

平成 27 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 外科学系 整形外科学

佐藤 正人

# 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27年度委員 名簿	1
II.	平成27年度会議議事概要	3
III.	軟骨細胞又は体性幹細胞加工製品を用いた関節軟骨再生に関する評価指標（案）	17
IV.	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（案）	31
V.	調査事項	
1.	軟骨再生医療等製品の臨床試験に関して～過去の審査事例より～ 岡田 潔	43
2.	京都大学iPS細胞研究所で進めている再生医療用iPS細胞ストックについて 沖田圭介	49
3.	耳介軟骨再生を目的とした再生医療等製品の開発の現状 星 和人	54
4.	形成外科分野における再生医療の現状と今後 水野博司	56
VI.	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」	61
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」	76
3.	平成24年9月7日付薬食発第0907第2号厚生労働省医薬食品局長通知 「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」	92
4.	平成24年9月7日付薬食発第0907第3号厚生労働省医薬食品局長通知 「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」	112
5.	平成24年9月7日付薬食発第0907第5号厚生労働省医薬食品局長通知 「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」	132

# 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 27 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27年度委員名簿

座長

佐藤正人 東海大学 医学部外科学系整形外科学 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 工学系研究科 教授  
岡田 潔 大阪大学大学院 医学系研究科器官制御外科学（整形外科）講師  
沖田圭介 京都大学 iPS細胞研究所 未来生命科学開拓部門 講師  
妻木範行 京都大学 iPS細胞研究所 増殖分化機構研究部門 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

厚生労働省

磯部総一郎 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 医薬・生活衛生局 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  
治田義太郎 医薬・生活衛生局 医療機器・再生医療等製品担当参事官室 係員

独立行政法人医薬品医療機器総合機構

河西正樹 再生医療製品等審査部 審査専門員  
渡邊可奈子 再生医療製品等審査部 審査専門員  
宮崎生子 規格基準部 部長  
松岡厚子 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

弓場俊輔 産業技術総合研究所 バイオメディカル研究部門 細胞・生体医工学研究グループ  
研究グループ長  
伊藤弓弦 産業技術総合研究所 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  
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）

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 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 主任研究員

## II. 平成 27 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 27 年度第一回会議議事録（概要）

1. 開催日時：2014 年 9 月 4 日（金）10 時～12 時

2. 開催場所：オフィス東京 L4 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）、

沖田 圭介（京都大学）、中村 憲正（大阪保健医療大学）

厚生労働省：近藤 英幸、治田 義太郎

経済産業省：小宮 一晃

医薬品医療機器総合機構：河西 正樹、宮崎 生子、井出 勝久

東海大学：豊田 恵利子

産業技術総合研究所：伊藤 弓弦

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 27 年度第一回委員会議事次第

2. 平成 27 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 26 年度報告とこれまでの評価指標の内容について

5. 牛田委員ご講演資料

6. 沖田委員ご講演資料

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 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」

9. 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」

10. 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
11. 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
12. 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
13. 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
14. 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
15. 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
16. 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・再生医療等製品評価指標作成事業について厚生労働省 近藤調整官より説明が行われた。
- ②平成 26 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 27 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

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 工学系研究科 教授
沖田圭介	京都大学 iPS 細胞研究所 未来生命科学開拓部門 講師
妻木範行	京都大学 iPS 細胞研究所 増殖分化機構研究部門 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

- ④経済産業省 小宮室長補佐より開発 WG で作成した「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)」について、審査 WG で作成した「関節軟骨再生に関する評価指標」(H22.12.15 薬食機発 1215 第 1 号別添 1)の内容と重複する部分が多くあったので、開発ガイドラインとしてではなく、今年度、本 WG にてその内容を見直し新たに作成する評価指標に取り込ませた形で作成して

頂きたいとの説明があった。

⑤牛田委員より H23 年度に開発 WG にて作成された「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）」における臨床評価の部分についての説明があり、その後、発表内容について質疑応答がなされた。

臨床評価についてバイオプシー（生体組織診断）も評価法の一つに入れた方が良いのではないかと意見があった。

⑥沖田委員より「再生医療用 iPS 細胞ストックの概要」について講演があり、その後、発表内容について質疑応答がなされた。

⑦平成 27 年度の活動方針について討議した。

主な討議内容

・今年度は「関節軟骨再生に関する評価指標」（H22.12.15 薬食機発 1215 第 1 号別添 1）の見直しを行う。また、昨年度決めた改訂の 6 つのポイント（1. 細胞ソースをどうするか？ 2. 対象疾患に変形性関節症を加えるか？ 3. 安全性の評価：細胞ソースの安全性、再生医療製品の安全性 4. 有効性の評価 5. 動物モデルでの評価 6. 市販後調査もふくめるかどうか？）について話し合った。細胞ソースは体細胞、体性幹細胞に加えて同種 iPS 細胞も入れる。評価指標は体細胞、体性幹細胞と同種 iPS 細胞由来でそれぞれ作成する方向で同意。

対象疾患について、変形性関節症は多様な疾患で評価が難しいため、今回の改訂では対象とせず、損傷関節軟骨のみとなった。

・「耳介軟骨の再生に関する評価指標」の作成に向けて、磯貝委員より耳の軟骨再生の現状について、説明があった。第二回会議で星委員に開発の状況を発表してもらい、想定される製品や対象疾患等を議論することとなった。

・作成した評価指標を英訳した方が良いのではないかと意見があった。

⑧今後の会議日程

第二回会議：平成 27 年 10 月 15 日（木）14-16 時 オフィス東京 S 会議室

第三回会議：平成 27 年 11 月 26 日（木）14-16 時 オフィス東京 L4 会議室

第四回会議：平成 28 年 1 月 7 日（木）14-16 時 オフィス東京 L2 会議室

第五回会議：平成 28 年 1 月 28 日（木）14-16 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27年度第二回会議議事録（概要）

2. 開催日時：2015年10月15日（木）14時～16時

2. 開催場所：オフィス東京 S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）、  
沖田 圭介（京都大学）、妻木 範行（京都大学）、星 和人（東京大学）

厚生労働省：荒川 裕司

医薬品医療機器総合機構：渡邊 可奈子、松岡 厚子、井出 勝久

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：伊藤 弓弦

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27年度第二回委員会議事次第

2. 平成27年度第一回委員会議事録(概要)

3. 平成27年度委員名簿(最新版)

4. 作業分担案

5. 星先生ご講演資料

6. 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」

7. 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

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. 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27年9月25日付薬食機参発0925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1「鼻軟骨再生に関する評価指標」

## 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第二回会議より大阪大学医学部整形外科の岡田潔先生に委員に加わって頂くこととなった。
- ③星委員より耳介軟骨再生の開発状況について発表があった。臨床導入にはまだ時間的な余裕があるので、「耳介軟骨再生に関する評価指標」は来年度まとめるべく、今年度は評価項目等の検討を行うこととなった。
- ④評価指標作成に係る作業分担について話し合われた。
  - (1) 関節軟骨再生  
(細胞ソース: ヒト軟骨細胞及び体性幹細胞, 対象疾患: 損傷関節軟骨)  
佐藤(正), 中村, 牛田, 岡田, 佐藤(陽)
  - (2) 関節軟骨再生  
(細胞ソース: 同種ヒトiPS(様)細胞, 対象疾患: 損傷関節軟骨)  
妻木, 沖田, 牛田, 岡田, 佐藤(陽)
  - (3) 耳介軟骨再生  
磯貝, 水野, 星
- ⑤治験のフォローアップ期間について合意が取れれば評価指標に記載し、市販後調査として、敢えて評価指標には加えなくても良いのではないかと意見が出た。
- ⑥開発GL(案)を評価指標に取り込むにあたり、第三回会議で、牛田委員よりどの部分を評価指標に反映した方が良いのかご提案頂くこととなった。
- ⑦評価指標のタイトルとして、  
「関節軟骨再生を目的としたヒト軟骨細胞及びヒト体性幹細胞に関する評価指標」  
「関節軟骨再生を目的とした同種ヒトiPS細胞由来軟骨細胞に関する評価指標」  
の案が出された。
- ⑧第三回会議までに、妻木委員、沖田委員、岡田委員に「同種iPS(様)細胞由来網膜色素上皮細胞に関する評価指標」を参考に、関節軟骨用の評価項目を示して頂くこととなった。
- ⑨今後の会議日程  
第三回会議 : 平成27年11月26日(木)14-16時 オフィス東京 L4 会議室

第四回会議 : 平成 28 年 1 月 7 日(木)14-16 時 オフィス東京 L2 会議室

第五回会議 : 平成 28 年 1 月 28 日(木)14-16 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 27 年度第三回会議議事録（概要）

3. 開催日時：2015 年 11 月 26 日（木）14 時～16 時

2. 開催場所：オフィス東京 L4 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）、  
岡田 潔（大阪大学）、沖田 圭介（京都大学）、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）

医薬品医療機器総合機構：河西 正樹

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：伊藤 弓弦

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 27 年度第三回委員会議事次第

2. 平成 27 年度第二回委員会議事録(概要)

3. 軟骨再生医療等製品の臨床試験に関して～過去の審査事例より～

（岡田委員ご発表資料）

4. 同種ヒト iPS(様)細胞由来軟骨組織または軟骨細胞に関する評価指標素案

5. 開発 GL 案よりご提案資料

6. 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」

7. 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

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. 再生医療分野 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)

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岡田委員より「軟骨再生医療等製品の臨床試験に関して～過去の審査事例より～」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。
- ③妻木委員より「同種ヒト iPS(様)細胞由来軟骨組織または軟骨細胞に関する評価指標素案」について説明していただきながら、全委員で討議した。
- ④牛田委員より、開発 GL からどの部分を今年度改定予定の「関節軟骨再生に関する評価指標」(H22.12.15 薬食機発 1215 第 1 号別添 1)へ反映すれば良いかについて発表があり、全委員で討議した。
- ⑤第四回会議までに、下記の通り作業を行っていただくこととした。
  - ・ 妻木委員に③での討議内容をもとに「同種ヒト iPS(様)細胞由来軟骨組織または軟骨細胞に関する評価指標素案」の修正を行っていただく。
  - ・ 牛田委員に④での討議内容をもとに、「関節軟骨再生に関する評価指標」(H22.12.15 薬食機発 1215 第 1 号別添 1)の改定版へ反映できる部分を厳選して提案していただく。
  - ・ 中村委員に開発 GL の臨床評価部分を修正して提案していただく。画像診断部分をシンプルにしていただく。
  - ・ 佐藤座長に生体組織診断(バイオプシー)について執筆していただく。
- ⑥今後の会議日程
  - 第四回会議 : 平成 28 年 1 月 7 日(木)14-16 時 オフィス東京 L2 会議室
  - 第五回会議 : 平成 28 年 1 月 28 日(木)14-16 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 27 年度第四回会議議事録（概要）

4. 開催日時：2016 年 1 月 7 日（木）14 時～16 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）、  
岡田 潔（大阪大学）、沖田 圭介（京都大学）、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）

医薬品医療機器総合機構：河西 正樹

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、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 27 年度第四回委員会議事次第
2. 平成 27 年度第三回委員会議事録(概要)
3. 関節軟骨再生に関する評価指標(改定案)
4. 同種ヒト iPS(様)細胞由来軟骨組織または軟骨細胞に関する評価指標素案
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. 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
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. 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
9. 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
10. 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

5. 議事内容

- ①事務局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。

②牛田委員、中村委員、佐藤座長より「関節軟骨再生に関する評価指標(改定案)」について説明していただきながら、全委員で討議した。

牛田委員： 相同使用、非相同使用に項目を分け、開発 GL から修正、反映した部分(臨床試験(治験)以外)を中心に説明していただいた。

中村委員： 開発 GL から修正、反映した臨床試験(治験)部分及び、短く書き直した MRI 部分について説明していただいた。

佐藤座長： 執筆していただいたバイオプシーについて、説明していただいた。

③妻木委員より「同種ヒト iPS (様) 細胞由来軟骨組織または軟骨細胞に関する評価指標素案」について、第三回会議からの修正点を中心に説明していただき、全委員で討議した。

④事務局が②、③での討議内容をもとに、「関節軟骨再生に関する評価指標(改定案)」及び「同種ヒト iPS (様) 細胞由来軟骨組織または軟骨細胞に関する評価指標素案」を修正し、全委員にメーリングリストで送ることとなった。また、両評価指標案の臨床試験(治験)の MRI とバイオプシー部分を中村委員、佐藤座長に修正していただくこととなった。

⑤今後の会議日程

第五回会議：平成 28 年 1 月 28 日(木)14-16 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 27 年度第五回会議議事録（概要）

5. 開催日時：2016 年 1 月 28 日（木）14 時～16 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）、牛田 多加志（東京大学）、岡田 潔（大阪大学）、  
沖田 圭介（京都大学）、妻木 範行（京都大学）、星 和人（東京大学）、  
水野 博司（順天堂大学）

医薬品医療機器総合機構：河西 正樹、渡邊 可奈子、松岡 厚子

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、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 27 年度第五回委員会議事次第
2. 平成 27 年度第四回委員会議事録(概要)
3. 「耳介軟骨再生に関する評価指標」作成に向けて
4. 関節軟骨再生に関する評価指標（改定案）
5. 同種ヒト iPS（様）細胞由来軟骨組織又は軟骨細胞に関する評価指標素案
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 27 年 9 月 25 日付薬食機参発 0925 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 1 「鼻軟骨再生に関する評価指標」
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」
8. 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
9. 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
10. 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
11. 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



## 12. 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

### 5. 議事内容

- ①事務局より第四回会議議事録（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「耳介軟骨再生に関する評価指標」案作成に向けて説明していただいた。方針として、昨年度作成した「鼻軟骨再生に関する評価指標」を追加修正する形で進めていく。具体的には、製品の力学的強度と形状維持について追加すれば良いのではないかと説明があった。ただ、人への臨床応用は4、5年後を想定しているので、早々に評価指標を作る必要はないのではないかという意見が出た。
- ③資料4「関節軟骨再生に関する評価指標（改定案）」について全出席者で読み合わせを行い、修正点等討議した。

#### 主な修正点

- ・タイトルを「軟骨細胞又は体性幹細胞加工製品を用いた関節軟骨再生に関する評価指標案」にする。
- ・「スキャホールド」を「足場材料等」に変更する。
- ・5-1（5）力学的適合試験の2文目と3文目を逆にし、「無菌性」を「無菌性又は破壊性」にする。
- ・8 3）臨床有効性評価の「authorize されている」を「日本語版が作成され使用されている」に変更する。

- ④資料5「同種ヒトiPS（様）細胞由来軟骨組織又は軟骨細胞に関する評価指標素案」について全出席者で読み合わせを行い、修正点等討議した。

#### 主な修正点

- ・タイトルを「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案」にする。
- ・細胞株や細胞単体の意味で書かれている「ヒト（同種）iPS（様）細胞」は「iPS（様）細胞」とする。
- ・5（7）「移植治療の評価方法」を「構造学的評価」に変更。また③全身モニタリング項目と順番を逆にする。

- ⑤事務局が③、④での討議内容をもとに、資料4「関節軟骨再生に関する評価指標（改定案）」及び資料5「同種ヒトiPS（様）細胞由来軟骨組織または軟骨細胞に関する評価指標素案」を修正し、全委員にメーリングリストで送ることとなった。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なった。
- ⑥報告書に掲載する原稿を岡田委員、沖田委員、水野委員に執筆していただくこと

となった。

- |      |                               |
|------|-------------------------------|
| 岡田委員 | 軟骨再生医療等製品の臨床試験に関して～過去の審査事例より～ |
| 沖田委員 | 再生医療用 iPS 細胞ストックの概要           |
| 水野委員 | 形成外科分野における再生医療の現状と今後          |

### III. 軟骨細胞又は体性幹細胞加工製品を用いた 関節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
6. 効力又は性能を裏付ける試験について
7. 体内動態について
8. 臨床試験（治験）

# 軟骨細胞又は体性幹細胞加工製品を用いた関節軟骨再生に関する 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。また、ヒト体性幹細胞加工製品の品質及び安全性の確保については、平成24年9月7日付け薬食発第0907第2号厚生労働省医薬食品局長通知（以下「ヒト（自己）体性幹細胞加工医薬品等の指針」という。）及び平成24年9月7日付け薬食発第0907第3号厚生労働省医薬食品局長通知（以下「ヒト（同種）体性幹細胞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、ヒト軟骨細胞又は体性幹細胞加工製品のうち特に関節軟骨損傷の治療を目的として軟骨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（自己又は同種）軟骨細胞又は体性幹細胞加工製品のうち特に関節軟骨損傷の治療を目的として適用される再生医療等製品について、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したものである。

## 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軟骨細胞又は体性幹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（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、ヒト（自己）体性幹細胞加工医薬品等の指針及びヒト（同種）体性幹細胞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) 軟骨細胞：軟骨の細胞外基質中に存在し、主にコラーゲン(II、IX、XI 型等)とプロテオグリカン（アグリカンを主とする）を分泌し軟骨基質を形成することを特徴とする細胞を一般的には指すが、本評価指標で原材料とする細胞はその前駆細胞（軟骨芽細胞）、軟骨細胞ないし軟骨芽細胞を豊富に含む細胞集団及び体外でこれらの細胞を培養して得られた細胞を含む。
- (2) 体性幹細胞：生体組織中に存在し、多分化能を有しかつ自己複製能力を維持しているもの又はそれに類することが推定されるもの及びこれを豊富に含む細胞集団をいうが、本評価指標では骨髄間質細胞も含む。また、体外でこれらの細胞を培養して得られた細胞を含む。
- (3) 粘弾性：粘性と弾性とを併せ持つ性質。軟骨組織の力学的特性において重要なファクターである。特に粘性は、歩行や運動といった時間的に変化する荷重に対して関節軟骨が応答する際に、重要な働きをする。
- (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

損傷関節軟骨等の治療を目的とした再生医療等製品には、原材料と適用との関係性から、1) 原材料として採取されるドナーの細胞・組織が患者の適用部位の細胞・組織と同様の基本機能をもつ場合（相同使用 Homologous Use）と、2) そうでない場合（非相同使用 Non-homologous Use）とに分けられる。本評価指標においては昨今の国内外の研究開発状況を鑑み、前者の場合には主にヒト軟骨細胞加工製品を、後者の場合には主に軟骨以外の組織に由来するヒト体性幹細胞を原材料とする再生医療等製品を対象とする。両者の安全性・有効性上の大きな差異として考えられるのは、前者の場合には適用部位における細胞・組織の既知の生理学的機能からその有効性の機序を理解することが比較的容易と想定される可能性があるのに対し、後者の場合には移植段階で軟骨細胞様の表現型を呈さないこと及び有効性を裏付ける機序が複数である可能性があることに加えて、それらの確認が困難である可能性が考えられる。従って、軟骨細胞の相同使用による軟骨細胞加工製品と非相同性使用による体性幹細胞加工製品とでは、有効性の評価、その機序の理解及び製品中の細胞の適用部位における機能に基づくリスクの評価について留意点が異なる可能性があることに注意が必要である。

製品評価については、以下に挙げた試験項目が考えられる。しかしながら、製品によっては例示した試験項目又はマーカーが必要十分とは限らず、逆に不必要な場合もある。さら

に必要なかつ適切であれば、別の試験項目又はマーカーを採用又は追加して設定を検討し、使用する妥当性を説明すること。

本評価指標においては、相同使用と非相同使用とをそれぞれ、最終製品に軟骨細胞を含む場合と最終製品に軟骨細胞を含まない場合とに分けて記述する。

#### 5-1. 最終製品に軟骨細胞を含む場合

- ・原材料としてヒト軟骨細胞を用いて適用する場合
- ・原材料としてヒト体性幹細胞を軟骨細胞に分化誘導して適用する場合

##### (1) 細胞数及び生存率

出発原料となる軟骨細胞又は体性幹細胞は採取組織に由来する量的な制約がある。軟骨細胞は体外培養すると脱分化する傾向を持つ。軟骨細胞は、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、意図する治療部位のサイズに見合った量の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必要がある。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、血球計算板やセルカウンターで測定する方法がある。細胞生存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、生細胞及び死細胞を計数することができる。足場材料等に細胞を播種し、三次元培養した製品では、使用している足場材料等をタンパク質分解酵素等で消化して細胞懸濁液を得て、それを細胞数及び細胞生存率の測定に用いることが考えられる。足場材料等から細胞を分離して細胞を計数することが困難な場合には、細胞のDNA量を測定する方法や、MTTアッセイによりミトコンドリアの酵素活性を指標に生細胞数を算出する方法がある。

##### (2) 細胞の培養期間の妥当性

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又は増殖速度の異常変動等の目的外の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、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。

##### (3) 確認試験

目的とする体内での有効性（軟骨形成能、軟骨機能等）を達成し、かつ安全性上の問

題（意図しない分化、過形成、異常増殖等）を可能な限り回避するとともに、一定の品質及び安定性を保持するために必要な最終製品中の細胞の重要細胞特性指標を定め、これらを用いて最終製品中の細胞が目的の細胞であることを確認すること。確認試験には目的細胞に対する特異性が求められるため、試験に用いる細胞特性指標は、混入する可能性のある他の細胞では発現していない分子であることが望ましい。組織工学的手法により製造された製品については、足場材料等に播種されて製造された最終製品の細胞の生存率・密度・形態学的特徴等を確認すること。なお、最終製品の規格を最も良く実現するために必要な、原材料及び中間製品の重要細胞特性指標を設定することも必要である。量的制約や複雑な品質特性のために、最終製品において細胞の特性を必要十分に評価できない場合は、中間製品（又は原材料）で評価することが選択肢となる場合もある。そのためには、中間製品（又は原材料）の特性が最終製品の品質に関する適正な道標となるという合理性を示すことが必要である。

確認試験のための具体的な評価指標を、形態学的特徴、生化学的指標、遺伝子発現に分けて以下に記す。

#### ① 形態学的特徴

軟骨細胞は球形又は楕円形の形態をとるが、平面培養によって紡錘状の線維芽細胞様となる。細胞外マトリックスの存在等、培養環境により細胞形状が変わる。球形状の細胞形状の方が、紡錘型の細胞に比してタイプ II コラーゲン等、軟骨基質産生を維持していることが知られている。細胞を足場材料等に播種した場合の細胞形態の観察は困難であることが多い。

#### ② 生化学的指標

生化学的指標としては、軟骨細胞が産生するグリコサミノグリカン(GAG)、タイプ II コラーゲン、アグリカン等が考えられる。又、軟骨細胞特異的な産生物質と線維芽細胞や脱分化軟骨細胞が産生する物質の比率を指標として、例えばタイプ II コラーゲン／タイプ I コラーゲン比、コンドロイチン 6 硫酸／コンドロイチン 4 硫酸の比を指標とする方法がある。足場材料等に細胞を播種し、三次元培養した製品では、使用している足場材料等をタンパク質分解酵素等で消化し、その消化液中に存在する産生物質を定量することも考えられる。GAG は硫酸化 GAG の硫酸基に色素を結合させ、吸光度で測定する方法が知られている（色素結合法）。その他の産生物質は ELISA や HPLC 等によって定量することができる。

#### ③ 遺伝子発現

生化学的指標のマーカーとなるタンパク質については、Sox9 や HAPLN1（ヒアルロン酸とプロテオグリカン連結たんぱく質）の遺伝子発現を軟骨細胞のマーカーとして検出する方法が報告されている。mRNA 発現の有無は RT-PCR で確認することができ、定量 PCR により遺伝子発現を定量することも可能である。

