

- 11) 六川潤美、榊原隆史、伊藤浩太、河村公太郎、古川正敏、藤平司朗、市戸等、並木正人、平賀武夫、小島肇、松浦正男:眼刺激性評価のための牛角膜を用いた混濁度および透過性試験法(BCOP法)、第39回日本毒性学学術年会、仙台国際センター (2012.7)
- 12) 小島 肇:皮膚刺激性評価法の最新動向、皮膚基礎研究クラスターフォーラム、タワーホール船堀、東京 (2012.7)
- 13) 伊藤浩太、榊原隆史、六川潤美、平賀武夫、小島肇、松浦正男:牛摘出角膜を用いた眼刺激性試験代替法(BCOP法)、第32回比較眼科学会年次大会、名古屋国際会議場 (2012.7)
- 14) 小島 肇:皮膚感作性試験代替法における最新動向、Workshop on the Adverse Outcome Pathways for skin sensitization assay,京都教育会館 (2012.9)
- 15) Kojima, H., Tanaka, N., Oshimura, M., Saito, K., Saito, F. and Imatanaka, N. : Japanese New Project "ARCH-Tox" for the future Chemicals Management Policy: Research and Development of *in vitro* and *in vivo* Assay for Internationally Leading Hazard Assessment and Test Methods, 1st annual meeting of the American Society for Cellular and Computational Toxicology (ASCCT),ベセズタ、米国 (2012.9)
- 16) Yoshifumi Uno for JaCVAM Comet Assay International Validation Project Team: Update of the Status of the JaCVAM Organized International *In Vivo* Comet Assay Validation Study 2012 Genetic Toxicology Association (GTA) meeting, John M. Clayton Hall Conference Center, University of Delaware, Newark, DE (2012.10)
- 17) Kojima, H.: Historical background on the Japanese Validation Study, International Workshop on the HET-CAM Assay, ベルリン、ドイツ (2012.10)
- 18) 小島 肇:テストガイドラインの現状、三次元生体組織構築公開シンポジウム、化学会館ホール、東京 (2012.11)
- 19) 小島 肇:今後の化学物質等の安全性評価の方法はどうなるのか、第16回コロイド・界面技術者フォーラム、KKR江の島ニュー向洋、神奈川 (2012.11)
- 20) 濱田修一、高島理恵、嶋田圭祐、松本和美、川上哲、田中仁、松本浩孝、中井智博、今村匡志、松村奨士、真田尚和、井上健司、武藤重治、萩尾宗一郎、林亜耶、高柳智美、荻原庸介、前田晃央、成見香瑞範、寺島ゆかり、高沢博修、小川いづみ、大山ワカ子、涌生ゆみ、川迫一史、佐野正樹、大橋信之、森田健、小島肇、林 真、本間正充:反復投与による肝臓小核試験法の有用性の検討:MMS共同研究の報告、日本環境変異原学会第41回大会、グランシップ 静岡 (2012.11)
- 21) 大山ワカ子、成見香瑞範、岡田恵美子、藤石洋平、高柳智美、堀妃佐子、松村奨士、池田直弘、夏目匡克、田中仁、高島理恵、松本浩孝、須井哉、浅野哲秀、森田健、小島肇、本間正充、濱田修一、林 真:反復投与による消化管小核試験法の有用性の検討:MMS共同研究の報告、日本環境変異原学会第41回大会、グランシップ 静岡 (2012.11)
- 22) 小島 肇:化粧品の安全性を考える、「化粧学のスズメ」、東京農業大学世田谷キャンパス (2012.12)
- 23) 小島 肇:25周年記念講演「日本動物実験代替法学会バリデーション委員会とJaCVAM」、日本動物実験代替法学会 第25回大会、慶応義塾大学芝共立キャンパス (2012.12)
- 24) 山口 宏之、小島 肇、竹澤 俊明:シンポジウム:コラーゲンビトリゲル膜チャンバーを用いたAMET解析に有用な培養システム「コラーゲンビトリゲル膜チャンバーを利用した眼刺激性試験法の開發現状」、日本動物実験代替法学会 第25回大会、慶応義塾大学芝共立キャンパス (2012.12)
- 25) 内野 正、清水久美子、竹澤俊明、山下邦彦、小島 肇、五十嵐良明、秋山卓美:シンポジウム:コラーゲンビトリゲル膜チャンバーを用いたAMET解析に有用な培養システム「コラーゲンビトリゲル膜チャンバーを利用した皮膚感作

- 性試験法の開発現状」、日本動物実験代替法学会 第25回大会、慶応義塾大学芝共立キャンパス (2012.12)
- 26) 小島 肇、安中 希、土屋成一朗、吉武裕一郎、許 睿、鈴木 克、嶋谷 亘、梶田明美、中村 牧、渡辺美香、中嶋圓、坂本興嗣、竹田竜嗣、久間將義、池田英史、稲垣愛美、棟近由記美、山本裕、笠原利彦、福田隆之、仲原 聡、渡辺真一、倉田隼人、篠田伸介、加藤雅一：培養角膜モデルLabCyte CORNEA-MODEL24を用いた眼刺激性試験代替法共同研究、日本動物実験代替法学会 第25回大会、慶応義塾大学芝共立キャンパス (2012.12)
- 27) 木村 裕、渡辺 美香、斎藤 るみ子、鈴木 紀之、岩城 知子、金子 愛、高田 めぐみ、田中 裕美、渡辺 文、山影 康次、斎藤 幸一、中島 芳浩、近江谷 克裕、酒井 綾子、大森 崇、山崎 晶次郎、小島 肇、田中 憲穂、相場 節也：IL-8 Luc assayの施設間差試験-Phase I, Phase II aの結果ならびに今後の展望-、日本動物実験代替法学会 第25回大会、慶応義塾大学芝共立キャンパス (2012.12)
- 28) 簾内 桃子、福田 隆之、池田 英史、鄭 美淑、大森 崇、田中 裕美、山影 康次、萩野 滋延、小島 肇：SIRC-CVS試験を用いた眼刺激性評価代替法の国際バリデーション研究 (I)、日本動物実験代替法学会 第25回大会、慶応義塾大学芝共立キャンパス (2012.12)
- 29) 岩瀬 裕美子、山本 敏誠、若栗 忍、尾上 誠良、世戸 孝樹、大崎 尚人、高木 広憲、戸田 嗣人、中村 和希、松本 康浩、川上 哲、細井 一弘、小島 肇：医薬品の光安全性評価のための Reactive Oxygen Species (ROS) アッセイ - JaCVAM多施設バリデーション研究 -、日本動物実験代替法学会 第25回大会、慶応義塾大学芝共立キャンパス (2012.12)
- 30) 榊原 隆史、六川 潤美、伊藤 浩太、河村 公太郎、古川 正敏、藤平司郎、市戸等、並木正人、平賀武夫、小島肇、松浦正男：眼刺激性評価のための牛角膜を用いた混濁度および透過性試験法 (BCOP法)、日本動物実験代替法学会 第25回大会、慶応義塾大学芝共立キャンパス (2012.12)
- 31) 小島 肇：iPS細胞を用いた安全性評価試験が行政的に受け入れられるために、日本学術会議薬学委員会シンポジウム 「iPS細胞研究の創薬への応用」、日本学術会議講堂、東京 (2013.1)
- 32) 古川 正敏、六川 潤美、榊原 隆史、伊藤 浩太、藤平 司郎、平賀 武夫、小島 肇、松浦 正男：眼刺激性評価のための牛角膜を用いた混濁度および透過性試験法 (BCOP法) - 病理組織学的検査を中心に -、第29回日本毒性病理学会総会および学術集会、つくばフロンティアセンター (2013.1)
- 33) 小島 肇：最近の動物実験代替法の開発状況、革新的な医療機器の開発と動物実験代替法の最前線、富士ソフトアキバプラザ 5階富士ソフトアキバホール、東京 (2013.2)
- 34) H Kojima, N Annaka, S Tsuchiya, Y Yoshitake, R Xu, M Suzuki, W Shimatani, A Kajita, M Nakamura, M Watanabe, M Nakajima, K Sakamoto, R Takeda, M Hisama, H Ikeda, M Inagaki, Y Munechika, Y Yamamoto, T Kasahara, T Fukuda, S Nakahara, S Watanabe, H Kurata, S Shinoda, M Katoh : Collaboration study on eye irritation alternative method with human corneal model; LabCyte CORNEA-MODEL24、52th Society Of Toxicology, San Antonio, Texas (2013.3)
- 35) W Casey, P Ceger, J Strickland, L Rinckel, E Grignard, Susanne Bremer, H Kojima, SY Han, W Stokes: Regulatory Acceptance of the BG1Luc Estrogen Receptor Transactivation Test Method, 52th Society Of Toxicology, San Antonio, Texas (2013.3)
- 36) J Kulpa-Eddy, R McFarland, G Srinivas, A Walker, M Halder, H Kojima, K Brown, H Draayer, R Sebring, V Doelling, B Jones, N Johnson, L Rinckel, W Casey, W Stokes: International Workshop on Alternative Methods for Veterinary *Leptospira* Vaccine Potency Testing, 52th Society Of

