

学的指標、細胞の特性に関連する細胞由来産生物質などの指標から、適切なものを選び解析することが必要である。また培養期間中に望ましくない特性の変化が起きていないことを確認するために、規定された培養期間を超えて培養された細胞について試験を行い、目的としない望ましくない細胞の変化が起きないことを確認しておくことが必要となる。

培養期間や加工の程度に応じて、細胞の形質転換の可能性について評価しておくことが必要となる。しかし非常に短期間の培養であれば核型分析の必要性は低いと考えられる。また、細胞治療薬の大きな懸念として造腫瘍性があるが、そのリスクが高い場合には、ヌードマウスを用いた造腫瘍性試験等の実施も考慮すべきである。しかし、増殖能の変化、サイトカインや増殖因子に対する応答性等、その他の適切な試験も考慮し、科学的に合理的な試験を実施することが望ましい。例えば、FDAも一律に細胞治療薬について造腫瘍性試験を求めてはならず、そのリスクの高い場合にのみヌードマウスを用いた試験が必要になるとされている。

④製造方法の恒常性

細胞治療薬の製造方法の恒常性を示すために、製造工程を通じて、加工した製品の細胞生存率や製品の有効性や安全性の面から求められる表現型や遺伝型の適切な指標、機能特性、目的とする細胞の含有率等が本質的に損なわれないことを評価しておくことが必要である。このために、複数の検体（ロット）を用いた試験を実施することが必要である。どの程度のロットを用いるのかは、培養工程等、どのような加工を行うか、あるいは確認申請のステージか承認申請かどうかによっても異なる。

5) 最終製品の品質管理

細胞治療薬の品質管理には、①最終製品等の規格及び試験方法の設定、②適用ロット毎の原材料の品質管理、③製造工程の妥当性の検証と一定性の維持、④各工程の中間製品の品質管理を適正に行い、品質管理全体からみたその妥当

性を明らかにする必要がある。

最終製品については、表3に示したような品質管理項目及び試験を参考として、適切な規格・試験方法を設定することが必要となるが、ロットを構成しない場合には、個別製品が品質管理の対象となる。ロットを構成する場合には、個別の製品ではなく各ロットが品質管理の対象となる。例えば、自己由来細胞製品であっても、製造後、複数のアンプルに分注して凍結し、繰り返し投与する製品では、凍結した全アンプルが一つのロットを構成することになる。

確認試験では、目的とする細胞の生化学的特徴、免疫学的特徴、目的細胞の産生する物質などの指標から、適切なものを選択して設定することが必要となる。

細胞の純度試験としては、目的細胞以外の異常増殖細胞の出現、形質転換細胞の有無や混入細胞の有無等の細胞の純度について試験を行い規格を設定することが求められる。

製造工程由来不純物試験として、原材料に存在するか、又は製造過程で非細胞・組織成分、培地成分、資材、試薬などに由来し、製品中に混入物、残留物、あるいは新たな生成物、分解物等として存在する可能性があるもので、かつ品質、安全性面からみて望ましくない物質等について、適切な試験を実施し、規格を設定することが必要となる。例えば、ウシ胎児血清由来タンパク質、増殖因子、あるいは抗生物質など、必要に応じて最終製品への存在許容量を設定しておく必要がある。

無菌試験及びマイコプラズマ否定試験については、適切な検体を用いてあらかじめ試験を行い、全例において無菌性を確認しておくことが必要である。また、無菌性試験の結果が患者への投与後になる場合も無菌性試験を実施し、万が一投与後に無菌性が否定された場合の対処法について設定しておくことが必要である。エンドトキシン試験では、規格値は必ずしも実測値によらず、日本薬局方で示されている最終製品の1回投与量をもとにした安全域を考慮して設定すればよい。製造工程中で使用する生物由来

原料などを考慮して、最終製品等について必要なウイルスの試験を実施する必要がある場合もある。また、製造工程中、潜在しているウイルスが増幅する可能性がある場合には、中間製品、最終製品等でウイルスの存在を試験する必要もある。

それぞれ臨床使用目的に応じた細胞の効能試験を実施する必要がある場合もある。例えば、幹細胞等を用いて特定の細胞への機能分化を期待する場合には、その分化能を試験し、規格を設定する必要があると考えられる。また、遺伝子改変細胞であれば改変によってもたらされた特定タンパク質の発現について規格を設定することが求められる。

細胞から分泌される特性の生理活性物質がその効能である場合には、力価試験としてその生理活性物質の発現量に関する規格・試験法を設定することが必要となる。

確認申請の段階では、全ての規格が設定出来ることはまれであり、その後の臨床開発を通じて適切な規格が設定されていくものと考えられる。従って、いくつかの試験項目については少数の検体で得られた試験結果に基づいて暫定基準を設けておくことで対応可能な場合がある。

6) 安定性

製剤化した細胞治療薬や重要な中間工程製品について、保存や流通期間を考慮した安定性試験を実施する必要がある。試験では、細胞の生存率、力価等の適切な項目を選び、試験を実施することが求められる。その結果に基づいて、貯法や有効期間を設定することが必要である。また凍結保存を行う場合には、凍結操作による、生存率や増殖能、力価等への影響を確認することが必要となる。

7) 細胞治療薬の非臨床安全性試験

細胞治療薬の非臨床安全性試験として、可能であれば、科学的合理性のある範囲で動物を用いた試験、あるいは *in vitro* での試験を実施することが求められる。

ヒト由来細胞治療薬の試験用検体は貴重で限りがあり、又、異種細胞であるヒト細胞を動物に投与して得られる結果の有用性については限りがあると考えられることから、動物細胞を用いた製品モデルを作製し適切な実験動物に適用する試験系が、科学的合理性がある場合も考えられる。またこのような試験によって、より有用な知見が得られると考えられる場合には、試験の実施を考慮することが望ましい。場合によっては動物細胞を用いる試験系も考慮し、以上のようなアプローチにより試験を行なった際には、その妥当性を明らかにすることが必要である。

8) 細胞治療薬の効能または性能を裏付ける試験

一般的に種の壁があるため、動物を用いてヒト由来細胞治療薬の効能や性能を裏付ける試験を実施することにはその解釈も含めて困難が伴う。このために、モデル動物の相同細胞を用いた評価系やヌードマウスに当該ヒト細胞を投与するなどの様々な工夫が試みられている。しかし、モデル動物での反応性がヒトと同じであるとは限らず、モデル動物を用いた試験が必ずしも適切な評価系とは言えないことも多い。従って、技術的に可能かつ科学的に合理性のある範囲で、実験動物、細胞等を用いて、適切に設計された試験により、細胞治療薬の機能発現、作用持続性、医薬品・医療機器として期待される効果を検討することが望ましい。また、既に確立された適当な動物由来細胞・組織製品モデルや疾患モデル動物がある場合には、それを用いて治療効果を検討することが必要となる。また、必要に応じて、文献や知見等により合理的に細胞治療薬の効力又は性能が他の治療法に比較して勝れていることが期待できる場合には、臨床開発の初期段階として詳細な動物実験等は必要とされない可能性もある。

特に開発に当たって参照可能な臨床研究の成果があり、効能または性能を裏付ける情報が得られる場合には、モデル動物を用いた試験の必

表3 最終製品の品質管理項目及び試験

| |
|-------------------------|
| 1) 回収率並びに生存率 |
| 2) 確認試験 |
| 3) 細胞の純度試験 |
| 4) 細胞由来の目的外生理活性物質に関する試験 |
| 5) 製造工程由来不純物試験 |
| 6) 無菌試験及びマイコプラズマ否定試験 |
| 7) エンドトキシン試験 |
| 8) ウイルス等の試験 |
| 9) 効能試験 |
| 10) 力価試験 |
| 11) 力学的適合性試験 |

要性はより低くなると考えられる。この場合にも、臨床研究の成果を参照することの妥当性を説明することが必要となる。

9) 臨床試験

試験に当たっては、①対象疾患、②対象とする被験者及び被験者から除外すべき患者の考え方、③細胞・組織加工医薬品等の適用を含め、被験者に対して行われる治療内容、④既存の治療法との比較を踏まえた臨床試験実施の妥当性、⑤現在得られている情報から想定されるリスクやベネフィットを含め、被験者への説明事項等を明確にしておくことが求められる。

おわりに

近年、非常に多岐にわたる細胞治療薬の開発が進められているが、未だ承認に至った製品はない。平成19年に「ヒト培養表皮」が医療機器・体外診断薬部会で承認され、近いうちに我が国初の細胞治療薬が市場に出されることになると考えられる。しかし、現状では次々に製品が市場に提供されるという状況ではなく、現在の開発スピードから類推して、多くの細胞治療薬が市場に出てくるのはもう少し先になるのではと推察される。このような状況を受け、細胞

治療薬の適正な開発を推進するという立場から、現在第1314号の改定が進められて評価基準がよりわかりやすく、かつ臨床開発初期、すなわち確認申請の段階に必要な要素等が明確にされる予定である。そのヒト自己由来細胞に関する指針案は既に公開されている。

参考文献

- 1) 細胞・組織利用医薬品等の取扱い及び使用に関する基本的考え方：厚生労働省医薬局長通知医薬発第266号、平成13年3月28日
- 2) ヒト由来細胞・組織加工医薬品等の品質及び安全性の確保に関する指針：厚生労働省医薬局長通知医薬発第1314号、平成12年12月26日
- 3) GUIDELINE ON HUMAN CELL-BASED MEDICINAL PRODUCTS； EMEA/CHMP/410869/2006, 11 January 2007
- 4) “異種移植の実施に伴う公衆衛生上の感染症問題に関する指針”に基づく3T3J2株及び3T3NIH株をフィーダー細胞として利用する上皮系の再生医療への指針について：医政局研究開発振興課長通知。医政研発第0702001号、平成16年7月7日
- 5) 医療用具の製造（輸入）承認申請に必要な生物学的試験の基本的考え方について：医薬局審査管理課長通知。医薬審発第0213001号、平成15年2月13日
- 6) 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：医薬審第873号、平成12年7月14日

