第43回　日本毒性学会学術年会
シンポジウム17-4

医薬品医療機器法下におけるヒト細胞加工製品の非臨床安全性評価について

独立行政法人 医薬品医療機器総合機構（PMDA）
再生医療製品等審査部

角田 聡

シンポジウム17-4

医薬品医療機器等下におけるヒト細胞加工製品の非臨床安全性評価について

発表者名：角田　聡

演題発表に関連し、開示すべきCOI

関係にある企業等はありません。

本発表は演者の個人的見解を示すものであり、

所属する組織の公式な見解ではないことをご留意ください。

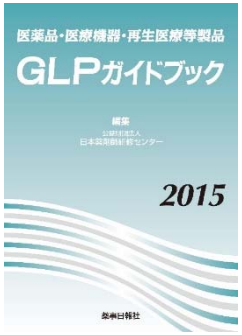
本日の内容

1. 細胞加工製品の概要

2. 非臨床安全性評価の指針等

3. 非臨床安全性評価項目
   ① 一般毒性
   ② 造腫瘍性
   ③ 生命維持に関わる重要な器官・組織への影響
   ④ 製造工程由来不純物
   ⑤ 遺伝子改変に関する事項

4. PMDAへの相談方法



本日の内容

1. 細胞加工製品の概要
2. 非臨床安全性評価の指針等

3. 非臨床安全性評価項目
   ① 一般毒性
   ② 造腫瘍性
   ③ 生命維持に関わる重要な器官・組織への影響
   ④ 製造工程由来不純物
   ⑤ 遺伝子改変に関する事項

4. PMDAへの相談方法

ヒト細胞加工製品とは

再生医療等製品は、以下に掲げる製品であって政令で定めるもの

（1）ヒト又は動物の細胞に培養等の加工を施したものであって、

イ　身体の構造・機能の再建・修復・形成するもの

ロ　疾病の治療・予防を目的として使用するもの

（2）遺伝子治療を目的として、ヒトの細胞に導入して使用するもの

注）腫瘍溶解性ウイルス含む

ヒト細胞加工製品は（1）- イ）及びロ）に該当するもの

ヒト細胞加工製品の分類と指針

- 体細胞由来細胞
- 体性幹細胞由来細胞
- iPS（様）細胞由来細胞

×

- 自己由来
- 同種由来

- ES由来細胞

遺伝子改変の有無

- ✓ ヒト（自己）由来細胞や組織を加工した医薬品又は医療機器の品質及び安全性の確保について
- ✓ ヒト（同種）由来細胞や組織を加工した医薬品又は医療機器の品質及び安全性の確保について
- ✓ ヒト（自己）体性幹細胞加工医薬品等の品質及び安全性の確保について
- ✓ ヒト（同種）体性幹細胞加工医薬品等の品質及び安全性の確保について
- ✓ ヒト（自己）iPS（様）細胞加工医薬品等の品質及び安全性の確保について
- ✓ ヒト（同種）iPS（様）細胞加工医薬品等の品質及び安全性の確保について
- ✓ ヒトES細胞加工医薬品等の品質及び安全性の確保について

指針における主な非臨床安全性評価項目

- ✓ 一般毒性試験の実施
- ✓ 細胞・組織が産生する生理活性物質の影響
- ✓ 正常な細胞又は組織への影響
- ✓ 異所性組織を形成する可能性
- ✓ 目的外の形質転換を起こしていないこと
- ✓ 腫瘍形成及びがん化の可能性
- ✓ 生命維持に関わる重要な器官・組織への影響
- ✓ 製造工程由来不純物の安全性評価
- ✓ 望ましくない免疫反応が生じる可能性
- ✓ 遺伝子改変が行われている場合には、遺伝子治療用製品指針に定める安全性評価

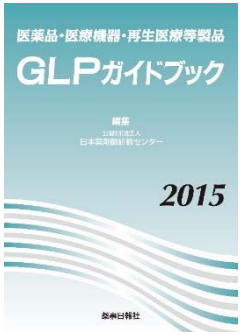
本日の内容

1. 細胞加工製品の概要

2. 非臨床安全性評価の指針等

3. 非臨床安全性評価項目
   ① 一般毒性
   ② 造腫瘍性
   ③ 生命維持に関わる重要な器官・組織への影響
   ④ 製造工程由来不純物
   ⑤ 遺伝子改変に関する事項

