

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. 3. 2 製造工程

C. 5. 3. 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つ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[17, 18, 19]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[20]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. 3. 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ェ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. 3. 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ットの最適化（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. 3. 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 10 に示すように、バルクハーベッ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での酸性処理工程、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. 3. 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[17]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ッ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工程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ニ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[21]。

C. 5. 3. 3 特性解析

C. 5. 3. 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[18]に従い、抗体の生化学的/物理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[22]。

C. 5. 3. 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シ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 11)。

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パ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 12)。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[23, 24]。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[25]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. 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。なお、表 11 に解析すべき抗体医薬品の生物活性や免疫学的特性を示す。

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. 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になれば、有用な評価法となってくると期待される。

C. 5. 3. 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(6)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 Galα1-3Gal 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. 3. 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[26]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

C. 6. 1 遺伝子治療による遅発性の有害事象に関するリスク評価法と被験者の長期フォローアップ観察

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、FDAはレトロウイルスベクターを用いた遺伝子治療薬試験に参加した被験者の増殖性ウイルス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[27]）。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、2006年11月に本ガイダンスを発出した。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[27]を補足する内容ともなっている。

以下に本ガイダンスの概要を示す。

C. 6. 1. 1 序

本ガイダンスは、遺伝子治療用治験薬のスポンサーに対して、遺伝子治療用治験薬を使用した被験者における遅発性の有害事象に関してのデータの収集法を含めた実験計画の勧告を提示するものである。

内容は、

- (1) 遺伝子治療用治験薬投与後に生じる遺伝子治療に関連する遅発性有害事象のリスク評価の方法
- (2) 被験者の長期フォローアップ観察で科学的に意味のある情報を得るための方法
- (3) 長期フォローアップ観察の期間と計画に関する具体的なアドバイス

本ガイダンスでは以下のトピックはカバーしない。

- ・ 生殖細胞系列への予期せぬ遺伝子導入
- ・ 感染症予防に用いるワクチン
- ・ 被験者の長期フォローアップ試験の実施が市販後又は承認時の要求事項である場

合

- ・ 導入遺伝子を持たない腫瘍溶解性増殖性ウイルス
- ・ 被験者に接触した人、市民、又は環境中にベクターが排出されるリスク

遺伝子治療臨床試験が被験者に対して長期のリスクを与えるものの場合、遺伝子治療臨床試験ではそのリスクを軽減するために長期フォローアップ観察を実施しなければならない。本ガイダンスは、以下に記載する場合を除き、遺伝子導入技術を用いた臨床研究のすべての被験者に対して適用される。本ガイダンスの勧告内容は遅発性の有害事象、すなわち遺伝子治療用治験薬投与後1年以上たってから発現する有害事象に関する長期観察の実施に限定される。

C. 6. 1. 2 背景

C. 6. 1. 2. A 遺伝子導入技術を受けた後の遅発性有害事象のリスクの可能性

遺伝子導入技術を使用した被験者には、遺伝子や遺伝子の運搬に用いられるその他の物質の持続的な生物活性による遅発性の有害事象のリスクがある。持続的な生物活性は、製品の持続的な臨床効果を得るためには必須であるかもしれない。しかし、持続的な生物活性は正常な細胞機能に対して副作用を示す可能性があり、被験者に対して、場合によっては数ヶ月、数年も経った後で生じる可能性のある有害事象の進展のリスクを負わせるものである。

遺伝子導入技術を使用した後で起こる遅発性の有害事象のリスクを上げると考えられる要因には、ウイルスベクターの持続性、遺伝子の宿主ゲノムへの組み込み、導入遺伝子の長期的発現、宿主遺伝子の発現の変化が挙げられる。ウイルスベクターの持続性は、潜伏感染による

場合もあるが、遺伝子の持続的発現やウイルス感染の遅発性の影響を可能にする。ウイルスベクターから宿主のゲノムDNAへの遺伝物質の組み込みは、悪性形質転換のリスクをもたらす。導入遺伝子の発現の延長は無秩序な細胞増殖や悪性形質転換、自己抗原への自己免疫様反応、予測できない副作用に由来する長期リスクとも関連する可能性がある。宿主遺伝子の発現の変化は予測不可能で望ましくない生物学的事象をもたらす可能性がある。

C. 6. 1. 2. B これまでのFDAの勧告

FDAは2000年9月、レトロウイルスベクターを用いた遺伝子治療に関するガイダンスを発出した[27]。レトロウイルスは、非臨床研究においてレトロウイルスベクターで遺伝子導入した細胞を投与後に悪性腫瘍が発症したケースが報告されていたため[28]、最もリスクが高いと考えていたからであり、そのガイダンスではレトロウイルスベクターを用いた遺伝子治療の被験者に関する長期観察の実施に特化した勧告を行った。

FDAは当時、その他の遺伝子治療薬を投与された被験者の長期リスクに関して追加の情報を考え、Biological Response Modifiers Advisory Committee (BRMAC)の会議を2000年11月17日、2001年4月6日、2001年10月24日の3回開催してアドバイスを求めた。2001年以降、BRMACの勧告を検討し、遺伝子導入技術に関わる研究のスポンサーに対して長期フォローアップ観察の計画を提出するよう求めた。通常、スポンサーには被験者に対して遺伝子治療に関連する遅発性の有害事象の可能性を15年間観察すること、最低5年間は毎年検査を実施し、後の10年間は直接ある

いは書面で毎年問い合わせを行うことを求めた。

C. 6. 1. 2. C 遺伝子治療団体からの問題提起

遺伝子治療団体のメンバーは、遺伝子導入技術を用いた後の長期フォローアップに関する問題を公開フォーラムで議論するよう求めた。そこで、2004年6月、米国遺伝子治療学会と共同で公開ワークショップが開催され[29]、以下の課題が確認された。

