

平成25年度 再生医療等産業化促進事業
(先天性巨大色素性母斑、自家培養表皮ジェイス／
肘・足関節軟骨欠損、自家培養軟骨ジャック／
皮膚醜形、新型培養表皮)

報告書

平成26年3月

委託元 経済産業省

委託先 株式会社ジャパン・ティッシュ・エンジニアリング

経済産業省 平成25年度再生医療等産業化促進事業 成果報告書

1 はじめに

申請者らは、経済産業省が募集する委託事業、平成25年度「再生医療等産業化促進事業」について、その内容ならびに実施すべき業務等を熟慮し、本報告に示す内容として実施した。

すなわち、わが国における再生医療産業の促進を目的に、再生医療製品等の優れた技術シーズを製品化させるべく、規制当局の円滑な審査に資することを目指した評価手法の開発を試みてきた。そのため、まずは申請者らの有する臨床開発段階に入っている案件を対象に、臨床試験実施までのプロセスを通じて、個々の再生医療製品等に特有となる安全性、有効性等に関する評価項目やその基準値等を明確にし、合理的な評価手法を開発することを目指した。

本事業での対象は、薬事法に準じた一連のプロセス、すなわち①臨床試験、②製造工程合理化、③製造販売後の使用成績調査、④製造販売承認品目の適応拡大について、すでに製造販売承認を得ている品目や、臨床試験段階に入っている品目、ならびにその直前にある品目等を通じて、それぞれその内容を検証していくことにある。くわえて、それぞれのプロセスにおいて、企業主導、医師主導、大学発の技術等のバリエーションを持たせて企画した。

事業委託を決定され、また必要かつ不可欠なご支援・ご指導をいただいた経済産業省ならびにその担当者に深謝すると共に、本項の内容がわが国の再生医療産業の発展に寄与することを願っている。

2 自家培養表皮ジェイスの適応拡大（先天性巨大色素性母斑）

2.1 申請（採択）時に経済産業省に提出した内容

2.1.1 本事業にて策定を行う評価指標

本事業では、皮膚の創傷治癒に着目し、皮膚の再生医療の有効性評価項目と有害事象の間を明確に区別することを目的とする。すなわち、生理的に生じる皮膚の修復機転を考慮し、また日常生活における QOL ならびに運動制限をきたす状況など、真の有害事象と再生医療の効果との区別をすべく評価方法を確立する。

2.2 実施事項

2.2.1 概要

現在まで医師主導治験は良好に推移している。今回、医師主導治験に登録され、自家培養表皮が移植された患者を対象に企業主導の長期フォローアップ治験を計画した。実施医療機関、医学専門家および治験調整医師は、医師主導治験からの治験実施体制を継承した。治験実施期間の妥当性、安全性評価の妥当性、詳細なプロトコル内容について行った PMDA との事前面談では、治験相談の実施が望ましいとの見解であった。PMDA との治験相談の結果では、「上皮化完了後の移植部位の状態」、「有害事象および不具合発現」、「安全性評価」を主要評価項目とすること、および治験実施期間については、初回移植から 1 年後までを観察期間とすることで合意した。その後、治験計画届書を PMDA へ提出し受理され、現在、実施予定医療機関において治験開始のための契約手続きを実施中である。

2.2.2 疾患の調査

先天性巨大色素性母斑は、生まれつき存在するいわゆる黒褐色の母斑で、体幹、四肢、頭部などに現れる大きなサイズ、成人で直径 20 cm 以上、幼児では体幹で 6 cm、頭部で 9 cm に相当するものを言う。色素性母斑は、メラノサイトが真皮と表皮の境界や真皮に蓄積されることで生じる。小規模な母斑は成長と共に消失又は軽快するが、巨大な母斑については、成長と共に軽快することはなく、将来的に悪性黒色腫を発症する恐れがある。わが国での本疾患に由来する悪性黒色腫の発症率は 3%程度であるが、その 50%が 3 歳までに発症すると言われているため、母斑部位の早期の切除が望まれている（図 2-1 参照）。

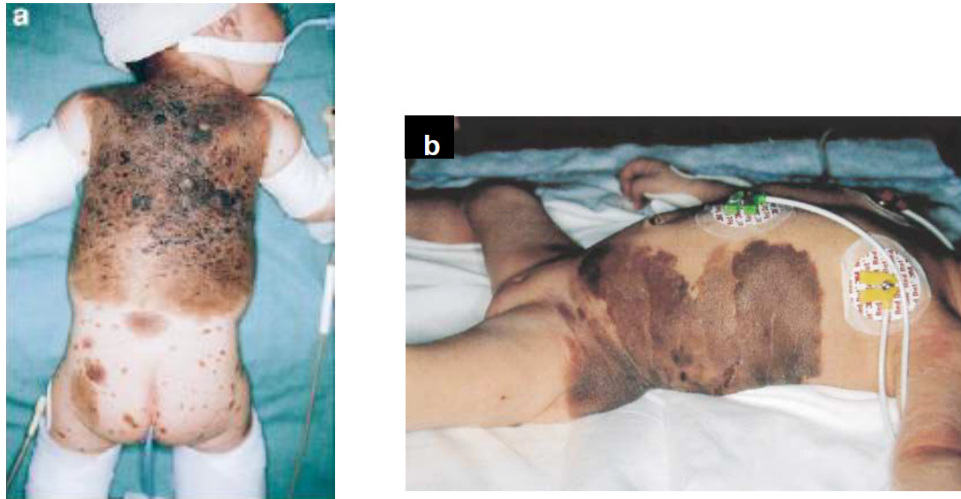


図 2-1 先天性巨大色素性母斑

a : De Raeve LE, *Arch Dermatol* (2002), b : Casanova D, *Br J Dermatol* (1998)

2.2.3 既存の治療法と課題

本疾患に対する治療法には、切除縫縮、分割切除、エキスパンダー法、植皮術、レーザー治療、搔爬術などさまざまな方法が報告されており、これらを組み合わせて実施されることが多い。しかし、これら従来の治療法は手術侵襲が大きく、健常部分にも新たな傷跡を残すこと、創部に肥厚性瘢痕をきたす可能性があること、対象が新生児および乳幼児であり、術後の滲出液などの創管理が難しいこと、また複数回にわたる移植手術を要することなど、多くの問題を抱えている。

切除縫縮法および分割切除法などの母斑組織を全て切除する手術的療法は、先天性母斑からの悪性化の予防などを考慮すると最も有用な方法であるが、単純縫縮術が不可能な程度の大きさの母斑を早期にすべて切除することは難しい。色素性母斑には、真皮より深い部分の脂肪組織や筋肉中隔にまで至っている例も多く、皮膚を完全に切除しても病巣を完全に取り除けない場合もある。また、幼少期の過剰な切除または縫合は、骨格の成長に影響を及ぼす可能性がある。

エキスパンダー法は、3～6 ヶ月程度エキスパンダーを皮下に埋入させて進展させ、その皮膚を母斑切除部の修復に用いる方法である。エキスパンダーの埋入の間に感染症を合併するリスクがあり、また、小児に対して行くと、部位によっては骨格の変形や成長障害を起こす可能性がある。植皮術は、患部周囲の正常な皮膚から移植用皮膚を採取し、母斑切除部に移植する方法である。採皮部に大きな採皮創を生じる問題点があり、幼児では体が小さいため、十分に移植用皮膚を確保できない恐れがある。

レーザー治療はメラノサイトにレーザーをあてることで破壊する方法で、侵襲が小さく、生後早期に行うためには有効な方法である。しかし、その効果はまだ十分ではなく、肥厚性瘢痕化が起きた症例が少なからず報告されている。また、同一部位に 10 回以上の複数回の照射を必要とし、さらに、一度に広範な面積を行うのも現時点では困難である。さらに、レーザー照射が母斑細胞を刺激し、逆に悪化する可能性が示唆されている。

近年 Moss らが提唱した搔爬術は、キュレタージュと呼ばれる方法である。生後 3 ヶ月

位までの早期の巨大色素性母斑の組織にはcleavaged planeという物理的な力で自然にはがれる層が真皮網状層の上方に存在する。鋭匙を用いて病変部を搔爬すると、cleavaged planeよりも浅い層がはがれる。色素を持った母斑組織は、ほとんどの場合、この浅い層に存在するため、残った皮膚の中に皮膚付属器が残存しており、植皮をすることなく自然に上皮化が起きる。本法は、色素性病変部を広範に容易にかつ速やかに除去でき、その組織学的特性により出血量が少なく、かつ一様な層で色素性病変部を低侵襲下で除去できる点で優れている方法である。しかし、本法は生後早期にしか行えない上、患者の年齢や母斑の位置・状態など個々の状況によりその適応範囲が異なるため、搔爬術のみで母斑を完全除去することは難しい。通常、搔爬術後はドレッシング材料等を用いて創面を覆い、上皮化するのを待つが、上皮化が遷延した場合、肥厚性瘢痕になる可能性がある。加えて上皮化までの感染の危険や滲出液の管理、新生児の管理が困難であることから、幅広い普及には至っていない。

2.2.4 治験実施の根拠

上記のように本疾患は、将来、悪性黒色腫や神経皮膚黒色症を発症する恐れがあり、その発症率は1.8～45%と報告者により差がみられるが、国内の発症率は一般的に3%程度とされている。また、最近では、本疾患患者は一般の人々と比較して、悪性黒色腫を発症するリスクが51.6%高いという報告がある。本疾患患者における悪性黒色腫の発症は、50%が3歳までに、10%が後期乳幼児期に、さらに10%が思春期に起きており、その結果、70%が13歳までに悪性黒色腫を発症するといわれている。そのため、できる限り幼児期初期に、また整容的な問題から集団生活を行う就園前に母斑の除去を行うことが望ましいと考えられている。

搔爬術または切除術をより有効な治療とするためには、術後迅速に上皮化させることが必要と言われている。近年、本疾患の治療にGreen型自家培養表皮を使用した症例報告がなされ、有用性が期待できる結果が示されている。

真皮層を残して切除した部位に、この自家培養表皮を移植することにより、上皮化を促進し、肥厚性瘢痕化を防ぐとともに、滲出液の管理が行いやすくなると考えられる。また、自家培養表皮は患者細胞由来であるため、拒絶反応を起こす恐れがなく、さらに創部には真皮が温存されているため、培養表皮が生着しやすいという利点をもっている。

治験機器は、既に承認品目であるジェイスで適切な製造方法の確定と重症熱傷患者に対する有効性および安全性の評価が行われている。製造販売承認を受けている適応疾患である重症熱傷に比して、真皮層を残して母斑細胞を除去した部位に治験機器を移植することで、創傷治癒を促進し、真皮層を残した切除（搔爬・ダーマトーム等）をより有益な治療法とする可能性があると考えられるため、治験を実施するに至った。

2.2.5 リスクとベネフィット

本疾患の治療において、真皮層を残した切除（搔爬・ダーマトーム等）は、一度に広範囲の母斑を除去可能であり、自然な上皮化が起こるという点で優れた方法である。しかし、

施行後の創面はやけどと同じような状態であり、滲出液、創面の管理、体液の漏出管理が必要であること、創部の感染が起こりやすく、いったん感染が起こると高率に肥厚性瘢痕を生じやすいといった欠点がある。

しかしながら、真皮層を残した切除に本治験機器を併用することで、上記の欠点を軽減し、その有用性を高めることができれば、術創部位の保護、感染リスクの低減、表皮形成の促進および整容的に問題の少ない術後状態が期待できると共に、本疾患に起因する悪性黒色腫発症のリスクを軽減することが期待できる。それによって、患者本人やその家族の精神的負担を取り除き、QOL の向上につながると考えられる。

2.2.6 治験プロトコール

上記経緯における、関連有識者会議、並びに PMDA との相談の結果、治験プロトコールを確定した。要約すると、治験のエンドポイントは、「上皮化完了後の移植部位の状態の変化」、「有害事象および不具合発現」、「安全性評価」で、副次的な評価として一般状態、臨床検査を設定した。また観察期間は初回移植後 1 年とした。

【治験実施計画書の概要】

治験の目的： 本治験は先天性巨大色素性母斑患者を対象とした自家培養表皮の臨床試験（以降、医師主導治験）に登録された症例のうち、ジェイス移植例を対象とし、長期的な安全性を確認することを目的とする。

対象疾患： 先天性巨大色素性母斑

選択基準： 1) 本治験の内容を本人又は代諾者に説明し、文書による同意が得られている患者。
2) 医師主導治験に登録され、治験機器が移植された患者。

除外基準： 1) 同意取得時に医師主導治験以外の臨床試験に参加している患者、又は本治験参加中に他の臨床試験に参加する可能性のある患者。
2) その他、治験責任医師又は治験分担医師が本治験実施にあたり対象として不適と判断した患者。

治験デザイン： 単一治療群、多施設共同非盲検試験

主要評価項目： 上皮化完了後の移植部位の状態
有害事象および不具合発現
安全性評価

調査項目： 1) 上皮化完了後の移植部位の状態
移植部位のびらん・潰瘍化、瘢痕拘縮、感染について、調査票を用いて治験機器初回移植後 6 ヶ月目および 1 年目に調査する。本治験登録時に既に 6 ヶ月目が過去の期日となっている被験者の場合は、6 ヶ月目前後に来院した診療録を基に調査票を記入する（レトロスペクティブ）。本治験の参加者は特異な疾患であるため、遠路からの通院が余儀なくされて

おり、患者並びにその保護者の通院の便も配慮する必要がある。通常診療においては術後 4 ヶ月目～9 ヶ月目にかけて経過観察のための来院が実施されていることから、許容範囲を治験機器初回移植後 4 ヶ月目～9 ヶ月目と設定した。

2) 有害事象

同意取得日から治験機器初回移植後 6 ヶ月目、1 年目、又は中止日までの有害事象について調査する。なお、医師主導治験終了後から本治験の同意取得前までに発現した有害事象については、同意取得日、又は初回観察時に調査する。これらの事象については、レトロスペクティブな調査となることを考慮し、治験担当医師確認日および確認手段についても、可能な限り情報を収集する。

3) 一般状態

治験機器初回移植後 6 ヶ月目および 1 年目に全身状態を観察する。また、治験が中止された場合には、可能な限り中止前後で全身状態を観察する。

4) 臨床検査

治験機器初回移植後 1 年目に下記項目を測定する。また、治験が中止された場合には、可能な限り中止前後で下記項目を測定する。

血液学的検査、血液生化学検査、免疫血清学検査

5) 移植部位の腫瘍性病変、アレルギー症状および感染症の発現の有無
治験機器は被験者の細胞、動物由来原料を用いて製造するため、再生医療製品特有のリスクを完全に否定できない。そのため、以下の事項について調査する。

【検査・観察項目のスケジュール】

項目	同意取得日	治験機器初回移植後		
		6 ヶ月目 (4 ヶ月目～9 ヶ月目)	1 年目 (±2 ヶ月)	中止日 (±35 日)
文書同意	●			
選択基準・除外基準の確認	●			
被験者背景	●			
上皮化完了後の移植部位の状態（調査票への記入）		(●)	●	●
一般状態		(●)	●	●
臨床検査			●	●

安全性評価			●	●
移植部位の写真撮影		(●)	●	●
有害事象	●			

2.2.7 治験プロトコール策定までの討議内容

治験実施計画の説明のため、治験調整医師および治験責任医師等を対象に研究会を2013年12月21日に実施した。先行する医師主導治験において有効性の評価は終了しているため、今回のフォローアップ治験においては安全性の評価を主眼とするという観点から、有害事象の基準等の討議を実施し、想定される有害事象を明確にしたうえで、評価を重点的に行うことと定めた。

上皮化後の移植部位の状態（質感、色調、瘢痕等）について臨床医等の見解を聴取した結果、質感、色調については、重症度の判断や異常所見とする判断根拠が乏しく、巨大色素性母斑の治療上重要な観察項目ではないとの見解で一致し、観察項目を見直すこととなった。その結果、移植部位の状態に関する安全性情報については、巨大色素性母斑の治療上、臨床的に重要と考える項目について、予測できるものは予め項立てを行い、収集方法を統一することで合意した。

予測できる有害事象としては、新たな潰瘍の発現、瘢痕拘縮、感染の有無で、追加の手術的処置があった場合には、その原因・理由とともに重点的に情報収集することで一致した。また、移植1年後の状態だけでなく、全症例を対象に可能な限り本治験開始早期の同意取得を目指し、それ以前の安全性情報を収集することとした。

上皮化完了後の移植部位の状態、有害事象については、長期経過の評価を行うため、被験者によってはレトロスペクティブな調査となる期間が含まれるものの、早期に同意取得を実施し、可能な限りプロスペクティブな情報収集ができるよう移植6ヶ月目および1年目に観察することで合意した。また、研究会後の治験調整医師および医師主導治験調整事務局との追加検討協議にて、移植部位の状態における質感、色調については、重症度の判断や異常所見とする判断根拠が乏しく、巨大色素性母斑の治療上重要な観察項目ではないとの見解で一致し、臨床的に重要としている上皮化完了後の移植部位の「びらん・潰瘍化」、「瘢痕拘縮」、「感染」を観察項目として設定した。

情報収集の方法は、治験実施医療機関間、医師間等によるバイアスを極力避けるため、本治験用に新たに作成した調査票を使用することとした。通常診療と比べ、これらの評価項目がどのような挙動を示すのかを確認することにより、医師主導治験の上皮化に関する情報と併せ、ジェイスが母斑治療に安全で且つ有効な治療法となり得るか判断できる。治験実施期間については、母斑切除後、定常状態になるまでの期間は1年以内と考えられ、1年以内に創傷治癒機転に生じる事象は出尽くしてしまうとの判断より、本治験の観察期間は1年が妥当との研究会出席者の統一見解が得られた。

2.2.8 PMDA との治験相談

上記研究会を通じて、治験プロトコルを策定し、PMDA との治験相談対面助言を 2014 年 1 月 10 日に実施した。具体的には、主要評価項目の設定と治験実施期間の設定が懸案となった。すなわち、安全性評価項目として「上皮化後の移植部位の状態の変化」とした場合、移植 1 年後の移植部位の状態の評価の前に移植 6 ヶ月後の移植部位の状態の評価を実施することが必須となる。一方、本治験への組み入れ時期の関係で、一部の症例では 6 ヶ月時点の観察がレトロスペクティブとなるため、必ずしもすべての症例に対して「変化」が追えるものではない。加えて、本治験の目的は上皮化完了後の移植部位の状態を確認することであることから、主要評価項目は「上皮化後の移植部位の状態」、「有害事象および不具合発現」、並びに「安全性評価」とすることで合意に至った。その際、上皮化完了後から同意取得までの安全性情報は同意取得後可能な限り速やかに収集すること、上皮化完了後から同意取得日までの安全性情報はレトロスペクティブに収集される情報であることを考慮し、有害事象の内容に加えて、有害事象の発現日、有害事象が医師又は医療機関にて確認された日、並びに安全性情報の入手経路および該当医療機関の受診日の関係が明確にわかるように収集記録すること、同意取得日以降プロスペクティブに収集する有害事象については、「移植部位に異常を感じた場合」および「他科・他院を受診した場合」等について治験責任医師又は治験分担医師に受診又は報告するよう説明同意文書に明記し、適切に収集すること、レトロスペクティブに収集した情報と同意取得後にプロスペクティブに収集した情報は明確に区別できるように記録しておくこと、および医師主導治験と本治験とのデータ併用による解析については、本来行うべき本治験により収集したデータ解析をまず行った上で、別途、複数の治験データを併合する解析を実施するよう指摘があった。

2.2.9 有害事象の考え方への提案

再生医療製品は、これまでの医薬品・医療機器とは異なった異常評価が必要である。すなわち、医薬品における副作用、医療機器における不具合等と比較して、自家細胞であること、生きている細胞であること、それ自体が生着することに主眼を置いていること等を配慮すべきである。

実施者らは外部有識者による討議を通じて、本件に関する考えをとりまとめ、必要に応じて当該概念を提案することとした。その結果、次のような意見をいただいた。これらは、再生医療事業を遂行している実施者らにとっても、きわめて合理的な考え方であり、今後、適切な場所にて、その内容並びに意義を主張していくこととした。

- 再生医療製品にて対応が必要な副作用または不具合は、通常の医薬品・医療機器のそれとは異なった配慮が必要である。とりわけ、生きた細胞ゆえの生着不十分であった場合等において、それが有効性の発揮不良なのか副作用・不具合なのかの区別がつきにくい点が特徴的である。
- 生じた有害事象が、既知の事実であるのか、未知の事実であるのか、実際の実施例（臨床例）に限られた中では、未知の事実として取り上げるべき項目が多くなってしまう

