

平成 26 年度

次世代医療機器・再生医療等製品
評価指標作成事業

再生医療審査 WG 報告書

再生医療審査 WG 座長

東海大学 医学部 整形外科

佐藤 正人

目次

I.	次世代医療機器評価指標作成事業再生医療審査WG平成26年度委員名簿	1
II.	平成26年度会議議事概要	3
III.	鼻軟骨再生に関する評価指標(案)	15
IV.	調査事項	
1.	インプラント型再生軟骨の臨床導入とその評価	星 和人 21
2.	気管・喉頭再生の臨床について	大森孝一 26
3.	気管・喉頭軟骨再生医療と動物実験について	中村達雄 42
4.	バイオマテリアルを用いた3次元軟骨の再生誘導 (平面から立体の再生誘導へ)	磯貝典孝 53
5.	ヒト弾性軟骨前駆細胞の操作法の現況	小林真司 谷口英樹 前川二郎 60
6.	ヒトiPS細胞から分化誘導した軟骨細胞、軟骨組織	妻木範行 64
7.	韓国の再生医療製品の現状	李 禎翼 66
V.	参考資料	
1.	平成20年2月8日付薬食発第0208003号厚生労働省医薬食品局長通知 「ヒト(自己)由来細胞・組織加工医薬品等の品質及び安全性の確保に関する指針」	79
2.	平成20年9月12日付薬食発第0912006号厚生労働省医薬食品局長通知 「ヒト(同種)由来細胞・組織加工医薬品等の品質及び安全性の確保に関する指針」	94
3.	平成26年10月2日薬食審査発1002第1号厚生労働省医薬食品局審査管理 課長、薬食機参発1002第5号厚生労働省大臣官房参事官(医療機器・再生 医療等製品審査管理担当)通知「生物由来原材料基準の運用について」	110

I. 次世代医療機器・再生医療等製品評価指標作成事業

再生医療審査 WG 平成 26 年度委員名簿

**次世代医療機器・再生医療等製品評価指標作成事業
再生医療審査 WG 平成 26 年度委員名簿（敬称略）**

座長

佐藤正人 東海大学 医学部整形外科 教授

委員（五十音順）

磯貝典孝 近畿大学 医学部形成外科 主任教授
牛田多加志 東京大学大学院 医学系研究科疾患生命工学センター 教授
大森孝一 福島県立医科大学 医学部耳鼻咽喉科学講座 教授
小林真司 神奈川県立こども医療センター 形成外科 部長
佐藤陽治 国立医薬品食品衛生研究所 再生・細胞医療製品部 部長
谷口英樹 横浜市立大学 医学部臓器再生医学 教授
妻木範行 京都大学 iPS 細胞研究所 教授
中村達雄 京都大学 再生医科学研究所 准教授
中村憲正 大阪保健医療大学 教授
星 和人 東京大学 医学部附属病院ティッシュ・エンジニアリング部 特任准教授
水野博司 順天堂大学大学院 医学研究科医学部形成外科学講座 主任教授（第 4 回会議より）

厚生労働省

磯部総一郎 厚生労働省 大臣官房参事官（医療機器・再生医療等製品審査管理担当）
近藤英幸 厚生労働省 医療機器・再生医療等製品担当参事官室 医療機器規制国際調整官
荒川裕司 厚生労働省 医療機器・再生医療等製品担当参事官室 主査
間々田圭祐 厚生労働省 医療機器・再生医療等製品担当参事官室 主査

独立行政法人医薬品医療機器総合機構

丸山良亮 医薬品医療機器総合機構 再生医療製品等審査部 主任専門員
長瀬喜則 医薬品医療機器総合機構 規格基準部医療機器基準課

オブザーバー

廣瀬志弘 産業技術総合研究所 ヒューマンライフテクノロジー研究部門 高機能生体材料グループ 主任研究員
弓場俊輔 産業技術総合研究所 健康工学研究部門 組織・再生工学研究グループ 研究グループ長
伊藤弓弦 産業技術総合研究所 幹細胞工学研究センター 器官発生研究チーム チーム長
東健太郎 京都大学 iPS 細胞研究所医療応用推進室 特命准教授

国立医薬品食品衛生研究所（事務局）

新見伸吾 国立医薬品食品衛生研究所 医療機器部 部長
澤田留美 国立医薬品食品衛生研究所 再生・細胞医療製品部 第二室 室長
河野 健 国立医薬品食品衛生研究所 再生・細胞医療製品部 第二室 主任研究官

II. 平成 26 年度 WG 会議議事概要

次世代医療機器・再生医療等製品評価指標作成事業
再生医療審査 WG 平成 26 年度第一回会議議事録（概要）

1. 開催日時：2014 年 9 月 19 日（金）10 時～12 時

2. 開催場所：オフィス東京 L2 会議室

3. 出席者（座長以下五十音順・敬称略）

委員：佐藤 正人（東海大学）、磯貝 典孝（近畿大学）、牛田 多加志（東京大学）、
大森 孝一（福島県立医科大学）、小林 眞司（神奈川県立こども医療セン
ター）、佐藤 陽治（国立医薬品食品衛生研究所）、妻木 範行（京都大学）、
中村 達雄（京都大学）、星 和人（東京大学）

厚生労働省：飯村 康夫、間々田 圭祐

医薬品医療機器総合機構：丸山 良亮

京都大学：東 健太郎

東海大学：豊田 恵利子

産業技術総合研究所：弓場 俊輔、伊藤 弓弦

事務局（国立医薬品食品衛生研究所）：新見 伸吾、澤田 留美、河野 健

4. 配布資料

1. 平成 26 年度第一回委員会議事次第

2. 平成 26 年度委員名簿

3. 次世代医療機器評価指標作成事業について

4. 再生医療審査 WG 平成 25 年度報告とこれまでの評価指標の内容について

5. 厚生労働省医療機器審査管理室長通知：平成 22 年 12 月 15 日付薬食機発 1215
第 1 号「次世代医療機器評価指標の公表について」

・別添1「関節軟骨再生に関する評価指標」

6. 厚生労働省医療機器審査管理室長通知：平成 23 年 12 月 7 日付薬食機発 1207 第
1 号「次世代医療機器評価指標の公表について」

・別添1「歯周組織治療用細胞シートに関する評価指標」

7. 厚生労働省医療機器審査管理室長通知：平成 25 年 5 月 29 日付薬食機発 0529 第
1 号「次世代医療機器評価指標の公表について」

・別添1「自己 iPS 細胞由来網膜色素上皮細胞に関する評価指標」

8. 厚生労働省大臣官房参事官(医療機器・再生医療等製品審査管理担当)通知:平成
26年9月12日付薬食機参発 0912 第2号「次世代医療機器・再生医療等製品評価
指標の公表について」

・別紙1「同種 iPS(様)細胞由来網膜色素上皮細胞に関する評価指標」

- 9. ヒト(自己)由来細胞・組織加工医薬品等の品質及び安全性の確保に関する指針
- 10. ヒト(同種)由来細胞・組織加工医薬品等の品質及び安全性の確保に関する指針
- 11. ヒト(自己)体性幹細胞加工医薬品等の品質及び安全性の確保に関する指針
- 12. ヒト(同種)体性幹細胞加工医薬品等の品質及び安全性の確保に関する指針
- 13. ヒト(自己)iPS(様)細胞加工医薬品等の品質及び安全性の確保に関する指針
- 14. ヒト(同種)iPS(様)細胞加工医薬品等の品質及び安全性の確保に関する指針
- 15. ヒト ES 細胞加工医薬品等の品質及び安全性の確保に関する指針

5. 議事内容

- ①次世代医療機器評価指標作成事業と薬事法改正について厚生労働省間々田主査より説明が行われた。
 - ②平成 25 年度までの再生医療審査 WG の活動内容及び今年度の活動計画について、事務局より説明があった。
 - ③平成 26 年度の座長及び委員による自己紹介が行われた。委員は下記の通り(敬称略)
- 座長
佐藤正人 東海大学医学部整形外科 教授

委員(五十音順)

磯貝典孝	近畿大学医学部形成外科 教授
牛田多加志	東京大学大学院医学系研究科疾患生命工学センター 教授
大森孝一	福島医大医学部耳鼻咽喉科学講座 教授
小林眞司	神奈川県立こども医療センター形成外科 部長
佐藤陽治	国立医薬品食品衛生研究所遺伝子細胞医薬部 部長
谷口英樹	横浜市立大学医学部臓器再生医学 教授
妻木範行	京都大学 iPS 細胞研究所 教授
中村達雄	京都大学再生医科学研究所 准教授
中村憲正	大阪保健医療大学 教授
星 和人	東京大学医学部附属病院ティッシュ・エンジニアリング部 特任准教授

- ④大森委員、妻木委員、中村(達)委員より自身の専門分野についての講演があり、

その後、発表内容についての質疑応答がなされた。

⑤平成 26 年度の活動方針について討議した。

主な討議内容

- ・気管軟骨、鼻軟骨、耳介軟骨再生の中で最も製品化に近いものに特化して評価指標案を作成する。

- ・「関節軟骨再生に関する評価指標(H22.12.5 付薬食機発 1215 第 1 号別添 1)」の見直し作業を行う。細胞ソースとして iPS 細胞、ES 細胞を対象にするか検討する。

⑥第二回会議では磯貝委員、小林委員に自身の専門分野について講演していただき、関連分野の最新の知見を共有する。磯貝委員、大森委員、小林委員、妻木委員、中村(達)委員、星委員に、それぞれの委員が研究対象としている器官の軟骨再生を臨床に応用する際の出口(臨床研究 or 臨床試験、臨床試験の場合は具体的な対象疾患、細胞ソース、製品等)について示して頂く。

⑦今後の会議日程

第二回会議 : 平成 26 年 10 月 30 日(木)10-12 時 オフィス東京 L2 会議室

第三回会議 : 平成 26 年 12 月 5 日(金)10-12 時 オフィス東京 L2 会議室

第四回会議 : 平成 27 年 1 月 29 日(木)10-12 時 オフィス東京 L2 会議室

次世代医療機器・再生医療等製品評価指標作成事業
再生医療審査 WG 平成 26 年度第二回会議議事録（概要）

2. 開催日時：2014 年 10 月 30 日（木）10 時～12 時

2. 開催場所：オフィス東京 L2 会議室

3. 出席者（座長以下五十音順・敬称略）

委員：佐藤 正人（東海大学）、磯貝 典孝（近畿大学）、牛田 多加志（東京大学）、
小林 眞司（神奈川県立こども医療センター）、佐藤 陽治（国立医薬品食
品衛生研究所）、谷口 英樹（横浜市立大学）、妻木 範行（京都大学）、中
村 達雄（京都大学）、中村 憲正（大阪保健医療大学）、星 和人（東京大
学）

厚生労働省：荒川 裕司、間々田 圭祐

医薬品医療機器総合機構：丸山 良亮、長瀬 喜則

京都大学：東 健太郎

東海大学：豊田 恵利子

産業技術総合研究所：廣瀬 志弘、伊藤 弓弦

事務局（国立医薬品食品衛生研究所）：新見 伸吾、澤田 留美、河野 健

4. 配布資料

1. 平成 26 年度第二回委員会議事次第
2. 平成 26 年度第一回委員会議事録(概要)
3. 「バイオマテリアルを用いた 3 次元軟骨の再生誘導」(磯貝委員発表原稿)
4. 「ヒト弾性軟骨前駆細胞操作法の現況」(小林委員発表原稿)
5. 厚生労働省医療機器審査管理室長通知:平成 22 年 12 月 15 日付薬食機発 1215 第 1 号「次世代医療機器評価指標の公表について」別添1「関節軟骨再生に関する評価指標」(中村(憲)委員説明資料)
6. 厚生労働省医療機器審査管理室長通知:平成 23 年 12 月 7 日付薬食機発 1207 第 1 号「次世代医療機器評価指標の公表について」別添1「歯周組織治療用細胞シートに関する評価指標」
7. 厚生労働省大臣官房参事官(医療機器・再生医療等製品審査管理担当)通知:平成 26 年 9 月 12 日付薬食機参発 0912 第 2 号「次世代医療機器・再生医療等製品評価

指標の公表について」別紙1「同種 iPS(様)細胞由来網膜色素上皮細胞に関する評価指標」

5. 議事内容

①事務局より第一回会議議事録（概要）について説明があり、委員より承認を得た。

②磯貝委員、小林委員より自身の専門分野について、中村（憲）委員より「関節軟骨再生に関する評価指標」についての発表があり、その後、発表内容について質疑応答がなされた。

「バイオマテリアルを用いた 3 次元軟骨の再生誘導」

磯貝委員

「ヒト弾性軟骨前駆細胞操作法の現況」

小林委員

「関節軟骨再生に関する評価指標」の内容及び見直しの必要性について

中村（憲）委員

③平成 26 年度の活動方針について討議した。

主な討議内容

・鼻軟骨再生は企業主導治験の計画があり、気管軟骨、鼻軟骨、耳介軟骨再生の中で最も製品化に近いと判断され、今年度は鼻軟骨再生の評価指標案を作成することとなった。第三回会議で星委員に鼻軟骨再生の研究開発状況について講演して頂くこととなった。気管軟骨、耳介軟骨については、今年度は研究の現状について調査を行い、報告書にまとめることとなった。

・「関節軟骨再生に関する評価指標」の見直しに関して、細胞ソースに ES、iPS 細胞を入れるかどうか、動物実験をどうするか等の議論があった。今後の研究開発の動向も踏まえ、来年度にかけて見直しを行っていくこととなった。その際、経産省の開発ガイドライン（組織[軟骨]再生性能評価技術）も参考にしていくこととなった。

④報告書への執筆内容とその分担について討議した。

気管・喉頭再生について

：臨床

大森委員

：動物実験モデル

中村（達）委員

耳介軟骨再生について

：

磯貝委員

細胞を用いた軟骨再生について

：

谷口委員、小林委員

iPS 細胞を用いた軟骨再生について

：

妻木委員

⑤今後の会議日程

第三回会議：平成 26 年 12 月 5 日(金)10-12 時 オフィス東京 L2 会議室

第四回会議：平成 27 年 1 月 29 日(木)10-12 時 オフィス東京 L2 会議室

次世代医療機器・再生医療等製品評価指標作成事業
再生医療審査 WG 平成 26 年度第三回会議議事録（概要）

3. 開催日時：2014 年 12 月 5 日（金）10 時～12 時

2. 開催場所：オフィス東京 L2 会議室

3. 出席者（座長以下五十音順・敬称略）

委員：佐藤 正人（東海大学）、磯貝 典孝（近畿大学）、牛田 多加志（東京大学）、
大森 孝一（福島県立医科大学）、小林 眞司（神奈川県立こども医療セン
ター）、佐藤 陽治（国立医薬品食品衛生研究所）、谷口 英樹（横浜市立大
学）、妻木 範行（京都大学）、中村 憲正（大阪保健医療大学）、星 和人
（東京大学）

厚生労働省：荒川 裕司、間々田 圭祐

医薬品医療機器総合機構：丸山 良亮、長瀬 喜則

京都大学：東 健太郎

東海大学：豊田 恵利子

事務局（国立医薬品食品衛生研究所）：新見 伸吾、澤田 留美、河野 健

4. 配布資料

1. 平成 26 年度第三回委員会議事次第
2. 平成 26 年度第二回委員会議事録(概要)
3. 「インプラント型再生軟骨の臨床導入とその評価」(星委員発表原稿)
4. 「組織(軟骨)再生における性能評価技術開発ガイドライン 2012(案)」(牛田委員発表原稿)→会議終了後回収
5. 厚生労働省医療機器審査管理室長通知:平成 23 年 12 月 7 日付薬食機発 1207 第 1 号「次世代医療機器評価指標の公表について」別添1「歯周組織治療用細胞シートに関する評価指標」
6. 厚生労働省大臣官房参事官(医療機器・再生医療等製品審査管理担当)通知:平成 26 年 9 月 12 日付薬食機参発 0912 第 2 号「次世代医療機器・再生医療等製品評価指標の公表について」別紙1「同種 iPS(様)細胞由来網膜色素上皮細胞に関する評価指標」

7. 厚生労働省医療機器審査管理室長通知:平成 22 年 12 月 15 日付薬食機発 1215 第 1 号「次世代医療機器評価指標の公表について」別添1「関節軟骨再生に関する評価指標」

5. 議事内容

- ①事務局より第二回会議議事録（概要）について説明があり、委員より承認を得た。
②星委員より鼻軟骨再生の研究開発状況について、牛田委員より経産省の開発ガイドライン（組織[軟骨]再生性能評価技術）について発表があり、その後、発表内容について質疑応答がなされた。

「インプラント型再生軟骨の臨床導入とその評価」

星委員

「組織(軟骨)再生における性能評価技術開発ガイドライン 2012(案)」

牛田委員

- ③鼻軟骨再生に関する評価指標素案作成及び「関節軟骨再生に関する評価指標」の見直しについて討議した。

主な討議内容

・対象疾患は口唇口蓋裂の鼻変形のうち、隆鼻術及び鼻尖形成が必要な高度な変形をもつ患者。アテロコラーゲンハイドロゲルとポリ乳酸（PLLA）多孔体によって構成される足場素材に耳介軟骨細胞を投与して作られる製品を中心に評価指標案を作成する。足場素材については、その他でも、近いうちに実用化が見込まれる鼻軟骨再生に関する製品で使用する材料があれば対象とする。

・順天堂大学医学部形成外科水野博司先生に鼻形成の専門家として臨床評価部分の校正作業をお願いする。

・「関節軟骨再生に関する評価指標」の見直しに関して、改訂のポイントとして

1. 細胞ソース（体性幹細胞、iPS、ES 細胞を入れるか？）
2. 安全性評価（細胞ソースを新たに加えることで出てくる）
3. 有効性の評価（MRI によるものを入れる）
4. 動物モデルでの評価
5. 市販後調査

の 5 点が座長より提案された。

- ④報告書への執筆内容とその分担について確認した。締切は平成 27 年 1 月末。

気管・喉頭再生について

: 臨床

大森委員

: 動物実験モデル

中村（達）委員

耳介軟骨再生について

:

磯貝委員

細胞を用いた軟骨再生について

:

谷口委員、小林委員

iPS 細胞を用いた軟骨再生について :

妻木委員

⑤今後の会議日程

第四回会議 : 平成 27 年 1 月 29 日(木)10-12 時 オフィス東京 L2 会議室

次世代医療機器・再生医療等製品評価指標作成事業
再生医療審査 WG 平成 26 年度第四回会議議事録（概要）

4. 開催日時：2015 年 1 月 29 日（木）10 時～12 時

2. 開催場所：オフィス東京 L2 会議室

3. 出席者（座長以下五十音順・敬称略）

委員：佐藤 正人（東海大学）、磯貝 典孝（近畿大学）、牛田 多加志（東京大学）、
大森 孝一（福島県立医科大学）、小林 眞司（神奈川県立こども医療セン
ター）、佐藤 陽治（国立医薬品食品衛生研究所）、谷口 英樹（横浜市立大
学）、妻木 範行（京都大学）、中村 憲正（大阪保健医療大学）、星 和人
（東京大学）水野 博司（順天堂大学）

Konkuk University：李禎翼

医薬品医療機器総合機構：丸山 良亮、長瀬 喜則

京都大学：東 健太郎

産業技術総合研究所：伊藤 弓弦、廣瀬 志弘

東海大学：豊田 恵利子

事務局（国立医薬品食品衛生研究所）：新見 伸吾、澤田 留美、河野 健

4. 配布資料

1. 平成 26 年度第四回委員会議事次第
2. 平成 26 年度第三回委員会議事録(概要)
3. 「韓国における再生医療製品の現状について」（李禎翼先生発表原稿）
4. 「鼻軟骨再生に関する評価指標素案」たたき台
5. 厚生労働省医薬食品局長通知：平成 20 年 2 月 8 日付薬食発第 0208003 号
「ヒト(自己)由来細胞・組織加工医薬品等の品質及び安全性の確保に関する指針」
6. 厚生労働省医薬食品局長通知：平成 20 年 9 月 12 日付薬食発第 0912006 号「ヒト(同
種)由来細胞・組織加工医薬品等の品質及び安全性の確保に関する指針」
7. 厚生労働省医療機器審査管理室長通知：平成 22 年 12 月 15 日付薬食機発 1215 第
1 号「次世代医療機器評価指標の公表について」別添1「関節軟骨再生に関する評価
指標」

8. 厚生労働省医療機器審査管理室長通知:平成 23 年 12 月 7 日付薬食機発 1207 第 1 号「次世代医療機器評価指標の公表について」別添1「歯周組織治療用細胞シートに関する評価指標」
9. 「生物由来原材料基準の運用について」 （平成 26 年厚生労働省告示第 375 号）

5. 議事内容

- ① 佐藤座長より第四回会議から委員として参画いただいた順天堂大学 水野博司先生の紹介があった。
- ② 佐藤座長より第三回会議議事録（概要）について説明があり、委員より承認を得た。
- ③ Kunkuk University 李禎翼先生より韓国における再生医療製品の現状についての講演があり、その後、発表内容についての質疑応答がなされた。
- ④ 「鼻軟骨再生に関する評価指標素案」たたき台に説明して頂きながら、全委員で討議した。
- ⑤ ④の討議内容をもとに指標案の修正を行う。今後はメールベースで修正を行い、最終案として報告書にまとめることとした。
- ⑥ 「関節軟骨再生に関する評価指標」の見直しについて、来年度継続して討議することになった。
- ⑦ 李先生の発表スライド及び第三回会議で発表頂いた星先生の発表スライドを報告書に掲載することとなった。

III. 鼻軟骨再生に関する評価指標（案）

1. はじめに
2. 本評価指標の対象
3. 本評価指標の位置づけ
4. 用語の定義
5. 評価に当たって留意すべき事項
 - (1) 原材料
 - (2) 製造工程において特に注意が必要な事項
 - (3) 製品の品質管理
 - (4) 非臨床安全性試験
 - (5) 最終製品の効力又は性能を裏付ける試験
 - (6) 臨床試験（治験）

鼻軟骨再生に関する評価指標（案）

1. はじめに

ヒト由来の細胞・組織を加工した製品の品質及び安全性を確保するための基本的な技術要件は、平成 20 年 2 月 8 日付け薬食発第 0208003 号厚生労働省医薬食品局長通知（以下「ヒト（自己）由来細胞・組織加工医薬品等の指針」という。）及び平成 20 年 9 月 12 日付け薬食発第 0912006 号厚生労働省医薬食品局長通知（以下「ヒト（同種）由来細胞・組織加工医薬品等の指針」という。）に定められているところである。本評価指標は、再生医療等製品のうち特に口唇口蓋裂の鼻変形のうち、隆鼻術及び鼻尖形成が必要な高度な変形の治療を目的として適用される、ヒト耳介軟骨細胞加工製品について、上述の基本的な技術要件に加えて当該製品特有の留意すべき事項を示すものである。

2. 本評価指標の対象

本評価指標は、口唇口蓋裂の鼻変形のうち、隆鼻術及び鼻尖形成が必要な高度な変形の治療を目的として適用されるヒト耳介軟骨細胞加工製品について、基本的な技術要件に加えて品質、有効性及び安全性の評価にあたって留意すべき事項を示すものである。

3. 本評価指標の位置づけ

細胞・組織加工製品の種類や特性、臨床上の適用法は多種多様であり、また本分野における科学的進歩や経験の蓄積は日進月歩であることから、本評価指標が必要事項すべてを包含しているとみなすことが必ずしも適切でない場合もある。

従って、本評価指標は申請内容に関して拘束力を有するものではなく、個々の細胞・組織加工製品についての試験の実施や評価に際しては、その時点の学問の進歩を反映した合理的根拠に基づき、ケース・バイ・ケースで柔軟に対応することが必要である。

なお、本評価指標の他、ヒト（自己）由来細胞・組織加工医薬品等の指針、ヒト（同種）由来細胞・組織加工医薬品等の指針及び国内外のその他の関連ガイドラインを参考にすることも考慮すべきである。

4. 用語の定義

本評価指標における用語の定義は、ヒト（自己）由来細胞・組織加工医薬品等の指針及びヒト（同種）由来細胞・組織加工医薬品等の指針の定義による他、以下のとおりとする。

- （１）耳介軟骨細胞：耳介軟骨を構成する軟骨細胞。Ⅱ型コラーゲンやプロテオグリカンのほか、弾性線維などといった、弾性軟骨に特徴的な細胞外基質を分泌する。
- （２）足場素材：製品の形態付与、細胞の保持ならびに機能促進のために使用され

るバイオマテリアル。

(3) 力学的特性：軟骨組織は、粘性と弾性とを併せ持つ粘弾性、圧縮応力に対応する圧縮強度、ずり応力に対応する曲げ強度等の力学的特性を有する。

(4) 中間製品：製造の中間工程で造られたものであって、以後の製造工程を経ることによって製品となるもの。

5. 評価にあたって留意すべき事項

本評価指標は、ヒト耳介軟骨組織を原材料として製造所に受け入れ、これを製造所において加工して製造されたヒト耳介軟骨細胞加工製品として鼻部に適用することを想定している。

(1) 原材料

① 軟骨組織の採取

軟骨組織の採取部位の選定理由、採取方法を示し、これらが科学的及び倫理的に適切に選定されたものであることを明らかにすること。採取方法については、用いられる器具、微生物汚染防止、取り違い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。

② 軟骨組織以外の生物由来原料

軟骨組織以外の生物由来原料については、その使用量を必要最小限とし、「生物由来原材料基準」（平成15年厚生労働省告示第210号）及び「生物由来原材料基準の運用について」（平成26年10月2日薬食審査発1002第1号厚生労働省医薬食品局審査管理課長、薬食機参発1002第5号厚生労働省大臣官房参事官（医療機器・再生医療等製品審査管理担当）通知）をはじめとする関連法令及び通知を遵守すること。特に、ウイルス不活化及び除去に関する情報を十分に評価する必要があるほか、遡及調査等を確保する方策についても明らかにすること。

③ 非細胞材料

足場素材等として使用される非細胞材料（アテロコラーゲンハイドロゲルやポリ乳酸多孔体等）については生体適合性を評価する必要がある。必要に応じて規格を設定し、足場素材が目的とする機能を有することを評価し、安全性（例えば、感染症や異物反応等）について説明する必要がある。非細胞材料の生体適合性については、ISO10993-1、JIS T 0993-1、またはASTM F 748-04等を参考にすること。また、生体吸収性材料については、分解生成物に関して必要な試験を実施すること。

(2) 製造工程において特に注意が必要な事項

ヒト耳介軟骨細胞加工製品（最終製品）の製造にあたっては、製造方法を明確にし、可能な範囲でその妥当性を以下の項目で検証し、一定の品質を保持すること。

原材料となるヒト耳介軟骨組織等の製造所への受入から、軟骨細胞の分離・培養工程

を経て、アテロコラーゲンハイドロゲルやポリ乳酸多孔体等の足場素材に投与してできる最終製品に至る製造方法の概要を示すとともに、具体的な処理内容及び必要な工程管理、品質管理の内容を明らかにすること。

a) 受入検査

原材料となるヒト耳介軟骨組織等について、製造に必要な大きさであることを確認するために目視による外観検査を行う。また、製造に必要な軟骨組織が回収できていることを確認するために、単離した軟骨組織の湿重量を測定すること。表現系、遺伝形質、特有の機能等の特性、細胞生存率及び品質に影響を及ぼさない範囲で、必要かつ可能な場合は細菌、真菌及びウイルス等を不活化又は除去する処理を行うこと。

なお、技術的な理由により、工程をごく一部進めた上で検査を行うことが適切な場合にあっては、受入れ後の適切な時点で検査を実施すること。治験を開始する前段階の場合は、それまでに得られた試験検体での実測値を提示し、これらを踏まえた暫定値を示すこと。

b) 最終製品の構成要素となる細胞の作製

製造所に受入れたヒト耳介軟骨組織等から最終製品を構成要素となる軟骨細胞を作製する方法（細胞の分離・培養方法、培地、培養条件、培養期間、収率等）を明確にし、可能な範囲でその妥当性を明らかにすること。培養期間の妥当性及び細胞の安定性を評価するために、予定の培養期間を超えて培養した細胞において脱分化ないし分化能の減弱、もしくは増殖速度の異常変動等の目的外的変化がないことを適切な細胞指標を用いて示すこと。適用後に体内での増殖及び分化等を期待する場合には、設定された基準による継代数又は分裂回数で期待された機能を発揮することを明らかにすること。

c) 製造工程中の取り違い及びクロスコンタミネーション防止対策

ヒト耳介軟骨細胞加工製品（最終製品の製造に当たっては、製造工程中の取り違い及びクロスコンタミネーションの防止が重要であり、工程管理における防止対策を明らかにすること。

(3) 製品の品質管理

品質規格の値の設定について、治験を開始する前段階の場合にあっては、それまでに得られた試験検体での実測値を提示し、これらを踏まえた暫定値を示すこと。なお、出荷製品そのもの又はその一部に対して規格試験の実施が技術的に困難である場合にあっては、妥当性を示した上で並行して製造した製品を用いて規格試験を実施すること。

① 細胞数および生存率

ヒト耳介軟骨組織等から得られる軟骨細胞は量的な制約がある。軟骨細胞は体外培養すると脱分化する傾向を持つ。ドナーの年齢又は長期の培養等の条件により増殖速度が

低下する場合もあるため、体外での増殖にも限度があり、最終製品に使用可能な細胞数は、出発原料として得られた細胞の数に応じて量的な制約を持つ。従って、ヒト耳介軟骨細胞加工製品（最終製品）を製造するために十分な量の細胞を確保するためには、原材料又は中間製品中に存在する細胞の数及び生存率について判定基準を設定しておく必要がある。また、最終製品における細胞の生存率についても基準を設定すること。

② 確認試験

品質規格としては、軟骨細胞マーカーが発現していることを確認すること。尚、軟骨細胞マーカーとして、例えばタイプ II コラーゲン、アグリカン、SOX9、MIA、GFAP 等が知られている。ELISA 等による細胞培地上清に分泌された MIA 及び GFAP 量の測定などもある。

③ 純度試験

軟骨細胞マーカーの抗体を用いた免疫染色により判断する。または、軟骨細胞マーカーの一定レベルの発現量を確認する。混入細胞（たとえば線維芽細胞、血球細胞等）、または脱分化細胞、異常増殖細胞といった目的細胞以外の細胞の検出及びその安全性を確認する試験方法及び判定基準を設定する。

④ 力学的適合性試験

粘弾性特性あるいは曲げ強度等の力学的検討を行い、あらかじめ規定した力学特性を持つことを確認する。

（４）非臨床安全性試験

細胞の造腫瘍性・過形成

製品中の細胞に由来する腫瘍は適用部位における物理的障害となる恐れがあること、宿主の正常な生理機能に対し悪影響を及ぼす可能性があること等から、悪性腫瘍のみならず、良性腫瘍を含む腫瘍形成及び過形成の可能性を検討すること。試験により造腫瘍性を評価する方法としては、例えば核型分析、軟寒天コロニー形成試験、免疫不全動物における腫瘍形成能試験等が挙げられる。また、既定の培養期間を超えて培養した細胞について、目的外の形質転換や増殖速度の異常亢進がないことを明らかにすることも重要である。なお、免疫不全動物における腫瘍形成能試験においては、移植した細胞が体内で軟骨を形成した場合も腫瘍のように見えることがあるので、形態的特徴だけでなく組織病理学的特徴による評価も検討すること。

核型分析、免疫不全動物における腫瘍形成能試験については、それぞれ An International System for Human Cytogenic Nomenclature (ISCN2005)、WHO Expert Committee on Biological Standardization. Forty-seventh Report (1998)等を参考にすることが考えられるが、試験法の妥当性については、製品の特性やその時点での技術レベル等に応じて検討を行うこと。なお、核型分析において細胞・組織を採取したドナーの年齢や原疾患によっては、ある頻度で染色体異常が生じている場合があるので、染

色体異常が認められた場合にそれがドナー背景に起因するのか、あるいは培養に起因するのかを明らかにできるような試験計画の立案を検討すること。なお、造腫瘍性が疑われた場合の他、使用する原材料や製造方法によっては、がん原性の検討が必要な場合もある事を考慮すること。

(5) 最終製品の効力又は性能を裏付ける試験

ヒト耳介軟骨細胞加工製品（最終製品）をヌードラット等に移植し、移植後に、移植部位に留まり補綴材として維持されること、最終製品に含まれる軟骨細胞が、移植後軟骨基質を分泌すること等を確認する。

(6) 臨床試験（治験）

① 対象疾患

口唇口蓋裂の鼻変形のうち、隆鼻術及び鼻尖形成が必要な高度な変形をもつ患者。

② 観察・測定項目

a) 有効性

ヒト耳介軟骨細胞加工製品の移植目的と機能を勘案し、適切な有効性評価指標を設定し、有効性を判定するのが好ましい。評価方法に関しては、レーザー計測装置や3次元CTなどを用いた3次元評価、MRI撮影による定性的評価、顔貌写真による顔面及び鼻口部分についての外観評価、評価ツールを用いた顔面の整容的満足度の評価、評価ツールを用いた全身的な満足度の評価、日常生活動作に関するアンケートなどが考えられる。

b) 安全性

全身所見、局所所見、自覚症状の有無を確認する。また、移植後、移植周囲に炎症、感染、過形成、過増殖などの異常所見がないか確認する。

③ 観察期間

先行論文や実験データを基に、移植物が形態的にも機能的にも安定すると思われる期間を設定し、その期間を参考にして、観察期間を定める。吸収性素材を足場素材として使用する場合には、足場素材が吸収されるまで観察するのが理想的であるが、吸収期間が非常に長いなどの理由で、完全に吸収されたことを証明することが困難な場合は、足場素材の影響が少なくなったことを説明できる状況まで観察し、その後の経過も追跡することが望ましい。

④ 臨床評価について

臨床データパッケージ及び治験実施計画書は、当該治療法に期待される臨床上の位置付け等に応じて、非臨床データ等も踏まえて適切に計画されるべきである。できる限り独立行政法人医薬品医療機器総合機構の薬事戦略相談又は対面助言を利用すること。

IV. 調査事項

- | | |
|---|----------------|
| 1. インプラント型再生軟骨の臨床導入とその評価 | 星 和人 |
| 2. 気管・喉頭再生の臨床について | 大森孝一 |
| 3. 気管・喉頭軟骨再生医療と動物実験について | 中村達雄 |
| 4. バイオマテリアルを用いた3次元軟骨の再生誘導
(平面から立体の再生誘導へ) | 磯貝典孝 |
| 5. ヒト弾性軟骨前駆細胞の操作法の現況 | 小林真司 谷口英樹 前川二郎 |
| 6. ヒト iPS 細胞から分化誘導した軟骨細胞、軟骨組織 | 妻木範行 |
| 7. 韓国の再生医療製品の現状 | 李 禎翼 |



2014年12月5日
次世代医療機器評価指標作成事業
再生医療審査WG

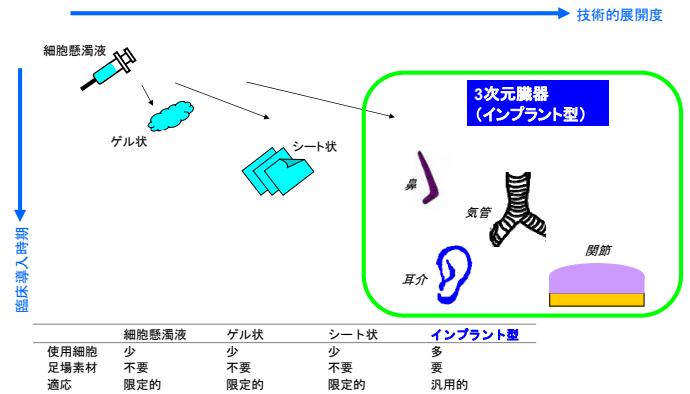


インプラント型再生軟骨の臨床導入とその評価

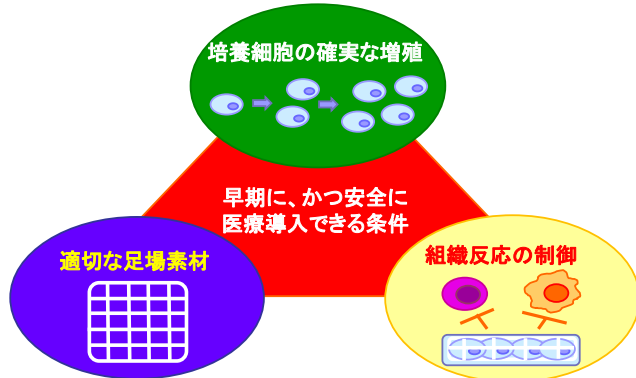
星 和人

東京大学大学院医学系研究科 外科系専攻 感覚・運動機能医学講座 口腔外科学
東京大学医学部附属病院 顎口腔外科・歯科矯正歯科 ティッシュ・エンジニアリング部

軟骨再生医療の展開



インプラント型再生軟骨実現のための研究項目



インプラント型再生軟骨の基盤技術:細胞種

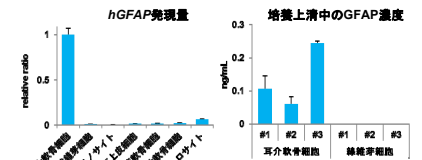
ES細胞

iPS細胞

組織幹細胞
(骨髄、脂肪、滑膜、軟骨膜)

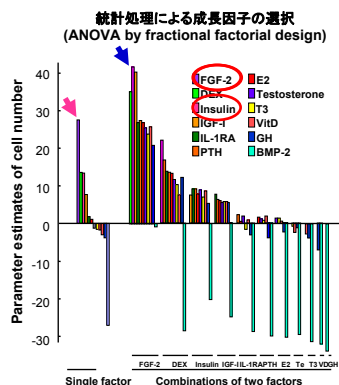
成熟細胞
(自家耳介軟骨細胞)

