|  |
| --- |
| **ひな型** |

|  |
| --- |
| 本ひな型は、**あくまでもひな型の一例**ですので、相談品目の特性や開発状況によって、アレンジが必要であることをご理解の上、ご利用ください。また、ここに記載されている項目に設定している各種試験について未実施の場合は、実施計画案や、検討中・未定であること、あるいは「該当しない」など、状況に応じた内容を記載してください。  本ひな型に記載されている内容は、公開されている審査報告書・申請資料概要等を参考にして記載したもので、**あくまでも例示である**ことに十分にご留意ください。また、本例示を基にした臨床及び品質の説明方針が機構に受け入れられるとは限らないことにもご留意ください。 |

RS戦略相談　対面助言相談資料

再生医療等製品等の品質及び安全性に係る相談

（非臨床安全性に係る相談）

|  |  |
| --- | --- |
| 1. 被験製品の名称又は識別記号 | ABC-123 |
| 1. 構成細胞及び導入遺伝子の名称 | ヒト（同種）骨格筋由来細胞シート |
| 1. 担当分野 | 再生医療製品分野 |
| 1. 対面助言実施予定日 | 202X年〇月〇日　●時●●分～ |
| 1. 相談者 | 〇〇大学医学部付属病院臨床研究センター  教授　△△　△△ |
| 1. 機構受付番号 | 再戦確P〇〇 |

資料提出日：202X年　　月　　日

略語等一覧

|  |
| --- |
| 相談資料で用いる略語や特殊な用語等の内容一覧を添付します。 |

|  |  |
| --- | --- |
| 略語等 | 内容 |
| 6MWD | 6分間歩行距離（6-minute Walk Distance） |
| ABC-123 | 本品（ヒト（同種）骨格筋由来細胞シート） |
| A/G比 | アルブミン／グロブリン比（Albumin / Globulin Ratio） |
| ALP | アルカリフォスファターゼ（Alkaline Phosphatase） |
| ALT | アラニンアミノトランスフェラーゼ（Alanine Aminotransferase） |
| AST | アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ（Aspartate Aminotransferase） |
| Ca | カルシウム（Calcium） |
| CD | 分化抗原群（Cluster of Differentiation） |
| Cl | クロール（Chlorine） |
| CPC | 細胞加工施設（Cell Processing Center） |
| CRT | 心臓再同期療法（Cardiac Resynchronization Therapy） |
| DMEM | ダルベッコ改変イーグル培地（Dulbecco’s Modified Eagle Medium） |
| EF | 駆出率（Ejection Fraction） |
| ELISA | 酵素免疫測定法（Enzyme-linked Immunosorbent Assay） |
| FBS | ウシ胎児血清（Fetal Bovine Serum） |
| GCTP | 再生医療等製品の製造管理及び品質管理の基準（Good Gene, Cellular, and Tissue-based Products Manufacturing Practice） |
| GLP | 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（Good Laboratory Practice） |
| γ-GTP | ガンマグルタミルトランスペプチダーゼ（γ-Glutamyl Transpeptidase） |
| HFmrEF | LVEFが軽度低下した心不全（Heart Failure with Mid-range Ejection Fraction） |
| HFpEF | LVEFが保たれた心不全（Heart Failure with Preserved Ejection Fraction） |
| HFrEF | LVEFが低下した心不全（Heart Failure with Reduced Ejection Fraction） |
| HGF | 肝細胞増殖因子（Hepatocyte Growth Factor） |
| ICD | 植込み型除細動器（Implantable Cardioverter Defibrillator） |
| IGF-1 | インスリン様成長因子1（遺伝子組換え）（Recombinant Human Insulin-like Growth Factor-1） |
| JCS | 日本循環器学会（Japanese Circulation Society） |
| JHFS | 日本心不全学会（Japanese Heart Failure Society） |
| JP18 | 第18改正日本薬局方（Japanese Pharmacopoeia 18th Edition） |
| K | カリウム（Potassium） |
| LTL | 寿命より短期の曝露（Less than Lifetime Exposure） |
| LVEF | 左室駆出率（Left Ventricle Ejection Fraction） |
| MABEL | 推定最小薬理作用量（Minimal Anticipated Biological Effect Level） |
| MCB | マスターセルバンク（Master Cell Bank） |
| MCH | 平均赤血球ヘモグロビン量（Mean Corpuscular Hemoglobin） |
| MCHC | 平均赤血球ヘモグロビン濃度（Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration） |
| MCV | 平均赤血球容積（Mean Corpuscular Volume） |
| Na | ナトリウム（Sodium） |
| NAT | 核酸増幅検査（Nucleic Acid Amplification Test） |
| NOAEL | 無毒性量（No Observed Adverse Effect Level） |
| NYHA | ニューヨーク心臓協会（New York Heart Association） |
| P | リン（Phosphorus） |
| Q | 四半期（Quarter） |
| RS | レギュラトリーサイエンス（Regulatory Science） |
| SARS-CoV-2 | 重症急性呼吸器症候群コロナウイルス-2（Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2） |
| SAS | 身体活動能力指標（Specific Activity Scale） |
| SDF-1 | 間質細胞由来因子1（Stromal Cell-derived Factor 1） |
| TTC | 毒性学的懸念の閾値（Threshold of Toxicological Concern） |
| UW液 | ウィスコンシン大学液（University of Wisconsin Solution） |
| VEGF | 血管内皮細胞増殖因子（Vascular Endothelial Growth Factor） |
| WCB | ワーキングセルバンク（Working Cell Bank） |
| WHO | 世界保健機関（World Health Organization） |

目次

[略語等一覧 i](#_Toc121998293)

[目次 iii](#_Toc121998294)

[1. 相談の概要 1](#_Toc121998295)

[1.1. First-in-human試験である医師主導治験を開始する上での非臨床安全性試験の充足性 1](#_Toc121998296)

[1.2. 副成分及び製造工程由来不純物の安全性評価について 1](#_Toc121998297)

[2. 対象疾患に関する情報 2](#_Toc121998298)

[2.1. 対象疾患 2](#_Toc121998299)

[2.2. 治療法 3](#_Toc121998300)

[3. 本品の概要 4](#_Toc121998301)

[3.1. 本品の概要 4](#_Toc121998302)

[3.2. 用法及び用量又は使用方法（案） 5](#_Toc121998303)

[3.3. 貯蔵方法及び有効期間 5](#_Toc121998304)

[4. 開発の経緯及び期待される臨床的位置付け等 6](#_Toc121998305)

[4.1. 開発の経緯 6](#_Toc121998306)

[4.2. 期待される臨床的位置付け 6](#_Toc121998307)

[4.3. 過去に実施された機構相談 7](#_Toc121998308)

[5. 今後の開発ロードマップ等 8](#_Toc121998309)

[5.1. 今後の開発ロードマップ 8](#_Toc121998310)

[5.2. 医師主導治験実施計画の骨子案 8](#_Toc121998311)

[6. 製造方法並びに規格及び試験方法等 11](#_Toc121998312)

[6.1. 製造方法 11](#_Toc121998313)

[6.1.1. 骨格筋の採取 11](#_Toc121998314)

[6.1.2. 細胞加工施設 12](#_Toc121998315)

[6.1.3. 骨格筋芽細胞の分離 12](#_Toc121998316)

[6.1.4. セルバンクの作製 12](#_Toc121998317)

[6.1.5. 本品製造工程の概略（WCB～本品（包装品）） 13](#_Toc121998318)

[6.2. 規格及び試験方法 13](#_Toc121998319)

[6.3. 安定性 14](#_Toc121998320)

[7. 効力又は性能を裏付ける試験 16](#_Toc121998321)

[7.1. 効力又は性能を裏付ける試験の一覧 16](#_Toc121998322)

[7.2. ABC-123からのサイトカイン分泌試験 16](#_Toc121998323)

[7.2.1. 目的 16](#_Toc121998324)

[7.2.2. 方法 16](#_Toc121998325)

[7.2.3. 結果 17](#_Toc121998326)

[7.2.4. 考察 17](#_Toc121998327)

[7.3. 動物（ブタ）由来ABC-123同等品のブタ慢性心不全モデルへの移植試験 17](#_Toc121998328)

[7.3.1. 目的 17](#_Toc121998329)

[7.3.2. 方法 17](#_Toc121998330)

[7.3.3. 結果 17](#_Toc121998331)

[7.3.4. 考察 17](#_Toc121998332)

