

低リスクに分類されている。しかし、これら低リスクのベクターでも非臨床試験により持続性が認められる場合には長期フォローアップ観察が必要と判断される。

また、非臨床試験でベクターに持続性が認められない製品の場合でも、非臨床毒性試験により導入遺伝子の発現が遅発性の毒性と関連性が認められる場合、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、短期の臨床試験でベクターの持続性を示すデータが集積された場合などは長期フォローアップ観察が必要とされる。

リスク評価と製品の特性により長期フォローアップ観察が必要とされた場合、その妥当性を判断する必要がある。被験者が余命短い場合や、放射線や化学療法など遺伝子治療の他に遅発性の有害事象に影響する治療を受けた場合など、長期フォローアップ観察が科学的な意味を持たない場合には実施しないことも可能とされる。

ガイダンスでは、長期フォローアップ観察が妥当な場合、基本的には最低 15 年間は被験者のフォローアップ観察を行い、そのうち当初 5 年間は最低年に一度は定期検査による被験者の健康状態の観察と治療の記録をとること、その後の 10 年間も最低年に一度は連絡をとることなどが求められる。

長期フォローアップ観察の具体的な方法がガイダンスには記載されているが、定期検査にはベクターの持続性試験が必要とされる。最低、年に一度のベクター配列試験もしくはベクターの持続性を調べる試験をベクターが検出されなくなるまで実施が求められる。フォローアップ観察の期間はベクターや導入遺伝子の *in vivo* での持続期間により変わり得る。また、

定期検査の頻度は有害事象の兆候が認められればより短期間での検査が求められる。

組み込み型のベクターについては、レトロウイルスベクターが原因で遅発性の白血病が発症した事例があることから極めて高リスクであるため、特別な長期フォローアップ観察が必要とされる。特に、高い複製能をもつ造血幹細胞に組み込み型ベクターで遺伝子導入を行った場合には、最初の 5 年間は最低半年に一度、次の 10 年間もしくはベクター配列が検出されなくなるまでは最低年一度、末梢血のベクター配列を PCR で試験し、1%以上の細胞で陽性であればベクターの組み込み部位のクローナリティーを分析する。オリゴクローナル、モノクローナルが認められた場合はベクター組み込み部位を調べるとともに 3 ヶ月以内の再検査で持続性を調べ、モノクローナリティーの持続やクローン増幅、ベクターの組み込み部位が癌遺伝子付近である場合はより注意深い監視が必要とされる。また、レトロウイルスベクターを用いた治験でインフォームドコンセントに記載すべき内容もガイダンスには示されている。

わが国には遺伝子治療薬の品質、安全性確保について「遺伝子治療用医薬品の品質及び安全性の確保に関する指針について」（薬発第 1062 号、平成 7 年 11 月 15 日；平成 14 年 3 月 29 日医薬発第 0329004 号で改正）が発出されており、その中の「別記 IX. 遺伝子治療臨床試験の概要 (9) 患者フォロー予定」において、「患者に投与されたベクター、遺伝子又は遺伝子が導入された細胞の生体内分布、遺伝子及び細胞の生存・機能発現期間、増殖性ウイルスや投与による随伴症状等の、場合によっては生涯にわたる観察予定を記載する。」と記載されているが、患者のフォローに関する具体的な方法や期

間、遺伝子治療薬ごとのリスク評価のあり方などについては提示されていない。FDA のガイドランスに従うと、日本で現在までに多く実施されているアデノウイルスベクターを用いた癌遺伝子治療やプラスミドによる遺伝子治療ではベクターの持続性が認められなければ長期フォローアップ観察の必要はない。一方、造血幹細胞遺伝子治療は、場合によっては一生の長期フォローアップ観察が求められることになる。これは医師にとっても被験者にとっても相当負担の大きいものである。FDA の勧告は、今後の臨床データの蓄積により変わり得るものであり、また日本にそのまま適用されるべきものではないが、遺伝子治療薬による遅発性有害事象のリスクの評価と長期フォローアップ観察のあり方、被験者の安全性確保のあり方を考える上で非常に参考になるものである。

C. 6. 2 遺伝子治療用ウイルスベクターの体外排出のリスク評価について

C. 6. 2. 1 遺伝子治療臨床試験におけるウイルスベクター排出のリスク評価の現状

ウイルス排出(Viral shedding)とは、遺伝子治療薬や増殖性ウイルス等のウイルスをベースとする医薬品を臨床で使用する場合、患者に投与されたウイルスやベクターが患者の排泄物や体液等を介して排出されることを指す。ウイルス/ベクターの排出は環境中への拡散による環境汚染や患者家族や医療従事者等への伝播のリスクがあり、公衆衛生の観点からの安全性確保は大きな課題である。

ウイルス排出のリスクを評価するためには、遺伝子治療臨床試験におけるウイルス排出の現状把握が必要である。Schenk-Braat ら[44]は、レトロウイルスベクター、アデノウイルスベクター、制限増殖性アデノウイルス、アデノ

