

stretch of homology between adenoviral vector and packaging cell line can give rise to cytopathic effect-inducing, helper-dependent E1-positive particles. Hum Gene Ther 13 : 909-920, 2002

- 20) Fallaux FJ, Bout A, van der Velde I, van den Wollenberg DJ, Hehir KM, Keegan J, Auger C, Cramer SJ, van Ormondt H, van der Eb AJ, Valerio D, Hoeben RC : New helper cells and matched early region 1-deleted adenovirus vectors prevent generation of replication-competent adenoviruses. Hum Gene Ther 9 : 1909-1917, 1998
- 21) Aghi M, Martuza RL : Oncolytic viral therapies - the clinical experience. Oncogene 24 : 7802-7816, 2005
- 22) Lin E, Nemunaitis J : Oncolytic viral therapies. Cancer Gene Ther 11 : 643-664, 2004
- 23) Ries SJ, Brandts CH : Oncolytic viruses for the treatment of cancer : current strategies and clinical trials. Drug Discov Today 9 : 759-768, 2004
- 24) 厚生労働省医薬局長通知：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。

医薬発第266号，平成13年3月28日

- 25) 厚生労働省医薬局長通知：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。医薬発 第1314号，平成12年12月26日
- 26) 厚生労働省医薬局長通知：ヒト幹細胞を用いる臨床研究に関する指針の施行等についてヒト幹細胞を用いる臨床研究。健発第0703003号，平成18年7月3日
- 27) EMEA : Point to consider on xenogenic cell therapy medicinal products. 2003.12.17
- 28) EMEA : Point-to-consider on the manufacture and quality control of human somatic cell therapy medicinal products. CPMP/BWP/41450/98, 2001.5.31
- 29) FDA/CBER : Suitability determination for donors of human cellular and tissue-based products. 97N-484S, 1999.9.30
- 30) 厚生労働省医薬局長通知：生物由来製品及び特定生物由来製品の指定並びに生物由来原料基準の制定等について。医薬発第052001号，平成15年5月20日

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医薬部

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: $< 3 \mu\text{g}$ of total DNA
- ・宿主細胞 HEK 293 由来蛋白質量: 18 ng/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きたおり、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ぎ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も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

