

Table 4 Comparison of CPE assay and infectivity PCR in detecting RCA spiked in adenovirus vectors

A) CPE method

pfu/dish	Day1	Day3	Day6	Day9
10000	0/3	0/3	0/3	1/3
1000	0/3	0/3	0/3	0/3
100	0/3	0/3	0/3	0/3
10	0/3	0/3	0/3	0/3
1	0/3	0/3	0/3	0/3
0.1	0/3	0/3	0/3	0/3
0	0/3	0/3	0/3	0/3

B-1) Infectivity PCR (TaqMan PCR)

pfu/dish	Day1	Day3	Day6	Day9
10000	3/3	3/3	3/3	3/3
1000	3/3	3/3	3/3	3/3
100	3/3	3/3	3/3	3/3
10	1/3	2/3	3/3	3/3
1	1/3	1/3	0/3	2/3
0.1	0/3	0/3	0/3	0/3
0	0/3	0/3	0/3	0/3

B-2) Infectivity PCR(Nested PCR)

pfu/dish	Day1	Day3	Day6	Day9
1	2/3	2/3	1/3	2/3

Serial dilutions of RCA spiked in 10^9 particles of Adenovirus vectors were infected into HeLa cells.

(A) CPE was observed under microscopy and (B-1) E1 DNA in DNA extracted with glass beads was detected by reat-time quantitative PCR. (B-2) E1 DNA was detected by nested PCR using DNA extracted from HeLa cells infected with 1 pfu of RCA,. Number of CPE or E1 DNA positive samples was presented (n=3).

厚生科学研究費補助金（医療安全総合研究事業）
分担研究報告書

遺伝子治療用レトロウイルスベクター等の開発及び有効性・安全性の評価

分担研究者 島田隆 日本医科大学第二生化学教室教授
高度先端医療技術開発センター・遺伝子治療研究部門

研究要旨

HIV ベクターのプロモーターの改良や cis-element の検討を行い、より安全で導入効率の高いベクターを作製した。HIV ベクターの応用として血管新生抑制因子アンギオスタチンを発現する HIV ベクターを作製し、眼内新生血管病モデルマウスへの治療実験を行い、ベクターの有用性を検証した。

A. 研究目的

HIV ベクターはエイズの遺伝子治療のためのベクターとして我々が開発したレトロウイルスベクターの一種であり、CD4+ヘルパーリンパ球に特異的に感染するという特徴をもっている。これまでに HIV ベクターを使った様々なエイズ遺伝子治療の可能性を提示してきた。

最近、HIV ベクターが非分裂細胞に遺伝子導入できることが明らかになり、エイズ以外の疾患に対する応用も検討されている。リンパ球以外の細胞種に対する遺伝子導入法は、組織特異性のない VSV ウイルスの外殻蛋白(VSVG)を用いる方法と、我々が開発した CD4 発現ベクターとの二段階遺伝子導入法により可能になっている。これまでに開発されたベクターの中で非分裂細胞の染色体への組み込まれるのは HIV ベクターのみであり様々な疾患への応用が期待される。

HIV ベクターをヒトの治療に使ううえで最も大きな課題は安全性を如何に確保するかという点である。試験管内の実験や動物実験では病原性ウイルスが出現した例はないが、なお一層の改良が必要である。更に、効率のよいパッケージング系が無いことも欠点となっている。パッケージングに必要な HIV タンパク質に細胞毒性があるため通常のレトロウイルスで使われているパッケージング細胞は樹立できていない。

このような現状を踏まえ、本研究では安全で効率の高い HIV ベクター産生系の確立と、動物モデルを使った HIV ベクターの応用技術の開発を行う。

B. 研究方法

増殖性 HIV ベクターが出現する可能性を取り除くため、パッケージングプラスミドから可能な限り、アクセサリ遺伝子を取り除き、発現単位ごとに分割した。また、組み込まれたベクターの LTR が機能しないような self inactivation(SIN)ベクターの形のベクタープラスミドを作製した。これらをアデノウイルスベクターに組み込み、アデノウイルスベクターを発現ベクターとして使う新しいパッケージング法の開発を検討した。さらに限外濾過、カラムなどによりベクターの濃縮法を検討した。

PCR クローニングにより調製したアンギオスタチン遺伝子を組み込んだ HIV ベクター(HIV-Ang)を作製した。HIV-Ang の *in vitro*での血管新生抑制作用をヒト臍帯静脈血管内皮細胞(HUVEC)と線維芽細胞との共培養により検討した。C57BL/6J マウスを生後 7 日目 (P7) から P12 まで 75% 酸素下においた後、通常酸素濃度に戻し未熟児網膜症モデルを作製した。HIV-ang またはコントロールとして HIV-GFP を左眼硝子体内に、PBS を右眼硝子体内に注入した。P19 に網膜新生血管を Smith の方法 (Smith, L. E. IOVS, 1994, 35, 101-11) によ

り硝子体内の血管内皮細胞の核数を平均化し、評価した。

C. 研究結果

<HIV ベクター産生系の改良>

発現単位ごとに分割したパッケージングプラスミドとベクタープラスミドにより組み換えウイルスベクターの産生が可能であり、これらをアデノウイルスベクターに組み込み、プラスミドをトランスフェクションした時よりも gag, pol, env, ベクター共に高い発現が得られた。これらのアデノウイルスを使用するベクター産生法により、従来の方法より 10 倍以上力価の高い HIV ベクターが得られる。また、さらに高力価なベクターを得るため、限外濾過、カラムなどの濃縮法の開発を行い、ベクターを 1000 倍濃縮することに成功した。

HIV ベクターのプロモーターを組み込まれたベクターの LTR が機能しないような self inactivation (SIN)ベクターに改良した。また、発現効率、遺伝子導入効率をさらに高めるため、WPRE (Woodchuck hepatitis virus posttranscriptional regulatory element)や cPPT-CTS (central polypurine tract and central termination sequence) などの cis-elements の付加を行い、従来より 10 倍高い力価のベクター作製が可能となり、より安全で導入効率の高いベクターを作製した。

<HIV ベクターを使った眼内新生血管病の治療>

RNA およびタンパクレベルにおいて HIV-ang によるアンギオスタチンの発現を確認した。*in vitro* の実験において HUVEC により形成される血管構造の面積及び長さは HIV-ang により有意に抑制された。PBS を注入した核数に比べ、HIV-angiostatin を注入した核数は平均 68%減少し、90 % (9/10; $p=0.025$) のモデル動物において減少していた。HIV-EGFP を注入した場合は減少を認めなかった。また検鏡的に明らかな炎症反応を認めなかった。動物モデルにおける HIV-ang の遺伝子発現は RT-PCR により陽性であったが、脳、肺、心臓、肝臓、骨髄では陰性であった。硝子体内の VEGF

は HIV-angiostatin を投与した群で減少していた。

D. 考察

遺伝子治療が開始されてから 10 年が経過し、一部の疾患では有効性が報告されているが、同時に遺伝子治療技術の問題点も明らかになっている。今後、遺伝子治療を発展させていくためには、現在のベクターの改良だけでなく、新規の遺伝子導入技術の開発が不可欠である。本研究では新しいベクターとして期待されている HIV ベクターの応用として血管新生抑制因子遺伝子を組み込んだベクターを作製し、新生血管病モデルに対する有用性を検討した。眼内新生血管モデルマウスの硝子体内へ HIV ベクターを直接投与することで 90%以上のマウスで眼内血管新生の有意な抑制効果が認められた。失明原因のトップである糖尿病網膜症や加齢性黄斑症等の眼内血管新生病治療法の重要な選択肢になることが期待される。