随伴ウイルスベクター(AAV)、ポックスウイルスベクターを用いた遺伝子治療臨床試験に関する文献 260 報を収集し、ウイルス排出に関する記載がある 102 報 (39%) から 1619 名の患者のウイルス排出に関するデータを抽出・解析することにより臨床試験におけるウイルス排出試験の現状を報告している。本論文では臨床試験の報告の 90%をカバーしており、関連論文の代表例を解析していると考えられる。本論文の内容は遺伝子治療臨床プロトコールでのエビデンスに基づいたリスク評価法の確立、ウイルス排出のリスク評価に関するガイドラインの作成に有用と考えられることから、以下にその概要を紹介する。

1) ウイルス排出のアッセイ法

遺伝子治療臨床試験で使用されたウイルス/ベクター排出のアッセイ法をまとめたのが表 13 である。アッセイには主にベクターゲノム配列に基づいた方法である定量 PCR 法または非定量 PCR 法と、感染性ウイルス粒子を検出する生物学的試験(感染性試験)が用いられている。PCR 法では、主にベクターに特異的なプライマーを用いてベクター DNA を検出している。レトロウイルスベクターの *ex vivo* 投与では、全ての文献でウイルス排出試験の対象は増殖性レトロウイルスであり、アッセイ法には PCR 法又は生物学的試験が用いられている。レトロウイルスベクターの *in vivo* 投与の場合には、ベクターの排出は全て PCR 法で検査されており、感染性試験であるマーカースキューアッセイや PG4S+L-アッセイは RCR の測定に用いられている。

非増殖性アデノウイルスベクターの場合、PCR 法のかわりにアデノウイルスタンパク質の ELISA による検出が用いられた例もある。

アデノウイルスベクターの文献のうち40%は、PCR法と生物学的試験の組み合わせで排出が検討されており、2種類の方法を用いることにより、陽性であることの確認がなされている。感染性のあるウイルスベクターを増幅可能な293細胞と、ベクターの増幅はできないA549細胞の組み合わせで試験する方法が用いられる場合もある。生物学的試験としてフローサイトメトリーを用いた方法も報告されている。増殖性アデノウイルスはA549細胞などのベクターが増殖しない細胞を用いてアッセイされている。

制限増殖性アデノウイルスの場合、11報全てにおいてPCR法が用いられており、うち5報ではウイルス培養が併用されている。

AAVベクターでは、ウイルス排出はPCR法又は生物学的試験でアッセイされている。生物学的試験の場合、試料はAAVのRepタンパク質を発現しているアデノウイルス感染細胞を用いてAAVベクターを増幅させた後、細胞からAAVゲノムを抽出してPCRを行うという方法が用いられている。3報で、PCR法または感染性試験が別々に用いられている。アッセイ法の選択は試料の種類により異なり、PCR法は血液試料の場合に用いられ、その他の排泄物には生物学的試験が用いられている。

ボックスウイルスベクターでは、ウイルス排出はVero細胞等を用いた感染性試験でアッセイが行われている。このうち3報では確認のためにPCR法と感染性試験の2種類の試験が併用されている。

2) ウイルス排出試験で採取する生体試料

遺伝子治療臨床試験において、ウイルス排出試験で採取された生体試料をまとめたものが表14である。どのベクターの場合でも、もっ

とも一般的に採取されている試料は尿や血液関連試料である。その他の生体試料の選択はベクターの投与経路に依存している。例えば、皮内投与では皮膚試料、吸入/鼻腔内投与の場合には鼻咽頭スワブが採取されている。非増殖性アデノウイルスベクターの排出は、ベクターを局所投与した場合でも、血液関連試料、尿、糞便、咽頭スワブ等、より広範な生体試料についてウイルス排出が調べられている。これとは対照的に、制限増殖性アデノウイルスでは、主に血液関連試料が対象とされている。また、レトロウイルスベクターによる遺伝子治療の場合、血液関連試料を用いたウイルス排出試験がRCR測定のために実施されている。AAVベクターやボックスウイルスベクターは論文数が少ないが、ウイルス排出試験は血液試料には限定されていない。AAVの場合、7報中5報が嚢胞性線維症に対して吸入/経鼻投与で遺伝子治療を実施したものであるが、これらの臨床試験では、投与部位に由来する唾液や鼻咽頭スワブについてウイルス排出試験が実施されている。精液について調べているのは100報中5報のみであった。

3) ウイルス排出試験の実施時期

文献によりばらつきが大きいですが、一般的に、レトロウイルスベクターでは投与1ヵ月以内にベクター配列のアッセイが実施されている。一方、増殖性レトロウイルスについては治療1年後又はそれ以上まで調べている。

非増殖性アデノウイルスベクター及び制限増殖性アデノウイルスでは、ウイルス排出試験は投与1ヵ月以内に実施されている。AAVベクターでは、投与1週間以内に実施されているが、投与4ヶ月後まで実施している例もある。ボックスウイルスベクターでは、投与後2週間

