

平成 29 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

東京医科大学 形成外科学講座

松村 一

# 目次

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 29 年度委員名簿

II. 平成 29 年度会議議事概要

III. ヒト（同種）表皮（皮膚）再生に関する評価指標（案）

IV. 調査事項

1. 同種由来の培養表皮シートの実用化 坂本 道治
2. 表皮水疱症を取り巻く環境と国内外の新規治療法 新熊 悟
3. 表皮細胞以外の細胞製品の動向
  - ・難治性四肢潰瘍の治療としての末梢血生体外培養増殖単核球(MNC-QQ)  
細胞移植 田中 里佳
  - ・ヒト（同種）脂肪組織由来間葉系幹細胞(ALLO-ASC)シートについて  
イシンファーマ株式会社
  - ・表皮水疱症に対する他家骨髄間葉系幹細胞移植治療 玉井 克人
  - ・DERMAGFAFT®に関する調査報告 事務局
  - ・KALODERM®に関する調査報告 事務局
  - ・EpiFix®に関する調査報告 Takehito Itoh
4. セルバンクに関して

V. 参考資料

1. 平成 20 年 9 月 12 日付薬食発第 09120006 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」

# 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 29 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29年度委員名簿

座長

松村 一 東京医科大学 形成外科学分野 主任教授

委員（五十音順）

梅澤明弘 国立成育医療研究センター 研究所 副所長  
菊池明彦 東京理科大学 基礎工学部 材料工学科 教授  
新熊 悟 新潟大学 医歯学総合病院 皮膚科 准教授  
藤田靖幸 北海道大学大学院医学研究科 皮膚科学分野 講師  
森本尚樹 関西医科大学 形成外科学講座 准教授

厚生労働省

稲角嘉彦 厚生労働省 医療機器審査管理課再生医療等製品審査管理室 課長補佐  
黒岩健二 厚生労働省 医療機器審査管理課再生医療等製品審査管理室 再生医療等製品基準係長  
富士原海太 厚生労働省 医療機器審査管理課医療機器係 係員

独立行政法人医薬品医療機器総合機構

河西正樹 医薬品医療機器総合機構 再生医療製品等審査部 審査専門員  
吉田貴明 医薬品医療機器総合機構 再生医療製品等審査部 審査専門員  
宮崎生子 医薬品医療機器総合機構 規格基準部 部長  
松岡厚子 医薬品医療機器総合機構 規格基準部医療機器基準課 テクニカルエキスパート

オブザーバー

伊藤弓弦 産業技術総合研究所 創薬基盤研究部門 幹細胞工学研究グループ 研究グループ長  
廣瀬志弘 産業技術総合研究所 健康工学研究部門 生体材料研究グループ 主任研究員

国立医薬品食品衛生研究所（事務局）

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  
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 第四室 室長

## II. 平成 29 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 29 年度第一回会議議事録（概要）

1. 開催日時：2017 年 9 月 12 日（木）18 時 30 分～20 時 30 分

2. 開催場所：オフィス東京 L4 会議室

3. 出席者（敬称略）

委員：松村 一（東京医科大学）、梅澤 明弘（国立成育医療研究センター研究所）、  
菊池 明彦（東京理科大学）、新熊 悟（新潟大学）、藤田 靖幸（北海道大  
学、）森本 尚樹（関西医科大学）

厚生労働省：稲角 嘉彦、黒岩 健二

医薬品医療機器総合機構：河西 正樹、吉田 貴明、宮崎 生子、松岡 厚子

産業技術総合研究所：伊藤 弓弦、廣瀬 志弘

事務局（国立医薬品食品衛生研究所）：佐藤 陽治、澤田 留美、河野 健

4. 配布資料

1. 平成 29 年度第一回委員会議事次第

2. 平成 29 年度委員名簿

3. 次世代医療機器・再生医療等製品評価指標作成事業について

4. 再生医療審査 WG 平成 28 年度報告とこれまでの評価指標の内容について

5. 再生医療審査 WG 平成 29 年度活動内容

6. ヒト(自己)表皮(皮膚)再生に関する評価指標(案)パブコメ版

7. 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

8. 平成 26 年度「再生医療の産業化に向けた評価基盤技術開発事業(再生医療等の産  
業化に向けた評価手法等の開発)」原料細胞の入手等に関する調査等報告書

9. 「同種培養表皮シートの実用化に関する調査」(松村 一、森本尚樹)

平成 28 年度次世代医療機器評価指標作成事業 再生医療審査 WG 報告書  
告書

5. 議事内容

①次世代医療機器・再生医療等製品評価指標作成事業について厚生労働省 稲角課長

補佐より説明があった。

②平成 28 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 29 年度の座長及び委員による自己紹介が行われた。座長・委員は下記の通り（敬称略）

座長

松村 一 東京医科大学病院 形成外科 主任教授

委員（五十音順）

梅澤明弘 国立成育医療研究センター 研究所 副所長

菊池明彦 東京理科大学 基礎工学部 材料工学科 教授

新熊 悟 新潟大学 医歯学総合病院 皮膚科 准教授

藤田靖幸 北海道大学大学院医学研究科 皮膚科学分野 講師

森本尚樹 関西医科大学 形成外科学講座 准教授

④平成 29 年度の活動方針について討議した。

今年度は重症皮膚疾患（広範囲熱傷、巨大色素性母斑、表皮水疱症）及び非重症皮膚疾患（採皮部、広範囲でない II 度熱傷、III 度熱傷）（難治性潰瘍含めない）の治療を目的としたヒト同種培養表皮細胞シートの評価指標を作成する。また表皮細胞以外の細胞製品の動向について調査を行う。

⑤作業分担について話し合われた。

(1)評価指標に関して

臨床試験；

- ・ 広範囲熱傷；松村座長
  - ・ 色素性母斑；森本委員
  - ・ 表皮水疱症；新熊委員、藤田委員
  - ・ 採皮部、II 度熱傷、III 度熱傷；松村座長、森本委員
- 品質管理関係；梅澤委員、菊池委員、事務局

(2)調査に関して

難治性潰瘍の治療を目的とした生体外末梢単核球注射（MNC-QQ）の臨床研究の状況について順天堂大学の田中先生、表皮水疱症の治療を目的としたテムセル HS 注の治験について大阪大学の玉井先生に原稿を依頼する（事務局）。

イノシンファーマ（株）が行う ALLO-ASC の治験については藤田委員に調査していただく。海外製品に関しての調査は事務局が行う。

⑥第二回会議で、京都大学の坂本先生に同種培養表皮シートの実用化についての講演をお願いする（事務局）。第三回会議で、表皮水疱症について新熊委員又は藤田委員に講演していただく。

⑦J-TEC 井家様に同種の培養表皮製品のセルバンクについてヒアリングを行う（事務局）。

⑧今後の会議日程

第二回会議：平成29年10月26日(木)18-20時 オフィス東京 L4 会議室

第三回会議：平成29年11月30日(木)18-20時 オフィス東京 L4 会議室

第四回会議：平成30年1月11日(木)18-20時 オフィス東京



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 29 年度第二回会議議事録（概要）

2. 開催日時：2017 年 10 月 26 日（木）18 時 00 分～20 時 00 分

2. 開催場所：オフィス東京 L2 会議室

3. 出席者（敬称略）

委員：松村 一（東京医科大学）、梅澤 明弘（国立成育医療研究センター研究所）、  
菊池 明彦（東京理科大学）、新熊 悟（新潟大学）、藤田 靖幸（北海道大  
学、）森本 尚樹（関西医科大学）

京都大学：坂本 道治

厚生労働省：富士原 海太

医薬品医療機器総合機構：河西 正樹、宮崎 生子、松岡 厚子

産業技術総合研究所：伊藤 弓弦、廣瀬 志弘

事務局（国立医薬品食品衛生研究所）：佐藤 陽治、澤田 留美、河野 健

4. 配布資料

1. 平成 29 年度第二回委員会議事次第
2. 平成 29 年度第一回委員会議事録（概要）
3. 坂本先生ご発表資料
4. ヒト（同種）表皮（皮膚）再生に関する評価指標（たたき台）
5. 臨床試験（治験）—広範囲熱傷、深達性 II 度熱傷・III 度熱傷（たたき台）
6. 調査：表皮細胞以外の細胞製品の動向 進捗報告
7. ヒト（自己）表皮（皮膚）再生に関する評価指標（案）パブコメ版
8. 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
9. 平成 28 年 6 月 30 日付薬生機審発 0630 第 1 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 2「ヒト（同種）iPS（様）細胞加工製品を用いた関節軟骨  
再生に関する評価指標」

5. 議事内容

- ①京都大学 坂本道治先生より「同種由来の培養表皮の実用化」についてご講演いた  
だき、その後、発表内容について質疑応答がなされた。

②配布資料 4 [ヒト (同種) 表皮 (皮膚) 再生に関する評価指標 (たたき台)], 配布資料 5 [臨床試験 (治験) — 広範囲熱傷、深達性 II 度熱傷・III 度熱傷 (たたき台)] について全委員で討議した。

・主な討議内容

- ・対象製品は「再生医療等製品」とし、細胞を死滅させた乾燥製品は対象としない。
- ・自己の場合は、製品として「生細胞」のシート状のものであったが、同種の場合は「凍結」させた製品が主であると考え。「加工した表皮細胞の特性解析」に細胞の凍結について追記する (事務局担当)
- ・用語の定義に「深達性 II 度熱傷」、「III 度熱傷」、「皮膚分層欠損層 (採皮部)」を加える (松村座長担当)
- ・ドナー由来、製造工程における外来性ウイルス混入のリスクについて追記する (事務局担当)
- ・ドナーの適格性について、指針と同じ表現になるかもしれないが追記する (事務局担当)
- ・非臨床安全性試験の造腫瘍性試験に「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、不死化が起こっていないことを確認」を追記する。
- ・II 度、III 度熱傷の治験の症例に関して、熱傷の具体的な面積については記載しない。
- ・上皮化率の評価時期は移植後 4,8 週後とし、「望ましい」という表現にする。
- ・次回会議までに臨床試験 (治験) の巨大色素性母斑の部分に森本委員、表皮水疱症の部分に藤田委員に記載していただく。

③第三回会議で新熊委員に表皮水疱症関連のご講演をいただく。

④今後の会議日程

第三回会議 : 平成 29 年 11 月 30 日 (木) 18-20 時 オフィス東京 L4 会議室

第四回会議 : 平成 30 年 1 月 11 日 (木) 18-20 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 29 年度第三回会議議事録（概要）

3. 開催日時：2017 年 11 月 30 日（木）18 時 00 分～20 時 00 分

2. 開催場所：オフィス東京 L4 会議室

3. 出席者（敬称略）

委員：松村 一（東京医科大学）、梅澤 明弘（国立成育医療研究センター研究所）、  
菊池 明彦（東京理科大学）、新熊 悟（新潟大学）、藤田 靖幸（北海道大  
学、）森本 尚樹（関西医科大学）

厚生労働省：黒岩 健二

医薬品医療機器総合機構：河西 正樹、吉田 貴明

事務局（国立医薬品食品衛生研究所）：佐藤 陽治、澤田 留美、河野 健

4. 配布資料

1. 平成 29 年度第三回委員会議事次第
2. 平成 29 年度第二回委員会議事録(概要)
3. 新熊先生ご発表資料
4. ヒト(同種)表皮(皮膚)再生に関する評価指標(たたき台修正及び確認)
5. 臨床試験(治験)一広範囲熱傷、深達性 II 度熱傷・III 度熱傷(確認)、先天性巨大色素性母斑、表皮水疱症(たたき台)
6. 調査:表皮細胞以外の細胞製品の動向
7. ヒト(自己)表皮(皮膚)再生に関する評価指標(案)パブコメ版
8. 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
9. 平成 28 年 6 月 30 日付薬生機審発 0630 第 1 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 2「ヒト(同種)iPS(様)細胞加工製品を用いた関節軟骨再生に関する評価指標」

5. 議事内容

- ①新熊委員より「表皮水疱症を取り巻く環境と国内外の新規治療法」についてご講演いただき、その後、発表内容について質疑応答がなされた。
- ②配布資料 4 [ヒト(同種)表皮(皮膚)再生に関する評価指標(たたき台修正及

び確認)」、配布資料 5 [臨床試験(治験)―広範囲熱傷、深達性 II 度熱傷・III 度熱傷(確認)、先天性巨大色素性母斑、表皮水疱症(たたき台)]について全委員で討議した。

・主な討議内容

・「ドナーの選択基準、適格性」で、シャーガス病の検査は評価指標には書かない。

・「細胞のバンク化」のウイルス検査について、具体的なウイルス名は書かず、「必要なウイルス否定試験を行う」という表現にする。

・「臨床有効性評価」ア.臨床情報において、先天性巨大色素性母斑と表皮水疱症には治療歴を入れる。表皮水疱症において、真皮再構築の有無について広範囲熱傷と同様の項目を加える。

・「臨床有効性評価」イ.有効性の評価の表皮水疱症において、「症例あたりの移植回数」を「部位あたりの移植回数」とする。使用枚数は書かない。「培養された同種表皮シート」を「移植された」に変更する。「移植後 6 か月程度」ではなく「1 年程度」にする。生検については書かない。

・熱傷、色素性母斑、表皮水疱症、全体において移植した自己の細胞が生着する場合を「表皮形成率」と表現する。同種の細胞を移植する場合は、移植した細胞が生着するわけではないので、「上皮化率」と表現する。

