

第7回遺伝子治療等臨床研究に関する 指針の見直しに関する専門委員会	資料 2-3
平成30年3月12日(月)	

遺伝子治療等臨床研究計画書に係る品質及び安全性に関する評価項目の 記載における留意事項について

下記については、遺伝子治療等臨床研究に関する指針（以下「指針」という。）に基づく *in vivo* 遺伝子治療等臨床研究に係る研究計画書のうち、品質及び安全性に関する評価項目（「8 導入する遺伝子及び遺伝子の導入方法」、「9 **遺伝子の改変に用いるタンパク質又は核酸等の情報**」、「10 特性解析と品質試験」、「11 被験者への投与に用いられる特殊な機器や医療材料」及び「12 非臨床試験における安全性及び有効性の評価」）の記載に当たっての留意事項を取りまとめたものである。

また、下記については、再生医療等の安全性の確保等に関する法律（以下「法」という。）に基づく *ex vivo* 遺伝子治療等臨床研究に係る研究計画書のうち、品質及び安全性に関する評価項目の記載に当たっても共通して留意すべき事項である。したがって、当該研究計画書の作成の際にも参照することが望ましい。

記

1 「8 導入する遺伝子及び遺伝子の導入方法」の項について

・指針に基づく *in vivo* 遺伝子治療等臨床研究に係る研究計画書においては、(1)から(4)の内容を記載すること。また、法に基づく *ex vivo* 遺伝子治療等臨床研究に係る研究計画書の記載の参考とする場合は、(5)を参照すること。

(1) 「開発の経緯」の項について

- ・遺伝子治療等臨床研究の申請に当たっては、当該ベクターを用いることにより目的とする疾患を治療又は予防することができることを、ベクターの特性、治療効果を発揮するためにベクターに導入された目的遺伝子（導入遺伝子）及び遺伝子導入方法の観点から説明するとともに、ベクターの特性から見た安全性等の情報について記載する。増殖性・選択的増殖性を示すウイルスベクターを使用する場合は、その理論的根拠と臨床使用の妥当性について説明する。同一又は類似のベクターを用いたヒトへの臨床試験が国内及び海外で既に行われている場合には、対象疾患を含めその概要、成果及び予定している臨床研究との相違点を説明すること。

(2) 「導入する遺伝子」の項について

- 1) 「遺伝子治療用ベクターの遺伝子構造」の項について

- ・ ウイルスベクターやプラスミドベクター等について、主な制限酵素切断位置を含む遺伝子模式図を記載する。また、可能であれば全塩基配列を添付資料として添付すること。

2) 「導入遺伝子の由来及び構造と機能」の項について

- ・ 導入遺伝子の構築手順、増幅法及び精製法を説明すること。なお、特定の機能をもつ RNA (shRNA 等) をコードする塩基配列をベクターを用いて導入する場合においても挿入した塩基配列に期待される作用について説明すること。
- ・ 導入遺伝子と自然界に存在する遺伝子との構造及び塩基配列の比較（置換、付加、欠失等の変異の有無、相同性等）を記載すること。

3) 「発現調節エレメントの構造と機能」の項について

- ・ 導入遺伝子の発現調節に関わる機構（プロモーター、エンハンサー等）について記載すること。導入遺伝子の発現が何らかの調節を受けるように設計されている場合には、その適切性を説明すること。

4) 「導入遺伝子からの発現産物の構造と機能」の項について

- ・ 導入遺伝子からの全発現産物のアミノ酸配列（shRNA のように転写された RNA が機能する場合はその塩基配列）及び生物活性について記載すること。特に、ヒトに対する生理作用が知られている場合にはその詳細な資料を添付すること。

5) 「その他のエレメント及び翻訳可能領域の配置と機能」の項について

- ・ ベクターに含まれるすべての翻訳可能領域を明らかにすること。構成成分としてがん遺伝子や病原性に関連する遺伝子が含まれる場合、その理由と妥当性を説明すること。

(3) 「遺伝子の導入方法」の項について

- ・ 指針に基づく in vivo 遺伝子治療等臨床研究に係る研究計画書においては、当該遺伝子治療等臨床研究で用いるベクターの種類に応じて、1) 又は 2) の内容を記載すること。また、法に基づく ex vivo 遺伝子治療等臨床研究に係る研究計画書の記載の参考とする場合は、3) を参照すること。

