



平成28年5月31日

AMED再生医療プログラム間連携のための情報交換会

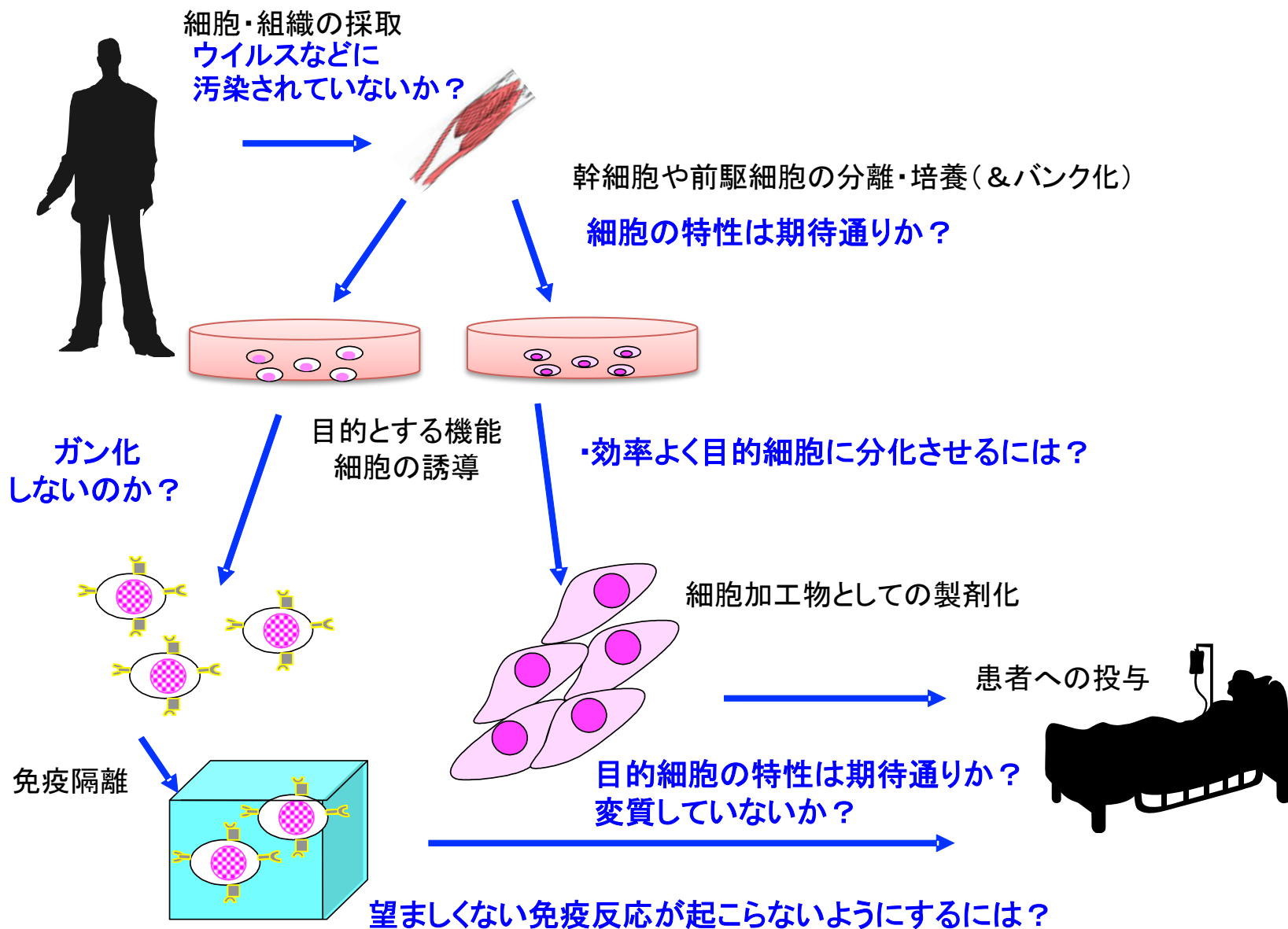
再生医療用細胞加工物の 品質・安全性確保のための科学的課題

国立医薬品食品衛生研究所
再生・細胞医療製品部

佐藤 陽治

本発表で述べられている見解は発表者の私見であって、国立医薬品食品衛生研究所
および厚生労働省の現在の公式な見解では必ずしもありません

再生医療用細胞加工物の品質・有効性・安全性の確保



細胞加工製品(再生医療等製品)の品質・安全性 に関する指針等

Good Tissue Practice (GTP) Guidelines

細胞・組織利用医薬品等の取扱い及び使用
に関する基本的考え方
医薬発第1314号 別添1(2000年)

