

#### C. 1. 4 FDAガイダンス案

##### C. 1. 4. 1 臨床薬理 : **Guidance for Industry: Clinical Pharmacology Data to Support a Demonstration of Biosimilarity to a reference product (DRAFT).**

2014年5月に公表されたバイオ後続品の臨床薬理に関するガイダンス案では、参照品とのバイオシミュラティティーを示すために必要な臨床薬理試験のデザインと試験結果の利用に関して、FDAの考えが述べられている。特徴的な点としては、適切な臨床薬理データベースの作成、臨床試験デザインにおけるモデリング&シミュレーションの活用に関して、述べられている点である。

バイオシミュラーと参照品の臨床薬理的な類似性評価に用いるバイオマーカーについて留意すべきポイントとして、以下の5点が挙げられている。

- ・投与後、PDマーカーの変動が生じる時期
- ・バイオ医薬品への暴露範囲以上でのPDマーカーの定量範囲
- ・バイオ後続品と参照品の差異を検出するための感度
- ・作用機構から考えた妥当性
- ・PDマーカーの臨床的所見の関連

バイオ後続品の臨床試験において、有効性に関する試験を実施するか否かは、開発期間や臨床試験の規模への影響が大きいと考えられるため、適切なPDマーカーの要件が示されている点は、バイオシミュラー開発の指針として有用であると思われる。

##### C. 1. 4. 2 参照品の独占期間 : **Guidance for Industry: Reference Product Exclusivity for Biological Products Filed Under Section 351(a) of the PHS Act (DRAFT) .**

米国では、BPCI法により、先行品の独占期間が12年であること、先行品販売開始から4年間は、バイオシミュラーの申請もできないことが定められている。2014年5月に公表された参照品の独占期間に関するガイダンス案では、先行品の最初の承認後に、同一あるいは関連会社により行われた変更申請について

は、初回承認と取り扱わないことなどが記載され、先行品保護の運用に関して説明がなされた。

#### D. 考 察

##### D.1 バイオ後続品指針の改訂について

日本のバイオ後続品指針は、海外ガイドラインと概ね同じ方向であり、国際的整合性が保たれているが、参照品が日本承認製品に限定されている、臨床試験における非劣性試験の適用可能性に関する記載がない、免疫原性評価について、具体的な期間などは明示されていない、という特徴がある。また、代替・混用に関する記載はあるが、運用実態は不明である。

日本においても、バイオ後続品の開発、審査の経験が蓄積してきており、バイオ後続品開発のグローバル化、欧米のガイドラインの動向を踏まえ、参照品の要件、臨床試験における非劣性試験の適用可能性、免疫原性評価について、指針を見直すことが、バイオ後続品の開発と審査の迅速化、適正使用、普及促進の一助になると考えられる。

具体的には、参照品に関しては、ブリッジングデータの必要性を示した上で、海外承認品の利用を可能とすることが可能と思われる。非劣性試験に関しては、妥当性が示されれば受け入れ可能と思われるものの、適切なPDマーカーがない場合の対応等も含め、議論が必要と思われる。免疫原性評価に関しては、欧米と異なり、日本には抗薬物抗体分析のバリデーションに関するガイドラインがないため、その整備がまず必要と考えられる。

Interchangeabilityとsubstitutability（互換性と代替性）に関して、日本のガイドラインには明確な表記がなく、「当該調査期間においては、有害事象のトレーサビリティを確保することが重要であり、先行バイオ医薬品や同種・同効医薬品とバイオ後続品とを、一連の治療期間内に代替又は混用することは基本的に避ける必要がある。」とされている。この記載に基づく運用実態は不明であり、互換性、代替性の定義を明確にしたうえで、これらの考え方を示す必要があるだろう。

## E. 結 論

- 1) バイオ後続品の開発は、欧州および日本で進んでおり、2014年にはこれまでで最も多い6品目が承認された。また、EMAにおいて総論、品質、非臨床・臨床ガイドラインが改訂され、FDAからは臨床薬理、先行品独占期間に関するガイダンス案が新たに公表された。これらの国際的動向とこれまでの知見の蓄積とを踏まえ、日本においても、バイオ後続品指針の見直しが必要と考えられる。
- 2) 日本のバイオ後続品見直しのポイントは、参照品の要件、臨床試験における非劣勢試験の受け入れの条件、免疫原性評価の要件、互換性・代替性に関する考え方の明確化、であると考えられた。

## 参考資料

### EMAガイドライン

- 1) Guideline on similar biological medicinal products (2014.10)
- 2) Guideline on similar biological medicinal products containing biotechnology derived proteins as active substance: non-clinical and clinical issues (2014.12)
- 3) Guideline on similar biological medicinal products containing biotechnology-derived proteins as active substance: quality issues (revision 1) (2014.5)

### FDAガイドライン

- 1) Guidance for Industry: Clinical Pharmacology Data to Support a Demonstration of Biosimilarity to a Reference Product (Draft Guidance) (2014.5)
- 2) Guidance for Industry: Reference Product Exclusivity for Biological Products Filed Under Section 351(a) of the PHS Act (Draft Guidance) (2014.5)

## F. 研究発表

### 1. 論文発表 (総説等)

#### (1) 書籍

- 1) ○石井明子：第4章 生体試料薬物濃度分析 (リガンと結合法) におけるバリデーションのガイドラインのポイントおよび実施の注意点 医薬品開発における生体試料薬物濃度分析手法 p.43-56 技術情報協会, 東京 (2014)
- 2) 石井明子, 川崎ナナ：第13章第2節 バイオ医薬品 (組換えタンパク質医薬品) の品質関連規制と対応の留意点 動物細胞培養の手法と細胞死・増殖不良・細胞変異を防止する技術 pp.523~531 技術情報協会 (2014)

#### (2) 雑誌

- 1) ○ Stevenson L, Amaravadi L, Myler H, Salazar-Fontana L, Gorovits B, Kirshner S, Xue L, Garofolo F, Alley SC, Thway T, Joyce A, Bansal S, Beaver C, Bergeron A, Cai XY, Cojocaru L, DeSilva B, Dumont I, Fluhler E, Fraser S, Gouty D, Gupta S, Haidar S, Hayes R, Ingelse B, Ishii-Watabe A, Kaur S, King L, Laterza O, Leung S, Lévesque A, Ma M, Petit-Frere C, Pillutla R, Rose M, Schultz G, Smeraglia J, Swanson S, Torri A, Vazvaei F, Wakelin-Smith J, Wilson A, Woolf E, Yang TY. 2014 White Paper on recent issues in bioanalysis: a full immersion in bioanalysis (Part 3 - LBA and immunogenicity). *Bioanalysis* 6(24) 3355-3368 (2014)
- 2) ○Dufield D, Neubert H, Garofolo F, Kirkovsky L, Stevenson L, Dumont I, Kaur S, Xu K, Alley SC, Szapacs M, Arnold M, Bansal S, Haidar S, Welink J, Le Blaye O, Wakelin-Smith J, Whale E, Ishii-Watabe A, Bustard M, Katori N, Amaravadi L, Aubry AF, Beaver C, Bergeron A, Cai XY, Cojocaru L, DeSilva B, Duggan J, Fluhler E, Gorovits B, Gupta S, Hayes R, Ho S, Ingelse B, King L, Lévesque A, Lowes S, Ma M, Musuku A, Myler H, Olah T, Patel S, Rose M, Schultz G, Smeraglia J, Swanson S, Torri A, Vazvaei F, Wilson A, Woolf E, Xue L, Yang TY. 2014 White Paper

on recent issues in bioanalysis: a full immersion in bioanalysis (Part 2 - hybrid LBA/LCMS, ELN & regulatory agencies' input) *Bioanalysis* 6(23), 3237-3249 (2014)

