

C. 4 異種細胞治療薬の品質・安全性・有効性確保のための試験法や基準についての国際的動向の研究

近年、バイオテクノロジー応用技術の進歩や幹細胞研究・再生医学の技術的進歩により、ヒトまたは動物の細胞や組織を培養、加工し、様々な疾患の治療に直接投与する医療（細胞治療）の開発が急速に進展している。このような細胞や組織から構成される細胞・組織利用医薬品等を医療に用いることができれば、ガン、筋ジストロフィー、再生不良性貧血、心筋梗塞などの致死的な疾患、あるいは糖尿病、リウマチ、骨粗しょう症、重篤な肝疾患、神経疾患、熱傷、創傷等に対してきわめて有効な治療法になる可能性が高い。我が国においても、様々な形で細胞・組織加工医薬品等の開発が進められており、その数は200以上に上ると言われている。しかし、本格的な実用化に至るためには検討すべき課題は多い。

細胞治療薬の開発が世界的な広がりを見せているが、承認にまで至っている製品はそれほど多くない。また、わが国においてもいくつかの製品が治験前の確認申請や承認申請中である。一方で、大学や病院等で多岐にわたる細胞治療の臨床研究が行われているが、このような臨床研究の成果はなかなか細胞治療薬の開発に結びついてはいない。その一つの要因として、このような臨床研究が治療薬開発を視野に入れた研究となっていないことや、企業が臨床研究の成果を細胞治療薬開発につなげようとする際にどのようなデータが治験申請やさらには承認申請に必要なのかが十分に理解されていないといこともあげられる。

本項では、2004年6月に施行された EMEA の「異種細胞治療医薬品に関する留意事項」について詳細な解析を行った。我が国においても平成12年に、「ヒト由来細胞・細胞加工医薬品等の品質及び安全性の確保に関する指針」が出されているが、異種細胞製品についてはまだ関連する指針等が作成されていない。また、異種細胞治療医薬品に関連する我が国の指針として、異種移植に関しては「異種移植の実施に伴う公衆衛生学的な見地からの感染症問題に関する指針（案）」が公表されている。また、FDA は「異種移植にともなう感染症伝播についての指針（PHS Guideline on Infectious Disease Issues in Xenotransplantation）」が出されている。我が国における将来の動向を見据え、異種細胞を用いた製品の開発に対応するために、「異種細胞治療薬等の品質・安全性の確保に関する指針」を作成していくことが求められている。本項では、異種細胞治療薬に関する指針作成の基礎として、EMEA の「異種細胞治療医薬品に関する PTS」を調査・検討を行った。

EMEA の「異種細胞治療医薬品に関する留意事項」は表3のような項目から構成されており、異種細胞治療薬の基礎的研究、開発、製造、治験、臨床使用、長期フォローアップと遡及調査と、非常に多岐に渡る事項について記載されている。特に、異種細胞に内在しているウイルス等の感染性因子の伝播を如何に防止するかについて最も力点が置かれており、異種細胞を採取するドナー動物の樹立から、繁殖、採取する際のドナー動物の適格性評価、採取した組織・細胞の受け入れ

基準、検査、保存等において留意すべき事項について詳細に書かれている。製造工程の設計、原料としての細胞・組織の品質基準、製剤設計、出荷試験と安定性に関する試験等で求められる事項についての基本的考え方が述べられている。前臨床試験に関しては薬理試験と毒性試験についての記載があり、特に毒性試験に関しては細胞治療薬の特性から毒性を示す最大投与量を明らかにするというよりも、期待される薬効効果を得るために許される異種細胞の投与量を確認するための試験であることが明確に示されている。さらに、注目すべき点として、ヒトでの有効性と安全性に関して非常に多くの紙面を割いて書かれていることである。特に異種細胞を用いた治療は、対象となる患者が非常に少ないと考えられること、これまで経験のない人獣共通感染症が発症する可能性もあること、未知・未経験の要素がきわめて多いことから治療を行う施設は限定されるべきで、総合的なチーム医療が可能であり、感染症発症の発症に備えて適切な検査が院内で行えるなどの要件を備えていることが求められている。また、同種細胞治療が可能である場合には、異種細胞治療薬を選択しなければならない理由を明確にする必要性を求めている。感染症や免疫学的な有害事象への適切な対応が必要とされている。最後に、ファーマコビジランス及びサーベイランスシステムの要件についても記載があり、想定されるリスクや予想が困難なリスクに的確に対応するために患者の重要な兆候を素早く捉えられるようなシステムを作る必要があるとされている。また、感染症に対するサーベイランスでは、患者ばかりでなく、患者に身近に接する人や公衆衛生の観点からのサーベイランスも求めている。

以下に本項の研究対象とした、EMEA「異種細胞治療医薬品に関する留意事項」の概要を示す。

異種細胞治療医薬品に関する留意事項 (Point to consider on Xenogenic Cell Therapy Medicinal Products)

1. 序論

1.1 はじめに

異種細胞治療薬の定義が記されている。異種細胞治療薬としては、生きている異種細胞を様々な疾患の治療に用いられるものと定義される。使用形態としては、異種細胞を患者に移植、注入、血管注入したり、体外でヒトの血液や体液等と接触させる治療などがあげられている。異種細胞の遺伝形質や表現型の改変が行われる場合もあり、加工操作として、分離、培養、増幅、薬の処理などが想定される。異種細胞治療では、宗教上、倫理上、さらには法的な様々な議論すべき問題点も残されているが、この文書ではその点はふれなさとされている。本文書は、異種細胞治療薬の承認申請において求められる基本的原則について書かれている。

1.2 異種細胞治療医薬品の範囲

異種細胞治療医薬品は、その有効成分として異種細胞を含むものと定義される。

個々の異種細胞治療薬が医薬品に分類されるのか他に分類されるかは、最新の薬事法上に規制に従って判断されることになる。

本指針は、各々の医療行為や国内法の適応についての先入観を持たずに異種細胞治療薬の開発や評価を行うために考慮すべき基本的事項を明らかにしておくことを目的に作成された。

基本的な考え方として、医薬品原料として動物組織を用いる医薬品にも適応可能と考えられる。その場合、投与される製品が受け入れ可能な品質や基準への適合、さらには感染性物質が無いことを保証することがキーポイントとなる。原料を採取した動物の健康状態や製造工程全般に渡って有効成分としての細胞品質・安全性に注意を払う必要がある。異種細胞治療薬の開発では前臨床試験や臨床試験ばかりでなく、原料を採取した動物の適正やそれを判断するための試験、製法や品質管理にも十分に注意を払う必要がある。公衆衛生の観点からの考察を行うことも必要であり、人獣共通感染症を含む適切な感染サーベイランスの実施方法についても十分な対応を取る必要がある。

異種細胞治療薬は様々な形で適用されると考えられる；細胞の患者へ移植や注入、あるいは体内還流などによる適応、あるいは患者血液や体液、組織、細胞などとの異種細胞と体外で接触させるなどが想定される。従って、製品のリスクはその使用方法によって大きく異なり、本指針ではその基本原則や適応基準を明確にすることを目的としている。

臨床適用やファーマコビジランスプログラムと同様に前臨床試験をどの様にデザインし、どの程度実施するかは、個々の製品のリスクベネフィットにより大きく異なると考えられる。

異種細胞治療薬の製品の特性として次のようなバリエーションが考えられる。

- レシピエントの免疫システムとの間にバリアーがあるかどうか。
- 投与方法—in vivo か ex vivo か
- 投与経路；静脈内投与や動脈内投与、外科的処置を伴うような移植、外皮的移植、体外循環での使用等
- 用いる細胞の性質、生着性、増殖能など
- 期待される薬理作用や効能
- 特定の生理活性分子の生産を期待しないヒトの細胞の置換
- タンパク質、ホルモン、神経伝達物質などの生理活性物質の生産を期待する場合
- 投与する細胞がどの程度の期間生体で作用することが期待されているか（用いる細胞の一過性のつなぎ的な機能を期待するのか恒常的な代替を目的とするのか、さらに移植した細胞が増殖・分化するなどして恒常的な代替を期待するのか）

2. 原料の採取動物

2.1 動物選択

異種細胞治療薬に用いられる動物や実験動物として長年用いられていたものであることが想定される。用いられる動物の確立や由来は感染性因子やその動物特有の病歴などについて詳細に記述されている必要がある。最初に樹立された動物や育種動物は健康で、少なくとも特定の病原菌に感染していないことが求められ、健康状態の管理や隔離などにより特定の病原菌の無い状態で育てられなければならない。また隔離に対する外的ストレスを最小限にすることも必要である。

動物の飼育記録（例えばどのような飼料を用いて育てたか）や最初に樹立した動物の履歴の情報を明らかにしておく必要がある。

原料を採取した動物が死亡したり安楽死させた場合には、十分な剖検を実施すべきである。また可能であれば検体を保管しておくべきである。また、原料を採取した動物や施設など関連する飼育群の記録についても保管しておくべきである。

組織や細胞を採取するためにドナー動物を犠牲にする場合には、病歴や感染歴の評価のために十分な剖検を実施する必要がある。その際、検体を将来の試験のために保管しておくべきである。

異種細胞治療薬製造に用いられる細胞や組織、器官は、医薬品製造のために外界とは隔離された環境で育てられた動物より得る必要がある。また、野生動物や畜殺場からの細胞、組織、器官と混在するような場所であってはならない。

遺伝子改変された動物の使用

遺伝子改変動物から異種細胞治療用細胞採取したり、採取した細胞を *in vitro* で遺伝子改変する場合も想定される。遺伝子改変にはヒト補体制御因子の発現と言った新たな機能を細胞に付与する場合や、異種細胞の拒絶反応を防止するために糖鎖抗原である α 1-3Gal などの特定抗原を修飾することなどが考えられる。遺伝子改変動物を用いたり、動物や細胞への遺伝子改変を行う場合には、可能であれば 2001/18/EC 指令や 90/219/EEC (98/81/EEC 修正版) 指令に従うことが求められる。

遺伝子改変動物から細胞を得る場合には、十分な特性解析を行う必要があり、また挿入あるいは欠損された遺伝子の確認を行うことが必須である。製造工程は関連する CPMP 指針に従って確立されなければならない（薬事法上の規制文書や将来修正される規制に従うこと）。またヒト化動物（Humanized Animal）を用いる場合には、感染症の罹患状態について、潜在的な感染も含めて十分な検討が求められる。

2.2 動物の飼育

動物の飼育に当たっては、群れやコロニーの健康に望ましくない事故等を充分把握できるようにしておく

とともに、その防止対策を確立しておく必要がある。また群れの隔離状況やSPF環境に望ましくない影響を与えるようなことを防止する取り組みが必要である。

動物飼育の標準操作手順 (S.O.P.) では次のような点に留意が必要である

- 詳細な動物の飼育状況や隔離の状態
- 給水
- 敷きわら等の状態
- 定期的な健康状態の監視とモニタリング
- 動物や動物の排泄物等の廃棄と清掃
- 動物個体の認識法、施設内外への移動記録
- 動物の受け入れと出荷
- 動物の輸送
- 動物の組織や死体の保管
- 餌の入手先、給餌のため処理方法、どの様な餌を与えていたか
- 隔離と検疫

獣医学的な管理

群れの病気や感染症発症をモニタリングするためのプロトコルをたてておく必要がある。その際、適切な獣医学的検査や検査室での試験などのスクリーニングが含まれていなければならない。ウイルス、細菌、マイコプラズマ、真菌、伝達性海綿状脳症 (TSE) や寄生虫を含め、細胞・組織のドナー動物種に存在が知られている全ての感染性因子について考慮しておく必要がある。全ての獣医学的な処置を含めた群れの健康サーベイランスシステムを確立しておくべきである。細胞・組織のドナー動物に抗生物質やワクチンの接種は推奨できない。動物の健康のために何らかの薬を投与する必要がある場合には、投与の必要性について十分に評価を行い、規制当局に相談すべきである。ワクチンの使用については必ず妥当性を評価しておくこと。

検疫

施設に入れる全ての動物はスクリーニングを完了するまで一定の期間検疫を必ず行わなければならない。必要な検疫期間はそれぞれの動物種や管理している動物の群れの特性やサーベイランスの状況に依存している。

2.3 動物施設

最初に樹立された動物や細胞・組織のドナー動物用の隔離された動物施設が必要である。相互汚染を防御するために各動物施設はそれぞれ隔離されていなければならない。また動物の感染性因子への暴露を最小限にするためのバリアーをもうけておく必要がある。施設に入れる全ての材料は滅菌あるいは汚染の除去を行う必要がある。予め品質基準が定められた飼料や敷きわら等を十分な品質管理が行われているソースあるいは業者から入手するとともに十分に管理された条件で保管する必要がある。空気の流れ（HEPAフィルターや陽圧条件）や水といった飼育環境は適切にコントロールするとともに、モニタリングを行う必要がある。動

