

対面助言実施日 2019年6月17日（月）

相 談 者 京都大学iPS細胞研究所

相談内容

相談者は、健康成人から採取したヒト末梢血又はヒト臍帯血から作製した高頻度 HLA ホモ接合体ドナー由来の iPS 細胞ストックを作製している。相談者は、iPS 細胞セカンダリーセルストック（以下、「SCS」）を分化機関に提供しているが、分化機関より、再生医療等製品の出発基材として使用する iPS 細胞マスターセルバンク（以下、「MCB」）までの製造を相談者で行ってほしいとの要望を受けており、SCS を拡大培養して作製した MCB を分化機関へ提供することを検討している。

SCSからMCBを作製する工程で使用する材料は、SCSの作製までに使用する材料から追加はなく、原料等のうちヒト・動物由来成分は「生物由来原料基準」（平成15年厚生労働省告示第210号）に適合している。したがって、SCSとMCBのウイルスリスクには差がないと考えており、SCSにおいてICH-Q5Aに準拠したウイルス試験を実施していれば、MCBに対して同試験を実施しなくても、ウイルスリスクの観点からはSCS及びMCBのいずれも再生医療等製品の原料として提供することは可能と考えている。以上の考えについて、機構の意見を聞きたい。

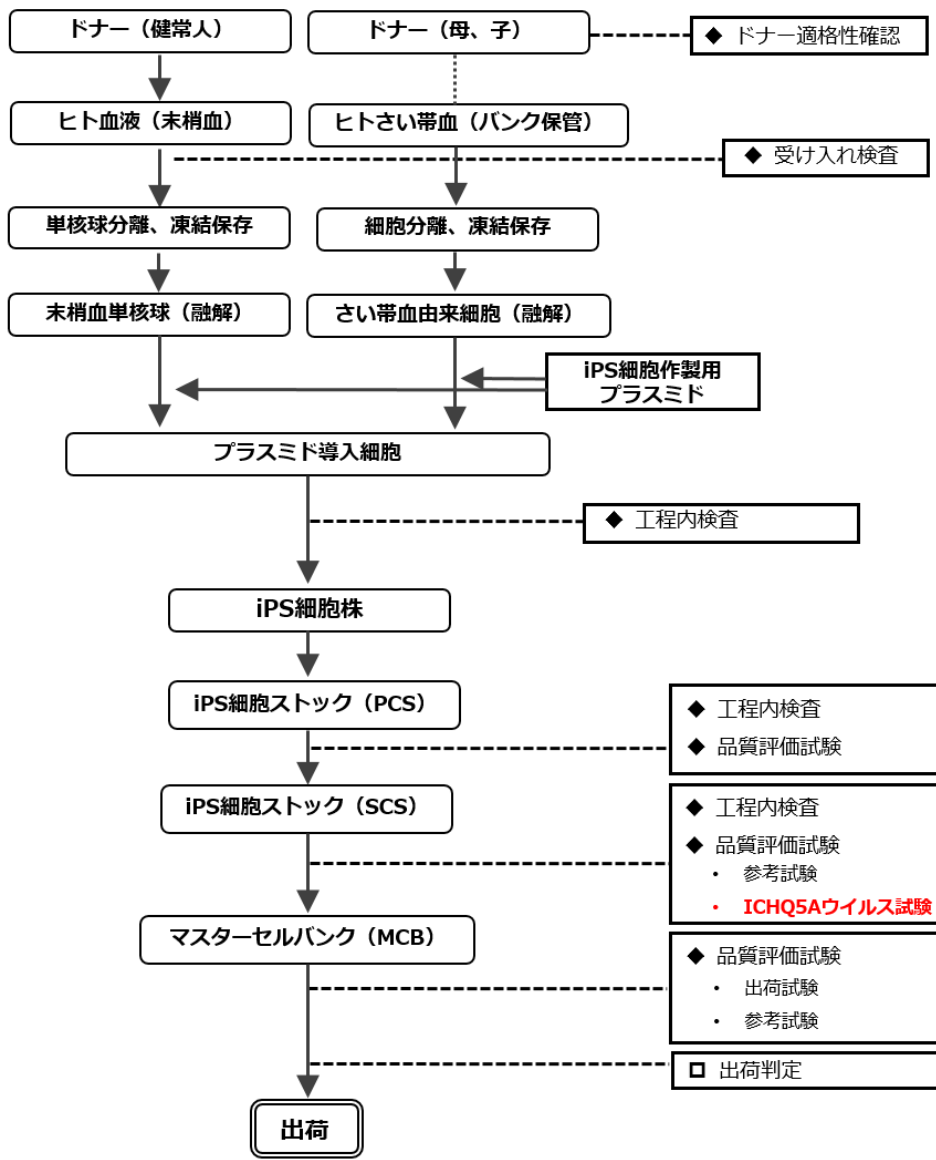
PMDAの意見

機構は、SCS及びMCBのウイルスリスクに差がないとする相談者の考えは**受入れ可能**と考える。また、SCS及びMCBの製造工程に使用される原料等の生物由来原料基準への適合性が確認されていることから、SCS及びMCBを再生医療等製品の原料として提供することは可能との相談者の考えも受入れ可能である。なお、再生医療等製品の製造者となるSCS又はMCBの使用者は、再生医療等製品の製造工程全体を通じたウイルスリスク管理の適切性を説明する必要があるため、SCS及びMCBの提供時には、ウイルス試験に使用した検体を含め、相談者が実施した全てのウイルス試験の試験結果を使用者に提供する必要がある。

