

図1 後続タンパク質性医薬品の評価

際わが国が独自の指針作りなどに踏み出すチャンスがあったが機を逸した。その間、EUは後続品をBiosimilarと称していくつかの指針を出した。これらには域内の先発保護の要素も含まれ、科学的不合理さもあるが既成事実の積み重ねは大きい。WHOもEUに類似した指針の制定を準備中とのことである。ところで十数年前わが国のバイオ医薬品開発への試みは非常に活発であったが、その勢いは特許問題等によってブレーキがかけられ、多くのリソースが散逸した。著者はわが国のバイオ医薬品開発の復活と振興を願い、その一環として開発目標が明確な後続バイオ製品の開発を契機に、残されたリソースや潜在力を結集して、やがては新薬の開発にも及ぶような活動を開始することを5、6年前より提言してきた。しかし現在のところ、欧米企業の先行を許している状況である。EUでは2006年にhGH2製品、2007年にEPO3製品を承認し、現在EPO2製品が承認見込みという。このままでは後続バイオ製品も外来品にほとんど専有されかねない。チャンスはまだある。わが国独自の取組みの強化を切望したい。

### 3) タンパク質性医薬品固有の安全性問題に対する取組み

タンパク質性医薬品の安全性確保上の主要問題の一つに抗原性の問題がある。これについては、有効成分とその他の成分による抗原性に分けて考えた方が合理的である。その他成分については製造過程で極力低減化に努めること及び最終製品への存在許容量を理化学試験法で規定することが合理的であると思われる。有効成分によって引き起こされる抗原性については、動物を用いた非臨床段階で予測することはほとんど困難であり、臨床試験

で注意深くモニターする以外に適切な方策はない。しかし、限られた数の患者や期間では明らかな異常は検出できても、幅広い患者に長期間投与した際の影響は観察できない。したがって、製造販売承認後の安全性モニター計画を綿密に立て、一定期間詳細な観察を続けることが合理的方策であると考えられる。

もう一つは、2006年に抗CD28スーパーアゴニスト抗体のPI試験 (First in Man: FIM) においてみられた重篤な副作用発生事件の教訓を今後にいかにかに生かすかである。特に留意すべき事項は、①薬物の特性や生物学的作用の特徴、作用機構などに関するデータを極力収集し、これらを踏まえてヒト体内で起こりうる現象を想定し、非臨床データからヒトでの反応がどの程度予測できるか、ヒトに重篤な副作用を生じる可能性があるかを、慎重に評価すること、②FIM試験における開始用量の設定に関し、表1に例示したような明らかなリスクを有する

表1 明らかなリスクを有する薬物の例示

1	生体系に重篤な生理学的攪乱を引き起こす薬物
2	アゴニストあるいは亢進作用を有する薬物
3	先行する事例のない新規的作用機序を有する薬物
4	高い種特異性によって前臨床でのリスク評価が困難/不可能であるような薬物
5	天然のリガンドよりも高いポテンシーを有する薬物
6	多機能性の薬物 (例: 二価抗体、Fc結合)
7	正常な制御機構をバイパスする薬物
8	免疫系を標的とする薬物
9	<i>In vivo</i> での生物学的増幅系に作用する可能性のある薬物

薬物については、動物での無毒性量に基づく算出法のみ依存するのではなく、例えば、ヒト細胞や霊長類等での「最小の生物学的作用を生じる用量」を考慮するなど幅広いアプローチを採択すべきこと、③FIM試験では投与方法を緩徐なものとする、投与間隔を十分に空けて投与後の有害事象の発生の有無を観察すること、④副作用発症後の処置等を含めて慎重に吟味された試験デザインを作成すること、⑤被験者の急変に備えた緊急体制、ICUの確保、活用等に万全を期すること、⑥免疫系に作用する医薬品のように作用が全身に及ぶことが予測される場合には、FIM試験には、患者を用いることを考慮すること、などである。また、別に、規制当局間での情報共有化のための非公開データベースの構築や審査プロセスの充実、FIM試験の実施環境の整備や人材の育成も望まれるところである。

#### 4) 科学に基づく効果的・効率的で柔軟な品質規制を

##### 各国に適した形で

タンパク質性医薬品の品質をめぐる問題については、国際レベルではICHQ5A～E、Q6B及びCTD (Common Technical Document) において基盤的な問題についての科学的な留意事項に関する調和ガイドラインが示されている。これらに盛り込まれた医薬品の品質確保の目的や本質、科学的な基本原則を踏まえ、個々の事例への適用を柔軟で合理的なものにするという前提で考え、解釈運用を適切に行えれば、患者さんに速やかに優良な医薬品を提供するという目標に対する品質関連の規制環境はほぼ整備されていると考えられる。ただ、バイオ医薬品の製造関連事項については、CTDの説明にはあるが、対応する技術的要件に関する正式な指針がICHガイドラインとしてはない。そこで2年半ほど前よりバイオ医薬品の製造問題をICHの課題としてとりあげる機運が欧米を中心に高まり、一旦はわが国の立場、意見も取り込んだコンセプトペーパーが6極の専門家の同意を得て完成した。ところが、品質問題について総合的に新たな概念と方向性を掲げて進めたいとする欧米の産官、特に化学薬品関係者からの強い要望によって、バイオ医薬品も渦中におかれ、独自の活動は中断したままになっている。新たな概念と方向性とは、筆者の理解が及ぶ範囲で要約すれば、知見や経験の蓄積を最大限活用し、医薬品のライフサイクルにわたってリスク管理と科学を根拠として効率的、効果的に品質の改善改良を統合的にかつ柔軟に行うことが肝要であるという概念や体系を産官ともに認識し、共有してことを進めるといものかも知れない。これは、この本質から製造、工程管理、工程評価/検証、規格設定など個々の要素はもとより、品質確保全体戦略にも適用される。とはいえ具現化する際には、製品毎、会社毎に適用の仕方は異なり、同等・同質製品を対象にした場合にもアプローチは異なることになる。肝要なのは申請者側が最終的に採用した方策の妥当性を明らかにする

