

AAVベクター製品の 品質管理に関する留意点

独立行政法人医薬品医療機器総合機構
再生医療製品等審査部 審査専門員
川本恵

本発表は演者の個人的見解を示すものであり、所属する組織の公式な見解ではないことにご留意ください。

発表に関連し、開示すべきCOI関係にある企業などはありません。

COI開示

発表者名： 川本恵

演題発表内容に関連し、発表者らに開示すべき
COI関係にある企業などはありません。

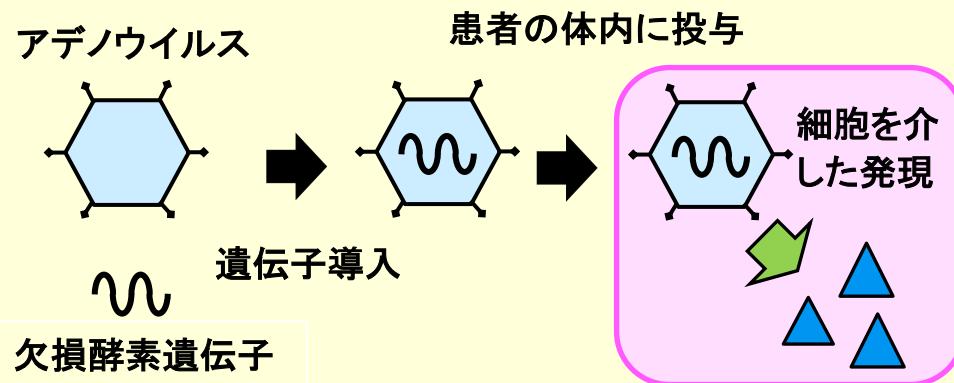
遺伝子治療製品の定義

定義

- 人又は動物の疾病の治療に使用されることが目的とされている物のうち、人又は動物の細胞に導入され、これらの体内で発現する遺伝子を含有させたもの（「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」）

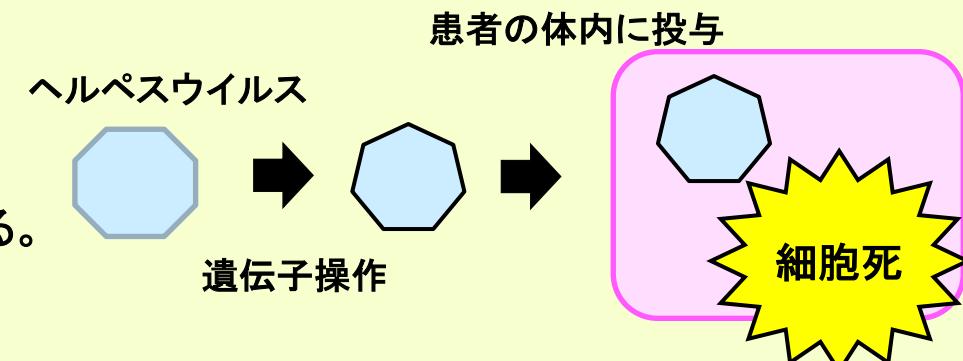
【例：遺伝性疾患治療製品】

先天的に欠損した遺伝子（例えば、アデノシンデアミナーゼ遺伝子等）をウイルスに保持させ、患者投与後に導入遺伝子が発現することで、遺伝性疾患の治療効果が期待される。



【例：腫瘍溶解性ウイルス】

がん細胞で選択的に複製し、これを溶解させるウイルス。患者投与後に、腫瘍細胞の細胞死及び免疫応答による癌の治療効果が期待される。



AAV（アデノ随伴ウイルス）

- AAVは、パルボウイルス科デペンドウイルス属に属する单鎖 (SS) DNAウイルスである。
- 野生型AAVは通常、同時感染したアデノウイルスやヘルペスウイルスから供給されるヘルパー機能がある場合のみ複製する。
- 野生型AAVは非病原性である。
- 現時点では様々な血清型が確認されており、異なるAAV血清型は異なる組織指向性を持つ。

