上と考えられる。

2) ADMPCのヌードラットを用いる単回静脈内投与毒性試験 (GLP試験)

ADMPCを雌雄ヌードラットに 1.7×10^6 、 5.0×10^6 、 1.5×10^7 cells/kgを静脈内に1回投与した。1群の動物数は雌雄各5匹とし、投与後の観察期間は14日間とした。対照は、陰性対照としてリンゲル液を、媒体対照として3.3%ヘパリン加リンゲル液を投与した。

ADMPC各投与群の雌雄とも死亡発現は認められず、一般状態、体重推移及び剖検に異常は認められなかった。最小致死量は、雌雄とも 1.5×10^7 cells/kg以上と考えられる。

以上の如く、ADMPCの 1.5×10^7 cells/kgまでの単回静脈内投与では、一般状態、体重推移及び剖検に異常は認められず、本試験物の臨床使用時において、重篤な全身毒性が発現するリスクはないと判断した。

3) 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。

4) 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。

3.2.3. 軟寒天コロニー形成確認試験

軟寒天コロニー形成確認試験は細胞の足場非依存性の増殖を検出するものであり、その細胞の生体内での造腫瘍性と高い相関性を有することが知られている³⁾。培養細胞が培養により悪性形質転換したかどうかを調べる方法として広く用いられている³⁾ことから、本試験物の悪性形質転換のリスクを検証するために、GLP下にて当該試験を実施した。

軟寒天コロニー形成試験を実施することにより、P5-ADMPC(ロット番号:070927 F)(ロット番号:081009 M)(ロット番号:090420 F)の形質転換の有無を評価した。被験細胞は凍結アン

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:070927F)(ロット番号:090420F)(ロット番号:081009M)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:070927F)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:090420F)(ロット番号:081009M)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:070927F)(ロット番号:090420F)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:081009M)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:

070927F)(ロット番号:090420F)(ロット番号:081009M)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（ CCl_4 ）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無いと考えられる。

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 - 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)バイオリ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

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)

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. 臨床試研究の実施にあつては、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（ CCl_4 ）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ライアルについて、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(CCl_4)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（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を期待される。

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)バイオリ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条基準を逐条的に涉猟し、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. 臨床試研究の実施にあつては、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

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变形・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。

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

歴	おいて、過去 1 年間に 2 回未満かつ前回脂肪吸引から 3 ヶ月以上	採血基準を参考にして設定した。
遺伝的特徴	遺伝性疾患を認めないこと	問診（ドナー問診項目 10、11および20 参照）により確認することとして設定した。
病歴	ドナー問診項目 7~12、19、20 で「いいえ」を選択	問診（ドナー問診項目参照）により確認することとして設定した。
健康状態	ドナー問診項目 1~3、18、21 で「いいえ」を選択	問診（ドナー問診項目参照）により確認することとして設定した。
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	HBV、HCV、HIV、HTLV、パルボウイルス B19 感染症検査すべて陰性	問診（ドナー問診項目参照）及び検査(血清学的試験あるいは核酸増幅法：表 ドナースクリーニング参照)により否定することとして設定した。
	サイトメガロウイルス感染、EB ウイルス感染	問診（ドナー問診項目参照）により否定することとして設定した。

検査項目		
------	--	--

選択基準に実効性を持たせるための問診表（表 2-2 ドナー問診項目とその根拠）と採血によるドナースクリーニング（表 2-3 ドナースクリーニング）を提示する。

ドナー問診項目とその根拠

1	今日の体調は良好ですか	はい・いいえ
	根拠	発熱のある場合、菌血症又はウイルス血症の疑いがあるため。また、ドナーの緊張度や体調によっては、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。
2	3 日以内に出血を伴う歯科治療（抜歯、歯石除去等）を受けましたか	はい・いいえ
	根拠	3 日以内に出血を伴う歯科治療を受けた場合、口腔内常在菌による菌血症の可能性があるため。
3	3 日以内に薬を飲んだり、注射を受けましたか	はい・いいえ
	根拠	抗生物質や鎮痛解熱剤を投与されている場合、感染症を起こしていたり、薬物が血小板の機能に悪影響を及ぼす可能性があるため。
4	ヒト由来プラセンタ注射薬（ラエンネック・メルスモン）を使用したことがありますか。	はい・いいえ
	根拠	ヒト由来プラセンタ注射薬の原料であるヒト胎盤からの異常プリオン感染による変異型クロイツフェルト・ヤコブ病（vCJD）の危険性が理論上完全に否定で

		きないため。
5	24 時間以内にインフルエンザの予防接種を受けましたか	はい・いいえ
	根拠	インフルエンザワクチンは、不活化ワクチンであり、血中に病原体が存在する危険性はないが、ドナーの体調を考慮し、接種後24 時間を経過するまではドナーとなれないこととした。
6	1 年以内にインフルエンザ以外の予防接種を受けましたか	はい・いいえ
	根拠	インフルエンザワクチン以外の不活化ワクチンやトキソイド（例えば、日本脳炎、コレラ、肺炎球菌、百日咳、A型肝炎等）を接種した場合、接種後24 時間を経過するまでドナーとはなれないこととした。B 型肝炎ワクチン接種後は、HBs 抗原検査が陽性と判定される可能性が高いためである。加えて、抗HBs ヒト免疫グロブリンを単独またはB 型肝炎ワクチンと併用した人は1 年間ドナーとはなれないこととした。また、動物に噛まれた後に狂犬病ワクチンを接種した場合は接種後1 年間、弱毒生ワクチン（例えば黄熱、麻疹、ポリオ、おたふくかぜ、風疹、水痘、BCG）を接種した場合は接種後4 週間ドナーとはなれないこととした。その他、破傷風、蛇毒、ジフテリアの抗血清投与を受けた場合は3 ヶ月間ドナーとはなれないこととした。
7	次の病気や症状がありました	はい・いいえ

	たか。	いえ
	3 週間以内 - はしか、風疹、おたふくかぜ、帯状ほしん、水ぼうそう 6 ヶ月以内 - 伝染性単核球症、リンゴ病（伝染性紅斑）	
	根拠	麻疹ウイルス、風疹ウイルス、ムンプスウイルスの伝播を予防するため、はしか、風疹、おたふくかぜ、帯状疱疹、水疱瘡の治癒後3 週間以内の場合は、ドナーとはなれないこととした。 EBVの伝播を防ぐため、伝染性単核球症の症状が消えた後6 ヶ月間ドナーとはなれないこととした。なお、EBVの適切な検査方法は世界的にも確立されていないが、我が国では、ほとんどの人が罹患するウイルスであり、生後2 ~ 7 歳ではほぼ80%、成人ではほぼ100%が抗体陽性を示す。 また、ヒトパルボウイルスB19の感染を防ぐため、リンゴ病（伝染性紅斑）の症状が消えた後6 ヶ月間ドナーとはなれないこととした。日本では成人の約50%がこのウイルスに対する抗体が陽性であり、ウイルス血症の頻度は低く（国内の報告によれば流行期で4000 人に1人）、伝播による感染の危険性は非常に低いと想定される。また、仮に症状が出現しても急性一過性に経過し、重症化はしない。ただし、溶血性貧血の患者や免疫抑制状態にある患者が感染した場合には、重症の貧血（赤芽球瘡）を起こす危険性があり、また、子宮内で胎児が感染し

		た場合、流産、胎児水腫を起こすことがあるため、細胞製剤の投与を受ける選択基準・除外基準にて対応することとした。			る危険性が高いと考えられるのは、注射器の回し打ち、消毒などを十分に行っていない器具によるピアス・刺青、不特定の相手との性的接触といわれている。	
8	1 ヶ月以内に肝炎やリンゴ病（伝染性紅斑）になった人が家族や職場・学校等にいますか	はい・いいえ		10	1 年以内に次の病気等にかかったか、あるいは現在治療中ですか。 外傷、手術、肝臓病、腎臓病、糖尿病、結核、性病、ぜんそく、アレルギー疾患、その他（ ）	はい・いいえ
	根拠	A 型肝炎ウイルス(HAV)、E 型肝炎ウイルス(HEV)の感染を防ぐため、1 ヶ月以内に家族や職場等にA 型肝炎、E 型肝炎を発症した人がいる場合は、1 ヶ月ドナーとはなれないこととした。 同様に、ヒトパルボウイルス B19 の感染を防ぐため、1 ヶ月以内に家族や職場等にリンゴ病（伝染性紅斑）を発症した人がいる場合は、ドナーとはなれないこととした。			根拠	脂肪組織採取の際に副作用が起きたり、ドナーの健康に悪影響を与えるおそれがある疾患については、ドナーとはなれないこととした。また、開胸・開腹・開頭を要するような大手術を受けた人及び開放骨折をした場合は、6 ヶ月間ドナーとはなれないこととした。ぜんそく、アレルギー疾患等についても、治療薬が患者に悪影響を及ぼすおそれがあるため、ドナーとはなれないこととした。
9	6 ヶ月以内に次のいずれかに該当することがありましたか。 ピアス、またはいれずみ（刺青）をした。 使用後の注射針を誤って自分に刺した。 肝炎ウイルスの持続感染者(キャリア)と性的接触等親密な接触があった。	はい・いいえ		11	今までに次の病気にかかったか、あるいは現在治療中ですか。 B 型肝炎、がん(悪性腫瘍)、重篤な代謝及び内分泌疾患、膠原病、血液疾患、肝疾患、心臓病、脳卒中、てんかん、脂肪変性疾患	はい・いいえ
	根拠	B 型肝炎ウイルス(HBV)やC 型肝炎ウイルス(HCV)の感染を可能な限り防止するため、他人の血液や体液に暴露された可能性のある人、6 ヶ月以内にウイルスキャリアとの親密な接触をした人はドナーとはなれないこととした。現在、肝炎ウイルスに感染す			根拠	B 型肝炎ウイルスキャリアは長期の経過により、ウイルスが変異して産生するウイルス抗原量が少なくなり、検出感度以下となる場合がある。従って、過去にB 型肝炎ウイルスキャリアと診断さ

	<p>れたことがある人はドナーとはなれないこととした。</p> <p>膠原病、血液疾患、心臓病、脳卒中、てんかん等については、脂肪組織採取の際に副作用が起きたり、ドナーの健康に悪影響を与えるおそれがあるため、また、がんの既往がある場合はがん細胞の細胞製剤への混入が否定できないため、ドナーとはなれないこととした。</p> <p>脂肪変性疾患の既往がある場合には、脂肪組織から脂肪組織由来多系統前駆細胞が採取培養できない可能性が否定できないため、ドナーとはなれないこととした。</p>		<p>(特に三日熱、卵形マラリア)、脂肪組織に混入した血液が感染源になりうるため、ドナーとはなれないこととした。</p> <p>その他、シャーガス病やバベシア症等の既往歴のある場合もドナーとはなれないこととした。</p>		
12	<p>今までに次の病気にかかったことがありますか。</p> <p>C 型肝炎、梅毒、マラリア、バベシア症、シャーガス病、リーシュマニア症、アフリカトリパノソーマ症</p>	はい・いいえ	13	<p>海外から帰国(入国)して 4 週間以内ですか</p>	はい・いいえ
	<p>根拠 C 型肝炎は慢性化しやすく、肝炎が治癒しても血中にウイルスが存在していることがあるので、C 型肝炎の既往歴のある場合及びC 型肝炎ウイルスキャリアと言われたことのある場合はドナーとはなれないこととした。</p> <p>梅毒は、血小板製剤や新鮮血の経路で感染するおそれがあるので、既往歴のある人はドナーとはなれないこととした。</p> <p>マラリアの既往歴のある場合、マラリアの発熱発作が長期間みられなくても、肝臓等にマラリア原虫が残存している場合があります</p>		根拠	<p>海外との交流が盛んになるにつれて、海外で何らかの感染性疾患に罹患したまま帰国(入国)する人が多くなっている。これらの疾患は、マラリアのように血液を介して感染するものが多く、その一つ一つを何らかの検査でスクリーニングすることは献血の場合と同様に困難である。ウエストナイル熱をはじめとする輸入感染症対策のため、大半の輸入感染症の潜伏期間内にある帰国後 4 週間はドナーとはなれないこととした。</p>	
			14	<p>1 年以内に外国(ヨーロッパ・米国・カナダ以外)に滞在しましたか</p>	はい・いいえ
			15	<p>4 年以内に外国(ヨーロッパ・米国・カナダ以外)に 1 年以上滞在しましたか</p>	はい・いいえ
			根拠	<p>マラリアによる感染を防ぐため、WHO の指定しているマラリア流行地域に旅行した人については 1 年間、長期滞在者については 3 年間脂ドナーとはなれないこととした。その他、中南米に居住歴のある方については、中南米に流行地をもつサシガメ(昆虫)が媒介するシャーガス病のリスク</p>	