1) ウイルスベクターを用いて遺伝子導入を行う場合

イ 「ウイルスベクターの由来、粒子構造と機能」の項について

- ・ ベクターの粒子構造、由来となった野性型ウイルスの特性と宿主領域、野性

型ウイルスとの構造・性質の違い、増殖性・選択増殖性の有無などについて説明すること。

ロ「ウイルスベクターの製造方法」の項について

①「製造に用いる原材料」の項について

- ・製造工程の概略をフローチャートなどで示し、各製造工程で使用されている原材料を明らかにするとともに、その適格性を説明すること。

②「ウイルスベクターの製造に用いるプラスミドやウイルス、細胞等の構築方法及びバンクシステム」の項について

- ・ウイルスベクターの製造に用いたプラスミドや野性型/組換えウイルス(ヘルパーウイルス等を使用する場合)の構造とその構築方法及び製造方法を説明すること。
- ・ウイルスベクターの製造に用いたパッケージング細胞、ベクター産生細胞、フィーダー細胞(使用する場合)について説明すること。
- ・バンクシステムを構築した場合には、バンクシステムの構築経緯を説明するとともに、セルバンクやウイルスバンクに関して、次のような情報を適切に研究計画書に含めることが望ましい。

<セルバンク>

- ・ i) ベクター産生細胞を樹立するために用いた親細胞の遺伝子改変方法、ii) ベクター産生細胞(クローン)の分析法と選択法、iii) 培養方法(用いた全ての培地や試薬類を含む。)、iv) セルバンクの保存法や管理方法(マスターセルバンク(MCB)、ワーキングセルバンク(WCB))などの情報を明らかにしておくこと。
- ・セルバンクの安全性、同一性、純度、安定性を評価した試験結果を含めてその使用の妥当性を説明することが望ましい。特に、細胞の微生物学的な純度試験として、無菌性試験、マイコプラズマ否定試験、in vivo 及び in vitro の迷入ウイルス試験の実施結果を含めること。セルバンクのウイルス試験の実施に際しては、ICH-Q5A ガイドライン「ヒト又は動物細胞株を用いて製造されるバイオテクノロジー応用医薬品のウイルス安全性評価」を参考にすることが望ましい。ヒト由来細胞を用いる場合には、ヒト免疫不全ウイルス 1 型及び 2 型(HIV-1、HIV-2)、ヒト B 型肝炎ウイルス(HBV)、ヒト C 型肝炎ウイルス(HCV)、ヒト T 細胞白血病ウイルス 1 型及び 2 型(HTLV-1、HTLV-2)、サイトメガロウイルス(CMV)、エプスタイン・パールウイルス(EBV)、パルボウイルス B19 などについて必要に応じて試験を実施すること。培養

に、ウシやブタ由来の成分（血清やトリプシンなど）を用いた細胞の場合、ウシやブタ由来の感染性因子による汚染について、適切な試験結果を含めてその安全性を説明すること。ヒトや動物由来細胞を用いる場合には、表現型、遺伝型、DNA 配列、その他の細胞表面マーカーなどの試験の実施を、微生物セルバンクを用いる場合には、菌株の同定、選択マーカーとしての薬剤耐性、バクテリオファージなどの試験の実施を、それぞれ考慮すること。

＜ウイルスバンク＞

- ・マスターウイルスバンク（MVB）の由来と履歴についての情報、MVB やワーキングウイルスバンク（WVB）の培養方法、製造に用いた培地や試薬類、微生物学的試験（無菌性試験、マイコプラズマ否定試験）、*in vivo* 及び *in vitro* でのウイルス等の感染性因子試験、増殖性ウイルスの否定あるいは限度試験、エンドトキシンや不純物試験、遺伝子治療用ベクターとしての構造解析結果、保存方法や管理方法についての試験結果や情報を明らかにしておくこと。

③「ウイルスベクターの製造工程と工程管理」の項について

- ・各製造工程（培養工程及び精製工程）の概略を明らかにすること。製造に用いた全ての培地や試薬類を示し、各工程内や中間生産物に対して実施している工程内管理試験及びその基準値を示すこと。

2) ウイルスベクター以外の方法を用いて遺伝子導入を行う場合

- ・プラスミドベクターを単独又はリポソーム等のキャリアーを用いて遺伝子導入を行う場合、目的とする遺伝子導入法の適切性を説明すること。なお、細菌ベクターを使って遺伝子導入を行う場合は、1) ウイルスベクターを用いて遺伝子導入を行う場合に準じて、細菌ベクターの特性とその構築方法の詳細を説明すること。

