

して知られている各種病原微生物の検出が可能な感染症 PCR 検査を実施しており、微生物等による汚染状況をモニタリングいたします。

【追加指摘1】「移植後に無菌・マイコプラズマ・エンドトキシンの結果が陽性であった場合、患者の状態を確認して迅速かつ適切な治療を行います。説明文書にその旨を記載いたします。」とありますが、網膜は中枢神経系とつながっておりますので、説明文書改訂のみでは不十分な対応です。具体的な対応策を、再生医療提供計画に追記して下さい。

【回答】

ご指摘ありがとうございます。「移植後に無菌・マイコプラズマ・エンドトキシンの結果が陽性と判明した場合、慎重に経過観察を行い、眼底に感染を疑う炎症所見を認める際には、早急に手術による移植細胞の除去および眼内の洗浄、抗菌薬による治療を実施する」を再生医療等提供計画「細胞の安全性に関する疑義が生じた場合の措置の内容」に追記します。（全眼球炎でも中枢神経に炎症が波及する割合は非常に低いです。この移植の場合、感染がおこるとしたら網膜局所のごく小さな面積の感染となります。）

【追加指摘2】具体的な各種病原微生物を提示し、どのタイミングで実施しているか、ご教授ください。また、当該 PCR の適切性を提示してください。

【回答】

感染症 PCR 検査で検出する病原微生物は以下の通りです。検査対象は、細菌全般、真菌全般、マイコプラズマ及び網膜に親和性の高いウイルス・寄生虫を網羅できるよう設定しています。

検査対象： HSV1, HSV2, VZV, CMV, EBV, HHV6, HHV7, HHV8, トキソプラズマ, マイコプラズマ, 真菌 28S(全般), 細菌 16S(全般)

実施するタイミングは、RPE 細胞凝集紐（最終特定細胞加工物）の出荷前の品質管理試験時に迅速検査として実施します。

感染症 PCR 検査はメーカーで作成したキットを用いて実施しますが、キットの PCR の感度は 50copy/rxn になります。メーカーにて検出系を構築した際に、50copy/rxn の検出率が 95% 以上であることを確認しております。例えば、真菌 28S の領域では、少なくとも細胞中に 2 コピー以上ありますので、理論上 25 細胞（菌体）分の DNA があれば検出されることになり、十分な感度があると考えます。

＜感染症 PCR 検査キット＞

メーカー：日本テクノサービス

製品名：ウイルス等検出用試薬セット(RM グラフト) 12strips/pack

4. 実施計画書 16.3 監査に関し、必要に応じ実施させることができる、とあるが、すでに委託先の手順書もあり経費も算定されている。監査は実施する、と明記してはいかかが。

【回答】

ご指摘ありがとうございます。監査を実施する記載に修正致します。

5. 画像評価手順書 4.1 判定依頼で移植後 8 週に撮影した画像の判定を依頼し、4.3 画像判定で適となるまで手順を繰り返す、とある。この手順に期限の設定が必要ではないか。移植後 24 週の造影検査が実施される前に完了していなければならないと考える。

【回答】

ご指摘ありがとうございます。移植後 24 週の造影検査が実施される前に完了していなければならないことを追記致します。

以上

先進医療審査の事前照会事項に対する回答2

先進医療技術名：網膜色素上皮(RPE)不全症に対する同種 iPS 細胞由来 RPE 細胞凝集紐移植

2025 年3月 31 日

所属・氏名：神戸市立神戸アイセンター病院 栗本康夫

※照会に伴い変更が生じた場合は、関係書類も併せて修正して下さい。

1. プロトコル 6.1 の効果判定において、有効例の定義が述べられており、「治療部位の移植後 24 週の RPE 異常領域面積の移植前からの変化量が異常コントロール部位における平均値よりも小さい場合 ($RPETChange24 - \text{平均 } RPECChange24 > 0$)」とありますが、治療部位の変化量がコントロール部位の平均値と比べて「小さい」で正しいでしょうか？

【回答】

ご指摘ありがとうございます。疾患の進行による異常領域面積の変化量の方が大きくなることを前提としています。自然に進行する疾患を対象にしているため、疾患の進行による異常領域面積の変化量が治療によって小さくなることを有効例の定義としています。

