

## EXECUTIVE SUMMARY

Transgenic plant technology has emerged as a possible complement to the longer-established range of prokaryotic, yeast and mammalian cell-based recombinant protein production systems. In this document guidance is provided on the approaches which should be employed in order to achieve satisfactory quality for biological active substances proposed to be produced using the new technology.

### 1. INTRODUCTION

The principal aim of this guideline is to adapt aspects of the quality guidance already in place for other production systems to the special case of transgenic higher plant-based systems.

As is the case with other biotechnologically produced active substances, both the production process and its control play important roles in defining the quality profile of transgenic plant produced active substances. An additional consideration for transgenic plants-based production is that, since experience with the technology is limited, applicants are advised to be appropriately vigilant when conducting the development studies.

Methods used to stably transform transgenic plant genomes include micro-particle bombardment, micro-injection, *Agrobacterium sp.* mediation (for nuclear genome transformations), and *Chlamydomonas sp.* mediation (for chloroplast genome transformations). Typical distinguishing features of plants include growth on soil or aqueous substrates, the presence of tough cell walls, and protein processing patterns (including glycosylation patterns) which differ from those of other eukaryotic species. These features obviously have potential to impact on the quality, safety and efficacy profiles of the active substances produced.

### 2. SCOPE

The quality issues (including adventitious agent safety evaluation considerations) affecting biological active substances<sup>1</sup> produced by the expression of one or more transgenes stably located in the nuclear or plastid genomes of higher plants (meaning those belonging to the Spermatophytæ (Gymnospermae and Angiospermae) taxonomic group constitute the scope of this guideline. Production using transiently transfected plants and production using plant cell culture fall outside the scope.

The guidance offered applies primarily to active substances intended for parenteral administration. For substances intended for non-parenteral administration, although all aspects of the guidance offered may not be applicable, applicants for Marketing Authorisation are reminded that the same general principles apply.

### 3. LEGAL BASIS AND CONSIDERATIONS

This guideline should be read in conjunction with the introduction and general principles (4) and part I, module 3 of the Annex I to Directive 2001/83/EC as amended, and with all relevant EMEA Committee on Human Medicinal Products (CHMP) guidelines. Aspects of certain EMEA Herbal Medicinal Products Committee (HMPC) guidelines, although addressing a different usage of plant species, may also find applicability.

Medicinal products containing biological active substances manufactured using transgenic higher plants fall within the scope of the Annex to Regulation (EC) No 726/2004<sup>2</sup> and may normally only be

---

<sup>1</sup> As defined in Directive 2001/83/EC, as amended. The biological substances produced in transgenic plants are typically recombinant proteins or peptides.

<sup>2</sup> Regulation (EC) No 726/2004 of the European Parliament and of the Council of 31 March 2004 laying down Community procedures for the authorisation and supervision of medicinal products for human and veterinary use and establishing a European Medicines Agency

placed on the market within the European Union if a marketing authorisation is granted in accordance with the Centralised Procedure as defined in this Regulation.

Containment/confinement measures applied to transgenic plant production systems are likely to function in the respective realms of medicinal product quality assurance (by protecting transgenic material from the environment) and environmental protection (by protecting the environment from transgenic plant material). Manufacturers responsible for cultivating or handling transgene-bearing plant tissue in the European Union need to comply with relevant Community Genetically Modified Organism and other environmental legislation, and in particular with Directive 2001/18/EC<sup>3</sup>. The measures in place should include those intended to prevent deliberate or accidental ingestion of transgenic plant parts by animals or human beings, either via direct consumption, or through inadvertent release into food or feed supply chains.

#### **4. MAIN GUIDELINE TEXT**

##### **4.1 Development genetics**

###### **4.1.1 The host plant**

Applicants should document the rationale for the choice of host plant for the genetic manipulation, taking into account attributes such as phenotype/genotype variation and stability, suitability for routine cultivation in manageable environments, susceptibility/resistance to infection with extraneous agents (for example, plant viruses/viroids, and fungi), and post-translational patterns for proteins.