AAVベクター製品

- ヒトの遺伝子治療用の組換えAAV (rAAV) 製品は、*in vivo*法または、*ex vivo*法で人の体細胞に遺伝子導入をするよう改変されている。rAAVは、筋細胞や神経細胞などの終末分化した非分裂細胞に効率よく遺伝子導入でき、遺伝子発現が長時間持続するという特徴がある。
- rAAVは、*rep/cap*遺伝子を目的遺伝子に置き換えることにより作製される。*rep/cap*遺伝子はtransに必要であり、それぞれ、複製とパッケージングに機能する。
- rAAVは、末端逆行反復配列 (ITR) と目的遺伝子を含む。

rAAV製品の開発事例

- 血友病
- AADC欠損症
- パーキンソン病
- ALS
- デュシェンヌ筋ジストロフィ
- 網膜色素変性症
- X連鎖性ミオチュラリーミオパシー
- ポンペ病
- うつ血性心不全
- RPE65欠損レーバー先天性黒色腫（海外承認）
- 脊髄性筋萎縮症（承認）

遺伝子治療用製品等の品質及び安全性の確保に関する指針

薬生機審発0709第2号
令和元年7月9日

各都道府県衛生主管部（局）長 殿

厚生労働省医薬・生活衛生局医療機器審査管理課長
(公 印 省 略)

遺伝子治療用製品等の品質及び安全性の確保について

遺伝子治療の目的に使用される医薬品（治験薬を含む。以下「遺伝子治療用医薬品」という。）については、「遺伝子治療用医薬品の品質及び安全性の確保について」（平成25年7年1日付け薬食審査発0701第4号厚生労働省医薬食品局審査管理課長通知。以下「旧課長通知」という。）において、品質及び安全性確保のために必要な基本的要件として「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」（以下「旧指針」という。）を定めているところです。

厚生労働省では、革新的な医薬品、医療機器及び再生医療等製品の実用化を促進するため、平成24年度から平成28年度まで、最先端の技術を研究・開発している大学・研究機関等において、レギュラトリーサイエンスを基盤とした品質及び安全性の評価方法の確立を図るためのガイドラインの作成を行うとともに、当該大学・研究機関等と独立行政法人医薬品医療機器総合機構（以下「PMDA」という。）及び国立医薬品食品衛生研究所との間で人材交流を行う事業を実施しました。

AAV製品の品質特性

評価項目の例	試験方法の例 (試験の位置づけに応じてケースバイケース)
確認試験	免疫学的手法、PCR、制限酵素解析等によるAAVベクターの確認
純度試験	中空粒子の混入
製造工程由来不純物	製造工程由来物質（ウシ血清アルブミン、抗生物質、宿主由来タンパク及びDNA、ベンゾナーゼ等）
目的物質関連不純物等	ベクター凝集体、目的外遺伝子混入ベクター（誤パッケージ）、rc（自己増殖可能な）AAV等
安全性	ウイルス、マイコプラズマ、エンドトキシン、無菌等
力価試験、効能効果試験、力学的適合性	感染力価、目的遺伝子の発現、生物活性
含量	ベクター粒子濃度

- ・ 有効性及び安全性に関係のある品質特性が重要品質特性になりえるか、考え方の整理、議論が必要。
- ・ 特に、力価試験ではどのような品質特性の項目を設定し、規格値を設ければよいか、悩ましいところ。

AAV製品における品質の特徴と課題

- 遺伝子組換えDNAを含む製品
- 生きたウイルスを含む製品
- 不均質性が高い
- 適切な試験方法の選択が難しい
- 試験法のばらつきが大きい（感染力価、生物活性試験等）
- 適切な標準品の設定が困難

⇒ 品質の確保はどのように考えれば良いか？

個別の品目の特徴に応じて、品質の管理方法の設定の在り方、品質管理戦略の考え方、適切な試験方法の選択、分析法バリデーションの実施方法、プロセスバリデーションの実施方法等への対応を、開発の進行とともに段階的に検討することになる

