

ヒト（同種）iPS細胞由来角膜内皮細胞に関する評価指標（案）

1. はじめに

ヒト由来の人工多能性幹細胞（iPS細胞）のうち、同種由来iPS細胞を加工した製品（以下「ヒト（同種）iPS細胞加工製品」という。）の品質及び安全性を確保するための基本的な技術要件は、「「ヒト（同種）iPS（様）細胞加工医薬品等の品質及び安全性の確保について」の一部改正について」（令和7年1月17日付け医薬発0117第11号厚生労働省医薬局長通知）に定められているところである。

本評価指標は、ヒト（同種）iPS細胞加工製品のうち特に角膜内皮障害の治療を目的として適用される再生医療等製品（平成25年法律第84号第1条の規定による改正後の薬事法（医薬品、医療機器等の品質、有効性及び安全性の確保等に関する法律）第2条第9項に規定する「再生医療等製品」をいう。以下同じ。）について、上述の基本的な技術要件に加えて当該製品特有の留意すべき事項を示すものである。

2. 本評価指標の対象

本評価指標は、ヒト（同種）iPS細胞加工製品のうち特に角膜内皮障害の治療を目的として適用される再生医療等製品について、基本的な技術要件に加えて品質、有効性及び安全性の評価にあたって留意すべき事項を示すものである。

3. 本評価指標の位置づけ

本評価指標は、技術開発の著しいヒト（同種）iPS細胞加工製品を対象とするものであることを勘案し、留意すべき事項を網羅的に示したものではなく、現時点で考えられる点について示している。よって、今後の更なる技術革新や知見の集積等を踏まえ改訂されるものであり、申請内容に関して拘束力を有するものではない。製品の評価に当たっては、個別の製品の特性を十分理解した上で、科学的な合理性をもって柔軟に対応することが必要である。なお、本評価指標の他、国内外のその他の関連ガイドラインを参考にすることも考慮すべきである。

また、個別の製品において必要となる評価については、独立行政法人医薬品医療機器総合機構に相談することが強く勧められる。

4. 用語の定義

- (1) 細胞シート：細胞同士、又は細胞と支持体が結合してシート状の形態を呈したものをいう。
- (2) 角膜内皮：角膜は、強膜とともに眼球の外壁を構成する直径11～12mm程度の透明な組織で、外界からの光を屈折させるレンズの役割を果たす。表面から角膜上皮、

角膜実質、角膜内皮の3層で構成される。そのうち、角膜内皮は単層の角膜内皮細胞から成る組織である。

- (3) 角膜内皮細胞：単層の角膜内皮層を形成する細胞。バリア機能とポンプ機能によって角膜の水分量を調節する働きを持つ。本評価指標ではiPS細胞から分化誘導した角膜内皮（様）細胞も含む。
- (4) 角膜内皮障害：眼内手術による侵襲や遺伝性疾患（Fuchs角膜内皮ジストロフィ）等の種々の要因から、角膜内皮の機能が障害された病態全般を指す。
- (5) 水疱性角膜症：角膜内皮障害の中でも特に重症のケースで、角膜が浮腫とともに混濁した状態。日本眼科学会ガイドライン「角膜内皮障害の重症度分類」（参考資料1）におけるGrade4である。
- (6) セル・バンク：均一な組成の内容物をそれぞれに含む相当数の容器を集めた状態で、一定の条件下で保存しているものである。個々の容器には、単一の細胞プールから分注された細胞が含まれている。（ICH Q5D「生物薬品 バイオテクノロジー応用医薬品／生物起源由来医薬品 製造用細胞基剤の由来、調製及び特性解析について」（平成12年7月14日付け医薬審第873号厚生省医薬安全局審査管理課長通知）の定義と同じ）
- (7) クロスコンタミネーション：サンプル間の混入のこと。交叉汚染とも呼ばれる。製造に用いられる原料の間、中間体の間等での混入を意味する。例えば、あるセル・バンクに由来する細胞に別のセル・バンクに由来する細胞が混入する場合や、ウイルス不活化後の原料に不活化前の原料が混ざってしまう場合等が挙げられる。
- (8) 代替指標：目的とする対象指標が測定困難な場合に、事前に相関づけられた代替可能な指標。
- (9) 移植用基材：細胞懸濁液を移植に用いる場合に、細胞を懸濁するための液体をここでは移植用基材と称する。
- (10) 移植用支持体：細胞をシート状に形成する際に足場として非細胞材料を用いる場合があり、ここではそれを移植用支持体と称する。移植・投与される細胞シート製品に含有されるか否かを問わない。
- (11) 角膜内皮バリア機能：角膜内皮細胞の細胞間がタイトジャンクションという接着構造で強固に結合して、前房水を角膜実質内へ自由に通さない構造となっている。この機能をバリア機能という。
- (12) 角膜内皮ポンプ機能：Na、K-ATPaseなどの角膜内皮細胞の持つ分子によって、角膜実質内の水分を前房へ能動輸送する機能。
- (13) 細隙灯顕微鏡検査：細隙光と呼ばれる帯状の光線を眼球に照射し、生体顕微鏡で観察する検査。角膜、前房、虹彩、水晶体など主に前眼部を観察する。専用のレンズを用いることで後眼部の観察も可能である。