The chosen host plant should be defined in terms of family name, genus, species, sub-species, cultivar/breeding line and common name, quoting the classifying authority. The host plant may itself be engineered to express specific traits and characteristics, such as modification of the plant glycosylation process, growth performance, or resistant features. In such cases, the development of the engineered host plant should be described in detail, and the chosen strategy should be explained.

Appropriate purification strategies should be developed, and a risk assessment should be presented, if the host plant is known to produce constituents potentially harmful to humans such as secondary metabolites (for example, pharmacologically-active alkaloids or glycosides).

###### **4.1.2 The transgene and expression construct**

The manufacturer should describe the origin of the nucleotide sequence coding for the protein. All subsequent modifications of the DNA sequence should be identified and described.

The method of transformation used to generate the initial transformant should be justified, and the assembly of the expression construct should be described in detail. When using micro-organism-mediated transformation, for example using *Agrobacterium sp.*, full documentation on the origin, history, and biological characteristics of the system should be provided. The description of the expression construct should include the source and function of the component parts, for example, origins of replication, selection marker or reporter genes, promoters, enhancers, and leader/targeting sequences. A detailed component map and a complete annotated sequence of the plasmid should be given, indicating those regions that have been sequenced during the construction and those taken from the literature. The nucleotide sequence of the coding region of the gene of interest and associated flanking regions that are inserted into the vector, up to and including the junctions of insertion, should be determined. Other expressed proteins encoded by the plasmid should be indicated. Genetic material other than the gene of interest that are introduced or altered to regulate or modify a specific trait of the host plant (for example, factors affecting expression or inhibition of glycosyltransferase, factors affecting dissemination) should be documented and explained.

---

<sup>3</sup> Directive 2001/18/EC of the European Parliament and of the Council of 12 March 2001 on the deliberate release into the environment of genetically modified organisms and repealing Council Directive 90/220/EEC

#### 4.1.3 Generation of the primary transformant

The description of procedures and materials employed for the transformation event should be presented. The status of the genetic material incorporated, or modified, should be documented for the primary and/or final transformant, as appropriate. This documentation should include at least information on the desired sequences, number of loci and inserts, tandem repeat, inverted repeat, sequence of insert, flanking regions, junctions of insertions, residues of process materials remaining from the transformation process (for example, the fate of *Agrobacterium* infection).

#### 4.1.4 Generation of the final transformants

Primary transformants produced by the transformation event are typically bred through a series of generations to produce final or production transformants. In the Marketing Authorisation Application these may be designated T0 (for primary transformant), T1, T2, T3 etc for successive generations, and Tp for the production transformant, or an alternative system of nomenclature may be used if the circumstances warrant it. The operations involved should be described in detail, including information on all manipulations, reagents and media used.

If an elite plant line is employed in the process, a justification should be provided, and complete details as for the main transgenic line should be provided. The crossing events should be described in detail, and the impact of the crossing event on the properties of the generated plant line determined and described.

#### 4.1.5 Transgenic banking system

Where possible and unless otherwise justified, a banking system should be included in the batch-to-batch consistency assurance strategy. Depending on the production strategy, there may be a need to bank both the production strain and an elite line. The fundamental principles underlying banking systems for substrates and materials used in the production of biological medicinal products are outlined in CHMP guidelines, and should be taken into account by manufacturers of transgenic plant-derived active substances when designing their systems.

Manufacturers should therefore establish a master and working transgenic bank of plant material derived from the final transformant, capable of long-term storage and of providing consistent and sufficient starting material for a number of production runs which is sufficiently large to ensure long-term continuation of supply.

The generation, establishment and maintenance of both the master and the working transgenic banks should be defined and clearly described. The approach applied to characterising and testing the master transgenic bank and the working transgenic bank should take into account the guidance outlined in CHMP guidelines, with adaptation to the particular transgenic plant production system in question. The plant material used to establish the master transgenic bank should be thoroughly characterised genotypically and phenotypically. The characterisation of the material used to form the master transgenic bank should include a comparison of its botanical, horticultural, agricultural and phytochemical characteristics with its natural counterpart, with a view to identifying any emerging characteristics which might have significance for the production crop, such as gene silencing activity or pleiotropic effects resulting from the presence of the transgene, which might have consequences for the quality, and safety of the active substance.