③1 月 11 日 (木) に開催予定であった第四回会議はキャンセルし、メールアドレスで修正を行う。必要であれば、2 月 1 日 (木) に開催する。

### III. ヒト（同種）表皮（皮膚）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) 原料等
  - (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) 製品の安定性試験
  - (5) 非臨床試験
  - (6) 臨床試験（治験）

## ヒト（同種）表皮（皮膚）再生に関する評価指標（案）

### 1. はじめに

再生医療等製品（医薬品、医療機器等の品質、有効性及び安全性の確保等に関する法律（昭和 35 年法律第 145 号）第 2 条第 9 項に規定する「再生医療等製品」をいう。以下同じ。）のうち、ヒト（同種）細胞加工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 9 月 12 日付け薬食発 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、ヒト（同種）皮膚組織由来細胞加工製品のうち特に皮膚疾患の治療を目的として皮膚に適用される再生医療等製品について、上述の基本的な技術要件に加えて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、ヒト（同種）皮膚組織由来細胞加工製品のうち特に皮膚疾患の治療を目的として皮膚に適用されるヒト（同種）表皮由来細胞シートについて、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

本評価指標は、技術開発の著しいヒト（同種）皮膚組織由来細胞加工製品を対象とするものであることを勘案し、留意すべき事項を網羅的に示したのではなく、現時点で考えられる点について示している。よって、今後の更なる技術革新や知見の集積等を踏まえ改訂されるものであり、申請内容に関して拘束力を有するものではない。

製品の評価に当たっては、個別の製品の特性を十分理解した上で、科学的な合理性をもって柔軟に対応することが必要である。

なお、本評価指標の他、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（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) 皮膚組織：皮膚とは体表を覆う臓器であり、表皮、真皮、皮下組織の 3 層からなる。

本評価指標においては、皮膚組織を、「皮下組織を除いた表皮と真皮を含む組織」と定義する。

(2) 表皮細胞：表皮を構成する扁平上皮細胞を「表皮細胞」と定義する。なお、表皮には、表皮細胞以外に、血液幹細胞由来のランゲルハンス細胞や神経堤由来のメラノサイ

トなどが存在する。

- (3) 重症熱傷：自家植皮のための患皮面積が十分に確保できない重篤な熱傷を「重症熱傷」と定義する。具体的には、受傷面積として深達性Ⅱ度熱傷創及びⅢ度熱傷創の合計面積が体表面積の30%以上の熱傷を念頭に置く。
- (4) Ⅱ度熱傷：真皮層までの損傷が加わった熱傷で、水疱が形成される。Ⅱ度熱傷は浅達性Ⅱ度熱傷と深達性Ⅱ度熱傷に分類される。
- (5) 浅達性Ⅱ度熱傷：真皮層の表層部までに損傷が加わった熱傷ある。水疱底の真皮が赤色を呈している。通常1-2週で上皮化し治癒する。一般に肥厚性瘢痕を残さない。
- (6) 深達性Ⅱ度熱傷：真皮層の半分の深さ以上に損傷が加わった熱傷ある。水疱底の真皮が白色で貧血状を呈している。通常3-4週間を要して上皮化し治癒するが、肥厚性瘢痕や瘢痕拘縮を残す可能性が大きい。このため、植皮術の適応となることもある。
- (7) Ⅲ度熱傷：皮膚全層が損傷された熱傷で、白色レザー様、または褐色レザー様となったり、完全に皮膚が炭化した熱傷も含む。受傷部位の辺縁からのみ上皮化するので、一定以上の面積では、植皮術の適応となる。
- (8) 先天性巨大色素性母斑：生下時より巨大な色素性母斑が存在する疾患と定義する。巨大、については明確な定義がされていないが、直径20cm以上（成人時に）である母斑、体表面積の5%以上、10%以上、頭頸部では体表面積の1%以上である母斑などの定義がある。
- (9) 表皮水疱症：表皮水疱症は、皮膚の表皮および表皮真皮境界部に分布するタンパクをコードする遺伝子の変異に伴い、表皮もしくは表皮下に水疱を生じる遺伝性疾患群である。日常生活で外力の加わる部位に水疱や潰瘍を反復して生ずることを主な臨床症状とする。電子顕微鏡観察による水疱形成部位は、①基底細胞内（単純型）、②透明帯（接合部型）、③基板下方（栄養障害型）のいずれかであることが多い（括弧内はそれぞれの病型（三大病型）を示す）。遺伝形式、臨床症状、電子顕微鏡所見、免疫蛍光抗体法による皮膚基底膜タンパクの発現所見に基づき病型診断される。遺伝子変異検査は診断に必須ではない。
- (10) 皮膚分層欠損創（採皮部）：表皮から真皮層までの欠損があり、真皮の一部が残存している創傷である。分層植皮を採取した採皮創も分層皮膚欠損創である。
- (11) 原材料：再生医療等製品の製造に使用する原料又は材料の由来となるものをいう。（生物由来原料基準（平成15年厚生労働省告示第210号）の定義と同じ）
- (12) 原料等：原料若しくは材料又はそれらの原材料をいう。（生物由来原料基準（平成15年厚生労働省告示第210号）の定義と同じ）
- (13) セル・バンク：均一な組成の内容物をそれぞれに含む相当数の容器を集めた状態で、一定の条件下で保存しているものである。個々の容器には、単一の細胞プールから分注された細胞が含まれている。（ICH-Q5D「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（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) の定義と同じ)

(14) クロスコンタミネーション：サンプル間の混入のこと。交叉汚染とも呼ばれる。製造に用いられる原料の間、中間体の間等での混入を意味する。例えば、あるセル・バンクに由来する細胞に別のセル・バンクに由来する細胞が混入する場合や、ウイルス不活化後の原料に不活化前の原料が混ざってしまう場合等が挙げられる。

(15) 細胞シート：細胞同士が直接、あるいは間接的に結合してシート状の形態を呈しているものをいう。

## 5. 評価に当たって留意すべき事項

本評価指標は、ヒト皮膚組織又はヒト表皮細胞を原料として製造所に受け入れ、これを製造所においてセル・バンク・システムを構築し、加工して製造されたヒト（同種）表皮由来細胞シートを重症熱傷、先天性巨大色素性母斑、表皮水疱症、深達性Ⅱ度熱傷・Ⅲ度熱傷、皮膚分層欠損創（採皮部）の治療を目的として皮膚に適用することを想定している。

### (1) 原料等

原料（ヒト皮膚組織又はヒト表皮細胞）及び材料（ウシ血清、フィーダー細胞等）、さらにそれらの製造に用いられる原材料の管理項目については、最終製品に求められる品質が確保できるよう設定することが原則となるが、その原料等を用いても最終製品に安全上の懸念が生じないよう、原料等の品質（無菌性、不純物等）についても考慮し設定することが求められる。ウイルス等の外来性感感染物質の混入リスクについては、「生物由来原料基準」に基づいて必要な情報を得た上で、そのリスクが管理できるよう管理項目を設定する。「生物由来原料基準」の規制対象となる原料等の範囲は、「生物由来原料基準の運用について」（平成 26 年 10 月 2 日付け薬食審査発 10021 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 号第 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）を参照すること。

#### ① 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 B19 感染症については、問診及び検査（血清学的試験や核酸増幅法等）により否定すること。また、サイトメガロウイルス (CMV) 感染、エプスタイン・バーウイルス (EBV) 感染及びウエストナイルウイルス (WNV) 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

② ドナーに関する記録

原料となる細胞・組織について、安全確保有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。

③ ヒト皮膚組織の採取

ヒト皮膚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、取り違えやクロスコンタミネーション防止のための方策等を具体的に示すこと。

④ フィーダー細胞

フィーダー細胞を使用する場合には、ICH-Q5D「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、「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」（平成 28 年 6 月 13 日付け医政研発第 0613 第 1 号厚生労働省医政局研究開発振興課長通知）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」を参考にして品質評価を行い、フィーダー細胞からの細菌、真菌、ウイルス、異常プリオン等の混入・伝播を防止する策を講じるとともに、使用時の増殖能不活化方法及び細胞密度等の条件について明らかにすること。ただし、例えば既に臨床使用されているヒト細胞・組織製品の製造に使用され、その特性や微生物学的安全性等について評価が定まっているフィーダー細胞と同一の細胞を利用する場合には、その妥当性を示すことによってウイルス否定試験等、試験の一部を省略することができる可能性がある。

(2) 製造工程において特に注意が必要な事項

最終製品であるヒト（同種）表皮由来細胞シート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。

① ロット構成の有無とロットの規定

最終製品及び中間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

ヒト皮膚組織又はヒト表皮細胞の製造所への受入れから、出発原料となるヒト表皮細胞のセル・バンク・システム構築までの履歴、及び表皮細胞の培養工程等を経て、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

採取したヒト皮膚組織又はヒト表皮細胞について、製造所への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、細胞の生存率、細胞の特性解析、細菌、真菌、ウイルス等の混入の否定等）と各項目の判定基準を設定すること。また、(ア)組織運搬状況の確認（断熱容器に封印されているか、発送から何時間かかっているか等）及び(イ)皮膚組織の外観の確認（運搬用チューブの破損・液漏れはないか、皮膚組織が組織運搬液中に浸漬されているか、運搬液に汚染が無いかなど）を行うこと。

### b) 細菌、真菌及びウイルス等の不活化・除去

採取したヒト皮膚組織又はヒト表皮細胞について、表現型、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。当該処理に関する方針と評価方法について明らかにすること。

### c) 細胞のバンク化

製造所に受入れたヒト皮膚組織又はヒト表皮細胞からセル・バンクを作製する方法及びセル・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及び試験に関する手順等について詳細を明らかにし、その妥当性を示すこと。ICH-Q5D等を参考とすること。ただし、より上流の過程で評価されていることに起因する正当な理由により検討事項の一部を省略することは差し支えない。製造工程中のドナーに起因しないリスク、特にウイルス汚染に関しては、マスター・セル・バンク（MCB）及び規定の培養期間を超えて培養した細胞において、必要なウイルス否定試験を行う。

### d) 製造工程中の取り違え及びクロスコンタミネーション防止対策

最終製品であるヒト（同種）表皮由来細胞シートの製造に当たっては、製造工程中の取り違え及びクロスコンタミネーションの防止が重要であり、工程管理における防止対策を明らかにすること。

## ③ 加工した表皮細胞の特性解析

加工した表皮細胞については、加工に伴う変化や目的外細胞の混入を調べるために、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、核型、その他適切な遺伝型又は表現型の指標を解析するとともに、必要に応じて機能解析を行うこと。皮膚組織から作られる表皮細胞シートの場合、ランゲルハンス細胞、メルケル細胞、線維芽細胞、脂肪細胞、フィーダー細胞（フィーダー細胞を使用した

場合)等の混入が考えられる。

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。異常増殖細胞や形質転換細胞の検出法としては、増殖特性解析、軟寒天コロニー形成試験、免疫不全動物への皮下投与試験等があるが、いずれにしても試験系の検出限界を確認しておくことが結果の解釈において重要である。また核型分析は、皮膚組織を採取する患者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患者に起因するのか、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。

### (3) 製品の品質管理

品質規格の設定について、治験を開始する前段階にあつては、それまでに得られた試験検体での実測値を提示し、これらを踏まえた暫定値を示すこと。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つては、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 外観の確認

形状確認として、例えばシートの組織切片の作製や共焦点顕微鏡での3次元観察等により、細胞がシートを形成していることを確認する。

#### ② 細胞数及び生存率

細胞数を測定する方法としては、最終製品の一部を酵素処理して細胞懸濁液とし、血球計算盤やセルカウンターで測定する方法がある。生細胞率を測定する方法として、トリパンブルーを用いた色素排除法があり、生細胞数及び死細胞数を計算することができる。

#### ③ 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、特徴的生産物質、その他適切な遺伝型又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。

#### ④ 細胞の純度試験

異常増殖細胞や形質転換細胞等の目的細胞以外の細胞、フィーダー細胞の検出法及びその混入率の定量法、並びにその安全性を確認する試験方法及び判断基準を設定すること。

#### ⑤ 製造工程由来不純物試験

ウシ血清を使用する場合は、ウシ血清アルブミン残存試験の規格を設定し、実測値をもとに規格値を設定する。動物由来成分、抗生物質等に関しては、アレルギー既往の患者に対し、本品を使用しない旨を添付文書等に記載する。

#### ⑥ 力学的適合性試験

剥離・洗浄・移植操作に耐えうる強度を有していることを確認する。無菌性又は非破壊性を保った状態で行うことが困難でなじまない場合は、並行して製造した試験用検体を用いて実施することでも構わない。

#### (4) 製品の安定性試験

最終製品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、細胞の生存率及び効能を裏付ける代替指標等を指標に実保存条件での安定性試験を実施し、貯蔵方法及び有効期間を設定し、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、凍結及び解凍操作が製品の解凍後の培養可能期間や品質へ与える影響を確認すること。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、製造終了後直ちに使用するような場合はこの限りではない。

また、出発原料、中間製品及び最終製品を運搬する場合には、それぞれの条件と手順（容器、輸送液、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。空路輸送に関しては、気圧の変化や X 線検査等による影響についても考慮すべきである。細胞を凍結状態で輸送する場合には、凍結時に使用する培地又は凍結保存液、凍結保護剤等について、製造工程で使用する材料と同様に適切に選択すること。また、非凍結状態で輸送する場合の輸送液等も同様である。製品形態又は細胞種によって、製品安定性を保つための適切な保存形態、温度条件、輸送液等が異なる可能性があるため、製品毎に適切な組み合わせを検討し、安定性を担保する必要がある。