- 全ての遺伝子治療薬が遅発性の有害事象について同じリスクを持つわけではなく、全ての遺伝子治療薬に関する一律の長期フォローアップの勧告は製品の特性を考慮していない。
- 被験者の中には、余命が短い、健康状態が悪い、突然変異誘発物質を使用したなど、長期フォローアップが無意味な人もいる。
- 長期フォローアップの期間や計画の勧告はあまり具体的でない。

これらの問題点についてはC.1.4項、C.1.5項で述べる。

C. 6. 1. 3 用語の定義と略号

- 遺伝子治療用医薬品：導入した遺伝物質の転写または翻訳を介して効果を得る製品又は核酸、ウイルス、遺伝子改変微生物として投与されたもので宿主ゲノムへの組み込みを介して効果を得る製品のこと。*In vivo* で使用する場合と、投与前の細胞に*ex vivo* で導入される場合がある。
- 遺伝子導入：遺伝物質を細胞に導入すること。
- 遺伝子導入系：ベクター、調節機構、ベクターの組成、ベクターの運搬の経路と方法を組み合わせたもの。

- ・ 遺伝子導入技術：遺伝物質を単独で、あるいは脂質、ウイルス、その他の微生物などの適切な媒体を用いて、転写、翻訳、宿主ゲノムへの組み込み、あるいはこれらの組み合わせにより効果を得るために使用すること。遺伝子導入技術の使用は、被験者への製品の直接の投与による場合と、被験者への投与前に *ex vivo* で製品に用いた細胞や組織を用いる場合がある。
- ・ IND：新薬臨床試験開始届
- ・ (DNA の) 組み込み：外来の DNA 配列をゲノムに取り込む過程。
- ・ 潜伏感染：ウイルスが宿主に明白な臨床症状を呈さずに存在する期間。
- ・ 長期フォローアップ観察：通常の治験で予定される観察を継続し、延長して評価すること。長期フォローアップ観察は遺伝子治療のように遅発性の有害事象のリスクが高いと考えられる新薬試験では不可欠である。
- ・ (非臨床での) 最大投与量 (MFD)：ヒト以外の動物に投与可能な最大量。限度値は動物の大きさ、投与部位、製品の特性に依存する。MFD は臨床的に意義のある投与量とは等価ではない。
- ・ 持続性：遺伝物質の導入に関して、遺伝子導入物質を投与した宿主に遺伝子配列が継続して存在することを指す。遺伝子配列は宿主ゲノムに組み込まれる場合と遺伝子配列を持つベクターが潜伏感染する場合がある。
- ・ 非臨床試験：ヒト以外の動物を用いたり、ヒトやその他の動物から単離した細胞、組織を用いて実施する治験薬の試験。非臨床試験は臨床試験前あるいは試験中に実施される。
- ・ (ウイルス感染の) 再活性化：潜伏感染の後で、ウイルス感染の症状あるいは無症候性ウイルス感染が再度出現すること。
- ・ 導入遺伝子：宿主細胞に導入された外来遺伝子。
- ・ ベクター配列：遺伝子治療用ベクターに導入された DNA または RNA いずれかの特定の核酸配列。配列にはベクター骨格、導入遺伝子、調節配列の遺伝子治療用ベクターすべての構成要素が含まれる。
- ・ ウイルスベクター：遺伝物質を運ぶように改変されたウイルス。

C. 6. 1. 4 遺伝子治療の治験における遅発性リスクの評価に用いられる非臨床試験データ

C. 6. 1. 4. A 遺伝子治療により起こる可能性のある遅発性のリスクの評価基準

遺伝子治療技術の使用による遅発性の有害事象のリスクが低い場合、通常、長期フォローアップ観察は求めない。製品のリスク評価には、非臨床及び臨床で得られた利用可能な証拠を用いること。遅発性の有害事象のリスク評価には、当該製品及び類似の製品について実施された試験に基づく現在までの情報を用いてもよい。データの蓄積に従い、製品のリスクを再評価することが重要であり、適合する場合は長期フォローアップ観察に関するプロトコルを修正すること。

リスク評価とは継続的なプロセスである。新たな情報により長期フォローアップ観察の必要性や現行の試験の修正が示されるかもしれない。例えば、最近の報告で当該製品や類似の製品に関する新たなリスクが判明した場合、これらのベクターの投与を受けた被験者の長期リスクを軽減するには長期フォローアップ観察が必要となる。同様に、製品が遅発性のリス

クと無関係であることを示唆する十分なデータが蓄積された場合には、長期フォローアップ観察の規定は軽減あるいは削除が適切である。

当該製品または類似の製品に関して、既に得られている適切な非臨床及び臨床試験の経験は、遅発性の有害事象の評価において非常に関連がある。同じベクタークラス、同様の投与経路、同じ臨床適応の製品での経験は役に立つ情報となる。

リスクのレベルを評価するには、図 13「遺伝子治療による遅発性の有害事象のリスク評価のためのフレームワーク」を参照すること。これにより遅発性の有害事象のリスクが低い場合には、被験者のリスク軽減のための長期フォローアップ観察の計画は必要ないであろう。質問 1~3 の回答には非臨床試験の結果が役に立つ。当該 IND を FDA に提出するときには、有害事象のリスク評価に関連するすべてのデータを示すこと。