		(病原体保有者)がある場合が否定できない。			
16	英国に1980年(昭和55年)～1996年(平成8年)の間に通算1ヵ月以上滞在しましたか	はい・いいえ			染者の主な感染経路は、異性間の性的接触(18.1%)、同性間の性的接触(69.2%)、静注薬物使用(0.3%)があげられている。検出感度の優れているNATといえども、感染ごく初期のものは検出することができないことから、6ヵ月以内に上記5項目(は6ヵ月以前も含む)に該当する人は、ドナーとはなれないこととした。
17	ヨーロッパ(英国も含む)・サウジアラビアに1980年以降、通算6ヵ月以上滞在しましたか	はい・いいえ			
	根拠	変異型クロイツフェルトヤコブ病(v CJD)については、臓器移植や輸血で感染する可能性が示唆されている。したがって、昭和55年以降、英国について通算1ヵ月以上、ヨーロッパ(英国も含む)・サウジアラビアに通算6ヵ月以上滞在した場合には、ドナーとはなれないこととした。			
18	6ヵ月以内に次のいずれかに該当することがありましたか。 不特定の異性または新たな異性との性的接触があった。 男性どうしの性的接触があった。 麻薬、覚せい剤を使用した。 エイズ検査(HIV検査)の結果が陽性だった(6ヵ月以前も含む) 上記～に該当する人と性的接触をもった。	はい・いいえ			
	根拠	エイズの原因となるウイルスであるHIVに感染している危険性のある人は、ドナーとはなれないこととした。平成22年のHIV感			
19	今までに輸血(自己血を除く)や臓器の移植を受けたことがありますか	はい・いいえ			
	根拠	輸血歴、臓器移植歴のある方は、未知のウイルス等の感染を防ぐ意味から、ドナーとはなれないこととした。			
20	今までに次のいずれかに該当することがありますか。 クロイツフェルト・ヤコブ病(CJD)または類縁疾患と診断された。 血縁者にCJDまたは類縁疾患と診断された人がいる。 ヒト由来成長ホルモンの注射を受けた。 角膜移植を受けた。 硬膜移植を伴う脳神経外科手術を受けた。 遺伝性疾患であると診断されたことがある。 遺伝性疾患の家族歴がある。	はい・いいえ			
	根拠	プリオンの適切な検査法のない現在、問診のみが唯一のスクリーニング法である。ここに該当する			

		人は、ドナーとはなれないこととした。
21	現在妊娠中または授乳中ですか。6 ヶ月以内に出産、流産をしましたか	はい・いいえ
	根拠	母体の健康を保護するため、妊娠中、出産・流産後6 ヶ月以内、授乳中（分娩後1 年まで）の女性はドナーとはなれないこととした。

なお、人細胞組織製品原料基準への適合性については下記にまとめる。

人細胞組織製品原料基準への適合性（平成26 年厚生労働省告示第 375 号）

基準の内容	対応状況
(1) 医薬品等（血液製剤を除く。）を構成する原料等として用いるヒトに由来する細胞又は組織（以下「ヒト細胞組織原料等」という。）については、採取にあたって必要な衛生管理を行うために十分な人員及び設備を有する施設で採取されたものでなければならない。	採取は、形成外科専門医が医療機関内手術室において行う。
(2) ヒト細胞組織原料等を採取するに当たっては、次に掲げる措置が講じられていなければならない。	
ア ヒト細胞組織原	採取は、医療機関内手

	料等を採取する過程において病原微生物その他疾病の原因となるものによる汚染を防止するために必要な措置が講じられていること。	術室において形成外科医が行い、チューリップ針刺入局所のイソジン消毒など、病原微生物その他疾病の原因となるものによる汚染を防止するための措置を講じている。
イ	採取されたヒト細胞組織原料等について、必要に応じて感染症に関する最新の知見に照らして適切な検査が行われ、病原微生物その他疾病の原因となるものに汚染されていない旨が確認されていること。	製造工程における受け入れ検査を実施する。
	(3)ドナーは、次のいずれにも該当し、ヒト細胞組織原料等を提供するにつき十分な適格性を有するものでなければならない。ただし、医薬品等の使用の対象者とドナーが同一の者である場合は必ずしもドナースクリーニングを必要としない。	
ア	ヒト細胞組織原料等を採取するに当たって、それらの利用の目	問診および検査により細菌、真菌、ウイルス等の感染が否定される。

	的に応じ、問診、検診、検査等により、細菌、真菌、ウイルス等の感染が否定されていること。				のウインドウ・ピリオドを確保していることから妥当である。
イ	アの検査項目及び検査方法が感染症等に関する最新の知見に照らして適切なものであること。	問診および検査は、献血における採血基準および献血問診表、検査を援用しており、感染症等に関する最新の知見を反映している。	エ	アからウまでの事項のほか、必要な疾病等について、問診、検診、検査等を行うとともに、輸血又は移植医療を受けた経験の有無等を勘案して、ドナーとしての適格性があると判断されない。	問診(ドナー問診項目参照)および医師による診察により確認する。問診および検査は、献血における採血基準および献血問診表を援用しており、輸血又は移植を受けた経験がある場合にはドナーには不適合としている。加えて、5指針に規定される「特定の遺伝性疾患や家族歴」も問診20にて確認する。
ウ	アの検査項目、検査方法等に応じた再検査が適切な時期に行われている等ウインドウピリオドを勘案した検査又は管理がなされていること。	組織採取を行う4週間から1週間前にスクリーニングのための検査(HBV、HCV、HIV-1, 2、HTLV-1)、脂肪組織提供当日に問診および医師による診察をうけることとしている。また、ウインドウ・ピリオドを勘案し、後に採血・再検査を行い、規定を満たしていないドナー由来試料にあっては、細胞製剤への製造を中止し、廃棄することとしている。 組織採取前のスクリーニングから脂肪組織提供後のスクリーニングまで期間を おいており、NAT法でのHBV・HCV・HIV		(4)ヒト細胞組織原料等の採取を行う者は、当該ヒト細胞組織原料等が、次に掲げる要件を満たすことを確認し、医薬品等に用いることが適切であることを確認しなければならない。	
			ア	死亡した者からヒト細胞組織原料等を採取する場合には、礼意を失わないように注意し、遺族に対して、ヒト細胞組織原料等の用途その他ヒト細胞	非該当 死亡した者からの細胞または提供を受けないため、該当しない。

	組織原料等の採取に関し必要な事項について、できる限り平易な表現を用い、文書により適切な説明を行い、文書により同意を得ていること。			又はヒト細胞組織原料等の提供に係る同意を撤回することにより不利益な取扱いを受けないこと (カ) ヒト細胞組織原料等の提供に係る費用に関する事項 (キ) ヒト細胞組織原料等の提供による健康被害に対する補償に関する事項 (ク) ドナーの個人情報の保護に関する事項 (ケ) ヒト細胞組織原料等を用いる医薬品等に係る特許権、著作権その他の財産権又は経済的利益の帰属に関する事項 (コ) その他ヒト細胞組織原料等を用いる医薬品等の内容に応じ必要な事項		
イ	ヒト細胞組織原料等の提供を受ける際に、ドナーに対し、次に掲げる事項について、できる限り平易な表現を用い、文書により適切な説明を行い、文書により同意を得ていること。 (ア) ヒト細胞組織原料等の用途 (イ) ヒト細胞組織原料等の提供により予期される危険及び不利益 (ウ) ドナーとなることは任意であること (エ) 同意の撤回に関する事項 (オ) ヒト細胞組織原料等の提供をしないこと	ドナースクリーニングの実施前に細胞及び組織の利用目的、個人情報保護、その他採取に関する事項について当該者の理解を得るよう、文書を用いて十分に説明し、自由な意思による同意を文書により得ることとしている。また、同意の拒否及び撤回の権利があり、拒否又は撤回することにより当該者が不利益を受けないことが同意説明文に明記している。詳細は、同意説明文書を参照のこと。なお、「表2-5 説明文書の人細胞組織製品原料基準への適合性」にて基準適合性を確認している。		ウ	ヒト細胞組織原料等の提供を受ける際に、ドナーの代諾者の同意を得る場合にあっては、当該	非該当 ドナー本人が説明を受け同意を与えることが困難な場合又は単独で完全な同意を与える能力を欠いて

<p>代諾者に対し、次に掲げる事項について、できる限り平易な表現を用い、文書により適切な説明を行い、文書により同意を得ていること。</p> <p>(ア) ヒト細胞組織原料等の用途</p> <p>(イ) ヒト細胞組織原料等の提供により予期される危険及び不利益</p> <p>(ウ) 代諾者となることは任意であること</p> <p>(エ) 代諾者の同意の撤回に関する事項</p> <p>(オ) 代諾者の同意を行わないこと又は代諾者の同意を撤回することにより不利益な取扱いを受けないこと</p> <p>(カ) ヒト細胞組織原料等の提供に係る費用に関する事項</p> <p>(キ) ヒト細胞組織原料等の提供による健康被害に対する補償</p>	<p>いる場合は、ドナーとしないため該当しない。</p>	<p>に関する事項</p> <p>(ク) ドナー及び代諾者の個人情報保護に関する事項</p> <p>(ケ) ヒト細胞組織原料等を用いる医薬品等に係る特許権、著作権その他の財産権又は経済的利益の帰属に関する事項</p> <p>(コ) その他ヒト細胞組織原料等を用いる医薬品等の内容に応じ必要な事項</p>	
		<p>エ ヒト細胞組織原料等の提供を受ける際に、代諾者の同意を得た場合には、代諾者の同意に関する記録及び代諾者とヒト細胞組織原料等を提供する者との関係についての記録が作成されていること。</p>	<p>非該当 代諾による同意は取得しないため該当しない。</p>
		<p>オ ドナーが、ヒト細胞組織原料等を医薬品等に用いることについて同意した場合であって、当該ヒト細胞組織原</p>	<p>同意の拒否及び撤回の権利があり、拒否又は撤回することにより当該者が不利益を受けないことが同意説明文に明記している。詳細は、説明文書</p>

	料等に培養その他の加工が行われるまでの間について、当該者が同意を撤回することができる機会が確保されていること。	および同意文書を参照のこと。				
カ	ヒトの受精胚の提供を受ける場合にあっては、ヒト細胞組織原料等の提供に係る同意があった後、少なくとも三十日間はヒトの胚性幹細胞の樹立に供することなく医療機関において当該ヒト細胞組織原料等を保管し、ドナーに対し、当該者が同意を撤回することができる機会が確保されていること。	非該当 受精胚を原料として用いないため該当しない。			て、当面当該目的に用いる予定がないもののうち、当該受精胚を滅失させることについてドナーの意思が確認できたものであること (イ) 凍結保管がされているものであること (ウ) 凍結保管がされている期間を除き、受精後十四日以内のものであること (エ) その他人の胚性幹細胞の樹立の適正な実施のために必要な手続を経たものであること	
キ	ヒトの受精胚の提供を受ける場合にあっては、次に掲げる要件を満たしたものであること (ア) 生殖補助医療に用いる目的で作成された受精胚であっ	非該当 受精胚を原料として用いないため該当しない。		ク	ヒト細胞組織原料等の提供が無償で行われたこと。ただし、ヒト細胞組織原料等の提供に際し発生した交通費その他の実費に相当するものについてはこの限りでない。	脂肪組織の提供は無対価にて行われるため、該当しない。詳細は、説明文書「脂肪組織をご提供のお願い」を参照のこと。
				ケ	ヒト細胞組織原料等の採取を行う場合にあっては、ヒト細胞組	形成外科的に施術される脂肪吸引術時に廃棄される余剰脂肪組織の提供をうける

<p>織原料等の採取を優先し、医学的処置、手術及びその他の治療の方針を変更することにより採取されたヒト細胞組織原料等でないこと。</p>	<p>ものであり、当該手術等が細胞又は組織の採取の目的を優先して行われることによる非倫理性はない。</p>
--	---

<p>医薬品等の品質及び安全性の確保に關し必要な事項</p>	<p>ドナーにドナーIDを付与し、識別番号とする。 ク) 該当なし</p>
--------------------------------	---

<p>(5)ヒト細胞組織原料等についての、品質及び安全性の確保上必要な情報が確認できるよう、次に掲げる事項が記録され、保存されていないこと。 ア ヒト細胞組織原料等を採取した施設 イ ヒト細胞組織原料等を採取した年月日 ウ ドナースクリーニングのための問診、検診、検査等による診断の結果及び状況 エ ヒト細胞組織原料等を採取する作業の経過 オ 倫理委員会等の審議結果 カ 同意説明文書及び同意文書 キ ドナーに関する識別番号 ク アからキまでに掲げるもののほか、</p>	<p>ア～エ) 症例登録票(参考資料2)に、皮下脂肪組織を採取した医療機関(ア)、採取した年月日(イ)、問診、検診、検査等による診断の結果及び状況(ウ)、皮下脂肪組織を採取する作業の経過(エ)記載する。 オ) 「倫理委員会等の審議結果」については、治験事務局にて治験番号が付与されたのち保管される。その写しを製造責任者が保管する。 カ) 「同意説明文書及びドナーが署名した同意文書」(参考資料3)は皮下脂肪を採取した医療機関において診療録として保存される。その写しを製造責任者が保管する。 キ)</p>
---	---

(3) ドナーに関する記録

原材料となる細胞・組織について、安全性を確保するために必要な情報が確認できるよう、ドナー由来検体については、説明同意取得者が記載した症例登録票を、製造責任者が保管する。

試験的検体のドナーにあつては、同意の取得と連結不可能匿名化を前提として基礎的検討の実施を承認されている。ただし、同意書は試験検体ドナーの診療録に保存される。検体(皮下脂肪組織)採取機関より提供を受ける試験検体ドナーに関する情報は、使用目的が臨床的使用でないため、検体提供年月日、性別、年齢層(20歳代、30歳代、40歳代、50歳代、60歳代)、HBV、HCV、HIV-1、2、HTLV-1、HPV検査が陰性である旨、のみである。