- (14) ETDRS視力表：糖尿病の多施設共同研究であるEarly Treatment Diabetic Retinopathy Studyに基づく視力表。1段5文字であり、1段改善ごとにlogMAR 視力での0.1改善に該当する。臨床研究や治験で広く使用されている。
- (15) OCT (optical coherence tomography)：生体角膜や網膜を断層面で観察できる検査。
- (16) 経上皮電気抵抗値 (TEER: Trans-Epithelial Electrical Resistance)：上皮細胞層のバリア機能を評価するための指標。細胞層に一定の交流電圧を負荷し、その際に流れる電流値から計算される抵抗値。内皮細胞でも使用される。
- (17) 短絡電流 (SCC: Short Circuit Current)：上皮細胞層を通過するイオン輸送による純電流。上皮層を通過するイオンの能動輸送を反映しており、上皮のバリア機能やイオンチャネルの活動を評価するための指標。内皮細胞でも使用される。
- (18) VFQ-25：米国National Eye Institute で開発されたThe 25-item Visual Function Questionnaire。日本語版もある。視覚に関連したQOL を数値化して評価することができる。眼科疾患が日常生活に与える影響や、治療・ケアの結果の評価に用いられている。

5. 評価に当たって留意すべき事項

本評価指標は、当面、既に再生医療等製品の原材料として株化されているヒト（同種）iPS 細胞（細胞株）を主たる原材料として製造所に受け入れ、これを製造所において加工して製造された、ヒト（同種）iPS 細胞加工製品としての角膜内皮細胞の評価に適用することを想定している。以下、「角膜内皮細胞」と記載する。角膜内皮細胞の剤形としては、細胞懸濁液のほか、細胞シートも想定している。再生医療等製品の製造所内でヒト（同種）iPS 細胞を体細胞から新たに樹立し、これを原材料とした再生医療等製品の製造を意図するような場合には、本評価指標を参照しつつ、「ヒト（同種）iPS 細胞加工医薬品等の品質及び安全性の確保について」（平成24年9月7日付け薬食発0907第5号厚生労働省医薬食品局長通知）等を参考とすること。

(1) 原料等

原料等となる iPS 細胞は、再生医療等製品の原材料として株化されたヒト（同種）iPS 細胞であって、一定の製造工程を経ることにより角膜内皮細胞へ分化することが確認されている、又は合理的に予測されるものである必要がある。ヒト体細胞への初期化遺伝子導入による遺伝子プログラミングによりヒト iPS 細胞が樹立されている場合は、導入された遺伝子の残存が否定されていることが望ましい。残存が否定できない場合には、導入遺伝子が最終製品である角膜内皮細胞の品質及び安全性に悪影響を与えないことを確認する必要がある。