イ「遺伝子導入方法」の項について

- ・プラスミドを直接投与する場合やプラスミドをリポソーム等に封入して遺伝子導入を行う場合には、用いる遺伝子発現構成体（プラスミドベクター等）の導入方法の適切性について説明すること。

ロ「プラスミドベクター及びキャリアーの作製方法」の項について

①「製造に用いる原材料」の項について

- ・製造に用いる原材料を記入すること。

- ②「プラスミドベクターの構築方法及びバンクシステム」の項について
 - ・プラスミドの製造に用いる *E. coli* 等のバンクの構築方法とその管理方法を説明すること。
- ③「キャリアーの構造又は組成(キャリアーを用いて遺伝子導入する場合)」の項について
 - ・キャリアーを用いて遺伝子導入する場合は、キャリアーの構造又は組成を記入すること。
- ④「プラスミドベクターの製造工程と工程管理」の項について
 - ・プラスミド製造における *E. coli* 等の培養方法、プラスミドの抽出方法、精製方法、工程管理の方法について説明すること。

3) 体外で目的細胞に遺伝子導入を行う場合(参考)

イ「標的とする細胞の種類、採取法及び加工方法」の項について

- ・加工の対象となる細胞・組織の種類及びその採取方法について説明すること。

ロ「ドナーの適格性」の項について

- ・患者の自己細胞を用いる場合は、許容されるウイルス感染症の情報を示すこと。必要に応じて、複数の患者細胞間の交差汚染の可能性や製造従事者の安全対策等について説明すること。
- ・同種細胞を用いる場合は、HIV-1、HIV-2、HBV、HCV、HTLV-1、HTLV-2、CMV、EBV、パルボウイルス B19、その他必要に応じたウイルス等の感染性因子を否定するためのドナースクリーニング試験を行うこと。またドナーに関する血清学的試験あるいは診断履歴、病歴等についても可能な範囲で明らかにし、目的細胞の使用の妥当性を説明すること。必要に応じて遺伝的多型や主要組織適合抗原の一致について解析し、同種細胞の使用の妥当性を説明すること。

ハ「遺伝子導入細胞の加工方法(遺伝子導入操作及び細胞培養)」の項について

- ・目的細胞への遺伝子導入方法の詳細を示し、キャリアー等を使用している場合や特殊な機器等を用いている場合はそれらを使用することの安全性や妥当性を説明すること。遺伝子導入後に、遺伝子導入細胞の濃縮、選択、拡大培養等を行う場合には、その詳細を示すこと。

(4)「被験者に投与する最終産物の組成」の項について

- ・遺伝子治療用ベクター又は遺伝子導入細胞に関して、最終的に臨床研究において投与する溶液等の最終組成を表で示すこと。その際、各成分(遺伝子治療用ベクターや遺伝子導入細胞を除く。)を加える必要性及び妥当性を明らかにし、その

安全性や使用実績等を記載すること。また、投与する製品の容器に関する情報や移動の際に破損汚染を防ぐような二次容器についても記載すること。

(5)【参考】体外で目的細胞に遺伝子導入(ex vivo遺伝子治療等臨床研究)を行う場合

1)「標的とする細胞の種類、採取法及び加工方法」の項について

・加工の対象となる細胞・組織の種類及びその採取方法について説明すること。

2)「ドナーの適格性」の項について

・患者の自己細胞を用いる場合は、許容されるウイルス感染症の情報を示すこと。必要に応じて、複数の患者細胞間の交差汚染の可能性や製造従事者の安全対策等について説明すること。

・同種細胞を用いる場合は、HIV-1、HIV-2、HBV、HCV、HTLV-1、HTLV-2、CMV、EBV、パルボウイルス B19、その他必要に応じたウイルス等の感染性因子を否定するためのドナースクリーニング試験を行うこと。またドナーに関する血清学的試験あるいは診断履歴、病歴等についても可能な範囲で明らかにし、目的細胞の使用の妥当性を説明すること。必要に応じて遺伝的多型や主要組織適合抗原の一致について解析し、同種細胞の使用の妥当性を説明すること。