財団注：相談記録を部分的に要約したものであり、当財団の相談品目以外の品目に一律に一般化できるものではないことにご留意ください。

iPS細胞ストックのMCBの製造フロー

- 問診
- 採血
- ① 単核球細胞分離工程
- ② 単核球細胞培養工程
- ③ 遺伝子導入
(エレクトロポレーション)
- ④ iPS細胞の樹立・単離・株化工程
・ iPS細胞の選抜
- ⑤ iPS細胞PCS製造工程
・ iPS細胞の拡大培養、凍結保管
- ⑥ iPS細胞SCS製造工程
・ iPS細胞の拡大培養、凍結保管
- ⑦ iPS細胞MCB製造工程
・ iPS細胞の拡大培養、凍結保管



SCS/MCBで実施する出荷試験項目

<SCS>

試験項目	試験検体	試験方法	規格
汚染検査	無菌試験※	SCSを融解し回収した細胞懸濁液	日局（直接法） 陰性
	マイコプラズマ 否定試験※	SCSを融解し回収した細胞懸濁液	日局参考情報（培養法、DNA染色 法） 陰性
	エンドトキシン 試験※	SCSを融解し回収した細胞の上清	日局（比濁法） ≤ 5EU/mL
	ウイルス検査※	凍結後のバイアルを融解し回収した 細胞および上清	ICHQ5A準拠※※ 陰性
HLA解析※	SCSから調整したDNA	PCR-SBT法	・HLA-A、B、DRについて各々1種類であること ・ドナー細胞と一致していること
STR解析※	SCSから調整したDNA	PCR・キャピラリー電気泳動法	STRのパターンがドナー細胞と一致していること
形態評価	SCS作製直前の細胞	顕微鏡観察	ヒトES細胞様であること

<MCB>

試験項目	試験検体	試験方法	規格
汚染検査	無菌試験	凍結後のバイアルを融解し回収した細 胞懸濁液	バクテアラート法 陰性
	マイコプラズマ 否定試験	凍結後のバイアルを融解し回収した細 胞懸濁液	PCR法 陰性
	エンドトキシン 試験	凍結後のバイアルを融解し回収した細 胞の培養上清	カイネティック比濁法 ≤ 5EU/mL
	ウイルス検査	凍結後のバイアルを融解し回収した細 胞および培養上清	PCR法（HBV、HCV、HIV、HTLV、 Parvovirus B19） 陰性
HLA解析※	凍結後のバイアルから調整したDNA	PCR-SBT法	・HLA-A、B、DRについて各々1種類であること ・ドナー細胞と一致していること
STR解析※	凍結後のバイアルから調整したDNA	PCR・キャピラリー電気泳動法	STRのパターンがドナー細胞と一致していること

※外部委託試験

SCSで実施予定のウイルス試験項目

試験項目	試験方法	規格
In vitro試験	指標細胞株を用いて外来性ウイルスの感染性を確認する	陰性
In vivo試験	検体の細胞破碎液を乳のみマウス、モルモット、鶏卵に接種しウイルスの存在を確認する。	陰性
ウイルス様粒子確認試験 (電子顕微鏡試験)	電子顕微鏡観察	感染性のウイルス様粒子の存在は否定
逆転写酵素活性の確認試験	逆転写反応産物をPCR法で確認する。 PBRT(PCR-based reverse Transcriptase)法	陰性
ヒト由来細胞特異的試験	NAT試験によりヒト特異的ウイルスの存在を確認する	ウイルスは検出されない
感染性試験	S+L-フォーカスアッセイにより、感染性レトロウイルスの有無を調べる。	感染性レトロウイルスは不検出

SCS/MCBで実施する参考試験項目

試験項目	試験方法	留意点等
核型解析	Conventional Giemsa (50細胞) G-band (20細胞)	核型の異常
CNV検出	SNPアレイ解析および全ゲノム解析	COSMIC Cancer Gene Census/Shibata list に登録されている遺伝子
SNV/Indel検出	全エクソーム解析および全ゲノム解析	同上
クローン構造解析	全ゲノム解析	iPS細胞の均一性を確認
プラスミド残存 ・凍結ストック ・培養初期 (+3継代)	qPCR	導入Plasmidの残存コピー数
未分化マーカーの発現	マイクロアレイ フローサイトメトリー	PO5F1、NANOGの発現量 TRA-1-60、SSEA4、TRA-2-49の陽性率
解凍後の生細胞数および生存率	セルカウント	情報収集
解凍後の増殖細胞数	セルカウント	情報収集
増殖速度 (インフォメーション用)	セルカウント	インフォメーション用のため情報収集
分化能 (インフォメーション用) ★	神経分化 (SFEBq法) フローサイトメトリーでNCAMの陽性率を確認	インフォメーション用のため情報収集
分化抵抗性マーカーの発現★	マイクロアレイ	C4orf51、ABHD12B、HHLA1の発現量

★データ取得のため実施 (報告書には記載しない)