可能性が高い。容易に想定できる内容と、制度上の未知の事実との間には、少なからずギャップが存在し、現行制度では、現実合わない対応が求められることが想定できる。

- 以上を鑑み、再生医療の場合には、リスクマネジメントの観点から臨床使用上で生じる可能性のある副作用、不具合等について、あらかじめ列記しておき、これを想定内の事象、または想定外の事象として区別する対応も合理的であろう。

2.3 今後の展望と課題

本年度は、治験参加医師による治験計画検討のための研究会を実施し、PMDA との治験相談を終了し、治験実施計画書を確定し、既の実施されている医師主導治験を受けて、その後の安全性確認のためのフォローアップ治験を開始した。本件については医師主導治験の結果がまとめ次第、ジェイスの適応に先天性巨大色素性母斑を追加するための製造販売承認事項一部変更承認申請に関する申請前相談を PMDA と実施し、PMDA の見解を得た上で一部変更承認申請を行う予定である。その後、審査の過程で、フォローアップ試験の結果をまとめて審査部に提出し、先に提出した医師主導治験の結果と併せて評価を受けることを考えている。現在のところ、申請前相談は 2014 年 10 月、一部変更承認申請は 2015 年 2 月を予定している。

一方、本項で冒頭に示した、真の有害事象と再生医療効果の限界との間をうめるべき評価基準が定まっているとは言えない。本件のように、再生医療製品の臨床試験ならびにそのフォローアップを適切に行い、多くの経験を蓄積することがきわめて重要である。くわえて、有害事象の考え方への提案で示したように、前述の経験を有識者らに示し、現状の適切な理解のもとで制度設計・評価基準設定がなされることを期待する。

3 自家培養軟骨の適応拡大（肘および足関節軟骨欠損）

3.1 申請（採択）時に経済産業省に提出した内容

3.1.1 本事業にて策定を行う評価手法

肘関節軟骨欠損にまつわる評価基準を策定するべきである。さらに、これら基準は、軟骨修復の程度評価に用いられることを想定しており、臨床症状と関節鏡所見、MRI等の画像診断を複合的に考えるものとする。すなわち、評価対象すべてをポイント制とし、合計点にて評価をするなどの手法確立を試みる。

3.2 実施事項

3.2.1 概要

これまでに、自家培養軟骨ジャックの肘関節への適応拡大に関して、専門医との治験実施に関する相談を行ってきた。これを通じて、肘関節軟骨欠損の評価手法を検討した。今後、治験実施の確度が高まった段階で、正式に専門家会議を実施し、項目ごとに詳細を確定する予定である。一方で、PMDAと医療機器開発前相談の事前面談を2014年1月28日に実施した。内容は、前述の評価方法を含め、開発の意義および予定される治験実施に関するものである。医療機器開発前相談の対面助言を2014年3月13日に実施した。

3.2.2 上腕骨離断性骨軟骨炎の病態と治療

離断性骨軟骨炎は、関節軟骨と軟骨下骨が損傷され、最終的にそれらの分離を来す局所の病変である。青少年期のスポーツ障害であることが多く、発症が骨端線閉鎖前のものが若年型、閉鎖後のものが成人型と分類される。上腕骨離断性骨軟骨炎の発症の原因となるスポーツ種目は約85%が野球、続いて器械体操が多く、その他の球技や肘関節に荷重のかかるスポーツにより発症することもある。

上腕骨離断性骨軟骨炎の病態は、単純X線肘45度屈曲位正面像により透亮期（軟骨が壊死を起こし始めた初期の段階）、分離期（病巣部に分離した骨軟骨炎が確認される段階）、遊離期（骨軟骨炎が関節内遊離体として遊離している段階）の3期に分類される（図3-1参照）。

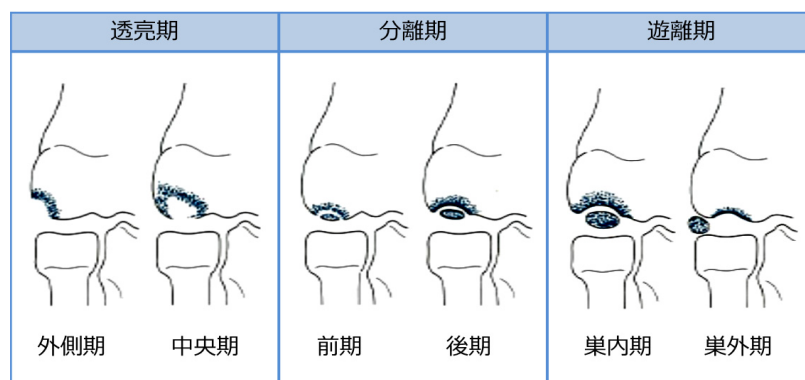


図 3-1 上腕骨離断性骨軟骨炎の病期分類と X 線所見

引用：肩と肘のスポーツ障害(菅野啓之編) 中外学社, P59-70 (2012)

透亮期で肘関節可動域制限がないものは、保存的治療による軟骨の自然修復が期待できる。野球における投球動作に起因する上腕骨離断性骨軟骨炎の場合、通常 6～12 ヶ月の投球禁止が必要であり、X 線像上で病変の半分以上の修復を認めてから罹患側での投球を許可するのが一般的と言われている。このような保存的治療では、完全復帰までに 1～2 年を要する。また、分離期前期であっても保存的治療を選択する場合がある。

分離期後期・遊離期では、欠損部の直径が約 10 mm 未満の場合、マイクロフラクチャーでの処置、骨軟骨片の固定術等が選択される。欠損部の直径が約 10 mm 以上の場合、モザイクプラスティ等の自家骨軟骨移植が適応となる。同じ分離期後期・遊離期でも欠損部の直径によって治療法が異なるのは、欠損面積が大きい場合、マイクロフラクチャーによる骨髄刺激等の治療法では十分な治療効果が得られないためである。

対象患者は、モザイクプラスティ等の自家骨軟骨移植が適応となる欠損面積の大きい患者を想定している。平成 23 年政府統計によると、継続的に医療を受けている離断性骨軟骨炎の患者数は約 6,000 例である。このうち肘関節の離断性骨軟骨炎は代表的なものであり、本機器の適応ともなり得るモザイクプラスティの適応患者は数百例以上と当社は予測した。その後の臨床医へのヒアリング調査では、想定される適応患者数は年間 1,000～1,500 例程度であろうとの見解であった。

3.2.3 上腕骨離断性骨軟骨炎の既存治療法の課題

【マイクロフラクチャー】

軟骨欠損部から骨髄へ達する穴を開け、骨髄細胞を伴う出血を促して欠損部に軟骨組織を形成させる方法である。本治療法で形成される軟骨組織は、正常な軟骨組織を構成する硝子軟骨ではなく、線維軟骨であるため、長期的には磨耗すると考えられる。

【モザイクプラスティ】

患者自身の膝関節非荷重部から関節軟骨組織を下層の骨を含めて円柱状にくりぬいた後、欠損部に移植する方法である。この方法は正常な硝子軟骨を含む骨軟骨柱を移植するため、欠損部を硝子軟骨で修復することができる。しかしながら、本治療法は移植する骨軟骨柱を膝関節から採取するため、侵襲性が高いという問題点がある。また、膝関節の骨軟骨柱が採取可能な面積には限りがあるため、欠損が直径 20 mm 以上の場合には、欠損の中央部のみの部分的な移植に限定される。さらに、移植部の表面が凹凸になり予後に影響することがある、可動域制限が大きい症例の場合は、可動域の完全回復が困難等の課題が挙げられる。また、小学生以下の若年の患者においては、骨軟骨柱の採取は骨の成長を妨げる可能性があるため、欠損面積が大きい場合でもモザイクプラスティの適応は避けられる。

3.2.4 自家培養軟骨ジャックのプロフィール

本機器は、患者から採取した軟骨組織より分離した軟骨細胞を、アテロコラーゲンゲルに包埋して培養し、患者自身に適用する自家培養軟骨である。膝関節における外傷性軟骨

欠損症又は離断性骨軟骨炎の臨床症状の緩和を目的に、2012年7月に製造販売承認（販売名；ジャック®）を取得した。ただし、適用は、他に治療法がなく、かつ軟骨欠損面積が4cm²以上の軟骨欠損部位に限られている。

関節の部位は異なるが、既承認の適応疾患と病態は同様であるため、上腕骨離断性骨軟骨炎患者に対しても、本機器は臨床上の利益をもたらすことができると考える（図3-2参照）。

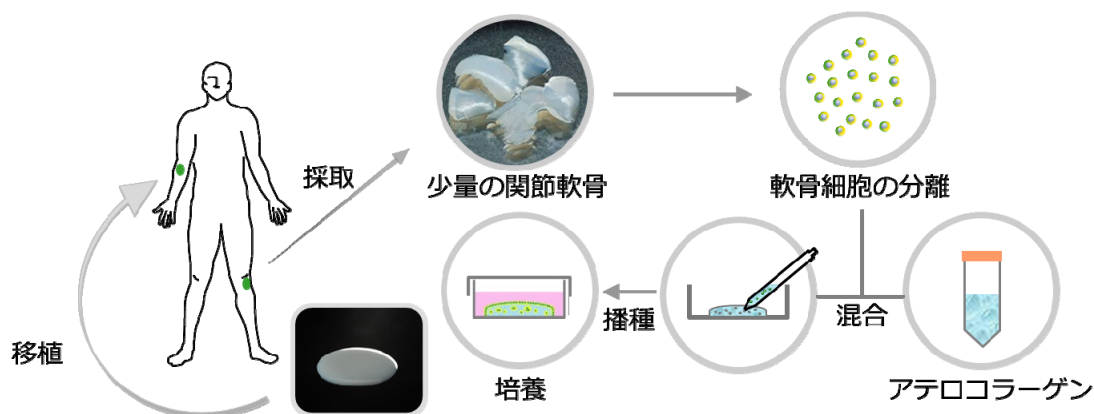


図3-2 自家培養軟骨の肘関節への移植

3.2.5 評価指標と対象に関する専門医からのヒアリング

自家培養軟骨ジャックの肘への適応に関しては、ジャック膝関節への適応を取得する際の申請前に実施した国内臨床試験J-TEC002治験において2症例の経験があったが、今回新たに肘関節への適応拡大を目指すにあたり、現状における肘関節軟骨欠損の治療実態について肘関節の専門医よりヒアリングを行った。

その結果、主要評価項目としては肘関節の機能評価スコアであるMayo Clinic Performance Index等の機能評価、副次評価項目として同じく肘関節の機能評価スコアであるTimmerman-Andrews Elbow Score、画像評価（MRI、X線、関節鏡）を使用することとした。

治験における対象患者は、骨端線閉鎖後の患者で比較的大きい面積の軟骨欠損のある上腕骨離断性骨軟骨炎とする方針を決定した。対象を骨端線閉鎖後の患者とした理由は、骨端線閉鎖前の患者では欠損部の自己再生が起こり、保存療法で治療可能である場合が多く、手術を選択しない場合が多いためである。また、移植部位である肘関節で骨端線の閉鎖が見られず成長軟骨が残っていると、既存治療法である自家骨軟骨移植術で治療した後の骨軟骨の結合がかえって悪くなる傾向がある。これは自家培養軟骨ジャックでも同様の可能性があるため、骨端線閉鎖後の患者を治験の対象患者としている。また、比較的大きい面積の軟骨欠損患者とした理由は保存療法や本治療法よりも侵襲の少ない骨穿孔法（マイクロフラクチャー）でも治療効果が期待できるためである。

上記の対象は既存治療法である自家骨軟骨移植術と重複する部分はあるが、自家骨軟骨移植術と比較して骨を含めた骨軟骨柱を患者から採取する必要がないこと、必要な採取組織の量が自家骨軟骨移植術より少ないことが本治療法のメリットである。

Mayo Clinic Performance Index

機能	ポイント（最高 100 ポイント）
疼痛	
なし	45
わずかにあり	30
あり	15
かなりあり	0
肘の屈伸	
100° 以上	20
50° ～ 100°	15
50° 未満	5
関節強直	0
関節動揺性	
正常（動揺性なし）	10
10° 未満の動揺性	5
10° 以上の動揺性	0
日常動作	
髪をとかす	5
食事動作	5
用便の始末	5
シャツの着用	5
靴の着用	5

Timmerman-Andrews Elbow Score

TABLE 3
Scoring system

Scoring	Subjective/objective	Overall
Excellent	90–100	180–200
Good	80–89	160–179
Fair	60–79	120–159
Poor	<60	<120
Subjective		Points
Pain		
None		25
Occasional		20
With moderate activity		10
With ADLs		5
Swelling		
None		25
Occasional with heavy activity		20
With moderate activity		10
With any activity		5
Locking/catching		
None		25
Rare		20
Occasional		10
Frequent		5
Activities		
No limit		25
Occasional limit		20
Partial activities only		10
Unable to work/difficulty with ADLs		5
Objective		
Flexion contracture		
<5°		25
5°–15°		20
16°–35°		10
>35°		0
Pronation/supination		
Normal		25
<30% decrease in total arc		20
<50% decrease in total arc		10
>50% decrease in total arc		0
Sagittal arc of motion		
>130°		50
120°–130°		40
110°–119°		30
100°–109°		20
75°–99°		10
60°–74°		5
<60°		0

引用：Timmerman LA and Andrews JR, *Am. J. Sports Med* 22:230-235 (1994)

3.2.6 評価指標に関する調査

肘機能評価については、現在までにさまざまなものが提案されている。このうちMayo Clinic Performance Indexは肘関節の機能評価において優れており、一般的によく用いられていたため、臨床試験J-TEC002においてはMayo Clinic Performance Indexを、機能評価基準として採用した。本治験においても、同様な理由にてMayo Clinic Performance Indexを選択した。そのため、臨床試験J-TEC002における上腕骨離断性骨軟骨炎2症例と同評価項目で結果を考察することが可能である。さらに、今回、肘関節の機能評価指標として使用されている多くの評価指標を検討した結果、当該研究報告でも多数使用されていることに加え、適切にバリデーションも取られている等、Mayo Clinic Performance Indexが主要評価項目として妥当であることを補強できた。

一方、副次評価項目の1つの指標としては、Timmerman-Andrews Elbow Scoreを使用する予定とした。Timmerman-Andrews Elbow Scoreは、Mayo Clinic Performance Indexのようにバリデーションは取られていないものの、スポーツ選手の機能評価にはMayo Clinic Performance Indexより優れているため、Mayo Clinic Performance Indexで評価しきれなかったスポーツ選手について、よりの確な評価ができるものと考ええる。

一方、治療効果の詳細を観察する目的で、副次評価として画像検査を設定した。これにより主要評価の結果との関連性等について考察できるものと考ええる。具体的には、Mayo Clinic Performance Indexでの評価結果と比較検討すること、本機器による軟骨の組織形成を評価することを目的として、MRI撮像を実施する。臨床試験J-TEC002においてはMRI撮像の条件を指定していなかったこと、事前に評価指標を明確にしていなかったことから、MRI画像が本機器の有効性を評価する根拠となりえなかった。これを踏まえ、本治験ではMRI撮像にあたり、撮像条件は強調画像（プロトン密度強調像およびT2強調像）を指定する。また、MRI画像を評価するスコアとして多くの報告で使用されているMOCART（magnetic resonance observation of cartilage repair tissue）を用いることを検討している。加えて、MRI画像の評価を客観的に行うため、治験担当医師以外の第三者による全症例の画像評価を行うことも想定した。撮像条件については、画像評価者を設けた後に、画像評価者と協議の上で追加および変更する可能性がある。MRI撮像に関する規定事項は、治験実施計画書に明記する予定である。

MOCART (magnetic resonance observation of cartilage repair tissue) Score

変数	分類	点数
軟骨修復および欠損充填の度合い	完全(周囲軟骨と同レベル)	20
	肥厚(周囲軟骨より突出)	15
	不完全(周囲軟骨より下, 満たされていない)	
	周囲軟骨の50%以上	10
	周囲軟骨の50%以下	5
	軟骨下骨が露出(完全な剥離あるいは転移かつ/あるいは遊離体)	0
辺縁との癒合	完全(周囲軟骨との完全な癒合)	15
	不完全(周囲軟骨との不完全な癒合), 境界を認める(分断様)	10
	欠損を認める	
	修復組織の長さの50%以下	5
	修復組織の長さの50%以上	0
修復組織の表面	表面は正常(輝板は正常)	10
	表面は傷害されている(線維化, 亀裂, 潰瘍)	
	修復組織の深さの50%以下	5
	修復組織の深さあるいは変性部位の50%以上	0
修復組織の構造	均一	5
	不均一あるいは裂隙あり	0
修復組織の信号強度	同強度	30
	やや高強度	10
	著しく高強度	0
軟骨下骨層	損傷なし	5
	損傷あり	0
軟骨下骨	損傷なし	5
	浮腫, 肉芽組織, 嚢胞, 硬化	0
癒着	なし	5
	あり	0
浸出液	浸出液なし	5
	浸出液あり	0
最大スコア		100

引用: Takazawa K et al, *J Orthop Sci* DOI 10.1007/s00776-012-0231-y (2013)

3.2.7 PMDA との開発前相談を通じた討議内容

本件開発に際し、上腕骨離断性骨軟骨炎患者に対して本機器を提供することの妥当性を PMDA と事前面談にて協議した。事前面談においては以下の指示があった。

- ① 対象（スポーツ選手か一般人か等）、治療のゴール（スポーツ復帰か日常生活動作の改善等）を明確にすること。
- ② 目指している「使用目的、効能・効果」（添付文書中の記載）を明確に述べること。

上記の指示を受けて2014年3月13日に対面助言を実施した。対面助言においては、上腕骨離断性骨軟骨炎への自家培養軟骨ジャックの開発意義について協議した。

PMDAからは、対面助言前の説明に対して、骨軟骨欠損が病態である上腕骨離断性骨軟骨炎に対して、本質が骨軟骨ではなく軟骨のみである自家培養軟骨ジャックの効果が期待できると考える理由について照会を受けた。

これに対し、実施者らは、自家培養軟骨ジャックにより下骨が修復されるという明確な非臨床試験データはないものの、自家培養軟骨ジャックの使用実績について以下の通り説

明した。参考までに、予定される治験の主要評価項目でもあるMayo Clinic Performance Indexを用いているためこれも示す。

膝関節への適応を取得する際の申請前に実施した国内臨床試験J-TEC002では、2症例の上腕骨の離断性骨軟骨炎の患者に対して骨組織の修復はせずに自家培養軟骨ジャックを移植した。その結果、移植前、移植3ヶ月、6ヶ月、および12ヶ月後のMayo Clinic Performance Indexの機能別のポイント数の推移およびそれぞれの時点の合計ポイント数の推移に改善傾向が見られた（図3-3、表3-1参照）。また、肘機能評価および関節鏡評価をもとにした有効性評価では、2例とも極めて有効と判断された。以上の結果は軟骨細胞のみが本質である自家培養軟骨ジャックだけでも骨軟骨欠損である離断性骨軟骨炎の治療が可能であることを示している。

