

## 審査報告書

平成 19 年 8 月 6 日  
独立行政法人 医薬品医療機器総合機構

承認申請のあった下記の医療機器にかかる医薬品医療機器総合機構での審査結果は、以下のとおりである。

### 記

- [ 類 別 ] 医療用品 4 整形用品
- [ 一般的名称 ] その他の外科・整形外科手術材料（自家培養表皮）
- [ 販売名 ] ジェイス
- [ 申請者 ] 株式会社 ジャパン・ティッシュ・エンジニアリング
- [ 申請年月日 ] 平成 16 年 10 月 6 日
- [ 審査担当部 ] 生物系審査部

## 審査結果

平成 19 年 8 月 6 日

- [ 類 別 ] 医療用品 4 整形用品
- [ 一般的名称 ] その他の外科・整形外科手術材料（自家培養表皮）
- [ 販売名 ] ジェイス
- [ 申請者 ] 株式会社 ジャパン・ティッシュ・エンジニアリング
- [ 申請年月日 ] 平成 16 年 10 月 6 日

### 審査結果

本品は、患者自身の皮膚組織から分離した表皮細胞をマウス胎児由来の 3T3-J2 細胞をフィーダーとして培養することにより、表皮細胞が 1~2 層程度に重層化しシート状になった Green 型自家培養表皮である。自家植皮のための患皮部位が確保できない重篤な広範囲熱傷患者を対象とし、深達性 Ⅱ 度熱傷創又は Ⅲ 度熱傷創において、同種皮膚等により真皮が再構築された創面に適用し、生着・上皮化することにより創を閉鎖することを目的としたものである。

本品の重症熱傷に対する有効性及び安全性の確認を目的として、多施設共同非盲検非対象試験が 2 症例について実施され、その結果、本品の適用部位に表皮形成が認められ、安全性に特段の問題は認められなかった。ただし、臨床試験で得られたデータが極めて限られていることから、製造販売後臨床試験及び全例を対象とした使用成績調査を承認条件として付す必要があると判断する。

以上、医薬品医療機器総合機構における審査の結果、本品を以下の使用目的で承認して差し支えないと判断し、医療機器・体外診断薬部会で審議されることが妥当と判断した。

### 使用目的

自家植皮のための患皮面積が確保できない重篤な広範囲熱傷で、かつ、受傷面積として深達性 Ⅱ 度熱傷創及び Ⅲ 度熱傷創の合計面積が体表面積の 30%以上の熱傷を適応対象とする。本品は Ⅲ 度熱傷創において、再構築された真皮に適用し、創を閉鎖することを目的とする。真皮の再構築は原則として同種皮膚移植による。深達性 Ⅱ 度熱傷創への使用は、度熱傷と深達性 Ⅱ 度熱傷が混在し、分けて治療することが困難な場合に限る。

### 承認条件

1. 本品の適応対象を適切に治療できる医療機関において、重症熱傷症例の治療に十分な知識・経験のある医師により、本品の有効性及び安全性を理解した上で用いられるよう、適切な措置を講じること。
2. 治験症例が極めて限られていることから、本品の有効性及び安全性を確認するための製造販売後臨床試験を実施し、その結果を速やかに報告すること。

3. 治験症例が極めて限られていることから、原則として再審査期間が終了するまでの間、全症例を対象とした使用成績調査を実施し、本品の有効性及び安全性に関する情報を早期に収集し、その結果については定期的に報告すること。
4. 製造販売後臨床試験及び使用成績調査の結果等については、迅速に公開するとともに、使用する医師、医療機関に対し適切に情報提供し、患者に対する情報提供資料にも適切に反映すること。

## 審査報告(1)

平成 19 年 6 月 21 日作成

### 1. 審査品目

- [ 類 別 ] 医療用品 4 整形用品
- [ 一般的名称 ] その他の外科・整形外科手術材料(自家培養表皮)
- [ 販売名 ] ジェイス
- [ 申請者 ] 株式会社 ジャパン・ティッシュ・エンジニアリング
- [ 申請年月日 ] 平成 16 年 10 月 6 日
- [ 申請時の使用目的 ] 重症熱傷(広範囲熱傷等)における創閉鎖
- [ 特記事項 ] 優先審査
- [ 審査担当部 ] 生物系審査部

### 2. 審査品目の概要

本品は、患者自身の皮膚組織から分離した表皮細胞をマウス胎児由来の 3T3-J2 細胞をフィーダーとして培養することにより、表皮細胞が 4~5 層程度に重層化しシート状になった Green 型自家培養表皮である。重症熱傷患者の深達性 Ⅱ 度熱傷又は Ⅲ 度熱傷に対し、創を同種皮膚等で前処置した後、真皮層が存在する創面に適用され、生着・上皮化することにより創を閉鎖することを目的としたものである。



図 1 キャリアで懸架した自家培養表皮



図 2 外観図

### 3. 提出された資料の概略及び医薬品医療機器総合機構における審査の概略

本申請において、申請者が提出した資料並びに独立行政法人医薬品医療機器総合機構(以下「機構」)からの照会事項に対する申請者の回答の概略は、下記のようなものであった。

なお、後述(<機構における審査の概略、申請者の対応並びに提出された資料及び回答の質について>参照)するように申請時の資料は不備が多く、審査報告(1)の各分野の「提

出された資料の概略」については、全面的に改訂した後の申請資料に基づき記載する。

## イ．起源又は開発の経緯及び外国における使用状況に関する資料

### (1) 本品の概要

#### 1) 起源又は発見の経緯

熱傷は、種々の要因により皮膚に障害をきたした外傷性疾患であり、受傷面積に対応して死亡率が上昇し、Burn Index (以下「BI」。BI = Ⅰ度熱傷面積 (%) + 1/2 × Ⅱ度熱傷面積 (%) )50 台では 65% を超し、BI50 以上全体では死亡率は 86% に達するとの報告がある(救急医学 27: 3-6, 2003)。熱傷はその傷害が到達している深さにより、Ⅰ度、浅達性Ⅱ度、深達性Ⅱ度、Ⅲ度熱傷に分類され、深達性Ⅱ度熱傷は、真皮層の一部に傷害が及ぶため上皮化に長期間(3~4 週間)を要し、Ⅲ度熱傷においては真皮層がほとんど残存しないことから上皮化は起こらない。上皮化により閉鎖されない創が存在すると、細菌感染等により全身状態が悪化する可能性及び深達性Ⅱ度熱傷においては創感染が原因となりⅢ度熱傷に移行する可能性等もあり、早期の創閉鎖が重要である。

深達性Ⅱ度及びⅢ度熱傷に対しては、創を閉鎖するためにパッチグラフト、メッシュグラフト等の自家植皮による治療が行われる。熱傷が広範囲に渡る場合は患皮面積が不足するため、自家植皮を繰り返す必要があり、再度患皮面積が確保できるようになるまでの間、創を一時的に人工皮膚、スキンバンクから提供される死体同種凍結保存皮膚(以下「カダバースキン」)又は近親者から提供される新鮮同種皮膚によって被覆し、創の保護、真皮の再建及び感染の予防が行われる。移植されたカダバースキン又は新鮮同種皮膚は、移植後 2~3 週間で免疫拒絶により脱落するため、移植 1 週間~数週間後に表皮部分を剥奪し、自家植皮が行われる。しかし、自家植皮の患皮部位は新たな創となるため、感染等の危険が生じること、繰り返し自家植皮が必要な場合の侵襲性が大きいことなどの問題点が挙げられる。

表皮細胞の培養は、1975 年に米国ハーバード大学の Green らによってマウス胎児由来の細胞(3T3 細胞)をフィーダーとして培養する方法が報告され、以来「Green 型自家培養表皮」と呼ばれている。本邦では 1985 年に広範囲熱傷に対する Green 型自家培養表皮の臨床応用が初めて報告された。名古屋大学医学部口腔外科では、瘢痕、母斑、熱傷、刺青、潰瘍等の皮膚疾患に対し、80 例を超える Green 型自家培養表皮の臨床応用が行われたとの報告がある(Mater Sci Eng C6: 211-219, 1998)。本品は、名古屋大学医学部口腔外科からの技術移転を受けて開発された Green 型自家培養表皮であり、本品と名古屋大学医学部口腔外科における製造方法は同一ではないが類似している。(機構注: 上記報告を含め、本品と製造方法が類似とみなされる Green 型自家培養表皮の公表論文は、本品の審査にあたり適宜参考とした(へ. 臨床試験成績に関する資料<機構における審査の概略>参照))

今般、本邦において 2004 年に実施された重症熱傷を対象とした臨床試験成績に基づき、承認申請された。

#### 2) 外国及び国内における使用状況

本品が上市されている国は 2007 年 6 月現在、存在せず、現在までに国内において製品化された Green 型自家培養表皮はない。海外においては、米国 BioSurface 社(現 Genzyme

Biosurgery 社)の「Epicel<sup>®</sup>」が1987年に米国で市場導入され、1989年から1996年の間に552例の使用経験があるとされている。Epicel<sup>®</sup>はHumanitarian Use Device (HUD)<sup>1)</sup>に指定されているが、現在までに Premarket Approval Application (PMA)<sup>2)</sup>、Humanitarian Device Exemption (HDE)<sup>3)</sup>又は Biologics License Application (BLA)<sup>4)</sup>の承認を受けたとの情報はない。また、韓国においては、Tego Science 社の「Holoderm<sup>®</sup>」が2002年に承認されている。

#### <機構における審査の概略、申請者の対応並びに提出された資料及び回答の質について>

申請時に提出された申請資料に掲載された情報及びデータは極めて限られており、添付資料概要は72ページであったが、機構は審査の過程で主に以下の事項について照会し、これらの照会事項に対する回答内容を反映して470ページ以上となった改訂版添付資料概要が、平成19年3月16日付けで提出された。

- 適応対象
- 適応対象に対する既存の治療法及び本品の臨床的位置付け
- 使用方法
- 前処置として使用される同種皮膚について、本邦におけるスキンバンク及び同種皮膚の使用状況
- 「細胞・組織を利用した医療用具又は医薬品の品質及び安全性の確保について」(平成11年7月30日付け医薬発第906号厚生省医薬安全局長通知)に基づき、治験計画の届出を行う前に、厚生大臣に当該治験用具の安全性及び品質の確認を行う申請(以下「確認申請」)審議時における薬事・食品衛生審議会 薬事バイオテクノロジー部会及びその下部組織の細胞・組織利用医薬品等検討小委員会の指摘事項への対応
- 「異種移植の実施に伴う公衆衛生上の感染症問題に関する指針」に基づく3T3J2株及び3T3NIH株をフィーダー細胞として利用する上皮系の再生医療への指針(平成16年7月2日付け医政研発第0702001号厚生労働省医政局研究開発振興課長通知)(以下「異種移植に関する指針」)への対応  
平成14年7月9日付け医政研発第0709001号厚生労働省医政局研究開発振興課長通知
- 具体的な製造方法
- 品質管理法の詳細及びその設定根拠
- 治験機器及び承認後に販売される製品(以下「販売予定品」)の製造方法及び品質管理の相違
- 製造方法変更が有効性及び安全性に及ぼす影響

1) 人道使用医療機器：米国で年間患者数が4000人以下の疾病を対象とする医療機器。

2) 市販前承認申請：米国の医療機器分類においてクラス の医療機器について有効性及び安全性が審査され、承認されると当該製品の販売が可能になる。

3) 人道使用医療機器適用除外申請：審査において有効性に関する評価はされない。HDE承認されるとHUDの販売が認められる。

4) バイオロジクス許可申請：Biological product 及び Biologics の有効性及び安全性が審査され、承認されると当該製品の販売が可能になる。

- 製造方法の妥当性検証、特性解析、品質管理、安全性に関する各試験に用いた製品の製造方法
- 安定性の試験項目の設定根拠
- 臨床試験症例の前処置、併用療法、患者の症状、創の状態、本品移植部位等の具体的な情報
- 臨床試験における有効性・安全性の評価基準
- 臨床試験で観察された有害事象（1件のみ記載されていた）
- 本邦及び諸外国における類似品並びにそれらと本品との相違
- 本品のリスク及びベネフィットに関する説明

申請時の資料のみならず、機構からの照会に対する回答についても、データに基づく客観的評価と推察・期待との区別が明確でない、文法的に理解困難、記載内容の矛盾や齟齬が散見される等の問題があり、内容を理解・把握するまでに多大な時間を要した。機構は、このような多数かつ多岐にわたる問題は、資料体裁の問題に留まらず、製品の安全性及び有効性を担保するために重要な事項についての申請者の認識が極めて不十分であったことによると考える。

また、細胞・組織加工医療機器に該当する本品は、平成12年12月18日付けで確認申請が行われ、平成14年3月5日開催の薬事・食品衛生審議会 薬事バイオテクノロジー部会における審議の結果、確認されたが（<http://www.mhlw.go.jp/shingi/2002/03/txt/s0305-1.txt>）、当該部会から出された多数の指摘事項（ロ・物理的・化学的性質並びに規格及び試験方法に関する資料<機構における審査の概略>「（1）確認申請時の部会の指摘への対応について」参照）に関して承認申請資料においては触れられておらず、指摘されたと認識していないと申請者が主張する事項のみならず、承認申請までに検討し適切に対応すると回答した事項についても、検討されないまま承認申請されていた。このような事態は極めて異例である。これらの指摘事項については、審査の際に再度要求されてから追加検討され、評価に必要な情報が提示されるまでに時間を要したことも、審査時間が長くなった大きな要因の一つであった。

## ロ．物理的・化学的性質並びに規格及び試験方法に関する資料

### <提出された資料の概略>

申請時には、原材料管理、具体的製造方法及び工程管理に関する情報は提示されておらず、審査の過程で追加提出されたデータ及び情報を反映した平成19年3月16日付け改訂資料に基づいて以下に記載した。

#### （1）原材料

##### 1) 皮膚組織

）皮膚組織の採取、運搬及び受け入れ

原材料となる皮膚組織として、患者の熱傷受傷部位以外の正常皮膚を医療機関において採皮する。採皮部位は特に規定されていないが、細胞増殖能の高い表皮下部の基底層の細胞及び毛包周辺の細胞を確実に得るため、全層皮膚を採取する。本品10枚当たりの採皮面

積は、移植日が採皮から 20 日以内の場合は 3cm<sup>2</sup>、21 日以降の場合は 1cm<sup>2</sup> であるが、最低採皮面積は 1cm<sup>2</sup> 以上とし、複数回移植を行う場合は移植毎の採皮面積の総和を一度に採皮する。採取した皮膚組織は、組織運搬用チューブに入れ組織運搬液（抗生物質及び ■% ウシ胎児血清（FBS）含有 ■）に浸漬してキャップを締め、専用の断熱輸送容器に梱包し、封印した後、申請者の製造所に輸送する。

製造所での受け入れの際には、断熱輸送容器が封印されていること、医療機関への断熱輸送容器の発送時から 62 時間以内であることを確認した後、組織運搬液に汚染菌による濁り（黄変を伴う）がないことを確認する。受け入れた皮膚組織は製造開始まで ■~■ で保存されることがあるが、皮膚組織採取から製造開始までは ■時間以内とする。移植後の患者に感染症が発生した場合等の原因究明のため、採取された皮膚組織の一部（1mm<sup>3</sup> 以上）を凍結チューブに入れ - 80 以下で製品の有効期間に 10 年を加えた期間保存する。

なお、皮膚組織は患者由来であるためドナースクリーニングは実施されない。

## 2) フィーダー細胞

### ) セルバンクの調製

本品の製造に用いられるフィーダー細胞は、1963 年に Swiss マウスの 17~19 日齢全胎児から樹立された Swiss3T3 細胞株からクローニングされた 3T3-J2 細胞であり、19■年 ■月に最初の細胞凍結ストックが作製された。申請者は、20■年 ■月に樹立者の Green から最初の細胞凍結ストックから ■-■継代経過した 3T3-J2 細胞を直接分与され、この細胞からマスターセルバンク（MCB）、マスターワーキングセルバンク（MWCB）及びワーキングセルバンク（WCB）を調製した。

### ) セルバンクの性質及び管理

MCB においては、アイソザイム分析、核型分析、軟寒天コロニー形成試験、無菌試験、マイコプラズマ否定試験、ウイルス試験（延長 S<sup>+</sup>L アッセイ、延長 XC プラークアッセイ、電子顕微鏡観察、逆転写酵素活性試験、Vero 細胞等を用いた *in vitro* 試験（細胞変性誘発作用、赤血球吸着及び赤血球凝集反応）モルモット、ニワトリ受精卵等を用いた *in vivo* 試験、マウス抗体産生試験、ウシ鼻甲介細胞等を用いたウシ由来迷入ウイルス試験）が実施され、MWCB においては無菌試験及びマイコプラズマ否定試験、WCB においては無菌試験、マイコプラズマ否定試験及びアイソザイム分析、MCB 解凍播種時から製造時の上限継代数 ■を超えて ■継代された細胞（CAL）においては核型分析、軟寒天コロニー形成試験、無菌試験、マイコプラズマ否定試験及びウイルス試験（延長 S<sup>+</sup>L アッセイ、延長 XC プラークアッセイ、電子顕微鏡観察、逆転写酵素活性試験、MCB と同様の *in vitro* 試験及び *in vivo* 試験）が実施された結果、マウス由来細胞であること及び移植腫瘍形成能がないことが確認され、細菌、真菌、マイコプラズマ並びに内在性及び外来性ウイルスの混入は認められなかった。

また、「異種移植に関する指針」に従い、X 線照射法により作製したフィーダー細胞について、レトロウイルス否定試験（延長 S<sup>+</sup>L アッセイ、延長 XC プラークアッセイ、電子顕微鏡観察、逆転写酵素活性試験）が実施され、レトロウイルスの混入は認められなかった。また、培養の経過にしたがって巨大な細胞形態への分化と細胞脱落が認められ、培養 ■日



目には生細胞が存在しなくなることが確認されている。なお、上記指針においては、培養組織を取り外した後に培養器に残存するフィーダー細胞の染色体数と腫瘍原性を検討することが求められているが、本品の製造ではフィーダー細胞のほとんどは表皮細胞が増殖しコンフルエントに至る過程で脱落し、かつフィーダー細胞は基底層側（フラスコ側）ではなく培養表皮シートの上面に残存し培養フラスコには残存しないとして、検討はされていない。