This study should include an analysis of the transgene (for example, sequence(s), integrity, site(s) of insertion, copy number, and fates of marker sequences), its expression (tissue/organ specific, regulation, and expression level), plant gene silencing effects, over-expression of other proteins, ploidy, and karyology).

The stability behaviour of the banked material should be investigated and on the basis of the results the following should be defined:

- Specifications for container and closure systems.
- Storage conditions.



- Shelf-life.

#### 4.1.6 Genetic stability

The genetic stability should be determined for the production system, from the primary transformant stage through to the crop at time of harvest. Data from successive crops should be included in the determination. A limit of plant age for the intended culture conditions should be defined. Genetic stability studies should be complemented with supportive data obtained from in-process controls during cultivation, and the results of control testing of the batches of the active substance. It is important to inter-relate these issues in Marketing Authorisation Applications.

## 4.2 Manufacturing issues

### 4.2.1 General manufacturing strategy

For all biological active substances, the production system and its control is one of the factors determining both the consistency of production and the quality of the material produced. In the case of production of active substances using transgenic higher plant technology, a clear strategy for implementing this principle should be proposed, and illustrated by means of a flow diagram.

#### *Good production practice*

The Master Transgenic Bank and the Working Transgenic Bank should normally be established and maintained under GMP conditions.

The production process of each batch of active substance should be considered to start with an aliquot taken from the working transgenic bank and to conclude with the testing and release of the batch.

Production processes employing transgenic plants can normally be divided into two distinct phases.

The first production phase is specific to transgenic plant technology and includes the cultivation, harvest and primary processing (for example screening, cleaning, sorting, macerating, transporting and/or storing) of the harvested material. Where classical GMP principles prove impractical to apply to elements of this phase, a suitable Quality System should be developed and put in place.

The heading used to describe the Quality System should include at least personnel, including qualifications and training, documentation including traceability, arrangements for audits and inspections, and information on whether the system is certificated by any official organisation. The development of the System may use as a starting point the basic principles outlined in the HMPC "Guideline on Good Agricultural and Collection Practice (GACP) for Starting Materials of Herbal Origin", though confirmation of compliance with the GACP Guideline, which is aimed at a different usage of plants, is not alone considered adequate for controlling transgenic plant-based production.

Ultimately, whether performed in accordance with GMP or with a defined quality system, the early steps of the manufacturing process should be well controlled by the application of suitable in-process controls, provide a well-defined starting material suitable for subsequent processing under GMP, and be well documented. The operations and the documentation should be available for inspection.

Production operations for the active substance downstream of primary processing (the second production phase) should normally be conducted according to GMP. The second phase, encompassing product isolation, purification, formulation, etc., is common to all biotechnology-derived products and the general requirements are documented in the relevant CHMP and GMP guidelines.

### 4.2.2 First production phase

#### *Description of the site*

- Geographical location, with boundaries exactly defined.

- The quality and nature of the growth substrate (typically soil, aqueous solution, or aqueous suspension), water supply and other raw materials (including fertilisers and pesticides) should be defined, and specifications should be set, where appropriate.
- The prevailing meteorological conditions, with seasonality and general variability should be documented. Extreme conditions for the locality should also be mentioned.
- Supervision of the site.
- Local flora and fauna.
- Cultivation of other genetically modified plants in the vicinity.
- The quality and/or good practice system in operation at the site.

#### *Procedures for cultivation*

- Propagation steps and techniques. Depending on the cultivation strategy, the number of generations should be clearly defined for each step with reference to the documented genetic stability of the process.
- Procedures for the detection and removal of undesirable plants and ingress of foreign genetic material, including pollen.
- Procedures for the detection and removal of pests.
- Procedures for monitoring the status of plant health, plus actions to be taken in case of disease.
- In-process monitoring of production consistency. The critical parameters for cultivation should be defined and justified, and are likely to include:
- Planting technique and location, taking into account environmental conditions including seasonality and nature of neighbouring flora.
- The nature of the soil substrate (including potential radioactivity)
- Plant hormone and fertiliser application.
- Pesticide application, including the use of chemical and biological agents.
- Potential for genotype proliferation arising from sexual reproductive techniques.