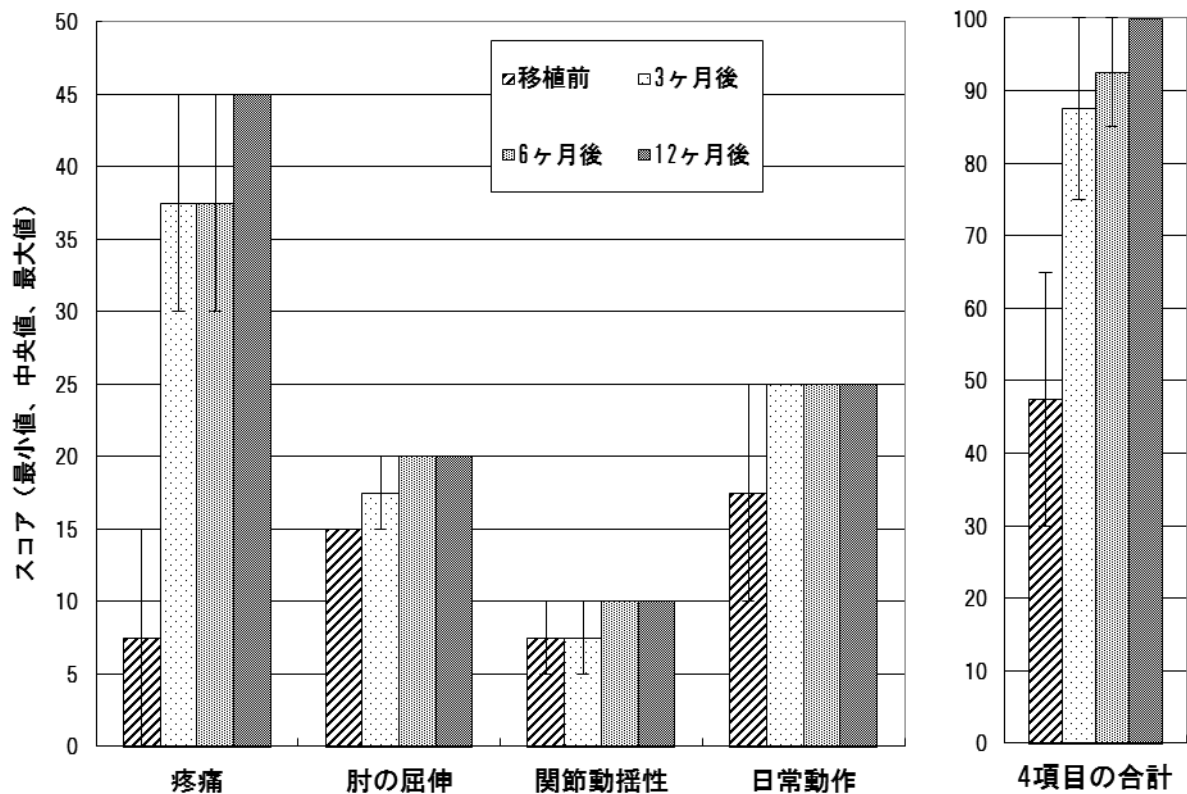


図 3-3 Mayo Clinic Performance Index の経時的変化

表 3-1 Mayo Clinic Performance Index の経時的変化

項目	時期	例数	Mean±S.D.	中央値	範囲	移植前との差		
						例数	Mean±S.D.	1 標本 Wilcoxon 検定
疼痛	移植前	2	7.5±10.6	7.5	0～15	-----	-----	-----
	3 ヶ月後	2	37.5±10.6	37.5	30～45	2	30.0±0.0	p=0.500
	6 ヶ月後	2	37.5±10.6	37.5	30～45	2	30.0±0.0	p=0.500
	12 ヶ月後	2	45.0±0.0	45	45～45	2	37.5±10.6	p=0.500
肘の屈伸	移植前	2	15.0±0.0	15	15～15	-----	-----	-----
	3 ヶ月後	2	17.5±3.5	17.5	15～20	2	2.5±3.5	p=1.000
	6 ヶ月後	2	20.0±0.0	20	20～20	2	5.0±0.0	p=0.500
	12 ヶ月後	2	20.0±0.0	20	20～20	2	5.0±0.0	p=0.500
関節動揺性	移植前	2	7.5±3.5	7.5	5～10	-----	-----	-----
	3 ヶ月後	2	7.5±3.5	7.5	5～10	2	0.0±0.0	p=1.000
	6 ヶ月後	2	10.0±0.0	10	10～10	2	2.5±3.5	p=1.000
	12 ヶ月後	2	10.0±0.0	10	10～10	2	2.5±3.5	p=1.000
日常動作	移植前	2	17.5±10.6	17.5	10～25	-----	-----	-----
	3 ヶ月後	2	25.0±0.0	25	25～25	2	7.5±10.6	p=1.000
	6 ヶ月後	2	25.0±0.0	25	25～25	2	7.5±10.6	p=1.000
	12 ヶ月後	2	25.0±0.0	25	25～25	2	7.5±10.6	p=1.000
4 項目の合計	移植前	2	47.5±24.7	47.5	30～65	-----	-----	-----

対面助言においては PMDA から開発意義について以下の見解を得た。

- ① 適応対象：本品は、上腕骨の内側や滑車部の骨軟骨欠損を適応対象として目指すことに異論はない。
- ② 骨膜採取：骨膜の採取は治療成績の安定化につながるため統一した方法にて実施すること。
- ③ Mayo Clinic Performance Index：スコアについて、臨床像との相関を示す必要がある。
- ④ 開発計画：本品の臨床上の位置付けを明確にすること。その上で、対照群の設定を検討し、対照群を置かない場合はその理由および検討結果の詳細、対照群を置かなくとも本品の評価が可能である理由を示すこと。

3.2.8 評価手法

上記の専門医からのヒアリングや PMDA との医療機器開発前相談を通じて、肘関節の有効性評価手法として、機能的評価としては Mayo Clinic Performance Index、Timmerman-Andrews Elbow Score、基質的評価としては MRI、X 線、関節鏡の画像による評価を考えている。

3.3 今後の展望と課題

本件については、PMDA との医療機器開発前相談の結果を受けて、機能評価および画像評価

の指標についてさらに継続検討する必要があると考える。先に示したとおり、実施者としては、機能評価として Mayo Clinic Performance Index、Timmerman-Andrews Elbow Score が適切であると判断した。今後、治験実施計画書案を完成させ、PMDA との治験相談を通じて、治験実施計画書を確定した後、治験を開始する。一方、本件実施のためのヒアリングを通じて、より患者に対する侵襲の少ない方法として、組織採取を肘の軟骨遊離片から行い培養する技術への期待が大きかった。そのため、肘の軟骨遊離片から自家培養軟骨を製造するに当たり品質管理に必要な評価指標についても検討する必要があると考え、その妥当性について検討する段階に入っている。

本件の課題としては、これら臨床評価基準が一定の臨床経験を実施した後に検討すべき内容であることである。当初、これら評価基準について、レトロスペクティブに調査することを想定していたが、これら再生医療における症例数がきわめて少ないため、必要な情報を集約することが困難であった。薬事法改正によってその考え方が具体化されると想定するが、有効性を記述する評価指標については、やはり一定の臨床経験を経た後に決定せざるを得ないことが明らかとなった。すなわち、必要な治療経験が無い中での有効性根拠となる臨床指標策定は今後の一般的課題と考える。

4 自家培養軟骨ジャックの製造工程合理化に関する検証① 製造工程の簡略化

4.1 申請（採択）時に経済産業省に提出した内容

4.1.1 本事業にて策定を行う評価手法

製造プロセスで実施すべき評価項目を合理的に取捨選択し、再生医療製品提供のための標準的手法を確立したい。すなわち、無菌環境モニタリングについて再生医療ならではの定義を加え、それに応じたプロセス管理ならびにその評価手法を構築する。本活動は、完成品の品質を損なうことなく、現状の製造工程の簡略化になると期待する。

4.1.2 本事業にて新たに国内製品に置き換えを検討している試薬・機器類等

細胞培養培地は、所望の品質が得られた場合には、暫時変更していく予定である。これについて、一部変更申請の要不要が重要となる。

4.2 実施事項

4.2.1 概要

自家培養軟骨の組織処理工程を簡略化すべく（自動培養装置への移管を容易にすべく）、マルチチューブの検証を行った。その結果、マルチチューブで良好な自家培養軟骨が完成でき、現場投入が可能なが示された。マルチチューブは、ヒト組織から単離細胞を得るため、洗浄・滅菌、各種酵素処置、細胞分散、細胞回収等、一連の製造工程を閉鎖小空間で実施でき、これまでのピペット操作とは大きく異なる内容である。そのため、将来の自動生産化に大きく寄与すると考える。本件を通じて、まずは小規模の自動化を行い、その後、完全自動化へのプロセスを考えていきたい。

一方、エアコントロールによる無菌環境設定構築への探索を行った。すなわち、自家細胞を用いた再生医療製品製造における最大の課題となっているチェンジオーバーの概念を変えるものを考案した（特許出願済み）。これについては、共同研究者とのコミュニケーション不備により、遅れが生じている。

培地薬液調製および管理の合理化検討として、軟骨組織より軟骨細胞を取り出すための酵素処理に使用するコラゲナーゼ溶液の合理的な調製方法について直接供給者から情報を入手した。

また、実際のジャックの生産施設を設計するにあたり、製造作業が円滑に行うための作業者の動線設計、妥当性のある清浄空調仕様の設定、並びに製造作業を管理するシステム導入と併せて合理的な生産を行える最適施設デザインを検討した。

ジャック製造原材料の国内製品への切り替え検討として、最重要原材料であるウシ血清についてその満たすべき要件を検討した。安全性が確保され世界的に医薬品製造原料として認められているオセアニア産血清の厳密な品質管理、品質保証、トレーサビリティ等について直接製造元から情報を入手し、今後国内産血清が供給される際に、当社から提示する満たすべき要求事項を確認できた。

4.2.2 マルチチューブの概要

自家培養軟骨の組織処理は、図 4-1 に示す手順で製造を行っている。

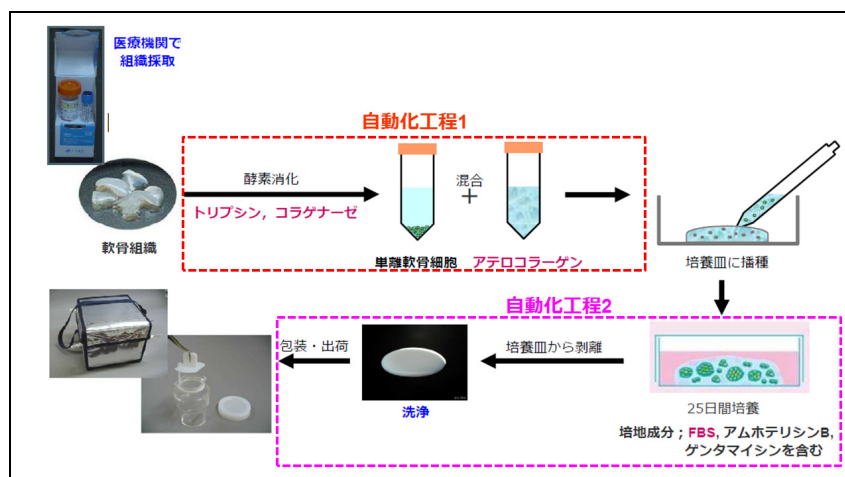


図 4-1 自家培養軟骨ジャック製造工程図

本件で検証したマルチチューブは、図 4-1 中の自動化工程 1 に示した軟骨細胞の単離までを閉鎖空間で簡便に行うことを目的に作製した物で、①キャップ、②パッキン、③セルストレーナー、および④チューブ（遠沈管）本体の 4 つのパーツから構成される（図 4-2 参照）。

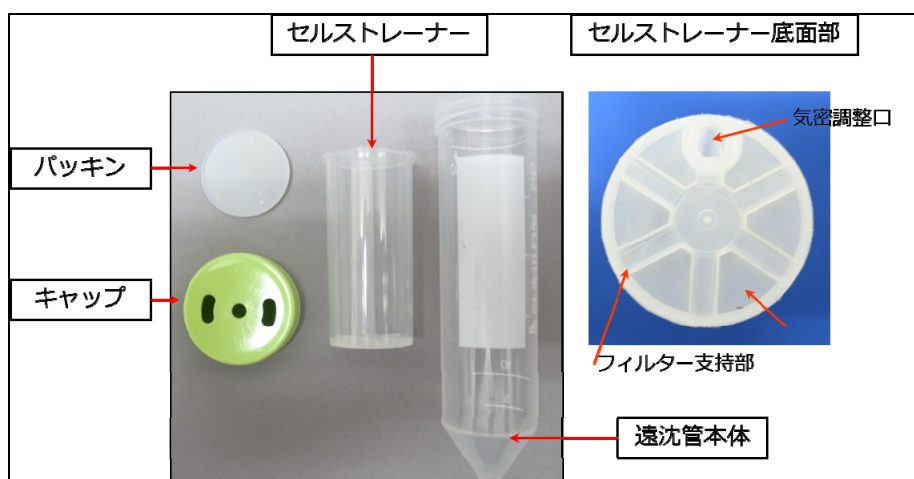


図 4-2 マルチチューブの構成

マルチチューブは、セルストレーナーに溶着したフィルターを介してチューブ本体を 2 室に分けた構造とし、上部を処理空間、下部を廃液空間とした設計を行った。この目的は、処理空間にて作用させる液剤を自由に交換および廃棄させ、目的とする細胞を回収することである。液交換は、キャップ部に接続する液剤を充填するチューブと廃棄するチューブによりマルチチューブ内の気圧をコントロールすることで行うことができる。操作方法を順に図 4-3～図 4-7 に示す。

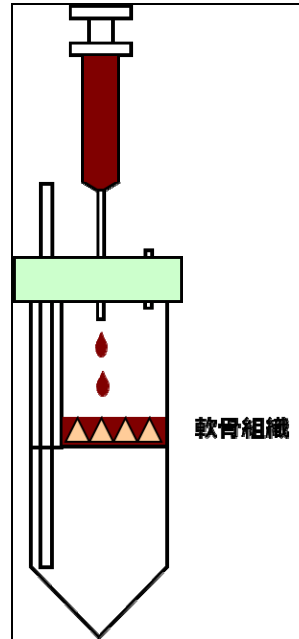


図 4-3 組織処理工程（軟骨組織消毒）

マルチチューブ上部の処理空間に軟骨組織を納め、次に消毒液を充填して消毒を行った後に、気圧を調整して消毒液を下部の廃液空間に移し、その後、消毒液を除去する。

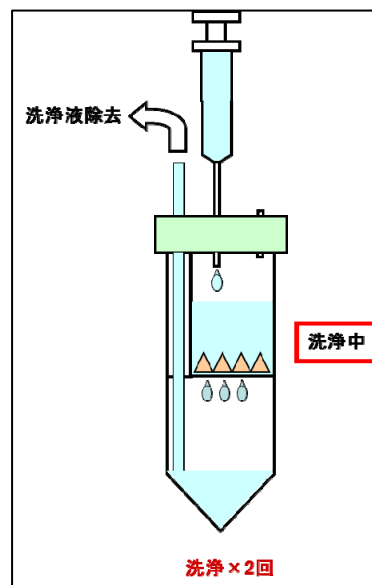


図 4-4 組織処理工程（軟骨組織洗浄）

処理空間の軟骨組織（消毒終了したもの）に、残留する消毒液を除去するために洗浄液を処理空間に充填し洗浄を行った後に、消毒液廃棄と同様の操作で除去する。

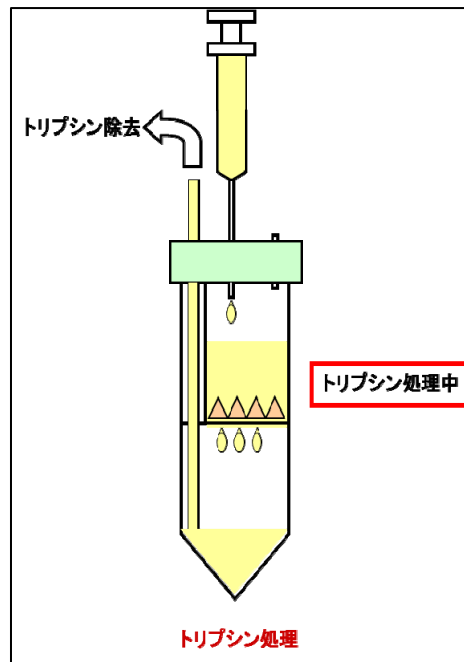


図 4-5 酵素処理（トリプシン処理）

軟骨組織より軟骨細胞を取り出すために、トリプシンによる酵素処理を行う。
マルチチューブの操作は消毒および洗浄操作と同様である。

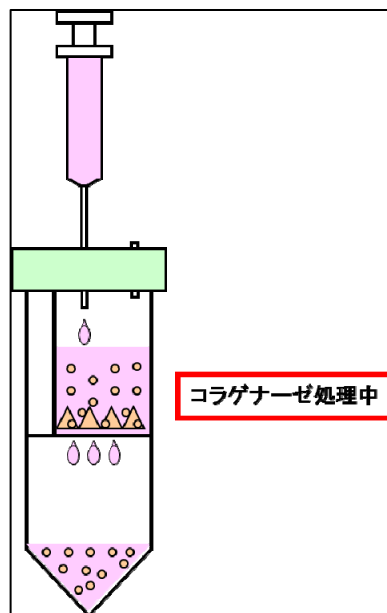


図 4-6 酵素処理（コラゲナーゼ処理）

軟骨組織より軟骨細胞を取り出し、処理空間に軟骨の残渣を残し、抽出した細胞のみを
フィルターを介して廃液空間に移す。

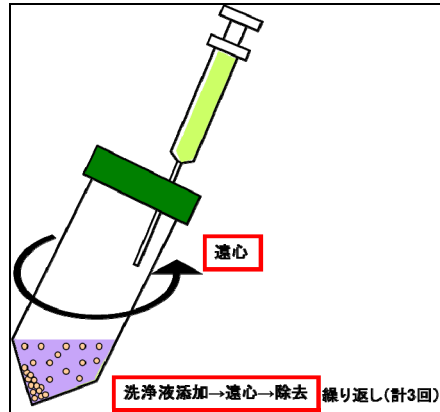


図 4-7 酵素処理停止と細胞抽出

コラゲナーゼ反応を停止し、洗浄の後に軟骨細胞を取り出す。

上述のごとく、マルチチューブを用いる一連の操作により、閉鎖系でピペット等を用いた煩雑な操作を行うことなく簡便に軟骨細胞を抽出することができる。

4.2.3 マルチチューブを用いた培養軟骨製造の検証

マルチチューブを用いて、自家培養軟骨ジャックの構造体を製造した。すなわち、図 4-1 に示した自動化工程 1 のプロセスの内、アテロコラーゲンとの混合前までをマルチチューブ処理に置き換え、それ以降は承認された製造方法により作製したジャック（現行法）と、マルチチューブを用いた製造方法により作製したジャックの比較評価を行った。

検体数 13 を用いて、1 症例あたり 2 回ずつ組織処理を実施した。その結果、生細胞率は現行法で 98% に対してマルチチューブを用いた製造方法では 99% であり、ほぼ同等であると判断した。また、組織 1g あたりの回収細胞数の平均は、現行法が 1.28×10^6 個に対して、マルチチューブを用いた製造方法では 1.63×10^6 個と良好な結果を得ることができた。

さらなる検討として、これらの細胞を用いてジャックを作製し、その評価基準である GAG 濃度および軟骨細胞含有率を求めた。今回の試験では発生頻度およびその値から、両製造方法に差の無い結果を得た。

加えて、ジャック中の軟骨細胞含有率を両製造方法で確認したところ、規格値以上を満たし、双方同等の軟骨細胞含有率を確認した。

以上の結果から、マルチチューブを用いて自家培養軟骨を作製することは可能であり、現行法で作製したものの差を確認することは無かった。これらのことから、マルチチューブを用いた製造方法は、当初想定したコスト削減に大きく寄与する可能性が示唆された。

4.2.4 エアコントロールによるチェンジオーバー削減の概念検証

自家細胞を用いた再生医療製品の作製において、最大の課題は製造単位が小ロットであり、高コスト化の要因を作っている。このことは、将来の産業化へのプロセスにおいて解決すべき課題であり、早々にその解決方法並びに概念検証を行っておく必要がある。本件

では、培養操作区域内に複数の気流を作ることで、汚染区域を可及的に削減し、チェンジオーバーを簡略化することを目的としている。

具体的には、培養操作区域内に整流板を固定し、培養操作区域の下に配した送風機により作られた風を、HEPA フィルターを介して吸気風量調整 VD を通り整流板より放出する。今後、これら概念の検証を行い、所望の自家細胞培養システムを構築したいと考えている。

4.2.5 合理的なジャック生産施設の設計

4.2.4 で開発される将来的な生産設備による合理化の前の段階として、現状の培養室で行われているジャック製造業務を分析し、製造工程の各プロセスに必要な作業内容、設備・機器、作業人員数、作業所要時間、清浄空調環境、保管スペース、作業記録、作業指示伝達、識別管理、トレーサビリティ確保等の観点で最適化の検討を行った。当社における製造作業の作業フロー、手順について、効率的な運用の支障となっている課題を抽出し、施設設計を行うエンジニアリング会社、空調設備会社、生産管理システム開発会社等と課題解決について協議検討し、現状の課題を解決できる新たな生産施設レイアウトの構想をまとめた。また、1 症例毎の受注生産を多症例併行して確実に実施するためには、多くの情報を確実に管理するシステムが必要となるが、一般的な大量生産型の生産管理システムではその特殊性に対応できず、新たに「自家培養製品の生産管理システム」を設計しなければならない。本検討についてはジャックが薬事承認医療機器であり、薬事法（医療機器 QMS）で求められる適格性を確保するためのコンピュータシステムバリデーション（CSV）の実施が必須であるため、導入時に必要となるガイドラインに沿ったシステム開発計画書（案）を整備した。

