

**厚生労働科学研究委託費（革新的がん医療実用化研究事業）
委託業務成果報告書**

毒性、薬効検証のための非臨床試験

b. 安全性試験

治験薬 GMP 製造

担当責任者 金田安史（大阪大学大学院医学系研究科・教授）

李千萬（大阪大学医学部附属病院未来医療開発部 特任准教授）

研究要旨

本研究で開発しているHVJ-Eを早期に上市するために必要な安全性試験と治験薬製造準備をジェノメディア株式会社の協力を得て行った。策定中の治験実施計画書の内容から、今後必要となる安全性試験の項目と、治験薬の必要本数の予測値を求めて試験計画と製造計画を策定し、それに従って研究開発を実施した。安全性試験については、計画している胸膜腫瘍内投与における安全性を確保するための試験のバリデーション試験を実施した結果、目的とする試験で採用する測定方法の妥当性を確認出来た。一方、製造については治験薬製造に必要な原料（原薬）について、必要量の50%の製造を完了した。また、医薬品GMP製造も想定し、無菌注射剤製造のための技術確立と、スケールアップ技術の検討を行った。製造技術の開発の骨子について検討した結果、培養工程、精製工程、製剤化工程の3種類の工程毎に開発する事とした。平成26年度は、精製工程のスケールアップ検討を実施した結果、精製用カラムクロマトグラフィーの仕様検討からIQ：Installation Qualification（据付時適格性確認）、及びOQ：Operational Qualification（稼働性能適格性確認）までの作業を完了した。

A．研究目的

本研究で計画している医師主導治験では、胸膜に発生する腫瘍内への投与を予定しているため、その安全性を確保する必要がある。当初の計画では安全性試験について以下のように記載したので、それを達成させることが今年度の目標である。

“安全性については、抗腫瘍効果の維持により再発や転移の拡大を抑制できるよう、長期的に反復投与を進める事を想定し、3ヶ月間から6ヶ月間の長期毒性を検証するための予備試験を行い、本試験の実施に必要な検証系（試験系のバリデーション等を含む）を確立する。”

また、医師主導治験を早期に完遂するに

は症例のエントリーを速やかに進める必要があり、特に本研究で計画している治験のように、対象疾患が胸膜悪性中皮腫のように症例数の少ない稀少疾患である場合には症例のエントリーを適切に進めるようにする事が重要である。そこで、治験に必要な被験物質（治験薬）を治験開始までに十分量確保する事が必要で、さらに開発を進めている治療薬に関して早期に承認申請を実施するには、次相の治験薬GMP製造と、上市後の医薬品GMP製造を適切に実施できるよう、製造技術のスケールアップとレベルアップが必要である。治験薬GMP製造については、当初の計画では、以下のように記載しているため、それを達成し開発の迅速化を図ることを目指して製造技術の開発を実

施した。

“ 医師主導治験の実施に必要な治験薬を十分量確保するために必要な治験薬製造計画を策定し、治験薬GMPレベルの製造のための準備を整える。また、第2相治験へ速やかに移行できるよう、医薬品GMP製造も想定した製造技術の確立、スケールアップを想定した製造技術の開発の骨子を策定し、開発の方向性を策定する。 ”

B . 研究方法

臨床治験における胸膜腫瘍内投与の安全性を確保するための試験として、トキシコキネティクス試験 (TK試験) を実施するために必要な測定法のバリデーション試験を実施した。ガイドラインを参考にして、検量線の妥当性、再現性、力価との相関性などの項目について予備検討試験を実施し、その結果から採用基準の範囲を設定した。各項目について、予備試験の結果から設定した内容に従ってバリデーション試験を実施し、設定した試験法が定量試験として妥当であることを確認した。

医師主導治験の実施に必要な治験薬を十分な本数確保するために、治験薬の製造計画を策定した。まず、策定中の治験実施計画書の内容を精査し、治験を速やかに進めるために必要な治験薬の必要量について算定を行った。その結果に基づいて、治験開始までに必要な最低の本数、症例数が最大となった際に必要となる本数を求め、治験薬の保存安定期間 (21ヶ月 ~ 24ヶ月) を考慮して製造計画の策定を行った。平成26年度は、この計画に基づいて、最低限必要な治験薬の本数を製造するために必要な原料 (原薬) を治験薬GMP体制化で製造した。

第2相治験へ早期に進めために必要な治験薬GMP製造のスケールアップと、その後の医薬品GMP製造へのレベルアップについては、開発の進捗に応じて段階的に進める事が適切であると考えられた。そのため、スケールアップについては現