以下の質問に回答するために図 13 のフレームワークを使用すること。

・質問 1：当該遺伝子治療用医薬品は *ex vivo* での細胞の改変のみに使用するものか？

「いいえ」の場合質問 2 に、「はい」の場合質問 3, 4 に進む。

・質問 2：非臨床試験結果によりベクター配列の持続性が認められるか？

「いいえ」の場合、遺伝子治療に関連する遅発性の有害事象のリスクは非常に低く、長期フォローアップ観察も必要ないであろう。「はい」の場合、質問 3, 4 にすすむこと。

ベクターの持続性が不明の場合、リスク評価には持続性と仮定するか、あるいは適切な動物種を用いてベクターの持続性を評価する非臨床試験を実施することが望ましい。非臨床試験の計画と詳細及び生体内試験における PCR 試

験の望ましい感度については、C.1.4.B、「ベクターの生体内分布と持続性を評価するための非臨床試験計画の考慮事項」を参照すること。ベクターの持続性は、ベクターの最終投与後に実施する試験において、ベクター配列が PCR 試験の閾値以上の検出レベルにあり、複数の時点で下降傾向が認められないことで示される。反対に、感度の良い PCR 試験でもベクター配列が検出できない場合、あるいはベクター配列の検出が時間経過に伴い下降する場合には持続性があるとはいえない。

・質問 3：ベクター配列は組み込まれているか？

「いいえ」の場合、質問 4 に進むこと。「はい」の場合、臨床プロトコルには長期フォローアップ観察を入れることが求められる。

・質問 4：ベクターは潜伏感染、再活性化能を有するか？

「いいえ」の場合、その遺伝子導入技術を受けても遺伝子治療による遅発性の有害自称が起るリスクは低い。長期フォローアップ観察は必要ないであろう。「はい」の場合、すべての臨床プロトコルに長期フォローアップ観察を入れることが求められる。

類似の製品の投与による遅発性の有害事象のリスクが低いという研究室レベル、非臨床試験での証拠がある場合は、長期フォローアップ観察は必要ないと出るかもしれない。類似の製品のデータを提出する場合、明快な説明を提示すれば当該製品との関連を評価することが可能である。

以下に 2 つの例を示す。

・当該製品がプラスミドで、類似の製品もプラスミドであるが、治療用遺伝子をコードする配列が異なる。類似の製品は非臨床及び臨床試験に使用されており、当該製品と

同一の投与経路、同一の最終処方である。類似の製品のベクターに持続性がないことを示す論文を引用することは当該ベクターの持続性に関して適切に述べているといえる。

- 当該製品と類似の製品とは投与経路のみ異なる。類似の製品は腫瘍内に投与する。当該製品は静脈内に投与する。腫瘍内に投与した場合にはベクターに持続性がないことが報告されている。このような場合、類似製品の試験から得られたデータは十分に関連性があるとはいえない、なぜなら当該製品の全身性投与に関するデータがないからである。したがって、被験者の長期リスクを軽減するための長期フォローアップ観察が必要ないと結論付けるには類似性は不十分である。類似製品の試験で関連するデータがない場合、非臨床試験で当該製品を静脈内投与し、ベクターの持続性のリスク評価を行うことを推奨する。

当該ベクターはヒト宿主に持続性がなく、ベクターのDNAはヒトゲノムには組み込まれないとの結論を支持する十分な証拠が類似製品の試験で得られていると考える場合、長期フォローアップ観察を行わない臨床プロトコルを提出する判断をするかもしれない。そのような申請書をFDAが審査し、申請書の調査あるいは他の情報から判断に同意できない場合には、長期リスク軽減のために遅発性の有害事象の長期フォローアップ観察の実施が不可欠であると結論付ける。

遅発性の有害事象に関する長期フォローアップ観察の実施を求める例を以下に示す。

- 非臨床毒性試験で、導入遺伝子の発現が遅発性の毒性と関連性があることを示す場合。
- 導入遺伝子が宿主の遺伝子を機能的に代替する場合。導入遺伝子産物が免疫原性を持つ可能性がある場合。
- 非臨床試験データではベクターの持続性がないことを示すが、短期の臨床試験においてベクターの持続性を示すデータが集積された場合。

C. 6. 1. 4. B ベクターの生体内分布及び持続性評価のための非臨床試験計画における考慮事項

C.1.4.Aで論じたように、ベクターの持続性は遺伝子導入技術を受けた後の遅発性の有害事象のリスクを高めるものである。実際、ベクターが長期間持続するほど、遅発性の有害事象のリスクの期間と程度は大きくなる。ベクター配列を高感度で定量的に検出可能な方法を用いて非臨床生体内分布試験を実施することを推奨する。そのような試験では*in vivo*で直接投与後のベクターの非標的組織への分布と非標的組織、標的組織両方でのベクターの持続性を調べるように計画すること。可能であり妥当な場合には、ベクターの導入又はベクターの複製が可能な動物種、目的導入遺伝子に生物学的応答を示す動物種を試験に用いることが望ましい[5]。非臨床試験の期間は、用いる動物モデルにより異なる。被験者での遅発性の有害事象の予測は、可能であれば動物での適切な長期観察のデータにより評価する。

動物での生体内分布試験は、独立試験としても毒性試験の一部として実施することも可能である。ベクターの局在と持続性を評価できるように、動物試験の計画には以下の点を考慮