<BIO Information>

第17回日本耳科学会

日本耳科学会は下記日程で
学術総会を開催します。

- 会 期：2007年10月18日(水)～20日(土)
 会 場：福岡市・福岡国際会議場
 会 長：小宗 静男（九州大学大学院医学
 研究院 耳鼻咽喉科学分野）

連絡先：九州大学：TEL (092) 642-5668
 ／FAX (092) 642-5685

※バックナンバーを会場で販売予定です。
 お立ち寄り下さい。

細胞組織利用医薬品・医療機器の安全性とその有用性評価

山口 照英,^{*a} 土屋 利江^b

Safety and Efficacy of Cell/Tissue Medical Products

Teruhide YAMAGUCHI^{*a} and Toshie TSUCHIYA^b^aDivision of Biological Chemistry and Biologicals, and ^bDivision of Medical Devices, National Institute of Health Sciences, 1-18-1 Kamiyoga, Setagaya-ku, Tokyo 158-8501, Japan

近年、バイオテクノロジー応用技術の進歩や再生医学・幹細胞研究の飛躍的な進展により、ヒト又は動物の細胞や組織を培養、加工し、様々な疾患の治療に用いる細胞治療の開発が急速に進んでいる。このように細胞そのものを治療薬として用いることができれば、ガン、再生不良性貧血、心筋梗塞など致死的な疾患ばかりでなく、糖尿病やパーキンソン病等の重篤な慢性疾患に対して極めて有効な治療法になる可能性が高い。

厚生労働省では、この細胞治療・再生医療に用いられる細胞組織利用医薬品・医療機器（細胞・組織利用医薬品等）の安全性及び品質の確保のために必要な基本的要件を明らかにするため、平成12年、「細胞・組織利用医薬品等の取扱い及び使用に関する基本的考え方」、及び「ヒト由来細胞・組織利用医薬品等の品質及び安全性確保に関する指針」（以下「指針」と略す）を策定した。前者は、細胞組織利用医薬品等の品質及び安全性確保、並びに細胞・組織の採取からその取り扱いに関する科学的妥当性及び倫理的妥当性を確保するために遵守すべき基本的原則をまとめたものである。後者の指針は、前者の通知に基づき、ヒト由来の細胞・組織を加工した製品について、治験前の品質・安全性確認を含めた細胞・組織利用医薬品等の製造者が厚生労働省に提出しなければならない資料の内容について明らかにしたものである。細胞を用いた製品を医薬品や医療機器として開発しようとする企業は、その品質・安全性・有効性を担保するためにこれらの指針に従っ

てデータを作成し、確認申請や承認申請時に提出する必要がある。

一方、大学や医療機関等で細胞を用いて医師が直接治療を行う医療行為やその臨床研究は、薬事法上の規制を受けることはなかった。しかし、細胞治療・再生医療のような未知・未経験の要素の多い革新的医療にあっては、その品質や安全性を担保するために新たなガイドラインが必要とされ、「ヒト幹細胞を用いる臨床研究に関する指針」が、平成18年7月に出された。この中で、用いる細胞については、その品質・安全性確保のための方策については上述した細胞・組織利用医薬品等に関する指針を準用するように求めており、薬事法上の規制を受けない臨床研究においても、治療に用いる細胞について同等の品質・安全性を担保することが大きな特徴である。

細胞組織利用医薬品・医療機器の開発は日米欧の先進国のみならず、ASEAN諸国や他の地域でも活発に行われており、世界レベルで開発競争が繰り広げられている。残念ながら日本で承認された細胞組織利用医薬品・医療機器はまだないが、欧米では既に培養皮膚や培養軟骨など、いくつかの製品が販売されている。一方、わが国においても、複数の製品が確認申請を受け治験に入っており、臨床研究を含めると200を超える細胞治療・再生医療の開発が行われている。このような細胞治療・再生医療の適切な開発を促進するためには、ウイルス等の安全性の確保や細胞組織利用医薬品がどのような機構で臨床効果を発揮しているのか明確にすることなど、いくつかの課題がある。

今回の誌上シンポジウムでは、細胞治療・再生医療に用いられる細胞組織利用医薬品・医療機器の安

国立医薬品食品衛生研究所, ^a生物薬品部, ^b療品部
(〒158-8501 東京都世田谷区上用賀 1-18-1)

*e-mail: yamaguch@nihs.go.jp

日本薬学会第126年会シンポジウム S4 序文

全性や有用性確保にはどのような視点が必要かについて、4人の専門家に紙上発表をして頂くことにした。具体的事例として、「血管内皮前駆細胞を用いた治療」について浅原孝之先生に、「軟骨再生の現状と将来」として脇谷滋之先生に、また、「細胞組織医療機器に利用される幹細胞の品質及び安全性評価」として、間葉系幹細胞について品質・安全面から澤田留美先生にお願いし、最後にレギュラトリーな観点から「細胞組織医療機器開発総論」を土屋利江が担当した。

血管再生治療に関しては、血管内皮前駆細胞 (endothelial progenitor cell; EPC) を用いた再生医療を取り上げて頂いた。成人末梢血中に EPC が発見されて以来、胎生期にのみ認められるとされていた血管発生 (vasculogenesis) という現象が成人期においても同様に認められ、局所で EPC が増殖・分化し血管新生に係わっていることが明らかになった。さらに、冠動脈疾患や下肢虚血疾患 (パージャー病や閉塞性動脈硬化症など) を含む重症虚血性疾患患者に対して、自己 EPC を虚血部位に移植するという血管再生療法の臨床試験が実施されており、良好な成績が報告されつつある。一方、老化や糖尿病に代表される基礎疾患により患者の EPC 量及び質が低下し、移植後に十分な治療効果が期待できないという問題点も抱えている。そこで、成体での血管形成のメカニズム及び EPC の特性を生かした現行の EPC 移植治療について将来的展望を含めて概説して頂いた。

軟骨再生に関しては、世界中で企業開発品として1万例以上の再生医療が実施されているにも関わらず、いまだにその有効性については論争中であり、広く認められる結論が得られていない。その要因として、1) 関節軟骨欠損による臨床症状あるいは自然経過が明らかにされていないため手術適応基準があいまいであり、どのような患者に再生医療を実施すべきかコンセンサスが得られていないこと、及び2) 再生医療による軟骨修復の評価方法が確立されていない、さらに3) 企業開発品は、細胞浮遊液を骨膜で覆った欠損部へ移植したのみで細胞の固定性

が不十分、培養で細胞を増殖する過程で脱分化を生じることなどが挙げられる。本誌上シンポジウム原稿では、関節軟骨再生の現状と、将来、軟骨修復が再生医療として標準的な治療となるために必要な要素について解説して頂いた。

多分化能を持つ幹細胞であり近年再生医療へのソースとして注目を集めている間葉系幹細胞について、その増殖能と形質変化について取り上げて頂いた。間葉系幹細胞は長期に渡る培養で、老化を起こした細胞からがん化した細胞が出現すると報告され、大きな議論を巻き起こしている。これに対して否定的な論文もあり、結論は得られていないが、間葉系幹細胞を治療に用いる際には、このような点にも注意を払う必要がある。この間葉系幹細胞の培養中に起こる遺伝子発現レベルの変化についての解析結果を含め概説して頂いた。

従来の治療法では、なし得ない先端治療として、安全で有効性が高くかつ非侵襲的な治療法が望まれている。細胞・組織利用医療機器は、材料を有効活用して、目的とする部位への適切な固定・機能・適切な強度維持などが可能となる。また、わが国発の再生医療材料技術として、最近、シート工学 (開発者: 東京女子医科大学 岡野光夫教授) が注目されている。シート工学技術により、得られた細胞シートの機能が優れており、心筋再生、角膜再生、歯根膜再生など、様々な組織での動物実験や臨床研究が開始され、成功例が報道されている。しかし、一方では、材料の安全性評価や、試験系が不十分なため、研究が活発に行われ、学会発表や紙上発表が行われているにも関わらず、有効性が期待されるほど高くなく、その結果、リスク・ベネフィットやコスト面等から、産業化されておらず、途中で開発を断念された再生医療品もある。これまでの研究から、開発の阻害要因となった具体例について、概説し、開発への近道となるためのポイントについて概説した。最後に再生医療品の開発と審査の迅速化のために平成17年度からスタートした次世代医療機器評価指標作成事業 (再生医療分野) を紹介した。

ICH 遺伝子治療専門家会議 —2006 シカゴ会議報告—**

山口 照 英*

1. 遺伝子治療とは (Fig. 1)

遺伝子治療とは、ヒトの遺伝性疾患やがんなどの治療のため、遺伝子を持つベクターあるいはプラスミドを患者に直接投与したり、体外で患者の細胞に遺伝子を導入し再び体内に戻すといった *ex vivo* 治療などが含まれます。このような遺伝子治療は、一般的に、増殖性を持たないウイルスベクター等を用いて治療を行いますが、用いるベクターに増殖性を持つウイルスが存在しないかを検出する試験が行われています。最近では増殖性を持ったウイルスベクターを用いた治療も行われるようになり、多様な遺伝子治療薬の開発が行われています。

2. ICH 遺伝子治療専門家会議 (GTDG)

2.1 遺伝子治療専門家会議の経緯

遺伝子治療専門家会議は ICH の中に設置されていますが、ガイドライン作成のための専門会議 (Expert Working Group, EWG) とは異なり、Gene Therapy Discussion Group (GTDG)、すなわち討議グループといった意味で位置づけられています。

2001年5月に Steering Committee (SC) において「遺伝子治療用医薬品などの急速に進展する領域においては、特にその種の製品の規制に重大な影響を及ぼす可能性のある新しい科学的知見に関連する情報について、ICH 各極間での情報の交換や共有を積極的に継続して行う必要がある」との理由で GTDG が新設されました。参加パーティーは6極及び Health Canada, EFTA です (Table 1)。

