

えることが必要とされている。製品が製造場所から医療機関まで輸送される場合には輸送時間や輸送条件（梱包方法、温度等）が設定されているかを確認しておく必要があるとされている。安定性試験プロトコールが、提案の輸送条件で製品の品質、無菌性、力価等を十分に保証するものになっているかを評価することも必要とされている。必要に応じて、第3相治験の開始まで、あるいは生物薬品としての承認申請までに安定性試験のバリデーションデータ必要になることを申請者に伝えておくべきとされている。

C.4.6 その他の問題

(1) 製品のトラッキング

自己及びオーダーメイド細胞治療薬では、申請者は治療薬の採取から投与までをトラッキングする計画を適切に立てるとともに、インキュベータやフード、あるいは凍結保存中に他の製品と厳密に区別できる方法を確立しておくことが求められている。申請者が提案している製品のトラッキングシステムや隔離方法の妥当性を審査報告書中に記載しておく必要があるとされている。

(2) 表示

もし複数の医療機関で製品が使用される場合には、確実に目的の医療機関に届けられるような表示を製品に施すことが必要とされている。さらに、製造全工程を通じた適切な表示がなされているかを審査官は審査報告書に記載することとされている。提案されている表示には、少なくとも製品製造の時期、保存方法、有効期間と使用時期、製品名及び患者を特定できるナンバリング等が含まれていることが必要とされている。自己由来製品の場合には、取り違えを避けるために患者を特定できる2種類のナンバリングをすることが重要とされている。

「治験薬の表示」基準に従って、治験用製品の表示には次のような記載が必要である；「注意：新薬一連邦法に基づき治験にのみ使用すること」。また、自己由来製品で患者の感染性因子のスクリーニングや試験を行っていない場合、あるいは製品での感染性因子の試験が行われていない場合は、ラベルに「バイオハザードについては試験されていない」との警告をラベルしておくことが望ましいとされている。「ヒト細胞組織利用医薬品のドナー適正」規則に則った追加の情報についても記載することが求められている。承認に当たっては、最終製品の容器、包装の表示は「生物学的製剤基準の容器/包装」基準に従ったものであることが求められている。

(3) 容器/蓋

IND 審査報告書にはどのような容器や蓋が用いられているのか明記しておくことが必要とされている。用いられている容器が製品の特性に合ったものであるかの記録も含まれる。さらなる情報として

は、「ヒト体細胞治療及び遺伝子治療ガイドライン」⁴⁷⁾及び「十分に特性解析されたバイオテクノロジー医薬品の第1相治験申請の内容と申請様式」⁴⁸⁾を参考にすることが必要とされている。

(4) 環境への影響

申請者は、「生物製剤基準」に従って環境への影響を評価するか、「例外規定」に従って問題ないことを明らかにすることが求められている。ヒト等の環境への影響が特に問題となる例外的な場合を除いて、通常はこの例外規定が適用されると考えられている。例外的な状況としては、環境への非常に有害な事象を引き起こす可能性があったり、特別な防御をしなければ環境に危険を及ぼしたり、居住環境に問題を起こすような場合に特別な考慮が必要と考えられている。環境への特別な考慮が必要ないか審査報告書に記載しておく必要がある。「ヒト医薬品や生物薬品の投与における環境への影響評価」⁶⁷⁾についてのガイドラインを参照することが求められている。

(5) 製造工程や製造施設のバリデーション及び品質評価

体細胞治療薬の製造においては往々にして複数の異なる原材料や試薬を用いることが必要になり、その結果としてウイルス等の感染性因子の混入の危険性が増加することが想定される。製造における一定性のモニタリングや製品の品質確保のための適切な精度管理を行うことと同様に、試薬や原材料の品質管理は、製品を使用する患者の安全や治療の恒常性、有効性の確保された製品を提供することにつながると考えられる。従って、治験薬ロットを製造し、臨床試験の開始前に最新のGMP規制(cGMP)に基づいた「品質管理責任基準」に書かれているように適切な製造管理が行なわれるようになっていくことが必須とされている。これには、品質保証や品質管理のためのプログラムや作業責任者の指名、その役割の指定も含まれている。審査報告書には、治験申請者の品質管理プログラムを記載しておくとともにその妥当性を評価しその結果についても記載しておくことが求められている。また、製品の品質管理や目的としている機能が保持していること、さらには感染性因子の伝播を防ぐ対策など含めて製造工程の評価が必要とされている。

治験申請書に記載された製造の切り替え工程の概略を記載するとともに、その際、個々の患者の製品の取り違えや他の製品との取り違えを防止する手段についても記載することが求められている。これらの工程は、治験第1相までには完成させる必要があり、原則的には作業エリアの洗浄方法、洗浄や消毒にどのような試薬を用いるのか、また使用する試薬の選択の妥当性や効力についても記載することが求められている。また無菌工程の妥当性について十分に評価することが必要とされている。最終製

品で殺菌工程を導入することが困難なため、殆どの細胞治療薬の製造は無菌工程で行われる。この無菌工程の恒常性を担保するために、これらの全ての無菌工程から培養液をサンプリングし、その無菌性を確認する試験を行うことが必要とされている。審査官は、申請者から提出されたデータについて医薬品製造及び品質管理部門の相談審査を行うべきとされている。さらに詳しい情報に関しては、「無菌工程で製造される無菌製品に関する指針」⁸⁸も参考にするように求められている。承認前に製造に用いられる全ての工程や施設についてバリデートされているべきであり、そのことを申請者に伝えることが必要とされている。

(6) 生物統計学

「化学、製造及び品質管理」に基づいた新薬治験審査においては、試験法のバリデーションや規格設定、製品の力価の評価、製品の安定性の評価等、多岐にわたる重要な試験のデザイン、解析データが必要とされている。適切な統計デザインの立て方や治験結果の解析は、製品の品質、安全性、有効性を保証するための基本的要件とされている。審査官は、治験デザインや治験データの解析計画が妥当であるかについて生物統計学部門の「化学、製造及び品質管理」に関連する箇所について相談審査を依頼すべきとされている。可能であれば、生物統計学部門からのレポートを審査報告書に記載しておくことが求められている。

C. 4. 7 前臨床試験

審査官は申請者から提出された治験計画の科学的妥当性を支持するための前臨床試験の情報を報告書に記載することが必要とされている。審査報告書のこの項には、製品の活性や有効性に関する動物や *in vitro* 実験から得られた前臨床試験の要約を記載することが求められている。

C. 4. 8 臨床研究

「化学、製造及び品質管理」審査に従って次の項目について簡単に要約を書いておくことが求められている。

(1) 治験タイトル

(2) 登録患者数

(3) 投与経路

(4) 投与量

この中には投薬計画や投与量の増量があるかについて記載しておくことが求められている。投与幅やそれぞれの投与量でどれだけの患者を登録するのかについても記載されている必要があるとされている。一人の患者でどのような投与量の増量を行

うのか、あるいは患者ごとにどれだけ増量された投与量の変化をつけるのか、また投与量の増量を行うとしたらその間隔の設定をどのように設定するのかについての記載も求められている。

(5) 投与間隔

ここでは、一回の投与サイクルで投与間隔をどのように設定するのか、また何回投与するのかを明らかにしておくことが求められている。

(6) 遺伝学的試験及び生化学的試験

臨床試験担当審査官と共同して患者の遺伝学的検査や製品に関連する生化学検査を行うことが適切かどうかを判断し、さらに臨床試験の間に適切かつバリデートされた試験が開発できるか判断することが求められている。また、生物活性を適切に反映している試験方法となっているかその感度や特異性を含めて評価し、その結果を審査報告書に記載しておくことが必要とされている。

C. 4. 9 勧告

新薬治験申請の審査官の審査に基づいて、追加の説明を求めるべき不完全あるいは不足している情報や他の事項に関して記載しておくべきとされている。また、「化学、製造及び品質管理」の観点から治験を進めてもよいかについて総合的な評価をすることが求められている。電話や Fax 等で申請者から得た追加の情報についても記載しておくことが必要とされている。そのような情報は、製品審査の記載要領の勧告欄に記載しておくか、あるいは審査報告書の添付文書として記載することが必要とされている。全てを記載後、署名、日付等を入れて上司の許可を得るように求められている。

C. 4. 10 申請者へのコメント

審査過程で未解決の事項について審査終了後、治験開始前に答えを出すべき事項や製品開発を進めて良い（治験の一時的停止を行う必要がない）とするのかをコメント案として作成することが必要とされている。「新薬治験申請における治験の一時的停止に関する通知」(SOPP8201)⁸⁹を参考にすることが求められている。審査官は、まとめた審査報告書について上司の許可を得た後、コメントを審査管理官に申請者からの手紙も添えて、送付しなければならないとされている。

(1) 治験の停止

FDA が治験の一時停止を設定した場合は、治験を進める前までに申請者は治験の一時停止を設定した事項について満足できるコメントを提出しなければならない。提出されるコメントは「新薬治験申請における一時停止に関する事項」にあげられる基準に合致していなければならない。

(2) 治験停止の設定しないケース

製品の開発を進めながら回答を出してもよいコメントもある。場合によっては申請者は製造の特別な問題について治験第3相の開始までに答えを提出する必要がある場合も想定される。どのような点がこのような分類に相当するのかを申請者に伝えておくことが求められている。

C. 4. 11 考察

今回検討したFDAの細胞治療INDガイドライン案は、細胞治療薬（細胞組織加工医薬品）の新薬治験申請に当たって、どのようなデータを申請者に求め、さらに審査報告書に記載すべき事項や治験開始前までに確立しておくべき事項や他の審査官と協議すべき事項など、細胞治療薬INDを審査する審査官への手引き書の形をとっている。しかし、審査報告書へ記載すべき事項としてまとめられている事項は、治験開始までに、あるいは治験最終段階までに整備されるべきデータや規格試験法の設定などが含まれており、IND申請をしようとする開発者にとっても有用な情報が盛り込まれている。安全性面からは、BSEを含む感染性因子の混入を防ぐ方策がどのようにとられているかを明らかにすることを求め、かつ製造に用いられる各種原材料からの混入防止策について明らかにされている。また、用いる抗生物質や製造に用いた原材料の製品への混入や生細胞率の最低基準を示すことも行われている。製品の品質や安定性面から、特性解析をどのように行うべきか、安定性試験のプロコールについても明らかにされている。治験によって明らかにすべき有効性をどのように立証していくかに関連して、製品の生物活性や力価の設定についても詳細に書かれている。これらについてはINDのどの段階までに最終的な答えを出すべきかについても触れられており、本ガイドライン案は日本における細胞治療薬（細胞組織加工医薬品）のIND審査あり方に非常に参考になると考えられる。

C. 5 遺伝子治療用医薬品の品質・安全性確保に関する研究—レンチウイルスベクター、レトロウイルスベクターの安全性確保

遺伝子治療は、現在、効果的な治療法のないガンや各種遺伝性疾患等に対する画期的な先端医療として、また、高齢化社会の到来に伴い増加の一途をたどると予測される糖尿病や動脈硬化等のいわゆる成人病に対しても、既存の方法より優れた治療法となる可能性がある新しい医療技術として期待されている。一方でアデノウイルスベクターを用いた臨床研究における死亡事故やレトロウイルスベクターを用いたX連鎖重症複合免疫不全症(X-linked severe combined immunodeficiency; X-SCID)の遺伝子治療におけるT細胞白血病の発症など、遺伝子治療により予想を超える重篤な副作用も生じて

いる。このように遺伝子治療のような革新的医療技術には、未知、未経験の要素が多く、治療法として確立するためには解決すべき課題が数多く存在する。今後、遺伝子治療が一般的に実用化されるための極めて重要な課題のひとつとなるのが安全性の確保である。遺伝子治療のように学問・技術が急速に進歩している分野においては、特にこれらの医薬品の開発、臨床研究の進展が著しい外国での学問・科学の進歩を踏まえ、国際的な水準からみた安全性確保方策の科学的妥当性について絶えず評価・検証する必要がある。

本研究は、以上のような現状を踏まえ、遺伝子治療に関する国際的動向、安全性確保方策の進展を調査し、我が国の遺伝子治療用医薬品の品質、安全性の確保に寄与する基礎的研究を行うものである。本年度はEU CPMPのレンチウイルスベクターの開発と製造に関するポジションステートメント案を基にレンチウイルスベクターの品質・安全性確保において考慮すべき点を検討した。また、レトロウイルスベクターを用いたX-SCID遺伝子治療の副作用としての白血病発症の機構と安全性確保のための方策について検討した。