すること[30]。

C. 6. 1. 4. B. 1 動物試験の計画

- ・ 最終処方を変更すると生体内分布が変わる可能性があるため、臨床試験で用いる最終処方の製品を用いること。
- ・ 雌雄両方を用いること、単一の性を用いる場合はその妥当性を示すこと。
- ・ 一群の各時点の測定に、げっ歯類の場合は雄雌各5匹以上、げっ歯類以外では雄雌各3～5匹を用いること。
- ・ 試験計画では、動物の年齢や生理的状态など、ベクターの分布や持続性に影響する可能性のある要因を考慮すること。
- ・ 可能であれば、ベクターの投与には臨床の投与経路を用いること。
- ・ ベクターの生体内分布について、媒体のみのコントロール群と最大投与量(MFD)または臨床投与量に該当する量を投与した動物の群で評価すること。他の投与量での試験では用量依存的な情報が得られる。
- ・ 同一の動物モデルを用いて実施した別の毒性試験で安全性指標が設定されていない場合、ベクターの存在・持続性と副作用との相関の可能性を評価するために、生体内分布試験に適切な安全性指標を含めること。安全性指標には臨床観察、体重、臨床病理、臓器病理、組織病理を含めること。
- ・ ベクターの分布と持続性の動態を調べるために、複数の時点で調べる。ベクター配列の組織からのクリアランスを評価するため、ベクター検出のピークと予想される時点と、それ以降の数点で調べることを望ましい。

C. 6. 1. 4. B. 2 組織の採集と分析

- ・ 少なくとも以下の組織パネルを収集して分析すること：血液、投与部位、生殖腺、脳、肝臓、腎臓、肺、心臓、脾臓。ベクターの種類と導入遺伝子、投与経路によっては他の組織の評価も考慮すること(例えばリンパ節、皮下・筋肉内投与では投与と反対側の部位、骨髄、目など)。
- ・ 他の組織試料による汚染の可能性がない組織採取法を選択すること。
- ・ 試料のベクター配列の分析には定量的で高感度なPCR試験を用いること。選択した試験法が動物及びヒトの組織でベクター配列を特異的に検出できることを示すデータをINDに提出すること。PCR技術は絶えず変化しており、試料の分析前にアッセイ法について検討することを勧める。現時点での推奨は以下のとおりである：
 - ・ 試験の定量限界はゲノムDNA 1 µgあたりベクター50コピー以下であり、この限界量を95%信頼限界で検出可能であること。
 - ・ 各組織で最低3サンプルを用いること。各組織の1サンプルには、PCR反応の妥当性を調べるために、コントロールDNAのスライクと、既知量のベクター配列を入れること。スライクコントロールでは当該PCR試験の感度がわかる。
 - ・ 調べたい組織と試料のサイズを考慮して、組織あたりの繰り返し数の根拠を示すこと。

C. 6. 1. 4. B. 3 その他の考慮事項

試験により生体内分布とベクターの持続性を適切に評価できるように、治験開始前にFDAと相談することを勧める。各ベクターの*in vivo*評価には結果と解釈に影響する多数の

要因がある。

C. 6. 1. 4. C 遅発性の有害事象のリスクとしてのベクターの組み込み能と再活性化

現在治験に用いられている 3 種類の遺伝子治療用ベクター (ガンマレトロウイルス、レンチウイルス、ヘルペスウイルス) は遅発性の有害事象のリスクが高いと考えられる。従って、FDA はこれらのベクターを投与された被験者の長期リスクを軽減するために、臨床での長期フォローアップ観察試験が必要と考えている。ガンマレトロウイルスとレンチウイルスは組み込み能があり、ヘルペスウイルスは潜伏感染と再活性化能がある。この項では、これらのリスクとこれらの能力を持たないベクターを用いた遺伝子導入技術の相対的に低いリスクについて論じる。

遺伝子治療の治験に用いられるベクターのほとんどは宿主細胞 DNA への組み込みの性質により分類できる (表 12)。表 12 と図 1 の質問 3 の回答に示すように、組み込み能を持つベクターはそのベクターを投与された被験者の長期リスクの軽減のために長期フォローアップ観察を行うことが必要とされる十分なリスクがある。

ヘルペスウイルスをベースにした遺伝子導入用ベクターも、遺伝子治療薬として用いる場合には、潜伏感染と再活性化能により遅発性の有害事象のリスクがある。潜伏感染の間、ウイルスとその遺伝子産物は不活化されている。再活性化は最初に投与してから数ヶ月あるいは数年も遅れて起こる。

ベクターの組み込み能は、遺伝子治療薬としての有用性を高めるために改変される場合がある。例えば、アデノウイルスベクターはその DNA を組み込めるように改変される場合があ

る[31-35]。他の例として、プラスミド DNA ベクターを細胞に導入する方法を、より高い組み込み頻度が得られるよう変更することもある[36]。遺伝子導入系の変更が持続性や組み込み能を変えてしまう場合、以下の行動をとること：

- ベクターの持続性を評価する適切な動物モデルを用いた非臨床試験データを提出すること。C.1.4.B.3に示すように、治験前に試験計画についてFDAと相談すること。
- ベクターに持続性がない場合、遅発性の有害事象のリスクは低いと予測される。長期フォローアップ観察は判断に任せる。
- ベクターが持続性を示す場合、ベクターの組み込みや潜伏感染・再活性化能を評価する非臨床試験を実施することが望ましい。
 - 遺伝子の組み込みや潜伏感染による持続性の証拠が認められなければ、遅発性の有害事象のリスクは低いと予測される。長期フォローアップ観察は判断に任せる。
 - 遺伝子の組み込みの証拠はないが、潜伏感染や再活性化についての結論が出ない場合や実施できない場合、潜伏感染又は再活性化の証拠が認められる場合、遅発性の有害事象のリスクの予測は確定できない。長期フォローアップ観察が求められる。
- ベクターの組み込みに関する非臨床試験ができない場合、遺伝子の組み込みが認められる場合あるいはベクターが潜伏感染して持続し再活性化されるかもしれない場合、遅発性の有害事象のリスクは高いか未知であり、被験者に対する長期フォローアップ観察は当然必要である。
- ベクターの組み込みに関する試験を実施

