平成 27 年度動物用再生医療等製品の安全性試験等開発事業

事業報告書

平成 28 年 3 月

動物用ワクチン-バイオ医薬品研究会

平成 27 年度動物用再生医療等製品の安全性試験等開発事業報告書

目　　次

平成 27 年度動物用再生医療等製品の安全性試験等開発事業報告書・・・・・・・ 1

別添 1
動物細胞加工製品（同種由来）の品質及び安全性確保に関する指針（素案）及び解説書（素案）・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 7

別添 2
動物細胞加工製品（自己由来）の品質及び安全性確保に関する指針（素案）及び解説書（素案）・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 39

別添 3
動物細胞加工製品（同種由来）の品質及び安全性確保に関する指針（素案）の解説書（素案）に係る試験法の類型とその問題点の整理・・・・・・・・・・・・・ 69

別添 4
指針（素案）及び解説書（素案）作成のための情報収集

1）再生医療等製品に関するシンポジウムでのアンケート調査結果・・・・・・・ 92

2）再生医療等製品に関するシンポジウムでの講演プロシーディング・・・・・・ 104

3）再生医療等製品関連施設等の現地調査報告・・・・・・・・・・・・・・・・・ 136

平成 27 年度動物用再生医療等製品の安全性試験等開発事業
事業報告書

動物用ワクチン-バイオ医薬品研究会
会長　小沼　　操

1. 事業目的

iPS 細胞などの多能性幹細胞の活用分野は、大きく再生医療分野と創薬応用になるといわれている。動物は人と異なり、試験動物として直接使用できるという利点があり、獣医療における先進的な応用が期待される。その中で、平成 26 年 11 月に施行された改正薬事法では再生医療等製品というジャンルが新たに取り入れられ、その製造販売承認の取得が通常の医薬品より緩和されたことから、再生医療等製品が臨床現場へ提供されやすくなるものと考えられる。動物用再生医療等製品としては、がん療法に使用する製品や輸血用製品等の実用化が進められており、これらの製品の普及を図るためには、その特性を踏まえた安全性等の新たな基準作りが不可欠である。

そこで、動物用再生医療等製品の安全性等基準の作成に寄与するため、それらの製品に関する情報を広く収集し、品質及び安全性の確保に関する指針素案の作成を行う。動物用再生医療等製品の開発に必要な試験方法とその評価法を明示した指針が作成されることにより、試験実施方法の定型化、審査基準を明確にすることが可能となり、当該製品の申請者の負担軽減及び審査の迅速化が図られる。

2. 事業内容

学識経験者や再生医療の専門家から成る検討委員会を組織し、動物用再生医療等製品に関する情報を収集するとともに、動物用再生医療等製品の品質及び安全性確保に関する指針素案を作成する。

1)　動物用再生医療等製品安全性試験等開発検討委員会の開催

再生医療に係る専門家からなる「動物用再生医療等製品安全性試験等開発検討委員会」を設置し、事業方針を決定し、動物用再生医療等製品に関する情報収集及び動物用再生医療等製品の品質及び安全性確保に関する指針素案の検討を行う。

2)　シンポジウムの開催

動物用再生医療等製品に関する情報を広く収集するため、シンポジウムを開催し、動物用再生医療に関するアンケート調査を実施する。

3） 再生医療等製品関連施設等の現地調査

動物細胞加工製品の品質及び安全性確保に関する指針（素案）の作成に向けての情報収集のため、再生医療等製品を実際に製造している施設、再生医療等製品に関連する機器を製造している施設等、再生医療等製品に関連する施設等の現地調査を行う。

3. 事業成果

動物用再生医療等製品安全性試験等開発検討委員会を開催し、動物細胞加工製品（同種由来）の品質及び安全性確保に関する指針（素案）及び解説書（素案）並びに動物細胞加工製品（自己由来）の品質及び安全性確保に関する指針（素案）及び解説書（素案）について、それぞれ別添 1、別添 2 のとおり取りまとめた。さらに動物細胞加工製品（同種由来）の品質及び安全性確保に関する指針（素案）の解説書（素案）において試験法の類型及び問題点を整理するため、ワーキンググループを立ち上げ、別添 3 のとおりとりまとめた。

再生医療に関連するシンポジウムにおけるアンケート調査、再生医療等製品関連施設の現地調査等により、それぞれの指針（素案）及び解説書（素案）の作成にあたって必要な情報を別添 4（「1）再生医療等製品に関するシンポジウムでのアンケート調査結果」、「2）再生医療等製品に関するシンポジウムでの講演プロシーディング」、「3）再生医療等製品関連施設の現地調査報告」）のとおり収集し、検討を行った。

再生医療に関する国際学会に関して、公立大学法人大阪府立大学大学院生命環境科学研究科の鳩谷晋吾准教授及び日本獣医再生医療学会の岸上義弘会長からそれぞれ以下のとおり参加報告を受けた。

公立大学法人大阪府立大学大学院生命環境科学研究科の鳩谷晋吾准教授からは、ストックホルムにて開催された国際幹細胞学会に関する報告があり、当該学会においては獣医領域の報告は少なく、馬や犬の ES 細胞を作製したといった内容や、ヒトにおける研究のために豚を使った基礎研究を行ったというような内容であった。さらに、日本国内では iPS 細胞の研究に重点を置いているが、世界的に見ると細胞として成長している状態から初期化させている iPS 細胞よりも、遺伝子的な問題点のない状態から培養している ES 細胞の研究の方が進んでいるという報告もあった。

日本獣医再生医療学会の岸上義弘会長からは、北米獣医再生医療学会に関する報告があり、FDA/CVM の Lynne Boxer 氏による動物用細胞由来製品の指針に関する講演に関するものであり、さらに岸上会長からは指針の内容に関する説明もなされた。

1）検討委員会の開催

（動物細胞加工製品の品質及び安全性確保に関する指針（素案）及び解説書（素案）の作成）

大学・研究機関等の学識経験者及び再生医療の専門家等から 18 名を選任し、「動物

細胞加工製品（同種由来）の品質及び安全性確保に関する指針（素案）及び解説書（素案)」並びに「動物細胞加工製品（自己由来）の品質及び安全性確保に関する指針（素案）及び解説書（素案)」作成のため、検討委員会を 10 回（第 1 回：平成 27 年 6 月 5 日、第 2 回：平成 27 年 7 月 17 日、第 3 回：平成 27 年 8 月 18 日、第 4 回：平成 27 年 9 月 10 日、第 5 回：平成 27 年 10 月 7 日、第 6 回：平成 27 年 11 月 17 日、第 7 回：平成 27 年 12 月 10 日、第 8 回：平成 28 年 1 月 13 日、第 9 回：平成 28 年 2 月 16 日、第 10 回：平成 28 年 3 月 15 日）開催し、当該指針（素案）及び解説書（素案）の検討に必要な情報を収集してそれらを作成した。また、動物細胞加工製品（同種由来）の品質及び安全性確保に関する指針（素案）の解説書（素案）において試験法の類型及び問題点を整理するため、ワーキンググループを 2 回（第 1 回：平成 27 年 12 月 11 日、第 2 回：平成 28 年 1 月 18 日）開催した。なお、検討事項並びに検討委員及びワーキンググループの委員については以下のとおりである。

［検討事項］

・検討委員会

第 1 回：事業方針等の検討

第 2 回：動物細胞加工製品（同種由来）の品質及び安全性確保に関する指針（素案）の解説書（素案）に関する検討、動物再生医療に関して収集すべき情報の検討

第 3 回：動物細胞加工製品（同種由来）の品質及び安全性確保に関する指針（素案）の解説書（素案）に関する検討、国際学会に関する報告、動物再生医療に関して収集すべき情報の検討

第 4 回：動物細胞加工製品（同種由来）の品質及び安全性確保に関する指針（素案）の解説書（素案）に関する検討、動物細胞加工製品（自己由来）の品質及び安全性確保に関する指針（素案）に関する検討、学会参加報告

第 5 回：動物細胞加工製品（同種由来）の品質及び安全性確保に関する指針（素案）の解説書（素案）に関する検討、動物細胞加工製品（自己由来）の品質及び安全性確保に関する指針（素案）に関する検討、アンケート調査結果に関する検討

第 6 回：動物細胞加工製品（同種由来）の品質及び安全性確保に関する指針（素案）の解説書（素案）に関する検討、動物細胞加工製品（自己由来）の品質及び安全性確保に関する指針（素案）に関する検討、動物細胞加工製品（同種由来）の品質及び安全性確保に関する指針（素案）の解説書（素案）に関する試験法の検討、学会参加報告

第 7 回：動物細胞加工製品（同種由来）の品質及び安全性確保に関する指針（素案）の解説書（素案）に関する検討、動物細胞加工製品（自己由来）の品質及び安全性確保に関する指針（素案）に関する検討、動物細胞加工製品（同種由

来）の品質及び安全性確保に関する指針（素案）の解説書（素案）に関する試験法の検討

第 8 回 : 動物細胞加工製品（同種由来）の品質及び安全性確保に関する指針（素案）の解説書（素案）に関する検討、動物細胞加工製品（自己由来）の品質及び安全性確保に関する指針（素案）及び解説書（素案）に関する検討、動物細胞加工製品（同種由来）の品質及び安全性確保に関する指針（素案）の解説書（素案）に関する試験法の検討、収集すべき情報に関する検討

第 9 回 : 動物細胞加工製品（同種由来）の品質及び安全性確保に関する指針（素案）の解説書（素案）に関する検討、動物細胞加工製品（自己由来）の品質及び安全性確保に関する指針（素案）及び解説書（素案）に関する検討、動物細胞加工製品（同種由来）の品質及び安全性確保に関する指針（素案）の解説書（素案）に関する試験法の検討、収集した情報に関する報告（学会参加及び施設見学）

第 10 回 : 動物細胞加工製品（同種由来）の品質及び安全性確保に関する指針（素案）の解説書（素案）に関する検討、動物細胞加工製品（自己由来）の品質及び安全性確保に関する指針（素案）及び解説書（素案）に関する検討、動物細胞加工製品（同種由来）の品質及び安全性確保に関する指針（素案）の解説書（素案）に関する試験法の検討

・ワーキンググループ

第 1 回 : 動物細胞加工製品（同種由来）の品質及び安全性確保に関する指針（素案）の解説書（素案）に関する試験法の検討

第 2 回 : 動物細胞加工製品（同種由来）の品質及び安全性確保に関する指針（素案）の解説書（素案）に関する試験法の検討

［検討委員］

新井　克彦	国立大学法人東京農工大学農学部附属硬蛋白質利用研究施設 教授
稲葉　俊夫	公立大学法人大阪府立大学大学院生命環境科学研究科 教授
犬丸　茂樹	国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構 動物衛生研究所 企画管理部 業務推進室 専門員
小沼　操	国立大学法人北海道大学 名誉教授
岡田　邦彦	株式会社 J-ARM　代表取締役社長
笠嶋　快周	日本中央競馬会 競走馬総合研究所 臨床医学研究室 上席研究役
岸上　義弘	日本獣医再生医療学会 会長
木ノ下　千佳子	日本全薬工業株式会社 研究開発本部 開発部 開発薬事第 2 チーム チームリーダー
佐々木　伸雄	国立大学法人東京大学 名誉教授

佐藤　陽治	国立医薬品食品衛生研究所 再生・細胞医療製品部 部長
嶋田　照雅	公立大学法人大阪府立大学生命環境科学域附属獣医臨床センター 教授
竹嶋　伸之輔	国立研究開発法人理化学研究所 分子ウイルス学特別研究ユニット 研究員
野村　明徳	DS ファーマアニマルヘルス株式会社 開発本部 開発部 主席部員
畠　賢一郎	株式会社ジャパン・ティッシュ・エンジニアリング 常務取締役
濵岡　隆文	一般財団法人生物科学安全研究所 専務理事
平山　紀夫	麻布大学 客員教授
山口　智宏	株式会社ケーナインラボ 代表取締役
矢野　一男	東京女子医科大学　先端生命医科学研究所　非常勤講師

［ワーキンググループ委員］

小沼　操	国立大学法人北海道大学 名誉教授
岡田　邦彦	株式会社 J-ARM　代表取締役社長
木ノ下　千佳子	日本全薬工業株式会社 研究開発本部 開発部 開発薬事第 2 チーム チームリーダー
野村　明徳	DS ファーマアニマルヘルス株式会社 開発本部 開発部 主席部員
平山　紀夫	麻布大学 客員教授
山口　智宏	株式会社ケーナインラボ 代表取締役

2）　シンポジウムの開催

獣医学における再生医療に関連する研究者が多く参加する学会（日本獣医学会学術集会、日本獣医再生医療学会大会、内科学アカデミー学術大会、日本獣医師会獣医学術学会）において、動物再生医療に関する講演及びアンケート調査による情報収集を目的としてシンポジウムを開催し、講演者及び参加者から広く情報を収集した。調査結果については、別添 4 の「1）再生医療等製品に関するシンポジウムでのアンケート調査結果」のとおり、また講演プロシーディングについては別添 4 の「2）再生医療等製品に関するシンポジウムでの講演プロシーディング」のとおりである。なお、シンポジウムを開催した 4 箇所のうち、当研究会が主催となった学会（日本獣医学会学術集会及び日本獣医師会獣医学術学会）のみプロシーディングを掲載することとする。

3）　再生医療等製品関連施設等の現地調査

動物細胞加工製品の品質及び安全性確保に関する指針（素案）及び解説書（素案）の作成に向けての情報収集のため、再生医療等製品を実際に製造している施設、再生医療等製品に関連する機器を製造している施設等、再生医療等製品に関連する施設等

の現地調査を行った。調査結果については、別添 4 の「3）再生医療等製品関連施設等の現地調査報告」のとおりである。

別添１

動物細胞加工製品（同種由来）の品質及び安全性確保に関する指針（素案）及び解説書

（素案）

動物細胞加工製品（同種由来）の品質及び安全性確保に関する指針

はじめに

１．本指針は、動物細胞加工製品のうち、同種由来細胞（自己由来のものを除く。）を加工したものの品質及び安全性の確保のための基本的な技術要件について定めるものである。
しかしながら、再生医療等製品の種類や特性、臨床上の適用法は多種多様であり、また、本分野における科学的進歩や経験の蓄積は日進月歩である。本指針を一律に適用したり、本指針の内容が必要事項すべてを包含しているとみなしたりすることが必ずしも適切でない場合もある。したがって、個々の再生医療等製品についての試験の実施や評価に際しては本指針の目的を踏まえ、その時点の学問の進歩を反映した合理的根拠に基づき、ケース・バイ・ケースで柔軟に対応することが必要であること。

２．製造販売承認申請時における品質及び安全性の確保のための資料は、本指針に沿って充実整備されることを前提としている。
しかしながら、当該製品の由来、対象疾患、対象患畜、適用部位、適用方法及び加工方法等により資料の範囲及び程度が異なり、本指針では具体的に明らかでないことも少なくないので、個別に動物医薬品検査所に相談することが望ましい。

目次

第１章 総則･･･ 1
第１ 目的･･･ 1
第２ 定義･･･ 1
第２章 製造方法･･･ 2
第１ 原材料及び製造関連物質･･･ 2
１ 目的とする細胞･ 組織･･･ 2
(1) 起源及び由来、選択理由･･･ 2
(2) 原材料となる細胞･ 組織の特性と適格性･･･ 2
(3) ドナーに関する記録･･･ 2
(4) 細胞･ 組織の採取･ 保存･ 運搬･･･ 2
２ 目的とする細胞･ 組織以外の原材料及び製造関連物質･･･ 3
(1) 細胞の培養を行う場合･･･ 3
(2) 非細胞成分と組み合わせる場合･･･ 5
(3) 細胞に遺伝子工学的改変を加える場合･･･ 5
第２ 製造工程･･･ 6
１ ロット構成の有無とロットの規定･･･ 6
２ 製造方法･･･ 6
(1) 受入検査･･･ 6
(2) 細菌、真菌及びウイルス等の不活化･ 除去･･･ 7
(3) 組織の細切、細胞の分離、特定細胞の単離等･･･ 7
(4) 培養工程･･･ 7
(5) 株化細胞の樹立と使用･･･ 7
(6) 細胞のバンク化･･･ 7
(7) 製造工程中の取り違え及びクロスコンタミネーション防止対策･･･ 7
３ 加工した細胞の特性解析･･･ 8
４ 最終製品の形態、包装･･･ 8
５ 製造方法の恒常性･･･ 8
６ 製造方法の変更･･･ 8
第３ 最終製品の品質管理･･･ 8
１ 総論･･･ 8
２ 最終製品の品質管理法･･･ 9
(1) 細胞数並びに生存率･･･ 9

(2) 確認試験・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 9
(3) 細胞の純度試験・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 9
(4) 細胞由来の目的外生理活性物質に関する試験・・・・・・・・・・・・・・・・・ 9
(5) 製造工程由来不純物試験・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 10
(6) 無菌試験及びマイコプラズマ否定試験・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 10
(7) エンドトキシン試験・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 10
(8) ウイルス等の試験・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 11
(9) 効能試験・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 11
(10) 力価試験・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 11
(11) 力学的適合性試験・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 11
第３章 再生医療等製品の安定性・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 12
第４章 安全性試験・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 12
1 総論・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 12
2 安全性に関する試験・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 12
(1) 動物・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 12
(2) 動物数・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 13
(3) 投与経路・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 13
(4) 投与量及び群分け・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 13
(5) 投与回数及び投与期間・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 13
(6) 観察及び検査項目・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 13
第５章 薬理試験・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 14
1 総論・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 14
2 薬効・薬理試験・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 14
第６章 体内動態・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 14
1 総論・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 14
2 体内分布・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 14
第７章 臨床試験を始めるにあたって・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 15
1 総論・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 15
2 臨床試験（治験実施計画書）・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 15

解説書・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 16

第１章　総則

第１目的

本指針は、動物細胞加工製品のうち、同種由来細胞（自己由来のものを除く。）を加工したものの品質及び安全性の確保のための基本的な技術要件について定めるものである。

第２定義

本指針における用語の定義は以下のとおりとする。

１「細胞の加工」とは、疾患の治療や組織の修復又は再建を目的として、細胞・組織の人為的な増殖・分化、細胞の株化、細胞の活性化等を目的とした薬剤処理、生物学的特性改変、非細胞成分との組み合わせ又は遺伝子工学的改変等を施すことをいう。組織の分離、組織の細切、細胞の分離、特定細胞の単離（薬剤等による生物学的・化学的な処理により分離するものを除く。）、抗生物質による処理、洗浄、ガンマ線等による滅菌、冷凍、解凍等は加工とみなさない（ただし、本来の細胞と異なる構造・機能を発揮することを目的として細胞を使用するものについてはこの限りではない。）。

２「製造」とは、加工に加え、組織の分離、組織の細切、細胞の分離、特定細胞の単離、抗生物質による処理、洗浄、ガンマ線等による滅菌、冷凍、解凍等、当該細胞の本来の性質を改変しない操作を含む行為で、最終製品である再生医療等製品を出荷するまでに行う行為をいう。

３「表現型」とは、ある一定の環境条件のもとで、ある遺伝子によって表現される形態学的及び生理学的な性質をいう。

４「主要組織適合性抗原型タイピング」とは、各種動物の主要組織適合性抗原型のタイプを特定することをいう。

５「ドナー」とは、再生医療等製品の原料となる細胞・組織を提供する動物個体をいう。

６「遺伝子導入構成体」とは、目的遺伝子を標的細胞に導入するための運搬体、目的遺伝子及びその機能発現に必要な要素をコードする塩基配列等から構成されるものをいう。

第２章　製造方法

第１原材料及び製造関連物質

１目的とする細胞･組織

(1) 起源及び由来、選択理由

原材料として用いられる細胞･組織の起源及び由来について説明し、当該細胞･組織を選択した理由を明らかにすること。

(2) 原材料となる細胞･組織の特性と適格性

①生物学的構造･機能の特徴と選択理由

原材料として用いられる細胞･組織について、その生物学的構造･機能の特徴を示し、当該細胞･組織を原料として選択した理由を説明すること。（解説書Q1参照）

②ドナーの選択基準、適格性

ドナーは健康な動物であることを原則とする。その選択に当たっては、ドナーが倫理的、動物福祉･動物衛生及び公衆衛生の観点から適切に選択されたことを示すこと。また、選択基準、適格性基準を定め、その妥当性を明らかにすること。（解説書Q2、Q3、Q4、Q5、Q6参照）

③ドナーの主要組織適合性抗原のタイプの特定

免疫適合性を考慮し、必要に応じてドナーの主要組織適合性抗原のタイピングを明らかにすること。タイピングを実施しない場合は、妥当性を明らかにすること。（解説書Q7参照）

(3) ドナーに関する記録

原材料となる細胞について、安全性確保上必要な情報が確認できるよう、ドナーに関する記録が整備、保管されていること。また、その具体的方策を示すこと。

(4) 細胞･組織の採取･保存･運搬

①採取者及び採取診療施設等の適格性

採取者及び採取診療施設等に求めるべき技術的要件について、明らかにすること。

②採取部位及び採取方法の妥当性

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

すこと。
③ドナーの飼い主に対する説明及び同意
細胞・組織採取時のドナーの飼い主に対する説明及び同意の内容を規定すること。
④ドナーの飼い主の個人情報の保護
ドナーの飼い主の個人情報の保護方策について具体的に規定すること。
⑤ドナーの安全性確保のための試験検査
細胞採取時にドナーの安全性確保のために採取部位の状態の確認など試験検査を行わなければならない場合には、その内容、検査結果等に問題があった場合の対処法について具体的に規定すること。（解説書Q8、Q9参照）
⑥保存方法及び取り違え防止策
採取した細胞・組織を一定期間保存する必要がある場合には、保存条件や保存期間及びその設定の妥当性について明らかにすること。また、取り違えを避けるための手段や手順等について具体的に説明すること。
⑦運搬方法
採取細胞・組織を運搬する必要がある場合には、運搬容器、運搬手順（温度管理等を含む。）を定め、その妥当性について明らかにすること。
⑧記録の作成及び保管方法
①～⑦に関する事項について、実施の記録を文書で作成し、適切に保管する方法について明らかにすること。

２目的とする細胞・組織以外の原材料及び製造関連物質
目的とする細胞・組織以外の原材料及び製造関連物質を明らかにし、その適格性を示すとともに、必要に応じて規格を設定し、適切な品質管理を行うことが必要である。
なお、他動物種由来製品を原材料として使用する場合は、その使用量を必要最小限とし、「動物用生物由来原料基準（平成15年農林水産省告示第1911号）」をはじめとする関連法令及び通知を遵守すること。特に、ウイルス不活化及び除去に関する情報を十分に評価する必要があるほか、遡及調査等を確保する方策についても明らかにすること。

(1) 細胞の培養を行う場合
①培地、添加成分（血清、成長因子及び抗生物質等）及び細胞の処理に用いる試薬等のすべての成分等についてその適格性を明らかにし、必要に応じて規格を設定すること。各成分等の適格性の判定及び規格の設定に当たっては、最終製品の適用経路等を考慮すること。

②培地成分については、以下の点に留意すること。
ア　培地に使用する成分及び水は、可能な範囲で動物用医薬品に相当する基準で品質管理されている生物学的純度の高い品質のものを使用すること。（解説書Q10、Q11参照）
イ　培地に使用する成分は主成分のみでなく可能な限り使用するすべての成分について明らかにし、必要に応じて品質管理法等を明確にすること。ただし、培地の構成成分が周知のもので、市販品等が一般的に使用されているDMEM、MCDB、HAM、RPMI のような培地は１つのものと考えてよい。
ウ　すべての成分を含有した培地の最終品については、無菌性及び目的とした培養に適していることを判定する必要がある。必要に応じてそのための性能試験を実施する。その他、工程管理上必要と思われる試験項目を規格として設定し、適切な品質管理を行う必要がある。（解説書Q12参照）
③血清及び血清に由来する成分については、以下の点を考慮し、血清等からの細菌、真菌、ウイルス及び異常プリオン等の混入・伝播を防止するとともに、最終製品から可能な限り除去するよう洗浄や処理方法等を検討すること。なお、異種血清を使用する場合でも無血清培養に用いる添加タンパク質との安全性比較をし、十分に除去されることが立証される場合には、その使用を妨げるものではない。特に繰り返して使用する可能性のある製品では可能な限り安全性に留意すること。
ア　血清等の由来を明確にすること。
イ　由来動物種に特異的なウイルスやマイコプラズマに関する適切な否定試験を行い、ウイルス等に汚染されていないことを確認した上で使用すること。（解説書Q13参照）
ウ　細胞の活性化、増殖に影響を与えない範囲で細菌、真菌及びウイルス等に対する適切な不活化処理及び除去処理を行う。例えば、潜在的なウイルス混入の危険性を避けるために、必要に応じて加熱処理、フィルター処理、放射線処理又は紫外線処理等を組み合わせて行うこと。
エ　培養細胞でのウイルス感染のモニター、患畜レベルでのウイルス性疾患の発症に対するモニター及び異種血清成分に対する抗体産生等の調査のために、使用した血清の一部を保管すること。
④抗生物質の使用は必要最小限とする。ただし製造初期の工程において抗生物質の使用が不可欠と考えられる場合には、その後の工程で可能な限り漸減を図るほか、用いる抗生物質に過敏症の既往歴のある患畜の場合には、十分に注意すること。なお、抗生物質を使用する場合でも十分に除去されることが立証される場合には、その使用を妨げるものではない。
⑤成長因子を用いる場合には、細胞培養特性の再現性を保証するために、例えば純度及び

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

(2) 非細胞成分と組み合わせる場合
①細胞以外の原材料の品質及び安全性について
細胞とともに最終製品の一部を構成する細胞以外の原材料（マトリックス、医療材料、スキャフォールド、支持膜、ファイバー及びビーズ等）がある場合には、その品質及び安全性に関する知見について明らかにすること。（解説書Q14参照）
当該原材料の種類と特性、最終製品における形態・機能及び想定される臨床適応の観点から見た品質、安全性及び有効性評価との関連を勘案して、適切な情報を提供すること。生体吸収性材料を用いる場合には、分解生成物に関して必要な試験を実施すること。
②目的とする細胞との相互作用について
細胞との相互作用に関し、以下の事項について、確認方法及び確認結果を示すこと。
ア　非細胞成分が、想定される臨床適応に必要な細胞の機能、生育能力、活性及び安定性に悪影響を与えないこと。
イ　非細胞成分との相互作用によって起こり得る、細胞の変異、形質転換及び脱分化等を考慮し、その影響を可能な範囲で評価すること。
ウ　細胞との相互作用によって、想定される臨床適応において非細胞成分に期待される性質が損なわれないこと。
③細胞と適用部位を隔離する目的で非細胞成分を使用する場合
非細胞成分を細胞と適用部位を隔離する目的で使用する場合、下記の項目を参考に効果、安全性を確認すること。
ア　免疫隔離の程度
イ　細胞由来の目的生理活性物質の膜透過キネティクスと薬理効果
ウ　栄養成分及び排泄物の拡散
エ　非細胞成分が適用部位周辺に及ぼす影響

(3) 細胞に遺伝子工学的改変を加える場合
細胞に遺伝子を導入する場合は、次に掲げる事項に関する詳細を示すこと。
①目的遺伝子の構造、由来、入手方法、クローニング方法並びにセル・バンクの調製方

法、管理方法及び更新方法等に関する情報
②導入遺伝子の性質
③目的遺伝子産物の構造、生物活性及び性質
④遺伝子導入構成体を作製するために必要なすべての原材料、性質及び手順（遺伝子導入法並びに遺伝子導入用ベクターの由来、性質及び入手方法等）
⑤遺伝子導入構成体の構造や特性
⑥ベクターや遺伝子導入構成体を作製するための細胞やウイルスのバンク化及びバンクの管理方法
遺伝子導入細胞の製造方法については、その設定の妥当性を明らかにすること。（解説書Q15参照）
なお、遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律(平成15年法律第97号）に基づき、「ヒトの細胞等」若しくは「分化する能力を有する、又は分化した細胞等であって、自然条件において個体に成育しないもの」以外の細胞、「ウイルス」及び「ウイロイド」に対して遺伝子工学的改変を加える場合には、別途手続きが必要となるので留意すること。（解説書Q16参照）

第２製造工程
再生医療等製品の製造に当たっては、製造方法を明確にし、可能な範囲でその妥当性を以下の項目で検証し、品質の一定性を保持すること。

１ロット構成の有無とロットの規定
製品がロットを構成するか否かを明らかにすること。ロットを構成する場合には、ロットの内容について規定しておくこと。（解説書Q17参照）

２製造方法
原材料となる細胞・組織の受け入れから最終製品に至る製造の方法の概要を示すとともに、具体的な処理内容及び必要な工程管理、品質管理の内容を明らかにすること。

(1) 受入検査
原材料となる細胞・組織について、その種類や使用目的に応じて実施する受入のための試験検査の項目と各項目の判定基準を設定すること。（解説書Q18参照）

(2) 細菌、真菌及びウイルス等の不活化・除去

原材料となる細胞・組織について、その細胞生存率や表現型、遺伝形質及び特有の機能その他の特性及び品質に影響を及ぼさない範囲で、必要かつ可能な場合は細菌、真菌及びウイルス等を不活化又は除去する処理を行うこと。当該処理に関する方策と評価方法について明らかにすること。（解説書Q19、Q20参照）

(3) 組織の細切、細胞の分離、特定細胞の単離等

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

(4) 培養工程

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

(5) 株化細胞の樹立と使用

株化細胞の樹立に当たっては、ドナーの遺伝的背景を理解したうえで樹立すること。樹立の方法を明確にし、可能な範囲でその妥当性を明らかにすること。

株化細胞の品質の均質性および安定性を保持するため、必要な特性解析要件（細胞純度、形態学的評価、表現型特異的マーカー、核型など）を同定してその基準を設定するとともに、安定性を維持したまま増殖が可能な継代数を示すこと。

株化細胞に関しては、適切な動物モデル等を利用し、腫瘍形成及びがん化の可能性について考察し、明らかにすること。（解説書Q21、Q22参照）

(6) 細胞のバンク化

再生医療等製品の製造のいずれかの過程で、細胞をバンク化する場合には、その理由、セル・バンクの作製方法及びセル・バンクの特性解析、保存・維持・管理方法・更新方法その他の各作業工程や試験に関する手順等について詳細を明らかにし、妥当性を示すこと。（解説書Q23参照）

(7) 製造工程中の取り違え及びクロスコンタミネーション防止対策

再生医療等製品の製造にあたっては、製造工程中の取り違え及びクロスコンタミネーションの防止が重要であり、工程管理における防止対策を明らかにすること。

３加工した細胞の特性解析

加工した細胞について、加工に伴う変化を調べるために、例えば、形態学的特徴、増殖特性、生化学的指標、免疫学的指標、特徴的産生物質、その他適切な遺伝型又は表現型の指標を解析するとともに、必要に応じて機能解析を行うこと。また、培養期間の妥当性及び細胞の安定性を評価するために、予定の培養期間を超えて培養した細胞において目的外の変化がないことを示すこと。

４最終製品の形態、包装

最終製品の形態、包装は、製品の品質を確保できるものでなければならない。

５製造方法の恒常性

再生医療等製品の製造に当たっては、製造工程を通じて、個別に加工した製品の細胞数、細胞生存率並びに製品の使用目的及び適用方法等からみた特徴（表現型の適切な指標、遺伝型の適切な指標、機能特性及び目的とする細胞の含有率等）が製品（ロット）間で本質的に損なわれないことを、試験的検体を用いてあらかじめ評価しておくこと。製造工程中の凍結保存期間や加工に伴う細胞培養の期間が長期に及ぶ場合には一定期間ごとに無菌試験を行うなど、無菌性が確保されることを確認すること。

６製造方法の変更

開発途中に製造方法を変更した場合、変更前の製造方法による製品を用いて得た試験成績を承認申請に使用するときは、製造方法変更前後の製品の同等性及び同質性を示すこと。（解説書Q24参照）

第３最終製品の品質管理

１総論

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

最終製品の規格及び試験方法については、対象とする細胞・組織の種類及び性質、製造方法、各製品の使用目的や使用方法、安定性、利用可能な試験法等によって異なると考えられるため、取り扱う細胞・組織によってこれらの違いを十分に考慮して設定すること。また、製造工程の妥当性の検証と一定性の維持管理法、中間製品の品質管理等との相互補完

関係を考慮に入れて、全体として品質管理の目的が達成されるとの観点から、合理的に規格及び試験方法を設定し、その根拠を示すこと。なお、無菌性やマイコプラズマの否定など必須なものを除き、治験後に臨床試験成績と品質の関係を論ずるために必要な品質特性については、やむを得ない場合は少数の試験的検体の実測値をもとにその変動をしかるべき範囲内に設定する暫定的な規格及び試験方法を設定することで差し支えない。ただし、規格及び試験方法を含む品質管理法は治験の進行とともに充実･整備を図ること。

２最終製品の品質管理法

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

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

(1) 細胞数並びに生存率

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

(2) 確認試験

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

(3) 細胞の純度試験

目的細胞以外の異常増殖細胞、形質転換細胞の有無や混入細胞の有無等の細胞の純度について、目的とする細胞の由来、培養条件等の製造工程等を勘案し、必要に応じて試験項目、試験方法及び判定基準を示すこと。なお、治験開始時においては、少数の試験的検体での実測値を踏まえた暫定的な規格を設定することでも良い。（解説書Q25参照）

(4) 細胞由来の目的外生理活性物質に関する試験

細胞由来の各種目的外生理活性物質のうち、製品中での存在量如何で患畜に安全性上の重大な影響を及ぼす可能性が明らかに想定される場合には、適切な許容量限度試験を設定す

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

(5) 製造工程由来不純物試験

原材料に存在するか又は製造過程で非細胞成分、培地成分、資材、試薬等に由来し、製品中に混入物、残留物、又は新たな生成物、分解物等として存在する可能性があるもので、かつ、品質及び安全性の面からみて望ましくない物質等（例えば、ウシ胎児血清由来のアルブミン、抗生物質等）については、当該物質の除去に関するプロセス評価や当該物質に対する工程内管理試験の結果を考慮してその存在を否定するか、又は適切な試験を設定して存在許容量を規定すること。試験対象物質の選定及び規格値の設定に当たっては、設定の妥当性について明らかにすること。なお、治験開始時においては、少数の試験的検体での実測値を踏まえた暫定的な規格を設定することでも良い。（解説書Q26参照）

(6) 無菌試験及びマイコプラズマ否定試験

最終製品の無菌性については、あらかじめモデル検体を用いて全製造工程を通じて無菌性を確保できることを十分に評価しておく必要がある。最終製品について、患畜に適用する前に無菌性（一般細菌及び真菌否定）を試験により示すこと。また、適切なマイコプラズマ否定試験を実施すること。最終製品の無菌試験等の結果が、患畜への投与後にしか得られない場合には、投与後に無菌性等が否定された場合の対処方法をあらかじめ設定しておくこと。また、この場合、中間製品で無菌性を試験により示し、最終製品に至る工程の無菌性を厳密に管理する必要がある。また、同一施設・同一工程で以前に他の患畜への適用例がある場合には、全例において試験により無菌性が確認されていること。

ロットを構成する製品で密封性が保証されている場合には、代表例による試験でよい。適用ごとに試験を実施する必要がある場合で、無菌試験等の結果が、患畜への投与後にしか得られない場合には、適用の可否は直近のデータを参考にすることになるが、この場合でも最終製品の無菌試験等は必ず行うこと。

