

日米欧遺伝子治療ファースト・イン・ヒューマン (FIH) での非臨床試験比較

	日本 (遺伝子治療用医薬品の指針)	EU (EMA)	US (FDA)
非臨床試験の目的	非臨床試験の総括: 現在の知見で遺伝子治療用医薬品の安全性が適切に確保されており、品質、安全性及び予想される有効性の面から臨床試験を行うことの正当性を記載する。	<ol style="list-style-type: none"> 1) 非臨床モデルを用いた薬学的POC 2) GMPの体内分布 3) 初回臨床投与時の投与量と投与量増加のスキームに関する勧告 4) 毒性が出る可能性のある臓器の特定 5) 生物活性がみられる可能性のある標的臓器の特定 6) 臨床試験でのモニターすべき指標の特定 7) 被験者の適格性基準の特定 	<ol style="list-style-type: none"> 1) 有効性を予測するための試験 (POC: biological plausibility) 2) 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 3) IND申請において臨床投与ルートの妥当性と安全性の確立 4) 被験者の適格性基準をサポートするデータの提供 5) 臨床試験でモニタリングすべき生化学的指標の抽出 6) 公衆衛生上のリスク (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
動物種の選択	実験の目的及び実験計画の概要を記載する。動物の種類及びその動物を選んだ理由を記載する。疾患モデル動物を使った場合には、その由来及び特徴を明らかにする。また、動物モデル (トランスジェニック動物を含む) を使った場合には、人を対象とする臨床研究との類似点及び相違点について明らかにする。疾患モデル動物を使用しない場合には、動物実験により得られる情報と臨床研究との関連性について明らかにする。		<p>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を指示することができるか、4) 計画している臨床投与方法や手順をモデル動物で適用可能であるかなどである。</p> <p>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。遺伝子改変されたげっ歯類 (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、ヒツジ、ウマ) などの通常は使用されない動物種も、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、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、あるいは投与経路なども考慮し、必要であれば複数の動物種を用いた試験が必要なこともある。治療薬に対して選択した動物種が生物学的に反応性を示す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 (性能試験や免疫学的表現型の解析、形態学的評価) やインビボでのパイロット試験を実施することを推奨する。</p>
病態動物モデル			<p>病態動物モデルを用いた非臨床試験は、投与量と生物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。基礎研究や非臨床研究に用いられる病態動物モデルは遺伝子細胞治療薬の臨床試験をサポートできるデータを得るために必要である。</p> <p>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、優越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。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リスクベフィットをより明らかにすることが望まれる。さらに、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を推定するためのバイオマーカーの同定に役立つ可能性もある。</p> <p>しかし、これらの前臨床試験に用いられる動物モデルの限界も認識しておく必要がある。動物モデルを用いて得られるデータの限界:</p> <ol style="list-style-type: none"> a. モデル動物のばらつき b. 用いることの出来るモデル動物に関する背景データの不十分性 c. モデル動物の生理学的、解剖学的な制約による技術的限界 d. 動物飼育の問題・困難さ e. 適応疾患についてヒトでの病理学的特徴をモデル動物で再現可能 <p>各モデル動物の長所と欠点: 以上の理由により、一つの動物モデルだけで、患者に対する遺伝子細胞治療薬の効果や安全性について正確な予測を行うことは困難な場合が多い。IND申請にあたっては、選択した動物モデルが目的とする適応疾患患者の病態を反映し、遺伝子細胞治療薬の有効性のみならず安全性評価が可能であることを明らかにすることが必要である</p>