今回使用した眼内新生血管モデルは相対的低酸素により急激に新生血管が生じ、新生血管が最大になるのは酸素暴露から戻して 5 日目から 7 日目である。HIV ベクター由来のアンギオスタチンが発現するのに遺伝子導入してから 2 日程度かかるので、タンパクとして存在し、実際効き始めるのは酸素投与後 3 日目から 5 日目である。もし最初からタンパクとしてアンギオスタチンが存在していればさらに血管新生は抑制されたと考えられる。臨床的に加齢性黄斑症や糖尿病網膜症を考えると今回のモデルと異なり、発症から緩徐に進行する。血管新生抑制は腫瘍の抑制において注目されているが、血管新生という観点から見ると腫瘍では新生するスピードが速く、抑制されにくい、進行に時間のかかる眼内新生血管病こそ適応の高い疾患であると考えられる。

抗新生血管作用を持つ蛋白製剤を直接投与することも考えられるが、眼内は網膜血管網が存在し血中からの薬剤移行率は低い。また点眼薬も眼内へほとんど移行しない。眼内に蛋白製剤を頻回に投与することは現実的に感染症の問題があり不可能である。これらの問題を考えあわせると、持続的に

発現可能な遺伝子治療は理想的な治療法であり、抗新生血管を狙った遺伝子治療は将来の失明防止への非常に有力な選択肢となると考えられる。

E. 結論

HIV ベクターの新しい産生系を確立し、眼内新生血管病モデルの遺伝子治療において HIV ベクターの有用性を示した。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Igarashi, T., Miyake, K., Kato, K., Watanabe, A., Ishizaki, M., Ohara, K., and Shimada, T. (2003) Lentivirus-mediated expression of angiostatin efficiently inhibits neovascularization in a murine proliferative retinopathy model. *Gene Ther.* 10:219-226
- 2) Igarashi, T., Miyake, K., Suzuki, N., Kato, K., Takahashi, H., Ohara, K., and Shimada, T. (2002) New strategy for *in vivo* transgene expression in corneal epithelial progenitor cells. *Current Eye Res.* 24:46-50

2. 学会発表

- 1) Igarashi T., Miyake K., Kato M., Kato K., Suzuki N., Ishizaki M., Takahashi H., Ohara K., Shimada T.: Inhibition of Neovascularization in a Murine Proliferative Retinopathy Model by Lentivirus Mediated Expression of Angiostatin. The Japan Society of Gene Therapy (Tokyo) 2002.7.
- 2) Igarashi T., Miyake K., Kato K., Kato M., Kurai K., Ishizaki M., Takahashi H., Ohara K., Shimada T.: Lentivirus-mediated expression of angiostatin efficiently inhibits neovascularization in a murine proliferative retinopathy model. European society of gene therapy. (Antibes, France) 2002.10

遺伝子治療用アデノ随伴ウイルスベクターの開発動向と安全性等評価法

分担研究者 小澤敬也 自治医科大学 遺伝子治療研究部 教授

研究要旨

アデノ随伴ウイルス（AAV）ベクターに関しては、血清型と組織特異性の関係が重要な研究テーマとなっている。そこで、1～5 型の AAV ベクターを作製し、マウス・サルの系で、骨格筋への注射、門脈内投与の検討を行った。その結果、骨格筋では AAV1 ベクター、門脈内投与では AAV5 ベクターが最も効率が良かった。また、サルの系で骨格筋へ注射した場合、各血清型のキャプシド蛋白質に対する抗体が誘導されたが、特に問題となる副作用は認められなかった。今後、AAV ベクターは安全性の高い有用な遺伝子治療用ベクターとして、さらなる開発が期待される。

A. 研究目的

AAV ベクターを遺伝子治療用ベクターとして用いた臨床研究は比較的最近スタートしたところであり、今後の発展が期待されている。基礎研究面では、AAV ベクターの血清型と組織特異性の関係が注目されるようになってきている。そこで本研究では、代表的な 1～5 型の AAV ベクターを作製し、マウス・サルの系で、骨格筋への注射、門脈内投与の検討を行った。さらに、ベクターに対する免疫反応やその他の副作用の有無についても検討を行った。

B. 研究方法

1 型から 5 型までの計 5 種類の血清型を用いて AAV ベクターを作製するシステムを準備し、これらを用いて LacZ 遺伝子あるいはマウスエリスロポエチン（Epo）遺伝子を搭載するベクターを作製した。ベクターの血清型に関する評価については、マウスの系で、筋肉注射及び経門脈投与における遺伝子発現効率を比較検討した。骨格筋を標的とする場合は CMV プロモーター、門脈ルートでは CAG プロモーターを用いた。次に、カニクイザルでは、1 型・2 型・5 型の血清型につき、ヒト凝固第 IX 因子遺伝子を搭載したベクターを用いて、筋注の実験を行った。サルの実験では、さらに免疫反応に関して、各血清型のキャプシドに対する抗体を、ELISA 法を用いて検討した。副作用に関しては、病理組織学的検討を行った。

（倫理面への配慮）

マウスを用いた動物実験は、動物倫理面（動物愛護上の配慮など）を含めて自治医大動物実験指針規定に沿って行った。厚生省霊長類共同利用施設で実施したサルの実験は、国立感染症研究所「動物実験ガイドライン」および筑波霊長類センター「サル類での実験遂行指針」を遵守して行った。

C. 研究結果

マウス骨格筋における遺伝子発現の比較検討では、1 型 AAV ベクターが最も良好であり、5 型がこれに次ぎ、それ以外は 2 型とほぼ同じレベルであった。また、いずれの血清型を用いた場合にも発現は長期にわたって持続した。マウス肝臓においては、5 型 AAV ベクターを用いた場合に最も良好な発現が見られ、その他の型を用いた場合には 2 型において得られた結果とほぼ同等であった。

カニクイザルを用いた筋注法の検討では、1 型 AAV ベクターでやはり最も良好な結果が得られた。また、AAV ベクターに対する抗体価の検討では、注入した血清型に対する抗体価が投与後 2 週から 4 週にかけて急上昇しており、中和活性を有していることが判明した。

D. 考察

AAV ベクターでは、血清型の違いにより極めて大きな発現レベルの相違があること

が確認された。今回の検討に用いた実験系は、Epo 遺伝子の場合と同種蛋白質を産生することから、導入遺伝子産物に対する免疫反応の関与を考慮する必要がなく、血清型の違いのみに焦点を当てて比較検討することが可能であった。また、筋注法の場合、霊長類モデルでも1型に由来するキャプシドを利用した場合に他を大きく凌駕する効果が得られた。このことは、ヒトへの臨床応用でも、骨格筋を標的とする場合は従来の2型のものではなく、1型の AAV ベクターが至適であることを示唆している。

尚、筋注した AAV ベクターのキャプシドに対する抗体が誘導されたことから、もし再投与が必要になるような場合は、何らかの対策が必要になるものと考えられる。その他、特に重篤な副作用は観察されず、安全性の高いベクターであることが裏づけられた。

今後、前臨床試験としてさらに長期的な効果及び安全性の検証が課題である。

E. 結論

AAV ベクターによる遺伝子導入法に関して、血清型と組織特異性の関係を検討した。筋肉には1型 AAV ベクター、肝臓には5型

AAV ベクターが適していることを確認した。安全性については、AAV ベクターのキャプシドに対する抗体の出現を認めたが、特に問題となる副作用は観察されなかった。AAV ベクターは、遺伝子治療用ベクターとして有用と思われる。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Okada T, Nomoto T, Shimazaki K, Lijun W, Lu Y, Matsushita T, Mizukami H, Urabe M, Hanazono Y, Kume A, Muramatsu S, Nakano I, Ozawa K. Adeno-associated virus vectors for gene transfer to the brain. *Methods* 28, 237-247, 2002.
- 2) Okada T, Shimazaki K, Nomoto T, Mizukami H, Monahan J, Ozawa K and Kawai N. AAV mediated gene transfer for gene therapy of ischemia-induced neuronal death. *Method Enzymol* 346, 378-393, 2002.