ことであり、規制側にとってはその方策を十分に理解した上で評価するということであろう。こうした動きの背景の一つには現行の欧米の審査のあり方が深く関わっている。欧米では、基本的にCTDの第3部が承認対象であり、それをベースに審査する。そのため、業界にとっては膨大な資料の作成が必要である。必然的に、承認後の一部変更も膨大な作業量と人的/時間的リソースを要することになる。それは審査当局にとっても同様の作業量やリソースを要することを意味している。わが国より一桁あるいは二桁近くの人員を要する米国やEUをもってしても、現行のままでは立ち行かない。そこで、より高い科学的達成度を目指しつつ、一方でリソースの合理的活用や柔軟な対応に向けての方向性の提示やある種の制度的改革を必要とすることになった。それ自体はそれぞれの国や地域の事情に応じた政策であり、コメントの余地はない。しかし問題は、世界的企業が世界同一文書による承認を究極には目指して、また、欧米が地域の政策的統合のためのテコとなるよう、あるいは汎欧米主義を意識して、これをICHの場に持ち出し、しかも特殊な用語を概念や方向性を示すキーワードとして政策的に用いている事であろう。その用語とはQbD (Quality by Design) であり、Design Space (DS) などである。また、その背景となるガイドラインはQ8、Q9、Q10ということである。ところで1月末に開催されたWCBP2008では多くのFDA担当官をはじめ約450名の関係者が集まり、口々にQbDやDSを唱えたが、議論は混迷を極めた。QbDやDSに対するそれぞれの理解や解釈が非常にまちまちであったからである。また、一口に製品の製造や品質確保といっても、課題の対象を、①医薬品候補物質の探索段階、②治験に入る前の段階、③承認申請のための最終データ整備段階、④承認申請・審査、⑤市販後の改善改良・一変のいずれの段階に焦点をあてて議論しているのか、何をどの程度、科学的目標課題とし達成度とするのか、それぞれの段階で課題に取り組む主体が誰なのか明確に定義されないまま議論が行われているところにも混乱の原因があると思われる。この筆者の見解にFDAやPhRMAのICH代表は全く異議をはさまなかった。バイオ医薬品の製造に関して、筆者はICHでは産・官に最も共通する上記④に焦点を絞り、その上で前後を見渡すべきと考える。また、ICHが技術的要件の調和をはるかに越えてある国や地域の政策やシステムの変更、世界戦略の展開の具にすることは避けるべきと思う。加えて、彼の地でさえ関係者間で共通の理解や認識が得られない政策的キーワードを共通の理解や認識が最も核心をなすICHという場に持ち込むべきではないと思う。適宜、適所で共通・共有の情報媒体となる平易な表現を用いて必要な科学的事項を記述すればすむことである。審査官の人数等が圧倒的に少なく、第2部に第3部のエッセンスを要約し、第2部のエッセンスを第1部の承認事項としていて、

科学的・効果的・効率的で柔軟な規制制度を有しているわが国と、第3部をベースにした承認事項の合理化や柔軟な取り扱い、人的資源スリム化を図ろうとしている欧米とは事情が異なる。FDA等の目指す理想の究極に日本型モデル(図2)があるのではないかと問いに、うなずくFDAの専門家も多い。ところでQ8の一部、Q9、Q10は現在のところオプションである。それらには多くの学ぶべきこともあり、必要に応じて適宜活用するのは望ましいことといえる。一方で、化成品とバイオ医薬品原薬製造に関する共通ガイドラインをQ8、Q9、Q10をバックボーンにしながら作成しようとする動きがある。そのような形で技術的要件のガイドラインができてしまうと、それを通してオプションであるはずのQ8の一部、Q9、Q10が要求事項になってしまうことに思い至る必要がある。ICHは各国に適用できる形で必要な科学的要件の調和を図るべきであろう。

### 3—遺伝子治療薬や核酸医薬品はこれから

遺伝子治療はまだ安全性・有効性が確立されていないため、重篤な遺伝子疾患、がん、その他の生命を脅かす疾患又は身体の機能を著しく損なう疾患を対象としている。臨床開発初期段階のものが多く、日米欧では未承認であるが、中国等では承認例も出ている。わが国における遺伝子治療研究ははまだ20余例で米国の約840例や欧の約320例に比較して少ない。しかしわが国独自の導入遺伝子としてHGF、ベクターとしてセンダイウイルスベ

クターやその構成要素を用いた膜融合リボソームの開発などが試みられており、今後の発展に期待したい。遺伝子治療は現在のところ、X連鎖重症複合免疫不全症(X-SCID)、アデノシンデアミナーゼ欠損症、慢性肉芽腫症、パーキンソン病などの単一遺伝子疾患で、著効あるいは一定の効果が得られているが、癌に対する効果は限定的である。一方、X-SCID遺伝子治療でT細胞白血病様症状発症(治療可能)やアデノウイルスベクターの不適切な大量投与による異常免疫反応等の重篤な副作用も見られ、安全性などに慎重な検討が必要である。遺伝子治療用医薬品においては、①複製(増殖)性ウイルスの検出方法、存在許容量と管理方法、②ウイルスタンパク質による抗原性に対する留意と軽減方策、③目的外の細胞・組織への遺伝子導入の回避と投与量の軽減のための方策、④染色体への遺伝子組み込みに伴う遺伝毒性、がん原性発現への慎重な対処と回避策、などが安全性確保上の重要課題であるといわれており、ICHのワーキンググループでも検討対象となっている。

