

薬生機審発1106第1号
平成30年11月6日

各都道府県衛生主管部（局）長 殿

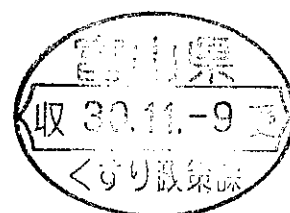
厚生労働省医薬・生活衛生局医療機器審査管理課長
（ 公 印 省 略 ）

革新的医薬品・医療機器・再生医療等製品実用化促進事業の
成果に基づき策定された留意点の公表について

厚生労働省では、革新的な医薬品、医療機器及び再生医療等製品の実用化を促進するため、平成24年度から平成28年度まで、最先端の技術を研究・開発している大学・研究機関等において、レギュラトリーサイエンスを基盤とした安全性と有効性の評価方法の確立を図り、ガイドラインの作成を行うとともに、大学・研究機関等と独立行政法人医薬品医療機器総合機構（以下「PMDA」という。）及び国立医薬品食品衛生研究所の間で人材交流を実施する事業を実施してまいりました。

今般、京都大学iPS細胞研究所（CiRA）における検討を踏まえて提案された留意点案を元に、下記の留意点を別添のとおり策定しましたので、製造販売承認申請に当たって参考とするよう、貴管内関係事業者に対して周知方御配慮願います。

なお、本通知の写しを独立行政法人医薬品医療機器総合機構理事長、一般社団法人再生医療イノベーションフォーラム会長、一般社団法人米国医療機器・IVD工業会会長、欧州ビジネス協会医療機器・IVD委員会委員長、国立医薬品食品衛生研究所所長宛て送付することを申し添えます。



記

ヒト（同種）iPS細胞由来血小板の品質に関する留意点

1. この留意点は、現時点で考えられる評価法の一例として示したものであり、製造販売承認申請において必ずしも当該評価方法による評価の実施を求めるものではないこと。評価方法の選択等については、必要に応じてPMDAの対面助言を活用すること。
2. 革新的医薬品・医療機器・再生医療等製品実用化促進事業におけるロードマップ等においてはPMDAのホームページ
(<https://www.pmda.go.jp/rs-std-jp/facilitate-developments/0001.html>)を参照されたい。

ヒト（同種）iPS 細胞由来血小板の品質に関する留意点

1. はじめに

ヒト由来の人工多能性幹細胞（iPS 細胞）又は人工多能性幹細胞様細胞（iPS 様細胞）のうち、同種由来 iPS 細胞又は iPS 様細胞を加工した製品（以下「ヒト（同種）iPS（様）細胞加工製品」という。）の品質及び安全性を確保するための基本的な技術要件は、「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」（平成 24 年 9 月 7 日付け薬食発 0907 第 5 号厚生労働省医薬食品局長通知。以下「同種 iPS 細胞局長通知」という。）に定められているところである。

本ガイドラインは、ヒト（同種）iPS 細胞加工製品のうち特に不死化巨核球細胞株を用いて製造される血小板製品の原材料となる末梢血等に由来する iPS 細胞及び不死化巨核球マスター・セル・バンクの作製並びに血小板製造までの工程について、同種 iPS 細胞局長通知の基本的な技術要件に加えて、現時点での血小板製品の原材料に同種由来 iPS 細胞を用いる場合特有の品質に関する留意点を取りまとめたものである。

2. 本書の位置づけ

本書は、技術開発の著しい iPS 細胞加工製品を対象とするものであることを勘案し、留意すべき事項を網羅的に示したのではなく、現時点で考えられる事項を示している。よって、今後の更なる技術革新や知見の集積等を踏まえ改訂されるものであり、製造販売承認申請内容を特定するものではない。

製品の評価にあたっては、個別の製品の特性を十分理解した上で、科学的な合理性をもって柔軟に対応することが必要である。

なお、本ガイドラインの他、国内外の他の関連ガイドラインを参考にすることも考慮すべきである。

3. 用語の定義

本書における用語の定義は、同種 iPS 細胞局長通知の定義による他、以下のとおりとする。

- (1) iPS 細胞シード・ストック：樹立した iPS 細胞のコロニーを分離して拡大培養して得られた細胞プールを分注したもの。
- (2) 不死化巨核球細胞株：iPS 細胞から樹立され、一定以上の期間に亘る自己複製能力に基づく再生能を持ち、血小板を産生する巨核球細胞株。
- (3) 不死化巨核球シード・セル・バンク：血小板への分化誘導に適した iPS 細胞シード・ストックより樹立した不死化巨核球細胞株をセル・バンク化したもの。