## 2. 学会発表

- 1) ○石井明子：「医薬品開発における生体試料中薬物濃度分析法（リガンド結合法）のバリデーションに関するガイドライン」策定の背景と論点，日本薬物動態学会 第8回ショートコース～バイオ医薬品開発を促進する技術基盤～，

(2014. 5.8) 東京 学術総合センター中会議場

- 2) ○石井明子：バイオシミラーの世界における現状，第3回DIA CMCフォーラム (2014. 6.30) 東京
- 3) ○Akiko Ishii：Japanese BMV guideline for ligand binding assay 7<sup>th</sup> European Bioanalysis Forum Open symposium (2014.11.21) Barcelona

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（医薬品等規制調和・評価研究事業）  
平成26年度分担研究報告書

## －先端バイオ医薬品規制に関する研究－

研究分担者：内田 恵理子（国立医薬品食品衛生研究所 遺伝子医薬部第一室長）

### 研究要旨

先端バイオ医薬品規制に関する研究として、増殖性ウイルス製品である腫瘍溶解性ウイルス製品とワクシニアウイルスベクター製品の開発と規制の国際動向を調査した。腫瘍溶解性ウイルス製品は77件の臨床試験が米国で実施され、承認申請品目もあり開発が進んでいる。規制の現状として、遺伝子治療に該当するかどうかは外来遺伝子の発現の有無や組換えの有無、また国によっても異なっている。ICH見解や欧米のガイドラインを基に、増殖性ウイルス製品に共通する安全性上の課題を考察した。

キーワード：腫瘍溶解性ウイルス、ワクシニアウイルスベクター、国際動向

### A. 研究目的

本研究は、遺伝子治療製品や細胞治療製品等の先端バイオ医薬品（再生医療等製品）の品質、有効性、安全性確保のための規制の国際調和の推進に関わる研究を行うことを目的としている。これら先端バイオ医薬品（再生医療等製品）は、従来の化学薬品やバイオ医薬品とは異なる構造・特性・生物活性・作用機序を持つものであり、品質、有効性、安全性確保には従来の医薬品とは異なる視点が必要である。またこれら医薬品の開発・実用化の促進には規制の国際調和が必要である。

24年度は、遺伝子工学技術を用いたがん免疫療法治療製品、特にがん免疫療法に用いられる遺伝子改変細胞製品を中心に、国内外の開発動向と規制状況を調査した。25年度は、がん免疫療法にも用いられるプラスミドDNAワクチンの開発と規制の国際動向について調査を行った。今年度は増殖性ウイルス製品について開発動向と規制状況の調査を行った。

### B. 研究方法

増殖性ウイルス製品の開発動向は米国国立衛生研究所（NIH）の治験データバンクClinicalTrial.govに

登録されている治験プロトコールを中心に、関連する書籍や論文等を調査・分析した。規制動向は、米国食品医薬品局（FDA）および欧州医薬品庁（EMA）のHP情報を中心に調査した。

（倫理面への配慮）

本研究は調査研究であり、倫理面への配慮が必要な試料・資料の取り扱いはない。

### C. 研究結果及び考察

#### 1. 増殖性ウイルス製品の臨床開発の現状

NIHの治験データベースClinicalTrials.govに登録されている治験プロトコールを中心に増殖性ウイルス製品の開発動向を調査した。増殖性ウイルス製品には、がん細胞などの目的とした細胞でのみ増殖性を示す腫瘍溶解性ウイルスや制限増殖性ウイルスを利用したウイルス療法（viro-therapy）と、複製能を持つワクシニアウイルス等を利用したワクチンが含まれるため、それぞれ別に解析を行った。

解析方法として、腫瘍溶解性ウイルス製品を「Oncolytic」で検索したところ、69件がヒットした。これらにはがんを標的とする増殖性ウイルスの登録

は65件含まれていた。また、増殖性ウイルス製品を検索するために「replication competent」としたところ43件がヒットした。このうち、「oncolytic」との重複が5件、「oncolytic」では検索されなかった増殖性ウイルス製品は10件含まれ、うち7件がoncolytic virus製品で、残りの3件は感染症ワクチンであった。また、「recombinant vaccinia」で検索されたもののうち、「oncolytic」との重複が5件、「oncolytic」では検索されなかったoncolytic virusが5件含まれていた。これらの合計77件について、登録内容の分析を行った。

まず、Oncolytic virusの由来となるウイルスは11種類が使用されており、アデノウイルスが20件、ワクシニアが16件、レオウイルスが15件、ヘルペスウイルスが10件、麻疹ウイルスが6件で後は3件以下であった (Fig.1)。各ウイルスについて詳細を見ると、アデノウイルスは8種類、ワクシニアは2種類 (JX594、GL-ONC1)、レオウイルスは1種類 (Reolysin)、HSVは4種類、麻疹ウイルスは1種類 (MV-NIS) の製品についての臨床試験が登録されていた。これらのoncolytic virusの臨床試験うち、目的遺伝子を搭載した増殖性ウイルスベクターを用いたものは半数弱の48%にのぼった (Fig.2)。導入遺伝子の種類としては、免疫賦活化作用を有するGM-CSFが6割を占め、アデノウイルス、ワクシニア、ヘルペスウイルスで用いられていた (Fig.3)。化学療法や放射線との併用療法としての臨床試験は36%であった (Fig.4)。投与経路としては静脈内投与が45%と最も多く、次いで腫瘍内投与が36%、がん細胞が含まれる局所組織への投与が16%であり、体外に取り出した間葉系幹細胞にウイルスを感染させた後に投与するという方法も2件登録されていた (Fig.5)。

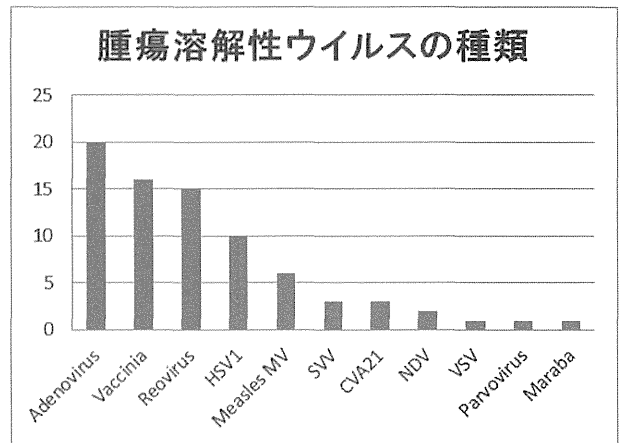


Fig.1 腫瘍溶解性ウイルスとして使用されているウイルスの種類  
(Clinicaltrials.gov登録件数、以下同様)

