

平成 27 年度

再生医療の産業化に向けた評価基盤技術事業

(再生医療等の産業化に向けた評価手法等の開発)

事業報告書

事業名	再生医療の産業化に向けた評価基盤技術事業 (再生医療等の産業化に向けた評価手法等の開発)
研究開発課題名	自家培養軟骨・同種培養表皮・同種培養真皮の産業化に向けた評価手法等の開発
研究開発担当者 所属 役職 氏名	株式会社ジャパン・ティッシュ・エンジニアリング 取締役常務執行役員 研究開発本部長 畠 賢一郎

目次

1. 事業の目的.....	2
2. 実施内容及び結果.....	3
3. 評価手法等の開発・製造工程合理化のための検討内容	12
4. まとめ.....	58

1. 事業の目的

本事業では、われわれがすでに上市している自家培養表皮ジェイスならびに自家培養軟骨ジャックを対象にすることに加え、同種細胞を用いた新たな製品展開を念頭に置いて企画した。これら製品の現状は、すべて着手しているものであり、多くは独立行政法人医薬品医療機器総合機構（PMDA）との事前相談を始めている。特に同種製品への展開はセルバンク構築のための具体的な内容に踏み込んでおり、その結果を踏まえ、同種培養細胞の試験的ストックを10例作製した。一方、本事業で実施する種々の製造工程合理化案については、本年度は、前年度に確立した方法の水平展開（汎用性の検証）ならびに自動化等の合理化に対する同等性評価法の完成を目指すものであり、すでに試作品等は存在する。

本事業における上市に向けた課題としては、培養表皮では、同種細胞製品のドナー確保が最大のものであるが、倫理委員会を通じてその方向性をすでに示してきた。一方、自家培養軟骨の適応拡大については、その有効性評価のため、本事業で実施する長期フォローアップ方法の妥当性を示すことが鍵である。加えて、製品の品質管理に使用する標準品の設定方法ならびにその評価方法は、これまで実施した事例がないものも多く、挑戦的である。以上を経た上で、本事業では、臨床試験（研究）における有効性評価方法に加え、同種細胞のセルバンクの品質評価手法、ならびに生産の自動化・合理化工程の同等性評価方法、品質管理に供する標準品の妥当性評価方法を確立したいと考えている。

本事業では、わが国の再生医療産業化を促進すべく、臨床試験・臨床研究に関する事項、生産・品質管理の合理化に関する事項、同種細胞製品提供のための事項を網羅的に企画した。これらはすべて、われわれの自家培養細胞製品提供経験をもとにしており、現場の要求を反映するとともに、新しい再生医療関連法規の有効活用を念頭に置いている。適切なケーススタディーとして、わが国における第一号および第二号の再生医療等製品に相当するわれわれの2品目を対象とするとともに、今後の発展が期待される同種細胞製品への先鞭をつける試みである。これを通じて、わが国の再生医療産業化の促進に寄与したいと考えている。

(1)「臨床試験・臨床研究に関する事項」としては、自家培養軟骨ジャックの適応拡大を企画した。自家培養軟骨の適応拡大については、われわれの実施した臨床試験実施症例がおよそ10年を経ているため、これら症例の長期観察を実施するための指標を提案し、まさに再生医療の最大の長所を提案したいと考えている。

一方、(2)「生産合理化に関する事項」では前年度まで実施してきたマルチチューブについて、さらに汎用性を高めるため、他の一般的な組織への水平展開、ならびに自動化への展開可能性を示すことを目的に、その同等性評価指標を提案する。加えて、前年度まで同様に実施してきたエアアライソレーションシステム（AIS）をさらに有用なものとするため、培養器材の搬送システム評価について提案する。

(3)「品質管理項目に関する事項」としては、再生医療等製品特有の非侵襲3次元構造評価について自家培養軟骨ジャックをモデルとして評価方法を確立すること、ならびに前年度まで実施してきた微生物否定試験などの品質試験合理化への取り組みを継続するとともに、前年度の活動を経た課題として提案した標準品の設定方法について取り組む予定である。これに加え、(4)「同種セルバンクの構築ならびに同種製品の設計評価に関する事項」として、具体的に同種製品を製造するためのセルバンク構築を行うとともに、その製品設計評価に取り組む。

2. 実施内容及び結果

(1) 分担研究開発課題名：自家培養軟骨ジャック適応拡大（関節軟骨欠損 4 cm²未満への適応）

(A) 培養軟骨移植症例の長期予後に対する臨床評価方法提案

自家培養軟骨の長期予後の評価系を確立するため、従来から行われている前向き群間比較試験とは異なる試験デザインを検討した結果、臨床試験デザインとしては可能であり、比較対照治療法である既存治療法マイクロフラクチャー（MF）施行患者の術後 10 年の予後調査は可能であることが分かった。

PMDA の見解は、下記 4 点にまとめられた。①旧治験データを評価することは、予め計画された前向きでないデータを含むため適正な情報収集に限界があることを考慮すると、本試験の結果のみでの適応拡大は困難と考える（検証試験として認められない）。②審査報告書にて指摘のとおり、4 cm²未満の軟骨欠損患者の既存治療と考えられる MF との使い分け、臨床的位置付けを踏まえた上での、ジャックの有効性の評価が可能な治験デザインが必要である。③審査報告書に記載のとおり、上記の条件を満たすには MF の比較対照群を設定した並行群間無作為化比較試験が必要である。今後は、目的に沿った評価項目を設定し、同時期に手術を実施して前向きに観察する治験デザインが必要である。あるいは適切な有効性の達成基準を設けることが可能であれば単群試験も受け入れ可能と考える。④患者背景、つまり軟骨欠損面積、軟骨欠損の部位、患者の活動性、外科的治療後の経過時間、合併症の有無等の影響が予後に与える影響が大きいことと、Lysholm Knee Score（LKS）評価がリハビリ、日常生活での状況等の影響を受けやすいことを考慮すると、並行群間無作為化比較試験を検討することを強く薦める。

PMDA の意見に対し、①MF 群における脱落の多発が予想されること、②同意取得が困難であること、の理由から併行群間比較試験は困難と考え、適切な有効性の達成基準を設けた単群試験の計画立案を実施する。

(B) ジャック臨床試験症例の長期予後予備調査

PMDA と事前面談を実施した結果、上記理由により検証試験としては許容されなかったため、新たに適切な有効性の達成基準を設けた単群試験を計画している。

(2) 分担研究開発課題名：生産合理化に関する事項

(A) マルチチューブを用いた細胞分散方法の汎用性評価

マルチチューブとは、目的とする細胞を均質かつ簡便に組織等から単離するための装置で、キャップに処理液の給排を最適に行う仕組みを設け、チューブ内に組織処理を均質に行う仕組みを組込んだ上下 2 気室から成る細胞単離処理器具である（図 1）。前年度までに、自家培養軟骨ジャックの生産合理化への取り組みにおいて、組織処理を簡便に行うマルチチューブの開発を進めてきた。本年度は当該マルチチューブを用いて、皮膚組織処理への適用拡大および自動細胞単離装置による自動化への取り組みを行った。皮膚組織処理については、単離した表皮細胞の回収率が現行法に対して低かったものの、表皮細胞の品質が同等であることを確認した。自動化への取り組みについては、試作した自動細胞単離装置を用いて手動と同等の回収率で軟骨組織から軟骨細胞を単離できることを確認した。本結果を受けて今後の課題を整理し、マルチチューブを用いてさらに汎用性の高いシステムとなる提案を示す。



図1 マルチチューブ

(B) エアーアイソレーションシステム (AIS) を用いた細胞培養合理化検証

再生医療において細胞の取り扱い、「細胞調整に関する施設及び運用に関する考え方」（一般財団法人日本再生医療学会 2013年9月 岡野光夫）および「ヒト細胞培養加工装置についての設計ガイドライン [改訂] 開発ガイドライン」（2009年 経済産業省）等で示された環境で行われる。

大別すると、アイソレーターを使用する「閉鎖式」と安全キャビネット (BSC) にて操作する「開放式」がある。後者の場合、再生医療等製品が無菌操作される環境の維持、およびその環境の汚染防止の為、清浄度管理区域 (グレード B 相当) に設置された BSC (無菌操作等区域、グレード A 相当) 内にて細胞が取り扱われる。一方で患者の細胞は無菌ではない。したがって、BSC 内での患者組織の入れ替え時 (チェンジオーバー) には、毎回適正な除染を実施し、交叉汚染の防止を図る必要がある。この除染作業には時間と人手を要する。特に生産現場では、合理化の観点から連続的な操作が求められるため、除染時間の短縮化は顕著な課題である。

前年度、われわれは BSC 内に 2 重封じ込め気流を発現する機構の AIS を付加し、除染時間を短縮化できたことを報告し、当初の目的を達成した。

本年度は、前年度報告した AIS を付した BSC を用いて生産性の向上を図るために、作業者の手作業を補佐する多関節ロボットを新たに組み込み、一定の作業動線とすることで、更なる交叉汚染や作業ミスに対するリスクの低減を図った AIS を開発した。ロボット静止時には、BSC の JIS 規格 (JIS K 3800 : 2009) の気流バランス試験に準じて評価し、稼働時の無菌維持性能等の検証は独自に開発した評価方法で検証を行った。具体的には、ロボット静止時の性能評価として、「AIS と BSC の気流バランス試験」「ロボットアームのモックアップによる封じ込め試験」、ロボット稼働時の性能評価として「ロボット稼働時の性能試験」「培養容器に対する無菌性試験」の各試験を実施した。BSC の気流バランス試験 (JIS 規格) の結果、ロボットアームを組込んだ AIS の封じ込め性能等が維持されていることを確認できた。また、ロボットアームの動作時においても AIS の封じ込め性能は維持されており、封じ込めや無菌性能を満足する結果を得ることができた。培養容器に対する無菌性についても確認できた。以上より、BSC の封じ込め性能を維持したまま、チェンジオーバー時の除染時間を低減できる AIS にロボットアームを付すことにより、作業動線の一定化と交叉汚染のリスクを低減できることを示した。

(C) 同種細胞培養の自動化検証 (バイオリアクターを用いた同等性評価)

(i) 接着性細胞培養に対するバイオリアクターの評価 (平面培養との同等性検証)

(ii) 同種細胞の大量培養システムの確立

接着細胞（線維芽細胞、表皮角化細胞）の大量培養に対応できる大量細胞培養装置を既存製品について調査を行った。現状、再生医療等製品の製造工程に使用できる可能性のある装置は少なく、収集した情報で機能について比較検討を行った結果2社の製品を選択し、まずは生物由来原料基準への適否を評価した。また、両社ともに唯一のデモ機が既に貸与中であり、当社において本年度中にデモ機による評価には至らなかった。

現時点で想定している製造量と大量培養装置の本体・部品の高額なコストを勘案すると、3T3-J2細胞培養のスケールでは、現状のフラスコ培養または積層型フラスコや浮遊培養用ビーズの使用が合理的と判断した。

(3) 分担研究開発課題名：品質管理項目に関する事項（自家細胞を用いた再生医療等製品の品質管理法評価）

(A) 光干渉断層撮影（Optical Coherence Tomography：OCT）による3次元培養組織の品質評価

(i) OCT機能評価

OCT技術を用いて、非破壊的に培養軟骨の内部を観察し、個々の細胞、細胞集塊、細胞外基質を確認した。培養軟骨の表面では、細胞由来の粒子が観察できたが、培養軟骨の内部では、細胞の観察は困難であることを確認した。観察可能な深度は、細胞を含まない場合は1.3mm、ゲル内で細胞が増殖した場合は0.8mm程度だった。また一定時間を要するものの、培養軟骨全面の観察が可能であることを確認した。

(ii) 出荷時品質の予測

細胞種、播種細胞密度および培養期間の異なる培養軟骨を用いて、OCTによる3次元評価と、従来法による細胞数、基質産生、組織切片等の評価との整合性を検証した。ブタ軟骨細胞を用いて作製した培養軟骨の解析では、OCTにより多層化された細胞や基質が観察された。ブタ軟骨細胞に比べて増殖性や基質産生が低いヒト軟骨細胞を用いて作製した培養軟骨の解析においても、OCTにより細胞や基質が観察された。しかしながら、培養初期から培養中期にかけて工程検査として実施が想定されるOCT観察によって、出荷時の製品品質を予測することの妥当性や精度については、症例を重ねて解析し、検証する必要がある。

(B) マイコプラズマ否定試験（NAT）の妥当性評価

日本薬局方第16改正において、マイコプラズマ否定試験（ポリメラーゼ連鎖反応：PCR）が参考情報として記載されているが、PCRに使用するプライマーでは検出できないマイコプラズマ種が存在するため、第17改正ではマイコプラズマ否定試験（核酸増幅法：NAT）が記載された。日本薬局方には、使用するNATは十分な感度と特異性が担保され、頑健性のある手法を用いることと記載されている。

そこで、マイコプラズマ否定試験（NAT）の妥当性評価方法の確立を目的として、NATの評価に必須であるマイコプラズマ標準品の作製、選定したNATのキットで測定可能なリアルタイムPCR装置の選定、各種検体における検体調製および測定方法の確立と予備的評価を実施した。その結果、選定した2種類のNATキットで測定可能なリアルタイムPCR装置の選定、各種検体における検体調製および測定方法の確立を完了した。

(C) 代替品、代替測定方法の確立（国産への代替等）

(i) 軟骨基質定量試験の代替測定法

現行キットは外国製であり、製造中止、販売停止などサプライヤーリスクがある。また当該キット以外に同じ測定原理および測定方法のキットは市販されていない。キットのサプライヤーリスクを低減するために代替測定法を検討した。代替測定法の要求事項としては、一部変更承認申請が不要である代替測定法であること、および使用試薬のサプライヤーリスクが低いものであることとした。

現行測定法から代替測定法へ変更するためには、測定法のバリデーションと、現行測定法との同等性評価が必要となる。代替測定法を評価中である。

(ii) 軟骨細胞含有率確認試験の代替測定法

現行の軟骨細胞含有率確認試験は、蛍光免疫染色を用いた方法であるが、当該試験を設定した当初に想定していなかった課題を認識した。そこで、新しい測定原理で軟骨細胞を検出する代替測定法（フローサイトメトリーを用いた試験法等）の構築を考えた。代替測定法を設定する場合、測定法バリデーションのほかに、現行法との同等性が必要となる。その方法として、軟骨細胞標準品を用いて、測定法の変更後にも検出感度等に影響がないことを確認することが理想的ではあるが、軟骨細胞の標準細胞を設定することは非常に困難である。また、現行測定法と異なる指標と検出方法を用いるため、新旧測定法について同等性を検証することは極めて困難である。変更方法に関する考え方について、2016年4月4日に再生医療等製品品質相談（事前面談）を実施するための準備を完了した。

(iii) BSA 定量試験の代替測定法

現行キットは外国製であり、製造中止、販売停止などサプライヤーリスクがある。キットのサプライヤーリスクを低減するために国産のキットについて代替測定法としての妥当性を検討した。代替測定法は、現行測定法と検量線範囲が異なるため、一部変更承認申請が必要となる。規制当局への一部変更承認申請資料とするための検体調製方法を含めたキットのバリデーションを目的として、代替測定法の予備的評価を実施した。

(D) 標準品の設定方法提案

(i) 軟骨細胞標準品

現行測定法から代替測定法等へ変更する場合、測定法バリデーションのほかに、現行法との同等性が必要となる。その方法として、軟骨細胞標準品を用いて、測定法の変更後にも検出感度等に影響がないことを確認することが理想的である。しかし、要求事項を満たす軟骨細胞標準品は現在市販されていない。そこで、軟骨細胞標準品として使用可能な細胞を探索した。その結果、軟骨細胞の標準細胞を設定することは非常に困難であると判断した。そこで、新旧測定法の同等性を示す考え方について、2016年4月4日に再生医療等製品品質相談（事前面談）を実施するための準備を完了した。

(ii) マイコプラズマ標準品

日本薬局方第16改正において、マイコプラズマ否定試験（PCR）が参考情報として記載されて

いるが、PCRに使用するプライマーでは検出できないマイコプラズマ種が存在するため、第17改正ではマイコプラズマ否定試験（NAT）が記載された。NATを確立するためには、試験法のバリデーションが必要である。しかし、日本薬局方には、試験法のバリデーションに必須であるマイコプラズマ標準品の作製方法、その基準等の明確な記載はない。したがって、バリデーションの実施者がその妥当性を示す必要がある。加えて、要求事項を満たすマイコプラズマ標準品は現在市販されていない。

そこで、日本薬局方第17改正記載のマイコプラズマ否定試験（NAT）に記載されているマイコプラズマ7菌種の標準品を作製し、標準品としての妥当性を評価した。

(iii) BSA 標準品

現行測定法から代替測定法等へ変更する場合、測定法バリデーションのほかに、現行法との同等性が必要となる。その方法として、標準品を用いて、測定法の変更後にも検出感度等に影響がないことを確認することが理想的である。しかし、要求事項を満たすBSA標準品は現在市販されていない。標準品とする妥当性確認試験法を確立し、複数の候補品について標準品としての妥当性を確認した。

(iv) 軟骨基質標準品

現行測定法から代替測定法等へ変更する場合、測定法バリデーションのほかに、現行法との同等性が必要となる。その方法として、標準品を用いて、測定法の変更後にも検出感度等に影響がないことを確認することが理想的である。しかし、要求事項を満たす軟骨基質標準品は現在市販されていない。複数の候補品を探索し、それらを標準品とする妥当性確認試験を計画した。

(v) 微生物迅速試験法の妥当性評価

日本薬局方記載の無菌試験（メンブランフィルター法）は、判定までに14日かかる。迅速性、精度等で優位である可能性がある方法として、参考情報に微生物迅速試験法が記載されているが、導入する際には、従来法と同等以上の能力を有することを確認することが原則であり、その妥当性を検証して用いることと記載されている。

そこで、従来法と同等以上の能力を有することを確認するために、微生物迅速試験法での各菌種での検出感度を確認した。また、抗生物質除去を含めた検体の調製方法を検討した。

(4) 分担研究開発課題名：同種細胞による再生医療等製品のセルバンク構築および同種細胞を用いた再生医療等製品の品質管理法評価

(A) 同種細胞を用いた再生医療等製品の品質管理法評価

(i) 微生物否定試験の妥当性評価方法

ドナースクリーニング、セルバンクおよび最終製品に対して担保する安全性レベルについては、準拠すべきガイドラインは存在するが、その試験方法、基準等の詳細な記載はないため、規制当局と相談しながら、実施者が詳細を設定する必要がある。そこで、原材料となる同種皮膚組織・細胞の、生物由来原料基準（生原基）及びヒト（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（同種指針）等への対応状況を提示し、ドナースクリーニングの妥当性とウイ

ルス検査の充足性について、2015年11月20日にPMDAと薬事戦略相談（品質・安全性の事前面談）を実施した。事前面談での指摘事項を踏まえ、2016年2月26日にPMDAと薬事戦略相談（品質・安全性の対面助言）を実施した。

(ii) 細胞の有効性評価指標の提案

これまでの報告では、線維芽細胞の性能評価としては細胞増殖能と生理活性物質産生能の確認が一般的であったが、線維芽細胞の特性の本質、特に生体内における線維芽細胞の機能との相関について注目した解析や考察はあまり行われてこなかった。本研究では、細胞増殖能の評価に加え、線維芽細胞の培地を変更することにより生体の皮膚内における線維芽細胞の機能を反映する表現型を再現し、それぞれの表現型を示す線維芽細胞が有する創傷治癒促進効果の指標として、血管内皮細胞との共培養時における血管ネットワーク形成支持能の評価法を開発した。本評価法により、同種線維芽細胞バンク作製時および同種培養皮膚に組み込む線維芽細胞として最適と考えられる表現型を示す線維芽細胞を提案し、その培養方法を確立することができた。

(B) 同種細胞による再生医療等製品のセルバンク構築

(i) 同種細胞製品に供する表皮細胞セルバンクと線維芽細胞セルバンクの構築

京都大学から6症例の医療廃棄皮膚組織を受け入れ、血液、組織および培養細胞（表皮細胞および線維芽細胞）に対し、NATによるウイルス検査を実施した。受け入れた皮膚組織から表皮細胞および線維芽細胞を分離・培養してそれぞれの細胞ストックを構築した。

臨床使用可能な同種表皮細胞および線維芽細胞セルバンクを構築するためには、組織採取施設における倫理委員会に申請する必要がある。そこで、倫理委員会申請書および関連文書（同意説明文書、問診票等）を整備した。また、ドナーへの負担および予想される有害事象に対応するため、臨床研究用損害保険を検討した。

(ii) 同種培養表皮の製品仕様の策定

同種培養表皮製品の最適な製品仕様の策定を目的として、凍結保存液、包装形態の検討を行った。その結果、同種培養表皮の製品仕様として、凍結保存液および包装形態の候補を選定した。製品の出荷規格として設定すべき項目については、その評価手法も含め現在検討中である

(C) 同種培養表皮の医師主導治験の実施

(i) 治験プロトコルの作成

同種培養表皮（開発コード：Allo-JaCE-01）を用いた重症熱傷を対象とした臨床試験をFeasibility studyとして実施するために、京都大学と共同で治験プロトコルを作成した。このFeasibility studyのユニークな所は、同一患者内で深達性Ⅱ度熱傷創またはⅢ度熱傷創、および採皮創の3種類の創を対象として評価する手法を試みる点である。今後は、京都大学臨床研究センターの協力を仰ぎ治験プロトコルを作成する。

治験プロトコールの骨子概要

I. 治験の目的

本試験は重症熱傷患者を対象とし、深達性Ⅱ度熱傷創またはⅢ度熱傷創の治療に用いる同種培養表皮 Allo-JaCE-01 の有効性と安全性を確認することを目的とする。

II. 対象疾患

重症熱傷患者において、深達性Ⅱ度熱傷創またはⅢ度熱傷創、及び採皮創を適用対象とする。Allo-JaCE-01 は表皮細胞シートであるため、真皮層が欠損しているⅢ度熱傷創への適用に際しては、肉芽組織上に高倍率自家植皮と併用することを前提とする。

III. 選択基準・除外基準

以下の選択基準をすべて満たし、除外基準のいずれにも該当しない患者を登録適格例とする。

1 選択基準

- (1) 深達性Ⅱ度熱傷創またはⅢ度熱傷創の合計面積が体表面積の 10%以上を占める患者。
- (2) 予後熱傷指数 (PBI) 90 未満の患者。
- (3) 本試験同意取得時の年齢が 65 歳未満の患者。

