

平成 28 年度

次世代医療機器・再生医療等製品  
評価指標作成事業

再生医療審査 WG 報告書

再生医療審査 WG 座長

東京医科大学 形成外科学講座

松村 一

# 目次

- I. 次世代医療機器・再生医療等製品評価指標作成事業再生医療審査 WG  
平成 28 年度委員名簿
- II. 平成 28 年度会議議事概要
- III. ヒト（自己）表皮（皮膚）再生に関する評価指標（案）
- IV. 調査事項
  - 1. 同種培養表皮シートの実用化に関する調査 松村 一、 森本 尚樹
  - 2. 同種由来の培養表皮シートの実用化 鈴木 茂彦
  - 3. 先天性巨大色素性母斑治療について ～自家培養表皮の必要性和今後の課題～  
森本 尚樹
  - 4. 表皮水疱症の臨床試験（治験） 西江 渉
- V. 参考資料
  - 1. 平成 20 年 2 月 8 日付薬食発第 0208003 号厚生労働省医薬食品局長通知「ヒト（自己）由来細胞・組織加工医薬品等の品質及び安全性の確保に関する指針」

# 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28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28年度委員名簿

座長

松村 一 東京医科大学 形成外科学講座 主任教授

委員（五十音順）

梅澤明弘 国立成育医療研究センター 研究所 副所長  
菊池明彦 東京理科大学 基礎工学部 材料工学科 教授  
久保亮治 慶應義塾大学医学部 皮膚科学教室 准教授  
西江 涉 北海道大学大学院医学研究科 皮膚科学分野 准教授  
森本尚樹 関西医科大学 形成外科学講座 准教授

厚生労働省

小池紘一郎 厚生労働省 医療機器審査管理課再生医療等製品審査管理室 課長補佐  
柳沼 宏 厚生労働省 医療機器審査管理課再生医療等製品審査管理室 課長補佐  
川嶋 実 厚生労働省 医療機器審査管理課再生医療等製品審査管理室 医療機器審査調整官  
黒岩 健二 厚生労働省 医療機器審査管理課再生医療等製品審査管理室 再生医療等製品基準係長  
石川 由 厚生労働省 医療機器審査管理課再生医療等製品審査管理室 主査

独立行政法人医薬品医療機器総合機構

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

オブザーバー

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

国立医薬品食品衛生研究所（事務局）

佐藤陽治 国立医薬品食品衛生研究所 再生・細胞医療製品部 部長  
澤田留美 国立医薬品食品衛生研究所 再生・細胞医療製品部 第二室 室長  
河野 健 国立医薬品食品衛生研究所 再生・細胞医療製品部 主任研究員

## II. 平成 28 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 28 年度第一回会議議事録（概要）

1. 開催日時：2016 年 10 月 20 日（木）15 時～17 時

2. 開催場所：オフィス東京 C5 会議室

3. 出席者（座長以下五十音順・敬称略）

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

厚生労働省：小池 紘一郎

医薬品医療機器総合機構：嶽北 和宏、松岡 厚子

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 28 年度第一回委員会議事次第

2. 平成 28 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 27 年度報告とこれまでの評価指標の内容について

5. 西江委員ご講演資料

6. 厚生労働省医薬・生活衛生局医療機器審査管理課長通知：平成 28 年 6 月 30 日  
付薬生機審発 0630 第 1 号「次世代医療機器・再生医療等製品評価指標の公表に  
ついて」

・ 別紙 1 「ヒト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」

7. 厚生労働省医薬・生活衛生局医療機器審査管理課長通知：平成 28 年 6 月 30 日  
付薬生機審発 0630 第 1 号「次世代医療機器・再生医療等製品評価指標の公表に  
ついて」

・ 別紙 2 「ヒト（同種）iPS（様）細胞加工製品を用いた関節軟骨再生に関する評価指標」

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（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
13. 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
14. 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

平成 27 年度次世代医療機器評価指標作成事業 再生医療審査 WG 報告書

## 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 小池課長補佐より説明があった。
- ②平成 27 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 28 年度の座長及び委員による自己紹介が行われた。座長・委員は下記の通り（敬称略）

座長

松村 一 東京医科大学病院 形成外科 主任教授

委員（五十音順）

梅澤明弘	国立成育医療研究センター 研究所 副所長
菊池明彦	東京理科大学 基礎工学部 材料工学科 教授
久保亮治	慶應義塾大学病院 皮膚科 専任講師
西江 涉	北海道大学大学院医学研究科 皮膚科学分野 准教授
森本尚樹	関西医科大学 形成外科学講座 講師

- ④西江委員より「表皮水疱症の臨床試験（治験）について」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。
- ⑤平成 28 年度の活動方針について討議した。

・今年度は広範囲熱傷、巨大色素性母斑、表皮水疱症の治療を目的とした自己培養表皮細胞の評価指標を作成する。同種表皮細胞については時間的に可能であれば作成するが、まずは調査を行う。間葉系幹細胞や iPS 細胞、ES 細胞などの幹細胞は細胞ソースには入れない。細胞の形態について、シートとサスペンションで品質管理、非臨床試験は共通でできるが、期待する有効性の部分が異なってくるた

め、まずはシートを想定した臨床評価項目を作成する。

- ・ジェイスの薬事申請で評価された項目の中で、実際に臨床で使用してみて足りなかった部分（色素脱色や色素沈着、基底膜構造、基底膜タンパク質等についての評価。表皮化の評価期間等。）は検討して追加する。

⑥評価指標作成に係る作業分担について話し合われた。

臨床・非臨床試験；

- ・ 広範囲熱傷                      松村座長 久保委員（第二回会議で意向を聞く）
- ・ 色素性母斑                      森本委員
- ・ 表皮水疱症                      西江委員

品質管理関係；                      梅澤委員、菊池委員、事務局

⑦今後の会議日程

第二回会議：平成28年12月1日(木)18-20時 オフィス東京 C5 会議室

第三回会議：平成28年12月22日(木)18-20時 オフィス東京 C5 会議室

第四回会議：平成29年1月26日(木)18-20時 オフィス東京 D 会議室

第五回会議：平成29年2月9日(木)18-20時 オフィス東京 C5 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28年度第二回会議議事録（概要）

2. 開催日時：2016年12月1日（木）18時～20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：松村 一（東京医科大学）、梅澤 明弘（国立成育医療研究センター研究所）、  
菊池 明彦（東京理科大学）、久保 亮治（慶応義塾大学）、西江 渉（北海  
道大学）、森本 尚樹（関西医科大学）

京都大学：鈴木 茂彦、坂本 道治

厚生労働省：小池 紘一郎

医薬品医療機器総合機構：嶽北 和宏、吉田 貴明、松岡 厚子

産業技術総合研究所：伊藤 弓弦、廣瀬 志弘

事務局（国立医薬品食品衛生研究所）：佐藤 陽治、澤田 留美、河野 健

4. 配布資料

1. 平成28年度第二回委員会議事次第
2. 平成28年度第一回委員会議事録(概要)
3. 鈴木先生ご発表資料
4. ヒト表皮(皮膚)再生に関する評価指標(たたき台)
5. 臨床試験(治験)一広範囲熱傷(たたき台)
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. 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。
- ②京都大学 鈴木茂彦先生より「同種由来の培養表皮シートの実用化」についてご講演いただき、その後、発表内容について質疑応答がなされた。

③今年度のタスクについて、同種培養表皮シートは、鈴木先生の発表からも産業化へはまだハードルがいくつか残っており、治験までには時間がかかるという印象を得たため、今年度は、自己培養表皮シートのみの評価指標案を作成し、同種については調査を行い、報告書にまとめることとなった（松村座長、森本委員担当）。

調査の内容：同種由来細胞を使用する利点と課題（同種由来製品の指針には具体的に書かれていない、皮膚製品で特に注意しなくてはいけない品質・安全性についても言及する）。製品化へ向けた現状（原料、製品形態、倫理関係等を言及する）。

④第一回会議欠席の久保委員から自己紹介があった。久保委員には西江委員と共に表皮水疱症の臨床部分を担当していただくこととなった。

⑤資料4「ヒト表皮(皮膚)再生に関する評価指標(たたき台)」について読み合わせを行い、修正点等を討議した。

主な修正点

- ・今後、メラノサイトの含有率を増やした製品が出てくる可能性があるので、メラノサイトの含有について言及する(入れる場所は事務局が確認)。(色素脱色しない製品の場合には、必要に応じて、メラノサイトの含有率を管理する等の書き方)
- ・造腫瘍性試験に関して、広範囲熱傷、巨大色素性母斑では移植した細胞ががん化する可能性は低いので記載しない。表皮水疱症に関しては、表皮水疱症患者で有棘細胞がんを発症する危険が高いことから、有棘細胞がんについて触れておく(西江委員担当)。
- ・広範囲熱傷、巨大色素性母斑、表皮水疱症に対する有効なモデル動物が確立されていないことを書く。

⑥資料5「臨床試験(治験)―広範囲熱傷(たたき台)」について、松村座長から説明があり、討議した。

主な討議内容

- ・必要症例数、市販後調査については書かない。
- ・バイオプシーについて基本的には行うが、各疾患の中で決める。

⑦第三回会議までに、下記の作業を行っていただくこととなった。

・用語の定義 (1)皮膚組織(2)表皮細胞、及びその他入れるべき用語について(久保委員、西江委員)

・臨床試験の評価指標案について

広範囲熱傷の文章化

松村座長

巨大色素性母斑のたたき台作成

森本委員

表皮水疱症のたたき台作成

久保委員、西江委員

⑧今後の会議日程

第三回会議 : 平成 28 年 12 月 22 日(木)18-20 時 オフィス東京 L4 会議室

第四回会議 : 平成 29 年 1 月 26 日(木)18-20 時 オフィス東京 D 会議室

第五回会議 : 平成 29 年 2 月 9 日(木)18-20 時 オフィス東京 C5 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28年度第三回会議議事録（概要）

3. 開催日時：2016年12月22日（木）18時～20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：松村 一（東京医科大学）、梅澤 明弘（国立成育医療研究センター研究所）、  
菊池 明彦（東京理科大学）

厚生労働省：小池 紘一郎

医薬品医療機器総合機構：吉田 貴明

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）：澤田 留美、河野 健

4. 配布資料

1. 平成28年度第三回委員会議事次第
2. 平成28年度第二回委員会議事録(概要)
3. 森本先生ご発表資料
4. ヒト表皮(皮膚)再生に関する評価指標(たたき台)
5. 臨床試験(治験)―巨大色素性母斑(たたき台)
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. 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松村座長より、森本委員が沿線火災による新幹線の遅れ、西江委員が悪天候による飛行機の欠航、久保委員が別会議出席のため欠席する旨の説明があった。予定していた森本委員の講演は第四回会議に延期とした。
- ②事務局より第二回会議議事録（概要）について説明があり、出席委員より承認を得た。
- ③配布資料 4 ヒト表皮（皮膚）再生に関する評価指標（たたき台）について、松村