3)「遺伝子導入細胞の加工方法（遺伝子導入操作及び細胞培養）」の項について

・目的細胞への遺伝子導入方法の詳細を示し、キャリアー等を使用している場合や特殊な機器等を用いている場合はそれらを使用することの安全性や妥当性を説明すること。遺伝子導入後に、遺伝子導入細胞の濃縮、選択、拡大培養等を行う場合には、その詳細を示すこと。

2 「9 遺伝子の改変に用いるタンパク質又は核酸等の情報」の項について

・指針に基づくin vivo遺伝子治療等臨床研究に係る研究計画書においては、(1)から(5)の内容を記載すること。また、法に基づくex vivo遺伝子治療等臨床研究に係る研究計画書の記載の参考とする場合は、(6)を参照すること。

(1)「開発の経緯」の項について

・タンパク質又は核酸等(mRNA、ガイドRNA、オリゴDNA等)を用いて目的とする遺伝子を改変することによりどのような機構により目的とする臨床効果が期待できるようになるのかを説明し、これまで得られている基礎研究のデータや動物での試験結果、また海外で既にヒトに投与された経験がある場合にはその結果を踏まえて説明すること。また類似した遺伝子改変方法のヒトでの実施例がある場合には、それらのデータを説明すること。

(2)「導入するタンパク質又は核酸等」の項について

- ・遺伝子改変に用いるタンパク質又は核酸等について、どのような機作で目的遺伝子の改変(切断するのか、修飾するのか)を行うのか、あるいは相同組換えを行う場合にはその作用について説明すること。

(3)「遺伝子の改変方法」の項について

- ・タンパク質又は核酸等を用いて遺伝子改変する場合、選択した標的遺伝子に関する情報、標的遺伝子配列の認識機構、選択標的組織・臓器の細胞内への導入方法、遺伝子改変の確認方法、改変によって生じる特性の変化について、説明すると共に、これまでに得られている解析結果について説明すること。

(4)「タンパク質又は核酸等の製造工程と工程管理」の項について

- ・各製造工程を説明すると共にその工程管理について、例えばウイルス安全性評価などについて説明すること。

1)「製造に用いる原材料」の項について

- ・培養に用いる原材料について安全性や品質の恒常性の観点からその妥当性を説明すること

2)「製造に細胞を用いる場合は、そのバンクシステム」の項について

- ・タンパク質の製造は従来のバイオ医薬品の製造と同様の製造方法がとられると考えられることから、生産細胞のバンクシステムとその特性や安全性評価について説明すること

3)「インビトロ合成を行う場合は、その方法と精製方法」の項について

- ・インビトロ合成系を用いる場合は、酵素系や核酸についてその構成、合成方法の妥当性を説明すること。
- ・インビトロ合成系を用いる場合は、調製方法、製造した核酸等の精製方法について説明すること。もし化学修飾を行う場合にはその妥当性を説明すること。
- ・化学合成による場合には、合成機構や修飾方法、精製方法を説明し、想定される不純物についての安全性を説明すること。

(5)「被験者に投与する最終産物の組成」の項について

- ・遺伝子の改変に用いるタンパク質又は核酸等に関して、最終的に臨床研究において投与する溶液等の最終組成を表で示すこと。その際、各成分(遺伝子の改変に用

いるタンパク質又は核酸等を除く。)を加える必要性及び妥当性を明らかにし、その安全性や使用実績等を記載すること。また、投与する製品の容器に関する情報や移動の際に破損汚染を防ぐような二次容器についても記載すること。

(6) 【参考】体外で目的細胞に遺伝子改変 (ex vivo 遺伝子治療等臨床研究) を行う場合

1) 「標的とする細胞の種類、採取法及び加工方法」の項について

・加工の対象となる細胞・組織の種類及びその採取方法について説明すること。

2) 「ドナーの適格性」の項について

・患者の自己細胞を用いる場合は、許容されるウイルス感染症の情報を示すこと。必要に応じて、複数の患者細胞間の交差汚染の可能性や製造従事者の安全対策等について説明すること。

・同種細胞を用いる場合は、HIV-1、HIV-2、HBV、HCV、HTLV-1、HTLV-2、CMV、EBV、パルボウイルス B19、その他必要に応じたウイルス等の感染性因子を否定するためのドナースクリーニング試験を行うこと。またドナーに関する血清学的試験あるいは診断履歴、病歴等についても可能な範囲で明らかにし、目的細胞の使用の妥当性を説明すること。必要に応じて遺伝的多型や主要組織適合抗原の一致について解析し、同種細胞の使用の妥当性を説明すること。