(4) 細胞・組織の採取・保存・運搬

細胞・組織の採取・保存・運搬にかかる指針(平成24年薬食発0907第3号別添)適合性に関しては、下記(表2-6)に記載した。

細胞・組織の採取・保存・運搬に関する指針適合性

<p>採取者及び採取医療機関等の適格性 原材料となる細胞・組織の採取者及び採取医療機関等に求めるべき技術的要件に</p>	<p>採取は、医療機関内手術室において形成外科専門医が行う。 採取医療機関に求めるべき技術的要件は、手術室を設置し</p>
--	---

ついて、明らかにすること。	ていることとする。	検査を行わなければならない場合には、その内容、検査結果等に問題があった場合の対処法について具体的に規定すること。	安全である。 ドナーの安全性確保のために腹部皮下脂肪組織を採取部位として選定した。
採取部位及び採取方法の妥当性 細胞・組織の採取方法については、用いられる器具及び薬剤、微生物汚染防止、取り違えやクロスコンタミネーション防止のための方策等を具体的に示すこと。	細胞・組織の採取方法については、用いられる器具及び薬剤、微生物汚染防止、取り違えやクロスコンタミネーション防止のため、「脂肪組織の採取手順書」に従うこととする。	保存方法及び取り違え防止策 採取した細胞・組織を一定期間保存する必要がある場合には、保存条件や保存期間及びその設定の妥当性について明らかにすること。また、取り違えを避けるための手段や手順等について具体的に説明すること。	非該当 採取した細胞・組織を一定期間保存することはなく、すみやかに製造工程に入るため、該当しない。
ドナーに対する説明及び同意 細胞・組織のドナーに対する説明及び同意の内容を規定すること。	説明文書「皮下脂肪の提供のお願い」に記載。		
ドナーの個人情報 ドナーの個人情報の保護方策について具体的に規定すること。	症例登録票に、皮下脂肪組織を採取した医療機関、採取した年月日、問診、検診、検査等による診断の結果及び状況、皮下脂肪組織を採取する作業の経過、ドナーIDを記載する。ドナー氏名は記載しないことにより、ドナー個人情報を保護する。	運搬方法 採取した細胞・組織を運搬する必要がある場合には、運搬容器、運搬手順(温度管理等を含む。)を定め、その妥当性について明らかにすること。	「脂肪組織運搬手順書」に従うこととする。
ドナーの安全性確保のための試験検査 細胞・組織採取時にドナーの安全性確保のために採取部位の状態の確認など試験	形成外科医が安全に施行できると判断し、診療として行われる余剰皮下脂肪吸引除去術で廃棄される脂肪組織の提供を受けるものであり、	記録の作成及び保管方法 ～ に関する事項について、実施の記録を文書で作成し、適切に保管する方法について明らかにすること。	症例登録票および受け入れ記録を製造責任者が保管する。

D . 考察

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 を取得して産業利用するものである。説明すべき項目についても通知にて示されており、すべて基準適合性を満たしていることは、薬事戦略相談対面助言戦確 P30 にて PMDA と合意に至っている。所有権問題のハードルが低い脂肪組織は、同種再生医療等製品の原材料として有用であろう。

E . 結論

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。本分担により、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。すみやかに治験届届出に進みたい。

F . 健康危険情報

該当なし

G . 研究発表

1 . 論文発表

- A) Takahashi Y, **Ichinose A**, Kakizaki H, Topical rebamipide treatment for superior limbic keratoconjunctivitis in patients with thyroid eye disease. *Am J Ophthalmol*. 2014 Apr;157(4):807-812.e2. doi: 10.1016/j.ajo.2013.12.027. Epub 2014 Jan 9
- B) Matsuda H, Takahashi Y, **Ichinose A**, Miyazaki H, Kakizaki H. Combination of nasolabial v-y advancement flap and glabellar subcutaneous pedicled flap for reconstruction of medial canthal defect. *Case Rep Ophthalmol*. 2014 Feb 8;5(1):50-3. doi: 10.1159/000360130. eCollection 2014 Jan.
- C) Lee H, Takahashi Y, **Ichinose A**, Kakizaki H. Comparison of surgical outcomes between simple posterior layer advancement of lower eyelid retractors and combination with a lateral tarsal strip procedure for involutional entropion in a Japanese population. *Br J Ophthalmol*. 2014 Nov;98(11):1579-82. doi: 10.1136/bjophthalmol-2013-304830. Epub 2014 May 30.
- D) Oshima N, Yamada Y, Nagayama S, Kawada K, Hasegawa S, Okabe H, Sakai Y, **Aoi T**. Induction of cancer stem cell properties in colon cancer cells by defined factors. *PLoS One*. 2014 Jul 9;9(7):e101735. doi: 10.1371/journal.pone.0101735. eCollection 2014.
- 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 autologous human somatic stem cells. *Regenerative Therapy 1*, in press
- F) 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
- G) 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
- H) 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
- I) 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

- 2 . 学会発表
該当なし

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)

臨床試験(治験)プロトコル策定・薬事戦略相談 再生医療等製品の治験実施体制整備に関して

担当責任者 田中紘一(神戸国際フロンティアメディカルセンター 理事長・院長)
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)

研究要旨

再生医療等製品にかかる治験実施体制の構築は、今後の再生医療の治験活性化にとって喫緊の課題である。本分担研究では、再生医療等製品の治験実施体制の構築に向け、まず低分子での治験を含めた幅広い治験実施体制の構築、特に標準手順書として「神戸国際フロンティアメディカルセンター治験等に係る標準業務手順書(第1版)」を提示した。

A. 研究目的

再生医療等製品にかかる治験実施体制の構築は、今後の再生医療の治験活性化にとって喫緊の課題である。本分担研究では、再生医療等製品の治験実施体制の構築に向け、まず低分子での治験を含めた幅広い治験実施体制の構築、特に標準手順書の提示を目的とする。

B. 研究方法

治験実施にかかる標準手順書の策定にあたり、再生医療に特化した標準手順書はないことから、低分子化合物など一般に用いられうる標準手順書の第1版を策定することとした。

(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

神戸国際フロンティアメディカルセンター治験等に係る標準業務手順書として、下記の文書を整備した。

「神戸国際フロンティアメディカルセンター治験等に係る標準業務手順書」

治験の原則

治験は、次に掲げる原則に則って実施されなければならない。

1. 治験は、ヘルシンキ宣言に基づく倫理的原則及び「医薬品、医療機器等の品質、有効性及び安全性の確保等に関する法律（昭和35年法律第145号）以下、「医薬品医療機器等法」）並びに「医薬品の臨床試験の実施の基準に関する省令」（平成9年3月27日厚生省令第28号）以下、「医薬品GCP省令」）、「医療機器の臨床試験の実施の基準に関する省令」（平成17年3月23日厚生労働省令第36号）以下、「医療機器GCP省令」）、「再生医療等製品の臨床試験の実施の基準に関する省令」（平成26年7月30日厚生労働省令第89号）以下、「再生医療等製品GCP省令」）及びこれらを改正する省令並びにこれらに関連する法令、通知、事務連絡等（以下、特に断らない限り総称して「GCP省令」）を遵守して行うこと。
2. 治験を開始する前に、個々の被験者及び社会にとって期待される利益と予想される危険及び不便とを比較考量するものとする。期待される利益によって危険を冒すことが正当化される場合限り、治験を開始し継続すべきである。
3. 被験者の人権の保護、安全の保持及び福祉の向上に対する配慮が最も重要であり、科学と社会のための利益よりも優先されるべきである。
4. 治験薬に関して、その治験の実施を支持するのに十分な非臨床試験及び臨床試験に関する情報が得られていなければならない。
5. 治験は、科学的に妥当でなければならず、治験実施計画書にその内容が明確かつ詳細に記載されていなければならない。
6. 治験は、治験審査委員会が事前に承認した治験実施計画書を遵守して実施しなければならない。
7. 被験者に対する医療及び被験者のためになされる医療上の決定に関する責任は、医師又は歯科医師が常に負うべきである。
8. 治験の実施に関与する者は、教育、訓練及び経験により、その業務を十分に遂行しうる要件を満たしていなければならない。
9. すべての被験者から、治験に参加する前に、自由意思によるインフォームド・コンセントを得なければならない。
10. 治験に関するすべての情報は、正確な報告、解釈及び検証が可能なように記録し、取扱い、及び保存しなければならない。
11. 被験者の身元を明らかにする可能性のある記録は、被験者のプライバシーと秘密の保全に配慮して保護しなければならない。
12. 治験薬の製造、取扱い、保管及び管理は、「治験薬の製造管理、品質管理等に関する基準（治験薬GMP）について」を遵守して行うものとする。治験薬は治験審査委員会が事前に承認した治験実施計画書を遵守して使用するものとする。
13. 治験のあらゆる局面の質を保証するための手順を示したシステムが、運用されなければならない。
14. 治験に関連して被験者に健康被害が生じた場合には、過失によるものであるか否かを問わず、被験者の損失は適切に補償されなければならない。その際、因果関係の証明等について被験者に負担を課することがないようにしなければならない。

第1章 目的と適用範囲

(目的と適用範囲)

第1条 本手順書は、神戸国際フロンティアメディカルセンター(以下、「当院」)において実施する治験又は製造販売後臨床試験が医薬品医療機器等法並びにGCP省令に則り実施されるよう、治験の実施に必要な手続きと運営に関する手順及び記録の保存方法を定めるものである。

- 2 本手順書は、医薬品の製造販売承認申請又は承認事項一部変更承認申請の際に提出すべき資料の収集のために行う治験に対して適用する。
- 3 製造販売後臨床試験に対しては、「製造販売後臨床試験」を特定した事項を除き、医薬品GCP省令第56条、医療機器GCP省令第76条及び再生医療等製品GCP省令第76条に準じ、「治験」等とあるのを「製造販売後臨床試験」等と読み替えることにより、本手順書を適用する。その場合は「GCP省令」並びに「医薬品の製造販売後の調査及び試験の実施の基準に関する省令」(平成16年12月20日厚生労働省令第171号)、「医療機器の製造販売後の調査及び試験の実施の基準に関する省令」(平成17年3月23日厚生労働省令第38号)及び「再生医療等製品の製造販売後の調査及び試験の実施の基準に関する省令」(平成26年7月30日厚生労働省

令第90号)(これらを改正する省令等を含む)を遵守して行う。

- 4 医療機器に対しては、「医療機器」を特定した事項を除き、「医薬品」とあるのを「医療機器」と、「治験薬」とあるのを「治験機器」と、「被験薬」とあるのを「被験機器」と、「副作用」とあるのを「不具合又は不具合による影響」と読み替えることにより、本手順書を適用する。
- 5 再生医療等製品に対しては、「再生医療等製品」を特定した事項を除き、「医薬品」とあるのを「再生医療等製品」と、「治験薬」とあるのを「治験製品」と、「被験薬」とあるのを「被験製品」と、「副作用」とあるのを「不具合又は不具合による影響」と読み替えることにより、本手順書を適用する。
- 6 本手順書の書式は当院に固有のものを除き、厚生労働省医政局研究開発振興課長通知「治験の依頼等に係る統一書式について」(平成19年12月21日医政研発第1221002号)及びこれを改正する通知に従うものとする。よって、当院の長(以下、「院長」)が治験責任医師となる場合にあっては、書式の欄外注に従い該当しない文書が認められることに留意すること。
- 7 前項によらず、院内書式については本手順書に従い作成されるものであることに留

意すること。

第2章 院長の業務

(治験委託の申請等)

第2条 院長は、治験責任医師が治験に関する業務の一部を治験分担医師又は治験協力者に分担させる場合には、事前に治験責任医師が作成した「治験分担医師・治験協力者リスト(書式2)」を了承する。院長は、了承した「治験分担医師・治験協力者リスト(書式2)」を治験責任医師に提出する。また、院長又は治験責任医師は、治験依頼者に「治験分担医師・治験協力者リスト(書式2)」を提出するものとする。

- 2 院長は、治験責任医師と治験依頼者との間で治験実施計画書に関する文書による合意が成立した後、治験依頼者に「治験依頼書(書式3)」とともに治験責任医師の「履歴書(書式1)」、治験実施計画書等の審査に必要な資料を提出させるものとする。なお、審査に必要な資料は、記載すべき内容が確認できる場合にあっては、複数の文書を1つにまとめることも可能とする。

(治験審査の依頼、審査結果の受領)

第3条 院長は、治験責任医師に対して治験の実施を了承する前に、「治験審査依頼書(書式4)」、治験責任医師の「履歴書(書式1)」及び治験実施計

画書等の審査の対象となる資料を治験審査委員会に提出し、治験の実施の適否について治験審査委員会の意見を求めるものとする。

- 2 院長は、治験審査委員会の求めがあった場合、必要に応じて治験責任医師又は治験分担医師を治験審査委員会に出席させることができる。

(治験受託の了承等)

第4条 院長は、治験審査委員会が治験の実施を承認する決定を下し、その旨を「治験審査結果通知書(書式5)」により通知してきた場合に、これに基づく院長の指示が治験審査委員会の決定と同じときには、「治験審査結果通知書(書式5)」により、院長の指示が治験審査委員会の決定と異なるときには、「治験審査結果通知書(書式5)」とともに「治験に関する指示・決定通知書(参考書式1)」により治験責任医師及び治験依頼者に通知するものとする。