#### (5) 非臨床試験

##### ① 安全性試験（造腫瘍性試験）

最終製品の細胞がヒトでの移植部位に相当する微小環境で造腫瘍性を示すかどうかの確認のために、皮膚を欠損させた免疫不全動物へ作製した表皮細胞シートを移植する。移植細胞数としては、想定される臨床使用量に種差と個体差の安全係数を掛けた量であることが望ましい。ただし、移植細胞自体が移植部位の微小環境に大きな影響を与え、移植細胞の総数に依存してアーチファクトを生んでしまう可能性を十分考慮する必要がある。

##### ② 最終製品の効力又は性能を裏付ける試験

技術的に可能かつ科学的に合理性のある範囲で、対象疾患に対し適切なモデル動物等を用いて、最終製品の機能発現、作用持続性、ヒト（自己）皮膚組織由来細胞加工製品として期待される臨床効果の実現可能性（Proof-of-Concept, POC）を示すこと。モデル動物としては、免疫不全動物に皮膚欠損創を作製したもの等が挙げられるが、最終製品の効力又は性能を示すための各疾患のモデル動物は今のところ確立されて

いない。

## (6) 臨床試験（治験）

臨床データパッケージ及び治験実施計画書は、対象疾患、目的とする効能、効果又は性能、当該治療法に期待される臨床上の位置づけ等に応じて、非臨床データ等も踏まえて計画することが必要である。一般的に臨床試験においては盲検化の有無にかかわらず、臨床試験においてより科学的に有効性及び安全性の情報を収集するためには、内部対照群を設定した比較臨床試験が望ましいが、開発している再生医療等製品の臨床上の位置づけを踏まえた開発可能性を考慮して適切に計画されるべきである。例えば求められる評価項目（エンドポイント）も製品毎に設定する必要がある。医療現場における忍容性や倫理性を考慮し比較試験を行うことが原則であるが、単腕試験での評価も想定される。なお、できる限り独立行政法人医薬品医療機器総合機構の RS 戦略相談又は治験相談等を利用すること。

### ① 臨床試験における評価技術に関する基本的考え方

臨床試験は被験者の人権の保護、安全及び福祉に関するリスク並びにデータの質に関するリスクを最小限とし被験製品による効果が最大限に評価できるように計画されるべきである。特に目的とする細胞・組織の由来、対象疾患及び適用方法を踏まえて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ことが推奨される。

評価項目に関しては、その最終目的に応じて主要評価項目(Primary endpoint)、副次的評価項目(Secondary endpoint)を設定する。有効性評価項目としては、移植後一定期間での上皮化率、長期経過での創の状態を評価する事ができる項目が含むものとする。

また、同種培養表皮シート移植においては、移植手技が効果に影響する可能性があるため、複数施設での治験を行うことが望ましい。さらに、同種培養表皮シートは、自家網状植皮あるいは分層皮膚欠損創の上に移植され、自己皮膚からの上皮化が完了するとともに脱落する。しかし、その自家植皮の状態や、分層欠損の深さなどによって違いが生じる。このため、代表的な幾つかの状態で効果を確認することが推奨されるが、有効性及び安全性評価を行う上で結果にバラツキが生じた場合の解釈については慎重に行うこと。

### ② 対象疾患

#### a) 重症熱傷

自家植皮のための患皮面積が確保できない重篤な広範囲熱傷で、かつ、受傷面積として深達性 II 度熱傷創及び III 度熱傷創の合計面積が体表面積の 30%以上の熱傷が対象と考えられる<sup>1)</sup>。

#### b) 先天性巨大色素性母斑

体表面積の 5%以上の先天性巨大色素性母斑を有する患者が対象と考えられる。ただし、母斑の部位等によって標準的治療法の適用が困難な場合は 5%以下の母斑を有する患者も対象と考えられる。

c) 表皮水疱症

皮膚基底膜部タンパクの局在発現や電子顕微鏡学的所見、遺伝子変異解析等に基づき病型が確定している表皮水疱症患者を対象とし、おおむね 1 ヶ月以上の期間をみて上皮化しない、あるいは潰瘍形成と上皮化を繰り返す、難治性および再発性皮膚潰瘍を対象とする。

安全性評価が困難になる恐れがあることから有棘細胞癌などの皮膚悪性腫瘍を合併または既往がある症例においては、皮膚悪性腫瘍を生じた部位を臨床試験の対象としないことが望ましい。

d) 深達性Ⅱ度熱傷・Ⅲ度熱傷

広範囲でない深達性Ⅱ度熱傷、Ⅲ度熱傷において、自然上皮化が望めない場合においては、自家分層植皮を行うことが既存の治療法である。しかしながら、深達性Ⅱ度熱傷の場合は、適切なデブリードマン後に同種培養表皮シートを移植することで、早期上皮化が期待される。また、Ⅲ度熱傷で自家分層網状植皮を行う場合でも、その上に同種培養表皮シートを移植することで、同様に早期のメッシュ間の上皮化が期待される。したがって、同種培養表皮シート移植は、既存の治療では自家分層植皮を要する深達性Ⅱ度熱傷及びⅢ度熱傷が対象と考えられる。

e) 皮膚分層欠損創（採皮部）

皮膚分層欠損創（採皮部）に対しては、通常創傷被覆材の貼布や軟膏療法で上皮化を促すことが既存治療法である。上記 d)と同様に、同種培養表皮シートを移植することで、早期の上皮化が期待される。治験の症例においては、上記 a)、d)での採皮部での検討が望ましい。

③ 臨床有効性評価

ア. 臨床情報

臨床情報としては同種表皮シートの移植床に関する情報および同種表皮シートの移植方法に関する情報が求められる。

同種表皮シートの移植方法に関する情報として、自家植皮の併用の有無、併用する場合はその方法に関する情報、移植後のコンタクトレーヤー、ドレッシング方法に関する情報が必要である。

a) 重症熱傷

同種表皮シートの移植床に関して以下の情報を収集すること。

- 適応する熱傷創の深度・面積等の状態に関する情報
- 同時に自家植皮を行う場合には、その形状、厚さに関する情報

- 真皮再構築をした場合には、その方法（同種皮膚、人工真皮、その他）
- 細菌コロニゼーションの状態等

b) 先天性巨大色素性母斑

同種表皮シートの移植床に関して以下の情報を収集すること。

- 治験対象となる母斑の治療歴（自家植皮あるいは自家培養表皮使用の有無を含む）
- 母斑の切除方法（キュレタージュ又は分層で切除（薄削）した場合は、キュレタージュ又は薄削した方法）
- 切除した母斑の状態（深度・面積等の状態に関する情報。母斑を全層で切除した場合は、真皮再構築を行ったか、行った場合の再構築の方法（人工真皮、その他）
- 同時に自家植皮を使用する場合は、自家植皮の形状、厚さに関する情報
- 同時に自家培養表皮を使用した場合はその使用方法

c) 表皮水疱症

同種表皮シートの移植床に関して以下の情報を収集すること。

- 治験対象となる潰瘍の治療歴
- 潰瘍の面積
- 壊死組織の有無
- 真皮再構築をした場合には、その方法（同種皮膚、人工真皮、その他）
- 細菌コロニゼーションの状態等

d) 深達性Ⅱ度熱傷・Ⅲ度熱傷

同種表皮シートの移植床に関して以下の情報を収集すること。

- 適応する熱傷創の深度・面積等の状態に関する情報
- 同時に自家植皮を行う場合には、その形状、厚さに関する情報
- 真皮再構築をした場合には、その方法（同種皮膚、人工真皮、その他）
- 細菌コロニゼーションの状態等

e) 皮膚分層欠損創（採皮部）

- 採皮の深さと面積

イ. 有効性の評価

a) 重症熱傷

有効性の評価としては、同種培養表皮シートを移植した部位での経時的な上皮化率を主要評価項目とし、母床に移植された自家植皮の状態、長期の創閉鎖の状態、症例あたりの移植回数、使用枚数、予後、採皮部位とその面積、培養された同種表皮シート面積などを評価することが一般的である。上皮化率の評価方法は、肉眼的観察や写真での判定により行う。有効性評価の結果解釈が困難になることから併用した自家

植皮の面積を差し引いて上皮化率を計算する。

上皮化率の評価時期に関しては、急性期の評価として、移植後 4, 8 週後に評価がされることが望ましい。長期の創閉鎖の状態に関しては、1 年後程度での肉眼的（写真による）判定にて、肥厚性瘢痕の形成、色素異常の状態、瘢痕拘縮の発生、拘縮解除手術の有無等をフォローアップとして観察することが必要である。

b) 先天性巨大色素性母斑

有効性評価としては、総移植面積に対する上皮化率を主要評価項目とし、長期的な瘢痕化の評価、母斑再発評価、びらん・水疱・潰瘍形成などの有害事象、治療部位あたりの移植回数、採皮部位とその面積、移植された表皮シート面積、併用された自家植皮の性状、厚さあるいは自家培養表皮の併用の有無などを評価することが一般的である。上皮化率の評価方法は a) 重症熱傷と同様である。また、瘢痕化の評価方法は、肉眼的な観察と共に経時的に **Vancouver Scar Scale**<sup>2)</sup>などのスケールによる評価を行うことが望ましい。

上皮化率の評価時期は、急性期の評価として、移植後 4, 8 週後に評価がされることが望ましい。また、長期の移植部位の状態については、瘢痕化の評価および母斑の再発に関して色調の経時的な肉眼的観察及び可能な範囲で組織生検による観察を移植後 1 年程度までフォローアップにより行うことが必要である。

c) 表皮水疱症

有効性評価としては、総移植面積に対する上皮化率を主要評価項目とする。移植前の潰瘍の状態、部位あたりの移植回数、移植された同種表皮シート面積などを評価することが一般的である。上皮化率の評価方法は、a) 重症熱傷と同様である。

上皮化率に関しては、移植後 4, 8 週後に評価がされることが望ましい。長期の創閉鎖の状態に関しては、移植後 1 年程度での肉眼的（写真による）判定にて、頻回の水疱、びらん及び潰瘍形成、肥厚性瘢痕の有無等をフォローアップにより観察することが必要である。

d) 深達性Ⅱ度熱傷・Ⅲ度熱傷

深達性Ⅱ度熱傷で自家植皮を併用しない場合には、自己皮膚による上皮化の完成までの期間を主要評価項目とし、長期の創閉鎖の状態、症例あたりの使用枚数、同種表皮シート面積などを評価することが一般的である。Ⅲ度熱傷で、自家分層網状植皮の上に同種培養表皮シートを移植する場合でも、自己皮膚による上皮化の完成までの期間を主要評価項目とし、母床に移植された自家植皮の状態、長期の創閉鎖の状態などを評価することが一般的である。上皮化の評価と評価時期、長期の経過観察に関しては、a) と同様とするのが望ましい。

e) 皮膚分層欠損創（採皮部）

有効性評価としては、同種培養表皮シートを移植した部位での経時的な上皮化



率、上皮化の完了の時期を主要評価項目とし、加えて長期の創閉鎖の状態、症例あたりの使用枚数などを評価することが一般的である。上皮化率の評価方法は、肉眼的観察や写真での判定により行う。

上皮化率の評価時期に関しては、急性期の評価として、移植後 1, 2, 4 週後に評価がされることが望ましい。長期の創閉鎖の状態に関しては、1 年後程度での肉眼的（写真による）判定にて、肥厚性瘢痕の形成、色素異常の状態、瘢痕拘縮の発生、拘縮解除手術の有無等をフォローアップとして観察することが必要である。

#### ウ. 安全性の評価

ヒト（同種）皮膚組織加工製品は製品適用時点から観察終了時期まで全身所見、局所所見、自覚症状の有無を確認する。有害事象、感染症やアレルギー反応の有無を観察する。特に、ヒト（同種）細胞を用いるため、潜在的なウイルス感染や GVHD などの発症のリスク等に関しても十分な観察を行う。また、皮膚組織加工製品は複数回にわたり移植する可能性があることから、製造に動物由来のものを用いた場合には、抗体産生の有無について評価を行うことが望ましい。

表皮水疱症では病型により有棘細胞癌を合併する症例があるため、難治性潰瘍や腫瘍の形成がないか評価し、確認された場合は組織生検を行い診断すること。

## 6. 参考資料

- 1) Matsumura H, Matsushima A, Ueyama M, Kumagai N. Application of the cultured epidermal autograft "JACE" for treatment of severe burns: Results of a 6-year multicenter surveillance in Japan. **Burns**. 2016 Jun;42(4):769-76. doi: 10.1016/j.burns.2016.01.019. Epub 2016 Mar 2.
- 2) Fearmonti R, Bond J, Erdmann D, Levinson H. A review of scar scales and scar measuring devices. **Eplasty**. 2010 Jun 21;10:e43.