4. PMDAへの相談方法



一般毒性試験の目的

1. 評価上の留意点

無毒性量や毒性の用量相関性をヒトへ外挿することの意義は低い

理由：ヒト細胞を動物へ投与することによる試験系の限界

- ✓ ヒト細胞を動物へ投与した場合の異種免疫反応（回避には免疫不全動物の使用）
- ✓ ヒト細胞から産生される生理活性物質（サイトカイン等）の種差

2. 評価目的

全身及び局所毒性に関するハザード評価

- ✓ 毒性標的の器官・組織、毒性の種類を把握
- ✓ 治験時に想定される有害事象モニタリング項目の検討

3. 試験成績の指針中で示される評価項目への活用（例）

指針中に示される評価への説明根拠（ハザード評価の観点から）

- ✓ 細胞・組織が産生する生理活性物質の影響（ただし種差の限界を考慮）
- ✓ 正常な細胞又は組織への影響
- ✓ 異所性組織を形成する可能性
- ✓ 生命維持に係わる重要な器官・組織への影響

試験条件　～被験製品、投与、観察・検査項目～

被験製品	● ヒト由来の細胞加工製品 ⇒ 治験で用いる最終製品を使用 ● 使用動物に由来する製品モデル（サロゲート） ⇒ 治験に用いる**ヒト最終製品と品質の類似性を担保**
投与方法	● 原則、臨床適用経路 ● 臨床適用経路の選択が困難 ⇒ 代替経路：ただしヒトへの安全性が評価可能なことを説明
投与量	● 媒体対照群、被験製品群：1用量以上 ⇒ 最大投与量：最大耐量（MTD）、投与可能最大量（MFD） ⇒ 全身毒性を評価可能な範囲の最大投与量を適切に設定
投与回数・期間	● 原則として臨床試験における投与回数・期間で実施 ⇒ ヒト生体内の残存性、生体内での増殖性等も考慮 ● 最低でも14日間以上の観察。全身毒性が適切に評価可能な時点
動物数/群、 観察・検査項目	● 医薬品毒性試験法ガイドラン、反復投与毒性試験の項を参照 ⇒ 一般毒性試験で実施されている通常方法を採用 ⇒ 病理組織学的検査は、原則して全身の器官・組織の実施

試験条件　～動物種の選択～

使用動物は合理的な根拠に基づき選択

動物種 性別	ヒトに投与した場合、一定期間生着が見込まれるもの ● 免疫不全動物の使用 ⇒ nude mouse/rat、scid mouse、NOG mouse、NSG mouseなど ● 免疫抑制剤の使用 ⇒臨床適用経路の観点から大動物を用いる場合など ● 効力を示す動物種、疾患モデル動物の使用 ● 男女の被験者へ投与 ⇒ 原則、雌雄動物を使用
動物種数	動物1種評価も可 ⇒ 一般毒性が適切に評価可能な種（系統）を選択できれば 臨床適用経路が特殊な場合 ⇒ 局所評価の観点からヒト投与方法が可能な種も考慮

一般的に使用 ≠

生着性の観点 ＝

投与経路の観点 ＝

細胞加工製品の造腫瘍性試験

主な試験方法

in vitro 試験

・核型分析試験等
⇒　遺伝的安定性

・軟寒天コロニー形成試験
⇒　足場非依存的な増殖能

in vivo 試験

・免疫不全動物を用いた試験
⇒　生体内での腫瘍形成能

⚠ 製品のリスク程度により必要な試験は異なる

造腫瘍性リスクの種類

指針中の造腫瘍性リスクに関する記載

- ✓ 目的外の形質転換
- ✓ 腫瘍形成及びがん化の可能性

↓

造腫瘍性リスクとは

- ✓ 悪性形質転換細胞による悪性腫瘍形成リスク
  - ⇒ 発生する腫瘍の種類・発生部位・時期の予測は困難
- ✓ 奇形腫形成リスク
  - （多能性幹細胞を製造に用いる場合）