<p>POC</p>	<p>細胞に導入された遺伝子の発現効率及びその持続性について記載する。また、導入遺伝子からの生成物の生物活性についての解析結果について記載する。遺伝子発現産物がどのような様式及び状態で発現しているか(構造的特徴、膜結合型又は可溶性型等)について可能な範囲で記載する。遺伝子の発現が調節を受けるように計画されている場合には、調節がうまく働いているか記載する。遺伝子発現産物の合成速度及び分泌速度について記載する。遺伝子を導入することにより、期待された細胞フェノタイプの変化が認められたか明らかにする。その他実験中に認められた細胞の形態学的及び機能的変化について記載する。遺伝子導入を行った細胞が当初の目的とする生物活性(細胞傷害活性、幹細胞増殖性等)を保持していることを明らかにしておくこと。遺伝子治療用医薬品又は遺伝子が導入された細胞の動物での吸収、分布等体内動態に関する知見を記載する。 *実験動物内での遺伝子導入細胞の生存期間、またex vivoで遺伝子が導入された細胞が特定の部位(組織等)に到達する必要がある場合には、当該細胞のin vivoでの局在性を明らかにしておく。</p>	<p>非臨床で臨床の効果あるいは少なくとも関連する生物学的効果/作用の分子機構を支持するエビデンスが得られる試験を実施する必要がある(in vivo及び特にin vivoでの疾患モデルが得られない場合にはin vitro試験を実施する)。特に臨床効果を調べるには相同な動物モデルの使用が望ましい。正しい導入遺伝子産物の目的臓器での発現あるいは目的によっては発現及び産生の制御を示す必要がある。異常な遺伝子産物の発現がGTMPの品質データに基づいて予見された場合、異常遺伝子産物により生じる生物学的影響を評価する必要がある。</p>	<p>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。POC試験から得られるデータは動物種の選択に関して有益な情報をもたらすことができる</p> <p>試験の目的</p> <ol style="list-style-type: none"> 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) 最適投与ルート 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 最適投与スケジュール 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 <p>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の生物活性の評価データはPOCに関する有用な情報となる。</p> <p>遺伝子細胞治療薬の想定される安全性の懸念や作用機序を明らかにするためのインビトロ試験の実施が必要。しかしインビトロ試験だけではインビボ投与の影響を評価することは難しい。従って、患者に対して遺伝子細胞治療薬を用いる治療実施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。インビボでの前臨床試験では、被験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病態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。</p>
<p>投与量及び投与ルート</p>	<p>遺伝子導入の方法、投与量、投与回数、間隔等について具体的に記載する。(非臨床ではない)</p>	<p>ヒトへの最初の投与量決定は以下に基づいて行うべきである</p> <ul style="list-style-type: none"> GTMPのヒトへの投与の根拠: 遺伝子導入が疾患の発現経路を変える(たとえば欠損遺伝子を永続的に代替するなど)あるいはヒトの感染を予防するとの仮定の妥当性 その根拠が確認されるような投与量と投与スケジュールの試験デザインで行われた動物試験で最初に生物学的効果が認められる量 <p>投与量は毒性試験結果をもとに再検討する。</p> <p>GTMPの毒性発現の可能性はいくつかのファクターに影響される。たとえば、患者へ投与されるウイルスコートタンパクなどの構成要素を含むベクター粒子数が毒性発現に関与する可能性がある。また、GTMPの毒性は導入遺伝子の発現や遺伝子挿入によっても生じる。従って投与量決定には、投与量と関係する標的細胞に導入された遺伝子量の見積もりを含める。投与量は全ウイルス粒子数と感染性のある遺伝子導入可能なウイルス粒子との比率に基づいて決定する必要がある。