- 2 院長は、治験審査委員会が治験実施計画書、説明文書・同意文書並びにその他の手順について何らかの修正を条件に治験実施を承認する決定を下し、その旨を通知してきた場合は、前項に準じて治験責任医師及び治験依頼者に通知するものとする。

- 3 院長は、前項の指示により治験責任医師及び治験依頼者が治験実施計画書等を修正した場合には、「治験実施計

画書等修正報告書(書式6)」及び該当する資料を提出させ、院長の指示通り修正されたことを確認するものとする。

- 4 院長は、治験審査委員会が治験の実施を却下する決定を下し、その旨を「治験審査結果通知書(書式5)」により通知してきた場合は、治験の実施を了承することはできない。院長は、治験の実施を了承できない旨を「治験審査結果通知書(書式5)」により治験責任医師及び治験依頼者に通知するものとする。
- 5 院長は、治験審査委員会が治験の実施を保留する決定を下し、その旨を「治験審査結果通知書(書式5)」により通知してきた場合は、治験責任医師及び治験依頼者に当該関連資料を提出させ、再度治験審査委員会の意見を求めるものとする。
- 6 院長は、治験責任医師又は治験依頼者から治験審査委員会の審査結果を確認するために審査に用いられた治験実施計画書等の文書の入手を求める旨の申し出があった場合には、これに応じなければならない。
- 7 院長は、治験責任医師又は治験依頼者から「治験審査結果通知書(書式5)」又は「治験に関する指示・決定通知書(参考書式1)」に対する異議申し立てが文書で提出された場合には、これを提出した者に対し文書によりこれに

回答する。なお、この場合、院長は必要に応じ治験審査委員会の意見を求めることができる。

(治験実施の契約等)

- 第5条 院長は、治験審査委員会の意見に基づいて治験の実施を了承した後、治験依頼者と「治験契約書(院内書式1)」により契約を締結し、それぞれが記名・押印又は署名し、日付を付すものとする。なお、治験契約書は治験依頼者と院長との協議により任意の書式を使用することができる。
- 2 院長は、本手順書第4条第2項に基づき治験審査委員会が修正を条件に治験の実施を承認した場合には、同条第3項に基づき「治験実施計画書等修正報告書(書式6)」と当該資料により修正を確認した後に契約を締結するものとする。
- 3 治験契約書の内容を変更する際には、本条第1項に準じて「治験契約内容変更に関する覚書(院内書式2)」等を締結する。なお、この覚書等は治験依頼者と院長との協議により任意の書式を使用することができる。
- 4 前三項にいう治験契約書又は覚書等について、契約者は院長又は院長が選任した者のいずれでも差し支えないが、その責任は院長が負うものとする。

(治験の継続)

- 第 6 条 院長は、実施中の治験において少なくとも年 1 回、治験責任医師に「治験実施状況報告書 (書式 11)」を提出させ、「治験審査依頼書 (書式 4)」とともに治験審査委員会に提出し、治験の継続の可否について治験審査委員会の意見を求め、本手順書第 4 条に準じて治験責任医師及び治験依頼者に通知するものとする。
- 2 院長は、重篤で予測できない副作用等について治験依頼者から通知を受けた場合、重篤な有害事象について治験責任医師から報告を受けた場合、説明文書を改訂した旨、治験責任医師から報告を受けた場合、その他院長が必要であると認めたときは、治験の継続の可否について治験審査委員会の意見を求め、本手順書第 4 条に準じて治験責任医師及び治験依頼者に通知するものとする。
- 3 院長は、治験審査委員会が実施中の治験の継続審査等において、治験審査委員会が既に承認した事項の取消し (治験の中止又は中断を含む) の決定を下し、その旨を通知してきた場合は、「治験審査結果通知書 (書式 5)」により治験責任医師及び治験依頼者に通知し、治験を中止又は中断させるものとする。
- 4 院長は、治験責任医師又は治験依頼者から治験審査委員会の継続審査等の結果を確

認するために審査に用いられた治験実施計画書等の文書の入手を求める旨の申し出があった場合には、これに応じなければならない。

(治験実施計画書等の変更)

- 第 7 条 院長は、治験期間中、治験責任医師及び治験依頼者より治験実施計画書、説明文書・同意文書等、治験審査委員会の審査の対象となる文書が追加、更新又は改訂された場合、治験責任医師及び治験依頼者にそれらの当該文書のすべてを速やかに提出させるものとする。なお、治験実施計画書の分冊を作成している場合、当該分冊のうち、当院に係るもののみを治験依頼者に提出させることとして差し支えない。
- 2 院長は治験責任医師及び治験依頼者より、「治験に関する変更申請書 (書式 10)」及び審査に必要な資料を入手した場合には、「治験審査依頼書 (書式 4)」及び「治験に関する変更申請書 (書式 10)」を治験審査委員会に提出し、治験の継続の可否についての意見を求め、本手順書第 4 条に準じて、治験責任医師及び治験依頼者に通知するものとする。
- 3 院長は、治験実施計画書の変更等を了承した後、その内容が治験契約の変更を必要とする場合には、本手順書第 5 条第 3 項に従う。

(緊急の危険回避のための治験実施計画書からの逸脱)

第 8 条 院長は、治験責任医師又は治験分担医師が被験者の緊急の危険を回避するため、その他医療上やむを得ない事情により治験実施計画書からの逸脱又は変更を行う又は行った場合、「緊急の危険を回避するための治験実施計画書からの逸脱に関する報告書(書式 8)」により、その内容、理由の報告を治験責任医師より受ける。また、院長は、治験依頼者に対し「緊急の危険を回避するための治験実施計画書からの逸脱に関する通知書(書式 9)」の提出を要請する。

2 院長は、前項の報告書並びに通知書を「治験審査依頼書(書式 4)」とともに治験審査委員会に提出し、治験の継続の可否について治験審査委員会の意見を求め、本手順書第 4 条に準じて治験責任医師及び治験依頼者に通知するものとする。

3 院長は、「緊急の危険を回避するための治験実施計画書からの逸脱に関する通知書(書式 9)」を治験責任医師に提出するものとする。

(重篤な有害事象の発生)

第 9 条 院長は、治験責任医師より「重篤な有害事象に関する報告書(書式 12-1、書式 12-2)」を入手した場合は、「治験審査依頼書(書式 4)」と「重篤な有害事象に関する報告書

(書式 12-1、書式 12-2)」を治験審査委員会に提出し、治験の継続の可否についての意見を求め、本手順書第 4 条に準じて治験責任医師及び治験依頼者に通知するものとする。

2 前項における「重篤な有害事象に関する報告書(書式 12-1、書式 12-2)」は製造販売後臨床試験の場合は「有害事象に関する報告書(書式 13-1、書式 13-2)」、医療機器の治験の場合は「重篤な有害事象及び不具合に関する報告書(書式 14)」、医療機器の製造販売後臨床試験の場合は「有害事象及び不具合に関する報告書(書式 15)」と読み替えるものとする。

(安全性に関する情報の入手)

第 10 条 院長は、治験依頼者より被験者の安全又は当該治験の実施に影響を及ぼす可能性のある情報として「安全性情報等に関する報告書(書式 16)」を入手した場合は、治験責任医師に治験の継続等に関する見解が治験依頼者の見解と同一であることを確認する。院長は「治験審査依頼書(書式 4)」と「安全性情報等に関する報告書(書式 16)」(治験責任医師と治験依頼者の見解が異なる場合は治験責任医師のコメントが記載された報告書)を治験審査委員会に提出し、治験の継続の可否についての意見を求め、本手順書第 4 条に準じて

治験責任医師及び治験依頼者に通知するものとする。

- 2 治験依頼者、治験審査委員会及び院長の合意が得られている場合においては、医薬品 GCP 省令第 20 条、第 32 条及び第 40 条、医療機器 GCP 省令第 28 条、第 51 条及び第 60 条、並びに再生医療等製品 GCP 省令第 28 条、第 51 条及び第 60 条の規定に従うものとする。

(治験の中止、中断及び終了)

第 11 条 院長は、治験責任医師が治験の終了、又は自ら治験を中止又は中断し、その旨を「治験終了(中止・中断)報告書(書式 17)」により報告してきた場合には、「治験終了(中止・中断)報告書(書式 17)」により、速やかに治験審査委員会及び治験依頼者に通知するものとする。なお、通知の文書には、終了時においては治験結果の概要等、中止時又は中断時においてはその詳細な説明がなされていなければならない。

- 2 院長は、治験依頼者が開発の中止、治験の中止又は治験の中断を決定し、その旨を「開発の中止等に関する報告書(書式 18)」により報告してきた場合には、「開発の中止等に関する報告書(書式 18)」により、速やかに治験審査委員会及び治験責任医師に通知するものとする。また、院長は治験責任医師に通知する際に「治験終了(中止・中

断)報告書(書式 17)」を速やかに提出するよう要請し、前項に準じて治験の終了を通知するものとする。

- 3 院長は、治験依頼者が当該治験薬の製造販売承認の取得又は再審査・再評価結果の通知について、「開発の中止等に関する報告書(書式 18)」により報告してきた場合には、「開発の中止等に関する報告書(書式 18)」により、速やかに治験責任医師に通知するものとする。

(直接閲覧)

第 12 条 院長は、治験依頼者によるモニタリング及び監査並びに治験審査委員会及び国内外の規制当局による調査を受け入れるものとする。これらの場合には、モニター、監査担当者、治験審査委員会又は国内外の規制当局の求めに応じ、原資料等のすべての治験関連記録を直接閲覧に供するものとする。なお、治験依頼者による直接閲覧を伴うモニタリング又は監査に関しては、本手順書第 29 条及び第 30 条に従うものとする。

(業務の委託等)

第 13 条 院長は、治験実施に係る業務の一部を委託する場合は、次に掲げる事項を記載した文書により当該業務を受託する者との契約を締結しなければならない。

- 1) 当該委託に係る業務の範囲

- 2) 当該委託に係る業務の手順に関する事項
 - 3) 前号の手順に基づき当該委託に係る業務が適性かつ円滑に行われているかどうかを当院が確認することができる旨
 - 4) 当該受託者に対する指示に関する事項
 - 5) 前号の指示を行った場合において当該措置が講じられたかどうかを当院が確認することができる旨
 - 6) 当該受託者が当院に対して行う報告に関する事項
 - 7) その他当該委託に係る業務について必要な事項
- 2 院長は、治験実施に係る業務の一部を治験施設支援機関に委託する場合は、事前に当該治験施設支援機関の健康被害の補償に関する手順書の写しを入手し、保管するものとする。

(緊急時の対応)

- 第 14 条 院長は、当該治験実施中に被験者に緊急事態が発生した場合は、治験薬との因果関係に係らず、十分な医療を提供する。
- なお、当院において対応不可能な場合は、緊急搬送先へ緊急搬送措置の依頼を行う。

第 3 章 治験審査委員会

(治験審査委員会)

- 第 15 条 院長は、当院での治験実施の適否、治験継続の適否、種々の報告及び通知等について、

GCP 省令の定める条件を満たす治験審査委員会（以下、「外部治験審査委員会」）に調査審議を委託する。

- 2 院長は、あらかじめ外部治験審査委員会の設置者と治験審査の委受託に関する契約を締結しなければならない。また、院長は、外部治験審査委員会の標準業務手順書（以下、「外部 IRB-SOP」）の写し並びに委員名簿の写しを入手し、以下の事項を確認しなければならない。
- 1) 調査審議を行うための十分な人員が確保されていること
 - 2) 倫理的、科学的及び医学的・薬学的観点から審議及び評価することができること
 - 3) 治験の開始から終了に至るまで一貫性のある調査審議ができること
- 3 院長は、治験依頼者から治験審査委員会標準業務手順書及び治験審査委員会委員名簿の提示を求められた場合は、外部 IRB-SOP の写し及び外部治験審査委員会委員名簿の写しをもって、これに応ずるものとする。
- 4 院長は、調査審議の対象となる治験に関して、外部治験審査委員会の設置者から確認の申し出があった場合、当院の治験事務局に対応させるものとする。

第4章 治験責任医師の業務

(治験責任医師の要件)

第16条 治験責任医師は、以下の要件を満たさなくてはならない。

- 1) 治験責任医師は、教育・訓練及び経験によって、治験を適正に実施しうる者でなければならない。治験責任医師は、このことを証明する最新の「履歴書(書式1)」及び治験分担医師に業務を分担させる場合には当該治験分担医師となるべき者の氏名を記載した文書を院長に提出するものとする。
- 2) 治験責任医師は、治験依頼者と合意した治験実施計画書、最新の治験薬概要書、製品情報及び治験依頼者が提供するその他の文書に記載されている治験薬の適切な使用法に十分精通していなければならない。
- 3) 治験責任医師は、医薬品医療機器等法第14条第3項及び第80条の2に規定する基準並びにGCP省令を熟知し、これを遵守しなければならない。
- 4) 治験責任医師は、治験依頼者によるモニタリング及び監査並びに治験審査委員会並びに国内外の規制当局による調査を受け入れ、また、モニター、監査担当者、治験審査委員会又は国内外の規制当局の求めに応じて、原資料等のす