- (4) 不死化巨核球マスター・セル・バンク：不死化巨核球シード・セル・バンクから構築した、より均一な細胞集団から形成されるセル・バンク。
- (5) 原材料：ヒト組織等を含み、それらを出発原材料として再生医療等製品の製造に用いる原料又は材料を製するものをいう。
- (6) 原料等：再生医療等製品の製造工程において使用する原料若しくは材料又はそれらの原材料をいう。

4. 留意すべき事項

(1) iPS 細胞及び不死化巨核球細胞の原料等の品質管理

① 原材料となるヒト細胞の採取

同種 iPS 細胞局長通知第 2 章第 1 の 1 による他、以下の点に留意すること。

a) ドナーからの同意取得及び細胞の採取

同種 iPS 細胞由来血小板の原材料となる血液等は、あらかじめ「ヒトゲノム遺伝子解析研究に関する倫理指針（平成 25 年文部科学省・厚生労働省・経済産業省告示第 1 号）」及び「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針（平成 26 年文部科学省・厚生労働省告示第 3 号）」並びに関係法令に基づき、提供者（該当する場合には代諾者）の同意のもとで、提供を受けることができる。この場合、以下の点に留意すること。

- i) 研究計画段階において臨床応用を含む同意を取得しておくことが望ましいが、臨床応用を含む同意を取得していない場合は、改めて同意を取得すること。治験を実施する場合は、医薬品、医療機器等の品質、有効性及び安全性の確保等に関する法律（昭和 35 年法律第 145 号）の規定に基づき、少なくとも治験計画届書の提出までに、提供者又は代諾者より臨床応用についての同意を取得する必要がある。
- ii) 将来的に作製した血小板製品を治験に用いることを想定し、生物由来原料基準（平成 15 年厚生労働省告示第 210 号。以下「原料基準」という。）第 3 の 1 「ヒト細胞組織原料基準」の規定を遵守しておくこと。
- iii) ABO 血液型不適合による拒絶反応リスクを避けるため、O 型のドナーを選択することが望ましい。

b) 試料の保管

樹立した iPS 細胞及び最終製品の品質又は安全性に問題が生じた場合に備えて、一定量のドナー由来試料を凍結保管しておくこと。

② ヒト細胞以外の原料等の取扱い

ヒト細胞以外の原料等の取扱いについては、原則として、原料基準及び同種 iPS

細胞局長通知第2章第1の2による。

「生物由来原料基準の運用について」（平成26年10月2日付け薬食審査発1002第1号・薬食機参発1002第5号厚生労働省医薬食品局審査管理課長・同省大臣官房参事官（医療機器・再生医療等製品審査管理担当）通知。以下「運用通知」という。）1の（2）には、原料基準に規定される原材料に該当しないものが例示されており、その例5に基づくと、マスター・セル・バンクに対して病原体に関する十分な特性解析及び病原体による汚染の否定がなされ、その妥当性が審査において確認されれば、マスター・セル・バンク樹立過程で使用された原材料については、原料基準への適合性の説明をせずとも一定の安全性が担保できていると見なすことができる場合があるとされている。

しかしながら、再生医療等製品では、多くの場合その製造工程にウイルスクリアランス工程を含まないことから、製造に使用されるヒト・動物由来の原料等のウイルス安全性には十分注意を払う必要がある。したがって、不死化巨核球マスター・セル・バンク樹立過程及びそれ以前の段階で使用される生物由来の原材料について、原料基準への対応状況に関する情報は可能な限り入手し、必要に応じて当局に提示できるようにしておくことが望ましい。また、セル・バンク（CHO細胞、HEK293細胞等）を出発基材とした細胞培養により生産される原料等（目的細胞の分離に用いる抗体、細胞培養基質等）について、可能な限り、製造工程における細菌、真菌、ウイルス等を不活化又は除去する処理及びその評価、並びに適切な段階でのウイルス試験を実施することが望ましい。

