

平成 28 年度 委託研究開発成果報告書

I. 基本情報

事業名： (日本語) 再生医療の産業化に向けた評価基盤技術開発事業
(英語) Project Focused on Developing Key Evaluation Technology: Evaluation for Industrialization in the Field of Regenerative Medicine

研究開発課題名： (日本語) 再生医療等の産業化に向けた評価手法等の開発
(英語) Development of key evaluation technology for industrialization in the field of regenerative medicine

研究開発担当者 (日本語) 公益財団法人先端医療振興財団、再生医療製品開発室 室長 郷 正博
所属 役職 氏名： (英語) Foundation for Biomedical Research and Innovation, Division for Regenerative Medical Product Development.
Division Chief, Masahiro Go

実施期間： 平成 28 年 5 月 24 日 ~ 平成 29 年 3 月 31 日

分担研究 (日本語) 羊膜を基質として用いる培養自家口腔粘膜上皮シートの研究開発
開発課題名： (英語) Research and development of cultivated autologous oral mucosal epithelial sheet using amniotic membranes as a substrate

研究開発分担者 (日本語)
所属 役職 氏名： (英語)

II. 成果の概要 (総括研究報告)

・ 研究開発代表者による報告の場合

先端医療振興財団は、京都府立医科大学と共同で、羊膜を基質として用いる口腔粘膜上皮シートの開発を進めてきた。本品治験準備のために、京都府立医科大学の協力を得て基礎検討（ボランティアから採取した口腔粘膜上皮組織試料を用いた口腔粘膜上皮シートの製造及び品質管理バリデーション）を行い、その過程において研究開発項目を実施した。

原料羊膜に関しては、計画中の医師主導治験時に使用する治験用羊膜の入手経路を決定し、基本的な了解を得た。しかし今年度の成果はそれに留まり、製造販売承認後の商業用羊膜入手方法は今後の課題である。

上皮シート培養用培地を最終確定するため、生物由来原料のウイルス不活性化工程及び成分未開示原料の情報に関して、製造販売元と秘密保持契約を締結した。そして、先端財団と培地製造販売元担当者により、PMDA 事前面談を実施した。その結果、培地の生物由来原料基準適合を確認することができたため、上皮シートの培地を最終確定することができた。

原料変更に伴う上皮シート同等性評価方法に関しては、上皮シートをホールマウントで細胞核染色して蛍光顕微鏡観察することで、シート全体の定量的かつ客観的評価が簡便にできることを見出した。

上皮シートの安定性評価に関しては、上皮シート保管後にコロニー形成試験方法を用いることで、上皮シートの細胞増殖活性評価が可能であることを確認し、また保管時の最適温度帯についても有用な情報を得ることができた。

治験時への対応を考慮して、受入試験としての口腔粘膜上皮由来株細胞を用いた培地性能試験を確立した。また、ガス検出法に基づく迅速無菌検査方法を導入するため、工程内各種検体を用いたバリデーションを実施した。さらに、培養終了後の上皮シート及び洗浄液における工程内各種因子の残留濃度を測定した。その結果、最終製品洗浄液の残留濃度測定が、最終製品の安全性評価とともに、洗浄バリデーションとしても有用であることを確認した。

治験に対応可能な培養自家口腔粘膜上皮シートの製造・品質管理工程の構築を進めることを目的として、品質試験スキームの見直しを進めた。その結果、治験時の新規安全性試験スキームを策定し、コールドランにおいて実施・検証した。その結果、治験時の製造・品質管理工程のスキームを決定することができた。

Foundation for Biomedical Research and Innovation (FBRI) has been conducting clinical development of cultivated autologous oral mucosal epithelial sheet using amniotic membranes as a substrate in collaboration with Kyoto Prefectural University of Medicine (KPUM) for the last several years. For the purpose of making preparations for an investigator-led clinical trial of the sheet, we have done the process validation of the sheet (the sheet manufactured from oral mucosal epithelial tissue harvested from a volunteer), and worked on each research and development item through the process.

Regarding amniotic membranes as a material for the production of the sheet, an acquisition route for the planned clinical trial is explored and fixed. Acquisition route for amniotic membranes for the sheet after obtaining the marketing authorization is an important issue to tackle in the future, however.

In order to finalize the culture medium for the sheet, FBRI concluded a confidentiality agreement with the sales company of the medium about information of virus inactivation process of living things origin material, and some secret components in the medium. FBRI and the sales company of the medium did a short consultation meeting with PMDA, and confirmed that the obtained information on the medium is necessary and sufficient for the regulation.

For characterization and equality evaluation of the sheet, we found it quite useful to observe the sheet through fluorescent microscope after staining cell nuclei, because it is possible

to make quantitative and objective evaluations of the sheet relatively easily.

For stability evaluation of the sheet, we did colony forming tests using isolated cells from the sheet after storage for a certain period of time, and confirmed that it is possible to evaluate the proliferative activity by the test. We also obtained valuable information about a suitable temperature condition for the sheet during the storage.

We established a performance test of culture medium as a receiving test by using oral mucosal epithelial tissue derived cell lines. In order to bolster sterility control during the whole production process, we introduced quick sterility test based on detection carbon dioxide, and did a validation test using various kinds of test items from the production process. We also measured residual concentration of various kinds of factors in the medium by using the sheet and rinsing solution of the sheet as a test item. As a result, measuring the residual concentration of additives in the rinsing solution of the final product is useful not only for evaluation of the safety of the final product, but also for the rinsing validation.

In order to make the manufacture and quality control system for the sheet compliant with the investigational product GMP, we reviewed a quality control scheme. We then established a new quality control system for the planned clinical trial, and tried and checked the system during the process validation. We found that the new system worked well without any problems.

- ・ 研究開発分担者による報告の場合

III. 成果の外部への発表

- (1) 学会誌・雑誌等における論文一覧（国内誌 件、国際誌 件）
- (2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表
- (3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み
- (4) 特許出願