生物由来原料基準
厚生労働省告示 210号(2003年)
厚生労働省告示 375(2014年)

Good gene, Cell and Tissue Practice (GCTP) Guidelines

再生医療等製品の製造管理及び品質管理の基準に関する省令
厚生労働省令第93号(2014年)

製造施設基準

薬局等構造設備規則
厚生省令第2号(1961年)
厚生労働省令第87号(2014年)

原料細胞の種類別の技術要件

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
薬食発第0208003号(2008年)

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
薬食発第0912006号(2008年)

ヒト(自己)体性幹細胞加工医薬品等の
品質及び安全性の確保について
薬食発0907第2号(2012年)
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ついて
薬食発0907第4号(2012年)

ヒト(同種)体性幹細胞加工医薬品等の
品質及び安全性の確保について
薬食発0907第3号(2012年)
ヒト(同種)iPS(様)細胞加工医薬品等の
品質及び安全性の確保について
薬食発0907第5号(2012年)
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
薬食発0907第6号(2012年)

再生医療用細胞加工物の品質・有効性・安全性の確保

①原料細胞の適格性確保

ウイルス安全性
ドナーの適格性
採取方法の妥当性

細胞・組織の採取
ウイルスなどに
汚染されていないか？

幹細胞や前駆細胞の分離・培養(&バンク化)

細胞の特性は期待通りか？

③品質管理

特性解析・規格試験法

ガン化
しないのか？

目的とする機能
細胞の誘導

・効率よく目的細胞に分化させるには？

細胞加工物としての製剤化

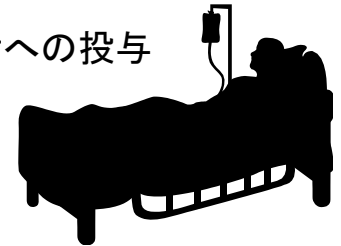
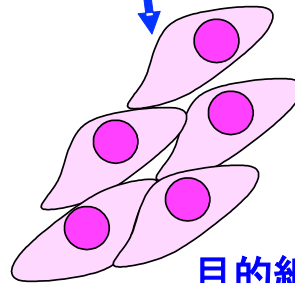
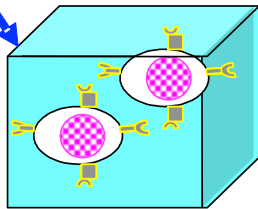
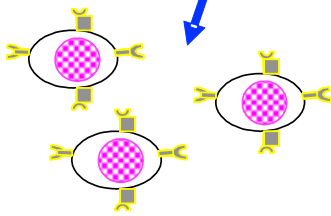
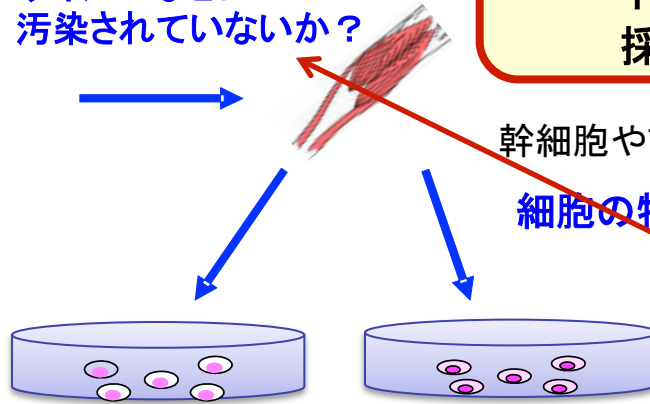
患者への投与