抗生物質は細胞培養系で極力使用しないことが望まれるが、使用した場合には、無菌試験に影響を及ぼさないよう処置すること。（解説書Q27参照）

(7) エンドトキシン試験

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

バリデーションの結果を含めて基準等を設定し、その妥当性を説明すること。（解説書Q28参照）

(8) ウイルス等の試験

動物福祉上又は公衆衛生上のリスクが高いと考えられるウイルス等を製造工程中に増殖させる可能性のある細胞を用いる際であって、当該細胞がバンク化されておらずウインドウピリオドが否定できない場合には、中間製品、最終製品等についてもウイルス等の存在を否定する適切な試験を実施すること。また、製造工程中で生物由来成分を使用する場合には、最終製品で当該成分由来のウイルスについての否定試験の実施を考慮すべき場合もあるかも知れない。しかし可能な限り、もとの成分段階での試験やプロセス評価で迷入が否定されていることが望ましい。（解説書Q29参照）

(9) 効能試験

幹細胞、リンパ球、遺伝子改変細胞その他の細胞等、臨床使用目的又は特性に応じた適切な効能試験の実施を考慮すべき場合もある。なお、治験開始時においては、少数の試験的検体による実測値を踏まえた暫定的な規格を設定することでも良い。（解説書Q30、Q31参照）

(10) 力価試験

細胞から分泌される特定の生理活性物質の分泌が当該再生医療等製品の効能又は効果の本質である場合には、その目的としている必要な効果を発揮することを示すために、当該生理活性物質に関する検査項目及び規格を設定すること。遺伝子を導入した場合の発現産物又は細胞から分泌される目的の生成物等について、力価、産生量等の規格を設定すること。なお、治験開始時においては、少数の試験的検体による実測値を踏まえた暫定的な規格を設定することでも良い。（解説書Q32参照）

(11) 力学的適合性試験

一定の力学的強度を必要とする製品については、適用部位を考慮した力学的適合性及び耐久性を確認するための規格を設定すること。なお、治験開始時においては、少数の試験的検体による実測値を踏まえた暫定的な規格を設定することでも良い。

第３章　再生医療等製品の安定性

製品化した再生医療等製品又は重要なそれらの中間製品について、保存･流通期間及び保存形態を十分考慮して、細胞の生存率及び力価等に基づく適切な安定性試験を実施し、貯法及び有効期限を設定し、その妥当性を明らかにすること。特に凍結保管及び解凍を行う場合には、凍結及び解凍操作による製品の安定性や規格への影響がないかを確認すること。
また、必要に応じて標準的な製造期間を超える場合や標準的な保存期間を超える長期保存についても検討し、安定性の限界を可能な範囲で確認すること。ただし、製品化後直ちに使用するような場合はこの限りではない。
また、製品化した再生医療等製品を運搬する場合には、運搬容器及び運搬手順（温度管理等を含む）等を定め、その妥当性について明らかにすること。（解説書Q33参照）

第4章　安全性試験

１　総論

製品の対象となる製品を用いて、臨床上の適用に関連する有用な安全情報を収集すること。動物用医薬品の安全性試験については、①動物用医薬品のための安全性試験法ガイドライン、②動物用生物学的製剤を除く動物用医薬品の対象動物安全性試験（VICHGL43）及び③動物用生及び不活化ワクチンの対象動物安全性試験（VICHGL44）（農林水産省動物医薬品検査所長通知　平成12年3月31日付け12動薬A第418号の別添2：動物用医薬品等の承認申請資料のためのガイドライン等の10）に詳細が示されているので、動物細胞加工製品についての安全性試験は、当該製品の特性に応じてこれらの試験法を応用することが望ましい。ここでは標準的な試験法を示す。なお、対象動物を用いる本試験は、動物用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年農林水産省令第60号）に従って実施しなければならない。また、異種遺伝子が導入された細胞を使用する場合は、遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律(平成15年法律第97号）に従うこと。（解説書Q16参照）

２　安全性に関する試験

（１）動物

製品の適用を予定している健康な対象動物であって、飼料及び動物用医薬品の使用歴並

びに試験開始前における飼養方法等が明らかなものを用いる。製品の適用に性別の限定がない場合には、雌雄を用いること。妊娠動物への適用が予定されている場合には、妊娠動物を用いること。

（２）動物数
各群について3頭以上を用いる。

（３）投与経路
原則として臨床適用経路とするが、複数ある場合には障害が最も強く発現する経路で実施して差し支えない。

（４）投与量及び群分け
試験群及び対照群を置く。試験群の投与量は、臨床適用量とする。ただし臨床的用量に幅がある場合は、その最も多い量を投与する。なお、必要に応じ高用量群を設定する場合は、臨床適用量の10倍程度を投与すること。（解説書Q34参照）

（５）投与回数及び投与期間
予定している投与期間及び投与回数で投与する。単回投与の製品以外は、その後、適当な間隔をおいてさらにもう1回投与する。ただし予定している投与期間が長期の場合は、投与期間を短縮して差し支えない。（解説書Q35参照）

（６）観察及び検査項目
①動物の観察と血液検査
投与後における一般状態を多元的に毎日観察し記録するとともに、必要により全部又は一部について、血液学的検査及び血液生化学的検査を実施する。その際、製品及び導入遺伝子の発現産物等による望ましくない免疫反応が生じる可能性についても検討又は考察すること。（解説書Q36参照）
②妊娠動物
妊娠動物に対する適用を予定している製品については、試験に用いた妊娠動物の産子についても投与群に準じて観察を行うこと。
③その他
必要に応じて、製品の適用が患畜の正常な細胞・組織に影響を与える可能性及びウイルスベクターを使用した場合には増殖性ウイルスの存在程度について検討又は考察すること。

（解説書Q37参照）

第５章　薬理試験

１　総論

動物細胞加工製品の効力又は性能を推定するための薬理情報を収集すること。通常の医薬品で求められる最小有効量に関する試験等は、実施する必要はない場合がある。なお、動物細胞加工製品の効力又性能による治療が他の治療法と比較したとき、はるかに優れて期待できることが国内外の文献又は知見等により合理的に明らかにされている場合には、必ずしも詳細な実験的検討は必要とされない。

２　薬効･薬理試験

①技術的に可能かつ科学的に合理性のある範囲で、対象動物、実験動物又は細胞等を用い、適切に設計された試験により、動物細胞加工製品の機能発現、作用持続性及び効果を検討すること。

②遺伝子導入細胞にあっては、導入遺伝子からの目的産物の発現効率及び発現の持続性、導入遺伝子の発現産物の生物活性並びに動物細胞加工製品として期待される効果等を検討すること。（解説書Q31参照）

③適当な動物由来細胞製品モデル又は疾患モデル動物がある場合には、それを用いて治療効果を検討し、臨床適用における用法･用量の設定を検討すること。飼い主の所有する患畜を用いる場合は、臨床試験としての実施が必要な場合がある。（解説書Q38参照）

第６章　体内動態

１　総論

動物細胞加工製品が有効で安全であることの傍証となる情報を収集すること。これらの情報を得るために既に実施した試験あるいは文献情報等を利用しても差し支えない。

２　体内分布

①製品を構成する細胞及び導入遺伝子の発現産物について、技術的に可能で、かつ、科学的合理性がある範囲で、対象動物又は実験動物での体内分布を明らかにすること。（解説

書Q31参照）
②当該細胞が特定の部位（組織等）に到達して作用する場合には、その局在性を明らかにすること。（解説書Q39参照）

第７章　臨床試験を始めるにあたって

１　総論

動物細胞加工製品の有効性の確認又は推定及び安全性を評価することが可能な試験成績を得るために、当該製品に応じた適切な試験デザイン及びエンドポイントを設定して実施すること。なお、臨床試験は、動物用再生医療等製品の臨床試験の実施の基準に関する省令（平成26年農林水産省令第61号）に従って実施しなければならない。（解説書Q31、Q40、Q41、Q42参照）

２　臨床試験（治験実施計画書）

臨床試験を実施する際には、以下のことを考慮して治験実施計画書を作成すること。
①対象疾患
②対象とする被験動物及び被験動物から除外すべき患畜の考え方
③再生医療等製品の適用を含め、被験動物に対して行われる治療内容
④既存の治療法との比較を踏まえた臨床試験実施の妥当性
⑤現在得られている情報から想定されるリスク及びベネフィットを含め、被験動物の飼い主への説明事項の案

Q1.　原材料として用いられる細胞・組織について、その生物学的構造・機能の特徴とは具体的にどのようなことか。
A　最終製品の機能、有効性、安全性等の視点から重要と考えられる生物学的構造・機能の特徴を示し、原材料として選択した理由を説明する。例えば、形態学的特徴、増殖特性、生化学的指標、免疫学的指標、特徴的産生物質、主要組織適合性抗原型タイピング、その他適切な遺伝型又は表現型の指標のことである。

Q2. ドナー動物としての適格性基準としてどのような項目を考慮すべきか。
Ａ　ドナー動物は当該再生医療等製品の適用対象動物と同種の健康な動物であることが第一義に求められる選択基準である。その上でドナーとしての適格性を適正に判断するため、必要に応じて年齢、性別、品種、場合により血液型や主要組織適合抗原型などの生物学的特性に関する項目、ワクチン接種歴、病歴、投薬・輸血履歴、交配履歴、一般状態等の健康状態に関する項目、動物福祉上及び公衆衛生上のリスク要因となる感染症（解説書Q3、Q4参照）に関する項目などを検討して適切な適格性基準を設定するべきである。一方、健康とは言えない動物をドナーとする場合には科学的根拠を含めてその妥当性を十分説明しなければならない。また、必要に応じて敗血症や悪性腫瘍等によるリスクを踏まえて問診、一般血液化学検査等の臨床検査、疾病診断を適切に行いドナーとしての適格性を判断すること。

Q3. 動物衛生上ドナー候補動物について感染の有無を検査すべき感染症とは何か。
Ａ　ドナー動物選択に起因する動物衛生上のリスクは、有効な治療法がなく、再生医療等製品を介した伝播によりレシピエント動物（患畜）の生命へ重大な危害を及ぼす感染症（病原体）である。その中でも我が国における有病率が一定以上高いもので、且つ予防のためのワクチンが市販されていない感染症については抗体検査や抗原検査による感染のチェックを、ワクチンが市販されているものについてはワクチン接種の有無を確認することでリスクを判断する必要がある。表１に示すように犬、猫には多くのウイルス病があるが見た目上健康な個体からの感染リスクはいずれも高くなく、多くはワクチンが実用化されていること、細菌・寄生虫病には基本的に治療効果が期待できる薬剤があることなどから感染の検査を必須とする病気は多くない。見た目上健康なドナー動物由来の感染症リスクを低減させるためには、成獣で持続潜伏感染がある犬ヘルペスウイルス感染症と猫白血病ウイルス感染症、猫免疫不全ウイルス感染症及び猫伝染性腹膜炎/猫腸コロナウイルス感

染症について最低限検査すべきと考えられる。一方、病原性の弱い平病的な病原体のドナーを介した感染リスクは生命に重大な危害が予想されなくとも倫理的に問題があり、問診や一般血液化学検査等の臨床検査等、適切な疾病診断によりドナーの適格性を担保する必要があることは言うまでもない。

Q4. 公衆衛生上感染の有無を検査すべき感染症とは。
A　ドナー動物が罹患している感染症により細胞・組織の採取等の作業者や飼育管理者、所有者などに健康被害特に生命に重大な危害が予想される人獣共通感染症は排除されるべきである。表１のとおり、犬・猫では狂犬病、馬では日本脳炎が重篤な人獣共通感染症として知られるが、我国での有病率は無視できるほど低いことや効果的なワクチンが普及しているなどから検査すべきリスク要因とは考えられない。一方、海外のドナー動物から採取された細胞、組織等を原材料とする場合には、当該国での疫学情報等を留意してPCR法等による特定の病原体否定試験等により適切なリスク管理を検討すること。

Q5.　同種他家製品の原材料（細胞・組織）を提供するドナー動物として適切な動物とはどのような動物か。
A　ドナー動物は、実験動物として適正に生産、飼育管理された健康な動物、或いは所有者の同意を得たボランティア動物のうち供用時点で臨床的に健康、或いはドナーとして選択される科学的根拠が明確な動物であり、病歴、投薬歴、ワクチン歴等が掛かり付け医等により記録され、場合により輸血履歴や交配履歴などを持たない個体を適切に選択できる集団からドナーを選択することが望ましい。

Q6. 馬、牛等の食用動物に再生医療等製品が適用された場合、食品としての安全性をどのように担保するのか。
A　馬、牛等の食用動物については、食肉等を介した消費者への健康リスクに対する安全確保は食品全基本法、食品衛生法、と畜場法等の関係法令により担保される。食用動物に適用する再生医療等製品の製造販売承認申請時には内閣府食品安全委員会における食品健康影響評価を経ることから、原材料、製造工程そして最終製品の食品衛生上のリスク管理は動物用生物由来原料基準や動物用生物学的製剤基準等既存の規制基準の考え方を適用するべきである。

Q7.　動物における主要組織適合性の型別をする必要性とは。
A　他家の細胞や組織を移入（移植）する場合は、ドナーとレシピエントでの免疫適合性

に起因する拒絶反応の発現が危惧される。事前にドナーのMHCタイプを明らかすることで、移植時にレシピエントのMHCタイピングを実施し、適合性を予測できる。一般的に、遺伝子解析によるドナーとレシピエントの組織適合性抗原のマッチングや、バイオアッセイによるリンパ球混合試験などの試験方法があるが、動物では方法論は確立されておらず、新しい技術が開発された場合には、十分に検証して実施することが望ましい。用いる組織や動物種によっては、MHCが関与する反応は無視できる場合もあると予測されるが、その場合妥当性を考察する必要があると考える。

Q8.　ドナーの安全性確保のための試験検査は、どのような場合にどのような試験検査を行い、その結果に問題があった場合はどのように対処するのか。
A　ドナーが家庭で飼育されている動物の場合、細胞・組織の採取にあたってはドナーの安全性を確保することが重要である。ドナーの健康状態、採取部位の特定、その状態の確認等を臨床検査、血液検査等を実施し総合的に判断する。また、試験検査結果の程度により、採取量、採取時期の延期、採取の見合わせ等の対処方法を規定しておくことが必要である。

Q9. ドナーが家庭で飼育されている動物の場合、細胞等を採取するときに何らかのトラブルが生じた場合はどのように対処するか。
A　ドナーの飼い主に対して事前にリスクを含め十分説明し、トラブル等の対処方法等の同意を取っておくことが必要である。トラブルを避けるためには、Q8で述べた試験検査をしっかり実施すること肝要である。

Q10.　培地に使用する成分及び水について、動物用医薬品に相当する基準で品質管理されたものとはどのようなものか。
A　例えば、動物用生物学的製剤基準に規定されている水、試薬等が相当する。
動物用生物学的製剤基準の通則で、水とは日本薬局方の精製水とされている。また、試薬・試液等については動物用生物学的製剤基準において規定するもののほか、日本薬局方一般試験法に規定する試薬・試液等を用いても良いとされている。

Q11.　培地に使用する成分及び水について、生物学的純度の高い品質とは何か。
A　エンドトキシンの濃度や無菌性が担保されたものである。

Q12.　すべての成分を含有した培地の最終品について、どのような性能試験を実施する

のか。
A　細胞培養に使用する培地の最終品については、当該細胞あるいは類似細胞の増殖性･分化能その他の生物学的特性等から選択する。

Q13.　使用する血清について、由来動物種に特異的なウイルスやマイコプラズマを否定するための適切な試験とはどのようなものか。
A　動物用生物学的製剤基準のマイコプラズマ否定試験法や迷入ウイルス否定試験法に準じて実施されたい。なお、PCR法等新たに開発される手法についてはその妥当性を考慮した上で利用されたい。

Q14.　細胞とともに最終製品の一部を構成する細胞以外の原材料について、その品質及び安全性に関する知見はどの程度必要か、また、必要な試験とは。
A　当該原材料の種類と特性、最終製品における形態･機能及び想定される臨床適用の観点から見た品質、安全性及び有効性評価との関連を考慮して適切な情報を提供すること。必要な試験等については、平成24年3月1日付け薬食機発0301第20号厚生労働省医薬食品局審査管理課医療機器審査管理室長通知「医療機器の製造販売承認申請等に必要な生物学的安全性評価の基本的考え方について」及び「医療用具の製造（輸入）承認申請に必要な生物学的試験の基本的考え方について」を参照し、試験結果及び当該原材料を使用することの妥当性を示すこと。また、必ずしも試験を実施しなく、文献からの知見、情報を合理的に活用すること。

Q15.　遺伝子導入細胞の製造方法の妥当性とは。
A　製造工程で外来遺伝子の導入が行われている場合には、「遺伝子組換え生物等又はそれらを使用して製造される物を成分として含む動物用医薬品等の製造販売承認申請書及び添付資料について」（農林水産省動物医薬品検査所長通知　平成12年3月31日付け12動薬A第418号の別添2：動物用医薬品等の承認申請資料のためのガイドライン等の20）に準じて妥当性を示すこと。
特に、ウイルスベクターを使用した場合には増殖性ウイルスがどの程度存在するかを検査するとともに、検査方法が適切であることについても明らかにすること。
また、導入遺伝子及びその産物の性状について調査し、安全性について明らかにすること。細胞については、増殖性の変化、腫瘍形成及びがん化の可能性について考察し、明らかにすること。

Q16.　どのような事例が遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律(平成15年法律第97号）（カルタヘナ法)の対象となるか。

A　カルタヘナ法の施行規則第１条において、「ヒトの細胞等」と「分化する能力を有する、又は分化した細胞等（個体及び配偶子を除く。）であって、自然条件において個体に生育しないもの」は「細胞等」から除外されている。従って遺伝子工学的改変がカルタヘナ法の対象となるのはウイルス等に加えて動物培養細胞では、ウイルスベクター等の遺伝子組換え生物等を含む細胞等と動物の胚や配偶子となる。ウイルスベクターを使用した場合、ウイルスの存在が否定できなければカルタヘナ法の対象となる。

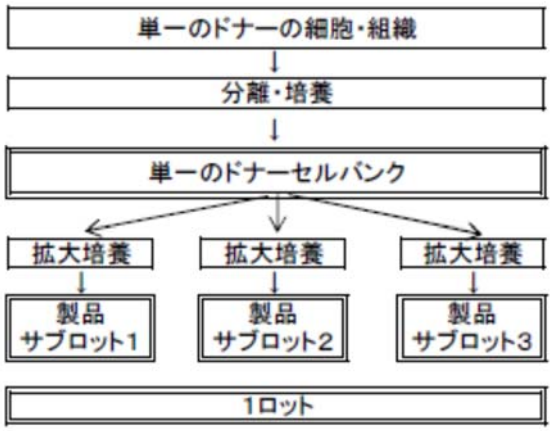
また、カルタヘナ法の対象にならない細胞等であっても、異種遺伝子を移入した細胞等を動物に接種するとその動物は接種された細胞が存在する間、あるいは移入した遺伝子が動物の細胞に取り込まれる場合は組換え動物として扱われ、カルタヘナ法の対象になる。またその遺伝子が配偶子に入り生まれた子は組換え動物である。これらに該当する動物はカルタヘナ法に規定されている拡散防止措置を執って第二種使用として飼育するか、拡散防止措置を執らずに飼育する場合は第一種使用規程の承認を受ける必要がある。

Q17. ロットはどのように規定すべきか。

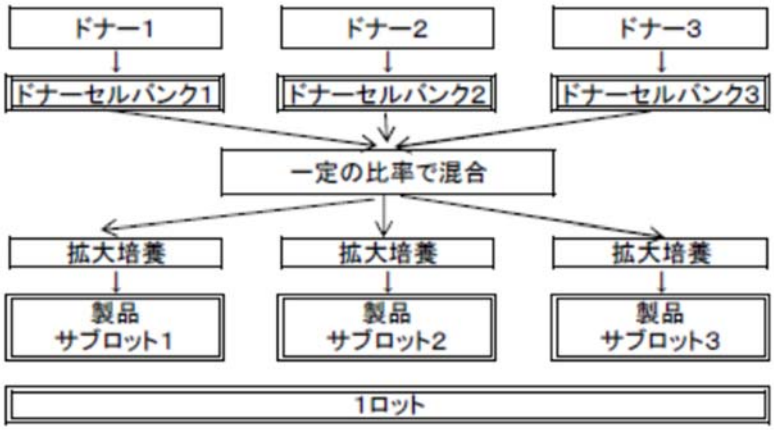
A　一般的には、一連の製造工程により、均質性を有するように製造された製品の一群をロットとして規定する。動物細胞加工製品では、一般的な医薬品やワクチン等に比べて、製品に含まれる細胞は均質性から製品の変動が大きい。しかしながら、原材料等のロットや製造工程を適切に管理することにより、製品の品質を一定範囲に収めることができる。従って、動物細胞加工製品においては、原材料等のロットが同じで管理された一連の製造工程により製造され、品質が一定範囲に収められた製品群は、製品の品質を一定範囲に収めることができ、同一ロットと規定できる。但し、動物細胞加工製品においては、一般的な医薬品やワクチン等とは異なり、細胞は障害を受けやすいので、一回の製造工程で一度に大量の細胞を処理できない場合がある。特に、品質を確保して細胞を凍結保存するためには、可能な限り短時間で処理をする必要があり、一回に処理できる量（製品数）が限られる。このような場合には、一度に、凍結処理できる少数の製品群をサブロットとして管理することが、製品の品質を担保するのに重要である。しかしながら、サブロットそれぞれを個別に管理することは、供給可能な製品数が少なくなり、必要とされる患畜への投与を阻害する大きな要因となる。更に、動物細胞加工製品の特性として、従来の製品に比べて品質の変動が大きいので、同一ロットの原材料と管理された同一の製造工程で製造された製品群（サブロット）をまとめて一つのロットとして管理することは、有効性・安全性に対するリスクを高めないと考えられる。そこで、動物細胞加工製品の特性を考慮した口

ットの考え方として、以下のように規定すべきである。
原材料等のロットが同じで管理された同一の製造工程により製造されたサブロットにおいて、品質が一定の範囲に収まっていることがプロセスバリデーション等により確認された場合には、それぞれのサブロットは、一つのロットとして規定することができる。たとえば、動物体性幹細胞加工製品においては、単一のドナーより提供された細胞・組織から均質なドナーセルバンクを作製した場合には、ドナーセルバンクから同一の製造工程により均質性を有するように製造された製品の一群をサブロットとし、一連の製造工程により製造された複数のサブロットを1つのロットとして規定することができる（例-1）。また、製品を製造する際に、複数のドナーセルバンクを一定の比率で混合することも可能である（例-2）。

例-1



例-2



Q18.　原材料の受入検査として、どのような検査項目を設定するのか。
A　例えば、目視検査、顕微鏡検査、採取収率、生存率、細胞の特性解析及び微生物試験

等がある。

Q19.　原材料となる細胞･組織について、細菌、真菌及びウイルス等の不活化･除去法としてどのような方法があるか。
A　本来、細胞･組織は、無菌的に採材することが原則であり、原材料の表面等を適切な殺菌･殺ウイルス方法で処理することも考慮する。また、細菌･真菌に対しては必要最小限の抗生物質を使用する方法もある。

Q20.　Q19で実施する試験について、どのように評価するのか。
A　直接、無菌試験等で評価するか、適切なウイルスクリアランス試験で評価する。
なお、ウイルスクリアランス試験については、「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」(厚生省医薬安全局審査管理課長通知　平成12年2月22日付け医薬審第329号)を参考にされたい。

Q21. 継代数はどの様に規定すべきか。
A　継代数(Passage Number：PN)とは、培養に移された細胞を植え継いだ回数である。細胞によって継代方法が異なるため、取り扱う細胞の特性に合わせて継代方法を定義すべきである。例えば、細胞の剥離･回収方法(トリプシン処理や遠心操作等)、継代時の希釈率(例えば4対1に希釈する) 又は播種細胞数(シャーレ又はボトル当たりの細胞数)及び継代間隔等を規定するとともに、接着細胞の場合には、継代時のコンフルエント状態(80～90%コンフルエント)を、浮遊細胞の場合には継代時の細胞密度を規定する。

Q22. 株化細胞とは何か。
A　株化細胞とは、製品の製造に使用されることを目的として樹立された均質な細胞群であって、特性解析が十分になされ、無限増殖能ないしはそれに準じた増殖能を有するものである。(例えば、胚性幹細胞、人工多能性幹細胞等がそれにあたる。)

Q23.　細胞をバンク化する場合、特性解析等はどのように実施するのか。
A　ここでいうバンクとは、製品を作る目的で一定の品質規格内にある細胞群の保管単位のことである。バンク化された細胞の特性解析試験としては、実施可能な試験を全て行う必要はなく、適切な試験を選択すべきである。表現型又は遺伝型が一般的に利用される。
(１)動物又はヒト細胞株の場合、例えば形態学的特徴、アイソザイム解析、細胞種特有

のマーカー、目的タンパク質の発現が特性解析試験として利用できる。
（２）微生物細胞の場合、例えば選択培地上での増殖、ファージ型分析、目的タンパク質の発現が特性解析試験として利用できる。
なお、詳細は、「生物薬品（バイオテクノロジー応用医薬品/生物起源由来医薬品）製造用細胞基剤の由来、調整及び特性解析について」（厚生省医薬安全局審査管理課長通知平成12年7月14日付け医薬審第873号）を参考にされたい。

Q24.　開発途中に製造方法を変更した場合、変更前後の製品の同等性及び同質性を示すには。
A　同等性及び同質性を示すには、①直接試験を実施して明らかにする内容、②主に考察（リスクマネジメントを含む）により示す内容、が存在する。このうち①直接試験を実施して明らかにする内容としては、当該製品の特性解析項目、並びに品質規格に供する項目について、（統計学的考察等を含め）合理的に同等性、同質性が説明できるべきである。さらに、前項の製造方法の恒常性に記載された内容を添付することも望ましい。一方、②主に考察により示す内容としては、変更内容の軽重、用いる試薬等のリスクに起因する安全性の変化、その他、リスクマネジメントの観点からの同等性、同質性に対する言及も重要である。

Q25.　最終製品の品質管理法である細胞の純度試験として、どのような試験を実施すれば良いのか。
A　再生医療等製品は、必ずしも単一の細胞で構成されているわけではないため、必然的に目的外の細胞が混入している可能性がある。ここでいう、最終製品の品質管理方法として実施する細胞の純度試験は、目的外の細胞が製品の品質に悪影響をもたらすことが想定される場合に実施するものである。例えば、目的外の細胞によって有害な反応が生じる恐れがある場合、目的細胞の存在比率が下がることによって有効性が発揮できなくなる場合、等がこれに相当する。純度試験は必ずしも最終製品で全て実施する必要はなく、その場合は各細胞の純度（構成比率）に関してバリデーション試験等で担保できることが望ましい。

Q26. 最終製品の製造工程由来不純物の存在許容量を規定する方法とは。
A　製造工程由来不純物質としては、培養に用いた血清・抗生物質等を含む培地成分や加工に用いた酵素等が考えられる。これらの中で対象動物への影響が大きいと考えられる成分に関しては、分析が可能な場合には規格に設定すべきである。不純物に関する規格値に

ついては、臨床試験及び非臨床試験で用いたロット等から得られたデータに基づいて設定する必要がある。抗生物質や化学物質など、その化合物の毒性等が明らかな場合には、最大無作用量に100倍等の安全係数をかけ、規格値を設定してもよい。なお、不純物のうちのあるものについては、適切な製造工程の管理により許容できるレベル内に収まっているか、あるいは容認できるレベル以下まで効率的に除去できることを適切な検討によって実証していれば、規格値を必ずしも設定する必要がないものもある。

Q27.　抗生物質を細胞培養系で使用した場合、無菌試験に影響を及ぼさないための処置とは。

A　抗生物質を含む可能性のある最終製品では、動物用生物学的製剤基準の一般試験法に規定する無菌試験法及び日本薬局方一般試験法に規定する無菌試験法の直接法において試験系への影響を与える可能性がある。一般的に、最終製品に無菌試験への影響を与える抗生物質等の成分が含まれる場合には、日本薬局方一般試験法に規定する無菌試験法のメンブランフィルター法が用いられるが、細胞等が含まれる最終製品においては、メンブランフィルターの目詰まり等の影響が考えられるので最終製品そのものを分析することは困難である。従って、遠心操作等により細胞等を除いた上清を用いてメンブランフィルター法にて無菌試験を行う方法が考えられる。なお、日本薬局方一般試験法の無菌試験法で規定された「手法の適合性試験」により、遠心操作等の前処理法も含め、手法の適合性は確認する。あるいは、最終製品を無菌試験に影響を及ぼさない濃度まで希釈し、動物用生物学的製剤基準の一般試験法に規定する無菌試験法及び日本薬局方一般試験法に規定する無菌試験法の直接法にて実施することが考えられる。但し、上記の両試験において、検出感度（偽陰性）の課題が残る。望ましくは、製造の最終段階での培養では抗生物質を含まない培地を用いて、直接法にて無菌試験を実施すべきである。

Q28. 最終製品試験または工程内管理試験として設定したエンドトキシン試験の妥当性を確認するにはどのような方法があるか。

A　日本薬局方一般試験法のエンドトキシン試験法を設定する場合は、予備試験として規定された試験を行うことにより、試験法の精度と有効性を確認する。なお、工程管理試験の基準値等については、臨床試験及び非臨床試験で用いたロット等の実測値に基づいて設定することで、その妥当性を説明することが可能である。

Q29. 最終製品の品質管理法(8)ウイルス等の試験に指摘される「動物福祉上又は公衆衛生上のリスクが高いと考えられるウイルス等」とは。

A　動物福祉上のリスクとは再生医療等製品を介して患畜等の動物に健康被害を及ぼす恐れがあるウイルス等の感染性病原体を指し、公衆衛生上のリスクとはその製造工程、中間製品を含む再生医療等製品を介してヒトに健康被害が及ぶ恐れのあるものをいう（解説書Q3、Q4参照）。
最終製品の品質管理法におけるウイルス等の試験については、生物学的製剤基準に定める迷入ウイルス否定試験法等を参照する。

Q30. 最終製品の効能を担保する試験とは。
A　最終製品の効能を推定できる *in vitro* もしくは *in vivo* の試験である。例えば、幹細胞の場合には、分化能の評価やモデル動物での評価等がある。

Q31.　異種遺伝子が導入された細胞を動物に投与する場合に注意すべき法令とは。
A　異種遺伝子を移入した細胞等を動物に接種するとその動物は接種された細胞が存在する間、あるいは移入した遺伝子が動物の細胞に取り込まれる場合は「遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律(平成15年法律第97号)」の対象となる。

Q32. 最終製品の力価を担保する試験とは。
A　最終製品から分泌されるサイトカインや遺伝子導入された産物の量を測定する試験である。サイトカイン等の分泌量や遺伝子導入産物に関しては、遺伝子発現量、タンパク量及び生理活性（力価）などの内で十分に検証された方法により測定することが望ましい。

Q33. 最終製品の保存や輸送に伴う安定性を確認する試験とは。
A　申請する保存温度、容器、容量、細胞数、保存液、期間等の条件を考慮した試験系により保存期間中の安定性を確認する。また、出荷後の最終製品について、輸送時の温度変化、振動、輸送形態等を考慮した安定性の評価も必要であるが、実際に輸送試験を行い、必要とされる品質が保たれていることを確認することでもよい。

Q34.　安全性試験においてどのような場合に高用量試験を実施するか。また高用量群への投与量が臨床適用量の10倍である理由とは。
A　例えば当該製品の有する特徴、用量・用法等を考慮して、投与された動物の生命に重大な影響を及ぼす可能性があるような製品の場合には、高用量群を置くべきであろう。臨床適用量の10倍量は、動物用医薬品の安全性試験でよく使用される用量であるが、製品特

性を考慮してその用量を設定すること。

Q35. 安全性試験において、予定された投与回数終了後、適当な間隔をおいてもう一度投与する理由とは。
A　当該生剤そのものが抗原となり宿主の免疫反応を惹起することも予想されるため、もう一度投与してアナフィラキシー等の出現を観察するためである。従って、治療が単回投与である製品では、もう一度投与する必要はない。
なお、細胞加工製品では製造できる数量が少量であったり、有効期限が短い等の理由から投与できる製品が不足する場合が想定される。このような場合は、同一ドナーから新たに製造した製品を投与に使用すること。

Q36.　製品及び導入遺伝子の発現産物等による望まない免疫反応が生じる可能性について、どのように検討又は考察するか。
A　製品から由来するサイトカイン等が抗原となり、宿主の免疫反応を惹起することも予想されるために、3頭以上の動物を用いてアレルギー反応やアナフィラキシーショックの発現を観察することが評価すべき項目として重要である。また製品特性を考慮したときにこれら以外の望まない免疫反応についても注意し、必要により全部又は一部について血液学的検査及び血液生化学的検査を実施して多元的に観察し、起こったときの対応を考察する。

Q37.　ウイルスベクターを使用した場合、増殖性ウイルスの存在程度についてどのように検討又は考察するか。
A　投与する細胞にウイルスが残存している可能性が否定できない場合は、細胞を投与した対象動物の主要臓器、血液、リンパ節、投与部位等で投与した細胞あるいはウイルスが移行している可能性が有る部位について、遺伝子検査法（リアルタイムPCR、nested PCRなど）（感度100コピー/μg以上）にてウイルスの遺伝子検出を実施する。遺伝子が検出された部位については組織のホモジネートを作製してウイルス分離試験（プラーク試験など）を実施する。

Q38.　薬理試験における用量設定の根拠とは。
A　通常の医薬品であれば、用量設定試験及び用量確認試験を実施し、臨床適用量を決定するが、動物細胞加工製品ではそれらの実施が困難な場合がある。製品の特性に合わせ、内外の文献・知見等を根拠に用量を設定してもよい。また、極めて少数の試験例を根拠に

してもよい。

Q39.　製品を構成する細胞が特定の部位（組織等）に到達して作用する場合には、どのようにしてその局在を明らかにするか。
A　本項で明らかにすべき局在については、当該細胞が所望の部位に到達していることを示すと共に、有害事象の発生が想定できる部位に集積していないことを示す。具体的には、例えば標識細胞などを用いて目的組織への到達程度（局在化の程度）を実測定すると共に、機能発現の程度（治療効果）などを指標に当該細胞の目的組織への到達程度を考察することが望ましい。

Q40.　動物細胞加工製品の特性に応じた適切な試験デザインとは。
A　目的とする細胞・組織の由来、対象疾患、適用方法等を踏まえて、有効性の確認又は推定及び安全性を評価できるように適切な試験デザインを設定することになるが、通常の医薬品と異なり、対照群の設定、統計処理等が困難なことが想定されるので、個々の症例について正確かつ詳細な観察・試験データを取るようにデザインされたい。なお、薬理試験や文献的知見、臨床試験での少数の症例等で有効性の推定ができれば、条件付きの承認が与えられることから、少数例であっても十分な解析をされたい。

Q41.　飼い主の所有する患畜を用いるとき、臨床試験として実施が必要な場合とは。
A　・モデル動物が利用できない場合は、動物病院等の獣医師の協力の下で、臨床活動の一環として用法用量設定試験を実施することになる。
・この場合は、開発者から獣医師に対する被検製品の譲渡が生じるため、臨床試験の枠組みで実施しない場合、医薬品医療機器等法違反に抵触する可能性がある。