#### (4) 細胞の純度試験

細胞の純度は品質管理における重要な要素であり、他の品質試験と同様、工程の性能、非臨床及び臨床試験結果等に基づき、規格を設定すべきものである。原材料、中間製品、最終製品の各段階における目的細胞については、確認試験で定めた重要細胞特性指標に基づいて定義すること。混入細胞（例えば骨芽細胞、血管内皮細胞、線維芽細胞、その他の採取時に混入する可能性のある細胞）又は原材料・製造工程における幹細胞の意図しない分化により生じた体細胞（様）細胞、未分化細胞又は脱分化細胞、異常増殖細胞、形質転換細胞といった目的細胞以外の細胞の検出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。特に移植後に重篤な有害事象をひきおこす造腫瘍性細胞については、その混入量を検討すること。

#### (5) 力学的適合試験

最終製品の段階で軟骨組織と類似した力学特性を持つ等、最終製品によっては最終製品自体に耐荷重性、摺動特性、粘弾性等における適合性が要求される。各製品の適用方法を考慮した上で必要に応じて力学的適合性を確認するための規格を設定すること。力学的適合性試験は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には、試験的検体を用いて実施することでも構わない。

#### (6) 効能を裏付ける品質試験

軟骨再生を目的とした再生医療等製品の有効性を担保するためには、最終製品に対する適切な効能試験の設定を検討する必要がある。

組織工学的手法によらず軟骨組織とは類似しない力学特性を持つ製品については、体内における有効性の代替指標（Surrogate Marker）を同定し、効能試験に応用することが考えられる。例えば、タイプ II コラーゲン／タイプ I コラーゲンの遺伝子発現比は軟骨細胞の分化の指標とされることがある。ただし、代替指標の使用に際しては、患者における有効性と代替指標との相関性を予め明らかにすることが必要となる。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。

#### (7) 製品の安定性試験

ヒト軟骨細胞又は体性幹細胞加工製品の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り製品の解凍後の培養可能期間や品質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、原材料・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。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原材料と同様に適切に選択すること。又、非凍結状態で輸送する場合の輸送液等も同様である。製品形態あるいは細胞種によって、製品安定性を保つための適切な保存形態、温度条件又は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。

#### （８）非細胞材料及び最終製品の生体適合性

製品に関係する非細胞材料については、細胞とともに最終製品の一部を構成するものだけでなく、製造工程中で細胞と接触するもの及び適用時に使用されるもの（局所封入用の膜、フィブリン糊等）に関しても、材料自体の品質・安全性に関する知見について明らかにするとともに、生体適合性等、患者及び製品中の細胞との相互作用に関する知見について明らかにすること。また、最終製品総体についても患者の細胞組織、特に適用部位周辺組織との相互作用について評価すること。また、最終製品の一部を構成する非細胞材料の、製造工程中（培地中）及び体内での分解特性、体内での再吸収特性、分解物の安全性に関して適切な情報を提供すること。特に、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。非細胞材料の生体適合性については、ISO10993-1、JIS T 0993-1 又は ASTM F748-04、医療機器の製造販売承認申請等に必要とされる生物学的安全性評価の基本的考え方について（平成 24 年 3 月 1 日付け薬食機発 0301 第 20 号）等を参考にすること。

#### （９）細胞の造腫瘍性・過形成

製品中の細胞に由来する腫瘍形成及び過形成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。

体性幹細胞等、軟骨細胞へと分化しうる細胞又は分化した軟骨細胞を含んだ再生医療等製品の造腫瘍性については、複数の試験法による評価の必要性を検討すること。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 technical report series, No 978 Annex 3 (2013)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かもしれない。

## 5-2. 最終製品に軟骨細胞を含まない場合

- ・原材料としてヒト体性幹細胞を用い、軟骨細胞へ分化誘導せず適用する場合

軟骨細胞としての特性（基質産生能等）を製品性能の指標とすることができない。したがって、非臨床試験において効力を裏付けるデータを示す必要がある。

### (1) 細胞数及び生存率

出発原料となる体性幹細胞は採取組織に由来する量的な制約がある。体性幹細胞は体外培養によりその表現型を変化させる傾向を持つ。そして、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、意図する治療部位のサイズに見合った量の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必要がある。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、血球計算板やセルカウンターで測定する方法がある。細胞生存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、生細胞及び死細胞を計数することができる。足場材料等に細胞を播種し、三次元培養した製品では、使用している足場材料等をタンパク質分解酵素等で消化して細胞懸濁液を得て、それを細胞数及び細胞生存率の測定に用いることが考えられる。足場材料等から細胞を分離して細胞を計数することが困難な場合には、細胞のDNA量を測定する方法や、MTT アッセイによりミトコンドリアの酵素活性を指標に生細胞数を算出する方法がある。

### (2) 細胞の培養期間の妥当性

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

した細胞において多分化能の減弱、増殖速度の異常変動等の目的外の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。

### (3) 確認試験

目的とする体内での有効性（軟骨形成能、軟骨機能等）を達成し、かつ安全性上の問題（意図しない分化、過形成、異常増殖等）を可能な限り回避するとともに、一定の品質及び安定性を保持するために必要な最終製品中の細胞の重要細胞特性指標を定め、これらを用いて最終製品中の細胞が目的の細胞であることを確認すること。確認試験には目的細胞に対する特異性が求められるため、試験に用いる細胞特性指標は、混入する可能性のある他の細胞では発現していない分子であることが望ましい。組織工学的手法により製造された製品については、足場材料等に播種されて製造された最終製品の細胞の生存率・密度・形態学的特徴等を確認すること。なお、最終製品の規格を最も良く実現するために必要な、原材料及び中間製品の重要細胞特性指標を設定することも必要である。量的制約や複雑な品質特性のために、最終製品において細胞の特性を必要十分に評価できない場合は、中間製品（又は原材料）で評価することが選択肢となる場合もある。そのためには、中間製品（又は原材料）の特性が最終製品の品質に関する適正な道標となるという合理性を示すことが必要である。

#### ① 形態学的特徴

体性幹細胞の中でも間葉系幹細胞は骨芽細胞、脂肪細胞、筋細胞、軟骨細胞等、間葉系に属する細胞への分化能をもつ細胞である。一般的な培養条件下で培養皿に接着する性質を利用して血球系細胞と分離でき、細胞形態を観察することができる。顕微鏡観察において線維芽細胞に似た形態をとり、一般には紡錘形である。しかし、実際に培養された細胞の形態は多様で、典型的な紡錘形のもの、神経細胞様に突起を伸ばしたもの、細胞が広がり扁平になったもの等様々である。

#### ② 重要中間体

加工に伴う変化を調べるために、重要中間体に特徴的な、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。重要中間体に明らかに由来する各種サイトカイン、成長因子等の生理活性物質、及び細胞外マトリックスの定性及び定量を行うことができる。

#### ③ 免疫学的指標

細胞表面マーカーにより幹細胞を定義づける報告は多数あるが、例えば間葉系幹細胞のように骨髄由来又は脂肪由来など、組織によって指標に用いられる表面抗原が異なる場合もあるので、製品の特性を示すのに適切な表面抗原を選択することが重要である。

また、原材料となる細胞、工程内重要中間体、最終製品等、製造工程を通じて管理するのに適切な表面抗原を選択することが望ましい。

#### (4) 細胞の純度試験

細胞の純度は品質管理における重要な要素であり、他の品質試験と同様、工程の性能、非臨床及び臨床試験結果等に基づき、規格を設定すべきものである。原材料、中間製品、最終製品の各段階における目的細胞については、確認試験で定めた重要細胞特性指標に基づいて定義すること。混入細胞（例えば骨芽細胞、血管内皮細胞、線維芽細胞、その他の採取時に混入する可能性のある細胞）又は原材料・製造工程における幹細胞の意図しない分化により生じた体細胞（様）細胞、未分化細胞、異常増殖細胞、形質転換細胞といった目的細胞以外の細胞の検出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) 効能を裏付ける品質試験

軟骨再生を目的とした再生医療等製品の有効性を担保するためには、最終製品に対する適切な効能試験の設定を検討する必要がある。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。

#### (6) 製品の安定性試験

ヒト体性幹細胞加工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り製品の解凍後の培養可能期間や品質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、原材料・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。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原材料と同様に適切に選択すること。又、非凍結状態で輸送する場合の輸送液等も同様である。製品形態あるいは細胞種によって、製品安定性を保つための適切な保存形態、温度条件又は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。

#### (7) 非細胞材料及び最終製品の生体適合性

製品に関係する非細胞材料については、細胞とともに最終製品の一部を構成するものだけでなく、製造工程中で細胞と接触するもの及び適用時に使用されるもの（局所封入用の膜、フィブリン糊等）に関しても、材料自体の品質・安全性に関する知見について明らかにするとともに、生体適合性等、患者及び製品中の細胞との相互作用に関する知見について明らかにすること。また、最終製品総体についても患者の細胞組織、特に適用部位周辺組織との相互作用について評価すること。また、最終製品の一部を構成する非細胞材料の、製造工程中（培地中）及び体内での分解特性、体内での再吸収特性、分解物の安全性に関して適切な情報を提供すること。特に、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。非細胞材料の生体適合性については、ISO10993-1、JIS T 0993-1 又は ASTM F748-04、医療機器の製造販売承認申請等に必要とされる生物学的安全性評価の基本的考え方について（平成24年3月1日付け薬食機発0301第20号）等を参考にすること。

#### (8) 細胞の造腫瘍性・過形成

製品中の細胞に由来する腫瘍形成及び過形成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。

体性幹細胞等、軟骨細胞へと分化しうる細胞を含んだ細胞・組織加工医薬品等の造腫瘍性については、複数の試験法による評価の必要性を検討すること。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 technical report series, No 978 Annex 3 (2013)**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かもしれない。

## 6. 効力又は性能を裏付ける試験について

一次薬力学試験（Primary Pharmacodynamics / Proof-of-Concept Study）として、ヒト軟骨細胞又は体性幹細胞加工製品の機能発現、作用持続性及び再生医療等製品として期待される臨床効果の実現可能性（Proof-of-Concept）を示すこと。また、適当な動物由来細胞・組織製品モデル又は関節疾患モデルがある場合には、それを用いて治療効果を検討すること。モデル動物としては、ラット、ウサギ、ミニブタの関節軟骨に欠損を作製したものの等が挙げられる。ヒト由来細胞・組織製品をモデル動物に移植する場合は異種移植となり、免疫抑制剤を投与する必要があるが、免疫抑制の効果期間は限られており、短期間の観察に限られることに留意する。治療効果の評価方法には例えば ICRS スコア、O' Driscoll スコア、Wakitani スコア等を利用することが考えられるが、妥当性については検討を行うこと。

## 7. 体内動態について

いかなる再生医療等製品においても製品に由来する細胞が意図しない生体内分布を示すかどうかは安全上の懸念となる。従って、ヒト軟骨細胞又は体性幹細胞加工製品を構成する細胞・組織についても、技術的に可能で科学的合理性のある範囲で、実験動物での分布、吸収、遊走、生着等の体内動態に関する試験を実施すること。試験を実施しない場合には、その妥当性を示すこと。

## 8. 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、目的とする効能及び効果、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適切に計画されるべきである。

### （1）臨床試験における評価技術に関する基本的考え方

臨床試験は試験に伴うリスクを最小限とし治療による利益を最大限に得られ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）を設定する必要がある。有効性評価項目としては自覚的臨床評価スコア、活動性評価スコア、疼痛の Visual analogue scale (VAS)等が、また修復組織の構造的改善の評価として MRI や関節鏡、バイオプシーなどから得られる情報が含まれる。

### （2）対象疾患

関節軟骨損傷を適応とするが、その際考慮すべき事項として、年齢、BMI、関節機能、

疼痛、変形性関節症(程度、定義)、病変の受傷時期、部位、大きさ、深さ、数、先行治療、共存する関節内病変（半月板損傷、前十字靭帯損傷等）並びに関節外病変（変形、アライメント異常等）が挙げられる。

### （３）臨床有効性評価

臨床評価においては、関節の状態、疼痛と機能までの評価を含んだ評価方法を用いることが推奨されるが、修復組織の構造的改善の評価などの副次的評価項目とあわせて評価すべきであろう。

臨床評価法として、**Knee injury and Osteoarthritis Outcome Score (KOOS)**は関節の状態、痛み、機能、**QOL**を総合的に評価できるもので、また臨床評価スコアとして国際的に評価の高い**Western Ontario and McMaster Universities Index (WOMAC)**をそのまま一部として含んでいることから、軟骨細胞治療の評価法として国際的に最も広く用いられている。また、**International Knee Documentation Committee (IKDC) Subjective Knee Evaluation Form-2000**も膝関節軟骨治療の臨床評価として国際的に使用されている。**KOOS, IKDC**とも日本語版が作成され使用されている。

### （４）構造的評価

#### ① 画像診断評価

（単純X線）

単純X線では再生軟骨の直接的な評価はできないが、再生軟骨周囲の骨組織の評価法として簡便かつ有用であり、経時的な評価に使用することが望ましい。

（MRI）

**MRI**は再生軟骨の臨床的画像診断法として、現在最も有用な評価法であり、再生軟骨や周囲組織の構造的評価を主眼とした包括的**MRI**評価法と、修復軟骨の質的**MRI**評価法に分けられる。

包括的**MRI**評価法では、**MOCART(magnetic resonance observation of cartilage repair tissue)**など客観的な評価基準を用いて、多施設間で統一した評価を行うことが望ましい。撮像法としては、**fast spin-echo**法を用いたプロトン密度強調像、脂肪抑制プロトン密度強調像、及び三次元等方性ボクセル撮像等を基本として、再生軟骨の位置に合せた撮像断面で評価を行う。

再生軟骨の質的**MRI**評価法としては、プロテオグリカン濃度の評価に有用な**delayed gadolinium-enhanced MRI of cartilage (dGEMRIC)**、水分含有量やコラーゲン配列の評価に有用な**T2 mapping**、及びプロテオグリカン濃度や水分含有量の評価に有用な**T1 ρ mapping**などが挙げられる。しかし、これらの質的**MRI**評価法の再生軟骨における有用性に関しては未だコンセンサスが得られておらず結果の解釈には注意を要する。

したがって**MRI**評価にあたっては、包括的**MRI**評価を第一選択として行い、質的**MRI**

評価はその補助的な評価として用いられるべきである。

## ② 関節鏡評価

関節鏡は肉眼的評価に加え、硬さなど力学的特性の評価が可能であり、再生軟骨の有用な評価法の一つである。

関節鏡評価法として、International Cartilage Repair Society (ICRS) cartilage repair assessment が広く用いられている。また肉眼的評価に加え、プロービングによる硬さの評価を行う Oswestry macroscopic cartilage evaluation score も、ICRS cartilage repair assessment とともに有用な評価法として国際的に使用されている。

## ③ バイオプシー

関節軟骨の再生評価として、術後一定期間後に再生医療施行部位からバイオプシーを施行して評価することは、有効性の評価として有用である。

バイオプシーは、通常関節鏡視下に修復再生された軟骨部分を確認しながら、16G 程度の骨生検針を用いて行われる。そのためサンプルの直径は小さいが深さ方向は十分なものが得られるため、軟骨下骨の評価も可能である。施行の際は、関節鏡視下でモニターしながら実施し、サンプリングバイアスが含まれないように留意する。ヒトでの結果として既に報告のある OsScore、ICRS 組織評価-I (Histological assessment of cartilage repair: a report by the histology endpoint committee of ICRS) および II (ICRS II histology score for the assessment of the quality of human cartilage repair) 等も、評価法として考慮すべきである。各種評価法による特徴を把握し、評価の定量化は軟骨組織の状態の比較に有用である。サンプルの組織染色としては、通常サフラニン O 染色やトルイジンブルー染色等が軟骨のマトリックス評価に重要であり、I 型コラーゲンや II 型コラーゲン等の免疫組織染色も硝子軟骨と線維軟骨の鑑別に重要である。組織学的評価により軟骨マトリックスの構造上の修復再生状況が明らかになる。

(以上)



## IV. 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 (案)

1. はじめに
2. 本評価指標の対象
3. 本評価指標の位置付け
4. 用語の定義
5. 評価に当たって留意すべき事項
6. 参考資料

# 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案

## 1. はじめに

ヒト由来の人工多能性幹細胞（iPS 細胞）又は人工多能性幹細胞様細胞（iPS 様細胞）のうち、同種由来 iPS 細胞又は iPS 様細胞を加工した製品（以下「ヒト（同種）iPS（様）細胞加工製品」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は、「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ついて」（平成 24 年 9 月 7 日付け薬食発 0907 第 5 号厚生労働省医薬食品局長通知）に定められているところである。

本評価指標は、ヒト（同種）iPS（様）細胞加工製品のうち特に関節軟骨損傷の治療を目的として適用される再生医療等製品（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。）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、ヒト（同種）iPS（様）細胞加工製品のうち特に関節軟骨損傷の治療を目的として適用される再生医療等製品について、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

本評価指標は、技術開発の著しいヒト（同種）iPS（様）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）iPS（様）細胞加工医薬品等の品質及び安全性の確保について」（平成 24 年 9 月 7 日付け薬食発 0907 第 5 号厚生労働省医薬食品局長通知）の定義による他、以下のとおりとする。

- (1) 軟骨組織：軟骨は、軟骨細胞外マトリックス中に軟骨細胞が散在する構造である。  
軟骨細胞が軟骨細胞外マトリックスを作り、維持する。軟骨は組織であり、軟骨と

軟骨組織は同義である。本指標では、軟骨細胞と区別するために、軟骨組織という言葉を用いる。また、本評価指標では生体内の軟骨組織に相当する iPS（様）細胞を加工して生体外で製造される組織も軟骨組織と呼ぶ。

- (2) 軟骨細胞外マトリックス：軟骨特異的なコラーゲン（II、IX、XI 型コラーゲン）とプロテオグリカンで構成され、組織に抗張力と抗圧縮力を付与している。軟骨組織の力学的機能を担い、また軟骨細胞を維持する作用がある。軟骨組織を酵素で消化するなどして軟骨マトリックスを除去した状態で軟骨細胞を培養すると、軟骨細胞は軟骨細胞の性質を失い、線維芽細胞様細胞に変質する。
- (3) 軟骨周膜：発生過程において、軟骨組織の周囲を包む膜状の組織。軟骨細胞の分化を制御する因子を産生する。
- (4) 軟骨細胞：体内にあって、軟骨組織中に散在し、軟骨細胞外マトリックスの成分であるコラーゲン（II、IX、XI 型等）やプロテオグリカン（アグリカンを主とする）等を分泌する細胞を一般的には指すが、本評価指標では生体内の軟骨細胞に相当する iPS（様）細胞を加工して生体外で製造される細胞、およびその前駆細胞を含む。
- (5) 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）
- (6) 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）
- (7) 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。
- (8) 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、当面、既に再生医療等製品の原材料として株化されているヒト（同種）iPS（様）細胞（細胞株）を主たる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（同種）iPS（様）細胞加工製品としての軟骨組織又は軟骨細胞に適用することを想定している。再生医療等製品の製造所内でヒト（同種）iPS（様）細胞を体細胞から新たに樹立し、これを原材料とした再生医療等製品の製造を意図するような場合には、本評価指標を参照しつつ、「ヒト（同種）iPS（様）細胞加工医薬品等の品質及び安

全性の確保について」(平成 24 年 9 月 7 日付け薬食発 0907 第 5 号厚生労働省医薬食品局長通知)等を参考とすること。

#### (1) 原料

原料となる iPS (様) 細胞は、再生医療等製品の原材料として株化され、セル・バンク化されたヒト (同種) iPS (様) 細胞であって、一定の製造工程を経ることにより軟骨細胞へ分化し、軟骨組織を作ることが確認されている、又は合理的に予測されるものである必要がある。また、ゲノムシーケンスにより、軟骨組織又は軟骨細胞の機能に関わる遺伝子変異を持たないことを確認しておくことが望ましい。軟骨組織又は軟骨細胞の機能に影響する可能性のある遺伝子としては、軟骨細胞外マトリックスタンパク質をコードする遺伝子 (*COL2A1*、*COL9A1*、*COL9A2*、*COL9A3*、*COL11A1*、*COL11A2*、*ACAN*、*HAPLN1*、*COMP*、*MATN3*)、変形性関節症と相関がある遺伝子 (6. 参考資料の文献 1) (*GDF5*)、軟骨形成異常症の原因遺伝子 (6. 参考資料の文献 2 に記載の疾患のうち、軟骨組織に異常を来す疾患の原因遺伝子) 等が挙げられる。

ヒト体細胞への初期化遺伝子導入による遺伝子リプログラミングにより iPS (様) 細胞を樹立した場合には、導入された遺伝子の残存が否定されていることが望ましい。残存が否定できない場合には、導入遺伝子が最終製品である軟骨組織又は軟骨細胞の品質及び安全性に悪影響を与えないことを確認する必要がある。

#### (2) 製造工程において特に注意が必要な事項

軟骨組織又は軟骨細胞 (最終製品) 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、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

原材料となる iPS (様) 細胞株の製造所への受入から、原料となるヒト iPS (様) 細胞、分化段階の進んだ細胞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

原材料となる iPS (様) 細胞株について、製造所への受入れのための試験検査の項目 (例えば、目視検査、顕微鏡検査、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。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、ウイルス等の検査を行うこと。結果が陽性の場合には、iPS (様) 細胞株のストック及びその輸送における汚染の有無を確認した上で、改めて iPS (様) 細胞株を入手する。

なお、技術的な理由により、工程を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。例えば、凍結ヒト（同種）iPS（様）細胞株を原材料製造時の試験検査結果（Certificate of Analysis）を基に受入れた後、解凍して拡大培養を実施する際に追加の検査を行うことが挙げられる。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 iPS（様）細胞株から最終製品の構成要素となる細胞を作製する方法（分化誘導方法、目的とする細胞の分離・培養の方法、培養の各段階での培地、培養条件、培養期間、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。

c) 細胞のバンク化

製造所に受入れた iPS（様）細胞株からセル・バンクを樹立する等、軟骨組織又は軟骨細胞（最終製品）の製造のいずれかの過程で、細胞をバンク化する場合には、その理由、セル・バンクの作製方法及びセル・バンクの特性解析、保存・維持・管理方法・更新方法その他の各作業工程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。

d) 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

iPS（様）細胞由来の軟骨組織又は軟骨細胞（最終製品）の製造に当たっては、製造工程中の取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。

iPS（様）細胞から作られる軟骨組織の移植方法を明らかにすること。移植方法には、例えば関節軟骨の欠損部にこの軟骨組織をそのまま必要数だけ充填し、フィブリン糊等で固定することが考えられる。あるいは、製造した軟骨組織をさらに加工する（例えば、複数の軟骨組織を融合させる、あるいは複数の軟骨組織をゲルで固めて板状にする）工程を経た後に、移植することが考えられる。

また、軟骨組織を消化酵素等で消化して軟骨細胞を単離し、単離細胞そのもの、又は更に細胞を加工して移植物とすることも可能である。しかし、軟骨細胞外マトリックス

を除去して得られた軟骨細胞は、変質して軟骨細胞の性質を失うことに留意が必要である。

ここでは、軟骨組織の品質規格と、単離軟骨細胞を加工して作られた細胞シートの品質規格を扱う。

#### ①軟骨組織としての品質規格設定のための特性解析項目

##### a) 外観の確認

多くの場合、表面が乳白色～白色である。色素を含む培養液中に存在する場合は、培養液色素の色を帯びる。iPS（様）細胞から製造される軟骨組織は、培養中に軟骨組織同士が融合することがある。大きさ・形状に関する規格を設定することが望ましい。

