

ること。

糖鎖付加を含む植物タンパク質の翻訳後修飾に関しては、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ロイドが存在する。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ロイド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ロイド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／ウイロイドの不活化／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. 3 品質の一定性確保のために製造工程に求められる要件

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 7）。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、欧米の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. 3. 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. 3. 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。

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（表 7）。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 に対するサザンプ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. 3. 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（図 8）。

##### C. 4. 3. 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生産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. 3. 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. 3. 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. 3. 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. 3. 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. 3. 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. 4 植物に特有の糖鎖構造の品質・安全性への影響

ヒトの糖タンパク質を植物で発現させると、ヒトや動物細胞の場合と同じ位置に N 結合型糖鎖が付加されるが、付加される糖鎖の構造が異なる [5]。そのため、植物を用いて生産された糖タンパク質では、免疫原性、生物活性、体内動態等の点でヒトの糖タンパク質とは異なる可能性がある。ヒト糖タンパク質糖鎖と異なる植物由来糖タンパク質糖鎖の構造上の主な特徴は、

- ・ コアマンノースに B1-2 結合したキシロースが存在する
- ・ 還元末端 N-アセチルグルコサミンに  $\alpha$ 1-3 結合したフコースが存在する
- ・ シアル酸が付加されない

ことである (図 9)。N 結合型糖鎖における B1-2 キシロース、 $\alpha$ 1-3 フコースの付加は、これまでに組換えタンパク質発現に用いられた全ての植物種において起こり得るとされており、植物で発現された組換えタンパク質の糖鎖解析でもその存在が報告されている [6,7]。

植物で生産された組換え糖タンパク質の O 結合型糖鎖を解析した例は少ないが、組換えトウモロコシで発現したヒト IgA では、ヒト血清由来 IgA とは異なり、セリンへの糖鎖付加が起こらず、その近傍のプロリンの水酸化と水酸化プロリンへのアラビノースの付加が起こっていることが報告されている [8]。ヒト血清 IgA のヒンジ領域に付加された O 結合型糖鎖は IgA のプロテアーゼによる分解を抑制する働きを持つとされているが、糖鎖構造の違いが IgA の特性にどのような違いをもたらすかは

不明である。また、水酸化プロリンを持つ植物由来糖タンパク質 (Hyp-rich glycoproteins: HGRPs) には免疫原性を示すものがあることが知られているため [5]、医薬品としての安全性の点では注意が必要であろう。

#### C. 4. 4. 1 ヒト血中に存在する植物糖鎖に対する抗体

ヒトに対してアレルギー性を示す植物由来成分には、各種のアレルゲンに共通するエピトープ Cross-reactive Carbohydrate Determinants (CCD) があることが知られており、CCD と IgE の結合では、CCD を構成する糖鎖構造のうち  $\beta$ 1-2 キシロースと  $\alpha$ 1-3 フコースが重要であるとされている [9-12]。従って、植物糖鎖がヒトに対して抗原性を示し得ることは、アレルギー等に関するこれまでの研究結果から明らかと言える。

CCD に対するヒト血中の抗体とアレルギーの関係に関してはよく研究されており、植物由来成分にアレルギー反応を示すヒトの約 20% では血中に CCD に対する IgE が検出されると報告されている [9,13]。しかし、血中 IgE の存在とアレルギーの臨床症状には相関が少ないとされており、その理由として、抗 CCD IgE 陽性の患者では抗 CCD IgG が共存している場合が多く、IgE とアレルゲンの結合を IgG が阻害するために、IgE を介したアレルギー反応が起こらないこと等が考えられている [14]。IgE と共存する IgG のサブクラスについては IgG4 が多いとする報告があり、IgM からのアイソタイプスイッチが起こる際に、Th2 が優位であると IgE と IgG4 が産生されることを反映していると思われる。また、報告は限られているが、トランスジェニック植物で生産した組換えヒト糖タンパク質に対してアレルギー患者

血清 IgE が結合性を示し、そのエピトープは糖鎖部分であることが示されている [15]。

一方、健康人でも約 50% では  $\beta$ 1-2 キシロースに対する抗体が検出され、約 25% では  $\alpha$ 1-3 フコースに対する抗体が検出されたと報告されている [16]。検出されている抗体のアイソタイプは IgM と IgG である。ヒトは食物として異種タンパク質である植物由来成分を日常的に摂取し、花粉などの植物由来物質にも日常的に曝露されている状況にある。食物として摂取された植物由来糖タンパク質は消化管で分解されて吸収されるが、一部は免疫原となり得る形で吸収され、抗体産生を惹起しているものと考えられる。また、たとえ免疫原となる形で吸収されたとしても、ホストにアレルギー傾向がなければ IgE は産生されず、植物成分に対して臨床的に症状は見られないものと思われる。

#### C. 4. 4. 2 植物糖鎖を持つ組換えタンパク質性医薬品の安全性

植物糖鎖の免疫原性が組換えタンパク質性医薬品の安全性に与える影響は、(1) 投与以前から患者に抗体が存在する場合、(2) 繰り返し投与に伴って抗体が産生される場合、に分けて考えることができる。

##### C. 4. 4. 2. 1 植物糖鎖に対する抗体を持つヒトにトランスジェニック植物由来組換えタンパク質性医薬品を投与する際の安全性上の懸念

植物糖鎖に対する IgE を有するヒトに植物糖鎖を持つ組換えタンパク質を投与した場合、IgE と組換えタンパク質との結合により Fc $\epsilon$ R が活性化され、アレルギー反応が起こることが懸念される。血中 IgE レベルはアレルギーの

臨床症状との相関が少ないとされているが、特に医薬品が非経口的に投与された場合は、それまでに患者が曝露されていた抗原とは存在様式が濃度や部位の点で異なるため、日常生活での曝露で問題がなくても IgE を介した有害作用がおこる可能性は否定できないであろう。組換えタンパク質の糖鎖結合部位が複数ある場合や、目的物質由来不純物として凝集体がある場合には、抗原と IgE による FcεR の架橋が起こりやすく、アレルギー反応が生じやすいと考えられることから、特に注意が必要と思われる。したがって、非経口投与する糖タンパク質医薬品の場合は、植物特有の糖鎖を付加しないよう改良した系がなければ、他の生産宿主を選択することが妥当であろう。植物糖鎖を持つ組換えタンパク質をヒトに非経口的に投与するのであれば、事前の IgE のスクリーニングが必要であると考えられる。