- Toxicology, San Antonio, Texas (2013.3)
- 37) T Toda, S Onoue, Y Seto, H Takagi, N Osaki, S Kawakami, Y Matsumoto, Y Iwase, T Yamamoto, S Wakuri, K Hosoi, K Nakamura, and H Kojima : Intra- and inter-laboratory validation study on reactive oxygen species (ROS) assay for photosafety evaluation of pharmaceuticals, 52th Society Of Toxicology, San Antonio, Texas (2013.3)
- 38) 小島 肇 : 動物モデルの必要性、日本薬学会第133年会、横浜 (2013.3)
1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし
- I. 添付資料
- 1) ROS assay peer review Q&A
- 2) Proposed protocol outline of ROS assay

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

ROS assay peer review

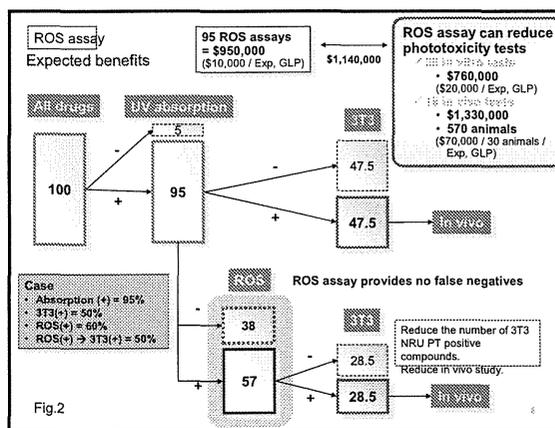
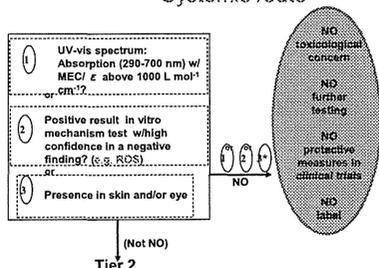
Q&A

February 27 – March 2, 2013

Charge question 1: A rationale for the test method should be available, including description of toxicological mechanisms, a clear statement of scientific need, and regulatory application.

Some chemicals used in drugs are known to exhibit phototoxic properties. These chemicals need to be identified and eliminated in the early stages of drug discovery and development. ROS production is the most important mechanism for inducing chemical phototoxicity. Physico-chemical tests enable the identification of ROS production by chemicals after exposure to UV and/or visible light. Data identifying ROS-producing chemicals has to be submitted to the appropriate regulating authority (i.e., PMDA/MHLW, FDA, EMEA) prior to the First-in-Human (FIH)/Phase 1 stage. Principle of using the proposed ROS assay in this regulatory framework is provided in Figure 1 and 2.

Fig.1 Photosafety Strategy: Tier 1 in ICH S10 guideline Systemic route



Charge question 2: The relationship between the test method endpoint(s) and the biological effect and to the toxicity of interest should be addressed, describing limitations of the test methods.

The ROS assay is based on identifying reactive oxygen species produced by chemicals after exposure to UV and/or visible light. This mechanism is the basis for phototoxic reactions in humans, e.g., redness, swelling, irritation, and inflammation. Limitations include the fact that there may be photo-reactive species that are not associated with the ROS mechanism. This is a physico-chemical test that identifies the potential for generation ROS in a non-biological system. However, it may be too sensitive, not since it dose not assess the direct interaction in a biological system. Initiation of phototoxic reaction in humans depends on pharmacokinetics/concentration in the target tissue.

Charge questions 2: continued

- Potential for phototoxicity may be overestimated because some chemicals may not achieve sufficient concentration in skin for phototoxic reactions to occur. If the result of the assay is negative, it is highly unlikely that phototoxicity will occur in living systems, including humans.

Note: Consider whether or not the test addresses photo-degradation.

Charge question 3: A detailed test method protocol should be available

There are two protocols (Phase I and Phase II) for the Atlas Suntest validation study as well as two protocols (Phase I and Phase II) for the Seric validation study.

A proposed ROS test method protocol for conducting the ROS assay has yet to be drafted.

Charge question 4: Within- and between-laboratory reproducibility of the test method should be demonstrated

The provided data demonstrates excellent within- and between-laboratory reproducibility for the positive and the negative control. Within- and between-laboratory reproducibility for the 42 test chemicals was also very high.

Between-laboratory reproducibility for the positive control (quinine) is within 2 SD, while the reproducibility for the negative control (sulisobenzone) cannot be calculated with standard statistical methods. Therefore, presentation of statistics appears to require the help of a statistician. There are two ways to analyze this particular issue: absolute numbers or classifications.

The author's assessment of reproducibility does not take into account classifications. We see 100% reproducibility within and between laboratories for both the positive and the negative control chemicals.

Charge question 5: Demonstration of the test method's performance should be based on testing of representative, preferably coded reference chemicals

Appropriateness of reference chemicals

The 42 reference chemicals incorporated most known human phototoxicants and included 23 known positives and 19 negatives.

Due to potential importance of chemical structure, some members of the peer reviewers recommend that an appendix be added to the validation report showing the chemical structure of all chemicals.

The selection is very good from a statistical point of view. The positive chemicals are backed by high quality data from human patch testing, while the negative substances are backed by negative results obtained by in vitro 3T3 testing, and human results are probably available for the 9 UV absorbers.

