

リスク管理手法を用いた再生医療における質管理方法の開発

高柳 泰

大阪大学大学院医学系研究科 脳神経感覚器外科学 眼科学 特任研究員

本日はこのような発表の機会をいただき、誠にありがとうございます。関係の先生がた、財団の皆さまに厚く御礼を申し上げます。

【ポスター1】

ポスター 1

研究の背景(再生医療用細胞製品の製造環境)	
研究の背景 近年、再生医療分野の細胞製品の研究開発が活発に行われており、既に製品の実用化も進んでいる。 これらの製品は安全性確保のため、患者適用前の製品の品質管理が重要である。そのため、再生医療新法及び関連する規制では、品質リスクマネジメントが要件として明記されるなど、製品製造におけるリスク管理が重視されている。 しかし、製造に関する手順は具体的な規範がある訳ではなく、施設ごとにケースバイケースで対応しているのが現状である。 また、細胞製品の製造における課題として、個体差の顕著な細胞を原料に用いるため、一般医薬品で用いられる工程管理値と最終規格値による品質管理では正常値範囲が広くなり、異常の検出に十分対応できない点も挙げられる。 そこで本研究は、 ・再生医療製品の製造におけるリスク管理の実践 ・細胞の個体差を前提とした再生医療製品の品質管理方法の開発 を目的として行った。	再生医療用細胞製品の製造環境 細胞を原料とする再生医療製品の製造は、適切に管理された環境下で、予め定められた手順に従い行われる。  製造施設は、ユニットごとに区別され、外部からの汚染・製品同士の取り違いを防いでいる。 製造に必要な資材・原料は、滅菌・消毒の後に搬入される。 直接原料(細胞)を扱う安全キャビネットは、清浄度管理されている。 作業者は無菌環境維持のため更衣し、手順に従って操作と記録を行なう。

私の研究テーマは「リスク管理手法を用いた再生医療における質管理方法の開発」ということで、他の先生がたのご発表と扱っている分野などがかなり異なっておりますので、少し背景を含めてご説明させていただければと思います。

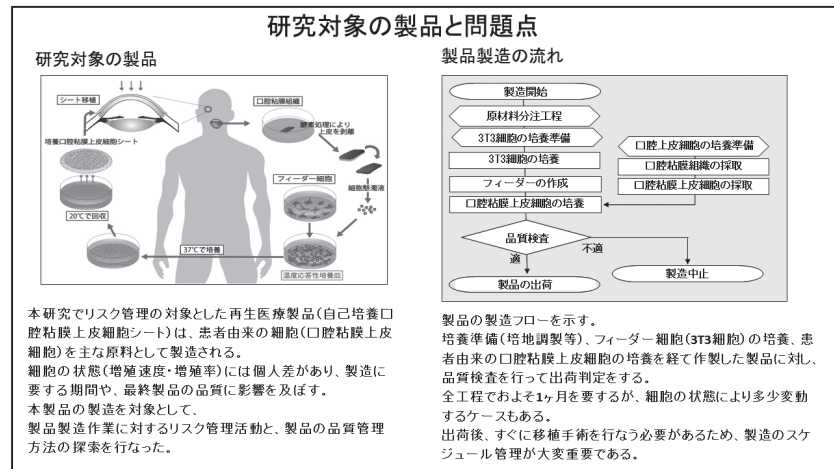
研究対象としている再生医療分野に関しては、現在までに法整備も進み、既に保険承認や実用化まで進んだ製品も出てきておりますが、やはり、まだ新しい分野ということで蓄積も浅く、製品の品質管理などに関しては、製品ごと、製造施設ごとにケース・バイ・ケースで対応しているというのが現状です。

そこで本研究では、まず、再生医療製品の製造の作業におけるリスク管理活動の実践、それから、材料として細胞など不安定なものを扱いますが、そうしたことを前提とした製品の品質管理方法の開発、この2つを主な目的として行いました。

再生医療製品の製造環境ですが、こちらの写真で少しお示ししているように、適切に管理された環境下・施設下で行っております。施設は、製造品目ごとに区別されたユニットで、特に原料を直接扱う安全キャビネットに関しては、厳重に清浄度が管理された上で運営されております。製造の際には、必要な資材、原料は消毒や滅菌の上で搬入し、このようにごみ、ちりの出ない無塵衣に着替えた上で、製造の作業の記録と並行して作業を行っております。

