

## IV-3-1. 骨格筋芽細胞シート作成のための温度応答性培養皿

東京女子医科大学 菊池明彦

### 1. 温度応答性培養皿の調製

#### 1-1. 原材料・規格

##### 1-1-1. 原材料

原材料である N-イソプロピルアクリルアミド (NIPAAm)、および電子線重合時に NIPAAm を溶解する溶媒 (2-プロパノール等) については、購入品の、①メーカー名、②メーカー規格、③受け入れ規格 (試験方法)、④保管条件、⑤使用期限 (未開封、開封後) について定めておく。納品後に精製を行う場合は、その精製方法、検査方法、及び、精製後の保存方法と使用期限についても明示しておく必要がある。

##### 1-1-2. 基材

温度応答性高分子が固定される基材には、市販の培養皿の使用、あるいは、独自に作製された射出成型品の培養皿、膜等のプラスチック基材等の使用が考えられるが、いずれにおいても、①形状、②原材料 (組成等)、③メーカー規格、④受け入れ規格 (試験方法)、⑤使用期限を定めておく。

#### 1-2. 温度応答性培養皿の調製

##### 1-2-1. 重合の反応機構

基材表面への温度応答性高分子の固定には、電子線重合法を用いていることが多い<sup>1-4)</sup>。基本的には、ラジカル重合反応に基づいて温度応答性高分子が基材表面に固定される。

電子線照射により、プラスチック基材表面にラジカル (遊離基) が発生し、これが表面に塗布した溶液中のモノマーの重合を開始し、表面に温度応答性高分子が固定される。同時に、表面に固定された高分子間で、電子線照射に伴うラジカルが発生するために、このラジカル同士の結合によって架橋反応が起こると考えられる。電子線重合反応の過程では、熱可塑性ポリマーからなる基材には変形など起こらずに表面改質だけが達成される。

##### 1-2-2. 温度応答性培養皿の調製

製造においては、製品標準書に定められた規格の製品が製造できるように、使用する機器 (電子線照射装置) に求められる性能や、製品の製造条件について規定し、予め定められた標準作業手順 (SOP) に従って作業を行う必要がある。

温度応答性培養皿は、電子線重合によりたとえば以下のように製造される。

- i) 所定濃度の NIPAAm モノマーの溶液を調製する。
- ii) 電子線照射直前に加工前培養皿上に所定量のモノマー溶液を滴下し、モノマー溶液を培養皿の細胞接着面全面に展開する。
- iii) エリアビーム型電子線照射装置にて電子線を照射し、モノマーの重合と基材表面

へのポリマーの固定を行う。

iv) 残存の可能性のある非固定ポリマー、並びに未反応モノマーは、冷水にて洗浄し除去し、乾燥する。

### 1-3. 培養皿表面への温度応答性高分子の固定とその確認

電子線重合後の温度応答性高分子修飾培養皿は、無色透明な材料であり、外観は無処理のポリスチレン製細胞培養皿と同じであり、見た目だけで温度応答性高分子層が表面に修飾されていることが確認できない。培養皿へのポリ(N-イソプロピルアクリルアミド)(PNIPAAm)の固定の確認は、一般的な高分子修飾表面の物性解析法を適用することで可能である。具体的な方法を以下に示すが、製品においては製品標準書に定められた規格が満足されるように、確認方法(検査方法)を最適化する必要がある。

#### 1-3-1. 全反射赤外分光分析(ATR/FT-IR)

たとえば、基材がポリスチレンである場合は以下のような解析を行う。

温度応答性高分子を修飾したポリスチレン培養皿表面を板状に切り出し、試料とする。赤外分光光度計のATRユニット上、Geプリズムを用い、この表面に試料を密着させて赤外分光分析を行う。温度応答性高分子を修飾したポリスチレンでは、基材のポリスチレンには存在しないアミド結合に由来するカルボニル(C=O)の吸収が $1650\text{cm}^{-1}$ に確認される。同時に、 $1600\text{cm}^{-1}$ に基材のポリスチレン由来の芳香環に由来する吸収が観測される。PNIPAAmのアミド結合と基材の一置換芳香環の吸収強度比( $I_{1650}/I_{1600}$ )が、表面固定した高分子量に関連することから、任意の温度応答性培養皿表面上に修飾した温度応答性高分子の固定量が算出できる。すなわち、既知量のポリマーをポリスチレン基材表面にキャストし、この表面上で $I_{1650}/I_{1600}$ を測定する。これにより検量線を作製し、電子線重合によって調製した温度応答性高分子修飾培養皿上のPNIPAAm量を規定できる。

#### 1-3-2. 静的接触角測定

温度応答性高分子修飾培養皿表面の、所定温度における水との接触角を液滴法により測定し、基材では認められない接触角の温度依存性を示すこと確認する。つまり、高温側で接触角が大きな値を示しより疎水的な表面物性を、また低温側で水の接触角が小さくより親水的な表面物性を示すかどうか、を確認する。

表面の水に対する接触角の変化は、表面固定高分子鎖の温度変化に伴う水和/脱水と変化に基づく。すなわち、PNIPAAmの転移温度である $32^\circ\text{C}$ を境に低温側で高分子鎖が水和、伸長し、水に対する接触角が小さくなる一方、 $32^\circ\text{C}$ より高温側で、高分子鎖が脱水と凝集して水に対する接触角が比較的大きくなる。

#### 1-3-3. X線光電子分光分析(XPS)

XPSによる表面元素分析を通じ、ごく界面近傍の元素組成(たとえばC, N, O)が解析できると同時に、各元素のシグナル強度比から表面固定された高分子の元素組成が類推できる。たとえばPNIPAAmのN/C比と観測された元素組成から求めたN/C比の比較から高分子の固定が類推できる。さらに、C1sシグナルの波形解析からNIPAAm由来のモノマー単位の構造に由来する信号(主鎖、アミドカルボニルなど)を確認し、温度応答性高分子の修飾が確認できる。

#### 1-3-4. 二次イオン質量分析(SIMS) (依頼測定: オptional)

温度応答性高分子修飾表面の二次イオン質量分析を行い、NIPAAm モノマーの分子構造に由来する二次イオンに基づくシグナルが観測できるかを確認する。

#### 1-4. 未反応の遊離モノマー、非固定高分子の洗浄と汚染物等の有無の確認

##### 1-4-1. 未反応物の洗浄操作

1-2-2. iv) 項に示したとおり、電子線重合後に残存する未反応の遊離モノマーや非固定高分子は冷水に可溶であり、冷水に浸漬するとともに、水流下で洗浄・除去できる。溶出試験等による評価は、製品標準書において予め設定した安全性が担保できる測定方法を選択し、試験を行う必要がある。

##### 1-4-2. 温度応答性培養皿の安全性評価<sup>5)</sup>

製造された培養皿に汚染物等が残留していないことの確認には、日本薬局方の一般試験法に基づいて実施する必要があると考える。具体的には、灰化試験による蒸発残分評価や、溶出物試験による泡立ち(消失時間)、pH(ブランク差)、KMnO<sub>4</sub>消費量、UVスペクトル、蒸発残留物、重金属、及びエンドトキシン量の評価が挙げられる。それぞれについて、培養皿にて最適な検出能力を有する測定方法を選択し、製品標準書において予め設定した安全性が担保できる試験を行う必要がある。