セルバンクは - ■■■ 以下で保存される。MCB の更新は行われない。MWCB 及び WCB は残数が少量となった場合又はセルバンク設備の故障等によりセルバンクの品質低下が起こった場合に調製時と同様の方法で調製される。MWCB が更新された際には無菌試験、マイコプラズマ否定試験、増殖能（集団倍加時間）及び形態観察を、WCB が更新された際には、それらに加えアイソザイム分析、*in vitro* 試験及び *in vivo* 試験を実施し適合を確認する。また、MCB、MWCB 及び WCB について、それぞれ 10 年、5 年、1 年に 1 回の頻度で無菌試験、マイコプラズマ否定試験、増殖能（集団倍加時間）及び形態観察を実施し適合を確認する。

#### ）3T3-J2 細胞の継代回数

3T3-J2 細胞の継代回数は、Green により ■■■ 継代を超えて使用しないこととされていたが、起点となる継代数に関しては不明であったことから、MCB の解凍播種時から ■■■ 継代を超えて使用しないことが規定されている。MCB の解凍時は Green からの細胞受領時より ■■■ 継代目であるが、CAL（MCB 解凍より ■■■ 継代）で細胞形態及び直線的な対数増殖が維持されていることが確認されている。また、MCB 解凍より ■■■ 継代及び ■■■ 継代の 3T3-J2 細胞で作製したフィーダー細胞を用いて作製した本品（確認申請時の製造方法；＜機構における審査の概略＞「(2) 製造方法の変更について」参照）について、「培養フラスコ内の細胞の形態観察」、「培養表皮シートの外観検査」、「培養表皮シートの生細胞率」及び「培養表皮シートのコロニー形成能試験」において差がないことが確認されている。

### 3) 皮膚組織及びフィーダー細胞以外の生物由来原料

ウシ胎児血清（表皮細胞増殖用培地、フィーダー作製用培地、組織運搬液、表皮細胞凍結液に添加） 仔ウシ血清又はウシ血清（3T3-J2 細胞増殖用培地に添加）はオーストラリア又はニュージーランドを原産国とし、FDA 9CFR113.53 又は EMEA/CPMP/BWP/1793/02 に準拠したウイルス否定試験を実施し、さらに 線照射を行ったものを使用する。トリプシンはブタすい臓に由来し、FDA 9CFR113.53 に準拠したウイルス否定試験を実施し、 線照射を行ったものを使用する。ヒト上皮増殖因子（遺伝子組換え）、コレラトキシン、ヒトインスリン（遺伝子組換え）、ディスパーゼ及び抗生物質は菌由来であり、トリプシン、ディスパーゼには、それぞれ米国、ニュージーランド産のウシ乳由来のラクトースが含まれている。

## (2) 本品の作製及び出荷

### 1) 製造方法

#### ）フィーダー細胞の準備

3T3-J2 細胞の WCB を解凍して 3T3-J2 細胞増殖用培地（抗生物質及び ■% 仔ウシ血清又はウシ血清含有 ■%）に懸濁し、■ ~ ■ 個/cm<sup>2</sup> の生細胞密度で播種して ■、■% ■ の条件下培養する。培養 ■ 日以内で ■ に、■% トリプシン - EDTA 溶液で細胞を剥離して遠心分離により細胞を回収し、新たなフラスコに播種することで継代する。フィーダー細胞作製時には、同様に細胞を回収してフィーダー作製用培地（■% FBS 含有 ■）に ■ mL/■ mL ■ チューブとなるよう懸濁し、X 線照射装置で ■ チューブの全面に ■ Gy の X 線を照射する。この細胞を ■ ~ ■ 個/cm<sup>2</sup> の生細胞密度で播種し、■ ~ ■ 時間培養してフィーダー細胞を作製する。MCB からの継代数は ■ 継代以内で使用し、これを超えた細胞は廃棄する。

#### ）表皮細胞の分離・培養

受け入れた皮膚組織から余剰の脂肪組織と ■ を除去した後、■ 緩衝液（■）で ■ 倍希釈した ■ に ■ 分間浸漬し、組織消毒液（■）に ■ ~ ■ 分間の浸漬処理を ■ 回繰り返した後、■ で ■ 回洗浄する。皮膚組織を ■ 程度に細断した後、トリプシン ■% 溶液中で ■、■ 分間攪拌し、■ の ■ で上清を ■ して皮膚組織から表皮細胞を分離し（■）、遠心により回収して表皮細胞増殖用培地（■、■、■、ヒトインスリン（遺伝子組換え）及び ■% FBS 含有 ■ 及び ■ の ■ : ■ 混合培地）に懸濁する。このトリプシン処理による表皮細胞の分離・回収を ■ 回繰り返す。細胞懸濁液をまとめて遠心し、■ で ■ した後、表皮細胞を表皮細胞増殖用培地に再懸濁してフィーダー細胞フラスコに ■ ~ ■ 個/cm<sup>2</sup> の生細胞密度で播種し、■、■% ■ の条件下で培養する。

コロニー形成（■ ~ ■ の間）が確認された後に表皮細胞の増殖状態や出荷日に合わせて継代を行うが、初代培養では概ね培養 ■ 日目、それ以降の継代培養では培養 ■ 日目に継代する。継代の際は、トリプシン ■% 溶液により表皮細胞を剥離し、遠心により回収した細胞を表皮細胞増殖用培地で懸濁、■ ~ ■ 個/cm<sup>2</sup> の生細胞密度で播種し、培養する。継代の際には生細胞密度が播種密度の ■ 以上であることを確認することで増殖能を評価する工程管理が設定されている。

製品の出荷時期の調整が必要な場合、または継代時に全出荷枚数の製造に十分な数の表皮細胞が得られた場合は、表皮細胞を表皮細胞凍結液（■% FBS 及び ■% ■ 含有 ■）に ■ ~ ■ 個/mL の生細胞濃度で懸濁し、■ mL ずつ分注して - ■ ± ■ で保存する。出荷日に合わせて細胞を解凍して生細胞率が ■% 以上であることを確認し培養表皮シートの作製に使用する。本品を移植時期をずらして複数回移植する場合は、凍結した表皮細胞を解凍して培養表皮シートを作製する工程を複数回実施する。

#### ）培養表皮シートの作製

出荷の ■ ~ ■ 日前に、表皮細胞を表皮細胞増殖用培地で懸濁し、■ cm<sup>2</sup> のフィーダー細胞フラスコに ■ ~ ■ 個/cm<sup>2</sup> の生細胞密度で播種し、■、■% ■ の条件下培養する。この時播種される表皮細胞は、初代培養から ■ 継代 ■ とする。

## 2) 一次包装、表示及び出荷

### ) シート剥離及び洗浄

培養表皮シートのフラスコを [ ] で [ ] 回洗浄し、[ ] % [ ] 溶液を加え [ ] で [ ] ~ [ ] 分間処理した後、[ ] で [ ] 倍希釈したシート剥離液 ( [ ] ) を培養フラスコに加え [ ] 、 [ ] % [ ] の条件下で [ ] ~ [ ] 分間処理する。 [ ] [ ] [ ] することを確認し、培養表皮保存液 ( [ ] 含有 [ ] [ ] ) で [ ] 回洗浄した後、培養表皮シートの上にキャリア ( 材質 : [ ] 、サイズ : 8×10cm ) を置き、培養表皮シートの周囲を折り上げてキャリアごと培養フラスコから剥離させる。キャリアに付着させた培養表皮シートを [ ] の入った [ ] [ ] に潜らせて洗浄する。工程検査として、シート形状の保持、破損、穿孔、欠損がないこと等を確認する。

### ) 包装及び出荷

培養表皮シートを、キャリアを上にしてカバーシート ( 材質 : [ ] ) の上に置き培養表皮シートの周囲をキャリアに折り上げ、カバーシートで包み込む。これを培養表皮容器に移し、培養表皮保存液を充填する。蓋を被せ、トップフィルムを用いてヒートシールし、必要情報を記載したラベルを貼付する。なお、出荷用とは別に、培養表皮シート [ ] 枚を - [ ] 以下で有効期間に 10 年を加えた期間保存する。

専用の断熱輸送容器に梱包し、出荷検査の結果が得られるまで断熱輸送容器を [ ] ± [ ] で保管する。断熱輸送容器は、苛酷条件 ( 外部温度 [ ] 又は - [ ] ) 下においても 10 ~ 25 を [ ] 時間以上保持できる性能を有することが確認されたものを使用する。

医療機関での本品受入れの際に、一次包装に記載された組織コード、製品の断熱輸送容器が封印されていること、目視により包装に破損及び液漏れ等がないことが確認され、使用直前まで 10 ~ 25 で保管される。

## 3) 製造工程中の取り違い防止対策

患者皮膚組織及び細胞の取り違い防止を目的として、 [ ] による [ ] 等の識別管理、2 症例以上に由来する細胞の同培養操作室における同時作業の禁止、 [ ] 及び [ ] による [ ] の識別管理、作業記録による追加調査対応、製造設備機器の使用管理、作業従事者に対する教育訓練が行われる。

### (3) 物理的・化学的性質

申請時には、生物学的安全性試験として、確認申請時の製造方法 ( < 機構における審査の概略 > 「(2) 製造方法の変更について」参照 ) で作製した製品を用い、コロニー形成能試験、 [ ] 、 [ ] 確認試験、マイトマイシン C 残留量測定試験、*in vitro* におけるマイトマイシン C の [ ] 並びにフィーダー細胞残存率、ウシ胎児血清、抗生物質及びマイトマイシン C 残留量の確認等が行われていた。また、X 線照射法により作製したフィーダー細胞の増殖抑制が評価され、このフィーダーを用いて製造したヒト表皮細胞の形態観察及び細胞増殖、並びに培養表皮シートの外観、物性、生細胞率等及びフィーダー細胞残存率が評価されていた。しかし、確認申請の際にバイオテ

クノロジー部会で指摘された構成細胞比及びサイトカイン等の生理活性物質についての検討は実施されておらず、申請後に対応されるまでに時間を要し、例えば構成細胞比については、平成 18 年 5 月 10 日提出の改訂版添付資料概要でデータが追加された。

申請後に実施された試験を含め、特性に関する試験成績は以下のとおりであった。

### 1) 構成細胞比

初代培養、継代時の細胞及び培養表皮シートのそれぞれ 1 検体について、表皮細胞 ( )、ランゲルハンス細胞 ( )、メルケル細胞 ( )、線維芽細胞 ( ) の 1 が実施された。また、メラノサイト及び脂肪細胞に対しそれぞれ 1 及び 1 が実施され、1 かつ 1 により 1 細胞として残存フィーダー細胞が計測された。表皮細胞は、初代培養時から 1 % を占め、線維芽細胞は 1 継代及び 1 継代でやや増加傾向が見られたがその後は減少し、メラノサイト及びランゲルハンス細胞は初代培養時に 1 % 程度であったが継代に伴い減少した。メルケル細胞及び脂肪細胞は初代培養時から存在しなかった。最終製品では、表皮細胞は平均 1 %、線維芽細胞及びフィーダー細胞はそれぞれ平均 1 % であり、メラノサイト、ランゲルハンス細胞、メルケル細胞及び脂肪細胞は存在しないことが確認された。

### 2) サイトカイン等の生理活性物質及びそれらの量

培養表皮シート 1 枚あたりの出荷時の培養上清中 ( 培地交換から 24 時間 ) のサイトカインが ELISA キットで定量され、1 検体の平均は、インターロイキン 1 $\alpha$  (IL-1 $\alpha$ ): 1 ng/日、インターロイキン 1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ): 1 ng/日、血小板由来増殖因子 AA (PDGF-AA): 1 ng/日、トランスフォーミング増殖因子  $\alpha$  (TGF- $\alpha$ ): 1 ng/日、トランスフォーミング増殖因子  $\beta$ 1 (TGF- $\beta$ 1): 1 ng/日、血管内皮増殖因子 (VEGF): 1 ng/日であり、ケラチノサイト増殖因子 (KGF)、塩基性線維芽細胞増殖因子 (b-FGF)、インターロイキン 6 (IL-6) は検出限界未満であった。産生が認められたサイトカインの産生量と表皮細胞増殖速度の間に明確な相関関係は認められなかった。

### 3) コロニー形成能試験及び 1 試験

細胞増殖能を評価する指標であるコロニー形成率 ( 生細胞のうちコロニーを形成する能力を持つ細胞の割合 ) が、臨床試験 2 例の培養表皮シート製造各工程 ( 初代培養、継代培養及び培養表皮シート ) について検討され、初代培養時には 1 % 及び 1 % であったが、継代培養時には約 1 ~ 1 % に上昇していた。これは、初代培養時には細胞増殖能を有した細胞が、継代時に選択されて増殖した結果であると考察されている。通常のコロニーと比較して小さく円形が崩れた不完全コロニーは分化が進んだ細胞により形成されるが、初代培養時にはほとんど存在せず継代によって増加する傾向が認められた。培養表皮シートではコロニー形成率は 1 % 及び 1 % に低下し、不完全コロニー含有率の増加傾向が認められた。これは、培養表皮シートは表皮細胞が重層化しており、増殖能を有する細胞は基底層側に局在すると推測され、全体の細胞数に対する細胞増殖能を有した細胞数の割合が低下したと考察されている。他の 1 検体の 1 継代培養して作製された培養表皮シートのコ

コロニー形成率は、■~■%であった。

一方、コロニー形成能試験は、生細胞数及び分化の状態によるコロニーの大きさの違いが反映されず、低密度で細胞を播種するため実際の細胞増殖能より低く見積もられる可能性があることから、申請者は、■継代培養して製造された培養表皮シート■検体について■試験を考案し実施している。すなわち、培養表皮シートを■、■、■培養し、■を求めたところ、全ての検体で■%であった。

#### 4) 標準的な製造期間 (■継代) を超える場合の細胞の安定性 (核型分析)

培養初期 (1 継代) の表皮細胞で作製された培養表皮シート及び培養後期 (5 継代) の表皮細胞で作製された培養表皮シートそれぞれ 3 検体について、核型分析が実施され、いずれも染色体レベルで確認できる異常は認められなかった。

#### 5) 腫瘍化

確認申請において核型分析を実施した 1 例で転座が観察されたことを踏まえ、核型分析に加えて、凍結工程を含み 5 継代培養して作製された培養表皮シート 3 検体について、軟寒天コロニー形成試験及びヌードマウスを用いた移植試験が実施され、腫瘍形成能は認められなかった。

#### 6) 培養表皮シートに残留する物質の量

表皮細胞増殖用培地に添加されるコレラトキシン (■検体) 及びウシ胎児血清 (■検体のウシ血清アルブミン量を測定) の残留量が■により測定され、それぞれ検出限界 (■ng/枚) 未満及び■~■µg/枚であった。また、液体クロマトグラフ/タンデム質量分析装置 (LC-MS/MS) により測定されたベンジルペニシリンは検出限界 (■単位/枚) 未満、硫酸カナマイシンは■±■µg/枚、硫酸ストレプトマイシンは■µg/枚、アムホテリシン B は検出限界 (■µg/枚) 未満であった。

4) ~ 6) の安全性についての考察は、二.電気的安全性、生物学的安全性、その他の安全性に関する資料 < 提出された資料の概略 > を参照のこと。

#### (4) 規格及び試験方法等品質管理

製造工程における受け入れ検査・工程検査・出荷検査・確認検査は以下のとおりである。

を付した試験は申請時には設定されておらず、審査の過程で追加された。なお、以下の表において、不適合の培養フラスコのみを廃棄する場合は「一部廃棄」、不適合のフラスコがある場合に全フラスコを廃棄する試験項目は「全廃棄」と記載した。

表 皮膚組織の受け入れ検査

	検体	試験方法等
組織運搬状況の確認	皮膚組織運搬用チューブの入った断熱輸送容器	断熱容器が封印されていること、医療機関への断熱輸送容器の発送から 62 時間以内であること (又は に不適合の場合は皮膚組織を廃棄)
皮膚組織の外観の確認	皮膚組織の入った組織運搬用チューブ	組織運搬用チューブの破損・液漏れがないこと、皮膚組織が組織運搬液中に浸漬されていること、組織運搬液に汚染菌による濁り(黄変を伴う)がないこと(又は を満たさない場合は医療機関に連絡・協議する。 に不適合の場合は皮膚組織を廃棄)

表 工程検査

	検体	試験方法等
3T3-J2 細胞の培養フラスコ内の細胞の形態観察	及び の 3T3-J2 細胞の培養フラスコの全数	1) 目視観察 培地の色、培地の濁り、カビの発生、異物の混入、フラスコの破損による培地の漏れ、ラベルの破損・脱落( ~ :一部廃棄) 2) (倍以上) ( :一部廃棄、 ~ 全廃棄)
フィーダー細胞フラスコ内の細胞の形態観察	のフィーダー細胞フラスコの全数	1) 目視観察 培地の色、培地の濁り、カビの発生、異物の混入、フラスコの破損による培地の漏れ、ラベルの破損・脱落( ~ :一部廃棄) 2) (倍以上) ( :一部廃棄、 :全廃棄)
培養フラスコ内の細胞の形態観察	の培養フラスコの全数	1) 目視観察 培地の色、培地の濁り、カビの発生、異物の混入、ラベルの破損・脱落、フラスコの破損による培地の漏れ( ~ :一部廃棄、は 一部廃棄、その他の工程では ) 2) (倍以上) ( :一部廃棄、 ~ :全廃棄) 3) (全廃棄)
シート剥離・洗浄作業における物性検査	シート剥離・洗浄時の培養表皮シートの全数	剥離操作、形状維持、破損、堅牢性( ~ :一部廃棄)

表 工程検査（続き）

	検体	試験方法等
表皮細胞の増殖能の確認	継代作業時の培養フラスコの全数	前継代作業時の表皮細胞の播種密度の 倍以上であること（全廃棄）
表皮細胞の解凍播種時の生細胞率の確認	表皮細胞の解凍播種時に解凍した細胞凍結用チューブ	表皮細胞の解凍播種時の生細胞率が %以上であること（一部廃棄）

表 規格及び試験方法（出荷検査）

	検体	試験方法等
生菌数試験	の培養済み培地混合液	日局微生物限度試験法生菌数試験（メンブランフィルター法）（全廃棄）
マイコプラズマ否定試験	の培養済み培地混合液	PCR による検出（全廃棄）
培養表皮シートの外観検査	の培養表皮シートの全培養フラスコ	、 、 （ 、 、 ：全廃棄、 ：一部廃棄）
エンドトキシン試験	の培養表皮シートの培養フラスコの培養上清混合液	日本薬局方 一般試験法 エンドトキシン試験法 ゲル化法（全廃棄）
検査	全品	、 、 （ ~ ：一部廃棄）
培養表皮シートに関する試験	最終製品	生細胞密度確認試験、生細胞率の確認、ウシ血清アルブミン残留量確認試験、フィーダー細胞残存率確認試験及び表皮細胞含有率の確認、物性試験（ 、 、 ）（全廃棄）