2.2 遺伝子治療専門家会議の目的

GTDG の目的は、Table 1 に示すように一つ目

は、特に遺伝子治療で研究が進められている科学的事項について調査・検討することです。二つ目は、遺伝子治療用医薬品に関する国際調和に有益な影響をもたらす可能性のある一般的原則をあらかじめ積極的に提示することです。遺伝子治療用医薬品については、非常に科学的進歩が激しいため、毎年のようにローリングアップをするといった up-to-date な改訂が必要と考えられています。三つ目は、ICH における議論の成果を広く一般に知らせて十分理解してもらうために新しいコミュニケーション手段を講じる必要があるとの理由により、ICH のホームページ上で Discussion Group での成果の公開や公開ワークショップの開催といった活動を行っています。更に国立医薬品食品衛生研究所の遺伝子細胞医薬部のホームページ内に上記の内容についての仮訳を適宜掲載しています。

2.3 遺伝子治療専門家会議の活動 (Table 2)

GTDG は、1997年から2000年頃はバイオテクノロジーグループの中の専門家会議で議論されました。その後2002年のワシントン会議において Ad hoc な専門家会議として発足し、その後現在の形ですと継続した活動を行っています。

3. 2006 年 ICH シカゴ会議 (Table 3)

3.1 シカゴ会議の成果

ICH シカゴ会議では、世界初の遺伝子治療薬を承認した中国の専門家を招き、中国の現況についての情報を得ると共に意見交換を行いました。また、今までの指針とは異なる規制的ではない「生殖細胞への遺伝子治療用ベクターの意図しない組み込みリスクに対応するための基本的な考え方」についての

* 国立医薬品食品衛生研究所生物薬品部 東京都世田谷区上用賀 1-18-1 (〒158-8501)

** 当協会主催の第15回 ICH 即時報告会 (平成18年12月21日) における講演による。

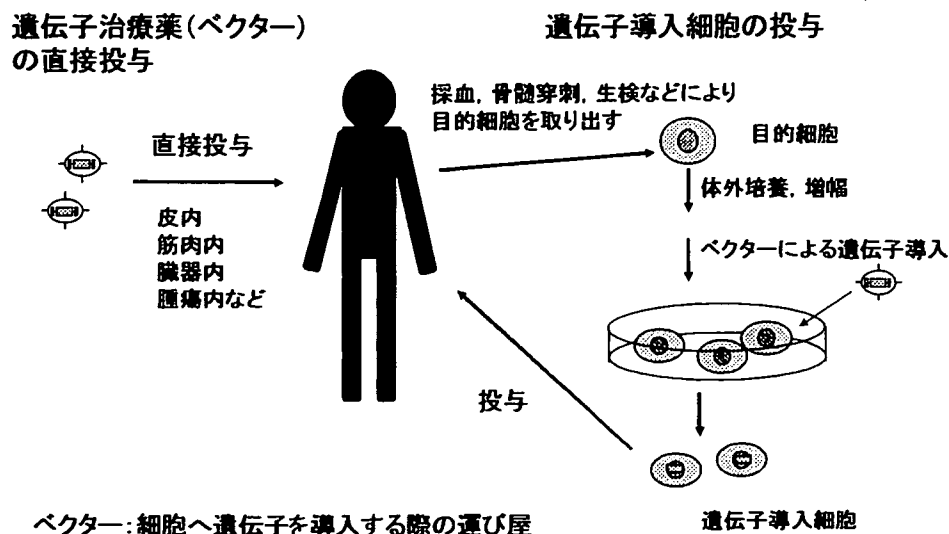


Fig. 1 遺伝子治療とは

Table 1 ICH遺伝子治療専門家会議 (GTDG)

● 参加メンバー：

Klaus Cichutek (EMEA), Stephanie Simek (FDA), Teruhide Yamaguchi (MHLW), Christine-Lise Julou (EFPIA), Wataru Toriumi (JPMA), Alex Kuta (PhRMA), EFTA, Canada

● 目的：

- ・研究が進められている科学的事項について調査・検討
- ・遺伝子治療用医薬品に関する規制の国際調和に有益な影響をもたらす可能性のある一般的原則を予め積極的に提示
- ・ICHにおける議論の成果が社会に広く浸透し、十分理解されることを保証するための、社会に向けた新しいコミュニケーション手段を開発

例：・ICH 遺伝子治療公開ワークショップの開催

→ 2002年9月, 2003年11月, 2005年11月に開催

・ICH SCを介してのICH GTDG 公的声明の発表

・誰でもアクセス可能なICH 遺伝子治療ホームページの開設

→ ICH 事務局ホームページ内(英語) : www.ich.org/cache/html/1386-272-1.html

国立衛研 遺伝子細胞医薬部ホームページ内(日本語) : www.nihs.go.jp/cgtp/cgtp/sec1/index1-j.html

・腫瘍溶解性ウイルスワークショップ及び GTDG 開催(シカゴ; 約80名参加)

→ 2005年11月7~9日

ICH 見解 (Considerations) を作成し, SC で承認されました。更に各極の現状についてそれぞれ報告し, 議論しました。

3.2 今後の課題

今後の課題として, 一つ目は, 前述しました腫瘍溶解性, すなわち増殖能を持つウイルスベクターに関するワークショップを2005年に行いましたので, ワorkshopの成果を土台として「腫瘍溶解性ウイルス」に関するICH見解, あるいはガイドライ

ンの作成の可能性について議論を行っていかうと考えております。なお, ICH見解の作成については, SCで了承されましたので, 今後知識の集積等を踏まえながらガイドラインの作成までできればと考えています。

二つ目は, 遺伝子治療ウイルスベクター, あるいはウイルスの放出について, 患者, その家族, あるいは医療従事者へのリスクの評価に関するICH見解の作成の可能性についてもSCに提案し, これも

Table 2 ICH遺伝子治療専門家会議の活動

| |
|--------------------------------|
| 1997年ブラッセル：バイオテクノロジー専門家会議 |
| 2001年東京・舞浜：バイオテクノロジー専門家会議 |
| 2002年ワシントン：Ad hoc 遺伝子治療専門家会議 |
| 2003年大阪 ICH6：Ad hoc 遺伝子治療専門家会議 |
| 2004年ワシントン：遺伝子治療専門家会議として正式に発足 |
| 2005年ブラッセル：遺伝子治療専門家会議 |
| 2005年シカゴ：遺伝子治療専門家会議 |
| 2006年横浜：遺伝子治療専門家会議 |
| 2006年シカゴ：遺伝子治療専門家会議 |

Table 3 ICHシカゴ会議

-
- 世界初の遺伝子治療薬を承認した中国の専門家を招き、中国の状況についての情報を得ると共に意見交換を行った
 - ICH GTDG 見解「生殖細胞への遺伝子治療用ベクターの意図しない組み込みリスクに対応するための基本的な考え方」の作成
 - 各極の update
 - 腫瘍溶解性ウイルスの ICH「見解」/ガイドライン作成の可能性について
 - 遺伝子治療ウイルスベクター/ウイルスの放出についての ICH「見解」作成の可能性について
 - 遺伝子治療ウイルスベクター/ウイルスの放出に関するワークショップ開催（2007 ヨーロッパ遺伝子治療学会の開催にあわせて）
-

了承されました。

三つ目は、遺伝子治療ウイルスベクター及びウイルスの放出に関するワークショップを2007年ヨーロッパ遺伝子治療学会の開催に合わせて行うことをSCで了解されました。

4. 生殖細胞への遺伝子治療用ベクターの意図しない組み込みリスクに対応するための基本的な考え方

4.1 ICH GTDG の見解 (Table 4)

本 ICH 見解は、2005年10月に EMEA が第1次案を作成し、11月のブラッセル会議で第2次案を作成しました。その後、MHLW が第3次案を作成し、2006年6月の横浜会議での議論を通じて第4次案を作成しました。そして FDA が第5次案を作成し、今回のシカゴで最終版が確定し、SCへ提案を行い、その了解を得ました。なお、本見解の作成の目的は、

Table 4 ICH GTDG 見解(案)「生殖細胞への遺伝子治療用ベクターの意図しない組み込みリスクに対応するための基本的な考え方」

-
- 報告担当者(1st)：Markku Pasanen (EMEA)
同 (2nd)：Teruhide Yamaguchi (MHLW)
同 (3rd)：Daniel Takefman (FDA)
 - 2005年10月：欧州医薬品庁が第1次案を作成 各極に配付
 - 2005年11月：GTDG 会議で第2次案を作成
 - 2006年1月：MHLW→第3次案を作成
 - 2006年6月：横浜会議で GTDG 会議で検討、第4次案作成
 - 2006年7月：FDA→第5次案作成
 - 2006年10月：最終版確定
 - 目的：遺伝子改変された次世代を作らない
-

遺伝子改変された次世代を作らないということです。日本でも事務連絡¹⁾を発出しました。

4.2 構成 (Table 5)

最初に緒言、次に遺伝子治療用ベクターの意図しない組み込みにおける危険因子について記載されています。この意図しない組み込みは生殖細胞の染色体への組み込みのみに限定しています。すなわち、生殖細胞へ遺伝子治療用ベクターが入った場合でも、核外であれば、発生毒性のリスクはあるとしても組み込みリスクはないと考えます。その理由は、本見解の目的が次世代への遺伝子治療用ベクターの伝達を防止することに主眼を置いているからです。また、ベクターの種類によるリスク評価、投与量及び投与経路でのリスク評価を行っております。

その他、基礎データをもとにして、非臨床試験における一般的に考慮すべき事項及び生体内分布試験をどのように設定すべきか、更に実際に患者、あるいは治験の被験者等に遺伝子治療用医薬品を投与した場合、どのようにモニタリングをすべきかが記載されています。