#### 1-5. 滅菌バリデーション、材料調製の再現性

滅菌方法には、エチレンオキシドガス(EOG)滅菌、あるいはガンマ線滅菌、電子線滅菌などの放射線滅菌が考えられ、それぞれの滅菌方法に最適な滅菌バリデーションを行う必要がある。医療機器一般では、作業者の安全性の観点より EOG 滅菌を避け、放射線滅菌を行うことが推奨されているが、特殊な材料を用いた医療機器については、放射線滅菌は不適であるため EOG 滅菌を用いることがある。温度応答性培養皿についても同様の理由により EOG 滅菌を選択することが考えられるが、その場合、細胞に対する障害性についても考慮を行い、エチレンオキシド残留濃度を決定する必要がある。

また、同一ロット内、ロット間においてランダムに取り出した試料(培養皿)上に修飾されたポリマー固定量がほぼ一定であるかどうかについては、適当な評価方法を選択し、実行する必要がある。

#### 参考文献

- 1) H. Sakai, Y. Doi, T. Okano, N. Yamada, Y. Sakurai, in *Advanced Biomaterials in Biomedical Engineering and Drug Delivery Systems*, Eds. By N. Ogata, et al., Springer, Tokyo, 1996. pp. 229-230.
- 2) N. Yamada, T. Okano, H. Sakai, F. Karikuda, Y. Sawasaki, Y. Sakurai, *Makromol. Chem. Rapid Commun.*, **11**, 571 (1990).
- 3) T. Okano, N. Yamada, H. Sakai, Y. Sakurai, *J. Biomed. Mater. Res.*, **27**, 1243, (1993).
- 4) T. Okano, N. Yamada, M. Okuhara, H. Sakai, Y. Sakurai, *Biomaterials*, **16**, 297 (1995).
- 5) 参考基準

滅菌済み輸血セット基準等について（医薬発第 1079 号）  
人工肺および人工心肺用血液回路基準等について（医薬発第 1439 号）  
点眼剤用プラスチック容器の規格及び試験法について（薬発第 336 号）  
エチレンオキサイドガス滅菌における残留ガス濃度の限度地の取り扱いに関して（医  
薬審第 353 号）

## IV-3-2. 細胞シート製造過程について

大阪大学医学部附属病院未来医療センター 松山晃文

### 製本標準書など添付文書

審査に当たっては、製造責任者・品質管理者・製造管理者が明示された細胞シート作成に関する製品標準書が添付され、かつ細胞シート製造に関する標準手順書・製造指図書が項目ごとに一覧として添付されねばならない。また、製品標準書には、以下に記載される項目につき不足なく記載されている必要がある。なお、細胞・組織採取より製造、次いで治療使用にいたる過程に関し可及的に図表などを用いた細胞シート作成のフローチャートを示すことが望ましい。

### 細胞シート製造にかかる原物質（細胞・組織）の採取医療機関

細胞シート製造にかかる細胞・組織については、細胞・組織の採取および保存に必要な衛生上の管理がなされており、採取に関して十分な知識、技術を持つ人員を有しているか、あるいは同等以上の要件を満たす医療機関等で採取されなければならない。

### 細胞シート製造にかかる原物質（細胞・組織）の由来

#### 血液学的評価

細胞・組織を採取した個体の血液型（ABO型とRh型）ならびに不規則抗体の有無

#### 感染症評価

以下の項目に関しては問診および検査（血清学的検査あるいは核酸増幅法など）により評価されなければならない。

- (a) CMV抗体 (IgG と IgM)
- (b) B型およびC型肝炎の感染状況 (HbsAg、抗 HCV抗体)
- (c) HIV抗体 (anti HIV 1 と 2)
- (d) HTLV 1 と 2抗体
- (e) ヘルペス水痘と帯状疱疹
- (f) EBウイルス抗体
- (g) パルボウイルス B19 感染症
- (h) トキソプラズマ症抗体
- (i) 梅毒トレポネーマ (RPHA または VDRL)
- (j) クラミジア
- (k) 淋菌
- (l) 結核菌

なお、B型肝炎、クラミジア、淋菌、結核菌あるいは梅毒の感染に関しては、既感染治療の場合利用可とする。

### 細胞シート製造にかかる原物質（細胞・組織）の採取部位

目的とする細胞・組織を採取するのにもっとも安全に採取できる部位を選択し記載されるものとする。なお、採取部位選択にあたっては個々の提供者の事情を十二分に勘案し、安全性を最優先とするものとする。

### 細胞シート製造にかかる原物質（細胞・組織）の採取工程管理

細胞シート製造にかかる最初の工程である採取工程は、一連の再生医療機器の臨床に関与する主治医団の医師が担当するものとし、その責任者は明示されなければならない。当該臨床責任者とは、製品標準書に記載された製造責任者であることが望ましい。採取工程は標準手順書に明示された手法によることとし、当該手順書には細胞・組織採取部位、麻酔法、採取手順が記載される必要があり、またこれら工程が手順書通りに運用されたことを保証されなければならない。

細胞・組織の採取に当たっては、採取の過程における微生物等の汚染を防ぐために必要な措置を講じること。すなわち、細胞・組織を採取する場所は手術室あるいはそれに準じる水準で衛生上の管理が行われなければならない。また、必要に応じて、採取された細胞・組織に対して細菌、真菌、ウイルス等の汚染に関する適切な検査を行い、採取時の微生物汚染、細菌、真菌、ウイルス等の存在を否定すること。

採取された細胞・組織は速やかに無菌的細胞調整施設に搬送され、分離など処理段階に進められねばならない。搬送容器、搬送条件は明記される必要がある。なお、採取場所と無菌的細胞調整施設とが同一施設内に存在しない場合など速やかに処理に進められない場合は、それによる細胞などの品質が低下しないことをあらかじめ評価しなければならない。

### 細胞シート製造施設

細胞シート製造を行いうる施設は、医薬品の臨床試験の実施の基準に関する省令（平成9年構成省令第28号）第17条第1項の希求する水準に達していなければならない。すなわち、細胞シートの製造・取り扱いに関して施設内に専用の無菌的細胞調整施設を有しており、そのvalidationが定期的に行われていること、すなわちGLP準拠施設であることが求められる。また、採取された細胞・組織の製造および保存に必要な衛生上の管理がなされており、製造に関して十分な知識、技術を持つ人員を有していることが求められる。製造作業の開始前に、製造従事者に対して教育訓練ならびに健康診断を行い、また定期的に教育訓練および健康診断を行われていなければならない。

### **採取した細胞・組織の保存**

保存にかかる標準手順書が用意され、また保存による生理活性の低下に関する評価、生存率の低下、融解後培養工程における細胞の質的評価が必要である。これら評価は、あらかじめ行われるか、あるいは文献的に設定根拠を明示されなければならない。たとえば、骨格筋由来筋芽細胞シートの製造においては、大腿より骨格筋を採取するわけであるが、その一部を凍結することも可能である。

### **細胞シート製造にかかる原物質・中間産物の包装・輸送**

細胞シート製造にかかる原物質・中間産物あるいは最終製品の輸送に関しては、その輸送による品質に低下をさけるため、輸送時間・状況による品質に関する管理指標を明確とした標準手順書が作成されなければならない。また、輸送において輸送容器・輸送時の温度管理・時間管理の手順が明確であることが必要である。