#### C. 4. 4. 2. 2 トランスジェニック植物由来組換えタンパク質性医薬品に対して新たに抗体が産生される可能性

植物糖鎖に対する抗体を持たないヒトの場合、急性のアレルギー反応等が起こる懸念は少ないと思われるが、投与された組換えタンパク質に対して新たに抗体が産生される可能性はある。組換えタンパク質性医薬品に非ヒト型の植物糖鎖が結合していれば、従来の組換えタンパク質性医薬品より抗体が産生される可能性は高いかもしれない。但し、以下の理由により、タンパク質部分がヒト由来である分、植物アレルギーに比べて免疫原性は小さいと推測される。

抗原に対する抗体産生においては、初期にはコンフォメーションエピトープに対する IgM が産生され、抗原提示細胞からの抗原提示を受

けた Th 細胞由来のサイトカインにより IgE や IgG へのアイソタイプスイッチが行われる。糖鎖のみでは抗原提示細胞で MHC 分子との複合体として抗原提示されず、抗体が産生されてもアイソタイプは IgM のままであるが、糖鎖がタンパク質に結合している場合は抗原提示細胞内で分解されて糖ペプチドとして抗原提示される。植物の糖タンパク質糖鎖に対する抗体には IgM のみでなく IgE や IgG があることから、抗原提示細胞と T 細胞を介する反応を経て産生されていると考えられ、植物糖鎖の免疫原性は糖鎖のみの構造によるのではなく、植物タンパク質の構造によるところも大きいと考えられる。植物由来アレルゲンの場合はタンパク質部分も異種のものであるため強い免疫原性を示すと考えられるが、タンパク質がヒト由来の配列を持つ場合は植物由来アレルゲンと比較して免疫反応が生じにくい可能性も考えられる。

#### C. 4. 4. 2. 3 植物糖鎖を持つ糖タンパク質性医薬品の臨床応用の可能性

組換えタンパク質性医薬品のヒトに対する免疫原性は、動物を用いた非臨床試験で評価することができず、安全性評価において常に懸念されながらも、市販前に十分な知見を得られないことが多い。植物糖鎖の場合は、ヒトタンパク質に結合している場合の免疫原性は不明ながら、ヒトに対する植物アレルギーにおけるエピトープとなり得ることが明らかであることから、組換えタンパク質の糖鎖の構成要素としては回避すべきものである。ただし、食物として摂取する植物由来タンパク質にもこれらの糖鎖は含まれているため、組換えタンパク質を経口投与する場合は、これら植物糖鎖に対する IgE を有する患者を除いては問題ない可能性

も考えられる。従って、現段階での解釈としては、植物で発現させた糖タンパク質にはヒトに対して免疫原性を示す糖鎖が付加されているものの、経口投与の場合は、食物として摂取していて問題がない患者に対しては許容されるが、非経口投与、特に注射剤としての投与の場合は、ヒト型糖鎖が結合するような製造系を確立する必要があると考えるのが妥当であろう。

## C. 5 バイオ医薬品の品質・安全性評価に関する研究

### C. 5.1 治験薬のウイルス安全性について

調査研究の対象として取り上げた EMEA の「開発バイオ治験薬のウイルス安全性評価指針」案（以下本指針案）は、バイオ医薬品の治験に当たって規制当局に提出すべきウイルス安全性に関するデータと提出すべき書類について参考することを目的としたものである。承認申請に当たって求められるデータ等に関しては、ICH Q5A ガイドラインがあり、その基本的原則は臨床開発時の製品についても参考にするべきとされている。特に本指針案の意図は、本指針案は開発中のバイオ医薬品の臨床治験に於けるウイルス安全性評価のために EU の企業及び規制当局のハーモナイゼーションを行うためのものである。

一方で、この指針案で考察された事項で、既存製品についての社内経験や新たな試験法の活用について ICH Q5A を土台にした議論がなされており、承認申請に当たっても活用できる要素も多い。従って、本指針案を十分に検討することは、バイオ医薬品のウイルス安全性評価において非常に重要な知見をもたらすと考えられる。

まず以下に本指針案の全文を引用する。

\*\*\*\*\*

28 June 2006

バイオ治験薬のウイルス安全性評価指針（案）  
EMEA/CHMP/BWP/398498/2005

本文章案の目的は治験に用いられるバイオ医薬品のウイルス安全性に関する科学的ガイダンスを提供することにある。本指針案では以下の点について述べられている

- (i) 臨床開発前あるいは臨床開発中に求められるウイルス安全性評価試験や特にウイルスバリデーション試験の基準と範囲について
- (ii) ウイルス安全性評価試験に関して社内データや経験の引用出来る範囲
- (iii) 安全性評価試験の一環としてのリスク評価

### 1. 緒言

本指針案は、バイオ医薬品の治験に当たって規制当局に提出すべきウイルス安全性に関するデータと提出すべき書類について参考することを目的としている。承認申請に当たって求められるデータ等に関しては、ICH ガイドラインである Q5A を参考とする必要がある。Q5A はバイオ医薬品の臨床開発時に於ける特に求められる事項については記載されていないが、その基本的原則は参考とすべきである。

EU 域内での臨床治験に関しては 2001/20/EC 指令による規制が行われており、治験に用いる製品は GMP 基準の原則に従って製造されているべきである。

治験の承認は、各 EU 加盟国の責任によってなされるが、各加盟国は治験薬の評価を行うことが求められている。バイオ医薬品のウイルス安全性確保は多様な要素が必要であり、開発途中でのバイオ医薬品のウイルス安全性を確実に評価することが重要である。

本指針案は開発中のバイオ医薬品の臨床治

験に於けるウイルス安全性評価のために EU の企業及び規制当局のハーモナイゼーションを行うためのものである。従って本指針案は多国間にわたって行われる治験の実施において非常に有用な指針となると期待される。