##### b) 細胞数並びに生存率

軟骨組織から軟骨細胞を効率よく回収する方法が確立されておらず、細胞数や生存率を測定し規格とすることは技術的に困難である。従って、軟骨組織に含まれる細胞の細胞数と生存率を裏付ける代替指標を用いてよい。ただし、その指標の妥当性について明らかにすること。

##### c) 軟骨組織としての特異性の確認

mRNA 発現解析において、軟骨細胞マーカー遺伝子 (*COL2A1*, *COL9A1*, *COL9A2*, *COL9A3*, *COL11A1*, *COL11A2*, *ACAN*, *HAPLN1* 等) の相対的発現量を明らかにすること。タンパク質レベルでの発現定量は、軟骨組織から可溶性のマトリックスを抽出する方法が確立していないため難しい。

グリコサミノグリカンの定量を行い、軟骨組織としての特性の指標とすることが出来る。

また必要に応じて、組織切片のサフラニンO染色及びII型コラーゲン免疫染色にて、細胞外マトリックスがよく染色されることを確認すること。組織切片のSOX9免疫染色により、軟骨細胞を同定することができ、その数を数えることで、軟骨細胞への分化効率を調べることが出来る。

軟骨組織の表層を覆う軟骨周膜様組織は、I型コラーゲンを発現している。

##### d) 未分化細胞が混在していないことの確認

未分化細胞の混在については、文献では、定量PCRによるマーカー遺伝子の定量 (*OCT3/4*, *NANOG* 等の遺伝子発現量の評価) 等が報告されている (6. 参考資料の文献3)。

なお、未分化のiPS（様）細胞の混在と造腫瘍性については、必ずしも一致しないものであり、造腫瘍性試験に関しては非臨床試験の項目を参照すること。

##### e) 機能評価

治療用途に整合性のある軟骨組織としての機能特性を有することを製造工程中又は最終製品で確認する。例えば、最終製品の軟骨組織が、生体軟骨組織と類似した組成を持つことを期待されている場合には、軟骨マトリックス遺伝子の発現量を測定した

り、組織学的解析（サフラニン O 染色や、II 型コラーゲンの免疫染色）を行う事により、製品の体内における効能を投与前に予測または評価することが可能かもしれない。また、例えば、最終製品の軟骨組織が、生体軟骨組織と類似した力学的特性を持つことを期待されている場合には、粘弾性特性等の力学的特性を測定することにより、製品の体内における効能を投与前に予測または評価することが可能かもしれない。しかし、軟骨組織の力学的機能に重要な力学的特性は明らかにされていない。

#### ②軟骨細胞シートとしての品質規格設定のための特性解析項目

軟骨細胞シートとしての特性を解析する場合は、以下のように形状確認、機能特性について評価を行い、シート作製方法としての製造工程の妥当性についても明らかにしておくこと。

a) 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。

b) 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。細胞生存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、生細胞及び死細胞を計数することができる。足場材料等に細胞を播種し、三次元培養した製品では、使用している足場材料等をタンパク質分解酵素等で消化して細胞懸濁液を得て、それを細胞数及び細胞生存率の測定に用いることが考えられる。

c) 未分化細胞が混在していないことの確認

未分化細胞の混在については、定量 PCR によるマーカー遺伝子の定量 (*OCT3/4*、*NANOG* 等の遺伝子発現量の評価)、細胞シートから細胞を単離して未分化マーカーの免疫染色(*OCT3/4*、*SOX2*、*TRA-1-60*)によるフローサイトメトリーによる解析、等が考えられる。

なお、未分化の iPS (様) 細胞の混在と造腫瘍性については、必ずしも一致しないものであり、造腫瘍性試験に関しては非臨床試験の項目を参照すること。

d) 機能評価

細胞シートの作用機序は、細胞シートから産生される成長因子等が、損傷したホストの軟骨組織の再生を促すことだと考えられる。よって、有効と考えられる成長因子のタンパク質量や mRNA 発現量を測定することにより、体内における効能を投与前に予測または評価することが可能かもしれない。ただし、成長因子等を指標とする場合は、患者における有効性との相関性を予め明らかにすることが望ましい。

#### (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り製品の解凍後の培養可能期間や品質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。

#### (5) 非細胞材料及び最終製品の生体適合性

製品に関係する非細胞材料については、細胞とともに最終製品の一部を構成するものだけでなく、製造工程中で細胞と接触するもの及び適用時に使用されるもの（局所封入用の膜、フィブリン糊等）に関しても、材料自体の品質・安全性に関する知見について明らかにするとともに、生体適合性等、患者及び製品中の細胞との相互作用に関する知見について明らかにすること。また、最終製品総体についても患者の細胞組織、特に適用部位周辺組織との相互作用について評価すること。また、最終製品の一部を構成する非細胞材料の、製造工程中（培地中）及び体内での分解特性、体内での再吸収特性、分解物の安全性に関して適切な情報を提供すること。特に、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。非細胞材料の生体適合性については、ISO10993-1、JIS T 0993-1 又は ASTM F748-04 、医療機器の製造販売承認申請等に必要な生物学的安全性評価の基本的考え方について（平成 24 年 3 月 1 日付け薬食機発 0301 第 20 号）等を参考にすること。

#### (6) 非臨床試験

##### ①最終製品の品質管理又は非臨床安全性評価のための造腫瘍性試験

iPS（様）細胞を加工して製造される再生医療等製品の造腫瘍性を評価する上では、「原料となる iPS（様）細胞の造腫瘍性と最終製品の造腫瘍性との相関・因果関係は未解明である」という点に注意が必要である。すなわち、臨床適用に際しては、原料となる iPS（様）細胞ではなくあくまで最終製品としての iPS（様）細胞加工製品の造腫瘍性評価が最も重要であることを常に留意しなければならない。したがって、造腫瘍性試験については最終製品を用い、免疫不全動物を利用した検出限界が既知の試験系を用いて造腫瘍性の評価を行うことが有用である。

最終製品の造腫瘍性の評価には目的別に大きく 2 種類ある。「品質管理」のための造腫瘍性試験（主に奇形腫形成が想定される未分化細胞、目的細胞以外の細胞などの造腫瘍性細胞の存在量の確認）及び「非臨床安全性評価」のための造腫瘍性試験（最終製品の細胞がヒトでの投与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）であり、これらは区別して評価することが重要である。前者の例としては観察の簡便性と高感度な特性から、免疫不全動物（例：SCID マウス、NOD/SCID/γCnull (NOG)マウス、NOD/SCID/IL2ryKO (NSG) マウス、Rag2-γC double-knockout (DKO) マウス）への皮下投与試験が挙げられ（6. 参考資料の文献 3）、後者の例としては免疫不全動物



(*rnu/rnu* (Nude)ラット等)の関節内投与が挙げられる(6. 参考資料の文献3)。いずれの試験も、iPS(様)細胞のセル・バンクを樹立する場合には、原則として当該セル・バンクから製造された最終製品を用いて造腫瘍性試験を行う必要がある。当該セル・バンク以外から製造された最終製品を用いた造腫瘍性試験結果を用いる場合には、その妥当性を説明すること。最終製品の造腫瘍性に関する品質評価では、免疫不全動物への皮下投与試験以外に、最終製品中に残存する未分化細胞の量を *in vitro* で確認することも有用である。*In vitro* の評価法としては、例えば未分化細胞マーカー分子を指標にした定量 RT-PCR(例: *OCT3/4*) が挙げられ(6. 参考資料の文献3)、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。

関節内(臨床投与経路)移植については、小動物では手術侵襲が大きく、手術手技により結果判定が困難となる可能性があることに留意する。この際の投与細胞数としては、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が、動物に投与した際に、投与細胞の総容量自体が投与部位の微小環境に大きな影響を与え、アーチファクトとなってしまう可能性を十分考慮する必要がある。すなわち、関節内移植による造腫瘍性試験の目的は、最終製品の細胞がヒトでの投与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にあることに留意しながら投与細胞数を設定することが重要である。

HLA タイピング等の後に同じ方法で樹立され、最終製品の原料として同等の品質特性を持つことが確認された複数の iPS(様)細胞セル・バンクから、同一の製造方法により同等の品質特性を持つ軟骨組織または軟骨細胞(最終製品)を製造する場合であっても、原則的には各セル・バンクから製造された最終製品について、ヒトでの投与部位に相当する微小環境で造腫瘍性を示すかどうかを評価する必要がある。免疫不全動物の関節内への移植による最終製品の造腫瘍性試験は、その代表的な方法として挙げられる。

#### 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(同種) iPS(様)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、ラット、ウサギ、ミニブタの関節軟骨に欠損を作製したものが挙げられる。一方、骨髄間葉系細胞による修復を除外するため、及び異種移植における骨髄細胞による拒絶反応の影響を抑えるために、軟骨内欠損をモデルとして使用することが望ましい場合は、軟骨が厚い幼若飼育ブタなどを使うことも一つの方法である。但し、モデルには性成熟に達した動物を用いるべきであり、さらに幼若飼育ブタは急激な体重増加があつて軟骨損傷を合併しやすいことに留意する必要がある。ウサギやミニブタのモデル動物にヒト iPS(様)細胞由来軟骨組織を移植する場合は異種移植となり、免疫抑制剤を投与する必要があるが、免疫抑制の効果期間は限られており、短期の観察に限られることに留意する。HLA タイピング等の後に同じ方法で樹立され、最終製品の原料として

同等の品質特性を持つことが確認された複数の iPS (様) 細胞セル・バンクから同等の品質特性を持つ軟骨組織又は軟骨細胞 (最終製品) を製造する場合には、代表的な株から製造された最終製品について、POC を示すことで良い。

### ③その他

移植時の手技的な安全性の確認、その手技を用いての移植後の局所における短期間での反応等、臨床応用において必要かつ科学的に妥当と考えられる項目については、目的に応じて例えば中型又は大型動物を利用することにより確認を行うことが望ましい。

## (7) 臨床試験 (治験)

本指標が対象とする、ヒト (同種) iPS (様) 細胞加工製品としての軟骨組織又は軟骨細胞の移植は、HLA をミスマッチ又は主要座をマッチ、そして免疫抑制剤を投与下又は非投与下、のいずれの状況で行われるのかを明らかにすることが重要である。臨床データパッケージ及び治験実施計画書は、対象疾患、目的とする効能及び効果、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適切に計画されるべきである。

臨床試験は試験に伴うリスクを最小限とし治療による利益を最大限に得られ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等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) を設定する必要がある。

### ①対象疾患

関節軟骨損傷を適応とするが、その際考慮すべき事項として、年齢、BMI、関節機能、疼痛、変形性関節症(程度、定義)、病変の受傷時期、部位、大きさ、深さ、数、先行治療、共存する関節内病変 (半月板損傷、前十字靭帯損傷等) 並びに関節外病変 (変形、アライメント異常等) が挙げられる。

### ②臨床有効性評価

臨床評価においては、関節の状態、疼痛と機能までの評価を含んだ評価方法を用いることが推奨されるが、修復組織の構造的改善の評価などの副次的評価項目とあわせて評価すべきであろう。

臨床評価法として、Knee injury and Osteoarthritis Outcome Score (KOOS)は関節の状態、痛み、機能、QOL を総合的に評価できるもので、また臨床評価スコアとして国際的に評価の高い Western Ontario and McMaster Universities Index (WOMAC)をそのまま一部として含んでいることから、軟骨細胞治療の評価法として国際的に最も広く用いられている。また、International Knee Documentation Committee (IKDC) Subjective Knee Evaluation Form・2000 も膝関節軟骨治療の臨床評価として国際的に使用されている。KOOS, IKDC とも日本語版が作成され使用されている。

### ③構造学的評価

#### a) 画像診断評価

(単純X線)

単純X線では再生軟骨の直接的な評価はできないが、再生軟骨周囲の骨組織の評価法として簡便かつ有用であり、経時的な評価に使用することが望ましい。

(MRI)

MRI は再生軟骨の臨床的画像診断法として、現在最も有用な評価法であり、再生軟骨や周囲組織の構造的評価を主眼とした包括的 MRI 評価法と、修復軟骨の質的 MRI 評価法に分けられる。

包括的 MRI 評価法では、MOCART(magnetic resonance observation of cartilage repair tissue)など客観的な評価基準を用いて、多施設間で統一した評価を行うことが望ましい。撮像法としては、fast spin-echo 法を用いたプロトン密度強調像、脂肪抑制プロトン密度強調像、及び三次元等方性ボクセル撮像等を基本として、再生軟骨の位置に合わせた撮像断面で評価を行う。

再生軟骨の質的 MRI 評価法としては、プロテオグリカン濃度の評価に有用な delayed gadolinium-enhanced MRI of cartilage (dGEMRIC)、水分含有量やコラーゲン配列の評価に有用な T2 mapping, 及びプロテオグリカン濃度や水分含有量の評価に有用な T1 ρ mapping などが挙げられる。しかし、これらの質的 MRI 評価法の再生軟骨における有用性に関しては未だコンセンサスが得られておらず結果の解釈には注意を要する。

したがって MRI 評価にあたっては、包括的 MRI 評価を第一選択として行い、質的 MRI 評価はその補助的な評価として用いられるべきである。

#### b) 関節鏡評価

関節鏡は肉眼的評価に加え、硬さなど力学的特性の評価が可能であり、再生軟骨の有用な評価法の一つである。

関節鏡評価法として、International Cartilage Repair Society (ICRS) cartilage repair assessment が広く用いられている。また肉眼的評価に加え、プロービングによる硬さの評価を行う Oswestry macroscopic cartilage evaluation score も、ICRS cartilage repair assessment とともに有用な評価法として国際的に使用されている。

#### c) バイオプシー

関節軟骨の再生評価として、術後一定期間後に再生医療施行部位からバイオプシーを施行して評価することは、有効性の評価として有用である。

バイオプシーは、通常関節鏡視下に修復再生された軟骨部分を確認しながら、16G 程度の骨生検針を用いて行われる。そのためサンプルの直径は小さいが深さ方向は十分なものが得られるため、軟骨下骨の評価も可能である。施行の際は、関節鏡視下でモニターしながら実施し、サンプリングバイアスが含まれないように留意する。ヒトでの結果として既に報告のある OsScore、ICRS 組織評価-I (Histological assessment of cartilage

repair: a report by the histology endpoint committee of ICRS) および II (ICRS II histology score for the assessment of the quality of human cartilage repair) 等 (6. 参考資料の文献4) も、評価法として考慮すべきである。各種評価法による特徴を把握し、評価の定量化は軟骨組織の状態の比較に有用である。サンプルの組織染色としては、通常サフラニン O 染色やトルイジンブルー染色等が軟骨のマトリックス評価に重要であり、I 型コラーゲンや II 型コラーゲン等の免疫組織染色も硝子軟骨と線維軟骨の鑑別に重要である。組織学的評価により軟骨マトリックスの構造上の修復再生状況が明らかになる。

#### ④全身モニタリング項目

移植後に関節以外に腫瘍が発見された場合には、それが移植細胞に由来するものかどうか判断するために、術前に必要と思われる既往歴の聴取を含む悪性腫瘍の全身的なスクリーニングを行っておくことが望ましい。移植手術後、妥当と考えられる期間を設定し、腫瘍発生等に注意する。

#### ⑤免疫抑制剤を投与しない場合に必要な評価項目

下記方法にて移植部位の状態を随時観察すること。

- a) 解剖学的評価のために、視診、触診上の関節の炎症反応の確認に加え、画像診断（エコー、単純レントゲン、CT、MRI 等）を継時的に行う。移植部分だけでなく関節全体の炎症等に着目する。
- b) 関節機能検査のために臨床検査、筋力検査等を行う。術後回復傾向にあったものが低下した場合等は、移植組織または細胞の脱落等による関節の機能障害の発生等の可能性も含めて、特に注意を払う。
- c) 炎症反応のモニターのため、定期的な採血を行う。

#### ⑥免疫抑制剤を投与する場合に必要な評価項目

免疫抑制剤を全身投与する場合は、全身合併症のスクリーニング及び定期的な採血を行う。

## 6. 参考資料

- 1 Ikegawa, S. The genetics of common degenerative skeletal disorders: osteoarthritis and degenerative disc disease. *Annual review of genomics and human genetics* **14**, 245-256, (2013).
- 2 Bonafe, L. *et al.* Nosology and classification of genetic skeletal disorders: 2015 revision. *Am J Med Genet A* **167**, 2869-2892, (2015).
- 3 Yamashita, A. *et al.* Generation of Scaffoldless Hyaline Cartilaginous Tissue from Human iPSCs. *Stem cell reports* **4**, 404-418, (2015).
- 4 Rutgers M *et al.* Evaluation of histological scoring systems for tissue-engineered,

repaired and osteoarthritic cartilage. *Osteoarthritis Cartilage* **18**, 12-23 (2010).

## V. 調査事項

1. 軟骨再生医療等製品の臨床試験に関して～過去の審査事例より～  
岡田 潔
2. 京都大学 iPS 細胞研究所で進めている再生医療用 iPS 細胞ストックについて  
沖田圭介
3. 耳介軟骨再生を目的とした再生医療等製品の開発の現状  
星 和人
4. 形成外科分野における再生医療の現状と今後  
水野博司

## 1. 軟骨再生医療等製品の臨床試験に関して～過去の審査事例より

大阪大学医学部附属病院未来医療開発部

岡田 潔

軟骨再生医療等製品の評価基準を考察する際に、過去の審査事例があれば、その際の評価、議論等を参考にすることで、評価基準の有用性を高めることになると考えられる。日本では、関節軟骨に関する再生医療等製品に該当するものは、平成 24 年に承認された株式会社ジャパンティッシュエンジニアリング社が製造販売するジャックがある。承認された当時は薬事法の改正前であったため、医療機器としての区分であったが、改正薬事法施行後現在では再生医療等製品に該当するものと考えられる。よって、本製品に関して、公表されている審議結果報告書（平成 24 年 6 月 22 日医薬食品局審査管理課医療機器審査管理室）に基づき、臨床試験の内容と評価に関して考察することとした。

本製品は、患者自身の軟骨組織から分離した軟骨細胞をアテロコラーゲンゲル中で三次元培養し、「自家培養軟骨細胞ーコラーゲンゲル複合体」として製品化されたものであり、製品中の培養軟骨細胞が産生する軟骨基質により形成される軟骨様組織によって、欠損部位を補綴・修復することで、疼痛や関節機能を改善することを目的としている。実際には、膝関節の軟骨全層欠損部位に植込まれ、脛骨近位前内側面等から採取した骨膜を、本品を覆うように縫着、固定し、創を閉鎖して使用されることになる。本製品に関する臨床試験は、他施設共同非盲検非対照試験で実施され、被験者 32 例でその内訳は、20 例：外傷性軟骨欠損症、6 例：離断性骨軟骨炎（うち肘 2 例）、6 例：変形性膝関節症となっている。有効性判定基準としては、主要評価項目として、「膝（肘）機能評価改善度判定基準」と「関節鏡評価判定基準」のマトリックス指標を用い、副次的評価項目として、Lysholm Knee Score、関節鏡評価、MRI による画像評価等を用いている。この臨床試験については、既存の治療法の適応となる患者を含む対象を設定しているが、既存の治療法との有効性の比較ができないためピボタル試験として位置づけることは困難であったこと、対症症例として肘関節の結果を膝関節と併合して評価は困難であったことや変形性膝関節症の病態、標準的治療の治療目的が、外傷性軟骨欠損症・離断性骨軟骨炎とは異なり同様の評価は困難であったこと、腫瘍評価項目が Lysholm Knee Score を簡略化したものであるが、簡略化の科学的妥当性や、各評価項目のスコアと臨床的意義との関連性について十分な検討がなされていないため、有効性の主要評価項目としては妥当とは言えなかったこと、また副次評価項目の MRI の撮像条件が臨床試験計画時に事前に十分に検討されておらず、症例毎に異なっており、一定した軟骨評価は困難であったことなどから、臨床試験成績から適切に有効性を評価することが難しいと判断されるに至った。本来であれば、適切な臨床試験を再度実施することが適当と考えられる状態であったが、本品の適用対象となる疾患の中に、既存療法による十分な治療効果が期待できず、また想定される患者数も非常に少ないために

臨床試験の実施が困難な対象も含まれている等の理由から、本臨床試験により得られた 33 例の治療成績を最大限に活用し、これら希少かつ既存療法に限界のある患者に対する新しい治療選択肢としての本品の可能性を検討するため、既存療法による効果的な治療が困難と考えられる比較的軟骨欠損面積の大きい外傷性軟骨欠損症及び離断性骨軟骨炎とし、評価・検討が行われた。

外傷性軟骨欠損症、離断性骨軟骨炎の 24 例について、個別被験者毎に有効性評価を行った結果として、まず臨床症状（Lysholm Knee Score の合計ポイント）が、本品の移植 12 カ月後に評価が可能であった 23 例全例において上昇していたこと、特に、「疼痛」、「跛行」及び「膝の不安定性」とそれに関連した臨床症状の項目にランクの改善が多く認めることができた。この臨床症状の改善に関しては、通常の医療行為として行われるリハビリテーションによる筋力及び支持組織の補強が運動機能に与える効果が寄与している可能性は否定できないとはされているが、一定の有効性の推定は可能という判断がなされた。また、MRI の画像所見で、移植の前後で軟骨欠損部の高さや炎症所見の軽快傾向が認められたこと、関節鏡評価で、骨膜パッチ上からの評価ではあるものの、軟骨欠損部の修復傾向が認められたことも有効性の一定の証左として挙げられている。以上の検討結果を踏まえて、有効性については、他に治療法のない患者に対して新たな治療機会を提供する観点から、標準的な外科的治療法がない軟骨欠損面積が 4cm<sup>2</sup> 以上の外傷性軟骨欠損症又は離断性骨軟骨炎に限って本品の臨床的意義はあると判断されている。ただ、検討の結果、MRI 画像による評価の限界はあるものの、本品移植 12 カ月後において、本品が正常軟骨様組織に置き換わる画像や硝子軟骨の特徴を示す所見は得られていないと評価されている。この点については、米国で 1997 年に承認された Carticel®では、組織切片や関節鏡による評価、欧州で 2009 年に承認された ChondroCelect™では、生検による組織形態評価がなされ、硝子軟骨様の像が確認されていることから、「軟骨欠損の修復」に関する適応が認められていることを考えると、やむを得ない結論といえる。また、安全性評価に関しては、臨床試験で報告された不具合は、適用部位疼痛（重篤）3 例 3 件、移植片離層（重篤）2 例 2 件、関節可動域低下（重篤）2 例 2 件、処置後腫脹（重篤）2 例 2 件、腕の発赤腫脹（非重篤）2 例 2 件、移植片肥大（重篤）1 例 1 件、適用部位熱感（非重篤）1 例 1 件とされている。また、その他に重要であると考えられる不具合としては、移植片骨化、移植後関節液貯留、軟骨組織採取及び移植時の感染症が挙げられている。以上の結果から、移植 12 か月後までの本製品の安全性は任用可能と判断されるに至った。ただし、長期安全性のデータは限られていることから、今後さらなる情報収集は必要と判断されている。

上記を踏まえて、本製品の使用目的、効能又は効果については、膝関節における外傷性軟骨欠損症又は離断性骨軟骨炎（変形性膝関節症を除く）の臨床症状の緩和、ただし、他に治療法がなく、かつ軟骨欠損面積が 4cm<sup>2</sup> 以上の軟骨欠損部位に適用する場合に限るとされ、承認条件として、1. 本品の有効性及び安全性を十分に理解し、膝関節の外傷性軟骨欠損症及び離断性骨軟骨炎の治療に対する十分な知識・経験を有する医師及び施設において、