Charge question 6: Accuracy or predictive capacity should be demonstrated using representative chemicals. The performance of test methods should have been evaluated in relation to existing relevant toxicity data as well as information from the relevant target species.

There were four different assessment strategies (A, B, C, & D). We support the proposal that one experiment is sufficient, as described in assessment strategy D.

Decision criteria for classification of positive and negative test chemicals could be further optimized by combining positive and negative thresholds to preclude false negatives and reduce false positives. See Fig. 2 in Onoue 2012.

Charge question 7: All data supporting the assessment of the validity of the test method should be available for expert review

All raw data for two validation study reports has been made available.

Charge question 8: Ideally, all data supporting the validity of a test method should have been obtained in accordance with the principles of Good Laboratory Practice (GLP)

Require written statement indicating that even though GLP was not performed, data provided in report was reviewed in a quality control check to confirm that results accurately reflected the raw data. Two of three of the labs were GLP certified, and there was no significant variability between laboratories, which suggested a consistent level of quality.

This is in reference to Study #1 only. We must also consider Study #2, which has four GLP labs.

Charge question 9: Applicability domain of the validity of the test method should be defined for expert review

Validation study should define limitations of test, so we should identify what chemicals can or can't be tested. Since there is a major group of chemicals that cannot be tested with this assay, we need to define that group. Guidance must be provided in the protocol; i.e., how to use this test most appropriately.

This can be defined using either physico-chemical properties or chemical classes. Protocol states that a test chemical that is insoluble in either DMSO or 20mM NaPB cannot be evaluated in this assay. Need to elucidate that chemicals that are insoluble in the vehicles and are not suitable for testing with this assay may be able to be tested in other vehicles, such as BSA, alcohol, acetone, DMSO.

Charge question 10: Proficiency chemicals should be set up in the proposed protocol

Recommend the six chemicals shown on page 17 plus the positive and negative controls.

In addition, laboratories are encouraged to consider testing a positive chemical that is not positive for both SA and SO, e.g., chlorpromazine HCl or omeprazole on page 18 of proposed protocol.

The results would be expected to provide identical ranking and classification.

For all of the proficiency chemicals, provide guidance for the most appropriate solvents.

A narrative to provide rationale in support of selection of the proficiency chemicals is needed.

Charge question 11: Performance standard should be set up with proposed protocol

The results obtained with the proficiency chemicals listed in question 10 as well as other chemicals to be specified at a later date would be expected to provide identical ranking and classification.

Charge question 12: Advantages in terms of time, cost and animal welfare

The ROS assay can provide significant potential savings in time, cost and reduced animal use for phototoxicity testing. As shown in fig.2, slide 3, chemicals that are tested negative in the ROS assay need not be tested in animals or other tests.

Proposed protocol outline of ROS assay (draft, version 1.1)

Yumiko Iwase
Mitsubishi Tanabe Pharma Corporation

1

Contents of the protocol

- Introduction
- Initial consideration
- Principle of the test method
- Description of the test method
- Data and reporting
 - Reference chemicals for the feasibility study
- Literature
- Appendix

2

Contents of the protocol

- Introduction
- Initial consideration
 - ROS assay is not a phototoxicity test but a test to examine photoreactivity, a physicochemical test similar to measurement of UV absorbance.
- Principle of the test method
- Description of the test method
- Data and reporting
 - Reference chemicals for the feasibility study
- Literature
- Appendix

3

Solar simulator

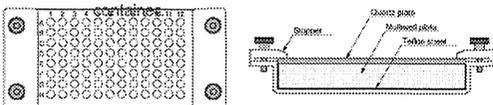
- Appropriate solar simulator irradiating UV and visible light should be used. The irradiation power distribution of the solar simulator with appropriate UVC cut filter should be close to that of outdoor daylight.
 - Recommending solar simulators and UVA intensity on the plate position measured by Dr. Hönle UVA detector #0037 are shown as follows;
 - Suntest CPS+ or CPS (Atlas) with UV cut filter (<290 nm), 1.8 to 2.2 mW/cm² for 1 hour; (?? J) of UVA intensity
 - SXL-2500V2 (Seric) with UV cut filter (<300 nm), 3.0 to 5.0 mW/cm² for 1 hour; (?? J) of UVA intensity
- The solar simulator should be equipped with appropriate temperature control unit or fan because ROS production is influenced by temperature.
 - Acceptable temperature range is 20 to 29°C in ROS assay.
- When different solar simulator is used, sufficient valid data as same as that of the above solar simulators should be obtained using phototoxic and non-phototoxic chemicals from reference chemical set (slide 18).

4

Quartz reaction container

- To eliminate UV absorbance by a plastic lid and to protect vaporizing of reaction mixture, a quartz reaction container is used. The made-to-order container (Ozawa Science, Aichi, Japan), or its equivalent is recommended.
- If a different container is used, a lid or seal with high UV transmittance must be used. In this case, the feasibility study should be conducted using the reference chemicals to determine appropriate condition of UV/visible light exposure.

Need to include size and specifications for reaction



5

Chemicals and concentrations

Test chemical	2 concentration levels, 20 and 200 μM (final concentration), should be used. <ul style="list-style-type: none"> ✓ When precipitation is found microscopically at 20 μM, it is inadvisable to evaluate the chemical. ✓ It is inadvisable to test chemicals exhibiting peak absorbance at 440 (SO) or 560 (SA) nm, which might interfere with the ROS assay. ✓ The test chemical should be stored appropriately until termination of the study and its stability during the test period should be confirmed.
Positive control	Quinine HCl (CAS No. 6119-47-7) 200 μM (final concentration)
Negative control	Sulisobenzone (CAS No. 4065-45-6) 200 μM (final concentration)
Solvent	DMSO (analytical grade) should be used at first. <ul style="list-style-type: none"> ✓ In the case of DMSO-insoluble chemical, 20 mM NaPB should be used. ✓ When a test chemical is insoluble in either DMSO or 20 mM NaPB, BSA or other solvent might be helpful. Prior to use of BSA or other solvent, a feasibility study should be conducted using the reference chemicals on page 18 to determine appropriate test conditions. Classification for regulatory purposes should not be based on a ROS assay using BSA or other solvent until these solvents have been properly evaluated. <ul style="list-style-type: none"> • Onoue et al.; Pharmaceutical Res, 25, 861, 2008. • Onoue et al.; J of Applied Toxicology, in press (DOI 10.1002/jat.2846).

6

Test procedure

Singlet oxygen		Superoxide anion	
20 mM NaPB	480 μ L	20 mM NaPB	855 μ L
Imidazole	250 μ L	NBT	125 μ L
RNO	250 μ L	Chemical	20 μ L
Chemical	20 μ L		

- Mix (Vortex and Sonication for 5 - 10 min)
- Add 200 μ L of mixture to each well (n=3)
- Check solubility using a microscope (x100)
- Measure A_{440} and A_{560} after shaking for 5 sec
- Light exposure for 1 hr
- Measure A_{440} and A_{560} after shaking for 1 min

7

Representative plate format

Need to show that more than one substance can be tested per plate.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A												
B		B	P	N	T	T						
C		B	P	N	T	T						
D		B	P	N	T	T						
E		B	P	N	T	T						
F		B	P	N	T	T						
G		B	P	N	T	T						
H												

B: Blank
P: Positive control
N: Negative control
T20: Test chemical 20 μ M
T200: Test chemical 200 μ M

8

Contents of the protocol

- Introduction
- Initial consideration
- Principle of the test method
- Description of the test method
- Data and reporting
 - Reference chemicals for feasibility study
- Literature
- Appendix

9

Data analysis

Data from three wells for each chemical concentration will be used to calculate mean and standard deviation.