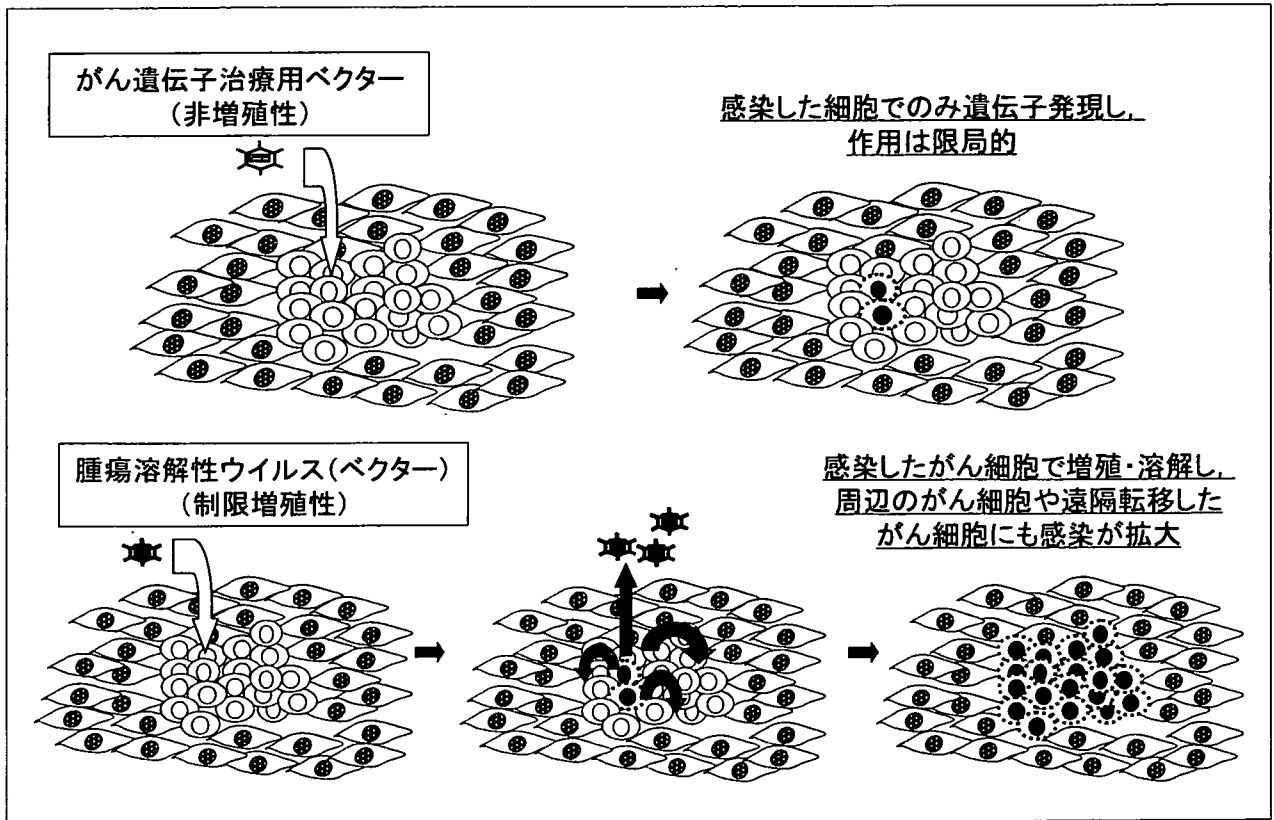


図1 遺伝子治療用ベクターと腫瘍溶解性ウイルスの違い
 腫瘍溶解性ウイルスは、正常細胞内では増殖できないが、標的とするがん細胞内で選択的に増殖可能な制限増殖型ウイルスである。

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

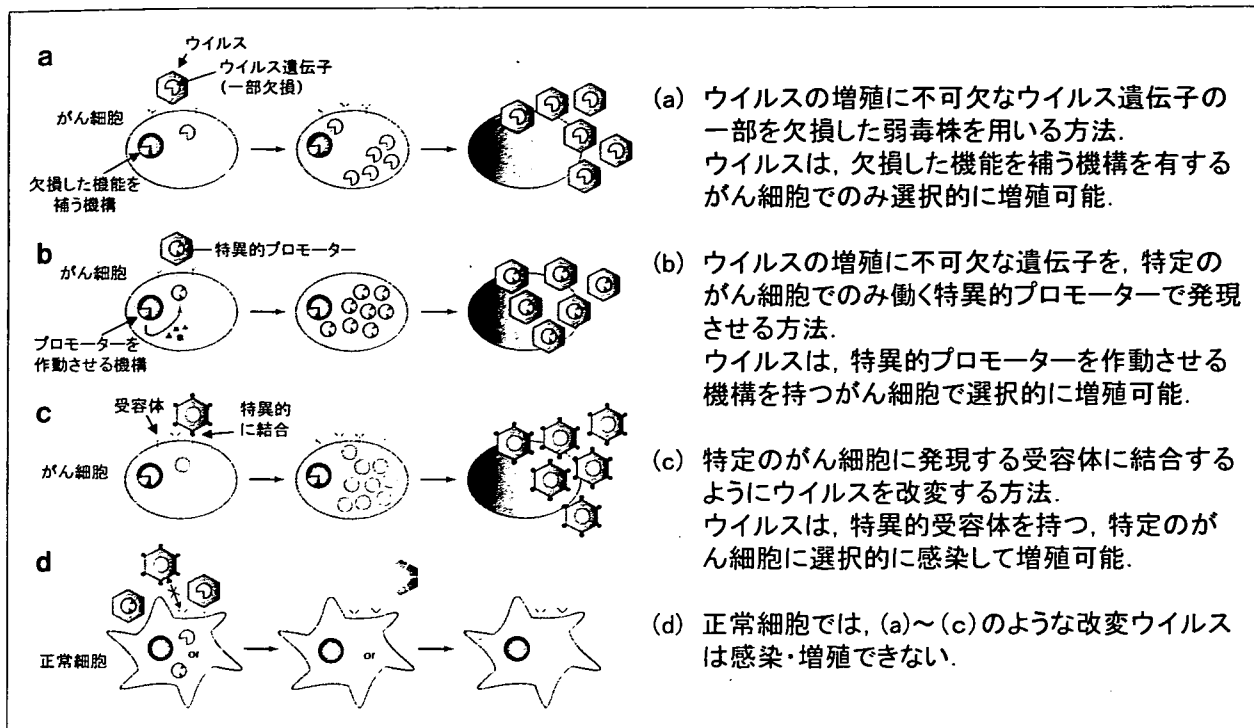


図2 ウイルスをがん細胞で選択的に増殖させる方法
(Ries SJ et al., 2004¹³⁾, Fig 1 より改変)