## 2. 範囲

本指針案は、特性解析されたヒトあるいは動物由来細胞を用いて製造される開発途中のヒトバイオ医薬品に適用される。多様な細胞を用いた製品が使用あるいは開発中ではあるが、大部分の製品は多くの使用経験があり十分に特性解析された CHO 細胞や、NS0 細胞、あるいは SP2/O 細胞などのマウス株細胞が用いられている。

本指針案はモノクローナル抗体や組換えサブユニットワクチンを含む組換え DNA 製品にも適用される。ウイルスベクターを用いたワクチンや遺伝子治療薬には適用されない。In vivo で製造されたハイブリドマ由来製品等も本指針の対象外である。

本指針案では、ヒトに始めて投与される最初の治験から治験第 3 相を含む全ての臨床治験段階で要求されるウイルス安全性について言及している。しかし、治験第 3 相に用いる製品については ICH Q5A 指針に基づいたウイルスバリデーション試験が実施されていなければならないために、実際には治験第 1 相と第 2 相に用いられる製品を対象とすることになる。また本指針案は、非臨床試験の段階で用いられる製品については対象としておらず、一方、承認申請に必要なデータについても同様に対象としていない。

## 3. 規制事項

EU 域内での臨床治験に関しては 2001/20/EC 指令による規制が行われており、治験の承認は、各 EU 加盟国の責任によってな

されるが、各加盟国は適切に治験薬の評価を実施することが求められている。

## 4. 1 一般的原则

バイオ医薬品の開発段階でのウイルス安全性試験の目的は、治験に用いられる製品の受用可能な安全性のレベルを示すことにある。

バイオ医薬品の承認に当たって、ウイルス安全性は次のような 3 つの相補的なアプローチによって達成される；(i) 用いる細胞や全ての原材料についてウイルス混入がないことを確認するための試験；(ii) 精製工程が混入している、混入の可能性のある感染性ウイルスを十分除去出来る能力を有することを示すこと；(iii) 製品の適切な段階での混入ウイルス試験 (ICH Q5A)

承認申請に於けるフルセットのウイルス試験とは異なり、開発段階のバイオ医薬品では、その開発特性に応じて、製品の特性や採用した製造方法を考慮して、ウイルス不活化/除去に関する試験プログラムをどの程度省けるかを定めることができるであろう。しかし、試験プログラムを削減出来るのは ICH Q5A で規定されている生産細胞のケース A (ウイルス汚染がない) 及びケース B (ウイルス汚染があるがヒトに感染性がないことが知られているレトロウイルスの汚染があるのみ) のみと考えられる。ウイルスバリデーション試験の削減は社内での経験と実績に基づいて実施することも可能である。そのような社内でのウイルス安全性試験の経験と実績は承認申請のデータとしても用いることができるが、この点について既存の Q5A ガイドラインには明記されていない。Q5A ガイドラインにあげられているどのウイルス検出試験を削減出来るか、あるいは製品に応じてウイルスバリデーション試験を削減出来るかについては次のような一般的な原則を

考慮して判断する必要がある。

- ・ 製造細胞の特性
- ・ 製造細胞の履歴や使用実績
- ・ どの程度製造細胞の特性解析ができていますか
- ・ どの程度製造時にヒトや動物由来原材料を使用しているか
- ・ ウイルス迷入の可能性がどの程度あるか
- ・ 製品の開発ステージ
- ・ 製造会社でどの程度の製造細胞の経験を有しているか
- ・ 製造会社で採用している各製造工程での経験がどの程度あるか

治験申請では、上記のような原則に基づいて使用する製品のウイルス安全性に関するリスク評価を行っておくことが求められる。

#### 4.2 開発段階のバイオ医薬品のウイルス安全性確保

開発段階のバイオ医薬品のウイルス安全性確保の基本的原則としてはICH Q5Aに記載されている製造工程のウイルス除去/不活化に関する工程評価に関連するウイルス検出試験も含まれる。今日まで、承認されたバイオ医薬品の使用によるウイルス伝播は報告されていない。製造中にウイルス混入があったケースが知られているが、これらは製造に用いた血清や培養に用いられた原材料等による工程外からの迷入によるものであることが知られている。

##### 4.2.1 マスターセルバンク (MCB) のウイルス検査

マスターセルバンク (MCB) のウイルス検査は、Q5A ガイドラインに従い治験第1相試験前には行っておく必要がある。製造用細胞バンクの設定や規格管理は治験開発中に固められる可能性もあることから治験第1/2相試験の間には完全に確立されていないこともある。

WCBを確立する場合にもQ5Aガイドラインに沿った試験を行う必要がある。

製造条件で規定されている細胞齢まで培養した細胞 (EOP) については、実生産スケールで製造されたものでなければならず、Q5Aガイドラインに従い試験を行うことが求められる (ICH Q5A ガイドラインではパイロットスケールも許容している)。新たなWCBを設定したり、培養スケールを変更するために製造条件で規定する細胞齢を延長しようとする場合には、EOPに関する試験を再度実施する必要がある。従って、開発途中ではより長い細胞齢を用いるような製造条件の変更も可能なように、細胞齢の上限を超えて培養した細胞を用いて試験を行うことが推奨される。

現在用いられている大部分の細胞株は内在性のレトロウイルスやレトロウイルス様粒子を持っており、また新たな細胞株を使用しようとする場合でも同様の状況であることから、これらのレトロウイルスやレトロウイルス様粒子の存在を前提とした配慮が必要である。

既に評価を行ってある社内保有の細胞株を宿主として、新たな製品を製造するための細胞株を作製して医薬品製造を行う場合に、すでに得られているウイルス安全性に関するデータは、新規製品でのウイルス安全性評価を行うのに有用である。

迷入ウイルス試験として分析法が十分に評価できているPCR法や細胞を用いたアッセイ法が、MAP/HAP/RAP試験の代替法として検討されている。このようなウイルス安全性に関する新たなアッセイ法も特殊な方法ということではない。しかし、採用しようとしている代替法が規制当局に受け入れられるためには、当該製品に適用可能であることを証明するために十分な評価を行っておくことが必要である。