■ Singlet oxygen

$$\text{Decrease of } A_{440} \times 10^3 = [A_{440}(-) - A_{440}(+) - (a - b)] \times 1000$$

$A_{440}(-)$: Absorbance before light exposure at 440 nm

$A_{440}(+)$: Absorbance after light exposure at 440 nm

a: Blank before light exposure (mean)

b: Blank after exposure (mean)

■ Superoxide anion

$$\text{Increase of } A_{440} \times 10^3 = [A_{560}(+) - A_{560}(-) - (b - a)] \times 1000$$

$A_{560}(-)$: Absorbance before light exposure at 560 nm

$A_{560}(+)$: Absorbance after light exposure at 560 nm

a: Blank before light exposure (mean)

b: Blank after exposure (mean)

10

Criteria for data acceptance

- No precipitation of test chemical in the reaction mixture before light exposure.
- No technical problems when collecting data set (including temperature within prescribed range.)
- Raw OD value: 0.02 to 1.5
- Historical positive and negative control values should be developed by each laboratory based on a mean \pm 2 SD.
- Positive control value at 200 μ M (mean of 3 wells)
 - Singlet oxygen: 311 to 465
 - Superoxide anion: 144 to 446
- Negative control value at 200 μ M (mean of 3 wells)
 - Singlet oxygen: -26 to 14
 - Superoxide anion: -26 to 8
 - The range was defined based on the 95% confidence interval (mean \pm 1.96SD) obtained from the validation data.
 - When other solar simulators are used, establish modified criteria based on 95% confidence interval.

11

Decision criteria

Judgment	Case	Final Conc.	SO (mean of 3 wells)	SA (mean of 3 wells)
Positive	1	20 or 200 μ M	≥ 25	< 20 and/or P
	2		< 25 and/or P	≥ 20
	3		≥ 25	≥ 20
Negative	4	20 and 200 μ M	< 25	< 20
Inconclusive	5	Others		

P: Precipitation before irradiation

- ✓ When precipitation is observed at 20 and 200 μ M before irradiation, the compound is regarded incompatible with the ROS assay. Need to define precipitation so it can be identified in an objective manner.
- ✓ Decision to be based on results of one experiment because the ROS assay shows good reproducibility in the validation studies.

12

Data Quality

- The study should be conducted under high-quality standards with data collection records readily available, preferably in compliance with GLP/GMP regulations.
 - ICH S10 draft guideline (Step 2, 15 Nov. 2012)
 - All documents should be checked by the Quality Assurance Unit of the laboratory.

13

Contents of the protocol

- Introduction
- Initial consideration
- Principle of the test method
- Description of the test method
- Data and reporting
 - Reference chemicals for the feasibility study
- Literature
- Appendix

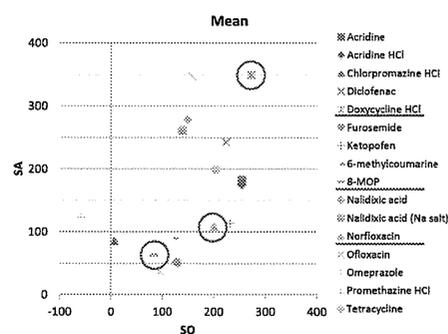
14

Reference chemicals for the feasibility study

- For establishing ROS assay, irradiation condition to satisfy the recommended criteria should be determined using the positive and negative controls at 200 μ M.
- The reference chemicals should be tested at 200 μ M in a feasibility study before any chemicals are tested.
- Chemicals for the feasibility study should be selected from the following 21 chemicals judged at 200 μ M in the validation studies.
 - 16 positives
 - Acridine, Acridine HCl, Chlorpromazine HCl, Diclofenac, Doxycycline HCl, Furosemide, Ketoprofen, 6-Methylcoumarine, 8-MOP, Nalidixic acid, Nalidixic Na salt, Norfloxacin, Ofloxacin, Omeprazole, Promethazine HCl, and Tetracycline
 - 5 negatives
 - Aspirin, Benzocaine, Erythromycin, Camphor sulfonic acid, and PABA
- Following chemical set is recommended.
 - Solar simulators used in the validation studies
 - 3 positives (strong, moderate, and weak responses, red)
 - 3 negatives (2 UV absorbers plus one, blue)
 - The other solar simulators (← total 14 chemicals would be tested using 2 plates)
 - 11 positives (excluding the same chemical class (red and pink))
 - 3 negatives (2 UV absorbers plus one, blue)

15

Sixteen positive chemicals judged at 200 μ M in the validation studies



16

Reference chemical set and acceptable range for the solar simulators used in the validation studies

#	Chemical	CAS No.	SO	SA
1	Doxycycline HCl	10592-13-9	115 to 429	230 to 468
2	Norfloxacin	70458-96-7	98 to 218	57 to 161
3	8-MOP	298-81-7	31 to 137	20 to 126
4	Benzocaine	94-09-7	7 to 9	7 to 17
5	Erythromycin	114-07-8	-15 to 11	9 to 19
6	PABA	150-13-0	-8 to 12	-11 to 7

- The range was calculated as mean \pm 1.96 SD.
- Cutoff values are 25 for SO and 20 for SA.

17

Reference chemical set and acceptable range for the other solar simulators

#	Chemical	CAS No.	SO	SA
1	Acridine	260-84-6	182 to 328	121 to 243
2	Chlorpromazine HCl	69-09-0	Usually negative	66 to 106
3	Diclofenac	15307-79-6	34 to 416	47 to 437
4	Doxycycline HCl	10592-13-9	115 to 429	230 to 468
5	Furosemide	54-31-9	31 to 225	20 to 109
6	Ketoprofen	22071-15-4	120 to 346	77 to 151
7	8-MOP	298-81-7	31 to 137	20 to 126
8	Nalidixic acid	389-08-2	54 to 246	88 to 470
9	Norfloxacin	70458-96-7	98 to 218	57 to 161
10	Omeprazole	73550-58-6	Usually negative	30 to 216
11	Promethazine HCl	58-33-3	25 to 168	20 to 77
12	Benzocaine	94-09-7	-7 to 9	-7 to 17
13	Erythromycin	114-07-8	-15 to 11	-9 to 19
14	PABA	150-13-0	-8 to 12	-11 to 7

- The range was calculated as mean \pm 1.96 SD from the validation data.
- Cutoff values are 25 for SO and 20 for SA.

18

Schedule (draft)

- March 2013: Fixed outline
- May 2013: Draft protocol
- June 2013: Discussion in ICH S10 EWG meeting
- Up to November 2013: Fixed the final protocol
- November 2013: ICH S10 EWG meeting

19

Thank you for your attention!!