## IV. 調査事項

1. 同種由来の培養表皮シートの実用化
2. 表皮水疱症を取り巻く環境と国内外の新規治療法
3. 表皮細胞以外の細胞製品の動向
4. セルバンクに関して

## 同種由来の培養表皮の実用化

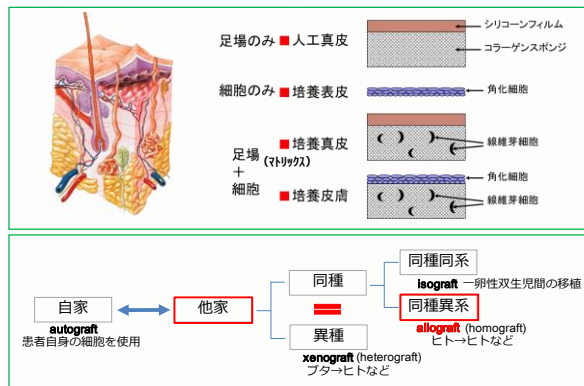
次世代医療機器・再生医療等製品評価指標作成事業・再生医療審査WG  
2017年10月26日

### 同種由来の培養表皮の実用化

京都大学 形成外科  
坂本 道治



## 皮膚の再生医療に関する用語の整理



## 培養表皮の開発と臨床応用の歴史

- 1975年 3T3細胞を用いた表皮細胞大量培養法の開発 (Rheinwald J and Green H, Cell)
- 1981年 **自家**培養表皮を用いた熱傷患者の救命例の報告 (O'Conner N, Lancet)
- 1983年 II度熱傷に対する**同種**培養表皮を用いた治療報告 (Hefton J, Lancet)
- 1985年 日本での**自家**培養表皮を用いた熱傷患者の救命例 (熊谷, 日本形成外科学会誌)
- 1988年 **自家**培養表皮Epicel: FDA承認対象外として販売 (米国)
- 2007年 日本初の再生医療製品である**自家**培養表皮**ジェイス**の製造販売承認
- 2009年 **ジェイス**の保険適応認可 (適応疾患: TBSA 30%以上の広範囲熱傷)
- 2016年 **ジェイス**の保険適応拡大 (巨大色素性母斑)



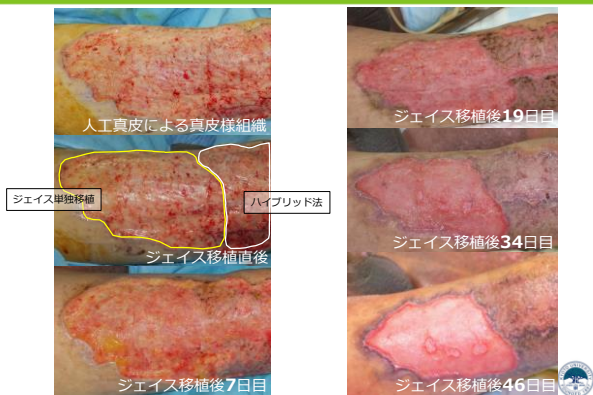
## 熱傷診療における自家培養表皮を用いた治療 (人工真皮との併用)



29歳男性 右上肢3度熱傷 (爆発による受傷) TBSA 44  
(東京医科大学 形成外科 松村一先生提供)



## 熱傷創における自家培養表皮の生着不良例 (人工真皮との併用)



## 熱傷診療における自家培養表皮を用いた治療 (高倍率に拡大した自家メッシュ植皮との同時移植)



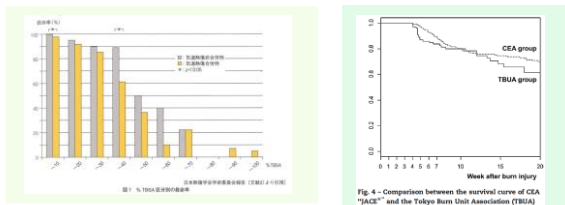
20歳女性 体幹部Ⅲ度熱傷 (火災による受傷) BI 44 (前橋赤十字病院 村松英之先生提供)  
77歳男性 体幹部・右下肢Ⅲ度熱傷 BI 35

ハイブリッド法 (6倍程度に拡大した自家メッシュ植皮の上に自家培養表皮を併用する方法) により、安定した創治癒が得られる  
(Sood R, J Burn Care Res. 2009)

しかし、救命のための早期移植には間に合わない



### 重症熱傷治療の現状



**Table 3 - The take rate of cultured epidermal autograft at week 4 in the wound bed preparation group.**

Wound bed preparation	Operative procedure		Total
	Single application	Combined treatment with autograft	
Cryopreserved allogeneic skin	31 ± 35 (59)	84 ± 17 (14)	42 ± 39 (75)
Artificial dermis	43 ± 35 (66)	74 ± 30 (160)	65 ± 34 (226)
Nonmarginal granulation tissue	57 ± 36 (113)	80 ± 28 (169)	71 ± 34 (122)
Meshebed patched autologous skin	83 ± 29 (119)	77 ± 16 (14)	80 ± 24 (13)
Fresh allogeneic skin	70 ± 19 (13)	40 (1)	68 ± 20 (14)
Others	65 ± 29 (22)	63 ± 32 (23)	64 ± 30 (46)

Take rate %: average ± standard deviation (number of sites). (Matsumura H, Application of the cultured epidermal autograft "JACE" for treatment of severe burns: Results of a 6-year multicenter surveillance in Japan. Burns, 2016)

### 自家培養表皮使用における問題点

- ・あらかじめ採皮が必要
- ・製品の供給に3週間を要する
  - 広範囲熱傷の急性期に使用できない
- ・患者が亡くなり使えないことがある
- ・製品が完成しないリスク
- ・本来の使用法での生着率が期待ほど高くない
  - 自家植皮との併用が現実的
  - 採皮が必要であり、培養表皮の優位性が損なわれる

同種培養表皮の製品化が期待されている

### 同種培養表皮について

#### 同種培養表皮の効果

- ・Ⅱ度熱傷創や分層採皮後の創面に用いると、**治癒を促進する**。(Hefton, 1983)
- ・難治性潰瘍に用いると、**治癒を促進する**。(Leigh JM, 1987)
- ・さまざまな**生活活性物質を分泌する**。(KatZ AB, 1994)
- ・HLA-Ⅱの発現が少ないため、**拒絶されにくい**。(Hefton JM, 1984)
- ・**永久生着はしない**。(Brain A, 1989)

細胞の生着を目的とせず、一時的な被覆材としての使用 (免疫抑制を行わずに使用する)

【分層採皮創に凍結保存同種培養表皮を用いた例】



矢永博子, 凍結同種培養表皮移植による小児熱傷および採皮前の治療. 形成外科 45(7): 619-627, 2002

### 世界の再生医療製品

- 米国 (8品目)**: Epicel (自家培養表皮) 1987~2007, Dermagraft (同種培養表皮) 1997, 2001, TransCyte (同種凍結培養表皮) 1997, Apligraf (同種凍結培養表皮) 1998, OrCel (同種凍結培養表皮), Carticel (自家培養軟骨) 1997, Osteoceil plus (同種軟骨) 2005, Provenge (自家培養細胞), Laviv (自家培養神経細胞), Hemacord (同種胎盤血漿血腫形成剤), Gintulic (胎児用同種胎盤血腫形成剤)
- ドイツ (9品目)**: Biosseed-S (自家培養表皮細胞), EpiDex (自家培養表皮), Chondrotransplant (自家培養軟骨), CACI/MACT (自家培養軟骨), Biosseed-C (自家培養軟骨) 2001, ACI-Maix (関節軟骨コラーゲン基質), Chondrokin (培養軟骨細胞), CarTe S (自家培養軟骨) 2003, Chondrotransplant (自家培養軟骨)
- イタリア (2品目)**: Laserskin (自家培養表皮), Holoclar (自家培養角膜上皮) 2014
- 中国 (2品目)**: ActivSkin (同種凍結培養表皮), CarReS (自家培養軟骨)
- シンガポール (2品目)**: Chondrotransplant (自家培養軟骨), Cartogen (自家培養軟骨)
- デンマーク (1品目)**: Cartilink-3 (自家培養軟骨細胞)
- オランダ (1品目)**: Cellactive (自家培養軟骨)
- スウェーデン (1品目)**: Hyalograft-C (自家培養軟骨) 1999
- スロベニア (1品目)**: ControArt (自家培養軟骨)
- ベルギー (1品目)**: CondroCelect (自家培養軟骨) 2009
- 韓国 (19品目)**: Chondron (自家培養軟骨) 2001, Holoderm (自家培養表皮) 2002, Kaloderm (同種培養表皮) 2005, Keracell (自家培養表皮細胞スプレー), Innohak (自家活性リン脂質), Creavax-RCC (自家製軟骨細胞), Immunocell-LC (自家活性リン脂質), Hydrograft 3D (自家培養神経細胞), Adipocel (自家培養脂肪細胞), NKM (自家活性リン脂質), RMS Osseon (自家培養細胞), Article (自家培養軟骨), Autostem (自家脂肪細胞), Quencecell (自家脂肪細胞), Cureskin (自家培養神経細胞), LSK Autograft (自家培養表皮細胞), HeartCellgram-AMI (自家培養細胞細胞), Cartistem (同種凍結培養表皮), Cupistem (自家培養軟骨細胞)
- 日本 (4品目)**: シェイス (自家培養表皮) 2007, ジャック (自家培養軟骨) 2012, テムセルHS注 (同種凍結培養表皮細胞) 2015, ハートシート (自家培養細胞由来細胞シート) 2015
- オーストラリア (2品目)**: Recell/CellSpray (自家培養表皮細胞スプレー), Cartogen (自家培養軟骨)

### 同種培養表皮の現状

**他国ですでに臨床応用されている同種培養表皮製品**

**Apligraf**  
製造販売元: Organogenesis  
承認状況: 下部創傷 (FDA 1998), 糖尿病性下脚癬 (FDA 2001)  
【FDA承認前臨床試験】: 同種培養表皮移植

**Dermagraft**  
製造販売元: Advanced BioScience  
承認状況: 糖尿病性下脚癬 (FDA 2001)  
PGA + PLGA + 同種培養表皮細胞

(参考) **EpiFix**  
製造販売元: MiMedx Group, Inc.  
適応症: 急性および慢性創傷  
乾燥同種羊膜細胞

### 凍結保存同種培養表皮 Kaloderm®

- ・Green型凍結保存同種培養表皮
- ・2005年承認
- ・適応症: 深達性Ⅱ度熱傷創、糖尿病性潰瘍
- ・製造販売元: Tego Science Inc. (韓国)

## 重症熱傷に対する同種培養表皮を用いた治療



すべて同種培養表皮で被覆することで、創治癒を促進する

- ・創閉鎖までの期間短縮
- ・感染の発生率低下
- ・敗血症、多臓器不全の発生率低下
- ・救命率向上
- ・肥厚性瘢痕・ケロイド発生率の低下

## 自家培養表皮と同種培養表皮の比較

	自家培養表皮	同種培養表皮
製品の特徴	オーダーメイド治療であり、高コストとなる	大量生産が可能であり医薬品・医療機器に近く、低コストとなる
使用時期	皮膚採取から3週間を要する	あらかじめ作製して保存しておくことで、すぐに使用できる
細胞の管理	個々の症例ごとに細胞を採取する	製造用セルバンクを作製し、長期間にわたって使用する

低コストかつoff the shelfで使用できる再生医療製品としての同種培養表皮の実用化が期待されている。

## 他家（同種）細胞由来再生医療製品の開発にあたって解決すべき課題

### 1. 原料細胞の入手に関して

- ・ドナーの確保 ← 無償提供が原則
- ・入手方法の妥当性 ← 経済産業省による研究報告
- ・同意取得の方法（包括的同意を認めるかどうか、同意撤回と企業の利益の相反など）
- ・個人情報保護 ← トレーサビリティの確保

### 2. 製品の安全性確保

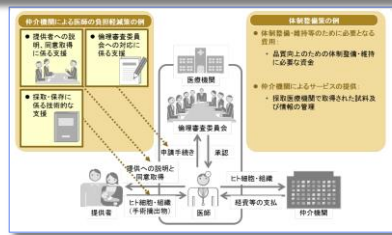
- ・ドナーからのウイルス疾患伝播を防ぐためのスクリーニング方法、項目の設定
- ・製造工程中のコンタミネーション
- 製造に用いた生物由来原料の残留や、培養中の細菌等汚染の可能性

### 3. 製品の適格基準の設定

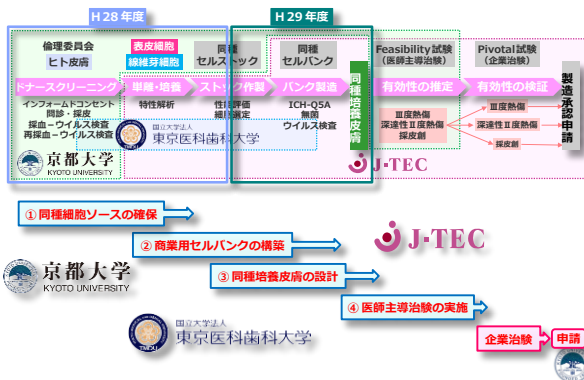
- ・ストックした細胞の性能評価方法の確立：細胞増殖能、サイトカイン分泌能など
- ・最終製品の物性評価、組織学的評価、viability、有効性評価方法など

## 「再生医療の産業化に向けた評価基盤技術開発事業」原料細胞の入手等に関する調査等報告書（抜粋）平成27年3月

提供される細胞の種類	例	【推奨される理由】
ホウチア生体ドナー	血液、口腔粘膜など	<ul style="list-style-type: none"> <li>・培養可能な生細胞が得られること、</li> <li>・研究用として利用実績があること、</li> <li>・採取の際に人体へ新たな侵襲を加えることによって発生する議論を回避できること</li> </ul>
手術抽出物など	皮膚、脂肪、関節（軟骨、滑膜）、骨（骨髓）、汗腺、唾液腺など	
本来の目的に利用できなかった輸血用血液、移植用臓器・組織、移植用骨髄など	血液、移植用臓器（肝臓心臓肺臓腸臓）、移植用組織（皮膚、脾臓、心臓弁など）、骨髄、造血幹細胞など	
死体	臓器、皮膚など	



