

再生医療等製品の非臨床安全性試験を GLP適用で実施する場合の課題について

独立行政法人医薬品医療機器総合機構

信頼性保証部

主任専門員

松本 峰男

再生医療等製品の非臨床安全性試験を
GLP適用で実施する場合の課題について

-はじめに-

- ・本日本日お話しする内容は、省令で求められている事項に対し、試験施設がどのように対応したかの例示です。
- ・個々の試験目的や被験物質の特性に応じ、適宜ご参考にしていただければ幸いです。

本日の内容

1. 再生医療等製品GLPの調査実施に係る経緯
2. 再生医療等製品GLP省令(厚生労働省令第88号)
(第13条.....被験物質の取扱いについて)
3. 再生医療等製品GLP調査の実際例
(被験物質取扱いの観点から)
4. まとめ

1. 再生医療等製品GLPの調査実施に係る経緯

◆ 経緯

平成26年11月25日

再生医療等製品GLP省令(厚生労働省令第88号)の施行
及びGLP制度改正

◆ 試験区分

医薬品 医療機器 **再生医療等製品**

医薬品	医療機器	再生医療等製品
I. In vitro 毒性試験	I. In vitro 毒性試験	I. In vitro 毒性試験
II. In vivo 毒性試験	II. In vivo 毒性試験	II. In vivo 毒性試験
ア. 一般毒性等に関する試験	ア. 一般毒性等に関する試験	ア. 一般毒性等に関する試験
一般毒性等に関する試験 (局所性に限る)	一般毒性等に関する試験 (局所性に限る)	一般毒性等に関する試験 (局所性に限る)
イ. 生殖発生毒性試験	イ. 生殖発生毒性試験	
ウ. 安全性薬理コアバッテリー試験	ウ. 血液適合性試験	
III. その他の試験 (具体的試験名を指定した上でGLP適合とする。 例:「依存性試験、TK、受託病理、他…」)	III. その他の試験 (具体的試験名を指定した上でGLP適合とする。 例:「TK、受託病理、他…」)	III. その他の試験 (具体的試験名を指定した上でGLP適合とする。 例:「受託病理、他…」)



一般毒性等に関する試験

(例;免疫不全動物を用いた
造腫瘍性試験)



その他の試験

(動物を用いない造腫瘍性試験)

(例; 軟寒天コロニー形成試験、核型分析)

「相互乗り入れ」

◆ 調査実績

平成27年4月調査開始～平成28年8月末まで

全 8 施設

➤ 調査形態

医薬品、医療機器GLPとの同時調査	4 施設
-------------------	------

再生医療等製品のみ(追加適合認定調査)	4 施設
---------------------	------

計 8 施設

いずれもこれまで医薬品又は医療機器GLP適合のいずれかを取得した施設

➤ 8施設における試験区分

In vitro毒性試験	8 施設
In vivo毒性試験/一般毒性等に関する試験	8 施設
その他の試験(動物を用いない造腫瘍性試験)	4 施設

注) 試験委託者(以下、委託者)の多くは医薬品又は医療機器の開発経験のない大学等のアカデミアあるいはベンチャー企業であった。

本発表では再生医療等製品GLPのうち、医薬品あるいは医療機器GLPと比較して最も違いの大きい被験物質の取扱いに焦点を当てて説明を行う。

2. 再生医療等製品GLP省令(厚生労働省令第88号)

第13条 第1項 - 被験物質

試験に従事する者は、被験物質及び対照物質について、必要な表示等により、また、その特性及び安定性が測定できる場合においては、その測定等により適切な管理を行わなければならない。

薬食発0812第20号通知

- ア. ④ 被験物質及び対照物質の同一性、含量又は力価、純度、組成等これらの物質を規定する特性については、その測定が困難な物質を除き、試験委託者等又は試験施設が、原則として試験開始前に確認すること。
- ⑦ 4週間以上にわたる試験に用いる被験物質及び対照物質のロットを構成する場合はロットごとのサンプルを規則第137条.....に規定する期間保存すること。ただし、被験物質及び対照物質のうち、品質が著しく変化するものにあつては、その品質が評価に耐えうる期間保存すれば足りること。

第13条 第2項- 調製物

調製物 II

試験に従事する者は、被験物質又は対照物質と**媒体との混合物**については、混合した後の被験物質又は対照物質の**安定性**及び**均一性**が測定できる場合、その測定等により適切に使用しなければならない。

薬食発0812第20号通知

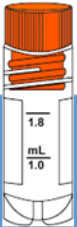
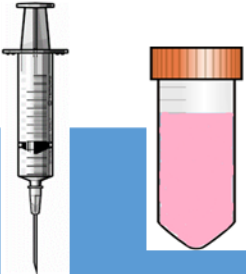
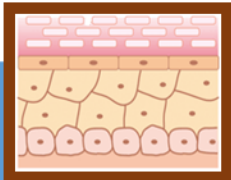
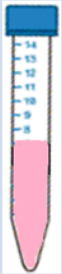
- イ. ①その測定が困難な場合を除き、原則として被験物質等の使用開始前に(媒体と)混合後の被験物質又は対照物質の安定性を測定すること。.....安定性を測定できない場合にあってはその旨を記録することにより、これらの測定に替えることができること。また、.....混合物中の被験物質又は対照物質の**濃度**を定期的に測定すること。

省令13条での要求事項


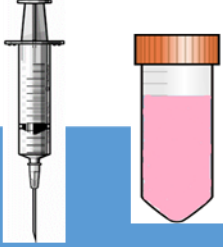
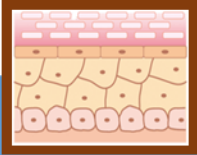
被験物質	特性
	安定性
調製物	濃度
	安定性
	均一性
被験物質の保存	

3. 再生医療等製品GLP調査の実際例

8 施設でみられた再生医療等製品GLPの被験物質の形態

	I	II	III
受領時の被験物質の形態			
凍結細胞		細胞懸濁液 (細胞浮遊液)	細胞シート・ 立体構成品
調製物		そのまま投与 又は 再調製	
調製者	試験施設	委託者/ 試験施設	なし

再生医療等製品GLPの被験物質形態と省令要求事項との関係性

		I 	II 	III 
受領時の被験物質の形態		凍結細胞	細胞懸濁液 (細胞浮遊液)	細胞シート・ 立体構成品
省令13条での要求事項	被験物質	特性		
		安定性		
	調製物	濃度		
		安定性		
		均一性		
被験物質の保存				