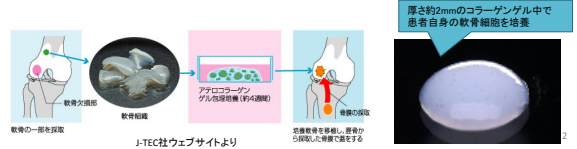
適切な症例を選択して用いられるように必要な措置を講じること、2. 製造販売後の一定期間は、本品の使用症例の全例を対象に使用成績調査を実施し、本品の有効性及び安全性に関するデータを収集し、必要により適切な措置を講じることが付されることとなった。以上の審議結果報告を踏まえると、今後の軟骨再生医療等製品の臨床試験を検討する際には、承認される際の評価や、承認条件等も考慮して、製品の臨床的位置づけを明確に説明できる試験デザインを事前に検討する必要があると考えられた。

# 軟骨再生医療等製品の臨床試験に関して ～過去の審査事例より～

大阪大学医学部附属病院未来医療開発部  
岡田 潔

## 自家培養軟骨製品ジャックの品目概要

- > 患者自身の軟骨組織から分離した軟骨細胞をアテロコラーゲンゲル中で三次元培養し、「自家培養軟骨細胞-コラーゲンゲル複合体」として製品化
- > 製品中の培養軟骨細胞が産生する軟骨基質により形成される軟骨様組織によって、欠損部位を補綴・修復することで、疼痛や関節機能を改善することを目的として開発されたもの
- > 本邦では初めての整形外科領域に用いる細胞・組織加工製品
- > 本品は、膝関節の軟骨全層欠損部位に植込まれ、脛骨近位前内側面等から採取した骨膜を、本品を覆うように縫着、固定し、創を閉鎖して使用される



## 軟骨欠損に対する既存治療

原疾患	標準的な既存治療
外傷性軟骨欠損症	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 1cm<sup>2</sup>未満であれば、骨穿孔法が第一選択</li> <li>- 長期予後を考慮すると、2cm<sup>2</sup>が上限</li> </ul>
離断性軟骨炎	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 2cm<sup>2</sup>程度であれば、自家軟骨骨移植術の適応</li> <li>- 上限は4cm<sup>2</sup>程度</li> <li>• 4cm<sup>2</sup>以上は、保存療法による経過観察、骨切り術による関節への荷重調整 等</li> </ul>
変形性膝関節症	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 人工膝関節置換術等の根治療法</li> </ul>

## 実施された臨床試験の概要

- 他施設共同非盲検非対照試験
- 移植を行った被験者 32例
  - 20例: 外傷性軟骨欠損症
  - 6例: 離断性軟骨炎(うち肘 2例)
  - 6例: 変形性膝関節症
- 有効性判定基準
  - 主要評価項目
    - 「膝(肘)機能評価改善度判定基準」と「関節鏡評価判定基準」のマトリックス指標
  - 副次的評価項目
    - Lysholm Knee Score
    - 関節鏡評価
    - MRIによる画像評価 等

## ジャック臨床試験の有効性評価について

- 他施設共同非盲検非対照試験
- 移植を行った被験者 32例
  - 20例: 外傷性軟骨欠損症
  - 6例: 離断性軟骨炎(うち肘 2例)
  - 6例: 変形性膝関節症
- 有効性判定基準
  - 主要評価項目
    - 「膝(肘)機能評価改善度判定基準」と「関節鏡評価判定基準」のマトリックス指標
  - 副次的評価項目
    - Lysholm Knee Score
    - 関節鏡評価
    - MRIによる画像評価 等

臨床試験の試験デザイン、対象患者、有効性判定基準に問題があるため、本臨床試験成績から有効性を評価することは困難。

## ジャック臨床試験の有効性評価結果

本品の有効性の評価を行うためには、本来、適切な試験計画を立てた上で、臨床試験を再度実施することが必要。

しかし

本品の適用対象となる疾患の中には、既存療法による十分な治療効果が期待できず、また想定される患者数も非常に少ないために臨床試験の実施が困難な対象も含まれている。

そこで

本臨床試験により得られた33例の治療成績を最大限に活用し、これら希少かつ既存療法に限界のある患者に対する新しい治療選択肢としての本品の可能性を検討するため、既存療法による効果的な治療が困難と考えられる比較的小さい軟骨欠損面積の大きい外傷性軟骨欠損症及び離断性軟骨炎とし、評価・検討を行った。

- 臨床試験計画にない事後解析であるため、本来は不適当。
- 本品については、他に治療法のない患者に配慮し、特別な事情を考慮して検討。
- 本来は申請者が行うべき解析であるが、今回は、機構が解析・評価を行った。

## ジャック臨床試験の有効性再評価結果

外傷性軟骨欠損症、離断性骨軟骨炎の24例について、個別被験者毎に有効性評価を行った結果

- 臨床症状 (Lysholm Knee Score の合計ポイント)
  - 本品の移植12か月後に評価が可能であった23例全例において上昇していた。
    - 各項目のランクの正常化又は2ランク以上の改善例が多く認められた。
    - 特に、「疼痛」、「跛行」及び「膝の不安定性」とそれに関連した臨床症状の項目にランクの改善が多く認められた。
    - ただし、臨床症状の改善に関しては、通常の医療行為として行われるリハビリテーションによる筋力及び支持組織の補強が運動機能に与える効果が寄与している可能性は否定できない。
- MRI画像所見
  - 移植の前後で軟骨欠損部の高さや炎症所見の軽快傾向が認められた。
- 関節鏡評価
  - 骨膜パッチ上からの評価ではあるものの、軟骨欠損部の修復傾向が認められた。
    - しかし、機構及び専門協議における検討の結果、MRI画像による評価の限界はあるものの、本品移植12か月後において、本品が正常軟骨様組織に置き換わる画像や硝子軟骨の特徴を示す所見は得られていないと評価した。

本品移植12か月後の時点において、少なくとも症例毎の有効性評価対象とした被験者において**臨床的意味のある臨床症状スコアの改善傾向**が認められた。

## 「軟骨の再生」に関する評価

- 非臨床試験の結果からは、「硝子軟骨形成を伴い全層軟骨欠損が修復された」と結論を導くことは困難である。
- 臨床試験の結果からは、移植部位で硝子軟骨組織が形成されているとは言い難い。

なお、米国で1997年に承認されたCarticel®では、組織切片や関節鏡による評価、欧州で2009年に承認されたChondroCelect™では、生検による組織形態評価により硝子軟骨様の像が確認され、「軟骨欠損の修復」に関する適応が認められている。

提出された非臨床試験及び臨床試験の資料から、軟骨欠損部位の補綴と軟骨基質の産生による軟骨組織の修復に関する成績は示されていない。

## ジャック臨床試験の安全性評価結果

- 本臨床試験で報告された不具合
  - 適用部位疼痛(重篤) 3例3件
  - 移植片離層(重篤) 2例2件
  - 関節可動域低下(重篤) 2例2件
  - 処置後腫脹(重篤) 2例2件
  - 腕の発赤腫脹(非重篤) 2例2件
  - 移植片肥大(重篤) 1例1件
  - 適用部位熱感(非重篤) 1例1件
- その他に重要であると考えられる不具合
  - 移植片骨化
  - 移植後関節液貯留
  - 軟骨組織採取及び移植時の感染症
- 長期安全性
  - 重篤な有害事象は報告されていない
    - 参考資料として、本品移植後最長51か月までの長期観察例において重篤な有害事象は報告されていない

移植後2年以降の安全性については、確認が取れた症例のみの成績であり、本品移植後の長期予後の評価は困難

- 移植12か月後まで本品の安全性については**忍容可能**。
- しかし、評価対象とされた症例は少数例であり、安全性のデータが限られていることを考慮すると、今後さらに情報を収集する必要がある。

## ジャックの臨床試験に係る審査結果(有効性)

- 有効性については、**他に治療法のない患者**に対して新たな治療機会を提供する観点から、**標準的な外科的治療法がない軟骨欠損面積が4cm<sup>2</sup>以上の外傷性軟骨欠損症又は離断性骨軟骨炎に限って**本品の臨床的意義はある。
- 個々の被験者における本品の有効性について、臨床的観点から個別に評価した結果、本品の寄与の程度は不明確な部分があるものの、移植後12か月時点においては外傷性軟骨欠損症又は離断性骨軟骨炎の臨床症状が改善する傾向は認められた。
- 標準的に受け入れられている外科的治療法の適応となる患者に対して本品を適用するためのエビデンスは現時点では得られておらず、他に治療法の選択肢がある患者に本品を適用すべきではない。

## ジャック臨床試験に係る審査結果(安全性)

- 安全性については、生物由来製品として感染症リスク等はあるものの、少なくとも移植後12か月までは本品の安全性について**忍容可能**である。
- 本品を製造販売するにあたっては、本品は整形外科領域において本邦初の細胞・組織加工製品であること、現時点において有効性を示す情報が限られていること、また、本品に関する有効性及び安全性に関する知見の収集は、本品の適正使用に資するだけでなく、今後の同分野の製品開発等に貴重な有用となると考えられることを踏まえ、以下の対応が必要と考える。
  - 使用する医師及び医療機関の限定
  - 患者又はその家族への十分な説明・情報提供
  - 製造販売後の一定期間、全症例を対象とした使用成績調査の実施
  - 本品の品質特性に関する詳細なデータ及び科学的知見の情報の継続的な収集

## ジャックの承認条件

### 【使用目的、効能又は効果】

膝関節における外傷性軟骨欠損症又は離断性骨軟骨炎(変形性膝関節症を除く)の**臨床症状の緩和**。ただし、**他に治療法がなく、かつ軟骨欠損面積が4cm<sup>2</sup>以上の軟骨欠損部位に適用する場合に限る**。

### 【承認条件】

- 本品の有効性及び安全性を十分に理解し、膝関節の外傷性軟骨欠損症及び離断性骨軟骨炎の治療に対する**十分な知識・経験を有する医師及び施設**において、適切な症例を選択して用いられるように必要な措置を講じること。
- 製造販売後の一定期間は、本品の使用症例の**全例を対象**に使用成績調査を実施し、本品の有効性及び安全性に関するデータを収集し、必要により適切な措置を講じること。

## 海外での類似製品の承認状況

### 米国

- Carticel® (Genzyme Tissue Repair社)
  - 自家培養軟骨細胞懸濁液
    - 患者軟骨細胞を培養後、患部に細胞浮遊液として移植し、骨膜にて被覆
  - 非盲検単群試験 (153例) を実施
  - 1997年に米国でBiologicsとして承認
  - 2012年5月時点で14,000例以上の使用経験
  - 【適応】関節鏡又は外科的処置不応の、急性又は反復外傷性症候性大腿関節軟骨欠損の修復

### 欧州

- ChondroCelect™ (ベルギー-TiGenix社)
  - 自家培養軟骨細胞浮遊液
    - 患部に移植、コラーゲンメンブレン又は脛骨由来骨膜フラップにて被覆
  - 評価者盲検ランダム化試験 (118例) 及び非盲検単群試験 (20例) を実施
  - 2009年10月にAdvanced Therapy Medicinal Productsとして承認
  - 2012年5月時点で約700例の使用経験
  - 【適応】成人の膝大腿骨頭の一症候性軟骨欠損 (ICRSグレードIII、またはICRSグレードIV) の修復

### 韓国

- Chondron™ (Cellontech社)
  - 2001年にbio-pharmaceutical productとして承認
  - 詳細は不明

13

## 海外の培養軟骨関連ガイドライン

### 米国FDA

#### Guidance for Industry Preparation of IDEs and INDs for Products Intended to Repair or Replace Knee Cartilage (December 2011)

- 外科的手技の進歩を考慮すると、併行群間比較を推奨する
- ヒストリカルコントロールでは、第三相・ゼボタル試験としては不十分
- 対照群としては、プラセボ、シャム手術 (偽手術)、実治療 (関節デブリドマン、骨穿孔法、自家骨軟骨移植術 等)、標準的保存治療
  - In general, control groups may be broadly classified as either concurrent or historical. Rapid advances in surgical techniques and the medical care of damaged knees over the past several years suggest that you should generally use a concurrent control group to obtain the most informative clinical data. We believe historical controls are insufficient for phase 3 or pivotal clinical studies of knee cartilage repair or replacement products. (p.12)
  - The most common types of concurrent control groups include placebo controls, sham-surgery controls, active-comparator controls, or standard care controls. (p.12)

### 欧州EMA

#### Reflection paper on *in-vitro* cultured chondrocyte containing products for cartilage repair of the knee (April 2010)

- 移植試験は、操作為化比較対照試験が必要
- 軟骨欠損面積4cm<sup>2</sup>未満では、既存の外科的治療 (骨穿孔法等) に対する優越性又は非劣性が選択肢となる
- 軟骨欠損面積4cm<sup>2</sup>以上では、標準的保存治療に対する優越性が選択肢となる
  - The study design should follow a randomised, controlled approach with appropriate comparator. (p.6/7)
  - For patients with lesions of less than 4 cm<sup>2</sup> clinical superiority or alternatively non-inferiority in combination with supporting structural superiority against currently employed reasonable surgical comparative therapy (such as microfracture) is a reasonable option. (p.6/7)
  - For patients with lesions of more than 4 cm<sup>2</sup>, no standard therapy has shown unequivocal efficacy, therefore superiority against best standard of care is currently the reasonable option. (p.7/7)

14

## 海外の培養軟骨関連文書

### 英国NHS

- The use of autologous chondrocyte implantation for the treatment of cartilage defects in the knee joints (Issue date: May 2005, Review date: May 2008)
- 自家軟骨細胞移植は、QOLや長期予後も含めた明確かつ適切な結果を目的とした現在進行中又は新規の臨床試験成績がない限り、膝関節軟骨欠損症の治療に用いることは推奨できない。
  - これまでの臨床試験成績からは、自家軟骨細胞移植の臨床的有効性について一貫しないエビデンスが得られている。
    - Autologous chondrocyte implantation (ACI) is not recommended for the treatment of articular cartilage defects of the knee joint except in the context of ongoing or new clinical studies that are designed to generate robust and relevant outcome data, including the measurement of health-related quality of life and long-term follow-up. (p.1)
    - In summary, these trials provide inconsistent evidence of the clinical effectiveness of ACI. The studies were heterogeneous in terms of the patients recruited, the ACI technique used and the measures used to assess outcome. In addition, comparative trial follow-up was limited to 1-2 years. The longer-term case series showed similar benefits under most modes of treatment. There is no trial comparing ACI (or any of the other interventions in the studies described above) with conservative management. (p.13)

15

## 2. 京都大学 iPS 細胞研究所で進めている再生医療用 iPS 細胞ストックについて

京都大学 iPS 細胞研究所 沖田圭介

### はじめに

京都大学 iPS 細胞研究所では国立研究開発法人科学技術振興機構 (JST) 及び国立研究開発法人日本医療研究開発機構 (AMED) の事業「再生医療実現拠点ネットワークプログラム iPS 細胞研究中核拠点」の委託研究として「iPS 細胞ストック」事業を行なっている。本稿ではこの事業の背景と概要を記載する。

### iPS 細胞による細胞移植治療

iPS 細胞は末梢血や皮膚などから採取できる体細胞に、初期化遺伝子と呼ばれる複数の遺伝子を導入することで作られる細胞である<sup>1)</sup>。ES 細胞に良く似ており、自己増殖能力と共に、様々な細胞種へと変化する分化多能性を持つ。例えば iPS 細胞を十分に増やした後に、心筋細胞へ分化させることが可能である。この特性を生かし、細胞移植治療への利用が期待されている。実際、2014 年には理化学研究所の高橋政代らが臨床研究を始め、iPS 細胞から網膜色素上皮細胞を作製し、この細胞を加齢性黄斑変性症患者に移植している。これ以外にも、パーキンソン病患者へのドーパミン神経細胞の移植や、心疾患を持つ患者への心筋細胞の移植などを目指して iPS 細胞を用いた複数の研究が本邦で進められている。

### iPS 細胞ストック

iPS 細胞を細胞移植治療に用いるためには、1)体細胞の採取、2)iPS 細胞の作製、3)iPS 細胞の品質評価、4)分化誘導、そして 5)分化細胞の品質評価といった工程が必要になると考えられる。こうした工程を経る事で、原理的には罹患した個々の患者から iPS 細胞を作製し、治療に用いることが可能である。しかしながら、細胞の製造や品質評価には短くても半年程度の時間が必要であるため、急性疾患への対応が難しく、また個人ごとの対応は経済的にも負担が大きいことが予想される。この問題に対する一つの解決方法は、自己細胞を用いた 1 対 1 の移植ではなく、予め複数の iPS 細胞およびその分化細胞を作製しておき、患者に応じて使い分ける方法である。こうした背景の下、弊所では iPS 細胞ストック事業として、前半部分に当る再生医療に用いる iPS 細胞の作製と備蓄を進めている。

iPS 細胞ストックでは、1 つの iPS 細胞株を複数の患者に移植することを想定している。つまり同種移植であり、免疫拒絶反応についての配慮が必要となる。免疫拒絶反応を出来るだけ抑えつつ、一方で可能な限り多くの患者に移植できるように、HLA(ヒト白血球抗原)をホモ接合体として持つドナーから iPS 細胞を作製している。例えば、日本で最も高頻度に認められるハプロタイプ(HLA-A\*24:02, B\*52:01, DRB1\*15:02)のホモ接合体ドナーか

ら樹立された iPS 細胞は、計算上は日本人の約 17% にマッチすると考えられる<sup>2)</sup>。また 10 種類のホモ接合体の iPS 細胞株を取り揃えることができれば、約半数の日本人にマッチする。同じ型の HLA ハプロタイプを両親より受け継いだ場合にホモ接合体となるが、日本人における HLA ホモ接合体の頻度は人口のわずか数% である。数少ないドナーに協力していただくために、京都大学医学部附属病院を始め、日本赤十字社、日本骨髄バンクや臍帯血バンク(東海大学)と連携している。一方で、主要な HLA 型を一致させたとしても、同種移植であるため、マイナー抗原は一致しない。移植対象部位に合わせて適宜免疫抑制剤を併用しながら実際にどこまで有効なのか、また現実的な治療として成り立ちうるのかを今後検討していく必要がある。

### 再生医療用 iPS 細胞の製造

iPS 細胞を作製するために体細胞に遺伝子を導入するが、古典的な方法としてレトロウイルスベクターによる遺伝子導入法が挙げられる。このベクターの特性上、複数の外来遺伝子が iPS 細胞のゲノムに挿入されるため、そのまま使用するには安全上のリスクが高い。これを回避するため、私たちはゲノムへ傷を付けにくいプラスミドベクターを用いて iPS 細胞の誘導を行っている<sup>3)</sup>。また、従来のヒト iPS 細胞の培養法ではマウス細胞を支持細胞として用いている。動物由来成分による安全上のリスクの低減させるため、支持細胞が不要な培養方法を採用した<sup>4)</sup>。iPS 細胞研究所内にある細胞調製施設は「再生医療等の安全性の確保等に関する法律」(再生医療等安全性確保法)に基づき細胞培養加工施設の許可を受けた。この施設で再生医療用 iPS 細胞の製造を行っており、2015 年 8 月に配布を開始した。配布に当たって「iPS 細胞ストックの使用に関する審査委員会」を設置し、審査を実施している。

### 品質評価について

iPS 細胞ストックでは体細胞のドナーに対し、HLA 検査や問診、感染症検査等のスクリーニングを実施して適性の確認を行なっている。製造した iPS 細胞に対する検査として、iPS 細胞としての特性の有無(マーカー遺伝子の発現や形態の確認)や HLA 型、遺伝子変異などを調べている。また、凍結した iPS 細胞の細胞数や生存率、微生物汚染の有無も検査している。体細胞を開始点として iPS 細胞を作製し、最終産物は分化細胞となる。分化細胞を作製する機関、すなわち iPS 細胞ストックの使用者側から見ると、iPS 細胞ストックには、分化誘導効率が高いことや分化誘導後に分化細胞として十分な特性を持つことなどが期待されるが、現状では iPS 細胞の段階でこれらを判断できるような評価基準はほとんど知られていない<sup>5)</sup>。今後の科学的知識の積み重ねにより、評価基準の策定を進めていく必要があるだろう。

分化細胞に関しては、分化細胞としての特性解析や純度、遺伝子の変異、微生物汚染、安全性等の検査の実施が想定される。個々の分化細胞種や使用方法に応じた評価方法や基

準が設定される一方で、共通する評価項目も挙げられるだろう。例えば細胞の安全性の評価指標の一つとして遺伝子変異解析が考えられるが、その評価方法については様々な考え方があり共通認識を得るには至っていない。臨床研究を実施する際の安全性の評価方法の考え方について、厚生労働省が設置した研究班で審議が進められている。

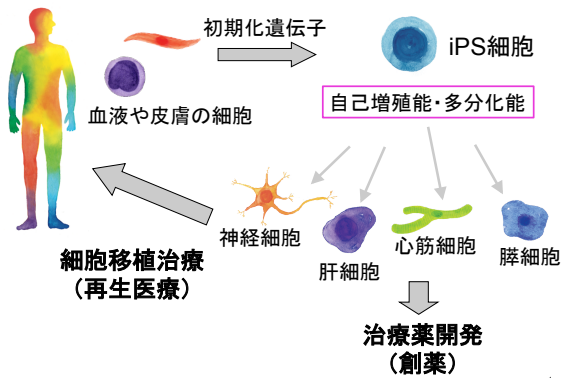
## 終わりに

海外でも臨床用 iPS 細胞の作製に向けた動きが進んでいる。2015 年に Cellular Dynamics international 社が 2 人のドナーの血液から米国の規制に対応した cGMP 下での iPS 細胞樹立を発表した。これは 19% のアメリカ人にマッチし、今後さらにドナーを追加して 95% をカバーする計画であることを伝えた。また、Lonza 社なども cGMP 下で、臍帯血より iPS 細胞を作製したことを報告している。英国や韓国でも同様の動きが認められており、近い将来これらの細胞を用いた臨床研究が世界中で進んでいくものと考えられる。

## 参考文献

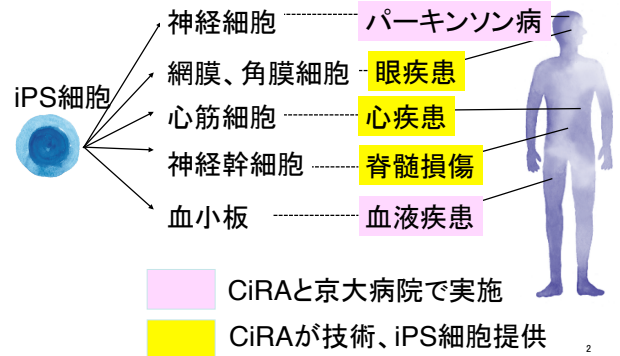
- 1) Takahashi K & Yamanaka S: Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell* **126**: 663-676, 2006
- 2) Okita K, Matsumura Y, Sato Y et al: A more efficient method to generate integration-free human iPS cells. *Nat Methods* **8**: 409-412, 2011
- 3) Okita K, Yamakawa T, Matsumura Y et al: An efficient nonviral method to generate integration-free human-induced pluripotent stem cells from cord blood and peripheral blood cells. *Stem Cells* **31**: 458-466, 2013
- 4) Nakagawa M, Taniguchi Y, Senda S et al: A novel efficient feeder-free culture system for the derivation of human induced pluripotent stem cells. *Sci Rep* **4**: 3594, 2014
- 5) Koyanagi-Aoi M, Ohnuki M, Takahashi K et al: Differentiation-defective phenotypes revealed by large-scale analyses of human pluripotent stem cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2013