C. 5. 1 レンチウイルスベクターの品質、安全性確保

マウス白血病ウイルスなどを元にしたレトロウイルスベクターは、現在の遺伝子治療臨床研究で最も広く用いられているベクターであるが、増殖性の細胞にしか遺伝子導入できず、導入効率も低いことが知られている。一方、ヒト免疫不全ウイルス(HIV)を代表とするレンチウイルスは同じくレトロウイルス科に属するが、非分裂細胞にも感染し、遺伝子を染色体中に効率よく導入することから、レトロウイルスの長所を持ち、*in vivo*で体細胞にも遺伝子導入可能なベクターとしての開発が注目されているが、安全性上考慮すべき点も多いと考えられる。昨年9月、EU CPMPよりレンチウイルスベクターの開発と製造に関するポジションステートメント(案)が公表された。以下にその概要を示す。

C. 5. 1. 1 序論

レンチウイルスはレトロウイルスファミリーに属し、ヒトの病原体であるHIV-1、HIV-2も含まれる。レンチウイルスから作成された非増殖性レンチウイルスベクター(以下LVと略す)は種々の細胞に外来遺伝子を導入する。他のレトロウイルスベクター、特にガンマレトロウイルス(従来はオンコレトロウイルスとして知られていたもの)に由来するベクターと異なり、非分裂細胞(幹細胞、リンパ球、樹状細胞、神経細胞など)に遺伝子導入可能である。従って*ex vivo*の他に*in vivo*での遺伝子導入手段として有用である可能性がある。さらに、他のレトロウイルスベクターと比べて遺伝子発現がサイレンシングされる頻度が低いいため、LVでは長期間に渡

る遺伝子発現の持続が期待できる。しかし、他のレトロウイルスベクターと同様、LV にも以下のような欠点がある。

- (1) 挿入可能な導入遺伝子や調節配列のサイズに限度がある (約 8kb)。
- (2) 高力価の安定なベクターの産生が困難。
- (3) 標的細胞のプロウイルス DNA 挿入部位近傍の内挿配列を活性化あるいは不活性化する可能性があり、発ガンの危険性がある。
- (4) レンチウイルスのゲノムはガンマレトロウイルスよりも複雑なため、ベクターのデザインが難しい。

現在、LV 開発の主な中心のひとつがヒトの悪性の病原体である HIV に由来するものであることから、他のレトロウイルスベクターと比べて品質、有効性、安全性の問題が一層重要視される。LV の製造と臨床使用に関する主な懸念は以下のとおりである。

- (1) LV 製造過程における増殖性レンチウイルス (RCL) の出現の可能性。
- (2) レンチウイルスの遺伝子との *in vivo* での組換えの可能性。
- (3) プロウイルス DNA が活性遺伝子内や遺伝子の近傍に挿入されることにより、発癌をイニシエーションあるいはプロモーションする可能性。

製造過程における RCL の混入に伴う生物学的有害性はどの LV でも同様であるが、混入を最小限にする方法は、他のレトロウイルスベクターの場合と同様である。

レトロウイルスベクターの品質、安全性に関する要件は現在の遺伝子治療薬に関するガイダンス⁷⁹に記載されている。このポジションステートメントは *ex vivo*, *in vivo* 使用を意図した LV の品質面にして述べたものであり、各 LV 製品の有効性や安全性について示したのではない。

C. 5.1.2 レンチウイルスの性質と LV 開発への影響

ヒトレンチウイルスの HIV-1, HIV-2 は CD4+ T 細胞及びマクロファージを標的とする、ヒトに対して高い病原性を持つ病原体である。他の霊長類や非霊長類のレンチウイルスはその種にとっては悪性の病原体であるが、現在の知見ではヒトには感染性あるいは病原性がないと考えられている。HIV は細胞の特異性が限定されていること、ヒト以外のレンチウイルスがヒトに感染しないことは、ウイルスエンベロープタンパクを他のウイルスの遺伝子に変換することにより克服可能で、広い細胞特異性を持つようになる。LV は非増殖性に設計されているが、そのようなベクターの臨床投与によりヒトに対する新たな病原体が生じる可能性が懸念される。しかし、現在は HIV の病原性に関する膨大な知識に基

づいて、(1)安全な HIV-based LV の設計、(2)HIV-based LV の定量と組換えにより生じる可能性のあるウイルスの検出に関する技術的なアプローチが可能となっている。それでもなお、上述のような HIV-based LV の臨床使用による安全性上の懸念から、適切なヒト以外の霊長類あるいは非霊長類のレンチウイルス、そのいくつかは現在の知識では人に対して病原性がないと考えられるものを用いた LV の研究開発が進められている。種々のサルに由来するサル免疫不全ウイルス (SIV)、ネコ免疫不全ウイルス (FIV)、ウマ伝染性貧血ウイルス (EIAV)、ヤギ関節炎脳炎ウイルス (CAEV)、ウシ Jembrana 病ウイルスなどが候補とされ、いくつかは開発中であるが、SIV、EIAV ベクターは利用可能である。非霊長類レンチウイルスの遺伝的構造は HIV-1 より単純であり、EIAV はレンチウイルスの中では最も単純なものである。ヒト以外の霊長類あるいは非霊長類のレンチウイルスは通常はヒトに感染性がないと考えられているが、これらに由来するベクターを人に感染させた結果は未知であり、安全性上の懸念、特に、変わりやすいリコンビネーションの起こったキメラレンチウイルスの水平感染や種を超えた感染の危険性は残る。従って、ヒト以外の霊長類あるいは非霊長類の LV が HIV-based LV と比べてはるかに安全性上有利であるかどうかについては議論の余地がある。

C. 5.1.3 LV の設計

LV 産生の基となる野生型レンチウイルスの病原性を減らし、LV の危険性を最小限にするため、考えられるあらゆる手段を講じるべきである。これは以下によって達成される。

- (1) 不必要な毒性/修飾遺伝子を除去した最小限のレンチウイルスゲノムを作成する。
- (2) LV 産生に不可欠なレンチウイルス遺伝子/配列を適切なコンストラクト/カセットに切り離し、RCL 産生の可能性を最小限に抑える。

現在、ほとんどの LV 産生において次のような 3 つ以上のプラスミドを用いている。

- エンベロープコンストラクト：ヘテロのウイルスエンベロープ蛋白、たとえばレンチウイルスのエンベロープを vesicular stomatitis virus glycoprotein (VSV-G) に置換してシュードタイプ LV 粒子を作成。
- ヘルパーコンストラクト：ウイルス蛋白の Gag, Pol をコード。
- 導入遺伝子コンストラクト (トランスファーベクター)：導入遺伝子と LV 発現ベクターの産生、パッケージングに必要な配列を含む。

特に、トランスファーベクターとパッケージング (エンベロープ、ヘルパー) コンストラクトとの配列の相同性は組換えを起こさないために最小限に

されている。トランスファーベクターに関しては、ベクターDNAの可動性と標的細胞へのプロモーター挿入による前癌遺伝子の活性化を軽減するために3' LTRにSIN (self inactivating; 自己不活化) 修飾を施したほうがよい。特に、HIV-based LVはベクターDNAの可動性と野生型HIVとの組換えを抑制するためにSIN修飾が推奨される。その他、パッケージングコンストラクトを2つのコンポーネントに分けたり、Rev非依存性システムの開発、レトロウイルスのポリアデニレーションシグナルを外来性のものに置換するなどの安全性を向上させるための修飾も、これらの変更がベクターの性能や理論的に危険性を増すものでなければ推奨される。RCL出現の可能性を含めてコンストラクトの特性をin vitro、in vivoで十分に検討することが必要である。

C. 5.1.4 LVの製造方法

LVはベクター産生細胞株にパッケージングコンストラクトとトランスファーベクターコンストラクトを一過性に共導入するか、あるいはLV粒子産生に必要なひとつ以上の(インデューシブル)パッケージングコンストラクトを含むパッケージング細胞株にトランスファーベクターをトランスフェクションすることにより生産される。現在は前者の方法がSINベクターを含む最新のコンストラクトの組合せを使える唯一の方法である。しかしながら、一過性発現による生産は製造ロットに限界があり、そのためにex vivo遺伝子導入のような初期に限られた臨床試験用の量しか供給できない。他のレトロウイルスベクターと同様にLV増幅に必要な全ての要素を含む安定なパッケージング細胞株を用いて製造すればLVの収量も増加するはずである。そのような細胞については現在の遺伝子治療薬に関するガイダンスに従って、導入した塩基配列全ての詳細とその品質、安全性に関して文書に記載する必要がある。

VSV-GのようなヘテロなウイルスエンベロープのコンストラクトをシュードタイプLV粒子の製造に用いる場合、そのエンベロープ遺伝子がLVロットに混入していないこと、内在性のあるいは飛び込みウイルスをシュードタイプしないことを調べる必要がある。また、LVロットへのGag/pol配列の混入も最小限にすべきである。

DNAの共導入により一過性にベクターを産生する場合、コンストラクトのDNAは高品質でなければならない。導入したプラスミドとLV粒子にパッケージされるトランスファーベクターについて全塩基配列を示す必要がある。ベクターの製造に用いる細胞は細胞基材に関するガイドライン(Q5D)⁵³に従うこと。可能であれば、LVロットのバッチ間での均一性を示すこと(例えば、臨床試験に用いた前回のパイロットバッチから得られた十分な分析データが利用可能な場合)。

C. 5.1.5 LVの特性解析と品質管理試験

どのLV製品でも遺伝子導入活性、ベクター粒子数、RCLが混入していないことについて十分に解析する必要がある。ロットリリースの規格は特性解析を行うための適切な試験に基づくこと(遺伝子治療薬ガイダンス⁷⁴参照)。一過性の遺伝子導入により産生したLVの場合、最終ロットに含まれる細胞由来及びプラスミド由来DNAの混入量の最大値を定めること。DNAを除去するためにDNase処理を考慮すること。VSV-Gその他のエンベロープ蛋白をコードするコンストラクト、あるいはGag/Polコンストラクトに由来するDNAがLV製品に混入する場合にはDNase処理は不可欠である。

十分に特性解析された製造ロットから自家参照品を樹立すべきである。

(1) 遺伝子導入活性

遺伝子導入活性の重要な点は遺伝子組み込み能、導入遺伝子の発現とその機能性である。遺伝子導入活性は粒子数、逆転写酵素活性、Gagとエンベロープ蛋白(あるいは他の蛋白質)との比率など、すべての関連するLVの性質と相関する必要がある。

a. 遺伝子組み込み(integration)能

遺伝子組み込み能はベクタープロウイルスDNAの標的細胞への組み込みにより測定可能である。標的細胞への組み込みは、遺伝子導入細胞を限界希釈し、導入遺伝子あるいはトランスファーベクターDNAに含まれるパッケージングシグナルΨを標的としたプローブを用いたNATアッセイを用いて評価することができる。

そのようなアッセイでは、以下の規格を含め、標準化された手法を用いる必要がある。

- (1) 感染に用いるLVのタイター
- (2) 遺伝子導入に用いる細胞株
- (3) 遺伝子導入時の細胞の培養条件
- (4) 遺伝子導入後、PCRを行うタイミング
- (5) 遺伝子導入された細胞数の定量
- (6) シュードタイプ特異的レンチウイルスの参照品

VSV-GによりシュードタイプされたLVの多くは広範な細胞に感染する。例えばレンチウイルスを含むシュードタイプレトロウイルスの検出に広く用いられるHEK293細胞のような細胞株は、異なる研究室で異なる培養条件によりその品質に多様性があることが知られている。このことはアッセイの標準化と結果の一定性に影響する可能性がある。

b. 導入遺伝子の機能性

LVにより導入された遺伝子の機能性の定量は導入遺伝子の発現産物の濃度と機能活性により測定する。このようなアッセイは、以下の項目及び遺伝

子組み込み能の項に示した考慮事項の規格を含めた標準的手法が必要である。

- (1) 感染に用いる LV のタイター
- (2) 遺伝子導入に用いる細胞株
- (3) 遺伝子導入時の細胞の培養条件
- (4) 導入遺伝子産物の発現のタイミング