していない場合、当該ベクターが遅発性に有害事象について高リスクでないことを評価するための以下の項目を含むデータを提示すること。

- ・ なぜベクター組み込み試験を実施しないのかの説明。
- ・ 当該製品による遅発性の有害事象のリスク評価を支持する証拠。

プラスミド、ボックスウイルス、アデノウイルス、アデノ随伴ウイルス (AAV) をベースにしたベクターは組み込みや潜伏感染後の再活性化の性質を持たないベクターであり、それに反する証拠がないため、遺伝子治療による遅発性有害事象のリスクは低い。しかし、当該ベクターが組み込みや再活性化能が低い場合でも、非臨床試験や臨床データによりベクターの持続性が認められる場合、遅発性の有害事象のリスクの懸念が生じるため、長期フォローアップ観察が必要となる。例えば、AAVベクターは導入遺伝子の発現が持続性を示すことから、自己免疫疾患の可能性があり、遅発性の異常な免疫応答のリスクに考慮する必要がある。

一方、現在遅発性のリスクがあると考えられているベクターでも、リスクを低減するための改変が行われることもあり得る。したがって、新規ベクタータイプで遅発性有害事象のリスクが低減していることを示すデータを提示すれば、データに基づいて当該ベクター投与後の被験者の長期フォローアップ観察の必要性の再評価が可能となる。

C. 6. 1. 5 長期フォローアップ観察のプロトコルに関する勧告：臨床で考慮すべき事項

本項では、長期フォローアップ観察の計画と実施に適する基本原則を勧告する。

C. 6. 1. 5. A 長期フォローアップ観察の実施の決定

本項は長期フォローアップ観察が妥当なプロトコルに適用される。長期フォローアップ観察は以下の場合に必要とされる：

- ・ 図13回答で当該製品のリスクが高い又は未知の場合。
- ・ 製品に関する情報全体をみて、長期フォローアップ観察が被験者のリスクを軽減すると考えられる場合。具体例はC.6.1.4.Aの最後の段落を参照すること。

通常は長期フォローアップ観察が必要とされる場合でも、状況によっては治験の対象患者群の適合性に基つきその観察は科学的に意味がないと判断することもあり得る。長期フォローアップを実施しないと判断した場合、被験者群の観察を継続しないという判断の正当な理由をINDに提示しなければならない。以下の項では、長期フォローアップ観察の実施で得られる科学的に有益なデータの収集のための治験対象患者群のモニタリングの適切性を判断するのに用いる選択基準に関する情報を提供する。また、フォローアップ観察の期間と長期フォローアップでの観察に関する必要最低限の勧告について議論する。

C. 6. 1. 5. B 治験対象患者群の長期フォローアップ観察の適切性

選択された治験対象患者の余命が短いことが予想される場合、多重疾患に罹患している場合、他の薬剤を投与した場合などでは、被験者の長期フォローアップ観察の有用性は低いかもしれない。例えば、被験者が広範囲に及ぶ疾患に罹患していたり、放射線や化学療法など遅発性の有害事象を引き起こす可能性があるものを用いた場合、長期フォローアップ観察はほ

とんど効果がない。反対に、限定された疾患の場合や疾患がない被験者、併存疾患でも遅発性の有害事象の可能性のある薬剤の使用が限定されている場合、長期フォローアップ観察は非常に価値がある可能性がある。遺伝子治療の実施により余命や併存疾患が変わる場合、その治療における長期フォローアップ観察の妥当性に関する当初の評価を再検討する必要がある。

C. 6. 1. 5. C 望ましいフォローアップ観察期間

長期フォローアップ観察は、リスクのある被験者を観察するのに十分な期間実施すべきであり、その期間は製品の特性、投与法の性質、遅発性の有害事象発現が予想される時期に依存する。2000年11月17日、2001年4月6日及び2001年10月24日のBRMACでは長期フォローアップ観察の実施期間として、15年間を含めたいくつかの異なる期間を議論した(C.1.2.B参照)。FDAではBRMACの助言に基づき、最低15年間はフォローアップ観察を行うことを推奨した。しかし、個別の治療では支持する証拠に基づき、より短期間の観察でも適当な場合があることが判明した。長期フォローアップ観察の期間の決定に影響する要素は以下のようなのが挙げられる：

- ・ *in vivo*でのベクターの持続期間
- ・ *in vivo*での導入遺伝子の発現期間
- ・ 被験者群の事前、同時あるいは事後の遺伝子治療の実施
- ・ 被験者群の予想される生存率
- ・ 長期フォローアップ観察実施の可能性と科学的重要性に関連するその他の要因

C. 6. 1. 5. D フォローアップ観察の基本原則

このフォローアップ観察に関する勧告は

BRMAC会議での議論と勧告に基づいている。臨床データの蓄積に従い、長期フォローアップ観察の期間に関する勧告は変わりうる。

長期フォローアップ観察は臨床試験に参加した被験者の遺伝子治療に関連した遅発性の有害事象を見出すのに適切のように設計されていることが重要である。本文書では、試験プロトコールの一部となる長期フォローアップに関する一般的で必要最低限の基本原則の勧告を提示する。

治験責任医師は、治験薬投与群及び対照群の被験者各人について、全ての観察結果その他の治療に関連するデータを記録した適切で正確な病歴記録を作成し維持することが求められる。この記録には、製品を投与する前の全ての疾患、状態、身体的異常を記録した基準病歴が含まれる。治験のスポンサーは、治験責任医師ではない医療提供者（例えば被験者の担当医師、医師の助手、看護師など）に対して、そのような観察記録を取り治験責任医師に報告するための様式を作成することが望ましい。病歴記録には医療機関への定期的な訪問から得られた情報やベクター配列の持続性の試験結果も入れるべきである。ベクター配列の直接試験が被験者に侵襲的である場合、ベクターの持続性を示す代替試験を用いることもできる。