2 除外基準

- (1) 熱傷受傷から 2 週間以上経過した患者。
- (2) ペニシリン、カナマイシン、ストレプトマイシン、アムホテリシン B の抗生物質に対して過敏症の患者。また、ペニシリン系抗生物質、アミノグリコシド系抗生物質に対し過敏症の既往がある患者。
- (3) 動物（ウシ、マウス、ブタ）に対シアレルギーのある患者。
- (4) 皮膚悪性腫瘍を有する患者、皮膚悪性腫瘍の疑いのある患者又は皮膚悪性腫瘍の既往のある患者。
- (5) 妊婦、授乳婦及び妊娠している可能性のある患者又は試験期間中に妊娠の希望がある患者。
- (6) 同意取得時に他の臨床試験に参加している患者、及び本治験参加中に他の臨床試験に参加する予定のある患者。
- (7) その他、治験責任医師又は治験分担医師が不適当と認めた患者。

IV. 治験デザイン・方法

1 治験デザイン

治験デザイン：多施設共同非盲検非対照試験

2 治験実施方法

2.1 Allo-JaCE-01 の保存・管理

Allo-JaCE-01 は株式会社ジャパン・ティッシュ・エンジニアリングにて製造され、凍結保存した状態で移植毎に治験実施医療機関へ交付される。治験製品管理者の管理の下、規定の温度条件・保存条件下にて適切に保存・管理する。

2.2 症例登録

調整事務局内に登録センターを設置する。

2.3 Allo-JaCE-01 の移植

熱傷受傷から2週間以内にAllo-JaCE-01を移植する。

- ・深達性Ⅱ度熱傷創：受傷後速やかにAllo-JaCE-01を移植。
- ・Ⅲ度熱傷創：可能な限り早期（受傷後数日以内）にデブリードマンし、肉芽組織上に高倍率の自家植皮と併用してAllo-JaCE-01を移植。
- ・採皮創：Ⅲ度熱傷創への治療目的で作成した採皮創にAllo-JaCE-01を移植。

2.4 併用禁止薬剤・併用禁止療法

なし。

V. 評価項目

1 有効性に関する評価項目

1.1 主要評価項目

- (1) Allo-JaCE-01 初回移植3週目の移植部位創閉鎖成功率 (%)

【評価方法】

Allo-JaCE-01を移植した深達性Ⅱ度熱傷創、Ⅲ度熱傷創及び採皮創について、創の種類ごとに初回移植3週目の創閉鎖率を算出する。創閉鎖率は、Allo-JaCE-01移植面積に対し、創閉鎖した面積の割合を評価する。

1.2 副次評価項目

- (1) 創の種類毎のAllo-JaCE-01初回移植3週目の創閉鎖率 (%)
- (2) 創の種類毎のAllo-JaCE-01初回移植24週目までの創閉鎖率 (%) の経時的変化
- (3) 創の種類毎の移植部位の創閉鎖完了までに要した期間
- (4) 創の種類毎の創感染の有無 (移植部位)
- (5) 創の種類毎のAllo-JaCE-01移植部位における浸出液の程度
- (6) 創の種類毎のAllo-JaCE-01移植部位における創傷被覆材の有無
- (7) 創の種類毎のAllo-JaCE-01移植部位における追加の自家植皮施行の有無
- (8) 創の種類毎のAllo-JaCE-01移植部位の上皮化後の創の性状
- (9) 生存の有無 (期間)

2 安全性に関する評価項目

- (1) 有害事象発現率 (%) 及び不具合発現率 (%)。
- (2) Allo-JaCE-01と因果関係の否定できない腫瘍性病変、アレルギー症状、及び、未知の感染症の発現の有無を評価する。

VI. 解析方法

Pivotal 試験のための有効性を推定する。

VII. 目標症例数

10 症例

以上

(5) 分担研究開発課題名：マイコプラズマ否定試験（NAT）の妥当性評価および微生物学的試験

マイコプラズマ否定試験（NAT）の予備的評価として、検体のマイコプラズマ否定試験（NAT）測定およびシーケンス解析、Mycoseq 用標準プラスミドの作製およびマイコプラズマ標準品のゲノムコピー数測定およびシーケンス解析を実施した。

(6) 再生医療事業実施に関する有識者会合の実施

本年度有識者会合は、以下の日程で合計 6 回実施した。

開催回	日時
第 1 回	2015 年 11 月 4 日 (水)
第 2 回	2015 年 11 月 17 日 (火)
第 3 回	2015 年 12 月 3 日 (木)

開催回	日時
第 4 回	2016 年 1 月 7 日 (木)
第 5 回	2016 年 2 月 4 日 (木)
第 6 回	2016 年 2 月 18 日 (木)

下記の有識者委員のほか、関係官庁の担当者傍聴のもと、議論を実施した。

所属	氏名
株式会社ジャパン・ティッシュ・エンジニアリング	畠 賢一郎
大阪大学	紀ノ岡 正博 教授
東京医科歯科大学	森尾 友宏 教授
国立医薬品食品衛生研究所	佐藤 陽治 部長
株式会社テルモ	鮫島 正 研究主幹
京都大学	仙石 慎太郎 准教授
大阪大学	齋藤 充弘 講師
産業技術総合研究所	廣瀬 志弘 主任研究員

3. 評価手法等の開発・製造工程合理化のための検討内容

(1) 分担研究開発課題名：自家培養軟骨ジャック適応拡大（関節軟骨欠損 4 cm²未満への適応）

(A) 培養軟骨移植症例の長期予後に対する臨床評価方法提案

(B) ジャック臨床試験症例の長期予後予備調査

実施計画に基づき、マイクロフラクチャー（MF）施術患者の術後 10 年の予後調査の実現可能性を検討し、複数の医療機関で、対応可能であることを確認した上で、平成 27 年 10 月 2 日の事前面談において医薬品医療機器総合機構（PMDA）に以下の案を提示した。

- ・ すでに施術後 10 年を経過している承認申請時の治験（旧治験）参加患者と、MF 施術後 10 年を経過した患者と同時に比較する。
- ・ 比較試験の前に、有効性のパラメータ探索のため MF 群のみの予備試験を実施し、その結果を基に有効性の主要評価項目および目標症例数を設定する。

培養軟骨移植症例の長期予後に対する臨床評価方法の提案についての PMDA の見解は下記の通りであった。

- ・ 旧治験データを評価することは、予め計画された前向きでないデータを含むため適正な情報収集に限界があることを考慮すると、本試験の結果のみでの適応拡大は困難と考える（検証試験として認められない）。
- ・ 審査報告書にて指摘のとおり、4 cm²未満の軟骨欠損患者の既存治療と考えられる MF との使い分け、臨床的位置付けを踏まえた上での、ジャックの有効性の評価が可能な治験デザインが必要である。
- ・ 審査報告書に記載のとおり、上記の条件を満たすには MF の比較対照群を設定した並行群間無作為化比較試験が必要である。今後は、目的に沿った評価項目を設定し、同時期に手術を実施して前向きに観察する治験デザインが必要である。あるいは適切な有効性の達成基準を設けることが可能であれば単群試験も受け入れ可能と考える。
- ・ 患者背景、つまり軟骨欠損面積、軟骨欠損の部位、患者の活動性、外科的治療後の経過時間、合併症の有無等の影響が予後に与える影響が大きいことと、LKS 評価がリハビリ、日常生活での状況等の影響を受けやすいことを考慮すると、並行群間無作為化比較試験を検討することを強く薦める。

上記 PMDA の見解に対して、以下の点から併行群間比較試験は困難と考え、適切な有効性の達成基準を設けた単群試験を計画している。

当該治療法において併行群間比較試験が困難と考えられる理由は下記の通りである。

- ・ MF 群における脱落の多発が予想されること

自家培養軟骨による治療と MF は手術回数が異なるなど明確に知り得る手法の特性の違いがあることから、盲検化できず、被験者は自らに割り付けられた治療を知ることができる。先述の通り MF では長期的な持続効果が得られないことから、MF 群に割り付けられた患者が試験中止を申し出ることが予想されるとの専門医見解を得ている。これより、各群の症例数のアンバランス、集団特性の変化の発生が予想され、比較可能性を保持して治験を完遂するのは不可能と考えられること。

- ・ 同意取得が困難であること

先述のとおり、MF により修復される組織は線維軟骨様組織であり、経時的に摩耗するため、長期経過後には臨床症状・機能は治療前の状態まで、あるいは更に悪化するものと考えられる。永久的な効果が

得られないことが自明である治療法を適用し、追加治療なく1年の観察を要する試験への参加は推奨できず、患者からの理解も得にくいただろうとの専門医の見解を得ている。

(2) 分担研究開発課題名：生産合理化に関する事項

(A) マルチチューブを用いた細胞分散方法の汎用性評価

1 マルチチューブを用いた皮膚組織処理への適用拡大

前年度までに実施してきた自家培養軟骨ジャックの生産合理化への取り組みにおいて、組織処理を簡便に行うマルチチューブの開発を進めてきた。本年度は軟骨組織からの軟骨細胞単離への有用性を確認した当該マルチチューブを用いてヒト皮膚組織からの表皮細胞単離および表皮細胞の品質を評価したため、以下に報告する。

1-1 マルチチューブの概要

マルチチューブは、軟骨細胞の消毒から単離までを閉鎖空間で簡便に行うよう開発した器材であり、①キャップ、②パッキン、③セルストレーナー一体型ノズル、および④チューブ本体の4つのパーツから構成されている。自家培養表皮ジェイスの生産においても、皮膚組織から表皮細胞を単離する組織処理工程で当該マルチチューブのセルストレーナーおよび吸排出の機能は十分有用性があると考えた。

1-2 皮膚組織処理の概要

皮膚組織は、主に表皮細胞で構成された表皮層と主にコラーゲン繊維で構成された真皮層からなる。自家培養表皮ジェイスの生産においては、熱傷受傷面積と手術日までの製造期間に従って、約2~12 cm²の皮膚組織が採皮される。自家培養表皮の組織処理のプロセスは、組織採取・組織消毒・余剰組織除去・組織細断・酵素処理・細胞播種からなる。特に、組織細断は、脂肪組織および真皮層をあらかじめ除去した皮膚組織を、処理工程を均一にするために採皮面積に応じて一定面積ごと分割し、各々の皮膚組織に対して細断する。酵素処理においては、単離した表皮細胞をトリプシンによる細胞ダメージから防ぐため、酵素処理時間を制限して酵素処理と細胞回収を繰り返す。自動化工程の構築に寄与するであろうマルチチューブは、これらの熟練作業者の繰り返し操作を簡便にさせることを想定した。

1-3 酵素処理条件の策定

トリプシンを図1に示したチューブ本体の上部室の容量23 mLで反応させるため、皮膚組織面積の上限設定、トリプシンの力価（濃度、液量）、および反応方法（振とう角度、振幅数、振とう方法）の酵素処理条件を策定した。

1-4 皮膚組織の酵素処理検討

本検討はあらかじめ細断まで行ったヒト皮膚組織を、マルチチューブを用いてトリプシンで酵素処理した。評価は、単離した回収細胞数と生細胞率、培養時の増殖能、および培養表皮シートでの性能評価を行った。組織処理の結果を、トリプシン処理中、細断した組織片がセルストレーナーのメンブレン一面に敷き詰め、採皮面積あたりの回収細胞数は現行法に対して10~22%の回

収率と、良好な結果は得られなかった。現行法の手動において処理液上清をセルストレーナーに通すのに対し、マルチチューブは組織片を含めた全量をセルストレーナーに通すことで上記回収率に影響した。単離した表皮細胞の品質評価については、具体的には、初代培養から継代数2までの増殖速度、継代数2の培養表皮シートの生細胞密度と生細胞率、および各培養工程でのコロニー形成能試験※を現行法と比較し、単離した表皮細胞の品質は現行法に対して同等であることを確認した。

単離した表皮細胞に培養表皮シートを作製する品質があることは確認できたが、回収率を上げるための酵素処理条件の最適化およびマルチチューブの改良が今後の課題となる。具体的には、細胞外マトリックスを消化するコラゲナーゼ等の追加酵素を検討することや、反応方法の最適化およびメンブレンの構造改良が今後の課題に挙がる。今後、水平展開を考えるその他の組織についても、同様の課題があることを確認した。

※コロニー形成能試験とは、1個の接着細胞がコロニー状に増殖する能力を、播種した細胞数に対するコロニー数で評価する試験法のこと。本検討では、組織処理時、各継代時、および培養表皮シート評価時に確認した。

2 自動細胞単離装置による自動化への取り組み

マルチチューブを用いたシステムの自動化へ進めるには、酵素処理工程の最適化を検討する必要がある。酵素処理反応は採取組織から細胞を効率よく単離することはもちろん、単離した細胞の活性が十分維持された状態で細胞回収されるべきである。酵素や処理環境によっては処理時間に応じて毒性を示すことがあるため、現行法と同等以上の回収細胞数を得られることが重要と考える。軟骨組織の酵素処理工程の最適化をこの評価法で行った。また、本年度は試作した自動細胞単離装置を用いて軟骨組織から軟骨細胞の単離を行ったため、その検証結果を報告する。

2-1 酵素処理条件の最適化

ブタ軟骨組織を用いてマルチチューブにおける酵素処理時の各条件①チューブ角度、②液量、③振幅数の最適化を回収細胞数で評価した。①チューブ角度は、角度を下げるほど処理時間に応じて回収細胞数が減少した。②液量は、液量の少ない条件において短時間で細胞が回収できることを確認した。③振幅数は、回収細胞数に顕著な差は見られなかった。各条件ともに、経時的に回収細胞数を確認した結果、単離された細胞が酵素液中で振とうによる物理的ダメージを受けている傾向を確認した。以上の結果から、処理時間を含めて軟骨組織における酵素処理条件を策定した。

2-2 自動細胞単離装置の概要

自動細胞単離装置は、消毒および酵素処理工程で添加すべきシリンジ充填済みの薬液を順に配した薬液供給部、マルチチューブへ送液および排液を行うポンプ装置を組み込んでいる。マルチチューブは振幅振とうする機能を有したヒーター内臓装置に固定される。

2-3 自動細胞単離工程の検証

自動細胞単離装置を用いてブタ軟骨組織から軟骨細胞の単離について検証した結果、回収細胞

数は、手動に対して同等の回収率となり、シリンジ、チューブおよびポンプ装置を導入した当該装置で手動と同等の細胞単離を行うことを確認できた。チューブ内に残液があり、次工程の酵素処理への影響が懸念されたため、送液スピードの調整を行う等の残液を極力減らす対策が必要であることが確認され、装置の課題として挙げられた。さらに、薬液供給のシリンジとチューブを無菌的に接続する機構など、無菌環境を必要としない接続方法を含め、より簡便な送液システム導入を検討している。

(B) エアアイソレーションシステム (AIS) を用いた細胞培養合理化検証

1 AIS について

AIS の主目的は、気流制御による封じ込めと、無菌環境の維持することに加え、チェンジオーバー時に交叉汚染を防止するための除染に要する時間を短縮することである。基本構造を図 2 および図 3 に示す。無菌維持と清浄度を保証し、かつ封じ込め性能を有する BSC の作業室内に、更に二重となる封じ込め気流を有する AIS を設けている。その気流にて空気障壁が形成され、AIS と BSC を理論的に区別することができる。AIS 内をクリティカルゾーン A とし、AIS 内でのみ培養容器を開放し細胞操作を制限することで、操作中に発生するエアロゾルを AIS 内に封じ込めることができる。また、AIS は実体としての壁や作業台は無い。よって、チェンジオーバー時に必要な除染域を極少とすることができる。

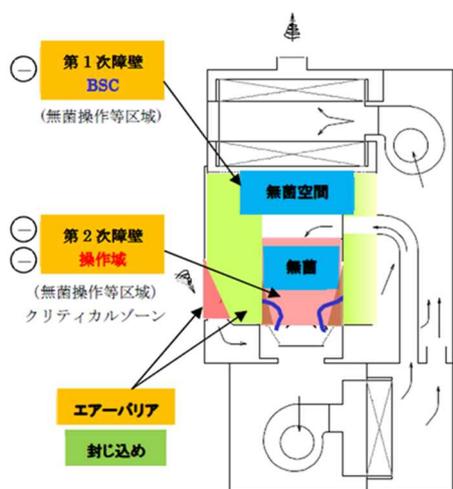


図 2 二重封じ込め気流発生システム概略

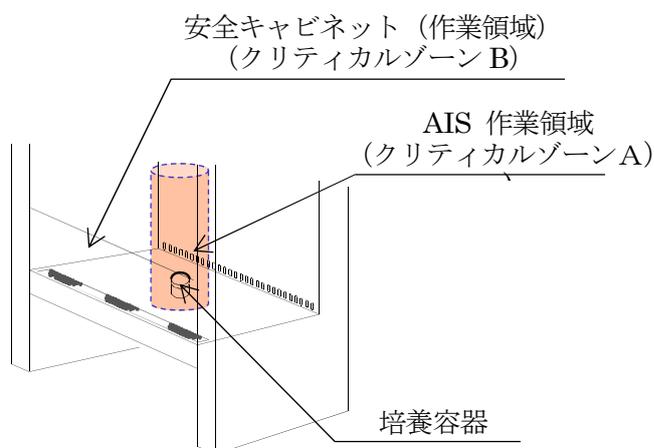


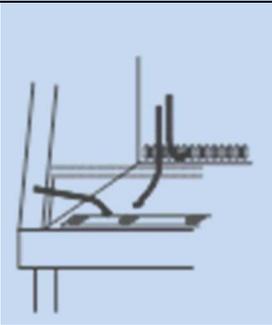
図 3 AIS の構造概略

1-1 BSC と AIS およびアイソレーターとの気流の比較

バイオセーフティの観点より、BSC と AIS、およびアイソレーターの気流を比較した。その比較を表 1 にまとめる。BSC は JIS 規格に従い設計、および検証され、作業者の安全性 (封じ込め)、試料保護 (無菌性)、相互間の汚染防止が担保される。AIS では、培養容器の開放操作を前述のクリティカルゾーン A でのみに制限することで、更に封じ込め性能が向上し、同様に無菌性や交叉汚染の防止も向上できる。一方、閉鎖式のアイソレーターの場合は、堅牢な個体壁で隔離された作業室内が一般的に陽圧で制御されるために無菌性は高いものの、バイオセーフティの観点については、完全に封じ込め性能が担保されているとは言い難い。また、作業室内の気流には一般

的に相互間の汚染防止の気流制限が無く、作業台上の気流は多方向へ向かう場合が多い。このため、チェンジオーバー時には庫内のガス除染が必須となる。BSC の気流制御を有する AIS は、バイオセーフティの観点では理論的に最良と考えられる。

表1 エアフローの機構比較

形式	BSC	BSC+AIS	アイソレーター
エアフローシステム			
作業安全性	○	◎	△
製品保護	○	○+	◎
交差汚染防止	○	○+	比較せず

◎ : Very Good ○ : Good △ : Normal

2 ロボットアームの導入

ロボットアーム導入の目的を以下に述べる。

① 作業動線の一定化

作業をロボット化することにより、作業動線が常に同一となり、再現性がとり易い。

② 汚染リスクの低減

作業者の作業ミスを低減でき、無菌性を確保しやすい。

③ 作業者の教育負担低減

細胞操作は、ある一定以上の熟練度が必要であるが、ロボット導入にて教育負荷等が低減できる。

2-1 ロボットアーム動作の概念

ロボットアーム組込型 AIS の外観を図4に、その内部構造を図5に示す。クリティカルゾーン B となる BSC の作業台には最大5個の培養軟骨を扱える様に培養容器ホルダーを設置した。また培養容器のフタの開閉を実施する機構を別途設けた。ロボットアームは、培養容器ホルダーにある1個目の容器を掴み、開閉機構へと移送してフタを緩める。その後、クリティカルゾーン A となる AIS へ移送され、培養容器からフタを上方にずらして開放される。作業員にて培養液交換を行った後には逆動線にて開閉栓を行う機構部へ戻り閉栓を行った後に元の培養容器ホルダーに戻る。最終的にロボットアームは初期停止位置に戻り、ハンド部には殺菌灯を一定時間照射して培養容器との接触部およびその周辺を除染する。