座長から説明があった。

#### 主な討議内容

- ・ 空路輸送した際の製品の安定性評価について評価指標に入れる。
  - ・ 出荷時の培養表皮での基底膜タンパク質の残存状況について、5. (3) ③確認試験に入れることので了承を得た。
  - ・ 用語の定義に各疾患の定義と診断について入れることとした。
  - ・ 臨床試験（治験）の巨大色素性母斑の部分の文章化を森本委員に行っていただく。
- 評価指標（案）たたき台を第四回会議までに完成させ、その内容について、第四回会議にて精査することとした。
- ④同種由来培養表皮シートの調査について、松村座長に作成していただいた原稿に森本委員が、製品開発の現状を執筆して追加することとなった。

#### ⑤今後の会議日程

第四回会議：平成29年1月26日(木)18-20時 オフィス東京 D 会議室

第五回会議：平成29年2月9日(木)18-20時 オフィス東京 C5 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 28 年度第四回会議議事録（概要）

4. 開催日時：2017 年 1 月 26 日（木）18 時～20 時

2. 開催場所：オフィス東京 T3 会議室

3. 出席者（座長以下五十音順・敬称略）

委員：松村 一（東京医科大学）、梅澤 明弘（国立成育医療研究センター研究所）、  
菊池 明彦（東京理科大学）、久保 亮治（慶應義塾大学）、西江 渉（北海  
道大学）、森本 尚樹（関西医科大学）

厚生労働省：黒岩 健二

医薬品医療機器総合機構：嶽北 和宏、吉田 貴明、宮崎 生子、松岡 厚子

産業技術総合研究所：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 28 年度第四回委員会議事次第

2. 平成 28 年度第三回委員会議事録（概要）

3. 先天性巨大色素性母斑治療について～自家培養表皮の必要性和今後の課題～  
（森本先生ご発表資料）

4. ヒト表皮（皮膚）再生に関する評価指標（たたき台）

5. 同種培養表皮シートの実用化に関する調査（松村座長、森本委員）

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. 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事務局より第三回会議議事録（概要）について説明があり、委員より了承を得た。
- ②森本委員より、「先天性巨大色素性母斑治療について～自家培養表皮の必要性和今後の課題～」についてご講演いただき、その後、発表内容について質疑応答がなされた。

③配布資料 4 ヒト表皮（皮膚）再生に関する評価指標（たたき台）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

- ・（6）臨床試験（治験）で、単腕試験を否定しないような表現にする（事務局、PMDA）。
- ・（6）臨床試験（治験）③臨床有効性評価で、広範囲熱傷、巨大色素性母斑、表皮水疱症の共通部分（表皮シートの移植方法に関する情報として・・・）の部分をもとめて、前の段落に移動させる。
- ・（6）臨床試験（治験）③臨床有効性評価 イ.有効性の評価で、52週を1年に統一する。「donor」を「採皮部位」にする。「必要である」と書かれている部分を「一般的である」に変える（ただし、移植後1年後程度の観察については必要とする）。
- ・評価指標（案）全体を通して、表現等をPMDAに確認してもらう。

④2月3日を目処に、事務局が修正した評価指標（案）をメーリングリストで委員に送り、さらにメールベースで意見交換を行い、2月13日を目処に評価指標（案）の最終案とする。

⑤委員及び第二回会議の京都大学鈴木先生の発表スライドを報告書に載せる。

⑥第四回会議で評価指標（案）作成の目処が立ったので、予定されていた第五回会議は開催しないこととする。

### III. ヒト（自己）表皮（皮膚）再生に関する評価指標（案）

1. はじめに
2. 本評価指標の対象
3. 本評価指標の位置づけ
4. 用語の定義
5. 評価に当たって留意すべき事項
  - (1) 原料等
  - (2) 製造工程において特に注意が必要な事項
  - (3) 製品の品質管理
  - (4) 製品の安定性試験
  - (5) 非臨床試験
  - (6) 臨床試験（治験）

## ヒト（自己）表皮（皮膚）再生に関する評価指標（案）

### 1. はじめに

再生医療等製品（医薬品、医療機器等の品質、有効性及び安全性の確保等に関する法律（昭和35年法律第145号）第2条第9項に規定する「再生医療等製品」をいう。以下同じ。）のうち、ヒト（自己）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。）に定められているところである。本評価指標は、ヒト（自己）皮膚組織加工製品のうち特に重症皮膚疾患の治療を目的として皮膚に適用される再生医療等製品について、上述の基本的な技術要件に加えて留意すべき事項を示すものである。

### 2. 本評価指標の対象

本評価指標は、ヒト（自己）皮膚組織加工製品のうち特に重症皮膚疾患の治療を目的として皮膚に適用されるヒト（自己）表皮細胞シートについて、基本的な技術要件に加えて品質、有効性及び安全性の評価にあたって留意すべき事項を示すものである。

### 3. 本評価指標の位置づけ

本評価指標は、技術開発の著しいヒト（自己）皮膚組織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ものではなく、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」（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）の定義による他、以下のとおりとする。

（1）皮膚組織：皮膚とは体表を覆う臓器であり、表皮、真皮、皮下組織の3層からなる。

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

- (2) 表皮細胞：皮膚の表皮を構成する細胞のうち、表皮幹細胞を含み重層上皮シートを形成する上皮細胞を「表皮細胞」と定義する。なお、表皮には、表皮細胞以外に、血液幹細胞由来のランゲルハンス細胞や神経堤由来のメラノサイトなどが存在する。
- (3) 広範囲熱傷：自家植皮のための患皮面積が確保できない重篤な熱傷と定義する。具体的には、受傷面積として深達性Ⅱ度熱傷創及びⅢ度熱傷創の合計面積が体表面積の30%以上の熱傷を念頭に置く。
- (4) 巨大色素性母斑：生下時より巨大な色素性母斑が存在する疾患と定義する。巨大、については明確な定義がされていないが、直径20cm以上（成人時に）である母斑、体表面積の5%以上、10%以上、頭頸部では体表面積の1%以上である母斑などの定義がある。
- (5) 表皮水疱症：表皮水疱症は、皮膚の表皮および表皮真皮境界部に分布するタンパクをコードする遺伝子の変異に伴い、表皮もしくは表皮下に水疱を生じる遺伝性疾患群である。日常生活で外力の加わる部位に水疱や潰瘍を反復して生ずることを主な臨床症状とする。電子顕微鏡観察による水疱形成部位は、①基底細胞内（単純型）、②透明帯（接合部型）、③基板下方（栄養障害型）のいずれかであることが多い（括弧内はそれぞれの病型（三大病型）を示す）。遺伝形式、臨床症状、電子顕微鏡所見、免疫蛍光抗体法による皮膚基底膜タンパクの発現所見に基づき病型診断される。遺伝子変異検索は診断に必須ではない。
- (6) フィーダー細胞：ヒト由来の細胞を増殖させるために共培養される異種細胞をいう。（「異種移植の実施に伴う公衆衛生上の感染症問題に関する指針」に基づく3T3J2株及び3T3NIH株をフィーダー細胞として利用する上皮系の再生医療への指針について（平成16年7月2日付け医政研発第0702001号厚生労働省医政局研究開発振興課長通知）の定義と同じ）
- (7) 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）
- (8) 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）
- (9) 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。
- (10) 細胞シート：細胞同士が直接、あるいは間接的に結合してシート状の形態を呈しているものをいう。

## 5. 評価に当たって留意すべき事項

本評価指標は、ヒト皮膚組織を原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培養表皮細胞シートを広範囲熱傷、巨大色素性母斑、表皮水疱症の治療を目的として皮膚に適用することを想定している。

### (1) 原料等

原料（皮膚組織）及び材料（ウシ血清、フィーダー細胞等）、さらにそれらの製造に用いられる原材料の管理項目については、最終製品に求められる品質が確保できるよう設定することが原則となるが、その原料等を用いても最終製品に安全上の懸念が生じないように、原料等の品質（無菌性、不純物等）についても考慮し設定することが求められる。ウイルス等の外来性感染性物質の混入リスクについては、「生物由来原料基準」（平成 15 年厚生労働省告示 210 号）に基づいて必要な情報を得た上で、そのリスクが管理できるよう管理項目を設定する。「生物由来原料基準」（平成 15 年厚生労働省告示 210 号）の規制対象となる原料等の範囲は、「生物由来原料基準の運用について」（平成 26 年 10 月 2 日付け薬食審査発 10021 第 1 号厚生労働省医薬食品局審査管理課長、薬食機参発 1002 号第 5 号厚生労働省大臣官房参事官（医療機器・再生医療等製品審査管理担当）通知）を参照すること。

#### ① 皮膚組織の採取

皮膚組織の採取部位の選定理由、採取方法を示し、これらが科学的及び倫理的に適切に選定されたものであることを明らかにすること。採取方法については、用いられる器具、微生物汚染防止、取り違えやクロスコンタミネーション防止のための方策等を具体的に示すこと。

#### ② フィーダー細胞

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 28 年 6 月 13 日付け医政研発第 0613 第 1 号厚生労働省医政局研究開発振興課長通知「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。

## (2) 製造工程において特に注意が必要な事項

最終製品であるヒト皮膚組織加工製品（ヒト培養表皮細胞シート）の製造にあたっては、製造方法を明確にし、可能な範囲でその妥当性を以下の項目で検証し、一定の品質を保持すること。

原料となるヒト皮膚組織の製造所への受入れから、表皮細胞の分離・培養工程を経て、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。

### ① 受入検査

採取した皮膚組織について、製造所への受入のための試験検査の項目（例えば、目視検査、顕微鏡検査、生存率、細胞の特性解析、細菌、真菌、ウイルス等の混入の否定等）と各項目の判定基準を設定すること。また、①組織運搬状況の確認（断熱容器に封印されているか、発送から何時間かかっているか等）及び②皮膚組織の外観の確認（運搬用チューブの破損・液漏れはないか、皮膚組織が組織運搬液中に浸漬されているか、運搬液に汚染が無いか等）を行うこと。

### ② 細菌、真菌及びウイルス等の不活化・除去

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

### ③ 製造工程中の取り違え及びクロスコンタミネーション防止対策

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

### ④ 加工した表皮細胞の特性解析

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

また、培養期間の妥当性及び細胞の安定性を評価するために、予定の培養期間を超えて培養した細胞において目的外の変化がないことを示すこと。異常増殖細胞や形質転換細胞の検出法としては、増殖特性解析、軟寒天コロニー形成試験、免疫不全動物への皮