## 開発スキーム



## 細胞ソースの確保

### 同種培養表皮製造用の同種細胞ソースの国内入手ルートの確立

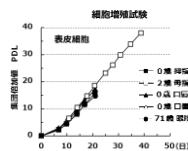
- ・同種細胞ソースは、京都大学の倫理委員会の承認を得て商業利用可能なルートを確保。
  - ・京都大学形成外科における手術症例から余剰皮膚の提供を受け、J-TECが細胞培養とウイルス予備検査、東京医科歯科大学がNATウイルス検査を実施。
- 要点 ---
- ❖ 問診やウイルス検査項目は、細胞培養に依存しない有益な指標となる。
  - ❖ 同種指針の検査項目に適合する。
  - ❖ 経済産業省が主催した有識者研究会の課題を再度検討する。
  - ❖ 他のアカデミアや企業がこのセルストックを用いて臨床研究や製品開発を行うための手順を策定し、国内の産業化を推進する仕組みをめざす。



## 商業用セルバンクの構築

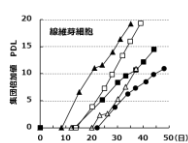
大量生産を前提とした 商業用セルバンクの構築 と 性能およびウイルス安全性 評価

- ・ 同種セルストックは 10 細胞を複製。
- ・ 増殖能やサイトカイン産生量から最適な細胞を選択。
- ・ 選択したセルストックを用いて GCTP に従って適切に商業用（原材料）セルバンクを構築。
- ・ ICH-Q5A に従ったウイルス安全性試験や核型試験等を実施。



---- ねらい ----

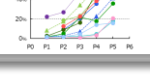
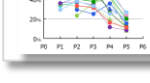
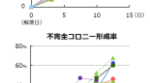
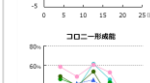
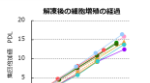
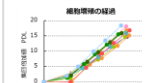
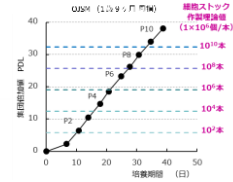
- ◇ 同種セルストックの細胞特性評価から、最適な細胞を選択する手順を評価法として標準化する。
- ◇ 細胞増殖能や製品数、製造のための継代数の上限、市場における製品寿命等を設定することにより、年間 100 万個の製品を半世紀にわたって製造可能なセルバンクを構築するスケールを提示する。



## 表皮細胞の特性解析：細胞増殖能

■ 表皮細胞（研究用）の増殖能

- ・ 表皮細胞は何れの細胞も 5 継代は対数増殖を維持した。
- ・ 新生児・乳幼児由来の細胞増殖能は高く、10 継代まで細胞増殖能が低下しなかった。細胞ストックの製造本数の理論値では 5 継代目の細胞を 100 万本製造できることを確認した。



## 想定される同種培養皮膚の開発製品

培養表皮	<p><b>Green 型培養表皮</b></p> <p>■ 概要：ジェイスの同種製品。3T3-J2 細胞をフィーダーとして、ヒト表皮細胞を培養した細胞シート。</p>	
培養真皮	<p><b>線維芽細胞シート</b></p> <p>■ 概要：生分解性メッシュを基材として、ヒト線維芽細胞を培養した細胞シート。</p>	
複合型培養表皮	<p><b>3 次元培養皮膚</b></p> <p>■ 概要：ヒト線維芽細胞を長期培養した細胞-基質構造体に、ヒト表皮細胞を重ね培養することにより皮膚組織を完全に再現した細胞シート。</p>	

## 製品（同種培養表皮）の作製

**【Green 型同種培養表皮】**

■ 概要：ジェイスの同種製品。3T3-J2 細胞をフィーダーとして、ヒト表皮細胞を培養した細胞シート。

■ 特徴：生物由来原料基準に適合した原材料を使用。GCTP に準拠した施設での製造。製造工程由来の不純物量を適切に管理。

## 凍結保存による変化

	cryopreserved-CE	fresh-CE
物性試験	適合	適合
生細胞密度	1.3 × 10 <sup>4</sup> 個/cm <sup>2</sup>	14.0 × 10 <sup>4</sup> 個/cm <sup>2</sup>
生細胞率	53.5%	92.1%

**cryopreserved-CE**

**fresh-CE**

cryopreserved-CE の生細胞率は fresh-CE の 50~60% と生細胞数が 1/10 程度になった。

## 生細胞率の異なる培養表皮の作製

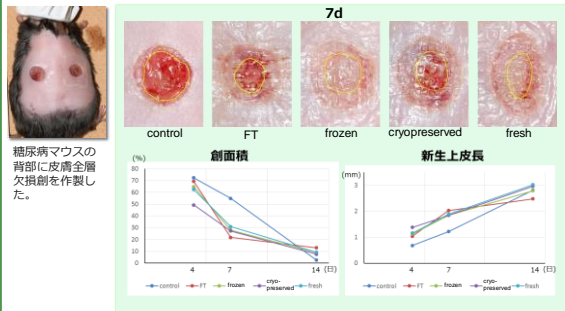
**【4 種類のヒト培養表皮の作製】**

3T3 feeder layer 法にてヒト培養表皮を作製し、  
**fresh**: 作製後凍結保存せず 48hr 以内に使用するもの  
**cryopreserved**: 凍害防止剤を用いて -80℃ で凍結保存  
**frozen**: 無血清保存培地を用いて -80℃ で凍結保存  
**FT (freeze-thaw)**: 凍結融解を 4 回繰り返すことで細胞を死滅させたもの

生細胞率の測定  
細胞シートをトリパンで分散後、トリパンブルー染色法で目視計測した。

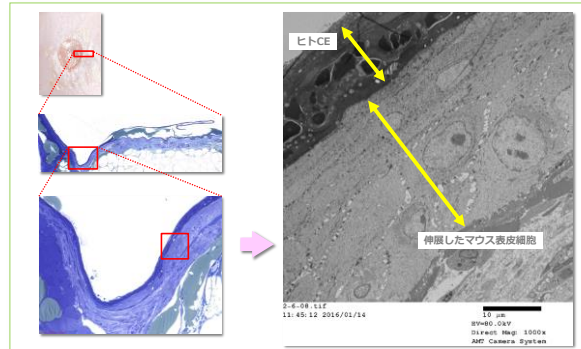
生細胞率の異なるヒト培養表皮の比較検討

【糖尿病 マウス皮膚全層欠損モデル】



生細胞率の異なる4種のヒト培養表皮の上皮形成促進、創面積縮小効果に差は見られなかった。

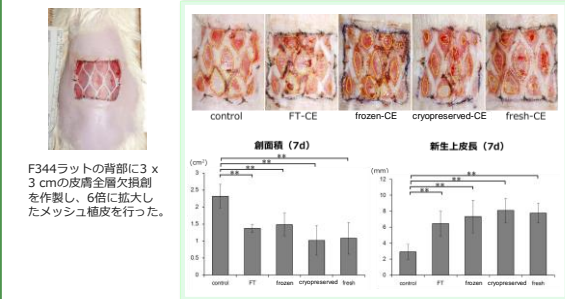
同種培養表皮の有効性評価



創に貼付したヒト培養表皮は、創表面に隙間なく密着しており、マウス上皮はこのヒト培養表皮の下を伸展している。

生細胞率の異なるヒト培養表皮の比較検討

【ラットメッシュ植皮モデル】



Ⅲ度熱傷創面に用いることを想定したメッシュ植皮モデルにおいても、マウス皮膚欠損モデルと同様に生細胞率の異なる4種のヒト培養表皮の創傷治療促進効果に差を認めなかった。



# 表皮水疱症を取り巻く環境と 国内外の新規治療法

新潟大学大学院医歯学総合研究科  
皮膚科 新熊 悟

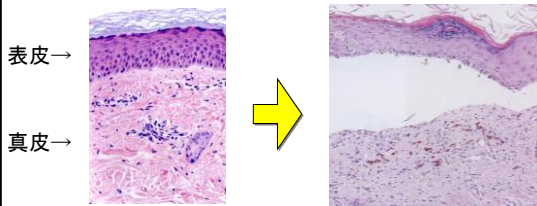
次世代医療機器・再生医療等製品評価指標作成事業  
再生医療審査WG平成29年度第三回会議  
2017年11月30日（東京）

## 本日の講演内容

- 表皮水疱症
- 表皮水疱症の現在の治療（DeBRA Japan）
- 表皮水疱症の培養表皮シート治療
- 表皮水疱症の国内と海外の動向

表皮と真皮は強固に接着

表皮と真皮の接着蛋白の異常

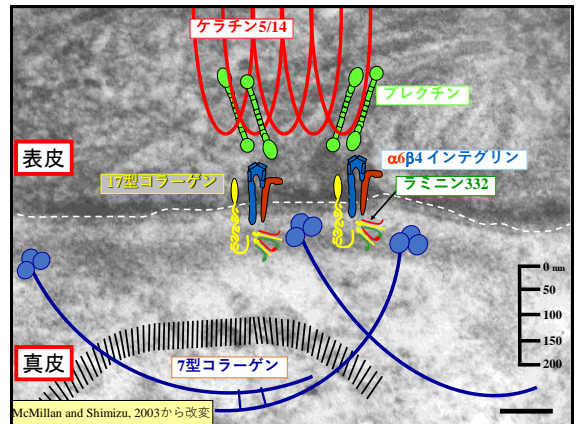
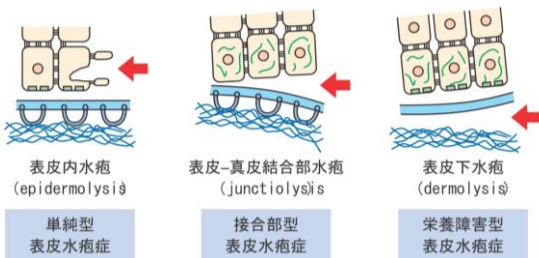


表皮水疱症 EBとは

皮膚や粘膜のびらんや水疱を  
生じる遺伝性の皮膚病



表皮水疱症は大きく3つに分類される





### 単純型表皮水疱症 EBS

表皮内水疱 (epidermolysis)

ケラチン5、ケラチン14、プレクチンの異常

### 接合部型表皮水疱症 JEB

表皮-真皮結合部水疱 (junctionolysis)

ラミニン332、インテグリン $\alpha 6\beta 4$ 、17型コラーゲン

### 栄養障害型表皮水疱症 DEB

表皮下水疱 (dermolysis)

7型コラーゲン

### DebRA Japan (表皮水疱症友の会)

- 患者総数：184名
- 単純型：54名、接合部型：12名、栄養障害型：107名

### 2009年署名活動

医療材料の公費負担と外国製医療材料の認可を！

署名数: 478,075

### 在宅難治性皮膚疾患処置指導管理料

滅菌ガーゼ    メロリンガーゼ



- ワセリンなどの外用とガーゼ保護。
- 包帯やテープで固定。
- 水疱は裁縫針などで穿刺。





非固着性創傷被覆材を処方することが可能になった！！

### 表皮水疱症の治療戦略

細胞療法	 <p>ケラチノサイト      線維芽細胞</p>
タンパク補充療法	 <p>遺伝子治療 復帰変異モザイク</p>

### 自家培養表皮シート






Pre-treatment      3 days      2 weeks      10 years

Shinkuma S et al. Acta Derm Venereol 94, 98-9, 2014.

### 他家培養表皮シート

- 5歳 男児
- 重症劣性栄養障害型表皮水疱症
- 非血縁の新生児（男児）から採皮
- 棍棒状に癒合した右足趾を切離し、第1、第2足趾に植皮
- 同時にメッシュ植皮を残りの3本の足趾に植皮




術後3週：メッシュ植皮との差がなくなった。  
術後4カ月：植皮片の脱落なし。

Eisenberg et al., Med J Austral. 147: 520-521, 1987.

### 他家培養表皮シート

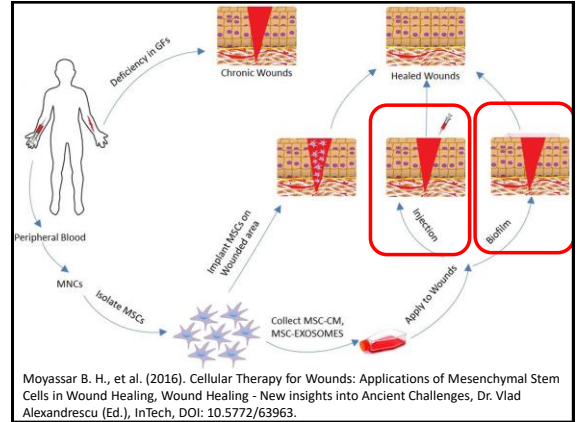
- 5歳 男児
- 致死型接合部型表皮水疱症 (LAMB3↓)
- 母親の臀部から採皮
- 顔面に生じた難治性潰瘍に植皮 (6カ月で4回)
- 植皮後8か月間再発なし



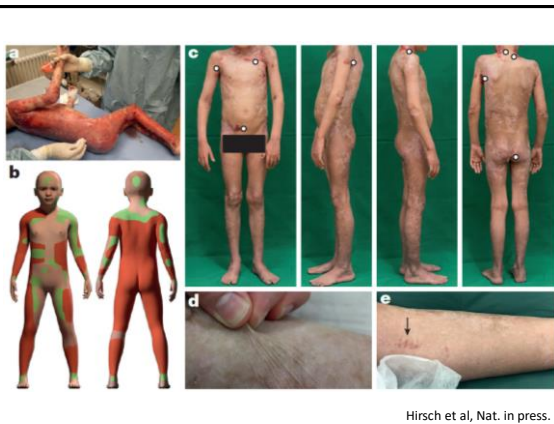
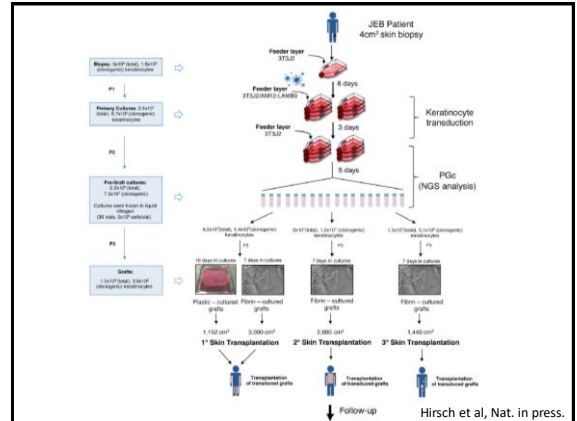
Hill et al., J Dermatol Surg Oncol. 18: 396-400, 1992.