多能性幹細胞・体性幹細胞などから製造

↓

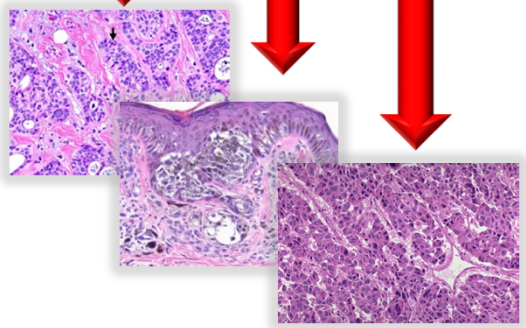
製造過程で生じる悪性形質転換細胞の混入

↓

最終製品自身の悪性形質転換能

↓

性質不明な悪性形質転換細胞による悪性腫瘍形成



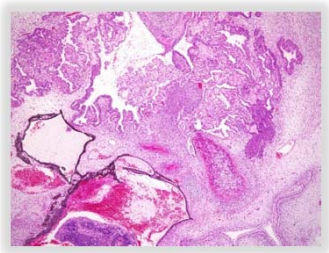
多能性幹細胞から製造

↓

多能性幹細胞の最終製品中への混入

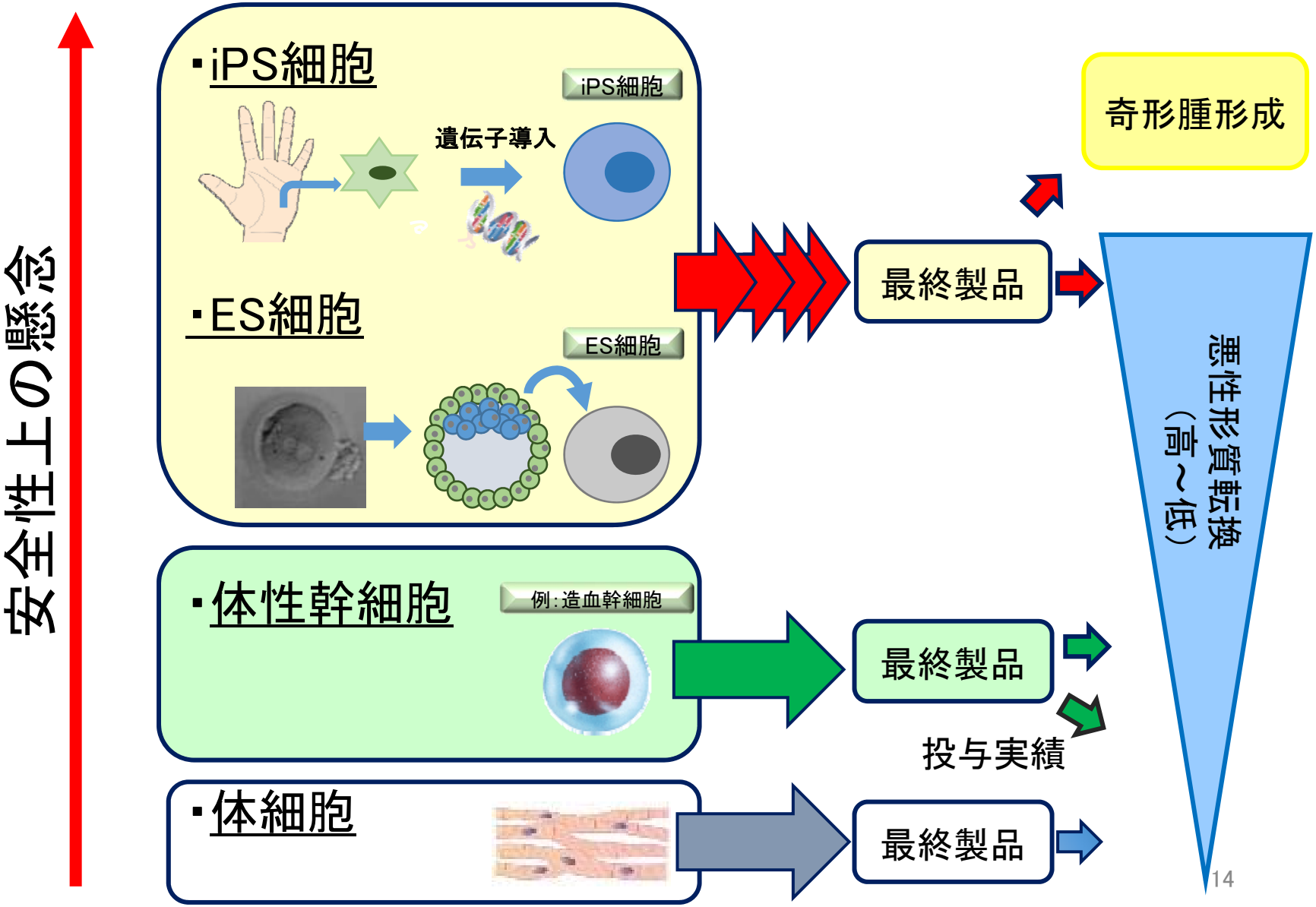
↓

奇形腫形成

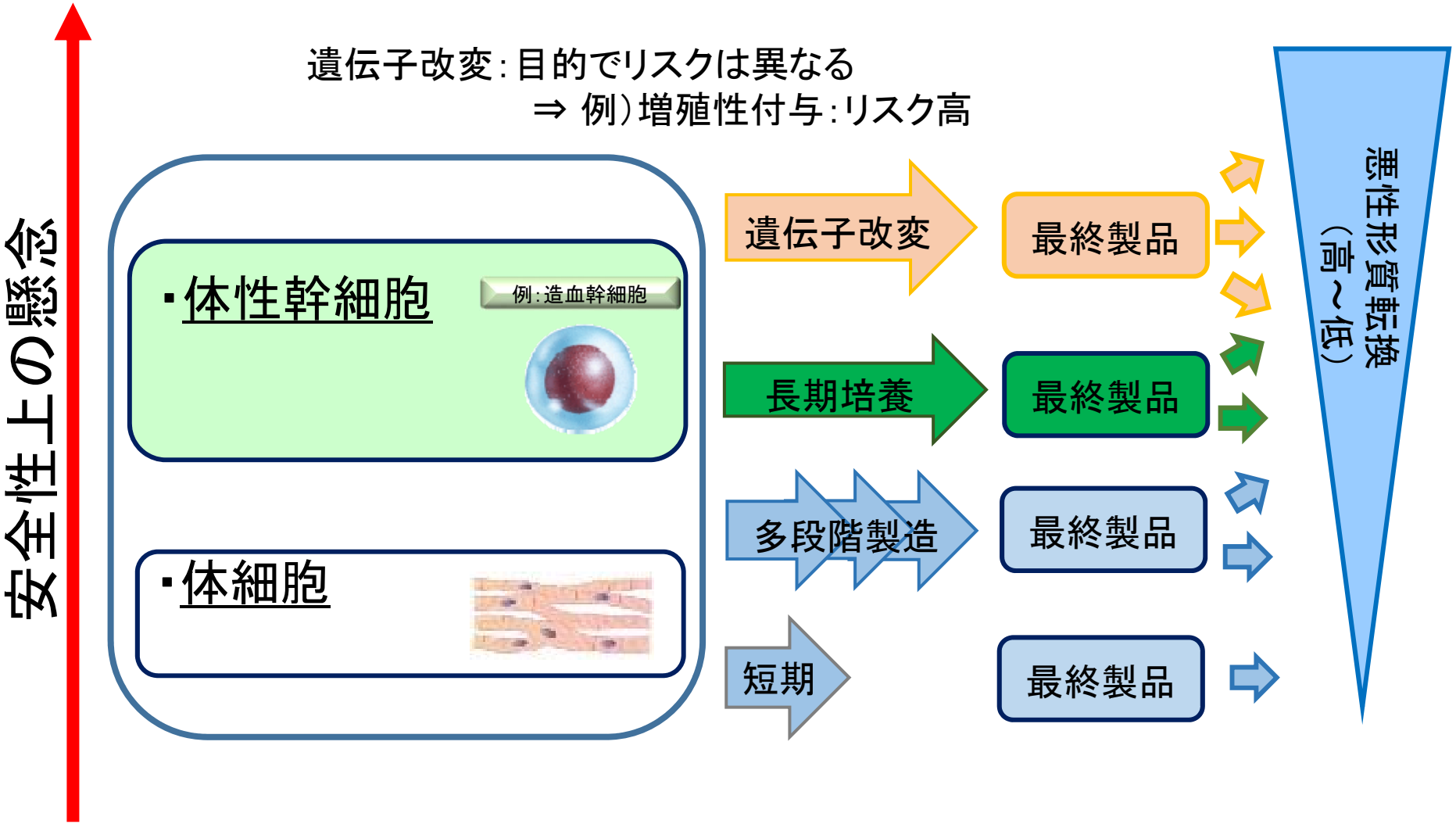


http://www.cira.kyoto-u.ac.jp/ktakahashi/

原材料による造腫瘍性リスク ～由来細胞の種類～



原材料による造腫瘍性リスク ～製造工程～



最終製品の造腫瘍性試験　～概要～

試験目的	最終製品を構成する細胞に由来する造腫瘍性懸念について評価する。 ✓ 最終製品を構成する細胞が性質不明の悪性形質転換能を有する可能性 ✓ 製造過程で性質不明の悪性形質転換細胞が生じ最終製品へ混入する可能性
試験条件	一般毒性試験で免疫不全動物を使用する場合（生着が見込まれる） ⇒ 一般毒性と造腫瘍性を合わせた試験も検討
被験製品	● 最終製品：臨床試験に使用するもの
使用動物	● ヒトがん細胞に対して可移植性を示す動物 =免疫不全動物 ⇒ nude mouse/rat、scid mouse、NOG mouse、NSG mouseなど
移植量	● 最終製品：移植可能最大量（MFD）
移植回数	● 単回（ハザード評価）、一般毒性評価と同時実施 ⇒ 臨床適用回数も考慮
移植部位	● 原則として臨床適用部位（詳細は後スライド）
観察期間	● 造腫瘍性リスクに応じて設定（詳細は後スライド）
検査方法	● 移植部位及び全身の器官・組織を対象に病理組織学的検査（理由は後スライド） ● HE染色 ● 免疫組織学的染色；抗ヒト抗体（残存性）、増殖マーカー（増殖能）