下投与試験等があるが、いずれにしても試験系の検出限界を確認しておくことが結果の解釈において重要である。また核型分析は、皮膚組織を採取する患者の年齢や原疾患によっては、ある頻度で染色体異常が生じている場合があるので、染色体異常が認められた場合にそれが患者に起因するのか、あるいは培養に起因するのかを明らかにできるような試験計画の立案を検討すること。

### (3) 製品の品質管理

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

#### ① 外観の確認

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

#### ② 細胞数及び生存率

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

#### ③ 確認試験

目的とする細胞・組織の形態学的特徴、生化学的指標、免疫学的指標、特徴的生産物質その他適切な遺伝型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。例えば、広範囲熱傷の場合、細胞シートの基底膜構造や基底膜タンパク質の状態が治療成績に影響を与えることがわかっているため、確認すべきである。また、治療目的に対して必要に応じてメラノサイトの含有率も確認する。

#### ④ 細胞の純度試験

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

#### ⑤ 製造工程由来不純物試験

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

#### ⑥ 力学的適合性試験

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

#### (4) 製品の安定性試験

最終製品又は重要なそれらの中間製品について、保存・流通期間及び保存形態を十分考慮して、細胞の生存率及び効能を裏付ける代替指標等を指標に実保存条件での安定性試験を実施し、貯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、凍結及び解凍操作が製品の解凍後の培養可能期間や品質へ与える影響を確認すること。また、必要に応じて標準的な製造期間を超える場合や標準的な保存期間を超える長期保存についても検討し、安定性の限界を可能な範囲で確認すること。ただし、製造終了後直ちに使用するような場合はこの限りではない。

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

#### (5) 非臨床試験

##### ① 安全性試験（造腫瘍性試験）

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

##### ② 最終製品の効力又は性能を裏付ける試験

技術的に可能かつ科学的に合理性のある範囲で、対象疾患に対し適切なモデル動物等を用いて、最終製品の機能発現、作用持続性、ヒト（自己）皮膚組織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、広範囲熱傷、巨大色素性母斑では免疫不全動物に皮膚欠損創を作製したもの等が挙げられるが、最終製品の効力又は性能を示すための各疾患のモデル動物は今のところ確立されていない。

#### (6) 臨床試験（治験）

臨床データパッケージ及び治験実施計画書は、対象疾患、目的とする効能、効力又は性能、当該治療法に期待される臨床上の位置づけ等に応じて、非臨床データ等も踏まえ

て計画することが必要である。一般的に臨床試験においては盲検化の有無にかかわらず、臨床試験においてより科学的に有効性及び安全性の情報を収集するためには、内部対照群を設定した比較臨床試験が望ましいが、開発している再生医療等製品の臨床上の位置づけを踏まえた開発可能性を考慮して適切に計画されるべきである。例えば下記②に示した対象疾患においては標準的治療法が確立されておらず、求められる評価項目（エンドポイント）も製品毎に設定する必要がある。エンドポイントの設定にあたっては、医療現場における忍容性や倫理性を考慮し比較試験を行うことが原則であるが、単腕試験での評価も想定される。なお、できる限り独立行政法人医薬品医療機器総合機構の薬事戦略相談又は対面助言を利用すること。

#### ① 臨床試験における評価技術に関する基本的考え方

臨床試験は試験に伴うリスクを最小限とし被験製品による効果が最大限に評価できるように計画されるべきである。特に目的とする細胞・組織の由来、対象疾患及び適用方法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。有効性評価項目としては、移植後一定期間での表皮形成率、長期経過での創の状態を評価する事ができる項目が含むものとする。

また、表皮シート移植においては、移植手技が効果に影響する可能性があるため、複数施設での治験を行うことが望ましい。さらに複数の真皮再構築の方法・移植母床が考えられる場合には代表的な幾つかの方法で効果を確認することが推奨されるが、有効性及び安全性評価を行う上で結果にバラツキが生じた場合の解釈については慎重に行うこと。

#### ② 対象疾患

##### a) 広範囲熱傷

自家植皮のための患皮面積が確保できない重篤な広範囲熱傷で、かつ、受傷面積として深達性Ⅱ度熱傷創及びⅢ度熱傷創の合計面積が体表面積の30%以上の熱傷が対象と考えられる。なお、その場合、治験の症例としては、既存品の使用経験を踏まえて、Ⅲ度40~60%程度の症例とすることが望まれる<sup>1)</sup>。

##### b) 巨大色素性母斑

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

##### c) 表皮水疱症

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

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

### ③ 臨床有効性評価

#### ア. 臨床情報

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

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

#### a) 広範囲熱傷

表皮シートの移植床に関して以下の情報を収集すること。

- 適応する熱傷創の深度・面積等の状態に関する情報
- 真皮再構築の方法（同種皮膚、人工真皮、その他）
- 移植前の状態の情報
- 細菌コロニゼーションの状態等

#### b) 巨大色素性母斑

表皮シートの移植床に関して以下の情報を収集すること。

- 治験対象となる母斑の治療歴
- 母斑の切除方法（キュレッタージュ又は分層で切除（薄削）した場合は、キュレッタージュ又は薄削した方法）
- 切除した母斑の状態（深度・面積等の状態に関する情報。母斑を全層で切除した場合は、真皮再構築を行ったか、行った場合の再構築の方法（人工真皮、その他））

#### c) 表皮水疱症

表皮シートの移植床に関して以下の情報を収集すること。

- 潰瘍の面積
- 壊死組織の有無
- 細菌コロニゼーションの状態等

#### イ. 有効性の評価

#### a) 広範囲熱傷

有効性の評価としては、表皮形成率を主要評価項目とし、長期の創閉鎖の状態、症例あたりの移植回数、使用枚数、予後、採皮部位とその面積、培養された表皮シート面積などを評価することが一般的である。表皮形成率の評価方法は、肉眼的観察や写真での判定により行うとともに、可能な範囲で組織生検による判定を行うことも考慮する。有効性評価の結果解釈が困難になることから自家植皮を併用した場合は、自家植皮の面積を差し引いて表皮形成率を計算する。

表皮形成率の評価時期に関しては、急性期の評価として、移植後 1,2,4 週後、亜急性期（脱落の評価）として移植後 8 週後に評価がされることが望ましい。長期の創閉鎖の状態に関しては、1 年後程度での肉眼的（写真による）判定にて、頻回の水疱の形成、肥厚性瘢痕の形成、色素異常の状態、瘢痕拘縮の発生、拘縮解除手術の有無等をフォローアップとして観察することが必要である。

#### b) 巨大色素性母斑

有効性の評価としては、表皮形成率を主要評価項目とし、長期的な瘢痕化の評価、母斑再発評価、びらん・水疱形成などの有害事象、治療部位あたりの移植回数、採皮部位とその面積、培養された表皮シート面積などを評価することが一般的である。表皮形成率の評価方法は a) 広範囲熱傷と同様である。また、瘢痕化の評価方法は、肉眼的な観察と共に経時的に Vancouver Scar Scale<sup>2)</sup>などのスケールによる評価を行うことが望ましい。

表皮形成率の評価時期は、急性期の評価として、移植後 1,2,4 週後、亜急性期（脱落の評価）として移植後 8 週後に評価がされることが望ましい。また、瘢痕化の評価時期は、移植 6,12 ヶ月において評価を行うことが望ましい。長期の移植部位の状態については、母斑の再発に関して色調の経時的な肉眼的観察及び可能な範囲で組織生検による観察を移植後 1 年程度までフォローアップにより行うことが必要である。

#### c) 表皮水疱症

有効性の評価としては、移植前の総潰瘍面積に対する表皮形成率を主要評価項目とする。移植前の潰瘍の状態、症例あたり部位ごとの移植回数、使用枚数、採皮部位とその面積、培養された表皮シート面積などを評価することが一般的である。表皮形成率の評価方法は、a) 広範囲熱傷と同様である。

表皮形成率に関しては、急性期の評価として、移植後 1,2,4 週後、亜急性期（脱落の評価）として移植後 8 週後に評価がされることが望ましい。長期の創閉鎖の状態に関しては、1 年後程度での肉眼的（写真による）判定にて、頻回の水疱の形成、肥厚性瘢痕の形成、色素異常の状態、瘢痕拘縮の発生、拘縮解除手術の有無等をフォローアップにより観察することが必要である。

#### ウ. 安全性の評価

ヒト（自己）皮膚組織加工製品は採皮時点から観察終了時期まで全身所見、局所所見、自覚症状の有無を確認する。有害事象、感染症やアレルギー反応の有無を観察する。特に、ヒト（自己）皮膚組織加工製品は複数回にわたり移植する可能性があることから、製造に動物由来のものを用いた場合には、抗体産生の有無について評価を行うことが望ましい。

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

## 6. 参考資料

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

## IV. 調査事項

1. 同種培養表皮シートの実用化に関する調査 松村 一、 森本 尚樹
2. 同種由来の培養表皮シートの実用化 鈴木 茂彦
3. 先天性巨大色素性母斑治療について ～自家培養表皮の必要性と今後の課題～  
森本 尚樹
4. 表皮水疱症の臨床試験（治験） 西江 渉

## 同種培養表皮シートの実用化に関する調査

東京医科大学 形成外科学講座  
松村 一  
関西医科大学 形成外科学講座  
森本尚樹

自家培養表皮シートと共に、同種由来培養表皮シートの実用化が望まれる。(このため、今年度の WG の中で、同種由来培養表皮シートに関しての調査を行い、次年度以降にヒト同種表皮(皮膚)再生に関する評価指標の作成を予定した。)

調査においては、京都大学大学院医学研究科・医学部 形成外科学 教授 鈴木茂彦先生の意見も聴取した。

### ① 同種由来培養表皮シートの実用化の背景

自家培養表皮シートは 2007 年より、広範囲熱傷の治療に用いられているが、通常の自家培養表皮シートのための移植では、その脆弱性のゆえ、初期の生着率は平均 50~60% 程度に留まっているのが現状である。このため、高倍率自家分層網状植皮(6 倍程度)と併用して移植される方法が多く取り入れられている。この方法における表皮形成に関しては、自家培養表皮シート自体の生着、自家網状植皮の伸展のサポートの両面が議論されている。このため、自家皮膚の伸展をサポートする面からは、培養期間を要しない同種由来培養表皮シートの使用も期待されてきている。また、採皮部などの分層皮膚欠損創への同種由来培養表皮シート移植の有用性も報告されており、韓国においてはすでに製品が承認、上市されている。

### ② 同種由来培養表皮シートの利点

同種由来培養表皮シートは、オフ・ザ・シェルフであり、培養期間を待つ必要が無い。このため、広範囲熱傷等では、早期の熱傷焼痂切除手術時にも利用でき、創感染等のリスクを軽減できること、分層採皮部に使用すれば、早期に良好な上皮化が期待される。製造用のセルバンクの細胞を用いて長期間に渡り大量に培養が可能であるため、その製造コストも自家培養表皮シートに比較して安価である。

