

特定細胞加工物概要書

再生医療等名称：自家脂肪由来間葉系幹細胞を用いた変形性膝関節症治療

再生医療等提供計画申請者：医療機関名 アールイークリニック銀座

管理者名 鈴木健一郎

提出年月日：2022年04月01日

№	項目及び内容	
1. 特定細胞加工物を使用する再生医療等に関する事項		
(ア)	再生医療等の名称	自家脂肪由来間葉系幹細胞を用いた変形性膝関節症治療
(イ)	提供機関	名称) アールイークリニック銀座 所在地) 〒104-0061 東京都中央区銀座 1-5-8 GINZA WILLOW AVENUE BLDG. 8 階 連絡先) 03-5809-7979 (代パナジー株式会社)
(ウ)	再生医療等を行う医師等	加藤正二郎、古賀祥嗣、鈴木健一郎
(エ)	再生医療等の概要	
	内容	脂肪採取した患者様より培養で得られた脂肪由来幹細胞を直接関節腔に注入することで、症状の改善、軟骨の再生を促す。
	等 適 応	変形性膝関節症治療
果 効 能 効	期 待 され	組織修復、軟骨再生、炎症・疼痛の緩和
用 量 用 法 又 は 使 用		World J Stem Cells 2019 April 26; 11(4): 222-235 をもとに、10 の 7 乗個オーダーの細胞数を調整する。
概 要	<p>自家脂肪由来間葉系幹細胞は遺伝学的に安定で、長期間の培養によっても形質転換は観察されないと報告されている。形質転換細胞では、形態異常、染色体異常、細胞表面マーカーの変化、分化能異常、増殖速度の上昇、増殖の接触阻害の欠如、足場非依存性増殖などが観察される。</p> <p>自家脂肪由来間葉系幹細胞は体外で拡大培養した正常細胞であることから腫瘍形成やがん化の可能性は非常に低いと考えられる。また、自家脂肪由来間葉系幹細胞は、国内において、先行する臨床実績が数多く（2021年3月時点で、100機関で自家脂肪由来間葉系幹細胞が医療として提供されている）、これまでのところ、提供された再生医療等が起因する腫瘍化の報告はない。これまでの基礎研究結果から、投与された細胞は、体内に長期間生着する可能性は低く、以上より用いる最終特定細胞加工物における、腫瘍形成やがん化などの投与した細胞が長期間生着することに起因するリスクは非常に低いと考えられる。</p> <p>一方、日本では高齢者の約4分の1にあたる820万人が疼痛を伴う変形性膝関節症に罹患しているといわれている。立位や歩行など様々な所作において重要な役割をはたす膝関節の疼痛は、当然ながら日常生活動作（ADL）の大きな障害となる。したがって、人口の約8%が膝関節の疼痛のためにADL障害を抱えていることになる。さらに、2,400万人にはX線学的に変形が認められる可能性が示唆されており、現在は疼痛を自覚していないとしても、全国民の約5分の1が将来的にはADL障害を抱える可能性があることになる。治療としては、非外科的治療すなわち保存療法と外科的治療の大きく2つに分けられる。しかしながらどちらも根本的な治療法ではない。本治療で用いる間葉系幹細胞は、様々なパラクライン効果を有することから血流改善や血管新生を誘</p>	