[7.4. 総括 17](#_Toc121998333)

[8. 生体内分布 18](#_Toc121998334)

[9. 非臨床安全性試験計画の骨子案 19](#_Toc121998335)

[9.1. 非臨床安全性試験の一覧 19](#_Toc121998336)

[9.2. 【参考】効力又は性能を裏付ける試験（*in vivo*） 20](#_Toc121998337)

[9.3. 一般毒性試験 20](#_Toc121998338)

[9.3.1. 単回投与毒性試験 21](#_Toc121998339)

[9.4. その他の試験 22](#_Toc121998340)

[9.4.1. テレメトリー試験 22](#_Toc121998341)

[9.4.2. 造腫瘍性試験 22](#_Toc121998342)

[9.4.3. 非細胞成分の安全性評価 23](#_Toc121998343)

[9.4.4. 製造工程由来不純物の安全性評価 24](#_Toc121998344)

[10. 相談事項の詳細な内容 26](#_Toc121998345)

[10.1. 相談事項（1） 26](#_Toc121998346)

[10.2. 相談事項（2） 28](#_Toc121998347)

[11. 参考文献 30](#_Toc121998348)

# 相談の概要

|  |
| --- |
| 本章では、対面助言申込書の「相談内容の概略」の記載等を参考に、相談事項を箇条書きにし、その背景に関する簡潔な説明を記載します。  機構から助言を得たい内容を、明確かつ具体的に記載してください。  なお、相談事項の詳細は、後の第10章に記載します。 |

相談者が開発中の本品は、ヒト（同種）骨格筋芽細胞をシート状に培養して、シート状に調製した製品である。相談者は、標準治療で効果不十分な虚血性心疾患による重症心不全患者を対象に、患者の心筋患部表面へ本品を貼付することにより心機能が維持・改善されることを期待して、2023年第3四半期（7～9月）からFirst-in-human試験として医師主導治験を開始することを目指している。

治験を開始する上で、相談者が考えるABC-123（治験製品）の非臨床安全性データパッケージに関し、以下2点について、機構のご意見を伺いたい。

## First-in-human試験である医師主導治験を開始する上での非臨床安全性データパッケージの充足性

本品の非臨床安全性試験として、単回投与毒性試験（免疫不全マウス）、*in vitro*造腫瘍性試験（核型分析試験、軟寒天コロニー形成試験）及び心血管系への安全性評価を目的としたテレメトリー試験（イヌ）の実施を計画している。また、効力又は性能を裏付ける試験で用いたブタ慢性心不全モデルの病理組織学的評価並びに非細胞成分及び製造工程由来不純物の安全性評価についても、併せて考察する予定である。

First-in-human試験として医師主導治験を開始するにあたり、上に提示した非臨床安全性データパッケージの充足性について、機構のご意見を伺いたい。

なお、詳細は10.1項に記載する。

## 副成分及び製造工程由来不純物の安全性評価について

計画している医師主導治験では本品（シート）を5枚心臓に貼付する。1枚あたりの副成分（保存液に含まれるFBS）の量は〇 mLであり、3回洗浄後のシートを5枚心臓に貼付したときに想定されるヒトへの最大曝露量は〇 mLとなる。当該副成分について、洗浄効率及びヒトへの使用実績等を基に安全性評価を行った。

また、最終製品に残留する製造工程由来不純物について、推定残留量及び想定されるヒトへの最大曝露量を算出し、公表文献等を基に安全性評価を行った。

上記の評価の結果、医師主導治験の開始にあたり、副成分及び製造工程由来不純物の安全性上の懸念は十分に小さいと考える。副成分及び製造工程由来不純物の安全性評価について、機構のご意見を伺いたい。

なお、詳細は10.2項に記載する。

# 対象疾患に関する情報

## 対象疾患

|  |
| --- |
| 開発対象としている適応疾患に関する一般的な情報（例：病因・発病機構、症状、予後、診断基準、重症度（ステージ）分類、国内（国外）患者数）を、成書（診療指針、医学教科書、総説等）や統計資料に基づきながら、1～3ページを目安に記載します。  必要に応じて小見出しを設定し、説明に際しては図表等を積極的に活用してください。なお、Wordの相互参照機能を使用して、図表番号（Wordの図表番号挿入機能を使用）と本文中の図表参照箇所の間に内部リンクを設定することが望ましいです（以下、同じ）。 |

日本循環器学会・日本心不全学会合同ガイドライン「急性・慢性心不全診療－2021年JCS/JHFSガイドライン フォーカスアップデート版」（以下、「2021年ガイドライン」）において、「心不全」とは「なんらかの心臓機能障害、すなわち、心臓に器質的および／あるいは機能的異常が生じて心ポンプ機能の代償機転が破綻した結果、呼吸困難・倦怠感や浮腫が出現し、それに伴い運動耐容能が低下する臨床症候群」と定義されている。

2017年ガイドライン等で紹介されている「心不全とそのリスクの進展ステージ」は**図** 1のとおりであり、このうちステージDの難治性心不全患者数は、日本心不全学会の推定（医療技術評価提案書（保険未収載技術用）「末期心不全患者への訪問看護の医療保険適応」）によれば、約2万名とのことである。

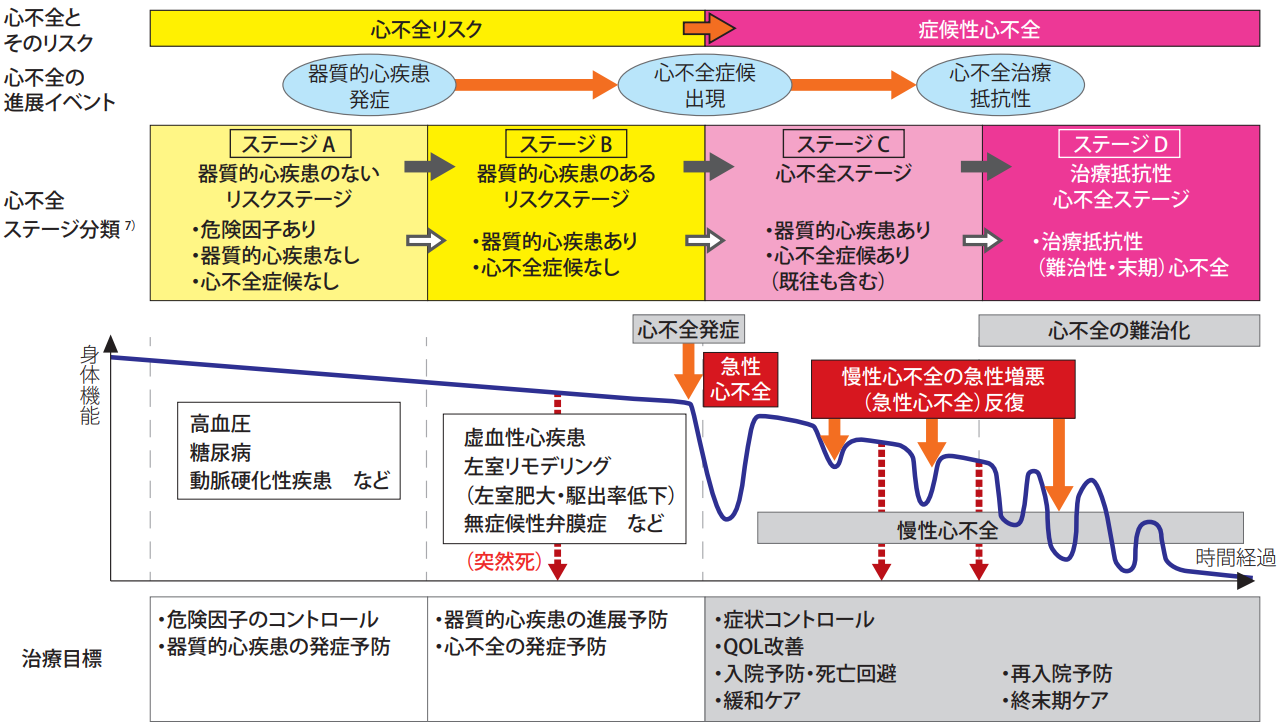


図 1：心不全とそのリスクの進展ステージ

## 治療法

|  |
| --- |
| 開発対象としている適応疾患に対する現時点での代表的な治療法やいわゆる「標準治療」に関する一般的な情報（作用機序、有効性、安全性等）を、成書（診療指針、医学教科書、総説等）に基づきながら、1～3ページを目安に記載します。 |

