

ヒトES細胞加工医薬品等の品質及び安全性の確保に関する指針(案)

(平成22年1月1日中間報告版)

はじめに

1. 本指針は、ヒト由来の胚性幹細胞(ES細胞)を加工した医薬品又は医療機器(以下「ヒトES細胞加工医薬品等」という)の品質及び安全性の確保のための基本的な技術要件について定めるものである。

しかしながら、本指針は、当面、既に存在するES細胞由来分化細胞を主たる医薬品製造基材として、これを加工して製造された医薬品等に適用されることを想定している。将来的にヒトES細胞を新たに樹立して医薬品等の製造を意図する場合には、その趣旨に関する説明と同意をドナーに徹底して行った上で第2章製造方法、第1項原材料及び製造関連物質、1体外受精胚に記載された必要情報が可能な限り提供できるよう措置し、さらに連結不可能匿名化を行い、しかる後、同第2章、第1項の3ヒトES細胞株及びヒトES細胞株由来分化細胞株の記載に準拠して適切な方策を講じ、その妥当性について説明する必要がある。なお、ヒトES細胞加工医薬品等は、その種類や特性、臨床上的適用法は多種多様であり、また、本分野における科学的進歩や経験の蓄積は日進月歩である。本指針を一律に適用したり、本指針の内容が必要事項すべてを包含しているとみなしたりすることが必ずしも適切でない場合もある。したがって、個々の医薬品等についての試験の実施や評価に際しては本指針の目的を踏まえ、その時点の学問の進歩を反映した合理的根拠に基づき、ケース・バイ・ケースで柔軟に対応することが必要であること。

2. 平成11年7月30日付け医薬発第906号厚生省医薬安全局長通知「細胞・組織を利用した医療用具又は医薬品の品質及び安全性の確保について」による確認申請時点における本指針への適合性の確認の趣旨は、当該ヒトES細胞加工医薬品等の治験を開始する(First-in-Man)に当たって支障となる品質及び安全性上の問題が存在するか否かの確認にある。その際、明らかに想定される製品のリスクを現在の学問・技術を駆使して排除し、その科学的妥当性を明らかにした上で、なお残る未知のリスクと、重篤で生命を脅かす疾患、身体の機能を著しく損なう疾患、身体の機能や形態を一定程度損なうことによりQOLを著しく損なう疾患などに罹患し、従来の治療法では限界があり、克服できない患者が新たな治療機会を失うことにより被るかも知れないリスクとのリスクの大小を勘案し、かつ、これらすべての情報を開示した上で患者の自己決定権に委ねるといった視点を持つことも重要である。したがって、確認申請の場合、その申請に当たって添付する

き資料について本指針に示された要件や内容をすべて満たすことを必ずしも求めている訳ではない。製造販売承認申請時における品質及び安全性の確保のための資料は治験の進行とともに本指針に沿って充実整備されることを前提に、確認申請では、当該時点でその趣旨に合う条件を満たし、合理的に作成された適切な資料を提出すること。

また、確認に必要とされる資料の範囲及び程度については、当該製品の由来、対象疾患、対象患者、適用部位、適用方法及び加工方法等により異なり、本指針では具体的に明らかでないことも少なくないので、個別に独立行政法人医薬品医療機器総合機構に相談することが望ましい。

第1章 総則

第1 目的

本指針は、ヒト胚性幹細胞(ES細胞)を加工した医薬品又は医療機器(以下「ヒトES細胞加工医薬品等」という)の品質及び安全性の確保のための基本的な技術要件について定めるものである。

第2 定義

本指針における用語の定義は以下のとおりとする。

1 「ヒト胚性幹細胞」とは、ヒト胚から採取された細胞又は当該細胞の分裂により生ずる細胞であって、胚でないもののうち、多能性(内胚葉、中胚葉及び外胚葉の細胞に分化する性質をいう。)を有し、かつ、自己複製能力を維持しているもの又はそれに類する能力を有することが推定されるものをいう。

2 「細胞・組織の加工」とは、疾患の治療や組織の修復又は再建を目的として、細胞・組織の人為的な増殖・分化、細胞の株化、細胞の活性化等を目的とした薬剤処理、生物学的特性改変、非細胞成分との組み合わせ又は遺伝子工学的改変等を施すことをいう。

組織の分離、組織の細切、細胞の分離、特定細胞の単離、抗生物質による処理、洗浄、ガンマ線等による滅菌、冷凍、解凍等は加工とみなさない。

3 「製造」とは、加工に加え、組織の分離、組織の細切、細胞の分離、特定細胞の単離、抗生物質による処理、洗浄、ガンマ線等による滅菌、冷凍、解凍等、当該細胞・組織の本来の性質を改変しない操作を含む行為で、最終製品であるヒトES細胞加工医薬品等を出荷するまでに行う行為をいう。

4 「表現型」とは、ある一定の環境条件のもとで、ある遺伝子によって表現される形態学的及び生理学的な性質をいう。

5 「HLAタイピング」とは、ヒトの主要組織適合性抗原型であるHLA(ヒト白血球抗原)のタイプを特定することをいう。

6 「ドナー」とは、ヒトES細胞加工医薬品等の原料となる細胞を提供するヒトをいう。精子と未受精卵の提供者がドナーである。

7 「遺伝子導入構成体」とは、目的遺伝子を標的細胞に導入するための運搬体、目的遺伝子及びその機能発現に必要な要素をコードする塩基配列等から構成されるものをいう。

第2章 製造方法

製造方法について、下記の事項に留意し、必要な情報を明らかにすること。これらの情報等は、最終目的製品の品質や安全性等の確保に資するとともに、品質の恒常性を製造方法面から保証するために重要なものである。しかし、品質・安全性やその恒常性確保は、製造方法全体で相互補完の方策により達成され、その方策が合理的で合目的性に叶うことが最も肝要である。したがって、最終製品や中間製品における品質試験や管理あるいは製造過程における管理において、品質や安全性及びその恒常性の確保という目的が達成されるのであれば、その科学的妥当性を明示した上で下記の措置や情報の一部を省略しても差し支えない。

第1 原材料及び製造関連物質

1 体外受精胚

(1) 起源及び由来、選択理由

ヒトES細胞株の樹立に使用する体外受精胚の起源及び由来について説明し、当該体外受精胚を選択した理由を明らかにすること。

(2) 体外受精胚の特性と適格性

①生物学的構造・機能の特徴と選択理由

体外受精胚について、その生物学的構造・機能の特徴を、例えば、形態学的特徴、増殖特性、その他適切な指標から適宜選択して示し、当該体外受精胚を原料として選択した理由を説明すること。

②ドナーの選択の倫理的妥当性

本指針発効以降に、臨床利用を目的として新たにヒトES細胞株を樹立する場合には、ドナーの選択が倫理的に適切に行われ、かつ適切な手続きで行われたことを、体外受精卵提供機関における倫理審査委員会の審査過程記録等によって示すこと。本指針発効よりも前に樹立されているヒトES細胞株に関しては、ドナーの選択が倫理的に適切に行われ、かつ適切な手続きで行われたことを、ヒトES細胞加工医薬品等の製造者の責任において明確にすること。

③ドナーの選択基準、適格性

年齢、性別、遺伝的特徴、病歴、健康状態、採取細胞・組織を介して感染する可能性がある各種感染症に関する検査項目、免疫適合性等を考慮して、選択基準、適格性基準を定め、その妥当性を明らかにすること。ドナーのゲノム・遺伝子解析を行う場合は、平成16年12月28日全部改正文部科学省・厚生労働省・経済産業省「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」に従うこと。

感染症に関連しては、特にB型肝炎(HBV)、C型肝炎(HCV)、ヒト免疫不全ウイルス(HIV)感染症、成人T細胞白血病(HTLV)、パルボウイルスB19感染症については、問診及び検査(血清学的試験や核酸増幅法等)により否定すること。また、サイトメガロウイルス感染、EBウイルス感染及びウエストナイルウイルス感染については必要に応じて検査により否定すること。

この他、次に掲げるものについては既往歴の聴取、問診等を行うとともに、輸血、移植医療を受けた経験の有無等からドナーとしての適格性を判断すること。

- ・梅毒トレポネマ、クラミジア、淋菌、結核菌等の細菌による感染症
- ・敗血症及びその疑い
- ・悪性腫瘍
- ・重篤な代謝及び内分泌疾患
- ・膠原病及び血液疾患
- ・肝疾患
- ・伝達性海綿状脳症及びその疑い並びにその他の認知症
- ・特定の遺伝性疾患や家族歴

なお、ドナー情報について体外受精胚と連結不可能匿名化がなされている場合には、可能な範囲で上記③の選択基準・適格性基準に関するドナーの情報を収集すること。しかし、特定の遺伝的特徴や各種感染症に関する調査等でES細胞由来分化細胞あるいはそれ以降の段階で行うことが可能で、かつ倫理的妥当性及び科学的合理性からみてより適切な項目については、その妥当性を明示した上で、ES細胞由来分化細胞の段階での検討に委ねてもよい。

ES細胞由来分化細胞を原材料とした場合は、当該細胞について可能な限り、上記に関する情報を収集すること。また、さらに分化が進んだ段階(中間製品)において、上記に関する検討を行い、妥当性を示すことでも良い。

(3) ドナーに関する記録

体外受精胚について、安全性確保に必要な情報が確認できるよう、可能な限りドナーに関する記録が整備、保管されていること。また、可能な範囲で情報提供の具体的方策を示すこと。

(4) 配偶子の採取・体外受精胚の作製及び保存・運搬

ヒトES細胞株樹立のために使用する配偶子の採取・体外受精胚の作製及びこれらの保存・運搬については以下の①～⑧に従うこと。ヒトES細胞株の樹立及び分配は、平成21年8月21日付文部科学省告示第156号「ヒトES細胞の樹立及び分配に関する指針」に準じて行うものとする。ヒトES細胞はヒト体外受精胚を用いて樹立(第一次樹立)されたものであること。なお、ヒトクローン胚を作成し、作成したクローン胚を用いて樹立(第二次樹立)されたES細胞については使用しないこと。また、「体内受精胚」も使用しないこと。

①採取者及び採取医療機関等の適格性

ヒト体外受精胚を作製して使用する場合には雄性及び雌性配偶子の採取者及び採取医療機関等に求めるべき技術的要件について、明らかにすること。

②受精胚の作製方法の妥当性

体外受精胚の作製方法を示し、これらが科学的及び倫理的に適切に選択され、かつ適切な手続きが行われたものであることを明らかにすること。配偶子の採取方法、及び体外受精の方法については、用いられる器具及び薬剤、微生物汚染防止、取り違えやクロスコンタミネーション防止のための方策等を具体的に示すこと。

③ドナーに対する説明及び同意

配偶子のドナーに対する説明及び同意の内容を、臨床利用も含めて規定すること。

④ドナーの個人情報の保護

ドナーの個人情報の保護方策について具体的に規定すること

⑤ドナーの安全性確保のための試験検査

配偶子の採取時にドナーの安全性確保のために採取部位の状態の確認など試験検査を行わなければならない場合には、その内容、検査結果等に問題があった場合の対処法について具体的に規定すること。