### **細胞シート製造にかかる原物質・中間産物の処理工程管理**

採取法、処理法、培養法、保存法のすべてにおいて、標準手順書が作成されている必要がある。それら各々の段階における細胞の回収率、生存率に加え、当該段階にて得られるべき細胞種を評価するに値する表面抗原あるいは mRNA の発現ないしは蛋白の発現を検討することが望ましい。

### **細胞の回収率**

回収方法は標準手順書に記載された通りに行われなければならない。これは、回収率を評価予測することで、最終製品に必要な細胞数を十分に確保することが可能となるからである。

### **細胞の生存率**

細胞シート製造における処理培養段階のうち、製品標準書に記載された段階において細胞の生存率が測定されなければならない。生存率が測定される段階とは、培養細胞を単離分取する過程のこととし、特に細胞をシートに移植する時点での生存率に測定記載は不可欠である。生存率の測定法に関してはあらかじめ手順書にて明示される必要がある。生存率は望ましくは 80%以上とする。最低で 70%以上とするが、70%以上 80%未満の生存率である工程では、死細胞の残渣を取り除く工程を付加するかあるいは、死細胞残渣により生細胞機能に与える影響がないことが保証される文献あるいはデータが添付されなければならない。

### **細胞シート製造にかかる原物質・中間産物の処理工程に用いる試薬・製剤・薬剤**

心筋シート製造工程にて使用される試薬・製剤・薬剤はすべて GLP 水準以上、のぞむ

べくは GMP 準拠ないしは薬事法に基づき医薬品として認可されたものを用いるものとする。それらはロットごとにその評価がなされ、かつロットごとの製造者による GLP ないしは GMP 準拠である旨記載された保証書が製造責任者に保管され、その一覧の添付が審査にあたり義務付けられる。院内製剤などで GLP 準拠など明示ができない製剤を製造過程にて用いる場合は、その validation を別途心筋シート製造者の責任において行わなければならない。validation 法に関しては、日本薬局方に基づき無菌検査、マイコプラズマ検査、エンドトキシン検査を行い、いずれも医療機器としての基準を満たすことが必要である。また、活性物質である場合はその活性評価を行い、ロットごとに保証されねばならない。特にヒト血清由来精製蛋白の評価しに関しては、輸血製剤における場合と同様に 10 年保存されねばならない。

#### 細胞シートに残存しうる異種由来物質の評価

再生医療機器において、とくに頻回投与されうる製品に関しては、免疫源性を有するものを避けることが望ましい。但し、治療対象患者にとり危険可能性を超え有意義であると考えられる場合はこの限りではない。異種由来残存物質として規定されるものは、たとえばコラーゲン、ゼラチン、卵由来蛋白、糖鎖、レトロウイルスなどである。また抗生物質、成長因子を含み評価されなければならない。

#### 細胞シートに残存しうる処理工程由来物質の評価

支持体あるいは培養皿など細胞に接した、あるいは接する化学合成物が、細胞シートにおいて残存することは極力さけねばならない。これらが残存していないこと、あるいは残存が一定の基準以下であることを示すデータを、支持体においてはロットごとに示さねばならない。成長因子はその残存量を測定することと、残存により細胞シートの機能が低下していないこと評価する必要がある。

#### 細胞シートに用いる原物質・中間産物の無菌検査

細胞シートの感染性評価は、日本薬局方に準拠し無菌検査、マイコプラズマ汚染試験、およびエンドトキシン検査を行わなければならない。これらは、細胞培養の各過程あるいは最終培養時の培養廃液あるいは最終製品により行われるように規定する。また、1ヶ月を超える長期培養の場合、1ヶ月を超えない間隔でこれら評価を行わなければならない。

無菌検査はメンブレンフィルター法ないしは培地法で行わなければならない。

マイコプラズマ汚染試験は、マイコプラズマが細胞内寄生生物であることから、細胞が懸濁した溶液で行われなければならない。最終培養廃液あるいは細胞保存液にて代用できるものとするが、この場合は、試験を施行した検体を明示するとともに、その溶液に細胞が含有されていることを拡散増殖法などにて明示すべきである。



エンドトキシン検査に関しては、未使用細胞培養液にて検査の後に陰性を確認された後に使用を可能としたことが明記されていなければならない。最終製品の洗浄液よりエンドトキシンが検出感度以下であるなら、当該製品はエンドトキシンに汚染されていないものとみなし、生体投与可能な心筋シートとして認める。最終製品の洗浄液にエンドトキシンが検出された場合は、同一ロットの製品エンドトキシン混入量を直接測定し、製品が生体投与されたのち、薬事法の規定するエンドトキシン投与可能量以下であることを確認のうえ移植可能とする。なお、細胞シート移植によるエンドトキシン注入時間は便宜的に1時間と設定する。

### 細胞シート製造過程における細胞機能評価

細胞シート製造にあたり、その素材としての筋芽細胞などの質・量の評価がなされ、採取細胞・組織の量より推定される範囲にその評価値が入ることを確認されねばならない。細胞の質に関しては、培養された細胞が細胞シートを製造するにたる機能を有しているかが評価項目となる。すなわち、得られた主要細胞種の同定、その純度、また混在する目的としていない細胞集団、また細胞の増殖度である。主要細胞種の同定とその純度検定はFlowcytometry法によりなされるものとし、細胞残渣を除き細胞を1万個検討、求める細胞の純度を90%以上であることを評価する。純度検定に用いる蛍光標識抗表面抗原抗体は、細胞種によりあらかじめ蛍光標識抗表面抗原抗体は規定するものとする。骨格筋由来細胞を用いた細胞シートの場合、CD56とする。混在する目的としていない細胞に関しては、その混在比率を評価するとともに、その混在により目的としている細胞の機能低下の有無をあらかじめ評価しなければならない。細胞の増殖度は、細胞がエンドトキシンあるいはマイコプラズマなど外因性汚染物質・生物に暴露されていないかの評価に有効である。このため、細胞増殖速度があらかじめ設定された継代時間の2.5倍以上必要とする場合は、エンドトキシンならびにマイコプラズマ検査を追加で実施し、汚染が無いことを確認することとする。また、増殖速度がかように低下している場合、培養過程における細胞の一部の表面抗原を検索し、目的としている細胞が得られているかを検討する必要がある。

### 細胞シート製造にかかる原物質・中間産物の保存

原物質あるいは中間産物の保存に関しては、保存にかかる手順の明確化、保存に関連する薬剤・器材のvalidationが行われるべきである。また、保存により製品基準書に定義された生存率、細胞活性などを下回っていないことの評価があらかじめ行われなければならない。また、保存期間の上限をこえてしまった原物質・中間産物の処理法を明記する必要がある。細胞の保存に関してはあらかじめ保存法を設定することとする。自己細胞・組織を用いた細胞シート製造の目的にて貯蔵される細胞は、融解後生存率85%以上とする。