(2) 製造工程において特に注意が必要な事項

角膜内皮細胞（最終製品）の製造にあたっては、製造方法を明確にし、可能な範囲でその妥当性を以下の項目で検証し、一定の品質を保持すること。

①ロット構成の有無とロットの規定

最終製品及び中間製品がロットを構成するか否かを明らかにすること。ロットを構成する場合には、ロットの内容について規定しておくこと。

②製造方法

原材料となるヒト iPS 細胞株の履歴、および製造所への受入れから、セル・バンクを構築する場合にはその工程を含め、分化段階の進んだ細胞を経て最終製品に至る製造方法の概要を示すとともに、具体的な処理内容及び必要な工程管理、品質管理の内容を明らかにすること。

a) 受入検査

原材料となるヒト iPS 細胞株について、製造所への受入れのための試験（検査）項目（例えば、目視検査、顕微鏡検査、生存率、細胞の特性解析、細菌、真菌、ウイルス等の混入の否定等）と各項目の判定基準を設定すること。表現型、遺伝形質、特有の機能等の特性、細胞生存率及び品質に影響を及ぼさない範囲で、必要かつ可能な場合は、細菌、真菌、ウイルス等の検査を行うこと。結果が陽性の場合には、ヒト iPS 細胞株のストック及びその輸送における汚染の有無を確認した上で、改めてヒト iPS 細胞株を入手する。

なお、技術的な理由により、工程を一部進めた上で検査を行うことが適切な場合にあつては、受入れ後の適切な時点で検査を実施すること。例えば、凍結ヒト iPS 細胞株を原材料製造時の試験（検査）結果（Certificate of Analysis）を基に受入れた後、解凍して拡大培養を実施する際に追加の検査を行うことが挙げられる。治験を開始する前段階の場合は、それまでに得られた試験検体での実測値を提示し、これらを踏まえた暫定値を示すこと。

b) 細胞のバンク化

角膜内皮細胞の製造にあたっては、製造所に受入れたヒト iPS 細胞株から、最終製品の製造までのいずれかの過程において、セル・バンクを構築する場合と、セル・バンクを構築しない場合の両者が想定される。セル・バンクを構築する場合には、その作製方法および特性解析、保存・維持・管理・更新方法、その他の各作業工程及び試験に関する手順等について詳細を明らかにし、ICH Q5D 等を参考として、その妥当性を示すこと。ただし、より上流の過程で評価されていることに起因する正当な理由により検討事項の一部を省略することは差し支えない。

c) 最終製品の構成要素となる細胞の作製

製造所に受入れたヒト iPS 細胞株、又はそのセル・バンクから、最終製品の構成要素となる細胞を作製する方法（例えば、分化誘導方法、目的とする細胞の分離・培養の方法、培養の各段階での培地、培養条件、培養期間、収率等）を明確にし、可能な範囲でその妥当性を明らかにすること。

d) 製造工程中の取り違え及びクロスコンタミネーション防止対策

角膜内皮細胞（最終製品）の製造にあたっては、製造工程中の取違え及びクロスコンタミネーションの防止が重要であり、工程管理における防止対策を明らかにすること。

e) 複数の細胞培養加工施設での製造及び病院内での細胞加工を行う際の工程の条件の設定

複数の細胞培養加工施設で製造を完結する場合は、施設間での中間製品の輸送に関する条件をあらかじめ確定し、中間製品の出荷及び受入れ、輸送などの条件が満たされているかのモニタリングを行うこと。

(3) 製品の品質管理

角膜内皮細胞（最終製品）の品質管理における留意点として、例えば以下に挙げた事項が考えられるが、必要かつ適切であれば別の試験項目の採用又は追加を検討すること。その際には、各試験項目の設定根拠及び試験方法の妥当性について説明する必要がある。角膜内皮細胞としての品質規格設定のための特性解析項目（①）に加えて、懸濁液における項目（②）と細胞シートにおける項目（③）をそれぞれの剤形に応じて検討する必要がある。工程内管理の管理値及び品質規格の規格値の設定について、治験を開始する前段階の場合にあつては、それまでに得られた試験検体での実測値を提示し、これらを踏まえた暫定値を示すこと。また、出荷製品そのもの又はその一部に対して試験の実施が技術的に困難である場合にあつては、妥当性を示した上で、並行して製造した製品等、代替とする検体を用いて試験を実施すること。