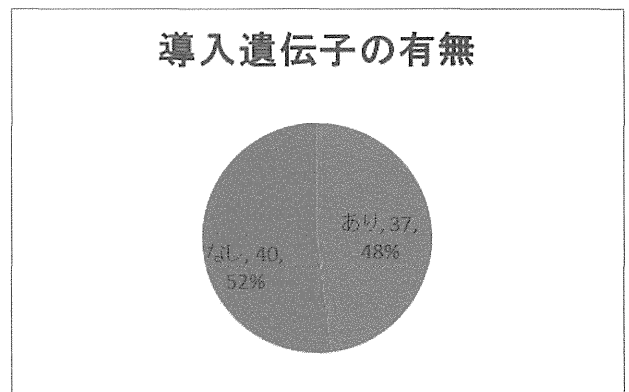


Fig.2 腫瘍溶解性ウイルスの遺伝子搭載の有無

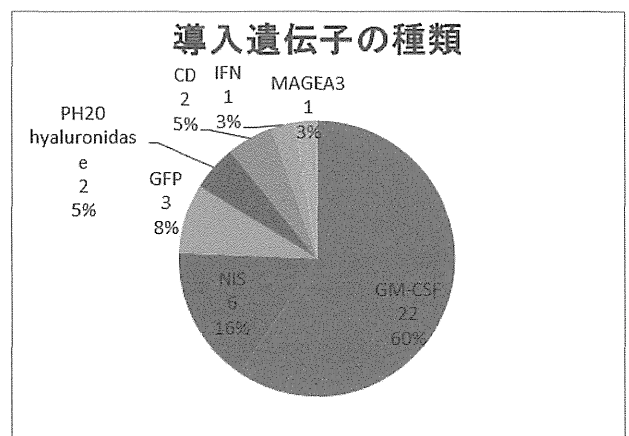


Fig.3 腫瘍溶解性ウイルスに搭載されている遺伝子の種類

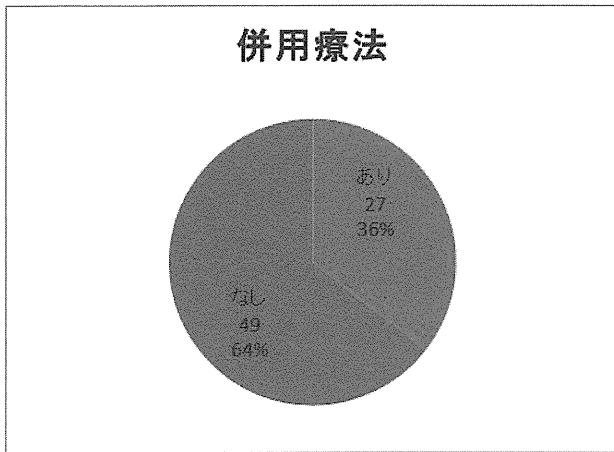


Fig.4 腫瘍溶解性ウイルス臨床試験での併用療法の有無

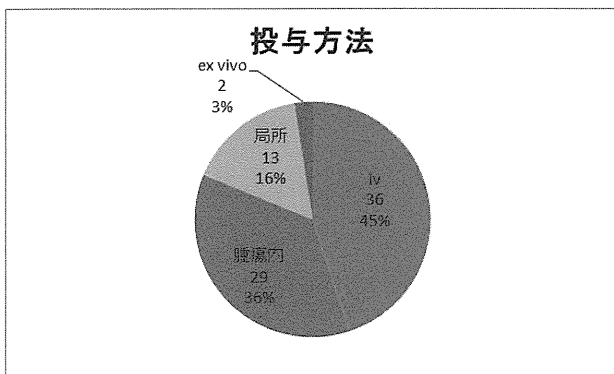


Fig.5 腫瘍溶解性ウイルスの投与方法

臨床開発の段階としては、Phase 1が42%、Phase 2が32%で、Phase 3も3件登録されていた (Fig.6)。臨床試験のスポンサーは企業が6割以上を占めており、実用化を目指した開発が多く進められている (Fig.7)。開発企業の総数は17社であった。

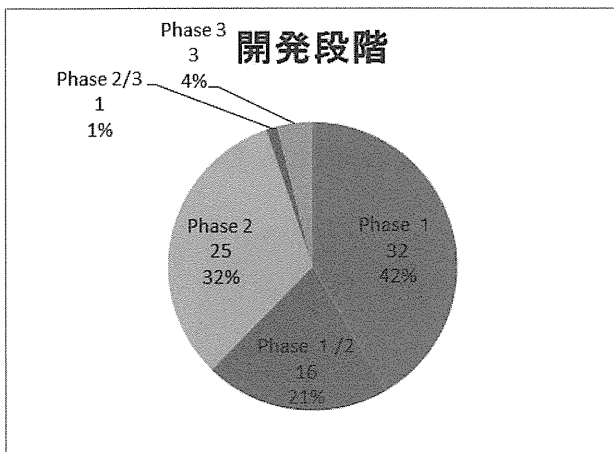


Fig.6 腫瘍溶解性ウイルスの開発段階

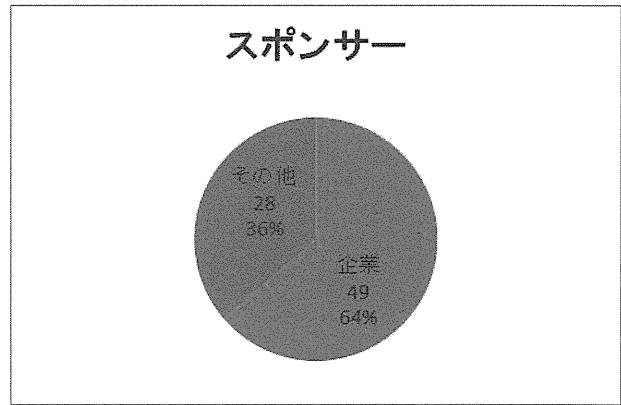


Fig.7 腫瘍溶解性ウイルス臨床試験のスポンサー

開発が進んでいる主な腫瘍溶解性ウイルス製品について以下に紹介する。

Talimogene laherparepvec (別名OncoVEX GM-CSF) は単純ヘルペスウイルス1型 (HSV1) をベースとする腫瘍溶解性ウイルスである。殺腫瘍能の強いJS1株を用い、HSV1のICP34.5、ICP47を除去し、GM-CSF遺伝子を搭載している。ICP34.5は正常細胞が持つウイルス防御機構であるリン酸化PKR (RNA依存性プロテインキナーゼ) による翻訳開始因子eIF2a阻害に対して拮抗する働きを持つ遺伝子で、ICP34.5を除去すると正常細胞では増殖できず、がん細胞選択的な増殖を示す。ICP47は感染細胞の抗原提示能抑制作用を持つ遺伝子で、ICP47を除去することにより抗腫瘍免疫応答の誘導、及びUS11の発現を早めウイルス増殖を増強する作用が期待される。Talimogene laherparepvecはPhase 3試験が1プロトコール実施中で、1プロトコールは終了していた。Amgen社が開発中で、局所進行または遠隔転移を認める悪性黒色腫 (メラノーマ) に対する治療薬として現在、米国FDA及び欧州医薬品庁EMAに販売承認申請が提出されており、承認されれば欧米で最初の腫瘍溶解性ウイルス製品となる。