【追加指摘事項1】

上記に対する回答ですが、有効の定義である「 $RPETChange24 - \text{平均 } RPECChange24 > 0$ 」において、本試験では $RPETChange24$ も平均 $RPECChange24$ もマイナスの値を想定されていると思われましたが、そうしますと数学的には $RPETChange24$ の方が $RPECChange24$ より小さいという表現は適切ではないと思われます。

上記の理解が正しければ適切な表現に修正ください。

【回答】

ご指摘ありがとうございます。「治療部位の移植後 24 週の RPE 異常領域面積の移植前からの変化量と異常コントロール部位における平均値の差が 0 より大の場合 ($RPETChange24 - \text{平均 } RPECChange24 > 0$)」と記載を修正いたしました。先行の 3 例ではすべて $RPETChange24$ が+で、 $RPECChange24$ は-でした。

【追加指摘事項2】

異常領域面積の測定によるばらつきはどの程度でしょうか。ばらつきを勘案したうえで、一定程度の変化量が得られて有効と判断すべきです。評価が blind でないため、適切性を担保する方策はどのようにされているのでしょうか。

【回答】

実施計画書 6.1 節 主要評価項目において、

24 週相対効果の有効率の 95%信頼区間の下限が 5%より大きいときに、本治療法の有効性が確認されたとする。

としているのは、異常領域面積の測定によるばらつきにより有効例の偶然による誤判定が5%程度（20例に1例の割合）存在すると想定してのことです。

ここで、実施計画書で設定した、24 週相対効果の有効率の 95%信頼区間の下限が 5%より大きいときに本治療法の有効性を検証するとする判定基準は、15 例の観察がおこなれたときに、治療部位の移植後 24 週の RPE 異常領域面積の移植前からの変化量と異常コントロール部位における変化量の平均値の差（ $RPE_{TChange24} - \text{平均 } RPE_{CChange24}$ ）が次の正規分布に従うと想定できるために、有効と判定される事象の発現確率を算出することが出来ます。

$$N(M(E_C - E_T), 2M \cdot CV \cdot \text{Sqrt}(1-r) / \text{Sqrt}(15))$$

ここで、

$M(E_C - E_T)$: 治療効果の大きさ（治療部位とコントロール部位の異常領域面積の変化量の差）

CV: RPE 異常領域面積割合の変動係数

r: RPE 異常領域面積割合前後の測定の相関係数

これより、RPE 異常領域面積割合の変動係数を 0.2、前後の測定の相関係数 0.7 とした条件下で実施計画書の判定基準は、治療効果が約 10%未満のものを棄却することを意味する。また、実際の変動係数が想定よりも高めであった場合には、治療効果の大きさの棄却基準はそれに伴い拡大するため判定基準はより厳しいものとなります。

評価の適切性の担保については、実施計画書「18 章 画像評価委員会」で

画像評価委員会は、本研究の被験者診療に直接関与しない医師により構成される。フルオレセイン蛍光眼底造影検査における RPE 異常領域面積について、画像評価手順書に従い研究責任医師または研究分担医師により設定された解析部位（治療部位、異常コントロール部位及び正常コントロール部位）の妥当性を評価する。

として、RPE 異常領域面積の妥当性を評価することになっています。

2. プロトコル 7.2.5 において閾値有効率の根拠が述べられておりますが、本記載からは測定誤差以外では無効と判定されうることはないような記載と読めますが、実際本当に治療が無効に終わってしまう症例は起こり得ないでしょうか？

先行研究 3 例では同定義で全例有効とのことですが、万が一測定誤差とは考えられないような（治療部位での異常面積減少がほとんど見られないような）症例が 1 例出てしまった場合には、本閾値設定根拠とは異なる意味での 5%発現となり、結果の解釈が困難になることはないでしょうか？

【回答】

RPE 細胞が移植された症例で、移植後に免疫反応によって移植された細胞が全く観察されなくなった場合、無効と判定される可能性はあると考えられます。

【追加指摘事項】

閾値有効率に対するご回答ありがとうございます。改めての確認ですが、本試験では「少なくとも本治療法は無効ではなさそうだ」ということを確認するという立ち位置の試験という理解で正しいでしょうか？（すなわち、有効性の検証ではないという意味です）

【回答】

実施計画書「5 章 臨床試験の目的」に

RPE 異常を来した様々な網膜変性疾患を疾患群とした RPE 不全症を対象に、健常ドナー由来の iPS 細胞から分化誘導した RPE 細胞を用いた同種 iPS 細胞由来 RPE 細胞凝集紐移植を行い、安全性および有効性を検証する。