## iPS細胞:何が出来るか?



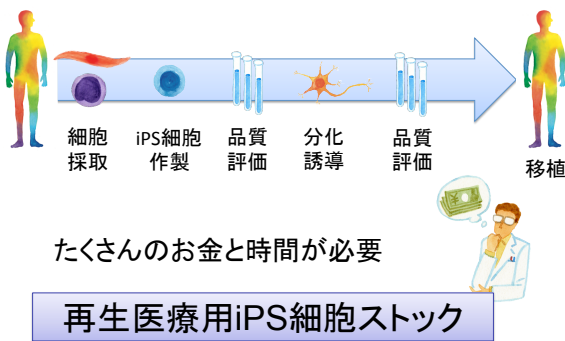
1

## 臨床研究が近い再生医療



2

## iPS細胞による再生医療



3

## iPS細胞ストックとは

### 患者さん本人からのiPS細胞 (自家)

倫理的問題、拒絶反応を回避  
費用 (CPC※1 占有) と時間 (数ヶ月)

※1) 臨床用の細胞製造施設

### iPS細胞を多くの患者さんに (他家)

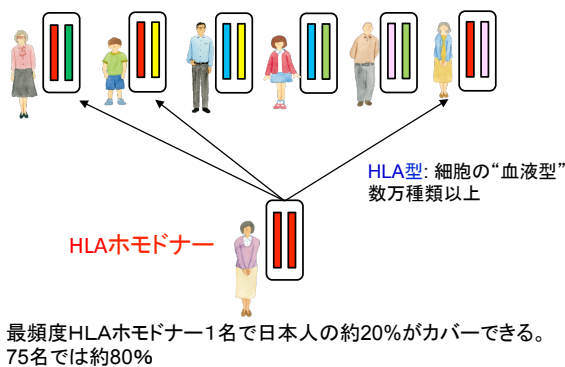
拒絶反応を軽減する  
相対的に多くの人に移植できる

HLAホモドナー※2) から樹立

※2) 両親から同じHLA型を受け継いだ人

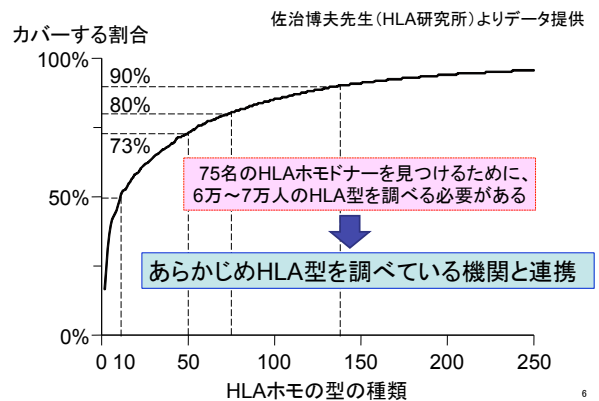
4

## HLAホモドナーの有用性



5

## HLAの種類とカバー率



6

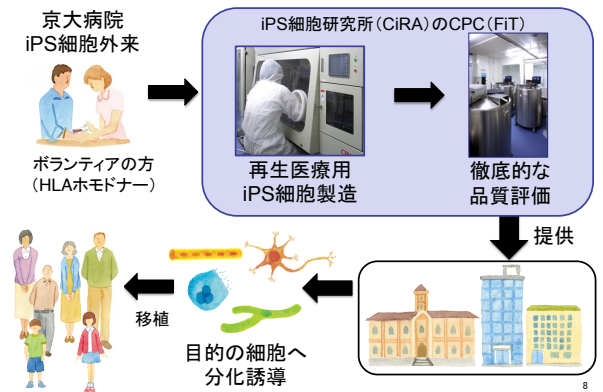


## ドナーリクルートの連携先



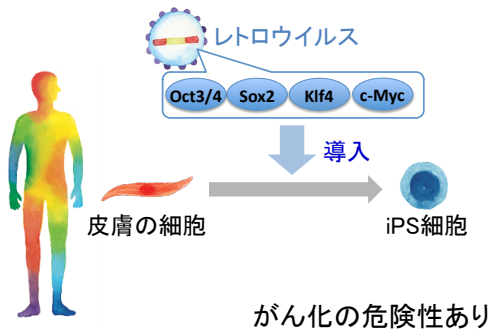
7

## iPS細胞ストック・作製と利用の流れ



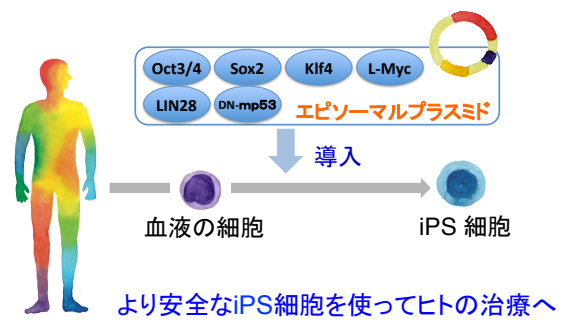
8

## 当初のiPS細胞の作製方法



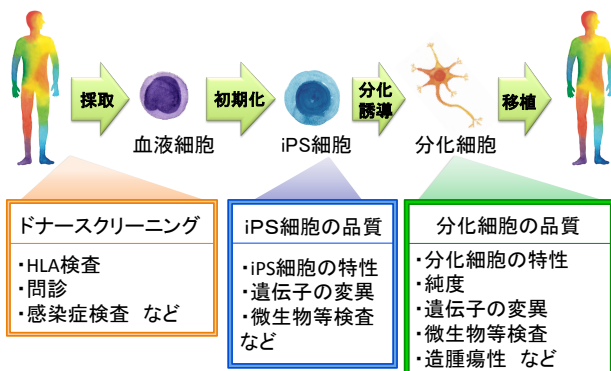
9

## 現在のCiRAのiPS細胞の作製方法



10

## 品質評価



11

## 当面の計画

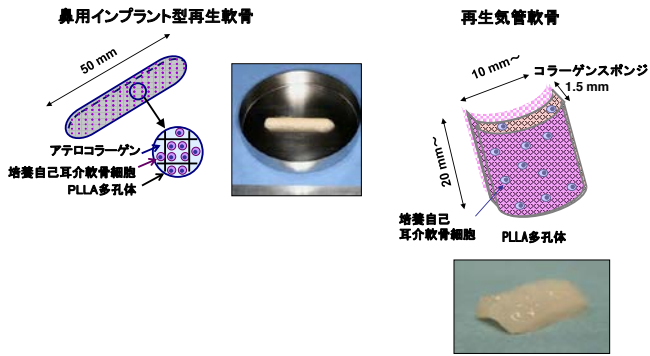
- 全体:  
平成29年度末までに、日本人の30%~50% (最頻度から5番目~10番目まで) をカバーするiPS細胞ストックを構築する
- 製造:  
さい帯血由来のiPS細胞ストックも製造する
- 評価:  
評価データを蓄積し、可能なものについて一定の基準を策定する。

12

### 3. 耳介軟骨再生を目的とした再生医療等製品の開発の現状

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・口腔外科  
星 和人

#### 3次元再生軟骨の臨床導入

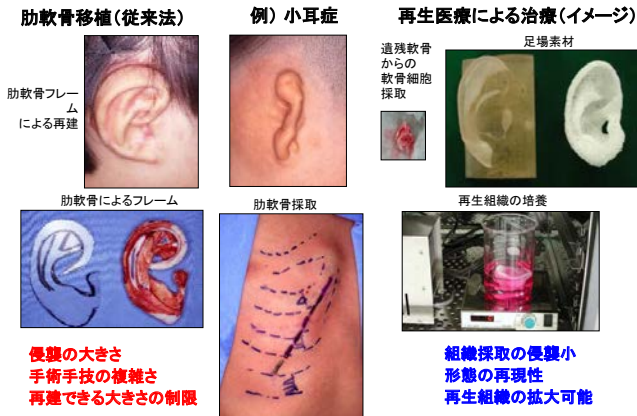


増殖培養できる軟骨細胞の数に限界があり、  
小耳症や変形性関節症など大型の軟骨には応用できない

#### すべての年齢・すべての軟骨疾患に再生医療を提供するために

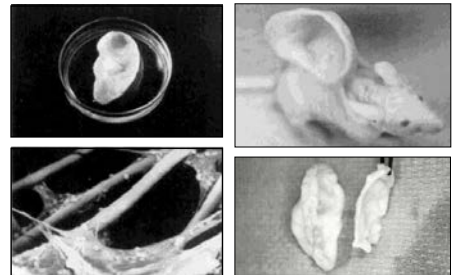


#### 再生医療の利点



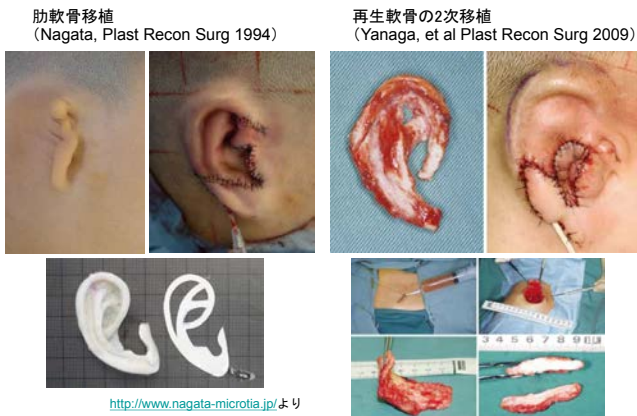
#### 耳介型再生軟骨の試み

ポリグルコール酸 (PGA) + ポリ乳酸 (PLLA) の足場素材に軟骨細胞を播種  
免疫不全動物 (ヌードマウス) に移植  
(Cao, Vacanti et al Plast Recon Surg 1997)



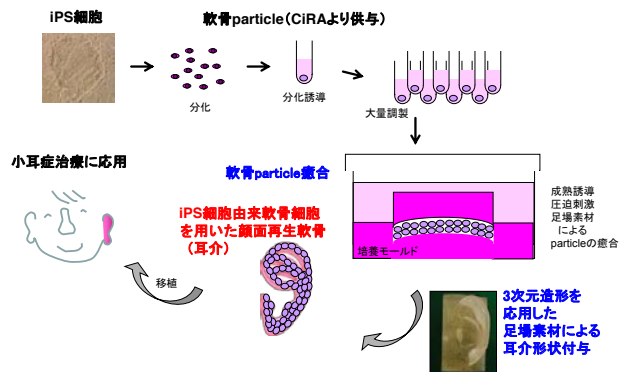
臨床報告はもとより、大動物実験、免疫正常マウスでの続報がない

#### 耳介再建の実際



#### 当方で実施しているプロジェクト

##### 耳介軟骨疾患を対象とした臨床研究の開始【平成25-34年】





## 4. 形成外科分野における再生医療の現状と今後

順天堂大学医学部形成外科学講座

水野博司

### 【形成外科分野における再生医療の足跡】

「組織工学」あるいは「再生医学」という言葉が広く国民に根付き、医学領域における発展のきっかけとなったのは、雑誌 **Science** に「**Tissue Engineering**」のタイトルで発表された論文<sup>1)</sup>のコンセプトに基づいて作成された、いわゆる“**Vacanti mouse**”と呼ばれるヒト耳介の形状を呈した軟骨再生<sup>2)</sup>や、ヒト指節骨・指節間関節の再生<sup>3)</sup>であろうと思われるが、これらの業績は形成外科医によるものであることはそれほど知られていない。また本概念が登場する以前より **Green** 型自家培養表皮が本邦でも広く普及し重症熱傷患者の救命に多大な貢献をしてきたが<sup>4)</sup>、これも形成外科医による偉業である。つまり複雑な機能的構造体である「臓器」ではなく単一あるいは少数の細胞から構成される「組織」を扱う機会の多い形成外科医は、この再生医学という研究分野に入りやすかったのであろう。

そして近年においてはこれらの組織工学的手法にとどまらず細胞投与による組織修復、また細胞を用いない液性因子やバイオマテリアルの組み合わせによる再生医療アプローチも有用な手段として実用化されつつある。本稿では形成外科領域における再生医療が果たしてきた現状と今後について私見を含めて考察する。

### 【再生の対象となる組織】

現在形成外科領域において再生医学研究が進んでいる標的組織は皮膚（表皮、真皮ないし表皮＋真皮）、皮下組織、軟骨、骨、末梢神経等があり、とりわけ皮膚と軟骨において顕著である。しかしながら両者の再生手法には多少異なりがある。すなわち軟骨の場合は生体内外の環境下で軟骨細胞を材料に組織工学的に作成した軟骨組織を必要とされる部位へ移植して利用する手法であるのに対し、皮膚皮下組織の場合は皮膚由来細胞（角化細胞や線維芽細胞など）を材料とした同手法に加え、皮膚欠損部に皮膚由来以外の細胞や液性因子を投与して直接的・間接的に皮膚の再生を誘導する手法も存在する。

### 【組織損傷に対する修復・再生と再生医療】

一般的に皮膚に限らず多くの組織においてキズが発生した際、自然治癒が期

待できる場合とできない場合があり、前者を急性創傷、後者を慢性創傷と呼称される。

皮膚における急性創傷が発生すると、生体の持つ創傷治癒機転が働くことにより創の収縮と上皮化によって治癒へと向かうが、これは組織の修復と再生の両面が働くと考えられている。例えば創傷治癒過程における増殖期においては線維芽細胞と血管内皮細胞の増殖による旺盛な肉芽形成（修復）とそれに続いて起こる上皮細胞の遊走による表皮化（再生）で治癒が進む。しかし、キズが深い場合や創傷治癒が遅延した場合は肉芽形成による癒痕治癒、つまり再生というよりは修復による治癒機転が有意となり、臨床的には肥厚性癒痕など整容的にも好ましくない結果となる。従って急性創傷に対しては、修復だけでなく再生によって元の正常な組織構造に誘導するべく、できる限り生体が本来有する再生能力をうまく引出すことが再生医療の役割であると言い換えてよい。

一方糖尿病性潰瘍や放射線潰瘍のような慢性創傷においては正常な創傷治癒プロセスが働かないため既存の治療では解決困難なことが多く、やはり再生医療学的アプローチが一つの有用な方法である。例えば慢性放射線潰瘍に対し脂肪組織幹細胞を局所投与すると、虚血耐性のある脂肪組織幹細胞はその場で生存し続け、その間に種々の血管新生因子を放出することで周辺からの血管新生を促進させ、結果的に良好な肉芽形成が促される（これを組織の肥沃化という）ことが報告されている<sup>5)</sup>。それにより慢性創傷の状態から急性創傷の状態に移行させることが可能となる。

### 【組織別の具体的な再生医療手法】

以下に形成外科が扱う代表的な組織である皮膚と軟骨の再生医療について、用いる細胞の種類や投与方法、足場材料や液性因子の有無の違いなどについて詳述する。

#### 1. 皮膚

細胞を用いた皮膚の再生医療については、あらかじめ生体外で作成可能なものは①培養表皮、②培養真皮、および③表皮と真皮の2層構造を有する培養複合皮膚の3パターンがある。そしてこれらの細胞ソースとしては自家あるいは他家となる。現在上市されている本邦初の再生医療等製品「JACE」は自家由来の培養表皮であるが、他の組織同様、常備ストックとして保存するには同種細胞由来のものが今後有用であろう。

皮膚潰瘍面に直接細胞を局所投与する手法としてはスプレー投与（欧州においては自家由来表皮角化細胞スプレーが上市されている）、コラーゲンなどのバイオマテリアルに含浸したものを *on lay graft*、注入投与が考えられる。いずれの投与方法においても現在遂行されている臨床研究は概ね自家由来の細胞を利用

しているため投与後の永久生着は理論上期待できる。ただし表皮細胞や真皮由来細胞以外の、例えば骨髄間質細胞や脂肪組織由来細胞のような間葉系幹細胞を含む細胞集団を投与する場合、これらが角化細胞のような上皮系細胞に分化して永久生着しているわけではなく、ほとんどの場合はこれらの細胞に内在する血管新生関連因子の放出による血管新生の結果、肉芽増殖が起こって潰瘍治癒に向かうというメカニズムによる、いわゆるサイトカイン療法という位置づけになるであろう。血管内皮前駆細胞の投与の場合でも、実際に血管内皮細胞に分化して血管内皮を構成する割合は全細胞投与数のごく一部であるとも言われていることから、これもサイトカイン療法ともいえるかも知れない。またこれまでの多くの注入投与の場合、細胞を浮遊液の状態で注入投与しているため、投与された細胞は必ずしも多くが局所に停滞せず、むしろほとんどの細胞が血管内やリンパ管内に流入して局所に留まらない。最近の研究では脂肪組織由来幹細胞をスフェロイドの形とすると細胞塊となるためサイズが大きくなるだけでなく、細胞外マトリックスも維持されたまま移植が可能となる<sup>6)</sup>。これは岡野光夫博士らが開発された「細胞シート」の考え方に近く、同じ細胞でも投与法を工夫することでより効果的に治療が可能となるため、今後の研究の課題である。

一方、細胞を用いない皮膚皮下組織再生医療も非常に有用な手段として多くの臨床研究が遂行されている。本邦においては **bFGF** が既に保険収載された医薬品として利用可能であり、田畑らの考案したゼラチンシートに含浸させて **bFGF** を徐放化可能としたうえで潰瘍面に貼付したり<sup>7)</sup>、近年ではコラーゲンスポンジ内にゼラチン粒子を組み込んで、使用直前に **bFGF** を含浸させて徐放化機能を持たせたうえで潰瘍面に貼付したりするという機能的人工真皮の開発も進んでいる<sup>8)</sup>。これら細胞を用いない手法は細胞と違い、①投与量において個人差が生じない、②繰り返し治療がしやすい、③安価である、などの点で優れている。また **bFGF** の代わりに患者由来の多血小板血漿 (**Platelet Rich Plasma**、以下 **PRP**) を用いた皮膚皮下組織再生治療も、慢性創傷に対して有用性が報告されている<sup>9)</sup>。

## 2. 軟骨

現時点での形成外科領域における軟骨再生においては、自家軟骨細胞が今のところ唯一の細胞ソースとして利用されている。この細胞を 3 次元スキャフォールドに播種し、*ex vivo* で作成した再生軟骨を移植する方法と<sup>10)</sup>、培養細胞浮遊液を一次的に腹部皮下など異所性に注入投与し、3 次元構造体が作成された時点で 2 期的に成形して必要とされる部位に移植する方法とがある<sup>11)</sup>。現時点でどちらに優位性があるのか、あるいは同等なのかについては結論が得られてお

らず、長期的経過観察が必要であろう。しかしながら、形成外科領域における小児耳介先天異常の代表的疾患である小耳症手術の際に多くの肋軟骨を採取しなければならぬ犠牲を回避できることになり、非常に有用な研究分野と考えられる。

また近年の研究では、軟骨膜に存在する軟骨前駆細胞も軟骨再生における新たな細胞ソースとして注目されており<sup>12)</sup>、将来的には軟骨細胞を得るための軟骨採取さえ不要となるかも知れない。

### 【美容外科と再生医療】

形成外科の一分野である美容外科領域においても、とりわけ顔面のシワ治療などにおいて培養線維芽細胞移植あるいはPRPの局所注入などが実際に行われている。しかしながらこの領域においては臨床研究というよりは治療を目的として実施されることが圧倒的で、臨床研究としてのエビデンスが確立されているものばかりとは言い難い上、ほとんどがクリニックレベルでの実施であるため、正確な実態を把握できない状況である。加えて、過去にはいくつかの事故も発生しているなど問題が多いのも事実である。昨年施行された再生医療等安全確保法により実施者は提供計画を提出せねばならなくなった結果、国や学会は実施施設および治療内容の把握までは可能になった。しかし治療結果の詳細や合併症等までは今の仕組みにおいては未だ把握困難な状況である。潜在的ニーズの多い美容外科領域において再生医療がより安全性の高いものになるためには美容外科医の良心に頼るだけでなく、更なる制度の整備が必要であろう。

### (参考文献)

- 1) Langer R et al. *Science* 260: 920-926, 1993
- 2) Rodriguez A et al. *Plast Reconstr Surg* 103: 1111-1119, 1997
- 3) Isogai N et al. *J Bone Joint Surg Am* 81: 306-316, 1999
- 4) Kumagai N et al. *Plast Reconstr Surg* 82: 99-110, 1988
- 5) Rigotti G et al. *Plast Reconstr Surg* 119: 1409-1422, 2007
- 6) Kapur SK et al. *Biofabrication* 4: 025004, 2012
- 7) Matsumoto S et al. *Plast Reconstr Surg Glob Open* 1: e44, 2013
- 8) Takemoto S et al. *Tissue Eng Part A* 14: 1629-1638, 2008
- 9) Picard F et al. *Wound Repair Regen* 23: 638-643, 2015
- 10) Tanaka Y et al. *Biomaterials* 31: 4506-4516, 2010
- 11) Yanaga H et al. *Plast Reconstr Surg* 132: 1467-1477, 2013
- 12) Kobayashi S et al. *Proc Natl Acad Sci USA* 108: 14479-14484, 2011

## VI. 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 24 年 9 月 7 日付薬食発第 0907 第 2 号厚生労働省医薬食品局長通知  
「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」
4. 平成 24 年 9 月 7 日付薬食発第 0907 第 3 号厚生労働省医薬食品局長通知  
「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」
5. 平成 24 年 9 月 7 日付薬食発第 0907 第 5 号厚生労働省医薬食品局長通知  
「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」



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) 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

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、かつ临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 適切な動物由来細胞・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、臨床上的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。

薬食発0907第2号  
平成24年9月7日

各都道府県知事 殿

厚生労働省医薬食品局長

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」の別添及び平成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「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」の別添（以下、「平成20年2指針」という。）により通知したところである。

今般、ヒト由来の体性幹細胞うち、自己由来体性幹細胞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は、平成20年2指針に代えて、新たな指針を別添「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」のとおりとりまとめたので、御了知の上、貴管内関係業者等が自己由来体性幹細胞を加工した医薬品又は医療機器を開発する際等に参考として利用できるよう周知願いたい。



## 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

はじめに

1. 本指針は、ヒト由来の体性幹細胞のうち、自己由来体性幹細胞を加工した医薬品又は医療機器(以下「ヒト(自己)体性幹細胞加工医薬品等」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、体性幹細胞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したりする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. 薬事戦略相談あるいは治験相談におけるヒト体性幹細胞加工医薬品等の治験を開始するに当たっての基本的留意点は、当該製品にヒトへの適用により支障となる品質及び安全性上の明らかな問題が存在するか否か、臨床で得られた知見との関係性を照合できる程度に品質特性が把握され、その一定範囲の恒常性が確保されているか否かを確認することにある。その際、明らかに想定される製品のリスクを現在の学問・技術を駆使して排除し、その科学的妥当性を明らかにした上で、なお残る「未知のリスク」と、重篤で生命を脅かす疾患、身体の機能を著しく損なう疾患、身体の機能や形態を一定程度損なうことにより QOL を著しく損なう疾患などに罹患し、従来の治療法では限界があり、克服できない患者が「新たな治療機会を失うことにより被るかもしれないリスク」とのリスクの大小を勘案し、かつ、これらすべての情報を開示した上で患者の自己決定権に委ねるという視点を持つこと、すなわち、リスク・期待されるベネフィットの情報を開示した上で、治験に入るかどうかの意思決定は患者が行うという視点を入れて評価することも重要である。したがって、治験開始の場合、その届出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、治験開始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、治験開始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。

