

MEDICINAL PRODUCTS (遺伝子治療薬のヒト初回試験までに必要とされる非臨床試験に関するガイダンス)(参考資料1)」及び遺伝子治療薬に関する指針や医薬品の非臨床試験に関する指針等の資料を基に、遺伝子治療薬のヒト初回試験までに実施すべき非臨床試験の要件について検討した。

(倫理面への配慮)

本研究では倫理面への配慮が必要な試料・資料は取り扱っていない。

### C. 研究結果及び考察

我が国では、遺伝子治療薬のヒトへの投与は臨床研究として実施される場合と治験として実施される場合がある。臨床研究として実施される場合は、安全性確保のため「遺伝子治療臨床研究に関する指針」(文部科学省・厚生労働省告示 第2号 平成16年12月28日、平成20年12月1日一部改正)に従い、国による審査が行われているが、遺伝子治療薬をヒトに対して初めて投与するまでにどのような試験を実施しておく必要があるのかについては指針には全く触れられていない。また、遺伝子治療薬の投与を治験として実施する場合には、「遺伝子治療用医薬品の品質及び安全性確保に関する指針」(薬発第1062号平成7年11月15日厚生省薬務局長通知、平成14年3月29日改正、平成16年12月28日一部改正)に従い、品質等に関して確認申請を行う必要がある。この指針には確認申請に必要とされる非臨床安全性試験についても触れられているが、平成7年に発出された指針が基になっており、その後の遺伝子治療薬分野をはじめとする科学技術の進歩に十分対応するものとはなっていない。

ヒトでの臨床試験を行うための非臨床安全性試験に関するガイダンスとしては、平成22年2月に「ICH M3：医薬品の臨床試験及び製造販売承認申請のための非臨床安全性試験の

実施についてのガイダンス」(薬食審査発0219第4号、厚生労働省医薬食品局審査管理課長通知)が、また、医薬品開発における非臨床から初期臨床試験への移行を支援するため、ヒト初回投与試験実施までに必要とされる試験に関するガイダンス案として平成23年5月に「治験対象医薬品ヒト初回投与試験の安全性に関するガイダンス(案)」が発出されている。しかし、遺伝子治療薬は従来の医薬品とは性質が異なる点が多く、ICH M3で求められる非臨床安全性試験は遺伝子治療薬には必ずしも適切ではない。また「治験対象医薬品ヒト初回投与試験の安全性に関するガイダンス(案)」は、化学薬品やバイオ医薬品を対象としているが、遺伝子治療薬は適用対象外とされている。

一方、欧州医薬品庁(EMA)からは、遺伝子治療薬のヒト初回投与試験までに必要とされる非臨床安全性試験に特化したガイドラインとして、2008年5月に「GUIDELINE ON THE NON-CLINICAL STUDIES REQUIRED BEFORE FIRST CLINICAL USE OF GENE THERAPY MEDICINAL PRODUCTS」が発出されている。本ガイドラインは遺伝子治療薬のヒト初回投与試験までに実施すべき非臨床試験の要件に関する国際調和ガイダンスや、我が国における関連指針の作成に非常に参考になると考えられる。以下に、EMAのガイドラインを基に、非臨床試験の要件について検討した。

#### C.1 一般原則

遺伝子治療薬には、プラスミドDNA、ウイルスベクター、非ウイルスベクター、遺伝子改変ウイルス、遺伝子改変細胞などが含まれる。

遺伝子治療薬による生物学的影響の多くは、ベクター粒子やウイルスなどの運搬系によるもの、あるいは導入遺伝子/発現ベクター及び遺伝子発現産物による。必要とされる非臨床試験は、ベクター粒子などの運搬系に対するもの及び遺伝子治療薬に含まれる治療用遺伝子に

対するものの両者の試験が含まれる。

類似製品から得られたデータは、補助的に用いることは可能であるが、目的とする製品のヒト初回試験の安全性を保証するには一般的に十分ではない。類似製品でこれまでに得られた非臨床及び臨床レベルでの経験は、目的とする製品について適切な試験計画を立てるためのガイドとなる。遺伝子治療薬はいずれも固有の性質を持つため、初めて人に投与する前の非臨床試験計画とその妥当性は最終的には個別の事例に応じて決定する必要がある。

動物モデルは、発現遺伝子の薬理作用や治療効果を検討するモデルを考慮に入れてその妥当性を示す必要がある。選択した動物モデルは、可能な限りヒトでの薬理学的効果を評価できるものでなければならない。

非臨床試験は、以下の点を明らかにするために計画・実施する必要がある。

- 1) 非臨床モデルを用いた薬力学的試験
- 2) 生体内分布
- 3) 初回臨床投与時の投与量と投与量増加のスキーム
- 4) 毒性が発現する可能性のある臓器の特定
- 5) 生物活性が認められる可能性のある標的臓器の特定
- 6) 臨床試験でモニターすべき指標の特定
- 7) 被験者の適格性基準の特定

## C.2. ヒト初回投与試験までに実施すべき非臨床試験の要件

遺伝子治療薬の前臨床データの評価は、適切なリスク評価を行うのに十分な情報を得ることが主目的であり、単独試験として実施しても別の試験と兼用してもよいと考えられる。

### (1) 非臨床モデルを用いた薬力学的試験

期待される臨床効果、あるいは臨床効果と関連する生物学的効果・作用の分子機構の科学的妥当性をサポートするエビデンスが得られる

試験として、in vivo試験、あるいはin vivo疾患モデルが得られない場合には in vitro試験を実施する必要がある。特に、期待される臨床効果の検討にはヒトに相同性を示す動物モデルの使用が望ましい。目的臓器での正しい導入遺伝子産物の発現や、目的によっては遺伝子発現・産生の特異的制御を示す必要がある。遺伝子治療薬の品質データから異常遺伝子産物の発現が予見される場合、異常遺伝子産物により生じる生物学的影響を評価する必要がある。

### (2) 生体内分布試験

生体内分布データは、標的臓器であるか否かにかかわらず、すべての臓器について調べることが望ましい。また、遺伝子治療薬の持続性、可動性、排出も調べる必要がある。生体内分布を調べるには、一般的に、導入遺伝子/発現ベクターの分布を調べればよい。観察期間はシグナルの持続期間（導入遺伝子が発現し、活性を示す期間）をカバーするものとし、可能であればシグナルが検出されなくなる時点まで測定する。投与量は臨床投与量に適切な安全係数を含める。

### (3) 投与量設定のための試験

ヒトへの初回投与量は、

- ・ 遺伝子治療薬のヒトへの投与の論理的根拠: 遺伝子導入が欠損遺伝子を永続的に置換するなどの疾患パスウェイを変更する、あるいは感染予防に働くとの仮定の妥当性
- ・ 論理的根拠を確認するための動物試験で、最初に生物学的効果が認められた投与量と投与スケジュール