3) 「遺伝子の改変方法」の項について

・目的細胞の遺伝子改変方法の詳細を示し、キャリアー等を使用している場合や特殊な機器等を用いている場合はそれらを使用することの安全性や妥当性を説明すること。遺伝子改変後に、遺伝子改変細胞の濃縮、選択、拡大培養等を行う場合には、その詳細を示すこと。

3 「10 特性解析と品質試験」の項について

・指針に基づく in vivo 遺伝子治療等臨床研究に係る研究計画書においては、(1) 及び(2)の内容を記載すること。また、法に基づく ex vivo 遺伝子治療等臨床研究に係る研究計画書の記載の参考とする場合は、(3)を参照すること。

・臨床研究に用いる遺伝子治療用ベクターや遺伝子導入細胞遺伝子の改変に用いるタンパク質又は核酸等について、最終製品としての適切な製品試験を実施することが必要である。製品試験としては、安全性確保の観点で行う感染性因子の試験（無菌試験、マイコプラズマ否定試験、迷入ウイルス試験など）や純度試験（エンドトキシンや製造工程由来不純物）、遺伝子の導入及び改変に用いるベクター、タンパク質又は核酸等の特性を評価するための試験、さらには遺伝子導入細胞の生存率試験

や生物活性やウイルス力価等の試験が含まれる。場合によっては細胞の純度について解析を行うとともに品質試験としての設定についても考慮すること。試験の設定に当たっては、限度値やその幅、あるいは他の規格値が含まれる。しかし、これらの規格値は、臨床研究の進展にともない、より適切なものにしていくことが必要とされるものであり、臨床研究に入る際には暫定的な値を設定することで差し支えない。また、試験する項目についても臨床研究の進展に伴い、より適切な試験の設定を考慮することが望ましい。

・なお、最終製品が遺伝子導入細胞の場合、細胞の調製に用いたウイルスベクターや非ウイルスベクターの特性解析と品質試験結果も明らかにする必要がある。

(1) 「ウイルスベクターや非ウイルスベクターの特性解析と品質試験」の項について

1) 「特性解析」の項について

- ・遺伝子治療用ベクターの特性解析項目については製品ごとにケースバイケースで判断することが必要とされる。例えばウイルスベクターでは目的遺伝子の配列、そのフランキング領域の配列、さらにはプロモーターやエンハンサーの配列に加え、場合によってはベクターの全塩基配列を確認することもある。また、全塩基配列を確認しない場合でも、制限酵素切断マップの解析によりベクター全体の構造が設計通りのものが得られていることを確認することにもつながる。標的細胞で目的とする遺伝子の発現がどの程度期待されるのか、また標的細胞以外の細胞での発現性についても *in vitro* 試験で解析することもあり得る。遺伝子導入細胞でのベクターや目的遺伝子の発現の持続性を解析することが必要な場合もある。

2) 「感染性因子に関する試験」の項について

- ・感染性因子については、セルバンク、ウイルスバンク、中間工程、最終製品の各段階で適切に実施することが望ましい。無菌試験やマイコプラズマ否定試験は可能な限りヒトに投与する最終製品を対象として試験を実施することが望ましい。ウイルス試験では培養工程以降ではウイルスの増幅が想定されないことから、バルクハーベストないし適切な中間工程製品を対象として試験を実施する方が合理的な場合が多い。

① 「無菌試験（細菌及びカビの試験）」の項について

- ・臨床研究に用いる遺伝子治療用ベクターについて、日本薬局方（以下「局方」という。）無菌試験法（4.06）が適用可能であれば、準じて試験を行うことが望ましい。被検ベクター等の特性から、局方無菌試験法の適用が困難な場合には、適切な試験を実施すること。その場合であっても、局方無菌試験法