</p>	<p>主な前臨床試験における遺伝子細胞治療薬の投与経路は、可能な限り臨床試験での投与経路と同じである必要がある。動物を用いた試験で、臨床試験と同じ投与経路が設定できない場合には、前臨床試験開発計画の中で、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の科学的妥当性を説明すべき。</p> <p>治療薬の投与に付随して想定されるリスクを評価するために、主要な前臨床試験で用いられる投与機器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。用いる投与機器について医療機器マスターファイル(MAF)を申請すること。</p> <p>遺伝子細胞治療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場合のリスク評価や、心臓や脳内に細胞を投与するための機器の使用におけるリスクの評価などでは、特定のリスクを伴う治療薬の投与機器の安全性を、健康な大動物や病態モデル大動物を使用することが必要な場合がある。上記したように治療薬の投与機器や投与方法の安全性データは既に発出されている規制案項に基づいて提出されるべきである。同様に遺伝子細胞治療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。</p>

<p>生体内分布・体内動態</p>	<p>遺伝子治療用医薬品又は遺伝子導入細胞の実験動物での吸収、分布等の体内動態に関する試験等により、人における遺伝子導入細胞の生存期間等を推測し、目的とする効果が十分得られることを説明すること。特に、遺伝子治療用医薬品又は遺伝子導入細胞が特定の部位(組織等)に到達する必要がある場合には、その局在性を十分に説明すること。なお、薬物動態試験の実施に当たっては、「新医薬品等の製造(輸入)承認申請に必要な薬物動態試験のガイドライン」(平成3年1月29日薬新薬第6号)の別添「薬物動態試験ガイドライン」を参照すること。(このGLも適切でない。有効性の観点のみ)</p> <p>遺伝子治療用医薬品又は遺伝子が導入された細胞の動物での吸収、分布等体内動態に関する知見を記載する。</p> <p>・実験動物内での遺伝子導入細胞の生存期間、またex vivoで遺伝子が導入された細胞が特定の部位(組織等)に到達する必要がある場合には、当該細胞のin vivoでの局在性を明らかにしておく。</p>	<p>反復投与毒性試験ガイドランスで推奨されているように、標的臓器かどうかにかかわらず、すべての臓器についてデータを示すことが望ましく、GTMPの持続性、移動性(mobilisation)、排出に関する調査も含まれる。一般的に、この目的のためには導入遺伝子/発現ベクターを調べれば十分である。観察期間はシグナルの持続性(導入遺伝子の発現期間および活性のある期間)をカバーすべきであり、可能であればシグナルが検出されない時点を含めること。投与量は臨床使用を模したものとし、適切な安全係数を持たせる。この試験で得られたデータは環境リスク評価にも寄与する。</p>	<p>インビボ投与したベクターの体内分布を明らかにすることは遺伝子治療薬の前臨床開発において非常に重要。生体内分布の解析から、目的とする生体組織への分布だけでなく、目的としない生体組織、生殖細胞などに分布する可能性を明らかにすることにつながる。ベクターの分布や持続性、消失経路を明らかにすることにより、遺伝子治療薬の被検動物を処理するタイミングの情報が得られる。生体内分布データより、被検動物で組織特異的に検出された有害事象との関連性を明らかにすることに役立つ。</p> <p>次のようなケースではヒトへの投与前に、生体内分布試験を実施：</p> <ol style="list-style-type: none"> 遺伝子治療薬が新規ベクターに分類されるものであるとき 既に樹立されたベクターではあるが、大きな変更を行ったとき 既に樹立されたベクターで、大きく製剤処方を変更したとき 既に樹立されたベクターで、投与ルートが大きく変更したとき 既に樹立されたベクターで、投与スケジュールや投与量を大きく変更した場合 ベクターに新規の目的遺伝子を挿入し、その毒性が不明な場合 ベクターに既知の毒性の懸念がある遺伝子を挿入し、目的外の組織に分布した場合に毒性が懸念される場合 <p>初期臨床試験の開始前に生体内分布試験を実施しない場合にはその妥当性が説明されなければならない。</p> <p>非検査を投与後、一定時間ごとに組織・血液を対象として定量的PCRにより、宿主ゲノムDNA当たりのベクターのコピー数を測定する必要がある。特定の組織や体液等に導入遺伝子の存在が示された場合には、導入遺伝子の転写活性の状況について定量的逆転写PCR法(qRT-PCR)を用いて判定の必要性がでてくるかもしれない。導入遺伝子の発現を定量することにより、1) 特定の組織/器官で有益あるいは有害な作用が見られた場合にどの程度の遺伝子発現でそのような作用が見られるのか、2) 目的とする活性や望ましくない副作用と導入遺伝子とのキネティックの関係が明らかになる。</p>