と記載しています通り、有効性の検証試験として計画しており、有効性の検証については、実施計画書「6.1 節 主要評価項目」に

24 週相対効果の有効率の 95%信頼区間の下限が 5%より大きいときに、本治療法の有効性が確認されたとする。

と記載しております通りの方法で確認する計画になっています。

本研究では、上記のようにまずは先行実施の iPS 細胞由来 RPE 細胞凝集紐移植に関する臨床研究において全例に確認された RPE 凝集紐生着および伸展による RPE 委縮面積の減少を主要評価項目とし、それを統計学的に検証し、加えて副次項目にて設定している視機能評価について、顕著な視機能回復が確認される症例の条件を検討する予定です

以上

先進医療審査の事前照会事項に対する回答3

先進医療技術名：網膜色素上皮(RPE)不全症に対する同種 iPS 細胞由来 RPE 細胞凝集紐移植

2025 年3月 31 日

所属・氏名：神戸市立神戸アイセンター病院 栗本康夫

※照会に伴い変更が生じた場合は、関係書類も併せて修正して下さい。

1. 患者選択基準(例：申請書類①、P9に2)年齢は 20 歳以上であるとのみ記載されています。上限は設けなくてよいのでしょうか。特に術後 2 週間の入院、が義務付けられると、高齢者によっては ADL 低下リスクの方が大きいように思います。申請書類①P10 の除外基準の 10)の“不适当と判断”あるいは申請書類⑨P31-32 で研究参加の継続が困難と医師が判断したときには参加を中止できる、という文言があり、これで十分と判断されているのでしょうか。論文の患者リストでは最高齢は 80 歳であったと思います。

【回答】

入院による ADL 低下リスクのある患者は、除外基準の 10)の“不适当と判断”にて除外するため、特定の年齢を上限とはいたしません。

【追加指摘】「入院による ADL 低下リスクのある患者」の定義が不明確です。明確に定義し、除外基準に加えてください。10)の“不适当と判断”は、想定外の場合に対処するための記載です。

【回答】

ご指摘ありがとうございます。除外基準として、「ADL 低下がみられ、Barthel Index による評価で 100 点中 60 点未満(部分介助、全介助)のもの。ただし視機能低下による介助を必要とする場合はこの限りではない。」を追記しました。

先進医療審査の事前照会事項に対する回答4

先進医療技術名：網膜色素上皮(RPE)不全症に対する同種 iPS 細胞由来 RPE 細胞凝集紐移植

2025 年 3 月 31 日

所属・氏名：神戸市立神戸アイセンター病院 栗本康夫

※照会に伴い変更が生じた場合は、関係書類も併せて修正して下さい。

1. 予定症例数の設定に関してお尋ねする。

RPE 不全症 15 例の試験規模で実施した場合の期待有効率に対する検出力を設定している。しかし、同時に、5つの網膜変性疾患に対し、探索的に有効性を評価する、各疾患 3 例ずつの内訳となっている。本技術を先進医療として進めるにあたり、5つの網膜変性疾患それぞれに有効性を評価できる体制にはなっていない(未だ実施可能性の確認となっている対象疾患も含まれる)と見受けるが、このたびの申請が先進医療として実施するに適切であるとする見解を示していただきたい。

【回答】

5つの網膜変性疾患はいずれも、網膜色素上皮細胞の機能不全により視細胞が変性することで視機能が障害されることが原因であるため、移植 RPE 細胞が生着することで視細胞が保護され視機能が維持または改善するという効果が期待されます。

先行して実施した RPE 凝集紐臨床研究の 3 症例において、RPE 不全症(2 疾患)が原因の RPE 異常領域に移植 RPE 細胞が生着することにより、全例で異常領域面積が減少(primary endpoint)しており、細胞に起因しない合併症の 1 例を除き、視機能が維持されるという目的とする効果(MOA)が確認されています。Replacement therapy としての役割を果たすことがわかりました。

これまで、最初の自家移植の前に細胞の重要品質特性(CQA)を決定し、続く臨床研究で動物モデルではわからなかった剤形の CQA を検討し最もよい剤形の最終製品が確定しました。次が最も適した症例の把握です。これまでの臨床研究では安全性のために進行した重症例を対象としていたため、この先進医療ではより早期の症例も対象とし、維持のみでなく機能回復まで得られると思われる症例を組み入れ、同じ病理の RPE 不全症の様々な疾患の中で視力回復効果の高い症例の特徴を検討し、確実な治験につなげたいと考えております。