物飼育ゲージや動物使用後の檻のクリーニング、除染、滅菌の方法、また使用した動物、飼料、敷きわら、器具、試薬等の廃棄方法が確立されていなければならない。

以上のような事項が実行可能な充分な数の従業員が必要であり、正職員として獣医師がいるかあるいは常に相談できる獣医師と連携できている必要がある。動物飼育に関わる職員は文書化された教育訓練を受けるとともにワクチンの接種記録を含めた定期的な健康診断を受け、その記録を保管しておく必要がある。動物飼育に関わる職員の仕事と責任に関する標準操作手順を作成しておくべきである。

換気、動物の取り扱い、職員の作業着等は動物由来の感染症がヒトに伝播するのを防ぐものでなければならない。

2.4 輸送

動物の移動は通常の飼育環境では暴露されないようなりスクを動物に与える可能性があり必用最小限にしなければならない。例外的に輸送が必要な場合は、動物が汚染しないように移動中は施設におけるのと同様あるいはそれ以上の隔離条件を維持するべきである。輸送は使用する動物が他の動物と接触しないような専用の乗り物を使用すべきあり、どの様な方法を採用したかを記載しておく必要がある。輸送後、施設に入れて次の工程に進む前に、受け入れ評価を行うまでの期間検疫を行うための施設も必要である。

器官や組織の輸送において、あるいは初代培養細胞の輸送においても、輸送の間の試料の品質が十分に担保されるような輸送条件を確立しておき、品質の劣化や汚染を防止するための対策が取られなければならない。

2.5 細胞・組織のドナー動物や最初に樹立した動物の感染性因子検査

細胞・組織のドナー動物は既知あるいは未知の感染性因子に汚染されている可能性がある。細胞・組織のドナー動物の適格性は感染性因子の伝播の防止対策とドナー動物の十分な検査に依存している。

既知感染性因子のスクリーニングや検出プログラムはドナー動物の種類に応じて、また異種細胞治療薬をどの様な臨床用途で用いるかに応じて設定すべきである。試験方法や対象とする感染因子等はドナー動物種での感染症に関する最新の情報に基づいて定期的に見直していくことが必要である。可能であれば、ヒト及び動物薬に関する指針を参考にすべきである（動物免疫グロブリン製剤やヒト抗血清の製造及び品質管理に関する CPMP 指針を参考。）

選択した試験法はドナー動物種に特有の感染因子を検出できるものばかりでなく、幅広い範囲の感染性因子を検出できる試験を採用すべきである。ヒトへの病

原性をもつこと知られている感染性因子を検出できるような適切な *in vivo* 及び *in vitro* 試験の設定も必要である。異種動物由来の病原性を持つ可能性のあるレトロウイルスやドナー動物細胞や組織・器官に持続感染しているウイルスも十分な注意を払うべきである。

採用した感染性因子のスクリーニング法や試験法は特異性、感度、再現性、妥当性が十分に検証されている必要がある。適切な品質保証基準を整備しておかなければならない。

既知の感染性因子に対する十分に妥当性が検証された診断手法やサーベイランス法が臨床治験の開始までに確立されている必要がある。

ドナー動物のスクリーニングでは次のような感染性因子に対する配慮が必要となる：

- 動物種特有の感染性因子や寄生虫
- 内在性レトロウイルス (ERV、例えばブタ ERV)
- 人に感染することが知られている人獣共通感染症 (例えば rabies (狂犬病)) やトキソプラズマのような他の人獣共通感染因子 (トキソプラズマは通常では人獣共通感染症とは考えられていないが治療に異種細胞薬を用いることにより感染が引き起こされる可能性がある)
- ヒトに感染することが知られている因子
- ヒト感染性因子の受容体がトランスジェニック動物で発現していないか。例えば麻疹ウイルスに対する細胞受容体として働く補体制御タンパク質である CD46 (膜結合コファクタータンパク質、MCP-1)
- 抗生物質耐性菌
- トリパノゾーマやアフリカ黄熱病やアフリカブタコレラなど地理的に重要な感染因子

さらに、次のような点についても考慮を払うべきである

- ドナー動物の食性
- ヘルペスウイルスの経子宮感染のように潜在的な感染因子の伝播の可能性
- 不顕性感染を検出できるような感受性の高い動物の使用

最初に樹立した動物やドナー動物は伝達性海綿状脳症の感染の可能性がないものでなければならず、ドナー動物の群れを樹立してからの給餌記録が保存されており、その餌には伝達性海綿状脳症因子の混入の可能性が否定されている必要がある。ウシ、羊、山羊を用いる場合には、医薬品や動物薬品を介した伝達性海綿状脳症因子の伝播のリスクを最小限にするための CPMP/CVMP の通知が適応される。

2.6 細胞・組織や記録の保存

用いた組織や細胞、あるいはその記録を長期にわたって保存しておくべきである。保存期間は、現在製薬企業に求められている期間より長期にわたるべきであり、20-40年が目安になる。製造者は製造プラン

トや動物施設においてそのように長期間にわたって試料や記録を保存する計画案を規制当局に提出する必要がある。これは医薬品の品質・安全性をモニタリングし、長期にわたって投与された患者の安全性に関して遡及調査を行うための基本的要件である。

トレーサビリティを担保し、十分な遡及調査が可能な様に組織サンプルの保存方法を確立するとともに、その妥当性が検証されている必要がある。注意深く保管する全ての検体は、可能な限り医薬品として製造された原料を代表するものでなければならない。保管検体は適切な条件下に置かれ、火災や洪水に遭遇しないような条件に置かれなければならない。保管検体に責任をもつ者を指名し、それ以外の者の保管検体への立ち入りを制限しておく必要がある。

病理検査、ハイブリダイゼーションアッセイ、抗体検査、PCR といった様々な方法で解析できる様に様々な検体が保管されている必要がある。検体には少なくとも検査対象となるべき組織 (例えば、脾臓、肝臓、骨髄、中枢神経系、肺)、体液、血液などが含まれていなければならない。アッセイに動物を用いた場合は、その試験動物検体を実際のドナー動物の検体と同様の方法で保存しておくべきである。保管に際しては、適切な方法で採取され、将来の検査が可能な保管条件を選択する必要がある。血液検体は、 -70°C で保管するべきであり、またパラフィン包埋検体などでは冷暗所に保管するべきである。長期の保存のためにはパラフィン包埋ブロックを作成することが推奨される。

異種細胞治療薬の全てのバッチについてラベルをして、保管検体が適切にトレースできるようにしておくべきである。保管検体は研究など他の目的には使用してはならない。

動物群の給餌記録や健康記録、ドナー動物の病歴等の全ての記録は少なくとも保管検体の保存されている期間は保管しておく必要がある。これらの記録は保管検体とは別のところで保存することも可能である。電子媒体による記録を行う場合には、コンピュータシステムの安全性を評価しておく必要がある。すなわち電子データが保存期間の終わりまで、保護できるように適切な注意を払うべきである。

3. 製造

3.1 一般的留意事項

異種細胞治療薬の有効成分は、一定数あるいは一定量の生きている異種細胞と規定することができる。また、最終製品は臨床使用目的に応じて製剤化された一定数の異種細胞と規定できる。

有効成分は次のような原料から製造工程を経て作られたものである。

- 器官や組織。一定数の細胞は、新鮮な組織/器官/体液等から分離された初代培養細胞から製造されることになる。製造工程では、工程内中間製品と

しての細胞プールも含む場合もある。この細胞プールは初代細胞そのものである場合もあるし、限られた継代を経た後、保存される場合も想定される。一定量の細胞プールが製剤の製造に用いられることになる。細胞プールは新鮮な組織や器官から一定のサイクルで製造されることになる。

以上の他、有効成分の細胞はマスターセルバンクやワーキングセルバンクと言った特性解析された細胞バンクシステムから作られる場合もある。このような細胞バンクシステムは、限られた寿命を持つ初代培養細胞を形質転換したり、あるいは形質転換せずに作成される場合も考えられる。

製造施設は動物施設や動物から組織や器官を調製する施設と物理的に隔離されていなければならない。一つの施設で、多様な組織や細胞を採取、加工、保管する場合や、液体窒素保管デュアーでの保管等では、細胞のクロスコンタミネーションの可能性が高くなるため、クロスコンタミネーションを防止する十分な方策をたてておく必要がある。

3.2 製造工程の設計

フローチャート

組織/器官あるいは細胞バンクからの全ての工程のフローチャートを作成し、重要な工程や工程内製品（中間工程細胞プール）を示すとともに、そのモニタリングのためのパラメータやインプロセスコントロールについても明らかにしておくべきである。

組織/器官

様々な組織や器官が異種細胞製品の原料になると考えられる。そのような原料の採取に当たっては環境や採取者からの汚染を防止しなければならない。

細胞や組織を採取場所から製造施設へ輸送する必要がある場合には、製造全般にわたっての品質が確保されるようにその輸送条件をバリデートされていなければならない。

組織や器官の受け入れ基準として品質管理パラメータを設定しておく必要があり、際輸条件や保存条件も考慮して設定する必要がある。特に、出発原料の機能に関して十分に特性解析を行い、受け入れ規格を定めておくべきである。特性解析された細胞バンクシステムを製造に用いる場合には、CPMP 通知の「ヒト体細胞治療薬の製造と品質管理に関する指針」に書かれている、MCB や WCB の樹立とその特性解析と試験方に関する情報を参考にするべきである。

細胞加工法

上記したような適切な品質管理プロトコールを確立した上で、組織/器官の加工に関して次のようなステップに従い行うべきである：

- 組織/器官の分離
- 目的とする細胞の分離

- 細胞培養
- 細胞の形質転換（物理化学的手法や遺伝子挿入等）

組織/器官の分離

用いる酵素、培地を含め、細胞/組織から細胞を分離する手法について詳細に記載していなければならない。原料を得たドナー動物由来のウイルス安全性や感染性プリオンが含まれないことを明確にする必要がある。細胞としての機能を維持しながら組織等の分散のためにどの程度の酵素処理等を施すのかを十分に検討しておくべきであり、目的以外の細胞のクロスコンタミネーションを最小限にする方策についても検討しておくなければならない。

目的細胞の分離

目的とする細胞の分離方法を記載しておかなければならない。分離した細胞の純度や均一性等の観点からその手法の妥当性を明らかにしておく必要がある。

細胞培養

分離した細胞は、その増殖性が十分に保証された最適の条件で培養しなければならない。培養の各工程は、細胞のバイアビリティや機能が十分に保持されるようにデザインされている必要がある。各操作工程を詳細に記述しておくとともに、適切な工程管理を行い、それぞれの工程をモニターできるようにしておく必要がある。微生物汚染の防止は、工程管理や品質保証の柱である。培養中の細胞のモニタリングにおいては、いくつかの工程を選び、細菌、酵母、真菌、マイクロプラズマなどの感染性因子の否定試験を行う必要がある。培養においては、手順書や細胞の増殖能の変化等をモニターすることにより微生物汚染が無いことを確認しなければならない。特定のウイルスを検出するための試験法を確立しておく必要とされる。細胞培養工程の一定性や再現性を示すデータが必要である。細胞のバイアビリティ、細胞密度/培養上限の指標、純度、全培養期間、許容される最大 PDLs 数などの規格値（限界値）を設定しておく必要がある。

不均一な細胞集団のなかでの目的細胞の確認試験と細胞純度

製造工程内や最終製品に関して、不均一な細胞集団のなかでの目的細胞の確認試験や細胞純度を確保するための一連の試験を行う必要がある。形質転換した細胞は非形質転換細胞に比べてより増殖能が高いことが想定されることから、特定の増殖因子に対する反応性を調べることにより細胞の形質転換を起こしていないかを明らかにするような試験の設定を考慮すべきである。

細胞培養期間

初代培養細胞や樹立細胞株、さらにはクローン化された細胞の基本的な遺伝型や表現型を明らかにし、全培養期間にわたってその性質が安定に保持されていることを示す必要がある。培養条件や培養期間は目的と

する臨床目的にかなうような機能を保持できるように設定されていなければならない。

－ 細胞のバイアビリティ

細胞のバイアビリティは細胞治療薬の品質や有用性の保証やバッチの恒常性を担保するための重要な試験である。

－ 細胞の形質転換

物理化学的な様々な処理を異種細胞に施すことができる。

異種細胞を遺伝子改変することにより形質転換させる場合には、遺伝子改変された医薬品の品質、前臨床、臨床に関する指針、CPMP/BWP/3088/99 に従うことが求められる。この指針では、遺伝子改変用ベクターの品質管理、特性解析、前臨床試験に関する詳細が書かれている。