Q42. 動物細胞加工製品の臨床試験において設定すべきエンドポイントとは。
A　統計学的な有意差が出ないとき、サロゲートマーカーでも承認が可能な場合がある。

参考資料（解説書Q3,Q4関係）

表1．動物用再生医療等製品のドナー動物の適格性に影響する犬、猫、馬の感染症概要

（ウイルス）		人獣共通	致死率	有病率	感染リスク[*1]	感染標的細胞	持続・潜伏感染	ワクチンの有無	検査の要否	治療
犬・猫	狂犬病	○	高	低	低	神経細胞		有	低	
犬	ジステンパー	×	高～低	低	低	リンパ組織、上皮組織	終生免疫	有	低	
	犬パルボウイルス感染症	×	子犬で高	中	低	リンパ組織、全身		有	低	
	犬伝染性肝炎（犬アデノウイルス1型感染症）	×	高～低	低	低	血管内皮、全身		有	低	
	犬アデノウイルス2型感染症[*2]	×		高	低	呼吸器上皮		有	低	
	犬ヘルペスウイルス感染症	×	子犬で高	高	高	全身、神経節、扁桃	○	無	中	
猫	猫白血病ウイルス感染症（FeLV）	×		低	高	リンパ組織	○	有	中	
	猫免疫不全ウイルス感染症（FIV）	×		3～12%	高	リンパ組織	○	有	中	
	猫汎白血球減少症（FPLV）	×	子猫で高		低	リンパ組織		有	低	
	猫伝染性腹膜炎（FIP）/猫腸コロナウイルス感染症（FECV）	×		20%（抗体）		リンパ組織・全身	○	無	中	
馬	日本脳炎	○	高	低	低	神経細胞		有	低	

（細菌・寄生虫）										
犬	レプトスピラ症	○	低	低	中	腎、泌尿器	○	有	低	有
	ブルセラ症[*3]	○	低	低	中	生殖器	○	無	低	有
猫	クラミジア症	○	低			角・結膜上皮		有	低	有
犬・猫	トキソプラズマ症[*4]	○	子猫で高					無	低	有

疾病名は日本獣医学会の「疾患名用語集」に準拠した。

[*1]見た目上健康な動物の保菌・保毒の頻度を指す。

[*2]犬伝染性喉頭気管炎

[*3]家伝法では「ブルセラ病」である。

[*4]家伝法では「トキソプラズマ病」である。

別添２

動物細胞加工製品（自己由来）の品質及び安全性確保に関する指針（素案）及び解説書

（素案）

動物細胞加工製品（自己由来）の品質及び安全性確保に関する指針

はじめに

１．本指針は、動物細胞加工製品のうち、自己由来細胞を加工したものの品質及び安全性の確保のための基本的な技術要件について定めるものである。
しかしながら、再生医療等製品の種類や特性、臨床上の適用法は多種多様であり、また、本分野における科学的進歩や経験の蓄積は日進月歩である。本指針を一律に適用したり、本指針の内容が必要事項すべてを包含しているとみなしたりすることが必ずしも適切でない場合もある。したがって、個々の再生医療等製品についての試験の実施や評価に際しては本指針の目的を踏まえ、その時点の学問の進歩を反映した合理的根拠に基づき、ケース・バイ・ケースで柔軟に対応することが必要であること。

２．製造販売承認申請時における品質及び安全性の確保のための資料は、本指針に沿って充実整備されることを前提としている。
しかしながら、当該製品の由来、対象疾患、対象患畜、適用部位、適用方法及び加工方法等により資料の範囲及び程度が異なり、本指針では具体的に明らかでないことも少なくないので、個別に動物医薬品検査所に相談することが望ましい。

目次

第１章 総則･･･ 1
第１ 目的･･･ 1
第２ 定義･･･ 1
第２章 製造方法･･･ 2
第１ 原材料及び製造関連物質･･･ 2
１ 目的とする細胞･ 組織･･･ 2
(1) 起源及び由来、選択理由･･･ 2
(2) 原材料となる細胞･ 組織の特性と適格性･･･ 2
(3) 細胞･ 組織の採取･ 保存･ 運搬･･･ 2
２ 目的とする細胞･ 組織以外の原材料及び製造関連物質･･･ 3
(1) 細胞の培養を行う場合･･･ 3
(2) 非細胞成分と組み合わせる場合･･･ 4
(3) 細胞に遺伝子工学的改変を加える場合･･･ 5
第２ 製造工程･･･ 6
１ ロット構成の有無とロットの規定･･･ 6
２ 製造方法･･･ 6
(1) 受入検査･･･ 6
(2) 細菌、真菌及びウイルス等の不活化･ 除去･･･ 6
(3) 組織の細切、細胞の分離、特定細胞の単離等･･･ 6
(4) 培養工程･･･ 7
(５) 細胞のバンク化･･･ 7
(６) 製造工程中の取り違え及びクロスコンタミネーション防止対策･･･ 7
３ 加工した細胞の特性解析･･･ 7
４ 最終製品の形態、包装･･･ 8
５ 製造方法の恒常性･･･ 8
６ 製造方法の変更･･･ 8
第３ 最終製品の品質管理･･･ 8
１ 総論･･･ 8
２ 最終製品の品質管理法･･･ 9
(1) 細胞数並びに生存率･･･ 9
(2) 確認試験･･･ 9
(3) 細胞の純度試験･･･ 9

(4) 細胞由来の目的外生理活性物質に関する試験・・・・・・・・・・・・・・・・・ 9
(5) 製造工程由来不純物試験・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 9
(6) 無菌試験及びマイコプラズマ否定試験・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 10
(7) エンドトキシン試験・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 10
(8) ウイルス等の試験・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 10
(9) 効能試験・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 11
(10) 力価試験・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 11
(11) 力学的適合性試験・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 11
第 3 章 再生医療等製品の安定性・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 11
第 4 章 安全性試験・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 12
1 総論・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 12
2 安全性に関する試験・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 12
(1) 動物・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 12
(2) 動物数・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 12
(3) 投与経路・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 13
(4) 投与量及び群分け・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 13
(5) 投与回数及び投与期間・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 13
(6) 観察及び検査項目・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 13
第 5 章 薬理試験・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 13
1 総論・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 13
2 薬効・薬理試験・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 14
第 6 章 体内動態・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 14
1 総論・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 14
2 体内分布・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 14
第 7 章 臨床試験を始めるにあたって・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 15
1 総論・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 15
2 臨床試験 (治験実施計画書)・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 15

解説書・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 16

第１章　総則

第１目的

本指針は、動物細胞加工製品のうち、自己由来細胞を加工したものの品質及び安全性の確保のための基本的な技術要件について定めるものである。（解説書Q1参照）

第２定義

本指針における用語の定義は以下のとおりとする。

１「細胞の加工」とは、疾患の治療や組織の修復又は再建を目的として、細胞・組織の人為的な増殖・分化、細胞の活性化等を目的とした薬剤処理、生物学的特性改変、非細胞成分との組み合わせ又は遺伝子工学的改変等を施すことをいう。組織の分離、組織の細切、細胞の分離、特定細胞の単離（薬剤等による生物学的・化学的な処理により分離するものを除く。）、抗生物質による処理、洗浄、ガンマ線等による滅菌、冷凍、解凍等は加工とみなさない（ただし、本来の細胞と異なる構造・機能を発揮することを目的として細胞を使用するものについてはこの限りではない。）。

２「製造」とは、加工に加え、組織の分離、組織の細切、細胞の分離、特定細胞の単離、抗生物質による処理、洗浄、ガンマ線等による滅菌、冷凍、解凍等、当該細胞の本来の性質を改変しない操作を含む行為で、最終製品である再生医療等製品を出荷するまでに行う行為をいう。

３「表現型」とは、ある一定の環境条件のもとで、ある遺伝子によって表現される形態学的及び生理学的な性質をいう。

４「ドナー」とは、再生医療等製品の原料となる細胞・組織を提供する動物個体をいう。

５「遺伝子導入構成体」とは、目的遺伝子を標的細胞に導入するための運搬体、目的遺伝子及びその機能発現に必要な要素をコードする塩基配列等から構成されるものをいう。

第２章　製造方法

第１原材料及び製造関連物質

１目的とする細胞･組織

(1)原材料となる細胞･組織の特性と適格性

①生物学的構造･機能の特徴と選択理由

原材料として用いられる細胞･組織について、その生物学的構造･機能の特徴を示し、当該細胞･組織を原料として選択した理由を説明すること。（解説書Q2参照）

②ドナーの感染症に対する留意点

患畜、製造従事者及び獣医療従事者の安全性確保及び公衆衛生の観点から採取細胞を介して感染する可能性がある各種感染症を考慮して感染症に関する検査項目を定め、その妥当性を明らかにすること。（解説書Q3、Q4参照）

(２) ドナーに関する記録

原材料となる細胞について、安全性確保上必要な情報が確認できるよう、ドナーに関する記録が整備、保管されていること。また、その具体的方策を示すこと。

(３) 細胞･組織の採取･保存･運搬

①採取者及び採取診療施設等の適格性

採取者及び採取診療施設等に求めるべき技術的要件について、明らかにすること。

②採取部位及び採取方法の妥当性

細胞･組織の採取部位の選定基準、採取方法を示し、これらが科学的及び倫理的に適切に選択されたものであることを明らかにすること。

③ドナーの飼い主に対する説明及び同意

細胞･組織採取時のドナーの飼い主に対する説明及び同意の内容を規定すること。

④ドナーの飼い主の個人情報の保護

ドナーの飼い主の個人情報の保護方策について具体的に規定すること。

⑤ドナーの安全性確保のための試験検査

細胞採取時にドナーの安全性確保のために採取部位の状態の確認など試験検査を行わなければならない場合には、その内容、検査結果等に問題があった場合の対処法について具体的に規定すること。（解説書Q5、Q6参照）

⑥保存方法及び取り違え防止策

採取した細胞･組織を一定期間保存する必要がある場合には、保存条件や保存期間及びそ

の設定の妥当性について明らかにすること。また、取り違えを避けるための手段や手順等について具体的に説明すること。
⑦運搬方法
採取細胞･ 組織を運搬する必要がある場合には、運搬容器、運搬手順(温度管理等を含む。) を定め、その妥当性について明らかにすること。
⑧記録の作成及び保管方法
①～⑦に関する事項について、実施の記録を文書で作成し、適切に保管する方法について明らかにすること。

２目的とする細胞･ 組織以外の原材料及び製造関連物質
目的とする細胞･ 組織以外の原材料及び製造関連物質を明らかにし、その適格性を示すとともに、必要に応じて規格を設定し、適切な品質管理を行うことが必要である。
なお、他動物種由来製品を原材料として使用する場合は、その使用量を必要最小限とし、「動物用生物由来原料基準 (平成15年農林水産省告示第1911号) 」をはじめとする関連法令及び通知を遵守すること。特に、ウイルス不活化及び除去に関する情報を十分に評価する必要があるほか、遡及調査等を確保する方策についても明らかにすること。

(1) 細胞の培養を行う場合
①培地、添加成分 (血清、成長因子及び抗生物質等) 及び細胞の処理に用いる試薬等のすべての成分等についてその適格性を明らかにし、必要に応じて規格を設定すること。各成分等の適格性の判定及び規格の設定に当たっては、最終製品の適用経路等を考慮すること。
②培地成分については、以下の点に留意すること。
ア　培地に使用する成分及び水は、可能な範囲で動物用医薬品に相当する基準で品質管理されている生物学的純度の高い品質のものを使用すること。 (解説書Q7、Q8参照)
イ　培地に使用する成分は主成分のみでなく可能な限り使用するすべての成分について明らかにし、必要に応じて品質管理法等を明確にすること。ただし、培地の構成成分が周知のもので、市販品等が一般的に使用されているDMEM、MCDB、HAM、RPMI のような培地は１つのものと考えてよい。
ウ　すべての成分を含有した培地の最終品については、無菌性及び目的とした培養に適していることを判定する必要がある。必要に応じてそのための性能試験を実施する。その他、工程管理上必要と思われる試験項目を規格として設定し、適切な品質管理を行う必要がある。 (解説書Q9参照)
③血清及び血清に由来する成分については、以下の点を考慮し、血清等からの細菌、真菌、

ウイルス及び異常プリオン等の混入・伝播を防止するとともに、最終製品から可能な限り除去するよう洗浄や処理方法等を検討すること。なお、異種血清を使用する場合でも無血清培養に用いる添加タンパク質との安全性比較をし、十分に除去されることが立証される場合には、その使用を妨げるものではない。特に繰り返して使用する可能性のある製品では可能な限り安全性に留意すること。

ア　血清等の由来を明確にすること。

イ　由来動物種に特異的なウイルスやマイコプラズマに関する適切な否定試験を行い、ウイルス等に汚染されていないことを確認した上で使用すること。（解説書Q10参照）

ウ　細胞の活性化、増殖に影響を与えない範囲で細菌、真菌及びウイルス等に対する適切な不活化処理及び除去処理を行う。例えば、潜在的なウイルス混入の危険性を避けるために、必要に応じて加熱処理、フィルター処理、放射線処理又は紫外線処理等を組み合わせて行うこと。

エ　培養細胞でのウイルス感染のモニター、患畜レベルでのウイルス性疾患の発症に対するモニター及び異種血清成分に対する抗体産生等の調査のために、使用した血清の一部を保管すること。

④抗生物質の使用は必要最小限とする。ただし製造初期の工程において抗生物質の使用が不可欠と考えられる場合には、その後の工程で可能な限り漸減を図るほか、用いる抗生物質に過敏症の既往歴のある患畜の場合には、十分に注意すること。なお、抗生物質を使用する場合でも十分に除去されることが立証される場合には、その使用を妨げるものではない。

⑤成長因子を用いる場合には、細胞培養特性の再現性を保証するために、例えば純度及び力価に関する規格を設定する等適切な品質管理法を示すこと。

⑥最終製品に含有している可能性のある培地成分や操作のために用いられたその他の成分、増殖機器等については、生体に悪影響を及ぼさないものを選択すること。

⑦フィーダー細胞として異種動物由来の細胞を用いる場合には、異種動物由来の感染症のリスクの観点から安全性を確保すること。

(2) 非細胞成分と組み合わせる場合

①細胞以外の原材料の品質及び安全性について

細胞とともに最終製品の一部を構成する細胞以外の原材料（マトリックス、医療材料、スキャフォールド、支持膜、ファイバー及びビーズ等）がある場合には、その品質及び安全性に関する知見について明らかにすること。（解説書Q11参照）

当該原材料の種類と特性、最終製品における形態・機能及び想定される臨床適応の観点か

ら見た品質、安全性及び有効性評価との関連を勘案して、適切な情報を提供すること。生体吸収性材料を用いる場合には、分解生成物に関して必要な試験を実施すること。
②目的とする細胞との相互作用について
細胞との相互作用に関し、以下の事項について、確認方法及び確認結果を示すこと。
ア　非細胞成分が、想定される臨床適応に必要な細胞の機能、生育能力、活性及び安定性に悪影響を与えないこと。
イ　非細胞成分との相互作用によって起こり得る、細胞の変異、形質転換及び脱分化等を考慮し、その影響を可能な範囲で評価すること。
ウ　細胞との相互作用によって、想定される臨床適応において非細胞成分に期待される性質が損なわれないこと。
③細胞と適用部位を隔離する目的で非細胞成分を使用する場合
非細胞成分を細胞と適用部位を隔離する目的で使用する場合、下記の項目を参考に効果、安全性を確認すること。
ア　免疫隔離の程度
イ　細胞由来の目的生理活性物質の膜透過キネティクスと薬理効果
ウ　栄養成分及び排泄物の拡散
エ　非細胞成分が適用部位周辺に及ぼす影響

(3) 細胞に遺伝子工学的改変を加える場合
細胞に遺伝子を導入する場合は、次に掲げる事項に関する詳細を示すこと。
①目的遺伝子の構造、由来、入手方法、クローニング方法並びにセル・バンクの調製方法、管理方法及び更新方法等に関する情報
②導入遺伝子の性質
③目的遺伝子産物の構造、生物活性及び性質
④遺伝子導入構成体を作製するために必要なすべての原材料、性質及び手順（遺伝子導入法並びに遺伝子導入用ベクターの由来、性質及び入手方法等）
⑤遺伝子導入構成体の構造や特性
⑥ベクターや遺伝子導入構成体を作製するための細胞やウイルスのバンク化及びバンクの管理方法
遺伝子導入細胞の製造方法については、その設定の妥当性を明らかにすること。（解説書Q12参照）
なお、遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律(平成15年法律第97号）に基づき、「ヒトの細胞等」若しくは「分化する能力を有する、又は分化

した細胞等であって、自然条件において個体に成育しないもの」以外の細胞、「ウイルス」及び「ウイロイド」に対して遺伝子工学的改変を加える場合には、別途手続きが必要となるので留意すること。（解説書Q13参照）

第２製造工程

再生医療等製品の製造に当たっては、製造方法を明確にし、可能な範囲でその妥当性を以下の項目で検証し、品質の一定性を保持すること。

１ロット構成の有無とロットの規定

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

２製造方法

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

(1) 受入検査

採取した細胞・組織について、その種類や使用目的に応じて実施する受入のための試験検査の項目と各項目の判定基準を設定すること。（解説書Q14参照）

(2) 細菌、真菌及びウイルス等の不活化・除去

採取した細胞・組織について、その細胞生存率や表現型、遺伝形質及び特有の機能その他の特性及び品質に影響を及ぼさない範囲で、必要かつ可能な場合は細菌、真菌及びウイルス等を不活化又は除去する処理を行うこと。当該処理に関する方策と評価方法について明らかにすること。（解説書Q15、Q16参照）

(3) 組織の細切、細胞の分離、特定細胞の単離等

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

(4) 培養工程

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

(5) 株化細胞の樹立と使用

株化細胞の樹立に当たっては、ドナーの遺伝的背景を理解したうえで樹立すること。樹立の方法を明確にし、可能な範囲でその妥当性を明らかにすること。

株化細胞の品質の均質性および安定性を保持するため、必要な特性解析要件（細胞純度、形態学的評価、表現型特異的マーカー、核型など）を同定してその基準を設定するとともに、安定性を維持したまま増殖が可能な継代数を示すこと。

株化細胞に関しては、適切な動物モデル等を利用し、腫瘍形成及びがん化の可能性について考察し、明らかにすること。（解説書Q17、Q18参照）

(6) 細胞のバンク化

再生医療等製品の製造のいずれかの過程で、細胞をバンク化する場合には、その理由、セル・バンクの作製方法及びセル・バンクの特性解析、保存・維持・管理方法・更新方法その他の各作業工程や試験に関する手順等について詳細を明らかにし、妥当性を示すこと。

平成12年7月14日付け医薬審第873号厚生省医薬安全局審査管理課長通知「生物薬品（バイオテクノロジー応用医薬品／生物起源由来医薬品）製造用細胞基剤の由来、調製及び特性解析について」等を参考とすること。（解説書Q19参照）

(7) 製造工程中の取り違え及びクロスコンタミネーション防止対策

再生医療等製品の製造にあたっては、製造工程中の取り違え及びクロスコンタミネーションの防止が重要であり、工程管理における防止対策を明らかにすること。

３加工した細胞の特性解析

加工した細胞について、加工に伴う変化を調べるために、例えば、形態学的特徴、増殖特性、生化学的指標、免疫学的指標、特徴的産生物質、その他適切な遺伝型又は表現型の指標を解析するとともに、必要に応じて機能解析を行うこと。また、培養期間の妥当性及び細胞の安定性を評価するために、予定の培養期間を超えて培養した細胞において目的外の変化がないことを示すこと。

４最終製品の形態、包装

最終製品の形態、包装は、製品の品質を確保できるものでなければならない。

５製造方法の恒常性

再生医療等製品の製造に当たっては、製造工程を通じて、個別に加工した製品の細胞数、細胞生存率並びに製品の使用目的及び適用方法等からみた特徴（表現型の適切な指標、遺伝型の適切な指標、機能特性及び目的とする細胞の含有率等）が製品（ロット）間で本質的に損なわれないことを、試験的検体を用いてあらかじめ評価しておくこと。製造工程中の凍結保存期間や加工に伴う細胞培養の期間が長期に及ぶ場合には一定期間ごとに無菌試験を行うなど、無菌性が確保されることを確認すること。

６製造方法の変更

開発途中に製造方法を変更した場合、変更前の製造方法による製品を用いて得た試験成績を承認申請に使用するときは、製造方法変更前後の製品の同等性及び同質性を示すこと。（解説書Q20参照）

第３最終製品の品質管理

１総論

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

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

２最終製品の品質管理法

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

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

(1) 細胞数並びに生存率

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

(2) 確認試験

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

(3) 細胞の純度試験

目的細胞以外の異常増殖細胞、形質転換細胞の有無や混入細胞の有無等の細胞の純度について、目的とする細胞の由来、培養条件等の製造工程等を勘案し、必要に応じて試験項目、試験方法及び判定基準を示すこと。なお、治験開始時においては、少数の試験的検体での実測値を踏まえた暫定的な規格を設定することでも良い。（解説書Q21参照）

(4) 細胞由来の目的外生理活性物質に関する試験

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

(5) 製造工程由来不純物試験

原材料に存在するか又は製造過程で非細胞成分、培地成分、資材、試薬等に由来し、製品中に混入物、残留物、又は新たな生成物、分解物等として存在する可能性があるもので、かつ、品質及び安全性の面からみて望ましくない物質等（例えば、ウシ胎児血清由来のアルブミン、抗生物質等）については、当該物質の除去に関するプロセス評価や当該物質に

対する工程内管理試験の結果を考慮してその存在を否定するか、又は適切な試験を設定して存在許容量を規定すること。試験対象物質の選定及び規格値の設定に当たっては、設定の妥当性について明らかにすること。なお、治験開始時においては、少数の試験的検体での実測値を踏まえた暫定的な規格を設定することでも良い。（解説書Q22参照）

(6) 無菌試験及びマイコプラズマ否定試験

最終製品の無菌性については、あらかじめモデル検体を用いて全製造工程を通じて無菌性を確保できることを十分に評価しておく必要がある。最終製品について、患畜に適用する前に無菌性（一般細菌及び真菌否定）を試験により示すこと。また、適切なマイコプラズマ否定試験を実施すること。最終製品の無菌試験等の結果が、患畜への投与後にしか得られない場合には、投与後に無菌性等が否定された場合の対処方法をあらかじめ設定しておくこと。また、この場合、中間製品で無菌性を試験により示し、最終製品に至る工程の無菌性を厳密に管理する必要がある。また、同一施設・同一工程で以前に他の患畜への適用例がある場合には、全例において試験により無菌性が確認されていること。

ロットを構成する製品で密封性が保証されている場合には、代表例による試験でよい。適用ごとに試験を実施する必要がある場合で、無菌試験等の結果が、患畜への投与後にしか得られない場合には、適用の可否は直近のデータを参考にすることになるが、この場合でも最終製品の無菌試験等は必ず行うこと。

抗生物質は細胞培養系で極力使用しないことが望まれるが、使用した場合には、無菌試験に影響を及ぼさないよう処置すること。（解説書Q23参照）

(7) エンドトキシン試験

試料中の夾雑物の影響を考慮して試験を実施すること。規格値は必ずしも実測値によらず、日本薬局方等で示されている最終製品の１回投与量を基にした安全域を考慮して設定すればよい。また、工程内管理試験として設定することも考えられるが、その場合には、バリデーションの結果を含めて基準等を設定し、その妥当性を説明すること。（解説書Q24参照）

(8) ウイルス等の試験

公衆衛生上のリスクが高いと考えられるウイルス等を製造工程中に増殖させる可能性のある細胞の場合には、中間製品、最終製品等についてもウイルス等の存在を否定する適切な試験を実施すること。また、製造工程中で生物由来成分を使用する場合には、最終製品で当該成分由来のウイルスについての否定試験の実施を考慮すべき場合もあるかも知れない。

しかし可能な限り、もとの成分段階での試験やプロセス評価で迷入が否定されていることが望ましい。（解説書Q25参照）

(9) 効能試験

幹細胞、リンパ球、遺伝子改変細胞その他の細胞等、臨床使用目的又は特性に応じた適切な効能試験の実施を考慮すべき場合もある。なお、治験開始時においては、少数の試験的検体による実測値を踏まえた暫定的な規格を設定することでも良い。（解説書Q26、Q33参照）

(10) 力価試験

細胞から分泌される特定の生理活性物質の分泌が当該再生医療等製品の効能又は効果の本質である場合には、その目的としている必要な効果を発揮することを示すために、当該生理活性物質に関する検査項目及び規格を設定すること。遺伝子を導入した場合の発現産物又は細胞から分泌される目的の生成物等について、力価、産生量等の規格を設定すること。なお、治験開始時においては、少数の試験的検体による実測値を踏まえた暫定的な規格を設定することでも良い。（解説書Q27参照）

(11) 力学的適合性試験

一定の力学的強度を必要とする製品については、適用部位を考慮した力学的適合性及び耐久性を確認するための規格を設定すること。なお、治験開始時においては、少数の試験的検体による実測値を踏まえた暫定的な規格を設定することでも良い。

第３章　再生医療等製品の安定性

製品化した再生医療等製品又は重要なそれらの中間製品について、保存・流通期間及び保存形態を十分考慮して、細胞の生存率及び力価等に基づく適切な安定性試験を実施し、貯法及び有効期限を設定し、その妥当性を明らかにすること。特に凍結保管及び解凍を行う場合には、凍結及び解凍操作による製品の安定性や規格への影響がないかを確認すること。また、必要に応じて標準的な製造期間を超える場合や標準的な保存期間を超える長期保存についても検討し、安定性の限界を可能な範囲で確認すること。ただし、製品化後直ちに使用するような場合はこの限りではない。

また、製品化した再生医療等製品を運搬する場合には、運搬容器及び運搬手順（温度管理

等を含む）等を定め、その妥当性について明らかにすること。（解説書Q28参照）

第4章　安全性試験

1. 総論

製品の特性及び適用法から評価が必要と考えられる安全性関連事項について、技術的に可能であれば、科学的合理性のある範囲で、適切な対象動物あるいは実験動物を用いた試験又は*in vitro* での試験を実施すること。なお、非細胞･ 組織成分及び製造工程由来の不純物等については、可能な限り、動物を用いた試験ではなく理化学的分析法により評価すること。

製品の対象となる製品を用いて、臨床上の適用に関連する有用な安全情報を収集すること。動物用医薬品の安全性試験については、①動物用医薬品のための安全性試験法ガイドライン、②動物用生物学的製剤を除く動物用医薬品の対象動物安全性試験（VICHGL43）及び③動物用生及び不活化ワクチンの対象動物安全性試験（VICHGL44）（農林水産省動物医薬品検査所長通知　平成12年3月31日付け12動薬A第418号の別添2：動物用医薬品等の承認申請資料のためのガイドライン等の10）に詳細が示されているので、動物細胞加工製品についての安全性試験は、当該製品の特性に応じてこれらの試験法を参考にすることが望ましい。ここでは対象動物を用いた標準的な試験法を示す。なお、動物を用いる本試験は、動物用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年農林水産省令第60号）に従って実施しなければならない。また、異種遺伝子が導入された細胞を使用する場合は、遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律(平成15年法律第97号）に従うこと。（解説書Q13参照）

2　安全性に関する試験

（１）動物

製品の適用を予定している健康な対象動物であって、飼料及び動物用医薬品の使用歴並びに試験開始前における飼養方法等が明らかなものを用いる。製品の適用に性別の限定がない場合には、雌雄を用いること。妊娠動物への適用が予定されている場合には、妊娠動物を用いること。（解説書Q29参照）

（２）動物数

各群について3頭以上を用いる。

（３）投与経路

原則として臨床適用経路とするが、複数ある場合には障害が最も強く発現する経路で実施して差し支えない。

（４）投与量及び群分け

試験群及び対照群を置く。試験群の投与量は、臨床適用量とする。ただし臨床的用量に幅がある場合は、その最も多い量を投与する。

（５）投与回数及び投与期間

予定している投与期間及び投与回数で投与する。その後、同一製品で再度治療する場合には、適当な間隔をおいてさらにもう1回投与する。ただし予定している投与期間が長期の場合は、投与期間を短縮して差し支えない。（解説書Q30参照）

（６）観察及び検査項目

①動物の観察と血液検査

投与後における一般状態を多元的に毎日観察し記録するとともに、必要により全部又は一部について、血液学的検査及び血液生化学的検査を実施する。その際、製品及び導入遺伝子の発現産物等による望ましくない免疫反応が生じる可能性についても検討又は考察すること。（解説書Q31参照）

②妊娠動物

妊娠動物に対する適用を予定している製品については、試験に用いた妊娠動物の産子についても投与群に準じて観察を行うこと。

③その他

必要に応じて、製品の適用が患畜の正常な細胞･組織に影響を与える可能性及びウイルスベクターを使用した場合には増殖性ウイルスの存在程度について検討又は考察すること。（解説書Q32参照）

第５章　薬理試験

１　総論

動物細胞加工製品の効力又は性能を推定するための薬理情報を収集すること。通常の医薬品で求められる最小有効量に関する試験等は、実施する必要はない場合がある。なお、動

物細胞加工製品の効力又性能による治療が他の治療法と比較したとき、はるかに優れて期待できることが国内外の文献又は知見等により合理的に明らかにされている場合には、必ずしも詳細な実験的検討は必要とされない。

２　薬効･薬理試験

①技術的に可能かつ科学的に合理性のある範囲で､対象動物､実験動物又は細胞等を用い、適切に設計された試験により、動物細胞加工製品の機能発現、作用持続性及び効果を検討すること。

②遺伝子導入細胞にあっては、導入遺伝子からの目的産物の発現効率及び発現の持続性、導入遺伝子の発現産物の生物活性並びに動物細胞加工製品として期待される効果等を検討すること。（解説書Q33参照）

③適当な動物由来細胞製品モデル又は疾患モデル動物がある場合には、それを用いて治療効果を検討し、臨床適用における用法･用量の設定を検討すること。飼い主の所有する患畜を用いる場合は、臨床試験としての実施が必要な場合がある。（解説書Q34参照）

第６章　体内動態

１　総論

動物細胞加工製品が有効で安全であることの傍証となる情報を収集すること。これらの情報を得るために既に実施した試験あるいは文献情報等を利用しても差し支えない。

２　体内分布

①製品を構成する細胞及び導入遺伝子の発現産物について、技術的に可能で、かつ、科学的合理性がある範囲で、対象動物又は実験動物での体内分布を明らかにすること。（解説書Q33参照）

②当該細胞が特定の部位（組織等）に到達して作用する場合には、その局在性を明らかにすること。（解説書Q35参照）

第７章　臨床試験を始めるにあたって

１　総論

動物細胞加工製品の有効性の確認又は推定及び安全性を評価することが可能な試験成績を得るために、当該製品に応じた適切な試験デザイン及びエンドポイントを設定して実施すること。なお、臨床試験は、動物細胞加工製品の臨床試験の実施の基準に関する省令(平成26年農林水産省令第61号)に従って実施しなければならない。(解説書Q33、Q36、Q37、Q38参照)

２　臨床試験 (治験実施計画書)

臨床試験を実施する際には、以下のことを考慮して治験実施計画書を作成すること。

①対象疾患

②対象とする被験動物及び被験動物から除外すべき患畜の考え方

③再生医療等製品の適用を含め、被験動物に対して行われる治療内容

④既存の治療法との比較を踏まえた臨床試験実施の妥当性

⑤現在得られている情報から想定されるリスク及びベネフィットを含め、被験動物の飼い主への説明事項の案

動物細胞加工製品（自己由来）の品質及び安全性確保に関する指針　解説書案

Q1.　本指針と「動物細胞加工製品（同種由来）の品質及び安全性確保に関する指針」の二つの指針があるが、その違いから特に留意する点は何か。

A　自己由来の細胞・組織を用いる場合、その細胞・組織を介する免疫学的な問題が理論上なく、感染症伝播のリスクも低いことである。しかし、自己由来であっても製造工程におけるコンタミネーションやウイルス増殖のリスクを考慮し、製造従事者等の安全性に配慮することは同種由来と同様である。

また、多くの自己由来製品は、個別製品の製造となるので、それらの品質の変動を最小限度にする工夫が必要であるが、製品レベルでの品質検査の実施に試験検体の量的制約がある。従って、それらに留意した合理的な品質確保方策を採用する必要がある。

Q2.　原材料として用いられる細胞・組織について、その生物学的構造・機能の特徴とは具体的にどのようなことか。

A　最終製品の機能、有効性、安全性等の視点から重要と考えられる生物学的構造・機能の特徴を示し、原材料として選択した理由を説明する。例えば、形態学的特徴、増殖特性、生化学的指標、免疫学的指標、特徴的産生物質、主要組織適合性抗原型タイピング、その他適切な遺伝型又は表現型の指標のことである。

Q3.　自己由来細胞加工製品の適用対象となる患畜について留意すべき感染症の影響とは何か？

A　動物細胞加工製品（自己由来）の製造に当たっては、治療対象である患畜（レシピエント）自らがドナー動物となるため、同種他家製品等で留意すべきレシピエントへの感染伝播リスクは基本的に考慮する必要がない。ただし、細胞加工製品の製造工程（培養等）で病原体増殖等により（洗浄等では除去できない）リスクが増大するケース、更には人獣共通感染症の場合に、細胞・組織採取時の術者へのリスク、製造工程での担当者へのリスク等に留意する必要がある。（表１、Q4 参照）

Q4. ドナー動物について公衆衛生上感染の有無を検査すべき感染症とは？

Ａ　ドナー動物が罹患している感染症により細胞・組織の採取等の作業者や飼育管理者、所有者などに健康被害特に生命に重大な危害が予想される人獣共通感染症は排除されるべきである。表１のとおり、犬・猫では狂犬病、馬では日本脳炎が留意すべき重篤な人獣共通感染症として知られるが、我国での有病率は無視できるほど低いこと、及び効果的なワ

クチンが普及していることなどからすべてで検査すべきリスク要因とする必要はない。一方、海外のドナー動物から採取された細胞、組織等を原料とする場合、或いは海外の動物を国内で治療するため輸入しドナーとする場合などには、当該国での疫学情報、輸入時の検疫条件等に留意した上で PCR 法による病原体否定試験等により適切なリスク管理を検討すること。

Q5.　ドナーの安全性確保のための試験検査は、どのような場合にどのような試験検査を行い、その結果に問題があった場合はどのように対処するのか。
A　ドナーが家庭で飼育されている動物の場合、細胞・組織の採取にあたってはドナーの安全性を確保することが重要である。ドナーの健康状態、採取部位の特定、その状態の確認等を臨床検査、血液検査等を実施し総合的に判断する。また、試験検査結果の程度により、採取量、採取時期の延期、採取の見合わせ等の対処方法を規定しておくことが必要である。なお、細胞・組織の採取処置のストレス等による感染症の重篤化のリスクにも注意を払う必要がある。

Q6. ドナーが家庭で飼育されている動物の場合、細胞等を採取するときに何らかのトラブルが生じた場合はどのように対処するか。
A　ドナーの飼い主に対して事前にリスクを含め十分説明し、トラブル等の対処方法等の同意を取っておくことが必要である。トラブルを避けるためには、Q5 で述べた試験検査をしっかり実施することが肝要である。

Q7.　培地に使用する成分及び水について、動物用医薬品に相当する基準で品質管理されたものとはどのようなものか。
A　例えば、動物用生物学的製剤基準に規定されている水、試薬等が相当する。
動物用生物学的製剤基準の通則で、水とは日本薬局方の精製水とされている。また、試薬・試液等については動物用生物学的製剤基準において規定するもののほか、日本薬局方一般試験法に規定する試薬・試液等を用いても良いとされている。