べての治験関連記録を直接閲覧に供しなければならない、これが可能であること。

- 5) 治験責任医師は、合意された募集期間内に必要数の適格な被験者を集めることが可能であることを過去の実績等により示すことができなければならない。
- 6) 治験責任医師は、合意された期間内に治験を適正に実施し、終了するに足る時間を有していなければならない。
- 7) 治験責任医師は、治験を適正かつ安全に実施するため、治験の予定期間中に十分な数の治験分担医師及び治験協力者等の適格なスタッフを確保でき、また適切な設備を利用できなければならない。
- 8) 治験責任医師は、治験関連の重要な業務の一部を治験分担医師又は治験協力者に分担させる場合には、「治験分担医師・治験協力者リスト(書式2)」を作成し、あらかじめ院長に提出し、その了承を受けなければならない。また、院長の了承を受けた後に治験分担医師又は治験協力者に変更が生じた場合には、速やかに「治験分担医師・治験協力者リスト(書式2)」を作成して院長に提出し、その了承を受けなければならない。

- 9) 治験責任医師は、治験分担医師及び治験協力者に治験薬の品質、有効性及び安全性に関する事項、その他治験を適正に行うために必要な情報、治験薬について、当該治験薬の副作用によるものと疑われる疾病、障害又は死亡の発生等に該当する事項を知った際に通知した事項等、治験分担医師及び治験協力者に、各人の業務について十分な情報を与え、治験実施計画書の遵守、治験薬の使用等の治験実施のあらゆる場面で治験分担医師及び治験協力者を指導、監督しなければならない。
- 10) 治験責任医師は治験実施前及び治験期間を通じて治験審査委員会の審査の対象となる文書のうち、治験責任医師が提出すべき文書を最新のものにしなければならない。当該文書が追加、更新又は改訂された場合には、そのすべてを速やかに院長に提出すべきものとする。
- 2 治験責任医師は、前項の結果に基づき、治験依頼者と治験実施計画書の内容について合意し、このことを証するため、治験依頼者とともに治験実施計画書又はそれに代わる文書に記名・押印又は署名し、日付を記入する。
- 3 治験責任医師は、治験実施計画書が新たな安全性情報等で改訂又は治験審査委員会の意見に基づく院長の指示で修正される場合には、前項に従うものとする。
- 4 前三項の治験実施計画書の改訂については、治験実施計画書の分冊を作成しており、当該分冊に記載された当院以外の他施設に特有の情報を改訂する場合を除いて差し支えない。
- 5 症例報告書の見本を作成する場合は、本条第1項から第3項を準用する。ただし、レイアウト（EDC[Electronic Data Capturing]の利用による症例報告書にあってはその仕様）の変更を行う場合を除いて差し支えない。

（説明文書・同意文書の作成）

（治験実施計画書の遵守に関する合意）
第17条 治験責任医師は、治験依頼者から提供される治験実施計画書及び最新の治験薬概要書、その他必要な資料又は情報に基づき、当該治験を実施することの倫理的及び科学的妥当性について治験依頼者と協議し、十分検討すること。

第18条 治験責任医師は、治験実施の申請をする前に治験依頼者の協力を得て、被験者から治験への参加の同意を得るために用いる説明文書・同意文書を作成する。また、これらは、GCP 省令及びヘルシンキ宣言に基づいて作成されるものとする。

(治験の申請)

第 19 条 治験責任医師は、治験の実施を申請しようとする場合、「治験依頼書(書式 3)」に審査に必要な資料を添えて治験依頼者を通じて治験事務局に提出する。なお、治験の申請に先立ち治験責任医師は、治験実施計画書に関して治験依頼者との合意を行わなければならない。

(治験の契約)

第 20 条 治験責任医師は、「治験契約書(院内書式 1)」の内容について確認し、治験契約書が変更される場合も同様に「治験契約内容変更に関する覚書(院内書式 2)」の内容を確認する。なお、治験契約書又は覚書に関して任意の書式を用いた場合も同様とする。

(被験者の選定)

第 21 条 治験責任医師又は治験分担医師は、次に掲げるところにより被験者を選定する。

- 1) 個々の被験者の選定にあたって、人権保護の観点から、治験実施計画書に定められた選択基準及び除外基準に基づき、被験者の健康状態、症状、年齢、性別、同意能力、治験責任医師等との依存関係、他の治験への参加の有無等を考慮のうえ、治験に参加を求めることの適否を慎重に検討すること。
- 2) 同意能力を欠く者については、当該治験の目的上、被験者とするのがやむを得

ない場合を除き、原則として被験者としめないこと。

- 3) 社会的に弱い立場にあるものを被験者とする場合には、特に慎重な配慮を払わなくてはならないこと。

(被験者の同意の取得)

第 22 条 治験責任医師又は治験分担医師は、被験者が治験に参加する前に、被験者に対して説明文書・同意文書を用いて十分に説明し、治験への参加について自由意思による同意を文書により得るものとする。

- 2 説明文書・同意文書には、説明を行った治験責任医師又は治験分担医師、被験者が記名・押印又は署名し、各自日付を記入するものとする。なお、治験協力者が補足的な説明を行った場合には、当該治験協力者も記名・押印又は署名し、日付を記入するものとする。

- 3 治験責任医師又は治験分担医師は、被験者が治験に参加する前に、前項の規定に従って記名・押印又は署名と日付が記入された説明文書・同意文書の写しを被験者に渡さなければならない。また、被験者が治験に参加している間に、説明文書・同意文書が改訂された場合は、その都度新たに前二項に従って同意を取得し、記名・押印又は署名と日付を記入した説明文書・同意文書の写しを被験者に渡さなければならない。

- 4 治験責任医師、治験分担医師及び治験協力者は、治験への参加又は治験への参加の継続に関し、被験者に強制又は不当な影響を及ぼしてはならない。
- 5 説明文書・同意文書及び説明に際して口頭で提供される情報には、被験者に権利を放棄させるかそれを疑わせる語句、又は治験責任医師、治験分担医師、治験協力者、当院若しくは治験依頼者の法的責任を免除するかそれを疑わせる語句が含まれていてはならない。
- 6 口頭及び文書による説明並びに説明文書・同意文書には、被験者が理解可能で、可能な限り非専門的な言葉が用いられていなければならない。
- 7 治験責任医師又は治験分担医師は、同意を得る前に、被験者が質問をする機会と、治験に参加するか否かを判断するのに十分な時間を与えなければならない。その際、当該治験責任医師、治験分担医師又は補足説明者としての治験協力者は、すべての質問に対して被験者が満足するよう答えなければならない。
- 8 治験責任医師又は治験分担医師は、治験への参加及びその継続について被験者の意思に影響を与える可能性のある情報が得られた場合には、以下のように対応する。
 - 1) 被験者に当該情報を速やかに伝え、治験に継続して参加するか否かについて被験者の意思を確認する。
 - 2) 被験者に対する説明内容及びその結果を文書に記録する。
 - 3) 当該情報に基づき速やかに説明文書・同意文書を改訂する。
 - 4) 説明文書・同意文書の改訂に関し、治験審査委員会の承認を得る。
 - 5) 治験審査委員会において改訂の承認を得た説明文書・同意文書等を用いて改めて被験者に説明し、治験への参加の継続について自由意思による同意を文書により得る。
- 9 被験者の同意取得が困難な場合、非治療的治験を実施する場合、被験者が説明文書・同意文書等を読めない場合及び緊急状況下における救命的治験の場合については、医薬品 GCP 省令第 50 条第 2 項及び第 4 項、第 52 条第 3 項及び第 4 項並びに第 55 条、医療機器 GCP 省令第 70 条第 2 項及び第 4 項、第 72 条第 3 項及び第 4 項並びに第 75 条、再生医療等製品 GCP 省令第 70 条第 2 項及び第 4 項、第 72 条第 3 項及び第 4 項並びに第 75 条を遵守する。

(被験者に対する医療)

第 23 条 治験責任医師は、治験に関連する医療上のすべての判断に責任を負うものとする。

 - 2 院長及び治験責任医師は、被験者の治験参加期間中及びその後を通じ、治験に関連し

た臨床上問題となるすべての有害事象に対して、十分な医療が被験者に提供されることを保証するものとする。また、治験責任医師又は治験分担医師は、有害事象に対する医療が必要となったことを知った場合には、被験者にその旨を伝えるとともに、直ちに適切な医療を行う。

- 3 治験責任医師又は治験分担医師は、被験者に他の主治医がいるか否かを確認し、被験者の同意のもとに、主治医に被験者の治験への参加について知らせなければならない。
- 4 被験者が治験の途中で参加を取り止めようとする場合、又は取り止めた場合には、被験者はその理由を明らかにする必要はないが、治験責任医師又は治験分担医師は、被験者の権利を十分に尊重した上で、理由を確認するための適切な努力を払わなければならない。
- 5 治験が何らかの理由で中止又は中断された場合には、治験責任医師は被験者に速やかにその旨を通知し、被験者に対する適切な治療、事後処理、その他必要な措置を講じなければならない。

(治験の実施)

第 24 条 治験責任医師は、治験審査委員会が治験の実施又は継続を承認し、又は何らかの修正を条件に治験の実施又は継続を承認し、これに基づく「治験審査結果通知書(書式

5)」が発行された後に、その決定に従って治験を開始又は継続すること。また、治験審査委員会が実施中の治験に関して承認した事項を取り消し(治験の中止又は中断を含む)これに基づく「治験審査結果通知書(書式5)」が発行された場合には、その決定に従うこと。

- 2 治験責任医師は、治験契約の締結前に被験者を治験に参加させてはならない。
- 3 治験責任医師又は治験分担医師は、本手順書第 8 条及び第 26 条で規定する場合を除いて、治験実施計画書を遵守して治験を実施すること。
- 4 治験責任医師又は治験分担医師は、承認された治験実施計画書を遵守した方法のみで治験薬を使用すること。
- 5 治験責任医師又は治験分担医師は、治験薬の正しい使用方法を各被験者に説明、指示し、当該治験にとって適切な間隔で、各被験者が説明された指示を正しく守っているか否かを確認すること。
- 6 治験責任医師は、実施中の治験において少なくとも年 1 回、院長に「治験実施状況報告書(書式 11)」を提出すること。
- 7 治験責任医師及び治験依頼者は、治験の実施に重大な影響を与え、又は被験者の危険を増大させるような治験のあらゆる変更について、院長に対して速やかに「治験に関する変更申請書(書式 10)」を

提出すること。

- 8 治験責任医師は、治験の実施に係る文書又は記録を院長の指示に従って保存すること。なお、これら保存の対象となる記録には、治験の実施に関する重要な事項について行われた治験依頼者との書簡、会合、電話連絡等に関するものを含むものとする。

(モニタリング、監査及び調査への協力)

第 25 条 治験責任医師及び治験分担医師は、治験依頼者によるモニタリング及び監査並びに治験審査委員会及び国内外の規制当局による調査を受け入れるものとする。

- 2 治験責任医師及び治験分担医師は、モニター、監査担当者、治験審査委員会又は国内外の規制当局の求めに応じて、院長の了承のもと原資料等のすべての治験関連記録を直接閲覧に供するものとする。

(治験実施計画書からの逸脱等)

第 26 条 治験責任医師及び治験分担医師は、治験依頼者との事前の文書による合意及び治験審査委員会の前回の審査に基づく文書による承認を得ることなく、治験実施計画書からの逸脱又は変更を行ってはならない。ただし、被験者の緊急の危険を回避するためのものである等、医療上やむを得ないものである場合又は治験の事務的事項のみに関する変更である場合に

は、この限りではない。

- 2 治験責任医師又は治験分担医師は、治験実施計画書から逸脱した場合には、その行為を理由のいかんによらず、すべて診療録等に記録するものとする。

- 3 治験責任医師又は治験分担医師が被験者の緊急の危険を回避するため等、医療上やむを得ない事情のために治験実施計画書からの逸脱又は変更を行う予定又は行った場合は、治験責任医師及び院長は以下のように対応する。

- 1) 治験責任医師は、「緊急の危険を回避するための治験実施計画書からの逸脱に関する報告書(書式8)」を作成する。
- 2) 治験責任医師は、治験実施計画書の改訂が適切な場合には、治験依頼者の協力を得て治験実施計画書改訂案を作成する。
- 3) 治験責任医師は、「緊急の危険を回避するための治験実施計画書からの逸脱に関する報告書(書式8)」及び治験実施計画書改訂案を治験依頼者並びに院長に提出する。
- 4) 院長は、治験依頼者に対し、「緊急の危険を回避するための治験実施計画書からの逸脱に関する通知書(書式9)」の提出を要請する。
- 5) 院長は、前二号の報告書と通知書並びに治験実施計画書改訂案を「治験審査依頼書(書式4)」とともに治験審

査委員会に提出し、治験の継続の可否について意見を求め、本手順書第4条に準じて、治験責任医師及び治験依頼者に通知するものとする。

- 6) 治験責任医師は、治験依頼者が提出してきた「緊急の危険を回避するための治験実施計画書からの逸脱に関する通知書(書式9)」を院長より入手し、保存する。

(重篤な有害事象の発生等)

第27条 治験責任医師は、治験実施中に重篤な有害事象が発生した場合(医療機器及び再生医療等製品については、重篤な有害事象の発生のおそれがあると認めた場合を含む)は、速やかに院長及び治験依頼者に「重篤な有害事象に関する報告書(書式12-1、書式12-2)」をもって報告する。この場合、治験責任医師は重篤で予測できない副作用を特定するものとし、治験依頼者、院長又は治験審査委員会から情報提供を求められた場合、これに応じなければならない。

