

飾に関しては、定性的、定量的に、包括的な特性解析を行うこと。この分析には、全体の単糖組成の決定、タンパク質から切り出される糖鎖の分析（例：分岐構造の決定、マッピング）、タンパク質への糖鎖の結合（例：部位ごとの糖鎖付加、グリコフォームの分布）を含むこと。特性解析では、糖鎖以外の翻訳後修飾（例えば、アセチル化、リン酸化、レクチン、脂質、ポリフェノールの付加）の分析も行うこと。天然のヒトタンパク質に存在することが知られていない残基や結合様式には特に注意を払う必要がある。ヒトタンパク質にない修飾が存在する場合は、その点に特に注目し、それらをモニターする手法あるいは除去する手法を詳細に記載すること。

植物を利用した生産システムでは、宿主由来タンパク質と共に二次代謝産物を含むことがあるため、それらを精製工程で除去する必要がある。

目的物質由来不純物や製造工程由来不純物の特性解析には、適切な方法を用いる必要がある。宿主植物由来の不純物としては、(i)導入遺伝子以外から発現された植物タンパク質（例えばレクチン）、(ii)プロテアーゼ、(iii)植物DNA、(iv)宿主植物から分泌されるアルカロイドや配糖体のような植物二次代謝産物、を考慮すること。製造工程由来不純物として、(i)生産や精製に用いられた材料（土、肥料、除草剤、溶媒、カラムから漏出したクロマトグラフィー担体など）、(ii)生産および精製の段階で外部から混入する可能性のあるエンドトキシン、アフラトキシン、その他のマイコトキシン、毒性金属などの化学的、生物化学的、微生物学的、生物学的な物質を考慮すること。

4.3.2 規格及び試験方法

トランスジェニック植物を用いた生産に特有の事情を考慮した上で、有効成分を生産するそれぞれのバッチの日常的な管理及びバッチ間の一定性確保を目的とした全体の方策には、出発原料、試薬、栽培と加工の際に使用される材料の管理、管理基準の順守、適切な工程内管理の適用が含まれることを、承認申請する者は認識すること。

ICH Q6B“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）の規格および試験方法の設定”に記載されているように、規格及び試験方法に含まれる試験項目を選定する必要がある。規格及び試験方法に設定される試験項目は、個々の製品により異なる。規格値／適否の判定基準の適合範囲の設定根拠を明らかにすること。それぞれの規格値／適否の判定基準は、特性解析データ、非臨床試験や臨床試験に用いたロットから得られたデータ、製造の一定性を示すために用いたロットから得られたデータ、及び安定性試験のデータ、並びに製品の開発段階で得られた適切なデータに基づいて設定し、その根拠を示す必要がある。

4.4 感染性物質による汚染の防止

4.4.1 非ウイルス性感染性物質

マイコプラズマ、細菌、真菌類が、生物学的医薬品の製造に際して管理および試験されるべき一般的な細胞体である。しかし、植物由来の原料が含まれる場合は、材料の汚染の原因となり得る単細胞生物あるいは後生動物類が収穫時や加工段階の植物組織に付着している可能性を管理することが必要であろう。

無菌的に取り扱うべき材料や製品において、滅菌工程は、用いられる材料に起こりうる最悪の汚染レベルを想定して検証すること。

4.4.2 ウイルスおよびウイロイド性感染性物質

自然界には様々な植物ウイルスおよびウイルスが存在する。それらは、動物ウイルスと同様、一般的に、植物と組織に特異的である。ヒトは長年にわたって、主として経口あるいは局所経路、場合によっては意図せずに非経口的に接種することにより、日常的に植物の組織や液性成分に接してきているが、植物ウイルスおよびウイルスがヒトや他の脊椎動物に対して病原性を持つという証拠はこれまでにない。さらに、植物ウイルスの動物細胞での増殖、あるいは、動物ウイルスの植物細胞での増殖の試みは、いずれも成功していない。

より懸念すべきであるのは、工程で用いられる材料や機器類が、昆虫、鳥、動物の排泄物、死骸やその一部、有機肥料の残り、あるいは生産に関わるヒトから排出されたものにより意図されずに汚染されること、すなわち材料がヒトに対して病原性を持つウイルスにより汚染されることである。例えば、げっ歯類の排泄物に含まれることのある Hanta ウイルスは、世界中でみられ、ヒトに対する多くの致死的な病気の原因となりうる。しかし、混入しうるウイルスの範囲は相当あり、マウスの minute virus (MVM)、トリインフルエンザウイルス、A 型肝炎ウイルス (HAV) のような排泄物に由来する他のウイルスも含まれる。全体として、出発原料あるいは工程中間体がウイルス等で汚染される確率は、製造が行われた環境を含む製造手法の特性と程度、用いられた封じ込め方法、適切な品質と工程の管理システム、そして作業従事者に依存する。

試薬、クロマトグラフィー用担体、成長促進剤、増殖用培地のような生物由来原料を工程で意図的に用いることにより起こりうるウイルス汚染は、十分に確立された方法によって管理すること。

植物の病気を正しくモニターする対策を講じること。病気により、植物ウイルスが収穫物に多量に混入するのみならず、生産物の発現や構造にも影響が生じることがある。モニター法を考える場合、感染による植物の病気が目に見えて分からない場合があることを考慮すること。

場合によっては、混入したウイルスやウイルスが製造工程中で増幅、消去、あるいは濃縮されることがある。しかし、懸念される動物ウイルスにより出発原料や製造工程の汚染が起こった場合、動物細胞のバイオリクターでのようには増幅されないことを認識しておくこと。

上記の事項をそれぞれ考慮して、申請者は感染性ウイルス物質による有効成分の汚染の可能性についてリスク分析を示す必要がある。この分析は、可能な限り定量的に行われる必要があり、その分析に基づいて、申請者は、医薬品のバッチごとのウイルス安全性を担保する各段階での統合的な方策を述べること。

有用な方策は、以下のいくつか、あるいは以下の全ての手段を含む

- ・ 出発原料、原料、試薬、添加物の管理および試験
- ・ 外来の物質の混入を防ぐ目的での農作業段階（栽培、収穫、収穫後の加工）での囲い（封じ込め）
- ・ 未加工／未精製バルクあるいは加工されたバルクなどの製造工程の重要な段階での *in vitro* および *in vivo* の感染性物質否定試験
- ・ 検証されたウイルス／ウイルスの不活化／除去工程

4.4.3 伝達性海綿状脳症 (TSE) 関連

製造に用いられるものの中で、動物 TSE 伝

播のリスク最小化に関する EU ガイドラインの適用対象に入るものは全て明らかにし、ガイドラインの要求事項を満たしていることを示すこと。

C. 4. 2 考察

バイオ医薬品の品質・安全性確保は、原薬・製剤の規格および試験方法の設定による製品の品質管理と、製造工程の管理が両輪となって達成される。微生物や動物細胞を用いて製造される従来の組換えタンパク質性医薬品では、バンク化された細胞が出発原料（医薬品製造基材）であり、ウイルス安全性試験を含め十分な特性解析と品質管理が行われた出発原料から目的タンパク質の製造が開始される（図 4）。これに対してトランスジェニック植物により生産される組換えタンパク質性医薬品では、トランスジェニック・バンクを元に、植物を栽培、収穫して、目的タンパク質発現組織の採取が行われ、それを元に出発原料の調製が行われるため、トランスジェニック・バンクの管理のみでは、出発原料の適格性を担保することができない。

したがって、トランスジェニック植物を用いて生産される組換えタンパク質性医薬品の品質の一定性確保のためには、適切なトランスジェニック植物株の樹立とバンクの確立、及びトランスジェニック・バンクから出発原料調製までの工程管理手法の確立、の双方が重要である。また、製造方法確立の検討および実生産の段階で、生産に用いる植物の遺伝的な均一性を確保し、生産期間を通じた目的タンパク質発現の安定性を確認することに十分配慮する必要があると考えられる。バンクの作製が困難な場合は、適格性の示された代替手法を確立することが必要であろう。植物の特性は種ごとに非常に多