品質を確保することの意義

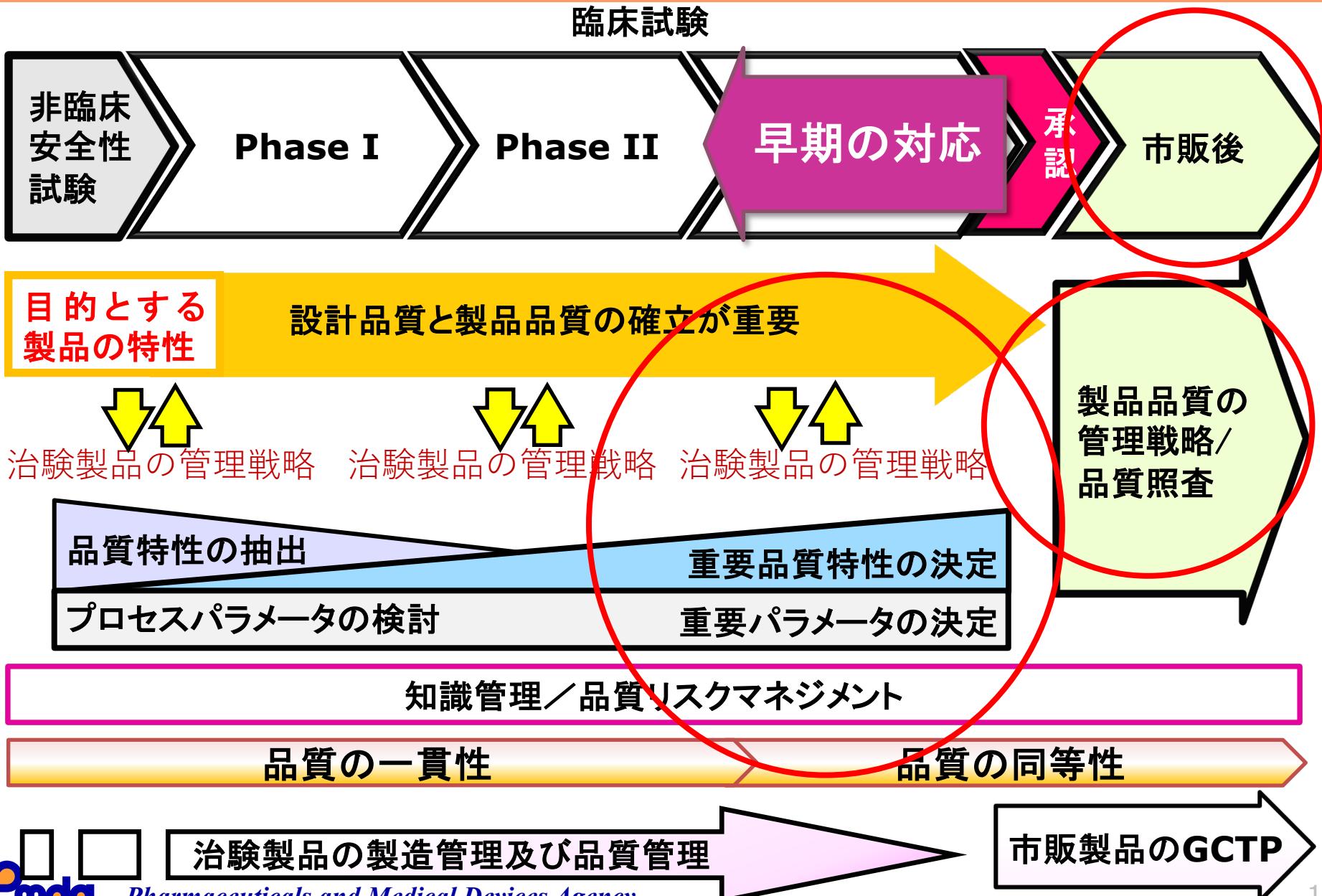


有効性及び安全性に関連する重要な品質特性が事前に特定される必要がある

治験中の品質確保の全体像



治験中の品質確保の全体像



品質管理戦略

最新の製品及び製造工程の理解から導かれる、製造プロセスの稼働性能及び製品品質を保証する計画された管理の一式。管理は、原薬及び製剤の原材料及び構成資材に関連するパラメータ及び特性、設備及び装置の運転条件、工程管理、完成品規格及び関連するモニタリング並びに管理の方法及び頻度を含み得る。（ICH Q10）

