

厚生労働科学研究費補助金（医療技術実用化総合研究事業） 分担研究報告書

臨床研究実施から製剤化へ向けた準備

研究分担者

米満 吉和 九州大学大学院薬学研究院 革新的バイオ医薬創成学 教授
池田 康博 九州大学病院 眼科 講師

研究要旨 本研究では、臨床研究実施期間中の生体材料（血液、尿、涙液、他）を用いた各種検査（ベクターゲノム検出、抗体レベル測定、各種サイトカイン測定）を実施し、さらには本臨床研究薬（SIV-hPEDF）の製剤化へ向けた準備を整えることを目的とする。生体材料を用いた各種検査を症例毎に適切に実施した。また、大量生産に対応可能な施設（中華人民共和国：深圳市源興生物医薬科技有限公司＜THYX社＞）で製造されたベクターの受入試験を実施し、現在使用中の臨床研究薬との同等性を品質試験にて確認した。さらに、製剤化へ向けた準備として、平成26年11月6日に医薬品医療機器総合機構（PMDA）の事前面談を受けた。今後、医師主導治験（Phase I/II）の実施へ向けた準備を進めていく。

A．研究目的

臨床研究実施期間中の生体材料（血液、尿、涙液、他）による、一般検査以外の各種検査法（ベクターゲノム検出、抗体レベル測定、各種サイトカイン測定）の実施体制を整備し、それぞれの検査を適切に実施する。

また、本臨床研究薬（SIV-hPEDF）の製剤化へ向けた準備として、大量生産に対応可能な施設でのベクターを製造し、並行して当局対応を行いながら、医師主導治験（Phase I/II）の実施へ向けた準備を進めていく。

B．研究方法

- 1．臨床研究実施期間中の生体材料（血液、尿、涙液、他）を用いた各種検査法（ベクターゲノム検出、抗体レベル測定、ベクター活性測定、各を手順に従って適切に実施する。
- 2．大量生産に対応可能な施設（中華人民共和

国：深圳市源興生物医薬科技有限公司＜THYX社＞）で製造されたベクターの品質試験を実施する。さらに、ベクターを輸入し、受入試験を実施する。3．医薬品医療機器総合機構（PMDA）の事前面談、さらには対面助言を受け、医師主導治験（Phase I/II）の実施へ向けた準備を進めていく。

（倫理面への配慮）

本臨床研究の実実施計画は、厚生労働省・文部科学省の遺伝子治療ガイドライン他、以下の指針・法律等に基づいて立案されており、「臨床研究実施計画書」ならびに「患者説明・同意書」の倫理性等については、九州大学医学研究院等倫理委員会および同遺伝子治療臨床研究審査専門委員会にて十分に議論され、平成20年10月3日に最終承認を受けた。さらに、平成24年8月に厚生労働大臣より臨床研究実施計画の了承を取得した。

- 1）「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 告示第二号、平成 16 年 12 月 28 日)

2) 「臨床研究に関する倫理指針」(厚生労働省告示第四百五十九号、平成 16 年 12 月 28 日)

3) 「遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律」(法律第 97 号、平成 15 年 6 月 18 日)

4) 「遺伝子治療臨床研究に関する「遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律」に基づく第一種使用規程承認申請の手續等について」(科発第 0219001 号、厚生労働省大臣官房厚生科学課長通知、平成 16 年 2 月 19 日)

5) 「遺伝子組換え微生物の使用等による医薬品等の製造における拡散防止措置等について」(薬食発第 0219011 号、各都道府県知事あて厚生労働省医薬食品局長通知、平成 16 年 2 月 19 日)

6) 「遺伝子治療用医薬品の品質及び安全性の確保に関する指針について」(薬発第 1062 号、各都道府県知事あて厚生省薬務局長通知、平成 7 年 11 月 15 日)

7) 「遺伝子治療用医薬品の品質及び安全性の確保に関する指針の改正について」(医薬発第 329004 号、各都道府県知事あて厚生労働省医薬局長通知、平成 14 年 3 月 29 日)

8) 「遺伝子組み換え生物等の使用等の規制による生物多様性の確保に関する法律」(平成 15 年法律第 97 号)

C. 研究結果

1. 生体材料を用いた各種検査(ベクターゲノム検出、抗体レベル測定、各種サイトカイン測定)を昨年度に引き続き適切に実施した。すべての被験者の各検査時点で採取されたサンプル(血液、尿、涙液)から、ベクターゲノムは検出されなかつた。

2. 本臨床研究薬の製剤化へ向けた準備として、大量生産に対応可能な施設(深圳市源興生物医薬科技有限公司: 中華人民共和国)で製造されたベクターの品質試験(試験項目等は添付の表に記載)を実施した。すべての項目について、適格であった。