**細胞シートの機能評価基準**（これらについては開発ガイドラインを参考として作成）

細胞シートの形状評価

細胞シートの面積設定

細胞シートの厚さの設定（細胞シートの層数）（設定根拠：血管新生する場合としない場合で厚さの規定に差をつける）

細胞シートの均一性評価

構成細胞群の population 分布は、免疫組織学的検討にて行われることとする。骨格筋由来細胞を用いた細胞シートにおいては CD56 による免疫組織化学的検討ならびに vWF あるいは CD34 ないし CD45 による血管網形成を評価し、2 者が占める面積比が 75% 以上でなければならない。

細胞シートの力学的特性評価

最低引っ張り応力限界の設定は、細胞シートに期待されるラプラス応力の最低 2 倍以上でなければならない。応力が十分にあることの証左として、connexin43 などの免疫組織学的検討にて細胞・細胞間連結を示すこともできることとする。

細胞シートの生化学的特性評価

サイトカインなどの産生有用なサイトカインなどの産生に関し同定・定量がなされるべきである。特に血管新生に関与する bFGF などは ELISA などで検定すること。

細胞シートの細胞障害性に関する評価

IL-1beta あるいは IL-6 など、炎症惹起性サイトカインが産生されるか否かあらかじめ検討、否定されなければならない。

細胞シートの電気生理学的特性評価

電氣的生理活性の方法の設定、評価基準の設定に関しては今後の検討課題である。

## 細胞シートにかかる動物実験に関する指針

### 目的

細胞シートにかかる動物への移植実験の目的は、その臨床使用に向けた安全性ならびに有効性の担保である。

### 安全性検討項目

安全性に関する検討項目として、細胞シート移植にともなう腫瘍源性ならびに催不正脈性は検討されなければならない。但し、評価に関してはモデル動物の寿命という観点から、短期的安全性に関しては評価できていても、長期的安全性は担保されていないことを認識するべきである。

#### (1) 腫瘍源性に関する検討

細胞シートに内包される細胞集団由来の腫瘍発生に関する検討は、組織学的に S/N 比による検討、あるいは染色体数ないしは FISH 法による c-myc の過剰増加の検討により行うものとする。

細胞シート移植に伴う腫瘍源性については、ヌードマウスあるいは NOD/SCID マウスにヒト由来細胞を用いた細胞シートを移植し腫瘍発生の有無を確認する。これは、心臓の原発性腫瘍は極めて稀であるとされるが細胞シートが移植されることで心臓へ腫瘍になり得るような血管内皮など増殖能を有する細胞の浸潤の可能も否定できないが故である。移植部位に関しては、心筋梗塞あるいは拡張型心筋症モデル作成により障害を受けた心筋表面への移植により検討されることが望ましいが、皮下移植でも代用可能とする。なお、観察期間は1年とする。

#### (2) 催不整脈性に関する検討

催不整脈性に関しては、普遍的に受容されたモデル動物は確立されていないことを十分認識した上で、犬あるいは豚ないしこれに準じた中大動物にて検討を行うものとする。細胞シート移植のためにモデル動物作成は、冠動脈結さつによる心筋梗塞モデルによるか、あるいは overdriving 法による拡張型心筋症モデルのいずれかによる。いずれを選択するかは、細胞シートの治療対象に合致するものを選択するものとする。

モデル動物における Holter 心電図と移植後における心電図を比較して有意に生命に危機を及ぼしうる不整脈が出現あるいは増加しているか否かを検討する。モデル動物において、細胞シート移植前後において 24 時間長時間心電図記録を比較することにより、不整脈の検出、重症度の評価を行う。非持続性心室頻拍（3 連発以上、心拍数 100 回/分以上）や、1 時間に 10 個以上出現する心室性期外刺激があり、細胞シート移植前と比較して有意に増加していないことを確認すべきである。

### 有効性検討項目

有効性に関する検討項目として少なくとも以下の項目が評価されなければならない。但し、評価に関してはモデル動物の寿命という観点から、短期的な有効性に関しては評価しえても、長期的な有効性に関しては不明であることを認識すべきである。

モデル動物作成は、冠動脈結さつによる心筋梗塞モデルによるかあるいは overdriving 法による拡張型心筋症モデルのいずれかによるが、いずれのモデルを選択するかは細胞シートの移植対象疾患に近似しうるものとする。

#### (1) 機能評価

細胞シート移植による機能評価は、細胞シート移植部位のみならず、心全体で評価されるべきである。評価は収縮能・拡張能にて行うものとし、評価手段はカラーメトリーを併用した心臓超音波検査、あるいは造影 MRI などいずれでもよい。

#### (2) 血管新生の評価および細胞シート内細胞の生存確認

細胞シート移植後における血流の増加あるいは維持をもって血管新生の評価ならびにシート内細胞生存とする。評価手段としては FDG-PET にてよる検討あるいは造影剤を用いた心臓超音波検査によるが、科学的に評価に耐えうるものであればこの限りではない。

#### (3) 形態学的評価

組織学的検討として、モデル動物における移植後細胞シートに内包される細胞の生存数あるいは残存数、またシート厚および形状の変化の検討を行われるべきである。また、移植部位において細胞シートに接触している部位の線維変性および炎症細胞の浸潤の有無を確認するとともに、細胞シートを縫合しているなら、縫合部位の組織学的検討を行うべきである。また、移植後、細胞シート内の細胞が肥大化あるいは錯綜配列などにおちいっていないかの検討も必要である。

#### (4) 血清学的検討

モデル動物における血清学的評価として、有効性の検討としては BNP を指標とする。また、安全性の評価としては腎機能、肝機能を評価するとともに、急性心筋障害の指標としては CKMB を、慢性心筋障害の指標としては一例として FABP などを評価するものとする。

### IV-3-3. 臨床段階(移植後、有効性など) について

国立循環器病センター研究所再生医療部 永谷憲歳

細胞シートを用いる臨床試験(移植後、有効性など) において、考慮すべき以下の項目について検討を行った。ヒト幹細胞を用いた臨床研究は基本的に、厚生労働省「ヒト幹細胞を用いる臨床研究に関する指針」に従って行われるべきであるが、今回は細胞シートの心血管病への応用に特に関係する事項について記載した。

#### 第1章 被験者

#### 第2章 研究及び審査の体制

#### 第3章 安全性と有効性の評価

#### 第4章 インフォームド・コンセント

#### 第1章 被験者

##### 1. 被験者の選定

総括責任者又は総括責任者の指示を受けた医師である研究者(以下、「総括責任者等」という)は、被験者の選定に当たり、人権保護の観点から、病状、年齢、同意能力等を考慮し、慎重に検討しなければならない。被験者の選定にあたっては、選択基準の全てを満たし、除外基準のいずれにも該当しない被験者を対象とする。被験者に対する再生医療臨床研究の適応に関する最終的な決定は、再生医療および心不全治療に対する高度の専門的知識を有する医師を含む委員会において行うべきである。

##### 2. 対象疾患等

対象は次のすべての要件に適合するものに限る。

- 1) 既存の治療に抵抗性の心血管病であること。具体的には、陳旧性心筋梗塞、拡張型心筋症らによる慢性左心不全や、先天性心疾患らにより機能が著しく障害された難治性心血管病であること。
- 2) 再生医療臨床研究による治療効果が、既存の治療方法と比較して優れていることが十分に予測されるものであること。
- 3) 被験者にとって細胞移植治療臨床研究により得られる利益が、不利益を上回るものが十分に予測されるものであること。