Q8.　培地に使用する成分及び水について、生物学的純度の高い品質とは何か。
A　エンドトキシンの濃度や無菌性が担保されたものである。

Q9.　すべての成分を含有した培地の最終品について、どのような性能試験を実施するのか。
A　細胞培養に使用する培地の最終品については、当該細胞あるいは類似細胞の増殖性・

分化能その他の生物学的特性等から選択する。

Q10.　使用する血清について、由来動物種に特異的なウイルスやマイコプラズマを否定するための適切な試験とはどのようなものか。
A　動物用生物学的製剤基準のマイコプラズマ否定試験法や迷入ウイルス否定試験法に準じて実施されたい。なお、PCR 法等新たに開発される手法についてはその妥当性を考慮した上で利用されたい。

Q11.　細胞とともに最終製品の一部を構成する細胞以外の原材料について、その品質及び安全性に関する知見はどの程度必要か、また、必要な試験とは。
A　当該原材料の種類と特性、最終製品における形態・機能及び想定される臨床適用の観点から見た品質、安全性及び有効性評価との関連を考慮して適切な情報を提供すること。必要な試験等については、平成 24 年 3 月 1 日付け薬食機発 0301 第 20 号厚生労働省医薬食品局審査管理課医療機器審査管理室長通知「医療機器の製造販売承認申請等に必要な生物学的安全性評価の基本的考え方について」及び「医療用具の製造（輸入）承認申請に必要な生物学的試験の基本的考え方について」を参照し、試験結果及び当該原材料を使用することの妥当性を示すこと。また、必ずしも試験を実施しなく、文献からの知見、情報を合理的に活用すること。

Q12.　遺伝子導入細胞の製造方法の妥当性とは。
A　製造工程で外来遺伝子の導入が行われている場合には、「遺伝子組換え生物等又はそれらを使用して製造される物を成分として含む動物用医薬品等の製造販売承認申請書及び添付資料について」（農林水産省動物医薬品検査所長通知　平成 12 年 3 月 31 日付け 12 動薬 A 第 418 号の別添 2：動物用医薬品等の承認申請資料のためのガイドライン等の 20）に準じて妥当性を示すこと。
特に、ウイルスベクターを使用した場合には増殖性ウイルスがどの程度存在するかを検査するとともに、検査方法が適切であることについても明らかにすること。
また、導入遺伝子及びその産物の性状について調査し、安全性について明らかにすること。
細胞については、増殖性の変化、腫瘍形成及びがん化の可能性について考察し、明らかにすること。

Q13.　どのような事例が遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律(平成 15 年法律第 97 号）（カルタヘナ法)の対象となるか 。

A　カルタヘナ法の施行規則第１条において、「ヒトの細胞等」と「分化する能力を有する、又は分化した細胞等（個体及び配偶子を除く。）であって、自然条件において個体に生育しないもの」は「細胞等」から除外されている。従って遺伝子工学的改変がカルタヘナ法の対象となるのはウイルス等に加えて動物培養細胞では、ウイルスベクター等の遺伝子組換え生物等を含む細胞等と動物の胚や配偶子となる。ウイルスベクターを使用した場合、ウイルスの存在が否定できなければカルタヘナ法の対象となる。
また、カルタヘナ法の対象にならない細胞等であっても、異種遺伝子を移入した細胞等を動物に接種するとその動物は接種された細胞が存在する間、あるいは移入した遺伝子が動物の細胞に取り込まれる場合は組換え動物として扱われ、カルタヘナ法の対象になる。またその遺伝子が配偶子に入り生まれた子は組換え動物である。これらに該当する動物はカルタヘナ法に規定されている拡散防止措置を執って第二種使用として飼育するか、拡散防止措置を執らずに飼育する場合は第一種使用規程の承認を受ける必要がある。

Q14.　原材料の受入検査として、どのような検査項目を設定するのか。
A　例えば、目視検査、顕微鏡検査、採取収率、生存率、細胞の特性解析及び微生物試験等がある。

Q15.　原材料となる細胞・組織について、細菌、真菌及びウイルス等の不活化・除去法としてどのような方法があるか。
A　本来、細胞・組織は、無菌的に採材することが原則であり、原材料の表面等を適切な殺菌・殺ウイルス方法で処理することも考慮する。また、細菌・真菌に対しては必要最小限の抗生物質を使用する方法もある。

Q16.　Q15 で実施する試験について、どのように評価するのか。
A　直接、無菌試験等で評価するか、適切なウイルスクリアランス試験で評価する。
なお、ウイルスクリアランス試験については、「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」（厚生省医薬安全局審査管理課長通知　平成 12 年 2 月 22 日付け医薬審第 329 号）を参考にされたい。

Q17. 株化細胞とは何か。
A　株化細胞とは、製品の製造に使用されることを目的として樹立された均質な細胞群であって、特性解析が十分になされ、無限増殖能ないしはそれに準じた増殖能を有するものである。（例えば、胚性幹細胞、人工多能性幹細胞等がそれにあたる。）

Q18.　継代数はどの様に規定すべきか。
A　継代数(Passage Number : PN)とは、培養に移された細胞を植え継いだ回数である。細胞によって継代方法が異なるため、取り扱う細胞の特性に合わせて継代方法を定義すべきである。例えば、細胞の剥離･ 回収方法 (トリプシン処理や遠心操作等)、継代時の希釈率(例えば 4 対 1 に希釈する) 又は播種細胞数 (シャーレ又はボトル当たりの細胞数) 及び継代間隔等を規定するとともに、接着細胞の場合には、継代時のコンフルエント状態(80～90%コンフルエント) を、浮遊細胞の場合には継代時の細胞密度を規定する。

Q19.　細胞をバンク化する場合、特性解析等はどのように実施するのか。
A　バンク化された細胞の特性解析試験としては、実施可能な試験を全て行う必要はなく、適切な試験を選択すべきである。表現型又は遺伝型が一般的に利用される。
(1) 動物又はヒト細胞株の場合、例えば形態学的特徴、アイソザイム解析、細胞種特有のマーカー、目的タンパク質の発現が特性解析試験として利用できる。
(2) 微生物細胞の場合、例えば選択培地上での増殖、ファージ型分析、目的タンパク質の発現が特性解析試験として利用できる。
なお、詳細は、「生物薬品 (バイオテクノロジー応用医薬品/生物起源由来医薬品) 製造用細胞基剤の由来、調整及び特性解析について」(厚生省医薬安全局審査管理課長通知　平成 12 年 7 月 14 日付け医薬審第 873 号) を参考にされたい。

Q20.　開発途中に製造方法を変更した場合、変更前後の製品の同等性及び同質性を示すには。
A　同等性及び同質性を示すには、①直接試験を実施して明らかにする内容、②主に考察 (リスクマネジメントを含む) により示す内容、が存在する。このうち①直接試験を実施して明らかにする内容としては、当該製品の特性解析項目、並びに品質規格に供する項目について、(統計学的考察等を含め) 合理的に同等性、同質性が説明できるべきである。さらに、前項の製造方法の恒常性に記載された内容を添付することも望ましい。一方、②主に考察により示す内容としては、変更内容の軽重、用いる試薬等のリスクに起因する安全性の変化、その他、リスクマネジメントの観点からの同等性、同質性に対する言及も重要である。

Q21.　最終製品の品質管理法である細胞の純度試験として、どのような試験を実施すれば良いのか。
A　再生医療等製品は、必ずしも単一の細胞で構成されているわけではないため、必然的

に目的外の細胞が混入している可能性がある。ここでいう、最終製品の品質管理方法として実施する細胞の純度試験は、目的外の細胞が製品の品質に悪影響をもたらすことが想定される場合に実施するものである。例えば、目的外の細胞によって有害な反応が生じる恐れがある場合、目的細胞の存在比率が下がることによって有効性が発揮できなくなる場合、等がこれに相当する。純度試験は必ずしも最終製品で全て実施する必要はなく、その場合は各細胞の純度(構成比率)に関してバリデーション試験等で担保できることが望ましい。

Q22.　最終製品の製造工程由来不純物の存在許容量を規定する方法とは。

A　製造工程由来不純物質としては、培養に用いた血清・抗生物質等を含む培地成分や加工に用いた酵素等が考えられる。これらの中で対象動物への影響が大きいと考えられる成分に関しては、分析が可能な場合には規格に設定すべきである。不純物に関する規格値については、臨床試験及び非臨床試験で用いたロット等から得られたデータに基づいて設定する必要がある。抗生物質や化学物質など、その化合物の毒性等が明らかな場合には、最大無作用量に 100 倍等の安全係数をかけ、規格値を設定してもよい。なお、不純物のうちのあるものについては、適切な製造工程の管理により許容できるレベル内に収まっているか、あるいは容認できるレベル以下まで効率的に除去できることを適切な検討によって実証していれば、規格値を必ずしも設定する必要がないものもある。

Q23.　抗生物質を細胞培養系で使用した場合、無菌試験に影響を及ぼさないための処置とは。

A　抗生物質を含む可能性のある最終製品では、動物用生物学的製剤基準の一般試験法に規定する無菌試験法及び日本薬局方一般試験法に規定する無菌試験法の直接法において試験系への影響を与える可能性がある。一般的に、最終製品に無菌試験への影響を与える抗生物質等の成分が含まれる場合には、日本薬局方一般試験法に規定する無菌試験法のメンブランフィルター法が用いられるが、細胞等が含まれる最終製品においては、メンブランフィルターの目詰まり等の影響が考えられるので最終製品そのものを分析することは困難である。従って、遠心操作等により細胞等を除いた上清を用いてメンブランフィルター法にて無菌試験を行う方法が考えられる。なお、日本薬局方一般試験法の無菌試験法で規定された「手法の適合性試験」により、遠心操作等の前処理法も含め、手法の適合性は確認する。あるいは、最終製品を無菌試験に影響を及ぼさない濃度まで希釈し、動物用生物学的製剤基準の一般試験法に規定する無菌試験法及び日本薬局方一般試験法に規定する無菌試験法の直接法にて実施することが考えられる。但し、上記の両試験において、検出感度（偽陰性）の課題が残る。望ましくは、製造の最終段階での培養では抗生物質を含まない

培地を用いて、直接法にて無菌試験を実施すべきである。

Q24. 最終製品試験または工程内管理試験として設定したエンドトキシン試験の妥当性を確認するにはどのような方法があるか。
A　日本薬局方一般試験法のエンドトキシン試験法を設定する場合は、予備試験として規定された試験を行うことにより、試験法の精度と有効性を確認する。なお、工程管理試験の基準値等については、臨床試験及び非臨床試験で用いたロット等の実測値に基づいて設定することで、その妥当性を説明することが可能である。

Q25. 最終製品の品質管理法(8)ウイルス等の試験に指摘される「公衆衛生上のリスクが高いと考えられるウイルス等」とは。
A　公衆衛生上のリスクとはその製造工程、中間製品を含む再生医療等製品を介してヒトに健康被害が及ぶ恐れのあるものをいう。（解説書 Q3、Q4 参照）
最終製品の品質管理法におけるウイルス等の試験については、生物学的製剤基準に定める迷入ウイルス否定試験法等を参照する。

Q26. 最終製品の効能を担保する試験とは。
A　最終製品の効能を推定できる *in vitro* もしくは *in vivo* の試験である。例えば、幹細胞の場合には、分化能の評価やモデル動物での評価等がある。

Q27. 最終製品の力価を担保する試験とは。
A　最終製品から分泌されるサイトカインや遺伝子導入された産物の量を測定する試験である。サイトカイン等の分泌量や遺伝子導入産物に関しては、遺伝子発現量、タンパク量及び生理活性（力価）などの内で十分に検証された方法により測定することが望ましい。

Q28. 最終製品の保存や輸送に伴う安定性を確認する試験とは。
A　申請する保存温度、容器、容量、細胞数、保存液、期間等の条件を考慮した試験系により保存期間中の安定性を確認する。また、出荷後の最終製品について、輸送時の温度変化、振動、輸送形態等を考慮した安定性の評価も必要であるが、実際に輸送試験を行い、出荷時と同等の品質が保たれていることを確認することでもよい。

Q29. 安全性試験において各動物に投与する製品はどのようなものを使用するのか。
A　3 頭の動物からそれぞれ採取した組織･細胞を用い、製造方法で規定したとおりの方法

で製造した製品を用いること。製品は、それぞれのドナー動物に投与しなければならない。
　自己由来の細胞加工製品では製造できる数量が少量であったり、培養時間がドナーにより異なったり、有効期限が短い等の理由から、3 頭同時に試験をスタートできない場合が想定される。このような場合は、1 頭ずつ投与量が確保できる時点で投与してもよい。
なお、指針本文では「健康な対象動物」と規定しているが、ドナーは、該当する疾患を持つ個体である場合もある（例えば、樹状細胞を用いた腫瘍の免疫療法等）。

Q30.　安全性試験において、予定された投与回数終了後、適当な間隔をおいてもう一度投与する理由とは。
A　当該生剤そのものが抗原となり宿主の免疫反応を惹起することも予想されるため、もう一度投与してアナフィラキシー等の出現を観察するためである。従って、治療が単回投与である製品では、もう一度投与する必要はない。
なお、自己由来の細胞加工製品では製造できる数量が少量であったり、有効期限が短い等の理由から投与できる製品が不足する場合が想定される。このような場合は、同一ドナーから新たに製造した製品を投与に使用すること。

Q31.　製品及び導入遺伝子の発現産物等による望まない免疫反応が生じる可能性について、どのように検討又は考察するか。
A　製品から由来するサイトカイン等が抗原となり、宿主の免疫反応を惹起することも予想されるために、3 頭以上の動物を用いてアレルギー反応やアナフィラキシーショックの発現を観察することが評価すべき項目として重要である。また製品特性を考慮したときにこれら以外の望まない免疫反応についても注意し、必要により全部又は一部について血液学的検査及び血液生化学的検査を実施して多元的に観察し、起こったときの対応を考察する。

Q32. ウイルスベクターを使用した場合、増殖性ウイルスの存在程度についてどのように検討又は考察するか。
A　投与する細胞にウイルスが残存している可能性が否定できない場合は、細胞を投与した対象動物の主要臓器、血液、リンパ節、投与部位等で投与した細胞あるいはウイルスが移行している可能性が有る部位について、遺伝子検査法（リアルタイム PCR、nested PCR など）（感度 100 コピー/μg以上）にてウイルスの遺伝子検出を実施する。遺伝子が検出された部位については組織のホモジネートを作製してウイルス分離試験（プラーク試験など）を実施する。

Q33.　異種遺伝子が導入された細胞を動物に投与する場合に注意すべき法令とは。
A　異種遺伝子を移入した細胞等を動物に接種するとその動物は接種された細胞が存在する間、あるいは移入した遺伝子が動物の細胞に取り込まれる場合は「遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律(平成 15 年法律第 97 号)」の対象となる。

Q34.　薬理試験における用量設定の根拠とは。
A　通常の医薬品であれば、用量設定試験及び用量確認試験を実施し、臨床適用量を決定するが、動物細胞加工製品ではそれらの実施が困難な場合がある。製品の特性に合わせ、内外の文献・知見等を根拠に用量を設定してもよい。また、極めて少数の試験例を根拠にしてもよい。

Q35.　製品を構成する細胞が特定の部位（組織等）に到達して作用する場合には、どのようにしてその局在を明らかにするか。
A　本項で明らかにすべき局在については、当該細胞が所望の部位に到達していることを示すと共に、有害事象の発生が想定できる部位に集積していないことを示す。科学的に可能な限り具体的には、例えば標識細胞などを用いて目的組織への到達程度(局在化の程度）を実測定すると共に、機能発現の程度（治療効果）などを指標に当該細胞の目的組織への到達程度を考察することが望ましい。

Q36.　動物細胞加工製品の特性に応じた適切な試験デザインとは。
A　目的とする細胞・組織の由来、対象疾患、適用方法等を踏まえて、有効性の確認又は推定及び安全性を評価できるように適切な試験デザインを設定することになるが、通常の医薬品と異なり、対照群の設定、統計処理等が困難なことが想定されるので、個々の症例について正確かつ詳細な観察・試験データを取るようにデザインされたい。なお、薬理試験や文献的知見、臨床試験での少数の症例等で有効性の推定ができれば、条件付きの承認が与えられることから、少数例であっても十分な解析をされたい。

Q37.　飼い主の所有する患畜を用いるとき、臨床試験として実施が必要な場合とは。
A　・モデル動物が利用できない場合は、動物病院等の獣医師の協力の下で、臨床活動の一環として用法用量設定試験を実施することになる。
・この場合は、開発者から獣医師に対する被検製品の譲渡が生じるため、臨床試験の枠組みで実施しない場合、医薬品医療機器等法違反に抵触する可能性がある。

Q38. 動物用再生医療等製品動物細胞加工製品の臨床試験において設定すべきエンドポイントとは。

A　統計学的な有意差が出ないとき、サロゲートマーカーでも承認が可能な場合がある。

参考資料（解説書Q3,Q4関係）

表1．動物用再生医療等製品のドナー動物の適格性に影響する犬、猫、馬の感染症概要

（ウイルス）		人獣共通	致死率	有病率	感染リスク[*1]	感染標的細胞	持続・潜伏感染	ワクチンの有無	検査の要否	治療
犬・猫	狂犬病	○	高	低	低	神経細胞		有	低	
犬	ジステンパー	×	高～低	低	低	リンパ組織、上皮組織	終生免疫	有	低	
	犬パルボウイルス感染症	×	子犬で高	中	低	リンパ組織、全身		有	低	
	犬伝染性肝炎（犬アデノウイルス1型感染症）	×	高～低	低	低	血管内皮、全身		有	低	
	犬アデノウイルス2型感染症[*2]	×		高	低	呼吸器上皮		有	低	
	犬ヘルペスウイルス感染症	×	子犬で高	高	高	全身、神経節、扁桃	○	無	中	
猫	猫白血病ウイルス感染症（FeLV）	×		低	高	リンパ組織	○	有	中	
	猫免疫不全ウイルス感染症（FIV）	×		3～12%	高	リンパ組織	○	有	中	
	猫汎白血球減少症（FPLV）	×	子猫で高		低	リンパ組織		有	低	
	猫伝染性腹膜炎（FIP）/猫腸コロナウイルス感染症（FECV）	×		20%（抗体）		リンパ組織・全身	○	無	中	
馬	日本脳炎	○	高	低	低	神経細胞		有	低	

（細菌・寄生虫）										
犬	レプトスピラ症	○	低	低	中	腎、泌尿器	○	有	低	有
	ブルセラ症[*3]	○	低	低	中	生殖器	○	無	低	有
猫	クラミジア症	○	低			角・結膜上皮		有	低	有
犬・猫	トキソプラズマ症[*4]	○	子猫で高					無	低	有

疾病名は日本獣医学会の「疾患名用語集」に準拠した。

[*1]見た目上健康な動物の保菌・保毒の頻度を指す。

[*2]犬伝染性喉頭気管炎

[*3]家伝法では「ブルセラ病」である。

[*4]家伝法では「トキソプラズマ病」である。

別添３

動物細胞加工製品（同種由来）の品質及び安全性確保に関する指針（素案）の解説書（素案）に係る試験法の類型とその問題点の整理

表1　製造工程において実施する試験のうち技術的な検討を要するもの

検討すべき試験項目	試験方法の類型	試験方法・現状・課題	方法の汎用性
第 2 章　製造方法			
第 1　原材料及び製造関連物質			
ドナーの主要組織適合抗原タイプの特定	表面マーカー・サイトカイン遺伝子発現	○試験方法 動物では確立されていないので、ヒトの検査方法を参考 1. DNA タイピング：解析キットが販売 2. HLA 抗体検査：ドナーリンパ球によるクロスマッチ検査（リンパ球細胞障害試験、抗ヒト免疫グロブリン介在性細胞障害試験、フローサイトメトリー法による試験、など）、抽出 HLA 抗原や精製 HLA 分子をコーティングした合成ビーズによる PRA（Panel Reactive Antibody）法、など ＊参考資料：日本組織適合性学会誌 ○現状 畜産分野では、ウシ（理研）、ブタ（東海大、岐阜大）、小動物ではイヌ（日大、東海大）でゲノム解析や疾患との関連性について研究されている。移植抗原としてのタイピングについては、ブタが解剖学的および生理学的にヒトとの類似性が高く、異種移植の可能性が注目されていることから、研究が進んでいる。いずれにしても、研究段階。 ○課題 動物では、ゲノム解析の研究が進められている段階で、移植のためのタイピング方法は確立されていない。また、動物種によっても多様性があるため、解析方法の確立には時間を要する。開発の難易度は高い。	**有**
血清、血清由来成分のプリオン、ウイルス、マイコプラズマの否定試験	無菌試験・マイコプラズマ否定試験、ウイルス等試験	○試験方法 1. 無菌試験 ①日局 ・一般試験法・無菌試験法（メンブランフィルター法、直接法） ②動物用生物学的製剤基準	**有**

				・一般試験法・無菌試験法 2. マイコプラズマ否定試験 ・日局・参考情報・バイオテクノロジー応用医薬品/生物起源由来医薬品の製造に用いる細胞基材に対するマイコプラズマ否定試験（A 法（培養法）、B 法（指標細胞を用いた DNA 染色法）、C 法（核酸増幅法）） ＊日局では「A 法と B 法による試験を実施する。ただし、適切なバリデーションを実施することにより、C 法を A 法や B 法の代替法として用いることができる。」と規定。 3. ウイルス等試験 ①動物用生物学的製剤基準・一般試験法・迷入ウイルス否定試験法及び外来性ウイルス否定試験法 ②PCR 〇課題 ・上記の試験法を適用してもよいが、購入する血清、培地等については、動物用生物由来原料基準に適合することを示す製造元等が発行した証明書等で代えることも可能。	
		抗生物質除去の立証法	製造工程由来不純物試験	〇試験方法：以下の 3 つの方法がある（特徴は下記の表を参照）。 1. 微生物学的力価試験法（日本薬局方） 2. 高速液体クロマトグラフ法（HPLC-UV） 3. 高速液体クロマトグラフタンデム型質量分析法（LC/MS/MS） 上記 3 種の比較は以下の表を参照。 〇現状： 検出感度、特異性、再現性、迅速性の観点から LC/MS/MS が最適である。 〇課題： LC/MS/MS 方法では、徐タンパクなどの検体の前処理法の検討や適切な内部標準物質、標準物質が必要であるが、これまでの実績から大きな問題はないと考えられる。	**有**

<table>
<tr><td></td><td></td><td></td><td></td><td>抗生物質の定量法
<table><tr><th></th><th>微生物学的力価試験法
（日本薬局方）</th><th>高速液体ｸﾛﾏﾄｸﾞﾗﾌ法（HPLC-UV）</th><th>高速液体ｸﾛﾏﾄｸﾞﾗﾌﾀﾝﾃﾞﾑ型質量分析法
（LC/MS/MS）</th></tr><tr><td>測定方法</td><td>抗菌活性に基づく測定</td><td>ｸﾛﾏﾄｸﾞﾗﾌｨｰによる分離とUV検出器による検出</td><td>ｸﾛﾏﾄｸﾞﾗﾌｨｰによる分離と質量分析計による検出</td></tr><tr><td>選択性</td><td>×</td><td>○ UV吸収を持つ化合物のみ検出</td><td>◎ 高い選択性</td></tr><tr><td>感度</td><td>△ mgｵｰﾀﾞｰ以上</td><td>○ μgｵｰﾀﾞｰまで可能</td><td>◎ pgｵｰﾀﾞｰまで可能</td></tr><tr><td>測定時間</td><td>△ 数日</td><td>◎ 数十分以内</td><td>◎ 約10分以内</td></tr><tr><td>用途</td><td>抗生物質原薬・製剤等の力価測定</td><td>抗生物質原薬・製剤等定量法、清浄ﾊﾞﾘﾃﾞｰｼｮﾝ試験</td><td>生体試料中微量分析、洗浄ﾊﾞﾘﾃﾞｰｼｮﾝ試験</td></tr><tr><td>細胞、培養液等の測定の可否</td><td>× 選択性がなく、感度も不足</td><td>△ 数量測定は困難、共存する夾雑物の影響大</td><td>○ 複雑なﾏﾄﾘｯｸｽ中でも高感度測定が可能</td></tr></table>（出典：株式会社島津テクノリサーチ HP URL：http://www.shimadzu-techno.co.jp/technical/regenerative_m1.pdf）</td><td></td></tr>
<tr><td></td><td></td><td>成長因子の純度及び力価の測定法</td><td>成長因子の純度・力価試験</td><td>成長因子を用いる場合には、細胞培養特性の再現性を保証するために、純度及び力価に関する規格を設定する等適切な品質管理法を示すこと。各成分等の適格性の判定及び規格の設定に当たっては、最終製品の適用経路等を考慮すること。必要に応じてELISA等で定量を行い、生体内へ適用したときの影響に関して考察を行うこと。</td><td>無</td></tr>
<tr><td></td><td></td><td>フィーダー細胞の安全性確認法</td><td>無菌試験・マイコプラズマ否定試験、ウイルス等試験</td><td>○試験方法
1. 無菌試験
①日局
・一般試験法・無菌試験法（メンブランフィルター法、直接法）
②動物用生物学的製剤基準
・一般試験法・無菌試験法</td><td>有</td></tr>
</table>

				2. マイコプラズマ否定試験 ・日局・参考情報・バイオテクノロジー応用医薬品/生物起源由来医薬品の製造に用いる細胞基材に対するマイコプラズマ否定試験（A 法（培養法）、B 法（指標細胞を用いた DNA 染色法）、C 法（核酸増幅法））＊日局では「A 法と B 法による試験を実施する。ただし、適切なバリデーションを実施することにより、C 法を A 法や B 法の代替法として用いることができる。」と規定。 〇課題 ・上記の試験法の適用が可能である。 ・異種動物由来のフィーダー細胞を用いる場合には、異種動物由来の感染性病原体の検査が必要となる。	
		フィーダー細胞の安全性確認法	ウイルス等試験	〇試験法 ①動物用生物学的製剤基準の「迷入ウイルス否定試験法」及び「外来性ウイルス否定試験法」 ②PCR 法 ③網羅的遺伝子解析法 〇現状 ①ワクチン等の小分け製品、製造に使用する培養細胞、血清、製造用シード等のウイルス検査に汎用されている。 ②既知ウイルスのプライマーを用いウイルス感染症の診断、検査に汎用されている。 ③未知なウイルスをも短期間（2 日程度）で検出できる方法として開発された。本法は、ゲノム核酸を均一に増幅し、核酸のライブラリーを 2 度作成することで感度を上昇させ、次世代シークエンサーで迅速に塩基配列を決定するものである。本法を用い新たなウイルス等が検出されている。 〇課題 ①培養細胞、発育鶏卵、動物等に感受性のあるウイルスを広く検出できるが、2～3 代の継代が必要となり長期間かかる。従って、血清等の培養原材料におけるウイルス検査には利用できるが、動物細胞加工製品の出荷前検査には適さない。	**有**

				②特定のウイルスを短時間に検出できるが、網羅的に検出できない。 ③各動物種で感染のリスクの高いウイルスを網羅的遺伝子解析法として確立できれば、動物細胞加工製品の出荷前検査に利用できる。	
	第 2 製造工程				
		受入検査における細胞の特性解析法	表面マーカー・サイトカイン遺伝子発現 ＜リンパ球＞	○試験方法 1. 細胞表面マーカー解析は、各種抗体を用いたフローサイトメトリー法が一般的で汎用性も高い。市販の抗体で解析可能。 イヌ：T 細胞（CD3、CD4、CD8）、B 細胞（CD21） ネコ：T 細胞（CD3、CD4、CD8）、B 細胞（CD21） ウシ：T 細胞（CD3、CD4、CD8、γδT）、B 細胞（CD21）、NK 細胞（CD335） 2. サイトカイン解析：フローサイトメトリー法による細胞内サイトカイン、ELISA 法や ELISPOT 法による産生サイトカイン、mRNA 解析による遺伝子発現量、などの試験法がある。 ○現状 1. フローサイトメトリー法、ELISA 法、ELISPOT 法は、特異的抗体が必要となるが、現状市販品が少なく、目的にあった抗体の開発が必須。 ELISA 法や ELISPOT 法のキットは販売されているが、QC されていない。 2. 遺伝子解析は、ゲノム情報からプライマーを設計できるため、開発の難易度は低く、汎用性も高い。ただし、遺伝子発現量と産生量が必ずしも一致しないことが問題。 ○課題 1. 抗体を使った試験方法については、必要な抗体の探索（市販の抗体、他品種とのクロス、多種ある場合は性能比較、など）または開発、が必須。 開発には時間とコストがかかる。 2. 遺伝子解析では、最適なプライマーの設計及び評価が必要。開発の難易度は低い。	**有**
		受入検査における細胞の特性解析法	表面マーカー・サイトカイン遺伝子発現 ＜間葉系幹細胞	○試験方法 1. 細胞表面マーカー解析は、各種抗体を用いたフローサイトメトリー法が一般的、免疫染色も実施される。	**有**

			(MSC)＞	MSC の表面マーカーとしては CD13, CD29, CD44, CD73, CD90, CD105, CD106, CD146, CD166, CD271 等が報告されており、さらに造血・内皮細胞系マーカー（CD11b, CD14, CD19, CD34, CD45, CD79, HLA-DR）を発現していないことを確認することが必要である。 〇現状 1. ヒト再生医学領域（ISCT）では、CD73, CD90, CD105 の同時発現を確認することを定めている。 2. CD73, CD90, CD105 以外の表面マーカーについては、MSC の由来組織や分化方向性により発現している CD の組み合わせが異なる。 3. イヌおよびウマ CD90, ウマ CD44 に対するモノクローナル抗体は市販されているが、それ以外には市販品は見当たらない。 〇課題 1. イヌ CD73, CD90, CD105 に対するモノクローナル抗体セットを開発し、均一な条件により MSC を同定する必要がある。 2. 将来的には、イヌ等の iPS 細胞やミューズ細胞等の多能性幹細胞表面マーカーである SSEA-3（stage specific embryonic antigen 3）や TRA-1-60 に対するモノクローナル抗体を樹立する。	
		細菌、真菌及びウイルス等の不活化・除去の確認法	無菌試験・マイコプラズマ否定試験、ウイルス等試験	〇試験方法 1. 無菌試験 ①日局 ・一般試験法・無菌試験法（メンブランフィルター法、直接法） ②動物用生物学的製剤基準 ・一般試験法・無菌試験法 2. マイコプラズマ否定試験 ・日局・参考情報・バイオテクノロジー応用医薬品/生物起源由来医薬品の製造に用いる細胞基材に対するマイコプラズマ否定試験（A 法（培養法）、B 法（指標細胞を用いた DNA 染色法）、C 法（核酸増幅法））＊日局では「A 法と B 法による試験を実施する。ただし、適切なバリデーションを実施することにより、C 法を A 法や B 法の代替法として用いることがで	**有**

				きる。」と規定。 3. ウイルス等試験 ①動物用生物学的製剤基準 ・一般試験法・迷入ウイルス否定試験法及び外来性ウイルス否定試験法 ②PCR 〇課題 1. 無菌試験 ・判定までに時間を要する：いずれの試験法とも 14 日間以上 ・日局のメンブランフィルター法を適用しようとする場合、細胞等でフィルターが詰まることも予想されるが、直接法では検体中の抗生物質等の影響により試験が成立しない可能性もある。この場合には、抗菌活性を除去するために条件を変えて手法の適合性試験を繰り返す必要がある。 ・網羅的に検出できる迅速な試験法（PCR 法）が必要である。 2. マイコプラズマ否定試験 ・A 法：検体量が 10mL 以上必要であり、培養期間も 28 日間以上と長期間である。 ・B 法：Vero 細胞にマイコプラズマを感染させてから染色するため、細胞の準備から判定まで 2 週間程度はかかる。 ・C 法：検出感度が高いため、偽陽性が出やすい。結果は必ずしも生きたマイコプラズマの存在を意味するものではない。日局 17 改正案ではバリデーション試験に用いるマイコプラズマのリスト（7 菌種）が記載されているが、製剤の対象動物種によって追加の検討が必要と思われる。 3. ウイルス等試験 ①培養細胞、発育鶏卵、動物等に感受性のあるウイルスを広く検出できるが、長時間かかる。 ②特定のウイルスを短時間に検出できるが、網羅的に検出できない。	
		分離する特定細胞の確認法	表面マーカー・サイトカイン遺伝子発現	〇試験方法 1. 細胞表面マーカー解析は、各種抗体を用いたフローサイトメトリー法が一般的で汎用性	

			＜リンパ球＞	も高い。市販の抗体で解析可能。 イヌ：T 細胞（CD3、CD4、CD8）、B 細胞（CD21） ネコ：T 細胞（CD3、CD4、CD8）、B 細胞（CD21） ウシ：T 細胞（CD3、CD4、CD8、γδT）、B 細胞（CD21）、NK 細胞（CD335） 2. サイトカイン解析：フローサイトメトリー法による細胞内サイトカイン、ELISA 法や ELISPOT 法による産生サイトカイン、mRNA 解析による遺伝子発現量、などの試験法がある。 〇現状 1. フローサイトメトリー法、ELISA 法、ELISPOT 法は、特異的抗体が必要となるが、現状市販品が少なく、目的にあった抗体の開発が必須。 ELISA 法や ELISPOT 法のキットは販売されているが、QC されていない。 2. 遺伝子解析は、ゲノム情報からプライマーを設計できるため、開発の難易度は低く、汎用性も高い。ただし、遺伝子発現量と産生量が必ずしも一致しないことが問題。 〇課題 1. 抗体を使った試験方法については、必要な抗体の探索（市販の抗体、他品種とのクロス、多種ある場合は性能比較、など）または開発、が必須。 開発には時間とコストがかかる。 2. 遺伝子解析では、最適なプライマーの設計及び評価が必要。開発の難易度は低い。	**有**
		分離する特定細胞の確認法	表面マーカー・サイトカイン遺伝子発現＜間葉系幹細胞（MSC）＞	〇試験方法 1. 細胞表面マーカー解析は、各種抗体を用いたフローサイトメトリー法が一般的、免疫染色も実施される。 MSC の表面マーカーとしては CD13, CD29, CD44, CD73, CD90, CD105, CD106, CD146, CD166, CD271 等が報告されており、さらに造血・内皮細胞系マーカー（CD11b, CD14, CD19, CD34, CD45, CD79, HLA-DR）を発現していないことを確認することが必要である。 〇現状 1. ヒト再生医学領域（ISCT）では、CD73, CD90, CD105 の同時発現を確認することを定めている。	**有**