H. 知的所有権の出願・登録状況

特になし

バイオテクノロジー医薬品の製造法の変更時の品質確保の考え方
— バイオ医薬品の同等性／同質性評価の欧米において残された論点 —

分担研究者 川西 徹 国立医薬品食品衛生研究所生物薬品部長

要 旨

米国 FDA では引き続き同等性／同質性評価プロトコルの運用およびそのさらなる整備を継続して行っており、最近になってタンパク質医薬品は適用外であるが、Generics Drugs をも適用対象とする同等性／同質性評価プロトコル作成のガイダンスドラフトを公表した。内容的にはタンパク質医薬品を対象とした 1996 年の同等性／同質性評価ガイドラインと矛盾する部分はない。一方欧州では、2002 年 3 月に施行されたバイオテクノロジー医薬品の同等性／同質性評価に関する CPMP ガイダンスを補うものとして、CPMP から非臨床試験および臨床試験に関するガイダンスが補遺ドラフトとして公表された。この補遺ドラフトでは (1)同等性／同質性評価における非臨床試験および臨床試験の必要性、(2)同等性／同質性評価における免疫原性試験の重要性、(3)先発品と同等なものとして後発メーカーから申請された後発品の同等性／同質性評価、の 3 つの課題が残された論点として扱われている。非臨床試験及び臨床試験については、どのようなケースについて非臨床試験及び臨床試験までもが必要とされるかの場合分けが明瞭ではない。またヒトにおける免疫原性評価に重きを置いているが、実際の評価においてヒトの試験を行っても免疫原性の予測に有用であるかは疑問と思われる。一方後発品の同等性評価の扱いは、同一メーカー内での製造方法の変更時の同等性評価の延長線上に考えられ、妥当なものであり、わが国にも導入できる方策といえる。

A. 研究目的

バイオテクノロジー医薬品は開発に通常 10 年単位の時間を必要とする。一方、分子生物学、生化学、たん白質化学、分析化学、細胞生物学領域の技術革新は目覚しく、バイオテクノロジー医薬品の製造技術においても医薬品開発期間中に様々な新技術が開発、導入される。した

がって一度設定した製造方法についても、規制当局から承認を受け市販された後、(あるいは開発期間中においても)製造方法の変更が望まれることが少なくない。しかしながら、製造承認、あるいは輸入承認は、当初の製造方法によって製造された製品に関して得られたデータに基づいて評価した結果であり、製造方法の変

更後の医薬品の有効性および安全性について保証するものではなく、新しい製法による製品の有効性、安全性を保障する検討が必要と考えられる。とはいえ、製造方法の変更を行なった製品の有効性および安全性を評価するために、新薬と同様のデータを求めることは、優れた薬の安定的供給を図る意味からも、また社会的な資源の節約という意味からも合理的とはいえない。また、製造方法の変更はしばしば医薬品の品質の改善に結びつき、安全性の観点からも好ましいケースが少なくないが、変更の際し、その影響を評価する上で重要でないデータを求めることは、好ましい製造方法の変更を妨げる要因にもなりうる。そこで現在、これらの医薬品の製造方法の変更時の評価法について、検討が求められている。

バイオテクノロジー医薬品のほとんどは有効成分である目的物質において本質的に分子多様性 heterogeneity があり、同一性の定義は難しい。また製造技術が多様であるため、それに応じた不純物、混入物の解析が必要となる。したがって、製造工程の変更が医薬品の安全性、有効性に及ぼす影響を評価するためには、上記の視点から合理的に評価する必要がある。

本研究は以上のような現状を踏まえ、この分野の国際動向を調査し、我が国におけるバイオテクノロジー医薬品の製造方法の変更の評価法を定めるための基礎資料を提供するために行なった。初年度は過去数年でこの分野の評価法を整備しつつある米国に焦点をあて、調査を行なった。次年度は欧州についてどのような取り組みが行われているかまとめた。最終年度は、さらに欧米の動向について調査し、考察した。

B. 研究方法

バイオテクノロジー医薬品の製造方法の変更が医薬品の品質に及ぼす影響の評価に関連する公表論文、米国 FDA の関連文書、EU CPMP

の関連文書、米国製薬工業協会（PhRMA）の関連文書、インターネットによる検索によって得られる米国、および欧州の関連情報、また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、細胞治療用医薬品の品質、有効性、安全性確保を図る過程あるいは関連する評価技術の開発研究を行う過程で蓄積されてきた経験や知見、さらに ICH 文書の関連部分等を参考に、製造方法の変更が医薬品の品質に及ぼす影響の評価、とりわけ製造工程の変更内容からどのような評価法が適切かについて調査した。

C. 研究結果および考察

1. 米国における Comparability の議論の経過

米国 FDA はバイオ医薬品の製造方法の変更に伴う同等性／同質性評価については、初年度報告したように2つのガイダンスドキュメントを公表している。一つは1996年4月に公表された「FDA Guidance Concerning Demonstration of Comparability of Human Biologic Products, Including Therapeutic Biotechnology-derived Products（治療用バイオテクノロジー応用医薬品を含む生物薬品の同等性／同質性を提示するためのFDAガイダンス）」であるが、この文書で「製造方法の変更が行なわれた後でも医薬品が安全で、純度が高く、有効であることを同等性／同質性評価試験データが示すのなら、追加の臨床試験を行なわなくとも製造法の変更を行なうことができる」という米国におけるバイオテクノロジー応用医薬品の製造方法の変更に関する同等性／同質性評価の基本的考えを明らかにした。この文書でFDAは同等性／同質性評価の概念を提示するとともに、製造業者は同等性／同質性評価試験の計画にあたって、事前にFDAと十分に協議し、FDAとの合意の元に同等性／同質性評価プロトコルを定めた後、実際の試験

を行なうよう求めた。

2つめのガイダンスは1997年7月に公表されたが、(Guidance for Industry : Change to an Approved Application for Specific Biotechnology and Specified Synthetic Biological Products (製薬業界へのガイダンス: バイオテクノロジー医薬品および合成生物薬品の既承認の申請内容の変更について))、これは先のガイドラインで概念が提示された同等性/同質性評価プロトコルの内容、および製造方法の変更についてのFDAへの報告のルールの手引きとして作成されたものである。