免疫隔離

目的細胞の特性は期待通りか？
変質していないか？

望ましくない免疫反応が起こらないようにするには？

②製造方法の恒常性確保



「素材の選択」「製造方法の恒常性」や 「品質管理・品質保証」が大切な理由

製造に用いる細胞は生きている＝複雑・動的な性質

- ・・・製品の品質は製造工程の影響を受けやすい
- ・・・品質の変動 ⇒ 作用・毒性に影響

開発段階（基礎→非臨床→臨床）に応じた製法変更が多い

（培養方法・汚染物質不活化・効率向上・コスト削減・製造のスケールアップなど）

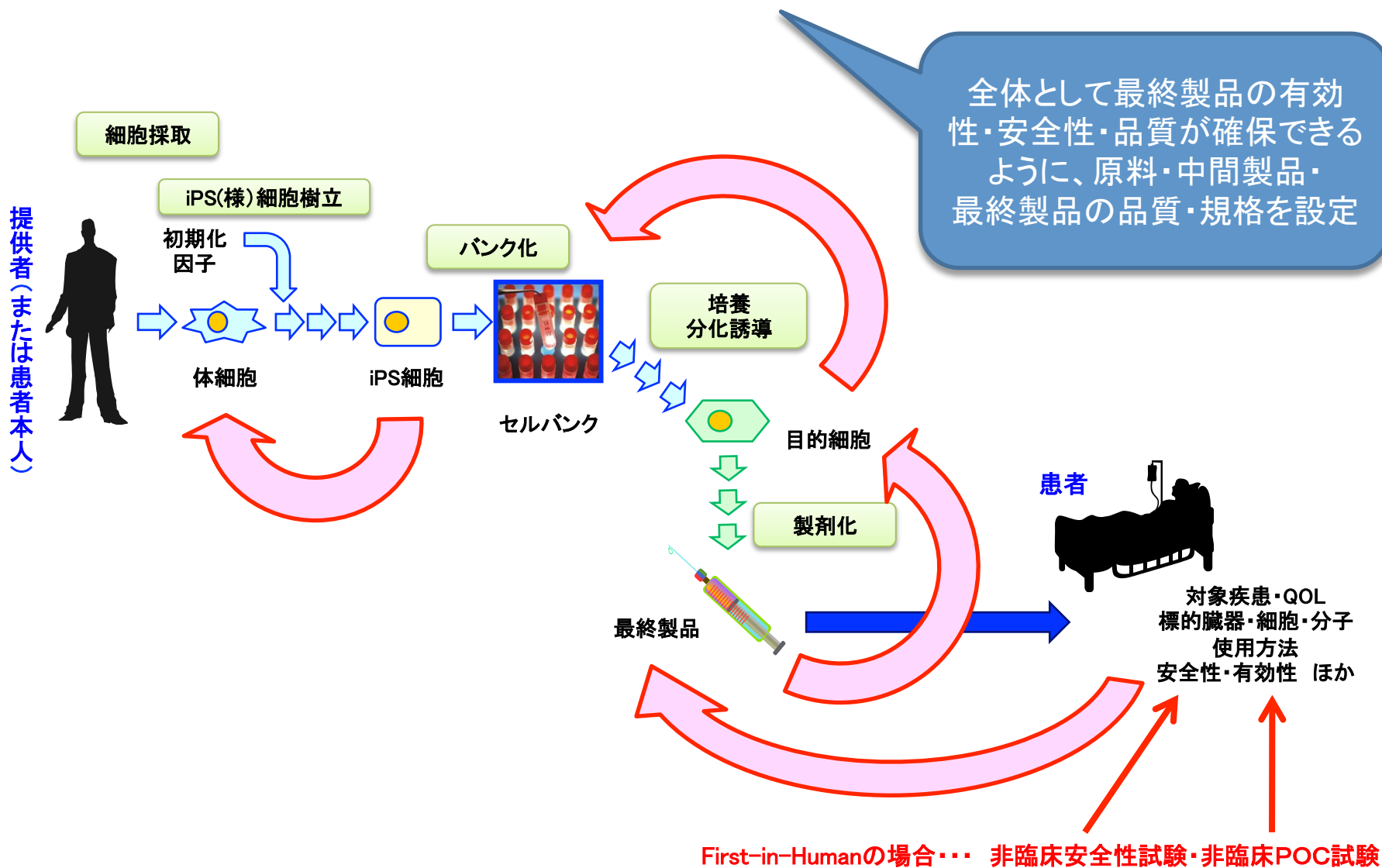
- ・・・製法の変更前後での品質の同等性を示す必要がある

細胞加工物の品質

原材料・最終製品の管理と製造工程の管理によって確保

Product → Process

細胞加工物・原料等の品質特性・規格 (例:iPS細胞由来製品)