特性と純度を示すバイオマーカー:
グリア線維酸性蛋白 GFAP

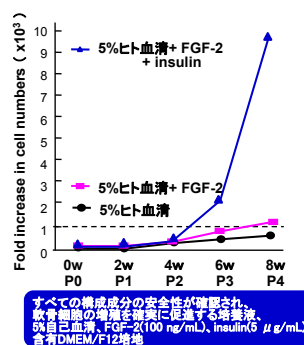


インプラント型再生軟骨の基盤技術:成長因子

Takahashi, Hoshi et al 2005 Cell Transplant
Tanaka, Hoshi et al 2008 Cell Biol Int



ヒト耳介軟骨細胞の増殖曲線



インプラント型再生軟骨の基盤技術:足場素材

Yamaoka, Hoshi et al J Biomed Mater Res 2010
Tanaka, Hoshi et al Biomaterials 2010

医療用生分解性ポリマー

乳酸・グルコン酸共重合体 (PLGA)

ポリ乳酸 (PLLA)

Pore sizes (mm)
Porosity (%)

動物移植実験

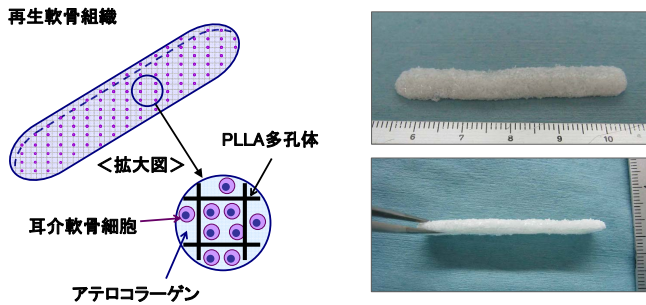
細胞:ヒト耳介軟骨細胞
移植:ヌードマウス

細胞:ビーグル耳介軟骨細胞
移植:ビーグル(自家移植)

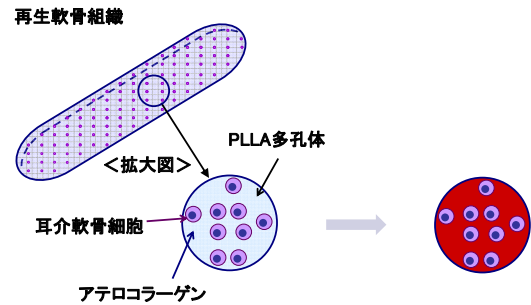
PLGA

PLLA

臨床研究に使用するインプラント型再生軟骨



臨床研究に使用するインプラント型再生軟骨



口唇口蓋裂の鼻変形に対する治療

顎・顔面の複合形態異常 鼻の変形

鼻変形に対しては適切な移植素材がない
頻回の手術と長期にわたる治療
患者および家族の負担大

軟骨再生医療の導入が期待

術前 術後

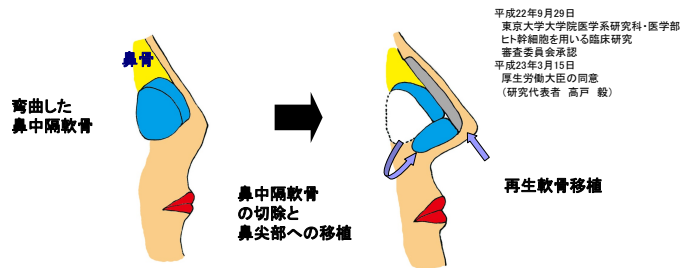
自家腸骨

骨移植直後 6ヵ月後交通事故

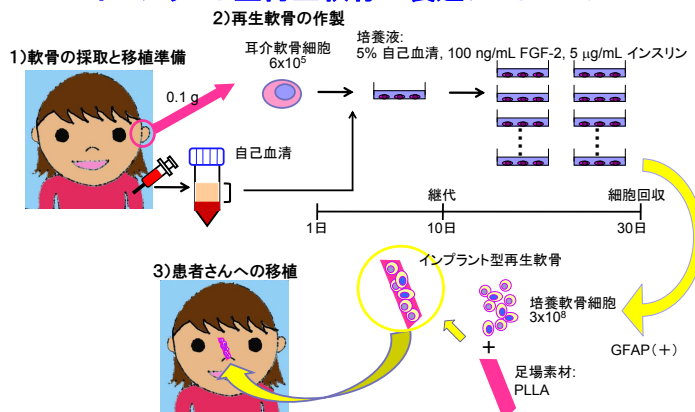
Takato et al.
J Oral
Maxillofac
Surg 1995

インプラント型再生軟骨を用いたヒト幹細胞臨床研究

口唇口蓋裂における鼻変形のうち、隆鼻術および鼻尖形成が必要な、高度な変形を有する患者(3名)



インプラント型再生軟骨の製造プロトコル



インプラント型再生軟骨を用いたヒト幹細胞臨床研究

- 1) 主要評価項目
再生軟骨移植後の痛み、感染、生着不全による再生軟骨抜去に至るような有害事象の有無を指標として安全性を確認する。
- 2) 副次的評価項目
再生軟骨移植後の患者満足度(DAS59, GOHAI, SF36, EQ-5D, SDS)、日常生活動作評価(改善が期待される日常動作について患者がVASで評価)、顔貌の改善(顔面規格写真、頭蓋規格レントゲン写真、レーザー3次元形態計測)、採植部位侵襲の軽減(腸骨採取部の手術創と比較して患者がVASで評価)、頭部MRI、頭部CT、再生軟骨の形成、などの評価指標を探索的に用いて、有用性を評価する。
- 3) 観察期間
移植後1年
- 4) 追跡期間
観察期間終了後4年

耳介軟骨採取とインプラント型再生軟骨の作製



インプラント型再生軟骨の移植



再生軟骨移植の術前ならびに術後の経過

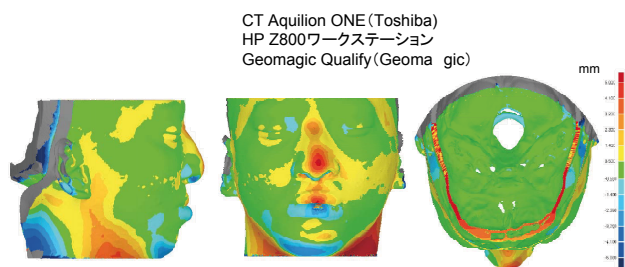
術前経過: 症例1、2は計画通り移植を行った。

症例3においては、再生軟骨移植直前に鼻背部の瘡瘍による表面感染が見られたので、移植日を1週間延期した。いずれの症例も軟骨細胞の増殖は良好で、規定どおりの再生軟骨が作製できた。

術後経過: 観察期間1年間で、明らかな感染や激しい免疫反応による再生軟骨抜去に至るような重篤な有害事象は、いずれの症例においてもなかった。

カラーマッピング

—術前と術後2か月の三次元形状モデルの表面距離の偏差



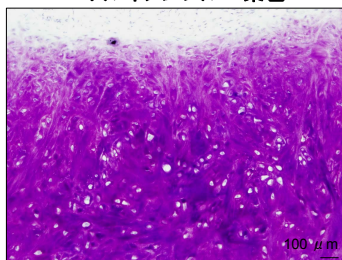
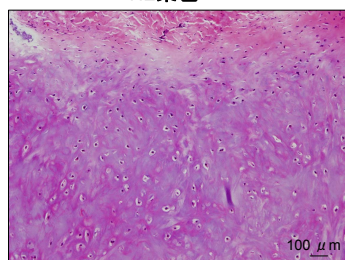
皮膚面と骨面のレジストレーション
(左)側貌、(中央)正貌、(右)頭蓋底

病理学的評価

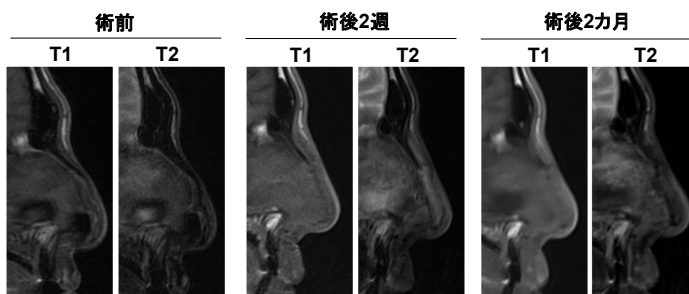
術後1年6ヶ月後
本人の希望により口唇ならびに鼻翼2次修正術
パラフィン切片

HE染色

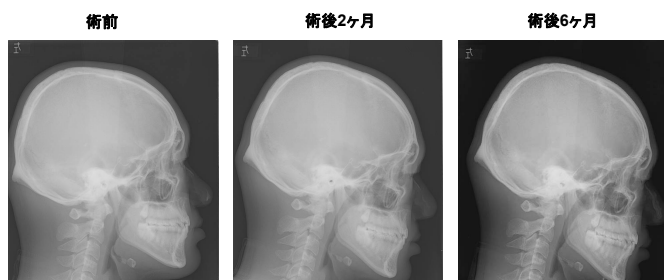
トリジンブルー染色



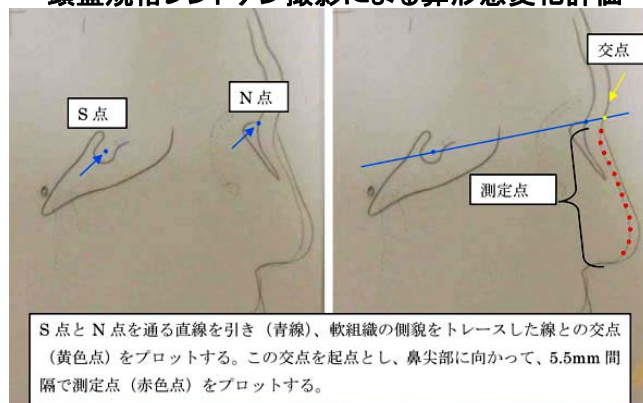
MRIによる評価



頭蓋規格レントゲン撮影による評価



頭蓋規格レントゲン撮影による鼻形態変化評価

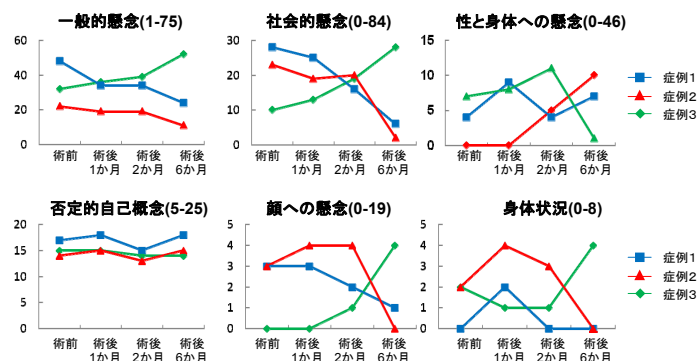


頭蓋規格レントゲン撮影による鼻形態変化評価

	#1-2M	#1-6M	#2-2M	#2-6M	#3-2M	#3-6M
鼻根	0.35	0.40	0.25	0.32	0.41	0.23
	1.72	1.77	0.88	1.01	1.27	1.12
	3.33	3.09	1.87	1.85	2.45	2.25
	3.63	3.64	2.05	2.12	2.50	2.47
	4.04	4.31	2.12	2.05	1.73	1.70
	4.80	4.90	2.92	2.72	1.70	1.60
	4.90	4.96	3.47	3.13	1.89	1.87
	4.87	4.90	3.63	3.45	2.51	2.44
	3.95	4.17	4.01	3.59	3.27	3.29
	3.07	3.16	2.26	2.46	3.58	3.90
鼻尖	1.54	1.73			4.12	4.17
合格点	10点	10点	8点	9点	10点	10点

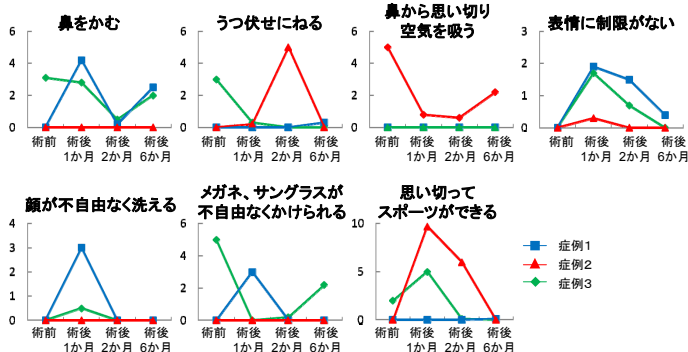
患者満足度の評価

顔面の整容的満足度(DAS59による評価)

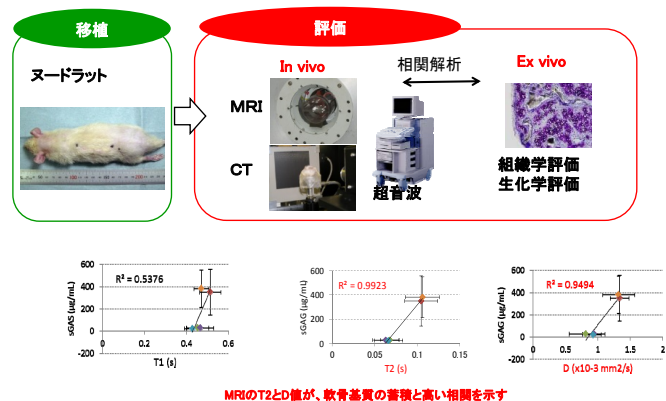


日常生活動作の評価

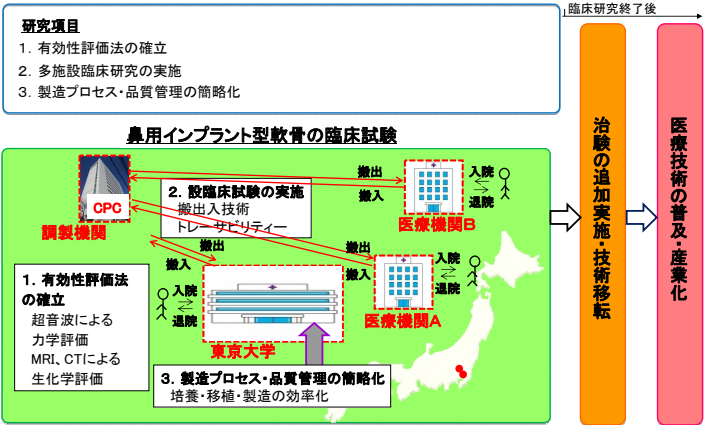
VASによる評価(最良0—最悪10)



MRIによる評価



インプラント型再生軟骨の臨床試験への展開



気管・喉頭再生の臨床について

大森孝一

福島県立医科大学医学部耳鼻咽喉科学講座

次世代医療機器・再生医療等製品評価指標作成事業における再生医療審査 WG は再生医療に関する評価指標作成を目的とするものである。

医学的には臓器再生の三要素は足場、細胞、調節因子と考えられており、細胞を用いず足場や調節因子を使用する方法も広義の再生医療と呼ばれている。一方、法律的には平成 26 年施行の改正薬事法によると、再生医療等製品とは人の細胞に培養等の加工を施したものであって、身体の構造・機能の再建・修復・形成や疾病の治療・予防を目的として使用するものとなっている。これは細胞を用いる狭義の再生医療と言える。細胞を用いず足場素材のみを用いる場合は通常の医療機器に分類される。

本稿では気道の特徴とその病変、従来から行われている気道の再建外科治療、従来の方法に代わりうる気管・喉頭再生の臨床について細胞を用いる方法および細胞を用いず足場を用いる方法を含めて解説し、医療機器としての実用化と気管としての評価指標まで述べる。

【気道の特徴とその病変】

気道は鼻腔、口腔、咽頭、喉頭、気管と気管支・細気管支によって構成される。喉頭は呼吸、嚥下、発声という重要な役割を持ち、気管は呼気や吸気の通り道であると同時に、線毛運動と咳反射により分泌物や異物を除く排泄路として機能している。気管には頸部気管と胸部気管があり、喉頭の軟骨には甲状軟骨、輪状軟骨、披裂軟骨があり、声帯が振動して発声音源となる。

気管や輪状軟骨に悪性腫瘍や狭窄性疾患を生じると、病変を切除する必要がある、欠損部を再建しないままでは、発声できない、頸部に穴があいたままである、など QOL の低下が著しい。これを回避するためには気道を再建する必要がある。気管・輪状軟骨を再建する際には、管腔を保持する硬度を持つ枠組みと内腔面に線毛を持つ粘膜を同時に再建することが理想的である。また、喉頭の下部を構成する輪状軟骨は気管より管腔が狭く再狭窄を起こしやすいことから、再建は難しい。

悪性腫瘍としては甲状腺癌、肺癌などがあり、狭窄性疾患としては内腔からの損傷と外からの損傷があり、炎症性疾患もある。代表的な疾患を表1に示す。

【気道再建外科】

1970 年代から Grillo のグループが気管端々吻合術を報告してきたが、広範囲切除の限界、縫合不全や縦隔炎などの重篤な合併症、術後の頸部前屈姿勢など、容易な手術ではない。輪状軟骨切除後の端々吻合術も一部の施設で行われている。

1980 年代から Cotton らにより移植を伴う頸部気管および輪状軟骨再建術が報告されており、硬性再建には骨、軟骨が用いられ、内腔面には皮膚や粘膜が用いられる。自家遊離移植では複数部位や複数回にわたる手術侵襲が必要であるうえに、移植片の移動や吸収の問題があり気道の枠組みとしての長期的安定性を保持するのが難しい。

悪性腫瘍に対しては、進行甲状腺癌の気管浸潤例では十分な安全域をとった治癒切除が望まれるが、大きく切除すれば再建は難しくなり、自家遊離移植は欠損部の大きさによって制限される。気道再建の人工材料にはシリコン、チタンなどの材料が用いられてきたが安定した成績をあげていない。

従来から行われてきた気道再建外科とその問題点を表2に示す。

【人工気管】

1940 年代より、ゴム管などの人工チューブで気管欠損部を再建しようとする研究が始まったが、

人工血管とは対照的に、人工気管開発は遅れ、70 年以上経った現在でも市販されている人工気管は無いのが現状である。1970 年代に、縫合輪付きのシリコンチューブ型のノンポラス人工気管が米国で一度商品化されたものの、吻合部離解の合併症により、使われなくなった。また、ポリエチレン製のヘビーマーレックスメッシュが気管再建材料として米国で発売されたが、硬すぎるため隣接血管からの出血を生じるなどの合併症により、使用されなくなった。

【気管移植】

2010 年 Delaere のグループは気管移植の 1 例を報告した。donor の気管を recipient の前腕に移植して、さらに recipient の口腔粘膜を気管内腔に置き、免疫抑制薬を 9 ヶ月以上使用し、血流を獲得してから、その後に血管柄付き気管を遊離で移植し、1 年間の観察で気道に問題はなかったという。

【再生医学の基本的な考え方】

臓器再生の三要素として、足場、細胞、調節因子が上げられ、ここに血流が入ると臓器は再生する。よく農作物を作る際に例えられ、それぞれ土地、種、肥料、そして太陽や水に相当すると考えられる。

1993 年、Langer と Vacanti は体外で細胞を培養して工学的手法により臓器や組織に近いものを再生させる Tissue Engineering という概念を提唱したが、体外で作られた組織が体内への移植後に吸収されるなどの問題があり、臨床応用へのハードルは高い。

一方、生体内で組織の再生を誘導する手法は *in situ* Tissue Engineering あるいは *in vivo* Tissue Engineering とも言われる。傷害された組織・臓器は、本来、自己再生能力を有しているが、生体組織が大きく欠損した場合や急激な組織修復により組織再生の場が奪われてしまうと、瘢痕化などにより元の組織が再生しない。組織再生の適切な場が適切な組織再生を促進するという考え方を場の理論という。1995 年以降、中村らは場の理論に基づいたコンセプトで、コラーゲンスポンジを主体とした足場の移植で気管、食道、胃、小腸、末梢神経などの組織再生を動物実験で報告した。

【足場素材と細胞による気管再生】

◇動物実験

2002 年、Langer らのグループは羊の鼻中隔軟骨から採取した軟骨細胞をポリグリコール酸 PGA に播種して作った管状軟骨組織を羊の気管に埋込んだが、術後の気道閉塞などの問題で死亡したことから、臨床応用には至っていない。

◇臨床

2008 年に Macchiarini らにより allograft を用いた気管再建の 1 例が報告され、死体気管を脱細胞した軟骨構造に患者由来の上皮細胞と軟骨細胞を付加して移植したところ、術後 4 ヶ月で内腔を保持していた。2013 年には、その後の 5 年間の長期観察について報告したが、術後 1 年で近位端に気管狭窄を生じてステントを挿入したと記載されている。他家気管と自己細胞の移植と言える。

2011 年に Macchiarini らは骨髄単核球とポリウレタン系の合成素材からなる人工気管を移植し術後 5 ヶ月で内腔を保持していた 1 例を報告した。人工気管と自己細胞移植と言える。

2012 年には Elliott らは、12 歳の小児に対して、死体気管を脱細胞した軟骨構造に患者本人由来の骨髄間葉系幹細胞を付加し移植したところ、2 年間の観察で気道は機能していたという。術後約 1 ヶ月間は一時的に両気管支にステントの挿入が必要であった。他家気管と自己細胞移植と言える。

【足場素材のみによる気管再建】

◇生体内組織再生誘導型の人工気管

1995 年、中村らはポリプロピレン製メッシュを管状にして気管の骨格とし、表面に組織再生の足場としてコラーゲンスポンジを付着させた生体内組織再生誘導型の人工気管を開発した。ポリプロピレン製メッシュは特定保険材料として従来から胸壁や腹壁の補強に臨床で使われているもので、

コラーゲンスポンジは医療用のブタ皮膚由来のコラーゲンである。

◇動物実験

犬の頸部気管を切除した後に生体内組織再生誘導型の人工気管を移植し、最長5年の観察で、気管の上皮再生は良好で問題なく経過した。再生気管の強度は機械的圧縮試験で正常気管と同程度であり、正常気管との接合部も安定した組織移行がみられ、長期に安全に使用できることを確認した。著者らはこの形状を改良して犬の輪状軟骨の弓部切除後の再建に使用し、最長1年の観察で上皮再生は良好で気道は問題なく経過した。

◇臨床

2002年より著者らは生体内組織再生誘導型の人工気管による気道再建を行い、成人12例において最長8年の経過観察で内腔上皮再生が得られている。適応疾患としては甲状腺癌の頸部気管浸潤例、喉頭気管狭窄例である。この人工気管はトリミングが容易で、欠損部に適した気道再建手術を容易に安定して実施できるとともに、他の部位からの組織採取が不要で手術侵襲を軽減させ、患者のQOL向上に寄与できると考えられる。

【医療機器としての実用化と気管としての評価指標】

現在まで医療機器として実用化された人工気管はまだない。医療機器として薬事承認されるためには、GMP/QMS 準拠の生産ラインと製造・品質・衛生管理、GLP 準拠の生物学的安全性試験、GCP 準拠の治験実施計画書・治験運営・データモニタリングなどが必要である。

人工気管の評価を行う際には、気道として機能するだけの広さを確保していることと長期的安定性が求められる。そのため、主要評価項目は気管内腔径で、直径約6mm以上は必要と考えられる。観察方法としては喉頭麻酔施行後の内視鏡を施行して気管再建部内腔を直径約5mmの内視鏡が通過するに足る十分な広さが保たれているかを調べることと、CTにより気管内腔の前後径、横径を測定することにより可能と考える。患者の呼吸苦など自覚的評価や経皮的動脈血酸素飽和度(SpO2)など他覚的評価も必要と考えられる。また、これまでの経験から人工気管移植後、気管内腔の上皮化が起こるまで2ヵ月程度を要するため、2ヵ月を評価時期とすることが適切と考えられる。その後も長期的安定性の確認として、半年、1年程度を目安に定期的な診察と評価が必要である。

参考文献

- 大森孝一.気管の再建. 耳喉頭頸 81:118-125,2009.
- Grillo HC. The history of tracheal surgery. Chest Surg Clinics North America 13:175-189, 2003.
- Cotton R. Management of subglottic stenosis. Otolaryngologic Clinics North America 33:111-130, 2000.
- Neville WE, Bolanowski JP, Kotia GG. Clinical experience with the silicone tracheal prosthesis. J Thorac Cardiovasc Surg 99:604-613, 1990.
- Delaere P, Vranckx J, Verleden G, De Leyn P, Van Raemdonck D. Tracheal allotransplantation after withdrawal of immunosuppressive therapy. N Engl J Med 14:362:138-145, 2010.
- Langer R, Vacanti JP. Tissue engineering. Science 14:260(5110): 920-926, 1993.
- Teramachi M, Kiyotani T, Takimoto Y, Nakamura T, Shimizu Y. A new porous tracheal prosthesis sealed with collagen sponge. ASIO J 41:306-310,1995.
- Nakamura T, Teramachi M, Sekine T, Kawanami R, Fukuda S, Yoshitani M, Toba T, Ueda H, Hori Y, Inoue M, Shigeno K, Taka TN, Liu Y, Tamura N, Shimizu Y. Artificial trachea and long term follow-up in carinal reconstruction in dogs. Int J Artificial Organs 23:718-724, 2000.
- Omori K, Nakamura T, Kanemaru S, Kojima H, Magruffov A, Hiratsuka Y, Shimizu Y. Cricoid

- regeneration using in situ tissue engineering in canine larynx for the treatment of subglottic stenosis. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 113:623-627,2004.
- Omori K, Nakamura T, Kanemaru S, Asato R, Yamashita M, Tanaka S, Magrufov A, Ito J, Shimizu Y. Regenerative medicine of the trachea: The first human case. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 114:429-433,2005.
- Omori K, Tada Y, Suzuki T, Nomoto Y, Matsuzuka T, Kobayashi K, Nakamura T, Kanemaru S, Yamashita M, Asato R. Clinical application of in situ tissue engineering using a scaffolding technique for reconstruction of the larynx and trachea. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 117: 673-678, 2008.
- 大森孝一、中村達雄、多田靖宏、野本幸男、鈴木輝久、金丸眞一、安里 亮、山下 勝. 甲状腺癌における気道の再生医療. *再生医療* 5:89-93,2007.
- Kojima K, Bonassar LJ, Roy AK, Vacanti CA, Cortiella J. Autologous tissue-engineered trachea with sheep nasal chondrocytes. *J Thorac Cardiovasc Surg* 123:1177-1184, 2002.
- Macchiarini P, Jungebluth P, Go T, Asnaghi MA, Rees LE, Cogan TA, Dodson A, Martorell J, Bellini S, Parnigotto PP, Dickinson SC, Hollander AP, Mantero S, Conconi MT, Birchall MA. Clinical transplantation of a tissue-engineered airway. *Lancet* 372(9655):2023-2030. 2008.
- Jungebluth P, Alici E, Baiguera S, Blanc K, Blomberg P, Bozoky B, Crowley C, Einarsson O, Grinnemo K, Gudbjartsson T, Guyader S, Henriksson G, Hermanson O, Juto J, Leidner B, Lilja T, Liska J, Luedde T, Lundin V, Moll G, Nilsson B, Roderburg C, Stromblad S, Sutlu T, Teixeira A, Watz E, Seifalian A, Macchiarini P. Tracheobronchial transplantation with a stem-cell-seeded bioartificial nanocomposite: a proof-of-concept study. *Lancet* 378: 1997-2004, 2011.
- Elliott MJ, De Coppi P, Speggiorin S, et al. Stem-cell-based, tissue engineered tracheal replacement in a child: a 2-year follow-up study. *Lancet* 380:994-1000, 2012.

表1 気管・輪状軟骨再建の主な適応疾患

- ・悪性腫瘍: 甲状腺癌、肺癌、気管原発腫瘍
- ・炎症性狭窄:
 - 気管内腔からの損傷(気管挿管チューブ、気管カニューレ、熱傷、化学的腐食剤)
 - 気管外からの損傷(交通外傷、刃物による裂傷、銃創、気管切開術後)
 - 炎症性疾患(再発性多発軟骨炎、結核)
 - 特殊な疾患(いわゆる Wegener 肉芽腫、アミロイドーシス)

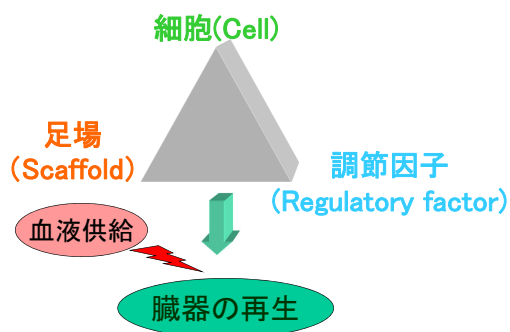
表2 気道再建外科治療の問題点

- ・端々吻合(気管、輪状軟骨)
 - 問題点: 縫合不全(吻合部緊張や血流不全)、術後管理(長期の頸部前屈)
- ・自己組織移植(硬性組織として軟骨や骨、内腔面として皮膚や粘膜)
 - 問題点: 複雑な手術操作
- ・人工材料移植(シリコン、チタン、ヘビーマーレックスメッシュ)
 - 問題点: 低い成功率

喉頭・気管の再生医学的アプローチ

福島県立医科大学医学部
耳鼻咽喉科学講座
大森 孝一

臓器再生に必要なもの



生体内組織再生 *in situ* Tissue Engineering

生体内の臓器の場所で組織を再生させる手法

足場だけの移植で臓器再生: 動物実験

[京都大学再生医科学研究所: 中村、清水]

気管 (Teramachi, Nakamura, et al 1997)

食道 (Yamamoto, Nakamura, et al 1999)

胃 (Hori, Nakamura, et al 2001)

小腸 (Hori, Nakamura, et al 2001)

組織工学 (Tissue Engineering)

Science (Vacanti, Langer, 1993)



耳介の再生

ex vivo
Tissue Engineering



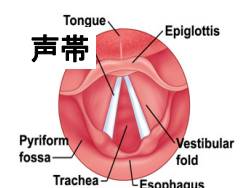
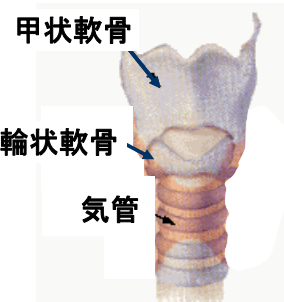
軟骨は吸収されてしまう

生体内組織再生誘導 *in situ* Tissue Engineering

場の理論

- 傷害された組織・臓器は、本来、自己再生能力を有している
- 急激な組織修復により、組織再生の足場が奪われる
- 組織再生の適切な足場が組織修復を促進する

気道



気道の再建

- 適応疾患:
癌の気管・喉頭への浸潤、外傷、炎症性狭窄など
- 従来の再建方法:
自己組織移植: 複数部位、複数回の手術操作
硬性組織: 軟骨、骨
内腔面: 皮膚、粘膜
気管端々吻合: tension、術後管理
従来の人工材料: 低い成功率
ダクロン、チタン、マーレックスメッシュ

気道の再建方法の課題



気道再建の問題点:

- ① 気道の枠組みとして硬さが充分か?
- ② 粘膜上皮で被われているか?

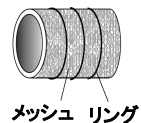
生体内組織再生誘導: 既存の人工材料をもとにして自己組織の再生を誘導するように工夫

- ① 気道としての硬さ:
ポリプロピレンメッシュ・リング
- ② 内腔面の上皮化: コラーゲンスポンジ

基礎研究 気道領域の再生医学

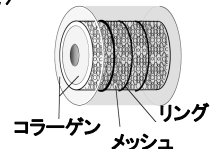
組織再生誘導型人工材料の構造

- メッシュ: ポリプロピレン
網目の大きさ $260\mu\text{m}$
(組織進入に最適の大きさ)



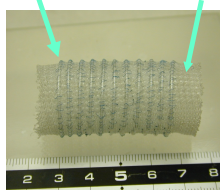
- 補強リング: ポリプロピレン
(気道枠組みに最適の硬さ)

- コラーゲン: ブタ皮膚由来
1%, type 1 & type 3
熱架橋 140°C 、24 時間
(組織再生に最適の足場)



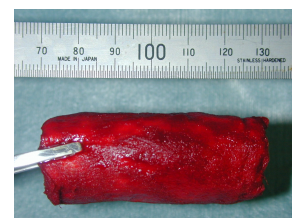
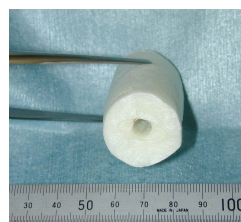
組織再生誘導型人工材料

補強リング ポリプロピレン
メッシュ コラーゲンスポンジ



基本特許 ・人工喉頭
・コラーゲンから成る薄フィルム多房状構造体、それを含む組織再生用部材、及びそれらの製造方法

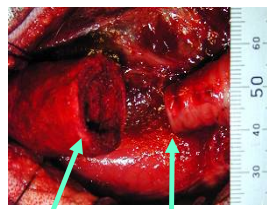
人工材料の外観(右は血液湿潤後)



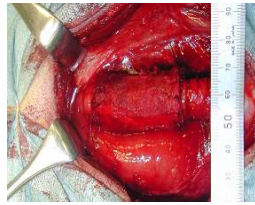
移植前に自己の血液で湿潤させる

手術法:気管管状切除後の再建

(ビーグル犬)



両気管断端を
人工材料の内腔に
入れて縫合

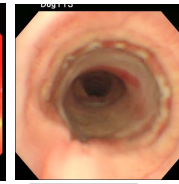
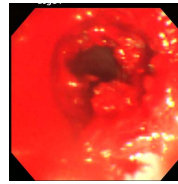


人工材料 気管断端

(Teramachi, Nakamura, et.al ASAIO J. 1995)

気管支鏡所見

術直後

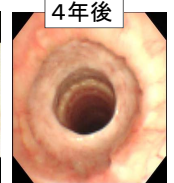


2ヵ月後

犬24頭に移植
全例再狭窄なし
最長5年の観察



10ヵ月後



4年後

摘出気管(術後1年)



線毛上皮

結合組織

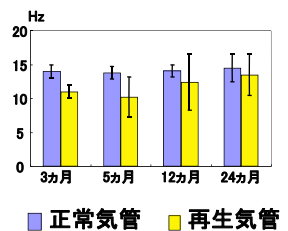
リング

ポリプロピレンメッシュ

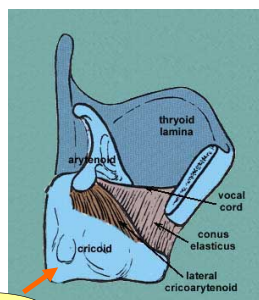
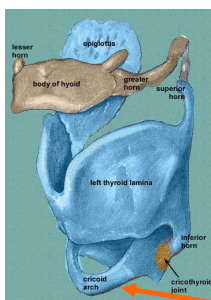


線毛上皮細胞の機能評価

線毛の打数を測定



輪状軟骨の解剖



弓部

輪状軟骨

体部

人工材料の外観(右は血液湿潤後)



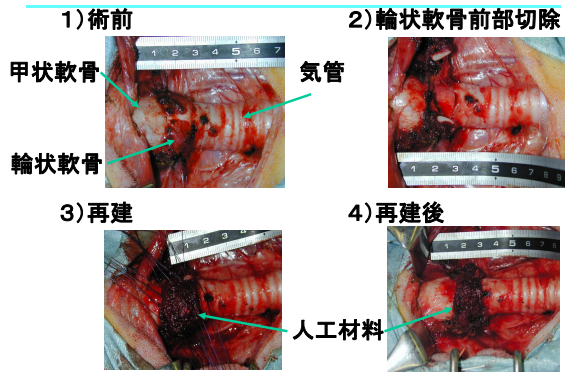
人工気管と同様の材料



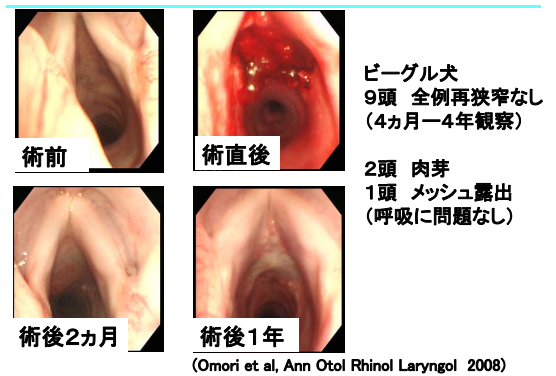
切除範囲に応じて
1/2-2/3周を移植

(Omori et al, Ann Otol Rhinol Laryngol 2004)

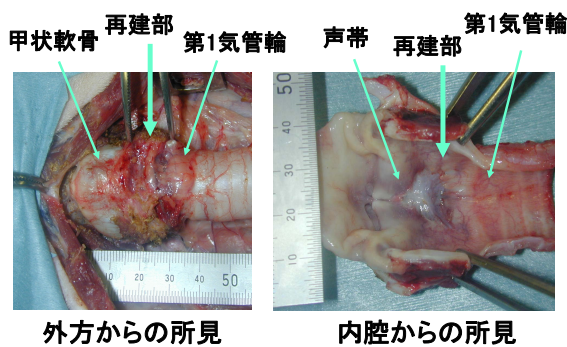
手術法 (ビーグル犬)



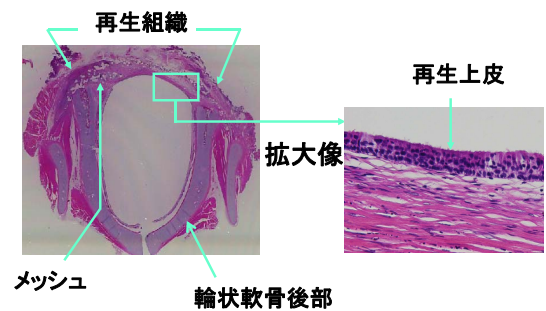
術前後の内視鏡所見



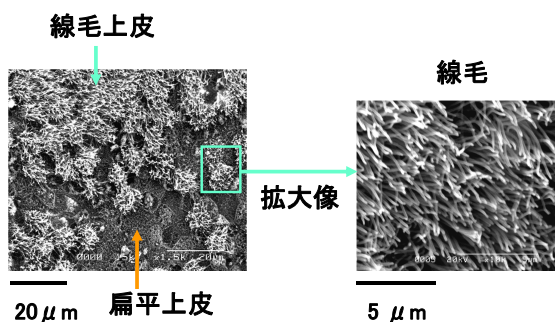
マクロ所見 (術後4ヶ月)



