

- new approach to characterization of insulin derived from different species using 1H-NMR coupled with multivariate analysis, *Chem Pharm Bull.* 60, 320-324 (2012)
- (4) Sakai-Kato K, Nanjo K, Kawanishi T, Okuda H: Rapid and sensitive method for measuring the plasma concentration of doxorubicin and its metabolites, *Chem. Pharm. Bull.* 60, 391-396 (2012)
- (5) Shibata H, Saito H, Kawanishi T, Okuda H, Yomota C: Comparison of particle size and dispersion state among commercial cyclosporine formulations and their effects on pharmacokinetics in rats, *Chem Pharm Bull.* 60, 967-975 (2012)
- (6) Shibata H, Saito H, Yomota C, Kawanishi T, Okuda H: Alterations in the detergent-induced membrane permeability and solubilization of saturated phosphatidylcholine/cholesterol liposomes: effects of poly(ethylene glycol)-conjugated lipid, *Chem Pharm Bull.* 60, 1105-1111 (2012)
- (7) Shibata H, Yomota C, Kawanishi T, Okuda H: Polyethylene glycol prevents *in vitro* aggregation of slightly negatively-charged liposomes induced by heparin in the presence of bivalent ions, *Biol Pharm Bull.* 35, 2081-2087 (2012)
- (8) Un K, Sakai-Kato K, Oshima Y, Kawanishi T, Okuda H: Intracellular trafficking mechanism, from intracellular uptake to extracellular efflux, for phospholipid/cholesterol liposomes, *Biomaterials.* 33, 8131-8141 (2012)
- (9) Sakamoto T, Portieri A, Arnone D D, Taday P F, Kawanishi T, Hiyama Y: Coating and Density Distribution Analysis of Commercial Ciprofloxacin Hydrochloride Monohydrate Tablets by Terahertz Pulsed Spectroscopy and Imaging, *J Pharm Innov.* 7, 87-93 (2012)
- (10) 川西 徹: 第16改正日本薬局方製剤総則における「経口投与される製剤」および「口腔内に適用する製剤」－口腔内崩壊錠の位置づけ－ *ファームテックジャパン.* 28, 20-25 (2012)
- (11) 川西 徹 *日本薬局方の今とこれから* *ファルマシア* 48, 119-123 (2012)
- (12) 川西 徹 *医薬品の品質を巡る話題* －化学合成医薬品に関わるレギュラトリーサイエンス－ *レギュラトリーサイエンス誌* 2, 67-73 (2012)
- G. 参考文献：班会議資料

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

－小児治験ガイドラインについての研究－

研究分担者：中村 秀文（国立成育医療研究センター）
研究協力者：宮前由里恵（国立成育医療研究センター）
佐古まゆみ（国立成育医療研究センター）
野村 智実（国立成育医療研究センター）
武井 順平（国立成育医療研究センター）
渡部 静（国立成育医療研究センター）
高橋 仁美（国立成育医療研究センター）

研究要旨

小児治験のアセント文書の4施設統一文書について平成24年度に作成したひな形と、アセント文書の作成の意図が理解できるような基本的考え方について解説した「アセント文書の作成にあたって」も併せて、平成24年4月に国立成育医療センターホームページにて公開した。また、学童期後期にパンフレットを用いて治験説明を受けた慢性疾患を有する小児とその保護者を対象に、治験説明の評価を行う研究計画書を作成し、倫理委員会での承認を経て、評価を開始した。

現在、3局の規制当局間でICH E-11ガイドラインの再検討のための事前準備が行われていることから、昨年度に内容を調査したガイドライン以外に、これまでに検討した他のガイドライン、また新たに世界保健機関のガイドライン、小児臨床試験関連ガイドラインのシステマティックレビュー等の情報を収集し、内容の検討を開始した。新生児を含む適切な年齢群への臨床試験の実施、Pharmacometrics等も活用した小児薬用量設定・薬物動態評価の方法論、小児剤形、新規方法論等が検討課題になると推測しているが、今後さらに国内外の情報収集を行い、また関係者との意見交換・検討を進めたい。

キーワード：小児、ICH E-11、アセント、治験

A. 研究目的

ICH E-11は「小児集団における医薬品の臨床試験に関するガイダンス」（医薬審第1334号）として平成12年12月15日に発出され、平成13年4月1日以後に開始される治験に対して適用されている、本研究ではこのガイダンスに関連し、小児治験に関連したガイドライン、インフォームドアセント、その他小児医薬品開発推進のスキーム等について、将来的な本邦におけるガイドライン等の策定も念頭においた検

討を行う。

B. 研究方法

インフォームドアセント文書の検討については、4小児医療施設で検討を進めた内容を、公開し、またアセント文書の改定と同時に行った、インフォームドアセント時に使用する小児治験説明用資料について、実際に学童期の小児を対象とした治験説明の内容の評価を行うべく、研究計画を検討し、研究を

開始した。

他施設の小児治験関係CRCとは引き続き「小児CRCの会」を開催し、意見・情報交換を行った。また近い将来にICH E-11ガイドラインの再検討が行われるとされていることから、昨年度に内容を調査したガイドライン以外に、世界保健機関のガイドライン、また文献検索により小児臨床試験関連ガイドラインのシステマティックレビュー等の情報を収集し、内容の検討を開始した。

(倫理面への配慮)

直接、患者情報の収集を行うことはなく、その点では倫理的配慮は必要ない。ただし、小児という脆弱な患者グループに対する医薬品の適正使用に向けての取り組みであることから、医薬品の用量、有効性、安全性に関する小児の特殊性に対してはICH E-11等も参考に、十分に配慮した。

C. 研究結果

小児治験におけるアセント文書の内容についての検討

平成23年度には、プラセボや説明デザインの説明の修正、文書の構成の再検討、漢字・用語の使用方法やルビの振り方などについての見直しを終了したが、その結果を各施設のウェブサイトで公開することとし、またアセント文書の作成の意図が理解できるような基本的考え方について解説した「アセント文書の作成にあたって」も併せて公開した。国立成育医療研究センターにおいては平成24年4月より、臨床研究センター治験推進室の治験依頼者用ホームページ（<http://www.ncchd.go.jp/center/clinical/chiken-irai11.html>）にて公開し製薬企業関係者や研究者が自由に活用できるようにし、さらに小児治験を実施する製薬企業や研究者にたいしてもアセント文書作成支援を開始した。

また、平成22年よりアセント文書の改訂に並行して学童小児への治験説明パンフレットについて、以下に配慮して検討を行った。

- ① 主要な対象を学童期と想定し、使用する漢字を制限する

- ② 親しみやすいオリジナルキャラクターを活用する
- ③ 治験を現実的かつ主体的に捉えられるようにする
- ④ 読み聞かせできるスタイルにする

このパンフレットは、治験実施計画書の内容を記載したアセント文書とともに、説明補助ツールとして併用して説明している。新パンフレットは、平成24年2月より使用を開始した。そこで、学童期後期にパンフレットを用いて治験説明を受けた慢性疾患を有する小児とその保護者を対象に、質問紙法と半構成的面接法による面接を併用して調査を行い、治験説明について評価することとし、今年度は研究計画を確定し、倫理委員会の承認を得た。面接時は質問紙の回答を見ながら、回答の理由や回答から発展した内容を中心に面接を行うこととした。学童期にパンフレットを用いて治験説明を受け、かつ治験に参加した小児がすでに4名いるため、小児とその保護者の計8名に実施し、さらに今後説明を受け参加した小児と保護者にも実施する予定である。

小児医療施設CRCとの意見・情報交換

2012年9月1日土曜日に、大宮ソニックシティにて、香川小児病院、福山医療センター、大阪市立総合医療センター、大阪府立母子保健総合医療センター、自治医大学附属病院、神奈川県立こども医療センター、済生会横浜市東部病院、東京大学医学部附属病院、東京都立小児総合医療センター、国立成育医療研究センターのCRCと「小児CRCの会」を行い、以下について、意見・情報交換を行った。

1. 「小児治験の問題点と工夫」について
2. 小児治験を実施する上での課題
 - 遺伝子検査の取扱いについて
 - 20歳での評価のある試験への対応
 - 文書保管について

ICH E-11ガイドライン改定も念頭に置いた、国際的ガイドラインの情報収集と検討すべき内容の検討

現在、3局の規制当局間でICH E-11ガイドラインの再検討のための事前準備が行われていることから、昨年度に内容を調査したガイドライン以外に、これまでに検討した他のガイドライン、また新たに世界

