

第7回遺伝子治療臨床研究に関する指針の見直しに関する専門委員会	参考資料
平成26年2月28日	2

品質及び安全性に関する評価項目（未定稿）

1. 遺伝子治療用組換え遺伝子及び遺伝子導入方法\*1
  - (1) 導入遺伝子
    - 1) 導入遺伝子の構造と性質
    - 2) 発現調節エレメントの構造と性質
    - 3) 導入遺伝子からの生成物の構造と性質
  - (2) 遺伝子導入方法
    - 1) ウイルスベクターを使って遺伝子導入を行う場合
      - ① ウイルスベクターの構造と性質
      - ② 安全性の評価
      - ③ 当該ウイルスベクターを選択した理由
      - ④ ウイルスベクターの製造方法
        - (ア) 組換え遺伝子の構築方法
        - (イ) ウイルスベクターの製造工程
        - (ウ) 製造に用いる細胞・ウイルスバンクシステム\*3
        - (エ) 精製方法
        - (オ) 力価・純度の検定
    - 2) ウイルスベクター以外の方法を使って遺伝子導入を行う場合
      - ① 遺伝子導入法
      - ② 安全性の評価
      - ③ 当該遺伝子導入法を選択した理由
      - ④ 組換え遺伝子及びキャリアー（非ウイルスベクター）の作製方法
        - (ア) 組換え遺伝子の構築方法
        - (イ) キャリアーの構造又は組成
        - (ウ) 製造工程
        - (エ) 精製方法
        - (オ) 力価・純度の検定
  - (3) 標的細胞（ex vivo 遺伝子導入の場合）\*2
    - 1) 標的細胞とした細胞の由来と性質（当該細胞を選択した理由）
    - 2) 標的細胞の調製方法（細胞培養及び遺伝子導入操作）
    - 3) 遺伝子導入細胞

- 2. 被験者に投与する最終産物の安全性及び品質の評価**
- (1) ウイルスベクターや非ウイルスベクター品質試験\*4
    - 1) 感染性因子に関する試験\*5
      - ① 無菌性試験（細菌及びカビの試験）\*6
      - ② マイコプラズマ\*7
      - ③ 迷入感染性因子(ウイルス)試験\*8
    - 2) 純度試験\*9
    - 3) 増殖性ウイルス否定試験(ウイルスベクターの場合)
    - 4) 生物活性（導入遺伝子の活性を含む）\*10
    - 5) 投与量\*12
    - 6) 安定性\*13
  - (2) 遺伝子導入細胞の特性解析
    - 1) 感染性因子に関する試験\*5
      - ① 無菌性試験（細菌及びカビの試験）\*6
      - ② マイコプラズマ\*7
      - ③ 迷入感染性因子(ウイルス)試験\*8
    - 2) 生存率\*11
    - 3) 細胞数／投与量\*12
    - 4) 増殖性ウイルス否定試験(ウイルスベクターを用いる場合)
  - (3) 特殊な機器や医療材料を必要とする遺伝子治療臨床試験\*14
- 3. 非臨床試験**
- (1) 臨床的有効性を予測するための試験\*16
  - (2) 非臨床安全性試験\*15
    - 1) 一般原則
    - 2) 動物モデルの選択
    - 3) 試験デザイン（投与量／投与方法）
    - 4) 評価項目（遺伝子産物の安全性）／回復性
    - 5) 生体内分布
  - (3) 生殖毒性と生殖細胞への意図しない組込みリスクについて\*17
  - (4) 免疫原性・免疫毒性\*18
  - (5) 遺伝毒性・変異原性試験\*19
  - (6) 造腫瘍性試験・がん原性試験\*20
  - (7) 前処置及び併用療法について

\*1. 遺伝子治療臨床研究の申請に当たっては、臨床研究に用いる組換え遺伝子や治療用ベクターの製造方法に関連する詳細な情報を提出すること。ベクター、細胞、バンクシステム、試薬等を含め、製造に用いた全ての構成成分を示すこと。さらに、製造工程の概略を示し、その妥当性を示すこと。特に、ベクターの構築方法、生産細胞を用いた大量製造と精製、*ex vivo* で遺伝子導入した細胞の調製、ヒトへ投与する最終産物の処方などが挙げられる。製品の同一性、品質、純度、生物活性の評価結果を示した上で臨床研究に用いることの妥当性を説明すること。

\*2. 細胞調製を行う由来となった細胞・組織の種類、細胞の採取方法について細胞を採取する方法を含めて説明すること。自己細胞を用いる場合は、患者が HIV、HCV、HBV 等のウイルス疾患を持っているかについての情報を説明すること。同種細胞を用いる場合は、HIV-1、HIV-2、HBV、HCV、ヒト T 細胞白血病ウイルス 1 型及び 2 型 (HTLV-1、HTLV-2)、CMV、EBV、パルボウイルス B19 その他必要に応じて実施し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い、その結果を記載しておくこと。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性や主要組織適応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. 臨床研究用ベクターの製造に用いた細胞基材やウイルスベクターについて、バンクシステムを構築した場合には、その MCB (マスターセルバンク)、WCB (ワーキングセルバンク)、MVB (マスターウイルスバンク)、WVB (ワーキングウイルスバンク) に関して次のような適切な情報を提供することが望ましい。パッケージング細胞、産生細胞 (微生物あるいは動物細胞)、フィーダー細胞 (使用する場合) についても説明すること。製造に用いる各細胞バンクの特性解析結果を示すこと。