を参考にすることが望ましい。

② 「マイコプラズマ否定試験」の項について

- ・局方参考情報のマイコプラズマ否定試験が適用可能であれば、準じて試験を行うことが望ましい。

③ 「迷入感染性因子(ウイルス)試験」の項について

- ・迷入ウイルス試験の実施を考慮すること。迷入ウイルス試験に関しては、ICH-Q5A ガイドライン「ヒト又は動物細胞株を用いて製造されるバイオテクノロジー応用医薬品のウイルス安全性評価」を参考に、インビトロウイルス試験など迷入ウイルス検出するための試験を実施することが望ましい。ベクターをヒト由来の細胞で産生する場合には、特にヒトウイルスに対する試験を考慮すること。例えばアデノウイルスベクターを 293 細胞で産生する場合は、前述のウイルスに加えてアデノウイルス、アデノ随伴ウイルス (AAV) などの他のヒトウイルスの試験を考慮すること。レトロウイルス由来以外のベクターを製造する場合、MCB 及び MVB 等についてレトロウイルスの混入の有無を逆転写酵素試験 (RT) や電子顕微鏡による試験を考慮すること。
- ・エコトロピックパッケージング細胞株をレトロウイルスベクターの産生に用いる場合には、MCB に低濃度に混入する可能性のあるエコトロピックレトロウイルスを検出する試験を実施して記載すること。マウスエコトロピックウイルスの混入は XC あるいは D56 プラークアッセイ法により検出可能とされている。

④ 「増殖性ウイルス試験(ウイルスベクターの場合)」の項について

- ・非増殖性ウイルスベクターの場合、最終製品等で増殖性ウイルス試験を実施すること。特に、非増殖性のレトロウイルスベクター、レンチウイルスベクターの製造においては、ベクター製造の複数の段階で増殖性ウイルス (RCR、RCL) 否定試験を実施することが望ましい。ヒトに感染性を有するウイルスのエンベロープを有するベクターを産生する細胞の場合、適当な感受性細胞株を用いて増殖性ウイルス試験を実施すること。制限増殖性ウイルスベクターは、最終製品について目的外の増殖性ウイルスに関する試験を実施することが望ましい。

3) 「純度試験 (不純物試験)」の項について

- ・エンドトキシン試験/発熱性物質試験、ベクター産生細胞由来タンパク質や DNA、ベクターの製造や精製工程に用いる DNA/RNA、タンパク質やペプチド、溶媒血

清などの試薬や成分に関する適切な純度試験を実施すること。エンドトキシン試験の実施に当たって、局方エンドトキシン試験法（4.01）が適用可能であれば、これに従うこと。局方では、1回の投与で体重1kgあたりのエンドトキシンの上限値として、髄腔内投与の場合には0.2EU以下に、それ以外の投与経路の場合には5EU以下にすることが推奨されている。検体量や被検試料の特性から局方エンドトキシン試験法の適用が困難な場合には、局方エンドトキシン試験法を参考にしつつ適切な試験法を用いることが望ましい。

- 4) 「力価・生物活性（導入遺伝子の活性を含む。）」の項について
 - ・臨床研究に用いる遺伝子治療用ベクターの発現産物の生物活性を測定するために実施した全ての試験結果を記載することが望ましい。目的とする臨床効果と密接に関連する生物活性について測定しておくことが有用である。これらの生物活性試験は定量性を持っていることが望ましい。
 - ・ウイルスベクターの場合、可能であれば比活性（ウイルス粒子数あたりの力価/タイター）又は感染性のある粒子と感染性を持たない粒子の比率を明らかにすることが望ましい。
- 5) 「含量（投与における物理量等）」の項について
 - ・容器に封入されたプラスミドDNAの量や濃度、ウイルス粒子数又はウイルスタイターで示すこと。
- 6) 「製品の特성에応じて実施する試験」の項について
 - ・用いるウイルスベクター、非ウイルスベクター、キャリアー等に特異的な試験（例えば、粒子径分布等）について記載すること。
- 7) 「安定性」の項について
 - ・ヒトに投与する遺伝子治療用ベクターの安定性を評価し、適切な保存条件と保存期間を設定すること。ベクターを一定期間保存する場合又は他施設へ輸送する場合はその手順書を作成するとともにベクターへの影響を確認しておくこと。

(2) 遺伝子の改変に用いるタンパク質又は核酸等の特性解析と品質試験

1) 特性解析

遺伝子改変に用いるタンパク質の特性解析はバイオ医薬品と同等の品質評価と安全性評価を実施すること。mRNAを用いる場合には配列の確認や目的細胞での発現活性等についても評価すること。