<p>毒性試験</p>	<p>最終製品が十分大量に製造されている場合には、一般毒性試験の実施を考慮すること。なお、一般毒性試験の実施に当たっては、「医薬品の製造(輸入)承認申請に必要な毒性試験のガイドライン」(平成元年9月11日薬審1第24号及び平成5年8月10日薬新薬第88号)を参照すること。(低分子化学薬品の毒性指針。明確に2種の動物が必要と書かれている)</p>	<p>毒性試験は、原則臨床プロトコルでの投与方法、投与経路で実施する。暴露量は予定する臨床投与量等から適切な量を検討する。投薬は臨床での用法を再現し、適切なセーフティーマージンをとる。一種類の動物しか用いない場合には、生物学的・薬理学的データから予想される毒性学的作用が最も関連性のある種類を選択すること。非臨床試験の期間と動物の性別はICHM3に従う。単回投与で導入遺伝子の発現がICHM3で示される期間よりも長いことが予測あるいは知られている場合、観察期間は少なくとも発現期間を反映する期間とすべきである。治療で用いられる併用薬との相互作用について調べる必要がある。</p> <p>試験には反復投与毒性試験ガイドラインでカバーされる剖検、病理組織学的知見、毒性の発現期間と可逆性などの評価項目を含め、GTMPが関与すると考えられる評価項目に焦点を当てる必要がある。</p> <p>臨床試験で単回投与を行う場合には単回投与毒性試験が求められる。動物への投与回数は、原則臨床での投与回数と同様とすべきである。アデノウイルスベクターを全身性投与する場合、関連する評価項目には肝毒性、腎毒性、炎症反応によるサイトカインストームが含まれるべき。場合によっては、遺伝子発現の持続性による影響を模倣するために複数回投与が必要。</p> <p>複数回投与による毒性試験はGTMPを複数回投与する計画の場合に必要となる。</p>	<p>毒性試験にあたっては、次のような点を考慮する必要がある：</p> <ol style="list-style-type: none"> 目的とする適応疾患 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 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 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 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 治療薬の作用機序 治療薬の本質的な特性 病態動物モデルを用いる場合の病理組織に関する情報 <p>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須。選択した動物種の適切性を示すデータが必要。通常の毒性試験では健康動物が用いた標準的な試験が実施されるが、遺伝子細胞治療薬では発現しうる毒性が評価できるように、病態モデル動物を用いたPOC試験で重要な安全性パラメーターを追加するなどの変更が行われる</p>

	<p>1. 適切に設計された培養細胞及び実験動物を用いた試験により、遺伝子の導入効率、導入遺伝子の構造及び安定性、導入遺伝子からの発現効率及びその持続性、発現産物の生物活性、細胞、組織及び個体への期待される効果等を検討すること。</p> <p>2. 適当な疾病モデル動物がある場合には、それを用いて治療効果を検討すること。</p>	<p>動物モデルでの毒性発現を予測可能な適切なバイオマーカーを見出すことが奨励される。毒性は遺伝子治療薬のコンストラクト全体について、細胞内での存在部位(ミトコンドリアや核染色体での位置など)や発現ベクター/導入遺伝子コピー数(挿入による癌化などの観点)などを考慮して評価を行うこと。毒性は導入遺伝子発現産物についても検討し、過剰発現の影響や免疫原性、不要な薬理作用などがあるかどうかを明らかにする必要がある。不純物についても必要な評価を行う。</p> <p>発現ベクターにより発現する非治療用タンパク質(プラスミドの抗生物質耐性遺伝子やコンストラクトから発現されるウイルスタンパク質など)のin vivoでの影響について調べること。</p>	<p>a. 雌雄を含めて十分な数の動物を用い、ランダム化して群分けする。必要動物数は遺伝子細胞治療薬の新規性や想定される安全性リスク、動物種、モデルの適切性、投与方法によって異なってくる。</p> <p>b. 適切な対照群の選択。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、医療機器とプラセボの組み合わせなど。</p> <p>c. 