

式(1) :

$$\text{Concentration}(\mu\text{g/g}) = \frac{\text{PDE}(\mu\text{g/day})}{\text{daily amount of drug product}(\text{g/day})}$$

リスクアセスメントで特定された対象元素に関し、製剤のいずれの構成成分もオプション1で算出される許容濃度を超えない場合、これらの構成成分はどのような比率でも製剤に用いることができる。このオプションで得られた許容濃度を用いない場合には、オプション2a、2b又は3に従わなければならない。オプション2a：1日摂取量を用いる製剤に対する、製剤の構成成分のすべてに共通な元素不純物の許容濃度限度値：

このオプションは、1日摂取量を10 gと仮定していない点を除けば、オプション1と同様である。各元素に共通な許容濃度は、式(1)と実際の1日最大摂取量から求める。

このアプローチでは、各々の対象元素に対し、実際の1日摂取量に基づいた固定の共通最大濃度を各構成成分1g当たりの μg 数として求めることができる。

オプション2b：1日摂取量を用いる製剤に対する、個々の構成成分中の元素不純物の許容濃度限度値：

このオプションでは、特定の製剤成分中に特定の元素不純物が存在する可能性に関して、追加情報が求められる。申請者は、構成成分中の元素の分布に基づいて許容濃度を設定してもよい（例えば、問題となっている元素が構成成分中に高濃度で存在する場合）。製剤の構成成分中に存在する可能性があることと確認された各元素について、式(2)に記載したように、各構成成分の物質質量に申請者が設定した各原材料中の許容濃度を乗じ、製剤中のすべての構成成分について合計することによって、製剤中の元素不純物の予想最大量を算出することができる。リスクアセスメントにより、ある特定の構成成分において、ある特定の元素が潜在的な不純物ではないと判断された場合、その構成成分中の当該元素について定量的な値を求める必要はない。このアプローチにより、製剤のある構成成分中の元素の最大許容濃度を、オプション1又はオプション2aの限度値よりも高く設定することができるが、これは他の構成成分の許容

濃度を低く設定することにより補う必要がある。製剤の各構成成分について、成分固有の限度値により、各元素のPDE値が満たされることが保証されることを、式(2)を用いて立証してもよい。

式(2) :

$$\text{PDE}(\mu\text{g/day}) \geq \sum_{k=1}^N C_k \cdot M_k$$

k = 製剤中のN個の構成成分のそれぞれの指

C_k = 構成成分k中の元素不純物の許容濃度 ($\mu\text{g/g}$)

M_k = 製剤の最大1日摂取量におけるの構成成分kの質量 (g)

オプション3：最終製剤の分析：

最終製剤で各元素の濃度を測定することもできる。元素不純物の最大許容濃度は、式(1)を用いることにより、製剤の最大1日総投与量から算出することができる。こ

8章 スペシエーション及びその他検討すべきこと

スペシエーションとは、同位体組成、電子状態、酸化状態及び／又は複合体もしくは分子構造などを含む化学種間の元素の分布である。同一元素で異なる化学種の毒性が知られている場合、PDE値は製剤中に含まれると予想される化学種に関する毒性情報を用いて設定される。

元素不純物の測定値をリスクアセスメントに利用する場合、製剤中の元素不純物の総量を用いてPDE値に準拠しているかどうかを評価してもよい。申請者は、スペシエーションに関する情報提供を求められることはないが、これらの情報を利用することにより、特定された化学種の毒性が付録3のモノグラフで使用されている化学種と異なる場合に、その評価で得られたレベルの妥当性を示すことができる。

構成成分中の元素不純物の総量をリスクアセスメントに利用する場合、申請者は、元素不純物が検出される構成成分からの元素不純物の遊離に関する情報提供を求められることはない。しかし、これらの情報を利用することにより、製剤の元素不純物の総

量に基づくレベルよりも高いレベルで設定することの妥当性を示すことができる。

9章 分析方法

元素不純物の測定は、それらの意図した目的に適した、適切な手順を用いて実施すべきである。特に妥当性が示されない限り、リスクアセスメントの過程で管理の必要性が特定された個々の元素不純物に対して、固有の試験を実施すべきである。元素不純物の量を測定するには、薬局方収載の試験法又は適切な代替法を使用すべきである。

10章 ライフサイクルマネジメント

ICH Q10で示された品質システム及び経営陣の責任は、ライフサイクルの各段階における科学及びリスクに基づくアプローチの使用を奨励するものであり、それにより製品ライフサイクルの全期間を通じて継続的改善を促進する。製品及び製造工程の知識は、開発から市販、製品の終結に至るまでの製品のライフサイクルにわたって管理されなければならない。

開発から得られた知見を商業生産経験及びデータと組み合わせることによって、製造工程の理解を深め、工程の稼働性能の更なる向上に利用できる。そのような改善によって元素不純物の管理を向上させることができる。このガイドラインが公表される時点では、いくつかの構成成分について得られる元素不純物のデータは限られていることが分かっており、申請者が行う管理は限定されるかもしれない。新たなデータが得られれば、管理戦略を見直すことになるかもしれない。

製剤又は構成成分に対する変更が製剤中の元素不純物の量に影響を及ぼす可能性がある場合には、元素不純物について設定されている管理を含め、リスクアセスメントを再評価しなければならない。そのような変更には合成経路、添加剤の供給業者、原材料、工程、設備、容器施栓系又は施設の変更等が含まれるが、これらに限定するものではない。いずれ