<MCB/WCB やパッケージング細胞> MCB/WCB やパッケージング細胞について、その安全性、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、マイコプラズマ試験、*in vivo* および *in vitro* の迷入ウイルス試験の実施、及び必要に応じて最終製品での増殖性ウイルス (RCV) 試験を含めること。細胞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、HIV-1, 2, HBV, HCV, HTLV-1, 2, EBV, CMV, 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、ウシやブタ由来の増殖因子等（血清や血清由来成分、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 配列その他のマーカーなどの試験を、微生物細胞バンクの場合には、菌株の同定、選択マーカーに用いる薬剤耐性の試験に加え、バクテリオファージの試験の実施を考慮すること。上記に加え、i) 培養条件（製造に用いる全ての培地や試薬・添加剤を含めて）、ii) ベクター産生細胞を樹立するために用いた MCB/親細胞の遺伝子改変方法、iii) 産生細胞クローンの分析法と選択法、iv) MCB の保存方法や管理方法などを説明すること。

<MVB や WVB>MVB の履歴と由来についての情報、MVB や 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、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、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。

\*4. 臨床研究に用いる遺伝子治療用ベクターや遺伝子改変細胞について、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）試験、ベクターの特性を評価するための試験、さらには ex vivo 遺伝子導入細胞の生存率試験や細胞の純度試験、生物活性や力価等の試験が含まれる。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値を設定しておくことでやむを得ない。また、試験すべき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。

\*5. 感染性因子について、細胞バンク、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。

\*6. 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について、日本薬局方（以下「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。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。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、凍結前に無菌試験を行うことが望ましい。

\*7. 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。遺伝子導入細胞を用いる場合には、細胞製品のヒトに投与するまでの寿命が限られていることから、出荷試験としてマイコプラズマ試験結果が患者の投与後になる可能性が高い。このようなケースでは、PCR法等の迅速法との併用を考慮することも有用である。マイコプラズマ試験結果を得るために細胞を保存しておくことを求めるものではない。また、患者への投与後にマイコプラズマ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。

\*8. 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。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。レトロウイルスベクター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。また、レトロ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レトロウイルス (RCR) 試験を実施することが望ましい。アンフォトロピックマウス白血病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、Mus dunni などの感受性細胞を用いて RCR 試験を実施すること。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である。

\*9. 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。さらに遺伝子導入細胞の場合には、目的外の形質を持つ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。エンドトキシン上限値は、1回の投与で体重 1kg あたり 5EU 以下にすることが推奨されている。また、髄腔内投与される医薬品では、1回の投与で体重 1kg あたり 0.2EU 以下が望ましい。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。

\*10. 臨床研究に用いる遺伝子治療ベクターの発現産物や遺伝子導入細胞の生物活性を測定するのに用い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。これらの生物活試験は定量性を持っていることが望ましい。

\*11. 遺伝子導入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臨床研究に用いざると得ない時には、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。

\*12. 遺伝子治療臨床研究に用いる遺伝子導入細胞の試験及び出荷基準の一部として、生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設定されている場合にはどのような根拠に基づいているのかを説明すること。遺伝子治療用ベクターを投与する場合には、投与量をプラスミド DNA の濃度、ウイルス粒子数もしくはウイルスタイターとして示すこと。

\*13. ヒトに投与する遺伝子治療ベクターや遺伝子導入細胞のヒトに投与するまでの安定性を評価しておくこと。適切な保存期間を設定すること。一方で、ベクター産生細胞の遺伝的安定性については ICH Q5B を参考に評価を行うことが有用である。ベクターや遺伝子導入細胞を一定期間保存したり、他施設への輸送が行われる場合にはその手順書を作成するとともにベクターや細胞への影響を検証すること。

\*14. 遺伝子治療用ベクターや ex vivo 遺伝子導入細胞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。

\*15. 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単回投与毒性試験が、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。また、この単回投与毒性試験の実施に先立って、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が望ましい。この生体内分布試験は、毒性試験のデザインや評価のみならず、生殖細胞への分布やウイルス／ベクターの体外排出の可能性評価にも有用な情報が得られることがある。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。

\*16. 遺伝子治療臨床研究計画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。このためにインビトロ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、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。

\*17. 遺伝子治療ベクターを直接 *in vivo* 投与で用いる場合、生殖細胞への意図しない組み込みのリスクについて評価を行うことが必要である。試験の実施に当たっては、「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。

\*18. 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、特に発現ベクターにコードされた目的遺伝子の発現産物である増殖因子やサイトカイン等のタンパク質分子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やヒトへの外挿性については、投与された動物の遺伝子発現産物やベクターに対する免疫反応性により、試験が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技術はないとされている。臨床試験に際しては、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。

\*19. 化学物質等によって引き起こされることを想定した従来の遺伝毒性試験や変異原性試験は、遺伝子導入用ベクターに対しては一般的には適切ではない。しかしながら、遺伝毒性試験は特定の不純物や複合体化材料などの構成要素については必要となる可能性がある。遺伝子導入用ベクターにおいてより重要な問題は、挿入変異の可能性である。

\*20. 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。発現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。投与した核酸が、核内へ移行し、かつ染色体に組み込まれる機構が保存されている場合には、挿入変異による造腫瘍発生の懸念が高い。このため、臨床試験に際しては、挿入変異による造腫瘍発生の懸念を想定し、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もたない場合においても、投与した核酸が核内へ移行する場合には、頻度は極めて低いものの染色体への挿入が起こる可能性があり、挿入変異による造腫瘍性を考慮する必要がある。造腫瘍性の試験においては、適切な免疫不全動物を使用すること。製造に用いたパッケージ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。