なお、角膜内皮細胞懸濁液または角膜内皮細胞シートの品質管理の設定にあたっては、その移植方法を明らかにすること。移植方法には、例えば、角膜内皮細胞懸濁液の場合は、細胞懸濁液が容器等に収容された状態から、必要数（必要細胞数や懸濁液量）を回収し、適切な適用部位（病的角膜内皮細胞除去後の角膜後面等）へ注射用シリンジで前房内に注入し移植すること等、角膜内皮細胞シートの場合は、細胞シートが容器等に格納された状態から、必要数（1 治療あたり 1 枚等）を回収し、適切な適用部位に貼りつけて移植すること等が考えられる。

①角膜内皮細胞としての品質規格設定のための特性解析項目

a) 形状の確認

最終製品の形状に関して、位相差顕微鏡観察等により内皮細胞特有の細胞形態を確

認すること（例えば、多角形、敷石状細胞形態等）が考えられる。

b) 細胞数及び生存率

最終製品における細胞の数及び生存率について基準を設定する必要がある。細胞数を測定する方法としては、最終製品や中間製品の一部を抜き出して細胞懸濁液とし、バリデーション可能な測定方法（血球計算盤やセルカウンターで測定する方法等）にて測定すること等が考えられる。細胞生存率を測定する方法として、バリデーション可能な方法（トリパンブルーを用いた色素排除法や蛍光色素を用いた方法等）にて、生細胞及び死細胞を計数すること等が考えられる。

c) 角膜内皮細胞としての特異性の確認

最終製品や中間製品の一部を抜き出して、角膜内皮関連分子（例えば、CD166、PITX2、N-cadherin等）（参考資料2、3）が発現していることをフローサイトメトリー、免疫染色、PCR等の方法で確認すること等が考えられる。なお、角膜内皮に特異的なマーカーが存在しないため、角膜内皮細胞と同等の機能を有する細胞も排除しない。

d) 純度確認

特徴的な形態の確認又は陽性マーカーとして CD166、PITX2、N-cadherin 等、あるいは、陰性マーカーとして CD44 等の抗体を用い、最終製品や中間製品の一部を抜き出して、免疫染色、フローサイトメトリー等の方法により判断することが考えられる。または、角膜内皮関連遺伝子の一定レベルの発現を定量 PCR 等の方法で確認することが考えられる。免疫染色においては画像処理等で客観的に数値化して陽性細胞数を判定し、純度の確認を行って差し支えない。

e) 機能評価

最終製品や中間製品の一部を抜き出して、ポンプ機能（Na、K-ATPase 等）、バリア機能（ZO-1、N-cadherin 等）など治療用途に整合性のある機能特性を有することを免疫染色、フローサイトメトリー、PCR 等の方法により確認することが考えられる。

f) 未分化細胞が混在していないことの確認

最終製品への未分化細胞の混在については、フローサイトメトリーや定量 PCR 等によるマーカー遺伝子の発現定量等による評価が考えられる。マーカー遺伝子としては、*OCT3/4*、*LIN28A*、*NANOG* 等の遺伝子定量解析を評価方法として用いることが考えられる。原材料 iPS 細胞株の種類によって、これらマーカー遺伝子の発現量に違いがあるので、それぞれの iPS 細胞株について適切なマーカー遺伝子を選択することが望ましい。また iPS 細胞マーカーの特異性を考慮して、最終製品での未分化細胞の混在を検出するのに最適なマーカー遺伝子を選択すること。なお造腫瘍性評価のための試験に関しては非臨床試験の項目も参照すること。

