

- ③ Takai H, Masuda K, Hiraoka K, Echizen K, Koyama-Nasu R, Nasu-Nishimura Y, Ogawa H, Kozuka-Hata H, Oyama M, Todo T, Ino Y, Mukasa A, Saito N, Toyoshima C, Shirahige K, Akiyama T: 5-Hydroxymethylcytosine plays a critical role in glioblastomagenesis by recruiting the methylosome. *Cell Reports*, 9(1): 48-60, 2014.
- ④ Tanaka S, Nakada M, Yamada D, Nakano I, Todo T, Ino Y, Hoshii T, Tadokoro Y, Ohta K, Ali MAE, Hayashi Y, Hamada JI, Hirao A. Strong therapeutic potential of γ -secretase inhibitor MRK003 for CD44-high and CD133-low glioblastoma initiating cells. *J Neurooncol*, 121(2): 239-50, 2014.
2. 学会発表
- ① Uchihashi T, Nakahara H, Ino Y, Kogo M, Todo T: Therapeutic Efficacy of Oncolytic HSV-1 G47 Δ for Lymph Node Metastases in Orthotopic Tongue Tumor Models. American Society of Gene & Cell Therapy 17th Annual Meeting, Washington DC, USA. May 21-24, 2014.
- ② Todo T, Tanaka M, Ito M, Ito H, Ino Y: Clinical Trials of a third-generation recombinant oncolytic HSV-1 in recurrent glioblastoma and olfactory neuroblastoma patients. The 20th International Conference on Brain Tumor Research and Therapy, Lake Tahoe, CA, USA. July 20-23, 2014.
- ③ 福原浩、竹島雄太、本間之夫、稲生靖、藤堂具紀: An ongoing clinical trial of a third-generation oncolytic HSV-1 G47 Δ for patients with castration resistant prostate cancer. 第20回日本遺伝子治療学会(東京)、2014年8月6-8日。
- ④ 伊藤博崇、岩井美和子、稲生靖、藤堂具紀: Generation of an oncolytic herpes simplex virus expressing an antibody as a therapeutic molecule. 第20回日本遺伝子治療学会(東京)、2014年8月6-8日。
- ⑤ 帰山ともみ、稲生靖、福原浩、中坪拓也、岩井美和子、藤堂具紀: Arming oncolytic HSV-1 (G47 Δ) with anti-VEGF factors confers additional therapeutic benefits. 第20回日本遺伝子治療学会(東京)、2014年8月6-8日。
- ⑥ 内橋俊大、中原寛和、稲生靖、福原浩、岩井美和子、古郷幹彦、藤堂具紀: Intratumoral inoculation with oncolytic HSV-1 G47 Δ suppresses lymph node metastases in orthotopic tongue cancer models. 第20回日本遺伝子治療学会(東京)、2014年8月6-8日。
- ⑦ 阿部真也、稲生靖、福原浩、岩井美和子、渡邊聡明、藤堂具紀: Effect of virus therapy for colorectal cancer with genetically engineered herpes simplex virus type 1. 第20回日本遺伝子治療学会(東京)、2014年8月6-8日。
- ⑧ 谷島翔、稲生靖、福原浩、岩井美和子、瀬戸泰之、藤堂具紀: 第3世代癌治療用ヘルペスウイルス, G47 Δ を用いた食道癌への新しい治療法。第20回日本遺伝子治療学会(東京)、2014年8月6-8日。
- ⑨ 樋口明子、稲生靖、福原浩、岩井美和子、藤堂具紀: Oncolytic virus therapy for malignant melanoma using interleukin-12 expressing herpes simplex virus type 1. 第20回日本遺伝子治療学会(東京)、2014年8月6-8日。
- ⑩ 角谷成紀、福原浩、田口慧、竹島雄太、本間之夫、稲生靖、藤堂具紀: Oncolytic virus therapy using recombinant HSV-1 for non-seminoma germ cell tumors. 第20回日本遺伝子治療学会(東京)、2014年8月6-8日。
- ⑪ 谷島翔、稲生靖、岩井美和子、福原浩、瀬戸泰之、藤堂具紀: 第3世代癌治療用ヘルペスウイルス, G47 Δ を用いた食道癌への新しい治療戦略。第73回日本癌学会学術総会(横浜)、2014年9月25-27日。
- ⑫ 伊藤博崇、稲生靖、田中実、藤堂具紀: Generation of a therapeutic antibody-expressing oncolytic herpes simplex virus. 第73回日本癌学会学術総会(横浜)、2014年9月25-27日。
- ⑬ 阿部真也、稲生靖、福原浩、岩井美和子、渡邊聡明、藤堂具紀: Therapeutic efficacy of genetically engineered oncolytic herpes simplex virus type 1 (G47 Δ) in colorectal cancer. 第73回日本癌学会学術総会(横浜)、2014年9月25-27日。
- ⑭ 坂田義詞、稲生靖、岩井美和子、池田徳彦、藤堂具紀: Oncolytic virus therapy for lung cancers using a third generation oncolytic herpes simplex virus

type 1 G47Δ. 第 73 回日本癌学会学術
総会（横浜）、2014 年 9 月 25-27 日。

- ⑮ 岩井美和子、稲生靖、内橋俊大、赤津
裕一、渡部徹朗、宮園浩平、藤堂具紀：
がん幹細胞が豊富な腫瘍に対する
TGF-β 阻害分子発現型 HSV-1 の治療
効果。第 73 回日本癌学会学術総会（横
浜）、2014 年 9 月 25-27 日。

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

癌治療用組換え麻疹ウイルスの安定性に関する研究

研究分担者 古川 洋一 東京大学医科学研究所臨床ゲノム腫瘍学分野・教授

研究要旨

本研究では、昨年度開発した麻疹ウイルスの全ゲノム解析法を用い、癌治療用組換え麻疹ウイルス (SLAM blind) 株の遺伝学的安全性の検証を行った。SLAM blind 株およびその EGFP 発現株を Vero/PVRL4 細胞株に感染させ、継代回数によるウイルスゲノムの安定性を検討した。その結果、本ウイルス作出の際に人為的に導入したコドン 533 の塩基置換は、培養細胞での継代回数 7 回でも安定に維持されることが確かめられた。継代回数の増加に伴って変異を生じるゲノム配列が 2 か所見つかったが、ウイルス病原性への関与が示唆される部位ではなかった。SLAM blind が感染する際に必要な PVRL4 の発現調節解析では、その遺伝子のイントロン 1 内に、転写活性化関連領域が存在することが判明した。