3. 本指針に記述された事項、試験方法、基準その他の技術要件は、それぞれの目的に適う内容と程度をもとに考慮、選択、適用、及び評価されるべきことを意図して

おり、必ずしも常に同一（最高）水準での解釈、運用を求めている訳ではない。この趣旨を踏まえ、申請者は、考慮した背景、選択、適用、及び評価した内容と程度がそれぞれの目的に相応しく、科学的合理性からみて妥当であることを明らかにすること。

## 目次

第1章 総則	5
第1 目的	5
第2 定義	5
第2章 製造方法	6
第1 原材料及び製造関連物質	6
1 原材料となるヒト細胞・組織	6
(1) 生物学的構造・機能の特徴と選択理由	6
(2) ドナーに対する留意点	6
(3) ドナーに関する記録	7
(4) 細胞・組織の採取・保存・運搬	7
2 目的とする細胞・組織以外の原材料及び製造関連物質	7
(1) 細胞の培養を行う場合	8
(2) 非細胞成分と組み合わせる場合	9
(3) 細胞に遺伝子工学的改変を加える場合	10
第2 製造工程	11
1 ロット構成の有無とロットの規定	11
2 製造方法	11
(1) 受入検査	11
(2) 細菌、真菌及びウイルス等の不活化・除去	11
(3) 組織の細切、細胞の分離、特定細胞の単離等	11
(4) 最終製品の構成要素となる細胞の作成	11
(5) 細胞のバンク化	11
(6) 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	12
3 最終製品の構成要素となる細胞の特性解析	12
4 最終製品の形態、包装	12
5 製品の保存及び運搬	12
6 製造方法の恒常性	12
7 製造方法の変更	13
第3 最終製品の品質管理	13
1 総論	13
2 最終製品の品質管理法	13
(1) 細胞数並びに生存率	13
(2) 確認試験	14
(3) 細胞の純度試験	14
(4) 細胞由来の目的外生理活性物質に関する試験	14
(5) 製造工程由来不純物試験	14
(6) 無菌試験及びマイコプラズマ否定試験	14

(7)	エンドトキシン試験	15
(8)	ウイルス試験	15
(9)	効能試験	15
(10)	力価試験	15
(11)	力学的適合性試験	15
第3章	ヒト体性幹細胞加工医薬品等の安定性	15
第4章	ヒト体性幹細胞加工医薬品等の非臨床安全性試験	16
第5章	ヒト体性幹細胞加工医薬品等の効力又は性能を裏付ける試験	17
第6章	ヒト体性幹細胞加工医薬品等の体内動態	18
第7章	臨床試験	18

## 第1章 総則

### 第1 目的

本指針は、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 「ヒト体性幹細胞」とは、ヒトから採取された細胞又は当該細胞の分裂により生ずる細胞であって、多分化能を有し、かつ自己複製能力を維持しているもの又はそれに類することが推定されるもの及びこれらに由来する細胞のうち、以下のものを指す。すなわち、組織幹細胞（例えば、造血幹細胞、神経幹細胞、間葉系幹細胞（骨髄間質幹細胞・脂肪組織由来幹細胞を含む。）、角膜上皮幹細胞、皮膚幹細胞、毛細胞幹細胞、腸管幹細胞、肝幹細胞及び骨格筋幹細胞）及びこれを豊富に含む細胞集団（例えば、造血系幹細胞を含む全骨髄細胞）をいい、血管前駆細胞、臍帯血及び骨髄間質細胞を含む。また、体外でこれらの細胞を培養して得られた細胞を含む。ヒト胚性幹細胞（ES 細胞）、ヒト人工多能性幹細胞（iPS 細胞）、ヒト人工多能性幹細胞様細胞（iPS 様細胞）、ヒト胚性生殖細胞（EG 細胞）、ヒト多能性生殖系列幹細胞（mGS 細胞）、ヒト単為発生幹細胞、ヒト核移植幹細胞、ヒトがん細胞、ヒトがん幹細胞、及びこれらに由来する細胞は含まない（注：ヒト胚性幹細胞（ES 細胞）、ヒト人工多能性幹細胞（iPS 細胞）、ヒト人工多能性幹細胞様細胞（iPS 様細胞）の定義はそれぞれ「ヒト ES 細胞加工医薬品等の品質及び安全性確保に関する指針」、「ヒト（同種/自己）iPS（様）細胞加工医薬品等の品質及び安全性確保に関する指針」に従う）。
- 2 「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・分化、細胞の株化、細胞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。
- 3 「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、最終製品であるヒト(自己)体性幹細胞加工医薬品等を出荷するまでに行う行為をいう。
- 4 「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。
- 5 「ドナー」とは、ヒト(自己)体性幹細胞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。自己由来体性幹細胞加工医薬品等にあっては、患者はドナーでもある。（注：実際の治療においては患者がドナーとなる。開発段階等において、試験製造を行う場合には、患者以外のドナーから採取した細胞・組織を使用する場

合も想定される。)

- 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

製造方法について、下記の事項に留意し、必要な情報を明らかにすること。これらの情報等は、最終製品の品質や安全性等の確保に資するとともに、品質の恒常性を製造方法面から保証するために重要なものである。しかし、品質・安全性等の確保や品質の恒常性保証は、製造方法全体で相互補完的方策により達成され、その方策が合理的で合目的性に叶うことが最も肝要である。したがって、最終製品や中間製品における品質試験や管理あるいは製造過程における管理において、品質・安全性等の確保や品質の恒常性保証という目的が達成されるのであれば、その科学的妥当性を明示した上で下記の措置や情報の一部を省略しても差し支えない。

### 第1 原材料及び製造関連物質

#### 1 原材料となるヒト細胞・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・組織を原材料として選択した理由を説明すること。特に原材料となる体性幹細胞が有用な分化能を有することを明らかとすること。この場合の分化能とは、多系統への分化能を指しているわけではなく、生体内での機能を期待する細胞への分化能を有することを示すことで良い。また、*in vitro*での分化能の提示が望ましいが、合理的な説明がつけば *in vivo*での分化で示すことは可能である。例えば、体性幹細胞の1つである心筋幹細胞を原材料とする場合には、心筋幹細胞が心筋細胞へと分化しうることを示すことで良い。

なお、治験開始前には、試験的検体を用いた検討によっても良いが、これらの検討結果から患者の細胞に適用する際に選択すべき重要細胞特性指標を明らかにしておくこと。検討に際しては、検体の量的制限や技術的限界もあり、可能な範囲で考慮すれば良い。

##### (2) ドナーに対する留意点

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。

また、遺伝的特徴、病歴、健康状態等を考慮して適格性基準を定め、その妥当性を明らかにすること。ドナーのゲノム・遺伝子解析を行う場合は、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」(平成16年文部科学省・厚生労働省・経済産業

省告示第1号)に従うこと。

### (3) ドナーに関する記録

原材料となる細胞・組織について、安全性を確保するために必要な情報が確認できるよう、ドナー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。なお、試験的検体のドナー及び患者のそれぞれについて、それぞれの細胞の使用目的に応じた情報の整備及び保管方策でよい。

### (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

原材料となる細胞・組織の採取者及び採取医療機関等に求めるべき技術的要件について、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・組織の採取部位の選定基準及び採取方法を示し、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。細胞・組織の採取方法については、用いられる器具及び薬剤、微生物汚染防止、取り違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

採取した細胞・組織を運搬する必要がある場合には、運搬容器、運搬手順(温度管理等を含む。)を定め、その妥当性について明らかにすること。

#### 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 フィーダー細胞を使用する場合には、平成12年7月14日付け医薬審第873号通知厚生労働省医薬食品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」、平成14年7月9日付け医政研発第0709001号厚生労働省医政局研究開発振興課長通知「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」及び平成16年7月2日付け医政研発第0702001号厚生労働省医政局研究開発振興課長通知「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、使用時の分裂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。

- ⑤ 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。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。一方、原則として、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。やむを得ず適用する際には十分な注意を払うと同時に、患者からインフォームド・コンセントを得る必要がある。
- ⑥ 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。
- ⑦ 最終製品に含有す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。

## (2) 非細胞成分と組み合わせる場合

### ① 細胞以外の原材料の品質及び安全性について

細胞とともに最終製品の一部を構成する非細胞の原材料(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 目的とする細胞との相互作用について

最終製品中又は中間製品中の細胞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 非細胞成分が、想定される臨床適応に必要な最終製品中又は中間製品中の細胞の機能、生育能力、活性及び安定性に悪影響を与えないこと。

イ 非細胞成分との相互作用によって起こり得る、最終製品中又は中間製品中の細胞の変異、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 想定される臨床適応において期待される非細胞成分の性質が、最終製品中又は中間製品中の細胞との相互作用によって損なわれないこと。

③ 細胞と適用部位を隔離する目的で非細胞成分を使用する場合

非細胞成分を細胞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 最終製品中の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

イ 栄養成分及び排泄物の拡散

ウ 非細胞成分が適用部位周辺に及ぼす影響

エ 目的細胞由来の目的生理活性物質の薬理効果に期待し、かつ目的細胞や未分化細胞と適用部位との隔離を目的とする場合、非細胞成分の崩壊等により細胞等が漏出しないこと。

(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。

上記の記述にかかわらず、最新の知見に基づき、細胞に導入される遺伝子が、化学的にも、機能的にも最終製品の一部を構成せず、製造工程中の試薬として使用されると判断された場合は、使用の目的に適う品質及び安全性が確保されていることを明らかにすることにより。

## 第2 製造工程

ヒト体性幹細胞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

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

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

#### (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。治験開始前段階にあっては、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

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、体性幹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。体性幹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) 最終製品の構成要素となる細胞の作製

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

#### (5) 細胞のバンク化

ヒト体性幹細胞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

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。ただし、自己細胞由来であ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。

#### (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

ヒト体性幹細胞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 最終製品の構成要素となる細胞の特性解析

最終製品の構成要素となる細胞については、例えば、目的外の細胞の混入を規定するための細胞純度をはじめとして、細胞生存率、形態学的特徴、細胞増殖特性、生化学的指標、免疫学的指標、特徴的産生物質、核型、その他適切な遺伝型又は表現型の指標を解析するとともに、必要に応じて機能解析を行うこと。また、培養期間の妥当性及び細胞の安定性を評価するために、予定の培養期間を超えて培養した細胞において目的外の変化がないことを適切な細胞特性指標等を用いて示すこと。これらの検討に際しては、あらかじめ試験的検体を用いた検討によって実施・検証しておくことでも良いが、これらの検討結果から患者由来の細胞に適用する際に選択すべき重要細胞特性指標を明らかにしておくこと。検討に際しては、検体の量的制限や技術的限界もあり、可能な範囲で考慮すればよい。適用後に体内での増殖等を期待する場合には、設定された基準による継代数又は分裂回数で期待された機能を発揮することを明らかにすること。

### 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 製品の保存及び運搬

中間製品又は最終製品を保存及び運搬する必要がある場合には、保存方法や期間及び運搬容器、運搬手段(温度管理等を含む。)を定め、その妥当性を明らかにすること(第3章参照)。

### 6 製造方法の恒常性

ヒト体性幹細胞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。中間製品で評価することが、原材料としての細胞・組織の適格性や中間製品までの製造過程の妥当性をよく反映し、また、最終製品に向けての適正な道標となるなど、合理的な場合もあるので、必要に応じて選択肢とするこ

と。

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

## 7 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治験開始時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／同質性を示すこと。

## 第3 最終製品の品質管理

### 1 総論

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

最終製品の規格及び試験方法については、対象とする細胞・組織の種類及び性質、製造方法、各製品の臨床使用目的や使用方法、安定性、利用可能な試験法等によって異なると考えられるため、取り扱う細胞・組織によってこれらの違いを十分に考慮して設定すること。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、治験開始前の評価は、治験を実施する製品の品質として問題がないとみなせることを確認することを目的としている。したがって、無菌性やマイコプラズマの否定など必須なものを除き、治験後に臨床試験成績と品質の関係を論ずるために必要な品質特性については、やむを得ない場合は少数の試験的検体の実測値をもとにその変動をしかるべき範囲内に設定する暫定的な規格及び試験方法を設定することで差し支えない。ただし、規格及び試験方法を含む品質管理法は治験の進行とともに充実・整備を図ること。

### 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、治験開始時においては、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うち、重要細胞特性指標を選択して、目的とする細胞であることを確認すること。

## (3) 細胞の純度試験

目的細胞以外の未分化細胞、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、中間製品の品質管理等を勘案し、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、治験開始時においては、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、治験開始時においては、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成分、培地成分（フィーダー細胞を含む）、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、治験開始時においては、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、あらかじめ試験的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。マイコプラズマ否定試験については、検証された核酸増幅法を用いることでもよい。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) ウイルス試験**

HBV、HCV、HIV、HTLV につき、患者の段階で否定し得ず、かつこれらのウイルスを増殖させる可能性のある細胞の場合には、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、体性幹細胞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。セル・バンクや中間製品においてウイルス否定試験が実施されている場合はこの限りではない。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しれないが、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**

細胞種、臨床使用目的又は特性等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、治験開始時においては、少数の試験的検体による実測値を踏まえた暫定的な規格を設定することでも良い。

**(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ヒト体性幹細胞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、治験開始時においては、少数の試験的検体による実測値を踏まえた暫定的な規格を設定することでも良い。

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

### **第3章 ヒト体性幹細胞加工医薬品等の安定性**

製品化したヒト体性幹細胞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、製品化したヒト体性幹細胞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 ヒト体性幹細胞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可能性がある。その際は、対象疾患ごとに適切なモデル動物を用いた試験の実施を考慮する(注：例えば神経疾患ならばサル等、循環器疾患ならばブタ・イヌ等が適している場合がある)。ただし、ヒト体性幹細胞加工医薬品等を構成する細胞と同一の特徴を有する細胞集団が同一の手法にてヒト以外の動物種からも得られるとは限らず、また同様の培養条件等で同等/同質な製品が製造できるとも限らないことから、このような試験の採用、実施及び評価にあたっては、慎重な事前検討や対応が必要である。ヒト以外の動物種から得た体性幹細胞加工製品を用いて動物実験を行った場合、その外挿可能性を説明すること。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、自己細胞由来であることや、製品の特性及び適用法等を考慮して、必要かつ適切な試験を実施し、その結果について総合的な観点から評価、考察すること。

- 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 製品の適用が患者の正常な細胞又は組織に影響を与える可能性、及びその安全性について検討、考察すること。
- 4 製品の種類に応じて、患者への適用により異所性組織を形成する可能性、及びその安全性について検討、考察すること。
- 5 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、及びその安全性について検討、考察すること。



- 6 良性腫瘍を含む腫瘍形成及びがん化の可能性については、製品の種類や特性、投与経路、生着部位、対象疾患、及び試験系の妥当性等を総合的に勘案して考察すること。必要に応じて適切な動物モデル等を利用した検討を行うこと。また、腫瘍形成又はがん化の可能性がある場合には、期待される有効性との関係等を勘案して、使用することの妥当性及び合理性について明らかにすること（注：造腫瘍性試験において最も重要なのは、最終製品が患者に適用された場合の製品の造腫瘍性を可能な限りの確に評価することである。しかし、十分な細胞数が得られない等の理由により最終製品を構成する細胞を用いることができず、中間製品の細胞を用いて最終製品の造腫瘍性を評価しなければならない場合も想定される。また、動物モデルを使用した造腫瘍性試験においては、細胞の分散や足場への接着、細胞密度、投与部位等の条件が最終製品と必ずしも一致するものではない。さらに、動物の種・系統・免疫状態による感度差もある。これらの事情を総合的に勘案して、最終製品の造腫瘍性を評価する必要がある。また、最終製品の造腫瘍性に起因する患者へのリスクについては、対象疾患を治療することによる患者へのベネフィット等とのバランスを踏まえて合理的に評価すること。）。
- 7 製造工程で外来遺伝子の導入が行われ、最新の知見に基づき、最終製品中で機能している場合や残存していると判断された場合には、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、良性腫瘍を含む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。染色体への挿入の可能性のあるベクターを用いた場合には、挿入変異による細胞の異常増殖性や造腫瘍性についての評価や臨床適応に当たっての長期フォローアップの必要性を考慮すること。
- 8 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 ヒト体性幹細胞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、ヒト体性幹細胞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臨床効果の実現可能性(Proof-of-Concept)を示すこと。
- 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臨床効果

の実現可能性(Proof-of-Concept)を示すこと。

- 3 適切な動物由来細胞・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 治験開始段階では、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 ヒト体性幹細胞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（注：体内動態に関する試験等には、例えば組織学的検討、AluPCR法、磁気共鳴画像診断法(MRI)、陽電子放射断層撮影法(PET)、単一光子放射断層撮影法(SPECT)、バイオイメーキングなどがある）。
- 2 ヒト体性幹細胞加工医薬品等の用法（投与方法）について、動物実験を通してその合理性を明らかとすること。特に、全身投与にあつては投与後の細胞の全身分布を動物実験などから外挿し、有用性の観点から議論すること。（注：投与経路ごとにどこに生着するかは不明であるが、全身投与よりも局所投与が望ましいと想定される。しかし、全身投与であってもその有用性において被投与患者に有益であると合理的に説明が可能である場合には用法として設定可能である。例えば、生着を期待する臓器以外への分布を最低限に抑えることが合理的な投与方法であると想定される。また、異所性生着しても、被投与患者にとって不利益（生体機能への悪影響）が生じない場合は用法として肯定できる可能性がある。異所性分化による不利益とは、例えば間葉系幹細胞が心臓に異所性生着して骨形成する場合は想定され、それが不整脈を惹起したような場合である。）
- 3 当該細胞・組織が特定の部位（組織等）に直接適用又は到達して作用する場合には、その局在性を明らかにし、局在性が製品の有効性・安全性に及ぼす影響を考察すること。

## 第7章 臨床試験

ヒト体性幹細胞加工医薬品等の臨床試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段階における安全性については、臨床上有用性を勘案して評価されるものであり、ヒト体性幹細胞加工医薬品等について予定されている国内の臨床試験計画について以下の項目を踏まえて評価すること。その際、明らかに想定される製品のリスクを現在の学問・技術を駆使して排除し、その科学的妥当性を明らかにした上で、なお残る「未知のリスク」と、重篤で生命を脅かす疾患、身体の機能を著しく損なう疾患、身体の機能や形態を一定程度損なうことによりQOLを著しく損なう疾患などに罹患し、従来の治療法では限界があり、克服できない患者が「新たな治療機会を失うことにより被るかもしれないリスク」とのリスクの大小を勘

案し、かつ、これらすべての情報を開示した上で患者の自己決定権に委ねるという視点を持つこと、すなわち、リスク・期待されるベネフィットの情報を開示した上で臨床試験に入るかどうかの意思決定は患者が行うという視点を入れて評価することが望まれる。

- 1 対象疾患
- 2 対象とする被験者及び除外すべき被験者の考え方
- 3 ヒト体性幹細胞加工医薬品等の適用及び併用薬を含めた被験者に対して行われる治療内容（注：投与・移植した細胞の機能を維持・向上・発揮させるために併用する薬剤が想定される場合、当該薬剤の作用を *in vitro* あるいは *in vivo* で検証すること）。
- 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製品並びに患者の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る、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0907第3号  
平成24年9月7日

各都道府県知事 殿

厚生労働省医薬食品局長

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」の別添及び平成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「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」の別添（以下、「平成20年2指針」という。）により通知したところである。

今般、ヒト由来の体性幹細胞うち、同種由来体性幹細胞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は、平成20年2指針に代えて、新たな指針を別添「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」のとおりとりまとめたので、御了知の上、貴管内関係業者等が同種由来体性幹細胞を加工した医薬品又は医療機器を開発する際等に参考として利用できるよう周知願いたい。

## 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

はじめに

1. 本指針は、ヒト由来の体性幹細胞のうち、同種由来体性幹細胞（自己由来体性幹細胞を除く）を加工した医薬品又は医療機器（以下「ヒト（同種）体性幹細胞加工医薬品等」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、体性幹細胞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したりする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. 薬事戦略相談あるいは治験相談におけるヒト体性幹細胞加工医薬品等の治験を開始するに当たっての基本的留意点は、当該製品にヒトへの適用により支障となる品質及び安全性上の明らかな問題が存在するか否か、臨床で得られた知見との関係性を照合できる程度に品質特性が把握され、その一定範囲の恒常性が確保されているか否かを確認することにある。その際、明らかに想定される製品のリスクを現在の学問・技術を駆使して排除し、その科学的妥当性を明らかにした上で、なお残る未知のリスクと、重篤で生命を脅かす疾患、身体の機能を著しく損なう疾患、身体の機能や形態を一定程度損なうことにより QOL を著しく損なう疾患などに罹患し、従来の治療法では限界があり、克服できない患者が「新たな治療機会を失うことにより被るかもしれないリスク」とのリスクの大小を勘案し、かつ、これらすべての情報を開示した上で患者の自己決定権に委ねるという視点を持つこと、すなわち、リスク・期待されるベネフィットの情報を開示した上で、治験に入るかどうかの意思決定は患者が行うという視点を入れて評価することも重要である。したがって、治験開始の場合、その届出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、治験開始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、治験開始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。

3. 本指針に記述された事項、試験方法、基準その他の技術要件は、それぞれの目的に適う内容と程度をもとに考慮、選択、適用、及び評価されるべきことを意図しており、

必ずしも常に同一（最高）水準での解釈、運用を求めている訳ではない。この趣旨を踏まえ、申請者は、考慮した背景、選択、適用、及び評価した内容と程度がそれぞれの目的に相応しく、科学的合理性からみて妥当であることを明らかにすること。

## 目次

第1章 総則	5
第1 目的	5
第2 定義	5
第2章 製造方法	6
第1 原材料及び製造関連物質	6
1 原材料となるヒト細胞・組織	6
(1) 起源及び由来、選択理由	6
(2) 原材料となる細胞・組織の特性と適格性	6
(3) ドナーに関する記録	7
(4) 細胞・組織の採取・保存・運搬	7
2 目的とする細胞・組織以外の原材料及び製造関連物質	8
(1) 細胞の培養を行う場合	8
(2) 非細胞成分と組み合わせる場合	10
(3) 細胞に遺伝子工学的改変を加える場合	10
第2 製造工程	11
1 ロット構成の有無とロットの規定	11
2 製造方法	11
(1) 受入検査	11
(2) 細菌、真菌及びウイルス等の不活化・除去	12
(3) 組織の細切、細胞の分離、特定細胞の単離等	12
(4) 最終製品の構成要素となる細胞の作成	12
(5) 細胞株の樹立と使用	12
(6) 細胞のバンク化	12
(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	12
3 最終製品の構成要素となる細胞の特性解析	12
4 最終製品の形態、包装	13
5 製品の保存及び運搬	13
6 製造方法の恒常性	13
7 製造方法の変更	13
第3 最終製品の品質管理	13
1 総論	13
2 最終製品の品質管理法	14
(1) 細胞数並びに生存率	14
(2) 確認試験	14
(3) 細胞の純度試験	14
(4) 細胞由来の目的外生理活性物質に関する試験	14
(5) 製造工程由来不純物試験	15