### ③ 同種由来培養表皮シート開発の現状と課題

#### a) 製品開発の現状

日本国内において再生医療製品の製造のために必要なヒト他家細胞(同種細胞)を導入、利用する仕組みが確立されておらず(平成 26 年度経済産業省「再生医療の産業化に

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）、国内で採取した組織・細胞から作製した同種再生医療製品も存在しない。このため、同種細胞・組織を入手するためには、医療機関において研究目的では無く、企業が製品化を目的として同種組織を採取し、利用する倫理承認を得ることから始める必要がある。しかしながら、提供された細胞所有権のドナーからの移転について、法的整備がされておらず、企業が製品開発をする上でリスク要因となっている。

多能性幹細胞として iPS 細胞、分化細胞として表皮、軟骨、脂肪細胞などについて同種細胞製品の開発が行われているが、最終製品形態、例えば同種表皮シートの提供を自家培養表皮シートと同様の生細胞製品とするのか、凍結保存製品とするか、あるいは他の方法を用いるかなども含め試行錯誤が行われているのが現状である。

#### b) 品質と安全性に関して

ドナー細胞の細胞増殖能や生理活性分泌能の評価により、適切なドナー細胞を選び、すでに確立されている自家培養表皮シートでの培養技術を用いることで、一定の品質が期待される。安全性に関してはウィルス検査等がウィンドウピリオドを含めて必要であるが、同種であるため、移植後一定の期間の後に脱落するため、安全性は比較的高い。開発にあたっては平成 20 年 9 月 12 日発 薬食発第 0912006 号「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」に準拠することが求められる。

#### c) その他の課題

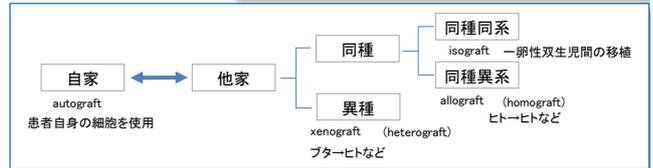
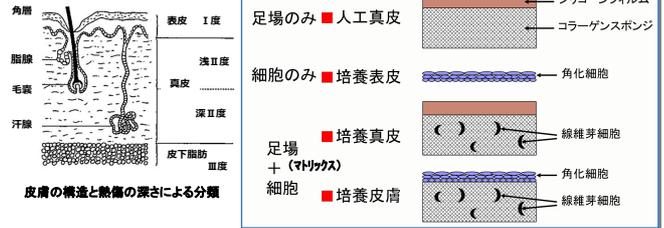
細胞の入手・提供に関する実務的な問題（細胞提供者からの同意取得や契約、同意取得の撤回、個人情報保護、医療機関と企業の連携等）、細胞の入手・提供を円滑に進めるための社会的認知の向上等が挙げられる。また、採取医療機関・再生医療企業等の間に入り、実務上の課題等に対応する専門の仲介機関の必要性の有無などが挙げられる。

## 同種由来の培養表皮シートの実用化

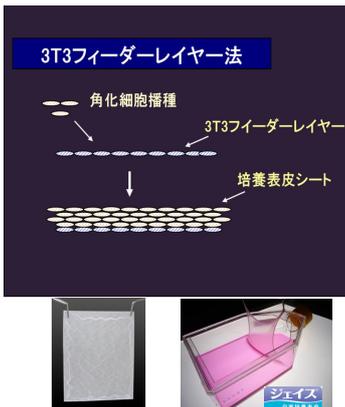
京都大学 形成外科  
鈴木 茂彦



## 皮膚の再生医療に関する用語の整理



## 培養表皮シートの開発と臨床応用の歴史



- 1975年 Rheinwald JG, Green, H 初めて培養表皮シートを報告
- 1981年 O'connor et al 初の臨床応用
- II度熱傷では生着するが、III度熱傷では生着しない
- 真皮組織がないと生着しない
- 1986年 Cuono et al 同種皮膚移植後に培養表皮移植
- 1988年 熊谷 わが国での初の実用
- 1988年 Epicel: FDA承認対象外として販売(米国)
- 2007年 ジェイス(J-TEC社)が日本で承認
- 2009年 ジェイスの保険適応認可



## 重症熱傷治療の現状

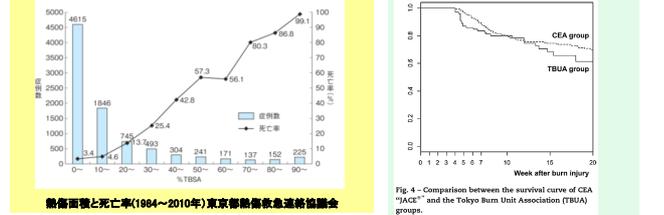


Table 3 - The take rate of cultured epidermal autograft at week 4 in the wound bed preparation group.

Wound bed preparation	Operative procedure		Total
	Single application	Combined treatment with autograft	
Cryopreserved allogeneic skin	31 ± 35 (59)	84 ± 17 (10)	42 ± 39 (75)
Artificial dermis	43 ± 35 (66)	74 ± 30 (150)	65 ± 34 (225)
Nonsurgical granulation tissue	57 ± 36 (133)	80 ± 28 (189)	71 ± 34 (322)
Meshed/patched autologous skin	83 ± 29 (119)	77 ± 16 (16)	80 ± 24 (35)
Fresh allogeneic skin	70 ± 19 (13)	40 (1)	68 ± 20 (14)
Others	65 ± 29 (23)	63 ± 32 (23)	64 ± 30 (46)

Take rate %: average ± standard deviation (number of sites).

(Matsumura H. Application of the cultured epidermal autograft "JACE" for treatment of severe burns: Results of a 6-year multicenter surveillance in Japan. Burns. 2016)



## 自家培養表皮使用における問題点

- 製品の供給に3週間を要する
- あらかじめ採皮が必要
- 製品が完成しないリスク
- 患者が亡くなり使えないことがある
- 本来の使用法での生着率が期待ほど高くない
- 自家培養皮膚との併用が現実的(採皮部が必要)



## 同種培養表皮への期待



## 同種培養表皮について

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

【分層採皮時に凍結保存同種培養表皮を用いた例】



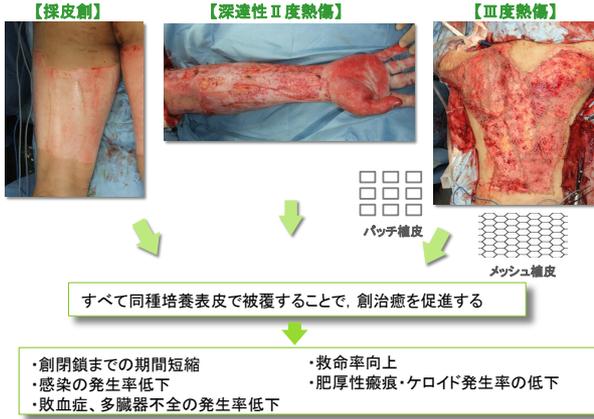
韓国ではすでに製品化されている



▶ 同種培養表皮は、有効な熱傷の治療法になりうる？



## 同種培養表皮を用いた重症熱傷治療の可能性



## 同種培養皮膚の現状

### 他国ですでに臨床応用されている同種培養皮膚製品



日本では、同種細胞を用いた再生医療製品の先例がなかった

- 自家培養表皮「ジェイス®」の承認から7年間の使用実績
- HLAホモドナーiPS細胞ストック事業の推進
- GVHDに対する同種間葉系幹細胞(MSC)製品「テムセル®」の承認
- 再生医療新法、薬機法の施行 (2015年11月25日)

同種細胞を用いた再生医療製品の実用化の機運が高まる

## 自家培養表皮と同種培養表皮の比較

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

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

## 同種培養表皮を製品化するにあたって解決すべき課題

### 1. 細胞の入手に関して

- 日本の法律では提供された細胞の所有権に関して明確な記載がなく、法解釈におけるコンセンサスの確立が必要である
- 細胞の入手方法の妥当性 ← 経済産業省による研究報告
- 同意取得の方法(包括的同意を認めるかどうか、同意撤回と企業の利益の相反など)
- 個人情報保護とトレーサビリティの確保のバランス

### 2. 細胞ストックの管理方法

- 提供された細胞は重要な医療資源であり、さまざまな再生医療製品の製造に使用できるようフリーアクセスとすることが望ましい ← 目的外使用・包括同意の問題

### 3. 細胞の安全性確保

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

### 4. 製品の品質確保

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

## 原料となる同種(他家)表皮細胞の入手に関して

### 「再生医療の産業化に向けた評価基盤技術開発事業」

#### 原料細胞の入手等に関する調査等報告書(抜粋) 平成27年3月経済産業省

再生医療を広く多くの患者に行うには、患者本人以外の細胞、すなわち他家細胞を利用した製品を活用することが想定される

しかし再生医療製品の**製造用**として、国内で採取されたヒト細胞・組織を入手できる環境は今のところ整備されていない

輸入に依らず、国内で細胞の入手が可能になれば、リードタイムの短縮、輸送コストの低減、供給途絶リスクの低減などのロジスティクス面での利点があるほか、日本人由来であることによるHLA型の適合性の高さや、採取医療機関等へのトレーサビリティ面でのメリットも想定され、再生医療製品の開発に極めて有利に働く

表 1-1 自家細胞由来製品に比し他家細胞由来製品のメリット

自家細胞由来製品	他家細胞由来製品
患者本人からの採取に依る	患者、医師、製薬会社、産科、看護、看護学校など
採取コストが低い	血液、尿、汗、唾液、皮膚、髪、歯、毛、皮膚、骨髄など
採取量が少なく、採取回数に制限がある	血液、尿、汗、唾液、皮膚、髪、歯、毛、皮膚、骨髄など
採取部位により品質管理・コスト面で有利になる可能性がある※(図 1-4)	血液、尿、汗、唾液、皮膚、髪、歯、毛、皮膚、骨髄など
※ 免疫拒絶への対応、大量生産、保存、運搬技術の確立等が必要	血液、尿、汗、唾液、皮膚、髪、歯、毛、皮膚、骨髄など

- 患者本人からは採取しにくい細胞を利用することが可能
  - あらかじめ選定しておくことで採取の用いやすさがある※
  - 大量生産により品質管理・コスト面で有利になる可能性がある※(図 1-4)
- ※ 免疫拒絶への対応、大量生産、保存、運搬技術の確立等が必要

## 『皮膚再建に用いる同種培養皮膚の基礎研究ならびに製品開発』

平成 28 年度AMED「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)