以内がほとんどで、21日後が最長であった。

4) ウイルス排出試験データの実例

合計 1619 名の患者のウイルス排出試験データが収集・解析された。臨床試験によっては患者の一部を対象として排出試験データを解析しているのが、遺伝子治療を受けた患者実数はこれよりも多い。ウイルス排出試験データとして定量的解析が行われ、検出感度が記載されているものも多いが、その定量値は文献により様々な単位、例えば、PCR 法の結果はコピー数、ウイルス粒子数、プラーク形成単位 (pfu)、陽性細胞数で表され、その値もゲノム DNA 量あたりが最も多いが、細胞数あたり、サンプル量あたりで表されることもあり、異なる文献の値の相互比較は困難である。そのため、ベクターの排出量に関して一般的な結論を出すことは困難であるが、ベクター毎の概要は以下のとおりである。

①レトロウイルスベクター

レトロウイルスベクターの文献全 27 報中、*ex vivo* 遺伝子治療の報告は 11 報で、その排出試験データはいずれも血液関連試料を対象として増殖性レトロウイルスの出現に焦点をあてたものであった。対象となる 103 名の患者でいずれも PCR 法により増殖性レトロウイルスは検出されなかった。レトロウイルスベクターの *ex vivo* 遺伝子治療では感染性レトロウイルス粒子やベクターゲノムの排出を調べた例はないが、これはベクターの排出は無視できると考えられているからであろう。

一方、レトロウイルスベクターの *in vivo* 遺伝子治療に関する論文は 16 報あり、342 名の患者について増殖性レトロウイルスが検査され、いずれも検出されなかった。ベクターの排出については、脳腫瘍、メラノーマ、乳癌に対

する *in vivo* 腫瘍内投与、及び卵巣癌に対する腹腔内投与において、16 報中 10 報で血液中、主に末梢血単核球 (PBMC) にベクターの存在が確認された。特に、脳腫瘍への腫瘍内投与では、8 報中 6 報でベクター配列が PBMC で検出された。*In vivo* 遺伝子治療では感染性レトロウイルス粒子が排出される可能性がありうるが、いずれも感染性ウイルス粒子の確認試験は実施されていない。ベクター排出の期間は、投与後 1 日から 28 日までと大きな幅が見られた。血友病 A の遺伝子治療の例では、静脈内投与後 53 週目まで、患者 13 名の精液中のベクター配列の存在を定期的に測定した結果が報告されている。この例では、1 名の患者で投与後 9 週目に陽性シグナルが認められたが、それ以前及びそれ以降の精液試料では陰性であったので、運動性精子が陽性であったわけではないと考えられている。

全 27 報中、10 報で定量的な排出試験データまたはアッセイの検出感度が報告されていた。

②非増殖性アデノウイルスベクター

アデノウイルスベクターに関する文献 50 報中、腫瘍内、吸入/鼻腔内、心筋内、冠動脈内、硝子体内、動脈内、胸膜内、筋肉内投与後にベクターの排出が検出されなかったのは 21 報 (42%) であった。硝子体内投与の例では RCA のみが検査されており、陰性であったと報告されている。腫瘍内投与後に血中、尿その他の排泄物へのベクターの排出が認められなかった 9 報中、5 報は脳腫瘍の遺伝子治療の例であった。しかし、同じ脳腫瘍の例で 7 名の患者のうち 2 名で血漿中に一時期ベクターの排出が検出されたという報告もある。

50 報中、ベクター DNA または感染性粒子の排出が報告されているのは 29 報 (58%) であった。測定された生体試料はベクターの投与経路、

投与部位および解析時期により異なる。例えば、ベクターの鼻腔内投与や吸入の場合には、唾液や鼻咽頭液中にベクターが検出されている。腫瘍内投与の場合、26報中17報において主に血液関連試料で排出が検出されている。一般的に、血中への排出の継続は短期間であり、投与1時間後にピークとなり、投与2,3日後には消失している。しかし、ベクターを前立腺癌局所に投与した例では、治療を受けた患者のほとんどで投与32日後まで尿中にベクター配列が検出されたという報告もある。ウイルス排出がもっとも長く検出された例は、嚢胞性線維症に対して吸入投与した例と、肺癌に対して気管支内投与した例、腫瘍内投与した例であった。ベクターを一回投与後、気管支肺胞洗浄液、鼻腔スワブ、咽頭スワブ、唾液などの鼻咽頭液において、ベクター配列がそれぞれ21日後、30日後、90日後まで検出された。精液については、冠動脈内投与8週後の狭心症の患者12名、及び前立腺癌で前立腺腫瘍内投与14日後の患者1名について報告されており、後者ではベクター配列が陽性であった。

ウイルス排出陽性を検証している例は多くないが、PCRでの陽性シグナルが感染性のあるアデノウイルスベクター粒子かどうかを確認しているものが8報あった。そのうち7報で感染性粒子が確認されており、感染性のあるアデノウイルスベクターの排出が実際に起こっていることが示されている。また、50報中11報で増殖性アデノウイルスの排出を調べているが、対象となる201名の患者で増殖性アデノウイルスはいずれも検出されなかった。