3. 選択基準：以下の基準を全て満たす症例を対象とする。

- 1) 既存の治療に抵抗性の心血管病であること。既存の治療とは薬物治療、経皮的バルーン冠血管形成術、冠動脈バイパス術、弁形成または置換術らを意味する。
- 2) 高齢者はなるべく避ける（患者の利益と不利益を考慮する）
- 3) 血行動態が安定した患者（急性増悪を起こしていない患者）
- 4) 3ヵ月以内のカテーテル検査で経皮的バルーン冠血管形成術、冠動脈バイパス術、弁形成または置換術らの適応が無いもの
- 5) 患者又は代諾者等により文書により同意を得られた患者

4. 除外基準：以下の基準に1つでも該当する症例は除外とする。

- 1) 悪性腫瘍を有する患者
- 2) 活動性の感染症を有する患者
- 3) 増殖糖尿病網膜症（未治療の増殖網膜症、中期・晩期増殖網膜症）を有する患者（治療終了例は除く）
- 4) 腎機能不全、肝機能不全症を有する患者
- 5) 経皮的バルーン冠血管形成術、冠動脈バイパス術、弁形成または置換術らが同意日6ヶ月以内に施行された患者
- 6) 同意日6ヶ月以内に急性心筋梗塞、不安定狭心症、心筋炎らに罹患した患者
- 7) 妊婦または妊娠している可能性のある患者
- 8) その他、担当医師が不相当と判断した患者

5. 医療機器との併用の必要性の有無・注意すべき点

- 1) 重症心不全に対する細胞シートを用いた再生治療の臨床応用に際しては、患者の全身状態が安定している時期に施行すべきである。低心機能により循環動態の維持が困難となり機械的補助が必要な患者を対象とする場合、原則1ヶ月以上の長期補助が可能な補助循環装置を選択すべきである。
- 2) 大動脈バルーンパンピング；intra-aortic balloon pumping(IABP)、経皮的心肺補助法；percutaneous cardiopulmonary support(PCPS)など長期使用が困難な機械的補助下にある患者は対象とすべきでない。一方補助人工心臓；ventricular assist system(VAS)を装着後、全身状態が安定した患者は良い適応となるであろう。使用するVASは健康保険で認められた機器とすべきである。
- 3) VASと細胞シートを用いた再生医療を併用しVAS離脱を目指す場合、開胸手技を

繰り返すことに伴う侵襲を最小限にするには、①予め心筋生検病理診断から再生医療による回復がどの程度期待出来るかを検討し VAS 装着時に細胞シート移植を併用するか、②自己心機能が少量カテコラミン投与下に VAS 離脱が可能な程度まで回復していると判断したら離脱時に細胞シートを移植する、ことが望ましい。②の場合、自己細胞採取は VAS 装着下で抗凝固療法が強力に施行されている状態で行う事になるため出血等の合併症に対し十分な留意が必要である。しかし低心機能による他臓器への循環不全が VAS 装着により改善した状態で細胞採取を行うことが可能となる利点がある。

- 4) このような重症心不全患者では早期の心機能改善効果は得難い場合もあり、将来心臓移植を必要とする可能性を考慮し移植禁忌となる感染症や悪性疾患の有無を事前に検索する事が望ましい。

## 第2章 研究の体制

再生医療臨床研究の実施にあたっては、被験者の福利に対する配慮が科学的および社会的利益よりも優先されなければならない。被験者の尊厳および人権を保護するとともに、臨床研究が指針に沿って円滑に行われるような体制が必要である。臨床研究は、当該分野における十分な教育・訓練を受けた研究者および総括責任者によって行われなければならない。また研究者等は、臨床研究を適正に遂行するために臨床研究計画を立案し、倫理審査委員会を設置して臨床研究実施の適否を決定するとともに、安全性や有効性について調査を行わなければならない。詳細は、厚生労働省「ヒト幹細胞を用いる臨床研究に関する指針」に従うものとする。

## 第3章 安全性と有効性の評価

基本的には、厚生労働省「ヒト幹細胞を用いる臨床研究に関する指針」に従うものとする。再生医療臨床研究の実施にあたっては、投与される細胞や細胞シートなどの安全性に十分に注意し、被験者の安全の確保に努めなければならない。また、有効性は慎重かつ客観的に判定しなければならない。安全性と有効性の評価判定方法については事前に十分な検討を行い、実施計画書に明示するとともに倫理審査委員会の承認を得なければならない。また安全性と有効性に関しては、少なくとも1年間の定期的観察と評価を必要とする。

1. 安全性評価と有効性評価に分けて症例報告書に記載すること。
2. 安全性評価項目としては、危惧される特定の副作用があればそれを評価項目に加え、ない場合は有害事象の発生の有無と程度を記載する。
3. 有害事象が発生したときには、研究者は速やかに総括責任者へ有害事象名、細胞移植日、発現日、処置、記載時の転帰らに関して報告する。総括責任者が臨床試験の継続が困難と判断した場合は、試験を中止とする。総括責任者は細胞移植との因果関係らに関して調査し、可能な限り、回復まで追跡調査を行う。
4. 以下の基準に合致する場合は直ちに臨床試験を中止する。
  - a) 被験者から臨床試験への参加の辞退の申し出があった場合
  - b) 総括責任者もしくは研究者の判断による場合
    - ① 有害事象が発現した場合
    - ② 重大な臨床試験実施計画書違反が明らかになった場合
5. 安全性と有効性評価項目としては、以下の観察と検査を行うこととする。学会等で標準的に使用されている評価スケールを用いる場合は、別紙に添付する。

#### <安全性・有効性の評価項目>

以下の項目等についてスケジュール表を作成し、各項目の内容を別途補足説明する。「同意取得」「休薬期間」「細胞治療開始日」「後観察期間」などの期間ごとに分け、可能な限り患者来院毎に観察・検査項目を記載する。

- 1) 患者背景：合併症、既往歴、原病歴、前治療など
- 2) 自覚症状の確認：問診等により確認する。症状日誌がある場合は参考にする。
- 3) 有害事象と副作用の確認：有害事象には、各種検査異常値も含める。内容、発現時期、消失時期、程度、処置、転帰、細胞治療との関連性等をカルテおよび症例報告書に記載する。必要があれば追跡調査する。
- 4) 血圧、脈拍数
- 5) 血液検査：検査項目を記載する。
- 6) 血液生化学検査：検査項目を記載する。
- 7) 尿検査：検査項目を記載する。
- 8) 標準 12 誘導心電図
- 9) その他の特殊検査

具体的には、以下の項目を細胞シート移植前、3ヵ月後、12ヵ月後に検査し、



安全性と有効性を評価する。安全性に関しては、一般的検査以外に、胸部 CT 検査によりシート内の腫瘍や石灰化の有無を検討することや、Holter 心電図や加算平均心電図などで致死的不整脈発生の可能性を調べる必要がある。

① 臨床症状の観察

- ・バイタルサイン：血圧（収縮期、拡張期）、脈拍、体重、体温
- ・臨床症状：NYHA 分類
- ・臨床症状－自覚症状：安静時息苦しさ、労作時息切れ、睡眠時息苦しさ、動悸、倦怠感・易疲労感
- ・身体所見：湿性ラ音、浮腫、過剰心音