果が得られるかの評価に、動物モデルが有用であることが一致した意見であった。しかし、① 腫瘍溶解性ウイルスの感染および複製能に動物種特異性があること、② 動物にヒト腫瘍細胞を移植した腫瘍モデル動物では、ウイルスがヒト体内とは異なる指向性・分布を示すこと、③ 動物での免疫反応がヒトとは異なること、などから動物モデルの限界も指摘されている。

しかし、生体内分布や安全性・毒性の評価、臨床での投与経路や用法・用量の選択などに関して、動物モデルが有用な情報を与えるということについてはコンセンサスが得られている。腫瘍選択性に関しては、非腫瘍細胞培養株および腫瘍細胞培養株を用いた試験、またはヒト正常組織およびヒト腫瘍組織からの初代組織片培養を用いた試験が有用とされている。

(3) 臨床研究

腫瘍溶解性ウイルスは、その複雑な特性から、開発の基礎段階で十分に特性解析することが困難であり、また有用な動物モデルが必ずしも存在するわけではないことから、臨床研究の開始に当たっては多

くの検討すべき課題があるとされた。

(4) 臨床薬物動態

臨床薬物動態の解析手法として、被験者のモニタリングにはPCR、感染性力価試験のいずれも用いられている。いくつかの腫瘍溶解性ウイルスの臨床研究において、血液中に検出されるウイルス量は投与直後と4~7日目にピークが認められた。このような2相性のピークは、局所投与および静注した場合のいずれでも観察されており、ウイルスの複製をモニターする手段となりうるとされている。

また、用法・用量設定の必要性、腫瘍溶解性ウイルスに対する患者の中和抗体の影響が重要な課題であるとされている。さらに、腫瘍溶解性ウイルスの体外排出に関する予防措置も大きな課題である。

(5) 腫瘍溶解性ウイルス開発の今後の展望

腫瘍溶解性ウイルスの開発の新たな流れとして、化学療法や放射線療法と腫瘍溶解性ウイルス療法を組み合わせる併用療法の有用性が示唆されており、今後このような併用療法の開発が進むものと考えられる。腫瘍溶解性ウイルスの設計改良のアプローチとしては、免疫反応を活性化する遺伝子などの治療

表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

1. 緒言
2. 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におけるリスク要因
2.1 ベクター
2.2 投与量および投与経路
3. 非臨床試験
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

用遺伝子をウイルスゲノムに挿入する遺伝子治療との組み合わせや、腫瘍細胞へのターゲティング能の増強などが行われている。また、殺腫瘍効果の作用機序を解明できるデータを得るための非臨床試験および臨床試験の取り組みも行われている。

現在、GT-DGでは、2008年を目途に、腫瘍溶解性ウイルスの品質・安全性評価に関するICH見解案を作成中である。

7. 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

GT-DGでは、2005年から「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」に関するICH見解をまとめるための議論が開始された。本見解の最も大きな目的は、遺伝子改変された次世代をつくらないということに尽きている。遺伝子治療用ベクターが生殖細胞の染色体へ組み込まれなくとも、生殖細胞へ遺伝子導入されただけでも発生毒性など他の安全性の懸念はもちろん生じるが、発生毒性などは他のガイドラインなどで対応していくものとされた。

本見解では、非臨床試験を通じて体内分布試験の実施によって生殖組織へのベクターの分布が起こるか否か、またベクターが生殖組織で検出された場合にはその検出が持続的か一過性かを明らかにすることを求めている。さらに、生殖組織で持続的に検出された場合、生殖細胞そのものに遺伝子が組み込まれているのか、白血球など周辺細胞にのみ局在するのかを明らかにすることが求められている。これらの試験を通じて、ベクターが生殖細胞内に持続的に保持されることが明らかになった場合には、ヒトへの使用に際しては規制当局と十分な議論をすること

を求めている。

非臨床試験でベクターが一過性にせよ生殖腺に局在する可能性が示された場合には、臨床試験において患者の精液にベクターが局在することがないかモニタリングを考慮すべきとされた。また、臨床試験の間中は、非臨床生体内分布試験の結果にかかわらず避妊手段をとるべきことが推奨された。なお、対象患者が生殖不能な場合、または余命が短いことが見込まれる重篤な疾患では、精液のモニタリングは必要ないとされている。