- (2) 血小板誘導に適したiPS細胞の選定と不死化巨核球マスター・セル・バンク樹立
- 同一ドナー由来のiPS細胞にも品質にばらつきがあることから、iPS細胞の樹立の際、スクリーニングを行うため、なるべく多くのiPS細胞のクローンを分離、拡大培養し、複数のiPS細胞シード・ストックを一旦構築する。当該iPS細胞シード・ストックから、iPS細胞の拡大培養、不死化巨核球への分化誘導及び血小板産生を行った上で、血小板誘導に適したiPS細胞株を選択する。選ばれたiPS細胞株のシード・ストックより、不死化巨核球細胞株を樹立し、それをセル・バンク化して不死化巨核球シード・セル・バンクを構築する。さらに、樹立したヘテロな不死化巨核球シード・セル・バンクを限外希釈法等によるクローニングにより、より均一な不死化巨核球細胞集団から構成されるマスター・セル・バンクを構築することが現時点での標準的な製造フローと想定される。また場合によってはヘテロな不死化巨核球シード・セル・バンクをiPS細胞に初期化した上で、単一細胞として選別化した後、再度、不死化巨核球に分化誘導してマスター・セル・バンクを構築することも可能である。

巨核球への分化誘導に適した iPS 細胞株の選定について、以下のようなスクリーニング基準が想定される。

a) iPS 細胞の外観

iPS 細胞として適切な形態を有していること。

b) iPS 細胞の増殖能

継代毎にセルカウントを行う等により、iPS 細胞として適切な増殖能を有することを確認すること。

c) 血球系前駆細胞への分化能

iPS 細胞から、血球系前駆細胞に分化誘導させたとき、CD34 陽性 CD43 陽性を示すこと、及び血球系前駆細胞として適切な形態を有していること。なお、一部の細胞が CD41a 陽性を示していても差し支えない。

d) 巨核球への分化能及び増殖安定性

血球系前駆細胞から、さらに巨核球への分化誘導を行い、巨核球としての表面マーカー (CD41a、CD42b 等) の発現を確認した結果、その陽性株の比率が高く、かつ継代を繰り返しても巨核球としての外観及び機能が維持され、安定な増殖を示すこと。

血球系前駆細胞を巨核球へ分化させるに先立ち、血球系前駆細胞をあらかじめ巨核球の適切な分化マーカーを指標にして分画することも有効な手段である。また、血球系前駆細胞への分化抵抗性がある iPS 細胞株には、ラミニンフラグメント等の適切な細胞外マトリックスで培養し、分化抵抗性を解除することも有効な手段である。なお、これらの付加的な方法に係る抗体、ラミニン等の原料基準への適合性にも留意すること (4 (1) ②参照)。

(3) 不死化巨核球マスター・セル・バンクの特性解析及び品質評価

不死化巨核球マスター・セル・バンクについては、同種 iPS 細胞局長通知第 2 章第 2 の 2 (5) 及び (7)、「「生物薬品 (バイオテクノロジー応用医薬品/生物起源由来医薬品) 製造用細胞基材の由来、調製及び特性解析」について」(平成 12 年 7 月 14 日付け医薬審第 873 号厚生省医薬安全局審査管理課長通知) 等を参考に特性解析及び品質評価を行うこと。以下のような試験項目が想定される。

a) 生存率

セル・バンクから解凍後の不死化巨核球が適切な生存率を有すること。

b) 増殖能

血小板産生に用いる不死化巨核球として、適切な増殖能と巨核球株としての継代安定性 (一定期間以上安定して増殖する能力) を有すること。

c) 血小板産生能

血小板産生に用いる不死化巨核球として、適切な機能を有する血小板を適切

な効率で産生する能力を有すること。

d) 表面マーカー

CD41a、CD42b 等の巨核球として適切なマーカーの発現及び不適切な分化細胞や未分化の iPS 細胞の残存が基準値以下であることを確認すること。

e) 核型解析

少なくとも 20 細胞について G バンド分析を行い観察した結果、核型が正常の範囲であると認められること。

f) ベクターの残存

iPS 細胞又は不死化巨核球の樹立にベクターを用いた場合、適切な段階でベクターの残存が基準値以下であることについて確認すること。

g) 汚染検査

無菌試験、マイコプラズマ否定試験及びエンドトキシン試験を行うこと。

h) ウイルス混入否定試験

「ヒト又は動物細胞株を用いて製造されるバイオテクノロジー応用医薬品のウイルス安全性評価」について（平成 12 年 2 月 22 日付け医薬審第 329 号厚生省医薬安全局審査管理課長通知）を参考にすること。

i) 増殖能をもつ細胞の残存の確認

輸血後の GVHD 予防のために血小板製品に照射される放射線量で iPS 細胞や不死化巨核球が増殖能を失うことを *in vitro* 試験で示すこと。

j) ABO 血液型、HLA、HPA 解析及び STR 解析

ABO 血液型、HLA 型、HPA 型及び STR のパターンの一部又は全部についてドナーと一致することを確認すること。

(4) 血小板製品（最終製品）の品質評価

品質試験の規格値の設定について、治験を開始する前段階の場合にあっては、それまでに得られた試験検体での実測値を提示し、これらに基づいた現時点での規格値を設定すること。下記に品質試験項目を示しているが、参考としての例示であり、実際の評価においては個別の製品の特性に応じた品質試験を設定すること。