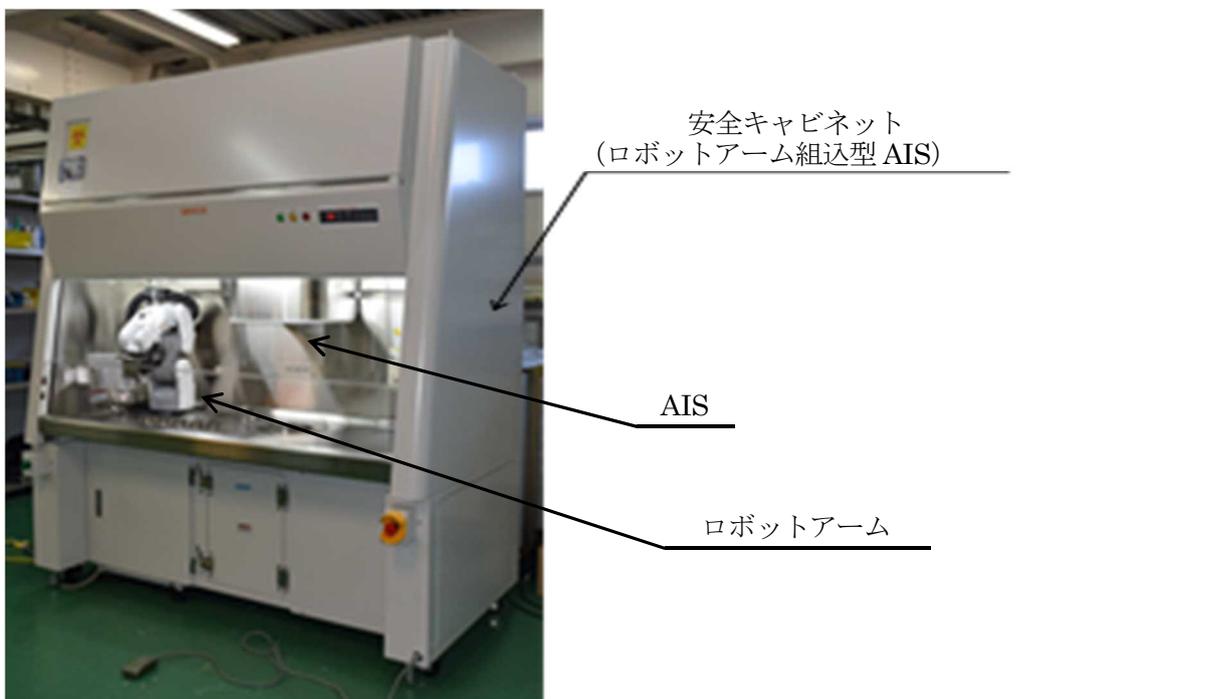


図4 ロボットアーム組込型 AIS+BSC

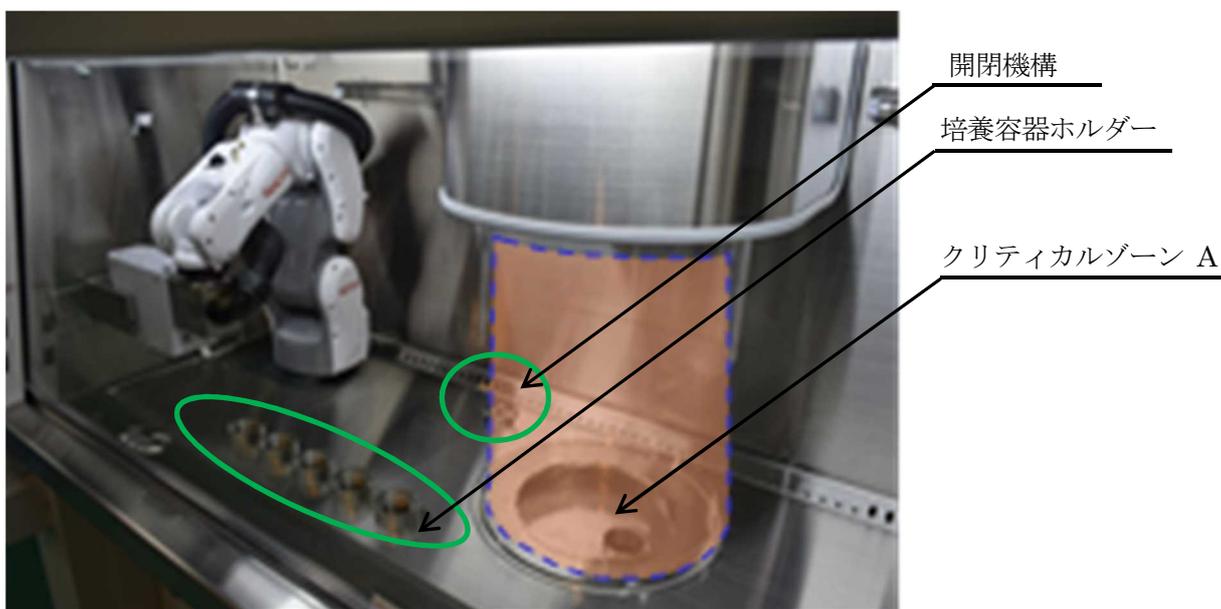


図5 ロボットアーム組込型 AIS+BSC 拡大図

3 ロボットアーム組込型 AIS+BSC の性能評価方法

前年度の報告では、手動式 AIS の封じ込めや無菌性に関する性能評価を JIS 規格に基づき報告した。今回、ロボット稼働時の評価に関しては前例のないものであることから、前年度同様の静止時の評価方法に加えて、JIS 規格の考えを参考にわれわれ独自の検証方法にてロボット操作による無菌性等の評価を実施した。

3-1 ロボットアーム静止時の性能評価

3-1-1 AIS と BSC の気流バランス試験

ロボットアームは初期位置で停止状態とし、BSC の JIS 規格に基づいた気流バランス試験を AIS および BSC に対して行った。BSC の作業者の安全性試験時の状況を図 6 に示す。



図 6 気流バランス試験図

3-1-2 ロボットアームのモックアップによる封じ込め試験

今回は作業者の腕ではなく、ロボットアームが AIS 内に挿入される。よって、JIS 規格に基づく規定の試験用円筒ではなく図 7 に示すロボットアームのモックアップによる封じ込め試験を行った。

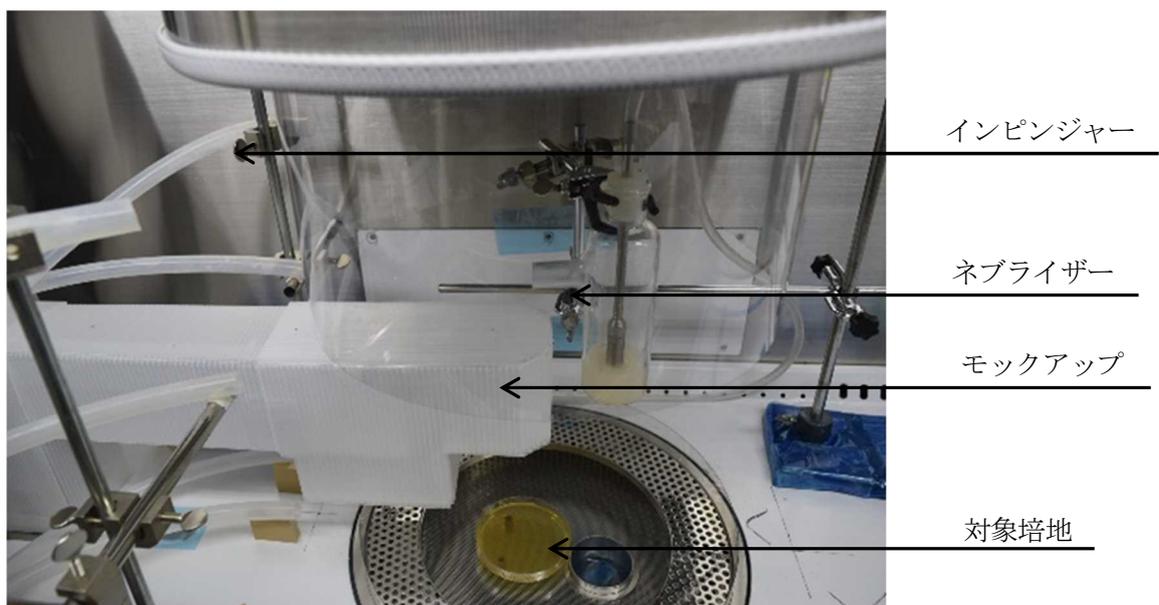


図 7 ロボットアーム静止時の試験図

3-2 ロボットアーム稼働時の性能評価

3-2-1 ロボットアーム稼働時の AIS の封じ込め試験

ロボットアームの AIS へ出入動作時に、封じ込め気流が確保されている事をパーティクルカウンター、および PAO 試験粒子 (PAO) を使用し、数値的に評価した。試験方法を図 8、9 に示す。AIS の中央部より PAO を発生させ、ロボット作動に伴うアーム出入時における PAO の流出状況を BSC 作業室内の各測定点で測定した (測定は 3 回実施)。

3-2-2 培養容器に対する無菌性試験

ロボットアーム稼働時における培養容器への無菌性を評価した。試験方法は、培養容器に培養液と同量 (50 mL) のトリプトソイ寒天培地を作製し、ワーストケースとして培養容器のフタを開放したままロボットアームにて 5 回連続で一連の動作を完了させる (試験は 2 回実施)。培養容器は真菌評価用に 25°Cにて 5 日間培養し、その後 37°Cにて 2 日間培養し、それぞれのコロニー数を計数した。

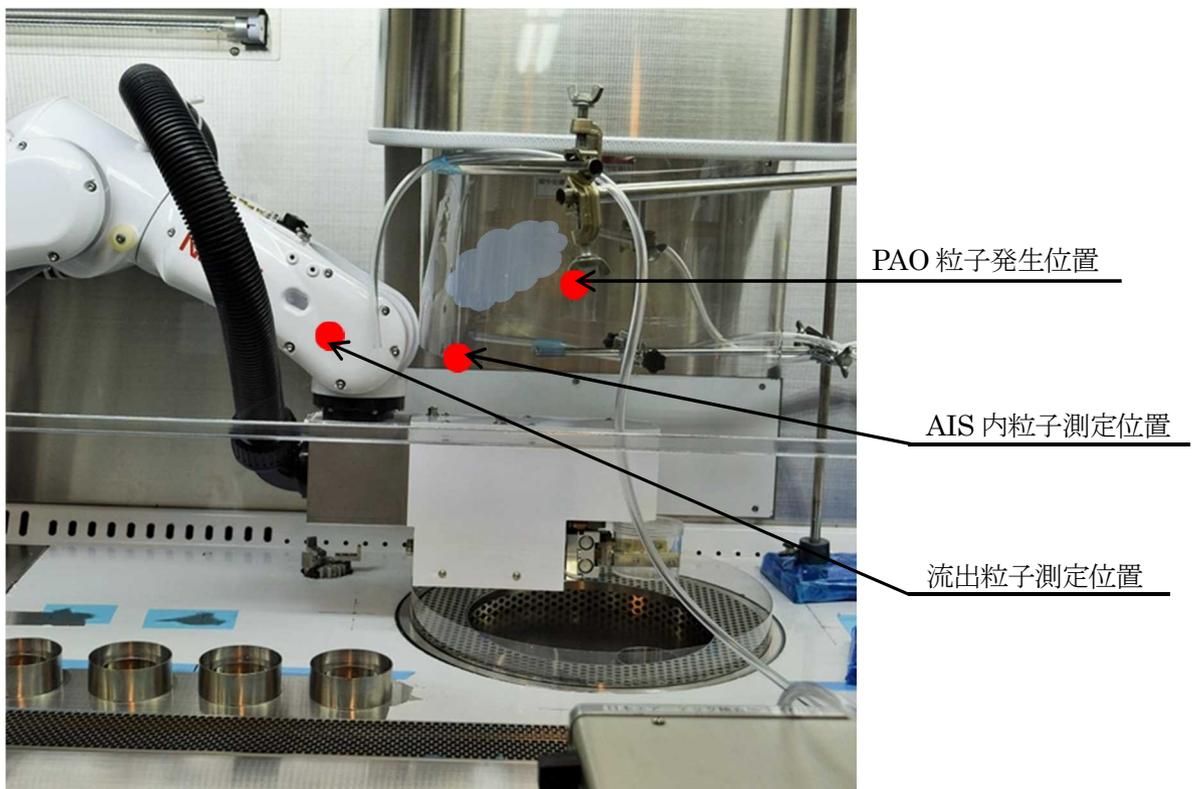


図 8 ロボットアーム動作時の試験図

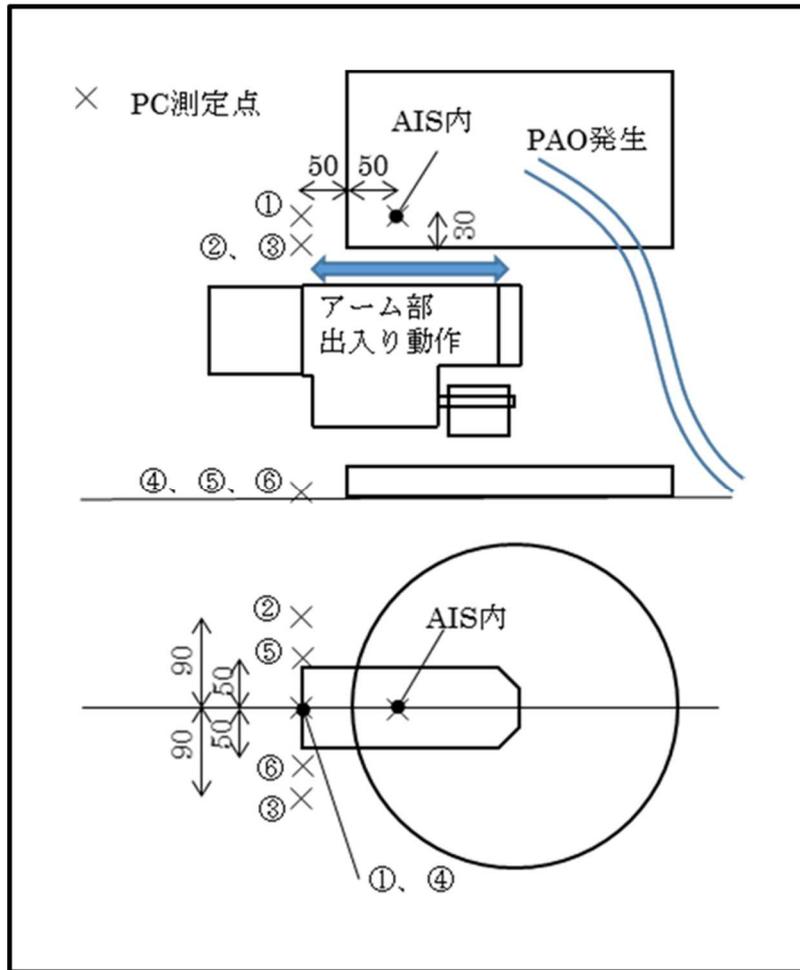


図9 流出粒子測定位置図

4 評価試験結果

4-1 ロボットアーム静止時の性能試験結果

4-1-1 AIS と BSC の気流バランス試験結果

3-1-1 で記載した BSC の選定風速（通常）時の試験の結果を表 2 に示す。各試験は JIS 規格通りに 10% の風速変調時の条件においても行った。全ての試験条件にて JIS の適合範囲内となり、AIS の封じ込め性能、および BSC の気流バランスの確保を確認した。

4-1-2 ロボットアームのモックアップによる封じ込め試験結果

3-1-2 で記載したロボットアームのモックアップによる封じ込め試験を 3 回行った試験結果を表 3 に示す。ロボットアームと同形状のモックアップにおいても AIS の封じ込め性能の確保を確認した。

表2 封じ込め試験培地

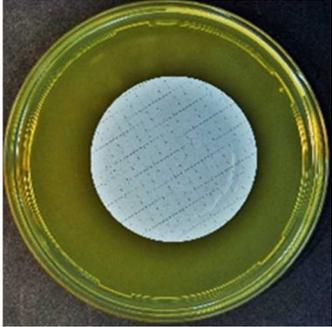
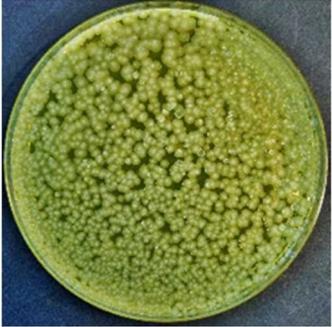
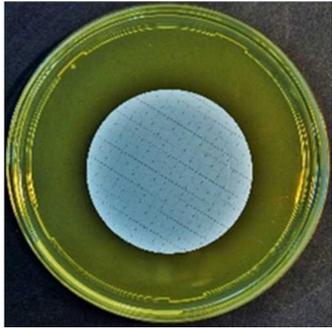
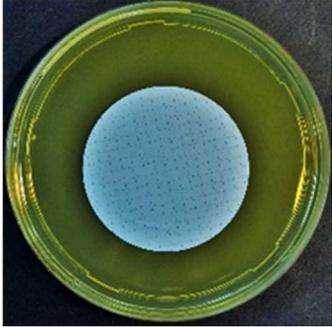
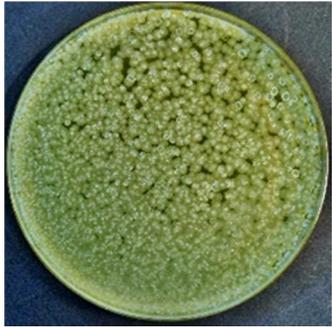
	インピンジャー	コントロール
1回目		
2回目		
3回目		

表3 封じ込め試験結果

	結果			基準	判定
	0 cfu	0 cfu	0 cfu		
インピンジャー	0 cfu	0 cfu	0 cfu	≦ 10 cfu	適合
コントロール	≧300 cfu			≧300 cfu	適合

4-2 ロボットアーム稼働時の性能試験結果

4-2-1 ロボットアーム稼働時の AIS の封じ込め試験結果

パーティクルカウンターによる各測定を3回行った。粒径 0.5 μm、および 5 μm の平均値を表4に示す。対照粒子数は AIS 内に拡散する PA0 濃度の平均値 (2.83 L≒0.1 cft) である。無菌操作等区域の必要清浄度となる ISO クラス5を十分維持可能で、ロボットアーム出入時においても、AIS から粒子の流出がほとんど無いことを確認した。

表4 ロボットアーム稼働時の AIS 封じ込め試験結果 (n=3)

粒子径	$\geq 0.5 \mu\text{m}$	$\geq 5.0 \mu\text{m}$
①	0	0
②	0	0
③	0	0
④	0.3	0
⑤	0.3	0
コントロール	178,867	91

(単位：個)

4-2-2 培養容器に対する無菌性試験結果

培養容器内の無菌性試験の培養結果を図10に、結果のまとめを表5に示す。真菌、および細菌共に0 cft/pとなり、ロボットアーム稼働時の培養容器に対する無菌性の確保を確認した。

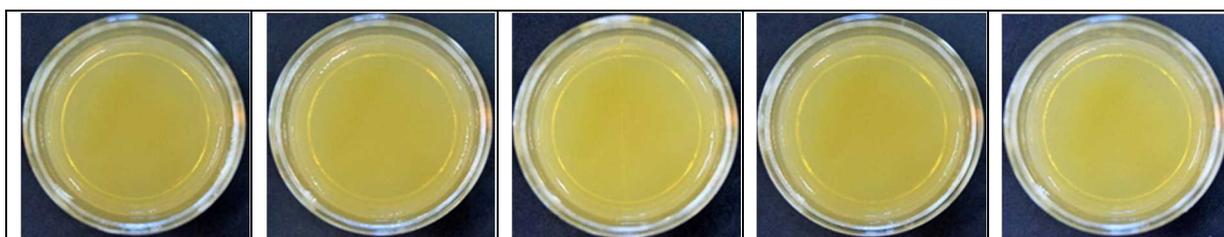


図10 培養結果 (1セット目)

表5 稼働時の培養容器内の無菌試験結果

	真菌数					細菌数				
	1セット目	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2セット目	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

(単位：cfu/p)

5 有識者会合における議論

本年度の有識者会合では、製造プロセスを一部自動化、ロボット化することで製造効率を向上させ、それにより製造コストを低減することや採算性を改善することを目的に、製造プロセスの効率化および安全キャビネットの自動化装置の同等性の評価手法について議論した。

5-1 製造プロセスの効率化

現在取り組んでいる製造プロセスの効率化について、具体的には培養表皮の原料となる細胞を単離するプロセスと自動化装置の条件検討、および軟骨組織から軟骨細胞を単離させるプロセスの自動化装置の条件検討の状況について紹介し、委員より以下の意見を得た。

- 一 自動化に際しての重要点は、機械での作業が人の作業に比べて均一性が増すことである。その点において機械化を検討することが出来る。安定性の観点では手作業より機械で行う

ことが重要である。

- － 再生医療等製品の開発の初期段階から細胞の回収～製造プロセスに至るまで、事業化を見据えたコスト意識、プロセスの最適化を目指した検討を行い、ベーシックサイエンスを積み上げていく必要がある。これらの内容は研究の原材料が入手しにくく、面倒であることから誰も行って来なかったが、今後はアカデミアも取り組んで行く必要があるのではないかと。

5-2 製造プロセスの変更に掛る同等性の評価

ロボットアーム組込型 AIS+BSC について、その同等性の評価手法について議論した。

- － 現状の安全キャビネットの JIS 規格は定常状態での気流の解釈のみであり、動的な動作は考慮していない。安全キャビネット内では気流は絶えず新しくなっているため、従来の JIS 規格では動的な変化は定義できず、将来的にはダイナミックな状態を定義することが必要。
- － 運用能力とは時間的かつ空間的な運用能力を指す。空間操作については気流が絶えず新しくなっているため、容器を持ち替えれば即無菌環境が実現でき、チェンジオーバーが容易に成る。空間と気流を上手に使い無菌環境を実現し、時間を短縮するという概念が新しい部分である。
- － 新しい技術を開発しそれによりコストや手間が削減できるのは素晴らしい。一方でその同等性をどう保証するのが重要である。メーカーとしては、プロセスの保証を対外的に説明しなければいけないため、生産面で保証に関する管理コストが大きいのであれば、簡単に導入することは難しい側面がある。

5-3 今後の展望

再生医療等製品製造における効率化とコスト削減のためには、現時点で、手作業で行っている細胞培養プロセスについても自動化を目指す方向性は避けられないと考えられる。自動化装置の開発についても今後さらなる開発と改良が加えられる可能性があるが、一般的に承認済みの再生医療等製品についてその製造方法を変えることは容易ではない。この点については再生医療の特性から考えて、製造プロセスにおいて許容しなければならないリスクについて共通の理解を得ることと、そのリスクに対してどのように対応していくべきかをまとめる必要があると考える。

6 今後の展望

本研究では、AIS の基本機能を損なうことなく生産性を向上させる方法として、付加価値を有した搬送系システムにロボットアームと専用のハンドとをカップリングすることにより課題解決の一提案を行った。具体的には、AIS と作業補助用の搬送系機能を組み合わせて、細胞培養操作をより簡便に実施できる仕組みを示し、培地交換等の培養作業をアシストするに足り得る機能を有することを、BSC の JIS 規格 (JIS K3800 : 2009) の気流バランス試験にて評価できた。また、ロボットアーム稼働時においても AIS の封じ込め性能は維持されており、封じ込めや無菌性能を満たしていることが評価できた。今後は、これらを含む製造工程の更なるブラッシュアップを行い、自動培地交換機能を付加した生産プロセスの構築を検討するとともに、各種評価・バリデーションの実施後、現場導入を行い、自家細胞を用いた再生医療等製品の製造における標準システムとするための改良を進めていきたい。

(C) 同種細胞培養の自動化検証（バイオリアクターを用いた同等性評価）

1 接着性細胞培養に対するバイオリアクターの評価（平面培養との同等性検証）

同種細胞培養製品は、自家細胞製品とは異なり、単一の由来細胞から大量に培養するため、機械化・自動化を含めた大量培養装置の選定が必須となる。今回、移植用接着細胞の大量培養を合理的に行う装置として、既存のバイオリアクターについて、培養効率および品質維持の観点で評価を行った。その際、平面培養ではスペース効率に限界があるため、効率が高いと言われている3次元培養バイオリアクターも対象とした。

1-1 中空糸を用いたバイオリアクター（T社）の検討

T社の中空糸を用いたバイオリアクターは、接着細胞の大量培養装置として開発された。当該装置は、中空糸が内蔵されており、1本のバイオリアクターで2.1 m²（T150 フラスコ 140 本分）の表面積を有する。機器全体の設置面積は50×60 cmとコンパクトであった。

中空糸の表面はポリエーテルスルホンであり、細胞が接着しないため、コーティング操作が必要となる。T社が推奨するコーティング剤は、ヒト血漿由来フィブロネクチン、組換えビトロネクチンの2種類であった。まず、前提となる安全性の評価として、これらコーティング剤の生物由来原料基準への適合性を評価した。