4.2.6 コラゲナーゼ溶液の合理的な調製方法

使用目的が研究用として製造販売されている培地や試薬等についても再生医療製品の製造や検査に使用せざるを得ない。自家培養軟骨ジャックにおいて、採取した軟骨組織を酵素処理して一定以上の細胞を単離することが必須であり、酵素処理に使用するコラゲナーゼ溶液は非常に重要な試薬である。コラゲナーゼ溶液は、コラゲナーゼを購入し、自社で調製を行っている。

コラゲナーゼについて、以前使用予定であった試薬は承認直前に生物由来原料基準へ適合しないことが明らかとなり現在の試薬に変更した経緯もあり、合理化検討を行っていない。

今回、培地薬液調製および管理の合理化検討として、コラゲナーゼ溶液の優先度は最も高く、供給者の工場を訪問して、品質は安定でかつ合理化できる調製方法の情報を入手することが望ましいと判断し、工場の品質管理担当者と直接打ち合わせを行った。

その結果、現調製方法については妥当ではあるが、冷蔵下という調製条件について過剰に管理していることが明らかとなった。工場にて実施されている調製方法を導入することで合理化が可能となると考える。また、コラゲナーゼの品質については ISO13485 に準拠した厳密に管理されていることも確認した。

4.2.7 国産ウシ血清入手に向けたウシ血清の品質管理システムの情報入手

ワクチンや遺伝子組み換えタンパク等のバイオ医薬品の製造に用いられているウシ血清は、全世界的にオセアニア産に限定されている。BSE 非発生国であることに加え、厳密な検疫体制や高度なトレーサビリティシステムが整備され、高い安全性が確保されているためである。今回、ジャックの製造工程で使用するために選定したウシ血清供給者 2 社について、実際の製造プロセス、品質試験、在庫管理、トレーサビリティ、ガンマ線照射施設等の生産システムを実地および書面・記録等で確認した。いずれの供給者も GMP に準拠した堅実な品質保証システムを確実に運用しており、高い信頼性を有することを確認した。このような供給者は、ジャックのような移植医療に用いられる製品の製造原料の調達先としては適格性が高く、今後当社と密な連携をとることにより、高い品質の血清を安定して調達することができ、安全で高品質なジャックの効率的な製造に寄与するものと考えられる。

現在日本は BSE 発生国であり日本で生産された血清については医薬品製造原料としては使用できない。そのため、国産の血清メーカーは存在していないが、今年中には非発生国として認定される可能性が高く、国産の血清が供給される可能性がある。その際に、その血清を当社が選定するためには、現状のオセアニア産の血清メーカーと同等の品質保証システムによる高い安全性確保を供給者に求めることになる。当社からの要求事項により日本の血清供給者の品質保証システムが向上することに繋がると期待する。

4.3 今後の展望と課題

本件では、マルチチューブを用いた簡易的組織分離システムを構築すること、培地交換等の作業についてチェンジオーバーが不要な環境を構築することにある。既述のごとく、マルチチューブを用いた自家培養軟骨ジャックの製造については、十分に可能性があった。さらにチェンジオーバー不要の培養環境については、基本的概念を構築し試作機による検証を行う状況にある。

マルチチューブを用いた簡易的組織分離システムについては、今後、次の二点を実施していく予定である。すなわち、マルチチューブ応用に関する自動化の実現、これらを含むジャックの製造工程の変更（一部変更申請）。次年度以降、速やかにこれらを実現し、自家培養軟骨製造の簡略化並びに合理化をすすめる、その評価指標を構築・開示する予定である。

一方、チェンジオーバー不要な環境整備については、現在、試験装置の試作品作成を行っており、2014 年 5 月初旬を目標に試験を開始する予定で進めている。その際の想定される課題を以下に記す。すなわち、強風域と弱風域との間に発生する乱流をどの様にしてコントロールするか、並びに、二重封じ込めエリアのステージ面の単独除染の必要性和、必要に成った場合のメカニズムの検討。連続生産を可能とするメカニズムの検討、である。今後、さらなる検討を行い、本年後半までには実機の作製および検証を実施する予定で進めていくこととする。

実施者らは、ジャック大量生産に向けて既存培養施設を拡張する計画があり、次のステップとして自動化設備が導入されることを考慮した上ですすめて行くべきと考えている。今回検討した施設設計要件を反映してジャックの効率的な生産施設を整備する。

コラゲナーゼ、ウシ血清等、種々の培養関連試薬類の国内製品採用は、安定調達やコスト低減の観点から、その期待は大きい。とりわけ、ウシ血清は原材料コストを占める割合がきわめて大きく、国内周辺産業の育成の観点からも、その品質管理手法確立は喫緊の課題である。幸い、本邦は近く BSE 非発生国認定を得られる可能性が高いため、実施者らはこれらのヘビーユーザーとして他の企業との連携を深めていくと共に、わが国の当該製品品質向上に寄与することが必要と考えた。

5 自家培養軟骨ジャックの製造工程合理化に関する検証② 新しい微生物検出方法の検証

5.1 申請（採択）時に経済産業省に提出した内容

5.1.1 本事業にて策定を行う評価手法

東京医科歯科大学森尾准教授らの開発した、微生物汚染評価手法は、主に遺伝子解析を実施することで、これまでに無かった短時間かつ低コストでの評価を可能とした。この方法により、より産業化に適した微生物汚染評価基準を策定できる可能性がある。

5.1.2 本事業にて新たに国内製品に置き換えを検討している試薬・機器類等

国産にて、再生医療製品製造に適した機器が開発されつつある。ピペット等、暫時変更することを想定している。

5.2 実施事項概要

東京医科歯科大学森尾准教授らの開発した評価方法では、あらかじめプライマー、プローブ、安定化剤等を固相化した試薬に、抽出した核酸サンプルおよび PCR 反応液を添加してリアルタイム PCR を行い、短時間で多種のウイルス、微生物を検査することを可能とした。森尾准教授と相談の上、当該技術の自家培養軟骨ジャック出荷検査への応用可能性を検討した。探索的検証（試験方法の初期性能評価）のため、種々のバンク化した細胞（軟骨を含む）27 検体に対してウイルスおよび微生物の測定を実施し、評価を行った。また、実際の検体のモデル（軟骨および表皮細胞の培養培地）を用いて、細菌、真菌、マイコプラズマを添加し、添加回収試験を実施した。本測定技術はおおむね応用可能と考える。一方、本件に関する課題としては、本試験がリアルタイム PCR をベースにした測定法であるため、生菌数を測定する検査の代替法とする場合は、従来法との規格値等の比較検討、あるいは生菌と死菌を区別できる試験系への改良を検討する必要がある。また、擬陽性の結果が出た際、検体由来による陽性か、コンタミネーションによる偽陽性（例えば、陽性対照用 DNA コントロールの検体混入による偽陽性等）であるかを速やかに確認できる試験系の確立についても検討する必要がある。さらに、測定に使用する周辺試薬（例えば、試験ごとに設置する陽性対照用 DNA コントロール等）の安定供給体制の整備が望まれる。加えて、森尾先生らのグループで開発したキットを用いることができれば、当該プロセスを国産製品のみで行うことができ、試験試薬調達リスクや製品情報の不確実性を回避できる。

5.2.2 実施した試験の概要

森尾准教授、東京医科歯科大学ウイルス治療学研究室 清水則夫准教授、渡邊健先生らの実施した試験の概要は以下の通りである。

探索的検証（試験方法の初期性能評価）のため、当社で所有する細胞（軟骨細胞、表皮細胞および角膜上皮細胞）の細胞懸濁液より、細胞と懸濁液上清を分離し、市販のキットを用いて DNA および RNA を抽出した。RNA 抽出液からは逆転写反応にて DNA を調製した。これらのサンプル DNA と PCR 反応液（DNA ポリメラーゼ、dNTP Mixture、バッファーを混合）を各ウイルス・微生物のプライマーおよびプローブが固定されている固相化

試薬のウェルに分注し、リアルタイム PCR 反応を行い、ウイルスおよび微生物を測定した。

探索的検証では、13 種類の DNA ウイルス、9 種類の RNA ウイルス・レトロウイルス、細菌全般・真菌全般・マイコプラズマ全般について測定した。その結果、27 検体中 2 検体で DNA ウイルスが検出、6 検体で細菌が検出、1 検体で真菌が検出された。DNA ウイルスおよび真菌が検出された原因については、検出された核酸の copy 数が微量であったことから、細胞培養中に増殖したものではなく、僅かに混入した核酸が検出された可能性が考えられた。細菌が検出された検体は、すべて培養後の軟骨細胞であった。また、検出された核酸の copy 数が多量であったことから、原因究明のため、陽性となった 6 検体の PCR 産物について遺伝子配列解析を行った。

その結果、解析可能であった 5 検体に混入した細菌は同一菌種（同定結果 *Clostridium histolyticum*）であった。調査の結果、軟骨細胞の分離工程で、*Clostridium histolyticum* 由来の試薬を使用していたことが判明した。以上のことから、細菌が検出された原因については、微生物由来試薬に混入している微生物の核酸を検出したことによる偽陽性であると判断した。

また、添加回収試験のため、実際の検体のモデル（軟骨および表皮細胞の培養培地）に細菌 2 菌種、真菌 2 菌種およびマイコプラズマ 3 菌種を添加し、DNA を抽出したものをサンプル DNA として固相化試薬に分注後、リアルタイム PCR 反応を実施し、添加回収試験を行った。さらに、マイコプラズマについては、DNA 抽出法を 2 法（市販のキットを用いた抽出および日本薬局方に記載されている抽出法）、PCR 反応を 3 法（固相化試薬を用いた方法、市販のキット『MycoSEQ』を使用した方法および日本薬局方に記載されている方法）で行い、日本薬局方に記載されている方法との比較検討を行った。

その結果、細菌・真菌の添加回収試験では、固相化試薬を用いた方法で 4 種類すべての菌種を検出することができた。また、DNA 抽出法の違いによる検出力の差が認められ、市販のキットを用いた抽出法の方が、日本薬局方に記載されている方法と比較して抽出効率が著しく高い結果となった。マイコプラズマの添加回収試験については、固相化試薬を用いた方法および市販キット『MycoSEQ』では 3 菌種全てのマイコプラズマが検出されたが、日本薬局方に記載されている方法では *Mycoplasma pneumoniae* が検出されなかった。

なお、マイコプラズマについても、市販のキットを用いた DNA 抽出法の方が抽出効率は高かったが、細菌・真菌ほどの著しい差は認められなかった。また、すべての菌種において、検体モデルの違いによる検出の差は認められなかった。以上の結果から、本測定技術はおおむね問題なく応用できると考える。

一方、一手法のサンプル調製（核酸抽出）で様々な微生物を検出できるよう、核酸抽出方法については更なる検討を行う必要がある。

5.3 今後の展望と課題

森尾准教授のグループで開発した測定技術は、国内メーカーにて固相化試薬として販売されている。本キットを用いることで、当該プロセスで国産製品を使用することができ、試験試薬

調達リスクや製品情報の不確実性を回避できると判断した。そのため、本件のごとく、一連の試験結果が出そろった後に、コスト、データの安定性、堅牢性等を評価し、一部変更承認申請を実施するか否かについて検討を加えることとした。さらに、可能であれば、早期に実製造（品質試験）に投入したいと考えている。

一方、本件に関する課題としては、本試験がリアルタイム PCR をベースにした測定法であるため、生菌数を測定する試験の代替法とする場合は、従来法との規格値等の比較検討、あるいは生菌と死菌を区別できる試験系への改良を検討する必要がある。また、擬陽性の結果が出た際、検体由来による陽性か、コンタミネーションによる偽陽性（例えば、陽性対照用 DNA コントロールの検体混入による偽陽性、微生物由来試薬に混入している核酸が検出されることによる偽陽性等）であるかを速やかに確認しなくてはならない。そのため、これらが検証できる試験系の確立が必要である。

加えて、測定に使用する周辺試薬（例えば、試験ごとに設置する陽性対照用 DNA コントロール等）の安定供給体制の整備が必要である。わが国の再生医療の周辺産業として、これらを提供する企業が現れ、前述の課題を解決することがおおいに望まれる。

6 自家培養軟骨ジャックの製造工程合理化に関する検証③ 自動免疫組織染色装置導入検証

6.1 申請（採択）時に経済産業省に提出した内容

6.1.1 本事業にて策定を行う評価手法

自家培養軟骨の品質検査に用いている免疫染色の自動化を達成する。自動化を達成するために、所望の性能が出せる機器の選定、並びに従来法と同等の結果が得られることのバリデーション試験を実施する。想定している自動免疫染色装置は国産のものである。

6.1.2 本事業にて新たに国内製品に置き換えを検討している試薬・機器類等

国産にて、所望のスペック品が供給された場合には、これに変更していく予定である。ただし、試験方法の変更等が必要になる可能性があり、一定の時間を要すると考える。

6.2 実施事項

6.2.1 概要

培養軟骨にて、免疫染色の自動化に向けた試験を実施した。その結果、従来の方法（手動での出荷検査）と比較して良好な染色像が得られた。また、今回用いた自動化装置は国産のものである。自動化装置を国産のものとする事で、機器保守における必要部品等の供給停止リスクを低減でき、またその輸送コストを削減できる。実生産に導入し、実績を積むことにより、他の施設での導入が増加すればランニングコストが低減できる可能性がある。

今後、実生産への導入には、染色条件の温度設定変更が必要である。そのため、一部変更申請が必要か否かを含め、所定事項を PMDA に相談する予定としている。さらに、これらのシステムを現場投入するため、必要なバリデーション試験を準備している。

6.2.2 自動免疫染色組織の概要

自動免疫染色装置の必須要求仕様として、①手動で実施している試験の工程を自動化できること、②現行法で使用している試薬を使用できること、③試験中にエラーが発生した場合、アラームを発報または停止すること、④導入後の機器の保守体制に問題のないことなどを挙げた。5種の機器について機器の仕様から選定した結果、国産の自動免疫染色装置が前述した要求仕様を最も満たすことが明らかとなった。

国産の自動免疫染色装置について、手作業による試験結果との比較を実施し、当該機種が適切であると判断した。国産の自動免疫染色装置の概要は次の通りである。

製品名：HISTOSTAINER（自動免疫組織化学染色機器）

製造販売元：株式会社ニチレイバイオサイエンス



自動免疫組織化学染色機器（ニチレイバイオサイエンス社ホームページより）

● 品目仕様詳細

型名	ヒストステイナー36A	ヒストステイナー48A
対象標本	パラフィン組織切片	
適用となる染色	免疫組織化学染色	
対応スライド	各種市販スライド	
染色の原理	テフロンコーティングされた金属性試薬ブローブによるドロップディスペンサー方式	
自動化が可能な範囲	前処理(蛋白分解酵素処理)から核染色	
最大スライド処理枚数	36枚/回	48枚/回
最大試薬ボトル設置数	40試薬	49試薬
最大同時処理プロトコル数	36プロトコル	48プロトコル
試薬ブローブ容量	100~1,600μL	
試薬ボトル容量	最大12mL	
試薬滴下容量	100、150、200、400、600μL スライド、試薬毎に選択可能	
試薬滴下位置	最大3ヶ所(上-中-底)	
試薬容量の確認	可能(試薬ブローブに液面レベルセンサーあり)	
試薬デッドボリューム	200μL	
スライドバーコード管理	2次元バーコードで管理可能	
試薬バーコード管理	2次元バーコードで管理可能	
追加染色機能	染色開始後のスライド割込みが可能	
洗浄システム	洗浄液による試薬の洗い流しとエアブローによる洗浄液除去	
測定所要時間	約2時間*1	約2時間30分*1
定格電圧、電流	AC100V(±10%)*2、4A*2、50/60Hz	
廃液処理	一般廃液と毒性廃液の振り分けが可能	
運転温度	15~30℃	

品目仕様詳細（ニチレイバイオサイエンス社カタログより）

その他仕様

試薬：市販試薬を使用可能

エラー回避：実行前に必要液量確認工程あり、エラー時には停止

保守体制：機器保守体制あり（他機での実績あり）

6.2.3 自動免疫染色装置の標準作業手順書

標準作業手順書の作成例を簡潔に以下に記載する。

① 自動免疫染色装置操作手順書

I. 目的・適用範囲

II. 手順

機器の取り扱い説明書をもとに手順を策定する。必要に応じて管理基準、使用前点検および使用後点検項目を設定する。

III.保守点検

不定期で必要となる部品の交換手順、定期保守点検（頻度、項目、委託業者等）を設定する。

IV.不適合時の対応

② 検査手順書

現行手法の標準作業手順書をもとに改定する。

6.2.4 自動免疫染色装置の手作業との比較試験結果

現在実施している自家培養軟骨の品質検査では、プロテオグリカンであるアグリカンが免疫組織染色の対象となっている。そのため、本件ではアグリカンに着目し、手作業での染色結果と上述の自動免疫染色装置と比較した。

<方法>

9 組織の培養軟骨から作製した単層標本を用いて、手作業および自動免疫染色装置でアグリカンを染色して染色結果（染色性およびアグリカン陽性率）を比較した。手作業での染色では前処理および酵素処理時に約 37℃に加温するところ、自動免疫染色装置では室温（加温なし）で実施した。以下に染色工程を示す。

① 洗浄 3 回、②酵素前処理、③酵素処理、④洗浄 3 回、⑤ブロッキング、⑥洗浄 3 回、⑦ブロッキング、⑧一次抗体処理、⑨洗浄 3 回、⑩二次抗体処理、⑪洗浄 3 回、⑫封入
<結果>

手作業での染色像と比較して、自動免疫染色装置での染色像のほうが鮮明であった。両者のアグリカン陽性率に関しては差が見られなかった。

以上の結果より、本自動免疫染色装置は実生産における品質管理装置として有用である可能性が示唆された。

6.2.5 実生産への導入を目的としたバリデーション試験について

実生産への導入の際には、導入機器についての IQ、OQ および PQ を実施し、さらに現行手法との同等性を示すバリデーションが必要であると考え。現行手法との同等性を示すために、QC 試料を現行手法および自動免疫染色装置で染色し、求めた測定値から乖離度を算出する。設定した評価基準を満たした場合、現行手法と同等であると判断する。

6.3 今後の展望と課題

自家培養軟骨の品質検査に用いている免疫染色の自動化を達成するために、所望の性能が出る機器の選定を実施し、国産の機種が要求する仕様を満たすことを確認した。選定した機器を実生産へ導入するためには、まず、現行手法から変更する必要がある事項、例えば染色条件の温度設定変更などについて、一部変更申請の要不要を含め、所定事項を PMDA に相談する。また、現行手法との同等性を示す必要があるため、バリデーション試験を実施しなくてはなら

ない。バリデーション試験のための QC 試料の設定条件、ならびに QC 試料となる細胞等の探索を行うとともに、確立した QC 試料の妥当性、保存安定性等を確認することとなる。

一部変更申請の必要時に向けて、信頼性保証の基準に則り、上記変更の計画書、手順書等を定めると共に、実生産への導入にむけた、機器についての IQ、OQ および PQ を実施する必要がある。

今後、再生医療産業が発展するためには、培養工程の自動化に加えて、本件のごとく検査等の合理化が重要である。実施者らは、検査結果の堅牢性や具体性、ならびに不適合発生時の評価が容易であるため、積極的に細胞の免疫組織染色ならびにその計測を基準としてきた。これら一連の作業は、作業者が実施する際には多くの時間を要することや、作業負担が大きいため、本件のような自動化が急務である。規制当局に対してその重要性を明らかにし、今後の指標作りに寄与したいと考えている。

7 自家培養軟骨ジャックの製造工程合理化に関する検証④ 自動 ELISA 装置の導入検証

7.1 申請（採択）時に経済産業省に提出した内容

7.1.1 本事業にて策定を行う評価手法

研究用の自動 ELISA 装置を用いて、従来法との違いを検討する。具体的には、現状の製品にて実施している ELISA 法を用いた品質試験（ウシ血清アルブミン（以下 BSA）残留量確認試験等）について、自動化の可能性を探索すべく、バリデーション試験を実施する。想定している自動 ELISA 装置は国産のものである。