定量的なウイルス排出試験データまたはアッセイの検出感度が報告されていたのは50報中18報であった。

ウイルス排出の定義を考えると、患者の周辺

でベクターが検出されるかどうかは重要である。患者に近くで接触した医療関係者の血液、糞便、咽頭スワブについてウイルス排出を調べている報告が4報あった。興味深いことに、対象者（ある報告では54名にのぼる）のいずれからベクターやRCAは検出されなかった。

③制限増殖性アデノウイルス

腫瘍内投与又は腹腔内投与後の血液、尿、皮膚へのベクターの排出が陰性であったのは、11報中3報であった。残りの8報では、腫瘍内投与後に血液中にベクターDNAの存在がPCR法で検出されている。血液中への排出の持続期間は、投与後数時間から76日後までと幅が見られた。うち2報では、血液中のウイルスゲノムの検出が2つのピークとなったことから、ウイルスが体内で複製していることが確認された。また別の2報では、血液中にベクターDNAが存在すれば感染性ウイルス粒子の排出と結びついているとしている。血液中には感染性ウイルス粒子は検出されなかった。対照的に、前立腺癌腫瘍内投与の例では、8日目まで尿中に感染性ベクター粒子の排出が検出されている。

定量的なウイルス排出試験データまたはアッセイの検出感度は11報中7報で報告されていた。

④AAVベクター

嚢胞性線維症遺伝子治療の論文5報中4報で、吸入投与又は経鼻投与後1日目の鼻咽頭液試料と唾液中にベクターの排出が検出された。血液中への排出は認められなかった。AAVベクターの残りの2報は血友病Bの遺伝子治療で、AAVベクターを筋肉内投与した場合、唾液中には24時間後まで、血液中には48時間後まで排出がPCRにより検出された。しかし、2ヵ月後の精液中にはベクターは検出されな

かった。同一のベクターを肝動脈内投与した場合、投与後1週間は尿中への排泄が用量依存的に認められた。この治療を行った患者7名中6名において、ベクターDNAが精液中に治療後16週まで検出された。うち1名では、ベクターDNAは、精液中に検出されたが運動精子中には存在していないことを確認した。このケースでは、臨床試験は生殖細胞系列への遺伝子組み込みとそれにより起こりうる結果を調べるために一時停止の措置が取られた。また、精液の長期モニタリングが諮問委員会から推奨されることとなった。

AAVベクターの報告では、ベクターゲノムが検出されても感染性があることを確認している報告はない。AAVはCPEを起こさないウイルスで、その増殖がアデノウイルスに依存していることから、感染性AAV粒子の確認は実験が難しいためと考えられる。

定量的なウイルス排出試験データ又はアッセイの検出感度は7報中6報で報告されていた。

なお、AAVベクターに関して、ICHワークショップでは、投与方法、血清型、投与量に関係なく、大動物(イヌ、ネコ、非ヒト霊長類)及びヒトに対するrAAVの投与は尿への排出に関連するという報告、ベクターDNAは全身の体液に一過性に分布し、投与量とベクターDNA濃度もしくはその持続期間に関しては明確な関連が認められなかったこと、生体内分布と排出データはマウスやネコのデータとの相関性が高いという報告もなされている[27]。

⑤ボックスウイルスベクター

ボックスウイルスベクターに関する文献5報は全て、増殖性、制限増殖性、又は非増殖性のワクシニアウイルスベクターを局所投与するものであった。4報では、血液、尿、糞便、

唾液、鼻咽頭試料、皮膚への排出は検出されなかった。残りの1報は、増殖性ワクシニアベクターを皮内投与後に、治療した8名の患者全てで生きたワクシニアウイルスが脱落したかさぶたから検出されたが、投与部位以外から得たスワブ中には検出されなかった。ワクシニアベクターはPCR法により確認された。同じ文献において、創傷包帯、病院の備品やベッドリネン、空気サンプルにおけるベクターの存在を検討しているが、生きたワクシニアウイルスは投与部位に用いた包帯のみで検出された。

ボックスウイルスベクターでは、全ての報告に共通して生物学的感染性粒子試験が実施されていた。

アッセイの感度は2報で報告されていた。

C.6.2.2 日本の遺伝子治療臨床研究におけるウイルス/ベクター排出のリスク評価の現状

日本では、ウイルスベクターや遺伝子組換え増殖性ウイルスを臨床で患者に投与することは、「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、平成15年法律第97号)」で定められた「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。そのため、生物多様性影響評価書を作成し、使用規程を定めて、ウイルスやベクターの環境中への拡散、生物多様性への影響を防止することが必要とされている。平成16年8月以降に継続中あるいは新規申請された遺伝子治療臨床研究については、第一種使用規程・生物多様性影響評価書が公開されている[45]。生物多様性影響評価書にはウイルス/ベクターの排出に関連する非臨床、臨床の情報が記載されているので、表15に生物多様性影響評価書からみた日本の遺伝子治療臨床研究における