表 確認検査

	検体	試験方法等
マイコプラズマ否定試験	の培地上清全量の混合液	指標細胞を用いた DNA 染色法
無菌試験		日本薬局方一般試験法 無菌試験法 メンブランフィルター法

### (5) 製造方法の変更の妥当性

治験機器は確認申請書に記載された製造方法により製造されたが、承認申請の製造方法、すなわち販売予定品の製造方法では下表のとおり製造方法が変更される。

表 製造方法の変更点

変更点	確認申請、治験機器	製造承認申請	目的
1) 培地に添加する抗生物質	ベンジルペニシリンカリウム 硫酸カナマイシン アムホテリシン B	硫酸ストレプトマイシンを追加	採取皮膚由来の汚染菌による微生物汚染防止
2) 採取皮膚組織処理方法	法	法	処理時間の短縮
3) フィーダー作製法	マイトマイシン C 処理法	X 線照射法	安全性の向上
4) パッケージ	フラスコ製品 (フラスコのまま出荷)	パッケージ製品 ( )	医療現場での利便性の向上
5) ウシ由来原材料の削減	中の としてウシ血清アルブミンを使用	培地に添加するものと同一ロットのウシ胎児血清に変更	TSE リスクの低下
6) の溶液	ダルベッコリン酸緩衝液	生理食塩液	試薬から局方品への変更

培地、液、液

上記の変更点について、申請時には以下の検討が実施されていた（申請後に実施された検討は、＜機構における審査の概略＞「(2) 製造方法の変更について」参照）。

#### 1) 培地に添加する抗生物質の追加

抗生物質 で抑制できなかった 等の増殖抑制、継代時の表皮細胞及び培養表皮シートの増殖能（及びコロニー形成能試験）が抗生物質追加前後で同等であることが示された。

#### 2) 採取皮膚組織処理方法の変更

法により初代培養で播種する十分な量の表皮細胞が得られることが示された。

#### 3) フィーダー作製方法の変更

マイトマイシン処理又は X 線照射法により作製されたフィーダー細胞を用いた場合の継代時の表皮細胞及び培養表皮シートの増殖能（及びコロニー形成能試験）、培養表皮シートの外観、物性及び生細胞率、フィーダー細胞の 並びに培養表皮シートのフィーダー細胞残存率が変更前後で同等であることが示された。

#### 4) パッケージの変更

パッケージ製品の安定性が検討された（八．安定性に関する資料＜提出された資料の概



略> 参照)。

### < 機構における審査の概略 >

#### (1) 確認申請時の部会の指摘への対応について

本品の確認申請の際に、薬事バイオテクノロジー部会及び細胞・組織利用医薬品等検討小委員会において、以下の指摘事項 1～5 について検討するよう指摘された (<http://www.mhlw.go.jp/shingi/2002/03/txt/s0305-1.txt>)。

指摘事項 1：製品に含まれる細胞の純度（細胞の種類、存在比）を規格として設定する必要性について

薬事バイオテクノロジー部会及び細胞・組織利用医薬品等検討小委員会での審議を踏まえ、培養表皮への残存が報告されていたメラノサイト含有量を測定し、規格設定の必要性を検討することが回答されていた (<http://www.mhlw.go.jp/shingi/2002/03/txt/s0305-1.txt>) が、申請資料には顕微鏡観察の結果のみ掲載され、フィーダー細胞を除き、本品に混在する細胞の含有量の確認及びそれらの細胞の混在による影響については説明されていなかった。

指摘事項 2：表皮細胞の凍結・培養工程における遺伝的安定性について

製造工程に起因する染色体異常が発生する可能性について、確認申請時に提出した培養表皮の核型分析の結果、■検体（機構注：申請資料には 3 検体と記載されているが、確認申請資料では ■継代■検体及び ■継代未満■例の計 ■検体について記載されている。）中 1 例に転座が見られたことをふまえ、核型分析について更に分析を進めるよう指摘され、承認申請資料においては臨床試験 2 例の治験機器についての核型分析及び確認申請時に提出された核型分析結果において転座が認められた 1 例についての軟寒天コロニー形成試験結果は提出されたが、その詳細な説明はされていなかった。

指摘事項 3：本品が移植された後の推移、生着過程における組織学的な変化等を検討する必要性について

申請資料において言及されていなかった。

指摘事項 4：マウス細胞をフィーダーに使用することから、マウスに対するアレルギー検査法等に関する検討について

申請資料において言及されていなかった。

指摘事項 5：最終製品の生細胞率、増殖能、サイトカイン等の生理活性物質の産生能等の本品の機能に関する項目を規格として設定する必要性について

申請資料において言及されていなかった。

機構は、各項目について、承認申請時までどのような検討を実行し、その結果を安全性確保・品質管理等にどのように反映させてきたのか申請者に説明を求めた。

## 指摘事項 1

申請者は、本品に混在する可能性がある細胞について、顕微鏡観察の結果から以下のように説明した。

メラノサイトは、工程検査（顕微鏡観察）により本品に存在することを確認したが、含有量は測定していない。本品は重症熱傷を対象とし、移植された表皮細胞の増殖による創の被覆が目的であり、メラノサイトは表皮細胞に比較して創閉鎖には寄与しないので含有量は問題にならない。また、周囲の正常皮膚からメラノサイトが遊走してくるため、本品のメラノサイトの含有量によらず培養表皮の適応後に移植部の皮膚が脱色するという報告はない。ランゲルハンス細胞及びメルケル細胞については、Green 型自家培養表皮には存在しないことが報告されており、本品の顕微鏡観察でも [ ] 細胞はすべて [ ] のメラノサイトであったことから、これらの細胞は存在しないと考える。しかし、電子顕微鏡等により本品中のこれらの細胞を否定する試験を行ったことはなく、存在は完全には否定できない。ただし、[ ] のランゲルハンス細胞が存在していたとしても、自己由来であり免疫拒絶が問題とならない本品ではほとんど影響はないと考えられる。また、皮膚の [ ] に関するメルケル細胞も、単独では機能せず、移植性能には直接影響を与えない。線維芽細胞については、これまでに本品の培養工程で [ ] の細胞を観察したことはない。仮に皮膚組織から混入した場合でも、線維芽細胞のフィーダー細胞が [ ] では、ヒト皮膚組織由来線維芽細胞は増殖が阻害され、最終製品に残存する線維芽細胞は非常に少ないものと推測され、また皮膚組織由来の線維芽細胞がわずかに存在していても自己由来細胞であるため生着には影響しない。脂肪細胞については、Green 型自家培養表皮に混入するという報告はなく、本品の培養工程や最終製品でも、[ ] 脂肪細胞を観察したことはない。原材料となる皮膚組織の脂肪層を [ ] してから組織の処理工程を行うこと、[ ] 脂肪細胞は [ ] ために [ ] 除去されることから、脂肪細胞が混入する可能性は非常に少ない。フィーダー細胞については、最終製品中の残存率は、他の Green 型自家培養表皮の報告と比較して高くなかった。また、フィーダー細胞は X 線照射により増殖能が失われており、[ ] することから、移植後は [ ] 表皮の角質層と共に剥落すると考えられる。以上から、最終製品においてこれらの細胞の含有量規格を設定する必要はないと考える。また、中間工程で工程検査として細胞形態を継続的にモニタリングするが、通常、顕微鏡で観察されない細胞は存在がゼロであることから、中間工程においても細胞の含有量を規定する必要はないと考える。

機構は、表皮細胞以外の細胞の検出について顕微鏡観察による細胞の形態観察で十分とするのであれば、各細胞の検出感度等、試験方法の妥当性について説明するよう求めたところ、申請者は、顕微鏡観察では表皮細胞以外の細胞の検出感度が不十分で定量的な解析は困難であるため、初代培養時、継代時の細胞及び培養表皮シートについて、存在する可能性のある細胞の含有率を [ ] 等の手法により確認すると回答し、その試験結果は平成 18 年 5 月 10 日提出の改訂版添付資料概要で追加された（＜提出された資料の概略＞「(3) 物理的・化学的性質 1) 構成細胞比」を参照）。また申請者は、本品の出荷検査として表皮細胞含有率（ [ ] % 以上）及びフィーダー細胞残存率確認試験（ [ ] % 以下）を設定す

ることで表皮細胞以外の混入細胞が■%以上占めないことが担保されるため、他の細胞の含有量を規定する必要はないと説明した。

#### 指摘事項 2

表皮細胞の凍結・培養工程における遺伝的安定性について、申請者は以下のように説明し、承認申請の製造方法で製造した培養表皮シートを用いた試験の情報が平成 18 年 5 月 10 日提出の改訂版資料概要で追加された。

転座が見られた 1 例（巨大色素性母斑患者由来）は、バンドパターンから 8 番染色体短腕に転座が生じたと考えられるマーカー染色体が確認されたが、その頻度は 10 核板中 2 核板と低かった。巨大色素性母斑患者の場合、皮膚由来の初代培養細胞における核型分析で、転座、二動原体性、環状染色体及びマーカー染色体などの転位が存在したが同患者の末梢血白血球の核型分析では異常が全く見られず、遺伝的モザイクが生じていたという報告がある。観察された転座は「切断型」ではなく正常な細胞分裂が可能な「安定型」であり、観察された転座染色体は該当 2 核板で共通していることから、採取した組織細胞に遺伝的モザイクが生じていた可能性が推察された。これらのことから、観察された 1 例の染色体異常は提供組織由来と判断するのが妥当と結論付けた。また、転座が存在した該当細胞に関して軟寒天コロニー形成試験で足場依存性が認められたことから、形質転換しておらず移植腫瘍形成能がないことを確認した。さらに、臨床試験 2 例及び承認申請の製造方法で 5 回継代培養して製造した 3 検体について、初代培養時及び培養表皮シートの核型分析を実施して比較した結果、最頻値は正常ヒト細胞に相当する 46 本であり、染色体分染の Q バンドパターンによる観察でも、全ての核板のバンドパターンが正常ヒト染色体と一致し、染色体レベルで確認できる異常は認められなかった。これらの結果から、本品の培養工程ではヒト表皮細胞の細胞遺伝学的性状に変化は認められないことを確認した。また、承認申請の製造方法で 5 継代培養して製造した培養表皮シート 3 検体を用いて軟寒天コロニー形成試験及びヌードマウス移植試験を実施し、造腫瘍性が認められないことを確認した（ホ．性能に関する資料＜機構における審査の概略＞「(1) 効能又は効果を裏付ける試験について」参照）。

#### 指摘事項 3

本品が移植された後の組織学的な変化等の検討については、申請者は、小委員会及び部会において指摘されたと認識していないため検討していないと回答した。機構はこれについて検討を求め、結果が平成 18 年 5 月 10 日提出の改訂版資料概要に追加された（ホ．性能に関する資料＜機構における審査の概略＞「(1) 効能又は効果を裏付ける試験について」参照）。

#### 指摘事項 4

マウスに対するアレルギー検査法等に関する検討については、申請者は、小委員会及び部会において指摘されたと認識していないと回答したが、以下のように説明した。重症熱傷患者は全身状態の悪化から生体の免疫機能不全を引き起こして免疫寛容状態になっており、受傷後にアレルギーテストを実施しても健常時の反応とは異なることが考えられる。

同様に本品移植によるアレルギー獲得に関しても、重症熱傷患者では感染等によって免疫応答が破綻していることから、IgE や IgG に関する血清学的検査を移植後に実施しても検出が困難と考えられる。さらに、マウス特異的 IgG 試験の市販試薬はなく、マウス特異的 IgE 試験の市販試薬は、主要アレルゲンであると考えられている上皮（表皮、毛）尿蛋白、血清蛋白を対象とし、フィーダー細胞に起因するアレルギーを推測できるか不明である。また、臨床試験の 2 例ではアレルギー様症状は認められず、本品の類似品の Green 型自家培養表皮を重症熱傷患者に臨床使用した 748 例の文献調査の結果でも、移植に起因したアレルギーの有害事象の報告は認められなかった。以上から、すべての患者に対して本品の移植によってマウスアレルギーが惹起される可能性があることを前提として対処することにし、添付文書に、マウスやマウス由来細胞に対するアナフィラキシーやアレルギー発症の危険性について記載する。また、複数回移植では、初回移植時の感作によって 2 回目以降の移植時にアレルギーが惹起される可能性があることを添付文書に明確に記載し、注意を喚起する。

#### 指摘事項 5

最終製品の生細胞率、増殖能については、治験機器において生細胞率及び増殖能の指標としてコロニー形成能試験が実施されていたが、申請資料では規格設定に関する説明はされておらず、平成 17 年 7 月 15 日提出の改訂版資料概要に追加された。また、サイトカイン等の産生能は検討されておらず、申請後に機構からの指摘により検討され、平成 18 年 5 月 10 日提出の改訂版資料概要に追加された（＜機構における審査の概略＞「(3) 規格及び試験方法（出荷検査）の設定について」及び「(4) 工程検査の設定について」参照）。

機構は、以上の薬事バイオテクノロジー部会及び細胞・組織利用医薬品等検討小委員会の指摘事項 1～5 に対する回答を了承した。

#### (2) 製造方法の変更について

機構は、製造方法の変更前後の最終製品が同等と考えられるか、申請者に品質面からの説明を求めた。申請者は、規格及び試験方法（機構注：検討が実施された時点では、ウシ血清アルブミン残留量確認試験、フィーダー細胞含有率確認試験、表皮細胞含有率の確認は規格試験に設定されていなかったため、確認されていない）について、製造方法変更前後の最終製品が規格に適合することを確認したことを説明したが、機構は、構成細胞比、生理活性物質等の分泌物及びそれらの量等の特性についても確認するよう求めたところ、平成 19 年 1 月 12 日提出の改訂版資料でこれらのデータが追加され、以下のように説明された。

■人の皮膚組織を原材料とし、それぞれを確認申請書及び承認申請の両方の製造方法で培養表皮シートを作製し、出荷検査及び確認検査の他、構成細胞比（表皮細胞、メラノサイト、ランゲルハンス細胞、メルケル細胞、線維芽細胞、脂肪細胞、フィーダー細胞）、サイトカイン等の生理活性物質（b-FGF、IL-1 $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6、PDGF-AA、TGF- $\alpha$ 、TGF- $\beta$ 1、VEGF、KGF）、細胞の増殖能（                    、                    、コロニー形成能）、最終製品残留物質（コレラトキシン、抗生物質、フィーダー細胞、ウシ血清アルブミン）、細胞の腫瘍化（軟寒天コロニー形成試験、ヌードマウス移植試験）、標準的な製造期間を超えた細胞の安定性

( 継代した表皮細胞の核型分析並びに工程検査、出荷検査及び確認検査への適合 ) に関する検討を実施し、安全性や性能に問題となる違いが認められないことを確認した。

機構は、変更後の製造方法 ( 承認申請の製造方法 ) により製造した製品において 及び の産生量が製造方法変更前 ( 承認申請書に記載された製造方法 ) のそれに比較して 2 倍程度に増加しているが、これらは創傷治癒過程で分泌されるサイトカインであること、他のサイトカイン等の分泌量は同等であること、細胞構成比、最終製品に残存する不純物及びコロニー形成能等の試験結果が同等であることから、製造方法の変更が有効性及び安全性に重大な影響を与える可能性は低いと考える。しかしながら、細胞・組織加工医療機器に関しては、品質データのみから有効性及び安全性を評価するには限界があるため、販売予定品について、早急に臨床データを確認する必要があると考える ( へ、臨床試験成績に関する資料 < 機構における審査の概略 > 「(6) 製造販売後の検討事項について」参照 )。この点については専門協議を踏まえ判断したい。

### (3) 規格及び試験方法 ( 出荷検査 ) の設定について

#### 1) 製造工程由来不純物について

機構は、フィーダー細胞や培地添加物等のアレルギーの原因となる可能性がある物質の残存量が規格に設定されていなかったことから、その必要性について申請者に説明を求めたところ、申請者は以下のように回答した。アレルギー等の危険性の観点から、出荷検査にウシ血清アルブミン残留量確認試験 ( 規格 :  $\mu\text{g}/\text{枚}$  ) 及びフィーダー細胞残存率確認試験 ( 規格 : 総細胞に対するフィーダー細胞の割合が % 以下 ) を設定し、実測値をもとに規格値を設定することとする。抗生物質に関しては、アレルギー既往の患者に対し、本品を使用しない旨を添付文書に記載する。

機構は、以上の回答を了承した。なお、最終製品に一定量以上の表皮細胞が含まれていること、表皮細胞以外の細胞が異常増殖していないことを確認するために、 を用いた により表皮細胞含有率の確認を行う試験 ( 規格 : 総細胞数に対する表皮細胞の割合が % 以上 ) が申請後に設定された。

#### 2) 生細胞率について

生細胞密度は規格に設定されていたが、製造工程の異常により死細胞の割合が高くなった場合にそれが検出できないことから、機構は、生細胞率を規格に設定する必要性について申請者に説明を求めたところ、以下のように回答された。死細胞は生着に寄与しないため、生細胞密度を規定すればよいと考えていたが、死細胞が多く含まれる場合の安全性が確認されておらず、死細胞が多くなるような製造工程の異常が検出できない可能性も否定できないことから、最終製品の規格として生細胞率 ( 規格 : % 以上 ) を設定する。

機構は、以上の回答を了承した。

#### 3) コロニー形成能試験について

承認申請時に申請者は、治験機器について、採取組織からの細胞分離時、継代時、製品完成時の細胞を用いてコロニー形成能試験を行い、コロニー形成率 ( % ) 及び不完全コロニー形成率 ( % ) の結果を探索的に解析して品質管理の一環としての導入を検討するとし

ていたが、申請資料中には当該情報がなかったことから、機構は申請者に説明を求めたところ、申請者は以下のように回答した。臨床試験の 2 例で検討を実施したが（＜提出された資料の概略＞「(3) 物理的・化学的性質 3) コロニー形成能試験及び ████████ 試験」参照）コロニー形成能試験結果の判明に 14 日間を要すること、また、増殖性の比較の指標にはなるが、製品に含まれる細胞数やコロニーの大きさは反映されないことから製品が生着して創閉鎖するための必要要件としての基準値が設定できないことから、規格試験に採用しなかった。

