

トランスジェニック動物由来製品の特性・品質確保の最も基礎となるのは、前項で述べた製品の特性・品質解析結果であることはいうまでもない。この結果は、同時に製造工程全体の妥当性に関する最も重要なデータでもある。同時に、医薬品としての承認後、将来にわたって継続的に同一の特性・品質を有する医薬品を供給していくための規格及び試験方法を設定する際に最も基礎となるデータを提供する。

しかし、トランスジェニック動物由来医薬品が複雑な製造工程の産物であり、かつ製造工程には望ましくない有害因子が混入する可能性があること、製品が複雑な構造や性質を有し安定性にも乏しいものであることなどを考え合わせると、開発ステージでの製品の特性・品質解析結果や規格及び試験方法のみに依存して品質の恒常性確保を望むことができないことは明らかである。そこにプロセスバリデーションの概念の導入と実施の必然性が生じてくる。いったん確立して製品の特性・品質等が評価された製造工程は、あらゆる角度から検証されることや、その継続性を保証することを通して、医薬品の品質の恒常性の確保にさらに確実に寄与する不可欠な要素となる。

こうしたプロセスバリデーションの一部を形成するもので、製品の品質保証や品質の恒常性保証に最も直接的に関わるのが、製造・精製工程のプロセス評価である。その最大の目的は、目的産物とその生物学的特性（免疫学的特性等）を損なうことなく効率よく純化され、また、有害因子や不純物が最終産物に混入し、安全性上問題となることがない製造・精製工程であることを立証し、その恒常性を確保することにある。すなわち当該製造・精製工程により不純物や有害因子が許容できるレベルにまで除去されているか、またその恒常性があるかを評価するのである。併せてこの恒常性を日常的にモニターするために製造工程のある段階において工程

内管理試験や規格を設定するという方策も一般的に取り入れられることになる。こうして工程中で混入の可能性がある有害因子や最終目的産物に混入が予想される不純物に関し、その除去状況又は混在状況等が示されることになる。また、それらをふまえて、最終製品（原薬や製剤）段階での規格の設定の必要性や規格値が定められることになる。

組換え医薬品や細胞培養医薬品の品質確保にあたって、①プロセス評価、②製造工程の適切な段階における工程内管理試験や規格の設定、③原薬及び製剤の規格の3つのアプローチを相互補完的に合わせて、全体として目的医薬品の品質を保証するという方策は、最近国際的な合意事項として明確にされたところである。この方策によれば、工程内管理試験で設定した規格・試験に関しては、最終製品での規格及び試験方法で設定する必要はなく、重複を避けることが可能となる。

トランスジェニック動物由来医薬品においても、他のバイオテクノロジー医薬品と同様に、プロセス評価や工程内での管理試験と規格のような上流の製造工程での品質管理と、原薬及び製剤レベルでの規格を合わせて考えるという、科学的にも、経済的にも合理的なアプローチの導入が図られるべきである。今後、関係者がこうした新たな考え方に柔軟に対応し、個々のケース毎に最も合理的で適切な具体策を講ずることが期待される。

不純物については、原材料由来、製法由来、製品が変化したものなどが考えられる。これら不純物の除去状況については、あるステップで精製された目的産物中の含量あるいは精製工程中での除去効率などより評価する。精製工程中での除去効率は、実際の工程を再現できるスケールダウンしたカラム等に対象物質を添加（スパイク）し、各工程単位毎に求められた除去率を積算することにより、予測することもできる。

不純物の問題とは別に、外来性有害因子の不活化、除去という観点からプロセス評価と工程内管理試験がきわめて重要であることはすでに述べたとおりである。予測できる外来性有害因子としては、各種微生物、エンドトキシンなどがまず挙げられる。無菌試験、マイコプラズマ試験、エンドトキシン試験などを工程内の適切な段階における管理試験として設定することは、製品の安全性確保上の重要なポイントである。エンドトキシンについては精製工程における除去状況をモニターすることが望ましいこともある。

安全性確保の観点から最も大きな関心が払われるべきはウイルス汚染及びウイルスの不活化、除去に関するプロセス評価である。

一般にトランスジェニック動物由来製品におけるウイルス汚染の可能性を制御する方策としては、1) 生産用動物系をはじめとする製造関連物質の選択と試験、2) 製造過程がどの程度ウイルス除去、不活化能力を有するかに関する評価(試験)、3) 製造工程の適当な段階における製品のウイルス否定試験の3つのアプローチを採用し、相互補完的に活用、実施する必要がある。

迷入ウイルス否定試験を製品のいずれの段階で実施すべきかは慎重に検討する必要がある。しかし、実施を考慮する際にまず選択すべき製品段階は、トランスジェニック動物から目的産物を採取し、精製工程へ受け入れる段階である。この未精製バルクは、最終製品への外来性微生物汚染の可能性を高確率で測定することができる最も効果的なレベルの一つであること、また、動物レベルでの一回の試験は、動物の適格性についてであって、試験時の動物に外来性ウイルスが存在しなかったからといって、次々生産されるバルク各ロットにもウイルスがないことを必ずしも常に保証するものではないからである。どのような頻度で、どの程度のウイルス試

験を実施するかは、ケース・バイ・ケースであるが、いずれにしても製造者が各製造バッチ中の外来性ウイルスの存在の有無を継続的に評価するための計画を作成することが望ましい。

次に目的産物の精製プロセスにおけるウイルスクリアランス評価試験等のあり方が問題となる。

ウイルスクリアランス試験の目的は、ウイルスの不活化や除去に有効と考えられるあるプロセスについて評価すること、それらの各プロセスを併せて全体としてウイルスがどの程度減少したかを定量的に測定することにある。

このウイルスクリアランス評価試験には2つのアプローチが考えられる。その一つは、未精製バルク等に現に存在が知られているウイルスそのもののクリアランスを評価するためのプロセス評価試験(ウイルスクリアランス評価試験)、もう一つは、ある特定のウイルスの不活化や除去目的を達成しようとするよりむしろ、そのプロセスがもつウイルスを排除する能力の特性を解析するための、プロセス特性解析試験(ウイルスクリアランス特性解析試験)である。

前者は、実際例としてはほとんど考えられないケースである。しかし、目的産物がある重篤な疾患を治療するのにきわめて有用な医薬品で、混在するウイルスあるいはウイルス様粒子がヒトに対する病原性を持たず、また精製プロセスにおいて不活化、除去できるようなケースについては、予めこれを排除することは必ずしも合理的ではないところから考慮に入れることとした。

ウイルスクリアランスに関するプロセス評価試験あるいはプロセス特性解析試験に際して重要なことの一つは、どのようなウイルス類を実験に使用するかということである。このようなウイルス類を仮に3つのカテゴリー、すなわち“関連ウイルス”、“特異的モデルウイルス”、“非特異的モデルウイルス”に分けることとす

る。これはICHガイドラインで細胞株由来のバイオテクノロジー製品について採用されている考え方である。

“関連ウイルス”とは、製造過程で使用される動物、飼料、その他の試薬類や各種物質に混在することが知られているか、あるいは存在の可能性のあるウイルス類と同一かあるいは同種のウイルスで、ウイルスクリアランスに関するプロセス評価に用いられるものである。これらのウイルス類は、実際に存在するものなので不活化過程あるいは精製過程がこれらを生きた・除去する能力があることを示す必要がある。

一方、この“関連ウイルス”の入手が困難であったり、ウイルスクリアランスに関するプロセス評価にうまく適用出来ないといった場合には、代替として“特異的モデルウイルス”を用いることになる。適切な“特異的モデルウイルス”とは、存在が知られているかあるいは存在が疑われるウイルスに密接に関連しているウイルス、すなわち同一の属もしくは科のもので、検出されたウイルスあるいは存在が疑われるウイルスと類似した物理的・化学的性質を有するものである。

これら2つのカテゴリーのウイルス類は、実際に存在するウイルスのクリアランスに関するプロセス評価に用いられるものであるが、それとは別の観点のアプローチであるプロセス特性解析試験、つまり、一般にあるプロセスがウイルスの除去や不活化に関してどの程度の能力を有するかが目的である場合、すなわちプロセスがもつウイルス排除能力の特性を解析するために用いられるのが“非特異性モデルウイルス”である。