様であるので、宿主植物の特性に応じてケースバイケースの対応が求められるが、EMEA ガイドラインを参考に一般原則と考えられることを以下に考察する。

C. 4. 2. 1 トランスジェニック植物株の樹立とバンクの確立

C. 4. 2. 1. 1 トランスジェニック植物株の選別・樹立

遺伝子導入により作出された最初の形質転換体は通常、生産用の形質転換体を得るために何世代かにわたって栽培される。生産に適した形質転換体を選別するための指標を明確にし、その妥当性を説明する必要がある。その際には、目的タンパク質の発現、導入遺伝子の状態、植物体としての特性などを考慮する必要がある。また、選別の工程を経て得られたマスター・トランスジェニック・バンク作製に用いられる形質転換体、すなわち、医薬品生産に用いられる植物株については、特に詳細に遺伝型と表現型を解析する必要がある。

表 4 に示したように EMEA ガイドラインでは、マスター・トランスジェニック・バンクを作製する植物体については、目的遺伝子の解析のみならず、目的遺伝子以外への影響（ジーンサイレンシングや他のタンパク質の過剰発現）についても解析することが推奨されている。動物細胞を用いた発現系では、導入遺伝子のコピー数の解析や複数の制限酵素で切断したゲノム DNA に対するサザンブロット等は通常行われるが、挿入部位の詳しい解析や、その他の遺伝子・タンパク質の発現への影響の解析までは実施されないことが多いと思われる。導入遺伝子に起因するジーンサイレンシング活性や多形質発現効果は、生産用作物に影響し、結果として有効成分の品質や安全性に影響する可能性

があることから、トランスジェニック植物を用いた生産系では、このように詳細な検討を実施することが望まれる。

C. 4. 2. 1. 2 トランスジェニック・バンクの作製と評価

トランスジェニック・バンクは、培養細胞の場合と同様に二段階方式をとり、マスター・トランスジェニック・バンクとワーキング・トランスジェニック・バンクから構成され、種子の保存が可能な植物では種子を用いたバンクが作製されることが妥当と考えられる。前述のように、マスター・トランスジェニック・バンク作製に用いられる植物株については、十分な特性解析が必要である。EMEA ガイドラインでは記載が限られているが、トランスジェニック・バンク（種子）そのものの試験も工程管理に必要な要素であると思われる（Fig. 2）。

C. 4. 2. 1. 2. 1 トランスジェニック・バンクの特性解析試験

由来する種の確認や、目的タンパク質を発現する植物体が作出されることの確認等が必要である。例えば種子の重量や比重など、植物体の生育に関連し、かつ測定可能な要素があれば、その項目に関して規格値を設定することがバンクの均質化に有用である可能性が考えられる。

C. 4. 2. 1. 2. 2 トランスジェニック・バンクの純度試験

他の植物の種子あるいは非組換え体の種子の混入がないことや、微生物などの汚染がないことを確認する。

C. 4. 2. 1. 2. 3 トランスジェニック・バンクの

安定性試験

定められた条件下での保存期間中に目的とするトランスジェニック植物を作出する能力を有していることを確認し、貯法と有効期限を設定する。

C. 4. 2. 1. 2. 4 ウイルス安全性試験

ヒトあるいは動物細胞のバンクで求められる内在性ウイルス安全性試験については、植物ウイルスがヒトに感染する危険はないと考えられることから、不要である。薬事法では、『この法律で「生物由来製品」とは、人その他の生物（植物を除く。）に由来するものを原料又は材料として製造（小分けを含む。以下同じ。）をされる医薬品、医薬部外品、化粧品又は医療機器のうち、保健衛生上特別の注意を要するものとして、厚生労働大臣が薬事・食品衛生審議会の意見を聴いて指定するものをいう。』とされており、植物由来製品ではヒトや動物由来の試料を原料または材料とする場合に問題となる感染性因子混入の危険がないと考えて差し支えないと一般的に解釈されていることが、ここからも読み取れる。しかし、EMEA ガイドラインで述べられているように、植物の栽培環境によっては、動物やヒトから感染性物質が混入する可能性が否定できない場合もあり得る。そのような場合には、出発原料の段階で、ウイルス安全性試験の実施を考慮すべきであろう。

C. 4. 2. 1. 3 遺伝子的安定性の評価

生産期間を通じた遺伝的安定性を検証するためには、マスター・トランスジェニック・バンク作製に用いられる植物体と、規定された生産用の栽培期間を経た世代について、目的タンパク質の発現を比較すると共に、導入された遺伝子構成体の解析を適切に実施する。世代間の

発現の安定性のみならず、必要に応じて、同一世代内での目的タンパク質発現の安定性も評価することが望ましい。

C. 4. 2. 2 ワーキング・トランスジェニック・バンクから出発原料調製までの管理

EMEA ガイドラインで製造の第 1 フェーズと位置づけられているワーキング・トランスジェニック・バンクから出発原料調製までの段階は、栽培の形態や、目的タンパク質が発現する部位が発現系ごとに大きく異なることから、共通したガイダンスを提示することが難しく、個々の製造業者により用いられた方法の妥当性の説明が求められるところである。工程管理手法を確立する上では、栽培条件の変動があっても目的物質の発現量や特性に影響が生じにくい優れた生産用植物株を樹立した上で、各種の栽培条件が生産用植物株の生育や目的物質の発現量あるいは翻訳後修飾等に与える影響を明らかにすることが重要であろう。圃場栽培であっても、施設内での作業と同様に、作業手順を定め、作業内容や測定値を記録し保管すべきである。

生産用植物株の遺伝的な均一性が確保されている場合においても、植物の個体ごとに目的物質の発現量や共存するタンパク質に差異が生じる可能性が考えられる。したがって、可能であれば、採取された組織・浸出液について、原材料としての適格性を評価した上で、出発原料への加工に進むことが望ましいと考えられる。その際には、出発材料に関して規格を設定し、管理することも考慮すべきであろう。

C. 4. 2. 3 その他

トランスジェニック生物を用いて生産された組換えタンパク質医薬品としては、トランス

ジェニック動物（ヤギ）で生産されたアンチトロロンピン（ATryn®）が 2006 年に欧州で承認されたことに続いて、2009 年には米国でも承認された。EMEA から公表されている資料[9]によると、ATryn®の生産系では、マスター・トランスジェニック・バンクは、適格性の確認された F0 および F1 の雄の精液と、適格性の確認された P0 および P1 の雌から構成され、ワーキング・トランスジェニック・バンクは、適格性の確認された雄と雌、および適格性の確認された雄の精液から構成されている。詳細は明らかでないが、各ヤギのジェノタイプの確認と群れの遺伝的な均一性の向上に相当な努力がなされた、とされている。また、原材料であるトランスジェニック・ヤギの乳汁は、目的物質の産生量と微生物スクリーニング等により適格性の確認された雌ヤギから採取されていること、特定のタンパク質の量、乳糖、総タンパク質量、脂質量のばらつきを低減して原材料の一定性を向上させるために乳汁採集方法を改善したことが記載されている。

トランスジェニック植物を用いた組換えタンパク質生産系では、トランスジェニック動物を用いる場合と比較して、感染性物質混入のリスク低減のための対策および評価に要する作業が大幅に少ないと想定される。また、種子植物の場合は、種子によるバンクの作製、維持が可能であることから、生産スケールの増減にも対応しやすく、トランスジェニック動物と比較して、維持管理に関しても利点があると思われる。感染性物質の対策や維持管理の点でより困難と思われるトランスジェニック動物の方が先行している理由としては、発現量の問題が一因であろうと思われる。現在では、高投与量を必要とする抗体医薬品の生産にトランスジェニック植物を応用するという試みが行われてい

ることから、技術改良は進んでいると思われる。

最初のバイオ医薬品である組換えインスリンが上市されてから四半世紀を経た現在、トランスジェニック動物で生産された製品やバイオ後続品が欧米で承認されるなど、バイオ医薬品の歴史の中でマイルストーンとなる出来事があり、バイオ医薬品をめぐる環境は大きな転換期を迎えている。新世代バイオ医薬品の一角をなすものとして、トランスジェニック植物を用いて生産された組換えタンパク質性医薬品についても、品質・安全性確保のための方策を確立していく必要がある。