(6)	無菌試験及びマイコプラズマ否定試験	15
(7)	エンドトキシン試験	15
(8)	ウイルス試験	15
(9)	効能試験	16
(10)	力価試験	16
(11)	力学的適合性試験	16
第3章	ヒト体性幹細胞加工医薬品等の安定性	16
第4章	ヒト体性幹細胞加工医薬品等の非臨床安全性試験	16
第5章	ヒト体性幹細胞加工医薬品等の効力又は性能を裏付ける試験	18
第6章	ヒト体性幹細胞加工医薬品等の体内動態	18
第7章	臨床試験	19



## 第1章 総則

### 第1 目的

本指針は、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 「ヒト体性幹細胞」とは、ヒトから採取された細胞又は当該細胞の分裂により生ずる細胞であって、多分化能を有し、かつ自己複製能力を維持しているもの又はそれに類することが推定されるもの及びこれらに由来する細胞のうち、以下のものを指す。すなわち、組織幹細胞(例えば、造血幹細胞、神経幹細胞、間葉系幹細胞(骨髄間質幹細胞・脂肪組織由来幹細胞を含む。))、角膜上皮幹細胞、皮膚幹細胞、毛細胞幹細胞、腸管幹細胞、肝幹細胞及び骨格筋幹細胞)及びこれを豊富に含む細胞集団(例えば、造血系幹細胞を含む全骨髄細胞)をいい、血管前駆細胞、臍帯血及び骨髄間質細胞を含む。また、体外でこれらの細胞を培養して得られた細胞を含む。ヒト胚性幹細胞(ES細胞)、ヒト人工多能性幹細胞(iPS細胞)、ヒト人工多能性幹細胞様細胞(iPS様細胞)、ヒト胚性生殖細胞(EG細胞)、ヒト多能性生殖系列幹細胞(mGS細胞)、ヒト単為発生幹細胞、ヒト核移植幹細胞、ヒトがん細胞、ヒトがん幹細胞、及びこれらに由来する細胞は含まない(注:ヒト胚性幹細胞(ES細胞)、ヒト人工多能性幹細胞(iPS細胞)、ヒト人工多能性幹細胞様細胞(iPS様細胞)の定義はそれぞれ「ヒトES細胞加工医薬品等の品質及び安全性確保に関する指針」、「ヒト(同種/自己)iPS(様)細胞加工医薬品等の品質及び安全性確保に関する指針」に従う)。
- 2 「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・分化、細胞の株化、細胞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。
- 3 「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、最終製品であるヒト(同種)体性幹細胞加工医薬品等を出荷するまでに行う行為をいう。
- 4 「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。
- 5 「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。
- 6 「ドナー」とは、ヒト(同種)体性幹細胞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。

- 7 「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

製造方法について、下記の事項に留意し、必要な情報を明らかにすること。これらの情報等は、最終製品の品質や安全性等の確保に資するとともに、品質の恒常性を製造方法面から保証するために重要なものである。しかし、品質・安全性等の確保や品質の恒常性保証は、製造方法全体で相互補完的方策により達成され、その方策が合理的で合目的性に叶うことが最も肝要である。したがって、最終製品や中間製品における品質試験や管理あるいは製造過程における管理において、品質・安全性等の確保や品質の恒常性保証という目的が達成されるのであれば、その科学的妥当性を明示した上で下記の措置や情報の一部を省略しても差し支えない。

### 第1 原材料及び製造関連物質

#### 1 原材料となるヒト細胞・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・組織を原材料として選択した理由を説明すること。特に原材料となる体性幹細胞が有用な分化能を有することを明らかとすること。この場合の分化能とは、多系統への分化能を指しているわけではなく、生体内での機能を期待する細胞への分化能を有することを示すことで良い。また、*in vitro* での分化能の提示が望ましいが、合理的な説明がつけば *in vivo* での分化で示すことは可能である。例えば、体性幹細胞の1つである心筋幹細胞を原材料とする場合には、心筋幹細胞が心筋細胞へと分化しうることを示すことで良い。

これらの検討結果から原材料となる細胞・組織を新たに調製する際に選択すべき重要細胞特性指標を明らかにしておくこと。検討に際しては、検体の量的制限や技術的限界もあり、可能な範囲で考慮すれば良い。

###### ② ドナーの選択基準、適格性

ドナーの選択が倫理的に適切に行われ、かつ適切な手続きで行われたことを示すこと。また、年齢、性別、民族学的特徴、遺伝的特徴、病歴、健康状態、採取細胞・組織を介して感染する可能性がある各種感染症に関する検査項目、免疫適合性等を考慮して、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。ドナ

一のゲノム・遺伝子解析を行う場合は、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」（平成16年文部科学省・厚生労働省・経済産業省告示第1号）に従うこと。

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

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

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

### (3) ドナーに関する記録

原材料となる細胞・組織について、安全性を確保するために必要な情報が確認できるよう、ドナー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。なお、試験的検体のドナー及び患者のそれぞれについて、それぞれの細胞の使用目的に応じた情報の整備及び保管方策でよい。

### (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

原材料となる細胞・組織の採取者及び採取医療機関等に求めるべき技術的要件について、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・組織の採取部位の選定基準及び採取方法を示し、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。細胞・組織の採取方法については、用いられる器具及び薬剤、微生物汚染防止、取り違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・組織のドナーに対する説明及び同意の内容を、臨床応用も含めて規定すること。

#### 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え防止策

採取した細胞・組織を一定期間保存する必要がある場合には、保存条件や保存期間及びその設定の妥当性について明らかにすること。また、取り違えを避けるための手段や手順等について具体的に説明すること。

⑦ 運搬方法

採取した細胞・組織を運搬する必要がある場合には、運搬容器、運搬手順(温度管理等を含む。)を定め、その妥当性について明らかにすること。

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 フィーダー細胞を使用する場合には、平成 12 年 7 月 14 日付け医薬審第 873 号通知厚生労働省医薬食品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」、平成 14 年 7 月 9 日付け医政研発第 0709001 号厚生労働省医政局研究開発振興課長通知「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」及び平成 16 年 7 月 2 日付け医政研発第 0702001 号厚生労働省医政局研究開発振興課長通知「「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、使用時の分裂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。
- ⑤ 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。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。一方、原則として、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。やむを得ず適用する際には十分な注意を払うと同時に、患者からインフォームド・コンセントを得る必要がある。

- ⑥ 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。
- ⑦ 最終製品に含有す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。

## (2) 非細胞成分と組み合わせる場合

### ① 細胞以外の原材料の品質及び安全性について

細胞とともに最終製品の一部を構成する非細胞の原材料(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 目的とする細胞との相互作用について

最終製品中又は中間製品中の細胞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 非細胞成分が、想定される臨床適応に必要な最終製品中又は中間製品中の細胞の機能、生育能力、活性及び安定性に悪影響を与えないこと。
- イ 非細胞成分との相互作用によって起こり得る、最終製品中又は中間製品中の細胞の変異、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 想定される臨床適応において期待される非細胞成分の性質が、最終製品中又は中間製品中の細胞との相互作用によって損なわれないこと。

### ③ 細胞と適用部位を隔離する目的で非細胞成分を使用する場合

非細胞成分を細胞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 免疫隔離が目的の場合、その程度
- イ 最終製品中の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 非細胞成分が適用部位周辺に及ぼす影響
- オ 目的細胞由来の目的生理活性物質の薬理効果に期待し、かつ目的細胞や未分化細胞と適用部位との隔離を目的する場合、非細胞成分の崩壊等により細胞等が漏出しないこと。

## (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。

上記の記述にかかわらず、最新の知見に基づき、細胞に導入される遺伝子が、化学的にも、機能的にも最終製品の一部を構成せず、製造工程中の試薬として使用されると判断された場合は、使用の目的に適う品質及び安全性が確保されていることを明らかにすることにより。

## 第2 製造工程

ヒト体性幹細胞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

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

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

#### (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。治験開始前段階にあっては、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、体性幹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。体性幹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) 最終製品の構成要素となる細胞の作製**

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

**(5) 細胞株の樹立と使用**

細胞株の樹立に当たっては、ドナーの遺伝的背景を可能な範囲で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及び安定性を保持するため、必要な特性解析要件（細胞純度、形態学的評価、表現型特異的マーカー、核型など）を同定してその基準を設定するとともに、安定性を維持したまま増殖が可能な継代数を示すこと。

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**

ヒト体性幹細胞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**

ヒト体性幹細胞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 最終製品の構成要素となる細胞の特性解析**

最終製品の構成要素となる細胞については、例えば、目的外の細胞の混入を規定するための細胞純度をはじめとして、細胞生存率、形態学的特徴、細胞増殖特性、生化学



学的指標、免疫学的指標、特徴的産生物質、核型、その他適切な遺伝型又は表現型の指標を解析するとともに、必要に応じて機能解析を行うこと。また、培養期間の妥当性及び細胞の安定性を評価するために、予定の培養期間を超えて培養した細胞において目的外の変化がないことを適切な細胞特性指標等を用いて示すこと。これらの検討結果から患者に製品を適用する際に選択すべき重要細胞特性指標を明らかにしておくこと。これらの検討に際しては、あらかじめ試験的検体を用いた検討によって実施・検証しておくことでも良いが、これらの検討結果から患者由来の細胞に適用する際に選択すべき重要細胞特性指標を明らかにしておくこと。検討に際しては、検体の量的制限や技術的限界もあり、可能な範囲で考慮すればよい。適用後に体内での増殖等を期待する場合には、設定された基準による継代数又は分裂回数で期待された機能を発揮することを明らかにすること。

#### 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 製品の保存及び運搬

中間製品又は最終製品を保存及び運搬する必要がある場合には、保存方法や期間及び運搬容器、運搬手段（温度管理等を含む。）を定め、その妥当性を明らかにすること（第3章参照）。

#### 6 製造方法の恒常性

ヒト体性幹細胞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、あらかじめ評価しておくこと。この際、試験的検体を用いても良い。また、中間製品で評価することが、原材料としての細胞・組織の適格性や中間製品までの製造過程の妥当性をよく反映し、また、最終製品に向けての適正な道標となるなど、合理的な場合もあるので、必要に応じて選択肢とすること。

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

#### 7 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治験開始時又は承認申請に使用するときには、製造方法変更前後の製品の同等性／同質性を示すこと。

### 第3 最終製品の品質管理

#### 1 総論

ヒト体性幹細胞加工医薬品等の品質管理全体の方策としては、最終製品の規格及び

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

最終製品の規格及び試験方法については、対象とする細胞・組織の種類及び性質、製造方法、各製品の臨床使用目的や使用方法、安定性、利用可能な試験法等によって異なると考えられるため、取り扱う細胞・組織によってこれらの違いを十分に考慮して設定すること。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、治験開始前の評価は、治験を実施する製品の品質として問題がないとみなせることを確認することを目的としている。したがって、無菌性やマイコプラズマの否定など必須なものを除き、治験後に臨床試験成績と品質の関係を論ずるために必要な品質特性については、やむを得ない場合は少数の試験的検体の実測値をもとにその変動をしかるべき範囲内に設定する暫定的な規格及び試験方法を設定することで差し支えない。ただし、規格及び試験方法を含む品質管理法は治験の進行とともに充実・整備を図ること。

## 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、治験開始時においては、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うち、重要細胞特性指標を選択して、目的とする細胞であることを確認すること。

### (3) 細胞の純度試験

目的細胞以外の未分化細胞、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、中間製品の品質管理等を勘案し、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、治験開始時においては、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、治験開始時においては、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成分、培地成分（フィーダー細胞を含む）、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、治験開始時においては、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、あらかじめ試験的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。マイコプラズマ否定試験については、検証された核酸増幅法を用いることでもよい。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しれないが、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

細胞種、臨床使用目的又は特性等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、治験開始時においては、少数の試験的検体による実測値を踏まえた暫定的な規格を設定することでも良い。

#### (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ヒト体性幹細胞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、治験開始時においては、少数の試験的検体による実測値を踏まえた暫定的な規格を設定することでも良い。

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

### 第3章 ヒト体性幹細胞加工医薬品等の安定性

製品化したヒト体性幹細胞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、製品化したヒト体性幹細胞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 ヒト体性幹細胞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製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

ある可能性がある。その際は、対象疾患ごとに適切なモデル動物を用いた試験の実施を考慮する（注：例えば神経疾患ならばサル等、循環器疾患ならばブタ・イヌ等が適している場合がある）。ただし、ヒト体性幹細胞加工医薬品等を構成する細胞と同一の特徴を有する細胞集団が同一の手法にてヒト以外の動物種からも得られるとは限らず、また同様の培養条件等で同等／同質な製品が製造できるとも限らないことから、このような試験の採用、実施及び評価にあたっては、慎重な事前検討や対応が必要である。ヒト以外の動物種から得た体性幹細胞加工製品を用いて動物実験を行った場合、その外挿可能性を説明すること。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、製品の特性及び臨床適用法等を考慮して必要かつ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 製品の適用が患者の正常な細胞又は組織に影響を与える可能性、及びその安全性について検討、考察すること。
- 4 製品の種類に応じて、患者への適用により異所性組織を形成する可能性、及びその安全性について検討、考察すること。
- 5 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、及びその安全性について検討、考察すること。
- 6 良性腫瘍を含む腫瘍形成及びがん化の可能性については、製品の種類や特性、投与経路、対象疾患、生着部位及び試験系の妥当性等を総合的に勘案して考察すること。必要に応じて適切な動物モデル等を利用した検討を行うこと。また、腫瘍形成又はがん化の可能性がある場合には、期待される有効性との関係等を勘案して、使用することの妥当性及び合理性について明らかにすること（注：造腫瘍性試験において最も重要なのは、最終製品が患者に適用された場合の製品の造腫瘍性を可能な限りの確に評価することである。しかし、十分な細胞数が得られない等の理由により最終製品を構成する細胞を用いることができず、中間製品の細胞を用いて最終製品の造腫瘍性を評価しなければならない場合も想定される。また、動物モデルを使用した造腫瘍性試験においては、細胞の分散や足場への接着、細胞密度、投与部位等の条件が最終製品と必ずしも一致するものではない。さらに、動物の種・系統・免疫状態による感度差もある。これらの事情を総合的に勘案して、最終製品の造腫瘍性を評価する必要がある。また、最終製品の造腫瘍性に起因する患者へのリスクについては、対象疾患を治療することによる患者へのベネフィット等とのバランスを踏まえて合理的に評価すること）。
- 7 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、良性腫瘍を含む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。染色体への挿入の可能性のあるベクターを用いた場合には、挿入変異による細胞の異常増殖性や造腫瘍性についての評価や臨床適応に当たっての長期フォローアップの必要性を考慮すること。

- 8 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、かつ临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 ヒト体性幹細胞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、ヒト体性幹細胞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臨床効果の実現可能性(Proof-of-Concept)を示すこと。
- 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臨床効果の実現可能性(Proof-of-Concept)を示すこと。
- 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 治験開始段階では、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 ヒト体性幹細胞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(注:体内動態に関する試験等には、例えば組織学的検討、AluPCR法、磁気共鳴画像診断法(MRI)、陽電子放射断層撮影法(PET)、単一光子放射断層撮影法(SPECT)、バイオイメージングなどがある)。
- 2 ヒト体性幹細胞加工医薬品等の用法(投与方法)について、動物実験を通してその合理性を明らかとすること。特に、全身投与にあつては投与後の細胞の全身分布を動物実験などから外挿し、有用性の観点から議論すること(注:投与経路ごとにどこに生着するかは不明であるが、全身投与よりも局所投与が望ましいと想定される。しか

し、全身投与であってもその有用性において被投与患者に有益であると合理的に説明が可能である場合には用法として設定可能である。例えば、生着を期待する臓器以外への分布を最低限に抑えることが合理的な投与方法であると想定される。また、異所性生着しても、被投与患者にとって不利益（生体機能への悪影響）が生じない場合は用法として肯定できる可能性がある。異所性分化による不利益とは、例えば間葉系幹細胞が心臓に異所性生着して骨形成する場合は想定され、それが不整脈を惹起したような場合である。）

- 3 当該細胞・組織が特定の部位（組織等）に直接適用又は到達して作用する場合には、その局在性を明らかにし、局在性が製品の有効性・安全性に及ぼす影響を考察すること。

## 第7章 臨床試験

ヒト体性幹細胞加工医薬品等の臨床試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段階における安全性については、臨床上的有用性を勘案して評価されるものであり、ヒト体性幹細胞加工医薬品等について予定されている国内の臨床試験計画について以下の項目を踏まえて評価すること。その際、明らかに想定される製品のリスクを現在の学問・技術を駆使して排除し、その科学的妥当性を明らかにした上で、なお残る「未知のリスク」と、重篤で生命を脅かす疾患、身体の機能を著しく損なう疾患、身体の機能や形態を一定程度損なうことによりQOLを著しく損なう疾患などに罹患し、従来の治療法では限界があり、克服できない患者が「新たな治療機会を失うことにより被るかもしれないリスク」とのリスクの大小を勘案し、かつ、これらすべての情報を開示した上で患者の自己決定権に委ねるという視点を持つこと、すなわち、リスク・期待されるベネフィットの情報を開示した上で臨床試験に入るかどうかの意思決定は患者が行うという視点を入れて評価することが望まれる。

- 1 対象疾患
- 2 対象とする被験者及び除外すべき被験者の考え方
- 3 ヒト体性幹細胞加工医薬品等及び併用薬の適用を含めた被験者に対して行われる治療内容（注：投与・移植した細胞の機能を維持・向上・発揮させるために併用する薬剤が想定される場合、当該薬剤の作用を *in vitro* あるいは *in vivo* で検証すること）。
- 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製品並びに患者の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を踏まえて適切に計画すること。

薬食発0907第5号  
平成24年9月7日

各都道府県知事 殿

厚生労働省医薬食品局長

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」の別添及び平成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「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」の別添（以下、「平成20年2指針」という。）により通知したところである。

今般、ヒト由来の人工多能性幹細胞（iPS細胞）又は人工多能性幹細胞様細胞（iPS様細胞）のうち、同種由来iPS細胞又はiPS様細胞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は、平成20年2指針に代えて、新たな指針を別添「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」のとおりとりまとめたので、御了知の上、貴管内関係業者等が同種由来iPS細胞又はiPS様細胞を加工した医薬品又は医療機器を開発する際等に参考として利用できるよう周知願いたい。



## 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

はじめに

1. 本指針は、ヒト由来の人工多能性幹細胞（iPS 細胞）又は人工多能性幹細胞様細胞（iPS 様細胞）のうち、同種由来 iPS 細胞又は iPS 様細胞（自己由来 iPS 細胞又は iPS 様細胞を除く）を加工した医薬品又は医療機器（以下「ヒト（同種）iPS（様）細胞加工医薬品等」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、ヒト iPS（様）細胞加工医薬品等は、ヒト体細胞より人為的に作製された各種 iPS（様）細胞を人為的に分化誘導し、得られた特定の細胞をそのまま利用、あるいはさらに加工することにより製造されるため、その製造方法、中間製品や目的細胞の種類及び特性、臨床上的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したりする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. 薬事戦略相談あるいは治験相談におけるヒト iPS（様）細胞加工医薬品等の治験を開始するに当たっての基本的留意点は、当該製品にヒトへの適用により支障となる品質及び安全性上の明らかな問題が存在するか否か、臨床で得られた知見との関係性を照合できる程度に品質特性が把握され、その一定範囲の恒常性が確保されているか否かを確認することにある。その際、明らかに想定される製品のリスクを現在の学問・技術を駆使して排除し、その科学的妥当性を明らかにした上で、なお残る「未知のリスク」と、重篤で生命を脅かす疾患、身体の機能を著しく損なう疾患、身体の機能や形態を一定程度損なうことにより QOL を著しく損なう疾患などに罹患し、従来の治療法では限界があり、克服できない患者が「新たな治療機会を失うことにより被るかもしれないリスク」とのリスクの大小を勘案し、かつ、これらすべての情報を開示した上で患者の自己決定権に委ねるという視点を持つこと、すなわち、リスク・期待されるベネフィットの情報を開示した上で、治験に入るかどうかの意思決定は患者が行うという視点を入れて評価することも重要である。したがって、治験開始の場合、その届出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、治験開始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、治験開始に必要な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。

3. 本指針に記述された事項、試験方法、基準その他の技術要件は、それぞれの目的に適う内容と程度をもとに考慮、選択、適用、及び評価されるべきことを意図しており、必ずしも常に同一（最高）水準での解釈、運用を求めている訳ではない。この趣旨を踏まえ、申請者は、考慮した背景、選択、適用、及び評価した内容と程度がそれぞれの目的に相応しく、科学的合理性からみて妥当であることを明らかにすること。

## 目次

第1章 総則	5
第1 目的	5
第2 定義	5
第2章 製造方法	6
第1 原材料及び製造関連物質	6
1 iPS（様）細胞作成の原材料となるヒト体細胞	6
(1) 起源及び由来、選択理由	6
(2) 原材料となる細胞・組織の特性と適格性	6
(3) ドナーに関する記録	7
(4) 細胞・組織の採取・保存・運搬	7
2 目的とする細胞・組織以外の原材料及び製造関連物質	8
(1) 細胞の培養を行う場合	8
(2) 非細胞成分と組み合わせる場合	10
(3) 細胞に遺伝子工学的改変を加える場合	10
(4) 細胞にタンパク質を導入する場合	11
(5) 薬剤等の処理により細胞の初期化、脱分化又は分化誘導を行う場合	11
(6) 物理的方法により細胞の初期化、脱分化又は分化誘導を行う場合	12
(7) コンビネーションにより細胞の初期化、脱分化又は分化誘導を行う場合	12
3 ヒト iPS（様）細胞の樹立	12
4 ヒト iPS（様）細胞株の保存及び運搬方法	12
5 記録の作成及び保管方法	12
第2 製造工程	12
1 ロット構成の有無とロットの規定	13
2 製造方法	13
(1) 受入検査	13
(2) 細菌、真菌及びウイルス等の不活化・除去	13
(3) 組織の細切、細胞の分離、特定細胞の単離等	13
(4) ヒト iPS（様）細胞株の樹立	13
(5) ヒト iPS（様）細胞由来の中間細胞株の樹立	13
(6) 最終製品の構成要素となる細胞の作成	14
(7) 細胞のバンク化	14
(8) 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	14
3 最終製品の構成要素となる細胞の特性解析	14
4 最終製品の形態、包装	14
5 製品の保存及び運搬	15
6 製造方法の恒常性	15
7 製造方法の変更	15

第3章	最終製品の品質管理	15
1	総論	15
2	最終製品の品質管理法	16
(1)	細胞数並びに生存率	16
(2)	確認試験	16
(3)	細胞の純度試験	16
(4)	細胞由来の目的外生理活性物質に関する試験	16
(5)	製造工程由来不純物試験	16
(6)	無菌試験及びマイコプラズマ否定試験	17
(7)	エンドトキシン試験	17
(8)	ウイルス試験	17
(9)	効能試験	17
(10)	力価試験	17
(11)	力学的適合性試験	18
第3章	ヒト iPS (様) 細胞加工医薬品等の安定性	18
第4章	ヒト iPS (様) 細胞加工医薬品等の非臨床安全性試験	18
第5章	ヒト iPS (様) 細胞加工医薬品等の効力又は性能を裏付ける試験	20
第6章	ヒト iPS (様) 細胞加工医薬品等の体内動態	20
第7章	臨床試験	21