... 該当部分
 ... 非該当部分

再生医療等製品GLPの被験物質形態と省令要求事項との関係性

省令13条での要求事項

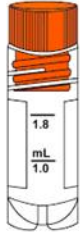
		I	II	III
受領時の被験物質の形態		凍結細胞	細胞懸濁液 (細胞浮遊液)	細胞シート・ 立体構成
被験物質	特性			
	安定性			
調製物	濃度			
	安定性			
	均一性			
	被験物質の保存			



I. 凍結細胞 - A施設での実例

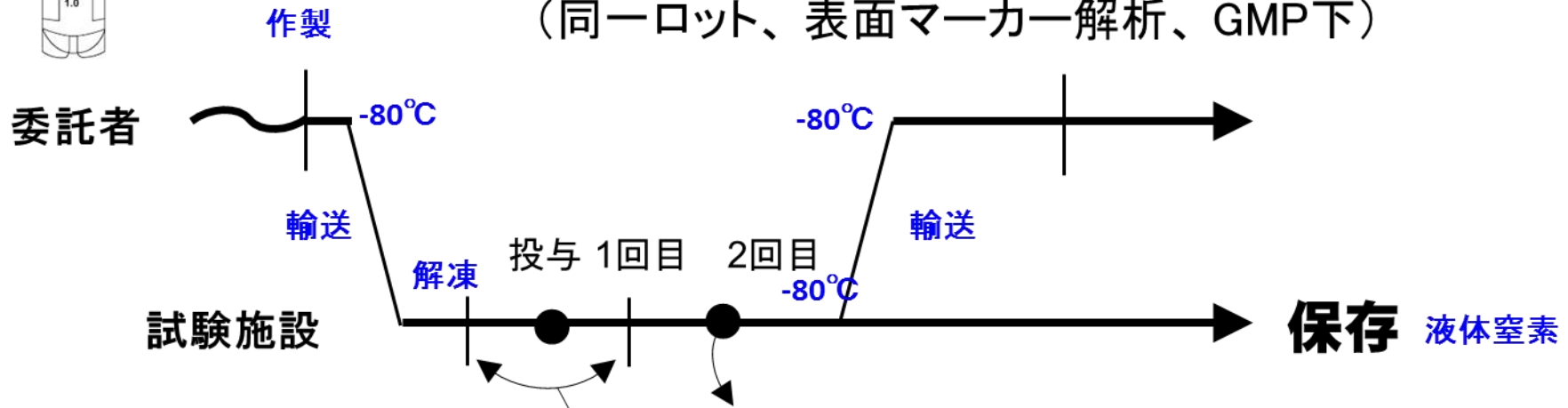


被験物質



特性・安定性

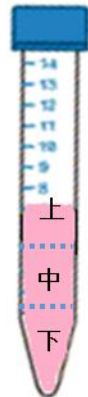
(同一ロット、表面マーカ一解析、GMP下)



+媒体

調製物

GLP下



生細胞 **濃度** のみ

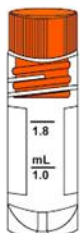
安定性 (生細胞 **濃度**・生細胞率)

均一性 (生細胞 **濃度**・生細胞率)

I. 凍結細胞 - B施設での実例

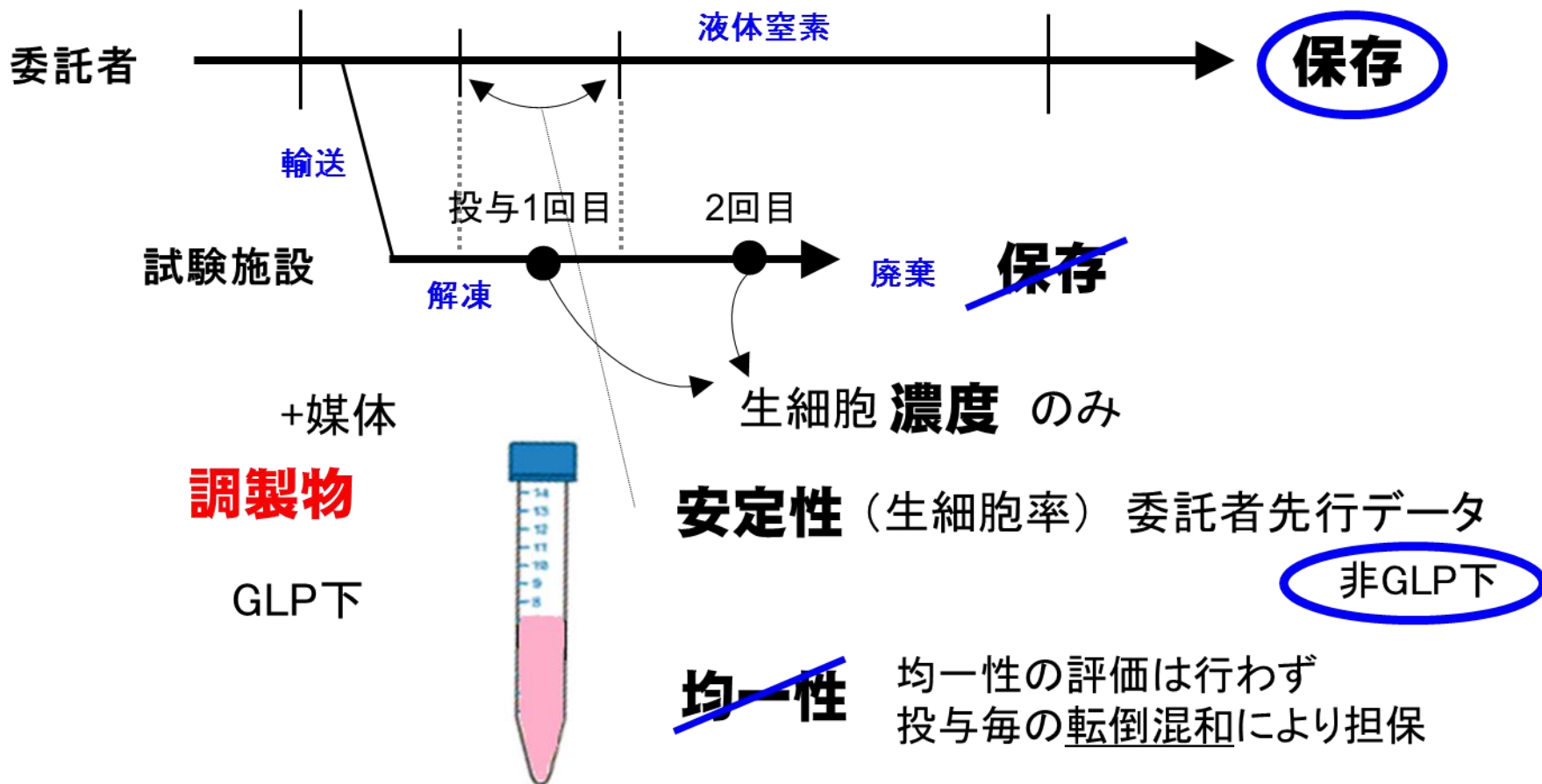


被験物質



特性・安定性

(同一ロット、目視・表面マーカ―解析・生細胞率、非GLP下)