#### *Harvesting and primary processing*

- Criteria for initiation of harvesting.
- Harvesting technique including techniques to prevent contamination with rodents, birds and carcasses.
- Procedures and validation of the immediate manipulation of biomass once harvested, including transport and storage arrangements, and mechanical, physical, chemical and biological treatments applied.
- Conditions and duration of storage of isolated primary-processed material

The definition of a batch of post-harvesting material, active substance and final product should be provided, and the arrangements for the traceability of each batch back to the original unit of the Working Transgenic Bank should be described. Provisions for pooling of harvest or any other intermediate should be defined, and where appropriate, specifications should be set.

#### **4.2.3 Second production phase (downstream processing)**

As is the case with biotechnology-derived medicinal products generally, the methods used to purify the product and their in-process controls including their specifications should be described in detail, justified and validated. Considering the specificities inherent to plant cultivation, particular attention should be placed on the demonstration of the robustness of the production processes.

Potential impurities or contaminants derived from the plant and the production process (for example, host-cell proteins, DNA, plant metabolites, herbicide, fertiliser, and mycotoxins) should be evaluated. Care should be taken to document host proteins homologous to the required product, contaminants which may co-purify with the desired material, and any elements with potential to raise safety concerns (including hypersensitivity reactions).

The ability of the purification process to remove impurities and contaminants should be demonstrated and the overall reduction factors for impurities as well as reduction factors for each stage of purification should be established. Where necessary, concentrations of impurities/contaminants higher than expected during normal production (i.e. spiking) should be used to study the robustness of the process for clearing these impurities/contaminants. In addition, quantitative estimations of residual levels of impurities/contaminants per dose should be performed using realistic conditions as well as worst-case scenarios.

#### **4.3 Control of the active substance**

##### **4.3.1 Characterisation**

The characterisation of an active substance derived from transgenic plants should be performed by appropriate techniques, taking into account relevant guideline (in particular the ICH Q6B guideline on specifications), pharmacopoeial, and other requirements. Characterisation studies should include a comparison of the active substance with its natural counterpart, when feasible and relevant. The potential impact of the differences observed should be carefully considered, and thoroughly discussed with regards to safety and efficacy.

A comprehensive quality profile of the active substance should be established using appropriate analytical techniques, which should include at least the determination of physicochemical properties, biological activity, immunochemical properties, purity and impurities. If there is an inherent degree of structural heterogeneity, for example due to the presence of post-translationally modified forms, the applicant should define the pattern of heterogeneity. In addition, the impact of cultivation, harvest, post-harvesting processing and storage on the pattern of heterogeneity of the active substance should be appropriately defined in order to establish a basis for establishing an appropriate set of controls and specifications which in turn should assure batch-to-batch consistency.

A comprehensive characterisation of the plant protein processing, including glycosylation patterns, both qualitatively and quantitatively, should be provided. This analysis should include the determination of the overall monosaccharide composition, the analysis of oligosaccharides released from the protein (e.g. determination of antennary structures, mapping) and oligosaccharides attached to the protein (e.g. glycosylation per site, glycoform distribution). Characterisation studies should also include analysis of post-translational modifications other than glycosylation (for example, acetylation, phosphorylation, addition of lectins, lipids, polyphenols). Particular attention should be paid to moieties or patterns that are not known to be present in natural human proteins. Where such moieties or patterns are observed, they should be highlighted, and the strategy employed to monitor them or to remove them should be fully documented.

Plants production system may give rise to secondary metabolites as well as host cell proteins, which should be removed by the purification process.

Appropriate methods should be used to characterise product- and process-related impurities. The following parameters should be considered for impurities from the host plant: (i) plant proteins other than the transgene-expressed protein (for example, lectins), (ii) proteases, (iii) plant DNA, (iv) secondary plant metabolites such as alkaloids or glycosides secreted by the production plants. The following parameters should be considered for impurities from the process itself: (i) materials employed in production and purification (including soil, fertilisers, pesticides, solvents, chromatographic materials leached from columns...), and (ii) materials (chemical, biochemical, microbial and/or biological) potentially introduced adventitiously during production and purification (including endotoxins, aflatoxins and other mycotoxins, toxic metals).