保健機関のガイドライン、小児臨床試験関連ガイドラインのシステマティックレビュー等の情報を収集し、内容の検討を開始した。

FDA内では2011年末ころから修正に向けての検討が開始されていた模様であり、FDA、EMA、MHLW/PMDA間でまずはどのような形で、どの項目についての再検討を行うかなどについて検討が開始されている模様である。製薬協小児プロジェクトチームとは、海外ガイドラインの内容などの共有を開始し、また製薬協小児プロジェクトチームでは、pediatric decision treeの検討が行われた。

これまでに内容を調査したガイドラインのほかに、以下の文献を入手した。

- ・ Paediatric clinical trials guidance for assessors June 2011, World Health Organization
- ・ Report: Survey of Current Guidance for Child Health Clinical Trials. The *StaR Child Health Project: Standards for Research with Children*. F.N.J. Frakking, J.H. van der Lee, T.P. Klassen, M. Offringa, for the StaR-Child Health Group

このシステマティックレビューは、1999年2月から2009年2月に出た小児臨床試験関連ガイドラインのとして、18の科学文献と、22のインターネット上で公開されたガイドラインをレビューしている。この著者らは、以下が、これらガイドラインの主要問題点であるとしている。

1. 推奨についての十分な経験的根拠がない。
2. ガイドラインは何を目指すべきかは書いてあるが、どのようにやればよいかは書いていない
3. 作成過程が不明瞭である

AGREE instrumentを準用した、本レビューでの評価ではすべてのガイドラインに評価点数がとても低かったとされている。

平成25年4月に欧州で開催される、EUCROF/RIPPS/EMA Conference: Methodological Approaches to Overcome the Challenges of Drug Evaluation in Childrenにおいては、以下がテーマとして取り上げられている。

1. Modeling, simulation and extrapolation
2. Adaptive and sequential designs

3. Observational approaches

4. Acceptance of the patients

この会議にはEMAの関係者や欧州の代表的研究者が出席している。また欧州の関連学会でもこれら屋、小児剤形がトピックとして取り上げられている。

D. 考 察

小児治験におけるアセント文書の内容についての検討

アセント文書統一フォームについては、それをもとにすでに各施設で各治験に応じたアセント文書作成が行われている。また、国立成育医療研究センターホームページでも、その内容を公開し、製薬企業関係者や研究者が自由に活用できるようにしている。また作成経験のない製薬企業のアセント文書作成については、CRCが作成支援を開始しており、小児アセントの質の向上に一定の効果があるものと期待している。今年度は、学童期後期にパンフレットを用いて治験説明を受けた慢性疾患を有する小児とその保護者を対象に、質問紙法と半構成的面接法により、実施した治験説明についての評価を開始した。来年度にはその結果を報告できればと考えている。

小児医療施設CRCとの意見・情報交換

小児治験ネットワーク等の活動によりCRCの間での小児治験に対する認知度が高まっている。今後も継続的に実施し、現場での問題点や取り組みなどを、ガイドライン検討等に反映させていきたい。

ICH E-11ガイドライン改定も念頭に置いた、国際的ガイドラインの情報収集と検討すべき内容の検討

正式にはICH E-11ガイドラインの見直しは始まっていないが、世界の最新動向を把握する必要もあることから、海外のガイドラインを中心に情報収集を行った。個人的には、以下が見直しのテーマになると推測している。

1. 新生児を含む適切な年齢群への臨床試験の実施: EMAでは新生児の臨床試験ガイドライン案も作成されており、新生児を対象とした治験数も相当数増えている。
2. 薬用量設定・薬物動態評価の方法論: Pharmacometricsの活用や、ポピュレーションキ

ネティックスなど、古典的な薬物動態試験と異なるアプローチが世界的に検討されている。

3. 小児剤形についてどこまで踏み込むか：世界保健機関も含め、世界的に検討の機運が高まっている。
4. 新規方法論：欧州の研究グループ Global Research in Paediatrics等でも検討が進んでる。

今後さらに、国内外の情報を収集し、また関連専門家と、今後のガイドライン改定に向けた必要事項の整理を行っていききたい。

E. 結 論

小児治験におけるアセント文書は内容の見直しを終了し国立成育医療研究センターウェブサイトで公開した。また、学童期の小児を対象とした治験説明の評価研究を開始した。

また、近い将来に開始されるとされているICH E-11ガイドラインの改定作業を念頭に、これまでに調査したガイドライン、世界保健機関のガイドライン、また文献検索により小児臨床試験関連ガイドラインのシステマティックレビュー等の情報を収集し、内容の検討を開始した。

F. 研究危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表等

- ・ Inoue Y, Otsuki T, Nakamura H, Nakagawa E, Usui N; Efficacy, safety, and pharmacokinetics of fosphenytoin injection in Japanese patients. 臨床医薬 2012; 28:623-632
 - ・ Nakamura H, Kawashima H, Azuma R, Sato I, Nagao K, Miyazawa K: Pharmacokinetics of the H2 blocker roxatidine acetate hydrochloride in pediatric patients, in comparison with healthy adult volunteers. Drug Metab.Pharmacokinet 2012;27:422-429
 - ・ 中村秀文：シリーズ小児医療第2回 小児の臨床試験. あいみつく, 2012 ; 33-3 : 44(2)-46(4)
 - ・ 渡邊裕司, 景山茂, 楠岡英雄, 藤原康弘, 小野俊介, 斉藤和幸, 中村秀文, 山本晴子, 笠井宏委, 川島弓枝, 米盛勸, 山本学, 栗原千絵子, 中島唯善, 青木寛, 可知茂男, 鈴木千恵子, 中山智紀, 近藤恵美子, 星順子; 医師主導治験の現状と課題. 臨床評価 2012 ; 40 : 5 -18
- ### 2. 学会発表等
- ・ Nakamura H: Nurturing growth of a pediatric system in Japan. Uniting global pediatric drugs stake holders. World Pediatric Drugs Congress. MD, USA. April 11, 2012.
 - ・ Endo T, Goto M, Nakajima H, Ishikawa Y, Nakamura H, Fujimoto J, Takahashi M.: Development of spherical formulation of candesartan cilexetil for children. 4th Conference of the European paediatric formulation initiative. Prague, Czeck Republic. September 19-20, 2012.
 - ・ 中村秀文：医療機関及び専門医集団の取り組みと考える -小児科領域- 第2回早期臨床試験国際会議「世界をリードする効率的な開発戦略」。福岡, 2012年2月18日。
 - ・ 中村秀文：臨床現場から見た小児・希少疾病医薬品開発. 第2回レギュラトリーサイエンス学会シンポジウム「希少疾病医薬品開発の現状と課題 -開発促進に向けて-」。東京. 2012年9月3日。
 - ・ 中村秀文：小児医薬品評価を取り巻く国内外の最新動向 第33回日本臨床薬理学会総会 教育講演. 那覇. 2012年11月29日。
 - ・ 中村秀文：小児医薬品及び剤形開発についての国内外の最新動向. PLCM (耕薬) 研究会第7回シンポジウム「口腔内速崩壊錠の現状と展望」。名古屋. 2013年1月30日。
 - ・ 中村秀文：小児医療における医療機器及び薬物治療の現状と課題 内閣府第一回ライフイノベーション戦略協議会懇談会. 東京. 2012年1月17日。

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

遺伝子治療薬に関する研究

研究分担者：山口 照英（国立医薬品食品衛生研究所・生物薬品部・研究員）

研究要旨

遺伝子治療薬のFIHまでに実施すべき前臨床試験について、FDAやEMAのガイドライン、さらにはICH GT DGでの議論を踏まえ検討を行った。その結果、盛り込むべき項目としては、1) 薬力学的POC試験、2) 生体内分布、3) 投与量設定のための試験、4) 毒性試験、5) 染色体への組込み能、生殖細胞への挿入試験、6) 投与装置に関する試験、7) 造腫瘍性試験が挙げられる。但しベクターごとに必要性や追加の試験が必要な場合もあると考えられる。

キーワード：遺伝子治療、ベクター、FIH、POC

A. 目的

2012年に先進国として初めて遺伝子治療薬がEMAにより承認された。一方で遺伝子治療薬として用いられるベクターは当初アデノウイルスやレトロウイルスベクター、あるいはプラスミドを用いた開発が多かったが、近年はアデノ随伴ウイルス（AAV）やレンチウイルスを用いたベクター開発が多くなってきている。これは免疫原性や挿入変異などの有害事象を回避するために方策としてより最適なベクターの模索が行われた結果といえる。また対象とする疾患についても、当初はがんが多かったが最近ではX-SCID、ADA-SCID、WAS、CGDといった希少疾患を対象として開発が多くなってきている。また、レーパー病のように投与手技（機器）の開発により、これまで困難とされていた疾患にも適用が可能になりつつある。