さらに最近になって、同等性/同質性評価プロトコルの作成と実行に関するガイダンス「Guidance for Industry : Comparability Protocols – Chemistry, Manufacturing, and Controls Information (製薬業界へのガイダンス 同等性/同質性評価プロトコル – 化学、製造および管理情報)」のドラフト(参考資料1参照)が新たに公表され(2003年2月20日 FDA-CBERのホームページ)、現在3ヶ月の意見聴取期間にある。このガイドラインは、承認をうけた後の製造方法の変更の際に必要とされる同等性/同質性評価試験のプロトコルを、新薬申請(NDAs)、略式新薬申請(ANDAs)、動物薬申請(NADAs)、略式動物薬申請(ANADAs)としてFDAに提出する際に参照すべき解説書である。またこの内容は、医薬品マスターファイル(DMF)あるいは動物薬マスターファイル(VMF)として提出される同等性/同質性評価プロトコルの作成にあたっても適用可能とされている。ただしタンパク質製品は適用対象とされていない。したがって、現在作成作業が開始されているICH国際調和ガイドライン(生物薬品(バイオテクノロジー応用医薬品/生物起源由来製品)を対象とする)とは適用対象が異なる。

その内容は以下のとおりである。

-
1. 緒言
 2. 背景
 - A. 同等性/同質性評価プロトコルとは
 - B. 同等性/同質性評価プロトコルを使用するメリット
 - C. 同等性/同質性評価プロトコルガイダンスを作成する理由
 - D. 承認後の変更および同等性の証明に関する情報の在り処
 3. 同等性/同質性評価プロトコルを計画、作成するにあたって考慮するポイント
 - A. 同等性/同質性評価プロトコルの化学、製造、管理(CMC)の変更の報告への影響
 - B. 同等性/同質性評価プロトコルがCMCの変更に役立つ時期
 - C. 同等性/同質性評価プロトコルが適当ではない時期
 4. 同等性/同質性評価プロトコルの手順(どのようにプロトコルを作成し、申請するか)の説明
 - A. 同等性/同質性評価プロトコルの提出方法
 - B. 同等性/同質性評価プロトコル後に提出される変更と研究の承認のされ方
 - C. 承認された同等性/同質性評価プロトコルのクライテリアに検討結果があわない場合は?
 - D. 同等性/同質性評価プロトコルが不要な場合
 - E. 承認された同等性/同質性プロトコルの変更方法
 5. 同等性/同質性評価プロトコルの内容
 - A. 同等性/同質性評価プロトコルの基本要素

- B. 同等性／同質性評価プロトコールにおいて言及すべき製造工程の変更についてFDAは特別に関心をもっているか？
- C. 同等性／同質性評価プロトコールにおいて言及すべき解析手順の変更についてFDAは特別に関心をもっているか？
- D. 同等性／同質性評価プロトコールにおいて言及すべき製造設備の変更についてFDAは特別に関心をもっているか？
- E. 同等性／同質性評価プロトコールにおいて言及すべき製造施設の変更についてFDAは特別に関心をもっているか？
- F. 同等性／同質性評価プロトコールは包装の変更に用いることができるか？
- G. 同等性／同質性評価プロトコールは工程評価技術(Process Analytical technology: PAT)に言及できるか？
- H. 同等性／同質性評価プロトコールは医薬品マスターファイル(DMF)および動物薬マスターファイル(VMF)を相互参照できるか？
- I. 同等性／同質性評価プロトコールはDMFおよびVMFに含むことができるか？

先に触れたようにこのガイダンスは主として低分子医薬品を対象とするため、安全性、有効性への影響を確認するための非臨床、臨床試験への言及は極めて少ない。また同等性／同質性評価プロトコールという、米国固有の手続きについての解説を目的としており、内容においても、1997年のバイオ医薬品における同等性／同質性評価プロトコールの解説のためのガイドラインと矛盾する点はない。

以上のように米国においては、過去5年間、生物薬品関係で実施されてきた同等性／同質性評価プロトコールについて、さらにその他の

医薬品にまで対象を広げたガイダンスの整備を行い、手続き上の整備を継続している。

2. 欧州における同等性／同質性評価に関する議論のその後

昨年度の分担報告書に記したように、欧州では製造方法の変更時のバイオテクノロジー応用医薬品の同等性／同質性評価ガイドライン「原薬としてバイオテクノロジー由来タンパク質を含んだ医薬品の同等性／同質性に関するガイダンスノート”Note for Guidance on Comparability of Medicinal Products Containing Biotechnology-derived Proteins as Drug Products”」を2002年3月に施行した。しかしこのガイダンスノートは、いくつかの曖昧な点が残っていた。即ち、(1) 理化学的特性および生物学的特性解析の結果、製造方法の変更の前後の製品間に違いが見出された後のアプローチをどうするか、(2) 抗原性試験の具体的内容、(3) 既に市販されている製品と同様であるとして別の申請者から申請された製品（いわゆるGeneric Biologicals）に関する同等性／同質性の検討作業の具体的方法の3点である。

以上の点に答える意味で、EUでは2002年3月に施行したガイダンスノートを補うものとして、「原薬としてバイオテクノロジー由来タンパク質を含んだ医薬品の同等性／同質性評価に関するガイダンスノート－非臨床および臨床試験に関する補遺－」のドラフトを2002年7月に公表し、2003年1月を期限に意見聴取が行われている（参考資料2）。このドラフトでは、今日バイオ医薬品の同等性／同質性評価を行う上で課題として取り上げられる点について中心的に扱われている。

以下にそのガイドラインの要点を示す。

原薬としてのバイオテクノロジー由来タンパク質を含んだ医薬品の同等性／同質性評価に関するガイダンスノート

—非臨床試験および臨床試験に関する補遺—

1. 緒言

この文書は「原薬としてバイオテクノロジー由来タンパク質を含んだ医薬品の同等性／同質性評価に関するガイダンスノート（CPMP/BWP/3201/00）」を補う補遺として作成したものである。この文書はその他の生物製品は対象としない。Directive2001/83/EC の補遺の第3部、そして以下にあげる現行のガイドラインおよび将来完成されるであろうガイドラインも併せて参照すべきである。

- ICH トピック E10—臨床試験における対照群の選択に関するガイダンスノート（CPMP/ICH/364/96）
- ICH トピック S6 — バイオテクノロジー応用医薬品の前臨床安全性評価に関するガイダンスノート（CPMP/ICH/302/95）
- 糖尿病の治療における医薬品の臨床試験に関するガイダンスノート（CPMP/EWP/1080/00）
- 組換え第8因子および第9因子の臨床試験に関するガイダンスノート（CPMP/BPWG/1561/99）

2. 背景

原薬としてバイオテクノロジー由来タンパク質を含有する医薬品の同等性／同質性評価に関するガイダンスノート においては、以下の2つのケースにおいて同等性／同質性評価が問題となる。

- 当該製品の製造工程において変更が行われる時
- 既に市販されている製品と同等であると主

張した製品が申請される時

いずれの場合でも、製造業者は製造方法の変更後の製品と変更前の対照製品が、品質、安全性、有効性という観点からみて同等のプロファイルをもつことを証明するとともに、証明の方法が妥当であることを示すことが要求される。この過程は、まず（部分的あるいは総合的な）品質の検討にはじまり、必要に応じて非臨床試験および／あるいはブリッジング臨床試験を行い同等性／同質性を明らかにするといった連続的なプロセスである。

この文書は、同等性／同質性評価を行う場合に、必要とされる非臨床および臨床データを検討することを目的としている。必要とされるデータおよびそれらのデータを提出するタイミングはケースバイケースで判断されるものであり、以下の条件によって左右される。