遺伝子改変された細胞集団に関して新たに獲得した性質の妥当性、再現性などを試験により確認しなければならない。また、可能である場合には、新たに獲得した性質を定量的に測定し、制御できることを示すべきである。

工程評価

細胞加工操作に関して全ての工程を評価しておく必要がある。工程評価においては臨床使用と同一の細胞加工工程を用いて行うことが推奨される。具体的には、6ヶ月毎に、無菌性、マイコプラズマ否定試験、ウイルス迷入否定試験、細胞の同一性確認試験、細胞の生物活性、細胞のバイアビリティ、増殖能、細胞純度など、また必要に応じて遺伝子発現効率などを評価することが求められる。バイアビリティ、細菌の混入否定試験、表現型、投与細胞数などの一連の試験においては細胞製品が臨床用に出荷される前に定められた規格値をクリアしていることを明らかにする必要がある。

3.3 製造工程に用いられる原料の品質基準

原料の感染性因子のスクリーニング

異種細胞製品の製造に用いる細胞、組織、器官、バンク細胞は細菌、真菌、マイコプラズマの混入が無いことを培養法によってスクリーニングしておかなければならない。特定のウイルススクリーニング試験を設定し、採用した試験は十分な感度で特定の種類のウイルスを検出できるばかりでなく幅広いレンジのウイルスも検出できるような試験も採用しなければならない。

可能であれば、細胞、組織、器官から分離した検体を適切な指標細胞パネルとの共培養などの試験を行うべきである。用いる指標細胞は、異種内在性レトロウイルスやヒトへの感染性が知られている他の動物ウイルスの増幅や検出が可能なものを選択する必要がある。指標細胞は、用いる異種細胞製品や臨床目的に応じての選択すべきである。一連の継代培養や細胞変性の観察、あるいは逆転写酵素活性の測定を含むフォーカス

形成試験、電子顕微鏡観察なども適応できかもしれない。

培養している細胞にウイルスの混入が見出された場合には、ウイルスの直接あるいは間接検出試験をルーチンで行う必要がある。もし、一般的な核酸増幅検査が可能であれば、試験法として採用することも可能である。ヘルペスウイルス、レトロウイルス、パピローマウイルスと言った潜在性のあるいは持続的不顕性感染が知られているような感染性因子について特に注意を払う必要があり、化学的処理や放射線照射を行うことによりそれらのウイルスの検出が可能になる場合もある。

培地や試薬

酵素、抗体、サイトカイン、血清、抗生物質といったさまざまな物質によって細胞の遺伝的性質や表現型の変化が生じてしまうことがある。このような遺伝的性質や表現型の変化を生じさせるような物質に細胞を暴露させることは、その品質や安全性、さらには有用性にも影響を与える可能性がある。従って、製造に用いるすべての物質を明確にしておき、その使用の適正をあらかじめ評価しておく必要がある。細胞の採取や純化、あるいは加工に用いる材料について詳細に記載しておく必要がある。試薬等の無菌性、汚染物質の存在否定、エンドトキシンの混入が極めて低いことなどを担保しておく必要がある。細胞への影響の強い試薬の使用は避けるべきである。可能であれば、「組み換え医薬品の製造や品質管理」に関する指針や「モノクローナル抗体の製造や品質管理」に関する指針を参考にすべきである。

異種細胞治療薬の製造工程は厳密な精製工程やウイルス除去・不活化工程を含んでいないために、用いるヒト及び動物由来原材料に関しては極めて厳格に管理されなければならない。

ヒト由来原材料

製造工程で用いられるアルブミンや免疫グロブリンなどのヒト由来試薬はCPMPのヒト血漿分画製剤の勧告（CPMP 指針 269/95、改定3版）の記載に準じてその適格性を評価しておく必要がある。さらにドナー選択基準は関連する EU 各国の承認事項や指針に従うべきである。

動物由来原材料

動物由来原材料は感染性因子の含む可能性があり、また患者に望ましくない免疫反応を引き起こす可能性もある。できる限り動物由来原材料の使用を避けるべきであり、由来の明確な動物由来原材料代替品を用いるべきである。

ウシ、羊、山羊由来の原材料を用いる場合には、CPMP 及び CVMP のヒト及び動物医薬品における伝達性海绵状脳症の伝播リスクの防止に関する指針に従うべきである。（EMEA/410/01 の改訂1版や将来の改訂版）

ウシ血清を使用する場合には、「ヒト医薬品の製造にウシ血清を用いる場合の指針」(CPMP/BWP/1793/02)に記載された必要事項に従う必要がある。さらに、放射線照射済血清や合成培地の使用が推奨される。

3.4 有用成分の同定

目的とする細胞の、確認試験(同一性)、純度、力価、臨床目的に関する適格性に関する詳細な特性解析を行う必要がある。癌原性や核型分析などの追加的な試験が必要となる場合もある。このような特性解析に基づいて、ルーチンでの原薬や製剤の出荷試験や各製造ステップで行うべき試験を明らかにし、試験法や規格値を設定することになる。各製造工程に適応すべき品質管理プログラムの作成・実施、さらには一定の品質の異種細胞治療薬を市場へ供給することは生産者の重要な責務である。

次のような試験を行うべきである

確認試験

用いる細胞が目的としている細胞であることを確認する適切な試験を設定する必要がある。表現型及び遺伝形質を確認試験として用いることも可能である。想定できる全ての試験を行うことまでは求められていない。

基質面に接着して増殖する細胞に関しては、形態的な解析は他の試験と組み合わせることにより確認試験として有用である。多くの場合には、アイソザイム分析が由来する細胞種を特定するのに有用であるが、染色体バンディング試験や特異抗体を用いた他の試験により細胞の由来する種を同定することも可能である。あるいは、特異的な染色体マーカーを検出する染色体バンディング試験や制限酵素断片長(restriction fragment length polymorphism)試験、ミニサテライト(Variable Number of Tandem Repeat)、dinucleotide 反復配列解析などの遺伝子多型性の検出等の DNA 解析を利用した特異的なマーカーの存在を示すような手法を用いることも可能である。細胞の由来する種の同定や特定の細胞マーカーの存在を示すことが適切な細胞の確認試験になると考えられる。

微生物安全性

異種細胞製品への偶発的な微生物汚染の否定や細胞に望ましくない影響を与えるような他の細胞の汚染が無いことが必須である。偶発的な微生物汚染の検出に当たっては、使用する試薬や抗生物質が試験に与える影響について試験の選択からその実施に至るまで十分に検討する必要がある。

細菌や真菌などの汚染の試験は最新のヨーロッパ薬局方に記載された手法に基づいて行う必要がある。マイコプラズマ否定試験についても行う必要がある。

ウイルスの汚染は出発原料に存在する場合や、製造工程において偶発的な飛び込みによる場合、さらには

潜在していたウイルスが製造工程での何らかの刺激により顕在化する場合などが想定される。ウイルス安全性試験は、これらの複数の可能性を考慮しながらどの様なタイミングで行うかを考慮すべきである。異種細胞治療薬は、多くの場合細胞数も限られており、限られた精製工程しか無いためにウイルスクリアランス評価を行うことは困難である。

可能であれば、原薬レベルで異種性の内在性レトロウイルスやヒトに感染性を有する他のウイルススクリーニングを行うことが推奨される。

異種細胞治療薬はICHのウイルス安全性ガイドラインである「ヒト又は動物細胞株を用いて製造されるバイオテクノロジー応用医薬品のウイルス安全性評価」の適応範囲には含まれないが、必要に応じて本ガイドラインを参照することも可能である。最新の動物細胞の使用に関する WHO ガイドラインも適宜参照することができるであろう。

力価

申請者は、臨床目的とする生物活性を評価可能なバイオアッセイを確立しておく必要がある。

核型解析と癌原性

細胞バンクに由来する細胞を用いる場合には、核型解析と癌原性試験を行う必要がある。ICHQ5D ガイドラインである「生物薬品(バイオテクノロジー応用医薬品/生物起源由来医薬品)製造用細胞基剤の由来、調製及び特性解析」や第47回ジュネーブ会議で開催された WHO の生物薬品標準化委員会のレポートである「in vitro 細胞培養を利用した生物薬品の製造にも用いる動物細胞基剤の使用に当たって求められる事項」も参考にすることができる。

3.5 製剤設計(製剤化)

患者への異種細胞の投与はいくつかの方法が想定される。血管内投与や特定部位への注射、さらには外科的な処置を利用した投与も想定される。

人工肝臓のように異種細胞と医療用具を併用して投与する場合は、EU 通知 93/42/CEE に従うことが求められる。脾臓ランゲルハンス島細胞のマイクロカプセル化のように異種細胞を生体適合性ポリマーを基材として用いて投与する場合には、ポリマーの物理化学的特性についても十分に解析されていなければならない。適切な規格を設定して品質管理を行う必要がある。生体適合性や耐久性の観点からも用いるポリマー等の適正について十分に評価しておくべきである。細胞の構造的あるいは生物学的特性の維持の為や免疫隔離のために用いられるファイバーやビーズと言った付属品を最終製品の一部として用いる場合には適正を十分に評価しておく必要がある。

3.6 医薬品原体や最終製剤製品の出荷試験と安定性

製剤が細胞をバイアルに充填するだけといったよう

に、ある場合には医薬品原体としての異種細胞治療薬と最終製剤が殆ど同じ場合も考えられる。このような場合、規格の観点からは、原体あるいは製剤の一方での試験を行うことにより、両方での試験を行う必要が無い場合も想定される。

医薬品原体や最終製剤製品に関して次のような情報が提供されなければならない。

バッチの定義

細胞の数量、継代数、プールの大きさ、バッチに対してどの様な番号を付すのかと言った製造バッチに関する定義を明らかにしておく必要がある。

容器・包装

用いる容器・包装についての詳細を明らかにしておく必要がある。用いる容器・包装の適正についても明らかにしておく必要がある。用いる容器・包装が医療用具に関する 93/42/CEE 通知の EU 議会指令に基づいているかを明らかにしておく必要がある。滅菌方法についての情報も記載しておかなければならない。

規格

製造原体や最終製剤バッチに関する規格項目は、特性解析の結果に基づいて設定されなければならない。選択した規格項目は製品を十分に特徴づける指標を選ぶべきであり、製造者が責任を持って設定する必要がある。

ロット出荷試験の規格には、確認試験、製品に関連する不純物や製造由来不純物に関する純度、均一性、微生物安全性、力価、細胞のバイアビリティや代謝指標、細胞数などが含まれなければならない。

安定性

異種細胞治療薬の有効期限を定めておく必要がある。一定期間、実条件下に細胞を保存し、細胞の品質や安定性が維持されているかについての実測データを取り、そのデータに基づいて有効期間を定めなければならない。

温度を含めた保存条件を設定しておく必要がある。

必要に応じて、適切な凍結・解凍条件を明確にしておくべきである。

4. 前臨床試験

可能であれば、異種細胞をモデル動物へ投与する前臨床試験を行うべきである。用いるモデル動物としては同様の異種細胞治療薬が活性を持って投与可能で、ヒトでの状況を反映していることが求められる。

前臨床試験では、発現レベルや、投与経路、投与量はヒトの状況と最も近接していることが求められる。

通常の動物を用いた毒性試験は予期しないようなタ

ンパク質/ホルモンの産生、意図しない組織や器官へのホーミング、異種細胞に対する拒絶反応やカプセルからの放出の影響、免疫抑制動物における宿主対移植片反応 (GVHD) の影響といった異種細胞に関する追加的な情報をもたらしてくれる可能性がある。

ICH56「バイオテクノロジー応用医薬品の非臨床における安全性評価」のガイドラインでの推奨されている事項についても考慮すべきである。その際、毒性評価を行うのに適切な動物数、雌雄、試験数、モニター期間を設定しなければならない。

4.1 薬理試験

4.1.1 薬効/薬理

まず異種細胞の生物活性や異種細胞製品の活性を *in vitro* で評価することが求められ、さらに目的とする薬効を支持する手段として *in vivo* での評価を行う必要がある。*In vitro* 試験では、細胞形態、増殖能、表現型、分化レベルに関する情報が得られる。これらの *in vitro* 試験の結果に基づいて、申請書のモジュール 3 (概要) が書かれることになり、また前臨床試験の *in vivo* データに関する結果との関連についても考慮する必要がある。

In vivo 薬理試験は、次に実施する臨床試験での有用性を担保するようなデータが得られる必要がある。前臨床研究では、ヒトでの治験における薬用量や免疫抑制剤の使用と言った付随的な治療用量を決めるのに必要なデータも提供できるものでなければならない。