また、上記ベクターを国内に輸入し、受入試験を実施した。具体的には、無菌試験、エンドトキシン試験、マイコプラズマ否定試験(PCR法、MycoAlert法)、感染力価測定(TU)で、からは終了し、すべて適格であった。また、感染力価測定は、現在実施中である。

3. 平成26年11月6日に医薬品医療機器総合機構(PMDA)の事前面談を受けた。その結果、「治験薬製造」、「治験薬非臨床試験」、「治験実施」の3つのカテゴリー別に今後は事前面談、さらには対面助言を受けることとなった。

D, E. 考察、結論

臨床研究を推進するための各種検査法は整備され、臨床研究をスムーズに推進できている。

製剤化へ向け、当局対応しながら医師主導治験(Phase I/II)実施の準備を進めていく。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

1. Ikeda Y: (Symposium) Clinical Trial of Gene Therapy for Retinitis Pigmentosa. The World Ophthalmology Congress (WOC) 2014 (Tokyo, Japan) 2014. 4. 2-6.

2 .Ikeda Y: (Symposium) Phase I clinical study of a third-generation simian immunodeficiency virus (SIV)-based lentiviral vector carrying human pigment epithelium-derived factor (PEDF) gene for patients with retinitis pigmentosa. 2014 Annual Meeting of Association for Research in Vision and Ophthalmology (Orlando, USA) 2014. 5. 4-8.

3 . Ikeda Y, Ishibashi T, et al.: Phase I clinical study for patients with retinitis pigmentosa: interim report of initial 5 subjects (low-titer group). 22nd Anniversary Congress of the European Society of Gene and Cell Therapy (Hague, Netherlands) 2014. 10. 23-26.

4 . 池田康博:(シンポジウム)硝子体手術と遺伝子治療の融合. 第68回 日本臨床眼科学会. 2014年11月13-16日、神戸

5 . 池田康博:(シンポジウム)網膜色素変性に対する遺伝子治療. 第53回 日本網膜硝子体学会総会. 2014年11月28-30日、大阪

6 .池田康博:(指定演者)Phase I clinical study for patients with retinitis pigmentosa. : interim report of initial 5 subjects (low-titer group) 第5回 国際協力遺伝病遺伝子治療フォーラム. 2015年1月15日、東京

H . 知的財産権の出願・登録状況

1 . 特許取得

なし

2 . 実用新案登録

なし

3 . その他

なし

表：ベクターの品質管理試験

	項目	概要	規格値
1	粒子力価測定 (Vp)	ベクターゲノム内の WPRE をターゲットにしたリアルタイム PCR 法による粒子力価の測定	規定値
2	機能力価測定 (TU)	抗 PEDF 抗体を用いた細胞免疫染色法による機能力価の測定	規定値
3	PCR of gene of interest	PCR 法による PEDF 遺伝子の確認	目的断片の確認
4	SDS-PAGE	SDS-PAGE により分離したタンパク質の CBB 染色による分析	目的バンドの確認
5	タンパク質濃度	Bradford 法によるタンパク質濃度の測定	規定値
6	微生物限度試験	直接培養法による微生物群の分析	陰性
7	無菌試験	細胞溶解液接種による無菌試験 (直接法)	陰性
8	マイコプラズマ否定試験	PCR 法によるマイコプラズマ否定試験	陰性
9	マイコプラズマ否定試験	培養法	陰性
10	ウイルス混入否定試験	PCR 法によるウイルス混入否定試験	陰性
11	異常毒性試験	マウス腹腔内注射による異常毒性試験	陰性
12	電子顕微鏡検査	細菌、真菌の混入否定検査	陰性
13	エンドトキシン	ゲル化法によるエンドトキシンの測定	<10 EU/ml
14	細胞由来 DNA 濃度測定	ドットプロット法による細胞由来残存 DNA 濃度の測定	10ng/dose
15	BSA 濃度測定	ELISA 法による残存 BSA 濃度の測定	50ng/dose
16	Benzonase 濃度測定	ELISA 法による残存ベンゾナーゼ濃度の測定	規定値 pg/ml
17	増殖性レンチウイルス (RCL)	PCR 法による増殖性レンチウイルス (RCL) 否定試験	陰性
18	In vitro 遺伝子発現	ELISA 法による PEDF タンパク質濃度の測定	規定値 ng/ml
19	PEDF 濃度測定	ELISA 法による製品中における PEDF タンパク質濃度の測定	規定値 ng/ml
20	PCR for E1A, E1B, SV40 large T antigen	PCR 法によるアデノウイルス E1A, E1B, SV40 ラージ T 抗原の検出	情報確認
21	充填量	充填量の確認	規定値
22	pH	pH の測定	規定値
23	外観	目視による外観の検査	無色、透明～やや白濁