(2) LV の粒子数測定

レトロウイルス粒子のルーチンの検出法はネガティブ染色電子顕微鏡法であるが、この手法によるウイルス粒子の定量は困難（粒子の可塑性、不安定性のため）であり感度も低い。しかしながら full (RNA+) の粒子と empty (RNA-) の粒子、エンベロープ蛋白陽性粒子と陰性粒子、感染性粒子と非感染性粒子を見分ける方法は他にはない。ウイルスの全粒子数(full 及び empty)は Gag 蛋白の含量と相関し、これは特異的な免疫アッセイにより測定できる。しかし、レンチウイルスの産生法によっては Gag が過剰発現し、遺伝子導入能を欠損した LV 粒子が産生される。それでもなお可能であれば、Gag 蛋白の量を測定し、LV の他の特性との相関を調べるべきである。例えば、各 LV 製品で Gag タンパク質と遺伝子導入能との関連が一定性であるというデータを提示する必要がある。レンチウイルスの場合、1pg の Gag 蛋白はほぼ粒子数 1×10^4 個に相当する。代替法として、ウイルスエンベロープあるいはカプシド蛋白を免疫染色して共焦点顕微鏡で可視化し、既知の濃度の蛍光粒子との相関を調べることで全粒子数を測定することが可能であるが、これはまだ一般的な方法ではない。

エンベロープ蛋白を欠いた不完全な LV 粒子が観察された場合、その比率を求めること。

ベクター-RNA 分子がパッケージされている LV 粒子数の測定にはバリデートされた核酸増幅試験 (NAT assay) を用いること。

逆転写酵素活性はベクターの LV のその他の特性、特に粒子数や遺伝子導入効率と相関するかもしれない。しかし、それだけでは LV ロットの特性解析としては不十分である。

(3) RCL 否定試験

現在の LV 産生系では RCL が生じる可能性を除くための安全装置が用いられているが、それでもなお RCL が LV ロットに混入する危険性が低いながらも残るため、適切な否定試験を実施すべきである。

RCL の存在レンチウイルスの gag/pol 配列の染色体 DNA への組み込みにより示され、これはいくつかの方法で測定可能である。例えば、RCL を感受性細胞に感染させた後、細胞上清を継代して RCL を増幅し、組み込まれた gag/pol 特異的核酸をリアルタイム定量 PCR で測定できる。HIV-1 を基にした LV の製造では、生じる RCL はいずれも HIV-1 とは gag と pol の遺伝子しか共通の配列を持たない。このような RCL の検出は HIV-1 の Gag 蛋白ある

いは gag 遺伝子配列を元に検出可能であるが、それには良くバリデートされた高感度なアッセイが既に利用可能であり、例えば p24 Gag イムノキャプチャーアッセイや gag RNA の PCR アッセイをそれぞれ用いることができる。代替法として、PERT (product enhanced reverse transcriptase) アッセイを感受性細胞での継代培養で RCL を増幅後に行うことも考慮すべきである、というのはこの方法は幅広いソースの逆転写活性を測定できるためである。他の代替法として、マーカーレスキューアッセイも RCL の検出と定量に考慮すべきである。

一般的に、RCL 試験に求められる定量限界は LV の予定投与量と製造ロットのサイズから決める必要がある。理想的には 1 投与量のベクターに含まれる一個の RCL を検出できることを立証すべきである。しかしながら、RCL アッセイの感度を示すためには適切で代表的な陽性対照あるいは標準品の選択が必要である。

どの RCL アッセイも良く特性解析がなされ、適切な陽性対照を入れて行うべきである。しかし、細胞への感染が必要な試験は一般的な参照品がないことからアッセイのキャリブレーションを行うことは難しい。現在のところ、VSV-G と Gag/pol をコードするレンチウイルスを RCL の感染性アッセイをモニターするだけのために作成することは、そのようなウイルスが病原性を持つことから望ましくないと考えられている。

C. 5. 1. 6 癌原性

プロウイルス DNA の組み込み部位は広範囲に及ぶことから、挿入変異による癌原性の危険性は、改変細胞の数及び細胞ゲノムあたりの組み込み数が増えるに従い増加する。LV ロットのインテグレーション能は適切な細胞株を用いて NAT 試験で評価するが、ベクター-DNA の挿入が起こっているヒトゲノム上の部位を同定し、in vivo で入りやすい活性遺伝子や局所のホットスポットを明らかにすることは安全性の確保に寄与すると思われる。例えば、臨床試験において LV で遺伝子導入した細胞での挿入部位のモニタリングは貴重な情報が得られるであろう。そのような調査では、LV で遺伝子導入した細胞の一部をとっておき、Alu-PCR により挿入部位のライブラリーを作成することを考慮すべきである。しかし、現在の技術的能力及び知見からこれはかなり難しい。

C. 5. 1. 7 ポジションステートメント案に関する考察

本ポジションステートメント案は今後遺伝子治療薬として臨床開発が期待されるレンチウイルスベクターについて基となるウイルスの性質、ベクターの特徴と欠点、安全性を確保するためのベクターの設計および製造方法、レンチウイルスベクターの特性解析と品質管理試験について最新の知見をも

とに有用な情報がまとめられているものである。

レンチウイルスに属する HIV はヒトにとって極めて有害な病原体であることから、それを遺伝子治療用ベクターとして活用するためにはベクターの設計や製造方法の段階から安全性確保のための特別の配慮が必要である。特に、レンチウイルスは染色体に組込まれることから、C.5.1.3 に示されているようにウイルスの LTR に含まれるエンハンサー/プロモーター配列を除去した SIN ベクター⁷⁴⁾を用いることが、挿入変異のリスクを抑えるのに重要と考えられる。また、組換えによる野生型ウイルスの出現が安全性上最も懸念される問題であることから、コンストラクトを複数のコンポーネントに分けたり、ウイルスの配列を可能な限り削除することが行われている。このような改変も、例えば C.5.1.3 に述べられている REV(HIV 構造蛋白質の翻訳に関与する制御蛋白質) 非依存性システムの場合、修飾蛋白質をひとつ除けることにはなるが、同時に REV のリコンビネーションなしに GAG/POL 蛋白質を作ることにもつながり、必ずしも安全性を高めるものではない可能性がある。

C.5.1.4 の製造方法に関して、SIN ベクターを含む最新のコンストラクトの場合、共導入しか方法がないとされている。これは pol 遺伝子にコードされているプロテアーゼや VSV-G 蛋白質が細胞に対して毒性が高く、安定なパッケージング細胞の樹立が困難なためである。しかし、最近ではこれらの遺伝子がベクターを産生する時だけ発現されるように発現制御を施したパッケージング細胞株も樹立されており、最新のベクターでもスケールアップが可能となっている⁷⁵⁾。

ベクターの特性解析、品質管理試験としては遺伝子導入活性、粒子数測定、増殖性ウイルス (RCL) 否定試験についてまとめられている。安全性確保の観点からは特に増殖性ウイルス否定試験が必要となるが、C.5.1.5(3)にも述べられているように RCL 試験を行うための陽性対照、標準品がないこと、病原性を持つウイルスを標準品として作成することはリスクが大きいことが問題である。

C.5.1.6 の癌原性については C.5.2 に述べるようにレトロウイルスベクターで挿入変異による発癌が現実のものとなり、同様に染色体に挿入するレンチウイルスベクターでもベクターの入りやすい部位、ホットスポットの解明や挿入の機構について十分な検討が必要と考えられる。なお、本案ではベクターの挿入部位のモニタリングを Alu-PCR で行うとされているが、C.5.2 に詳細を示す LAM-PCR (Linear amplification-mediated PCR) 法⁷⁶⁾がより適切であると思われる。

本案にまとめられている内容は、今後、日本におけるレンチウイルスベクターの開発と製造に関する安全性確保のあり方を考える上で非常に参考になると考えられる。

C.5.2 レトロウイルスベクターを用いた遺伝子治療における重篤有害事象と安全性確保対策

C.5.1 にも述べたように、レトロウイルスベクターは現在の遺伝子治療プロトコルの約 1/3 と最も広く使用されているベクターであるが、遺伝子導入効率が十分でないことなどによりこれまであまり大きな治療効果は得られていなかった。しかし、フランスのネッカー小児病院において 1999 年より実施された X-SCID に対するレトロウイルスベクターを用いた幹細胞遺伝子治療では、10 例中 9 例で非常に有効な成績が得られ、遺伝子治療で初の成功例とされた^{77,78)}。しかしながら、治療から約 3 年後、治療に成功した患者 2 名において遺伝子治療が原因となり T 細胞が異常増殖し、白血病を発症するという重篤な副作用の発現が一昨年判明し、遺伝子治療関係者に衝撃を与えた。ここではこの重篤な副作用の発現に関連して現在までに明らかになった事項、各国の対応、及び今後取るべき安全性確保対策について検討した。

C.5.2.1 X-SCID 遺伝子治療による副作用の発現機構

X-SCID は IL-2 受容体サブユニットのコモンガンマ鎖(γ_c)の遺伝的な欠損が原因で T 細胞、NK 細胞への分化の初期段階がブロックされ免疫不全を生じる疾患で、通常生後 2 年以内に感染症で死亡する。今回フランスで実施された遺伝子治療は小児患者より得た CD34⁺自己骨髄造血前駆細胞に対してレトロウイルスベクターを用いて *ex vivo* で γ_c 遺伝子を導入した後、患者に戻すという治療法で、10 例中 9 例において欠損していた成熟 T 細胞の出現、免疫機能の長期にわたる改善が認められ、特別な補充療法を受けなくても日常生活を送ることができるまでに回復した。しかし治療から約 3 年後、2 例において T 細胞の異常増殖、白血病様の症状が出現した⁷⁹⁾。1 例目は 2002 年 10 月に公表されたもので、生後 1 ヶ月の時に 9.2×10^7 個の遺伝子導入細胞を移植、30 ヶ月目までは順調に経過したが、2002 年 4 月の水痘罹患を機に T 細胞 ($\gamma \delta$ T 細胞) がモノクローナルに増加、34 ヶ月目には脾腫も出現した。また 2 例目は 2003 年 1 月に公表されたもので、生後 3 ヶ月の時に 13.3×10^7 個の遺伝子導入細胞を移植、T 細胞の回復が認められたが治療後 34 ヶ月で T 細胞 ($\alpha \beta$ T 細胞) のモノクローナルな異常増加と貧血、脾腫が生じた。現在は 2 人とも化学療法により状態は安定しているという。

この 2 例についてレトロウイルスの挿入部位を検討した結果、いずれも遺伝子導入直後は 50 ヶ所以上の挿入部位が LAM-PCR 法により検出されたが、T 細胞の異常増殖時には 1 クローンが増幅し、2 例とも LMO2 (LIM-domain only-2 protein) という遺伝子のプロモーター近傍にレトロウイルスベクターの挿入が認められ、LMO2 が異常発現していることが判明した⁷⁹⁾。LMO2 は造血の初期に働

く転写因子で、LMO2のトランスジェニックマウスはT細胞白血病を発症すること、またLMO2の染色体転座による異常発現により急性リンパ性白血病(T-ALL)が発症することが知られるT細胞の癌原遺伝子である。今回のX-SCID遺伝子治療ではレトロウイルスベクターの挿入によりウイルスLTRのエンハンサー活性が作用してLMO2のプロモーターが活性化され、LMO2が異常発現したことによりT細胞の異常増殖が引き起こされたこと、すなわち挿入変異(insertional mutagenesis)が白血病発症の主な原因と推測された。このような重篤な副作用の発生には以下のようなレトロウイルスベクターに共通の問題と、疾患、プロトコール特有の問題とが関与したと考えられる。

(1) 遺伝子の挿入変異のリスク

レトロウイルスベクターは遺伝子を染色体にランダムに組み込むことで遺伝子発現を行うため挿入変異のリスクは当初より想定はされていたが、これまでのレトロウイルスベクターを用いた前臨床、臨床試験の成績からはこの可能性はかなり低いものと考えられていた。しかし、X-SCID遺伝子治療では10例中2例でLMO2への挿入変異が認められ、さらにもう一例でもLMO2部位への組み込みが認められたという(この患者では今のところ白血病の発症は認められていない)⁸⁰。この結果からレトロウイルスベクターによる染色体への組み込みは従来考えられていたようにランダムに起こるものではなく、組み込み部位には選択性があり、挿入変異は予想以上の頻度で起こることが明らかとなった。