⑥保存方法及び取り違え防止策

採取した配偶子、もしくは作製した体外受精胚を一定期間保存する必要がある場合には、保存条件や保存期間及びその設定の妥当性について明らかにすること。また、取り違えを避けるための手段や手順等については、平成21年2月20日付け雇児母発第0220001号通知厚生労働省雇用均等・児童家庭局母子保健課長通知「不妊治療における安全管理の徹底について」等を参考にし、その内容を具体的に説明すること。

⑦運搬方法

採取した配偶子、もしくは作製した体外受精胚を運搬する必要がある場合には、運搬容器、運搬手順(温度管理等を含む。)を定め、その妥当性について明らかにすること。

⑧記録の作成及び保管方法

①～⑦に関する事項について、実施の記録を文書で作成し、適切に保管する方法について明らかにすること。

ES細胞由来分化細胞を原材料とした場合は、当該細胞について可能な限り、上記に関する情報を収集することで良い。

2 体外受精胚、既存のES細胞及びES細胞由来分化細胞以外の原材料及び製造関連物質

体外受精胚、既存のES細胞及びES細胞由来分化細胞以外の原材料及び製造関連物質を明らかにし、その適格性を示すとともに、必要に応じて規格を設定し、適切な品質管理を行うことが必要である。

なお、生物由来製品又は特定生物由来製品を原材料として使用する場合は、その使用量を必要最小限とし、「生物由来原料基準」(平成15年厚生労働省告示第210号)をはじめとする関連法令及び通知を遵守すること。特に、ウイルス不活化及び除去に関する情報を十分に評価する必要があるほか、遡及調査等を確保する方策についても明らかにすること。

(1) 細胞の培養を行う場合

①培地、添加成分(血清、成長因子及び抗生物質等)及び細胞の処理に用いる試薬等のすべての成分等についてその適格性を明らかにし、必要に応じて規格を設定すること。各成分等の適格性の判定及び規格の設定に当たっては、最終製品の適用経路等を考慮すること。

②培地成分については、以下の点に留意すること。

ア 培地に使用する成分及び水は、可能な範囲で医薬品又は医薬品原料に相当する基準で品質管理されている生物学的純度の高い品質のものを使用すること。

イ 培地に使用する成分は主成分のみでなく使用するすべての成分について明らかにし、選択理由及び必要に応じて品質管理法等を明確にすること。ただし、培地の構成成分が周知のもので、市販品等が一般的に使用されているDMEM、MCDB、HAM、RPMIのような培地は1つのものと考えてよい。

ウ すべての成分を含有した培地の最終品については、無菌性及び目的とした培養に適していることを判定するための性能試験を実施する必要がある。その他、工程管理上必要と思われる試験項目を規格として設定し、適切な品質管理を行う必要がある。

③異種血清及び異種もしくは同種の血清に由来する成分については、細胞活性化又は増殖等の加工に必須でなければ使用しないこと。特に繰り返して使用する可能性のある製品では可能な限り使用を避けるよう検討すること。血清等の使用が避けられない場合には、以下の点を考慮し、血清等からの細菌、真菌、ウイルス及び異常プリオン等の混入・伝播を防止するとともに、最終製品から可能な限り除去するよう処理方法等を検討すること。

ア 血清等の由来を明確にすること。

イ 牛海綿状脳症発症地域からの血清を極力避ける等感染症

リスクの低減に努めること。

ウ 由来動物種に特異的なウイルスやマイコプラズマに関する適切な否定試験を行い、ウイルス等に汚染されていないことを確認した上で使用すること。

エ 細胞の活性化、増殖に影響を与えない範囲で細菌、真菌及びウイルス等に対する適切な不活化処理及び除去処理を行う。例えば、潜在的なウイルス混入の危険性を避けるために、必要に応じて加熱処理、フィルター処理、放射線処理又は紫外線処理等を組み合わせて行うこと。

オ 培養細胞でのウイルス感染のモニター、患者レベルでのウイルス性疾患の発症に対するモニター及び異種血清成分に対する抗体産生等の調査のために、使用した血清の一部を保管すること。

④フィーダー細胞を使用する場合には、平成12年7月14日付け医薬審第873号厚生労働省医薬食品局審査管理課長通知「生物薬品(バイオテクノロジー応用医薬品/生物起源由来医薬品)製造用細胞基材の由来、調製及び特性解析」、平成14年7月9日付け医政研第0709001号厚生労働省医政局研究開発振興課長通知「異種移植の実施に伴う公衆衛生上の感染症問題に関する指針」及び平成16年7月2日付医政研第0702001号厚生労働省医政局研究開発振興課長通知「異種移植の実施に伴う公衆衛生上の感染症問題に関する指針」に基づく3T3J2株及び3T3NIH株をフィーダー細胞として利用する上皮系の再生医療への指針」を参考にして品質評価を行い、フィーダー細胞からの細菌、真菌、ウイルス、異常プリオン等の混入・伝播を防止するとともに、使用時の分裂能不活化方法及び細胞密度等の条件について明らかにすること。ただし、例えば既に臨床使用されているヒト細胞・組織製品の製造に使用され、その特性や微生物学的安全性等について評価が定まっているフィーダー細胞と同一の細胞を利用する場合には、その妥当性を示すことによってウイルス否定試験等、試験の一部を省略することができるかも知れない。

⑤抗生物質の使用は極力避けるべきである。ただし製造初期の工程において抗生物質の使用が不可欠と考えられる場合には、その後の工程で可能な限り漸減を図るほか、その科学的理由、最終製品での推定残存量、患者に及ぼす影響などの面から妥当性を説明すること。なお、抗生物質を使用する場合でも十分に除去されることが立証される場合には、その使用を妨げるものではない。一方、原則として、用いる抗生物質に過敏症の既往歴のある患者の場合には、本治療を適応すべきではない。やむを得ず適用する際には十分な注意を払うと同時に、患者からインフォームド・コンセントを得る必要がある。

⑥成長因子を用いる場合には、細胞培養特性の再現性を保証するために、例えば純度及び力価に関する規格を設定する等適切な品質管理法を示すこと。

⑦最終製品に含有する可能性のある培地成分や操作のために

用いられたその他の成分等については、生体に悪影響を及ぼさないものを選択すること。

⑧フィーダー細胞として異種動物由来の細胞を用いる場合には、異種動物由来の感染症のリスクの観点から安全性を確保すること。

(2) 非細胞成分と組み合わせる場合

①細胞以外の原材料の品質及び安全性について

細胞とともに最終製品の一部を構成する非細胞の原材料(マトリックス、医療材料、スキャフォールド、支持膜、ファイバー及びビーズ等)がある場合には、その品質及び安全性に関する知見について明らかにすること。

当該原材料の種類と特性、最終製品における形態・機能及び想定される臨床適応の観点から見た品質、安全性及び有効性評価との関連を勘案して、適切な情報を提供すること。生体吸収性材料を用いる場合には、分解生成物に関して必要な試験を実施すること。

なお、必要な試験等については、平成15年2月13日付け医薬審第0213001号厚生労働省医薬食品局審査管理課長通知「医療用具の製造(輸入)承認申請に必要な生物学的試験の基本的考え方について」等を参照し、試験結果及び当該原材料を使用することの妥当性を示すこと。文献からの知見、情報を合理的に活用すること。

②目的とする細胞との相互作用について

最終製品中または中間製品中の細胞との相互作用に関し、以下の事項について、確認方法及び確認結果を示すこと。

ア 非細胞成分が、想定される臨床適応に必要な最終製品中または中間製品中の細胞の機能、生育能力、活性及び安定性に悪影響を与えないこと。

イ 非細胞成分との相互作用によって起こり得る、最終製品中または中間製品中の細胞の変異、形質転換及び脱分化等を考慮し、その影響を可能な範囲で評価すること。

ウ 想定される臨床適応において期待される非細胞成分の性質が、最終製品中または中間製品中の細胞との相互作用によって損なわれないこと。

③細胞と適用部位を隔離する目的で非細胞成分を使用する場合、非細胞成分を細胞と適用部位を隔離する目的で使用する場合、下記の項目を参考に効果、安全性を確認すること。

ア 免疫隔離が目的の場合、その程度

イ 最終製品中の細胞由来の目的生理活性物質の膜透過キネティクスと薬理効果

ウ 栄養成分及び排泄物の拡散

エ 非細胞成分が適用部位周辺に及ぼす影響

オ 目的細胞由来の目的生理活性物質の薬理効果に期待し、かつ目的細胞や未分化細胞と適用部位との隔離を目的とする場合、非細胞成分の崩壊等により細胞等が漏ししないこと。

(3) 細胞に遺伝子工学的改変を加える場合

細胞に遺伝子を導入する場合は、次に掲げる事項に関する詳細を示すこと。

- ①目的遺伝子の構造、由来、入手方法、クローニング方法並びにセル・バンクの調製方法、管理方法及び更新方法等に関する情報
- ②導入遺伝子の性質
- ③目的遺伝子産物の構造、生物活性及び性質
- ④遺伝子導入構成体を作製するために必要なすべての原材料、性質及び手順(遺伝子導入法並びに遺伝子導入用ベクターの由来、性質及び入手方法等)
- ⑤遺伝子導入構成体の構造や特性
- ⑥ベクターや遺伝子導入構成体を作製するための細胞やウイルスのバンク化及びバンクの管理方法

遺伝子導入細胞の製造方法については、平成7年11月15日付け薬発第1062号厚生省薬務局長通知「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」(以下、「遺伝子治療用医薬品指針」という。)の別添「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」第2章等を参照すること。また、同通知の別記に準じて設定の妥当性等を明らかにすること。

なお、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(平成15年法律第97号)に基づき、「ヒトの細胞等」若しくは「分化する能力を有する、又は分化した細胞等であって、自然条件において個体に成育しないもの」以外の細胞、「ウイルス」及び「ウイロイド」に対して遺伝子工学的改変を加える場合には、別途手続きが必要となるので留意すること。

上記の記述にかかわらず、細胞に導入される遺伝子が、化学的にも、機能的にも最終製品の一部を構成せず、製造工程中の試薬として使用される場合は、使用の目的に合う品質及び安全性が確保されていることを明らかにすることでよい(注:要検討)。

3 ヒトES細胞株及びヒトES細胞由来分化細胞株

(1) ヒトES細胞株の樹立

ヒトES細胞株の樹立及び分配は、平成21年8月21日付文部科学省告示第156号「ヒトES細胞の樹立及び分配に関する指針」に準じて行うものとする。また、ヒトES細胞の使用は、平成21年8月21日付文部科学省告示第157号「ヒトES細胞の使用に関する指針」に準じて行うものとする。

ヒトES細胞株の樹立に当たっては、体外受精胚の雄性及び雌性ドナーの遺伝的背景を可能な範囲で理解したうえで樹立すること。体外受精胚からES細胞株樹立までの方法(ヒト胚盤胞を得るための方法、胚盤胞からの内部細胞塊の分離・培養、未分化細胞の分離及び株化の方法、ヒトES細胞株樹立までの各段階での培地、培養条件、培養期間等)を明確に