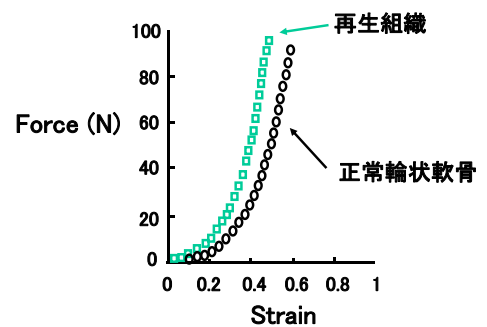
HE染色組織像



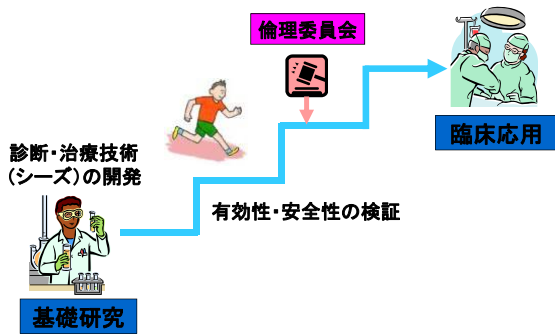
走査型電子顕微鏡像



機械的圧縮試験



トランスレーショナルリサーチ
(基礎研究の成果を臨床の場へと応用、橋渡しする研究)



臨床応用
気道領域の再生医療

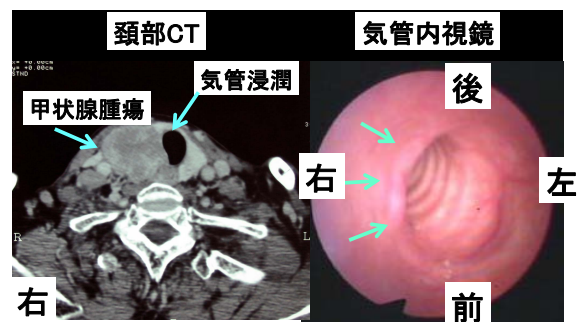
喉頭・気管の組織再生誘導治療

「喉頭・気管の再生治療」のヒトへの実施承認

- 平成14年 京都大学医学部倫理委員会
- 平成15年 福島県立医科大学医学部倫理委員会

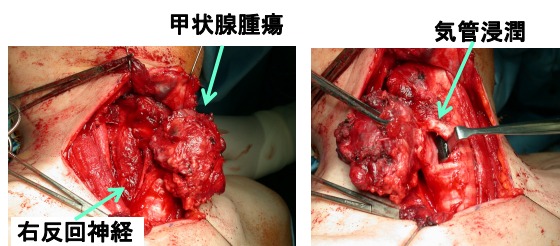
➡ 頸部気管、輪状軟骨の部分欠損の再建から臨床応用開始

甲状腺癌気管浸潤例(症例1)(79歳女性)

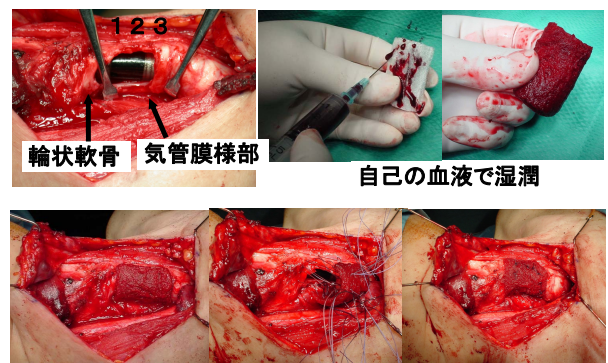


術中所見(1)

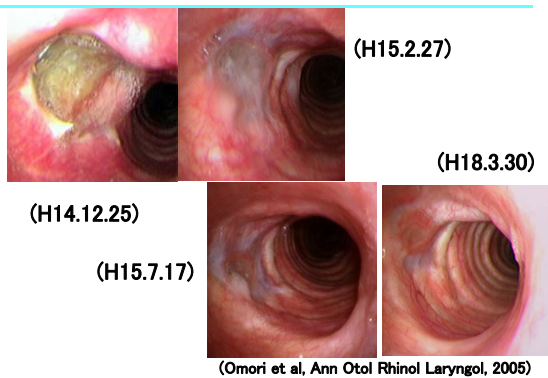
術式: 甲状腺右葉切除術、気管切除術
人工材料による気管形成術



術中所見(2)

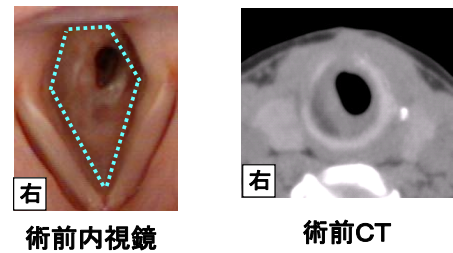


術後気管内視鏡所見

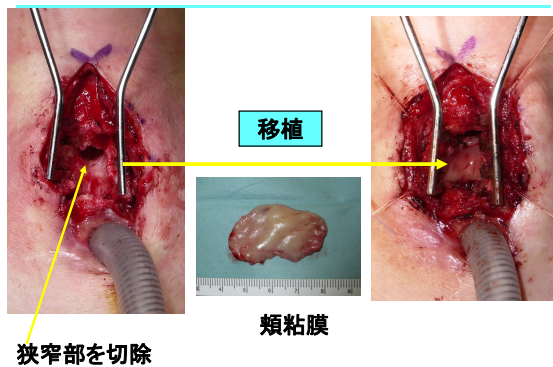


声門下・頸部気管狭窄(症例6)(49歳女性)

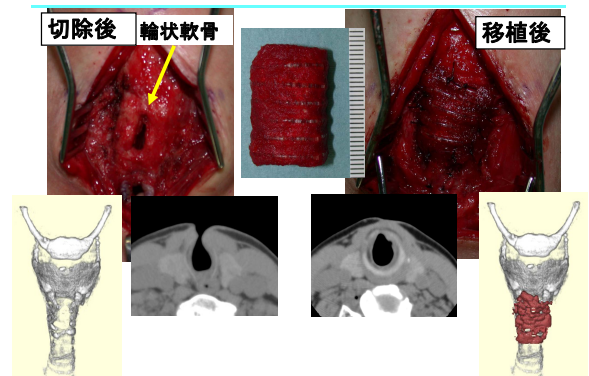
原因不明の呼吸困難で他院受診し気管切開術を受けた。
その後、気管狭窄症手術を受けるも再狭窄。
8ヵ月後、当科受診。



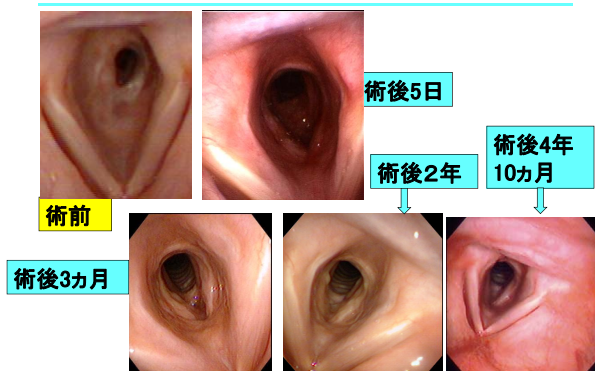
狭窄部瘢痕切除と粘膜移植



再建手術とCT所見



気管内視鏡所見



気道の再生治療:特徴

- 手術方法の工夫
- 既存の医療材料を利用
- 生体内で組織再生を誘導
- 低侵襲:複数部位の手術が不要
- 動物実験で最長5年の観察で安全性を確認
- 臨床での長期成績:再建手術後最長7年の観察で有効性安全性を確認

人工気管の実用化への課題

I. 医療機器として人工気管製造

設計と製造方法・工程を固定、作業日報作成
クリーンルームの設置、サニテーション、バリデーション
治験薬GMPで要求される文書の作成

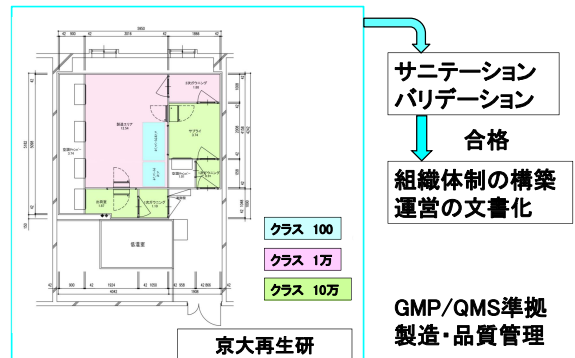
II. 非臨床試験

PMDAと事前面談実施
生物学的安全性試験の計画作成・開始

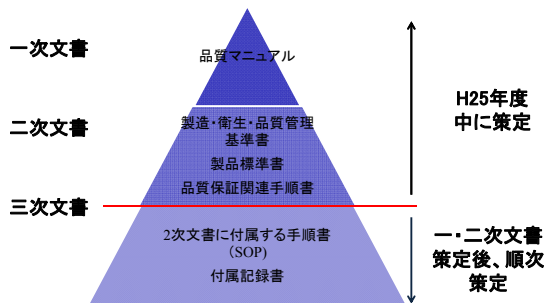
III. 臨床試験計画

臨床試験の制度調査・骨子の作成開始
製造販売企業との面談・交渉を継続的に実施

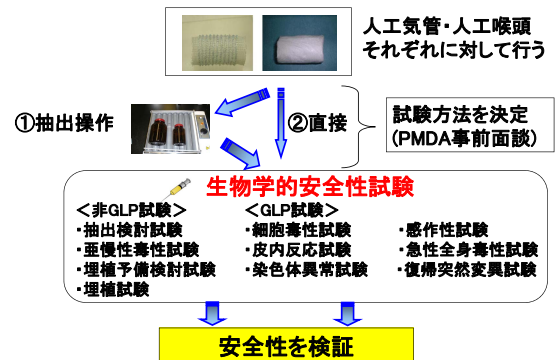
医療機器製造クリーンルーム



治験薬GMPで要求されている文書



非臨床試験での安全性検証



解決すべき課題と今後の展開

I. 幹細胞の同定

II. 細胞誘導・組織再生(上皮、軟骨、筋、神経など)

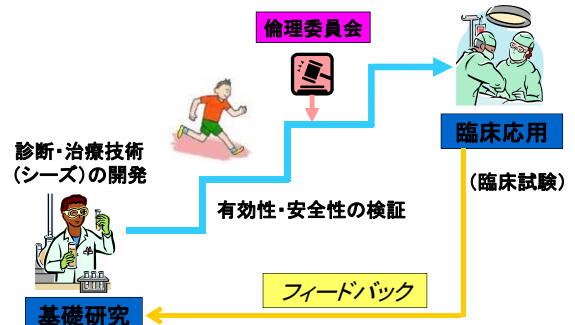
1. 上皮化の加速
2. 軟骨再生
3. 形態の再現(声帯隆起など)

III. 臓器再生

1. 部分再建から全周再建へ
2. 頸部気管から胸部気管へ
3. 実用化(一般臨床への普及)

トランスレーショナルリサーチ

(基礎研究の成果を臨床の場へと応用、橋渡しする研究)

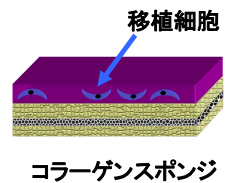


基礎研究 次世代型人工気管の開発

1. 気管上皮再生の加速

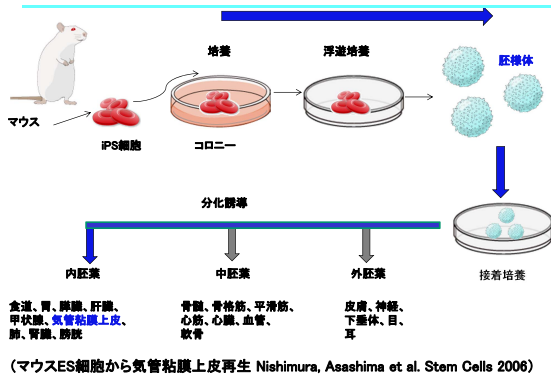
新規人工材料の開発

- (1) 気管上皮細胞
- (2) 線維芽細胞(気管、口腔粘膜)
- (3) 脂肪組織由来幹細胞・細胞群
- (4) ビトリゲル
- (5) iPS細胞

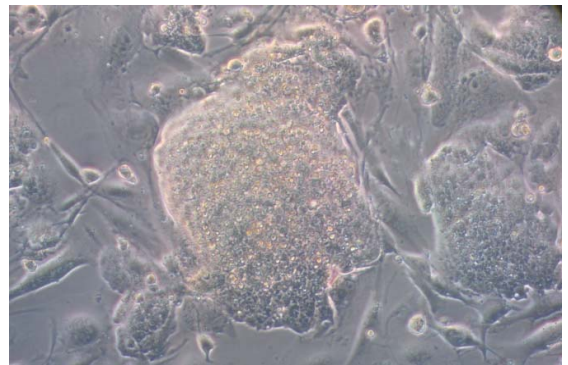


In vitro / in vivoでの移植実験

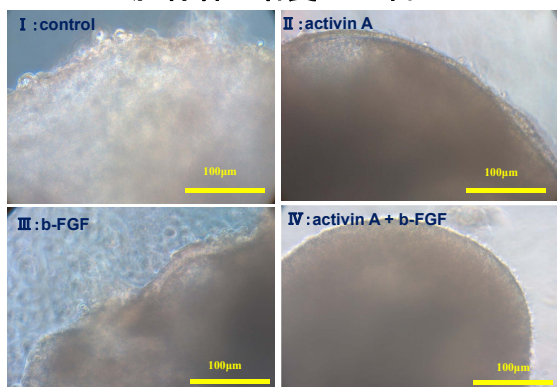
(5) マウスiPS細胞から気管粘膜上皮再生



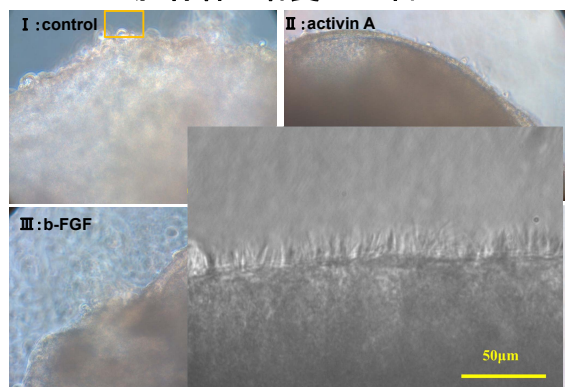
iPS細胞のコロニー



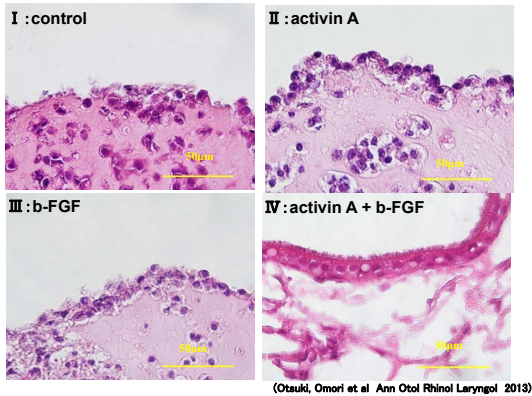
胚様体 培養14日目



胚様体 培養14日目



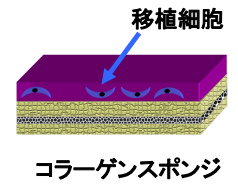
胚様体 培養14日目



2. 気管軟骨再生

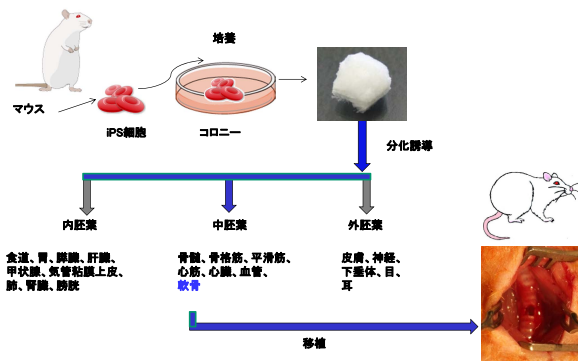
新規人工材料の開発

- (1) iPS細胞
- (2) 培養軟骨細胞

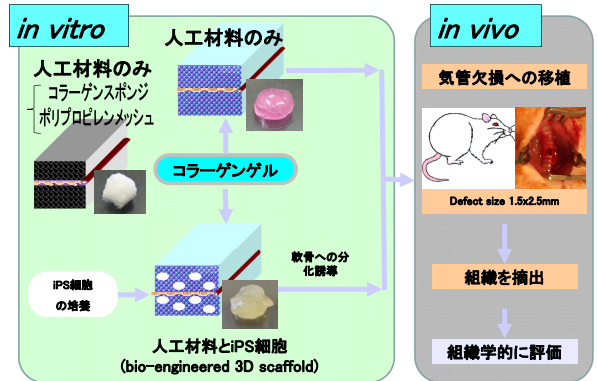


in vitro での分化誘導実験
in vivo での移植実験

(1) マウスiPS細胞から気管軟骨再生

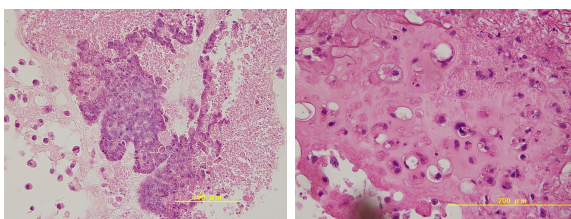


iPS細胞を用いた軟骨細胞・組織再生



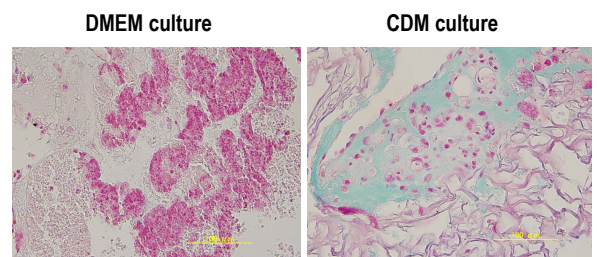
Results: *in vitro*

H&E stains



軟骨様細胞再生

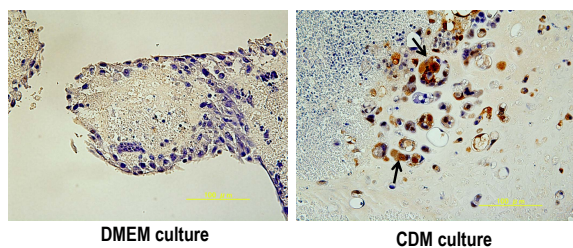
Chondrogenic differentiation of iPS cells (Alcian blue stains)



No stain with Alcian blue

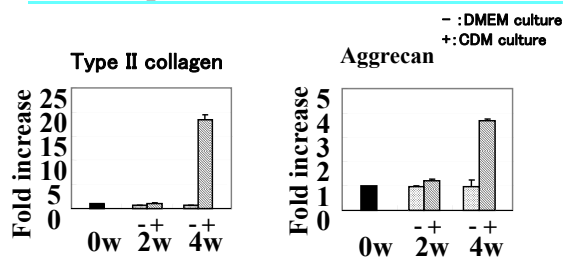
Alcian blue stain around chondrocytes

Immunohistochemistry S-100 protein (chondrocyte-associated protein)



軟骨細胞関連蛋白の発現が認められた。

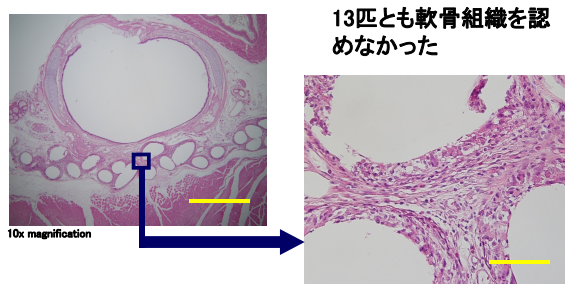
quantitative RT-PCR



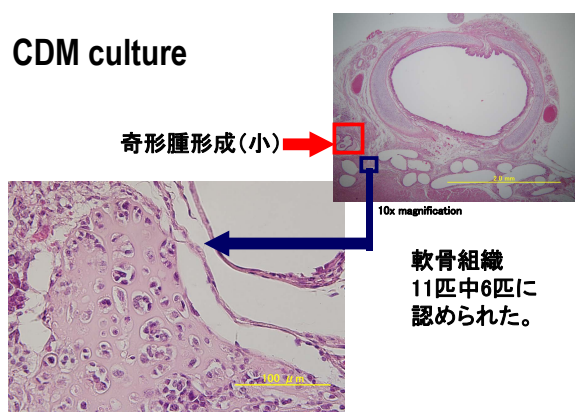
軟骨特異的遺伝子の発現が認められた。

Results: *in vivo*

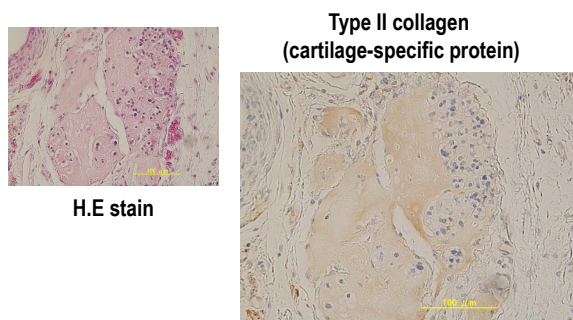
Control (without iPS cell, DMEM)



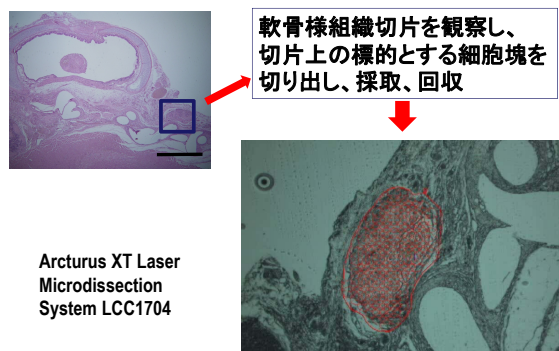
CDM culture

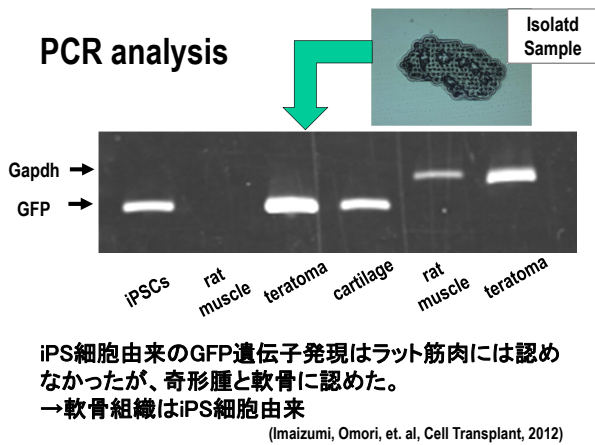


Immunohistochemistry (bio-engineered scaffold)

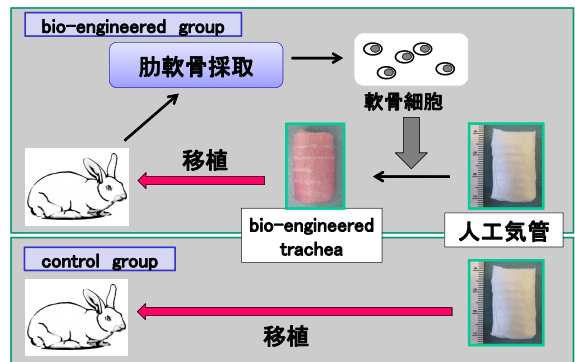


Laser Microdissection

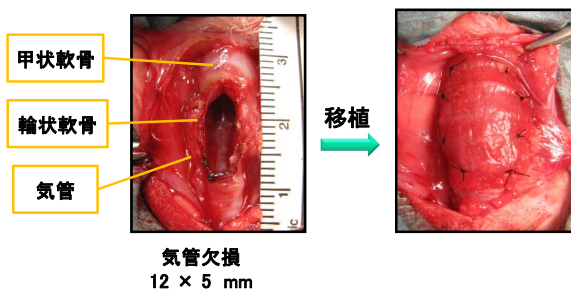




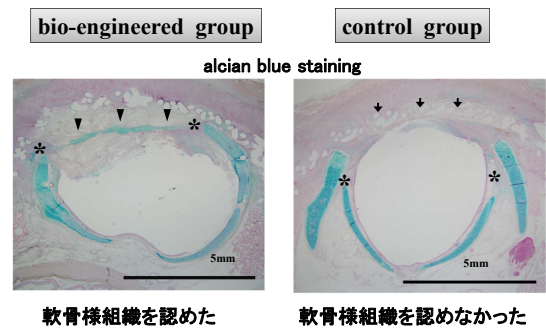
(2) 自家培養軟骨細胞



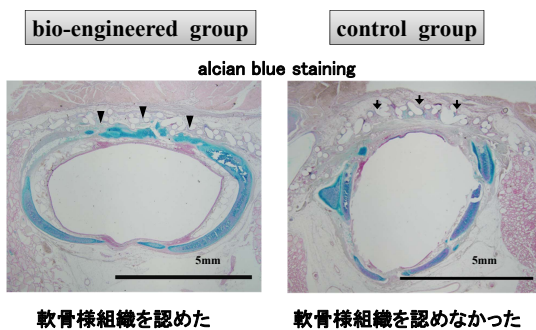
軟骨細胞を付加した人工材料の移植



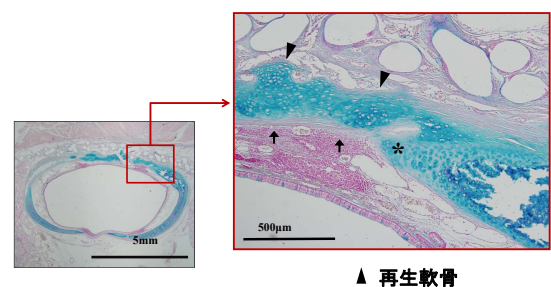
結果 移植2週間後



結果 移植8週間後



結果 移植8週間後(拡大像)



(Nomoto M, Omori K, et.al Laryngoscope in press)

喉頭・気管再建における気道枠組み再生

気道枠組みに求められる要件

1. 硬さ
2. 長期的維持
3. 内腔粘膜再生

気道枠組み再生のアプローチ

1. 人工材料(非吸収性)
2. 軟骨再生
3. 上皮再生

共同研究者

福島県立医科大学医学部

耳鼻咽喉科学講座

多田靖弘、野本幸男、鈴木輝久、
今泉光雅、谷亜希子、大槻好史

細胞統合生理学講座

吉江 進、仲江川雄太

細胞科学研究部門

狭間章博、三宅将生

京都大学

和田郁夫

再生医科学研究所

中村達雄

北野病院 耳鼻咽喉科

金丸眞一、山下 勝

京都医療センター

安里 亮

農業生物資源研究所

竹澤俊明

気管・喉頭軟骨再生医療と動物実験について

京都大学再生医科学研究所

中村 達雄

軟骨の再生・修復に関する動物実験は種々の動物を用いて行なわれてきたが、それらは軟骨の分化誘導実験に関する生物学的な動物実験と、臨床を目指した動物実験の2つに大きく分類できよう。本 WG は次世代医療機器に関する評価指標作成を目的とするものであり、本稿では臨床応用の前段階としての動物実験を中心にまとめる。

【軟骨と分化のしくみ】

軟骨は大きく分けて硝子軟骨、弾性軟骨、線維軟骨の3つに分類される。気管軟骨・喉頭軟骨は関節軟骨と同じ硝子軟骨で、その構成コラーゲンは **type II** である。ただし、喉頭のフタに相当する喉頭蓋は耳介と同じく弾性軟骨である。対照的に椎間板や半月板などは線維軟骨で、その構成コラーゲンは **type I** である。

軟骨細胞は中胚葉由来の間葉系細胞に由来し、その分化の際には転写因子 **Sox9** が中心的役割を果たすといわれる。分化にはプロスタグランジン、 $TGF-\beta$ 、FGF などの **signal molecule** も関与しており、なかでも FGF とそのリセプターは軟骨の発育成長に大きな役割を果たしている。先天性の軟骨無形成症 **achondro-plasia** をはじめとする骨軟骨形成異常はこの FGF のリセプターである FGF-R 3 グループの異常が原因である。また先天性の骨軟骨疾患のいくつかは軟骨を構成する **type II** コラーゲンの形成異常と関連する。

骨の長軸方向への発育に関しては、長管骨の骨端に現れる成長軟骨板が中心的役割を担っている。そのため発達過程の小児では骨端部の成長軟骨板に損傷を受けると変形や発育障害を残す。整形外科の臨床で従来から用いられている **Salter-Harris (SH)** 分類は、骨端軟骨板の損傷形式による分類であり、骨端軟骨板の損傷形式が予後と関連するために広く用いられている

軟骨の分化誘導に関しては、分子生物学の進歩により関連遺伝子などが解明されつつある。しかしながら、軟骨の維持・修復のメカニズムに関してはいまだ不明な点も多く、iPS細胞やES細胞のような未分化な細胞を成熟した軟骨細胞に誘導分化させ、望み通りの形状を維持できる段階には至っていない。

【軟骨再生と再生医学：Langer R の歴史的論文と Vacanti CP の耳介ネズミ】

成人の関節軟骨は血管・神経・リンパ管を含まない組織で、それを構成する軟骨細胞は主に関節液から栄養を得ているという特性がある。従って軟骨細胞の再生には、培養液の中で組織を作る組織工学の手法が向いている。

21世紀の夢の医療として再生医学が注目を集めるようになったのは、MIT の Langer R とハーバードの Vacanti JP が共著で 1993 年に科学雑誌 Science に Tissue Engineering という総説を発表してからである。この論文は再生医学の幕開けを告げる歴史的な論文であり、その中で軟骨再生はドパミン産生細胞と真皮とともに組織工学の応用例として紹介されている⁽²⁾。しかし、この論文中の軟骨組織の病理組織写真 (Fig. 3) には不思議なことに組織再生の足場として使われたはずの scaffold がまったく見られない。この手法を用いて作ったとされる Vacanti CP (Vacanti JC の弟)らの耳介ヌードマウスは再生医学の看板としてしばしばマスコミにも紹介されてきたが、その後の観察で培養シャーレの中で作られたこの tissue engineered 軟骨は人体に移植すると、早晩萎縮消退してしまうことが判明した。これらのことから、この Science 誌に掲載された歴史的論文⁽²⁾ の Figure 3 に疑問を感じている研究者は少なくない。

【再生医学（組織工学）の限界と新しい *in situ* Tissue Engineering】

組織工学 (Tissue Engineering) は再生医学を支える基幹技術であり、シャーレの中で組織や臓器を再生させて、欠損した部分に補うというコンセプトによるものである。しかし、ハーバードの Vacanti CP らのグループがこの手法で再生した軟骨は実際の臨床で萎縮消退してしまった。これはシャーレの中で足場の形状に作成されたはずの軟骨組織が、患者の体内という別の環境に移された結果、培養液の中で作られたときの形状を保持できなかったことによると考えられる。

そこで、この欠点を克服するために新しいコンセプトの再生医学が日本で考案された。それが *in situ* Tissue Engineering (生体内再生)⁽³⁾である。それまでの組織工学がシャーレや培養器の中で組織を作るのに対し、この方法は初めから患者の体内に足場を置くことにより、いわば患者の体を培養器としてその場所、すなわち *in situ* で組織を作るものである。この日本で開発され、現在臨床で使われている自己組織再生型の人工気管はこの *in situ* Tissue Engineering に基づくものである^{(4), (5)}。

【軟骨再生に用いる細胞の種類】

再生医療で組織を再生させる場合には足場（scaffold）と増殖因子と細胞という三つの要素が柱になる。このうち細胞に関しては、患者本人の細胞を使う手法と、他人から採取した細胞を使う手法が考えられる。後者の場合は他者の細胞を使うため、免疫抑制剤の使用のもとに行われる。

いったん分化してしまった細胞はそれぞれ寿命が決まっており、最終的にはアポトーシスを起こして死滅する。そのため患者本人から採った軟骨細胞を培養増殖させて軟骨組織をつくっても、分化した軟骨細胞だけでは移植後しだいに組織は減少消退してしまう。従って組織を維持するためには、その組織の幹細胞や前駆細胞が必要になる。そういった未分化で増殖能を持った細胞として ES 細胞や i P S 細胞などが注目され、再生医療への応用が期待されてきた。以下に動物モデルと関連のある代表的な 4 種類の細胞について特徴と問題点をまとめてみる。

- 1) iPS 細胞・・・従来一旦分化した細胞は、癌化するとき以外は未分化な状態へ逆戻りすることはないと考えられていた。山中伸弥教授らはこの常識を覆して、分化した成熟細胞にウイルスを使って四つの転写因子を導入し、未分化な状態に戻すことに成功した。これは患者本人由来の細胞であるため免疫抑制剤が不要であるはずである。また倫理面の問題もクリアできることで臨床応用に期待が高まった。しかしながら、i P S 細胞は遺伝子組み換え細胞であるため、それを動物に用いた場合には、その動物は遺伝子組み換え動物として「遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物多様性の確保に関する法律」（カルタヘナ法）の規制の対象になる⁶⁾。また最も懸念されるのは、こういった未分化な細胞は癌化する危険性が高いということである。人為的に遺伝子を操作した細胞においては、なおさらのことである。そのため、臨床使用に関しては十分な動物実験、寿命の長い動物を使った長期観察による安全性の確認が必要不可欠と考えられる。

2) ES 細胞・・・胚性幹細胞（embryonic stem cell）

発生初期段階の胚盤胞期の内部細胞塊から作られる多分化能を持った細胞で、人為的に遺伝子を組替えていない細胞である。これを患者に使った場合の抗原性や移植免疫への影響に関しては実験で確かめることができないため不明である。ヒト ES 細胞は受精卵から作られるため倫理面での問題が指摘されていて、

特に生命の誕生は受精の瞬間からと考えるキリスト教の立場からは、ヒト E S^{いのち}細胞研究に対する抵抗は強い。ちなみに 2011 年 10 月 18 日に欧州連合司法裁判所の大法廷(Größe Kammer)はヒト E S 細胞に特許性があるかを審判した際、ヒト E S 細胞の研究自体が公序良俗に反するという判断を下している^(7),8)。この判決は上告できない最終判決である点を考えると、グローバルな視点から見て、日本でヒト E S 細胞の研究を続けて良いかどうかを検討すべき時期に来ていると思われる。

- 3) 骨髄幹細胞・・・骨髄にある未分化な細胞で、組織幹細胞の一つ。MSC (Mesenchymal Stem Cell) との間葉系ストローマ細胞 (Mesenchymal Stromal Cell) とも呼ばれ、これを再生医療に用いる研究が進められている。患者本人から採取した骨髄穿刺液は多量の MSC を含有するため、それを直接使用することもある。また培養増殖させて使ったり、誘導分化により目的の組織に分化させて使う手法も検討されている。これも自己細胞なので基本的には免疫抑制剤の使用が要らない点で臨床応用に適した方法と考えられる。患者から採取した骨髄を培養増殖させて使用する場合、培養設備や方法が様々な規制の対象になる。一方、手術場で採取した穿刺骨髄液をその場で患部に用いる *in situ* Tissue Engineering の手法は、手術場で行われている骨移植と同様に簡便にできるため臨床応用へのハードルは低い。
- 4) ADC・・・ADC (Adipose derived Cell) または ADSC (Adipose Derived Stromal Cell) とも呼ばれる未分化な細胞が脂肪組織に存在する。脂肪は皮下に大量にあり、骨髄に比べて採取が簡便である。採取した脂肪組織から ADC を含んだ単核球層を分離する装置も市販されており、形成外科領域ではすでに臨床応用が行われている。

【これまでに報告された主な tissue-engineered 気管（軟骨）を用いた再建研究】

1. ハーバードの Vacanti CA らのグループによる気管軟骨再建実験
羊の鼻中隔軟骨から採取した軟骨細胞をポリグリコール酸 PGA 不織布に播種して作った管状軟骨組織を羊の気管に埋込んだ⁽⁹⁾。2～7 日で気管狭窄で全頭死亡している。その後はヌードマウスに埋込んでいる⁽¹⁰⁾。

2. Macchiarini P による臨床での気管再建

死体気管から細胞成分を除去した管状 Scaffold を作製、そこに患者から採取した上皮細胞と MSC 由来の軟骨細胞をそれぞれ培養増殖させ管状 Scaffold の内外に播種したものを、30 歳の女性患者の左主気管支に埋入して成功したと Macchiarini P は 2008 年に報告している⁽¹¹⁾。術後観察期間は 4 か月。この論文において Macchiarini P は臨床応用を行なう根拠となる実験データとして彼らの 2 つの文献をあげている^{(12), (13)}。ただし、これら 2 つの文献を詳細に検討すると、どちらも気管の再建実験ではなく皮下埋入による組織反応の検討しかしていなかったことがわかる。論文が発表されて 2 年後の 2010 年に、雑誌に掲載された彼らが行なった動物実験⁽¹⁴⁾では、2008 年に行なった臨床例と同様の手法で作製した tissue-engineered 気管をブタに埋入しているが、その観察期間はわずか 60 日であった。さすがにこの点は論文の査読者も指摘している。さらに 2011 年には Macchiarini P はポリウレタン系の合成素材 (POSS-PCU: polyhedral oligometric silsesquioxan (POSS) covalently bonded to poly- [carbonate-urea] urethane [PCU]) で作った scaffold に患者の骨髄単核球を播種して 36 歳の男性患者の遠位気管と主気管支に埋入したと報告している⁽¹⁵⁾。合成素材を使った理由として Macchiarini P は donor shortage をあげている。この論文も詳細に読んでみると、大型動物で気管の再建実験を行なって安全性や長期予後を確認した形跡がみられない。

