

ベクターの品質・安全性に関する基準について

遺伝子治療臨床研究に関する指針

第一章 総則

第四 有効性及び安全性

遺伝子治療臨床研究は、有効かつ安全なものであることが十分な科学的知見に基づき予測されているものに限る。

第五 品質等の確認

遺伝子治療臨床研究に使用される遺伝子その他の人に投与される物質については、医薬品の臨床試験の実施の基準に関する省令（平成9年厚生省令第28号）第17条第1項において求められる水準に達している施設において製造され、その品質、有効性及び安全性が確認されているものに限る。

※ 別表1 実施計画書に記載すべき事項及びその内容（6，7）に上記に関する関連事項あり。

別表1 実施計画書に記載すべき事項及びその内容

事 項	内 容
1 遺伝子治療臨床研究の名称	
2 総括責任者及びその他の研究者の氏名並びに当該遺伝子治療臨床研究において果たす役割	(1) 総括責任者の氏名 (2) 総括責任者以外の研究者の氏名及びその担当する役割
3 実施施設の名称及びその所在地	
4 遺伝子治療臨床研究の目的	
5 遺伝子治療臨床研究の対象疾患及びその選定理由	(1) 治療を直接の目的とした遺伝子治療臨床研究を行う場合 ①対象疾患に関する現時点での知見 ②当該遺伝子治療臨床研究の概要 ③他の治療法との比較及び遺伝子治療を選択した理由 (2) 治療法の開発を目的とした遺伝子標識臨床研究を行う場合 ①対象疾患に関する現時点での知見 ②被験者に対して行われる治療との関係 ③当該遺伝子標識臨床研究の概要 ④他の方法との比較及び遺伝子標識を選択した理由
6 遺伝子の種類及びその導入方法	(1) 人に導入する遺伝子の構造と性質 ①人に導入する遺伝子の構造 ②人に導入する遺伝子の性質 ③導入遺伝子からの生成物の構造及びその生物活性 (2) 本計画で使用するその他の組換えDNAの構造と性質 (3) 標的細胞とした細胞の由来及び生物学的特徴並びに当該細胞を標的細胞とした理由 (4) 遺伝子導入方法の概略及び当該導入法を選択した理由 (5) ウイルスベクターを用いて遺伝子導入を行う場合 ①野生型ウイルスの生物学的特徴及び人に対する影響 ②ウイルスベクターの作製方法 ③ウイルスベクターの構造 ④ウイルスベクターの生物学的特徴 (6) 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 ①遺伝子導入方法の理論的根拠 ②使用するベクター（担体）の作製方法 ③使用するベクター（担体）の構造又は組成 ④使用するベクター（担体）の生物学的特徴

<p>7 安全性についての評価</p>	<p>(1) 遺伝子導入方法の安全性</p> <ul style="list-style-type: none"> ① 遺伝子導入に用いるウイルスベクター又はその他のベクター（担体）の純度 ② 患者に投与する物質の純度及びその安全性 ③ 増殖性ウイルス出現の可能性 ④ 遺伝子導入に用いるウイルスベクター又はその他のベクター（担体）の細胞傷害性 ⑤ 体内の標的細胞以外の細胞への遺伝子導入の可能性 ⑥ 患者以外の人に遺伝子が導入される可能性 ⑦ 染色体内へ遺伝子が組み込まれる場合の問題点 ⑧ がん原性の有無 <p>(2) 遺伝子産物の安全性</p> <p>(3) 細胞の安全性</p> <ul style="list-style-type: none"> ① 培養細胞の純度 ② 細胞の遺伝子型、表現型の安定性 ③ 被験者に投与する細胞の安全性
<p>8 遺伝子治療臨床研究の実施が可能であると判断した理由</p>	
<p>9 遺伝子治療臨床研究の実施計画</p>	<p>(1) 遺伝子治療臨床研究を含む全体の治療計画</p> <p>(2) 被験者の選択基準及び除外基準</p> <p>(3) 被験者の同意の取得方法</p> <p>(4) 実施期間及び目標症例数</p> <p>(5) 遺伝子治療臨床研究の実施方法</p> <ul style="list-style-type: none"> ① 対照群の設定方法 ② 遺伝子導入方法（安全性及び有効性に関する事項を除く。） ③ 前処置及び併用療法の有無 ④ 臨床検査項目及び観察項目 ⑤ 予測される副作用及びその対処方法 ⑥ 遺伝子治療臨床研究の評価方法、評価基準及び中止判定基準 ⑦ 症例記録に関する記録用紙等の様式 ⑧ 記録の保存及び成績の公表の方法
<p>10 その他必要な事項</p>	