Q1. 輸送時の温度管理等

委託者から試験施設に被験物質を輸送する際の注意点は？

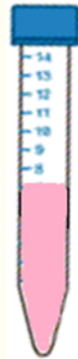


A1. 通常、再生医療等製品の被験物質は凍結状態あるいは低温状態で輸送され、特に温度管理を厳格にする必要がある。このため安定性を保証する条件下(温度・時間)で輸送されたこと及びその記録が重要である。

Q2. 非GLP下での調製物の分析について

調製物の分析が、委託者により非GLP下で行われているが許容されるか？

調製物



安定性（生細胞率）

委託者先行データ

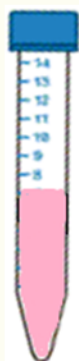
非GLP下

A2. GLP省令第88号第13条第2項に従えば、再生医療等製品における調製物の分析（濃度、安定性及び均一性）は原則としてGLP下で行われるべきである。しかしながら、細胞操作技術や必要な設備の特殊性等を踏まえると、委託者が非GLP下においてそれを行うことも止むを得ないと考える。但し、データの記録方法や保持に関してはGLPの要求事項を考慮すべきである。

Q3. 調製物の均一性評価の方法について

調製物である細胞懸濁液の均一性について、医薬品GLPで行われているような上中下層に分けての評価は必要か？

調製物



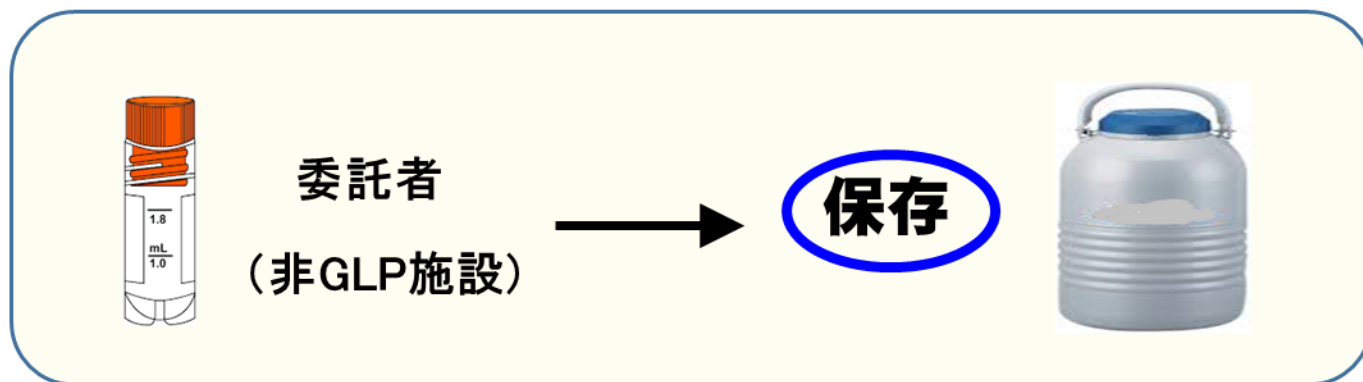
~~均一性~~

均一性の評価は行わず
投与毎の転倒混和により担保

A3. 必ずしも必要ない。再生医療等製品における調製物の均一性評価の方法は、医薬品GLPで求められているような手法に限定されるものではなく、適切に均一性が担保されるのであれば許容できると考える。

Q4. 委託者施設における被験物質の保存について

被験物質（凍結細胞）の保存が委託者施設で行われているが許容されるか？



A4. 再生医療等製品GLP省令第13条第1項に従えば、4週間以上の試験における被験物質の保存は原則としてGLP下で行うべきである。しかしながら、技術・設備等の問題から、委託者が非GLP下で保存することもやむを得ないと考える。その際、試験責任者はその妥当性を説明する必要がある。

I. 凍結細胞 まとめ

再生医療等製品GLP省令等の要求事項への対応例



		A施設	B施設
被験物質	特性	○ 委託者・GMP	△ 委託者・非GLP
	安定性	○ 委託者・GMP	△ 委託者・非GLP
調製物	濃度	○	○
	安定性	○	△ 委託者・非GLP
	均一性	○	転倒混和で担保
被験物質の保存		○	△ 委託者・非GLP

非GLP部分に関しては、試験計画書でその理由を明確にし、また最終報告書にて当該部分の信頼性に関する考察をすることが重要。

再生医療等製品GLPの被験物質形態と省令要求事項との関係性

省令13条での要求事項

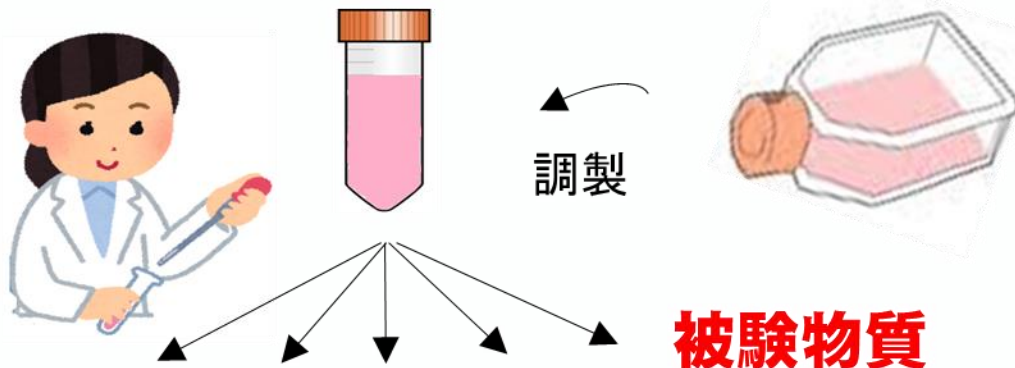
		I	II	III
受領時の被験物質の形態		凍結細胞	細胞懸濁液 (細胞浮遊液)	細胞シート・立体構成品
被験物質	特性			
	安定性			
調製物	濃度			
	安定性			
	均一性			
被験物質の保存				