## 間葉系幹細胞 (MSC)

- 骨髄、脂肪組織、胎盤組織、臍帯組織、歯髄などの様々な組織から採取可能
- 骨、軟骨、脂肪、筋といった間葉系細胞のみならず、皮膚や肝細胞などへの多分化能を有する
- 多分化能を活かして障害組織を置き換える細胞補充療法
- MSCから分泌される種々の液性因子による免疫制御作用、抗炎症作用、血管新生作用などを利用した細胞治療法



## MSC Films



DeBRA Japan  
10周年記念  
全国交流キャラバン

●全国交流キャラバンin 名古屋

日時： 2018年1月13日(土) 11:00~  
会場： 吹上ホール (名古屋市中小企業振興会館 9階展望ホール)  
〒464-0856 名古屋市中千種区吹上二丁目6番3号  
申し込み 12月16日まで

### 3. 「表皮細胞以外の細胞製品の動向」

#### I. 自己由来細胞製品

##### 1. 国内開発（治験）状況

- 難治性四肢潰瘍の治療としての末梢血生体外培養増幅単核球（MNC-QQ）細胞移植  
順天堂大学医学部形成外科学講座 田中里佳

##### 2. 海外製品

- ・細胞と基材を使用した製品
  - Autologous fibroblast and matrix  
Hyalograft 3D（Cha Bio & Diostech ; Korea）
  - Autologous epidermal cell and matrix  
BioSeed-S（Bio Tissue Technologies ; Germany）

#### II. 同種由来細胞製品

##### 1. 国内開発（治験）状況

- ヒト（同種）脂肪組織由来間葉系幹細胞（ALLO-ASC）シートについて  
イシンファーマ株式会社（実施施設：北大、東邦大、埼玉医大）
- 表皮水疱症に対する他家骨髄間葉系幹細胞移植治療  
大阪大学大学院医学系研究科再生誘導医学 玉井克人

##### 2. 海外製品

- ・細胞と基材を使用した製品
  - Allogenic fibroblast and matrix  
Dermagraft（Advanced Tissue Sciences, Inc. ; USA）※  
TransCyte（Shire（Advanced BioHealing） ; USA）
  - Allogenic epidermal cell and fibroblast and matrix  
Apligraf（Organogenesis Inc. ; USA）  
OrCel（Forticel Bioscience ; USA）
- ・細胞のみを使用した製品
  - Allogenic epidermal cell  
Kaloderm（TEGO Science ; Korea）※

※日本へ入ってくる可能性のあるこの2品目について調査を行った。

#### III. その他（乾燥ヒト羊膜・絨毛膜同種移植片）EpFix®

MiMedx Group, Inc. Takehito Itoh

## 難治性四肢潰瘍の治療としての末梢血生体外培養増幅単核球(MNC-QQ)細胞移植

順天堂大学医学部形成外科学講座 田中里佳

### ・ 製品概要

難治性潰瘍は、未だに下腿切断を余儀なくされる症例が多く、切断の有無は、患者生活困難性、医療費負担の軽減、早期の社会復帰にとって大きな分岐点である。本臨床研究で用いている「MNC-QQc法」（無血清生体外培養増幅法；Quality and Quantity Culture）は、疾患で機能低下した自己の血管幹細胞（EPCs；Endothelial Progenitor Cells）を少量の血液から増幅・機能を改善し、同時にM2（抗炎症性）マクロファージを増幅し、「強力な血管再生作用および創傷治癒作用を有する細胞集団」を短期間で治療に十分な量を準備可能な培養技術である。現在、難治性四肢潰瘍患者に対して本技術を用いた第1相臨床研究（再生医療等提供計画番号PB3150016 平成27年11月24日付）を開始。平成27年から29年度AMED再生医療実用化研究事業の支援にて現在までに9例の患者に治療を開始し、安全性と有効性を検証してきた。現在までに一定の安全性と移植部位局所の血流改善が確認できている。

### ・ 対象疾患

MNC-QQ細胞は血管新生と創傷治癒効果が期待されるため、四肢血流障害と創傷治癒遅延が認められる四肢潰瘍患者を対象とした。具体的には、難治性の潰瘍を有する症例で著しくQOLが障害されており、将来切断が予想される重症例であり、かつ保存的治療に抵抗性である症例を対象とした。

適格基準としては下記の3項目を満たす患者とした。

- ① Wagnerの分類でグレード1以上、補完的潰瘍分類3度以上の重度の難治性四肢潰瘍を有する例で、保存的治療を1ヶ月続けても抵抗性で改善が期待できない患者、または著しくQOLが障害されており将来切断が予想される重症例
- ② 1ヶ月間の内科的治療を行っても潰瘍の明らかな改善が認められないもの
- ③ 年齢：20歳以上75歳以下の患者（同意取得時の年齢）

除外基準としては、血糖コントロール不良例（HbA1C 8.0%以下を目標、重度な心疾患（EF25%以下は除外）、ヘモグロビン濃度が10.0 g/dL未満の貧血を認める患者、悪性腫瘍合併例、重度な糖尿病性網膜症、重度な血液疾患、インフォームドコンセントが得られない患者とした。

### ・ デザイン

第1相臨床研究としてのデザインは下記の通りである。

参加施設数：単施設（順天堂大学医学部附属順天堂医院）、群数：単群、相：第Ⅰ相（安全性試験）、探索的試験、試験方法：オープンラベル試験、症例数 10 例。

・ エンドポイント

第Ⅰ相臨床研究であるため、主要評価項目は安全性とした。

1) 主要評価項目：治療後 3 ヶ月までの安全性評価、有害事象発生頻度と有害事象の症状を CTCAE\* Ver4.0 の基準に基づいてグレード化し重症度を評価する

\*CTCAE: Common Terminology Criteria for Adverse Event (National Cancer Institute, USA により公表), 有害事象の症状を 1 (軽症) -5 (重症) にグレード化し評価、集計を行う。

2) 副次評価項目：治療後 3 ヶ月までの有効性評価、潰瘍の面積、深さ、肉芽形成等の評価とともに、患肢虚血の改善と痛みの改善を評価。患肢の血流改善の評価は、SPP (皮膚還流圧)、TcO<sub>2</sub> (経皮酸素分圧)、サーモグラフィ、レーザードップラー、血管造影を実施した。痛みの改善は VAS Scale を用いた。

ヒト（同種）脂肪組織由来間葉系幹細胞（ALLO-ASC）シートについて

イシンファーマ株式会社（実施施設：北大、東邦大、埼玉医大）

- ・ 製品概要

ヒト（同種）脂肪組織由来間葉系幹細胞（ALLO-ASC）シート

- ・ 対象疾患

栄養障害型表皮水疱症（劣性型のみ、といった縛りはなし）

- ・ デザイン

単群、非ランダム化、オープン、無対照試験

- ・ 症例数

目標症例数 5 例

- ・ エンドポイント

治験製品貼付領域に存在する全皮膚潰瘍面積の、治療開始日に対する最終貼付 5 週後の縮小率

## 表皮水疱症に対する他家骨髄間葉系幹細胞移植治療

大阪大学大学院医学系研究科再生誘導医学 玉井克人

### 表皮水疱症とは

表皮水疱症は、皮膚基底膜領域の接着構造蛋白遺伝子異常により、日常生活の軽微な外力で皮膚や口腔粘膜に水疱、びらん、潰瘍を形成する遺伝性皮膚難病である<sup>1,2)</sup>。平成6年に厚生労働省希少難治性皮膚疾患調査研究班で実施した全国疫学調査で推定された本邦における表皮水疱症患者数は500~640人である。一方、欧米の統計では人口1億人当たり1000~2000人であり<sup>3)</sup>、遺伝子変異出現頻度に人種間の偏りが無いと仮定すると、本邦においても1000人前後の患者数が存在する可能性がある。

近年の次世代シーケンスを用いた詳細な検討により、新たな表皮水疱症病型が追加されつつあるが<sup>2)</sup>、本邦統計で頻度の高い主要病型は、頻度順に、54%が栄養障害型、32%が単純型、7%が接合部型、7%が新たに追加されたその他の病型である<sup>4)</sup>。栄養障害型は皮膚基底膜と真皮間の接着分子VII型コラーゲンの遺伝子変異により基底膜直下の真皮内水疱を形成し、単純型の殆どは表皮基底層ケラチノサイトの細胞骨格蛋白ケラチン5/14の遺伝子変異による表皮内水疱、接合部型は表皮と基底膜間の接着分子であるXVII型コラーゲン、 $\alpha 6/\beta 4$ インテグリン、ラミニン332のいずれかの遺伝子変異で表皮・基底膜間水疱を形成する<sup>1,2)</sup>。その他の病型として、近年接着班構成蛋白であるキンドリン1遺伝子変異により表皮ケラチノサイトや真皮線維芽細胞の接着機能が破綻し、水疱は表皮内、表皮・真皮間、真皮内のいずれでも生じ得るキンドラー症候群が表皮水疱症の亜型として追加された<sup>5)</sup>。

最も頻度の高い栄養障害型は、VII型コラーゲン遺伝子変異の種類により、優性遺伝型と劣性遺伝型のいずれかの遺伝形式を取る。

優性遺伝型は主にVII型コラーゲン対立遺伝子の片方のアレルに生じたグリシン置換型変異により発症し、変異VII型コラーゲン分子と正常VII型コラーゲン分子の両者により混成して形成された係留線維の機能低下（ドミナント・ネガティブ効果）により発症する。両親のいずれかが罹患しているため診断は比較的容易であり、連日の水疱・潰瘍形成はあるものの、学校活動、就業、結婚、挙子が可能な軽症例が多い。ただし、両親いずれかの生殖細胞におけるVII型コラーゲン遺伝子の突然変異により発症する場合は両親に症状が無いため、診断には注意を要する<sup>6)</sup>。

劣性遺伝型では、患者の両親はそれぞれ片方のVII型コラーゲン遺伝子アレル



に変異を持ち、変異遺伝子由来VII型コラーゲンはその変異程度の強さ故に正常VII型コラーゲンと混成できず、結果として正常遺伝子由来VII型コラーゲンのみで係留線維が形成されるため、両親は発症せずにキャリアーとなる。一方患者は両方のアリルに強い変異を有するため、係留線維が殆ど、あるいは全く形成されないため、優性型と比較して重症例が多い。最重症型では、連日全身皮膚に多くの水疱や潰瘍を形成し、真皮内水疱故に瘢痕形成が著明なため、経過とともに手指の棍棒状癒着、大関節の瘢痕拘縮、開口障害、食道狭窄による嚥下障害、皮膚有棘細胞癌を高率に併発する。さらに、全身皮膚の炎症反応による鉄消費に起因する高度の鉄欠乏性貧血、CRPや血清アミロイドAの異常高値、潰瘍面からの組織液漏出による低栄養、皮膚感染症の持続による免疫グロブリン高値を認め、それらの持続による低身長、骨粗鬆症、心肥大を高頻度に合併し、さらに糸球体腎炎やアミロイド腎症、拡張型心筋症を合併する例もある。皮膚有棘細胞癌は20台後半から30代に高率に合併し、多中心性に新生を繰り返すため、生命予後悪化の主要要因であり、定期的な全身皮膚精査は不可欠である。

現在我々は、重症劣性栄養障害型表皮水疱症患者の難治性潰瘍に対して、骨髄間葉系幹細胞移植治療の有効性、安全性を検討している。本稿では、表皮水疱症に対する間葉系幹細胞移植を開始するに至った背景、臨床研究内容、製品化に向けた取り組み状況と今後の課題についてまとめる。なお、表皮水疱症のその他の病型の詳細については他書<sup>1-3)</sup>を参照いただきたい。

## 表皮水疱症に対する間葉系幹細胞移植治療開発の背景

生命は自己複製能力を持つ有機体と定義される。生体内でこの定義を満たすのは幹細胞であることから、生体における幹細胞維持機構は生命維持機構そのものであるといえる。それ故、生直後から連日続く表皮剥離と、その後生じる真皮の著明な瘢痕形成により、表皮・真皮いずれの組織においても経過とともに幹細胞を大量に喪失する重症劣性栄養障害型表皮水疱症では、皮膚の構造を維持するためには皮膚幹細胞再生メカニズムの存在が不可欠であると考えられる。我々は、重症劣性表皮水疱症皮膚における組織幹細胞再生メカニズムの存在を証明し、そのメカニズムを利用した新たな表皮水疱症治療を目的として研究を進めてきた<sup>7-10)</sup>。具体的には、VII型コラーゲン完全欠損マウスを用いて、移植した正常骨髄由来細胞による表皮水疱症マウス皮膚再生過程を詳細に検討した。その結果、1) 剥離表皮内壊死組織から大量放出される核内蛋白high mobility group box 1 (HMGB1)の血中濃度上昇により骨髄内間葉系幹細胞が活性化され、ケモカインCXCL12の受容体CXCR4発現を促進しつつ末梢循環に出現す