遺伝子治療用医薬品の品質及び安全性の確保に関する指針

第2章 遺伝子治療医薬品の製造方法

第1 遺伝子導入法による区分

遺伝子導入法を適正に選択すること。特に、次の点を確認すること。

- 1 ウイルスベクターを用いる場合
- 2 非ウイルスベクターを用いる場合
- 3 ベクターを用いずに直接導入する場合

第2 投与方法による区分

標的細胞の特徴と考え合わせ、遺伝子治療用医薬品の投与方法が適切に設計されていることを説明すること。また、次の点を説明すること。

- 1 ex vivo 法による区分
- 2 in vivo 法による区分

第3章 遺伝子治療医薬品の規格及び試験方法並びに製剤設計

遺伝子治療用医薬品の品質を確保するため、最終製品の規格及び試験方法を設定するほか、製造工程の確認及び原料の品質管理を適正に行うこと。特に、次の点を十分に確認すること。

- 1 原料物質のほか、製造工程で混入し、残留し、生成され、又は添加される可能性のあるもの及び分解物について、必要に応じ、適切な純度試験を設定すること。設定根拠は、プロセスバリデーションの結果を含め、検討すること。
- 2 細菌、迷入ウイルス、マイコプラズマ、真菌等による汚染の可能性のないことを適切な試験により示すこと。必要に応じ、予測されるウイルスの混入に関するプロセスバリデーションを行うこと。
- 3 エンドトキシンによる汚染の可能性のないことを適切な試験により示すこと。また、採用した試験方法について、検体がエンドトキシンの検出を妨害しないことを確認すること。
- 4 遺伝子治療用医薬品として特別の製剤処方がある場合には、それを合理的に説明すること。
- 5 原体及び製剤について、ロット間製造管理の方法を示すこと。適切な規格及び試験方法を設定し、その根拠を示すこと。

第4章 遺伝子治療用医薬品の安定性

原体及び製剤について、流通使用期間を考慮し、適切な安定性試験を実施し、貯法及び有効期限を設定すること。また、貯法以外又は有効期限を超える保存について、試験を実施し、安定性の限界を確認すること。各試験において用いたロットの数の妥当性を合理的に説明すること。なお、安定性試験の実施に当たっては、「生物薬品（バイオテクノロジー応用製品/生物起源由来製品）の安定性試験について」（平成10年1月6日医薬審第6号）及び「安定性試験ガイドラインの改定について」（平成15年6月3日医薬審発第0603001号）を参照すること。

第5章 遺伝子治療用医薬品の非臨床安全性試験

製品の安全性について、適切な動物種を用いた試験及び試験管内における試験を適切に実施すること。非臨床安全性試験は、人における製品の投与経路を反映していること。特に、次の項目について、安全性を確認すること。

第6章 遺伝子治療用医薬品の効力を裏付ける試験

- 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。
- 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。

第7章 遺伝子治療用医薬品の体内動態等

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分布、消失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、「非臨床薬物動態試験ガイドラインについて」（平成10年6月26日医薬審第496号）の別添「非臨床薬物動態試験ガイドライン」を参照すること。

第8章 遺伝子治療用医薬品製造施設及び設備

- 1 作業区域を有すること。
- 2 作業区域は、次の基準を満たすものであること。
 - ①他の区域と区分されていること。
 - ②よく整備された培養装置を有すること。
- 3 取り扱う組換え体及び遺伝子治療用医薬品の理化学的、生物学的及び免疫化学的性状を試験調査するための設備を有すること。
- 4 次に掲げる設備を有すること。
 - ①組換え体の保管設備
 - ②培地を調整するための設備
 - ③製造又は試験検査に使用する器具器械、容器等を洗浄し、滅菌するための設備
 - ④製造従事者の更衣設備
- 5 その他必要と認められる設備・装置を有すること。