7.1.2 本事業にて新たに国内製品に置き換えを検討している試薬・機器類等

細胞培養工程並びに品質試験の自動化を試み、前述のごとく、これに供する機材を国産にて検討する。

7.2 実施事項

7.2.1 概要

培養軟骨にて、BSA 残留量評価のための自動 ELISA 装置を評価中である。国産のものと海外（イタリアおよびアメリカ）のものを比較し、現状では国産のものが良好との結果を得ている。今後、当該機器の実生産投入のため、バリデーション試験が必要である。これらを実施するために必要な予備試験、回帰直線とデータの整合性検証等を実施した。

自動 ELISA 装置の概要

自動 ELISA 装置の必須要求仕様として、①手作業で実施している試験の工程を自動化できること、②試験中にエラーが発生した場合、アラームを発報または停止すること、③導入後の保守体制に問題のないこと、④作成された検量線の式が確認できること、などを挙げた。

調査した 9 機種のうち、デモ機での実測定が可能な機器を選定した結果、国産と海外（イタリアおよびアメリカ）の 3 機種の自動 ELISA 装置が該当した。該当する 3 機種について検体の BSA 量を測定し、手作業での測定結果と比較した。このうち、現行手法との整合性検証結果を踏まえると、国産のものが適切であると判断した。自動 ELISA 装置を国産のものとするすることで、機器保守における必要部品等の供給停止リスクを低減でき、またその輸送コストを削減できる。実生産に導入し、実績を積むことにより、他の施設での導入が増加すればランニングコストが低減できる可能性がある。

国産のものの概要は次の通りである。

製品名：全自動マイクロプレート EIA 分析装置

販売元：協和メデックス株式会社

製造元：株式会社草野科学



全自動マイクロプレート EIA 分析装置（協和メデックス社カタログより）

仕 様	
測定原理	酵素免疫測定法
処理能力	96穴マイクロプレート 1 枚 攪拌回転機構付 プレート有無センサー
同時処理項目数	最大 3 項目（条件あり）
検体数	96検体（コントロール、スタンダード含む） 希釈 Max 200倍（条件あり）
試薬セット数	12試薬×20ml（標準試薬トレイ使用時）
分注速度	10～15秒／1 列（8 ウェル）
ディスポチップ	検体用 試薬用 300 μ L×96本（各 1 ケース） チップセット確認センサー 圧力モニター ピッチ固定 1 モーター駆動 8 連ノズル ディスポチップ交換式
分注量	10～200 μ L（フルストローク約300 μ L） 分注精度 CV 1 %以内（精製水50 μ L分注時）
液面検知方式	圧力検知式
プレート洗浄	100～500 μ L／1 回（1 ～ 9 回）8 方切換バルブ分配方式
分光器	JOBIN YVON-SPEX社製（CP40） 測光波長 400～700nm 吸光度 0～2.5Abs 光源 ハロゲンランプ
プレート温調	設定温度 室温～40℃ $\pm$ 0.5℃ リップル $\pm$ 0.1℃ ペルチェ素子内蔵アルミブロック式
制御系	メインCPU基板（Windows OS 対応）
電源	AC100V 50/60Hz 600VA
寸法	585(W)×630(D)×515(H) mm
重量	約80kg（本体）
医療用具製造業許可番号：11BZ0620	

品目仕様詳細（協和メデックス社カタログより）

その他仕様

自動化が可能な範囲：試薬分注、プレート洗浄、吸光度測定

エラー回避：実行前に必要液量確認工程あり、エラー時にはアラーム発報および停止

保守体制：機器保守体制あり

検量線の式の確認可能

7.2.2 自動 ELISA 装置の標準作業手順書

標準作業手順書の作成例を簡潔に以下に記載する。

① 自動 ELISA 装置操作手順書

I. 目的・適用範囲

II. 手順

機器の取り扱い説明書をもとに手順を策定する。必要に応じて管理基準、使用前点検および使用後点検項目を設定する。

III. 保守点検

不定期で必要となる部品の交換手順、定期保守点検（頻度、項目、委託業者等）を設定する。

IV. 不適合時の対応

② 検査手順書

現行手法の標準作業手順書をもとに改定する。

7.2.3 自動 ELISA 装置の手作業との比較試験結果

現在実施している自家培養軟骨の品質検査では、ウシ血清残留試験を外挿するために設定した BSA 残留量確認試験が ELISA の使用対象のひとつである。そのため、本件では BSA に着目し、手作業での結果と上述の自動 ELISA 装置との比較を行った。本件で用いた自動 ELISA 装置は、国産のものと海外（イタリアおよびアメリカ）のものである。

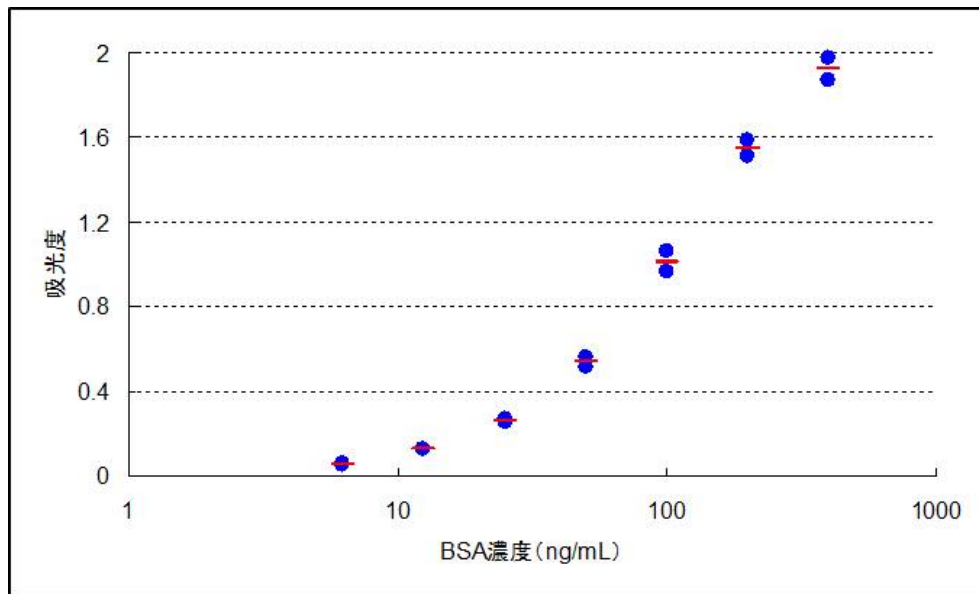
<方法 1>

手作業および自動 ELISA 装置にて、同一標準液希釈系列を測定し検量線を作成し、両者の測定結果を比較した。以下に ELISA 試験工程を示す。

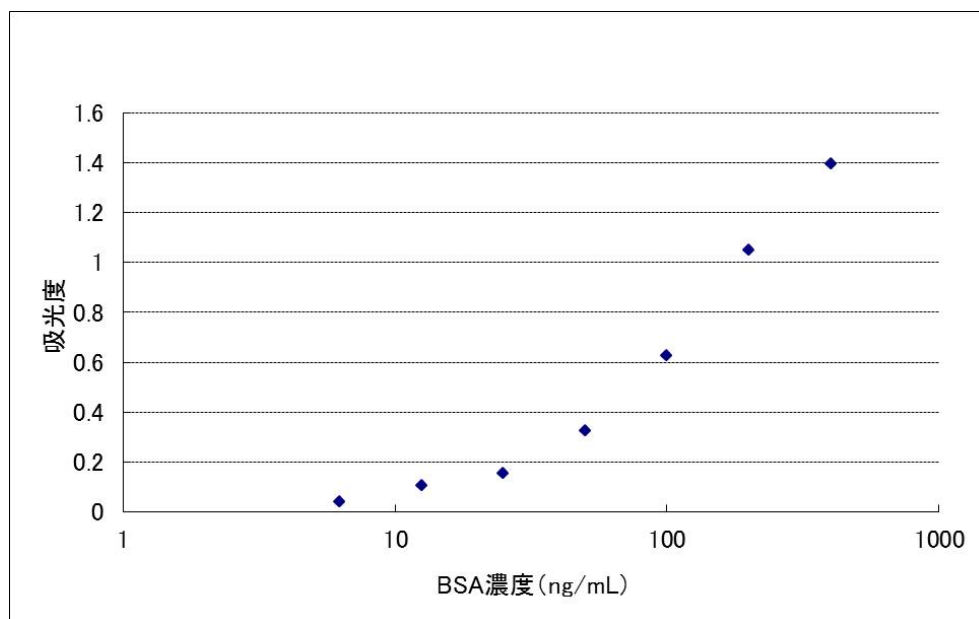
① 一次抗体の添加、②洗浄 3 回、③ブロッキング、④洗浄 3 回、⑤検体および標準液の添加、⑥洗浄 5 回、⑦二次抗体の添加、⑧洗浄 5 回、⑨発色液の添加、⑩発色停止液の添加、⑪吸光度測定

<結果 1>

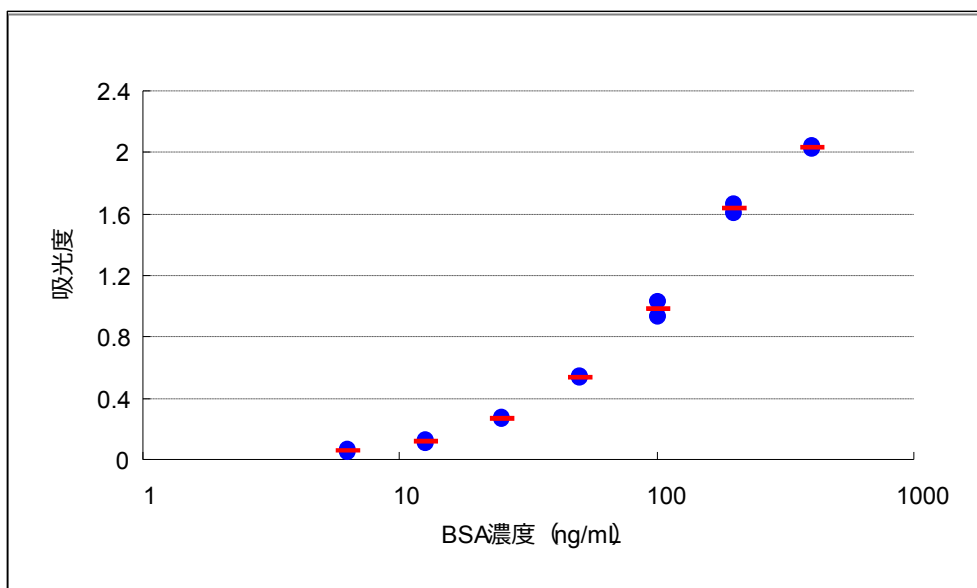
国産および海外（アメリカ）の自動 ELISA 装置では手作業と同等の検量線を作成でき、7.2.1 に示した必須要求仕様のほとんどを満たすことが確認された。しかし海外（アメリカ）の自動 ELISA 装置に関しては販売元の機器保守体制が不十分であったため、選定機種より除外した。一方、海外（イタリア）の自動 ELISA 装置は、手作業と同等の検量線が作成できず、またウェル間で測定値に大きな差が見られ、これに対し原因調査を依頼しているが、現在までに原因を特定できていない。さらに当該機種は検量線の式が確認できないことが明らかとなったため選定機種より除外した。



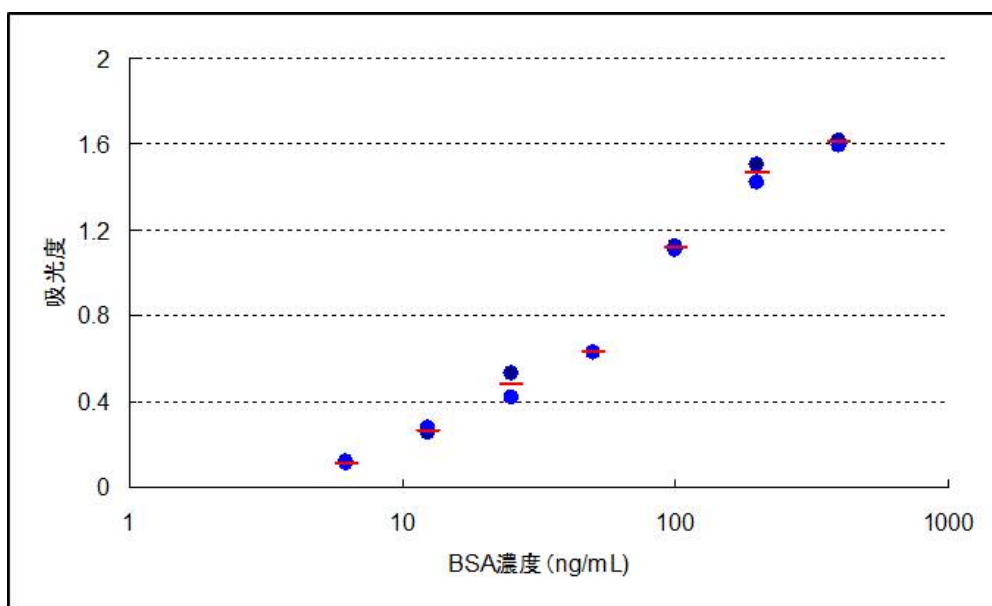
手作業による検量線



国産自動 ELISA 装置による検量線



アメリカ自動 ELISA 装置による検量線



イタリア自動 ELISA 装置による検量線

<方法 2>

国産の自動 ELISA 装置と手作業にて、同一検体の BSA 残留量を測定した。

<結果 2>

国産の自動 ELISA 装置および手作業とも同等の結果を得た。

以上の結果より、本自動 ELISA 装置は実生産における品質管理装置として有用である可能性が示唆された。

7.2.4 実生産への導入を目的としたバリデーション試験について

実生産への導入の際には、導入機器についての IQ、OQ および PQ を実施し、さらに現行手法との同等性を示すバリデーションが必要であると考えます。現行手法との同等性を示すために、QC 試料を現行手法および自動 ELISA 装置で測定し、求めた測定値から乖離度を算出する。設定した評価基準を満たした場合、現行手法と同等であると判断する。

7.3 今後の展望と課題

自家培養軟骨の品質検査での ELISA 法を用いた品質試験（BSA 残留量確認試験等）の自動化を達成するために、所望の性能が出せる機器の選定を実施し、国産の機種が要求する仕様を満たすことを確認した。

先の項目同様、選定した機器を実生産へ導入するためには、現行手法との同等性を示す必要があるため、バリデーション試験が必要となる。そのため、QC 試料となるウシ血清アルブミンの探索の後、その QC 試料の妥当性、保存安定性等を確認する試験を行うことになる。現在、定量用のウシ血清アルブミンに関しては、日本薬局方に収載されているため、日本薬局方に準じた QC 試料のたんぱく質含有量等を測定することになる。さらに、それぞれの試験実施の際には、一部変更申請の必要時にむけて、所望の計画書および報告書を作成し実施しなくてはならない。また、実生産への導入の際には、導入機器についての IQ、OQ および PQ を実施することになる。

前項同様、本件のような内容の自動化が急務である。わが国の高い機械製品製造技術は、これら再生医療関連の産業活性につながるため、一層、規制当局に対してその重要性を明らかにし、今後の指標作りに寄与したいと考えている。

8 自家培養軟骨ジャックの製造工程合理化に関する検証⑤ 培地成分変化量観察による品質評価

8.1 申請（採択）時に経済産業省に提出した内容

8.1.1 本事業にて策定を行う評価手法

これまでに、培養中の成分変化（グルコース消費、アミノ酸消費、乳酸産生、アンモニア産生等）が細胞の増殖ステージによって変化することを示してきた。本件では、これら培地成分分析による品質評価を実製造に用いる可能性を検討する。これにより、得られたデータを出荷規格にするとともに、工程検査としての可能性も検証する。現状では、所望の自動 ELISA 装置は海外製品であるが、同等性評価を通じて国産のものに切り替えていく予定である。

8.2 実施事項

8.2.1 概要

自家培養軟骨製造時における培養上清を採取し、培地中の成分変化について詳細を観察した。細胞が排出する因子については想定通りの結果が得られたが、消費する因子については比較的変動が少ないことが明らかとなった。これらの結果は、自家培養軟骨に含まれる軟骨細胞の栄養要求量が少ないことを示している。

加えて、これらのデータと製品出荷検査結果と詳細比較を行い、非侵襲品質試験並びに製造工程試験として応用すべく、各種品質検査との連動性について検討した。

8.2.2 自家培養軟骨製造時の培養上清特性解析

自家培養軟骨製造時に得られる培養上清は、培養初期から培養後期までに渡り、それぞれ少量採取し、冷凍庫に一時保管した後、自動装置にて成分分析を実施した。

試験に先立ち、培養上清のみについて成分分析を実施し、上清中の成分変化を検出可能なことを確認した。これを通じて用いた自動測定装置は、上清中に含まれる微量な成分変化を捉えることが可能な明らかとなった。次に、新鮮培地に含まれる成分分析も合わせて実施した。

新鮮培地と培養上清の分析結果の比較値から、それぞれの因子の変動を算出するとともに、培養時間に対する累積値としてこれらを解析した。その結果、細胞が消費する因子の減少と細胞が排出する因子の増加があきらかに認められ、培養が進むに従って顕著となった。

8.2.3 自家培養軟骨ジャック出荷検査との比較検討

自家培養軟骨ジャックの出荷検査では、細胞の増殖特性と関連があるものとして、生細胞数を計測する試験（破壊試験）が設定されている。培養軟骨内の細胞は、培養過程において増殖することが知られているが、これを直接定量評価するには、それぞれの培養時期における破壊的試験を通じてのみ実現できる。一方、前述の培養上清の検討結果は、同様の内容を非破壊的に確認できるため、当該細胞の培養を停止することなく実施できる。

本検討では、被験培養軟骨中に含まれる細胞数の直接的計測値と、当該培養軟骨の培養

上清の変化を比較した。その結果、出荷検査で生細胞数が高い検体では、観察した細胞のスコアリングが2以上であり、細胞が著明に増殖していることが示された。さらに、同細胞の培養後期における培養上清の分析結果から、事前に細胞が消費すると想定した因子が明らかに消費され、また細胞が排出すると想定した因子の排出量も上昇していた。

以上より、自家培養軟骨製造時に得られる培養上清において、細胞が消費する因子および排出する因子を評価することで、細胞増殖の間接的（非侵襲的）評価が可能であることが示唆された。

8.3 今後の展望と課題

自家細胞を用いた再生医療製品の開発では、得られる患者細胞の量が限られているため、破壊的試験に供する細胞はできる限り少なくする必要がある。さらに、最終製品でのみ品質検査が実現するのではなく、継続的にその培養経過が明らかになる方法が望ましい。本検討によって、培養軟骨の製造における非破壊的かつ継続的評価の可能性が示唆された。今後、これらをさらに検討し、培養状態の継続的観察のみでなく、出荷検査に供する検体をもなくす方向に進めていくべきと考える。

一方、当該細胞のこれら培地変化は、細胞の増殖評価のみでなく、さらに詳細な状態把握に有用である可能性がある。とりわけ、細胞の分化や変異等の評価にも用いることができると考える。本研究ごとき内容を継続し、これら微小変化を検出できる方法を確立すると共に、その細胞生物学的意義について、対象細胞ごとに情報を蓄積することも重要と考える。

9 新型自家培養表皮の開発ならびに臨床試験（ACE02）

9.1 申請（採択）時に経済産業省に提出した内容

9.1.1 本事業にて策定を行う評価手法 【①有効性評価のための指標策定】

新型自家培養表皮の想定適応対象は、白斑等の皮膚色調異常や相応の審美障害である。これらをふまえて、患者のニーズに合致した有効性評価指標が必要となる。その目的を達成すべく、現在の画像補正用カラーチャートに加え、水分含有量分析、凹凸などの表面正常や硬さを含むテクスチャーなど、高度な皮膚評価指標を策定し、有効性評価に利用できる可能性を探索的に検討した。

9.1.2 本事業にて策定を行う評価手法 【②患者満足度評価のための指標策定】

患者満足度などの主観的評価項目について、その結論に対する客観性を確保する手法を考案する。具体的には、第三者評価の介入、マッチドペア分析の応用などである。高度な治療効果を期待する再生医療の中で、QOL 向上等、必要な評価方法と考える。

9.2 実施事項

9.2.1 概要

上述のごとく、皮膚再生医療の質を評価する有効性指標や患者の治療満足度について客観性を確保できるような手法ははまだない。そのため関連領域の専門家との協議を行った。実際には、新型自家培養表皮の臨床試験を実施するため、安定期の尋常性白斑を対象としたプロトコル策定に寄与する評価方法を検討した。さらに、これら内容の協議結果を医療機器治験相談に盛り込み、PMDA と事前面談を実施した。