ウイルス排出試験の現状をまとめた。第一種使用規程・生物多様性影響評価書は9機関のものが公開されており、内訳はレトロウイルスベクターの *ex vivo* 遺伝子治療が3件、非増殖性アデノウイルスベクターが4件、非伝播型センダイウイルスベクターが1件、AAVベクターが1件であった。レトロウイルスベクターの *ex vivo* 遺伝子治療では、Schenk-Braatらの報告[44]と同様、排出試験は血液試料中の増殖性レトロウイルスを対象としたもので、アッセイはPCR法又は感染性試験が用いられている。投与後長期間フォローしても増殖性レトロウイルスは検出されていない。非増殖性アデノウイルスベクターは全て前立腺癌の治療で前立腺局所に投与するものであるが、ウイルス排出試験の対象は血液、尿中のベクターであり、マウスモデルの結果を基に臨床での被験者の隔離の期間が定められている。アデノウイルスベクターは一過性に全身に分布したが、1日後から3日後には消失した。患者に投与した例でも、1-3日後にはウイルス排出は検出されず、環境中への排出も確認されなかった。センダイウイルスベクターは本件が世界で最初の臨床投与となるため、動物での体内分布がマウス、ラット、サルを用いて検討されている。血中、尿中の検出は一過性で、一週間後には検出されないことが示されており、被験者も一週間は隔離するとされている。アッセイにはPCR法と生物学的試験が併用されている。AAVベクターは、非臨床試験でラット及びサルのパーキンソン病モデルを用いて臨床と同じ脳内投与を行い、ベクターが血液中に検出されないことを確認している。

全ての例において、ウイルス/ベクターの環境中への拡散、生物多様性影響を防止するため、投与後数日間は被験者を個室にて管理し、管理

中は排泄物や使用した器具等の不活化処理を行うこと、個室管理を解除する前に血液や尿中への排出がないことを確認することが使用規程として定められている。遺伝子治療に用いるウイルスベクターの生物多様性影響評価、ウイルス排出の評価が適切に行われ、臨床使用において承認された使用規程が守られている限りにおいて、日本ではウイルス排出による環境影響、第三者への伝播が生ずるおそれはないと考えられる。

C. 6. 2. 3 ウイルス/ベクター排出に関するワークショップでの議論及びウイルス排出のリスク評価において考慮すべき事項に関する考察

ICH 遺伝子治療専門家会議は、第15回ヨーロッパ遺伝子細胞治療学会(ESGCT)年会との協催で2007年10月30日に、ウイルス/ベクターの排出に関するワークショップを開催した。ワークショップでは、①多様なベクター系におけるウイルス排出に関する実際のデータに関する議論、②排泄物中に排出されたベクターのアッセイ法に関する議論、③患者家族や医療従事者などの第三者への暴露や公衆衛生への影響に関する議論が行われた[46]。現在、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情報を基にウイルス/ベクター排出に関するICH見解を作成中である。ワークショップでの議論の結果とC.2.1、C.2.2に示した海外及び日本における遺伝子治療臨床試験でのウイルス排出試験の現状をもとに、ウイルスやベクターの体外排出のリスク評価のあり方、考慮すべき事項を検討した。

1) ウイルス/ベクター排出に関するガイドラインについて

日米EU各極において、ウイルス/ベクター排出試験に関する基準、いつどのようなステージでウイルス/ベクター排出試験を実施すべきかについて明らかにしたガイダンスは現在どの極にも存在しない。しかし、各極とも公衆衛生上の懸念、すなわち病原体の伝播の可能性から、ウイルス/ベクター排出の評価を実施するような規制的枠組みがとられている。EUでは、遺伝子組換え生物（GMO）の環境リスク評価が求められることから、ウイルス/ベクター排出データは環境リスク評価を実施する上でも必要とされる。ICH各極において、ウイルス/ベクター排出試験は段階的およびケースバイケースのアプローチが採用されている。水平伝播に関する試験はほとんど要求されていない。

各国で遺伝子治療の環境影響への規制状況が異なること、ウイルス排出の分析に関するガイドラインがないことから、現在報告されている遺伝子治療臨床試験に関する論文ではウイルス排出試験データが報告されていない例も多く、報告されていてもウイルス排出の分析のデザインは試験毎に大きく異なり、その標準化は現状では困難である。しかし、遺伝子治療臨床試験でウイルス/ベクターの排出は現実起こっていることであり、ウイルスベクターを用いた遺伝子治療で共通の現象である。ウイルスベクターを用いた遺伝子治療の臨床試験ではウイルス排出試験を実施すべきであること、及び試験すべき生体試料の種類、用いるアッセイ法、ウイルス排出試験の技術的要件などを示したガイドラインが必要と考えられる。ガイドラインがあれば、ウイルス排出試験の統一化が図られ、エビデンスに基づいた環境リスク評価が可能になると考えられる。現在ICH遺伝子治療専門家会議で検討されているウイルス/ベクターの排出に関するICH見解にはそのような