行の5倍のスケールへの移行を、レベルアップについてはバイオ医薬で主流になることが見込まれるシングルコーステクノロジーを利用した製造技術確立を目標にして計画の策定を行った。現行の製造工程の内容を精査し、適切なスケールアップを可能とする仕様の検討を行い、培養工程、攪拌工程、精製工程、製剤化 (凍結乾燥) 工程の仕様・スケールを決定し、計画の骨子を策定した。その内容に従って、平成26年度は攪拌工程と精製工程のスケールアップ検討を開始し、攪拌用のバックと精製用カラムについて、IQ : Installation Qualification (据付時適格性確認)、及びOQ : Operational Qualification (稼働性能適格性確認)までを実施した。

(倫理面への配慮)

治験薬GMP製造については、医薬品、医療機器等の品質、有効性及び安全性の確保等に関する法律 (医薬品医療機器等法、旧薬事法) と関連する法令、ガイドラインに従って実施すると共に、規制当局である医薬品医療機器総合機構 (PMDA) との薬事戦略相談・事前面談と対面助言を適宜実施して適切に実施した。

C . 研究結果

医師主導治験で計画している胸膜腫瘍内投与の安全性を確保するため、トキシコキネティクス試験 (TK試験) として実施予定の試験法の妥当性についてバリデーション試験を行った。バリデーション試験における規定値の範囲を設定するために予備試験を実施し、検量線の妥当性、再現性、力価との相関性などの項目の、それぞれについて妥当性を確認するための範囲を規定した。その結果に基づいて、バリデーション試験を実施した結果、いずれの評価項目についても設定した規格値の範囲内となる事が明らかとなり、確立した試験法が、定量試験として妥当である事が確認された。

本研究で計画している胸膜悪性中皮腫を対象とする医師主導治験の実施に必要な

治験薬の本数を算出した(表1)。策定中の実施計画書の内容から、症例あたりに必要な本数を算出し、症例数の最小(各用量3例、計6例)と最大(各用量6例、計12例)から、最小と最大の本数の見込みを求めた結果、最小で222本、最大で444本。現行の治験薬製造では、1バッチあたりの最大製造本数は222本であるため、本治験の実施には最小と最大で、それぞれ治験薬を1バッチと2バッチ分製造する必要がある事が明らかとなった。現行で治験薬を製造するための原料(原薬)は、治験薬1バッチあたり4バッチ~5バッチ程度必要であるため、目的とする治験薬製造を達成するには、原薬製造を最小と最大で、それぞれ5バッチと10バッチ分の製造が必要である事が明らかとなった(表1)。

治験の開始を早期に実現するためには、最低限必要な本数である222本の治験薬を早期に製造できるよう、原料である原薬の製造を進めておく必要があるため、平成26年度は製剤1バッチ分の製造に必要な原薬について5バッチ分の製造を行った。治験薬GMP体制下で製造を完了した原薬について、規格値に適合するかどうかを確認するために品質管理試験を実施した結果、設定した規格の範囲内である事が明らかとなり、目的とする治験薬の製造用原料までの製造を完了した。これまでに実施した長期安定性試験の結果から、治験薬の保存安定性が21ヶ月から24ヶ月であるため、今後治験準備の進捗状況を考慮して治験薬の製造と、追加5バッチ分の原薬製造を進める計画である。

次に第2相治験へ早期に進めために必要である、製造スケールの拡大と、医薬品GMP製造への移行に必要なレベルアップについて研究開発を実施した。現行では10Lスケールでの治験薬の製造を実施しているが、第2相では目標症例数が30例から50例程度になると予測されるため、計画している医師主導治験(目標症例数6例から12例)に対して4倍から5倍量の治験薬が必要になると予測された。そのため、現行の5倍スケール(50L)への拡大を目標としてスケールアップの検討を実

施した。現行のスケールの製造工程との同等性の確保と、将来医薬品GMPへのレベルアップを想定して、スケールアップの方向性を検討した。医薬レベルのHVJ-Eの製造工程は、培養工程、攪拌工程、精製工程、製剤化工程の4種類に分類される。培養工程と攪拌工程については、今後のバイオ医薬で主流になると考えられるシングルユーステクノロジーを採用し、スケールを5倍の範囲(10Lから50L)で適宜設定できる仕様で進める事とした。精製工程についてはカラム高を一定にしてカラム径の拡大で対応することとし、医薬品レベルへの移行を考慮して、カラムと樹脂の選択を行う事とした。製剤化工程については精製工程までの確立を達成した時点で件津を進める事とした。平成26年度は、攪拌工程と精製工程のスケールアップを実施した。攪拌工程については、樹脂性のバックに目的の溶液を充填して攪拌した際の温度分布と均一性を、精製工程については精製用樹脂を充填したカラムの理論段数を、それぞれ指標としてIQ: Installation Qualification (据付時適格性確認)、及びOQ: Operational Qualification (稼働性能適格性確認)を実施した結果、いずれの指標についても目標とする規定値の範囲内である事が明らかとなり、スケールアップの妥当性が検証された。