4.3 目的及び範囲

前述しましたように、「生殖細胞への遺伝子治療用ベクターの意図しない組み込みリスクに対応するための基本的な考え方」とは、組み込みリスクに対応するための基本的原則、あるいは考え方を明確にすると共に、非臨床開発段階で実施すべき試験の内

Table 5 生殖細胞への遺伝子治療用ベクターの意図しない組み込みリスクに対応するための基本的な考え方—構成、目的及び範囲—

| |
|---|
| <ul style="list-style-type: none"> • 構成 <ol style="list-style-type: none"> 1. 緒言 2. 遺伝子治療用ベクターの意図しない生殖細胞への組み込みにおける危険因子 <ol style="list-style-type: none"> 2.1 ベクター 2.2 投与量および投与経路 3. 非臨床試験 <ol style="list-style-type: none"> 3.1 一般に考慮すべき事項 3.2 生体内分布試験 4. 患者のモニタリング • 目的及び範囲 <p>本文書は、遺伝子治療用ベクターの生殖細胞への意図しない組み込みリスクに関する試験法やそうしたリスクに対応するための基本原則を明確にするとともに、ヒトでの臨床試験の実施に際してそうしたリスクを最小にするために考慮すべき事項を示すものである。本文書は遺伝子治療用ベクターに適用することを目的としているが、腫瘍溶解性ウイルスにも適用することができる場合もある。</p> |
|---|

容について明らかにしようとするものです。また、ヒトでの臨床試験の実施に際してリスクを最小にするために考慮すべき事項についても言及しております。この文書は遺伝子治療用ベクターに適用することを目的としていますが、増殖性を持ったウイルスベクターの中で遺伝子治療とは分類されない、すなわち弱毒化されたウイルス株を使う場合にもこの考え方を適用できるかもしれないと記載されています。

4.4 生殖細胞への意図しない組み込みリスク

生殖細胞への意図しない組み込みリスクは、ベクターの種類、投与量及び投与方法といった複数の要因に依存しています。このリスクの高さの順位をベクターの種類でどのように分類できるかを Table 6 に示しています。リスクが最も高いのは、細胞の核内に移行し、かつレトロウイルスなどのようにインテグラーゼなどの組み込み機構を持つベクターです。次にプラスミドであっても、組み込み機構を持たずに細胞の核に移行するベクターは、非常に頻度は低いですが、組み込みが起こる可能性があります。リ

スクが最も低いのは、細胞の核内に入ることはできずに細胞質で留まるベクターです。

更に、ベクターのリスク評価では、複製能や細胞のトロピズム（指向性）を考慮する必要があります。どの細胞に行きやすいかは非常に大きな要素です。

4.5 投与量及び投与経路

高い投与量は、必然的に高いリスクをもたらす可能性があります。また、遺伝子治療ベクターの静脈内投与、すなわち全身性の投与は、血流を介した拡散によって性腺への曝露の可能性が高まると考えられます。一方、*ex vivo*での遺伝子導入を行う複製能力を欠損した遺伝子治療ベクターについては、生殖細胞への組み込みリスクは極めて小さいと考えられます。この「極めて」とは、一般的に、このような非臨床試験の必要性はほとんどないことを意味しています。

4.6 非臨床試験—生体内分布試験

非臨床試験では、生体内分布試験としては、まずベクターの標的及び非標的臓器における分布をまず解析することが求められます。この動物を用いた生体内分布試験は、原則的には臨床試験において使用される製品を用いて実施されるべきです。しかし、後述するように、臨床開発の初期では、必要に応じて目的遺伝子、例えば本来はヒトの遺伝子をコードしますが、動物試験においてその発現産物が、その動物でのベクターの分布に影響を与えるような場合は、逆に動物由来の遺伝子を用いる場合もあると思

Table 6 ベクターに依存するリスクの高さの順位

| |
|--------------------------------------|
| (i) 細胞の核に移行し、インテグラーゼなどの組み込み機構を持つベクター |
| (ii) 組み込み機構を持たないが細胞の核に移行するベクター |
| (iii) 細胞の核内に入ることはできず細胞質に留まるベクター |

われます。あるいは、開発初期で必要に応じてGFPを用いたベクター等を用いることもあると思われます。そのようなベクターを用いることによって、ある程度のデータは得られると考えられます。また、生体内分布に関して、定量的PCRなどの高感度の手段を用いて試験を行うべきとも記載されています。

4.7 遺伝子治療用医薬品の生殖細胞系列への伝達の有無を調べるための動物実験のフロー

Fig. 2に示すように、非臨床で生体内分布試験を行った場合、まず当該製品が性腺に分布しているか否かを明らかにする必要があります。分布していなければそれ以上の試験は必要ありません。一方性腺への分布が認められてもその対象患者が妊娠する、又はさせる可能性、すなわち次世代を作る可能性の

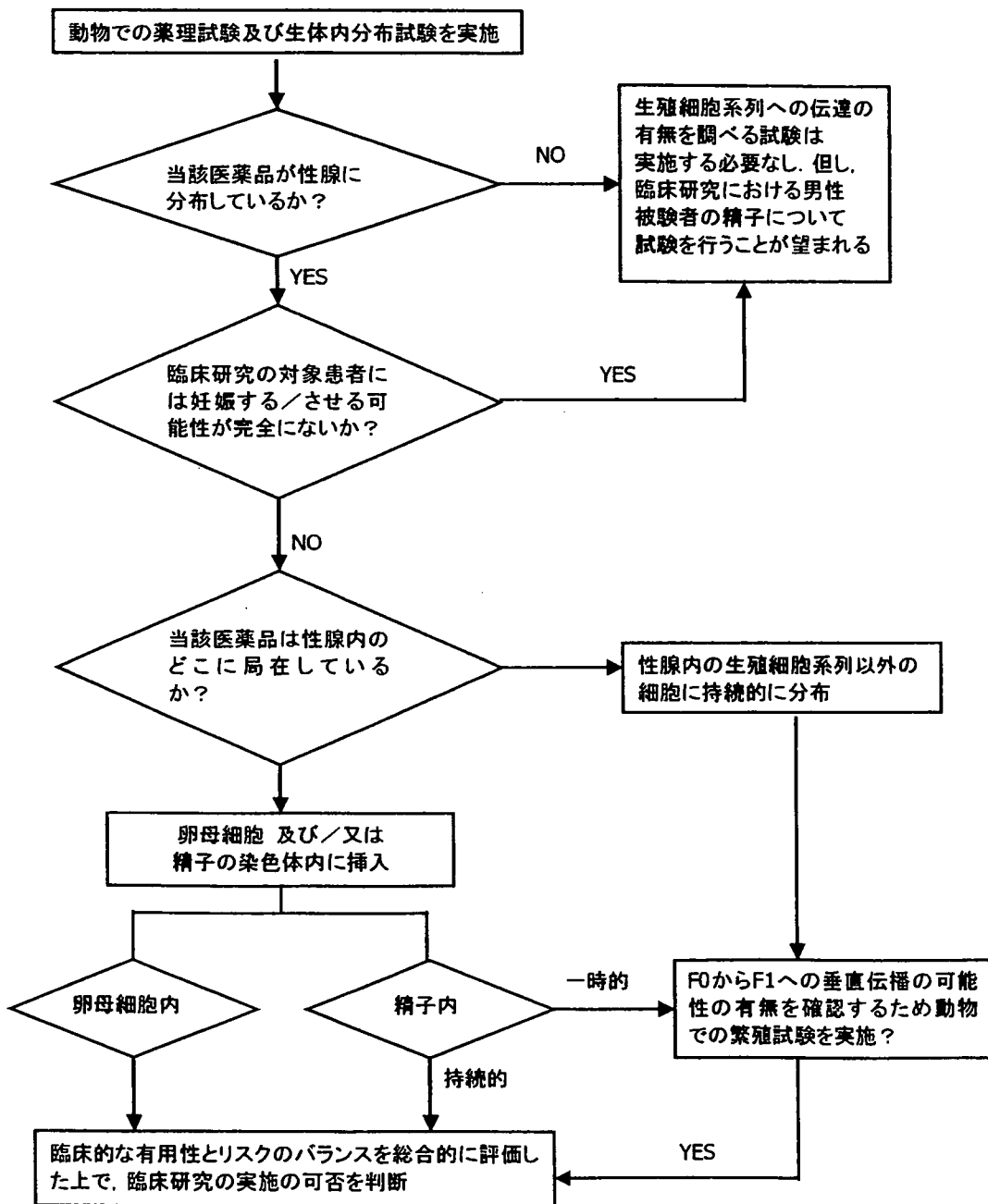


Fig. 2 遺伝子治療用医薬品の生殖細胞系列への伝達の有無を調べるための動物試験のフロー

ない患者を対象とする場合は、それ以上の試験を行う必要はありません。

もし、性腺内にベクターのシグナルが検出された場合、当該医薬品は性腺内のどこに局在しているかを明らかにする必要があります。例えば生殖細胞系列以外の細胞にのみ持続的に分布する場合であれば次世代に影響を及ぼさないと判断することが可能です。また、ベクターに由来するシグナルが一過性であれば、組み込みが起こっていないと考えられます。しかし、持続的なシグナルが出てしまう場合は、生殖年齢、あるいは次世代に残す可能性のある患者に投与したい場合は、規制当局と相談すべきと判断されます。

4.8 患者モニタリング

患者のモニタリングについては、動物での生体内分布試験に基づいて、遺伝子治療用ベクターが一過性に生殖腺で検出された場合は、患者の精液にベクターが存在するか調べることを考慮した方が良いと考えられます。ただし、上記しましたように対象患者群が生殖年齢を過ぎていたり、余命が少ないことが見込まれる重篤な患者を対象とする場合には、モニタリングをする必要はありません。もちろん、臨床試験、もしくは臨床適用においては、非臨床試験の生体内の分布の結果に関係なく、通常、試験期間中、あるいは臨床治療中は避妊手段をとることが望ましいと考えられています。