【ポスター2】

ポスター 2

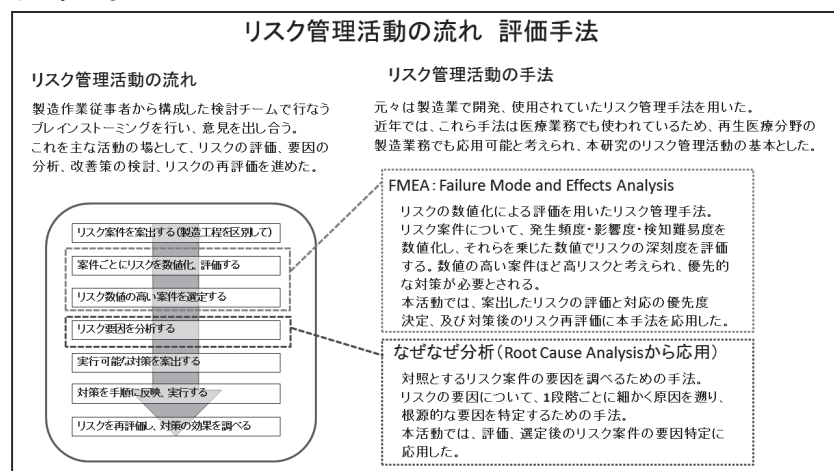


今回、対象とした再生医療製品ですが、眼科の角膜分野で治療に用いるシート状の製品となります。患者より採取した細胞を主な原料として、細胞培養の技術を用いてシート状に結成したものを疾患部位、つまり眼表面へ移植して治療に用いるという製品になります。

右側にお示ししているのが、この製品の主な製造の流れです。作業の準備から始め、患者より採取した細胞を受け入れて、それらを培養して品質管理、出荷検査を経て出荷、手術を行うという流れになります。これを一通り行うのに、およそ1カ月の時間がかかるのですが、原料として用いる細胞の状態などによって、この期間も多少変動します。それによって手術のスケジュールも影響を受けますので、こちらの管理が非常に重要な案件となっています。

【ポスター3】

ポスター 3



この製造に関しても行ったリスク管理活動の簡単な流れについて、こちらにお示ししています。

活動の主な場としては、製造作業に直接携わっている従事者から構成したチームで行うブレインストーミング形式の話し合いで行いました。ここを主な活動の場として、リスク

案件の案出、つまり普段の作業で危ないと思っている部分を案出するというところからスタートして、そのリスクの評価、リスクの要因の分析、リスクに対する対策の案出と実行、対策後のリスクを再評価して各効果を確認するという流れで行いました。この活動には、製造業でもともと用いられていた手法を応用しております。

リスクの数値化、評価に関しては、FMEAという手法を用いました。これはリスクの発生頻度、リスクが起こった場合の製品への影響の度合い、リスクが起こった場合にそれが検出できるかどうかという難易度、この3つの観点を数値化して、それに乗じた数をリスクの値として捉えて比較検討する手法です。

また、リスクの原因を分析する方法については、なぜなぜ分析という方法を応用しました。これは、リスクが起こったその事象がなぜ起こったのかということを、一段階ずつさかのぼっていくことで根本要因を探っていくという手法です。