非特異的モデルウイルスとしては、目的からしてさまざまな異なる性質を持つものが用いられるべきである。例えば、DNAウイルスとRNAウイルス、外殻（エンベロップ）を有するウイルスと有さないもの、サイズの異なるもの

などの全てが包含しているようにウイルスのあるセットを選択する必要がある。このような実験目的には、現在、少なくとも3種類以上の非特異的ウイルスを使用することが望ましいとされている。どのようなウイルスを何種類選択するかは、動物や製造過程の質とどう解析したかにもよる。この非特異的モデルウイルスを用いたプロセス特性解析試験は未精製バルク等におけるウイルスの存在の有無にかかわらず実施する必要がある。

ウイルスクリアランス手順の評価と特性解析に関連する主な事項としては、上に述べたA) ウイルスクリアランス評価試験及び特性解析試験に用いるウイルスの選択以外に、B) ウイルスクリアランス試験のデザインと実施要領、C) ウイルスクリアランス試験の解釈、D) ウイルスクリアランス試験の限界、E) 統計、F) ウイルスクリアランスの再評価などがある。詳細についてはウイルス安全性評価に関するICHガイドラインQ5Aを参照すること。

## 2.9 規格及び試験方法について

特性解析及び品質評価等が行われ、目的どおりの製品が得られることが確認されると、この品質の一定性を保証、管理していくための製品レベルでの規格及び試験方法を設定することになる。

その際、開発研究の段階で詳細に検討されたトランスジェニック動物由来医薬品の品質面での特性は、当然、ロット毎の品質試験にも反映させる必要がある。

そのためには、少なくとも、①有効成分の同一性・構造確認、②有効成分の均一性、③有効成分のタンパク質化学的純度の保証、④不純物や目的物関連の類縁物質にとくに配慮した純度試験の設定、⑤生物活性や生物学的純度（比活性）の保証に関わる試験法の設定、などに大きな関心が払われる必要がある。

ここで留意すべきことは、高度に精製されたタンパク性医薬品にあつては、生物活性の保証に加え、タンパク化学的性質の保証を重要な柱にすることが必然的な流れとなつてきているということである。

また、品質確保のための方策全体における原薬及び製剤の規格及び試験方法の位置づけについては既に述べたとおり、プロセス評価と工程内管理試験と合わせて相互補完的に考える方向を明確に目指すべきである。さらに、この点も含めて、原薬及び製剤の規格及び試験方法の設定は、製造方法、製品の安定性、非臨床安全性試験や臨床試験、分析法と密接に関連しており、これらの要素を考慮しながら設定すべきであると考えらる。

以下にはトランスジェニック動物由来医薬品の原薬あるいは製剤の規格及び試験方法(ロット毎の品質試験)において一般的に設定される必要がある項目を例示した。

#### 原薬

例えば次の項目について、トランスジェニック動物を応用して製造した医薬品の特質を的確にとらえた規格及び試験方法を設定する。

##### ① 起原又は本質

トランスジェニック動物を利用して製造された医薬品であることを明示する。

##### ② 性状

外観(色、澄明性等)等

##### ③ 確認試験

理化学的試験、生物学的試験又は免疫化学的試験等を目的に応じて用いる。一つ以上の試験が確認には用いられる。

##### ④ 構成アミノ酸

適切な方法を用いて検出可能なアミノ酸組成を測定すること。各アミノ酸の規格は、アミノ酸残基の種類、測定誤差等を考慮し、

実測値に基づいて設定すること。測定が困難なアミノ酸に関しては規格を必ずしも設定する必要はない。なお、ペプチドマップ等により構造の同一性が確認できる場合には省略することができる。

##### ⑤ ペプチドマップ

適切な方法を用いてペプチドマップを行うこと。規格は例えば標準物質と同様のパターンを示すことで規定する。構造の同一性が他の試験方法(例えば構成アミノ酸、液体クロマトグラフ法)で十分に確認できる場合には省略することができる。

##### ⑥ 糖組成/糖鎖分析

糖タンパク質の場合には中性糖、アミノ糖、シアル酸等の糖含量を測定すること。規格は測定誤差を考慮し、実測値に基づいて設定する。糖鎖が生物活性の発現やターゲティング等の医薬品としての特性にきわめて重要な役割を有している(可能性がある)場合には、糖鎖マッピング法などルーチンに利用可能な方法を用いて、製品各ロット毎の糖鎖を分析し、その恒常性を確認する必要がある。

##### ⑦ 純度試験

分離・精製工程由来の不純物や目的産物関連不純物等で許容限度を定める必要のあるものについては液体クロマトグラフ法、電気泳動法、イムノアッセイ等を用いて設定する。液体クロマトグラフ法や電気泳動法等を用いる場合は、試料の適切な添加量等を考慮する。特に電気泳動法の場合、不純物等の検出感度、定量性に優れた染色方法を選ぶ。精製工程に由来する不純物としては、例えばアフィニティ・カラムのタンパク質リガンドやその他の試薬等が考えられる。規格は用法及び用量を勘案して設定する。なお、精製工程において不純物の除去が確認された場合は、その不純物に係

わる試験を省略できる。

⑧ エンドトキシン試験又は発熱性物質試験

必要に応じて適宜設定する。

⑨ 定量法

(1) 力価

in vitro, in vivo バイオアッセイ、レセプターアッセイ等の生物学的活性（力価）を求めるための試験を行うことは原薬あるいは製剤の規格の一部として重要であるが、製剤で生物学的活性試験を行い力価を求めるのであれば、原薬では理化学試験や半定量的な生物活性試験のみで評価してもよい。

(2) 質量

質量は通常アミノ酸分析、Lowry 法、Bradford 法、吸光度法又は Kjeldahl 法等によって測定されたタンパク質含量に基づくものであるが、製造者が定量的に力価を測定している場合は、質量を測定する必要はない。

(2) 製剤

例えば次の項目について、製剤の剤型及び投与経路を考慮して必要に応じ設定する。

- ① 起原又は本質（原薬を参照）
- ② 性状（原薬を参照）
- ③ 確認試験（原薬を参照）
- ④ pH
- ⑤ 浸透圧比
- ⑥ 乾燥減量試験又は水分定量法
- ⑦ 不溶性異物試験
- ⑧ 重量偏差試験又は実容量偏差試験
- ⑨ エンドトキシン試験又は発熱性物質試験（原薬を参照）

エンドトキシン試験を設定する場合は、添加回収試験等で当該製品に対するエンドトキシン試験の適用可能性を示す

ことを含め、同試験を採用することの妥当性に関する情報を提供する。

⑩ 無菌試験

⑪ 定量法

(1) 力価（原薬を参照）

(2) 質量（原薬を参照）

## 2. 1 0 製剤設計

当該製剤を最終的に選択することになった製剤設計に関する経緯及び関連データについて詳細に記載する。この際、製剤設計によって新たに増強あるいは新たに付加された医薬品としての機能的特徴や安定性、臨床応用にあたっての利点などについては、その理論的根拠及び実験的根拠を示して説明する。

## 2. 1 1 製品の安定性評価

一般に医薬品の安定性試験の目的は、1) 品質保証可能な保存条件、保存期間の設定、2) 医薬品が経時的にどのような変化をうける可能性があるかについて検討することにある。

トランスジェニック動物由来医薬品においてもこの目的そのものは変わらない。しかし、その本質が通常の化学物質とは異なる特性を有しているため、これらの医薬品が安定に維持できる保存条件及び期間を定めるために行われる安定性試験の実施要領は、その特性に十分配慮したものである必要がある。トランスジェニック動物由来医薬品の場合、その有効成分は、一般にはタンパク質やポリペプチドであり、分子の高次構造（コンホメーション）の維持や、それを基盤とする生物学的活性の維持には、共有結合はもとより非共有結合に依存している。また、温度変化、酸化、光、イオン強度、せん断のような環境因子に特に敏感である。生物学的活性を維持し、分解等を回避するには、一般に厳密な保存条件を必要とする。

安定性評価にはさまざまな分析手段を複合的

に組み合わせることが必要である。生物学的活性の測定が適用できる場合には、これを安定性試験の重要な項目とすべきである。製品の純度や特性からみて適切な物理的・化学的手法、生化学的手法及び免疫化学的手法が適用できる場合には、それらも分子レベルでの分析や分解物・変化物の定量手段として、安定性試験計画に盛り込まれるべきである。