②角膜内皮細胞懸濁液としての品質規格設定のための特性解析項目

角膜内皮細胞懸濁液については、その性状から、以下のような特性を解析することが考えられる。

g) 生細胞数、生細胞率、細胞密度の他、性状の肉眼的な観察（例：外観上やや濁りのある乳白色の細胞懸濁液）等が考えられる。主構成体である細胞懸濁液の他に、移植用基材や灌流液などの副構成体がある場合は、その性状特性も明らかにしておくこと。

h) 機能評価については、細胞懸濁液という性状であるために、ポンプ機能、バリア機能、未分化細胞残存率等を代替指標を用いたフローサイトメトリーや定量 PCR 等により実施することが考えられる。

③角膜内皮細胞シートとしての品質規格設定のための特性解析項目

角膜内皮細胞シートとしての特性を解析する場合は、以下のように形状確認、力学的適合性、機能特性について評価を行い、シート作製方法としての製造工程の妥当性についても明らかにしておくこと。

i) 形状確認として、例えば全体の形状として細胞がシートを形成していることを肉眼的に観察する方法や、位相差顕微鏡観察等によりシートの形状（例えば、透明な膜状組織であること）を確認することが考えられる。

j) 力学的適合性として、剥離、移植片としての準備までを行い、細胞シートとしての破損の有無等を確認する。

k) 機能特性（ポンプ機能、バリア機能）評価として、免疫染色（例、ZO-1 染色）等、角膜内皮機能との相関が報告されている適切なマーカーの発現解析、又は短絡電流（SCC;Short Circuit Current）あるいは経上皮電気抵抗値（TEER;Trans Epithelial Electrical Resistance）等の計測を行う等の方法が考えられる（参考資料 4）。

(4) 製品の安定性試験

製品形態又は細胞種によって、製品安定性を保つための適切な保存形態、温度条件、輸送液等が異なる可能性があるため、製品毎に適切な組み合わせを検討し、安定性及び機能を担保する必要がある。細胞懸濁液の保存安定性に関する項目としては、細胞数、生細胞率、無菌性等が考えられる。最終製品を細胞シートとし、細胞シートの状態で輸送する場合には、保存安定性に加え、輸送安定性（温度、振動、気圧変化等の影響）を評価した上で保存条件及び使用期限を設定し、適切な容器、保存液及び運搬形態を選択すること。

(5) 非細胞材料の品質・安全性

最終製品に関係する非細胞材料として、製造工程中で最終製品と接触するもの（例えば、培養容器等）の他、移植用基材、移植用支持体（例えば、羊膜、フィブリンゲル等）を用いる場合も考えられる。移植用基材、移植用支持体等を用いる場合は、それも含めて材料自体の品質・安全性に関する知見について明らかにすること。

(6) 非臨床試験

ヒト（同種）iPS細胞を加工して製造される再生医療等製品の造腫瘍性を評価する上では、「原料となるiPS細胞の造腫瘍性と最終製品の造腫瘍性との相関・因果関係は未解明である」という点に注意が必要である。すなわち、臨床適用に際しては、原料となるヒト（同種）iPS細胞ではなく、あくまで最終製品としてのヒト（同種）iPS細胞加工製品の造腫瘍性評価が最も重要であることを常に留意しなければならない。したがって、造腫瘍性試験については最終製品を用い、検出限界が既知の試験系を用いて造腫瘍性の評価を行うことが有用である。最終製品の造腫瘍性の評価には目的別に大きく2種類ある。「品質管理」のための造腫瘍性試験（造腫瘍性細胞の存在量の確認）及び「非臨床安全性評価」のための造腫瘍性試験（最終製品の細胞がヒトでの投与部位に相当する微小環境で造腫瘍性を示すかどうかの確認）であり、これらは区別して評価することが重要である。なお、造腫瘍性の評価にあたっては、「ヒト細胞加工製品の未分化多能性幹細胞・形質転換細胞検出試験、造腫瘍性試験及び遺伝的安定性評価に関するガイドラインについて」（令和元年6月27日付け薬生機審発0627第1号厚生労働省医薬・生活衛生局医療機器審査管理課長通知）（参考資料5）等も参考にすること。