				2. CD73, CD90, CD105 以外の表面マーカーについては、MSC の由来組織や分化方向性により発現している CD の組み合わせが異なる。 3. イヌおよびウマ CD90, ウマ CD44 に対するモノクローナル抗体は市販されているが、それ以外には市販品は見当たらない。 〇課題 1. イヌ CD73, CD90, CD105 に対するモノクローナル抗体セットを開発し、均一な条件により MSC を同定する必要がある。 2. 将来的には、イヌ等の iPS 細胞やミューズ細胞等の多能性幹細胞表面マーカーである SSEA-3（stage specific embryonic antigen 3）や TRA-1-60 に対するモノクローナル抗体を樹立する。	
		株化細胞の特性解析法	表面マーカー・サイトカイン遺伝子発現＜リンパ球＞	〇試験方法 1. 細胞表面マーカー解析は、各種抗体を用いたフローサイトメトリー法が一般的で汎用性も高い。市販の抗体で解析可能。 イヌ：T 細胞（CD3、CD4、CD8）、B 細胞（CD21） ネコ：T 細胞（CD3、CD4、CD8）、B 細胞（CD21） ウシ：T 細胞（CD3、CD4、CD8、γδT）、B 細胞（CD21）、NK 細胞（CD335） 2. サイトカイン解析：フローサイトメトリー法による細胞内サイトカイン、ELISA 法や ELISPOT 法による産生サイトカイン、mRNA 解析による遺伝子発現量、などの試験法がある。 〇現状 1. フローサイトメトリー法、ELISA 法、ELISPOT 法は、特異的抗体が必要となるが、現状市販品が少なく、目的にあった抗体の開発が必須。 ELISA 法や ELISPOT 法のキットは販売されているが、QC されていない。 2. 遺伝子解析は、ゲノム情報からプライマーを設計できるため、開発の難易度は低く、汎用性も高い。ただし、遺伝子発現量と産生量が必ずしも一致しないことが問題。 〇課題 1. 抗体を使った試験方法については、必要な抗体の探索（市販の抗体、他品種とのクロ	**有**

				ス、多種ある場合は性能比較、など）または開発、が必須。 開発には時間とコストがかかる。 2. 遺伝子解析では、最適なプライマーの設計及び評価が必要。開発の難易度は低い。	
		株化細胞の特性解析法	表面マーカー・サイトカイン遺伝子発現 ＜間葉系幹細胞（MSC）＞	株化細胞としては、今後開発されると予想されるイヌ等の iPS 細胞および iPS 由来 MSC が対象となる。 〇試験方法 1. 細胞表面マーカー解析は、各種抗体を用いたフローサイトメトリー法が一般的、免疫染色も実施される。 MSC の表面マーカーとしては CD13, CD29, CD44, CD73, CD90, CD105, CD106, CD146, CD166, CD271 等が報告されており、さらに造血・内皮細胞系マーカー（CD11b, CD14, CD19, CD34, CD45, CD79, HLA-DR）を発現していないことを確認することが必要である。 〇現状 1. ヒト再生医学領域（ISCT）では、CD73, CD90, CD105 の同時発現を確認することを定めている。 2. CD73, CD90, CD105 以外の表面マーカーについては、MSC の由来組織や分化方向性により発現している CD の組み合わせが異なる。 3. イヌおよびウマ CD90, ウマ CD44 に対するモノクローナル抗体は市販されているが、それ以外には市販品は見当たらない。 〇課題 1. イヌ CD73, CD90, CD105 に対するモノクローナル抗体セットを開発し、均一な条件により MSC を同定する必要がある。 2. 将来的には、イヌ等の iPS 細胞やミューズ細胞等の多能性幹細胞表面マーカーである SSEA-3（stage specific embryonic antigen 3）や TRA-1-60 に対するモノクローナル抗体を樹立する。	**有**

		造腫瘍性、がん化の可能性確認法	造腫瘍性確認試験	○試験方法 1)未分化多能性細胞特異マーカーの発現を指標にしたフローサイトメトリーや定量的 RT-PCR 法。 2)軟寒天コロニー形成試験、フォーカス形成試験、成長因子非依存性増殖アッセイ。 3)ヌードマウス等の免疫不全動物への皮下あるいは筋肉内移植による造腫瘍性試験（詳細は以下のとおり）。 ○現状と課題 細胞加工製品及びその由来細胞に関する造腫瘍性評価の公的ガイドラインは存在しない。現在、細胞の造腫瘍性に関する国際的なガイドラインとして唯一あるのは、WHO の Technical Report Series No. 878 Annex I「生物薬品製造用の in vitro 基材としての動物細胞の使用の要件」である。方法としては、例えば 10 の 7 乗個の細胞をヌードマウスなどの免疫不全動物の皮下あるいは筋肉内に接種し、腫瘍形成の有無を 12 週間観察する。HeLa、Hep 2 あるいは FL 細胞を陽性対象とする。 WHO-TRS 878 の造腫瘍性試験は、均一な生物製剤製造用細胞基材の造腫瘍性を評価することを目的にしており、ごく僅かに含まれる細胞に起因する加工製品の造腫瘍性評価にそのまま転用するには無理があり、そのような場合には自前で評価系をつくるのがよい。また実験動物を用いての造腫瘍性試験結果が、目的の患畜（犬、猫など）にどの程度有効であるかは不明であるがそれを説明するため、予備試験を実施し、試験結果の妥当性を示す種々の結果を積み上げて論理的に説明できるようにする。	**無**
		加工した細胞の特性解析法	表面マーカー・サイトカイン遺伝子発現 ＜リンパ球＞	○試験方法 1. 細胞表面マーカー解析は、各種抗体を用いたフローサイトメトリー法が一般的で汎用性も高い。市販の抗体で解析可能。 イヌ：T 細胞（CD3、CD4、CD8）、B 細胞（CD21） ネコ：T 細胞（CD3、CD4、CD8）、B 細胞（CD21） ウシ：T 細胞（CD3、CD4、CD8、γδT）、B 細胞（CD21）、NK 細胞（CD335） 2. サイトカイン解析：フローサイトメトリー法による細胞内サイトカイン、ELISA 法や ELISPOT 法による産生サイトカイン、mRNA 解析による遺伝子発現量、などの試験法があ	**有**

				る。 〇現状 1. フローサイトメトリー法、ELISA 法、ELISPOT 法は、特異的抗体が必要となるが、現状市販品が少なく、目的にあった抗体の開発が必須。 ELISA 法や ELISPOT 法のキットは販売されているが、QC されていない。 2. 遺伝子解析は、ゲノム情報からプライマーを設計できるため、開発の難易度は低く、汎用性も高い。ただし、遺伝子発現量と産生量が必ずしも一致しないことが問題。 〇課題 1. 抗体を使った試験方法については、必要な抗体の探索（市販の抗体、他品種とのクロス、多種ある場合は性能比較、など）または開発、が必須。 開発には時間とコストがかかる。 2. 遺伝子解析では、最適なプライマーの設計及び評価が必要。開発の難易度は低い。	
		加工した細胞の特性解析法	表面マーカー・サイトカイン遺伝子発現＜間葉系幹細胞（MSC）＞	〇試験方法 1. 細胞表面マーカー解析は、各種抗体を用いたフローサイトメトリー法が一般的、免疫染色も実施される。MSC の表面マーカーとしては CD13, CD29, CD44, CD73, CD90, CD105, CD106, CD146, CD166, CD271 等が報告されており、さらに造血・内皮細胞系マーカー（CD11b, CD14, CD19, CD34, CD45, CD79, HLA-DR）を発現していないことを確認することが必要である。 〇現状 1. ヒト再生医学領域（ISCT）では、CD73, CD90, CD105 の同時発現を確認することを定めている。 2. CD73, CD90, CD105 以外の表面マーカーについては、MSC の由来組織や分化方向性により発現している CD の組み合わせが異なる。 3. イヌおよびウマ CD90, ウマ CD44 に対するモノクローナル抗体は市販されているが、それ以外には市販品は見当たらない。 〇課題 1. イヌ CD73, CD90, CD105 に対するモノクローナル抗体セットを開発し、均一な条件によ	**有**

				りMSCを同定する必要がある。 2. 将来的には、イヌ等のiPS細胞やミューズ細胞等の多能性幹細胞表面マーカーであるSSEA-3（stage specific embryonic antigen 3）やTRA-1-60に対するモノクローナル抗体を樹立する。	
		製造方法の恒常性確認法	表面マーカー・サイトカイン遺伝子発現	○試験方法 1. 細胞表面マーカー解析は、各種抗体を用いたフローサイトメトリー法が一般的で汎用性も高い。市販の抗体で解析可能。 イヌ：T細胞（CD3、CD4、CD8）、B細胞（CD21） ネコ：T細胞（CD3、CD4、CD8）、B細胞（CD21） ウシ：T細胞（CD3、CD4、CD8、γδT）、B細胞（CD21）、NK細胞（CD335） 2. サイトカイン解析：フローサイトメトリー法による細胞内サイトカイン、ELISA法やELISPOT法による産生サイトカイン、mRNA解析による遺伝子発現量、などの試験法がある。 ○現状 1. フローサイトメトリー法、ELISA法、ELISPOT法は、特異的抗体が必要となるが、現状市販品が少なく、目的にあった抗体の開発が必須。 ELISA法やELISPOT法のキットは販売されているが、QCされていない。 2. 遺伝子解析は、ゲノム情報からプライマーを設計できるため、開発の難易度は低く、汎用性も高い。ただし、遺伝子発現量と産生量が必ずしも一致しないことが問題。 ○課題 1. 抗体を使った試験方法については、必要な抗体の探索（市販の抗体、他品種とのクロス、多種ある場合は性能比較、など）または開発、が必須。 開発には時間とコストがかかる。 2. 遺伝子解析では、最適なプライマーの設計及び評価が必要。開発の難易度は低い。	有

		製造方法の恒常性確認法	表面マーカー・サイトカイン遺伝子発現＜間葉系幹細胞（MSC）＞	○試験方法 1. 細胞表面マーカー解析は、各種抗体を用いたフローサイトメトリー法が一般的、免疫染色も実施される。 MSC の表面マーカーとしては CD13, CD29, CD44, CD73, CD90, CD105, CD106, CD146, CD166, CD271 等が報告されており、さらに造血・内皮細胞系マーカー（CD11b, CD14, CD19, CD34, CD45, CD79, HLA-DR）を発現していないことを確認することが必要である。 ○現状 1. ヒト再生医学領域（ISCT）では、CD73, CD90, CD105 の同時発現を確認することを定めている。 2. CD73, CD90, CD105 以外の表面マーカーについては、MSC の由来組織や分化方向性により発現している CD の組み合わせが異なる。 3. イヌおよびウマ CD90, ウマ CD44 に対するモノクローナル抗体は市販されているが、それ以外には市販品は見当たらない。 ○課題 1. イヌ CD73, CD90, CD105 に対するモノクローナル抗体セットを開発し、均一な条件により MSC を同定する必要がある。 2. 将来的には、イヌ等の iPS 細胞やミューズ細胞等の多能性幹細胞表面マーカーである SSEA-3（stage specific embryonic antigen 3）や TRA-1-60 に対するモノクローナル抗体を樹立する。	**有**
第 3 最終製品の品質管理					
		確認試験	表面マーカー・サイトカイン遺伝子発現＜リンパ球＞	○試験方法 1. 細胞表面マーカー解析は、各種抗体を用いたフローサイトメトリー法が一般的で汎用性も高い。市販の抗体で解析可能。 イヌ：T 細胞（CD3、CD4、CD8）、B 細胞（CD21）ネコ：T 細胞（CD3、CD4、CD8）、B 細胞（CD21）ウシ：T 細胞（CD3、CD4、CD8、γδT）、B 細胞（CD21）、NK 細胞（CD335） 2. サイトカイン解析：フローサイトメトリー法による細胞内サイトカイン、ELISA 法や ELISPOT 法による産生サイトカイン、mRNA 解析による遺伝子発現量、などの試験法があ	**有**

				る。 〇現状 1. フローサイトメトリー法、ELISA 法、ELISPOT 法は、特異的抗体が必要となるが、現状市販品が少なく、目的にあった抗体の開発が必須。 ELISA 法や ELISPOT 法のキットは販売されているが、QC されていない。 2. 遺伝子解析は、ゲノム情報からプライマーを設計できるため、開発の難易度は低く、汎用性も高い。ただし、遺伝子発現量と産生量が必ずしも一致しないことが問題。 〇課題 1. 抗体を使った試験方法については、必要な抗体の探索（市販の抗体、他品種とのクロス、多種ある場合は性能比較、など）または開発、が必須。 開発には時間とコストがかかる。 2. 遺伝子解析では、最適なプライマーの設計及び評価が必要。開発の難易度は低い。	
		確認試験	表面マーカー・サイトカイン遺伝子発現 ＜間葉系幹細胞（MSC）＞	〇試験方法 1. 細胞表面マーカー解析は、各種抗体を用いたフローサイトメトリー法が一般的、免疫染色も実施される。 MSC の表面マーカーとしては CD13, CD29, CD44, CD73, CD90, CD105, CD106, CD146, CD166, CD271 等が報告されており、さらに造血・内皮細胞系マーカー（CD11b, CD14, CD19, CD34, CD45, CD79, HLA-DR）を発現していないことを確認することが必要である。 〇現状 1. ヒト再生医学領域（ISCT）では、CD73, CD90, CD105 の同時発現を確認することを定めている。 2. CD73, CD90, CD105 以外の表面マーカーについては、MSC の由来組織や分化方向性により発現している CD の組み合わせが異なる。 3. イヌおよびウマ CD90, ウマ CD44 に対するモノクローナル抗体は市販されているが、それ以外には市販品は見当たらない。 〇課題 1. イヌ CD73, CD90, CD105 に対するモノクローナル抗体セットを開発し、均一な条件によ	**有**

				りMSCを同定する必要がある。 2. 将来的には、イヌ等のiPS細胞やミューズ細胞等の多能性幹細胞表面マーカーであるSSEA-3（stage specific embryonic antigen 3）やTRA-1-60に対するモノクローナル抗体を樹立する。	
		細胞の純度試験	表面マーカー・サイトカイン遺伝子発現＜リンパ球＞	○試験方法 1. 細胞表面マーカー解析は、各種抗体を用いたフローサイトメトリー法が一般的で汎用性も高い。市販の抗体で解析可能。 イヌ：T細胞（CD3、CD4、CD8）、B細胞（CD21）ネコ：T細胞（CD3、CD4、CD8）、B細胞（CD21）ウシ：T細胞（CD3、CD4、CD8、γδT）、B細胞（CD21）、NK細胞（CD335） 2. サイトカイン解析：フローサイトメトリー法による細胞内サイトカイン、ELISA法やELISPOT法による産生サイトカイン、mRNA解析による遺伝子発現量、などの試験法がある。 ○現状 1. フローサイトメトリー法、ELISA法、ELISPOT法は、特異的抗体が必要となるが、現状市販品が少なく、目的にあった抗体の開発が必須。 ELISA法やELISPOT法のキットは販売されているが、QCされていない。 2. 遺伝子解析は、ゲノム情報からプライマーを設計できるため、開発の難易度は低く、汎用性も高い。ただし、遺伝子発現量と産生量が必ずしも一致しないことが問題。 ○課題 1. 抗体を使った試験方法については、必要な抗体の探索（市販の抗体、他品種とのクロス、多種ある場合は性能比較、など）または開発、が必須。 開発には時間とコストがかかる。 2. 遺伝子解析では、最適なプライマーの設計及び評価が必要。開発の難易度は低い。	**有**
		細胞の純度試験	表面マーカー・サイトカイン遺伝子発現＜間葉系幹細胞（MSC）＞	○試験方法 1. 細胞表面マーカー解析は、各種抗体を用いたフローサイトメトリー法が一般的、免疫染色も実施される。MSCの表面マーカーとしてはCD13, CD29, CD44, CD73, CD90, CD105, CD106, CD146, CD166, CD271等が報告されており、さらに造血・内皮細胞系マーカー	**有**

				(CD11b, CD14, CD19, CD34, CD45, CD79, HLA-DR)を発現していないことを確認することが必要である。 〇現状 1. ヒト再生医学領域(ISCT)では、CD73, CD90, CD105 の同時発現を確認することを定めている。 2. CD73, CD90, CD105 以外の表面マーカーについては、MSC の由来組織や分化方向性により発現している CD の組み合わせが異なる。 3. イヌおよびウマ CD90, ウマ CD44 に対するモノクローナル抗体は市販されているが、それ以外には市販品は見当たらない。 〇課題 1. イヌ CD73, CD90, CD105 に対するモノクローナル抗体セットを開発し、均一な条件により MSC を同定する必要がある。 2. 将来的には、イヌ等の iPS 細胞やミューズ細胞等の多能性幹細胞表面マーカーである SSEA-3(stage specific embryonic antigen 3)や TRA-1-60 に対するモノクローナル抗体を樹立する。	
		細胞由来の目的外生理活性物質の許容限度試験法	製造工程由来不純物試験	〇試験方法: ①高速液体クロマトグラフタンデム型質量分析法(LC/MS/MS) ②ELISA ③電気泳動＋高感度染色(銀染色、蛍光染色)又は免疫染色(特異抗体が入手可能な場合のみ適用可能。) 〇現状: 標準品や特異抗体が入手可能な生理活性物質については、上記の方法で測定可能である。 〇課題 微量な未知成分の測定は困難。無血清培地(たんぱく性因子を含まない)での細胞の培養が困難な場合には生物学的力価試験法を適用することができない。標準品が入手不可能な場合や特異抗体が入手できない場合が多い。	**有**

		製造工程由来不純物試験	製造工程由来不純物試験	○測定方法： 1．血清成分や成長因子、酵素などの測定： ①電気泳動＋高感度染色（銀染色、蛍光染色）又は免疫染色（特異抗体が入手可能な場合のみ適用可能。） ②ELISA ③LC/MS/MS 2．抗生物質の測定： ①LC/MS/MS ○現状： 未知物質の定量は不可能。 既知物質であれ、一度に網羅的に定量することは困難である。 標準品や特異抗体が入手可能な既知物質に関しては、上記の複数の分析法で分析することが可能。 ○課題： 定量が可能で、製品への混入の可能性が高く、毒性面で問題となるアレルギー物質など（例えばアルブミン）を未知物質や定量が困難な物質の除去のサロゲートマーカーとすることができれば、迅速、簡便、網羅的な不純物の評価が可能となる。そのためには、上記方法を組み合わせ、不純物質の除去程度をバリデーションをする必要がある。	**有**
		無菌試験及びマイコプラズマ否定試験	無菌試験	無菌試験 ○試験方法 ①日局 ・一般試験法 ・無菌試験法（メンブランフィルター法、直接法） ②動物用生物学的製剤基準 ・一般試験法・無菌試験法 ○課題・判定までに時間を要する：いずれの試験法とも 14 日間以上 ・再生医療等製品では製造できる細胞数に限りがあるため、最終製品の検査はできるだけ	**有**

				少量にすることが望まれるが、各公定書で規定された検体数、検体量は以下の通りである。なお、検体数、検体量を減らした場合には、検出感度が低下することが推測される。 1 ロットあたりの検体数 ①日局 ・無菌試験法:「ロットあたりの製造個数が 100 容器以下の場合は 10%又は 4 容器のうち多い方」、「101 容器以上 500 容器以下の場合は 10 容器」等 ②動物用生物学的製剤基準 ・無菌試験法:7 本以上 検体量 ①日局・無菌試験法:「1mL 以上 40mL 以下の製剤での培地へ接種する最少量は半量(ただし 1mL 以上)」等 ②動物用生物学的製剤基準 ・無菌試験法:「3mL 未満の製剤で 1 容器の 3/4 量」、「3mL 以上 5mL 未満の製剤で 2mL」等 ・日局のメンブランフィルター法を適用しようとする場合、細胞等でフィルターが詰まることも予想されるが、直接法では検体中の抗生物質等の影響により試験が成立しない可能性もある。この場合には、抗菌活性を除去するために条件を変えて手法の適合性試験を繰り返す必要がある ・網羅的に検出できる迅速な試験法(PCR 法)が必要である。	
		無菌試験及びマイコプラズマ否定試験	マイコプラズマ否定試験	マイコプラズマ否定試験 〇試験方法 ・日局・参考情報・バイオテクノロジー応用医薬品/生物起源由来医薬品の製造に用いる細胞基材に対するマイコプラズマ否定試験(A 法(培養法)、B 法(指標細胞を用いた DNA 染色法)、C 法(核酸増幅法)) ＊日局では「A 法と B 法による試験を実施する。ただし、適切なバリデーションを実施することにより、C 法を A 法や B 法の代替法として用いることができる。」と規定。 〇課題	**有**

				・A 法：検体量が 10mL 以上必要であり、培養期間も 28 日間以上と長期間である。 ・B 法：Vero 細胞にマイコプラズマを感染させてから染色するため、細胞の準備から判定まで 2 週間程度はかかる。 ・C 法：検出感度が高いため、偽陽性が出やすい。結果は必ずしも生きたマイコプラズマの存在を意味するものではない。日局 17 改正案ではバリデーション試験に用いるマイコプラズマのリスト（7 菌種）が記載されているが、製剤の対象動物種によって追加の検討が必要と思われる。	
		エンドトキシン試験	エンドトキシン試験	○試験法 ・日局 ・一般試験法 ・エンドトキシン試験法（ゲル化法、比濁法、比色法） ○問題点 ・培養液（細胞浮遊液）中のエンドトキシン量だけでなく、細胞に含まれるエンドトキシン（表面に結合したものや中に取り込まれているものも含めて）も測定しようとする場合、細胞の破砕、抽出等の処理が必要となる。（エンドトキシンは TLR-4 をはじめ、いくつかの受容体に結合することが知られている。） ・短時間（15 分程度）で測定できる簡易型エンドトキシン測定システムも市販されているが、もともと短時間の試験（試薬調製も含めて 2～3 時間で終了）であるため、試験法の迅速化検討の優先度は低いのではないか。	**無**
		ウイルス等の試験	ウイルス等試験	○試験法 ①動物用生物学的製剤基準の「迷入ウイルス否定試験法」及び「外来性ウイルス否定試験法」 ②PCR 法 ③網羅的遺伝子解析法 ○現状 ①ワクチン等の小分け製品、製造に使用する培養細胞、血清、製造用シード等のウイルス検査に汎用されている。	**有**

				②既知ウイルスのプライマーを用いウイルス感染症の診断、検査に汎用されている。 ③未知なウイルスをも短期間（2 日程度）で検出できる方法として開発された。本法は、ゲノム核酸を均一に増幅し、核酸のライブラリーを 2 度作成することで感度を上昇させ、次世代シークエンサーで迅速に塩基配列を決定するものである。本法を用い新たなウイルス等が検出されている。 〇課題 ①培養細胞、発育鶏卵、動物等に感受性のあるウイルスを広く検出できるが、2～3 代の継代が必要となり長期間かかる。従って、血清等の培養原材料におけるウイルス検査には利用できるが、動物細胞加工製品の出荷前検査には適さない。 ②特定のウイルスを短時間に検出できるが、網羅的に検出できない。 ③各動物種で感染のリスクの高いウイルスを網羅的遺伝子解析法として確立できれば、動物細胞加工製品の出荷前検査に利用できる。	
		効能試験	効能試験	〇試験方法：個々の製品に応じた試験系の構築が必要 ①in vitro 試験系の例：・細胞傷害活性・免疫調節作用（T 細胞増殖抑制・制御性 T 細胞への分化誘導 ②in vivo 試験系の例：・動物での抗炎症作用確認試験 〇現状：上記のような試験を実施可能な場合もある。 〇課題：定量性、再現性、迅速性などに問題がある場合が多く、規格試験としては適用が困難である。	**無**
		力価試験	細胞由来サイトカイン測定	〇試験方法 サイトカイン解析：フローサイトメトリー法による細胞内サイトカイン、ELISA 法や ELISPOT 法による産生サイトカイン、mRNA 解析による遺伝子発現量、などの試験法がある。 〇現状 遺伝子解析は、ゲノム情報からプライマーを設計できるため、開発の難易度は低く、汎用性も高い。ただし、遺伝子発現量と産生量が必ずしも一致しないことが問題。 〇課題 遺伝子解析では、最適なプライマーの設計及び評価が必要。開発の難易度は低い。	**無**

		力学的適合性試験	力学的適合性試験	最終製品の力学的適合性につ いては一律に求めるものではなく、製品の特性によっては(たとえばスキャフォールドその他の非細胞材料などを使用する場合も含め)、移植前 の力学特性の確認が必要となる場合もある。 一定の力学的強度を必要とする製品については、適用部位を考慮した力学的適合性及び耐久性を確認するための規格を設定すること。 力学的適合試験を規格とすることとは別に、臨床使用目的又は特性 に応じた適切な効能試験を実施すべきである。 最終製品の態様によっては最終製品自体に荷重性、摺動特性、粘弾性等における適合性が要求される。 これらの製品については、各製品の適用方法を考慮した上で必要に応じて力学的適合性を確認するための規格を設定すること。 力学的特性を定量的に検討する確立された方法がない。 荷重性　細胞シートの強度や、軟骨、骨組織等、細胞のみではなく、マトリックスを形成するような商品に関しては、引っぱり試験や耐荷重性測定試験が商品の強度試験として考えられる。 摺動特性の評価試験方法は種々の方法があり、適切な方法は用途・状況により異なる。 樹脂の基本的な摺動特性を評価する装置として、鈴木式摩耗試験機、Pin-on-Disk 型摩耗試験機、スラスト型摩耗試験機(アムスラー型など) 粘弾性　HAAKE Viscotester iQ レオメーターは、回転粘度だけでなくオシレーション (振動)による粘弾性測定も可能、UBM、細胞骨格の粘弾性を測定する ために、細胞引張試験機を作製。	**無**

別添４

指針（素案）及び解説書（素案）作成のための情報収集

1）再生医療等製品に関するシンポジウムでのアンケート調査結果

2015/9/9 動物用ワクチン-バイオ医薬品研究会 2015年秋 シンポジウム
「再生獣医療法の進展を目指して―日本が牽引する新分野―」アンケート結果

回収数／参加者：23名／56名

問1 下記研究会、学会の会員ですか。（複数回答可）

1）動物用ワクチン-バイオ医薬品研究会：**7名**　2）日本獣医再生・細胞療法学会：**6名**
3）日本再生医療学会：**6名**　4）日本獣医再生医療学会：**3名**　5）非会員：**8名**

問2 所属先に該当するところを〇で囲んで下さい（複数回答可）。

1）大学等教育機関：**6名**　2）試験研究機関：**4名**　3）民間企業：**6名**　4）獣医科クリニック等：**1名**
5）行政：**1名**（家畜改良センター）　6）公益法人等民間団体：**2名**　7）その他：**3名**

問3 職種について該当するところを〇で囲んで下さい（複数回答可）。

1）研究：**11名**　2）獣医師・獣医療関係：**13名**　3）医師・医療関係：**0名**　4）管理・運営：**4名**
5）学術・営業：**2名**　6）その他：**0名**

問4 どのような再生医療技術・方法が求められているでしょうか。

伴侶動物

対象動物	求められる技術・方法	実現性
犬	骨欠損に対する補てん	実用化可能
犬	脊髄損傷に対する細胞移植	不明
犬	ガン治療	ヒトではすでに承認されている
犬・猫	脊髄損傷の治療	一部臨床応用
犬・猫	軟骨損傷	研究段階
犬・猫	脊髄再生	そう簡単でではないが実用化可能
犬・猫	大きい骨欠損　角膜再生	実用化レベル
犬・猫	再生医療　細胞移植・治療	研究段階
犬・猫	腎臓の再生	不明
犬・猫	体性幹細胞治療	実用化レベル
犬・猫	皮膚移植　歯の再生　角膜再生	実用化可能
犬・猫	ガン治療等(自家免疫療法)	実現性有り
犬・猫	神経幹細胞	事故等における治療・リハビリ
犬・猫	TIL, CARなど	
犬・猫	自己由来細胞	
馬	浅屈腱炎治療	臨床トライアル
馬	骨折治療	研究

食用動物

対象動物	求められる技術・方法	実現性
馬	屈腱炎治療	サラブレットでは治験／臨床試験中
馬	T-LAK	実用化可能
牛	T-LAK	研究段階
牛	幹細胞移植による蹄の伸張	不明
乳用牛	創傷治癒機序のcontrol ・手術創 ・乳房、乳頭の皮膚移植 乳房炎後の乳腺組織の再建 ・蹄疾患（皮膚、蹄組織）	

牛	他家由来細胞	
牛	乳房炎関係	実施中
牛	免疫細胞治療	実用化レベル
豚	体性幹細胞治療	不明
豚	実験動物としての人間用再生医療部分への参入	
牛・豚	キスペプチン産生幹細胞(神経)	不妊治療

問5　どのような再生医療等製品が実現すると動物再生医療が発展、普及すると思いますか。
対象技術、動物等についてご記入ください。

a. メーカーが供給する他家由来の製品　［発展、普及すると思う:11名］
〇人工軟骨、人工角膜、人工皮膚、人工心筋、人工脊髄　〇皮膚・角膜、神経細胞、心筋細胞
〇ガン治療、血液系遺伝病　〇分化レベルの異なる幹細胞ないしそれを含む間葉系細胞
〇T-LAK、種を問わない再生医療技術　〇MSC、血小板、赤血球　〇赤血球など血液製剤

b.メーカーが供給する自家由来の製品　［発展、普及すると思う:8名］
〇人工軟骨、人工角膜、人工皮膚、人工心筋、人工脊髄　〇皮膚・角膜、神経細胞、心筋細胞　〇ガン治療
〇すでに実用化しているが、皮膚シート　〇T-LAK、種を問わない再生医療技術　〇MSC
<意見:安全性が最優先されるべき→次に効果>

c. 自己病院内で調製する自家由来の製品　［発展、普及すると思う:7名］
〇動物の幹細胞の維持について　〇間葉系幹細胞　〇ガン治療　〇T-LAK、種を問わない再生医療技術
〇MSC
<意見:安全性が最優先されるべき→次に効果>

問6　再生医療用製品の実用化にあたって優先すべき事(カッコ内に数字で優先順を記載してください)。

	伴侶動物				食用動物				
優先順位	1	2	3	4	1	2	3	4	5
安全性の確保	15名	4名	1名	1名	12名	4名	1名	1名	0名
効果の検証	4名	12名	4名	1名	5名	5名	5名	3名	0名
実用化の迅速性	2名	2名	11名	6名	0名	5名	8名	5名	0名
コストの低減	0名	3名	7名	11名	0名	4名	5名	8名	1名
その他	なし				1名 意見:　食の安全性が一番	0名	0名	0名	0名

問7　昨年度作成した「動物用再生医療等製品(同種由来)の品質及び安全性の確保に関する指針案」について本シンポジウムで平山紀夫氏が説明致しました。また現在この指針に関するQ&A形式による解説を作成しています。この指針案についてご意見をお聞かせください。

a. 修正が必要だと思われる点 〇対象動物　イヌ、ネコ以外は？→動物で良いのでは。 疾病治療に予防は含まれない→疾病治療等。 不利益、利益は法律用語でないので削除すべきでは。	〇モノクローナル抗体産生B cell(牛由来)が出来たとして、牛体内に入れたら 1.細胞として定着 2.増殖(コントロール不能の可能性有り) 3.抗体産生　が起きると想定されるが、一寸腫瘍細胞的なものになると思いますが、問題点をクリアする仕組み方法はありますか
b. 記載が必要だと思われる点	〇自由記述として利用します。
c. Q&A形式による解説に望むこと 〇具体的な試験方法	「動物に対する再生医療研究」というカテゴリーの中に、「ヒト医学および獣医学で用いられる実験動物」はどのようにカテゴリーを分けているのかを紹介する必要が有ると思います。
d. その他の要望	実験動物は、マウス、ラット、ウサギ、イヌ、、ヒツジ、ウマ・・・が含まれます

問8　今年度は、自家由来動物用再生医療等製品の品質及び安全性の確保に関する指針案を作成しています。この指針案への希望、意見をお聞かせください。

a. 自家由来製品特有の留意点

〇ClinicレベルのGLP or GMPの設定　〇保存性の概念を明確にする。 〇治療を実施すべき条件・・・健康状態
〇原料となる細胞組織の感染等、安全性基準の緩和　〇製品の均質化、個体差　〇細胞の品質の担保
〇細菌、ウイルスの混入、迷入否定は　より簡便な方法で　あるいは試験は不要かと思う
〇リスクは製造工程の汚染、製造品によるアレルギー、造腫瘍性であり、安全性の懸念事項は他家由来製品により少ない。安全性が確認できれば、速やかに承認すべきでしょう。
〇どこまで製品の質を担保できるか。採材→会社→獣医師→投与/移植　の各過程における取扱い、注意事項をどのように盛り込むか（安易すぎても厳しすぎてもいけないので、そのバランス）

b. その他の要望、意見

〇自己由来製品でも、相互利用でなく、最少加工を上回る製品であれば、国家で規制した方が良い。

問9　再生医療の新たな展開を模索するため、治療したいが困難な難病について情報をお持ちでしたらお知らせください。 再生医療が適用できると思われないものでも結構です。

〇乳用牛：心筋系疾患（経産牛で分娩簿発症してくる症例）、肉用牛：脂肪壊死、牛：飛節関節炎（飛節内腫、外腫）
〇老齢動物の免疫強化　〇大きな骨欠損を伴う骨折、即時負重可能なグラフト　〇腎肝(難病)への対応
〇農林水産技術会議では。不妊治療の検討をしているので、この方面の情報も集めた方が良い。
〇血液系の先天性遺伝病(胎盤／臍帯血由来血液前駆細胞由来製品）
〇脊髄疾患(脊損）、脳障害、膵（糖尿病）、内分泌疾患（アジソン病等）非再生性貧血、大きな角膜損傷など
〇ウイルス・細菌等の感染病、遺伝病、輸血の代替　〇血小板減少症、貧血　〇ウシ、致死的な腸炎

問10　その他、意見・要望等ご自由にお書きください。

〇遺伝子編集を含め、パラダイムシフトの進行中と思います。倫理的、法律的体制整備は今後の、かつ急ぐべき課題と感じました。
〇獣医領域におけるガイドラインについて、指針の内容を決定することは重要ですが、「指針の内容を変更する基準」を作ることも重要だと思います。５年たてば再生医療はがらっと内容が変わります。その時代に見合った内容に「発展的に更新」することが大事です。かたや、一部の良識がないグループによってすきかってに「改悪」されることは防止する必要があります。「誰がどうやって、変更するかを決めておけば今後時代にみあった修正ができます。
〇地方獣医師会の事務局を担当しておりまして、本日の2部が大変勉強になりました。
〇初めての参加であるのでよくわからないが、興味は多いにあります

アンケート集計結果

・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・

日本獣医再生医療学会（平成 28 年 2 月 6-7 日）
日本獣医内科学アカデミー（平成 28 年 2 月 19-21 日）
日本獣医師会学術集会（平成 28 年 2 月 26-28 日）

・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・

回収アンケート数 ：43 名 （内、短縮版 2 名）
伴侶動物の病院に勤務している関係者(大学等教育機関、研究 を含む)31 名
＜再生医療実施者：19 名、非実施者：12 名＞
上記非該当者：12 名

ー・

再生医療実施者 19 名

[問１ 所属先]
獣医科クリニック等：18 名、公益法人等民間団体：1 名（複数記載）、無記載：1 名

[問２ 職種]
獣医師・獣医療関係：18 名、無記載：1 名

[問３ 動物の再生医療に対する期待、希望、危惧など]
期待がある：18、希望がある：3、危惧がある：3、その他：0、特にない：0

意見
・どうしてもネガティブなイメージのあるガン治療に対してオーナー様に前向きに考えてもらえる
・難病に対抗できる可能性有り
・効果がありそうなことはわかっているが、何故効果が有るのかの説明が科学的にわかっていない部分がまだある。ただし、現在困っている患者様に可能性のある治療が提案できるのは期待がある。
・今現在当院でも細胞治療を行っています. 副作用なく行えるというメリットを主に伝えつつ､行っているのですが、なかなか効果が得られたという実感が得られていないのが現状です. エビデンスなどをもっと得られれば、よりオーナー様にすすめやすくなるだろうと期待しています.