【ポスター 4】

ポスター 4

リスクの数値化の基準				リスクの案出と数値化			
発生頻度(製造時にリスクが発生する頻度)			リスク評価	案出されたリスクの数値化			RPN
高い頻度で発生する (ほぼ毎回)	時々発生する (1回/2~3例)	ほとんど発生しない (1回/10例)		番号	工程	内容	
5点	3点	1点	発生頻度	1	原材料分注工程	医薬品のアンプル開封時に手を切る	3
影響度(リスク発生時の製造への影響の大きさ)			影響度	2	フィーダー作製	回収した細胞数が、使用するフラスコ本数と合わない	5
重大な影響がある (製造中止になり得る)	どちらかといえば 影響がある (製造延期になり得る)	影響はない	検出性	3	口腔粘膜細胞の採取	輸送液を検査容器に入れて閉める際に漏れる	3
5点	3点	1点	検出性	4	3T3細胞の培養	ウォーターバスの設定温度が高いまま(58℃)になっていた	3
検知難易度(リスク発生時に発見、対処できる難易度)			検出性	5	フィーダー作製	フィーダー細胞が凍結管口に剥がれている可能性がある	3
難易度は高い (発見できない)	難易度は中程度 (時々発見できる)	難易度は低い (毎回検出できる)	RPN	6	口腔粘膜上皮細胞の培養	加温した冷地が、十分に温まっていない	15
5点	3点	1点	発生頻度	7	口腔粘膜上皮細胞の培養	適切な器具が設置されていない (2ヶ所未対応のマイクロピペット等)	1
発生頻度・影響度・検知難易度を各3段階で数値化することとした。案件のリスク数値は、これら3項目の数値を乗じた値(RPN)として評価した。			発生頻度	8	口腔粘膜上皮細胞の培養	インキュベーターの扉位置が高く細胞を落とす危険あり	15
リスク評価の結果、案出した13案件のうち、7件のリスク数値が比較的高かったため、これらについてリスク要因の分析を進めることとした。			影響度	9	原材料分注工程	施設入替前の荷物準備が徹底で忘れ物が出る	5
			検出性	10	口腔粘膜上皮細胞シートの出発	準備作業を担当者一人しか把握しておらずバックアップ体制がない	3
			RPN	11	口腔粘膜上皮細胞の採取	細胞凍結用解凍の添加量が定量では足りない場合がある	9
			発生頻度	12	工程全般 (特にフィーダー作製)	施設内に保管してある部材、消耗品に不足が出る	3
			影響度	13	3T3細胞の培養	インキュベーター、遠心機の稼働準備を忘れる	3

こうした流れに沿って、まずは、リスクに対して数値化、評価までを行った結果をこちらにお示ししております。

まず、数値化に関する基準ですけれども、発生頻度、影響度、検知難易度のそれぞれに対して、リスクが高い場合は5点、中程度で3点、低い場合は1点という3段階で評価して、これら3つの数字を乗じた数をリスクの値として捉えることとしました。

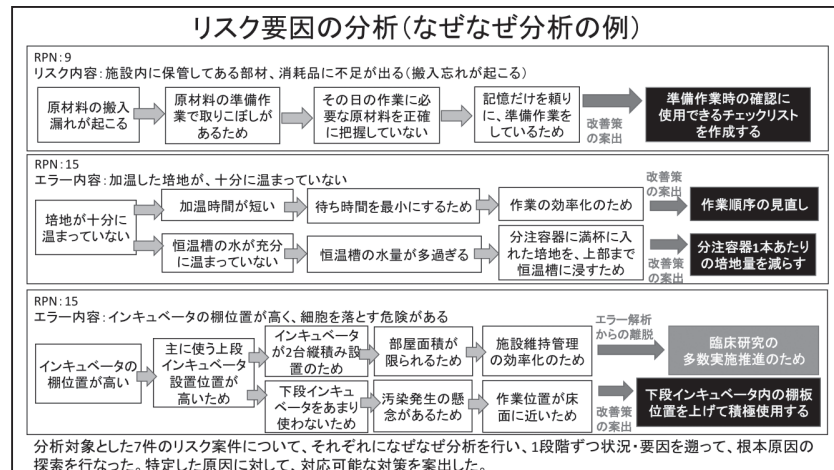
今回案出したリスクとしては右側に並べた13件となりますが、これらに対して、この基準を当てはめて数値化を行い、リスクの値を得ることができました。全体としては、13件のうち、色を少し変えている7件で比較的高い数値、つまり9点、15点というところが得られましたので、こちらについてさらに要因の分析などを進めていくこととしました。

【ポスター 5】

このリスクの高い案件に対してなぜなぜ分析を行った例を一部、こちらにお示ししております。

少し内容を見ていきますと、1つ目、原材料の搬入漏れが起こる、つまり忘れ物が発生

ポスター 5



するということですが、これがなぜ起こるのかということ、準備作業の段階でもう取りこぼしが発生している、と。では、これがなぜ起こるのかということ、をさかのぼると、必要な部材、原料を正確に把握していない。これがなぜなのかということ、記憶だけを頼りに作業している、と。どうやらこの辺りが根本であろうということまでさかのぼったところで、改めてチームの皆でこれに対する改善策を案出しました。この場合であれば、作業の段階で用いるためのチェックリストを作成して、そのチェックリストに基づいて準備作業を行うという対策を講じることとしました。