挿入変異については、マウスの実験でもレトロウイルスベクターでΔNGF受容体遺伝子を導入した骨髓細胞の移植により白血病様の異常が認められ、ベクター挿入による転写因子Evi1(ecotropic viral integration site-1)の活性化が原因であったことが報告されている⁸¹。これに関連して、最近、マウス白血病ウイルスMLVのヒト染色体への組み込みはランダムではなく、活発に転写されている遺伝子の転写開始部位付近に組み込まれやすいという性質があることが判明している⁸²。レトロウイルスは10kb離れていても遺伝子発現を増強することが可能であることから、ヒトゲノム中に100個以上の癌原遺伝子があるとすると、レトロウイルスによる遺伝子導入の0.1から1%は癌原遺伝子の異常につながる事が推定され⁸³、レトロウイルスベクターを用いた場合の挿入変異は相当高い頻度で出現する可能性がある。

組み込み部位に関しては、今回のX-SCIDの例ではLMO2がホットスポット、あるいはベクターの挿入によりLMO2が活性化された細胞は増殖性が優位であるために選択されてきたと考えられるが、それには疾患、プロトコール特有の問題とLMO2の性質が関係していると思われる。X-SCID患者ではT細胞の分化が阻害されているため、患者の骨髓

CD34+細胞にはT細胞前駆細胞の割合が高いと考えられる。さらにCD34+細胞を導入するとT細胞系の増幅が優位に働き、遺伝子導入細胞の多くはT細胞となることからT細胞白血病を発症しやすいことが推測される。LMO2は造血系前駆細胞すべてで発現しているが、分化に伴い低下する。LMO2は治療対象のCD34+細胞で発現しており、T細胞を形質転換させる能力をもつことからX-SCIDではLMO2による発癌が起こりやすくなると考えられる⁸⁴。ヒトゲノム上の遺伝子は30,000個程度であり、レトロウイルスは活性化遺伝子へ挿入されやすいこと、LMO2はCD34+で発現されていること、投与細胞数から計算すると今回の例ではどの患者でも1-10個⁷⁹、あるいは10-100個⁸⁴の細胞でLMO2にレトロウイルスが組み込まれていたと想定され、どの細胞でもT細胞白血病発症に至る可能性がある。

しかし、LMO2トランスジェニックマウス及びLMO2転座の場合でも、白血病発症までにはLMO2の活性化の他に更なる変異が必要と考えられている⁸⁴。LMO2部位への挿入は三人目の患者でも認められているが、この患者ではLMO2の活性化、白血病様の症状は今のところ認められていない。従って、LMO2部位への挿入のみで白血病の発症に至るわけではなく、さらにリンパ球の異常増殖を開始、促進させるような付加的要因が関与していることが示唆される。

(2) 導入遺伝子の発現によるリスク

導入遺伝子が白血病発症の要因の一つである可能性も指摘されている。X-SCIDの場合、導入遺伝子のγcはT細胞増殖因子として作用するIL-2、-4、-7、-9、-15、-21(すべて単独あるいは他の因子と共同でT細胞の増殖因子として作用するサイトカイン)の受容体の共通サブユニットであるが、これらのサイトカイン受容体は白血病発症とも関与しており、例えば、IL7受容体はほとんどのT-ALLで発現されており、白血病T細胞のDNA合成、セルサイクル促進、アポトシス抑制に働くという⁸⁴。また、マウス血液癌のレトロウイルス挿入部位のデータベース(mouse retroviral tagged cancer gene database)をサーチした結果、T細胞白血病細胞でLMO2遺伝子、γc遺伝子の両方の部位に挿入されている例が見いだされている⁸⁵。この例ではLMO2の発現が上昇し、X-SCID患者の白血病細胞と同様の所見であったことからLMO2とγcとの共同作用による発癌が遺伝的に示唆される。X-SCID患者の白血病細胞ではγcの過剰発現は認められていないが、γcが遺伝子導入細胞の増殖や分化に作用することでオンコジェニックに働いた可能性は考えられる。

(3) その他のリスク要因

さらに2例の患者におけるT細胞の選択的増殖、

白血病発症には以下の要因が関与した可能性が考えられる。

①2例とも患者に戻した CD34+細胞の数が他の患者と比較して最も多かった (1.8×10^7 細胞及び 2.0×10^7 細胞/kg、治療の平均値は 4.3×10^6 細胞/kg)。このため挿入変異の起こった細胞が投与されるリスクが高まった。

②発症した2例は治療時の年齢が最も低かった(生後1ヶ月と3ヶ月、その他の患者は6ヶ月以上)。患者の年齢が低い場合には幹細胞のサブセットが異なり、挿入変異のリスクが高いT細胞前駆細胞の比率が高く、また細胞の増幅能も高いため異常増幅が起こりやすい可能性がある⁸⁹⁾。

③発症した1人の患者は腫瘍多発家系で染色体の転座も認められており、また水痘罹患がきっかけとなってT細胞の選択的増幅が起こった。もう1人の患者は他のT細胞オンコジーン(TAL1, SCL)に変異が認められている。これらの要因がLMO2部位への挿入に加えて白血病の促進に関与した可能性がある⁸⁷⁾。

C.5.2.2 各国の対応

1例目の報告(2002年10月3日公表)を受けてすぐに英国を除く各国でX-SCID遺伝子治療、あるいは国によってはレトロウイルスベクターを用いた遺伝子治療全てが一時中止・凍結とされた。米国ではFDA/CBER/BRMACが2002年10月10日、レトロウイルスによるX-SCID遺伝子治療の安全性に関わる公聴会を開催して発症の原因や代替法との比較などの検討により対応を協議した⁸⁸⁾。SCID-X1の治療法はHLA適合ドナーがあれば骨髓移植が第1選択であるが、完全に適合した場合で生存率が84%、半一致では60%であり、またSCID患者では骨髓移植でも1-5%にリンパ性増殖性疾患が発生する。これまで得られた知見と治療のリスク・ベネフィットを考慮して、レトロウイルスベクターを用いたSCIDに対する幹細胞遺伝子治療は全面的な凍結、中止とはせず、治療プロトコルの見直し、患者のモニタリング体制の強化及び白血病が発症した事実も含めて発症のリスクを患者に説明し、治療中の患者を含めてインフォームドコンセントを取り直すことを条件として治療を再開するという方針が示された。

しかし、2003年1月に公表された2例目の白血病発症の報告を受けて、FDAはレトロウイルスベクターを造血幹細胞に導入する全ての遺伝子治療臨床試験の一時中止を発表するとともにレトロウイルスベクターを用いた過去の遺伝子治療の副作用についても再調査を行った⁸⁹⁾。2003年2月にはFDA/CBER/BRMACの会議で遺伝子治療の再開に向けて議論し⁹⁰⁾、諮問委員会はX-SCIDに γ_c 遺伝子をレトロウイルスベクターで導入する治療法については他に有効な治療法がない場合に限って認めるべきであること、またレトロウイルスベク

ターを用いたその他の幹細胞遺伝子治療については治療のリスク・ベネフィット、適切なインフォームドコンセント、代替法のリスク・ベネフィットについてケースバイケースでレビューした後に一時停止を解除すべきであるという勧告を出したが、FDAとしての決定はまだ出されていない。

その他の国の現在の対応状況は参考文献⁹¹⁾によると以下のとおりである。

英国：SCID遺伝子治療はケースバイケースで評価し、継続実施されている。

フランス：一時的な中断の後、2004年1月からX-SCID遺伝子治療の再開が認められた。

イタリア：2003年12月まではレトロウイルスベクターを用いた遺伝子治療が全て中止された。新しいルールが現在待たれている。

ドイツ：レトロウイルスを用いた遺伝子治療全てが一時中断されたが、2003年2月に再開された。

ヨーロッパ：統一された規制はない。幹細胞遺伝子治療については生命を脅かす疾患の場合リスク・ベネフィットを注意深く評価した後で認められるべきとされている。

C.5.2.3 日本における対応

我が国では東北大でネッカー小児病院との共同研究として計画されたX-SCID遺伝子治療が遺伝子治療臨床研究作業委員会で承認され患者の選定作業中であつたが、1例目の報告を受けて実施は保留とされた。さらに2例目の報告を受けた2003年1月の遺伝子治療臨床研究作業委員会では、(1)東北大におけるX-SCIDに対するレトロウイルスベクターを用いた造血幹細胞遺伝子治療は保留のまま据え置くこと、(2)北大で計画されたADA欠損症(ADA-SCID)に対するレトロウイルスベクターを用いた造血幹細胞遺伝子治療は研究計画を再検討すること、(3)癌研での乳がんに対するレトロウイルスベクターを用いた造血幹細胞遺伝子治療の今後の実施を当面差し控えることと既に実施したものについては経過観察を続けること、(4)その他のレトロウイルスベクターを用いた遺伝子治療臨床研究について、既に実施したものについては慎重に経過観察を続けることと今後実施するものについては有用性と有害事象との関係において慎重に取り扱う必要があることが示された。その後、2004年10月の厚生科学審議会科学技術部会においてレトロウイルスベクターを用いた2種類の遺伝子治療(北大のADA欠損症における血液幹細胞を標的とする遺伝子治療および筑波大学付属病院で計画された同種造血幹細胞移植後の再発白血病に対するヘルペスウイルスチミジンキナーゼ導入ドナーTリンパ球輸注療法)が審議され、遺伝子治療のリスク・ベネフィットを考慮し、フランスでの有害事象を受けて予想される副作用と危険性についてのインフォームドコンセントへの追記及び患者のモニタリングを強化した実施計画の変更が承認され再開が認

められている。

C.5.2.4 今後の安全性確保対策と課題

遺伝子治療の実施にあたってはリスク・ベネフィットの考慮が非常に重要となる。X-SCID 遺伝子治療はベネフィットも非常に大きいですが、フランスで実施されたレトロウイルスベクターで γ_c 遺伝子を導入した骨髄幹細胞を患者に戻す治療法は現在の段階では白血病発症のリスクが相当高いことから、その実施、再開にあたっては米国の BRMAC の勧告にもあるように他に有効な治療法がない場合に限って認められるべきであり、さらにプロトコールの見直しや患者の血液細胞のクローナリティのモニタリング、あるいは後で解析を行うための患者試料保存の実施が必要と思われる。

2002年12月4-6日に行われた米国組換え DNA 審議会 (RAC) では X-SCID 遺伝子治療患者のモニタリングとその評価に関するプロトコールの試案が出されている⁹²⁾。その内容は以下のとおりである。

- (1) 末梢血サンプルについて 6 ヶ月ごとに LAM-PCR を行いクローナリティを調べる。
- (2) LAM-PCR で異なる 2 つの時点 (90 日以内) のサンプル間で遺伝子導入細胞の 20% 以上のクローンが 2 倍以上の増加を認めた場合はオリゴクローナル、モノクローナル増加とみなし、次の検査を行う。
 - (i) リンパ球増加による臨床的評価
 - (ii) 血清学的検査
 - (iii) 末梢血検査—リンパ球増加, 白血球増加, 骨髄浸潤(血液減少)
- (3) 末梢血の免疫学的検査により異常クローンを含む細胞群の免疫学的表現系を同定する。モノクローナルな細胞群が検出されたら挿入部位の同定を行い、ベクター挿入と遺伝子発現異常との因果関係を検討する。
- (4) オリゴクローナル、モノクローナルな細胞集団が認められた場合、より頻繁にフォローを行う。少なくとも 2 年間の間 LAM-PCR を 90 日ごとに実施し、白血病発症の有無を追跡調査する。
- (5) 一生涯にわたり定期的にモニタリングを実施。

このような挿入部位のモニタリングはクローナリティの変化を調べることはできるが、患者の発症のリスクを予測、診断するものではないので他の臨床検査、血液学的検査も同時に行う必要がある。また治療施設にとっては負担が大きく、むしろ幹細胞遺伝子治療を実施した患者から定期的に採取した骨髄、血液サンプルを保存し、いつでもレトロスペクティブな分析が可能なる状態にすることの方が大事ではないかという意見もある⁹¹⁾。

レトロウイルスベクターは染色体に遺伝子が組

み込まれてはじめて遺伝子を発現して作用するのであることから、挿入変異はベクターの本質的な問題であるが、遺伝子治療の安全性を確保するためには挿入変異のリスクを可能な限り減らすことが重要である。挿入変異のリスクはベクターの用量、治療に用いる細胞数、細胞の種類、ベクターの種類、発現遺伝子、対象疾患に依存する⁸⁷⁾。挿入変異による副作用発現のリスクを減らすには次のような方法が挙げられる^{87,93)}。