##### **4.3.2 Specifications**

Applicants for Marketing Authorisation are reminded that, taking into account the specificities inherent in transgenic plant-based production, the overall strategy aimed at routinely controlling the quality of each batch of active substance produced, and at ensuring batch-to-batch consistency, should embrace the control of starting materials, reagents, and materials used during cultivation and



processing, adherence to good production practice, and the application of appropriate in-process controls.

The selection of tests to be included in the specifications should be defined as described in ICH Q6B: *Specifications: Test Procedures and Acceptance Criteria for Biotechnological/Biological Products*. Selection of tests to be included in the specifications is product specific. The rationale used to establish the acceptable range of acceptance criteria should be described. Each acceptance criterion should be established and justified based on characterisation data, data obtained from lots used in non-clinical and/or clinical studies, and by data from lots used for the demonstration of manufacturing consistency, data from stability studies, and relevant development data.

#### **4.4 Freedom from contamination with adventitious agents**

##### **4.4.1 Non-viral adventitious agents**

Mycoplasmas, bacteria and fungi constitute the usual range of cellular organisms that need to be controlled and tested for during the course of the production of biological medicinal products. Where botanical materials are involved, however, applicants may also need to control the potential for infestation of harvest- and in-process level-plant tissue with unicellular and metazoan organisms which are possible contaminants of the material.

For materials and products intended to be sterile, the sterilisation process should be validated with reference to the worst-case contamination levels which may apply to the input material.

##### **4.4.2 Virus and viroid adventitious agents**

There is a wide range of naturally occurring plant viruses and viroids. The species involved are generally plant and tissue specific, much in the way that mammalian viruses are. Long experience of regular exposure of humans to plant tissues and fluids, principally via the oral and topical routes but also in some cases by inadvertent parenteral inoculation, has not produced any evidence that these agents are pathogenic to humans or other vertebrates. Furthermore, attempts at propagating plant viruses in mammalian cells and at propagating mammalian viruses in plant cells have been unsuccessful.

Of more concern is the unintentional contamination of process material and/or equipment with extraneous material such as insect, bird and animal excreta, carcasses or parts thereof, organic fertiliser residues, and/or production personnel-shed material, any of which might result in contamination of the material with viruses capable of causing disease in humans. For example, the Hantaviruses, which can be distributed in rodent excreta, are found worldwide and are responsible for a number of fatal diseases in humans. The range of potential contaminating viruses is, however, considerable and includes other viruses derived from excreta such as Minute Virus of Mice (MVM), avian influenza virus and Hepatitis A virus (HAV). Overall, the likelihood of viruses contaminating starting or in-process materials is likely to be dependent on the extent and nature of the operations involved, including the environments in which they are performed, the containment measures applied, the quality and good practice systems in place, and the personnel involved.

Potential viral contamination via the intentional introduction during manufacture of biologically derived material such as reagents, chromatographic materials, growth promoters, and growth media needs to be controlled using well-established approaches.

A programme to monitor for plant disease should be in place. Disease may not only result in high levels of plant viruses in the harvested material, which would be a general contaminant, but may also affect the expression and structure of the medicinal product. In designing the monitoring programme, it needs to be taken into account that infectious diseases of plants are not always overt.

Depending on the circumstances, production processes might amplify, eliminate, or concentrate contaminating viruses and viroids. However, in the event of contamination of the starting material or the manufacturing process with a mammalian virus of concern, it should be borne in mind that the virus would not be amplified, as it might be for example in a bioreactor containing mammalian cells.

Taking each of the above considerations into account, applicants should present a risk analysis of the potential for contamination of the active substance with adventitious viral agents. On the basis of this analysis, which should be quantitative insofar as this is possible, the applicant should propose an integrated step-wise strategy that reliably ensures the virus safety of each batch of medicinal product.

Effective strategies are likely to involve some or all of the following measures:

- Controls and tests on starting materials, raw materials, reagents and excipients.
- Barriers (containment) applied at the level of agricultural steps (cultivation, harvest, post-harvest processing) aimed at preventing the adventitious entry of extraneous materials and agents.
- *In vitro* and *in vivo* tests for the absence of adventitious agents at critical production stages, such as appropriate unprocessed bulk and/or processed bulk levels.
- Validated virus/viroid inactivation/removal procedures.