を基に決定するのが望ましい。投与量は毒性試験の結果に基づき再検討する。

遺伝子治療薬による毒性発現の可能性は、いくつかの要因に影響される。患者に投与されるベクターの粒子数、ウイルスカプシドタンパク

質などの構成要素が毒性発現に寄与する可能性がある。また、導入遺伝子の発現や遺伝子の染色体挿入によっても生じる。従って、投与量決定には、投与量と相関する標的細胞に導入された遺伝子量の推定を考慮に入れることが必要となる。投与量は全ウイルス粒子数と遺伝子導入可能な感染性ウイルス粒子数との比率に基づいて決定する必要がある。

#### (4) 毒性試験

毒性試験は、妥当な理由がない限り、臨床プロトコルでの投与方法、投与経路で実施すべきである。遺伝子治療薬への暴露は遺伝子治療薬の種類と予定される臨床投与量から適切な量を検討する。投薬方法は臨床での用法を再現し、適切な安全係数をとる。毒性試験に動物を1種類しか用いない場合は、これまで得られた生物学的・薬理的データから予想される毒性発現が最もヒトと相関性を示す動物種を選択するとともに、その科学的妥当性を明らかにする必要がある。非臨床試験の期間と動物の性別はICH M3に準じるべきであろう。単回投与毒性試験で、導入遺伝子の発現がICH M3で示される期間よりも長いことが予測される、あるいは知られている場合、少なくとも遺伝子発現期間を反映する観察期間をとる必要がある。また、臨床で予見される場合、併用薬との相互作用についても調べる必要がある。

毒性試験には剖検、病理組織学的観察、毒性発現期間とその可逆性などの評価項目を含め、遺伝子治療薬が関与する可能性のある評価項目に焦点を当てる必要がある。

臨床試験で遺伝子治療薬を単回投与する場合は、単回投与毒性試験を実施する。動物への投与回数は、妥当な理由がない限り、臨床での投与回数以上とすべきである。アデノウイルスベクターを全身性投与する場合、肝毒性、腎毒性、炎症反応によるサイトカインストームの発現を評価項目に入れる。遺伝子の持続発現の影

響を再現するなど、臨床の状況を再現するために複数回の投与が必要になることも考えられる。臨床で遺伝子治療薬を複数回投与予定の場合、反復投与毒性試験が必要とされる。

申請者は動物モデルでの毒性発現を予測できる適切なバイオマーカーを見出すことが望ましい。

毒性試験では遺伝子治療薬のコンストラクト全体(ウイルスその他の微生物あるいはベクター粒子などを含むデリバリーシステム+遺伝子発現カセットを含む発現ベクター+導入遺伝子)について評価し、細胞内での存在部位(ミトコンドリアや核染色体への組込み部位など)や発現ベクター/導入遺伝子のコピー数(挿入による癌化の観点など)等を考慮する。また、導入遺伝子発現産物の毒性についても、過剰発現や免疫原性、望まない薬理作用などがあるか否かを検討する必要がある。

薬物の純度も考慮する。遺伝子治療薬の品質データから異常遺伝子発現産物の産生が予見される場合、毒性学的影響を評価すべきである。

プラスミドに含まれる抗生物質耐性遺伝子や、ウイルスベクターコンストラクトから発現されるウイルスタンパク質など、発現ベクターから発現される治療用タンパク質以外のタンパク質の*in vivo*での影響についても調べる事が求められる。

#### (5) 遺伝子組込み試験

臨床での使用用途が生命を脅かす疾患ではない場合や小児への使用などの場合、遺伝子組込み試験が要求される。遺伝子組込みが起こらないと考えられる分子機構の遺伝子治療薬の場合、組込みを検出可能な*in vivo*や*in vitro*での試験データが必要である。ベクター組込みのおこりやすさと組込みにより起こりうる結果を評価し、起こりうるリスクを制御する手段について記載するとともにその妥当性を示すことが求められる。

## (6) 生殖細胞への遺伝子導入

遺伝子治療用ベクターの生殖細胞への意図しない組み込みについては、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（2006年10月）」を参考にすることが望ましい。

## (7) 標的組織選択性

遺伝子治療薬が選択的なターゲティングや選択的発現（トロピズム）をするようにデザインされている場合、生体内分布データに加えて、標的組織での遺伝子発現の特異性及び遺伝子・活性発現の期間を確認する試験を実施すべきである。

## (8) 免疫原性と免疫毒性

体液性免疫、細胞性免疫を機能的評価項目とする免疫原性試験および免疫毒性試験は、一般的に増殖因子、サイトカイン等の免疫系に影響する高分子をコードする遺伝子を搭載した遺伝子治療薬の場合に必要な。

遺伝子治療薬の品質データにより、異常遺伝子産物あるいは天然型と異なる構造のタンパク質の発現が示唆される場合、導入遺伝子産物の免疫原性を調べる必要がある。導入遺伝子産物に対する既存の免疫の影響を調べる。また、ウイルスベクターを反復投与後のベクターに対する免疫について調べるのが求められる。

ある種の遺伝子治療薬は、動物モデルでは臨床を再現することができないので、説明可能な免疫毒性データは得られないかもしれない。このような特殊なケースでは、相同性を示す動物モデルを使用することが奨励される。このような場合、非臨床での免疫原性試験に加えて、臨床レベルでの適格性基準と免疫原性試験を注意深く計画する必要がある。

## (9) デリバリー装置と添加剤

これまで臨床で遺伝子治療薬とともに使用することが承認されていないデリバリー装置や添加剤を用いる場合、遺伝子治療薬の活性や生体内分布においてこれらデリバリー装置や添加剤に期待される効果を評価する試験が求められる。他の遺伝子治療薬との臨床使用が既に承認されている場合、既存のデータを補完する試験を立案すること。試験対象の遺伝子治療薬との臨床使用が承認されている場合でも、新たに提案されている臨床設定が大きく異なる場合、申請者はこれまでの臨床経験に基づき、非臨床試験が必要ないことの妥当性を示す必要がある。

## (10) 生殖発生毒性試験

開発のこの段階では、生体内分布試験や生殖細胞への組み込み試験により、すでに生殖発生へのリスクの可能性は明らかにされていると考えられる。ICHM3に示されている標準的生殖発生毒性試験は、遺伝子治療薬の生物学的特徴や適応症、患者集団の特性により生殖組織・生殖機能へのリスクが示唆される場合を除き、ヒト初回試験の前に実施する必要はないと考えられる。

## (11) 遺伝毒性試験

標準的遺伝毒性試験は、遺伝子治療薬では通常必要ないと考えられる。

## (12) がん原性/腫瘍原性/造腫瘍性試験

標準的な長期げっ歯類がん原性試験は通常必要ないが、遺伝子治療薬の性質により他の試験が必要になると考えられる。遺伝子治療薬やその遺伝子発現産物は発がん活性を持つ可能性がある。遺伝子治療薬の発がん性の有無、たとえば発がんタンパク質の配列や遺伝子治療薬のゲノムでの作用機構などについてはin silicoで評価すべきである。発がん活性が既に検出されている場合、適切なin vivo/ in vitroモ