4.1.2 安全性薬理試験

心血管系や呼吸系への影響判定のエンドポイントに関して、異種細胞治療薬や治療薬に含まれる活性物質により望ましくない影響がどの程度あるのか適切な動物モデルを用いて試験を行っておく必要がある。そのような試験では、臨床投与量の範囲の異種細胞治療薬を投与して影響を調べる必要がある。

中枢神経系への影響のエンドポイントに関しても解析しておくべきである。異種細胞治療薬から分泌される活性物質に関してケースパーケースで副次的薬理試験の実施も考慮しなければならない。

ICH57A の「安全性薬理試験ガイドラインについて」についても参照されたい。

4.1.3 薬理代謝

生理活性物質を分泌する異種細胞治療薬に関しては薬理代謝試験を行う必要がある。細胞/組織での目的細胞の生存性、一般的な機能の持続性や安定性に関して明らかにしておく必要がある。異種細胞治療薬が十分に特性解析されていないような生物活性物質を分泌するような細胞である場合には薬理代謝試験は不可能であり、実施しなくてもよい。

投与された異種細胞治療薬が移植部位の目的とする

組織や器官と同様の生存性や十分な機能を保持しているかについて少なくとも6ヶ月にわたって試験しなければならない。試験期間を短くする場合にはその妥当性を説明する必要がある。異なる試験動物を用いて試験を行うための免疫反応の影響についても考慮しておかなければならない。

異種細胞の体内動態

可能であれば投与された異種細胞の組織分布と持続性に関する試験を行うべきである。

異種動物に投与された細胞は、レシピエント動物内で投与された部位から臨床上望ましくない反応を引き起こすような部位に移動したり、別の活性を持つ細胞に分化し、解剖学的な障害をもたらすことも考えられる。このような点に関しては異種細胞を特定できるような適切な手法を用いて組織病理学的な解析を行う必要がある。

代謝

生物活性の変化の試験や吸収、代謝、排泄に関する試験は必要とされないであろう。

4.2 毒性試験

4.2.1 単回投与毒性試験及び連続投与毒性試験

毒性を示す最大投与量を明らかにすると言う目的よりも、期待される薬効効果を得るために許される異種細胞の投与量を確認するために毒性試験が行われる。

毒性試験では異種細胞治療薬の特性に応じた適切なモデル動物を用いて行う必要がある。異種細胞に対して拒絶反応が起こるのであれば安全性に関する薬理試験や局所での免疫寛容系、想定される免疫毒性や効能等を考慮して試験のデザインを考えるべきである。

異種細胞はデザインされた試験期間よりも長期にわたって機能を持ち続けると想定されることから、試験の観察期間は単回投与毒性試験の期間よりも長くなるであろう。これらの試験期間はICH M3やS4Aガイドラインに書かれている臨床試験も考慮するべきである。これらには慢性的な影響が想定される場合には、拒絶反応が起きない限り、被検動物は6ヶ月にわたって観察されなければならない。

毒性試験においては、投与ルートや処置方法は臨床適応を反映したものである必要がある。

4.2.2 遺伝毒性

バイオテクノロジー応用医薬品と同様に、異種細胞治・組織製品がDNAや染色体タンパク質と相互作用をする可能性がない限り、遺伝毒性試験を行う必要はないと考えられる。遺伝毒性試験を行わなかった理由の説明は必要である。

4.2.3 癌原性試験

癌原性の可能性としては遺伝子操作や、外因性及び

内因性ウイルス感染、体外培養、免疫抑制条件、さらには異種細胞治・組織製品そのものががん化する場合などが想定される。In vitro及びin vivo手法を用いて異種細胞の癌原性やがん化の可能性を考察し、また試験の実施を考慮するべきである。癌原性試験の必要性は臨床目的や製品種類に着目して考察しなければならない。どの様な癌原性モデルを用いるかあるいは試験のデザインについてはケースバイケースで考える必要がある。

4.2.4 生殖・発達毒性試験

生殖・発達毒性試験の必要性は異種細胞・組織製品の種類やどの部位に投与するか、臨床適用、投与を受ける患者の背景に依存しており、ケースバイケースで判断するべきである。異種細胞を用いて検討された試験結果の報告例がないか調査しておく必要がある。

4.2.5 局所刺激試験

適切な動物を用いて局所刺激試験の実施が求められる場合もある。目的とする臨床用途や投与経路が他の動物由来異種細胞を用いて検討されている場合には、新たな局所刺激試験の実施は必要ない。大部分の局所刺激試験は単回あるいは連続投与毒性試験で見ることができたため、別途試験を行う必要がないであろう。

4.3 他の毒性試験

4.3.1 免疫原性試験及び免疫毒性試験

当然のごとく異種細胞や同時投与される細胞外成分に対して投与を受けた動物の免疫担当細胞が強い免疫原性を示すと想定される。従って、免疫原性試験や免疫毒性試験では、投与を受けた動物が異種細胞や細胞以外の成分に対して免疫抑制剤の有無によってどの程度の免疫反応を示すかを見るためのものである。

細胞を物理的に隔離することによって免疫反応を制御する場合や、免疫抑制剤の投与、自然抗体の除去、遺伝的改変などによる異種細胞抗原の除去や低減化等による免疫寛容の誘導など、いくつかの免疫反応を制御するためのいくつかのアプローチが可能である。これらの処理は、適切な前臨床試験によりその妥当性を検証すべき別の問題点がある。

免疫反応の程度は用いる細胞の種類や性質に依存しており、細胞の種類や性質に応じて試験法を選択する必要がある。

バリアーを介した体外循環などの体外での使用においても不活性な材料でない材質を用いたマイクロカプセル封入細胞製品では免疫反応を引き起こしてしまう。レシピエントの免疫監視システムから投与した細胞を保護できるような何らかのマイクロカプセル化基材を最終製品の一部として用いることが必要となる。従って、マイクロカプセル化の用いる基材の特性解析、品質管理、ロット試験が必要である。こういったバリアーとしての機能を評価するために、免疫原性試験や免疫毒性試験が有用となる。

もう一つのアプローチは急性拒絶反応を防ぐためのタンパク質をコードするヒト遺伝子を動物細胞に導入するという方法である。完璧な免疫寛容の導入は非常に困難であり、むしろ危険性が伴う。

どのようなモデル動物を選択するかあるいはどのような試験を適応するかに関しては、製品への影響を考慮し、実際の全臨床治療過程を考慮して決定する必要がある。次のような点についてモニターできることが必要である。:

- 液性及び細胞性免疫の誘導；すなわち、抗体の産生、免疫複合体の形成、補体の活性化、抗体依存性細胞障害活性、一連の細胞性免疫反応などである。
- 異種細胞あるいはマイクロカプセル化；異種細胞への免疫細胞や炎症性細胞の浸潤とそれによって引き起こされる細胞の壊死、異種細胞の機能障害、さらには異種細胞のホルモンやタンパク質産生の障害

可能であれば免疫抑制状態の有無による動物における宿主対移植片反応の差異についても検討しておくべきである。

免疫抑制剤の同時投与といった異種細胞治療薬の免疫抑制作用は、次のようなパラメータを解析することによっても評価することができる：

- 汎血球減少、貧血、白血球減少、リンパ球減少、血小板減少、あるいは他の血液異常などの骨髄抑制作用の有無
- 胸腺萎縮、脾臓・リンパ節・骨髄などの免疫系組織の細胞減少などの組織学的な変化
- 感染症の増加
- 癌の発症増加

投与した異種細胞を維持させるための免疫抑制剤の影響と異種移植を行うことによる直接的な免疫活性化とを区別することが必要である。

異種細胞の生存や拒絶反応、被包化、あるいは壊死が起きた場合のメカニズムについて明らかにしておくべきである。

4.3.2 ウイルス誘導の可能性についての検討

異種細胞内に存在する増殖性ウイルスや病原性のある内在性レトロウイルスが誘導される可能性について適切な前臨床研究を通じて検討しておく必要がある。

また、必要に応じて帯状疱疹を引き起こすヘルペスゾスター、エプスタインバル(EB)ウイルスあるいはサイトメガロウイルス等の他の潜在性ウイルスの再活性化の可能性について検討を行うべきである。

免疫抑制剤の使用によって、ヒトに投与した異種細胞内のウイルス誘導が起こらないかを *in vitro* 系で検

討することは有用である。糖尿病/免疫不全マウス(NOD/SCID)のようにヒト組織を移植した免疫不全マウスの用いて検討できないか考慮すべきである。

免疫抑制状態がウイルス誘導を引き起こす可能性を検討するために、目的とする臨床治療をミミックするような免疫抑制を引き起こした動物モデルを用いて *in vivo* でのウイルス誘導の可能性を検討することが必要である。しかし、この場合ウイルスの誘導は種によって大きく異なることがあることを充分考慮してその結果は解釈されるべきである。

5. ヒトでの有効性と安全性

5.1 効能と患者の選択基準

ヒト細胞の使用には様々な制約があることから、異種細胞治療薬を用いることは有用と考えられ、また、臓器の異種移植に比べ免疫拒絶反応の危険性も相対的に低いと想定される。

一時的/橋渡しの使用/体外循環での使用、他の代替の無い場合の治療、さらにはいくつかの選択肢のある中での治療といった、少なくとも3種類の想定される使用形態が考えられる。感染性因子の伝播と言ったきわめて公衆衛生上の危険性が高いことから、異種細胞治療薬は重篤で生命への危険性の極めて高い疾患を持つ患者に限定するべきである。さらに、患者に対する十分な安全性が確保が可能であり、他の有用な治療法が無い場合にのみ認められるべきである。その場合においても、临床上の有用性と考えられる危険性とのバランスを考慮しなければならない。

5.2 異種細胞治療を行うスタッフと治療施設

異種細胞治療を行うには、十分な協力体制が組める複数の専門分野のスタッフと十分に整備された施設が必須である。結論的には、異種細胞治療薬の治療は細胞治療に関する経験と専門技術を十分に持っている特定のセンターや病院に限定されるべきである。また、施設内で感染性因子の試験や他の有害事象に対する的確な対処や必要なモニタリングが可能でなければならない。リスクに対する危機管理や適切な対応が可能な施設である必要がある。

5.3 エンドポイント

安全性と臨床的有效性の評価に関する2つのエンドポイント設定しておく必要がある。移植や還流といったどのような処置が取られるのか、さらには異種細胞治療薬の安全性や効能に向上させるための付随的な処置についても明らかにしておく必要がある。治療を受ける患者の中での異種細胞をどの様に制御できるか、体内動態等についての知識や経験が殆ど無いことから、異種細胞治療における有効性や安全性の評価には長い時間が必要であり、フォローアップ期間についても妥当性を考慮する必要がある。移植された異種細胞が本当にその病態に必要な性であったのかについても評価しなければならない。

5.4 前臨床データと臨床開発

前臨床から臨床開発への橋渡しが必要である。適切な齧歯類以外の大動物モデルを用いてのデータがヒトへの適応の前に必要となる。選択したモデル動物から得られたデータが臨床効果に外挿できることを立証しておくことが求められる。

前臨床試験

現時点では、異種細胞治療薬の適応は非常に小さな患者集団にのみ用いられると考えられることから、得られる臨床データの量は非常に限られたものになるであろう。健常人を用いた検討は困難であり、投与量や投与方法を確立するための臨床試験は困難と思われる。従って、異種細胞薬の薬用量を決定や投与経路の決定には前臨床研究が有用となると考えられる。ヒト血液中及びモデル動物体内での生存性、機能、代謝がどのようになるかを示す必要がある。細胞性免疫ばかりでなく補体や血小板等を介した拒絶反応についても十分に解析しておく必要がある。前臨床研究を通じて免疫抑制処置や免疫隔離などの補助的手段に関しても解析し、その結果に基づいて必要な処置を選択しなければならない。またその結果を治験に反映させていく必要がある。

5.5 同種細胞治療との関係

同種細胞治療の開発についても同様の考え方で進めるべきである。異種細胞治療薬と同等の同種細胞治療薬が適応可能である場合には、異種細胞治療薬の治験に先立ってその妥当性は必ず立証しなければならない。

5.6 治療での処置法や投与方法に関する技術

異種細胞の治療での処置法や投与方法は治療の成否に直接的な影響を与えることから最適な技術が開発されていることを立証する必要がある。

5.7 薬効

患者内での異種細胞の生化学的作用や生理学的作用について評価する必要がある。一般的に、異種細胞治療の薬効のエンドポイントは、同種細胞治療や関連する他の治療と同じエンドポイントと同じでなければならない。

5.8 体内動態

治療に用いられる製剤中の異種細胞の体内動態を追跡する手段を確立しておかなければならない。患者体内での異種細胞の分布、増殖性、生存性について明らかにしなければならない。また、その評価法や評価期間の妥当性についても説明できなければならない。生化学的あるいは臨床適応でのエンドポイントでの解析や、イメージングやフローサイトメーターによる解析が有用である。