医薬品等の設計可能性

<属性別>

理化学的安定性 理化学的同等性 不純物混入 薬物動態 薬効 毒性

設計可能



設計不能

“Drug Discovery”

<品目別>

低分子化合物 天然化合物 生薬 生物薬品 再生医療等製品
(細胞加工物)

設計可能

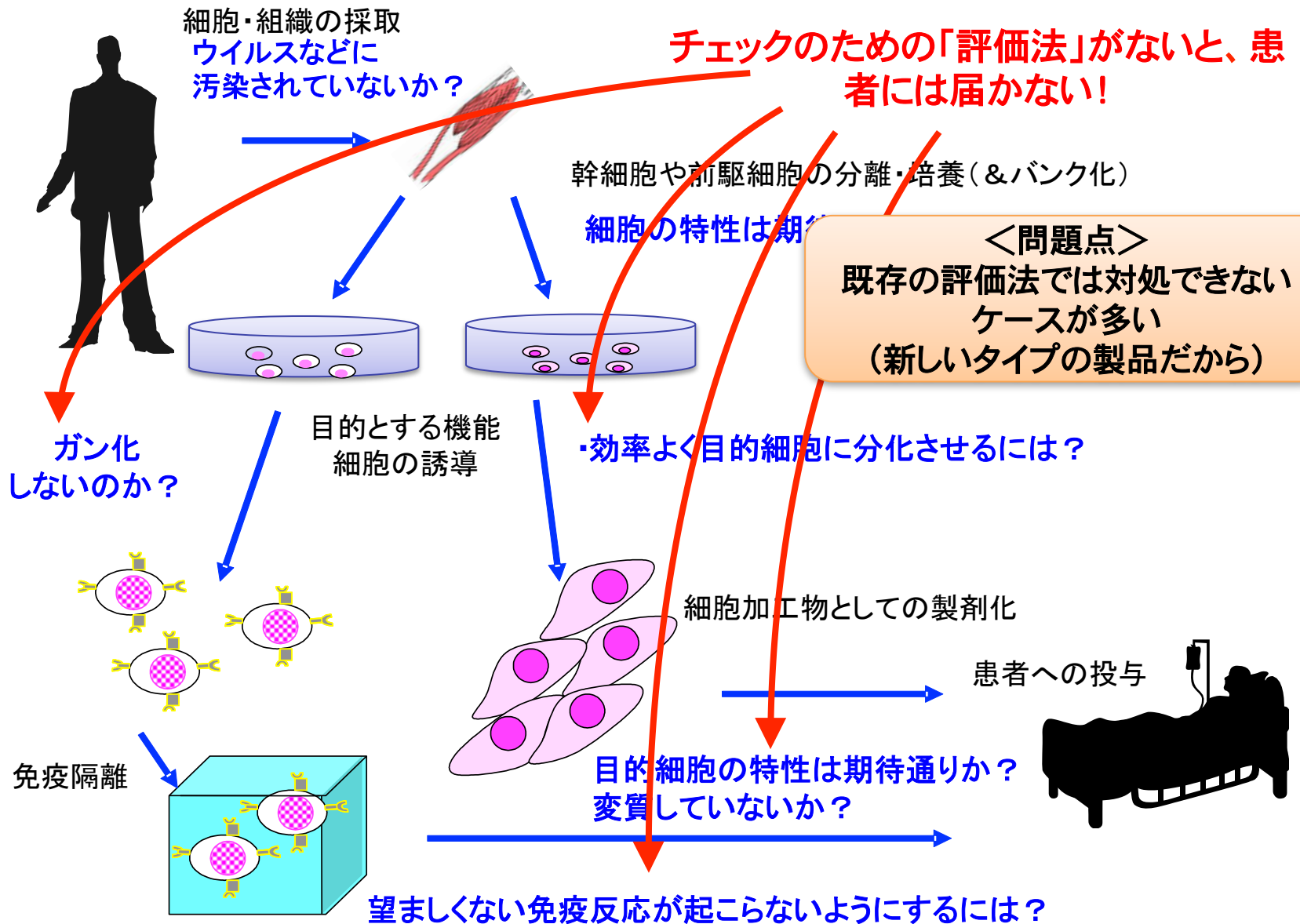


設計不能

素材(部品)の特性から再生医療等製品(最終製品)の有効性・安全性は設計できない

最終製品の有効性・安全性が確保できるように最終製品・中間製品・素材の品質・規格を設定

再生医療用細胞加工物の品質・有効性・安全性の確保



何をどう評価すべきなのか？

再生医療等製品（細胞加工物）の実用化における主な科学的課題

1. ウイルス安全性（同種由来 vs. 自己由来）
2. 原材料として供される細胞の特性解析と適格性
3. 細胞基材以外のヒト又は動物起源由来製造関連物質の適格性
4. 細胞基材としてのセル・バンクの樹立と管理のありかた
5. 最終製品の品質の再現性を達成するための包括的な製造戦略、製造工程評価
6. 最終製品を構成する細胞の有効成分としての特性解析
7. 最終製品の必須品質特性の同定と規格設定（最終製品の品質管理）
8. 製法／セル・バンクの変更による新旧製品の同等性の検証