調製者=委託者 or 試験施設

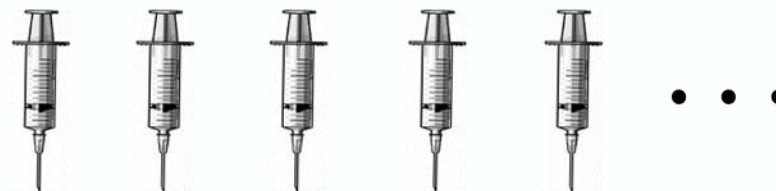
Ⅱ.細胞懸濁液① C施設:シリンジを用いた例

委託者

ピペティング等で
均一性を保ちながら
シリンジに分注



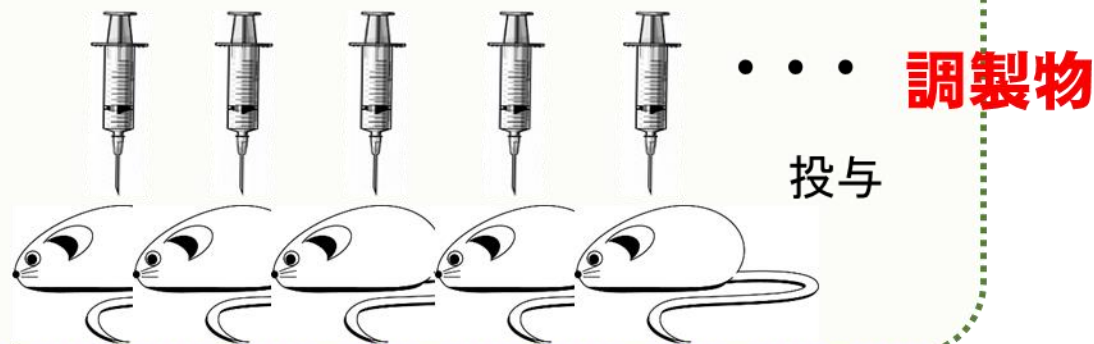
調製段階で動物個体毎
のシリンジに充填



輸送



試験施設



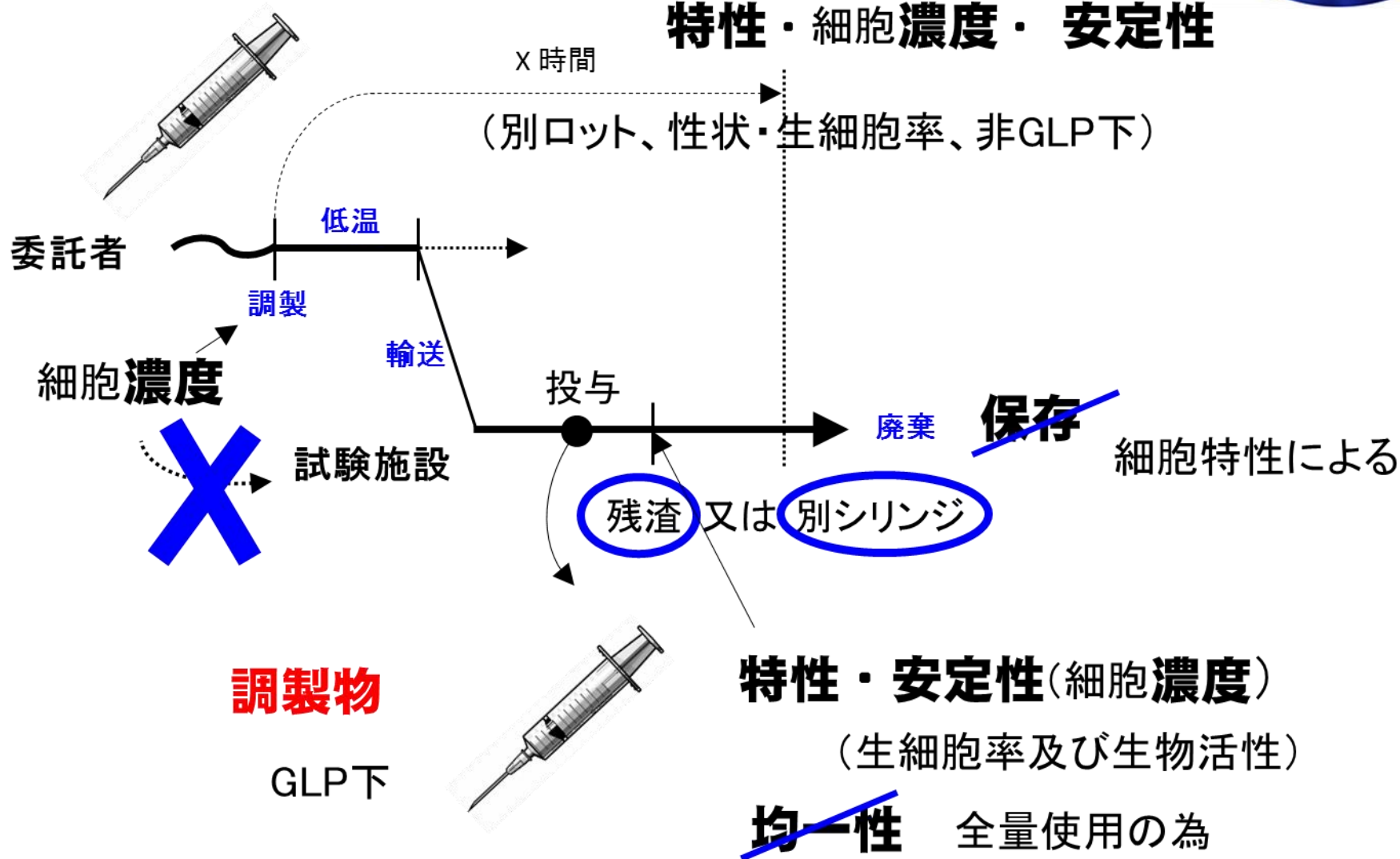
II.細胞懸濁液①C施設(シリンジ)での実例



被験物質 (=調製物)