5.9 投与量

目的とする臨床効果のエンドポイントを達成するために必要な異種細胞量を決めなければならない。細胞量の測定方法や投与量の解析方法の妥当性を示す必要

がある。

5.10 補助的治療

異種細胞治療の安全性や薬効を向上させる多くの方策が考えられる。免疫抑制剤や抗凝固剤、抗ウイルス薬、ワクチン接種などの補助的な治療が想定される。治療効果と有害事象の発症の両面をモニターすることにより補助的治療スケジュールを厳格に解析する必要がある。

5.11 臨床試験のポイント

試験のデザインは対象とする病態に適切に対応したものでなければならない。公表されている関連ガイドラインを充分参考してデザインされるべきである。

次に様な点についても考慮するべきである：

- 患者へのインフォームドコンセントとカウンセリング；治療におけるリスクや他の治療の選択肢についての詳細な情報、有効性や安全性に関する長期フォローアップの必要性、将来必要な事態が生じたときのための血清や組織サンプルの保管、公衆衛生局が患者の病歴記録へアクセスする可能性、将来患者が死亡した時の検死の要望や秘密保持についての事項が含まれる。
- 有効性や安全性に関する長期フォローアップ期間の妥当性
- 採用した異種細胞の治療での最適な処置法や投与方法
- インターベンショナルな処置（画像誘導下の経皮的な手技により少ない侵襲で行う治療）を行う場合、その詳細に記載しておく必要がある。操作の繰り返しやすさやインターベンショナル処置の重要性を評価しておく必要がある。もし、インターベンショナル処置が新たな手技である場合には、それを行う妥当性を明らかにしておかなければならない。
- 申請者は治療薬に関して新たに得られたリスクや便益の情報、あるいは長期フォローアップの一環として新たな処置が必要になった場合の情報について患者に逐次提供する義務がある。
- 申請者は細胞の採取から、細胞の加工、保存、輸送、投与に関する一連の操作の全般にわたっての実行性を立証する必要がある。異種細胞治療薬に関する医薬品の追加保護証(SPC)では、異種細胞治療薬を患者に投与する前にそのバイアビリティや機能に関してどの様な試験を行うか、またその規格の設定、さらには細胞の操作法や投与方法に関して十分な説明が必要である。
- 公衆衛生上の観点

5.12 臨床安全性

臨床での安全性評価には患者ときわめて近くで接したり、患者の介護を行う人へのリスクや公衆衛生上問題となる病気の伝播のリスクも含まれる。

5.13 インターベンショナル治療

単回あるいは繰り返して行うインターベンショナル治療に付随するリスクについても評価しなければならない。

患者に最適なインターベンショナル治療を行うことができることを担保する必要がある。

5.14 免疫学的合併症

拒絶反応、免疫抑制、免疫隔離膜の破損などの免疫学上の有害事象の発生をモニタリングし、安全管理を行う必要がある。また、がん化や日和見感染など長期にわたる有害事象の発症についても配慮しなければならない。

5.15 感染症

一連の異種細胞治療における感染症の伝播に関するリスクは最も注意しなければならない重要事項である。

感染症としては急性感染と持続感染が想定され、患者は治療後数ヶ月以内に最も感染症が発症しやすいと考えられる。感染症に対して十分な配慮をしなければ治療が手遅れになる危険性がある。同種細胞治療と同様に、患者に免疫抑制剤を投与することにより感染症を発症する可能性がある。また、異種細胞治療薬に存在する感染性因子によって感染症が引き起こされる可能性もある。この場合には、幅広い範囲の人獣共通感染症や内在性レトロウイルス、あるいは未知の感染症の伝播の可能性も含まれる。全ての感染症の兆候を捉えられることは困難と思われる。従って、治療後に患者が発症した症状が今までの知られていないものである場合には、適切な患者検体を採取して試験を行う必要がある。患者の安全性については長期間にわたってフォローすることが求められている。

患者に免疫抑制状態を誘導しているために人獣共通感染症に罹患するリスクに加え、患者と密接な接触を持つ人や一般の人々へ感染性因子が伝播する可能性も考えられる。患者と密接に接触する人や患者の介護に当たる職員の健康状態をモニタリングすることが求められる（ファーマコビジランスの項を参照）

リスク評価を行うこと、急性及び慢性感染を検出できる手法の確立、さらには定期的な病原体の検査を行うことが必ず求められる。さらに、用いた異種細胞の種類やその体内寿命、さらには疫学的な要因を考慮して感染症の監視プログラムを作成する必要がある。監視プログラムでは、人や動物の既知感染因子ばかりでなく、新たな組換えが起こって生じるような未知感染性因子も念頭に置くべきである。申請者は、患者ばかりでなく患者に密接に接触する人も含めた綿密な感染症監視システムを構築する必要がある（6.1項を参照）。

6. ファーマコビジランス及び特定サーベイランスシステム

異種細胞治療薬の探索と開発、製造、及び臨床使用を通じて安全情報の継続的な収集や実効性のある遡及調査プログラムの確立が必要である

特に個々の製品及びその治療目的に密接に関連したリスクを十分に考慮し、サーベイランスシステムを構築することが必須であり、文書化した規定を設けるべきである。

その規定は関連する国内法やEU法にも照らして作成されなければならない。

6.1 想定されるリスク及び範囲

異種細胞治療薬はこれまでの医薬品にはない特殊なリスクを内包している。これらのリスクには患者ばかりでなく患者と密接に接触する人や一般大衆にも及ぶ可能性がある。

6.2 想定されるリスクのサーベイランス

既知及び未知の人獣共通感染症は、その発症の可能性を念頭に置いてサーベイランスを行わない限り検出が難しいと考えられる。サーベイランスでは非常に特殊な感染症が発症することも念頭に置いて計画を立てるべきである（特定サーベイランスシステム）。

特定サーベイランスシステムの構築：

すでにある各国のサーベイランスシステムやEUサーベイランスシステムに加えて、新たな技術や手法を開発する必要も考えられる。十分に包括的なサーベイランスシステムを構築する必要があり、臨床適用や試験も実施前に確立する必要がある。

患者や患者に密接に接触する人々を対象に公衆衛生に危険性をもたらすような感染症の発生がないかを調査することが特に重要である。サーベイランスシステムの構築に当たっては異種細胞治療薬のバッチ毎の製造工程記録、用いた原料や動物の記録について、トレーサビリティが確保されていなければならない。また、全ての製造原材料の情報が含まれていることも必要である。サーベイランスシステムは、疫学的に重要な兆候を素早く捉えられるようなものでなければならず、異種細胞治療の長期間にわたる安全性を評価できるデータが得られるものでなければならない。

既存の感染症サーベイランスシステムと共同することは異種細胞治療薬の安全性の評価に非常に有用であると考えられる。

リスク管理プログラムの一環としてのサーベイランスシステムの基本要件には次のような点が含まれる。

- 臨床症状をモニタリングできるような患者ごとの病態サーベイランスシステムを構築しなければならない
- 臨床検査は患者の臨床症状を充分モニタリングできるようなものでなければならない。
- 登録された全ての患者のモニタリングデータが必要である。
- 将来、有害事象が発症した場合の原因究明を目的として患者検体の保管が必要である。

- 患者の重大な兆候等に直接的に見出すために症状や検査結果をデータベース化しておく必要がある。また様々な患者のリスクを一定期間毎に評価すべきである。
- 必要に応じて疫学的な研究を含むサーベイランス調査を行うことが緊急事態への対応に通じる。

治験記録や生体試料の保管、さらにはドナー動物等に関する情報報告システムの構築やそれらの報告に基づく緊急の回収システムや的確な報告システムを市販前に構築しておく必要がある。

医薬品製造承認保持者は、医薬品の承認に前に全ての臨床モニタリング及びモニタリング検査に含めるべき事項の科学的妥当性の説明及びサーベイランスシステムの詳細な計画について規制当局に提出しなければならない。医薬品製造承認保持者はモニタリング法や試験法に関して、タイムスケジュールや検体の採取量に至るまで詳細なプロトコルを提出する必要がある。医薬品製造承認保持者は、規制当局に対して安全情報の収集と、保管、必要な報告を行う責任がある。

患者、患者に密接に接触する人、及び介護者の個人情報データの適切な保護が必要であり、その取り扱いには個人情報保護法に則って行わなければならない。

6.3 臨床サーベイランス

全ての患者の定期的な医療期間への受診に際して、モニタリングを実施することが必要である。患者のサーベイランスは一生涯、あるいは技術的に一定期間のフォローアップによりさらなるデータが必要ないと判断されるまで行われなければならない。このような原則は人工肝臓のような体外で循環バイオリアクターによる処置を受けた患者に対しても、バイオリアクターによる隔離が完璧であり、当該治療において異種組織・細胞あるいは感染症が患者へ混入することが無いことを実証できるまでは適応されるべきである。一般に体外循環システムではリアクター内に存在する異種細胞が循環される患者血液に混入することはないと考えられている。もし、申請者が問題となるような病原体が患者の血液に混ざることがないことを十分にバリデートされた試験により実証できたならば、サーベイランスシステムの規制はこのような埋植/循環型医療用具には適応する必要はないかもしれない。

異種細胞治療薬の適応を受ける前に患者に対してフォローアッププログラムへのインフォームドコンセントを取ることが望ましい。患者には異種細胞治療のリスクについて十分な説明がなされなければならない。患者に対してサーベイランスを強制するのは患者や患者と密接に接する人、さらには公衆の健康の保護にきわめて重要な意味があること認識させるように情報が提供されなければならない。インフォームドコンセントではプライバシーの保護と自由意志に基づくことを保証しなければならない。

一般的に、臨床サーベイランスは治療直後の短い期

間により重要な意味を持つと考えられる。臨床サーベイランスや検査によるサーベイランスの間隔は治療後の経年とともに延ばすことができる。

サーベイランス検査

サーベイランス検査プログラムを設定しておかなければならない。全ての患者について検査を行うようにあらゆる努力を行うことが求められる。サーベイランス検査では、ドナー動物のスクリーニング試験の対象となった感染性因子や内在性レトロウイルス（例えばブタ内在性レトロウイルス）などの感染症に関する検査が含まなければならない。いくつかの検査は感染性因子の伝播が起きたのではないかと考えられるような臨床症状が疑われた場合にのみ実施することも可能である。

急性感染症の兆候が見られたようなケースを想定して、追加の検査や必要な検査を行う施設を確保しておく必要がある。臨床検査室への検体の送付では、適切な手順書を作成しておく必要がある。

臨床検査では存在する可能性のある既知感染性因子、例えばドナー動物で病原性をもつやヒト細胞に *in vivo* 及び *in vitro* で感染性を示す因子を含めて検出ができるものでなければならない。潜在性の感染性因子に対しても検出能がなければならない。一般的に、細胞種やドナー動物によって異なる感染因子が存在することから、異種細胞治療薬の種類に応じて感染性因子の検査項目を選択する必要がある。万が一感染性因子が見出された場合には、その感染性因子がドナー動物に由来するのかドナー動物以外から感染したのかを区別するために、感染性因子の種特異性を特定することはきわめて重要である。適切にバリデートされた最新の手法を用いるべきである。製品の安全性を担保できるように試験法は製造承認の前に確立しておく必要がある。またそのバリデーションデータは承認前に添付資料として提出する必要がある。ある種の感染性因子に関しては十分にバリデートされた検出法が無い場合がある。医薬品製造承認保持者はさらなる試験法の開発と研究を継続する義務を負っている。

登録

全ての患者のデータが登録されるべきであると考えられる。全ての患者の臨床モニタリング及びモニタリング検査の実施により感染性因子の伝播が生じた可能性を示すような兆候を早期に発見できるようになると想定される。このような登録は感染性因子のトレーサビリティの確保や、感染性因子の回想的解析やさらには前望的解析の手段としても有用である。登録はまれにしか起こらない有害事象のトレーサビリティにも役立つと思われる。また有害事象の発生頻度の解析にも有用である。

想定されるリスクに関しては未知・未経験な点も多いことから、細胞の取り扱いや細胞の処理に関して認定を受けた医療センターにおいて特別チームを編成し、

承認されたプロトコールに従って異種細胞治療を行うことが望ましい。患者に感染が起きた場合にも、感染因子の検出、診断、及び有用な治療は十分に組織された医療チームによってのみ対処が可能と考えられる。医療施設には感染性因子に対するルーチンの検査が可能な認可を受けた施設内検査室を有しているか、感染症検査の豊富な経験を持つ認可施設とタイアップできていることが必要である。特定の医療施設が承認を受け、登録されるべきである。