国立大学法人 東京医科歯科大学  
 清水則夫 渡邊健  
**セルストックの安全性試験**  
 NAT法によるウイルス検査方法について支援

NAT(核酸増幅検査)増幅反応を用いた病原体検査法  
 ウインドウ・ペリオド(ウイルスに感染してから、検査で検出できるようになるまでの空白期間)が短縮  
 (HBV: 34日, HCV: 23日, HIV: 11日)



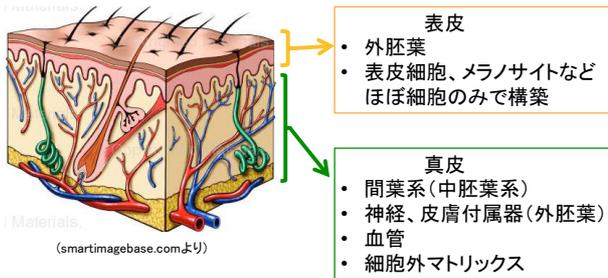


先天性巨大色素性母斑治療について  
～自家培養表皮の必要性と今後の課題～

関西医科大学形成外科  
森本尚樹

- 先天性巨大色素性母斑について
- 疾患説明
- 治療概要、症例提示
- 自家培養表皮を用いた母斑治療の課題
- 現在の臨床研究

皮膚の構造・再生



表皮は培養表皮(JACE®)でほぼ再生できる。  
真皮はマトリクス大部分で、いわゆる真皮様組織しか再生できない。

先天性巨大色素性母斑とは



巨大色素性母斑

- 巨大について明確な定義はなく、以下のような分類がある
  - 病変の最大径が20cm以上のもの(Kopfの分類)
  - 頭部領域では体表面積の1%以上、その他の部位では体表面積の2%以上。

再建する皮膚がなく治療に難渋する代表的な疾患

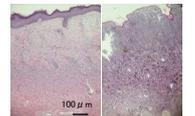
Kopf AW, Bart RS, Hennessey P. Congenital nevocytic nevi and malignant melanomas. J Am Acad Dermatol. 1979 Aug; 1(2):123-30. Review.  
Zaal LH, Mooi WJ, Sillevius Smitt JH, et al. Classification of congenital melanocytic naevi and malignant transformation: A review of the literature. Br J Plast Surg 2004; 57:707-19

先天性巨大色素性母斑とは

- 発生頻度
  - 色素性母斑は出生100人中1人、巨大型(巨大色素性母斑)は20,000人に1人と報告  
Castilla EE, et al. Epidemiology of congenital pigmented naevi: II. Risk factors. Br J Dermatol 1981; 104:421-427.
- 巨大色素性母斑の問題点
  - 母斑による整容的な問題点
  - 母斑からの悪性黒色腫の発生
- 2000年以前の報告 0~40%
- Zaalらが1966-2002年の35文献検討(Kopfの分類) 平均リスク8.2%  
Zaal LH, Mooi WJ, et al. Br J Plast Surg. 2004
- Aradらの報告 0.7~2.9%  
Arad E, Zuker RM. Plast Reconstr Surg. 2014
- 悪性黒色腫発生リスクに関するガイドライン
- ◇ 巨大色素細胞母斑患者が黒色腫を発生する危険性は有意に高く、早期の予防的切除を考慮すべきである。しかし、不完全切除となることが多く、取り残し部位や深部組織からの黒色腫発生は防止できない。  
(皮膚悪性腫瘍ガイドライン: 日本皮膚悪性腫瘍学会, 2007)
- ◇ 何らかの手術的治療が悪性黒色腫発生リスクを減じるというエビデンスはない  
(形成外科診療ガイドライン: 日本形成外科学会2015)

先天性巨大色素性母斑の治療

- ❖ 外科的切除(母斑全層切除)
  - 単純切除・分割切除
  - 組織拡張器(tissue expander)による再建術
  - 皮膚移植術(全層、分層、メッシュ植皮、パッチ植皮、人工真皮使用など)
  - 自家培養表皮移植(筋膜上移植、再構築真皮上)
  - ✓ 皮膚採取部の犠牲が大きく機能的、外観的な問題を生じる
  - ✓ 母斑が大きい場合は、移植する皮膚が不足し再建できない
- ❖ 外科的切除(母斑部分・分層切除)
  - Curettage: 生後数ヶ月~1歳未満にあると言われるcleavage plane(母斑細胞の多い部分と少ない部分の境界)での切除
  - Dermabrasion(薄削もしくは分層切除)
  - 自家培養表皮移植(残存真皮上)
- ❖ 外科的切除以外の治療
  - レーザー治療(ルビーレーザー、YAGレーザー、CO<sub>2</sub>レーザーなど)
    - ✓メラニン色素を破壊するが母斑細胞は残存・再発することが多い
  - ケミカルピーリング
  - 冷凍凝固治療(ドライアイス)
  - 経過観察: 自然消退も少ないがあると報告されている  
(Kinsler V, et al. JPRAS, 2009)



母斑細胞は皮下組織、筋膜上(下)、深部組織まで存在することがある



悪性黒色腫発生を完全に防ぐには、母斑細胞を完全に除去する必要がある

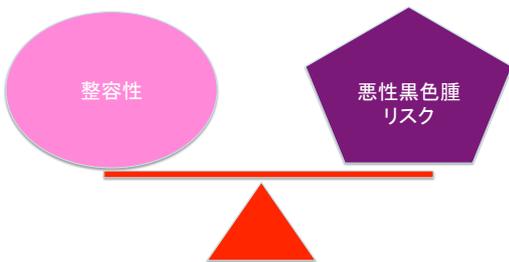
先天性巨大色素性母斑の外科的治療

❖ 外科的切除に慎重な立場

- 悪性黒色腫0.7-2.9%なら無理にすべての母斑を切除する必要はないのでは？  
Arad E, Zuker RM. The shifting paradigm in the management of giant congenital melanocytic nevus: Review and clinical applications. PRS. 2014
- 母斑の完全切除は必ずしも悪性黒色腫予防につながらない。巨大母斑患者は中枢神経に病変があり、皮膚以外に悪性黒色腫が生じる。  
Kinsler V, Bulstrode N. The role of surgery in the management of congenital melanocytic naevi in children: a perspective from Great Ormond Street Hospital. JPRAS. 2009
- 完全切除できる大きさの母斑はよいが、悪性黒色腫が生じた患者では、全例直径60cm以上との報告があり、そもそも切除不可能である。  
Kinsler et al. Great Ormond Street Hospital for Children Registry for Congenital Melanocytic Naevi: prospective study 1988-2007. Part2—Evaluation of treatments. Br J Dermatol. 2009
- Dermabrasion後に悪性黒色腫が発生したという報告  
Dragieva G, et al. Malignant melanoma in a large congenital melanocytic nevus 9 years after dermabrasion in childhood. Dermatology. 2006;212(2):208-9.

完全切除できれば良いが、実際には実施困難。整容性を無視してまで母斑切除をする必要はない

先天性巨大色素性母斑の治療の実際

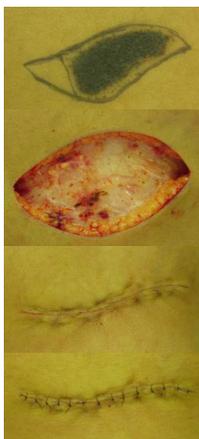


整容性と黒色腫リスクを考え個々の症例ごとに治療を選択する！

症例提示

- ❖ 外科的切除(母斑全層切除)
  - 単純切除・分割切除
  - 組織拡張器(tissue expander)による再建術
  - 皮膚移植術(全層、分層、メッシュ植皮、パッチ植皮、人工真皮使用など)
  - 自家培養表皮移植 ; 筋膜上移植: 真皮再構築なし ; 真皮再構築必要: 報告なし—現在実施中臨床研究へ

単純切除



4ヶ月後

組織拡張器(エキスパンダー)治療1回目



エキスパンダー挿入(4個)

二ヶ月かけて拡張

拡張した皮膚で再建



組織拡張器(エキスパンダー)挿入3回、全身麻酔手術6回後



皮膚移植手術について



二層性人工真皮

シリコンシートとコラーゲンスポンジの二層構造を持ち、皮膚再生の足場として働く。皮膚全層欠損、軟部組織欠損部分に貼付すると、毛細血管、線維芽細胞などが侵入し、2~3週間で、真皮様組織が再生、コラーゲンスポンジは吸収される。

製品名	ベルナック®	テルダーミス®	インテグラ®
企業名	ゲンゼ	オリンバステルモバイオ マテリアル	インテグラライフ サイエンス社
シリコン層 ( $\mu\text{m}$ )	150	60~100	230
コラーゲン (基材)	アテロコラーゲン (ブタ腱由来)	繊維性、熱変性 アテロコラーゲン (ウシ真皮由来)	ウシコラーゲン (ウシ腱由来) グリコサミノグリカン
架橋	熱架橋、化学架橋	熱架橋のみ	熱架橋、化学架橋
ポアサイズ ( $\mu\text{m}$ )	70~110	100~300	70~200
コラーゲン量 ( $\text{mg}/\text{cm}^2$ ) 厚み(mm)	11 (3mm)	20~30 (3mm)	未公表 (2mm)

二層性人工真皮(ベルナック®)の各タイプ



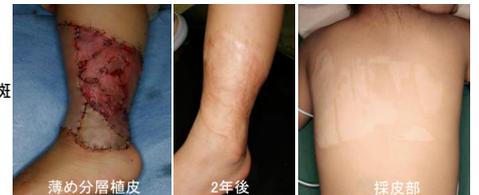
生理食塩水浸漬後



人工真皮症例(古典的な使い方)



2歳女児  
左下腿色素母斑



巨大色素性母斑の治療 (人工真皮ペルナック®+植皮)



Suzuki S, Morimoto N, et al. A case of giant naevus followed up for 22 years after treatment with artificial dermis. JPRAS. 2013

人工真皮Integra+植皮



C. Schiestl, et al. Giant naevus, giant excision, eleg(i)ant closure? Reconstructive surgery with Integra Artificial Skin to treat giant congenital melanocytic naevi in Children. JPRAS 2009

人工真皮で再建された真皮様組織には自家分層皮膚が必要

母斑治療での、人工真皮+自家培養表皮治療は未確立

自家培養表皮筋膜上移植(真皮再建なし)

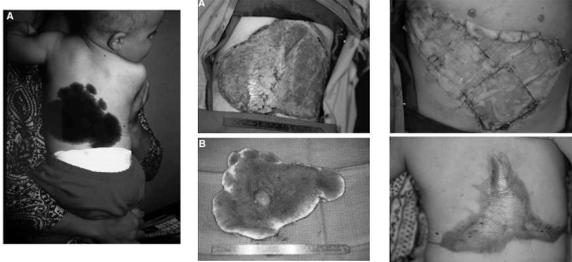


Table 2. Pediatric GCN patients covered with cultured epithelial autografts.