A. 研究目的

癌治療用に用いられるウイルスには、ウイルス自体の感染により効果を発揮する oncolytic virus や、遺伝子治療の運び屋として用いられる virus vector がある。いずれのウイルスの場合も、ヒトへの利用に際して安全性を確保するためには、virus の性質が変化していないことを確認する必要がある。短いライフサイクルをもつウイルスは、培養等におけるウイルスの増殖の際に、ゲノムに突然変異が生じて性質が変化する可能性がある。そこで安全性の確認のためには、ウイルスゲノムの変化を検討することが望ましい。

代表研究者らの作製した組換え麻疹ウイルス (rMV-SLAM blind) 株は、野生型麻疹ウイルス (HL) 株の hemagglutinin (H) 遺伝子を改変し、リンパ球などの免疫細胞が発現する細胞膜分子 signaling lymphocyte activation molecule へのウイルス結合能を欠失した変異株である。この組換えウイルスは、免疫担当細胞への感染が低下していることが報告されており、ヒトに投与しても免疫担当細胞へは感染しにくく、副作用が起こりにくいと考えられる。また本ウイルスは、乳がん細胞に Poliovirus Receptor-Like 4 (PVRL4) を介して感染し、細胞死を誘導することが示されており、oncolytic virus として癌治療への応用が期待される。

本研究の第一の目的は、rMV-SLAMblind 株を含む麻疹ウイルス全ゲノム配列を、次世代シーケンサを用いて網羅的かつ効率的に解析するシステムを開発し、同ウイルス株の遺伝学的安全性評価を行うことである。また本治療を、より多くのがん患者に適応するためには、がん細胞の PVRL4 の発現誘導および発現維持を制御することが必要である。そこで我々は本研究の中で、PVRL4 発現調節機構を明らかにすることを第二の目的とした。

B. 研究方法

我々は昨年度の研究で、15,894 塩基の麻疹ウイルスゲノム全配列を、次世代シーケンサを用いて高速でしかも比較的安価に解析するシステムを開発した。この解析システムでは、これまで困難とされていた 10% 以下の微少なゲノム変異の検出も可能である。そこで本年度はこの解析法を用いて、rMV-SLAMblind 継代用に研究代表者らが作製した Vero/PVRL4 細胞株を用いて継代したウイルスゲノムに、継代回数により変化が生じないかどうかを検討した。具体的には、rMV-SLAMblind を Vero/PVRL4 細胞株で 4 回まで継代、また同じく rMV-EGFP-SLAMblind を 7 回まで継代し、得られたウイルス RNA

から cDNA を合成し、シーケンス解析により次の2点を検討した。

1) ウイルスを感染させた培養細胞の継代により、SLAMblind ゲノムに人為的に導入したコドン 533 の変異(p.R533A)が、変化しないかどうか。

2) 組換えウイルスゲノムに新たな変異が起きていないか。

また、第二の研究項目としては、PVRL4 の発現調節領域を同定するために、公共データベースのヒストン修飾領域情報をもとに PVRL4 転写調節領域を予測し、これらの領域をクローニングしたレポータープラスミドを作製して転写活性化能の解析を行った。

具体的には、UCSC の Genome Browser (<https://genome.ucsc.edu/cgi-bin/hgGateway>)の中で、H3K4me1、H3K27Ac ChIP seq data に注目し、PVRL4 の 5'-flanking 領域に1か所、イントロン1内に2か所の転写調節領域候補を見出した。これらの領域を、*luciferase* 遺伝子をレポーターとして持つプラスミドにクローニングした。これら3種類のレポータープラスミドを、3種類の乳がん細胞株および4種類の大腸がん細胞株に導入し、レポーター活性を測定した。

(倫理面への配慮)

本研究で解析するのはウイルスゲノムであり、ヒト臨床検体を用いないので、とくに倫理面への配慮は不要である。

C. 研究結果

1) rMV-SLAMblind 株 p.R533A 変異の安定性:

H 遺伝子のコドン 533 の塩基配列 AGG から GCA への変異(p.R533A)は、培養細胞の継代回数を7回まで増やしても、変異は保存され変化しないことが確かめられた。

2) ウイルスゲノムの新規変異について: テスト解析として、基本となる rMV-SLAMblind 株の全ゲノム解析を行ったところ、第 7478 番目の塩基で H 遺伝子内のコドン 70 の塩基が、ML 株の A と異なり、もともと T (93%)であった(p.I70F)。培養によってこの変化は、T から A に変化する傾向にあり、1、2、3、4 回継代後の C の比率はそれぞれ 53%、17%、5%、5%であった。また、第 6949 番目の塩基で F 遺伝子内のコドン 498 の塩基が、培養により A から C へと変化(p.I498L)した。

1、2、3、4 回継代後の C の比率はそれぞれ 8%、17%、16%、15%であった。rMV-SLAMblind の継代では、7 回継代でもこれらの変異は生じなかった。この他、第 2499 番目の塩基が G から C へと変化したが、アミノ酸変異は伴わなかった。

3) PVRL4 の転写活性化領域の同定

データベース内の ChIP seq のデータから、3つの候補領域 (5'-flanking, intron 1a, intron 1b) が同定された。これらの領域を組み込んだ3種類のレポータープラスミドを、PVRL4 発現の高い乳がん細胞株 SK-BR-3、T47-D、MCF7、大腸がん細胞株 DLD-1、LS174、発現の低い大腸がん細胞株 HCT116、RKO に導入し、レポーター活性を測定した。その結果、intron 1b を含むプラスミドで、空ベクターであるコントロールに比べてレポーター活性の上昇が認められた。この活性上昇は、PVRL4 発現の高い乳がん細胞で著明であった。