2. ロードマップについて確認する。

先進医療の先の治験の構想について提示されている。試験名「クリスタリン網膜症に対する同種 iPS 網膜由来網膜色素上皮細胞凝集紐移植の有効性と安全性の検討(P1/2 試験)」に関して、治験開始は先進医療実施中に開始される可能性がある、とあるが、本先進医療は、15 例で実施することにより有効性の評価を得ようとしていると理解している。先進医療の試験結果が判明する前に、次の段階に進めようとする考えについて、整理してうかがいたい。

【回答】

これまでも RPE 委縮面積の減少という効果は全例で得られていますが、先進医療の中で本品のさらなる有効性が期待できる対象症例の特徴が見えてきた場合、先進医療の完了を前に、治験を開始する可能性もあると考え記載しております（よって、治験はクリスタリン網膜症が対象とは限らない）。厚労省から以前、保険収載を目指す場合、先進医療は医療（技術）を作るもので製品は薬機法を並行して通しておく方がよいというアドバイスをいただきました。先進医療と治験はその目的が異なり、並行して行うことも可能かと思えます。

以上

先進医療審査の事前照会事項に対する回答5

先進医療技術名：網膜色素上皮(RPE)不全症に対する同種 iPS 細胞由来 RPE 細胞凝集紐移植

2025 年3月 31 日

所属・氏名：神戸市立神戸アイセンター病院 栗本康夫

※照会に伴い変更が生じた場合は、関係書類も併せて修正して下さい。

1. 対象疾患として、実施計画書「1.要約」の「目的」に、「・・・網膜色素上皮変性等」とあります。「等」という表記は対象疾患として不適切です。本文中全て、疾患を明示・限定してください。対象疾患として、実施計画書の表 3 と齟齬が無いように修正して下さい。また、各疾患の Grade を明示する必要はないのでしょうか。

【回答】

1. 要約 目的の記載等；

ご指摘の通り、「等」を削除して以下の通りとします。

「RPE 異常を来した遺伝性網膜ジストロフィー(CYP4V2 遺伝子変異によるクリスタリン網膜症、RPE65、RDH5、MERTK、CHM 遺伝子変異による網膜色素変性、BEST1 遺伝子変異によるベスト病、ABCA4 遺伝子変異によるスターガルト病)、加齢黄斑変性、近視性網膜症、多発性後極部網膜色素上皮症、中心性漿液性網脈絡膜症、網膜色素線条における網膜色素上皮変性の網膜変性疾患を疾患群とした RPE 不全症を対象に、・・・」

各疾患のグレードの設定に関しまして、本治療においては、各疾患のグレードではなく、各疾患に共通して利用が可能な画像情報、視野、網膜感度等の視機能情報をもとに組み入れ基準を設定しそれらの情報をもとにスコアリングを行い、細胞移植により治療効果が期待できる症例を事前に選定する予定です。従い、この症例選定は必ずしも従来の各疾患のグレードに沿ったものではありません。今回の先進医療にて得られた症例選定の知見を、本治療の診療指針に反映させる予定です。

2. RPE 不全症という疾患概念は、成書に定義され、広く受け入れられている概念でしょうか。曖昧な概念であり、本特定細胞加工物による利益が期待されない疾患も包括されていると危惧します。また、網膜色素変性症のみならず、加齢黄斑変性まで本研究の対象疾患となることは適切でしょうか。

【回答】

RPE 不全症を設定した理由；

RPE 不全症という疾患概念は、これまで日本眼科学会総会、日本臨床眼科学会、網膜硝子体学会等の主要な学会の折に過去 8 回開催された iPS 細胞 RPE 移植研究会(全国から本治療に興味がある20大学程度参加)にて受入れられており、現在日本眼科学会と構築を進めている、本治療に適した症例選定を目的とした眼科分野再生医療データベースもこの概念に沿うものです。^{1,2)}

RPE 細胞は網膜外層に存在する色素上皮細胞であり、視覚を司る網膜視細胞の機能維持等、網膜の恒常性維持における重要な役割を担っており、視機能維持に必須の細胞です。対象疾患に記載した疾