【胸部外科における経験：軟骨膜の果たす役割】

昭和 20 年代後半から 50 年代には、結核に対する外科手術療法として胸部形成術が行われていた。これは肺内の空洞性結核病変を虚脱させる目的で第 1～4 肋骨を切除し肺尖部の胸郭を押しつぶす術式であった。その際に肋骨床で切除する肋骨・肋軟骨を骨膜・軟骨膜から剥離して、骨実質だけを切除していたが、胸壁上に残された骨膜に術後時間が経つと骨性組織が出現し、肋骨の支持を失った胸壁がしだいに固くなる現象がしばしば観察された。この胸壁の硬化は呼吸による胸壁の奇異性動揺を減少させるうえで役立っていた。

小児の胸郭変形疾患である漏斗胸に対する変形矯正手術では、変形した肋軟骨を切除しても肋軟骨膜を残せば肋軟骨が修復再生する。この術式においては軟骨膜の

血流を保ったまま胸壁上に残すことが肝要である。

このように肋骨・肋軟骨の修復再生には骨膜・軟骨膜が重要な役割を演じている。骨は骨髓までとどく血管により栄養が維持されているが、軟骨は血管を含まない **avascular** な組織であるため、軟骨実質だけでなく軟骨膜の再生も重要な研究課題であろう。

【動物モデルと動物種】

人間の気管は全長が10 cm、直径は2 cm程度である。このサイズに近い気管を有する動物種はイヌ、ブタ、羊で、これら動物種がこれまで気管再建動物モデルとして使われてきた。

1. 犬を用いた気管再建の実験

イヌの気道欠損モデルを用いた気管再生研究には長い歴史がある⁽¹⁶⁾。20 kg程度の成犬でも気管のサイズは人間に近い。15年以上生きるビーグル犬では10年以上の長期観察も可能である。欧米では動物愛護の見地から愛玩動物（ペット）の代表であるイヌは動物実験に使うことに抵抗感が強い。そのため食肉用の家畜として認識されているブタや羊を使用することが多い印象がある。尤も知能の点からいうと、ブタはイヌより高い知能を持つと考えられている。

2. ブタ/ミニブタを用いた気管再建実験

ブタをつかった気管再建動物実験も行われている⁽¹⁷⁾。気管の再建実験で問題になるとすれば、発育スピードであろう。成豚の体重は300kgを超える。長期安全性の確認には、最低3年から5年の観察が必要となるが、ミニブタを使ったとしても短期間に体重が100kgを超えてしまう。このため数か月から一年以内の短期間の観察にしか向かないのが難点である。

3. 羊を用いた気管再建軟骨

羊も欧米では気管再建実験に使われる。日本では羊を使った実験は行われてこなかったように思う。前述のハーバードの Vacanti CA のグループが羊の鼻中隔の軟骨細胞で軟骨筒を作って気管としての応用を検討した報告⁽⁹⁾や、パリにある Broussais 病院のグループの aortic allograft による気管分岐部再建研

究が有名である^{(18), (19), (20)}。

4. 小動物モデルと気管再生

軟骨の発生や誘導分化に関してはマウスを用いた研究が主流であるが、これはマウスの全ゲノムが解明され、遺伝子や抗体なども整備されているからであろう。しかし臨床を前提とする動物実験においてマウス、ヌードマウス、ラット、ウサギなどの小動物はサイズが小さすぎて物性の検討が十分にできない。またラットやマウスの寿命はせいぜい2年程度しかないため、長期の観察が出来ないなど、治療法の評価モデルとしては適しているとは言えない。

気管・喉頭の再生の動物実験モデルとして確立した系は現在のところない。医療が安全に患者の回復に貢献できるように、前臨床の動物実験においては目的に適合した動物種を選択することが重要であろう。

【コンポジットグラフトの移植と軟骨の再生医療】

気管軟化症 (tracheomalasia)⁽²¹⁾に対する外科的な治療法として1950年代半ばに Nissen R らによって気管膜様部 *pars membranacea* を自己肋骨片で補強する術式が開発された⁽²²⁾。この際に埋植された肋骨片も術後に時間が経つにつれて吸収されてしまうことが判明した。移植医療の現場においては血流再建していないコンポジットグラフトは生着しないことが知られている。自家肋骨を陰茎再建に併用した場合も、肋骨片は遊離で移植すると時間が経つと吸収されてしまうことが知られている。軟骨は *avascular* な組織であるため阻血には強いとされているが、Vacanti CP らが組織工学の手法でつくった再生軟骨が患者に移植された後に委縮消退してしまったことを考えると、直ちに気管・喉頭といった患者の生命にかかわる場所に再生軟骨を応用することはできない。動物実験で長期観察を行い、安全性と効能の評価を確認したのちに使用することが重要であろう。

【動物実験と医療倫理：ニュルンベルク綱領のことなど】

新しく開発された医療技術や材料を臨床に用いる前には、動物実験でその安全性と有効性を確認することが不可欠である。安全性と有効性を動物実験で確認せずに臨床に用いる行為は、第二次大戦中にナチスドイツの強制収容所で行なわれた人体実験と何ら変わることがない。今日、医療倫理の指針としてはヘルシンキ宣言が用

いられているが、歴史的に見ると医療倫理の根源となったのはニュルンベルグ綱領 (The Nuremberg Code) ⁽¹⁾ であり、これは第二次世界大戦中にナチスドイツの医師たちが強制収容所でユダヤ人を用いて行なった人体実験を裁いたニュルンベルグ裁判の際に定められたものである。ヘルシンキ宣言はこの延長線上にある。ニュルンベルグ綱領は全 10 条からなり臨床研究をするにあたって厳守すべき 10 項目が定められているが、第 3 条で **The experiment should be so designed and based on the result of animal experimentation and knowledge of the natural history of the disease or other problem under study that the anticipated results will justify the performance of the experiment** と動物実験の結果が臨床実験をデザインする前提条件として不可欠であると明瞭に位置付けられている。人間を **subject** にする臨床実験をデザインするには動物実験の結果に基づかなければならないということを初めて明文化した判断として画期的なものであった。

過去の **tissue-engineered airway** の臨床報告を検討すると、十分な動物実験による長期安全性、有効性の確認をすることなく使われていた事例も見られる。無駄な動物実験はすべきでないことは論を俟たないが、十分な動物実験で安全性と有効性を確認した上で臨床研究や治験に進むべきなのは明白である。

(参考文献)

- (1) The Nuremberg Cord: Trials of War Criminals before the Nuremberg Military Tribunals under Control Council Law, No.10, Vol.2, pp181-182. Washington, D.C., U.S. Government Printing Office, 1949.
- (2) Langer R and Vacanti JP: Science, 260: 920-926, 1993
- (3) Hori, Y., Nakamura, T., et al: Experimental study on *in situ* tissue engineering of the stomach by acellular collagen sponge scaffold grafting. ASAIO J 47: 206-210, 2001
- (4) Nakamura, T., et al: *In situ* Tissue Engineering for tracheal reconstruction using a luminal remodeling type of artificial trachea. J Thorac Cardiovasc Surg 138: 811-9, 2009
- (5) Omori, K., Nakamura, T., et al: Regenerative medicine of the trachea: The first human case. The Annals of Otology, Rhinology & Laryngology 114: 429-433, 2005
- (6) 遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律。
(<http://law.e-gov.go.jp/htmldata/H15/H15HO097.html>)
- (7) Urteil des Gerichtshof (Groß Kammer) 18, October 2011, Richtlinie 98/44/EG
- (8) Alison Abbott: 欧州でのヒト ES 細胞研究にブレーキ. Nature Japan 480: 310-312, 2011
- (9) Kojima K, et al: Autologous tissue-engineered trachea with sheep nasal chondrocytes. The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery, 123: 1177-1184, 2002
- (10) Kojima K, et al: Tissue-engineered trachea from sheep marrow stromal cells with transforming growth factor β 2 released from biodegradable

- microspheres in a nude rat recipient. *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*, 128: 147-153, 2004
- (11) Macchiarini P, et al: *Lancet*, 372: 2023-2030, 2008
 - (12) Kojima, K., Tabata, Y., et al: Tissue-engineered trachea from sheep marrow stromal cells with transforming growth factor β 2 released from biodegradable microspheres in a nude rat recipient. *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery* 128: 147-153, 2004
 - (13) Jungebluth P, et al: Structural and morphologic evaluation of a novel detergent-enzymatic tissue-engineered tracheal tubular matrix. *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery* 138: 586-593, 2009
 - (14) Jungebluth P, Macchiarini P, et al: Tracheobronchial transplantation with a stem-cell-seeded bioartificial nanocomposite: a proof- of-concept study. *Lancet* 378: 1997-2004, 2011
 - (15) Go T, Macchiarini P, et al: Both epithelial cells and mesenchymal stem cell-derived chondrocytes contribute to the survival of tissue-engineered airway transplants in pigs. *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery* 139: 437-443, 2010
 - (16) Tsukada, H., et al: Two-stage end-to-end reconstruction of long-segment tracheal defects with a bioabsorbable scaffold grafting technique in a canine model. *Ann Thorac Surg* 93: 1088-93, 2012
 - (17) Pearson SE, et al: Tracheal reconstruction with a synthetic material in a porcine model. *The Annals of Otology, Rhinology & Laryngology* 110: 718-722, 2001
 - (18) Seguin A, et al: Carinal replacement with an aortic allograft. *Ann Thorac Surg* 81: 1068-75, 2006

- (19) Martinod E, et al: Long-term evaluation of the replacement of the trachea with an autologous aortic graft. *Ann Thorac Surg* 75: 1572-8, 2003

- (20) Mohd Heikal MY et al: Autologous implantation of bilayered tissue-engineered respiratory epithelium for tracheal mucosal regeneration in a sheep model. *Cell Tissue Organs* 192: 292-302, 2010

- (21) Kelly A. Carden, et al: Tracheomalacia and Tracheobronchomalacia in Children and Adult. An In-Depth Review. *Chest* 127: 984-1005, 2005

- (22) Herzog H, Nissen R: *Schweiz Med Wochenschr* 84: 217-221, 1954

バイオマテリアルを用いた3次元軟骨の再生誘導 (平面から立体の再生誘導へ)

1. PGA: ポリグリコール酸.....吸収糸
2. PLA : ポリ乳酸顔面骨プレート
3. PCL : ポリカプロラクトン...人工硬膜
4. Prolene: プロリン腹壁補強材

近畿大学医学部形成外科
磯貝典孝

悪性腫瘍切除後の顔面変形



顔面変形



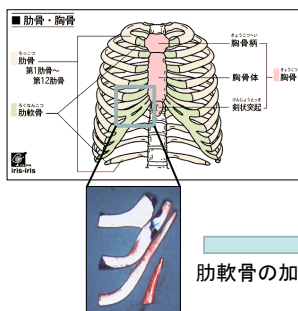
手術目標: 3次元形状の再現
↓
硬組織の再建

正常と病的耳介の形態異常



発生率: 0.025% (1/4000 birth)

小耳症に対する肋軟骨移植



肋軟骨の加工



小耳症治療の問題点

●複雑な3次元形状の再現が極めて困難



●肋軟骨採取後の生じる胸壁の瘢痕・陥凹変形

“3次元形態の創造”への挑戦

小耳症の外科治療の変遷

- ✓ Peer, PRS, 1954: Diced cartilage grafts
engineered in immuno-compromised models
- ✓ Tanzer, PRS, 1978: Costal cartilage graft
multiple surgery (4 times)
cartilage absorption
donor site morbidity
- ✓ Cronin, Clin Plast Surg, 1978: Silastic
infection and extrusion (high rate)
- ✓ Romo, Facial Plast Surg Clin North Am, 2006 :
Polyethylene
infection and extrusion

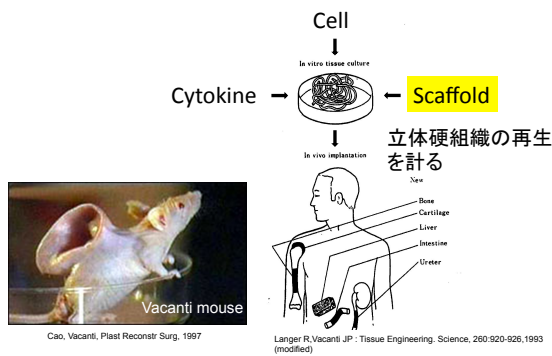


Tissue engineering を導入したヒト耳介形状軟骨の再生誘導？

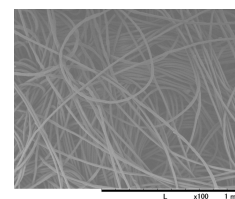
現状の治療オプション

フレームワーク	肋軟骨移植	人工物（高密度ポリエチレン）
いずれの治療方法も問題が大きい。		
手術 年齢（才） 回数	10 - 12 3 - 4 回	5 - 7 1 回
3次元形状	困難	prefixed
合併症	0.25% ドナー犠牲が大きい (4本の肋軟骨)	4% 感染・異物反応 対外へ排出

3次元軟骨の再生誘導における主要3因子



生分解性ポリマーの変遷



1997

PGA/PLA (メッシュ構造)
生分解速度: 4 ~ 6 週
利点: 栄養拡散が良好

Author	Cell source	Polymer
--------	-------------	---------

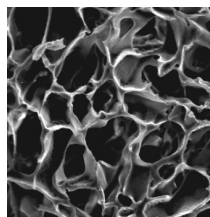
Cao Y	Bovine joint	PGA/PLA
-------	--------------	---------



課題

- 不十分な軟骨再生
- 長期間の3次元形状維持が困難

生分解性ポリマーの改良



2004

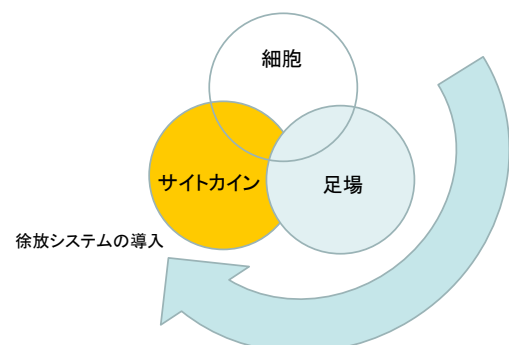
P(LA-CL) (スポンジ構造)
生分解速度: 4 ~ 6 か月
利点: 形状維持が良好

Author	Cell source	Polymer
--------	-------------	---------

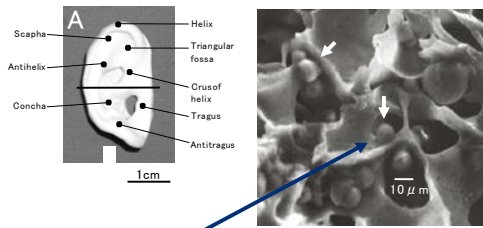
Isogai N	Bovine joint	P(LA-CL)
----------	--------------	----------

術後1年

ヒトへ臨床応用可能な技術とするには？



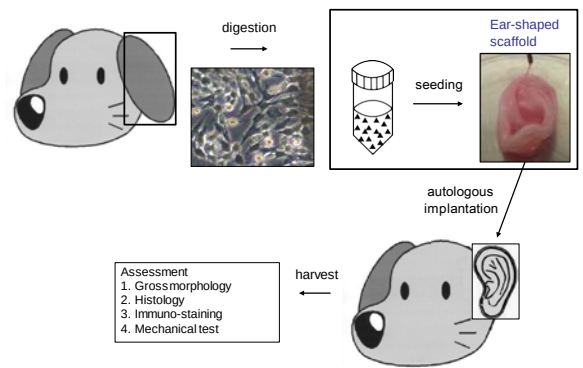
bFGF徐放システムの導入



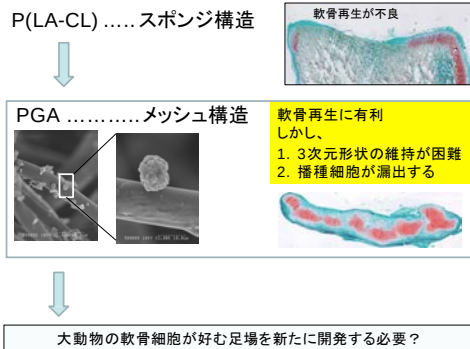
ゼラチン微粒子を用いたサイトカインの徐放
⇒軟骨再生が完了する移植期間が50%短縮した。

Isogai N, Morotomi T. Biomed material research, 2005

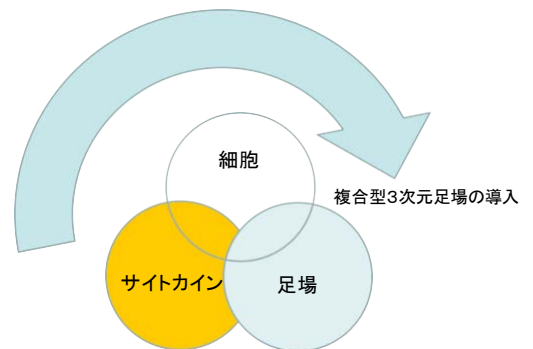
小動物モデルの基盤技術を大動物モデルへ応用



自家移植モデル(イヌ)における軟骨再生は不良！



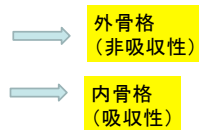
ヒトへ臨床応用可能な技術とするには？



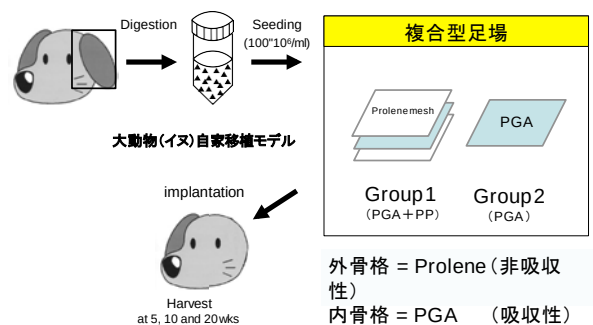
複合型3次元足場の導入

3次元足場の問題点として

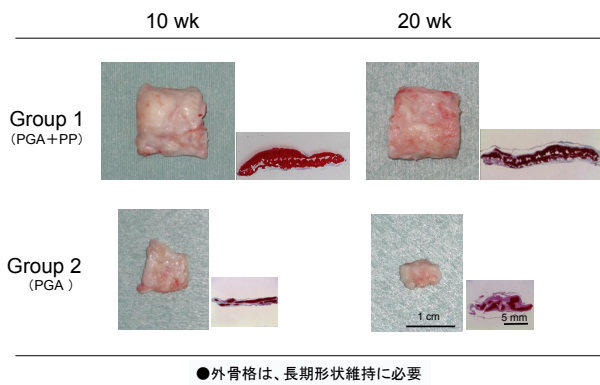
1. 3次元形状の長期維持
2. 播種細胞の漏出



外骨格は長期形状の維持に必要なか？

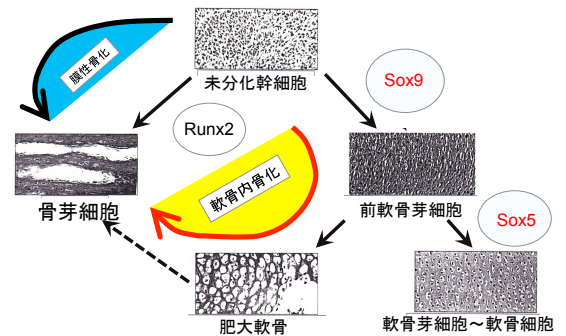


長期移植の結果

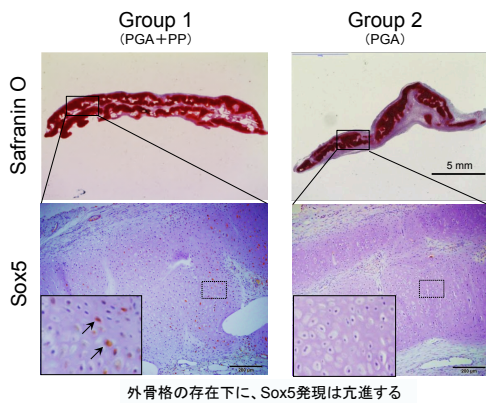


軟骨細胞の分化と転写因子

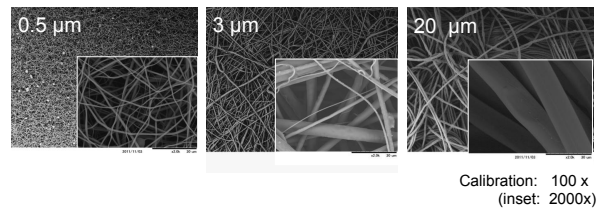
(Eames B, et al: Birth Defects Research 69:93-101, 2003より改変)



Sox5の遺伝子発現 (5 wk)

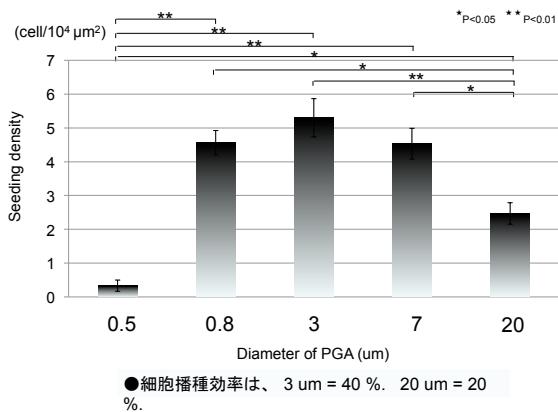


細胞漏出を防ぐ内骨格とするためには
どうすればよいか？

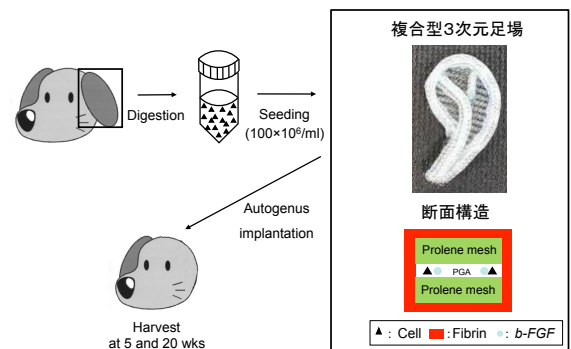


ナノPGAの導入を行い、最適な細径を検討した。

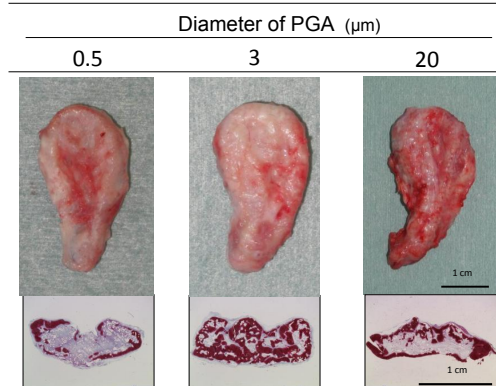
細胞播種効率



複合型3次元足場は、立体軟骨の再生誘導に有効か？



ヒト耳介形状軟骨の長期移植結果 (20wk)



力学強度テスト

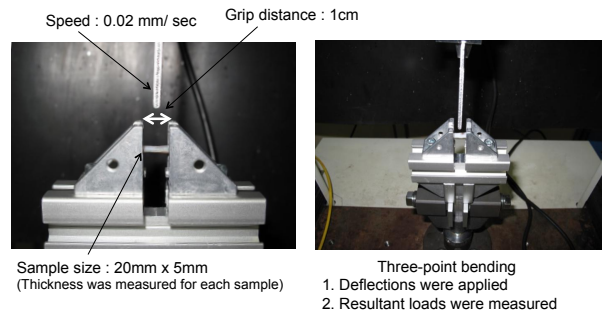
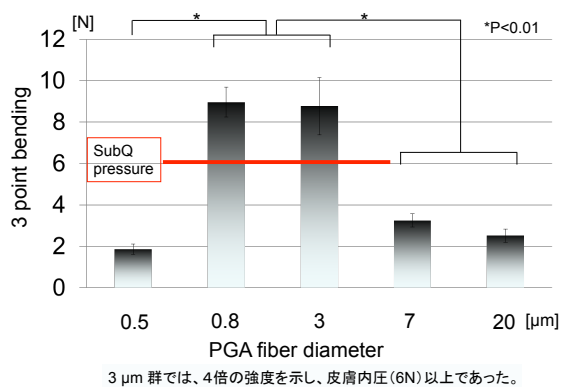
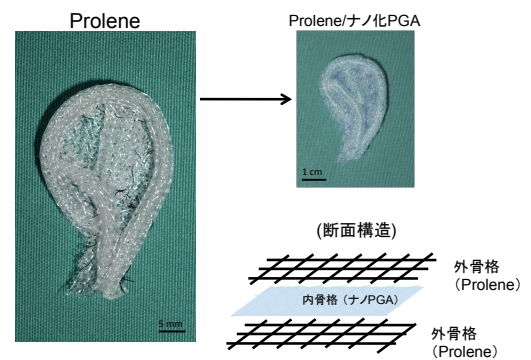


図5

移植20週目における力学強度の結果



形状維持における複合型 3 次元足場の有用性

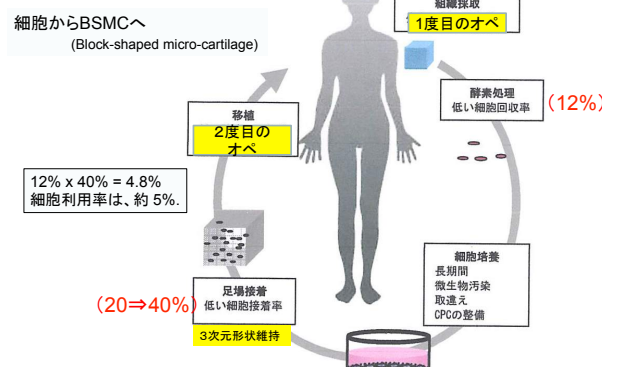


細胞播種効率を高めるためのナノPGAの有用性

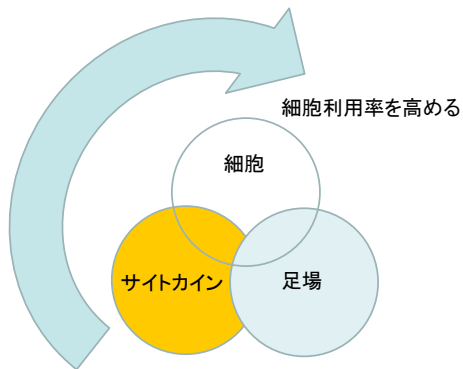
足場 (fiber diameter)	細胞播種効率 (actual cell number remained in PGA)
PGA (20 μm)	19 %
ナノ化PGA (3 μm)	38 %

ナノ化は、細胞播種効率を改善する新たな方法として有用

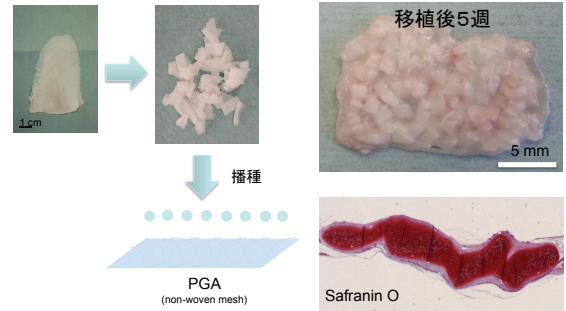
再生技術の今後の課題



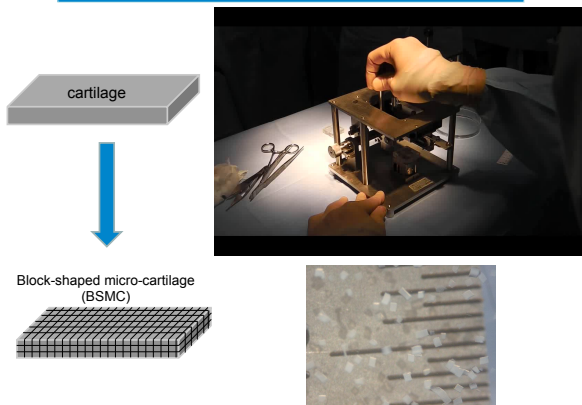
ヒトへ臨床応用可能な技術とするには？



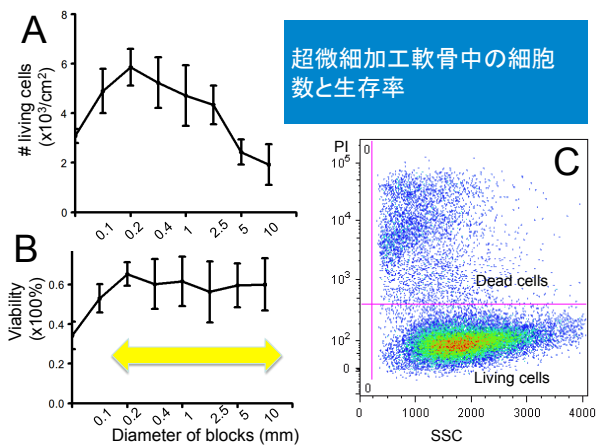
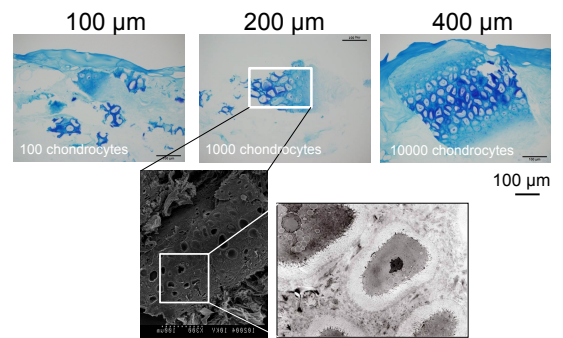
加工軟骨を用いた軟骨の再生誘導
(メス刃による細切)



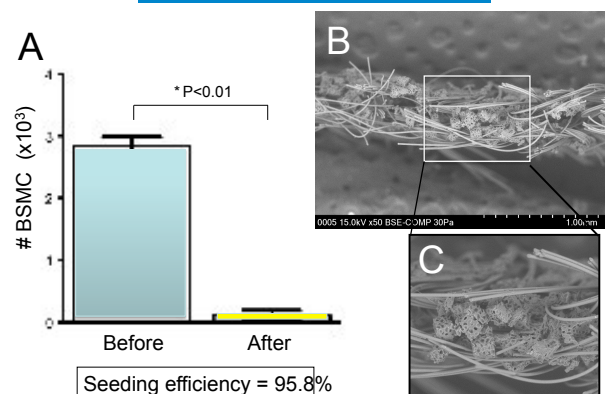
超微細加工装置の開発



超微細加工軟骨



超微細加工軟骨の播種効率



超微細加工軟骨の利点



1. 細胞活性を保つ細胞ブロックの作製
2. 3次元足場への接着が良好
(細胞の利用率が高い)
3. 細胞培養、CPC施設は不必要
4. 1回の手術で軟骨の再生誘導が可能

バイオマテリアル

1. PGA: ポリグリコール酸
2. PLA : ポリ乳酸
3. PCL : ポリカプロラクトン
4. Prolene: プロリン*

* 非吸収性

重合体を併用もしくは共重合体として利用



1. PGA/PLA
2. P(LA-CL)
3. Prolene/ナノ化PGA

ヒト弾性軟骨前駆細胞 操作法の現況

小林眞司 谷口英樹 前川二郎

神奈川県立こども医療センター 形成外科
横浜市立大学大学院医学研究科 臓器再生医学
横浜市立大学附属病院 形成外科

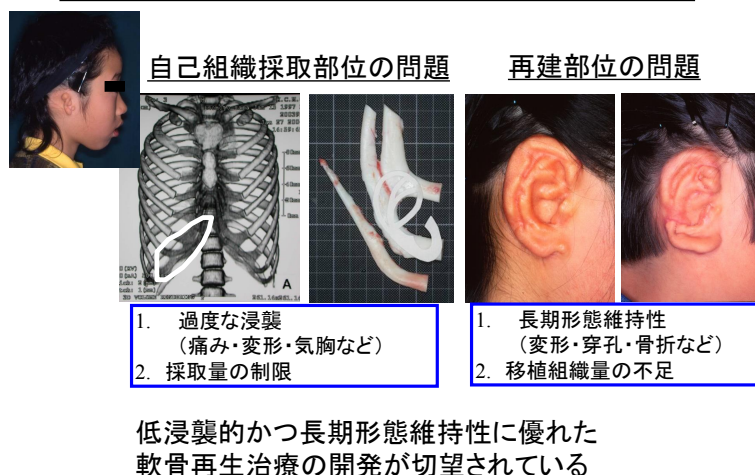
顔面変形・奇形の代表的疾患



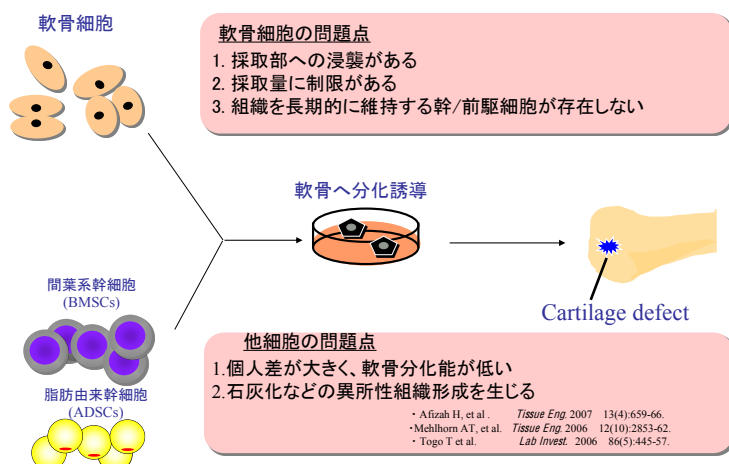
鞍鼻・短鼻における隆鼻術の問題点



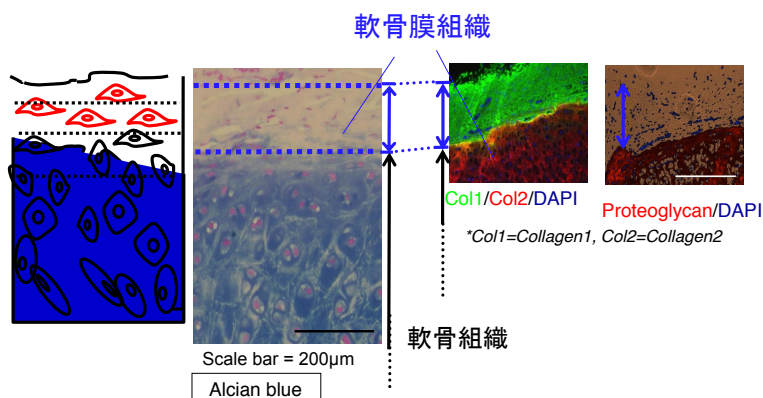
小耳症における軟骨移植術の問題点



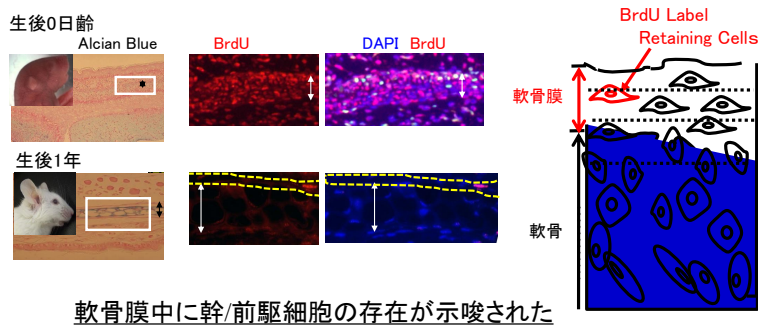
従来の軟骨再生治療戦略とその課題



正常ヒト耳介弾性軟骨の構造



耳介軟骨膜中に前駆細胞集団が存在する

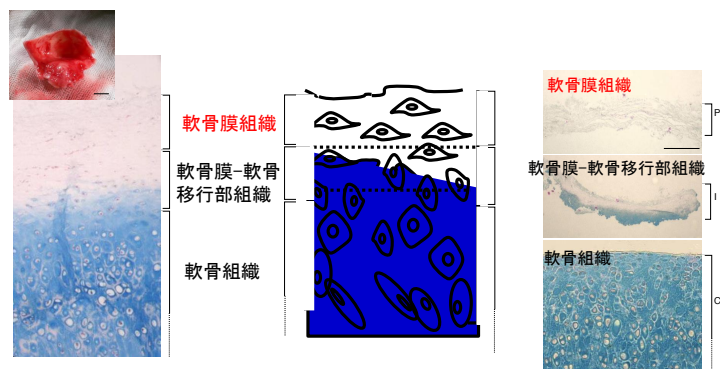


S Kobayashi, T Takebe, et al. PLoS ONE 6(10), 2011

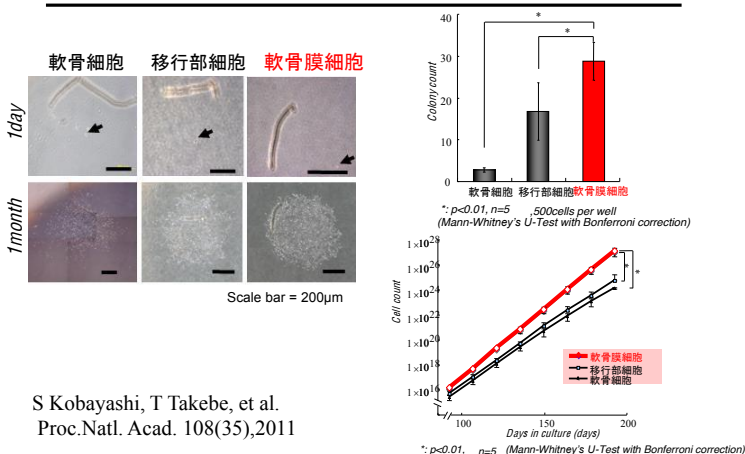
検体プロフィール

No.	Gender	Age(year)	Disease	No.	Gender	Age(year)	Disease
1	F	10	Microtia	16	M	11	Microtia
2	F	10	Microtia	17	F	10	Microtia
3	M	15	Microtia	18	F	12	Microtia
4	M	11	Microtia	19	M	9	Microtia
5	M	9	Microtia	20	F	10	Microtia
6	M	9	Microtia	21	M	10	Microtia
7	F	10	Microtia	22	M	9	Microtia
8	F	10	Microtia	23	M	11	Microtia
9	M	9	Microtia	24	F	13	Microtia
10	M	11	Microtia	25	M	9	Microtia
11	M	12	Microtia	26	M	13	Microtia
12	M	11	Microtia	27	F	11	Microtia
13	F	10	Microtia	28	M	12	Microtia
14	F	10	Microtia	29	M	9	Microtia
15	M	10	Microtia	30	M	11	Microtia