役割を果たすことが期待される。

2) 非臨床試験におけるウイルス/ベクター排出試験について

非臨床試験におけるウイルス/ベクター排出試験計画に関連する議論の主な要点は以下の通りである。

①動物モデルの選択法と妥当性

非臨床試験において、臨床におけるウイルス排出を予測するための動物モデルを使用した試験が必要と考えられる。試験に使用される動物モデルとしては、マウス、ラット、ウサギ、ネコ、イヌ、非ヒト霊長類等が挙げられる。動物モデルの妥当性は議論になるところである。適切な動物モデルを使用し、臨床の投与経路を反映した投与を行うことにより、臨床のウイルス排出試験において採取すべきサンプルの種類や採取すべき時期を決定できる可能性がある。しかしながら、ウイルスの体内分布、ウイルスの感染や複製は生物種により感受性が異なること、腫瘍溶解性ウイルスの場合、癌異種移植モデルでは指向性が異なること、全ての免疫応答を動物でモデル化することはできないことなどを含めて、動物モデルには限界があると考えられる。ウイルス排出試験は動物試験だけで済むものではなく、臨床試験での実施により実態を把握することが重要と考えられる。

②ウイルス排出のアッセイ法

ウイルス/ベクター排出のアッセイ法には、主にウイルスゲノムの塩基配列を検出する方法であるPCR法とウイルスの感染性を調べる生物学的試験（感染性試験）が用いられている。各アッセイ法の長所および短所、試験の妥当性は議論になるところである。PCR法を用いたベクター配列の検出が最も頻繁に用いられている手法であるが、PCRでの陽性はベクター

の DNA、RNA の存在を示しても、有害な感染性ウイルス粒子の存在とは必ずしも一致しない。感染性粒子の排出に関する生物学的試験データは価値があるが、このような情報は限られている。PCR 法で陽性になった場合のみ、感染性試験により確認するという段階的解析も用いられているが、試料の種類やベクターの種類によっては感染性試験の実施が困難であるという技術的限界も認識されている。可能な限り、PCR 法だけではなく感染性も調べることが望ましいと考えられることから、生体試料を用いた高感度な感染性試験の技術開発も必要である。

③その他

その他、非臨床の排出試験において使用される被検試料は GMP で製造されたものである必要があるかどうか、また非臨床試験は GLP レベルで実施する必要があるのかも、ワークショップでは問題点として挙げられた。

3) 臨床試験におけるウイルス/ベクター排出試験について

臨床試験におけるウイルス/ベクター排出試験に関する議論の要点は以下の通りである。

①患者のモニタリングの時期と期間

患者のモニタリングの時期と期間は、ベクターの種類、投与経路、投与量、投与スケジュールにより異なることが考えられ、現在の臨床試験の知見から結論を出すのは難しい。動物モデルでウイルス排出が認められた期間を基に、モニタリングの時期と期間を設定することが必要であろう。増殖性ウイルスの場合、ウイルス排出は *in vivo* での複製後に見られることから、増殖性ウイルスでは長期間に渡り排出される可能性が示唆され、モニタリングの期間も長くなることが考えられる。

②解析すべき生体試料

臨床試験で採取する生体試料の例としては、尿、糞便、汗、唾液、精液、痰、口腔・咽頭スワブ、うがい液、皮膚等が挙げられる。血漿/血液、末梢血単核球などの血液関連試料は排泄物の範疇には入らないが、血液を介した第3者への感染の可能性は高いことからウイルス排出試験の対象とされる。ウイルス/ベクターの体内分布や排出は、ベクターの種類や投与経路により異なる。臨床試験の実データ [44] を見ると、ウイルス排出陽性の試料は投与部位の近傍の排泄物から得られることが多い。例えば、吸入や経鼻吸収の場合は鼻咽頭スワブや唾液中、皮内投与では皮膚やかさぶた、前立腺癌では尿中に検出されることが多いので、このような試料の検査が必要であろう。レトロウイルスベクターやアデノウイルスベクターの腫瘍内投与では、一般的に血液中に排出が認められている。例外的に、アデノウイルスベクターの脳腫瘍への局所投与では排出がほとんど見られないことから、アデノウイルスベクターは脳からは排出されないと考えられる。対照的に、レトロウイルスベクターの脳腫瘍局所投与では、8報中6報で PBMC からベクターが検出されている。ベクターやベクター産生細胞の血液中への漏出や、局所で遺伝子導入したリンパ球や癌細胞の血液中への遊走が報告されている。ウイルスベクターは局所投与後に血液中に拡散する可能性が高く、臨床モニタリングや治療に携わる医療関係者及び患者に近い環境にいる人にとって、血液は汚染の原因となりうることから、血液試料の測定は必須と考えられる。

AAV ベクターによる血友病 B の治療の例では、筋肉内投与の場合にはベクターは投与後2日以内に唾液や血清に現れるだけで尿中には排出されず、2ヵ月後の精液中にも検出されな

かったが、肝動脈から同一ベクターを点滴投与すると、投与後1週間は尿中に排出され、7名中6名で投与16週後まで精液中に検出された。このような知見が得られているベクター・投与経路を用いる場合、陽性が報告されている試料を試験することが望ましいであろう。

なお、ワークショップでは、ウイルス/ベクター排出試験データの質を担保するためには、生体試料の取り扱い、保存、輸送に関する手順書の作成とスタッフの全段階におけるトレーニングも重要であると報告されている[27]。