フィブロネクチンの原料となるヒト血漿は、原料血漿でB型肝炎ウイルス抗原とHIV-1抗体が検査されていたが、他の感染症に関しては記載がなく、生物由来原料基準へは適合しないと判断した。組換えビトロネクチンは、製造工程で動物由来原料が使用されていた。感染症否定試験や製造工程バリデーションが不足しており、生物由来原料基準へは適合しないと判断した。以上の結果から、本装置を移植用細胞の大量培養装置として選定することはできないと判断した。

1-2 マルチプレートを用いたバイオリアクター（P社）の検討

P社のマルチプレートを用いたバイオリアクターは、接着細胞の大量培養装置として開発された。当該装置は、プレートを高密度に積層し、ガス置換済み培地を使用することで気層を省き、省スペース化を図っている。プレートは1枚が612 cm²（T150 フラスコ 3.5 本分）の面積であり、プレート枚数10枚（高さ29 cm、T150 フラスコ 35 本分）～200枚（高さ81 cm、T150 フラスコ 700 本分）から選択できる。プレート表面のコーティングがなく、生物由来原料基準には該当しないことを確認した。

今回、国内の評価用デモ機が賃借できなかったため、細胞増殖性能および培養細胞の特性評価は実施できなかった。性能や安全性以外の課題として、本P社装置も前出のT社のバイオリアクターも、シングルユース部品が数十万円（プレート10枚）～百数十万円（プレート200枚）と非常に高額であり、コスト面で使用するタイミング（規模）および工程が限定されると考えられた。

2 同種細胞の大量培養システムの確立

本年度は、表皮角化細胞の大量培養システムの構築を先行して検討した。同種培養表皮は、自家培養表皮ジェイスと同様に、フィーダー細胞との共培養を行いシート状で回収する必要があるため、上記2機種種のバイオリアクターを用いることはできない。そこで、フィーダー細胞となるマウス3T3-J2細胞の大量培養への使用を検討したが、最終製品ではなく製造工程に使用する原料細胞の培養であることから、規模およびコストの観点から大量培養装置による効率化への寄与は少ないと判

断した。今回検討した大量培養システムは、線維芽細胞や間葉系幹細胞など、同一由来細胞から最終製品を大量に培養する工程が対象になると判断した。大量培養装置を最終の培養工程で使用する際の評価項目としては、完成した最終製品の出荷試験規格に対する適否だけで判断するのではなく、様々な特性解析を実施することにより製造工程の安定性や製品の安全性・有効性が保証されることが重要になると考える。

(3) 分担研究開発課題名：品質管理項目に関する事項（自家細胞を用いた再生医療等製品の品質管理法評価）

(A) 光干渉断層撮影（Optical Coherence Tomography：OCT）による3次元培養組織の品質評価

①研究開発成果の内容

1 OCT 機能評価

1-1 OCT システム

近赤外光の干渉を用いた OCT（Optical Coherence Tomography）技術は、細胞組織へダメージを与えることなく内部観察が可能な技術として近年用いられるようになった。特に眼底検査には、医療機器として広く普及している。

本研究で使用した OCT 測定システムの構成（上方からの測定の場合）を図 11 に示す。下方から（培養器の底の方向から）の測定の場合、OCT ヘッド部はステージの下に付け替える。本研究では、分光器を用いて高速測定が可能な SD-OCT（Spectral Domain-OCT）を用いており、波長は 930 nm、光学的解像度は約 8 μm である。また一つの断面の観察の場合は約 0.5 秒で測定でき、1 mm \times 1 mm のエリアを 1 画素 2.5 μm で 3 次元測定する場合は、150 秒程度必要であった。

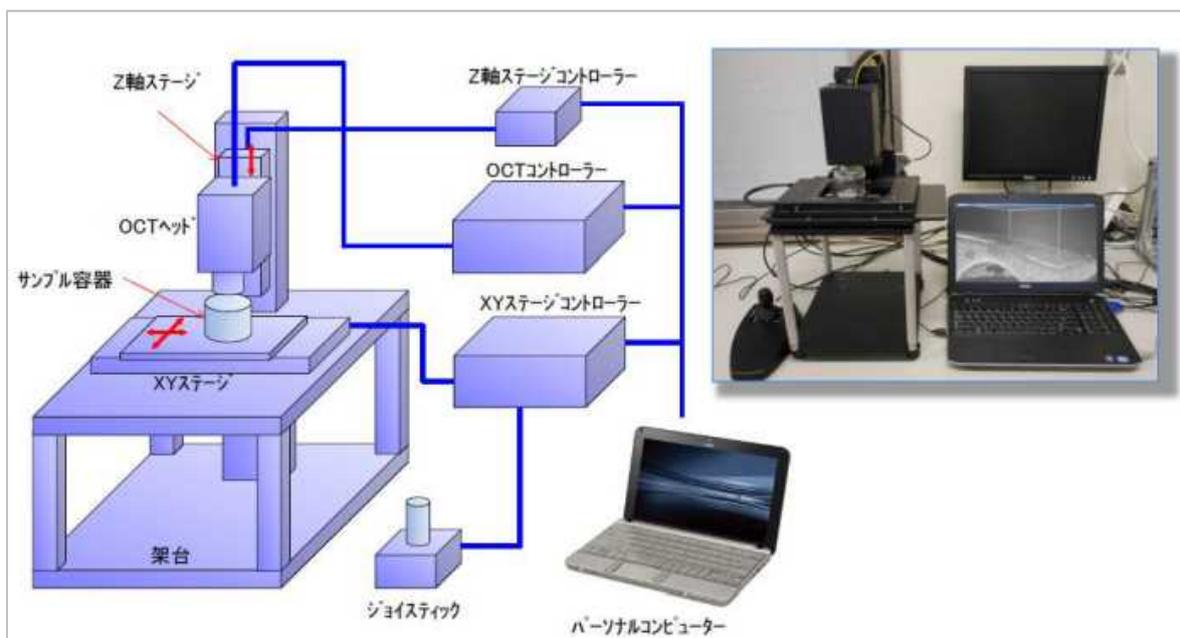


図 11 OCT 測定システムの構成と外観

1-2 培養軟骨を用いた OCT 機能評価

1-2-1 下方からの測定

細胞を含まないコラーゲンゲルを培養容器の下方から観察した様子を図 12 に示す。OCT のフォーカスを底面付近から上面方向に 3 段階変えて断面を撮像した。辺縁部で良好な像が観察された。ゲルによる光の散乱のために光が減衰し、鮮明に観察できる範囲は下面より 1.3 mm 程度だった。

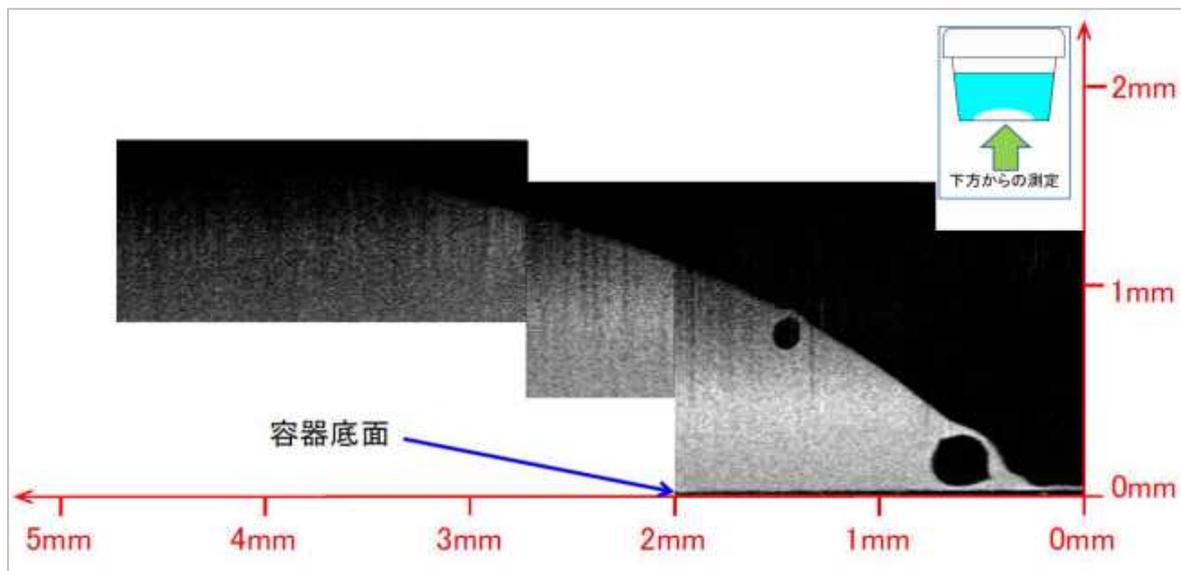


図 12 測定深さの確認 1

細胞を含む培養軟骨を培養容器の下方から観察した様子を図 13 に示す。鮮明に見える深さは細胞無しの場合より短くなった (0.8 mm 程度) が、辺縁部のゲル上に増殖した細胞層や、培養皿上に増殖した細胞層が観察された。さらに、ゲル外部の容器底に細胞の増殖が観察された。

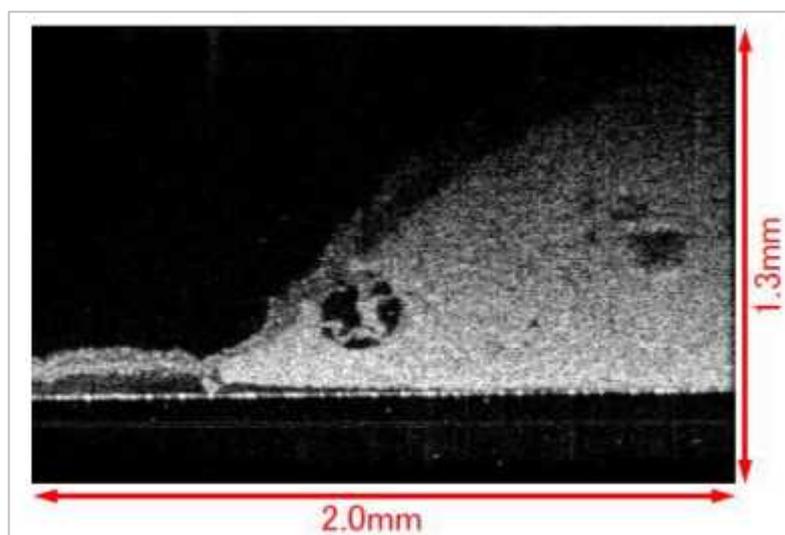


図 13 測定深さの確認 2

1-2-2 上方からの測定

細胞を含まないコラーゲンゲルを培養容器の上方から観察した様子を図 14 に示す。ゲル表面は明確で、ゲル内部も比較的一様な状態だった。また、ゲル内の空間も鮮明に観察できた。

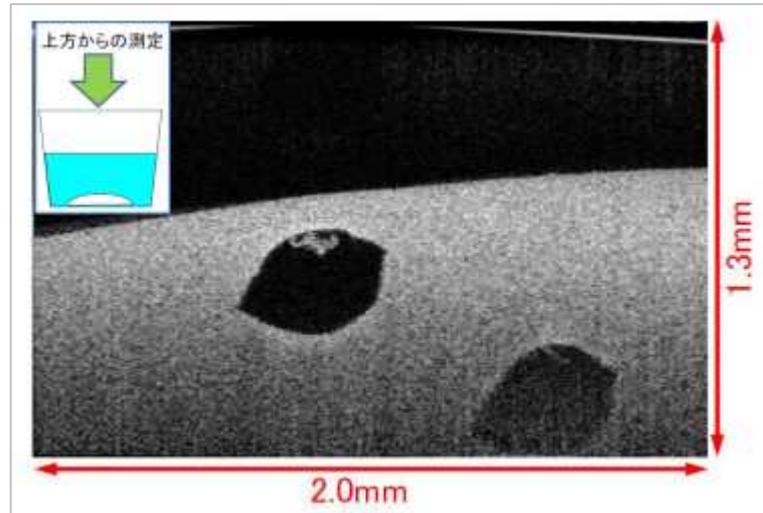


図 14 培養軟骨上面の観察 1

細胞を含む培養軟骨を培養容器の上方から観察した様子を図 15 示す。コラーゲンゲル上部に細胞層が観察された。コラーゲンゲル内部は一様でなく、増殖した細胞による光の散乱が強いためであると推測された。

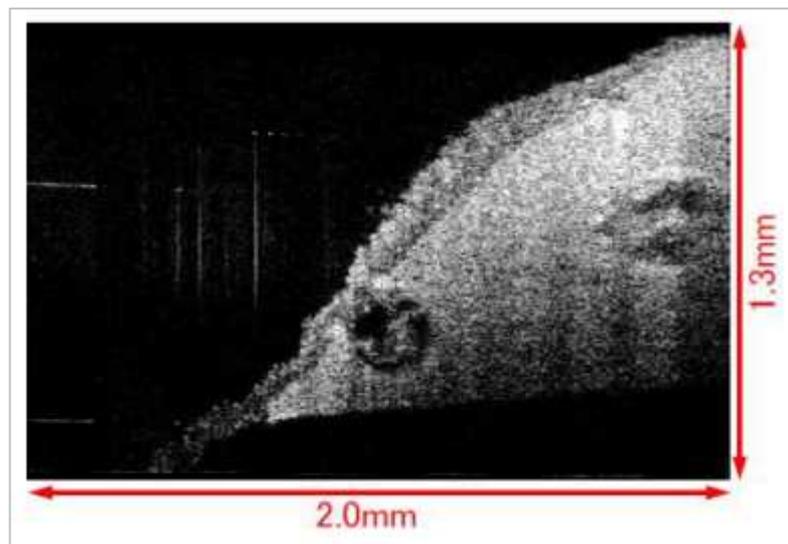


図 15 培養軟骨上面の観察 2

OCT で培養軟骨を観察する場合、培養容器の下方からの測定は培養容器を解放する必要がないが、上方からの測定では、培養容器の上面の蓋が透明でないため、蓋を除去または交換する必要がある。よって、OCT で培養軟骨の観察は、下方からが適していると考えた。

1-2-3 核染色像や基質染色像との比較

高播種密度で軟骨細胞をコラーゲンゲルに播種し培養した培養軟骨のパラフィン切片を作製した。DAPI で核染色した画像 (図 16 上段左) とサフラニン O 染色した画像 (図 16 上段右) をそれぞれ示した。ゲル上面に多層化した細胞層と、豊富な軟骨基質が観察された。併行作製品を OCT で上方から測定した (図 16 下段)。OCT を用いた上方からの測定ではゲル上面の軟骨細胞層が観察された。その像は細胞一つ一つを思わせる形状を示した。また、ゲル内の細胞塊は空洞とは異なる像を示した。

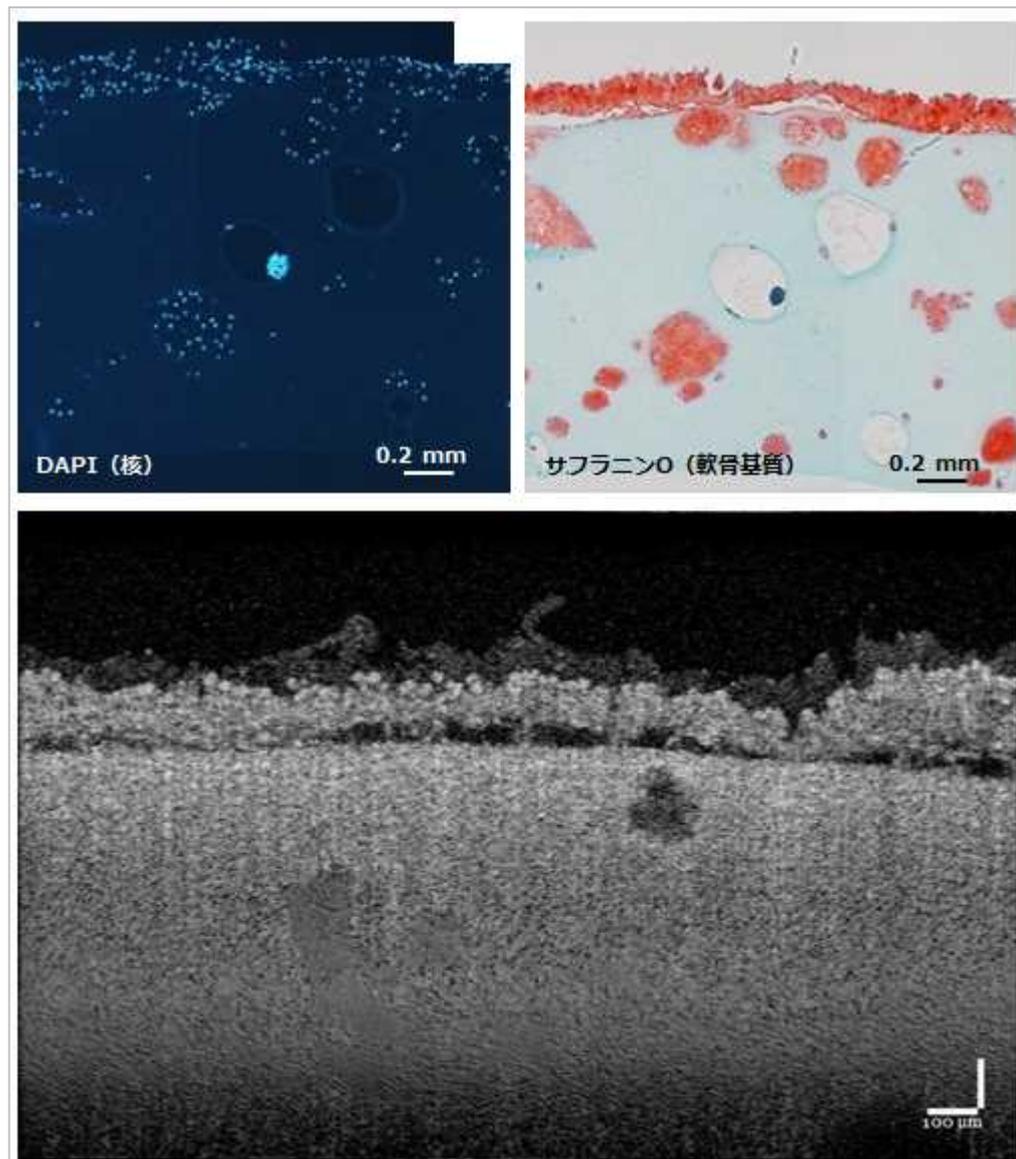


図 16 高播種密度で作製した培養軟骨の DAPI による核染色像 (上左)、サフラニン O 染色像 (上右) および OCT 画像 (下)

次に、低播種密度で軟骨細胞をコラーゲンゲルに播種し培養した培養軟骨のパラフィン切片を作製した。DAPI で核染色した画像 (図 17 上段左) とサフラニン O 染色した画像 (図 17 上段右) をそれぞれ示した。ゲル上面に一層の細胞層が観察されたが、上面での軟骨基質は

認められなかった。併行作製品を OCT で用いて上方から測定した (図 17 下段)。OCT を用いた上方からの測定ではゲル上面に部分的に突起が見られた。基質が少ないと、OCT では観察されないことが示唆された。

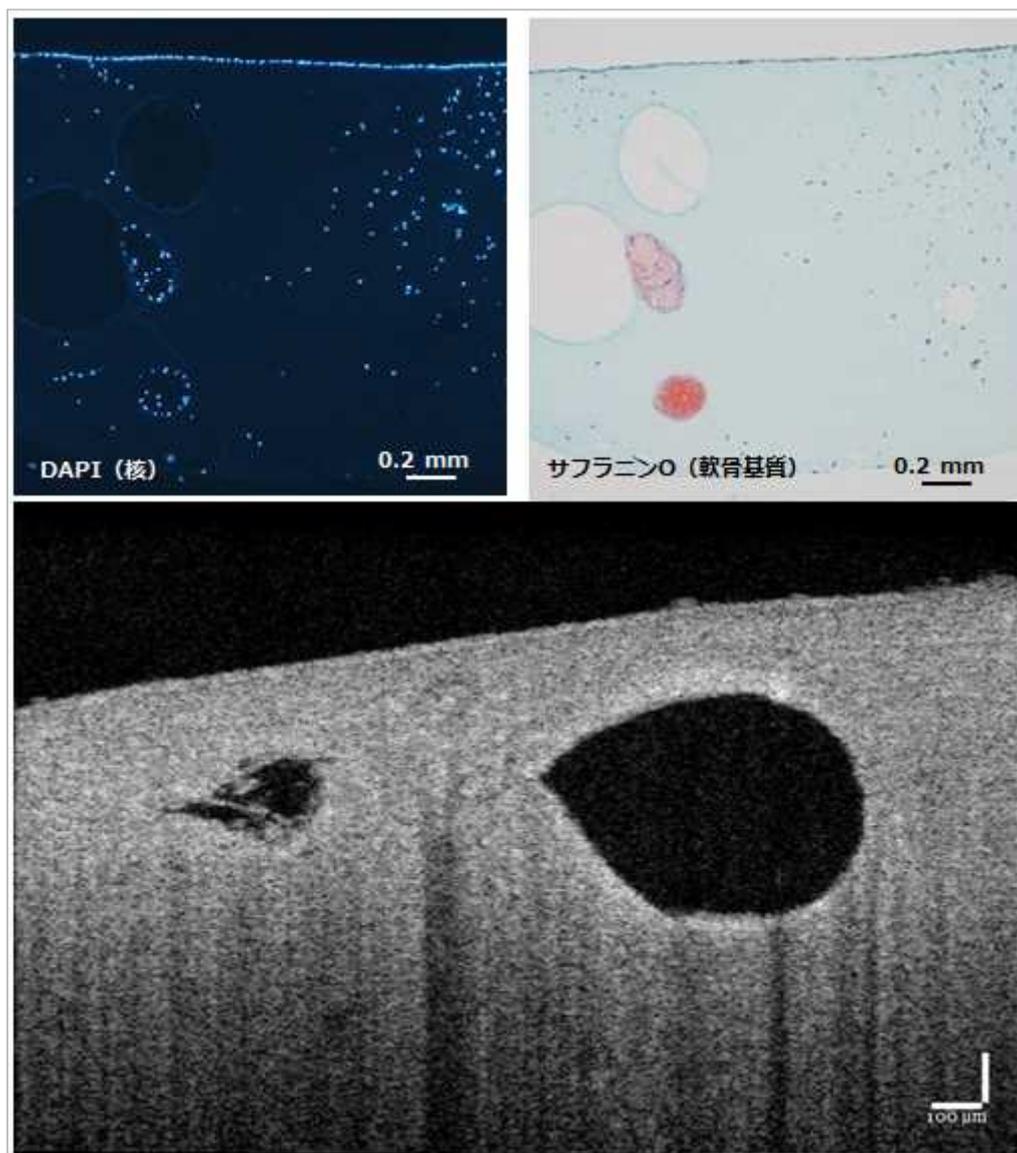


図 17 低播種密度で作製した培養軟骨の DAPI による核染色像 (上左)、サフラニン O 染色像 (上右) および OCT 画像 (下)