5 「遺伝子治療用医薬品の生殖細胞系列への意図しない伝達リスクを最小にするための方策」見解

まとめられた本見解は、現在、ICH のウェブページ上に掲載されており、またプレスリリースを行っています。今後、各界からのフィードバックを得るために、各極で本見解に対する意見を収集します。通常 ICH ガイドラインでは収集された意見に基づいてその Draft を変更しますが、今回は少し違う目的で意見を収集しようと考えています。すなわち本見解では収集された意見に基づき、ガイドライン化の可能性について検討することとしています。

6. 腫瘍溶解性ウイルスワークショップ

今後、ICH GTDG で取り組もうとしている課題として、腫瘍溶解性ウイルスがあります。Table 1

に示すように 2005 年に開催されたワークショップにおいて、腫瘍溶解性ウイルスについての各専門家の意見をいろいろ集め、要約をプレスリリースしました。この成果をもとに、ICH の腫瘍溶解性ウイルスに関する ICH 見解(案)を作成しようとしています。

6.1 腫瘍溶解性ウイルス

通常の抗腫瘍ウイルスベクターが腫瘍に入ったとしても、に入った細胞のみが壊れ、それ以外のベクターの入っていない細胞については、崩壊は起きません。しかし、腫瘍溶解性ウイルスはそのものが腫瘍細胞内で特異的に増殖する性質を持っていますので、一つの腫瘍細胞に入り、そこから増殖したウイルスが他の腫瘍細胞に感染しますので、腫瘍細胞が局限されなくても、すなわち転移した腫瘍についても腫瘍溶解性を持つといった効果を期待したベクターです²⁾。現在、この開発が非常に急速に行われています。

我が国でも腫瘍溶解性ウイルスの開発が行われており、各種のがんに対して臨床研究や動物実験が行われています (Table 7)。

6.2 ICH 見解(案)の作成 (Table 8)

腫瘍溶解性ウイルスベクターに関する ICH 見解(案)の作成につきましては、前述した 2005 年のワークショップの成果に基づき、見解(案)を作成することとなりました。最初の Rapporteur は Health Canada で、それ以降は、性腺へのウイルスベクターの挿入のリスクに関する ICH 見解と同様に順次 Rapporteur を交代していく予定です。

6.3 腫瘍溶解性ウイルスの臨床開発に関連する問題点 (Table 9)

腫瘍溶解性ウイルスに関する課題の一つ目は、腫瘍溶解性ウイルスの設計です。二つ目は、非臨床試験での有効性・安全性の確認及び至適用法・用量の検討です。三つ目は、細胞へのターゲティング、若しくは細胞の中での増殖といった腫瘍選択性です。四つ目は、臨床試験での安全性です。五つ目は、適切な動物モデルの開発であり、その安全性や有効性の評価において非常に重要な課題です。六つ目は、ワークショップでも大きな議論となりましたが、このウイルスは増殖性を持っていますので、体外への排出をどのようにモニターし、計測するのか、あるいは患者の隔離をどうすべきかについても議論する

Table 7 国内開発中の腫瘍溶解性ウイルスの例（2005年4月現在）

<臨床研究段階>

| ウイルスの種類 | ウイルスの名称 | ウイルスの特徴 | 実施施設/企業名 | 対象疾患 | 実施状況 | 症例数 | 治験 |
|--------------|---------|-----------|--------------|----------------|--------------|--------|----|
| 変異単純ヘルペスウイルス | HF10 | 弱毒型の自然変異株 | 名古屋大学医学部附属病院 | 皮膚又は皮膚に再発した乳がん | 2003年に臨床研究終了 | 6 | — |
| | | | | 頭頸部がん | 2004年に臨床研究開始 | 5 (予定) | |
| | | | | 進行性膵臓がん | 2005年に臨床研究終了 | 6 | |
| | | | | 大腸がん, 乳がん | 動物実験 | — | |

<動物実験段階>

| ウイルスの種類 | 実施施設/企業名 | 対象疾患 |
|---------------------|-----------------------|-----------------------|
| 遺伝子組換え単純ヘルペスウイルス | 大阪府立成人病センター | 平滑筋肉腫 |
| | 愛知県がんセンター | 卵巣がん |
| | 東京大学医学部 | グリオーマ, 前立腺がん |
| | 慶應義塾大学医学部 | 脳腫瘍, 前立腺がん, 膀胱がん |
| | 九州大学医学部 | 胆嚢がん, 胆道がん |
| | 和歌山県立医科大学 | 前立腺がん, 腎がん, 卵巣がん, 乳がん |
| 遺伝子組換えヒトアデノウイルス | 岡山大学医学部/オンコリス・バイオファーマ | 大腸がん, 非小細胞肺癌 |
| | 東北大学医学部 | 膵臓がん, 膀胱がん |
| | | 非小細胞肺癌 |
| | 筑波大学 | 胆嚢がん, 胆道がん |
| | 愛媛大学医学部 | 卵巣がん |
| | | グリオーマ |
| 千葉県立がんセンター | 肝がん, 肝細胞がん | |
| 札幌医科大学 | 大腸がん, 肝がん | |
| 遺伝子組換えセンダイウイルス(HVJ) | ディナベック | 大腸がん, 線維肉腫 |
| レオウイルス3型 | 大分大学医学部 | 膵がん, 同腹膜転移 |

(www.nihs.go.jp/cgtp/cgtp/secl/oncltc_v/onclt-j.html)

Table 8 腫瘍溶解性ウイルスベクターICH「見解」の作成

- 見解案作成のための要素について検討
 - ICH GTDG held workshop Nov 7 2005
 - Propose to write ICH Considerations
 - 1st Rapporteur: Health Canada
 - Plan for 1st draft prior to May 2007 meeting
 - Rotate Rapporteurs
 - Planned completion: 2008

Table 9 腫瘍溶解性ウイルスの臨床開発に関連する問題点

- 腫瘍溶解性ウイルスの設計（野生型, 弱毒型, 遺伝子組換え型）
- 非臨床試験での有効性・安全性の確認及び至適用法・用量の検討
- 腫瘍選択性
- 臨床での安全性
- 適切な動物モデル
- 体外からの排出（測定法, 実測データ）

Table 10 ICH腫瘍溶解ウイルス「見解」
：キーエレメント

- Product design & characterization
 - Replication competent virus (RCV) & molecular variants
 - Adventitious agent testing
- Non-clinical studies
 - *In vitro* cell culture panels for selectivity
 - Animal models & virus replication *in vivo*
 - Biodistribution & shedding
- Clinical studies
 - Virus replication
 - Shedding & contact person risks

Table 11 ICH Viral/Vector Shedding「見解」作成計画

- Discussed writing ICH Considerations on Viral / Vector Shedding
- Purpose: address patient safety & public health concerns (third party exposure)
- Timing: proposal for May 2007 meeting
- Plan a workshop in conjunction with a scientific conference in Europe
- Provide update on workshop planning at May 2007 SC meeting
- Topic has potential for ICH Guideline

必要があると考えられます。

これらの問題点は ICH 腫瘍溶解性ウイルス「見解」のキーエレメント (Table 10) と非常に共通点があります。

7. ICH Viral/Vector Shedding (Fig. 3)

もう一つの話題として、遺伝子治療では、ベクターやベクターに由来する増殖性のウイルスの体外への放出をどのようにモニターするか、あるいはそのリスクをどう回避するかが非常に問題となります。

ICHにおけるこの増殖ウイルス、あるいはウイルスベクターの放出に対する見解(案)の作成計画を Table 11 に示します。これについては、患者の安全性だけでなく、公衆衛生の観点からも非常に重要な問題です。このために、2007年のブラッセル ICH 会議で議論を行うことと、ヨーロッパで開催される遺伝子治療学会に合わせてワークショップを開催し、そこで情報を収集し、そのデータに基づいて、ICH のガイドライン化も含めて考えていく予定です。

8. 各国の Update

8.1 中国における遺伝子治療

中国における遺伝子治療の状況について、中国から報告を受けて議論しました。中国では二品目が承認されており、更に 10 以上のプロトコールが治験中であったり、IND 申請が出されたりしています。

また、タイトルだけしか分かりませんでしたが、日米欧と同様のガイドラインを中国語で発出されていることが報告されました。しかし、遺伝子治療の対象とされる範囲や審査システムについては、情報の提供のされ方で日本や欧米とはかなり違った面があります。しかし、遺伝子治療の範囲については日本と欧米も厳密なところで少し異なります。

中国で承認されている二つの遺伝子治療ベクター (Table 12) のうち、一つは Adv-P53 を用いたがん治療用のベクターで、もう一つは腫瘍溶解性ウイルスベクターです。議論をしている中で問題となったのは、中国で遺伝子治療を受けた患者が帰国しても、その確認の方法がないこと、特に腫瘍溶解性ウイルスベクターは増殖性ウイルスベクターであるため、体外への放出が続いている可能性があることで

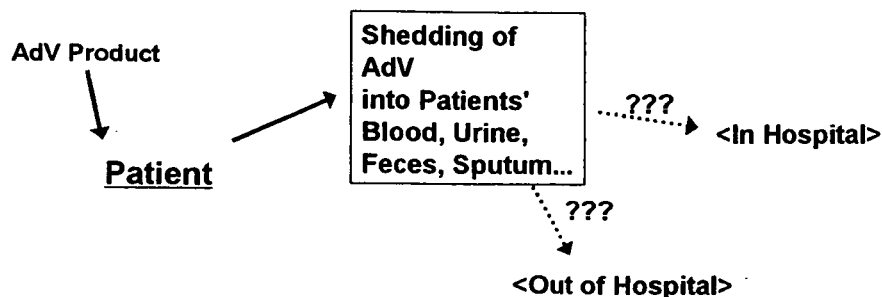


Fig. 3 Shedding of virus & vector

Table 12 Current Development of Gene Therapy in China.