最近ウイルス療法が、がんの治療で遺伝子治療よりも高い効果が期待されるとして注目を浴びてきた。これは、正常細胞内では増殖できず、標的とするがん細胞内でのみ選択的に増殖可能な腫瘍溶解性ウイルス(変異又は組換え単純ヘルペスウイルスや組換えアデノウイルスなど)を用いたがんの新しい治療法である。わが国では4例ほどの実施例がある。

核酸医薬品は、一般にゲノム医学を背景に、特定の遺

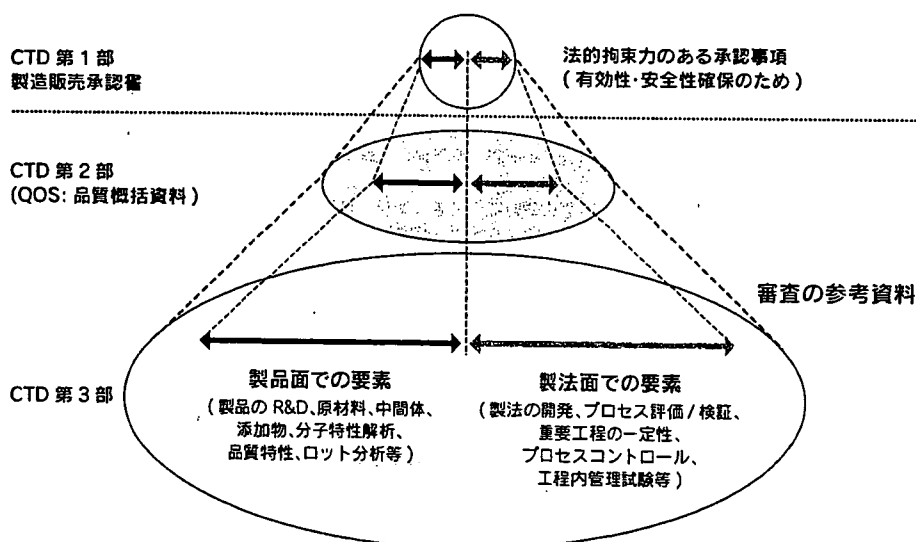


図2 科学に基づく効果的・効率的で柔軟なわが国の品質に関する規制

伝子発現を制御するよう設計した塩基配列を有するものである。アンチセンス、リボザイム、デコイ、siRNA (small interfering RNA) などがこの範疇に含まれる。海外ではサイトメガロウイルス性網膜炎を対象にしたアンチセンスが医薬品となっている。さらに、海外では少なくとも18品目以上のアンチセンス医薬品について臨床試験が行われている。siRNA医薬品は、海外では少なくとも7品目以上の製品について臨床試験が行われている。リボザイムについてはVEGF受容体、EGF受容体、HCVをターゲットにしたものなどが臨床試験の段階にある。DNAワクチンについては海外で、エイズ、B型肝炎、インフルエンザなどの感染症や、がんを対象とした臨床試験が進められている。

#### 4-1日、米、EU、韓国でしのぎをけずる細胞治療

ヒトまたは動物より分離した細胞や組織を培養、加工し、直接患者に投与することによりさまざまな疾患の治療を行うことを一般に細胞治療あるいは再生医療と称している。細胞治療や再生医療に用いられる細胞と対象疾患の関係は、例えば、ガンには活性化リンパ球や樹状細胞等、神経疾患には神経幹細胞、熱傷・創傷等には表皮細胞/線維芽細胞、心筋梗塞には骨格筋芽細胞/心筋芽細胞/血管内皮細胞、リウマチには軟骨芽細胞、骨粗しょう症には骨芽細胞、再生不良性貧血には血液幹細胞、糖尿病にはランゲルハンス細胞、重篤な肝疾患には肝細胞、筋ジストロフィーには筋芽細胞等がある。当面は他の治療法では治療困難な疾患が対象である。わが国では、最近、培養皮膚が製造販売承認を得た。また、外傷性軟骨欠損症などを適応とする軟骨細胞が治験を終了し、さらに心機能改善のための骨格筋芽細胞や造血幹細胞移植時の移植片対宿主病を適応とするヒト間葉系幹細胞が治験準備中である。いわゆる確認申請済みあるいは申請中のものは合わせて6品目である。一方、医師主導型で臨床研究が行われていると推定される例は200例を越える。

最近、再生医療の一層の推進を目指して、確認申請やその審査（先端的治療に用いられる細胞・組織製品における品質・安全性をヒトに投与する前に確認するという、いわゆる上乗せ部分の申請・審査）のあり方についての再検討を含めて、関係指針の見直しが行われている。改訂指針案の概略を表2に示す。

最近、再生医療の一層の推進を目指して、確認申請やその審査（先端的治療に用いられる細胞・組織製品における品質・安全性をヒトに投与する前に確認するという、いわゆる上乗せ部分の申請・審査）のあり方についての再検討を含めて、関係指針の見直しが行われている。改訂指針案の概略を表2に示す。