## 第1章 総則

### 第1 目的

本指針は、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 「ヒト人工多能性幹細胞 (iPS 細胞)」とは、ヒト体細胞を遺伝子導入・タンパク質導入・薬剤処理等により人為的に初期化して得られる細胞又は当該細胞の分裂により生ずる細胞であって、内胚葉、中胚葉及び外胚葉の細胞に分化する性質を有し、かつ、自己複製能力を維持しているもの又はそれに類する能力を有することが推定されるものをいう。
- 2 「ヒト人工多能性幹細胞様細胞 (iPS 様細胞)」とは、ヒト体細胞を、遺伝子導入・タンパク質導入・薬剤処理等により人為的に脱分化して得られる細胞又は当該細胞の分裂により生ずる細胞であって、少なくとも内胚葉、中胚葉又は外胚葉の一部の細胞に分化する性質を有し、自己複製能を維持しているもの又はそれに類する能力を有することが推定されるものを指す。
- 3 「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・分化、細胞の株化、細胞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。
- 4 「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、最終製品であるヒト(同種) iPS (様) 細胞加工医薬品等を出荷するまでに行う行為をいう。
- 5 「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。
- 6 「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。
- 7 「ドナー」とは、ヒト(同種) iPS (様) 細胞加工医薬品等の原料となる体細胞を提供するヒトをいう。
- 8 「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。
- 9 「タンパク質導入体」とは、目的タンパク質を標的細胞に導入するための薬剤及び目的タンパク質等から構成されるものをいう。

## 第2章 製造方法

製造方法について、下記の事項に留意し、必要な情報を明らかにすること。これらの情報等は、最終製品の品質や安全性等の確保に資するとともに、品質の恒常性を製造方法面から保証するために重要なものである。しかし、品質・安全性等の確保や品質恒常性保証は、製造方法全体で相互補完的方策により達成され、その方策が合理的で合目的性に叶うことが最も肝要である。したがって、最終製品や中間製品における品質試験や管理あるいは製造過程における管理において、品質・安全性等の確保や品質恒常性保証という目的が達成されるのであれば、その科学的妥当性を明示した上で下記の措置や情報の一部を省略しても差し支えない。

### 第1 原材料及び製造関連物質

#### 1 iPS（様）細胞作製の原材料となるヒト体細胞

##### (1) 起源及び由来、選択理由

ヒト iPS（様）細胞株の樹立に使用する体細胞の起源及び由来について説明し、当該体細胞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、当該体細胞を原材料として選択した理由を説明すること。

これらの検討結果から原材料となる体細胞を新たに調製する際に選択すべき重要細胞特性指標を明らかにしておくこと。検討に際しては、検体の量的制限や技術的限界もあり、可能な範囲で考慮すれば良い。

###### ② ドナーの選択基準、適格性

ドナーの選択が倫理的に適切に行われ、かつ適切な手続きで行われたことを示すこと。また、年齢、性別、民族学的特徴、遺伝的特徴、病歴、健康状態、採取細胞・組織を介して感染する可能性がある各種感染症に関する検査項目、免疫適合性等を考慮して、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。ドナーのゲノム・遺伝子解析を行う場合は、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」（平成16年文部科学省・厚生労働省・経済産業省告示第1号）に従うこと。

感染症に関連しては、特にB型肝炎(HBV)、C型肝炎(HCV)、ヒト免疫不全ウイルス(HIV)感染症、成人T細胞白血病(HTLV)、パルボウイルスB19感染症については、問診及び検査(血清学的試験や核酸増幅法等)により否定すること。また、サイトメガロウイルス感染、EBウイルス感染及びウエストナイルウイルス感染については必要に応じて検査により否定すること。

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

・梅毒トレポネーマ、クラミジア、淋菌、結核菌等の細菌による感染症

- ・敗血症及びその疑い
- ・悪性腫瘍
- ・重篤な代謝及び内分泌疾患
- ・膠原病及び血液疾患
- ・肝疾患
- ・伝達性海綿状脳症及びその疑い並びにその他の認知症
- ・特定の遺伝性疾患や家族歴

なお、特定の遺伝的特徴や各種感染症に関する調査等で iPS (様) 細胞から分化が進んだ細胞の段階 (中間製品やセル・バンク) で行うことが可能で、かつ科学的合理性からみてより適切な項目については、その妥当性を明示した上で、分化細胞の段階での検討に委ねてもよい。

### (3) ドナーに関する記録

原材料となる体細胞について、安全性を確保するために必要な情報が確認できるよう、ドナー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。なお、試験的検体のドナー及び患者のそれぞれについて、それぞれの細胞の使用目的に応じた情報の整備及び保管方策でよい。

### (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

細胞・組織の採取者及び採取医療機関等に求めるべき技術的要件について、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・組織の採取部位の選定基準及び採取方法を示し、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。細胞・組織の採取方法については、用いられる器具及び薬剤、微生物汚染防止、取り違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・組織のドナーに対する説明及び同意の内容を、臨床応用も含めて規定すること。

#### 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

採取した体細胞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

採取した細胞・組織や iPS（様）細胞作製原料となる体細胞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並びに製造関連事項

目的とする細胞・組織以外の原材料及び製造関連物質並びに製造関連事項を明らかにし、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。

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。

なお、この項に記載された技術要件は、iPS（様）細胞作製の原材料となるヒト体細胞から iPS（様）細胞への初期化や脱分化及び iPS（様）細胞から最終製品に至る分化誘導過程において該当する場合に留意されるべき事項である。

### (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 フィーダー細胞を使用する場合には、平成12年7月14日付け医薬審第873号通知厚生労働省医薬食品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」、平成14年7月9日付け医政研発第0709001号厚生労働省医政局研究開発振興課長通知「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」及び平成16年7月2日付け医政研発第0702001号厚生労働省医政局研究開発振興課長通知「「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、使用時の分裂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。
- ⑤ 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。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。一方、原則として、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。やむを得ず適用する際には十分な注意を払うと同時に、患者からインフォームド・コンセントを得る必要がある。
- ⑥ 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。
- ⑦ 最終製品に含有す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。

- ⑧ 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) 非細胞成分と組み合わせる場合

### ① 細胞以外の原材料の品質及び安全性について

細胞とともに最終製品の一部を構成する非細胞の原材料(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 目的とする細胞との相互作用について

最終製品中又は中間製品中の細胞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 非細胞成分が、想定される臨床適応に必要な最終製品中又は中間製品中の細胞の機能、生育能力、活性及び安定性に悪影響を与えないこと。

イ 非細胞成分との相互作用によって起こり得る、最終製品中又は中間製品中の細胞の変異、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 想定される臨床適応において期待される非細胞成分の性質が、最終製品中又は中間製品中の細胞との相互作用によって損なわれないこと。

### ③ 細胞と適用部位を隔離する目的で非細胞成分を使用する場合

非細胞成分を細胞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 免疫隔離が目的の場合、その程度

イ 最終製品中の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 非細胞成分が適用部位周辺に及ぼす影響

オ 目的細胞由来の目的生理活性物質の薬理効果に期待し、かつ目的細胞や未分化細胞と適用部位との隔離を目的する場合、非細胞成分の崩壊等により細胞等が漏出しないこと。

## (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。

上記の記述にかかわらず、最新の知見に基づき、細胞に導入される遺伝子が、化学的にも、機能的にも最終製品の一部を構成せず、製造工程中の試薬として使用されると判断された場合は、使用の目的に適う品質及び安全性が確保されていることを明らかにすることによりよい。

#### (4) 細胞にタンパク質を導入する場合

細胞にタンパク質を導入する場合は、次に掲げる事項に関する詳細を示すこと。

- ① 導入タンパク質の構造、由来及び生物活性、物理化学的性質等の品質特性
- ② 導入タンパク質の入手方法、製造方法、品質管理方法及び更新方法等に関する情報
- ③ 導入タンパク質の細胞への導入方法
- ④ タンパク質導入のために使用される化学物質等については、その構造及び生物活性、物理化学的性質等の品質特性
- ⑤ タンパク質導入体を作製する場合にはその製造方法、品質管理方法及び更新方法等に関する情報
- ⑥ 導入タンパク質を作製するための細胞のバンク化及びバンクの管理方法

上記の記述にかかわらず、細胞に導入されるタンパク質が、化学的にも、機能的にも最終製品の一部を構成せず、製造工程中の試薬として使用される場合は、使用の目的に適う品質及び安全性が確保されていることを明らかにすることによりよい。

#### (5) 薬剤等の処理により細胞の初期化、脱分化又は分化誘導を行う場合

薬剤等の処理により細胞の初期化、脱分化又は分化誘導を行う場合は、次に掲げる事項に関する詳細を示すこと。

- ① 目的薬剤等の構造、由来及び生物活性、物理化学的性質等の品質特性
- ② 目的薬剤等の入手方法、製造方法、品質管理方法及び更新方法等に関する情報

③ 目的薬剤等による細胞処理の方法

**(6) 物理的方法により細胞の初期化、脱分化又は分化誘導を行う場合**

物理的方法により細胞の初期化、脱分化又は分化誘導を行う場合は、その方法の詳細を示すこと。

**(7) コンビネーションにより細胞の初期化、脱分化又は分化誘導を行う場合**

遺伝子工学的改変、タンパク質導入、薬剤処理及び物理的方法のうち、複数の方法のコンビネーションにより細胞の初期化、脱分化又は分化誘導を行う場合は、その方法の詳細を示すこと。

**3 ヒト iPS (様) 細胞株の樹立**

ヒト iPS (様) 細胞株の樹立に当たっては、ドナーの遺伝的背景を可能な範囲で理解したうえで樹立すること。原材料となる体細胞から iPS (様) 細胞株樹立までの方法 (ヒト体細胞を得るための方法、体細胞の分離・培養、体細胞の初期化/脱分化、初期化/脱分化細胞の分離及び株化の方法、ヒト iPS (様) 細胞株樹立までの各段階での培地、培養条件、培養期間及び収率等) を明確にし、可能な範囲でその妥当性を明らかにすること。

ヒト iPS (様) 細胞株の品質の均質性及び安定性を保持するため、各種細胞特性指標 (例えば細胞純度、形態学的評価、HLA タイピング、表現型特異的マーカー、核型、DNA フィンガープリンティング、細胞増殖特性、多分化能など) のうちから重要細胞特性指標を同定してその基準を設定するとともに、設定された基準による品質を維持したまま増殖が可能な継代数又は分裂回数を示すこと。

**4 ヒト iPS (様) 細胞株の保存及び運搬方法**

ヒト iPS (様) 細胞株について、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細胞株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、細胞株を樹立後直ちに使用するような場合はこの限りではない。

また、ヒト iPS (様) 細胞株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。

**5 記録の作成及び保管方法**

2～4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。

**第2 製造工程**

ヒト iPS (様) 細胞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

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

原材料となる細胞・組織や体細胞の受け入れからヒト iPS (様) 細胞株の樹立及び分化段階の進んだ細胞を経て最終製品に至る製造の方法の概要を示すとともに、具体的な処理内容及び必要な工程管理、品質管理の内容を明らかにすること。

### (1) 受入検査

原材料となる細胞・組織や体細胞、ヒト iPS (様) 細胞株について、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、細胞の特性解析及び微生物試験等)と各項目の判定基準を設定すること。治験開始前段階にあつては、それまでに得られた試験検体での実測値を提示し、これらを踏まえた暫定値を示すこと。

### (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、ヒト体細胞あるいはヒト iPS (様) 細胞株について、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、iPS (様) 細胞を作製するための体細胞の分離、特定体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。特定体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) ヒト iPS (様) 細胞株の樹立

ヒト iPS (様) 細胞株の樹立に当たっては、ドナーの遺伝的背景を可能な範囲で理解したうえで樹立すること。原材料となる体細胞から iPS (様) 細胞株樹立までの方法を明確にし、可能な範囲でその妥当性を明らかにすること。また、重要細胞特性指標を同定してその基準を設定するとともに、設定された基準による品質を維持したまま増殖が可能な継代数又は分裂回数を示すこと(第2章第1の3を参照)。

### (5) ヒト iPS (様) 細胞由来の中間細胞株の樹立

中間製品としての細胞株(中間細胞株)を樹立することが、安全な最終目的製品を安定的に製造する上で重要でむしろ科学的に合理的な場合が考えられる。そのような方策を選択した場合は、その利点と妥当性を説明しておくこと。別の表現型を示す細胞株を段階的に樹立する際は、それぞれの細胞株樹立までの方法(分化誘導方法、目的とする細胞の分離・培養及び株化の方法、細胞株樹立までの各段階での培地、培養条件、培養期間及び収率等)を明確にし、可能な範囲でその妥当性を明らかにすること。

中間細胞株の品質の均質性及び安定性を保持するため、各種細胞特性解析指標(例えば細胞純度、形態学的評価、表現型特異的マーカー、核型、細胞増殖特性、

分化能など)のうちから重要細胞特性指標を同定してその基準を設定するとともに、設定された基準による品質を維持したまま増殖が可能な継代数又は分裂回数を示すこと。検討に際しては、細胞の量的制限や技術的限界もあり、可能な範囲で考慮すれば良い。

なお、このように樹立した中間細胞株をバンク化して活用する場合も考えられるが、その際は、(7)を参照すること。

#### (6) 最終製品の構成要素となる細胞の作製

ヒト iPS (様) 細胞株から直接、あるいはヒト iPS (様) 細胞由来中間細胞株を経て、最終製品の構成要素となる細胞を作製する方法(分化誘導方法、目的とする細胞の分離・培養の方法、培養の各段階での培地、培養条件、培養期間及び収率等)を明確にし、可能な範囲でその妥当性を明らかにすること。

#### (7) 細胞のバンク化

ヒト iPS (様) 細胞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。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。

#### (8) 製造工程中の取り違え及びクロスコンタミネーション防止対策

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

### 3 最終製品の構成要素となる細胞の特性解析

最終製品の構成要素となる細胞については、例えば、未分化細胞の混入や目的外の細胞の混入を規定するための細胞純度をはじめとして、細胞生存率、形態学的特徴、細胞増殖特性、生化学的指標、免疫学的指標、特徴的産生物質、核型、分化能その他適切な遺伝型又は表現型の指標を解析するとともに、必要に応じて機能解析を行うこと。また、培養期間の妥当性及び細胞の安定性を評価するために、予定の培養期間を超えて培養した細胞において目的外の変化がないことを適切な細胞特性指標等を用いて示すこと。これらの検討に際しては、あらかじめ試験的検体を用いた検討によって実施・検証しておくことでも良いが、これらの検討結果から患者に製品を適用する際に選択すべき重要細胞特性指標を明らかにしておくこと。検討に際しては、検体の量的制限や技術的限界もあり、可能な範囲で考慮すればよい。適用後に体内での増殖等を期待する場合には、設定された基準による継代数又は分裂回数で期待された機能を発揮することを明らかにすること。

### 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 製品の保存及び運搬

中間製品又は最終製品を保存及び運搬する必要がある場合には、保存方法や期間及び運搬容器、運搬手段（温度管理等を含む。）を定め、その妥当性を明らかにすること（第3章参照）。

## 6 製造方法の恒常性

ヒト iPS（様）細胞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、あらかじめ評価しておくこと。この際、試験的検体を用いても良い。また、中間製品で評価することが、原材料としての細胞・組織の適格性や中間製品までの製造過程の妥当性をよく反映し、また、最終製品に向けての適正な道標となるなど、合理的な場合もあるので、必要に応じて選択肢とすること。

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

## 7 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治験開始時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／同質性を示すこと。

# 第3 最終製品の品質管理

## 1 総論

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

ヒト iPS（様）細胞加工医薬品等においては目的細胞以外の未分化細胞の混入を否定するための方策が最も重要な要件の一つである。可能な限り中間製品の段階で目的細胞以外の未分化細胞の混入を否定することが望ましい。

最終製品の規格及び試験方法については、対象とする細胞・組織の種類及び性質、製造方法、各製品の臨床使用目的や使用方法、安定性、利用可能な試験法等によって異なると考えられるため、取り扱う細胞・組織によってこれらの違いを十分に考慮して設定すること。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、治験開始前の評価は、治験を実施する製品の品質として問題がないとみなせることを

確認することを目的としている。したがって、無菌性やマイコプラズマの否定など必要なものを除き、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、治験開始時においては、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うち、重要細胞特性指標を選択して、目的とする細胞であることを確認すること。

### (3) 細胞の純度試験

目的細胞以外の未分化細胞、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、中間製品の品質管理等を勘案し、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、治験開始時においては、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、治験開始時においては、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成分、培地成分（フィーダー細胞を含む）、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、治験開始時においては、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、あらかじめ試験的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。マイコプラズマ否定試験については、検証された核酸増幅法を用いることでもよい。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) ウイルス試験

原材料ないし製造工程において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、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、iPS(様)細胞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しれないが、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

細胞種、臨床使用目的又は特性等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、治験開始時においては、少数の試験的検体による実測値を踏まえた暫定的な規格を設定することでも良い。

#### (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ヒト iPS（様）細胞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、治験開始においては、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、治験開始時においては、少数の試験的検体による実測値を踏まえた暫定的な規格を設定することでも良い。

### 第3章 ヒト iPS（様）細胞加工医薬品等の安定性

製品化したヒト iPS（様）細胞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、製品化したヒト iPS（様）細胞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 ヒト iPS（様）細胞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。また、最終製品における未分化細胞の存在が異所性組織形成や腫瘍形成・がん化の可能性など安全性上の重要な関心事であるが、可能な限り、セル・バンクや中間製品段階等での徹底的な解析により、混在の可能性を否定するか、あるいは、目的細胞から未分化細胞の効果的分離・除去法や不活化法を開発し、活用することにより、混在の可能性を最小限にする努力が求められる。さらに、投与経路等の選択も安全性上の懸念を最小限にするための有用な方策である可能性がある。

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可能性がある。その際は、対象疾患ごとに適切なモデル動物を用いた試験の実施を考慮する（注：例えば神経疾患ならばサル等、循環器疾患ならばブタ・イヌ等が適している場合がある）。ただし、ヒト iPS（様）細胞加工医薬品等を構成する細胞と同一の特徴を有する細胞集団が同一の手法にてヒ

ト以外の動物種からも得られるとは限らず、また同様の培養条件等で同等／同質な製品が製造できるとも限らないことから、このような試験の採用、実施及び評価にあたっては、慎重な事前検討や対応が必要である。ヒト以外の動物種から得た iPS (様) 細胞加工製品を用いて動物実験を行った場合、その外挿可能性を説明すること。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、製品の特性及び臨床適用法等を考慮して、必要かつ適切な試験を実施し、その結果について総合的な観点から評価、考察すること。

- 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や目的細胞以外の細胞が異常増殖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 製品の適用が患者の正常な細胞又は組織に影響を与える可能性、及びその安全性について検討、考察すること。
- 4 患者への適用により、製品中の細胞や混入する未分化細胞が異所性組織を形成する可能性、及びその安全性について検討、考察すること。その際、製品の種類や特性、投与経路、対象疾患、及び試験系の妥当性等を総合的に勘案すること。
- 5 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、及びその安全性について検討、考察すること。
- 6 最終製品の細胞又は中間製品の細胞について、適切な動物モデル等を利用し、良性腫瘍を含む腫瘍形成及びがん化の可能性に関して検討、考察すること。その際、製品の種類や特性、投与量・投与経路、生着部位、対象疾患及び試験系の妥当性等を総合的に勘案すること。また、腫瘍形成又はがん化の可能性がある場合には、期待される有効性との関係等を勘案して、使用することの妥当性及び合理性について明らかにすること。(注：造腫瘍性試験において最も重要なのは、最終製品が患者に適用された場合の製品の造腫瘍性を可能な限りの確に評価することである。しかし、十分な細胞数が得られない等の理由により最終製品を構成する細胞を用いることができず、中間製品の細胞を用いて最終製品の造腫瘍性を評価しなければならない場合も想定される。また、動物モデルを使用した造腫瘍性試験においては、細胞の分散や足場への接着、細胞密度、投与部位等の条件が最終製品と必ずしも一致するものではない。さらに、動物の種・系統・免疫状態による感度差もある。これらの事情を総合的に勘案して、最終製品の造腫瘍性を評価する必要がある。また、最終製品の造腫瘍性に起因する患者へのリスクについては、対象疾患を治療することによる患者へのベネフィット等とのバランスを踏まえて合理的に評価すること)。
- 7 製造工程で外来遺伝子の導入が行われ、最新の知見に基づき、最終製品中で機能している場合や残存していると判断された場合には、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。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、良性腫瘍を含む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。染色体への挿入の可能性のあるベクターを用いた場合には、挿入変異による細胞の異常増殖性や造腫瘍性についての評価や臨床適応に当たっての長期フォローアップの必要性を考慮すること。

- 8 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、かつ临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 ヒト iPS (様) 細胞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、ヒト iPS (様) 細胞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臨床効果の実現可能性(Proof-of-Concept)を示すこと。
- 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臨床効果の実現可能性(Proof-of-Concept)を示すこと。
- 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 治験開始段階では、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 ヒト iPS (様) 細胞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(注:体内動態に関する試験等には、例えば組織学的検討、AluPCR法、磁気共鳴画像診断法(MRI)、陽電子放射断層撮影法(PET)、単一光子放射断層撮影法(SPECT)、バイオイメージングなどがある)。
- 2 ヒト iPS (様) 細胞加工医薬品等の用法(投与方法)について、動物実験を通してその合理性を明らかとすること。特に、全身投与にあつては投与後の細胞の全身分布を動物実験などから外挿し、有用性の観点から議論すること(注:投与経路ごとにどこに生着するかは不明であるが、全身投与よりも局所投与が望ましいと想定される)。

しかし、全身投与であってもその有用性において被投与患者に有益であると合理的に説明が可能である場合には用法として設定可能である。例えば、生着を期待する臓器以外への分布を最低限に抑えることが合理的な投与方法であると想定される。また、異所性生着しても、被投与患者にとって不利益（生体機能への悪影響）が生じない場合は用法として肯定できる可能性がある。異所性分化による不利益とは、例えば当該細胞が心臓に異所性生着して骨形成する場合が想定され、それが不整脈を惹起したような場合である）。

- 3 当該細胞・組織が特定の部位（組織等）に直接適用又は到達して作用する場合には、その局在性を明らかにし、局在性が製品の有効性・安全性に及ぼす影響を考察すること。

## 第7章 臨床試験

ヒト iPS（様）細胞加工医薬品等の臨床試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段階における安全性については、臨床上的有用性を勘案して評価されるものであり、ヒト iPS（様）細胞加工医薬品等について予定されている国内の臨床試験計画について以下の項目を踏まえて評価すること。その際、明らかに想定される製品のリスクを現在の学問・技術を駆使して排除し、その科学的妥当性を明らかにした上で、なお残る「未知のリスク」と、重篤で生命を脅かす疾患、身体の機能を著しく損なう疾患、身体の機能や形態を一定程度損なうことにより QOL を著しく損なう疾患などに罹患し、従来の治療法では限界があり、克服できない患者が「新たな治療機会を失うことにより被るかもしれないリスク」とのリスクの大小を勘案し、かつ、これらすべての情報を開示した上で患者の自己決定権に委ねるという視点を持つこと、すなわち、リスク・期待されるベネフィットの情報を開示した上で治験に入るかどうかの意思決定は患者が行うという視点を入れて評価することが望まれる。

- 1 対象疾患
- 2 対象とする被験者及び除外すべき被験者の考え方
- 3 ヒト iPS（様）細胞加工医薬品等及び併用薬の適用を含めた、被験者に対して行われる治療内容（注：投与・移植した細胞の機能を維持・向上・発揮させるために併用する薬剤が想定される場合、当該薬剤の作用を *in vitro* あるいは *in vivo* で検証すること）。
- 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製品並びに患者の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。