#### 4.2.2 未加工/未精製バルクのウイルス試験

バイオ医薬品の開発ステージのいかんにかかわらず、ICH Q5A ガイドラインに従い未加工/未精製バルクのウイルス試験として、レトロウイルス粒子に関する定量的試験を実施しておくべきである。臨床開発の初期ステージの間では、Q5A で規定されているバッチ数（連続した3バッチの試験）よりも少ないバッチ数の試験で足りるかもしれない。また、培養工程で用いられている原材料の由来や混入する可能性のあるウイルスに着目して試験をデザインし、未加工/未精製バルクのウイルス試験を実施するべきである。

#### 4.2.3 ウイルス不活化/除去能の評価

ウイルス不活化/除去能の評価の目的は2つある。1点目は、製造各工程の解析を行い、それぞれの工程が効果的なウイルス不活化/除去能を持つか評価することである。2点目は、製造工程全体を通じて十分なウイルス不活化/除去能を持つことを立証することであり、特に存在が知られている内在性のレトロウイルス粒子について評価を行っておくことが求められる。バイオ医薬品の開発においては、用いる細胞特性や、使用する原材料、効果的なウイルス不活化/除去能を持つと考えられる製造各工程を含め、ケースパーケースでのアプローチが求められる。動物由来原材料を用いていない場合で、かつ十分な特性解析された細胞を用いた場合でも、ウイルス検出には限界があることから必ずしもウイルス安全性を保証することにはならないので、ウイルスバリデーション試験は必要である。臨床開発が進み、バイオ医薬品の製造工程は最終的に確定した場合には、ICH Q5A ガイドラインに従ってウイルスバリデーション試験を治験第3相までに実施しておく必要がある。

バリデーション試験は Q5A ガイドラインに沿って実施する必要があるが、臨床開発の初期段階ではその総クリアランス能力についてまで示すことまでは求められない。ウイルスクリアランスに寄与するのがどの精製段階であるのかは明らかにする必要があり、また混入する可能性のあるウイルスを不活化/除去する各工程の能力の評価は、製造に用いる細胞基材を考慮する必要がある。すなわち、内在性のレトロウイルスの種類や混入量、製造に用いるヒトや動物由来原材料の種類とそれによる汚染の可能性などを考慮する必要がある。ウイルスバリデーション試験のガイダンスのための CHMP 通知にはこのような試験の詳細について有用な情報が書かれている。

#### 4.2.4 治験第1相、第2相に用いる製品の評価

治験第1相の前に未加工/未精製バルクに混入している既知のウイルスあるいはウイルス様粒子がある場合、下流の製造工程が効果的なウイルス不活化あるいは除去能を持つことを示す必要がある。ICH Q5A ガイドラインに示されている内在性のレトロウイルスあるいはレトロウイルス様粒子が存在しているケース B の場合には未加工/未精製バルクに含まれるこれらのウイルス/ウイルス粒子が十分にクリアランスできることを示すような不活化/除去能の評価を行っておくことが求められる。

生産用細胞に関して行ったウイルス検出試験の結果にかかわらず、細胞内に検出出来ないようなウイルスが元々潜在している可能性や製造工程において培養している細胞に生物由来原材料由来のウイルス汚染が生じる可能性もある。混入してくるウイルスはエンベロープウイルスも非エンベロープウイルスの両方の

可能性がある。従って、ケース A とケース B の場合でも、治験第 1 相の前に製造工程がエンベロープウイルス（ケース B のレトロウイルスを想定）と小型の非エンベロープウイルスの不活化／除去能を評価しておくべきである。可能であれば原理の異なる 2 つの工程について評価すべきである。

バリデーション試験の実施に当たっては、工程パラメーターの限界の値（すなわち最悪のケースの値）を用いるべきである。

以下のような状況を考慮してバリデーション試験を縮小することも可能である：

- ・ 生産細胞の樹立や製造において生物由来原材料を用いているか、あるいはどの程度の量を用いたか
- ・ 公表されている文献データ等から各製造工程の持つウイルス不活化／除去能を推定することも可能であり、またウイルス不活化／除去機構を推定することも可能である。これらのデータは、ウイルスクリアランスに寄与する重要工程の能力の解析にも有用であり、その重要工程のワーストケースを設定する際にも有用である。しかし、特定の製造工程に対する文献上のウイルスクリアランス値を適用するには、対象とする工程や中間工程製品との同等性を十分に立証する必要がある。また、目的とする製品の特性がウイルスクリアランス値には影響を与えないことが保証されなければならない。個々のウイルスが特異的な挙動を示すようなクロマトグラフィー工程などの文献情報は特に信頼性に欠ける。
- ・ 特定の製造工程に関する製造企業のこれまでの経験。製造企業が既存製品で十分な評価を行ってある工程で、同様の製品を開発しようとする場合、既存の製品で得られているウイルスバリデーションデータを新規製品の製造に

用いる同様の工程に適用することは可能と考えられる。

一般的に、同様の工程から得られたデータを用いるためには、ウイルスクリアランスに影響を与えるような工程パラメーターに関する検討を含め、対象とする各工程を慎重に評価しなければならない。特定の工程に関して複数の製品で共通したデータが得られた場合には各製品について同等のウイルスクリアランスの能力を持つと見なすことができる。

新規製品に旧製品で得られているデータを適用する場合には、その妥当性を示す必要がある。例えば、新旧製品が同様の生化学的特性を持ち、同じ精製方法を用いる場合には、旧製品の精製工程に関するウイルスクリアランスデータを新規製品についても使用することが可能と考えられる。製造企業は、そのような特定の工程の重要なパラメーター明らかにしておく必要がある。例えば、ナノフィルトレーションでは、フィルターの種類、フィルターのエリアあたりのロード量、流量、圧力、用いる中間工程製品の組成等である。クロマトグラフィー工程では、カラムサイズ、緩衝液の組成、中間工程製品の組成、フロー量等である。新旧製品の工程比較が完璧にできない場合や、新規製品の特性故に当該工程でのクリアランス能に影響を与えることが否定出来ない場合には、最低一回の試験を行い予測が正しいことを立証した上で、既存のデータを採用すべきである。例えば、もし工程評価を行って、同じ装置を用いてもクロマトグラフィープロファイルが異なっていれば、ICH Q5A ガイドラインに従って当該工程の評価試験を行うべきである。