機構は、細胞分離時、継代時、製品完成時でコロニー形成率が異なること、結果が得られるのは患者に適用した後であること、継代の際に工程検査として細胞の増殖能を確認する試験が設定されたこと（「(4) 工程検査の設定について」参照）も踏まえ、以上の回答を了承した。

#### 4) 生理活性物質について

生理活性物質の種類及び産生量を規格に設定する必要性について、申請者は、以下のように回答した。本品は様々なサイトカインの産生能を有していることが確認された（＜提出された資料の概略＞「(3) 物理的・化学的性質 2) サイトカイン等の生理活性物質及びそれらの量」参照）。しかし、産生される生理活性物質の種類は多く、複合的に機能する。また、生理活性物質のうち、細胞増殖能や移植後の生着率と定量的に結論付けられる特定の因子は報告されていない。したがって、製品規格として特定の生理活性物質を定量する妥当性はないと考える。

機構は、本品で産生が確認された生理活性物質と細胞増殖能に明確な相関が認められなかったことも踏まえ、以上の回答を了承した。

#### 5) 核型分析について

確認申請時に規格に設定されていた核型分析が規格から削除されていたことから、機構はその妥当性について申請者に説明を求めたところ、申請者は以下のように回答した。確認申請時に 1 例で観察された転座は皮膚組織に元々存在していたと考えられること、また、臨床試験の 2 例及び承認申請の製造方法により 5 継代培養した 3 検体の核型分析により本品の培養工程の遺伝的安定性が確認されたこと（「(1) 確認申請時の部会の指摘への対応」参照）及び核型分析には 3～6 ヶ月程度要することを考慮し、製品の出荷規格として実施する必要はないと判断した。

機構は、以上の回答を了承した。

#### (4) 工程検査の設定について

機構は、出荷検査として、コロニー形成能試験等の増殖能を担保する規格が設定されないことから、中間工程において、増殖能に関する規格の設定を検討するよう申請者に求めたところ、申請者は以下のように回答した。表皮細胞の増殖は、細胞の形態観察により ████████ を確認することで、細胞増殖能を維持していることを継続して確認している。しかし、「表皮細胞の ████████」を継代時の工程検査に新たに追加し、継代時に回収した総細胞数から生細胞密度を算出して前継代時の表皮細胞の播種密度を上回るよ

うに設定する。

機構は、「前継代作業時の表皮細胞の播種密度を上回る」という規格で増殖能を十分に担保することが可能か、規格設定の妥当性の説明をさらに求めたところ、申請者は、増殖速度の実測値をもとに、 $\text{平均値} - 3\text{SD} = \text{■倍/日}$ と、継代間隔の最短が■日間であることから、生細胞密度の増加を具体的に■倍以上（■から設定）に変更すると回答し、機構はこれを了承した。

機構はまた、一旦凍結した表皮細胞を解凍して培養する場合もあることから、解凍した細胞についての品質確認試験を設定する必要性について申請者に説明を求めたところ、申請者は以下のように回答した。解凍する表皮細胞の生細胞率（規格：■%以上）は、低値であれば細胞凍結 - 解凍工程において何らかの異常が発生したことを反映していると考えられるため、解凍播種時の生細胞率の確認を工程検査項目の規格として追加する。

機構は、以上の回答を了承した。

#### （５）皮膚組織の受入れ試験について

機構は、医療機関で採取された皮膚組織の保存安定性及び組織採取から製造開始までの期間を規定する必要性について申請者に説明を求めたところ、申請者は以下のように回答した。■例から採取した■検体の皮膚組織を■及び■でそれぞれ■日及び■日間保存した後、回収された表皮細胞を培養し、形態観察、シート剥離・洗浄作業における物性検査及び解凍時のコロニー形成能試験を実施し、培養表皮シートについて、外観検査、物性試験、生細胞密度確認試験を実施した。皮膚組織面積あたりの回収細胞数は、経日的な低下傾向が認められ、■日保存した皮膚組織由来の表皮細胞から作製した培養表皮シートは、生細胞密度が低値であった。コロニー形成率も保存期間に依存して低下し、■する傾向が認められた。以上より、皮膚組織採取■日目までに表皮細胞分離を行うことが望ましいと考えられ、安全域及び輸送に用いる断熱輸送容器のバリデーション結果を考慮して、組織の受け入れ試験として医療機関への断熱輸送容器発送時から 62 時間以内であることを設定した。

また機構は、採取された皮膚組織を輸送する専用の断熱輸送容器の適切性及び温度管理の必要性について説明を求めたところ、申請者は以下のように回答した。苛酷条件（外部温度■又は-■）下において、断熱輸送容器内の温度は、それぞれ■時間及び■時間は■～■に保持されることを確認している。

機構は、専用の断熱輸送容器は皮膚組織を入れた後に封印されること、皮膚組織受け入れ時に封印が解かれていないことを確認することもふまえ、以上の回答を了承した。

#### （６）動物由来原料

機構は、動物由来原料の使用について、申請者に再確認を求めたところ、申請者は以下のように回答した。ヒトインスリン（遺伝子組換え）の WCB の製造時に、ペプトン（米国又はカナダ産のウシ胆汁、結合組織、皮、骨（頭蓋骨及び脊髄を含まないが脊椎骨を含む）由来）、牛肉エキス（オーストラリア産のウシ筋肉由来）及びペプチケース（オーストラリア又はニュージーランド産のウシ乳由来）が使用されている他、細胞の継代にブタ由来トリプシンが使用されている。また、■培地等に含まれるアムホテリシン B の

製造には、米国、オーストラリア又はニュージーランド産のウシ乳及びブタ酵素に由来するカゼインを含む培地が使用され、アムホテリシン B 最終製品に、ウシ（オーストラリア、ニュージーランド、アルゼンチン、ブラジル）及びヒツジ（ニュージーランド産）胆汁由来のデスオキシコール酸ナトリウムが含まれていると述べた。

現在、申請者は動物由来原料についてさらに情報収集を続けており、機構は、今後提出される情報を踏まえて医療機関又は患者への情報提供の必要性等を判断したい。

#### (7) ウシ胎児血清の洗浄について

機構は、培地に添加されていたウシ血清の本品への残存量は、アレルギー等の観点から可能な限り低減されていることが望ましいことから、この点について申請者に説明を求めたところ、申請者は以下のように回答した。培地等に添加されるウシ血清は、培養表皮シートの [ ] で希釈され、更に [ ] mL の [ ] で [ ] 回洗浄する洗浄工程によって低減される。洗浄回数については、未洗浄、[ ] 回及び [ ] 回洗浄した培養表皮シート 1 枚あたりのウシ血清アルブミン量を測定したところ、それぞれ [ ] ng、[ ] ng、[ ] ng であり、[ ] 回の洗浄でウシ血清アルブミンが除去されることを確認した。

機構は、洗浄工程において [ ] 回以上の洗浄効果は低いと考えられること及び最終製品の規格にウシ血清アルブミン残留量確認試験が設定されたことから回答を了承した。

機構はさらに、[ ] 枚まで培養表皮シートを洗浄可能とすることの妥当性についても申請者に説明を求めたところ、申請者は以下のように回答した。培養表皮シート [ ] 枚を [ ] で洗浄操作を行った際、[ ] 枚目及び [ ] 枚目のウシ血清アルブミン残留量は同程度であったことから、[ ] 枚まで洗浄しても影響はない。

機構は、以上の回答を了承した。

### 八．安定性に関する資料

#### < 提出された資料の概略 >

本品（パッケージ製品）の適正保存温度を確認するため、[ ]、[ ]、[ ]、[ ]、[ ]、[ ] 及び [ ] で [ ] 時間保存した各 [ ] 検体の製品について物性試験を実施したところ、[ ] で [ ] 検体が、[ ] で [ ] 検体が不適合であった。[ ] 以外の条件で保存した検体について [ ] 試験を実施したところ、[ ] 及び [ ] で [ ] 検体ずつが不適合であった。参考として実施した [ ] の検体 [ ] 例も不適合であった。また、[ ] は [ ] ~ [ ]、[ ] 及び [ ] は [ ] ~ [ ] を [ ] する傾向が認められ、[ ] では著しく低下した。

さらに保存日数の確認のため、[ ]、[ ]、[ ] 及び [ ] でそれぞれ [ ] 時間、[ ] 時間及び [ ] 時間保存した各 [ ] 検体の製品について物性試験及び [ ] 試験を実施したところ、[ ] で [ ] 時間及び [ ] 時間保存した [ ] 検体ずつが [ ] 試験に不適合であった。[ ] については、いずれの保存温度でも顕著な低下は認められなかったが、[ ] は [ ] 及び [ ] で、また [ ] については全ての保存温度において経時的な低下傾向を認めた。

平成 19 年 3 月 16 日提出の改訂版資料では、以下のデータが追加された。[ ] 及び [ ] で、それぞれ [ ] 時間及び [ ] 時間保存した [ ] 検体の製品について、規格及び試験方法に設定されている項目並びに [ ] 試験を実施した結果、全例適合であった。



以上を踏まえ、貯蔵条件は 10～25℃、有効期間は 56 時間と設定された。

#### < 機構における審査の概略 >

機構は、申請時に提出された安定性試験においては、物性試験、XXXXXXXXXX試験、XXXXXXXXXX試験、XXXXXXXXXX及びコロニー形成能試験について検討がなされているが、物性試験及びXXXXXXXXXX試験を主要解析項目とする根拠について、また規格及び試験方法に設定されている項目全てについて検討を行わない理由及び妥当性について申請者に説明を求めた。

申請者は以下のように回答した。本品を移植する XXXXXXXXXX 評価する物性試験は、移植を行うためには全てを満たす必要がある。XXXXXXXXXX試験は、XXXXXXXXXXとXXXXXXXXXXとの相関性について直接的なデータはないが、XXXXXXXXXX試験における XXXXXXXXXXは、XXXXXXXXXXと類似しており、XXXXXXXXXXを類推する指標になると考え設定し、評価基準は臨床試験における XXXXXXXXXXに準じ XXXXXXXXXX%以上とした。これらを踏まえ、本品の移植から創の閉鎖までの効果を評価する目的で、物性試験とXXXXXXXXXX試験を主要評価項目として設定した。また、XXXXXXXXXX及びXXXXXXXXXXでXXXXXXXXXX時間及びXXXXXXXXXX時間保存した製品について、規格及び試験方法に設定されている項目並びにXXXXXXXXXX試験への適合性を追加で検討した結果、全例適合したことから、貯蔵方法を 10～25℃、有効期間を 56 時間と設定することは妥当と考える。

機構は、XXXXXXXXXX試験の試験方法及び評価基準の妥当性については疑問が残るが、XXXXXXXXXX及びXXXXXXXXXXでXXXXXXXXXX時間及びXXXXXXXXXX時間保存した製品について、出荷検査及び確認検査に適合したことを踏まえ、以上の回答を了承した。

## 二．電気的安全性、生物学的安全性、その他の安全性に関する資料

#### < 提出された資料の概略 >

核型分析試験並びに確認申請において核型分析で 1 例に転座が確認されたことを踏まえ、軟寒天コロニー形成試験及びヌードマウスを用いた造腫瘍性試験が実施された。

#### (1) 核型分析試験

核型分析試験では、15 歳男性眼瞼皮膚、13 歳男性頭部皮膚、55 歳女性腹部皮膚から得た 3 検体の表皮細胞について、承認申請の製造方法により 5 継代培養した培養後期細胞及び 1 継代目の培養初期細胞をそれぞれフィーダー細胞フラスコに播種して培養し、ギムザ染色標本及びキナクリン・ヘキスト 2 重染色標本の細胞分裂像について、染色体数、染色体構造及びバンドパターンによる核型分析を行った。培養初期及び培養後期細胞のギムザ染色標本約 100 核板の染色体数は、最頻値はいずれも 46 本と正常ヒト細胞のそれに一致し、またその割合もほぼ同じであった。キナクリン・ヘキスト 2 重染色標本について、10 核板の染色体分染の Q バンドパターンを正常ヒトの染色体と比較した結果、3 検体とも正常男性又は正常女性のヒト染色体と一致し、培養初期及び後期のいずれも転座、欠失、重複など、染色体レベルで確認できる異常は存在しなかった。これらの結果から、承認申請の製造方法で培養しても表皮細胞の遺伝学的性状に変化が認められないことが確認されたとしてい

る。

## (2) 軟寒天コロニー形成試験

核型分析試験にて培養後期細胞として用いた 3 検体の表皮細胞を [ ] に播種して培養し、 [ ] 後に細胞を回収して細胞懸濁液を得た。 [ ] % 寒天を添加した軟寒天培地に、この細胞懸濁液及び陰性対照の MRC-5 細胞は [ ] 個/フラスコ、陽性対照の HeLa 細胞 ( [ ] 株 ) は [ ] ~ [ ] 個/フラスコを播種し、培養 [ ] 日目に [ ] 個以上の細胞からなるコロニー数を測定した。足場依存性の増殖能は、 [ ] 個 ~ [ ] 個/フラスコの各細胞を液体培地中で培養することで確認した。液体培地でのコロニー形成率は HeLa 細胞が [ ] %、表皮細胞 3 検体が [ ] %、 [ ] %、 [ ] %、MRC-5 細胞は [ ] % であったが、軟寒天培地でのコロニー形成率は HeLa 細胞の [ ] % に対し、表皮細胞 3 検体及び MRC-5 細胞ではコロニーは形成されなかった。以上の結果から、本品を構成する細胞の増殖は足場依存性で形質転換していないことが確認され、承認申請の製造方法では、細胞が移植腫瘍形成能を獲得しないことが示唆されたとしている。

## (3) ヌードマウスを用いた造腫瘍性試験

核型分析試験にて培養後期細胞として用いられた 3 検体の表皮細胞及び陽性対照の HeLa 細胞 ( [ ] 株 ) を各群 10 匹のヌードマウスに  $1 \times 10^7$  個/0.2mL/匹ずつ皮下接種し、WHO ガイドライン ( WHO Technical Report Series 878: 41-43, 1998 ) に従って結節を観察したところ、両群の全例の接種部位に結節が認められ、検体群では結節の大きさが漸減しており退縮性であることを確認したが、HeLa 群では全例の結節が増大した。WHO ガイドラインに従って、接種 21 日目に全ての個体の剖検及び病理組織学的検査を行ったところ、検体群ではすべての結節が組織学的に類上皮嚢胞あるいは死細胞塊であることを確認するとともに、剖検所見において他の臓器に異常は認められず、組織学的にもリンパ節及び肺への移植細胞の転移はみられなかった。陽性対照では病理組織学的検査でも結節の増殖性が確認された。以上の結果から、本品を構成する細胞は、ヌードマウスへの移植試験で造腫瘍性を有さないことが確認されたとしている。

## (4) 最終製品に残存する生物由来原料、抗生物質等の安全性

本品の 1 回の移植時の最大移植枚数は 50 枚、複数回移植による最大移植枚数は 200 枚と想定され (へ、臨床試験に関する資料 < 機構における審査の概略 > 「(4) 使用方法について 2) 本品の移植量 (移植枚数)」参照) 最終製品に残存する生物由来原料、抗生物質等の安全性について評価された。培地に添加されるウシ血清の残留についてはウシ血清アルブミン量として評価され、本品の出荷検査の規格値 [ ]  $\mu\text{g}$ /枚以下から、本品を 50 枚あるいは 200 枚を移植した場合に最大でそれぞれ [ ]  $\mu\text{g}$ 、 [ ]  $\mu\text{g}$  のウシ血清アルブミンに曝されることになる。本品 200 枚中のウシ血清アルブミン残留量は、米国において PMA の承認を受け販売されている同種培養真皮製品 Apligraf 1 枚中のウシ血清残留量の約  $1/$  [ ] から  $1/$  [ ] であり、Apligraf は 5 万ユニット (1 ユニットの 1 製品) 以上使用されているが、Apligraf に起因するアレルギー関連の有害事象の報告はない。したがって、本品を複数回移植した場合でもアレルギー関連の有害事象の発現頻度は低いと考えるが、ウシ血清に起因したアレルギー

が惹起される可能性が否定できないことから、添付文書において注意喚起する。

フィーダー細胞の残存に関しては、 $\blacksquare$ 人の皮膚組織から各  $\blacksquare$ 枚ずつ製造された本品について、 $\blacksquare$ 及び  $\blacksquare$ による  $\blacksquare$ により染色される細胞の割合を測定し、規格値を  $\blacksquare$ %以下に設定した。しかし、アレルギーが惹起される可能性が否定できないことから、添付文書において注意喚起する。フィーダー細胞作製時に X 線照射によって細胞増殖能を剥奪しており、X 線照射法により作製したフィーダー細胞の生存期間の確認を行い、培養期間中、経時的に細胞は減少し、 $\blacksquare$ 日目にはすべて死滅することを確認していることから、複数回移植を考慮しても残存フィーダー細胞の異所性増殖の発現頻度は低いと考える。

抗生物質に関しては、 $\blacksquare$ 人の皮膚組織から  $\blacksquare$ 枚ずつ製造された本品について、培地に添加されるベンジルペニシリンカリウム、硫酸カナマイシン、硫酸ストレプトマイシン及びアムホテリシン B の残留量を  $\blacksquare$ 法で測定した結果、1 枚あたりそれぞれ  $\blacksquare$ U 未満、 $\blacksquare$   $\mu$ g、 $\blacksquare$   $\mu$ g、 $\blacksquare$   $\mu$ g 未満であり、最大 200 枚移植の場合、患者はそれぞれ  $\blacksquare$ U 未満、 $\blacksquare$   $\mu$ g、 $\blacksquare$   $\mu$ g、 $\blacksquare$   $\mu$ g 未満の抗生物質に曝されることになる。移植時にこれらの抗生物質がすべて吸収されて体内に移行したと仮定しても、臨床用量から考えて、これらの抗生物質に起因する有害事象の発現頻度は低いと考えるが、抗生物質に起因したアレルギーが惹起される可能性が否定できないことから、添付文書において注意喚起する。