C. 5 バイオ医薬品の品質・安全性評価に関する研究—抗体医薬品の品質・安全性確保のための規制動向に関する研究—

C. 5.1 抗体医薬品の構造的特徴

モノクローナル抗体は単一の抗体産生細胞が産生する抗体(免疫グロブリン)分子であり、特定の抗原に対する特異性を持つものと規定することができる。世界で承認されているモノクローナル抗体医薬品に加え、開発途中にある製品を含めると非常に膨大なものになるといわれている。これまで開発されてきた抗体医薬品は、IgG1、IgG2、IgG4 のサブクラスがあり、かつ抗腫瘍効果を増強するために放射線標識やトキシンを結合させた抗体医薬品、Fab 断片や PEG 化修飾を行った製品など、いくつかの改変体製品も既に市場に出されている。

一方で、ヨーロッパ医薬品庁 (EMA) でオーファンドラッグの承認を受けた抗体医薬品は 40 品目近くに上り、詳細な特徴は不明ながら多様な製品が開発中であることが分かる。これらの製品すべてが医薬品になるとは考えられないが、開発動向を把握する上では有用な参考情報と思われる。今後、単にモノクロー

ナル抗体のみを有効成分とするのではなく、有効性の更なる増強や、安全性確保などの観点から、さまざまな改変を加えたり、さらには修飾したりする製品が開発されてくると考えられる。また 2 価抗体のように同時に 2 つのターゲット分子に結合する能力を有し、複数の機能を持つというこれまでにないコンセプトをもつ製品の開発も進められている。このような開発動向も視野に、抗体医薬品の品質・安全性確保の要件を考えてみたい。

抗体医薬品の品質・安全性を考える上での大きな特徴は、他のバイオ医薬品と異なり基本的に共通する骨格構造を持つ製品であるという点である。最新の開発中の製品ではこのようなコンセプトの適用が必ずしも適用しにくいものもあるが、基本的には培養工程や精製工程などの製造方法の確立、不純物の除去やウイルス安全性評価、さらにはそのバリデーションを含めて非常に共通した基盤技術が適用可能であるということの意味している。たとえば、製法開発において、既に承認を受けている類似した抗体医薬品や先行して開発している類似抗体医薬品がある場合に、共通する基盤技術を開発に利用することが考えられる。

C. 5.2 製造工程

C. 5.2.1 モノクローナル抗体産生細胞株の樹立

現在、殆どのモノクローナル抗体医薬品はキメラ抗体やヒト化抗体、あるいはヒトモノクローナル抗体としてヒトでの抗原性をできる限り低減化する方向で製品化されており、異種抗体を用いた製品の開発はほとんど行われていない。例外的に、マウス抗体等の開発も続けられているが、短期的な使用に限定されているようであり、そのような製品の開発では抗原性に

いての妥当性を示す必要があると考えられる。現在承認申請されてくる抗体医薬品は組換え DNA 技術を用いてモノクローナル抗体産生細胞を作製し、この細胞を用いて製造を行う最新の科学技術が使われている。組換え DNA 技術を用いて製造されるモノクローナル抗体医薬品に関しては、組換え DNA 技術を用いて製造される医薬品のガイドライン、ICH Q5A、ICH Q5B、ICH Q5D ガイドライン[10,11,12]を参照して細胞の樹立、ウイルス安全性評価、導入遺伝子や製造にわたっての遺伝的安定性を評価することが求められるであろう。

多くのターゲットとする抗原への結合する超可変領域や可変領域を得るためにハイブリドーマ作製技術や関連する技術が用いられているが、場合によってはモノクローナル抗体の臨床開発初期段階にも、ハイブリドーマ技術等を用いて製造されたモノクローナル抗体(ヒト化あるいはヒト抗体を産生する先端技術が用いられている)を用いていることもある。このような場合、臨床開発の進展に伴って組換え DNA 技術を用いた製造へと変更が行われている。製法変更に当たっては後述する ICH Q5E ガイドライン[13]にしたがって旧製法で得られた製品との同等性・同一性評価が必要となる。

C. 5. 2. 2 抗体医薬品製造に用いられる組換え DNA 技術及び細胞バンクの樹立

抗体産生にも用いる発現システムについては、用いる遺伝子発現ベクターの構造や特性、さらに宿主細胞に関する情報を含めて明らかにしておくことが求められるであろう。

生産クローンを得るために用いる目的遺伝子を得るために細胞融合やウイルスによる形質転換、さらには遺伝子ライブラリーやファージディスプレイなどの特殊な技術を用いる場

合には、このような目的遺伝子を得るための前処理工程について、目的遺伝子の由来やクローニング法について理解可能な程度の情報を明らかにするとともに、製造期間にわたっての安定性についてもデータを示す必要がある。

C. 5. 2. 3 モノクローナル抗体の製造

モノクローナル抗体原薬の製造工程(細胞培養や精製工程)の確立及びその恒常性を示すために、1) 製品の不均一性に関して恒常性のある製造が担保されていることや 2) 製品及び製造関連不純物(例えば宿主由来タンパク質、DNA、プロテイン A、細胞培養に用いる成長因子等)の十分な除去能を持つことなどを明らかにする必要がある。生産細胞基材の開発や培養技術の飛躍的な進展から、殆どのケースで無血清条件下での培養工程が採用されている。従って、製造の確立において問題となる工程由来不純物の多くが宿主由来タンパク質や DNA である。しかし、無血清培養であっても、細胞培養で用いる増殖因子や種々の添加剤についても、除去状況の評価や必要に応じて最終製品等での規格設定を考慮すべきであろう。

抗体医薬品の開発段階及び製造工程バリデーションを実施する際には、遺伝的安定性、培養工程及びハーベストの最適化(イールドや製品の品質など)について注意を払う必要がある。また、適切な工程管理を行い、必要に応じて重要工程の設定も考慮すべきであろう。

C. 5. 2. 4 抗体医薬品に共通する製造工程

最初に述べたように、モノクローナル抗体の構造、物理化学的特性については、長年の工業的に抗体産生及び製造工程の経験によって、非常に理解が進んでいる。すなわち、異なるモノクローナル抗体であっても、共通の精製工程等

を適用できるというコンセプトが確立されてきている。しかも、精製工程を試行錯誤の上に設計するのではなく予め最適な工程を設計可能であるとも考えられている。この抗体医薬品に共通して適用できるコンセプトについては EMEA のモノクローナル抗体に関するガイドラインではプラットフォーム工程と呼ばれている。

多くの抗体医薬品の共通する製法としては、図 6 に示すように、バルクハーベストを以降のカラム工程等に導入するためのろ過や限外濃縮、緩衝液の調整等を行い、ついでプロテイン A カラムによるアフィニティークロマトグラフィー工程を行っている。さらに、複数のイオン交換クロマトグラフィーや疎水性クロマトグラフィーなどのカラムクロマトグラフィー工程による精製を経て、ウイルス除去膜工程を行うことが良く行われている。さまざまなバリエーションがあり、必ずしも全てが同様の工程が採用されているわけではないが、欧米のモノクローナル抗体製品に関するガイドラインもこのような製法の共通性を前提に記載されている。

また、ウイルスクリアランス工程についてもプロテイン A クロマトグラフィー工程と溶出後の酸性処理工程、ウイルス除去膜工程、さらには特定のカラムクロマトグラフィー工程などを評価対象とすることが広く行われている。しかし、このことはモノクローナル抗体製品の工業化に当たって必ずしも同一の精製工程が適用可能であることを意味しているわけではない。むしろ、製造業者はそれぞれ製品の特徴に応じて製造工程を最適化しておくことが求められる。

C. 5. 2. 5 ウイルス安全性と伝達性海綿状脳症

ウイルス安全性に関しては、ICH Q5A ガイドライン[10]に準拠することが求められる。ICH Q5A ガイドラインでは、生産細胞のウイルス試験からバルクハーベストの試験のみならず、製造工程でのバリデーションについても記載されている。基本的には抗体医薬品においても他のバイオ応用医薬品と同様な要件が求められると考えられるが、モノクローナル抗体製品に共通する特性やそれにもとづく製造工程の高い類似性から、開発段階では、より効率的・合理的なアプローチが可能となるであろう。特に同一の宿主細胞を用いる場合などでは、セルバンク試験などでは共通の試験が適用できるであろうし、またウイルスバリデーションの設計に当たっては効率的な試験デザインが可能と考えられる。