患者に密接に接する人や患者の介護に当たる医療従事者に異種細胞治療にもなうリスクについて十分な情報を提供することが重要である。異種細胞治療に伴う感染症の発症について、患者に密接に接する人や患者の介護に当たる医療従事者を日常的にモニタリングすることは実効性や必要性の点からもそこまで求める必要はない。しかしながら、これらの人々に対する基本的なサーベイランスのやり方については予め決めておく必要がある。患者が感染症を発症した場合や患者に密接に接する人や患者の介護に当たる医療従事者に感染の危険性が排除できない場合などでは、さらなるサーベイランスプログラムを発動させる必要がある。感染の可能性が排除できない場合には、患者に密接に接する人に十分な説明を行うために全力で取り組むべきである。感染が生じたときの回想的解析のために患者に密接に接する人の組織や血液検体を保存しておくことが推奨される。またそこでは、適切な個人情報の保護が求められる。

医薬品製造承認保持者は全ての異種細胞治療を行う医療施設、検査施設、その製造施設の職員に対する安全性確保プログラムを作成することが求められる。

医療従事者の教育

医薬品製造承認保持者は、製品を適切な取り扱い、製品の処理方法、あるいはフォローアップのために、医療従事者に対して製品に関する総合的な情報を提供する義務を負っている。

6.4 スクリーニングプログラム

承認を受けた後、患者の免疫反応に関するルーチン検査や異種細胞の機能、さらには感染の可能性について試験を行う必要がある。それらの手法の科学的妥当性も明らかにされなければならない。患者や患者に接する人の健康状態の積極的なモニタリングでは、通常の臨床情報や検査情報ばかりでなく関連する他の医学的情報も含まれなければならない。

感染の前望的スクリーニングプログラム

同種細胞治療とことなり異種細胞治療では、ルーチンの臨床モニタリングや検査モニタリングを含め、感染症に関する長期にわたるサーベイランスや遡及調査が必要になると考えられる。臨床的に顕在化する感染症ばかりでなく不顕性感染に関するルーチンスクリーニングも必要である。感染症に対する積極的なスクリーニングを行うことにより、臨床兆候が現れる前に、

早期の感染の検出や患者の発症の把握が可能となる。感染性因子が存在することが知られているような異種細胞を用いた場合には、積極的な感染因子の検出プログラムを行う必要がある。例えば、ブタ細胞を用いた場合には全ての患者に PERV（ブタ内在性レトロウイルス）のスクリーニングを行わなければならない。治療を行ってから時間の経過に伴い、フォローアップのモニタリングでの回数を減らすことも可能であろう。スクリーニングの回数を残減させていくような計画を立てることも可能である。

患者が死亡した場合には、その死因を明らかにするために適切な試料を用いて組織病理学的な検死や培養での解析を行うべきである。可能であれば、血液検体や関連する組織片を採取し、保存しておくべきである。内在性レトロウイルス検査のための検体も保管しておくべきである。

病歴記録

患者の受けたスクリーニング検査結果や有害事象の記録、異種細胞治療における処置やドナー動物を含めた製品の詳細等の全ての患者情報の治療記録が作成されなければならない。適切なトラッキングシステムを確立し、実施する必要がある。有害事象が起きた場合には、必要に応じて臨床試験や検査結果に関する追加的な情報やドナー動物に関する追加的な情報を収集しなければならない。

患者の治療記録には異なるサーベイランスプログラムからのデータベースから得られるものや、保管検体の検査結果等も含まれる。また、患者の治療記録には製品の製造に関連する情報とリンクされている必要がある。

患者の治療記録は以下のような事項が含まれる。

- 製品に関する情報：ドナー動物、製造施設、治療を行う医療機関、異種細胞医薬品の識別子（品質モジュールを参照）、医薬品製造承認保持者について
- 患者情報：コード番号、患者イニシャル、生年月日などの患者標識子は患者のトラッキングに際して患者関連情報としてリンクさせておく必要がある。
- 製法に関する情報：患者に投与された製品の製造日、処置を受けた医療機関や担当医師や処置方法などの患者標識子
- 病歴や治療を行う前の患者の病態
- フォローアップでの様々な医療情報：患者への投薬や医療措置、拒絶反応、感染症、注意すべき他の症状、入院歴や合併症
- 有害事象の報告書
- 有害事象の発症日、その経過、転記
- 患者フォローアップでの検査、検査日、検査内容、検体、検査結果
- 有害事象に対する処置の方法
- 患者の死亡記録

医薬品製造承認保持者はサーベイランスシステムを規定しておかなければならない。さらに、製造を中止しても全ての検体や記録の保管義務を負う。検体や記録の保管や登録は、適切に実施できるような法的根拠があれば第三者に委託することも可能である。

生体試料検体の保管

アクティブなスクリーニングプログラムに加え、感染症が起きた場合やその疑いがある場合の遡及調査における検査の為に、血液や血漿、尿などの適当な生体試料を採取し、保管するべきである。申請者は、感染症のリスクについての将来の評価のためにドナー動物由来の検体や異種細胞、さらには患者の検体を保管する義務がある。患者に密接に接する人の検体も可能であれば保管するべきである。保管された検体の保存場所等について治療記録に記載する必要があり、情報は必要に応じてデータベースにリンクされていなければならない。

生体試料検体の採取スケジュールは認可前に確立しておかなければならない。異種細胞治療を実施する前、及び実施直後やさらに適切な時期に、試料を採取しなければならない。生体試料検体は、公衆衛生上の観点からの解析や公衆衛生上の重大な問題となるような感染症の発症を適切に評価できるような条件で、採取、保管されなければならない。医薬品製造承認保持者は安全装置をつけるなど、将来、生体試料を利用できるように何十年に渡って適切に保管しなければならない。医薬品製造承認保持者は将来に渡っての感染症に関するドナー動物や製品の検査スケジュールについて考えておく必要がある。

6.5 有害事象の報告義務

重大な有害事象が起こった場合には即座に規制当局に報告しなければならない。報告書の形式は従来のものと同様で良いが、必要な全ての情報が含まれていなければならない。

次のような重大な有害事象に関しての報告することが必要である、

1. 感染症の伝播の可能性：もし患者や異種細胞治療薬を採取したドナー動物（死亡後の検査等で）になんらかの感染症伝播の可能性があることが分かった場合には、当該規制当局に連絡をしなければならない。
2. HIV、HBV、HCV、結核等の感染症や全ての人獣共通感染症を含む伝達性の疾病に患者が感染していることの実事。患者と密接に接する人に何らかの感染症が広がっていないかについても報告する義務がある。
3. 患者に新たな癌の発症が明らかになった場合
4. 移植された異種細胞の機能不全や萎縮が見られた場合
5. 異種細胞の拒絶反応が起こった場合

6. 患者の死亡
7. 異種細胞治療によって引き起こされた可能性のある臨床上的その他の有害事象

医薬品による有害事象の情報については患者にも伝えなければならない。感染症発症のリスクがかなり高い場合には、患者と密接に接する人や一般の人々に対しても情報を提供することが重要である。その場合には個人情報保護を担保しながら有効な方法を採用しなければならない。

もし伝達性の病原体に対して患者が陽性であることが判明した場合の取るべきアクションについて明確にしておかなければならない。治療後、患者が一般の生活に入っていく前に、公衆衛生に対するリスクを最小限にするための規則や対処方法が明確に記載されていなければならない。

6.6 データベース

サーベイランスシステムの一環として、EU内での異種細胞治療に関する電子データベースを作り上げるか、既存のデータベースにネットワーク上でリンクするようにしなければならない。それらの電子データベースはEU域内で互換性のある情報システム、ルーチンのデータ収集法、データの報告形式、一般的始動形式で作成され、あるいは修正されていなければならない。さらには全ての関連する事項のデータベースが、閲覧可能なようにしておく必要がある。こういった観点から互換性のあるデータを報告することを担保するために統一された基準が必要である。メドラ (MedDRA) のような既存システムが利用可能である。医薬品製造承認保持者は関連する適切なフォーマットに従い全てのデータと最新のデータを入力しなければならない。

データベースには次のようなリンクされている情報やリンク外の情報を含む。

- 各々の細胞バッチの標識子を含む異種細胞治療薬に関する情報
- 治療実施施設情報
- 患者情報/その標識子やコード番号、さらには治療方法に関する詳細な情報
- 有害事象に関する除法
- 最新のアクションプランに関する書類や患者フォローアップ、治療記録、検査記録に関する情報
- 可能であれば患者の剖検記録
- 生体試料の検査結果
- 感染症の発症リスクを最小にするための手法に関する詳細やその実施要領
- 製品によっては動物施設や動物の健康状態に関するアクセス方法

このようなデータベースにより、i) 想定される異種細胞由来感染症などの健康への有害事象の発症の確認、ii) 国内外での有害事象発症の検索、iii) 異種細胞治療薬の治療に伴う疫学的に重要な有害事象に関して、患者や医療機関への情報提供、iv) 生命科学あるいは臨床研

究の観点からの評価、v)長期安全性の評価などが可能になる。

加盟国、各国行政庁あるいは委員会等の規制当局がデータベースにアクセスできるようにしなければならない。

6.7 報告義務

医薬品製造承認保持者は、患者の健康状態、有害事象、患者やドナー動物の検査結果、さらには施設に関する安全情報を一定期間毎（承認後2年間は四半期毎に、その後の3年間は半年に1回、それ以降は1年に一回）に規制当局に対して提出することが求められる。

医薬品製造承認保持者は、新興動物由来感染症など新たな緊急情報に関して積極的に対処する責務がある。これには、速やかに規制当局に報告しなければならないような、患者や、患者に密接に接する人や公衆に重大な影響を与えるような情報も含まれる。

治療の透明性や異種細胞治療の公衆に対してリスクが生じる可能性等の情報についても透明性が確保されなければならない。

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—Oncolytic virus (腫瘍溶解性ウイルス)を用いた癌治療について—

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。

本項では、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。今年度は2005年秋のICH遺伝子治療ワークショップでトピックスとして取り上げられる腫瘍溶解性ウイルス(oncolytic virus)を用いた癌治療について、その現状と臨床開発状況に関する国際的動向と国内の開発状況及び今後の課題を検討し

た。

C. 5.1 腫瘍溶解性ウイルス療法とは

腫瘍溶解性ウイルス療法とは、正常細胞では増殖できないが、標的とする癌細胞で特異的に増殖可能な制限増殖型ウイルス(conditionally replicative virus, replication-selective virus)を癌細胞に感染させ、ウイルス増殖による直接の殺細胞効果により癌を治療する方法で、癌ウイルス療法(cancer virotherapy)とも呼ばれる。非増殖性ウイルスベクターを用いる遺伝子治療と異なり、腫瘍溶解性ウイルス療法では、最初にウイルスが感染した癌細胞を破壊、死滅させるだけでなく、増殖したウイルスが周辺の細胞に拡散し、さらに癌組織全体に感染が広がることで治療効果が高まることが期待される。また、ウイルスの感染により腫瘍細胞に特異的な抗腫瘍免疫が誘導される場合は、免疫系による抗腫瘍効果の増強も期待される。用いられる腫瘍溶解性ウイルスは、変異株を含めた天然に存在する遺伝的改変を行っていないウイルスと、遺伝的改変によって癌細胞での選択的自己複製能を持たせた弱毒ウイルスとに分類される。このうち、天然のウイルスを用いた場合は遺伝子治療の範疇には属しないと考えられるが、組換えウイルスを用いた場合は広義の遺伝子治療と考えられる。さらに腫瘍溶解性ウイルス療法に従来の遺伝子治療を組合わせたものとして、治療用遺伝子を搭載した(武装化)腫瘍溶解性ウイルス(armed oncolytic virus)も研究開発が進められている。腫瘍溶解性ウイルスは10年程前から研究が開始され、活発な研究が展開されている。現在10種類以上の腫瘍溶解性ウイルスが臨床試験初期段階にあり、前臨床レベルのものを含めると膨大な報告が出されている。全てを網羅することは不可能であるが、代表的なウイルスを中心に、癌細胞への標的化の方法と用いられるウイルスの特徴、臨床研究を中心とした具体例、日本における研究開発の現状、問題点と今後の課題についてまとめた。

C. 5.2 腫瘍溶解性ウイルスの癌細胞への標的化(targeting)の方法

C. 5.2.1 ウイルス本来の癌細胞選択性を利用する方法(Inherent tumor-selectivity)

ウイルスの本来の性質として、癌細胞で特異的増殖性を示すウイルスを遺伝的改変なしに用いる方法。RNAウイルスの中には正常細胞が持つ抗ウイルス応答、ウイルスに対する防御機構に高感受性であるため、正常細胞では増殖できないものが存在する。癌細胞では、細胞の増殖性に優位であるために抗ウイルス応答が欠損している場合が多く、このような癌細胞でのみ増殖可能な性質を持つウイルスを用いる。ウイルスの改変や外来遺伝子の挿入が必要ないことが利点であるが、標的細胞特異性の改変が困難なこと、ウイルスの本来の細胞溶解性の強さに依存することが欠点となる。ニューカッスル病ウイルス(Newcastle Disease Virus; NDV)、水疱性口内炎ウイルス(Vesicular Stomatitis Virus; VSV)、レオウイルス(Reovirus)、自己複製型パルボウイルス(B19, H1)等について臨床研究、前臨床