D. 考察

本解析で用いた rMV-SLAMblind の基本株には、導入した遺伝子変異以外にもう二か所アミノ酸配列の変化を伴う変異をもっていたが、この変異は不安定で、継代により速やかに減少した。この変異は、ウイルス作出の際に用いた細胞で一過性に生じたものであり、Vero/PVRL4 細胞での継代では淘汰されたと考えられる。この他に、継代により生じたゲノム変異を一か所同定した。この変異は、F 遺伝子内に存在し、継代回数が2回以降に増加したがその後全体の15~17%で安定し、高い選択性にはなっていない。これまでにこの変異に関する報告はなく、中和抗体からのエスケープに関する遺伝子変異の報告(Kweder H. *et al.*, *Adv. Virol.* 2014)にも、含まれていない。従って、rMV-SLAMblind は Vero/PVRL4 細胞で7回継代しても SLAMblind 変異は維持され、低病原性は保たれると考えられる。継代途中で生じた変異の癌細胞への殺傷能力等への影響は今後の検討が必要と考えられる。

PVRL4 の転写調節領域の解析では、イントロン1内に転写の活性化に関与する領域を同定した。この領域内のどの部分が重要であるか、また調節している転写因子が何か、更なる解析が必

要である。

E. 結論

rMV-SLAMblind 株に導入した変異 (p.R533A) は、継代によっても安定に保持されていること、ゲノム変異が起こり易れい箇所があるが、いずれも病原性との関連は報告のない部位であることが明らかとなった。

G. 研究発表

1. 論文発表

- Yamaguchi K, Komura M, Yamaguchi R, Imoto S, Shimizu E, Kasuya S, Shibuya T, Hatakeyama S, Takahashi N, Ikenoue T, Hata K, Tsurita G, Shinozaki M, Suzuki Y, Sugano S, Miyano S, Furukawa Y. Detection of *APC* mosaicism by next-generation sequencing in an FAP patient. *J Hum Genet*, 2015, in press.
- Takahashi N, Yamaguchi K, Ikenoue T, Fujii T, Furukawa Y. Identification of two Wnt-responsive elements in the intron of RING Finger Protein 43 (RNF43) gene. *PLoS ONE*, 9: e86582, 2014.

2. 学会発表

- 古川洋一。「家族性腫瘍分野における NGS の活用」(日本遺伝子診療学会 遺伝子診断・検査技術推進フォーラム 2014年12月12日 東京)
- 大杉 友之、山口 貴世志、朱 朱赤、黄 晴、池上 恒雄、古川 洋一。「WNT シグナル経路を介して発現抑制されるインターフェロン誘導タンパク質ファミリーの同定」(第73回日本癌学会学術総会 2014年9月27日 横浜)

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

癌治療用組換え麻疹ウイルス開発における規制対応に関する研究

研究分担者 長村 文孝 東京大学医科学研究所先端医療開発推進分野・教授

研究要旨

本研究は、研究代表者が開発した遺伝子組換え麻疹ウイルスを腫瘍溶解療法として、がん治療法の医薬品として開発において、医師主導治験の実施を前提として必要な非臨床試験の立案および実施とそのために必要な規制対応実施を目的とする。組換え麻疹ウイルスは本邦では遺伝子治療に分類されるが、必要な非臨床試験の種類やその方法に関する法規・ガイドラインは十分に発出されているとはいえず、本事業実施のために必要な情報収集を行い、本事業に応用した。

A. 研究目的

遺伝子組換え麻疹ウイルスの医師主導治験実施に必要な規格の決定や非臨床試験の立案と、そのための前提となる規制情報の収集と検討を行い、事業期間内に必要な非臨床試験を終了するための対応を行う。

B. 研究方法

医薬品医療機器総合機構（PMDA）、米国 FDA (Food and Drug Administration) 及び EMA (European Medicinal Agency) 等の規制当局の発出している法規・ガイドライン、審査報告書等の資料あるいは論文・学会等での資料の収集と解析を行い、必要に応じて規制当局の担当者と接触し、意見交換を行う。

（倫理面への配慮）

公表資料あるいは論文、公開規制情報の収集と対応であり、該当はしない。

C. 研究結果

腫瘍溶解ウイルスについてのガイドラインは、ICH (International Conference on Harmonization) が 2009 年に Considerations として発出したがその段階で止まっている。しかしながら、遺伝子治療全体として捉えた場合には、幾つかの重要なガイドラインが米国 FDA と EMA から発出されている。今年度、本事業で用いるウイルスの性状を規格化し治療ベクター開発室で製造の準備に入った。標準品を定め、規格内の製剤を製造するが、平行して行

う非臨床試験の結果によっては一部変更を行う可能性が残されており、これは医薬品一般に当てはまる開発上の懸念事項である。EMA からは「遺伝子治療用医薬品の開発中の設計変更に関するリフレクションペーパー」が発出されている。本事業で用いる麻疹ウイルスについて直接言及はしていない。ものの、プラスミドによる導入作成時からの留意点が示されており、製造の留意点として考慮する必要性が考えられた。

ウイルス療法を含む遺伝子治療は、本邦ではカルタヘナ法の適応を受ける。これは遺伝子組換え生物・産物の環境中への拡散による現存生物への影響に配慮したものである。ウイルス療法への拡散は同法本来の趣旨とは異なっており、ウイルス療法の製剤製造と臨床試験の環境アセスメントの実態に即した対応が必要となる。本年度米国 FDA からは「遺伝子治療薬、ベクターワクチン、遺伝子組換えウイルスまたは遺伝子組換え微生物を利用したその他の製剤に関する環境アセスメントの必要性および内容の判断について」のガイダンスが発出された。これは環境アセスメントの実施を研究者に求めるものであるが、その留意事項が、表現型の特徴、ウイルス（遺伝子）製剤が導入される可能性のある環境、遺伝子組み換えの特性により、環境に対する潜在的な影響の評価、環境への影響

の可能性、全体的な環境リスクの評価方法を検討するものであり、また環境リスクの軽減方法も示されており、今後の対応について実際の検討事項としてとりまとめることに有用であった。一方同じく米国 FDA からはよりウイルス療法の臨床試験段階で適応が可能な「ウイルスまたは細菌を利用した遺伝子治療薬と腫瘍溶解薬における排出試験のデザインと分析」が発出されており、この懸念事項が解決されないと医師主導治験の実施が困難となる可能性がある。このガイダンスでは排出試験のデザインは生物学的特性、投与経路および非臨床試験における排出データにより予測することとなっている。予備的に行われてきた非臨床試験での PCR 法による非臨床試験のデータでは排出が確認されておらず、開発に大きな支障となる事項はないものと考えられた。また排出の臨床試験での確認事項が示されており、今後の治験での排出確認の試験立案に有益な情報を得ることができた。