治験第 1 相、第 2 相試験に用いる製品の場合には、開発初期のために少量のバルクの製品しかないことから、市販のカラムを用いることも

可能である。一方、カラムの再使用に関するデータや滅菌についてのデータは一般的に必要ではない。

#### 4.2.5. 治験第3相に用いる製品のバリデーション

治験第3相で製品をヒトへ投与する前に、最終製品及び精製工程を確立するとともに ICH Q5A ガイドラインに従って全てのウイルスバリデーション試験を完了しておく必要がある。

#### 4.2.6. 解析法のバリデーション

治験第1相及び第2相で実施するウイルス試験で採用した分析法の適格性を示す必要がある。ICH Q5A ガイドラインに従って実施したバリデーション試験データの概要について明らかにしておく必要がある。例えば、試験法がどのような特異性、直線性、レンジ幅、精度、厳密性、定量性、検出限界を持っていたかなどについて明らかにする必要がある。この場合にはバリデーションに関する全てのデータを提出する必要はない。

ヨーロッパ薬局方に従って実施したウイルス試験に関しては各企業でバリデーションを実施する必要はない。

治験第1相及び第2相で得られた情報に加えて、第3相試験では分析法バリデーションの全てのデータを明らかにし、規制当局へ提出する必要がある。

#### 4.3 ウイルス安全性に関するリスク評価

ウイルス安全性の観点からの治験の承認の決定は、リスク/便益の観点から判断されなければならない。製造工程で実施したウイルス安全性確保に関する各試験の生データに加え、製造工程全体を通じたリスク評価を申請時に提出する必要がある。この際には、適応症、投与量、投与頻度、治験にエントリーしている患者数や治験期間などをリスク評価では考慮する

必要がある。また、治験第1相と異なり第2相、第3相での対象患者の免疫状態が大きく異なることも考慮しなければならない。

ウイルスリスク評価は、全体の製造工程を考慮し、ICH Q5A ガイドラインの付録5で示されている投与あたりのウイルス粒子数を考慮すべきである。開発初期では、どの程度ウイルスが低減化できるかの評価は社内での経験に基づいて実施することも可能である。開発の後期では、ウイルス低減化の量的評価は個々の製品で実施されたデータを用いて行う必要があるが、社内データを参考資料として用いることも可能である。

ICH Q5A ガイドラインで指摘されているように、ウイルスクリアランス試験の限界と統計学的な観点を考慮しなければならない、また患者の免疫状態や癌治療に於ける患者の病態に応じた用法や投与方法、投与頻度、期間なども考慮する必要がある。

#### 4.4. 開発段階でのウイルス安全性の再評価

細胞培養系や培養継代数、製造方法などで大きな変更を行った場合には、直接あるいは間接的にせよ、その変更がウイルス安全性に及ぼす影響について考慮する必要がある。ウイルスリスク評価の結果によっては、追加のウイルス安全性評価が必要となる場合もある。

製造企業は、製造工程の変更について文書化して保存するとともに、ウイルスリスク評価をこれまで述べて来た点を考慮して実施すべきである。さらに、重大な変更については規制当局へ報告する必要がある。

開発途中では、製品の品質に有害な影響を与えないようなウイルス除去・不活化工程を設計するように考慮すべきである。

#### 4.5. 治験承認申請書の様式

ウイルス安全性確保のための全てのプログ

ラムについては正確かつ明確に示す必要があり、実施しない試験についてはその妥当性を明らかにしておく必要がある。

\*\*\*\*\*

承認申請に当たって求められるウイルス安全性に関する一連のデータ等に関しては ICH ガイドラインである Q5A がすでに調和ガイドラインとして発出されている。しかし、Q5A はバイオ医薬品の臨床開発時の治験の入る前、治験の初期段階、さらには治験後期等の各段階でどの程度のデータが求められるのかについては、記載されていない。臨床開発段階に入ったすべての治験薬が承認申請の段階まで到達できるわけではなく、むしろ治験薬の多くは開発が断念されたり、臨床試験の結果によっては製法の変更や品質・非臨床の追加試験データが必要になったりすることが多いといわれている。特に、製造方法・精製方法等を変更する必要が生じた場合、新たなウイルス安全性試験が必要になることも十分想定される。一方で、治験を受ける患者の安全性を確保することは、バイオ医薬品の根幹となる要素である。したがって、ウイルス安全性を確保しつつ臨床開発を合理的に進めることができれば、バイオ医薬品開発における過大な投資を避けることが可能となり、より適切にバイオ医薬品開発を進めることができると考えられる。

EMA の本指針案は臨床開発時、すなわち治験製品のウイルス安全性確保において考慮すべき点を明らかにするためのものである。すなわち、臨床開発前にあるいは臨床開発中に求められるウイルス安全性評価試験や特にウイルスバリデーション試験の基準と範囲について述べられている。治験製品では、表 8 に示すように、製造細胞の実績やどの程度、特性解析ができていくかに加え、開発している企業がそ

の細胞についてどの程度の実績を有しているか、さらには採用している製造工程の経験なども考慮して必要なウイルス試験を実施するように求めている。

また、ウイルス安全性評価試験に関して、治験開始までに MCB についての特性解析を実施しておくべきことや、工程の総クリアランス値はもとめる必要は無く、むしろウイルスクリアランスに寄与する重要工程を明確にすること、さらには社内データやこれまでの製品での経験について引用可能な範囲についても述べられている (表 9)。