※（別記）上記についてⅡ以降に関連事項あり。

(別記)

I. 起原又は発見の経緯及び外国における使用状況について

1. 開発の経緯、特徴及び有用性

- ・対象疾患及び現在の治療法の概略、どのような理論的根拠又は経緯で遺伝子治療(遺伝子導入)により治療可能であると考えに至ったか記載する。
- ・類似の製品を用いた人への臨床研究が既に行われている場合には、その概要、成果及び本製品との関係を記載する。
- ・遺伝子導入方法の概略を記載する。ウイルスベクターを使うのか、ウイルスベクター以外の方法で行うのか、遺伝子導入を体外で行う(ex vivo法)のか、体内で行う(in vivo法)のか、投与経路、投与方法等の概要を明らかにするとともに、当該導入法を選択した理由について記載する。
- ・投与される遺伝子治療用医薬品の構造、製法、性質等製品の概要を記載する。

2. 名称、特許及び申請内容

3. 外国における申請状況

- ・外国における申請状況及び臨床使用状況(承認及び治験の別)について記載する。

4. 特徴及び有用性

- ・基礎試験成績からみた特徴及び有用性の要約等について記載する。

II. 製造方法について

I. 遺伝子導入法で区分した各々の製造について

(1) ウイルスベクターを用いて遺伝子を導入する場合

① 当該遺伝子導入法を選択した理由及びその特徴

- ・ウイルス及びヘルパー又はパッケージング細胞の選択根拠を、ウイルスベクターやヘルパーの構造を含めて記載する。
- ・ウイルスベクターの作製方法に特徴がある場合はその理由を記載する。
- ・増殖性ウイルスが出現しないように設計されている場合には、その理論的根拠を明らかにする。

② 野生型ウイルスの生物学的特徴及び人に対する影響

- ・ウイルスベクターの元になる野生型ウイルスの名称、由来、構造、生活環、宿主域、病原性、細胞傷害性、物理化学的安定性等についての知見を記載する。特に人に対する病原性又は細胞傷害性が知られている場合には、その詳細な資料を添付する。

③ 導入DNA又はRNA

(i) 作製方法

- ・人に導入されるDNA又はRNA(ウイルス粒子内にパッケージされているDNA又はRNA)の構成成分(目的遺伝子、プロモータ、エンハンサー等の調節塩基配列、複製単位、選択遺伝子及びその他のコンストラクトを形成する塩基配列部分)すべてについてその由来(起原及び入手方法)を明らかにする。目的遺伝子については、構築手順、増幅法及び精製法を詳細に記載する。その他の核酸塩基配列で、その構築、増幅及び精製について特記することがあれば明らかにする。

- ・ ウイルスベクターを作製するために用いるプラスミドの由来（起原及び入手方法）、構成成分、構築手段、増幅法及び精製法を明らかにする。
- ・ 目的遺伝子が合成遺伝子の場合も、対応する遺伝子がある場合は、その由来について同様に記載する。天然には存在しない合成遺伝子が導入される場合は、その塩基配列の意味について記載する。
- ・ ウイルスベクターを作製するために用いるプラスミドを含めて、ウイルスベクターの構築手順、増幅法及び精製法を詳細に記述する。パッケージング細胞を用いる場合には、その作製手順、選択・同定方法及び種細胞株を確立するまでの単離純化方法についても記載する。

(ii) 構造分析

- ・ 人に導入されるDNA又はRNAの塩基配列を明らかにする。目的遺伝子及びランニング領域（目的産物をコードする翻訳配列の5'及び3'両端に隣接する非翻訳領域であり、翻訳配列の転写、翻訳及び安定性に重要な影響を及ぼす領域を示す。これらの領域には、プロモーター、エンハンサー、スプライシング配列等を含むが、複製開始点及び抗生物質耐性遺伝子は含まない）については配列分析を行う。その他の塩基配列のうち、既知のものについては文献等を引用して情報提供する。未知のものについては配列分析を行う。配列分析はバリデーションされた方法により行い、その方法も記載する。制限酵素切断地図及び構成成分（目的遺伝子、調節塩基配列、複製単位、選択遺伝子、その他のコンストラクトを形成する塩基配列部分等）の配置図を記載する。
- ・ 目的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（cDNAか染色体DNAか、置換、付加、欠失等の変異の有無、相同性等）を記載する。
- ・ 人に導入されるDNA又はRNAに含まれるすべての翻訳可能領域を明らかにする。また、生理活性を持つ可能性のある塩基配列についても記載する。