① 最終製品の品質管理のための造腫瘍性試験

製品中の未分化ヒトiPS細胞の混在や腫瘍形成能を持つ形質転換細胞の混在は、適切な細胞特性指標を用いて*in vitro*試験で検査し、評価することが望ましい。ただし必要に応じて、高感度な特性を有する*in vivo*評価法として、重度免疫不全動物（例えば、NOD/SCID/γCnull (NOG)マウス、NOD/SCID/IL2ryKO (NSG) マウス、Rag2-γC double-knockout (DKO) マウス）への皮下投与試験等で評価されることも可能である（参考資料5）。未分化細胞の検出のための評価法としては、例えば、未分化細胞マーカー（*OCT3/4*、*LIN28A*、*TRA-1-60*等）を指標にしたフローサイトメトリーや定量PCR、最終製品を原料等のiPS細胞の培養条件に戻して一定期間培養する評価法等が挙げられる。形質転換細胞の検出のための評価法としては、例えば、細胞増殖特性解析（参考資料2）やデジタル軟寒天コロニー形成試験等が挙げられる。最終製品に適した評価法を用い、造腫瘍性リスクを総合的に評価することが重要である。

② 最終製品の非臨床安全性及び有効性を評価する試験

最終製品の非臨床試験の目的は、ヒトでの投与部位と同一の局所環境で最終製品が示す安全性と有効性を評価することにある。

造腫瘍性試験においては、疾患モデル動物ではなくヒト細胞の移植が容易な免疫不全動物を用いることが多い。NOG や NSG ほど免疫状態が抑制されている系統が利用可能な動物種はマウスの他にはないが、マウスでは投与部位のサイズが小さすぎる又は疾患モデルを作製することが困難などの問題がある。その場合、ヌードラット（T 細胞が欠失）等、マウスよりも大型の免疫抑制動物が用いられることがある。さらに大きな動物の場合は、強く免疫が抑制された個体を入手することが難しいため、免疫抑制剤を併用することになるが、短期のうちに効力や性能を裏付けるデータを得る試験には利用可能でも、造腫瘍性試験のような時間を要する試験には不向きである（参考資料 5）。

他臓器への体内動態等の検討については、観察期間終了時に投与部位及び形成された腫瘍について剖検を行う。肉眼的に認められた腫瘍組織に加えて血流が豊富な主要臓器（肝臓、脾臓、腎臓、肺、リンパ節など）を摘出し、腫瘍組織については、HE 染色や免疫染色等で、ヒト由来細胞がどのような組織の腫瘍を形成したか確認する。また、摘出した他の臓器については目視で腫瘍の有無を確認する。ヒト細胞の浸潤・遠隔転移がないかを、ヒト細胞遺伝子に特異的な Alu 配列に着目した Alu PCR や抗ヒト HLA 抗体等を用いた免疫染色等で評価することも有用である（参考資料 5）。

投与細胞数としては、想定される臨床使用量に種差と個体差の安全係数を掛けた量であることが望ましいが、動物に投与した際に、投与細胞の総容量自体が投与部位の微小環境に大きな影響を与え、アーチファクトとなってしまう可能性を十分考慮する必要がある。すなわち、前房内投与による造腫瘍性試験の目的は、最終製品の細胞がヒトでの投与部位に相当する微小環境で造腫瘍性を示すかどうかの確認にあることに留意しながら投与細胞数を設定することが重要である。

最終製品の有効性を裏付ける非臨床試験については、技術的に可能かつ科学的に合理性のある範囲で、対象疾患に対し適切なモデル動物等を用いて、最終製品の機能発現、作用持続性、ヒト（同種）iPS 細胞加工製品として期待される臨床効果の実現可能性（Proof-of-Concept, POC）を示すことが望ましい。小動物においては角膜内皮障害の自然回復がみられる場合があるため、自然回復しにくい動物モデルを作成して使用することや（参考資料 6）、もともと角膜内皮障害の自然回復が乏しい霊長類の動物モデルを使用すること（参考資料 3, 7）等が考えられる。