製薬メーカーは、これらのことを勘案した上で、トランスジェニック動物由来医薬品の安定性を保証する適切なデータを作成するとともに、製品の力価、純度及び品質に影響を及ぼすさまざまな外的条件がどのようなものであるかを考察する必要がある。原薬又は製剤のいずれの貯法を申請する際にも、その根拠となる第一義的なデータは、実保存期間、実保存条件での長期保存試験により得られるデータである。したがって、適切な長期保存試験計画の立案は、製品開発の成否にきわめて重要である。なお、審査期間中に、引き続き実施して得られた長期保存試験データも提出できる。

#### (1) バッチの選定

##### (1-1) 原薬（バルク）

原薬が製造後、製剤化工程又は最終工程の前の段階で保存される場合には、実生産スケールを反映する3バッチ以上の試料について安定性試験成績を提出する必要がある。6ヶ月以上の有効期間を予定しているものについては承認申請時に最低6ヶ月の試験データを提出する。6ヶ月未満の有効期間を予定しているもの場合、当初の申請に最低限どの程度のデータが必要かについてはケースバイケースで決定されるであろう。培養工程及び精製工程をスケールダウンして製造した原薬についてのデータ、いわゆるパイロットプラントスケールで得たバッチのデータを承認申請用として提出することは可能である。ただし、承認後実生産スケールで製造された最初の3バッチについて長期保存試験を実

施する旨の約定を規制当局と交しておく必要がある。

安定性試験に使用するバッチの品質は、非臨床試験及び臨床試験で使用するものの品質や実生産スケールで製造されるものの品質を体現するものである必要がある。加えて、パイロットプラントスケールで製造された原薬は、その製造工程や保存条件が、実生産スケールに適用される製造工程及び保存条件とともに反映したものである必要がある。原薬の安定性試験に使用する容器は、実生産の製造工程で実際に用いられる容器を適切に体現できるものを用いる必要がある。実際の製造に通常使用されるものと同じ材質及び同じタイプの容器／栓であればサイズ的に小さな容器を用いて安定性試験を実施しても差し支えない。

##### (1-2) 中間製品

トランスジェニック動物由来医薬品の製造において、ある特定の中間製品の品質とその管理が最終製品の製造に重要となる場合がある。その場合、製造業者は開発された製造工程中において、該当する中間製品を定め、自家試験データを取得し、その安定性を保証する工程管理限度値を設定することが一般的に求められる。パイロットプラントスケールでのデータも利用できるが、実生産スケールの製造工程でそうしたデータの妥当性を確立しておくべきである。

##### (1-3) 製剤（最終包装製品）

実生産スケールを反映する3バッチ以上の製剤（最終包装製品）について安定性試験成績を提出する。可能ならば、安定性試験に用いる製剤（最終包装製品）の各バッチは、異なる原薬バッチを使用して製造したものとする。6ヶ月以上の有効期間を予定しているものについては承認申請時に最低6ヶ月の試験データを提出する。6ヶ月未満の有効期間を予定しているもの場合、当初の申請に最低限どの程度のデータが必要かについてはケースバイケースで審査さ

れることになるであろう。製品の有効期間は申請に際して根拠として提出された実際の試験データに基づく。有効期間の設定は、審査用に提出された実保存期間、実保存温度における長期保存試験の成績に基づいて行われることになるので、審査期間中にその後引き続き実施した試験の成績により、当初データでの期間が更新／延長されることになる。安定性試験に用いられる最終包装製品の品質は、非臨床試験及び臨床試験に用いられる製品の品質を体現するものである必要がある。承認後、実生産スケールで製造された最初の3バッチで長期保存試験を行う旨の約定があればパイロットプラントスケールでのデータを承認申請用資料として提出することも認められる。パイロットプラントスケールで製造されたバッチを使用した安定性試験により製品の有効期間を設定したものの、実生産スケールで製造された製品が長期保存試験でその有効期間内で規格に適合しなかったり、または非臨床試験及び臨床試験で使用されたものの品質を反映したものではなく、同等とはいえないような事態が生じたときには、申請者は当該規制当局に連絡し、適切な指導を受ける必要がある。

#### (1-4) 検体の選定

製剤に一連の容量違い（例えば、1ml、2ml、10ml）、単位違い（例えば、10単位、20単位、50単位）、質量違い（例えば、1mg、2mg、5mg）のバッチがある場合には、安定性試験に供する試料は、マトリキシング法又はブラケット法により選定することもありえる。

マトリキシング法とは、安定性試験を統計学的にデザインした方式の一つで、各測定時点で採取され試験に供されるのは全試料のうちの一部であるという方式である。本方式は、試験に供された試料の安定性が全試料の安定性を代表することを確証する適切な文書が提出されたときにのみ適用されるべきである。同一製剤での

試料の違いのうちには、例えば、バッチの違い、含量違い、同一の栓でサイズ違い、あるいは可能性としては、容器／栓が異なる場合などが含まれている。マトリキシング法は、例えば含量の違い、容器／栓の違いなどが安定性に影響を及ぼす可能性があるような試料で、それらの製剤が保存条件下で同じように反応することを確かめることができない場合には、適用すべきではない。

成分組成において同一でかつ容器は全く同じタイプのものを使用しているが充填量においては異なる3種以上の製剤の場合、製造業者は容器サイズの最も小さいものと最も大きいもの（充填量の最も小さいものと最も大きいもの）のみを安定性試験の試料とすることができる。これがブラケット法である。ブラケット法をとり入れたプロトコルのデザインでは、中間的な充填量の試料の安定性は両極の充填量の試料の安定性により代表されるとの仮定に基づいている。場合によっては、両極の充填量の試料で集められたデータが全試料の安定性を適正に表わしていることを示すデータを提出する必要があるかも知れない。

#### (2) 安定性評価

一般的に、トランスジェニック動物由来医薬品の安定性面での特性をそれだけで明らかにすることができるような安定性評価試験法あるいはパラメーターはない。したがって、製造業者は当該医薬品の同一性、純度及び力価の変化を捉えることができる総合的な安定性評価指針を考案し、提示する必要がある。

この安定性評価指針に含まれる試験方法は申請者によりバリデートされたものであって、これに関する資料は申請時点において提出できる状態にしておくべきである。どのような試験項目を採用するかは製品の特徴に応じて定められる。以下の各項に示されている項目は、医薬品

の安定性を適切に示そうとする際に、通常、資料作りが必要であろう代表的な特性項目を例示したものであり、全てを包含しているものではない。

#### (2-1) 安定性試験実施計画書/結果報告書

承認申請資料には、原薬及び製剤について、申請する貯法及び有効期間の妥当性を示す詳細な安定性試験実施計画書/結果報告書を添付する必要がある。この実施計画書/結果報告書には、適切に定められた規格や試験実施間隔等を含め、承認を得ようとする有効期間中をとおしてトランスジェニック動物由来医薬品が安定であることを示すために必要な情報がすべて記載されている必要がある。統計学的手法は安定性に関する3極調和ガイドラインに記載されている方法を用いること。

#### (2-2) 力価

製品の臨床効果と、定義可能でかつ測定可能な生物学的活性とが関連性を有している場合には、力価試験は安定性評価の一部であるべきである。本文書に述べられている製品の安定性試験において力価とは、目的とする効果を発揮するための特殊な能力のことをさす。力価は、製品のある特性を測定することを基盤としており、適切な定量性のある方法により検定される。一般に、異なる試験室において測定されたトランスジェニック動物由来医薬品の力価は、適当な標準物質の力価に関係づけて表わされる場合のみ、意味あるものとして比較することができる。その目的のために、国内標準品又は国際標準品に対して直接的又は間接的に検定された標準物質を力価測定に用いるべきである。

力価の経時的変化に関する検討は、安定性試験実施計画書にしたがって適切な間隔で実施される必要がある。またその結果は、可能な限り、国内又は国際的に認定された標準品を基準として検定された生物学的活性単位で報告される必