し、可能な範囲でその妥当性を明らかにすること。

ヒトES細胞株の品質の均質性及び安定性を保持するため、各種細胞特性解析指標(細胞純度、形態学的評価、HLAタイピング、表現型特異的マーカー、核型、DNAフィンガープリンティング、細胞増殖特性、多分化能など)のうちから重要細胞特性指標を同定してその基準を設定するとともに、設定された基準による品質を維持したまま増殖が可能な継代数又は分裂回数を示すこと。[注:細胞特性解析に際して、特異的マーカーに加えて、網羅的解析、例えば1)CGHゲノム、2)エピジェネティクス(DNAメチル化)、3)RNA、4)糖鎖に関してアレイやチップ等を用いた解析が有用な場合もあるが、検体の量的制限や技術的限界もあり、可能な範囲で考慮すれば良い。]

連結不可能匿名化等の理由でドナーの感染症に関する情報が得られない場合には、樹立したヒトES細胞株に関して特にB型肝炎(HBV)、C型肝炎(HCV)、ヒト免疫不全ウイルス(HIV)感染症、成人T細胞白血病(HTLV)、パルボウイルスB19感染症について、検査により否定すること。また、サイトメガロウイルス感染、EBウイルス感染及びウエストナイルウイルス感染については必要に応じて検査により否定すること。ドナーの遺伝的特徴が得られない場合は、ES細胞株自体の遺伝情報から遺伝的疾患関連因子の有無に関する解析が必要となることがある。なお、これらの試験等は医薬品製造基材という面からは分化細胞株の段階で実施しても良いが、ヒトES細胞株の樹立という趣旨からは、ES細胞株で実施されることが望ましい。

(2) ヒトES細胞使用機関によるヒトES細胞由来分化細胞株の樹立

ヒトES細胞使用機関がヒトES細胞から分化段階の進んだ細胞株(分化細胞株:バンク)を樹立することが、安全な最終目的製品を安定的に製造する上で重要でむしろ科学的に合理的な場合がある。そのような方策を選択した場合は、そのヒトES細胞使用機関における使用目的及びヒトES細胞加工医薬品等の製造における利点と妥当性を説明しておくこと。別の表現型を示す細胞株を段階的に樹立する際は、それぞれの細胞株樹立までの方法(分化誘導方法、目的とする細胞の分離・培養及び株化の方法、細胞株樹立までの各段階での培地、培養条件、培養期間及び収率等)を明確にし、ヒトES細胞加工医薬品等の製造における妥当性を明らかにすること。

分化細胞株の品質の均質性及び安定性を保持するため、各種特性指標(細胞純度、形態学的評価、表現型特異的マーカー、核型、細胞増殖特性、分化能など)のうちから重要細胞特性指標を同定してその基準を設定するとともに、設定された基準による品質を維持したまま増殖が可能な継代数又は分裂回数を示すこと。[注:細胞特性解析に際して、特異的マーカーに加えて、網羅的解析、例えば1)CGHゲノム、2)

エピジェネティックス(DNAメチル化), 3) RNA, 4) 糖鎖に関してアレイやチップ等を用いた解析が有用な場合もあるが, 検体の量的制限や技術的限界もあり, 可能な範囲で考慮すれば良い。]

なお, 輸入されたES細胞株や古くに樹立されたES細胞株等から樹立された分化細胞株においても満たすべき要件は同様である。しかし, その樹立・維持の過程が不明で「生物由来原料基準」の規定などを満たさない原材料が使用された履歴もしくは疑いのある場合が想定される。そのような細胞株の使用の妥当性については, 製品ごとに個別の審査・評価となるので医薬品医療機器総合機構と相談すること。[注: 使用しようとするヒトES細胞由来分化細胞株に関して感染症関連の情報が十分得られない場合は, 特にB型肝炎(HBV), C型肝炎(HCV), ヒト免疫不全ウイルス(HIV)感染症, 成人T細胞白血病(HTLV), パルボウイルスB19感染症について, 検査により否定すること。また, サイトメガロウイルス感染, EBウイルス感染及びウエストナイルウイルス感染については必要に応じて検査により否定すること。ドナーの遺伝的特徴が得られない場合は, ES細胞由来分化細胞株自体の遺伝情報から遺伝的疾患関連因子の有無に関する解析が必要となることがある。]

(3) ヒトES細胞株・ヒトES細胞由来分化細胞株のバンク化

ヒトES細胞株またはヒトES細胞由来分化細胞株をバンク化するには, その理由, セル・バンクの作製方法及びセル・バンクの特性解析(細胞純度, 形態学的評価, 表現型特異的マーカー, 核型, 細胞増殖特性, 分化能など), 保存・維持・管理方法・更新方法その他の各作業工程や試験に関する手順等について詳細を明らかにし, 妥当性を示すこと。平成12年7月14日付け医薬審第873号厚生省医薬安全局審査管理課長通知「生物薬品(バイオテクノロジー応用医薬品/生物起源由来医薬品)製造用細胞基剤の由来, 調製及び特性解析について」等を参考とすること。ただし, より上流の過程で評価されていることに起因する正当な理由により検討事項の一部を省略することは差し支えない。

(4) ヒトES細胞株・ヒトES細胞由来分化細胞株の取り違え及びクロスコンタミネーション防止対策

ヒトES細胞株・ヒトES細胞由来分化細胞株の樹立及びバンク化における, 取り違え及びクロスコンタミネーションの防止対策を明らかにすること。

(5) ヒトES細胞株・ヒトES細胞由来分化細胞株の運搬方法

樹立された株化ヒトES細胞・ヒトES細胞由来株化分化細胞を運搬する必要がある場合には, 運搬容器, 運搬手段(温度管理等を含む。)を定め, その妥当性を明らかにすること。

(6) 記録の作成及び保管方法

(1)~(5)に関する事項について, 実施の記録を文書で作成し, 適切に保管する方法について明らかにすること。

第2 製造工程

ヒトES細胞加工医薬品等の製造に当たっては, 製造方法を明確にし, 可能な範囲でその妥当性を以下の項目で検証し, 品質の一定性を保持すること。

1 ロット構成の有無とロットの規定

最終製品及び中間製品がロットを構成するか否かを明らかにすること。ロットを構成する場合には, ロットの内容について規定しておくこと。

2 製造方法

配偶子の採取から体外受精胚の作製, ヒトES細胞株の樹立及び分化状態の進んだ細胞を経て最終製品に至る製造の方法の概要を示すとともに, 具体的な処理内容及び必要な工程管理, 品質管理の内容を明らかにすること。

(1) 受入検査

ヒトES細胞由来の分化細胞株について, 受入のための試験検査の項目(例えば, 目視検査, 顕微鏡検査, 生存率等)と各項目の判定基準を設定すること。

(2) ヒトES細胞由来の中間細胞株の樹立

ヒトES細胞加工医薬品等の製造者が, 受け入れた分化細胞株から中間製品としての細胞株(中間細胞株)を樹立する場合は, その利点と妥当性を明らかにしておくこと。別の表現型を示す細胞株を段階的に樹立する際は, それぞれの細胞株樹立までの方法(分化誘導方法, 目的とする細胞の分離・培養及び株化の方法, 細胞株樹立までの各段階での培地, 培養条件, 培養期間及び収率等)を明確にし, その妥当性を明らかにすること。

中間細胞株の品質の均質性及び安定性を保持するため, 各種細胞特性解析指標(細胞純度, 形態学的評価, 表現型特異的マーカー, 核型, 細胞増殖特性, 分化能など)のうちから重要細胞特性指標を同定してその基準を設定するとともに, 設定された基準による品質を維持したまま増殖が可能な継代数又は分裂回数を示すこと。[注: 細胞特性解析に際して, 特異的マーカーに加えて, 網羅的解析, 例えば1) CGHゲノム, 2) エピジェネティックス(DNAメチル化), 3) RNA, 4) 糖鎖に関してアレイやチップ等を用いた解析が有用な場合もあるが, 細胞の量的制限や技術的限界もあり, 可能な範囲で考慮すれば良い。]

(3) 最終製品の構成要素となる細胞の作製

ヒトES細胞由来分化細胞株から直接、あるいはヒトES細胞由来中間細胞株を経て、最終製品の構成要素となる細胞を作製する方法(分化誘導方法、目的とする細胞の分離・培養の方法、培養の各段階での培地、培養条件、培養期間及び収率等)を明確にし、その妥当性を明らかにすること。

(4) 細胞のバンク化

ヒトES細胞加工医薬品等の製造のいずれかの過程で、細胞をバンク化する場合には、その理由、セル・バンクの作製方法及びセル・バンクの特性解析(細胞純度、形態学的評価、表現型特異的マーカー、核型、細胞増殖特性、分化能など)、保存・維持・管理方法・更新方法その他の各作業工程や試験に関する手順等について詳細を明らかにし、妥当性を示すこと。平成12年7月14日付け医薬審第873号厚生省医薬安全局審査管理課長通知「生物薬品(バイオテクノロジー応用医薬品/生物起源由来医薬品)製造用細胞基剤の由来、調製及び特性解析について」等を参考とすること。ただし、より上流の過程で評価されていることに起因する正当な理由により検討事項の一部を省略することは差し支えない。

(5) 製造工程中の取り違え及びクロスコンタミネーション防止対策

ヒトES細胞由来分化細胞株からのヒトES細胞加工医薬品等の製造にあたっては、製造工程中の取り違え及びクロスコンタミネーションの防止が重要であり、工程管理における防止対策を明らかにすること。

3 最終製品の構成要素となる細胞の特性解析

最終製品の構成要素となる細胞については、例えば、未分化細胞の混入や目的外の細胞の混入を規定するための細胞純度をはじめとして、細胞生存率、形態学的特徴、細胞増殖特性、生化学的指標、免疫学的指標、特徴的産生物質、核型、分化能その他適切な遺伝型又は表現型の指標を解析するとともに、必要に応じて機能解析を行うこと。また、培養期間の妥当性及び細胞の安定性を評価するために、予定の培養期間を超えて培養した細胞において目的外の変化がないことを適切な細胞特性指標を用いて示すこと。これらの検討に際しては、あらかじめ試験的検体を用いた検討によって実施・検証しておくことでも良いが、これらの検討結果から患者に製品を適用する際に選択すべき重要細胞特性指標を明らかにしておくこと[注:特異的マーカーに加えて、網羅的解析、例えば1)CGHゲノム、2)エピジェネティクス(DNAメチル化)、3)RNA、4)糖鎖に関してアレイやチップ等を用いた解析が有用な場合もあるが、検体の量的制限や技術的限界もあり、可能な範囲で考慮すればよい]。適用後に体内での増殖等を期待する場合には、設定された基準による継代数又は分裂回数で期待された機能を発揮することを明らかにすること。

4 最終製品の形態、包装

最終製品の形態、包装は、製品の品質を確保できるものでなければならない。

5 製造方法の恒常性

ヒトES細胞加工医薬品等の製造に当たっては、製造工程を通じて、個別に加工した製品の細胞数、細胞生存率並びに製品の使用目的及び適用方法等からみた特徴(表現型の適切な指標、遺伝型の適切な指標、機能特性及び目的とする細胞の含有率等)が製品(ロット)間で本質的に損なわれないことを、試験的検体を用いてあらかじめ評価しておくこと。中間製品で評価することが、原材料としての細胞・組織の適格性や中間製品までの製造過程の妥当性をよく反映し、また、最終製品に向けての適正な道標となるなど、合理的な場合もあるので、必要に応じて選択肢とすること。