9. 非臨床安全性試験・非臨床POC試験のデザインと解釈
10. 造腫瘍性試験のデザインと解釈（特にES/iPS細胞由来製品）
11. 最終製品の免疫原性評価
12. 臨床試験のデザインと解釈
13. 有効性・安全性のフォローアップのあり方

原料の
安全性・
適格性

最終製品の品質確保

前臨床段階での
安全性・有効性の予測

臨床評価の
あり方

何をどう評価すべきなのか？

再生医療等製品(細胞加工物)の実用化における主な科学的課題

1. ウイルス安全性(同種由来 vs. 自己由来)
2. 原材料として供される細胞の特性解析と適格性
3. 細胞基材以外のヒト又は動物起源由来製造関連物質の適格性
4. 細胞基材としてのセル・バンクの樹立と管理のありかた
5. 最終製品の品質の再現性を達成するための包括的な製造戦略、製造工程評価
6. 最終製品を構成する細胞の有効成分としての特性解析
7. 最終製品の必須品質特性の同定と規格設定(最終製品の品質管理)
8. 製法／セル・バンクの変更による新旧製品の同等性の検証
9. 非臨床安全性試験・非臨床POC試験のデザインと解釈
10. 造腫瘍性試験のデザインと解釈(特にES/iPS細胞由来製品)
11. 最終製品の免疫原性評価
12. 臨床試験のデザインと解釈
13. 有効性・安全性のフォローアップのあり方