デルを用いて、増殖能の分析や外来性刺激依存性、アポトシス刺激やゲノム変異への応答などにより腫瘍原性を評価する必要がある。

### (13) 排出試験

排出に関する試験については、ICH見解「ウイルスとベクターの排出に関する基本的な考え方（2009年6月）」を参照することが望ましい。

### C.3. 遺伝子治療薬・ベクターの種類別の非臨床試験要件

遺伝子治療薬に共通して適用される考慮事項に加えて、ベクターの種類毎に、それぞれ以下に示す特別な考慮事項が必要と考えられる。

#### (1) プラスミド

プラスミドやnaked DNAでは、目的とする臨床使用法（生命を脅かす疾患でない場合や小児への使用、予防のための使用など）や投与方法（*in vivo*エレクトロポレーションなど）によっては、遺伝子組込み試験が必要であろう。プラスミドが*in vivo*で非致死性疾患の患者や小児に用いられる場合には実施することが望ましい。

抗生物質耐性遺伝子をベクターの選択マーカーとして使用することは推奨されない。やむを得ない場合は、ヒト初回投与試験を実施する前にヒトの体細胞での耐性遺伝子の偶発的な発現について調べるべきである。

DNAワクチンのようにアジュバント配列がある場合、免疫毒性学的安全性を調べること。さらなるアジュバント物質が最終処方に含まれる場合、製品全体の免疫毒性学的安全性について調べるのが求められる。

トランスポゾンを搭載したプラスミドのようにプラスミドが組込み能を持つように設計されている場合、生殖細胞への伝達と組込みに関する試験を実施すべきである。

プラスミドが非増殖性ウイルスベクターや増殖性ウイルスを規定するように設計されている場合、プラスミドそのものの特性に加えて、導入されるウイルス/ウイルスベクター粒子の特性も十分に解析する必要がある。

#### (2) ウイルスベクター

##### ① 増殖性

遺伝子改変したウイルスやウイルスベクターは増殖しないように設計されているか、逆に増殖性または制限増殖性を持つように設計されている。

増殖性を持たないように設計されたウイルスベクターでは、野生型ウイルスの相補性により意図しない増殖性を獲得する可能性を調べる。組換えにより増殖性ウイルスが生じる場合、そのような組換え体の病原性を非臨床において調べることが必要である。

増殖性ウイルスまたは制限増殖性ベクターの場合、標的及び非標的を含む異なる種類の組織、細胞で、これらのベクターが期待通りの増殖性を示すかどうかを調べる。併用療法の影響についても考慮すべきであろう。このような試験はベクターと宿主の特異性により妨げられる可能性がある。

##### ② 染色体組込み

ベクターが組込み能を持つ場合、あるいは親ウイルスが組込み能を有し、遺伝子組換えにより復帰変異する可能性がある場合、生殖細胞への遺伝子導入と発がん性について試験することが求められる。

##### ③ 潜伏感染/再活性化

ヘルペスウイルスのように親ウイルスが潜伏感染能を持つ場合、ベクターも潜伏感染するかどうかを調べる必要がある。潜伏感染能を持つ場合、あるいはベクターが潜伏感染するようにデザインされている場合、潜伏が特定の組織

に限定されているか、またベクターは再活性化能を持つかどうかについて調べる。潜伏期間でのベクター遺伝子の発現能と発言が特性の組織に限定されているかどうかを調べる。また、検査方法の妥当性を明らかにすることが必要である。このような試験はベクターと宿主の特異性により妨げられる可能性がある。

#### ④免疫原性

著しい免疫応答を生じるベクターでは効果的に再投与することは難しい。患者への再投与が必要で、免疫応答が認められる場合、再投与した遺伝子治療薬に対する免疫応答の影響について調べる。このような試験はベクターと宿主の特異性により妨げられる可能性がある。

#### ⑤病原性

親ウイルス株の病原性と意図しない組換えにより病原性を回復する可能性について考慮する必要がある。

### (3) 非ウイルスベクター

細菌や合成核酸などの非ウイルスベクターを用いた遺伝子導入が研究されているが、その有効性や副作用はほとんどわかっていない。上述したような一般原則についてはPhase Iまでに検討することが求められる。

プラスミドや発現ベクターのトランスフェクションにリポソームなどの運搬体を用いることがある。これらについては、他の医薬品やワクチンのデリバリーに用いられるリポソームやウイルスと同様の検討を行う必要がある。

非ウイルスベクターの毒性: リポソームなどのトランスフェクション試薬の毒性を評価することは有用である。これは、遺伝子治療薬のコンストラクト全体により認められる毒性から、遺伝子発現による毒性を特定するための評価の対照群となる。またこれにより、用いる非

ウイルスベクターの毒性とトロピズムなど、動物モデルの選択が対象となるベクターの試験に適切かどうかを再検証することになる。

### (4) 遺伝子改変細胞

遺伝子改変細胞の有効性と安全性の観点から、生体内分布、遊走、導入遺伝子発現を含む持続性や生存期間などについて調べる必要がある。増殖性や細胞分化を含めた細胞の表現型への影響について調べる必要がある。また、局所刺激性や、遺伝子改変細胞に対する免疫反応を調べる必要がある。

#### ① 導入したベクターのin vivoでの放出

遺伝子改変細胞をin vivoで導入した場合、意図したものかどうかにかかわらず、ベクターやプラスミドを放出する可能性について、他の感染性物質との相互作用の可能性や、疾患治療薬があれば調べるべきである。試験の程度は遺伝子導入に用いたベクターやプラスミドの増殖能や細胞への組込み状況に依存する。ベクターのさまざまな組織や臓器、特に生殖組織への分散（播種）と環境中への排出を調べる。分散したものの同定、感染性、持続性、活性を明らかにすることが求められる。

#### ② 人工的な細胞の変化

In vitroと、適用可能であればin vivo試験を実施し、細胞の形態や表現型、増殖や分化、不活化、形質転換の誘導等の細胞機能や性質に与える影響を調べる。非修飾細胞と比べてベクターの導入により生じた意図しない予想外の変化を注意深く調べる必要がある。

遺伝子産物の発現の量と質を評価する。

前駆細胞などの増殖性を持つ細胞にレトロウイルスベクターや、レンチウイルスベクターなどの組込み型ベクターを導入した場合、組込み部位数を調べ、臨床投与との関係を論じることが必要である。可能であれば、組込み部位に

隣接する遺伝子の特定とその機能を明らかにする。細胞あたりのコピー数が与える影響も品質管理、恒常性の観点から評価が必要であろう。

さらに、用いるベクターと受容細胞の種類から該当する場合には、感染性ウイルスの産生によりヘルペスやEBV、CMVなどの潜伏ウイルスが再活性化される可能性について調べることが必要となる。