要がある。国内標準品又は国際標準品がない場合、試験結果を、適切な特性解析がなされた自家標準物質を用いて得られた自家単位でのデータにより報告してもよい。

トランスジェニック動物由来医薬品の中には、力価が有効成分と第二の成分とのコンジュゲーションあるいはアジュバントとの結合に依存しているものがある。コンジュゲートあるいはアジュバントとして用いられたキャリアーからの有効成分の離脱については、流通過程で遭遇する条件も含め、実保存期間、実保存温度で検討する必要がある。この種の製品にあっては、*in vitro* の生物学的活性試験や物理的・化学的特性分析が実施不可能かあるいは正確性に欠く結果を与えるため、安定性評価が困難な場合がある。このような *in vitro* 試験における不十分さを補完するために、適切な方策（例えば、コンジュゲーションや結合前の製品についての試験、第二成分から有効成分の離脱の評価、*in vivo* による力価試験）を考えたり、又は適切な代替試験の活用を考慮する必要がある。

#### (2-3) 純度及び分子特性の解析

製品の安定性試験において、純度とは相対的な用語である。トランスジェニック動物由来医薬品には、糖鎖付加、脱アミド化、あるいはその他の不均一性などがあるため、その絶対的な純度を決定することは極めて困難である。したがって、トランスジェニック動物由来医薬品の純度は、一般的に複数の方法により評価されるべきである。得られる純度は試験方法に依存したものになる。安定性試験の目的をふまえると、その純度試験は分解物・変化物を測定することに焦点を合わせるべきである。

安定性試験に供されたトランスジェニック動物由来医薬品に関しては、純度はもとより、その分解物・変化物について、個々の量及び総量を可能な限り報告し、説明資料を作成する必要がある。分解物・変化物の許容限界量は、非臨



床および臨床試験に用いた原薬及び製剤の分析結果に基づくべきである。

適切な理化学的分析手法、生化学的手法及び免疫化学的分析手法を用いれば、原薬及び（又は）製剤について広範囲な特性解析（例えば、分子量、荷電、親水性）を行うことができ、保存中の脱アミド化、酸化、スルホキシド化、凝集又は断片化等による物質変化を的確に検出することが可能となる。これに有用な分析方法の例としては、電気泳動法（SDS-PAGE、免疫電気泳動法、ウエスタンブロット、等電点電気泳動法等）、高分離能クロマトグラフ法（例えば逆相クロマトグラフ法、ゲル濾過、イオン交換、アフィニティクロマトグラフ法）及びペプチドマッピングがある。

長期保存試験、加速試験及び（又は）苛酷試験において、分解物・変化物の生成を示す有意な質的又は量的変化が検出された場合には、計画に沿って実施された長期保存試験中に生成する分解物・変化物が安全性上問題となる可能性につき検討・考察する必要がある。また、それらの特性解析と定量的把握が必要かどうかにつき検討・考察するべきである。許容限度値については、非臨床及び臨床試験に用いた原薬及び（又は）製剤で検出された水準を勘案して設定し、その妥当性の根拠を示す必要がある。

通常の分析法では適切に特性解析ができない物質又はルーチンに用いられる分析法では正確な純度の測定が不可能な製品の場合、申請者は代替試験法を設定し、その妥当性の根拠を示す必要がある。

#### (2-4) その他の製品特性

トランスジェニック動物由来医薬品に特に限られた項目ではないが、下記の製品特性について最終包装形態でモニターし、報告する必要がある。

製剤の外観（溶液／懸濁液の色及び濁度、粉末の色、形状及び溶解時間）；溶液のものはそ

のままの状態、粉末及び凍結乾燥品を溶解剤で溶解するものについては溶解後に、肉眼で観察される微粒子の有無；pH；粉末及び凍結乾燥品の含湿度。

無菌試験またはそれに代わる試験（例えば、容器／栓の完全性試験）は少なくとも試験開始時及び申請する有効期間の最終時に実施すること。

添加剤（例えば安定剤、保存剤、賦形剤等）が製剤の保存中に変化・分解する可能性もある。予備安定性試験において、これらの添加剤における化学反応や分解が製剤の品質に悪影響を与える徴候がみられた場合には、安定性試験においてこれらの項目をモニターすべきであろう。

容器／栓は、製品に悪影響を及ぼす可能性があるため、注意深く評価する必要がある。（3.5参照）。

### (3) 保存条件

#### (3-1) 温度

トランスジェニック動物由来医薬品の多くは保存温度を厳密に限定する必要があるため、実保存温度、実保存期間で実施される安定性試験の保存条件は、通常、申請する保存温度に限定される。

#### (3-2) 湿度

トランスジェニック動物由来医薬品は、通常、防湿性の容器に入れられ、流通される。したがって、申請しようとする容器（及び申請しようとする保存条件）が、高湿度及び低湿度に対して十分な防湿効果を有することを証明できる場合、各種の相対湿度条件下での安定性試験は一般に省略することができる。防湿性の容器を使用しない場合には、適切な安定性のデータを提出する。

#### (3-3) 加速及び苛酷条件

前述したように、有効期間は実保存温度、実保存期間で実施された試験成績に基づいて設定

されるべきである。しかし、原薬及び製剤について加速及び苛酷条件での試験も実施することが強く望まれる。

加速試験は、(1)有効期間の設定上有用な補足情報を提供する (2)将来の製品開発（例えば、製剤処方変更、スケールアップ等のような製法変更を申請する際の予備的評価）に資する当該物質の安定性面での情報を提供する (3)安定性試験に用いられる分析方法のバリデーションを行う際に役立つ (4)原薬又は製剤の変化の様相（分解特性）の解明に役立つ情報をもたらす、などの可能性がある。

苛酷試験は、(1)製品が申請する保存条件以外の条件に偶発的に曝された場合（例えば、輸送中）、製品に悪影響があるかどうかを判断する (2)どのような特異的試験パラメーターが製品の安定性指標として最適かを評価する、ことなどに有用である可能性がある。また、(3)極端な条件下に原薬又は製剤を曝すことで、変化・分解のパターンを明らかにするのに役立つ可能性がある。仮に変化・分解のパターンが明らかとなるのであれば、同様な変化が申請しようとしている保存条件下で起きるかどうかをモニターする必要がある。安定性に関する3極調和ガイドライン中に加速及び苛酷試験の条件についての記載があるが、これらはトランスジェニック動物由来医薬品には適切でない場合があることに留意すべきである。条件については個々のトランスジェニック製品の特性を考え、ケースバイケースで慎重に選択する必要がある。

#### (3-4) 光

申請者は試験の方針を決めるに際して、ケースバイケースで当該規制当局に相談すること。

#### (3-5) 容器/栓

トランスジェニック動物由来医薬品において、製剤と容器や栓との相互作用によって製品の品質変化が起こる可能性がある。アンプル製品以外の液体の製品で、使用される容器や栓との相

相互作用が明らかになっていない場合については、正立の状態だけでなく容器を倒立又は横倒しさせた状態も含めた（すなわち栓と接触した状態で）安定性試験を実施し、栓が製品の品質に影響を及ぼさないか検討する必要がある。市販予定のすべての容器/栓の組み合わせについてのデータが必要である。

また、通常の単回使用バイアルに必要な標準的なデータに加えて、注射針などを何度も栓から入れて繰り返し抜き取り使用するマルチプルドーズバイアルの場合は、容器、包装、添付文書などに記載する使用手引に規定された最長使用期間中、栓がそうした条件に耐え、製品の力価、純度、品質が保持されていることを示す必要がある。

#### (3-6) 凍結乾燥品の溶解後の安定性

凍結乾燥品の溶解後の安定性については、容器、包装、添付文書などに記載された条件及び最長保存期間での安定性を検討する必要がある。

#### (4) 試験頻度/期間

トランスジェニック動物由来医薬品の有効期間は、何日という単位から数年と幅が広いので、すべての製品に一律にあてはまる安定性試験の期間や試験頻度を定めることは難しい。しかし、少数の例外を除き、現存の製品あるいは将来開発される可能性がある製品の有効期間は半年から5年の範囲と考えられる。そこで本文書では、この範囲に有効期間が想定されるものとして以下のような指針を定めた。これにはトランスジェニック動物由来医薬品における変化・分解というものが、長期保存期間中の時間経過の中の各時間間隔において、経過した時間としては同じであっても、時点が異なれば必ずしも同じ内容/程度の変化にならない場合が多いことなどを考慮している。すなわち、1年以下の有効期間を申請する場合は、長期保存試験は最初の3カ月は1カ月毎、その後は3カ月毎に試験す