② 血液検査・尿検査

- ・血液学的検査：赤血球、ヘモグロビン値、白血球数、血小板数、白血球分画
- ・生化学的検査：血清電解質（Na, K, Cl）、BUN、クレアチニン、血糖、尿酸、総蛋白、アルブミン、カリウム、リン酸、総ビリルビン、抱合型ビリルビン、AST、ALT、アルカリフォスファターゼ、LDH、CPK、CRP、BNP
- ・尿検査：尿蛋白、尿糖（定性）、潜血、ケトン、PH、沈査

③ 動脈血ガス検査

④ 標準 12 誘導心電図

⑤ Holter 心電図、加算平均心電図

⑥ 胸部 CT：シート内の腫瘍や石灰化の有無をみる

⑦ 心臓超音波検査

- ・左室駆出率
- ・左室拡張末期径

⑧ 胸部レントゲン 2 方向

- ・心胸郭比

⑨ 心筋シンチグラフィ

- ・移植部位の血流の定量化

⑩ カテーテル検査

- ・左室駆出率
- ・左室拡張末期圧

<不整脈に関する検査>

移植した細胞シートによって致死性不整脈が誘発される可能性がある。従って、致死性不整脈が起る可能性に関して十分なインフォームド・コンセントを行う。さらに致死性不整脈発生を予測するための以下の検査を行い、必要に応じ抗不整脈薬や植込み型除細動器（ICD）挿入を考慮する。

#### 1) 標準 12 誘導心電図

標準 12 誘導心電図上の QRS 時間、QT 間隔の評価は、各々心室の脱分極時間、再分極時間の指標として重要である。術前後で比較した QRS 時間の延長は、脱分極異常の発生/進行を示唆する。特に 12 誘導心電図上の最大 QT 時間と最小 QT 時間の差である QT dispersion が延長した場合は、再分極時間の不均一性の存在を疑う。また、心電図上で心室性期外収縮、非持続性/持続性心室頻拍を確認した場合、その発生活源の推定が可能である。

#### 2) Holter 心電図

24 時間長時間心電図記録により、不整脈の検出、重症度の評価を行う。非持続性心室頻拍（3 連発以上、心拍数 100 回/分以上）や、1 時間に 10 個以上出現する心室性期外刺激があり、術前と比較して有意に増加している場合には、致死性不整脈の予測因子となる。

#### 3) 加算平均心電図

心筋障害を反映して伝導遅延が存在する場合、リエントリー性不整脈の基質となる。洞調律時の体表面心電図の加算平均により QRS 終末部に遅延電位 (Late potential: LP) が検出されれば、伝導遅延部位の存在を示唆する。本検査は、致死性不整脈予測に関する高い陰性予測値を有する。

#### 4) T wave alternans (TWA)

T 波交互脈を  $\mu\text{V}$  レベルで感知、検出する検査法であり、心室の再分極過程の周期的な異常を評価することが可能である。本検査も、致死性不整脈予測に関する高い陰性予測値を有する。ただし、TWA の出現には心拍数閾値があるため、ペーシング、薬剤負荷、運動負荷で心拍数を 110 回/分程度まで上昇させることが必要である。

#### 5) 電気生理学的検査 (EPS)

1)～4) の非侵襲的検査により致死性不整脈発生の可能性が高いと判断された場合、必要に応じて電気生理学的検査 (EPS) を行う。1-3 連発の心室期外刺激を用いたプログラム刺激により単形性持続性心室頻拍が誘発された場合には、リエントリーを機序とした不整脈の基質があると考えられる。一般的に、心筋梗塞後の致死性不整脈発症を予測する臨床的意義は比較的高いが、心筋症では非特異的な多形性心室頻拍が誘発される場合があり、臨床的意義は低いとされている。

#### (参考)：不整脈に関する前臨床試験

致死性不整脈発生の有無を調べるために、前臨床試験として大動物を用いた十分な検討を必要とする。標準12誘導心電図やHolter心電図を行うのみでなく、電気生理学的検査（EPS）を行う必要がある。

- 1) 標準 12 誘導心電図
- 2) Holter 心電図
- 3) 電気生理学的検査（EPS）

電極カテーテルによる頻回刺激、および1-3連発の心室期外刺激（プログラム刺激）により、自動能や伝導性の評価と共に、心室性不整脈の誘発を行う。プログラム刺激により単形性持続性心室頻拍が誘発された場合には、リエントリーを機序とした不整脈の基質があると考えられる。一方で、誘発された不整脈が、心外膜側に接着させた心筋シートに関連するものであるか否かを評価するには、心筋シートが心外膜側に存在する特性から、通常行われている心内膜側からのマッピングのみでは不十分である可能性がある。開胸下で同時に心表面マッピングを行うことにより、不整脈の機序の把握と共に、頻拍中の興奮伝播の詳細な検討が可能となる。

#### <細胞シートの固定と不具合発生リスク>

細胞シートは、接着性細胞を底面に温度応答性ポリマーをグラフトした温度応答性培養皿上で培養することで作製される。細胞培養中に培養温度を通常の37℃から32℃以下に下げることによって、ポリマーの疎水性が変化して細胞の接着性が弱まり、細胞がシート状に回収される。細胞シートグラフトは蛋白分解酵素を用いることなく作製されるため、細胞間マトリックス及び細胞接着因子が保たれている。細胞シートは開胸手術下において心外膜表面に移植されるが、心表面に数分間貼付するのみで接着し、原則として接着剤の使用や縫合固定などの必要はない。但し、複数の細胞シートを重ね合わせた多重細胞シートをグラフトとして使用する際に、シートの厚みが十分にある場合は縫合固定を行う場合もある。

不具合発生リスクとして以下のものが考えられる。

1. 細胞シートの接着因子は培養皿底面と接着していた側に多く存在し、移植の際にその面を組織との接着面とする必要がある。接着面を逆にして心表面においた場合は細胞シートの固定が不完全となる可能性がある。
2. 心表面での異常電気興奮回路の発生を避けるために、皺または折り返しが極力出来ないように貼付する必要がある。

3. 細胞シートは移植後に乾燥を避けるために、適宜暖めた生理食塩水等で水分を補う必要がある。
4. 心表面に出血箇所があるときは細胞シートの固定不良が生じる可能性があり、充分止血を確認する。
5. 閉胸時の縫合、洗浄操作中に細胞シート表面に触れることで、容易に剥離する可能性があるため、閉胸操作は充分注意して行う。

#### 第4章 インフォームド・コンセント

インフォームド・コンセントは基本的に、厚生労働省「ヒト幹細胞を用いる臨床研究に関する指針」に従うが、特に細胞シート移植に関する以下の項目についても十分な説明を行うこと。

1. 移植した細胞シートによって致死性不整脈が誘発される可能性があること
2. 移植した細胞が腫瘍化（悪性化）する可能性があること
3. 移植した細胞シートが予期せぬ組織（骨化、石灰化、脂肪化、等）を形成する可能性があること
4. 自己細胞採取に伴う危険性
5. 細胞採取後に何らかの原因（細胞が育たない、細胞シートの感染ら）で細胞シートの移植が行えなくなる可能性があること
6. 細菌感染やウイルス感染の可能性
7. 移植手術手技に伴う危険性
8. 細胞シートの移植は、現段階では研究として行われるものであり、まだ確立された治療ではないこと
9. 細胞シート後12ヵ月以上の経過観察を必要とすること