- 2 前項における「重篤な有害事象に関する報告書(書式12-1、書式12-2)」は製造販売後臨床試験の場合は「有害事象に関する報告書(書式13-1、書式13-2)」、医療機器の治験の場合は「重篤な有害事象及び不具合に関する報告書(書式14)」、医療機器の製造販売後臨床試験の場合は「有害事象

及び不具合に関する報告書(書式15)」と読み替えるものとする。

- 3 治験責任医師は、治験依頼者より「安全性情報等に関する報告書(書式16)」を入手した場合、治験の継続等に関する治験依頼者の見解を確認し、自らの見解と異なる場合、備考欄にその旨を記載し(又は別紙等を報告書に付し)、自らの見解を記載した「安全性情報等に関する報告書(書式16)」の写し又は別紙等を院長に提出する。

(症例報告書の作成及び報告)

第28条 治験責任医師又は治験分担医師は、治験実施計画書の規定に従って正確な症例報告書を作成し、その内容を点検し、問題がないことを確認したときに、記名・押印又は署名する。治験責任医師は、治験分担医師が作成した症例報告書についても、その内容を点検し、問題がないことを確認したときに、記名・押印又は署名する(治験分担医師が行った症例報告書の変更又は修正について、治験責任医師が点検し、問題がないことを確認したときを含む)。

- 2 治験責任医師は、前項にて作成したすべての症例報告書を治験依頼者に提出する。なお、治験責任医師は、治験依頼者に提出した症例報告書の写しを保存するものとする。
- 3 治験責任医師又は治験分担医

師は、症例報告書を変更又は修正する場合には、治験依頼者から提供された手引き等に従う。

- 4 治験責任医師又は治験分担医師は、症例報告書の記載を変更又は修正するときは、これに署名又は押印し、日付を記入する。なお、重大な変更又は修正を行う場合は変更理由も記入する。なお、変更又は修正については当初の記載内容を判読不能なものとしてはならない。

(直接閲覧を伴うモニタリング・監査の申し込み、受け入れ及び報告)

第 29 条 モニター又は監査担当者は、直接閲覧の対象となる原資料等の内容・範囲について治験実施計画書等に基づいて確認し、実施希望日時を治験責任医師等と調整した上で、治験事務局、治験協力者の協力を得ながらモニタリング又は監査を実施するものとする。

- 2 治験責任医師、治験分担医師又は治験協力者は、直接閲覧時にモニタリングの内容及び手順をモニターに確認し、必要な原資料等の準備、手配をする。治験責任医師、治験分担医師又は治験協力者等の対応者は、被験者のプライバシーの保護の観点から、原資料との照合作業が可能な場所を準備する。

- 3 直接閲覧終了後、治験責任医師、治験分担医師又は治験協力者は、当該原資料等がすべ

て適切に返却されていることを確認する。

- 4 監査の申し込みにあたって、治験依頼者は「直接閲覧実施連絡票(参考書式2)」に必要事項を記載し、治験事務局に E-mail で申し込むものとする。なお、複数の担当者が直接閲覧を実施する場合、すべての担当者の氏名を備考欄等に明記するものとする。

(直接閲覧を伴うモニタリング・監査終了後の対応)

第 30 条 治験依頼者は、モニタリングの結果、治験実施計画書からの逸脱等特段の事項があった場合、治験責任医師等に適切に伝えるものとする。この場合、治験責任医師は治験事務局等の関連部門と協議し、対応を決定するものとする。

- 2 治験依頼者は、監査の結果を治験責任医師又は治験事務局等の関連部門に連絡するものとする。監査の結果、治験依頼者より改善勧告等を受けた場合、治験責任医師、治験事務局等は、他の関連部門とも協議し、対応を決定するとともに、治験依頼者から対応結果の確認の要請があった場合、これに応じる。

(治験の終了又は中止・中断)

第 31 条 治験責任医師は、治験が終了又は中止あるいは中断した場合、速やかに「治験終了(中止・中断)報告書(書式17)」を院長に提出するものとする。

(秘密の保全)

第 32 条 治験責任医師、治験分担医師及び治験協力者は、被験者に関する守秘義務を負う。また、治験依頼者から提供された資料、情報及び治験結果に関しても同様である。

第 5 章 治験薬の管理

(治験薬の管理)

第 33 条 治験薬の管理責任は、院長が負うものとする。

2 院長は、治験薬を適正に管理させるために治験薬管理者を「治験薬管理者任命書(院内書式 3-1)」により任命し、原則として当院内で実施されるすべての治験に関する治験薬を管理させるものとする。治験薬管理者は薬剤師とし、治験薬管理者として薬剤師を選任できない場合には医師又は歯科医師を選任する。なお、治験薬管理者は必要に応じて治験薬管理補助者を「治験薬管理補助者指名書(院内書式 3-2)」により指名し、治験薬の保管、管理の補助業務を行わすことができる。

なお、治験機器及び再生医療等製品の管理については、以下のとおりとする。

(1) 治験機器：院長は、治験機器を適正に管理させるために、原則として薬剤師、臨床工学技士、臨床検査技師、診療放射線技師等、当該治験機器の管理に必要

な知識と経験を有する者を治験機器毎に「治験機器管理者任命書(院内書式 4-1)」により治験機器管理者として任命する。治験機器管理者としてこれらの者を選任できない場合には、医師又は歯科医師を選任する。なお、治験機器管理者は必要に応じて治験機器管理補助者を「治験機器管理補助者指名書(院内書式 4-2)」により指名し、治験機器の保管、管理の補助業務を行わすことができる。

(2) 再生医療等製品：院長は、治験製品を適正に管理させるために、当該治験製品の管理に必要な知識と経験を有する者を治験製品毎に「治験製品管理者任命書(院内書式 5-1)」により治験製品管理者として任命する。なお、治験製品管理者は必要に応じて治験製品管理補助者を「治験製品管理補助者指名書(院内書式 5-2)」により指名し、治験製品の保管、管理の補助業務を行わすことができる。

3 治験薬管理者は、治験依頼者が作成した治験薬の取扱い及び保管、管理並びにそれらの記録に際して従うべき指示を記載した治験薬の管理に関する手順書(以下、「治験薬管理手順書」)に従って、また GCP 省令を遵守して適正に治験薬を保管、管理する。

4 治験薬管理者は、次の業務を行う。

- 1) 治験契約が締結されたことを確認した後、治験依頼者より治験薬を受領し、記名・押印又は署名及び日付を記した治験薬の受領書を発行する。治験依頼者より委託された運送業者等が治験薬を搬入した場合においても、同様に文書により記録するものとする。
- 2) 治験薬管理手順書に従った、治験薬の払い出し及び回収等の保管、管理を行う。
- 3) 治験薬の在庫、使用状況、使用期限及び治験進捗状況を把握するために治験薬管理表等を作成する。また、被験者からの未使用治験薬の返却についても記録する。
- 4) 治験薬管理手順書に従い、未使用治験薬（被験者からの未使用返却治験薬、使用期限切れ治験薬、欠陥品を含む）及び治験薬管理手順書に定められている場合には使用済みの治験薬空き箱を治験薬の返却書とともに治験依頼者へ返却する。
- 5) 治験薬の返却に際しては、治験薬受領数、処方数量及び返却数量に整合性があることを確認する。
- 6) その他、前項の治験依頼者が作成した治験薬管理手順書に従う。

第6章 治験事務局

（治験事務局の設置及び業務）

第34条 院長は、治験事務局長を「治

験事務局長任命書（院内書式6）」により任命し、治験の実施に関する事務及び支援を行う治験事務局を設けるものとする。

2 治験事務局は、院長の指示により、次の業務を行うものとする。

- 1) 治験依頼者に対する必要書類の交付と治験依頼手続きの説明
- 2) 治験依頼書及び治験審査委員会が審査の対象とする審査資料の受付
- 3) 治験審査結果通知書に基づく院長の決定の治験依頼者及び治験責任医師に対する通知（治験審査委員会の審査結果を確認するために必要とする文書の治験依頼者への交付を含む）
- 4) 治験契約に係る手続き等の業務
- 5) 治験終了（中止・中断）報告書の受領及び治験依頼者に対する交付
- 6) 記録の保存
- 7) 治験の実施に必要な手順書の作成
- 8) その他治験に関する業務の円滑化を図るために必要な事務及び支援

第7章 記録の保存

(記録の保存責任者)

第35条 院長は、GCP省令及び本手順書に定められた当院において保存すべき治験に係る文書又は記録の保存責任者(以下、「記録保存責任者」)を「記録保存責任者任命書(院内書式7)」により任命するものとする。

- 2 記録保存責任者は、次に示す記録が本手順書第36条第1項に定める期間中に紛失又は廃棄されることがないように、保存することに責任を有するものとする。ただし、治験実施中、又は治験実施中から治験終了後を通じて別途保管される記録は、次に示す者が責任を持って管理する。

	治験実施中	治験終了後
1) 治験受託に関する文書等	治験事務局長	記録保存責任者
2) 治験の実施に関する重要な事項について行われた治験依頼者との書簡、会合、電話連絡等に関する記録等	治験責任医師	記録保存責任者
3) 治験薬に関する記録	治験薬管	記録保存

(治験薬管理表、被験者からの未使用薬返却記録、治験薬の納品書、未使用治験薬の受領書等)	理者	責任者
4) 検査の精度管理等を保証する記録等	検査担当部署の長	
5) 被験者の説明文書・同意文書、診療記録及び診療に用いた記録等(X線フィルム等)	診療録等保存担当部署の長	

- 3 院長及び記録保存責任者は、治験依頼者からの求めに応じて当院において保存すべき治験に係る文書又は記録を提示できるように必要な措置を講じるものとする。

(記録の保存期間)

第36条 記録保存責任者は、治験実施医療機関において保存すべき治験に係る文書又は記録を、次の各号に掲げる区分に応じ、当該各号に定める日まで保存するものとする。ただし、治験依頼者がこれよりも長期間の保存を必要とする場合には、保存期間及び保存方法について治験依頼者と協議するものとする。

- (1) 治験(医薬品、医療機器)

被験薬若しくは被験機器に係る製造販売の承認を受ける日（医薬品 GCP 省令第 24 条第 3 項又は医療機器 GCP 省令第 32 条第 3 項の規定により通知を受けたときは、通知を受けた日後 3 年を経過した日）又は治験の中止若しくは終了の後 3 年を経過した日のうちいずれか遅い日。

(2) 治験（再生医療等製品）

被験製品に係る製造販売の承認（医薬品医療機器等法第 23 条の 26 第 1 項の規定により条件及び期限を付したものを除く）を受ける日（再生医療等製品 GCP 第 32 条第 3 項又は第 43 条第 3 項の規定により通知を受けたときは、通知を受けた日後 3 年を経過した日）又は治験の中止若しくは終了の後 3 年を経過した日のうちいずれか遅い日。

(3) 製造販売後臨床試験（医薬品）

被験薬に係る再審査又は再評価が終了する日。

(4) 製造販売後臨床試験（医療機器）

被験機器に係る使用成績評

価が終了する日。

(5) 製造販売後臨床試験（再生医療等製品）

被験製品に係る再審査又は再評価が終了する日（医薬品医療機器等法第 23 条の 25 第 3 項（医薬品医療機器等法第 23 条の 26 第 5 項において読み替えて適用する場合に限る。）に規定する資料を収集するために行った製造販売後臨床試験については、製造販売の承認を受ける日又は製造販売後臨床試験の中止若しくは終了の後 3 年を経過した日のうちいずれか遅い日）。

2 治験依頼者は、院長へ前項の承認取得、開発中止あるいは再審査又は再評価の終了等について、「開発の中止等に関する報告書（書式 18）」により報告するものとする。

3 院長は、治験依頼者から前項の報告書を入手した場合は、治験審査委員会及び治験責任医師に対して、本手順書第 11 条第 2 項及び第 3 項に準じて承認取得等を通知するものとする。

D . 考察

神戸国際フロンティアメディカルセンターは、平成 26 年 11 月に開院したばかりであり、本研究により脂肪組織由来多系統前駆細胞を用いる肝硬変治療の治験を実施するために治験実施体制の構築が急務であった。手順書の第 1 版が出来上がったが、次年度以降再生医療等製品の治験も対象とできるように、文書の作りこみを継続する。

E . 結論

治験実施予定病院である神戸国際フロンティアメディカルセンターに治験実施体制構築の第 1 歩として、「神戸国際フロンティアメディカルセンター治験等に係る標準業務手順書」を策定した。

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) Moriyama M, Moriyama H, Uda J, **Matsuyama A**, Osawa M, Hayakawa T.

BNIP3 plays crucial roles in the differentiation and maintenance of epidermal keratinocytes. J Invest Dermatol. 2014 Jun;134(6):1627-35. doi: 10.1038/jid.2014.11. Epub 2014 Jan 8.