現在、組換え麻疹ウイルス療法としては米国のメイヨークリニックが先行している。American Society of Gene and Cellular Therapy にて同機関の非臨床及び治験データの紹介がなされた。ウイルス量は 10^9 まで投与されており、これは人における投与量としては、本事業で用いる場合には高濃度かを検討する必要があると考えられたが、具体的なノウハウについては開示を得ることはできなかった。サルでのモデルはカニクイザルを想定しているが、CD46、SLAM の発現からも有用であるデータが示され、今後の開発にて用いるモデルの選定をおこなうことができた。本邦においてカルタヘナ法への対応が非臨床試験及び臨床試験で困難とされているが、米国 FDA から発出された環境アセスメント及び排出試験に関するガイドラインは検討項目と要点がまとまっており、本事業においても活用が可能であり、迅速な対応に有用と考えられた。

D. 考察

第二世代 HSV-1 に GM-CSF 産生遺伝子を修飾した製剤が次年度に承認が予想されている。承認されれば、世界初の承認薬剤となり、腫瘍溶解ウイルス療法は開発が飛躍的に進むと考えられている。現在のところ、欧米のガイドラインで直接

的に本事業に当てはまるものが発出されだしており、また、腫瘍溶解ウイルス療法あるいは遺伝子治療全体に関係するガイドラインも発出されていることから、今後の規制対応については大きな障壁はないことが予想される。

本事業においては、臨床用グレードの製剤の製造経験を有している東京大学医科学研究所の治療ベクター開発室にて製造を行う。今後の製造において、高度濃縮化が必要であると考えられ、同室と密接な情報共有が必要と考えられた。

E. 結論

ウイルス療法は、日米欧において承認薬が存在せず、新規性が非常に高く、また、組換え麻疹ウイルスは単純ヘルペスウイルスに比べ先行開発品が乏しい。このような状況下で、非臨床試験の実施に関して、国内外の規制に関する情報を収集し、今後の開発に応用すべく検討を行った。現在のところ、継続的な情報収集と検討が必要であり、本事業の開発段階にあわせて薬事戦略相談を研究分担者が PMDA と行いながら医師主導治験に向けて来年度以降継続していく。

F. 健康危険情報

該当せず

G. 研究発表

1. 論文発表

・ Ohashi K, Nagamura-Inoue T, Nagamura F, Tojo A, Miyamura K, Mori T, Kurokawa M, Taniguchi S, Ishikawa J, Morishima Y, Atsuta Y, Sakamaki H. Effect of graft sources on allogeneic hematopoietic stem cell transplantation outcome in adults with chronic myeloid leukemia in the era of tyrosine kinase inhibitors: a Japanese Society of Hematopoietic Cell Transplantation retrospective analysis. *Int J Hematol*, 100, 296-306 2014.

・長村文孝 トランスレーショナルリサーチの重要性。病院、73(7)、540-544、2014。

2. 学会発表

・ Noriko Fujiwara, Fumitaka Nagamura,
Kazufumi Matsumoto, Naohide
Yamashita, Yukie Takemura, Kiyoko
Kamibeppu. Nursing Education Program
on Translational Research as a Master's
Course. International Association of
Clinical Research Nurses. 2014.

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

癌治療用組換え麻疹ウイルスのイヌでの有効性に関する研究

研究分担者 松田 浩珍 東京農工大学農学研究院獣医分子病態治療学研究室・教授
研究分担者 田中あかね 東京農工大学農学研究院比較動物医学・教授

研究要旨

癌細胞のみに侵入して破壊する遺伝子組換え麻疹ウイルス rMV-SLAMblind を用いた革新的癌治療法の開発研究において、自家腫瘍への有効性及び免疫の影響を解析するため、ヒトと同様に乳癌を自然発症するイヌを用いた非臨床試験を実施し、有効性と問題点を明らかにすることを目的とする。本年度は、イヌでの遺伝子組換えウイルスを用いた臨床試験に対する法規制に準拠するための、委員会や規則および施設・設備の整備を行った。また、サンプル収集や検体を得るための体制を整えた。

A. 研究目的

組換え麻疹ウイルスのヒト乳癌への非臨床試験の一つとして、伴侶動物であるイヌに自然発症する乳癌に対する組換え麻疹ウイルスの有効性を調べる。

B. 研究方法

1) イヌ臨床サンプルの収集

東京農工大学動物医療センター、あるいは、近隣の動物病院および他大学の付属動物診療施設に対する乳癌サンプルの提供を呼びかけ、収集した。また、実施の際に獣医臨床症例を得るためのネットワーク確立を行った。

2) 農林水産省の第一種使用規定申請に向けて、官庁と相談を行いながら、獣医臨床動物試験あるいは治験に必要な学内委員会の新設、大学の規則の設置・改正を行った。

3) 農林水産省の第一種使用規定申請に必要な施設・設備の整備も行った。P2A 施設整備も含まれる。

4) 組換えウイルスを実験室でも用いるため、文部科学省の遺伝子組換え第二種申請も行った。

（倫理面への配慮）東京農工大学・農学部・臨床試験研究倫理委員会を組織して、規則を制定した。本研究計画は、順次本委員会の審査を受けて承認を受けてから行う。

C. 研究結果

伴侶動物を用いた臨床動物研究や治療試験に関する倫理規定が承認施行された。動物医療センター内には一時待機室を設けることが了承され、実際のウイルス投与を行う P2A 動物実験室を新たに設置することが承認された。これを受け、環境安全管理センター指導のもと、拡散防止に十分な配慮をした P2、P2A 実験施設および臨床症例への接種室を整備した。

P2A 動物施設はヘパフィルターを搭載した隔離ユニットを設備し、1分間に 10 m² の換気を可能とした。

ウイルス学の専門家および獣医外科学の専門家を配して臨床動物の試験参加への適格性を判断する専門家委員会を発足させた。

イヌの癌症例からの臨床サンプルを、ネットワークを活用して収集し、研究代表者らが行う試験に供給した。

D. 考察

組換え麻疹ウイルスの臨床動物研究（獣医領域での前臨床試験、本全体研究計画では非臨床試験）を開始するために必要な規則や委員会などの制度を、国立大学として初めて整備した。現在、農林水産省に第一種使用規定申請を行うための相談を継続しているが、できる限り速やかに申請受理に至るよう鋭意努力する。