表2 ヒト由来細胞・組織加工医薬品等の品質及び安全性確保に関する改訂指針案の概略

- 1 自己由来のものと同種(他家)由来のものに分け、それぞれの製品における品質及び安全性確保のために必要な基本的要件を明確にすること。
- 2 基本的要件は承認申請をも念頭においたものであるのに対して、確認申請とは治験を開始するに当たって支障となる品質、安全性上の問題があるか否かを確認するためという趣旨を踏まえて、基本的要件のうち確認申請までにどの程度の試験や評価をするべきかを明確にすること。
- 3 従来は必要な試験や評価に関する科学的考え方及び申請に際して必要な情報や記載すべき事項が1つの指針に盛り込まれていたが、確認申請の記載要領に関することは別記事項として明確にする。
- 4 指針の記述は理解しやすいものとするとともに、Q&Aにより、必要な背景説明を行うこと。
- 5 細胞・組織加工医薬品等の種類や特性、臨床上の適用法は多種多様であり、また、本分野における科学的進歩や経験の蓄積は日進月歩である。本指針を一律に適用したり、本指針の内容が必要事項すべてを包含しているとみなすことが必ずしも適切でない場合もある。従って、個々の医薬品等についての試験の実施や評価に際しては本指針の目的を踏まえ、その時点の学問の進歩を反映した合理的根拠に基づき、ケース・バイ・ケースの原則で柔軟に対応することが必要であること。
- 6 最終製品の規格及び試験方法の設定、個別患者への適用ごとの原材料の品質管理、製造工程の妥当性の検証と一定性の維持管理の他、中間製品の品質管理を細胞・組織加工医薬品等の品質管理全体方策の要素ととらえ、これらを相補的、合理的に組合わせて全体として品質管理の目的が達成されたとの観点に立つこと。
- 7 製品の特性及び適用法から評価が必要と考えられる安全性関連事項について、技術的に可能であれば、科学的合理性のある範囲で、適切な動物を用いた試験又は*in vitro*での試験を実施すること。ヒト由来の試験用検体は貴重であり、また、ヒト由来製品を実験動物等で試験して必ずしも意義ある結果が得られるとは限らない。合理性のない試験の実施を求める趣旨ではないという前提で、製品の特性等を考慮して適切な試験を検討すること。
- 8 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、適切に設計された試験により、製品の機能発現、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。

再生医療分野では、世界の再生医療技術の3分の1を日本発にというスローガンでその推進を図ろうとしている。例えば、角膜再生ではわが国が先行している。皮膚再生、心筋再生、神経再生、脾臓再生でわが国は米国あるいはEU等と並んでいる。一方、再生骨・軟骨や体性幹細胞による肝細胞再生技術等では、米国、EUや韓国の後塵を拝している。

ところでヒト胚性幹細胞（ES細胞）はあらゆる細胞に分化誘導可能な万能細胞として注目を浴びてきたが、科学技術的な問題はもとより、倫理的問題が大きなネックとなってきた。最近、皮膚など正常な組織（細胞）から適切な遺伝子群の導入と適切な増殖因子を組合せる培養により、再プログラム化された人工多能性幹細胞（iPS細胞）が得られることが明らかになった。iPS細胞は、さまざまな基礎研究の対象としてきわめて重要な意義を持つ。その一方で、各種の目的細胞・組織に分化・誘導して、基礎・応用研究に必要な細胞を得ることや、さらに細胞治療・再生医療用の素材としてもきわめて大きな期待を集めている。実用化には、より効率的・効果的なiPS細胞作成技術の開発とその確実性、品質・安全性の確保、iPS細胞の大量獲得技術、各種目的細胞への確実かつ安全な分化・誘導技術と目的細胞の大量生産技術、各段階での細胞の確実な特性解析と最終製品での品質・安全性確保のための評価技術の開発、臨床評価等、切り拓くべき課題は多い。しかし、わが国の本分野の英知を結集して取り組むに価する課題であることは明かである。最終ゴールへの道を明確に示し、推進を図る規制環境のさらなる整備も充実していく必要がある。

●—参考文献

- 1) 早川 寛夫監修：バイオ医薬品の開発と品質・安全性確保、エル・アイ・シー、東京、2007

早川 寛夫 はやかわ・たかお  
近畿大学 薬学総合研究所 教授  
独立行政法人医薬品医療機器総合機構 臨時顧問  
大阪大学 医学部 未来医療センター 招聘教授  
徳島県生まれ  
大阪大学大学院 博士課程修了  
薬学博士  
専門は生化学、分子生物学

# 10 ヒト細胞治療薬の品質と安全性確保について

やまぐち てるひで  
■ 山口 照英

国立医薬品食品衛生研究所 生物薬品部

山口 照英  
1976年神戸大学大学院理学研究科修工課程終了。同年東京都臨床医学総合研究所炎症研究室研究員、87年国立衛生試験所生物化学部主任研究、91年同第3室長、2002年国立医薬品食品衛生研究所遺伝子細胞医薬部長、06年同生物薬品部長。  
研究テーマはバイオ医薬品及び細胞治療薬の品質・安全性確保技術の開発。趣味は読書。

Key words :細胞治療薬, 薬事法, 細胞・組織加工医薬品, 品質と安全性

## Abstract

再生医療・細胞治療の開発が急速に進んでいるが、臨床研究や高度先進医療としての開発に比較し薬事法の規制を受ける細胞治療薬の開発が遅れているといわれている。より再生医療・細胞治療を広く国民に提供して行くには、臨床研究等の成果を生かし薬事法の規制のもとに細胞組織加工医薬品等（細胞治療薬；医薬品や医療機器を含む）として開発することが望まれる。本稿では、細胞治療薬を適切に開発して行くために求められるウイルス等の感染因子に対する安全確保、製法の確立や恒常性の維持、品質管理のありかた等について概説した。