Patient	Age (yr)	Sex	Nevi Sites	No. CEA Grafts Used	% CEA Grafts Taken	Complications
1	1.82	M	Left upper arm	10	60	None
2	0.88	M	Distal upper extremities and back	15.5	80	None
3	1.17	F	Back and buttocks	13	13	None
4	4.5	M	Extremities and lower extremities	24	92	None
5	0.92	M	Back	12	60	None
6	1.02	F	Back, neck, and distal limbs	20	90	UTI
7	0.75	F	Back, neck, and distal lower extremities	40	60	Pruritus
8	0.92	F	Back	20	90	UTI
9	1.05	F	Back	10	60	None
10	1.05	F	Distal extremities, lateral leg, and neck	20.5	60	None
Mean	1.17			19.6	69.0	
Range	0.8-2.7			10-60	13-90	

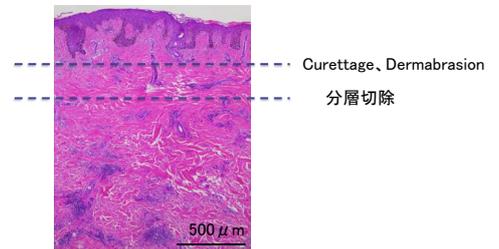
Sood R, et al. Coverage of large pediatric wounds with cultured epithelial autografts in congenital nevi and burns: results and technique. J Burn Care Res. 2009 Jul-Aug;30(4):576-86.

傷は治るが拘縮する (外観上、機能上の問題あり)

一般的に培養表皮の筋膜上への生着率は悪い

症例提示

- ❖ 外科的切除(母斑部分・分層切除)
  - Curettage: 生後数ヶ月~1歳未満にあると言われるcleavage plane(母斑細胞の多い部分と少ない部分の境界)での切除
  - Dermabrasion(表皮薄削もしくは分層切除も含む): 保存的に上皮化させる。ジェイス治験はこの方法に該当
  - 自家培養表皮移植(H29.12)に保険適用開始、添付文書の症例一覧)



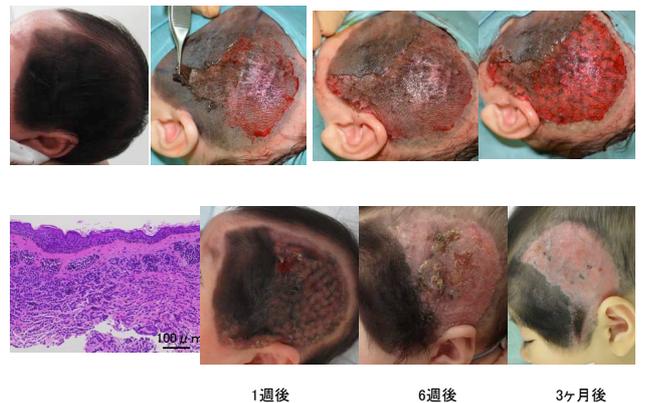
Curettage: キュレットージ、キュレットイング症例



1ヶ月後

初回手術3ヶ月後  
2回目手術2ヶ月後

Curettage: キュレットージ、キュレットイング症例



1週後

6週後

3ヶ月後

Dermabrasion(分層切除)



4ヶ月後

巨大色素性母斑症例



切除手術を行っても、母斑細胞は残存、瘢痕も大きい!

母斑の残存、醜状瘢痕

自家培養表皮移植(H29.12)に保険適用開始、添付文書の症例一覧) Dermabrasion(分層切除)してジェイス移植

2. 先天性巨大色素性母斑

(1) 多施設共同治験の試験結果

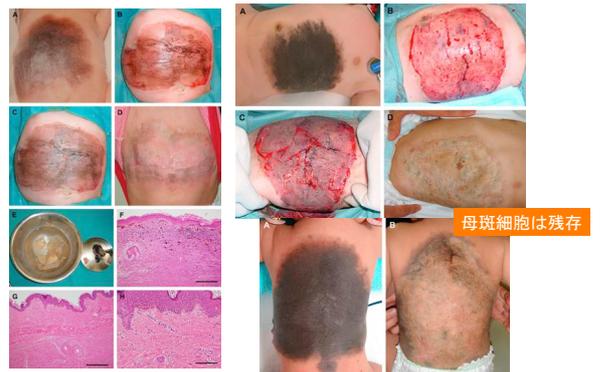
体表面積の5%以上の先天性巨大色素性母斑を有する患者を対象に、母斑切除部の表皮再生に於いて、表皮移植シートを用いることの有効性及び安全性の検証を目的に実施した。有効性については、表皮移植シートの移植密度で、95%以上の上皮化が認められた場合を「有効」と評価した。安全性については、表皮移植シート初期移植後12週までに発生した有害事象を評価した。有効性の評価項目である95%以上の上皮化は8例中8例に認められ、有効率は100% (95%信頼区間93.1%~100.0%)であった。また、表皮移植シートと肉芽腫形成が密着できない患者は有害事象は認められなかった。表皮移植シートと肉芽腫形成が密着できない有害事象として、潰瘍 (2例)、疼痛 (2例)、表皮剥離 (1例)、移植部位のびらん (1例)、及び未上皮化部位の拡大 (1例) が認められたが、いずれも成後に皮膚を創傷する手術を受けたことを原因とする事象であった。

差別後の背景情報は工業のとおりである。

症例	母斑切除			表皮移植シート移植枚数	年齢	上皮化完了までの日数
	方法	部位	面積			
1	環形切	顔面部	290 cm <sup>2</sup>	4枚	2歳	25
	ダーマトーム	下腹部		未上皮化部位30 cm <sup>2</sup> に1枚追加移植 (移植3回目)	9ヶ月	
2	ダーマトーム	下腹部	290 cm <sup>2</sup>	4枚	3歳	28
				未上皮化部位50 cm <sup>2</sup> に1枚追加移植 (移植3回目)	4ヶ月	
3	ダーマトーム	胸腹部	91 cm <sup>2</sup>	3枚	4歳	14
				11ヶ月		
4	ダーマトーム	背部	106 cm <sup>2</sup>	3枚	2歳	15
				4ヶ月		
5	ダーマトーム	背部	94.5 cm <sup>2</sup>	2枚	2歳	14
				2ヶ月		
6	ダーマトーム	背部	238 cm <sup>2</sup>	10枚	2歳	81
				未上皮化部位106.6 cm <sup>2</sup> に4枚追加移植 (移植3回目)	1ヶ月	
7	ダーマトーム	背部	153 cm <sup>2</sup>	7枚	4歳	14
				7ヶ月		
8	メス/剃刀	胸腹部	78.8 cm <sup>2</sup>	3枚	6歳	14
				7ヶ月		

論文未発表

ジェイス治療例に近い治療: 母斑分層切除、母斑表皮を酵素処理し再利用



Kishi K, et al. Treatment of giant congenital melanocytic nevi with enzymatically separated epidermal sheet grafting. JPRAS. 2010

ルビーレーザー症例(母斑には保険適用なし)

❖ 外科的切除以外の治療

- レーザー治療(ルビーレーザー、YAGレーザー、CO<sub>2</sub>レーザー、ピコ秒レーザーなど)
  - ✓メラニン色素を破壊するが母斑細胞は残存・再発することが多い
- ケミカルピーリング
- 冷凍凝固治療(ドライアイス)
- 経過観察: 自然消滅も少ないがあると報告されている (Kinsler V, et al. JPRAS, 2009)

レーザー以外の治療報告はほとんどなし



Kishi K, et al. Early serial Q-switched ruby laser therapy for medium-sized to giant congenital melanocytic naevi. Br J Dermatol. 2009 Aug;161(2):345-52.

## 自家培養表皮ジェイスを用いた母斑治療の課題

### ジェイス添付文書改訂内容

#### 効能、効果又は性能

##### 先天性巨大色素性母斑

表皮細胞シートは先天性巨大色素性母斑を切除した後の創部に適用し、創を閉鎖することを目的とする。

(効能、効果又は性能に関連する使用上の注意)

例えば、体表面積に占める母斑面積の割合が5%以上の患者の治療など、既存の標準的な治療法では母斑の切除に対応できない場合に適用すること。

#### 用法及び用量又は使用方法

##### 先天性巨大色素性母斑

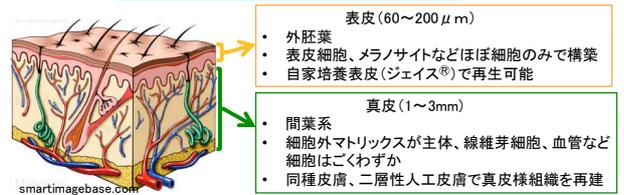
###### 表皮細胞シート移植前の処置

- 患者の病変部(母斑)を切除する。なお、その術式については、患者の年齢及び母斑のサイズを考慮し、判断すること。また、必要に応じて真皮を再構築する。
- 表皮細胞シート移植前の処置

母斑切除後の創部の残存真皮上、又は再構築された真皮上に、表皮細胞シートの移植を行う。

再構築方法は未確立

## 皮膚全層欠損に対する皮膚再生医療の現状



自家培養表皮の生着率は、真皮がない肉芽、脂肪、筋膜上では15-20%だが、真皮が残存・再構築されれば80%程度期待できる (Shevchenko RV, et al. JRSocInterface2010)

### 自家培養表皮ジェイス®の再構築真皮への生着率(ジェイス使用成績6年調査)

母床	ジェイス単独での生着率(4週)	自家植皮併用生着率(4週)
凍結保存同種皮膚	31±35%	84±17%
人工真皮	43±35%	74±30%
肉芽	57±36%	80±28%

ジェイスは自家真皮上にしか生着しない

Matsumura H, et al. Application of the cultured epidermal autograft "JACE(®)" for treatment of severe burns: Results of a 6-year multicenter surveillance in Japan. Burns. 2016

## 自家培養表皮が単独で生着可能な母床(真皮)形成は未確立

### 人工真皮

- ジェイス使用成績6年調査の成績から否定的
- bFGF徐放性人工真皮、培養真皮(人工真皮に線維芽細胞を播種)と培養表皮の併用を動物実験で実施:一度も人工真皮上に生着せず。



### 同種皮膚-炎症反応が起こり、長期的には生着しない

### 脱細胞化同種皮膚

- 屍体皮膚を脱細胞化したもの(製品名: AlloDerm®, Glyderm®など)
- 分層皮膚との併用し、真皮の厚みを増すために使用される。
- AlloDermとCEAの併用:1例のみ症例報告あり



Chung Khei et al. Surgical treatment of aplasia cutis congenita with acellular dermal graft and cultured epithelial autograft. Dermatol Surg. 2009

## 自家培養表皮ジェイスを用いた母斑治療の課題

### 製造・品質管理での課題

- 母斑細胞のコンタミ?
- 追加手術:細胞保管期間の問題

### 臨床での課題

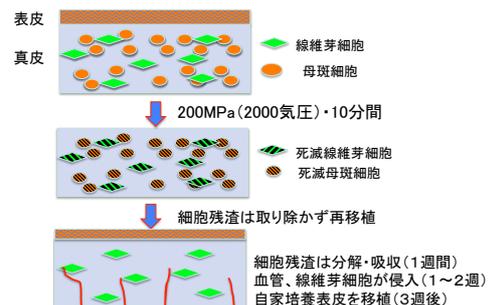
- 真皮を残存させる場合(ジェイスは残存真皮上に生着)
  - Abrasion深さの判定;術前生検?
  - Abrasionの方法;機器開発
  - 母斑再発の可能性(再発予測、予防可能なか?)
- 全層切除の場合(ジェイス生着率は不良)
  - 真皮再構築方法の確立
  - 自家皮膚移植との併用(6倍メッシュとの併用、マイクロスキングラフト、など)

### 根本的な課題

表皮シートではなく、細胞のみの方が生着するのは?