#### 4.4.3 Transmissible Spongiform Encephalopathy (TSE) issues

Any materials introduced during production which fall within the scope of the European guideline on minimising the risk of animal TSE transmission should be identified, and compliance with the requirements of the guideline demonstrated.

#### DEFINITIONS

Definitions are provided for the purpose of this document.

**Higher plant:** plant belonging to the taxonomic group Spermatophytæ (Gymnospermae and Angiospermae).

**Expression construct:** expression vector containing the sequences coding for a recombinant protein and for the elements necessary for the expression of the protein.

**Transgene:** heterologous DNA segment inserted into the genome of an organism and capable of expressing or inducing the expression of a polypeptide sequence in that organism. Most transgenes of medicinal interest are typically obtained from viral, bacterial or mammalian sources.

**Transgenic organism:** organism into which one or more transgenes have been introduced.

**Initial transformant.** A generation of plants homozygous for a particular transgene produced by a single transformational event.

**Final or production transformant:** normally a genetically homogenous group of plants with the characteristics of all production crop lots intended for routine consistent production of harvests possessing the desired characteristics and from which a master (and working) bank can be established.

**Transgenic bank:** a master or working bank of starting transgene plant material, capable of long-term storage and of providing sufficient starting material for a large number of production runs.

**Elite plant line:** an elite plant line is a plant line selected for its agricultural performance. Elite plant lines are typically non-transformed plants derived from the same species as the final transformant.

**Production plant:** a plant with defined quality cultivated and harvested to yield crude active substance.

#### REFERENCES (scientific and / or legal)

The pharmaceutical legislation (Eudralex) is available on the European Commission website (<http://pharmacos.eudra.org/F2/eudralex/index.htm>):

- Directive 2001/83/EC of the European Parliament and of the Council of 6 November 2001 on the Community code relating to medicinal products for human use, as amended.
- Regulation (EC) No 726/2004 of the European Parliament and of the Council of 31 March 2004 laying down Community procedures for the authorisation and supervision of medicinal products for human and veterinary use and establishing a European Medicines Agency.



- Directive 2001/18/EC of the European Parliament and of the Council of 12 March 2001 on the deliberate release into the environment of genetically modified organisms and repealing Council Directive 90/220/EEC.
- Eudralex Volume 4 - Good Manufacturing Practice – Part II Basic Requirements for Active Substances used as Starting Materials

Available on EMEA website ([www.emea.eu.int](http://www.emea.eu.int)):

- Guideline on Good Agricultural and Collection Practice (GACP) for starting materials of herbal origin (EMEA/HMPC/246816/2005).
- Note for Guidance on minimising the risk of transmitting animal spongiform encephalopathy agents via human and veterinary medicinal products (2004/C 24/03)

WHO guidelines on good agricultural and collection practices (GACP) for medicinal plants (2003 - published by WHO).

ICH Q5A: Viral safety evaluation of biotechnology products derived from cell lines of human or animal origin

ICH Q6B Specifications: Test Procedures and Acceptance Criteria for Biotechnological/Biological Products.

Guidelines are available on EMEA ([www.emea.europa.eu](http://www.emea.europa.eu)) and ICH websites ([www.ich.org](http://www.ich.org)).

厚生科学研究費補助金（医薬安全総合研究事業）  
総合・分担研究報告書

バイオ医薬品の品質・安全性確保のための国際動向

分担研究者 山口照英 国立医薬品食品衛生研究所

バイオ医薬品の品質・安全性確保に関する国際動向に関して、EMEA の治験薬のウイルス安全性確保ガイドライン案、TGN1412 自己の教訓から治験薬に求められる要件に関する海外の動向、及び抗体薬品の品質・安全性確保に関する要件についての国際動向を調査研究し次のような成果を得た。