Reolysin はレオウイルスの変異株で、カナダのOncolytics Biotech社が開発中の腫瘍溶解性ウイルス製品である。レオウイルスは正常細胞に感染すると、PKRのリン酸化によりeIF2aが阻害を受けて増殖できない。しかし、Rasが活性化したがん細胞ではPKRのリン酸化が阻害され、レオウイルスが細胞内で増殖して細胞を死滅させる働きを示すことが期待され

る。Reolysinは全部で15の臨床試験が実施されており、頭頸部がんに対してPaclitaxel、Carboplatinとの併用療法でPhase 3が実施され、また様々ながんを対象にPhase 2試験が実施中である。

CG0070はアデノウイルス5型をベースとする制限増殖性ウイルスで、がん化抑制経路であるRb経路が欠損したがん細胞でのみ作動するヒトE2F1プロモーターによりウイルス遺伝子E1aを発現するように改変され、がん細胞でのみ増殖して細胞毒性を発揮する。またE1a遺伝子産物により活性化されるE3プロモーターによりGM-CSFを発現する。これらの改変により、ウイルスの複製もGM-CSFの発現もRb経路が欠損したがん細胞のみとなるように制御される。Cold Genesys社が開発を行っており、3つの臨床試験が行われているが、Non-Muscle Invasive Bladder Cancerの治療薬として治験Phase 3が実施中である。

JX594 (別名Pexa-Vec) はワクシニアウイルスのWyeth株をベースとする腫瘍溶解性ウイルスで、ウイルスのチミジンキナーゼ遺伝子を除去し、GM-CSF遺伝子を搭載したものである。チミジンキナーゼ遺伝子の除去により、Rasやp53に変異のあるがん細胞で良く認められるキナーゼ活性が高い細胞でのみ増殖して細胞を殺す作用を示す。iv投与が可能な腫瘍溶解性ウイルスとして、13の臨床試験が実施されている。韓国のSillaJen社 (旧 Jennerex Biotherapeutics) が開発中である。

MV-NISは、はしか (麻疹) ウイルス生ワクチンのエドモンストン株に由来する弱毒腫瘍溶解性ウイルスで、ヒトナトリウムヨウ素共輸送体遺伝子を搭載している。麻疹ウイルスは卵巣がんなどで過剰発現しているCD46を介して細胞膜融合により細胞内に侵入し、細胞間融合を引き起こして細胞のapoptosisを誘導する。またNIS発現細胞は放射性ヨウ素を取り込み、NIS発現細胞のイメージングや放射線による治療が期待される。MV-NIS感染MSCを用いた臨床試験も実施されている。Mayo Clinicが開発中である。

一方、異種抗原を発現する増殖性ウイルスベクターとしてワクシニアウイルスを用いたプロトコール

が92件あり、「oncolytic」に分類されるJX594を除くと80件のプロトコールが登録されている。内訳はがん治療用ワクチンと感染症の予防用ワクチンがともに40件で、感染症の内訳はHIV感染症が34件で6件は結核であった (Fig.8)。

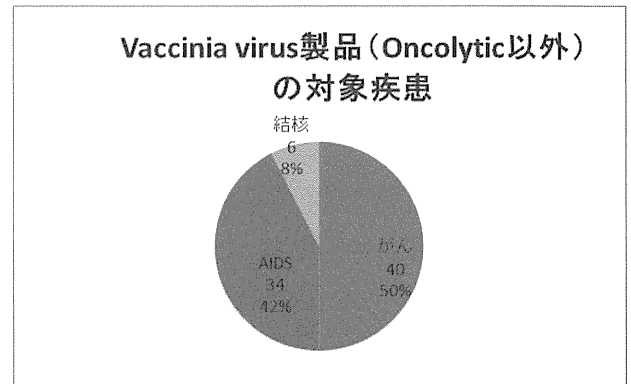


Fig.8 Vaccinia virus製品 (Oncolytic virus製品を除く) の対象疾患

がんを対象とするワクシニアウイルス製品について開発段階を調べると、Phase 1よりもPhase 2が多く、50%を占めていた (Fig.9)。対象とされるがんは前立腺がんが最も多い16件 (36%) でメラノーマ、乳がんが続いた (Fig.10)。腫瘍溶解性ウイルスを除くワクシニアウイルス製品は企業以外での臨床試験が大部分であり、がん治療用の製品については1製品のみが企業開発品であった。この1製品とはTG4010というワクシニアウイルスワクチンのアンカラ株をベースとし、癌抗原のMUC1とインターロイキン2 (IL2) 遺伝子を発現することにより、抗腫瘍免疫誘導を期待するものである。非小細胞肺がんを対象としてPhase 3が予定されている。

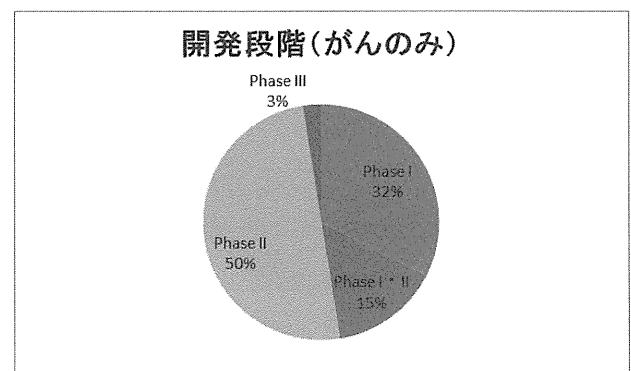


Fig.9 Vaccinia virus製品 (Oncolytic virus製品を除く) の開発段階

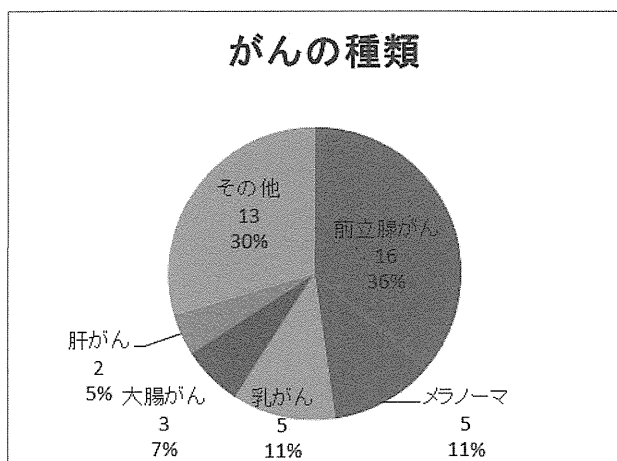


Fig.10 Vaccinia virus製品（Oncolytic virus製品を除く）の対象となるがん

## 2. 日本の開発の現状

ClinicalTrials.govに登録されているoncolytic virusには日本企業が開発中の製品の治験が2件含まれていた。2件ともタカラバイオが開発中のHF10で、米国内で頭頸部がんを対象とするPhase I臨床試験と、悪性黒色腫を対象に免疫チェックポイント阻害剤ipilimumabとの併用療法としてのPhase 2試験が実施されている。HF10はHSV1の自然弱毒変異株で、日本国内ではこれまで名古屋大学病院で臨床研究として実施された経験があるが、今後固形がんを対象とする国内での治験も予定されている。