①細胞あたりの遺伝子導入数の低減と患者に戻す遺伝子導入細胞の数の低減。

MOI が高いと望ましくない部位への挿入リスクが高まり、細胞数が多いと望ましくない部位に挿入された細胞が患者に投与される確率が高まる。しかし、これらの低減により治療効果が低下する可能性がある。

②安全性を高めた改良型ベクターの開発。

レトロウイルスベクターの 3'LTR のエンハンサー活性が問題となることからエンハンサーを除去した SIN ベクターの開発や、挿入変異が生じた場合にベクターを除去できるような機構を取り入れたベクターの開発。

これらはすぐにも実現が可能と思われる。

③安全な細胞だけを戻す方法の開発。

少量の幹細胞に遺伝子導入を行い、患者に戻す前に遺伝的解析を行い、あらかじめ問題のない部位に挿入された細胞だけを患者に戻すことができれば望ましい。しかし、現在の挿入部位を検出する方法では細胞が破壊されてしまうため、移植前に挿入部位を特定することは技術的に不可能である。

④ベクターの挿入機構の解明と望ましくない部位への挿入を回避できるベクターの開発。

⑤安全な挿入部位を明らかにし、これらの部位を標的としたベクターの開発。

これらを実現するには十分な基礎研究が必要である。また、あわせて前臨床段階でリスクを評価できる非臨床安全性試験法の開発、癌原遺伝子の活性化や癌抑制遺伝子の不活化を高感度に測定する方法の開発が望まれる⁸⁷⁾。ベクターの挿入部位の解析法は患者の細胞の挿入部位、クローナリティのモニタリングやベクターがどこに入りやすいかを検討するためにも重要な手段である。現在は C.5.1 でも触れた LAM-PCR 法⁷⁶⁾ がよく用いられている。この方法はレトロウイルスとゲノムの融合部位の配列を調べることが可能な方法で、PCR のバンドの数を解析することによりおおよそのクローナリティを知ることができるため、レトロウイルスベクターの挿入部位を検出するにはすぐれた方法であるが、かなり複雑なステップを含むため汎用性に向け、ベクターの導入効率の低い場合などには定量性にも欠けるといわれる問題も指摘されている。最近、日本

においてクローンの存在状態を反映するような遺伝子増幅が可能な LAM-PCR 法の改良法が開発されたと報告されている⁹⁴⁾。このような評価技術の開発が、より安全なベクターの開発、遺伝子治療の安全性確保につながる事が期待される。

挿入変異に関しては HIV-1 や AAV でもヒトゲノムへの組込みはランダムではなく、活性化遺伝子に入りやすいことが報告されており^{82, 95, 96)}、遺伝子を染色体に挿入することで機能するレンチウイルスベクター、AAV ベクターもレトロウイルスベクターと同様に挿入変異のリスクがあると考えられる。しかし、遺伝子治療により染色体に組み込まれた遺伝子からの長期的な遺伝子発現が得られることによるのみ根本的な治療が可能となる疾患もある。遺伝子治療のリスク・ベネフィットを見極め、疾患と治療遺伝子に対する理解を深め、各ベクターおよび導入遺伝子に固有のリスク要因を明らかにした上でベクターの改良や新たなベクターの開発を行うことが今後の遺伝子治療の安全性確保には重要であると思われる。

C. 6 わが国におけるマスターファイル制度のあり方に関する考察

我が国においても医薬品の承認申請資料はコモンテクニカルドキュメント (CTD) に基づいて作成されるようになりつつある。しかしながら、現行の医薬品の承認・許可制度の下で CTD を運用した場合、我が国と欧米との間の制度の違い(日本: 製造承認、欧米: 販売承認) が原因となって、欧米企業との間で種々の軋轢が生じることも予想された。こうしたことから、ICH による医薬品規制の国際調和が実質的な成果を挙げるためには、我が国の承認・許可制度を欧米と共通のベースを持つものに改める必要があるとの声が高まり、非加熱血液製剤によるエイズ感染や乾燥ヒト硬膜の移植によるヤコブ病感染のような薬害が新たに発生するのを防止するために、生物由来医薬品や医療機器に対する安全対策の強化が求められていたこともあって、平成15年7月に薬事法の改正が行われた。

この改正では、我が国の医薬品の承認・許可制度が欧米と同様の販売承認をベースとしたものに抜本的に改められ、元売業者(ライセンスホルダー) が医薬品を市場に供給するに当たっての最終責任を負うこととされるとともに、全面的な委託製造の実現、原薬等登録原簿〔マスターファイル (MF) 〕制度の導入、GMP の承認要件化などが図られている。

このうち、マスターファイル制度の導入に関しては、改正薬事法が平成17年4月に施行されるのに向けて、現在、マスターファイル検討会(厚生労働省医薬食品局審査管理課)において、その具体的な内容の検討作業が進められている。

本研究では、原薬などの製造業者が、製造方法などに関するノウハウを含む情報を、製剤の承認申請者に開示することなく、規制当局の審査に提供できるようにするというマスターファイル制度の狙いを実現するには、わが国の制度をどのようなものとすべきかについて検討した。

C. 6.1 日本と欧米の医薬品承認・許可制度の比較

C. 6.1.1 医薬品の承認・許可対象

現行のわが国の制度(製造承認)は製造行為に着目したものであり、原薬も製剤も承認の対象とされている。一方、欧米の制度(販売承認)においては、市場に出回って患者に医薬品として投与されるのは製剤であることから、製剤が承認の対象とされており、原薬は製剤を構成する重要な成分として、詳細な資料の提出が求められている。

わが国においても、改正された承認・許可制度の下では、欧米と同様に、製剤だけが承認(販売承認)の対象となり、原薬は独立した審査対象ではなくなり、製剤の一部として審査されることになる。

C. 6.1.2 医薬品の承認事項

わが国では、承認の対象は医薬品承認書である。一方、欧米では、承認裁定書(承認状)、資料概要、試験報告書、添付文書、表示内容などが承認の対象となっており、わが国に比べて対象とされている範囲がかなり広い(Table 10)。

わが国においても、改正薬事法の下では、医薬品承認申請書にその製造方法を詳細に記載することなどが求められるようになる。製造方法の詳細な記載を義務づけるには、その裏付けとして原薬等の製造業者の知的財産権(ノウハウ)を保護する必要がある、そのための制度として原薬等登録原簿〔マスターファイル (MF) 〕制度の導入が図られたものである。

C. 6.2 欧米のドラッグマスターファイル (DMF) 制度

DMF 制度は、製剤の承認申請者と原薬の製造業者が異なっており、原薬の製造業者が製造方法などに関するノウハウを含む情報を承認申請者に開示したくない場合に、当該情報を DMF として登録しておく制度である。

製剤の承認申請者が承認申請資料において関連する DMF を引用することによって、規制当局は、DMF に記載された原薬に関する情報を承認申請資料の一部として審査できるようになる。DMF が単独で承認の対象となることはないが、承認取得後には、DMF は他の承認申請資料とともに承認事項の一部となり、内容に変更があれば承認事項の変更の手続きが必要となる。

C. 6. 2. 1 米国のDMF制度 (Fig. 40参照)

(1) 登録の時期および対象

治験の申請時あるいは新薬の承認申請時に、原薬、中間体、製剤、医薬品添加剤、包装材料等の製造業者から、FDAのDMF担当部局に提出され、登録される。

(2) 登録は任意

DMFへの登録は、製造業者の自主判断でよく、法的要件ではない(任意登録制)。提出されたDMFは、形式に問題がなければ、登録が受け付けられ、2~3週後にFDAからDMF番号が文書で通知される。

(3) 登録内容

- A) 医薬品製造工場登録番号
- B) 住所
- C) 会社の方針
- D) 組織及び人員
- E) 建物及び設備
- F) 製造設備
- G) 製品 - その成分及び組成
- H) 製品及びプロセスコントロール
- I) 品質管理
- J) 環境に対する影響分析

(4) 承認申請書に DMF 番号を記載するとともに、DMF 保有者から参照許可状を提出

製剤の承認申請者は、製造に使用した原薬等のDMF 番号を申請書に記載することにより、申請資料の一部に代えることができる。DMF 保有者は、申請者からの要請を受けて、FDA宛にDMF参照許可状を提出する。

DMFの登録内容をFDAが検討するのは、実際に製剤の治験申請あるいは承認申請が行われ、登録内容の審査が必要になったときだけである。

(5) 登録内容の変更手続き

DMFの登録内容の変更で、品質に影響がある場合には、その都度、変更申請資料をFDAに提出するとともに、製剤の承認取得者にDMFの内容を変更したことを通知する必要がある。また、年1回、登録事項の現在の内容についてFDAに報告することとされている。

C. 6. 2. 2 EUのDMF制度

(1) 登録の対象

EUでは、DMFに登録できるのは原薬のみとされており、

①欧州薬局方(EP)またはEU加盟国の薬局方に未収載の原薬

②EPまたは加盟国の薬局方に収載されている原薬ではあるが、薬局方に記載されていない不純物が

生じる可能性のある方法で製造され、かつ、収載された各条ではその不純物について十分な品質管理ができない原薬が対象とされている。

(2) 申請者パートと原薬製造者限定パート

EUのDMF(EDMF)は、申請者パート(Applicant part)と原薬製造者限定パート(Active Substance Manufacturer Restricted Part)から構成される。

申請者パートは、原薬製造業者から製剤の承認申請者に提供され、承認申請資料に含まれる部分である。申請者パートには、通常、製造方法の簡単な概要、製造方法に由来する不純物、単離操作に由来する不純物(天然物)、分解に由来する可能性のある不純物に関する情報、および該当する場合には、規格設定不純物の毒性に関する情報が記載される。

原薬製造者限定パートは、規制当局に対してのみ提供される部分である。原薬製造者限定パートには、反応条件、温度、バリデーション、および製造工程の重要なステップの評価データなどの製造方法の個別ステップに関する詳細な情報、ならびに製造中の品質管理に関する詳細情報が記載されるが、これらの情報にはノウハウが含まれることがあるので、規制当局に対してのみ提供される。

原薬製造業者は、承認申請がなされた後、直ちに両パートをDMFとしてまとめて審査当局に提出する。原薬製造者限定パートに変更が生じた場合には、規制当局のみに通知する。一方、申請者パートが変更された場合は、当該DMFに関連するすべての販売承認申請者および承認取得者に通知しなければならない。

(3) 内容の変更手続き

EDMFの内容の変更手続きは、Type I(申請後30日で審査)とType II(申請後90日で審査)に分かれている。品質に関する変更手続きは、Type Iとされるものが多く、手続き開始後30日以内に規制当局より異議がなければ、承認されたものと見なされる。

C. 6. 3 改正薬事法における原薬等登録原簿に関する規定(抜粋)

平成15年7月に改正された薬事法には、原薬等登録原簿に関して下記のような規定がある。

第14条 (原薬等登録原簿登録内容の承認審査への活用)

4 第1項の申請に係る医薬品、医薬部外品、化粧品又は医療機器が、第14条の11第1項に規定する原薬等登録原簿に収められている原薬等(原薬たる医薬品その他厚生労働省令で定める物をいう。以下同じ。)を原料又は材料として製造されるものであるときは、第1項の承認

を受けようとする者は、厚生労働省令で定めるところにより、当該原薬等が原薬等登録原簿に収められていることを証する書面をもって前項の規定により添付するものとされた資料の一部に代えることができる。

第14条の11（原薬等登録原簿への登録）

原薬等を製造する者（外国において製造する者も含む。）は、その原薬等の名称、成分（成分が不明のものにあつては、その本質）、製法、性状、品質、貯法その他厚生労働省令で定める事項について、原薬等登録原簿に登録を受けることができる。

2 厚生労働大臣は、前項の登録の申請があつたときは、次条第1項の規定により申請を却下する場合を除き、前項の厚生労働省令で定める事項を原薬等登録原簿に登録するものとする。

3 厚生労働大臣は、前項の規定による登録をしたときは、厚生労働省令で定める事項を公示するものとする。

第14条の11第1項に「原薬等を製造する者（外国において製造する者も含む。）は、・・・原薬等登録原簿に登録を受けることができる。」と規定されていることから分かるように、マスターファイルに登録するかどうかは、欧米と同様に法的義務とはされておらず、原薬等の製造業者の自主判断に任せられている（任意登録制である）。