2) 感染性因子に関する試験

無菌試験の他、必要に応じて他の感染性因子の試験を実施すること

3) 純度試験

4) 力価/生物活性

5) 含量

6) 安定性

(3) 【参考】体外で目的細胞に遺伝子改変(ex vivo 遺伝子治療等臨床研究)を行う場合の「遺伝子導入又は改変細胞の特性解析と品質試験」の項について

1) 「特性解析」の項について

- ・体外で遺伝子導入又は改変を行う場合、遺伝子導入又は改変細胞の特性解析には、細胞表面マーカーの解析、遺伝子が挿入又は改変された細胞の種類の解析、導入された遺伝子の細胞あたりのコピー数、遺伝子導入又は改変細胞の比率などが含まれる。さらに安全性評価の面から、目的としない細胞への遺伝子導入又は改変(例えば T 細胞への導入/改変を目的としていながら採取した細胞集団に幹細胞が含まれている可能性)に加えて、挿入変異や望ましくない遺伝子の改変(オフターゲット変異等)に関する評価なども含まれる。In vitro での分化誘導を目的とした遺伝子導入又は改変の場合には、in vitro での培養期間の設定とその妥当性を示すための試験や、培養での特性の変化を解析するために、設定された期間を超えて培養された細胞の特性解析(増殖特性、生存率、遺伝子発現の変化など)も含まれる。

2) 「感染性因子に関する試験」の項について

- ・感染性因子については、セルバンク、ウイルスバンク、中間工程、最終製品の各段階で適切に実施することが望ましい。無菌試験やマイコプラズマ否定試験は可能な限りヒトに投与する最終製品を対象として試験を実施することが望ましい。ウイルス試験では培養工程以降ではウイルスの増幅が想定されないことから、バルクハーベストないし適切な中間工程製品を対象として試験を実施する方が合理的な場合が多い。

①「無菌試験(細菌及びカビの試験)」の項について

- ・臨床研究に用いる遺伝子導入**又は改変**細胞について、局方無菌試験法(4.06)が適用可能であれば、準じて試験を行うことが望ましい。局方無菌試験法の適用が困難な場合には、適切な試験を実施すること。その場合であっても、局方無菌試験法を参考にすることが望ましい。また、局方無菌試験法等を用いた場合に、試験結果が患者への投与の後に判明する場合も想定されるが、投与後に試験結果が陽性になった場合の対処方法についても明らかにしておくことが望ましい。最終製品を使用前に凍結して保存する場合には、患者に投与する前に無菌試験の結果が得られるように、凍結前あるいは凍結した細胞を対象として無菌試験を行うこと。

②「マイコプラズマ否定試験」の項について

- ・局方参考情報のマイコプラズマ否定試験が適用可能であれば、準じて試験を行うことが望ましい。遺伝子導入**又は改変**細胞は、ヒトに投与するまでの寿命が限られていることから、被検試料に対するマイコプラズマ否定試験として局方PCR法等の迅速法の採用を考慮し、患者の投与前に結果が判明するような手段を講じることも有用である。また培養法等を用いて試験を実施する場合には、患者への投与後にマイコプラズマ否定試験の結果が陽性となった場合の対応についても考慮しておくこと。

③「迷入感染性因子(ウイルス)試験」の項について

- ・迷入ウイルス試験の実施を考慮すること。迷入ウイルス試験に関しては、ICH-Q5A ガイドライン「ヒト又は動物細胞株を用いて製造されるバイオテクノロジー応用医薬品のウイルス安全性評価」を参考にすることが望ましい。

④「増殖性ウイルス試験(ウイルスベクターの場合)」の項について

- ・遺伝子導入**又は改変**後の細胞について、培養期間が長期にわたる場合には必要に応じて細胞試験又はRT-PCR等の方法により増殖性ウイルス試験を実施すること。

3)「純度試験(不純物試験)」の項について

- ・エンドトキシン試験/発熱性物質試験、細胞の活性化や加工に用いたタンパク質やペプチドの残存、製造に用いたサイトカイン、成長因子、抗体、血清などの試薬や成分に関する適切な純度試験を実施すること。さらに遺伝子導入**又は改変**の際に、目的とする細胞以外の細胞に関する純度試験の実施も考慮すること。エンドトキシン試験の実施に当たって、局方エンドトキシン試験法(4.01)が適用可能であれば、これに従うこと。局方では、1回の投与で体重1kgあた