いずれにしろ、最終製品の非臨床安全性及び有効性の評価にあたっては、現在取得できる科学的に有意な情報から総合的に判断することが重要である。

（7）臨床試験（治験）

①適応

角膜内皮障害を適応対象とする。特に水疱性角膜症が主体となる。

臨床試験においては、有効性及び安全性評価に適した集団を選択するために、適切な診断基準、重症度分類等を用いて、当該治療法に期待される臨床上の位置付け等を明確にした上で、選択・除外基準や評価基準を設定する必要がある。

②症例数の設定

症例数は、科学的合理性に基づき、試験目的、検証すべき仮説、試験の達成基準及び試験デザインに応じて設定する。

③有効性評価

一般的に主要な有効性評価は、信頼性及び妥当性が検討され国際的に普及した評価項目を用いることが必要であり、評価時における評価項目のベースラインからの変化や改善症例の割合等を評価に用いる。副次的な有効性評価は、主要評価項目で得られた結果の妥当性を検討するだけでなく、得られた結果の臨床的意義を幅広く検討するために有用である。主観が影響する検査項目や、測定機器の使用方法によってバラツキが想定される検査項目では、評価者間で統一した評価を行い、評価者間のばらつきを最小限とすることができるよう、評価者に対する教育訓練等の方策を十分に検討する必要がある。

眼科領域では、ETDRS 視力表や小数視力表などを用いた矯正視力の測定が国際的に広く普及しており、有効性評価項目として考える。しかしながら治療の対象となる角膜以外の部位の眼疾患（白内障、網膜疾患、緑内障、視神経疾患など）を合併している場合があり、合併している場合には角膜内皮細胞懸濁液前房注入／シート移植が奏功して角膜の透明性が回復しても、他の眼疾患が原因で視力回復には必ずしもつながらないことも想定される。よって、臨床試験において矯正視力を有効性効果判定項目と設定する場合は上記を考慮する必要がある。

解剖学的評価では、角膜浮腫の定量的評価として中心角膜厚測定が考えられる。前眼部 OCT 等の角膜形状解析装置を使用することで測定者の恣意性を排除した客観的な測定が可能であり、中心角膜厚は角膜内皮移植後の視力との関連も強く（参考資料8）、有用かつ信頼性のある検査法の一つである。

スペキュラーマイクロスコープを用いた角膜内皮細胞密度の測定も評価方法の一つとして考えられる（参考資料9）。ただし、そもそも iPS 細胞由来角膜内皮細胞が生体の角膜内皮細胞と大きさが同一とは限らないことは、評価のための基準値を決める際に留意すべき点である。

水疱性角膜症の自覚症状として、眼痛も重要である。眼痛を含めた自覚症状の改善度を測定する方法や、NEI VFQ-25 等の適切な質問票を用いて眼科的 QOL を測定する方法も、

視機能評価の一つの指標となりうる。

これらの状況を考慮し、以下のような項目等の術後の術前に対する改善度が有効性評価の項目として挙げられる。

- 1) 矯正視力
- 2) 角膜厚
- 3) 角膜内皮細胞密度
- 4) 自覚症状（眼痛、異物感、流涙、羞明）
- 5) 眼科的 QOL（NEI VFQ-25 等）

④安全性評価

有害事象とは、医薬品等（再生医療等製品を含む。以下この項において同じ。）を投与された患者又は被験者に生じたあらゆる好ましくない医療上のできごとであり、当該製品の投与との因果関係の有無は問わない。つまり、医薬品等が投与された際に起こる、あらゆる好ましくない、又は意図しない徴候（臨床検査値の異常を含む）、症状又は病気のことである。有害事象が認められた場合は、症例報告書に事象名、重症度、転帰、発現及び転帰が確認された時期、治験薬等（治験製品を含む、以下この項において同じ。）の服薬状況並びに処置の有無及びその内容等を記録するとともに、重篤な有害事象か否か、及び治験薬等との因果関係を判定する。