少なくとも最初の5年間は以下について実施することが望ましい。

- ・ 遺伝子治療に関連する遅発性の有害事象の検査の実施。
- ・ 治験責任医師は投与した発がん性物質その他の医薬品の全てに関する詳細な記録を病歴記録に残し、それらの副作用情報に容易にアクセスできるようにすること。
- ・ 各被験者について、病歴、健康診断、臨床検査など新たな知見を引き出して記録す

るために、最低年に一度の医療提供者への定期的訪問計画を立てること。

- ・ 以下を含む新たな臨床症状の出現を記録するための方法の確立。
 - ・ 新たな悪性腫瘍
 - ・ 神経疾患の新たな発症や既存の神経疾患の悪化
 - ・ リューマチその他の自己免疫疾患の新たな発症や既存の疾患の悪化
 - ・ 血液疾患の新たな発症
- ・ 予期せぬ疾患や入院を含めた遅発性の有害事象の報告に関して被験者と医療提供者との協力を引き出すような計画を立てること。

少なくとも次の10年間は、治験責任医師に以下について確実に行わせることが望ましい。

- ・ 最低年1回は被験者に連絡すること。検査を行わない場合には、被験者が病院を受診するかわりに電話又はアンケートにより連絡をとってもよい。
- ・ これまでの試験結果を考慮して適切なフォローアップ方法を継続すること。例えば、被験者のこれまでの試験結果でベクターの持続性が示された場合、ベクター配列をモニターすることが望ましい。

全ての長期フォローアップ観察は、FDAの臨床試験に関する規制に従って実施すること。臨床の長期フォローアップ観察での有害事象に関するデータの収集と報告に関する追加の勧告は以下のとおりである。

1. 有害事象の発見：遅発性の有害事象の発見を促すため、プロトコルには適切な医療専門家を特定し、その人による観察を被験者の有害事象発現の評価に用いることを推奨する。適切な医療専門家としては、治験に関与していない医者、助手、看護師も含まれる。そのような特

定の個人に、有害事象の報告を治験担当医師に迅速に提供するよう周知するように手配すること。

被験者の協力と収集データの質を高めるために、被験者に対して自己の観察と有害事象の報告を奨励すること。被験者が治験担当医師への報告に用いることができる道具としては、被験者の健康に関する日記やパンフレット、治験担当医師の連絡先を記載したラミネートされた財布サイズのカードなどがある。

2. IND安全性レポート：製品の使用による有害事象については報告要件に従う必要がある。長期フォローアップ観察の進展に従い得られた、遺伝子治療薬の使用による重篤なものや予期しないものを含めた有害事象の経験、新しい知見や発見を、治験に参加した各医師に対して周知させる必要がある。各IND安全性レポート（治験医及びFDAに提出が求められている）では、これまでファイルされた同様の有害事象経験に関する報告書の全て特定し、有害事象の重大性をこれまでの同様の報告を踏まえて分析しなければならない。受け取った安全性情報の全てを迅速に調査すること。有害事象と遺伝子治療薬との関係が不確かであれば、追加の調査を行うこと、及び被験者全てに有害事象のリスクを告知するためのインフォームドコンセント文書とパンフレットの修正を行うことが望ましい。治験担当医師は以前治験に参加した被験者に連絡を取り、新たなリスクに関する情報を報告することが求められる。

3. INDへの年一度の報告/情報の要約：INDが開始され、長期フォローアップ観察が終了するまでの期間、年報をファイルしなければならない。この報告書には前年の臨床、非臨床試験で得られた知見、過去に報告したIND安全性報告、最も高頻度の有害事象、最も重篤な有害事象に

関して要約あるいは表にして提出する。

4. 臨床プロトコルの修正：臨床データにより製品が遅発性のリスクと関係ないことが示唆された場合、被験者の長期フォローアップ観察に関する臨床プロトコルの変更を望むかもしれない。しかしこの場合、変更前にFDAに対してINDプロトコルの修正を届け出なければならない。

5. 定期検査：長期フォローアップ観察では、当該プロトコルのリスク評価によりもっと頻繁な検査が必要な場合を除いて、最初の5年間は少なくとも年に一度は医療専門家による定期検査を実施することを推奨する。例えば、当該製品または類似の製品を投与した被験者が急激に進展する可逆性の遅発性の有害事象を発症し、その症状が製品によるものと考えられる場合には、年に2回もしくは4回の頻度で観察を実施するのが望ましい。このような定期的な評価には、簡単な病歴記録と、臨床上重大な有害事象の発現の兆候が見られるかどうかに焦点を当てた検査を行う必要がある。定期検査には、血液学的検査などの適切な検査を行うこと。長期フォローアップ観察は研究目的のみで行うものであり、製品の使用に関連しない健康上の問題の評価や治療のために実施するのではない。

6. ベクター配列：長期フォローアップの間、被験者のベクター配列の持続性の試験を、ベクターが検出されなくなるまで少なくとも年に一度は継続実施することが望ましい。その試験法は、ベクター配列を検出するのに十分高感度である必要がある。過度に侵襲的ではない方法で遺伝子導入細胞集団をサンプリングすることが望ましい。(造血幹細胞での存在を検査する場合、末梢血は骨髄の生検よりもサンプルとして望ましい。) 遺伝子導入細胞を得るのに侵