の変更も社内変更マネジメントプロセス (ICH Q10) の対象であり、必要に応じて、各極の規制要件の対象となる。

・PDE値設定手法（付録1）のQ3Cからの修正

付録1の記載の殆どはQ3Cのガイドラインと同じものであるが、Q3Cとは異なる方針に基づいて設定したPDE値の設定手法に関する記載に修正が行われた。具体的には、PDE値としてATSDRに収載されているMRLを使用したものもあり、その場合、通常NOAELからPDEを求める場合の修正係数はすでにMRLの導入に組み込まれているので、さらに修正係数を使用しなかったこと。遺伝毒性発がん性に関しては、ユニットリスク係数を用い、1:100,000のリスクレベルをPDE値の設定として使用したこと。また、吸入剤のいくつかのPDE値は、職業曝露限界値を用いて修正係数を適用しており、さらに呼吸器系特異的な影響を考慮して算出したことが、追記された。

・付録4の事例解説

ステップ2文書では、表A4.4、表A4.5などには、検出限界としてNDと表示されていたが、最終文書では日本の提案により、検出限界は定量限界と変更され、表には<LoQと記載されることとなった。

分析化学的な立場としては、定量限界以下の数値を記載して議論することは考えられないため、変更は必須であった。

・パブリックコメントへの対応と問題点

ステップ2文書に対して我が国で行われたパブリックコメントでは235件のコメントがあり、編集上のコメントや翻訳の問題等を除き、129件に絞って英訳してEWGに送付した、そのうち重要なもの22件については、電話会議やミネアポリスの会議で議論された。

これらのコメントの殆どは、ステップ4文書への改訂作業の中で対応されたが、ガイドラインで提示されている以外の投与経路やPDE値よりも高い限度

値を設定することについて、より判りやすい事例が求められている他、ガイドラインで規定されている以外の元素不純物、高容量注射剤の扱い、リスクアセスメントの実施、管理戦略の開発、PDE値から濃度限度値の換算する方法などについても、具体的な例示が必要であろうと思われる。

・今後の流れ

ICHQ3Dガイドラインの国際的に整合のとれた取り込みを実現するためには、ガイドラインの策定だけでは困難であることが実感され、ステアリングコミッティーに対して、ガイドラインの実施作業部会（IWG）の活動を開始し、トレーニングマテリアルの作成が必要であることを申請した。今後、6月始めに予定されているIWGの会議メンバーのみによる対面会合を目標にトレーニングマテリアルを完成させることを計画している。その後、各極において、共通の資料を用いるワークショップなどを実施することも検討されている。

尚、今後のその他の課題といえる状況としては、USP及びEPがそれぞれに既存の医薬品や原薬に対して、Q3Dガイドラインの適用時期を公表している点があ

る。今後、各極内での調整によりガイドラインの適切な取り込みが望まれる。

E. 健康危険情報

該当する情報なし

G. 研究発表

1. 紙上発表

なし

2. 学会発表

広瀬明彦、Q3Dガイドラインステップ2の元素の毒性評価法の概要、第15回医薬品品質フォーラムシンポジウム（2013.11、東京）

四方田千佳子、Q3Dガイドラインステップ2の品質に関する概要、第15回医薬品品質フォーラムシンポジウム（2013.11、東京）

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 知的所有権の取得状況

なし

2. 実用新案登録

なし

－ワクチンの非臨床ガイドライン策定に関する調査研究－

研究分担者：松本 峰男（(独)医薬品医療機器総合機構 信頼性保証部）
研究協力者：真木 一茂（(独) 医薬品医療機器総合機構 再生医療製品等審査部）
小松 真一（グラクソ・スミスクライン株式会社 前臨床開発部）
松井 元（一般財団法人 化学及血清療法研究所 病理部）
土本まゆみ（サノフィ株式会社 開発薬事第1部（平成25年度まで））
オブザーバー：小野寺博志（(独)医薬品医療機器総合機構 新薬審査部）
笛木 修（(独)医薬品医療機器総合機構 新薬審査部）
澤田 純一（(独)医薬品医療機器総合機構 再生医療製品等審査部）
渡部 一人（中外製薬株式会社 研究本部）

研究要旨

ワクチンのうち、がん等に対する治療用ワクチンについては、ICHにおけるトピックス化を視野に入れ、治療用ペプチドワクチンの非臨床安全性試験のための考察内容を国際誌に発表した。感染症予防ワクチンについては、WHO「ワクチンアジュバント及びアジュバント添加ワクチンの非臨床試験ガイドライン」（平成26年）の策定に貢献し、かつ関連の総説を発表した。また、これら両者に関わるアジュバントについて、規制上の問題を「わが国の薬事上の取り扱いにおけるアジュバントの位置づけについての考察」として国内誌に発表した。

キーワード：治療用ペプチドワクチン、アジュバント、感染症予防用ワクチン、WHOガイドライン

A. 研究目的

ワクチンという名のつく医薬品は広範囲にわたっているが、製剤的な観点からは①がんやアルツハイマー病等の非感染症に対する治療用ワクチン（免疫治療剤）、②感染症予防用ワクチン、及び③その両者に関わる存在としてのワクチンアジュバント（以下、アジュバント）の大きく3つに分けて考えることができる。現状では、これらいずれに関しても非臨床安全性試験のガイドラインについての国際的調和は達成されていない、あるいは一部達成されていたとしても適切にアップデートされていない部分が多いと考えられる。当研究分班では、これらワクチンあ

るいはアジュバントについてのガイドラインの国際的整合化を図る、あるいはその調査研究を行うことを研究目的としている。

B. 研究方法

1) がん等に対する治療用ペプチドワクチンについては、ICHのsafetyブレーンストーミングにおいてトピックス化の候補となったことから（2009年セントルイス会議、さらに2013年大阪会議）、研究分班発足当初（平成22年度）より、そのために必要な非臨床安全性試験の内容が議論された。複数回の分班会議を経て、議論内容を平成

25年度研究報告書の中の「治療用ペプチドワクチンのための非臨床安全性試験に関するコンシダレーションペーパー」として発表した。本コンシダレーションペーパー内容を平成26年1月にRegulatory Toxicology and Pharmacology誌に英文にて論文投稿した。

- 2) 感染症予防ワクチンのための国際的な非臨床ガイドラインとしては、2005年発出のWHO「ワクチンの非臨床評価ガイドライン」が存在するが、近年、新規性の高いアジュバントを含むワクチンが数多く開発されつつあることに対応して、新たなガイドラインの確立が望まれていた。WHOにおいて新たなガイドラインの策定活動が2011年9月より開始されていたが、2012年6月、分担研究者の所属する医薬品医療機器総合機構に対し、ガイドライン策定活動の参加要請があったため、厚生労働省医薬食品局とも協議の上、参加要請に応じた。当研究分班としては2011年9月に回覧された1st draftに対するコメント送付を機に議論を開始した。その後、2st draftに対するコメント送付を経て、同年11月27及び28日にWHO本部（スイス・ジュネーブ）において開催されたガイドライン策定のための非公式専門家会議（約20ヶ国、40名の産官学メンバー）に、分担研究者がtemporary advisorの立場で参加した。同会議終了後、研究分班として3rd draftに対するコメント送付を送付した（2013年2月25日）。

なお、アジュバントに付随する可能性のある安全性懸念の一つに自己免疫疾患があると言われる。本テーマについては、上記WHOガイドラインの策定活動とほぼ軌を一にしてILSI/HESI（国際生命科学研究機構／環境保健科学研究所）における産官学の共同研究プロジェクト「ワクチンアジュバントと自己免疫」での議論が開始され、分担研究者はプロジェクト発足当初より運営委員として活動に携わった。

2012年10月18及び19日に同プロジェクトのワークショップが開催され（オランダ・アムステルダム市）、討議に参加した。

- 3) 現在、薬局方上での解釈により、わが国の薬事上の取り扱いにおいてワクチンアジュバントは添加物として位置づけられている。しかしながら、添加物の範疇を超えるアジュバントが出現しつつあることから、毒性評価を含むアジュバントの規制に関し、様々の矛盾を来している。研究グループでは当該問題を重視し、既に平成22年度研究報告書において考察文書を発表していた。当該内容をさらに発展させた文書を、平成24年度においてレギュラトリーサイエンス学会誌に投稿した（平成25年1月）。

C. 研究結果

- 1) 平成26年1月にRegulatory Toxicology and Pharmacology誌に投稿していた「治療用ペプチドワクチンのための非臨床安全性試験に関するコンシダレーションペーパー」は、major reviseを経て受理された（同6月）（原著、Matsumoto M, et al., 2014, 後掲）。
- 2) 3rd draftに対して研究分班としてのコメントを送付していたWHOのガイドライン案は、その後、2度のパブリックコメント募集、さらにWHO-ECBS（Expert Committee on Biological Standardization；生物製剤標準化専門家委員会）での考査を経て（2013年）、2014年にWHO-Technical Report Series（TRS 987, Annex 2, p.59-100）の‘Guidelines on the nonclinical evaluation of vaccine adjuvants and adjuvanted vaccines’（邦訳「ワクチンアジュバント及びアジュバント添加ワクチンの非臨床試験ガイドライン」）として発出された（脚注¹⁾）。

なお、ILSI/HESIのプロジェクト「ワクチンアジュ

¹ http://www.who.int/biologicals/areas/vaccines/TRS_987_Annex2.pdf?ua=1

バントと自己免疫」のワークショップで得られた結論は、直後に開催されたWHOガイドライン策定のための非公式専門家会議（上記）でも確認され、ガイドライン文言に反映された（後述）。

研究分班として今回のWHOガイドラインに関する総説を公表した（総説、松本ら、2014、後掲）。

- 3) 平成25年度においてレギュラトリーサイエンス学会誌に投稿していた論文は、「わが国の薬事上の取り扱いにおけるアジュバントの位置づけについての考察」として受理された（原著論文、松本、2013、後掲）。

D. 考 察

- 1) 発表論文（原著、Matsumoto M, et al., 後掲）は主に、「治療用ペプチドワクチンの非臨床安全性評価及びその適切動物種選択の考え方」、「治療用ペプチドワクチンにおける動物種/モデル選択について」及び「治療用ペプチドワクチンの非臨床安全性試験デザイン」の3項目から構成されている。

本論文においてはまず、治療用ペプチドワクチンにおいて問題となる安全性懸念の内容を、感染症予防ワクチンとの比較において概念的に明らかにするとともに、標的となるがん抗原等が正常部位において発現するか否かについての情報を得ることが重要であることを主張した。次に、治療用ペプチドワクチンにおいては、本来は当該懸念について評価できる動物種を適切動物種とすべきであるが、細胞性免疫に伴うHLA拘束性が存在するため、安全性評価に関して動物からヒトへの外挿性を期待することは困難であり、したがって、実質上、そのように使用可能な適切動物種が存在し得ないことを明らかにした。最後に、治療用ペプチドワクチンのための非臨床安全性試験としては、off-target毒性を評価するための動物試験が標準的なものとなること、並びに臨床試験での安全性に関するモニターが重要となることを説明した。

- 2) WHO「アジュバント及びアジュバント添加ワクチンの非臨床試験ガイドライン」は、わが国の「感染症予防ワクチンの非臨床試験ガイドライン」（薬食審査発0527第1号、平成22（2010）年5月27日発出）を含めた関連ガイドラインの内容を踏まえて作成されている（原著、Sun Y, et al.）。また2005年版のWHOガイドライン（上記）と比較した場合、「アジュバントの使用に関する理論的根拠」や「ヒト初回投与試験」等、全く新たな項目が付け加わっているのが特徴である。一方、既に2005年版（ワクチン非臨床）に存在していたものの、内容について修正された事項として「ガイドラインの適用範囲」、「アジュバント添加ワクチンの反復投与毒性試験における投与回数」、「同、生殖発生毒性試験における投与時期」、「アジュバント単独での毒性評価」等が存在する。とりわけ「アジュバント単独での毒性評価」については、これまで「新規アジュバントを開発する場合、それが用いられるワクチン製剤とは別に独立した毒性試験を実施し、かつ「その毒性試験においては化学合成医薬品と同様の基準で2種動物（げっ歯類及び非げっ歯類）の使用が必要」と明記していた2005年版のWHOガイドライン内容を異にしている。従って、これは今回のガイドラインにおいて最も変更の大きい事項の一つと言える。

作用機序より懸念されていたアジュバントと自己免疫疾患との因果関係の仮説に対し、ILSI/HESIのプロジェクト「ワクチンアジュバントと自己免疫」のワークショップで得られた結論は否定的であった。（van der Laan, J.W., et al., 2015）当該結論を踏まえ、WHOガイドラインの中に「現時点において、アジュバントにより自己免疫疾患が誘発されるという有力な臨床的な証拠は存在せず」、「現時点で、本件に関する確固とした動物モデルは存在しない」、さらに「自己免疫疾患は複雑かつ多要因が絡む現象であり、追加のバイオマーカーを同定するさらなる研究が必要である」の文言が加えられた。

なお、研究分班として発表した総説において、以上の事項を詳述している（総説、松本ら、2014、後掲）。

3) 論文において主張した点は以下の通りである（原著論文、松本、2013、後掲）。

わが国の薬事上の取り扱いにおけるアジュバントの位置付けははまだ確立していない。わが国でアジュバントに与えられているのは添加物（薬理作用を示さず、無害）という位置づけであるが、近年、これらの添加物の範疇を超えたアジュバントが登場してきたことで、以下に述べるようなワクチン規制に関わる問題が生じつつある。すなわちアジュバントについて、i) 分類上は添加物ではありながらも、一般的な使用前例としては扱わない旨の但し書きを毎度審査報告書に記載する必要が生じる、ii) CTDで割り当てられる記載範囲が限られる、iii) GMP準拠を求める法的根拠がない、iv) 要求される毒性評価項目が過剰、あるいは逆に不十分となる恐れがある、及びv) 毒性試験（例；遺伝毒性試験）を行うタイミングが遅れる恐れがあるという問題である。アジュバントはそれ単独で承認されるべき性質のものではなく、各国ともワクチン製剤の承認の一環として扱っている。ワクチン製剤の有効成分として、アジュバントを取り扱うということは適切でないため、今後の薬事上の取り扱いにおいて欧米同様、添加物でない、アジュバント独自の位置づけが確立されるべきと考える。

E. 結論

過去、ICHのsafetyブレーンストーミングにおいて、ワクチンは二度、トピックス化の候補となっている（2009年セントルイス会議、2013年大阪会議）。ICH-S9ガイドラインでは抗がんワクチンを適用範囲とはしていないこともあり、これらはいずれも、主としてがん等に対する治療用ワクチンのためのガイドラインを想定したものと理解される。その治療用ワクチンの開発に必要な非臨床安全性試験は、感染症予防ワクチンのために必要な非臨床安全性試験

とは大きく異なると考えられる。当調査研究分班では本件に関する事項を「治療用ペプチドワクチンのための非臨床安全性試験に関する考察」としてまとめ、国際誌に発表した（原著、Matsumoto M, et al., 2014, 後掲）。

一方、感染症予防ワクチンのための国際的な非臨床ガイドラインについては、ICHよりはむしろWHOで取り扱われるべきものと一般に認識されている。WHOでは近年、新規性の高いアジュバントが数多く開発されつつあることに対応して新たなガイドライン策定が検討されていたが、当調査研究分班よりガイドライン策定活動に参加した結果、2014年にWHO「アジュバント及びアジュバント添加ワクチンの非臨床試験ガイドライン」の発出をみた（総説、松本ら、2014、後掲）。

アジュバントは治療用ワクチン及び感染症予防ワクチンの両方において用いられる免疫補助剤である。当調査研究分班においては、アジュバントがわが国において便宜上、添加物として位置づけられていることに伴う問題を「わが国の薬事上の取り扱いにおけるアジュバントの位置づけについての考察」としてまとめ、国内誌に発表した（原著、松本、2013、後掲）。

F. 健康危惧情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) 書籍

なし

2) 雑誌

・原著

○Sun, Y., Gruber, M. and Matsumoto, M.: Overview of global regulatory toxicology requirements for vaccines and adjuvants, Journal of Pharmacological and Toxicological Methods, 2012, 65: 49-57.

○松本峰男: わが国の薬事上の取り扱いにおけるアジュバントの位置づけについての考察, レギュラトリーサイエンス学会誌, 2013, 3: 175-180.

○Matsumoto, M., Komatsu, S., Tsuchimoto, M., Matsui, H., Watanabe, K., Nakamura, K., Amakasu, K., Ito, K., Fueki, O., Sawada, J., Maki, K. and Onodera, H.: Considerations for non-clinical safety studies of therapeutic peptide vaccines, Regulatory Toxicology and Pharmacology, 2014, 70: 254-260.

○van der Laan J.W., Gould S., Tanir J.Y., ILSI HESI Vaccines and Adjuvants Safety Project Committee, Safety of vaccine adjuvants: Focus on autoimmunity, Vaccine, 2015 33: 1507-14.

・総説

○松本峰男, 小松真一, 土本まゆみ, 松井元, 真木一茂.: ワクチンの非臨床試験ガイドライン・・・新発出のWHOガイドラインを中心に, Bio Industry, 2014, 31: 48-54.

2. 学会発表

○小松真一: 治療用ペプチドワクチンのための非臨

床安全性試験、2014年、第41回日本毒性学会学術年会シンポジウム「ワクチンの安全性評価」(座長; 松本峰男、石井健)

○松本峰男: ワクチンアジュバント開発に必要な非臨床安全性評価 - WHO ガイドラインを中心として、2014年、第7回次世代アジュバント研究会(独立行政法人 医薬基盤研究所主催、大阪府豊中市)

○Mineo Matsumoto: ‘Consideration on nonclinical studies required for therapeutic peptide vaccines’, 2012年、2nd International Conference on Vaccines and Vaccination (‘Vaccines-2012’), (OMICS主催、米国シカゴ市)

H. 知的財産所有権の出願・登録状況

1. 特許取得
該当しない

2. 実用新案登録
該当しない

3. その他
該当しない

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24～平成26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・主任研究官）

研究要旨

遺伝子治療薬の臨床開始前（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を必要とする場合もある。

2012年にEMAで承認された重篤な高脂血漿を呈するリポタンパク質リパーゼ（LPL）欠損症に対する遺伝子治療薬であるGlyberaの評価レポートを調査し、非臨床試験として要件を調査し、1）ヒトと同様の病態を示すモデル動物で、ヒトでの有効性を示唆するデータを明らかにすること、2）モデル動物の選択に当たっては、高脂血漿の動態や黄色腫のみならずLPL欠損患者で臨床上、最も問題となる急性膵炎がモデル動物で発症することが求められ、用いたモデル動物でGlybera投与により血中トリグリセリドの正常化とその持続性が示され、3）毒性試験では、3用量での単回毒性試験が実施され、急性炎症と筋肉の退行性反応が認められたが、これは発現しているLPLの種差のためとされた。4）NOELが 10^{11} gc/kg体重とされた。4）遺伝毒性試験やがん原性試験は実施されていないが、挿入変異や挿入変異に基づく造腫瘍性試験が実施されており、挿入変異により造腫瘍性のリスクは少ないとされている。

FDA及びEMAから発出されている遺伝子治療ガイドラインで共通しているものを取り上げ、その基本的要件について調査を行った。これらのガイドラインでは欧米の当局が遺伝子治療に品質や安全性確保、さらには環境影響について共通する必要な事項が明らかにされている。長期フォローアップで対象とすべきウイルスベクターやFIHまでに明らかにすべき非臨床データについては我が国の指針の改定でも参考にすべき情報が多い。

キーワード：FIH、ウイルスベクター、AAV

A. 目的

2012年に先進国として初めて遺伝子治療薬がヨーロッパ医薬品庁（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アデノウイルスやレトロウイルスベクター、プラスミドを用いた開発から、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の方策として、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

疾患を対象とした開発が多くなってきている。また、レーバ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前(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や米国食品医薬品局(FDA)は遺伝子治療薬の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。また、先進国で最初に遺伝子治療薬Glyberaの審査での評価レポートを対象として治験開始時までに実施すべき非臨床試験と承認時に提出すべき臨床試験データについてEUの考え方を整理した。さらに、EUやFDA数多くの遺伝子治療ガイドラインを発出しているが、共通しているものは重要性が高いと想定され、3つの共通するガイドラインについて求められている要件について明らかにした。

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。

EMAが先進国で最初に承認した遺伝子治療薬であるGlyberaと、EMAが承認しなかった2つの遺伝子治療薬について、その審査に関する報告書を解析した。特に、非臨床試験について承認時、承認申請時にどのようなデータを求めたのか、他のバイオ医薬品等との考え方の差異についても調査した。

EMA及びFDAは遺伝子治療関連ガイドラインを数多く発出しているが、その中で共通している3つのガイドラインを取り上げ、その要件について調査した。すなわちFIHまでに明らかにしておくべき非臨床データ、治験申請(IND)や承認申請等で求められる環境影響評価、さらに遺伝子治療を受けた患者の長期フォローアップに関するガイドラインで共通している要件や差異のある要件について明らかにした。また、これらの調査の中で特にFIHまでに必要な非臨床試験データの要件について整理し、我が国の指針改定で盛り込むべき要素についても整理してみた。

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、非臨床試験全般について必須と考えられる試験や遺伝子治療薬として基本的には求められない試験について記載されている。遺伝子治療の生体内分布、投与量設定のために試験、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までに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. 1-2. 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。

III. 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
- 患者の適格性基準のサポートデータの提供
- 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（一般的な公衆、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。また製品開発における開発後期において求められる生殖毒性や発生毒性試験のように、開発後期で求められ非臨床試験の実施に際のプラットフォームを確立するためにも有用なデータでなければならない。

B. 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

可能であれば患者に投与されることになる遺伝子治療細胞治験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験薬の各ロットは承認申請等の将来設定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験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。

しかしながら場合によっては、臨床試験に用いる製品に関して、種特異性等の観点から（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) 動物に投与したデータが治験薬の試験としては有用な情報が得られない可能性がある。このような状況を考慮して非臨床試験プログラムのデザインでは、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。

2. 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ジェニック動物やノックアウト動物) や大動物 (ヤギ、ブタ、羊、ウマ) などの通常は使用されない試験動物も、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、おそらく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、あるいは投与ルートなども考慮し、必要であれば複数種の動物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がある動物である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の試験 (性能試験や免疫学的の表現型の解析、形態学的評価) や

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。遺伝子改変された齧歯類(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、羊、ウマ) などの通常は使用されない試験動物も、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、おそらく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、あるいは投与ルートなども考慮し、必要であれば複数種の動物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がある動物である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の試験 (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。

1. 疾患/傷害病態のモデル動物の選択

疾患/傷害病態のモデル動物を用いて実施する非臨床試験は投与量と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疾患/傷害病態のモデル動物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・ベフィットをより明らかにするよう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を見出すこともできるかもしれない。

しかし、これらの前臨床試験に用いられる動物の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) モデル動物由来や基本的な情報の不十分

さ

- c. モデル動物の生理学的、解剖学的な制約からの技術的限界
- d. 動物飼育の問題
- e. 目的とする疾患／傷害病態などのヒト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；そのために一つも動物モデルだけで、患者に対する遺伝子細胞治療薬の効果や安全性の正確な予測を行うことは困難な場合が多い。

治療承認申請に当たっては、選択した動物モデルが目的とする疾患を持つ患者の病態を反映しており、有用性があることを示すと共に遺伝子細胞治療薬の安全性評価が可能であることを次のような点から明らかにすること；

- a. 疾患／傷害病態モデル動物とヒトの疾患／傷害病態の病理学的・生理学的な類似性と差異
- b. モデル動物における疾患／傷害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ある場合）
- c. モデル動物の疾患・傷害病態に対して投与する治療薬が有害な作用を示す場合（モデル動物で惹起される疾患・傷害の病態に対して治療薬が有害な作用を示す場合や治療薬が新たな毒性を示す場合）

FDAとしては、開発メーカーは適切なモデル動物を選択する際に可能であれば複数の動物モデルを使用することを考慮することを推奨する。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、一つの治療薬の機能面と毒性の面の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) 大動物と小動物の使用、2) 複数の小動物が必要とされるケース、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が書かれているCBERのガイドラインを参照されたい（2-4）。

4. 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、目的とする患者に対して遺伝子細胞治療薬が適用可能であり、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を参照されたい）

POC試験から次のような点を明らかにするべきである：

- a. 薬理学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療薬の投与タイミング
- d. 最適投与スケジュール
- e. 目的とする治療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療の妥当性を示すことになると共に目的とする治療の実施可能性を示すことにもなる。遺伝子細胞治療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。

遺伝子細胞治療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療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療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疾患・傷害モデル動物を用いることが推奨される。用いる遺伝子細胞治療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。

5. 毒性試験

遺伝子細胞治療薬の安全性を評価するための前臨床試験により計画している臨床試験のリスクーベネフィットバランスが許容できるものであるかを明らかにすることが求められる。安全性評価では想定される局所や全身性の毒性とその定量や、毒性が急性ものか遅延性に発現するか、想定される毒性の対処が可能か、見られる毒性と治療薬の投与量との関係などを十分に評価できることが必要とされる。

毒性試験に当たっては、次のような点を考慮する必要がある：

- a. 目的とする効能
- b. 研究として実施された当該治療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療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. 治療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. 目的とする治療薬に対して各種モデル動物の生物学的反応性
- f. 治療薬の作用機作
- g. 治療薬の本質的な特性
- h. 疾患／傷害病態モデル動物を用いる場合のその病理生理学

遺伝子細胞治療薬の毒性評価では治療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。従来の毒性試験で用いられる一般的なモデル動物が正常な動物であったとしても疾患／傷害病態モデル動物を用いたPOC試験において遺伝子細胞治療薬の想定される毒性を評価できるように、重要な安全性パラメーターを取り入れるためにそのデザインを変更することがある；例えば薬理試験と毒性試験を同時に実施するような試験デザイン。

毒性試験の全体のデザインは可能な限り目的とする臨床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、それぞれランダム化してグループに分けること。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、製剤のみの投与手技、医療材料のみの投与である。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. 遺伝子細胞治療薬の目的とする臨床試験での投与量が含まれるように十分幅広い範囲の投与量を用いた試験。POC試験から得られた結果は、前臨床試験の安全性評価と臨床開発で

の投与レベルを反映するものでなければならない。前臨床試験で用いる最高投与量は動物の大きさや、投与対象とする組織量やその大きさ、投与ルート、あるいは製造レベル等による限界があるかもしれない。選択した投与レベルについてそれをサポートするデータと共に妥当性が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用いられる投与機器を治験薬の投与に際しても用いるべきである；もし臨床試験で用い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できなければならない。本ガイドラインのII I. B. 6で記載してあるように、投与機器や投与方法について安全性評価について追加の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ポイントで動物を処分し、その毒性を検討すること。どの時点で動物をサクリファイするかは用いるモデル動物や遺伝子細胞治験薬、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運命と同様にPOC試験では、試験期間やサクリファイの間隔の選択について有用な情報を与えなければならない。
- g. 想定され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（可能であれば死亡原因を含めて）、臨床的知見、体重、身体検査、食事摂取量や食欲、水分摂取量（可能であれば）、臨床病理学（血清生化学、血液学的検査、凝固活性、尿検査）、器官重量、全身病理、病理組織学的検査が含まれる。
- h. 用いる遺伝子細胞治験薬や目的とする疾患に特異的な追加すべきパラメーター。治験薬特

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、行動反応試験、神経検査、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、過形成や腫瘍化などの異常／転移性の増殖の有無、推定されるバイオマーカー、免疫病理組織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、形態学的にも機能的観点からの評価が含まなければならない。また、可能であれば非終端と終端する結果の間に関連性がないか明らかにすること（The data collected should include both morphological and functional assessment, whenever possible, to determine whether an association exists between non-terminal and terminal findings.）。認められた毒性の回復性について言及する必要がある。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。

- i. これらの前臨床データは臨床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）を確立するために用いることも出来るであろうし、臨床初期投与レベルや臨床でのドーズ増量プロトコールの設定でも役立つと考えられる。さらに、この情報は患者における重大な毒性を回避したり、抑制するために用いることも可能であろう。

6. 投与ルート。

主要な前臨床試験での遺伝子細胞治験薬の投与ルートは臨床試験で設定されている投与ルートと最大限同様であることが求められる。モデル動物では臨床試験と同じ投与ルートが設定できない場合に、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は、前臨床試験開発計画の中でその科学的妥当性が説明できるようにしなければならない。

治験薬の投与に付随して想定されるリスクの評価のために、主要な前臨床試験で用いられる投与機器システム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。治験申請を行う場合には、用いる投与機器システムの安全性を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。治験申請に際しては、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)へ申請しているかを明示しなければならない。医療機器マスターファイルがある場合には、治験申請において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。CBERは必要に応じ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当たって医療機器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(10)、前臨床データ、臨床データ)の十分性について相談を行う。CDRHの審査官が臨床試験に用いる医療機器として使用について治験申請データに含まれる情報が含まれるか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。

遺伝子細胞治験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ものである場合には想定されるリスクの評価や、心臓や脳内に細胞を投与するための機器の使用に際して付随するリスクの評価などでは、特定のリスクを伴う治験薬の投与機器の安全性を、健康な大動物や疾患/傷害モデル大動物を使用することが適切な場合がある。上記したように治験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ものである。同様に遺伝子細胞治験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治験申請の参考文献として提出することができる。

7. 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、遺伝子細胞治験薬の毒性データは疾患/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、疾患/傷害病態モデル動物はGLP準拠の施設では飼育できないような特別なケアが必要であったり。特殊な方法が求められたりする。同様に、遺伝子細胞治験薬の毒性で求められる生体内分布、細胞の運命、あるいは特定の免疫学的なエンドポイントの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、遺伝子細胞治験薬のインビトロ、インビボ薬理試験やPOC試験のGLPへの準拠は推奨であって必須事項とはされない。

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。報告に当たってはGLPに準拠できていない部分を明確にし、準拠できていないことが試験データに影響を与えるか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。

8. 試験に用いる動物の削減、最適化、代替の原則 試験に用いる動物の削減、最適化、代替に対応す

る3Rの原則及び実験室での動物のケアや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.）を本ガイダンスでは推奨している。各遺伝子細胞治療薬の前臨床プログラムについてその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を個別に検討する必要がある。前臨床試験プログラムのデザインに際して、試験に用いる動物の削減、最適化、代替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（文献11）：

- a. 1種類の動物を用いたり、1つの試験で実施可能であれば薬理的試験と毒性試験結果を同時に得られるようにすること、最終エンドポイントを得るために複数の動物集団を設定する代わりに継続した観察を行なうなどにより試験の削減
- b. 動物に苦痛を与えないようにすることやサクリファイする方法の適切性確保や動物を殺すことなくイメージング技術を用いるなど
- c. 動物を用いる代わりにインビトロ試験で代替する方法が開発可能であれば、動物試験の代替となること

遺伝子細胞治療薬の安全性や活性に関して必要なデータが得られるような前臨床プログラムの活用についての効果に関して試験の適切性を十分考慮する必要がある。

9. 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。

10. 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。治験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。

11. 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の初期の助言は事前前治療申請相談を通じて得ることができ、必ずしも拘束力を持っているわけではない非公式の、サイエンスベースでの議論を薬理学／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。この面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。

V. 遺伝子治療治療薬に関する推奨事項

A. 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。

1. 非ウイルスベクター（例えばプラスミド）
2. 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））
3. 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）
4. 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）

B. 動物種／モデル動物

生物学的に反応性のある動物種や疾患／傷害の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点に考慮すること；

1. 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

2. 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
3. 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
4. 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るべきである。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と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）。

C. 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ついては対象とする遺伝子治療治療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、製品投与の特殊性、他の懸念点に依存して、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療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ドランスに加えて、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。

C. 2. EUで承認されたGlyberaの審査レポートの調査

EMAはGlyberaの承認前にも複数の遺伝子治療薬の承認申請を受け、審査を行っており、いずれも承認を推奨していない。現在、ヘルペスウイルスのチミジンキナーゼ遺伝子（HSV-tk）を発現するアデノウイルスベクターであるCereproとp53発現アデノウイルスベクターであるContusugene Ladenovec Genduxの審査における評価状況が入手可能である。そこでGlyberaとこれらの承認を得られなかった2製品の非臨床試験の評価を比較し、遺伝子治療薬としての承認に必要と考えられている要素を解析してみた。

Cereproはアデノウイルス5型のE1領域とE3領域の一部を欠損、悪性グリオーマを対象とし、Cereproが導入されたグリオーマが、ガンシクロビル投与によりHSV-tkにより代謝されたガンシクロビルリン酸になり細胞毒性を発揮する。

動物モデルで、Cereproの有効性が十分説明されていない。科学的にはHSV-tkを発現している細胞ではガンシクロビル投与により細胞死を導くことができることは理解できることが了解されるとされた。しかし、手術でグリオーマを除去した後に残存しているグリオーマそれぞれに非増殖性のアデノウイルスベクターが到達できるか不明であることや、申請者が提唱しているバイスタンダー効果についても明確な実証はなく、更なる検討が必要であるとされている。有効性を示唆する試験の評価としては十分ではないと結論されている。

毒性試験では単回投与のみの試験が行われており、またその投与量も限定的なものであったとされている。これは、マウス脳内に投与可能な量が限られているためであり、また反復投与毒性試験は手技的に実施が困難とされている。一方、ワーストシナリオ

を評価する目的で、静脈内投与が実施されている。これらの結果から、試験の実施が困難な面はやむを得ないとしながらも十分な安全性評価が行われているとの結論には至っていない。

Contusugene Ladenovec Genduxは頸頭部再発扁平上皮がんを対象として開発が進められてきたアデノウイルスベクターであり、増殖性アデノウイルスに関する試験から、増殖性ウイルスの残存があることが示されている。Contusugene Ladenovec Genduxの薬力学試験として、インビトロ及びインビボ試験が実施されている。対象とするp53を搭載していないベクターでも抗腫瘍効果が認められたが、このような対照ベクターでの抗腫瘍効果はContusugene Ladenovec Genduxの有効性を評価するのを困難にしているとの評価がなされている。さらに残存しているRCAでも臨床効果が認められたとする結果も提出されているが、再現性が認められていない。

毒性試験は正常マウス及びラットを用いて実施されている。ワーストシナリオとして、皮下投与が採用されており、コアバッテリー器官に対する影響が慎重に観察されている。これらの結果から、NOELレンジは臨床投与量の1/100と推定されている。

反復投与毒性試験も実施されているが、投与量や投与回数に関して十分な評価データではないとされている。さらに細胞傷害作用としてリンパ球の低下が認められたとされた。以上の結果から、安全性面では一定の評価が可能とされている。

C. 2-2. Glyberaの承認時に発出された評価レポートにおける非臨床試験の観点

Glyberaの承認を推奨するEMAの評価レポートでは提出された非臨床試験結果についての評価が示されており、その詳細について以下に示す。

C2-2. 1. 序言

中心となる非臨床安全性試験はGLPに従って実施されることが期待される。また関連する試験についてもできる限りGLPに準拠して実施されることが求められる。GLPへの準拠については特別な懸念がな

いとされた。

複数のロットのAMT-010（プラスミド由来製品）が試験に用いられ、また非臨床試験のブリッジング試験としてAMT-010とAMT-011（バキュロウイルス由来製品）を用いた比較試験が実施された。

薬理的試験は、LPL欠損マウスを用いて実施され、薬物動態試験がネコ、マウス、ウサギを用いた動物試験が実施されている。一般毒性試験は、マウスを用いて実施された。がん原性試験は実施されていない。遺伝毒性とがんを引き起こす可能性に関する懸念については、遺伝子挿入リスクと変異原性を明らかにする目的の試験が実施された。さら遺伝子治療ベクターに関する文献データについても調査・解析が行われた。

C2-2.2. 薬理学試験

有効性を示唆するためにAMT-010（プラスミド由来）を投与し治療できることを示す試験が、LPL欠損（LPL^{-/-}）マウスおよびネコを用いて実施された。高グリセロール血漿が持続するとLPL（^{-/-}）マウスで見られるように総コレステロールの増加とHDL量の低下を伴う。しかしLPL（^{-/-}）欠損のヒトで最も重篤な症状として見られる急性膵炎がLPL（^{-/-}）マウスでは見られない。2番目に動物モデルとして選択されたのは自然発症のLPL欠損ネコであり、AMT-010を用いた薬理的試験が実施された。ヒトの病態と比較して、LPL^{-/-}欠損ネコは黄色腫、網膜高脂血漿に加え最も重篤な症状である膵炎も発症する。

LPL欠損患者で繰り返し再発する膵炎のメカニズムは十分に解明されていない。しかし、血中のカイロミクロンやトリグリセリドを低下させることにより生命の危険に及ぶような症状が起こるリスクを下げられるという事実がある。従って血中トリグリセリドを持続的に低下させることができれば、Glyberaの非臨床試験における有効性の指標の代替マーカーとして使用することが許容される。

遺伝子治療薬を投与した動物の血漿中のトリグリセリドを低下させることは、その活性を評価するうえでの主要薬力学的マーカーとされた。薬力学的活性を証明するためにLPL欠損マウスとネコを用いた試験が実施された。用いたLPL欠損動物はヒトと同様にその血漿は異常な乳ビがみられる。乳白色様の血漿、黄色腫、網膜高脂血漿といったヒトLPL欠損症と同じ表現型を示す飼育されているネコの群れが知られており、このネコはトリグリセリド濃度の高い血漿をもつ。このようなネコにAMT-010を投与すると重篤なトリグリセリド血漿や高脂血漿を3-4日で正常化できる。このためにこの効果が認められるに必要な投与量がヒトにおいても効果が認められる可能性がある結論されている。ただし異種動物への投与によって引き起こされる免疫反応により効果が喪失されることが懸念された；従って、免疫抑制により効果の喪失を遅らせることができるのではないかと推察がされた。

ヒトとネコの病態と異なり、LPL^{-/-}マウスは生後24時間以上生存できないが、これは高脂血漿のみならずこのマウスでは、生後、授乳を開始できないためと考えられている。しかし、LPL^{-/-}マウスに生後すぐにヒトLPL遺伝子を発現するアデノウイルスを投与すると生後24時間を越えて生存することができるようになる。このアデノウイルスによるトランスジェニックマウス系を用いてLPL欠損をレスキューする試験がLPL^{-/-}マウスで行われ、この系では、アデノウイルスベクター投与によりGlyberaを投与していないマウスでもヒトLPLの発現が検出される（アデノウイルスの発現は一過性であり、その後発現は減弱していく）。このモデル動物では、LPL発現アデノウイルスが生後短時間の間発現しているために、ヒトLPLに対してナイーブではなくなっており免疫寛容になると期待された。

これらのマウスにAMT-010を投与してもLPLに対する抗体は出現せず、局所投与によってもLPLに対する免疫寛容が破壊されることはないことが明らかである。