一方、ClinicalTrials.govには登録されていないが、日本で臨床開発中の腫瘍溶解性ウイルスとしては、G47ΔとTelomelysinがある。G47ΔはHSV1をベースとし、 $\gamma$ 34.5 (ICP34.5) と $\alpha$ 47 (ICP47) の欠失の他にribonucleotide reductaseの大サブユニットをコードするICP6に変異を導入し、分裂が盛んでRR活性の上昇した細胞でのみ増殖するように改変されている。またICP6プロモーターにより発現されるLac Z遺伝子を搭載している。これまでに進行性膠芽腫、前立腺がん、進行性嗅神経芽細胞腫を対象とする臨床研究が東京大学病院、東京大学医科学研究所附属病院で実施されており、進行性膠芽腫を対象とする治験も最近開始された。

Telomelysinはアデノウイルス5型をベースとする腫瘍溶解性ウイルスで、オンコリス・バイオファーマが開発中である。テロメラゼプロモーターhTERT

によりアデノウイルスの増殖に必須のE1A、E1Bが発現するように改変されており、テロメラゼ活性が高いがん細胞でのみ増殖して細胞死を誘導することが期待される。米国でPhase I臨床試験を実施後、2012年より頭頸部・胸部悪性腫瘍を対象に岡山大学病院で臨床研究として実施されている。

ワクシニアウイルスベクターワクチン製品については、これまで日本で臨床試験は実施されていない。

## 3. 増殖性ウイルス製品に関する規制の国際動向

増殖性ウイルス製品のうち、腫瘍溶解性ウイルス製品が遺伝子治療に該当するかどうかの調査がRegulators Forum Gene Therapy Discussion Groupにより昨年実施された。腫瘍溶解性ウイルス製品については、日本では、遺伝子組換えが行われているものは外来遺伝子を持たない場合でも遺伝子治療製品と見なし、臨床研究であれば「遺伝子治療臨床研究に関する指針」に基づく審査、治験では「遺伝子治療用医薬品の品質・安全性確保に関する指針」に基づく事前相談等が行われる。また、「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（カルタヘナ法）」の「遺伝子組換え生物等」に該当するため、カルタヘナ法による第一種使用等の規制がかかる。一方、自然弱毒変異株を利用した腫瘍溶解性ウイルス製品は遺伝子治療には該当しないため、これまで遺伝子治療臨床研究としての審査は受けずに臨床研究が実施されていた。昨年「遺伝子治療臨床研究に関する指針」改正案が公表されたが、改正案でも自然変異型腫瘍溶解性ウイルスは指針の対象外となる。しかし、被験者の安全性確保の観点からは組換え腫瘍溶解性ウイルスと同様と考えられることから、研究機関の長からの要請があれば安全性等の評価を行うことは可能との通知やガイダンスが出される予定とされる。治験の場合、遺伝子治療製品ではないが、遺伝子治療製品に準じた評価を受けると考えられる。しかし、カルタヘナ法の「遺伝子組換え生物等」には該当しない。

米国FDAでは、外来の治療用遺伝子を発現する腫瘍溶解性ウイルスは遺伝子治療製品に分類されるが、弱毒化を目的とした遺伝子組換えで外来遺伝子が含



まれない場合は遺伝子治療製品には分類されない。しかし、このような製品でも遺伝子治療製品と同様の評価を行うとされている。

欧州医薬品庁（EMA）は、遺伝子組換えされていない腫瘍溶解性ウイルスは遺伝子治療製品ではなく、生物製剤に分類される。一方、ヘルスカナダでは、腫瘍溶解性ウイルス製品であれば、組換えが行われていない製品でも遺伝子治療製品として分類される。このように、腫瘍溶解性ウイルス製品が遺伝子治療に分類されるかどうかは、製品が組換えかどうか、また外来遺伝子を発現するかどうかによっても、また各規制当局によっても見解が分かれている。

一方、ワクシニアウイルスベクターワクチンについては、日本では組換えにより外来遺伝子が組み込まれているものは遺伝子治療製品に該当すると考えられるが、感染症予防用の組換え生ワクチンが遺伝子治療製品として分類されるかどうかはまだ明らかな見解は示されていない。FDA及びEMAでは、感染症予防用製品はワクチン（生物製剤）、がん治療用の製品は遺伝子治療製品に分類されるが、感染症予防用の製品でも、遺伝子治療と同じベクターが用いられている場合は、遺伝子治療製品の指針も参照すべきとされ、ワクシニアウイルスベクターも該当する。

増殖性ウイルス製品に関連する指針等としては、各規制当局から出されている遺伝子治療製品関連指針の他に、腫瘍溶解性ウイルス製品についてはICH 遺伝子治療専門家会議（GTDG）で作成されたICH 見解「Oncolytic virus」が2009年に発出されており、日本でも参照されている。EMAは2009年に本見解をガイダンスとして取り入れている。Table 1に本見解の項目名を示した。

Table 1 ICH見解Oncolytic Virus（2009年9月17日）の項目名

1. 緒言
2. 腫瘍溶解性ウイルスの特性解析
2.1 選択性
2.2 分子変異体
2.3 外来性病原体試験
3. 非臨床試験
3.1 選択性の評価
3.2 動物モデルの選択とその限界
3.3 薬理学/POC
3.4 生体内分布
3.5 ウイルス排出に関する考慮事項
3.6 毒性試験及び安全性試験
3.7 医薬品安全性試験実施基準（GLP）試験
4. 臨床試験
4.1 薬物動態、薬力学及び生物活性
4.2 免疫及び免疫反応
4.3 バイオセーフティー

一方、ウイルスベクターワクチンに関しては、EMAから感染症予防用の異種感染症病原体の抗原を発現するウイルスベクターワクチンに関するガイドライン（Guideline on quality, non-clinical and clinical aspects of live recombinant viral vectored vaccines）が2010年に発出されている（Table 2）。組換え生ワクチンは2001年に発出された「遺伝子導入用医薬品の品質および非臨床／臨床に関するガイダンス（CPMP/BWP/3088/99）」の適用範囲内となるが、組換え生ワクチンの品質、安全性および有効性の確保に関するガイダンスとしては不十分との理由で発出されたものである。本ガイダンスは遺伝子治療製品やがん治療用ワクチンは指針の適用範囲外であるが、これらの製品にも当てはまる部分があると考えられる。