[問４ 動物用再生医療等製品に対するニーズ、実用化への期待、要望、問題点等]
期待がある：15、要望がある：5、問題点がある:0、その他：0、特にない：0

意見
・早く欲しい
・現在当院で行っている場合、コンタミなどがあれば。採材からやり直す必要が有るかと思われるが、製品として得られ、その心配もなくなるのであれば大変助かると思います。

[問５ 食用動物にも再生医療等製品の応用が検討されていることをご存じですか？]
知らない：15、牛：2、馬：2、豚：0、鶏：0、食用のために養殖されている水産動物：0

[問６　再生医療等製品の実用化にあたっての優先順を記載してください。]

伴侶動物

優先順	1	2	3	4	無記入
安全性の確保	11	3			5
効果の検証	3	10	1		5
実用化の迅速性		2	6	6	5
コストの低減			7	7	5

食用動物

優先順	1	2	3	4	無記入
安全性の確保	11				7
効果の検証		7	2		8
実用化の迅速性			2	7	8
コストの低減		3	5	2	8

[問７　再生医療の実用化にはどのような医療技術・方法が求められていると思われますか？]

伴侶動物

対象動物　＜犬・猫＞

技術方法：細胞治療・幹細胞治療/幹細胞

実現性：実用化レベル/実用化

・ヒト再生医療技術で臨床応用する段階で止まっているものを獣医（犬や猫）で臨床試験できるシステムが構築されると良いと思います

食用動物

記載なし

[問８「動物細胞加工製品（同種由来）の品質及び安全性の確保に関する指針案」についての意見]

記載なし

[問９　自己由来動物細胞加工製品の品質及び安全性の確保に関する指針案への機能、意見]

・効果、目的を自覚して使用する

[問 10　勤務されている病院では実際に再生医療を実施されていますか？] はい：19

[問 11　どのような疾病に対する治療効果を期待して幹細胞移植治療を実施されていますか？]

脊髄損傷：14、　**悪性腫瘍（白血病含む）**：7、　**骨折 ・関節炎などの運動器疾患** ：12、
肝炎・腎炎などの内臓器の疾患：6、　**肺炎・気管支炎などの呼吸器疾患**：2
アトピー性皮膚炎・喘息などのアレルギー疾患：2、　**角膜炎・結膜炎などの眼疾患**：2
心筋炎・不整脈などの循環器疾患：1、　**胃炎・腸炎などの消化器疾患**：2、
口腔疾患：1、　美容整形：0、　**その他**：2（**自己免疫/自己免疫疾患**）、　実施していない：0

[問 12　総合的に判断して幹細胞移植治療の成績を従来からの治療法と比較した場合、感想は？]
著しく改善された：3、　　**改善された**：12、　　**変わらない**：1、　　悪化した：0、
わからない・その他：2+1（**骨髄に対しては癒合は早く効果があったと思っています**）

[問 13　どのような疾病に対する治療効果を期待して活性化リンパ球移植治療を実施されていますか？]
脊髄損傷：1、　**悪性腫瘍（白血病含む）**：18、　**肝炎・腎炎などの内臓器の疾患**：1
（選択されたもののみ記載）

[問 14　総合的に判断して活性化リンパ球移植治療の成績を従来からの治療法と比較した場合、感想は？]
著しく改善された：0、**改善された**：11、変わらない：6、悪化した：0、わからない**・その他**：4

[問 15　現在、問 11 および問 13 で使用されている幹細胞や活性化リンパ球は以下のどれですか？]
自己骨髄由来幹細胞：1、同種由来骨髄由来幹細胞：0、 **自己脂肪由来幹細胞**：16、
同種脂肪由来幹細胞：9、**自己由来活性化リンパ球**：17、同種由来活性化リンパ球：0、その他：0

[問 16　自己由来幹細胞(活性化リンパ球)と同種由来幹細胞(活性化リンパ球)の使用方法で最も近いのは？]
- 必ず自己由来細胞を使用：5
- 基本的には自己由来細胞だが、細胞を調整する十分な時間が無い時（できるだけ迅速に治療したい時）は同種由来細胞も使用：8
- 自己由来細胞と同種由来細胞を特に意識せず使用：0
- 治療する疾病に応じて自己由来細胞と同種由来細胞を使い分けている：4
- その他：1（均一性、安全性、安定性から他家由来のストックを使用するのが望ましい）

[問 17　将来、幹細胞や活性化リンパ球等の移植治療に用いる細胞を調達する方法、優先度の高い順に 3 つ]

優先度	1	2	3	順番付けなし
動物細胞加工製品として販売される自己由来細胞		3	1	
動物細胞加工製品として販売される同種由来細胞	3	2	5	1
キットを用いて自己病院施設で調製した自己由来細胞	9	3		1
キットを用いて自己病院施設で調製した同種由来細胞		6	5	1
動物細胞加工製品として販売される自己由来 iPS 細胞				
動物細胞加工製品として販売される同種由来 iPS 細胞	1		1	

再生医療非実施者　12 名

[問１　所属先]
大学等教育機関：4 名、獣医科クリニック等：7 名、その他：1（大学院生）

[問２　職種]
獣医師・獣医療関係：10 名、研究：4 名（複数記載：2）

[問３　動物の再生医療に対する期待、希望、危惧など]
期待がある：11、希望がある：5、危惧がある：2、その他：0、特にない：0

意見
・安全性、有効性の実証方法について、またあまり厳しすぎると現場では使えなくなるのでは？という問題

[問４　動物用再生医療等製品に対するニーズ、実用化への期待、要望、問題点等]
期待がある：11、要望がある：3、問題点がある:0、その他：0、特にない：0

意見
記載なし

[問５　食用動物にも再生医療等製品の応用が検討されていることをご存じですか？]
知らない：7、牛：0、馬：2、豚：2、鶏：0、食用のために養殖されている水産動物：0

[問６　再生医療等製品の実用化にあたっての優先順を記載してください。]
伴侶動物

優先順	1	2	3	4	印のみ	無記入
安全性の確保	3	4	4		1	
効果の検証	8	3			1	
実用化の迅速性		1	5	3		1
コストの低減		1	2	5		3

食用動物

優先順	1	2	3	4	印のみ	無記入
安全性の確保	6	1	1	1	1	1
効果の検証	2	5	2			2
実用化の迅速性		2	4	3		2
コストの低減	1	1	2	2	1	4

[問７　再生医療の実用化にはどのような医療技術・方法が求められていると思われますか？]

伴侶動物

・対象動物　＜犬・猫＞／技術方法：使用する細胞の種類の同定、さらに効果（機能）の検証のシステム化／実現性：研究段階
・対象動物：馬（競走馬、乗用馬）　幹細胞移植をして現役復帰／浅屈腱炎など
・対象動物：イヌ･ネコ

食用動物

・対象動物＜非特定＞／　正直にいって再生医療自体が必要ないと思う
・対象動物：不明(と記載あり)

[問８「動物細胞加工製品（同種由来）の品質及び安全性の確保に関する指針案」についての意見]
記載なし

[問９　自己由来動物細胞加工製品の品質及び安全性の確保に関する指針案への機能、意見]
記載なし

[問 10　勤務されている病院では実際に再生医療を実施されていますか？] いいえ：10

[問 18　今後、再生医療を始める理由として、優先度の高い順に 5 つお答えください。]

優先度	1	2	3	4	5	印のみ
収入の増加が見込めるなら			1	1		
治療の効果が明らかになったら	3	2	2	1		1
他の病院との差別化が図れるなら		2	1			
幹細胞が動物用医薬品として発売されたら	1			1		
活性化リンパ球が動物用医薬品として発売されたら	1					
iPS 細胞が動物用医薬品として発売されたら	1				1	
培養コスト（設備や人手）が安価になったら		1	1	1	3	
再生医療の社会的な認知度が高まったら	1		1			
講習会等を通じて幹細胞の分離・培養・移植技術が身についたら	1	2	2	1	1	
幹細胞の使用に関するガイドラインが整備されたら	1	1		1		
その他						

[問 19　幹細胞移植治療に、どのような疾病に対する治療効果を期待されますか？]
脊髄損傷：7、　悪性腫瘍（白血病含む）:2、　骨折 ・関節炎などの運動器疾患 ：8、
肝炎・腎炎などの内臓器の疾患：2、　アトピー性皮膚炎・喘息などのアレルギー疾患：3、
角膜炎・結膜炎などの眼疾患：5、　心筋炎・不整脈などの循環器疾患：1、
胃炎・腸炎などの消化器疾患：2、　口腔疾患：1、　その他：1（「全部」）
（選択されたもののみ記載）

[問 20　活性化リンパ球移植治療に、どのような疾病に対する治療効果を期待されますか？]

悪性腫瘍（白血病含む）：5　　肝炎・腎炎などの内臓器の疾患：2
肺炎・気管支炎などの呼吸器疾患：1、　　アトピー性皮膚炎・喘息などのアレルギー疾患：3
心筋炎・胃炎・腸炎などの消化器疾患：2　　美容整形：1
その他：2（「よくわかりません」「きくならなんでも」）

（選択されたもののみ記載）

[問 21　問 19 および問 20 で使用したい幹細胞や活性化リンパ球は以下のどれですか？]

自己骨髄由来幹細胞：5、同種由来骨髄由来幹細胞：5、 自己脂肪由来幹細胞：5、
同種脂肪由来幹細胞：5、自己由来活性化リンパ球：3、同種由来活性化リンパ球：3、その他：0

[問 22　自己由来幹細胞（活性化リンパ球）と同種由来幹細胞（活性化リンパ球）で使用方法が違いますか？]

- 必ず自己由来細胞を使用：**1**
- 基本的には自己由来細胞だが、細胞を調整する十分な時間が無い時（できるだけ迅速に治療したい時）は同種由来細胞も使用：**4**
- 自己由来細胞と同種由来細胞を特に意識せず使用：**0**
- 治療する疾病に応じて自己由来細胞と同種由来細胞を使い分けている：**1**
- その他：**0**

[問 23　将来、幹細胞や活性化リンパ球等の移植治療に用いる細胞を調達する方法の優先度の高い順に 3 つ]

優先度	1	2	3
動物細胞加工製品として販売される自己由来細胞		2	1
動物細胞加工製品として販売される同種由来細胞	2	3	
キットを用いて自己病院施設で調製した自己由来細胞	4		1
キットを用いて自己病院施設で調製した同種由来細胞	1		1
動物細胞加工製品として販売される自己由来 iPS 細胞		1	2
動物細胞加工製品として販売される同種由来 iPS 細胞	1	1	2

病院関係非該当者　12 名

[問１　所属先]
大学等教育機関：3 名、民間企業：7 名、公益法人等民間団体：1 名、無記載：1 名

[問２　職種]
獣医師・獣医療関係：4 名、　研究：3 名(複数記載：1)、　管理･運営：1 名
学術・営業：4 名、　その他：1 名（主婦：一般飼い主）

[問３　動物の再生医療に対する期待、希望、危惧など]
期待がある：１２、希望がある：3、危惧がある：２、その他：0、特にない：0

意見
・動物に対して安全性試験をどこまで保証できるまで行うのか？コストとのからみで.
・査察 指摘の体制が不明確.
・動物の治療と その結果として人の心の治療に貢献
・動物の治療から人の治療へ
・肝の再生の研究をしているので　将来的に臨床応用もしくは薬剤の検討のために役立てばと思うが、研究費に限りが有り思うように進まないこと
・コストと効果が現場で現実的ではないので　期待はしているが　多くのハードルをクリアして欲しい.

[問４　動物用再生医療等製品に対するニーズ、実用化への期待、要望、問題点等]
期待がある：１１、要望がある：2、問題点がある:３、　その他：0、　特にない：0

意見
・動物に対して安全性試験をどこまで保証できるまで行うのか？コストとのからみで、
　査察 指摘の体制が不明確.
・安全性の確保が必須である
・治療コスト

[問５　食用動物にも再生医療等製品の応用が検討されていることをご存じですか？]
知らない：4、牛：2、馬：6、豚：0、鶏：0、食用のために養殖されている水産動物：0
[問６　再生医療等製品の実用化にあたっての優先順を記載してください。]
伴侶動物

優先順	1	2	3	4	印のみ	無記入
安全性の確保	8	1	1		2	
効果の検証	1	6	3		2	
実用化の迅速性	1	2	2	4	1	2
コストの低減		1	4	5	1	1

食用動物

優先順	1	2	3	4	印のみ	無記入
安全性の確保	10				2	
効果の検証		6	3	1	2	
実用化の迅速性		1	2	7	1	1
コストの低減		3	5	2	1	1

[問７　再生医療の実用化にはどのような医療技術・方法が求められていると思われますか？]

伴侶動物：
・対象動物＜非特定＞：個体への安全性
・犬（大型犬）
・犬・猫／（犬）肝線維症、（猫）肝不全、への培養肝移植(肝 cell）／可能となることを目指している
・主に関節について．イヌ･ネコ／ミニマルインターベンション（内視鏡手術<か？>）／ヒトの人工膝･腰関節置換術で使用されている　THA.TKA を利用できない
・犬／MSC 移植／実用化レベル

食用動物：
・対象動物＜非特定＞：子孫まで考えた安全性
・馬
・必要？：遺伝子操作以外の技術で食用動物に再生医療を行うべきだがコストに見合う？
・馬／MSC 移植／実用化レベル

[問８「動物細胞加工製品（同種由来）の品質及び安全性の確保に関する指針案」についての意見]
・細胞技士、治療責任者への“教育”が必要だと思う．日本再生医療学会と共同して､認定コース etc.を設定しては？GCTP に含まれる PIC/S 概念には「教育」と「リスク分析」は重要だから.
・最終製品の品質及び安全性を確保するためには、「エンドトキシン試験」は、必須項目とすべきだと思います.

[問９　自己由来動物細胞加工製品の品質及び安全性の確保に関する指針案への機能、意見]
・FIRM etc.同様の動きが平行して動いているので、足並みを合わせた方が良いと思う。各々が各省庁、専門家の意見を聞きに行くと時間と労力がもったいないから.
・最終製品の品質及び安全性を確保するためには、「エンドトキシン試験」は、必須項目とすべきだと思います.

別添４

指針（素案）及び解説書（素案）作成のための情報収集

2）再生医療等製品に関するシンポジウムでの講演プロシーディング

日本獣医学会学術集会シンポジウム　プログラム

日時：　　平成 27 年 9 月 9 日（水）13 時 00 分～17 時 00 分
場所：　　北里大学獣医学部　B31 教室（第 7 会場）

シンポジウム「再生獣医療の進展を目指して―日本が牽引する新分野―」

Ⅰ．再生獣医療研究の最前線

1. 「競走馬の腱・靭帯損傷に対する幹細胞移植治療」
   日本中央競馬会競走馬総合研究所　　笠嶋　快周　氏
2. 「母牛由来活性化リンパ球投与による子牛の免疫強化と疾病予防の可能性」
   ㈱ケーナインラボ　山口　智宏　氏
3. 「犬の骨髄由来間葉系幹細胞の分離における新たな取り組み」
   東京大学　藤田　直己　氏
4. 「生体内組織形成技術による心臓人工弁」
   JASMINE どうぶつ循環器病センター　水野　壮司　氏

Ⅱ．再生獣医療の進展をサポートする周辺体制

1. 「動物用再生医療等製品を取りまく状況と品質管理の考え方」
   農林水産省動物医薬品検査所　能田　健　氏
2. 「動物用再生医療等製品の開発のための試験法ガイドライン案」
   麻布大学　　平山　紀夫　氏
3. 「獣医領域における再生医療及び細胞療法のガイドライン案」
   日本大学　枝村　一弥　氏
4. 「動物再生医療イノベーションフォーラムの設立と役割」
   一般財団法人生物科学安全研究所　濵岡　隆文　氏

「馬の屈腱炎に対する幹細胞移植治療の現状」

JRA 競走馬総合研究所　臨床医学研究室　上席研究役
笠嶋　快周

はじめに

馬の再生医療は 1990 年代半ばには既に臨床応用されていたといえる。2001 年に開催された AAEP（American Association of Equine Practitioners）の年次集会において損傷した繋靭帯の治療法として骨髄液を靭帯組織内に移植した臨床成績が報告されている。概ね 20 年が経過した今日，幹細胞移植治療は腱・靭帯の再生にとどまらず，骨・軟骨の再生，蹄葉炎時の末梢血管の再生を期待する治療法として臨床応用が始まっている。

何故，馬の屈腱炎に幹細胞移植治療なのか？

馬の屈腱炎とは浅指屈筋腱の腱中心部に変性，出血，肉芽増生など種々の炎症性反応を認める競走馬に多発する運動器疾患の一つである。その発症は「調教」という日々繰り返される運動負荷によって生じる腱組織の退行性変化に起因する。そして，発症後の治癒には長期間の休養を要するにも係わらず，運動再開後の再発率が極めて高いため，屈腱炎は競馬関係者から不治の病と忌み嫌われている。では，何故，屈腱炎の再発率が高いのだろうか？それは，屈腱炎の治癒とは損傷した腱組織が「瘢痕組織」によって置換されるということを意味しているに過ぎないからである。すなわち，長期間の休養後も，決して，しなやかな弾力性を伴う強堅さを有する本来の腱組織に復することはない。それ故，運動の再開にともなう再発症は後を絶たないのである。では，どのような治療法が望ましいのか？この瘢痕組織の存在こそが腱組織の弾力性を減少させ，再発症のリスクを高める原因と考えられるならば，瘢痕形成を極力抑え，本来の腱組織に近い組織として修復・再生されることが期待できる治療法が望ましいことになる。よって，馬の臨床では，屈腱炎の新たな治療法として幹細胞移植治療が注目されてきたのである。

屈腱炎に対する幹細胞移植治療の実際

JRA では骨髄液に含まれる間葉系幹細胞を移植治療に用いている。屈腱炎を発症した競走馬に鎮静処置を実施し，枠場内起立位の状態で第5～第7胸骨から骨髄液を採取し、接着細胞を分離する。現在では，骨髄液採取から早ければ 10 日で移植に必要な数まで増殖させることに成功している。

移植当日に培養幹細胞をシャーレから回収し,骨髄上清に細胞を懸濁した状態で移植する。枠場内起立位の状態で,超音波ガイド下で正確に注射針を損傷部位に誘導する。JRA では腱損傷の大きさによって $1.0～2.0\times10^7$ 個の幹細胞を移植している。移植後は腕節以下にバンデージングを行い，1 週間程度は馬房内で休養させる。

競走馬の屈腱炎に対する幹細胞移植治療の臨床成績

2006 年～2012 年の 7 年間で幹細胞移植治療を受けた 78 頭の屈腱炎発症馬と 52 頭の対照馬について治療の有用性について解析を試みた。「幹細胞移植治療によって瘢痕形成は最小限に抑制され，健常に近い腱組織の再生が促進された」と仮定すると，競走復帰後の再発率は低下し，そのため，競走復帰後から引退までに出走した回数は増加することが期待できる。しかし，解析の結果は両群間の再

発率および競走復帰後の出走回数に差は認められなかった。勿論，競走馬のオーナーの意向や経済的価値などの要因の影響も無視できないが，当初，幹細胞移植治療に抱いた期待は残念ながら裏切られた形になった。しかし，その後の継続的な調査から,重症例に限定すると幹細胞移植治療によって軽症例と同程度の競走復帰の機会を得て，復帰後の出走回数は治療しなかった症例より有意に増加することがわかった。現在、幹細胞移植治療の効果を増強する方法について研究を進めている。

おわりに

馬に限らず獣医診療における再生医療の応用は，現在，始まったばかりで科学的裏付けに乏しい治療であることは否めない。少ない知識やわずかな経験しかもたない獣医師がこの医療技術に安易に介入することは，喜ばしい話ばかりではないと考える。「正しい知識の啓蒙と技術の普及」は，この治療法の信頼性を構築するために急務なのかもしれない。

母牛由来活性化リンパ球投与による子牛の免疫強化と疾病予防の可能性

株式会社ケーナインラボ
山口　智宏

【はじめに】 牛の生産現場において感染症の発症は日常的に見られるが、発症には免疫機能が大いに関与しており、牛の免疫機能の低下は、新生期における未成熟な免疫システムや、加齢、栄養不足、様々なストレスなどが要因として挙げられる。特に、呼吸器や消化器の感染症は、免疫システムが完成していない子牛において散発される。感染症の発症率は品種によって差があるが、特に我が国のブランド牛である黒毛和種は新生期において虚弱であり、感染症が発症しやすい。畜産経営において、感染症の発症は生産性の低下だけではなく治療費の捻出を伴うため、有効な疾病予防法が求められている。これら予防法が畜産現場で広く利用されるためには、予防効果が高く安価で、簡単に実施できる技術の研究開発と現場への応用、が必要である。

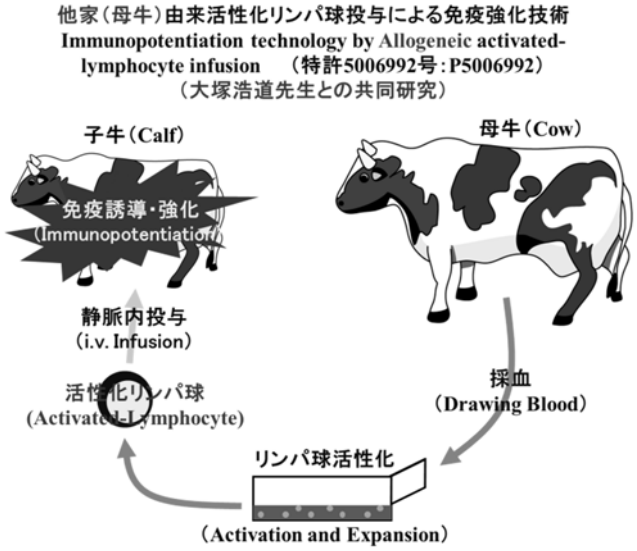


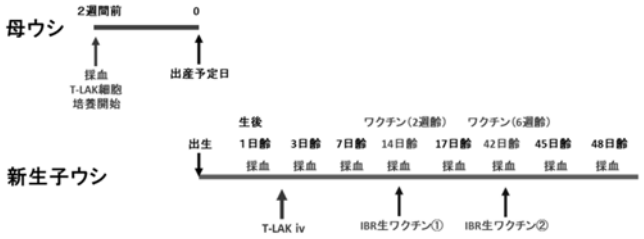
図1　技術スキーム

現在、牛の生産現場での免疫療法は、初乳製剤、ワクチン療法が主流であるが、近年ではサイトカイン療法や再生医療の一つである細胞免疫療法などが研究されている。牛に対する免疫療法として広く実施されているのが新生子牛への初乳（初乳製剤を含む）の給与であり、母牛の初乳を介したIgや免疫細胞の摂取は、子牛の感染防御においてきわめて重要である。一方、十分な初乳を摂取できない子牛に対しては、母牛の全血を新生子牛に輸血する方法も選択肢の一つとして実施されている。しかし、病原体に感染したウシからの輸血の危険性や、必ずしも期待通りの効果が得られないことも多く、限界がある。

今回我々は、出生後の子牛の免疫機能を強化し重篤な感染症の発症を予防することを目的として、母牛の末梢血由来のリンパ球を体外で活性化し、出生直後の子牛に投与することで子牛の免疫機能を強化する新しい技術を開発した（図1参照）。

【方法と結果】 活性化リンパ球療法（養子免疫療法）は、ヒトやイヌなどペットの癌の細胞免疫療法の一つとして実施されている。通常、患者自身（自己）の末梢血リンパ球を抗CD3抗体とIL-2の刺激で約2週間活性化培養し、患者自身に戻す方法である（活性化自己リンパ球療法）。採血量が少なく活性化リンパ球を大量に誘導できることから、患者への身体的負担や副作用も少なく、多くの医療現場で実施されている。一方、子牛の感染症などの疾病予防を目的とする場合には、出生後数日のうちに免疫機能を強化する事が重要であることから、子牛自身（自己）の血液由来リンパ球を2週間かけての培養では出生直後の投与に間に合わない。

本試験では、母牛（他家）の末梢血由来リンパ球を子牛の出産予定日から逆算して2週間前から同様の方法で予め培養し、子牛の出生後直ちに活性化リンパ球を回収して、子牛の静脈内に投与した。投与後、子牛の末梢血を経時的に採血し、T リンパ球、B リンパ球、NK 細胞およびサイトカイン（IFN-γ、



評価項目：子ウシ出生後1日齢から経時的に採血し、下記項目を解析

- Tリンパ球（CD3、CD4及びCD8）
- Bリンパ球（CD21、 IgM型）
- NK細胞（CD335）
- γδTリンパ球（WC-1）
- 末梢血中サイトカイン（IL-2、IL-4、IFN-γ）

図２ 試験プロトコール

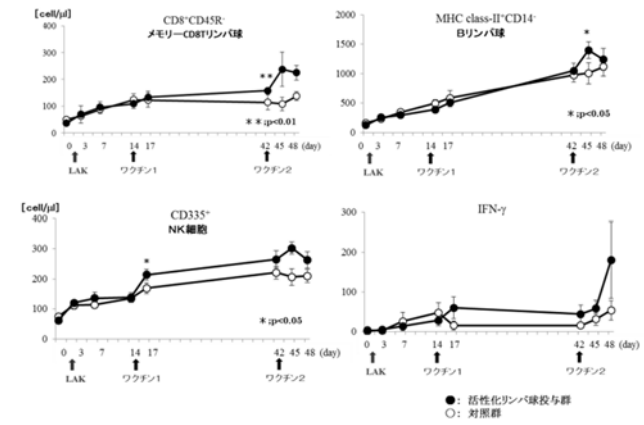


図３ 試験結果

IL-2）の変化を観察し、免疫機能の変化を評価した。対象として、活性化リンパ球を投与しない子牛からも経時的に採血し、同様に観察した。なお、全ての子牛は、出生後の初乳を与えず、人工乳とした（図 2 参照）。

その結果、母牛由来活性化リンパ球を投与した子牛の末梢血中リンパ球は、非投与群の子牛に比べて T、B リンパ球および NK 細胞ともに有意に増加し、Th1 サイトカインである IFN-γや IL-2 も増加傾向にあった。一方、他家由来活性化リンパ球投与により予想される拒絶反応などの重篤な副作用は、全く認められなかった（図 3 参照）。

母牛由来活性化リンパ球を出生直後の子牛に投与することで子牛の細胞性免疫、液性免疫、自然免疫および Th1 サイトカイン産生能などの免疫機能は確実に強化され、一方重篤な副作用も認められなかった、という試験結果から、本技術は、子牛の免疫強化のために有効で安全な疾病予防法を提供できる可能性があることが示唆される。

【今後の課題と展開】　今後の本技術開発においては、子牛の感染症予防など疾病予防の臨床効果の実証、再生医療等製品開発を念頭に置いた母牛以外の健康なウシ由来の活性化リンパ球投与による有効性および安全性の評価、拒絶反応などを予測できる試験方法の開発（組織適合性抗原マッチング解析技術、など）、などが課題となる。

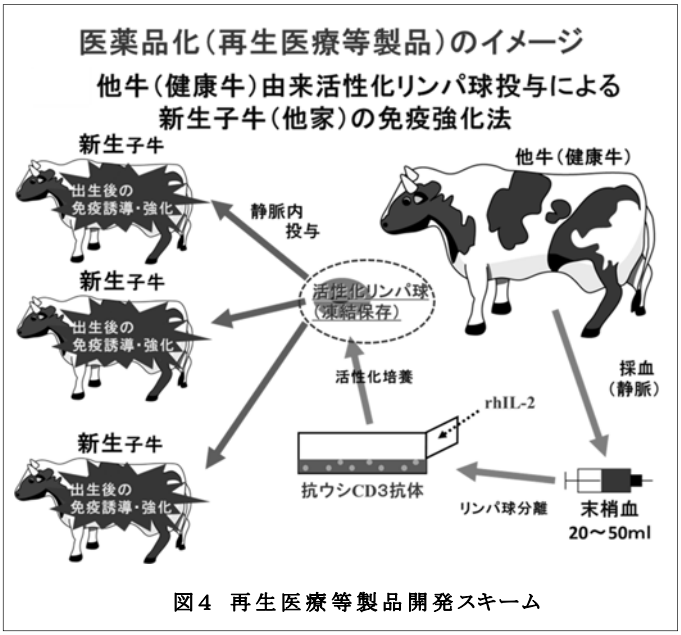


図４ 再生医療等製品開発スキーム

本技術は、日本、豪州、ニュージーランド、カナダで特許を取得、米国、欧州、UAE で審査中であり、「他家由来活性化リンパ球を主成分とする世界初の動物用再生医療等製品」を目標として開発する。

本成果は、酪農学園大学大塚浩通先生との共同研究による。

以上

犬の骨髄由来間葉系幹細胞の分離における新たな取り組み

東京大学大学院農学生命科学研究科獣医外科学教室
藤田　直己

獣医療では、犬の骨髄や脂肪組織などから得られる間葉系幹細胞(MSCs)の研究が広く行われ、様々な疾患に対する再生医療に用いる細胞源として期待されており、骨折や脊髄損傷などに対する臨床試験の結果が既に報告されている。一方、人医療では「ヒト幹細胞を用いる臨床研究に関する指針」に代表されるガイドラインが作成されており、安全性や有効性の根拠が確保された再生医療の応用を推進する動きが出てきている。ガイドラインが策定される背景には、安全性や科学的根拠が低い再生医療が人医療において行われたことで、将来的な幹細胞治療の推進の障害や幹細胞治療に対する誤った認識の発生に繋がることが憂慮されたことがあげられるが、再生医療における社会的関心が高まるにつれ、今後は獣医療の幹細胞治療においても、同様の指針が導入され、安全性及び有効性の根拠等、幹細胞の品質を確保することが求められるだろう。

骨髄間葉系幹細胞（BMMSCs）を用いた研究あるいは臨床試験は、獣医療において最も多く報告されている細胞療法のひとつであるが、研究が広くおこなわれる背景としては、採取が比較的安全に行えることや、ES 細胞や iPS 細胞などの多能性幹細胞と比較し、簡便かつ安価に入手可能であることが大きいと考えられる。これまで我々が行ってきた in vitro での研究においても、犬の骨髄間葉系幹細胞が骨・軟骨・脂肪、あるいは部分的ではあるが、神経細胞への分化能をもち、様々な栄養因子も発現していることから、再生医療への有用性が期待できると考えている。しかし、実際に培養を行っていると、細胞の能力における個体差や実験間での差がみられることもあり、安定した品質をもつ幹細胞の提供は必ずしも容易ではないと感じている。現行の研究のほとんどがそうであるように、骨髄中の単核細胞をフラスコ上に播種し、付着した細胞を骨髄間葉系幹細胞として回収する培養法では、幹細胞が本来備えている性質の変化や、雑多な細胞が混入する可能性を排除することが不可能であり、結果として、幹細胞としての品質管理を一貫して行うことの困難さが生じるのであろう。ヒトでは骨髄から CD271/CD90 両陽性細胞や Muse 細胞など、高品質の幹細胞を前向きに分離する試みや、品質確保の技術も進んでいるが、獣医療においても、簡便さや経費の面での妥当性を確保しつつ、幹細胞としての性質をもつ細胞の同定や、純化法の確立を目指す工夫が少なからず生じてくると予想される。

このような背景から、我々は従来の犬骨髄間葉系幹細胞の分離法に改変を加え、より高い性能が期待できる細胞を効率的に抽出する方法を検討してきた。その結果、骨髄に含まれる脂肪細胞周囲に良質な間葉系幹細胞が存在することを見出しており、既に、過去の学術集会において発表した部分も含まれるが、本講演では、これまでの結果を簡単にではあるが総括し、ご紹介させていただく。

我々は当初、犬の BMMSCs と同時に、脂肪由来間葉系幹細胞(ADMSCs)の神経細胞分化能の比較検討を行うため、ADMSCs の培養も行っていたが、その過程で皮下脂肪組織から得られる成熟脂肪細胞を天井培養することにより、脂肪細胞が脱分化し、MSCs としての性質を示す脱分化脂肪細胞（DFAT）が得られることを報告している（天野ら、第 157 回大会）。DFAT は、他の動物種においても報告があるが、ADMSCs と比較し、homogenous な細胞群で、同等以上の増殖能と分化能を示すことから、再生医療での有用性が高いと期待されている。そこで、DFAT にヒントを得て、BMMSCs 培養過程の単核球細胞分離時において、浮遊して分離する脂肪組織に注目し、天井培養に供したところ、BMMSCs と同様の増殖性線維芽細胞が得られ、骨髄からも DFAT が培養できたと考えた。しかし、天井培養過程を Time-lapse 顕微鏡下で観察したところ、DFAT 培養時に観察される成熟脂肪細胞の脱分化は観察されず、脂肪細胞

に付着している小型細胞が短期間で接着・増殖している様子が観察できた。この現象は再現性が高く、天井培養開始後、短期間で多数の細胞が得られた。我々は、この細胞が間葉系幹細胞であると仮定し、骨髄脂肪細胞周囲細胞（Bone Marrow Peri-adipocyte Cells;BM-PACs）と名付け、BMMSCs との比較から、その性質を検討した。

BM-PACs は同一の個体から同時に培養された BMMSCs と比較し、有意に高いコロニー形成能と増殖能を示し、脂肪・骨・軟骨への分化能も示した。特にコロニー形成効率は、BMMSCs の培養に用いる単核球細胞層の約 10 倍程度と高く、天井培養開始後 48 時間以内に活発に増殖することが、短期間で多くの細胞が得られる一因と考えられた。

さらに、ヒト BMMSCs で提唱されている複数の細胞表面抗原を対象に、両者の細胞表面抗原のプロファイリングをおこなった。両者とも、造血幹細胞マーカー（CD34,45）は陰性であり、間葉系幹細胞マーカー（CD29,44,90,105）の発現パターンは同様であったが、CD73 陽性率は BM-PACs（14.7%）で BMMSCs（4.9%）より有意に高かった。国際細胞療法学会（ISCT）が定めるヒト MSCs の基準では、CD73 が陽性（>95%）とされているが、イヌにおける基準は明確ではなく、抗体の交差性も製品により異なることも多いため、高い陽性率が幹細胞をより多く含んでいることを示唆するものではないが、両者を細胞集団としてとらえた場合、同一性を否定する結果であった。

以上から、骨髄中に含まれる脂肪細胞の周囲には従来の BMMSCs より良質な MSCs が存在していると考えている。犬 BMMSCs は単核細胞層中に含まれる割合が低く、臨床応用に利用可能な細胞数を獲得するまでに、10 日から 2 週間程度の培養期間が必要であったが、BM-PACs により短期間で良質な MSCs を準備可能であり、臨床応用における高い利点が期待される。