(iii) 性質

- ・ 導入遺伝子の発現機構について記載する。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、その調節機構及びその実験的根拠を記載する。
- ・ 人に導入されたDNA又はRNAは染色体に組み込まれるか、またはエピソームとして存在するか、前者の場合には、部位特異的か非特異的か、後者の場合には染色体外複製を伴うのかについて記載する。
- ・ 導入遺伝子の発現は一過性のものか、持続性のものかを、理論的又は実験的根拠に基づいて記載する。

(iv) 導入遺伝子からの生成物の構造及び生物活性

- ・ 導入遺伝子からの全発現産物の構造（リボザイムのようなもの場合にはその塩基配列）及び生物活性について記載する。特に、人に対する影響が知られている場合には詳細な資料を添付する。

④ その他のDNAの作製方法、構造及び性質

- ・ ヘルパー及びウイルスベクターを作製するために用いたプラスミド以外で遺伝子治療用医薬品の製造過程において使用するDNAがある場合には、その由来、作製方法、構造、性質等について記載する。

- ⑤パッケージングに用いる細胞の培養方法、生物学的特徴及び人に対する影響
- ・パッケージング細胞を使用する場合には、パッケージングに用いる細胞の名称、由来、病原性、増殖性、成長因子依存性、フェノタイプ、腫瘍形成能、安定性等についての知見を記載する。
 - ・細胞の培養方法について記載する。
- ⑥パッケージング細胞の培養方法、生物学的特徴及び人に対する影響
- ・パッケージング細胞を使用する場合には、その名称、作製方法、増殖性ウイルス出現の可能性、病原性、増殖性、成長因子依存性、フェノタイプ、腫瘍形成能、安定性等についての知見を記載する。元の細胞の性質が変化した点も含め詳細な資料を添付する。
 - ・細胞の培養方法について記載する。
- ⑦ウイルスベクター産生細胞の人に対する影響
- ・特にウイルスベクター産生細胞を人に移植する場合であって、人に対する病原性又は細胞傷害性が知られている場合には、その詳細な資料を添付する。
- ⑧ウイルスベクターの粒子構造上の特徴
- ・野生型ウイルス粒子との構造上の相違点があれば記載する。
- ⑨ウイルスベクターの生物学的特徴
- ・ウイルスベクターにより、どのような細胞に遺伝子導入が行えるか、種特異性・組織特異性があるか、静止期の細胞への遺伝子導入は可能かなどについて記載する。遺伝子の導入効率及び導入遺伝子の発現効率について記載する。導入遺伝子の細胞内での存在様式、安定性について記載する。なお、染色体内に組み込まれる場合には、その位置が特定されているか不特定かを明らかにする。
- ⑩ウイルスベクターの製造方法
- ・ウイルスベクターの製造方法について上記各項における記述をもとに記載する。また、その精製法について記載する。実用化のためスケールアップ等の措置を講じた場合は、適切なバリデーションデータを示し、その内容を記載する。パッケージング細胞を使用する場合には、その作製手順、選択・同定方法及び種細胞株を確立するまでの単離純化方法、MCB及びWCBの調製・保存方法、管理法、更新法、特徴及びパッケージング細胞に挿入されたDNA又はRNAの安定性についても記載する。さらに、培養期間中を通じて、またロット間で細胞フェノタイプ等が変化していないことの確認試験方法及び試験結果を記載する。
 - ・増殖性ウイルスを含めて品質管理に必要な安全試験の試験時期、試験方法及び試験結果を記載する。
- ⑪セルバンクシステム
- ・ウイルスベクター、目的遺伝子、ウイルスベクターを製造するために用いたプラスミド、ウイルスの製造、パッケージングに用いる細胞、パッケージング細胞及びウイルスベクター産生細胞にセルバンクシステムを使用する場合には、その調製方法、保存方法、管理法、更新法等について、各物質の製造、各細胞の項で詳細に記載する。パッケージングに用いる細胞やパッケージング細胞では凍結及び解凍手順、解凍後及び培養後の確認試験並びに凍結有効期間についても記載する。