D. 考察

本研究では、胸膜内に発生した悪性腫瘍内に被験物質であるHVJ-Eを投与する計画であるため、投与の安全性を確保する必要がある。実施計画では、血液中の酸素分圧を測定して機能的な異常の発生をリアルタイムでモニタリング予定である。更に、血中の被験物質の濃度をモニタリングする事で、より確実に投与の安全性を確保する計画である。平成26年度の試験により、試験法の妥当性が実証されたことから、臨床における安全性の確保するため、今後の実施計画書策定の際に、全血を採取するタイムポイントの設定を進める計画である。また、3ヶ月から6ヶ月の反復投与と安全性試験の実施も計画しており、評価項目としてトキシコキネテ

イクス試験（TK試験）の組み込みを計画している。本年度のバリデーション試験の結果から試験法の妥当性が確認されたことから、より長期間、高用量の投与を実施した場合の安全性についても検証を進めていく計画である。

現在までに策定している実施計画書の内容に従って、医師主導治験を早期に完遂するために必要な治験薬製造の準備を実施した。治験実施計画書では、目標症例数の範囲に幅が設定されており、最低で6症例、最大で12症例の登録が計画されている。そのため、治験開始までには少なくとも最少の症例数で実施した場合に必要な治験薬が必要であると考えられた。実施計画書の内容に従って本数の算出を行った結果222本以上のバイアル数が必要である事が明らかとなったため、今年度はその製造に必要な原料（原薬）を治験薬GMP製造レベルで実施し、治験薬製造に最低限必要な原料を確保した。治験薬の長期保存安定性試験の結果から、製剤化を行った治験薬については有効期間を21ヶ月から24ヶ月で設定するため、今後治験の準備状況を確認して治験薬としての製剤化（凍結乾燥）と、追加バッチの製造時期を調節しながら治験薬の製造を実施する予定である。

本研究で開発しているHVJ-Eを、医療用医薬品として上市するには、第2相治験と承認申請を実施する必要がある。対象疾患である悪性胸膜中皮腫は、現在のところ標準治療がペメトレキセド（アリムタ）とシスプラチンの併用療法のみであり、新規治療法の早期確立が切望されている。そのため、開発の迅速化を目的として治験薬GMP製造のスケールアップと、承認申請までに必要となる製造技術のレベルアップ（医薬品GMPレベル）を実施した。スケールアップについては、培養工程と攪拌工程でシングルユーステクノロジーを採用し、必要な製造スケールに適宜調

整できる製造技術の開発を実施した。精製工程については現行工程との連続性を重視し、カラム高を一定にしたスケールアップを実施した。今年度はそれぞれの工程についてガイドラインに従ってIQ：Installation Qualification（据付時適格性確認）と、OQ：Operational Qualification（稼働性能適格性確認）までの段階までの検証作業を完了した。そのため、今後は実際に製造用原料を使用して実施するPQ（Process Qualification）の段階を経て、治験薬GMP製造へと製造技術の確立を進める予定である。

E．結論

平成26年度は医師主導治験の実施に必要な安全性試験の実施に必要なバリデーション試験を実施し、設定した測定法が定量試験として妥当である事が実証された。この結果は、投与法の安全性確保に必要な上、長期間かつ高用量の投与を実施する場合の安全性を確認する試験の基盤となる成果である。

平成26年度は治験薬の製造も実施し、目標となる治験実施に最低限必要なバイアル数を確保できる原薬製造まで完了した。また、治験薬GMP製造のスケールアップと、医薬品GMP製造へのレベルアップのために新規製造技術の確立を実施し、目標とする計画策定とガイドラインに準拠したIQ/OQを完了した。このように、治験薬製造については目標としていた計画策定、製造準備を計画の通り達成した。

F.研究発表

特になし。

G．研究発表

特になし。

H．知的財産権の出願・登録状況 今年度の新たな出願はない。

表 1 . 医師主導治験の実施に必要な治験薬の必要本数の計算

用量	治験薬	予定症例数		治験薬の本数		治験薬（製剤） バッチ数		原料（原薬） バッチ数	
	（本/症例）	最低	最高	最低	最高	最低	最高	最低	最高
低用量	25	3	6	75	150				
高用量	49	3	6	147	294				
合計		6	12	222	444	1	2	5	10