遺伝子細胞治療薬を用いた臨床試験における用量が含まれるように、毒性試験では複数の用量を設定する。POC試験から得られた結果は、非臨床安全性評価や臨床開発における用量設定に反映すること。非臨床試験における最高用量は、動物の大きさや、組織の容量や大きさ、投与経路あるいは製造可能なレベル等による限界がある。選択した用量の妥当性を説明すること</p> <p>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</p> <p>e. 可能な限り臨床投与ルートと一致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使用される投与機器を治療薬の投与に際しても用いるべき。</p> <p>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時期で動物を剖検し、その毒性を検討すること。モデル動物、遺伝子細胞治療薬、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を考慮して動物を剖検。遺伝子治療薬の組織分布プロファイルは、試験期間や剖検する間隔について有用な情報を与えなければならない。</p> <p>g. 毒性を適切に捕らえる安全性エンドポイントの設定。モニターすべきパラメータ: 動物の死亡(死因も含む)、一般状態、体重、身体検査、摂餌量や食欲、摂水量(可能であれば)、臨床検査値(血液生化学的検査、血液検査、凝固活性、尿検査)、器官重量、剖検所見、病理組織学的検査を含む。</p>
コアバッテリー		重要な臓器に対する影響	<p>h. 遺伝子細胞治療薬や目的とする適応疾患に特異的なパラメータの設定: パラメータとしては、液性及び細胞性免疫反応、行動検査、神経学的検査、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、異常増殖/異所性増殖性(過形成や腫瘍化など)の有無、免疫組織化学などの特殊な病理組織検査。</p> <p>i. 惹起された毒性については回復性を評価する必要がある。</p> <p>j. 前臨床データは臨床試験の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(NOEL)の算出に用いられる場合や、臨床での初回投与量や増量計画を設定する際にも役立つと考えられる。さらに、これらの情報により臨床試験における重大な有害作用を回避したり、減弱するためにも利用可能であろう。</p>
遺伝子組み込み試験	細胞当たりのコピー数はどの程度か、導入遺伝子が染色体に組み込まれる場合には、組み込み位置は特定されているかなどについて記載する。これまでの実験で、遺伝子の組み込みにより細胞内遺伝子の活性化、不活性化及び変異が認められたことがあるか記載する。	臨床の用途(生命を脅かさない疾患や小児への使用など)に依存して、GTMPの組み込み試験がどのようなGTMPでも必要となる。分子機構からは組み込みが予想されないGTMPの場合、組み込みを検出可能なin vivoやin vitroの試験データが必要である。ベクター組み込みのおこりやすさと組み込みにより起こりうる結果を評価し、起こりうるリスクを制御する手段について記載し妥当性を示すこと。	
生殖細胞への遺伝子導入	標的細胞以外の細胞、特に、生殖細胞系列に遺伝子が導入されないようにするためにどのような措置を講じたか記載する。動物モデル実験を含め、標的細胞以外の細胞へ遺伝子が導入されたことがあるか記載する。また、導入された場合の予想される影響について記載する。(非臨床ではない)	ICH Consideration	ICH Consideration
標的細胞選択性	標的細胞の生物学的特徴について記載する。特に、標的細胞が目的遺伝子を欠損している場合には、それによってもたらされる特徴を詳細に述べる。また、その他の細胞に遺伝子導入する場合と比較して、有利な点及び不利な点について記載し、当該細胞を標的細胞として選択した理由を記載する。(非臨床ではない)	遺伝子治療薬が選択的なターゲティング、発現する(トロピズム)ようにデザインされている場合、生体内分布データに加えて、標的組織での遺伝子発現の特異性及び期間、活性を確認する試験を実施すべきである	