襲的な手段が必要な場合、ベクターの持続性を測定する別の方法(例えば、導入遺伝子産物の発現量、臨床効果など)を考慮すること。ベクターが検出されないことを示すデータはINDの修正となる長期フォローアップ計画を改定する根拠を与える。このようなプロトコルの修正には、当該製品のリスク評価、及びベクターの持続性の低下がリスクに与える影響の評価を含めること。

C. 6. 1. 5. E 長期フォローアップ観察が必要な治験でのインフォームドコンセント

インフォームドコンセントの文書には研究の目的、被験者の参加期間、従うべき手続きについて記載する必要がある。従って、インフォームドコンセントでは、長期フォローアップ観察の目的と期間、被験者に求められる定期検査の受診場所と受診の時間間隔、あるいは他の手段による連絡法等を説明する必要がある。

レトロウイルスベクターのインフォームドコンセントに関する補足の勧告に関してはC.6.1.5.F.3に記載する。

C. 6. 1. 5. F 組み込み型ベクターに関する特別の考慮事項

本項は、組み込み型のベクターの被験者、すなわちレトロウイルスベクターおよびレトロウイルスベクターにより体外で遺伝子改変を行った細胞を導入した被験者にのみ適用される勧告である。マウスで実施した非臨床試験のうち少なくとも2件で、レトロウイルスベクターを用いて遺伝子をマウス細胞DNAに組み込むことにより悪性形質転換が起こったことが報告されている[37,38]。さらに、臨床試験の1件で、レトロウイルスベクターを用いて、*ex vivo*で改変した造血幹細胞を投与された

X-SCID患者11名のうち3名で急性のT細胞クローン増殖を発症し[39,40]、うち1名は死亡した[40]。これらの白血病は被験者の細胞DNAにレトロウイルスベクター由来のDNAが組み込まれた結果生じたものである。X-SCIDの患児がレトロウイルスベクターを用いた後で悪性腫瘍を発症したという結果[39]は、現時点ではガンマレトロウイルス、レンチウイルス由来製品を含むレトロウイルスベクターのような組み込み型のベクターを被験者に用いた場合のデータ収集に関して追加の勧告を促した。

C. 6. 1. 5. F. 1 データの収集

関連する代用細胞を用いて、ベクターの組み込み部位のパターン(ベクター配列が組み込まれた細胞がベクター組み込みのパターンの観点で見たときにポリクローナルか、オリゴクローナルか、モノクローナルか)を評価する試験を実施することを推奨する。FDAは、組み込み型のベクターを用いた治験の被験者で、(1) 標的細胞が高い複製能を有し、長期間生存する細胞であることが知られている場合、(2) 適切な代用細胞が試験しやすい場合、ベクター組み込みパターンの評価を考慮する。例えば、造血幹細胞は高い複製能を有し、長期間生存する。造血幹細胞が遺伝子治療の標的細胞の場合、末梢血をベクターの持続性試験の代用細胞として用いることができる。試験が適当と判断された場合、末梢血が代用細胞の場合、純化した造血細胞サブセット(例えばリンパ球と顆粒球)の分析を実施することになる。一方、組み込み型ベクターを*in vivo*で肝細胞に用いた場合、最終分化した肝細胞は通常環境では分裂せず、またベクターの持続性を非侵襲的に試験可能な妥当な代用細胞は存在しないため、組み込み部位の分析を実施する必要はない。これらの分

析の実施方法と実施計画については以下を参照すること。

- (a) ベクター組み込み部位のパターンを評価する方法の選択は、適切な陽性対照、陰性対照を用いて得たデータに基づいて行うこと(すなわち、ベクターコピーの組み込まれた部位と数が既知の標的細胞と、ベクターの組み込みのない標的細胞)。試験ではアッセイの感度、特異性、再現性を示すこと。
- (b) PCR試験の結果、少なくとも1%の代用細胞でベクター配列が陽性的場合、ベクター組み込み部位のパターンを調べることが望ましい。代替法として、ベクター組み込み部位のクローナリティーを分析するかどうかの決定を、クローナリティー検出に用いるアッセイ系の感度の評価に基づいて行っても良い。
- (c) 被験者から最初の5年間は6ヶ月以内の間隔で、次の10年間もしくは試料からベクター配列が検出されなくなるまでは1年以内の間隔で、試料を採取してベクター配列をPCRで試験すること。
- (d) 被験者の代用細胞の分析により優勢なクローンが認められる(例えば、ベクター組み込み部位のパターンがオリゴクローナル)、あるいはモノクローナルであることが示唆される場合には、ベクター組み込み部位の分析を実施すること。さらに、優勢な組み込み部位が検出された場合、3ヶ月以内にクローナリティーの分析を実施して持続性を調べること。
- (e) ベクター組み込み部位付近の核酸配列が決定されている場合、同定された配列がヒトの癌との関連性が知られているかどうかを調べるために、同定された組み込み部

位の配列をヒトゲノムデータベースや他の癌遺伝子のデータベースにある既知のヒトの配列と比較すること。

- (f) オリゴクローナルまたはモノクローナルであってもそれ自体が原因で悪性腫瘍になるのではないと認識しているが[41,42]、一方、このような変化が悪性腫瘍のリスクを高めることも認識している。従って、以下のいずれかの状況が認められた場合、被験者の悪性腫瘍の兆候を注意深く監視するための計画を策定すること。

- ・ モノクローナリティーの持続
- ・ クローンの増幅（例えば、特定のベクター挿入部位の細胞の割合が、複数の時点で増加を示す場合）
- ・ ベクター組み込み部位が癌遺伝子活性を持つローカスの近傍または内部