ウイルスクリアランス工程として評価の対象となるプロテイン A クロマトグラフィー工程やウイルスろ過抗体などは抗体濃度や緩衝液系などの設定は共通化が可能な場合が考えられる。また、ウイルスクリアランス工程ではクロマトグラフィー工程によるウイルス除去工程と溶出後の酸性処理時間のデザインなどを合理的に設定することが可能と思われ、また一度十分な評価を行っておくことにより除去工程と不活化工程を分けて評価することも可能になると思われる。承認申請におけるデータとしては製品ごとに評価を行うことが必要と考えられるが開発初期においては企業の経験等を参考にすることも可能であろう。

承認申請データとしては抗体医薬品ごとに十分なウイルスクリアランスのバリデーションを行うことが必要であるが、各カラムクロマトグラフィー工程のウイルスのキャリアオーバーやカラムのサンテーションなどは他の製品での経験やデータを利用することも可能と

考えられる。

一方、抗体医薬品は従来のバイオテクノロジー応用医薬品と異なり、一般的に投与量が多いことも特徴であり、かつより臨床効果を高めるために大量投与を行うケースも想定される。したがって、今後より効率的あるいは生産性の高い細胞基材を用いたモノクローナル抗体医薬品の開発が進む可能性が高いと考えられるが、CHO や NSO 細胞等の多くの経験のある細胞基材と異なり、あらたに情報や経験を積み重ねていく必要がある。このことは新規有用細胞の使用を避けるべきということではなく、より高い生産能は有効成分の含量の高いバルクハーベストが得られることを意味しており、不純物等の低減化につながる可能性もあり、積極的な取り組みはむしろ推奨されるべき点も多い。

開発過程及び製造工程でウシ由来原材料や TSE の伝播のリスクのある動物種由来の原材料を用いた場合には、「生物由来原料基準」を参照し、妥当性を評価しておくことが必要となる[14]。

C. 5. 3 特性解析

C. 5. 3. 1 一般的要件

モノクローナル抗体医薬品の品質特性解析では、他のバイオテクノロジー応用医薬品と同様に ICH Q6B ガイドライン[11]に従い、抗体の生化学的／物理的／化学的特性及び生物学的／免疫学的特性等について明らかにすることが求められる。抗体医薬品に特に関連する事項について述べてみたい。構造解析では、一次構造、高次構造、物理化学的特性に関して特性解析を行うことが求められる。DNA 配列によりコードされる一次構造についてはペプチドマッピングやアミノ酸配列分析により確認をしておくことが必要であり、特に後述する C 末

端や N 末端のプロセッシングの確認からも重要である。

また、抗体のクラス、サブクラス、軽鎖の構造決定をまず明らかにするべきである。また、IgG4 サブクラスに属するモノクローナル抗体では、一本鎖抗体の存在比についても明らかにしておく必要がある[15]。

C. 5. 3. 2 不均一性

モノクローナル抗体の共通する特徴として翻訳後修飾やプロセッシングにより、製品中に多様な分子集合体が含まれることがあげられる。このようなモノクローナル抗体製品の大きな不均一性については、等電点電気泳動 (IEF)、イオン交換クロマトグラフィー (IEC)、キャピラリー電気泳動 (CE) など、できる限り多様な手法を用い、あらゆる角度から解析することが必要である。また、ロット間での不均一性の恒常性について示すことも重要である。モノクローナル抗体はその分子量の大きさから、通常の分析手法では十分な分離能を得ることは困難かもしれないが、最新の液体クロマトグラフィーや CE を用いることにより、不均一性に基づく複数のピークを分離することも可能となってきた。全てのマイナーピークについての特性まで明らかにすることは不要と思われるが、可能な限り分子の不均一性を明らかにし、特にメジャーピークについては構造や可能であれば生物活性についても明らかにすることが望ましいといえる。

モノクローナル抗体の不均一性の特徴の一つは C 末端アミノ酸のプロセッシングによる差異があげられる。C 末端のリジン残基は、しばしばあるいは完璧にカルボキシペプチダーゼ B 様活性により分解を受けることが知られている。従って、リジン残基の除去の程度につ

いて明らかにすることが必要である。また、H鎖 N 末端のアミノ酸はグルタミンやグルタミン酸であることが多く、その一部が自発的に縮合しピログルタミン酸になっていることがあり、このような解析には N 末端ペプチドの質量分析が有用である(図 7)。

抗体医薬品に不均一性を与える要因として翻訳後修飾としての糖鎖の結合があげられる。抗体の代表的な糖鎖構造として、重鎖 Fc 部位に 1 つの N 型糖鎖のコンセンサス結合部位があることがよく知られており、軽鎖にはこのようなコンセンサス糖鎖はない。抗体のコンセンサス糖鎖結合部位に見出される糖鎖構造は基本的にバイアンテナリー構造であり、末端のガラクトース残基の結合の有無により G0、G1、G2 構造と呼ばれている(図 8)。抗体医薬品の糖鎖構造に関しては、コンセンサス糖鎖結合部位の糖鎖構造を含め、全ての糖鎖構造の特性解析を行うと共に、シアル酸の結合の有無についても考慮を払う必要がある。

特に ADCC 活性を持つ抗体医薬品ではコンセンサス糖鎖のフコースの結合の有無が大きく影響することが知られており、結合の有無ばかりでなく結合の有無に基づく不均一性の程度とその恒常性についても明らかにしておく必要がある[16,17]。また、げっ歯類細胞を宿主として用いる場合には、異種抗原である Gal α 1-3Gal によるアナフィラキシーの報告[18]もあることから、Gal α 1-3Gal 残基の有無、存在が確認できた場合には存在量とロットごとの恒常性についても十分に解析しておくことが必要となるであろう。

これまでの製品ではグルコリルノイラミン酸による有害事象については報告がないが、今後大量投与を行うような抗体医薬品の開発ではその安全性について考慮することも必要で

あろう。

C. 5. 3. 3 生物活性や免疫学的特性について

抗体医薬品の生物活性や免疫学的特性は薬理作用と重複することも多いと考えられるが、構造や不均一性との関係なども考慮し、品質特性として可能な限りさまざまな角度から評価しておくことが求められる。有効成分のみならず、分離可能な主要な目的物関連物質の生物活性も評価しておくことが有用である。

また、糖鎖の生物活性に及ぼす影響を評価するために、適用可能であれば糖鎖の一部あるいは全てを除去した抗体分子を用いて生物活性を評価しておくことが望ましい。このような解析により糖鎖構造が生物活性や体内動態に与える影響についても明らかにできるかもしれない。糖鎖の有無が体内動態に影響する可能性のあるときには、モデル動物を用いた生物活性の評価が有用な場合もある。いずれにしても、糖鎖が生物活性や体内動態に重要な役割を担っていることが明らかになった場合には、後述する糖鎖に関する規格試験の設定を考慮し、糖鎖の質的、量的な恒常性を担保することも必要になってくる。ただし、糖鎖試験と生物活性試験は相互補完的な面があり、試験設定においては合理的な判断も可能である。

C. 5. 3. 4 特異性と交差反応性

上記したようにモノクローナル抗体が認識するエピトープ(アミノ酸配列や相当する構造単位)を明らかにすることが求められるが、一方安全性の観点から目的としていないエピトープとのモノクローナル抗体の反応性や目的外のヒト組織に対する傷害性について十分考慮することが必要となる。交差反応性については、動物での試験では当然限界があり、また、

霊長類を用いたとしても必ずしもヒトに外挿できるわけではない。従って、技術的な限界から、十分な交差反応性の解析は容易ではないと考えられるが、可能な範囲で、免疫組織学的手法を用いて各ヒト組織に対する交差反応性についても明らかにすること安全性確保の点から有用である。

交差反応性について評価すべきヒト組織に関して、EMEA では次のような組織・器官の解析を行うことが推奨されている；扁桃、胸腺、リンパ節、骨髄、血球細胞、肺、肝臓、腎臓、膀胱、脾臓、平滑筋組織を含む胃、腸、膵臓、parotid(耳下腺)、甲状腺、副甲状腺、副腎、下垂体、脳、末梢神経、心筋、骨格筋、卵巣、精巣、皮膚、血管。これは、例示と考えてよいであろうが、今後さまざまな技術的進歩—例えばES細胞やiPS細胞の利用により様々なヒト細胞が利用できるようになれば、有用な評価法となってくると期待される。