特性・細胞濃度・安定性

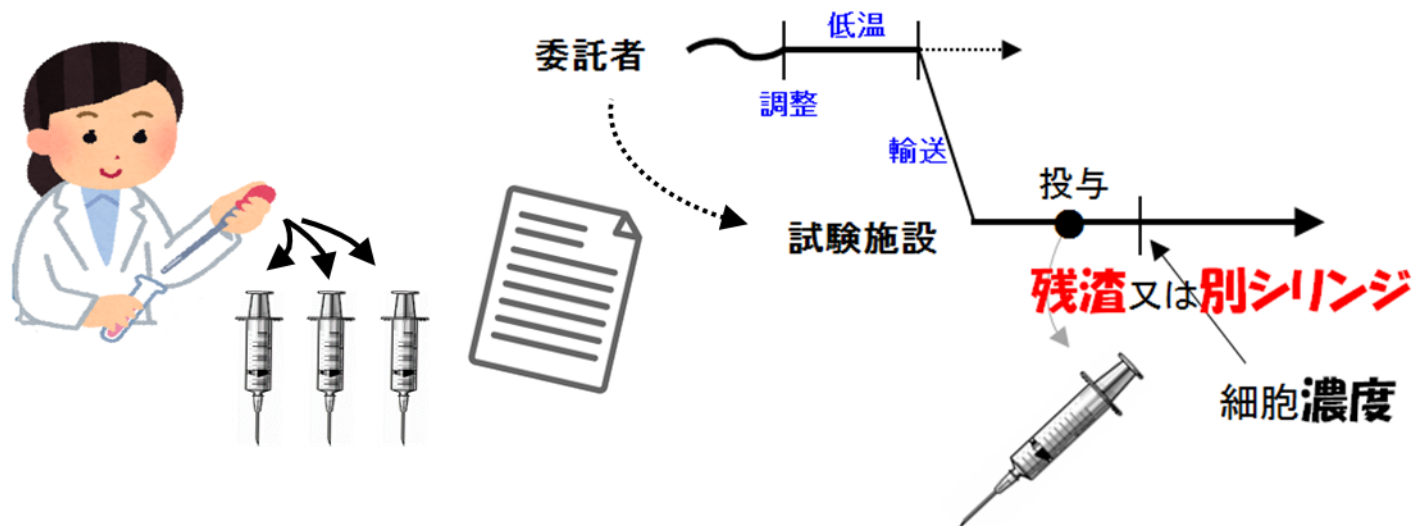
X時間
(別ロット、性状・生細胞率、非GLP下)



Q5. 委託者から調製物に関する情報は入手すべきか？

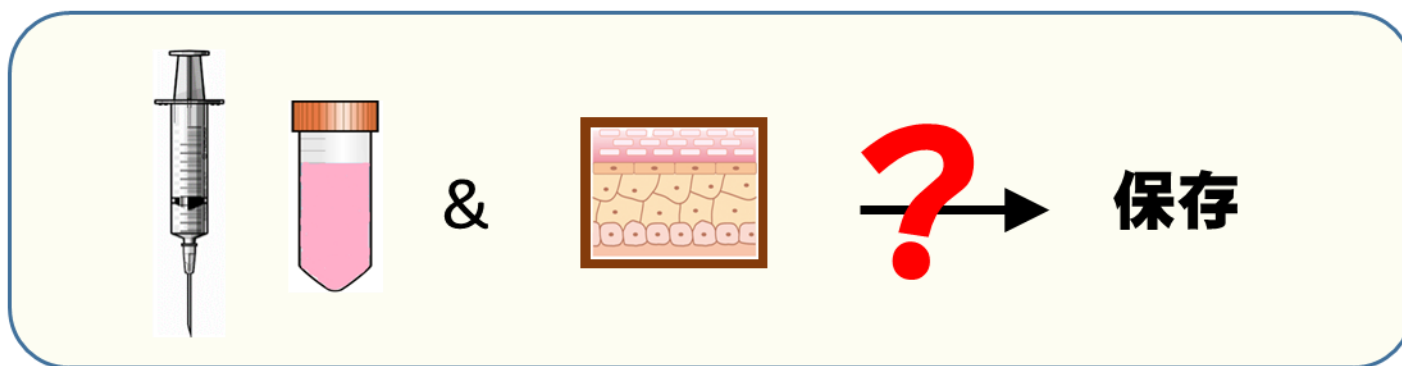
A5. 入手すべきである。シリンジに充填されるべき被験物質（調製物）の量は、同一投与群の全動物個体で本来同等でなければならない。ところが試験施設において、抽出で細胞濃度を測定した場合（残渣、又は別シリンジ）、濃度に異常がみられれば、受領した調製物の均一性に疑問が残る。

→試験施設は、委託者がシリンジに細胞懸濁液を充填した際のデータを予め入手しておくことが必要（バイアルの場合も同様）。



Q6. 細胞特性を理由にした被験物質の**非**保存について

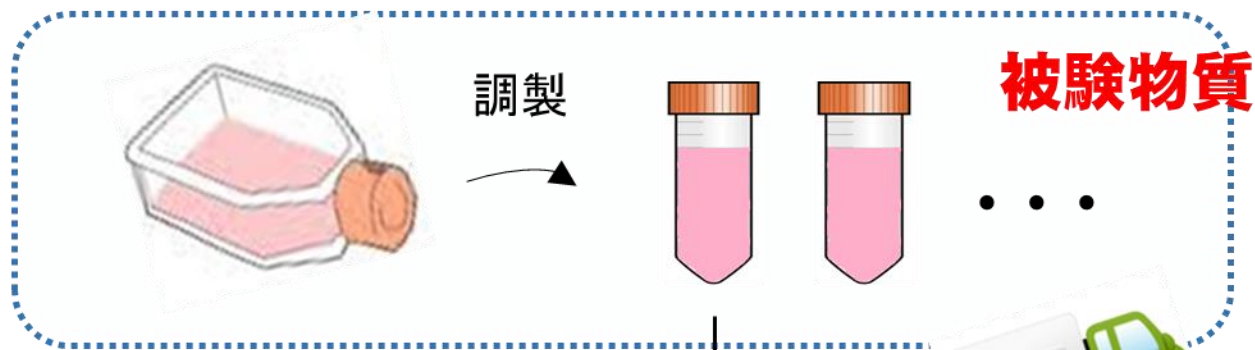
被験物質(細胞懸濁液)のロットを、細胞特性の維持困難を理由に保存しないことは許容されるか。