また、承認後速やかに実施を開始するために、制定した規則に従って組換えウイルスの安全な取り扱い、廃棄物の適切な処理を行えるよう教育訓練を行う。さらに、組換えウイルス接種後の動物の管理解除の判断基準を適切に設定するため、当該施設でのウイルスの検出精度を再確認する必要がある。それらは研究代表者との連携で同一の基準・条件で行う計画である。

イヌの癌症例に関しては、これまで構築してきたネットワークを生かして、承認が得られ次第、臨床動物試験（非臨床試験）を実施できるよう、臨床獣医師との連携を一層深め、情報収集をはかる必要がある。

E. 結論

乳癌を自然発症する伴侶犬を用いる臨床動物研究（非臨床試験）を開始するための、動物倫理および研究者の安全に十分配慮した制度が策定された。また、病原性微生物の拡散防止のための安全対策を施した施設を確保し、前臨床試験の準備を整えることができた。これにより、農林水産省からの承認を得られ次第開始できる体制が整った。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Amagai Y, Matsuda A, Jung K, Oida K, Jang H, Ishizaka S, Matsuda H, Tanaka A. A point mutation in the extracellular domain of KIT promotes tumorigenesis of mastcells via ligand-independent auto-dimerization. *Sci. Rep.*, 2015, In press.
2. Jensen-Jarolim E, Fazekas J, Singer J, Hofstetter G, Oida K, Matsuda H, Tanaka A. Crosstalk of carcinoembryonic antigen and transforming growth factor- β via their receptors: comparing human and canine cancer. *Cancer Immunol Immunother.*, 2015, 64:531-537.
3. Furusaka T, Tanaka A, Matsuda H, Hasegawa H, Asakawa T, SHigihara S. A new combined therapy for functional organ preservation and survival in lateral oropharyngeal wall cancer. *Acta Otolaryngol.*, 2014, 134: 872-880.

2. 学会発表

1. Tanaka A, Oida K, Amagai Y, Matsuda H. Role of nuclear factor- κ B in both intrinsic and acquired resistance against endocrine therapy in breast cancer. 19th World Congress on Advances in Oncology, 2014, Greece.
2. Nishikawa S, Tanaka A, Oida K, Matsuda H. Effects of thermo-therapy on malignant mesothelioma. 19th World Congress on Advances in Oncology, 2014, Greece.

H. 知的財産権の出願・登録状況
なし

III. 研究成果の刊行に関する一覧表

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
長村文孝	FDAにおける抗がん剤の審査		医薬品／医療機器の承認申請書の上手な書き方・まとめ	技術情報協会	東京	2014	216-219
長村文孝	その他のがん	大木桃代	がん患者のところに寄り添うためにサイコoncロジーの基礎と実践	真興交易(株)医書出版部	東京	2014	92-95
長村文孝	がん関連の臨床研究	大木桃代	がん患者のところに寄り添うためにサイコoncロジーの基礎と実践	真興交易(株)医書出版部	東京	2014	114-117

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
The FANTOM Consortium and the RIKEN PMI and CLST (Kai, C., Nakamura, T., Sato, H., Sugiyama, T., Yoneda, M. in 101 authors)	A promoter-level mammalian expression atlas.	<i>Nature</i>	50 (7493)	462-70	2014
Andersson, R., The FANTOM Consortium et al. (Kai, C., Nakamura, T., Sato, H., Sugiyama, T., Yoneda, M. in 261 authors).	An atlas of active enhancers across human cell types and tissues.	<i>Nature</i>	5507 (7493)	455-61	2014
Imamura K, Imamachi N, Akizuki G, Kumakura M, Kawaguchi A, Nagata K, Kato A, Kawaguchi Y, Sato H, Yoneda M, Kai C, Yada T, Suzuki Y, Yamada T, Ozawa T, Kaneki K, Inoue T, Kobayashi M, Kodama T, Wada Y, Sekimizu K, Akimitsu N.	Long Noncoding RNA NEAT1-Dependent SFPQ Relocation from Promoter Region to Paraspeckle Mediates IL8 Expression upon Immune Stimuli.	<i>Mol Cell</i>	53(3)	393-46	2014
Liu, Y., Sato, H., Hamana, M., Moonan, N. A., Yoneda, M. and Kai, C.	Construction of an expression system for bioactive IL-18 and generation of recombinant canine distemper virus expressing IL-18.	<i>J Vet Med Sci</i>	76(9)	1241-8	2014