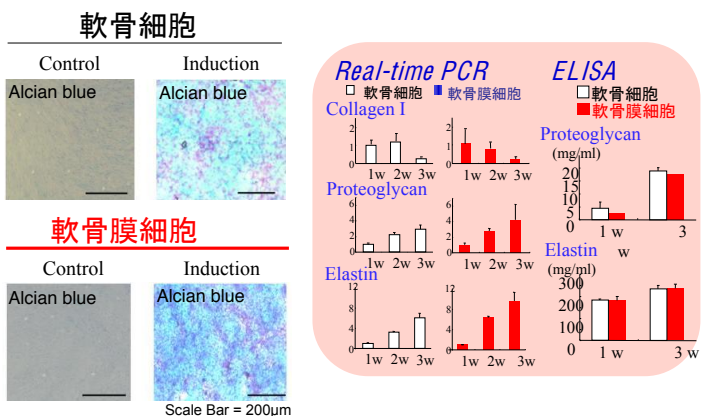
ヒト耳介軟骨膜中に存在する軟骨前駆細胞の同定



ヒト耳介軟骨膜前駆細胞は高い増殖活性を維持する

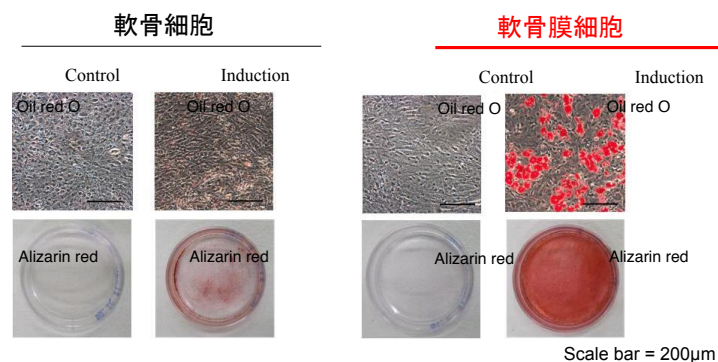


ヒト軟骨前駆細胞は高い軟骨分化能を有している



S Kobayashi, T Takebe, et al. Proc.Natl. Acad. 108(35), 2011
Methods for preparation of cartilage cells; PCT JP2008/051327, WO2008/091013

ヒト軟骨前駆細胞は多分化能を有する

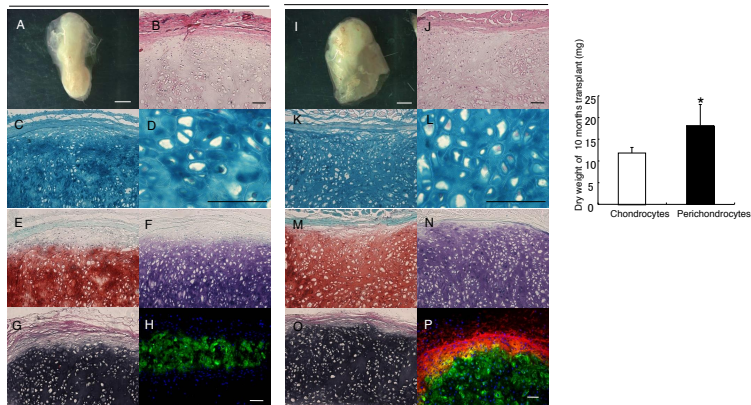


S Kobayashi, T Takebe, et al. Proc.Natl. Acad. 108(35), 2011
Methods for preparation of cartilage cells; PCT JP2008/051327, WO2008/091013

ヒト軟骨前駆細胞の弾性軟骨再構築能

軟骨細胞

軟骨膜細胞

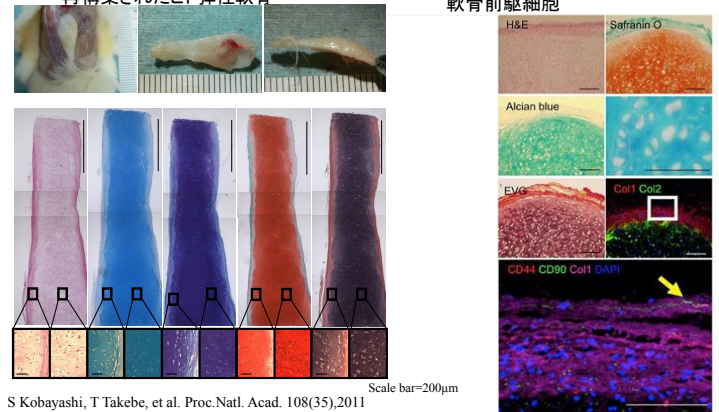


S Kobayashi, T Takebe, et al. Proc.Natl. Acad. 108(35),2011
Methods for preparation of cartilage cells; PCT JP2008/051327, WO2008/091013

ヒト軟骨前駆細胞由来の軟骨は 長期的な形態維持が期待できる

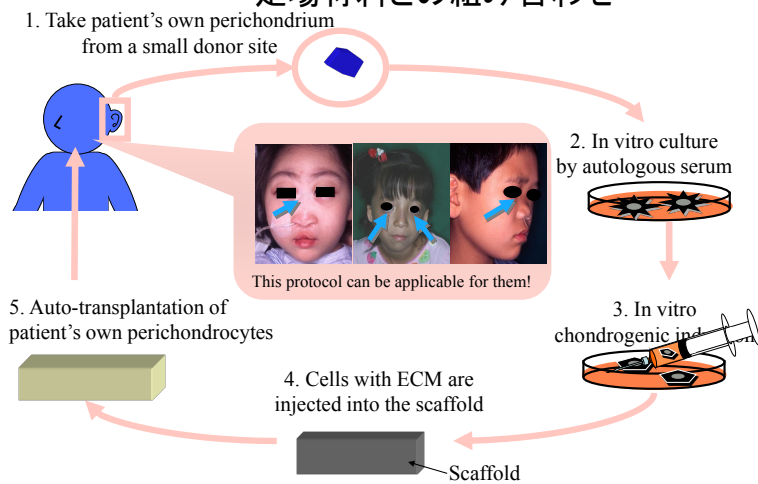
免疫不全マウス皮下で
再構築されたヒト弾性軟骨

再生軟骨膜中に維持される
軟骨前駆細胞



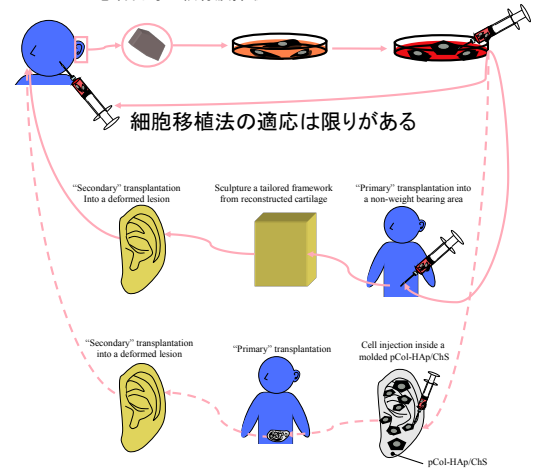
S Kobayashi, T Takebe, et al. Proc.Natl. Acad. 108(35),2011
Methods for preparation of cartilage cells; PCT JP2008/051327, WO2008/091013

臨床応用へ向けて -足場材料との組み合わせ-

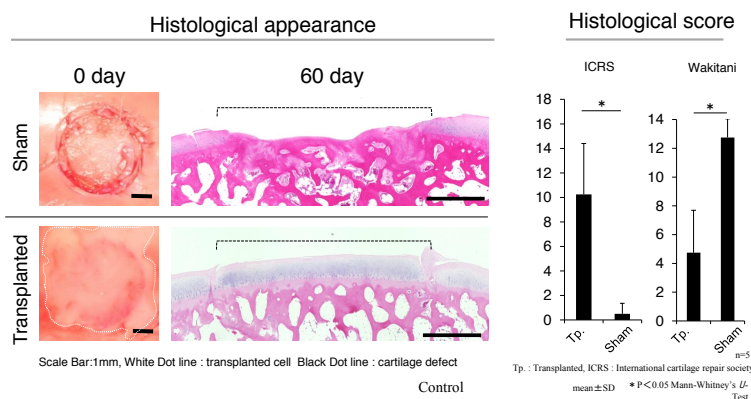


臨床応用へ向けた戦略

患者自身の軟骨膜採取

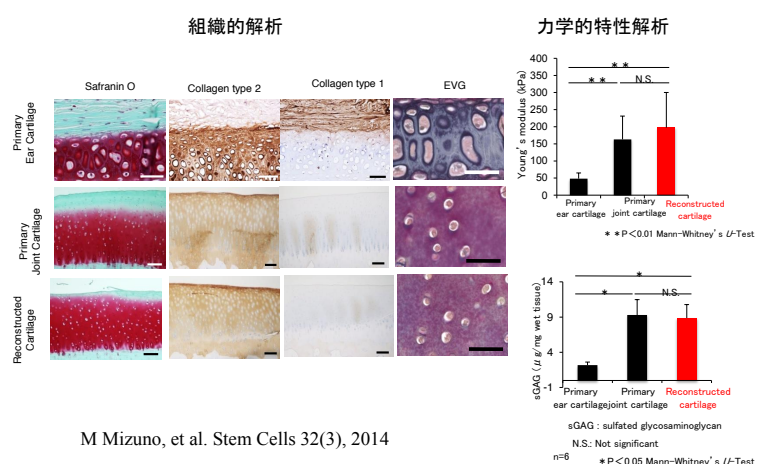


イヌ軟骨前駆細胞は 関節(硝子)軟骨への分化能も有している



M Mizuno, et al. Stem Cells 32(3), 2014

イヌ軟骨前駆細胞は 関節(硝子)軟骨への分化能も有している

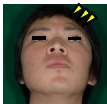


M Mizuno, et al. Stem Cells 32(3), 2014

適応疾患および将来展望

成人例 外傷例を対象とした細胞移植療法の安全性・有効性の検証

外傷後
高度顔面変形



小児例 成人例での十分な検討の後、小児例適応拡大を目指す

鼻低形成



小耳症



関節例

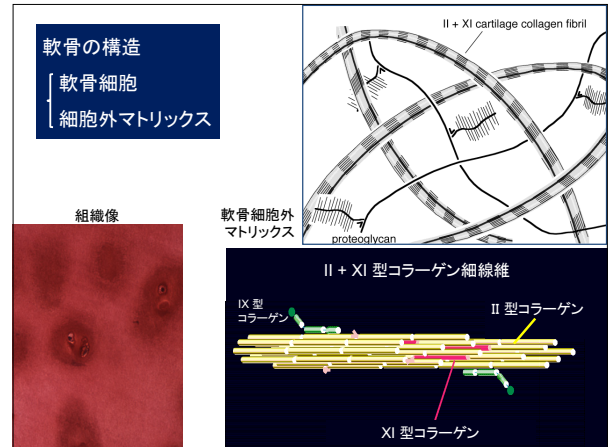
変形性膝関節症に対する適応拡大を目指す



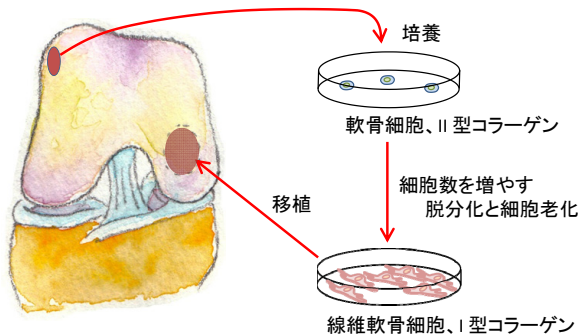
ヒトiPS細胞から分化誘導した 軟骨細胞、軟骨組織

京都大学 iPS細胞研究所
妻木範行

1

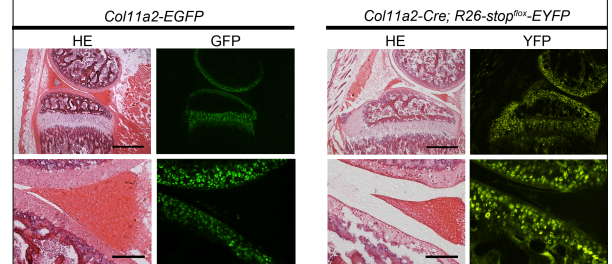


自家軟骨細胞移植の課題：細胞の変質と2回手術



3

軟骨細胞特異的、および軟骨系譜細胞特異的レポーターマウス 膝軟骨組織切片

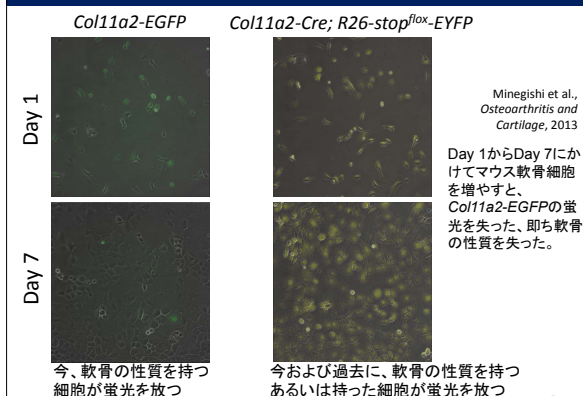


今、軟骨の性質を持つ細胞が蛍光を放つ

今および過去に、軟骨の性質を持つ
あるいは持った細胞が蛍光を放つ

4

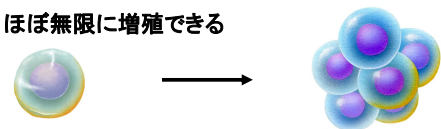
軟骨細胞の増殖に伴う脱分化の観察



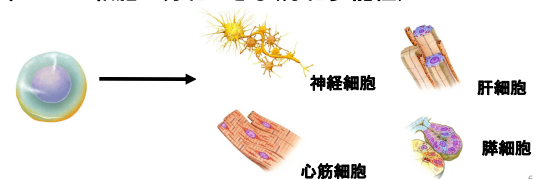
5

iPS細胞の特徴

ほぼ無限に増殖できる

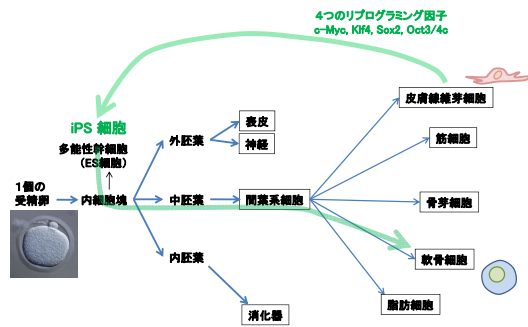


すべての細胞へ分化できる(分化多能性)



6

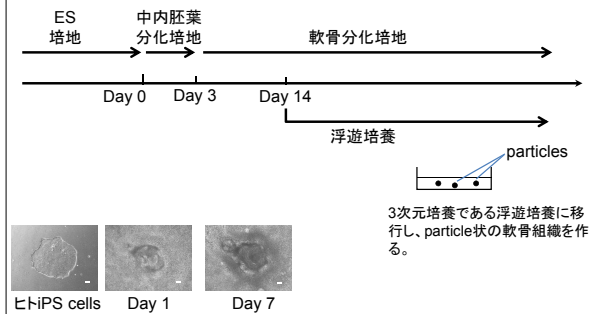
ヒトiPS細胞から軟骨を分化誘導する方法の開発： 発生過程を倣うように分化させる



7

ヒトiPS細胞から軟骨細胞を分化誘導するプロトコール

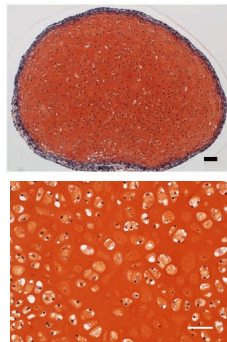
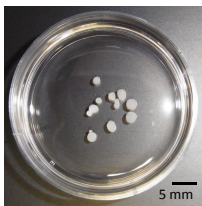
Yamashita et al., Stem Cell Reports, 2015



8

ヒトiPS細胞由来軟骨組織 (particle) の外見と組織像

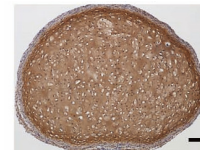
Yamashita et al., Stem Cell Reports, 2015



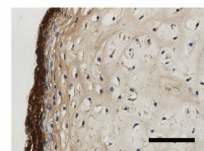
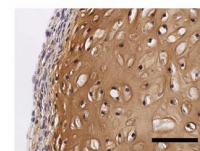
9

ヒトiPS細胞由来軟骨組織 (particle) は硝子軟骨に相当しうる。 II型コラーゲンを発現し、I型コラーゲン発現は抑えられている。

II 型コラーゲン



I 型コラーゲン



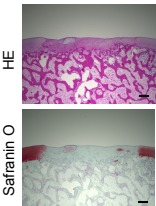
Yamashita et al., Stem Cell Reports, 2015

10

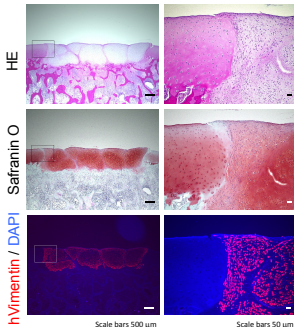
ミニブタ膝関節軟骨欠損へのiPSC由来軟骨Particleの移植

移植して1ヶ月後の移植部位の切片:ミニブタ(クローン) 10ヶ月齢、♂ 30.5kg、免疫抑制剤使用

軟骨particle移植無し



軟骨particle移植有り



hiPSC由来軟骨は移植後も生存した。

Yamashita et al., Stem Cell Reports, 2015

韓国の再生医療製品の現状

“特に軟骨関連(関節、鼻、耳)”

Jeong Ik Lee, D.V.M, DVSc., DMSc.

Regenerative Medicine Laboratory, Center for Stem Cell Research
Institute of Biomedical Science & Technology (IBST),
Department of Veterinary Medicine, College of Veterinary Medicine
Department of Biomedical Science and Technology

1

発表内容

- 1) 幹細胞/再生医療 産業展望
- 2) 幹細胞/再生医療 臨床試験動向
- 3) 韓国の再生医療製品
- 4) 韓国の再生医療 承認状況
- 5) 軟骨関連(関節、鼻、耳)
- 6) 考察
- 7) 参考文献

KU KONKUK UNIVERSITY

発表内容

- 1) 幹細胞/再生医療 産業展望

KU KONKUK UNIVERSITY

世界再生医療製品現状(2012年末)



KU KONKUK UNIVERSITY

出所) Seed Planning、韓国保険産業動向、2013

4

世界再生医療製品現状(2013年夏)

赤字：同種細胞利用製品



KU KONKUK UNIVERSITY

出所) Seed Planning、J・TEC

5

発表内容

- 2) 幹細胞/再生医療 臨床試験動向

KU KONKUK UNIVERSITY

幹細胞/再生医療 臨床試験動向

④ 治験(Clinical trial)、2013年12月

구분	승인건수	
	Global	domestic
SIT(Sponsor Initiated Trials)	482(29.8%)	46(65.7%)
IIT(Investigator Initiated Trials)	1,134(70.2%)	24(34.3%)
총계	1,616(100%)	70(100%)

◆ 結果:1,686件

幹細胞/再生医療 臨床試験動向

④ 治験(Clinical trial)、2013年12月

◆ 分析結果:

毎年Global臨床 I phaseが持続的に増加している。

特にIITの割合が高かった:新技術の臨床適用の増加を意味

製品化になる技術の漸進的な増加:

臨床III phaseの持続的な増加、臨床承認増加>臨床II phase承認増加

韓国:IITの割合が低い(global: SIT、30%、IIT:70%)

韓国の製品群:第1世代幹細胞治療剤に集中vs.多様な製品群(Global)

発表内容

3) 韓国の再生医療製品

韓国再生医療産業

- ④ 会社:およそ179個(ベンチャー)、5,000名研究者
- ④ 細胞治療剤開発:17件商品化成功
- ④ 組織工学製品生産会社:KOSDAQ上場(10個)

韓国の再生医療製品

④ 細胞治療剤許可現状、2014年12月

◆ 韓国:

Korea approved the **world first** stem cell therapy product

Korea has the **most number** of stem cell therapy product

2013年、Korea Food & Drug Administration (KFDA, 食品医薬品安全庁)は、Ministry of Food & Drug Safety (MFDS, 食品医薬品安全処)に昇格した。

韓国の幹細胞製品

MFDS Approved Products

Stem Cell Therapy Approvals Around The World					
Company	Product	Cell Source	Indication	Approval	
				Country	Date
Pharmicell	Hearticellgram-AMI®	Autologous Bone Marrow MSC	AMI	Korea	2011. 7
New York Blood Center	Hemacord®	Allogenic Cord Blood	Hematopoietic System disorder	USA	2011.11
Medipost	Cartistem®	Allogenic Cord Blood MSC	Cartilage Injury	Korea	2012. 1
Antrogen	Cupistem®	Autologous Adipose MSC	Ana-fistula In Crohn's Disease	Korea	2012. 1
Osiris	Prochymal®	Autologous Bone Marrow MSC	GVHD	Canada	2012.5
Corestem	Newronata-R Inj®	Autologous Bone Marrow MSC	Amuotrophic lateral sclerosis	Korea	2014.8

- Korea approved the world first stem cell therapy product
- Korea has the most number of stem cell therapy product

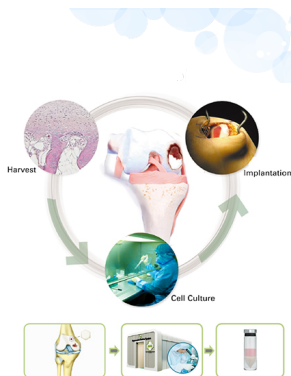
出所) Global stem cell & regenerative medicine acceleration center, 2014 12

韓国の細胞治療剤製品

MFDS Approved Products

Order	Trade name	Company	Category	Characteristic	Target Disease	Approval
1	Chondron	SewonCellontech	Autologous	Chondrocyte	Knee cartilage deletion	Feb. 2001.
2	Holoderm	Tegoscience	Autologous	Skin Keratinocyte	Skin burn therapy	Dec. 2002
3	Kaloderm	Tegoscience	Allogeneic	Skin Keratinocyte	Skin burn therapy	March. 2005
4	Kerahael	MCIT	Autologous	Skin Keratinocyte	Skin burn therapy	May. 2006 conditioned
5	CreaVax-RCC Inj	Creagene	Autologous	Dendritic cell	Metastatic renal cell carcinoma	May. 2007 conditioned
6	Immunocell-LC	Innocell	Autologous	Activated lymphocyte	Hepatoma	June. 2007 conditioned
7	NKM	NIKBIO	Autologous	Activated lymphocyte	Malignant lymphoma	Aug. 2007 conditioned
8	Hyalograft 3D [™]	Cha Bio & Diotech	Autologous	Skin fibroblast	Diabetogenous tinea ulcer	July. 2007 conditioned
9	RMS Ossion	SewonCellontech	Autologous	Osteocyte	Local osteoblastic palpation	Aug. 2009 conditioned
10	AutoStem	Cha Bio & Diotech	Autologous	Minimum operation	Remediation of hypodermic fat defective location	(clinical app) Feb. 2010
11	Queen cell	Antrogen	Autologous	Minimum operation	Remediation of hypodermic fat defective location	(clinical app) Mar. 2010
12	Cure skin	Sbiomedics	Autologous	Fibroblast	Remediation of hypodermic fat defective location	(clinical app) May. 2010
13	LSK Autograft	Cha Bio & Diotech	Autologous	Skin Keratinocyte	Skin burn therapy	(clinical app) Sept. 2010

出所) edited data from Gilson Khang, Inflammation and Regeneration 32(5), 2012 ¹³



Chondron™ is cultured autologous chondrocytes for local cartilage formation in the joint. Management of cartilage defects of the joint has been difficult because articular cartilage has a poor healing capacity as a result of its lack of vessels, nerve supply and its isolation of systemic regulation. ACI has been considered as the best option in contemporary procedures for cartilage regeneration because chondrocyte is the only cell present in cartilage itself and conducts the whole cartilage metabolism. Implantation of Chondron™ is performed by three stages: harvesting small cartilage from a patient's own cartilage of non-weight bearing area, cell culturing at SOP (stem cell platform), and implanting cultured cartilage cells into the defect sites.

出所) <http://www.rmsbio.net/>, <http://www.sewoncellontech.com> ¹⁵

SEWON CELLONTECH

1. CHONDRON - Cartilage Cell Therapy(CRM Kit™)

許可

- 膝関節軟骨欠損: 2001年1月30日
- 足関節軟骨欠損: 2008年7月24日

売上げ (2007年まで)

- 8,000,000 won/1ケース、2,000ケース (2007年) ~ 6,000ケース (2011年)
- 160億won 推測 (2007まで)

医療保険

- 2002年から適用
- 対象: 40歳以下
- 2,900,000 won

自家
体細胞
軟骨細胞

Gel type ACI (Autologous Chondrocyte Implantation)

Characteristic

- Gel-ACI without periosteum suture
- Shortens operating time
- Distributes chondrocytes more evenly in the implant
- Stabilizes chondrogenesis

Application: Knee cartilage defects, Ankle cartilage defects, Intervertebral disc herniation and degeneration

出所) <http://www.rmsbio.net/>, <http://www.sewoncellontech.com> ¹⁴

TEGO SCIENCE

2. Holoderm®

許可

- 皮膚火傷治療: 2002年12月10日
- 7.5cm x 7.5cm (56cm²)

売上げ (2007年まで)

- 700 USD/1ケース、700ケース

保険

- 適用

自家
組織工学
皮膚角質細胞

Summary Characteristics

- It is a cell therapy drug made in order to treat large deep 2nd and 3rd degree burns with dermal loss.
- The patient's own keratinocytes are cultured into epidermal sheets and transplanted back on his wound.
- In 17 days, a very small biopsy can turn into an epidermal sheet that can cover the entire adult body.
- A 56cm²-sized sheet is composed of a billion cells, over 10% of which are skin stem cells.
- Transplanted, over 80% of Holoderm® is "taken" on the wound and function as the patient's own skin for a life time.
- Its tissue regenerative power is superior: the dermal layer grows back over time even without the use of any dermal substitutes.
- Being autologous, there is no concern for immunological rejection.
- Processed cells are stored permanently in our Skinbank®, making it possible rapidly to re-manufacture Holoderm® for any future needs.

出所) <http://www.tegoscience.com/ENG/product/holoderm.php> ¹⁶

Directions for Use

Holoderm®

KFDA Prescription Drug Classification Number
04390

Cultured Epidermal Autograft

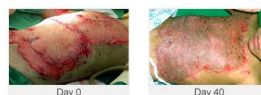
STERILE KGMP

Use of Holoderm® is fully covered by the National Workers' Compensation Insurance (Reimbursement Code: 80001).

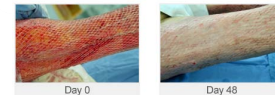


Summary Case study Directions

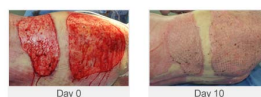
Burn 1.



Burn 3.



Burn 2.



Scar revision



出所) <http://www.tegoscience.com/ENG/product/holoderm.php> ¹⁷

出所) <http://www.tegoscience.com/ENG/product/holoderm.php> ¹⁸

3. Kaloderm®

許可

- 皮膚火傷治療: 2005年3月21日
- 糖尿病性足壊疽: 2010年6月24日
- 7.5cm x 7.5cm (56cm²)

売上げ(2007年まで)

- 700 USD/1ケース

保険

- 適用

同種
組織工学
皮膚角質細胞

- Kaloderm® is used to treat wounds such as deep 2nd degree burns and diabetic foot ulcers.
- It is Korea's only allogeneic cell therapy product currently on sale.
- Its source cells are from one individual human.
- A 56cm²-sized sheet of Kaloderm® contains one billion cells.
- It secretes a variety of wound healing factors and promotes regeneration of skin.
- It minimizes scars by controlling collagen formation.
- It is conveniently stored and easy to use.
- It contains no immune cells, eliminating concerns for immunological rejection.
- It can be used to heal all kinds of wound and we are exploring cosmetic and dermatological application.

出所) <http://www.tegoscience.com/ENG/product/kaloderm.php>20



出所) <http://www.tegoscience.com/ENG/product/holoderm.php>19

Directions for Use

Kaloderm®

KFDA Prescription Drug Classification Number 04390

STERILE KGMP

Use of Kaloderm® is partially covered by the National Health Insurance (Reimbursement Code: 673600010).



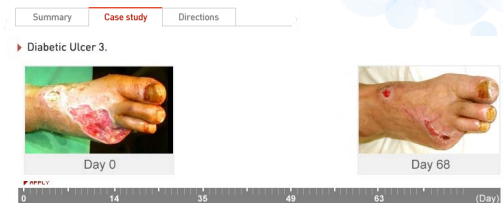
出所) <http://www.tegoscience.com/ENG/product/kaloderm.php>21



出所) <http://www.tegoscience.com/ENG/product/kaloderm.php>22



出所) <http://www.tegoscience.com/ENG/product/kaloderm.php>23



出所) <http://www.tegoscience.com/ENG/product/kaloderm.php>24

4. Keraheal™

許可

- 皮膚火傷治療: 2006年5月3日
- 100~400cm²
- Spray Type: ~4,000 USD/1 vial
- ~60ケース

保険

- 適用

自家
体細胞
皮膚角質細胞

Introduction

Keraheal™ is an autologous keratinocytes product that was approved by Korea Ministry of Food and Drug Safety in 2006. Keraheal™ contains high proportion of skin stem cells, which is spray onto injured skin in order to promote re-epithelialization and reduce scar formation.

Product Details

Product name	Keraheal™
Quantity of raw material medicine	1ml
Ingredients	Human epidermal keratinocyte $3 \times 10^5 \pm 10\%$
Specialty/general	Specialty medicine
Properties	Light yellow cell suspension in vials
Efficacy/effects	Second-degree burn, > 30% of total body surface area (TBSA) Third-degree burn, > 10% of total body surface area (TBSA)



出所) <http://www.mctt.co.kr/eng/product/index.jsp> 26

5. CreaVax-RCC Inj.

許可

- 転移性腎癌腫: 2007年5月17日

自家
体細胞
免疫細胞
Dendritic cell

CreaVax-RCC Inj.

Harmony of between Life and Science
Harmony between life and science.

Summary

Product Name	CreaVax-RCC Inj. (CreaVax-RCC Inj.)
Appearance	Light yellowish color liquid of suspended dendritic cells
Efficacy	Metastatic renal cell carcinoma where nephrectomy is possible
Usage	While it is principle to administer 5×10^7 cell (1 vial of CreaVax-RCC Inj.) once every 2 weeks for 4 rounds to induce anticancer immunity to metastatic renal cell carcinoma patients, the administration period can be increased based on prognosis by a physician
Unit	1 vial (2 mL) x packaging unit
Method of Storage and Period of Use	under +50 °C, up to 3 months from sealed container production

出所) <http://www.creagen.com/> 27

6. Immuncell-LC®

許可

- 肝細胞癌: 2007年8月6日

自家
体細胞
免疫細胞
Activated
T-lymphocyte



The hope of bioengineering-Green Cross Cell,
Customized Cancer immunotherapy of the next generation

出所) <http://www.greencrosscell.com/eng/main.asp> 28

Immuncell-LC® an internationally recognized cancer immunotherapy
Green Cross Cell is establishing itself as the pioneer of medical science of the future through development of immunotherapy using innovative cell technology and state of the art equipments

Immuncell-LC®

- Efficacy Effect** Adjuvant therapy for patients whose tumor has been removed after curative resection for Hepatocellular Carcinoma (Operation, Radio Frequency Ablation, Percutaneous Ethanol Injection Therapy)
- Dosage and Administration** Mix the settled cells and suspension fluid three or four times prior to administration. Use an 22G needle or larger bore one for an intravenous infusion, and be sure that the administration is completed within one hour. The dose of administration for each time is 200 μ l over a spot that contains $1 \times 10^8 \sim 2 \times 10^{10}$ cells. The interval and times of administration are as follows:
4 times, once a week
4 times, once every two weeks
4 times, once every four weeks
4 times, once every eight weeks
16 times in total
- Storage** Sealed container at temperature of 2 - 25°C
- Expiration** 24 hours from time of manufacture

Active pharmaceutical ingredients (APIs) and Contents

Total unit		200mL			
Detail	Active Component	Name of APIs	Contents	Unit	Manufacturer
Detail	Main component	Activated T-lymphocyte	$1 \times 10^8 \sim 2 \times 10^{10}$	Cells	Green Cross Cell
	Stabilizer	Human serum albumin	1	%	
Detail	Suspension fluid	Saline solution	Proper quantity	mL	

- Efficacy Effect** Adjuvant therapy for patients whose tumor has been removed after curative resection for Hepatocellular Carcinoma (Operation, Radio Frequency Ablation, Percutaneous Ethanol Injection Therapy)
- Dosage and Administration** Mix the settled cells and suspension fluid three or four times prior to administration. Use an 22G needle or larger bore one for an intravenous infusion, and be sure that the administration is completed within one hour. The dose of administration for each time is 200 μ l over a spot that contains $1 \times 10^8 \sim 2 \times 10^{10}$ cells. The interval and times of administration are as follows:
4 times, once a week
4 times, once every two weeks
4 times, once every four weeks
4 times, once every eight weeks
16 times in total

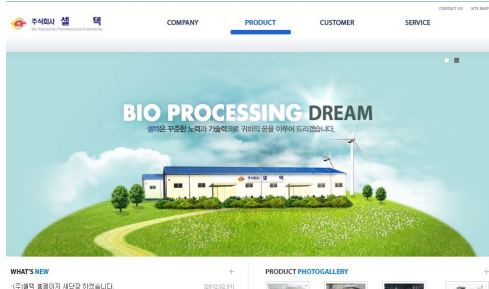
出所) http://www.greencrosscell.com/eng/sub/bussiness/business_01_01.asp 29

出所) http://www.greencrosscell.com/eng/sub/bussiness/sub002001001_pop_03.asp 30

7. NKM(Natural Killer Mix cell)

許可

惡性リンパ腫: 2007年8月7日

自家
体細胞
免疫細胞
Activated
Natural Killer
cell

8. Hyalograft 3D™

許可

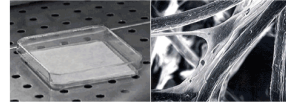
糖尿病性足壊疽: 2007年9月14日

8cm x 8cm (64cm²)自家
組織工学
皮膚繊維芽細胞

Hyalograft 3D

Integrated treatment method for chronic wound healing

Hyalograft 3D is a cell therapy which cultivates autologous skin fibroblasts in 3D scaffolds formed of hyaluronic acid derivatives. Autologous skin fibroblasts are imported into nonwoven scaffolds. The product is 8cm², and is applied to affected areas after cutting into appropriate sizes. Hyalograft 3D was licensed as cell therapy in September, 2007, and it is currently on the market.



Hyalograft 3D

Magnification of Hyalograft 3D - photo of skin fibroblasts transplanted to scaffolds

- Application
- Application for healing diabetic foot ulcers (excluding the sole)
- Components / quantity
- Components / quantity
- Storage and use by date
- Storage and use by date

9. RMS OSSRON
- Bone Marrow Stem Cell Therapy(SCRM Kit™)

許可

局所骨形成促進: 2009年8月26日

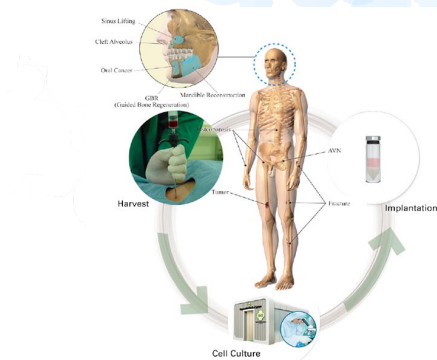
自家
体細胞
骨細胞

ABI (Autologous Bone Cell Implantation)

Characteristic

- Cultured autologous stem cell
- Direct and strong bone formation
- Long lasting osteogenic factor release
- Percutaneous implantation is available

Application: Fracture repair acceleration, Bone augmentation, Non-union, Delayed union, Bone necrosis, Bone restoration, Maxillofacial bone reconstruction, Periodontal bone loss



Ossron™ is cultured autologous bone cells for local bone formation. Bone marrow derived stem cells have shown an ideal osteogenic potential. The stem cell with potent osteogenic property are cultured, multiplied and differentiated into abundant cell number to enhance the bone reconstruction. Ossron™ is performed by three stages: harvesting bone marrow from a patient's own bone, cell culturing at SCP (stem cell platform), and implanting the cultured cells into the defect sites. Bone marrow stem cells could also be applied to the regeneration of other connective tissues because they can be differentiated into a variety of cell types including osteoblast, fibroblast, adipocyte, chondrocyte, myocyte and neuronal cell.

10. AutoStem

許可

皮下脂肪欠損: 2010年2月1日

自家
最小限操作
脂肪細胞

Autostem

Cell therapy for subcutaneous fat loss area

AutoStem is a cell therapy derived from adipose tissue via minor surgery.

A quantity of pre-filled syringes is obtained depending on total patient fat amount and adipose cell density.

The optimal dose is injected beneath the skin in areas of subcutaneous fat problems.

AutoStem was licensed as a less intrusive cell therapy in Korea, in February, 2010, and it is currently on the market.