このように遺伝子治療薬の実用化が本格化するに従い、これまでとは異なるベクターや対象疾患の変遷があり、新規ベクターや新規ターゲット分子遺伝子を搭載したベクターの開発が行われようとしている。従って、新規遺伝子治療薬の臨床開始（First-in-human ; FIH）までに、どのようなデータ

が取得されていなければならないかについて多くの議論がなされている。既にICH遺伝子治療専門家会議でもFIHに関する見解作成に着手していたが、ICH GT DGでのガイドライン作成が中断したためにFIH見解作成も中断している。一方で、EMAやFDAは既に遺伝子治療薬のFIHまでに取得しておくべき非臨床試験データについてのガイドラインあるいはその案を作成している。

一方我が国でも、センダイウイルスやサル免疫不全ウイルス（SIV）を用いた独自のウイルスベクターを開発しつつある。また先天性代謝疾患など新規遺伝子を用いた開発も行われている。このような国内動向を受けて、我が国で開発されてくる遺伝子治療薬のFIHで求められるデータを明らかにしておくことは、国内遺伝子治療開発の促進にもつながり、かつ被検者の安全確保の観点からも急務である。

本研究では遺伝子治療薬のFIHで必要とされるデータをFDAのガイドラインを中心に調査し、EMAのガイドラインと共に治験までに求められている非臨床試験データを調査した。また、ICH GT DGでの議論も参考に我が国でのガイドライン作成に当たって、盛り込むべき要素について明らかにすることを試み

た。

B. 方法

FDAの遺伝子治療薬と細胞治療薬の治験までに実施すべき前臨床試験についてガイドライン、EMAの遺伝子治療薬のFIHまでに実施すべき非臨床試験についてのガイドライン、ICH GT DGにおける遺伝子治療薬のFIH見解案の議論を中心に調査を行った。FDAのガイドラインは遺伝子治療のみならず細胞治療薬についても記載されているが、*ex vivo*遺伝子治療で参考になる箇所以外については遺伝子治療薬についての記載にみと対象とした。

C. 結果

C.1. EMAガイドラインとFDAガイドラインの比較

FDAとEMAのFIHのガイドラインについては、FDAが適用範囲を細胞治療やワクチンにまで広げているのに対して、EMAは遺伝子治療にのみフォーカスしている点が異なる。しかし、遺伝子治療についての記載部分については、詳細さや一部の記載範囲において差異が認められるものの、原則的な箇所については大きな差異はない。

FIHまでにどういった点を秋からにするべきという基本原則としては薬力学的POCの確立や投与量などの臨床試験への外挿性についての記載が共通して書かれている。毒性評価の観点や臨床試験でのモニターすべき指標の策定なども共通している。

大きな違いはFDAガイドラインでは安全性について公衆衛生上の観点から評価することを求めている点である。これは、遺伝子治療薬そのものや遺伝子治療薬の製造に付随する不純物としてウイルス等の混入リスクも含めた公衆衛生安全性評価をさしている。

FDA、EMAガイドラインとも、遺伝子治療薬として非臨床試験で必須と考えられる試験について記載されている。遺伝子治療の生体内分布、投与量設定のための試験、毒性試験、デリバリー装置や添加材についての試験、挿入変異や造腫瘍性の試験等は共通しているが、EMAガイドラインでは免疫原性や免

疫毒性の試験に関連して、FDAも免疫反応性に関連する安全性評価に言及しているが、免疫原性試験の実施までは踏み込んでいない。おそらくFDAとEMAのスタンスとして、免疫原性のヒトへの外挿性についてのスタンスに違いがあると考えられる。また、EMAは環境への影響についても評価することを求めている。

一方、生殖発生毒性、遺伝毒性、発がん性試験（造腫瘍性ではない）などはFIHで実施することは求めている。

EMA、FDAとも遺伝子治療のベクター種ごとに、特にウイルスベクターや非ウイルスベクター、*ex vivo*遺伝子治療薬などに分けてどのような前臨床試験が必要とされるか記載されている。このベクターごとの記載により、挿入変異のリスクの違いや製造細胞の違いによりウイルス等の混入を含めた安全性評価が求められている。

C.2. FDAのガイドライン

以下にFDAの遺伝子治療薬のFIHで求められる前臨床試験の概要を示す。

<非臨床試験での考慮事項>

治験薬の全開発過程において前臨床試験は、重要な要素を占めている。遺伝子細胞薬の前臨床プログラムとしては次のような試験がある；

- 有効性を予測するための試験（POC：biological plausibility）
- 臨床試験開始時における投与量の設定、投与量の増量スケジュール、臨床投与量の設定
- IND申請において臨床投与ルート of 妥当性と安全性の確立
- 被験者の適格性基準をサポートするデータの提供
- 臨床試験でモニタリングすべき生理学的指標の抽出
- 公衆衛生上のリスク（公衆、ケアスタッフ、家族、親しく接するに人等を含む）についての確認

非臨床試験で得られたデータは、初期臨床試験を

デザインするために必要とされるこれらの点について十分答えられるものでなければならない。製品の開発後期で求められる非臨床試験（例えば、生殖発生毒性試験など）を検討するためのプラットフォームを確立する上でも、有用なデータでなくてはならない。

＜一般的な非臨床試験プログラムデザインでの推奨事項＞

非臨床試験に用いる治験用遺伝子細胞治療薬

可能な限り被検者に投与されることになる遺伝子治療細胞治療薬は主要な非臨床試験で用いられたロットの製品を用いるべきである。インビトロ及びインビボでの非臨床試験で用いられた遺伝子治療細胞治療薬の各ロットは承認申請等を見越した基準に従って特性解析される必要がある。

本ガイダンスでは遺伝子治療細胞治療薬をタイプ別に分類し、各タイプに密接に関連する推奨事項について議論する。非臨床試験ロットや臨床試験ロットの間の類似性や差異がある場合には、治験申請の中で認められている差異を明確にした上で適切性が議論されなければならない。

しかし場合によっては、臨床試験に用いられる製品（例えば、ヒト遺伝子を発現するある種のベクターやヒト細胞治療製品）については、種特異性等のために、動物での試験成績が有用でない場合もある。このような状況を考慮して非臨床試験の試験デザインでは、製品ごとにケースバイケースで考える必要がある。治験薬が前臨床試験に用いられた製品と同等性が明確でない場合の問題について、細胞治療については本ガイドラインのIV章.B.で、遺伝子治療についてはV章.B.で議論することになる。

＜動物種の選択＞

生物活性や安全性評価のために選択すべき動物種は、臨床試験をデザインする際に利用可能なデータが得られるように遺伝子細胞治療薬がヒトに期待されると同じような生物学的反応性を示すことが必要とされる。最適な動物種の選択で考慮すべき事項は、1) ヒトとの生理学的、解剖学的同等性があるか、

2) 遺伝子治療ベクターとして用いるウイルスや微生物がモデル動物でも同等の感染性や増殖性を示すか、3) ヒト細胞治療薬や導入されたヒト遺伝子から発現される遺伝子産物に対して免疫学的なトランスを示すことができるか、4) 計画している臨床投与方法や手順をモデル動物で適用可能であるかなどである。

動物種の選択においては、製品の特性や臨床効能を考慮する必要がある。遺伝子改変されたげっ歯類（トランスジェニック動物やノックアウト動物）や大動物（ヤギ、ブタ、ヒツジ、ウマ）などの通常は使用されない動物種も、十分に妥当性が示されるのであれば使用可能である。遺伝子細胞治療薬のインビトロ及びインビボでの安全性や有効性評価試験では、一種類の動物種で評価可能であるかもしれないが、どのような原料から遺伝子細胞治療薬を製造したか、あるいは投与経路なども考慮し、必要であれば複数の動物種を用いた試験が必要なこともある。治験薬に対して選択した動物種が生物学的に反応性を示すことを確認するためには、目的とする試験の開始の前にインビトロ（性能試験や免疫学的の表現型の解析、形態学的評価）やインビボでのパイロット試験を実施することを推奨する。