研究が行われている。

(1) ニューカッスル病ウイルス (Newcastle Disease Virus; NDV)

パラミクソウイルス科に属する一本鎖(一鎖) RNA ウィルスで、エンベロップを有する。鳥類のウイルスであり、通常ヒトには感染しないが、まれに感染するとインフルエンザ様症状を引き起こす。インターフェロン (IFN) に対抗するウイルス側の防御機構が備わっていないため IFN 高感受性であり、正常細胞では IFN により増殖が阻害されるが、癌細胞では IFN 応答が欠損している場合が多く、このような IFN 応答が欠損した癌細胞でのみ増殖して細胞を破壊する。

(2) 水疱性口内炎ウイルス (Vesicular Stomatitis Virus; VSV)

ラブドウイルス科に属する一本鎖(一鎖) RNA ウィルスでエンベロップを有する。家畜の水疱性口内炎ウイルスで、通常はヒトには感染しないが、まれに感染するとインフルエンザ様症状を引き起こす。NDV と同様、IFN に高感受性であり、IFN 応答が欠損している癌細胞でのみ特異的に増殖可能である。

(3) レオウイルス (Reovirus)

レオウイルス科の 2 本鎖 RNA ウィルスで、エンベロップはない。レオウイルスは呼吸器や消化管に感染するが、ほとんどは不顕性感染であり、12 歳で半数が、成人までにほとんどの人が感染して抗体を保有している。Ras が活性化された細胞でのみ増殖性を示すが、そのメカニズムは以下のとおりである。宿主の正常細胞では、ウイルスの感染、初期転写の結果生じる 2 本鎖 RNA (dsRNA) によって細胞内の double-stranded RNA-activated protein kinase (PKR) がリン酸化・活性化され、その結果として、蛋白合成開始因子(eIF-2)の α サブユニットがリン酸化・不活化されてウイルスの増殖を抑制するという抗ウイルス機構が備わっている。多くのウイルスは、PKR に対抗する防御のメカニズムをウイルス自身が持っているため、正常細胞でも増殖可能である。しかし、レオウイルスは抗 PKR メカニズムを持たないため、正常細胞では増殖できない。一方、癌細胞の多くで Ras の活性化が認められるが、Ras が活性化すると脱リン酸化酵素が活性化されて PKR が不活化される。従って、レオウイルスのように抗 PKR メカニズムを持たないウイルスでも Ras 活性化細胞では増殖可能となる。Ras の変異は全腫瘍の約 30% で認められ、Ras の上流の EGF 受容体や PDGF 受容体の変異を含めると全腫瘍の約 80% で Ras が活性化していると考えられることから、Ras の変異は癌特異的治療法の大きな標的となる²⁵⁾。なお、Ras の変異を標的とする制限増殖型ウイルスはレオウイルスに限るものではなく、ウイルスが抗 PKR 活性を持っている場合でも 2) の deletion targeting により抗 PKR 活性を失わせることで、Ras 依存的増殖型ウイルスが作成されている。

C. 5. 2. 2 ウィルス遺伝子の欠失による癌細胞標的化

(Deletion targeting)

正常細胞におけるウィルスの増殖・複製には必須の遺伝子であるが、癌細胞ではその遺伝子の機能が補完されているために癌細胞でのウィルス増殖には不必要なウィルス遺伝子の除去・変異によりウィルスを弱毒化し、ウィルスの増殖を特定の癌細胞に限定する方法。ウィルスが増殖するためには細胞周期を静止期から DNA 合成期に動かす必要がある。癌細胞では細胞周期を静止期に止めるためのチェックポイントとなる蛋白質の変異などにより増殖性が活性化されているため、ウィルスの増殖にも好都合であり、欠失変異ウィルスでも増殖可能である。一般的には遺伝子組換えにより作製されるが、自然変異株としても得られる可能性がある。1 つのウィルスでも変異導入部位は数箇所検討されており、複数の変異を入れることによって特異的増殖の厳密性をより高めることも可能である。外来遺伝子を導入する必要はない。一方、この方法では野生型ウィルスに復帰する危険性がある。

アデノウイルス (Adenovirus)、単純ヘルペスウイルス (Herpes Simplex Virus; HSV)、ワクシニアウイルス (Vaccinia virus)、ポリオウイルス (Poliovirus)、麻疹ウイルス (Measles virus)、センダイウイルス (Sendai virus) 等について研究が行われている。代表的なウィルスにおける変異の導入部位と制限増殖性のメカニズムを以下に示す。

(1) アデノウイルス (Adenovirus)

アデノウイルス科の 2 本鎖 DNA ウィルスでエンベロップを持たない。呼吸器感染症、咽頭結膜熱等を引き起こす風邪のウィルスである。多くの血清型があるが、ヒトアデノウイルス 5 型が遺伝子治療用ベクターとしてよく研究されている。ゲノムサイズは約 36kb で、遺伝子治療にはアデノウイルスの増殖に必須の初期遺伝子 E1 領域を欠損した非増殖性ウィルスが用いられる。

制限増殖型アデノウイルスの場合も E1 領域 (E1A、E1B をコード) に変異を入れたものが多い。E1 蛋白質の細胞周期、増殖・停止シグナルにおける機能を図 11 に示す。E1A は静止期の細胞を S 期に誘導する因子で、細胞の Rb 蛋白質 (pRb) に結合する。pRb は、転写因子の E2F と結合してその活性化を抑えているが、E1A との結合により pRb は不活化されて E2F が遊離する。E2F は細胞増殖に関与する遺伝子のの上流に結合し、細胞周期を G1 から S 期に移行させる。一方、過剰に遊離した E2F により癌抑制遺伝子産物の p53 の高発現が誘導され、そのままではウィルスの増殖前に細胞の増殖停止や apoptosis が誘導され、ウィルスの複製は阻害される。これに対して、アデノウイルスのもう一つの初期遺伝子 E1B から発現される E1B55K は、p53 と結合することでその機能を抑え、細胞内でのウィルスの増殖を可能にする。また E1B19K は p53 の下流の Bax の作用を阻害する。制限増殖型アデノウイルスとして E1A、E1B の変異ウィルスが作製されている。①E1B55K

E1B55K は p53 と結合してその機能を抑制する分子であり、E1B55K 欠損アデノウイルスは p53 経路に変

異がある細胞でのみ複製可能である。P53 は癌の 50% 以上において変異が認められ、p53 経路全体を含めるとさらに多くの癌が標的となりうる。

②E1A conserved region 2

E1A は pRb と結合することで E2F を遊離させるが、pRb との結合領域である E1A の conserved region 2 を除去した欠損ウイルスが作成されている (E1A Δ CR2)。このウイルスは pRb 経路に変異がある細胞でのみ増殖可能である。

③VAI

アデノウイルスが細胞に感染すると、2 本鎖 DNA ゲノムの両方向への転写により dsRNA が産生される。一方で、アデノウイルスは PKR のアンタゴニストとなる virus-associated (VA) RNAs を産生し、PKR の活性化を阻害する機構を有する。アデノウイルス 5 型では VAI と VAII の 2 種類の virus-associated RNA が産生されるが、VAI のほうが PKR 阻害活性が高く、蓄積量も多い。Ras 活性化細胞でのみ腫瘍溶解性を示す VAI 欠損アデノウイルスが作成されている⁽²⁶⁾。

(2) 単純ヘルペスウイルス (Herpes Simplex Virus; HSV)

ヘルペスウイルス科に属する直鎖状 2 本鎖 DNA ウイルスで、正 20 面体のカプシドがエンベロープに覆われている。ゲノムサイズが約 150kbp と巨大であり、80 以上のウイルス蛋白質がコードされている。単純ヘルペスウイルス I 型 (HSV-1) は脳炎、口唇ヘルペス、角膜ヘルペス等を引き起こす。

チミジンキナーゼ、リボヌクレオチド還元酵素、 γ 134.5 (ICP34.5; infected protein 34.5) などの変異により deletion targeting ウイルスが作成されている。野生型ウイルスへの復帰を抑え、癌細胞での特異性、安全性を高めるためにゲノム中に複数の変異を入れたものも作成されている。

①チミジンキナーゼ (TK)

DNA 合成に必須の酵素で、静止細胞では発現されていないが G1 \rightarrow S 期で発現が亢進される。野生型 HSV は中枢神経系で活発に増殖し、マウス脳内接種では数個の感染性ウイルスにより脳炎となるが、TK 欠損 HSV は神経細胞内では増殖できず、癌細胞など増殖性の高い細胞でのみ増殖可能である。

②リボヌクレオチド還元酵素 (ribonucleotide reductase, ICP6 遺伝子)

DNA 合成に必要な酵素で、静止細胞では発現されていないが G1 \rightarrow S 期で発現が亢進される。ICP6 遺伝子 (リボヌクレオチド還元酵素の large subunit) を欠損した HSV 癌細胞など増殖性の高い細胞でのみ複製可能である。

③ γ 134.5 (ICP34.5; infected protein 34.5)

γ 134.5 は HSV の神経病原性に大きく関与している因子で、PKR 脱リン酸化酵素を活性化し、PKR の阻害剤として働く。HSV 感染後の蛋白質合成系に対する PKR 依存的停止に対抗するウイルスの防御機構である。HSV には 2 つの γ 134.5 遺伝子がある。Ras が活性化した癌細胞では Ras により直接 PKR の作用が阻害するため γ 134.5 は不必要である。 γ 134.5 欠損 HSV

は Ras が活性化した細胞でのみ増殖性を示す。

(3) ワクシニアウイルス (Vaccinia virus)

ポックスウイルス科の 2 本鎖 DNA ウイルスでエンベロープを有する。種痘ウイルスであり、高い免疫原性を有する。ゲノムサイズが 200kb と非常に大きいため、感染性を失わせることなく大きな遺伝子を挿入可能である。また、感染細胞内で核に移行せず細胞質内で転写、複製するため染色体への挿入変異の危険性がないことから遺伝子導入用ベクター、遺伝子ワクチンとしての研究が行われている。ワクシニアウイルスそのものは癌細胞選択性を持たないため、チミジンキナーゼ (TK) 遺伝子の除去、あるいは SPI-1、SPI-2 遺伝子の変異により制限増殖型ウイルスが作成されている。

C.5.2.3 転写レベルでの癌細胞標的化 (Transcriptional targeting)

癌細胞特異的、あるいは組織特異的なプロモーター、エンハンサーをウイルスに導入し、ウイルスの増殖に必須の蛋白質の発現を制御することで癌細胞選択的な増殖性を持たせる方法。表 4 に用いられているプロモーター・エンハンサーと標的となる癌の種類を示した。これらのプロモーター、エンハンサーは従来の遺伝子治療でも用いられており、方法論はよく研究されているが、外来遺伝子をウイルスに挿入する必要があること、プロモーターのシャットオフにより癌細胞内での増殖が停止する可能性があることが欠点となる。組織特異的プロモーターとしては、PSA プロモーター、AFP プロモーター、mucin-1 プロモーターなどが、また、広範な癌細胞で作動するプロモーターとしてテロメラーゼプロモーターなどが用いられている。転写レベルでのターゲティングはアデノウイルス、ヘルペスウイルスで多くの研究が行われている。

アデノウイルスの場合、ウイルスの増殖に必須の E1A をプロモーターで制御し、特定の癌細胞で選択的に発現させる方法や、E1A と E1B の発現を別々の癌特異的プロモーターで制御する方法などが用いられている。E1A に欠失変異を入れた E1A Δ CR2 を組織特異的プロモーターで制御することにより、pRb null/mutant でかつ特異的プロモーターが作動する癌細胞でのみ増殖性を持たせるなどの選択性を高める方法も研究されている。

ヘルペスウイルスの場合、初期遺伝子である ICP4 遺伝子の発現をアルブミンエンハンサー/プロモーターで制御し、肝臓及び肝細胞癌特異的に HSV が増殖をするものや、カルボニンプロモーターで制御するものなどが報告されている⁽²⁷⁾。

C.5.2.4 細胞レベルでの癌細胞標的化 (Cellular targeting)

ウイルスのコート蛋白質を改変することにより癌細胞特異的な感染指向性を持たせる方法。この方法ではウイルスは理論的には癌細胞以外には感染しないため安全性が高く、より強力なウイルスを用いたり、投与量を増やすことも可能と考えられるが、ウイルスの指