| | | |
|-----------------------------|-------|----------------------|
| Adv-P53 | tumor | come into the market |
| ONCORINE (Ad5-E1B-E3, H101) | tumor | come into the market |

す。

8.2 EU 及びスイス

EU 及びスイスからは、遺伝子治療薬の環境への放出に関するガイドラインが作成中であることが報告されました³⁾。ただし、医薬品の抗生物質を服用するとその抗生物質が環境にどのような影響を及ぼすかといったことと同じような観点で、日本のカルタヘナ関連法とは異なる視点で作成されようとしています。

8.3 FDA

FDA は、遺伝子治療薬の患者への長期フォローアップのガイドラインに対していくつか意見公募を行っていましたが、近日中に公開されることが報告されました。

また、アメリカの新たな開発動向として遺伝子改変された細胞を用いた人工膀胱の開発等の紹介がありました。すなわち、ティッシュエンジニアリングと遺伝子治療との融合製品の開発が進んでおり、遺伝子治療とこのようなさまざまな融合分野についての評価がこれから重要になるとの意見が述べられました。

9. 遺伝子治療薬の品質・安全性確保における課題

遺伝子治療薬の品質・安全性確保に関わる今後の大きな課題を Table 13 に示します。上部の三つの課題に関しては、既に取り組みが始まっており、ICH 見解の作成も行われました。更にウイルスの放出や腫瘍溶解性ウイルスベクターに対する ICH 見解については、将来的にガイドライン化が必要になってくると思われます。

その他、フランスで起きた遺伝子治療における白血病の発症などのように、Insertional Mutagenesis の評価に関して、挿入部位の高感度測定法や挿

Table 13 遺伝子治療薬の品質・安全性確保における課題

- Germline-integration リスク低減化に関する見解作成完了
・ 2006.10.26
- Viral Shedding に関する見解案/GL 作成
・ 測定法の確立やリスク評価
- 腫瘍溶解性ウイルスベクターに関する見解案作成
- Insertional Mutagenesis
・ 挿入部位の高感度測定法開発。
・ 挿入部位が特定出来るより安全なベクターの開発
- 患者の長期フォローアップのあり方

Table 14 ICH 遺伝子治療WG国内メンバー

| 【MHLW】 | 【JPMA】 |
|--------------|----------|
| 国立医薬品食品衛生研究所 | 日本製薬工業協会 |
| 山口照英 | 鳥海互 |
| 内田恵理子 | 小澤健夫 |
| 医薬品医療機器総合機構 | 田中宜之 |
| 荒戸照世 | 井上誠 |
| 前田大輔 | 河合陸文 |
| | 玄番岳践 |
| | 田中舞紀 |

入部位が特定できるような遺伝子治療ベクターの開発が非常に重要と思われます。更に FDA が既にまとめている患者への長期フォローアップのあり方についても、今後我が国でも早期に考える必要があると考えています。

10. ICH 遺伝子治療 WG 国内メンバー

最後に今回の ICH 遺伝子治療専門家会議に出席したメンバーを Table 14 に示します。

文 献

- 1) 厚生労働省医薬食品局審査管理課：ICH 見解：生殖細胞への遺伝子治療用ベクターの意図しない組み込みリスクに対応するための基本的考え方，事務連絡，平成 19 年 4 月 6 日。
- 2) Aguilar-Cordova, E.: *Nature Biotech.*, **21**, 756-757 (2003).
- 3) <http://www.emea.europa.eu/pdfs/human/genetherapy/20383105en.pdf>

日米 EU 医薬品規制調和国際会議 遺伝子治療専門家グループの活動と 遺伝子治療薬の規制における国際動向

特集 臨床応用が迫る遺伝子治療の動向と国産技術の開発

山口照英*¹⁾, 内田恵理子*²⁾

Quality control and safety of human cell therapy products

ICH gene therapy discussion group has been expected to exchange information with the following objectives: monitoring emerging scientific issues, developing new ways of communication to ensure that the outcomes of ICH are well understood and widely disseminated, proactively setting out principles that may have a beneficial impact on harmonizing regulation of gene therapy products. The group has been discussing and published the concept papers about reference materials for gene therapy vectors, virus/vector shedding, evaluation of risk of X-SCID gene therapy, oncolytic virus products, and risk of germline integration of gene therapy products.

ICH 遺伝子治療専門家グループは、遺伝子治療薬をめぐる科学的な諸問題に柔軟に対処するために、専門家グループ会議や公開ワークショップなどを通じて得られた議論の成果を広く公開するとともに、新たな知見が得られた場合に迅速に対応していくというスタンスで活動を行っている。これまで議論が行われてきた国際標準品、ウイルスベクターの排出、X-SCID 遺伝子治療における白血病発症とリスク評価、腫瘍溶解性ウイルス製品の品質・安全性確保、生殖細胞への遺伝子治療用ベクターの意図しない組み込みリスクに対応するための基本的考え方などについて紹介する。

Teruhide Yamaguchi*¹⁾, Eriko Uchida*²⁾

key words: gene therapy, ICH, oncolytic virus, viral shedding, insertional mutagenesis

日米 EU 医薬品規制調和国際会議 (ICH) は、日米 EU 間の医薬品の承認申請に関わる規制を調和し、申請に必要なさまざまなデータなどの作成における不必要な重複を避け、グローバルな医薬品開発の促進と、よりよい医薬品を一刻も早く患者のもとに届けることを目的として活動を行っている。ICH は、1990 年 4 月、日本・アメリカ・ヨーロッパの各医薬品規制当局と業界団体の 6 極により発足した。それ以来、ICH 運営委員会 (ICH-SC) は毎年 2~3 回の会合をつづけており、さらに ICH 国際会議も 2~3 年に 1 回程度の頻度で開催されている。

この間、ICH 発足以来、50 を超えるガイドラインが合意 (調和) され、調和ガイドラインが各地域で

施行されてきている (http://www.pmda.go.jp/ich/ich_index.html)。新医薬品の品質・有効性・安全性の評価に関わる技術的なガイドラインだけでなく、承認申請資料の形式、市販後安全体制などについても議論がされてきている。また、カナダ、スイス、WHO などの他の機関もオブザーバーとして議論に参加するようになってきている。

遺伝子治療専門家会議 (Gene Therapy Discussion Group: GT-DG) は、2002 年の ICH ワシントン会議にて正式に発足した作業部会である。それ以前は、バイオテクノロジー医薬品専門家会議および Ad hoc な GT-DG として議論を重ねてきた。GT-DG では、周辺技術を含め急激に進歩する遺伝子治療薬をめぐる科学的な諸問題に柔軟に対処するために、公開ワークショップの開催や ICH ホームページなどを通じて得られた議論の成果を広く公開するとともに、新たな知見が得られた場合に迅速に対応していくというスタンスで活動を行っている。これ

*¹⁾ Division of Biological Chemistry and Biologicals, National Institute of Health Sciences 国立医薬品食品衛生研究所生物薬品部

*²⁾ Division of Cellular and Gene Therapy Products, National Institute of Health Sciences 国立医薬品食品衛生研究所遺伝子細胞薬品部

表1 ICH 遺伝子治療専門家会議で採り上げられた主なトピック

- ・患者からの遺伝子治療用ベクターやウイルスの体外排出
- ・遺伝子治療薬に含まれる増殖性ウイルスの検出とその手法 (RCA or RCR)
- ・遺伝子治療薬のためのウイルス参照品(アデノウイルス5型)
- ・生殖細胞への遺伝子治療用ベクターの意図しない組み込みリスクに対応するための基本的考え方
- ・遺伝子治療用ベクターによる挿入変異の評価
- ・腫瘍溶解性ウイルス(ワークショップ)
- ・遺伝子治療を受けた患者の長期フォローアップ(FDA ガイドライン案)
- ・遺伝子治療用レンチウイルスベクター(EMEA ガイドライン案)

表2 ICH 遺伝子治療公開ワークショップ(2002年)のテーマ

- ・アデノウイルス5型国際参照品[EU2]の確立状況
- ・他のベクター用の国際標準品の開発および有用性
- ・アデノウイルスベクターの体外排出
- ・レンチウイルスベクター

表3 ヒトアデノウイルス5型国際参照品(ATCC, VR-1516)

- ・アデノウイルス粒子数: 5.8×10^{11} particles/mL
- ・感染価: 7×10^{10} NAS Infectious units/mL
- ・宿主細胞 HEK 293 由来 DNA 量: $< 3 \text{ pg}/\mu\text{g}$ of total DNA
- ・宿主細胞 HEK 293 由来蛋白質量: 18ng/mL
- ・残存 BSA 量: $< 0.5 \text{ ng/mL}$
- ・遊離ヘキソン: $1.16 \mu\text{g/mL}$, $2.0 \mu\text{g}/10^{12}$ viral particles
- ・エンドトシキン: $< 0.15 \text{ EU/mL}$
- ・A 260nm/A 280nm 比(0.1% (w/v) SDS 存在下): 1.37

まで GT-DG で採り上げられた話題について表1にあげたが、遺伝子治療薬の品質や安全性などに関する非常に多岐にわたる科学的課題について議論を行ってきた。

本稿では、ICH GT-DG で議論された遺伝子治療薬の品質・安全性などに関するいくつかの課題を採り上げ、それぞれの議論でのポイントを紹介するとともに、議論を通じて明らかにされた規制当局としての最新のスタンスについて紹介する。また、EU 医薬品庁(EMEA)から出されたレンチウイルスベクターに関するガイドラインや、遺伝子治療を受けた患者の長期フォローアップに関する米国食品医薬品局(FDA)のガイドラインについても議論を行っており、ICH で議論を行ったこれらの各極ガイドラインについても概説する。