FDAはメーカーが開発製品に最適な臨床試験をデザインするために、試験デザインをサポートできるデータを得られるように前臨床試験に用いるモデル動物の適切性を詳細に評価しておくことを推奨する。行った評価に関するサマリーは、治験申請における非臨床パートに含めて提出することが求められる。

病態動物モデルの選択

病態動物モデルを用いた非臨床試験は、投与量と生物活性や毒性の相関を明らかにできるような観点から実施されなければならないであろう。製品の基礎研究や開発研究に用いられる病態動物モデルは遺伝子細胞治療薬の臨床試験をサポートするデータを得るために必要とされる。

遺伝子細胞治療薬は一般に製品の効果が比較的長

期にわたることやインビボでの製品の持続性、複雑な作用機構、侵襲性のある投与方法が必要な場合があるなどの特性を持つ故に、これらの製品の活性や安全性を評価するためにはヒト疾患／傷害病態動物モデルとしては健康で長期生存可能な動物であることが望ましいであろう。疾患／傷害病態動物モデルを用いた非臨床試験では、遺伝子細胞治療薬の付随するリスク・ベネフィットをより明らかにするためにすることが望まれる。さらに、疾患／傷害病態動物モデルを使用することにより、臨床試験において製品の活性に付随するリスクのバイオマーカーの同定に役立つ可能性もある。

しかし、これらの前臨床試験に用いられる動物モデルの限界も認識しておく必要がある。動物モデルを用いる場合に得られるデータの限界としては次のようなものがあげられる。

- a. (遺伝子治療や細胞治療で用いることの出来る) モデル動物のばらつき
- b. (遺伝子治療や細胞治療で用いることの出来る) モデル動物に関する背景データが不十分であること
- c. モデル動物の生理学的、解剖学的な制約による技術的限界
- d. 動物飼育の問題
- e. 目的とする適応疾患におけるヒトでの病理学的特徴をモデル動物で再現することの困難さ

各モデル動物の長所と欠点

以上の理由により、一つの動物モデルだけで、患者に対する遺伝子細胞治療薬の効果や安全性について正確な予測を行うことは困難な場合が多い。

IND申請にあたっては、選択した動物モデルが目的とする適応疾患患者の病態を反映し、遺伝子細胞治療薬の有用性のみならず安全性評価が可能であることを次のような観点から明らかにすることが必要である。

- a. 病態動物モデルとヒトでの適応疾患の病理学的・生理学的な類似性と差異
- b. モデル動物における病態が遺伝子細胞治療薬の

薬理学的作用や毒性発現に及ぼす影響（治療に用いられる製品に対する感受性に差異が生じる場合）

- c. モデル動物の病態に対して治療薬が有害な作用を示す場合（例えば治療薬を投与することで、モデル動物の病態が増悪したり、新たな毒性を惹起する場合）

FDAとしては、申請者は適切なモデル動物を選択する際には可能であれば段階的アプローチをとることを考慮することを推奨する。すなわち、目的とする遺伝子細胞治療薬のパイロット試験を行うことにより主要な非臨床試験に用いる動物種や動物モデルの適切性を評価するのに役立つ可能性がある。さらに、一つの治療薬の有効性と安全性を十分に評価するために複数のモデル動物を用いる必要とされる場合がある。このような必要が生じる事例としては、1) 大動物と小動物を使用する場合、2) 複数の小動物が必要とされる場合、3) 大動物しか適切な動物種が無い場合などが含まれる。

実施すべき試験数やどのような試験を行うべきかについては、遺伝子細胞治療薬の生物学的特性に依存すると考えられる。遺伝子細胞治療薬で実施すべき試験に関する情報や推奨事項については、CBERのガイドラインを参照されたい。

＜有効性を予測するための試験＞

有効性を予測するための試験（POC）の主要目的は、適応疾患に対して遺伝子細胞治療薬を用いることが可能であり、かつその使用の妥当性を確立することである。POC試験は遺伝子細胞治療薬のリスク・ベネフィットバランスの評価におけるベネフィットがどの程度期待されるのかについて情報を与えるものである。得られるデータはこれまでの臨床試験が実施されている場合に明らかにされている評価が定まっていないリスクが懸念される新規の製品の評価において基本となると考えられる。さらに、POC試験から得られるデータは動物種を選択に関して有益な情報をもたらすことができる（本文書のIII.B.2を参照）。

POC試験から次のような点を明らかにするべきである：

- a. 薬理的な作用が見られる投与量（最小影響用量と最適用量）
- b. 最適投与ルート
- c. 対象とする疾患・傷害の発症時期に関連して最適な治験薬の投与タイミング
- d. 最適投与スケジュール
- e. 目的とする治験薬の作用機序の解明ないしは想定される生物活性

得られたこれらの情報は治験の妥当性を示すことになると共に目的とする治験の実施可能性を示すことにもなる。遺伝子細胞治験薬の生物活性を評価する観点で実施される非臨床試験（例えば、増殖因子の分泌、免疫反応性のプロファイル、神経伝達因子の発現など）はPOCに関する情報をサポートすることができる。

遺伝子細胞治験薬の想定される安全性の懸念や作用機作を明らかにするためのインビトロ試験を実施することが強く推奨される。しかしインビトロ試験だけではインビボ投与による製品の生理学的、機能的な側面を予測することは難しい。したがって、対象とする患者に対して遺伝子細胞治験薬を用いた試験を実施することの妥当性を明らかにするために様々な前臨床試験プログラムをステップワイズに実施していくことが必要となる。インビボでの前臨床試験では、被検動物の機能や状態変化が観察することにより治験薬の投与により惹起される形態変化を解析できるような試験が可能な病態動物モデルを用いることが推奨される。用いる遺伝子細胞治験薬が対象疾患に明らかなリスクが想定される場合であっても、POCを確立していくインビトロ及びインビボ試験から得られたデータは早期の臨床試験のみならず前臨床での毒性試験のデザインに用いることが求められる。

<毒性試験>

非臨床試験により遺伝子細胞治験薬の安全性を評

価することは、リスク-ベネフィットの観点から計画している臨床試験が許容できるかを判断する上で有用である。非臨床安全性評価では想定される局所や全身の有害作用、毒性の強度、毒性発現様式（例えば、急性毒性、遅発毒性）、想定される毒性に対する対処法の有無、用量反応関係などを十分に評価することが必要とされる。

毒性試験にあたっては、次のような点を考慮する必要がある：

- a. 目的とする適応疾患
- b. 研究として実施された当該治験薬や類似した製品での前臨床や臨床に関する公開情報の量やその質
- c. 研究として実施された当該治験薬や類似した製品でのインビトロ・インビボでの薬理学的特性やPOCに関する情報の量や質
- d. 治験薬の臨床試験で想定されている投与方法や投与に用いる機器。また関連する機器や投与方法についてのこれまでの前臨床試験や臨床試験での経験
- e. 目的とする治験薬に対して各種モデル動物の生物学的反応性
- f. 治験薬の作用機序
- g. 治験薬の本質的な特性
- h. 病態動物モデルを用いる場合の病理組織に関する情報

遺伝子細胞治験薬の毒性評価では治験薬が生物学的活性を示す動物種を用いることが必要であり、選択した動物種の適切性を示すデータが必要である。通常の毒性試験では健常動物が用いた標準的な試験が実施されるが、遺伝子細胞治験薬では発現しうる毒性が評価できるように、病態モデル動物を用いたPOC試験では、重要な安全性パラメーターを追加するなどの変更が実施される（例えば、薬理試験と毒性試験を組み合わせた試験デザイン）。

毒性試験の試験デザインは可能な限り目的とする臨床試験の試験デザインを反映したものでなければ

ならない。前臨床試験における毒性試験の試験デザインは次のような点を含めるようにしなければならない：

- a. 雌雄を含めて十分な数の動物を用い、ランダム化して群分けすること。必要とされる動物数は対象とする遺伝子細胞治療薬の新規性や想定される安全性の懸念、動物種、モデルとしての適切性、投与方法、治療薬のクラス分類によって異なってくる。
- b. 適切な対照群の選択。例えば、目的とする治療薬を投与されない動物、目的とする治療薬の有効成分を含まない製剤、アジュバントのみの投与、モックベクター、医療機器とプラゼボの組合わせた投与、細胞治療におけるマトリックス素材のみの投与である。選択した対照群の妥当性が説明されなければならない。
- c. 遺伝子細胞治療薬を用いた臨床試験における用量が含まれるように、毒性試験では複数の用量を設定しなければならない。POC試験から得られた結果は、非臨床安全性評価や臨床開発における用量設定に反映されるべきである。非臨床試験における最高用量は、動物の大きさや、組織の容量や大きさ、投与経路あるいは製造可能なレベル等による限界があるかもしれない。選択した用量の妥当性については、それをサポートするデータを踏まえて説明されなければならない。
- d. 可能な範囲で臨床投与レジメンを反映した投与スケジュール
- e. 可能な限り臨床投与ルートを反映した投与ルートでの試験。主要な毒性試験では臨床試験で使用される投与機器を治療薬の投与に際しても用いるべきである。もし臨床試験で使用される投与機器を用いずに試験をする場合にはその妥当性を説明しなければならない。本ガイドラインのIII.B.6で記載してあるように、投与機器や投与方法の安全性を評価するために追加の非臨床試験が必要になる可能性がある。
- f. 想定される急性、慢性、遅延性の毒性を捉える