患は、疾患名は異なりますが RPE 細胞に発現する遺伝子異常や、酸化ストレス及び老廃物の異常蓄積等の加齢に伴う病的変化が原因となり、RPE 細胞が機能不全を起こして変性し、二次的に視細胞が障害され網膜変性に至る病態は共通しております。本治療は RPE 細胞が変性した異常領域に iPS 細胞由来 RPE 細胞を移植することで RPE 細胞の機能維持を図るため、疾患名によらず有効性が期待されると考えます。

<引用文献>

1. 前田ら、網膜疾患における再生医療 眼科 62: 655-661, 2020
2. Maeda T, et al, Strategies of pluripotent stem cell-based therapy for retinal degeneration: update and challenges. Trends Mol Med. 28: 388-404, 2022.

加齢黄斑変性を対象疾患とした理由:

加齢黄斑変性において、アクティブな滲出型は対象としません。萎縮型では RPE の地図状萎縮(GA)領域の拡大が視機能低下と関連していることが示されており、いずれにおいても RPE 細胞の機能不全が拡大することにより病態が進行するところは共通しています。従いまして RPE の異常領域への iPS 細胞由来 RPE 細胞の移植により、RPE 異常領域を減少させることで RPE 細胞の機能維持を図ることが有効であると考えますので、加齢黄斑変性を対象疾患といたしました。

3. 先行 3 例の対象疾患と、評価療養として有効性および被験者にとっての利益を示しうると考える根拠を明示してください。

【回答】

先行 3 例の対象疾患は、①萎縮型加齢黄斑変性、②網膜色素変性(MERTK 遺伝子異常)、③網膜色素変性(MERTK 遺伝子異常)です。

先行 3 例の対象疾患は本研究の対象疾患に含まれており、2. の回答の通り、RPE 細胞が機能不全を起こして変性し、二次的に視細胞が障害され網膜変性に至る病態は共通しております。従いまして RPE の異常領域への iPS 細胞由来 RPE 細胞の移植により RPE 異常領域が減少することで RPE 機能が改善・維持され、視機能の改善・維持および視機能低下の進行抑制が期待されます。

実際、これまでの 3 例全例で RPE 萎縮面積が減少し、①では視機能の向上を認めました。(世界でおこなわれている他の RPE 移植では全例で RPE 萎縮面積の減少があるわけではありません。凝集紐の移植は生着が確実です。) また、自家移植の例では 10 年にわたり、RPE が移植された部位でのみ視細胞と脈絡膜層が維持されています。(他の RPE 萎縮部位は視細胞が完全に消失)

以上のことから、最低でも RPE 細胞移植によって確実に萎縮面積が減少し、治療しなければ変性消失するはずであったその部分の視細胞が維持され視機能も維持されと考えられます。先進医療ではより軽度な症例に移植することで①の症例のように視機能回復の可能性もあると考えます。他に治療法が存在しないこれらの症例にとって、利益となると考えます。

なお、②、③の MERTK 遺伝子異常に対しては、仏国においても同様の治療が実施されており、一定の

範囲で有効性が確認されています³⁾。①の委縮型加齢黄斑変性に対しても、米国のES細胞由来RPE移植で視機能が回復するという結果が報告されています(Luxa Biotechnology 社の Wills Eye Conference での発表)。

<引用文献>

3. Christelle Monville, et al. Phase I/II open-label study of implantation into one eye of hESC-derived RPE in patients with retinitis pigmentosa due to monogenic mutation: first safety results. ARVO Annual Meeting Abstract, June 2023.

4. 先行 3 例のうち、安全性が確認され、かつ有効性・被検者利益が予想される疾患に限定すべきです。RPE 不全症という概念があるとしても、個別疾患の病理病態が異なっているため、安全性・有効性を予測するにたる情報が得られてないと考えます。

【回答】

RPE 不全症の概念については、2. の回答の通り、RPE 細胞変性により視細胞変性を来し、視覚障害を引き起こすことは眼科医における共通認識です。そのうえで、RPE 細胞変性が認められた症例に対して、RPE 変性領域に iPS 細胞由来 RPE 細胞を移植し、網膜組織の解剖学的再構築と機能維持・回復を目指すのが本治療の概念になります。