このように1本道で根本要因と対策までいく場合もあれば、途中で分岐して複数の対策が必要となる場合とか、あとは、さかのぼっていくと途中で根本要因から少し外れた話の内容になってしまうということで、改めてやり直して対策までたどり着いた等、いろいろなケースがありました。

【ポスター 6】

ポスター 6

対策実施後のリスク再評価							
番号	リスク案出 内容	リスク評価 RPN	改善内容	改善後リスク再評価 発生頻度 影響度 検出性			補足と課題
						RPN	
5	フリーザー細胞が 凍結翌日に割けてい る可能性がある	9	細胞凍結前に、培養皿を予め加温 することとした。	1	3	3	発生頻度に対する改善を行ったが、 9.1までの製造では未発生だったた めポイントとしては変動なし。
6	加温した培地が、 十分に温まってい ない	15	加温する培地の分量が多い場合は、 複数の容器に分けて加温する こととした。作業手順を変え、加 温中に細胞観察作業を行うことと 、十分な加温時間と作業効率を確保 した。	1	3	1	加温後の培地が明らかに冷たいとい う状況は無くなった。 作業手順の見直しがないよう、注意が 必要である。
8	インキュベータの 棚位置が高く 細胞を落とす危険 あり	15	下段インキュベータも棚板を高く 調節して積極的に使用することし た。また上段インキュベータ使用時 は、棚板を最も低くして使用する。 これまで区別して管理していた輸送 作業手順書も、製法作業手順書と 同様に管理することで、作業内容と 共有した。人員変更により、別の担 当者も輸送作業を担当することな った。	3	1	1	出入れを円滑に行えることで、製品 の取り回しと以外に、作業の効率化 も期待される。
10	準備作業を担当者 一人しか把握して おらずバックアップ 体制がない	15	これまで区別して管理していた輸送 作業手順書も、製法作業手順書と 同様に管理することで、作業内容と 共有した。人員変更により、別の担 当者も輸送作業を担当することな った。	1	3	1	複数担当者が業務内容を把握できる 状態となった。 ただし人員が流動的である点は否め ず、引き続き体制の改善は必要と考 えられる。
11	細胞単層用酵素の 添加量が定量で は足りない場合がある	9	手順書で定める酵素添加量につい て、固定値としていた部分を上下 限値内で範囲判断して使用するこ として変更した。	3	1	1	細胞サイズのばらつきに依らず、効 率的な細胞単層が可能となった。た だし、適切な酵素添加量の見究め には経験を要する作業となった。
12	施設内に保管して ある部材、消耗品 に不足が出る	9	作業内容ごと搬入する原材料を 確認するためのチェックリストを 作成、使用することとした。	1	1	1	搬入時の忘れ物は減少した。 さらに在庫数と備蓄付けた管理の 構築が望ましい。
13	インキュベータ、遠 心機の準備は、工 程管理システム 管理外でされる	9	原材料のチェックリストに準備作業 項目を追加し、作業当日に確認す ることとした。	1	1	1	改善によってリスク低減は達成した。 しかし、チェックリストによる確認 は作業に慣れた頃に疎かになり勝ち である。今後も注意が必要である。

対策を実行した7案件に対して、対策後の製造作業運用を経て、再度リスクの数値化を行なったところ、6案件でリスク数値が低下した。数値の低下しなかった案件では、これまでの製品製造では未発生であったため、リスク値の変動は確認できなかった。

↓

細胞加工施設における再生医療製品の製造においても、リスク管理活動によってリスクを低減させられることが確認できた。

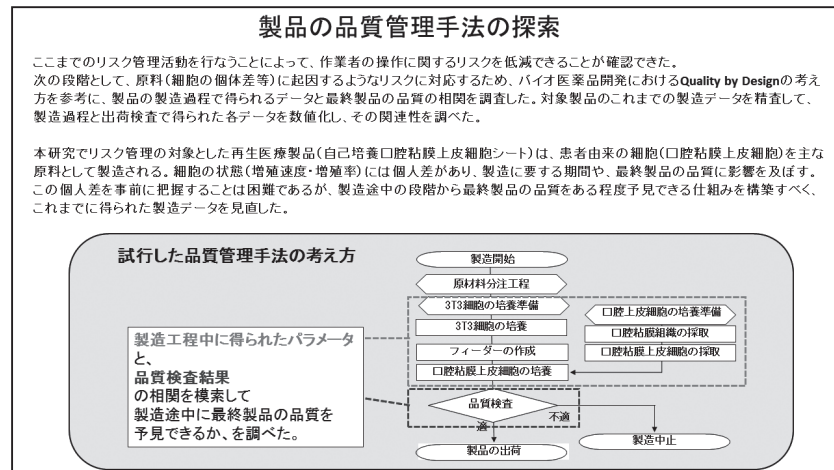
このような分析方法を用いてリスクに対して対策を行い、再評価までを行った結果がこちらになります。色の変えてある部分がリスクの数値が下がってリスクの低減が確認できた部分になります。