ために複数の時期で動物を剖検し、その毒性を検討すること。動物を剖検する時期については、モデル動物、遺伝子細胞治療薬、投与スケジュール、薬力学的反応性と薬物動態反応性、対象とする患者集団などに依存する。遺伝子治療薬の組織分布プロファイルと細胞治療薬の投与後の体内動態同様にPOC試験では、試験期間や剖検する間隔について有用な情報を与えなければならない。

- g. 起こりうる毒性を捕らえることが可能な安全性のエンドポイント。モニターすべき標準的なパラメーターとしては、動物の死亡（可能であれば死因）、一般状態、体重、身体検査、摂餌量や食欲、摂水量（可能であれば）、臨床検査値（血液生化学的検査、血液検査、凝固活性、尿検査）、器官重量、剖検所見、病理組織学的検査が含まれる。
- h. 遺伝子細胞治療薬や目的とする適応疾患に特異的なパラメーター。遺伝子細胞治療薬に特異的なパラメーターの例としては、液性及び細胞性免疫反応、行動検査、神経学的検査、眼科学的検査、心筋検査、MRIや超音波、放射線による画像診断、異常／異所性の増殖性変化（例えば、過形成や腫瘍化など）の有無、推定されるバイオマーカー、免疫組織化学などの特殊な病理組織検査が挙げられる。得られたデータについては、形態学および機能的観点からの評価が含まれるべきであり、可能であれば剖検時とそれに至る時期までの所見との間に関連性がないかどうか明らかにする。
- i. 惹起された毒性については回復性を評価する必要がある。製品ごとに述べられている本ガイドラインの他の章も参照すること。
- j. 前臨床データは臨床試験の試験デザインをサポートするものになる。例えば、毒性試験より得られたデータは、無毒性用量（NOAEL）の算出に用いられる場合や、臨床での初回投与量や増量計画を設定する際にも役立つと考えられる。さらに、これらの情報により臨床試験における重大な有害作用を回避したり、減弱するために

も利用可能であろう。

<投与ルート>

主な前臨床試験における遺伝子細胞治療薬の投与経路は、可能な限り臨床試験での投与経路と同じである必要がある。動物を用いた試験で、臨床試験と同じ投与経路が設定できない場合には、前臨床試験開発計画の中で、前臨床試験で採用することになる他の投与ルートや投与方法を提示した上で、科学的にその妥当性を説明しなければならない。

治療薬の投与に付随して想定されるリスクを評価するために、主要な前臨床試験で用いられる投与機器は可能な限り臨床で計画しているシステムと同一でなければならない。IND申請を行う場合には、用いる投与機器の安全性をFDAが評価できるように十分なデータを提供しなければならない。IND申請に際しては、用いる投与機器について医療機器マスターファイル(MAF)を医療機器及び放射線衛生センター(CDRH)にすでに申請しているかを明示しなければならない。医療機器MAFがある場合には、IND申請においてMAFに含まれる関連する情報について相互に参照できるようにFDAに許可を受けたMAFの承認書も提出すること。必要に応じて、CBERはCDRHの審査官と当該医療機器を臨床試験で使用する事の妥当性を評価するにあたり、医療機器MAFで提供されている情報(例えば施設、製造工程やその管理;化学物質や原材料の合成、製剤化、精製、規格;生物学的同等性、前臨床データ、臨床データ)の十分性について検討を行う。CDRHの審査官は、臨床試験に用いる医療機器について、IND申請データに含まれるべき情報とその範囲について相談に乗ってくれることになるであろう。

遺伝子細胞治療薬で新規の投与機器や投与方法を採用する上で懸念されるリスクを同定し、リスクの程度を十分に評価しておく必要がある。頭蓋内投与を行う製剤のための新規機器で初めて用いられる場合のリスク評価や、心臓や脳内に細胞を投与するための機器の使用におけるリスクの評価などでは、特

定のリスクを伴う治療薬の投与機器の安全性を、健康な大動物や病態モデル大動物を使用することが必要な場合がある。上記したように治療薬の投与機器や投与手技の安全性データは既に発出されている規制条項に基づいて提出されるべきである。同様に遺伝子細胞治療薬の臨床試験承認の申請に際しては、既に申請されている投与機器等についての申請書類を参照できるように明記しておくことが求められる。臨床投与機器や投与手技の使用に関する公表論文はIND申請にあたり参考文献として提出することができる。

<Good Laboratory Practice (GLP)>

21CFR Part58に従い、全ての前臨床毒性試験はGLPに準拠して実施しなければならない。しかし、FDAはすべての毒性評価をGLPに準拠して行うのは困難であることを認識している。例えば、遺伝子細胞治療薬の毒性学的評価においては、疾患/傷害モデル動物を用いたPOC試験から得られることもあるが、このような試験ではGLP準拠の施設では実施できない特別な飼育管理や専門的な技術が求められる場合がある。同様に、生体内分布、細胞の動態、あるいは特定の免疫学的な評価項目に関するデータを得るための試験は通常のGLP施設では実施できない場合がある。したがって、遺伝子細胞治療薬については、GLPに準拠したインビトロ、インビボでの薬理試験やPOC試験の実施が望ましいが、必須ではない。

58条項に従ってGLPに準拠して実施された非臨床試験については、58条項に従って試験が実施されたことを明記し、GLPに準拠して実施できなかった試験については非準拠であることを21CFR312.23(a)(8)(iii)で求められる報告書に明記されなければならない。報告にあたってはGLPに準拠できていない部分を明確にし、GLPに準拠できていないことが試験データに与える影響を考察しなければならない。

全ての前臨床試験は、試験デザインの安全性のパラメーターを含めて、あらかじめ試験結果を十分に

予測してデザインしたプロトコールに従って実施されなければならない。前臨床試験で得られて結果は臨床試験の試験デザインの妥当性を十分に示せるような十分な品質と完全性が求められる。あらかじめ設定された試験デザインから逸脱した部分については、その逸脱性が試験の充足性や得られた結論にどの程度影響を与える可能性があるのかについて考察し、前臨床試験の報告書として提出されなければならない。

＜試験に用いる動物数の削減、動物試験の最適化、代替法の利用に関する原則＞

本ガイダンスでは、3R（試験に用いる使用動物数の削減、動物試験の最適化、代替法の利用）の原則及び実験室での動物の取り扱いやIACUCs委員会を活用するなどの動物福祉に関する1976改正条項（7U.S.A.2131 et seq.）を推奨している。遺伝子細胞治療薬の非臨床試験については、試験結果が治験における安全性や臨床効果について十分に外挿性が得られるように、試験の範囲やデザインについて個別に検討する必要がある。非臨床試験の試験デザインに際して、3R（試験に用いる使用動物数の削減、最適化、代替法の利用）の原則に対応することの利点を申請者に推奨している。

想定される利点としては次のようことが求められる：

- a. 1種類の動物を用いることや、実施可能であれば薬理的試験と毒性試験結果を同時に1つの試験で得られるようにすることや、複数の投与群を設定して剖検で評価するのではなく、剖検せずに評価することなどにより使用動物数を削減する。
- b. 動物に苦痛を与えないようにすること、適切な屠殺方法を確保すること、剖検することなくイメージング技術で評価することなどにより、動物試験の最適化する。
- c. インビトロ試験で代替する方法が開発可能であれば、動物試験の代替法として利用する。