臨床試験では、iPS 細胞由来角膜内皮細胞／シート移植後に留意して観察すべき有害事象として、腫瘍形成、眼圧上昇、眼内炎、拒絶反応等が挙げられる。眼科診療で用いられる細隙灯顕微鏡検査によって移植部位を直接観察できることから、これらの発生について鋭敏に観察することができる。

なお、併用薬として術後炎症管理の目的でステロイドの点眼等が考えられるが、想定される有害事象の一つにステロイドに起因する眼圧上昇が挙げられる（参考資料9）。これら併用薬による有害事象にも留意する必要がある。

6. 参考資料

1. 木下茂、天野史郎、井上幸次、大橋裕一、高橋浩、坪田一男、西田幸二「角膜内皮障害の重症度分類」日眼会誌 118 巻 2 号 81-83 (2014)
2. Hamuro, J., Ueno, M., Toda, M., Sotozono, C., Montoya, M., and Kinoshita, S. Cell Homogeneity Indispensable for Regenerative Medicine by Cultured Human Corneal Endothelial Cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2016 Sep 1;57(11):4749-61.
3. Hatou S, Sayano T, Higa K, Inagaki E, Okano Y, Sato Y, Okano H, Tsubota K, Shimmura S. Transplantation of iPSC-derived corneal endothelial substitutes in a monkey corneal edema model. *Stem Cell Res.* 2021 Aug;55:102497.
4. Hatou S, Higa K, Inagaki E, Yoshida S, Kimura E, Hayashi R, Tsujikawa M, Tsubota K, Nishida K, Shimmura S. Validation of Na,K-ATPase pump function of corneal endothelial cells for corneal regenerative medicine. *Tissue Eng Part C Methods.* 2013 Dec;19(12):901-10.
5. 「ヒト細胞加工製品の未分化多能性幹細胞・形質転換細胞検出試験、造腫瘍性試験及び遺伝的安定性評価に関するガイドラインについて」（令和元年 6 月 27 日付け薬生機審発 0627 第 1 号厚生労働省医薬・生活衛生局医療機器審査管理課長通知）
<https://www.jsrm.jp/cms/uploads/2019/07/4801e3695bff4fca9e458121affde4a6.pdf>
6. Yamashita K, Hatou S, Inagaki E, Higa K, Tsubota K, Shimmura S. A Rabbit Corneal Endothelial Dysfunction Model Using Endothelial-Mesenchymal Transformed Cells. *Sci Rep.* 2018 Nov 15;8(1):16868.
7. Okumura N, Sakamoto Y, Fujii K, Kitano J, Nakano S, Tsujimoto Y, Nakamura S, Ueno M, Hagiya M, Hamuro J, Matsuyama A, Suzuki S, Shiina T, Kinoshita S, Koizumi N. Rho kinase inhibitor enables cell-based therapy for corneal endothelial dysfunction. *Sci Rep.* 2016 May 18;6:26113.
8. Moskwa R, Bloch F, Vermion J-C, Zevering Y, Chaussard D, Nessler A, Goetz C, Perone J-M. Postoperative, but not preoperative, central corneal thickness correlates with the postoperative visual outcomes of Descemet membrane endothelial keratoplasty. *PLoS One.* 2023 Mar 3;18(3):e0282594.
9. Kinoshita S, Koizumi N, Ueno M, Okumura N, Imai K, Tanaka H, Yamamoto Y, Nakamura T, Inatomi T, Bush J, Toda M, Hagiya M, Yokota I, Teramukai S, Sotozono C, Hamuro J. Injection of Cultured Cells with a ROCK Inhibitor for Bullous Keratopathy. *N Engl J Med.* 2018 Mar 15;378(11):995-1003.