さらに表 10 に示すように、ウイルス安全性試験では、PCR や細胞アッセイ法などの代替法の採用を明確に示すとともに、その場合には十分なバリデーションを行っておくことを求めている。特に、PCR 法を用いたウイルスクリアランス評価は、従来の感染性を指標とするアッセイ法と異なり感染性のないウイルスゲノム断片も検出してしまふなどの欠点があり、ウイルスクリアランスを過大評価、あるいは逆に過小評価する欠点が指摘されていた。一方で、PCR 法は、感度や迅速性に優れており、このような長所を生かした代替法としての有用性を積極的に活用していくために、アッセイ法としてのバリデーションに当たっての注意点について言及しており、将来的には治験薬ばかりでなく承認申請におけるウイルス安全性試験としても利用できる可能性があると考えられる。また、PCR 法と感染性試験とを組み合わせた感染性 PCR 法の有用性についても今後の課題と思われる。

## C. 5. 2 TGN1412

### 1. EMEA ガイドラインの概略

EMA のガイドライン "Guideline on

strategies to identify and mitigate risks for first-in-human clinical trials with investigational medicinal products”では、化学薬品および生物薬品をガイドラインの適用対象として、ヒト初回投与試験で有害事象が生じるリスク要因に関する考え方が示されている。そして、品質評価、非臨床試験の実施、初回臨床試験のデザイン等において、リスクを低減あるいはリスクに対処する方法が提示されている。

#### EMA のガイドラインの仮訳

### GUIDELINE ON STRATEGIES TO IDENTIFY AND MITIGATE RISKS FOR FIRST-IN-HUMAN CLINICAL TRIALS WITH INVESTIGATIONAL MEDICINAL PRODUCTS

#### 1. リスクの要因

治験薬のヒトへの初めての使用で生じる得る重篤な有害反応を予測するための方策の一つは、リスク要因を明らかにすることである。

(1) 作用機構、(2) 標的の性質、あるいは、(3) 動物モデルの妥当性に関して、リスクが高いという知見がある場合、または、これらが不明確な場合には、リスクがあると懸念されるであろう。

開発者は、全てのヒト初回投与試験に関して、治験申請書の中で下記の判断基準について考察すること。これらの判断基準は、ケースバイケースで考慮されるべきである。

#### 作用機構

新規な作用機構を持つことで必ずしもリスクが増すわけではないが、考えられる作用機構について、新規性と明らかになっている知見の程度について考慮すること。特異的な標的および標的外分子に対して生じる医薬品の

作用の性質と強さ（影響の及ぶ範囲、増幅性、持続性、可逆性）、さらにその下流の反応機構がこれに含まれる。実験により求められた用量反応曲線のタイプと傾き、すなわち、考えられる濃度の範囲で直線性が成り立つか、あるいは、非直線性か（最大効果でプラトーとなる、濃度変化以上に反応の変化が大きい、U型、ベル型）、といった特徴が重要である。

例えば、以下のような作用機構には、特に注意が必要であると考えられる。

— 複数の情報伝達系に関連する分子を標的として含む作用機構（多様な効果を持つ標的）。

例えば、免疫系にしばしばみられるように、様々な生体反応につながる場合、標的が普遍的に発現している場合など。

— 生理的なフィードバック機構（例えば、免疫系、血液凝固系）による制御を越えて効果が増幅されるカスケード反応やサイトカイン放出。CD3 あるいは CD28 アゴニストがその例である。

作用機構に関連したリスク分析を行う際には、次のことも考慮に入れるべきであろう。

— 関連する作用機構を持つものがヒトに投与された過去の例

— 薬理作用を介した重篤な毒性発現のリスクに関する動物モデル（トランスジェニック動物、ノックインあるいはノックアウト動物などを含む）での実験結果

— 有効成分の分子構造の新規性。例えば、受容体との相互作用を向上させた新規な改変体

#### 標的の性質

ヒトにおける標的分子については、詳細に記載すること。作用機構以上に、標的分子の性質自体もヒト初回投与試験におけるリスク要因となり得るため、解析結果に基づき、下記について考察すること。

—ヒトにおける標的分子の構造、組織分布（ヒトの免疫系細胞での発現を含む）、細胞特異性、疾患特異性、機能制御、発現量、下流の反応系への影響を含む生物学的な機能、さらに、それらの個人差や患者と健常人での差に関する知見の程度。

—可能であれば、適切な動物種あるいはヒトにおける標的分子の遺伝子多型、および、医薬品の薬理作用への遺伝子多型の影響。

#### 動物種とモデルの妥当性

標的分子、標的分子の構造上のホモロジー、分布、情報伝達経路、薬理効果の性質を考慮して、利用可能な動物種とヒトとの比較を行うこと。

治験薬の薬理作用および毒性作用の評価を通じて、利用可能な動物種/モデルの妥当性が疑わしいと考えられた場合は、リスクが増すと考えること。

## 2. 品質

物理化学的性質および生物薬品の場合の生物学的性質の解析に関して求められる要件は、全ての治験薬に共通である。品質特性は、それ自体がヒト初回投与試験におけるリスクの原因とはなり得ないであろう。しかし、ヒト初回投与試験に先立つリスク評価においては、品質特性も考慮すべきである。

考慮すべき要点は、以下の通り。

#### 活性と力価の決定

安全な初回投与量を求めるためには、製品の活性や力価を測定する方法が、妥当であり、信頼でき、適格である必要がある。例えば、生物活性を基準として任意の単位で用量が表示され、測定系が適格でない場合や、測定系の信頼性が十分検証されていない場合は、非臨床試験で用いられた用量が正確でなく、安全な用量に関して誤った解釈がなされてしま

う可能性がある。従って、生物活性の測定には、開発の早い段階から標準物質を整備することが重要である。生物薬品では、機能あるいは生物活性を測定するバイオアッセイがない場合は、その正当性を示すこと。

#### 使用される製品の適格性

非臨床試験に用いられる製品は、ヒト初回投与試験で用いられる製品を体現したものでなければならない。開発の早い段階においても、適切な品質特性解析を行うことが重要である。製品の特性解析においては、不均一性、分解物プロファイル、および、工程由来不純物などの評価を行うこと。薬理活性あるいは毒性を持つ可能性のある不純物には特に注意すること。有効成分および製剤の特性解析を十分に行うために、試験法の妥当性と適格性に特に注意を払うこと。