20

厚生労働科学研究費補助金（医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業）
平成24年度分担研究報告書

医薬品・治験薬の有効性及び安全性に係わる製造・品質管理・評価技術に関する研究
－Q11ガイドラインの円滑な実施のために考慮すべき要素－

研究分担者：奥田 晴宏（国立医薬品食品衛生研究所 薬品部長）

研究協力者：安藤 剛（（独）医薬品医療機器総合機構）

阿曾 幸男（国立医薬品食品衛生研究所 薬品部 第二室長）

研究要旨

原薬の開発と製造に関するICH Q11ガイドラインは、2012年5月1日にステップ4に達した。今後我が国は、このガイドラインの円滑な実施に向けて取り組みが必要となる。本ガイドラインはライフサイクルマネジメントを重要視し、タイトルにも掲げられているように「製造」行為も、科学のおよびリスクベースに実施されることを期待している。製造段階における合理的な薬事手続きを可能にするためには各極の品質に関する承認後変更の手続きが共通化されていることが望ましいことは勿論である。本研究では特に欧州における承認後変更手続きの最近の取り組みを調査し、我が国における変更手続きと比較考察した。

キーワード：原薬開発、製造プロセス、管理戦略

A. 研究目的

原薬の開発と製造に関するICH Q11ガイドラインは、2012年5月1日にステップ4に達した。

本ガイドラインは、ICH Q8-Q10の原則（科学とリスクにマネジメントに立脚した体系的開発（QbD））を原薬の開発に適用し、QbDによる開発は規制の弾力的な運用の基盤となることを改めて述べている。一方、最近の医薬品、特に医薬品原体は国際商品であり、規制の弾力的な基盤がたとえ構築できたとしても、各極の対応が異なる場合には結局のところ、硬直的な運用しかできないという事態が懸念される。

欧州は、米国の承認事項に関する変更管理制度とは異なる制度を長年維持してきたが、最近制度的には米国に近い制度を導入しつつある。本研究では、欧州の①新たな変更管理のフレームワーク、②Q11ガイドラインにおいても推奨されている初回申請時の将来の変更に関する提案に関して調査した。

また、「原薬の開発及び製造」を円滑に実施するた

めの研究の一つとして、化学合成医薬品の品質評価手法に関する研究を合わせて実施した。

B. 研究方法

以下のICHガイドラインあるいは欧州のガイドライン等を用いて、調査した。

- 1) ICH Q11 Guideline: Development and Manufacture of Drug Substances (Chemical Entities and Biotechnological/Biological Entities)
- 2) COMMISSION REGULATION (EC) No 1234/2008 of 24 November 2008: concerning the examination of variations to the terms of marketing authorisations for medicinal products for human use and veterinary medicinal products
- 3) EUROPEAN COMMISSION: Guideline on the details of the various categories of variations to the terms of marketing authorisations for medicinal products for human use and veterinary medicinal

products (2010/C 17/01)

- 4) EMA/CHMP/CVMP/QWP/586330/2010 Committee for Medicinal Products for Human Use (CHMP) Questions and answers on post approval change management protocols (30 March 2012)
- 5) EMEA-H-19984/03 Rev 24 Patient Health Protection: European Medicines Agency post-authorisation procedural advice for users of the centralised procedure (July 2012)

C. 研究結果

C-1 欧州における承認事項の変更管理制度の改正について

欧州では近年CMC (Chemistry, Manufacture and Control) に関する承認後の変更手続きが改正された (図1)。

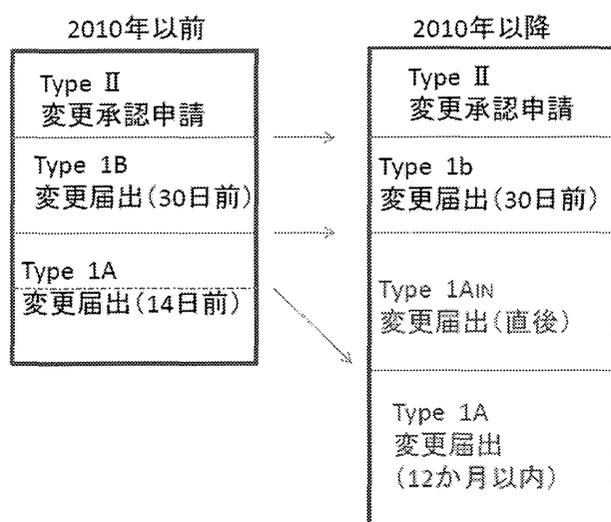


図1 欧州における承認後変更管理制度の改正

2010年までは、その変更内容の程度に応じて、変更前に申請し、承認後に変更の実施が可能となるType IIと、変更内容を届けることで実施が可能とな

るType Iに大別されていた。Type Iはさらに届出後14日経過すると出荷可能となるType I A (形式的な審査のみ) と30日前に届けが必要なType I B (事前に審査が実施) に区分されていた。どのような変更がType I、IIのいずれに区分されるかに関する詳細なガイドラインが存在していた。

新しい制度においては、Type IIおよびType I Bの区分については変更ないものの、Type I AはType I A_{IN}とType I Aへと細分化されるとともに、事前届出の必要はなく、Type I A_{IN}は変更直後、Type I Aは変更後12か月以内の届け出で良いこととされた。また、この新たな変更区分に応じた変更内容に関するガイドラインが発表された(研究方法欄文献2、3、5)。

C-2 承認後変更管理プロトコール

2010年に公表されたガイドライン2010/C 17/01 (研究方法欄文献2))において承認後変更管理プロトコール (Post approval change management protocol) のコンセプトが示され、2012年に公表されたQ&A (研究方法欄文献4) で具体的な運用方法が明らかになった。

本制度の基本的な考えは以下の様である。即ち、従来は変更管理の妥当性を示す管理戦略とその戦略に基づいて実施された試験結果を変更時に規制当局に提出し、変更承認を得るものから、予め(初回承認申請時)に管理戦略そのものをプロトコールとして申請し、承認を得ておいて、実際の変更時には試験結果のみを提出することで可とするものである(図2)。管理戦略のそのものは、Type IIに区分されるが、試験結果はType I A_{IN}あるいはType I Bの対象とすることによって、変更管理を迅速に実施することを意図している。