- Application
- Treatment of subcutaneous fat loss area
- Components / quantity
- Minimally modified adipocytes derived from autologous adipose tissue in each 1ml pre-filled syring
- Storage and use by date
- Sealed container, at room-temperature, within 48 hours from manufacture

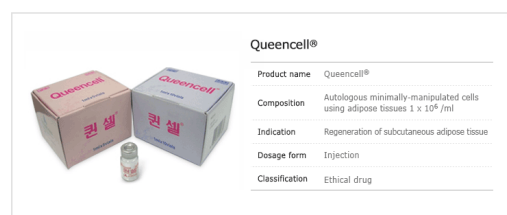
11. Queencell®

許可

皮下脂肪欠損: 2010年3月26日

自家
最小限操作
脂肪細胞

Queencell® is Stromal Vascular Fraction(SVF) containing autologous mesenchymal stem cells by minimal manipulation of patient's adipose tissues.



12. CURE SKIN

許可

- 傷痕改善: 2010年5月11日
- にきび治療過程による陥没

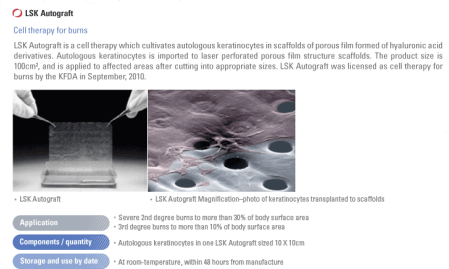


自家
体細胞
繊維芽細胞

13. LSK Autograft

許可

- 皮膚火傷治療: 2010年9月17日
- 10cm x 10cm (100cm²)



自家
組織工学
皮膚角質細胞

14. Hearticellgram

Hearticellgram

許可

- 急性心筋梗塞: 2011年7月1日
- 世界初幹細胞治療剤
- 16,000 USD/1ケース
- 1ケース/1日



Hearticellgram -AMI
(Autologous Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stem Cell)
10ml, 14ml, 18ml

1. Active component and Dose

- 10ml: Main component: Autologous Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stem Cell 5x10⁷
-Suspension fluid: Intravenous Normal saline solution (NPS) 10ml.
-Buffer agent: Intravenous sodium hydrogen carbonate (NPS) moderate amount
- 14ml: Main component: Autologous Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stem Cell 7x10⁷
-Suspension fluid: Intravenous Normal saline solution (NPS) 14ml.
-Buffer agent: Intravenous sodium hydrogen carbonate (NPS) moderate amount
- 18ml: Main component: Autologous Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stem Cell 9x10⁷
-Suspension fluid: Intravenous Normal saline solution (NPS) 18ml.
-Buffer agent: Intravenous sodium hydrogen carbonate (NPS) moderate amount

<http://www.youtube.com/watch?v=mPxn0e6RO6U>

2. Characteristics

The white suspension fluid is filled inside a transparent plastic syringe, which is a prefilled syringe blocked with a closer at the tip.

3. Effect-Efficacy

The improvement of Left Ventricular Ejection Fraction in Acute Myocardial Infarction patients who underwent PTCA (Percutaneous Transluminal Coronary Angioplasty) was measured with reperfusion within 72 hours after onset of chest pain

4. Dosage and Administration

The amount of 1 prefilled syringe depends on the patient's body weight at the time when patient's bone marrow was aspirated. It is made from the following directions then is injected through the coronary artery.

The body weight Dosage or Amount	
not more than 60kg	10ml / 5x10 ⁷ cells
61kg~80kg	14ml / 7x10 ⁷ cells
not less than 81kg	18ml / 9x10 ⁷ cells

- Hearticellgram is made with patient's own bone marrow blood since the main component of Hearticellgram is autologous bone marrow-derived Mesenchymal Stem Cells.
- Mix well the cellular precipitates and suspension fluid with light tapping and shaking of the prefilled syringe. Do not excessively mix and shake it.
- Remove the air inside the syringe then inject into the coronary artery as the following:
 - Perform the Coronary Angiography to the patient.
 - Infuse this medicine for 4 times to the coronary artery as the following while performing the low pressure coronary angiography with a balloon.
 - Infuse Hearticellgram for 2-3 minutes after blocking the blood flow with inflating balloon.
 - Deflate balloon then let blood flow for 3-4 minutes.
 - Repeat this procedure 2-3 times more.
- After injecting Hearticellgram, repeat the Coronary Angiography then confirm antegrade blood flow.



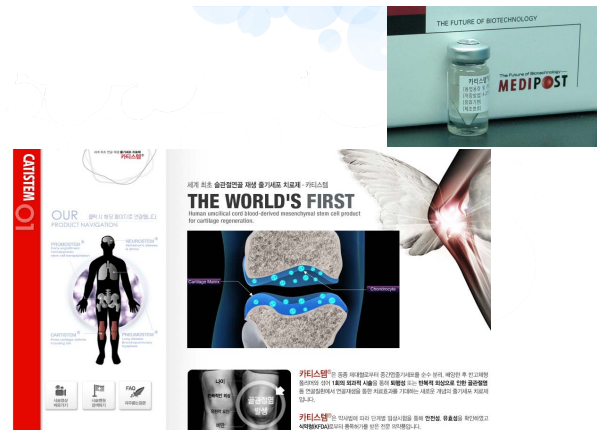
15. Cartistem®

카티스템®(CARTISTEM®)

許可

- 変形性膝関節症: 2012年1月18日
- 世界初同種幹細胞治療剤
- 6,000~ 8,000 USD/1ケース
- 売上げ(2007年まで)
- 7,000,000 won/1ケース、1,700ケース(2014年末)
- 120億won 推測
- 医療保険
- 保険外

同種
幹細胞
臍帯血由来MSC



Cartistem, A Korean Football Coach & Knee Osteoarthritis

AUGUST 18, 2014 BY ADMIN



<http://www.stemcelltherapyhq.com/cartistem-a-korean-football-coach-knee-osteoarthritis/>

出所) <http://medi-post.co.kr/cartistem/> 43



16. Qupistem® injection

許可

クローン病: 2012年1月18日

自家
幹細胞
脂肪由来MSC

Cupistem® injection is an adipose stem cell therapy product approved for the first time in the world using autologous adipose-derived mesenchymal stem cells manufactured through isolation and culture from patient's adipose tissues.

Cupistem® injection	
Product name	Cupistem® injection
Composition	Autologous Adipose-derived Mesenchymal Stem Cells 3.0×10^7 /ml
Indication	Treatment of Crohn's fistula
Dosage form	Injection
Classification	Ethical drug, Orphan drug

出所) http://anterogen.com/main/en/sub02_01.html?type=1 44



17. Neuronata-R® Inj



許可

筋萎縮性側索硬化症 (ALS): 2014年7月30日

自家
幹細胞
骨髓由来MSC



<http://www.dongae.com/2/all/20140730/26617401/>

<http://dailymedi.com/news/view.html?section=1&category=4&no=783871>

<http://www.docdocdoc.co.kr/news/view.php?newsid=2014081800020>

出所) <http://www.corestem.com/> 45

発表内容

4) 韓国の再生医療 承認状況

韓国の再生医療 承認状況

細胞治療許可現状、2014年8月

- 新薬承認申請 (New drug application, NDA) 承認: 17件
- 新薬治療許可申請 (Investigational new drug, IND) 承認: 91件
(企業主導臨床試験 Investigator Initiated Trials: 60件)

Target diseases	protocols
Cancer	22
Joint	14
Burn/Ulcer	10
Cardiovascular	9
Anal fistula	6
Eye	5
Skin (acne) scar	4
GVHD	2
Metabolic	2
Spinal cord injury	2
Miscellaneous*	14

* fracture, ALS, developmental, atopy, epicondylitis, etc.

出所) Gifted by Gilson Khang, 2015 47

新薬承認申請 (NDA) 承認: 2014年12月

Number of Products	Number of Company	Types of Cells and Manipulations					
		Stem Cell	Immune Cell	Somatic Cell	Minimal Manipulation	Tissue Engineering	Xeno
17	12	4	3	4	2	4	0

新薬治療許可申請 (IND) 承認: 2014年12月

Number of Products	Number of Company	Types of Cells				
		Stem Cell	Immune Cell	Somatic Cell	Tissue Engineering	Xeno
98	27	49	26	15	7	1

出所) , 2014 48

Introduction

The various products available for rhinoplasty

- Augmentation (SAM) sheets in 1-, 2-, and 4-mm thicknesses
- Reinforced SAM sheets in 4.5- and 7.0-mm thicknesses
- Preformed reinforced nasal implant in 2.2- and 3.4-mm thicknesses



出所) Gifted by CH Park, 2014

Tympanic Membrane

Silk fibroin patch for acute and chronic tympanic membrane perforation

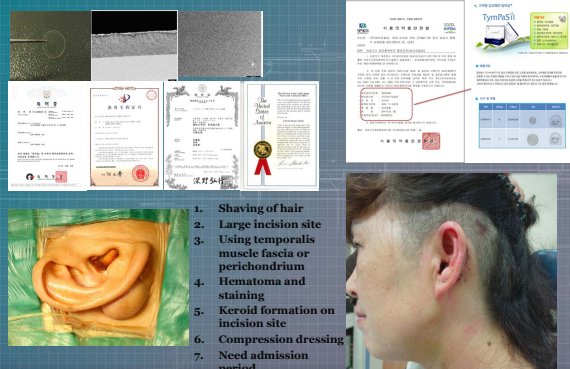


Park CH et al, Wound Repair and Regeneration 2010

出所) Gifted by CH Park, 2014

Tympanic Membrane

Silk fibroin patch for acute and chronic tympanic membrane perforation



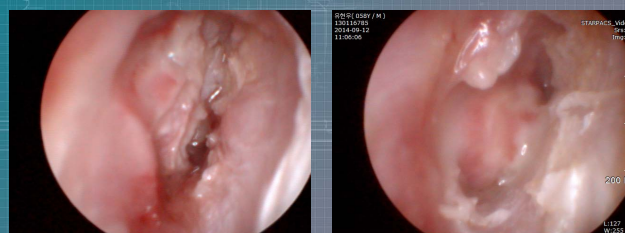
Park CH et al, Wound Repair and Regeneration 2010

出所) Gifted by CH Park, 2014

Tympanic Membrane

Silk fibroin patch for acute and chronic tympanic membrane perforation

Tympanoplasty using auricular cartilage



Post Op 1 w

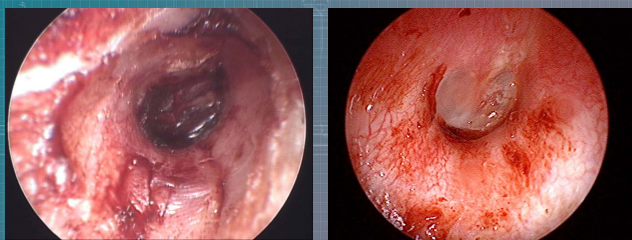
Post Op 2 w

出所) Gifted by CH Park, 2014

Tympanic Membrane

Silk fibroin patch for acute and chronic tympanic membrane perforation

Tympanoplasty using Silk fibroin



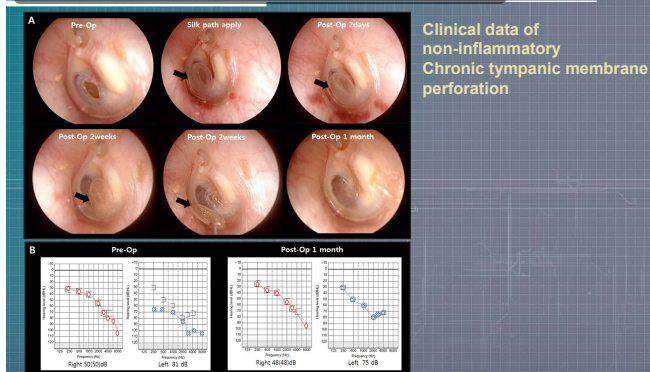
Post Op 1 w

Post Op 2 w

出所) Gifted by CH Park, 2014

Tympanic Membrane

Silk fibroin patch for acute and chronic tympanic membrane perforation



Korea Healthcare technology R&D Project(KHIDI) :2013-2015

出所) Gifted by CH Park, 2014

製品紹介

種類	主要製品群			
BMP 骨移植剤	BMP Infuse (Medtronic)	OP-1 (Stryker)	Cowell BMP (코웰메디)	Novosis (대웅제약)
	DBX (Depuy Synthes)	AlloMatrix (Wright Medical)	Rafugen DBM Gel (코리아본뱅크)	CG DBM100 (시지바이오)
DBM 骨移植剤	MBCP (Biomatlante)	TCH (Kasios)	DM Bone (메타바이오메드)	OSTEON (제노스)

発表内容

6) 考察

考察

❖ 韓国の再生医療製品

- ❖ 国民医療保険
- ❖ 会社の売上げ
- ❖ 投資の手段: 過熱
- ❖ バランス: 빨리빨리文化(さっさと、早く早く) vs 安全
- ❖ 法案

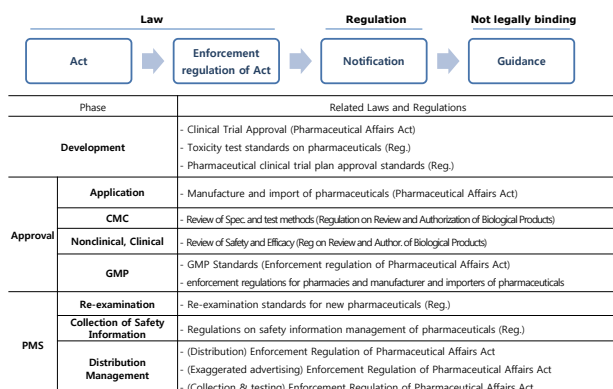
Cell therapy & Tissue engineered Products in Korea

Section	Manufacture		Autologous	Allogeneic	Xenogenic
Cell	Minimal Manipulation*	Medical Institutions Inside	Medical Practice (MEDICAL ACT) : NOT Cell Therapy Products		
		Medical Institutions outside			
	More than Minimal manipulation		Biologics (PHARMACEUTICAL AFFAIRS ACT) : Cell Therapy Products (Cell Therapy Products Including scaffolds)		
Tissue			Medical Practice (MEDICAL ACT)	Human tissue for transplantation (SAFETY, MANAGEMENT, ETC. OF HUMAN TISSUE ACT)	Medical Devices (Biomaterial for Tissue Repair, MEDICAL DEVICES ACT)
Organ				Organs for transplantation (INTERNAL ORGANS, ETC. TRANSPLANT ACT)	-

* Specific examples of minimal manipulation include, Separation, Enzyme treatment for cell separation, Selection, freezing, cryopreservation, thawing, washing and etc.
 ※ Proliferation of cells as a result of cell culturing, cell activation using growth factors and gene transduction are not included in the above scope of minimal manipulation.

Source: MFDS, in 4th KoNSCRT workshop 2014

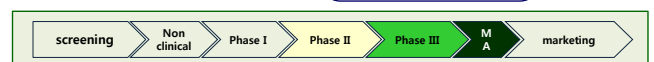
Law and Regulation



Majungmul(呼び水) project for advanced biological products

- addressing regulatory hurdles and difficulties for pursuing marketing authorization.
- apply till 25 July and send the application package through email or fax.

Q3
 Product based and tailored consultation for the product in late phase of development
 : team consisting of regulatory experts



Q1
 Educating researchers for basics in regulatory requirements
 : biannual training program

Q2
 Open communication from early phase of development
 : monthly consultation day (every Wednesday of last week)

- collaborative work with governmental org.
- 1st workshop in Aug.
- survey on program on going (~21 July)
- regulatory consultation with developers who do not have regulatory experience
- apply in advance thru MFDS homepage.

Facilitating the Development of Innovative Therapies



Source: MFDS, SRGC 2014

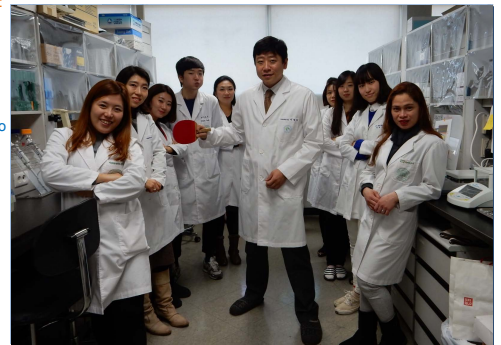
67



Thank you for your attention !

Principal Investigator:
Prof. Jeong Ik Lee

Lab Members:
Dr. Soojung Lee
 (Research Professor)
Dr. Kyung Mi Lee
 (Research Professor)
Judee Grace Nemenko
 (PhD Candidate)
Min Goo
 (PhD Candidate)
Hana Kim
 (MS Candidate)
Bo Young Kim
 (MS Candidate)
Jae Hyun Park
 (MS Candidate)
Purum Kim
 (Researcher)
Sun Keum Choi
 (Researcher)
Eun Kyung An
 (intern)



0



V. 参考資料

1. 平成 20 年 2 月 8 日付薬食発第 0208003 号厚生労働省医薬食品局長通知「ヒト（自己）由来細胞・組織加工医薬品等の品質及び安全性の確保に関する指針」
2. 平成 20 年 9 月 12 日付薬食発第 0912006 号厚生労働省医薬食品局長通知「ヒト（同種）由来細胞・組織加工医薬品等の品質及び安全性の確保に関する指針」
3. 平成 26 年 10 月 2 日薬食審査発 1002 第 1 号厚生労働省医薬食品局審査管理課長、薬食機参発 1002 第 5 号厚生労働省大臣官房参事官（医療機器・再生医療等製品審査管理担当）通知「生物由来原材料基準の運用について」

薬食発第0208003号

平成20年2月8日

各都道府県知事 殿

厚生労働省医薬食品局長

ヒト（自己）由来細胞や組織を加工した医薬品又は医療機器の
品質及び安全性の確保について

ヒト由来の細胞・組織を加工した医薬品又は医療機器の品質及び安全性を確保するために必要な基本的要件については、平成12年12月26日付け医薬発第1314号厚生省医薬安全局長通知「ヒト又は動物由来成分を原料として製造される医薬品等の品質及び安全性確保について」の別添2「ヒト由来細胞・組織加工医薬品等の品質及び安全性の確保に関する指針」（以下「平成12年指針」という。）を定め運用してきたが、その後の科学技術の進歩や経験の蓄積を踏まえ見直しを進めてきたところである。

今般、ヒト由来の細胞・組織のうち、自己由来の細胞・組織を加工した医薬品又は医療機器（以下「自己由来細胞・組織加工医薬品等」という。）の品質及び安全性の確保のための基本的な技術要件について別添「ヒト（自己）由来細胞・組織加工医薬品等の品質及び安全性の確保に関する指針」のとおりとりまとめ、自己由来細胞・組織加工医薬品等については、平成12年指針に代え本指針によることとしたので、御了知の上、貴管下関係団体、関係機関等に周知願いたい。

なお、ヒト由来細胞・組織のうち、自己以外の同種由来の細胞・組織を加工した医薬品又は医療機器の品質及び安全性の確保のための基本的な技術要件についてもとりまとめているところであり、おって通知する予定であることを申し添える。

ヒト（自己）由来細胞・組織加工医薬品等の品質及び安全性の確保に関する指針

はじめに

1. 本指針は、ヒト由来細胞・組織のうち、自己由来細胞・組織を加工した医薬品又は医療機器（以下「細胞・組織加工医薬品等」という。）の品質及び安全性の確保のための基本的な技術要件について定めるものである。

しかしながら、細胞・組織加工医薬品等の種類や特性、臨床上の適用法は多種多様であり、また、本分野における科学的進歩や経験の蓄積は日進月歩である。本指針を一律に適用したり、本指針の内容が必要事項すべてを包含しているとみなすことが必ずしも適切でない場合もある。したがって、個々の医薬品等についての試験の実施や評価に際しては本指針の目的を踏まえ、その時点の学問の進歩を反映した合理的根拠に基づき、ケース・バイ・ケースで柔軟に対応することが必要であること。

2. 平成11年7月30日付け医薬発第906号厚生省医薬安全局長通知「細胞・組織を利用した医療用具又は医薬品の品質及び安全性の確保について」による確認申請時点における本指針への適合性の確認の趣旨は、当該細胞・組織加工医薬品等の治験を開始するに当たって支障となる品質及び安全性上の問題が存在するか否かの確認にある。したがって、確認申請の場合、その申請に当たって添付すべき資料について本指針に示された要件や内容をすべて充たすことを必ずしも求めている訳ではない。製造販売承認申請時における品質及び安全性の確保のための資料は治験の進行とともに本指針に沿って充実整備されることを前提に、確認申請では、当該時点でその趣旨に適う条件を充たし、合理的に作成された適切な資料を提出すること。

また、確認に必要とされる資料の範囲及び程度については、当該製品の由来、対象疾患、対象患者、適用部位、適用方法及び加工方法等により異なり、本指針では具体的に明らかでないことも少なくないので、個別に独立行政法人医薬品医療機器総合機構に相談することが望ましい。

目次

第1章 総則	4
第1 目的	4
第2 定義	4
第2章 製造方法	4
第1 原材料及び製造関連物質	4
1 目的とする細胞・組織	4
(1) 生物学的構造・機能の特徴と選択理由	4
(2) ドナーの感染症に対する留意点	4
(3) 細胞・組織の採取・保存・運搬	5
2 目的とする細胞・組織以外の原材料及び製造関連物質	5
(1) 細胞の培養を行う場合	6
(2) 非細胞・組織成分と組み合わせる場合	7
(3) 細胞に遺伝子工学的改変を加える場合	7
第2 製造工程	8
1 ロット構成の有無とロットの規定	8
2 製造方法	8
(1) 受入検査	8
(2) 細菌、真菌及びウイルス等の不活化・除去	8
(3) 組織の細切、細胞の分離、特定細胞の単離等	8
(4) 培養工程	9
(5) 細胞のバンク化	9
(6) 製造工程中の取り違い及びクロスコンタミネーション防止対策	9
3 加工した細胞の特性解析	9
4 最終製品の形態、包装	9
5 製造方法の恒常性	9
6 製造方法の変更	9
第3 最終製品の品質管理	10
1 総論	10
2 最終製品の品質管理法	10
(1) 細胞数並びに生存率	10
(2) 確認試験	10
(3) 細胞の純度試験	10
(4) 細胞由来の目的外生理活性物質に関する試験	11
(5) 製造工程由来不純物試験	11
(6) 無菌試験及びマイコプラズマ否定試験	11
(7) エンドトキシン試験	11
(8) ウイルス試験	11

(9) 効能試験	12
(10) 力価試験	12
(11) 力学的適合性試験	12
第3章 細胞・組織加工医薬品等の安定性	12
第4章 細胞・組織加工医薬品等の非臨床安全性試験	12
第5章 細胞・組織加工医薬品等の効力又は性能を裏付ける試験	13
第6章 細胞・組織加工医薬品等の体内動態	14
第7章 臨床試験	14

第1章 総則

第1 目的

本指針は、ヒト由来細胞・組織のうち、自己由来細胞・組織を加工した医薬品又は医療機器（以下「細胞・組織加工医薬品等」という。）の品質及び安全性の確保のための基本的な技術要件について定めるものである。

第2 定義

本指針における用語の定義は以下のとおりとする。

- 1 「細胞・組織の加工」とは、疾患の治療や組織の修復又は再建を目的として、細胞・組織の人為的な増殖、細胞・組織の活性化等を目的とした薬剤処理、生物学的特性改変、非細胞・組織成分との組み合わせ又は遺伝子工学的改変等を施すことをいう。
組織の分離、組織の細切、細胞の分離、特定細胞の単離、抗生物質による処理、洗浄、ガンマ線等による滅菌、冷凍、解凍等は加工とみなさない。
- 2 「製造」とは、加工に加え、組織の分離、組織の細切、細胞の分離、特定細胞の単離、抗生物質による処理、洗浄、ガンマ線等による滅菌、冷凍、解凍等、当該細胞・組織の本来の性質を改変しない操作を含む行為で、最終製品である細胞・組織利用製品を出荷するまでに行う行為をいう。
- 3 「表現型」とは、ある一定の環境条件のもとで、ある遺伝子によって表現される形態学的及び生理学的な性質をいう。
- 4 「ドナー」とは、細胞・組織加工医薬品等の原料となる細胞・組織を提供するヒトをいう。自己由来細胞・組織加工医薬品等にあつては、患者はドナーである。
- 5 「遺伝子導入構成体」とは、目的遺伝子を標的細胞に導入するための運搬体、目的遺伝子及びその機能発現に必要な要素をコードする塩基配列等から構成されるものをいう。

第2章 製造方法

第1 原材料及び製造関連物質

1 目的とする細胞・組織

(1) 生物学的構造・機能の特徴と選択理由

原材料として用いられる細胞・組織について、その生物学的構造・機能の特徴を、例えば、形態学的特徴、増殖特性、生化学的指標、免疫学的指標、特徴的産生物質その他適切な遺伝型又は表現型の指標から適宜選択して示し、当該細胞・組織を原料として選択した理由を説明すること。

(2) ドナーの感染症に対する留意点

患者、製造従事者及び医療従事者の安全性を確保する観点等から、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を考慮して感染症に関する検査項目を定め、その妥当性を明らかにすること。特にB型肝炎(HBV)、C型肝炎(HCV)、

ヒト免疫不全ウイルス（HIV）感染症、成人T細胞白血病（HTLV）に留意すること。

(3) 細胞・組織の採取・保存・運搬

① 採取者及び採取医療機関等の適格性

採取者及び採取医療機関等に求めるべき技術的要件について、明らかにすること。

② 採取部位及び採取方法の妥当性

細胞の採取部位の選定基準、採取方法を示し、これらが科学的及び倫理的に適切に選定されたものであることを明らかにすること。採取方法については、用いられる器具、微生物汚染防止、取り違い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。

③ ドナーに対する説明及び同意

細胞・組織採取時のドナーに対する説明及び同意の内容を規定すること。

④ ドナーの個人情報の保護

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。

⑤ 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。

⑥ 保存方法及び取り違い防止策

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、取り違いを避けるための手段や手順等について具体的に規定すること。

⑦ 運搬方法

採取細胞・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。

⑧ 記録の作成及び保管方法

①～⑦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。

2 目的とする細胞・組織以外の原材料及び製造関連物質

目的とする細胞・組織以外の原材料及び製造関連物質を明らかにし、その適格性を示すとともに、必要に応じて規格を設定し、適切な品質管理を行うことが必要である。

なお、生物由来製品又は特定生物由来製品を原材料として使用する場合は、その使用量を必要最小限とし、「生物由来原料基準」（平成15年厚生労働省告示第210号）をはじめとする関連法令及び通知を遵守すること。特に、ウイルス不活化及び除去に関する情報を十分に評価する必要があるほか、遡及調査等を確保する方策についても明らかにすること。

(1) 細胞の培養を行う場合

- ① 培地、添加成分（血清、成長因子及び抗生物質等）及び細胞の処理に用いる試薬等のすべての成分等についてその適格性を明らかにし、必要に応じて規格を設定すること。各成分等の適格性の判定及び規格の設定に当たっては、最終製品の適用経路等を考慮すること。
- ② 培地成分については、以下の点に留意すること。
 - ア 培地に使用する成分及び水は、可能な範囲で医薬品又は医薬品原料に相当する基準で品質管理されている生物学的純度の高い品質のものを使用すること。
 - イ 培地に使用する成分は主成分のみでなく使用するすべての成分について明らかにし、選択理由及び必要に応じて品質管理法等を明確にすること。ただし、培地の構成成分が周知のもので、市販品等が一般的に使用されている DMEM、M CDB、HAM、RPMI のような培地は1つのものと考えてよい。
 - ウ すべての成分を含有した培地の最終品については、無菌性及び目的とした培養に適していることを判定するための性能試験を実施する必要がある。その他、工程管理上必要と思われる試験項目を規格として設定し、適切な品質管理を行う必要がある。
- ③ 異種血清及び異種もしくは同種の血清に由来する成分については、細胞活性化又は増殖等の加工に必須でなければ使用しないこと。特に繰り返して使用する可能性のある製品では可能な限り使用を避けるよう検討すること。血清等の使用が避けられない場合には、以下の点を考慮し、血清等からの細菌、真菌、ウイルス及び異常プリオン等の混入・伝播を防止するとともに、最終製品から可能な限り除去するよう処理方法等を検討すること。
 - ア 血清等の由来を明確にすること。
 - イ 牛海綿状脳症発生地域からの血清を極力避ける等感染症リスクの低減に努めること。
 - ウ 由来動物種に特異的なウイルスやマイコプラズマに関する適切な否定試験を行い、ウイルス等に汚染されていないことを確認した上で使用すること。
 - エ 細胞の活性化、増殖に影響を与えない範囲で細菌、真菌及びウイルス等に対する適切な不活化処理及び除去処理を行う。例えば、潜在的なウイルス混入の危険性を避けるために、必要に応じて加熱処理、フィルター処理、放射線処理又は紫外線処理等を組み合わせて行うこと。
 - オ 培養細胞でのウイルス感染のモニター、患者レベルでのウイルス性疾患の発症に対するモニター及び異種血清成分に対する抗体産生等の調査のために、使用した血清の一部を保管すること。
- ④ 抗生物質の使用は極力避けるべきである。ただし製造初期の工程において抗生物質の使用が不可欠と考えられる場合には、その後の工程で可能な限り漸減を図るほか、その科学的理由、最終製品での推定残存量、患者に及ぼす影響などの面から妥当性を説明すること。また、用いる抗生物質に過敏症の既往歴のある患者の場合には、本治療を適応すべきではない。なお、抗生物質を使用する場合でも十分に除去されることが立証される場合には、その使用を妨げるものではない。

- ⑤ 成長因子を用いる場合には、細胞培養特性の再現性を保証するために、例えば純度及び力価に関する規格を設定する等適切な品質管理法を示すこと。
- ⑥ 最終製品に含有している可能性のある培地成分や操作のために用いられたその他の成分等については、生体に悪影響を及ぼさないものを選択すること。
- ⑦ フィーダー細胞として異種動物由来の細胞を用いる場合には、異種動物由来の感染症のリスクの観点から安全性を確保すること。

(2) 非細胞・組織成分と組み合わせる場合

① 細胞・組織以外の原材料の品質及び安全性について

細胞・組織とともに最終製品の一部を構成する細胞・組織以外の原材料（マトリックス、医療材料、スキャフォールド、支持膜、ファイバー及びビーズ等）がある場合には、その品質及び安全性に関する知見について明らかにすること。

当該原材料の種類と特性、最終製品における形態・機能及び想定される臨床適応の観点から見た品質、安全性及び有効性評価との関連を勘案して、適切な情報を提供すること。生体吸収性材料を用いる場合には、分解生成物に関して必要な試験を実施すること。

なお、必要な試験等については、平成15年2月13日付け医薬審発第0213001号厚生労働省医薬食品局審査管理課長通知「医療用具の製造（輸入）承認申請に必要な生物学的試験の基本的考え方について」等を参照し、試験結果及び当該原材料を使用することの妥当性を示すこと。文献からの知見、情報を合理的に活用すること。

② 目的とする細胞・組織との相互作用について

細胞・組織との相互作用に関し、以下の事項について、確認方法及び確認結果を示すこと。

ア 非細胞・組織成分が、想定される臨床適応に必要な細胞・組織の機能、生育能力、活性及び安定性に悪影響を与えないこと。

イ 非細胞・組織成分との相互作用によって起こり得る、細胞の変異、形質転換及び脱分化等を考慮し、その影響を可能な範囲で評価すること。

ウ 細胞との相互作用によって、想定される臨床適応において非細胞・組織成分に期待される性質が損なわれないこと。

(3) 細胞に遺伝子工学的改変を加える場合

細胞に遺伝子を導入する場合は、次に掲げる事項に関する詳細を示すこと。

- ① 目的遺伝子の構造、由来、入手方法、クローニング方法並びにセル・バンクの調製方法、管理方法及び更新方法等に関する情報
- ② 導入遺伝子の性質
- ③ 目的遺伝子産物の構造、生物活性及び性質
- ④ 遺伝子導入構成体を作製するために必要なすべての原材料、性質及び手順（遺伝子導入法並びに遺伝子導入用ベクターの由来、性質及び入手方法等）
- ⑤ 遺伝子導入構成体の構造や特性

⑥ ベクターや遺伝子導入構成体を作製するための細胞やウイルスのバンク化及びバンクの管理方法

遺伝子導入細胞の製造方法については、平成7年11月15日付け薬発第1062号厚生省薬務局長通知「遺伝子治療用医薬品の品質及び安全性の確保に関する指針について」（以下、「遺伝子治療用医薬品指針」という。）の別添「遺伝子治療用医薬品の品質及び安全性の確保に関する指針」第2章等を参照すること。また、同通知の別記に準じて設定の妥当性等を明らかにすること。

なお、遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律（平成15年法律第97号）に基づき、「ヒトの細胞等」若しくは「分化する能力を有する、又は分化した細胞等であって、自然条件において個体に成育しないもの」以外の細胞、「ウイルス」及び「ウイロイド」に対して遺伝子工学的改変を加える場合には、別途手続きが必要となるので留意すること。

第2 製造工程

細胞・組織加工医薬品等の製造に当たっては、製造方法を明確にし、可能な範囲でその妥当性を以下の項目で検証し、品質の一定性を保持すること。

1 ロット構成の有無とロットの規定

製品がロットを構成するか否かを明らかにすること。ロットを構成する場合には、ロットの内容について規定しておくこと。

2 製造方法

原材料となる細胞・組織の受け入れから最終製品に至る製造の方法の概要を示すとともに、具体的な処理内容及び必要な工程管理、品質管理の内容を明らかにすること。

(1) 受入検査

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

(2) 細菌、真菌及びウイルス等の不活化・除去

採取した細胞・組織について、その細胞生存率や表現型、遺伝形質及び特有の機能その他の特性及び品質に影響を及ぼさない範囲で、必要かつ可能な場合は細菌、真菌及びウイルス等を不活化又は除去する処理を行うこと。当該処理に関する方策と評価方法について明らかにすること。

(3) 組織の細切、細胞の分離、特定細胞の単離等

採取した細胞・組織から製品を製造する初期の過程で行われる組織の細切、細胞の分離、特定細胞の単離及びそれらの洗浄等の方法を明らかにすること。特定細胞の単離を行う場合には、その確認方法を設定すること。

(4) 培養工程

製造工程中に培養工程が含まれる場合は、培地、培養条件、培養期間及び収率等を明らかにすること。

(5) 細胞のバンク化

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

(6) 製造工程中の取り違い及びクロスコンタミネーション防止対策

細胞・組織加工医薬品等の製造にあたっては、製造工程中の取り違い及びクロスコンタミネーションの防止が重要であり、工程管理における防止対策を明らかにすること。

3 加工した細胞の特性解析

加工した細胞について、加工に伴う変化を調べるために、例えば、形態学的特徴、増殖特性、生化学的指標、免疫学的指標、特徴的産生物質、その他適切な遺伝型又は表現型の指標を解析するとともに、必要に応じて機能解析を行うこと。

また、培養期間の妥当性及び細胞の安定性を評価するために、予定の培養期間を超えて培養した細胞において目的外の変化がないことを示すこと。

4 最終製品の形態、包装

最終製品の形態、包装は、製品の品質を確保できるものでなければならない。

5 製造方法の恒常性

細胞・組織加工医薬品等の製造に当たっては、製造工程を通じて、個別に加工した製品の細胞数、細胞生存率並びに製品の使用目的及び適用方法等からみた特徴（表現型の適切な指標、遺伝型の適切な指標、機能特性及び目的とする細胞の含有率等）が製品（ロット）間で本質的に損なわれないことを、試験的検体を用いてあらかじめ評価しておくこと。

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

6 製造方法の変更

開発途中に製造方法を変更した場合、変更前の製造方法による製品を用いて得た試験成績を確認申請又は承認申請に使用するときは、製造方法変更前後の製品の同等性及び同質性を示すこと。

第3 最終製品の品質管理

1 総論

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

最終製品の規格及び試験方法については、対象とする細胞・組織の種類及び性質、製造方法、各製品の使用目的や使用方法、安定性、利用可能な試験法等によって異なると考えられるため、取り扱う細胞・組織によってこれらの違いを十分に考慮して設定すること。また、製造工程の妥当性の検証と一定性の維持管理法、中間製品の品質管理等との相互補完関係を考慮に入れて、全体として品質管理の目的が達成されるとの観点から、合理的に規格及び試験方法を設定し、その根拠を示すこと。なお、確認申請は、治験を実施する製品の品質として問題がないとみなせることを確認することを目的としている。したがって、無菌性やマイコプラズマの否定など必須なものを除き、治験後に臨床試験成績と品質の関係を論ずるために必要な品質特性については、やむを得ない場合は少数の試験的検体の実測値をもとにその変動をしかるべき範囲内に設定する暫定的な規格及び試験方法を設定することで差し支えない。ただし、規格及び試験方法を含む品質管理法は治験の進行とともに充実・整備を図ること。

2 最終製品の品質管理法

最終製品について、以下に示す一般的な品質管理項目及び試験を参考として、必要で適切な規格及び試験方法を設定し、その根拠を明らかにすること。

ロットを構成しない製品を製造する場合は個別製品ごとに、ロットを構成する製品を製造する場合には、通常、各個別製品ではなく各ロットが品質管理の対象となるので、これを踏まえてそれぞれ適切な規格、試験方法を設定すること。

(1) 細胞数並びに生存率

得られた細胞の数と生存率は、最終製品又は必要に応じて適切な製造工程の製品で測定すること。なお、確認申請時においては、少数の試験的検体での実測値を踏まえた暫定的な規格を設定することでも良い。

(2) 確認試験

目的とする細胞・組織の形態学的特徴、生化学的指標、免疫学的指標、特徴的産生物質その他適切な遺伝型あるいは表現型の指標を選択して、目的とする細胞・組織であることを確認すること。

(3) 細胞の純度試験

目的細胞以外の異常増殖細胞、形質転換細胞の有無や混入細胞の有無等の細胞の純度について、目的とする細胞・組織の由来、培養条件等の製造工程等を勘案し、必要に応じて試験項目、試験方法及び判定基準を示すこと。なお、確認申請時においては、少数の試験的検体での実測値を踏まえた暫定的な規格を設定する

ことでも良い。

(4) 細胞由来の目的外生理活性物質に関する試験

細胞由来の各種目的外生理活性物質のうち、製品中での存在量如何で患者に安全性上の重大な影響を及ぼす可能性が明らかに想定される場合には、適切な許容量限度試験を設定すること。なお、確認申請時においては、少数の試験的検体での実測値を踏まえた暫定的な規格を設定することでも良い。