非臨床試験からヒト初回投与試験に移行する際に、もし製品の品質に違いがあるならば、特に安全性に関して、臨床上、悪影響がないことを、十分に保証すること。さらに、開発の初期段階では、製造方法が変更されることがしばしばある。複雑な分子の場合は特に、製法変更により、おそらく特性解析では検出されないものの生物学的性質や臨床効果に影響し得るような微細な変化が有効成分に生じる可能性があるため、注意が必要である。

臨床に関する主要な決定は非臨床データに基づくため、非臨床試験のデータが引き続き有効であることを示すことが重要である。

次のような場合には、ヒト初回投与試験に用いる予定の製品について、追加の非臨床試験が必要となるであろう。

- 非臨床試験用と臨床試験用の製品に品質特性上の相違があり、その違いが臨床効果に悪影響を及ぼす可能性が考えられる

場合。

- 製造方法が変更された場合で、生物学的性質の評価を含む製品の特性解析が限られていて、非臨床試験で用いられた製品が臨床試験で用いられる製品を体現していると保証できない場合。

#### 超低用量の信頼性

指定された処方で、設定された用量どおりの量が投与されることを示すこと。非常に低い用量を調製するために製品を希釈して用いる場合、あるいは、製品が非常に低い用量で供給される場合には、器壁や点滴システムへの吸着のために用量の正確性が低下するリスクがある。その場合、初回臨床投与量の安全性と非臨床の安全性データを過大評価してしまう可能性がある。従って、適宜、最初に包装された製品と投与システム中の製品の互換性を調べるべきである。

#### 3. 非臨床試験：動物モデルの妥当性の評価

ヒトと動物では、生物学的な反応において、質的および量的な違いが生じるであろう。例えば、標的分子との親和性、標的分子の組織分布、標的との結合に起因する細胞応答、細胞機能の調節機構、代謝経路、生理的バランスが崩れることに対する代償反応などにおける相違である。

ヒト由来細胞と試験に用いる動物種に由来する細胞を比較した *in vitro* 試験で作用に種特異性があることが示された場合は、ヒトの *in vivo* での反応を予測するという点で、その動物種を用いた *in vivo* 評価系の価値は下がるであろう。ただし、ヒト細胞と動物細胞で同様の反応が得られたとしても、*in vivo* で同等の結果が得られることが必ずしも保障されるわけではないことに注意が必要である。

現実的に、種特異性の高い医薬品の動物実

験による評価では、以下のような可能性がある。

- ヒトで予想される薬理作用を検出することができない
  - 薬物動態および薬力学の解析結果の誤った解釈につながる
  - 毒性作用を見出すことができない
- 知見の重要性に基づいて方針を決定するプロセスでは、*in vivo*, *ex vivo*, *in vitro* のデータを統合して解釈すること。

種特異性の高い医薬品では、ヒトでのリスクを非臨床試験で評価することがより難しいが、種特異性が高いことで必ずしもヒト初回投与試験におけるリスクが増すわけではない。

動物モデルの妥当性を示すためには、下記のような点についてヒトとの比較を行うことが考えられる。

- 標的分子の発現、分布、一次構造。ただし、標的分子のホモロジーが高いことは、必ずしも同等の効果が得られることを意味しない。
- 薬力学
  - ・ 結合と占有率、必要に応じて細胞のシグナル伝達を含めた機能発現の結果
  - ・ 他の機能ドメインがある場合には、動物におけるそのドメインの機能に関するデータ（例：モノクローナル抗体の Fe 受容体システム）
- 代謝および他の薬物動態
- ヒトと動物の組織を用いた交差反応試験（例：モノクローナル抗体）

適切な動物モデルを探索した過程は詳細に記載し、その妥当性を示すこと。

適切な動物種が存在しない場合は、その動物にとっての相同タンパク質の利用またはヒト

型の標的分子を発現させたトランスジェニック動物の利用が唯一の選択であろう。医薬品と標的分子の相互作用によりヒトで予想されるものと同様の生体反応が得られる場合、データはより有用である。ヒト細胞を用いた *in vitro* 評価系の利用により、適切な追加情報が得られる。

用いられた全てのモデルの妥当性と限界については、注意深く考察し、添付する書類に全て記載すること。

#### 4. 非臨床・臨床試験：ヒト初回投与量の設定

初回投与量の設定はヒト初回投与試験の被験者の安全確保において、重要な要素である。用量設定には利用可能な全ての情報を考慮し、ケースバイケースの原則に基づいて行わなければならない。原理の異なるいくつかの方法が利用可能である。

一般には、最も感受性の高い適切な動物種を用いて実施された非臨床安全性試験により求められた最大無作用量 No Observed Adverse Effect Level (NOAEL) を、allometric factor または薬物動態学的解析に基づいて補正したものが、最も重要な情報となる。適切な投与量は、分子の特性や臨床試験のデザインに応じて、適切な safety factor を用いてさらに補正することにより算出される。

上記 1. に従いリスク要因があると考えられた治験薬では、用量設定のためにその他の方法を考慮すべきである。薬力学に関する解析が用量設定のための有用な情報となり得る。MABEL (Minimal Anticipated Biological Effect Level: 最小子測生物学的影響量) を用いる方法が推奨される。MABEL は、ヒトで最小限度の生物学的影響が得られると予測される用量である。この方法を用い

る場合は、*in vitro* 試験などから明らかになるように、ヒトと動物の間で治験薬の作用機構に関して生じ得る感受性の違いを考慮する必要がある。下記のように MABEL からヒト初回投与量を算出する際には、safety factor を適用しうる。

MABEL の算出には、以下のような薬物動態/薬力学 (PK/PD) データから利用可能な全ての *in vitro* および *in vivo* の情報を利用すること。

- i) ヒトおよび適切な動物種由来の標的細胞における *in vitro* での標的分子との結合および占有率
- ii) ヒトおよび適切な動物種由来の標的細胞における *in vitro* での用量反応曲線と、適切な動物種における *in vivo* での用量反応
- iii) 適切な動物種への薬理量の投与