<p>Takenaka, A., <u>Yoneda, M.</u>, Seki, T., Uema, M., Kooriyama, T., Nishi, T., Fujita, K., Miura, R., Tsukiyama-Kohara, K., Sato, H. and <u>Kai, C.</u></p>	<p>Characterization of two recent Japanese field isolates of canine distemper virus and examination of the avirulent strain utility as an attenuated vaccine.</p>	<p><i>Vet Microbiol</i></p>	<p>174 (3-4)</p>	<p>3772-8</p>	<p>2014</p>
<p>Koyama-Nasu R, Haruta R, Nasu-Nishimura Y, Taniue K, Katou Y, Shirahige K, <u>Todo T</u>, <u>Ino Y</u>, Mukasa A, Saito N, Matsui M, Takahashi R, Hoshino-Okubo A, Sugano H, Manabe E, Funato K, Akiyama T.</p>	<p>The pleiotrophin-ALK axis is required for tumorigenicity of glioblastoma stem cells.</p>	<p><i>Oncogene</i></p>	<p>33 (17)</p>	<p>2236-44</p>	<p>2014</p>
<p>Echizen K, Nakada M, Hayashi T, Sabit H, Furuta T, Nakai M, Koyama-Nasu R, Nishimura Y, Taniue K, Morishita Y, Hirano S, Terai K, <u>Todo T</u>, <u>Ino Y</u>, Mukasa A, Takayanagi S, Ohtani R, Saito N, Akiyama T.</p>	<p>PCDH10 is required for the tumorigenicity of glioblastoma cells.</p>	<p><i>Biochem Biophys Res Commun</i></p>	<p>444 (1)</p>	<p>13-8</p>	<p>2014</p>
<p>Takai H, Masuda K, Hiraoka K, Echizen K, Koyama-Nasu R, Nasu-Nishimura Y, Ogawa H, Kozuka-Hata H, Oyama M, <u>Todo T</u>, <u>Ino Y</u>, Mukasa A, Saito N, Toyoshima C, Shirahige K, Akiyama T.</p>	<p>5-Hydroxymethylcytosine plays a critical role in glioblastomagenesis by recruiting the methylosome.</p>	<p><i>Cell Reports</i></p>	<p>9(1)</p>	<p>48-60</p>	<p>2014</p>
<p>Tanaka S, Nakada M, Yamada D, Nakano I, <u>Todo T</u>, <u>Ino Y</u>, Hoshii T, Tadokoro Y, Ohta K, Ali MAE, Hayashi Y, Hamada JI, Hirao A.</p>	<p>Strong therapeutic potential of γ-secretase inhibitor MRK003 for CD44-high and CD133-low glioblastoma initiating cells.</p>	<p><i>J Neurooncol</i></p>	<p>121 (2)</p>	<p>239-50</p>	<p>2014</p>
<p>Yamaguchi K, Komura M, Yamaguchi R, Imoto S, Shimizu E, Kasuya S, Shibuya T, Hatakeyama S, Takahashi N, Ikenoue T, Hata K, Tsurita G, Shinozaki M, Suzuki Y, Sugano S, Miyano S, <u>Furukawa Y.</u></p>	<p>Detection of APC mosaicism by next-generation sequencing in an FAP patient. J</p>	<p><i>Hum Genet</i></p>		<p>In press</p>	<p>2015</p>
<p>Takahashi N, Yamaguchi K, Ikenoue T, Fujii T, <u>Furukawa Y.</u></p>	<p>Identification of two Wnt-responsive elements in the intron of RING Finger Protein 43 (RNF43) gene.</p>	<p><i>PLoS ONE</i></p>	<p>9</p>	<p>e86582</p>	<p>2014</p>
<p>Ohashi K, Nagamura-Inoue T, <u>Nagamura F</u>, Tojo A, Miyamura K, Mori T, Kurokawa M, Taniguchi S, Ishikawa J, Morishima Y, Atsuta Y, Sakamaki H.</p>	<p>Effect of graft sources on allogeneic hematopoietic stem cell transplantation outcome in adults with chronic myeloid leukemia in the era of tyrosine kinase inhibitors: a Japanese Society of Hematopoietic Cell Transplantation retrospective analysis.</p>	<p><i>Int J Hematol</i></p>	<p>100 (3)</p>	<p>296-306</p>	<p>2014</p>
<p>長村文孝</p>	<p>トランスレーショナルリサーチの重要性</p>	<p><i>病院</i></p>	<p>73 (7)</p>	<p>540-4</p>	<p>2014</p>
<p>Amagai Y, Matsuda A, Jung K, Oida K, Jang H, Ishizaka S, <u>Matsuda H</u>, <u>Tanaka A.</u></p>	<p>A point mutation in the extracellular domain of KIT promotes tumorigenesis of mast cells via ligand-independent</p>	<p><i>Sci. Rep.</i></p>	<p>5</p>	<p>9775</p>	<p>2015</p>
<p>Jensen-Jarolim E, Fazekas J, Singer J, Hofstetter G, Oida K, <u>Matsuda H</u>, <u>Tanaka A.</u></p>	<p>Crosstalk of carcinoembryonic antigen and transforming growth factor-β via their receptors: comparing human and canine cancer.</p>	<p><i>Cancer Immunol Immunother</i></p>	<p>64 (5)</p>	<p>531-7</p>	<p>2015</p>

Furusaka T, <u>Tanaka A</u> , <u>Matsuda H</u> , Hasegawa H, Asakawa T, Shigihara S.	A new combined therapy for functional organ preservation and survival in lateral oropharyngeal wall cancer.	<i>Acta Otolaryngol.</i>	134(8)	872-80	2014
--	--	------------------------------	--------	--------	------

IV. 研究成果の刊行物・別刷

第5章 開発薬事戦略のポイント

第9節 米国 FDA における抗がん剤の審査

長村 文孝

東京大学医科学研究所 先端医療開発推進分野 教授 医学博士

(株)技術情報協会

2014年6月発刊 「医薬品/医療機器の承認申請書の上手な書き方・まとめ方

～審査に不可欠なデータ・情報の取得の仕方～」抜刷

第9節 米国FDAにおける抗がん剤の審査

はじめに

米国 Food and Drug Administration (FDA) の抗がん剤の審査は、Center for Drug Evaluation and Research (CDER) の Office of Hematology and Oncology Products の review division で主に審査され、細胞療法等のワクチン療法や遺伝子治療が Center of Biologics Evaluation and Research (CBER) の Office of Cellular, Tissue and Gene Therapies (OCTGC) で審査されている。審査はこのようなFDAとしての組織、法に基づく審査システム、あるいはレギュラトリーサイエンス・レビューサイエンスに基づくガイダンスに基づく審査・判断に影響を受けながら行われる。本稿では、このように審査に影響を及ぼす背景と現況を中心に解説する。

1. 抗がん剤審査部門の組織

2003年に、CBERで審査されていた、がんに対する抗体、蛋白製剤、サイトカイン等の生物製剤の審査業務は、CDERに Office of Oncology Drug Products (OODP) が新設されたことにより設立された Division of Biologic Oncology Productsに移管された。そのため、従来の承認審査であるNDA (New Drug Application)に加えて生物製剤審査であるBLA (Biologic License Application)の多くがCDERに移管されることとなった。これにより他の医薬品の抗がん剤と生物製剤の審査が同一のスキーム、同一の審査方式として統一されて行われる事となった。そして、医薬品は Division of Drug Oncology Productsで、生物製剤は Division of Biologic Oncology ProductsでOODPの管理体制の基で審査される組織体制になった。また、Division of Medical Imaging and Hematology Productsも造血器の悪性疾患を対象としたreview divisionとして新設された。2011年、OODPは Office of Hematology and Oncology Products (OHOP)に改組された¹⁾。OHOPは、Officeの下にreview divisionとして① Division of Oncology Products 1 (DOP1)、② Division of Oncology Products 2 (DOP2)、③ Division of Hematology Products (DHP)、④ Division of Hematology Oncology Toxicology (DHOT)が組織された²⁾。各Divisionの役割は下記の通りとなっている。