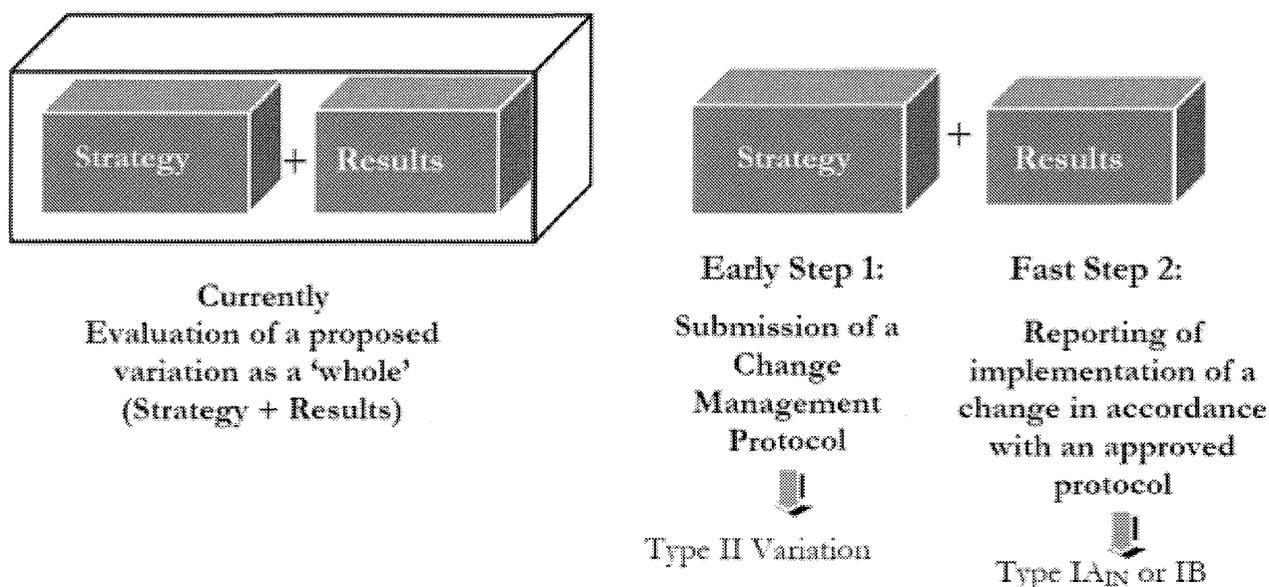


図2 承認後変更管理プロトコルの概念

プロトコルに記載すべき事項の例を以下に示す。

- ・ 変更を実施する合理的理由と妥当な判定基準を設定するに十分な知見を有していることの説明
- ・ 変更内容の詳細（既承認との違いの明確化）と提案する変更の実現可能性（開発またはパイロットスケールデータを含む）
- ・ 変更のリスク評価
- ・ リスクを特定し、取り扱う管理戦略の適切性に関する検討結果
- ・ 実施すべき試験、試験方法および判定基準（申請する変更が製品品質の与える影響を評価するために用いられる試験）
- ・ バイオロジックスに関しては変更前後での comparability を実証するために用いられる方法
- ・ 安定性試験計画（必要に応じて）
- ・ 承認されたプロトコルが有効でなくなった場合に更新することに関する誓約
- ・ 1つのプロトコルで複数の変更が取り扱われる場合には、変更の関連性と1つのプロトコルで同時に検討することが有効であることの説明
- ・ 化学合成医薬品の場合、変更の実施を関係監督官庁に報告する方法（Type1A、Type1AN、Type1B）

プロトコルの申請は初回申請時あるいは承認後もいずれでも可能であるが、初回申請と同時にプロトコルが申請された場合には、販売承認手続きに適用される規則に従うこととされている。単独で申請された場合には、Type II の手続き（60日）に従う。承認されたプロトコルの変更はType1Bの手続き（30日）に従う。

プロトコルに従って試験を行い、変更を実施する場合は、その試験結果が判定基準を満たすことは当然であるが、プロトコルが、試験実施時においても有効性であることが前提となっている。Type1Bに相当する変更の場合には、監督官庁から通知があった後に、変更を実施する必要があるが、Type I_{AN}の変更がプロコールの評価時に合意されているときには、変更内容の事前評価手続きなしに実施できる。

D・E 考察および結論

本研究では、原薬の開発と製造に関するICH Q11ガイドラインを円滑に実施に移すために必要な要素を薬事規制の観点から、また必要とされる科学的な知見の観点から研究を実施した。

承認後の変更管理のシステムは日・米・欧でそれぞれ異なっており、国際的な調和ガイダンスは存在しない。三極の変更管理の区分を表1に示す。

表1 日・米・欧におけるCMCに関する承認後変更管理制度の比較

変更リスク	日本	米国	EU
大	一部変更承認申請	Major Change (Prior approval supplement)	Type II variation Application for approval of variation
中	軽微変更届出 出荷後30日 内の軽微変更届	Moderate change (Supplement-changes being effected) 1) Supplement-changes being effected (CBE) in 30 days	Type IB variation waiting period of 30 days before implementing the change
小		2) Supplement-changes being effected (CBE)	Type IA _{IN} variation notified immediately
		Minor Changes (Annual report)	Type IA variation submitted by the marketing authorisation holder (MAH) within 12 months after implementation

米国FDAは2004年にChanges to an Approved NDA or ANDAを公表し、変更の重要度をMajor change、Moderate change、およびMinor changeの3段階に区分している。また、製造サイト、製造工程、規格試験方法、容器施栓系、表示に関して、それぞれの区分に相当する変更例を示している。欧州は2010年以降、ほぼFDAと同様の変更管理の区分を再構築した。

注意すべきことは、欧米ではCTD様式第三部記載事項の全てが何らかの薬事規制の対象になるのに対して、我が国では承認申請書に記載した事項のみが薬事規制の対象になるとことである。即ち前提となる薬事規制の範囲が異なっている点に留意する必要がある。

欧米では存在する年次報告の制度が我が国では現時点ではなく、軽微な変更の取り扱いが異なっていることに注意する必要がある。欧米では年次報告とされる変更が日本では承認事項とはならないかあるいは軽微変更届出事項に区分される可能性がある。

なお、我が国は昨年GMPの国際的組織であるPICSへの加盟申請に伴い、GMPの制度の変更を実施しつつあり、年次照査の制度の導入が検討されている。このことが今後の我が国の承認後変更管理制度に影響を与える可能性がある。

ICHQ11では工程パラメータの変更に関して、「申請者は、初回申請資料に、パラメータG、H及びIに

対して特定の将来変更を製品ライフサイクル期間でどのように管理するのかの提案を含めることができる。」として、初回申請時に予めパラメータの拡張のための取り扱いに関する提案を規制当局に対して行う方策を記述している。

欧州は、「結果」でのべたように、2010年にEMA/CHMP/CVMP/QWP/586330/2010で具体的な提案のプロセスを公表している。米国では、既に2003年にドラフトガイダンスであるが、「Industry Comparability Protocols - Chemistry, Manufacturing, and Controls Information」を公表している。このガイダンスは「comparability protocol」を予め提出することにより、変更管理に関する区分を緩和し、CMCに関する承認後変更を円滑に進めることを意図したものである。日本では欧米に相当するガイドラインは公表されておらず、実際にQ11ガイドラインが述べている「製品ライフサイクル期間でどのように管理するのかの提案」に関しては、規制当局の個別の判断にゆだねられることとなる。

品質評価手法に関する研究としては、バイオアベイラビリティの向上を図るために高エネルギー状態に誘導された医薬品に関する安定性の評価手法を検討し、安定性を支配する要因を明らかにした。

F. 健康危険情報

特記すべき事項はなし。

G. 研究発表

- ・ 奥田晴宏, クオリティバイデザインによる医薬品品質保証の動向と展望、レギュラトリーサイエンス学会誌、3, 1-7, 2013
- ・ T. Miyazaki, Y. Aso, and H. Okuda, , Chicago, IL, USA, Effects of PVP and HPMC on the dynamic viscoelastic properties of amorphous nifedipine. American Association of Pharmaceutical Scientists (AAPS) 2012 Annual Meetin & Exposition, 2012.10.14 - 20