本見解は、2006年のICHシカゴ会議で最終案がとりまとめられ、ICH運営委員会によって承認された(表5)¹⁷⁾。

GT-DGの今後の活動

ICH GT-DGの活動では、遺伝子治療をめぐって取り組むべき課題がより明確になりつつあることや、ここきてICH各極で遺伝子治療用医薬品の規制当局への承認申請が出されていることへの早急な対応もあり、ICH見解の作成やガイドライン策定を見据えた議論も行われるようになってきている。今後、ベクターの排出に関する見解の作成やガイドライン化、腫瘍溶解性ウイルスに関する見解の作成など、いくつかの重要な科学的コンセプトが出されていく予定になっている。

わが国における遺伝子治療の臨床研究の数は欧米にくらべて非常に少なく、臨床研究での情報は多くが海外に依存している現況であることは否めない。しかし、ここ数年はわが国においても遺伝子治療薬の開発が急速に進んでおり、遺伝子治療薬に関するICH見解やガイドラインの策定が、わが国における遺伝子治療薬開発の促進につながっていくと期待される。

文 献

- 1) Marshall E: Clinical trials: gene therapy death prompts review of adenovirus vector. *Science* 286: 2244-2245, 1999.
- 2) Hutchins B: Development of a reference material for characterizing adenovirus vectors. *BioProcessing Journal* 1: 25-28, 2002.
- 3) Hutchins B, Sajjadi N, Seaver S, Shepherd A, Bauer SR et

- al. : Working toward an adenoviral vector testing standard. *Molecular Therapy* 2 : 532-534, 2000.
- 4) Bamford KB, Wood S, Shaw RJ : Standards for gene therapy clinical trials based on pro-active risk assessment in a London NHS Teaching Hospital Trust. *Q J Med* 98 : 75-86, 2005.
 - 5) CHMP Guideline : Guideline on development and manufacture of lentiviral vectors. CHMP/BWP/2458/03, 2005. (<http://www.emea.europa.eu/pdfs/human/bwp/245803>)
 - 6) Hacein-Bey-Abina S, Von Kalle C, Schmidt M, McCormack MP, Wulffraat N et al. : LMO2-associated clonal T cell proliferation in two patients after gene therapy for SCID-X1. *Science* 302 : 415-419, 2003.
 - 7) Schmidt M, Glimm H, Wissler M, Hoffmann G, Olsson K et al. : Efficient characterization of retro-, lenti-, and foamyvector-transduced cell populations by high-accuracy insertion site sequencing. *Ann N Y Acad Sci* 996 : 112-121, 2003.
 - 8) Schmidt M, Carbonaro DA, Speckmann C, Wissler M, Bohnsack J et al. : Clonality analysis after retroviral-mediated gene transfer to CD34+ cells from the cord blood of ADA-deficient SCID neonates. *Nat Med* 9 : 463-468, 2003.
 - 9) Woods NB, Muessig A, Schmidt M, Flygare J, Olsson K et al. : Lentiviral vector transduction of NOD/SCID repopulating cells results in multiple vector integrations per transduced cell : risk of insertional mutagenesis. *Blood* 101 : 1284-1289, 2003.
 - 10) FDA Guidance for Industry : Supplemental guidance on testing for replication competent retrovirus in retroviral vector based gene therapy products and during follow-up of patients in clinical trials using retroviral vectors, November 2006. (<http://www.fda.gov/cber/gdlns/retrogt1000.pdf>)
 - 11) FDA Guidance for Industry : Gene therapy clinical trials – observing subjects for delayed adverse events, November 2006. (<http://www.fda.gov/cber/gdlns/gtclin.pdf>)
 - 12) European Medicines Agency (EMA) : Report from the CPMP gene therapy expert group meeting 26th-27th. EMA/CPMP/1879/04/Final 2004, February, 2004.
 - 13) Ries SJ, Brandts CH : Oncolytic viruses for the treatment of cancer : current strategies and clinical trials. *Drug Discov Today* 9 : 759-768, 2004.
 - 14) Lin E, Nemunaitis J : Oncolytic viral therapies. *Cancer Gene Ther* 11 : 643-664, 2004.
 - 15) Aghi M, Martuza RL : Oncolytic viral therapies – the clinical experience. *Oncogene* 24 : 7802-7816, 2005.
 - 16) Yamaguchi T, Uchida E : Regulatory aspects of oncolytic virus products. *Curr Cancer Drug Targets* 7 : 203-207, 2007.
 - 17) ICH Considerations : General principles to address the risk of inadvertent germline integration of gene therapy vectors, October 2006. (<http://www.ich.org/LOB/media/MEDIA3363.pdf>)

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、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。