- ① DOP1：乳がん、婦人科がん、泌尿器がん、血液以外の支持療法の審査
- ② DOP2：消化管がん、肺・頭頸部がん、神経系がん、稀少がん、小児固形、悪性黒色腫・肉腫の審査
- ③ DHP：性血液疾患、血液系支持療法、小児血液疾患の審査
- ④ DHOT：非臨床試験の審査

上記の改組は、抗体製剤等においては他のNDAとして審査される医薬品としての抗がん剤と、審査という観点から見た場合、臨床試験のデザインや評価において差異が認めにくくなっていること、抗がん剤との併用療法としての適応も増加していること、一次治療、二次治療等の標準療法として認められていることが多くなっていることから医薬品(NDA)と生物製剤(BLA)として区別する必要がほとんど無くなっていることから、疾患の専門性により基づいた審査が必要とされることから現状に即した改組といえる。また、従来は、スポンサー別に担当審査官が割り当てられている傾向があり、必ずしも医系審査官の医師としての専門によって割り当てられているわけではなかったが、この改組により専門性がより重視されることになる。近年、抗腫瘍薬として殺細胞性薬剤や抗体だけではなく、免疫応答修飾剤、免疫複合体、核酸医薬などの新しい概念の製剤が増加し、それに伴い非臨床試験の毒性評価等が年々難しくなってきたため、この分野の体制の強化が求められていたが、DHOTとして一元化して審査をする体制となった。これにより、治験申請前のsponsor-FDA間の申請内容に関する相談であるpre-IND meetingの実施からIND申請(Investigational New Drug Application)の申請がより迅速化・効率化されることが期待されている。Divisionでの審査はteam leaderを代表として、医系審査官、薬理・毒性審査官、化学審査官、生物統計審査官からなるreview teamが形成され、審査が行われる。IND申請時から承認審査時までなるべくreview teamは変更しないようにするが、薬理・毒性審査官と化学審査官は特に初期の段階での役割が大きく、生物統計審査官は後期試験になるに従い重要性が増し、医系審査官は役割の大きさがIND申請時から承認審査時まであまり変わらない、という開発の段階により各審査官の役割の比重が異なる特徴がある。

前述のようにがんワクチンと遺伝子治療はCBERのOCTGCが審査を担当する。特にこの分野では非臨床試験の実施項目、実施内容について、前例が無い、あるいはヒトにおける反応を予測するための動物モデルが無い等々の理由により非常に難渋することが多い。そのため、非臨床試験実施前の非公式ミーティングとして pre-pre-IND テレカンファレンスの制度が設けられている。このミーティングの結果より非臨床試験を行い、その結果を基に pre-IND meeting を経て IND 申請というスキームが設けられている。

2. 治験と審査の流れ

図1にFDAでの審査の大まかな流れを示す。

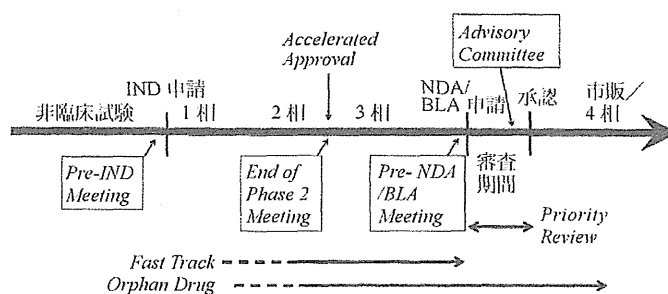


図1 FDAにおける審査の流れ

非臨床試験の結果を基に第一相試験の初回投与量、試験デザイン、安全性への配慮等を sponsor-FDA 間で検討する“Pre-IND Meeting”より公式 meeting が始まる。ただし、義務ではなく、“Pre-IND Meeting”を経ずに IND 申請が行われる場合がある。その後は、安全性での懸念が無い場合には“Hold”がかけられることはなく、第二相試験の結果を基に承認根拠を念頭に置いた第三相試験のデザインや承認のために必要なエンドポイント及びその評価方法を相談する“End of Phase II Meeting”が規定されている。NDA/BLA 申請前にはデータが承認審査に耐えうるか、あるいは承認審査のポイントとなる論点の整理を目的とした“Pre-NDA/BLA meeting”が設定されている。審査期間中には、FDA が審査・承認を行う上で必要な意見を求めるために、外部委員から成り立つ Advisory Committee（抗がん剤の場合は Oncologic Drugs Advisory Committee）が FDA の要請により開催されることがある。有効性あるいは安全性に係わる判断あるいは承認について委員が YES/NO 形式で返答を行う。法的に FDA は Advisory Committee の意見に従う義務は無いものの、ほとんどの場合でその意見を尊重して承認に関する決定を行う。

抗がん剤では直接的に生命予後に係わる分野であるため、審査あるいは開発をより迅速に行うことが強く求められている。そのため、以下の制度が採用されている。

- ① Accelerated approval（迅速承認）：「重篤あるいは生命が脅かされる疾患」を対象として、临床上の有用性、すなわち真のエンドポイントと強い相関を有するサロゲート・エンドポイント達成による承認であり第二相試験の結果であっても承認が可能となる。例えばヒストリカル・コントロールと比べた有意な奏効率（完全寛解＋部分寛解の割合）しかし、承認後の市販後臨床試験として临床上の有用性を証明することが条件であり、満たせない場合には迅速承認の取り消しもありえる。
- ② Fast track（ファスト・トラック）：適応条件は、「重篤または生命に係わる疾患・状態への治療」かつ「アンメット・メディカル・ニーズへの対応となりうる可能性を示すこと」である。治験段階である IND の期間に適応され、FDA とスポンサー間のミーティングを迅速かつ効率的に実施し、当該医薬品の開発方針と申請について相談し、より早い承認につなげるシステムである。
- ③ Priority Review（優先審査）：既存の治療に対して大きな優越性を示す場合か、十分な治療法の無い疾患あるいは疾患の段階に対して治療法となりうる場合に指定される。通常の審査（standard review）では、FDA での審査期間が十ヶ月以内であるのに対し、優先審査に指定されると審査期間が六ヶ月以内に短縮される。