→ 製造工程を上流から下流、原料から製品においてどのように管理すれば、一貫して期待する結果が得られるか、そのために必要となる管理のひとつセットを戦略的に（系統立てて）設計する。

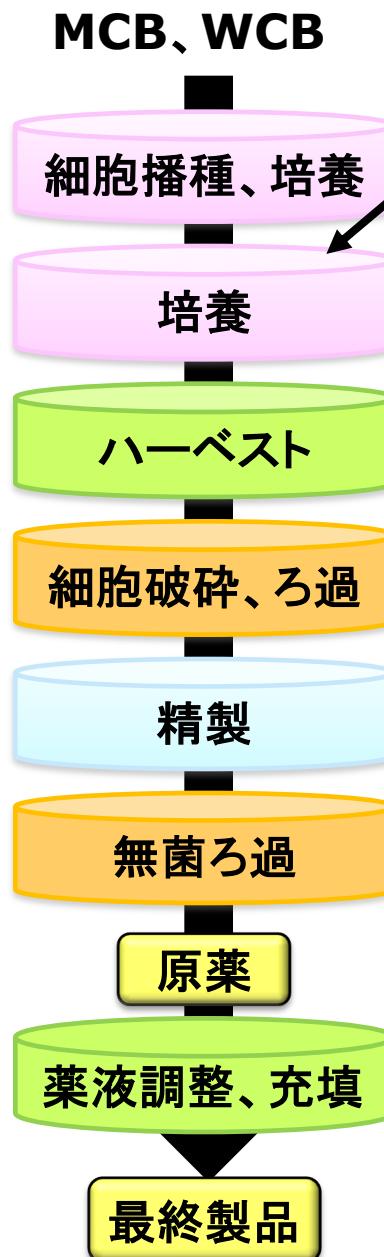
例えば、

- 工程に関する知識・理解を基盤に確立された工程管理の方法論
- 重要管理ポイントの手順および監視（モニタリング）方法
- 原料管理の項目、中間体管理の項目
- 工程内管理試験のタイミング

AAVの製造方法

- 複数のプラスミドのコ・トランスクエクション
- パッケージング細胞株を用いる方法
- ウイルスを利用した製造システム

rAAVの製造方法



MVB、WVB/MCB、WCB(プラスミド製造用)

ウイルス/プラスミド接種

- ・ 培養したらトランスフェクション効率よく目的のAAVが得られた。
- ・ 高い感染力値のrAAVが得られた。
- ・ 解析をしたら自己増殖可能なAAVは無かった。
- ・ 精製工程を得ると不純物の除去が十分なされていた。
- ・ 微生物の汚染はなかった。

⇒ 毎回、期待する結果は得られているのだろうか？

-
- ◆ 目的とするrAAVを再現性よく得るために、培養の段階で必要となる事項は何か。（培養スケール、トランスフェクションの条件）
 - ◆ 製造工程の各段階（各工程）は何を目的に行われるのか、期待する結果は何か。
 - ◆ その結果が得られる（得られない）ための要因は何か。
 - ◆ その要因の起こりやすさ、影響の大きさはどの程度か。

⇒ 品質のリスク（潜在的なもの、顕在化したもの）

製造工程の理解

MCB、WCB

細胞播種、培養

培養

ハーベスト

細胞破碎、ろ過

精製

無菌ろ過

原薬

薬液調整、充填

最終製品

MVB、WVB/MCB、WCB(プラスミド製造用)

ウイルス/
プラスミド
接種

目的とするrAAVを効率よく生産するプロセス

- ・ 培養系の設計（播種する細胞密度、培養スケール、トランスフェクション条件、増殖因子等）
- ・ 培養過程の監視（細胞濃度、pH、温度等）
- ・ 目的に応じた工程の確認