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

厚生労働科学研究費補助金（医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業）
平成24年度分担研究報告書

医薬品・治験薬の有効性及び安全性に係わる製造・品質管理・評価技術に関する研究
－免疫細胞療法に使用する製剤の品質確保のガイドライン案の作成－

研究分担者：奥田 晴宏（国立医薬品食品衛生研究所 薬品部長）

研究協力者：安藤 剛（（独）医薬品医療機器総合機構）

研究要旨

がんの標準的治療は一定の成果を挙げてきたがその効果は限定的であり、新たなコンセプトの治療方法の開発が望まれている。近年、活性化自己リンパ球によるがん治療が国内外の医療機関で実施されている。本邦では、平成24年末までにがんの免疫細胞療法が高度医療（先進医療B）に3件認められているほか、今後も細胞を利用した新たな治療方法の開発が進むことが想定される。がんの免疫細胞療法で使用される最終製品の品質は一定に管理される必要があるが、細胞を用いた製品の製造工程は一般的に品質管理が難しく、がんの免疫細胞療法に使用される製品でも品質管理が十分に行われない可能性がある。一方、現在までこれらの考え方を示す指針等が整備されていない。本研究では、欧米の細胞医薬品に関するガイドラインを調査し、がんの免疫細胞療法に用いる最終製品の品質確保に必要と考えられる検査項目を整理した。

キーワード：免疫細胞療法、品質管理

A. 研究目的

がんの標準的治療は、複数の有効な抗がん剤や放射線治療を組み合わせることにより、腫瘍縮小効果や生存率の延長など一定の成果を挙げてきたが、その効果は限定的である。また、標準治療に抵抗性を示す患者や、標準的な治療法を実施するも再発又は増悪をきたす症例においては新たなコンセプトの治療方法の開発が望まれている。

近年、活性化自己リンパ球によるがん治療が国内外の医療機関で実施されている。この技術により一定の有効性及び安全性得られることが期待され、平成24年末までに3件の先進医療B（旧第3項先進医療（高度医療））が認められている。今後も細胞を利用した新たな技術が先進医療として申請される可能性がある。

先進医療Bに認められているがんの免疫細胞療法
（平成24年末時点）

- ・転移・再発を有する腎細胞癌に対するピロリン酸モノエステル誘導 $\gamma\delta$ 型T細胞と含窒素ビスホスホン酸を用いた癌標的免疫療法（東京女子医科大学病院）
- ・非小細胞肺癌に対するNKT細胞を用いた免疫細胞療法（Chiba-NKY）（千葉大学医学部附属病院）
- ・標準治療抵抗性の非小細胞肺癌に対するゾレドロン酸誘導 $\gamma\delta$ T細胞を用いた免疫細胞治療（東京大学医学部附属病院）

先進医療Bでは、承認又は認証を受けていない医薬品又は医療機器の使用又は医薬品若しくは医療機

器の適用外使用を伴う医療技術等のうち、一定の要件の下に行われるものについて、有効性及び安全性の評価が行われる。一般的に、ヒトの幹細胞を含む細胞・組織を利用した製品であれば、「ヒト幹細胞を用いる臨床研究に関する指針」(平成22年厚生労働省告示第380号)の適用範囲となるため、先進医療Bに申請する前に、厚生労働省から本指針への適合性を承認される必要がある。しかし、がんの免疫細胞療法については、「ヒト幹細胞を用いる臨床研究に関する指針の疑義解釈について」(医政研発第0214第1号平成23年2月14日付け)のA1-8で、「がん細胞免疫療法を用いた研究は、失われた臓器や組織の再生を目的とするものではありませんので、本指針の対象外です」とされており、厚生労働省への申請が不要とされている。がんの免疫細胞療法に使用される製品の品質については、製品の特性を考えると「ヒト幹細胞を用いる臨床研究に関する指針」の適応範囲と考えても良いのではないかと思われるが、上記の通り適応範囲外とされており、先進医療B等の臨床研究、すなわち「治験」とは異なる制度の下でのヒトへの試験を行うに際し、該当する指針は存在しない。

先進医療Bとして認められた技術であれば一定の評価がされていると考えられるものの、それ以外の臨床研究で実施されているがんの免疫細胞療法については、公的に確認されておらず、劣悪な製品により健康被害が生じる可能性も否めない。欧米では臨床試験の適用可能ながんの免疫細胞療法に特化されていないものの、細胞製品の品質確保に関する指針はある。

本研究では、欧米の指針と本邦で発出済みの指針や先進医療Bで認められている技術に用いる細胞の品質管理項目「平成23年度分担研究報告書「医薬品・治療薬の有効性及び安全性に係わる製造・品質管理・評価技術に関する非臨床研究－免疫細胞療法に使用する製剤の品質確保のガイドライン案の作成－」」を比較しながら、がんの免疫細胞療法に用いる最終製品の品質確保に必要な検査項目について論じる。

B. 研究方法

厚生労働科学研究費補助金(医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業)平成23年度分担研究報告書「医薬品・治療薬の有効性及び安全性に係わる製造・品質管理・評価技術に関する非臨床研究－免疫細胞療法に使用する製剤の品質確保のガイドライン案の作成－」と以下の欧米のガイドライン等を調査した。

- 1) Guideline on Human Cell-based Medicinal Products (EMA/CHMP/410869/2006)
- 2) Guideline on Potency Testing of Cell based Immunotherapy Medicinal Products for the Treatment of Cancer (EMA/CHMP/BWP/271475/2006)
- 3) Guidance for Industry Guidance for Human Somatic Cell Therapy and Gene Therapy (March 1998)
- 4) Guidance for FDA Reviewers and Sponsors Content and Review of Chemistry, Manufacturing, and Control (CMC) Information for Human Gene Therapy Investigational New Drug Applications (INDs) (April 2008)
- 5) Guidance for Industry Potency Tests for Cellular and Gene Therapy Products (January 2011)

C. 研究結果

平成23年度分担研究報告書において、がんの免疫細胞療法に用いる製品では、下記の検査項目の実施が必要となるであろうことを報告した(詳細は表1～3を参照)。なお、細胞製品の原材料及び最終製品では、製品の特性からウイルス等感染性物質の混入が無いことを確認する必要がある。

1. 目的細胞の細胞数、回収率及び生存率
2. 確認試験
下記のうちいずれか、又はその両方を実施
－フローサイトメトリー
－活性化マーカー
3. 細胞の純度試験
－目的細胞の純度 (NKT細胞、 $\gamma\delta$ T細胞等)
－目的外細胞の純度
4. 細胞由来の目的外生理活性物質に関する試験
－IL-4等の免疫抑制性サイトカインの検出
5. 製造工程由来不純物試験
－原材料 (培地成分等) を考慮して設定
6. 無菌試験及びマイコプラズマ否定試験
7. エンドトキシン試験

8. ウイルス等の試験
－HIV及びHTLV否定試験
9. 効能試験
下記のうちいずれか、又はその両方を実施
－刺激活性化試験
－活性化マーカーの検出
10. 力価試験
*細胞から分泌される特定の生理活性物質が製品の効能又は効果の本質である場合は実施が必要