- ④ Orphan drug (オーファンドラッグ)：上記のように直接的に迅速化を図る制度ではなく、独占的販売権の付与、Prescription Drug User Fee (承認申請時の課金)の免除、開発費の税控除、研究費補助等のインセンティブによって開発を加速することが目的である。米国で年間患者数が20万人以内で、販売後5年以内で開発費用を回収する見込みがない「稀少疾患で、有効な標準療法に乏しい疾患(ステージ)であることが条件となる。標準療法の無くなった段階での多くのがんが対象となり得る。

このような制度を活用することが製薬企業としては重要であり、review divisionとの交渉が重要となる。そのためには、競合製品の最新情報、ヒストリカル・コントロールとなる論文・発表の精査が必要であり開発の初期からの十分な検討と、その解釈に対するFDAの見解を確認しておくことが重要となる。

3. 法制度とそれに基づく審査

FDAの法的根拠は“The Food and Drug Act (1906)”から始まる連邦政府法に拠っているが、幾つかの法が審査過程に関連している。例えば前述のOrphan Drugは1983年のOrphan Drug Actにより、承認申請時のUser feeは1992年から5年間の有限立法が延長されて現在に至るPrescription Drug User Fee Act (PDUFA)によって規定されている。PDUFAによりFDAに入る収入は全収入の約半分であり、これにより人員の増加、電子システムの構築が可能となっている。一方、PDUFAにより上述のpriority reviewが規定されている。

具体的に記載された連邦政府の規則集としてCode of Federal Regulations (CFR)が発出されている。治験・承認に関する規則はタイトル21にほぼまとめられている。FDAの決定として法的拘束力があるのは法(Act)とCFRであり、決定等を通知する文書には根拠となるAct, CFRの条項が通常記載される。CFRではInternational Conference on Harmonisation (ICH)の進展により、当該箇所をICHの内容を反映するように変更がなされてきている。しかし、CFRにおいては“Adverse Event”という用語は使用されているが、その定義は明記されておらず“Guidance”に記載されていたり、また、“Adverse experience”はCFRで定義が記載されているが、過量投与、薬剤の乱用あるいは離脱症状を含める等ICHとは必ずしも一致していない³⁾。また、“GMP”ではなく、以前から用いられている“current GMP (cGMP)”が依然として使用されている等の差異が認められる。CFRは審査面にも触れられており、第一相試験での“clinical hold”の要件は、“FDA may place a proposed or ongoing Phase 1 investigation on clinical hold if it finds that:(i) Human subjects are or would be exposed to an unreasonable and significant risk of illness or injury; (ii) The clinical investigators named in the IND are not qualified by reason of their scientific training and experience to conduct the investigation described in the IND; (iii) The investigator brochure is misleading, erroneous, or materially incomplete; or (iv) The IND does not contain sufficient information required under 312.23 to assess the risks to subjects of the proposed studies. (21CFR312.42)”のように詳細に記載されている。これは一例であるが、審査官としての業務遂行上CFRの熟読は必須とされており、逆に言えばCFRを理解することによって審査の法的な基盤と内容が理解できることとなる。

医薬品開発の技術的進歩の速度は著しく、新たな治療法開発に伴い、その実施方法や評価方法が問題となることがある。このような場合にFDAでは、FDAの考え方を示す資料として“Guidance”を発出する⁴⁾。これは製薬企業向けである“Guidance for Industry”あるいは製薬企業とFDAのスタッフ向けである“Guidance for Industry and FDA Staff”がタイトルにつけられるので対象を判別することができる。審査官は、通常この“Guidance”の記載に従って審査を行うが、この“Guidance”は、法的効力はないのでスポンサーは資料の収集や解釈あるいは独自の研究成果をもってFDAに対して実際の審査において“Guidance”の内容について反論することは可能である。抗がん剤の審査に関連した“Guidance”の例としては、“Clinical Trial Endpoints for the Approval of Cancer Drugs and Biologics”, “Patient-Reported Outcome Measures: Use in Medical Product Development to Support Labeling Claims”, “Clinical Considerations for Therapeutic Cancer Vaccines”を挙げることができる。

4. 審査情報の収集

“Drugs@FDA” は、承認医薬品の概要や承認・添付文書履歴が掲載されているが⁵⁾、“Approval History, Letters, Reviews, and Related Documents”の項では“Review”として各審査官の審査報告書が掲載されているものがある。最近では審査報告書のフォーマットも統一され、目的とする情報を検索しやすくなっており、審査の方法あるいは解釈についても情報の収集を行うことができる。また前述の advisory committee はスポンサーとFDAのプレゼンテーションのスライドあるいは議事録も公開されている⁶⁾。このような手段で入手できる情報の例としては、膀胱がんの第一選択療法としてのエルロチニブを挙げることができる。従来、抗がん剤の生存期間の延長は最低一ヶ月程度が患者にとって意義のある期間であり、承認に際しては必要だろうとされていた。ところが、エルロチニブはゲムシタビンとの併用療法で約2週間の生存期間の延長で膀胱がんの一次療法として承認されている。この承認には advisory committee での検討が大きな影響を与えており、議事録によれば新たな選択肢の必要性に関する委員の意見がその根拠となっていたことがわかる⁷⁾。

結語

米国FDAでの抗がん剤の審査は、組織、法・ガイドライン及び関連した各種制度によって影響を受けている。これらを理解し、最新の審査報告書あるいは advisory committee の資料等を精査することにより審査の実態を類推することが可能であり、医薬品開発において非常に重要な情報であり活用することが勧められる。

文 献

- 1) <http://www.fda.gov/NewsEvents/Newsroom/PressAnnouncements/ucm271501.htm>
- 2) <http://www.fda.gov/AboutFDA/CentersOffices/OfficeofMedicalProductsandTobacco/CDER/ucm091745.htm>
- 3) 21 CFR 310.305, 314.80, 600.80
- 4) <http://www.fda.gov/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/default.htm>
- 5) <http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cder/drugsatfda/index.cfm>
- 6) <http://www.fda.gov/AdvisoryCommittees/default.htm>
- 7) <http://www.fda.gov/ohrms/dockets/ac/cder05.html#OncologicDrugs>