C. 5. 4 規格試験法

抗体医薬品の規格試験法の設定では、ICH Q6B ガイドライン(11)の原則に従って従来のバイオ医薬品と同様の対応が求められる。特に、抗体医薬品で特に考慮すべき事項としては、確認試験、力価、糖鎖、不均一性の恒常性に関して特別な考慮が必要と考えられる。

抗体医薬品は、共通の基本構造を持つという高い類似性があることから、確認試験設定での特別な配慮が求められる。すなわち、ペプチドマッピングのような非常に特異性の高い試験法を設定するか、高い免疫反応(例えばELISA試験)のように免疫学的特異性を利用した試験法等を考慮すべきであろう。特に、複数のモノクローナル抗体製品を製造あるいは開発している場合には、このような特性の高い確認試験

が有用である。

抗体製品の力価/生物活性の規格設定では、可能な限り臨床効果に密接に関連する指標を用いて設定することが望ましいと考えられる。目的とするモノクローナル抗体の主作用が単に目的分子との結合や中和活性のみである場合には、目的物質との結合性を規定する(ELISA試験のようなアッセイ法)力価試験が適切であろう。一方、治療効果としてエフェクター活性等を持つ場合には、細胞を用いたアッセイ法や他のエフェクター効果に関連するアッセイ法を考慮することが望ましい。また抗体医薬品であっても、比活性は製造の一定性を担保するための重要なパラメーターであることから、その設定を行うべきであろう。

抗体医薬品の糖鎖は免疫系細胞の活性化等の生理活性の制御に重要な役割を果たしていることが知られている。従って、抗体医薬品の生物活性としてADCC等の部位への結合活性の恒常性に影響する可能性がある。ADCC活性やCDC活性が知られている抗体医薬品では、これらの生物活性の規格設定の有無を考慮し、糖鎖についての規格設定の必要性を考慮すべきであろう。また、糖鎖が体内動態に影響を与えることが明らかにされている場合には糖鎖に関する規格設定が必要となろう。また、異種抗原として知られているGala1-3Galを持つことが明らかな場合には、製造における恒常性が十分に担保されない限り、その存在量の規格試験が必要となると考えられる。

また、糖鎖構造に関して、少なくともG0、G1、G2の存在量や存在比に関する試験の設定の必要性を考慮すべきであろう。このような規格試験法は、製造における恒常性を担保することに役立つ。

抗体医薬品は極めて高い不均一性を持つこ

とが知られている。従って、製造工程における不均一性の恒常性を担保するために、IEF、イオン交換クロマトグラフィー (IEC)、キャピラリーゾーン電気泳動等のタンパク質の荷電の不均一性を指標とする規格を設定することが望ましいと考えられる。

C. 5.5 製法変更に伴う同等性・同質性評価

製法工程変更後の同等性・同質性評価に関しては、他のバイオ医薬品と同様に ICH Q5E ガイドライン[19]で示されている点に従って評価を行うことが求められる。抗体医薬品開発の特徴として、臨床開発中においてもかなりの頻度で製法変更が行われていることが挙げられる。これは、抗体医薬品の開発戦略としてターゲットとする抗原は非常に明確であるが、抗原との親和性や生物活性などの細胞や動物を用いた非臨床試験では臨床効果を評価が困難な場合が多いためと考えられる。

抗体医薬品の製法変更での同等性・同質性評価では臨床効果と密接に関連する生物活性/免疫学的特性について特に考慮すべきである。また、糖鎖構造を含む製品の不均一性についても特に配慮するべきであろう。

C. 6 遺伝子治療用医薬品の品質・安全性評価に関する研究—腫瘍溶解性ウイルスの品質・安全性確保について—

C. 6.1 結果

腫瘍溶解性ウイルスとは、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特異的に増殖可能な制限増殖型ウイルスのことである。がん細胞に腫瘍溶解性ウイルスが感染すると、細胞内で増殖してがん細胞を破壊・死滅させるのみならず、その際放出されたウイルスは周辺のがん細胞にも感染して腫瘍全体を縮小

させることから、非増殖性のウイルスベクターを用いた従来のがん遺伝子治療よりも高い抗腫瘍効果が得られることが期待されている。腫瘍溶解性ウイルスの発見は非常に古く、悪性腫瘍患者にウイルス感染が起こったときや生ワクチンを接種された際、腫瘍の縮小や寛解が認められたことからウイルスを用いた治療法の開発が始まった。腫瘍溶解性ウイルスの開発は、ニューカッスル病ウイルスやレオウイルスなどの腫瘍特異的増殖性を示す野生型ウイルスや弱毒化ウイルスを利用したものから、ヘルペスウイルスやアデノウイルスなどを遺伝的に改変することにより、病原性を除去し、腫瘍指向性を高めた遺伝子組換え型制限増殖性ウイルスの開発に移行しつつあり、さらには治療用遺伝子を腫瘍溶解性ウイルスに搭載することによって、抗腫瘍効果をさらに高めた武装化(armed)ウイルスの開発も進められている。

腫瘍溶解性ウイルスの開発はここ数年で急速に進展し、多くの総説も書かれている。腫瘍溶解性ウイルスは中国では既に2005年に1品目が承認されている。しかし、欧米では未だ研究段階であり、臨床適用は未知・未経験の要素も多く、基礎となる科学的知見も十分に集積されていない。そこで、ICH 遺伝子治療専門家会議では、2005年に腫瘍溶解性ウイルスに関する公開ワークショップを開催して問題点を検討した。その結果、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) 腫瘍溶解性ウイルスに混入する増殖性ウイルス及び目的とする腫瘍溶解性ウイルスの分子変化体の検出法、5) 迷入ウイルスの試験法、6) 臨床上の安全性、7) 動物試験に用いる適切な動物モデル、8) 腫瘍溶解性ウイルスの体外排出の測定

法とそのリスク評価、などが腫瘍溶解性ウイルスの品質・安全性に関する重要な課題として挙げられた。ICH 遺伝子治療専門家会議では、このワークショップで得られた結果を基に、腫瘍溶解性ウイルスに関する ICH 見解の作成について検討が続けられ、2008年11月13日付けで「ICH 見解：腫瘍溶解性ウイルス」が発表された。本見解の構成を表5に示す。本見解では、腫瘍溶解性ウイルスに関する基本的な解説の後、特性解析、非臨床試験、臨床試験で実施すべき事項や考慮すべき事項がまとめられている。具体的な内容を以下に示す。なお、本見解についてはパブコメを実施中であり、今後改訂される可能性もある。

ICH 見解：腫瘍溶解性ウイルス

1. 緒言

腫瘍溶解性ウイルスは、悪性腫瘍患者の初期臨床研究においてウイルス感染又は生ウイルスワクチン接種に伴い悪性腫瘍の退縮が認められたことにより初めて見出された。これらの初期の報告以来、腫瘍溶解性ウイルスの研究は、個別のウイルス感染の経験や意図的に感染させた事例から、がん治療のために特別に選択したウイルスや遺伝子改変を施したウイルスを使用するものへと進歩している。腫瘍溶解性ウイルスは、正常組織に過度の損傷を与えることなく腫瘍組織内で選択的に増殖、拡散し、腫瘍組織を破壊することを目的としている。

腫瘍溶解性ウイルスには、がん細胞で選択的に複製しこれを溶解させる特有の性質を持つ野生型ウイルスや弱毒化ウイルスがある。加えて、がん細胞で選択的に複製し、細胞を溶解させるよう遺伝子改変されたウイルスもある。ウイルスの改変には、1) 正常細胞でのウイルス複製に不可欠のウイルス遺伝子の変異、2) 腫

瘍特異的プロモーターの使用による初期遺伝子発現の制御、3) ウイルスの組織指向性(トロピズム)や細胞内への侵入過程の改変、4) ウイルスゲノムへの目的遺伝子の組み込みなどがある。腫瘍溶解性ウイルスには、アデノウイルス、麻疹ウイルス、水胞性口内炎ウイルス(VSV)、レオウイルス、ニューキャッスル病ウイルス、単純ヘルペスウイルス(HSV)、ポックスウイルス、センダイウイルスなどがある。