原料の
安全性・
適格性

最終製品の品質確保

前臨床段階での
安全性・有効性の予測

臨床評価の
あり方

再生医療等製品(細胞加工物)の造腫瘍性評価の問題点

再生医療等製品(細胞加工物)は生きた細胞を含む

＝製品中の細胞が異常増殖をして腫瘍を形成する恐れ

・・・ここまでは誰もが理解できる

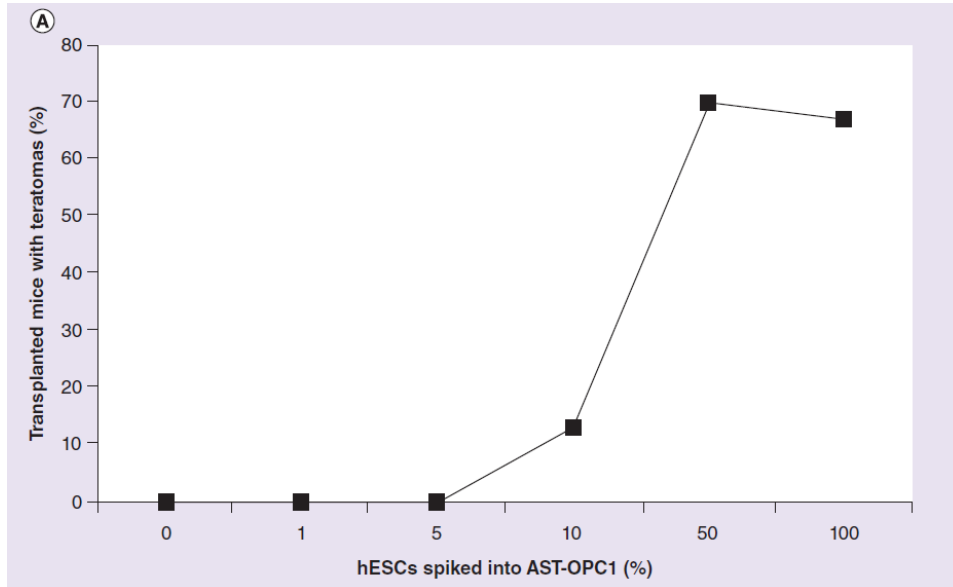
では、どうすれば造腫瘍性の評価が可能か？

・・・実は誰もよく知らない

世界初ヒトES細胞加工製品開発時の造腫瘍性試験 (ヌードラットでの試験の未分化ES細胞の検出感度)



脊髄損傷治療用ES細胞由来オリゴデンドロサイト



開発者の説明

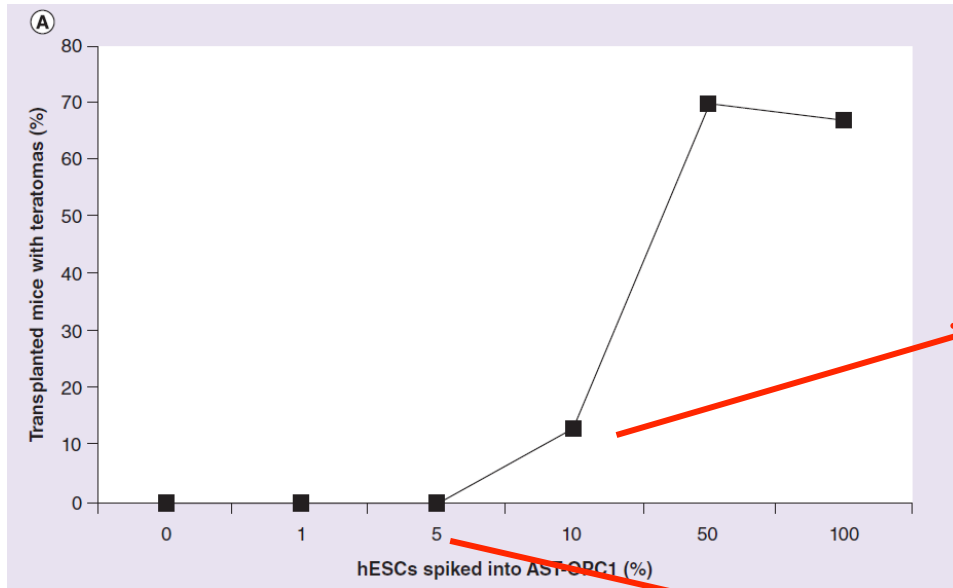
「200万個のES細胞の移植では高確率で腫瘍ができるが、同数の製品細胞の移植時にはテラトーマ形成はない。」

(試験計画: 第1相で200万個/患者)

世界初ヒトES細胞加工製品開発時の造腫瘍性試験 (ヌードラットでの試験の未分化ES細胞の検出感度)



脊髄損傷治療用ES細胞由来オリゴデンドロサイト



Priest et al., Regen Med 2015;10.2217/rme.15.57

開発者の説明

「200万個のES細胞の移植では高確率で腫瘍ができるが、同数の製品細胞の移植時にはテラトーマ形成はない。」

(試験計画: 第1相で200万個/患者)

「最終製品の造腫瘍性はES細胞の200万分の1未満」と錯覚してはいけない

- この試験系の感度は、**10%(20万個)**のES細胞が混ざっていないとその造腫瘍性を検出できない程度。つまり「腫瘍ができなかった」という結果は、「最終製品の造腫瘍性は**ES細胞の10分の1未満**」ということを示しているにすぎない。
- 逆に、この試験系は**10万個(5%)**のES細胞の残留があっても**検出できない**。

疑問点: もっと高感度に検出する方法はないのか?