個別疾患ごとの名称と原因は異なりますが病理病態は同様であり、RPE 変性領域に iPS 細胞由来 RPE 細胞を移植して再建するという対処法は共通に適応し得ると考えます。過去に角膜上皮も同様の概念で様々な原因疾患による角膜上皮幹細胞疲弊症という疾患集団の概念を作り、角膜上皮細胞移植の対象としております。

5. 実施計画書の「表1 評価スケジュール」において、移植後観察期間が 52 週に設定されています。神戸アイセンター病院への外来 visit を担保する方策はどのようにされていますでしょうか。

【回答】

本研究の規定 visit は研究計画に記載の通りですが、規定 visit の間にも、原疾患の診療のため定期的な受診があり期間が空くわけではありません。

6. 追跡期間について、観察研究として倫理審査が行われ、承認を得られているでしょうか。得られていない場合、先進医療として評価することは適式できないと思われます。

【回答】

追跡期間(208 週)まで、再生医療等安全性確保法の再生医療等提供計画のもと、経過観察を行います。

7. 移植後の免疫惹起性についての評価項目がありません。マイナー抗原への免疫惹起性はありませんので、検討してください。あるいは、不要と考えた根拠の提示(論文等含む)でも構いません。

【回答】

移植部位の局所における免疫反応は、眼科画像検査による判定が最も鋭敏と考え、その所見が得られた時点で可及的速やかに介入することで適切に管理可能と考えます。同時に 11.3 安全性評価の臨床検査で、免疫惹起性の評価として免疫学的検査(LGIR もしくは DSA)を実施することとしております。

LGIR : Lymphocyte-grafts immune reaction tests の略で、移植患者リンパ球と移植で用いるグラフトを In vitro で培養して、拒絶反応を評価する試験

<引用文献>

Stem Cell Reports. 2016 Oct 11;7(4):619–634. doi: 10.1016/j.stemcr.2016.08.011.

Prog Retin Eye Res. 2021 Sep;84:100950. doi: 10.1016/j.preteyeres.2021.100950.

DSA : Donor-specific antibody 略で、移植患者の血清を用いてをグラフトに反応する抗体(拒絶反応特異的抗体)を同定する試験

<引用文献>

Stem Cell Reports. 2017 Nov 14;9(5):1501–1515. doi: 10.1016/j.stemcr.2017.10.003.

Prog Retin Eye Res. 2021 Sep;84:100950. doi: 10.1016/j.preteyeres.2021.100950.

先行 3 例の臨床研究においても、上記の通り眼科画像検査で検出し、その所見が得られた時点で可及的速やかに介入し適切に対応しております。

8. 網膜は血液脳関門を CNS 側と考えると、頭部 MRI や神経学的評価が行われていないのは、安全性担保の観点から不十分と考えます。評価項目として追加をお願いします。

【回答】

移植 RPE 細胞の過剰な増殖を検出する上で頭部 MRI が必要ということであれば、眼底の移植 RPE 細胞を直接観察、眼底写真や光干渉断層計で撮影し面積や厚みを評価することでより早期に検出することが可能と考えます。これまで 10 年以上に渡る数十回の審査で、頭部 MRI の必要性を指摘されたことはなく、RPE 細胞が異常増殖や異所性生着を認めたことはないため、視覚障害者にとって検査の負担も大きい頭部 MRI を追加する必要性は科学的に高くないと考えます。

9. 評価項目に視力がありません。適切と判断した理由を述べて下さい。

【回答】

視力は、網膜黄斑部の中心窩の変性程度に大きく依存します。従い、移植前に、すでに中心窩の網膜変性を来している症例は、本治療での視力回復は期待できません。しかしながら、中心窩が局所的に変性を来しているものの、其の周囲の視細胞が残存している症例については、残存している視機能維持または一定の範囲での機能回復を踏まえ、治療対象となると考えられることから、視力を評価項目に含めていません。

10. 移植後の「紐」ですが、どのように網膜組織内に広がっていくのでしょうか。

【回答】

移植直後の細胞は紐状に重層化していますが、生着後は紐部分から細胞が生え出すように生着範囲を拡大し、移植時に重層化していた紐部位については徐々に平坦化していくことを動物モデル(ラット及びサル)への移植で確認しています。この時、生え 広がっている部分はいずれも単層構造で、RPE 細胞は頭頂側-基底膜側の正しい極性を持ち、隣り合う RPE 細胞とはタイトジャンクションマーカーを発現した