9.2.2 疾患の調査

メラノサイトは発生学的には神経堤に由来し、メラノサイトの前駆細胞であるメラノブラストが胎生 2 ヶ月の間に真皮に到達し、胎生 3 ヶ月目の初めに表皮に入り込む。皮膚のメラノサイトは平均して約 15 万個/cm²、表皮基底層では約 36 個の表皮細胞に対して 1 個の割合で分布し、メラニンを産生する。部位によってメラノサイトの分布には差があり、顔面には多く腹部や臀部には少ない。人種によってメラノサイト量に差はないが、加齢によって機能が低下し、数は減少する。

後天性脱色素斑の代表が尋常性白斑であり、人種差はあるものの全人口の約 0.5～1% が罹患しているといわれる後天性難治性脱色素疾患である。尋常性白斑は、後天的なメラノサイトの破壊によりメラニン生成が停止又は低下し、その結果として皮膚の脱色を生じる疾患である（図 9-1 参照）。臨床的に神経支配領域と関係なく生じる非分節型と、皮膚分節に沿った病変がみられる分節型がある。限局型は 1 個又は数個の白斑が集まっている。汎発型は全身性又は左右対称性に多数の白斑が生ずる。尋常性白斑の分類と推定患者数を表に示す（表 9-1 参照）。



図 9-1 尋常性白斑

Guerra L et al, *Arch Dermatol* 139:1303-1310 (2003)

表 9-1 尋常性白斑の分類

表 1-1 尋常性白斑の分類				国内の推定患者数
尋常性 白斑	非分節型	粘膜型	古賀 A 型に相当	153,000 人程
		四肢顔面型		
		汎発型		
		全身型		
		限局型の一部		
	分節型	限局型	古賀 B 型に相当	
		一部の粘膜型		
	混合型			

* 限局型は疾患初期であり、いずれ 9:1 の割合で汎発型と分節型に進行するという考え方もある。

非分節型および分節型のそれぞれに病因が唱えられているが、尋常性白斑の病因はいまだ不明な点が多い。本症には明らかな遺伝形式は存在しないにもかかわらず、20～30%の尋常性白斑患者で家系内発症がみられることより、以前より遺伝的な関与が示唆されている。

非分節型に含まれる汎発型では自己免疫的機序によるメラノサイトの破壊が、分節型は自律神経バランスの破綻により発症することが考えられている。

尋常性白斑の日本における発症頻度は、全皮膚疾患の約 1～2%といわれ、約 153,000 人の患者が存在すると推定される。人種によって発症頻度は異なり、色素の多い人種ほど白斑の発症頻度は高いと考えられている。男女差はなく 20 歳前後の若年層に多い。

9.2.3 既存の治療法と課題

尋常性白斑は、メラノサイトが存在しないため脱色部位が日光皮膚炎になりやすいことを除けば臨床的症状はないが、外観に関わるため患者に著しい精神的負担をもたらし、患者の約 2/3 は深刻な情緒ストレスを抱えている。

白斑患者およびその家族の主宰するホームページの数は多く、同じ疾患に悩む患者

やその家族の意見が多く寄せられている。「死にたいと思った」、「白斑になったため婚約者の親に結婚を反対された」、「子どもが鏡を見て泣いているのを見るのがしのびない」、「家族が白斑になり、何年間も家に引きこもっている」、「一生治らないと言われて傷ついた」、「小さい頃いじめられた」、「化粧（カモフラージュ）が落ちるのが怖くて、温泉に行ったりスポーツをするのを諦めた」などのコメントが見受けられ、この疾患が患者の人格や人権を著しく傷つけ、QOL に甚大な悪影響を与えていることがわかる。

尋常性白斑は難治性であり、数年から数十年の治療を続けても改善することは稀である。さらに、治療に用いられるステロイド等の薬剤の長期使用の不安から、民間療法も横行している。尋常性白斑診療ガイドラインで提唱された白斑治療のアルゴリズムを下に示す（図 9-2 参照）。

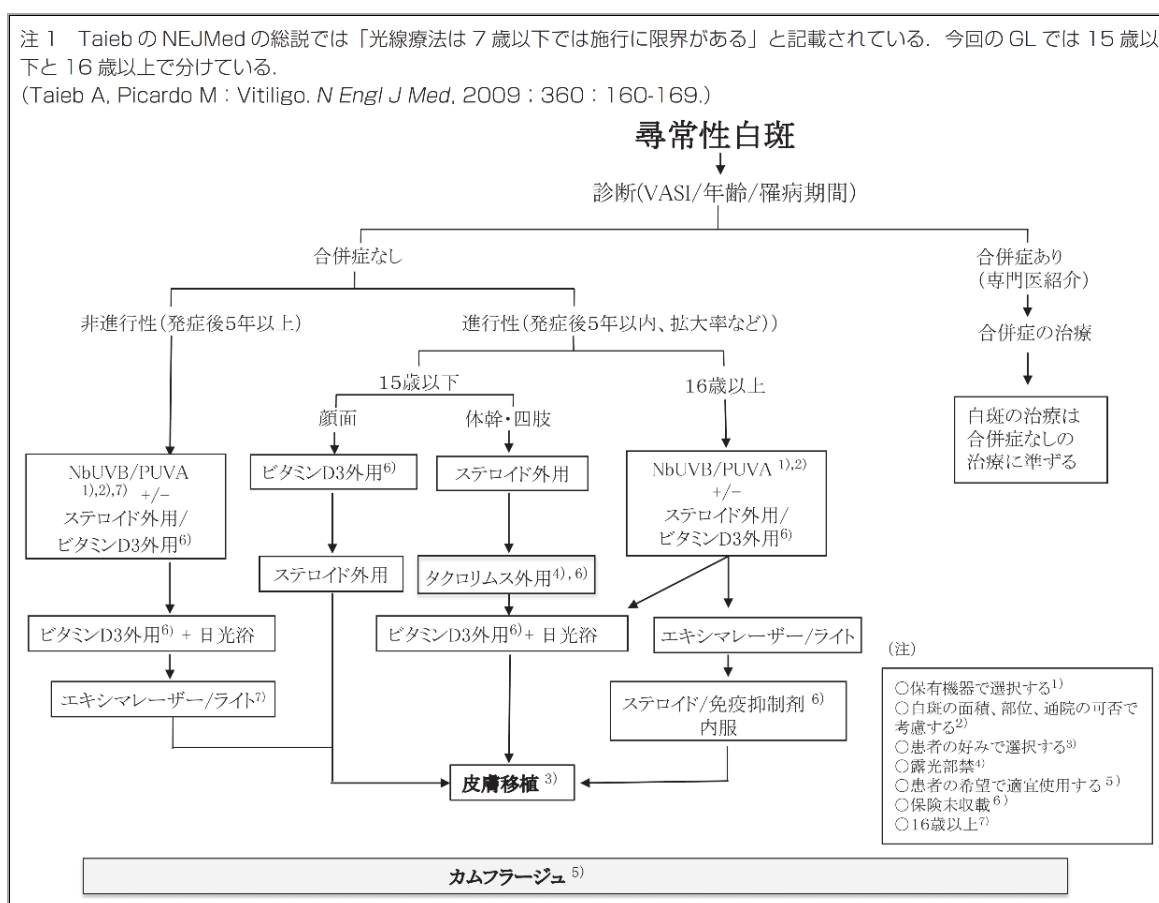


図 9-2 尋常性白斑診療ガイドラインで提唱された白斑治療のアルゴリズム

尋常性白斑に対する一般的な治療方法として、ステロイド外用療法、活性型ビタミン D3 外用薬、タクロリムス軟膏、光線療法、植皮・外科手術等が行われている。本品を用いた治療は植皮・外科手術に該当するものであり、白斑治療のアルゴリズムでは「皮膚移植」に含まれる。各治療方法の特徴を表に示す（表 9-2、表 9-3 参照）。

表 9-2 既存の治療方法の治療効果と特徴

	治療効果	特徴	○メリット ×デメリット
ステロイド外用療法	・分節：反応する症例あり ・非分節の汎発型：効果出にくい	・最も広く行われている治療方法（約 100%の施設で施行） ・体表面積 10～20%以下の白斑に対して第一選択の方法	○保険適用できる ×治療期間が長期に亘ると皮膚萎縮等の副作用あり
活性型ビタミン D3 外用薬	・単独では効果なし ・紫外線照射療法との併用	・多くの施設で施行されている治療方法（約 90%の施設で施行） ・メラノサイトの分化やメラニン産生を促進する作用が報告されているが、効果機序不明	○重篤な副作用なし ×保険適用できない
タクロリムス軟膏	・効果あり ・紫外線照射療法との併用	・多くの施設で施行されている治療方法（約 70%の施設で施行） ・メラノサイト・メラノブラストの遊走・分化を亢進する作用が報告されているが効果機序不明 ・紫外線照射との併用：長期観察の報告なく再発や発癌性等は要検討	○比較的安全 ×保険適用できない ×顔面への使用制限あり
PUVA 療法	・効果はあるが再発例あり	・ソラレン内服・塗布後に UVA 照射 ・照射量の限定が必要	○保険適用できる ×発癌リスクあり ×光毒性皮膚炎 ×照射部位はその後遮光の必要があるため、露光部の治療が困難
ナローバンド UVB 照射療法	・分節型：効果出にくい ・非分節型：効果あり ・部位により反応異なる ・PUVA 療法より優れている報告多数	・光線療法の中では第一選択 ・照射量の限定が必要	○保険適用できる ×発癌リスクあり ×照射回数が多数
エキシマレーザー/ライト照射療法	・ナローバンド UVB 照射療法より優れている報告有り ・部位により反応異なる	・照射量の限定が必要 ・高額であり、設置施設少ない	○ターゲット型：病変部のみ照射可能 ×保険適用できない ×発癌リスクあり ×広範囲照射困難 ×短期的に紅斑等を認める
ステロイド内服	・進行性の症例にのみ使用され、効果ある報告あり ・ナローバンド UVB との併用が PUVA、ブロードバンド UVB よりも効果があったとの報告あり	-	-
免疫抑制剤内服	・治療効果の評価は困難	-	×副作用あり
カモフラージュメイク療法	・効果なし	・多くの施設で施行されている治療方法（約 90%の施設で施行）	○患者 QOL の向上 ×保険適用できない
脱色療法	・効果なし	・既存の白斑と正常皮膚のコントラストを無くすため、正常皮膚を脱色 ・広範囲且つ治療抵抗性の成人患者が対象	○患者 QOL の向上 ×保険適用できない ×皮膚刺激感あり ×色素脱失永続 ×接触皮膚炎

表 9-3 植皮・外科手術の治療効果と特徴

	治療効果	特徴	○メリット ×デメリット
吸引水疱蓋表皮移植	・効果あり	・注射筒を皮膚に当てて吸引してできた水疱を切除して移植する方法 ・表皮を基底層で剥離	○均一な植皮片が得られる ×保険適用できない ×植皮片の遊離に2～3時間を要し、疼痛が激しい ×円形の着色痕を形成 ×一度に得られる植皮片が小さく、広範囲の場合は繰り返し施術の必要あり
点状全層皮膚移植	・効果あり	・推奨されない	○比較的小さい方法 ×保険適用できない ×敷石状の着色痕を形成 ×均一な植皮片を得られにくく、色調にむらが出る ×植皮片の収縮や植皮部位の周囲の肥厚化が起きる ×患部部位が瘢痕化する ×一度に得られる植皮片が小さく、広範囲の場合は繰り返し施術の必要あり
分層皮膚移植	・効果あり	・皮膚移植の中では最も推奨される方法 ・超極薄の真皮を含むものが対象。	○比較的小さい方法 ×保険適用できない ×植皮片のずれや血腫、感染のリスクがあり ×均一な植皮片を得られにくく、色調にむらが出る ×植皮片の収縮や植皮部位の周囲の肥厚化が起きる ×患部部位が瘢痕化する

これらの治療薬・治療法の中で、白斑診療ガイドラインの推奨文により積極的に推奨されているステロイド外用療法を含むステロイド療法およびナローバンド UVB 照射療法について以下に詳述する。また、積極的に推奨されているわけではないが、エキシマレーザー/ライト照射療法および本品による治療と最も比較しやすいと考えた自家植皮を記載する。

《ステロイド療法》

ステロイド療法では、自己免疫疾患説に基づき、自己免疫によるメラノサイトの破壊を抑制する目的でステロイドを使用する。ステロイドの外用剤である軟膏やクリームが一般的であるが、白斑の進行期にある患者に対しては内服ステロイドが用いられることもある。ステロイド療法によって白斑の拡大が抑えられたり、白斑が縮小したりすることが期待されることから、ステロイドで白斑の拡大を抑えながらナローバンド UVB 照射療法や PUVA 療法で白斑に色を付けるという方針が多い。

ステロイド療法が反応する場合でも点状の色素回復に留まり、脱色部位全体に着色する例は稀である。限局型には有効だが、汎発型には無効例が多く、他の治療が第一選択となることが多い。

《ナローバンド UVB 照射療法》

元来、乾癬治療として行われたナローバンド UVB 照射療法（中波長紫外線 UVB のうち治療に有効な狭い波長 $311 \pm 2 \text{ nm}$ のみを照射）による白斑の治療が試みられている。

PUVA と比べて狭い周波数の紫外線だけを照射することから、照射量を多くしても副

作用が少ないため、治療に有効な照射量にまで上げることができると考えられている。治療後の遮光などの生活制限がなく、ソラレンの内服による悪心・胃腸障害など全身への影響がない。また、小児や妊婦へ使用することも可能である。PUVA 療法からナローバンド UVB 照射療法へ紫外線療法全体がシフトしており、現在は白斑治療の第一選択となっている。

ただし、この治療法の効果が発揮されるのには、週数回の照射で数ヶ月の治療期間が必要であり、無効例も存在する。また、ナローバンド対応の紫外線照射装置が、一般の紫外線照射のものよりも高価であり、導入している病院は多くない。

長期の副作用として紫外線療法で問題となる発癌性については、PUVA 療法に比べて少ないことが、マウスの実験結果と臨床データから推定されている。

《エキシマレーザー/ライト照射療法》

エキシマレーザー/ライト照射療法は、308 nm の短波長の紫外線を病変部のみに照射できるため、正常部位への影響を回避できる特徴を持つが、一方で広範囲の照射は困難である。エキシマレーザー/ライト照射療法はナローバンド UVB 照射療法と比較して、より有効で素早い効果が得られる以外に、照射時間が短くて済むという利点もある。

短期的な副作用は、通常照射部の紅斑を認める以外、まれに水疱形成を生じるとの報告がある。長期的な副作用については今後の追跡調査が必要とされる。

《自家植皮》

外科的治療法としては、一部の施設で自家植皮が実施されている。現在行われている方法としては、カミソリ・メスなどで自家植皮片を採取し移植する方法と、注射筒を皮膚に当てて吸引してできた水疱を切除して移植する吸引水疱蓋表皮移植術(図 9-3 参照)、点状全層皮膚移植がある。

自家植皮の場合、均一な植皮片を得にくいいため移植部位の色調にむらが出る。移植部位が過度の色素沈着を起こしやすく、分層植皮を行った約 60% に色素増強が現れる。また、植皮片の収縮や植皮部位の周辺の肥厚化が起きるなど、色調・質感など整容的な問題が残る。加えて患皮部の瘢痕化も問題となる。

吸引水疱蓋表皮移植は、表皮が基底層部分で剥離するので均一な植皮片が得られる。しかし、植皮片の剥離に時間がかかる(2~3 時間)ために患者への負担が大きい。注射筒は円筒形のため必然的に植皮片が円形になり、移植部位の形状にマッチせず着色部位が斑状に目立つ欠点がある。また、一度に得られる植皮片が小さいため繰り返し施術する必要があり、治療が完了するまで数ヶ月~数年かかる。熟練した技術が必要なため実施できる施設は限られている。

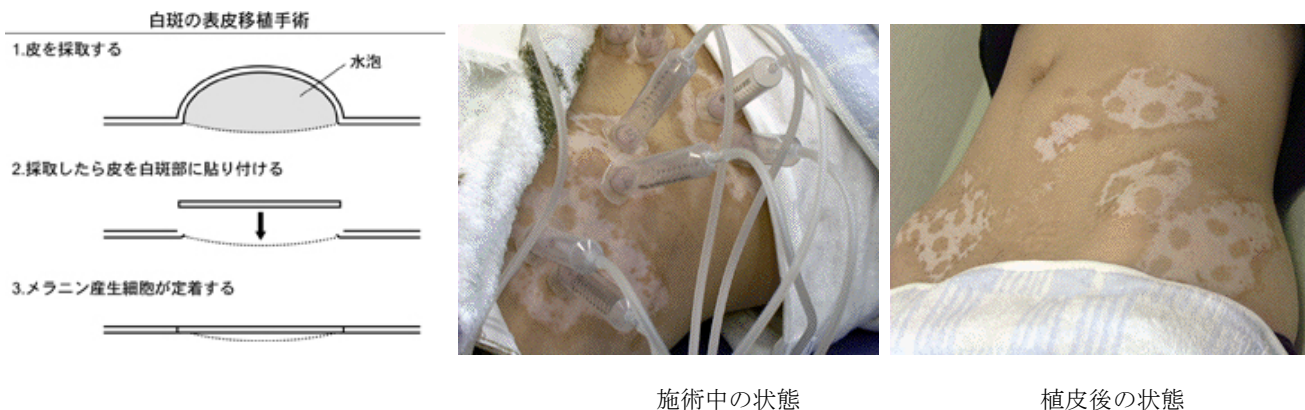


図 9-3 吸引水疱蓋表皮移植

(引用： <http://www.hakusei-shobou.co.jp/2009/hakuhan/chap01.html>, <http://www2.odn.ne.jp/~cfe84560/vv.html>)

点状全層皮膚移植として以前より 2.5 mm や 3 mm のトレパンを用いた植皮術が行われていたが、患皮部に瘢痕が生じることや植皮部が敷石状になることから、多用はされていなかった。しかし、植皮部の凹凸や患皮部瘢痕を目立ちにくくした手法として、1 ミリミニグラフト療法が開発され、現在でも改良されつつある。試験的に数ヶ所に移植し治療効果を推測した後に、顔は 1 ミリのグラフトを、その他の部位は 1.2 ミリのグラフトを使用することが推奨されている。さらに、患皮部の脂肪組織を除去した植皮で敷石状外観を解決できることが多い。しかし、植皮部の間隔によっては斑状に着色するため目立つだけでなく、広範囲の治療が困難であるという問題がある。また、1 ミリミニグラフト療法で採取した植皮片は柔らかく、取扱いが困難であることから、手術に時間を要する。

9.2.4 新型自家培養表皮の (ACE02) 概要

本開発品は患者自身の皮膚組織を採取し、分離した細胞に対してメラノサイトを保持するように培養し、シート状に形成して患者自身に使用する「自家培養表皮」である。本開発品を移植することによって、脱色部位が着色（色素再生）する。キャリアを用いて懸架し、カバーシートで保護し、培養表皮容器に封入した状態で供給される。本開発品の外観および顕微鏡観察像は以下のとおりである（図 9-4 参照）。

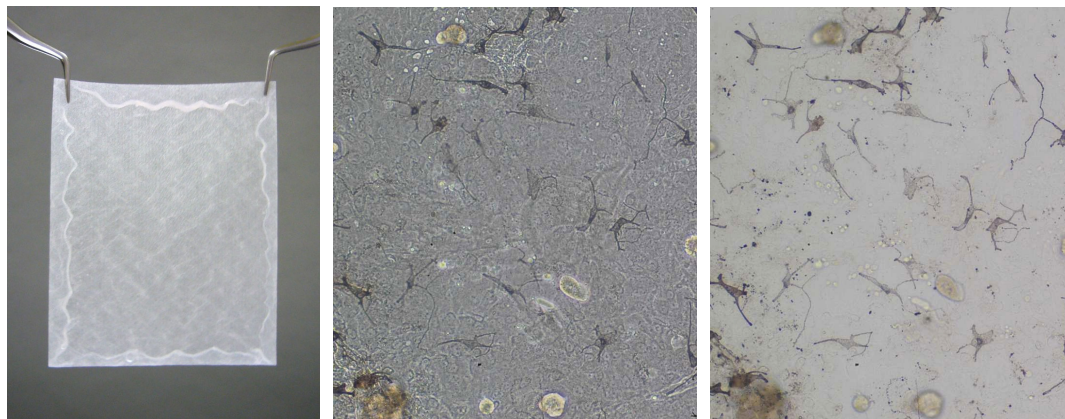


図 9-4 ACE02 の外観（左）および顕微鏡観察像（位相差有り：中央、位相差なし：右）

表皮細胞シートの四辺をキャリアに折り上げて付着させ、キャリアと共に懸架して、カバーシートに包み込む。培養表皮保存液を充填した培養表皮容器にこれを入れ、トップフィルムで周囲をヒートシールし、密閉した状態で提供される（図 9-5 参照）。表皮細胞シートの寸法は、短辺 8 cm×長辺 10 cm、有効面積は 80 cm²である。