- 製品の特性解析の程度
- 旧製品と比較した場合の新製品の変化の性質
- 変更の前後の製品間で見出されたり、あるいはあると想定される違い
- 関連製品群の臨床経験

3. 当該製品の製造工程の変更

原薬としてバイオテクノロジー由来タンパク質を含有する医薬品の同等性／同質性評価に関するガイダンスノートにおいては、当該製品の製造工程の変更により、有効性／安全性への影響が予測され、あるいは影響する可能性が否定できないケースについてまとめられている（原薬としてバイオテクノロジー応用タンパク質を含む医薬品の同等性／同質性評価に関するガイダンスノートのパラグラフ 2.2 参照）。製品の理化学的性質、およびインビトロ／インビボ生物活性は、各種分析法を用いて十分な特性解析が可能としても、提案されている製造工程の変更に関する経験の不

足と相俟って、これらのデータからは、製造方法の変更が臨床上的有効性および安全性に影響する可能性を除外することはできないと考えられる場合がある。

この文書は主にこのようなケースにおいて必要とされる非臨床データおよびヒト臨床データに焦点をあてる。しかし、あらゆる場合において、製造業者は製造工程の変更が製品の有効性／安全性に影響しないこと、そしてその結論を支持するデータが妥当な方法で得られていることを示すべきである。

もし同等性／同質性評価の過程において差異が検出された場合、明らかにしなければならない品質上の問題である可能性、あるいはその結論を下すにはさらに追加の非臨床／臨床データが必要である可能性が考えられる。

変更後の製品に関する経験の不足、およびこの文書が一般的な指針であることを考慮にいれると、そのそれぞれの製品に必要とされる要件はケースバイケースに判断すべきである。

製造条件の変更によって、不純物、目的物質関連不純物、そして目的物質関連物質のプロファイルに変化が生じる可能性がある。そのような場合、ヒトへの当該製品の投与に先立って、これらの変化の生物学的影響を考慮に入れるべきである。

3.1 一般的考察

この節では、製造工程の変更後の製品の有効性／安全性を検討するための検討方法を策定し、その妥当性を示す際に考慮すべきポイントについて述べる。製品の種類、および予測される変化により、必要なデータはインビトロデータ、動物実験データあるいはヒト臨床データ、あるいはその組合せと変わるかもしれない。このようなデータの選択の妥当性について示すべきである。

3.1.1 非臨床試験に関する考察

製造方法の変更後の製品が変更前の製品に比べて生物学的性質において臨床効果の違いを生じる可能性を考察する上で、非臨床データは有用である。場合によっては非臨床試験はほとんど、あるいは全く行う必要がないかもしれない。しかしより詳細な検討が評価の助けとなる場合もある。安全性の問題を検討する上で、適格な研究プロトコルをデザインするためには製品の特性に関して十分に理解することが重要である。適格な非臨床試験をデザインし評価するとともに、製品の特性解析に関しては、さまざまな点において情報が関連しており、品質に関連する事項と非臨床安全性に関する事項においては重複する部分がある。とるべきアプローチが適格であることを明らかにするためには、非臨床試験に関する十分な情報を得、あるいは品質に関連する情報とを相互に参照すべきである。

臨床における安全性評価を行う上で、特に免疫原性試験のような種特異的現象を検出するためには、非臨床試験には限界があると一般に認識されている。しかし、製造方法の変更前の製品と変更後の製品の違いを検出するという目的では、非臨床試験は、臨床試験と同等であろうし、有用と考えられる。この種の検討は、開発段階において安全性に関して事前評価するために有用であろうし、必要に応じて行う追加的な確認臨床試験にも参考になるであろう。製品に応じてケースバイケースにアプローチが設定されるべきものであるが、その例として以下のようなものがあげられる。

インビトロ試験： 受容体結合試験の多くは品質関連バイオアッセイ試験として既に用いられているが、反応性における変化の可能性を評価し、さらにその原因を明らかにしたい時に、組合わせ試験として設定することができる。

インビボ試験： 安全性について懸念がある場合は、一種以上の動物モデルによる適切なインビボ試験を実施するとよい。当該製品のヒトへの作用を調べるのに適していることが製造方法の変更前の製品において示されている動物種を用いたインビボ試験を行うことによって、より信頼性の高い結果が得られるであろう。得られる情報を最大限に生かし、最終剤形の形で変更前の製品と変更後の製品を比較するためにデザインされた動物実験を行うべきである。一般的に、そして動物モデルが許す限りにおいて、以下のようなエンドポイントをモニターできるように試験を考えるべきである：

- a) ファーマコキネティクス、例えばクリアランスの変化
- b) 免疫反応、例えば抗体価、中和活性、交差反応
- c) 特に関心がよせられるポイント、例えば呼吸、腎臓、あるいは循環器のパラメーター
- d) 標準的な毒性所見（生存時、および死後の検査において）

新しい試験技術の応用も考えるべきである。エピソード・マッピング、およびリアルタイム結合試験あるいは免疫原性試験が有益と思われる。薬理的活性物質に対する生物反応の小さな変化を比較する目的に、プロテオミクス関連科学を応用し、体液中のタンパク質プロファイルにおける量的、質的变化をモニタリングする方法も想定される。このような研究結果の解釈は、それ自身が日々革新をとげつつある科学であるが、しかし同等性／同質性評価のためにも有用な情報を提供するものと思われる。

3.1.2 免疫原性

他の手段によって可能性を除外できる場合を除いて（5. 免疫原性を参照）、臨床データをもとに、免疫原性について常に注意を払う必要がある。

3.1.3 臨床試験に関する考慮

確認および比較のために有効性／安全性試験データが必要とされる場合、原則として、臨床的な有効性及び安全性（免疫原性以外）に関するデータの必要性を考えるべきである。この基本的な考えから乖離する場合は、その妥当性を明らかにすべきである。臨床プログラムをデザインしその妥当性を示す時に考慮に入れるべき重要なポイントとしては、変更前の製品についての以下の点に関する臨床経験があげられる。

- ・ 用量／曝露量と有効性／安全性との関係
- ・ 臨床上的有効性／安全性の代行マーカーとして、薬力学マーカーを受け入れることができるかどうか
- ・ 用量／曝露量と上記代行マーカーとの関係
- ・ 薬物／受容体相互作用
- ・ 疾病特異的な作用機構
- ・ 活性に関係する標的臓器
- ・ 投与形態
- ・ 薬物動態学的特性（生物学的閾値を含む）

3.1.3.1. 代行マーカー

通常臨床試験において、有効性は臨床上的エンドポイントによって定義される。しかし時によっては代行マーカーが用いられることもある。もしも治療によって薬力学的マーカーが大きく変動し、臨床的な結果の変化を説明できるならば、当該薬力学的マーカーは有効性を示す上での代行マーカーとみなせる。

代行マーカーは通常活性変化に対してより感受性が高く、臨床的なエンドポイントより短時間で評価が可能である。それゆえ、臨床データ上での同等性／同質性を検討する際に、有用なパラメータとなるかもしれない。しかし、同等性／同質性試験の最終目的は製品の同等性／同質性を示すことにあるので、通常は有効性という視点にたって同等性／同質性の範囲を定義し、かつその妥当