ICHに参加している規制当局は、腫瘍溶解性ウイルスの治療上の有用性と複製能を有するウイルスを使用することによるリスクとのバランスが重要である、ということに合意している。本文書では、各極における規制上の分類に関わらず、腫瘍溶解性ウイルスの臨床開発のための一般原則を示す。

2. 腫瘍溶解性ウイルスの特性解析

腫瘍溶解性ウイルスの製造及び特性解析は、各極のガイドラインでカバーされている生物薬品等、より具体的には遺伝子治療薬に対する現行の規制の原則に従う。ただし、腫瘍溶解性ウイルスは複製能を有するため、外来性病原体試験や特性解析の実施においては、特有の技術的な困難さを伴っている。

2.1 選択性

腫瘍選択性に関して分子レベルで十分に理解することが重要である。臨床試験前に腫瘍細胞への選択性を示すために、腫瘍溶解性ウイルスの細胞傷害性/細胞溶解性や複製に関して増殖許容性(permissive)の腫瘍細胞株及び非許容性の正常細胞株を用いた *in vitro* アッセイを実施すべきである。ヒト正常組織由来及びヒト腫瘍組織由来の初代移植片培養(初代細胞培養)も使用することができる。

腫瘍細胞に対する選択性は、腫瘍溶解性ウイルスの力価の直接的な指標ではない。力価の出

荷試験では、腫瘍溶解性ウイルスの生物活性（腫瘍細胞の溶解性など）を直接測定するか、それと相関するような指標を測定するべきである。

2.2 分子変異体

腫瘍溶解性ウイルスの特性解析には、目的とするウイルスの分子変異体の存在の有無の確認を含める。複製における選択性又は腫瘍溶解性プロファイルが変化している可能性のある変異体に焦点を当てた試験を実施すべきである。分子変異体の試験法は、変異体の特性と存在量の両方を反映しうるものである必要がある。腫瘍溶解性ウイルスの由来や起源、選別の方法を記載しておくことは、遺伝的な安定性を証明し、評価することの助けとなる。

2.3 外来性病原体試験

腫瘍溶解性ウイルスは、外来性病原体試験で常用される培養系において複製可能であり偽陽性の結果を示すことがあるため、外来性病原体試験は特に技術的な困難さを伴うことがある。これを克服する一つの方策としては、*in vivo* 及び *in vitro* 外来性病原体試験を実施する際に腫瘍溶解性ウイルスに対する中和抗体を使用することが挙げられる。もし中和抗体が利用できない場合、ウイルスを接種することなく、ウイルスの生産培養と同時並行的に培養した細胞を検体として外来性病原体試験を実施することでも許容できる場合があり、これは生ウイルスワクチンの試験で実施されている手法と同様の手法である。

3. 非臨床試験

非臨床試験は臨床試験に用いる腫瘍溶解性ウイルス構成体を用いて実施するべきである。非臨床試験を開始する前に、開発中の腫瘍溶解性ウイルスに類似したウイルスを用いて実施された試験結果を参考にすることは有用と考

えられる。

3.1 選択性の評価

動物モデルを使用する前に、正常細胞及び腫瘍細胞における選択性を解析する *in vitro* 試験によって、選択的な遺伝子発現、細胞傷害性及びウイルス複製について検討するべきである（Section 2.1 参照）。

適用可能であれば、*in vivo* モデルにおいてもウイルス複製の選択性について検討するべきである（Section 3.3-3.6 参照）。

3.2 動物モデルの選択とその限界

動物モデルの選択においては、試験の目的に加えて、腫瘍溶解性ウイルスのトロピズム、感染性、複製能、細胞障害活性、及び抗腫瘍効果を考慮する必要がある。非担がん動物及び異種移植又は同種移植担がん動物モデルのいずれも非臨床試験で有用であるが、ウイルスの感染及び複製に対する種の感受性の差異や免疫応答のすべての面を備えたモデルになり得ないなどの限界がある。

腫瘍溶解性ウイルスの親ウイルスに対する動物種の増殖許容性を考慮する必要がある。非臨床試験において通常用いられる標準的な動物種は適切でない可能性があることから、別の動物種を考慮する必要がある（例：コトンラット、シリアンハムスター）。使用する動物種は、理想的には、ウイルス感染に感受性があり、腫瘍溶解性ウイルスによって引き起こされる感染が病理学的に類似した結果を示すことが望ましい。遺伝子改変又は細胞/組織移植によってヒトの標的受容体を発現する「ヒト化」げっ歯動物が使用できる場合がある。

担がんモデルは、プルーフ・オブ・コンセプト（POC）、薬物動態学、薬力学、ウイルス排出及び安全性を調べるために用いることができる。理想的には、異種移植又は同種移植モデ

ルは、動物モデルで観察された治療効果を臨床における有効性の指標として外挿しうる程度に、対象患者集団の腫瘍の生物学的及び病理学的側面を反映していることが望ましい。モデル動物の選択に当たっては、担がんモデル動物でのウイルスの生体内分布や持続性は非担がん動物のそれとは著しく異なるため、腫瘍溶解性ウイルスの安全性を評価するときにも腫瘍の生物学的及び病理学的側面を考慮すべきである。

しかし、担がんモデルは対象とする患者集団における腫瘍の生物学的及び病理学的側面の一部しか反映していない。例えば、異種移植担がんモデルを用いた場合、マウス組織ではアデノウイルスは増殖することができないため、ウイルス増殖を評価するには限界がある。さらに、がん組織の移植に汎用されるマウスの系統は免疫不全であり、そのため、腫瘍溶解性ウイルスに対する免疫応答を調べることは適していない。その他、担癌モデルを用いることの不利な点として、腫瘍増殖によって動物の生存期間が短いことがある。従って、長期安全性を調べるには適していないであろう。

非担がんの生物学的に感受性のある動物種は、担がんモデルから得られた情報を補完するものとして腫瘍溶解性ウイルスの安全性を評価するために用いることができる。

腫瘍溶解性ウイルスに目的遺伝子が組み込まれている場合、発現されるタンパク質に対して動物種が薬理的に反応性を有していることが重要である。遺伝子産物とその動物種で活性がない場合(例えば、ヒト GM-CSF はマウスにおいて活性がない)、種特異的な相同遺伝子を発現するように腫瘍溶解性ウイルスを設計し、それを非臨床試験において活性及び安全性の両方を評価するために使用することができ

る。このような場合、臨床使用を目指す腫瘍溶解性ウイルスとの同源性(例えば目的遺伝子の発現レベル)を適切に評価するために、動物に投与された腫瘍溶解性ウイルスの特性解析の実施を考慮するべきである。

動物種の選択においては、腫瘍溶解性ウイルスの臨床での投与方法を考慮することが重要である。もし投与経路が肝動脈注射のように標準的なものでない場合、大動物種が必要になることがある。

3.3 薬理学/POC

POC や予測される作用機序などの生物学的活性は、*in vitro* 及び *in vivo* の両方のモデルを使用して示すことができる。腫瘍溶解性ウイルスが生体内で目的とする生物学的効果をもたらす能力があることを示すためには、腫瘍溶解性ウイルスの生物活性及び薬理学的プロファイルを調べることが重要である。これらの試験は、ウイルス複製の選択性や抗腫瘍活性を含め、標的となるがん腫瘍溶解性ウイルスが生物学的に有効な作用を示すかを調べることで、特定の対象患者集団に腫瘍溶解性ウイルスを投与することの科学的妥当性の確立に寄与するはずである。さらに非臨床試験は、1) 薬理学的活性を示す用量範囲の決定と至適投与量や最小有効投与量の確立、2) 最適な投与経路の決定、3) 初期臨床試験のための投与スケジュールの決定に役立つ。

3.4 生体内分布

動物での生体内分布試験は、標的及び非標的臓器における腫瘍溶解性ウイルスの分布を調べるための試験である。腫瘍溶解性ウイルスの分布や推移はウイルスゲノムを検出することにより測定することができる。動物の臓器又は組織における腫瘍溶解性ウイルスの配列の存在を調べるには、定量的 PCR のような高感度