血小板製品の有効期間が短いことから、出荷試験については、短時間で実施できる試験法を採用するとともに試験項目についても考慮すること。また、品質の変動を管理する上で、工程内検査をあわせて活用することが勧められる。下記の試験の中には試験に時間を要するため出荷判定には使用せず、工程内検査の結果により出荷することも考慮されるべきであるが、可能な限り出荷試験として設定するように努めること。工程内検査の結果で出荷する場合、必要に応じて、出荷後に規格外との結果が得られた場合の措置をあらかじめ定めた上で実施すること。

a) 性状等：

- ・ 外観

本品は、透明の液中に浮遊した血小板で、スワーリング（透過光で観察した場合に見られる渦巻き状のパターン）が観察されること。

- ・ pH

製剤 pH を測定し、規格内であることを確認すること。

b) 含量：

- ・ 血小板数

1 バッグ中の血小板総数は単位数 $\times 0.2 \times 10^{11}$ 個（1 単位に 0.2×10^{11} 個の血小板を含む。）以上であること。

c) 不純物試験

- ・ 巨核球細胞

残存する不死化巨核球細胞数（生細胞だけでなく死細胞も含む。）を測定し、血小板数に対する含量として設定した規格値未満であることを確認すること。

- ・ 巨大又は微小な血小板

必要に応じて、血小板の大きさについて管理する必要があるか検討すること。

d) 確認試験

血小板特異的な細胞表面分子（CD41a、CD42b 等）等の血小板として適切なマーカーの発現についてフローサイトメトリーを用いて確認すること。

e) 機能評価試験

- ・ 活性化刺激による PAC-1、P-Selectin 等の血小板活性化マーカーの発現についてフローサイトメトリーを用いて確認すること。

- ・ 血小板凝集能検査により血小板としての機能特性を有することを確認すること。

- ・ 血小板の循環能を規定するアネキシン V が結合する血小板の割合について、フローサイトメトリーを用いて設定した規格値未満であることを確認すること。

f) エンドトキシン試験

エンドトキシン含量を測定し、規格値内であることを確認すること。

g) 添加物・不純物の残存量の確認

製造工程中の添加物又はそれに由来する不純物の残存量について適切な規格を設定し、確認すること。なお、残存する添加物・不純物の安全性評価については、別紙「細胞加工製品の製造工程由来不純物の安全性評価に関する基本的な考え方」を参考とすること。