第14条の12（登録申請の却下） 略

第15条（登録事項の変更）

第14条の11第1項の登録を受けた者は、同項に規定する厚生労働省令で定める事項の一部を変更しようとするとき（当該変更が厚生労働省令で定める軽微な変更であるときを除く。）は、その変更について、原薬等登録原簿に登録を受けなければならない。この場合においては、同条第2項及び第3項並びに前条の規定を準用する。

2 第14条の11第1項の登録を受けた者は、前項の厚生労働省令で定める軽微な変更について、厚生労働省令で定めるところにより、厚生労働大臣にその旨を届け出なければならない。

第16条（登録の抹消） 略

第15条では、登録事項の変更に関して、軽微でない変更の場合には「原薬等登録原簿に登録を受けなければならない」（第1項）とし、軽微な変更の場合には「厚生労働大臣にその旨を届け出なければならない」（第2項）としており、変更が軽微かどうかで扱いが異なってくる。このため、第15条第1項で「軽微な変更」につ

いて「厚生労働省令で定める」こととされている。

この「軽微な変更」とはどのような変更を指すのかに関しては、平成15年度の厚生労働科学研究「医薬品の製造方法等の変更に伴う品質比較に関する研究」（主任研究者：奥田晴宏国立医薬品食品衛生研究所有機化学部長）において検討が進められている。奥田班は、薬事法の改正で医薬品承認書に製造方法の詳細な記載を求める（製造方法の詳細が承認事項となる）に当たって、その変更に関しても、軽微なものは届け出で済むが、軽微でないものについては一部変更申請を行う必要があるとされているため、厚生労働省審査管理課の要請で「軽微な変更」の定義を定めることを目的として研究を行っているもので、マスターファイル制度における「軽微な変更」についても、奥田班の検討結果に基づいて定められる指針によって判断することとされている。

上記の薬事法条文に見られるように、マスターファイル制度の詳細については「厚生労働省令で定める」こととされている。このため、マスターファイル検討会が組織され、具体的な内容についての検討作業が進められている。

C.6.4 マスターファイル検討会における論点

C.6.4.1 これまでの検討経過

第1回検討会（平成15年3月14日）

- ・マスターファイル制度に関する自由討論

第2回検討会（平成15年5月30日）

- ・マスターファイルの登録項目
- ・マスターファイルの登録・変更手続きなど

第3回検討会（平成15年9月4日）

- ・パブリックコメントについての検討
- ・医療機器材料その他のマスターファイル登録事項など

第4回検討会（平成16年3月12日）

- ・マスターファイルの利用に関する指針
- ・マスターファイルの電子化など

C.6.4.2 マスターファイル検討会での論点ならびにマスターファイルの利用に関する指針案について

(1) マスターファイルの登録対象

上述のように、米国のDMFにおいては登録の対象が原薬、中間体、製剤、医薬品添加剤、包装材料等と広いのに対して、EUのDMFでは登録の対象が原薬に限定されている。

この点に関しては、日薬連などの業界側から、その製造等に企業ノウハウが存在し、申請医薬品の品質の審査に必要な物は登録対象とすべき

であるとの意見が出され、これに基づいて、

- ・専ら医薬品の製造に用いる医薬品及びその原料
- ・医薬品の製造に用いる医薬品以外の成分
- ・医療機器の製造に用いられる材料
- ・医薬品の包装材料

などを対象とするとの案が提出された。

検討会における論点は、医薬品中間体や製剤バルクを対象に含めるかどうかという点であったが、結局、原薬等登録原簿の利用に関する指針（案）（指針案：小嶋資料2）の2(2)①項にあるように、「すべての医薬品・医療機器の製造の用に供される原料又は材料について対象とすることができる。」とされた。具体例として、次のようなものが挙げられている：

- ・ 医薬品原薬及び中間体
- ・ 製剤原料（バルクのうち特殊な剤型等）
- ・ 添加剤
- ・ 医療機器材料
- ・ 容器・包装材（承認審査において必要性を認められたものに限る。）

残された問題点は、対象範囲を広くした場合、マスターファイル制度の運用を担当する独立行政法人医薬品医療機器総合機構（総合機構）にそれだけ多くのキャパシティが必要となることであるが、この点については、制度の運用の中で必要な体制を整備していくべきものと考えられる。

(2) マスターファイルの登録事項

業界側から、マスターファイルの登録事項は、登録対象の原薬等の審査に必要な内容を登録できる事項と位置づけるべきであり、登録すべき事項（必須登録項目）として規定するのは好ましくないとの意見が出された。

指針案においてもこの意見が採用され、2(2)③項に「登録することができる事項は、製造所の名称等の登録証記載情報の他、成分及び分量又は本質（主として医薬品原料）、製造方法、規格及び試験方法、安定性に関する情報、貯蔵方法及び有効期間等、安全性等に関する情報（主として新添加剤）の範囲である。」のように、登録することができる事項であることが明記された。

なお、登録証記載情報は下記の通りである：

- ・ 登録番号
- ・ 登録年月日
- ・ 録品品目名
- ・ 登録区分
- ・ 製造者（医薬品、医療機器の製造業の許可業者又は認定業者にあつては、許可又は認定の区分並びに許可・認定番号）
- ・ 製造所の名称、所在地

- ・ 外国製造業者の場合、国内においてその登録事務を代行する者の名前・住所

(3) マスターファイル利用／非利用での整合性の担保

指針案の3(1)項に「マスターファイルに登録される情報は、医薬品等の承認申請書に一部代わるもの（登録申請書をいう。）及び添付資料（・・・）に一部代わるものとして取り扱うものである。」とされているように、マスターファイルに登録された情報をもって、承認申請書あるいは添付資料の一部に代えることができる

とされている。検討会での論点は、このマスターファイル制度が任意登録制度であり、原薬等製造業者の中にマスターファイルを利用する者と利用しない者が出てくる可能性があることから、このマスターファイル利用／非利用で、承認審査の内容に差が生じないようにすることであった。

この点については次のような議論が行われた：薬事法の改正で医薬品承認書に製造方法の詳細な記載が求められるようになる（製造方法の詳細が承認事項となる）ことから、マスターファイルを利用しようとしまいと、これらの情報については審査側に提供することが義務づけられる。

マスターファイルを利用すれば、その原薬等を用いて製剤を製造する業者（承認申請者）にノウハウ部分を開示しないですむことになる。

一方、マスターファイルを利用しないときには、当該業者はその原薬等の製造方法等には秘匿すべき情報はないとの選択をしたと見なされる。したがって、当該業者は、その原薬等の製造方法などに関する詳細な情報を（ノウハウ部分を含めて）、その原薬等を用いて製剤を製造する業者（承認申請者）に開示して、承認申請資料に記載してもらうことが必要になる。

(4) 制限パートと申請者（開示）パートについて

製剤の開発には、原薬の化学構造、物理的・化学的特性、不純物含量、安定性などの情報が不可欠であり、原薬等製造業者は、製造方法の詳細などノウハウに関わる情報を除いて、その原薬等を用いて製剤を製造する業者（承認申請者）に開示すべきものと考えられる。

EUのDMFにおいては、2・2・2項で紹介したように、この点が明確にされており、申請者パート（原薬製造業者から製剤の承認申請者に提供され、承認申請資料に含められる部分）と原薬製造者限定パート（規制当局に対してのみ提供されるノウハウを含む部分）に分けられている。米国のDMFでは、この点が明確にされていない。

わが国にマスターファイル制度を導入するに

当たっては、このEUのDMFの長所を取り入れることとされ、指針案においてもTable 11のように、医薬品、医療機器の承認申請者に開示すべき情報〔申請者（開示）パート〕が例示された。

Table 11では、制限パート（EUのDMFにおける原薬製造者限定パートに相当）の例として、原薬等の製造に関する項目である製造方法及びプロセスコントロール、原材料の管理、重要工程及び重要中間体の管理、プロセスバリデーション/プロセス評価、製造工程の開発の経緯が、また、添加剤の管理に関する項目である新添加剤の製造方法及びプロセスコントロールが挙げられている。

なお、原薬等の製造方法及びプロセスコントロールについては、製剤の承認申請者もその概略については知っている必要があることから、その意味で申請者（開示）パートにも○が付けられている。

(5) マスターファイル利用時の承認審査の流れ

Fig. 41（第2回マスターファイル検討会資料を一部修正）を基にマスターファイル利用時の承認審査の流れについて説明する：

- ①MF登録： 原薬等製造業者が、総合機構のMF担当部門に必要な資料を提出し、MF登録を行う。登録が受け付けられれば、総合機構から当該原薬等製造業者（MF登録者）に対して登録番号が通知される。
MF登録は随時行うことができるが、登録内容の妥当性に関しては、それをを用いて製造された製剤の販売承認申請が行われて初めて、製剤の用途や機能性などとの関連で審査が行われる。
- ②契約： MF登録者（原薬等製造業者）と製剤の製造販売業者との間で、原薬等の供給等に関する契約が結ばれる。これに伴って、製剤の開発や品質確保に必要な原薬の化学構造、物理的・化学的特性、不純物含量、安定性などの情報が、原薬等製造業者から製剤の製造販売業者に提供される。
- ③承認申請（登録番号の引用）： 製剤の製造販売業者から、総合機構の審査担当部門に販売承認申請が提出されて、製剤の審査が開始される。承認申請書においてMF登録番号が引用されている場合には、該当原薬に関するMFの登録内容も併せて審査され、当該製剤を医薬品として承認して差し支えないかが検討される。
- ④申請の連絡： 製剤の承認申請者から、MF登録者に対し、承認申請を行った旨の連絡が行われる。
- ⑤照会事項： MFの登録内容に関する疑問や

質問は、総合機構の審査担当部門からMF登録者に直接照会が行われる。

製剤の承認申請者に対しては、製剤に関する照会が行われるとともに、原薬に関する照会をMF登録者に対して行っている事実が通知される。

- ⑥原薬照会事項と回答の概要の報告： MF登録者から、製剤の承認申請者に対し、原薬に関して総合機構の審査担当部門からどのような照会事項があり、どのような回答を行うかに関して、概要が報告され、協議が行われる。
- ⑦回答： 製剤の承認申請者とMF登録者から、総合機構の審査担当部門に対して、照会事項に関する回答が提出される。
この⑤～⑦のプロセスが、当該製剤を医薬品として承認して差し支えないとの結論が出るまで繰り返される。
- ⑧GMP 適合性調査： 総合機構の GMP 適合性調査部門により、原薬、製剤の製造所に対して承認前査察が行われ、製造設備等の妥当性が審査される。
- ⑨承認連絡： 以上の審査ならびに査察に基づいて、薬事・食品衛生審議会において申請を承認してもよいとの結論が出されると、厚生労働省から製剤の承認申請者に対して、承認する旨の連絡が行われる。
- ⑩承認連絡： ⑨を受けて、製剤の承認申請者からMF登録者に対して、厚生労働省から承認された旨の連絡が行われる。

(6) マスターファイルの登録内容の変更

①軽微な変更か、重大な変更か？

MFの登録内容の変更は、それをを用いて製造された製剤の品質に大きな影響を及ぼす可能性があるため、指針案の4(3)項に示されているように、「変更により製品の品質等に影響を与えるものか否かは、別途規定する承認事項の軽微変更に関する指針を参考に、登録者と登録情報を利用する医薬品、医療機器等の承認申請者と（変更前に）十分に協議」して、軽微な変更（製剤の品質にあまり影響のない変更）か、重大な変更（影響を与える変更）かを科学的に判断した上で、それぞれに応じた形で変更登録を行う必要がある（Fig. 42; 第2回マスターファイル検討会資料を一部修正）。なお、「別途規定する承認事項の軽微変更に関する指針」というのは、3項で触れた厚生労働科学研究「医薬品の製造方法等の変更に伴う品質比較に関する研究」（奥田班）による研究成果に基づいて定められる予定の指針のことである。

MFの登録内容の変更が製剤の品質に大きな影響を与えるかどうかは、MF登録者（原薬等製造業者）の側で十分評価することは困難であり、

製剤の承認取得者の側での検討結果に依らざるを得ないと考えられる。指針案が両者間の「十分に協議」を求めているのは、こうした理由からである。

② 重大な変更は、許容できる変更か？

検討の結果、重大な変更と判断される場合、製剤の承認取得者はさらに、その影響が製剤の承認内容から見て許容できる範囲にあるかどうか（許容できる変更かどうか）を判断する必要がある。許容できる範囲にあると考えられる場合、製剤の承認取得者は、審査当局に対して一部変更申請を行って承認を得る必要がある。