(5) 製造工程由来不純物試験

原材料に存在するか又は製造過程で非細胞・組織成分、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、かつ、品質及び安全性の面からみて望ましくない物質等（例えば、ウシ胎児血清由来のアルブミン、抗生物質等）については、当該物質の除去に関するプロセス評価や当該物質に対する工程内管理試験の結果を考慮してその存在を否定するか、又は適切な試験を設定して存在許容量を規定すること。試験対象物質の選定及び規格値の設定に当たっては、設定の妥当性について明らかにすること。

なお、確認申請時においては、少数の試験的検体での実測値を踏まえた暫定的な規格を設定することでも良い。

(6) 無菌試験及びマイコプラズマ否定試験

最終製品の無菌性については、あらかじめモデル検体を用いて全製造工程を通じて無菌性を確保できることを十分に評価しておく必要がある。最終製品について、患者に適用する前に無菌性（一般細菌及び真菌否定）を試験により示すこと。また、適切なマイコプラズマ否定試験を実施すること。最終製品の無菌試験等の結果が、患者への投与後にしか得られない場合には、投与後に無菌性等が否定された場合の対処方法をあらかじめ設定しておくこと。また、この場合、中間製品で無菌性を試験により示し、最終製品に至る工程の無菌性を厳密に管理する必要がある。また、同一施設・同一工程で以前に他の患者への適用例がある場合には、全例において試験により無菌性が確認されていること。ロットを構成する製品で密封性が保証されている場合には、代表例による試験でよい。適用ごとに試験を実施する必要がある場合で、無菌試験等の結果が、患者への投与後にしか得られない場合には、適用の可否は直近のデータを参考にすることになるが、この場合でも最終製品の無菌試験等は必ず行うこと。

抗生物質は細胞培養系で極力使用しないことが望まれるが、使用した場合には、無菌試験に影響を及ぼさないよう処置すること。

(7) エンドトキシン試験

試料中の夾雑物の影響を考慮して試験を実施すること。規格値は必ずしも実測値によらず、日本薬局方等で示されている最終製品の1回投与量を基にした安全域を考慮して設定すればよい。また、工程内管理試験として設定することもあるが、その場合には、バリデーションの結果を含めて基準等を設定し、その妥当性を説明すること。

(8) ウイルス試験

HBV、HCV、HIV、HTLVを増殖させる可能性のある細胞の場合には、中間製品、最終製品等について、増殖可能性のあるウイルスについてその存在量に関する試験を実施し、細胞・組織加工医薬品等の投与が患者の不利益にならないことを確認する必要がある。また、製造工程中で生物由来成分を使用する場合には、最終製品で当該成分由来のウイルスについての否定試験の実施を考慮すべき場合もあるかも知れない。しかし可能な限り、もとの成分段階での試験やプロセス評価で迷入が否定されていることが望ましい。

(9) 効能試験

幹細胞、リンパ球、遺伝子改変細胞その他の細胞等、臨床使用目的又は特性に応じた適切な効能試験の実施を考慮すべき場合もある。なお、確認申請においては、少数の試験的検体による実測値を踏まえた暫定的な規格を設定することでも良い。

(10) 力価試験

細胞・組織から分泌される特定の生理活性物質の分泌が当該細胞・組織加工医薬品等の効能又は効果の本質である場合には、その目的としている必要な効果を発揮することを示すために、当該生理活性物質に関する検査項目及び規格を設定すること。遺伝子を導入した場合の発現産物又は細胞から分泌される目的の生成物等について、力価、産生量等の規格を設定すること。なお、確認申請時には、少数の試験的検体による実測値を踏まえた暫定的な規格を設定することでも良い。

(11) 力学的適合性試験

一定の力学的強度を必要とする製品については、適用部位を考慮した力学的適合性及び耐久性を確認するための規格を設定すること。なお、確認申請時には、少数の試験的検体による実測値を踏まえた暫定的な規格を設定することでも良い。

第3章 細胞・組織加工医薬品等の安定性

製品化した細胞・組織加工医薬品等又は重要なそれらの中間製品について、保存・流通期間及び保存形態を十分考慮して、細胞の生存率及び力価等に基づく適切な安定性試験を実施し、貯法及び有効期限を設定し、その妥当性を明らかにすること。特に凍結保管及び解凍を行う場合には、凍結及び解凍操作による製品の安定性や規格への影響がないかを確認すること。また、必要に応じて標準的な製造期間を超える場合や標準的な保存期間を超える長期保存についても検討し、安定性の限界を可能な範囲で確認すること。ただし、製品化後直ちに使用するような場合はこの限りではない。

また、製品化した細胞・組織加工医薬品等を運搬する場合には、運搬容器及び運搬手順（温度管理等を含む）等を定め、その妥当性について明らかにすること。

第4章 細胞・組織加工医薬品等の非臨床安全性試験

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

の試験を実施すること。なお、非細胞・組織成分及び製造工程由来の不純物等については、可能な限り、動物を用いた試験ではなく理化学的分析法により評価すること。

ヒト由来の試験用検体は貴重であり、また、ヒト由来の製品を実験動物等で試験して必ずしも意義ある結果が得られるとは限らない。このため、動物由来の製品モデルを作成し適切な実験動物に適用する試験系により試験を行うことで、より有用な知見が得られると考えられる場合には、むしろ、このような試験系を用いることに科学的合理性がある場合がある。場合によっては細胞を用いる試験系も考慮し、このようなアプローチにより試験を行った際には、その試験系の妥当性について明らかにすること。

以下に、必要に応じて非臨床的に安全性を確認する際の参考にすべき事項及び留意点の例を示す。これらは例示であって、合理性のない試験の実施を求める趣旨ではなく、製品の特性等を考慮して適切な試験を検討すること。

- 1 培養期間を超えて培養した細胞について、目的外の形質転換を起こしていないことを明らかにすること。
- 2 必要に応じて細胞・組織が産生する各種サイトカイン、成長因子等の生理活性物質の定量を行い、生体内へ適用したときの影響に関して考察を行うこと。
- 3 製品の適用が患者等の正常な細胞又は組織に影響を与える可能性について検討、考察すること。
- 4 製品及び導入遺伝子の発現産物等による望ましくない免疫反応が生じる可能性について検討、考察すること。
- 5 製造工程で外来遺伝子の導入が行われている場合には、遺伝子治療用医薬品指針に定めるところに準じて試験を行うこと。特に、ウイルスベクターを使用した場合には増殖性ウイルスがどの程度存在するかを検査するとともに、検査方法が適切であることについても明らかにすること。

また、導入遺伝子及びその産物の性状について調査し、安全性について明らかにすること。細胞については、増殖性の変化、腫瘍形成及びがん化の可能性について考察し、明らかにすること。

- 6 動物由来のモデル製品を含めて製品の入手が容易であり、かつ臨床上の適用に関連する有用な安全性情報が得られる可能性がある場合には、合理的に設計された一般毒性試験の実施を考慮すること。

なお、一般毒性試験の実施に当たっては、平成元年9月11日付け薬審1第24号厚生省薬務局新医薬品課長・審査課長連名通知「医薬品の製造（輸入）承認申請に必要な毒性試験のガイドラインについて」の別添「医薬品毒性試験法ガイドライン」等を参照すること。

第5章 細胞・組織加工医薬品等の効力又は性能を裏付ける試験

- 1 技術的に可能かつ科学的に合理性のある範囲で、実験動物又は細胞等を用い、適切に設計された試験により、細胞・組織加工医薬品等の機能発現、作用持続性及び医薬品・医療機器として期待される効果を検討すること。
- 2 遺伝子導入細胞にあつては、導入遺伝子からの目的産物の発現効率及び発現の持続性、導入遺伝子の発現産物の生物活性並びに医薬品等として期待される効果等を

検討すること。

- 3 適当な動物由来細胞・組織製品モデル又は疾患モデル動物がある場合には、それを用いて治療効果を検討すること。
- 4 確認申請段階では、当該製品の効力又は性能による治療が他の治療法と比較したときはるかに優れて期待できることが国内外の文献又は知見等により合理的に明らかにされている場合には、必ずしも詳細な実験的検討は必要とされない。

第6章 細胞・組織加工医薬品等の体内動態

- 1 製品を構成する細胞・組織及び導入遺伝子の発現産物について、技術的に可能で、かつ、科学的合理性がある範囲で、実験動物での吸収及び分布等の体内動態に関する試験等により、患者等に適用された製品中の細胞・組織の生存期間、効果持続期間を推測し、目的とする効果が十分得られることを明らかにすること。
- 2 当該細胞・組織が特定の部位（組織等）に到達して作用する場合には、その局在性を明らかにすること。

第7章 臨床試験

確認申請の段階における安全性については、臨床上の有用性を勘案して評価されるものであり、細胞・組織加工医薬品等について予定されている国内の治験計画について以下の項目を踏まえて評価すること。

- 1 対象疾患
- 2 対象とする被験者及び被験者から除外すべき患者の考え方
- 3 細胞・組織加工医薬品等の適用を含め、被験者に対して行われる治療内容
- 4 既存の治療法との比較を踏まえた臨床試験実施の妥当性
- 5 現在得られている情報から想定されるリスク及びベネフィットを含め、被験者への説明事項の案

なお、臨床試験は、適切な試験デザイン及びエンドポイントを設定して実施する必要があり、目的とする細胞・組織の由来、対象疾患及び適用方法等を踏まえて適切に計画すること。

薬食発第0912006号

平成20年9月12日

各都道府県知事 殿

厚生労働省医薬食品局長

ヒト（同種）由来細胞や組織を加工した医薬品又は医療機器の
品質及び安全性の確保について

ヒト由来の細胞・組織を加工した医薬品又は医療機器（以下「細胞・組織加工医薬品等」という。）の品質及び安全性を確保するための基本的な技術要件については、平成12年12月26日付け医薬発第1314号厚生省医薬安全局長通知「ヒト又は動物由来成分を原料として製造される医薬品等の品質及び安全性確保について」の別添2「ヒト由来細胞・組織加工医薬品等の品質及び安全性の確保に関する指針」（以下「平成12年指針」という。）を定め運用してきたが、その後の科学技術の進歩や経験の蓄積を踏まえ見直しを進めてきたところである。

ヒトの自己由来の細胞・組織加工医薬品等の品質及び安全性の確保のための基本的な技術要件については、平成20年2月8日付け薬食発第0208003号厚生労働省医薬食品局長通知「ヒト（自己）由来細胞や組織を加工した医薬品又は医療機器の品質及び安全性の確保について」により通知したところであるが、今般、ヒトの同種由来の細胞・組織加工医薬品等の品質及び安全性の確保のための基本的な技術要件についても、別添「ヒト（同種）由来細胞・組織加工医薬品等の品質及び安全性の確保に関する指針」のとおりとりまとめたので、御了知の上、貴管下関係団体、関係機関等に周知願いたい。

なお、これに伴い、平成12年指針は廃止することとする。

ヒト（同種）由来細胞・組織加工医薬品等の品質及び安全性の確保に関する指針

はじめに

1. 本指針は、ヒト由来細胞・組織のうち、同種由来細胞・組織（自己由来細胞・組織を除く。）を加工した医薬品又は医療機器（以下「細胞・組織加工医薬品等」という。）の品質及び安全性の確保のための基本的な技術要件について定めるものである。
しかしながら、細胞・組織加工医薬品等の種類や特性、臨床上の適用法は多種多様であり、また、本分野における科学的進歩や経験の蓄積は日進月歩である。本指針を一律に適用したり、本指針の内容が必要事項すべてを包含しているとみなすことが必ずしも適切でない場合もある。したがって、個々の医薬品等についての試験の実施や評価に際しては本指針の目的を踏まえ、その時点の学問の進歩を反映した合理的根拠に基づき、ケース・バイ・ケースで柔軟に対応することが必要であること。
2. 平成11年7月30日付け医薬発第906号厚生省医薬安全局長通知「細胞・組織を利用した医療用具又は医薬品の品質及び安全性の確保について」による確認申請時点における本指針への適合性の確認の趣旨は、当該細胞・組織加工医薬品等の治験を開始するに当たって支障となる品質及び安全性上の問題が存在するか否かの確認にある。したがって、確認申請の場合、その申請に当たって添付すべき資料について本指針に示された要件や内容をすべて充たすことを必ずしも求めている訳ではない。製造販売承認申請時における品質及び安全性の確保のための資料は治験の進行とともに本指針に沿って充実整備されることを前提に、確認申請では、当該時点でその趣旨に適う条件を充たし、合理的に作成された適切な資料を提出すること。
また、確認に必要とされる資料の範囲及び程度については、当該製品の由来、対象疾患、対象患者、適用部位、適用方法及び加工方法等により異なり、本指針では具体的に明らかなでないことも少なくないので、個別に独立行政法人医薬品医療機器総合機構に相談することが望ましい。

目次

第1章	総則	4
第1	目的	4
第2	定義	4
第2章	製造方法	4
第1	原材料及び製造関連物質	4
1	目的とする細胞・組織	4
(1)	起源及び由来、選択理由	4
(2)	原材料となる細胞・組織の特性と適格性	4
(3)	ドナーに関する記録	5
(4)	細胞・組織の採取・保存・運搬	5
2	目的とする細胞・組織以外の原材料及び製造関連物質	6
(1)	細胞の培養を行う場合	6
(2)	非細胞・組織成分と組み合わせる場合	7
(3)	細胞に遺伝子工学的改変を加える場合	8
第2	製造工程	9
1	ロット構成の有無とロットの規定	9
2	製造方法	9
(1)	受入検査	9
(2)	細菌、真菌及びウイルス等の不活化・除去	9
(3)	組織の細切、細胞の分離、特定細胞の単離等	9
(4)	培養工程	9
(5)	株化細胞の樹立と使用	9
(6)	細胞のバンク化	10
(7)	製造工程中の取り違い及びクロスコンタミネーション防止対策	10
3	加工した細胞の特性解析	10
4	最終製品の形態、包装	10
5	製造方法の恒常性	10
6	製造方法の変更	10
第3	最終製品の品質管理	10
1	総論	11
2	最終製品の品質管理法	11
(1)	細胞数並びに生存率	11
(2)	確認試験	11
(3)	細胞の純度試験	11
(4)	細胞由来の目的外生理活性物質に関する試験	11
(5)	製造工程由来不純物試験	12
(6)	無菌試験及びマイコプラズマ否定試験	12

(7)	エンドトキシン試験	12
(8)	ウイルス等の試験	12
(9)	効能試験	13
(10)	力価試験	13
(11)	力学的適合性試験	13
第3章	細胞・組織加工医薬品等の安定性	13
第4章	細胞・組織加工医薬品等の非臨床安全性試験	13
第5章	細胞・組織加工医薬品等の効力又は性能を裏付ける試験	14
第6章	細胞・組織加工医薬品等の体内動態	15
第7章	臨床試験	15

第1章 総則

第1 目的

本指針は、ヒト由来細胞・組織のうち、同種由来細胞・組織（自己由来のものを除く。）を加工した医薬品又は医療機器（以下「細胞・組織加工医薬品等」という。）の品質及び安全性の確保のための基本的な技術要件について定めるものである。

第2 定義

本指針における用語の定義は以下のとおりとする。

- 1 「細胞・組織の加工」とは、疾患の治療や組織の修復又は再建を目的として、細胞・組織の人為的な増殖、細胞の株化、細胞・組織の活性化等を目的とした薬剤処理、生物学的特性改変、非細胞・組織成分との組み合わせ又は遺伝子工学的改変等を施すことをいう。
組織の分離、組織の細切、細胞の分離、特定細胞の単離、抗生物質による処理、洗浄、ガンマ線等による滅菌、冷凍、解凍等は加工とみなさない。
- 2 「製造」とは、加工に加え、組織の分離、組織の細切、細胞の分離、特定細胞の単離、抗生物質による処理、洗浄、ガンマ線等による滅菌、冷凍、解凍等、当該細胞・組織の本来の性質を改変しない操作を含む行為で、最終製品である細胞・組織利用製品を出荷するまでに行う行為をいう。
- 3 「表現型」とは、ある一定の環境条件のもとで、ある遺伝子によって表現される形態学的及び生理学的な性質をいう。
- 4 「HLAタイピング」とは、ヒトの主要組織適合性抗原型であるHLA（ヒト白血球抗原）のタイプを特定することをいう。
- 5 「ドナー」とは、細胞・組織加工医薬品等の原料となる細胞・組織を提供するヒトをいう。
- 6 「遺伝子導入構成体」とは、目的遺伝子を標的細胞に導入するための運搬体、目的遺伝子及びその機能発現に必要な要素をコードする塩基配列等から構成されるものをいう。

第2章 製造方法

第1 原材料及び製造関連物質

1 目的とする細胞・組織

(1) 起源及び由来、選択理由

原材料として用いられる細胞・組織の起源及び由来について説明し、当該細胞・組織を選択した理由を明らかにすること。

(2) 原材料となる細胞・組織の特性と適格性

① 生物学的構造・機能の特徴と選択理由

原材料として用いられる細胞・組織について、その生物学的構造・機能の特徴を、例えば、形態学的特徴、増殖特性、生化学的指標、免疫学的指標、特徴的産

生物質、HLAタイピング、その他適切な遺伝型又は表現型の指標から適宜選択して示し、当該細胞・組織を原料として選択した理由を説明すること。

② ドナーの選択基準、適格性

ドナーが倫理的に適切に選択されたことを示すこと。また、年齢、性別、民族学的特徴、病歴、健康状態、採取細胞・組織を介して感染する可能性がある各種感染症に関する検査項目、免疫適合性等を考慮して、選択基準、適格性基準を定め、その妥当性を明らかにすること。

特にB型肝炎(HBV)、C型肝炎(HCV)、ヒト免疫不全ウイルス(HIV)感染症、成人T細胞白血病(HTLV)、パルボウイルスB 19感染症については、問診及び検査(血清学的試験や核酸増幅法等)により否定すること。また、サイトメガロウイルス感染、EBウイルス感染及びウエストナイルウイルス感染については必要に応じて検査により否定すること。

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

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

(3) ドナーに関する記録

原材料となる細胞・組織について、安全性確保上必要な情報が確認できるよう、ドナーに関する記録が整備、保管されていること。また、その具体的方策を示すこと。

(4) 細胞・組織の採取・保存・運搬

① 採取者及び採取医療機関等の適格性

採取者及び採取医療機関等に求めるべき技術的要件について、明らかにすること。

② 採取部位及び採取方法の妥当性

細胞の採取部位の選定基準、採取方法を示し、これらが科学的及び倫理的に適切に選択されたものであることを明らかにすること。採取方法については、用いられる器具、微生物汚染防止、取り違い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。

③ ドナーに対する説明及び同意

細胞・組織採取時のドナーに対する説明及び同意の内容を規定すること。

④ ドナーの個人情報の保護

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。

⑤ 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。

⑥ 保存方法及び取り違い防止策

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、取り違い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。

⑦ 運搬方法

採取細胞・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。

⑧ 記録の作成及び保管方法

①～⑦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。

2 目的とする細胞・組織以外の原材料及び製造関連物質

目的とする細胞・組織以外の原材料及び製造関連物質を明らかにし、その適格性を示すとともに、必要に応じて規格を設定し、適切な品質管理を行うことが必要である。

なお、生物由来製品又は特定生物由来製品を原材料として使用する場合は、その使用量を必要最小限とし、「生物由来原料基準」（平成15年厚生労働省告示第210号）をはじめとする関連法令及び通知を遵守すること。特に、ウイルス不活化及び除去に関する情報を十分に評価する必要があるほか、遡及調査等を確保する方策についても明らかにすること。

(1) 細胞の培養を行う場合

① 培地、添加成分（血清、成長因子及び抗生物質等）及び細胞の処理に用いる試薬等のすべての成分等についてその適格性を明らかにし、必要に応じて規格を設定すること。各成分等の適格性の判定及び規格の設定に当たっては、最終製品の適用経路等を考慮すること。

② 培地成分については、以下の点に留意すること。

ア 培地に使用する成分及び水は、可能な範囲で医薬品又は医薬品原料に相当する基準で品質管理されている生物学的純度の高い品質のものを使用すること。

イ 培地に使用する成分は主成分のみでなく使用するすべての成分について明らかにし、選択理由及び必要に応じて品質管理法等を明確にすること。ただし、培地の構成成分が周知のもので、市販品等が一般的に使用されている DMEM、MCDB、HAM、RPMI のような培地は1つのものと考えてよい。

ウ すべての成分を含有した培地の最終品については、無菌性及び目的とした培養に適していることを判定するための性能試験を実施する必要がある。その他、工程管理上必要と思われる試験項目を規格として設定し、適切な品質管理を行

う必要がある。

- ③ 異種血清及び異種もしくは同種の血清に由来する成分については、細胞活性化又は増殖等の加工に必須でなければ使用しないこと。特に繰り返して使用する可能性のある製品では可能な限り使用を避けるよう検討すること。血清等の使用が避けられない場合には、以下の点を考慮し、血清等からの細菌、真菌、ウイルス及び異常プリオン等の混入・伝播を防止するとともに、最終製品から可能な限り除去するよう処理方法等を検討すること。

ア 血清等の由来を明確にすること。

イ 牛海綿状脳症発生地域からの血清を極力避ける等感染症リスクの低減に努めること。

ウ 由来動物種に特異的なウイルスやマイコプラズマに関する適切な否定試験を行い、ウイルス等に汚染されていないことを確認した上で使用すること。

エ 細胞の活性化、増殖に影響を与えない範囲で細菌、真菌及びウイルス等に対する適切な不活化処理及び除去処理を行う。例えば、潜在的なウイルス混入の危険性を避けるために、必要に応じて加熱処理、フィルター処理、放射線処理又は紫外線処理等を組み合わせて行うこと。

オ 培養細胞でのウイルス感染のモニター、患者レベルでのウイルス性疾患の発症に対するモニター及び異種血清成分に対する抗体産生等の調査のために、使用した血清の一部を保管すること。

- ④ 抗生物質の使用は極力避けるべきである。ただし製造初期の工程において抗生物質の使用が不可欠と考えられる場合には、その後の工程で可能な限り漸減を図るほか、その科学的理由、最終製品での推定残存量、患者に及ぼす影響などの面から妥当性を説明すること。また、用いる抗生物質に過敏症の既往歴のある患者の場合には、本治療を適応すべきではない。なお、抗生物質を使用する場合でも十分に除去されることが立証される場合には、その使用を妨げるものではない。
- ⑤ 成長因子を用いる場合には、細胞培養特性の再現性を保証するために、例えば純度及び力価に関する規格を設定する等適切な品質管理法を示すこと。
- ⑥ 最終製品に含有している可能性のある培地成分や操作のために用いられたその他の成分等については、生体に悪影響を及ぼさないものを選択すること。
- ⑦ フィーダー細胞として異種動物由来の細胞を用いる場合には、異種動物由来の感染症のリスクの観点から安全性を確保すること。

(2) 非細胞・組織成分と組み合わせる場合

- ① 細胞・組織以外の原材料の品質及び安全性について

細胞・組織とともに最終製品の一部を構成する細胞・組織以外の原材料（マトリックス、医療材料、スキャフォールド、支持膜、ファイバー及びビーズ等）がある場合には、その品質及び安全性に関する知見について明らかにすること。

当該原材料の種類と特性、最終製品における形態・機能及び想定される臨床適応の観点から見た品質、安全性及び有効性評価との関連を勘案して、適切な情報を提供すること。生体吸収性材料を用いる場合には、分解生成物に関して必要な

試験を実施すること。

なお、必要な試験等については、平成15年2月13日付け医薬審発第0213001号厚生労働省医薬食品局審査管理課長通知「医療用具の製造（輸入）承認申請に必要な生物学的試験の基本的考え方について」等を参照し、試験結果及び当該原材料を使用することの妥当性を示すこと。文献からの知見、情報を合理的に活用すること。

② 目的とする細胞・組織との相互作用について

細胞・組織との相互作用に関し、以下の事項について、確認方法及び確認結果を示すこと。

ア 非細胞・組織成分が、想定される臨床適応に必要な細胞・組織の機能、生育能力、活性及び安定性に悪影響を与えないこと。

イ 非細胞・組織成分との相互作用によって起こり得る、細胞の変異、形質転換及び脱分化等を考慮し、その影響を可能な範囲で評価すること。

ウ 細胞との相互作用によって、想定される臨床適応において非細胞・組織成分に期待される性質が損なわれないこと。

③ 細胞・組織と適用部位を隔離する目的で非細胞・組織成分を使用する場合

非細胞・組織成分を細胞・組織と適用部位を隔離する目的で使用する場合、下記の項目を参考に効果、安全性を確認すること。

ア 免疫隔離の程度

イ 細胞由来の目的生理活性物質の膜透過キネティクスと薬理効果

ウ 栄養成分及び排泄物の拡散

エ 非細胞・組織成分が適用部位周辺に及ぼす影響

(3) 細胞に遺伝子工学的改変を加える場合

細胞に遺伝子を導入する場合は、次に掲げる事項に関する詳細を示すこと。

① 目的遺伝子の構造、由来、入手方法、クローニング方法並びにセル・バンクの調製方法、管理方法及び更新方法等に関する情報

② 導入遺伝子の性質

③ 目的遺伝子産物の構造、生物活性及び性質

④ 遺伝子導入構成体を作製するために必要なすべての原材料、性質及び手順（遺伝子導入法並びに遺伝子導入用ベクターの由来、性質及び入手方法等）

⑤ 遺伝子導入構成体の構造や特性

⑥ ベクターや遺伝子導入構成体を作製するための細胞やウイルスのバンク化及びバンクの管理方法

遺伝子導入細胞の製造方法については、平成7年11月15日付け薬発第1062号厚生省薬務局長通知「遺伝子治療用医薬品の品質及び安全性の確保に関する指針について」（以下、「遺伝子治療用医薬品指針」という。）の別添「遺伝子治療用医薬品の品質及び安全性の確保に関する指針」第2章等を参照すること。また、同通知の別記に準じて設定の妥当性等を明らかにすること。

なお、遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する

法律(平成15年法律第97号)に基づき、「ヒトの細胞等」若しくは「分化する能力を有する、又は分化した細胞等であって、自然条件において個体に成育しないもの」以外の細胞、「ウイルス」及び「ウイロイド」に対して遺伝子工学的改変を加える場合には、別途手続きが必要となるので留意すること。

第2 製造工程

細胞・組織加工医薬品等の製造に当たっては、製造方法を明確にし、可能な範囲でその妥当性を以下の項目で検証し、品質の一定性を保持すること。

1 ロット構成の有無とロットの規定

製品がロットを構成するか否かを明らかにすること。ロットを構成する場合には、ロットの内容について規定しておくこと。

2 製造方法

原材料となる細胞・組織の受け入れから最終製品に至る製造の方法の概要を示すとともに、具体的な処理内容及び必要な工程管理、品質管理の内容を明らかにすること。

(1) 受入検査

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

(2) 細菌、真菌及びウイルス等の不活化・除去

原材料となる細胞・組織について、その細胞生存率や表現型、遺伝形質及び特有の機能その他の特性及び品質に影響を及ぼさない範囲で、必要かつ可能な場合は細菌、真菌及びウイルス等を不活化又は除去する処理を行うこと。当該処理に関する方策と評価方法について明らかにすること。

(3) 組織の細切、細胞の分離、特定細胞の単離等

原材料となる細胞・組織から製品を製造する初期の過程で行われる組織の細切、細胞の分離、特定細胞の単離及びそれらの洗浄等の方法を明らかにすること。特定細胞の単離を行う場合には、その確認方法を設定すること。

(4) 培養工程

製造工程中に培養工程が含まれる場合は、培地、培養条件、培養期間及び収率等を明らかにすること。

(5) 株化細胞の樹立と使用

株化細胞の樹立に当たっては、ドナーの遺伝的背景を理解したうえで樹立すること。樹立の方法を明確にし、可能な範囲でその妥当性を明らかにすること。

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

株化細胞に関しては、適切な動物モデル等を利用し、腫瘍形成及びがん化の可能

性について考察し、明らかにすること。

(6) 細胞のバンク化

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

(7) 製造工程中の取り違い及びクロスコンタミネーション防止対策

細胞・組織加工医薬品等の製造にあたっては、製造工程中の取り違い及びクロスコンタミネーションの防止が重要であり、工程管理における防止対策を明らかにすること。

3 加工した細胞の特性解析

加工した細胞について、加工に伴う変化を調べるために、例えば、形態学的特徴、増殖特性、生化学的指標、免疫学的指標、特徴的産生物質、その他適切な遺伝型又は表現型の指標を解析するとともに、必要に応じて機能解析を行うこと。

また、培養期間の妥当性及び細胞の安定性を評価するために、予定の培養期間を超えて培養した細胞において目的外の変化がないことを示すこと。

4 最終製品の形態、包装

最終製品の形態、包装は、製品の品質を確保できるものでなければならない。

5 製造方法の恒常性

細胞・組織加工医薬品等の製造に当たっては、製造工程を通じて、個別に加工した製品の細胞数、細胞生存率並びに製品の使用目的及び適用方法等からみた特徴（表現型の適切な指標、遺伝型の適切な指標、機能特性及び目的とする細胞の含有率等）が製品（ロット）間で本質的に損なわれないことを、試験的検体を用いてあらかじめ評価しておくこと。

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

6 製造方法の変更

開発途中に製造方法を変更した場合、変更前の製造方法による製品を用いて得た試験成績を確認申請又は承認申請に使用するときは、製造方法変更前後の製品の同等性及び同質性を示すこと。

第3 最終製品の品質管理

1 総論

細胞・組織加工医薬品等の品質管理全体の方策としては、最終製品の規格及び試

験方法の設定、個別患者への適用ごとの原材料の品質管理、製造工程の妥当性の検証と一定性の維持管理のほか、中間製品の品質管理を適正に行うこと等が挙げられる。

最終製品の規格及び試験方法については、対象とする細胞・組織の種類及び性質、製造方法、各製品の使用目的や使用方法、安定性、利用可能な試験法等によって異なると考えられるため、取り扱う細胞・組織によってこれらの違いを十分に考慮して設定すること。また、製造工程の妥当性の検証と一定性の維持管理法、中間製品の品質管理等との相互補完関係を考慮に入れて、全体として品質管理の目的が達成されたとの観点から、合理的に規格及び試験方法を設定し、その根拠を示すこと。なお、確認申請は、治験を実施する製品の品質として問題がないとみなせることを確認することを目的としている。したがって、無菌性やマイコプラズマの否定など必須なものを除き、治験後に臨床試験成績と品質の関係を論ずるために必要な品質特性については、やむを得ない場合は少数の試験的検体の実測値をもとにその変動をしかるべき範囲内に設定する暫定的な規格及び試験方法を設定することで差し支えない。ただし、規格及び試験方法を含む品質管理法は治験の進行とともに充実・整備を図ること。

2 最終製品の品質管理法

最終製品について、以下に示す一般的な品質管理項目及び試験を参考として、必要で適切な規格及び試験方法を設定し、その根拠を明らかにすること。

ロットを構成しない製品を製造する場合は個別製品ごとに、ロットを構成する製品を製造する場合には、通常、各個別製品ではなく各ロットが品質管理の対象となるので、これを踏まえてそれぞれ適切な規格、試験方法を設定すること。

(1) 細胞数並びに生存率

得られた細胞の数と生存率は、最終製品又は必要に応じて適切な製造工程の製品で測定すること。なお、確認申請時においては、少数の試験的検体での実測値を踏まえた暫定的な規格を設定することでも良い。

(2) 確認試験

目的とする細胞・組織の形態学的特徴、生化学的指標、免疫学的指標、特徴的産生物質その他適切な遺伝型あるいは表現型の指標を選択して、目的とする細胞・組織であることを確認すること。

(3) 細胞の純度試験

目的細胞以外の異常増殖細胞、形質転換細胞の有無や混入細胞の有無等の細胞の純度について、目的とする細胞・組織の由来、培養条件等の製造工程等を勘案し、必要に応じて試験項目、試験方法及び判定基準を示すこと。なお、確認申請時には、少数の試験的検体での実測値を踏まえた暫定的な規格を設定することでも良い。

(4) 細胞由来の目的外生理活性物質に関する試験

細胞由来の各種目的外生理活性物質のうち、製品中での存在量如何で患者に安全性上の重大な影響を及ぼす可能性が明らかに想定される場合には、適切な許容量限

度試験を設定すること。なお、確認申請時においては、少数の試験的検体での実測値を踏まえた暫定的な規格を設定することでも良い。

(5) 製造工程由来不純物試験

原材料に存在するか又は製造過程で非細胞・組織成分、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、かつ、品質及び安全性の面からみて望ましくない物質等（例えば、ウシ胎児血清由来のアルブミン、抗生物質等）については、当該物質の除去に関するプロセス評価や当該物質に対する工程内管理試験の結果を考慮してその存在を否定するか、又は適切な試験を設定して存在許容量を規定すること。試験対象物質の選定及び規格値の設定に当たっては、設定の妥当性について明らかにすること。

なお、確認申請時においては、少数の試験的検体での実測値を踏まえた暫定的な規格を設定することでも良い。

(6) 無菌試験及びマイコプラズマ否定試験

最終製品の無菌性については、あらかじめモデル検体を用いて全製造工程を通じて無菌性を確保できることを十分に評価しておく必要がある。最終製品について、患者に適用する前に無菌性（一般細菌及び真菌否定）を試験により示すこと。また、適切なマイコプラズマ否定試験を実施すること。最終製品の無菌試験等の結果が、患者への投与後にしか得られない場合には、投与後に無菌性等が否定された場合の対処方法をあらかじめ設定しておくこと。また、この場合、中間製品で無菌性を試験により示し、最終製品に至る工程の無菌性を厳密に管理する必要がある。また、同一施設・同一工程で以前に他の患者への適用例がある場合には、全例において試験により無菌性が確認されていること。ロットを構成する製品で密封性が保証されている場合には、代表例による試験でよい。適用ごとに試験を実施する必要がある場合で、無菌試験等の結果が、患者への投与後にしか得られない場合には、適用の可否は直近のデータを参考にするようになるが、この場合でも最終製品の無菌試験等は必ず行うこと。

抗生物質は細胞培養系で極力使用しないことが望まれるが、使用した場合には、無菌試験に影響を及ぼさないよう処置すること。

(7) エンドトキシン試験

試料中の夾雑物の影響を考慮して試験を実施すること。規格値は必ずしも実測値によらず、日本薬局方等で示されている最終製品の1回投与量を基にした安全域を考慮して設定すればよい。また、工程内管理試験として設定することも考えられるが、その場合には、バリデーションの結果を含めて基準等を設定し、その妥当性を説明すること。

(8) ウイルス等の試験

バンク化されておらず、ウインドウピリオドが否定できず、HBV、HCV、HIV等を製造工程中に増殖させる可能性のある細胞を用いる際には、中間製品、最終製品等についてもウイルス等の存在を否定する適切な試験を実施すること。また、製造工程中で生物由来成分を使用する場合には、最終製品で当該成分由来のウイルスにつ

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

(9) 効能試験

幹細胞、リンパ球、遺伝子改変細胞その他の細胞等、臨床使用目的又は特性に応じた適切な効能試験の実施を考慮すべき場合もある。なお、確認申請においては、少数の試験的検体による実測値を踏まえた暫定的な規格を設定することでも良い。

(10) 力価試験

細胞・組織から分泌される特定の生理活性物質の分泌が当該細胞・組織加工医薬品等の効能又は効果の本質である場合には、その目的としている必要な効果を発揮することを示すために、当該生理活性物質に関する検査項目及び規格を設定すること。遺伝子を導入した場合の発現産物又は細胞から分泌される目的の生成物等について、力価、産生量等の規格を設定すること。なお、確認申請時においては、少数の試験的検体による実測値を踏まえた暫定的な規格を設定することでも良い。

(11) 力学的適合性試験

一定の力学的強度を必要とする製品については、適用部位を考慮した力学的適合性及び耐久性を確認するための規格を設定すること。なお、確認申請時においては、少数の試験的検体による実測値を踏まえた暫定的な規格を設定することでも良い。

第3章 細胞・組織加工医薬品等の安定性

製品化した細胞・組織加工医薬品等又は重要なそれらの中間製品について、保存・流通期間及び保存形態を十分考慮して、細胞の生存率及び力価等に基づく適切な安定性試験を実施し、貯法及び有効期限を設定し、その妥当性を明らかにすること。特に凍結保管及び解凍を行う場合には、凍結及び解凍操作による製品の安定性や規格への影響がないかを確認すること。また、必要に応じて標準的な製造期間を超える場合や標準的な保存期間を超える長期保存についても検討し、安定性の限界を可能な範囲で確認すること。ただし、製品化後直ちに使用するような場合はこの限りではない。

また、製品化した細胞・組織加工医薬品等を運搬する場合には、運搬容器及び運搬手順（温度管理等を含む）等を定め、その妥当性について明らかにすること。

第4章 細胞・組織加工医薬品等の非臨床安全性試験

製品の特性及び適用法から評価が必要と考えられる安全性関連事項について、技術的に可能であれば、科学的合理性のある範囲で、適切な動物を用いた試験又は*in vitro*での試験を実施すること。なお、非細胞・組織成分及び製造工程由来の不純物等については、可能な限り、動物を用いた試験ではなく理化学的分析法により評価すること。

ヒト由来の試験用検体は貴重であり、また、ヒト由来の製品を実験動物等で試験して必ずしも意義ある結果が得られるとは限らない。このため、動物由来の製品モデルを作成し適切な実験動物に適用する試験系により試験を行うことで、より有用な知見が得られると考えられる場合には、むしろ、このような試験系を用いることに科学的合理性がある場合がある。場合によっては細胞を用いる試験系も考慮し、このようなアプローチにより試験を行なった際には、その試験系の妥当性について明らかにする

こと。

以下に、必要に応じて非臨床的に安全性を確認する際の参考にすべき事項及び留意点の例を示す。これらは例示であって、合理性のない試験の実施を求める趣旨ではなく、製品の特性等を考慮して適切な試験を検討すること。