ること<sup>8,9)</sup>、2) 壊死組織周囲の血管内皮細胞が低酸素刺激に応答してケモカインCXCL12を放出し、循環血液内CXCR4陽性間葉系幹細胞を壊死組織周囲に誘導すること<sup>9)</sup>、3) 壊死組織周囲に集積した骨髄由来間葉系幹細胞は低酸素刺激、壊死性刺激、炎症性刺激に応答してやTSG-6、IL-10などの抗炎症分子を放出し、さらに表皮角化細胞や真皮線維芽細胞への多分化能を発揮して壊死組織の再生を誘導していることを明らかにした<sup>10)</sup>。さらに、これら骨髄間葉系幹細胞由来表皮細胞や線維芽細胞は皮膚基底膜領域へのVII型コラーゲン供給能を有すること見出した<sup>7,8)</sup>。

### 表皮水疱症患者を対象とした健常家族由来間葉系幹細胞移植臨床研究

これらの研究成果から、我々は他家骨髄間葉系幹細胞が表皮水疱症の難治性皮膚潰瘍治療に有効であると予想し、劣性栄養障害型表皮水疱症患者を対象とした健常家族骨髄由来間葉系幹細胞移植臨床研究を実施した<sup>11)</sup>。具体的には、大阪大学医学部附属病院皮膚科を受診し、文書により臨床研究参加同意を得た、6週間以上閉鎖していない難治性皮膚潰瘍を有する劣性栄養障害型表皮水疱症成人患者4名を被験者とした。同様に文書により骨髄提供の同意を得た20歳以上70歳未満の性の異なる健常成人家族（両親または兄弟姉妹）の腸骨から局所麻酔下で骨髄血20mlを採取し、間葉系幹細胞を培養・増殖後（Passage 2）、CD105陽性/CD34陰性細胞50%以上、生存率70%以上の規格を確認後、被験者の難治性皮膚潰瘍周囲健常部皮下に、2cm間隔で1ヶ所あたり50万個の培養間葉系幹細胞を生理食塩水250 $\mu$ lに浮遊させた状態で移植し、以後1週後、2週後、4週後、8週後、16週後、32週後、48週後に移植部皮膚局所および全身性の異常出現の有無と潰瘍面積縮小効果を評価するとともに、移植前と移植48週後の皮膚を用いて、VII型コラーゲンの発現状況について、mRNAレベルをRT-PCRで、蛋白レベルを免疫蛍光染色と電子顕微鏡写真で、それぞれ評価した。さらに、移植した性の異なるドナー骨髄由来培養間葉系幹細胞の長期生着の有無を、移植前と移植48週後の皮膚を用いた性染色体FISH法で比較検討した。その結果、皮膚に移植した間葉系幹細胞との因果関係が否定的な有害事象（移植前からあった不整脈の悪化）により中途脱落した1名を除き、移植48週後までの評価を終了した3名すべての被験者で、移植前数年間（1例は20年間）閉鎖したことのなかった難治性潰瘍の閉鎖が確認された。移植部皮膚におけるVII型コラーゲンの発現については、いずれの被験者も移植48週後ではmRNAレベルの増加は認めなかったが、3名中1名で移植48週後に皮膚基底膜領域のVII型コラーゲン蛋白発現が有意に増加しており、また電顕写真でVII型コラーゲンにより構成される係留線維の増加が観察された。一方、残りの2名ではVII型コラーゲンの有為な増加は観察し得

なかったが、性染色体FISHによる検討で、移植部皮膚に極めてわずかではあるがドナー由来細胞の残存が確認された。以上の結果を基に、栄養障害型表皮水疱症の難治性皮膚潰瘍に対する他家骨髄間葉系幹細胞移植再生医療の安全性、有効性が示されたと判断した。

## 表皮水疱症を適応とする他家骨髄間葉系幹細胞製品開発

これらの結果を基にして、我々は、1年以上閉鎖していない極めて難治な皮膚潰瘍を有する劣性栄養障害型表皮水疱症患者6名を対象として、国内製薬企業であるJCRファーマ株式会社が開発した他家間葉系幹細胞製剤JR-031を難治性皮膚潰瘍周囲に皮下移植する第II相医師主導治験を計画した。

JR-031は、健康成人男性骨髄血液からの有核細胞培養により得られたヒト間葉系幹細胞を気相液体窒素内で冷凍保存した、いわゆる他家骨髄間葉系幹細胞製品で、平成19年6月21日に「細胞・組織を利用した医療用具又は医薬品の品質および安全性に関する確認」の指針適合確認を受けている（薬食発第0621007号）。JCRファーマ株式会社は、ヒト間葉系幹細胞の持つ免疫調整作用を利用して、JR-031を急性移植片対宿主病（GVHD: graft versus-host disease）に対する治療を目的として臨床開発を進め<sup>12, 13</sup>、平成26年9月に製造販売承認申請を行い、平成27年9月に承認を得ている（商品名テムセル®HS注）。

JR-031は、細胞表面マーカーCD105、CD106、CD166、CD73、CD90が陽性、CD45、CD34が陰性であり、いわゆるヒト骨髄間葉系幹細胞を定義する表面マーカーを有しており、解凍後の生存率は90%以上であることから、大阪大学で実施した表皮水疱症に対する健常家族由来骨髄間葉系幹細胞移植臨床研究で安全性および有効性が確認された骨髄間葉系幹細胞の出荷規格（CD105陽性かつCD34陰性細胞を50%以上含み、かつ生存率70%以上）を十分に満たしている。

JR-031は1バック（10.8ml）中に $72 \times 10^6$ 個（ $6.7 \times 10^5$ 個/ml）の間葉系幹細胞が生理食塩水溶液中に懸濁されており、さらにジメチルスルホキシド（DMSO: Dimethyl sulfoxide）が10%（v/v）、ヒト血清アルブミンが5%（w/v）含有されている。

GVHD患者での有効性、安全性が確認されたJR-031投与プロトコールでは、 $2 \times 10^6$ 個/kgを週2回、4週間（計8回）を経静脈的に投与する。開発過程で実施された非臨床毒性試験では、SCIDマウスに対してJR-031ヒト投与量の10倍量（ $20 \times 10^6$ 個/kg）の4週間反復静脈内投与試験および9週間回復性試験が実施され、投与終了時に肺胞壁に投与した間葉系幹細胞と思われるヒトKu80陽性大型細胞が一過性に認められたが、同部位にうっ血、出血、炎症などは観察されず、また投与終了9週間後には消失していたことより、JR-031の無毒性量は $20 \times 10^6$ 個/kgと判

断されている。またGVHD患者に対する臨床試験で観察された有害事象はいずれもGVHDあるいは造血幹細胞移植後に認められるもので、JR-031との因果関係が明らか有害事象はDMSOによると思われる異臭感のみであったことから、JR-031の全身性投与の安全性について特筆すべき問題は無いと判断されている<sup>12, 13)</sup>。

上述したJR-031開発の経緯から、表皮水疱症患者を対象としたJR-031医師主導治験を実施するにあたり、JR-031の皮下移植は静脈内投与と比較して全身性の安全性は高いと判断した。しかし、JR-031皮下移植による皮膚局所の安全性情報は不足していたため、追加毒性試験としてNOGマウスへの単回皮下投与毒性試験 ( $8.0 \times 10^7$ 個/40ml/kg)、および雄性白色家兎へのDMSA含有媒体の局所刺激性試験 (10%または30%DMSO、5.1%ヒト血清アルブミン含有重炭酸リンゲル液)を実施し、いずれも皮膚に懸念となる異常は生じないことが確認された。

以上の非臨床および臨床データを基にして、JR-031の表皮水疱症適応拡大を目的とした医師主導試験プロトコルを作成し、PMDA事前面談、対面助言、大阪大学IRBの承認を経て治験届を提出し、またAMEDより医師主導治験実施のための研究費を獲得して、平成29年4月より「表皮水疱症患者を対象としたJR-031第II相医師主導治験」を開始した。具体的には、大阪大学附属病院皮膚科を受診し、1年以上閉鎖していない難治性皮膚潰瘍を有する表皮水疱症患者6名を対象とし、文書による同意を得た後、1年以上閉鎖していない難治性皮膚潰瘍を最大3箇所まで選択し、潰瘍周囲の健常部皮下に1ヶ所あたり  $5.0 \times 10^5$ 個/250 $\mu$ lのJR-031を2cm間隔で移植し、移植直前、移植1週後、2週後、4週後、8週後、16週後、32週後、48週後の潰瘍面積の推移および安全性を評価している。1回の移植で投与可能なJR-031用量は、最大で皮下移植部位40か所 (JR-031細胞数  $20 \times 10^6$ 個) と設定した。さらに、初回投与16週後および32週後の評価時点で閉鎖していない潰瘍に対しては、同一の用法、用量でそれぞれ2回目、3回目の追加投与を実施することとした。2回目、3回目の追加投与を行う場合は、それぞれ投与1週後および8週後の安全性及び有効性の観察を追加することとした。安全性評価は各評価日におけるバイタルサイン、自他覚的所見、血液学的所見、血液生化学的検査、尿検査、心電図検査、有効性の評価は主要評価の指標としてはJR-031初回投与時と比較した投与48週後の潰瘍面積縮小率を算出し、縮小率50%以上を有効例とした。

現在、予定した6例のエントリーを終了し、必要に応じて追加投与を実施しつつ、経過観察を続けており、順調に進めば平成30年秋には最終エントリー患者の評価を終了する予定である。

## 考 察

近年、培養骨髄間葉系幹細胞の持つ組織再生促進作用、抗炎症作用、抗線維化作用を利用した難病治療を目的として、培養骨髄間葉系細胞製剤の開発が世界的に進められている。患者本人の骨髄由来間葉系幹細胞を利用する自家移植と健常人ドナー骨髄由来間葉系幹細胞を利用する他家移植の異なる二つのアプローチがある。前者は拒絶反応が生じないため治療効果が持続する可能性が期待できる一方、骨髄血液からの間葉系幹細胞培養・増幅に少なくとも1か月前後の時間がかかることから急性期疾患への投与は困難である。後者はレディーメード（凍結保存）が可能のため急性期病態への投与が可能であるが、HLAが一致しないドナーでは拒絶反応により早期に移植細胞が排除される可能性があり、慢性難治性疾患に対しては一定の間隔で繰り返しの投与が必要となると考えられる。

我々は、性の異なる健常家族骨髄由来間葉系幹細胞を表皮水疱症患者に皮下移植する臨床研究を通して、移植48週後に皮膚生検し得た3名中2名において極めてわずかではあるが移植したドナー由来間葉系幹細胞が皮膚に残存していることが示されたことから、間葉系幹細胞は免疫細胞による拒絶反応を抑制的に制御するため他家間葉系幹細胞移植の治療効果は長期持続するという、従来から考えられていたメカニズムが実際に機能している可能性が示された。一方、3名中1名では、移植48週後に移植ドナー細胞は認められず、その殆どが拒絶・除去されたと思われるにもかかわらず、他の2例と同様の上皮化促進効果が観察され、さらに他の2例では認められなかった皮膚基底膜領域におけるVII型コラーゲン発現増強効果が確認された。これらの結果より、他家間葉系幹細胞による表皮水疱症の難治性皮膚潰瘍治療効果は、従来から知られている炎症抑制効果、瘢痕抑制効果による上皮化促進作用に加えて、ドナー間葉系幹細胞由来正常VII型コラーゲンあるいは患者皮膚由来変異VII型コラーゲンのいずれか、あるいは両者の発現増強により、皮膚の外力に対する抵抗性が増強され、治療効果が長期維持されている可能性が示唆された。

家族骨髄由来間葉系幹細胞の主要HLA遺伝子座A、B、DRは、3例の患者ともに、片方のアリルは不一致であったがもう片方のアリルは一致していた。移植間葉系幹細胞の長期生着機序に間葉系幹細胞の持つ免疫反応抑制効果に加えて主要HLA遺伝子座の一致程度が関与しているか否かについては不明である。現在進行中の他家骨髄由来間葉系幹細胞移植医師主導治験ではHLAは完全不一致と考えられるため、その治療効果の持続程度を評価することにより、先行臨床研究と併せてHLA一致程度の意義が明らかになるかも知れない。

AMEDおよび企業の支援を受けた医師主導治験の進展により、現在全く治療法の無い表皮水疱症の患者に、一日も早く安全かつ有効な再生医療が提供される

ことを願ってやまない。

## 文 献

- 1) 玉井克人、先天性表皮水疱症、X V I I I 章皮膚疾患、2 皮膚疾患各論、総編集松田暉、萩原俊男、難波光義、鈴木久美、林直子、疾病と治療 I V、89-90 頁、2010 年、南江堂
- 2) Fine JD, Eady RA, Bauer EA, et al. The classification of inherited epidermolysis bullosa (EB): report of the Third International Consensus Meeting on Diagnosis and Classification of EB. *J Am Acad Dermatol* 1991; 24: 119-35.
- 3) Fine JD, Epidemiology of inherited epidermolysis bullosa based on incidence and prevalence estimateds from the national epidermolysis bullosa registry. *JAMA Dermatology* 2016; 152: 1231-1238
- 4) 厚生労働省希少難治性皮膚疾患調査研究班平成 6 年度全国疫学調査
- 5) Jobard F, Bouadjar B, Caux F, et al. Identification of mutation sin a new gene encoding a FERM family protein with a pleckstrin homology domain in Kindler syndrome. *Hum Mol Genet* 2003; 12:925-35.
- 6) Hashimoto I, Kon A, Tamai K, et al. Diagnostic dilemma of sporadic cases of dystrophic epidermolysis bullosa: a new dominant or mitis recessive mutation? *Exp Dermatol* 18: 140-142, 1999.
- 7) Chino T, et al. Bone marrow cell transfer into fetal circulation can ameliorate genetic skin diseases by providing fibroblasts to the skin and inducing immune tolerance. *Am J Pathol* 173:803-814, 2008.
- 8) Tamai K, Yamazaki T, Chino T, et al. PDGFR $\alpha$ -positive cells in bone marrow are mobilized by high mobility group box 1 (HMGB1) to regenerate injured epithelia. *Proc Natl Acad Sci USA*. 108:6609-6614, 2011.
- 9) Iinuma S, Aikawa E, Tamai K, et al. Transplanted bone marrow-derived circulating PDGFR $\alpha$ + cells restore type VII collagen in recessive dystrophic epidermolysis bullosa mouse skin graft. *J Immunol*. 194:1996-2003, 2015.
- 1 0) Aikawa E, Fujita R, Kikuchi Y, et al. Systemic high-mobility group box 1 administration suppresses skin inflammation by inducing an accumulation of PDGFR $\alpha$ (+) mesenchymal cells from bone marrow. *Sci Rep*. 2015 Jun 5;5:11008. doi: 10.1038/srep11008.