## はじめに

発生学や幹細胞研究の飛躍的な進展に加え、種々の細胞への分化誘導や増幅法などの培養技術やバイオテクノロジー応用技術の進歩により、ヒトまたは動物の細胞や組織を培養、加工し、さまざまな疾患の治療に用いる細胞治療薬やそれをういた医療技術の開発が進んでいる。さらに、これらの開発では治験や臨床研究といった異なるアプローチがとられており、医薬品・医療用具といった薬事法上の規制のかかる製品開発を目指す場合ばかりでなく、高度先進医療としての実用化を目指している場合もある。本稿では、特に薬事法の規制を受ける細胞

治療薬（細胞・組織加工医薬品等）の指針で求められている開発に当たっての要点を概説する。さらには各国の規制状況との比較を行い、実用化において特に注意を払うべき点について考察したい。

細胞治療薬は、極めて複雑な構造を持ち、かつ生きているというダイナミックな特性を併せ持つことから、従来の医薬品に適用されていた品質管理や、非臨床試験や臨床試験の必要事項は必ずしも適用出来るわけではない。さらに、生きた細胞を投与するために、これまでのバイオ医薬品等のように高度な精製やウイルス不活化・除去工程を適用することが困難であり、安全性に関して特別な配慮が必要とされる。厚生労働省からは、表1にあげたような細胞治療薬に関するいくつかの指針や基準が出されている。特に、平成12年に出示された医薬発第1314号通知の別添1<sup>1)</sup>、及び別添2<sup>2)</sup>は、ヒト細胞治療薬の規制の根幹をなす指針である。別添1は、細胞治療薬の製造に当たって、その採取行為から加工、製造における取り扱いや使用に当たっての基本的要件を示している。別添2は、ヒト由来細胞治療薬に焦点をあて、その品質・安全性・有効性確保のための要件をまとめたもので、承認申請のみならず治験前の確認申請で求められる資料についても明らかにされている。この確認申請の制度は、細胞治療薬については未知・未経験の要素が多いことから、その治験

Quality control and Safety of human cell therapy products : Teruhide Yamaguchi : National Institute of Health Sciences, Division of Biological Chemistry and Biologicals.

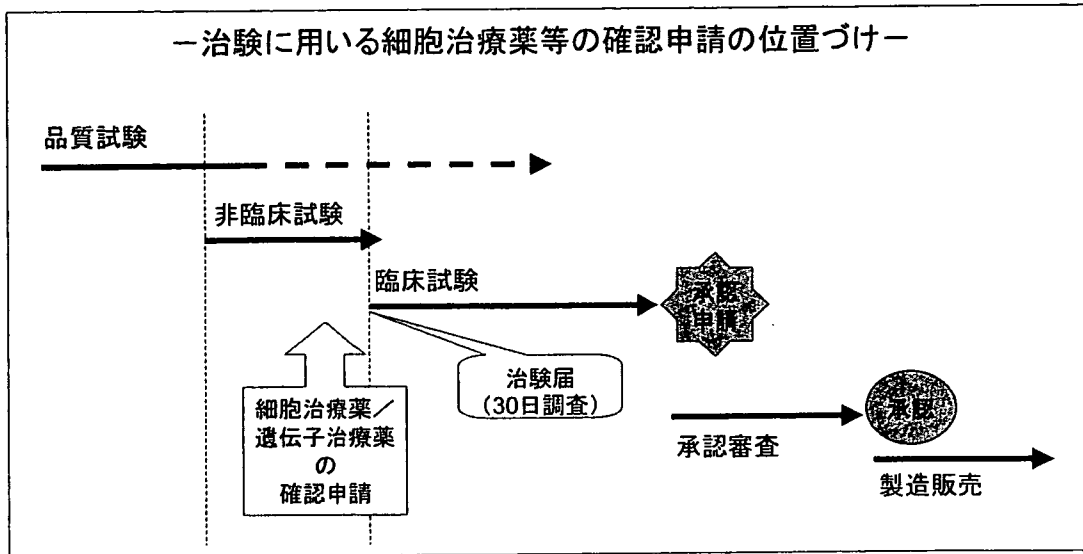


図1 薬事法に基づく先端医薬品の品質・安全性の確保

表1 我が国における細胞治療薬（再生医療）に関連する指針や通知

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1314号 別添1)
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 別添2)
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)
生物由来製品に関する感染症定期報告制度について (医薬発第051508号)

を開始する前に一定の品質・安全性を担保することを目的として、厚生労働大臣にその確認を求めるとされているものである（図1）。確認申請は、治験の申請前に行われ、その段階で必要とされるデータはあくまでも安全に治験を実施するに足る品質・安全性が確保されているかを確認するためのものである。このような確認申請は、他には遺伝子治療薬にのみ適用されている制度である。

第1314号については現在見直し作業が進行中であり、指針をヒト自己由来細胞製品とヒト同種由来細胞製品に分ける予定である。それぞれの指針については、今後の議論を通じて変更される可能性があり、本稿ではこれまでの指針に

沿った概説を行うと共に、必要に応じて現時点で示されている改正案についても触れていくことにする。

## 1. ヒト由来細胞治療薬関連指針の概要

### 1) ヒト由来細胞を用いた細胞・組織加工医薬品等の定義

細胞治療に用いる細胞・組織加工医薬品等とは、ヒトあるいは動物由来の細胞・組織を加工した医薬品又は医療用具と定義される。本稿では前述したように、細胞・組織加工医薬品等を細胞治療薬と略す。前記した通知や指針は、細胞治療に用いる医薬品や医療用具を企業が開発しようとする場合を対象としており、細胞治療の臨床研究については対象外とされている。