<p>導入遺伝子に関する考慮事項・免疫原性及免疫毒性</p>	<p>導入遺伝子からの発現産物が標的細胞及び個体に有害な影響を与える可能性について記載する。治療効果を得るために必要な発現量の安全域について記載する。遺伝子が過剰に発現した場合、どのような副作用が予測されるか、また、患者をこれからの副作用から守る方法について記載する。</p> <p>導入遺伝子の発現産物及びベクターに含まれるタンパク質等による抗原性の賦与その他による望ましくない免疫反応を引き起こす可能性について記載する。</p> <p>・適当な動物モデルが利用可能な場合、細胞供与側と受容側の抗原性の相違、移植された細胞に対する免疫又はアレルギー反応、治療の安全性に対するその影響の評価、自己免疫及び移植細胞-宿主間反応について記載する。</p>	<p>体液性免疫、細胞性免疫を機能的評価項目とする免疫原性試験および免疫毒性試験は、一般的に増殖因子、サイトカインその他の免疫系に影響する高分子をコードする遺伝子を搭載したGTMPが必要である。</p> <p>GTMPの品質データにより、異常産物あるいは天然型と異なる構造のタンパク質の発現が示唆される場合、導入遺伝子産物の免疫原性を調べる必要がある。導入遺伝子産物に対する既存の免疫の影響を調べること。</p> <p>ウイルスベクターを複数回投与した後のベクターに対する免疫について調べること。</p> <p>特定の遺伝子治療薬では、動物モデルでは臨床状況を反映することができないので、解釈可能な免疫毒性データは得られないかもしれない。このような特殊なケースでは、相同性のある動物モデルを使用することが奨励される。このような場合には、非臨床での免疫原性試験に加えて、臨床レベルでの適格性基準と免疫原性試験を注意深く計画する必要がある。</p>	<p>遺伝子発現のための導入遺伝子や発現タンパク質の安全性を解析するために、開発者は次のような点を考慮する必要がある：1) 局所で発現するのか全身で発現するのか、2) 発現の程度と持続性、3) 一過性の発現か持続性の発現かなどである。遺伝子発現が持続することがある遺伝子治療薬の望ましい効果である場合もあるが、過剰な発現や遺伝子発現タンパク質の蓄積があったり、あるいは遅発性の異常な免疫反応を引き起こすなどは望ましくない結果といえる。増殖因子、増殖因子受容体、免疫制御因子のように持続性のある遺伝子発現では制御できない細胞の増殖や腫瘍転移、自己抗原に対する自己免疫反応、宿主遺伝子の発現異常、あるいは他の予測不能な副作用による長期にわたるリスクが起こりうる。このような懸念がある場合には、長期にわたる前臨床試験の実施を考慮すべきである。</p> <p>さらに、遺伝子導入により発現するタンパク質に対してや内在性のタンパク質に対して免疫反応が起きたり中和活性が生じたりする可能性がある。例えば、内在性の酵素や受容体、あるいは構造タンパク質をコードする遺伝子を導入することにより導入遺伝子のみならず正常な細胞や組織で発現している内在性のタンパク質に対する抗体を誘導し、結果的に副作用を引き起こす可能性がある。同様に、融合タンパク質やキメラタンパク質を発現するための導入遺伝子は、異種性の外来タンパク質を発現することになり、結果的に免疫誘導を引き起こす可能性がある。これらの懸念は、非臨床試験プログラムの中で検討されるべきである。</p>
<p>生殖発生毒性試験</p>		<p>開発のこの段階では、生体内分布試験や生殖細胞への組み込み試験により、すでに生殖へのリスクの可能性は明らかにされている。ICHM3にある標準的試験は、GTMPの生物学的特徴と適応症、患者集団の特性により生殖組織や生殖機能にリスクが示唆される場合を除き、ヒト初回試験の前には必要。</p> <p>ICH M3「医薬品の臨床試験及び製造販売承認申請のための非臨床安全性試験の実施についてのガイダンス」2010年</p>	
<p>遺伝毒性試験</p>		<p>標準的な生存期間でのげっ歯類の発がん性試験は通常必要ない。しかし、GTMP製品の性質により他の試験が必要であろう。GTMPやその遺伝子発現産物は発がん活性を持ちうる。GTMPの発がん性の有無はin silicoで評価すべきである(たとえば発がんタンパク質の配列やGTMPのゲノムでの作用機構など)。発がん活性が既に検出されている場合、適切なin vivo/ in vitroモデルを用いて(たとえば増殖能の分析や外来性刺激の依存性、アポトシス刺激やゲノム変異への応答などにより)腫瘍原性を評価すること。ICH Q5D, EPト用ワクチンモノグラフ、EPヒト用ワクチン製造用細胞基材を参照すること。</p>	
<p>プラスミド</p>		<p>プラスミドでは、目的とする臨床使用法(生命の危険がない疾患や小児疾患、予防目的など)及び投与方法(in vivoレトロポレーションなど)に依存して、組み込み試験が求められる。プラスミドがin vivoで小児や非致死性疾患の患者に用いられる場合に推奨される。抗生物質耐性遺伝子をベクターの選択マーカーとして使用することは推奨されない。やむを得ない場合は、ヒト初回投与試験の前にヒトの体細胞で耐性遺伝子の偶発的な発現に関する試験を実施すべきである。</p> <p>DNAワクチンのようにアジュバント配列がある場合、免疫毒学的安全性を調べること。さらなるアジュバント物質が最終処方に含まれる場合、製品全体の免疫毒学的安全性について調べること。</p> <p>トランスポゾンを持つプラスミドのようにプラスミドが組み込み能を持つように設計されている場合、上述の生殖細胞への伝達と組み込みに関する試験を実施すること。</p> <p>プラスミドが非増殖性ウイルスベクターまたは増殖性ウイルスを規定するように設計されている場合、プラスミドそのものの特性に加えて導入されるウイルス/ベクター粒子の特性も十分に解析すること。</p>	<p>DNAや特定の最近配列に対する免疫反応の可能性</p>