製造工程中の凍結保存期間や加工に伴う細胞培養の期間が長期に及ぶ場合には一定期間ごとに無菌試験を行うなど、無菌性が確保されることを確認すること。

6 製造方法の変更

開発途中に製造方法を変更した場合、変更前の製造方法による製品を用いて得た試験成績を確認申請又は承認申請に使用するときは、製造方法変更前後の製品の同等性/同質性を示すこと。

第3 最終製品の品質管理

1 総論

ヒトES細胞加工医薬品等の品質管理全体の方策としては、最終製品の規格及び試験方法の設定、個別患者への適用ごとの原材料の品質管理、製造工程の妥当性の検証と一定性の維持管理のほか、中間製品の品質管理を適正に行うこと等が挙げられる。

ヒトES細胞加工医薬品等においては目的細胞以外の未分化細胞の混入を否定するための方策が最も重要な要件の一つである。可能な限り中間製品の段階で目的細胞以外の未分化細胞の混入を否定することが望ましい。

最終製品の規格及び試験方法については、対象とする細胞・組織の種類及び性質、製造方法、各製品の臨床使用目的や使用方法、安定性、利用可能な試験法等によって異なると考えられるため、取り扱う細胞・組織によってこれらの違いを十分に考慮して設定すること。また、製造工程の妥当性の検証と一定性の維持管理法、中間製品の品質管理等との相互補完関係を考慮に入れて、全体として品質管理の目的が達成されるとの観点から、合理的に規格及び試験方法を設定し、その根拠を示すこと。なお、確認申請は、治験を実施する製品の品質として問題がないとみなせることを確認することを目的としている。したがって、無菌性やマイコプラズマの否

定など必須なものを除き、治験後に臨床試験成績と品質の関係を論ずるために必要な品質特性については、やむを得ない場合は少数の試験的検体の実測値をもとにその変動をしかるべき範囲内に設定する暫定的な規格及び試験方法を設定することで差し支えない。ただし、規格及び試験方法を含む品質管理方法は治験の進行とともに充実・整備を図ること。

2 最終製品の品質管理法

最終製品について、以下に示す一般的な品質管理項目及び試験を参考として、必要で適切な規格及び試験方法を設定し、その根拠を明らかにすること。

ロットを構成しない製品を製造する場合は個別製品ごとに、ロットを構成する製品を製造する場合には、通常、各個別製品ではなく各ロットが品質管理の対象となるので、これを踏まえてそれぞれ適切な規格、試験方法を設定すること。

(1) 細胞数並びに生存率

得られた細胞の数と生存率は、最終製品又は必要に応じて適切な製造工程の製品で測定すること。なお、確認申請時においては、少数の試験的検体での実測値を踏まえた暫定的な規格を設定することでも良い。

(2) 確認試験

目的とする細胞・組織の形態学的特徴、生化学的指標、免疫学的指標、特徴的産生物質その他適切な遺伝型あるいは表現型のうち、重要細胞特性指標を選択して、目的とする細胞であることを確認すること。

(3) 細胞の純度試験

目的細胞以外の未分化細胞、異常増殖細胞、形質転換細胞の有無や混入細胞の有無等の細胞の純度について、目的とする細胞・組織の由来、培養条件等の製造工程、中間製品の品質管理等を勘案し、必要に応じて試験項目、試験方法及び判定基準を示すこと。なお、確認申請時においては、少数の試験的検体での実測値を踏まえた暫定的な規格を設定することでも良い。

(4) 細胞由来の目的外生理活性物質に関する試験

細胞由来の各種目的外生理活性物質のうち、製剤中での存在量如何で患者に安全性上の重大な影響を及ぼす可能性が明らかに想定される場合には、適切な許容量限度試験を設定すること。なお、確認申請時においては、少数の試験的検体での実測値を踏まえた暫定的な規格を設定することでも良い。

(5) 製造工程由来不純物試験

原材料に存在するか又は製造過程で非細胞成分、培地成分(フィーダー細胞を含む)、資材、試薬等に由来し、製剤中に

混入物、残留物、又は新たな生成物、分解物等として存在する可能性があるもので、かつ、品質及び安全性の面からみて望ましくない物質等(例えば、ウシ胎児血清由来のアルブミン、抗生物質等)については、当該物質の除去に関するプロセス評価や当該物質に対する工程内管理試験の結果を考慮してその存在を否定するか、又は適切な試験を設定して存在許容量を規定すること。試験対象物質の選定及び規格値の設定に当たっては、設定の妥当性について明らかにすること。

なお、確認申請時においては、少数の試験的検体での実測値を踏まえた暫定的な規格を設定することでも良い。

(6) 無菌試験及びマイコプラズマ否定試験

最終製品の無菌性については、あらかじめモデル検体を用いて全製造工程を通じて無菌性を確保できることを十分に評価しておく必要がある。最終製品について、患者に適用する前に無菌性(一般細菌及び真菌否定)を試験により示すこと。また、適切なマイコプラズマ否定試験を実施すること。検証された核酸増幅法を用いることでもよい。最終製品の無菌試験等の結果が、患者への投与後にしか得られない場合には、投与後に無菌性等が否定された場合の対処方法をあらかじめ設定しておくこと。また、この場合、中間製品で無菌性を試験により示し、最終製品に至る工程の無菌性を厳密に管理する必要がある。また、同一施設・同一工程で以前に他の患者への適用例がある場合には、全例において試験により無菌性が確認されていること。ロットを構成する製品で密封性が保証されている場合には、代表例による試験でよい。適用ごとに試験を実施する必要がある場合で、無菌試験等の結果が、患者への投与後にしか得られない場合には、適用の可否は直近のデータを参考にすることになるが、この場合でも最終製品の無菌試験等は必ず行うこと。

抗生物質は細胞培養系で極力使用しないことが望まれるが、使用した場合には、無菌試験に影響を及ぼさないよう処置すること。

(7) エンドトキシン試験

試料中の夾雑物の影響を考慮して試験を実施すること。規格値は必ずしも実測値によらず、日本薬局方等で示されている最終製品の1回投与量を基にした安全域を考慮して設定すればよい。また、工程内管理試験として設定することも考えられるが、その場合には、バリデーションの結果を含めて基準等を設定し、その妥当性を説明すること。

(8) ウイルス等の試験

製造工程中で生物由来成分を使用する場合には、最終製剤で当該成分由来のウイルスについての否定試験の実施を考慮すべき場合もあるかも知れない。しかし可能な限り、もとの成分段階での試験やプロセス評価で迷入が否定されているこ

とが望ましい。

(9) 効能試験

細胞種、臨床使用目的又は特性等に応じた適切な効能試験の実施を考慮すべき場合もある。なお、確認申請においては、少数の試験の検体による実測値を踏まえた暫定的な規格を設定することでも良い。

(10) 力価試験

細胞・組織から分泌される特定の生理活性物質の分泌が当該ヒトES細胞加工医薬品等の効能又は効果の本質である場合には、その目的としている必要な効果を発揮することを示すために、当該生理活性物質に関する検査項目及び規格を設定すること。遺伝子を導入した場合の発現産物又は細胞から分泌される目的の生成物等について、力価、産生量等の規格を設定すること。なお、確認申請時においては、少数の試験の検体による実測値を踏まえた暫定的な規格を設定することでも良い。

(11) 力学的適合性試験

一定の力学的強度を必要とする製品については、適用部位を考慮した力学的適合性及び耐久性を確認するための規格を設定すること。なお、確認申請時においては、少数の試験の検体による実測値を踏まえた暫定的な規格を設定することでも良い。

第3章 ヒトES細胞加工医薬品等の安定性

製品化したヒトES細胞加工医薬品等又は重要なそれらの中間製品について、保存・流通期間及び保存形態を十分考慮して、細胞の生存率及び力価等に基づく適切な安定性試験を実施し、貯法及び有効期限を設定し、その妥当性を明らかにすること。特に凍結保管及び解凍を行う場合には、凍結及び解凍操作による製品の安定性及び規格への影響がないかを確認すること。また、必要に応じて標準的な製造期間を超える場合や標準的な保存期間を超える長期保存についても検討し、安定性の限界を可能な範囲で確認すること。ただし、製品化後直ちに使用するような場合はこの限りではない。

また、製品化したヒトES細胞加工医薬品等を運搬する場合には、運搬容器及び運搬手順(温度管理等を含む)等を定め、その妥当性について明らかにすること。

第4章 ヒトES細胞加工医薬品等の非臨床安全性試験

製品の特性及び適用法から評価が必要と考えられる安全性関連事項について、技術的に可能であれば、科学的合理性のある範囲で、適切な動物を用いた試験又は*in vitro*での試験

を実施すること。なお、非細胞成分及び製造工程由来の不純物等については、可能な限り、動物を用いた試験ではなく理化学的分析法により評価すること。また、最終製品における未分化細胞の存在が異所性組織形成や腫瘍形成・がん化の可能性など安全性上の重要な関心事であるが、可能な限り、セル・バンクや中間製品段階等での徹底的な解析により、混在の可能性を否定するか、あるいは、目的細胞から未分化細胞の効果的分離・除去法や不活化法を開発し、活用することにより、混在の可能性を最小限にする努力が求められる。さらに、投与経路等の選択も安全性上の懸念を最小限にするための有用な方策であるかも知れない。

ヒト由来の製品を実験動物等で試験して必ずしも意義ある結果が得られるとは限らない。このため、動物由来の製品モデルを作製し適切な実験動物に適用する試験系により試験を行うことで、より有用な知見が得られると考えられる場合には、むしろ、このような試験系を用いることに科学的合理性がある場合があるかも知れない。その際は、対象製品及び対象疾患ごとに適切な中・大動物を用いた試験の実施を積極的に考慮する(注:例えば神経疾患ならばサル等、循環器疾患ならばブタ・イヌ等が適している場合がある)。ただし、ヒトiPS(様)細胞加工医薬品等を構成する細胞と同一の特徴を有する細胞集団が同一の手法にてヒト以外の動物種からも得られるとは限らず、また同様の培養条件等で同等/同質な製品が製造できるとも限らないことから、このような試験の採用、実施及び評価にあたっては、慎重な事前検討や対応が必要である。ヒト以外の動物種から得たES細胞細胞加工製品を用いて動物実験を行った場合、その外挿可能性を説明すること。場合によっては細胞を用いる試験系も考慮し、このようなアプローチにより試験を行なった際には、その試験系の妥当性について明らかにすること。

以下に、必要に応じて非臨床的に安全性を確認する際の参考にすべき事項及び留意点の例を示す。これらは例示であって、合理性のない試験の実施を求める趣旨ではなく、製品の特性及び臨床適用法等を考慮して、必要かつ適切な試験を実施し、その結果について総合的な観点から評価、考察すること。

- 1 培養期間を超えて培養した細胞について、目的外の形質転換を起こしていないことや目的細胞以外の細胞が異常増殖していないことを明らかにすること。
- 2 必要に応じて細胞・組織が産生する各種サイトカイン、成長因子等の生理活性物質の定量を行い、生体内へ適用したときの影響に関して考察を行うこと。
- 3 製品の適用が患者の正常な細胞又は組織に影響を与える可能性、及びその安全性について検討、考察すること。
- 4 患者への適用により、製品中の細胞や混入する未分化細胞が異所性組織を形成する可能性、及びその安全性について検討、考察すること。その際、製品の種類や特性、投与経路、

対象疾患、及び試験系の妥当性等を総合的に勘案すること。

5 製品及び導入遺伝子の発現産物等による望ましくない免疫反応が生じる可能性、及びその安全性について検討、考察すること。

6 最終製品の細胞または中間製品の細胞について、適切な動物モデル等を利用し、良性腫瘍を含む腫瘍形成及びがん化の可能性に関して検討、考察すること。その際、製品の種類や特性、投与量・投与経路、対象疾患、及び試験系の妥当性等を総合的に勘案すること。また、腫瘍形成またはがん化の可能性がある場合には、期待される有効性との関係等を勘案して、使用することの妥当性及び合理性について明らかにすること。

(注：造腫瘍性試験において最も重要なのは、最終製品が患者に適用された場合の製品の造腫瘍性を的確に評価することである。しかし、十分な細胞数が得られない等の理由により最終製品を構成する細胞を用いることができず、中間製品の細胞を用いて最終製品の造腫瘍性を評価しなければならない場合も想定される。また、動物モデルを使用した造腫瘍性試験においては、細胞の分散や足場への接着、細胞密度、投与部位等の条件が最終製品と必ずしも一致するものではない。さらに、動物の種・系統・免疫状態による感度差もある。これらの事情を総合的に勘案して、最終製品の造腫瘍性を評価する必要がある。また、最終製品の造腫瘍性に起因する患者へのリスクについては、対象疾患を治療することによる患者へのベネフィット等とのバランスを踏まえて合理的に評価すること。)

7 製造工程で外来遺伝子の導入が行われ、最終製品中で機能している場合や残存している場合には、遺伝子治療用医薬品指針に定めるところに準じて試験を行うこと。特に、ウイルスベクターを使用した場合には増殖性ウイルスがどの程度存在するかを検査するとともに、検査方法が適切であることについても明らかにすること。

また、導入遺伝子及びその産物の性状について調査し、安全性について明らかにすること。細胞については、増殖性の変化、良性腫瘍を含む腫瘍形成及びがん化の可能性について考察し、明らかにすること。

8 動物由来のモデル製品を含めて製品の入手が容易であり、かつ臨床上的の適用に関連する有用な安全性情報が得られる可能性がある場合には、合理的に設計された一般毒性試験の実施を考慮すること。

なお、一般毒性試験の実施に当たっては、平成元年9月11日付け薬審1第24号厚生省薬務局新医薬品課長・審査課長連名通知「医薬品の製造(輸入)承認申請に必要な毒性試験のガイドラインについて」の別添「医薬品毒性試験法ガイドライン」等を参照すること。

第5章 ヒトES細胞加工医薬品等の効力又は性能を裏付ける試験

1 技術的に可能かつ科学的に合理性のある範囲で、実験動物又は細胞等を用い、適切に設計された試験により、ヒトES細胞加工医薬品等の機能発現、作用持続性及び医薬品・医療機器として期待される臨床効果の実現可能性(Proof-of-Concept)を示すこと。

2 遺伝子導入細胞にあつては、導入遺伝子からの目的産物の発現効率及び発現の持続性、導入遺伝子の発現産物の生物活性並びに医薬品等として期待される臨床効果の実現可能性(Proof-of-Concept)を示すこと。

3 適当な動物由来細胞・組織製品モデル又は疾患モデル動物がある場合には、それを用いて治療効果を検討すること。

4 確認申請段階では、当該製品の効力又は性能による治療が他の治療法と比較したときははるかに優れて期待できることが国内外の文献又は知見等により合理的に明らかにされている場合には、必ずしも詳細な実験的検討は必要とされない。

第6章 ヒトES細胞加工医薬品等の体内動態

1 製品を構成する細胞・組織及び導入遺伝子の発現産物について、技術的に可能で、かつ、科学的合理性がある範囲で、実験動物での吸収及び分布等の体内動態に関する試験等により、患者等に適用された製品中の細胞・組織の生存期間、効果持続期間を推測し、目的とする効果が十分得られることを明らかにすること [注：体内動態に関する試験等には、例えば組織学的検討、磁気共鳴画像診断法(MRI)、陽電子放射断層撮影法(PET)、単一光子放射断層撮影法(SPECT)、光イメージングなどがある。]

2 ヒトES細胞加工医薬品等の用法(投与方法)について、動物実験を通してその合理性を明らかとすること。特に、全身投与にあつては投与後の細胞の全身分布を動物実験などから外挿し、有用性の観点から議論すること。[注：投与経路ごとにどこに生着するかは不明であるが、全身投与よりも局所投与が望ましいと想定される。しかし、全身投与であってもその有用性において被投与患者に有益であると合理的に説明が可能である場合には用法として設定可能である。例えば、あるES細胞加工医薬品等を肝疾患治療剤として肝臓への生着を期待する場合、肝臓へ効率よく到達させかつその他の臓器への分布を最低限に抑えることが合理的な投与方法であると想定されるが、経末梢静脈投与により当該細胞が肝臓に集積し、他臓器に生着しないことが証明できれば良い。しかし、異所性生着しても、被投与患者にとって不利益(生体機能への悪影響)が生じない場合は用法として肯定できるかも知れない。異所性分化による不利益とは、例えば当該細胞が心臓に異所性生着して骨形成する場合が想定され、それが不整脈

を惹起したような場合である。]

3 当該細胞・組織が特定の部位(組織等)に直接適用又は到達して作用する場合には、その局在性を明らかにし、局在性が製品の有効性・安全性に及ぼす影響を考察すること。

第7章 臨床試験

ヒトES細胞加工医薬品等の治験を開始する(First-in-Man)に当たって支障となる品質及び安全性上の問題が存在するか否かの確認申請の段階においては、临床上の有用性を勘案して評価されるものであり、ヒトES細胞加工医薬品等について予定されている国内の治験計画について以下の項目を踏まえて評価すること。その際、明らかに想定される製品のリスクを現在の学問・技術を駆使して排除し、その科学的妥当性を明らかにした上で、なお残る未知のリスクと、重篤で生命を脅かす疾患、身体の機能を著しく損なう疾患、身体の機能や形態を一定程度損なうことによりQOLを著しく損なう疾患などに罹患し、従来の治療法では限界があり、克服できな

い患者が新たな治療機会を失うことにより被るかも知れないリスクとのリスクの大小を勘案し、かつ、これらすべての情報を開示した上で患者の自己決定権に委ねるという視点を導入することが望まれる。

1 対象疾患

2 対象とする被験者及び被験者から除外すべき患者の考え方

3 ヒトES細胞加工医薬品等及び併用薬の適用を含め、被験者に対して行われる治療内容(注:投与・移植した細胞の機能を維持・向上・発揮させるために併用する薬剤が想定される場合、当該薬剤の作用を*in vitro*あるいは*in vivo*で検証すること)

4 既存の治療法との比較を踏まえた臨床試験実施の妥当性

5 現在得られている情報から想定される製品及び患者のリスク及びベネフィットを含め、被験者への説明事項の案

なお、臨床試験は、適切な試験デザイン及びエンドポイントを設定して実施する必要がある、目的とする細胞・組織の由来、対象疾患及び適用方法等を踏まえて適切に計画すること。

最近の日局における生物薬品各条及び 生物薬品関連試験法の改正について*2

早川 堯夫*1

本稿では、最近の日局における生物薬品各条及び生物薬品関連試験法の改正について述べます。

最近の日局改正について、既に告示されたものと今後告示予定のスケジュールを Table 1 に示します。

生物薬品各条及び生物薬品関連試験法を審議している生物薬品委員会は 15 名の委員から構成されています。Table 2 に平成 21 年 8 月 25 日現在の生物薬品委員会開催実績を示します。平成 18 年度は 5 回、平成 19 年度は 4 回、平成 20 年度は 4 回、平成 21 年度は 3 回開催し、1 回の開催当たりの審議時間は 3 時間あまり、延べ 50 時間以上審議を行ってきました。

1. 第十五改正第一追補及び平成 20 年 7 月の 部分改正の概要

第十五改正第一追補¹⁾では、注射用テセロイキン（遺伝子組換え）、プロタミン硫酸塩、プロタミン硫酸塩注射液の 3 品目を改正し、平成 20 年 7 月の部分改正では、ヘパリンナトリウムを改正しています。

ヘパリンナトリウムの部分改正は、アメリカを中心として異物混入ヘパリンにより有害事象が多発したことを受けて、緊急対応として、過硫酸コンドロイチン硫酸（OSCS）限度試験を規定したものです。

1.1 ヘパリンナトリウム改正の経緯

2007 年 11 月にアメリカ等でヘパリンナトリウム投与によるアナフィラキシーが頻発し、死者が 200 名以上出た問題について、2008 年 3 月に FDA が原因物質として OSCS を発表しました。これを受けて 2008 年 7 月に日局を一部改正し、OSCS の限度試験を設定しました。

更に 2010 年 1 月には、後述する確認試験及び純度試験の改正を行う予定としています（2010 年 3 月現在まだ改正されていない）。

1.2 OSCS 限度試験

ヘパリンナトリウム及び OSCS の混入ヘパリンナトリウムの ¹H-NMR スペクトルを Fig. 1 に示します。もしヘパリンナトリウムの中に OSCS が混入しているとなれば、2.18 付近に OSCS の *N*-アセチル基由来のピークが他のピークと重ならず特異的に検出されます。これを利用して OSCS の混在許容量を規定しています。

2. 第十五改正第二追補の概要

第十五改正第二追補²⁾では、生物薬品各条の新規収載がカルシトニン（サケ）、精製ヒアルロン酸ナトリウム及びヘパリンカルシウムの 3 品目、改正がヒト下垂体性腺刺激ホルモン、バソプレシン注射液、プロタミン硫酸塩注射液、ヘパリンナトリウムの 4 品目です。生物薬品関連試験法としては、一般試験法の新規収載がたん白質のアミノ酸分析法、参考情報の改正がバイオテクノロジー応用医薬品/生物起源由来医薬品の製造に用いる細胞基材に対するマイコプラズマ否定試験です。

2.1 新規収載：カルシトニン（サケ）（Table 3）

基原に記載されていますように、本品は、合成された 32 個のアミノ酸残基からなるポリペプチドで、血中カルシウム濃度低下作用を有するホルモンです。

規格項目は、性状、確認試験、吸光度、旋光度、構成アミノ酸、ペプチド含量、純度試験、水分及び定量法と

*1 近畿大学薬学総合研究所 大阪府東大阪市小若江 3-4-1 (〒577-8502)

*2 当協会主催の第 3 回日本薬局方に関する説明会（平成 21 年 8 月 26 日：東京、9 月 1 日：大阪）における講演による。

Table 1 最近の日局改正について

・ 第十五改正：平成 18 年 3 月告示
・ 同第一追補：平成 19 年 9 月告示
・ 部分改正：平成 20 年 7 月告示
・ 同第二追補：平成 21 年 9 月告示
・ 部分改正：平成 22 年 1 月告示予定
・ 第十六改正：平成 23 年 3 月告示予定

Table 2 生物薬品委員会 審議状況

委員数：15 名（平成 21 年 8 月 25 日現在）
委員会開催実績：
平成 18 年度 第 1 回～第 5 回（5 回）
平成 19 年度 第 6 回～第 9 回（4 回）
平成 20 年度 第 10 回～第 13 回（4 回）
平成 21 年度 第 14 回～第 16 回（3 回）

Table 3 新規収載：カルシトニン（サケ）

局外規からの移行された品目
 基原：本品は、合成された 32 個のアミノ酸残基からなるポリペプチドである。本品は、ホルモンで血中カルシウム濃度低下作用を有する。

規格項目

- ・ 性状
- ・ 確認試験：紫外吸収スペクトル
- ・ 吸光度
- ・ 旋光度
- ・ 構成アミノ酸
- ・ ペプチド含量：80.0%以上
- ・ 純度試験：酢酸 7.0%以下，類縁物質 3%以下
- ・ 水分：電量滴定法，10.0%以下
- ・ 定量法：バイオアッセイ

EP, USP は液体クロマトグラフィーによる定量法を採用しているが，標準品の供給が困難なためバイオアッセイとした。

なっています。

EP 及び USP では、本品の定量法に液体クロマトグラフィーを採用していますが、日局では標準品の供給が困難なためバイオアッセイを採用しています。

本品は、日本薬局方外医薬品規格（局外規）から移行された品目です。Table 4 に局外規からの主な変更点を示します。

名称は「サケカルシトニン（合成）」から「カルシトニン（サケ）」に、性状は「水に極めて溶けやすい」から「水に溶けやすい」に、紫外吸収スペクトルを用いた確認試験は吸収極大の記載から参照スペクトルとの比較に変更しています。

構成アミノ酸については、溶解液を変更し、アミノ酸

分析の試験条件の詳細を記載することになっています。

酢酸に関する純度試験については、局外規ではガスクロマトグラフィーで測定していましたが、日局では国際調和の観点から EP で採用されている液体クロマトグラフィーが提案され、採用されています。ただし、EP とは試料を溶解する溶媒と含量規格が異なっています。

溶媒の違いは、試料を溶解するのに日局は水、EP は移動相 A（リン酸緩衝液 pH 3.0）：B（メタノール）=95：5 を用いるというところです。

酢酸の規格については、日局は 7.0%以下、EP は 4.0～15.0%と幅記載になっている点で異なっています。日本では局外規の時も 7.0%以下でした。パブコメの際に、

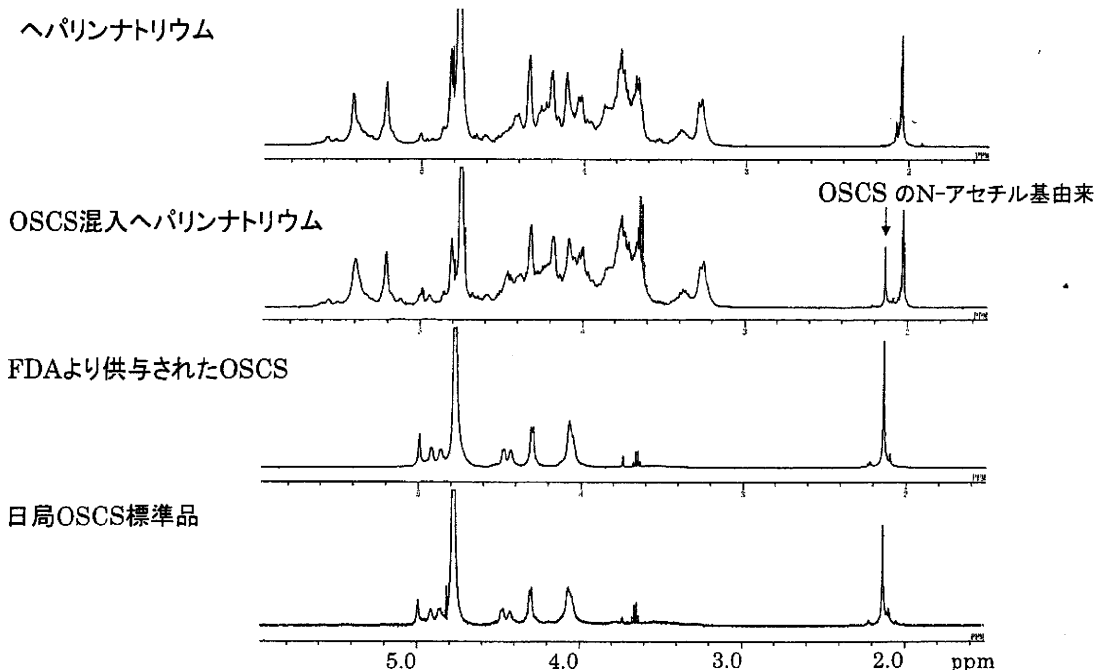


Fig. 1 ヘパリンナトリウム及びOSCS混入ヘパリンナトリウムの¹H-NMR

Table 4 カルシトニン(サケ)：局外規からの主な変更点

項目	局外規	日局
名称	サケカルシトニン(合成)	カルシトニン(サケ)
性状	水に極めて溶けやすい	水に溶けやすい
確認試験 紫外吸収スペクトル 構成アミノ酸	吸収極大の記載	参照スペクトルとの比較 ・溶解液の変更 ・アミノ酸分析の試験条件の詳細を記載
純度試験(酢酸)	ガスクロマトグラフィー	液体クロマトグラフィー EPとの国際調和(但し溶媒、含量規格はEPとは異なる)
水分	容量滴定法(直接滴定) 通例水分を5~50mgを含む試料に適用	電量滴定法 水分含量(2mg以下)を考慮し、より適切な方法に変更
定量法		「エーテル麻醉下」を削除 苦痛を与えない方法に変更

酢酸含量をEPに統一して欲しいとの意見がありました。市販製品の多くが酢酸3%台ということで、下限がEPの規格をはずれたところにありますので、わが国の現状を反映した規定になっています。

水分については、サンプルの水分含量を考慮し、従来の容量滴定法からより適切な方法である電量滴定法に変更しました。

定量法は、シロネズミに投与後1時間の血清カルシウム量を測定する方法で、カルシトニンの骨吸収抑制に伴う血清カルシウム低下作用を利用しています。なお、局外規ではエーテル麻醉下となっていたが、麻醉をエーテル麻醉に限定する必要はなく、またエーテル麻醉では覚醒することがあるため苦痛を与える可能性があるとの指摘がありました。そこで、「エーテル麻醉下」を削除し、苦痛を与えない方法を選択することとしました。

2.2 精製ヒアルロン酸ナトリウム Q&A

新規収載にあたってのポイントをQ&A方式で解説します。

質問 1 名称変更の理由は？

回答 1 日局に収載予定の「精製ヒアルロン酸ナトリウム」には注射剤と点眼剤が予定されています。当然それらは日局各条の規格に適合する必要があります。これを外用剤の添加剤として使用されているヒアルロン酸ナトリウムと区別するため、各条日本名に「精製」を付けて、「精製ヒアルロン酸ナトリウム」としました。

質問 2 基原の平均分子量について。収載理由は？

回答 2 市場の流通実態を考慮しますと、平均分子量で2つのグループに分けられ、それらを反映した規定が

必要と考えられましたので収載することとしました。日局では本品が本試験法で規定されているいずれかの平均分子量の規格に適合することを求めています。平均分子量を換算する計算式について、科学的に最適ではないのご指摘を受けましたが、科学技術の進歩に伴う測定法の改正は今後の検討課題とすることとし、現段階では本試験内容が妥当と判断して設定しました。

平均分子量そのものを真に表現できることが最もよいわけですが、「こういう試験法でこういう操作法でやるときに、こういう規格に適合する」という規定の仕方でも consistency があることも、品質コントロールの一つのあり方であり、現段階ではそのような見方をして平均分子量の規定をしているとご理解をお願いします。

質問 3 pHの試験条件の変更及び削除の要望について。

回答 3 本品は粘性が高く、容易に溶解することはいけないのご指摘がありました。濃度を下げてまでpHを設定する意義は低いものと判断し、削除しました。

質問 4 現在の承認規格に一致させてほしい。

回答 4 承認審査時の規格は、個々の製品について開発時の数少ないロットでの結果から設定されていますが、日局原案審議に当たっては、承認後日本国内に流通している製品の実測値をもとに設定しています。したがって、日局の規格値は必ずしも承認規格に一致するものではありません。

質問 5 EPの規格及び試験方法と一致させてほしい

回答 5 日局原案審議に当たっては、海外の薬局方も参考としていますが、日本で流通している製品の品質を

考慮し、主として国内流通製品の規格及び試験方法、実測値等をもとに設定しています。したがって、必ずしもEP等の海外薬局方の規格及び試験方法に一致するものではありません。

質問 6 純度試験 (7) 溶血性連鎖球菌及び (8) 溶血性の項目は必要ないのでは？

回答 6 基原がニワトリの鶏冠 (トサカ) の場合と微生物由来の場合があります。微生物由来の場合、混入の可能性を完全否定できないことから、安全上、管理すべき事項であるとの判断に基づき、設定しました。

質問 7 エンドトキシンの項を削除した理由は？

回答 7 日本薬局方では、エンドトキシンは原薬ではなく製剤で規定することを基本としていますので、項目を設定しません。原薬についても厳重に管理する必要がありますが、各社の責任において管理をお願いします。

質問 8 抗原性の項目が削除された理由は？

回答 8 抗原性は過去の実績を考慮し、また動物福祉の観点から設定しないこととしました。

質問 9 微生物限度試験において、精製ヒアルロン酸ナトリウムを1g使用することはメンブランフィルターの目詰まりを起こす等、困難であるので、使用量を0.1gとして欲しい。

回答 9 「1g当たり」であり、使用量を1gと規定したものではありません。

2.3 たん白質のアミノ酸分析法

参考情報の「アミノ酸分析法」を一般試験法化し、新規試験法として「たん白質のアミノ酸分析法」を規定しました。これに伴っていくつかの試薬も「生化学用又はアミノ酸分析用に製造したもの」として新たに規定しました。

国際調和文書である参考情報をどのように一般試験法化するかが議論のポイントでしたが、アミノ酸分析法の場合、一般試験法と参考情報に単純に切り分けることは困難であったことから、試験法の原理・原則の部分を抜粋して一般試験法を作成し、参考情報はそのまま残すこととしました。このため、一般試験法の名称は「たん白質のアミノ酸分析法」とし、参考情報「アミノ酸分析法」と区別しました。USPも調和文書と別の文書の二つとなっています。

国際調和文書は、科学的な原理・原則について認識を

共有することは当然の前提ですが、フォーマットのには必ずしも日本薬局方における一般試験法に配慮して作ったものではありません。ちなみにアミノ酸分析法の国際調和文書は、原理・原則とともに解説、説明等が多く掲載され、日局の一般試験法の書き振りとは異なっています。「たん白質のアミノ酸分析法」は国際調和文書を参考情報とし、それを一般試験法化した一つモデルケースと思います。

参考情報には他にも国際調和された生物薬品関連の分析法が収載されていますが、これらを一般試験法化するには必要に応じて同様の方法によると思います。一般試験法化により、各条の記載も、試験法名や試験法番号等を記載するなどの変更があります。なお、医薬品各条における試験法の表記方法については、17局原案作成要領に盛り込む予定となっています。

一般試験法「たん白質のアミノ酸分析法」の1.たん白質及びペプチドの加水分解には、方法1から方法11まであり、また2.アミノ酸分析方法には、方法1から方法7まであります。本文中、もしくは試験条件にこれらの方法番号を記載することで簡略化を行います。

医薬品各条で本試験法を用いる場合については、委員会で議論されていませんが、案としては加水分解と分析方法の項立てとすれば、方法番号を記載することができると考えます。「加水分解 方法1による。」と冒頭に記載し、その後にはこれまでと同様の記載を行い、最後は「試料溶液及び標準溶液とする。」となります。分析方法についても、同様に項を立て、「分析方法 試料溶液及び標準溶液〇μLずつを正確にとり、次の条件でたん白質のアミノ酸分析法<2.04>方法1により試験を行うとき、…」と続き、その後に試験条件やシステム適合性が続きます。

ただし、以前委員会で議論になりましたように、アミノ酸分析ではほとんど全自動の装置を使用しますので、試験条件やシステム適合性も装置メーカーによって異なり、一律に規定することは困難と思われます。試験条件やシステム適合性をどこまで規定するのは、今後の問題として残っています。

2.4 バイオテクノロジー応用医薬品/生物起源由来医薬品の製造に用いる細胞基材に対するマイコプラズマ否定試験 (Table 5)

マイコプラズマは無細胞壁の原核生物で、人工培地に生育可能な最小の微生物であり、培養細胞を高頻度に汚染します。本試験法の適用対象は、現在はバイオテクノロジー応用医薬品/生物起源由来医薬品の製造に用いる細胞基材としていますが、今後再生医療において数多く

Table 5 20.バイオテクノロジー応用医薬品/生物起源由来医薬品の製造に用いる細胞基材に対するマイコプラズマ否定試験

マイコプラズマ：	無細胞壁の原核生物で、人工培地に生育可能な最小の微生物であり、培養細胞を高頻度に汚染
適用対象：	バイオテクノロジー応用医薬品/生物起源由来医薬品の製造に用いる細胞基材
試験法：	A. 培養法 マイコプラズマを人工培地で培養・増殖させて検出 B. 指標細胞を用いた DNA 染色法 マイコプラズマを指標細胞で増殖後、DNA 染色によりマイコプラズマ DNA を検出 C. ポリメラーゼ連鎖反応 (PCR) による検出法 マイコプラズマ DNA を特異的プライマーを用いて PCR 検出

の細胞由来製品が作られる際に有効に使えるものと思います。

試験法は、培養法、指標細胞を用いた DNA 染色法及びポリメラーゼ連鎖反応 (PCR) による検出法の三つの方法が記載されております。

本試験法は 10 年前の第十三改正日本薬局方第二追補に参考情報として初めて記載され、第十五改正日本薬局方第二追補で初めての改正となります。

主な改正点は、培養法の培養条件及び指標菌株と接種量の表示単位です。

培養法の培養条件は、欧米との国際調和を考慮して改正するものです。従来、カンテン平板培地、液体培地とも好気性及び嫌気性で半数ずつ培養していたものを、改正案ではカンテン平板培地は微好气的条件、すなわち 5～10% の炭酸ガスを含む窒素ガス中のみとし、液体培地は気相の条件記載を削除しました。

指標菌株と接種単位については、従来の問題点として、DNA 染色法で陽性対象として例示されていた指標菌はコロニーを形成せずに接種が困難であること、また 100 CFU 以下の接種では陽性反応が認められないことなどが指摘されておりました。

この問題点を勘案し、より適切に対応できるようにするため、まず、指標菌株を従来の菌株名から ATCC コード番号 (具体的には、*M. hyorhinitis* DBS1050 及び *M. orale* CH19299 をそれぞれ ATCC29052 及び ATCC17981) に変更しました。これは、従来の呼称では菌株名が同じでも保存所や保存条件が異なることにより試験への不適切性が起こる可能性があるため、ATCC コード番号で表示することで、より適切な菌株を入手できるようにとの意図からです。EP でも同様の表示としています。更に、指標菌の接種量の表示単位として従来の CFU (コロニー形成単位) に加えて、コロニーを形成しない場合に対応するための CCU (色調変化単位) を併記しまし

た。

併せて、DNA 染色法の指標菌の例にコロニーを形成しやすい菌株 (*M. hyorhinitis* BTS7) を追加しました。

更にコロニーを形成せず、接種が困難あるいは陽性反応が認められないものの中には、継代数を重ねると培地に順化して細胞に接種ができなくなるものもありますので、改正案では「継代数の低いものを使用する」と明記しました。なお、EP では 15 継代以下の規定となっています。

3. 平成 22 年 1 月告示予定の部分改正

平成 21 年 8 月 25 日開催の薬事・食品衛生審議会日本薬局方部会です承された部分改正です。

3.1 ヘパリンナトリウム (Table 6)

従来、ヘパリンナトリウムは各条の中で主として活性のみを規定していましたが、同じような活性を持つ異物を混入してヘパリンに替えたためにヘパリンの事件が発生しました。

この事件から、生物活性のみではなく、理化学的な面からもヘパリンナトリウムの本質をとらえ、コントロールすべきとの考えとなりました。その一環として、まずヘパリンであることを理化学的に確認するために、弱陰イオン交換樹脂の HPLC (WAX-HPLC) でクロマトグラフィーを行い、ヘパリンナトリウム標準品と保持時間が一致することをみるという確認試験を設定しました。

純度試験は、過硫酸化コンドロイチン硫酸 (OSCS) の項に関して、まだ危機管理措置を続ける必要があるとの判断から、¹H-NMR を使った従来の方法を更に感度を高めた方法に変更されています。

一方、後述するように、将来の品質管理の方向性を示すために類縁物質の項を設けて、WAX-HPLC でヘパリ

Table 6 ヘパリンナトリウム 確認試験&純度試験改正

項目	15局	一部改正 (平成 20年 7月 1日)	一部改正案 (部会段階)	
確認試験			WAX-HPLC：ヘパリンナトリウム標準品と溶出時間が一致する	
純度試験	(1) 溶状	無色～淡黄色澄明		
	(2) バリウム	混濁しない		
	(3) 総窒素	3.0%以下		
	(4) たんぱく質	10mg/1mLにトリクロロ酢酸添加し白濁を生じない		
	(5) 過硫酸化コンドロイチン硫酸		¹ H-NMR：OSCSのN-アセチル基に由来するシグナルを認めない	¹ H-NMR：OSCSのN-アセチル基に由来するシグナルを認めない (S/N変更)
	(6) 類縁物質			WAX-HPLC：ヘパリンピーク以降の溶出時間にピークを認めない
	(7) ガラクトサミン			ガラクトサミン

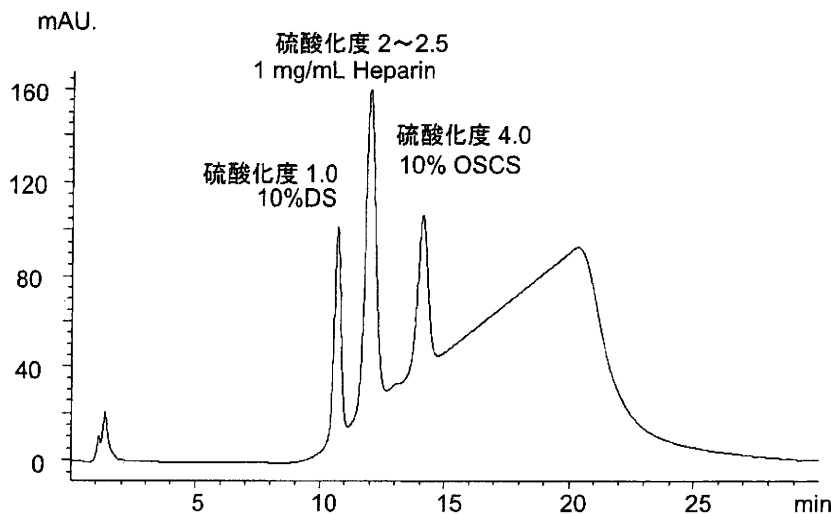


Fig. 2 確認試験用 WAX-HPLC による DS, ヘパリン及び OSCS の分離

ン以降に硫酸化度の高い多糖類の溶出ピークを認めないとの規定も設けました。

また、ガラクトサミンを純度試験に設定しています。もともとヘパリンはアミノ糖であるグルコサミンをベースにするものです。一方、問題となった過硫酸化コンドロイチン硫酸 (OSCS) はガラクトサミンというアミノ糖を構成糖とする多糖類です。また、混在物質といわれているデルマタン硫酸もガラクトサミンを構成アミノ糖とする多糖類です。このガラクトサミンの量を1%以下と規定することによって、ヘパリンとは異なるガラクトサミンを構成アミノ糖として含む多糖類の許容量を制限しようとしています。

Fig. 2は、確認試験の一つのパターンです。これは故意に高濃度にしてありますが、デルマタン硫酸とヘパリン、OSCS が分離する条件下でヘパリン標準品に対して保持時間が一致するピークでヘパリンを確認します。

Fig. 3は、純度試験の類縁物質の例です。OSCS が例

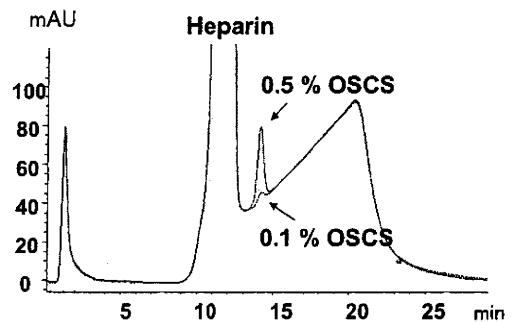


Fig. 3 純度試験用 WAX-HPLC による OSCS の検出

えば0.1%でも検出できるような条件の WAX-HPLC 法でヘパリン以降のピークを規定することにより、OSCS の混入も含めて、他の硫酸化度の高いものが入ってくることをコントロールしています。

3.2 ヘパリンカルシウム (Table 7)

確認試験では、ヘパリンナトリウム標準品と保持時間

Table 7 ヘパリンカルシウム 確認試験&純度試験改正

項目	15局第二追補新規収載案		今回の一部改正案
確認試験	(1)	トリジンブルーO 溶液による呈色	
	(2)		WAX-HPLC：ヘパリンナトリウム標準品と溶出時間が一致する
	(3)	Ca の定性反応	
純度試験	(1) 溶状	液は澄明である。400 nm における吸光度は 0.05 以下	
	(2) 塩化物	0.021% 以下	
	(3) 重金属	30 ppm 以下	
	(4) バリウム	混濁しない	
	(5) 残留溶媒	別に規定する	
	(6) 総窒素	3.0% 以下	
	(7) たん白質	混濁を生じない	
	(8) 過硫酸化コンドロイチン硫酸	¹ H-NMR：OSCS の N-アセチル基に由来するシグナルを認めない[0.5%以下]	¹ H-NMR：OSCS の N-アセチル基に由来するシグナルを認めない[0.1%以下]
(9) 類縁物質		WAX-HPLC：ヘパリンピーク以降の溶出時間にピークを認めない	

が一致することを確認します。純度試験は OSCS に関する ¹H-NMR 及び類縁物質でコントロールしています。

3.3 ヘパリン各条の今後の改正方向

OSCS は製法由来不純物でもなく製品由来不純物でもなく、意図的に添加された異物です。この OSCS を対象とした特別な試験法の設定は、薬局方各条の設定項目としては本来そぐわないと考えられます。

有効性・安全性が長年にわたって立証されてきた医薬品について、その本質及び想定される製法由来不純物あるいは製品由来不純物をコントロールするのが、本来の薬局方の姿です。

OSCS は危機管理方策として日局に設定されましたが、これは原材料段階でのチェックなど、医薬品の品質確保全体戦略の中で日常管理としての合理的対策が講じられるべきものです。したがって、日本薬局方としては時機を見て（1年をめぐりに）日常的管理方策としてのヘパリン各条に改正する方向を目指し、16局追補で対応することを想定しています。

そのためには OSCS のみに注目するのではなく、ヘパリン以外の硫酸化多糖類を広義の類縁物質として包括的にコントロールできるよう、より普遍的で科学的合理性のある試験法を設定したいと考えています。WAX-HPLC 法はその試行策です。必要に応じて更なる改善、あるいはキャピラリー電気泳動法などのより適切な試験法の設定を検討したいと思います。

併せて、高分子多糖類の本質について、どの程度の理化学的な解析が各条に適切かについても検討したいと思います。

4. 平成 23 年 3 月告示予定の第十六改正

第十六改正新規収載予定として現在審議中の生物薬品各条を Table 8 に示します。

生物関連試験法の改定については、ペプチド及びたん白質性医薬品の質量分析を収載する予定です。

4.1 ペプチド及びたん白質性医薬品の質量分析

本試験法は主にペプチド及びたん白質性医薬品の確認試験に用います。従来は例えば分子量は、SDS-PAGE あるいはゲルろ過法で行われていましたが、質量分析法の適用が可能ということからの収載です。

アミノ酸組成・配列の確認にはアミノ酸分析あるいはペプチドマッピングが使われていましたが、これも質量分析法を有効に活用できると考えられます。

参考情報の案としてのペプチド及びたん白質の質量分析の目次を Table 9 に示します。まず原理があり、装置は MS と MS/MS を使うことをベースにしていますので、

Table 8 審議中（新規収載）

生物薬品各条
・ アプロチニン
・ インターフェロン アルファ (NAMALWA)
・ インターフェロン アルファ (NAMALWA)
注射液
・ エポエチン アルファ (遺伝子組換え)
・ エポエチン ベータ (遺伝子組換え)
・ ダルテパリンナトリウム
・ ナルトグラスチム (遺伝子組換え)
・ 注射用ナルトグラスチム (遺伝子組換え)
・ フィルグラスチム (遺伝子組換え)
・ レノグラスチム (遺伝子組換え)

Table 9 ペプチド及びたん白質の質量分析
参考情報(案)目次

・ 原理
・ 装置
- MS 及び MS/MS の概念図
・ 各種測定様式
- 1. MS
- 2. MS/MS
・ 操作法
- 1. MS
- 2. MS/MS
・ 確認試験
- (1) 分子質量の確認
- (2) アミノ酸配列などの確認
・ 用語解説

概念図を記載します。次に各測定様式として MS と MS/MS について解説し、操作法についても MS と MS/MS が記載されます。また、確認試験として、分子質量とアミノ酸配列などの確認に用いることを解説します。更に質量分析に関わる用語の解説も記載します。

5. 日局審議における今後の課題

一変申請中の品目については、日局の審議を止めるか、一変の審議と並行して日局の審議をするかは意見の分かれるところですが、変更点に応じて個別に対応することにしたいと思っています。

後続バイオ製品の問題については、対応する先行バイオ医薬品が既に日局に収載されている場合には、単純たん白質か糖たん白質か、原薬か製剤か等を考慮して、一般的名称、規格及び試験方法の設定策を検討する必要があります。また、日局品との関係をどうするかも検討課題となります。

6. 既収載の見直し

各条ではヒトインスリン製剤を新規収載し、プティンスリン原薬及び製剤は削除する方向で見直します。

パソプレシン注射液は、従来、脳下垂体後葉から製造されていたため、主に臓器抽出製剤としての規格が設定されていますが、最近では合成品のみが流通している実態を受けて、合成品に対応する理化学的な試験方法を設定したいと考えています。ほぼ新規収載に近い見直しになります。これに伴い、パソプレシン原薬を新規収載したいと考えていますが、例えば試験法を HPLC 法とする場合に、我が国では理化学的な標準品を調達することが困難との問題があります。したがって、USP 標準品の供給の目途が立った段階で原案作成を進めたいと考えて

Table 10 インスリン製剤の見直し

第 15 改正
インスリン ← プタ由来
インスリン製剤 ← プタ由来
インスリン注射液
インスリン亜鉛水性懸濁注射液
無晶性インスリン亜鉛水性懸濁注射液
結晶性インスリン亜鉛水性懸濁注射液
イソフェンインスリン水性懸濁注射液
プロタミンインスリン亜鉛水性懸濁注射液
ヒトインスリン (遺伝子組換え)
今後の検討
ヒトインスリン (遺伝子組換え)
ヒトインスリン製剤
ヒトインスリン注射液(仮)
ヒトイソフェンインスリン水性懸濁注射液 (仮)
二相性ヒトイソフェンインスリン水性懸濁注射液 (仮)

います。

パルナパリンナトリウムは、15 局に各条が収載されていますが、実際に流通している製品の製法は様々であり、それに対応したより適切な各条とするよう見直す予定です。

7. インスリン製剤の見直し (Table 10)

15 局で収載されているインスリンとインスリン製剤はプタ由来のインスリンですが、現在市場には存在していません。今後の検討としては、既に収載されている遺伝子組換えヒトインスリンをベースに、ヒトインスリン注射液 (仮称)、ヒトイソフェンインスリン水性懸濁注射液 (仮称)、二相性ヒトイソフェンインスリン水性懸濁注射液 (仮称) 等のヒトインスリン製剤を収載したいと考えています。

8. PDG 関連情報 (Table 11)

PDG 調和項目として、六つの生物薬品関連試験法が Stage 6 の段階となっています。更に EP、USP より Glycan Analysis (Glycan Mapping) を加える提案が 2 年ほど前にあり、平成 19 年 5 月にコンセプトペーパーが USP から届きました。生物薬品委員会では、コンセプトペーパーの内容とこの試験法を日局でどのように扱うか、また科学的進歩が急速なのでそのまま調和の方向で進めてよいかを検討し、様々な理由から、当時は調和事項とすることには同意しないこととなりました。

現在は、日局でもこの試験法の作成を検討しつつ、EP、USP の動向を調査することとなっていますので、日本で

Table 11 PDG関連情報：PDG調和項目

	Harmonization item	CP	Stage	Sign-off
B-01	Amino Acid Determination	USP	6	2002. 9.9
B-02	Capillary Electrophoresis	EP	6	2002. 9.10
B-03	Isoelectric Focusing	EP	6	2002. 9.9
B-04	Protein Determination	USP	6	2002. 9.10
B-05	Peptide Mapping	USP	6	2002. 9.10
B-06	Polyacrylamide Gel Electrophoresis	EP	6	1999.10.20
B-	Glycan Analysis			

検討しているものを国際調和のたたき台にすることを考えてもよいと思います。あるいはEP、USPでの考え方が日局の考え方と近いことがわかれば、調和事項とする可能性が出てきます。

9. Q4B 関連情報

2008年11月にQ4B拡大調和項目として、生物薬品関連試験法のうち、ポリアクリルアミドゲル電気泳動法及びキャピラリー電気泳動法が決定しています。

これを受けてポリアクリルアミドゲル電気泳動法(Annex 10)は2009年6月にStep 2に到達し、現在意見公募中です(2009年10月にStep 4に到達しています)。

キャピラリー電気泳動法は、PDGが作成したQ4B評価文書を既にQ4Bに提出し、Q4Bの中で評価しています(2009年10月にStep 2に到達しています)。

10. 質疑応答

質問 1 マイコプラズマ試験について、第二追補の改正では触れられていませんが、PCR法は今後見直しされることがありますでしょうか。

回答 PCR法をどうするかは難しい問題です。詳しく説明しますと、PCR法は日本薬局方がEP、USPより先行して採用しました。その当時、例えばFDAなどはPCR法はDNA断片を検出する方法であって、生きたマイコプラズマを検出する方法ではないとの考えでした。またプライマーに問題があり、プライマー次第でどれだけのマイコプラズマがカバーできるのか変わるとの議論もあり、10年前はFDAとEP共にPCR法を局方に収載する考えは全くありませんでした。

現在も基本的には培養法が生きたマイコプラズマを検知する方法ですし、DNA染色法は、筆者は本当の専門家ではありませんが、日本の細胞バンクを管理している方の話では、マイコプラズマ汚染から細胞を管理するにはDNA染色法が一番良いとの意見もあります。

一方で、例えばルーチンで品質コントロールする際に

は、PCR法は非常に手軽に簡単に実施できます。

日本薬局方ではPCR法を公的な方法として認知しますが、ただし、従来より実績のある培養法とDNA染色法の二つの方法を実施することが原則で、それでDNA染色法のみで陽性を示したときに、マイコプラズマDNAでないことを確認するという位置づけにしています。なお、日局で示している2段PCR法は感度と特異性に優れた方法であり、プライマーも含めてJISとほぼ同様の方法であること、培養細胞への汚染が知られているマイコプラズマの95%以上を検出できると確認されていること、公的細胞バンクの試験に現在も使用されている実績のある方法であることが確認されています。また、これは参考情報との位置づけで、本文に記載のとおりプライマーも含めて一例を示したものであり、妥当性が立証されれば例示の方法に限定されたものではないことから、今回は特に例示の記載を見直す必要はないとされました。技術の進歩でプライマーなどが改良され、更に実施しやすい方法あるいはマイコプラズマをより広くカバーできる方法が出てきている、出るということであれば、妥当性を示した上で用いることはもちろん出来ると思います。

先ほど述べましたPCR法ではDNAだけしか見ていない、つまり不活性菌やゲノム断片も検出されるところをどのように克服するかによって利用範囲が広がる、と思います。例えばVero細胞などで少し培養して再度PCR法を実施し、該当するDNAが増えれば生きたDNAを検出していることになると思います。しかし、DNA染色法と比べて時間や労力の点でメリットがあるかどうかを考える必要もあります。

結局、従来の培養法あるいはDNA染色法に対してアドバンテージと合理的な根拠をどれだけ示していけるかによって利用できる程度が変わってくると思います。

実際のルーチンでの様々な管理の中で、PCR法を活用することは全く構わないことと思っています。

PCR法に関して今後の情勢変化によっては、見直しについて委員会の中で議論をしていきたいと考えています。