③生殖細胞系列へのウイルス排出

遺伝子治療の安全性上の懸案事項として、生殖腺へのベクターの拡散、生殖細胞系列への遺伝子導入リスクの問題がある。ベクターの精液中への排出は生殖腺への生体内分布を示すものである。遺伝子治療臨床研究で精液のウイルス排出試験はあまり実施されていないが、精液中に長期間ベクターが検出された例も報告されている。2006年にICHより発出された「ICH見解：生殖細胞への遺伝子治療用ベクターの意図しない組み込みリスクに対応するための基本的な考え方」[47]には、ベクターの生殖細胞系列への分布に関する非臨床試験や患者のモニタリングなどの基本的考え方が提示されている。非臨床試験でベクターが一過性にせよ生殖腺に局在する可能性が示された場合には、臨床試験で患者の精液のモニタリングを考慮する必要があるとされ、検査期間も精子形成の1サイクルである64-74日間を超えて複数回実施することが望ましいとされている。ベクターの精液中への排出試験については、このICH見解に従って実施することが望ましい。

④試験対象

ウイルス排出評価の対象とされるのは、投与したベクターまたは非増殖性のウイルスベク

ターを投与後に出現した増殖性ウイルスである。増殖性ウイルスはベクターに混入している場合と、患者体内で野生型ウイルスとの組換えにより生じる場合が考えられる。非増殖性ウイルスベクター、特にレトロウイルスベクターの場合、患者の体内での増殖性ウイルスの出現が安全性上の重要な懸案事項となることから、増殖性ウイルスの排出が検討されている。レトロウイルスベクターによる *ex vivo* 遺伝子治療では、ウイルス排出の分析はもっぱら増殖性レトロウイルスを対象とし、ベクターの検出は行われていない。遺伝子導入細胞でフリーのベクター粒子が存在しないことは品質規格で設定されており、ベクターの排出は考慮しなくて良いと考えられる。なお、これまでの臨床試験の報告では、レトロウイルスベクターを用いた445名、アデノウイルスベクターを用いた201名について増殖性ウイルスが調べられているが、患者で検出された例はない。

⑤患者の隔離に関する見解

各極の規制状況で大きく異なるものに、患者の隔離に関する見解がある。日本ではカルタヘナ法に基づき、遺伝子組換え生物等に該当するウイルスベクターや増殖性ウイルスを臨床で患者に投与する場合、遺伝子組換え生物等の第一種使用となる。この場合、使用規程を定めた上で、環境中への拡散、生物多様性への影響を防止するために、患者を一定期間個室に隔離し、ウイルス/ベクターの排出がないことを確認した後に隔離を解除するという措置が執られている。しかし、海外ではこのような患者の隔離は行われていないという。ウイルス排出の実態に関するデータの蓄積により、ウイルス排出のリスク評価が適切に行われるようになれば、過剰な隔離は必要なくなることも考えられる。

⑥ウイルス排出試験のインパクト

患者から排出された感染性ウイルスベクターに暴露した場合の影響は、ベクターの増殖能と遺伝子挿入能、治療用遺伝子に依存すると考えられる。例えば、自殺遺伝子をコードした非増殖性ベクターの排出が環境に与える影響は、プロドラッグがなければ何も影響がないため、細胞毒性遺伝子を搭載した増殖性ベクターの排出と比較すると影響はずっと低いであろう。患者の排泄物を介して環境中に排出されたウイルスベクター粒子が実際に第3者に感染することが可能かどうか、相互汚染を起こすリスクに関しては、現時点では不明である。アデノウイルスでは、 10^3 pfu のウイルスを吸入すると十分に気道の感染が認められるというが、このようなデータをウイルス排出のリスク評価として人の汚染に外挿することは難しい。ウイルス/ベクターのウイルス排出による伝播のリスクを正しく評価するためには、ウイルス排出試験データの質、量を向上させ、相互比較の出来るデータを蓄積し、汎用性のあるデータを得ることが必要であろう。そのためにも、ウイルス/ベクター排出に関する ICH 見解の作成が期待される。

C. 6.3 腫瘍溶解性ウイルスの品質・安全性確保

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」[48]が発出された。本見解の構成を表 16 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。

C. 6. 3. 1 ICH 見解：腫瘍溶解性ウイルス

C. 6. 3. 1. 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的原則を示す。

C. 6. 3. 1. 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。

C. 6. 3. 1. 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。

C.6.3.1.2.2 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であろう。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。

C.6.3.1.2.3 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。

C.6.3.1.3 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。

C.6.3.1.3.1 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 (C.6.3.1.2.1 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 (C.6.3.1.3.3-3.6 参照)。

C.6.3.1.3.2 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であろう (例: コットンラット、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に適していない。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。遺伝子産物は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等性(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。

動物種を選択においては、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。

C. 6. 3. 1. 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。

C. 6. 3. 1. 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るべきである。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るべきである。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相関しているかどうかが明らかになるであろう。

C. 6. 3. 1. 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。

C.3.1.3.6 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るべきである。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。