一方、登録内容の変更が製剤の品質に許容できない影響を与えると判断される場合には、製剤の承認取得者にとって登録内容の変更は受け入れられないものとなり、変更の拒否、原薬の入手先の変更等、難しい対応を迫られることになる。

指針案の5(2)②項に規定されているように、「登録の変更に関し、登録情報を使用している医薬品、医療機器等の一部変更承認申請に基づく審査が終了するまでの間、登録の変更は保留され、変更された登録証は、当該承認申請の承認時点で交付される。」ことになる。すなわち、重大な変更の場合は、一部変更申請が認められて初めて変更登録が受理されることになる。

③ 変更登録のタイミング

米国では、DMFの変更登録についても、他の変更手続きと同様に、変更が品質に及ぼす影響の程度に応じて、年次報告（品質にほとんど影響を与えない変更）、変更後30日以内の報告（品質に影響を与える変更）、事前の変更申請（品質に重大な影響を与える変更）の3つのレベルが設けられている。

わが国の現行制度では、承認事項を変更する場合は、すべて一部変更申請を行うことが求められているが、改正薬事法の下ではこれが改められ、軽微な変更については届け出で対応できるようにする。

この一部変更届出については、改正薬事法の施行規則において、変更後30日以内に届け出ることとされる見込みであるが、検討会ではもう一つ米国のように年次報告の形も設けた方がよいのではないかとの意見も出された。この点については、変更届出を行う企業側とそれを受け付ける行政側の双方にとって、どういった形をとるのがお互いに負担がかからず、スムーズな運用ができるかがポイントであり、制度の運用の中で改善を図っていくべきものと考えられる。

(7) 医薬品添加剤のマスターファイルについて

て
医薬品添加剤については、日本薬局方（日局）や医薬品添加物規格（薬添規）などの公定書に品質規格が記載されているものも多く、公定書との関連を考慮に入れて、添加剤のマスターファイルをどのような形のものにすべきか検討が進められた。

米国のDMF制度でも、米国薬局方（USP）に記載されている添加剤に関しては、DMFはあまり活用されていないとのことであり、わが国においても、指針案の2(2)②項に「添加剤（新添加剤及びこれまでの成分の配合割合と異なるプレミックス添加剤を除く。）については、品質及び安全性が従来の規格及び試験方法においても確立されているものと考えられており、当面、マスターファイルを利用する範囲の情報が審査において求められることは想定されていない。」と記載されているように、日局等の公定書に品質規格が記載された添加剤に関しては、当面はマスターファイルへの登録を求めなくてもよいように思われる。

一方、これまで医薬品の製造に使用されたことがない添加剤（新添加剤）およびこれまでの成分の配合割合とは異なるプレミックス添加剤については、総合機構に登録申請書、添付資料を提出して、マスターファイル登録を行うことが勧められる。新添加剤の登録には、指針案の3(1)項に示されているように、製造方法並びに規格及び試験方法等に関する資料、安定性に関する資料の他に、安全性の評価に必要な非臨床試験に関する資料の提出が求められる。

なお、公定書に規定されていない添加剤の物性等に関する規格については、当該添加剤が製剤の機能性等に果たす役割を考慮して、別途、添加剤の供給業者と製剤の承認申請者との間の契約で取り決められるべきものと考えられる。また、BSE問題で、経口固形製剤の滑沢剤として使われるステアリン酸マグネシウムが牛由来のものから植物由来のものに切り替えられた際、製剤からの有効成分の溶出性が大きな影響を受けて、各企業が対策に追われたことなどから、添加剤の変更が製剤の機能性に大きな影響を及ぼすことが分かってきており、契約の中で添加剤の製造元を明確にして、問題が生じたときには製造元と協議できるようにしておく（トレーサビリティを担保しておく）ことも必要であろう。

(8) 医療機器材料のマスターファイルについて

医療機器材料に関しては、医薬品添加剤とは違って、日局などの公定書にはほとんど記載されていない。このため、医薬品添加剤の場合のように、公的な品質規格に依拠した形での対応

を図ることが難しい。

このため、指針案の2(2)⑥項に「医療機器原材料のマスターファイルへの登録事項は、原材料の特定に関する情報とする。」とあるように、登録事項を原薬や添加剤の場合よりも限定したものと、医療機器の審査に必要な原材料のマスターファイルへの登録が容易になるような配慮がなされている。

なお、2(2)⑤項には「従前の財団法人医療機器センターが行う医療機器マスターファイルについても当マスターファイル制度に含まれるものとなる。」とあり、必ずしも有効に利用されてきたとはいえない従前のシステムを取り込んで、活用を図っていくこととされている。

(9) マスターファイルと日本薬局方との関連について

従来、医薬品の承認申請においては、日局などの公定書に既記載の原薬や医薬品添加剤は、個別の承認は不要とされ、例えば、日本薬局方収載品である旨を記載するのみでよいとされてきた。このため、公定書記載の原薬については、その規格さえ満たしていれば品質としては十分（すなわち、公定書の規格は“十分”規格）と考える人もかなり多いのが現状である。こうした観点から、添加剤と同様に、日局等の公定書に収載された原薬に関しては、マスターファイルへの登録を求めなくてもよいのではないかと意見も出されている。

しかしながら、指針案の2(2)②項において「一般用医薬品（新規の一般用医薬品を除く）に用いられる原薬については、添加剤と同様に、「当面、マスターファイルを利用する範囲の情報が審査において求められることは想定されていない。」と記載されているように、必ずしもマスターファイルへの登録を求めなくてもよいと考えられるが、医療用医薬品に用いられる原薬については、公定書記載の原薬といえども、製造方法の詳細を公的に登録する（承認申請書に記載する、あるいはマスターファイルに登録することによって、品質の恒常性を担保し、有効性や安全性の確保を図ることが必要と考えられる。

例えば、原薬の安全性に関する重要な項目である類縁物質については、平成9年4月1日施行の原薬の不純物ガイドライン（ICH-Q3A）で、新規原薬に関して、不純物プロファイルを確立すること、ならびに不純物のうちで0.1%以上含まれるものについては、構造決定を行うとともに、個別に規格を設け、その存在量を的確に測定することのできる特異性の高い試験法を設定し、これに基づいて品質管理を行うことが求められている。また、平成13年11月2日施行の原薬GMPガイドライン（ICH-Q7A）で、既存原薬に関しても、不純物プロファイルに基づいて品質管理を行うことが求

められている。

この不純物プロファイルは、その製造方法に依存するため、上記ガイドラインの要求を満たすためには、従来日局に収載されてきたような類縁物質規格（どの業者が製造した原薬も基本的に適合しうるような“十分”規格的なもの）による品質管理では決して十分とは言えず、その業者ごとに不純物プロファイルを確立し、これに基づいて品質管理を行う必要がある。

このように、日局などの公定書の規格は“十分”規格とは言えず、Minimum Requirements（ミニマム規格）と考えるべきであり、承認申請時には、当該原薬が用いられる製剤の用途や剤形等を考慮し、その品質、有効性、安全性を確保する上で必要な項目について、別途規格を設定して承認を得る必要がある。第14改正日本薬局方で通則30項に「別に規定する」の規定（医薬品各条の試験において「別に規定する」とあり、日本薬局方にその規定が定められていない場合は、薬事法に基づく承認の際に規定するものとする。）が設けられたのは、こうした考えに基づくものである。

このように、日局記載の原薬といえども、品質、有効性、安全性を担保する上では、規定された品質規格を満たすだけでは“十分”とは言えない。繰り返しになるが、医療用医薬品に用いられる原薬については、公定書記載の原薬といえども、製造方法の詳細を公的に登録する（承認申請書に記載する、あるいはマスターファイルに登録することによって、品質の恒常性を担保し、有効性や安全性の確保を図ることが必要と考えられる。

C. 7 薬局方製剤試験の判定基準の標準化に関する研究

医薬品承認審査ハーモナイゼーション国際会議（ICH）で作成されたQ6A新原薬及び新製剤の規格及び試験方法と判定基準に関するガイドラインでは、薬局方の試験を活用するよう記されている。しかし、薬局方試験は欧米と日本との間で方法、判定基準が異なる点も少なくなく、試験法を互換使用できないのが現状である。このため、製薬企業は医薬品の試験を行う際、それぞれの国、地域で定められた薬局方試験を使用せざるを得ず、国際化の時代において非常な不都合を来している。これを解消するには、薬局方試験の国際調和が不可欠であり、PDG（Pharmacopoeial Discussion Group = 薬局方検討会議）で、その国際調和が進められてきている。調和が特に難しいとされているのは、試験法の判定基準が統一されていない、1)含量均一性試験、2)質量偏差試験、3)溶出試験、4)崩壊試験、の製剤試験法である。これまで、ICH 専門家とPDGの合同会議で、1)含量均一性試験、2)質量偏差試験は、日局の試験法及び判定基準を調和試験法に採用す

ることで合意された。溶出試験、崩壊試験は USP の判定基準を採用することで基本合意している。しかしながら、試験法、判定基準の細部においては3局 (EP、USP、JP) の間で一致していない。

本研究では、試験法、判定基準の国際的標準化を図るべく、1) 含量均一性試験、2) 質量偏差試験に焦点を当て、調和の支障となっている問題点について検討を行った。含量均一性試験は一個一個の製剤中に含まれる主薬含量を測定する試験で、その目的は、表示量からの含量のばらつきを少なくすることによって、治療効果のばらつきを少なくしようとする試験である。質量偏差試験は個々の製剤の質量を測定する試験で、主薬と添加剤が十分に混合し、基本的に主薬濃度に偏りが無い場合、含量均一性試験の代わりに使用できる試験である。国際調和の論点は、1) 質量偏差試験が含量均一性試験の代替として適用できる基準、2) 国際調和試験法 (案) の判定基準の実用性であり、本研究では両者について統計的観点等から検討を行った。

C.7.1 質量偏差試験の適用基準

EP は質量偏差試験を工程管理試験として位置づけてきた面はあるが、基本的には、質量偏差試験は含量均一性試験の代替試験として位置づけられる。そして、一般に含量の少ない製剤程、均一に混合されにくいいため、質量偏差試験の適用は限定され、EP は主薬含量 2 mg 以上、USP は主薬含量 50 mg 以上で且つ主薬濃度 50 % 以上の製剤を適用基準としてきた。JP は明確な適用基準を示していない。この適用基準に関して、USP は 2 項分布を用い、25 mg/25 % 以上の主薬を含有する医薬品に対して量偏差試験を適用できるという新たな基準を示してきた。しかし、実測データによる裏付けは無く、その基準は十分な根拠を有している訳ではない。本研究では、先ず適用基準に関して検討を行った。

含量均一性試験の国際調和案の判定法は下記の通りで、判定値は、別に規定しない限り 15.0% を超えてはならない。

$$\text{判定値} = |M \cdot \bar{X}| + ks$$

\bar{X} は主薬含量の平均値、 s は標準偏差、 k は合格判定係数で試料数が 10 のときは $k=2.4$ 、試料数が 30 のときは $k=2.0$ 。

$M: \bar{X}$ が 100.0% 以下のときは、 M は 98.5% または \bar{X} のいずれか大きい値。 \bar{X} が 100.0% を超えるときは、 X 又は U のいずれか小さい値。なお、 U は 101.5% 又は主薬含量の目標仕込量のいずれか大きい値で、特に規定がない限り 100.0%。

製剤質量のバラツキ、主薬含量のバラツキおよび主薬の混合性のバラツキの関係は、次のような式で近似される。

$$\sigma_D^2 = \sigma_W^2 \mu_C^2 + \sigma_C^2 \mu_W^2 \quad (1)$$

σ_D 、 σ_W 、 σ_C は、主薬含量、製剤質量および主薬濃度 (主薬量/錠剤質量) の母標準偏差であり、 μ_C および μ_W は主薬濃度および 1 製剤の質量の母平均である。ここで、母集団の主薬含量、製剤質量および主薬濃度の相対標準偏差は次の式で求められる。

$$RSD_D = \sigma_D / \mu_D \quad (2)$$

$$RSD_W = \sigma_W / \mu_W \quad (3)$$

$$RSD_C = \sigma_C / \mu_C \quad (4)$$

RSD_D 、 RSD_W 、 RSD_C はそれぞれ主薬含量、製剤質量および主薬濃度の母相対標準偏差であり、 μ_D は主薬含量の母平均である。

(1) 式の両辺を $\mu_C^2 \mu_W^2$ で割ると

$$\sigma_D^2 / \mu_C^2 \mu_W^2 = \sigma_W^2 / \mu_W^2 + \sigma_C^2 / \mu_C^2 \quad (5)$$