- 1 培養期間を超えて培養した細胞について、目的外の形質転換を起こしていないことを明らかにすること。
- 2 必要に応じて細胞・組織が産生する各種サイトカイン、成長因子等の生理活性物質の定量を行い、生体内へ適用したときの影響に関して考察を行うこと。
- 3 製品の適用が患者等の正常な細胞又は組織に影響を与える可能性について検討、考察すること。
- 4 製品及び導入遺伝子の発現産物等による望ましくない免疫反応が生じる可能性について検討、考察すること。
- 5 株化細胞を用いた場合には、適切な動物モデル等を利用し、腫瘍形成及びがん化の可能性について考察し、明らかにすること。
- 6 製造工程で外来遺伝子の導入が行われている場合には、遺伝子治療用医薬品指針に定めるところに準じて試験を行うこと。特に、ウイルスベクターを使用した場合には増殖性ウイルスがどの程度存在するかを検査するとともに、検査方法が適切であることについても明らかにすること。

また、導入遺伝子及びその産物の性状について調査し、安全性について明らかにすること。細胞については、増殖性の変化、腫瘍形成及びがん化の可能性について考察し、明らかにすること。

- 7 動物由来のモデル製品を含めて製品の入手が容易であり、かつ臨床上の適用に関連する有用な安全性情報が得られる可能性がある場合には、合理的に設計された一般毒性試験の実施を考慮すること。

なお、一般毒性試験の実施に当たっては、平成元年9月11日付け薬審1第24号厚生省薬務局新医薬品課長・審査課長連名通知「医薬品の製造（輸入）承認申請に必要な毒性試験のガイドラインについて」の別添「医薬品毒性試験法ガイドライン」等を参照すること。

第5章 細胞・組織加工医薬品等の効力又は性能を裏付ける試験

- 1 技術的に可能かつ科学的に合理性のある範囲で、実験動物又は細胞等を用い、適切に設計された試験により、細胞・組織加工医薬品等の機能発現、作用持続性及び医薬品・医療機器として期待される効果を検討すること。
- 2 遺伝子導入細胞にあつては、導入遺伝子からの目的産物の発現効率及び発現の持続性、導入遺伝子の発現産物の生物活性並びに医薬品等として期待される効果等を検討すること。
- 3 適当な動物由来細胞・組織製品モデル又は疾患モデル動物がある場合には、それを用いて治療効果を検討すること。
- 4 確認申請段階では、当該製品の効力又は性能による治療が他の治療法と比較したときはるかに優れて期待できることが国内外の文献又は知見等により合理的に明ら

かにされている場合には、必ずしも詳細な実験的検討は必要とされない。

第6章 細胞・組織加工医薬品等の体内動態

- 1 製品を構成する細胞・組織及び導入遺伝子の発現産物について、技術的に可能で、かつ、科学的合理性がある範囲で、実験動物での吸収及び分布等の体内動態に関する試験等により、患者等に適用された製品中の細胞・組織の生存期間、効果持続期間を推測し、目的とする効果が十分得られることを明らかにすること。
- 2 当該細胞・組織が特定の部位（組織等）に到達して作用する場合には、その局在性を明らかにすること。

第7章 臨床試験

確認申請の段階における安全性については、臨床上の有用性を勘案して評価されるものであり、細胞・組織加工医薬品等について予定されている国内の治験計画について以下の項目を踏まえて評価すること。

- 1 対象疾患
- 2 対象とする被験者及び被験者から除外すべき患者の考え方
- 3 細胞・組織加工医薬品等の適用を含め、被験者に対して行われる治療内容
- 4 既存の治療法との比較を踏まえた臨床試験実施の妥当性
- 5 現在得られている情報から想定されるリスク及びベネフィットを含め、被験者への説明事項の案

なお、臨床試験は、適切な試験デザイン及びエンドポイントを設定して実施する必要があり、目的とする細胞・組織の由来、対象疾患及び適用方法等を踏まえて適切に計画すること。

薬食審査発 1002 第 1 号
薬食機参発 1002 第 5 号
平成 26 年 10 月 2 日

各都道府県衛生主管部（局）長 殿

厚生労働省医薬食品局審査管理課長
（ 公 印 省 略 ）

厚生労働省大臣官房参事官
（医療機器・再生医療等製品審査管理担当）
（ 公 印 省 略 ）

生物由来原料基準の運用について

生物由来原料基準（平成 15 年厚生労働省告示第 210 号）については、薬事法等の一部を改正する法律（平成 25 年法律第 84 号）において、再生医療等製品の安全性を確保しつつ迅速に実用化するための制度が創設されたことを踏まえ、医薬品、医療機器等、再生医療等製品等に用いるヒト又は動物に由来する原料が満たすべき基準について、最新の科学的知見に照らしてそのあり方を検討し、「生物由来原料基準の一部を改正する件」（平成 26 年厚生労働省告示第 375 号）により改正することとしたところである。

今般、改正後の生物由来原料基準について、その運用について別紙のとおり定めたので、御了知の上、貴管下関係業者に対する周知方御配慮願いたい。

なお、この通知は、平成 26 年 11 月 25 日から適用することとし、「ヒト又は動物由来成分を原料として製造される医薬品等の品質及び安全確保に係る一部変更承認申請の取扱いについて」（平成 13 年 7 月 10 日医薬審発第 1046 号）、「ヒト又は動物由来成分を原料として製造される医薬品、医療用具等の品質及び安全性確保のための一部変更承認申請に係るウイルス確認等の取扱いについて」（平成 13 年 11 月 26 日医薬審発第 1552 号）、「薬事法施行規則の一部改正等に伴う事務取扱い等について」（平成 15 年 5 月 20 日医薬審発第 0520001 号・医薬安発 0520001 号・医薬監麻発第 0520001 号・医薬血発 0520001 号）、「生物由来原料基準に規定する原材料の取扱いについて」（平成 21 年 3 月 27 日付け審査管

理課事務連絡)、「ブラジル産のウシ等由来物を原材料として製造される医薬品、医療機器等の自主点検について」(平成 24 年 12 月 11 日付け薬食発 1211 第 8 号)及び「ブラジル産のウシ等由来物を原材料として製造される医薬品、医療機器等の自主点検についての Q & A について」(平成 24 年 12 月 27 日付け審査管理課事務連絡)については、その日をもって廃止する。

生物由来原料基準の運用について

1 第1通則関係

- (1) 生物由来原料基準に規定する「原材料」とは、具体的にはヒト又は動物から採取された組織、体液若しくは組織等の抽出物又はそのプールしたものをいい、それらを出発原材料として医薬品、医療機器、再生医療等製品等の製造に用いる原料又は材料を製するものをいうこと。
- (2) 原料又は材料の製造工程に用いられる原材料のうち、次に掲げる例又はそれに準ずるものは、医薬品等の原料等と同様に取扱うことが妥当とまでは言えないこと等から当該基準に規定されている原材料には該当しないこと。
 - 例1：細胞培養工程の培地成分として使用されるヒトインスリン（遺伝子組換え）を産生する細胞（大腸菌等）のセルバンクの構築にのみ用いられた原材料
 - 例2：細胞培養工程の培地成分として使用されるヒトインスリン（遺伝子組換え）の製造工程において、部分分解に使用される菌由来成分（ペプチダーゼ）の製造に使用された原材料
 - 例3：抗体医薬品等の精製工程に使用されているプロテインAアフィニティークロマトグラフィー担体を構成するプロテインA（菌由来）を精製するために使用された人免疫グロブリンG
 - 例4：遺伝子組換え医薬品のマスターセルバンク樹立過程で種細胞の選択培地に使用された原材料
 - 例5：病原体に関する十分な特性解析及び病原体による汚染の否定がされた医薬品等の製造に用いるマスターセルバンク又はマスターシードであって、その樹立過程で使用された原材料。ただし、基準に規定される原材料への該当性が承認審査において確認されたものに限る。
- (3) 通則10の「適切に用いられている場合」とは、例えば、医薬品等の原料等として用いる場合に、投与される量として、承認された用法・用量を大幅に超えるような使用の方法をしないことをいうこと。
- (4) 通則10の適用に際して、既承認医薬品等であっても、製品のリスクベネフィットを勘案して生物由来原料基準に適合しない原料等の使用が認められている医薬品等を、他の医薬品等の原料等として使用する場合は、使用する製品について新たにリスクベネフィットの評価を行い原料等としての使用の可否を判断する必要があること。

2 第2血液製剤総則関係

- (1) 血液に由来する成分を医薬品等（血液製剤を除く。）の製造工程において添加剤、培地等として用いる場合は、ヒト由来原料基準が適用されるものであること。

3 第3ヒト由来原料総則1ヒト細胞組織原料基準関係

- (1) 「ヒト細胞組織原料等」は、医薬品等を構成する細胞及び組織の原料等であって、ヒトに由来するものとして定義したこと。また、当該原料等には、iPS（様）細胞由来細胞など、当該細胞及び組織が、分化や遺伝子操作等の加工を受けたものである場合は、当該加工を受ける前の細胞及び組織を含むものであること。
- (2) ヒト細胞組織原料基準(2)イの「必要に応じて」とは、自己由来のヒト細胞組織原料等は、原則として不要とするものであること。ただし、自己由来のヒト細胞組織原料等であっても、製品の培養工程においてウイルスの増殖等の懸念がある場合には、製品の安全性の確保のために採取段階等の適切な時期においてウイルス感染を確認する必要があること。
- (3) ヒト細胞組織原料基準(3)ア「細菌、真菌、ウイルス等の感染が否定されていること」については、製造工程において、細菌、真菌、ウイルス等を不活化又は除去する処理を行うことができない製品にあっては、ドナーの適格性の確認に加え、製造工程での無菌性の担保、ウイルス感染リスクの検証その他の必要な事項が行われていることを確認すること。
- (4) ヒト細胞組織原料基準(3)ウの「再検査」については、ヒト細胞組織原料等として臍帯血の提供を受ける場合であって、当該臍帯血の供給方法が、移植に用いる造血幹細胞の適切な提供の推進に関する法律（平成24年法律第90号）第32条の規定に基づき厚生労働省令で定める基準に適合する場合及び臍帯血以外の細胞において当該基準と同等の管理ができている場合においては必ずしも再検査を必要としないこと。
- (5) ヒト細胞組織原料基準(3)エの「必要な疾病等」とは、次に掲げるものが含まれるものであること。
- ア 梅毒トレポネーマ、クラミジア、淋菌、結核菌等の細菌による感染症
 - イ 敗血症及びその疑い
 - ウ 悪性腫瘍
 - エ 重篤な代謝及び内分泌疾患
 - オ 膠原病及び血液疾患
 - カ 肝疾患
 - キ 伝達性海綿状脳症及びその疑い並びにその他の認知症
- (6) ヒト細胞組織原料基準(4)イのドナーの同意については、既に提供を受け

たヒト細胞組織原料等について、採取の際に行った説明とは別に、製造販売業者等が医薬品等の原料等として提供を受ける際に再度説明をし、同意を得る場合についても、適用されるものであること。ただし、ヒト胚性幹細胞については、別途規定される指針に従うこと。

- (7) ヒト細胞組織原料基準(4)ウのドナーの代諾者の同意を得る場合は、次に掲げる要件を満たしていることが望ましいこと。

ア ドナー本人が説明を受け同意を与えることが困難であること又は単独で完全な同意を与える能力を欠いていること

イ 当該ドナーからのヒト細胞組織原料等の採取が医薬品等の品質、有効性及び安全性の確保の観点等から必要とされる合理的理由があること

ウ 代諾者がドナーの意思及び利益を最もよく代弁できると判断される者であること

エ ヒト細胞組織原料等を採取する者は可能な限りドナーにその理解力に応じた説明を行うとともに、ドナー本人からも同意を得るように努めること

オ 採取を行う施設の倫理委員会等において、当該ドナーからのヒト細胞組織原料等の採取の科学的及び倫理的妥当性が審査され、了承されていること

- (8) ドナーの個人情報の匿名化の方法等の取扱いについては、別途定める指針等に従うこととするが、連結可能とすることが望ましいこと。

- (9) ヒト細胞組織原料基準(5)エの「ヒト細胞組織原料等を採取する作業」とは、ヒト細胞組織原料基準(2)アに示す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講じた措置等を指すこと。

- (10) ヒト細胞組織原料基準(5)オの「倫理委員会等の審議結果」については、倫理委員会等における審議を行った場合に、該当するものであること。

4 第3ヒト由来原料総則 3 ヒト由来原料基準関係

- (1) ヒト由来原料等には、たん白質、ホルモン、核酸等の細胞由来抽出物を含むこと。また、ヒト由来原料基準(1)の「ヒトに由来するものの由来となる細胞又は組織」には、上記2の(1)に該当する成分の由来となるヒト血液等も含むこと。さらに、ヒトの毛髪を原材料とするアミノ酸については、細菌、真菌、ウイルス等の不活化の観点からみて過酷な精製工程を経ていると考えられることから、ヒト由来原料基準が適用されるものではないこと。

- (2) ヒト由来原料基準(1)の「適切な段階」とは、未加工又は未精製バルク（ヒト血液にあつては採血時等）の段階、セルバンクを構築するものにあつて

はセルバンクの段階を含むものであること。ただし、原料等又は製品の製造の工程をごく一部進めることによってウイルスを検出する試験がよりの確に行えることとなる場合には、この限りではないこと。

- (3) ヒト由来原料基準(1)のウイルス試験の実施にあたっては、少なくともB型肝炎ウイルス、C型肝炎ウイルス及びヒト免疫不全ウイルスに対する核酸増幅検査を行わなければならないものであること。また、ヒト血液由来成分を用いる場合にあっては、血液製剤総則を参考に、少なくともB型肝炎ウイルス、C型肝炎ウイルス及びヒト免疫不全ウイルスに対する血清学的検査及び核酸増幅検査を行わなければならないものであること。
- (4) ヒト由来原料基準(3)については、ヒト由来原料等は、原則として、細胞・組織ではなく、病原体の不活化又は除去に係る工程を実施可能であると考えられるため、原則として、実施するべきものとしたもの。ただし、「当該処理を行わない合理的な理由がある場合」として、自己由来のヒト細胞組織原料等の培養工程に用いるヒト自己血清等については、必ずしも不活化又は除去工程を実施する必要はないこと。なお、この場合であっても、製品の製造工程のいずれかの段階で病原体の不活化又は除去を行い、又は病原体感染、培養工程における増殖等に関するリスクを適切に管理すること。
- (5) ヒト由来原料基準(3)の不活化又は除去する処理の工程の評価にあたってはICH-Q5Aを参考にする事。
- (6) ヒト由来原料基準(4)ウの「ヒト由来原料等の検査等」とは、ヒト由来原料基準(1)及び(2)に示す検査等を指す。

5 第4動物由来原料総則1反芻動物由来原料基準

- (1) 反芻動物由来原料基準(1)の「反芻動物」とは、ウシ、ヒツジ、ヤギ、水牛、シカ、カモシカ等をいう。
- (2) 反芻動物由来原料基準(1)の「高温及びアルカリ処理により製する原料等その他の適切な処理により製するもの」には、次に掲げるものが含まれること。

ア 脂肪酸、グリセリン、脂肪酸エステル、アミノ酸、合成オリゴペプチド等であって別添2に掲げるもの（ただし、牛脂、牛脂硬化油、コハク化ゼラチン、コハク酸ゼラチン、ゼラチン、ゼラチン加水分解物、ハードファット、ヨークレシチン、脂肪酸（牛脂由来）、水素添加卵黄レシチン、精製卵黄レシチン及び卵黄レシチンを除く。）

イ 骨炭

ウ 原料等の製造工程での希釈率や精製工程におけるプリオンの低減率のシミュレーションに基づき算出した、原料等に混入する可能性のあるプ

リオンのクリアランス値から、製品の安全性が確保されていると評価できるもの

エ 次に掲げる方法又はこれと同等の方法により処理されたもの

- ① 加圧下で、200℃以上最低 20 分間のエステル交換反応又は加水分解を行うもの
- ② 12mol/L 水酸化ナトリウムを用いて、次の工程を行うもの
 - ・ バッチプロセスとして、95℃で 3 時間以上の工程
 - ・ 継続プロセスとして、加圧下 140℃以上 8 分以上、又はそれと同等の工程
- ③ 高圧蒸気滅菌、化学的方法（耐熱性のもの）として、次に掲げる方法のいずれか
 - ・ 1 mol/L 水酸化ナトリウム溶液中で 121℃30 分間の高圧蒸気滅菌後、洗浄、水洗し、通常滅菌
 - ・ 水酸化ナトリウム溶液又は次亜塩素酸ナトリウム溶液（有効塩素濃度 2 %）中で 1 時間の処理を行い、121℃ 1 時間の高圧蒸気滅菌後、洗浄し、通常滅菌
 - ・ 水酸化ナトリウム溶液又は次亜塩素酸ナトリウム溶液中で 1 時間の処理を行い、水洗し、121℃（重量加圧脱気式高圧蒸気滅菌器の場合）又は 134℃（真空脱気式高圧蒸気滅菌器の場合）1 時間高圧蒸気滅菌後、洗浄し、通常滅菌
 - ・ 水酸化ナトリウム溶液中、大気圧下で 10 分間煮沸処理後、洗浄、水洗し、通常滅菌
 - ・ 次亜塩素酸ナトリウム溶液（こちらを優先）又は水酸化ナトリウム溶液中、室温で 1 時間処理後、洗浄、水洗し、通常滅菌
 - ・ 134℃18 分間の高圧蒸気滅菌（脳組織が表面に焦げ付いているような場合は、感染性の大部分は消失しているが、完全では無いことに留意すること）
- ④ 化学的方法（非耐熱性のもの）として、次に掲げる方法
 - ・ 2 mol/L 水酸化ナトリウム又は次亜塩素酸ナトリウム原液をかけて、1 時間放置後、水洗い
- ⑤ 乾燥物に対する高圧蒸気殺菌及び化学的方法として、次に掲げる方法のいずれか
 - ・ 水酸化ナトリウム溶液又は次亜塩素酸ナトリウム溶液中で処理後、真空脱気式高圧蒸気滅菌器で 121℃以上 1 時間高圧蒸気滅菌（水酸化ナトリウム又は次亜塩素酸ナトリウムに抵抗性のある小さい乾燥物）
 - ・ 真空脱気式高圧蒸気滅菌器で 134℃ 1 時間の高圧蒸気滅菌（水酸化ナ

トリウム又は次亜塩素酸ナトリウムに抵抗性のない嵩高い又はあらゆる大きさの乾燥物の場合)

※ ①及び②については、「人用及び動物用医薬品を介した伝達性海面状脳症の伝播リスクを最小限とするためのガイダンス」(2001年5月欧州医薬品庁発行)、③から⑤までについては、「WHO Infection Control Guidelines For Transmissible Spongiform Encephalopathies, Report of a WHO Consultation (2000.3) AnnexⅢ」から引用したもの。

(3) 反芻動物由来原料等の由来となるウシの月齢等の制限については原産国ごとに次に留意することが望ましいこと。

① 日本を原産国とするウシ原材料の採取にあつては、厚生労働省関係牛海綿状脳症対策特別措置法施行規則(平成14年厚生労働省令第89号)及びと畜場法施行規則(昭和28年厚生省令第44号)

② 米国を原産国とするウシ原材料の採取にあつては、「米国から輸入される牛肉等の取扱いについて」(平成25年2月1日付け食安監発0201第3号厚生労働省医薬食品局食品安全部監視安全課長通知)

③ オランダを原産国とするウシ原材料の採取にあつては、「オランダから輸入される牛肉等の取扱いについて」(平成25年2月1日付け食安監発0201第6号厚生労働省医薬食品局食品安全部監視安全課長通知)

(4) 反芻動物原料基準(2)の「国際獣疫事務局において、当該国における牛海綿状脳症の病原体の伝播のリスクが無視できることとされた国」は、現時点においては、次に掲げる国であること。

認定公表日	国
2007年5月25日	オーストラリア、アルゼンチン、ニュージーランド、シンガポール、ウルグアイ
2008年5月30日	フィンランド、アイスランド、ノルウェー、スウェーデン、パラグアイ
2009年5月29日	チリ
2010年5月26日	インド、ペルー
2011年5月27日	デンマーク、パナマ
2012年5月25日	オーストリア、ベルギー、ブラジル、コロンビア
2013年5月29日	イスラエル、イタリア、日本、オランダ、スロベニア、米国
2014年5月30日	ブルガリア、クロアチア、エストニア、ハンガリー、ラトビア、ルクセンブルク、マルタ、ポルトガル、ルーマニア、スロバキア、韓国、中国(香港及びマカオを除く)

なお、ここに掲げる国については、国際獣疫事務局のウェブサイト

(<http://www.oie.int/animal-health-in-the-world/official-disease-status/bse/list-of-bse-risk-status/>) 等により、適時更新するものであること。

- (5) 今後、国際獣疫事務局において、新たに「無視できるBSEリスク」の国が認定された場合、本基準において使用可能な原産国として扱うことができる時点は、本通知の改正の有無にかかわらず、原則として、その認定の可否が検討された国際獣疫事務局総会の結果が公表された日とすること。なお、当該国の反芻動物由来原料等について、使用可能となるのは、既に(3)に掲げられている国を含め、上記の日以降に採取されたものであることに留意すること。
- (6) 反芻動物由来原料基準(2)の「羊毛」及び「乳」には、それぞれ羊毛由来の原料等及び乳由来の原料等を含むこと。
- (7) 反芻動物由来原料基準(3)ウ及びエの「反芻動物の飼育又はと畜の状況」及び「伝達性海綿状脳症を防止するための処理及び作業の経過」については、原産国の法令等において当該事項が規制されているのであればその法令等の該当箇所の引用と遵守の宣言をもって記録に替えることは可能であること。
- (8) 反芻動物由来原料基準(4)の「その他必要な場合」とは、原料等の入手先が限定されている場合を含むものであること。

6 第4 動物由来原料総則 2 動物細胞組織原料基準

- (1) 動物細胞組織原料等には、生体弁、心膜パッチに用いる動物由来の細胞又は組織を含むものであること。
- (2) 動物細胞組織原料基準(3)の「十分な適格性」とは、次のいずれにも該当するものであること。
 - ア ドナー動物を選択するに当たっては、動物種ごとの微生物学的特性が考慮されていること。
 - イ ドナー動物の受入れ時及び受入れ後の試験検査が、当該試験検査の項目及び当該試験検査の結果を評価する基準をあらかじめ設定した上で行われていること。特に、感染症等に関する試験検査については、動物種ごとに検査すべき項目が異なる点に留意すること。
 - ウ ドナー動物の受入れに際して、感染症等の伝播を防止するための措置が適切に行われていること。
 - エ ドナー動物の飼育管理に関する実施方法及び手順を記載した標準操作手順書が作成されていること。
 - オ 感染症等の伝播を防止するため、ドナー動物の飼育管理が封じ込めの

設備その他の適切な設備を有する施設で行われていること。

カ ドナー動物が動物福祉の精神に基づいて取り扱われていること。

- (3) 動物細胞組織原料基準(3)のただし書中「材料」とは、フィーダー細胞など、医薬品等の有効成分や主たる構成細胞として用いられるものではなく、製造段階でのみ用いられ、最終製品では工程由来不純物として残留する程度のものなどをいうこと。
- (4) 動物細胞組織原料基準(3)のただし書中「使用実績」とは、薬事承認を受けた医薬品等における使用や、「再生医療等の安全性の確保等に関する法律」(平成 25 年法律第 85 号)に基づく再生医療等での使用実績を含むものであること。
- (5) 動物細胞組織原料基準(4)については、動物の生きた細胞又は組織を用いる場合にあっては、ウイルス感染リスクの検証を行わなければならないこと。それ以外の場合にあっては、無菌性の担保及びウイルス感染リスクの検証を行わなければならないこと。
- (6) 動物細胞組織原料基準(4)の「ウイルス感染リスクの検証」について、動物の生きた細胞又は組織を用いる場合にあっては、「異種移植の実施に伴う公衆衛生上の感染症問題に関する指針について」(平成 14 年 7 月 9 日医政研発第 0709001 号)及び「異種移植の実施に伴う公衆衛生上の感染症問題に関する指針」に基づく 3T3J2 株及び 3T3NIH 株をフィーダー細胞として利用する上皮系の再生医療への指針について」(平成 16 年 7 月 2 日医政研発第 0702001 号)を参照すること。
- (7) 動物細胞組織原料基準(4)の「ウイルス感染リスクの検証」については、別添 1 の例示を参考とし、対象となる成分の特性に応じて例示の条件又はそれ以上の過酷な条件によるウイルス不活化に係る加熱処理が、製造工程中の適切な時点で実施されている場合には、必要ないこと。
- (8) 動物細胞組織原料基準(5)ウの「ドナー動物の受入りの状況」の記録とは、飼育施設及びと畜する施設における受入れ時に設定している上記(2)ウの措置内容とその実施記録を指すこと。

7 第4 動物由来原料総則 3 動物由来原料基準

- (1) 動物由来原料基準(1)の「科学的に公知のもの」とは、半合成及び高度精製がなされた動物由来原料等であって、細菌、真菌、ウイルス等の不活化の観点からみて過酷な精製工程を経ていると考えられる別添 2 に示した動物由来原料等の他、ほ乳類、鳥類、は虫類、両生類以外の動物を基原とした原材料から製する動物由来原料等であること。ただし、プリオン伝播のリスクについては、単に化学処理等によっても消滅しない可能性が否定で

きないものであり、動物由来原料基準の適応となっていない別添 2 の動物由来原料等であっても、上記 5 (2) に掲げられていない反芻動物由来原料等については反芻動物由来原料基準が適用されるべきであること。

(2) 動物由来原料基準(1)の「健康な動物」とは、第十六改正日本薬局方参考情報 18. 日局生物薬品のウイルス安全性確保の基本要件 4 の 4.1 に規定するものであり、「食用基準」を満たしているとは、次のいずれかを満たしている又はその同等であることをいうものであること。

- ① 「と畜場法」(昭和 28 年法律第 114 号) 第 14 条に規定する検査を受けたもの
- ② 「食鳥処理の事業の規則及び食鳥検査に関する法律」(平成 2 年法律第 70 号) 第 15 条に規定する検査を受けたもの
- ③ 「乳及び乳製品の成分規格等に関する省令」(昭和 26 年厚生省令第 52 号) 第 3 条の基準に適合するもの
- ④ 外国において、食用に供すること等に関する認証を受けているもの

(3) (2) に加えて、「健康な動物」が確認できない野生動物にあつては、Codex (FAO/WHO 合同食品規格計画) が発行した「Recommended International Code of Hygienic Practice for Game CAC/RCP 29-1983. Rev. 1 (1993)」に規定する以下の要件を満たすものであること。なお、野生動物由来の原料等については、食品、添加物等の規格基準(平成 5 年 3 月 17 日衛乳第 54 号厚生省生活衛生局乳肉衛生課長通知等)を参考に耐熱性菌の検体検査を行うことが望ましいこと。

- ① 動物のと殺及び原料等の部位の採取に当たっては、原料等の部位が汚染されないように適切な方法をとること。
- ② 動物のと殺に当たっては、確実に即死する方法を選ぶこと。
- ③ 動物の捕獲に当たっては、捕獲禁止区域では行わないこと。

(4) 動物由来原料基準(1)の「無菌性の担保、ウイルス感染リスクの検証その他の必要な事項」とは、当該動物由来原料等が十分に特性解析されたセルバンクを出発基材としない場合においては、無菌性の担保、ウイルス感染リスクの検証を工程の適切な段階(原料等又は製品の工程を含む。)において実施するとともに、動物の原産地及び使用部位の確認並びに原材料として細胞又は組織が使用される場合にあつてはその入手方法の確認が行われていることを指すこと。

(5) 動物由来原料基準(2)の「適切な段階」とは、セルバンク又はシードロットを構築するものにあつてはセルバンク又はシードロット、未加工又は未精製バルクの段階、また、原料等又は製品の製造の工程をごく一部進めることによってウイルスを検出する試験がよりの確に行えることとなる場合

を含むものであること。

- (6) 動物由来原料基準(3)の「当該処理を行わない合理的な理由がある場合」とは、例えば現在の知見では不活化又は除去処理により原料等として目的とする特性が失われ、他の原料等への変更ができないこと等であること。なお、その場合にあっては由来する動物が健康であることを確認した上で、無菌性の担保、ウイルス感染リスクの検証を工程の適切な時点において実施するとともに、動物の原産地及び使用部位の確認並びに原材料として細胞又は組織が使用される場合にあってはその入手方法の確認が行われていること。

8 その他

- (1) 承認書等において、「生物学的製剤基準血液製剤総則」と記載されているものは、生物由来原料基準血液製剤総則の該当する記載とみなすこと。
- (2) 反芻動物由来原料等の品質及び安全確保に関して、承認書において、「平成12年12月12日医薬発第1226号医薬安全局長通知」及び「平成13年10月2日医薬発第1069号医薬局長通知」と記載されているものについては、反芻動物由来原料基準の該当する記載とみなすこと。
- (3) 記録の保存については、定型の記録文書の保存ではなく、必要な情報が確認できる資料（例えば Certificate 等）の写し等による保存でも本来の目的であるトレーサビリティが確認できるのであればそれで差し支えないこと。
- (4) 生物由来原料基準に規定する記録の保管については、原則、製造業者等が保管すべきものであるが、製造業者等は原料等を製造する者（以下「原料等業者」という。）との契約により、当該原料等業者に保管を行わせることができるものであること。ただし、その場合にあっては、製造業者等は、当該原料等業者が保管する記録について必要な情報を速やかに入手できるよう管理されていること。
- (5) 製造販売承認申請書の記載は別添3を参考とすること。

別添 1 ウイルス不活化の検証がなされた加熱条件

加熱条件	該当する成分例
71℃ 3 時間、121℃15 秒及び 101℃30 秒	トリプトン
71℃最低 3 時間及び 101℃最低 30 秒	ラクトアルブミン
92℃ 1 時間及び 125± 2℃ 3 ～ 4 秒	コンドロイチン硫酸ナトリウム
100℃30 分	チキンエキス
100℃30 分 3 回間欠滅菌	スキムミルク
120℃15 分以上	トリプトン、ポリペプトン、カザミノ酸
122℃30 分	トリプチケースソイブロス
122℃55 分	ペプトン
30 分間煮沸、オーブン(180～190℃)で 16～48 時間乾燥、121℃60 分	ペプトン
123℃20 分	牛肝臓、牛心臓、牛肉
200℃、40bar、20 分	牛脂
高圧蒸気滅菌	ラクトアルブミン水和物、カザミノ酸、カシトン、ハートエキス、バクトトリプトン、肝臓エキス、牛肝臓
スプレードライ (150℃)	ヨークレシチン

別添2 細菌、真菌、ウイルス等の不活化の観点からみて過酷な精製工程を経ていると考えられるもの

DL-セリン	コハク酸ゼラチン	ポリエチレングリコール脂肪酸エステル
L-アスパラギン酸及びその塩類	コハク酸フレドニゾロン	ポリオキシエチレンオレイルエーテル
L-アラニン	コレカルシフェロール	ポリオキシエチレンコレスタノール
L-アルギニン	コレステロール	ポリオキシエチレンセチルエーテル
L-イソロイシン	コレステロールラリリン脂肪酸エステル	ポリオキシエチレンソルビタンモノオレエート
L-カルボキシステイン	シアノコバラミン	ポリオキシエチレンソルビタン脂肪酸エステル
L-カルボキシステイン	自己乳化型モノステアリン酸グリセリン	ポリオキシエチレンラリリン
L-シスチン	ジステアリン酸	ポリエチレングリコール 6000 ポリソルベート
L-シスチン	ジプロピオン酸ヘタメタゾン	マクロゴール 400
L-システイン	ショ糖脂肪酸エステル	モノオレイン酸ポリエチレングリコール
L-システイン	ショ糖脂肪酸エステル-S	モノオレイン酸ソルビタン
L-システイン塩酸塩	ステアリルアルコール	モノオレイン酸ポリオキシエチレンソルビタン
L-セリン	ステアリン酸及びその塩類	モノオレイン酸ポリグリセリル
L-チロシン	ステアリン酸ポリオキシル類	モノステアリン酸グリセリン
L-チロジン	セスキオレイン酸ソルビタン	モノステアリン酸ソルビタン
L-トリプトファン	セタノール	モノステアリン酸プロピレングリコール
L-トレオニン	ゼラチン	モノステアリン酸ポリエチレングリコール
L-バリン	ゼラチン加水分解物	モノステアリン酸ポリオキシエチレンソルビタン
L-ヒドロキシプロリン	ソルビタン脂肪酸エステル	モノラウリン酸ソルビタン
L-フェニルアラニン	タンニン酸アルブミン	ヤシ油脂肪酸加水分解コラーゲントリエタノールアミン
L-プロリン	デオキシコール酸ナトリウム	ヨークレシチン
L-ロイシン	デキサメサゾン・ソジウムメタスルホベントアート	ラウリルアルコール
L-塩酸システイン	デキサメタゾン	ラウリル硫酸ナトリウム

N-アセチル-L-システイン	デソキシコール酸ナトリウム	ラクツロース
N-アセチル-L-システイン	デヒドロコール酸及びその塩類	ラクティオン酸
N-ステアロイル-L-グルタミン酸ナトリウム	トリアセチン	ラクティオン酸エリスロマイシン
N-ヤシ油脂肪酸/硬化牛脂脂肪酸アシル-L-グルタミン酸ナトリウム	トリアムシノロンアセトニド	ラノリン
N-라우ロイル-L-グルタミン酸ジ(コレステリル・オクチルドデシル)	トリオレイン酸ソルビタン	ラノリンアルコール
αモノイソステアリルグリセリルエーテル	トリストアリン酸ソルビタン	ラノリン脂肪酸コレステロールエステル
アセチルしよ糖変性アルコール 95vol%	トリ牛脂脂肪酸グリセリル	リンゴ酸システイン
アマコール CAB	乳糖	リンゴ酸システイン
アルファカルシトール	ハイドロキシアパタイト	リン酸ヒドロコルチゾンナトリウム
イソステアリン酸	ハートファット	リン酸ベータメタゾン及びその塩類
ウルソデオキシコール酸	パナセート 810	リン酸リボフラビンナトリウム
ウルソデソキシコール酸	パルミチン酸イソプロピル	レシチン
エタノール・無水エタノール	パルミチン酸セチル	塩酸 L-エチルシステイン
エピシヒドロコレステリン	ヒオデオキシコール酸メチル	塩酸 L-メチルシステイン
オレイルアルコール	ビタミン A+D2 末	還元ラノリン
オレイン酸	ビタミン B12	吉草酸ベータメタゾン
オレイン酸デシル	ビタミン D	吉草酸酢酸プレドニゾロン
カプリル酸、カプリン酸	ビタミン D2	脂肪酸(牛脂由来)
ガラクトース	ビタミン D3	自己乳化型モノステアリン酸グリセリン
カルシトリオール	ヒドロキシステアリン酸コレステリル	親油型モノステアリン酸グリセリン
牛脂	ヒドロコルチゾン	酢酸コナトレリン
牛脂硬化油	ファルネシル酸プレドニゾロン	酢酸デキサメタゾン
グリセリルトリアセチン	フェニルエチルアルコール変性アルコール 95vol%	酢酸パラメタゾン
グリセリン	フランカルボン酸モメタゾン	酢酸ヒドロコルチゾン
グリセリンオレイン酸エステル	フルオシノニド	酢酸ブセレリン
グリセリン脂肪酸エステル	フルオシノロンアセトニド	酢酸プレドニゾロン
ケノデオキシコール酸	プレドニゾロン	水素添加卵黄レシチン
ケノ酸	プロチレリン	精製卵黄レシチン

ゲラニオール変性アルコール 95vol%	ヘタメタゾン	中鎖脂肪酸トリグリセリド
コール酸	ペンタオレイン酸デカグリセリル	乳酸カルシウム
コハク化ゼラチン	ペンタステアリン酸デカグリセリン	卵黄レシチン

注) 上記のリストに収載されているものと同等の成分（例えば、アルキル基の異なるエステル、側鎖の長さ等が異なるのみの脂肪酸、界面活性剤、重合度が異なる脂肪酸エステル等）については、客観的に上記のリストに収載されているものと様とみなすことができる。

別添 3 製造販売承認申請書の記載例

1 ウシ等由来原料について

(成分名〇〇〇)は、(ウシ等の動物名)(原産国)の(使用部位△△△)に由来する。製造方法は別紙規格〇〇(又は公定書規格)によるほか、健康な動物に由来する原料を使用し、BSE に感染している動物由来の原料及び生物由来原料基準反芻動物由来原料基準に定める使用してはならない部位が製造工程中で混入しないよう、採取した△△△を原料として製する。(なお、本原料については、同基準の第 4 項の規定に基づき、平成 13 年 10 月 2 日付け医薬発第 1069 号医薬局長通知の記の 2 の(1)の②の条件に適合するものである。)

(成分名〇〇〇)は、(ウシ等の動物名)の(使用部位△△△)に由来し、BSE に感染している動物由来の原料及び生物由来原料基準反芻動物由来原料基準に定める使用してはならない部位が製造工程中で混入しないよう管理された低リスク原料等に該当するものである。

2 ヒト動物等由来原料について

(成分名〇〇〇)は、ヒト(動物の場合は動物名)の(使用部位)に由来する。当該成分は、原材料を提供するヒト(動物の場合は動物名)に対してドナースクリーニング(実施した検査項目、検査方法を記載)を実施して適格性が確認されており、〇〇〇〇の方法により病原体の不活化／除去処理を行ったものである。

(成分名〇〇〇)は、ヒト(動物の場合は動物名)の(使用部位)に由来する。当該成分は、健康なヒト(又は動物)に由来し、〇〇〇(原材料又は工程の別を記載)に対して検査(実施した検査項目、検査方法を記載)を行い、〇〇〇〇の方法により病原体の不活化／除去処理を行ったものである。

3 血液製剤等について

(成分名〇〇〇)は、(採血国)で採血された血液に由来する。次に掲げる採血国及び採血所で採血された血液は、平成 15 年 5 月 15 日付け医薬発第 0515020 号医薬局長通知に示す献血の定義に該当するものである。(可能性のある採血国及び採血所名を列記する。)