- (g) 特定の疾患の実体をスクリーニングするには、確立された方法を用いるか、被験者が晒された可能性のある医療上のリスクに関するスクリーニングの専門家からアドバイスをもらうこと。

C. 6. 1. 5. F. 2 データの報告

オリゴクローナル又はモノクローナルの証拠が認められない場合、ベクター組み込み部位のパターンに関する全ての分析の要点を記述的または表の形でINDの年報の中で報告すること。オリゴクローナル又はモノクローナルの証拠が観察された場合、この本質的な情報をIND修正情報として提出すること。この修正は30日以内に提出すること。

C. 6. 1. 5. F. 3 レトロウイルスベクターを用いる治験のインフォームド・コンセント

治験の被験者各人に対して、治験に参加する

ことにより予期されるリスクに関する説明文を提示しなければならない。治験責任医師は、インフォームドコンセントの文書について施設内審査委員会の承認を受ける必要がある。被験者にレトロウイルスベクターを投与する臨床試験では、全てのインフォームドコンセントの文書に、X-SCIDの患児での白血病の発症についての完全で正確な情報を、素人にわかりやすい言葉で記載することが必要である。該当する場合には、以下の情報を被験者にわかりやすい用語で試験対象医薬品のリスクに関連する部分に記載すること。

- ・ 試験対象医薬品の説明—試験にはレトロウイルスベクターで改変した細胞の人への投与が含まれる。レトロウイルスベクターは遺伝物質を細胞に挿入することのできるウイルスである。
- ・ レトロウイルスベクターの作用機構—レトロウイルスベクターが体内の正常細胞に入ると、ベクターは自身のDNAを細胞の正常なDNAに挿入する。この過程をDNA組み込みと呼ぶ。
- ・ DNA組み込みの影響—ほとんどのDNA組み込みは細胞や患者に対して害はないと期待される。しかし、DNAの組み込みが他の遺伝子に異常な作用を及ぼす可能性もある。ほとんどの場合、この影響は健康状態には影響しない。
- ・ 動物実験での発癌に関する考察—正常な遺伝子に対する異常な作用が、場合によっては、細胞に対して時には癌に至るような制御できない増殖を引き起こすこともある。マウスとサルを用いた動物実験で、レトロウイルスベクターDNAの組み込みが原因となって癌が引き起こされたと考えられる事象が発生している。

- ・ 遅発性の有害事象、臨床試験において発症した白血病様悪性腫瘍に関する考察—あなたは別の遺伝子治療臨床試験で発生した癌について知ることが重要である。この試験は、フランスで実施された、X連鎖重症複合免疫不全症（SCID）と呼ばれる疾患に対するものである。レトロウイルスベクターを用いて改変した細胞を投与して数年後に、この少人数の試験でかなりの数の患児が白血病様の悪性疾患(癌)を発症した。少なくとも一人の子供が癌で死亡した。この分野の専門家グループは患児の血液細胞について実施した試験結果を検討し、白血病様の悪性腫瘍はレトロウイルスベクターDNAにより引き起こされたと結論した。しかしながら、実験的遺伝子治療を受けたX-SCIDの患児の多くは現時点では白血病様の疾患は認められていない。彼らは健康に見えるが、彼らも悪性の増殖が生じるかどうかはまだ不明である。
- ・ 本試験での悪性腫瘍のリスク—本プロトコルで用いるレトロウイルスベクターが新たに悪性腫瘍を引き起こすかどうかは不明である。しかしながら、レトロウイルスベクターに含まれるDNAはあなたのDNAに組み込まれ、このことは状況によっては数ヵ月後、数年後に悪性の(癌性の)増殖を引き起こすことが知られていることについて認識するべきである。

C. 6. 1. 6 遺伝子治療による遅発性の有害事象に関するリスク評価法と被験者の長期フォローアップ観察に関する考察

今回検討したFDAのガイダンスは、遺伝子治療薬のスポンサーに対して、遺伝子治療用治療薬による遅発性有害事象のリスク評価の方

法と被験者の長期フォローアップ観察実施の判断、長期フォローアップ観察の実施期間と方法について、具体例を詳細に挙げて示したものである。

本ガイダンスで、遅発性有害事象のリスク評価において重要な点はベクターの持続性である。ベクターが染色体に組み込まれたり、潜伏感染/再活性化の可能性がある場合には、ベクターが持続性であるため高リスクで長期フォローアップ観察が必要とされる。一方、ベクターの持続性が認められなければリスクは低く、長期フォローアップ観察は必要ないとされる。リスク評価にあたってはフレームワークがわかりやすく図示されている。また、ベクターの持続性の判断に必要なベクターの生体内分布と持続性評価のための非臨床試験の実施に関しても、動物実験計画や組織の採集と分析の具体的な方法がガイダンスには記載されている。なお、生体内分布と持続性試験に用いるPCRの定量限界はゲノムDNA 1 µg あたりベクター50 コピー以下とされ、2004年11月に「遺伝子治療薬の新薬治療申請 (IND) に必要な科学、製造及び品質管理 (CMC) 情報」ガイダンス案[43]よりもさらに高感度での定量が求められている。なお、本ガイダンスは2008年4月に正式に発出されており、そのでの定量限界はゲノムDNA 1 µg あたりベクター50 コピー以下に修正されている。

ベクターの持続性が高リスクであることから、現在治療に用いられている遺伝子治療用ベクターでは組み込み型ベクターのガンマレトロウイルスとレンチウイルス、潜伏感染/再活性化が知られているヘルペスウイルスが高リスクで長期フォローアップ観察が必要と分類されている。一方、アデノウイルス、アデノ随伴ウイルス、ポックスウイルス、プラスミドは