$\mu_C \mu_W = \mu_D$ であるので (5) 式は

$$\sigma_D^2 / \mu_D^2 = \sigma_W^2 / \mu_W^2 + \sigma_C^2 / \mu_C^2 \quad (6)$$

これに (2) ~ (4) 式を代入すると

$$RSD_D^2 = RSD_W^2 + RSD_C^2 \quad (7)$$

となる。

この式から、主薬濃度のばらつきが小さいとき、含量のばらつきは製剤質量のばらつきに近似し、含量均一性試験の代わりに質量偏差試験を適用できることが理解される。

主薬濃度のばらつきがどの程度まで小さければ質量偏差試験を適用できるか、主薬濃度の相対標準偏差を変え、シミュレーション試験により含量均一性と質量偏差試験の OC 曲線を作成し、比較した (Fig. 43)。その結果、主薬濃度の相対標準偏差が 2% 以内と小さければ、含量が 100% を中心に $\pm 5\%$ 程度変動しても、両試験の消費者危険はほぼ等しく、質量偏差試験を適用できることが分かった。

C.7.2 市販製剤の主薬濃度の変動

主薬濃度の相対標準偏差が 2% 以内であれば含量均一性試験の代わりに質量偏差試験を適用できることが分かったが、実際、市販されている錠剤、カプセルでどの程度、質量偏差試験が適用可能か、主薬濃度 RSD を調べた (Fig. 44)。その結果、表示

含量が少ない製剤程、また主薬濃度の低い製剤程、主薬濃度のばらつきが大きくなる傾向がみられたが、USP が提案した 25 mg/25 %の閾値を超える製剤でも主薬濃度のばらつきが大きい製剤がみられ、25 mg/25 %の基準は絶対的な閾値になり得ないことが判明した。したがって、基本的には、主薬濃度の均一性のデータを基に、個別に質量偏差試験の適用の可否を決めるのが望ましいと思われる。

C. 7.3 市販製剤の判定基準への適合性

市販の錠剤、カプセルがどの程度、含量均一性の国際調和(案)の判定基準に適合するかどうか検討を行った。その結果、基準値 15.0 を超えた製剤は 531 製剤中 1 製剤にすぎず (Fig. 45)、ほとんどの製剤は調和案の試験に適合することが判明した。

C. 7.4 考察

JP14 では、含量均一性試験は、錠剤、カプセル等の 1 個 1 個の中の主薬含量が表示量を中心とした望ましい範囲内にあることを確認する試験として位置づけられている。また、質量偏差試験は含量均一性試験の代替として考えられており、主薬と添加剤が均一に混合し、錠剤質量と主薬含量が相関しているとき、含量均一性試験の代わりに用いることができる。USP も基本コンセプトは JP と同じである。しかし、EP は含量均一性試験に対するコンセプトを明確にしておらず、質量偏差試験も工程管理的要素の強い試験として取り扱っている。これら概念の違いは試験法の違いに反映されており、含量均一性試験は、JP は表示量を中心とした計量試験であるのに対し、USP は平均含量を中心とした計量試験、EP は計数試験と異なっている。また、含量均一性試験の代わりに質量偏差試験が適用できる条件も、USP は 1 錠中の主薬含量が 50 mg で主薬濃度(製剤質量に対する主薬量の割合) 50 %以上の製剤と定めてきたが、EP は 2 mg 以上、そして JP は規定していないとバラバラである。全ての項目において 3 局間でこれ程大きく異なると、試験法の調和は容易でない。当初、EP の試験法が調和案として提出されたが、これは JP、USP には受け入れられなかった。PDG でオープン会議等を開催して討議した結果、ISO3951("s" method)に従って作成された日局 13 の試験法が最も適切な試験法であると理解され、これを基に調和のための試験法を作成することとなった。次に議論となったのが、含量均一性試験に代えて質量偏差試験を適用できる条件であり、USP は、2 項分布を用いて、主薬を 25 mg/25 %以上含有する医薬品に対して質量偏差試験を適用できるという基準を示してきた。しかし、実測データによる裏付けは無い。

合理的な適用基準を設定すべく、本研究でシミュレーション試験を行い統計的に検討を行った結果、主薬濃度(主薬量/錠剤質量)の相対標準偏差が 2 %以内であれば、含量が 95-105%の間で変動し

ても、両試験の消費者危険はほぼ等しく、質量偏差試験を適用できることが分かった。また、実際の製剤に対し、どの程度、質量偏差試験を適用できるかどうか、市販の錠剤、カプセルについて、主薬濃度のばらつきを調査した結果、表示含量が少ない製剤程、また主薬濃度の小さい製剤程、主薬濃度の変動が大きくなる傾向があるが、主薬濃度の相対標準偏差が 2 %以内の製剤数は多く、相当数の製剤に質量偏差試験を適用できることが判明した。これらのことから、基本的には主薬濃度の均一性のデータを基に、個別に質量偏差試験の適用の可否を決めるべきであろう。

しかしながら、既承認の全製剤に対し、そのような手法を適用することは決して容易でない。主薬濃度のばらつきの実態を明らかにすることが容易でないだけでなく、質量偏差試験の適用を主薬濃度の相対標準偏差が 2 %を超える製剤に限定すると、5 %程度の製剤は主薬濃度のばらつきが小さくなるよう、製法または処方を変更しなければならない。その場合、欧米ではバリデーションを再度実施しなければならない。このような状況を考えるとき、既承認製剤の品質規格を取り扱う局方では、閾値を設定し、質量偏差試験を適用できるようにする方が簡易である。その場合、25 mg/25 %以下の製剤は主薬濃度のばらつきが 2 %以上となることが多いので、25 mg/25 %は閾値の一つの候補となり得る。

C. 8 製剤開発・製造プロセス開発の妥当性検証に関する国際動向

医薬品製品開発過程において製造工程及び品質規格に品質を織り込むべきであるとの考えが ICH の“新医薬品の規格及び試験方法の設定” Q6A ガイドライン⁹⁸⁾、製剤開発(トピックコード Q8)などの議論を通じ主流になりつつある。本分担研究では昨年 7 月のベルギー会議で開始された 21 世紀の医薬品品質保証の議論を起点とする新しい品質保証の国際的な議論を概括する。また製品開発及び製造工程の近代化をめざす Process Analytical Technology (PAT) の最近の展開を報告する。

C. 8.1 国際調和専門家会議における議論

ベルギー品質関連国際専門家会議(2003 年 7 月)

当会議では米国 FDA の呼びかけで、現在の医薬品品質保証の現状と将来のあるべき姿を考え、具体的に国際調和ガイドラインとして何が必要であるのかが議論された。

米国 FDA はこれに先立つ 2002 年 8 月に 21 世紀 GMP (Good Manufacturing Practices) 運動^{99,100)}を開始している。FDA の問題意識は、①医薬品 GMP は過去 30 年にわたり成功をおさめてきたが、規制そのものが医薬品産業に近代的な製造・品質管理手法が導入されにくい状況を作っているのではないか、②新薬審査、変更審査の行政手続きにメリ

ハリが少なく資源の無駄使いをしているのではないかなどが含まれる。

本会議では、まず企業団体、FDA、EU および厚生労働省代表が現状認識・提案を行った。厚生労働省は、改正薬事法施行時の医薬品の品質関連規制の概説と分担研究者檜山が主宰した平成 14 年度の研究班報告（檜山資料 1）を紹介するとともに、経営者責任、技術移転などの新しい項目を含んだ品質保証の再構築を提案した。

会議は“科学とリスク管理に基づいた医薬品のライフサイクル（開発から市販後）全般に適用可能な調和された品質保証：A harmonised pharmaceutical quality system applicable across the lifecycle of the product emphasizing an integrated approach to risk management and science”とのビジョンを採択した。さらに製剤開発（Pharmaceutical Development）とリスク管理（Risk Management）を新たな議題としてとりあげて合意した。

C. 8.2 大阪品質関連国際専門家会議（2003 年 11 月）

当会議に先立ち、2003 年 10 月に製剤開発（Pharmaceutical Development）コンセプトペーパーがまとめられた。製剤開発（Pharmaceutical Development）（調和会議コード Q8）の目的は、①製品設計において何が重要項目であるかを審査官に説明すること、②製造プロセスにおいて何が重要項目であるかを査察官へ情報を与えること、③企業側においては研究開発から工場への技術移転の要点をまとめておくこと、また④品質へのリスク管理の基礎とすることである。大阪の会議においてはガイドラインの第一次案が作成され、2004 年 3 月 9 日現在、各グループからのコメントが集められ、3 月 16 日からのロンドンでの専門家会議の準備を行った。行政の一部からは現在行われていることを単純に纏めることを薦める案が出されている。そのような方法で現状を追認するだけでは“規制そのものが医薬品産業に近代的な製造・品質管理手法が導入されにくい状況を作っている”との懸念を将来にわたり払拭できないと考える。製品開発段階で品質を織り込むために考慮すべき点を、代表的な固形製剤であるとか注射剤であるとかの製品群に対しまとめ、具体的に品質を織り込む手法は企業の自主性を重んじる方が、企業の責任意識の向上と製薬技術の向上が望めると考える。

この大阪会議ではリスク管理（調和会議コード Q9）のコンセプトペーパーがまとめられた。リスク管理の手法は完成度の高い手法で、医薬品品質以外の分野においてはよく使われている。医薬品の品質分野においては一貫したリスク管理は行われていないため、医薬品の供給不足、不良医薬品の流通、不必要な回収、製薬企業・規制当局内での資源不足が深刻な問題となっている。

医薬品品質に関するリスク管理ガイドラインでの課題は“品質、リスク、リスク管理”などの用語の共通理解をすること、品質・患者への影響にリスク管理をどう応用するかを哲学を構築すること、その哲学をいかに運営していくか、リスク管理と法制度の関係の明確化、リスク管理の専門家グループと製剤開発の専門家グループとの連携体制などが上げられている。

C. 8.3 オランダ品質関連国際シンポジウム（2003 年 11 月）

大阪での専門家会議の翌週、国際薬剤師連合（FIP: International Federation of Pharmacists）主催によりオランダで開催された当シンポジウムは、品質関連の国際的新トピックを、専門家会議の関係者以外にも広く議論をしてもらうことが目的である。（同じ目的で、米国で 2003 年 4 月にワークショップが開催された。）参加者としては、行政からは EU、米国 FDA、厚生労働省、EU 以外の東欧、アフリカ、企業からは欧州、米国が中心であった。まず、国際専門家会議の参加者から品質システム、製品開発、リスク管理の 3 つの課題講演を 1 日かけて行い、翌日、3 つのグループに分かれ、全グループが各トピックに 90 分ずつかけて意見交換と課題の洗い出しを行った。纏めのメモ（檜山資料 2）が発行されている。各トピックの際立った意見・課題は以下のとおりである。

- ① 医薬品品質保証システムは企業の自主性が最重要であり、例えば変更管理などの企業行動に対する行政の関与は必要最小にすべきだ。
- ② 現在、世界的に行政と企業の間には相互不信があるのではないか。これを解決するために ICH を始めとする場で積極的なコミュニケーションを図るべきだ。この議論のベースはリスク管理と科学である。

この会議の講演で、筆者はベルギーでの講演内容に加え日本の新薬申請書におけるモジュール 2（概要）の重要性を訴えた。また、日本が要求しているモジュール 2 のような文書は企業内、行政内のコミュニケーションの道具としての意義をも強調した。（檜山資料 3）

C. 8.4 Process Analytical Technology (PAT) の最近の展開

PAT に関しては平成 14 年度の厚生労働科学研究「医薬品等の品質規格に係る国際的動向を踏まえた評価に関する研究」班で分担研究者小嶋の分担研究が報告されている¹⁰¹⁾が、今年度はドイツ国内のアストラゼネカ社及びファイザー社の各工場における PAT 実施状況を 7 月に視察した。

アストラゼネカ社から説明の概略は以下のとおりである。（檜山資料 4）

- ① 製品は作業者に対する安全性に問題があるた