最終製品の造腫瘍性試験　～観察期間～

1. 造腫瘍性懸念の低い製品（体性幹細胞由来、体細胞由来、単純な細胞加工）

✓ ～16週間程度の観察期間後、動物の生体内に**ヒト由来細胞が認められないこと**

2. 造腫瘍性懸念の高い製品（多能性幹細胞由来、遺伝子改変による増殖性付与など）

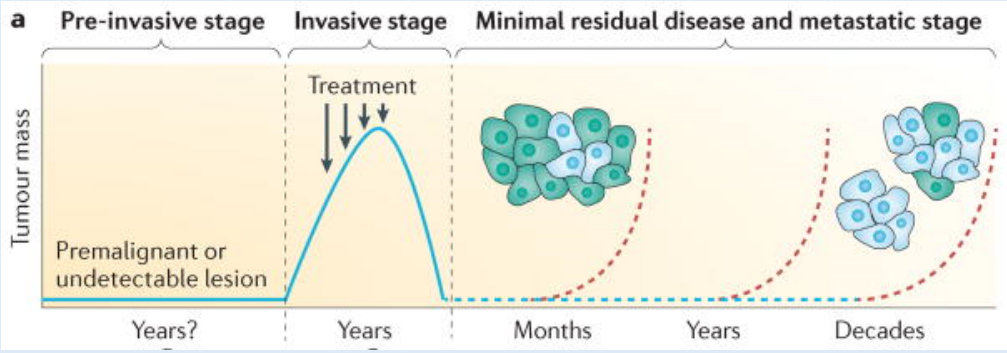
✓ 可能な限り**長期間の観察**

2-1. 長期間観察が必要な理由

✓ がん細胞が組織を形成する（検出可能となる）までの**期間予測が困難**

① ヒトがん細胞が組織を形成するまで一定の期間が必要（下図）

② がん細胞が組織を形成するには宿主環境及びがん細胞の性質に依存（次スライド）



Sosa et.al., Nature Rev. Cancer 2014

2-2. 可能な限り長期の観察期間とは

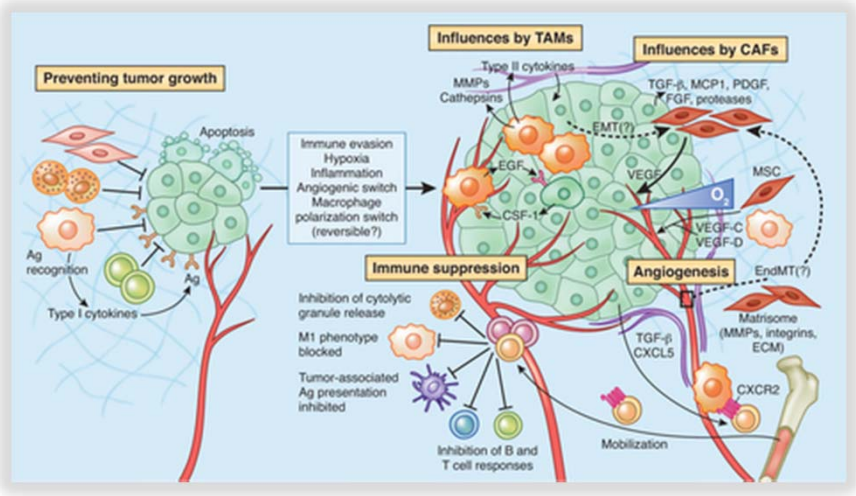
✓ 免疫不全動物で評価が可能な最大の期間（**試験系の限界まで**）

自然発生病変等による死亡推移、自然発生腫瘍性病変の発生時期・頻度を参考

最終製品の造腫瘍性試験　～移植部位と評価方法～

移植部位

がん細胞の増殖は宿主微小環境に依存



Quail D and Joyce JA, Nature med. 2013

1. 移植部位：臨床適用部位を選択
2. 臨床適用部位への移植困難な場合
   - ⇒ 組織構造が類似した代替部位
   - ⇒ ヒトハザードが評価可能な代替部位

評価方法

1. 病理組織学的検査の方法

- ✓ 最終評価時点で適切な例数が確保可能であれば
  - ⇒ 一般毒性評価で用いる常法（H.E染色）
- ✓ 抗ヒト抗体でヒト由来細胞生着の有無を確認
  - ⇒ 造腫瘍性懸念が低く、短期間観察の場合
  - ⇒ 腫瘍性病変、異所性組織形成

2. 移植部位の評価

- ✓ 移植部位と周辺組織
  - ⇒ 正常組織への浸潤、圧壊、血管新生など

3. 全身の器官・組織評価の理由

- ✓ 悪性形質転換細胞の組織指向性が不明
  - ⇒ 転移能を有する可能性を想定
- ✓ 循環系へ漏出し全身への分布も想定

造腫瘍性試験　～群構成・例数設計～