状態であることも確認しています。また、紐として重層化した部分についても、5 ヶ月目の標本では一番上層にある RPE 細胞だけが極性を持った単層上皮として残存することも確認しています。

また、先行 3 例の臨床研究においても、移植3カ月後には紐部分から色素を持った細胞が平面上に網膜下に広がり生着していることをカラー眼底、偏光 OCT(メラニン色素を持つ細胞を描出)、AO カメラなど複数画像機器にて確認しています。

11. 実施計画書「15. 統計解析計画」について、visit されなくなった被験者は解析から除外されるのでしょうか。ITT でないなら、ITT とすべきではないでしょうか。

【回答】

実施計画書「15.1 節 解析対象集団」において、

15.1.2 有効性解析対象集団

安全性解析対象集団のうち、以下の症例を除いた最大の解析対象集団 (Full Analysis Set, FAS) を有効性解析対象集団とする。

- ・ 登録時に有効性に関わるデータがない症例
- ・ 移植治療後のいずれの時点にも有効性に関わるデータがない症例

としていますが、これは試験計画の遵守に関わらず解析可能なすべての被験者を解析の対象という意図であり、厳密な意味での ITT とは異なる概念ですので、「ICH-E9 臨床試験のための統計的原則」に従って FAS として定義しています。

12. 実施計画書「15. 統計解析計画」において、RPE 異常面積にて有効性が評価されることとなっています。RPE 異常測定手法とその手法の本臨床研究への適用の適切性をご教授ください。また、cut off 値について、RPE 不全症に包括されると申請者らが述べている疾患において、RPE 異常面積の有効性評価における有用性について述べてください。

【回答】

移植患者の主観性に影響される視力を主軸とした従来の有効性評価項目に変わり、細胞生着自体を客観的に評価可能な検査方法として、一般眼科診療で用いられる画像検査である蛍光眼底造影において RPE 異常領域の指標となる window defect (WD) や瘢痕組織染 (staining) など異常過蛍光領域面積 (abnormal hyperfluorescent area) を評価し、移植細胞の生着による異常過蛍光領域面積の減少を定量的に解析します。(RPE 萎縮面積の変化は加齢黄斑変性に対する薬剤の primary endpoint としてすでに FDA で認められています)

WD は蛍光眼底造影検査の造影開始早期に見られる所見であり、RPE が萎縮をきたした眼底部位において、RPE より外層に位置する脈絡膜層の血管を流れる造影剤が透見され、過蛍光領域として観察されます。一方で、滲出変化による瘢痕巣はしばしば RPE 欠損部位となり、組織染としての異常過蛍光領域として観察されます。また、ドルーゼンや脈絡膜新生血管なども異常過蛍光領域として観察され、RPE 異常領域として RPE 移植治療の対象部位と考えることができます。これら蛍光眼底造影検査の異常過蛍光領域は再現性も高く、総じて RPE 異常領域の判別に有用な所見として用いられています。今回用いるプロトコルでは紐生着部位をカラー眼底での色素を指標に移植部位として評価対象領域を移植8週後に定義し、その後同じ部位を蛍光造影画像上で自動解析プログラムを用いて二値化することで、異常領域の面積変化を前向きに24週後と比較するという方法を用いることで、客観性を担保しています。同時に異常コントロール部位、コントロール部位も同様に移植8週後に定義してその変化を前向きに評価します。ここで用いている自動解析プログラムはフルオレセイン蛍光眼底造影検査画像より機械学習を用いたもので、その再現性や病態の進行の判定において妥当であることを報告しています。

参考までに、対象評価領域は以下のように設定しています。

- ・ 治療部位:移植した RPE 細胞が最大限に含まれる 10000 pixel の範囲を移植した凝集紐 1 本につき 1 個設定する。(最少 1 個、最大 8 個)
- ・ 異常コントロール部位:異常過蛍光領域を含み、治療部位を含まない部位に 10000 pixel の範囲を最大 3 個ランダムに設定する。
- ・ 正常コントロール部位:異常過蛍光領域を含まない部位に 10000 pixel の範囲を最大 3 個ランダムに設定する。(撮影範囲全体が異常の場合は 0 個)

<過蛍光領域の面積変化による評価に関する引用文献>

Motozawa N et al, Automated evaluation of retinal pigment epithelium disease area in eyes with age-related macular degeneration. Sci Rep 12: 892, 2022