2021年ガイドラインで提唱されている心不全治療アルゴリズムを**図 2**に示す。

標準的な薬物療法が奏効しない重症心不全患者（ステージCの一部及びステージD）に対する治療法として、ステージCの段階であれば、植込み型除細動器（ICD）、心臓再同期療法（CRT）、経皮的僧帽弁接合不全修復術の適用が、ステージDに至ると補助人工心臓や心臓移植の適用が検討される。

重症心不全に対する新しい治療方法として、2000年頃から細胞を用いた治療の研究が進み、これまでに線維芽細胞、骨格筋芽細胞、骨髄由来細胞、間葉系幹細胞等を用いた治療に関する臨床試験等が行われ、それらの成績が報告されている。このうち国内では虚血性心疾患で重症心不全となった患者の治療を目的に、ヒト（自己）細胞シート製品「〇〇〇」（製造販売業者：○○株式会社、承認日：〇〇年〇月○日、承認番号：〇〇〇〇〇〇）が承認を取得している。

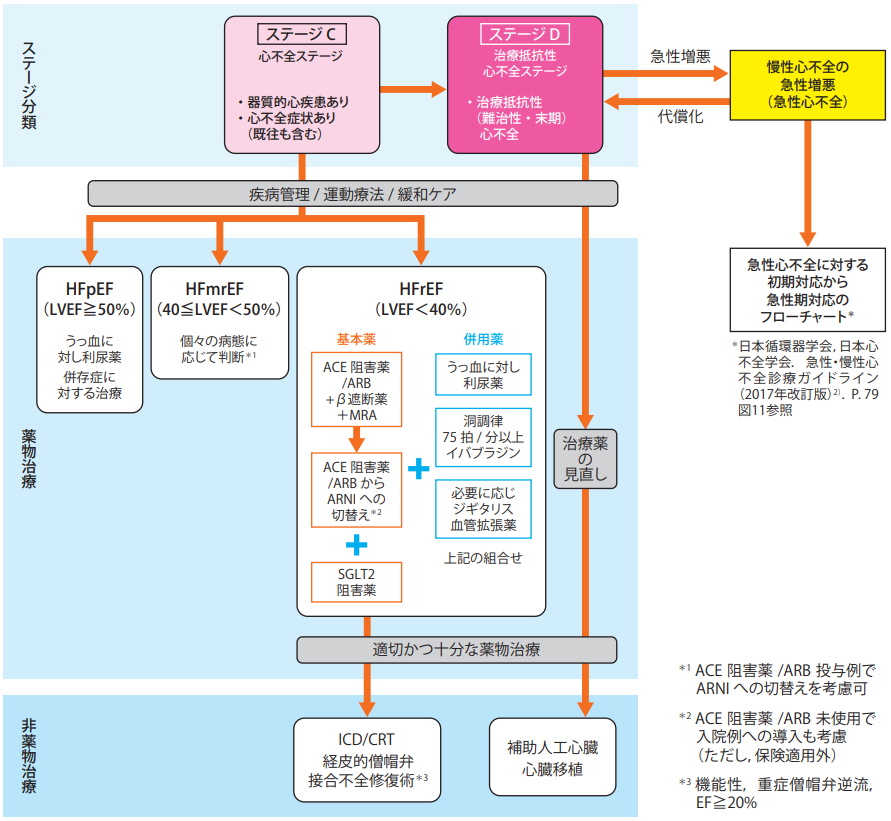


図 2：心不全治療アルゴリズム

# 本品の概要

|  |
| --- |
| 開発中の再生医療等製品の概要として、原料となる細胞、製造工程のポイント、最終製品の形態などを簡潔に記載します。主構成体に含まれる成分で、構成細胞（及び他の有効成分）以外のものは「副成分」と称します。  なお、本ひな型で採り上げた事例とは異なりますが、例えば自家製品において最初に採取した患者の組織を細胞加工施設（CPC）に送付する際に用いる輸送液のような、構成細胞と一体不可分ではないパッケージを最終製品の一部として取り扱う場合には、構成細胞を含むパッケージを「主構成体」、それ以外のパッケージを「副構成体」と定義して記載します。 |

## 本品の概要

本品は、虚血性心疾患で重症心不全となった患者の治療に使用することを目的とする。ヒト（同種）骨格筋芽細胞をシート状に培養して調製した製品であり、保存液とともに専用容器に格納され、15～25℃で医療機関に出荷される。医療機関においては、本品を生理食塩液で3回洗浄後、重症心不全患者の心臓表面に移植する。

本品は、1製品中に以下の成分を含有する（表 1参照）。

表 1：本品の成分及び含量（1製品中）

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| 成分 | | 含量 |
| 構成細胞 | ヒト（同種）骨格筋由来細胞シート | 1枚（5×107個以上） |
| 保存液（副成分） | DMEM | ● mL |
| ウシ胎児血清（FBS） | 〇 mL |

ヒト（同種）骨格筋由来細胞シートは、健康成人の大腿部等から採取した骨格筋より分離した骨格筋芽細胞をシート状に培養したものであり、細胞数5×107個以上、直径約10 cmの円形のシートである。保存液（10% FBS－DMEM）とともに専用容器に充填し、使用時まで15～25℃で保存する。本品及び本品を充填した専用容器（1次容器）の写真を図 3に示す。

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| 本品の写真 |  | 本品を充填した専用容器の写真 |

図 3：本品及び本品を充填した専用容器（1次容器）

左：本品（シート）の写真、右：本品を充填した専用容器（1次容器）の写真

## 用法及び用量又は使用方法（案）

本品を清潔環境下で開封し、滅菌済注射筒等を用いて保存液を静かに除去した後、滅菌済の生理食塩液● mLを徐々に添加し、本品を浸漬及び洗浄する。この洗浄操作を、さらに2回反復する。

洗浄した本品5枚を、滅菌済ピンセット等を用いて心臓表面に順次移植する。なお、移植手術は左側開胸手術を基本とする。

## 貯蔵方法及び有効期間

貯蔵方法：15～25℃

有効期間：出荷時から48時間以内

# 開発の経緯及び期待される臨床的位置付け等

## 開発の経緯

|  |
| --- |
| 発見の契機や基礎研究の過程及び結果など、相談申請の時点までの本品開発の経緯に関する情報等を簡潔に記載してください。  また、国内外での承認・使用状況、国内外で実施済又は実施中の本品の臨床試験に関する情報（類似製品を含む）など、本品に関連した情報があれば、併せて記載してください。 |

本品は、ヒト（同種（他家））骨格筋芽細胞由来の細胞シート製品を虚血性心疾患による重症心不全の治療に用いることを目標として、開発を進めているものである。

ドナー（健康成人）から骨格筋を採取し、分離した骨格筋芽細胞をバンク化し、ラボスケールでの製造工程及び品質規格をおおむね確立した上で、効力又は性能を裏付ける試験（詳細は第7章参照）を実施した。

なお、本品の開発は、海外では実施していない。

## 期待される臨床的位置付け

|  |
| --- |
| 「2.2 治療法」に記載された現時点での代表的な治療法・標準治療の問題点や課題、本品の作用機序、想定されるリスク－ベネフィット等を踏まえながら、本品に期待される臨床的位置付けについて、可能な限り根拠を示しつつ明確に説明してください。  なお、類似製品の開発が国内外で行われている場合には、その情報も適宜記載してください。 |

CRTは中等度又は重度の心不全患者が適応とされるが、3割程度のnon-responderが存在することが知られている（Curr Poin Cardiol, 2006; 21: 20-26）。また、経皮的僧帽弁接合不全修復術は病態改善につながる有効な手術ではあるが、適応が限られており、外科的侵襲も大きい。末期的な重症心不全患者に対しては補助人工心臓の装着が有効であるが、心臓移植の適応のある患者に対して心臓移植までの橋渡しとしてのみ使用が認められている。さらに、心臓移植は移植心ドナーが限られる上、その適応が従来の治療法では救命の期待がもてない重症患者に限られていることから、本邦においては、適応となる患者は限られている。以上のとおり、標準的な薬物療法が奏効しない重症心不全患者に対する治療には限界があるため、新たな治療法の開発が望まれている。