(2)非ウイルスベクターを用いて遺伝子を導入する場合

①遺伝子導入方法の理論的根拠及び実験的根拠

- ・当該遺伝子導入法の理論的根拠及び実験的根拠について記載する。この際、非ウイルスベクターの構造上の特徴を含めて説明する。

②導入DNA又はRNA

(i)作製方法

- ・人に導入されるDNA又はRNA（非ウイルスベクター内に包含されているDNA又はRNA）の構成成分（目的遺伝子、プロモータ、エンハンサー等の調節塩基配列、複製単位、選択遺伝子及びその他のコンストラクトを形成する塩基配列部分）すべてについてその由来（起原及び入手方法）を明らかにする。目的遺伝子については、構築手順、増幅法及び精製法を詳細に記載する。その他の核酸塩基配列で、その構築、増幅及び精製について特記することがあれば明らかにする。
- ・目的遺伝子が合成遺伝子の場合も、対応する遺伝子がある場合は、その由来について同様に記載する。天然には存在しない合成遺伝子が導入される場合は、その塩基配列の意味について記載する。
- ・人に導入されるDNA又はRNAの構築手順、増幅法及び精製法を詳細に記載する。
- ・人に導入されるDNA又はRNA及び目的遺伝子の製造にセルバンクシステムを使用する場合には、その調製方法、保存方法、管理方法、更新法等についても詳細に記載する。

(ii)構造分析

- ・Ⅱの1の(1)の③の(ii)に同じ。

(iii)性質

- ・Ⅱの1の(1)の③の(iii)に同じ。

(iv)導入遺伝子からの生成物の構造及び生物活性

- ・Ⅱの1の(1)の③の(iv)に同じ。

③その他のDNAの製造方法、構造及び性質

- ・人に導入されるDNA又はRNA以外で遺伝子治療用医薬品の製造過程において使用するDNAがある場合は、その由来、作製方法、構造、性質等について記載する。DNAの製造にセルバンクシステムを使用する場合には、その調製方法、保存方法、管理方法、更新法等について詳細に記載する。

④非ウイルスベクターの製造方法

- ・非ウイルスベクターの製造手順、精製法及び管理法について記載する。
- ・ベクターのすべての各構成成分（タンパク質、糖質、脂質等）について、由来、調製法、精製法、品質等を詳細に記載する。
- ・タンパク質、糖質、脂質等生物起原由来の材料を使用する場合には、感染性微生物による汚染の可能性を否定しておくこと。

⑤非ウイルスベクターの構造又は組成分析

- ・ベクターの構造又は組成について記載する。
- ・ベクターの各構成成分（タンパク質、糖質、脂質等）について、ベクター製造前後の構造又は組成を明らかにしておく。各構成成分につきロット更新を行う場合には、

ロット間の恒常性を明らかにする。例えば、組換えタンパク質やモノクローナル抗体が構成成分の一部である場合には目的タンパク質生産用の種細胞株の樹立、セルバンクの調製方法、保存方法、管理方法、更新法、生産のための細胞培養方法、目的タンパク質の精製法、構造・組成解析、特性解析、規格及び試験方法並びに保存安定性に関する資料が必要である。

・ベクターの各構成成分について医薬品としての使用実績があれば記載する。

⑥非ウイルスベクターの生物学的特徴

・当該ベクターにより、どのような細胞に遺伝子導入が行えるか、種特異性・組織特異性があるか、静止期の細胞への遺伝子導入は可能かなどについて記載する。遺伝子の導入効率及び導入遺伝子の発現効率について記載する。導入遺伝子の細胞内での存在様式、安定性について記載する。なお、染色体内に組み込まれる場合には、その位置が特定されているか不特定かを明らかにする。