- 1 1) 玉井克人、 他家骨髄由来間葉系幹細胞移植による表皮水疱症治療、日本再生医療学会雑誌 135; 15 Supple, 2016
- 1 2) Muroi K, Miyamura K, Ohashi K, et al. Unrelated allogeneic bone marrow-derived mesenchymalstem cells for steroid-refractory acute graft-versus-host disease: a phase I/II study. *Int J Hematol.* 98: 206-213, 2013
- 1 3) Muroi K, Miyamura K, Okada M, et al. Bone marrow-derived mesenchymalstem cells (JR-031) for steroid-refractory grade III or IV acute graft-versus-host disease: a phase II/III study. *Int J Hematol.* 103: 243-250, 2016

# DERMAGRAFT®

Advanced Tissue Sciences, Inc. (U.S.A)

## 1. 製品概要

同種ヒト線維芽細胞由来皮膚代用品（凍結製品； $-75^{\circ}\text{C} \pm 10^{\circ}\text{C}$  で 6 か月間保存可能）

製造販売承認：2001 年 9 月

サイズ：2 in × 3 in (5 cm × 7.5 cm)

- 線維芽細胞、細胞外マトリックス、生体吸収性基材（ポリグルクチン<sup>\*1</sup> メッシュスキヤホールド）で構成されている。

<sup>\*1</sup> グリコール酸：乳酸=9:1 で混合してポリマー化したポリ乳酸)

- 線維芽細胞は基材の隙間に増殖して、ヒト皮膚コラーゲン、マトリックスタンパク質、成長因子やサイトカインを分泌して 3D の皮膚代用品（代謝的に活性を持つ生きた細胞を含むが、マクロファージ、リンパ球、血管、毛包は含まない）を作る。

- ヒト線維芽細胞は品質管理<sup>\*2</sup>された細胞バンクから供給される。

<sup>\*2</sup> 品質管理：USP (United States Pharmacopeia；米国 Pharmacopeial 規定；米国薬局方) に従って、USP 無菌試験、エンドトキシン試験、マイコプラズマ試験等を通したものである。

- それぞれのロットは、コラーゲン内容物、DNA、細胞生存率の仕様を公開。

## 2. 対象疾患

- DFU（糖尿病性足潰瘍）

（6 週間以上の DFU で、十分に足へ血液供給されている患者）

## 3. 治験について

・ デザイン

- DERMAGRAFT + 従来の療法（デブリードメント、生理食塩水で湿ったガーゼ、および減圧下の履物）

- 従来の療法単独

上記の 2 群による治療で比較。

試験期間は 12 週間。



・対象患者（主な項目を抜粋）

- 18歳以上。
- I型またはII型糖尿病の現在の診断を有する。
- 研究対象潰瘍が治験責任医師の下で最低2週間は存在している。
- 研究対象潰瘍が足裏の表面または踵にあり、0日目（ランダム化の日）に潰瘍領域グリッド法により1.0cm<sup>2</sup>以上20cm<sup>2</sup>未満。
- 研究対象潰瘍は、真皮を通過して皮下組織まで延びているが、筋肉、腱、骨、または関節包の暴露はない。

・症例数

- 安全性分析：対照群（151名）、DERMAGRAFT群（163名）、計314名
- 有効性分析<sup>\*3</sup>：対照群（115名）、DERMAGRAFT群（130名）、計245名

<sup>\*3</sup>スクリーニング訪問時に6週間を超える潰瘍の患者のみに基づいた。

・エンドポイント

プライマリーエンドポイント（主要評価項目）：

第12週までの完全な創傷閉鎖。創傷閉鎖は、排液のない完全な上皮化として定義。

セカンダリーエンドポイント（副次的評価項目）：

創傷閉鎖を完了する時間及び12週目までの創傷閉鎖率。

・分析と結果

安全性：

重篤な有害事象は、DERMAGRAFTに起因するものではなかった。314人の患者のうち、DERMAGRAFT患者の10.4%（17/163人）が感染を発症したが、対照患者の17.9%（27/151人）が潰瘍感染を発症した。対照群では49/151人（32.5%）の患者が同じ有害事象を発症した。DERMAGRAFT治療群では、感染率、蜂巣炎および骨髄炎の発生率が低かった。また、DERMAGRAFTに由来する細胞に起因する抗原は存在しないことを確認した。

有効性：

12週間までの完全な創傷閉鎖

DERMAGRAFTと従来療法の併用治療により、従来療法単独に比べて6週間以上の潰瘍を有する患者に対して高い治療効果を提供する可能性は、98.4%であった。さらに、DERMAGRAFTによる創傷閉鎖を達成した患者の割合が22%～38%であり、対照群で創傷閉鎖を達成した患者の割合が12%～26%であった（確率95%）。

#### 第 12 週までの創傷閉鎖率

第 12 週までに、DERMAGRAFT 群の中央値パーセント閉鎖率は対照群の 78%と比較して 91%であった ( $p = 0.044$ ; 両側 Kruskal-Wallis 試験)。

#### 創傷閉鎖を完了する時間

DERMAGRAFT との併用治療を行った潰瘍が、従来の療法で治療した潰瘍よりも有意に速く閉鎖したことも示された ( $p = 0.040$ ; 両側ログランクテスト)。DERMAGRAFT で治療した患者は、試験中のどの任意時点でも対照患者よりも閉鎖する確率が 1.7 倍高かった ( $p = 0.044$ ; 両側コックスの比例ハザードモデル)。

# KALODERM®

Tego Science (South Korea)

## 1. 製品概要

同種培養ケラチノサイト（凍結製品；-60℃で24カ月間保存可能）

製造販売承認：2005年3月

これまでの使用実績：230,000シート（主に熱傷）

サイズ：56cm<sup>2</sup>, 25cm<sup>2</sup>, 9cm<sup>2</sup> の3種類

- 幼児包皮由来ケラチノサイトを含む MCB（マスターセルバンク）や WCB（ワーキングセルバンク）から作製される。
- 多様な成長因子が表皮及び真皮の両方を刺激して創傷治癒を促進する。

## 2. 対象疾患

- II度熱傷
- DFU（糖尿病性足潰瘍）
- 皮膚欠損創

## 3. 治験について

- ・ デザイン  
公開されている情報なし
- ・ 症例数  
公開されている情報なし
- ・ エンドポイント  
公開されている情報なし

Takehito Itoh 殿より聴取

Asian Market Manager

Office 770-651-9338 | Cell 404-917-5085 | Fax 770-321-4438

MiMedx Group, Inc.

titoh@mimedx.com

[www.mimedx.com](http://www.mimedx.com)

米国ではヒト羊膜を使った製品が数多くありますが、他は基本的に弊社の後追い製品な  
上、Clinical & Scientific のデータを持っておりません。羊膜・絨毛膜のコンビネーシ  
ョンは特許で守られており、弊社しか製造する事ができません。また、独自工程にて処  
理しているお陰で、確認されているだけでも 226 の成長因子・サイトカインを有して  
おります。乾燥工程を経ておりますので保存期間も常温で 5 年間有効です。安全性を更  
に高める為に滅菌処理をほどこしております。

そして、唯一、USP に掲載されている羊膜製品です（資料、添付しております）。

1) 製品概要（組織のソースを含めて）： 創傷関係という事で、弊社の EpiFix に絞ら  
せて頂いた資料を添付。

組織（胎盤）のソースに関してですが、現時点では 100%アメリカ国内のみです。

Tissue Bank の資格を有しており、100%アメリカ国内の契約した病院施設のみから、予定帝王切開で取り出された胎盤のみを回収しております。自然分娩の胎盤を使用している母体からの感染リスク等が大幅に上がります。

安全性確保の為、ドナースクリーニングのみならず、レギュレーションに従って回収した胎盤の検査（ウィルス検査含む）を実施して合格したもののみ処理工程へ回し、工程途中の検査や出荷前の検査などを経てから市場に出回る形となります

2) 適応疾患： 米国では軟組織の修復・再生と幅広いです。

具体的な疾患名をあげますと、体表に使うシートタイプ（製品名 EpiFix）では DFU、VLU、Burn、褥瘡などが主な対象です。今回は創傷関係という事ですので EpiFix のみで結構かと。

取り急ぎ、日本では EpiFix を先に上市させたいと考えております。

3) 効能： 創の保護・治癒の促進（創傷部位の再生）・炎症の抑制・瘢痕組織形成の低減

4) 臨床成績：

## Clinical & Scientific publications

<http://mimedx.com/content/clinical-publications>

<http://mimedx.com/content/scientific-publications>

<http://mimedx.com/content/posters>

2つ、簡単にまとめたものが下記です。

*International Wound Journal*. 2013 Oct;10(5):502-7.

A prospective, randomized comparative parallel study of amniotic membrane wound graft in the management of diabetic foot ulcers.

単一施設前向きランダム化比較試験エビデンスレベル 1

糖尿病性足潰瘍患者 25名

EpiFix を用いた治療と標準治療と比較し、糖尿病性足潰瘍患者に対する治療開始から 4 週間後と 6 週間後の治癒率を検証する。

4 週間後、標準治療の治癒率は 0% で、EpiFix は 77%、6 週間後では標準治療 8%、EpiFix では 92% となった。

この結果より、従来の標準治療単独にプラスして EpiFix を使用する事により更なる治癒効果を上げる事が確認された。

*International Wound Journal*. 2016 Apr;13(2):272-82.

Treatment of chronic diabetic lower extremity ulcers with advanced therapies: a prospective, randomized, controlled, multi-centre comparative study examining clinical efficacy and cost.

多施設共同前向きランダム化比較試験 エビデンスレベル 1

対象症例: 慢性糖尿病性足潰瘍

症例数: 100 例

標準治療、生体工学製品間 (EpiFix と FDA 認可製品である Apligraf) での 12 週での完全創治癒率の比較試験で Apligraf は 33 例中 24 例 (73%)、EpiFix は 32 例中 31 例(97%)、標準治療 (standard wound care)は 35 例中 18 例(51%)( $p=0.0019$ )となり、EpiFix 治療群は標準治療群と比較してハザード比 (HR : 5.66 ; adjustedP :  $1.3 \times 10^{-7}$ )であったのに対して、Apligraf 群は有意差を認めなかった。一方、Apligraf は EpiFix と比較して信頼区間 0.17~0.54 ではハザード比(HR : 0.30 ; 95% confidence interval (CI) : 0.17~0.54 ; unadjusted P :  $5.8 \times 10^{-5}$ )で有意に治癒率は低下する。12 週観察

期間での平均治癒日数は Apligraf で 47.9 日 (95%信頼区間 : 38.2 ~57.7 日)に対して、EpiFix は 23.6 日(95%信頼区間 : 17.0~30.2 日)、標準創傷治療では 57.4 日(95%信頼区間 : 48.2~66.6 日)であった(修正  $P = 3.2 \times 10^{-7}$ )。創治癒までの移植交換の中間値回数は、Apligraf では 6 回(1~13 回)、EpiFix は 2.5 回(1~12 回)であり、Apligraf のコストは EpiFix の 6 倍のコスト( $P < 0.0001$ )となっている。



#### 4. セルバンクに関して (J-TEC 井家氏よりヒアリング)

・ 1原料からどのくらいの製品を作製すると想定しているのか？

一つの MCB (100 本程度) あたり、最終製品を年間 数 10 万個製造して半世紀ほど持つと試算している。

・ どの工程箇所でバンク化するのか？

最終製品製造用の凍結細胞ストックを WCB としている。MCB は WCB の 2 継代前。

・ バンクのリニューアルの基準は？

MCB が枯渇した際、若しくは、MCB に不具合(品質低下や未知のウイルスの顕在化)が発生した際に、MCB を再製造する。

WCB は使い切ったら再製造する。年 1、2 回の頻度と想定している。

CB の品質管理法は、頻度含めて製造法に規定する。

・ バンクを入れ替える時の同等性をどう評価するのか？

CB の仕様や品質規格は、製造法に規定して申請書に記載するのでその品質管理項目に従って、CB を再構築する。

## V. 参考資料

1. 平成 20 年 9 月 12 日付薬食発第 09120006 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」

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満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満たし、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) 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え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。確認申請段階にあつては、それまでに得られた試験検体での実測値を提示し、これらを踏まえた暫定値を示すこと。

#### (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。