本邦で既承認のヒト（自己）骨格筋由来細胞シート製品は、患者から採取した骨格筋芽細胞を用いたものであるのに対し、本品は患者ではないヒト（同種）から得られる骨格筋芽細胞を用いていることから、患者から骨格筋芽細胞を採取するための侵襲がなく、また、量産によるコスト削減や製品の品質の恒常性確保が期待されるものである。加えて、製品の凍結／融解を行わず、保管温度を15～25℃と設定したことから、凍結／融解に伴う細胞へのダメージを回避できる。

## 過去に実施された機構相談

本品に関して過去に実施された機構相談の一覧を表 2に示す。

レギュラトリーサイエンス戦略相談［再生医療等製品等の品質及び安全性に係る相談（安全性）］については、20XX年XX月XX日に事前面談を実施し、今回の対面助言に臨むものである。また、本品の品質に関しては、20XX年XX月XX日に事前面談を、20XX年XX月XX日に対面助言を実施した。

表 2：過去に実施された機構相談

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| 機構受付番号 | 相談区分 | | 実施年月日 |
| 再戦確P〇〇 | レギュラトリーサイエンス戦略相談  ［再生医療等製品等の品質及び安全性に係る相談  （品質）］ | 事前面談 | 20XX年XX月XX日  【実施済】 |
| 対面助言 | 20XX年XX月XX日  【実施済】 |
| 再戦確P〇〇 | レギュラトリーサイエンス戦略相談  ［再生医療等製品等の品質及び安全性に係る相談  （非臨床安全性）］ | 事前面談 | 20XX年XX月XX日  【実施済】 |
| 対面助言 | 20XX年XX月XX日実施  【今回の相談】 |

# 今後の開発ロードマップ等

|  |
| --- |
| 製造販売承認申請までの今後の開発ロードマップについて、特に非臨床安全性試験、臨床試験（臨床研究、医師主導治験、企業主導治験）及び機構相談の実施時期に主眼を置きながら、ガントチャート形式で図示します。臨床試験の骨子は、試験デザイン、対象疾患、選択・除外基準、投与量・回数、投与方法、評価項目、観察期間など、詳細までの記載は不要ですが、必要な情報となります。 |

## 今後の開発ロードマップ

本品の今後の開発ロードマップを図 4に示す。

## 医師主導治験実施計画の骨子案

虚血性心疾患による重症心不全患者に対して本品を移植し、本品の有効性及び安全性を探索的に検討するための医師主導治験を2023年から開始する計画である。その実施計画骨子案を表 3に示す。

表 3：医師主導治験（探索的治験）実施計画の骨子案

|  |  |
| --- | --- |
| 治験の名称 | 虚血性心疾患による重症心不全患者に対するABC-123の探索的治験 |
| 治験の目的 | 虚血性心疾患による重症心不全患者を対象として、ABC-123を心臓表面に移植した際の有効性及び安全性を探索的に検討する。 |
| 治験のデザイン | 多施設共同、非盲検、非対照試験 |
| 対象患者 | 虚血性心疾患による重症心不全患者  主な選択基準：   1. NYHA心機能分類でⅢ度又はⅣ度の者 2. 安静時の左室駆出率（LVEF）が35%未満の者 3. 心臓移植以外に治療手段がない者   主な除外基準：   1. ウシ胎児血清（FBS）に対してアナフィラキシー等の過敏症の既往歴がある者 2. シクロスポリンに対してアナフィラキシー等の過敏症の既往歴がある等の理由により投与できない者 3. ……… |
| 目標症例数 | 6例（検討中） |
| 治験製品 | ABC-123（ヒト（同種）骨格筋由来細胞シート） |
| 用法及び用量又は使用方法 | 左側開胸した被験者の心臓表面に本品を1枚ずつ計5枚移植する。  なお、再手術による複数回移植は行わない。 |
| 併用薬剤 | 移植前1日から移植後7日までシクロスポリンカプセル10 mg/kgを1日2回に分けて経口投与する。 |
| 併用禁止 | 併用禁止薬剤（移植前7日から有効性評価期間中は併用禁止）：  ………  併用禁止療法（同上）：  ……… |
| 評価項目 | 主要評価項目（有効性）：移植後●週の移植前からのLVEF変化量  主要評価項目（安全性）：有害事象、特に不整脈  副次評価項目：  LVEF、NYHA心機能分類、身体活動能力指標（SAS）、6分間歩行距離（6MWD） |
| 治験責任医師 | 〇〇大学医学部付属病院 臨床研究センター 教授　△△　△△ |
| 実施医療機関 | 3施設（検討中） |
| 試験実施期間 | 2023年〇月～20〇〇年〇月（予定） |



図 4：今後の開発ロードマップ

# 製造方法並びに規格及び試験方法等

|  |
| --- |
| * 本ひな型は、非臨床安全性に係る相談資料のひな型であり、品質については概要のみを参考として記載しています。再生医療等製品の品質については、別途、品質に関する相談が必要です。   治験で用いる製品（治験製品）は、効力又は性能を裏付ける試験や非臨床安全性試験での被験製品と一貫した品質を有していることを説明できる必要があります。  開発製品の製造方法及び品質管理方法の説明をしてください。説明にあたっては、フローチャートや一覧表等を活用してください。 |

## 製造方法

### 骨格筋の採取

|  |
| --- |
| 同種（他家）の細胞や組織を原材料として用いる場合は、生物由来原料基準 ヒト由来原料総則「1. ヒト細胞組織原料基準」に従って、ドナースクリーニングを実施し、十分な適格性を有することを確認する必要があります。すなわち、問診、検診、検査等により、細菌、真菌、ウイルス等の感染が否定されていることや、提供を受ける際にドナーに対して文書による適切な説明を行い、文書により同意を得ることなどが必要となります。 |

契約を結んだ医療機関において、表 4の条件を満たす健康成人（ドナー）の大腿部等から、局所麻酔又は全身麻酔下で骨格筋（約10 g）を採取する。採取した骨格筋は生理食塩液で洗浄後、組織輸送液（100 U/mLペニシリン、0.1 mg/mLストレプトマイシン及び0.25 μg/mLアムホテリシンB加UW液）に十分浸漬した状態で施栓し、細胞加工施設に輸送する（輸送温度15～25℃）。

表 4：ドナー選択基準

|  |
| --- |
| 1. 20歳以上60歳以下の者 2. 本人による書面での同意が得られる者 3. 問診等により以下の疾患に罹患していないことが確認できる者   梅毒トレポネーマ、クラミジア、淋菌、結核菌等の細菌による感染症、敗血症及びその疑い、悪性腫瘍、重篤な代謝及び内分泌疾患、膠原病及び血液疾患、肝疾患、伝達性海綿状脳症及びその疑い並びにその他の認知症   1. 血液検査により以下のウイルス感染を否定できる者（ウインドウピリオドを踏まえての再検査を含む）   B型肝炎ウイルス、C型肝炎ウイルス、ヒト免疫不全ウイルス、ヒトT細胞白血病ウイルス、ヒトパルボウイルスB19、SARS-CoV-2   1. 骨格筋の採取時に使用する局所麻酔薬又は全身麻酔薬に対してアナフィラキシー等の過敏症の既往歴がない者 |

### 細胞加工施設

前項の骨格筋の受入から本品の包装・出荷までは、以下の細胞加工施設（CPC）にて実施する。

〇〇株式会社　△△研究所　試作棟（GCTP適合）

なお、治験製品の製造は、同施設において、製造規模を拡大して実施する計画である。また、治験製品を実際に治験に供する前には、製造規模拡大前に製造された本品と一貫した品質を有していることを確認する。

### 骨格筋芽細胞の分離

医療機関から送付された骨格筋は、受入試験（〇〇試験、〇〇試験、…）を実施した後、骨格筋に付着している脂肪、血管等を除去する。骨格筋を生理食塩液で洗浄後、2 mg/mLコラゲナーゼ溶液（2mg/mL コラゲナーゼ加10% FBS－DMEM）● mLに浸漬して細切する。そのまま37℃、●分間で処理後、低速遠心により上清と沈殿を分離する。………して骨格筋芽細胞（図 4参照）を得る。

|  |
| --- |
| 分離したヒト骨格筋芽細胞の位相差顕微鏡写真 |

図 4：ヒト骨格筋芽細胞（シードセル）の位相差顕微鏡写真

倍率：●倍

### セルバンクの作製

|  |
| --- |
| 商用製品においても治験製品と共通のセルバンクを利用することを計画している場合には、セルバンク（MCB、WCB）の作製工程及びセルバンクの保管はGCTP適合施設で実施することが望ましい。また、セルバンクを更新する場合は、更新頻度と方法についても資料に含めるようにしてください。 |