A6. これまで調査実施の8施設において、被験物質(細胞懸濁液)の保存を実施していた例はない。 被験物質(細胞シート・立体構成成品)についても同様である。 省令第13条第1項に照らせば、細胞懸濁液や細胞シート・立体構成成品を用いた場合であっても4週間以上試験の被験物質を保存することが理想であるが、凍結することにより品質が変化するのであれば、実際には困難かもしれない。

Ⅱ.細胞懸濁液② D施設:バイアルを用いた例

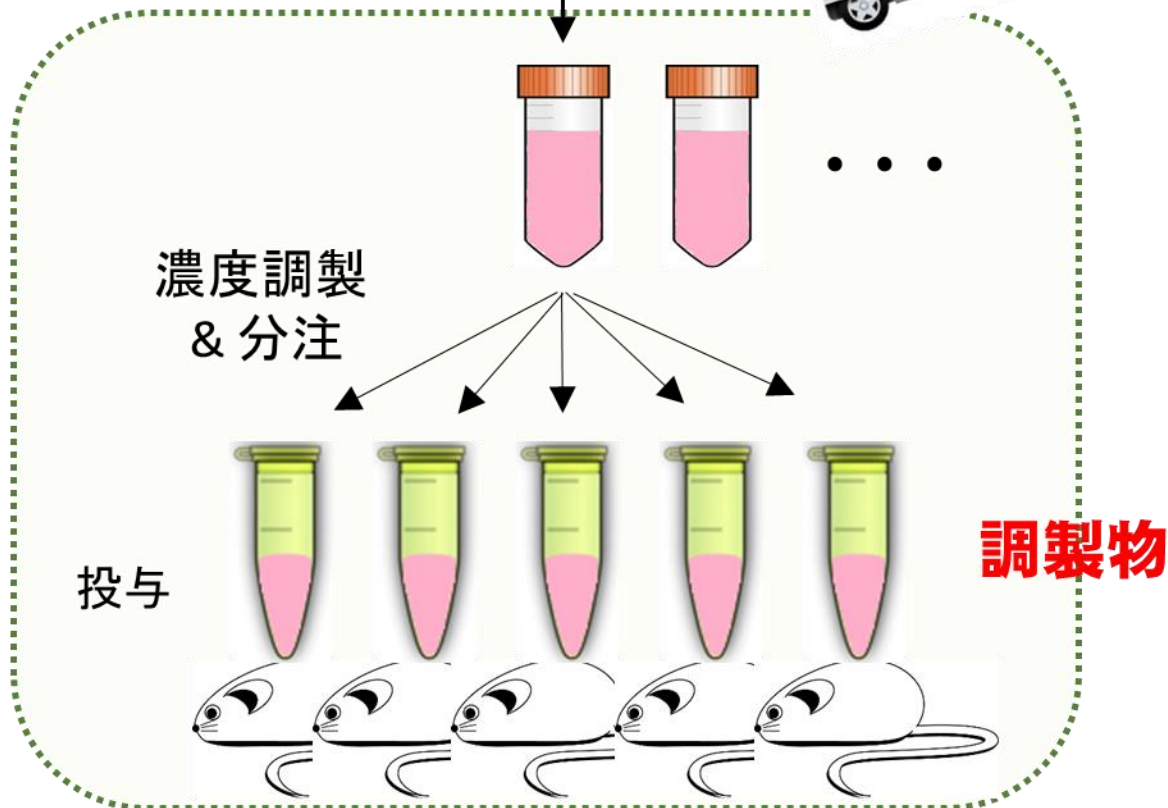
委託者



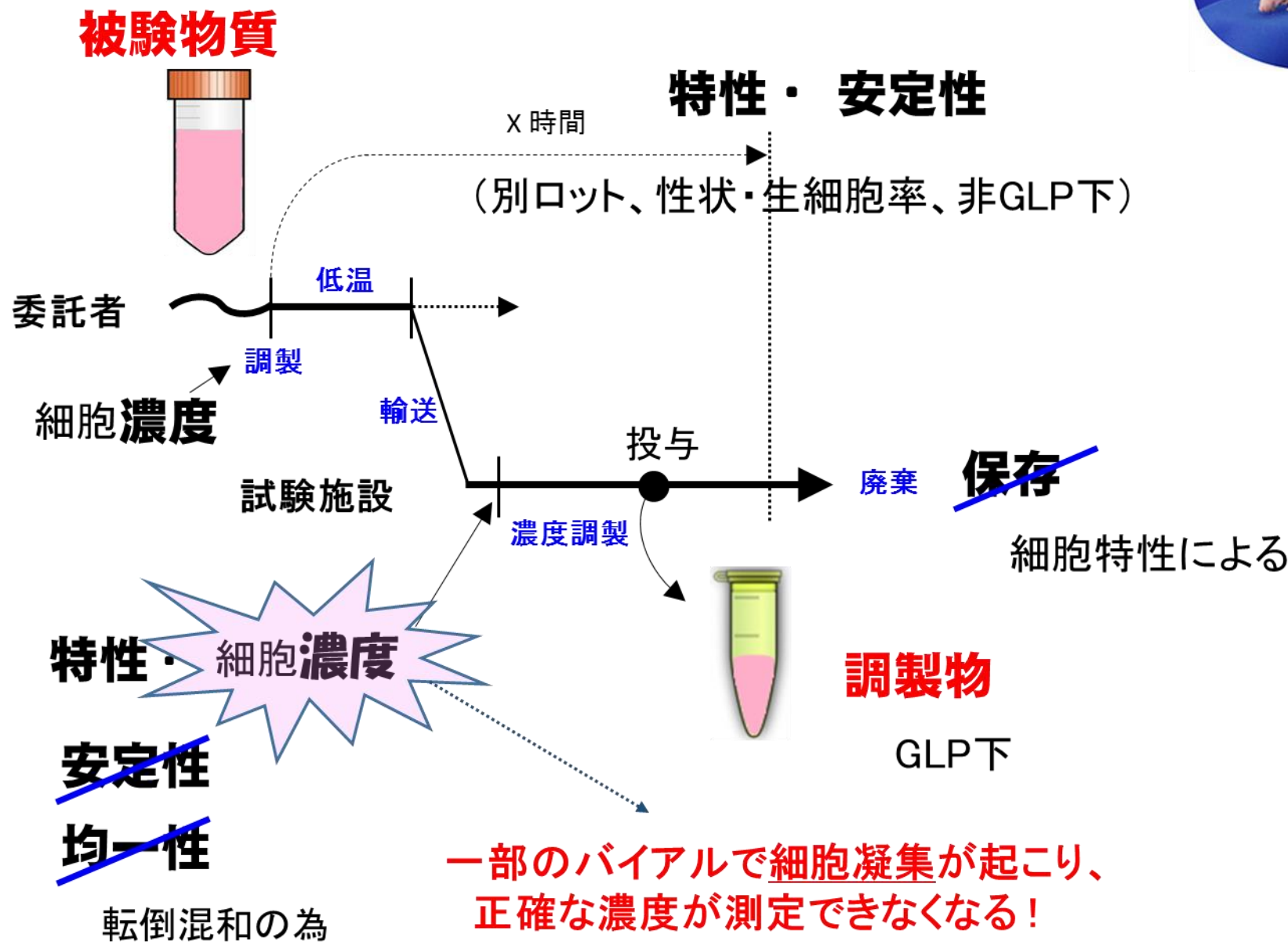
輸送



試験施設



II.細胞懸濁液②D施設(バイアル)での実例



Q7.バイアル内での細胞凝集

D施設の事例で認められた、輸送時のバイアル内での細胞凝集の問題にどう対処すべきか？





A7.

考えられる対策は以下。

- ① 委託者による細胞濃度測定等のデータを予め入手する。
- ② 試験計画書を作成する前に、同様の条件にて委託者による被験物質の調製、及び輸送条件下で凝集が起こり得るか事前に検討する。
- ③ 細胞懸濁液をバイアルではなく個体ごとのaliquot(例、シリンジ)に充填することを検討する(aliquot全体を投与する場合には均一性は問題とならない)。

II.細胞懸濁液 まとめ

再生医療等製品GLP省令等の要求事項への対応例

		C 施設 (シリンジ) 	D 施設 (バイアル) 
被験物質	特性	○	○
	安定性	○	△ 非GLP
調製物	濃度	△ [委託者・非GLP 試験施設・部分データ]	△ [委託者・非GLP 試験施設・部分データ]
	安定性		
	均一性	(全量使用)	(転倒混和)
被験物質の保存		× (細胞特性による)	× (細胞特性による)

委託者からの調製時の情報入手が必要!