遺伝子細胞治療薬の安全性や生物活性に関する必要なデータが非臨床試験で得られたとしても、3Rへの適合性は考慮されるべきである。

＜開発後期の臨床試験＞

遺伝子細胞治療薬で開発後期の臨床試験へと入っていくにしたがい、治療薬に関する重要な懸念に関する追加の前臨床試験の実施が必要でないか検討を要する。例えば、製造方法や製剤化を変更し、初期の治療薬で用いられた製品と開発後期の治療薬との同等性が十分説明できない場合に2つの製品のブリッジングするためのインビトロやインビボ前臨床試験が必要になることもあり得る。そのようなブリッジングにより開発初期治療薬で得られたデータを後期臨床試験を進めるためのサポートデータとして用いるためや承認申請データとすることが可能となる。もし臨床投与量や対照患者集団を臨床開発初期と大きく変更する場合にも追加のブリッジング試験が必要となるであろう。他に追加の前臨床試験を考慮しなければならないケースとしては、投与スケジュールの変更がある場合；がん原性／造腫瘍性及び生殖毒性／発生毒性などが想定される。開発をスムーズに行うためになんらかの追加の前臨床試験を実施する必要がある場合のタイミングや試験デザインの適切性について、遺伝子細胞治療薬の開発プログラムを通じてFDAの遺伝子細胞治療薬センターと相談することが推奨される。

＜前臨床試験報告書＞

21CFR 312.23(a)(8)条に従って、遺伝子細胞治療薬の安全性を示すためのインビトロ及びインビボ前臨床試験の各報告書を提出が求められている。IND申請に際しては薬理学試験／POC試験の報告書の全てが必要というわけではないが、試験結果について十分な説明が可能な試験情報が求められる。報告書で提出すべきデータとしては、1）当初の試験デザインのプロトコールと試験に際して全ての改変した事項、2）試験デザインの詳細な記載（例えば用いた試験システムとしてモデル動物種、投与した試験薬と対照薬、投与量、試験薬の投与の詳細や全ての試

験プロトコールで収集するパラメーター)、3) 個別の動物試験データと得られたデータの概要を含め、評価した全てのパラメーターの完全なデータセット、4) 得られたデータの解析とその考察などである。

＜遺伝子細胞治療薬の薬理学／毒性学担当スタッフとの意見交換＞

遺伝子細胞治療薬開発プログラムではFDAは早期の段階から遺伝子細胞治療薬の薬理学／毒性学担当スタッフと意見交換をすることを推奨している。この点に関する一般的な情報についてはFDAのガイドラインやFDA職員による学会等での発表に示されている。しかし、遺伝子細胞治療薬の開発プログラムで必要とされる前臨床試験は個別製品ごとに多様であり、各製品について科学的な観点や効能からCBERが想定する遺伝子細胞治療薬で求められる試験データについて議論をしておくことが望ましいであろう。FDAの初期の助言は試験申請前予備相談を通じて得ることが可能であり、必ずしも拘束力を持っているわけではないが、サイエンスベースでの非公式の議論を薬理学／毒性学担当審査官と開発企業の担当スタッフが開発初期ステージで意見交換を行うものである。当該相談を通じて遺伝子細胞治療センターから出された助言は、次の臨床試験申請の事前相談の面談記録での様々な論点を整理することにつながると同時に主要前臨床試験の最終的な試験プロトコールを作成する際にも考慮すべき事項である。

＜遺伝子治療薬に関する推奨事項＞

I. 序言

一般的には遺伝子細胞センターでは次の遺伝子治療薬について評価をしている。

- a. 非ウイルスベクター（例えばプラスミド）
- b. 非増殖性ウイルスベクター（例えば、アデノウイルス、アデノ随伴ウイルス（AAV）、レトロウイルス、レンチウイルス、ポックスウイルス、ヘルペスウイルス（HSV））
- c. 制限増殖性腫瘍溶解ウイルスベクター（例えば、麻疹ウイルス、レオウイルス、アデノウイルス、小水疱性口内炎ウイルス、種痘ウイルス）

- d. 遺伝子改変微生物（例えば、リステリア菌、サルモネラ菌、大腸菌、バクテリアファージ）

II. 動物種／モデル動物

生物学的に反応性のある動物種や病態動物モデルの選択に関する一般的考慮事項としては、本ガイドラインのIII.B.2-3を参照されたい。遺伝治療薬に関して生物学的に反応性のある動物種／モデル動物の選択で特に次のように考慮すること；

- a. 種々の動物種の中でウイルスベクターに対して感染性、増幅性といった観点から感受性のある動物種であるか
- b. 導入する遺伝子が発現するタンパク質に対して薬理的に反応性の動物
- c. インビトロで遺伝子導入された細胞の生物学的作用に感受性のある動物
- d. 対象とする臨床での患者集団に対する動物種／モデル動物の生理学的／病理学的同等性

対象とする遺伝子治療薬に関して以上のようなパラメーターを考慮したときに一般的な前臨床試験用の動物種が適切でない場合には、別の動物種／動物モデルを考慮すべきである。例えば、ターゲットであるヒト受容体を導入した遺伝子改変動物により生物活性を評価するかウイルスの病理を評価できるようにすることなどである。同様に、免疫不全動物がヒト細胞を投与した時の安全性を評価するために用いられる。例えば遺伝子導入により発現されたタンパク質が導入した動物種で生物学的な活性を持たない時には、対応するタンパク質の前臨床データや臨床データに関して試験動物の中で活性を示すように動物種の相同タンパク質を発現するような導入遺伝子を用いることも考慮することが必要である。このような例では、目的とする臨床製品と動物の相同タンパク質を発現した製品との比較データを得ることが必要である（例えば、配列、ターゲット特異性、発現レベルなど）。

III. 全体の試験デザイン

実施する前臨床試験の範囲やどの試験を行うかに

については対象とする遺伝子治療治験薬の生物活性や目的とする臨床使用に依存して決定される。製品の新規性、製品投与方法の特殊性、その他の懸念点を考慮して、既存のインビトロ、インビボ試験から得られたデータから主要前臨床試験のデザインを設計するため構築すべき各種試験を選択することになる。投与する遺伝子治療治験薬の投与量とターゲットとする組織や非ターゲット組織での導入遺伝子の発現量とその持続性、それらの量と何らかの活性や毒性に関連性がないかを明らかにしなければならない。この試験により得られたデータは初期の臨床試験デザイン（例えば投与量の増量デザイン、投与処方、試験でのモニタリング法、試験の中止条件など）の設計に役立つ。本文書のII.Bに記載された一般的なガイダンスに加えて、前臨床試験のデザインで特に考慮すべき事項についてはV.D.項で触れる。

IV. 安全性

遺伝子治療治験薬のインビトロ、インビボ投与に関連する安全性の懸念は次のような複数の因子が考慮されなければならない；1) インビトロで遺伝子導入された細胞、ベクターあるいは導入した遺伝子から発現するタンパク質に対する望ましくない免疫反応性の可能性；2) ベクターや導入遺伝子による毒性；と3) 投与方法に付随するリスクなどである。例えば、遺伝子導入した細胞やベクターの脳、心臓などの生体器官への投与では、投与機器や投与方法に付随するリスクに加え製品そのものの毒性の懸念がある。これらの懸念点については臨床試験を開始する前に前臨床試験プログラムの中で安全性を評価する必要がある。

V. 全体の安全性評価

インビボへ直接投与するベクターの安全性評価はそれぞれのベクターの生物学的特性に依存しているが、懸念される点は次のような事項である：

- a. 最終製剤の構成成分に依存する毒性（リポソーム、種々の添加剤、不純物など）
- b. 投与経路に依存する毒性（例えば、局所か全身投与）

- c. 目的としない細胞／組織への異常な分布
- d. ベクターと導入遺伝子の持続性や発現量
- e. 目的としない細胞／組織内でのウイルスの増幅の可能性
- f. 望ましくない免疫の活性化や逆に抑制
- g. ベクターに対する直接の免疫反応
- h. 目的とする細胞の表現系やその発現の程度
- i. 挿入変異や腫瘍原性の可能性
- j. 生殖細胞への挿入の可能性
- k. ウイルスの患者家族や患者の介護者への水平伝播の可能性（すなわちウイルス排出）

VI. ベクターごとに考慮すべき事項

ベクターごとに考慮すべき懸念される毒性の事例としては次のような点である：

- a. 非ウイルスベクター - DNAや特定の最近配列に対する免疫反応の可能性
- b. 非増殖性ウイルスベクター：
アデノウイルスではベクターに対する強い免疫反応と炎症反応の可能性と混入している可能性のある増殖性ウイルスによる副作用