h) マイコプラズマ否定試験

マイコプラズマの混入否定試験を実施すること。血小板産生工程（別添参照）への移行時又は産生工程中にサンプリングして試験すること。

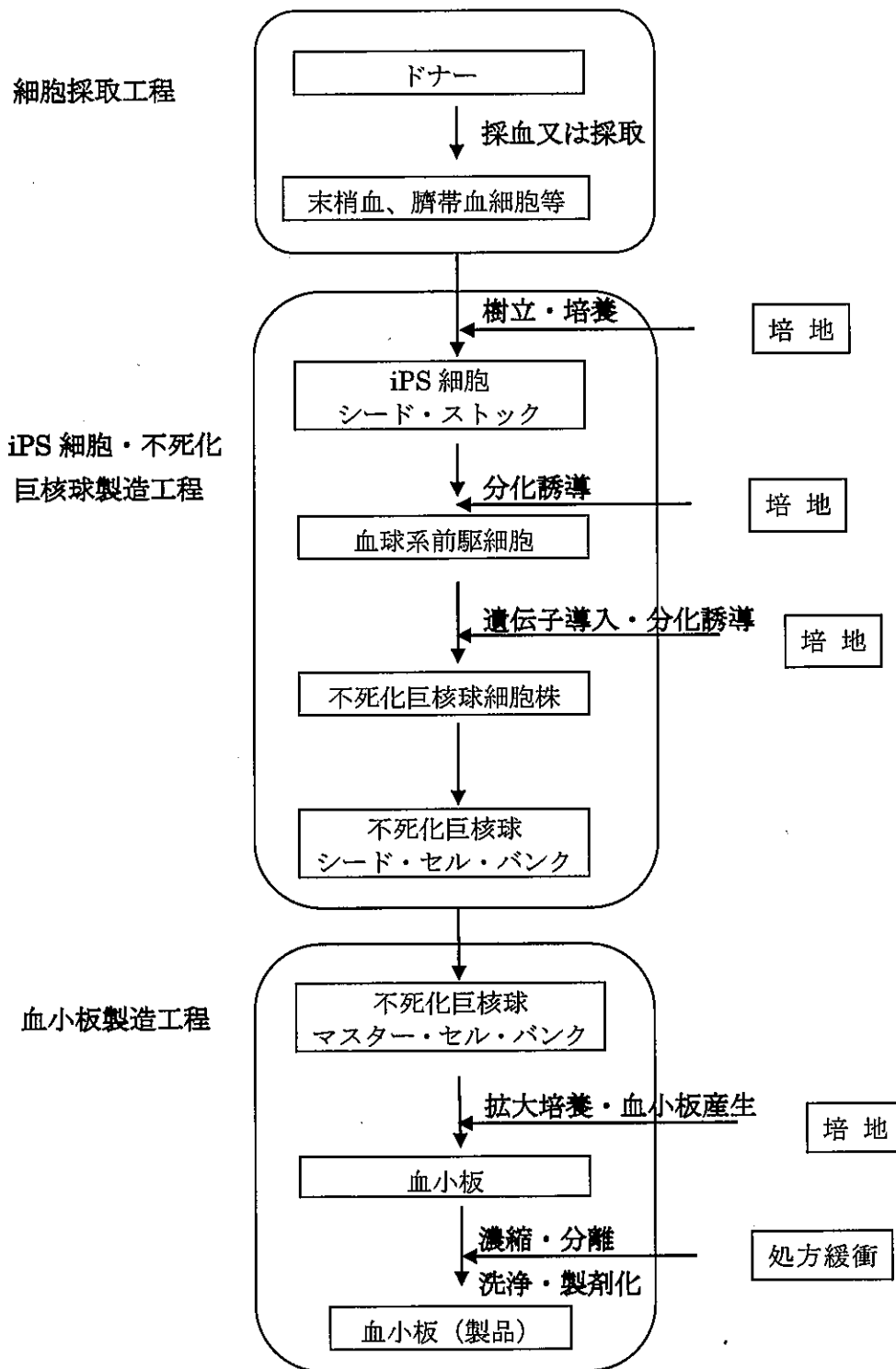
i) 無菌試験

無菌試験を実施すること。血小板産生工程への移行時にサンプリングして試験すること。また、可能であれば製品への小分け時又は小分け後にサンプリングして試験することが望ましい。

j) ウイルス否定試験

原料等及び作業環境からのウイルスの混入リスク、並びに製造工程中での品質管理を考慮した上で、ウイルス否定試験の実施の要否を検討すること。

別添：想定される血小板製造工程のフロー（例）



別紙

細胞加工製品の製造工程由来不純物の安全性評価に関する基本的な考え方

1. 序論

本書は、血小板製品をはじめとする細胞製品に含まれる不純物の安全性評価についての基本的な考え方をとりまとめたものである。なお、使用する生物由来原料のウイルス安全性等については、原料基準及びその関連通知・ガイダンスを参照すること。

2. 主文

細胞加工製品に含まれる不純物については、製造工程において不純物の残存の低減化を図るとともに、安全性上懸念のある不純物（例えば、抗生物質や毒劇物等）については、治験届出時まで、原則として、最終製品中の残存量を実測する必要がある。その他の不純物の安全性評価に際しては、特定の不純物の除去率を全ての不純物に一律に外挿するのではなく、製造工程（例えば、製造工程における希釈率）を考慮した上で、個々の不純物について最終製品中の残存量を推定又は実測する必要がある。

最終製品に含まれる製造工程由来不純物の残存量から、最終製品の臨床試験における投与量を踏まえて、製造工程由来不純物のヒトへの曝露量を求める必要がある。当該曝露量をもとに、ヒトに投与された際の安全性については、個々の不純物の特性及び臨床試験の用法・用量を踏まえて、以下に示した「ヒト生体内物質」及び「化学物質」の観点から評価することが必要になる。