先端医療(再生医療等)の実用化で重要なこと

「目的に適った評価法を探す・作る」

混在未分化iPS/ES細胞の検出法の能力と限界

試験法	in vivo造腫瘍性試験 (NOG x Matrigel, 皮下投与)	軟寒天コロニー形成試験	フローサイトメトリー
目的	造腫瘍性細胞の検出	足場非依存的増殖 (悪性形質転換細胞)の検出	未分化な多能性幹細胞の検出
所要時間	12-16週間		1日
利点	<ul style="list-style-type: none"> 直接的 臨床適用相当部位の微小環境での造腫瘍性を評価可能 ⇒非臨床安全性試験に適用可能		<ul style="list-style-type: none"> 短時間・簡便 個々の細胞を解析し、マーカー分子の発現量を評価可能
欠点・注意点	<ul style="list-style-type: none"> 費用と時間がかかる 専用動物施設が必要 スループットが低い 腫瘍の由来が形質転換細胞か多能性幹細胞かを区別するには、病理的評価等が必要 	<ul style="list-style-type: none"> ヒトiPS細胞検出には使用できない(分散誘導性細胞死のため) 	<ul style="list-style-type: none"> 間接的 ゲーティングが結果に影響
検出限界又は検出力	hRPE 25万個中に1,000個(0.4%)の割合で混入するhiPS細胞を50%の確率で検出		hRPE中の0.1%のiPS細胞 (マーカー:TRA-1-60)
出典	Kanemura et al., Sci Rep. 2013	Kuroda et al., PLoS ONE. 2012	Kuroda et al., PLoS ONE. 2012

試験法	qRT-PCR	Droplet Digital PCR	GlycoStem-HP法	Essential-8/LN521培養増幅法
目的	未分化な多能性幹細胞の検出	未分化な多能性幹細胞の検出	未分化な多能性幹細胞の検出	未分化な多能性幹細胞の検出
所要時間	6時間	数時間	3時間以下 (培養上清回収から測定まで)	約1週間
利点	<ul style="list-style-type: none"> 迅速 簡便 高感度 	<ul style="list-style-type: none"> 迅速 簡便 高感度 	<ul style="list-style-type: none"> 非破壊的 簡便 高スループット 	<ul style="list-style-type: none"> 直接的 簡便 残存iPS細胞の特性解析が可能
欠点・注意点	<ul style="list-style-type: none"> 間接的 個々の細胞でのマーカー分子発現レベルは評価できない 	<ul style="list-style-type: none"> 間接的 個々の細胞でのマーカー分子発現レベルは評価できない 	<ul style="list-style-type: none"> 間接的 個々の細胞でのマーカー分子発現レベルは評価できない 培地成分が結果に影響 	<ul style="list-style-type: none"> 時間がかかる スループットが低い
検出限界又は検出力	hRPE中の0.002%以下のiPS細胞 (マーカー:LIN28)	ヒト心筋細胞中の0.001%のiPS細胞 (マーカー:LIN28)	HEK293T中の0.05%のiPS細胞(マーカー:H3+ポドカリキシン)	hMSC中の0.01-0.001%のiPS細胞 ヒト胚葉体中の0.1-0.01%のiPS細胞
出典	Kuroda et al., PLoS ONE. 2012	Kuroda et al., Regen Ther. 2015	Tateno et al., Sci Rep. 2014	Tano et al., PLoS ONE. 2014

細胞増殖特性解析(形質転換細胞の検出)



European Medicines Agency
Evaluation of Medicines for Human Use

EMA/724428/2009

ASSESSMENT REPORT FOR ChondroCelect

Common name: characterised viable autologous cartilage cells expanded ex vivo expressing specific marker proteins

Procedure No. EMEA/H/C/000878

自家軟骨細胞由来の
組織工学製品
(軟骨欠損治療)



http://www.gezondheid.be/index.cfm?fuseaction=art&art_id=9251

“In order to address the carcinogenic potential of ChondroCelect, the Applicant performed an *in vitro* study to evaluate senescence of human articular chondrocytes after serial passaging, using ChondroCelect culture conditions. Cells were kept beyond the routine cell culturing as suggested in EMEA/CHMP/410869/2006.