### 2) 「指針」の対象とする範囲

「指針」等の対象とする範囲として、輸血用血液製剤、移植医療としての骨髄移植、臍帯血移植、ヒト皮膚や骨等を直接利用する医療行為は含まれていない。また細胞・組織の加工としては、*in vitro*での増殖、薬剤処理による細胞の活性化あるいは生物学的特性の改変、遺伝子工

学的改変を指し、単なる遠心操作等の細胞・組織の分離や抗生物質処理及びガンマ線等の滅菌、冷凍、解凍は含まれない。欧米では、我が国で移植医療として分類される製品についても細胞治療薬として規制がかけられており、この点が大きな違いである。日米欧の細胞治療薬（細胞治療製品）の規制の違いについては、表2を参照されたい。

### 3) 細胞治療薬等の品質や安全性面での問題点

「指針」の安全性面で最も重視されている点はウイルス等の感染症伝播をいかに防止するかである。細胞治療に用いる細胞は滅菌や高度な精製といった処理ができないため、原材料や製造に用いられる試薬や血清等へのウイルス等の混入を如何に防止するかが最重要課題となる。また、製品に感染因子が混入した場合、患者ばかりでなく患者の家族や医療従事者等へも感染が広がる危険性があり、公衆衛生の観点も含め十分な対策が求められる。この点は、欧米のガイドラインとも共通している点であり、細胞治療薬の基本的要件である。

しかし、ウイルス試験にも検出限界があり、また未知のウイルスの存在も考えられるため、ウイルスの潜在を前提とした対策が求められる。原材料となる細胞・組織に関する記録や最終製品の製造記録や試験及び検査記録の保存、可能であれば採取した細胞・組織の一部を保管することが求められている。これは、将来患者に当該製品が原因と推定されるような感染症が発症した場合の原因解明を可能とするための措置である。また、製品が生物由来原料基準に基づき、特定生物由来製品や生物由来製品の指定を受けた場合には、それぞれの指定に応じた上乘せ的安全対策が必要となる。

## 2. 指針等で求められる細胞治療薬の要件

### 1) 基原または発見の経緯及び外国等における使用状況

細胞治療薬の開発の経緯やその特徴などにつ

いて明らかにすることが求められる。また、外国等での使用状況についても明らかにする必要がある。一方、ヒト由来細胞を用いた細胞治療薬の開発では、先行して実施された国内での臨床研究の技術移転をうけているケースも多くあり、技術移転を受けた臨床研究の実施状況についての情報も提供されなければならない。

### 2) 原材料となる細胞・組織の由来と選択基準

第1314号指針では、原材料として用いられる細胞・組織が自己由来であるか非自己であるかを明確にすることが求められるが、改正予定の指針では自己と同種とに分けられる予定である。細胞・組織の入手方法及びその生物学的特徴について説明し、細胞・組織を選択した理由を明らかにする必要がある。原材料となる細胞・組織の特性と適格性について、形態学的特徴、増殖特性、生化学的指標、免疫学的特徴、特徴となる細胞由来産生物質等、遺伝型や表現型から適切な指標を選択して解析し、明らかにすることが求められる。

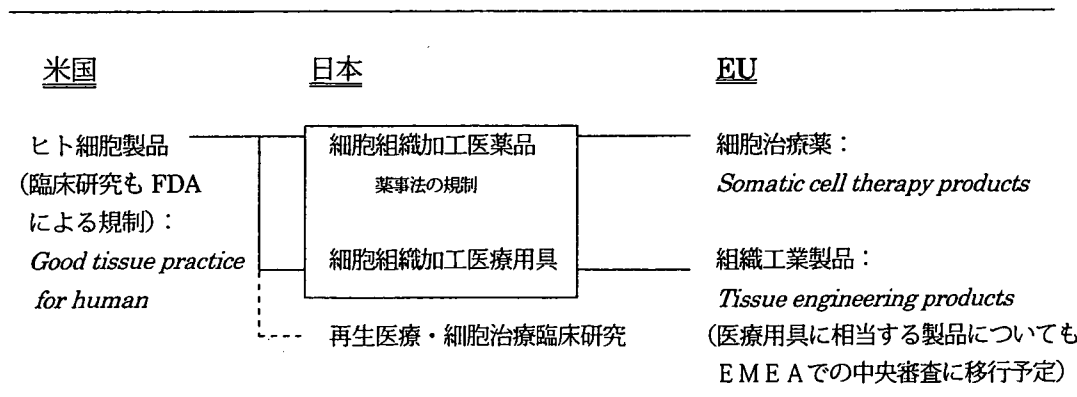
特にHBV, HCV, HIV, HTLVや、必要に応じてパルボウイルスB19, サイトメガロウイルスやEBウイルスについて血清学的試験や核酸増幅法等の検査を行う必要がある。さらに、細菌や真菌等の試験が必要となる。また、問診や病歴等も考慮した上で、ドナーとしての適格性を評価する必要がある。この場合、ヒト同種由来細胞製品のみならず、ヒト自己由来細胞製品についても、製造工程での作業従事者の安全性、他の製品に対する交差汚染防止の観点から、ウイルス等の必要な試験の実施を考慮することが求められる。ウイルス等の検査においては、PCR等を用いても検出出来ないウインドウ期の存在があることから、適切な時期に再検査を行うことが推奨されている。