- K) 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)
- O) **田中祐一** 山田貴子:「生体肝移植 (小児例) - 小児生体肝移植 - 」日本移植学会 50 周年記念誌 2014 年 10 月 1 日発行 p201-207

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)バイオリ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
- 「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)

臨床試験（治験）プロトコル策定・薬事戦略相談 再生医療等製品の臨床試験及び製造販売承認申請のための非臨床試験の 実施にかかる基本的考え方の提示に関して

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）

研究要旨

再生医療等製品の開発において、平成 24 年 5 指針に基づいて規制適合性を確認しつつ進めていくことは必須であるが、5 指針に記載の非臨床試験規制は抽象的であり、実践的でなかった。本研究では、幅広く再生医療等製品をターゲットとすることとし、臨床試験及び製造販売承認申請のための非臨床試験の実施にかかる基本的考え方を示した。

A．研究目的

再生医療等製品の開発において、平成 24 年 5 指針に基づいて、規制適合性を確認しつつ進めていくことは必須である。しかしながら、5 指針に記載されている非臨床試験に関しては抽象的な規制であり、実践的でなかった。本研究では開発製品のみを対象とするのではなく、幅広く再生医療等製品をターゲットとし、臨床試験及び製造販売承認申請のための非臨床試験の実施にかかる基本的考え方を示すことを目的とした。

B．研究方法

国際展開を見据え、平成 24 年 5 指針をベースに、ICH 規定と FDA の guidance を涉猟し、わが国の規制としてあるべき姿として取りまとめる。
(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

本基本的考え方の目的

本基本的考え方の目的は、ヒト臨床試験の範囲と期間に応じて、また、製造販売承

認を得るために推奨される、再生医療等製品の非臨床安全性試験についての基本的考え方を提示することにある。

各種非臨床安全性試験によって、現在の科学的水準に基づく合理的な要求事項が明らかにされると期待される。

この基本的考え方は、臨床試験の各相の実施時期を適正化し、3R（使用動物数の削減／苦痛の軽減／代替法の利用）の原則に従って動物の使用を抑え、再生医療等製品の開発のための資源を有効利用することに寄与する。そのため、安全性評価のための新しい *in vitro* 代替法の利用について考慮すべきである。これらの代替法は、バリデーションが科学的合理的に実施されれば、現在の標準試験法の代わりに利用可能である。この基本的考え方によって、再生医療等製品の安全で倫理にかなった開発が促進され、新たな再生医療等製品を一層早く患者に届けられるようになると期待される。

背景

ここに示す基本的考え方は、再生医療等製品の臨床開発の各段階を実施するのに必要な非臨床安全性試験の範囲を明確にするものである。この基本的考え方は、臨床試験の実施及び製造販売承認を行うために必要な非臨床安全性試験の種類と期間、そして実施時期について示すものである。

治験依頼者は、臨床試験の際、治験製剤の投与に先立って、治験依頼者が提案する臨床試験が合理的に安全だという結論の根拠となるような安全性に関する適切な情報を提供しなければならない。必要とされる動物試験 (*in vivo*) および他の試験 (*in vitro*) の種類、期間、範囲は、提案された臨床試験の投与回数、期間や投与後の細胞動態など細胞特性に応じて異なるため、早期から

規制当局と相談を行うことが望ましい。非臨床安全性試験 package の組み立ては、ヒトにおける再生医療等製品の治験製剤投与の安全性を予測するのに役立つものである。したがって、該細胞製剤の有効成分である細胞の特性や作用機序 (Mode of Action; MOA) を理解した上で、適応疾患の病理病態を適切に反映した動物モデルを選択し、当該動物モデルにおいて臨床での投与方法・投与手段および投与経路での安全性を議論できるか検討を加え、当該投与方法でモデル動物にて Proof of concept (POC) が取得され、POC の取得において当該細胞の MOA が病態改善に適切に寄与しているかを検討できるよう、package として組み立てることが望まれる。これら非臨床試験の結果は、臨床試験計画における適応症および用法用量あるいは治験デザインを明確化する上で参考になる。なお、再生医療等製品は新しい製造工程・手法により製造られる場合が多いと想定され、ヒトへの使用経験のない薬剤の多くは正式な安全性試験や臨床試験が行なわれていない成分を含んでおり、それらが工程由来不純物として最終製品に残存することが想定される。

再生医療等製品の評価が必要としているのは、入念なリスク・ベネフィット分析であり、低分子医薬品等の審査経験でえられる知見や、さまざまなガイドライン、ガイダンスを合理的に援用することで、過不足ない安全性および有効性の評価を行うことにある。

本基本的考え方の適用範囲

再生医療等製品の製造販売承認のための非臨床安全性評価には、通常、効能裏づけ試験、一般安全性試験、体内動態試験 (運命試験)、要に応じて実施すべき安全性薬理試験、およびそのほか特殊安全性試験が

ある。多能性幹細胞等を原材料として使用する場合やあるいは中間体として多能性能を獲得する工程を含む等、懸念すべき特別な理由がある再生医療等製品の場合には、生殖発生毒性試験や造腫瘍性の評価も含まれる。その他、特殊安全性試験である免疫毒性試験及び幼若動物を用いる安全性試験に関する非臨床試験は、個々の事例に応じて実施すべきであり、非臨床試験packageの中での位置づけを明確化し、非臨床安全性試験での必要性や実施される臨床試験との関係が示されるべきである。

本基本的考え方は、再生医療等製品の開発において通常起こり得る状況に適用されるものであり、再生医療等製品開発のための一般的な指針としてみなされるべきである。非臨床安全性試験及び臨床試験の計画やデザインは、科学的かつ倫理的に適切なものでなくてはならない。

開発中の再生医療等製品が、現在治療法のない生命を脅かす疾病又は重篤な疾病を適応とする場合、個々の事例に応じて毒性学的評価と臨床開発を進め、最適かつ迅速な再生医療等製品開発が行われることが必要である。これらの事例や革新的な治療法では、特定の試験の、簡略化、延期、省略、又は追加もあり得るであろう。

一般原則

再生医療等製品の開発プロセスは、動物及びヒトから得られた安全性及び有効性情報の評価を行いながら、段階的に進めるものである。非臨床安全性評価の主たる目的は、標的臓器および投与経路・投与デバイスを含む投与方法（用法）、用量依存性、MOAおよびその生着との関係、及び適切な場合には回復性についての安全性の特徴を明らかにすることである。これらの情報は、初めてヒトを対象とした治験を行う際の安

全な用法および初回投与量と用量範囲を推定する上で、また臨床で有害事象をモニターするためのsurrogate markerを明らかにするために用いられる。臨床開発の開始時までにに行なわれる非臨床安全性試験は、通常限られたものであるが、臨床試験の諸条件下で現れる可能性のある有害作用を十分に検証しうるものでなくてはならない。

臨床試験を実施するのは再生医療等製品の安全性及び有効性を明らかにするためであり、最初は比較的低い投与量で少数の被験者を対象として行われるかもしれない。引き続き実施される臨床試験では、通常、投与量が増やされ、対象患者数も増加する。臨床試験の拡大は、先行する臨床試験で十分な安全性が実証されていることに加えて、臨床開発の進行と並行して実施される非臨床安全性試験からの追加情報に基づいて行われるべきである。

臨床又は非臨床試験でみられた重篤な有害所見は、臨床試験の継続に影響することがある。臨床的意義を包括的に捉えた上で、これらの有害所見を評価し、追加の非臨床試験ないし臨床試験の必要性やデザインを決定すべきである。

特に再生医療等製品での臨床開発では、臨床試験の各段階を区別しない傾向が広がっていることから、本文書では、場合によっては、非臨床試験と関連付ける臨床試験を、臨床各相ではなく臨床試験の期間、対象被験者の数、被験者の特性、また適応疾患の患者数によっても区別している。

動物使用の削減、改善、代替に関する原則

可能な場合には一度の試験で効能裏づけ試験と安全性試験、あるいは安全性薬理試験等を併合試験として実施することで、また、合理的に説明できる範囲にで最終評価

項目を持った多様な動物群の代わりに中大動物を用いる非臨床試験での最終的評価を用いることで、一つの種類の動物の使用を削減することができる。

苦痛の管理や人道的な評価項目を組み込んだり、非侵襲的なモダリティイメージングを用いるといったような改善も指向できる。

代替手段が存在しないしは開発されうる場合になされる、*in vitro* 試験を含む合理的な動物試験の代替も想定できる。

非臨床計画の目的

非臨床試験の実施は、治験製剤の開発過程全体のうちの重要な要素の一つである。再生医療等製品に関する非臨床計画を十分なものにするための目的は次のようなものである。

- a. 生物学的な妥当性の確立。
- b. 生物学的に活性を示す投与量の特定。
- c. 開始時の投与量、用量漸増の計画、投与方法の選択
- d. 提案された臨床時の治験製剤の 投与経路（投与方法）の、実現可能性と相対的安全性の確立。
- e. 患者の適格性基準の実証（選択基準、除外基準の合理的実証）。
- f. 臨床時モニタリングの指針となる生化学的、生理学のあるおいはそれ以外の適切な surrogate marker パラメータの特定。
- g. 感染症の伝播など潜在的な公衆衛生に対する危険性の特定。

対象疾患・臓器によるリスク評価

非臨床安全性試験において、対象疾患の特異性と細胞特性を勘案し、安全性上の懸念事項を適切に議論する必要がある。投与臓器については、中枢、循環、呼吸器系を治療目的としている場合、安全性薬理試験

を実施し、臓器傷害の発生によるリスクと細胞特性に応じた付加的リスクに関して考察する必要がある。

投与方法によるリスク評価

投与方法により、細胞による塞栓症あるいは細胞の容量による周辺組織圧排など検討すべき事項を明示し、そのリスクを評価しうる非臨床試験系を組み立てる必要がある。

全体的な非臨床試験 package の組み立て

特定の患者集団への 再生医療等製品の投与を妨げないための非臨床計画は、包括的で、既知あるいは *in vitro* 試験を含む非臨床試験にて明らかにされた細胞特性に基づいて議論されなければならない。特定の試験それぞれの目的を満たす適切な *in vitro* 試験系、動物種、モデルを用いて試験を段階的に進めることが望ましい。再生医療等製品治験製剤の非臨床試験をデザインする際には以下のことすべてが考慮されなければならない。

- a. 標的細胞の表現型
- b. 細胞源
- c. 生体外でなされる操作（たとえば、選択、精製、増殖、活性化を含む、manipulation すべて）
- d. 生物学的に適切な反応を得るのに必要な最小細胞投与量及び至適細胞投与量（用量）
- e. 望ましくない反応を生んだ細胞投与量とその発症機序
- f. 体内動態
- g. 投与された細胞に対する宿主の免疫反応の可能性の検討
- h. 潜在的な局所および全身安全性

非臨床試験で用いられる 再生医療等治験製剤

可能であれば、適応患者に投与される 再生医療等治験製剤は検証的な非臨床試験で

用いられることが望ましい。非臨床での使用が意図された製剤ロットと臨床での使用が意図された製剤ロットとの類似点と相違点は、治験の提出書類において強調され、議論されるべきである。

動物実験による投与方法・投与機器の検討

臨床時の投与経路を動物モデルで再現すべきである。なお、製剤投与の方法に関連する潜在的风险を評価するために、中大動物で行われる検証的な非臨床試験において用いられる投与方法・投与機器は、計画された臨床時の投与機器と同一であることが望ましい。

動物種の選択

選択された動物種は、ヒトにおいて予想されるのと同様の、再生医療等治験製剤に対する生物反応を示すべきである。もっとも適切な動物種を選択する際に考慮されるべき要因は以下のものである。

- a. 生理機能と解剖学的構造の点におけるヒトとの類似性
- b. 再生医療等製品に対する免疫寛容度
- c. 事前に計画された投与手法・機器の使用可能性
- d. 非標準的でない試験動物種、たとえば遺伝子組み換えマウスや大型動物のような試験動物種の場合、適切な正当化がなされることで、上記の要因を満たすことができる。

モデル動物の選択にあっては、生物学的に適切な動物種、および疾患、損傷動物モデルの選択に関する議論に関して追加の考慮は以下のものを含む。

- a. 製剤投与における解剖学的部位にアクセスすることができる。
- b. 標的となる臓器・組織に、特定の投与量の細胞をその集団としての細胞特性を

変化させることなく投与できる。

- c. 再生医療等製品の安全性に関する長期の評価を可能にする免疫不全動物あるいは免疫不全状態とした動物を利用できる。

再生医療等製品に関する適切な動物種、モデルの選択に関して主に議論されるべきことは、その動物の、投与された治験製剤に対する免疫寛容度である。ヒト再生医療等製品では免疫反応により安全性あるいは有効性が示しえない場合、非臨床試験においては類似細胞製剤を投与することもまた、許容可能な、取られうる選択肢の一つである。しかしながら、類似細胞製剤を用いた非臨床試験が実施されるとしたら、生物活性や分子調節機構、不純物、混入物質が潜在的に異なっているために、特に安全性データの妥当性に関する不確実性が生じる。それゆえ、もしこのような非臨床試験過程をたどるなら、臨床開発を目指しているヒト細胞製剤に対する動物細胞製剤の類似の程度が特徴づけられるべきである。その際の評価 surrogate marker の例は次のようなものである。

- a. 原材料としての細胞・組織の、サンプル摘出手順の同等性。
- b. 細胞の同定、単離、増殖、生体内培養に関する手順の同一性。
- c. 細胞成長動態(たとえば、細胞倍加時間、細胞増殖曲線、細胞増殖停滞期)。
- d. 表現型と機能特性(たとえば、成長因子とサイトカインの分泌、細胞集団特有の表現型、遺伝子型マーカー)。
- e. 最終製剤の、製剤設計、細胞足場を播種する手順(必要があれば)。
- f. 最終製剤の保管状態と細胞の生存率。