自家培養軟骨ジャックは、アテロコラーゲンゲルでの軟骨細胞の 3 次元培養組織である。そのため、平面培養細胞の観察に用いる位相差顕微鏡では、ゲル内やゲル上面の様子を観察することは困難である。OCT を用いることで、ゲル上面の細胞層やゲル内の空洞に存在する細胞が観察できた。また、軟骨基質を多く産生する細胞が OCT では観察しやすいことが示唆された。

2 3次元培養組織の品質評価

2-1 ブタ軟骨細胞を用いて作製した培養軟骨の観察

ブタ軟骨細胞を用いて培養軟骨を作製し、培養期間の異なる（短期間培養および長期間培養）培養軟骨を OCT で下面から観察した。短期間培養の培養軟骨の観察結果を図 18 に、長期間培養の培養軟骨の観察結果を図 19 に示した。ブタ軟骨細胞では、培養期間に応じてゲル上面の細胞が増加することが示された。また、培養軟骨の 3D 画像（図 18 右、図 19 右）では、上面や内部空洞部分で、粒状の粒子が観察された。

ブタ軟骨細胞を用いた培養軟骨では OCT により、ゲル上面やゲル内部の空洞に存在する（基質を多く産生すると推定される）細胞が観察できることが示された。

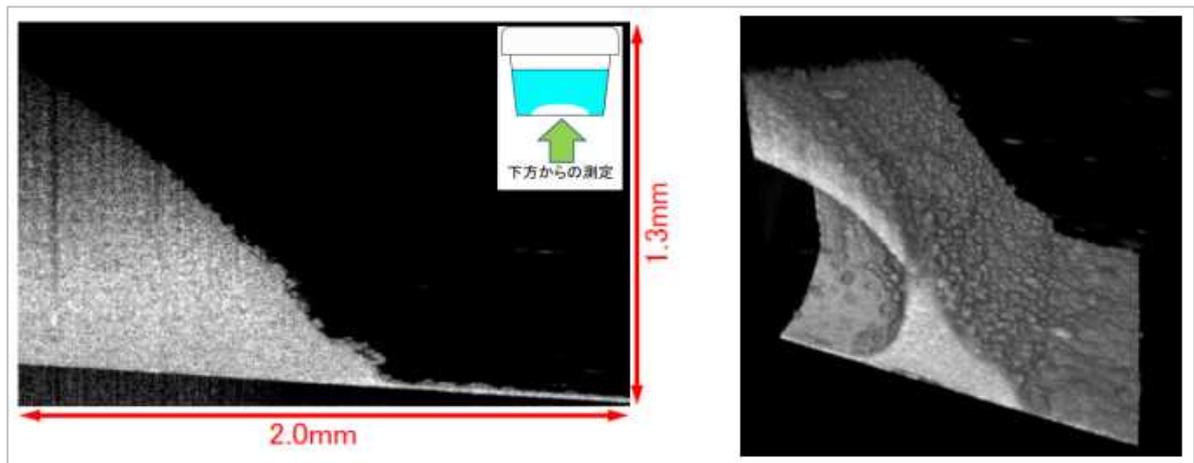


図 18 短期間培養のブタ軟骨細胞培養軟骨の OCT 像

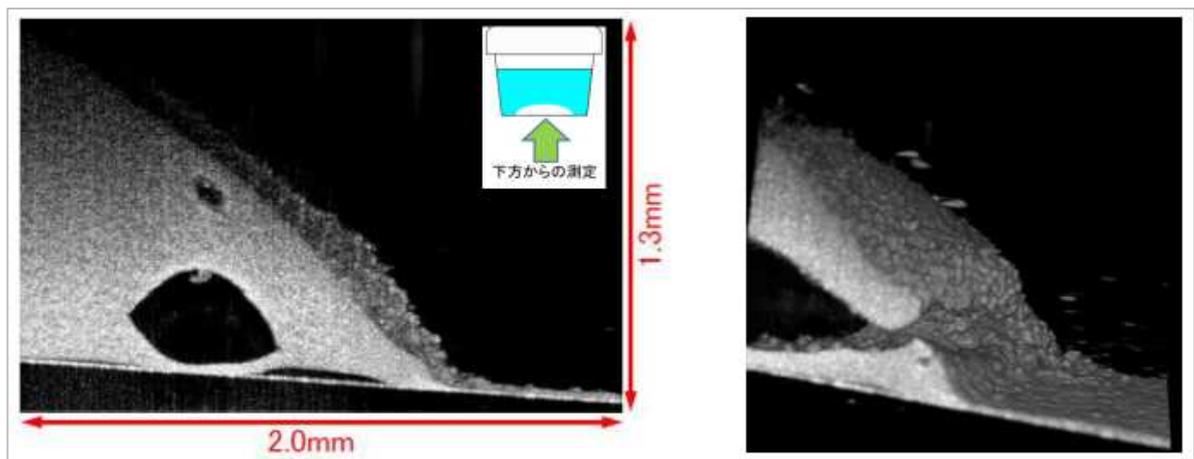


図 19 長期間培養のブタ軟骨細胞培養軟骨の OCT 像

2-2 ヒト軟骨細胞を用いて作製した培養軟骨の観察

ヒト軟骨細胞を用いて培養軟骨を作製し、2-1 と同様に培養期間の異なる（短期間培養および長期間培養）培養軟骨を、OCT を用いて下面から観察した。ヒト軟骨細胞では、ブタ軟骨細胞で認められたような明らかな粒子の凝集は認められなかったが、散在した粒子が認められた。

ヒト軟骨細胞を用いた培養軟骨では、OCTによってゲル上面の細胞や基質の識別が可能であることが明らかとなったが、出荷時の品質の予測可能性については、症例を重ねて解析する必要があると考えられた。

(B) マイコプラズマ否定試験 (NAT) の妥当性評価

日本薬局方第 17 改正記載のマイコプラズマ否定試験 NAT の妥当性評価方法の確立を目的として、NAT の評価に必須であるマイコプラズマ標準品の作製、選定した NAT のキットで測定可能なリアルタイム PCR 装置の選定、各種検体における検体調製および測定方法の確立と、予備的評価、バリデーションおよび実検体の測定を実施した。なお、マイコプラズマ標準品の作製については、後述の「(D) 標準品の設定方法提案」に内容を記載した。

1 NAT の妥当性評価

NAT の検討は、前年度の本事業における検討実績にて要求事項を満たすことを確認した 2 製品〔ライフテクノロジー社製『MycoSEQ™ Mycoplasma Detection System』(以下、『MycoSEQ』)、日水製薬社製 NAT キット (東京医科歯科大学清水則夫准教授と共同開発した市販前キット。以下、TMDU 法キット)] を中心に検討した。

1-1 NAT 測定装置の選定

前述の 2 キットの測定に適した装置を選定するために、4 機種のリアルタイム PCR 装置を評価し、2 装置が使用可能であることを確認した。装置によって温度制御方法の違いや、搭載されているソフトウェアの解析方法の違いがあり、各キットが推奨する装置以外では適切に測定できないケースが見られた。装置のメンテナンス方法やソフトウェア解析方法等から、BIO RAD 社製「CFX96」を選定した (図 20)。



図 20 CFX96 (BIO RAD ホームページより)

選定した機器について、据付時適格性評価 (IQ)、運転時適格性評価 (OQ) および稼働時適格性評価 (PQ) を実施し、機器の適格性を評価した (表 6)。その結果、設定した各評価項目に適合することを確認し、リアルタイム PCR の適格性が示された。

表6 機器の適格性評価

評価項目	判定
据付時適格性評価 (IQ)	適合
運転時適格性評価 (OQ)	適合
稼働時適格性評価 (PQ)	適合

1-2 測定方法の確立および予備的評価

前述の2種類のNATキットについて、検体のマイコプラズマの添加回収試験を行い、検体調製方法の至適条件を検討した。検体調製の効率化を目的として、核酸抽出法を2種類（磁気ビーズ法とスピнкаラム法）検討したが、核酸抽出法の違いが各キットにおける検出感度に影響することを確認した。各キットが推奨する核酸抽出方法が最適であった。

TMDU 法キットにて詳細な条件検討後、後述のマイコプラズマ標準品を用いて予備的評価を実施した。

(C) 代替品、代替測定方法の確立（国産への代替等）

1 軟骨基質定量試験の代替測定法

1-1 軟骨基質定量試験の代替測定法の検討

現行の軟骨基質定量試験は市販のキット（外国製）を使用しているが、当該キット以外に、同じ測定原理および測定方法のキットは市販されていない。一部変更承認申請が不要となる範囲での測定法の変更を目指すため、現行の軟骨基質定量試験の測定原理および測定方法と同じ代替測定法を検討した。なお、軟骨基質標準品については、後述の「(D) 標準品の設定方法提案」に内容を記載した。

論文等を参考として、代替測定法に必要な試液等の調製方法（pH 等）を詳細に検討した。現行測定法と代替測定法の検量線を比較した（図21）。

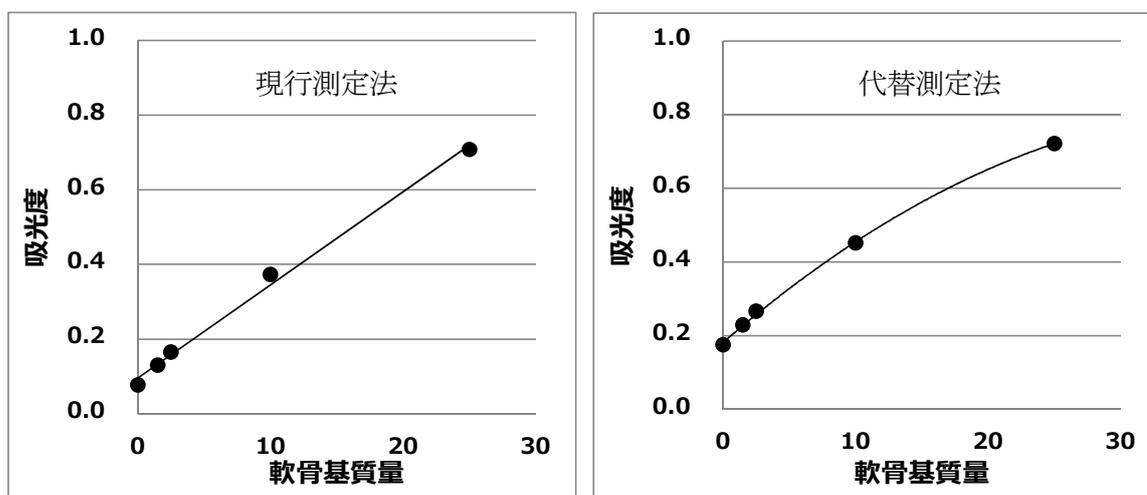


図21 軟骨基質定量試験 検量線の比較

1-2 軟骨基質定量試験の代替測定法の妥当性評価

現行測定法から代替測定法へ変更するためには、代替測定法のバリデーションと、現行測定法との同等性評価が必要となる。代替測定法の妥当性を確認中である。

2 軟骨細胞含有率確認試験の代替測定法

現行の軟骨細胞含有率確認試験は、蛍光免疫染色を用いた方法を用いた試験であるが、当該試験を設定した当初には想定していなかった課題を、これまでの実製造において認識するに至った。現行測定法についての課題は以下の通りである。

- ① 試験に使用する抗体の代替品がないため、サプライヤーリスクにより出荷試験が停止する可能性がある。
- ② 抗体はロット間で染色像および染色強度の差が大きく、不安定な製品である。
- ③ 免疫染色であるため、試験を設定した当初に想定した以上に、症例ごとで得られる染色像・染色強度等の差が大きい。
- ④ 蛍光顕微鏡ランプの経時劣化、新規顕微鏡導入の際の同等性評価等、撮影環境の維持が難しい。

そこで、新しい測定原理で軟骨細胞を検出する代替測定法（フローサイトメトリーを用いた試験法等）の構築を考えた。代替測定法を設定する場合、測定法バリデーションのほかに、現行法との同等性が必要となる。その方法として、軟骨細胞標準品を用いて、測定法の変更後にも検出感度等に影響がないことを確認することが理想的ではあるが、軟骨細胞の標準細胞を設定することは非常に困難である。また、現行測定法と異なる指標と検出方法を用いるため、新旧測定法について同等性を検証することは極めて困難である。

変更方法に関する考え方について、2016年4月4日に再生医療等製品品質相談（事前面談）を実施するための準備を完了した。なお、軟骨細胞標準品については、後述の「(D) 標準品の設定方法提案」に内容を記載した。

3 BSA 定量試験の代替測定法

現行の BSA 定量試験は市販のキット（外国製）を使用している。サプライヤーリスクを低減するため、国産のキット（レビス[®]アルブミン-ウシ：シバヤギ）について代替測定法としての妥当性を確認した。妥当性の確認に関しては、前年度に導入した自動 ELISA 装置（全自動マイクロプレート EIA 分析装置：協和メデックス株式会社）を使用することを前提とした。

自動 ELISA 装置にて、代替測定法キットを検討したところ、現行測定法と比較して発色が弱く、また自動 ELISA 装置用試薬ラックの溶解が確認された（図 22）。当該キットの発色液中の有機溶媒が試薬ラックの AS 樹脂と反応し、発色低下を引き起こしたことが判明した。試薬ラックの原料の変更は困難と判断し、有機溶媒の含まない発色液を探索中である。



図 22 試薬ラックの溶解

(D) 標準品の設定方法提案

1 軟骨細胞標準品

市販の軟骨細胞株および研究用自社分離軟骨細胞について免疫染色を実施し、軟骨細胞標準品として使用可能な細胞を探索した。評価基準として、現行測定法で使用する抗体で 100%染色されることとした。その結果、100%染色される細胞はなかった。

軟骨細胞標準品に関する考え方について、2016 年 4 月 4 日に再生医療等製品品質相談(事前面談)を実施する予定である。

2 マイコプラズマ標準品

従来のマイコプラズマ否定試験(培養法)およびマイコプラズマ否定試験(指標細胞を用いた DNA 染色法)は、生菌を検出する方法である。一方、NAT ではマイコプラズマに由来する核酸を検出するため、死菌由来の核酸も検出する。よって NAT バリデーション等に用いる標準菌株が死菌を多く含むものである場合、検出感度を過大評価する恐れがある。そこで、日本薬局方第 17 改正収載のマイコプラズマ否定試験 NAT に記載されているマイコプラズマ 7 菌種について、生菌数(CFU)とゲノムコピー数(GC)より生菌と死菌の核酸量を測定し、GC/CFU 比 100 以下の標準品作製を目指した。

2-1 マイコプラズマ増殖曲線の作製

前年度に作製したマイコプラズマ標準品について GC を測定した結果、死菌の混入が多く、GC/CFU 比 100 を上回った。そこで、マイコプラズマ 7 菌種について、培養期間中、継時的に測定した CFU より増殖曲線を作成し、対数増殖期にあたる培養期間を確認した。

2-2 標準品の作製

2-1 で確認した培養期間および医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス等で報告されている培養・凍結方法にてマイコプラズマ 7 菌種を凍結保存した。凍結保存前と保存後で CFU を測定した結果、良好な生存率を示し、凍結保存後の CFU で標準品の値付けを行った。

2-3 GC/CFU 比の測定

GC/CFU 比 100 以下の標準品が作製されていることを確認するため、2-2 で作製した標準品

から DNA 抽出を行い、GC を測定した。GC 測定は東京医科歯科大学 清水則夫准教授に委託した。吸光度法で核酸を定量し、GC 数の算出を試みたところ、マイコプラズマ標準品の核酸量が少なく定量下限を下回り、定量値の信頼性が得られなかった。そこでリアルタイム PCR による検量線定量法を採用した。東京医科歯科大学で作製し、吸光度法で値付けされた各マイコプラズマのプラスミド DNA で検量線を作製し、標準品の GC/CFU を算出した結果、GC/CFU は 1~108 となった。

3 BSA 標準品

BSA 標準品として、複数の候補品について検討した。市販の候補品を標準品とする場合、少なくとも、ロット番号・含量・保存条件を明らかにした分析証明書またはそれに代わる文書が必要と考えている。アメリカ国立標準技術研究所 (National Institute of Standards and Technology) の BSA Standard Reference Material により値付けされており、二次標準品の位置づけであることから Thermo Fisher 製 Albumin Standard を選定した。

Thermo Fisher 製 Albumin Standard を標準品とする妥当性を現行の測定方法により評価した。評価項目は、真度および精度とした。

4 軟骨基質標準品

代替測定法における検量線作成用標準品として、4 種類の候補品を検討した。市販の候補品を標準品とする場合、少なくとも、ロット番号・含量・保存条件を明らかにした分析証明書またはそれに代わる文書が必要と考えている。値付け方法、現行の測定方法における真度および精度等により、米国薬局方収載品を選定した。標準品の妥当性確認試験については、前述の BSA 標準品と同評価項目を想定しており、現在試験計画中である。

(E) 微生物迅速試験法の妥当性評価

1 検出感度の確認

バクテアラート (図 23) を用いた微生物迅速試験法における、*Staphylococcus aureus*、*Pseudomonas aeruginosa*、*Candida albicans*、*Bacillus subtilis*、*Aspergillus brasiliensis*、*Clostridium sporogenes* および *Propionibacterium acnes* の検出感度を確認した。その結果、すべての菌種において 10CFU の検出感度を確認した。それらの検出時間 (陽性判定時間) は、15~162 時間であり、*P. acnes* が最も検出時間を要した。



図 23 バクテアラート 3D (全自動微生物培養検出装置)
(シスメックス株式会社ホームページより)

2 抗生物質除去方法の検討

バクテアラートは培地ボトルに検体を直接接種する必要がある。検体の許容量は最大 10 mL であるため、大量の培養上清を検体とする場合は、検体の濃縮および発育阻害物質（抗生物質）の除去が必要となる。前年度は検体の濃縮方法を検討した。

本年度は、発育阻害物質の除去方法を検討するため、はじめに培地中の抗生物質（ペニシリン、ストレプトマイシン、カナマイシン、アムホテリシン B）の抗菌活性を確認した。培地を検体として、*B. subtilis* および *S. aureus* (100CFU) に対する抗菌活性を確認したところ、発育阻害が見られた。

次に抗生物質除去方法を検討した。抗生物質吸着ビーズ入り培地（iFA plus）、ペニシリナーゼ、または抗生物質吸着ビーズ入り培地とペニシリナーゼ併用による抗生物質除去効果を検討したが、いずれも検体（培地）中の抗生物質を除去することはできなかった。

3 感受性試験の実施

菌の発育を阻害する各抗生物質濃度を把握するため、日本薬局方収載菌（6 種）および *P. acnes* に対し、抗生物質感受性試験を実施した。培地を検体とする場合は、検体中の抗生物質濃度を最小発育阻止濃度（MIC）以下とする必要がある。

(4) 分担研究開発課題名：同種細胞による再生医療等製品のセルバンク構築および同種細胞を用いた再生医療等製品の品質管理法評価

(A) 同種細胞を用いた再生医療等製品の品質管理法評価

1 微生物否定試験の妥当性評価方法

ドナースクリーニングとセルバンクに対して担保する安全性レベルについて検討した。本検討は、東京医科歯科大学再生医療研究センター（清水則夫准教授）との協力体制のもと実施した。

原材料となる同種皮膚組織・細胞の、生原基および同種指針等への対応状況を提示し、ドナースクリーニングの妥当性とウイルス検査の充足性について、2015 年 11 月 20 日に PMDA と薬事戦略相

談（品質・安全性の事前面談）を実施した。事前面談での指摘事項を踏まえ、2016年2月26日にPMDAと薬事戦略相談（品質・安全性の対面助言）を実施した。

1-1 ドナースクリーニングの項目について

ドナースクリーニングの項目について、PMDAと以下の内容で合意した。

同種細胞を用いた再生医療等製品は、ドナーから採取された組織由来の細胞がバンク化され、当該バンク由来の細胞から多数の製品が製造され患者に広く使用されるという特性を持つ。製品に起因するウイルス感染が生じた際に多くの健康被害が発生することが懸念されるため、原料に由来する潜在的ウイルスを可能な限り低減化することを目的として、組織採取時の血清学的試験項目を選定した。血清学的試験については、目的とするウイルスの特性について、感染後の抗体産生時期または抗体消失までの期間、抗体の種類（IgGまたはIgM）、検査法の検出感度等を鑑み、ウイルス検査法を選定した。また、組織および分離細胞に対し、ウイルス検査（NAT）を実施する。

組織採取時にウイルスに感染していたが、検出感度以下であったため検出されなかった可能性を否定する目的で、ウインドウピリオドを勘案した再検査を実施することとした（表7）。

表7 ドナースクリーニング項目としてのウイルス検査

項目	組織採取採血	組織および分離細胞	ウインドウピリオドを勘案した再採血
実施時期	手術日	組織処理時	数か月後（未決定）
検体	血清	皮膚および細胞	血清
方法	血清学的試験	NAT	NAT
HBV	○	○	○
HCV	○	○	○
HIV	○	○	○
HTLV	○	○	○
パルボウイルス B19	○	○	○
サイトメガロウイルス	○	○	○
EBウイルス	○	○	○

1-2 セルバンクに対して実施するウイルスの試験項目について

セルバンクに対して実施するウイルスの試験項目について、PMDAと以下の内容で合意した。

セルバンクの段階でウイルス安全性を可能な限り高めるため、マスターセルバンク（MCB）からワーキングセルバンク（WCB）を構築する際に、CAL（Cells At the Limit of *in vitro* cell age used for production：製造のために *in vitro* 細胞齢の上限にまで培養された細胞）の段階で設定したウイルス検査に加え、レトロウイルスおよび内在性ウイルス試験、抗体産生試験を実施する（表8）。製造工程で使用するウシおよびブタ由来原材料に由来する潜在的ウイルスリスクについては、当該原材料に対する対策を講じることでセルバンクに対してウシウイルス試験およびブタウイルス試験は実施しない。

表8 セルバンクで行うウイルス試験

	MCB	WCB	CAL
レトロウイルスおよび内在性ウイルス試験			
感染性試験	+	+	+
電子顕微鏡観察	+	+	+
逆転写酵素活性	+	+	+
非内在性ウイルスまたは外来性ウイルス試験			
<i>In vitro</i> 試験	+	+	+
<i>In vivo</i> 試験	+	+	+
抗体産生試験 (マウス)	-	-	+
NAT (HBV、HCV、HIV、HTLV、PV B19、CMV および EBV)	+	+	+