* 軟寒天コロニー形成試験



- ・ これまで4施設、計12試験の調査において、I（被験物質=凍結細胞）及びII（被験物質=細胞懸濁液（バイアル））の両方の事例がみられた。
- ・ 注意すべき事例

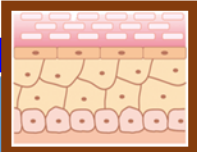
細胞濃度の調製において、被験細胞は全細胞数を、対照細胞は生細胞数を基準にして細胞濃度の調製を行っていたが、生データでは調製を行ったときの基準細胞数の種類が明確にされていなかった。また、最終報告書にもその記載がなかった。



推奨事項

細胞濃度の調製を行うための基準細胞数（全細胞数／生細胞数）の種類がわかるような記録をとるようにすること。また、最終報告書においても調製の方法が明確になるような記載にすること。被験細胞群、対照細胞群それぞれについて必要。

再生医療等製品GLPの被験物質形態と省令要求事項との関係性



III

細胞シート・
立体構成品

		I	II
受領時の被験物質の形態		凍結細胞	細胞懸濁液 (細胞浮遊液)
被験物質	特性		
	安定性		
調製物	濃度		
	安定性		
	均一性		
被験物質の保存			

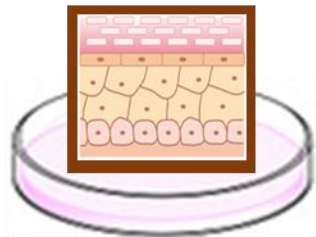
省令13条での要求事項

「調製物」存在せず

Ⅲ.細胞シート・立体構成品-E施設での実例



被験物質



特性・安定性

X 時間

(別ロット、外観・性状・生細胞率、非GLP下)

委託者

低温

作製

輸送

投与

試験施設

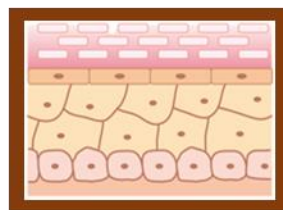
廃棄

~~保存~~

細胞特性による

(未使用分)

特性(外観)

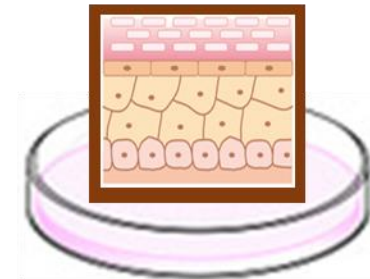


特性・安定性

(生細胞率・生物活性)