向性の改変は技術的に困難な場合もある。細胞レベルでのターゲティングは制限増殖型ウイルスに限らず、遺伝子治療に用いられる非増殖型ウイルスベクターを含めて多数の研究が行われている⁽²⁸⁾。

細胞レベルでのターゲティングはアデノウイルスで良く研究されている。アデノウイルスは、まずウイルスのファイバー蛋白質が細胞表面のアデノウイルス受容体である CAR (coxsackievirus- adenovirus receptor) に結合し、その後、ペントンベースの RGD (Arg-Gly-Asp) モチーフと細胞表面上のインテグリンとの相互作用により細胞内に侵入する。アデノウイルスのファイバー蛋白質の改変により、ウイルスのトロピズムの改変が可能である。

また、ヘルペスウイルスでは、ウイルスの glycoprotein B, C の硫酸化プロテオグリカン結合部位を除去し、IL-13 の遺伝子を挿入することにより、IL-13 receptor $\alpha 2$ を発現している脳腫瘍細胞にのみ選択的に感染させる方法が報告されている⁽²⁹⁾。

最近、麻疹ウイルス(Measles virus)のワクチン弱毒株の H タンパク質に CD38、EGF-R、EGF-Rmutant VIII に対する 1 本鎖抗体フラグメントを発現させることにより、ウイルスの指向性の改変に成功し、特異的受容体を発現した癌細胞での選択的な感染・抗腫瘍効果が動物実験レベルで得られることが報告された⁽³⁰⁾。1 本鎖抗体フラグメントをウイルスに発現させる方法は、他のウイルスの指向性改変にも応用可能なものと考えられ、抗体工学の最近の進歩を受けて、今後様々な応用が期待される方法である。

C. 5. 2. 5 免疫系の回避による癌特異的集積・増殖

最近、ワクシニアウイルスや細菌類 (Vibrio cholerae, Salmonella typhimurim, Listeria monocytogenes) を静脈内投与すると固形癌や転移部位に集積して増殖することが報告された⁽³¹⁾。癌組織では免疫系が抑制されているために、leaky な血管から癌細胞内に侵入した微生物は免疫監視機構から逃れて増殖可能であるが、血中の微生物は免疫系により迅速に排除されるために癌への集積性、選択増殖性が見られるようである。この現象を利用して、血液によって運ばれるウイルスや微生物を用いた癌や転移部位の発見及び治療法が開発される可能性がある。

C. 5. 3 腫瘍溶解性ウイルスの開発状況と臨床試験成績

ヒトのウイルスは通常ヒトの細胞でのみ感染・増殖するため、動物実験から腫瘍特異性やウイルスの増殖能、体内分布を正確に評価することは困難である。そのため、前臨床試験から迅速に臨床試験に移行する例もあり、すでに相当数の臨床研究が実施されている。前臨床の動物実験段階のものを含めると多様なウイルスを用いて多くの研究が実施されているが、ここでは臨床試験成績を中心に、開発されている腫瘍溶解性ウイルスの具体例をいくつか紹介する (表 5 参照)。

C. 5. 3. 1 アデノウイルス

① ONYX-015 (dl1520) ⁽³²⁾

ONYX-015 は ONYX 社により臨床開発が進められ、

初めて臨床研究が実施された腫瘍溶解性ウイルスである。p53 を抑制する E1B-55K 遺伝子を欠損している弱毒化アデノウイルスで、正常細胞に感染すると p53 の作用によりウイルスの複製は阻害されるが、癌細胞では p53 経路が高頻度に抑制されているため、ウイルスの自己複製により感染細胞の破壊が期待される。

ONYX-015 はこれまでに頭頸部癌、膀胱癌、卵巣癌、転移性肺癌等、種々の癌を対象として 15 強の臨床試験 (Phase I-III) が実施され、250 人以上の癌患者にウイルスが投与された⁽³³⁾。投与方法も、腫瘍内投与の他、管腔内投与、動脈内投与 (肝動脈などへの注入)、静脈からの全身性投与も検討された。これまでの結果をまとめると、このウイルス療法では重篤な副作用は認められず安全性は確認された。しかし、有効性の点では、従来の化学療法剤との併用では高い治療効果も報告されている (頭頸部癌の Phase II 試験において、シスプラチン、5-フルオロウラシルとの併用により腫瘍の消失: 27%、腫瘍の縮小: 36%)⁽³⁴⁾のもの、単独療法では、残念ながら動物実験での有効性とヒトでの治療効果には大きな隔りがあり、期待されたほどの治療効果は得られず、限定された効果にとどまっていた。また、作用機序に関しても P53 のジェノタイプと有効性の相関が認められず、E1B55K と p53 の相互作用は実際はもっと複雑であると思われる⁽³⁵⁾。

このような状況で、有望な治療法と期待され最も臨床研究が進んでいたが、ONYX 社は 2003 年に ONYX-015 の臨床研究を中断した。腫瘍溶解性ウイルスを一般の治療法として広く臨床に用いるには、より強力で有効性と選択増殖性の厳密性を高めるようなウイルスの改良・開発が必要である。ONYX 社では第 2 世代の増殖型アデノウイルスや、治療用遺伝子を搭載した制限増殖型ウイルスの前臨床開発は継続している。

② CV706

PSA プロモーターにより E1A の発現を制御する制限増殖型アデノウイルスで、PSA を発現した前立腺癌を標的とする。局所再発前立腺癌患者を対象に Phase I 試験が実施され、放射線投与後の前立腺内へのウイルス投与により、65%で血中の PSA レベルが 30%以上、最高投与量 (1×10^{13} particles) では 50%以上低下し、有効性が報告されている⁽³⁶⁾。

③ CG7870 (CV787)

Cell Genesys 社⁽³⁷⁾が臨床開発を行っているもので、CV706 を改良し、E1A を probastatin prostate-specific promoter で、E1B を PSE (prostate specific antigen) 前立腺特異的転写制御エレメントで制御して特異性を高めている⁽³⁸⁾。初期前立腺癌患者を対象とした Phase I/II 試験が腫瘍内投与および静脈内投与で実施され、ある程度 PSA の低下、安定化が認められたという論文発表はされていない。化学療法剤との併用に関する Phase I/II 試験が 2004 年より実施されている。

なお、Cell Genesys 社ではサイトカイン遺伝子やテロメラーゼプロモーターを搭載した多種の癌を対象とする CG0070、CG4030、CG5757 及び膀胱癌を対象として膀胱癌マーカー uroplakin II を利用した

CG8840 という制限増殖型アデノウイルスの前臨床開発も行っている⁽³⁷⁾。

④Ad5-CD/TKrep

アデノウイルスの E1B55K の 78 番目以降のアミノ酸残基を除去し、そこに治療用遺伝子として自殺遺伝子であるシトシンデアミナーゼ (CD) と HSV-1 TK の融合蛋白質の発現カセットを挿入した 'armed oncolytic adenovirus' である。ウイルスの選択的増殖による癌細胞の破壊効果とウイルスの拡散感染効果に加えて、CD とプロドラッグの 5-フルオロシチン、HSV-TK とガンシクロピルの 2 重の自殺遺伝子治療を組合せたものであり、強力な抗癌効果が期待される。局所再発前立腺癌に対して Phase I 試験が単独前立腺内投与⁽³⁸⁾あるいは放射線療法との併用⁽⁴⁰⁾で実施された。単独療法でも一定の効果が得られたが、放射線を併用すると全ての患者で PSA の顕著な低下が認められ、50%の患者では血中の PSA レベルが 0.5ng/ml 以下まで低下するなど、極めて効果が高いことが報告されている。

⑤ONYX-411、ONYX-443

ONYX-411 は ONYX 社が開発している第 2 世代の制限増殖型アデノウイルスで、E1A の保存領域を除去 (E1AΔCR2) し、ウイルスの E1, E4 遺伝子を E2F1 プロモーターで制御したもの。pRB 経路に異常がある広範ながん細胞で選択的にウイルスが増幅するが、正常細胞では複製できない。ONYX-443 は自殺遺伝子の CD を ONYX-411 に搭載したもので、CD 遺伝子を E3B 領域に挿入することによりアデノウイルスライフサイクルの late phase に遺伝子が発現する。ウイルス DNA が複製した後に CD を発現することで安全性を高めている。動物実験結果が報告されている⁽⁴¹⁾。

C. 5. 3. 2 単純ヘルペスウイルス

①HSV1716

HSV の神経毒性に関与すると考えられる 2 つの γ 134.5 遺伝子 (ICP34.5; PKR inhibitor) の一方の遺伝子領域の 759bp を野生型ウイルスから除去した弱毒ウイルスで、Ras 経路の変異した癌細胞が標的となる。悪性グリオーマに対する Phase I 試験が 12 名に対して実施され、 10^5 pfu までの腫瘍内投与を行ったところ、野生型の HSV-1 は神経系の疾患を引き起こすウイルスであるが HSV1716 では脳炎などの副作用は認められず、潜伏感染している HSV の再活性化も認められず安全性が確認された。またウイルスが腫瘍内で増殖していること、3 例で治療後 1 年以上安定であり HSV1716 を用いない場合と比べて生存期間の延長が認められたと報告されている^(42,43)。また、転移性メラノーマに対するパイロット試験も 5 名の患者を対象として実施され、腫瘍内投与により腫瘍内でのウイルスの増殖と癌組織の壊死が認められたことが報告されている⁽⁴⁴⁾。

②G207

γ 134.5 遺伝子領域の 2 つともに 1kb の欠失があり、さらに非増殖性細胞でのウイルスの複製に必須の

ICP6 遺伝子にマーカー遺伝子の LacZ を挿入してその機能を失わせた第 2 世代の制限増殖型ヘルペスウイルスで、Ras 経路の変異した増殖性の高い癌細胞が標的となる。Phase I 試験が再発悪性グリオーマ患者を対象に米国で実施された⁽⁴⁵⁾。21 名の患者に 1×10^6 – 3×10^9 pfu のウイルスを腫瘍内に投与したところ、重篤な毒性、脳炎などの副作用は認められず、数名の患者ではある程度の抗腫瘍効果が認められたことが報告されている。MediGene AG 社で臨床開発が行われていたが、G207 の研究は 2003 年に中断された。

③NV1020

MediGene AG 社で臨床開発が行われている制限増殖型ヘルペスウイルスで、G207 よりも弱毒化が低く、本来はワクチン用に開発されたものである。野生型ウイルスより約 15kb を除去しており、その中に γ 134.5 遺伝子 1 コピー (UL56)、ICP0、ICP4 遺伝子が含まれる。かわりに ICP4 (α 4) プロモーターで制御される HSV-1 TK 遺伝子が挿入されている。また HSV-2 糖蛋白質遺伝子も挿入されている。自己の TK は除去されている。大腸癌の肝転移患者を対象とした Phase I 試験が終了し、Phase I/II 試験が 2004 年 9 月より米国で開始されている。臨床試験の結果は報告されていないが、動物実験では G207 よりも治療効果が高いことが報告されている⁽⁴⁶⁾。

④OncoVEX GM-CSF

BioVex 社⁽⁴⁷⁾が臨床開発を行っている制限増殖型ヘルペスウイルスで、 γ 134.5 遺伝子 2 つ及び ICP47 遺伝子を欠失し、治療用遺伝子として GM-CSF 遺伝子を挿入することにより宿主の免疫賦活化活性を期待した組換えヘルペスウイルス。ICP47 遺伝子はウイルス感染細胞における MHC Class I の発現に関与し、抗原提示能の阻害に働くため、この遺伝子を除去することによりさらなる免疫増強活性の促進が期待される。固形癌の皮膚、皮下転移の 30 名の患者に対して最近 Phase I 試験が終了した。皮膚の転移部位への投与により、腫瘍の壊死、免疫細胞の遊走が全例で観察され、投与部位から離れた部位の癌に対しても効果が認められる例があったとされているが、論文発表はまだ前臨床試験成績のみである⁽⁴⁸⁾。BioVex 社では Phase I 試験の結果を受けて、2005 年より米国でメラノーマを対象に Phase II 試験を開始する予定であり、他の固形癌に対しても 2005-6 年に計画されている。

⑤G47Delta

G207 の α 47 遺伝子 (ICP47 遺伝子) に変異を加え、G207 の安全性を保ちながらウイルスの腫瘍内複製能を増強した第 3 世代の HSV が開発され、前臨床研究が行われている。

C. 5. 3. 3 ニューカッスル病ウイルス (NDV)

①MTH-68/H⁽⁴⁹⁾

NDV の自然弱毒株で遺伝的改変はされていない。悪性グリオーマ患者 4 名を対象としたパイロット試験が米国癌研究所で実施された。MTH-68/H を iv 投与した