1-3 最終製品におけるウイルス試験の実施について

最終製品におけるウイルス試験の実施について、PMDA と以下の内容で合意した。

すでに製造している自家培養表皮ジェイスで蓄積されている安全性に係る情報等を踏まえ、当該製品がジェイスと同一の管理がされた製造施設・原材料等を使用することで、最終製品におけるウイルス試験は実施しない。

2 細胞の有効性評価指標の提案

線維芽細胞の培養は 10%ウシ血清含有培地が汎用され、細胞の性能評価としては細胞増殖能と生理活性物質産生能の確認が一般的であったが、線維芽細胞の特性の本質、特に生体内における線維芽細胞の機能との相関について注目した解析や考察はあまり行われてこなかった。しかしながら、最近の報告から、10%ウシ血清含有培地で培養した線維芽細胞は不均一な細胞集団から構成されること、また真皮の部位によって、線維芽細胞の持つ増殖能や血管新生誘導能および表皮幹細胞維持能が異なることが明らかになった。さらに、われわれのこれまでの検討結果から、10%ウシ血清含有培地で培養した線維芽細胞は継代に伴い肥大扁平化することが明らかになっている。また、生理活性物質産生能については、種々の報告において様々な因子が評価項目として採用されているものの、生体における線維芽細胞の機能および同種培養皮膚製品の有する創傷治癒促進効果の作用機序を必ずしも反映しているとは言い難かった。

そこで本研究では、同種培養皮膚製品に組み込む最適な線維芽細胞を詳細に探索すべく、①上記の品質評価法に加え、②細胞骨格の発達度合による線維芽細胞の分類法、③血管内皮細胞との共培養における血管新生誘導能の評価方法を確立した。

2-1 種々の線維芽細胞用培地または間葉系細胞培地による線維芽細胞の増殖速度確認

同じ線維芽細胞であっても、使用する培地によって細胞増殖速度が異なることを明らかにした(図 24)。

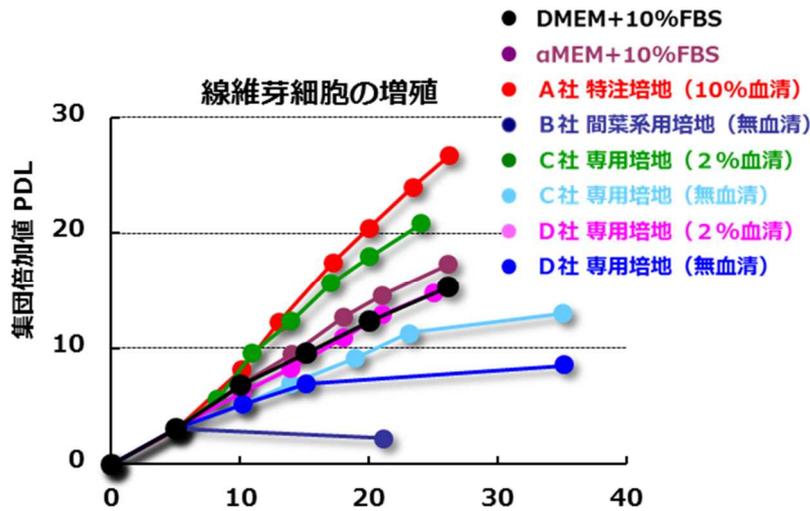


図 24 各種培地による線維芽細胞の増殖速度の違い

2-2 細胞骨格の発達度合による線維芽細胞の分類法

線維芽細胞の培養に供する培地が細胞骨格に与える影響についての解析法を開発した。平面培養時における線維芽細胞の細胞骨格をFアクチンと α -平滑筋アクチンの染色を行うことで解析した。その結果、線維芽細胞の培地を変更することにより、細胞骨格の発達度合が異なることが明らかになった。これらの表現型は、それぞれ生体内における、通常の皮膚に存在する未成熟型 fibroblast、創傷治癒初期に認められる中間型 proto-myofibroblast、創傷治癒後期および瘢痕組織に認められ肉芽収縮作用を有する分化型 myofibroblast と類似していた (図 25)。

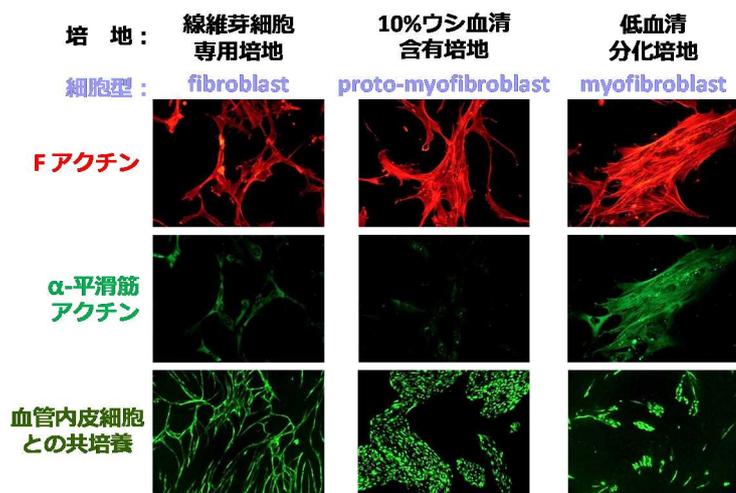


図 25 ヒト線維芽細胞の特性評価

2-3 血管内皮細胞との共培養における血管新生誘導能の評価方法

前述の3種類の線維芽細胞を特殊な条件下にて血管内皮細胞と共培養することで、これらの線維芽細胞が持つ血管新生誘導能を比較する評価系を確立した。その結果、未成熟型線維芽細胞である

fibroblast のみ、共培養した血管内皮細胞による血管ネットワーク形成を支持した (図 25)。

現在までに、上記 2 つの特性を合わせ持った線維芽細胞の培養方法は報告されておらず、本成果は産業化用途に適した線維芽細胞の培養方法として非常に意義深いものであった。

また、未成熟型 fibroblast、中間型 proto-myofibroblast および分化型 myofibroblast における発現プロファイルを抗体アレイ (サイトカインアレイ、プロテアーゼアレイ、受容体アレイ) および iTRAQ 法により解析し、各細胞型において発現に差異が認められる因子を複数同定した。このうち、未成熟型 fibroblast で発現が高いサイトカインの一部については、上記血管内皮細胞との共培養実験系において中和抗体を添加することで、未成熟型 fibroblast が有する血管ネットワーク形成支持能に重要な役割を果たすことを明らかにした。

以上のように、本研究では、線維芽細胞の培地を変更することで、成体における線維芽細胞の機能を反映する線維芽細胞を培養することに成功した。それぞれの線維芽細胞は、異なる血管ネットワーク形成支持能を有し、それを説明する発現プロファイルを示していた。本成果は、同種線維芽細胞バンク作製時および同種培養皮膚に組み込む線維芽細胞として、未成熟型 fibroblast が最適である可能性を示している。今後の課題としては、当該線維芽細胞を組み込んだ培養皮膚を動物へ移植し、創傷治癒効果を発揮するかを検討する必要がある。

(B) 同種細胞による再生医療等製品のセルバンク構築

1 同種細胞製品に供する表皮細胞セルバンクと線維芽細胞セルバンクの構築

京都大学から 6 症例の医療廃棄皮膚組織を受け入れた。受け入れた症例の、血液、組織および培養細胞 (表皮細胞および線維芽細胞) に対し、NAT によるウイルス検査を実施した。

受け入れた皮膚組織から表皮細胞および線維芽細胞を分離・培養してそれぞれの細胞ストックを構築した。表皮細胞および線維芽細胞の増殖の経過を図 26 に示す。また、細胞ストックの構築状況を図 27 に示す。

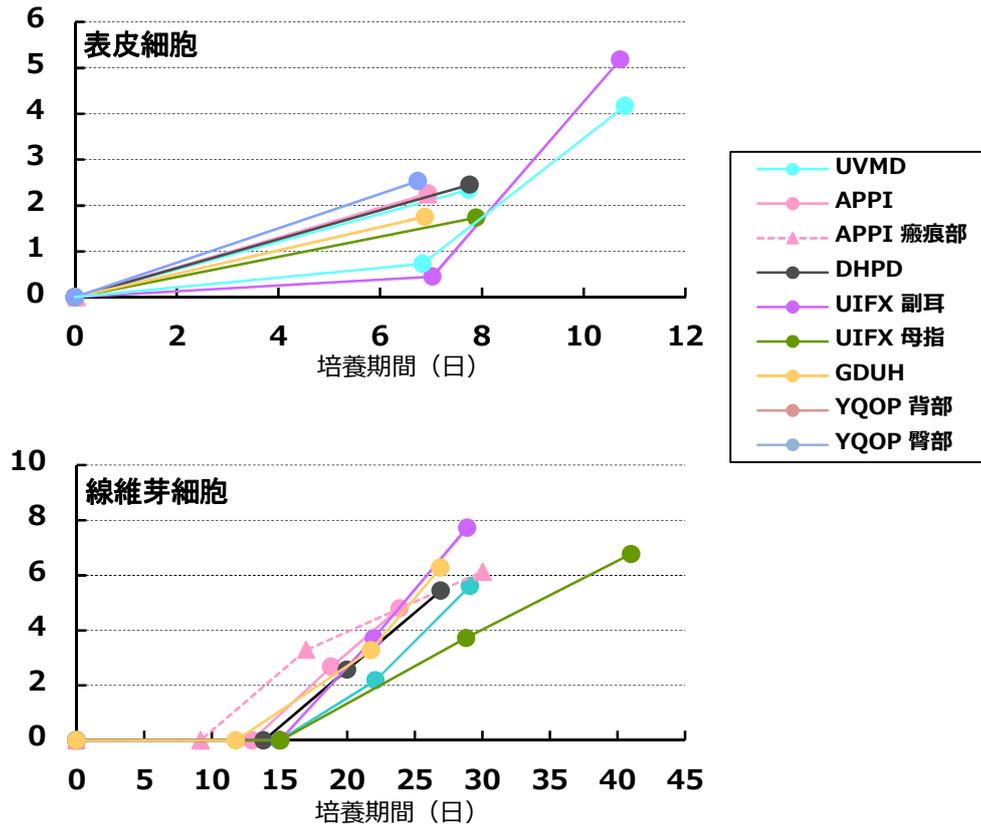


図 26 細胞増殖の経過 (PDL)

症例コード 年齢・性	採皮部位 採皮面積	表皮細胞	線維芽細胞
		凍結細胞本数	凍結細胞本数
UVMD 1歳6ヶ月齢 F	足趾 0.5 cm ² 	P1 : 10本	P3 : 10本
APPI 22歳 F	胸部 1.7 cm ² 	P1 : 11本	P3 : 6本
DHPD 1歳 M	足趾 0.8 cm ² 	P1 : 13本	P3 : 6本
UIFX 1歳 M	副耳 0.4 cm ² 	P2 : 19本	P3 : 9本
GDUH 1歳 F	足趾 1.7 cm ² 	P1 : 10本	P3 : 7本
YQOP 0歳3ヶ月齢 F	背部 2.3 cm ² 	P1 : 6本	P3 : 7本

図 27 細胞ストックの構築

臨床使用可能な同種表皮細胞および線維芽細胞セルバンクを構築するために、前述のドナースクリーニング項目等を反映させて、京都大学倫理委員会申請書および関連文書（同意説明文書、問診票等）を改訂中である。ウインドウピリオドを否定するため再採血が必要となり、ドナーへの負担および予想される有害事象に対応するため、臨床研究用損害保険を検討した。

2 同種培養表皮の製品仕様の策定

同種培養表皮製品の最適な凍結方法を探索すべく、原材料の安全性の観点より凍結保存液の選定を行った。候補となる凍結保存液を用いて培養表皮を凍結し、保存後の生細胞数を指標として、凍結保存液を選定した。さらに、大量生産も視野に入れ、製品の凍結保存に適した包装形態を探索した。

2-1 凍結保存液の選定

凍結保存液は培養表皮と共に患者に移植されることが予想されるため、ウシ血清等の動物由来成分を含まず、安全性の高い原材料を使用している凍結保存液を候補とした。要求仕様を満たす市販の凍結保存液 4 種と自社調製培地 2 種を用いて、培養表皮を -80°C で凍結した。 37°C の温浴槽で急速解凍後、トリプシン分散しトリパンブルー染色法により生細胞数を測定した。その結果、市販の DMSO 含有培地において、高い生存率を示した（図 28）。一般的に DMSO は細胞の凍結保護剤として知られているが、培養表皮の凍結保存にも適していることが示唆された。

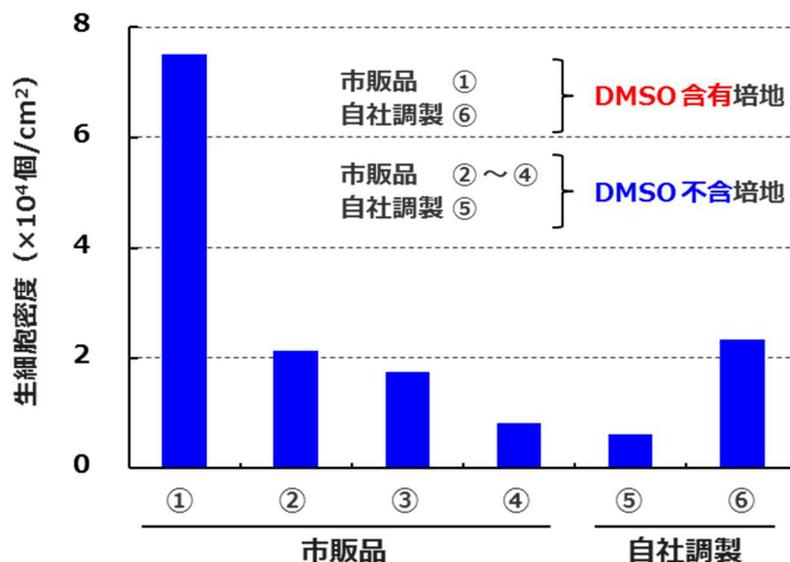


図 28 各凍結保存液における培養表皮凍結後の生細胞密度の評価

2-2 包装形態の検討

移植操作の利便性より、包装形態はジェイス同様、表皮細胞シートの四辺をキャリアに折り上げて付着させる方法を想定している。また、凍結容器は、超低温保存後も高い密閉性を維持しつつ、細胞毒性を示さないものが望まれる。ジェイスの一次包装容器は、

-80℃にも耐えうることを確認したが、占有体積が大きいため大量生産には不適と判断した。その他の凍結容器の候補として、市販の 4.5 mL クライオチューブ（材質：ポリプロピレン）、15 mL または 50 mL 遠沈管（本体材質：ポリプロピレン）、周囲をヒートシールしたパウチ袋（材質：ポリエチレン）を選定した（図 29）。

各凍結容器にキャリア付培養表皮を充填し、-80℃で凍結した。37℃の温浴槽で急速解凍後、トリプシン分散しトリパンブルー染色法により生細胞数を測定した（図 30）。結果、クライオチューブや遠沈管に培養表皮をロール状に巻き充填する方法は、生細胞数が低下する傾向が認められたことから、培養表皮は平面状に凍結する方法が適していると判断した。

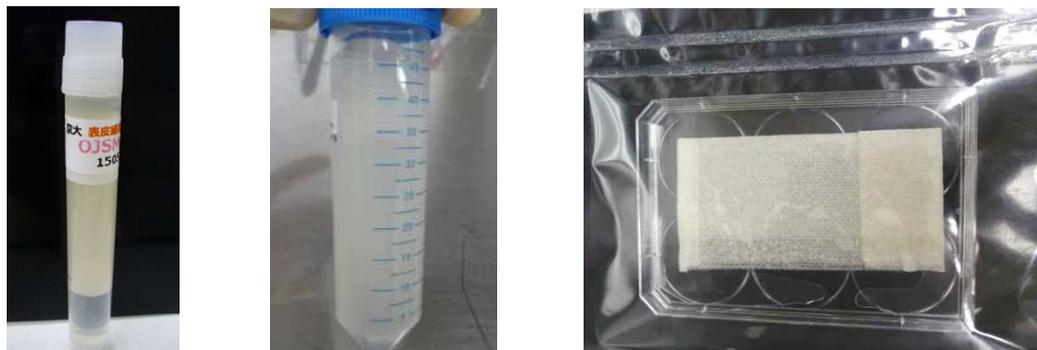


図 29 候補となる凍結容器外観（クライオチューブ：左、50 mL 遠沈管：中央、パウチ袋：右）

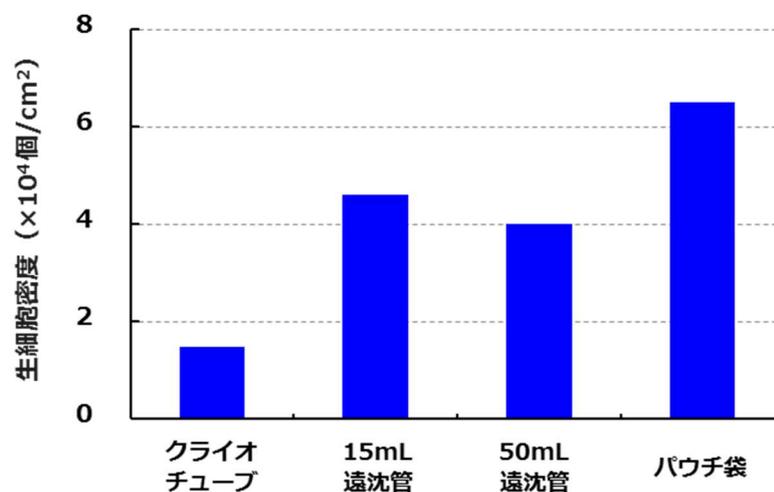


図 30 各凍結容器における培養表皮凍結後の生細胞密度の評価

(C) 同種培養表皮の医師主導治験の実施

1 治験プロトコルの作成

同種培養表皮を用いた重症熱傷を対象とした医師主導治験プロトコル骨子を策定した。薬事戦略相談の事前面談の準備のため、京都大学臨床研究センターに協力を依頼した。

Feasibility study を医師主導治験として実施した後は、得られた深達性Ⅱ度熱傷創またはⅢ度熱傷創、および採皮創の3つ有効性の推定値から、Pivotal 試験の症例設計を行い、3つの多施設共同無作為化試験を行い、臨床的有効性を検証したい。

(5) 分担研究開発課題名：マイコプラズマ否定試験 (NAT) の妥当性評価および微生物学的試験

1 マイコプラズマ否定試験 (NAT) の妥当性評価

1-1 検体のマイコプラズマ否定試験 (NAT) 測定およびシーケンス解析

検体について、TMDU 法にてマイコプラズマ定量 PCR を実施した。また、陽性検体についてシーケンス解析を実施した。

1-2 MycoSEQ 用標準プラスミドの作製

qPCR 産物をライゲーションし、大腸菌に形質転換を行った。コロニーダイレクト PCR を行い DNA 挿入クローンの選択、ダイレクトシーケンスにて目的とするマイコプラズマの配列を持つクローンを選択した。プラスミド DNA を精製し、適する制限酵素を用いて直線化を行った。電気泳動を行い直線化していることを確認した。

1-3 マイコプラズマ標準品のゲノムコピー数測定およびシーケンス解析

マイコプラズマ標準品について、DNA 抽出液のゲノムコピー数を、吸光度測定もしくは TMDU 法定量 PCR にて測定した。また、シーケンス解析を実施した。その結果、吸光度によるゲノムコピー数測定では、菌数が検出限界未満となり測定できないものもあった。定量 PCR では、検量線の濃度範囲 $2.5 \times 10^2 \sim 2.5 \times 10^5$ コピー/assay の範囲で直線性が認められ、菌濃度が薄いマイコプラズマ標準品についても信頼性のある定量値が得られた。

シーケンス解析をした結果、各サンプルともに各々のマイコプラズマのアライメントと一致した。

2 微生物学的試験

前述の、(4) 同種細胞を用いた再生医療等製品の品質管理法評価 (A) 「微生物否定試験の妥当性評価方法」に記載した。

(6) 再生医療事業実施に関する有識者会合の実施

1 検討の概要

前年度の有識者会合においては、特定の製品における有効性の評価指標および製造合理化のための製造技術の評価項目の検討を重点的に行った。本年度の有識者会合においては、再生医療をより選ばれる医療とするためにプロセスを提供者視点だけでなく患者視点で捉えなおし、その評価を導入することが必要との観点に立ち、以下の視点での検討を行った。

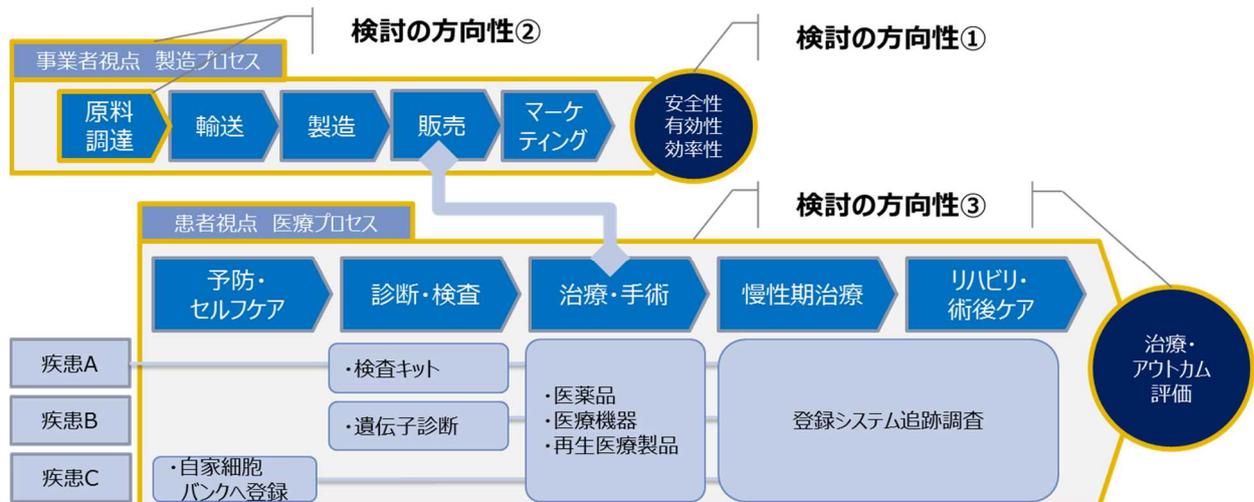


図 31 議論の背景

検討の方向性①として、前年度調査に引き続き、産業競争力強化のための製造技術の評価項目の検討、検討の方向性②として、産業基盤形成のための手続き面の整備として倫理的側面の検討、検討の方向性③としては、産業規模の拡大に向けた医療経済の側面での検討を行った。