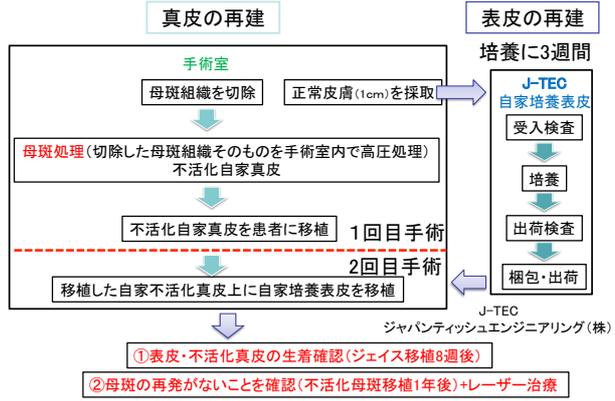
## 皮膚リサイクル治療:母斑組織を高圧処理によって不活化、自家真皮再生に再利用

- |   |  |                             |
|---|--|-----------------------------|
| <b>高圧処理の特長</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>ムラがない</li> <li>短時間処理</li> <li>変性が少ない</li> <li>安全</li> </ul> | 深部まで均一に処理<br>10分間<br>本来の性質を保つ<br>薬剤を用いない | 真皮を損傷しない<br>母斑内部の全細胞を確実に不活化 |
|---|--|-----------------------------|



## 現在の臨床研究:母斑真皮の再利用

先天性巨大色素性母斑に対する自家不活化真皮と自家培養表皮を用いた新規治療法



表皮水疱症の臨床試験(治験)

本日の内容

1. 表皮水疱症の基本



各病型の特徴や合併症など

2. 表皮水疱症患者に対する治療法開発

骨髄移植、間葉系幹細胞、培養表皮シート

現在進められている臨床研究

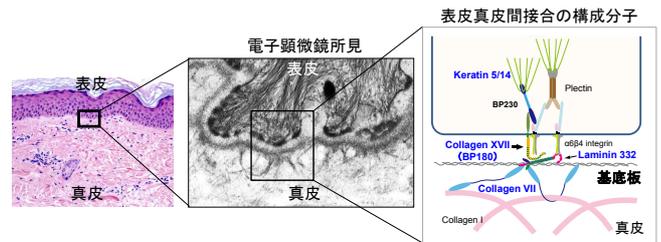
表皮水疱症 (Epidermolysis bullosa, EB)

外的刺激を受ける部位に一致して容易に水疱、びらんを生じる疾患群



水疱は表皮と真皮の境界部に生じる

表皮水疱症 (Epidermolysis bullosa, EB)

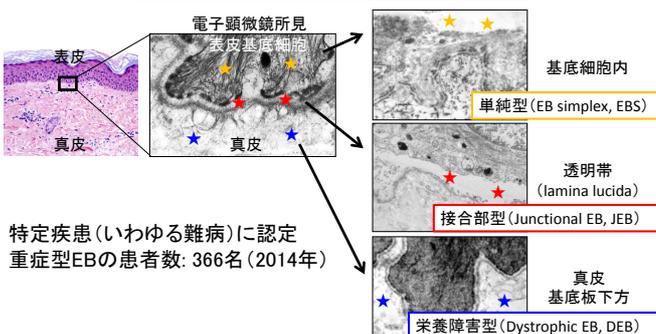


表皮真皮間接合は表皮基底細胞に存在する  
ヘミデスモゾームと関連分子によって強固に保持されている

構成分子をコードする遺伝子に変異が生じ表皮真皮間接合が脆弱化する

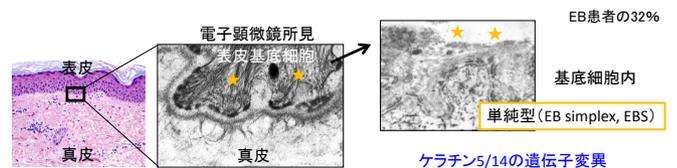
表皮水疱症 (Epidermolysis bullosa, EB)

電顕的水疱形成部位に基づく3大病型



特定疾患(いわゆる難病)に認定  
重症型EBの患者数: 366名(2014年)

単純型EB (EB simplex: EBS, 表皮基底細胞内で水疱形成)



特徴: 比較的軽症な患者が多いが一部に致死性となる症例も。優性遺伝形式。

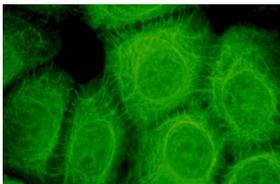
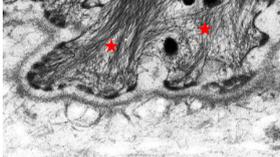


軽症 Weber-Cockayne EBS 中等症 Koebner EBS 重症 Dowling-Meara EBS

単純型EB (EB simplex: EBS, 表皮基底細胞内で水疱形成)

表皮基底細胞におけるケラチン5/14の発現様式 EB患者の32%

培養表皮基底細胞 (緑:ケラチン)

角層  
顆粒層  
有棘層  
基底層

発現するケラチンのタイプ  
K1 & K10  
K5 & K14

K5とK14がヘテロダイマーを形成しトノフィラメント(ケラチン中間線維★)を形成

単純型EB (EB simplex: EBS, 表皮基底細胞内で水疱形成)

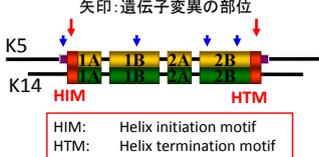
EB患者の32%

Dowling-Meara vs. Weber-Cockayne



重症 軽症

矢印: 遺伝子変異の部位



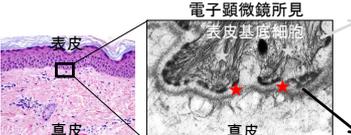
HIM: Helix initiation motif  
HTM: Helix termination motif

父方あるいは母方どちらかの遺伝子に変異が生じると発症する (優性遺伝)

どちらか片方に異常が生じると機能障害を来す (ドミナントネガティブ効果)

接合部型EB (Junctional EB: JEB, 透明帯で水疱形成)

電子顕微鏡所見 表皮基底細胞



表皮 真皮

基底細胞内 単純型 (EB simplex, EBS)

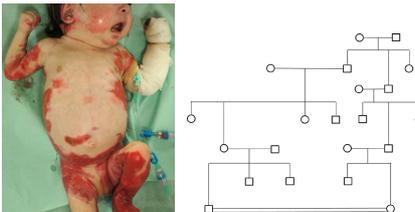
透明帯 (lamina lucida) 接合部型 (Junctional EB, JEB)

ヘルリッツ致死型JEB

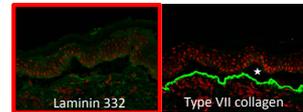
- 多くは生後1年以内に死亡
- 劣性遺伝形式
- Laminin332の欠損で発症
- Collagen XVIIの欠損の場合は予後良好
- 症例数は非常に少ない

接合部型EB (Junctional EB: JEB, 透明帯で水疱形成)

<症例1>



常染色体劣性遺伝 (両親は健常)



Laminin 332 Type VII collagen

LAMC2: c.2143C>T, p.R715Xを両アレルに同定 (ホモ)

接合部型EB (Junctional EB: JEB, 透明帯で水疱形成)

<症例2>



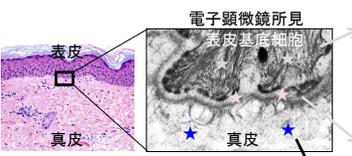
XVII型コラーゲン ラミニン332

LAMA3: c.1226dupC, p.Gln401ProfsThr13 (母由来)  
LAMA3: c.4020delT, p.Pro1341ProfsThr6 (父由来)

※ 出生前あるいは着床前検査を行うには遺伝子変異を同定しておく必要あり

栄養障害型EB (Dystrophic EB: DEB, 基底板下方で水疱形成)

VII型コラーゲンの遺伝子変異 EB患者の54%



表皮 真皮

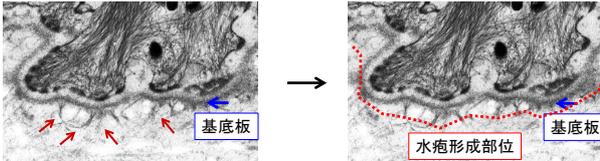
基底細胞内 単純型 (EB simplex, EBS)

透明帯 (lamina lucida) 接合部型 (Junctional EB, JEB)

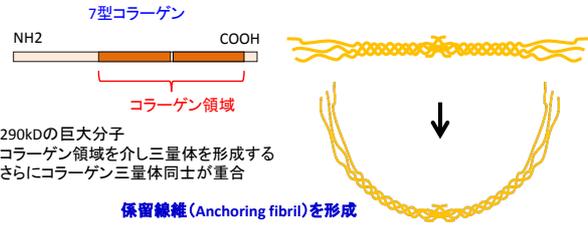
真皮 基底板下方 栄養障害型 (Dystrophic EB, DEB)

特徴: 重症度は様々。食道狭窄や有棘細胞癌の合併。優性および劣性遺伝形式。

栄養障害型EB (Dystrophic EB: DEB, 基底板下方で水疱形成)



係留線維 (Anchoring fibril): 主な構成分子は7型コラーゲン



栄養障害型EB (Dystrophic EB: DEB, 基底板下方で水疱形成)

劣性遺伝性DEB (Recessive DEB, RDEB) 7型コラーゲン: 発現消失ないし低下 (全EB患者の33%)



父方と母方双方のCOL7A1遺伝子に発現低下を来す変異が発生 → 劣性遺伝性

優性遺伝性DEB (Dominant DEB, DDEB) 7型コラーゲン: 発現正常ないし低下 (全EB患者の21%)