分析法を少なくとも一種類用いることが望ましい。

腫瘍溶解性ウイルスの生体内分布プロファイルの評価と平行して、腫瘍溶解性ウイルスの感染性を評価すべきである。腫瘍溶解性ウイルスは複製能があり、正常組織において感染及び増殖する可能性があるため、ウイルス力価及びウイルス核酸の量を測定すべきである。非標的組織でウイルスのゲノム配列又は目的遺伝子の発現が明らかに認められた場合は、組織/体液のさらなる分析を実施すべきである。これらのデータと毒性試験における臨床病理学的及び病理組織学的検査成績とあわせて考察することにより、ウイルスの存在や遺伝子発現が動物における副作用の所見と関連しているかどうかが明らかになるであろう。

3.5 ウイルス排出に関する考慮事項

本 ICH 見解において、ウイルス排出とは患者の排泄物を介した腫瘍溶解性ウイルスの伝播と定義される。

腫瘍溶解性ウイルスを用いるにあたっての懸念のひとつは患者以外への暴露の可能性である。動物を用いたウイルス排出の評価は、臨床モニタリング計画のデザインに役立つと考えられる。腫瘍溶解性ウイルスの排出に関する情報は、非臨床及び臨床試験における長期有害事象のモニタリングに有用である。

3.6 毒性試験及び安全性試験

毒性試験における観察期間及び剖検の間隔は、腫瘍溶解性ウイルスの生体内分布及び持続性のプロファイル、並びに目的遺伝子を保持している場合はその発現プロファイルから設定されることが多い。腫瘍溶解性ウイルスの毒性評価では、投与後に起こりうる局所及び全身性の毒性の識別、解析、定量化ができるような幅広い検討を行うべきである。POC 試験で確立

された動物種、投与経路及び投与手順、想定される治療上の用量域及び投与スケジュールから、毒性試験をデザインすべきである。腫瘍溶解性ウイルスの毒性は投与経路に依存することから、投与経路及び投与スケジュールは想定している臨床試験を出来るかぎり忠実に反映すべきである。評価結果には、急性及び慢性毒性、毒性の可逆性、遅発性毒性及び用量反応性を含める。ICH S6 ガイドライン「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」の科学的原則には適用可能な部分もあるが、毒性試験は、正常細胞/組織におけるウイルス複製及び感染の可能性、並びにウイルスや発現した目的遺伝子への望ましくない免疫反応などを含む腫瘍溶解性ウイルスの生物学的特性を反映する必要があるだろう。

3.7 医薬品安全性試験実施基準(GLP)試験

安全性の評価指標は、担がん動物を使用して実施された試験によって収集されることがあり、動物の管理においても特別な配慮が必要となる可能性がある。したがって、各極の法律で要求されている GLP の全面遵守は、困難を伴うことがある。バイオセーフティーの要件も、GLP に適合した腫瘍溶解性ウイルスの非臨床試験の実施可能性に影響を与えることがある。そのため、非 GLP 試験であっても、当該試験があらかじめデザインされた試験計画に従って実施され、そのデータが提案された臨床試験をサポートするのに十分な質と完全性（整合性）を備えている限り、受け入れることは可能であろう。

4. 臨床試験

腫瘍溶解性ウイルスの複雑性及び動物モデルの有用性に限界があることにより、初期臨床試験で明らかにすべき多くの課題が残されている。このため、初期の投与レジメン及び投

与経路に関して注意が必要となるであろう。動物での投与情報からは十分な安全性情報が取得できていない場合があることから、安全な開始用量を決定するためには、がん患者における用量設定試験を実施する必要がある。適切な投与経路を決定する際には、腫瘍内投与から始め、部分又は局所投与、そして全身投与へと段階的に実施する手法がしばしば用いられる。選択された投与経路の妥当性を示すべきであり、非標的部位におけるウイルス複製の可能性も考慮すべきである。

可能であれば、腫瘍溶解性ウイルス又は分子変異体の望ましくない複製に対処するための抗ウイルス療法を考慮すべきである。一例として、ガンシクロビルは、腫瘍溶解性 HSV の複製の制御に有用である。

4.1 薬物動態、薬力学及び生物活性

腫瘍溶解性ウイルス量のモニタリングには、PCR 及び感染性試験の両者が使用されている。感染組織でのウイルス複製を反映したウイルスの第二ピークを十分に検出することが可能な頻度と期間にわたり、血中モニタリングを実施すべきである。腫瘍溶解性ウイルスのモニターには、ウイルス遺伝子の指標又は目的遺伝子の発現レベルを調べるなどの別の手法を用いることもできる。

腫瘍内における腫瘍溶解性ウイルスの存在と分布を測定することは困難であると予想されるが、腫瘍の切除又は生検が可能であれば腫瘍病理学の観点から有用な情報が得られる可能性がある。

4.2 免疫及び免疫反応

ウイルスに対する既存の免疫(体液性免疫や細胞性免疫)は、投与経路、投与レジメン及び連続投与の効果に影響を及ぼす場合がある。腫瘍溶解性ウイルス(及び存在する場合は目的遺

伝子産物)に対する免疫反応をモニタリングすることは重要である。

しかし、抗ウイルス抗体の中和作用が有効性に及ぼす影響は現時点では明らかではない。この免疫応答は、過度のウイルス血症に対する防御機構となる可能性がある一方で、ウイルスの遠隔がん組織への拡散という目的を妨げてしまう可能性もある。

目的とするがん細胞の溶解に伴う炎症反応の影響も考慮すべきである。

4.3 バイオセーフティー

腫瘍溶解性ウイルスを投与する際、感染性物質やバイオセーフティーに関する予防措置、バイオセーフティーやそれに関連するガイドラインに従うことが重要である。各医療施設、国、州、地域の規制を遵守すべきである。一般にすべての規制当局は、臨床プロトコルの中で、基本的な予防措置として臨床試験期間中の物理的な避妊を求めている。

非臨床におけるウイルス排出試験結果は、臨床試験の計画や検出方法の評価にも有用である。排出ウイルスのモニタリングを臨床開発計画に組み込むことが望ましい。

腫瘍溶解性ウイルスの伝播が及ぼす影響は十分に解明されておらず、医療従事者、家族、患者と接触する他の人への暴露を最小限にするために予防措置を講ずるべきである。免疫抑制又は免疫低下患者、同様に免疫機能の低い集団(乳児や高齢者等)への暴露を最小限にするための配慮も必要である。

患者及びその家族に対して、外来投与後の公共移動や日常生活における第三者への暴露を最小限にするための方法を指導することが適切であろう。これには特定の衛生管理に関する助言も含まれる。これらの考慮事項の多くは環境への放出/リスクとして取り扱う事項であり、

詳細については各規制当局に相談するべきである。

C.6.2 考察

今回検討した「ICH見解：腫瘍溶解性ウイルス」は、腫瘍溶解性ウイルスの臨床開発のための一般的原則を示したものであり、腫瘍溶解性ウイルスの特性解析、非臨床試験、臨床試験において考慮すべき事項がまとめられている。

腫瘍溶解性ウイルス開発は、腫瘍細胞内で選択的に複製する性質を持つ野生型・弱毒化非組換えウイルスを用いる場合と、選択増殖性を持つように人為的に改変した遺伝子組換え型ウイルスを用いる場合に大きく分類される。日本では、遺伝子組換え型の腫瘍溶解性ウイルスは「遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律(カルタヘナ法)」で定められた「遺伝子組換え生物等」であり、これを臨床で使用する場合には「遺伝子組換え生物等の第一種使用等(環境中への拡散を防止しないで行う使用等)」に該当するため、第一種使用規程の大臣承認が必要とされる。そのため、遺伝子組換え型の腫瘍溶解性ウイルスの臨床研究は、同じく「遺伝子組換え生物等」に該当する遺伝子治療用ウイルスベクターに準じて「遺伝子治療臨床研究に関する指針」(平成14年3月27日文科科学省・厚生労働省告示第1号、平成16年12月28日全部改正)に従い実施する必要がある。一方、非組換え型の腫瘍溶解性ウイルスはカルタヘナ法の対象外であり、規制上別枠とされている。しかし、本見解には、腫瘍溶解性ウイルスが各極でどのような規制上の分類に該当するかにはかかわらず、腫瘍溶解性ウイルスの臨床開発のための一般的原則が示されている。今後、我が国でも、遺伝子組換え型、非組換え型を問わず本見解を参照する