りのエンドトキシンの上限值として、髄腔内投与の場合には0.2EU以下に、それ以外の投与経路の場合には5EU以下にすることが推奨されている。検体量や被検試料の特性から局方エンドトキシン試験法の適用が困難な場合には、局方エンドトキシン試験法を参考にしつつ適切な試験法を用いることが望ましい。

4) 「細胞数」の項について

- ・ 遺伝子治療等臨床研究に用いる遺伝子導入 **又は改変** 細胞の試験として、細胞数及び目的機能を持つ細胞数の下限値の規格を設定することが望ましい。また投与される細胞数の上限値の設定の有無と、上限が設定されている場合にはどのような根拠に基づいて設定したかの説明を行うこと。

5) 「生存率」の項について

- ・ 遺伝子導入 **又は改変** 細胞として投与する場合、細胞生存率の下限値を設定しておくべきである。生存率の下限値の規格としては、一般的に少なくとも70%以上であることが求められる。細胞の生存率がそれ以下であっても遺伝子治療等臨床研究に用いざるを得ない場合は、低い生存率の細胞を用いることの妥当性を説明することが求められる。

6) 「力価・生物活性」の項について

- ・ 臨床研究に用いる遺伝子導入 **又は改変** 細胞の生物活性を測定するために実施した試験結果は可能な限り記載することが望ましい。目的とする臨床効果と密接に関連する生物活性について測定しておくことが有用である。これらの生物活性試験は定量性を持っていることが望ましい。

7) 「安定性」の項について

- ・ ヒトに投与する遺伝子導入 **又は改変** 細胞の安定性を評価し、適切な保存条件及び保存期間を設定すること。遺伝子導入 **又は改変** 細胞を一定期間保存したり、他施設へ輸送する場合はその手順書を作成するとともに遺伝子導入 **又は改変** 細胞への影響を確認しておくこと。

4 「1.1 被験者への投与に用いられる特殊な機器や医療材料」の項について

- ・ 遺伝子治療用ベクターや **遺伝子導入細胞遺伝子の改変に用いるタンパク質又は核酸等** のヒトへの投与に際して、特殊な機器が必要なもの、あるいは医療材料等との複合製品では、医療機器・医療材料としての承認が得られている場合には、それらについての資料を提出すること。また、臨床研究の実施に際して特別に開発された機器や材料を用いる場合には、その使用の妥当性を示すデータやヒトに用いることの

安全性を担保するデータを提出すること。また、体外で目的細胞に遺伝子導入又は改変(ex vivo 遺伝子治療等臨床研究)を行う場合は、法に基づく ex vivo 遺伝子治療等臨床研究に係る研究計画書の記載にあたって参考にできる。

5 「1.2 非臨床試験における安全性及び有効性の評価」の項について

・体外で目的細胞に遺伝子導入又は改変(ex vivo 遺伝子治療等臨床研究)を行う場合は、法に基づく ex vivo 遺伝子治療等臨床研究に係る研究計画書の記載にあたって参考にできる。

(1) 「臨床的有効性を予測するための試験」の項について

- ・遺伝子治療等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)。遺伝子治療等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」の項について

- ・動物を用いて、被験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遺伝子の改変に用いるタンパク質又は核酸等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。
- ・被験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、被験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) 「非臨床試験における安全性の評価」の項について

1) 「一般毒性」の項について

- ・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、**遺伝子の改変に用いるタンパク質又は核酸等**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、遺伝子の改変に用いるタンパク質又は核酸等**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」の項について

- ・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」の項について

- ・遺伝子治療用ベクター、遺伝子の改変に用いるタンパク質等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、**遺伝子の改変に用いるタンパク質又は核酸等**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」の項について

- ・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**遺伝子導入細胞遺伝子の改変に用いるタンパク質又は核酸等**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**遺伝子導入細胞遺伝子の改変に用いるタンパク質又は核酸等**、において懸

念されるリスクは、遺伝子導入による染色体への挿入変異や目的外の遺伝子改変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、かつ染色体に組み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、染色体への組み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み込み又は遺伝子改変リスク」の項について

- ・ 遺伝子治療用ベクター、遺伝子の改変に用いるタンパク質又は核酸等を直接生体に投与する場合、生殖細胞への意図しない組み込みや遺伝子改変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」の項について

- ・ 当該遺伝子治療用ベクター、遺伝子の改変に用いるタンパク質又は核酸等の投与に付随して実施される併用療法（場合によっては被験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) 「非臨床試験の成績の総括」の項について

- ・ 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。