既定の期間を越えた継代の後の細胞老化を*in vitro*で評価

The results provide sufficient evidence that immortalisation of human chondrocytes during limited time in *in vitro* culture conditions would not occur, and that the risk of tumorigenic growth is negligible.

培養期間中不死化細胞の出現はない → 造腫瘍性増殖は無視できる

→ それ以上の試験を実施しなくてもよい

In view of these results, the absence of standard carcinogenicity studies was considered to be acceptable

疑問点: このような細胞増殖特性解析はどのくらいの量の不死化細胞を検出できるのか?

先端医療(再生医療等)の実用化で重要なこと

「各評価法の能力と限界を知る」

混在形質転換細胞の検出法の能力と限界

試験法	<i>in vivo</i> 造腫瘍性試験 (NOG x Matrigel, 皮下投与)	軟寒天コロニー形成試験	デジタル 軟寒天コロニー形成試験	細胞増殖特性解析
目的	造腫瘍性細胞の検出	足場非依存的増殖 (悪性形質転換細胞)の検出	足場非依存的増殖 (悪性形質転換細胞)の検出	不死化細胞 (形質転換細胞)の検出
所要時間	16週間以上	3-4週間	3-4週間	4週間またはそれ以上
利点	<ul style="list-style-type: none"> 直接的 臨床適用相当部位の微小環境での造腫瘍性を評価可能 <p style="text-align: center;">↓</p> 非臨床安全性試験に適用可能	<ul style="list-style-type: none"> 安価 悪性形質転換細胞を単離・特性解析できる 	<ul style="list-style-type: none"> 悪性形質転換細胞を単離・特性解析できる 	<ul style="list-style-type: none"> 安価で簡便 良性も悪性も幅広く不死化細胞を検出
欠点・注意点	<ul style="list-style-type: none"> 費用と時間がかかる 専用動物施設が必要 良性不死化細胞検出不能 	<ul style="list-style-type: none"> 造腫瘍性細胞の有無は間接的に判断 浮遊系細胞には使えない 良性不死化細胞検出不能 	<ul style="list-style-type: none"> 造腫瘍性細胞の有無は間接的に判断 浮遊系細胞には使えない 良性不死化細胞検出不能 イメージスキャナーが高価 	<ul style="list-style-type: none"> 造腫瘍性細胞の有無は間接的に判断 (良性と悪性を区別できない)
検出限界 または 検出力	hMSCに $1/1E+6$ (0.0001%) の割合で混入するHeLa細胞 (10個)を17%の確率で検出	hMSCに $1/1E+3$ (0.1%) の割合で混入するHeLa細胞 (計算上は0.02%)	hMSCに $1/1E+7$ (0.00001%) の割合で混入するHeLa細胞を検出可能	hMSCに $1/1E+5$ (0.001%) の割合で混入するHeLa細胞は検出可能
出典	Kusakawa <i>et al.</i> , <i>Regen Ther.</i> 2015	Kusakawa <i>et al.</i> , <i>Regen Ther.</i> 2015	Kusakawa <i>et al.</i> , <i>Sci Rep.</i> 2015	Kono <i>et al.</i> , <i>Biologicals.</i> 2015

先端医療(再生医療等)のレギュラトリーサイエンス

- 技術の進歩により登場する新しいタイプの製品の開発の速さに評価法の開発が追いついていない
 - ⇒ 新しいタイプの製品が登場しても、その安全性・有効性・品質を評価する方法に乏しい (例: 再生医療、遺伝子治療、核酸医薬)
- 技術の進歩により新しいタイプの分析ツールが開発されても、医薬品等の評価法として使えるのかがわからない
 - ⇒ 新しいタイプの分析ツールを医薬品評価に用いた時の能力と限界がわからない (例: 次世代シーケンサー、デジタルPCR)

Regulatory Science ⇒ 製品の評価法の開発と検証

ステークホルダーが評価法の能力・限界についての理解を共有しないと、先端医療の実用化・社会受容は不可能

“イノベーション”