#### IV-3-4. ISO および ASTM 国際動向等について

国立医薬品食品衛生研究所 療品部 土屋利江

最近の再生医療に関する International Organization for Standardization (ISO)における動向と、American Society for Testing and Materials International (ASTM International)の活動状況について紹介する。

ASTM は、米国材料試験協会であるが、再生医療関連の材料および評価技術などの標準化がもっともすすんでおり、標準化文書は、30 を超える。ASTM は、米国における様々な材料や試験の標準化を目的として設立された組織であり、再生医療以外にも、医療機器・医療材料に関する大きな会議を米国やカナダの各地で、5 月と 11 月の年 2 回定期的に会議を開催する規格団体である。3 年後の会議日程と開催場所を示した文書を、毎回開催場所で配布している。

ASTM 全体の会議数は、現在活動し、配布された会議開催案内のある分野数に限っても、25 分野が紹介されている。

再生医療製品は、F04 Committee (Medial and surgical materials and device) に属しており、F04 に数多くある分科委員会の一部である。F04 全体では、毎回、1000 人以上の人数が参加しているとおもわれる。再生医療製品の委員会には、100 人程度規模の参加者数だと推測している。

参加者は、再生医療のみでなく、医療材料や、医療機器にも関心が高いため、再生医療製品のすべての標準化文書になかなか関与できない。どの分野も同時進行で、興味深い複数の会議が開催される。また、標準化のための委員会のみでなく、次の標準化をねらった魅力的なシンポジウムを開催している。

たとえば、今回の ASTM では、細胞シグナル伝達についてのシンポジウム開催について、会員メールやホームページで公開し、発表や参加を呼びかけている。

標準化文書には、BMP の活性測定法のように細かいものから、再生医療製品の前臨床試験に使用する動物モデル、感染因子や臨床評価に関するまで、様々な文書が検討されている。ASTM では、必要なものを迅速につくるところに特徴がある。内容的に、一つの標準化文書では、不十分な場合には、異なるタイトルで近い領域の標準化文書をつづいて作成し、文書が増える毎に、よりたしかな規格文書をグループの枠組みで押さえていく戦略のように思える。一つの文書で完成品をと考えていると、完成までに時間がかかることによる弊害の方が大きいという考えがあるように感じられた。

ASTM は、ISO の国際活動が盛んになるにともない、ASTM も国際標準化文書作成団体であるとの考えを前面にだし、2001 年 ASTM International と名称変更している。

土屋は、ASTM F04 において、心筋再生や、さまざまな組織・臓器の恒常性機能維持に重要な gap junction について標準化文書を作成中である。まず簡単な測定法から作業を開

始している。

ISO 内での再生医療製品の活動開始にあたっては、米国と欧州と日本の規制環境の違いが大きな話題になったが、ISO として組織工学を採りあげるべきであるとの意見が多く、TC150 で、この分野の具体的な活動を開始することになった。

ISO TC150 の国内検討委員長は、堤 定美 京都大学再生医科学研究所教授であり、WG11 のエキスパートは、大串 始 グループ長（産総研）土屋（国立衛研 療品部）が指名された。わが国の活発な再生医療研究手法や製品の国際化を目指すことで合意した。

具体的な活動経過と現況について説明する。ISO 中の TC150（外科用インプラント専門委員会）に WG11（WG 名称：Tissue Engineered Implant）が 2000 年 9 月に設置された。その後、2003 年 9 月には、WG11 の名称を、Tissue Engineered Medical Products に変更した。幅広い文書作成が可能と考えられたからである。

WG11 の活動内容であるが、委員会内で議論の結果、はじめに、Implant for surgery – tissue engineered products-general requirements for safety, marking and for information to be provided by the manufacturer. の文書作成作業が開始された。ASTM と異なり、ISO は時間がかかり、やっと文書ができたものの、2005 年の投票で、否決され、現在、この文書作業は、ストップした状況にある。

前回の委員会の状況は、WG11 委員長欠席による不在のまま、この文書は、全面的にタイトル、内容ともに、書き換えることが決定された。ISO TC150 WG11 の委員会に委員長が 2 回欠席となり、当日選任の代理が会議を進行する状況にあったこと、文書内容に米国やオランダの強い反対があったことなど、国際会議では、これまでに経験したことがない、まとまりのない会議に終わっている。

TC150 WG11 の委員長は、TC194（医療機器の生物学的評価の専門委員会）のメンバーでもあり、TC194 において、TC150 WG11 の会議を同時開催している。前回は、ノルウエーでの 2004 年 TC194 の会議（堤 TC150 委員長出席）で開催された。本年 7 月に開催される 2006 年 TC194 シカゴ会議においても、TC150 WG11 の同時開催が決定されている。

日本としては、このままでは、TC150 での組織工学関連の標準化活動が急速に低下することを懸念し、WG ではなく、新たな Sub committee を積極的に立ち上げることを堤委員長が全体会議で提案された。新たな sub committee 設立にあたっては、日本がその幹事国（事務局）を担う意志があることも伝え、TC150 の全体議長（英国）および DIN（ドイツ）のキンドラー秘書も、日本の積極的な姿勢を歓迎している状況にある。幹事国（事務局）としての担当機関には、国立医薬品食品衛生研究所・療品部が候補となっているが、人的・経済的支援なくしては、不可能であり、関係各位のご協力とご支援をお願いしたい。

実現すれば、組織工学・再生医療品分野における海外への貢献を可能とし、わが国の高いレベルの研究成果をもとに、国際化に貢献できる機構ができることの意義は大きい。

#### IV-3-5. まとめ

再生医療審査 WG 座長 京都大学心臓血管外科 米田正始

##### 1. 現状と本 WG の位置づけ

本 WG は自己骨格筋芽細胞を材料とし温度応答性培養皿を用いて作成した細胞シートの臨床応用への審査の参考・指針を提供することを目的としている。近年再生医療が新たな医療の展開や産業の振興の担い手として期待を集めている。再生医学領域ではわが国での実験研究・基礎的研究で得られた知見・技術が多く、研究分野のみならず臨床やそれに関連する産業分野でも世界をリードする潜在力がわが国にあり、それは国民の健康や福祉に貢献し得るだけでなく新たな産業の振興を介して近未来の国益にも適うものであろう。しかしその実験研究・基礎的研究成果が臨床や産業に直結しないという傾向が指摘されて久しい。本 WG ではこうした傾向に鑑み、わが国で開発された自己骨格筋芽細胞シートの十分な臨床的安全性を確保しながら、患者さんのご要望に速やかに応え、かつ育てるべき新たな産業を健全にかつ遅滞無く育てることを促すための参考・指針を、再生医学と関係領域の専門家のご意見を十分に容れながら作成すべく努力した。

##### 2. リスクベネフィットを熟慮することの重要性

人体を対象とする臨床に使用する新たな薬剤・器械・治療手段を開発するとき重要なことは①. 安全性と②. 効果であろう。その次に③. 費用や経済性が来るというのが一般的にコンセンサスのあるところであると思われる。医療においてはほぼすべての薬剤・器械や治療手段は人体にとって適量ないし適度という安全域があり(時には安全域が存在しない治療法さえあり、その場合は多少の副作用に目をつぶってでも患者の救命を優先する)、換言すれば副作用や合併症が皆無という治療法は存在しないため、①の安全性を究極まで追求すると②の効果あるものを開発できなくなるし、②の効果を追求めすぎると安全性を損なう懸念が増す。そこで①の安全性と②の効果を併せ考えるのがリスクベネフィットの概念である。