1) EMEA の「開発バイオ治験薬のウイルス安全性評価指針」(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指針案である。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、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。治験製品でのウイルス安全性試験で考慮すべき事項として、用いる細胞の特性や使用実績を考慮することなどに加え、製造メーカーの持つ製造細胞の経験の程度や製造メーカーが採用している各製造工程の経験の程度といった点も考慮することを求めており、これなでにない視点が加わっている。また、各臨床開発ステージで必要とされるデータやその範囲についても言及されており、開発企業にとって有用な情報と考えられる。一方、この本指針案は、臨床開発段階の製品についてウイルス安全性確保の要件を明らかにしようとしたものであるが、ウイルス安全性のデータの取り扱いや、新たなウイルス安全性試験の活用など、承認申請でのウイルス安全性確保においても有用な情報が記載されており、本指針案は我が国におけるバイオ医薬品のウイルス安全性確保に非常に有用であると考えられる。

2) 作用の種特異性が高く、動物モデルでの評価が困難なバイオ医薬品では、非臨床試験の結果をもとに臨床適用における有効性・安全性について十分な評価を行うことが困難な場合も多い。ヒト CD28 に対するアゴニスト抗体 TGN1412 の臨床試験での重篤な有害事象発症に関して、様々な議論が行われている。TGN1412 を含め、リスクの高いバイオ医薬品の開発における要件やヒト投与に当たって求められる対応について検討を行った。その結果、TGN1412 に関しては様々な要因が重篤な有害事象を引き起こしたと想定されている。非臨床試験結果に基づいて行われた用量設定が適切でなかった可能性が指摘されている。特に、TGN1412 が血管内皮細胞と結合して非常に強い薬理作用が出たことも要因の一つとしてあげられる。ただ、従来の製品でもいわゆるサイトカインストームや infusion 反応を起きている。従って、こういったリスクのあるバイオ医薬品、特にアゴニスト作用のあるバイオ医薬品の安全性評価では、開発段階での生物活性の評価やヒトへの投与に当たって慎重な対応が必要とされる。一方で、このような慎重な投与が全ての製剤で必須と言う

わけではない。すなわち、従来のバイオ医薬品に比べような新規の薬理作用を持つ製品、特にアゴニスト作用を持つ抗体等の開発では、より慎重な特性解析、基礎及び非臨床試験での生理作用の解明、ヒトでの初期投与量設定の新たな基準の採用などが必要となってくると考えられる。

3) バイオテクノロジー応用医薬品のなかでもモノクローナル抗体医薬品の開発が急速に進展している。今後も同様の傾向が続くと予想され、2007年に抗体医薬品のヨーロッパ医薬品庁(EMEA)では抗体医薬品の品質確保に関するガイドライン案を作成した。この中で、興味あるコンセプトとして抗体医薬品は共通の構造特性を持ち、製法から品質特性解析や規格試験法に関しても共通の基盤技術が適用できるとしている。このような基盤技術をプラットフォーム技術と呼び、開発や評価においてこのプラットフォーム技術を利用することにより、迅速な開発が可能としている。本報告書では、この抗体医薬品のプラットフォーム技術の有用性を調査し、さらに、このようなプラットフォーム技術を製法の確立や、品質特性解析、規格試験法の設定においてどのように適用すべきかについて明らかにした。

#### 研究協力者

国立医薬品食品衛生研究所・生物薬品部室長

石井明子

川崎ナナ

#### A.はじめに

21世紀に入り、バイオテクノロジー応用医薬品(バイオ医薬品)の中でも特にモノクローナル抗体を用いた抗体医薬品の開発が急速に進んでいる。これは、ハイブリドーマ作製技術やファージディスプレイシステムなどのモノクローナル抗体作成技術を基盤として、組換えDNA技術等を利用したヒト化抗体作製技術の進展が大きく寄与していると考えられる。国内で承認される多くのバイオ医薬品が抗体医薬品であり、海外先進国でも同様の状況である。これは、たとえばEMEAのオーファンドラッグの指定を受けた製品における抗体医薬品のリストから今後の開発動向が推定することができる。このような開発動向の特徴として、従来のモノクローナル抗体のみならず化学修飾を

行った抗体やアイソトープやトキシシンの融合製品もあり、さらには2価抗体など多様な抗体医薬品が開発されつつある。

モノクローナル抗体医薬品を含めバイオ医薬品の臨床開発の初期段階では、製法や各種試験法が十分に確定していることも少なく、また用いる治験薬についてロット数も含めてそれほど多く製造されているわけではない。臨床開発途中において、製法変更等が必要な場合も想定され、このような製法変更が必要になった場合には、ウイルス安全性に関して新たな試験が必要になることも想定される。従って、バイオ医薬品を開発に当たっては、治験を受ける患者の安全性を十分に確保した上で、受用可能な試験を臨床開発の各ステージで実施しておくことがより合理的である可能性が高い。