C. 6. 3. 1. 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。

C. 6. 3. 1. 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。

C. 6. 3. 1. 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。

C. 6. 3. 1. 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。

C. 6. 3. 1. 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、臨床プロトコールの中で、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、患者と接触するその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.6.3.2 腫瘍溶解性ウイルスの品質・安全性確保に関する考察

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日文部科学省・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、その有効性や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) に関する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/バクテリアの排出に関するICH見解を本見解と併せて参照することが望まれる。

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

Q8、Q9 のガイドライン作成が一段落した2005年5月ベルギーの専門家会議において品質システムの非公式会議が開催された。

C. 7. 1. 1 2005年11月のシカゴ専門家会議

この会議においてはガイドラインの目的、適用範囲が議論され仮構成が決められた。この章ごとに業界メンバーによる原案作成チームが編成され、2006年1月及び3月の電話会議で進捗を確認しつつ各章の草案作成を進めた。

C. 7. 1. 2 2006年5月横浜における専門家会議

過去半年のICH外におけるQ10ガイドラインに関わる議論をまとめた資料を参考に作成が進められた。又、前回のシカゴ合会で厚生労働省が設問していた『Q10が出来上がったら企業はどのように使うか?』に対して、ラポーターの考察が示された。それらには①自社に存在する品質システムの評価に用いる。②品質システム内の構成要素を明確化し、それらの間の連携を図る。③研究開発と製造の連携を強化する。④経営者・管理者の責任およびレビューの構築に役立てる。⑤効果的な品質システムを行政当局にアピールする。の5点であった。横浜会議の後、ドラフトバージョン5.1が6月にまとめられた。

2006年5月時点における認識を以下にまとめ

ておく。

ガイドラインの概要: 医薬品の製品研究開発から製造・品質管理全般を包括管理し、継続的改善を推進するシステムに関する製薬企業向けガイドラインである。具体的には、GMP (製造所ごとの製造・品質管理規則—各極とも法的な要件であり、ほぼ国際調和は出来ている) で包含されていない経営者・管理者の責任、製品開発 (ICHQ8でカバーされる) と生産工場間の技術・知識の共有などに係わる指針となる。**ガイドラインの性格、適用範囲:** 推奨事項であって、法的な要件とするものでない。研究開発ベース企業、後発品企業、原薬製造メーカー、バイオテック、小企業から国際大企業まで幅広く使える指針とする。したがって、ガイドラインに書かれている要素のすべての適用を推奨するものではない。

ガイドライン作成の進捗: ガイドラインの構成 (導入部、PQS の記述、経営者・管理者の責任、製品の継続的改善、品質システムの継続的改善) を決め第一次ドラフトを横浜会議で作成した。2007年春から夏の専門家会議でステップ2をめざす。

ガイドラインの使用: 現存のシステムの自己評価、経営・管理者の責任の明確化、研究開発部門と生産部門の連携改善などに用いる。

各行政の立場: ICH のガイドとしては推奨事項とする。

ただし、日本においてはQ10ガイドラインに記述される一部がGQP省令を通じ、製造販売業者の許可要件となっていることが想定される。

欧州においてはQ10をGMPルールの付属書とすることを表明している。

米国FDAは現在ドラフトとして公表している“GMP関連の品質システム”ガイダンスの代

わりに Q10 を採用する可能性を示唆している。

2006年8月、9月に2回の電話会議により、用語の採用作業などを行い、バージョン7が作成された。

C. 7. 1. 3 2006年10月シカゴにおける専門家会議

PQS の要素である①製造プロセスおよび製品品質の監視システム、②CAPA、③変更管理、および④経営者レビューが、各 Life cycle 段階において、どのようにあるべきかを整理した。また、各章の記述の重複を省く編集作業が行われバージョン8が作成された。この版になり専門家会議外に意見が求められる状態になったと判断し、各極の組織内で意見を募集することとなった。

2007年1月に電話会議を行い集約した意見をもとにさらなる改定の方針が決定された。重要な点は①Q10 は推奨事項をまとめたものであることを明確に表現するために OPTION という言葉を再度入れなおした。②Regulatory Flexibility という言葉から想定することは各極において異なる。言葉自体が適切ではないので改める。共通認識を行うために付属書を用い、Regulatory Flexibility のもとで議論されてきたあるべき姿へ(ビジョン) 向かうための機会を説明することとなった。

C. 7. 1. 4 2007年5月ブリュッセル専門家会議

2006年の2回の専門家会議ならびに2007年1月の電話会議における合意に対し大きな異議は出ず、ガイドライン案(ステップ2)に合意した。各極における意見聴取を2007年中に行い、2008年初夏の専門家会議において最終合意に至る計画を運営委員会に提出し承認さ

れた。

C. 7. 1. 5 2007年日本における説明会及び意見聴取

製薬協 ICH プロジェクトの協力も得て、医薬品品質システムガイドライン案の日本語訳を完成させ、意見聴取を行った。

日本の専門家会議メンバーによる ICHQ10 ガイドライン(ステップ2)説明会を医薬品品質フォーラム・製薬協の協同で開催した。

C. 7. 1. 6 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ともにあった。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。

C. 7. 1. 7 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。