(3)直接DNA又はRNAを導入する場合

①遺伝子導入方法の理論的根拠

・当該遺伝子導入法の理論的根拠について記載する。

②導入DNA又はRNA

(i)作製方法

・IIの1の(2)の②の(i)に同じ。

(ii)構造分析

・IIの1の(1)の③の(ii)に同じ。

(iii)性質

・IIの1の(1)の③の(iii)に同じ。

(iv)導入遺伝子からの生成物の構造及び生物活性

・IIの1の(1)の③の(iv)に同じ。

③遺伝子導入操作

・実際の導入手順、使用する試薬、機器等について記載する。

④当該導入法の生物学的特徴

・当該導入法により、どのような細胞に遺伝子導入が行えるか、種特異性・組織特異性があるか、静止期の細胞への遺伝子導入は可能かなどについて記載する。遺伝子の導入効率及び導入遺伝子の発現効率について記載する。導入遺伝子の細胞内での存在様式、安定性について記載する。なお、染色体内に組み込まれる場合には、その位置が特定されているか不特定かを明らかにする。

2. 投与方法による区分について

(1)ex vivo法の場合

①標的細胞

・標的細胞の由来(どの組織に属するものか、患者自身、他人又は異種由来のものか)及び生物学的特徴について記載する。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。

②細胞供与者の選択基準

- ・患者自身以外の細胞を標的細胞とする場合、HIV-1、HIV-2、B型及びC型肝炎ウイルス、HTLV-1等のウイルス並びに他の感染性微生物による汚染を否定しておくこと。また、供与者の年齢、性、血清学的データ及び病歴を明らかにしておくこと。さらに、供与者の選択基準及びその理由を記載する。複数の供与者からの混合細胞は使用すべきでない。
- ・他人を細胞供与者とする場合には、組織適合型抗原のタイプを記載する。
- ・異種を細胞供与者とする場合には、その起原、遺伝的性質、飼育管理状況及び健康状態について記載する。ウイルス及び他の感染性微生物による汚染を否定しておくこと。
- ・セルバンク使用の場合には、起原及び由来、バンクの調製方法、保存方法、管理方法、更新法、凍結及び解凍手順、解凍後及び培養後の確認試験、ウイルス及び他の感染性微生物による汚染の否定、細胞生存率等の受け入れ基準についても記載する。

③細胞培養

- ・細胞採取方法、採取量、回数、間隔、培養方法、細胞確認、遺伝子導入方法、導入遺伝子の安定性、産生物の量、化学的及び生物学的性質の確認、成長因子依存性並びに培養期間について、試薬及び機器を含め記載する。試薬及び機器に関しては、外来性微生物汚染の混入防止のために講じた対策及び処置についても記載する。
- ・放射線照射等の処理を行う場合、時期及び方法を記載する。
- ・凍結法、凍結有効期間及び解凍後の確認法について記載する。
- ・培養期間中を通して、またロット間で細胞フェノタイプの望ましくない変化が生じないことの確認試験方法及び試験結果を記載する。

④遺伝子導入細胞

- ・遺伝子が導入された細胞を患者に戻すに当たって行う操作を記載し、試薬等の残留量確認試験方法及び試験結果を記載する。
- ・無菌性試験、マイコプラズマ否定試験、増殖性ウイルス否定試験及びエンドトキシン否定試験について、方法、スケジュール及び結果を記載する。

⑤投与方法

- ・遺伝子が導入された細胞を患者に投与方法、投与回数、間隔等について具体的に記載する。

2) *in vivo*法の場合

①標的細胞

- ・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。

②投与方法

- ・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。

③標的細胞以外（特に生殖細胞系列）への遺伝子導入の可能性

- ・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。

Ⅲ. 規格及び試験方法並びに製剤設計

(1) 遺伝子治療用医薬品原体の純度

- ・ 遺伝子治療用医薬品原体の純度に関して、生物学的及び化学的混入物の検出対象とした物質、その理由、用いた試験方法、検出感度並びに試験結果を記載する。予測される混入物に関するプロセスバリデーションを製造及び精製過程でどのように行ったかについても記載する。
- ・ 治療に直接関係しないが重大な生物学的又は免疫学的な活性を持つ産物（副産物）があれば記載する。