また、TGN1412事故の例にもあるようにモノクローナル抗体医薬品の開発に当たって考慮すべき事項を明らかにしておくことは、開発が進む抗体医薬品の安全性確保に観点から非常に有用と考えられる。



開発が進められているモノクローナル抗体医薬品（抗体医薬品）に求められる要件について、欧米ではガイドライン等でその考え方が示されている。例えば、FDA では 1995 年にモノクローナル抗体と DNA 組換え医薬品の品質管理に関するガイドラインを発出している(1)。さらにこれを補完するものとして、1997 年にモノクローナル抗体医薬品の考え方を示している(2)。一方、EMA も 1994 年に出したモノクローナル抗体医薬品に関するガイドラインの改訂を予定しており、2007 年末にはモノクローナル抗体の品質管理に関するガイドライン案が出されている(3,4)。

残念ながら我が国ではモノクローナル抗体医薬品に関する指針等を出していないが、基本的には ICH バイオ医薬品のガイドラインに示されている指針に準じて評価を行うことが求められる(5-9)。

本研究では、1) EMA が 2006 年に発出した「開発バイオ治療薬のウイルス安全性評価指針」(案)を取り上げ、その科学的背景や考え方について調査研究を行った。従来、承認申請時に必要なウイルス安全性データについては ICH Q5A ガイドラインがすでに活用されているが、本ガイドラインでは臨床開発時にどの程度のウイルス安全性についてデータを得おくべきか等については記載されていない。したがって、EMA のバイオ治療薬のウイルス安全性評価指針案について調査検討することにした。2) TGN1412 の開発にあたって、過去の知見に基づいてサイトカイン放出症候群の危険はどのように考えられていたのか。また、他の抗体医薬品で報告されているサイトカイン放出症候群とはどのような違いがあったのかを明らかにし、このような作用の主特異性が高く、アゴニスト作用を持つバイオ医薬品を開

発していく際に求められる基礎的検討や、開発初期や非臨床試験で明らかにすべき生理作用等について明らかにすることを試みた。3) モノクローナル抗体を主成分とする抗体医薬品は構造や生物活性などの品質特性に関して共通する特徴を有しており、抗体医薬品に求められる要件を明らかにしておくことは、開発の有用な参考となるばかりでなく、承認審査においても活用が可能であり、審査の迅速化にもつながると期待できる。本年度は、モノクローナル抗体を有効成分とする抗体医薬品の品質や安全性確保において求められる要件について調査研究を行った。

## B. 方法

1) EMA の「開発バイオ治療薬のウイルス安全性評価指針案」(EMA/CHMP/BWP/398498/2005)を中心に調査研究を行った。また、関連する各種基準やガイドラインについても調査研究を行い、我が国と EU との規制の違いや、共通する重要事項などを明らかにした。

2) TGN1412 の臨床試験に関しては既に多くの専門家から解説がなされているが、本稿では、バイオ医薬品の特性と品質・安全性確保に関心を寄せている立場から、TGN-1412 の特性と他の抗体医薬品との比較に基づき、改めて TGN1412 の事故を振り返ると共に、TGN1412 による有害事象発生の原因検証とその後の議論をもとに欧州医薬品庁から公表された“ヒト初回投与試験におけるリスク要因の同定およびリスク低減のための方策に関するガイドライン”を紹介し、この事故を教訓にした今後の非臨床・臨床試験のあり方を考察した。

3) 抗体医薬品に関する品質特性解析や、共通する基盤技術を中心に調査研究を行った。

## C.結果と考察

### C-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 を土台と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 SP2/0 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ー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

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にかわかわらず、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



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、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るべきである。

#### 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。

EMEA 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パリエ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1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2)。

さらに表3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パリエ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うなどの欠点があり、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た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-2 TGN1412

### 1. EMEA ガイドラインの概略

EMEA 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。

EMEA 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）。