全体としては、7件のうち6件でリスクが下がったという評価結果を得ることができました。一部、リスクの数値の変動が無いものがあったのですが、こちらは最初からリスクの数値の低かった発生頻度に対する対策だったので数値の変動として捉えることはできなかったのですが、全体としてはリスク低減の活動ができたと考えております。

ここまでで、製造の作業に対するリスク管理が、こうした製造業の手法を応用することで再生医療分野でも可能であることが確認できました。

【ポスター7】

ポスター7



さらにこれに加えて、作業ではなく原料に起因するようリスクに対応する手段も組み立てることができないかということで探索を行いました。

考え方としては、医薬品の開発で用いられているものの応用なのですがけれども、製造の途中で得られるパラメーター、培養の途中で得られるデータなどから、最終製品の品質を示すパラメーター…ここで言うところの品質検査、出荷検査のデータですね…こちらを予見するような何か仕組みができないかということを考え、これまで製造を行った各データを集めて、再度見直して、製造中パラメーターと最終製品パラメーターの相関を探ることを行いました。

【ポスター8】

ポスター8

製造中パラメータと最終製品パラメータの相関									
識別 番号	製造中の確認項目			出荷検査項目				出荷判定等	
	上皮細胞 コロニー確認時 期	コロニー確認から Goofluentまでの 日数	コロニー 形成率	製品形態	幹細胞 マーカー 発現強度	含有細胞数	細胞 生存率		
	数値化の基準			数値化の基準					
	1. ~4日目 2. 5日目 3. 6日目 5日目~	1. 3~4日目 2. 5~6日目 3. 7日目~	1. 3%以上 2. 1~3% 3. 1%未満	1. 欠損なし 2. 一部欠損 3. 複数欠損	1. 基底部全陽性 2. 基底部一部陽性 3. 陰性部位多数	1. 15~ 2. 10~15未満 3. 10未満 (単位: 10×5cells)	1. 80%以上 2. 70~80%未満 3. 70%未満		
1	2	1	1	1	1	2	2	適	
2	2	2	2	2	2	1	2	適※2	
3	2	2	2	2	2	2	2	適	
4	1	2	2	2	2	1	2	適	
5	2	2	2	2	1	1	1	適	
6	3	2	3	2	2	2	2	適	
7	2	2	2	2	3	1	1	適	
8	1	2	1	3※1	1	1	1	適	
9	2	2	1	1	2	1	1	適	
10	2	1	1	1	1	1	1	適	
11	1	1	3	1	2	2	2	適	
12	2	1	2	1	2	1	1	適	
13	2	2	3	1	2	2	3	適	
14	2	3	3	2	2	2	2	適	
15	3	2	3	1	2	2	2	適	
16	3	2	3	1	2	2	2	適	
17	2	2	2	2	2	3	3	不適※3	
18	2	2	2	2	2	2	1	適	
19	3	2	3	1	1	2	2	適	
20	3	2	3	1	1	2	2	適	
21	2	1	2	1	2	2	2	適	
22	2	2	2	2	2	2	2	適	

製造中の確認項目と
出荷検査項目の内、
原料（細胞）と製品の
品質を端的に示すパ
ラメータを数値化した。

数値化は3段階で行
い、数値が高いほど
リスクを内在してい
ると考えられる。

※1 細胞増殖が早かったため、規程の培養期間では見えずに細胞シートに穴がみられた。製品としては規格適合であった。

※2 細胞の増殖が遅かったため、製造期間延長の上で出荷した。

※3 細胞生存率が低かったため出荷判定不合格となった。

出荷検査に3点の項目がある製造例では、細胞のコロニー確認時期が遅い傾向（細胞の初期増殖が遅れる）がみられた。その他は、あまり明確な相関を見出すことはできなかった。