リスクベネフィットは対象によって要求水準が異なる。たとえば予防接種などでは対象は膨大な数の健康人である。そのためたとえば万に一つの極めて稀な合併症であってもそれが重篤なものであれば全国で多数の健康人が甚大な迷惑を蒙ることになり、許容できないものとなる。その一方で現時点の医療で

は極めて悪い予後が考えられる重症患者ではどうであろうか。新しい治療法の合併症で被害を蒙る確率よりも恩恵を受ける確率が遥かに多ければ、かつ被害を受ける確率が従来治療で「被害」(註：治せないという意味で)を受ける確率より明らかに少なければ、その新治療を希望する患者が多数存在するのは事実であり理解できる場所である。すなわち対象が重症患者の場合は、そう稀でないたとえば百に一つの合併症が起こっても、患者の視点からは許される場合が存在すると言えよう。むしろそれを求める患者の切実な要求に応えられないことこそが非倫理的と判断できる状況があり得るのである。

この問題を認可する立場から考えてみると、ある新技術を認可して、もし少数でも死亡者ができればその技術を認可したことへの責任を問う傾向がこの国では強い。それならば認可しなければ合併症の発生を完全に防ぐことができる。わが国では海外先進国とくにヨーロッパと比べてこの傾向が顕著である。しかし忘れてはならないのは、その新技術で恩恵を受けたであろう、命を救われたであろう、相当数の患者を犠牲にしての合併症防止なのである。上記のようにすべての治療法は何がしかの合併症・副作用をもつ。それらを単に忌避するだけでは国民の命や健康を守ることはできないし、国の将来を支える先端産業も生まれえない。つまり認可する罪としない罪を熟慮し、認可する者に責任を課し過ぎないことを考慮する必要がある。

### 3. 本WGについて

本WGが検討する自己骨格筋芽細胞シートの使用対象とするのは重症心不全患者である。どの程度の心機能の患者を対象とするかでその患者の重症度は異なるが、他治療では良い予後が期待できないというレベルの患者を対象とするならば、この細胞シートが対象とする患者は重症そのものであり、従来治療での予後は当然悪い。だからと言って少々の合併症は許されるというものではないし、安全性の追求は十分に行う必要があるが、対象の重症度に鑑みた、適正なリスクベネフィットの追求が求められると思われるのである。

適正なリスクベネフィットの追求は臨床試験でのそれはもちろんであるが、倫理委員会や政府レベルの判断においても同様で、十分なリスクベネフィットの考慮のもとにコンセンサスを得て決められた基準で臨床応用し、かつその危険性を含めた内容を患者・家族・社会のレベルまで十分に周知し、とくに患者と家族からは十分なインフォームドコンセントを得てから実施することはいうまでもない。社会全体の健全な利益という観点からはこの新しい治療のために一人不幸な合併症が起こればそのプロジェクトが直ちに崩壊すべきものでもないし、それを認可した行政が糾弾されるべきものでもないはずである。医学の



限界近くの領域で戦うわけであるから、リスクを社会全体で受け止めつつ最大限の恩恵、最良のリスクベネフィットが患者にもたらされるという新治療とその臨床応用になるべく努力すべきで、この WG の資料指針作りもその基本姿勢にもとづくものである。

内容は医用材料・プロセッシングから始まり In Vitro から In Vivo、臨床試験・臨床治験にいたる各段階でのあるべき姿や注意点をまとめ、かつ世界の循環器領域における再生医学の動向をも簡明にまとめて正しい評価に役立つよう、配慮した。

#### 4. いま一つ、提言しなければならないこと

なお上記の適正なリスクベネフィットに加えていま一つ、指摘しなければならない問題がある。それは臨床試験段階での混合診療の問題である。現在まで、臨床試験つまり高度先進医療の混合診療が許される臨床治験の前の段階の、しかし必要不可欠な段階での経費が二重構造となっており、わが国の新技術開発の大きなブレーキになっているという事実である。臨床試験段階では保険診療との混合診療は許されていない。しかしそれでは高価な治療に新治療を加えようとすると、その高価な治療をも研究者あるいは病院が負担しなければならない。たとえば補助循環(人工心臓)に何らかの再生医療を追加する場合、その再生医療はたとえば 50 万円の費用で賄っても補助循環に要する 5000 万円の費用も研究者ないし病院が支払わなければならない。そうした臨床試験を 10 例実施するためには 5 億円の費用が必要となる。これはその新技術を臨床応用するなど禁止するに等しい。同時にそうした規則は非現実的と、保険診療で治療のほとんどを賄い、再生医学の分のみ病院が負担するという、混合診療そのものといえる方法がわが国のあちこちで現実に行われている。一方、そうした非合法的な方法はできないと多額の資金を調達したり、臨床試験を断念しているグループも存在する。これは単なる不公平を超えて危険なことであり、かつ国民の健康にも産業の振興・国益の確保にも大きな足かせと言わねばならない。大きな有害事象が発生した場合に政府にまで責任追及が及ぶ問題になるため、早急に解決へ向けての議論を関係各位にお願いしたい。同様に倫理委員会も厳格なところから御用倫理委員会としか言いようのないずさんなものまでさまざまである。たとえばプロトコルやきちんとした評価法もなく、しかも保険診療にただ乗りしてエンドポイントもなく延々と進められている臨床「研究」もこの国には存在し問題になっている。あるいは効果があまりないため評価項目のうち都合の良いものだけを症例ごとに抽出し、全体として「効果あり」と判定した臨床治験なども問題視されている(都合の悪いものを抽出すれば「効果なし」に

判定されよう)。米国 FDA のように政府主体で一本化し、国民を守ることが必要である。これらを野放しにしておくことは、一旦大きな事故が起こったときに政府の責任問題になりかねないからである。

## 5. おわりに

本 WG は厚生労働省に所属するものであるが、同じ目的で経済産業省に属する WG が立ち上がっており、両者は協力しながら同じ目的、すなわち骨格筋芽細胞シートの安全な臨床化・産業化へ向けて進んでいる。こうした複数の省の利害を超えた共同作業の試みはこれまでに例を見ない、初めてのことである。新しい時代に向けて勇断を振るわれた両省の関係各位に敬意を表するとともに、国民の福祉や国益のためますますこうした努力を進めて戴けるよう、この場を借りてお願い申し上げたい。また多大なご指導とご協力を戴いた土屋利江先生はじめ国立医薬品食品衛生研究所の方々と事務を担当した京都大学心臓血管外科の池田義助教授および秘書室諸君に心から御礼申し上げる。

## V. 参考資料

1. 「ヒト幹細胞を用いる臨床研究に関する指針(案)」(ヒト幹細胞を用いた臨床研究の在り方に関する専門委員会)
2. 「医薬発 906 号と医薬発 1314 号の対応項目と留意事項」(厚生労働省)
3. 「GUIDANCE FOR REVIEWERS」(FDA)
4. 「Information sheet for specialists on the evaluation of clinical trials using cell therapy products or cell preparations.」(EC)