る。1年を越える有効期間を申請する場合は、最初の1年目は3カ月毎、2年目は6カ月毎、それ以降は1年毎に試験することとする。

上記の試験間隔は承認前や許可前の段階において妥当であろうとされているものである。しかし、製品の承認/許可後であって、すでに製品の安定性に関して適切なデータがあり、問題がないことが示された場合には、試験の一部を省略しても差し支えないであろう。製品の安定性が損なわれないことを示すデータがある場合には、申請者が、承認/許可後の長期保存試験の計画書としてある特定の時点での試験（例えば9カ月の試験）の省略を裏付けるような試験計画書を積極的に提出することが望まれる。

#### (5) 規格

トランスジェニック動物由来医薬品では、保存中に活性の有意な低下、物理的・化学的な変化又は分解が起こる可能性があるが、出荷規格と有効期間の終了時点での規格（有効期間内規格）については、各国の基準や国際的な基準の中ではほとんどふれられていない。申請有効期間中の活性低下の最大許容範囲や物理的・化学的変化（分解）の限度については、トランスジェニック動物由来医薬品の個々のタイプやグループごとでの勧告はなされておらず、ケースバイケースで考えられている。それぞれの製品は、その有効期間を通して安全性、純度、力価などにおいて定められた限度値内に規格が維持されている必要がある。この規格や限度値は、適切な統計学的手法を利用した情報に基づいて定められる必要がある。もし異なった出荷規格と有効期間内規格を用いようとする場合には、安定性に関する3極調和ガイドラインで述べられているように臨床効果に影響しないことを示す十分なデータによる裏付けが必要である。

#### (6) ラベル表示

ほとんどのトランスジェニック動物由来医薬品の原薬、製剤には正確に定められた保存温度が推奨される。とりわけ凍結させてはならない原薬、製剤については、特別な勧告を記載する必要がある。これらの条件のほか、必要ならば光や湿度から保護すべき旨の勧告なども容器、包装及び添付文書などに記載する必要がある。この表示法は各国/地域の基準に準拠することとなっている。

### 2.1.2 非臨床安全性等試験

トランスジェニック動物由来医薬品では不純物や混入物質の混在により、安全性に関わる問題が発生する可能性がある。しかしこれらについては非臨床試験計画を設定するより、精製過程で極力不純物や混入物を除去する方向をめざすか、適正な理化学試験法で分析し許容限界を定める方向が望ましい。いずれの場合においても、非臨床試験計画を実施しようとする場合には、当該トランスジェニック動物由来医薬品の特性・品質が明らかにされている必要がある。

トランスジェニック動物由来医薬品は、細菌および哺乳類細胞などに由来する宿主細胞成分の混入に起因するリスクを伴う可能性がある。このような宿主細胞成分の混在によりアレルギー反応やその他の免疫病理学的反応が惹起されることがある。核酸汚染に関連する有害作用については、理論上で考えられていることであり、宿主ゲノムに組み込まれる可能性は除外できない。更にウイルス感染の危険性もある。

一般に、最終的な薬効薬理試験および毒性試験には臨床試験で使用する予定の製品と同等のものを使用する必要がある。また、実際に承認を得ようとする製品の品質と同等である必要がある。しかし、開発の過程においては製品の品質と収量を向上させるため製造工程に変更を加えることがある。開発計画の進行中に新規または改良された製造工程を採用した場合や、製品

あるいは製剤に有意な変更を加えた場合には、開発期間中の被験物質とを比較し、同等性あるいは優位性を示さなければならない。これは理化学的、生化学的及び生物学的特性(同一性、純度、安定性および力価)に基づいて検討する。場合によっては追加試験(薬物動態試験、薬動力学試験ないしは安全性試験)が必要となることもある。その際、用いる試験方法の科学的根拠について明らかにする必要がある。

### 2. 1 2. 1 毒性試験について

トランスジェニック動物を利用して製造される医薬品の毒性評価については、従来の製法のバイオテクノロジー応用医薬品と同様に、試験の実施基準、実施方法について一律に定めることは合理的ではない。したがって、当該医薬品の臨床上的安全性の適正な評価に資することを目的として、その時点で最も科学的に適切な試験がなされ、データが蓄積されることを一般原則とした上で、個々の医薬品についての試験の内容及び範囲に関しては、当該医薬品の特性、臨床適用法などを配慮しつつ、ケース・バイ・ケースで柔軟に対処することとすべきである。ただし、試験の種類・項目及び試験方法の取捨選択に際しては、その合理的根拠について十分説明できることが必要である。なお、その際には、例えば以下の留意点を考慮する。

#### (1) 一般原則

安全性に関する非臨床試験の目的は、医薬品の薬理作用および毒性作用について、ヒト試験を開始する前だけでなく、臨床開発段階を通じて明らかにすることである。*In vitro*および*in vivo*の両方の試験を実施することで、これらの特性が明らかとなる。既に臨床使用され、広い使用経験のある医薬品と構造的あるいは薬理学的に類似するトランスジェニック動物由来医薬品の場合、毒性試験を簡略化してもよい場合が

ある。

非臨床安全性試験の設定については、1)適切な動物種の選択、2)年齢、3)生理学的状態、4)投与量、投与経路、処置方法を含む投与様式、5)使用条件下での被験物質の安定性について考慮しなければならない。

毒性試験は、「医薬品の安全性試験の実施に関する基準 (GLP)」に準拠して実施されることが求められている。しかし、トランスジェニック動物由来医薬品において必要とされることの多い特殊な試験系の中には、完全に GLP 対応で実施することができない場合がある。このような場合には、GLP に対応していない部分を明確にし、安全性評価全体に対するその相対的重要性について検討しなければならない。GLP に完全に対応していない試験であっても、そこから得られたデータを臨床試験の実施や製造承認を得るための支持データとして使用することができる。

トランスジェニック動物由来医薬品ではその特徴的かつ多様な構造や、種特異性、免疫原性、予期しない多彩な生物活性といった生物学的性質のため、医薬品の従来の毒性試験方法が適切でない場合がある。

#### (2) 生物学的活性/薬力学

製品のどの作用が臨床活性と関連しているか調べるため、*in vitro* 定量法により生物学的活性を測定することを試みる。細胞の表現型や増殖に及ぼす直接効果について検討するためには、樹立細胞系あるいは初代培養細胞を使用することが有用である。多くのトランスジェニック動物由来医薬品の作用には種特異性があるため、毒性試験では適切な動物種を選択して用いることが重要である。*In vivo* 活性における特定の作用について予測したり、複数の動物種(ヒトを含む)の感受性を量的に比較するために *in vitro* の哺乳類細胞の細胞系を利用することもある。例えば、受容体占有率、受容体親和性、あるいは

は薬理効果などについて評価したり、更に *in vivo* の薬理試験や毒性試験を行う上で適切な動物種を選択することを目的に、*in vitro* 試験系を用いる。これらの *in vitro* および *in vivo* の試験結果を組み合わせることは、そこで得られた知見をヒトに外挿する上で有用である。作用機序を明らかにすることを含めた薬理活性評価のための *in vivo* 試験は、臨床試験における被験物質の適用法の理論的根拠を示す目的で用いられることも多い。

### (3) 動物種/モデルの選択

多くのトランスジェニック動物由来医薬品では、その薬理活性と種・組織特異性とがあいまって、汎用される動物種（例えば、ラット、イヌ）を使用した標準的毒性試験は意味をなさないことがしばしばある。安全性評価試験では適切な動物種が用いられるべきである。適切な動物種とはその動物種に受容体または抗原決定基（被験物質が抗体の場合）が発現し、被験物質の薬理的活性が示されるものである。種々の方法（例えば、免疫化学的または機能的試験）を用いて適切な動物種を確定することができる。受容体や抗原決定基の分布を知ることにより、*in vivo* で発現する可能性のある毒性を更に明確にできる。

安全性評価には、通常二種類の動物種を使用する必要がある。しかし、正当な理由が示されていれば、適切な一種類の動物のみで十分である（例えば、適切な動物種が一種類のみ確認されている場合や当該トランスジェニック動物由来医薬品の生物学的活性が十分に理解されている場合）。さらに、短期試験で毒性を特定するのに二種類の動物種が必要である場合でも、引き続く行われる長期試験は一種類の動物種でもよい場合がある（例えば、短期試験で使用した二種類の動物種の毒性像が同等であった場合）。