ICH GT-DG の活動

2001年5月の東京でのICH-SCにおいて、急速に進展している遺伝子治療用医薬品の品質・安全性の確保に関しては、これらの製品の規制に重大な影響を及ぼす可能性のある新しい科学的知見に関連する情報について、ICH 各極間での情報の交換・共有を積極的に継続して行う必要があることが明記された。

ICH-SCでの議論を受け、GT-DGの正式なスタートを飾るものとしてICH 後援の第1回遺伝子治療ワークショップが2002年にワシントンで開催された。本公開ワークショップで扱ったトピックは表2のとおりであり、遺伝子治療に関する最新の話題が採り上げられた。その後、ICH 会議やICH 本会議に合わせて会合を持つとともに、e-mailなどを通じて常に情報交換を行い、遺伝子治療薬の安全性や品質などに関する最新の問題点について議論を継続してきている。これらの成果については、ICH ホームページや国立医薬品食品衛生研究所のホームページに掲載している。

ICH GT-DGでの各課題ごとの議論についてそれぞれ概略を述べる。

1. 国際参照品

アメリカでオルニチントランスカルバミラーゼ欠損症患者が、アデノウイルスベクターの大量投与による異常免疫反応により死亡¹⁾したことを受け、その安全性を確保するためには正確な投与量を測定することが重要であり、異なる施設での臨床研究に用いるアデノウイルスベクターのウイルス粒子数、ブランク形成単位、感染単位の相互比較を可能にするための参照品や標準品の設定が必要とされた。

そこで、アデノウイルス参照品作製のための国際委員会が発足し、2002年8月にアデノウイルス5型国際参照品が確立され、ATCCより公開された(ATCC, VR-1516, 表3)。本参照品を使用することによって、異なる施設・研究で測定されたウイルス粒子数および力価のデータ同士を科学的に比較することが可能となった^{2,3)}。

これまで、多施設間で出されている毒性データな

どに関しては、用いられているベクターの投与量・コピー数などの基準がないため、相互に比較できなかった。しかし、本参照品を用いることにより得られたデータをまとめて再検討することによって、用量依存的な毒性のような安全性に関する情報の相関関係を明らかに出来るようになり、また遺伝子治療用アデノウイルスベクターの製品中に含まれる増殖性アデノウイルス(RCA)の真の定量値を求めることが可能となると期待されている。現在、アデノウイルスを用いた多くの製品の品質やRCAの評価に本参照品が用いられている。

ICH GT-DGでは、このアデノウイルス参照品の品質や安定性などに関する議論を行い、上記目的に有用であること、また長期にわたる安定性についても問題がないことなどを確認した。

2. ウイルスベクターの体内からの排出

2002年の遺伝子治療公開ワークショップでは、アデノウイルスベクターを投与した患者からのベクターの体外排出について、測定法を含め、安全性の観点から議論が行われた。現在までのところ、ウイルスベクターの体外への排出に伴う安全性上の問題は確認されていないとされている。しかし、より高い感染価を持つベクターの開発や指向性の改良など、今後もアデノウイルスベクターの開発は進むと想定され、環境への影響や広く公衆衛生の観点からその安全性を評価しておくことは重要と考えられる。このために、アデノウイルスベクターの体内からの排出をモニターする期間、タイミングについても十分に考慮する必要があること、特に投与量・投与経路を考慮して試験の間隔を設定する必要があることが示された。

アデノウイルスベクターのみならず、体外排出のリスクが想定されるベクターがつつぎと開発中であり、患者家族や医療従事者などへの伝播のリスクや公衆衛生の観点からの安全性確保が大きな課題とされている⁴⁾。そこでGT-DGでは、排出リスクの高いベクターやウイルスの体内からの排出に関して、2007年10月にヨーロッパ遺伝子治療学会との共催でICHワークショップを開催することになっている。今後、このワークショップでの議論を踏ま

えて、遺伝子治療用ベクターやウイルスの排出に関するICH見解の作成や、ガイドライン化についても検討を行っていくことになっている。

なお、ICH見解とは、ガイドラインのように各規制当局への拘束力はないものの、現時点の科学的な見解をICHとしてまとめたものである。遺伝子治療用ベクターやウイルスの排出に関するICH見解の作成に当たっては、特に治療用ベクターなどが患者以外の第3者に暴露される危険性について言及する予定となっている。

3. レンチウイルスベクター

レンチウイルスベクターは、ヒト免疫不全ウイルス(HIV)に代表されるレンチウイルスを改変してつくられるベクターである。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に由来するベクターと異なり、レンチウイルスベクターは非分裂細胞、たとえば幹細胞、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。したがって、*ex vivo* 遺伝子導入に加えて*in vivo*での遺伝子導入にも有用であるとされている。さらに、レンチウイルスベクターは、他のレトロウイルスベクターにくらべて遺伝子サイレンシングの頻度が低いため長期間遺伝子発現が期待され、慢性疾患に対する*in vivo*臨床管理の手段としても用いることが可能と考えられる。

レンチウイルスベクターに関する特別のリスクはまだ知られていないものの、レンチウイルスベクターは、特にその開発の主な焦点の一つがヒトの重篤な病原体であるHIVに由来するものであることから、ガンマレトロウイルスベクターと比較して、より一層、品質・有効性・安全性の問題が重要視されている。

2002年に開催されたワークショップでは、レンチウイルスベクターの安全性や品質に関する議論が行われた。特に、① レンチウイルスベクター中に含まれる増殖性レンチウイルス(RCL)に対する試験・検査の実施法、② 挿入変異の可能性・検出法、③ 生殖細胞への挿入の可能性、について議論された。レンチウイルスベクター中のRCLの検出においては、適切な陽性対照を置いて実施すべきで

あること、およびRCLに関する試験・検査の一つとしてRCLにenv配列が含まれていないことを確認しなければならないこと、の2点を推奨することとされた。また、レンチウイルスベクターの体内動態、染色体への挿入および生殖細胞系列への伝達を調べるための適切なモデル動物を用いたアッセイ系を開発することが推奨された。

その後EUより、“レンチウイルスベクターの開発と製造に関する指針”案が提案され、ICHの共通のガイドラインとしては取り扱わないものの、EUの指針案についての論議がGT-DGでもつづけられた。各極から出された意見を採り入れた改正案が示され(表4)、2005年に正式にCPMPガイドラインとして発出された⁵⁾。

4. X-SCID 遺伝子治療における白血病発症とリスク評価

フランスでX1連鎖重症複合免疫不全症(X-SCID)の遺伝子治療を受けた患児2例に白血病症状が発症⁶⁾したことを受けて、2004年のワシントン会議ではフランスでの最新情報と各極の対応が報告され、そのリスク評価を実施した。このリスク評価の前提として、X-SCIDおよびアデノシンデアミナーゼ欠損症(ADA/SCID)の遺伝子治療臨床試験から、SCIDに対する遺伝子治療の臨床的有用性が確認された。

このような有用性を前提として、SCIDの遺伝子治療における一般的リスク要因とリスクベネフィットに基づくX-SCID遺伝子治療の実施の是非について議論を行った。その結果、①患者の年齢、②細胞に組み込まれた遺伝子治療用ベクターのコピー数、③投与量、④遺伝子導入細胞の種類に応じた相対的リスクが一般的リスク要因であるとされた。

このようなリスク要因を考慮したうえで、現時点でのX-SCIDの治療の第1選択肢としては骨髄移植を考慮すべきこと、さらに骨髄移植が失敗に終わった場合や適切なドナーがない場合、リスクベネフィットの観点から現行のベクターを用いた遺伝子治療を選択するのやむをえないとされた。

患者の年齢に関しては、当初の2例の白血病発症患児は投与時に生後6カ月未満であったことから、

表4 レンチウイルスベクターの開発と製造に関する指針の項目

- | |
|--------------------------------------|
| 1. 序 |
| 2. もとになるレンチウイルスの性質とレンチウイルスベクター開発への影響 |
| 3. レンチウイルスベクターの設計 |
| 4. レンチウイルスベクターの製造方法 |
| 5. レンチウイルスベクターの特性解析と品質管理試験 |
| 5.1 遺伝子導入活性 |
| - 遺伝子組み込み能 |
| - 導入遺伝子の機能 |
| 5.2 レンチウイルスベクターの粒子数測定 |
| 5.3 増殖性レンチウイルス(RCL)否定試験 |
| 6. がん原性 |

6カ月以内の患児ではリスクが高いとされた。しかし、その後、3例目の白血病発症が確認され、3例目の患児の投与時の年齢が9カ月であったことから見直しが必要となっている。しかし、年齢(月齢)の低い患児ほどリスクが高いと想定されていることには間違いのないであろう。

また、細胞に組み込まれた遺伝子治療用ベクターのコピー数・染色体挿入頻度が大きなリスク要因とされ、細胞当たり平均1を超えること、すなわち1個の細胞に複数のベクターが挿入されることを出来るかぎり避けるべきとされた。また、投与量、すなわち患者に投与した遺伝子導入細胞の総数が多いほどリスクが高いとされた。

さらに、遺伝子導入細胞の種類に応じた相対的リスクは、選択的優位性を持つと予想される幹細胞(すなわち、他の幹細胞にくらべて増殖能が高い幹細胞)、幹細胞、T細胞または他のすでに分化した細胞の順にリスクが高いとされた。

染色体へのベクター挿入による発がんのリスクを評価するためのいくつかの新しい技術が開発中であり、現在用いられているこれらの技術は、まだ十分にバリデーションはされていないものの、遺伝子治療臨床研究においても有用な手法であるとされた。特に、LAM-PCR(linear amplification mediated PCR: 片方向増幅を介するポリメラーゼ連鎖反応)法⁷⁻⁹⁾が広く用いられており、またその改良法の開発も進められているが、LAM-PCR法はまだバリデーションされていない技術であることから、複数の試験による確認が必要とされた。特に、LAM-PCR法において検出される主要なバンドは、疾患の過程