### ③ 遺伝子導入細胞の*in vivo*での行動と活性

遺伝子導入細胞の*in vivo*での適切な分布、移動、局在及び持続性を明らかにする試験を実施すべきである。また、遺伝子産物の発現、活性、局在及び持続性及び発現部位の病理学的変化について調べることが必要とされる。

遺伝子導入細胞と導入遺伝子の治療効果が、目的とする臓器・組織に限定されていることを確認すべきである。

### ④ 目的外の免疫応答

免疫応答が遺伝子改変の目的とする性質ではない場合、遺伝子導入細胞が不要の免疫応答を引き起こさないという証拠を提示することが必要である。

同種細胞や異種細胞を用いると、投与した細胞に対する不要の免疫応答を引き起こす可能性があり、*in vivo*動物試験により免疫応答の毒性学的影響に関する有用な情報が得られる可能性がある。

### ⑤ カプセル化細胞

生体適合性物質で包まれたカプセル化細胞では、含まれる細胞や移植組織の場所の互換性を支持するデータが必要である。カプセルの分解や遺伝子改変細胞の漏出について、カプセル物質の安定性を調べる必要がある。細胞が遺伝子発現産物を分泌するように設計されている場合、その利点と想定される毒性効果について調べるべきであろう。

## D. 考察

遺伝子治療薬は、プラスミド DNA、ウイルスベクター、非ウイルスベクター、遺伝子改変ウイルス、遺伝子改変細胞など、様々な種類のものが含まれ、製品によって性質が大きく異なる。さらに非臨床試験では、投与する遺伝子治療薬そのものだけでなく、搭載された遺伝子からの発現産物（タンパク質）や、また遺伝子導入にリポソームやカチオン性ポリマーなどのデリバリーシステムを用いる場合にはそれらの影響も考慮する必要があるなど、遺伝子治療薬の非臨床評価では、通常の化学薬品や生物薬品とは異なる複雑な要素を検討する必要がある。

ヒト初回投与試験までに実施すべき非臨床試験項目として遺伝子治療薬に共通して必要と考えられるものには、①薬力学的試験、②生体内分布試験、③投与量設定のための試験、④毒性試験、⑤遺伝子組込み試験、⑥生殖細胞への遺伝子導入、⑦標的組織選択性、⑧免疫原性試験などが挙げられる。特に、遺伝子組込み試験や生殖細胞への遺伝子導入は、遺伝子治療薬に特有の試験項目となる。一方、遺伝子の組み込みによる発がんの可能性や遺伝子発現産物が発がん活性を持つ可能性はあるが、化学物質により引き起こされることを想定した従来の遺伝毒性試験や長期げっ歯類がん原性試験も通常必要ないと考えられる。生殖発生毒性試験も生殖細胞への遺伝子導入によりリスクが示唆される場合を除いて実施する必要はないと考えられる。

遺伝子治療薬の種類別の考慮事項としては、ウイルスベクターでは、増殖性や染色体組込み能、潜伏感染/再活性化、病原性、ウイルスに対する免疫原性などに留意すべきであり、特に遺伝子組換えベクターから野生型ウイルスへの復帰による増殖性や病原性の獲得について

非臨床で評価しておくことが重要と考えられる。試験の実施にはウイルスの種特異性が問題となることがある。ウイルスベクターは様々なウイルスを利用したものが開発されている。ウイルスの種類によって考慮すべき事項はおおきくこととなるところもあり、個別のベクターに特化したガイダンスも必要になると考えられる。

非ウイルスベクターは、プラスミドを直接投与する場合だけでなく、リポソーム等のデリバリーシステムを用いて投与する場合、また細菌ベクターなどの新たなベクター系も開発されている。またプラスミドでもトランスポゾンを用いた組込み型ベクターやウイルスを発現するプラスミドなど複雑な機構を搭載したものが開発されており、それぞれ独自の考慮が必要となる。遺伝子導入細胞では、導入したベクターの *in vivo* での放出や遺伝子導入による細胞の変化、細胞の体内動態や免疫応答などについての考慮が必要になると考えられる。

我が国の「遺伝子治療臨床研究に関する指針」は現在、全面的な見直しが予定されており、「遺伝子治療用医薬品の品質及び安全性確保に関する指針」も今後改定が必要、あるいは追加的な指針の作成が必要と考えられる。現行の「遺伝子治療臨床研究に関する指針」では、その問題点の一つとして、臨床研究において人に投与する遺伝子治療用ベクターや遺伝子改変細胞の安全性、品質の確保に関する記載がほとんどなく、計画書提出までにどの程度の試験を実施しておく必要があるのか明確でないことが挙げられる。今回検討した EMA のガイドラインは、我が国における臨床研究指針の見直しや関連指針の作成、国際調和ガイダンスの作成において参考になるものと考えられる。

## E. 結論

遺伝子治療用医薬品の規制に関する国際調

和推進のための基盤的研究の一環として、今年度は遺伝子治療薬のヒト初回投与試験までに実施すべき非臨床試験の要件について、EMA のガイダンスを中心に検討した。遺伝子治療薬にはプラスミド、ウイルスベクター、非ウイルスベクター、遺伝子導入細胞など様々な性質の異なる種類のものが含まれるが、これら遺伝子治療薬に共通して必要とされる非臨床試験要件と、各遺伝子治療薬の種類により異なる個別の考慮事項について考察した。今後の国際調和ガイダンスや、我が国における関連指針の作成において非常に参考になると考えられる。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) Teruhide Yamaguchi and Eriko Uchida: Oncolytic Virus: Regulatory Aspects from Quality Control to Clinical Studies, *Current Cancer Drug Targets* (印刷中)
- 2) 内田 恵理子: 遺伝子治療の動向と課題, ヒューマンサイエンス, 22(4), 28-32 (2011)
- 3) 内田恵理子: “バイオ医薬品・生物薬品のウイルス安全性に関する国際動向”, 医薬品の品質管理とウイルス安全性(第2章医薬品に関するウイルス安全性確保と薬事法3) 日本医薬品等ウイルス安全性研究会編、(株)文光堂、東京 (2011)、pp53-63

### 2. 学会発表

- 1) 古田美玲、内田恵理子、中西真人、西村健、大高真奈美、山口照英: gp91phox 搭載持続発現型センダイウイルスベクターによる X-CGD モデルマウス細胞の機能回復、第34回日本分子生物学会年会 (2011.12) 横浜

G. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)  
該当なし





**COMMITTEE FOR THE MEDICINAL PRODUCTS FOR HUMAN USE  
(CHMP)**

**GUIDELINE ON THE NON-CLINICAL STUDIES REQUIRED BEFORE FIRST CLINICAL  
USE OF GENE THERAPY MEDICINAL PRODUCTS**

<b>DRAFT AGREED BY GENE THERAPY WORKING PARTY</b>	February 2007
<b>DRAFT AGREED BY SAFETY WORKING PARTY</b>	February 2007
<b>ADOPTION BY CHMP FOR RELEASE FOR CONSULTATION</b>	March 2007
<b>END OF CONSULTATION (DEADLINE FOR COMMENTS)</b>	September 2007
<b>AGREED BY GENE THERAPY WORKING PARTY</b>	April 2008
<b>AGREED BY SAFETY WORKING PARTY</b>	March 2008
<b>ADOPTION BY CHMP</b>	May 2008
<b>DATE FOR COMING INTO EFFECT</b>	November 2008