適切でない動物種を用いた毒性試験からは誤

った結論が導かれることがあるため、推奨できない。適切な動物種がない場合、ヒト型受容体を発現させたトランスジェニック動物や、その動物にとっての相同タンパク質などを使った方法が考慮の対象になるが、その合理性については十分な説明が必要である。

当該医薬品とそれに対応するヒト型受容体の相互作用およびその後の細胞や組織応答が、ヒトで予期される生理学的な一連の反応と同様である場合、ヒト型受容体を発現したトランスジェニック動物モデルを使用して得られた情報は効果的である。相同タンパク質を利用しても有益な情報が得られるかもしれないが、この時注意しなければならないのは、相同タンパク質と実際に臨床で使用される製品とでは、製造工程、不純物や混入物質の程度、薬物動態および厳密な意味での薬理作用機序などが異なっている可能性があることである。トランスジェニック動物モデルや相同タンパク質を使用できない場合でも、重要な機能に関する項目（例えば、心血管系、呼吸器系）の評価を含めた、一種類の動物種を用いたしかるべき毒性試験（例えば、14 日間以内の反復投与毒性試験）が、依然として意義があるかもしれない。

近年、ヒト疾患と類似していると考えられる実験動物モデルの開発がめざましい。これらの動物モデルには、自然発症性疾患モデル、遺伝子ノックアウトモデル、およびトランスジェニック動物などが含まれる。これらのモデルは、製品の薬理作用、薬物動態、吸収量などを測定する際に、有用な情報を提供する可能性を持つばかりでなく、安全性（例えば、疾患進行を促進させうる有害作用）を評価する上でも有益である可能性がある。場合によっては、正常な動物での毒性試験の代わりに病態動物モデルを使った試験を実施することも考慮されてよい（注1）。このような病態動物モデルを使用して安全性を評価する場合には、その科学的妥当性が明

確に示される必要がある。

#### (4) 動物数/性別

各用量毎に使用される動物数は毒性検出力に直接関係してくる。例数が少ないと毒性の重軽症度が無視され、その発現頻度のみが観察されることとなり、その結果毒性事象の観察を誤ることがある。サンプル数に起因するこうした限界は、しばしば霊長類を使った試験で発生するが、モニタリングの頻度を増やしたり、観察期間を延長することで部分的に補うことができる。一般的には雌雄両方を用いるべきであるが、一方を省略する場合には、その妥当性について説明する必要がある。

#### (5) 用法/用量の設定

投与経路および投与回数は予想される臨床適用に近い形にすべきである。また使用する動物種における当該医薬品の薬物動態、生物学的利用率を考慮にいれながら、動物に安全かつ苦痛なく投与しうる容量であるよう注意すべきである。例えば、有効成分の消失速度が速い場合や、溶解度が小さい場合、これを補うために実験動物では臨床試験での予定投与計画と比較して投与頻度を増やさなければならないかもしれない。このような場合には、臨床での投与量に対する実験動物での相対的な投与量について明示しなければならない。また、投与量、濃度、剤形および投与部位などの影響も考慮しなければならない。投与方法や動物の大きさ、あるいは生理学的理由により生物学的利用率に限界があり、投与経路を変更しなければならないような場合、臨床で予定されている投与経路以外の経路で投与することは差し支えない。

投与用量の段階は用量-反応関係、毒性用量、無毒性用量 (NOEL) などに関する情報が得られるように設定しなければならない。毒性がほとんどないか、全くない医薬品では、明確な最大

用量を求めることができない。このような場合は、その用量設定について、およびヒト適用時に予定される用量の何倍量を投与量とするかについての明確な科学的根拠が求められる。高用量の設定には、予想される薬理学的・生理学的効果、被検物質の入手の可能性、および意図する臨床用途などに基づいて判断する必要がある。選択された動物の細胞に対する医薬品の親和性や薬理効果がヒト細胞と比較して低い場合には、高用量で試験することも重要である。十分な安全幅を確保するためにヒトと比較して何倍の用量を試験すべきかについては、各トランスジェニック動物由来医薬品の分類とその臨床適応により異なる。

#### (6) 免疫原性

ヒトへの適用が期待されるトランスジェニック動物由来医薬品の多くは、動物で免疫原性を示す。そのため、この種の医薬品の反復投与毒性試験を行う際に、投与にตอบสนองして産生された抗体を測定することは、これらの試験結果を解釈する上で役に立つ。抗体反応については、その特性 (例えば、力価、ตอบสนองした動物数、中和または非中和) を明らかにし、またその発現の薬理学的あるいは毒性学的変化との関連性について検討しなければならない。特にデータを解釈する際には、抗体の産生が薬物動態/薬動学的特性、副作用の発現率・重症度、補体の活性化、新しい毒性作用の発現にどう影響するかについても考慮すべきである。また、免疫複合体の形成や沈着に関連して起こりうる病理学的変化についても注意を払う必要がある。

抗体が検出された場合であっても、実験動物の大部分で免疫応答によってトランスジェニック動物由来医薬品の薬理作用あるいは毒性作用が中和されない限り、非臨床安全性試験を中止したり、試験期間を変更したりすべきではない。多くの場合、トランスジェニック動物由来医薬

品に対する免疫応答は、ヒトの場合と同様変動しやすい。このような問題のため、安全性試験のデータを正当に解釈することができない場合、特に重要な所見については抗原抗体反応に起因するものと結論してはならない。

動物で抗体が産生されたからといって、ヒトにおいても同様に抗体産生の可能性があるとは予測できない。ヒトではヒト型タンパク質に対しても血清抗体が産生されることがあるが、抗体が存在しても治療効果が持続することはよくある。ヒトでは遺伝子組換えタンパク質に対して重篤なアナフィラキシー反応が起こることは稀である。したがって、タンパク質製剤は、通常モルモットのアナフィラキシー試験では陽性の結果が得られるが、ヒトでも同様の反応が起こると予測することはできない。従って、このようなタンパク質製剤をモルモットのアナフィラキシー試験で画一的に評価することはほとんど意味がないと考えられる。

## (7) 個別別留意事項

### (7-1) 安全性薬理試験

適切な動物モデルを用いて有害な薬理活性が認められるかどうかを検討することは重要であり、また、必要に応じて毒性試験ないし臨床試験に有害な薬理活性のモニタリング試験を組み込むことは有意義である。安全性薬理試験は潜在的な毒性を予測するうえで、有用な指標を提供する。これらの指標は、独立した試験、もしくは毒性試験に組み込まれた形で検討してもよい。安全性薬理試験の目的は、主要な生理的機能（例えば、循環器系、呼吸器系、中枢神経・自律神経系、腎臓系）に及ぼす影響を検討することにある。この検討には、通常の動物を使用する代わりに、単離臓器やその他の実験系による *in vitro* 試験が含まれてもよい。このような試験によって、特異的臓器毒性について作用機序に基づいた説明が可能になる可能性があり、ヒトで

の臨床使用および適用法を考えるうえでも、十分に検討がなされるべきである。

### (7-2) 単回投与毒性試験

単回投与毒性試験からは、全身あるいは局所毒性と用量との相関性を明らかにする有益なデータが得られる可能性がある。これらのデータは反復投与毒性試験での投与量設定に利用できる。用量-反応関係の情報は、薬理試験または動物モデルでの薬効試験の一部と同様に、単回投与毒性試験を通して収集される。

これらに試験を計画するにあたっては、安全性薬理の試験項目をも組み入れることを考慮すべきである。

### (7-3) 反復投与毒性試験

反復投与毒性試験に使用する動物種を選択する際に考慮すべき点については、(3) 動物種/モデルの選択を参照すること。投与経路および投与方法（例えば、連日投与あるいは間欠投与）は、予定されている臨床での投与形態を反映したものであること。可能であれば、これらの試験にトキシコキネティクスを組み込むべきである。

薬理作用および毒性作用の可逆性や増悪作用の有無、更に遅延毒性の有無などを明らかにするため、通常、試験計画の中に回復期間を設けなければならない。長期間にわたって薬理/毒性作用を示すトランスジェニック動物由来医薬品の場合には、回復観察群動物の症状に回復が認められるまで観察しなければならない。反復投与毒性試験の試験期間は、予定されている臨床での投与期間および適応症に基づいて設定されなければならない。一般に、動物への投与期間はほとんどのバイオ医薬品の場合、1~3ヶ月であった。短期使用（例えば、7日以内）あるいは急性の致死性疾患に対する適応が検討されているトランスジェニック動物由来医薬品の場合