(1) ヒト生体内物質

医薬品又は医薬品添加物としての使用実績、ヒト血液中の濃度、許容一日摂取量等の情報から、ヒトへの安全性を説明することが可能である。一方で、これらの情報から不純物のヒトへの安全性が説明できない場合には、「医薬品の臨床試験及び製造販売承認申請のための非臨床安全性試験の実施についてのガイダンス」について」（平成 22 年 2 月 19 日付け薬食審査発 0219 第 4 号厚生労働省医薬食品局審査管理課長通知）」及び「医薬品開発におけるヒト初回投与試験の安全性を確保するためのガイダンス」について」（平成 24 年 4 月 2 日付け薬食審査発 0402 第 1 号厚生労働省医薬食品局審査管理課長通知。以下「医薬品開発における非臨床ガイダンス」という。）並びに「バイオテクノロジー応用医薬品の非臨床における安全性評価」について」（平成 24 年 3 月 23 日付け薬食審査発 0323 第 1 号厚生労働省医薬食品局審査管理課長通知）」を参考に、医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準に関する省令（平成 9 年厚生省令第 21 号）又は再生医療等製品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準に関する省令（平成 26 年厚生労働省令第 88 号）（以下「GLP 省令」という。）に基づき実施された非臨床安全性試験成績等を用いて、

臨床試験におけるヒトへの安全性を確保する必要がある。

(2) 化学物質

① 毒性学的懸念の閾値以下でのヒトへの曝露が想定される場合

臨床試験における当該不純物の曝露量が、「潜在的発がんリスクを低減するための医薬品中 DNA 反応性（変異原性）不純物の評価及び管理」ガイドラインについて（平成 27 年 11 月 10 日付け薬生審査発 1110 第 3 号厚生労働省医薬・生活衛生局審査管理課長通知）に示されている、一生涯よりも短い期間（LTL: less-than-lifetime）の曝露に関する許容摂取量（以下「毒性学的懸念の閾値」という。）以下である場合、閾値以下であることを以てヒトへの安全性を説明することが可能である。

② 毒性学的懸念の閾値を超えたヒトへの曝露が懸念される場合

a) 医薬品又は医薬品添加物の承認された用法・用量の範囲内の場合

最終製品の投与経路が当該医薬品や医薬品添加物の用法と同一で、最終製品中の残存量から計算されるヒトへの曝露量が、当該品の用量を超えない範囲内であれば、ヒトへの安全性を説明することが可能である。

b) 医薬品又は医薬品添加物でない若しくは医薬品又は医薬品添加物であり承認された用法・用量の範囲を超える場合

非臨床安全性試験成績を用いて安全性を説明する場合には、原則として GLP 省令に基づいた実施体制下で実施された試験成績に基づくことが必要である。

不純物について臨床試験におけるヒトへの安全性を確保するためには、個々の不純物の非臨床安全性試験成績を用いて、医薬品開発における非臨床ガイダンス等を参考にして、安全性を説明する必要がある。

なお、不純物の安全性を最終製品の非臨床安全性試験成績に基づき評価することについて、細胞加工製品を遺伝毒性試験の検体として、遺伝毒性を評価することは困難だが、一般毒性については、医薬品開発における非臨床ガイダンスを参考に評価することが可能と考えられる。

③ 元素不純物について

「医薬品の元素不純物ガイドラインについて」（平成 27 年 9 月 30 日付け薬食審査発 0931 第 4 号厚生労働省医薬食品局審査管理課長通知）を参考に、ヒトへの安全性を説明することも可能と考えられる。

3. 関連通知

- ・「「医薬品の臨床試験及び製造販売承認申請のための非臨床安全性試験の実施についてのガイダンス」について」(平成 22 年 2 月 19 日付け薬食審査発 0219 第 4 号厚生労働省医薬食品局審査管理課長通知)
- ・「「医薬品開発におけるヒト初回投与試験の安全性を確保するためのガイダンス」について」(平成 24 年 4 月 2 日付け薬食審査発 0402 第 1 号厚生労働省医薬食品局審査管理課長通知)
- ・「「バイオテクノロジー応用医薬品の非臨床における安全性評価」について」(平成 24 年 3 月 23 日付け薬食審査発 0323 第 1 号厚生労働省医薬食品局審査管理課長通知)
- ・「「潜在的発がんリスクを低減するための医薬品中 DNA 反応性(変異原性)不純物の評価及び管理」ガイドライン」(平成 27 年 11 月 10 日付け薬食審査発 1110 第 3 号厚生労働省医薬・生活衛生局審査管理課長通知)
- ・「「医薬品の元素不純物ガイドラインについて」(平成 27 年 9 月 30 日付け薬食審査発 0931 第 4 号厚生労働省医薬食品局審査管理課長通知)