(2) 細菌、迷入ウイルス、マイコプラズマ、真菌等による汚染の可能性

- ・ 細菌、迷入ウイルス、マイコプラズマ、真菌等による汚染の可能性及びそれを阻止するために講じた措置を記載する。予測されるウイルス混入に関するプロセスバリデーションを行った場合には、どのように行ったかについても記載する。また、これらの検出に用いた試験方法、検出感度及び試験結果について記載する。

(3) エンドトキシン汚染の可能性

- ・ エンドトキシン汚染の可能性及びそれを阻止するために講じた措置を記載する。また、エンドトキシンの検出に用いた試験方法、検出感度及び試験結果について記載する。採用した試験方法では、検体がエンドトキシンの検出を妨害しないことを確認する。

(4) 製剤化

- ・ 製剤化方法について詳細に記載する。製品の無菌性及び純度を確保するための方法を記載する。また、混入物及び分解物として検出対象とした物質、その理由、用いた試験方法、検出感度並びに試験結果を記載する。
- ・ 遺伝子治療用製剤として特殊な容器を用いる場合には、その内容を記載する。

(5) ロット間製造管理（規格及び試験方法）

- ・ 原体及び製剤について、ロット間製造管理の方法を記載する。適切な規格及び試験方法を設定し、その根拠を明らかにする。規格試験項目としては、例えば、①性状を記載する、②理化学的試験、生物学的試験及び免疫化学的試験等を目的に応じて用い、適切な確認試験を設定する、③不純物に関する限度試験及び有害汚染物質否定試験を行う、④導入遺伝子からの発現産物又は関連した産物及び機能について、可能な場合には、力価又はその程度を測定し、可能でない場合には、その他測定可能な指標を測定しておく、⑤生細胞を含む場合には、その生存率を定量し、許容限界を設定する、などが挙げられるが、製品ごとに最も適切な試験項目を設定することが重要である。
- ・ 設定の根拠を示すに当たって用いたロットの数の妥当性について述べる。

Ⅳ. 安定性試験

- ・ 原体及び製剤について、適切な安定性試験を行い、貯法及び有効期限を設定する。

設定根拠を明らかにする。その設定の根拠を示すに当たって用いたロットの数の妥当性について述べる。

- ・ 原体及び製剤について、必要があれば、貯法以外又は有効期限を越える保存について検討し、安定性の限界を確認しておく。
- ・ 複数の製剤がある場合には、予備試験の結果から最も保存条件の影響を受けやすいと判断される製剤の製品について安定性試験を行い、その成績を予備試験成績とともに提出する。
- ・ 製剤の経時変化による副産物の出現が認められる場合のみ、その活性（毒性等）を必要に応じて試験する。

V. 非臨床安全性試験

(1) 増殖性ウイルス出現の可能性

- ・ ウイルスベクターを使用する場合には、突然変異又は内在性レトロウイルス断片等との組換えにより増殖性ウイルスが出現する可能性はどの程度あるか、増殖性ウイルスの出現を阻止するために講じた措置及び増殖性ウイルスが出現した場合の対処方法について記載する。また、増殖性ウイルスの検出に用いた試験方法の概要、検出感度及び試験結果について記載する。

(2) 細胞傷害性

- ・ ウイルスベクター又は非ウイルスベクターの構成成分及び遺伝子導入法が直接的又は間接的に細胞又は組織に傷害を与える可能性について記載する。また、細胞傷害性を減じるために講じた処置について記載する。

(3) 染色体への遺伝子組み込み

- ・ 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。

(4) 発現産物の異常発現に起因する安全性

- ・ 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には、どのような副作用が予測されるか、また、患者をこれらの副作用から守る方法について記載する。

(5) がん原性

- ・ 当該遺伝子又は遺伝子導入法を使用したこれまでの実験で、その原因の如何を問わず細胞の増殖能の変化、腫瘍形成及びがん化の有無について記載する。

(6) 免疫原性

- ・ 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。
- ・ 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。