でも変化することが知られており、このようなバンドを治療方針決定のための根拠、すなわち白血病などの副作用の発現の目安として使うことは出来ないとされた。特に、遺伝子導入細胞のクローナリティー(クローン増殖)の傾向が、従来から用いられている信頼性の高い方法によっても認められた場合には、より頻繁に被験者のモニタリングを行う必要があるとの結論が出された。

臨床における副作用発現を未然に防ぐための管理方法として、遺伝子導入細胞のクローナリティーをより高感度でかつより高い信頼性をもって監視するため、複数の方法を組み合わせることが科学的に妥当であると議論で確認された。さらに、新しい検査方法がまだ開発途上にあることから、将来も必要に応じて科学的検査が行えるよう、被験者の検体などの試料の保管が推奨されている。

その後、4例目の白血病発症も確認され、現在もフォローアップがつづけられている。X-SCID 遺伝子治療による白血病発症の主要因についてはいまだ不明であるが、同様の治療を実施していまだ白血病発症が認められていないイギリスでの遺伝子治療を含め、従来のベクターを用いた X-SCID 遺伝子治療はこれ以上行わないとされている(イギリスでは患児の治療が予定されたエントリー数に達したためとされている)。近いうちに、より安全性を高めたベクターを用いて X-SCID 遺伝子治療が再開される予定になっている。

5. 遺伝子治療臨床試験に参加した被験者の長期フォローアップ(追跡)調査のFDAガイドラインに関する議論

FDAは、遺伝子治療を受けた被験者の長期フォローアップに関するガイダンスとして、レトロウイルスベクターを用いた遺伝子治療薬治験に参加した被験者の増殖性ウイルス(RCV)感染の監視に特化したガイダンス「レトロウイルスベクターをもとにした遺伝子治療薬に混入する増殖性レトロウイルス試験およびレトロウイルスベクターを用いた治験の患者の追跡調査に関するガイダンス追補」を2000年9月に発出した(2006年11月改正¹⁰⁾。

しかしその後、レトロウイルスベクターを用いた X-SCID 遺伝子治療による白血病発症という深刻な

有害事象が発生し、また、その他のベクターによる遺伝子治療の長期フォローアップに関するガイダンスも必要とされたことから、FDAは、長期フォローアップに関するガイドラインの作成を検討し、原案について2004年のGT-DGで議論を行った。

その後、FDAは2005年8月に「製薬業界へのガイダンス：遺伝子治療臨床試験-遅発性の有害事象に関する被験者の観察」案を提出した。このガイドライン案では、遺伝子治療臨床研究のうち遅発性有害事象のリスク評価により長期フォローアップが必要と判断されるものについては、①被験者の長期フォローアップ調査を遺伝子治療実施後15年間は実施するよう計画する必要がある。②その間に収集しなければならないデータとしては、悪性腫瘍、神経疾患、リウマチ性疾患、免疫性疾患・血液疾患などの新たな臨床症状の発症の有無のほか、ベクター配列の持続性をベクターが検出されなくなるまで継続実施する必要がある。また、組み込み型ベクターによる造血幹細胞遺伝子治療の場合には、クローナリティーの評価を実施する必要がある。③遺伝子治療実施後5年間は最低、年に一度の健康診断・検査によるフォローアップ調査を、その後6~15年目までは調査票によるフォローアップ調査を実施しなければならない。また、これに用いる調査票の内容は、わかりやすいものにとどめておく必要があるとされている。④このフォローアップ調査の結果は、遺伝子治療臨床研究に参加した被験者における長期リスクを評価するために、毎年とりまとめてFDAに報告することを求めている。

FDAは、2006年11月に上記ガイダンスを発出した¹¹⁾。本ガイダンスは前出のレトロウイルスベクターに関するガイダンス¹⁰⁾を補足する内容ともなっている。

6. 腫瘍溶解性ウイルス製品の品質・安全性確保と公開ワークショップ

腫瘍溶解性ウイルスとは、正常細胞では増殖できず、腫瘍細胞で選択的に増殖して細胞を溶解することが可能な制限増殖ウイルスであり、これまで十分な効果がみられてこなかった従来のがん治療遺伝子治療にかわる新たな治療法として期待されている

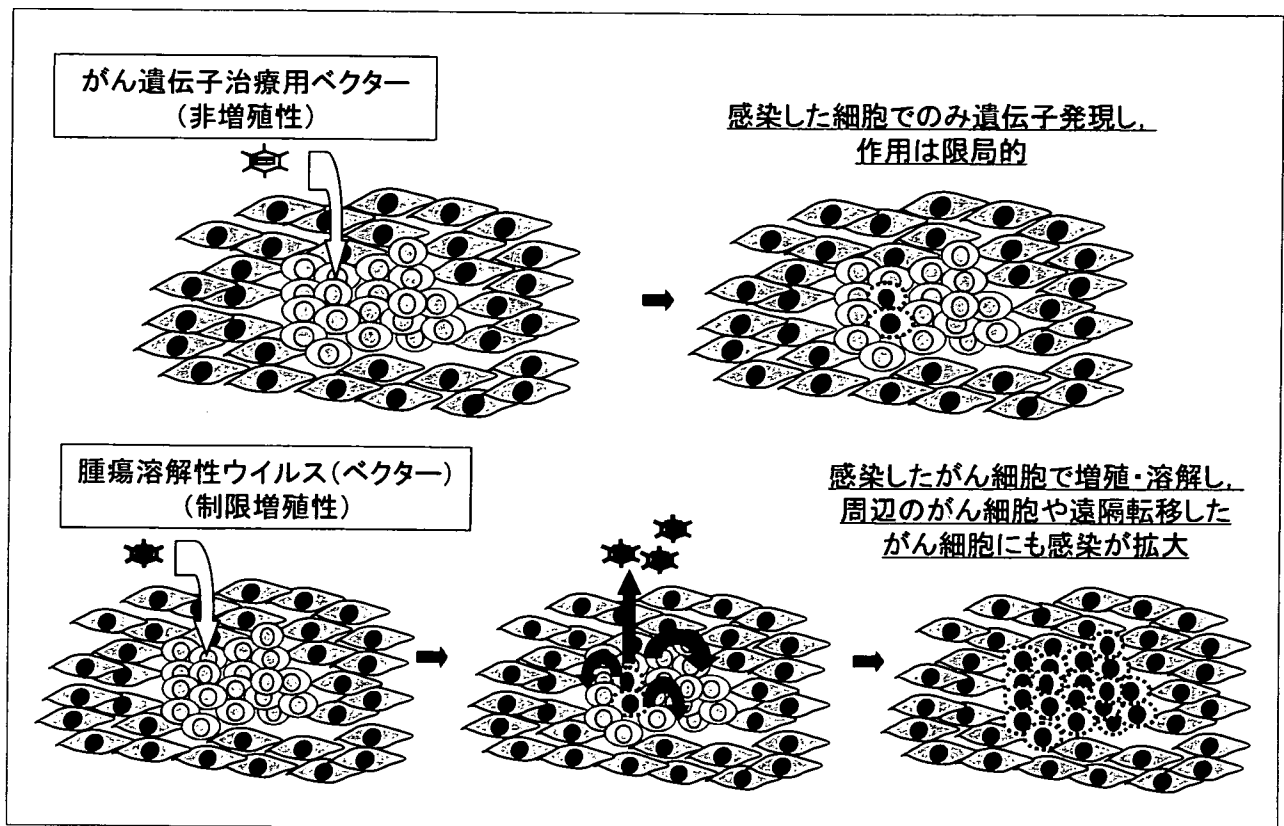


図1 遺伝子治療用ベクターと腫瘍溶解性ウイルスの違い
 腫瘍溶解性ウイルスは、正常細胞内では増殖できないが、標的とするがん細胞内で選択的に増殖可能な制限増殖型ウイルスである。

ものである(図1)。腫瘍溶解性ウイルス開発は、腫瘍特異的に増殖する野生型ウイルスや弱毒化ウイルスを用いた研究から、遺伝子改変技術を用いた病原性の除去や腫瘍指向性をより高めた制限増殖性ウイルスベクターを用いるものへと移行しつつある(図2)。腫瘍溶解性ウイルスの開発はここ数年急速に進展しており、多くの総説も書かれている¹²⁻¹⁶⁾。しかし、腫瘍溶解性ウイルスの臨床適用は未知・未経験の要素も多い領域であり、基礎となる科学的知見も十分に集積されていないことから、GT-DGでは、品質確保の方策、安全性や有効性評価のための動物を用いた非臨床試験のあり方、さらには臨床研究における安全性・有効性評価などを議論するために、公開ワークショップを開催して議論を行い、その成果をコンセプトペーパーとして公開した。

腫瘍溶解性ウイルスの品質・安全性には、①腫瘍溶解性ウイルスの選択・設計(野生型・弱毒型・遺伝子組換え型)、②動物やヒトで期待される効果の

評価、③ウイルス複製の腫瘍選択性、④臨床上の安全性、④動物試験に用いる適切な動物モデル、⑤腫瘍溶解性ウイルスの体外排出の測定法とデータ、などが特に重要な課題とされている。

(1) 腫瘍溶解性ウイルスの設計および特性解析

現在使用されている腫瘍溶解性ウイルス開発では、腫瘍細胞内で選択的に複製する非組換えウイルスを用いる場合と遺伝子組換え型ウイルスを用いる場合がある。通常の遺伝子治療では、ベクター中のRCVの検出が品質・安全性の観点から重要であるが、腫瘍溶解性ウイルスは制限複製能を持つことから、RCVの検出よりも目的ウイルスの変化体をどのように検出するかが重要とされている。また、品質の恒常性の観点から、ウイルス感染性力価ばかりでなく、力価に対する粒子数の比を規格化することが重要とされた。

(2) 非臨床試験

腫瘍溶解性ウイルスの安全性評価や目的とする効