### 3) 採取行為及び利用の妥当性

細胞・組織採取時のドナーに対する説明及び同意の内容を明らかにし、細胞の採取部位、採取方法が科学的及び倫理的に適切であることを



表2 細胞治療製品の規制の枠組み ー 日米欧比較



示す必要がある。また、ドナーに対して細胞・組織の利用目的、個人情報の保護、その他採取に関する事項について理解を得よう文書を用いて十分に説明し、自由意志に基く同意を文書によって得ることが必要である。さらに、採取施設において細胞・組織の採取の倫理及び科学的観点からの十分な審議が行える倫理委員会を設置することが求められる。

原材料となる細胞・組織について、安全性確保上必要な情報が確認できるようにドナーに関する記録が整備、保管されていることが必要である。これらの記録の保管は、製造記録とともに製品の最終有効期限より少なくとも10年間とされている。この期間については、遅発性感染症に関する新たな情報の蓄積によって今後再検討が必要とされている。また、治療の成否の検証や患者等が感染症を発症した場合等の原因究明のために、採取した細胞・組織の一部等の適当な試料を、適切な期間保存することが推奨されている。

#### 4) 製造方法

##### ①原材料等

細胞治療薬の製造に際しては、製品がロットを構成する場合には、原材料、最終製品、必要に応じて中間段階の製品についてロットごとに品質管理法を設定する必要がある。ロットを構

成しない場合は、各製品の使用目的や使用方法に適合する品質規格、出荷基準等を設定しなければならない。

##### ①-1) 細胞培養方法

製造工程で細胞培養を行う場合は、培地の組成、培養条件、培養期間、収率等を具体的に記載することが求められている。使用する材料は、医薬品又は医薬品原料に匹敵する基準で品質管理されているものを用いる必要がある。全ての成分を含む培地成分に関しては、ロットごとの無菌性試験を実施するとともに、目的とする培養に適合していることを確認するための性能試験を実施することが必要である。

血清は、必須でなければ使用しないことが望ましく、使用が避けられない場合には、血清からの感染因子の混入・伝播の防止策を設ける必要がある。特にウシ血清を用いる場合には、i) 血清の由来を明確にし、ii) 牛海綿状脳症の発症地域以外の血清を用いること、iii) ウイルス等の感染因子に関して適切な否定試験を行ったものを用いること、iv) 潜在的なウイルスのリスクを避けるための放射線処理等の安全対策を実施するとともに、使用した血清の一部を保管しておくことが求められる。大学等での臨床研究では多くの場合自己血清が使用されているが、技術移転を受けて開発されてきた製品では、多くの場合ウシ血清が用いられることが多い。これは、ヒト血清では開発企

業がその製品の恒常性、一定の品質を担保することが困難であったためと推察される。もちろんウシ血清の使用は必須でなければ使用しないことが求められるが、やむを得ない場合にはその臨床上の有用性等も考慮して判断されることになる。ヨーロッパ医薬品庁 (EMEA) の細胞治療薬の指針ではヒト血清を用いる場合には自己由来血清を用いるべきとされており、またウシ血清を用いる場合には、我が国の同様の要件が求められている<sup>3)</sup>。

抗生物質については極力使用を避けるべきであるが、やむを得ず使用する場合には最終製品での残存性を極力低減化する使用方法を考えるべきである。他の培地成分や添加される試薬等についても、最終製品での残存性を考慮し、生体に悪影響を及ぼさないものを選択することが求められる。

フィーダー細胞として異種細胞を用いる場合には、「異種移植に関する指針」<sup>4)</sup>等を参考に安全性を確保することが必要となる。その際、セルバンクシステムを確立し、マスターセルバンク (MCB) で徹底的な安全性評価を行うと共に、条件を超えて製造された細胞についても安全性を評価し、フィーダー細胞として製造に用いる期間における、安全性やその機能の担保を行っておくことが求められる。

## ②-2) 非細胞成分と組み合わせる場合

細胞成分とともに最終製品の一部として用いられる原材料 (シートやマトリックス、医療材料等) に関しては、品質・安全性に関する適切な情報を提供することが求められる。必要な試験については、「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」 (医薬審発第0213001号)<sup>5)</sup>等を参照し、試験結果を示すと共に当該原材料を使用することの妥当性を示すことが必要となる。妥当性の提示に当たっては、文献からの知見、情報を合理的に活用することが可能である。

また目的とする細胞との相互作用について明らかにすることが求められる。特に、基材との相互作用により、臨床適応に必要な細胞の機能や増殖性、安定性に悪影響を及ぼすことがない

かを明らかにしておく必要がある。

## ③-3) 細胞に遺伝子工学的改変を加える場合

細胞に遺伝子工学的改変を加える場合は、①目的遺伝子の由来、②入手方法、③クローニング法、④細胞バンク作成法や管理法、更新法、⑤目的遺伝子の構造、⑥導入遺伝子の性質、⑦目的遺伝子産物の構造、⑧遺伝子構成体の作製手順、原材料、性質、⑨遺伝子構成体の構造や特性、⑩ベクターや遺伝子構成体を作製するための細胞やウイルスのバンク化、バンクの管理法について明らかにすることが求められる。

## ②製造工程

原材料の細胞・組織等の受け入れから最終製品製造における加工の方法 (製造工程) の概要を示すと共に、各工程での処理の内容、工程管理、品質管理について詳細な説明が求められる。細胞の加工

細胞・組織の受け入れのために必要な試験を実施するとともに、受け入れ基準を設定しておく必要がある。採取した細胞塊や組織等について、必要且つ可能であればポビドンヨード液等を用いた除菌・不活化を実施することが求められる。当然このような操作は採取した細胞塊や組織の表面に付着した細菌や真菌、ウイルス等の不活化、除去の処理にのみ適用可能である。