Table 2 Guideline on quality, non-clinical and clinical aspects of live recombinant viral vectored vaccines (EMA 2010) の概要

1. 序論（背景）
2. 適用範囲
3. 総論
4. 法的根拠
5. 品質面
5.1. 総論
5.2. 遺伝学的開発
5.3. ワクチンシードロット
5.3.1. 概要
5.3.2. ワクチンシードロットの特性評価
5.3.3. 外来性因子の安全性試験
5.4. ワクチンの製造
5.4.1. ワクチンの作製
5.4.2. ハーベスト
5.4.3. ウイルスプール
5.4.4. 最終バルクワクチン
5.5. 最終ワクチンの管理
5.5.1. 同一性試験
5.5.2. 力価試験
5.5.3. 安定性試験
5.5.4. 製造の一貫性
6. 非臨床での免疫学的および安全性に関する要求事項
6.1. 概論
6.2. 薬力学試験（免疫防御および免疫原性）
6.3. 非臨床安全性試験（毒性試験）
6.3.1. 単回投与／反復投与毒性試験
6.3.2. 分布試験
6.3.3. 生殖発生毒性試験
6.3.4. 局所刺激性試験
7. 臨床試験
7.1. 諸言
7.2. 免疫原性試験
7.3. 安全性試験

- ・ 組換えウイルスの表現型の変化（弱毒化／複製レベル、指向性の変化、神経毒性）
- ・ 組換えウイルスの遺伝的安定性
- ・ 野生型株による病原性復帰や組換えによる病原性の獲得
- ・ 染色体または生殖細胞系列への組込み
- ・ 既存免疫及び免疫誘導
- ・ ウイルスの排出（Shedding）による第三者への伝播
- ・ 遺伝子組換え生物による環境影響などの課題が挙げられる。

これらの課題の中で、ウイルスやベクターの排出に関する基本的な考え方についてはICH見解が2009年に公表されている。ICH-GTDGではこの見解を基にした排出に関するICHガイドラインの作成が検討されたが、ICH-GTDGの中断により作業は中断した。FDAは2014年に腫瘍溶解性ウイルス製品や遺伝子治療用ウイルス・細菌製品の排出の試験法に関するガイドライン案 (Draft Guidance for Industry: Design and Analysis of Shedding Studies for Virus or Bacteria-Based Gene Therapy and Oncolytic Products) を公表した (Table 3)。FDAは外来遺伝子の有無で腫瘍溶解性ウイルスを遺伝子治療とすることが異なるが、本指針は遺伝子治療であるなしに関わらず適用されるものである。今後、我が国で腫瘍溶解性ウイルスを含めた増殖性ウイルスの排出の課題を考える上で参考になると思われる。

これらのガイダンスから、特に増殖性を持つウイルス製品に共通する課題をまとめると、

Table 3 Draft Guidance for Industry: Design and Analysis of Shedding Studies for Virus or Bacteria-Based Gene Therapy and Oncolytic Products (FDA, 2014) の項目名

I. 緒言
II. 適用範囲
III. 背景
IV. 臨床開発中に排出試験データを収集するのはなぜか？
V. 排出試験のデザイン：指針
A. 生物学的特性
B. 投与経路
VI. 前臨床試験における排出データの収集
VII. 臨床試験における排出データの収集
A. 臨床試験において排出データを収集する時点はいつか？
B. 試験デザイン
VIII. 排出を測定するための分析方法
IX. 排出試験データの分析
A. 排出した物質の特性
B. 排出の程度
X. 臨床排出試験報告書に含めるもの
XI. 排出が原因で未治療患者に伝播する可能性の評価
A. 未治療患者への伝播の可能性を評価するため、排出試験データのどの情報が使用可能か？
B. 未治療患者への伝播のモニタリング

#### D. 結論

増殖性ウイルス製品である腫瘍溶解性ウイルス製品とワクシニアウイルスベクター製品の開発と規制の国際動向を調査し、増殖性ウイルスに共通する安全性上の課題を示した。

#### E. 健康危惧情報

なし

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) 山口照英、内田恵理子：遺伝子治療の開発に関する我が国の規制と海外動向、Pharma Medica (印刷中)
- 2) Teruhide Yamaguchi and Eriko Uchida: Oncolytic Virus: Regulatory Aspects from Quality Control to Clinical Studies, *Current Cancer Drug Targets* (in press)
- 3) 内田恵理子、五十嵐友香、佐藤陽治：遺伝性難病に対する遺伝子治療薬の臨床開発促進のためのレギュラトリーサイエンス共同研究、衛研報告 132, 10-12 (2014)

##### 2. 学会発表

- 1) 内田恵理子：遺伝子治療用製品指針改定の取り組み—品質及び安全性の確保と遺伝子治療製品の開発促進のために、第5回国際協力遺伝病遺伝子治療フォーラム(2015.1)
- 2) 山口照英、内田恵理子、小野寺雅史：遺伝子治療製品の品質／安全性確保のための指針改定と国際調和、IMSUT-CGCTキックオフシンポジウム2014, 2014.11.21、東京
- 3) Eriko Uchida : Current situation of advanced therapy regulation in the world, 第20回日本遺伝子治療学会学術集会(2014.8) (東京)
- 4) Eriko Uchida, Yuka Igarashi, Yoji Sato, Masafumi Onodera, Teruhide Yamaguchi : Study on the biosafety of ex vivo transduced cells with retroviral vectors and Cartagena protocol domestic law, 第20回日本遺伝子治療学会学術集会(2014.8) (東京)

#### G. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし



201427029A (2/2)

厚生労働科学研究費補助金

医薬品等規制調和・評価研究事業

医薬品の品質、有効性及び安全性確保のための規制の

国際調和の推進に係わる研究

(H24-医薬-指定-026)

平成26年度

総括・分担研究報告書 (2)

研究代表者 西川秋佳

平成27(2015)年3月

厚生労働科学研究費補助金

医薬品等規制調和・評価研究事業

医薬品の品質、有効性及び安全性確保のための規制の

国際調和の推進に係わる研究

(H24-医薬-指定-026)

平成26年度

総括・分担研究報告書（2）

研究代表者 西川秋佳

平成27(2015)年3月

本報告書は平成26年度厚生労働科学研究費補助金による医薬品等規制調和・評価研究事業「医薬品の品質、有効性及び安全性確保のための規制の国際調和の推進に係わる研究」の研究成果を収録したものである。