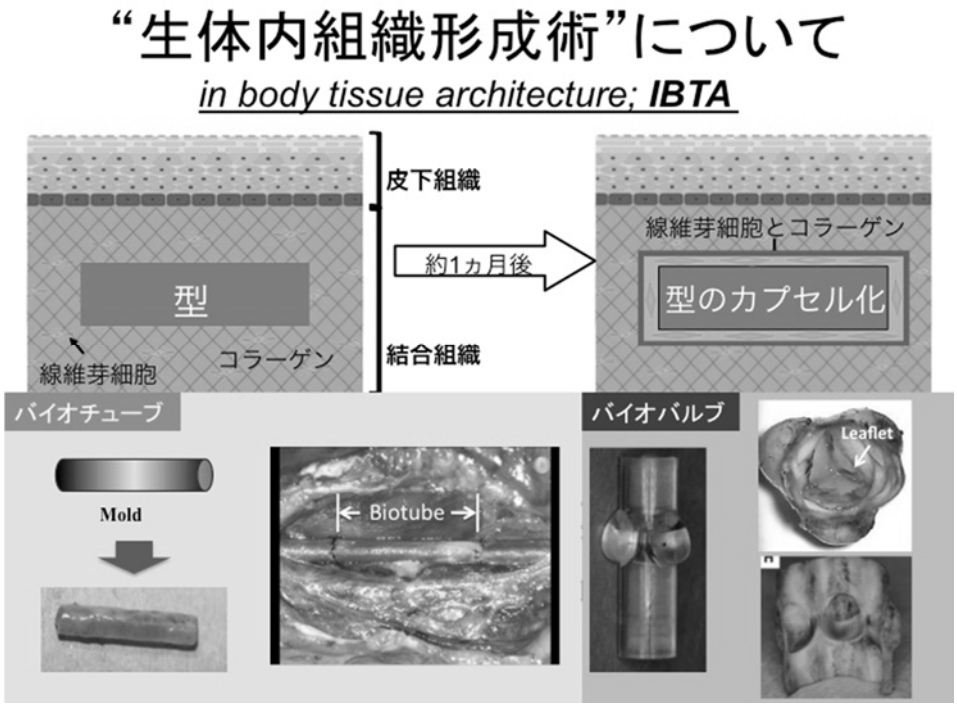
最近では、BM-PACs を臨床応用を想定した機能予測を目的に、MSCs が分泌する種々の栄養因子・成長因子のうち、特に、肝細胞成長因子（Hepatocyto Growth Factor; HGF）の合成・分泌能に注目し、再生医療での有用性を検討している。HGF は様々な組織の再生に促進的に寄与することが知られているが、霊長類の脊髄損傷モデル実験において、投与後の脊髄保護効果や運動機能回復の促進を示したことから、近年、ヒト患者で臨床治験が開始されている。これまで、通常培養では BM-PACs と BMMSCs の HGF 発現は同様である一方、炎症性サイトカインに暴露された際、BM-PACs は BMMSCs と比較し、HGF 発現の高い上昇を示し、培養液中への HGF 分泌能は、TNF-α や IL-1β 暴露により、50 倍以上上昇していた。以上の結果は、BM-PACs の再生医療における有用性を示す理論的根拠となりうる。今後、このような細胞の機能をどう利用すれば、臨床的効果を得られるかを検討し、再生医療における治療戦略を構築したい。

生体内組織形成技術による人工心臓弁

JASMINE どうぶつ循環器病センター
水野　壮司

獣医療分野における心臓外科領域の発展は近年めざましく、当センターにおける昨年 8 月から本年 7 月までの 1 年間の心臓外科件数は 128 件で体外循環下僧帽弁修復術を主体とする心臓弁に対する手術は 111 件におよぶ。心臓弁に対する外科治療は自己の弁を温存する弁修復術（あるいは形成術）と生体弁や機械弁を用いて弁を取り替える弁置換術とに大別される。機械弁や生体弁は小動物に適したサイズのものはないこと、生涯にわたる抗凝固療法が必要であるが犬や猫では投薬が不確実になりがちであるため、犬猫に対して弁置換術を適応することは困難である。実際に当センターでは犬の僧帽弁閉鎖不全症に対しては 100%僧帽弁修復術を実施しており、僧帽弁置換術は採用していない。僧帽弁修復術を実施することで僧帽弁逆流は減少あるいは消失させることができており、現状の目標は達成できているものの、心臓の病変によっては弁形成術では十分な治療効果が得られない症例も存在し、人工弁による弁置換術が理想と考えられるケースもある。

小動物に適した人工弁は安価で様々なサイズが作成可能であること、免疫反応や感染に対する懸念がないこと、一定期間を経たのちには抗凝固療法が必要なくなること、再手術の必要がないことが条件としてあげられる。近年組織工学的手法を用いた人工弁の再生医療が研究されているが、細胞培養が必要な技術では高額な施設設備が必要となり、医療保険の整っていない獣医療においては使用が限定される。これに対して新たな再生医療技術として国立循環器病研究センター研究所生体医工学部の中山泰秀先生は生体内組織形成術を提案されている。この技術を用いて得られた組織体は完全自己組織からなるため拒絶反応や感染のリスクがなく、成長性も期待される。また患者本人の生体をバイオリアクターとして利用するため安価で簡便に所望の組織体を得ることができる。実際に、この技術で得られた人工心臓弁（バイオバルブ）をビーグル犬肺動脈弁位に移植したところ、移植後の心エコー図検査では移植前の画像と区別がつかないほど良好な弁開閉運動が確認され、摘出時には弁の自己化が確認されており、小動物医療の人工弁として有望であると考えられた。



動物実験の結果を元に犬の自然発症肺動脈弁狭窄症の症例に対してバイオバルブを用いて弁置換術を行った。

症例 1:ホワイトシェパード(1 歳、メス)。心雑音と腹水の貯留が認められ心臓精査を目的に来院した。動脈管開存症、大動脈弁狭窄症、三尖弁閉鎖不全症,肺動脈弁狭窄症(PS)の複合心奇形であった。初診時より3ヶ月後に動脈管の結紮とバイオバルブ(口径 28mm)を用いた肺動脈弁置換術を実施した。バイオバルブはビーグル犬で作製した同種組織を用いた。手術1ヶ月後には肺動脈弁位の流速は 7.5m/s から 4.5m/s へと減速、右室肺動脈圧較差は半減し、三尖弁逆流は減少し、腹水は消失した。

症例 2:ポメラニアン(9 ヶ月、オス)が心雑音の精査のため来院した。流速 6m/s の重度 PS であった。バイオバルブ(口径 12mm)を用いた肺動脈弁置換術を行うと、PS3m/s まで改善し、逆流は軽度であった。

先天性心疾患に対してバイオバルブを用いた弁置換術による治療に初めて成功した。2 例ともに置換後のバイオバルブの可動性は良好で狭窄を改善できた。今回の 2 症例では獣医臨床学的に良好な結果を得ている。

近年人医療ではより低侵襲な弁置換法として弁付きステントを経カテーテル的に挿入することで弁置換術を行う手法が行われ始めている。これに対して我々もバイオバルブとステントを一体化させることでより低侵襲な弁置換術を実施することが可能になると考えバイオバルブとステントの一体化を試み、ビーグル犬でステント一体型バイオバルブの作製に成功した。このステント一体型バイオバルブを用いてまずは肺動脈弁置換術が可能であるかどうか検証した。体外循環下にて肺動脈を切開し、自作のデリバリーシースを用いて肺動脈弁位へステント一体型バイオバルブを挿入した。バイオバルブは肺動脈弁位で良好に開閉し、肺動脈弁置換用デバイスとして使用可能であることが示唆された。

バイオバルブは三尖弁や僧帽弁など他の弁に対する応用も期待されており、今後小児外科医療への橋渡しとして期待される。

動物用再生医療等製品の品質管理について
－関連法令の技術的解釈と前競争的課題－

農林水産省動物医薬品検査所
能田　健

2014 年 11 月に施行された医薬品、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（以下「薬機等法」という）には、再生医療等製品に係る条項が独立して設定された。これは、同製品の特性を踏まえた規制の構築と、安全かつ迅速な提供の確保等を意図したものである。承認申請を前提とした研究開発に際しては、薬機等法及びその関連法令等の定められた意図を正確に理解することが必要である。本稿では、再生医療等製品に関連する主な法令と、同製品の開発/製造における品質管理に係る技術的課題等について概説する。

我が国の法体系は、法律の下位に内閣が定める政令があり、更に各省が定める省令が設置される階層構造となっている。政令及び省令は、それぞれ上位の法令から委任された事項について定めており、その範囲から逸脱する事はできない。薬機等法の下には「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施行令（昭和 36 年 1 月 26 日政令第 11 号）」（以下「政令」という）が置かれており、さらに人用又は動物用医薬品等について定めた、厚生労働省令又は農林水産省令が各々置かれている。

動物用再生医療等製品のうち、細胞を主成分とする製品の定義については薬機等法第2条に、細胞に培養その他の加工を施したものであり、動物の身体の構造又は機能の再建・修復又は形成もしくは動物の疾病の治療・予防を目的として獣医療に使用される物とする旨が定められている。ここでいう「培養その他の加工」の定義は、農林水産省畜産局長通知[1]に、「細胞の人為的な増殖・分化、細胞の株化、細胞の活性化等を目的とした薬剤処理、生物学的特性改変、非細胞成分との組み合わせ、遺伝子工学的改変等を施すこと」と記載されている。農林水産大臣の承認を取得するためには、製品化の過程における培養その他の加工毎に、使用される原材料や手法が適切であることを示さなければならない。薬機等法第2条には上記の他、「政令で定めるもの」との記載がある。政令には、動物細胞加工製品の分類が以下のように定められている。

一　動物体細胞加工製品（二及び四を除く。）
二　動物体性幹細胞加工製品（四を除く。）
三　動物胚性幹細胞加工製品
四　動物人工多能性幹細胞加工製品

つまり、開発された製品がこれらのいずれかに合致することで、はじめて動物細胞加工製品として法的に取扱われ、承認審査の対象となる。

例えば、間葉系幹細胞（MSC）を主たる成分とする製品は、「二　動物体性幹細胞製品」に該当する。この場合、製品に含まれる細胞が MSC としての性質を有していることを示す必要があるが、ヒトにおいても MSC には未だ決定的な性質要件が確立されておらず、臨床や研究の現場で混乱が生じている。この問題に対処すべく、国際細胞治療学会はヒト MSC の要件を示したポジションペーパーを発出した[2]。ここには、1）プラスチックシャーレへの接着性、2）骨、軟骨、脂肪細胞への分化能、3）CD 抗原マーカー（陽性としては CD73、90、105、陰性として CD45、34 等）が、暫定的な見解として示されている。特に CD 抗原マーカーは、形態学的特徴に乏しい MSC の同定と含有量の測定、細胞継代に伴う含有量変化、保存安定性試験等、製造工程における品質管理にも利用できる。1)と 2)については、動物細胞にも応用可能であるが、3)については研究者間に意見の相違があり、現在入手可能な抗ヒト CD 抗原抗体の動物

CD 抗原への結合性はそもそも不明であるため検証のしようも無いのが現状である。つまり、この検証を実施するためにも、動物の CD 抗原に特異的な抗体が必要とされている。このような研究開発用ツールは細胞加工製品開発の背景として存在すべきものであり、製品を承認申請予定の企業が個別に取組むべき課題ではないことは明らかである。アカデミアや関係業界等が協力して行う、いわゆる前競争的(Pre-competitive)共同研究[3]の代表的な課題と言えるだろう。

犬等の iPS 細胞を分化誘導して製造する血液製剤(血小板、赤血球等)は、「四　動物人工多能性幹細胞加工製品」に該当する。原材料となる iPS 細胞は、動物の線維芽細胞等に Sox2, Oct4, c-Myc、Klf4 等の遺伝子(いわゆる山中因子)を導入して確立されるため、まずこれらの適性が問われる。すなわち、基礎研究の段階で動物細胞にヒトの山中因子を用いていた場合、承認審査の段階ではこれが科学的に妥当であったのかが問われることになる。これら山中因子の、ヒトとイヌの相同性を表1に示した。Sox2 についてはほぼ 100%、Oct4, c-Myc についても約 90%と比較的高い相同性が見られるが、Klf4 についてはそもそも相同遺伝子がなく、タンパク質、DNA とも相同性が 80%程度の Klf4 様分子(LOC481675)[4]が存在するのみである。動物細胞内でヒト Klf4 が転写因子として適切に機能するのか、細胞内消長が適切にコントロールされるのかについては、極めて慎重な検討が必要である。

表1　ヒトとイヌの山中因子の相同性

	相同性(%)*	
	タンパク質	DNA
Sox2	100	98.0
Oct4	90.8	89.0
c-Myc	92.7	91.0
Klf4(like)	83.1	81.5

*HomoloGene[5]により算出

ところで、製品の安定した生産を行うために、iPS 細胞段階でのセルバンク化が一般に行われる。最終製品の品質はセルバンクのそれに影響されるため、未分化マーカーとして Oct4 や Sox2 を用いた品質管理が必要となる。iPS 細胞はコロニーとして維持継代するため、コロニー群として品質を管理することになる。同一培養中でもコロニー毎にサイズや分化の程度がそれぞれ異なるため、シャーレ等の培養単位全体を網羅的かつ定量的に解析する手法が求められる。近年、蛍光顕微鏡の数百視野を自動撮影し未分化マーカーの発現比率を測定できる細胞解析装置が普及し始めている。このような装置を使った網羅的細胞解析手法の確立及び前述の動物細胞用山中因子の開発等も、前競争的共同研究の課題である。

ここまで述べてきたように、基礎研究から製品開発、そして承認申請に至る道筋では、関係法令等を技術的に読み下し、具体的な品質管理手法や必要とされるツール等の開発に落とし込んで行く作業が求められる。研究開発のなるべく早い段階から、前競争的共同研究として業界や組織の垣根を超え横断的に取組むことは、関連研究者の裾野を広げることにつながり、ひいては幹細胞技術という新規性の高い科学的成果の迅速な獣医療への提供に寄与するであろう。

＜参考資料＞

[1] 農林水産省: 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関係事務に係る技術的な助言について(H12.3.31 付け 12 畜 A 第 728 号農林水産省畜産局長通知)
[2] The International Society for Celluar Therapy: Position Paper, Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. Cytotherapy (2006) 8, 315-317.
[3] バイオ産業情報化コンソーシアム: 欧米における Pre-competitive 共同研究について. JBIC めるまが Vol.338, 2013 年 1 月[http://www.jbic.or.jp/news/mailmaga/338.pdf]
[4] US National Library of Medicine, National Center for Biotechnology Information (NCBI): RefSeq Nucleic [http://www.metalife.com/Refseq%20Nucleic/345777874]
[5] NCBI: Homologene [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/homologene]

動物用再生医療等製品の開発のための試験法ガイドライン案

麻布大学客員教授
平山　紀夫

Ⅰ. 試験法ガイドラインの必要性

iPS 細胞等の多能性幹細胞の活用は、再生医療分野と創薬応用について盛んに研究開発が進められている。平成 26 年 11 月に施行された「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」では再生医療等製品という新しいジャンルが追加された。再生医療等製品は、品質、有効性及び安全性が厳格に求められる医薬品等と異なり、有効性については推定できれば条件付きで承認されるという画期的なものである。しかし、このような新しい製品群の普及を図るためには、その特性を踏まえた安全性等の新たな基準作りが不可欠である。動物用再生医療等製品の開発に必要な試験方法とその評価法を明示したガイドラインが作成されることにより、医薬品メーカーにおける開発段階での試験実施方法の定型化、承認審査基準の明確化が可能となり、当該製品の申請者の負担軽減及び承認審査の効率化が図られ、動物用再生医療等製品の普及に役立つと思われる。

Ⅱ. 動物用再生医療等製品の開発のための試験法ガイドライン作成事業の概要

ガイドライン案の作成は、動物用ワクチン-バイオ医薬品研究会が平成 26 年度農林水産省の補助事業として実施したものである。学識経験者及び再生医療の専門家から成る「動物用再生医療等製品安全性試験等開発検討委員会」を組織して計 9 回の会議を開催して内容を検討した。また、実際に再生医療に関する研究や開発を行っている施設での調査や国内外の関連通知を収集して、検討の参考にした。なお、作成したガイドライン案の表題は、「動物用再生医療等製品（同種由来）の品質及び安全性確保に関する指針（素案）」となったことから、本稿では「同種指針」と略称する。

Ⅲ. 同種指針の概要

1. 同種指針の構成

同種指針は、総則、製造方法、安定性、安全性試験、薬理試験、体内動態及び臨床試験を始めるにあたっての 7 章から成る。第 2 章の製造方法がボリュームも多く、詳細な記述となっている。

2. 総則

動物用再生医療等製品は多様であるため、最も開発が先行すると思われる同種由来細胞（自己由来のものを除く。）を加工した製品群を対象とし、その製品群の品質・安全性等の確保のための基本的な技術要件を定めている。本指針で使用する用語については、「細胞の加工」、「製造」等が定義してある。

3. 製造方法

製造方法については、本指針を抜粋する形式で以下に示す。

1）原材料及び製造関連物質

（1）目的とする細胞・組織

①目的とする細胞・組織について、その起源・由来を説明し、当該細胞・組織を選択した理由を明らかにすること。

②ドナーの選択基準や適格性基準を定め、その妥当性を明らかにすること。

③ドナーに関する記録を整備・保管すること。

④細胞・組織の採取については、採取者及び採取診療施設等に求めるべき技術的要件を明らかにすること。また、採取部位及び採取方法については、科学的及び倫理的に適切に選択されたことを明ら

かにすること。

⑤ドナーの飼い主に対する説明及び同意の内容を規定すること。

⑥細胞・組織採取時にドナーの安全性を確保するために必要となる試験検査を規定し、検査結果等に問題があった場合の対処法を決めておくこと。

⑦採取した細胞・組織を保存・運搬する場合には、その条件や方法を定め、その妥当性を明らかにすること。

(2)目的とする細胞・組織以外の原材料及び製造関連物質

①培地、添加成分及び細胞の処理に用いる試薬等のすべての成分について、その適格性を明らかにし、必要に応じて規格を設定すること。

②培地に使用する成分及び水は、可能な範囲で動物用医薬品に相当する基準で品質管理されているものを使用すること。

③血清及び血清に由来する成分については、細菌、真菌、ウイルス及び異常プリオン等の混入・伝播を防止すること。

④抗生物質の使用は必要最小限とすること。

⑤成長因子を用いる場合は、純度・力価等に関する適切な規格を設定すること。

⑥フィーダー細胞として異種動物由来の細胞を用いる場合には、異種動物由来の感染症のリスクの観点から安全性を確保すること。

⑦その他として、非細胞成分と組み合わせる場合や細胞に遺伝子工学的改変を加える場合の安全性確保の注意点も記載してある。

2)製造工程

再生医療等製品の製造に当たっては、製造方法を明確にし、可能な範囲でその妥当性を以下の項目について検証し、品質の一定性を保持すること。

(1)ロットの構成の有無とロットの規定

(2)製造方法

①受入検査の項目と判定基準を設定

②細菌、真菌、ウイルス等の不活化・除去

③組織の細切、細胞の分離、特定細胞の単離の方法を明示

④培養工程(培地、培養条件、培養期間、収率)

⑤株化細胞の樹立、その特性解析基準の設定

⑥細胞のバンク化(作製方法、特性解析、保存・維持・管理方法)

⑦製造工程中の取り違え及びクロスコンタミネーション防止対策

(3)加工した細胞の特性解析

(4)最終製品の形態、包装

(5)製造方法の恒常性

3)最終製品の品質管理

最終製品については、以下に示す一般的な品質管理項目及び試験を参考として、必要で適切な規格及び試験方法を設定し、その根拠を明らかにすること。①細胞数並びに生存率、②確認試験、③細胞の純度試験、④細胞由来の目的外生理活性物質に関する試験、⑤製造工程由来不純物試験、⑥無菌試験及びマイコプラズマ否定試験、⑦エンドトキシン試験、⑧ウイルス等の試験、⑨効能試験、⑩力価試験、⑪力学的適合試験

4.安定性試験

製品化した再生医療等製品について、保存・流通期間及び保存形態を十分考慮して、細胞の生存率

及び力価等に基づく適切な安定性試験を実施し、貯法及び有効期限を設定し、その妥当性を明らかにすること。

5. 安全性試験

安全性試験については、当該製品の特性に応じて既存の動物用医薬品の安全性試験法ガイドラインを準用することとしているが、標準的な試験法を明示している。

6. 薬理試験・体内分布

薬理試験や体内分布については、技術的に可能でかつ科学的合理性がある範囲で実施するが、国内外の文献又は知見等を利用しても差し支えないとしている。

7. 臨床試験を始めるにあたって

臨床試験を実施する際の治験実施計画書についての留意点を示してある。

Ⅳ. 本指針(素案)の今後

平成 27 年度事業として継続しており、本指針についての解説書を作成中である。また、関連学会等で発表し、意見徴収しており、最終的な見直しを行い、本指針(案)及び解説書(案)として農林水産省に提出する予定である。

獣医療域における再生医療及び細胞療法のガイドライン策定について

日本大学生物資源科学部獣医学科獣医外科学研究室
日本獣医再生・細胞療法学会ガイドライン作成委員
日本獣医再生医療学会ガイドライン作成委員
枝村　一弥

【ガイドライン策定の背景】

人医療域においては、将来有用な医療になり得る可能性のある再生医療の臨床研究が、社会の理解を得て科学的及び倫理的に適正に実施そして推進されるように、法律や指針が定められている。獣医療域においても、脊髄損傷及び軟骨損傷に対する再生医療、そして腫瘍性疾患に対する免疫細胞療法が一部の診療施設で導入されているが、残念なことに未だ法律や指針は定められていない。そのため、自由診療のもとにこれらの先進医療が行われているが、犬や猫においてのエビデンスが乏しく効果が十分に証明されていない治療行為も実施されており、実際に獣医療の信頼性を損なうような事例も発生している。獣医療においても、これらの獣医療行為に対する社会から信用を高めるためには、科学的かつ倫理的に適正に実施する必要ある。そのような背景から、獣医療域における再生医療及び細胞療法に関するガイドラインの策定が望まれている。

【人医療域における再生医療関連法及びガイドライン】

人医療域においては、「ヒト幹細胞を用いる臨床研究に関する指針（ヒト幹指針）」や「医療機関における自家細胞・組織を用いた再生・細胞療法実施について」などに基づいて再生医療に関する臨床研究が遂行されてきた。平成 26 年 11 月に「再生医療等の安全性の確保に関する法律（再生医療法）」が施行されてからは、それまでの指針や通知が本法律に一本化され、臨床指針のみでなく再生医療製品の安全性確保までが厳格な法制下で実施されている。また、幹細胞に関する国際研究団体である International Society of Stem Cell Research （ISSCR）からも「幹細胞の臨床応用に関するガイドライン（日本語版あり）」が作製されており、臨床現場でのルール作りに役立てられている。

【犬や猫におけるガイドライン策定の背景】

獣医療においては、いずれの国際機関からも再生医療及び細胞療法に関する臨床研究のガイドラインは出されていない。平成 26 年 11 月にヒトでの再生医療法の制定により、農林水産省から「動物用再生医療等製品の臨床試験の実施の基準に関する省令」が出され、治験に関してはある程度定められている。しかし、本省令は、個々の動物病院で実施する臨床研究について焦点を当てたものではない。国内では、日本獣医再生医療学会から「獣医細胞治療に用いる細胞指針」が提案されているが、未だ公表には至っていない。この指針は、「ヒト幹指針」を基に作成されているが、一部の細胞のみに限定されており、他の細胞を用いた再生医療など様々な状況に対応しきれない可能性がある。そのため、より広い領域を視野に入れたガイドラインを作成する必要があり、学会員だけでなく、小動物臨床に携わる多くの獣医師に認知してもらえるルール作りをしないと現状を打破することはできない。現在、ホームページなどで再生医療を実施していると標榜している動物病院は既に 150 病院以上あり、早期にルール作りをすることも要求されている。そのため、日本獣医再生・細胞療法学会と日本獣医再生医療学会が中心となり、農林水産省と日本獣医師会にアドバイスを頂きながらガイドラインを作成することとなった。

2014 年の 3 月に、日本獣医再生・細胞療法学会、日本獣医再生医療学会、農林水産省のメンバーが集い、ガイドライン作りを見据えた最初の意見交換会が東京大学弥生キャンパスにて行われた。また、第

157 回日本獣医学会及び第 10 回日本獣医再生医療学会においてガイドライン作成の方向性と概要を示した。現在、これらの意見を参考に、日本獣医再生・細胞療法学会にて素案を作成している。

【ガイドライン策定の骨子】

現在作成中の「犬や猫における再生医療及び細胞療法に関する指針」は、「再生医療法」、「ヒト幹指針」、「幹細胞の臨床応用に関するガイドライン」、「獣医再生治療に用いる細胞指針」を参考にして骨子を組み立てている。本指針には、再生医療製品についての内容は含まれず、あくまでも臨床現場で再生医療及び細胞療法を展開する際の安全性の担保を目指した内容となっている。また、指針による規制が厳しいために再生医療の実施が困難とならないように、十分な配慮をして作成を行っている。現在、自己の培養細胞を用いる際には、人医療と異なって届け出を義務付けず、実施機関毎の記録及び保管のみで実施できるように調整している。他家由来培養細胞を使用する際は、届け出を行うことで意見がまとまっている。しかし、届け出先の機関については議論中である。遺伝子操作の加わった細胞、ES 細胞、iPS 細胞を犬や猫などの動物に投与する際には、法律との絡みがあるため特別な配慮をする必要がある。そのため、実施機関毎に倫理審査を行い、さらに届け出を義務付ける予定である。また、ガイドラインに含まれる再生医療及び細胞療法を実施する組織体制も、ヒトのガイドラインとは異なる。再生医療法では、総括責任者（学部長やセンター長など）や実施機関長（学長や社長など）の役割が述べられているが、獣医療においては総括責任者や実施機関長が絡むと治療が円滑に遂行できなくなることが推測される。そのため、本指針では、実施者（担当医）と実施責任者（病院長または担当科長）のみを設定して、再生療法及び細胞療法の実施体制を簡素化している。このように、ヒトでのガイドラインをそのまま踏襲するのでなく、犬や猫の臨床現場に即した内容に改変している。本指針は、以下の 5 章編成となっている。さらに議論を重ねて、多くの方の賛同が得られる指針にしていきたいと思う。

「犬や猫における再生医療及び細胞療法に関する指針」
第1章　総則
第2章　獣医療及び臨床研究の実施
第3章　治療に用いる細胞・組織等の採取
第4章　再生医療及び細胞療法に用いる細胞等の調整
第5章　細胞等の移植又は投与方法

【ガイドライン策定までの流れ】

現在、「犬や猫における再生医療及び細胞療法に関する指針」の最終案を修正している途中だが、素案の基盤が完成したら、次いで日本獣医再生医療学会と連携を取り、農林水産省や日本獣医師会の助言を受けながら、年内に指針を完成させる予定である。そして、2016 年 2 月に開催される日本獣医師会獣医学術学会年次大会（秋田）と第 12 回日本獣医内科学アカデミー学術大会での公表を予定している。

【さいごに】

犬や猫においても、治療効果が不明確な獣医療行為を提供する場合、もしくは治療効果が推定される先進獣医療を実施する場合は、一般的な治療行為と分けて考える倫理観が必要である。そして、そのような獣医療を提供する際には、現場レベルで指針を策定し遵守することにより、獣医師の社会的信頼を失うような行為を未然に防ぐようなルール作りが業界に求められている。

動物再生医療イノベーションフォーラムの設立と役割

一般財団法人生物科学安全研究所
濵岡　隆文

2015年4月、動物再生医療に関わる動物用医薬品、医療機器、試薬・培地、実験設備・機器等のメーカー、バイオベンチャー、受託検査・試験・研究機関等の企業・団体 15 所社、3 学術団体により動物再生医療イノベーションフォーラム（アニマル FIRM）が設立された。本稿では、アニマル FIRM 設立の経緯、目的、活動等を紹介し、動物再生医療の発展の一助としたい。

再生医療は、機能障害や機能不全に陥った組織・臓器に対して、細胞を積極的に利用して、その機能の再生を図るものと定義できる。我国では細胞工学分野の基礎研究領域では iPS 細胞等の世界をリードする研究成果が得られており、イノベーションとして再生医療普及への期待が大きい一方で、実用化されたヒト用再生医療等製品は 2 品目のみであることから、こうした現状の打開が求められた。このため、再生医療の普及、産業化を推進する上での技術的問題、社会的問題の解決を目指し関係企業等によって一般社団法人再生医療イノベーションフォーラム（Forum for Innovative Regenerative Medicine、FIRM）が 2011 年 6 月に設立され、具体的課題の整理と解決に向けた基盤整備を加速し、産官学民の連携による再生医療イノベーション実現に向け産業界自らが活発な活動を開始した。他方、規制当局である国は再生医療の普及実用化を推進するため、再生医療等製品の安全かつ迅速な提供に必要な再生医療等製品の特性を踏まえた新しい規制の導入を意図して薬事法を改正し、新法（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（医薬品医療機器等法）、2014 年 11 月施行）では再生医療等製品を新たに規定し、その条件及び期限付承認制度を導入した。

動物再生医療においては、間葉系幹細胞治療や活性化リンパ球療法などが民間臨床獣医師の挑戦的な取り組み、或いは大学等での臨床研究として取り組まれてきたが、先進的な獣医療や臨床研究に求められる安全性等を科学的及び倫理的な面から担保する統一的ガイドラインの不備等の問題も一部で指摘されてきた。そうした課題を踏まえ、臨床獣医師を中心に日本獣医再生医療学会が、大学・研究機関の臨床研究者等を中心に日本獣医再生・細胞療法学会が設立され、近年両者の連携により体系的な臨床研究の発展が期待される段階に至っている。一方、2014 年 11 月に施行された医薬品医療機器等法には「動物用再生医療等製品」が同様に盛り込まれており、動物再生医療用医薬品の実用化促進への枠組みが整備されたが、動物用再生医療等製品の開発、実用化への取り組みは途に就いたばかりである。動物再生医療を新たなイノベーションとして実現し、動物たちとその飼い主がその果実を得られる社会とするには、臨床獣医師・研究者による臨床研究と産・学協働による再生医療等製品の開発・実用化とが並行した一体的取組みとして進展することが不可欠である。

動物用再生医療等製品、特に細胞加工製品の開発、実用化には、細胞・組織・臓器等の取り扱い、培地等の製造関連の諸基準や有効性確認の基準の策定、品質・規格および安全性の確保など多くの新たな技術的、社会的課題が存在するが、特に動物再生医療分野では臨床獣医学、獣医免疫学や細胞生物学等の科学的基盤が脆弱、コスト負担の限界やそれに見合う規制の在り方などの特徴的課題が多く存在する。いずれにしてもそうした諸課題の解決には、動物再生医療の確立を支援する科学研究の進展を担う学、動物再生医療確立の基盤となる産業技術の開発・実用化を担う産、動物再生医療の特性を踏まえた適切な規制を担う官が情報を共有し連携して取り組む必要があり、産学官連携、協働の場となる公益的プラットホームの形成が要請された。

こうした経緯を踏まえ、動物再生医療に関わる関係者が情報を共有し、協働して社会的、技術的課題を乗り越え、動物再生医療の実用化と適切な普及を促進するための公益的活動基盤としてアニマル

FIRM が設立された。アニマル FIRM は、前述のように会員企業等 15 所社に学術団体として動物再生医療に関する専門学会 2 団体（前出）と免疫やバイオ医薬品に関する専門学会の動物用ワクチン・バイオ医薬品研究会を加えて任意団体としてスタートした。民間企業と学術団体が同じテーブルに付くことで、アカデミアが創成する研究成果や知見を民間企業が実用化し、社会実装するというプロセスを極めて効率的に実現できることが期待される。本会は、団体名称にある「イノベーションフォーラム」が示すように、動物再生医療という新しい技術を社会的価値として実装する公益性を目的の基本にすえ、①動物再生医療の研究推進及び実用化戦略並びに諸課題に対する提言と解決への行動、②国内外の関係者との交流、③動物再生医療に関する調査等を事業として活動する計画である。具体的な活動として、活きた細胞等を医薬品として加工、流通させるという特殊な特性を持つ再生医療等製品の開発、実用化に付随する新しい様々な課題、例えば、細胞加工製品の開発に欠かせない対象動物種毎の間葉系幹細胞固有マーカーの確立といった関係者が共有できる科学的基盤の創成から、動物用再生医療等製品或いは用いる原材料等の製造上の諸基準や安全性や有効性評価基準など現在未整備の様々な基準の設定など、関係者全体が共有する技術的、社会的課題の解決への取り組み、また、動物再生医療の特性を踏まえた適切な規制の在り方等についての当局との創造的かつ建設的な対話など、動物再生医療の持続的発展を支援するための多くの役割が期待される。

以上のように、アニマル FIRM は産学官連携による動物用再生医療等製品の普及・実用化を促進する公益的なプラットホームの役割を果たし、安全で有効な動物用再生医療等製品が適時、適切に供給され、獣医師により安全かつ有効な動物再生医療が適切なコストで提供できる技術体系が社会基盤として確立し、ヒトと動物の健康という普遍的価値を維持、向上させる新しい手法として動物再生医療が受け入れられる新しい社会が到来する動物再生医療のイノベーションを実現するための枠組みとなることが期待される。

会員名簿（2015 年 10 月 30 日現在）

株式会社アステック	DS ファーマアニマルヘルス株式会社
アニコムホールディングス株式会社	DS ファーマバイオメディカル株式会社
株式会社医学生物学研究所	日本全薬工業株式会社
MP アグロ株式会社	株式会社微生物化学研究所
カールツァイスマイクロスコピー株式会社	富士フィルム株式会社
株式会社ケーナインラボ	マルピー・ライフテック株式会社
コージンバイオ株式会社	横河電機株式会社
株式会社 J-ARM	ワケンビーテック株式会社
シスメックス株式会社	東京農工大学 TASRA
澁谷工業株式会社	動物用ワクチンーバイオ医薬品研究会
株式会社住化分析センター	日本獣医再生医療学会
一般財団法人生物科学安全研究所	日本獣医再生・細胞療法学会

日本獣医師会獣医学術学会　シンポジウムプログラム

日時：　　平成 28 年 2 月 26 日（金）16 時 00 分～18 時 30 分
場所：　　秋田キャッスルホテル

シンポジウム「小動物領域における再生医療研究の動向と安全性確保」

座長　　北海道大学　　小沼　操　氏

1. 「サイトカイン遺伝子治療と樹状細胞療法の併用によるがん免疫治療」
   大阪府立大学　　杉浦　喜久弥　氏

2. 「犬や猫における脊髄再生医療の現状」
   日本大学　　枝村　一弥　氏

3. 「小動物の角膜疾患と治療の現状」
   東京大学　　都築　圭子　氏

4. 「獣医臨床における再生医療ガイドラインの提言」
   東京大学　　佐々木　伸雄　氏

5. 「動物用再生医療等製品の開発のための試験法ガイドライン案」
   麻布大学　　平山　紀夫　　氏

サイトカイン遺伝子治療と樹状細胞治療の併用によるがん免疫治療

大阪府立大学生命環境科学研究科
杉浦　喜久弥

【はじめに】樹状細胞（DC）は、ナイーブ T 細胞に抗原を提示し、抗原特異的なヘルパーT 細胞（Th）や細胞障害性 T 細胞（CTL）などのエフェクターに分化させるのみでなく、それらの細胞を活性化し、免疫反応を増強する細胞である。これらの特性を利用し、がん患者から採取した末梢血単球あるいは骨髄細胞から DC を分化誘導し、がん抗原を提示させて再び患者体内に戻すことによって、がん細胞に対する免疫反応を高めて治療するという「DC 治療」が行われてきた。しかしながら、その治療効果は満足のいくものではなく、大部分の患者でがんの進行を抑制できないのが現状である。この原因の一つとして、がん組織中に浸潤した抑制細胞によるエフェクターの活性化阻害や DC の機能抑制が報告されている。そこで、演者らは、エフェクターや DC 活性を高めるサイトカインをがん組織内に注入してがん組織内の免疫環境を改善することで、免疫治療の効果を高められるのではないかと考えた。インターフェロンガンマ（IFNγ）は、がん免疫のエフェクターであるタイプ 1 Th（Th1）、CTL およびナチュラルキラー細胞の活性を高めるサイトカインであるが、演者らは、IFNγが DC を成熟、活性化させることも見出した。そこで、イヌ組換え体 IFNγを DC とともにがん組織内（i.t.）に注入したところ、乳管腺癌等の体表のがんを退縮または寛解させることに成功した（Cancer Res 2010）。しかし、IFNγ製剤の注入によって、一時的にがん組織内の濃度を高めても、拡散によって急速に低下してしまうので、投与を何度も繰り返さなければならず、正常な他の臓器への影響などの問題があり、さらなる改良が必要と思われた。そこで、演者らは、IFNγなどのサイトカインの遺伝子を腫瘍細胞に導入し、腫瘍細胞自身に分泌させることによってこの問題を解決できると考え、DC 治療との併用によるがん治療効果の向上について検討した。また、内臓腫瘍への応用を視野に、ベクターの静脈内（i.v.）投与による腫瘍への遺伝子導入とその治療効果についても検討した。