可能な限り、MABEL 算出のために上記データを PK/PD モデルに統合して解析すること。

ヒトで有害反応が生じる可能性をさらに限定するため、MABEL からのヒト初回投与量算出には、safety factor が適用される場合もある。その際には、有効成分の新規性、生物活性、作用機構、種特異性の程度、用量反応曲線の形、MABEL 算出の不確かさなどのリスク要因を考慮する。用いた safety factor の妥当性を示すこと。

使用した方法 (例: NOAEL、MABEL) により算出されたヒト初回投与量が異なる場合は、正当性が示されない限り、最も低い用量を用いること。

癌患者を対象に従来型の細胞毒性を持つ治験薬の試験を行うような特別な状況では、他の方法を取ることも考えられる。

## 2. EMEA ガイドラインの特徴

このガイドラインは、TGN1412 の事故を受けた今後の対策の一環として作成されている。TGN1412 事故の検証にあたった専門家グループからの報告書では、

- ・新規な作用機構を持つ生物薬品
- ・種特異性の高い新薬
- ・免疫系に直接作用する新薬

の3種類を、ヒト初回投与試験で有害反応のおこるリスクが高い、あるいは、非臨床試験でのリスク評価が難しい医薬品として挙げ、これらハイリスク薬の品質および非臨床・臨床試験に関する推奨事項が述べられていた。EMEA ガイドラインもドラフトの段階では、上記3種類に限定してはいないが、リスクの高い医薬品（化学薬品および生物薬品）を適用対象としていた。ドラフトをもとに、パブリックコメントやワークショップを含めた議論を経て策定されたガイドラインでは、全ての化学薬品および生物薬品を適用対象とし、リスク要因として考えるべきことを述べた形となっている。リスクの程度に関する判断基準は、個々の医薬品によって異なる、という意見が採用されたものと思われる。遺伝子治療薬と細胞治療薬はドラフトの段階から一貫して適用対象外となっている。

EMEA ガイドラインでは、ヒト初回投与試験で有害事象の発生が懸念されるのは、作用機構、標的の性質、あるいは、動物モデルの妥当性を考えたときに、リスクが高いという知見がある場合、または、それらが明確でない場合、の2通りであるとされた。このように、非臨床試験から臨床試験への移行に焦点を絞り、ヒト初回投与試験で有害事象が生じるリスク要因に関する考え方を明確に記載した点が EMEA ガイドラインの最も重要な特徴である。

TGN1412 の臨床試験で初回投与量の設定が適切でなかった可能性が高いことを受け、EMEA ガイドラインでは、リスク要因のある医薬品のヒト初回投与量の算出には MABEL を基準とした方法が推奨され、さらに、MABEL の算出のための方法が示された。これまで、マイクロドーズ試験のような特殊な場合を除き、臨床投与量は毒性を指標に NOAEL を基準として考えられていたが、リスクの高い医薬品では、薬理作用を基準にヒト初回投与量を算出することを考えるべきであるということが明確に記載されている点も、本ガイドラインの特徴である。

ただし、ヒト初回投与量の設定に MABEL を基準とすることが推奨されるのは、ヒト初回投与試験で有害反応が生じるリスクが高いと考えられる場合であり、全ての治験薬について初回投与量を MABEL 以下とすることが求められているのではない。初回投与量を低く設定することは、臨床試験に必要な被験者数の増加と開発期間の延長につながることも考え、安全性を重視しつつ、個々の医薬品の特性に応じて、最も適切な初回投与量設定を考えるべきであろう。

適切な動物種がない場合の相同タンパク質やトランスジェニック動物の利用について、ICH S6 ガイドラインでは、“should be considered”とされているが、EMEA ガイドラインのドラフトでは、“is strongly recommended”とされた。確定した EMEA ガイドラインでは、“may be the only choice”と、やや表現が弱められている。相同タンパク質やトランスジェニック動物を用いた評価では、有用な情報が得られる場合があるものの、ヒトでの作用を完全に予測し得るものではない等の意見が採用されたものと思われる。TGN1412

の開発過程では、TGN1412 が作製される以前に、マウス抗ラット CD28 抗体 JJ316 (サブクラスは IgG1) を用いて CD28 アゴニスト抗体の有効性や作用機構が検討されていた。JJ316 は TGN1412 の相同タンパク質であるとも考えることもできるが、ラットでは問題となる有害反応が生じていなかったことを考えると、TGN1412 の安全性評価においては、相同タンパク質は有用でなかったと言える。

EMEA ガイドラインでは医薬品の品質に関する留意事項も具体的に記載されている。特に、バイオ医薬品では、医薬品の製造のために細胞を利用すること、有効成分が複雑な構造を持つことなどから、製品の品質が製造工程の影響を受けやすい。すなわち、生産用細胞株、培養条件、精製工程などにより、糖鎖などの修飾部分も含めた最終製品の構造、分解物、不純物プロフィールなどが変動する可能性があり、これらの変化が製品の薬理作用や毒性に影響することも考えられる。有効成分が糖タンパク質である場合は、得られる有効成分が複数の糖鎖構造を持つものの集団であり、構造上の不均一性を示すために、製造工程の変動により特に品質に差が生じやすい。抗体も糖タンパク質であり、糖鎖構造が生物活性に影響することが知られている。その一方で、バイオ医薬品の開発段階では、発現効率や精製効率の向上、混入汚染物質の不活化効率の向上、あるいは、コスト削減などのために、製造工程に変更が加えられることが少なくない。基礎研究から非臨床試験、臨床試験と移行するに従い、必要な製品の量も増えるため、スケールアップは必至である。

このような事情を背景に、EMEA ガイドラインでは、非臨床試験で用いられた製品と臨床試験で用いる製品の品質特性に差がないことに注意すべきであること、製造工程に変更が加

えられた場合や、製法変更の有無によらず品質特性に差が検出された場合に、臨床試験用の製品を用いた追加の非臨床試験が必要とされる場合があることが明記されている。開発の各段階で製品の品質の一定性を確保するためには、ガイドラインに示されているように、早い段階から適切な標準品を作成することが有効であると思われる。

## C. 5.3 抗体医薬品の品質特性解析

### C. 5.3.1. 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 (EMEA) 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