# 目 次

## 【Ⅰ．総括研究報告書】

医薬品の品質、有効性及び安全性確保のための規制の国際調和の推進に係わる研究 西川秋佳 p. 1

## 【Ⅱ．分担研究報告書】

がん原性試験に関する研究	小川久美子 p. 15
抗がん剤の非臨床安全性評価に関する研究	中江大 p. 42
バイオ医薬品及び核酸医薬品の安全性評価に向けた新たな課題に関する研究	平林容子 p. 52
発生毒性試験の代替法に関する研究	堀本政夫 p. 67
薬物相互作用評価に関する研究	斎藤嘉朗 p. 75
遺伝毒性不純物に関する研究	本間正充 p. 163 阿曾幸男
重金属不純物に関する毒性学的ならびに薬剤学的研究	四方田千佳子 p. 198 広瀬明彦
ワクチンの非臨床ガイドライン策定に関する調査研究	松本峰男 p. 203
遺伝子治療薬に関する研究	山口照英 p. 208
医薬品一般試験法に関する研究 ー薬局方の国際調和活動ー	奥田晴宏 p. 214
バイオ医薬品の工程開発・管理並びに規格及び試験法に関する研究	川崎ナナ p. 218
医薬品の品質、有効性及び安全性確保のための規制の国際調和の推進に係わる研究 ーバイオ医薬品の品質特性評価手法に関する研究ー	橋井則貴 p. 225
バイオ後続品の評価に関する研究	石井明子 p. 232
先端バイオ医薬品規制に関する研究	内田恵理子 p. 239
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	香取典子 p. 247
小児治験ガイドラインについての研究	中村秀文 p. 365
医薬品規制情報の国際規格化に関する研究	岡田美保子 p. 368

【Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表】

p. 377

【Ⅳ. 研究成果の刊行物・別刷】

p. 385



厚生労働科学研究費補助金（医薬品等規制調和・評価研究事業）  
平成26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中薬物濃度分析法のバリデーション（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／ガイドラインがすでに出されている。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、前年度までは、クロマトグラフィーによる低分子医薬品の定量を対象としたBMVガイドライン[1]、同Q&A[2]および英訳版[3]が出された。また、今年度4月にはリガンド結合法（LBA）を対象としたガイドライン[4]、同Q&A[5]および英訳版[6]が発出された。さらに、今年度は新たに立ち上げられた高分子LC/MSワーキンググループおよびバイオマーカーワーキンググループにおいて、それぞれの測定対象へのガイドライン適用に際しての問題点について議論を行い、指針となる文書の作成を検討する。

キーワード：bioanalytical method validation (BMV), Japan Bioanalysis Forum (JBF),  
Large Molecular LC-MS, biomarkers

研究協力者：

飯嶋 康祐（協和発酵キリン(株)）	後藤理恵子（(株)JCLバイオアッセイ）
石井 明子（国立医薬品食品衛生研究所）	小林 信博（第一三共(株)）
伊藤 雅彦（(株)ボゾリサーチセンター）	斎藤 嘉朗（国立医薬品食品衛生研究所）
井上 則子（(株)JCLバイオアッセイ）	坂本 知昭（国立医薬品食品衛生研究所）
岩田 大祐（医薬品医療機器総合機構）	佐藤 玲子（医薬品医療機器総合機構）
鵜藤 雅裕（(株)新日本科学）	清水 久夫（武田薬品工業(株)）
江口 睦志（(株)LSIメディエンス）	鈴木 孝昌（国立医薬品食品衛生研究所）
大住 孝彦（大塚製薬(株)）	高村不二子（アステラス製薬(株)）
大津 善明（アステラス製薬(株)）	立木 秀尚（東和薬品(株)）
奥田 晴宏（国立医薬品食品衛生研究所）	田中 誠治（あすか製薬(株)）
角尾 浩幸（大鵬薬品工業(株)）	谷口 佳隆（(株)東レリサーチセンター）
掛樋 真彰（武田薬品工業(株)）	團野 典行（(株)JCLバイオアッセイ）
片島 正貴（アステラス製薬(株)）	中村 隆広（(株)新日本科学）
川崎 ナナ（国立医薬品食品衛生研究所）	中山 聡（味の素製薬(株)）
合田 竜弥（第一三共(株)）	野本 眞博（MeijiSeikaファルマ(株)）
	橋井 則貴（国立医薬品食品衛生研究所）

秦 信子 ((株)Ig-M)  
古田 盛 (ゼリア新薬工業(株))  
星野 雅輝 ((株)LSIメディエンス)  
細木 淳 (協和発酵キリン(株))  
前川浩太郎 (久光製薬(株))  
松永 雄亮 (医薬品医療機器総合機構)  
松丸 剛久 (大塚製薬(株))  
間渕 雅成 (田辺三菱製薬(株))  
南出 善幸 ((株)島津テクノリサーチ)  
宮井 裕子 (わかもと製薬(株))  
宮 和弘 (中外製薬(株))  
宮山 崇 (中外製薬(株))  
山口 頂 ((株)住化分析センター)  
山口 建 ((株)住化分析センター)

#### 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。これらの測定法では、生体由来成分が測定に影響を与え、分析結果に変動をもたらすことに留意する必要がある。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および有効性を評価する上で重要であり、その測定法には高い信頼性が要求されるため、生体試料中薬物濃度分析法のバリデーション (Bioanalytical Method Validation、BMV) が重要となる。

これまで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」であるが、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。

先行する米国食品医薬品局 (FDA)、欧州医薬品庁 (EMA) のガイダンス/ガイドラインに対し、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とともに、BMVに関する規制上の問題点を議論することを目的とする。

#### B. 研究方法

BMVガイドライン策定および規制上の問題点の議論を目的とした全体会議を、厚生労働省、医薬品医療機器総合機構 (PMDA)、関連する業界団体として日本製薬工業協会 (製薬協)、日本ジェネリック製薬協会 (GE薬協)、安全性試験受託研究機関協議会 (安研協)、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(表1)、まず、各企業団体により、BMVガイドライン案等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、素案の作成を、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 (Japan Bioanalysis Forum、JBF) の協力により行った(図1)。LBA、高分子LC/MSおよびバイオマーカーの個別のテーマについては、それぞれワーキンググループを立ち上げ、座長およびメンバーによりBMVに関わる指針となるべき文書に関する議論を深め、規制における分析法バリデーションの要求事項について検討した(表2~4)。

また、国際会議・学会の際には、機会を捉えて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。

#### <倫理面への配慮>

本研究では、動物を用いた研究を行っておらず、配慮すべき事項は特になし。

#### C. 研究結果

研究班の全体会議は3回行われた(表5)。議事要旨は添付資料1に示した通りであるが、個々の議論の概要、および成果は以下の通りである。

##### 1) バイオアナリシス分析法バリデーションガイドライン

H25年度はBMVガイドライン(低分子、クロマトグラフィー)「医薬品開発における生体試料中薬物濃度分析法のバリデーションに関するガイドライン」がQ&Aと共にH25年7月11日に通知[1、2]として発出され、また、英訳が事務連絡[3]として同9月13日に発出された。このガイドラインの適用範囲は、GLPおよびGCPの適用範囲と一致させ、原則