は、臨床試験の実施および製造承認を得るために、2週間の反復投与試験を実施すれば十分であると考えられる。これに対し、慢性疾患に対する適応が検討されているトランスジェニック動物由来医薬品の場合には、製造承認を得るために6ヶ月未満あるいはそれ以上の試験を実施すべき場合もあるが、一般には6ヶ月の試験期間が妥当である。臨床で長期使用を意図するトランスジェニック動物由来医薬品の場合には、長期毒性試験の期間の設定について科学的根拠を明確にしておく必要がある。

#### (7-4) 免疫毒性試験

免疫毒性評価には、免疫原性に関する検討も含まれる（(6) 免疫原性を参照）。多くのバイオ医薬品は意図的に免疫系を亢進させたり、抑制させたりするため、体液性免疫だけでなく細胞性免疫にも影響を与えることがある。注射部位での炎症反応は、刺激反応が起こっていることを示唆するものである。しかし、単純な注射による外傷や賦形剤により誘発された特異的毒性作用が、注射部位での毒性変化とされる可能性のあることを認識しておく必要がある。更に、標的細胞上の表面抗原の発現が変化する場合、自己免疫反応が生じる可能性が示唆される。このような問題を明らかにするために、スクリーニング試験に続く機序究明のための免疫毒性試験を実施する必要があるかもしれない。しかし、通常の段階的試験方法あるいは標準的な検査方法はトランスジェニック動物由来医薬品の場合は推奨されない。

#### (7-5) 生殖発生毒性試験

生殖発生毒性試験の必要性は、製品、臨床適応および予想される対象疾患患者の背景などにより左右される（注2）。個別の試験デザインならびに投与計画は、種特異性、免疫原性、生物学的活性ないし長期消失半減期などの観点から

修正しても差し支えない。潜在的発生免疫毒性に関する事項は、新生児の免疫機能を評価するよう修正された試験デザインで取り扱うことができる。

#### (7-6) 遺伝毒性試験

従来の医薬品についてルーチンで実施されてきた遺伝毒性試験の範囲と種類は、トランスジェニック動物由来医薬品に対しては適用できないため不要である。また、大量のペプチドもしくはタンパク質を投与した場合、説明不能な結果が起こる可能性がある。もとより、ペプチド・タンパク質はDNAや他の染色体成分と直接相互に作用するとは考えられない（注3）。

遺伝毒性について懸念のあるトランスジェニック動物由来医薬品（例えば、複合タンパク製剤内に有機性の結合分子が存在する場合）では、新しく開発された方法なども含めて、実施可能かつ適切な試験系で試験を行わなければならない。製造過程の混入物の遺伝毒性を検討する目的で標準的な遺伝毒性試験を採用することは適切でない。それでもこの目的で遺伝毒性試験を実施する場合にはその根拠を示すこと。

#### (7-7) がん原性試験

標準的ながん原性試験は一般にトランスジェニック動物由来医薬品には適切でない。しかし、臨床での投与期間、対象疾患の患者人口、その製品の生物学的活性（例えば、増殖因子、免疫抑制剤）などによっては、製品に特異的ながん原性の評価が必要なこともある。がん原性に対する懸念がある場合は、その危険性を調べるため、種々の研究方法を検討すべきである。

形質転換細胞の増殖や、新生物（形成）につながるクローン性増殖を誘発もしくは保持することが懸念されるトランスジェニック動物由来医薬品については、臨床試験の対象となる患者構成にできる限り対応した種々のヒト悪性細胞お



よび正常細胞における受容体の発現について調べる必要がある。受容体を発現している正常細胞もしくは悪性腫瘍細胞の増殖を促進する能力について明らかにしなければならない。Invitro データにおいて発がん性の疑いが示された場合には、適切な動物モデルを用いた試験で、更に検討を進める必要がある。細胞増殖について感受性の高い指標を組み入れた長期反復投与毒性試験から有益な情報が得られよう。

げっ歯類に対して生物学的活性を有し、免疫原性がなく、かつ他の試験においてがん原性の評価を行うのに十分な情報が得られなかった場合には、一種類のげっ歯類の使用を検討すること。用量の設定は慎重に行なわなければならない。適切な用量を設定するには、薬物動態評価項目と薬動学的評価項目を組み合わせ、受容体特性の比較や予定されているヒトでの暴露量を勧告するのが最も科学的根拠に基づいた検討方法といえる。用量設定の理論的根拠について明らかにする必要がある。

#### (7-8) 局所刺激性試験

局所刺激性について検討しなければならない。予定される市販剤形で試験することが望ましい。しかし、正当な理由のある場合には、類似の剤形を使用した試験でも受け入れ可能となる。また、医薬品の有害作用の有無に関する試験を単回または反復投与毒性試験に組み込んで評価できる場合もあり、この場合は独立した局所刺激性試験を実施する必要はない。

##### (注1)

病態動物モデルの使用は、毒性評価項目の明確化、臨床適応症の選択および適正な剤形ならびに投与経路/投与方法の決定において有益である。しかしこれらの病態モデルに関しては、試験結果を評価する際の参考として利用できる既存データが不足していることが多いということに留意する必

要がある。このため試験計画を最適化するために、同時対照データやベースラインデータを収集することが重要である。

##### (注2)

適切な動物種が霊長類に限定される場合、特定の分類の化合物（例えば、インターフェロン）では生殖発生毒性について多数の公開情報が入手可能であるかもしれない。このような場合、作用機序試験において新しいが関連のある分子によって同様の作用が惹起される可能性が高いことを示すことによって、通常の生殖発生毒性試験を省略できることがある。生殖発生毒性に対する影響を評価する手段については、それぞれの場合について、その科学的根拠を明らかにすること。

##### (注3)

ある種のトランスジェニック動物由来医薬品では自然発生の突然変異細胞が蓄積（例えば、選択的な増殖優位性が与えられることにより）し、その結果、がん原性が生じることが懸念される。標準的な一連の毒性試験はこのような条件を検出するようにはデザインされていない。この問題に取り組むためには、既存のものに代わる *invitro* あるいは *in vivo* モデルを開発し、検討する必要がある。

## 2. 1 2. 2 薬効薬理試験について

一般の新医薬品と同様に、薬理作用、その他薬効の裏付け、及び作用機序に関する試験を実施し、検討する。ただし、トランスジェニック動物を利用して製造される医薬品の有効成分が生体由来等既存の成分のものと全く同一であることが証明され、かつ、その成分が既に薬理的に研究されているものであれば、次の試験を除き省略することは差し支えない。

- 1 生体由来等既存の同一成分医薬品との比較を含めた基本的な薬効薬理試験

2 必要な場合には、生体由来等既存の同一成分医薬品との高次構造の同等性の証明を含めて、例えば次の性質を確認する試験を行う。

- ① レセプターとの結合性、結合状態及び結合親和力
- ② 各標的細胞がある場合には、それに及ぼす生物効果
- ③ ワクチンの場合には、免疫原性及び抗体との反応特性

毒性試験の項でも触れたように、ヒト型受容体を発現したトランスジェニック動物モデルは、薬効薬理試験における実験動物としても有益である。例えば、ヒトインターロイキン-6を過剰発現するC57BL/6マウス由来のhIL-6トランスジェニックマウスhIL-6トランスジェニックm(MHC haplotype: H2b)を用いてヒトインターロイキン-6抗体の作用を検討することが可能である。即ち、hIL-6トランスジェニックmは加齢に伴いIgG1プラズマサイトーシスおよびメサンギウム細胞増殖性糸球体腎炎を発症し、15週齢程度で死亡するが、hIL-6を中和する抗体はこれらの病態を抑制する。したがってこの抑制作用を指標に、種々の条件でのhIL-6抗体の*in vivo*作用を調べることができる。

### 2. 1 2. 3 薬物動態試験について

トランスジェニック動物由来医薬品の場合、薬物動態試験について一律のガイドラインを作成することは困難である。適切な動物種における単回および反復投与時の薬物動態試験、トキシコキネティクスおよび組織分布試験は有用である。しかし、マスバランス（物質収支）を評価する定型的な試験は有用とはいえない。動物の種差に起因する薬物動態の差は動物試験による予測や毒性試験における用量-反応関係の評価に大きく影響することがある。免疫系が関