ことが望まれる。

1) 特性解析

本見解では、腫瘍溶解性ウイルスの製造や特性解析は、遺伝子治療薬に対する規制の原則に従うとされている。腫瘍溶解性ウイルスは遺伝子治療用ウイルスベクターとは異なるが、特に遺伝子組換え型ウイルスでは遺伝子治療用ウイルスベクターと共通のウイルスが使用されたり、共通の遺伝子改変技術が利用されるなど、その品質、安全性確保の考え方には共通する部分が多いためと考えられる。一方、腫瘍溶解性ウイルス独自の項目として、腫瘍選択性と分子変異体が挙げられている。腫瘍選択性は腫瘍溶解性ウイルスの特徴であり、有効性、安全性の両面で重要な項目であることから、*in vitro*、*in vivo*での評価が必要とされる。

また、従来の遺伝子治療に用いられる非増殖性ウイルスベクターの特性解析では、ベクター製造中に組換えにより生じ、ベクターに混入する可能性のある増殖性ウイルス(RCV)の検出が重要である。しかし、腫瘍溶解性ウイルスは目的ウイルスが選択増殖性を持つため、変異を起こした場合により重篤な副作用が出やすく、患者以外への伝播のリスクも高い。従って、腫瘍溶解性ウイルスでは腫瘍溶解性や選択増殖性の変異した分子変異体の検出が非常に重要な課題とされる。遺伝子組換え型ウイルスの場合、目的ウイルスの遺伝子配列は単一であり、分子変異体を特定することが可能である。しかし、野生型・弱毒化ウイルスは単一クローンではなく目的ウイルスに分子変異体が存在する。この場合、腫瘍溶解性ウイルスの由来や起源、どのように選別したかの履歴を明確にして、遺伝的安定性を証明することが重要と考えられる。

外来性病原体試験は製品の品質・安全性評価

に不可欠の項目であるが、腫瘍溶解性ウイルスの場合、外来性病原体試験で自身が増殖性を示すために試験系の確立が技術的に難しいという問題がある。これを解決する方法のひとつとして、本見解には中和抗体を用いて目的ウイルスを中和後に *in vivo*、*in vitro* の外来性病原体試験を実施する方法が示されている。しかし、ウイルスによっては中和抗体が利用できるとは限らないため、生ウイルスワクチンの試験に用いられている方法として、ウイルスの生産培養と並行培養したもの細胞を検体とする方法も許容されるとしている。

2) 非臨床試験

非臨床試験では、動物モデルの選択が重要である。臨床適用を反映する担がんモデル動物を用いて、腫瘍選択性や生物活性の評価、安全性評価、生体内分布と感染性の評価、ウイルス排出の評価等を行うことが必要とされる。

しかし、ウイルスの感染・複製に対する感受性に種特異性があることや免疫応答などの点で動物モデルには限界がある。免疫応答に関しては、宿主の免疫応答による中和抗体の出現がウイルスの抗腫瘍効果や転移病巣での効果を減弱する可能性もあるが、逆に腫瘍から血液中に漏出したウイルスを中和して安全性を高める可能性もある。しかし、非臨床試験では、担がんモデルに免疫不全動物が使用されるためその評価は困難である。また担がんモデルでは癌により長期安全性を調べることは困難であるため、非担がんモデルを補完的に使用して総合的に評価することが必要とされる。

3) 臨床試験

非臨床試験では動物モデルに限界があり、十分な安全性情報が得られない場合があるため、初期臨床試験での開始用量や投与経路の決定には特に注意が必要である。臨床試験では、血

中ウイルス量のモニタリングやウイルスに対する免疫反応のモニタリング、ウイルス排出のモニタリングが必要とされる。

免疫反応に関しては、前述の通り非臨床試験で用いる動物モデルに限界があるため、臨床試験で免疫応答をモニタリングし、その有効性及び安全性に及ぼす影響を評価することが重要となる。

また、腫瘍溶解性ウイルスは増殖性を持つウイルスであることから、体外に排出された場合、患者以外に伝播する可能性が懸念される。そのため、臨床試験では患者以外への暴露のリスクを最小限にするためのバイオセーフティーに関する考慮も必要となる。非臨床試験によりウイルス排出の評価を行い、その結果を基に、臨床試験で実施するウイルス排出のモニタリングの時期や期間、採取する検体の選択をする必要がある。ICH 遺伝子治療専門家会議では、ウイルス/ベクターの排出 (*virus/vector shedding*) に関して、ICH 見解の作成が進められている。今後発出が予定されるウイルス/ベクターの排出に関する ICH 見解を本見解と併せて参照することが望まれる。

C. 7 包括的な医薬品品質監督システムの国際動向に関する研究

C. 7. 1 医薬品規制国際調和会議 (ICH) Pharmaceutical Quality System (医薬品品質システム Q10) の議論の経過

パブリックコメントの概観

個別の記載事項に対する大きな反対意見は見られなかったものの、Q10 ガイドラインのみならず、Q8、Q9 ガイドラインを合わせた全体像がわかりにくいというコメントが各極にもあった。又、各項目に対し具体的な解説が

欲しいという要望、各極における具体的な導入に関する質問が多く寄せられた。

2008年5月電話会議

2008年6月の専門家会議に向け、パブリックコメントおよび heparin など最近の原材料流通問題を踏まえ、5月には2度の電話会議が開催され、原材料流通問題に対応するセクションの記述の充実、ガイドライン全体を説明する分かりやすい図の作成の2点を行動方針として採択した。又、ステップ2時点において掲載について、専門家内部（欧州委員会の一部）において異論のあった巻末の「今後見込まれる薬事的アプローチ（Potential Opportunities to Enhance Science and Risk Based Regulatory Approaches を示した表）」については、寄せられた意見では、評価が高かったため、最終文書においても掲載する方針となった。

2008年6月ポートランド専門家会議

昨今起きた原材料流通の問題は合法内の活動において引き起こされたのではないが、合法内で運営される企業活動のシステム、すなわち品質システムの弱さを反映したものであるとの結論に達した。この結論に基づき、外部委託作業及び購入原材料の管理に対し以下の原則および手順を経営陣の責任の章に盛り込むこととなった。

① 薬品品質システムは、あらゆる外部委託作業及び購入原材料の質の監督及びレビューにまで及ぶ。

② 外部委託の運用及び原材料供給者の決定に先立ち、相手方が業務を遂行するまたは規定されたサプライチェーンを用いて原材料を供給する適性及び能力についても審査すること；

(a) 関与する当事者の品質関連活動に対する責任及び情報伝達プロセスを規定するこ

と。外部委託作業については、このことは委託者と受託者間の契約書に含まれること；

(b) 受託者の業務遂行能力または供給者からの原材料の品質をモニタリング及びレビューすること、またあらゆる必要とされる改善を特定及び実施すること；

(c) 入荷した成分及び原材料について、それらが合意されたサプライチェーンを用い、承認された供給源からのものであることを確認とするためにモニタリングを実施すること。

又、ガイドラインの構造を大きく把握してもらうために付属書2には ICHQ10 医薬品品質システムモデルの図解を示し、文章をもって図解を説明することとなった。

このような議論を通じ Q10 は最終合意文書であるステップ4（資料7）に到達した。

日本国内の対応

日本において Q10 ガイドラインの導入に際し課題となるのが「医薬品、医薬部外品、化粧品及び医療機器の品質管理の基準に関する省令」（GQP 省令）との関係である。この省令は医薬品工場ごとの GMP では包含されていない、製薬企業（製造販売業者）へ対する品質管理基準であり、以前から認識されていたように、Q10 ガイドラインの少なくない部分と重複がある。

従って、Q10 の 1.1 にある原則のひとつ：「ICH Q10 は、現行の規制要件を越えて新たな期待を創出する意図はない。従って、現行の GMP 要件に付加的な ICH Q10 の内容は任意である。（ICH Q10 is not intended to create any new expectations beyond current regulatory requirements. Consequently, the content of ICH Q10 that is additional to