コレラトキシンに関しては、 $\blacksquare$ 人の皮膚組織から  $\blacksquare$ 枚ずつ製造された本品について残留量を  $\blacksquare$ で測定したところ、検出限界の  $\blacksquare$ ng/枚未満であった。体重 60kg の成人に  $\blacksquare$ ng/枚のコレラトキシンを含む本品を 50 枚移植した場合、コレラトキシン量は  $\blacksquare$   $\mu$ g/kg 未満となり、これはサル致死量の  $1/\blacksquare \sim 1/\blacksquare$  未満、マウス LD<sub>50</sub> の  $1/\blacksquare$  未満であり、最大 200 枚移植した場合の残留量は  $\blacksquare$   $\mu$ g/kg 未満でサル致死量の  $1/\blacksquare \sim 1/\blacksquare$  未満であることから、コレラトキシンによる有害事象の発現頻度は低いと考えられる。これらの結果から、本品のコレラトキシン残留量は安全性に問題はないと判断したが、コレラトキシンもタンパク質であることから、アレルギーの可能性について添付文書に記載し、注意喚起する。

その他の培地成分等の安全性については、本品に残留する理論値を算出し、いずれも安全域は確保されていると推察した。なお、培地成分中のヒト上皮増殖因子（遺伝子組換え）等のタンパク質については、アレルギーの可能性について添付文書において注意喚起する。

#### < 機構における審査の概略 >

機構は、医療機器の承認申請に必要な生物学的安全性に関する試験としては、細胞毒性試験、感作性試験等が提出されていないことから、本品における各試験の安全性評価について申請者に説明を求めた。

申請者は以下のように回答した。本品は医療機器に分類されることから「医療用具の製造（輸入）承認申請に必要な生物学的安全性試験の基本的考え方について」（平成 15 年 2 月 13 日付け 医薬審発第 0213001 号厚生労働省医薬局審査管理課長通知）に従った生物学的安全性試験に関して検討する必要があることは認識しているが、本品は細胞のみから構成されており、上記通知に記載されている原材料の定義とは異なることから本品には馴染まないものであり、一般的に確立された試験法での実施は困難である。そこで、本品においては「ヒト又は動物由来成分を原料として製造される医薬品等の品質及び安全性確保に

ついて」(平成12年12月26日付け医薬発第1314号厚生省医薬安全局長通知)に基づいた核型分析試験、軟寒天コロニー形成試験、ヌードマウスを用いた造腫瘍性試験を実施し、安全性の評価を行った。なお、原材料に関しては、「異種移植に関する指針」により安全性の評価を行った。

機構は、非臨床安全性評価に関しては、現時点では細胞・組織加工医薬品・医療機器における一般的に確立された試験法はなく、関係する指針等を踏まえた上での申請者の考察は妥当なものと判断するが、移植された本品の腫瘍化の可能性については、完全に否定することはできないため、移植後の長期的な観察が必要と考える。

## ホ．性能に関する資料

### <提出された資料の概略>

今回の申請に際し、本品の性能にかかる評価資料は提出されていない。

申請者は以下の理由から、効能又は効果を裏付ける動物試験や作用機序に関する基礎試験を不要と判断し、これまでに Green 型自家培養表皮を用いて行われた臨床試験報告を参考資料として提出している。

本品は増殖能を有する患者由来の表皮細胞であり創閉鎖が見込めること

本品の培養に用いるフィーダー細胞 (Swiss マウス胎児由来の 3T3-J2 細胞株) 培地成分及び表皮細胞の培養・シート剥離方法は、既に米国で販売されている「Epichel<sup>®</sup>」を含む Green 型自家培養表皮と同様であり、これら Green 型自家培養表皮は本品の類似品と判断できること

### <機構における審査の概略>

#### (1) 効能又は効果を裏付ける試験について

機構は、本品の移植後の推移、生着のメカニズム、生着後の組織学的な変化等について申請者に説明を求めた。

申請者は以下のように回答した。Green 型自家培養表皮の移植による創面への生着・上皮化は、早ければ 1 週間以内に完了する。この移植初期の生着メカニズムに関する報告はないが、患者本人の細胞が移植箇所増殖して生着する過程を、正常な生体反応の範疇で推測すると次のとおりとなる。

本品の移植直後は、移植部位の術式による固定や、創の滲出液成分による単純な接着力で、本品を構成する表皮細胞が創面に接触する。

創面に接触した表皮細胞は、カドヘリンなどの細胞接着分子を産生して真皮層に接着する。

表皮細胞は細胞増殖を開始すると共に、カドヘリンのデスマグレインが細胞間にデスマソームを形成し、またインテグリン、ラミニン 5 等を介して表皮細胞と真皮組織間にヘミデスマソームが形成されて、表皮細胞と真皮層が結合する。

表皮細胞が細胞増殖を繰り返し、真皮層に結合しながら創面全体を被覆する。

細胞接着分子の産生と細胞増殖に関してはどちらが早いかは不明であるが、本品が真皮層に静置されただけでは生着・上皮化するとは考えにくいことから、創閉鎖に至るには細胞増殖を伴った細胞組織間結合が完了する必要があると考えられる。本品の移植後の長期

経過は Green 型自家培養表皮の移植後の組織学的所見の報告( Sci Am 265: 96-102, 1991、BIO Clinica 13: 48-52, 1998 )と同様の経過を辿ると考える。すなわち、Green 型自家培養表皮の移植 1 週後で基底層から有棘層、顆粒層及び角質層に至る表皮の形態が認められ、さらに、移植 3~4 週で基底膜が完成する。そして、移植 1 年後には真皮層と表皮層の境界に緩やかな波状の表皮突起が形成され、移植 2~5 年以内に正常皮膚の形態に似た複雑な表皮突起が構築される。なお、本品の臨床試験時は、移植面積に対する表皮形成率を有効性評価の主解析項目としたプロトコールで実施し、移植部の組織学的評価は行っていない。これは、倫理的な配慮から被験者に侵襲を与える生検を行わず、また組織学的評価は上記のとおり文献的考察で評価できると判断したからである。

また機構は、申請時の「性能、使用目的、効能又は効果」として、「熱傷創の中でも、真皮層が存在する 度熱傷に自家培養表皮を適用した場合はほぼ 100% 先着し、速やかに創を閉鎖することが知られている。真皮層が存在しない 度熱傷に対しては、予め同種皮膚を移植して真皮層を再建した後に本品を適用すれば、同様の効果が得られる」とされていることから、その根拠について申請者に説明を求めたところ、申請者は以下のように回答した。Green 型自家培養表皮は 度熱傷のような真皮層が全く存在しない全層欠損創には生着率が悪いことが知られている(熱傷 18: 59-70, 1992)。これは培養表皮シートが基底膜を介して生着するため、真皮成分のない創に比べ真皮成分が残存する創の方が、基底膜が形成しやすいことによると理解されている。しかしながら、Cuono らは、度熱傷に対して、最初にカダバースキン等の同種皮膚を移植することで、真皮層を再建させる手法を開発している( Lancet 8490: 1123-1124, 1986、Plast Reconstr Surg 80: 623-635, 1987)。これは、真皮層が存在しない創にカダバースキン等の同種皮膚を移植すると、その細胞成分は免疫拒絶によって脱落するものの同種の真皮成分が残り、そこに線維芽細胞が侵入すると共に血管新生が起き、真皮層が再構築されるというものである。この方法によって、度熱傷に真皮層を再構築して 度熱傷様の状態を作り上げてから Green 型自家培養表皮を移植すると、通常の 度熱傷と同様に高い生着率が得られることが報告されている( J Burn Care Rehabil 13: 174-180, 1992)。本品についても臨床試験時に、度熱傷創に対しカダバースキンの移植の後に本品を適用した際の有効性が確認されている。

機構は、上記 2 点に対する回答について、以下のとおり考える。本品は Green 型自家培養表皮であり、培養に用いるフィーダー細胞、培地成分及び表皮細胞の培養・シート剥離方法が類似した Green 型自家培養表皮を用いた臨床試験成績を参考にすること、倫理的な配慮から本品の臨床試験時に組織学的評価の実施が困難であったことについては理解できるものの、本品の性能を裏付ける動物試験や作用機序に関する基礎試験を全く行わずに、本品の性能が評価できると判断している点については懸念が残る。そこで、動物を用いた自家移植試験や、免疫不全マウスを用いたヒト培養表皮の移植試験等を実施する必要はないか、申請者に説明を求めた。

申請者は以下のように回答した。ヒトの治癒過程と異なり、一般に動物の皮膚欠損 - 創傷治癒モデルでは創収縮が大きく、正確な表皮形成率は求められず、動物の熱傷モデルで上皮化を評価する標準化された手法はない。また、皮膚欠損に同種皮膚を移植する Cuono らの手法で真皮を再構築した後、自家培養表皮を移植するという動物実験モデルは確立されておらず、さらに免疫不全動物を用いると同種移植と自家移植の有効性の解釈が不明確

になる。一方、他の Green 型自家培養表皮において、実際に Ⅲ度熱傷など真皮層が残存した創に対する臨床的有用性や、Ⅲ度熱傷などの全層欠損創に対する Cuono らの手法は確立しており、ヒトにおける有効性が実証され、さらに移植後の詳細な組織学的経過に関する知見も報告されていることから、改めて動物実験モデルを策定・標準化して試験を行う必要はないものとする。

機構は上記の回答を了承するものの、今回、臨床試験において本品の性能が評価されたのは 2 例のみであることから、引き続き製造販売後においても本品の効能・効果を検証していく必要があると考える（へ. 臨床試験成績に関する資料<機構における審査の概略>「(6) 製造販売後の検討事項について」を参照）。

## (2) 使用方法を裏付ける試験について

本品は Green 型自家培養表皮であり、使用法は、移植する創面に本品をそのまま適用( 静置 ) して、数日間ずれないように被覆材で保護するだけであることから、特に使用法を裏付ける試験は実施されていない。

## へ. 臨床試験成績に関する資料

### < 提出された資料の概略 >

有効性及び安全性の評価資料として、国内臨床試験 1 試験の成績が提出された。申請時の資料に示された情報は極めて不足していたため、平成 19 年 3 月 16 日付けで提出された改訂版資料概要に基づいて記載する。

### (1) 国内臨床試験 ( 添付資料 : へ - 1、試験番号 J-TEC003 < 臨床試験実施期間 : 2004 年 4 月 ~ 2004 年 8 月 >、公表論文なし )

20 歳以上の熱傷患者を対象に、本品の重症熱傷に対する有効性 ( 表皮形成率 ) 及び安全性の確認を目的とした多施設共同非盲検非対照試験が、国内 2 施設において実施された。

対象は、本品の移植面積として、Ⅲ度熱傷部面積が約 400cm<sup>2</sup> 以上、BI ( Ⅲ度熱傷面積 ( % ) + 1/2 × Ⅱ度熱傷面積 ( % ) ) が約 30 ~ 90 の症例とされ、登録目標は 2 例とされた。

使用法は、以下のとおりとされた。最小移植面積は約 400cm<sup>2</sup> とされ、移植面積・形状から本品 1 枚あたりのサイズをもとに必要な枚数を担当医師が選択する。初診時に皮膚組織を採取し、本品の製造を開始する。同日あるいは後日、焼痂組織を切除して同種皮膚を移植する。その約 2 ~ 3 週間後、同種皮膚移植部位を剥削し、本品を移植する。

有効性は、同種皮膚移植により形成された真皮層 ( 肉芽 ) への本品の生着・上皮化による、移植 4 週間後の表皮形成率をもとにした判定基準により、「極めて有効」、「有効」、「やや有効」、「不良」の 4 段階で評価された。安全性は、移植後 4 週間あるいは上皮化完了までの長い方の期間に発生した有害事象をもとに、「極めて安全」、「安全」、「安全性に疑問あり」、「安全でない」の 4 段階で評価された。また、臨床試験終了の 1 年後に創の状態 ( 拘縮等の症状 )、疼痛等の自覚症状、有害事象が調査された。

さらに、有効性及び安全性の評価結果をもとに総合的に判断し、「極めて有用」、「有用」、「やや有用」、「どちらともいえない」、「好ましくない」の 5 段階で有用性評価 ( 総合評価 ) が実施された。

目標登録例数 2 例に対し 2 例が登録され、全例に本品の移植が行われた。有効症例数は 2 例であった。観察期間の終了後に 1 例が死亡したため、1 年後の創の状態は 1 例においてのみ調査された。

有効性については、「極めて有効」(表皮形成率 100%) 1 例、「有効」(表皮形成率 50%) 1 例であった。

安全性について、有害事象は 2 例に発現したが、本品との因果関係は「関係なし」とされた。有害事象は、提出された治験総括報告書及び申請時の資料では急性腎不全のみであったが、審査の過程で個々の症例の項に示す他の有害事象が追加された。重篤な有害事象として急性腎不全が 1 例に発生し死亡の転帰をとったが、本品との因果関係は否定された。

有用性評価(総合評価)は「極めて有用」1 例、「有用」1 例であった。

個々の症例を以下に示す。

#### 1) 症例 XXHA

34 歳女性、火災による 25%の 度熱傷及び 10%の深達性 度熱傷(BI 30.0)の症例である。受傷同日、J-TEC003 試験に組み入れられ、右上腕部の 度熱傷部位にカダバースキンが移植された(移植面積 900cm<sup>2</sup>、30×30cm)。同時に患者の全層皮膚組織(100×30mm)が採取され、本品 15 枚が製造された。受傷 18 日後の本品移植時に、カダバースキン移植部位に感染が認められたため、移植面積を縮小し(450cm<sup>2</sup>、15×30cm)、本品 12 枚が移植された。本品の移植 4 週後の表皮形成率は 50%であり、「有効」と判断された。また、この時点で追加治療として本品移植部位のうち上皮化していない約 200cm<sup>2</sup>の部位に自家分層植皮が行われ、その 33 日後(本品移植 62 日後)に上皮化が完了した。

本症例は、上皮化完了の翌日に退院後、基礎疾患の悪化により通院を拒否したため、退院後の治療がなされておらず、その後の詳細な情報に関しては得られていない。ただし、長期の有効性については、J-TEC003 試験終了後の追加観察として、本品移植 14 ヶ月後に創の状態が評価され、移植部位は肥厚性瘢痕及び瘢痕拘縮を呈し、拘縮部には潰瘍形成を来していた。本品による上皮化が得られず分層植皮が追加実施された部位も、肥厚性瘢痕及び瘢痕拘縮を呈していた。これらについて、申請者は、退院後十分な後療法が行えなかったことが原因の 1 つであると説明している。なお、創部に掻痒感、疼痛等の自覚症状を認めなかった。

有害事象としてメチシリン耐性黄色ブドウ球菌感染、グラム陰性桿菌感染、急性肝機能障害、発熱及び炎症反応が発現したがいずれも熱傷とその治療による影響とされ、本品との因果関係は否定された。

#### 2) 症例 LYTO

33 歳男性、火災による 59%の 度熱傷及び 3%の深達性 度熱傷(BI 60.5)の症例である。重症度がかなり高く観察・評価に適さないとの判断から J-TEC003 試験に組み入れられていなかったが、初期のショック期及び感染期からの改善が見られたことから、受傷 44 日後に J-TEC003 試験に組み入れられた。受傷 46 日後に両大腿部前面の 度熱傷部位にカダバースキンが移植された(移植面積 322cm<sup>2</sup>、14×23cm 及び 280cm<sup>2</sup>、14×20cm)。同時に全層皮膚組織(40×20mm)が採取され、本品 11 枚が製造された。カダバースキン移植 21 日

後（受傷 67 日後）に本品が同部位（両大腿部に各 4 枚、合計 8 枚）に移植された。本品移植 4 週後の表皮形成率は 100%であり、「極めて有効」と判断された。

本症例は、本品移植 24 日後（受傷 91 日後）に腎機能障害が発症し、急性腎不全と診断された。その後、呼吸、循環不全を併発し、腎不全発症 38 日後に死亡した。本有害事象は本品に起因するものではなく、重症熱傷という原疾患に起因する感染及び感染治療薬の影響により複合的に発症し、死に至ったものとされ、本品との因果関係はないと判断された。

その他の有害事象として、真菌血症、急性膵炎、急性循環不全、急性呼吸不全、播種性血管内凝固、鉄欠乏性貧血、感染、低体温、発熱、出血、悪寒、滲出液、嘔吐、疼痛、そう痒、口渇、倦怠感、チアノーゼ、急性肝機能障害、炎症反応、貧血、血液凝固異常、アミラーゼ値低下、低カルシウム血症、クレアチンホスホキナーゼ(CK)低下及び血中鉄(Fe)値低下が認められたがいずれも熱傷とその治療及び前記の急性腎不全による影響とされ、本品との因果関係は否定された。

#### < 機構における審査の概略 >

申請時に提出された資料には、各症例に関する具体的な情報（移植前後の処置及び患者状態、移植部位、有害事象、移植 1 年後のフォローアップデータ等）、安全性の評価基準、有害事象に関する本品との因果関係の検討等の説明が不足していた。また、治験実施計画書においては、必要な安全性情報を十分収集するための具体的な手順等が作成されていないため、カルテ等の原資料まで遡及しても詳細な情報を十分確認できなかった。さらに、本品の対象疾患である皮膚移植が必要となる重症熱傷症例が極めて少ないこと、現状で標準治療も確立されていないこと等から、実施可能性も考えると、臨床試験実施症例数を 2 例に設定したことは理解できるものの、承認申請の製造方法は治験機器の製造方法から変更されており、承認申請の製造方法で製造された製品を用いた臨床試験は実施されていない。しかしながら、治験機器と販売予定品の品質面からの類似性が高いことが示されており、製造方法変更が有効性・安全性に重大な影響を及ぼす可能性は低いと考えられる（口・物理的・化学的性質並びに規格及び試験方法に関する資料< 機構における審査の概略 >「(2) 製造方法の変更について」参照）ことから、臨床試験で得られた情報は極めて限られてはいるものの、提出された J-TEC003 試験実施症例 2 例の試験成績を詳細に検討し、加えて、適宜公表論文を交えて考察することにより、本品の評価を行なった。

#### (1) 有効性について

提出された本品（治験機器）の臨床試験成績は、プロトコール上、重症熱傷患者の局所における本品の表皮形成率に関する情報を得ることが目的とされていたため、本品を使用する目的である重症熱傷患者に対する救命への寄与を検討可能な情報は得られていない。しかし、機構は、2 例での移植 4 週間後の表皮形成率の結果から、burn wound sepsis の発症頻度が低下し、救命率の向上に寄与しうるとは十分に期待できるものと判断し、対象疾患が標準治療の確立されていない重篤な疾患であることを鑑みると、現時点において本品を臨床現場に供することは妥当と判断した。ただし、製造販売承認後には本品（販売予定品）の表皮形成率及び救命への寄与等の長期の有効性を含めた情報を迅速に収集し、適切に臨床現場に情報提供する必要があると考える。



以上の機構の判断は、専門協議で議論したい。

以下に有効性に関する審査の詳細を記載する。

#### 1) 有効性の評価項目の妥当性について

機構は、本品の移植 4 週間後の表皮形成率を有効性の評価項目として設定した根拠について申請者に説明を求めた。

申請者は以下のように回答した。本品の有効性は、本品を真皮層が存在している熱傷創面に移植すると、被験者自身の表皮細胞が速やかに真皮組織に接着・増殖することで、移植面が上皮化し、創を閉鎖することであることから、本品移植面積に対する上皮化面積の比を表皮形成率として評価項目に選択した。また、本品は他の Green 型自家培養表皮と同様に、移植 1 週間後に表皮の形成が認められ、移植 3~4 週間後に基底膜が完成して結合が強固になる (Sci Am 265: 96-102, 1991) と考えられること、4 週間を超えた場合には追加の治療を行う必要があることから、4 週間後まで観察することにした。

機構は、広範囲熱傷創の治療の最終的な目標は、予後の改善であるが、そのためにはまず、創面が上皮化により閉鎖されることが必要という観点から、本品の有効性を表皮形成率によって評価することは妥当であると判断した。また、評価時期についても、移植された Green 型自家培養表皮が組織学的に正常皮膚と同様の構造を示すには 1 年以上を要するとされ (Lab Invest 60: 600-612, 1989) 上皮化した本品が長期間、拒絶・脱落しないことの確認が必要であるものの、申請者の回答にもあるように移植 3~4 週後の時点で基底膜が形成され、真皮層との結合が係留線維 (anchoring fibril) の形成により徐々に強固になるとする報告もあり (Lab Invest 60: 600-612, 1989) 組織学的な治癒過程からも妥当であると判断した。

#### 2) 表皮形成率について

機構は、J-TEC003 試験において 2 例の表皮形成率 (50% 及び 100%) に大きな差が生じた理由について申請者に説明を求めた。

申請者は以下のように回答した。2 例間で、表皮細胞の増殖速度並びに最終製品のコロニー形成率には大きな違いは認められなかった。出荷から移植までの時間には差異があったが (症例 XXHA : 22 時間 30 分、症例 LYTO : 6 時間 30 分。フラスコ剥離から移植までの時間は 2 例とも約 2 時間) 治験機器と並行して作製した最終製品を輸送と同じ温度条件下で保管し、実際の移植時間に合わせて測定した最終製品の生細胞率 (症例 XXHA 90.3%、症例 LYTO 92.4%) 及び生細胞密度 (症例 XXHA  $20.3 \times 10^4$  個/cm<sup>2</sup>、症例 LYTO  $28.2 \times 10^4$  個/cm<sup>2</sup>) に大きな違いは認められず、出荷から移植までの時間が 2 例の表皮形成率の差に影響を与えた可能性はないと考える。カダバースキンの生着状態は両症例とも「どちらともいえない」(移植床に細菌感染が認められ、生着状態は良好とは言えず真皮の再建の程度は判定不能) と判断されたが、症例 XXHA では創感染及び中等量の滲出液が観察されており、移植床の状態が良好でなかったと考えられ、このことが表皮形成率に影響を及ぼしたと考える。なお、症例 XXHA は関節域 (右上腕部~右肘) が移植部位に含まれていることが表皮形成率に影響を及ぼす可能性もあるが、移植床の状態ほどには大きな影響を与えること

はないと考える。また、公表論文からも、Green 型自家培養表皮の表皮形成率（有効性）に影響を与える因子として、移植部位（Burns 26: 379-387, 2000、N Engl J Med 311: 448-451, 1984）、移植床の状態（J Burn Care Rehabil 13: 174-180, 1992、Burns 15: 303-309, 1989、形成外科 43: 557-562, 2000、Transplantation 70: 1588-1598, 2000）が挙げられると考える。

機構は、一般に、皮膚移植の際の表皮形成率に影響を与える因子としては、移植片の移動、移植床の動き及び移植片と移植床の接着の度合いが挙げられているが、適度な圧迫や移植部位のギプスやシーネによる固定によって絶対安静が基本とされており、関節域が移植部位であったことが表皮形成率に及ぼす影響は申請者の主張どおり大きくはないものと考ええる。以上の点を鑑み、申請者の回答は概ね了承可能であると判断した。

ただし、症例 LYTO において本品移植時には感染が認められたにもかかわらず移植 4 週間後の表皮形成率は 100%であることから、機構は、感染創に対する客観的な評価基準の必要性について申請者の見解を求めたところ、申請者は、感染創に対する菌種、菌数等を考慮した客観的な評価基準を用いることが望ましいが、一般的な自家植皮による熱傷治療においても基準を設定するのは困難であると回答した。

機構は、申請者の見解は概ね妥当と考えるが、現時点において、移植床の状態が、表皮形成率に大きな影響を及ぼす懸念があると回答する以上、客観的な評価指標が確立されることが望ましいと考える。したがって、表皮形成に関わる因子に関しては、製造販売後も引き続き検討する必要があると考える。

### 3) 長期の有効性について

年齢を考慮した熱傷予後指数（Prognostic Burn Index：PBI）が予後予測に最も有用であるとする報告（救急医学 2003; 27: 3-6）もあるが、J-TEC003 試験には死亡率が 30%を超えるとされる PBI 90 以上が 1 例（PBI 93.5）含まれている。機構は、2 例について、本品の移植面積の熱傷創面積全体に対する割合を踏まえ、予後の改善、すなわち救命との関連について申請者に説明を求めた。

申請者は以下のように回答した。2 例において、全熱傷面積に対する移植面積の比率はそれぞれ 7.0%及び 4.4%であり、救命に対する寄与について直接判断できるものではない。これは臨床試験プロトコルのデザインに起因し、J-TEC003 試験の目的は重症熱傷患者に対する救命の確認ではなく、重症熱傷に対する本品の表皮形成率及び安全性の確認である。J-TEC003 試験において有効な表皮形成能力を有することが確認できたことから、重症熱傷患者に対して広範囲に移植することにより、創閉鎖及び救命に十分寄与することが期待できると考える。

機構は、前述のように、本品の真の評価項目は予後の改善、すなわち救命にあるが、申請時に得られている情報は、局所の上皮化に関する情報のみに限定されており、申請時点及び審査期間中において、救命に対する本品の寄与に関する情報が得られたと言える段階ではないと考える。しかしながら、重症熱傷に対し、本品による上皮化の結果、広範囲熱傷患者の予後改善に寄与する期待がもてるとする申請者の主張は、対象疾患の重篤性を鑑みると理解できる。したがって、製造販売後においては、臨床試験において評価されていない、救命への寄与等を含めた長期の有効性に関する情報を収集し、迅速かつ適切に臨床現場に情報を提供することが必要であると判断した。

## (2) 安全性について

J-TEC003 試験における有害事象については、試験開始時期が医療機器の臨床試験の実施の基準に関する省令（平成 17 年 3 月 23 日厚生労働省令第 36 号）（以下、「医療機器 GCP 省令」）施行前ということもあり、有害事象の収集の趣旨が治験担当医師に周知徹底されておらず、治験総括報告書及び申請資料では、重篤な有害事象と考えられた急性腎不全 1 件のみが挙げられていた。しかし、有害事象は、医療機器 GCP 省令第一章第二条 18 項で定義されるとおり「治験機器又は製造販売後臨床試験機器が使用された被験者に生じたすべての疾病若しくは障害又はこれらの徴候」であり、安全性の評価のためには重篤と判断されなかった有害事象に関する情報も必要と考えられるため、機構は、J-TEC003 試験期間中に認められた全ての有害事象の提出を申請者に指示したところ、申請者は臨床試験期間中に実施された種々の臨床検査データ、カルテ記載、看護記録及び投薬履歴にまで遡及して、＜提出された資料の概略＞に記載した有害事象報告が提出された。また、本品の長期的な安全性については、症例 XXHA の本品移植 14 ヶ月後の観察時点では、有害事象として、移植部位に肥厚性癒痕、拘縮及び潰瘍が観察されたが、それ以外の本症例の安全性に関する情報は得られていないと申請者から回答されている。

機構は、提出された全有害事象を検討し、本品との因果関係が強く示唆される重篤な有害事象はないことを確認した。したがって、提出された資料及び回答の範囲からは、本品による重篤な有害事象の懸念は現時点までに得られておらず、重篤な広範囲熱傷を対象に本品を使用する上では、安全性上の大きな問題はないと考える。しかしながら、J-TEC003 試験の実施症例は全 2 例であり、そのうち 1 例は本品移植 62 日後に死亡、生存 1 例は基礎疾患の悪化により退院後の通院を拒否したため、退院後の治療がなされておらず、安全性の情報に関しては極めて限定されているため、製造販売後に安全性に関する情報を適切に収集し注意喚起する必要があると考える。

なお、培養表皮の安全性に係る有害事象として、長期の脆弱性すなわち、培養表皮移植後数ヶ月間にわたり、移植部位は機械的刺激により水疱形成がなされやすい（Burns 32: 395-401, 2006）との報告や、移植後のウシ胎児血清に対する抗体産生（J Trauma 28: 1054-1059, 1988）の報告もなされていることから、これらの情報は適切に情報提供を行なう必要があると考える。

## (3) 適応対象及び臨床上の位置付けについて

### 1) 適応対象患者について

申請時には、本品の適応対象は「重症熱傷（広範囲熱傷等）」とされていた。熱傷の重症度の基準としては、Artz の基準（in The treatment of burns, 2<sup>nd</sup> ed.: 89-108, 1969）、Moylan の基準（in Burns: a team approach: 151-158, 1979）、American Burn Association の基準（J Burn Care Rehabil 11: 98-104, 1990）等が存在しており、さらに、本邦では、熱傷深度を考慮に入れた BI や、年齢を考慮した PBI が重症度の判定に用いられており（救急医学 24: 476, 2000）、それぞれに重症熱傷の定義は異なっている。機構は、重症熱傷の定義について申請者に説明を求めた。

申請者は以下のように回答した。J-TEC003 試験において本品が移植されたのは、いずれ

の例もカダバースキン移植により前処置された創であり、現在、同種皮膚はスキンバンクから必要に応じて適用されるカダバースキンが使用されることが多いと想定されることから、カダバースキンが適用される条件（日本熱傷学会スキンバンクマニュアル）を本品の適応対象として採用し、重症熱傷の定義は「BI 10 以上又は深達性 度熱傷以上で 15%以上の広範囲熱傷」と考える。

機構は、提出された J-TEC003 試験の結果からは、申請時に申請者が設定した適応対象に対する有効性及び安全性については、症例数が少数であり、また、全熱傷面積に対する移植面積の比率も限定的（7.0%及び 4.4%）であって、十分な情報が得られているとは言い難いと考え。他方、これまでの複数の公表論文又は Epicel<sup>®</sup>の情報から、標準治療が存在せず治療が困難な、より重篤な熱傷を対象とする場合には、期待されるベネフィットが本品の懸念される安全性のリスクを上回ると考える。以上の点を踏まえ、本品の適応対象を再検討するよう申請者に求めたところ、申請者は、本品の使用は熱傷の受傷により致死的な状態にある重傷熱傷患者に限るものとする、また、東京都熱傷救急連絡協議会による熱傷の統計データ（救急医学 27: 3-6, 2003）では、BI 50 以上では致死率が 86.1%となることから、本品の対象患者の基準として例えば BI 50 以上等を想定している旨を回答した。

機構は、有効性及び安全性の議論を踏まえ、本品の適応対象を、重篤な広範囲熱傷とすることが妥当と考える。BI 50 以上の熱傷患者が「重篤」に該当すると考えられるものの、具体的な適応対象患者の妥当性については、専門協議において議論したい。

## 2) 臨床上的位置付けについて

機構は、本品の適用について、申請者は熱傷の深度や重篤度に応じてどのように使用することを想定しているのか、自家植皮との関係を含めて明確に示した上で、その設定した使用方法における有効性及び安全性について説明するよう申請者に求めた。

申請者は以下のように回答した。度熱傷、浅達性 度熱傷では、熱傷創は 1~2 週間で上皮化するため、本品の適応対象にはならない。深達性 度熱傷は真皮組織の深い部位には傷害は及んでいないものの、上皮化には長時間を要するため、早期の創閉鎖を目的として、自家植皮が行われることが多い。同様に真皮層が残存していない 度の熱傷においても通常自家植皮による治療が行われる。自家植皮の面積が、患皮部の面積の 2~3 倍程度であれば、メッシュグラフト又はパッチグラフトが可能であるが、受傷面積がさらに広い場合にはカダバースキン又は近親者等から採取された新鮮同種皮膚によって、一時的に創を被覆し、感染の予防を行う。同種皮膚はやがて拒絶反応のため脱落するが、2~3 週間は移植創に生着するため、その間に本品を作製し、同種皮膚除去後に本品を移植することにより創面が上皮化し、創を閉鎖することができる。また、深達性 度熱傷では患者自身の真皮が残存していることから、真皮が感染等の障害を受ける前であれば、真皮が良好な移植床となり、同種皮膚の移植を介することなく、本品のみで治療が可能であると考え。

機構は、本品の臨床上的位置付けについて、以下のように考える。広範囲の熱傷患者の治療においては、創をできるだけ早く保護、閉鎖することで体液の蒸散を防ぎ、感染を予防することが重要である。通常、受傷後早期（通常 1 週間以内）に壊死組織（焼痂）を切除し、患皮部が許す限り自家植皮による創の閉鎖が行われる（in Total burn care 2<sup>nd</sup> ed: 170-182, 2002、N Engl J Med 335: 1581-1586, 1996、JAMA 290: 719-722, 2003）。したがって、1 回の自

自家植皮が可能な面積には限りがあり、焼痂の早期切除の結果、切除創面の自家植皮による創閉鎖に限界があるような広範囲熱傷の場合には、同種皮膚移植や人工皮膚により、植皮が可能となるまで体液喪失や病原菌侵入を防ぎ、一時的な創保護を行う必要がある。しかし、同種皮膚移植後の再建真皮や人工皮膚自体には表皮細胞が含まれていないため、自発的な上皮化が不可能であり、上皮化を得るためには自家植皮を行う必要がある。広範囲熱傷の治療上の問題点の一つとして、治療のための自家植皮の採皮部位の不足のため、十分な面積の上皮化が得られないことが挙げられる。本品は、自家植皮で被覆できない部分を補填し、少ない採皮量により広範な熱傷創を上皮化できる点、採皮の回数を減少できる点で臨床的に意義がある。本品の製造には最短でも15日間を要することから、本品の移植が可能となった時点においても、自家植皮のための採皮（患皮）部の不足により閉鎖できない創が残存する場合には、本品の移植により熱傷創が上皮化され創が閉鎖されることが期待される。したがって、提出された J-TEC003 試験成績は、本品の上皮化の確認のみを目的としており、現段階では本品の有効性及び安全性に関する情報は極めて限られているが、本品の適応対象を標準治療が存在せず治療が困難な重篤な広範囲熱傷に限定した場合には、新たな治療の選択肢としての位置付けが期待できる。

以上の機構の判断に関しては、専門協議で議論したい。

### 3) 移植する創の熱傷深度について

機構は、本品の対象となる移植熱傷創は Ⅱ度及びⅢ度熱傷と申請され、浅達性Ⅱ度熱傷を本品の対象としないことは申請後に説明されたが（「2）臨床上の位置付け」参照）、臨床試験において本品の使用経験のない深達性Ⅱ度熱傷は本品の移植対象部位とされたことから、その妥当性について申請者に説明を求めた。

申請者は、深達性Ⅱ度熱傷創であっても創の早期閉鎖の観点から本品が必要になる場合が想定され、この場合、同種皮膚の移植を介することなく、本品のみで治療が可能であると回答した。

機構は以下のように考える。本品を移植する熱傷創の深度は、原則として臨床試験成績が得られているⅡ度熱傷創である。しかし、深達性Ⅱ度熱傷は上皮化に時間を要し（21-60日）（N Eng J Med 335: 1581-1586, 1996）、前述のように、Ⅱ度熱傷創及び深達性Ⅱ度熱傷創の標準的治療法は、受傷後早期にデブリードマンを行い、採皮創の不足から自家植皮が出来ない場合には同種皮膚等により創を被覆することとされており、両者は特別に区別して論じられておらず（in Total burn care 2<sup>nd</sup> ed: 170-182, 2002、N Engl J Med 335: 1581-1586, 1996、JAMA 290: 719-722, 2003）、また、現実的にはⅡ度熱傷及び深達性Ⅱ度熱傷創を区別した上で、Ⅱ度熱傷創のみに本品を移植することは困難な場合も予想される。以上より、深達性Ⅱ度熱傷創への本品の適用について除外することは現実的ではなく、使用を否定するものではないが、臨床試験において使用経験がないことを情報提供した上で、リスクとベネフィットを比較考量して使用することが適切である。また、深達性Ⅱ度熱傷創に適用した場合の本品の有効性及び安全性に関する情報は、製造販売後に確認する必要がある。

## （4）使用方法について

### 1) 本品の複数回移植について

広範囲熱傷創を有する重篤な熱傷患者は、その体表面積に占める熱傷面積の割合が大きい場合、一期的な移植のみならず、複数回にわたる移植が必要になる場合が予想される。機構は、本品の複数回移植の安全性について申請者に説明を求めた。

申請者は以下のように回答した。最終製品に残留する原材料や製造工程由来の不純物の中で、フィーダー細胞、ウシ由来血清、抗生物質及びその他の残留量は極めて少ないことから、複数回移植による安全性に問題はないと評価した（二．電気的安全性、生物学的安全性、その他の安全性に関する資料＜提出された資料の概略＞「(4) 最終製品に残存する生物由来原料、抗生物質等の安全性」参照）。また、本品の類似品と考えられる Green 型自家培養表皮の複数回移植を実施したことが明らかな複数の公表論文（Lancet 8211: 75-78, 1981、N Engl J Med 311: 448-451, 1984、Plast Reconstr Surg 82: 99-110, 1988）では、複数回移植に起因するアレルギー、感染症等の有害事象の報告はない。

機構は、複数回移植の臨床試験成績は呈示されておらず、公表論文のみから複数回移植の有効性及び安全性について結論を導くことは困難であり、本品の同一患者への複数回移植の安全性に対する懸念が払拭できないものの、本邦における当該領域の標準的治療が確立していない現状にも配慮して禁忌とはせず、添付文書等において、複数回移植に関する十分な情報がない旨を明確に示すことが妥当であると考え。ただし、製造販売後において複数回移植に関する情報を収集し、適切かつ迅速に情報を提供する必要があると考える。

## 2) 本品の移植量（移植枚数）

機構は、本品の1回の移植における最大移植枚数について申請者に説明を求めた。また、複数回にわたる移植での最大移植枚数について説明を求めた。

申請者は以下のように回答した。移植計画について、受傷面積が広範囲にわたる重症熱傷においては、1回の手術で切除可能な創の面積に限界がある(最大で体表面積の20～30%)ことから手術は通常複数回に分けて実施される。この面積から、本品の1回の最大移植数は50枚(日本人成人男性の平均体表面積  $16,000\text{cm}^2 \times 0.25 = 4,000\text{cm}^2$ 、本品1枚あたりの有効面積  $80\text{cm}^2$  より、 $4,000\text{cm}^2 / 80\text{cm}^2/\text{枚} = 50\text{枚}$ )と規定した。また、本品の複数回移植による移植枚数は、日本人成人男性の平均体表面積  $16,000\text{cm}^2$  から換算して最大200枚と想定している。

機構は以下のように考える。提出された J-TEC003 試験における最大使用枚数は12枚であり、それ以上の枚数を使用する際の安全性と有効性について、現時点では情報は得られていない。また、申請者の主張する1回の手術における切除可能な創の面積は、受傷後早期に焼痂をデブリードマンした後に自家植皮を行う場合の処置面積であって、培養表皮を移植する際の処置可能面積とは異なる。しかし、本品が BI 50 以上の極めて重篤かつ標準治療の確立していない広範囲熱傷を対象とするのであれば、1回の移植枚数を臨床試験で使用経験のある12枚に限定することは現実的でないことから、1回の最大移植枚数を50枚とすることを否定するものではない。ただし、12枚以上の枚数を使用する際の安全性と有効性については、製造販売後に確認する必要がある。なお、J-TEC003 試験の症例 XXHA では、当初  $900\text{cm}^2$  の熱傷創への移植が計画され、移植時に創の感染が認められたために移植面積が  $450\text{cm}^2$  に縮小されたが、当初の計画に基づき製造された枚数(12枚)の本品が重ねて移植された。本来、本品は隣り合うシート同士がわずかに重なり合うように移植するとされ

ているが、重ねて移植されたことによる安全性及び有効性の評価への影響については、申請者が、移植部位への生着に關与するのは直接創面に接する培養表皮シートの表皮細胞であり、重ねて移植しても有効性及び安全性に影響を与えることはないと説明している。しかし、製造販売後には、情報を収集した上で、必要最小限の使用方法について検討し、採皮方法及び採皮面積も含めた適正使用方法を確立する必要がある。

### 3) 真皮再建のための本品移植前の処置方法について

申請者は、本品を真皮の残存しない 度熱傷創に対して適用する場合に、本品の移植を予定する 2~3 週間前に同種皮膚移植等の前処置により、真皮層を再建する必要があるとしている。機構は、J-TEC003 試験において同種皮膚の生着状態が 2 例とも「どちらともいえない」とされていることから、2 例の真皮層の再建の程度について申請者に説明を求めた。

申請者は、臨床試験症例の担当医師からのヒアリングの結果として、両症例とも、真皮の再建の程度は判定不能であったと回答した。

また申請者は、本品移植の前処置として、同種皮膚の他に人工皮膚を医師の判断に基づき選択して使用しているが、J-TEC003 試験においては人工皮膚を用いた場合の情報はないことから、機構は、前処置として人工皮膚を用いることの妥当性について申請者に説明を求めた。

申請者は以下のように回答した。人工皮膚を用いることの妥当性を説明しうる、同種皮膚又は人工皮膚を前処置に用いた場合の Green 型自家培養表皮の生着率等の体系的な比較研究を実施した公表論文は見つからなかった。しかしながら、本品の性能は、真皮が存在する創面に移植すると生着・上皮化し創を閉鎖することにあり、人工皮膚を用いて再建された真皮に適用した場合も、生着・上皮化し創を閉鎖することが期待されると考える。

機構は、さらに、本邦における広範囲熱傷治療において人工皮膚を使用する場合について申請者に説明を求めた。

申請者は以下のように回答した。本品の適応となる重篤な熱傷患者の治療では、真皮の再建を必要とする熱傷面積が大きいこと、地理的な問題や病院間の連携体制などが原因で同種皮膚の入手及び使用が困難となる状況が考えられることから、一期的に同種皮膚のみを使用することは難しく、人工皮膚の併用あるいは術後早期のデブリードマンを行わない保存療法が行われることが想定される。

機構は、前述のように(「(3) 適応対象及び臨床上の位置付けについて 2) 臨床上の位置付けについて」参照) 本品の生着・上皮化のためには、移植床の感染のコントロールも含め、良好な真皮の存在がまず必要であると考え。提出された J-TEC003 試験の成績から、極めて少数例ながらも、カダバースキンを用いた真皮再建後の本品の生着・上皮化については確認されている。一方で、人工皮膚により前処置された創への本品の使用経験はないため、人工皮膚を用いた場合の本品の生着・上皮化は確認できておらず、また、人工皮膚 (synthetic dermal analogs) により前処置された創への培養表皮を適用した場合の有用性は示されていないとする教科書もある (In Total burn care 2<sup>nd</sup> ed : 212-218, 2002) ことから、可能な限り人工皮膚の使用は回避すべきであると考え。しかしながら、申請者も回答したように、広範囲熱傷においては、移植床の感染等の患者の状態や社会的環境によって、人工皮膚を使用せざるを得ない状況又は保存療法が行われる状況も現実的には存在すると考え

る。したがって、本品移植の前処置としては同種皮膚移植が原則であるが、人工皮膚の使用又は保存療法が行われた創への適用も否定するものではなく、添付文書等によりこれらの臨床経験がないことについて情報を提供し、製造販売後には人工皮膚を含めた真皮再建方法別の有効性及び安全性の情報収集とそれを踏まえた適切な情報提供をすることが妥当と判断した。

以上の機構の判断に関しては、専門協議で議論したい。

#### 4) 本品移植後の処置について

機構は、本品の移植方法及びその後の治療方法について申請者に説明を求めた。

申請者は以下のように回答した。本品を適用する際には、一般の植皮術に習熟し、かつ、熱傷治療に関する知識技術を持つ医師により、デブリードマン等による適切な熱傷創（移植部位）の管理を行うことが望ましい。本品を移植した後は、通常の創傷被覆材にて移植創面の保護を行う。移植後数日間は創面を十分に保護し、機械的刺激や感染を防ぐよう配慮する。これらの処置は通常の自家植皮に対する処置に準じたもので、自家培養表皮移植に特有の特別な管理を必要としない。

機構は、Green 型自家培養表皮は、分層植皮と比較して移植創はより脆弱であることが報告されていることから（Burns 32: 395-401, 2006）、本品移植後には分層植皮の場合と比較して、より一層、創傷被覆材による移植創面の保護に留意し、機械的刺激から保護する必要があると考える。

機構はさらに、本品が生着しなかった場合の対応について申請者に説明を求めた。

申請者は以下のように回答した。本品は自家植皮に代わるものとして位置付けることができる。そのため、本品が生着しなかった部位については、自家植皮の実施もしくは本品の再移植による対処方法が考えられる。初回の移植において本品が生着しなかった原因が特定でき二回目の本品の製造及び移植においては解決が可能であれば、本品の再移植を選択することが望ましい。しかし、何らかの原因により本品の再移植ができない場合には、患者の状態を慎重に見極めた上で、可能な限り自家植皮を実施する。

機構は、臨床試験の結果からは自家植皮の代替としての有効性及び安全性は示されていないこと、本品の製造に最短でも 15 日を要することから、本品が生着しなかった部位については、採皮部位が得られるのであれば自家植皮による治療を行うことが妥当と考える。

#### (5) 本品を使用する医療機関および医師の条件について

機構は、本品の有効性及び安全性の情報が極めて限定的であるため、製造販売承認後に本品が使用される医療機関、医師の条件を申請者に確認したところ、対象疾患とした重症熱傷症例を治療することができる施設を有すること、対象疾患とした重症熱傷症例の治療にふさわしい技術・経験を有した医師が所属していること、本品の性質に関して十分な知識を持った医師が所属していることが必要と回答した。

機構は、さらに、そのような条件を満たす医療機関はどの程度存在するか申請者に説明を求めたところ、申請者は、現段階では全国で 10 施設程度がこれに該当し、当初はこれらの施設の医師に対して、本品を取り扱うために必要な情報を提供し、適切に使用するとともに、その他の施設に対し、本品の一般的概要に加え安全性（使用上の注意等）に関する



事項等を記載した医師向けの手引き書による情報提供及びシミュレーション教材を使った製品の取り扱い方（本品の取り出し、移植部位への移動等）のトレーニングを行い、本品の性質に関する情報提供に努めると回答した。

機構は、現時点においては、販売予定品の有効性及び安全性の情報を迅速に収集及び解析を行うまでは、上記の条件を満たした施設に使用を限定することが妥当と考える。

また機構は、本品の新規性を鑑み、上記の条件を満たす医療機関及び医師による使用を前提とした上で、使用する医師等に対し、本品の性質、移植方法、移植前後の処置方法、使用における注意事項等について、資料等を用いて情報提供する必要があると考え、申請者に見解を求めたところ、申請者は同意したため、機構は了承した。

#### （6）製造販売後の検討事項について

製造販売後臨床試験及び使用成績調査の骨子は以下のとおりである。GCP 調査では適合とされたが問題点が多く見受けられたことを踏まえ（4. GCP に係る書面及び実地調査結果参照）申請者からは製造販売後臨床試験及び使用成績調査にあたり社内体制を充実させるとともに、製造販売後臨床試験においてはモニタリング業務、QC 業務等について CRO への委託を検討しているとの回答を得ている。

##### 1) 製造販売後臨床試験について

機構は、販売予定品は治験機器の製造方法から変更されており、それらの品質面からの類似性が高いことが示され、製造方法の変更が有効性及び安全性に重大な影響を及ぼす可能性は低いものの、品質データのみから本品の有効性及び安全性を評価するには限界があること、本品の臨床的位置付けに対して臨床試験で得られた情報は極めて限られていることから、製造販売後臨床試験において、販売予定品の製造販売承認の内容に対応した条件での有効性及び安全性に関する情報収集が必要と考える。製造販売後臨床試験の計画について申請者から以下の骨子（案）が呈示されているが、本臨床試験に関しては、可及的速やかに実施され、試験結果が得られ次第、情報提供が行われるべきであると機構は考える。

症例選択基準や評価項目を含め、製造販売後臨床試験計画の妥当性については専門協議において議論したい。

#### 【製造販売後臨床試験の骨子】

試験の目的：本品の有効性及び安全性の検討

試験の方法：多施設共同非盲検非対照試験

選択基準：致死的な熱傷患者

主要評価項目：移植 4 週間後の表皮形成率

副次評価項目：移植後 1 週目より 1 週間毎の 4 週間後までの表皮形成率、創の状態（感染の有無、滲出液の量及び拘縮等の症状）、自覚症状（疼痛等の有無）、有害事象（生じたすべての疾病若しくは障害又はこれらの徴候）、生存又は死亡

予定症例数：10 例（試験への組み入れ期間として 2 年を想定）

観察期間：1 症例あたり退院後 1 年間までの期間

## 2) 使用成績調査について

機構は、本品（治験機器）の使用経験は現在までのところ全 2 例のみであり、安全性及び有効性に関する情報は極めて限定的であるため、本調査は再審査期間中の全例調査とし、以下の情報を収集し、得られた結果を適切に情報提供する必要があると考える。

1. 本品の表皮形成率
2. 安全性（感染症、アナフィラキシー反応（アレルギー反応）その他の有害事象）
3. 移植成績に関わる因子（移植床の状態、移植部位等）
4. 熱傷深度
5. 移植回数
6. 使用枚数
7. 真皮再建方法
8. 採皮方法及び採皮面積

また、長期の有効性（救命への寄与、瘢痕等による機能性、色素沈着等の審美性等）及び安全性についての項目は、実施可能性を考慮した上で、一定例数以上の調査の実施が必要と考える。以上の機構の判断については専門協議において議論したい。

## 4. GCP に係る書面及び実地調査結果

薬事法の規定に基づき承認申請資料に添付すべき資料（J-TEC003 試験）に対して、「医療用具の臨床試験の実施に関する基準」（平成 4 年 7 月 1 日付け薬発第 615 号厚生省薬務局長通知）への適合性調査の結果、治験実施計画書に起因する有害事象の取扱い等の不統一、一部の治験実施医療機関における契約書の不備及び原資料が確認できない症例等が認められたが、大きな問題は認められなかったことから、提出された申請資料に基づき審査を行うことに支障はないものと機構は判断した。

## 5. 総合評価

臨床試験においては、2 例の 度熱傷部位に対し、同種皮膚移植後の比較的狭い面積に本品が適用されたものであり、深達性 度熱傷又は人工皮膚適用後の創への適用等、本品の国内の臨床現場で想定される使用方法での有効性及び安全性に関する情報は極めて限られている。また、治験機器と販売予定品の製造方法に変更があり、品質の検討からは製造方法の変更が有効性及び安全性に重大な影響を及ぼす可能性は低いと考えられるが、販売予定品の臨床使用経験はない。しかし、現状で標準治療も確立されていない重篤な広範囲熱傷症例に本品の適応対象を限定するのであれば、本品によって新しい治療法が提供される可能性が期待できる。したがって、本品を既存の治療方法では治療が困難な重篤な広範囲熱傷の治療における選択肢の一つとして位置付け、適切な医療機関及び医師のもとで使用され、十分な情報提供を行うとともに、販売予定品の安全性及び有効性に関する情報を承認後に早急に収集し、必要に応じて適切な対応をとることを条件として承認するという審査方針を採用せざるを得ないと考えられる。

機構は、以上の検討結果から、本承認申請については、上記の審査方針の妥当性を含めて、以下の点を中心に専門協議で議論し、それを踏まえ承認の可否を含めた承認内容について最終的に判断したいと考える。

- 製造方法の変更前後の製品の品質について
- 臨床上の位置付け及び適応対象について
- 本品の使用方法（移植部位の熱傷深度・前処置等）について
- 情報提供について
- 製造販売後の検討事項について

## 審査報告(2)

平成 19 年 8 月 6 日作成

### 1. 審査品目

- [ 類 別 ] 医療用品 4 整形用品
- [ 一般的名称 ] その他の外科・整形外科手術材料(自家培養表皮)
- [ 販売名 ] ジェイス
- [ 申請者 ] 株式会社 ジャパン・ティッシュ・エンジニアリング
- [ 申請年月日 ] 平成 16 年 10 月 6 日

### 2. 審査の内容

独立行政法人医薬品医療機器総合機構(以下「機構」)は審査報告(1)をもとに専門委員に意見を求めた。専門委員との協議を踏まえた審査結果を報告する。

なお、本専門協議の専門委員からは、本品について、平成 19 年 5 月 8 日付け「医薬品医療機器総合機構の専門委員の利益相反問題への当面の対応について」1 及び 2(1) 各項に該当しない旨の申し出がなされている。

#### (1) 臨床上の位置付けについて

本品の臨床試験において評価された症例は 2 例であり、かつ 度熱傷創に同種皮膚を移植後、比較的狭い面積に本品が適用され、臨床現場で想定される本品の使用方法での有効性及び安全性に関する情報は極めて限られている。しかし、本品の適応対象を、標準治療が確立されておらず、自家植皮のための患皮面積が確保できない重篤な広範囲熱傷に限定し、本品を新たな治療の選択肢として位置付けるのであれば、特段の問題はないとした機構の判断は、専門委員により支持された。

#### (2) 適応対象及び使用方法について

機構は、具体的な適応対象の設定について専門協議で議論を行った。専門委員より出された意見は以下のとおりである。

##### 1) 移植する創の熱傷深度

臨床試験における情報を踏まえ、本品の対象となる移植熱傷創を原則として 度熱傷創とする機構の判断は、専門委員により支持された。また、深達性 度熱傷創への使用は、度熱傷創に深達性 度熱傷創が混在し、両者を区別して治療することが困難な場合に限り認めるべきであるとの意見が出された。

##### 2) 適応対象患者について

専門協議において、適応対象を「自家植皮のための患皮面積が確保できない重篤な広範囲熱傷」とする機構の判断は支持されたが、一方で「重篤」もしくは「致命的」では適

応対象が不明瞭であるため、【性能、使用目的、効能又は効果】では具体的な記載が望ましいとの意見、 Burn Index (以下「BI」) 50以上の症例では、本品製造中に死亡する可能性が高いため、本品が使用できず、結果として臨床的な利益が見出せないとの意見、 広範囲熱傷の重症度の目安としては、本品の適応とはなり得ない浅達性 度熱傷も計算に含まれる BI よりも、深達性 度熱傷創及び 度熱傷創の合計面積とした方が現実的であり、合計面積が体表面積の 30%以上の症例が本品の具体的な適応対象として妥当であるとの意見が出された。

### 3) 真皮再構築のための本品移植前の処置方法

機構は、臨床試験で得られた情報を踏まえると、本品移植前の真皮再構築の処置方法としては同種皮膚移植が原則と考えるが、広範囲熱傷においては、同種皮膚移植が実施できない状況が現実的には存在すると予想されることから、同種皮膚移植以外の前処置後の本品使用を禁止することは現実的ではないと判断した。したがって、添付文書等により、同種皮膚移植以外の前処置についての臨床経験がないことを情報提供し、製造販売後には人工皮膚を含めた真皮再構築方法別の有効性及び安全性の情報収集とそれを踏まえた適切な情報提供をすることが妥当と判断した。

専門委員より、以上の機構の判断は概ね支持された。ただし、人工皮膚により前処置された創に適用した本品の生着は、文献上及び経験上十分に期待できない可能性があるため、適切な情報提供及び製造販売後の情報収集が必須であるとの意見が出された。また、保存療法が行われた 度熱傷創には真皮層が再構築されていないため本品の生着は望めないとの意見が出された。また、本品移植前の処置については、真皮を「再建する」という表現よりも、「再構築する」という表現の方がより適切であるとの意見が出された。

機構は、1)～3)に関する上記の専門委員の意見を踏まえ、申請者に性能、使用目的、効能又は効果、並びに操作方法又は使用方法の再検討を指示したところ、申請者は以下のように設定する旨を回答したため、機構は了承した。