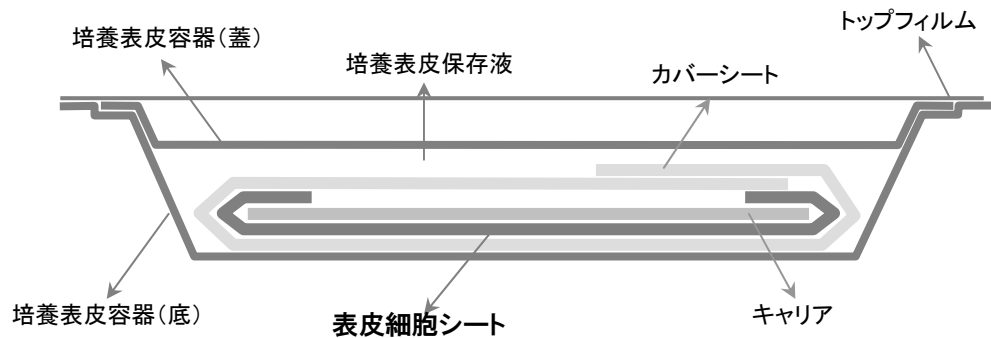


図 9-5：表皮シートの包装

9.2.5 治験実施の根拠

前述のごとく、尋常性白斑に対して古くから行われているステロイド外用療法や PUVA 療法に代わり、近年では、新たな外用療法や中波長紫外線領域を使用した光線療法が急速に普及しつつある。しかし、それらの治療法の多くは保険適用外で、かつ確実な治療効果が得られるとは限らない。

一方、皮膚移植は、病態が進行せず安定している白斑に対しては高い治療効果を示す。しかし、吸引水疱蓋表皮移植、点状全層皮膚移植、分層皮膚移植といった既存の皮膚移植には、大きく 2 点の課題が存在する。

1 点目は、広範囲の白斑への適応が難しいことである。いずれの治療も移植面積と同程度の採皮面積が必要となるため、1 回の手術における処置面積は限定的である。広範囲を治療するには、複数回の手術が必要となり、治療に長期間を要する。2 点目は、色素再生が不均一となることである。点状全層皮膚移植および分層皮膚移植は、均一な植皮片を得にくいため、色調にむらが出ることが多い。また、吸引水疱蓋表皮移植については、円形の着色痕を形成し、整容的に満足できない場合がある。

専門医からは、実際の医療現場では外用剤の有効性は乏しく、光線療法の効果も個人差が大きいため、皮膚移植を除く既存の方法では十分な治療が行えていないとのことをヒアリングした。また、特に、罹患期間が長い患者の大半はこれらの治療に抵抗性を示し、皮膚移植へ進まざるを得ない状況ながら、上記の皮膚移植の課題を鑑み、治療効果の低い治療を継続している現状があるとのことであった。

9.2.6 期待される効果

本開発品は、少ない採皮面積から、一度に広範囲を均一に治療することが可能である。

採取した少量の皮膚組織から広範囲を覆うために必要な細胞を増殖させることができるという利点を生かし、体幹等に生ずる広範囲の患部も一度に治療することが可能となる。また、本機器の表皮細胞シート全体にメラノサイトが分布しているため、構成する表皮細胞とメラノサイトが生着・増殖することによって、患部が均一に色素再生し、色調が改善することが期待される。

以上より、メラノサイトを保持した新型自家培養表皮を用い、安定期の尋常性白斑患者を対象に、患部の色調改善を目的として、開発が進められると判断した。

9.2.7 専門家との協議事項

① 有効性主要評価項目について

本開発品は、メラノサイトを保持しているため、脱色素部位（白斑部）に移植することで着色（色素再生）することが期待される。このため、臨床試験での有効性主要評価項目は、色素再生率（%）とした。

一方で、白斑部における色素再生率を評価する方法が存在していなかったため、これについて専門家より助言を得た。

（i）VASI スコアについて

VASI（Vitiligo Area Scoring Index）スコアは、2004年に Hamzavi らが提唱した白斑の定量化ツールである。体全体の白斑部の広さと脱色素斑の程度が表現できる。

$$\text{VASI} = \sum (\text{all body}) [\text{Hand units}] \times [\text{Residual Depigmentation}]$$

※Hand units

片手掌(指を含む)の面積は、体表面積の約 1%に相当することが知られており、これを 1 単位とする。

※Residual Depigmentation（脱色素斑の程度）

各部位における白斑の面積量を、100%、90%、75%、50%、25%、10%の標準化された以下のモデルより選択する（図 9-6 参照）。

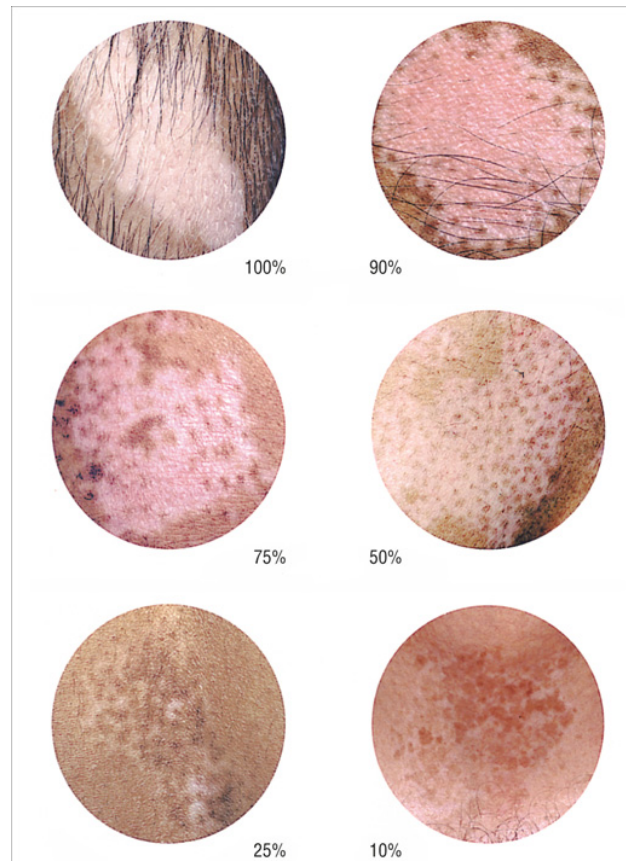


図 9-6 尋常性白斑ガイドラインにおける白斑の評価法（VASI）

尋常性白斑ガイドライン（日本皮膚科学会ガイドライン）において、治療効果を判定する指標として VASI スコアの変動量が推奨されていたため、専門家に意見を求めた。結果、ガイドラインには掲載されているものの、実際の臨床現場で使用されることは少ないスコアであることを確認した。また、VASI スコアは、光線療法を基に開発されたスコアであるため、光線療法や軟膏外用療法等の毛包を中心とした色素再生を見せる治療の効果判定に適したスコアである。当該製品のように、毛包からではなく移植した部位が一様に色素再生する治療においては、VASI スコアでの評価は困難ではないかとの見解であった。

（ii）白斑部のトレーシング測定について

VASI スコアでの評価が難しいことを受け、技術導入を受けているイタリアグループ同様、メラノサイトを保持した自家培養表皮の移植部位において、治療前後の白斑部の面積をトレーシングし、その面積を画像解析する方法を考えた（図 9-7 参照）。専門家からは「妥当な手法である。」との見解をいただいた。白斑部の特定は専門家であれば可能であり、移植部位が一様に色素再生する当該製品の特長を鑑みると、判断に難渋することは少ないのではと助言を受けた。

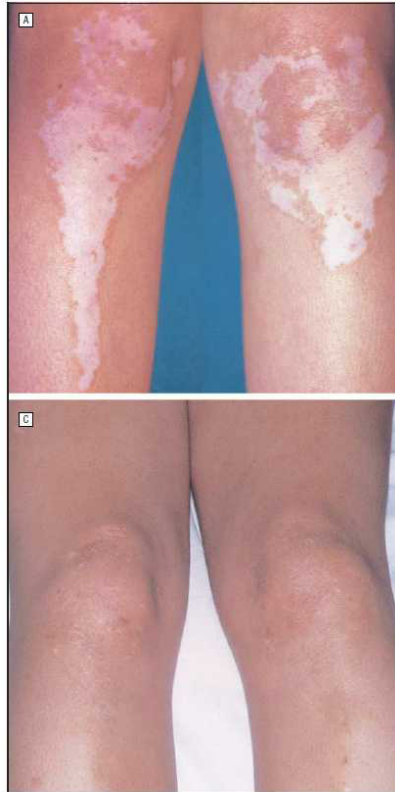


図 9-7 白斑部治療前後（A：治療前、C：治療後）

Guerra L et al, *Arch Dermal* 139:1303-1310(2003)

② 有効性主要評価項目を補足する評価指標について

上述のとおり、当該製品の有効性主要評価項目は色素再生率（%）である。しかし、色素再生率（%）の評価には、着色の程度は医師が判断するという主観評価が含まれており、評価の客観性を確実に確保することは難しい。そこで、メラノサイト/メラニンの消失した脱色素部位にメラノサイトを保持する形で移植するという当該機器の特性を生かし、メラニン量を測定することで主要評価の妥当性を客観的に証明することを試みた。結論には至らなかったものの、専門家に助言を求めたところ、主要評価項目である色素再生率にはその着色の程度に対する評価が含まれていないため、何らかの方法で着色の程度を評価すべきであるとの見解を得た。具体的手法に対する専門家の見解を以下に記す。

（i）メラニン測定用プローブを用いた測定について

代表的なプローブであるMexameter®MX18（Courage+Khazaka社製）（図 9-8 参照）について、その使用の妥当性を専門家に確認した。Mexameter®MX18 は、3 種類の波長の光を皮膚に照射し、その反射光を測ることで、皮膚の色を構成するメラニンとヘモグロビンを瞬時に測定・数値化するプローブである。

専門家からは、煩雑な作業となるため日常診療下での使用は難しいが、臨床試験であれば実施することは可能であるとの見解を得た。



図 9-8 Mexameter®MX18 (Courage+Khazaka社製)

(ii) 分光測色計を用いた測定について

代表的な分光測色計である CM-2600d (KONICA MINOLTA 社製) (図 9-9 参照) について、その使用の妥当性を専門家に確認した。CM-2600d は専用の肌解析ソフトと組み合わせて使用することで、肌の色を高い精度で計測するとともに、メラニン量、ヘモグロビン量、血中酸素飽和度指数を数値化することができる。

専門家からは、メラニン測定用プローブ同様日常診療下での使用は難しいものの、研究目的で実際に使用経験もあり、臨床試験という観点であれば測定は可能であるとの見解を得た。



図 9-9 CM-2600d (KONICA MINOLTA 社製)

③ その他有効性評価指標について

(i) カラーマッチングについて

新型自家培養表皮移植後の移植部位と正常部位の色調の同調性を確認する目的で、スキントーン・カラースケール (インフォワード社製) (図 9-10 参照) を使用することの是非

を専門家に確認した。スキントーン・カラースケールは、日本人であれば、おそらくどれかに当てはまるであろう肌の色を想定し、基準色となる 95 種類をスケール化したものである。5 本の細長い短冊系の色票で構成されており、各色票は赤（R）から黄（Y）の色相が異なる 1YR,3YR,5YR,7YR,9YR の 5 本に分類されている。さらに 1 本の色票ごとに 0.25 刻みに明度の違う 19 種類の肌色が並び、合計 95 色から肌の色を特定することができる。

専門家からは、自身の使用経験はなく、皮膚科医の中でも使用しているという話を聞いたことがない手法である旨確認した。実際の手順についても煩雑であり、臨床試験でも実際に使用するのには難しいのでは、との見解を得た。

95 の色票から
近い肌色を選択する



スキントーン・カラースケールと実際の測定風景

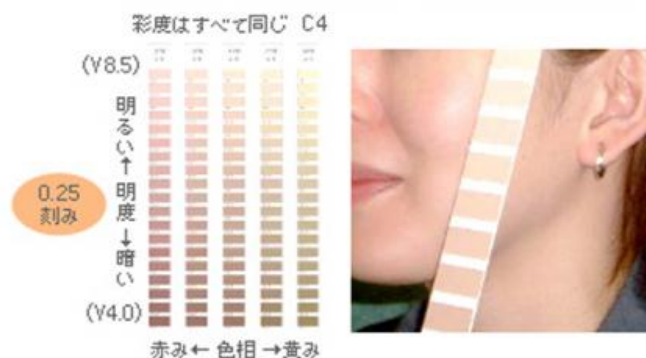


図 9-10 スキントーン・カラースケール（インフォワード社製）

（ii）水分含有量の測定について

新型自家培養表皮移植後の移植部位の性状のうち、水分含有量について確認する目的で、角質水分測定用プローブである Corneometer®CM825（Courage+Khazaka 社製）（図 9-11 参照）を使用することの是非を専門家に確認した。Corneometer®CM825 は、皮膚表面から約 15 μ m（主に角層）に含まれる水分量を瞬時に測定するプローブである。水分以外の物質の影響を受けにくく、プローブ内に内蔵されたバネにより、同一圧力での計測が可能であるため、再現性の高い測定が可能となる。

結果、日常診療下では使用されておらず、測定条件によって得られる結果に差異が生じることが想定されるため、臨床試験ということを鑑みても、使用は難しいのではないかとの見解であった。

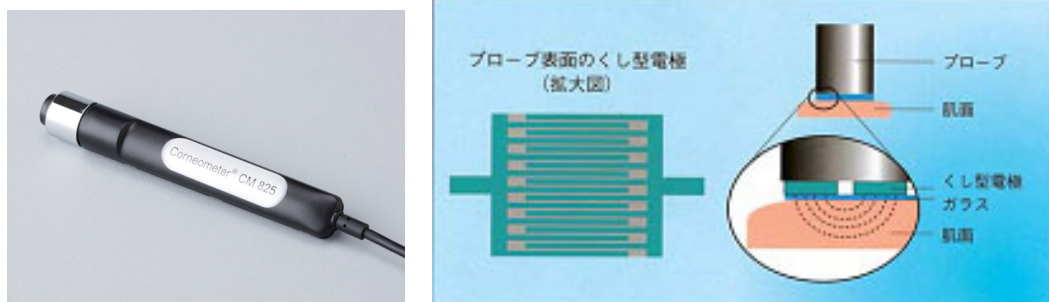


図 9-11 Corneometer®CM825 (Courage+Khazaka 社製)

(iii) 皮膚粘弾性の測定について

新型自家培養表皮移植後の移植部位の性状のうち、皮膚粘弾性（はり）について確認する目的で、皮膚粘弾性測定プローブであるCutometer®CT580 (Courage+Khazaka社製) (図 9-12 参照) を使用することの是非を専門家に確認した。Cutometer®CT580 は、皮膚測定で最も標準的な吸引方式により皮膚粘弾性を測定するプローブである。陰圧によりプローブ先端の開口部から皮膚表面を一定時間吸引しその後解放、開口部に配置されたプリズムを用いて皮膚の変異をモニタリングするという原理である。

結果、日常診療下では使用されておらず、測定条件によって得られる結果に差異が生じることが想定されるため、使用は難しいとの見解であった。



図 9-12 Cutometer®CT580 (Courage+Khazaka 社製)

④ QOL 評価について

新型自家培養表皮の適応症は、既存の自家培養表皮ジェイスのような致死的な疾患ではなく、尋常性白斑といった皮膚の脱色により QOL が著しく障害されるような疾患を考えている。このため、製品の開発意義を示すためには、治療効果に対する患者満足度の評価が非常に重要な項目となる。一方で、色素脱失以外に臨床症状を呈さない疾患であるため、既存の QOL 評価スコアでは、当該製品による治療満足度を適切に評価できないのでは、との懸念もあった。このため、皮膚科領域に特化している DLQI スコア、Skindex16 スコ

ア、Skindex29 スコアのうち、当該機器移植後の評価に適切と考える評価スコアについて、専門家の助言を得た。

DLQI は、シンプルな 10 項目の質問から、症状・感情、日常活動、レジャー、仕事・学校、人間関係、治療の 6 つの下位尺度得点と総合得点を算出するもので、手軽に実施できる反面、項目数が少ないため、他の質問票に比して下位尺度の精度は低い。一方、Skindex29 は、全 30 項目の質問から、感情、症状、機能の 3 つの下位尺度得点と総合得点を算出するものである。30 項目中治療薬剤の副作用の懸念を尋ねた質問 18 は下位尺度得点の算出に使用されないため、実際は 29 項目となる。Skindex16 は、質問数をさらに減らし、下位尺度は Skindex29 と同様である。

当社としては、下位尺度の精度の高さ、および未成年の患者も想定されることから患者負担を考慮し、Skindex16 を採用する方針である旨伝えたと、専門家より同意を得た。質問数が多くなると患者負担も大きくなるため、精度を保持したまま患者負担を軽減した Skindex16 が妥当ではないか、との見解であった。

9.2.8 臨床試験プロトコール概要

先の専門家との協議を踏まえ、尋常性白斑患者を対象とした新型自家培養表皮の治験プロトコール概要を作成した。作成に先立って、主要評価項目を色素再生率（%）、副次的評価項目を色素再生率（%）の経時的変化、カラーマッチングの程度、治療満足度、QOL 評価とした。

9.3 今後の展望と課題

今回の実施内容をふまえ、次年度にさらに臨床試験における有効性評価方法の詳細を検討し、治験実施計画書案を作成すべく、研究会において治験参加予定医師による治験実施計画案の検討を行う予定である。その後 PMDA と薬事戦略相談を行い、治験実施計画書案に対する PMDA の見解を受けて治験実施計画書を確定し、治験計画届を提出し治験を開始する。現在のところ、薬事戦略相談の事前面談を 2014 年の 10 月に実施し、2015 年 1 月に薬事戦略相談対面助言、2 月に治験計画届の提出の予定で進めている。

これまで、わが国における再生医療製品の目的は、従来の治療方法では救命が困難であるか、著しく QOL を損なう疾患のみが対象となっていた。そのため、本件のように、整容目的に実施される再生医療の経験はまだなく、これまでとは異なった高いレベルでの有効性評価基準が必要となる。今後、再生医療産業が発展していくためには、すべからく多くの症例が対象となる疾患治療が必要である。そのため、厳密な治療効果（有効性）判定基準が必要であるとともに、客観的な患者満足度評価を取り入れる必要があるだろう。

10 再生医療製品の海外への展開

10.1 申請（採択）時に経済産業省に提出した内容

10.1.1 海外情報収集

再生医療分野においては、日本のみならず諸外国でも研究、開発、あるいは製品化における競争が激化している。本事業における対象疾患の中にも、韓国、米国をはじめとする諸外国の製品と競合するものが存在する。諸外国では、単に規制のみではなく、産業発展のバランスを見据えた制度設計を行う動きも存在する。本年度はまず、これら諸外国で進められているプロジェクトや品目の内容を明確にし、日本企業として進むべき方向性を明らかにするための調査を実施する。

10.2 実施事項

10.2.1 概要

グローバルにおける皮膚疾患、あるいは軟骨疾患に適応される再生医療製品がどの程度存在するかについて、それぞれの製品を開発する企業や、およそその売上高などの情報についての整理を行うことで潜在的な競合状況を明らかにした。また、各国の規制制度について、外部情報を整理した上で、そのうちいくつかには直接コンタクトすることで、外部から判断することが困難である、制度運用の実態について把握した。

10.2.2 皮膚分野の競合企業

皮膚分野について、グローバルでの上市品は図 10-1 に示したとおりである。これを見ると、売上高が大きい製品はいずれも同種製品であり、米国においては一製品あたりの売上高が 100 億円を越えると思われる製品が複数存在していることが明らかとなった。一方、自家細胞を用いた製品は製品の品目数は多いものの、各国での売上高を合計してもその規模は数十億円単位に留まるであろうことが推察される。