前述の検査項目と欧米のガイドラインを比較し、不足している項目の有無を検討した。

表 1

平成23年度報告	欧州	米国
1. 目的細胞の細胞数、回収率、生存率		1. 目的細胞の細胞数、生存率
2. 確認試験 フローサイトメトリー 活性化マーカー <u>加工した細胞の特性解析</u> <u>加工した細胞について、加工に伴う変化を調べために、例えば、形態学的特徴、増殖特性、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。</u>	2. 確認試験 (Identity) 表現型や遺伝子型 (遺伝子発現、抗原提示、生物活性) 同種細胞の場合 組織適合性指標 遺伝子多型	2. 確認試験 細胞表面マーカーや遺伝子多型
3. 細胞の純度試験 目的細胞の純度 (NKT細胞、 $\gamma\delta$ T細胞等) 目的外細胞の純度	3. 細胞の純度試験 目的細胞の純度 目的外細胞の純度 細胞の生存率	3. 細胞の純度試験 目的細胞の純度 目的外細胞の純度
4. 細胞由来の目的外生理活性物質に関する試験 IL-4等の免疫抑制性サイトカインの検出		4. 細胞由来の目的外生理活性物質に関する試験 サイトカイン、増殖因子、抗体、ビーズ、血清
5. 製造工程由来不純物質試験 原材料 (培地成分など) を考慮して設定	5. 製造工程由来不純物質試験 目的物質由来不純物 製造工程由来不純物	5. 製造工程由来不純物質試験 細胞の刺激等に使用したタンパク質やペプチド残留物等

下線は、平成23年度報告書に追記した事項

表 2

平成23年度報告	欧州	米国
6. 無菌試験及びマイコプラズマ否定試験	6. 無菌試験及びマイコプラズマ否定試験	6. 無菌試験及びマイコプラズマ否定試験
7. エンドトキシン試験		7. エンドトキシン試験又は発熱性物質試験
8. ウイルス試験 HIV及びHTLVは否定が必要 ヒト（自己）由来細胞・組織加工医薬品等の品質及び安全性の確保に関する指針及びQ&A： B型肝炎（HBV）、C型肝炎（HCV）、ヒト免疫不全ウイルス（HIV）、成人T細胞白血病（HTLV）、パルボウイルスB19、エンドトキシン、マイコプラズマ、細菌、真菌、異常プリオン等同種細胞利用時に考慮（否定）の必要な感染性物質： サイトメガロウイルス、EBウイルス、ウエストナイルウイルス、梅毒トレポネーマ、クラミジア、淋菌、結核菌等	8. ウイルス試験	8. ウイルス試験
9. 効能試験 下記のうちいずれか又はその両方を実施 刺激活性化試験 活性化マーカー	9. 効能試験	9. 効能試験
10. 力価試験 細胞から分泌される特定の生理活性物質の分泌が製品の効能又は効果の本質である場合は実施が必要	10. 力価試験 <i>In vivo</i> ： ・ヒト主要組織適合抗原が発現したトランスジェニック動物 ・免疫寛容動物（無胸腺マウス等） <i>In vitro</i> ： ・細胞表面マーカー ・活性化マーカー ・分泌因子 ・単一遺伝子産物の発現 ・タンパク質発現パターン ・特異的抗原（例えばがん特異的抗原、がん関連抗原） ：作用機序に関連することが明らかになっている場合は、フローサイトメーター等で定量することも可能かもしれない。 ・細胞数 ：生物活性との関係を示す必要がある。	10. 力価試験 生物学的分析法（ <i>in vivo</i> と <i>in vitro</i> は単独又は組み合わせて実施） <i>In vivo</i> ： ・動物試験 <i>In vitro</i> ： ・臓器 ・組織 ・細胞培養系 非生物学的分析法 ・免疫化学（定量的フローサイトメーター、ELISA等） ・分子生物学（RT-PCR、定量的PCR、マイクロアレー等） ・生化学（タンパク結合、酵素反応等） 定量的な生物学的分析方法の開発が困難な場合は、関係のある定量的な物理的方法と定性的な生物学的な分析法が適用される。

表 3

平成23年度報告	欧州	米国
<p>第4章 細胞・組織加工医薬品等の非臨床安全性試験</p> <p>・株化細胞を用いた場合には、適切な動物モデル等を利用し、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（同種）。</p> <p>・製造工程で外来遺伝子の導入が行われている場合には、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、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（同種・自己）。</p>	<p>11. 造腫瘍性</p> <p>細胞の形質転換や造腫瘍性のリスクを予見するために、細胞構成物の造腫瘍性の評価をすべきである。</p> <p>（例えば、細胞増殖能、外部刺激依存、アポトーシス刺激の応答、染色体修飾）</p> <p>細胞培養した細胞やセルバンクは染色体に傷害が無いこと、造腫瘍性の試験が必要。</p>	

下線は、平成23年度報告書に追記した事項

確認試験として、欧州では表現型や遺伝子型、米国では細胞表面マーカーや遺伝子多型を設定することが求められていた。本邦の指針「ヒト又は動物由来成分を原料として製造される医薬品等の品質及び安全性確保について」の別添2「ヒト由来細胞・組織加工医薬品等の品質及び安全性の確保に関する指針」等では特性解析でこれらを確認することとされていた。

その他の不足の項目として、欧州では造腫瘍性の評価が求められていた他は、不足の項目は認められなかった。

造腫瘍性については、本邦の指針では、「第4章 細胞・組織加工医薬品等の非臨床安全性試験」の項で、必要に応じて非臨床的に安全性を確認する際に参考とすべき事項及び留意点の例として、製品の特性を考慮し、増殖性の変化、腫瘍形成、がん化の可能性の確認が挙げられている（詳細は表3参照）。なお、本指針では、これらの項目について、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

等を考慮して適切な試験を検討することとされている。

D・E 考察および結論

がんの免疫細胞療法に用いられる最終製品（細胞製剤）の有効性及び安全性の評価は、臨床試験を実施し検討されているところであり、今後さらなる研究が行われることにより、その有効性及び安全性、また有用性が明らかにされるであろう。臨床試験を実施する際には使用される最終製品は、品質を一定に管理する必要があるが、その製造工程に培養工程を含むため一般的に品質管理が難しくなる。また、製造は医療機関が中心となるため、特に製造管理者の医薬品等の製造の知識や経験が十分ではない機関では、製造施設の構造設備は一定の基準は満たしていたとしても、最終製品の品質管理が十分になされていない可能性もある。

最終製品で適切な検査項目を設定することにより一定の品質確保は可能であると考えられるが、今後の課題として、がんの免疫細胞療法に用いる製品の

品質管理を適切に行うため、生物由来原材料基準(平成15年厚生労働省告示第210号)、ヒト又は動物由来成分を原料として製造される医薬品等の品質及び安全性確保について(厚生省医薬安全局長通知 平成12年12月26日付け医薬発第1314号)(別添2:ヒト由来細胞・組織加工医薬品等の品質及び安全性の確保に関する指針)、ICH-Q5A、B、C、D、E及びQ6Bや、作成中のQ11(原薬の製造と開発)等を参考に指針を作成し、がんの免疫細胞療法に用いられる製品の製造方法の考え方を示していく必要がある。

F. 健康危険情報

特記すべき事項はなし。

G. 研究発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし