

多くの患者では活性はないもののLPLタンパク質の発現は認められることから、Glyberaに対してもこれらのマウスと同様に免疫寛容の状態が期待される。

生後すぐにヒトLPL発現アデノウイルスベクターの投与によりレスキュー処理された飼育されたLPL^{-/-}マウスを用いて、AMT-010の有効投与量を明らかにする試験が行われ、主要な有効性を評価する項目として血漿中のトリグリセリドの定量を行うと共に、追加項目として血漿中あるいは組織中のヒトLPL量の測定が行われた。

非臨床試験がAAV2ベクターとAAV1のキャプシドを発現するAAV2ベクターを使用して実施された。投与量設定のための試験と、効果の持続性に関する試験が実施された。これらの試験では、再投与の影響を調べる1つの試験の他は、筋肉内への単回投与が行われた。

効果はLPL^{+/-}マウスと比較して実施された。

AMT-010の複数のバッチを用いて比較が行われると共に、AMT-010とAMT-011の効果を比較するブリッジング試験が実施されたが、この比較試験では非常に少数のマウスしか用いられていないために試験結果から得られる結論は限定的なものである。

411-002試験では、AMT-010投与後52週での血漿中のLPL量が測定され、非投与群と比較され優位な差異が認められており、血漿の高脂肪状態の完璧かつ持続的改善が認められている。

申請者は、投与後52週で認められたLPLの残存量や残存活性は血漿トリグリセリドを低減化できるだけ十分なものであると議論している。しかし残存しているLPLタンパク質量と活性のベースラインは（アデノウイルス投与を行った）若年性のLPL^{-/-}マウスと同程度あった。

これらの試験から次のような結論が導かれてい

る：

－ AMT-010投与により血漿トリグリセリド量が低減化され、99.2%の低減化率が達成できたとされている。

－ AMT-010投与により定量可能なヒトLPL活性が検出され、さらにタンパク質としての発現が認められ、その発現量は投与量に依存していた

－ AMT-010投与によるLPLの発現は、持続性が認められるものの、時間経過と共に発現が低下していき52週では活性の低下していた。ただ、血漿中のヒトLPL量は非投与群に比べて有意な活性が認められた。

－ AMT-010投与部位の筋肉では定量可能なレベルのヒトLPL活性が検出された；この発現により1年以上にわたる持続的かつ十分な/高脂肪血漿の改善が認められた。

－ AMT-010を投与した部位の筋肉の免疫組織化学解析が行われ、LPLの発現部位は筋膜外部に認められており、これは正常のLPLの筋肉での発現と同等であった。

－ AMT-010の2つの投与量によるLPLタンパク質の発現の比較が筋肉の4箇所あるいは36箇所からサンプリングして解析が行われたが、2つの投与量でタンパク質発現に差異が認められなかった；これは、筋肉内ではLPLの発現に上限値があることが推定され、その一方で、マウスではこの発現量で少なくとも高トリグリセリド及びリポプロテインの血漿循環レベルを低減化できることが示された。

－ 脂肪の静脈内投与によりLPL^{-/-}マウスは血漿トリグリセリド量が増加する；すなわち、この系でAMT-010を投与するとにより、非投与群と比較して脂肪投与により増加するはずの血漿トリグリセリド量の改善が認められた。

－ AMT-010の再投与試験が実施されたが、再投与によりAAV1キャプシドに対する中和抗体の発現といった反応を引き起こすことはなかった。

AAVに対する持続的な抗体産生が起こるとGlyberaを投与した場合に導入遺伝子の持続的な発現が抑制される可能性がある。同様の状況はAAV1型の自然感染が起こったにも考えられる懸念である。このために、AAVキャプシド（他のAAVに対しても交差反応を起こす可能性がある）に対する液性免疫の反応性の有無を、AMT-010の投与に先立って全ての被験者で調べる必要があるとされた。

LPL遺伝子導入したトランスジェニックマウス（Tg動物）を用い、筋肉内でのLPLを正常の11-24倍、過剰発現させその毒性試験が実施された。Tg動物を用いても毒性所見が確認され、AMT-010及びAMT-011を用いた毒性試験の評価において参考にされた。

411-008試験、411-009試験、411-010試験を通じて申請者はAMT-010投与に比べAMT-011投与ではLPLの発現が抑制されていることを確認しており、特に411-010試験ではその傾向が顕著であった。高用量の投与によりLPLの局所での発現増加が認められる場合であっても生物学的な効果の増加は認められなかったとされた。ただし高用量では生物活性効果により持続性が認められた。AMT-011添加により、インビトロのLPL発現がAMT-010に比べて全てのロットで1/4程度に低下していた。

全体を通じて申請者はLPL-/-マウスを用いてAMT-010及びAMT-011薬力学的試験のデータを得ている。単回投与試験であってもヒトLPL遺伝子の長期にわたる持続的な発現が確認されており、病態の進行により上昇するトリグリセリドを顕著に低下させる効果が確認されている。この作用は薬効の代替となる薬力学的マーカーとして受け入れられるものと考えられる。用量依存性が確認されているが、免疫抑制を行っても導入遺伝子の発現は改善されるこ

とは無かった。この点は臨床投与方法を決定するのに重要な示唆を与える。すなわち、免疫抑制を行うことによりAAV感染によって引き起こされる抗体産生を抑制するための免疫抑制の使用の是非に関連する事項であり、多くのヒトがAAVに対する抗体を持っていることへの対応に関連する。

LPL-/-マウスを用いて本剤の有効性に関する重要なデータが得られたとしている。複数の試験で、申請者は血漿トリグリセリドが大きく低下することを示しており、これにより有効性を示唆するデータが得られたとしている。有効性が認められる投与量としては 10^{11} - 10^{13} ゲノムコピー（gc）/kgであり、想定されるヒト投与量としては 1×10^{12} gc/kgに相当するとしている。

以上の試験より、AMT-011は生物学的に活性なヒトLPLを導入できるとする結論が得られたとされた。

副次評価項目として薬力学的試験。

副次評価項目のための薬力学的試験は実施されていない。Glyberaの特殊性を考慮し、遺伝子治療薬ガイドラインであるEMA/CHMP/GTWP/587488/2007及び遺伝子治療薬の第1相臨床試験を実施する前までに必要とされる非臨床試験ガイドラインであるEMA/CHMP/GTWP/12459/2006で求められている本試験を実施しないことをCAT及びCHMPは了解した。

他剤との薬力学的相互作用

AMT-011と免疫抑制剤を併用することの効果を確認するために、治験薬投与と免疫抑制剤と同時に投与した場合の薬力学的試験が実施された。これについては既に議論をした。

C2-2.3. 薬物動態試験

ヒト及び動物組織中のAMT-011を検出するための複数のPCR法についてバリデーションが行われている。ウサギゲノムDNAの検出における定量的PCRのバリデーションに関するより十分な情報が審査の過

程で要求された。

吸収

吸収を解析するための試験は実施されていない。製品は筋肉内に投与され、Glyberaに搭載された遺伝子が筋肉内で発現することが期待された。

分布

分布に関して5つのGLP準拠の試験が実施された。この試験においてコントロール検体で陽性反応を示したが、申請者は剖検に際して、あるいはDNA調製の際のコンタミネーションが起こったものと説明した。

ベクターの生体内分布に関しては、ネコ、マウス、及びウサギで用いて実施された。関連ガイダンス（遺伝子治療薬開発で臨床試験に入るまでに実施しなければならない非臨床試験のガイドライン EMEA/CHMP/GTWP/12459/2006）に従い、生体内分布、持続性、動員、排出について評価が行われた。生体内分布と発現の持続性については動物を用いて試験が行われた。排出については、動物を用いた非臨床試験は行われず臨床試験で患者由来の試料を解析することにより評価された。申請者はヒトへの投与後10週間にわたってベクターの排出がなくなること示そうとした。この点については臨床試験の項で議論をする。ベクターの動員（ターゲットとした組織細胞から出て、他の組織や細胞に取り込まれること）についての試験は実施されていないが、ベクターは血中及び投与されていない組織の中にも検出された。

ベクターDNAが検出される主な組織は、投与した筋肉、肝臓、脾臓、鼠径部リンパ節であった。

ネコにおいて、AMT-010ベクターDNAが、精巣、副睾丸、運動性のある精子に検出されたことより、ベクターは動物の生殖腺に分布することが示された。マウスにおいては、経時的な発現の消失が明らかにされ長期にわたる発現は高用量で認められた。しか

し、180日間もの観察を行ったにもかかわらず完全な発現消失は確認されなかった。投与した筋肉内で発現がより低下していくものの持続性が確認され、また鼠径部リンパ節でも発現が残存していた。

代謝

ベクターの代謝を解析するための試験は実施されていない。Glyberaの特殊性を考慮して遺伝子治療薬ガイドラインである EMEA/CHMP/GTWP/587488/2007及び遺伝子治療薬の第1相臨床試験を実施する前までに必要とされる非臨床試験ガイドラインである EMEA/CHMP/GTWP/12459/2006で求められている本試験を実施しないことをCAT及びCHMPは了解した。

ベクターの動員、排泄を明らかにするための試験は実施されていない。排出に関する試験は臨床試験で実施された。分布の項で述べたように、ウサギ精液にベクターDNAが検出されることが明らかにされた。

他の薬剤との併用による薬物動態試験

他の薬剤との併用による薬物動態試験については実施されていない。Glyberaの特殊性を考慮して遺伝子治療薬ガイドラインである EMEA/CHMP/GTWP/587488/2007及び遺伝子治療薬の第1相臨床試験を実施する前までに必要とされる非臨床試験ガイドラインである EMEA/CHMP/GTWP/12459/2006で求められている本試験を実施しないことをCAT及びCHMPは了解した。

C2-2.4. 毒性試験

全ての毒性試験は正常マウスを用いてGLPに準拠して実施された。毒性評価のために一種類の動物で試験でも良いとするのは、遺伝子治療薬ガイドライン EMEA/CHMP/GTWP/587488/2007及び遺伝子治療薬の第1相臨床試験を実施する前までに必要とされる非臨床試験ガイドライン EMEA/CHMP/GTWP/12459/2006に従ったものである。

Glybera毒性試験プログラムには90日までの観察期間が設定されたAMT-010を用いた単回投与毒性試験、180日及び105日までの観察期間が設定されたAMT-011を用いた2つの単回投与毒性試験が含まれており、さらにAMT-011を用いて生殖発生毒性試験と発達毒性試験がひとつの試験で実施された。

単回投与毒性試験

一般毒性試験がマウスに筋肉内投与し、観察期間を変えて最大180日までホローアップの観察を行っている。プラスミド由来AMT-010 1バッチ及びバキュロウイルス由来AMT-011の複数のバッチを 1×10^{11} から 1×10^{13} gc/kgの投与した単回投与試験が実施された。

Glyberaの非臨床毒性試験は、単一種の動物を用いた試験でよいとされた。

臨床投与を想定した単回投与属性試験のデザインは筋肉内（臨床投与）及び静脈内（ワーストシナリオ）経路でAMT-011を投与して評価された。単回投与毒性試験では想定している臨床投与量（ 1×10^{12} gc/kg）の10倍を超える投与量まで段階的に増量して（ 1×10^{11} 、 1×10^{12} 、 1×10^{13} gc/kg）実施された。

さらに、目的遺伝子の長期に亘る発現を考慮して、単回投与後、6ヶ月に亘る動物の観察がAMT-011を投与して行われた。AMT-011とサイクロスポリンA或はmycophenolate mofetil (MMF)の免疫抑制剤との併用による単回投与毒性試験が実施され、免疫抑制状態におけるAMT-011の毒性が影響を受けないか検討された。

単回投与毒性試験では、投与された動物に、いかなる致死的、全身毒性、壊死等の影響も認められなかった。さらに、動物の病態的な兆候や全ての動物で認められるような変化、摂食障害、臓器重量の変化などは認められなかった。免疫抑制状態でAMT-010と投与した場合はAMT-011を投与した場合も体重増加の減少が認められた。対照マウスに比

較して高用量のAMT-010を投与した場合に、わずかではあるが脾臓内の微小リンパの過形成が認められた。この兆候は91日目にも認められた。さらに、尿量及びクレアチンホスホキナーゼの低下がAMT-010の単回投与毒性試験で認められたが、AMT-011の単回投与毒性試験では観察されなかった。

投与部位に関して、筋肉の退縮変化や皮内反応を含む組織病理学的兆候が 1×10^{12} や 1×10^{13} gc/kgのAMT-010を投与した場合に認められ、さらにAMT-011を投与した全ての単回投与試験でも常に認められた。AMT-011投与群で認められる軽度の亜急性炎症反応の発症と同様に筋退縮は加齢と共に対照群のマウスでも観察されるが、中用量と大用量を投与した時に両性の動物で重篤な筋肉の退行やそれに付随するような明らかに投与に伴う変化が認められた。AMT-011投与後180日に渡ってホローアップの観察を行った試験で、既に述べたような遺伝子治療薬を投与した筋肉部位に組織病理学的な変性が起きており、その変化は投与量に相関して重篤度が増加していた。また、投与した筋肉部位の退縮が観察された。さらに一般毒性試験では機能的な影響は認められることはなく、また筋肉の機能試験でもなんらの機能低下の兆候も認められなかった。

炎症部位にCD8+T細胞は検出されなかったことより筋肉内に浸潤している細胞に細胞障害性T細胞は含まれていないことが確認された。

腫瘍形成や特定の肝毒性は観察されなかった。肝臓の過形成が観察されたが、これは対照群でも同程度の頻度で出現していた。これらの試験から決定された筋肉内投与でのAMT-011の無影響用量は、 1×10^{11} gc/kgであった。ベクターの生体内分布に関する試験より、投与部位である筋肉のみならず、流入領域リンパ節及び肝臓にもAMT-011が高濃度に分布することが確認された。AMT-011を静脈に投与した場合には、肝臓以外にも精巣や副睾丸などに高濃度にAMT-011が検出された。

反復投与毒性試験

単回で複数個所に投与される Glybera では反復投与毒性試験の実施はされていなかった。この臨床投与方法の観点から、反復投与毒性試験の実施が不要とする考えは受け入れられた。これは遺伝子治療薬ガイドライン CPMP/BWP/3088/99 に従った判断である。

遺伝毒性

従来の化学薬品に適用される通常の遺伝毒性試験はこのような遺伝子治療薬では引き起こされることはなく、適用する必要はないとされた。この考え方は、CAT 及び CHMP でも受け入れられるものとされ、考察にも書かれている。

挿入変異と造腫瘍性

申請者が報告した試験結果からは挿入変異及び造腫瘍性に関する危険があることは示されていないが、染色体への挿入について十分に解析できているとはいえない。文献情報から組換え AAV ベクターを用いた筋肉内投与及び挿入変異に関する多くの論文が出されている。一般的なコンセンサスとして組換え AAV ベクターのゲノムはエピゾーマルに存在し、ヒト染色体に組み込まれる確立は少なく、造腫瘍性はないとされている。

申請者は最初、Schnepp (2003) らによって報告された DNA 配列をランダムに増幅する方法 (B1-PCR) を用いて挿入変異に関する試験を実施した;しかし、B1 配列がゲノム内に不均一に分布しているためにゲノム内への挿入部位の検出は十分な結果ではなかった。次に Wang らが提唱した反復アンカー挿入部位トラップ PCR (RAIC-PCR) 法についても議論をしている。Wang らの方法は、B1 或は増幅産物をトラップするためにビオチン化したプライマーを用いて B1 から B1-PCR 産物を調製する方法である。しかし、B1-PCR RAIC も陰性の結果しか与えず rAAV ベクターの挿入が起こっていないことを示すにはデータが不十分であり、申請者もこれらの方法により得られた結果は十分なものではないと考えている。

LAM-PCR もまた抽出した総 DNA から挿入された AMT-011 配列を検出することはできなかったことから、申請者は制限酵素を用いない LAM-PCR 法を次世代 DNA シークエンス法と組み合わせて適用することとした。

インビトロ試験の報告で申請者の結論は、挿入変異による発がんのリスクを評価するのにインビトロ試験で十分、かつ適切な方法であるとしている。特に、文献で報告されたデータから AAV ベクターの長期にわたる持続発現は環状エピゾーマルの形態をとっていると考えられるとしている。ゲノム DNA の選択的制限酵素分解による解析法を用いた結果から AMT-011 はゲノムに挿入されることはなく、エピゾーマルな形で存在するとされた。インテグレーション解析結果からは、特定のホットスポットに挿入されることはなく、AMT-011 がゲノムへ挿入されることによる変異を起こすようなクロソナルな増幅を引き起こすこともないとされた。染色体挿入が起こるのは 2% 以下の確率であり、かつランダムにゲノムに挿入されるとされた。

がん原性

がん原性試験は実施されていない。申請者は、ベクターの挿入に関する評価の試験でがん原性を評価するのに十分であるとした。

WPRE (woodchuck post-transcriptional regulatory element) 配列を含んでいることとがん原性との関連

Glybera は挿入遺伝子の発現を増幅させる作用があるとされる woodchuck post-transcriptional regulatory element (WPRE) を含んでおり、WPRE の作用としてその増幅促進能に依存して腫瘍形成を引き起こす可能性がある。WPRE は woodchuck hepatitis virus (WHV) に由来する。WPRE は WHV の X タンパク質の発現を更新する因子を持ち、WHV が感染したマウスに肝がんを引き起こす作用がある。

WPRE は十分な目的遺伝子の発現を引き出すために必須の因子となることが多い。その遺伝子配列の

一部はWHVのX配列と重複しており、このために被験者に肝がん発症のリスクがないか懸念されたが、Glyberaは、WPRE配列の中の発ガンのイニシエーションに関連するとされる2次的エンハンサー配列であるWe2配列を持たない。GlyberaがWe2配列を持たないことから申請者はGlyberaに含まれるWe2配列は腫瘍原性を増加させることはないと考えられている。肝がん発症に関連するWHxの想定されるリスクはHBVウイルスのXタンパク質（HBx）との類似性からくるものである。HBVウイルスと肝がん発症の相関についてはよく知られており、肝がん発症のコファクターとして作用するHBxによって介在されるといわれている。Dandri等（1996）の報告にあるようにWHxタンパク質はWHVの急性感染から回復した動物では持続的に発現することはなく、持続感染している場合にのみ発現しているたんぱく質である。WHxを発現している細胞はそれだけで腫瘍化することはない、抗がん剤に暴露されることにより腫瘍化することから、WHxそのものにはがん原性の能力はないと考えられるが腫瘍化を促進する可能性があるとされた。

AAVベクターを2つの異なる細胞株に導入した後、WHxタンパク質の発現を調べたがタンパク質の発現は認められなかった。Glyberaを投与して105日間及び180日間にわたって観察した動物試験で、肝臓や他の組織でも特に腫瘍発症リスクの増大は認められなかったとされている。申請者は、WPREに関連する腫瘍原性の報告は文献上のみのものであると考えている。Embury等（2008）によるWPREを含むAAVベクターの報告があるものの、多くはKingsman等（2005）や他の研究者による報告で、レンチウイルスにWPREを搭載した報告である。Embury等の報告では肝門脈からの投与にもかかわらず、肝臓の造腫瘍性のリスクがあるという兆候は見られておらず、16の腫瘍が確認されたが肝臓で見つかったのは4例のみであり、他は胃や小腸である。肝臓で見つかった腫瘍は同時に他の部位にも腫瘍が見つかった。腫瘍が起こる機構としては、フェニルアラニン脱水素酵素とXタンパク質の融合タンパク質の遺伝子発

現形成されることによりフェニルアラニン尿症の作用メカニズムに同じことがおこっていると考えられている。申請者は、Embury等が用いたモノクローナル抗体を用いて、HBxとWHxの交差反応性について評価を行っており、その結果からモノクローナル抗体はHBxとは交差するがWHxとは交差しないと結論している。したがって、現在得られているデータからは腫瘍発生にWHxが関与する証拠は得られていないとしている。

生殖発生毒性

雌性マウスを用いて交配4週間前にAMT-011を投与した場合にはベクターDNAが胎児に伝達されることはなかったことから、Glyberaは母体の生殖細胞から子孫への伝達は起こらないと結論している。ベクターが雄性の生殖腺に検出されることから、ベクターが生殖細胞に導入されるか検討が行われ、これらの生殖細胞の染色体に組み込まれるリスクがあるとされた。ベクターシグナルがネコ、マウス、ウサギの生殖腺に持続的に検出されることから生殖腺内のどの細胞に導入されるのか、特に精子細胞の取り込まれる可能性について、細胞分画法を用いて解析された。ベクターが精液及び精子に検出されたことから、ベクターがF1世代に伝達される可能性について評価するために交配試験が実施された。臨床試験においても患者精液中にベクターシグナルが検出されたことより、さらなる動物試験が必要とされた。

雄性動物を通じての生殖細胞へベクターの伝達は試験されておらず、生殖細胞への暴露があることからベクターの生殖細胞への組み込みのリスクについては十分な評価がなされていない。

生殖発生毒性は、妊娠マウスを用いて実施され、雌性マウスの妊娠や胎児の発達に特に問題は認められなかった。しかし妊娠中の投与は避けるべきとの慎重な配慮を求めることとされた。

局所認容性

局所認容性に関する試験が一般毒性試験の一部と

して実施された。推奨臨床投与量で投与量に依存した進行性の筋肉への毒性所見が認められた。これは回復性のある毒性であった。

他の毒性試験

AMT-011にはバキュロウイルスDNAの混入による毒性について理論的な評価が行われている。AMT-011はバキュロウイルスを昆虫細胞へ感染させて製造される。申請者は、バキュロウイルス由来DNAの含量についての評価が行われ、患者投与量当たりのバキュロウイルスDNAの混入量は代々投与量で3.3 IUと計算された。申請者は、文献上の観点からバキュロウイルスDNAによるリスクはヒト細胞当たり10粒子ウイルスDNAが混入するリスクとした。バキュロウイルスは昆虫細胞に感染し、殺虫剤と用いられてきたが、ヒトに対しては病原性がないとされてきた。野生型のバキュロウイルスは補体依存性の分解を受けること、細胞に感染する際のウイルス受容体については知られておらず、哺乳類細胞への感染性については比較的感染性は低いとされてきた。また、細胞内へ入った場合には、エンドゾームでの分解感受性があり、核内には移行しないと考えられている。申請者は、バキュロウイルスに含まれる初期プロモータがバキュロウイルス独自の遺伝子を活性化する可能性を定量評価し、11%以上と計算している。しかし、機能的なウイルス由来DNA断片が他のゲノムや宿主ゲノムに挿入される確立は、おそらく 8×10^{-11} %程度であると計算している。これらの推定から、バキュロウイルス由来のDNA挿入されるリスクは殆どないと結論している。

C2-2.5. 非臨床試験の考察

薬理学試験から単回投与でも動物内のヒトLPL遺伝子を発現させることにより長期にわたるトリグリセリドの持続的低下をもたらすことができるとされた。

組織病理学的解析によって投与した動物に急性炎症及び退縮性の筋肉ダメージと再生変化が常に認められた。このような変化はヒトLPLの発現量と相関

しているように考えられた。申請者に、このような反応に可逆性があるのか非可逆なものなのか明確にするように求めた。また、対照のAAV1ベクターとGlyberaの影響を比較することによって、このような反応が局所で過剰発現しているLPLの影響なのかどうか、あるいはAAVに対する免疫応答の結果なのかを区別するためにさらなる検討をする必要がないか妥当性を説明するように求めた。

申請者によれば、AMT-011を投与した後180日間のホローアップを行った試験から、投与部位の筋肉の退行が認められたものの一般毒性試験ではマウスに機能的な影響を与えることもなく、筋肉の機能試験でも影響は認められなかったとされている。

文献データからLPLを過剰発現したマウスは同様の反応性を示したものの、トランスジェニックウサギを用いてLPLを過剰発現させても同様の反応性は示されなかった。従って、申請者はマウスで認められたこのような反応性はヒトとの種の違いによって、もたらされたものとされ結論した。

この種差によってもたらされる差異は、ウサギとマウスの間の脂質代謝やリポタンパク質の組成の違いといった生化学的な面に影響を与える可能性がある。申請者はLPLの過剰発現によってもたらされる過剰な遊離脂肪酸の増加はAMT-011によって引き起こされる筋毒性をもたらしているともと考えており、LPL過剰発現による直接作用ではないと考察している。

申請者はマウスに認められる組織病理学的変化とヒトにおける変化は同等であると考えている；両種の変化は進行性の退行反応であると考えられ、再生反応も認められたとされ、その過程には炎症細胞はほとんど見られなかったとしている。

申請者は両種のAAVに対する免疫応答性や脂質代謝における種差も含めてマウスでの解析データをヒトに外挿できると考えている。

CAT委員会は申請者の説明に全面的に同意したわけではなく、LPLを過剰発現した時の影響を試験するために対照のAAVとAMT-011の比較を行う追加試験が不足していると判断した。しかし、そのような検討を行ってもCATの懸念点が解消されるわけではないと考えられ、そのために最終的には追加の試験を実施しないことに同意し、この問題については解決した。

薬物動態試験では主要評価として、組織分布とその分布の持続性について解析している。AMT-011を投与された動物の投与部位の筋肉には顕著な発現が長期に亘って認められ、また肝臓やリンパ節も同様の持続発現が認められた。この発現は時間経過と共に低下していった。両性のマウスの生殖腺にベクターの発現が認められたが、妊娠マウスや胎児への暴露は認められなかった。

CAT委員会の要求により、医薬品市販承認取得者(MAH)によって雄性的CD-1マウスを用いた繁殖試験が実施され、AMT-011の子孫への伝播はないとされた。従ってAMT-011の次世代への伝播リスクも比較的低いと考えられるとされている。

インビボ造腫瘍性試験は実施されていない。申請者は、挿入変異や腫瘍原性を適切に評価可能と考えられる試験法はないと考えられるとし、いずれの試験デザインも有用性に疑問があるとしている。申請者は、rAAVの染色体への挿入とマウスでの肝がん発症に関する論文を引用して、そのリスクについて議論をしている。肝がん発症が起こる可能性について慎重に考察が行われており、申請者は新生児モデルを用いた試験が推奨されていることを認識した上で、げっ歯類を用いた2年間に亘る他の試験法を含め新生児マウスには増殖能の高い細胞が多く含まれ、生体マウスとは異なる特性を持つ系であり、これを適用することに疑問があるとしている。

全体の議論を通じてCATとCHMPは造腫瘍性の懸念は低いとする申請者のデータに同意した。造腫瘍

性や造腫瘍性のリスクを評価する他の実施可能の方法は現時点ではなく、今得られているデータからはそのリスクは無い、あったとしても極めて低いと考えられる。Glyberaが染色体に挿入され、腫瘍を引き起こす理論的な可能性はあるものの、CATとCHMPはこれらの懸念についてさらに検討するための動物試験や他の試験を実施する必要性はないとする申請者の考えに同意した。

C2-2.6. 非臨床試験全般の結論

Glyberaは造腫瘍性を引き起こす可能性のあるエレメントであるマーモット翻訳後因子と挿入変異を起こす可能性のある2つのエレメントを持っている。申請者にはこれらの2つの因子に関する十分な試験と、結論を導くには十分なデータが得られないとしても、その試験結果を踏まえた考察を求め、またリスクに対する対応を明らかにするよう求めた。

AAVは理論的な染色体への挿入リスクとそれによる増腫瘍性リスクが存在するが、次のような理由からそのリスクは小さいと考えられた；1、rAAVは長期に亘って核内に存在し続けるとしても殆ど染色体には挿入されずエピゾーマルの形で存在する；2、生体げっ歯類、イヌ、霊長類を用いた文献データから、染色体への挿入が起こっても、発がんとは関連しないとされている；3、発がん、ヒトにAAVへの血清反応性が既にある場合でもAAV感染が腫瘍形成には関連しないと考えられていることなどである。本疾患の患者にGlyberaを投与する場合に、その安全性プロファイルは担保されていると考えられる。

全体を通じて、CATとCHMPは、提出された全てのデータから造腫瘍性の懸念は無いとすることに同意した。造腫瘍性に関する他の試験法やそのリスクを評価可能な他の方法はなく、今得られている証拠からはそのリスクは無い、極めて小さいと考えられる。Glyberaは染色体へ挿入され、それによる腫瘍を引き起こす理論的なリスクはあるが、CATはこの懸念について解析を進める意味のあるさらなる動物試験や実験は必要ないとする申請者の意見に同意した。

申請者のデータについて同意することができ、CATが最初に提起した問題点については解決した。

WHxが発現することによるがん化のリスクと挿入変異についてのリスクは解決したと考えられる。

以上のような評価に基づいて従って非臨床試験で得られたデータからGlyberaの承認に関して反対する理由はないとする結論に至っている。

C. 3. 欧米で共通して発出されたガイドラインの位置づけ

ここ数年FDAやEMAから発出された欧米で共通する遺伝子治療関連ガイドラインを表1に挙げた。共通するガイドラインのひとつは、X-SCID等のレトロウイルスベクターを用いた遺伝子治療での白血病発症を受けて出されたガイドラインであり、レトロウイルス等による遅発性（1年以上経過して）の有害事象をどのようにフォローアップすべきかを示したものである。ガイドラインでは一律にフォローアップを考慮するのではなく、ベクターの組込み能の有無や投与量など製品の特性に加え、品質や非臨床試験の結果を踏まえてフォローアップ計画を考えるべ

きとされている。これらの試験結果やベクターの特性から遅発性の有害事象のリスクが極めて低い場合には、長期フォローアップを適用しなくともよいとされている。一方、リスクが存在しても重篤ながん患者のように余命が限られる場合にはフォローアップを適用する意義は少ないとされ、このような場合にはケースバイケースの判断でその必要性を判断することも可能である。

特に長期フォローアップに対象となるウイルスとしては、レトロウイルス、レンチウイルス、ヘルペスウイルスが挙げられている。ヘルペスウイルスは腫瘍溶解性ウイルスとして用いられており、再活性化のリスクから長期フォローアップの対象とされている。

ファーストインヒューマンまでに実施すべき非臨床試験についても同様に欧米で相次いでガイドライン（案）が発表されている。有効性を予測するための試験（POC）、臨床試験開始時における投与量、投与量の増量スケジュール、臨床投与量の設定のための試験、このような試験の基礎データとなる生体内分布に関するデータを明らかにすることを求めている。さらに、毒性試験、染色体への組込み能、生殖

表 1. 欧米で共通する指針項目

遺伝子治療薬を投与した患者の長期フォローアップ
<ul style="list-style-type: none">• FDA:Gene Therapy Clinical Trials – Observing Subjects for Delayed Adverse Events (Nov. 2006)• EMA:Follow-up of patients administered with gene therapy medicinal products (Oct. 2009)
遺伝子治療薬のFIH (First in Human) のための非臨床試験
<ul style="list-style-type: none">• FDA:Preclinical Assessment of Investigational Cellular and Gene Therapy Products (Draft, 2012)• EMA: Non-clinical studies required before first clinical use of gene therapy medicinal products (May 2008)
遺伝子治療薬の環境影響評価
<ul style="list-style-type: none">• Draft Guidance for Industry: Determining the Need for and Content of Environmental Assessments for Gene Therapies, Vectored Vaccines, and Related Recombinant Viral or Microbial Products. (2014)• Scientific Requirements for the Environmental Risk Assessment of Gene Therapy Medicinal Products

細胞への挿入試験、投与装置に関する試験、造腫瘍性試験において必要に応じて試験を実施することを求めている。遺伝子治療薬の生体内分布、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剤についての試験、挿入変異や造腫瘍性の試験等は共通しているが、EMAガイドラインではさらに免疫原性や免疫毒性の試験についても言及している。FDAも免疫反応性に関連する安全性評価について言及しているが、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で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FIHまでに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）などは治験開始前（ファーストインヒューマン：FIH）までに実施することは求めている。

遺伝子治療製品の環境影響に関するガイドラインもFDAとEMAから発出されている。FDAもEMAもそれぞれ法的規制として連邦法（米国；21CFR 25.31）やEU指令に基づいたガイドラインとなっている。連邦法では、IND申請や生物薬品承認申請など全ての申請において評価が求められるとされているが、FDAはIND申請時には環境の質に重大な影響を及ぼさない限り適用除外としている。EMAのガイドラインはFIH及び承認申請時において環境影響評価をお

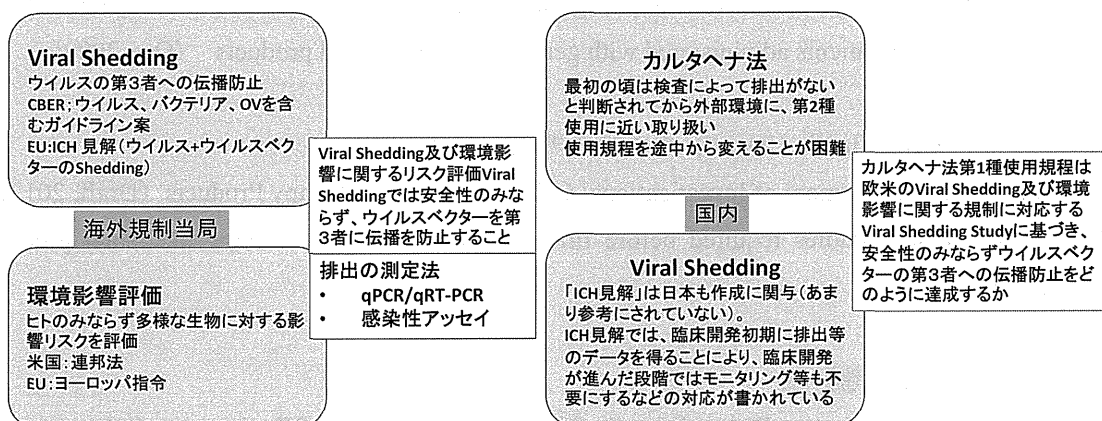
こなうこととなっているが、FIHでの評価は各国の規制当局により審査が実施される。

FDAは適用外となる遺伝子治療ベクターとしてナチュラルオカレンスを定義し、ベクターに搭載している目的遺伝子が同一の種に属する場合に該当するとしている。自然界で生存できない組換え細胞も適用外としている。この点は我が国のカルタヘナ法による遺伝子治療の適用と類似した考え方のように見えるが、FDAはプラスミドも環境影響が必要としている点では異なっている。FDAは環境影響に際してはベクターの病原性、増殖能、環境での生存性などを考慮して評価を行うことを求めている。

EMAは環境影響として、遺伝子治療を実施する病院の従事者や家族、公衆衛生、他の生物のみならず植物への影響までも評価するとしている。

環境影響評価ガイドラインで求められている事項は我が国のカルタヘナ評価に通じるものがあるが、対象となるベクターの範囲は異なる面もある。しかし、欧米ではこのような環境影響の評価とウイルスベクターの患者からの排出評価をあわせてベクターの第3者への伝播の防止を図ろうとしている点を考えると実質的にはカルタヘナと同様の規制を行っているといえるであろう（図1）。

以上、欧米で共通して発表されている遺伝子治療



Environmental-Risk:
 FDA: Draft Guidance for Industry: Determining the Need for and Content of Environmental Assessments for Gene Therapies, Vectored Vaccines, and Related Recombinant Viral or Microbial Products 2014
 EMA: Scientific Requirements for the Environmental Risk Assessment of Gene Therapy Medicinal Products 2008
 Virus shedding:
 FDA: DRAFT GUIDANCE: Guidance for Industry, Design and Analysis of Shedding Studies for Virus or Bacteria-Based Gene Therapy and Oncolytic Products
 EMA: ICH Consideration: General Principles to Address Virus and Vector Shedding (日本も合意)

図1. カルタヘナ法に基づく第1種使用の評価と海外のViral Shedding+環境影響評価

ガイドラインについてみてきた。これ以外にもレンチウイルスベクターやAAVベクターに関する個別製品と対象としたガイドラインがEMAから出されている。また、挿入変異の解析に関するガイドライン、無菌試験などの感染因子に関する迅速法のガイドラインなど遺伝子治療薬の安全性に関する解析手法に関するガイドラインがそれぞれEMAとFDAから出されており、こういったきめ細かいガイドラインの発出により遺伝子治療製品に対する評価を先導的に実施している。

C.3-2. 海外動向を考慮した遺伝子治療臨床研究指針改定における非臨床試験の考え方

欧米の規制当局が共通して発信している遺伝子治療ガイドラインは、その品質や安全性確保に重要と考えていることの反映という観点から、特に臨床試験に入るまでに必要な非臨床試験について国内指針にどのように反映すべきか検討を行った。

C.3-3. 非臨床における安全性及び効力の評価

(1) 臨床的有効性を予測するための試験

・遺伝子治療臨床研究の科学的妥当性を支持するための非臨床試験の情報を提出すること。このために*in vitro*試験や動物を用いた試験により、製品の活性や有効性を予測できるデータを示すこと（**proof of concept**：POC）。遺伝子治療に特有の事項として、生体内分布や遺伝子発現の程度及び持続性が挙げられる。これらのデータは、ウイルス/ベクターの排出の評価や生殖細胞への分布に関するリスク評価にも用いることができる。

(2) 生体内分布

・動物を用いて、患者に投与する遺伝子治療用ベクター又は遺伝子導入細胞の生体内分布を経時的に分析した結果を提出すること。毒性試験の実施に先立って、必要に応じて適切なモデル動物を用いた生体内分布試験の実施を行うこと。

・患者に投与する遺伝子治療用ベクターとは同一ではないが、例えば、搭載される遺伝子のみが異なる同一構造のベクターを用いて分布を評価した結果を外挿して説明することが可能な場合もあるが、そ

の妥当性を示すこと。その際、搭載された遺伝子の違い、発現産物の違いが、生体内分布やその排出に影響を及ぼす可能性の有無も踏まえて考察し、その情報を示すこと。

・生体内分布を検討する際には、用いる動物種の妥当性や、臨床研究で予定する投与経路をどれくらい反映しているかの検討を行い、患者に投与した場合の遺伝子治療用ベクターの排出の程度や経路の予測を行うこと。また、ヒトに投与する際に、投与手技によっては全身曝露になるリスクの有無も踏まえ、生体内分布の検討又は考察を行うこと。

・ベクターの種類によっては、生体内に潜伏するものもあるため、完全な消失までの観察を継続する必要は必ずしも無いが、動物における傾向を把握し、ヒトにおける分布予測などを整理した上で、考察を提示すること。

(3) 非臨床安全性評価

1) 一般毒性

・心血管系及び呼吸器系等の適切な安全性薬理試験評価項目を組み込んだ毒性試験が、遺伝子治療用ベクターの安全性を評価するために有用であることが多い。試験の実施に際しては、臨床で想定されている投与経路のほかに、全身投与による単回投与毒性試験を実施し、全身性曝露が最大となると想定される毒性学的症状を検討すること。ただ、全身の血管系への浸透性がなく、投与されたウイルス/ベクターが局所にとどまることが適切なデータにより示されている場合は、全身投与による単回投与毒性試験は必ずしも必要としない。臨床研究で複数回投与が予定されている場合には、反復投与毒性試験を実施することが求められる。

2) その他

遺伝毒性、がん原性、生殖発生毒性について特に必要と考えられる場合を除いて、これらの試験の実施が必ずしも必要とされるわけではない。

①免疫原性

・遺伝子治療用ベクターによって望ましくない免疫反応の起こる危険性について、特に遺伝子治療用ベクターにコードされた目的遺伝子の発現産物に対する免疫反応性について説明をすること。動物試験

の結果についての評価をヒトに外挿する場合は、遺伝子発現産物やベクターに対する免疫反応性が投与された動物の違いによる影響を受けていないかを十分に検討しておくことが必要である。現時点では、動物を用いた試験によりヒトでの免疫原性を予測できる方法はないとされているが、臨床研究においては、予期せぬ免疫反応（免疫原性）が起こることを想定し、適切なモニタリングを行うことを考慮すること。

②造腫瘍性

・化学物質等によって引き起こされるがん原性を評価するための従来のがん原性試験は、遺伝子治療用ベクターや遺伝子導入細胞に対しては一般的には適切ではない。遺伝子治療用ベクターにコードされた目的遺伝子のがん遺伝子との関連性について、適切なデータベース等を用いて評価しておくことが望ましい。遺伝子治療用ベクターや遺伝子導入細胞において懸念されるリスクは、遺伝子導入細胞の染色体への挿入変異による造腫瘍性の可能性である。投与した遺伝子治療用ベクターが、核内へ移行し、かつ染色体に組込まれる機構を保存している場合は、挿入変異による造腫瘍発生の懸念が高い。このため、臨床研究においては、挿入変異による造腫瘍発生を想定し、適切なモニタリングを行うこと。また、染色体への組込み機構を持たない遺伝子治療用ベクターの場合であっても、投与した遺伝子治療用ベクターが核内へ移行する場合には、頻度は極めて低いながらも染色体挿入の危険性があり、挿入変異による造腫瘍性を考慮する必要がある。造腫瘍性の試験を実施する場合には、適切な免疫不全動物の使用も考慮すること。ベクターの製造に用いたパッケージング細胞ががん細胞の場合には、細胞由来のがん遺伝子が標的細胞に取り込まれる可能性についても特に考慮すること。

③生殖細胞への意図しない組込みリスク

・遺伝子治療用ベクターを直接生体に投与する場合、生殖細胞への意図しない組込みのリスクについて評価を行うことが必要である。リスク評価に当たっては、「ICH見解：生殖細胞への遺伝子治療用ベクターの意図しない組み込みリスクに対応するための

基本的考え方」（厚生労働省医薬食品局審査管理課、平成19年4月6日）を参考にすることが望ましい。発現ベクターが生殖器官に何らかの影響を与える可能性がある場合以外には、化学合成医薬品に求められる従来の生殖発生毒性試験を遺伝子治療用ベクターに求めることは適切ではない。

④併用療法における安全性評価

・当該遺伝子治療用ベクターの投与に付随して実施される併用療法（場合によっては患者のプレコンディショニングも含めて）の安全性について説明し、必要に応じて動物試験での確認を行うこと。

(4) 非臨床試験の総括

・臨床研究を安全に実施できるとした根拠や臨床初期投与量について説明すること

D. 考 察

D.1. EMAガイドラインとFDAガイドラインの比較

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

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

が想定される。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験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。

D. 2. EUで承認されたGlybera

リポタンパク質リパーゼ (LPL) 欠損による高脂血症の治療薬として先進国で最初に遺伝子治療薬GlyberaがEUで承認された。Glyberaはアデノ随伴ウイルス (AAV) をベースにした組換えウイルスベクターであり、ヒトLPL遺伝子を発現する。ヨーロッパ医薬品庁 (EMA) はGlyberaの審査における評価レポートを公開している。この評価レポートで、EMAが遺伝子治療薬の非臨床試験で、1) インビボ試験で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を求めた。2) 特にモデル動物の選択に当たっては、高脂血症の動態や黄色腫のみならずLPL欠損患者で臨床最上、最も問題なる急性膵炎がモデル動物で発症することなどを考慮してマウス、ネコ、ウサギが選択され、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ている。3) 毒性試験では、3用量での単回毒性試験が実施され、急性炎症と筋退縮性の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。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。

Glyberaの評価レポートからEMAが臨床試験前と承認時にどのような非臨床試験を求めたのかが理解でき、わが国でも遺伝子治療薬の安全性や臨床試験

に結びつけるための有効性をどのようにモデル動物で示すべきかの参考になる。

D. 3.

本年度はEU及び米国から発出されている遺伝子治療関連のガイドラインで共通しているものを取り上げ、その要件と規制の差異について検討してみた。共通するガイドラインとしては、長期フォローアップ、環境影響評価、及びFIHまでに明らかにしておくべき非臨床試験データについてである。長期フォローアップでは、両局ともベクターの組込み能の有無や投与量など製品の特性に加え、品質や非臨床試験の結果を踏まえてフォローアップ計画を考えるべきとされている。また、対象としてはレトロウイルス、レンチウイルス、ヘルペスウイルスが中心とされている。特に腫瘍溶解ウイルスとして国内でも多くの開発が進められているヘルペスウイルスが上げられていることが注目される。

FIHまでに明らかにすべき長期臨床試験については遺伝子治療製品の指針改定においても参考にすべき内容が読み取れる。これらの調査結果を基に、我が国で遺伝子治療の臨床試験開始までに求めておくべき非臨床試験データの概要についてまとめてみた。特にPOC、毒性試験、挿入変異などについての要件をまとめてみた。

欧米では我が国のカルタヘナ第1種使用での影響評価を環境影響とウイルス排出の面から規制している。ただ第3者へのベクターの伝達防止やヒト以外の生態への影響も含めて評価を求める点が注目され、またナチュラルオカレンスとしての要件に関しても参考にすべき点が多い。

E. 結 論

FDA及びEMAから共通して発出されている遺伝子治療に関するガイドラインで求めている要素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。

F. 業績

- 1) 山口照英：再生医療の安全性確保法と薬事法改正、レギュラトリーサイエンス学会誌 (RSMP)、vol.4, No.3, 237-247(2014)
- 2) Maeda,D., Yamaguchi,T., Ishiduka,K., Takekita,T., Sato,D.: Regulatory Frameworks for Gene and Cell Therapies in Japan. in "Regulatory Aspects of Gene Therapy and Cell Therapy Products in Japan." Springer, Serbian,M. &Galli,M.C. eds., in press
- 3) 内田恵理子, 古田美玲, 菊池裕, 窪崎敦隆, 遊佐精一, 宮原美知子, 佐々木裕子, 小原有弘, 大谷梓, 松山晃文, 大倉華雪, 山口照英: 日本薬局方参考情報掲載マイコプラズマ否定試験のPCR法改正のための共同研究、マイコプラズマ学会雑誌 (印刷中)
- 4) 内田恵理子, 古田美玲, 菊池裕, 窪崎敦隆, 遊佐精一, 宮原美知子, 佐々木裕子, 小原有弘, 大谷梓, 松山晃文, 大倉華雪, 山口照英: 細胞基材に対するマイコプラズマ否定試験のPCR法の見直しに関する研究、医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス 45 (5), 442-451 (2014)
- 5) Yamaguchi,T., Kanayasu-Toyoda,T., Uchida,E.,; Angiogenic Cell Therapy for Severe Ischemic Diseases. Biol. Pharm. Bull. in press (2013)
- 6) 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)

- 7) 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)
- 8) 山口照英:ついは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)
- 8) 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)
- 10) 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)

G-2 学会発表

- 1) 山口照英、内田恵理子、小野寺裕史：「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動向」東京大学医科学研究所遺伝子・細胞治療センターキックオフ・シンポジウム2014年11月東京

H. 知的財産権の出願・登録状況

- H-1 特許取得 なし
H-2 実用新案登録 なし
H-3 その他 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24～平成26年度分担研究報告書

医薬品一般試験法に関する研究－薬局方の国際活動について－

研究分担者：川西 徹（国立医薬品食品衛生研究所所長（平成24、25年度））

奥田 晴宏（国立医薬品食品衛生研究所副所長（平成26年度））

研究要旨

医薬品の品質管理に汎用する一般試験法や個々の医薬品の規格の国際調和では薬局方の国際調和を含めた国際活動が重要な役割をもつ。日本薬局方にとって薬局方の国際活動は従来PDG（薬局方検討会議）を舞台とした日米欧三薬局方の国際調和活動を意味していた。しかし医薬品の製造・流通の国際化に伴い、日米欧以外の国々の比重も高まり、より広い範囲でも国際交流が望まれるようになってきている。このような状況下、PDG活動については、多くの成果を挙げてきたものの、その作業手順を見直し、調和活動を促進するとともに、薬局方を支える科学技術を先導する活動になるよう今後の方向を定める必要がある。さらに、世界の主要薬局方が参加する世界薬局方国際会議の活動が開始され、作成が開始されたGood Pharmacopoeia Practices（GPhP）においては、我が国も作成に積極的に関与し、先導的役割を果たすべきと考える。

キーワード：薬局方、品質、PDG

A. 研究目的

医薬品の承認申請の際に規制当局に提出すべきデータや審査に必要な資料の要件に関する国際調和は、ICH等を舞台とした国際調和活動によって進捗してきた。医薬品の品質関連分野においても、申請に必要な資料等に関する基本的な要件は国際調和されてきた。しかし、ICHの調和対象は品質分野では特定の試験法でなく評価の一般原則であり、品質特性の解析あるいは品質管理に用いられる試験法の調和は扱われていない。この点についてはICH品質ガイドラインでは、ICH-Q6A：化学医薬品の規格および試験法ガイドラインの中に、主要な品質試験法については薬局方一般試験法の国際調和に委ねる旨のステートメントが記されており、一般試験法の国際調和を扱う場としては、薬局方の国際交流が主な舞台となっている。

従来、日本薬局方（JP）では薬局方検討会議（PDG）

の場で日米欧の国際調和が行われており、調和対象は一般試験法と医薬品添加物各条である。一般試験法については、上記ICH-Q6Aに具体的に調和すべき試験法として示された試験法について調和が進捗してきた。さらに、ICHではQ4Bにおいて、PDGで調和された試験法について、三極の規制当局が相互に受け入れ可能であるか、さらに可能な場合は受け入れ条件についての確認を国際調和活動として行ってきた。しかしながら、現在PDGの枠組みについては、欧米局方関係者を中心としてその進捗速度等について批判がでてきている。また医薬品の生産・流通の国際化の中で、役割を増しつつある中南米あるいはアジア諸国からより広い国際間の薬局方の交流を望む声がおきている。

本研究では、平成24度は薬局方の国際状況および国際交流について調査研究を、平成25年度は当該年度の薬局方の国際活動をまとめるとともに、近年開

催された薬局方国際会議、特にその中で作成が開始された適正薬局方規範 (GPhP) に関する調査研究を、平成26年度はPDG活動の内容とPDGの調和作業の迅速化の取組に関する調査研究を実施したので、主な論点を記載する。

B. 研究方法

医薬品の品質試験法の国際調和の舞台となっている国際、地域、各国薬局方の国際活動の状況について調査するとともに、その将来動向について考察する。

C. 研究結果

C-1. 日本薬局方の国際活動

第17改正日本薬局方の改正基本方針（5本の柱）には「日・米・欧の三極で医薬品承認申請に係わるガイドライン等の国際調和、薬局方収載試験法及び医薬品各条の国際調和並びに調和項目の規制当局受入の促進が検討されていること、さらにはアジア地域での貢献等を踏まえ、日本薬局方の国際化を図ることが重要な課題である」があり、日米欧の国際調和の推進とアジア地域での貢献を活動があげられている。

このような日本薬局方の国際活動は、日本薬局方改正原案審議委員会では国際調和検討委員会が担当しており、日局の国際対応に関する審議を行っている。この委員会の17局改正に向けての検討事項は以下のようにまとめられる。

1. PDG会議及びICHにおける局方関連事項の進捗状況の把握
2. PDG会議及びICHにおける局方関連事項に対する日本としての対応方針案の策定
3. 米国薬局方 (USP)、欧州薬局方 (EP) 等からの照会事項等への対応案の策定
4. PDG調和合意事項及びICHにおける局方関連合意事項のJPへの反映内容の確認と反映状況の把握
5. PDG会議及びICHにおける局方関連事項に関連するJP各種委員会との連絡調整
6. その他（国際調和案件事項への対応等）

以上のように近年20年余の日局の国際活動は事実

上PDG対応およびICH-Q4B対応を意味していた。後述するように、ICHQ4Bの取組が終了するとともに、WHOが主催するグローバルファーマコピアの活動や、ICH地域や米国以外の地域での2国間の活動の比重が高まりつつあり、日局の国際活動は多方面に及んできた。

C-2. PDG活動

PDGはJP、EP、USPから構成されており、1989年発足し、通例年に2回の対面会議が行われて三薬局方の国際調和を行ってきた。またこの会議には2001年からはWHOもオブザーバーとして参加している。PDGの調和対象は、医薬品各条で汎用される一般試験法および医薬品添加物の調和である。

C-2-1. PDGの3年間の進捗

平成26年度11月時点で、調和課題に上がった一般試験法36項目の内29項目が、また同じく添加物各条62項目の内48項目が調和された。平成24-26年度のPDGで新規に調和した医薬品添加物条並びに主な改正事項を下記に列挙する。

平成24年度

- ・東京会合（6月5、6日）

新たにGelatin (gelling and non-gelling types) およびMannitolの2つの添加物各条が調和するとともにMethylcellulose, HypromelloseおよびCorn Starchの各各条の改正が調和された。他3品目の訂正が調和された。

- ・ロックビル (米国) 会合 (11月6、7日)

Cellulose Acetate, Ethanol, および Ethanol, Anhydrousの各各条の改正が調和された。

平成25年度

- ・ストラスブルグ (フランス) 会合 (6月26、27日)

HydroxypropylcelluloseおよびIsomaltの2つの添加物各条が調和に至った。SaccharinおよびSodium starch glycolateの2項目の添加物各条の改正が調和された。

- ・東京会合 (11月5、6日)

新規の調和はなかったが、一般試験法ではBulk Density and Tapped Densityの2項目の調和改正案

が、医薬品添加物ではSodium Chloride, Starch, Rice”など5項目の改正案が調和された。

平成26年度

- ・ロックビル（米国）会合（6月25、26日）

Glucose Monohydrate/Anhydrousの2つの添加物各条が新たに調和された。Gelatin, Mannitol, Hypromellose, Methylcellulose, Alcohol/Dehydrated Alcoholの4つの添加物各条の訂正が合意に達した。一般試験法に関してはThermal Analysisが新規試験法として合意に、またPolyacrylamide Gel Electrophoresisについては修正合意に達した。

- ・ストラスブルグ会合（11月12、13日）

Hydroxypropylcellulose, low substituted および Sodium laurylsulfateが2つの添加物各条が新たに合意に達するとともにSaccharin sodiumの改正が合意された。その他3品目の修正が合意された。

C-2-2. PDG活動とその他薬局方との連携

平成25年度の2回の会合において、インド薬局方のPDGへのオブザーバー参加の要望が検討された。これは平成25年4月に開催された第二回世界薬局方国際会議（デリー）において、インド薬局方から正式に参加要望が表明されたもので、それに対してPDG側が検討を約束したものである。まずストラスブルグ会議の議題に挙げられ議論された。日局はPDGとしても今後透明性をもたせた活動が必要であり、他局方のオブザーバー参加も考慮すべきであるものの、インド薬局方をオブザーバーとして迎えた場合のPDG運営への影響等を分析して結論を出すべきとの主張を行った。EPはインド薬局方だけにオブザーバー参加を認めるわけにもならず、その後の影響を考慮しなければならないとのコメントが表明された。一方USPは、事前の意見集約がなされておらず、意見表明ができなかった。そのため、東京会議までにさらに各局方が議論を深め、結論を出すこととなった。東京会議では再度議題として取り上げられ、再審議を行った。その結果、(1) 他の局方のオブザーバーを認める前にPDGの方向性をよく議論すべき、(2) インド薬局方だけにオブザーバー参加を認める訳にも参らず、とはいえ今後他の薬局方のオ

ブザーバー参加を迎えた上での会議運営の困難さ、が指摘され、現段階ではインド薬局方のオブザーバー参加は認めないということで三薬局方の合意が得られた。さらに今後PDGが透明性を高める上で、会議報告等に工夫を加えることとした。

C-2-3. PDG作業手順の見直し

PDG活動は多くの事項の調査に成果をあげてきたものの、調和すべき対象は多く残っていることから、現状のPDGプロセスを改善し、より迅速なプロセスの再構築が求められている。現行のプロセスは6つの段階から構成され、2回のレビューやパブリックコメントを含め、かなり複雑な手順を踏んでいる。即ち、調和課題に対して担当薬局方を指名することから開始（stage 1）される。引き続き、担当薬局方が各地域の現状を調査、調和案を起草し（stage 2）、各局方の専門家がレビューし、寄せられたコメントに基づき担当薬局方は改稿（stage 3）する。その後パブリックコメントが行われ、調和文書案が作成（stage 4）される。その後のレビューを経て、合意・署名される（stage 5）。最終プロセスは局方への取り込みのプロセス（stage 6）である。

各stageの問題点が指摘され、以下の修正案を合意した（http://www.pmda.go.jp/kyokuhou/pdf/jpdata/Rockville_Summary_jp.pdf）。

- ・添加物規格や一般試験法の変更による影響や各地域での情報を把握するため、各薬局方は調和活動の早い段階において、各地域の利害関係者との連絡を図る。
- ・懸案事項を解決するため、調和作業手順において、場合によっては各薬局方の専門家を招聘し、意見や情報の交換を密に行う。
- ・各薬局方におけるStage4案の意見公募の開始時期を調整する。
- ・遅くともStage 4案の段階で意見が提出されるよう利害関係者から働きかける。
- ・対面会議以外においても合意署名の機会を増やす。
- ・PDG調和作業手順について、透明性の向上と関係者の理解を高める。

・PDGでの調和作業が開始された項目については、各薬局方はPDG調和作業手順を通じて改正を進める。ただし、PDG関係者はやむをえない変更（法令遵守確保の観点からの変更等）についても配慮する。

より抜本的な解決策として現行の「Harmonization by attribute」から「重要品質特性の調和」の調和を目指すあるいはStage1から積極的に外部専門家や関係組織の専門家を招聘し、迅速な情報収集を実施すべきという議論もなされた。前者に関しては現行の局方の姿を大きく変えること、後者に関しても、局方の透明性と公平性の観点から、PDGの独立性は重要な要素であることから、この観点からの修正は見送りとなった。

C-2-4. ICH-Q4B

三薬局方の各国・地域における薬事上の位置づけは違っている。米国のUSPは医薬品規制当局FDAとは異なるNPO法人であるUSP Conventionが発行している。またEPは医薬品規制にかかわる国際組織であるものの、欧州規制当局のEMAとは別組織が作成・発行している。そのため薬局方間で調和しても（上記のstage6）、FDAやEMAが医薬品の審査で調和試験法を受け入れることを保証するものではない。そこでICHでは、ICH-Q6A：化学医薬品の規格および試験法ガイドラインにおいて医薬品品質試験で汎用され調和することが望ましいとされた試験法について、ICH-Q4B活動を通じて、ICH参加日米欧規制当局および日米欧業界代表によってPDG調和試験法が相互受け入れ可能interchangeableなものとして扱ってよいかとの検討が行われた。またICH-Q6Aで言及された試験法以外にも、5試験法が追加されICH-Q4Bで検討された。これらの検討結果は、相互受け入れする上での条件等も追記された調和文書としてまとめられ、ICH-Q4Bガイダンスの補遺として公表されている。

ICH-Q4B活動は、その後平成22年11月のICH福岡会議で当初の目的を達したという理由でトピックを終了することが決定され、平成24年度までに、Annex6製剤均一性試験法を残してStep4の合意署名

が行われていた。平成25年度は、残りのAnnex6のStep4の合意署名がなされ、ICH-Q4Bの常設活動は終了した。なお、各調和試験法の改定は継続的に行われており、その場合にはアドホックに検討が行われる予定となっている。

C-3. 世界の薬局方の国際交流

C-3-1 世界の薬局方の国際交流の活発化

PDGの枠組み以外の局方の国際協調・交流の場が以下の理由で広がりつつあり、世界的規模の国際交流の場の創設を要望する動きが活発化している。

- ・欧米局方からみると、医薬品の製造・流通の国際化の中で、医薬品品質管理についても国際的な管理体制を作ってゆく意味で国際協調体制を作ろうとする立場
 - ・現在経済的に発展しつつある国の局方にとっては、国際的な活動や情報交換への参加を要望する立場
- その結果、2011年より、以下の二つの系統の国際会議が開催された。

・世界薬局方サミット会議 (The Global Summit of Pharmacopoeias)

主催者等：中国薬局方CPとUSPが提案者となった薬局方の国際会議

具体的活動内容：局方収載医薬品データベースの作成など

・世界薬局方国際会議 (International Meeting of World Pharmacopoeias)

主催者等：WHOが提案者となった国際、地域、国別薬局方が参加している国際会議

具体的活動：Good Pharmacopoeial Practice (GPhP) の作成

世界薬局方サミット会議は最終的に世界薬局方国際会議に集約されることとなった。以下、世界薬局方国際会議に関して紹介する。

C-3-2. 世界薬局方国際会議の活動

第一回会議はWHO主催で2012年2月にWHOの主催によりジュネーブで開催された。参加者はWHO、EP、の他、Argentina、Brazil、UK、Croatia、Czech、

Finland、France、Germany、India、Indonesia、Japan、Kazakhstan、Mexico、Portuguese、Russia、Serbia、Spain、Swedish、Swiss、Ukraine、及びUSAの各薬局方であった。本会議では、各局方の紹介とともに、今後の戦略を発表した。さらに今後の活動計画としてGood Pharmacopoeial Practices (GPhP) の作成をめざすことを決定した。その後以下のスケジュールで会議が開催された。

- ・平成25年4月 第二回会議（デリー）、インド薬局方主催、WHO共催で開催
- ・平成26年4月 第三回会議（ロンドン）BP共催（BP150周年記念会合）
- ・平成26年10月 第四回会議（ストラスブルグ）EP共催（EP50周年記念会合）

C-3-3. 適正薬局方規範GPhP (Good Pharmacopoeia Practices) の作成

世界薬局方国際会議の主要な目的である適正薬局方規範GPhP (Good Pharmacopoeia Practices) に関してそのコンセプトペーパーに則って紹介する

1. 適正薬局方規範の目的

WHO適正薬局方規範：WHO Good Pharmacopoeial Practices (GPhP) は薬局方基準を確立する上でのアプローチや方針の調和を目的にしたものであり、その結果医薬品有効成分、医薬品製剤、およびその他の物質の品質を管理する上で規制当局の助けになるとともに、薬局方ユーザーあるいは関係者が品質を判定し、公衆衛生において安全確保手段を提供することとなる。GPhPは、各国薬局方および地域薬局方当局が薬局方基準の適切なデザイン、作成、維持、発行、配布を促進する上でのガイダンスとなる、一連の原則を述べたものである。

2. 適正薬局方規範の恩恵

GPhPは薬局方間の協力を助長するようにデザインされるので、薬局方間の作業の分担、プロスペクティブな基準の調和、発表された基準の認証、さらに高品質の医薬品へのアクセスや利用に結びつく。

加えて、GPhPの作成によって以下のことが期待される

- ・薬局方間の世界的な協力体制の強化

- ・薬局方基準が透明性をもって作成、維持される方法についての利害関係者の理解
- ・薬局方基準の世界的な調和の促進という視点のもとに、薬局方間および関係者間の協力関係の改善

GPhPに基づいて作成された薬局方基準は、適合性決定手順に支えられ、適切に検証された分析手順および適切な標準品を伴い、信頼性の高いものとなる。GPhPへの遵守は薬局方間の意見交換、作業の分担、各条の受入れの助長を可能にするものである。最終的には、GPhPは薬局方基準の調和を可能にすることになるはずである。

現在ドラフト5が起草され、議論を実施している。

C-4. 世界の薬局方の動向

WHOが得ている情報によると、現在世界140カ国で、国際薬局方であるInternational Pharmacopoeia (Ph.Int.)、地域薬局方といえるアフリカ薬局方と欧州薬局方、および30の国別薬局方が医薬品規制に用いられている。また、現在Mercosur南米南部市場諸国（ブラジル、アルゼンチン、ウルグアイ、パラグアイ）が一つの地域薬局方への調和作業を進めており、まもなくMercosur薬局方が地域薬局方に加わるものと予想される。

世界の薬局方は、通常化学医薬品原薬、生物薬品（ワクチン、血液製剤を含む）原薬、製剤、放射性医薬品等を各条収載対象にするものが多いが、中国、フランス、日本野薬局方、およびEP等は多くの生薬も収載している。またブラジル、ドイツ、ウクライナ、メキシコ等の薬局方はホメオパシー薬も収載対象としている。またセルビア薬局方は医療機器も収載しているとのことであった。またEPは、収載製剤はごく少数である。

各国では、地域薬局方を構成する国において地域薬局方および自国の薬局方を医薬品の規制に用いることを法律的に規定していることが多い。多くの国ではこれにPh.Intも加わる。またEP、あるいはUSPおよびPDG国際調和事項については、これを参照するとした国も多い。またBP、JP、CPは自国の法律では規定されていないものの、法律で規定された局方

に収載されていない場合に参照する薬局方としてあげた国も少なくない。JPへの参照を言及した国としては、ウクライナ、インド、インドネシア、韓国、アルゼンチン、ブラジルがあげられる。

D. 考 察

PDGは平成24-26年度において6回の対面会議および、その間進捗状況の確認のための月一回の電話会議がコンスタントに開催され、添加物各条や一般試験法の調和が堅実に進行している。一方で、調和作業は継続しているものの、既に上げられていた調和予定課題について調和作業を進めているのみであり、新たな調和課題の提案はすべて不調に終わっている。このことはレトロスペクティブな国際調和は極めて困難という欧米でのPDGに対する評価が定着してしまっているためもある。一方で前向き（Prospective）の調和に傾注すべきという意見は、特にEP関係者に強く、今後のPDGの新たな課題を探る上での大きなヒントとなると思われる。即ち、新技術による一般試験法や、バイオ医薬品等の新しいタイプの医薬品の分析方法等が今後のPDGにおける一般試験法の調和候補になるものと思われる。

USPは今後のPDGでは、添加物各条の近代化Modernizationを行うべき、という考えを表明している。即ち、添加物各条の試験法を、質量分析等の選択性の高い分析法に置き換え、違法混入物等に対する検出力の高い各条に近代化させようとする主張である。この主張は極めてわかりやすいものの、我が国のように小規模な添加物企業の対応には困難が予想され、日局としてどのように対応するかは議論の余地がある。

現在、PDGは各条に関する活動を添加物に集中している。添加物は汎用性が高く規格の調和の必要性が高いからである。その結果、原薬に関する「調和」のスコープ外とされており、直接的な進展はない。一方、USPとEPは2008年以降これから収載すべき原薬に関する調和に関して、パイロットプログラム「Prospective Harmonization」に取り組み、Celecoxib、Montelukast Sodium、Rizatriptan Benzoate、Sildenafil Citrateの4原薬の各条を調和した。このプログラム

は終了したが、今後このような取り組みが拡大すれば、新たな局方調和の推進が図れることが期待される。

我が国も各条調和のfeasibility studyとしてMontelukast Sodiumの日局収載作業を進めている（第17改正日本薬局方収載予定）。この原案は不純物標準品が設定されていること、PDGでの国際調和が検討されている一般試験法「クロマトグラフィー」のStage 3ドラフトの内容等を先行して取り入れているなど、従来の日局原案とは多くの点で異なった内容となっており、日局においても欧米の各条規格設定の概念の取り込みが可能であることを示したと考える。

医薬品の製造と流通の国際化は、他の多くの工業製品と同様に今後も進むものと考えられる。特に医薬品原料の調達先は世界的な市場の変化の中で様々な国に広がるものと思われる。その際、近年問題となっている医薬品への有害物質の意図的な混入への対応という意味からも、医薬品品質管理体制について世界的なネットワークを作ることが望まれつつある。一方日本で生産され輸出される医薬品の海外諸国への受入を円滑にするためにも、PDG活動を通じて、個々の医薬品規制要件について国際的な調和を進めることは必要と思われる。

ICH-Q4B活動は平成25年度のAnnex6製剤均一性試験法のStep4合意によって終息した。しかし、今後の試験法の改正時の規制当局の相互受け入れの議論を含め、PDGにおける調和内容の実効性を高めるために、薬局方の調和内容に対して、規制当局の受け入れを確認するシステムをどのように構築するかについては、今後の大きな課題といえる。

E. 結 論

従来、日本薬局方の国際活動は、PDGを舞台とした日米欧三薬局方間の国際調和を意味していた。しかし医薬品の製造・流通の国際化に伴い、薬局方においても国際的な情報交換、意見交換、協力活動が活発化しており、薬局方の国際交流をテーマとして国際会議の開催も続いている。このような背景の中、日本薬局方としてはPDG活動についても、積極的に