直近の動きとしては、2014 年 1 月に、米 Organogenesis 社が米 Shire 社の持つシーズを買収することが発表された。Organogenesis 社はこの買収により、当該分野では圧倒的な売上高を持つ企業となり、今後、当該分野への研究開発投資をさらに進める可能性が存在する。また、英 Regenerys 社は 2013 年に Altrika 社から皮膚分野のシーズを購入して新たに当該分野の事業を発足した企業であり、このようなシーズの売買による業界の再編や統合は今後も引き続き進む可能性がある。

一方で、これらの製品の適応疾患は糖尿病性足部潰瘍あるいは重症熱傷であり、現時点で上市されている製品の中には、本プロジェクトで対象となる先天性巨大色素性母斑や白斑への適応は確認できなかった。

主地域	企業名	製品名	他展開地域	売上 (推計)	分類
米国	Organogenesis	Apligraf	-	125億円	他家/培養
	Shire	Dermagraft/TransCyte	-	154億円	他家/冷凍
	Genzyme	Epicel	EU	5.6億円	自家/培養
	Forticell Bioscience	OrCel	-	-	他家
	Fibrocell	laViv	-	8.8億円	自家/培養
	LifeCell Corporation	Alloderm	-	316億円	スキヤフォールド
英国	Regenerys	MySkin	-	0.1億円	自家/培養
		Cryoskin	-	0.6億円	他家/冷凍
	Avita Medical	ReCell /CellSpray	豪州	3.6億円	自家/培養
ドイツ	Bio Tissue Technologies	Bioseed-S	-	-	自家/培養
	Modex/Euroderm	EpiDex/EuroSkin	-	-	自家/培養
イタリア	Fidia Advanced Biopolymers	LASER SKIN	-	-	自家/培養
韓国	Tego Science	Holoderm	-	-	自家/培養
		Kaloderm	-	-	他家/冷凍
	Cha bio&diotech	Hyalograft 3DTM	-	-	自家/培養
		LSK Autograft	-	-	自家/培養
	Mctt	Keraheal	-	-	自家/培養
日本	J-TEC	JACE	-	-	自家/培養

* 主地域において、初めて何らかの疾患での承認を獲得した年 (Humanitarian Device Exemption/Conditional approval /Hospital Exemption等を含む)

* 1USD=100円/1€=120円として換算

出典：各社 HP 等より三菱総合研究所作成

図 10-1 皮膚分野における再生医療企業・製品の一覧（上市済のみ）

10.2.3 軟骨分野の競合企業

軟骨分野について、グローバルでの上市品は図 10-2 に示したとおりである。軟骨分野ではこれまで自家製品が主であったが、世界初の同種軟骨製品として、2012 年に Medipost 社が Cartistem を上市した。Cartistem はまだ韓国国内のみでの販売であるが、その販売価格は日本円で数十万円程度であり、今後は皮膚分野と同様に同種製品が一定程度の成長することも想定される。

欧州では 2009 年以来、TiGenix 社の ChondroCelect が ATMP（先端医療医薬品）として唯一の EMA 承認を得た製品であったが、2013 年にはほぼ同様の疾患に適応される MACI が同じく ATMP として承認され、市場での競争が激化していると考えられる。

主地域	企業名	製品名	他展開地域	売上(推計)	分類
米国	Genzyme	Carticel	-	26.4億円	自家/培養
		MACI	ドイツ	6.4億円	自家/冷凍
白耳義	TiGenix	ChondroCelect	-	2.0億円	自家/培養
ドイツ	Co.don	Chondrosphere Chondrotransplant	新嘉坡	-	自家/培養
	Matricel	ACI-Maix			自家/培養
	ORTHOGEN	Chondrokin			自家/冷凍
	BioTissue Technologies	Bioseed-C			自家/培養
	Verigin	CACI(MACIと同一)	-	-	自家/培養
オランダ	Isotis/Integra Lifescience	Cellactive			自家/培養
デンマーク	Interface Biotech	Cartilink-3	-	-	自家/冷凍
スロヴェニア	Educell,d.o.o.	ChondroArt			自家/培養
スウェーデン	Cell Matrix	Hycl/Hyalograft-C			自家/培養
韓国	Cellontech	Chondron	-	-	自家/培養
	Medipost	Cartistem	-	-	他家/培養
豪州	Mercy Tissue Engineering	CARTOGEN	ニュージーランド 新嘉坡		自家/培養
日本	J-TEC	JACK	-	-	自家/培養

* 主地域において、初めて何らかの疾患での承認を獲得した年 (Humanitarian Device Exemption/Conditional approval /Hospital Exemption等を含む)

* 1USD=100円/1€=120円として換算

出典：各社 HP 等より三菱総合研究所作成

図 10-2 軟骨分野における再生医療企業・製品の一覧（上市済のみ）

10.2.4 各国法制度整理

再生医療製品をどのように扱うかについては、国や地域によって大きく方針が異なるのが現状である。米国では再生医療製品は生物製剤、あるいは医療機器としての扱いである。欧州では ATMP としての扱いであり、医薬品には含まれるものの、遺伝子治療薬などと同様の先進的なカテゴリーとして設定されている。その他、新興国などにおいては、再生医療をどのカテゴリーとして審査するかは、いまだに不明瞭な部分も多く、方針が定まっていないのが現状である。

また、再生医療製品は上記のカテゴリーも含め、様々な迅速審査や例外規定によって審査、承認されているのが現状である。主要な各地域における再生医療製品が適応可能と考えられる制度と、実際に既にその制度を適応して承認申請を行った製品の例について、図 10-3 に整理を行った。現状では、各社の再生医療製品の適応される疾患や材料の特性などを踏まえ、どの制度を活用できるか個別に判断を行っていると考えられる。

国名	制度名	種類	使用可能段階	本審査期間	要求されるデータ	代表的製品名
米国	Accelerated Study	迅速	IND承認取得後から	10ヶ月		Carticel
	Priority Review	迅速	BLA承認申請時	6ヶ月		Prochymal審査中
	Expanded Access	例外	開発段階、治験中	10ヶ月		
	HUD/HDE	例外	開発段階、治験中			Sanofi (旧 Epicel)
欧州	Conditional Market Approach	迅速	販売承認申請時	一年更新	臨床データ提出要件の緩和	
	Approval Under Exceptional Circumstances	迅速	販売承認前	一年更新	安全性、有効性データの緩和	
	Compassionate Use	例外	治験中、販売承認申請中	210日	安全性、有効性データの緩和	Cryoskin, Myskin
	Hospital Exemption	例外	開発段階	-	ATMP同等、長期フォローアップ	
韓国	簡略化	迅速	販売承認申請前	-		
	IND事業	例外	開発段階、治験中	-		Queencell ,Adipocel, Livercellgram, Hearticellgram
	KODC事業	例外	海外承認済み	-		Cupistem, Cartistem
シンガポール	Abridged Dossier Route	迅速	販売承認申請時	-	安全性、有効性データの緩和	
	Verification Dossier Route	迅速	販売承認申請時	-	安全性、有効性データの緩和	
	Special Approval	迅速	販売承認申請時	-	安全性、有効性データの緩和	
	Orphan Drug Designation	例外	海外承認済み	-	必要性	
	Priority Review	例外	販売承認申請時	-	必要性	

出典：各種資料より三菱総合研究所作成

図 10-3 主要地域における再生医療に関係の大きい審査制度の整理

10.3 今後の展望

本年度は当事業の対象製品に対するグローバルでの競合の状況や、各国の法制度の整理を行うことで、日本が世界で置かれた環境についての概略整理を行った。本年度調査結果から、直接の競合製品が存在せず、日本に近い規制制度を今後構築できる可能性のある地域に対して、制度面の普及啓発活動（詳細は「**11 再生医療事業実施に関する有識者会議**」参照）と合わせた展開戦略を構築する予定である。日本の再生医療製品は高い技術水準にありながら、海外展開に向けた動きはまだ始まったばかりである。一方、諸外国では本章でも紹介した MACI など欧州や米国を中心に、積極的な海外展開の動きが見られる。日本がこれらの流れに乗り遅れないよう、本事業における海外展開の成果が他の日本発再生医療シーズのモデルケースとなることを目指し、今後の取り組みを強化していくことが重要である。

11 再生医療事業実施に関する有識者会議

11.1 申請（採択）時に経済産業省に提出した内容

11.1.1 有識者会合の企画

再生医療の有効性評価手法は、治験実施に際して製品ごとに個別の検討がなされているものの、治療自体の新規性あるいは材料の特殊性等からこれまで用いられていた評価手法が適さない場合も多く、体系だった方法論は確立されていない。本事業では、それらの評価手法を開発することが大きな目的の一つであるが、開発した評価手法の妥当性について、客観的な視点からの検証を行う必要がある。そのため、本年度事業では客観的な視点からの有効性評価手法の妥当性評価を行うため、第三者による有識者会議を企画・運営し、議論の内容を整理し情報集約を行った。

11.2 実施事項

11.2.1 有識者会合の企画・運営

本有識者会合の実施スケジュール、参加者、各回の議題は下記の通りである。

実施スケジュール			場所
第一回	1/15(水)	15:00-17:00	三菱総合研究所内会議室(4F CR-F)
第二回	2/5(水)	15:00-17:00	三菱総合研究所内会議室(4F CR-A)
第三回	2/19(水)	17:30-19:00	三菱総合研究所内会議室(4F CR-F)
第四回	3/28(金)	14:00-16:00	三菱総合研究所内会議室(4F CR-B)

図 11-1 有識者会合の実施実績

	所属	氏名
座長	東京女子医科大学	大和 雅之 教授
委員	国立医薬品食品衛生研究所	佐藤 陽治 部長
委員	大阪大学	紀ノ岡 正博 教授
委員	東京医科歯科大学	森尾 友宏 准教授
委員	テルモ株式会社	鮫島 正 研究主幹

※上記以外にJ-TEC社、事務局(三菱総合研究所)より各2-3名が出席

図 11-2 有識者会合の実施体制

実施スケジュール		アジェンダ	
		有効性評価指標	海外調査内容のディスカッション
第一回	1/15(水)	有効性評価指標・有害事象についての考え方整理 →使用データ収集、有害事象判断における論点	再生医療の全体理解、米国は規制/市場/R&Dの中心か？ →グローバルの動向、最新トピック →米国での直近の動きと戦略
第二回	2/5(水)		韓国企業のグローバル展開は日本企業へ影響を与えるか？ →海外進出の失敗事例と政策的支援の動向。新興国動向 →韓国の特異的ビジネスモデル(病院主体/ツーリズム展開)
第三回	2/19(月)		これまでのフォローアップ、欧州における論点
第四回	3/28(金)		EMA中央審査の綻び、欧州はどこへ向かうか？ →各国制度、再生医療ベンチャーの情報整理 →中央審査の実態と問題点、Hospital Exemption等の実際、今後の方向性 日本の取るべき戦略～誰を巻き込みどう枠組みを変えるか～ →ISO等含めた標準化戦略と味方になる国/地域 →足元で進めていくべき具体的打ち手

図 11-3 毎回の議論の内容

11.2.2 有識者会合における議論（集めるべき情報について）

有効性を評価する、あるいは有害事象について解析する上で、早期承認を前提とした場合に、どのような情報を取捨選択して集めるかを定めることが重要であるとの指摘がなされ、収集する項目ごとに下記のような意見が得られた。

《安全性についての情報収集》

製販業者が予想する有害事象はチェックリスト化、製販業者が予想しえなかった有害事象は医師の判断で報告。基本的には一般的な製造販売後調査であげるべき情報（MedDRA でコーディングされている副作用）は集める。‘副作用等の報告’（薬事法第 77 条の 4 の 2、薬事法施行規則第 253 条（尚、改正薬事法では第 68 条の 10、施行規則は未定）に従った情報が必要。但し、製品の品質や効能又は性能に起因すること、製品固有の特性に関連すること（例えば特性として菌増殖しやすい材料である等）、疾患や治療行為あるいはその他の原因によるもの（例えば機械的要因での剥離等）、理由が分からない有害事象であるかは、区別が必要と思われる。

《有効性についての情報収集》

予め定めた方法によって、有効性の検証を行う。したがって、評価のプロトコール（データ収集・解析法の選択）の決定が非常に重要。早期承認制度の運用下においては、製品の‘効能又は性能’に関連する情報を、患者と医師の負担にならないことを前提に有効性の推定が確認できるかどうかを、申請者、審査者が双方の専門家を交えて議論した上で、決めることになる。早期承認における市販後調査では、有効性を統計学的手法に

て、有意差が得られるかどうかの判断が必要である。また、シングルアーム試験によるバイアスなどの問題に対策が必要。

《項目の決定方法について》

患者背景や手術手技等の情報が重要となるので、学会などが主体となって収集すべき情報を検討すべき。

《システム構築について》

稀少疾患については、症例数や期間について全例調査期間を短縮し、その他のシステムに早期に移行する。手術手技（前中後）や培養加工組織の作製方法等が改変、改良されていくなか、それに対応できる柔軟な情報収集システムが必要である。すでに従来の薬事法にて承認を受けている JACE の熱傷創傷治癒への適用に対し、適用外（例えば潰瘍治療）にもすでに上記の改正薬事法レベル（安全性担保、有効性の明確化）での対応が終了しているので、早期承認制度を活用して承認を得られるような、水平転換が行いやすい制度とすべき。

11.2.3 有識者会合における議論（一定期間後の情報収集の負担軽減について）

市販後調査において、全ての情報を半永久的に収集し続けることは現実的ではないと考えられる。目的を達成した（白黒ついた）と科学的に説明がつけば、調査内容を減らすことは可能だが、負担軽減の観点からのアプローチは筋論としては違う。医師／企業の負担軽減だけでは減らすことは出来ない。基本的には妥当と考えられる症例数を事前に定め、当初定めた必要症例数についても、調査途中で変更することも考慮すべきである。

11.2.4 有識者会合における議論（有害事象の定義方法）

有害事象や重篤な有害事象は薬事法上決まっており、法律を超えた定義はできない。これを骨格として使用することが、他の手段（これから上市される薬剤：例えば皮膚治癒促進を誘導する薬剤や皮膚欠損用創傷被覆材など）との比較の観点からも望ましい。その際、移植材からのプロセスの進捗（有効性）とプロセス外からの刺激（外乱）を区別し、治癒プロセスにおける向きとその程度から有効性を評価する必要がある。そのうえで、外乱の多くは治療由来となり、製品由来ではないことを示すことが重要。また、有効性を移植後の状態のみにて判断するものではなく、移植前後の変化について評価し、その結果、（はっきりと区別できないことも理解したうえで）ネガティブとなるものを本来の有害事象と定義する必要がある。

その際、重要な点は下記の３点と考えられる。

- 1) 情報収集支援（大企業以外）
- 2) 適切な症例数の蓄積（大人数が集まらないことも予想される）
- 3) 使用医師による適切な因果関係判断

11.2.5 有識者会合における議論（海外調査を元にした示唆）

海外調査の結果を報告し、それに基づいて周辺産業を含めた日本企業の海外進出の観点から議論を行い、主に重要なポイントとして下記の4つの意見が得られた。

- ① 欧州・米国において、規制制度やその中の評価指標を確立するための個別の動きはあるが、まだ再生医療全体での評価の枠組みは整っておらず、個別対応の積み重ねに留まる。そのため日本としての評価指標を明示的に示すことには一定以上の意義があると考えられる。
- ② 欧米などの先進国は、個別に再生医療に関わる法制度の構築を目指しており、日本の法制度に対する理解を進めるため、引き続いてのコミュニケーションが必要である。また、製品自体ではないものの、当該分野に関わる ISO などには、日本が持つ本分野の知見を積極的に提案に生かすことが必要である。
- ③ アジアなどの新興国は、法制度整備への体制が不十分な国が多く、日本の再生医療の法制度をパッケージとして提供することが、当該国の再生医療の質の向上に貢献する。パッケージの中には承認制度に加え、施設基準や原料基準など周辺の制度を含む。
- ④ 欧米やアジア等は、日本の新たな再生医療の法的枠組みの動きに注視しており、当該国とのコミュニケーションを図り、これら日本の新たな法制度の普及啓発を進めることが重要となる。

11.3 今後の展望

有識者会合では、有効性評価指標の策定についてどのようなデータをどのような枠組みで収集するのか、あるいは収集すべきデータをどのように決定するかについて、大きな示唆が得られた。これらの示唆を元に、本事業においてどのようなプロセスによって有効性評価指標が決定されたか、その際に必要となる枠組みはどのようなものが想定されるかといった、特定の製品に留まらないより汎用的な評価指標の考え方の整理を、今後行いたいと考えている。それによって、本事業で直接扱った製品・疾患以外の分野にも、本事業の成果が波及していくこととなり、本事業の成果を最大限得ることが可能となる。

また、海外調査のディスカッションから、日本発の制度・規格をより積極的に普及啓発を行うための仕組みづくり、また、特にアジアを中心として仲間作りを行うことが、日本の再生医療製品と周辺産業が、これらの国々において治療において貢献して行くための必要条件であるとの示唆が得られた。これらの国々に向けた、わが国の制度等の普及啓発活動は、今後日本発の再生医療製品と周辺産業が海外展開する上で非常に重要と考えられ、セミナーや個別面談など積極的な普及啓発活動を実施していきたい。

12 事業総括

本事業を実施した結果は、次の3点にまとめることができる。一つ目は、臨床試験等を通じた臨床評価指標の確立、二つ目は製造工程合理化を通じた同等性評価指標の確立、三つ目は海外事業探索のための調査結果である。以下に、それぞれのまとめを述べる。

臨床試験プロトコル策定等を通じて、臨床評価指標をつくってきた。安全性については、臨床試験を通じた安全性評価方法について、その聴取方法や期間等の検証を行ってきた。再生医療に特化した有害事象等について、従来の医薬品・医療機器の方法を異なる対応が必要との見解も明らかとなった。今後、その評価方法として、あらかじめ予期できる安全性を脅かす事象と、予期できない事象をリスト化し、既知未知の判断が必要であろうとの考えも示された。加えて、有効性の限界（治療効果の限界）と有害事象や不具合の関係には、十分に配慮が必要であり、再生医療特有の体系化された考えを定めておく必要があることが示唆された。

一方、臨床的有効性指標をつくるためには、それにふさわしい十分量の臨床データが必要であることが再認識された。再生医療が新規性の高い医療であるため、以前から存在する臨床データは、再生医療に特化した内容でないことがほとんどであり、単純に外挿することが難しい。これらの解決には、再生医療の臨床経験を積むこと、及び、その実施結果を蓄積していくことが最大の策である。本事業では当該内容について、あくまでも仮説をつくるところに留まった。本来ならば、これら仮説について治験等の検証段階を経る必要がある。本事業では検証は未実施だが、PMDAとの折衝内容を通じて、当該事項を実施する上での基本的考え方は定まったと考えている。

二つ目は、自家培養軟骨の生産体制合理化を通じて得られた結果によるものである。合理化を行う上でその中心となる論拠は、従来方法と新しい方法との同等性評価に帰着する。すなわち、機器の選択、試薬類の選択、対象細胞、作業方法等、そのすべてについて、いかに同等性を確保するかが問われる。また、適切な信頼性保証システムに則って、バリデーション試験等が必要となる。これら内容を標準化し、適切な同等性評価手法を確立することが急務であると考えた。本事業を通じて、これまで手作業で実施してきた内容について、機械化するための前提条件を整えることができた。実施した内容の多くは、今後、実生産にむけた検証活動を行っていくこととなる。

今回の検証によって、国産メーカーの機械製品が有用であることも明らかとなった。これらの結果をもとに、国産メーカーのものも積極的に活用すべきと考える。さらに、試薬類についても、品質管理の観点から、海外製品と比較して遜色ない。とりわけ、近々、国内産のウシ血清使用解禁が期待できる。これによって、国内メーカーの参入が予想され、よりロット差の少ない、高い品質のものが競争的に上市されることが期待される。これをもとに、より安全性の高い再生医療製品を提供できるよう配慮したい。

三つ目は、海外展開から見たわが国の再生医療の位置づけである。先のふたつの項目を熟慮し、適切にこれらを展開することでアジア諸国に対するリーダーシップを発揮できると考える。調査によると、すでに、種々の再生医療製品提供活動について、わが国の対応に興味を持っていただいているようである。新しい制度的枠組みの意義を含め、早急にわが国の手法の骨子を海外に持ち出し、

当該国のイニシアティブを執るべきとの結論を得た。

最後に、本事業において完全に検証するには至らなかった項目もあったが、今後、速やかにこれらを検証し、わが国の再生医療産業の促進につなげたいと考えている。

以上