Cut off 値の設定については、回答書2 追加指摘事項2の回答を以下に再掲します。

実施計画書で設定した、24 週相対効果の有効率の 95%信頼区間の下限が 5%より大きいときに本治療法の有効性を検証するとする判定基準は、15 例の観察がおこなれたときに、治療部位の移植後 24 週の RPE 異常領域面積の移植前からの変化量と異常コントロール部位における変化量の平均値の差 ($RPE_{TChange24} - \text{平均 } RPE_{CChange24}$) が次の正規分布に従うと想定できるために、有効と判定される事象の発現確率を算出することが出来ます。

$$N(M(E_C - E_T), 2M \cdot CV \cdot \text{Sqrt}(1-r) / \text{Sqrt}(15))$$

ここで、

$M(E_C - E_T)$: 治療効果の大きさ(治療部位とコントロール部位の異常領域面積の変化量の差)

CV: RPE 異常領域面積割合の変動係数

r: RPE 異常領域面積割合前後の測定の相関係数

これより、RPE 異常領域面積割合の変動係数を 0.2、前後の測定の相関係数 0.7 とした条件下で実施計画書の判定基準は、治療効果が約 10%未満のものを棄却することを意味する。また、実際の変動係数が想定よりも高めであった場合には、治療効果の大きさの棄却基準はそれに伴い拡大するため判定基準はより厳しいものとなります。

13. 実施計画書「別紙3 参考様式2 重篤な有害事象等に関する報告書」について、重篤な有害事象の定義を当該領域にふさわしく修正してください。なお、本文 p28 記載内容と p44 の定義に差異を認めるため、適切に修正してください。

【回答】

重篤な有害事象報告は、疾病等報告とは異なり、再生医療等の提供との因果関係にかかわらず、全ての有害事象が対象となりますので、一般的な定義としております。

P28 の定義にあり、P44 のチェックボックスにない事項(上記のような結果に至らないように医療機関での医学的又は外科的処置を必要とするような重大な事象。)については、具体的な記載を要するため、「□その他()」に記載することを想定しております。

14. 実施計画書の表4および5に、エンドトキシンの規格が 3 EU/mL とあります。網膜組織は髄腔内投与と同等の水準が求められますので、0.2 EU/dose に変更してください。

【回答】

3 EU/mL の規格値は、これまでに実施してきた臨床研究においても同じ規格で実施しており、エンドトキンによる有害事象の発生はございませんでした。

エンドトキシンの規格値について、脊髄腔内投与の K 値(発熱を誘起するといわれる体重 1kg 当たりのエンドトキシン量) = 0.2 EU/kg を用いて計算した結果は以下の通りです。

$$\text{エンドトキシン規格値(EU/mL)} = \text{K 値(EU/kg)} / \text{ヒト最大投与量(mL/kg)}$$

上記の式に、本特定細胞加工物の数値を代入したエンドトキシン規格値は、 2.4×10^3 EU/mL となり、規格値 3 EU/mL は十分満たしていると考えます。

$$\text{エンドトキシン規格値} = A/B = 0.2 / (8.3 \times 10^{-5}) = 2.4 \times 10^3 \text{ EU/mL}$$

A. 脊髄腔内の K 値(EU/kg) = 0.2

B. ヒト最大投与量(mL/kg) = 8.3×10^{-5} (=5/60 μ L/kg) (投与量 = 5 μ L、成人体重 = 60kg とした)

15. 表4と5で、マイコプラズマの試験法が異なっています。誤記でしょうか。

【回答】

誤記ではありません。

表4は原材料である RPE 細胞ストックの規格であり、RPE 細胞ストックは既に作製済み(凍結)でしたので、作製時に実施した PCR 法及び染色法を記載しました。

表5は同種 iPS 細胞由来 RPE 細胞凝集紐の規格であり、NAT 法で実施します。

16. 実施計画書の「10.2 併用療法・支持治療」において、原則としてシクロスポリンが投与されます。トラフ採血時期の適切性についてご教授ください。また、シクロスポリン投与ですが、いつまで継続されますでしょうか。

【回答】

トラフ採血は移植後 10 日、4 週、8 週、24 週後に行うこととしております。移植後 4 週の時点で血中濃度が保たれておりましたら、臨床経験から以降の血中濃度も保たれていると予想されますので、徐々に間隔をあけて施行することとしております。

なお、投与は移植日から 6 ヶ月後まで継続します。

以上