群構成	● 媒体対照群　:1群 ● 被験製品投与群　:1群 ● 陽性対照群　:特段の理由注)がある場合のみ設定 注）特殊な移植手技等が試験に影響する場合など
例数/群	● 最終評価（剖検）時に病理組織学的評価が可能な適切な匹数（10匹程度） ✓ 試験開始時の動物数：10匹＋α/群 ＋αについて ⇒ 長期観察の場合は、自然発生病変による死亡減を考慮 ⇒ 特殊な手技の場合は 移植過誤による除外減も考慮
性別	● 片性。ただし、雌雄選択は以下の点も考慮 ✓ 移植部位が片性特有の器官・組織 ✓ 被験製品の増殖・分化 ⇒ 性ホルモンが関与など ● 試験条件により雌雄動物の使用も要検討 ✓ 一般毒性評価と合わせて実施する場合（臨床試験で男女に投与）

奇形腫形成リスク評価

試験目的	最終製品に残留する多能性幹細胞数で奇形腫が発生しないことを評価 ⇒　奇形腫形成リスクの閾値を求める
被験製品	● 最終製品：最終製品中の多能性幹細胞数を予め測定 ● 多能性幹細胞：最終製品の製造に用いるセルバンクを使用
使用動物	● 奇形腫形成能の感度に応じて選択（NOGマウスなど）
移植細胞数	● 最終製品：移植可能最大量 ● 多能性幹細胞：奇形腫形成の閾値を把握可能な量（複数用量設定も考慮）
動物数	● 奇形腫が適切に検出可能な動物数/群（公表論文等を参照）
移植回数	● 単回
移植部位	● 奇形腫が形成可能な部位（皮下など） ただし、奇形腫形成能：臨床適用部位＞皮下の場合 ⇒ 臨床適用部位を選択
観察期間	● 移植部位で奇形腫が形成される十分な期間 ⇒公表論文や移植部位における残存性等を参考に設定
検査方法	● 移植部位の病理組織学的検査 ● HE染色、免疫組織学的染色；抗ヒト抗体（残存性）、増殖マーカー（増殖能）

生命維持に関わる重要な器官･組織への影響

生命維持に関わる重要な器官･組織とは

中枢神経系、呼吸器系、心血管系

評価のポイント

- 低分子医薬品の安全性薬理評価方法は馴染まない
  - ✓ コアバッテリー試験実施の重要性は低い
- バイオ医薬品の考え方を参考にハザード評価
  - ✓ 作用機序、一般毒性試験成績･分布評価から考察
- ハザードがある場合
  - ✓ 対象疾患の重篤度･影響を考慮
  - ✓ 臨床試験でのモニタリング（マーカーの検討）
  - ✓ 懸念に特化した試験の実施（ケースバイケース）