副作用に対する遺伝子治療参加者を適切な期間にわたって臨床ホローアップすることは治験デザインでの重要な事項であるが、ベクターの特性解析や前臨床データはこのための臨床試験での期間の設定に対して有用な情報を与える。CBERは「企業に対するガイダンス：遺伝子治療薬の臨床試験 - 遅発性の副作用の観察に関する事項」という開発メーカーのためのガイダンスを2006年11月に発出し、遺伝子や遺伝子の担体として用いられている構成体の生体内での持続的な生物活性の発現の結果によりもたらされる遺伝子治療薬による遅発性に発生するリスクの可能性について議論をしている。そのガイダンスで述べているように、ヒトに遅発性の副作用を起こすリスクを増大させる要因としては、ウイルスベクターの持続性、遺伝子の宿主ゲノムへの挿入、導入遺伝子の長期にわたる発現、宿主遺伝子の発現への影響などが挙げられる。このガイダンスも参考にすべきであるし、もし遺伝子治療治験薬にも適用できる

のであれば、ヒトへ投与した時に想定される長期にわたる安全性に関する適切な前臨床試験で評価するために参考にするべきである。

VII. 導入遺伝子に関する考慮事項

遺伝子発現のための導入遺伝子や発現タンパク質の安全性を解析するために、開発者は次のような点を考慮する必要がある：1) 局所で発現するのか全身で発現するのか、2) 発現の程度と持続性、3) 一過性の発現か持続性の発現かなどである。遺伝子発現が持続することがある遺伝子治療薬の望ましい効果である場合もあるが、過剰な発現や遺伝子発現タンパク質の蓄積があったり、あるいは遅発性の異常な免疫反応を引き起こすなどは望ましくない結果といえる。増殖因子、増殖因子受容体、免疫制御因子のように持続性のある遺伝子発現では制御できない細胞の増殖や腫瘍転移、自己抗原に対する自己免疫反応、宿主遺伝子の発現異常、あるいは他の予測不能な副作用による長期にわたるリスクが起こりうる。このような懸念がある場合には、長期にわたる前臨床試験の実施を考慮すべきである。

さらに、遺伝子導入により発現するタンパク質に対してや内在性のタンパク質に対して免疫反応が起きたり中和活性が生じたりする可能性がある。例えば、内在性の酵素や受容体、あるいは構造タンパク質をコードする遺伝子を導入することにより導入遺伝子のみならず正常な細胞や組織で発現している内在性のタンパク質に対する抗体を誘導し、結果的に副作用を引き起こす可能性がある。同様に、融合タンパク質やキメラタンパク質を発現するための導入遺伝子は、異種性の外来タンパク質を発現することになり、結果的に免疫誘導を引き起こす可能性がある。これらの懸念は、非臨床試験プログラムの中で検討されるべきである。

VIII. 体外で遺伝子改変された細胞

体外で遺伝子改変された細胞の細胞コンポーネントの安全性評価は本文書のIV.C-D項に記載された細胞治療薬の安全性評価と類似している。これらの項

で記載されている重要な点は、細胞のタイプ、ベクター遺伝子構成体や導入した遺伝子に依存している。前臨床試験デザインでは製品の特性に焦点を当てた事項について考察することが求められる。

IX. 生体内分布の考慮事項

インビボ投与したベクターの体内分布プロファイルを解析することは遺伝子治療薬の前臨床開発プログラムにおいて非常に重要である。生体内分布の解析から得られたデータは、目的とする生体組織等、目的としない生体組織、生殖細胞などにベクターが存在する可能性があるのかを明らかにすることにつながる。ベクターの分布やその持続性、さらには消失プロファイルを明らかにすることにより、遺伝子治療薬の主要前臨床試験にて明らかにすべき遺伝子治療のパラメーターや被検動物を処理するタイミングなどを選択するための情報が得られる。臨床病理学や病理組織学的な観点からの前臨床安全性に関するエンドポイントに関する生体内分布データは、被検動物で組織特異的に検出された有害作用とその組織にベクターが分布したり、遺伝子発現しているかが明らかになり、その有害事象との関連性を明らかにすることに役立つ。

ヒトへの投与をする前に、次のようなケースでは生体内分布試験を実施しておくこと：

- a. 遺伝子治療薬が新規ベクターに分類されるものであるとき
- b. 既に樹立されたベクターではあるが、大きな改変を行ったとき
- c. 既に樹立されたベクターではあるが、大きく製剤処方を変更したとき
- d. 既に樹立されたベクターではあるが、投与ルートが大きく変更したとき
- e. 既に樹立されたベクターではあるが、投与スケジュールや投与量を大きく変更した場合
- f. ベクターに新規の目的遺伝子を挿入し、その毒性が不明な場合
- g. ベクターに既知の遺伝子、あるいは毒性の懸念がある遺伝子を挿入し、目的外の組織に分布した場合に毒性が懸念される場合

初期臨床試験の開始前に生体内分布試験を実施しない場合にはその妥当性が説明されなければならない。

非検薬を投与後、一定時間ごとに組織・血液を対象として定量的PCRにより、宿主ゲノムDNA当たりのベクターのコピー数を測定する必要がある。投与ルート及び遺伝子治療治療薬の生物学的特性（ベクタータイプや搭載している発現遺伝子）に依存して、FDAの企業向けガイダンス「遺伝子治療臨床研究における遅発性副作用の観察に関する業界向けガイダンス」のIV.B.2項にリスクアップされた組織に加えて検討すべき追加の組織を採取し、解析する必要がある。さらに、特定の組織や体液等に導入遺伝子の存在が示された場合には、導入遺伝子の転写活性の状況について定量的逆転写PCR法（qRT-PCR）を用いて測定をする必要性がでてくるかもしれない。導入遺伝子の発現を定量することにより、1）特定の組織／器官で有益あるいは有害な作用が見られた場合にどの程度の遺伝子発現でそのよう作用が見られるのかの関連性や、2）目的とする活性や望ましくない副作用と導入遺伝子の発現のキネティックの関係を明らかにすることが出来る。

C.3. FDAガイドラインの結論

本ガイダンスは遺伝子細胞薬の治療をサポートするための前臨床試験の改革立案のための一般的な枠組みについての推奨、さらに遺伝子細胞治療薬に特化した前臨床試験のデザインにおける詳細な考慮事項について述べている。本文書で述べられている技術的な推奨事項やFDAの遺伝子細胞センターのスタッフとの治験前相談を行うことは治験で遺伝子細胞薬を用いることの妥当性を説明する前臨床試験のデザインの助けになると考えられるが、一方で前臨床試験のそのプログラムの十全性は個別の製品で求められる前臨床試験、実際の試験をどのように実施するか、また試験で得られたデータによることを認識する必要がある。従って、治験申請に当たっては包括的な前臨床試験の評価を提出する必要がある。

D. 考察

FDAの遺伝子治療薬のFIHまでに実施すべき前臨床試験ガイドラインを中心に、EMAの遺伝子治療薬のFIHまでに実施すべき前臨床試験ガイドライン、ICH見解の素案などと比較検討した。免疫原性試験、環境影響試験など異なる要求事項も提示されているが、基本的な事項としては共通している。

すなわち次に挙げるような事項が想定される。

- a. 薬力学的POC試験
- b. 生体内分布
- c. 投与量設定のための試験
- d. 毒性試験（反復及び単回投与は製品ごとに）
- e. 染色体への組込み能
- f. 生殖細胞への挿入試験
- g. 投与装置に関する試験
- h. 造腫瘍性試験

これ以外の試験は、ベクターの特性にもよるが承認審査や臨床開発後期までに実施することが必要な場合と遺伝子治療薬としては特殊な場合を除いて必要とされない試験であると考えられる。

また試験の実施に際して毒性試験に必要な動物種についても治療薬の特性ごとに差異はあるものの、適切な動物種がある場合には1種でも可能とされている。またPOC等の試験において毒性を評価することも可能とされており、これらの点を考慮して合理的にFIHまでの試験を進めることも可能と考えられる。但し、遺伝子治療薬そのもののみならず、投与に用いる機器の安全性も考慮すべきとされており、特に心臓や脳への投与を行う場合にはヒトと可能な限り同等の投与手法により安全性を確認すべきとされている。従って、毒性試験をげっ歯類の小動物で評価可能であったとしても、投与機器についての評価を大動物で実施する必要があると考えられる。