**KEYWORDS**

gene therapy medicinal products, non clinical studies, first clinical use

**GUIDELINE ON THE NON-CLINICAL STUDIES REQUIRED PRIOR TO CLINICAL USE  
OF GENE THERAPY MEDICINAL PRODUCTS**

**TABLE OF CONTENTS**

<b>EXECUTIVE SUMMARY</b> .....	<b>3</b>
<b>1. INTRODUCTION (BACKGROUND)</b> .....	<b>3</b>
<b>2. SCOPE</b> .....	<b>3</b>
<b>3. LEGAL BASIS</b> .....	<b>3</b>
<b>4. MAIN GUIDELINE TEXT</b> .....	<b>3</b>
<b>4.1 GENERAL PRINCIPLES</b> .....	<b>3</b>
<b>4.2 MINIMAL REQUIREMENTS FOR NON-CLINICAL STUDIES ON GTMP BEFORE FIRST USE IN         HUMAN SUBJECTS</b> .....	<b>4</b>
<b>4.3 NON-CLINICAL STUDIES ACCORDING TO THE TYPE OF GT PRODUCT OR VECTOR USED</b> .....	<b>7</b>
<b>4.3.1 Plasmids</b> .....	<b>7</b>
<b>4.3.2 Viral vectors</b> .....	<b>7</b>
<b>4.3.3 Non-viral vectors</b> .....	<b>8</b>
<b>4.3.4 Genetically-modified somatic cells</b> .....	<b>8</b>
<b>REFERENCES</b> .....	<b>10</b>

## EXECUTIVE SUMMARY

This guideline defines scientific principles and provides guidance to applicants developing gene therapy medicinal products (GTMPs). Its focus is on the non-clinical studies required before the first use of a GTMP in human subjects.

### 1. INTRODUCTION (background)

Gene therapy medicinal products (GTMPs) include a variety of diverse products such as: plasmid DNA, viral and non-viral vectors, genetically modified viruses and genetically modified cells that are developed for treatment or prevention of a variety of human diseases. GTMPs pose specific safety issues that need to be addressed before clinical use, in order to protect subjects to whom they will be administered. General guidance to applicants for GTMP marketing authorisations in the EU is available by means of the Note for guidance on the quality, preclinical and clinical aspects of gene transfer medicinal products (CPMP/BWP/3088/99). However, this Note for guidance does not specify which studies are needed before first use of a GTMP in humans and which studies may be postponed to later phases of clinical development.

The ICH M3 (M) Note for Guidance on non-clinical safety studies for the conduct of human trials for pharmaceuticals specifies studies needed before first clinical use of a medicinal product. However, the ICH M3 document covers only development of conventional pharmaceuticals and thus recognises that the described paradigm for safety evaluation might not be always appropriate for or relevant to GTMPs.

### 2. SCOPE

This guideline defines scientific principles and provides guidance to applicants developing gene therapy medicinal products (GTMPs) to facilitate a harmonised approach in the EU. The focus of this document is on the non-clinical studies that are required before the first use of a GTMP in human subjects.

### 3. LEGAL BASIS

This guideline should be read in conjunction with the introduction and general principles and with part IV of Annex I to Directive 2001/83 as amended, with the Regulation (EC) No 726/2004 and with the Regulation (EC) on Advanced Therapies (No 1394/2007).

### 4. MAIN GUIDELINE TEXT

#### 4.1 *General principles*

The majority of the biological effects of GTMPs result from the delivery system/vector particle/virus, the transgene(s)/expression vector and the gene product(s). It is therefore expected that the studies described below include investigation of both the vector particle/delivery system and of the therapeutic transgene(s) as included in the GTMP, unless otherwise justified.

Data obtained with other “similar” products might be supportive, but are in general not sufficient to warrant first clinical use. Previous experience at non-clinical as well as at clinical level with similar GTMPs may be used as scientific guidance to design appropriate studies. Because of the specific characteristics of each single GTMP, final decisions on the non-clinical study program before first clinical use and its adequacy should be made on a case-by-case basis.

The relevance of the animal model(s), including developmental stages according to intended clinical use, shall be justified by the applicant taking into account the model used to explore the pharmacological effects and the therapeutic function of the expressed gene. The animal model(s) chosen should allow assessment of the pharmacological effects expected in humans as far as possible.

Studies should be designed and carried out aiming at establishing the following:

- pharmacodynamic “proof of concept” in non-clinical model(s)
- bio-distribution of the GTMP
- recommendation on initial dose and dose escalation scheme to be used in the proposed clinical trial
- identification of potential target organs of toxicity
- identification of potential target organs of biological activity
- identification of indices to be monitored in the proposed clinical trial
- identification of specific patient eligibility criteria

#### ***4.2 Minimal requirements for non-clinical studies on GTMP before first use in human subjects***

The evaluation of pre-clinical data in gene therapy has the primary objective of providing sufficient information for a proper risk assessment for the product’s use in human subjects. Studies can be carried out as stand-alone or combined with other studies.

##### **Pharmacodynamic “proof of concept” in non-clinical model(s)**

Studies should generate non-clinical evidence supporting the potential clinical effect or at least the related biological effect /molecular mechanism of action [in vivo and/or in vitro studies to be performed – especially when in vivo relevant disease models are not available]. The use of homologous animal models to explore potential clinical effects is encouraged. Expression and, if intended, specific control of expression and production of the “correct” transgene product in the appropriate target organ must be demonstrated. If production of any aberrant gene product is foreseen on the basis of quality data from the GTMP, then the biological consequences of aberrant gene product formation should be evaluated.

##### **Biodistribution**

Studies should provide data on all organs, whether target or not, as recommended in annex A to the Note for guidance on repeated dose toxicity (CPMP/SWP/1042/99) and include investigation on GTMP persistence, mobilisation and shedding. Generally, for this purpose, data obtained from transgene/expression vector are sufficient. Observation time should cover persistence of signal (i.e. duration of transgene expression and activity) and include time-points for which there is no signal detection, if applicable. The dosing should mimic the clinical use with appropriate safety margins.

Data collected in these studies might also contribute to the environmental risk assessment (ERA).

##### **Studies to establish dose**

The decision on first dose in human subjects should be based on the following:

- rationale for the use of a GTMP in human subjects: justification that the gene transfer is assumed to modify the disease pathway (e.g., permanent replacement of a defective gene) or to provide protection against infections in human subjects
- initial biological effects observed in animals with study designs where the dose and schedule of administration confirm the assumptions underlying the rationale

The dose recommendations are then refined taking into account the results of toxicity studies.