性を示すためには、代行マーカーと臨床的エンドポイントとの間の量的な関係を示すデータが必要である。

代行マーカーについて完全に検証することは簡単ではないと考えられるが、エンドポイントを代行するマーカーに関する研究は推奨される。

代行マーカーの検証の際の基準が明瞭でない場合もある。例えば、好中球の絶対数と G-CSF、あるいは慢性 C 型肝炎ウィルス価の減少と α インターフェロンの関係がその例である。対象となるマーカーと疾病との関係が明瞭に検証されていることが重要である。代行マーカーの適格性について検証が十分でない場合には、上に記した注意点を考慮しながら総合的に代行マーカーの選択の妥当性を示すことが期待され、さらに規制当局による科学的アドバイスも参考となるだろう。

3.2 同等性／同質性評価に必要とされる要件の違い

以前に記したように、臨床試験において必要とされるデータの種類の種類は製品の種類と使用経験によって変わるだろう。しかし、製造方法の変更の質の違いによっても、必要とされるデータに違いが生じる場合がありうる。

- ・ 詳細に製品の特性が明らかにできない、あるいは分子多様性のように検出不能ではあるが製造工程の変更によって当然生じると思われるような製品の特性の相違
- ・ 同等性／同質性の検討の過程で当然であると予想されたり、また実際に相違が検出されるような変更前の製品との特性の相違

3.2.1 特性解析できない品質の差

品質の変化が予測されるものの、その変化の特性がわからない場合、製品の有効性および安全性について、変更前の製品と比較しながら、臨床試験によって変化の特性を明らかにする必要がある。

有効性に差があると思われる場合は、通常、差を示すことが最も検討を容易にするために有益である。臨床効果との関係について統計学的な面も考慮しながら、許容できる同等性の範囲について設定すべきである。

もしも代行マーカーがある場合、薬物動態学的／薬力学的研究はその要求を充たす上で適当かもしれない。このような場合、適切な感度を示す用量範囲を設定して検討すべきである（ICH E10 トピック参照）。代行マーカーの選択の妥当性を示し、同等性／同質性を定義する値を事前に設定し、さらにその値が妥当であることを示すべきである。

適当な代行マーカーがなく、関連する追加前臨床データあるいは臨床データもない場合は、臨床上のエンドポイントを指標とする臨床試験が必要とされよう。試験の感度については、試験をデザインする中で確認し、さらに許容範囲を定義し、その妥当性を示さなければならない。

3.2.2 品質の差の特性が解析されている場合
有効性／安全性への影響は製品によって変わるので、詳細なガイダンスを示すことはできない。しかし一般には、品質の差に関する特性解析が十分になされている場合には、その情報は臨床試験の必要性について合理的に考える上で有用な背景情報となる。質的な面でも量的な点においても、相違のタイプと程度に関する情報が得られていれば、例えば臨床試験として免疫原性試験のみが必要であるという結論の妥当性を示すことができるかもしれない。十分な受容体相互作用の研究と有用な薬理学的情報が得られていれば、有効性データが必要と思われる場合でも、有効性臨床試験の代行マーカーとして生物学的同等性を用いることの妥当性を示すことができるかもしれない。さらに重要な差と重要でない差の区別は有

用といえよう。

差が重要ではなく、インビトロ生物活性にも差がないような場合は、バイオアベイラビリティデータおよび／または薬力学的試験による比較で十分かもしれない。

差が重要である時、例えば糖鎖パターン、あるいはインビトロ活性における差がある場合は、他に適当な理由がなければ、同等性に関する臨床試験が必要である。

活性物質のアミノ酸一次配列における変化は、通常は重要と考えられ、かつ受け入れることができない品質上の問題とみなされる。この場合は前臨床試験、あるいは臨床試験によって解決できるものではなく、同等性／同質性評価の範囲外の問題となりうる。

3.3 臨床上の安全性と医薬品安全性情報の必要性

ケースバイケースではあるが、定期的な医薬品安全性情報の更新報告（periodic safety update reports：PSURs）の周期が改訂される場合がある。PSURs には、製造方法の変更を細かく述べた章が含まれるが、製造方法の変更による製品の安全性への影響の可能性については、この中の関連項目（例えば、総合的安全性評価における免疫原性、有効性の欠除の可能性）で考察されるべきである。同等性／同質性評価に関連した安全性情報に関する申請者からのコメント（フォローアップ手段あるいは義務）は、この情報の中に記載されるべきものである。

3.4 非臨床および／あるいは臨床データが必要とされるタイミング

状況に応じて変わるものの、変更が承認される前と後との臨床データは、市販後調査義務として利用できるようにすべきである。

製品の有効性および／または安全性に対する製造方法の変更の影響に関連する非臨床データがある場合、承認前に提出されるべきである。

免疫原性試験データに関しては、5.2 節 有効成分および剤形の変更 を参照すること。

4 既に市販されている他の製品との同等性が主張される製品の場合

この補遺の中で用いられている「同等性／同質性」の概念は 2001/83/EC の 条項 10(1)(a)において扱われている“essential similarity 本質的に同様”の概念とは異なるものである。”本質的に同様”の概念は別のクライテリアであり、この補遺の適用範囲の中にはない。

本質的には、申請者は申請時に申請様式を完全に満たす必要がある。しかしながら、二つの方法が可能である。

- ・製薬メーカーが自分自身で製品を開発することを選択する
- ・製薬メーカーが、製品がすでに市販されている他の製品との同等性を主張し、同等性／同質性を示すことを選択する

製薬メーカーはその選択の妥当性を申請書類の中で述べ、製品の開発を開始する前に EMEA にコンタクトすべきである。

4.1 第一のケース（製造メーカーは自分自身で製品を開発することを選択する）

この場合は、品質、安全性、有効性に関連するガイドラインを考慮に入れながら、開発計画をたてる。データは製品を評価するために行われる研究と実験によって得られる。同等性／同質性試験は、既に市販されている製品との関係において行われるので、文献上のデータを製品の有効性と安全

性を支持するために用いることはできない。

文献上のデータを用いることができないので、既存の製品が一つ以上の適応症がある場合においては、すべての適応症への有効性を示さなければならない。

十分な安全性データが必要とされ、免疫原性試験を行うべきである（5 免疫原性試験 を参照）

4.2 第二のケース（製品がすでに市販されている他の製品と同等と主張し、同等性／同質性を示すことを選択する場合）

この場合は、製造業者は製品が品質、有効性、安全性という点からみて市販の製品と同等であることを示すことになる。この場合、もし申請者が1) 理化学的性質およびインビトロ活性について詳細に製品の特性解析が可能、2) 同等性については化学的、製剤学的に示すことができる、という2点をクリアできるならば、安全性および有効性試験の全てを繰り返す必要はないかもしれない。同等性／同質性評価試験では、すべての試験において同一の標準物質が用いられるべきである。

標準物質が一つ以上の適応症をもつ場合は、必要に応じて、それぞれの適応症について有効性と安全性が示されなければならない。この確認の範囲と程度は、臨床経験、標準物質に関して文献的に得られるデータ、すべての適応症に関して同じ受容体が関与するか否か、前臨床データ、免疫原性試験によって変わる。

安全性データは承認前に必要とされるが、例え有効性という点で同等性／同質性が示されていても、後になって安全性に差がある可能性が考えられる場合には、市販後にもデータは必要とされるであろう（4.2.4 を参照）。