以上のような点を含めて今後の遺伝子治療薬の我が国でのFIHの考え方を指針の改定に盛り込んでいく必要があると考えられた。

E. 結論

遺伝子治療薬のFIHまでに実施すべき前臨床試験としては次のような項目を盛り込むべきと考えられ

る。

- a. 薬力学的POC試験
- b. 生体内分布
- c. 投与量設定のための試験
- d. 毒性試験
- e. 染色体への組込み能
- f. 生殖細胞への挿入試験
- g. 投与装置に関する試験
- h. 造腫瘍性試験

F. 業績

1. 論文発表

- 1) Yamaguchi,T., Kanayasu-Toyoda,T., Uchida,E.,; Angiogenic Cell Therapy for Severe Ischemic Diseases. *Biol. Pharm. Bull.* in press (2013)
- 2) 山口照英：バイオ医薬品の効率的製造に向けた世界動向と規制状況. *BioIndustry*, **30**, 47-54 (2013)
- 3) Sakai-Kato,K., Ishikura, K., Oshima, Y., Tada, M., Suzuki, T., Ishii-Watabe, A., Yamaguchi, T.,

Nishiyama, N., Kataoka, K., Kawanishi, T., Okuda H.: Evaluation of intracellular trafficking and clearance from HeLa cells of doxorubicin-bound block copolymers, *Int J Pharm*, **423**, 401- 409 (2012)

- 4) 山口照英:第十六局方第一追補に収載された生物薬品と関連する試験法について. *Pharm Tech Japan*, **28**, 39-43 (2012)
- 5) 山口照英:開発戦略と研究の考え方. 「バイオ／抗体医薬品の開発・製造プロセス」(情報機構)、pp.1-17 (2012)
- 6) 山口照英: バイオシミラーについて. 「分子標的薬」(日本臨床 増刊号) pp.678-687 (2012)

2. 学会発表

- 1) Yamaguchi,T.: Japanese Perspective on Regulation of Biosimilar Products. APEC Harmonization Center Biosimilar Workshop. 2012 April 4-5, Seoul (Korea)

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

ーバイオアナリシス（生体試料分析）バリデーションに関する研究ー

研究分担者：香取 典子（国立医薬品食品衛生研究所 薬品部 第三室長）

研究要旨

生体試料中の薬物、バイオマーカー等の定量分析技術は、現在の創薬や臨床開発過程に欠くことのできない科学技術として重要性を増している。すでにこれら科学技術は生体試料分析バリデーション（Bioanalytical Method Validation、BMV）という概念のもとに確立され、欧米ではBMVのガイダンス、ガイドラインがそれぞれ整備されつつあり、日本においてもBMVガイドライン策定に関して早急な取り組みが必要であり、この調査研究においては、日本におけるBMV指針作成に寄与することを目的とする。本年は、バイオアナリシスフォーラム（JBF）より提出されたガイドライン素案を元に討議を重ね、H25年3月に厚生労働省にガイドライン案（対象：低分子、LC/MSⁿ）を提出した。さらに、リガンド結合アッセイのBMVを対象としたガイドラインを作成するため、新たにワーキンググループを立ち上げた。

キーワード：bioanalytical method validation、Japanese regulations、
method validation guidelines、Japan Bioanalysis Forum（JBF）

研究協力者：

石井 明子（国立医薬品食品衛生研究所）
井上 則子（JCLバイオアッセイ（安研協））
今里 真実（ノバルティスファーマ（JBF-LBA））
岩田 大祐（医薬品医療機器総合機構）
奥田 晴宏（国立医薬品食品衛生研究所）
片島 正貴（アステラス製薬（製薬協））
川崎 ナナ（国立医薬品食品衛生研究所）
久世 洋司（武田薬品工業（JBF-LBA））
酒井 和明（帝人ファーマ（製薬協））
佐藤 玲子（医薬品医療機器総合機構）
立木 秀尚（東和薬品（日本ジェネリック薬協））
谷口 佳隆（東レリサーチセンター（JBF-LBA））
富樫 一天（住化分析センター（安研協））
中村 隆広（新日本科学（JBF-LBA））
中山 聡（味の素製薬（JBF））
南出 善幸（島津テクノロジーリサーチ（JBF-LBA））

宮 和弘（中外製薬（JBF-LBA））
米山 智城（武田薬品工業（JBF））

A. 研究目的

薬物動態（PK）試験、トキシコキネティクス（TK）試験および生物学的同等性（BE）試験の際には、血漿や組織中の薬物濃度を求めるため、LC/MS/MSや免疫学的測定法が用いられるが、生体由来成分が測定に影響を与えるため、分析結果が大きな変動を示す。特に、LC/MSでは、このような現象を「Matrix Effect」と呼んでいる。この、生体試料中の薬物定量分析は、医薬品開発において安全性有効性を判定する上で重要であり、高い信頼性が要求されるため、BMVが重要となる。

現在、日本で出されている分析法バリデーションの行政文書は、「分析法バリデーションに関するテキスト」（1997年、ICH Q2A、B）および日本薬局方の

参考情報「分析法バリデーション」だが、これらは原薬・製剤の品質試験を念頭に置いたものであり、生体試料中の薬物濃度分析には十分対応していないと考えられる。

すでにFDA、EMAのガイダンス、ガイドラインが出揃い、欧米のみならず中国、インド、ブラジルなどがこれに追随しようという状況では、日本においてもBMVガイドライン策定に関して早急な取り組みが必要であり、この調査研究においては、日本におけるBMV指針作成に寄与することを目的とする。

B. 研究方法

ガイドライン策定を目的とした打合せ会議を、厚生省、PMDA、関連する業界団体および国立医薬品食品衛生研究所からなるメンバーで行い、まず、各企業団体により、BMVガイドライン案への意見を集約してもらい、同時にガイドラインのQ&Aに採用すべき質問事項を募った。また、LBAを対象としたBMVガイドライン素案の作成を、現状では日本で唯一のBMVの科学的な議論のための団体である、バイオアナリシスフォーラム (JBF) の協力により行う。

また、国際会議・学会の際には、何らかの発表を行い本研究班からのデータ・意見の発信、およびフィードバックの収集に務めた。

C. 研究結果

第1回から第4回までの班会議で、JBFのガイドライン素案を元に議論を重ねた。製薬協、ジェネリック薬協、安研協からのガイドライン素案への意見は約400と膨大なものであったが、その中から特に重要と思われるものについて取り上げ、内容をガイドラインに反映すると共に、これらの疑問に答えるための適切なQ&A作成を行っている。同時に、PMDAおよび厚生省などの規制当局への意見収集も行い、規制の強さが適切かどうか等についてガイドライン全体を見直した。特に、「7. 補足」の中に入れられた4項目については、本文に繰り入れる、別添と言う形で記載するまたはQ&Aに取り入れるなどの方法で対応することとし、項目自体は削除した。最終案はH25年3月に厚生労働省に報告した。[添付資料

1]

また、H24年9月にはLBAのBMVを対象としたガイドラインを作成するため、国立医薬品食品衛生研究所の石井室長を座長とし、新たにLBAワーキンググループを立ち上げた。第1回の打合せ会議で、先行する低分子LCガイドラインと同じくJBFにLBAガイドライン素案の作成を依頼することが決められた。依頼を受けたJBFからは、H24年12月までに項目名および適用案が出され [添付資料2]、平成25年2月末にはLBAガイドライン素案が提出予定である。

今後はLBAガイドラインの完成を目指すと共に、低分子LCガイドラインについてのQ&A作成を行う。

D. 考察

研究班の活動を通じて、様々な関連団体に対しBMVガイドラインの存在と重要性を広く知らしめ、医薬品開発におけるPKデータの信頼性確保について一定の理解が得られたと考えられる。また、研究班の議論の中で企業からのメンバーと規制当局からのメンバーが意見の交換を行うことにより、お互いの誤解が解け、より有意義なコミュニケーションが行われたことは、今後の薬事行政に良い影響をもたらすものと考えられる。しかし、今後新たにLBAを対象としたガイドラインが出されるなど、さらに広く意見を収集し、議論を行うことが必要と考えられる。

E. 結論

すでにFDA、EMAのガイダンス、ガイドラインが出揃い、欧米のみならず中国、インド、ブラジルなどがこれに追随しようという状況では、BMVに関して何の規制文書も持たない日本は、今後PK、TKデータの信頼性を担保することが困難になると予想されるが、もうすぐ発出される日本版BMVガイドライン (英訳も発出予定) によって、日本における薬物動態関連のデータの信頼性が高まることによって、グローバルな医薬品開発の促進に寄与すると考えられ、今後の国際調和により一層貢献できると期待される。