The toxic potential of a GTMP is influenced by several factors. For instance, the number of vector particles, including structural components such as viral coat proteins, being administered to the patient contributes to the potential toxicity. In addition, the toxic potential of a GTMP is also influenced by the expression and/or integration of the delivered gene(s). Therefore, dose determination should include an estimate of genes being delivered to target cells in relation to a given dose of the GTMP. The dose should be determined on the basis of the proportion of infective/transducing viral particles in relation to total viral particle count.

## **Toxicity studies**

These studies should be carried out using the same route and method of administration – unless otherwise justified - as in the clinical protocol. Exposure to the GTMP should be studied at levels appropriate to the planned clinical dose and the specific type of GTMP under development. The dosing should mimic the clinical use with appropriate safety margins. If only one species is used, it should be the most relevant one for the expected toxicological effects based on the available biological/pharmacological data and the choice should be scientifically justified. The duration of non-clinical studies and sex of animals should be in line with ICHM3. For single dose administration and when the expression of transgene is expected or known to persist for a time period longer than that indicated by ICHM3, the duration of observation should at least reflect the duration of the expression. In some cases, the interaction with concomitant medication, if foreseen in the clinical setting, should be studied.

Such studies should include endpoints covered by the guideline on repeated-dose toxicity studies CPMP/SWP/1042/99 such as necropsy, histopathological findings and the duration and the reversibility of the toxicity, and should focus on endpoints relevant to the GTMP involved.

Toxicity studies using single-dose administration will be generally required before a clinical trial designed for single-dose GTMP administration; the frequency of dosing in animals should be at least the same as the frequency of dosing in the clinical trial, unless otherwise justified. For example, when adenoviral vector is administered systemically, relevant endpoints might include liver or kidney toxicity and the occurrence of pro-inflammatory cytokine storm. Nevertheless, multiple administrations in animals might be necessary to mimic the clinical situation (e.g., to mimic the effects related to the persistence of gene expression).

Toxicity studies using multiple administrations will be required before a clinical trial designed for multiple GTMP administration.

In addition, applicants are encouraged to explore suitable biomarkers predictive of toxicity in the animal models.

Toxicity should be assessed for the whole gene therapy medicinal product construct (virus or other micro-organism or vector particle and/or delivery system + expression vector including cassette + transgene), taking into account its intracellular positioning (e.g. mitochondrial or nuclear chromosomal positioning) and the number of expression vector / transgene copies (e.g., with a view to insertional oncogenesis). Toxicity should also be assessed for the transgene product, in order to determine any consequences of its over-expression and/or immunogenicity (see below) or unwanted pharmacological effects.

The drug substance purity should be taken into consideration. If production of any aberrant gene product is foreseen on the basis of quality data on the GTMP, then the toxicological consequences should be evaluated.

The in vivo effect of expression vector-related, non-therapeutic proteins (e.g. antibiotic resistance genes in plasmids, viral proteins expressed from the construct etc.) should be evaluated.

## **Integration studies**

Depending on the proposed clinical use (e.g., non-life threatening disease or paediatric use), integration studies might be requested for any GTMP. For GTMPs that are based on a molecular design not expected to be capable of integration, data from in vivo or in vitro studies that detect integration are required. The likelihood and the possible consequences of vector integration should be evaluated and measures to control potential associated risks should be described and justified.

## **Germline transmission**

Studies should be carried out as outlined in the Note for Guidance CPMP/BWP/3088/99, annex on non-clinical testing for inadvertent germline transmission of gene transfer vectors (EMA/273974/2005).

### **Target tissue selectivity**

In addition to biodistribution data, studies to confirm the specificity and duration of gene expression and activity in target tissues are required when the GTMP is designed to have selective or restricted targeting and expression (tropism).

### **Immunogenicity and immunotoxicity**

Immunogenicity and immunotoxicity studies with e.g. functional endpoints on humoral and/or cell mediated immunity are generally required for those GTMPs that carry genes encoding growth factors, cytokines or other macromolecules known to have an effect on the immune system.

Immunogenicity of transgene product should be investigated in those cases where quality data of GTMP indicate production of aberrant products or of a protein with altered structure as compared to natural counterpart. Effect of pre-existing immunity to transgene product should also be studied.

The anti-vector immunity after multiple administration of a viral vector should be studied.

It is acknowledged that, for some specific GTMPs, animal models might not be representative of the clinical situation and thus might not provide interpretable data for immunotoxicity. In these specific cases, the use of homologous animal models is encouraged. In addition to non-clinical immunogenicity studies, in these specific cases, eligibility criteria and immunogenicity studies should be carefully planned at the clinical level.

### **Delivery devices and excipients**

If the delivery device and/or excipients have not been previously approved for clinical use with a GTMP, studies are requested to assess their expected contribution to GTMP activity as well as to determine its contribution to GTMP bio-distribution. If they have been approved for clinical use with a different type of GTMP, studies should be designed to complement the existing data. If they have been approved for clinical use for the GTMP under study, studies might still be required if the newly proposed clinical setting is markedly different; based on available clinical experience, the applicant should provide the rationale for excluding further non-clinical studies.

### **Reproductive toxicology**

Biodistribution studies and germline transmission studies should already have highlighted potential risks for reproduction at this stage of development. Standard studies as highlighted in ICH M3 are not generally required before first use in man, unless the biological features of the GTMP and/or proposed indication and/or the characteristics of the patient population suggest a risk for reproductive organs or function.

### **Genotoxicity studies**

Standard genotoxicity studies are not generally required.

### **Carcinogenicity/oncogenicity/tumorigenicity studies**

Standard life-time rodent carcinogenicity studies are not generally required. However, because of the nature of the GTMP products other studies will be needed. GTMPs or their gene product can have oncogenic activity. The presence of oncogenic potential of GTMPs should be evaluated *in silico* (e.g. presence of oncogene protein sequences, or mode of action of the GTMP in the genome). If oncogenic potential has already been detected then tumorigenicity should be evaluated in appropriate *in vivo/in vitro* models (e.g. by analysing proliferative capacity, dependence on the exogenous stimuli, response to apoptosis stimuli and genomic modification). Reference is made to the ICH Q5D, to Eur. Ph. Monograph 04/2005:0153 on Vaccines for human use and to Eur. Ph. 5.2.3 Cell substrates for the production of vaccines for human use.

### **Environmental risk/shedding**

Studies should be carried out as outlined in the Guideline on scientific requirements for environmental risk assessments of gene therapy medicinal products (EMEA/CHMP/GTWP/125491/2006).

### ***4.3 Non-clinical studies according to the type of GT product or vector used***

#### ***4.3.1 Plasmids***

In addition to the generally applicable considerations, the following specific features can be applied to plasmids and naked DNA.

Depending on the proposed clinical use (e.g., non-life threatening disease, paediatric and prophylactic use) and on the method of administration (e.g., in-vivo electroporation), integration studies might be requested for plasmids. They are recommended if plasmids are used in vivo for children and in general for non-life threatening disease.

Use of antibiotic resistance genes as selection markers in the vector is generally discouraged. If unavoidable, studies should be performed before first clinical studies addressing inadvertent expression of the resistance gene in human somatic cells.

When adjuvant sequences are present, e.g., in the case of a nucleic acid vaccine, their immunotoxicological safety should be investigated. If additional adjuvant substances are present in the final formulation, the immuno-toxicological safety of the whole product should be investigated.

When the plasmid is designed to have integration capacity, such as, e.g., in a plasmid engineered with a transposon, germline transmission and integration studies should be performed as described above.

When the plasmids are designed to specify a replication-incompetent viral vector or a replication-competent virus, the characteristics of the transferred virus/vector particle should be fully analysed in addition to the characteristics of the plasmid itself.

#### ***4.3.2 Viral vectors***

In addition to the generally applicable considerations, the following specific features can be applied to viral vectors.

i) Replication: genetically modified viruses or viral vectors might be designed in such a way as to be unable to replicate or conversely to be capable of full replication or to replicate only in specific conditions (i.e. conditionally replicative).

For viral vectors designed to be replication-incompetent, the possibility of inadvertent replication after complementation by wild-type viruses might have to be investigated. If recombination events could lead to permanently replicating viruses, virulence of such recombinants might have to be investigated in a non-clinical setting.

For vectors designed to be fully replicative or conditionally replicative, it should be investigated whether these vectors behave as expected in different tissues and cell types, including target(s) and non target(s). Influences of possible concomitant medication should be taken into account. Such studies might be hampered by vector-host specificity.

ii) Integration: if the vector has the capacity for integration, or the parental virus has this capacity and it can be restored by recombination events, germline transmission and carcinogenesis should be addressed as described above.

iii) Latency / reactivation: if the parental virus has the capacity for latency (e.g. herpesviruses), it should be investigated if this capacity persists in the vector. If so, or if the vector has been designed with the capacity to become latent, it should be investigated whether latency is restricted to specific tissues and whether the vector has the capacity for reactivation. The potential for expression of vector genes during latency should also be investigated and whether this expression is restricted to specific tissues; the strategy to address this issue should be justified. Such studies might be hampered by vector-host specificity.

iv) Immunogenicity: a vector that elicits a significant immune response might be difficult to re-administer effectively. If it is foreseen that re-administration to patients is necessary, the impact of such an immune response on the re-administered GTMP might have to be investigated. Such investigation might be hampered by host specificity.

v) Virulence: virulence of the parental virus strain should be taken into account as well as the possibility of recombination events that might inadvertently restore it.

#### 4.3.3 *Non-viral vectors*

Gene transfer by means of non-viral vectors, such as bacteria or synthetic nucleic acids, has been explored, but both efficacy and adverse effects are largely unknown. Therefore the general principles given above should be followed before phase 1.

Delivery vehicles - such as liposomes - might be used for transfection of plasmids or expression vectors. These should be investigated in the same way as the liposomes and virosomes used for other medicinal products or vaccine delivery.

Toxicity related to the non-viral vector: studies are useful to explore the toxicity of the transfection reagents themselves (e.g. liposomes). This approach would also provide a control group useful for evaluating the toxicity observed with the whole gene therapy construct to help identify the component of the gene expression-related toxicity. These studies also provide re-assurance that the model chosen is appropriate to the vector considered (e.g. toxicity and appropriate tropism of the non-viral vector used).

#### 4.3.4 *Genetically-modified somatic cells*

Aspects of efficacy and safety that should be investigated include bio-distribution, migration, persistence (or life-span) including the expression of delivered gene(s). Differentiation (if applicable) or other effects on cellular phenotype including proliferation should be investigated. Local tolerance should be tested. Immune reactions induced by the modified cells should be investigated.

**Release of transfer vector *in vivo*.** The possibility that genetically modified cells, whether intentionally designed for this purpose or not, release vector or plasmid when transferred *in vivo* should be investigated, including potential for interactions with other infectious agents or disease-related drugs when applicable. The extent of these studies will depend on the vector or plasmid used to transduce cells, its replication capacity and its integration status in the cells. Dissemination of vectors to various tissues and organs, particularly to the gonads, and to the environment should be investigated. Identity, infectivity, persistence and activity of the disseminated agent should be determined.

**Induced cellular changes.** *In vitro* and/or, when applicable, *in vivo* studies should be used to examine effects on cellular morphology, phenotype, function and behaviour, such as proliferation, differentiation, immortalisation or the induction of a transformed phenotype. Any unintended and unexpected change that occurs following vector transfer as compared with the unmodified cell population should be carefully considered.

The degree of expression and the quality of the gene product should be evaluated.

When cells with replicating potential (e.g. progenitor cells) are transduced with integrating vectors (e.g. retro- or lentiviral vectors), the number of integration sites should be investigated and discussed in relation to clinical use. The integration sites should be characterised for adjacent gene identity and function, where feasible. Special attention should be paid to activation of oncogenes and/or inactivation of tumour-suppressing genes. The impact of copy number in single cells should also be evaluated in the light of quality requirements (i.e. consistency).

In addition, the possibility that latent viruses (such as herpes zoster, Epstein-Barr virus and cytomegalovirus) have been reactivated leading to the production of infectious virus should be investigated, when applicable based on the type of vector and/or of recipient cells used.

***In vivo* behaviour and activity of transduced cells.** Studies should be carried out to demonstrate the appropriate distribution, trafficking, localisation and persistence of genetically modified cells *in vivo*. Similarly expression, activity, localisation and persistence of the relevant gene product(s) and any pathological changes in the sites where expression occurs should be studied.

The therapeutic effect of transduced cells and/or of the transduced gene(s) should be demonstrated and confirmed to be limited to the intended organ/tissue.



**Unwanted immune response.** If not an intended property of the genetic modification, evidence should be provided that the transduced cells do not provoke unwanted immune response.

Uses of allogeneic or xenogeneic cells might lead to an unwanted immune response to the administered cells and in vivo animal studies might give some useful information regarding the toxicological consequences of such an immune response.

**Encapsulated cells.** For cells that are encapsulated in biocompatible material, data should be provided to support compatibility with the contained cells and the tissue at the site of transplantation. Stability of the encapsulation material with respect to degradation and leakage of modified cells should be established. If cells are designed to secrete a gene product, its beneficial as well as potential toxic effect should be studied.

## GLOSSARY

**For the purpose of this document the following definitions have been used:**

Delivery device	any material to be used with the gene therapy product or in which the final gene therapy product is prepared, having the function of facilitating/directing in vivo administration to patient
Excipient	any substance that is added to the drug substance when preparing the drug product
In silico	any analysis/study that is performed on computer and/or via computer simulation
Integration	the process by which the DNA sequence of a gene therapy product is inserted into the DNA sequence of the target cell chromosomes
Mobilisation	exit/release of the gene transfer/ expression vector from the target cell and its uptake by another tissue or cell

## REFERENCES

Regulation (Ec) No 1394/2007 of the European Parliament and of the Council of 13 November 2007 on advanced therapy medicinal products and amending Directive 2001/83/EC and Regulation (EC) No 726/2004.

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. Consolidated 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. In particular Part IV of Annex I, 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.

EMA/CHMP Note for guidance on the quality, preclinical and clinical aspects of gene transfer medicinal products CPMP/BWP/3088/99

EMA/CHMP Note for guidance on repeated dose toxicity CPMP/SWP/1042/99

EMA/CHMP Guideline on non-clinical testing for inadvertent germline transmission of gene transfer vectors EMA/273974/2005

EMA/CHMP Guideline on scientific requirements for environmental risk assessments of gene therapy medicinal products (EMA/CHMP/GTWP/125491/2006)

EMA/CHMP Guideline on Adjuvants in Vaccines for Human Use (EMA/CHMP/VEG/134716/2004)

ICH guideline Q5D: Derivation and Characterisation of Cell Substrates Used for Production of Biotechnological/Biological Products

ICH guideline S8: Immunotoxicology Studies for Human Pharmaceuticals

ICH guideline M3: Non-Clinical Safety Studies for the Conduct of Human Clinical Trials for Pharmaceuticals

Eur. Ph. 04/2005:0153 Vaccines for human use

Eur. Ph. 5.2.3 Cell substrates for the production of vaccines for human use

## 医薬品一般試験法の国際調和を促進するための研究

分担研究者 川西 徹 国立医薬品食品衛生研究所薬品部長

協力研究者 加藤くみ子 国立医薬品食品研究所薬品部室長

### 要 旨

医薬品品質管理の方策への、製造工程管理の導入が活発化している中、医薬品の品質基準書である薬局方が製造工程管理を、現状ではどのように扱っているか調査を行った。USP では、一般試験法および各条規格の内容には製造工程管理を配慮した記載方法はとられていないが、製品群に応じた製造工程管理に関する解説を参考情報に積極的に収載している。一方 EP は製品群に応じた解説の記載は少ないものの、各条規格に PRODUCTION の項を追加して、製品ごとの品質管理に柔軟性をもたらすような工夫を行っている。日局は現状では USP と同様に製品群に応じた参考情報の収載がなされているものの、内容は限定的である。日局が今後我が国の医薬品規格基準書としての役割をはたし続けるためには、欧米の薬局方を参考に、製造工程管理についても記載を充実することが必要と考えられる。

#### A. 研究目的

医薬品の承認申請の際に規制当局に提出すべきデータや審査に必要な資料の要件に関する国際調和は、ICH 等を舞台とした国際調和活動によって進捗している。医薬品の品質関連分野においても、申請に必要な資料等に関する基本的な要件は国際調和されてきた。しかし、品質特性の解析あるいは品質管理に用いられる試験法については、ICH の場では扱われていない。この点については ICH 品質ガイドラインでは、ICH-Q6A 規格および試験法ガイドラインの中に、主要な品質試験法については局方一般試験法の国際調和に委ねる旨のステートメントが記されているのみである

日米欧の局方の国際調和は従来 PDG 日米欧三薬局方調和検討会議の場で行われてきており、現在のところ、調和対象は一般試験法と医薬品添加物各条である。一般試験法については、上記 ICH-Q6A に具体的に調和すべき試験として示された試験について調和が進捗している。さらに、ICH では Q4B が開始され、PDG で調和された試験法について、三極の規制当局が受け入れ可能であるか、さらに可能な場合は受け入れ条件についての確認を国際調和活動として行っている。しかしながら、現在までに PDG で調和を終え、さらに Q4B において三極の規制当局で受け入れ条件の確認がほぼ終了している試験法についても、それぞれの極で長

年運用されてきた歴史があるために、国際調和されたとされている試験法でも、非調和部分も含まれ、また各局方への取り込みの過程で問題が生じているケースもある。

一方薬局方は医薬品の規格基準書であることから、歴史的に最終製品の規格試験による品質管理を扱っているため、一般試験法として収載される試験法は、最終製品の規格試験に用いられる品質試験が基本である。しかしながら近年の医薬品品質管理では、最終製品の出荷規格試験を製造工程中のパラメータ管理や工程管理試験に置き換える方策がとられつつある。したがって薬局方収載の一般試験法は、医薬品の品質管理試験をカバーできていない状況が生まれている。各薬局方は(1)工程管理試験を一般試験法として収載したり、(2)局方内の参考情報欄を活用して対応を行う、等の対応を行っているが、局方間で対応に差がある。

本研究では、初年度は今後日局に収載をはかるべき製剤試験法をリストアップした。さらに次年度は国際調和されたとされている薬局方製剤試験の中で、医薬品の品質管理に適用されるケースの多い、(1)注射剤の不溶性微粒子試験法、(2)製剤均一性試験法、(3)崩壊試験法、(4)溶出試験法 について、現在の日米欧三薬局方の試験法における記載を比較し、相違部分について考察した。最終年度である今年度は、製造工程評価に関わる試験法に関して、日米欧各薬局方の取り組みを比較した。

## B. 研究方法

日本薬局方については日局 15 および日局 16、欧州薬局方は 7.1、米国薬局方は USP34-NF29 第一追補について、製造工程管理に関する記載を調べた。

## C. 研究結果

### C-1. 医薬品の品質管理の方策の新しい考え方—製造工程管理について—

薬局方は“医療上重要と認められる医薬品の品質規格基準書”であり、歴史的に、規格試験に用いる試験法、および各製品の製品規格をまとめたものであった。しかし医薬品の品質確保の方策においても、製造工程の工程管理パラメータおよび原料や中間体の試験からなる製造工程管理による製品品質の一定性確保が図られるようになってきている。そのような製造および品質管理の現場の変化を反映し、主に新薬を対象としたICH品質ガイダンスの中には、製造工程管理の考えが導入され、医薬品品質管理の基本的考え方として既に浸透している。

このような医薬品品質管理の方策の変化は、広く臨床現場で用いられている標準的医薬品の品質管理を扱う薬局方においても考慮され、日局、米国薬局方、欧州薬局方においても一定の対応がとられている。以下、三薬局方の現状をまとめる。

### C-2. 日局における製造工程管理に関する記述

#### C-2-1. 通則、総則、一般試験法における製造工程管理に関する記述

日局においては、主にICH-Q6Aにおけるパラメトリックリリースの議論を反映して、日局 15において、以下の通り、通則や製剤総則に、製造工程管理による品質管理を受け入れるステートメントが記されている。

---

#### 通則

11. 医薬品各条の試験において「別に規定する」とあるのは、薬事法に基づく承認の際に規定することを示す。
12. 製造工程のバリデーション及び適切な工程管理と品質管理の試験検査に関する記録により、その品質が日本薬局方に適合する