前項で得られた骨格筋芽細胞を10% FBS－DMEMで拡大培養を繰り返し、最終的に回収した細胞を10% FBS－DMEMに懸濁して分注することによりマスターセルバンク（MCB）を作製する。MCBは液体窒素気相下で保管する。

さらに、MCB（1本）を解凍し、MCB作製時と同一の手順によりワーキングセルバンク（WCB）を作製する。WCBは液体窒素気相下で保管する。

※「セルバンクの管理試験」「CPCにおけるセルバンク作製工程の概略（骨格筋～WCB）」等についても記載する場合は、「品質に係る相談」のひな型p.31「8.2.5. セルバンクの管理試験」、p.32「8.2.6. CPCにおけるセルバンク作製工程の概略（骨格筋～WCB）」を参照のこと。

### 本品製造工程の概略（WCB～本品（包装品））

WCB（1本）からの本品の製造工程の概略を図6に示す。



図 6：本品製造工程の概略

## 規格及び試験方法

|  |
| --- |
| 本品の出荷規格としての無菌性試験の結果が出荷時点では間に合わない場合などは、実施される無菌性保証について説明してください。  規格及び試験方法に関する記載をはじめ、単位、用語、試薬・試液の名称・定義等はJP18（参考情報を含む）に従うよう留意してください。また、規格及び試験方法に係る文章の書きぶりもJP18の医薬品各条等の書きぶりを極力参考にしてください。 |

本品（ABC-123）の規格及び試験方法の一覧を表 5に示す。これらの試験は、すべて製造施設で実施する。

表 5：本品（ABC-123）の規格及び試験方法

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| 試験項目 | 試験方法 | 試験検体 | 規格値／判定基準 |
| 外観 | 目視 | 本品 | ……… |
| 含量（細胞数） | 検鏡法 | 試験用として、本品から別途調製した細胞懸濁液 | 5×107個/枚以上 |
| 生細胞率 | 検鏡法 | 同上 | ●%以上 |
| 確認試験 | フローサイトメトリー法 | 同上 | ……… |
| 細胞純度 | フローサイトメトリー法 | 同上 | CD〇陽性かつCD△陰性細胞が〇%以上 |
| 〇（液性因子）分泌 | ELISA | 同上 | 〇の産生が確認できる（● ng/mL以上） |
| 無菌試験 | JP18（直接法）。  ただし、本品出荷の可否は、WCBからの拡大培養②工程の工程内管理試験として実施する無菌試験（微生物迅速試験法）の結果をもって判断する。 | 培養終了時の培養上清（● mL以上） | 陰性（結果は出荷・患者移植後に判明）＊ |
| マイコプラズマ否定試験 | JP18参考情報（NAT） | 同上（● mL以上） | 陰性（検出限界：10 CFU/mL） |
| エンドトキシン試験 | JP18（カイネティック－比濁法） | 同上（● mL以上） | 〇 EU/枚未満 |
| ……… | ……… | ……… | ……… |

＊ 結果が出荷・患者移植後に判明する場合は、製品試験とは別に出荷判定時の試験の設定が必要となります。例えば、製造工程上流の無菌試験の結果を用いるならその旨も記載が必要です。（例：●●工程後の検体を用いた無菌試験にて陰性）また、移植後に陽性が発覚した場合の対応も事前に定めておくことが必要です。

## 安定性

製造直後の本品3ロットを、それぞれ保存液とともに専用容器に格納し、20±5℃の温度条件で72時間保存した結果、本品の外観、生細胞率、細胞純度、〇（液性因子）分泌、無菌試験の結果に明確な変化はみられず、いずれも規格範囲内であったことから、本品の貯蔵方法を「15～25℃」、有効期間を「出荷時から48時間以内」と設定した。

なお、輸送時安定性試験として、製造直後の本品2ロットずつを、それぞれ保存液とともに専用容器に格納し、20℃（±5℃）の温度条件を保ちながら陸路又は空路で約500 km輸送（陸路では約12時間、空路では約6時間所要）した場合にも、本品の外観、生細胞率、細胞純度、〇（液性因子）分泌、無菌試験に明確な変化はみられず、いずれも規格範囲内であった。

# 効力又は性能を裏付ける試験

|  |
| --- |
| 技術的に可能かつ科学的に合理性のある範囲で、動物又は細胞等を用い、適切に設計された試験により、本品の機能発現、作用持続性及び期待される効果について検討（適切な動物由来同等品モデル（動物の細胞・組織から本品と同様に製した製品）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、それらの試験方法及び結果について概要を記載してください。なお、その際には、これらの試験成績をヒトに外挿することによって、今後実施する臨床試験の、例えば「用法及び用量又は使用方法」の設定根拠の一つとなり得ることに留意してください。  なお、効力又は性能を裏付ける試験で用いられた被験物質が、臨床試験で用いる治験製品と一貫した品質を有していない可能性がある場合には、その理由を記載し、品質の違いが及ぼす影響を説明してください。 |

## 効力又は性能を裏付ける試験の一覧

効力又は性能を裏付ける試験の一覧を表 6に示す。

表 6：効力又は性能を裏付ける試験の一覧表

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| 試験項目名 | 方法 | 結果 |
| ABC-123（ヒト（同種）骨格筋由来細胞シート）からのサイトカイン分泌試験  【*In vitro*】 | ABC-123（3ロット）を培養液中で維持し、経時的に培養液中のサイトカイン類を測定 | HGF、VEGF及びSDF-1の分泌が認められた。 |
| 動物（ブタ）由来ABC-123同等品のブタ慢性心不全モデルへの移植試験  【*In vivo*】 | ブタ慢性心不全モデル（n＝3）の心臓表面に、自家ブタ骨格筋芽細胞からABC-123と同様に製したブタ骨格筋由来細胞シート（動物（ブタ）由来ABC-123同等品）を移植し、3ヵ月間観察 | 心機能改善効果を確認した。一方、不整脈の発生をはじめとして、移植に起因する悪影響は認められなかった。 |

## ABC-123からのサイトカイン分泌試験

### 目的

………

### 方法

………

### 結果

………

### 考察

………

## 動物（ブタ）由来ABC-123同等品のブタ慢性心不全モデルへの移植試験

### 目的

………

### 方法

………

### 結果

………

### 考察

………

## 総括

7.2項及び7.3項に示したとおり、*in vitro*での検討において、本品からのHGF、VEGF及びSDF-1の分泌を確認し、病変部位において本品がパラクライン効果を発現することが期待され、実際にブタ慢性心不全モデルにおいて、本品（ブタ由来同等品）による心機能改善効果を確認した。また、同モデルにおいて、不整脈の発生をはじめとして、本品移植に起因する悪影響は認められなかった。

# 生体内分布

|  |
| --- |
| 技術的に可能かつ科学的合理性がある範囲で、動物での吸収及び分布等の体内動態に関する試験等により、患者等に適用された製品中の細胞・組織の生存期間、効果持続期間を推測し、目的とする効果が十分得られることを説明してください。また、本品が特定の部位（組織等）に到達して作用する場合には、その局在性についても説明してください。  なお、必ずしも体内動態試験として独立させた動物試験を別途実施する必要はなく、効力又は性能を裏付ける試験（動物試験）や非臨床安全性試験（動物試験）の一部として生体内分布を評価できるケースがあることに留意してください。 |

ABC-123の体内動態試験は実施していない。

なお、ABC-123を免疫不全〇〇（動物種）に移植する一般毒性試験（単回投与毒性試験）（9.3項参照）において、病理組織学的検査を実施し、移植したABC-123に由来するヒト細胞の生体内分布及び生着・分化の有無を検討する計画である。

# 非臨床安全性試験計画の骨子案

|  |
| --- |
| 機構が対面助言（RS戦略相談）のページで公開している「再生医療等製品の開発初期段階からの品質及び安全性に係るRS戦略相談を効率的に行うため留意すべき事項（チェックポイント）について」（細胞・組織加工製品）を参考に、製品や動物の特性に応じて、試験項目、試験方法等を設定してください。  なお、非臨床安全性試験に用いる被験物質と治験製品が異なる場合（例：非臨床安全性試験で動物由来同等品を用いる場合）には、以下に示す情報を相談資料に反映してください。  非臨床安全性試験に用いる被験物質は臨床試験に供される最終製品と一貫した品質を有していることが最優先となります。しかしながら、動物試験であることに起因する種差の問題、現実的に被験製品を製造できる量の問題等によって、治験製品と異なる被験物質を非臨床安全性試験に用いざるを得ない場合には、両者の相違点を明確にし、品質の一貫性を説明してください。 |

## 非臨床安全性試験の一覧

ABC-123の非臨床安全性試験は、（既実施の効力又は性能を裏付ける試験を除いて）現時点ではいずれも未実施である。今後実施予定の非臨床安全性試験の一覧を表 7に示す。

表 7：非臨床安全性試験の一覧表

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 試験項目名 | 被験物質等 | 試験系 | 匹数（雌雄） | 投与方法 | 備考 |
| 【参考】  効力又は性能を裏付ける試験（*in vivo*） | 動物（ブタ）由来ABC-123同等品 | ブタ慢性心不全モデル | 1群3匹（雌）  1群3匹（雄） | 自家ブタ骨格筋芽細胞からABC-123と同様に製したブタ骨格筋由来細胞シート（動物（ブタ）由来ABC-123同等品）を心臓表面に移植 | GLP適用  詳細は7.3項及び9.2項参照 |
| 単回投与毒性試験\* | ABC-123 | NOGマウス | 1群10匹（雌）  1群10匹（雄） | ABC-123（細胞数1×106個）を心臓表面に移植 | GLP適用  詳細は9.3.1項参照 |
| テレメトリー試験 | 動物（イヌ）由来ABC-123同等品 | イヌ（ビーグル） | 1群3頭（雌）  1群3頭（雄） | 同種イヌ骨格筋芽細胞からABC-123と同様に製したイヌ骨格筋由来細胞シート（動物（イヌ）由来ABC-123同等品）を心臓表面に移植 | GLP適用  詳細は9.4.1項参照 |
| 核型分析試験 | マスターセルバンク（MCB） | *In vitro* | － | 常法 | GLP非適用  詳細は9.4.2.1項参照 |
| ABC-123最終培養後の細胞懸濁液を、さらに2継代培養した細胞懸濁液\*\* |
| 軟寒天コロニー形成試験 | MCB | *In vitro* | － | 常法 | GLP非適用  詳細は9.4.2.2項参照 |
| ABC-123最終培養後の細胞懸濁液を、さらに2継代培養した細胞懸濁液\*\* |

\* 病理組織学的検査は、●、●、…●、及び剖検時の肉眼所見で異常がみられた組織について実施する。

\*\* 既定の培養期間を超えて培養した細胞について、目的外の形質転換を起こしていないことを明らかにする。

## 【参考】効力又は性能を裏付ける試験（*in vivo*）

ブタ慢性心不全モデルに対し、自家ブタ骨格筋芽細胞からABC-123と同様に製したブタ骨格筋由来細胞シート（動物（ブタ）由来ABC-123同等品）を心臓表面に移植した効力又は性能を裏付ける試験（7.3項参照）において、移植後の安全性についても併せて評価を行った。

具体的には、………（方法の概略、結果及び考察を記載）。

## 一般毒性試験

|  |
| --- |
| 一般毒性試験の試験概要を記載してください。試験デザインについては、開発製品の特性を考慮した上で、「医薬品の製造（輸入）承認申請に必要な毒性試験のガイドラインについて」の別添「医薬品毒性試験法ガイドライン」を参考に検討し、予定している臨床試験骨子を踏まえてその適切性を説明してください。当該ガイドラインの試験デザインを変更又は省略する場合は、その理由を説明してください。  生命維持に関わる重要な器官系（中枢神経系、心血管系、呼吸器系等）への影響についてどのように評価したか説明してください。  治験製品との品質の一貫性が説明できれば、非臨床安全性試験においてGCTP製造品を使用する必要は必ずしもありません。もし治験に用いる予定の製品を用いた一般毒性試験の実施が困難な場合、治験製品と製造工程や品質の類似性／一貫性が説明可能であれば、動物の細胞・組織から同様に製した動物由来同等品を用いた一般毒性評価も可能です。その場合、その理由をデータ等に基づいて説明してください。 |

本品は臨床において単回移植されることから、一般毒性試験として以下の単回投与毒性試験のみを実施する計画である。

### 単回投与毒性試験

本品の単回投与毒性試験（GLP適用）として、表 8に示す試験を実施する。

表 8：単回投与毒性試験計画の骨子案

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| 被験物質等 | 試験系・  匹数（雌雄） | 投与方法 | 評価期間 | 評価項目 |
| ABC-123 | NOGマウス・  雌雄各1群10匹 | ABC-123（細胞数1×106個）1枚を心臓表面へ移植  対照群として、無処置群及びシャム手術群をそれぞれ設定 | 4週間 | 一般状態観察a,\*、体重b、血液学的検査c、血液生化学的検査d、解剖学的検査e、病理組織学的検査f |

a 一般状態観察（毎日実施）：全身状態、一般行動

b 体重（移植前及び移植後14、28日に測定）：朝給餌前体重

c 血液学的検査（移植前及び移植後1、14、28日に測定）：白血球数、白血球百分率、赤血球数、ヘモグロビン、ヘマトクリット値、血小板数、MCV、MCH、MCHC、網赤血球数

d 血液生化学的検査（移植前及び移植後14、28日に測定）：総蛋白、アルブミン、A/G比、ALT、AST、γ-GTP、ALP、総ビリルビン、総コレステロール、トリグリセライド、グルコース、尿素窒素、クレアチニン、Ca、P、Na、K、Cl

e 剖検（移植後28日に実施）：皮膚、乳腺、リンパ節、唾液腺、胸骨／骨髄、大腿骨／骨髄、胸腺、気管、気管支、肺、心臓、甲状腺／上皮小体、舌、食道、胃、十二指腸、空腸／回腸、大腸、肝臓、胆嚢、膵臓、脾臓、腎臓、副腎、膀胱、脳、下垂体、脊髄、眼球／附属器、精嚢、前立腺、精巣、卵巣、子宮、膣、骨格筋／坐骨神経、胸部大動脈。これらの肉眼的異常所見及び臓器重量（脳、心臓、肺、肝臓、胆嚢、脾臓、腎臓）

f 病理組織学的検査（移植後28日に実施）：●、●、…●、及び剖検時の肉眼所見で異常がみられた組織

\* 中枢神経系及び呼吸器系への影響は、一般状態観察により評価

## その他の試験

### テレメトリー試験

本品の作用機序から懸念される心血管系への影響を重点的に評価するために、同種イヌ骨格筋芽細胞からABC-123と同様に製したイヌ骨格筋由来細胞シート（動物（イヌ）由来ABC-123同等品）を心臓表面に移植し、テレメトリー法により評価するテレメトリー試験の実施を計画した。その試験計画の骨子を表 9に示す。

表 9：テレメトリー試験計画の骨子案

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| 被験物質等 | 試験系・  頭数（雌雄） | 投与方法 | 評価期間 | 評価項目 |
| 動物（イヌ）由来ABC-123同等品 | ビーグル犬・  雌雄各1群3頭 | 動物（イヌ）由来ABC-123同等品（細胞数2×106個）5枚を心臓表面へ移植  対照群なし | 4週間 | 一般状態観察、体重、  心エコー検査、心電図検査（テレメトリー法） |

### 造腫瘍性試験

|  |
| --- |
| 多能性幹細胞由来製品等の造腫瘍性のリスクが高い製品では、*in vitro*造腫瘍性試験（例えば、核型分析試験、軟寒天コロニー形成試験）のみならず、*in vivo*造腫瘍性試験の実施が必要となります。  *In vivo*造腫瘍性試験の評価期間や検査する器官・臓器については、本品の生体内分布、体内からの消失経過等、使用する動物の背景データ（自然発生病変や死亡率等）を考慮し、それぞれ設定した適切性を説明してください。試験動物の数は、1群につき望ましくは最終化評価可能な匹数として10匹以上、最低でも腫瘍形成が確認されたときの統計学的処理が可能となる最低数6匹を確保してください。自然発生病変が評価に影響を与えない期間として通常1年とされます。投与量（細胞数）については、通常、投与可能最大量が用いられますが、臨床投与量（体表面積換算、体重換算値など）を踏まえて、適切性を説明してください。 |

#### 核型分析試験

MCBとして保存している細胞懸濁液（1本）及びABC-123最終培養後の細胞懸濁液を、さらに2継代培養した細胞懸濁液（3ロット）の2種類をそれぞれ対象として、…（試験の目的、方法を記載）。

#### 軟寒天コロニー形成試験

MCBとして保存している細胞懸濁液（1本）及びABC-123最終培養後の細胞懸濁液を、さらに2継代培養した細胞懸濁液（3ロット）の2種類をそれぞれ対象として、…（試験の目的、方法を記載）。

### 非細胞成分の安全性評価

|  |
| --- |
| 製品に含まれる非細胞成分（副成分、一部の副構成体）の安全性については、可能な限り理化学的手法によって安全性を評価することが適切です。非細胞成分の含有量と臨床の用法・用量を踏まえ、既存情報から評価してください。評価できない場合は、最終製品又は個々の成分で試験実施が必要な場合があります。  また、製品構成にスキャフォールド等を有する場合は、医療機器のガイドライン等に準じて評価することが求められる場合があります。 |

本品1製品は、構成細胞であるヒト（同種）骨格筋由来細胞シート1枚の他に、副成分として保存液（10% FBS－DMEM）を約● mL（専用容器に本品を実際に充填した際の実測値に基づき記載）含有する。本品5枚を人体に適用した際の各副成分の安全性について、以下に考察する。

#### DMEM

DMEMは完全合成培地であり、その組成を表 10に示す。

表 10：DMEMの組成

|  |  |
| --- | --- |
| 成分名 | 濃度 |
|  |  |
|  |  |
|  |  |
|  |  |
|  |  |
|  |  |

本品は使用時に保存液を除去し（残存液量は約● mL；実測値に基づき記載）、その後、生理食塩液● mLで3回洗浄されることから、この操作によるDMEMの希釈倍率は単純計算では約●倍と算出され、それに従って、本品5枚の単回移植に伴い体内へ移入されるDMEMの液量は合計● μLと見積もられる。

表 10に示した組成を踏まえても、この量のDMEMが生体に悪影響を及ぼすことは考え難い。

#### FBS

本品の製造に用いるFBSは生物由来原料基準に適合している。また、前項に記載したとおり、本品使用時の洗浄操作（3回）による希釈倍率が約●倍であることから、本品5枚の単回移植に伴い体内へ移入されるFBSの液量は合計● nLと見積もられる。

FBS中のウシ血清アルブミン濃度は一般的に約2.5～4.5 mg/mLとされていることから、FBS● mLはウシ血清アルブミン量に換算すると約●～● ngに相当し、実際に最終洗浄液（3ロット）に含まれるウシ血清アルブミンをELISA（検出限界：● ng/mL）により定量した結果も●～● ngの範囲であった。

2013年にWHOではワクチンに残留するウシ血清アルブミンの許容残留量として1回接種量あたり50 ng（精製バルクで測定）を推奨したことからも、本品適用時に残留するウシ血清アルブミンもしくはFBSの量は、安全性上、許容範囲内と考える。

ただし、FBSによるアナフィラキシー等の過敏症の発現の可能性を考慮して、今後実施する医師主導治験においては、ウシ成分によるこれらの既往歴がある者を被験者から除外するとともに、同意説明文書においても「FBSを保存液に含有する旨」及び「本品の製造工程においてFBSを使用している旨」の注意喚起を十分に実施する計画である。

#### IGF-1

本品の製造に用いるIGF-1は医薬品（〇〇注射用）であり、最終製品に残存する濃度は〇 ng/mLとなる。これは臨床検査におけるIGF-1の血清濃度（年齢や性別で変動するが）である〇〇～〇〇〇 ng/mLの基準値以下に留まっていることから、安全性上、許容範囲内と考える。

### 製造工程由来不純物の安全性評価

|  |
| --- |
| 製造工程由来不純物は可能な限り除去することが原則です。  製造工程で用いる原材料の構成成分については、可能な限り製造元から情報を入手し、非細胞・組織成分、製造工程由来不純物等について、最終製品での残存量（実測値がない場合には推定残存量）及び臨床での用法・用量を踏まえ、ヒトでの推定曝露量を前項及び本項で提示してください（副成分についても同様）。そのうえで開発製品の毒性試験成績（無毒性量（NOAEL）、推定最小薬理作用量（MABEL）等）、既知の臨床使用成績、公開データベース、公表論文等から、安全性を評価してください。  また、毒性学的懸念の閾値（TTC：Threshold of Toxicological Concern）や、一生涯よりも短い期間の曝露（LTL：Less than Lifetime Exposure）に関する許容摂取量を判断に利用することも可能です（ICH-M7を参照）。  局所投与される製品においては、全身に対する安全性評価に加え、投与局所に対する安全性を説明してください。 |

本品に残留するおそれのある製造工程由来不純物のうち、安全性面から望ましくない物質として、①ヒト骨格筋芽細胞及び保存液の成分であるFBS以外の、本品の製造に用いられる生物由来原料（コラゲナーゼ（細菌由来。ペプトン（ブタ心臓由来）を使用して製造）、トリプシン（ウシ膵臓由来）及びコラーゲン（ラット尾由来））、②医療機関にて採取した骨格筋を細胞加工施設に輸送する際に使用される組織輸送液中の抗生物質（ペニシリン、ストレプトマイシン及びアムホテリシンB）の2群が特定された。

これらの製造工程由来不純物の推定残留量及び安全性について、以下に示す。

#### 生物由来原料（コラゲナーゼ、トリプシン及びコラーゲン）

医療機関にて採取した骨格筋からヒト骨格筋芽細胞（シードセル）を分離する際に使用するコラゲナーゼ、並びにシードセル分離工程からWCB拡大培養工程にかけて使用されるトリプシン及びコラーゲンのいずれも、生物由来原料基準に適合している。

また、本品使用時の生理食塩液3回洗浄によって、いずれの成分も単純計算では約●倍に希釈されることから、本品5枚の単回移植に伴い体内へ移入されるコラゲナーゼ（使用時濃度：2 mg/mL）、トリプシン（同：0.25%）及びコラーゲン（培養フラスコへの添加量：5 μg/cm2以下）の量は、それぞれ最大でも●、●及び● ngと見積もられ、実際には製造工程中でそれぞれさらに希釈されていること及び各成分の生理作用も踏まえると、本品の単回移植に伴って移入される各成分が生体に悪影響を及ぼすことは考え難い。

ただし、これら生物由来原料によるアナフィラキシー等の過敏症の発現の可能性を考慮して、今後実施する医師主導治験では、同意説明文書において「本品の製造工程の上流においてブタペプトン並びに本品の製造工程においてウシトリプシン及びラットコラーゲンを使用している旨」の注意喚起を実施する計画である。

#### 抗生物質（ペニシリン、ストレプトマイシン及びアムホテリシンB）

医療機関にて採取した骨格筋を細胞加工施設に輸送する際に使用する組織輸送液には、ペニシリン（100 U/mL）、ストレプトマイシン（100 μg/mL）及びアムホテリシンB（0.25 μg/mL）の3種の抗生物質（いずれも医薬品原薬を購入して使用）が含まれているが、この工程は本品製造の出発原料であるWCBの作製よりもさらに上流であり、これ以降の工程では抗生物質が一切用いられていないこと、及び本品の臨床使用時にも生理食塩液による3回の洗浄操作が行われることを踏まえると、これら抗生物質が臨床使用時の本品に残留するとは考えられず、これら抗生物質の残留によるリスクは無視して差し支えないと考える。

ただし、これら抗生物質によるアナフィラキシー等の過敏症の発現の可能性を考慮して、今後実施する医師主導治験では、同意説明文書において「本品の製造工程の上流において抗生物質（ペニシリン、ストレプトマイシン及びアムホテリシンB）を使用している旨」の注意喚起を実施する計画である。

# 相談事項の詳細な内容

|  |
| --- |
| 相談項目に関する相談者の見解（必須）及びその根拠などを記載します。  わかっていることや実施済の試験結果だけではなく、未実施の試験や今後の検討課題と想定している事項等についても、必要に応じて記載します。 |