疾患・損傷動物モデルの選択

非臨床安全性試験に用いる動物は、健常

動物である場合が多いと想定されるが、疾患、損傷動物モデルにおいてなされる非臨床安全性試験も、再生医療等製品の臨床試験を許容するデータを取得するための投与量と活性、安全性との関係についての知見を与える場合がある。

再生医療等製品に共通する特徴のため、疾患、損傷動物モデルは、これらの製剤の活性や安全性を評価する点では、健康な動物よりも好ましい場合もある。健常動物を用いる場合と疾患・損傷動物モデル選択にあつては、投与方法・経路および MOA の観点から、安全性面での worst case を想定して選択されなければならない。疾患・損傷動物モデルを用いた場合、安全性上の懸念（リスク）と予測される適応症患者の得るであろう利益（ベネフィット）のリスク・ベネフィット比を勘案することも可能で、特に希少疾病を適応症とした再生医療等製品の場合には奨励されうる。

さらに、疾患・損傷動物モデルの使用は、臨床試験における安全性上のモニタリングに適用可能な surrogate marker を特定できる可能性がある。

治験の提出書類に示されているべき情報は、選択された動物モデルの次のような有用性、能力を支持する情報であるべきである。すなわち、標的疾患集団の発症病態生理に外挿できることということと、以下の一つひとつを考慮した、再生医療等治験製剤の安全性についての評価を可能にしているということである。

- a. 疾患・損傷動物モデルの発症病態生理と、ヒトの疾患・損傷の発症病態生理学の類似点と相違点およびその外挿可能性。
- b. 再生医療等製品治験製剤の効能、安全性に対して、動物の疾患・損傷状態が持っている効果（すなわち、試験中の特定の

製剤および投与方法に対する、動物の感受性。安全性試験では worst case であることの提示が必要）。

現存の疾患、損傷状態に対して、投与された治験製剤が持っている有害作用（すなわち、現存の疾患の状態を悪化させることや新たな疾患、安全性への懸念事項を惹起すること）。

一般安全性試験のための高用量選択

安全性試験においては、十分に高倍数の用量又は投与可能な最大用量（MFD（MAXIMUM FEASIBLE DOSE））を用いることで臨床的に意味のある影響として、どのような有害作用が生ずる可能性があるかを十分に明らかにすることができる。この限界量を設けることで、臨床での安全性予測に有用でない（高）用量を動物に投与することを避けることができる。

造腫瘍性の指標が一般安全性試験に組み込まれる場合には、投与可能な限界用量に基づいて設定されるべきである。

ヒト初回臨床投与量の算出

ヒトへの初回投与量の算出は、初めてヒトに投与する臨床試験に参加する被験者の安全を確保するための重要な要件である。推奨されるヒト初回投与量の決定にあたっては、薬理学的な用量反応性や、薬理的/安全性プロファイル及び体内動態を含む、関連する全ての非臨床試験データを考慮すべきである。

一般的に、投与経路が臨床試験に外挿可能である最適な動物種で実施された非臨床安全性試験で求められた安全性用量が、最も重要な情報となる。また、臨床試験の開始用量は、再生医療等製品の有効成分である細胞としての特性、及び臨床試験のデザインといったさまざまな要因を考慮して設定

される。

ヒトにおける早期探索的臨床試験は、臨床開発で通常求められるものよりも少ない、もしくは異なる種類の非臨床データに基づいて開始できるため、臨床試験の開始用量（及び最高用量）の算出方法も異なる。

検証相の臨床試験のための製剤開発

再生医療等製品治験製剤の開発が検証相の臨床試験に進んだら、risk-based approach の手法により、既存の非臨床試験についての考察をくわえ、必要に応じて追加の非臨床試験が実施されるべきである。

動物実験実施基準

あらゆる非臨床安全性試験は可能な限り GLP に準拠して実施されるべきである。しかしながら、再生医療等製品の開発は新たな領域であるため、GLP 規制が整備されているわけではなく、GLP の精神に基づいて実施されることを許容する

D . 考察

平成 24 年 5 指針は、哲学として世界最高水準の通知である。しかしながら、再生医療等製品は開発後に国内にとどまらず、国際展開すべきことを考えると、規制 issue を明確に提示する必要があり、また国際協調が可能な記載であるべきである。そのため、ICH 規定と FDA の guidance を涉猟し、わが国の規制としてあるべき姿として取りまとめることとした、本分担研究の方向性は適切であるといえる。

E . 結論

再生医療等製品の開発において、平成 24 年 5 指針に基づいて規制適合性を確認しつつ進めていくことは必須であるが、5 指針に記載の非臨床試験規制は抽象的であり、実践的でなかった。本研究では、幅広に再生

医療等製品をターゲットとすることとし、臨床試験及び製造販売承認申請のための非臨床試験の実施にかかる基本的考え方を示した。

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) Moriyama M, Moriyama H, Uda J, **Matsuyama A**, Osawa M, Hayakawa T. BNIP3 plays crucial roles in the differentiation and maintenance of epidermal keratinocytes. J Invest Dermatol. 2014 Jun;134(6):1627-35. doi: 10.1038/jid.2014.11. Epub 2014 Jan 8.
- K) 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 - 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)バイオリ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
- 「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

学 会 等 発 表 実 績

委託業務題目「脂肪組織由来多系統前駆細胞を用いた抗炎症・肝線維溶解療法の開発」

機関名 独立行政法人 医薬基盤研究所

1. 学会等における口頭・ポスター発表

発表した成果（発表題目、口頭・ポスター発表の別）	発表者氏名	発表した場所（学会等名）	発表した時期	国内・外の別
「ヒト ES/iPS 細胞由来細胞製剤の品質管理」口演	松山 晃文	NPO バイオチップコンソーシアム事務局	2014/4/22	国内
「再生医療からみた規制政策・知財戦略」口演	松山 晃文	(独) 医薬基盤研究所	2014/6/6	国内
「再生医療とレギュレーション」口演	松山 晃文	神戸ポートアイランド創薬フォーラム	2014/6/16	国内
「先進医療 B とトランスレショナルリサーチの実際」口演	松山 晃文	東京大学 CRC 講習会	2014/6/26	国内
「創薬支援に向けたヒト由来試料の位置付けについて」口演	松山 晃文	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	2014/7/9	国内
「再生医療のこれから」口演	松山 晃文	島津製作所内部セミナー	2014/7/25	国内
「再生医療のビジネスモデル」口演	松山 晃文	ヒューマンサイエンス振興財団	2014/7/22	国内
「再生医療とレギュラトリーサイエンス」口演	松山 晃文	第 67 回日本酸化ストレス学会学術集会	2014/9/5	国内
「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 - 」口演	松山 晃文	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	国内
「再生医療分野における法規制のフレームについて」口演	松山 晃文	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	国内
「再生医療と非臨床試験」口演	松山 晃文	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	国内

「ヒト由来の生物資源の知財等の環境について」口演	松山 晃文	ワークショップ、TKP 品川カンファレンスセンター	2014/11/17	国内
「再生医療のこれまでとこれから」口演	松山 晃文	第 44 回日本医事法学会大会 日本医事法学会	2014/11/30	国内
「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」口演	松山 晃文	バイオロジクスフォーラム第 12 回学術集会	2014/12/12	国内
「再生医療における品質管理の考え方」口演	松山 晃文	第 1 回再生医療産業化展セミナー	2015/2/4	国内
「創薬・再生医療と知財」口演	松山 晃文	東京大学大学院教育学研究科	2015/2/14	国内
「再生医療 その規制と知財」口演	松山 晃文	東京医科歯科大学セミナー	2015/2/24	国内
「再生医療 その規制と知財」口演	松山 晃文	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	国内
「iPS 細胞由来再生医療等製品の品質と安全性」口演	松山 晃文	第 18 回バイオメディカル研究室	2015/3/17	国内

2. 学会誌・雑誌等における論文掲載

掲載した論文（発表題目）	発表者氏名	発表した場所 （学会誌・雑誌等名）	発表した時期	国内・外の別
Study on ensuring the quality and safety of pharmaceuticals and medical devices derived from processing of autologous human somatic stem cells	Hayakawa T <u>Aoi T</u> Umezaw A Ozaw K Yoji Sato Sawa Y <u>Matsuyama A</u> Yamanaka S Yamato M	Regenerative Therapy	in press	

<p>Study on ensuring the quality and safety of pharmaceuticals and medical devices derived from processing of allogenic human somatic stem cells.</p>	<p>Hayakawa T <u>Aoi T</u> Umezaw A Ozaw K Yoji Sato Sawa Y <u>Matsuyama A</u> Yamanaka S Yamato M</p>	<p>Regenerative Therapy</p>	<p>in press</p>	
<p>Study on ensuring the quality and safety of pharmaceuticals and medical devices derived from processing of autologous human induced pluripotent stem (-like) cells.</p>	<p>Hayakawa T <u>Aoi T</u> Umezaw A Ozaw K Yoji Sato Sawa Y <u>Matsuyama A</u> Yamanaka S Yamato M</p>	<p>Regenerative Therapy</p>	<p>in press</p>	
<p>Study on ensuring the quality and safety of pharmaceuticals and medical devices derived from processing of allogenic human induced pluripotent stem (-like) cells.</p>	<p>Hayakawa T <u>Aoi T</u> Umezaw A Ozaw K Yoji Sato Sawa Y <u>Matsuyama A</u> Yamanaka S Yamato M</p>	<p>Regenerative Therapy</p>	<p>in press</p>	
<p>Study on ensuring the quality and safety of pharmaceuticals and medical devices derived from processing of human embryonic stem (-like) cells.</p>	<p>Hayakawa T <u>Aoi T</u> Umezaw A Ozaw K Yoji Sato Sawa Y <u>Matsuyama A</u> Yamanaka S Yamato M</p>	<p>Regenerative Therapy</p>	<p>in press</p>	
<p>Characterization of the cell growth analysis for detection of immortal cellular impurities in human mesenchymal stem cells.</p>	<p>Kono K Takada N Yasuda S Sawada R Niimi S <u>Matsuyama A</u> Sato Y</p>	<p>Biologicals</p>	<p>in press</p>	

<p>Therapeutic potential of human adipose tissue-derived multi-lineage progenitor cells in liver fibrosis.</p>	<p>Okura H Soeda M Morita M Fujita M Naba K Ito C <u>Ichinose A</u> <u>Matsuyama A</u></p>	<p>Biochem Biophys Res Commun</p>	<p>2014 Dec 6</p>	<p>国外</p>
<p>Periodontal tissue regeneration by transplantation of adipose tissue-derived multi-lineage progenitor cells.</p>	<p>Ozasa M Sawada K Iwayama T Yamamoto S Morimoto C <u>Okura H</u> <u>Matsuyama A</u> Komoda H Lee CM Sawa Y Kitamura M Hashikawa T Takedachi M Murakami S</p>	<p>Inflammation and Regeneration</p>	<p>2014 In press</p>	<p>国外</p>
<p>BNIP3 plays crucial roles in the differentiation and maintenance of epidermal keratinocytes.</p>	<p>Moriyama M Moriyama H Uda J <u>Matsuyama A</u> Osawa M Hayakawa T</p>	<p>J Invest Dermatol</p>	<p>2014 Nov</p>	<p>国外</p>
<p>Role of notch signaling in the maintenance of human mesenchymal stem cells under hypoxic conditions.</p>	<p>Moriyama H Moriyama M Isshi H Ishihara S <u>Okura H Ichinose A</u> Ozawa T <u>Matsuyama A</u> Hayakawa T</p>	<p>Stem Cells Dev</p>	<p>2014</p>	<p>国外</p>
<p>細胞医療での申請にあたっての注意点-品質の観点から-</p>	<p><u>松山晃文</u> <u>大倉華雪</u></p>	<p>先進医療 NAVIGATOR II 再生医療・がん領域の実用化への TOPICS 2014</p>	<p>2014年3月25日</p>	<p>国内</p>

再生医療の開発および規制の歴史」	<u>松山晃文大倉華 置</u>	再生医療規制の動 向と製品開発およ び産業化の注意点	2015年3月 上旬	国内
再生医療にかかる規制の現状	<u>松山晃文 大倉華置</u>	日本臨床	印刷中	国内
再生医療製品の品質管理と規制への 対応	<u>松山晃文 大倉華置</u>	再生医療事業の課 題解決のための手 引書	印刷中	国内
Topical rebamipide treatment for superior limbic keratoconjunctivitis in patients with thyroid eye disease.	<u>Ichinose A</u> Takahashi Y Kakizaki H	Am J Ophthalmol	2014 Jan	国外
Combination of nasolabial v-y advancement flap and glabellar subcutaneous pedicled flap for reconstruction of medial canthal defect.	<u>Ichinose A</u> Matsuda H Takahashi Y Miyazaki H Kakizaki H	Case Rep Ophthalmol	2014 Jan	国外
Comparison of surgical outcomes between simple posterior layer advancement of lower eyelid retractors and combination with a lateral tarsal strip procedure for involutional entropion in a Japanese population.	<u>Ichinose A</u> Lee H Takahashi Y Kakizaki H	Br J Ophthalmol	2014 May	国外
Induction of cancer stem cell properties in colon cancer cells by defined factors.	<u>Aoi T</u> Oshima N Yamada Y Nagayama S Kawada K Hasegawa S Okabe H Sakai Y	PLoS One	2014 Jul	国外
生体肝移植（小児例） - 小児生体肝移植 -	<u>田中敏一</u> 山田貴子	日本移植学会 50周年記念誌	2014年10月 1日	国内