#### 【性能、使用目的、効能又は効果】

自家植皮のための患皮面積が確保できない重篤な広範囲熱傷で、かつ、受傷面積として深達性 度熱傷創及び 度熱傷創の合計面積が体表面積の 30%以上の熱傷を適応対象とする。本品は 度熱傷創において、再構築された真皮に適用し、創を閉鎖することを目的とする。真皮の再構築は原則として同種皮膚移植による。深達性 度熱傷創への使用は、度熱傷と深達性 度熱傷が混在し、分けて治療することが困難な場合に限る。

#### 【操作方法又は使用方法】

##### ・ 真皮の残存しない受傷部位の処置

真皮の残存しない受傷部位に対しては、本品の移植を予定している 2～3 週間前に同種皮膚等の移植を行い、真皮を再構築する。

##### ・ 本品の移植

再構築された真皮上に本品の移植を行う。その際、壊死組織等の移植床として不適切な組織が存在する場合には、これらの除去等の適切な処置を行った後、本品の移植を行う。

深達性 度熱傷創への使用は、 度熱傷と深達性 度熱傷が混在し、分けて治療することが困難な場合に限る。

### (3) 製造販売後の対応について

現時点で得られている有効性及び安全性に関する情報は極めて限られており、また治験機器から製造方法が変更された販売予定品による臨床試験成績は現時点で得られていないものの、品質面からの検討結果より、製造方法の変更が有効性及び安全性に重大な影響を与える可能性は低いと判断した。しかしながら、製造販売後には詳細な情報を迅速に収集し、適切に情報提供する必要があるとの機構の判断は専門委員により支持された。

#### 1) 製造販売後臨床試験について

申請者は、本品が使用される医療機関の条件（重症熱傷症例を治療できる施設を有すること、及び重症熱傷症例の治療に習熟し、かつ培養表皮の性質に関して十分な知識を持つ医師が所属していること）を満たすのは現時点で10施設程度と説明した上で、製造販売後臨床試験の症例数は、3施設において2年の組み入れ期間で10症例を目標として実施する旨を説明した（審査報告（1）へ臨床試験成績に関する資料<機構における審査の概略>「(6) 製造販売後の検討事項について」参照）。

これに対し、専門委員より以下のような意見が出された。本品の適応対象患者の年齢・熱傷部位・深達性 度及び 度熱傷面積等、患者背景や熱傷の特性にばらつきがあることを考慮すれば、製造販売後臨床試験ではより多くの症例を集積して情報を解析するべきである。また、臨床試験（J-TEC003 試験）における有効性及び安全性の情報は極めて限定されていることから、早急な情報収集が必要であり、承認取得直後に製造販売後臨床試験を開始する必要がある。本品を供給する医療機関の条件については、重症熱傷症例の治療が可能な医療機関で、かつ重症熱傷症例の治療に習熟した医師の所属は必要ではあるが、培養表皮の取り扱いにおいては特殊な技術は必ずしも必要ない。さらに、本品が使用される医療機関の追加は慎重に検討する必要があり、製造販売後臨床試験により有効性及び安全性を評価した上で、適切な情報提供とともに本品が使用される医療機関を追加する必要がある。

機構は、以上の専門協議での意見を踏まえ、製造販売後臨床試験の実施計画について再検討するよう求めた。申請者は、製造販売後臨床試験の実施施設の選定根拠として、重篤な広範囲熱傷患者を受け入れ可能な救命救急センターを有する、日本熱傷学会の認定医が所属している、同種皮膚移植の実績がある地域である、本品の適応対象となる熱傷患者の受け入れ実績がある、治験審査委員会、治験管理センターが設置されており、医療機器 GCP に従った製造販売後臨床試験の実施が可能である、との条件を挙げ、国内13施設で製造販売後臨床試験を実施すると回答した。また、有効性評価対象症例数を各施設年間1~3症例と試算し、1年間で組み入れ可能な30症例を予定症例数とすること、本品を受注した時点から最終移植の1年後までを予定観察期間とする旨を回答した。申請者はさらに、必要な情報を早急に収集して医療現場に提供するため、製造販売後臨床試験は本品の市場への供給と同時に開始する旨を回答し、機構は了承した。

機構は、製造販売後臨床試験結果が得られ次第提出すると同時に、本品の有効性及び安

全性についての情報を適切かつ迅速に情報提供するよう指示したところ、申請者は適切に対応すると回答した。

## 2) 使用成績調査について

使用成績調査は、原則として再審査期間中の全例調査とすることが必要とする機構の判断は専門委員により支持された。また、調査の実施体制について、本品を使用した患者を漏れなく登録して予後を確認するために、中央登録方式が必要との意見が出された。調査項目については、機構の案（審査報告（1）へ「臨床試験成績に関する資料＜機構における審査の概略＞」（6）製造販売後の検討事項について」参照）に加え、本品移植 1、2、4 週後の表皮形成率、移植部位の創収縮率、移植 3～6 ヶ月後の上皮化した表皮の状態（水疱形成、びらん等）の追加が必要との意見が出された。

以上の議論を踏まえ、機構は、申請者に使用成績調査の実施計画について再検討するよう求めた。

申請者は以下の旨を回答した。使用成績調査は、本品が使用される全医療機関において、原則として再審査期間中、全症例を中央登録方式により調査する。調査において得られる情報は、製造販売後臨床試験で得られる情報も含め、添付文書、医療従事者に向けた本品の手引書、患者に対する説明資料及び、申請者のホームページ等を用いて、適切かつ迅速に情報提供する。なお、一定期間の全例調査の後、データを集計・検討の上、以後の再審査期間の調査計画を検討する。調査項目については、本品の移植後 1 週毎に 4 週後までの表皮形成率及び長期の有効性、移植成績に関わる因子、熱傷深度、移植回数、使用枚数、真皮再構築の方法に加え、採皮方法及び採皮面積、創の収縮率、移植後 3～6 ヶ月程度の中間期の創の状態を追加する。

機構は以上の回答を了承した。

## (4) 本品の適正使用について

専門委員より、症例 XXHA に本品を重ねて移植したことが、有効性及び安全性に与えた影響について確認する必要があるとの意見が出された。

機構は以上の点について申請者に確認したところ、申請者は以下のように回答した。移植部位への生着に関与するのは、直接創面に接する培養表皮シート中の表皮細胞のみであり、重なった部分の上に位置する培養表皮シートは、直接創面に接している培養表皮シート中の表皮細胞の角化・落屑とともに脱落すると考えられる。担当医師からは、重ねて移植したことによる有効性及び安全性に対する影響があったとの意見は特になかった。以上より、有効性及び安全性に影響を与えることはほとんどないと考える。

機構は、製造販売後には、本品の適正使用を推進するよう指示したところ、医療従事者に向けた自家培養表皮「ジェイス」手引き書において周知徹底する旨を申請者が回答したため、了承した。

## (5) 製造方法の変更について

機構は、治験機器と販売予定品について、出荷検査・工程検査・確認検査・特性に関する試験結果が同等であったことから、製造方法の変更が有効性及び安全性に重大な影響を

与える可能性は低いと考えた。この機構の判断は専門委員に支持された。ただし、J-TEC003 試験では得られなかった、品質と臨床的な有効性の関係については、製造販売承認後も引き続き検討することが必要との意見が出された。

機構は以上の意見を踏まえて申請者に対応を求めたところ、申請者は、製造販売後臨床試験において、工程検査及び出荷検査等に加え、最終製品に対して細胞増殖能、サイトカイン産生及び細胞マーカーの分析を実施し、それらの品質データと臨床の有効性及び安全性の関係を継続して検討し、必要に応じて適切な対応を取ると回答した。

機構はこれを了承した。

#### (6) 工程検査等の試験項目及び判定基準について

機構は、皮膚組織の受け入れ検査、工程検査及び出荷検査の一部について、判定基準をより具体的にすよう再検討を求めたところ、適切に対応された。また、工程検査の項目について再検討され、製造開始時の工程検査として皮膚組織採取後の保存時間の確認及び 3T3-J2 細胞継代時の工程検査として回収細胞数が追加された。

#### (7) ウシ由来原料の使用について

機構は、動物由来原料に関する情報について申請者に再確認を求めたが、申請者は審査報告(1)に記載したよりも詳しい情報は入手できていないと回答した(審査報告(1)口・物理的・化学的性質並びに規格及び試験方法に関する資料<機構における審査の概略>「(6)動物由来原料」参照)。

機構は、ヒトインスリンの WCB 製造時に使用される米国又はカナダ産のウシに由来するペプトンについて、平成 15 年 8 月 1 日付け薬食審査発第 0801001 号・薬食安発第 0801001 号厚生労働省医薬食品局審査管理課長・安全対策課長連名通知の別添に従い、リスク評価を行うよう求めた。

申請者は、以下のように回答した。ペプトンのリスク評価値は+2(胆汁、結合組織、皮、脊椎骨以外の骨：-2、脊椎骨：+2)となり、上記通知において一定の安全性を確保する目安とされている-3未満(使用部位・原産国規制に適合する原材料における、使用方法・製造中の処理を考慮しない場合の相対的なリスク)を満たさなかった。しかし、ヒトインスリン(遺伝子組換え)製造工程での原材料の希釈倍率が不明であるため、希釈されないものとしてリスク評価値を計算したが、ペプトンは WCB 中の培地成分の一部であり、培養工程においてかなりの希釈が期待される。同じく不活性化/除去等によるリスク低減がないものとしてリスク評価値を計算し、ヒトインスリン(遺伝子組換え)製造工程のプリオンの不活化/除去能を有する工程は考慮に入れていない。また、WCB に使用されているペプトンは欧州薬局方適合品であり、原材料として一定の安全性が担保されていると考えられる。したがって、リスク評価値は+2となったが、実際のリスクよりもリスクが高く見積もられている可能性があると考ええる。

機構は以下のように判断する。ヒトインスリン(遺伝子組換え)の製造工程の詳細の情報が得られていないため、リスク評価値は+2であるが、申請者の回答のように実際のリスク評価値はさらに低いと推察される。また、使用するヒトインスリン(遺伝子組換え)はこれまでに医薬品としての使用実績は多いが、TSE 伝播は報告されていない。以上より、



対象患者の重篤性を踏まえれば、本品に期待されるベネフィットはペプトンによる TSE 伝播のリスクを上回ると考えられ、現時点で当該ヒトインスリン（遺伝子組換え）を使用することはやむをえないと判断する。ただし、TSE 伝播のリスクは完全には否定し得ないことを添付文書上で情報提供するとともに、本品の使用に際して患者に十分な説明を行った上で同意を取得する必要があると考え、申請者にその旨を指示した。また、今後、反芻動物由来原料基準に適合する原料に切り替えることが望ましいと考え、申請者にその必要性について尋ねたところ、申請者は継続的に検討する旨を回答し、機構は了承した。

#### **（８）本品の製造体制について**

本品は自己由来細胞を使用した製品であるため、感染症等に関するドナースクリーニング及び採取された皮膚組織に対する受け入れ試験は実施されない。専門委員からは、本品の対象患者は重篤であり、事前にウイルス検査等を行うこととするのは合理的ではないと考えるものの、クロスコンタミネーションのリスク低減及び製造に係る作業従事者の安全性確保の観点から、製造時における培養細胞の汚染及び培養細胞から製造施設等の周囲への汚染に対し、適切な防御対策を講じる必要があるとの意見が出された。

機構は、汚染防止対策の適切性について申請者に尋ねたところ、申請者は以下のように回答した。患者の感染症検査結果に関する情報が医療機関から得られる場合は事前に入手し、作業員の安全確保の参考にするが、検査結果の入手の有無及び陽性陰性に関わらず、すべての患者由来細胞組織は感染性物質を含むものとみなして取扱う。作業従事者については適切な防護を行うとともに健康管理による安全確保を図り、クロスコンタミネーションについては、施設設備や器具、作業従事者を経由した汚染防止策を適切に行う。

機構は、適切な汚染防止対策がとられることを前提に、この回答を了承した。

#### **（９）製造販売後の社内体制について**

確認申請時から承認申請審査の過程における申請者の対応については、審査報告（１）で述べた問題がある（審査報告（１）、イ．起源又は開発の経緯及び外国における使用状況に関する資料＜機構における審査の概略、申請者の対応並びに提出された資料及び回答の質について＞参照）他、J-TEC003 試験については、「医療用具の臨床試験の実施に関する基準」（平成４年７月１日付け薬発第 615 号薬務局長通知）に適合と判断されたが、治験実施計画書の記載が明確でなかったため医療機関によって有害事象の定義等について解釈が異なる項目が複数認められたこと、治験担当医師のうち 1 名について契約されていなかったこと、有効性評価項目等に係わる原資料が一部確認できなかったこと、被験者の同意文書が紛失され確認できなかったこと、臨床試験中に被験者が当該治験実施施設以外の医療機関に転院したため、転院後の情報が得られなかったこと等の問題が見受けられた。機構は、製造販売後に実施される調査及び臨床試験に関しては、医療機器の製造販売後の調査及び試験の実施の基準に関する省令（平成 17 年 3 月 23 日厚労令 38）が適用されることも踏まえ、適切な製造販売後の対応について申請者に尋ねたところ、申請者は以下のように回答した。適切な製造販売後臨床試験、使用成績調査及び製造販売後の安全管理業務を実施するため、手順書の整備、人員・体制の整備を行うとともに、CRO 等の外部機関を活用する。社内体制の強化としては、増員を予定するとともに十分な教育訓練を行い、適切な体制・

対応が常に取りれるように整備を進める。

機構はこれを了承した。

### 3. 総合評価

機構は、本品は、適切な医療機関及び十分な知識・経験を持つ医師のもとで適正使用され、十分な情報提供が行われるとともに、製造販売後に安全性及び有効性に関する情報が早急に収集されて必要に応じて適切な対応がとられるのであれば、以下の承認条件を付した上で、以下の性能、使用目的、効能又は効果のもとで承認して差し支えないと判断する。

本品は新構造医療機器に該当し、本品の特性及び対象患者数を考慮し、再審査期間は7年とすることが適当と考える。また、本品は自己由来細胞を加工した製品であるが、製造工程で使用される原材料等を考慮し、特定生物由来製品に該当すると判断する。

#### 【性能、使用目的、効能又は効果】

自家植皮のための患皮面積が確保できない重篤な広範囲熱傷で、かつ、受傷面積として深達性 度熱傷創及び 度熱傷創の合計面積が体表面積の30%以上の熱傷を適応対象とする。本品は 度熱傷創において、再構築された真皮に適用し、創を閉鎖することを目的とする。真皮の再構築は原則として同種皮膚移植による。深達性 度熱傷創への使用は、度熱傷と深達性 度熱傷が混在し、分けて治療することが困難な場合に限る。

#### 【承認条件】

1. 本品の適応対象を適切に治療できる医療機関において、重症熱傷症例の治療に十分な知識・経験のある医師により、本品の有効性及び安全性を理解した上で用いられるよう、適切な措置を講じること。
2. 治験症例が極めて限られていることから、本品の有効性及び安全性を確認するための製造販売後臨床試験を実施し、その結果を速やかに報告すること。
3. 治験症例が極めて限られていることから、原則として再審査期間が終了するまでの間、全症例を対象とした使用成績調査を実施し、本品の有効性及び安全性に関する情報を早期に収集し、その結果については定期的に報告すること。
4. 製造販売後臨床試験及び使用成績調査の結果等については、迅速に公開するとともに、使用する医師、医療機関に対し適切に情報提供し、患者に対する情報提供資料にも適切に反映すること。

### 4. 審査報告(1)の改訂・追加

審査報告(1)を以下のとおり訂正する。なお、これらの変更により審査結果の変更は生じない。

\_\_\_\_・・・変更部分、\_\_\_\_・・・追加部分

該当箇所	改訂前	改訂後
------	-----	-----

P4、4行目	〔種別〕整形用品	〔種別〕 <u>医療用品</u> 4、整形用品
P8、6行目	断熱輸送容器が封印されていること、皮膚組織採取時から62時間以内であることを確認した後	<u>製造所での受け入れの際には、断熱輸送容器が封印されていること、医療機関への断熱輸送容器の発送時から62時間以内であることを確認した後</u>
P8、8行目	組織運搬液に汚染菌による濁りがないことを確認する。	組織運搬液に汚染菌による濁り( <u>黄変を伴う</u> )がないことを確認する。
P8、8行目		<u>受け入れた皮膚組織は製造開始まで</u> ■~■ で保存されることがあるが、 <u>皮膚組織採取から製造開始までは</u> ■時間以内とする。
P10、下3行目	出荷の約 ■ 日前に	出荷の ■~■ 日前に
P14、表(上)組織運搬状況の確認	採取日から62時間以内であること。	<u>医療機関への断熱輸送容器の発送から62時間以内であること。</u>
P14、表(上)皮膚組織の外観の確認	組織運搬液に汚染菌による濁りがないこと。	組織運搬液に汚染菌による濁り( <u>黄変を伴う</u> )がないこと。
P23、5行目	播種密度の増加を具体的に ■ 倍以上	<u>生細胞密度の増加を具体的に</u> ■ 倍以上
P23、9行目	解凍する表皮細胞の生細胞率(判定規準; ■ %以上)	解凍する表皮細胞の生細胞率(規格: ■ %以上)
P23、下15行目	皮膚組織採取時から62時間以内	<u>医療機関への断熱輸送容器発送時から62時間以内</u>
P28、7行目	移植された皮膚の腫瘍化の可能性	移植された <u>本品</u> の腫瘍化の可能性に
P31、12行目	1) 被験者コード XXHA	1) <u>症例</u> XXHA
P31、下14行目	本品が上皮化しなかったため追加分層植皮された部位も	本品による上皮化が得られず分層植皮が追加実施された部位も
P31、下7行目	2) 被験者コード LYTO	2) <u>症例</u> LYTO
P32、下9行目	重症熱傷患者の局所の皮膚に対する本品の	重症熱傷患者の <u>局所</u> における本品の
P37、4行目	しかし、同種移植後の再建真皮や人工皮膚自体には	しかし、同種 <u>皮膚</u> 移植後の再建真皮や人工皮膚自体には
P39、18行目	同種皮膚と人工皮膚の生着率等の体系的な比較研究を実施した公表論文は見つからなかった。	同種皮膚又は人工皮膚を前処置に用いた場合の <u>Green 型自家培養表皮</u> の生着率等の体系的な比較研究を実施した公表論文は見つからなかった。