与したクリアランスメカニズムにより薬物反応速度論的特性が変化すると、薬物動態および毒性データの解釈に影響を及ぼすことがある。医薬品の中(例えば、サイトカイン)には、薬物動態に相関して薬力学的作用発現が著明に遅れたり、または血漿中濃度に比例して薬力学的作用を持続させる性質のものがあるかもしれない。

薬物動態試験ではできる限り毒性試験および臨床上使用される製品を用い、臨床適用経路で実施すべきである。吸収は投与剤形、濃度、投与部位あるいは投与容量により影響を受けることがある。毒性試験期間中、可能な限り全身暴露について測定しておくべきである。

放射性標識タンパク質を使用する場合は、その放射性標識物と元の非標識化合物の活性および生物学的性質が同等に保持されていることを証明しておくことが重要である。標識タンパク質を使って得られた放射能濃度およびオートラジオグラフィーのデータの解釈は、*in vivo*での代謝が速いことや放射標識結合が不安定なことから困難なこともある。また、特定のアミノ酸骨格を放射性同位元素で置換したトレーサーを用いた試験結果を解釈する際には、この放射性標識アミノ酸が薬物以外のタンパク質やペプチドに取り込まれることがあることに、特に留意する必要がある。

臨床試験での薬物投与に基づく安全域を予測するために、臨床試験に先だって適切な動物モデルを用いた試験を実施し、吸収、血中濃度およびクリアランスに関する情報がある程度得られていることが必要である。また、原則としてヒトでの動態に関するデータも必要である。

一種類または複数の分析方法を採用するかどうかはケースバイケースで対応すべきである。例えば、放射性同位元素標識タンパク質を投与した場合、TCA沈殿物の放射能を測定することによってある程度の情報が得られるが、被験物質を特異的に分析できる方法を用いることがよ

り望ましい。理想としては、動物とヒトで同一の分析方法を用いることが望ましい。また、血漿/血清中の薬物結合タンパク質あるいは抗体が分析結果に影響を及ぼすかどうかを明らかにしておくことも重要である。

トランスジェニック動物由来医薬品の代謝は小ペプチドとアミノ酸といった単純な物質への分解であり、その代謝経路もよくわかっている。従って、一般の医薬品で実施される従来の生体内代謝の詳細を調べる試験は必要ない。

生物学的マトリックス(例えば、血漿、血清、脳脊髄液)におけるトランスジェニック動物由来医薬品の動態およびこの動態への結合タンパク質の影響を検討することは、その薬力学的作用を考察する上で重要である。

同一有効成分・剤型・投与方法の医薬品が承認されているトランスジェニック動物を利用して製造される医薬品の場合で、すでに十分な吸排データが蓄積されているならば、従来品と比して同等であるとのデータがあればよい。しかし、この場合でもただちにヒトによる試験をすることはせず、適当な動物試験により、まず動物についての同等性を確かめておく必要がある。

### 2. 13 臨床試験について

ヒトで起こりうる安全性、有効性上の問題を、適切に評価できる非臨床試験によって十分検討し、その危険性と有益性の科学的及び倫理的妥当性を考察する。妥当性が認められた場合には第Ⅰ相、第Ⅱ相及び第Ⅲ相と段階的に慎重に行い、有効性及び安全性について、精密かつ客観的な考察を行う。

特に次の項目について、詳細に検討する。

- 1 局所的及び全身のアレルギー
- 2 抗体産生(有効成分に対する抗体及び宿主の抗原と反応するような抗体)
- 3 投与部位の局所反応
- 4 抗体との相互作用による薬物動態の変化

及び有効性に対する影響

### 5 発熱性

なお、既に生体由来等の同一有効成分のものが市販されている場合には、当該同一有効成分医薬品を用いている患者とトランスジェニック動物を利用して製造される医薬品を用いている患者について、抗体の推移、作用の変動などを観察し、比較考察するほか、予測される治療期間、患者数などを考慮し、必要に応じて精密かつ客観的な比較試験を行う。

## D. 結論

トランスジェニック動物を応用して製造した医薬品の出現は時間の問題であり、我が国においてもそれらの品質、安全性等確保に必要な諸要素をまとめ、評価法を明らかにするとともに、ガイドライン作成を急ぐ必要がある。トランスジェニック動物由来医薬品の試験や評価にあたって考慮すべき要件は、(1) 遺伝子導入構成体の構築と特性解析、(2) 初代トランスジェニック動物の作出と特性解析、(3) トランスジェニック動物系の保存、継続的維持・供給体制の確立、(4) 生産用トランスジェニック動物の作製と選別、(5) トランスジェニック動物の維持管理、(6) トランスジェニック動物から目的産物の採取、精製、製品化、(7) 製品の特性・品質解析、(8) プロセス評価、工程内管理試験、(9) 医薬品規格及び試験方法の設定、(10) 製剤設計、(11) 製品の安定性試験、(12) 非臨床安全性等試験、(13) 臨床試験として集約できる。これらについてさらに詳細に検討・考察した結果、(1)、(7)、(8)、(9)、(10)、(11)、(12)、(13)については、遺伝子組換え医薬品、細胞培養医薬品、遺伝子治療用医薬品、細胞治療用医薬品等に対する試験や評価と同様の方法が用いられると考えられ、特に ICH のバイオテクノロジー応用医薬品に関

するガイドラインに盛り込まれた考え方が参考になると結論できた。一方(2), (3), (4), (5), (6)については獣医学領域の配慮、とりわけ動物管理や人畜共通感染物質による汚染についてのチェックに関する新たな評価手法の開発が重要と思われた。また体細胞クローン動物作製技術がトランスジェニック動物の作出に応用されるなど、動物の作出技術の開発・改良は日進月歩の状態である。今後これらの新技術にも配慮した柔軟な対応も必要とされる。

## E. 研究発表

### 1. 誌上発表

- 1) Takao HAYAKAWA: New medicines from Biotechnology: Overview: International Endeavor Toward Harmonization of Technical Requirements in Biotechnology, The Fourth International Conference on Harmonization of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use, Brussels 1997, eds. P.F. D'Arcy and D.W.G.Harron, Greystone Books Ltd., Northern Ireland, pp153-156 (1998)
- 2) Toru KAWANISHI: New medicines from Biotechnology: Cell Substrate, The Fourth International Conference on Harmonization of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use, Brussels 1997, eds. P.F. D'Arcy and D.W.G.Harron, Greystone Books Ltd., Northern Ireland, pp162-167 (1998)
- 3) 早川堯夫: バイオテクノロジー医薬品分野におけるICHの進展, ファルマシア, **34**, 992-994 (1998)
- 4) Mitsuhiro KINOSHITA, Kazuaki KAKEHI, Yasuo ODA, T. FUNAKUBO, D. KAWAKAMI, K. KAKEHI, Nana KAWASAKI, Kazushige MORIMOTO and Takao HAYAKAWA: Comparative studies on the analysis of glycosylation heterogeneity of sialic acid-containing glycoproteins using capillary electrophoresis, *J. Chromatogr. A.*, **866**, 261 (1999)
- 5) Takao HAYAKAWA: Overview of the international endeavor toward harmonization of technical requirements for the control of new medicines from biotechnology, *Animal Cell Technology: Challenges for the 21st Century: Proceedings of the Joint International Meeting of the JAACT and the ESACT 1998*, Kyoto, Japan eds K. Ikura, M. Nagao, S. Masuda and R. Sasaki, Kluwer Academic Publishers, pp.215-219 (1999)
- 6) Takao HAYAKAWA: Current Opinion in Biotechnology - New drug approval process in Japan, *Current Opinion in Biotechnology 1999*, Vol.10, Edited by Gilbert Omenn, Current Biology Publications, London, UK, Elsevier Science Ltd., 307-311 (1999)
- 8) 早川堯夫: バイオテクノロジーを応用した医薬品の特性解析, 品質及び安全性確保の評価科学 - 組換え医薬品, 細胞培養医薬品, 遺伝子治療用医薬品, 細胞治療用医薬品, トランスジェニック動物由来たんぱく質性医薬品, トランスジェニック動物由来細胞治療用医薬品 - 衛研報告 **117**, 1-38 (1999)
- 7) Takao HAYAKAWA: Japanese Perspective with Respect to Quality Control of Biotechnological/Biological Products, *Pharmaeuropa*, Special Edition (Proceedings for Biological beyond 2000), (in press)