<p>ウイルスベクター</p>		<p>1) 増殖性: 遺伝子改変したウイルスやウイルスベクターは非増殖性、あるいは増殖性または特別な条件下での増殖性(制限増殖性)を持つように設計される。</p> <p>増殖性がないように設計されたウイルスベクターは、野生型ウイルスの相補性により意図せぬ増殖をすることがある。組換えにより増殖性ウイルスが生じる場合、そのような組換え体の病原性を非臨床において調べること。</p> <p>増殖性または制限増殖性ベクターの場合、これらのベクターが標的及び非標的となる異なる種類の組織、細胞で期待通りの増殖性を示すかどうかを調べること。併用療法の影響についても考慮すること。このような試験はベクターと宿主の特異性により妨げられる可能性がある。</p> <p>2) 組み込み: ベクターが組み込み能を持つ場合、あるいは親ウイルスが組み込み能をもち組換えにより復帰する可能性がある場合、生殖細胞への導入と発がん性について上述の通り検討すること。</p> <p>3) 潜伏感染/再活性化: 親ウイルスが潜伏感染能を持つ場合(ヘルペスウイルスなど)、ベクターも潜伏感染するかどうか調べること。潜伏感染能を持つ場合、あるいはベクターが潜伏するようにデザインされている場合、潜伏が特別な組織に限定されているか、ベクターは再活性化能を持つかについて調べること。潜伏期間中のベクター-遺伝子の発現能と発言が特性の組織に限定されているかどうかを調べること。これを調べるための方法の妥当性を明らかにすること。このような試験はベクターと宿主の特異性により妨げられる可能性がある。</p> <p>4) 免疫原性: 審しい免疫応答を生じるベクターは効果的な再投与が難しい。患者への再投与が必要で免疫応答が認められる場合、再投与したGTMPに対する免疫応答の影響について調べること。このような試験はベクターと宿主の特異性により妨げられる可能性がある。</p> <p>5) 病原性: 親ウイルス株の病原性と不慮の組換えにより病原性を回復する可能性について考慮に入れる必要がある。</p>	<p>アデノウイルスでは -ベクターに対する強い免疫反応と炎症反応の可能性と混入している可能性のある増殖性ウイルスによる副作用</p>
<p>非ウイルスベクター</p>		<p>リボソームなどの運搬体がプラスミドや発現ベクターによる遺伝子導入に用いられることがある。他の医薬品やワクチンのデリバリーに用いられるリボソームやウイロソームと同様の検討を行うこと。</p> <p>非ウイルスベクターに関する毒性: トランスフェクション試薬そのもの(リボソームなど)の毒性を評価することは有用である。この方法は、遺伝子治療薬コンストラクト全体で認められる毒性から遺伝子発現に関する毒性の構成要素を特定するための評価の対照群として有用である。このような試験は、ベクターを検討するのに適切と考えて選択したモデルの再保証をもたらす(用いる非ウイルスベクターによる毒性と適切な指向性など)。</p>	

遺伝子改変体細胞		有効性、安全性の観点から調べる必要があるのは生体内分布、遊走、導入遺伝子発現を含む持続性(生存期間)などである。適応可能な場合、分化(適用可能な場合)その他の増殖性を含む細胞の表現型への影響について調べる必要がある。局所的耐性を調べる。改変細胞による免疫反応を調べる。	体外で遺伝子改変された細胞の細胞コンポーネントの安全性評価は本文書のIV.C-D項に記載された細胞治療薬の安全性評価と類似している。これらの項に記載されている重要な点は、細胞のタイプ、ベクター-遺伝子構成体や導入した遺伝子に依存している。前臨床試験デザインでは製品の特性に焦点を当てた事項について考察することが求められる。
体外放出	患者に投与した遺伝子が、周囲の患者以外の人に導入される可能性について記載する。また、患者が妊娠した場合に、患者に投与した遺伝子が胎児に導入される可能性について記載する。	遺伝子改変細胞が、意図したものかどうかにかかわらず、in vivoで導入した時にベクターやプラスミドを放出する可能性について、他の感染性物質との相互作用の可能性や適応できる場合は疾患治療薬を含めて調べる。試験の程度は細胞への遺伝子導入に用いたベクターやプラスミドの増殖能や細胞への組み込みの状況に依存する。ベクターのさまざまな組織、臓器、特に生殖組織への分散(播種)と環境中への排出を調べる。分散したものの同定、感染性、持続性、活性を明らかにすること。	ICH Consideration

国立医薬品食品衛生研究所 山口照英