2 検討の方向性①ー技術的側面

再生医療においては製品の製造プロセスの一部を自動化、ロボット化することで製造効率を向上させ、それにより製造コストを低減させることや採算性を改善することが期待できる。一般的には治験段階における再生医療等製品の製造プロセスは、細胞の分離や回収方法が最適化されておらず、細胞ソースそのものや細胞ソースから細胞を単離する手技の変更による原材料の品質にバラツキが生じる等の課題が残されていることが多い。このように、治験段階における再生医療の製造に係るベーシックサイエンスが不足していることが、事業化フェーズにおける低収益性の一因となっている。

上記のように再生医療等製品においては、より有効性の高い製品の開発のため、また製造コストの削減のために製造方法の改良を継続して行なう必要がある。特に細胞培養プロセスにおいては、自動化技術やチェンジオーバーなしでの連続培養技術などまだ未確立な技術が多数存在している。細胞培養プロセスの新たな技術開発とその技術の評価手法、製品の同等性評価手法について検討を行なうことは非常に有意義であると言える。

本年度有識者会合で議論した製造プロセスの効率化、安全キャビネットの自動化装置の同等性の評価手法については、(2) 生産合理化に関する事項 (B) エアーアイソレーションシステム (AIS) を用いた細胞培養合理化検証に記載した。

3 検討の方向性②ー倫理的側面

3-1 再生医療に関する倫理的側面に係る議論の背景

医薬品や医療機器同様、再生医療等製品においても研究開発から上市までの各段階において倫理的側面からの検討が加えられるが、特に再生医療においてはその手続きや審査のクオリティについてはもう一步検討を要するところであり、現場の研究者や製品製造企業にとっては手探りで

乗り越えるべき課題となることがある。

再生医療の産業化を促進するにあたってはこれらの手続き面を整備し、研究者や企業が安全に取り組むことができる環境の構築が必要である。本有識者会合においては倫理審査の在り方や、倫理面・手続き面で存在する課題を検討し、日本におけるこれらの課題解決方法を提示した。

なお、研究施設や医療機関に設置されることの多い倫理審査委員会とその業務は下記のように整理される。

表9 各種倫理審査委員会の目的と対象の整理

	目的	対象
治験審査委員会、IRB	実施医療機関の長が指定する、治験を行うことの適否その他の治験に関する調査審議を行う会議体	施設内で実施される治験にかかる倫理審査全般 厚生労働省令第八十九号（再生医療等製品GCP省令）が再生医療等製品の製造販売承認の申請にかかる治験を規定
REC	法の要求事項の範囲外で、研究計画の倫理性を審査する会議体 人を対象とする医学系研究に関する倫理指針によって規定 細胞調達時の同意について、審査を実施する場合が存在する	日本の研究機関により実施され、又は日本国内において実施される人を対象とする医学系研究
認定倫理審査委員会	RECについて、公的認証を付与したもの。 将来的には多施設共同研究の中核的倫理審査委員会となるなど、CIRBのような働きが期待されている。	日本の研究機関により実施され、又は日本国内において実施される人を対象とする医学系研究
認定再生医療等委員会	再生医療治療・臨床研究について、再生医療等提供計画に対して意見を提供する。付与された意見については全て厚労審議会に提出される 設置者は要件（厚生労働省令）への適合について厚生労働大臣の認定を受ける（再生医療等安全性確保法第26条）	再生医療治療、再生医療に関する臨床研究

	治験審査委員会、IRB	認定再生医療等委員会	認定倫理審査委員会
「科学的側面」	○		○
安全性		○	
品質		○	
人員		○	
施設		○	
「倫理的側面」	○		○（倫理指針への適合性）
提供IC・説明文書の正当性		○	
提供同意撤回		○	
提供の無償性		○	
提供の健康被害補償		○	
治療IC・説明文書の正当性		○	○
治療同意撤回		○	○
研究の健康被害補償		○	○
患者の個人情報保護		○	○
疾病報告		○	

図32 各種倫理審査委員会の審査機能の整理

3-2 再生医療に関する倫理的側面に係る議論の内容

議論の結果、再生医療等製品開発の各プロセスのうち倫理的課題や制度的な障壁によって産業化が滞っている箇所として再生医療等製品製造に用いるヒト細胞の入手が困難な点と、倫理審査が倫理審査委員会の委員個々人の素質に大きく依存している点が主要な課題として挙げられた。

ヒト細胞の入手については、平成 26 年度に経済産業省によって調査が行われており、(平成 26 年度「再生医療の産業化に向けた評価基盤技術開発事業(再生医療等の産業化に向けた評価手法等の開発)」原料細胞の入手等に関する調査等報告書) 検討が付されている。現状の整理によって積み残し課題を 3 点特定し、以下の課題について、議論した。

- 論点 1 細胞提供プロセスに対する社会の不安感
- 論点 2 細胞提供に対する個人の抵抗感
- 論点 3 細胞採取に対する企業の不安感
- 論点 4 再生医療等委員会や倫理委員会における倫理審査の属人性

表 10 ヒト細胞入手における積み残し課題

	昨年度検討課題	解決状況・積み残し課題
法的側面	・ ヒト細胞・組織の採取、提供行為の既存の法制度における位置づけ	○
	・ 個人情報の取り扱い	○
	・ 契約責任関係の整理	・ 同意書やMTAの雛形 ・ 偶発的所見への対応
社会的側面	・ 社会の受容に向けて必要な取り組み	・ 仲介機関の設立
	・ 細胞提供者からの協力取得に向けた方策	○
技術的側面	・ 原料細胞に対する品質上のニーズ	○
	・ 品質向上に向けた方策	・ 採取方法、品質管理方法の標準化、品質指標の開発
実務的側面	・ 関係主体の連携を実現するシステム	・ 医師・医療機関の負担軽減に関する具体策
	・ 仲介機関の在り方	・ 仲介機関について信頼性を確保するための方策

※赤字 = 本会で検討することが考えられる内容

表 11 再生医療等認定委員会において確認・検討が必要となる書類

項目(プロトコル関連)	
1	提供計画にかかる経緯説明書(時系列で記載)
2	再生医療等提供計画書
3	再生医療等提供計画に記載された再生医療等の内容をできる限り平易な表現を用いて記載したもの
4	大臣意見及び提供施設内承認通知等(e.g. IRB 審査結果通知書など)
5	実施計画書の新旧対照表(法施行前より実施している場合のみ)
6	提供する再生医療等の詳細を記した書類(実施計画書)
7	実施責任者及び再生医療等を行う医師または歯科医師の氏名、所属、役職および略歴(研究に関する実績がある場合には、当該実績を含む。)を記載した書類
8	再生医療等に用いる細胞の提供を受ける場合にあつては、細胞提供者または代話者に対する説明文書および同意文書の様式
9	再生医療等を受ける者に対する説明文書及び同意文書の様式
10	再生医療等提供計画に記載された再生医療等と同種または類似の再生医療等に関する国内外の実施状況を記載した書類
11	再生医療等提供計画に記載された再生医療等に用いる細胞に関する研究を記載した書類
12	特定細胞加工物概要書
13	特定細胞加工物標準書
14	製造標準作業手順書またはフローチャート
15	品質管理標準作業手順書
16	品質リスクマネジメントに関する書類
17	再生医療等製品を用いる場合にあつては、当該再生医療等製品の添付文書等
18	特定細胞加工物の製造を委託する場合にあつては、委託契約書の写しその他これに準ずるもの

3-2-1 論点1 細胞提供プロセスに対する社会の不安感

製品製造目的でのヒト細胞入手の実現に向けての課題の1つとして、社会の不安感が挙げられる。再生医療という用語自体は市民権を獲得しているが、ヒト細胞を採取し、加工等を経て治療に用いる、という具体的なプロセスについての理解が不足しており、それゆえ必要以上に受け入れられにくい状況になっていると考えられる。ヒト細胞を治療に用いるというプロセスについて、公共の利益に叶うという点をアピールしつつ理解を促進するアドボカシーが重要となる。

このようなアドボカシーの在り方について、再生医療に関する国民の受容度という点で先行する米国の例を検討したところ、議論の軸の設定に日本との違いが見られた。すなわち、日本においては医療分野において民間企業が関わることが、医療＝公共サービス＝仁術、民間企業による細胞採取＝営利目的＝金儲けという対比軸で語られることが多いところ、米国では個人の利益（細胞提供）対公共の利益（医療）という軸で整理されることが多い。これは主に患者団体を中心に展開されている啓蒙活動の成果であって、医療上の利益に重きを置きやすい環境が形成される。

社会の再生医療に対する認知の向上に向けて、同様のアドボカシーを展開していくことが考えられるが、この際、日本での民意のドライビングフォースは、どのような人物を中心とした取組か、ということにある。尊敬される人物による取組であれば信頼されやすい状況にある。従って、今後は人物の選定を含めてアドボカシーの強化を図っていくことが必要である。

3-2-2 論点2 細胞提供に対する個人の抵抗感

再生医療等製品製造用に細胞を提供することについては、研究利用に比べ、提供した細胞の取り扱い方や、企業が使う可能性についての抵抗感が存在すると考えられる。信頼関係の形成されている医師に対する研究目的での提供はスムーズに行われることから、企業に対する信頼感の問題であると考えられる。ドナーに対して不利益が発生しないような、確実なプロセスで取り扱われることが担保されるような、ガバナンス体制を企業において構築する必要がある。

また、細胞の提供者に対して満足感をもたらす仕組みも検討が求められる。金銭的インセンティブの付与については必要最低限の実費を超える分は難しいが、提供した細胞が利用された可能性のある研究や治療法を案内するなど、貢献による満足感を与える仕組みが有効と考えられる。

3-2-3 論点3 細胞採取に対する企業の不安感

再生医療等製品製造などの産業利用目的で細胞を採取することについて、前例が少なく、細胞提供者に対する説明文書や同意文書についてドキュメントの雛形が無いため安心感を持って取り組むことが難しいと考えられる。特に、細胞の提供に係る同意は製品製造プロセスの初期段階に位置づけられ、同意取得に誤りがあった場合、当該提供者から採取した細胞の製造・加工コストが無駄となるため、早期に適切な説明文書と同意文書を用意しておくことが重要となる。

本有識者会合においては説明・同意文書を複数集積し、その構成や記載項目について検討を実施した。

国立がん研究センター国際共同研究センター（平成25年9月1日 目）

国立がん研究センター国際共同研究センター（平成25年9月1日 目）

治験参加同意書(パターン2：組織提供の有無)

独立行政法人国立がん研究センター〇〇病院 院 診療録保存用

【治験名】ABC (XYZ-0123) の△△がん患者に対する臨床第〇相試験

私は、上記治験について、説明文書を受け取った上で内容をよく理解しましたので、試験に参加します。

1. 説明文書について 1.1. 自由意思による治験への参加について同意する旨を記載すること
2. 治験（臨床試験）について 2. 治験（臨床試験）について 1.2. 治験に参加しない場合の治験
3. あなたの病気と治療について 3. あなたの病気と治療について 1.3. 治験の参加後の中止について
4. 治験の目的 4. 治験の目的 1.4. 補償と治療について
5. 治験薬 ABC (対照薬 DEF、併用薬 GHI) について 5. 治験薬 ABC (対照薬 DEF、併用薬 GHI) について 1.5. 新しい重要な情報が得られた場合
6. 治験の方法 6. 治験の方法 1.6. 治験の実施および施設における審査について
7. 治験への参加予定期間と参加していただく人数 7. 治験への参加予定期間と参加していただく人数 1.7. 個人情報の保護について
8. 本治験への参加によってあなたが受ける利益 8. 本治験への参加によってあなたが受ける利益について 1.8. 治験参加中の費用について
9. 予測される不利益および副作用について 9. 予測される不利益および副作用について 1.9. 本治験に参加している他の参加者
10. 副作用が起こったときの治療について 10. 副作用が起こったときの治療について 2.0. 治験参加の連絡先および病院の相談窓口
11. 自由意思による治験への参加といつても同意の撤回ができること 11. 自由意思による治験への参加といつても同意の撤回ができること
12. 治験に参加しない場合の治療 12. 治験に参加しない場合の治療
13. 治験の参加後の中止について 13. 治験の参加後の中止について
14. 補償と治療について 14. 補償と治療について
15. 新しい重要な情報が得られた場合 15. 新しい重要な情報が得られた場合
16. 治験の実施および施設における審査について 16. 治験の実施および施設における審査について
17. 個人情報の保護について 17. 個人情報の保護について
18. 治験参加中の費用について 18. 治験参加中の費用について
19. 本治験に参加されている他の参加者 19. 本治験に参加されている他の参加者
20. 担当医師の連絡先および病院の相談窓口 20. 担当医師の連絡先および病院の相談窓口

1. この治験の研究用として、組織の一部を提供することについて
同意する・同意しない *どちらかを○で囲んでください
2. この治験の研究用として、実用臨床適用の探査を行うことについて
同意する・同意しない *どちらかを○で囲んでください

「治験参加より、この同意書が有効な場合にのみその旨を記載する
(注) 2に同意しなくてもこの治験には参加することができます。 などの
患者さんご自身でご記入ください」 同意日： 年 月 日
氏名(署名)： _____
*代読書や立会人等の記載が必要な場合は同意追加すること。なおその場合は被験者との
連絡調整も作成する。 医師 説明日： 年 月 日
協力者(補読読者等の場合) 説明日： 年 月 日
協力者署名： _____

- (1) 組織の一部を（自身の治療や、この同意書の主たる目的である研究以外の目的で）提供することについて、
同意する・同意しない *どちらかを○で囲んでください
- (2) 組織の利用者・利用目的について、以下の範囲で許可します
*提供しても良いと思うものを○で囲んでください
- ① 大学や（公的）研究機関・研究
 - ② 大学や病院・他者の再生医療治療
 - ③ 企業・研究
 - ④ 企業・他者を治療する再生医療製品の製造

説明の程度について

- ・提供者の理解を促すことを目的に、合理的な人であれば**欲する情報**が記載されているか。
- ・（口頭で）当該提供者の関心に合致した形での説明が**されているか**

説明に対する提供者の理解について

- ・**理解の確認**に対して注意が払われているかどうか
- ・**誤解を生みやすいポイント**に注意した説明がされているか

参加の自発性の担保について

- ・同意撤回による不利益が発生しないことが説明されているか
- ・提供しない場合に当該細胞がどのように取り扱われるかが説明されているか
- ・撤回した場合や、利用に適さない場合は破棄されることが説明されているか

その後の情報提供について

- ・提供後の**情報提供の在り方**について、記載があると理解が得られやすい

同意の形式について

- ・どこまで同意するかが、選択しやすい形になっているか
- ・どこまでの利用を許可するかわかりやすい形が良い

図 33 同意書面の定型化に向けた検討

3-2-4 論点4 再生医療等委員会や倫理委員会における倫理審査の属人性

倫理審査は各大学の裁量に任せられるところ、委員の知識・経験レベルや事務局による運営方法の差によって審査の方法や質が異なる。審査の質を全般的に高めるための方向性としては①審査の中央集約、②審査事項について最低限の要求とアドオンで求められるところを明らかにし、これを定量的に評価する仕組みの2つが有効であると考えられる。本有識者会合においてはまずは倫理審査の中央集約の可能性を検討の上、審査事項の定量評価について検討を加えた。

Central IRB の導入と審査モデルについては下図のように整理され、従来型の施設内に設置される倫理審査委員会のほか、Central IRB の仕組みを用いた迅速審査モデル、独立モデルが存在する。しかし、日本における導入可能性については高くない。これは海外では IRB が義務化されているところ、日本では大学に裁量権を委ね、個別最適を図っているためである。

表 12 主要国における Central IRB に関する取組例

	倫理審査委員会名	所管	審査モデル	経緯
米国 (NCIの例)	CIRB	NCI	迅速審査モデル →独立モデル	2006年にFDAが多施設共同研究に対する単一審査ガイドラインを公表するも進まず、SACHRP (厚生省諮問委員会) からガイダンス作成の勧告が公表されている。
英国	NRES (国営研究倫理サービス)	HRA (医療研究機構)	一部について迅速審査	地方研究倫理委員会及び多施設研究倫理委員会の統合と標準化を進め、NRESがコントロールする80程度の委員会が倫理審査を担っている。
フランス	CPP (人の保護委員会)	-	-	国家委員会による統括体制を構築中

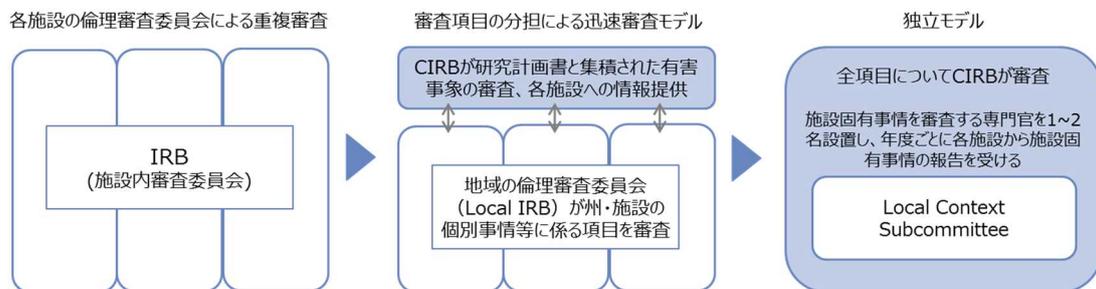


図 34 各国例から考えられる倫理審査モデル

表 13 主要国における倫理審査の質評価、質担保の取組

	認証付与主体	認証数	認証の種類・取組内容	委員会の構成
米国	AAHRPP (人対象研究保護プログラム認証協会)	200施設	倫理審査を含む被験者保護プログラムについて、高水準のものを認証する。組織体制や手続き面の審査に止まる。 審査料が1万ドルかかるほか、年間維持費も5000ドル程度必要	専門家1人、非専門家1人、施設外の人間1人の合計5人以上
英国	HRA (高等医療機構)	80委員会	・6か月毎に倫理管理官が議事の進め方を確認 ・3年毎にSOPの順守について認証を実施 ・2年毎に共同倫理討議として、委員会間の判断のばらつきについて分析検討を行う NRES (国営研究倫理サービス) としてリンリン審査委員会を運営しており、再生医療についてはGTACという専門の3委員会が審査を担当している。	定員18人、定足数7人 1/3が非専門家であることが必要 迅速審査においては委員3人の小委員会で担当
フランス	国家委員会	40委員会	CPP (人の保護委員会) として、地方圏ごとの設置が法 (ジャルデ法) によって規定されている。 運営方法や委員の教育は各委員会の自主性に任されているが、国家委員会によって各CPPの評価やガイドライン制定が行われる。 どの倫理審査委員会で審査が行われるかはランダムで決定されるなど、独立性が強化されている	定員14人 医師や生物統計家、看護師、薬剤師等の医療・医学専門家7人、倫理・法の専門家、心理学者やソーシャルワーカー、患者代表等の医療・医学の非専門家7人から構成される

次に、審査事項については同意取得の側面を中心に、どのような項目を審査すべきか、既存の同意説明書類を参照しつつ、要点をリスト化した。各種薬事規制等で求められる項目をどのような方法で満たすべきか、その他に満たすべき項目は無いのか、といった検討を行った。今後はここで提案されたリストを倫理審査委員会における審査時に持ち込み、ブラッシュアップしていくことが考えられる。

表 14 リストの一部抜粋

項目	想定説明内容	基準の要求	献血の際の記載	つくばバンクの記載	Cell Therapy Catapultの記載
用途	<ul style="list-style-type: none"> 使用先の想定 取扱者 	○	血液製剤の品質管理や輸血用の検査試薬の製造に使用することがあります。頂いた血液は・・・一般公募された研究機関等及び日本赤十字社が実施する、以下の研究開発等に使用することがあります。①血液製剤の有効性・安全性の向上及び検査法の向上を目的とした使用②病気の診断・治療や国民の健康状態の改善を目的とした使用輸血や分画製剤として患者さんの治療に用いられます	医療の発展のために行われる研究に活用 病気の原因となっている遺伝子を見つけるための研究 病気を正確に診断するための方法を探索する研究 新しい薬を開発するための研究 病理検査の精度管理 診療情報に基づいた病気の原因を調査する研究 試料・情報は診療科の医師、技師、技術職員や大学院生などが研究を行う場合もありますし、多施設との共同研究に使用することもあります。また、保存した試料・情報は筑波大学以外の研究施設 (民間企業も含む) で研究に使用されることもあります。	Prolonged storage and authorization for use of biological samples for medical scientific research I understand and agree that the left-over biological samples obtained from me for cell therapy catapult could be used for MDS/AML research, until there is no sample left or for up to 15years. I understand and agree that the left over biological samples obtained from me for cell therapy catapult could be used for research which may include research on other diseases or conditions, or to further develop drugs, until there is no sample left
提供による危険や不利益	<ul style="list-style-type: none"> 侵襲の有無 (副作用の可能性) 遺伝情報について 	○	献血に伴う副作用について、症状とその発生確率	同意したことにより組織が余分の切り取られてしまうことは絶対にありません 研究目的のためだけに採決を行うわけではありません 試料・情報の提供に対するご協力は、患者さんの治療方針に影響を及ぼすものではありません。よって治療過程における直接的な利益、不利益は生じません。 保管された試料・情報は患者さんに不利益をもたらさないように厳重に管理いたします。	

4 検討内容 3—医療経済的側面

4-1 再生医療に関する医療経済的側面に係る議論の背景

再生医療等製品が、今後医療として医療者・患者から選ばれ、産業規模として拡大していくためには、事業者視点の製造評価項目の検討のみならず、予防から治療後の長期フォローアップまでの医療プロセス全体を含めた視点での再生医療等製品の価値を訴求していく必要がある。しかし、これまで患者視点での再生医療等製品の価値については、十分な議論がなされてこなかった。そこで、本年度の有識者会合においては、事業者視点の製造プロセスのみならず患者視点での価値、治療アウトカムを適切に評価するべく、医療経済の側面から広く論点出しを行い、今後の議論に資する課題の抽出を行った。

医療経済の議論においては、企業・患者・保険者の三者の視点があり、それぞれの視点についての検討を行った。企業視点では、再生医療等製品の事業性を検討するための収益モデルと適切な薬価設定のための戦略について、患者の視点では再生医療の評価方法と議論の場、そして保険者の視点からは再生医療等製品の公的保険の適用の範囲のあり方について検討を行い、それぞれについて意見を得た。