4.2.1 非臨床データ

製造業者は「バイオテクノロジー応用医薬品の前臨床評価に関するガイドラインノート（CPMP/ICH/302/95）」を考慮に入れるべきである。ポイント全てについて、申請書類中で触れる必要があろう。同等性／同質性が検討される場合、本補遺の3.1.1と同様の内容が適用される。もし特異的な安全性上の問題（例えば新しい添加剤の使用など）が生じた場合は、新しい製品を臨床試験でヒトに投与する前に、適切な標準的前臨床試験を行い問題点を解決しておくべきである。これらの方法についてはその妥当性を示す必要がある。

4.2.2 免疫原性

免疫原性については、他の手段によって臨床上の関連免疫原性の可能性が除外される場合を除いて、常に臨床データによって検討されている必要がある。もし品質の検討において量的な面あるいは抗原のタイプに差が見出された場合は、さらに検討を行う必要がある（5 免疫原性試験 を参照のこと）

4.2.3 臨床データ

以下の要件は製品のタイプおよび臨床使用の範囲によって変わる。

一般的には、同等の用量を用いたバイオアベイラビリティ、薬動学的作用に関連する同等性を示す試験が必要とされる。以前に言及したとおり、“equivalence”は前もって定義されていなければならない、薬力学的パラメーターの選択が適格であることが明らかにされている必要がある。

加えて、一般的には、評価される製品と選択された標準物質間で有効性が等しいことを示す臨床試験が必要とされる。試験の種類、エンドポイントの期間とタイプは、経験、製品のタイプ、臨床

範囲、代行可能なエンドポイントの有無によってかわる。

すべての同等性試験のデザインに関して、試験の感度の確認が重要である。もしこれがなされていない場合、あるいは適当ではない場合は、他のデザインも検討され、専門家との協議が必要である。

4.2.4 安全性

原理的には、同等性／同質性が示された時、標準物質に関するデータは、新しい製品にあてはめられることになるだろう。しかしながら、バイオテクノロジー応用製品に関する経験の蓄積に従って、有効性は同等であっても、製品が異なる安全性プロファイル(有害事象の性質、重篤度、程度、頻度)を示す場合があることがわかってきている。認可をうける前にこれらの違いを検出するにはデータベースはあまりに小さい。したがって、製品についての安全性プロファイル、およびリスクベネフィットのバランスは、市販後段階においてモニターされる必要がある。

現行の EU の薬剤監視情報ガイドラインに従って、製造販売承認の申請の一部として市販後調査の頻度を軽減するような申請が申請者からされるかもしれない。そのような修正については、同等とされる新製品が認可をうけた場合は、認められないであろう。

さらに、標準物質と安全性プロファイルという点で異なる製品については、PSURs の関連部分で触れるべきでる。

5 免疫原性

5.1 免疫原性の予測

バイオテクノロジー由来タンパク質に対して免疫反応を引き起こす因子については、個々のケースについてまでは理解できていない。しかし、一般的には免疫原性は抗原の性質、例えば分子量、

溶解性、剤形中のアジュバンド／キャリアーによって影響をうける。さらに、遺伝型、免疫不全に関係する疾病、交差反応の原因になるかもしれない以前に治療に用いた他のタンパク質への曝露が、免疫原性に関与する可能性がある。投与ルートはホストの免疫反応に影響することがある。静脈内、腹腔内、経口、エアゾール投与などは耐性を招きがちであるが、皮下や皮内投与は強い免疫反応をおこすかもしれない。抗原の繰り返し投与は、一回のみの投与に比べて強い免疫反応を引き起こしがちである。

5.2 活性物質および剤形の変化

製造工程の変更により、糖鎖あるいはタンパク質の折りたたみ構造に変化が生じることがある。このような変化は理化学的方法によって常に出検できるとは限らないが、免疫原性の変化の原因になることがある。遺伝子そのものは同一であっても、様々な発現系の間では、翻訳後修飾に違いがあることがある。さらに現象を複雑にする要因としては、同一タンパク質であっても、組織によって糖鎖のパターンが異なるということであり、糖鎖は細胞周期やホルモン状態によっても影響をうける。さらに治療用タンパク質の抽出、精製などの工程は、タンパク質を変化させ、免疫原性を増強することもある。同様に不純物や賦形剤の質／量の変化によって、免疫原性が変わることもある。このような点に対しては、既に認可された製品と同等であるとして申請された新しい製品においては、特に注意を払わなければならない。凝集による新たなエпитープの出現といった変化が、剤形の変更、貯蔵条件の変更の後に観察されることがある。このような新しいエпитープが患者において免疫反応の原因となることがある。

5.3 免疫原性の検討

基本的な要件は、製品に対する抗体価の測定である。抗体価が低い場合、折りたたみ構造、あるいは線状のエピトープに対する抗体も検出可能な

十分な感度を有するスクリーニング系を用いる必要がある。このようなアッセイは、既存の製品と同等であるとして申請された製品の同等性／同質性の検証に使用可能である。免疫原性試験を計画するとき、既に考察したような免疫原性を生じさせる因子や、既存の製品について得られている経験を考慮すべきである。抗体を試験するためのサンプリングの周期とタイミングは、抗原のレベルを考慮に入れながら設定し、その妥当性を示すべきである。

もし抗体が検出されたら、抗体の特性を解析するための追加実験と、安全性、有効性、薬理学的パラメーターへの影響についての更なる検討が必要になる。一方、個々の患者をモニタリングする際の抗体試験値は、注意深く評価すべきであり、そのことが治療法の決定に影響しうる場合には、日常的な測定とすることが推奨される。

5.4 免疫原性の検討はいつ行うか？

同等であると主張した製品の申請時に、特に繰り返し投与が提案された時は、免疫原性の検討は常に行わなければならない。新しいバイオテクノロジー応用製品を開発するときには抗体反応の試験は常に必要である。既存の製品の製造工程に変更がなされた場合には、ケースバイケースに評価を行うべきである。変更のタイプ、免疫原性に関係する因子、同じかあるいは関連するタンパク質についてのそれまでの使用経験について、考慮すべきである。もしもタンパク質分子が複雑であるために詳細で信頼性における理化学的特性解析が十分にできない場合や、製造工程の変更による免疫原性への影響が否定できない場合は、免疫原性試験は必要である。

基本的には、重要な品質の変化がある場合は、承認前の免疫原性の検討が必要である。免疫原性の発生と誘導の予測は困難であるため、新しいバイオテクノロジー製品が出荷された後、少なくとも

一年間は、あらかじめ決められた間隔で、抗体の市販後モニタリングが必要と思われる。

以上のように、欧州では、生物製品の同等性／同質性評価のガイドラインとして残された問題としては、1) 非臨床試験および臨床試験による有効性、安全性評価の位置付けと方法、2) 同等性／同質性を評価する上での免疫原性試験の位置付けと方法、3) 先発メーカーによって承認をうけた既存の製品と同等であるとして後発メーカーから申請された製品の同等性／同質性評価の方法、の3点の議論が行われており、2003年3月を目途に、上記のドラフトをもとに、これらの問題を扱ったガイダンスノートが正式に施行される予定である。

3. 同等性／同質性評価における免疫原性試験に関する欧米の議論

主としてバイオテクノロジー応用製品を中心とした生物製品の製造方法の変更後の同等性／同質性評価法について、欧米で今現在最も議論をよんでいる問題は免疫原性評価の扱いである。