製造工程由来不純物の安全性評価方法

1. ヒト曝露量評価

最終製品中の残留量×投与量＝ヒトへの曝露量

2. 曝露量と既存安全性情報からの評価

新規物質 （化学物質・バイオ）	無毒性量（NOAEL） 最小薬理作用量（MABEL）など	
内因性物質	ヒト生理的血中濃度など	
臨床適用経路 使用実績	医薬品、輸液の投与量実績など 医薬品添加物としての許容投与量など	
ガイドラインの 許容値、閾値	ICH-Q3C ICH-Q3D ICH-M7	：残留溶媒の許容値（DMSO等） ：元素不純物（培地中の金属イオン等） ：毒性学的閾値（LTL）

3. 既存情報から評価困難な場合

不純物に注目した毒性試験 注）における評価を考慮

注）被験製品を用いた一般毒性試験での同時評価は限界

⇒免疫不全動物の使用、投与回数、投与量が被験製品に依存など

遺伝子改変細胞加工製品の安全性評価

遺伝子改変を行った製品については　細胞加工製品の安全性評価に加え遺伝子治療用製品の指針を踏まえて安全性を評価

特に留意する事項

- ✓ 非増殖性ベクターにおける増殖性ウイルスの出現
- ✓ 使用ベクターの染色体挿入変異リスク・生殖細胞への組込みリスク
- ✓ 導入遺伝子が異常発現した場合のリスク
- ✓ 細胞の増殖性の変化、腫瘍形成及びがん化のリスク
- ✓ 製品の成分、導入遺伝子の発現産物又は遺伝子を導入した細胞の望ましくない免疫反応

◆　指針

遺伝子治療用製品の品質及び安全性の確保に関する指針（以下、指針）薬食審査発0701第4号、平成25年7月1日

◆　生殖細胞への組込みリスク

ICH見解：生殖細胞への遺伝子治療用ベクターの意図しない組み込みリスクに対応するための基本的な考え方

本日の内容

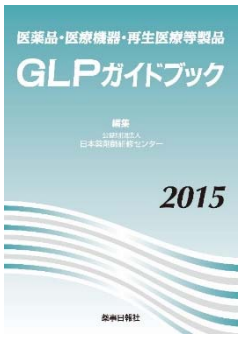
1. 細胞加工製品の概要

2. 非臨床安全性評価の指針等

3. 非臨床安全性評価項目

① 一般毒性
② 造腫瘍性
③ 生命維持に関わる重要な器官・組織への影響
④ 製造工程由来不純物
⑤ 遺伝子改変に関する事項

4. PMDAへの相談方法



PMDAとの相談区分と方法

非臨床安全性評価に必要な項目は、個々の細胞加工製品で異なる

⇒必要な非臨床安全性試験についてPMDAへ相談することを勧める

- 細胞加工製品の相談区分
  - ✓ 再生医療等製品等の品質及び安全性に係る相談
  - ✓ 薬事開発等戦略相談（開発ロードマップ相談）

- 相談の特徴
  - ✓ 1回の申込みで複数回の相談が可能
  - ✓ 有料（大学・ベンチャー等、低額要件有）
  - ✓ PMDAの見解を伝え、具体的な指導・助言

https://www.pmda.go.jp/review-services/f2f-pre/strategies/0003.html

薬事戦略相談の進め方

- 製品の特性により必要な試験が異なることがあること
- 複数回の相談が可能であること

⇒ 試験計画と試験成績についてのご相談（2回以上）を勧める

一般的な相談の進め方

- 非臨床安全性試験計画の適切性に関する相談
  - ✓ 試験パッケージの適切性（一般毒性、造腫瘍性etc）
  - ✓ 個々の計画の適切性（投与量・期間、動物種、観察・検査項目等）
- 非臨床安全性試験成績の妥当性[1)]に関する相談
  - ✓ 個々の試験成績の充足性・妥当性、治験開始の可否判断

1) 治験開始時の被験者の安全性確保の観点から評価

最後に

非臨床安全性試験は
ヒトのリスクアセスメント
のため

決して、チェックリストではありません！

ご清聴ありがとうございました。