№	項目及び内容	
		導し、脂肪由来間葉系幹細胞には抗炎症作用のある物質を分泌する性質があるため、炎症を抑えることにより症状の悪化を防ぐ効果が期待でき、軟骨の再生が示唆されている。World J Stem Cells 2019 April 26; 11(4): 222-235 にて幹細胞の投与が行なわれた一覧があり、安全性及び有効性が確認されているところである。よって現在の対症療法や外科的治療と比べ、更なる改善が期待できるため自家脂肪由来間葉系幹細胞投与は有益であると考えられる。
	況 国内 外の 実 施 状	自家脂肪由来間葉系幹細胞を用いた変形性膝関節症治療と同様の治療は国内で 50 提供計画程度行なわれている。また、PRP による関節症状改善の治療は国内で 100 提供計画程度行なわれている。膝関節症の自家脂肪由来間葉系幹細胞投与に関しては、World J Stem Cells 2019 April 26; 11(4): 222-235 において、3つの臨床研究のデータが記載されており、症状の改善および軟骨の再生も示唆され良好な結果が報告されている。
2. 特定細胞加工物に関する事項		
(ア)	名称	脂肪由来幹細胞
(イ)	成分及びその分量	脂肪由来幹細胞：10 の 8 乗個オーダーを基準とする
(ウ)	原料等及び原料等の規格	<p>特定細胞加工物の製造のために、以下の原料を用いる。</p> <ol style="list-style-type: none"> 1) 受診者より採取した脂肪組織、血液 100 ml (初代培養時) 2) DMEM 培地、コラゲナーゼ 3) 抗生物質、抗真菌薬 4) トリプルセレクト 5) PBS 6) 生理食塩水 7) DMSO
	規格	<ol style="list-style-type: none"> 1) 細胞数：自己培養脂肪由来幹細胞 10 の 8 乗個以上 2) 細胞生存率：90%以上 3) 細胞形態：顕微鏡下にて形態異常がないことを確認 4) 感染症検査（投与用継代直後、提供 3 日前および当日） <ol style="list-style-type: none"> (1) 無菌試験：陰性 (2) エンドトキシン試験：0.1EU/mL 未満 (3) マイコプラズマ検査：陰性 <p>*感染症検査は培養液を用いて投与細胞継代後直後にマイコプラズマ検査（培養法）、提供 3 日前に無菌検査、出荷当日にエンドトキシン検査を行うが、無菌検査のみ取扱い決定は提供 3 日前に採取した検体の結果を持って行う。</p> <p>規格の設定根拠 特定細胞加工物にて行なわれている基準を基に設定している。</p>
(エ)	使用上の注意及び留意事項	本標準書に記載されている細胞は回収後凝集しているため、表示通りの時間内で可及的に早く細胞を使用することが望ましい。
3. 特定細胞加工物の製造及び品質管理に関する事項		
(ア)	細胞培養加工施設	<p>名称) 医療法人社団韋生会 C P C 細胞培養加工施設</p> <p>所在地) 〒272-0034 千葉県市川市市川 1-4-10 市川ビル 9 階</p>

№	項目及び内容										
(イ)	<p>製造方法 製造工程及び工程管理のフローを含む概略は以下の通り。</p> <p>初代培養 [3-4-1] 概要：採取した脂肪組織を抗生物質入り PBS にて 2 回洗浄し、抗生物質入り PBS に 10 分間浸漬洗浄を行い、メスで組織を裁断したものをコラゲナーゼ処理し遠心分離にて沈殿した細胞の培養を 6 穴プレートにて行う。培養液はあらかじめ用意した 20% 自己血清培養液 25ml を使用する。</p> <p>↓</p> <p>自己血清調製 [3-2] 概要：採取日は初代培養で用いる血清分のみを調整。遠心分離を行い、新しい遠沈管にセルストレーナーを介し血餅・フィブリンが混入しないように 5ml 程度血清を移し、ろ過滅菌を行う。残りは冷蔵庫で保存し、採取の翌日に再度同じ手順にて血清を調製、冷凍庫にて保管する。</p> <p>↓</p> <p>継代①・凍結保存 [3-4-2・3-4-7] 概要：75cm²フラスコ 1 枚へ継代し凍結保存を行う。</p> <p>継代② [3-4-3] 概要：再度 6 穴プレートより 75cm²フラスコ 1 枚へ継代を行う。</p> <p>継代③ [3-4-4] 概要：225cm²フラスコ 1 枚へ継代を行う。</p> <p>継代④ [3-4-5] 概要：225cm²フラスコ 3 枚へ継代を行う。</p> <p>継代⑤ [3-4-6] 概要：225cm²フラスコ 12 枚へ継代を行う。</p> <p>継代⑥・凍結保存 [3-4-7・3-4-8] 概要：225cm²フラスコ 21 枚へ継代を行いそのうち 1 枚のみ凍結保存を行う。</p> <p>↓</p> <p>マイコプラズマ検査 [3-5-3] 一般生菌検査 [3-5-1] エンドトキシン検査 [3-5-2]</p> <p>↓</p> <p>治療用細胞調製 [3-6] 概要：225cm²フラスコ 20 枚の細胞をトリプルセレクトで剥離し、PBS にて 3 回遠心分離洗浄しペレット状にする。</p> <p>治療用細胞懸濁液調製 [3-7] 施術 [3-8]</p>										
	<p>品質管理</p> <p>原料受入検査 各原料に対する試験及び判定基準は以下の通り。各試験検査方法は、原料及び資材の試験検査に関する手順書参照。</p> <table border="1" data-bbox="400 1805 1501 2036"> <tr> <td colspan="2" data-bbox="400 1805 1501 1839">原料名：脂肪由来組織、血液</td> </tr> <tr> <td data-bbox="400 1839 608 1872">試験項目</td> <td data-bbox="608 1839 1501 1872">判定基準</td> </tr> <tr> <td data-bbox="400 1872 608 1962">供給者記録確認</td> <td data-bbox="608 1872 1501 1962">供給者から受領した記録書内容が適切であること</td> </tr> <tr> <td data-bbox="400 1962 608 1995">輸送条件確認</td> <td data-bbox="608 1962 1501 1995">一次容器に収納されていること</td> </tr> <tr> <td data-bbox="400 1995 608 2036"></td> <td data-bbox="608 1995 1501 2036">ラベルに必要な情報が表記されていること</td> </tr> </table>	原料名：脂肪由来組織、血液		試験項目	判定基準	供給者記録確認	供給者から受領した記録書内容が適切であること	輸送条件確認	一次容器に収納されていること		ラベルに必要な情報が表記されていること
原料名：脂肪由来組織、血液											
試験項目	判定基準										
供給者記録確認	供給者から受領した記録書内容が適切であること										
輸送条件確認	一次容器に収納されていること										
	ラベルに必要な情報が表記されていること										