細胞の培養を行う場合には培地の組成、培養条件、培養期間、収率等を明らかにする必要がある。

細胞のバンク化を行う場合には、医薬品製造に用いられる細胞基材に関する ICH Q5D ガイドライン<sup>6)</sup>を参照することが求められる。

さらに採取した細胞の取り違い防止策やクロスコンタミネーションの防止策を明らかにし、その妥当性を説明することが求められる。患者に感染症が発症した場合の原因究明の一助にするために、採取した細胞・組織の一部を適切な期間保存しておくことを考慮すべきである。

## ③加工した細胞の特性解析

工程評価の一環として、加工した細胞の変化を調べておくことが求められる。このために、形態学的特徴、増殖特性、生化学的指標、免疫

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

治験に当たっては、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。



# Drug Delivery System

VOL.22 NO.6 NOVEMBER 2007

通卷第 116 号 / 隔月刊

## Offprint

Title

---

---

Name

---

Department

---

Institution

---

Address

Postal Code

City

Country

Phone

Fax

---

***The Japan Society  
of Drug Delivery System***

*Institute of Medical Science  
St. Marianna University School of Medicine,  
Sugao, Miyamae-ku, Kawasaki, Kanagawa Pref, 216-8512 JAPAN*

# 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\*<sup>1)</sup>, 内田恵理子\*<sup>2)</sup>

## *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\*<sup>1)</sup>, Eriko Uchida\*<sup>2)</sup>*

*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](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

\*<sup>1)</sup> 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

\*<sup>2)</sup> 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(EMA 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:  $5.8 \times 10^{11}$  particles/mL
- ・感染価:  $7 \times 10^{10}$  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: 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
- ・エンドトキシン:  $< 0.15 \text{ EU/mL}$
- ・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(EMA)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<sup>1)</sup>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、プラーク形成単位、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<sup>2,3)</sup>。

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<sup>4)</sup>。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三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<sup>5)</sup>。

#### 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<sup>6)</sup>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<sup>7-9)</sup>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療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療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<sup>10)</sup>。

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<sup>11)</sup>。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<sup>10)</sup>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

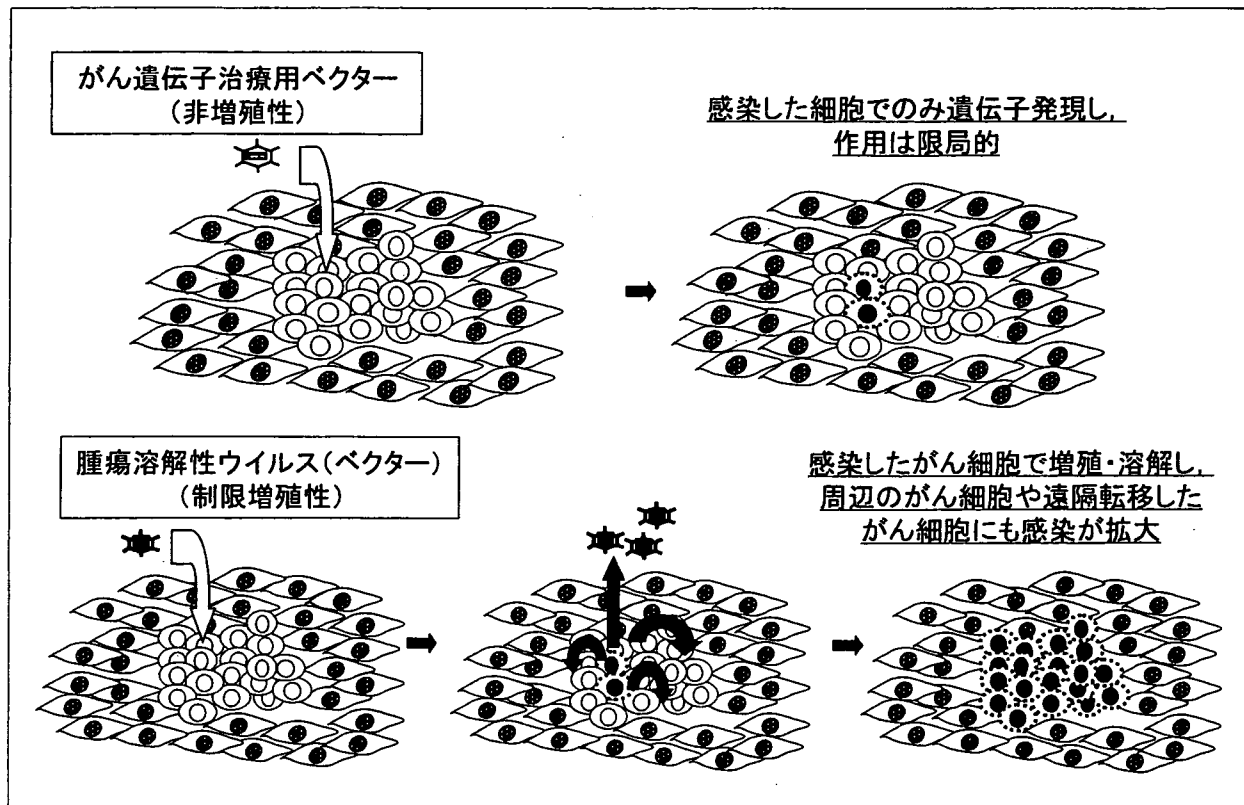


図1 遺伝子治療用ベクターと腫瘍溶解性ウイルスの違い  
腫瘍溶解性ウイルスは、正常細胞内では増殖できないが、標的とするがん細胞内で選択的に増殖可能な制限増殖型ウイルスである。

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<sup>12~16)</sup>。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