として臨床試験およびトキシコキネティクス試験に適用することとした（図2）。

また、LBAガイドラインについても、国立医薬品食品衛生研究所の石井室長を座長としたLBAワーキンググループによって、JBFタスクフォースからの素案を元に、関連団体（製薬協、GE薬協、安研協）からのコメントが集約され研究班で議論した後、Q&Aと共にH26年4月1日に通知（添付資料2、3）として発出〔4、5〕され、また、英文版（添付資料4）が事務連絡として5月30日に発出〔6〕された（表6）。これら通知等と同時に、181件寄せられたパブリックコメントへの回答122件（添付資料5）がリリースされた。さらに、公式なパブリックコメントと並行して海外の学会（米国薬学会、AAPS）から寄せられた英文でのコメントに対しても、LBAワーキンググループによりそれぞれ回答された（添付資料6）。これら全ての資料は国立医薬品食品衛生研究所のホームページ上で公開されている。〔7〕

## 2) バイオアナリシス高分子LC/MS分析法バリデーションに関する指針

国立医薬品食品衛生研究所の川崎部長を座長とし、H26年2月6日より活動（表5）を開始した高分子LC/MSワーキンググループにおいて、LC/MSを用いた生体試料中の高分子医薬品の濃度分析のバリデーションに関するガイドライン策定を視野においた議論を重ねた（添付資料7）。すでに出されたBMVガイドライン（低分子、クロマトグラフィー）は低分子医薬品を対象としたものであり、高分子医薬品の測定に関してはそのまま適用することは困難である。しかし、特に受託研究機関（CRO）の意見として、現在唯一の規制文書であるBMVガイドライン（低分子、クロマトグラフィー）を、前処理に酵素消化反応やリガンド結合を用いる高分子LC/MSの場合においても、そのまま適用される恐れがある等の意見が出された。そこで、既存のガイドラインを補う形で、何らかの指針となる文書が必要であるとワーキンググループで結論づけられた。

指針文書素案作成の依頼を受けたJBFにおいて、高分子LC/MSについて測定経験を積んだメンバーを

中心にタスクフォースが結成され、上記の高分子LC/MSワーキンググループでの意見を踏まえ、より深い議論が交わされた（添付資料7 高分子-1）。JBFタスクフォースは、低分子ガイドラインを高分子薬物分析に適用する場合の現時点での注意点を、Q&Aのような形で作成したいと考え、Q&A作成のための論点メモ（添付資料7 高分子-2）を作成した。要点は以下の通り。

1. 規制への対応を考慮したminimum requirementにする
2. 高分子LC/MSでも、特殊な前処理を行わない場合は低分子ガイドラインの判定基準に準拠できる。
3. 酵素消化反応やリガンド結合などの前処理を必要とする場合はLBAガイドラインの判定基準を参考にできる。

この論点メモについて関連団体のコメントを収集すると共に、研究班で議論を行った。関連団体のコメントでは、ガイドラインよりももう少し柔軟な対応ができる文書が望ましい、判定基準の根拠を示して欲しいなどの意見が出された。また、規制側からは、低分子のBMVガイドラインをすべての高分子の測定法に当てはめる必要性がないことは理解できるが、申請の前例が未だ少なく十分な審査経験を有しているとは言い難い状況で、ガイドラインのQ&Aの様な形での指針文書の作成は時期尚早ではないかとの意見であった。また、文書（添付資料7 高分子-2）はコンセプトペーパーまたは論文投稿の様な形でのリリースが望ましいとの意見であった。

これらの意見をもとにワーキンググループ内で再検討した結果、高分子LC/MSの現状と課題に関して、研究班内において共通認識を持ってもらうことが重要と考え、本研究報告書にQ&A案論点メモ作成の過程で行った議論の経緯と内容について（添付資料7 高分子-1）を、Q&A論点メモ（添付資料7 高分子-2）と一緒に添付することで対応することとした。高分子LC/MSワーキンググループとしては、来年度も何らかの形で活動を継続し、低分子ガイドラインを高分子薬物分析に適用する場合の現時点での注意点を、Q&Aのような形で作成できればと考えて

いる。

### 3) バイオマーカー等の内因性物質測定の分析法バリデーションに関する指針

国立医薬品食品衛生研究所の鈴木室長を座長とし、H26年9月3日より活動（表5）を開始したバイオマーカーワーキンググループにおいて、バイオマーカー等の内因性物質測定の指針となる文書策定を視野においた議論を重ねた（添付資料8）。すでに出された2つのBMVガイドライン（低分子・クロマトグラフィー、LBA）は内因性物質が原則として適用範囲から外されており、内因性物質の測定に関しては、今あるガイドラインをそのまま適用することは技術的に困難な面がある。そこで、既存のガイドラインを補う形で指針となる文書（コンセプトペーパー）が必要とされた。

ワーキンググループでは文書作成にあたり、以下の点を踏まえることとされた。

1. 測定法原理はLBAとLC/MSに限定し、同一のコンセプトペーパーに記載する。
2. 適応範囲は開発後期の臨床試験で、申請資料に盛り込まれるバイオマーカーデータに限定する。
3. コンパニオン診断薬は適用範囲外とする。
4. 医薬品開発においてバイオマーカーを活用しやすくなるようなガイドとする。

指針文書素案作成の依頼を受けたJBFにおいて、内因性物質測定について測定経験を積んだメンバーを中心にタスクフォースが結成され、指針となる文書のJBFタスクフォース案の作成を行った。

この文書案について関連団体のコメントを収集すると共に研究班で議論を行い、一部修正した。関連団体より、「開発後期」という書き方に異議があったため、JBFとしては、なぜ開発後期としたかという理由を明確にする必要があると考えた。fit-for-purposeの様な概念や具体的な事例の記載を望む声も多数あったが、今回は時間が限られているため、記述は困難との結論になった。これら集まったコメントの詳細については添付資料8に記した。一部修正したJBFタスクフォース案（添付資料8）を

元にした班会議での議論の中で、規制側からは、以下の様な意見が出された。

- 審査事例の集積がほとんどなく、十分な審査経験を有しているとは言いがたい状況で、分析法バリデーションについて、行政側と合意した文書とすることは難しい。
- 内容が測定法のバリデーションという狭い範囲に限られており、単に内因性物質の測定の際の留意点として作成し、バイオマーカーの文言は入れない文書が望ましい。
- 未だ研究班の中で十分は議論が行われておらず、JBF案はJBFによるコンセプトペーパーまたは論文としてのリリースが望ましい

上記の意見を踏まえ、ワーキンググループ内で再検討した結果、タイトルは当初の「医薬品開発においてヒト内因性物質をバイオマーカーとして利用する際の定量分析法に関する留意点」から「医薬品開発においてヒト内因性物質を測定する際の定量分析法に関する留意点」と変更し、報告書本文に議論の経緯について記述することを提案した。

しかしながら、コンセプトペーパー案については規制当局側との十分な議論が今後必要であり、あくまで、ワーキンググループとは独立したJBF案であることを明確化することとした。それに伴い、まだ議論があるものの、「はじめに」の項では、JBFの意向を反映した文言とし、今後の検討課題とした。

今回、時間不足のため研究班内での合意に至る十分な議論ができなかったが、今後、これまでの意見を踏まえ、何らかの基準となる文書の策定を検討することが望ましいと考えられる。

## 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及びその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、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