## 相談事項（1）

|  |
| --- |
| （1） First-in-human試験である医師主導治験を開始する上での非臨床安全性データパッケージの充足性  相談者が開発中の本品は、ヒト（同種）骨格筋芽細胞をシート状に培養して調製した製品である。相談者は、標準治療で効果不十分な虚血性心疾患による重症心不全患者を対象に、患者の心筋患部表面へ本品を貼付することにより心機能が維持・改善されることを期待して、2023年第3四半期（7～9月）からFirst-in-human試験として医師主導治験を開始することを目指している。  本品の非臨床安全性試験として、単回投与毒性試験（免疫不全マウス）、*in vitro*造腫瘍性試験（核型分析試験、軟寒天コロニー形成試験）及び心血管系への安全性評価を目的としたテレメトリー試験（イヌ）の実施を計画している。また、効力又は性能を裏付ける試験で用いたブタ慢性心不全モデルの病理組織学的評価並びに非細胞成分及び製造工程由来不純物の安全性評価についても、併せて考察する予定である。  First-in-human試験として医師主導治験を開始するにあたり、上に提示した非臨床安全性データパッケージの充足性について、機構のご意見を伺いたい。 |

本品の非臨床安全性試験は、（既実施の効力又は性能を裏付ける試験を除いて）現時点ではいずれも未実施である。今後実施予定の非臨床安全性試験の一覧を表 11に、各試験の実施計画骨子案等の詳細については第9章に示したとおりである。

表 11：非臨床安全性試験の一覧表（表 7の再掲）

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 試験項目名 | 被験物質等 | 試験系 | 匹数（雌雄） | 投与方法 | 備考 |
| 【参考】  効力又は性能を裏付ける試験（*in vivo*） | 動物（ブタ）由来ABC-123同等品 | ブタ慢性心不全モデル | 1群3匹（雌）  1群3匹（雄） | 自家ブタ骨格筋芽細胞からABC-123と同様に製したブタ骨格筋由来細胞シート（動物（ブタ）由来ABC-123同等品）を心臓表面に移植 | GLP適用  詳細は7.3項及び9.2項参照 |
| 単回投与毒性試験\* | ABC-123 | NOGマウス | 1群10匹（雌）  1群10匹（雄） | ABC-123（細胞数1×106個）を心臓表面に移植 | GLP適用  詳細は9.3.1項参照 |
| テレメトリー試験 | 動物（イヌ）由来ABC-123同等品 | イヌ（ビーグル） | 1群3頭（雌）  1群3頭（雄） | 同種イヌ骨格筋芽細胞からABC-123と同様に製したイヌ骨格筋由来細胞シート（動物（イヌ）由来ABC-123同等品）を心臓表面に移植 | GLP適用  詳細は9.4.1項参照 |
| 核型分析試験 | MCB | *In vitro* | － | 常法 | GLP非適用  詳細は9.4.2.1項参照 |
| ABC-123最終培養後の細胞懸濁液を、さらに2継代培養した細胞懸濁液\*\* |
| 軟寒天コロニー形成試験 | MCB | *In vitro* | － | 常法 | GLP非適用  詳細は9.4.2.2項参照 |
| ABC-123最終培養後の細胞懸濁液を、さらに2継代培養した細胞懸濁液\*\* |

\* 病理組織学的検査は、●、●、…●、及び剖検時の肉眼所見で異常がみられた組織について実施する。

\*\* 既定の培養期間を超えて培養した細胞について、目的外の形質転換を起こしていないことを明らかにする。

【単回投与毒性試験について】

本品は臨床において単回移植されることから、一般毒性試験として単回投与毒性試験のみを実施する計画である。………（以下、被験物質等、動物種（雌雄の別を含む）、匹数、方法の設定根拠等を記載）。

【テレメトリー試験について】

本品の作用機序から懸念される心血管系への影響を重点的に評価するために、同種イヌ骨格筋芽細胞からABC-123と同様に製したイヌ骨格筋由来細胞シート（動物（イヌ）由来ABC-123同等品）を心臓表面に移植し、テレメトリー法により評価するテレメトリー試験の実施を計画した。………（以下、被験物質等、動物種（雌雄の別を含む）、匹数、方法（評価期間、評価項目を含む）の設定根拠等について記載）。

【核型分析試験について】

………（上と同様に記載）。

【軟寒天コロニー形成試験について】

………（上と同様に記載）。

【*In vivo*造腫瘍性試験を実施しない理由】

………（相談者が考える理由を記載）。

※「ヒト細胞加工製品の造腫瘍性については、原材料に用いられる細胞の由来や分化段階、加工方法、培養期間、類似品の実績等によって異なり、開発する細胞加工製品における造腫瘍性の懸念の程度に応じて、ケース・バイ・ケースで評価項目（試験）を検討する必要があります。

## 相談事項（2）

|  |
| --- |
| （2） 副成分及び製造工程由来不純物の安全性評価について  計画している医師主導治験では本品（シート）を5枚心臓に貼付する。1枚あたりの副成分（保存液に含まれるFBS）の量は〇 mLであり、3回洗浄後のシートを5枚心臓に貼付したときに想定されるヒトへの最大曝露量は〇 mLとなる。当該副成分について、洗浄効率及びヒトへの使用実績等を基に安全性評価を行った。  また、最終製品に残留する製造工程由来不純物について、推定残留量及び想定されるヒトへの最大曝露量を算出し、公表文献等を基に安全性評価を行った。  上記の評価の結果、医師主導治験の開始にあたり、副成分及び製造工程由来不純物の安全性上の懸念は十分に小さいと考える。副成分及び製造工程由来不純物の安全性評価について、機構のご意見を伺いたい。 |

副成分（DMEM、FBS、IGF-1）の安全性評価については9.4.3項に、安全性面から望ましくないと考えられる製造工程由来不純物（①生物由来原料：コラゲナーゼ（細菌由来。ペプトン（ブタ心臓由来）を使用して製造）、トリプシン（ウシ膵臓由来）、コラーゲン（ラット尾由来）、②抗生物質：ペニシリン、ストレプトマイシン、アムホテリシンB）の安全性評価については9.4.4項に、それぞれ詳細を記載した。

保存液中のDMEMは、本品使用時の生理食塩液3回洗浄によって約●倍（実測。以下、同じ）に希釈されることから、本品5枚の単回移植時におけるヒトへの最大曝露量は● μLと見積もられる。

また、保存液中のFBSについてもDMEMと同様、使用時には約●倍に希釈されることからヒトへの最大曝露量は● nLと見積もられ、FBSに含まれるウシ血清アルブミン（一般的にFBS 1 mLあたり約2.5～4.5 mg含有）をELISAで定量した結果も●～● ngの範囲となり、WHOによるワクチン中のウシ血清アルブミン許容残留量（50 ng/dose）以下であった。

本品の製造に用いるIGF-1は医薬品（〇〇注射用）であり、最終製品に残存する濃度は〇 ng/mLとなる。これは臨床検査におけるIGF-1の血清濃度（年齢や性別で変動するが）である〇〇～〇〇〇 ng/mLの基準値以下に留まっていることから、安全性上、許容範囲内と考える。

生物由来原料（コラゲナーゼ、トリプシン、コラーゲン）は、本品使用時の生理食塩液3回洗浄によって約●倍に希釈されることから、本品5枚の単回移植時におけるヒトへの最大曝露量は、それぞれ最大でも●、●及び● ngと見積もられ、実際には製造工程中でそれぞれさらに希釈される。

抗生物質（ペニシリン、ストレプトマイシン、アムホテリシンB）は、いずれも医療機関で採取した骨格筋を細胞加工施設に輸送する際に使用する組織輸送液の含有成分であり、この工程から本品最終製品に至るまでには、骨格筋細胞の分離、MCB及びWCBの作製（各●代培養）、WCBからの本品製造（計●代培養）並びに臨床使用時の3回希釈という長いステップを経ることから、これら抗生物質が臨床使用時の本品に残留するとは考えられない。

以上より、上記すべての成分について、臨床使用時の本品への残留は、安全性上、許容範囲内もしくは無視できると判断した。

なお、FBS、生物由来原料（コラゲナーゼ、トリプシン、コラーゲン）及び抗生物質に関しては、アナフィラキシー等の過敏症が発現する可能性を完全には否定できないことから、今後実施する医師主導治験の同意説明文書では本品の製造工程でこれら成分が使用されている旨注意喚起を行うとともに、FBSに関しては、当該治験の被験者除外基準として「ウシ成分によるアナフィラキシー等の過敏症の既往歴がある者」を設定する。

# 参考文献

|  |
| --- |
| 相談資料で用いた文献・資料の一覧を掲示し、当該文献・資料を相談資料に添付します（機構へ提出）。  本文中での引用箇所には上付き文字で当該文献・資料の番号を示し、以下のリストに内部リンクを設定することが望ましいです。 |