これはタンパク質を医薬品として用いた場合に経験した事故に基づいた懸念であり、遺伝子組換え技術を用いて製造したヒトタンパク質をヒトに投与した場合でも、免疫反応が生じる場合が少なくないという事実に基づいている。その原因としては、同一のアミノ酸一次配列のタンパク質でも、翻訳後修飾をうけて最終産物となる物質の場合など、生産に用いる細胞の違いによって差が生じる可能性が考えられる。また単純タンパク質の場合においても、生産方法の違いによって通常のリ化学的解析方法では検出が困難なような高次構造等に差が生じる場合があることが想定されている。

欧米でこの種の経験の具体的事例として、製造方法の違いによってインターフェロン α 2a、 α 2b、組換え第8因子等に免疫原性の違いが生じることが報告されている (Schelleken, H., *Nature Rev.*, 1, 457-462, (2002))。しかし最近 Casadevalle等による報告事例の場合は、同一起源の組換えEPOについて、複数の提携製造業者によって製造された製品間で、免疫原性の違いによると考えられる赤血球減少症が生じた製品があるという報告である (Casadevalle, N., et al., *N. Eng. J. Med.*, 346, 469-475 (2002))。この症状は特定の製造業者によるEPOの投与をうけた慢性腎不全患者の10,000人に1人の確率で生じるものであるが、同一起源の技術供与を受けて製造された製品でも、他の製造業者の製品では報告されていない。静脈内投与に比べて皮下注射で生じやすいことは明らかになってきたが、発症する患者群と非発症患者群間に違いは見出されていない。赤血球減少症を生じる製品とその他の製品間で原薬を特性解析しても、差は見出されていない。明らかになった差としては、赤血球減少症を生じる製品では、製剤にヒト血清アルブミンが添加されていないこと、および製剤が販売されるまでの貯蔵状態(特に温度)が厳密にコントロールされていなかった可能性があることである。しかし原因は未だ特定されていない (Bader, FG, in his presentation in the PDA/IABs Conference “Scientific Consideration for Comparability of Biopharmaceuticals” Prague, Feb 27, 2002)。

最近話題になっている原因不明のもうひとつの事例としては、Amgen社の組換えヒトロンボポエチン (rHuMGDF) があげられる。詳細なデータは公表されていないものの、rHuMGDFでは中和抗体は生じないにもかかわらずPEGを結合させたrHuMGDFに対しては中和抗体が生じる場合があり、PEG-rHuMGDFを投与された435人の患者のうち13人に、汎血球減少症が生じ、この免疫原性を改善できないま

まに開発中止を余儀なくされたという例が報告された (Wong C, in her presentation in the PDA/IABs Conference “Scientific Consideration for Comparability of Biopharmaceuticals” Prague, Feb 27, 2002)。

これらの例にみられることは、各種の特性解析技術をもってしても物性、構造等に差異が見出せない場合でも、臨床では免疫原性が原因と考えられる有害反応が生じる場合があることである。このような免疫原性の変化は、通常は動物を用いた非臨床免疫原性試験からは予測することができない。ヒト型タンパク質の免疫原性を調べる実験動物モデルとして、被験タンパク質に対する抗体を生成する遺伝子をノックアウトしたトランスジェニック動物を用いた動物モデルによる試験系は、今後の非臨床評価系として有望と考えられるが、現段階ではまだ研究段階にあるにすぎない。

このように、同等性／同質性評価において、構造変化の検出手段としての重要性にとどまらず、安全性の観点からも免疫原性の変化の検出は極めて重要なポイントと考えられている。しかし現在のところではヒトタンパク質のヒトでの免疫原性を適格に予測する手段は臨床試験以外にはない。さらに製造方法の変更によって生じる免疫原性の違いを原因とする有害事象の頻度は通常極めて低く、臨床試験を行って予測するにも、極めて多くの母集団を用いなければ困難である。したがって、現時点では、画一的な試験を課して予測データを得ようとするより、安全性への観点からの市販後調査を徹底させ、免疫原性の違いによって生じる有害反応が患者にみられる場合は、速やかに検出し、使用上の注意を徹底することが可能なモニタリングシステムを構築することが、現実的な対応としては重要であろう。

4. いわゆるGeneric Biologicals の同等性／同質性評価について

先発品と同等／同質であるとして申請された後発バイオテクノロジー応用医薬品等の生物製品の同等性／同質性評価については、議論が様々にある。

米国では1984年に発効した医薬品価格および特許期間規正法Drug Price and Patent Term Restoration Act（ハッチ・ワックスマン法Hatch-Waxman 法）により、いわゆるGeneric Drugs（ゾロ薬）については、略式新薬申請（安全性、有効性以外の全てのデータは申請に必要であるが、安全性、有効性は文献データで申請可能。ただし標準物質に対する生物学的同等性データが必要）でできることが定められ、医薬品資源の有効活用と医療費節約が図られた。しかし1997年に発効された公衆衛生法PHS Act の351節において、CBERの規制する生物製品については、安全性、純度、生物活性標準に適合することを製造業者自身が明らかにしなければならなくなり、上記の略式新薬申請は事実上不可能となっている。したがって、米国においては、法律的に略式新薬申請ができるBiologicsはない。

一方、欧州においても同様なGeneric drugsの略式申請の制度はあるが（65/65 EEC、87/21 EEC修正）、現在ヨーロッパ議会においてBiologicsに関する規定の修正案の検討が進んでいる（Directive 2001/83 への補遺1）。この修正が認められると（2003年3月末までにヨーロッパ委員会で表現が検討され最終案が出される予定）、生物学的に同等な医薬品（“biosimilar medicinal products” という表現が使われている）の場合、申請には前臨床試験および臨床試験が必要であることが明記されることになる。したがって、欧米においても、法律的に前臨床試験および臨床試験データを必要としない後発品の申請は、生物製品に関してできないことになる。

以上の経過は法律的な問題といえるが、このことはICHにおける「生物製品の同等性／同質

性評価に関するガイドライン」にも影響を及ぼし、いわゆる後発品はICHガイドラインの適用対象から除くことが2002年9月のICH管理委員会で決められた。

しかしながら、科学的な立場からすれば、後発品の同等性／同質性評価についても、先発メーカーによる同等性／同質性評価と同様の原則で行われるべきであることには変わりない。すなわち、後発品メーカーには、先発品メーカーが開発時に得る詳細な特性解析データはなく、かつ先発品開発時に安全性、有効性を確認するために非臨床試験、臨床試験で用いた標準物質もないので、後発品メーカーは安全性、有効性に関する試験を行わずして安全性、有効性を担保することは実際上できない。したがって後発品メーカーにおいては、必然的に前臨床試験、臨床試験を行わざるを得なくなる。これは非常に大きな製造方法の変更を行い、製品の特性プロファイルに影響がでた場合の先発メーカーの立場と変わりはない。したがって製造方法の異なる生物製品の同等性／同質性評価の原則には先発メーカーも後発メーカーも変わりはないとみなせる。その証拠として、2. に記したCPMPガイドラインの補遺における後発品の同等性／同質性に関する考え方も同様のものである。

5. 同等性／同質性評価における前臨床試験および臨床試験の位置付け

バイオテクノロジー応用医薬品においては、通常の化学合成医薬品に比べて、製造技術の革新が今現在でも活発になされている。このことを反映して製品の開発段階でも、また認可された後においても、純度、生産効率等を高めることを目的とした製造方法の変更が望まれる場面が少なくない。したがって、製薬企業からの要望においても変更を容易にする審査システムが望まれており、特に欧米ではその傾向が強いようである。製造方法の変更に伴う同等性／