№	項目及び内容										
		二次容器に収納され、衛生的に管理されていること。									
	目視検査	明らかな異物の混入がないこと									
最終特定細胞加工物の試験	最終特定細胞加工物に対する試験及び判定基準は以下の通り。各試験検査方法は、培養細胞の試験検査に関する手順書を参照。										
	試験項目	判定基準									
	細胞数並びに生存率	規格通りであること									
	細胞表面形質試験	規格通りであること									
	エンドトキシン試験	規格通りであること									
	マイコプラズマ検査	陰性									
	無菌試験	陰性									
(7)	特定細胞加工物の取扱いの決定方法	<p>適合条件：</p> <p>①決定を行う時期：細胞を投与できる10の8乗個オーダーの細胞が得るための継代直後にマイコプラズマ検査を行い、一般生菌検査は投与の3日前、エンドトキシン検査は投与当日に検査を行い問題がないことが確認できた場合に投与の決定を行う。</p> <p>②決定を行う者：細胞培養加工施設管理者、製造管理者および品質管理者をはじめ最低限2人以上で確認を行う。</p> <p>逸脱時の決定方法：</p> <p>①決定を行う検査後に特定細胞加工物に何らかの疑義が生じた場合、速やかに患者に連絡を行い、提供は見合わせ再採取等を含めた対策を講じる。</p>									
(8)	特定細胞加工物の表示事項	<table border="1" data-bbox="400 1039 1501 1317"> <tr> <td data-bbox="400 1039 536 1117">表示ラベル</td> <td data-bbox="536 1039 1501 1117">特定細胞加工物ごとにペンで記載</td> </tr> <tr> <td data-bbox="400 1117 536 1317" rowspan="4">表示内容</td> <td data-bbox="536 1117 1501 1158">品目名称：脂肪由来幹細胞</td> </tr> <tr> <td data-bbox="536 1158 1501 1198">貯蔵方法：0℃～4℃</td> </tr> <tr> <td data-bbox="536 1198 1501 1238">有効期限：包装後3時間</td> </tr> <tr> <td data-bbox="536 1238 1501 1279">製造施設：医療法人社団韌生会CPC細胞培養加工施設</td> </tr> <tr> <td data-bbox="400 1279 1501 1317">製造日</td> <td data-bbox="536 1279 1501 1317">：YYYY.MM.DD</td> </tr> </table>	表示ラベル	特定細胞加工物ごとにペンで記載	表示内容	品目名称：脂肪由来幹細胞	貯蔵方法：0℃～4℃	有効期限：包装後3時間	製造施設：医療法人社団韌生会CPC細胞培養加工施設	製造日	：YYYY.MM.DD
表示ラベル	特定細胞加工物ごとにペンで記載										
表示内容	品目名称：脂肪由来幹細胞										
	貯蔵方法：0℃～4℃										
	有効期限：包装後3時間										
	製造施設：医療法人社団韌生会CPC細胞培養加工施設										
製造日	：YYYY.MM.DD										
(9)	保管条件 投与可能期間	<p>採取し培養した細胞加工物の一部は培養開始直後と、各回施術直前に-80度において最低10年間保存し、治療終了後10年後以降は患者様の希望がある場合を除き破棄を行う。</p> <p>製造後3時間以内（細胞が凝集するため、製造後3時間を経過すると急速に生存率が低下する。）</p>									
(10)	特定細胞加工物の輸送方法	特定細胞加工物の輸送に関しては、あらかじめ試験を行い温度、菌検査等の経時的変化のチェックを行った容器で搬送する。									
(11)	その他製造・品質管理に係る事項	<p>関連文書は添付の通り。</p> <p>(1) 特定細胞加工物の品質の照査に関する手順書</p> <p>(2) 特定細胞加工物の逸脱の管理に関する手順書</p> <p>(3) 製品作業書</p> <p>(4) 品質管理標準作業手順書</p> <p>(5) 原料及び資材の検体採取に関する手順書</p> <p>(6) 原料及び資材の検体検査に関する手順書</p> <p>(7) 培養細胞の試験検査に関する手順書</p>									