(7)一般毒性試験

- ・製剤が試験するのに十分大量に製造された場合には、一般毒性試験を行い、結果を記載する。

VI. 効能試験

(1)培養細胞での遺伝子導入研究成果

①実験計画の概要

- ・実験の目的及び実験計画の概要について記載する。また、標的細胞の特徴及び当該細胞を選んだ理由について明らかにする。この実験のどの部分が臨床試験を実施する上で参考になるのかを明らかにする。

②培養細胞における遺伝子の導入効率並びに導入遺伝子の構造及び安定性

- ・何パーセントの細胞に遺伝子が導入できたか、導入遺伝子のコピー数、存在様式及び構造について記載する。遺伝子の構造が変化しているものはどの程度あったか、一旦導入された遺伝子はどのくらいの期間まで細胞内に存在できることが確認できたか、その間構造の変化はなかったかについて明らかにする。

③培養細胞に導入された遺伝子の機能

- ・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、膜結合型又は可溶化型等）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。

④培養細胞を用いた実験の評価

- ・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。

(2)実験動物での遺伝子導入研究成果

①実験計画の概要

- ・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。

②実験動物における遺伝子の導入効率並びに導入遺伝子の構造及び安定性

- ・何パーセントの細胞に遺伝子が導入できたか、導入された遺伝子のコピー数、存在様式及び構造について記載する。遺伝子の構造が変化しているものはどの程度あったか記載する。また、一旦導入された遺伝子はどの位の期間まで細胞内に存在できることが確認できたか、その間、構造の変化はなかったか等について記載する。

④ 実験動物に導入された遺伝子の機能

- ・ 実験動物に導入された遺伝子の発現効率及び生成物の生物活性について記載する。経時的な発現量の変化についても記載する。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を明らかにする。

④ 実験動物の評価

- ・ 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や期待された組織又は個体への影響が確認されたかについて記載する。その他実験中に認められた細胞レベル、組織レベル又は個体レベルの形態学的、機能的な変化について記載する。

VII. 体内動態等

- ・ 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。

VIII. 非臨床試験結果等の総括

- ・ II から VII を総括し、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。

IX. 遺伝子治療臨床試験の概要

(1) 適応症として選択した疾患

- ・ 対象疾患の病因、疫学、病態、臨床経過、治療法、予後等対象疾患に関して、現在得られている知見を簡潔に記載する。

(2) 遺伝子治療臨床試験計画

- ・ 遺伝子治療臨床試験を含め、被験者に対して行われるすべての治療内容を記載する。

(3) 遺伝子治療臨床試験実施の正当性

- ・ 遺伝子治療用医薬品により、どのような機序で治療効果が得られるのかを明らかにする。また、遺伝子の発現制御の必要性の有無、必要ない場合にはその理由を明らかにする。既存の治療法と比べて優れていると考えられる点及び劣っていると考えられる点を踏まえ、遺伝子治療を行うべき理由を記載する。

(4) 遺伝子治療臨床試験実施施設

- ・ 施設名及び当該施設が本臨床試験を行うのに十分な施設・体制を持つことを説明する。

(5) 被験者の選択基準及び除外基準

- ・ 年間推定患者数、対象患者が多い場合には選択法及び除外基準について記載する。

(6) 被験者の同意の取得方法

- ・ インフォームド・コンセントの実施方法について記載する。

(7)実施期間及び目標症例数

- ・必要とする症例数及び実施期間並びにその根拠について記載する。

(8)実施方法

- ・遺伝子治療臨床研究の具体的な実施方法について記載する。

(9)患者フォロー予定

- ・患者に投与されたベクター、遺伝子又は遺伝子が導入された細胞の生体内分布、遺伝子及び細胞の生存・機能発現期間、増殖性ウイルスや投与による随伴症状等の、場合によっては生涯にわたる観察予定を記載する。

(10)患者以外への遺伝子導入の可能性

- ・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。

X. 製造施設・設備

(1)位置

- ・製造所の平面図と作業区域の位置を図示する。なお、製品等の保管場所や試験検査を行う場所も記載する。

(2)構造・設備

- ・作業区域の平面図及び遺伝子治療用医薬品の製造に用いる主要設備・装置について記載する。