GLP下

Ⅲ.細胞シート・立体構成品 まとめ

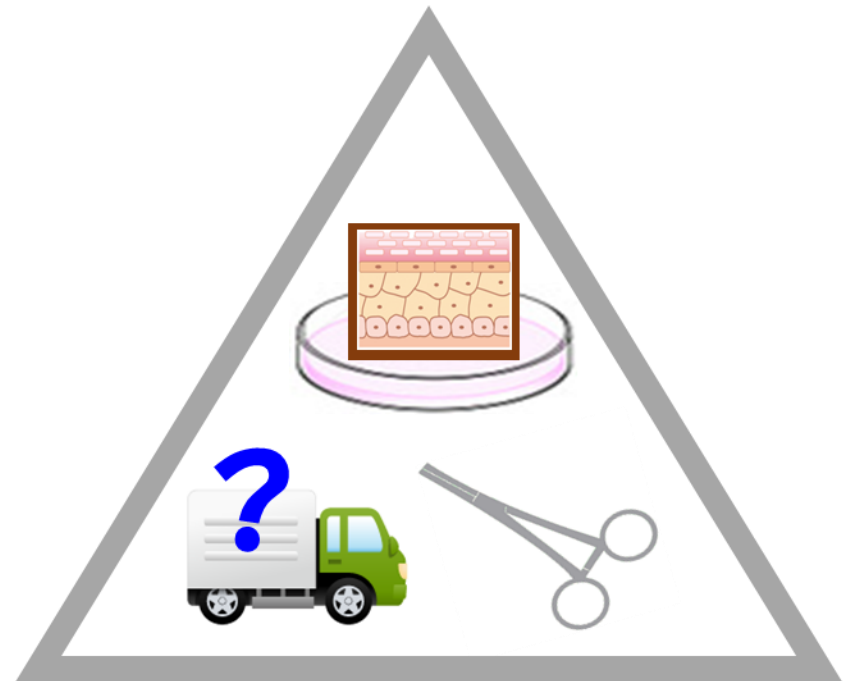


再生医療等製品GLP省令等の要求事項への対応例

		E施設
被験物質	特性	○
	安定性	○
調製物	濃度	/
存在せず	安定性	
	均一性	
被験物質の保存		× (細胞特性による)

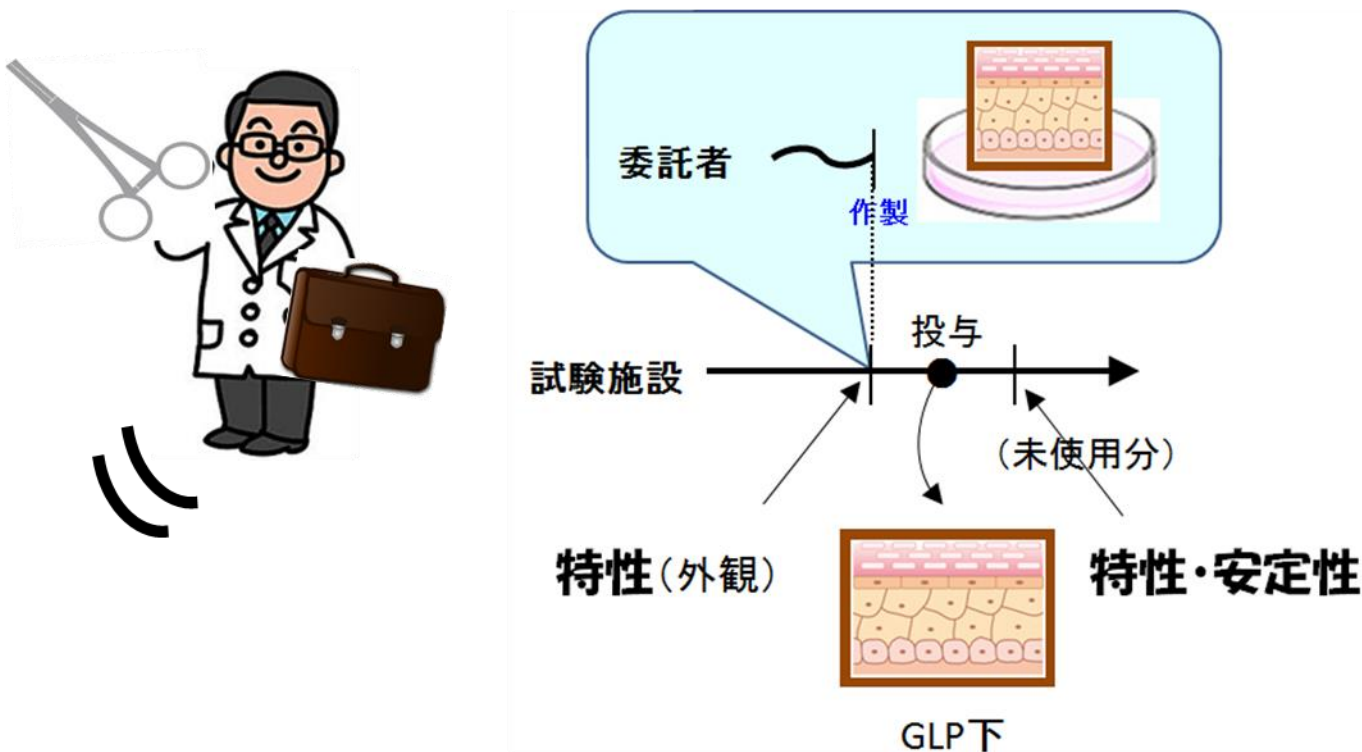
Q8. 細胞シート・立体構成品の特殊性

細胞シート・立体構成品については、製品の輸送に伴う安定性の問題、及び製品の作製に必要な技術・設備等の要因から、試験に供することが容易でない場合もある。



このような場合であっても、GLPを適用して試験を実施するにはどうすれば良いか？

A8. 委託者自身が試験施設で作製、投与の過程に参加



細胞シート・立体構成品を試験施設に輸送して試験を実施することが困難な場合には、委託者自身が直接GLP施設を訪問して、一定の条件下、製品の作製や投与の過程に参加することも可能である。但し、当該過程のみ非GLPにて行わざるを得ない場合には、試験計画書でその理由も含めて明確にし、最終報告書にて当該部分の信頼性に関する考察を行うことが必要。

4. まとめ

- ① 平成27年4月の調査開始から現在までの約1年半で、8施設の再生医療等製品GLP調査を経験した。
- ② 委託者から試験施設への被験物質の輸送に伴う温度・時間の管理とその記録が重要。
- ③ 被験物質調製物の分析や被験物質の保存を委託者が非GLP下において実施せざるを得ない状況が多くみられた。非GLP部分については、試験計画書での明記、及び最終報告書での信頼性に関する考察を行うことが重要。
- ④ 被験物質が細胞懸濁液の場合には、委託者が被験物質調製物を調製した際の関連情報を予め入手しておくことが必要。また、被験物質の輸送時に細胞凝集が起きやすいので対策の検討が重要。
- ⑤ 細胞シート・立体構成品において、製品の輸送に伴う安定性や作製技術の特殊性の問題が予想される場合には、委託者自身が試験施設を訪問して製品の作製や投与の過程に関わることも可能である。

再生医療等製品の非臨床安全性試験を
GLP適用で実施する場合の課題について

-おわりに-

再生医療等製品分野の歩みは日進月歩です。
今後の科学的発展の内容次第では、本日
お示しした内容は変わり得ることをご承知おき
ください。

第22回 GLP研修会

ご清聴ありがとうございました