4-2 再生医療に関する医療経済的側面に係る議論の内容

4-2-1 論点 1 企業視点での再生医療等製品の事業性

4-2-1-1 再生医療等製品の収益モデルの特徴の整理

再生医療等製品は新規技術であり、製造プロセスのコスト構造も従来の医療材料および医薬品とも異なる。また同じ再生医療等製品において自家と他家では異なる特徴を有するため、その事業性を適切に評価・検討するため、再生医療等製品におけるコスト構造と収益モデルの特徴の整理を行った。一般的な医薬品においては、基礎研究・臨床開発へのコストが大きい点が特徴として挙げられる（表 15 参照）。一方、再生医療等製品では、臨床試験のみならず、製造から品質管理、そして市販後調査に至るまでのバリューチェーン内の全ての段階において高コストな構造である点が特徴的であり、特に自家においては、市場規模の急激な拡大は困難であり、希少疾病用医薬品と類似する特徴を有することが示唆された。市場規模の早期拡大が困難な再生医療等製品における早期事業収益化に向けては、コストの削減と全体収益の拡大の二つの方向性が考えられるが、それぞれについて下記の観点が重要との指摘を得、深堀の議論を行った。

- ・ コストの削減：特に個々の企業における固定費の削減が重要であり、そのためには、製造・臨床施設規模の集約と、製造・品質管理に係る規制の合理化が必要。
- ・ 全体収益の拡大：供給側が限られる再生医療等製品については、適切な価格設定に向けた議論が重要。

表 15 再生医療等製品のコスト構造の特徴

分類	基礎研究、非臨床研究	臨床研究、治験	保存、物流	製造 (細胞培養含む)	品質検査、品質管理	承認	販売、マーケティング	サービス、市販後調査
医薬品 (低分子)	・化合物選定、対象疾患、作用機序解明等のコスト ・成功率低い	・特にフェーズⅡ、Ⅲのコスト大 ・CRO等の活用可能	・特異な剤型、製品を除きコストは低い	・全コストの10%以下が普通 ・CMOの活用可能	・重要であるが、プロセス等確立	・承認成功率が低下、プロセス確立 ・保険適用多い	・医師向けのMR、販売経費大	・市販後調査の内容、手順等確立している
医薬品 (抗体、バイオ)	・低分子医薬より成功率が高い	・特にフェーズⅡ、Ⅲのコスト大 ・CRO等の活用可能	・蛋白等低分子よりはコスト、ノウハウ必要	・コスト大、ノウハウ必要 ・CMO少ない (国内)	・蛋白等を扱った低分子薬よりはコスト大	・低分子薬より成功率が高い	・医師向けのMR、販売経費大 ・患者少なく高薬価必要	・低分子薬より成功率が高い ・新規薬効は全例調査必要のケース有
医薬品 (オーファン)	・対象疾患、作用機序等の点で一般的な医薬品よりは成功率大	・一般的な医薬品よりは症例数少ない ・制度的支援あり	・特異な剤型、製品を除きコストは低い	・ニッチで特異な製品では相対的コスト大	・ニッチで特異な製品では相対的コスト大	・制度的支援あり ・一般に競合品少	・患者数少なく、高薬価、グローバル展開、制度支援が必要な場合多い	・難病向け新薬多くモニタリングが重要 ・全例調査のケース有
医療機器 (診断全般)	・クラスⅢ、Ⅳの新医療機器では治験コストがかかる	・体外診断、侵襲低い機器が多い	・体外診断、侵襲低い機器が多い	・大規模な画像診断装置等ではコスト大 (材料、部材含む)	・精度等重要だが、安全性の問題は少ない場合が多い	・体外診断薬や既存改良機器多く、クラスⅡまでが多い	・画像診断機器ではグローバル競争 ・IVDは単品市場小	・消耗品、修理等の収益源あり ・医療機関の採算性向上は必要
医療機器 (心疾患等治療)	・基礎研究、非臨床研究は大学等で実施されている場合が多い	・クラスⅢ、Ⅳの新医療機器では治験コストがかかる	・機器類中心でコスト負担は大きくない	・精度や安全性、生体適合性の高い部材等が必要	・精度管理、安全性重要	・輸入品との競合多く、新規参入での競合、コスト負担大	・輸入製品と競合 ・新規参入での競合、コスト負担大	・市販後調査は重要 (全症例DB等存在)
再生医療 (自家)	・基礎研究、非臨床研究は大学等で実施されている場合が多い	・臨床研究までは医療機関等での実施が多い ・必要症例数は比較的小さい	・採取、保存、容器、輸送等コスト大 ・時間、空間の限定	・設備投資大 ・CMO少なく自社投資必要 (今後は変化の可能性)	・品質検査、品質管理コスト大 (特に人件費)	・新製品では承認取得コスト大 (承認までの期間の長さ)	・医療機関や医師の登録、普及教育等のコスト	・市販後調査は重要で、全症例登録必要
再生医療 (他家)	・基礎研究、非臨床研究は大学等で実施されている場合が多い	・臨床研究までは医療機関等での実施が多い	・採取、保存、容器、輸送等コスト大 ・時間、空間の限定 ・細胞バンクの必要性	・設備投資大 ・CMO少なく自社投資必要 (今後は変化の可能性)	・品質検査、品質管理コスト大 (特に人件費)	・国内で承認例少	・医療機関や医師の登録、普及教育等のコスト	・重要だが、医薬品的なモデルに近く可能性大

4-2-1-2 再生医療等製品のコスト削減のための規制の合理化について

規制の合理化については、製造にかかる規制の合理化、臨床試験および市販後調査に係る規制の合理化の二通りの方法が挙げられる。製造に係る規制については、特に品質管理による規制により製造コストが上昇し、不必要な試験によるコストの上昇が問題点と指摘があった。先述の通り、バリューチェーンの全体にわたって高コスト構造である再生医療等製品においては、医薬品と比較し規制によるコストへの影響が非常に大きいと考えられるため、レギュラトリーサイエンスに基づく合理的な議論が重要であるとの意見で一致した。特に、レギュラトリーサイエンスに基づく規制の合理化については、日本では、先端医療を評価する場合に、米国と異なり、科学的か非科学的かによらず取り得る全ての選択肢をとるべきであるとの解釈になりやすい点が大きな阻害要因であるとの指摘があった。そのため、科学に基づき必要な規制と不必要な規制に関する議論を行うための方策として、以下の意見を得た。

- ・ 規制の合理化においては、最低要求としてのガイドライン化と個別要件の二つが挙げられるが、個別要件の場合は先行品があれば比較的合理化しやすい。
- ・ ガイドライン化に関しては、現在経済産業省が企業ニーズを聞きながら進めており、厚生労働省との議論も行われている。ガイドライン内には、新しい技術を普及するための提言や概念も多く盛り込む予定としており、普及していくための手段となり得る。
- ・ 医薬品においては製造承認の段階でコストが最も低くなるモデルであるが、再生医療等製品に関しては、上市後の製造工程変更ではバイオシミラーのような同等性のガイドラインがなく、同等性の保証に関する問題が生じる。そのため、製造プロセスのコストを下げる前に市場に出てしまい、市販後の製造変更も行いにくくコストが高止まりしてしまう要因となっている。同等性の保証に関する検討が必要。
- ・ 規制の合理化においては、各診療科の学術団体と再生医療学会の学会間コミュニケーションにより、診療科間のハードルを統一化することも非常に重要。
- ・ 企業側の意見を規制側に反映させていくためには、企業側とPMDAのコミュニケーション

も重要であり、企業の側から PMDA 再生医療部に人材を派遣し実際に審査を行うことで、相互の思想の摺合せを行うことも必要。

4-2-1-3 再生医療等製品のコスト削減のための規模の集約について

再生医療等製品に係る施設の規模集約においては、製造施設のみならず、臨床試験や市販直後調査等に係るコストの削減のために臨床施設の集約も重要である。特に、再生医療等製品のような黎明期の産業においては、民間のみならず民間への橋渡しとなるような公的な設備と支援が重要との意見を得た。海外の事例としては、英国の Gene and Cell Therapy Catapult およびフランスの Genethon が挙げられた。Gene and Cell Therapy Catapult は、英国の公的機関であり、基礎・臨床研究から企業への研究開発への橋渡しの支援に特化し大規模な製造拠点をヒースロー国際空港に有し、国際的な共同研究を進めやすい環境整備を進めている。Genethon は民間セクターとして、遺伝子治療に特化した巨大な施設を作り、希少疾患を扱う施設を集約している。国内での公的支援としての拠点の在り方に関しては、新たに立ち上げるのではなく、AMED の神奈川県殿町地区で集中研等の既存の拠点の活用も考えられるとの意見もあった。さらに、日本における再生医療等製品の拠点の在り方については以下の意見を得た。

- ・ 現場の活性化のための拠点運営においては、リーダーシップの発揮と企業間のコミュニケーションを行う機関の設置による責任所在の明確化が重要。
- ・ 臨床施設も含めた規模集約への課題について、我が国においては、医師の地方への分散と拠点化の双方の観点での議論があり、専門医の集約が困難である点、また臨床病床の制限および周辺宿泊施設の整備の不足といった点が課題。

4-2-1-4 適切な価格設定のための戦略について

現行薬価制度下は、原価算定方式もしくは類似薬効比較方式で算定されている。現在までに承認された再生医療等製品に関しては、全て原価算定方式にて算定されているが、製品特性により医薬品として算定される場合と医療材料として算定される場合があり、前者では医薬品の営業利益率の平均、後者では医療材料の営業利益率の平均での算定となる。前述のように、再生医療等製品においては、医薬品とも医療機器とも異なる収益モデルを有するため、製品価格の算定においては、医薬品と医療機器とも異なる、再生医療に合わせた原価率の議論が必要であるとの意見で一致した。更に、細胞培養中に患者が死亡してしまうケース等、疾患が重症化するにつれて歩留まり率が上昇する製品においては、製品が使われた段階で保険償還が行われる制度下では、生産するほど損失が増加する特徴を有する。そのため、従来の原価積み上げ式の価格設定では、再生医療等製品の投資回収は困難であるとの意見も企業側から挙がった。再生医療等製品事業性を担保するためには、患者視点の価値算定の必要性を訴求するのみならず、サービス業としてのコスト計算と価格設定が重要であるとの指摘があった。ハートシートの薬価収載時に採用となった、採取・培養と移植時のキットを分けて算定する機能区分に応じた価格設定等、再生医療等製品の特徴を踏まえた算定の在り方について具体的な議論を行うことが重要であるとの意見を得た。またキャッシュフローベースで黒字化を目指す、ビジネスの視点の転換が重要であるとの指摘があった。

4-2-2 論点2 再生医療の価値の算定

再生医療等製品の適切な価格設定と治療の普及にあたっては、最終利用者である患者への治療効果・価値を適切に評価し、バリューベースでの価値算定を行うことが重要である。特に、再生医療等製品については、これまで治療法がなかった疾患や、対症療法のみであった疾患に対し、新たな治療の選択肢や根治の可能性を提供することが可能であることから、その価値を適正に評価し、製品の価格に反映させることが重要との議論が行われている。本年度の有識者会合では、まず現行の薬価制度下での再生医療等製品の価格算定の課題について整理し、その上で、バリューベースの価値算定に関する手法およびその手法の現行制度への反映における課題と対応策についての議論を行った。

4-2-2-1 現行の薬価制度の課題

現在の原価積み上げ方式による価格算定の課題について、以下の意見を得た。

- ・ 現行薬価制度下では、画期性加算の項目のほとんどが有効性、有用性の観点での評価項目であり、医療経済学的な評価項目は限られる。
- ・ 一度設定された後には薬価は削減される一方であり、エビデンスが積み上がり社会的なコストが証明された時点で更なる高薬価が算定されることがない。
- ・ 医薬品と医療機器では算定原価率も大きく異なるため、医療材料として算定された場合は投資回収が困難である可能性がある。
- ・ 今回承認された2品目もテムセルは薬価算定組織にて薬価が算定されているが、ハートシートは外科的手技が伴うため医療機器材料の算定組織で算定が行われている。

上記の課題を踏まえ、再生医療等製品における、バリューベースの価値評価の手法、現在の算定方式への反映に向けた対応策について議論を行った。

4-2-2-2 再生医療におけるバリューベースの価値算定の手法について

再生医療におけるバリューベースの試算の手法として、仙石委員より現在NEDOの事業で検討がなされている再生医療等製品の市場予測について、特にバリューベースでの製品価格設定の考え方について共有があった。社会コストには、直接費用（治療コスト、介護・ソーシャルワーカー費用）と間接費用（家族・友人等による非公式の介助、労働機会の損失）があり、再生医療が根治療法を提供するのであれば、間接費用をコストとして考慮すべきである。また、社会コストの中でも、直接の介助費用、特に国民医療費による負担分の金額は、再生医療製品により国民医療費から削減される対象となりえるため、再生医療製品の価値として製品価格に含まれるべきであるとの意見を得た。現段階で社会コストの試算においては、文献としてのエビデンスがある疾患での試算を行っているが、その他の事例としては、小児の先天疾患も重い介助を伴うため参考になるのではないかとの意見があった。

4-2-2-3 再生医療のバリューベースの価値算定の手法における課題と対応策

現在国内においてもバリューベースの価値算定の試算が行われているが、再生医療等製品における価値算定の手法においては依然として課題も多く、以下の意見を得た。

- ・ 評価指標の一つであるQALYの重要性は、研究者間、医師間では認識されているが、現状

は研究者の提言にとどまっております、実際の導入に向けては、評価法の確立と算定時に用いる指標の定量化が課題。

- ・ 再生医療等製品における患者価値算定においては、治療の不確実性と症例数の確保が困難であることからエビデンス不足であり、長期的なアウトカム評価の蓄積が課題である。
- ・ 一方で、患者ごとのばらつきが多いという再生医療等製品の特性の中では、エビデンス蓄積のためのコストについての是非の議論もあり、コストの負担先も課題である。
- ・ 日本における長期的なフォローアップのデータ構築には、保険者の問題が存在する。保険者が特殊に細分化されており、保険者間の競争がない構造のため、積極的に保険者サイドからコストを抑えるためにデータを活用するという機運が少ない。
- ・ 薬価においては、一度設定された後には削減される一方であることから、企業側はエビデンスの蓄積がなければ算定の参考として訴求できない。
- ・ 一方、社会コストについては、計算可能だが、その妥当性を検証できないという意見が規制当局側からある。企業側が社会コストの妥当性をどのように証明し、どの時からエビデンスを積み上げるかが課題。

日本における再生医療等製品の普及に向けた価値算定手法の確立に向けては、すでにアウトカム評価のエビデンスを蓄積している国外の事例等も参考になり得る。国外と日本のアウトカム評価における制度またはエビデンスレベルの違いについて整理を行い、対応策としては以下の意見を得た。

- ・ 英国の公的医療技術評価機関である NICE (National Institute of Health Excellence) が一つのロールモデルになり得るため、NICE を参考にした算定手法の確立を行う。
- ・ 企業による承認時のバリューベース試算の実施、提出を推進する。
- ・ 長期データの構築における、がんの全例調査といった既存の医薬品の市販後調査のデータベースの活用 (ただし、データベースの構築にあたっては再生医療の特性を踏まえた別建ての議論が必要)

このような対応策に関する議論を行う場としては、長期データの収集場所としてはAMEDも考えられるが、内閣官房でも科学技術総合イノベーション戦略における基本計画の中でも議論を進めており、内閣府からの動きもあり得るとの意見もあった。

4-2-3 論点3 公的保険の適用の範囲

再生医療のような高価値・高価格を特徴とする医療の提供にあたっては、公的負担の医療財源には限界があるため、産業振興の観点からは患者の負担を前提とした考え方を導入する必要があるとの意見から、再生医療等製品における公的保険の適用範囲に関する議論を行い、意見を得た。公的保険の活用の在り方については、初めに製品の価値に応じた価格設定を行ってから保険の適応に関して議論を行うべきとの指摘があった。そして公的保険の適応の検討を行う際には、患者数×費用でのトータルの負担額を算定した上で、公的保険の適応範囲の検討を行うべきとの意見を得た。

公的保険の適応とならない保険外併用療法、保険外使用においては、患者の自己負担で治療される疾患および脊髄損傷といった民間の損害保険の適応が想定される疾患、また民間保険との組み合わせが想定される疾患を突破口にすること等の意見が上がった。

更に、再生医療等製品の普及にあたっては、限られた医療財源の中で先進的な医療の発展

を目的に使用される費用も必要であり、国民に許容される金額規模といった、マクロ経済の視点からの議論も並行して行う必要があるとの意見が挙げられた。条件付き承認制度はこのような考え方が具体化した一例と考えられるが、他にも再生医療等製品の有用性を国民へ訴求するアドボカシー（啓蒙活動）の重要性も指摘された。マクロ経済の議論においては、医療費抑制の議論と先進医療の推進の議論の棲み分けが、先進的な技術の登場が医療費抑制の議論に埋没しないために重要であるとの意見を得た。

4-3 今後の展望

今後再生医療等製品の産業規模の拡大にあたり、事業者の固定費を下げる製造・臨床施設の拠点化に関する議論は政策的な議論へ展開が重要であると考えられる。また、レギュラトリーサイエンスにおける規制の合理化については、現在経済産業省で議論が行われているガイドラインの策定の推進に加え、FIRM等の業界団体と規制側の人材交流も方策として挙げられた。レギュラトリーサイエンスに関しては医薬の分野では、企業側からの要望・提案が出てきており、また、規制当局側も現場企業からも要望を出してほしいという流れが出てきているため、今後議論が進展の可能性が期待できる。

さらに、今後再生医療等製品が患者に選ばれ、産業として企業を呼び込み発展していくためには、コスト削減の観点に加え、再生医療のバリューベースの価値の評価の実施と、その価値を適切に反映し得る価格設定に向けた議論の展開が重要である。今後は、患者視点での再生医療等製品の価値の訴求について、価値算定方法の定量化の推進と現行薬価制度への反映の可能性についてより具体的な議論を行い、具体的な方策の提言を検討することが必要と考えられる。

4. まとめ

本事業の総括として、検証した結果は次の3点にまとめることができる。一つ目は、製造工程の合理化に寄与する方法の同等性評価法の確立、二つ目は、自家細胞を用いた再生医療等製品の品質管理における品質管理法評価、三つ目は、同種細胞を用いた再生医療等製品のセルバンク構築および同種細胞を用いた再生医療等製品の品質管理法評価である。

製造工程の合理化に寄与する方法の同等性評価法の確立では、これまでに概念検証を実施してきた組織処理・細胞回収を合理化するマルチチューブを用いたシステムの汎用性を示すことができた。すなわち、特定の組織のみでなく再生医療の原料となりうる組織への応用可能性を検証するとともに、応用する際の課題についても整理できた。さらに、マルチチューブに自動化の概念を付与することで、合理的かつ安定的に所望の細胞単離が可能となることを検証できた。きわめて簡便な細胞単離装置でありつつも、現行の熟練作業による作業との同等性を有することが明らかとなった。

一方、従来の安全キャビネットの機能に加え、新しい気流を持ち込むことによりチェンジオーバーを不要とする概念であるエアアイソレーションシステム (AIS) についても、さらなる生産作業の均質性と効率性を高めることを目的に、新たにロボットによるサポート機能を組み込んだシステムを開発し、本システムの再生医療等製品生産現場への投入妥当性を検証した。その結果、AISの基本機能を損なうことなく生産性を向上させることを検証できた。その検証過程においては、JIS規格を参照しながら、新しい評価手法の確立をこころみ、これを達成することができた。今後は、これらを含む製造工程のさらなる改善とともに、自動培地交換機能を付加した生産プロセスの構築を検討し、各種評価手法および評価指標を確立することで、自家細胞を用いた再生医療等製品の製造における標準システムとしたい。

自家細胞を用いた再生医療等製品の品質管理法評価については、評価を均質化するための標準品の概念が希薄であり、その設定についてはいまだ事例・経験がほとんどない。そこで、本事業においては再生医療等製品特有の3次元構造評価について自家培養軟骨ジャックをモデルケースとして非侵襲的評価方法を確立すること、ならびに微生物否定試験などの品質試験の合理化への取り組みを継続し、標準品の設定に取り組んだ。

上記検討の結果、本研究では、OCTによって測定可能な3次元培養組織の細胞層範囲を確認することができた。また、マイコプラズマ否定試験 (NAT) の妥当性評価として、NATキットの評価、および選定したPCR機器の適格性評価 (IQ/OQ/PQ) を実施した。以上の過程を通じて、品質試験方法変更の際における、試験同等性評価方法を示すことができた。加えて、代替品、代替測定法の確立 (国産への代替等) としてBSAキットの代替品 (国産) を評価するとともに、軟骨基質測定法の代替測定法を確立した。これら一連の結果から、多くの再生医療等製品製造事業者が共通に抱える課題である、品質管理にかかる標準品について同等性・同一性の根拠となる考え方を整理するに至った。

同種細胞を用いた再生医療等製品の原材料となるセルバンク構築、ならびに同種細胞を用いた再生医療等製品の品質管理法評価については、ドナースクリーニングおよびセルバンクに対して実施するウイルス試験項目について、PMDAとの薬事戦略相談 (品質・安全性の対面助言) を実施し、その内容を盛り込んだ安全性評価方法案を作成するに至った。

さらに同種細胞を用いた再生医療等製品の開発に向け、原料となる細胞の有効性評価手法を確立した。

具体的には、①培地の変更による細胞増殖速度確認試験法の開発、②生体における線維芽細胞の機能を反映した線維芽細胞の分類方法の開発、③血管内皮細胞との共培養法による線維芽細胞の血管新生誘導促進能評価法の開発、④発現プロファイル解析による各種線維芽細胞の特性解析を実施した。これら同種細胞製品の原料となる細胞の有効性評価手法は、広く共通化することのできる手法であり、今後の同種細胞製品の開発の先鞭をつける重要な成果である。

以上の研究課題は、われわれが開発し上市してきた自家培養表皮ジェイスならびに自家培養軟骨ジャックを主な対象として実施してきた。企業側から見た再生医療・細胞治療の実用化・事業化における課題や提言が包含されるよう企画したため、再生医療の産業化という点において重要なケーススタディーとなりうる。一部の挑戦的な課題において、計画通り進捗できなかったことが反省点であるものの、これら課題を整理し公に発信していくことで、後続の再生医療等製品等の開発において有用な示唆を与え、実用化を促進する基盤となるものであると確信する。

最後に、前年度に引き続き支援いただいた国立研究開発法人 日本医療研究開発機構に謝意を表明するとともに、本研究成果を広く共有化し有効活用していくことで、わが国の再生医療の産業化に貢献していきたいと考えている。