【生体内のがん細胞への遺伝子導入】一般的に、ウイルスベクターは、遺伝子導入効率が高いものの、免疫源性や腫瘍源性の問題があり、また、ほとんどのウイルスベクターの作製には、P2 以上の封じ込め設備と高度な技術が必要とされる。近年、河野らは、細胞のエンドソーム内の低 pH によって、エンドソーム膜との融合性が高まる pH 感受性ポリマーとがん親和性の高いトランスフェリンを含んだリポソームをカチオン脂質に結合させることによって、非常に効率的にがん細胞内に遺伝子プラスミドを導入できる新規人工ベクターを開発した（Bioconjugate Chem 2008 など）。本人工ベクターの作製には、封じ込め設備の必要もなく、作製も簡便であるため、本研究におけ

る遺伝子導入に用いることにした。マウスの背側皮下に同系マウス由来の腫瘍細胞株を接種して増殖させた後、green fluorescent protein（GFP）の遺伝子を挿入したプラスミド（GFP プラスミド）を本人工ベクターで内包し、i.t.または i.v.投与したところ、それぞれ腫瘍中の約 10%の細胞に GFP の発現が認められた。他方、肝臓、肺、骨髄などの正常組織には認められなかった。これらの結果から、本人工ベクターによって、効率的かつ腫瘍選択的に生体内のがん細胞に遺伝子導入できることが判明した。そこで、次段階として、本ベクターを用いてサイトカイン遺伝子を生体内のがん細胞内に導入する遺伝子治療と DC 治療の併用によるがん治療効果を担癌マウスモデルにおいて検討した。

【サイトカイン遺伝子治療と樹状細胞治療の併用によるがん免疫治療】治療実験では、背側皮下に同系腫瘍株を増殖させたマウスに、サイトカイン cDNA 含有プラスミド（サイトカインプラスミド）を上記ベクターで内包して i.t.または i.v.投与し、翌日に DC 治療を行う 2 群、サイトカインプラスミドの投与を同様に行うが、DC 治療を行わない 2 群、コントロールプラスミドを同様に投与し、DC 治療を行う 2 群、および無処置群の合計 7 群を設けて、7 日毎に 4 回の処置を行った。治療効果の評価は、エンドポイントを処置開始後 60 日とした生存率および腫瘍体積の増減に依った。

上述のイヌにおける研究結果をうけて、初めに、IFNγプラスミドを用いて治療効果を検討したところ、IFNγプラスミド i.v.投与と DC 治療の併用群で、最も長期間生存した個体がみられたものの、エンドポイントまで生存したものはなく、生存率も無処置群と比較して差が無かった。しかしながら、全群で比較可能な治療終了 7 日後の腫瘍体積の比較では、上記併用群と無処置群の間で有意な差がみられた。他方、IFNγプラスミド i.v.投与を行っても DC 治療を併用しない群では、腫瘍の成長に抑制がみられなかった。IFNγは、前述のように、がん免疫のエフェクターを活性化するが、長期に使用した場合、マクロファージからのプロスタグランジン E2 の産生を刺激し、それによってミエロイド系抑制細胞（MDSC）の発生を促すという報告もあり、それが IFNγ遺伝子の治療であまり良い結果が得られなかった原因の一つと考えられる。そこで、DC の成熟活性化に関して強い効果を示し、MDSC を発生させない CD40 リガンド（CD40 L）の遺伝子を IFNγ遺伝子に代えて同様の実験をおこなったところ、CD40 L プラスミド投与と DC 治療の併用群は、生存率においても、治療終了 7 日後の腫瘍体積においても、無処置群と比較して有意の差がみられた。とくに、CD40 L プラスミド i.v.投与と DC 治療の併用群では、44%（4/9）がエンドポイントまで生存し、その半数で腫瘍の完全な消滅が認められた。他方、CD40 L プラスミド投与のみの処置では、良好な結果は得られなかった。

これらの結果から、がん組織内の免疫環境を改善するサイトカインの遺伝子を用いた遺伝子治療と DC 治療の併用により、がん免疫治療の効果向上が得られることが示唆された。

【今後の展望】本研究において、サイトカインプラスミドの i.v.投与によって、より効果的に DC 治療効果を向上させることが明らかになった。このことから、本遺伝子治療は、内臓がんあるいはがんの内臓転移に対しても有効であることが示された。しかし、in vitro で分化させた DC を内臓のがん組織内に到達させることは、極めて困難である。この問題を解決するため、がん免疫を向上させるサイトカインの遺伝子とともに、DC への分化を促進するサイトカインの遺伝子をがん細胞に導入し、がん組織内に浸潤した患者体内の DC 前駆細胞や単球を DC に分化させることで、DC 治療と同等の効果を獲得することを考えており、今後、様々なサイトカイン遺伝子を組み合わせて、治療効果を検討していくつもりである。それらの研究成果を基に、最終的には、小動物のがん治療への臨床応用をしていきたいと考えている。

犬や猫における脊髄再生医療の現状

日本大学獣医外科学研究室
枝村　一弥

はじめに

動物医療においては、交通事故や高所からの落下による脊髄損傷の発生は減少傾向にあるものの、年間を通じて未だ多くの脊髄損傷が発生している。脊髄損傷による重度な麻痺の動物では、現在の医療技術を駆使してもその機能回復は困難であることが多く、最悪の場合には車椅子での生活を余儀なくされ、一生涯に渡る介護が必要となる。動物医療では安楽死が選択されることもあり、未だ脊髄損傷の画期的な治療法は確立していない。しかし、脊髄損傷で麻痺した動物が再び歩くことは、飼い主にとっての究極の願いである。近年では、動物医療においても脊髄再生医療に関する研究が始まり、注目される分野となってきている。本講演では、脊髄再生医療の研究や臨床効果について、当研究室での研究を中心に概説する。

幹細胞を用いた脊髄再生医療

成体哺乳類の脊髄神経は再生不可能であると信じられてきたが、最近では種々の実験系で脊髄神経の再生が確認されている。1990 年代から、ES 細胞、神経幹細胞、神経堤幹細胞、胎児由来神経幹細胞、成体多能性前駆細胞、臍帯血幹細胞、骨髄間質細胞、嗅神経鞘細胞などを用いた神経再生に関する研究が盛んに行われている。これらの細胞を脊髄損傷モデルに移植すると、運動機能の改善が認められ、損傷部の病理学的な検討においても脊髄の構造的な再生が確認されている。実際に、マウス、ラット、猿といった多くの動物実験モデルが使用されており、その有効性が示されている。したがって、これら全ての幹細胞が、将来に臨床応用される可能性があり、実際に人医療においてはその一部が既に臨床応用され始めている。未だ越えるべき壁が多いが、近い将来に動物医療においても脊髄再生医療が現実的な治療になるのかもしれない。本講演では、現在までに犬や猫で報告のある幹細胞を用いた脊髄再生医療に関する研究についても可能な限り紹介する予定である。

間葉系幹細胞を用いた脊髄損傷の治療

現在、動物医療においては、骨髄間質細胞や脂肪組織由来幹細胞といった間葉系幹細胞を用いた脊髄再生医療の臨床研究が盛んに行われている。当研究室では、骨髄間質細胞に注目し、脊髄再生医療の研究を展開している。骨髄間質細胞とは、骨髄細胞を培養したときの接着細胞で、非造血系の幹細胞である。さらに、骨、軟骨、筋肉、腱、脂肪といった間葉系細胞への多分化能を有していることが明らかとなっている。人、ウサギ、猫、マウス、ラットにおいては、外胚葉系であるニューロンやシュワン細胞への分化も証明されており、骨髄間質細胞は神経系組織を再生するための細胞源

のひとつとしても期待されている。実際に、骨髄間質細胞を脊髄損傷モデルに移植すると、外傷性脊髄空洞症の形成が明らかに抑制されることが多くの実験系で明らかになっている。損傷脊髄に骨髄間質細胞を移植すると、このような組織学的な改善のみでなく、機能的にも明らかに回復することが示されている。このように、脊髄損傷モデルに骨髄間質細胞を移植すると一定の機能回復が認められることが科学的に証明されている。しかし、骨髄間質細胞による損傷脊髄の修復機構は不明な点が多い。以前は、骨髄間質細胞も神経幹細胞などと同様に、損傷脊髄に定着して神経系細胞へと分化することで脊髄が再生するのではないかと推察されていた。しかし、大方の予想に反し、骨髄間質細胞を脊髄損傷モデルに移植すると、移植 3〜4 週以内にレシピエントの脊髄から消失することが種々の実験系で明らかとなっている。そのような理由から、現在では骨髄間質細胞から分泌される液性因子（trophic effect）が脊髄再生に最も貢献しているのではないかという考えが主流となってきている。

犬の骨髄間質細胞を用いた基礎的検討

当研究室では、約 15 年前から骨髄間質細胞を用いた脊髄再生医療に関する研究を行っている。犬の骨髄を採取してから、他の動物種で用いられている培地を用いて骨髄間質細胞を培養すると、培養の翌日には線維芽細胞様の付着細胞が認められ、約 10 日で 30 万個にまで増殖できることが確認できた。また、それらの犬の骨髄間質細胞は、骨、軟骨、脂肪への多分化能を持っていることが明らかになった。次いで、犬の骨髄間質細胞のニューロンへの分化能を検討したところ、多くの細胞がニューロン様の形態へと変化した。免疫染色を行ったところ、それら全てのニューロン様細胞がニューロンのマーカーに対して陽性であった。さらに、犬の骨髄間質細胞をニューロンへと分化誘導させた際の遺伝子の発現を real-time PCR にて検討したところ、ニューロンに関連する遺伝子の発現レベルが増加していた。さらに、塩基性線維芽細胞増殖因子（bFGF）を用いた培地で犬の骨髄間質細胞をニューロンへと分化誘導したところ、ニューロン様細胞が神経活動を有していることを世界で初めて確認した。また、犬の骨髄間質細胞は、軸索伸展因子や神経栄養因子に関する遺伝子発現が有意に多いことも確認し、どのような液性因子を多く発現しているかも明らかにすることができた。

日本大学動物病院における骨髄間質細胞を用いた脊髄損傷の治療成績

このような基礎的検討を根拠として、日本大学動物病院では脊髄損傷による完全麻痺でかつ深部痛覚が消失していて（グレード 5b）、損傷から 1 カ月以内までに骨髄間質細胞の移植が完了する症例を主な対象として脊髄再生医療の臨床研究を行った。これらの対象には、従来の椎骨固定術のみで改善する可能性のある症例は除外した。その結果、骨髄間質細胞を投与した 50%で麻痺肢の動きが認められ、25%で歩行が可能となった。一部の症例では、排尿時に片肢を挙げるなど、随意と思われる行動も確認することができた。一方で、全例で深部痛覚の回復は認められていない。歩行が可能と

なった症例で、MRI を経時的に撮像したが、症状の改善に比例した脊髄空洞症の縮小効果は認められなかった。そのため、症状の改善が脊髄の再生によるものか否かについては、さらなる検討が必要である。当施設の検討では、骨髄間質細胞をより多く損傷部位周囲に投与できた症例で、症状がより回復する傾向が認められた。

さいごに

動物医療においても、再生医療の研究が進んでいるが、残念なことに現実的な治療として定着するにはさらなる検討が必要である。動物の iPS 細胞や ES 細胞を臨床応用するには、未だ長い道のりがあるが、骨髄間質細胞を用いた再生医療は近い将来に実現できる可能性を秘めている。再生医療に関する研究が進めば、難治性疾患の治療成績が格段に向上したり、不治の病が治療可能となったりするなど大きな恩恵が受けられる。これは、治療を受けた動物のみではなく、飼育している家族の幸せにもつながる。再生医療を流行として終わらせずに、現実的な医療にするのが我々の使命である。

謝辞

これらの研究は、科学研究費補助金：基盤 C（24580465・15K07752）、科学研究費補助金：若手 B（18780240）、日本大学学術助成金（奨 05-048）、日本大学生物資源科学部学術助成研究費（平成 24 年度、平成 25 年度、平成 27 年度）の助成を受けて行われた。

小動物の角膜疾患と治療の現状

東京大学大学院附属動物医療センター
都築　圭子

はじめに

角膜は眼球の一番表面に位置し、大きく分けて４層構造からなる。外界からの光が角膜で屈折し、眼内に入り網膜で像が結ばれる。角膜が損傷することによりこの機能が崩れ、人では大きな視力障害となる。人医療ではこのような角膜障害に対し視力の回復を目的として角膜移植が古くから行われているが、アイバンクのドナー不足が大きな問題になっている。これらの問題に対し、角膜輪部の細胞や口腔粘膜の細胞から角膜上皮培養シートの作製や現在では内皮細胞シート作製の研究も進められて飛躍的に角膜再生は進歩している。一方、犬猫の角膜疾患は点眼治療による内科的治療と手術による外科的治療が行われており、人と異なり眼球温存が目的となっている。しかし、近年では飼い主の動物に対する意識の向上により、眼球の温存はもちろん角膜の透明性の回復を要求されることも多くなっている。

獣医医療で行われている角膜障害に対する治療

犬猫の角膜障害の治療は角膜炎など軽症であれば抗コラゲナーゼ作用を持つアセチルシステイン点眼液や自己血清点眼液を使用し、涙液補充としてヒアルロン酸ナトリウム点眼液、感染制御として抗菌薬の点眼を使用することがほとんどであり、これらの使用により角膜障害は治癒し、混濁もあまり残らないことがほとんどである。一方で、角膜実質深層におよぶ角膜潰瘍や角膜穿孔など点眼治療のみでは眼球の温存が望めない場合は、結膜被覆術を行う。しかし、この方法は眼球の温存は可能であるが重度の角膜混濁が残る。重度の角膜潰瘍や角膜穿孔に対し、角膜移植術も適応であり混濁の残存が少ない手技であるが、ドナー角膜の入手が困難であること、手技、拒絶や炎症のコントロールが難しいことから獣医臨床ではあまり一般的には行われていない。羊膜移植術もいくつか報告があり、角膜移植術より操作が簡便で、拒絶や炎症反応、混濁の残存が少ない方法であるが、角膜と同様に羊膜の入手が困難という問題がある。角膜潰瘍や角膜穿孔以外に、角膜ジストロフィーなど遺伝性疾患、乾性角結膜炎など涙液量が減少することにより発症する色素性角膜炎、猫の角膜黒色壊死症なども角膜炎や角膜潰瘍の治療を行っても角膜混濁による視覚障害が問題になっている疾患があり、眼球の温存は可能であるが、角膜混濁を軽減させ視覚回復が可能な治療方法が確立されていないのが現状である。

今後の獣医療の角膜障害の治療

近年、獣医療においても再生医療が進歩し、角膜再生もその一つである。我々は犬

の角膜障害の治癒をめざしており、まず角膜上皮細胞の培養から角膜上皮培養シートの作製を行い、犬の角膜上皮損傷モデルに移植し良好な結果が得られたことを報告した。今後は臨床応用を行う予定である。そして、実際の症例でよく見られる角膜潰瘍や穿孔など深層の損傷に移植可能な角膜再生材料の開発も進める予定である。そのほか、遺伝性疾患である角膜内皮ジストロフィーなど慢性的な角膜内皮障害による角膜上皮びらん、色素性角膜炎など涙液減少が原因による角膜上皮障害、感染性疾患の多い猫の角膜炎などに対し、上皮の再生を促すことが可能な薬剤の研究も進めている。

今後の獣医眼科領域においても、角膜障害や網膜疾患などによる視覚低下や視覚喪失に対する視覚回復を目指し、それぞれの障害部位に適した再生移植材料の開発が必要になると思われる。

獣医臨床における再生医療ガイドラインの提言

日本獣医再生・細胞療法学会
佐々木　伸雄

ES 細胞や iPS 細胞の開発ならびに様々な幹細胞に関する研究が進展し、いよいよ再生医療の臨床応用に対する期待が高まっている。獣医学領域においても、再生医療に関わる研究や臨床研究がスタートしており、今後の進展が期待される。

しかし、再生医療の治療効果に関してはまだ不明な点も多く、将来の臨床応用に向け、さらに多くの基礎的並びに臨床研究が必要である。これらの研究が社会から広く受け入れられるためには、より科学的かつ倫理的な配慮を持って進められなければならない。

このような状況を背景として、我々の学会では、すでに臨床獣医師が中心となって設立した日本獣医再生医療学会と協力し、獣医領域における再生医療・細胞療法に関わる臨床研究や臨床応用に関するガイドラインの策定を試みた。現在、その内容に関して両学会の間で検討しているところであり、まだ最終案ではないが、その概要について報告する。

このガイドラインは､分離した幹細胞ないしそれを含む細胞群､培養した幹細胞、および薬剤処理を行った免疫細胞等を治療の目的で、主として犬および猫の体内に移植ないし投与する獣医療行為ないし臨床研究を対象としている。またこれら細胞の調整および保管に関してもガイドラインを設定している。

対象とする疾患は、犬および猫で病気ないし外傷等により修復困難な臓器・組織の障害がある、あるいは治療困難な腫瘍等があり、その修復あるいは生活の質の向上が得られると考えられる疾患であり、かつ、これらによる治療が従来の治療法による成績と同等ないしそれ以上の成績が予想されるものである。また、これらの疾患に対してすでに効果的な治療法がある場合、再生・細胞療法の方が危険性が少なく、何らかの利点がある、と判断される必要がある。

ガイドラインの中で、もっとも重視される点は、倫理性の確保である。さらに、その有効性と安全性に関し、適切な実験等に基づく科学的治験によって裏打ちされたものでなければならない。さらに用いる細胞等の品質や安全性も担保されていなければならず、公衆衛生上の安全性にも配慮されていなければならない。

また、再生医療や細胞療法に関しては、まだ十分に確立された治療法ではないため、飼い主に対してその効果、有効性、ならびにリスクに関しても十分なインフォームドコンセントが必要である。インフォームドコンセント内容に関しても細部にわたる内容を決め、その確実な実施を求めている。同時に、再生医療・細胞療法に関する臨床研究等に関しては、インフォームドコンセントの内容を含め、きちんと記録を残し、情報公開請求に対しては適切に対応しなければならない。

一方、実際の細胞・組織の採取、その後の調整、保管などの具体的な工程に関わる基準や標準操作手順書などに関わるガイドライン、細胞等の品質に関わる各種の検査法やその基準、保管や輸送に関する基準などを詳細に決めている。これらは、基本的には本シンポジウムで報告される動物用再生医療等製品に関わるガイドラインにほぼ準拠すべきと考えられる。

これらの細胞等の移植ないし投与方法に関しても、その安全性が求められている。治療効果に関しては、科学的な方法で判定し、その記録を残すことが求められる。さらに、用いた細胞等に関し、遅発性感染症も考慮し、可能な限り保存することが求められている。

このようなガイドラインの基に、今後多くの臨床研究が進展し、効果的な再生・細胞療法が開発されることを期待している。さらに、これらの治療法が飼い主から信頼を持って受け入れられることを期待するものである。

動物用再生医療等製品の開発のための試験法ガイドライン案

麻布大学客員教授
平山　紀夫

１．試験法ガイドラインの必要性

iPS 細胞等の多能性幹細胞の活用は、再生医療分野と創薬応用について盛んに研究開発が進められている。平成 26 年 11 月に施行された「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」では再生医療等製品という新しいジャンルが追加された。再生医療等製品は、品質、有効性及び安全性が厳格に求められる医薬品等と異なり、有効性については推定できれば条件付きで承認されるという画期的なものである。しかし、このような新しい製品群の普及を図るためには、その特性を踏まえた安全性等の新たな基準作りが不可欠である。動物用再生医療等製品の開発に必要な試験方法とその評価法を明示したガイドラインが作成されることにより、試験実施方法の定型化、審査基準の明確化が可能となり、当該製品の申請者の負担軽減及び審査の効率化が図られ、結果として当該製品が臨床現場で早く使用できるようになる。

２．動物用再生医療等製品の開発のための試験法ガイドライン案の概要

本ガイドライン案の作成は、動物用ワクチン-バイオ医薬品研究会が平成 26 年度農林水産省の補助事業として実施したものである。学識経験者及び再生医療の専門家から成る「動物用再生医療等製品安全性試験等開発検討委員会」を組織して計 9 回の会議を開催して内容を検討した。また、実際に再生医療に関する研究や開発を行っている施設での調査や国内外の関連通知を収集して、検討の参考にした。なお、作成したガイドライン案の表題は、「動物細胞加工製品（同種由来）の品質及び安全性確保に関する指針（素案)」となった。

（１）目的

動物用再生医療等製品は多様であるため、最も開発が先行すると思われる同種由来細胞（自己由来のものを除く。）を加工した製品群を対象とし、品質・安全性等の確保のための基本的な技術要件を定めている。

（２）指針素案の構成

指針素案は、総則、製造方法、安定性、安全性試験、薬理試験、体内動態及び臨床試験を始めるにあたっての 7 章から成る。第 2 章の製造方法がボリュームも多く、詳細な記述となっている。

（３）製造方法

ドナーの選択基準、ドナーから目的とする細胞・組織の採取方法、その適格性、培養に使用する培地成分や製造関連物質の管理方法、細胞に遺伝子工学的改変を加え

る場合の注意点、最終製品の品質管理法等が規定されている。最終製品の品質管理法としては、細胞数並びに生存率、確認試験や純度試験、無菌試験やウイルス否定試験等 11 項目を例示している。

（４）安全性試験

安全性試験については、当該製品の特性に応じて既存の動物用医薬品の安全性試験法ガイドラインを準用することとしているが、標準的な試験法を明示している。

（５）薬理試験・体内分布

薬理試験や体内分布については、技術的に可能でかつ科学的合理性がある範囲で実施するが、国内外の文献又は知見等を利用しても差し支えないとしている。

（６）臨床試験を始めるにあたって

臨床試験を実施する際の治験実施計画書についての留意点を示してある。

３．本指針（素案）の今後

平成 27 年度事業として継続しており、本指針についての解説書を作成中である。また、関連学会等で発表し、意見徴収しており、最終的な見直しを行い、本指針（案）及び解説書（案）として農林水産省に提出する予定である。

別添４

指針（素案）及び解説書（素案）作成のための情報収集

3）再生医療等製品関連施設の現地調査報告

「再生医療セミナー2015」参加報告

開催日　　平成 27 年 8 月 28 日（金）10：00～17：00
開催地　　CIVI 研修センター　新大阪東 E705
主催　　シスメックス株式会社
報告者　　動物用ワクチンーバイオ医薬品研究会　事務局

【まとめ】
・エンドトキシン試験は、日本薬局方ではリムルス試験を行うこととなっている。「ヒト（自己）由来細胞・組織加工医薬品等の品質及び安全性の確保に関する指針に係る Q&A について」では、エンドトキシン試験の基準について、「日本薬局方等を参考にすること」との記載があり、試験法の詳細について規定はないことから、①測定方法に対して、また②エンドトキシン規格値設定に対して、それぞれの日本薬局方の考え方に沿う必要がある。①の測定方法については、試薬の性能、使用器具、操作者の技術の確認（日本薬局方では「検量線信頼性確保試験」）や、偽陽性、偽陰性がないことの確認（日本薬局方では「反応干渉因子試験」）が必要である。②の規格値については、日本薬局方で規格値を設定する際に用いられる M 値（ヒト最大投与量）は、ヒトの体重（日本薬局方は 60 kg、また欧州や米国では 70 kg）を元に算出する。これは動物においてどのような考え方とするか難しいところである。
　また、参考までにヒトにおけるエンドトキシンの発熱性については、米国薬局方に準じた試験法でエンドトキシン投与後 5 時間の 1°F（0.56℃）発熱する 50%のしきい値は、4.1±0.55 EU/kg である（H. D. Hochstein, et al. Journal of Endotoxin Research 1, 52-55 (1994)）。

・*Propionibacterium acnes*（アクネ菌）は嫌気性菌であり皮脂腺の奥に存在する。表皮常在菌では最も多く存在し、採血等の注射針による経皮的採材では、注射針に付着して材料を汚染する可能性がある。日本薬局方では無菌試験の直接培養法において、被験製品を 14 日以上培養することになっているが、アクネ菌は増殖が遅いため 14 日の培養では出てこないことがある。無菌培養で 20 日程度の培養を行ったところ、アクネ菌が検出されたということであった。

・医薬品では成人であれば体重に関係なく〇錠と用量が決められている。再生医療において投与する細胞数は体重当たりとなるのであろうが、その妥当性について検証が必要である。また、細胞製品を滅菌するのは不可能であり、無菌検査において非検出の結果が出たとしても実際のところ滅菌されているかどうかは不明であるため、最終製品では投与までの時間がない中で、日本薬局方に準じた試験法を実施する必要がある。米国では再生医療等製品に関しても GMP に準じて実施しようとしているが、日本では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（GCTP）があり、

「正しく」製品を作る考え方を実施している（ただし、動物では GMP に準じて実施するしかない現状にある）。その他、理化学研究所の高橋氏が加齢黄斑変性に対する iPS 細胞から作製した網膜色素上皮の移植手術を行ったのと同時期に、米国のチームが ES 細胞由来の網膜色素上皮の移植を行い、論文報告している。当該論文の supplementary appendix には安全性評価の方法や結果等について詳しく記載されており、これらを例示して安全性試験に関する詳しい説明がなされた（詳しい内容については S. D. Schwartz, et al. Lancet, 379, 713-720 (2012) 及び S. D. Schwartz, et al. Lancet, 385, 509-519 (2012) 参照。）。

横河電機株式会社金沢事業所における施設見学について

開催日　　平成 28 年 1 月 22 日（金）13：00～15：00
開催地　　横河電機株式会社金沢事業所
報告者　　動物用ワクチンーバイオ医薬品研究会事務局

事業所の概要

1996 年からライフサイエンス事業（共焦点顕微鏡）を立ち上げ、2005 年から金沢に事業の拠点を移した。

製品の概要

共焦点顕微鏡は、他社と異なりマイクロレンズ付きニポウディスク方式（多数のピンホール等をピッチらせん状に配置したニポウディスクと、各ピンホールにレーザーを集光するマイクロレンズディスクを高速回転させて少光量で多数のスキャンを同時に行う方式）を採用しており、高速スキャンが可能で、低退色、低光毒性という特徴がある。

製品構成

大きく分けて、既存の顕微鏡と組み合わせる共焦点スキャナユニット（CSU システム）、顕微鏡と一体化したスキャナボックス（CV1000）、およびデータ解析も組み込んだ共焦点定量イメージサイトメーター（CQ1 および CV7000）の 3 種の製品を製造している。

共焦点イメージングにより、厚い試料をスキャンして 3 次元の画像を取得し、定性および定量解析が可能になる。また、レーザー光によるダメージが少ないため、培養機能を付加して継時的な観察も可能である。イメージサイトメーターでは、大量の細胞を対象として細胞 1 個 1 個の変化を数値化しその変化を解析したり、96 穴マイクロプレートの各ウエルに異なる薬剤等を滴下して同時に変化を測定するなど高度な観測が可能である。

具体的な応用例としては、細胞集塊の分化誘導評価、iPS 細胞の品質評価、細胞核の顆粒形成（DNA ダメージ）測定、アポトーシス測定、M 期阻害剤の活性測定等が紹介されており、共焦点スキャンと同時にデータ解析が可能なイメージサイトメーターは、再生医療に用いる細胞等の品質管理や細胞操作など

の検討に有用だと考えられる。

新しい取り組み

フィンランドのチップマンテクノロジー社の非染色生細胞画像からのコンピュータ解析ソフト（CellActivision）を導入し、販売を始めたほか、共焦点スキャンの超解像技術開発および一細胞創薬支援にも取り組んでいる。

澁谷工業株式会社における施設見学について

開催日　　平成 28 年 1 月 22 日（金）15：00～17：00
開催地　　澁谷工業株式会社
報告者　　動物用ワクチンーバイオ医薬品研究会事務局

今回の施設見学では、澁谷工業(株)における再生医療事業を含む、パッケージングプラント事業部門の見学を行った。同社では、再生医療において基盤から製品化にいたるまでの課程をサポートできる機器を製造している。その中で代表的な、細胞培養アイソレータ、ロボット細胞培養システム、バイオ 3D プリンターに関する説明を受けたので報告する。

・細胞培養アイソレータ CPi

セルプロセッシングセンター（CPC）施設における無菌操作をこのアイソレータ内で行える。このアイソレータを基本とした細胞培養施設（CPF, Cell Processing Facility）の設計も行っている。CPC では施設そのものが大掛かりとなるが、CPF では清浄度の低い建物にアイソレータ等のユニットを設置することにより、CPC と同等の機能を構築できる。CPC では建築費等のイニシアルコストもかさみ、使用時以外でも環境維持のため電力を使うが、この機器は使用時以外、電源を切ることができるので、建築費用およびランニングコストが大幅に削減でき、設置スペースが 50%削減される上、環境内の滅菌燻蒸が容易である。さらに無塵衣の着用が不要であるため、そのコストや操作者の負担が軽減される。また、Standard Operating Procedures（SOP）に定められた作業手順を iPad で音声及び画像によってガイダンスするシステムも提供している。

なお、CPF 内のアイソレータ、ロボット細胞培養システム等のユニットを無菌接続するインターフェースの国際標準化も提案している。

・ロボット細胞培養システム CellPROi

このシステムは、過酸化水素で除菌処理できる双腕ロボットを搭載しており、物品の搬入や溶液のセットを手動で行えば後は機械的に操作できる。細胞の状態を培養システムから出さずに顕微鏡観察することが可能で、また、自動化により品質の安定化、コスト削減、省人省力化、作業の標準化が可能となった。

工程中で手作業が必要な場合はグローブを使用するが、従来のアイソレータよりもグローブが薄く、作業がしやすい特徴がある。グローブの穴は 100 ミクロン程度までシステムで感知できる。あらかじめ作成してある SOP に従って、ロボットが培養操作する。長期培養でも可能なようにインキュベータが 2 台接続されており、交換が可能である。

・バイオ 3D プリンターregenova
直径 0.5mm 程度の細胞塊（スフェロイド）を 3D データのとおりに培養液中の剣山に串刺しにすることによって固定して培養し、固定したスフェロイドが自己組織化した後に剣山を抜き、細胞のみで立体組織を構築するものである。

株式会社ジャパン・ティッシュ・エンジニアリングにおける施設見学について

開催日　　平成 28 年 1 月 28 日（木）13：00～15：00
開催地　　株式会社ジャパン・ティッシュ・エンジニアリング
報告者　　動物用ワクチンーバイオ医薬品研究会事務局

はじめに、小澤洋介社長から事業の概要の説明があった。現在、国内で再生医療等製品は 4 製品が承認されている。他のアジア各国（特に韓国）や欧州（特にドイツ、また欧州では同種細胞利用製品が承認されていない。宗教的な理由が背景であることと同時に、かつては再生医療等製品が製品ではなく医療行為として承認されていたことがその理由であるということである。）及び米国と比較するとまだ製品数が少ないが、その中で株式会社ジャパン・ティッシュ・エンジニアリングは国内で最も早く、「JACE」、「JACC」の 2 種の再生医療製品を製品化している。この 2 製品は我が国で初めての再生医療製品であったこと、また薬事法の改正前であったことから、承認を取得するまでの多くの苦労があったとのことであり、また経営的にも未だ黒字にはなっていないとのことであった。今後の製品開発については、自家培養角膜上皮製品や「JACE」の適用拡大を考えているとのことであった。また、同社の培養技術を活かして、研究用ヒト培養組織ラボサイトシリーズ「LabCyte」も販売している。

この後、同社製造施設を見学した。GMP 上の制約があるため無菌エリアに立ち入ることはできなかったが、培養室はモニターにより内部の様子を確認することができた。監視モニターを設置することで規制当局からの査察を受ける際、作業者以外の人間が無菌室に入室する必要がなくなるため、規制当局側から実際に提案されたという。モニターで確認できる映像は一定期間ストックされているため、製品にトラブルが発生したときの作業工程を遡及して確認することも設置してある目的の一つとなっている。映像データは出荷製品の無菌検査結果が出るまで保存されており、その後にデータをオーバーライトする仕組みになっている。

培養作業を実施するのにあたっては、作業者の教育が重要となる。同社では、培養作業者を認定制として、入社以前の培養経験は考慮されない仕組みとしている。感染症に罹患している患者の組織や細胞を培養することもあり得るが、無菌操作を含む作業工程が適切に行われていれば作業者への影響は特別な考慮が必要なレベルとは考えていない。健康診断でも感染症に罹患しているか否かはチェックされている。

また、再生医療製品は施設（CPC）への初期投資および稼働のためのエネルギーコストがかかるものであるが、同社では製品の保険適用から 365 日施設を稼働しなければならないため、そのコストは相当なものとなっている。施設については、CPC ではなくアイソレーターを設置する方法もあるが、こちらもかなりの初期投資が必要になるとのことであった。

施設見学の後、実際に「JACE」、「JACC」の現物を用いた説明とデモンストレー

ションにより、どのように移植するか、また医療現場に対する説明方法、説明資料等についても詳しく説明を受けた。

「JACE」は適用対象を重症熱傷とした自家培養表皮である。切手大の皮膚を患者から採取し、それを 3 週間で一畳分のサイズに培養する。一枚のシートは 8 cm x 10 cm の大きさで、40 枚までが保険適用の対象となり、1 枚 314,000 円である。保険適用対象のハードルは高く、深達性Ⅱ度+Ⅲ度で全身の 30%以上が熱傷でなければならない。また承認申請時に「〇例以上の手術をこなした医者が移植手術を行うこと」といった条件を設けるよう審査側から指示を受けており、当時の行政官が再生医療製品という新しい製品に対してより高い確実性を求めていたことが窺える。平成 27 年 3 月期の売上高は前期よりも減少したが、その理由は熱傷患者の発生が少なく受注件数が減少したこと、さらに患者死亡等の理由による中止率の増加によるものであった。

また、同社では台湾八仙水上楽園事故が発生した際、「JACE」を無償提供し、適応対象であった 5 名の「JACE」生着率は 4 週間後に 80%以上、4 名の患者が退院済ということであった。

「JACC」は適応対象を膝関節における外傷性軟骨欠損症又は離断性骨軟骨炎（変形性膝関節症を除く）の臨床症状の緩和であり、他に治療法がなく、かつ軟骨欠損面積が 4cm^2 以上の軟骨欠損部位に適用する場合に限るとしている。「JACE」同様、保険適用のハードルが高い。本製品は使用した個数に係わらず 1 治療 2,130,000 円であり、正常部位の軟骨を採取してアテロコラーゲンゲルの中で約 4 週間培養した後、軟骨欠損部に移植する。移植手術について説明を行うため、同社では模型を手作りし、その模型を用いて医師へ説明を行っている。また医師から患者へ説明を行うときにもその模型を用いることがあるそうで、行おうとしている手術を視覚的に確認できるため好評とのことであった。

以上