父方あるいは母方のCOL7A1遺伝子(コラーゲン領域)に三量体形成を阻害する変異が発生(グリシンが他のアミノ酸に置換されるグリシン置換が多い) → 優性遺伝性

栄養障害型EB (Dystrophic EB: DEB, 基底板下方で水疱形成)

劣性遺伝性DEB (Recessive DEB, RDEB)

7型コラーゲン発現が消失 → アロポー・シーメンス型 (Hallopeau-Siemens) RDEB, generalized severe



栄養障害型EB (Dystrophic EB: DEB, 基底板下方で水疱形成)

劣性遺伝性DEB (Recessive DEB, RDEB)

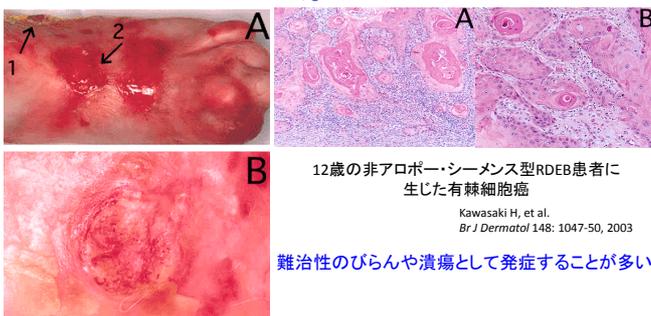
7型コラーゲン発現が低下 → 非アロポー・シーメンス型 (Non-Hallopeau-Siemens) RDEB, generalized intermediate



栄養障害型EB (Dystrophic EB: DEB, 基底板下方で水疱形成)

劣性遺伝性DEB (Recessive DEB, RDEB)

7型コラーゲン発現が低下 → 非アロポー・シーメンス型 (Non-Hallopeau-Siemens) RDEB, generalized intermediate



栄養障害型EB (Dystrophic EB: DEB, 基底板下方で水疱形成)

優性遺伝性DEB (Dominant DEB, DDEB)

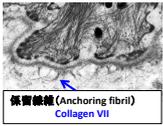


VII型コラーゲンのコラーゲン領域にアミノ酸置換やエクソンスキップなどの変異が生じ発症



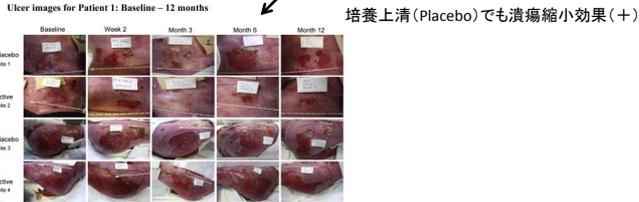
## 表皮水疱症の治療法開発の現状

### 3. 線維芽細胞やMSCの皮膚への局所投与



Conget P, et al.  
Replenishment of type VII collagen and re-epithelialization of chronically ulcerated skin after intradermal administration of **allogeneic mesenchymal stromal cells** in two patients with recessive dystrophic epidermolysis bullosa.  
Cytotherapy 12: 429-31, 2010

Venugopal S, et al.  
A phase II randomized vehicle-controlled trial of intradermal **allogeneic fibroblasts** for recessive dystrophic epidermolysis bullosa.  
J Am Acad Dermatol 69: 898-908, 2013



## 表皮水疱症の治療法開発の方向性

根治 (永続的な効果) を目指す治療

1. 骨髄細胞あるいは骨髄間葉系幹細胞 (MSC) 移植
2. 遺伝子治療

高い治療効果を期待した局所治療

3. 線維芽細胞やMSCの皮膚への局所投与
4. 欠損タンパク補充療法 (皮膚への局所投与)
- ✓ 5. 培養表皮シート、培養真皮、三次元培養皮膚の応用

多くはVII型コラーゲンの発現低下 (消失) を伴う劣性栄養障害型EBを対象

Dominant negative効果によって発症する病型では治療戦略が限定している

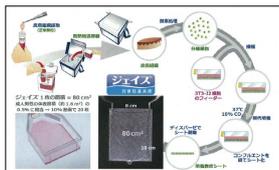
線維芽細胞 (MSCから分化可能) はVII型コラーゲンを供給可能

劣性栄養障害型EBは患者数が多く (全体の約3割) 有棘細胞癌など合併症も多い

## 表皮水疱症の治療法開発の現状

### 5. 培養表皮シート、培養真皮、三次元培養皮膚の応用

ジェイス® 熱傷に対して保険適用あり、年間2000枚の生産体制が確立されている



株ジャパン・ティッシュ・エンジニアリング (J-TEC)

適応:  
重症熱傷 (深達度II度+III度) ≥30%  
保険償還価格: 306,000円/枚  
(一連につき40枚を限度)

## EBに対する自家培養表皮移植

2001年 (自主臨床試験 ※遺伝子治療はしていない)

当時12歳の劣性栄養障害型EBの右膝にみられた難治性潰瘍部へ自家培養表皮シートを移植



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

## EBに対する自家培養表皮移植

ジェイス® 2011-2012年にEBに対する自家培養表皮移植シートの企業主導治験

2011年3月 EBIに対する稀少疾病用医療機器に指定

2014年6月 EB患者に対する治験終了届がPMDAに受理

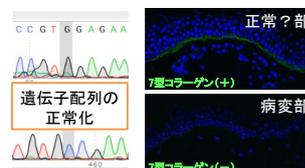


本症例は特に顕著な治療効果を確認した

高い治療効果を示した機序は? ... 未だ不明

## 復帰変異モザイク (Revertant mosaicism)

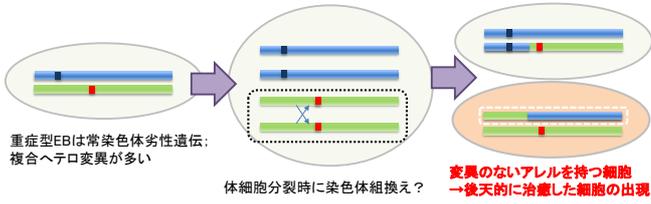
水疱を形成しない、正常な皮膚の部分が観察されることがある



遺伝子異常が後天的に修復され正常蛋白を産生する現象

## 復帰変異モザイク(Revertant mosaicism)

- 先天性疾患において、病原性のある遺伝子変異が後天的に一部で自然修復される現象
- 2000年頃から報告されるようになり、EBや魚鱗癬などの先天性皮膚疾患、先天性免疫不全などでまれに観察される
- 体細胞分裂時の染色体組換えをはじめ、複数の機序が関与している予想されている



## 復帰変異モザイク(Revertant mosaicism)



先の症例で協力を得て、植皮部と培養表皮シート由来細胞を検討したところ一部に復帰変異モザイクが証明された

復帰変異モザイク(Revertant mosaicism)を応用したEBIに対する自家培養表皮シート療法 → 現在、医師主導治験を進行中

## V. 参考資料

1. 平成 20 年 2 月 8 日付薬食発第 0208003 号厚生労働省医薬食品局長通知  
「ヒト(自己)由来細胞・組織加工医薬品等の品質及び安全性の確保に関する指針」

薬食発第0208003号

平成20年2月8日

各都道府県知事 殿

厚生労働省医薬食品局長

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

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

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

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

## ヒト（自己）由来細胞・組織加工医薬品等の品質及び安全性の確保に関する指針

はじめに

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

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

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

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

## 目次

第1章	総則	4
第1	目的	4
第2	定義	4
第2章	製造方法	4
第1	原材料及び製造関連物質	4
1	目的とする細胞・組織	4
(1)	生物学的構造・機能の特徴と選択理由	4
(2)	ドナーの感染症に対する留意点	4
(3)	細胞・組織の採取・保存・運搬	5
2	目的とする細胞・組織以外の原材料及び製造関連物質	5
(1)	細胞の培養を行う場合	6
(2)	非細胞・組織成分と組み合わせる場合	7
(3)	細胞に遺伝子工学的改変を加える場合	7
第2	製造工程	8
1	ロット構成の有無とロットの規定	8
2	製造方法	8
(1)	受入検査	8
(2)	細菌、真菌及びウイルス等の不活化・除去	8
(3)	組織の細切、細胞の分離、特定細胞の単離等	8
(4)	培養工程	9
(5)	細胞のバンク化	9
(6)	製造工程中の取り違え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、取り違えやクロスコンタミネーション防止のための方策等を具体的に示すこと。
- 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規定すること。
- ⑦ 運搬方法  
採取細胞・組織を運搬する必要がある場合には、運搬容器、運搬手順（温度管理等を含む。）を定め、その妥当性について明らかにすること。
- ⑧ 記録の作成及び保管方法  
①～⑦に関する事項について、実施の記録を文書で作成し、適切に保管する方法について明らかにすること。

## 2 目的とする細胞・組織以外の原材料及び製造関連物質

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

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

## (1) 細胞の培養を行う場合

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

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

## (2) 非細胞・組織成分と組み合わせる場合

### ① 細胞・組織以外の原材料の品質及び安全性について

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

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

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

### ② 目的とする細胞・組織との相互作用について

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

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

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

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

## (3) 細胞に遺伝子工学的改変を加える場合

細胞に遺伝子を導入する場合は、次に掲げる事項に関する詳細を示すこと。

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

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

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

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

## 第2 製造工程

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

### 1 ロット構成の有無とロットの規定

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

### 2 製造方法

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

#### (1) 受入検査

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

#### (2) 細菌、真菌及びウイルス等の不活化・除去

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

#### (3) 組織の細切、細胞の分離、特定細胞の単離等

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

#### (4) 培養工程

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

#### (5) 細胞のバンク化

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

#### (6) 製造工程中の取り違い及びクロスコンタミネーション防止対策

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

### 3 加工した細胞の特性解析

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

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

### 4 最終製品の形態、包装

最終製品の形態、包装は、製品の品質を確保できるものでなければならない。

### 5 製造方法の恒常性

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

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

### 6 製造方法の変更

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

### 第3 最終製品の品質管理

#### 1 総論

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

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

#### 2 最終製品の品質管理法

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

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

##### (1) 細胞数並びに生存率

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

##### (2) 確認試験

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

##### (3) 細胞の純度試験

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

ことでも良い。

**(4) 細胞由来の目的外生理活性物質に関する試験**

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

**(5) 製造工程由来不純物試験**

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

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

**(6) 無菌試験及びマイコプラズマ否定試験**

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

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

**(7) エンドトキシン試験**

試料中の夾雑物の影響を考慮して試験を実施すること。規格値は必ずしも実測値によらず、日本薬局方等で示されている最終製品の1回投与量を基にした安全域を考慮して設定すればよい。また、工程内管理試験として設定することも考えられるが、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、临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。