その結果がこちらです。

製造途中に得られたデータと最終製品の品質を示すデータを区別した上で、こちらに示した基準に沿って数値化を行っております。縦軸1から22の番号は製造の識別番号で、全22例分の製造のデータを全てこの基準に則って数値化して示しています。色を変えた部分がリスクの高い結果となっております。

ここで、最終製品で得られたデータから途中で得られるデータをさかのぼる形で相関を見たところ、最終製品でリスクの高い製品に関しては、1つ目のパラメーター…細胞のコロニーの確認時期が遅れる、細胞の成長が初期状態でもう既に遅いという傾向を見ることができました。その他はなかなか、明確な相関を掴むことができなかったのですが、こうした傾向があることが確認されました。

【ポスター9】

ポスター 9

まとめ	
リスク管理活動について	・細胞加工施設における再生医療製品製造に対しても、製造業と同様のリスク管理活動を活用することでリスク低減に繋げることが出来た。 →作業手順書を改訂する仕組みとして組み込むことで、手順改善を効率的に行うことに役立つと考えられた。 ・活動を通して、同一作業に従事している担当者間でも観点が違うことが明確になった。 →リスク管理活動を行なうことで、複数の担当者で業務にあたっていることを、作業改善に効率的に活かす事ができることが確認された。
製品の品質管理手法について	・細胞の個人差を管理するにあたって、初期の細胞の挙動（細胞コロニー確認時期）を掴むことが足りかなくなりそうである。 →製品規格試験設定の際には、この観点を注視して組み立てることでより適切な管理が出来る可能性が示された。（本来、この手法は製品開発及び規格設定段階から連動して構築する、という思想に基づくため、今回の試行では関連付けられるパラメータに限りがあった）
今後について	・現在、別の新規開発品の臨床向け製造体制を構築中である。 ・製品品質管理の考え方について、製品規格設定の段階からの組み込みを検討する。

最後にまとめです。

まず、リスク管理の活動については、再生医療製品に対しても製造業と同様の手法を応用することでリスク低減につなげることができました。製造作業は予め定めた手順に則って行っているのですが、この手順を改定する仕組みと今回のリスク管理活動をセットで運用することで、効率的な製造体制を組めるのではないかと考えられました。

また、活動の中で、同じ作業に従事している担当者間でも、観点が違うと心配していることがかなり違うということが分かってきましたので、普段ダブルチェックのために複数で作業を行っているのですが、その複数体制であるということがこのリスク管理活動でも生かすことができることが確認されました。

品質管理に関しては、今回の結果から製造初期の観察と状態の把握が重要であると考えております。

今後、新規開発の類似製品の製造でこの考え方を応用することで、より適切な管理手法を組み立てるべく検討を続けております。

以上です。

質疑応答

座長： 品質検査で適正とされたものはまず臨床的に問題がない、きちんと再生して効果も有効ということでしょうか。

高柳： そうですね。実際に移植を行って患者さんへの生着も確認されております。

座長： このようなチェック機構で品質管理の国際標準はあるのですか。

高柳： 国際共同での策定なども進められていますけれども、特に再生医療などの細胞製品に関しては、まだ具体的な記述までには踏み込めていないというところで、結局、どのように運用するかに関しては、施設ごとの対応となっているのが現状です。

座長： むしろ、先生がたの研究がISOに取り入れられるという可能性はあるのでしょうか。

高柳： 具体的な裏付けを持って手法を組み立てることができれば、そうした提言につなげていくこともできると考えております。

会場： 安全で安心な医療材料の供給ということで素晴らしい研究だと思うのですが、リスク管理の数値の基準化について、5点、3点、1点と決めていらっしゃるようです。これって重み付けという意味では、単純に5、3、1という付け方は、果たして妥当なのでしょうか。

高柳： ここも元々は医薬品の品質管理を参考にしており、その場合10点までで行うことが通例なのですけれども、今回の場合、何分にも製造の例が少ないのでそれだと差が捉えられないということで、3段階としております。これらが妥当かどうかということに関しては、現在治験で進めているのですが、今後またそこでの得られたデータも含めて再検証していくことになるかと思えます。

座長： 今までに何例ぐらい臨床に使われたのですか。

高柳： 一部、製造工程が変わって、何度か別の臨床研究として行っており、全部で40例以上は製造、移植していますが、今回の研究はそのうち約20例を対象にしています。