不純物を除去し、目的とするrAAV（だけ）を得るプロセス

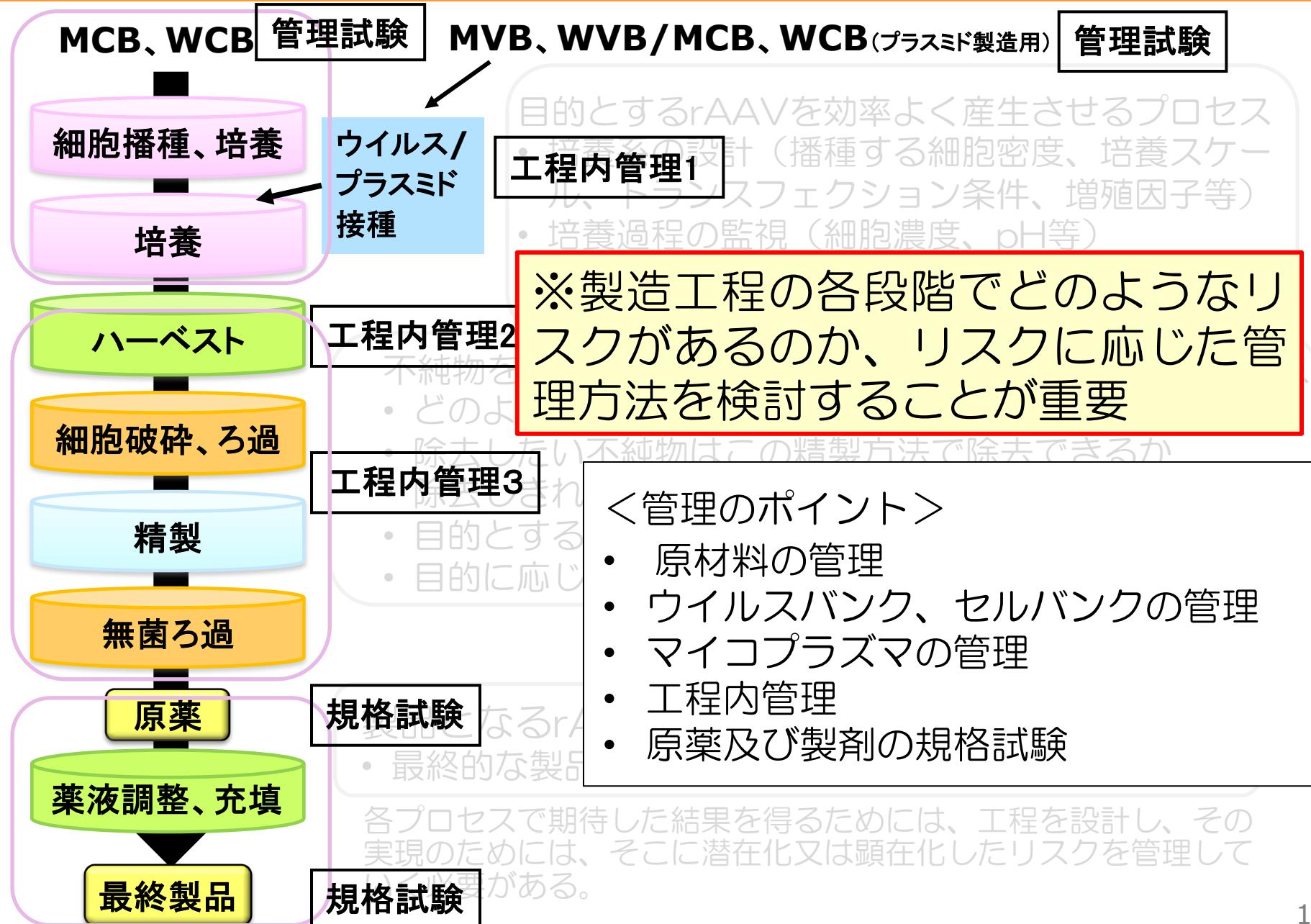
- ・ どのような不純物を除去する必要があるか
- ・ 除去したい不純物はこの精製方法で除去できるか
- ・ 除去しきれない不純物は何か
- ・ 目的とするrAAVの感染力価を維持する
- ・ 目的に応じた工程の確認

製品となるrAAVに加工するプロセス

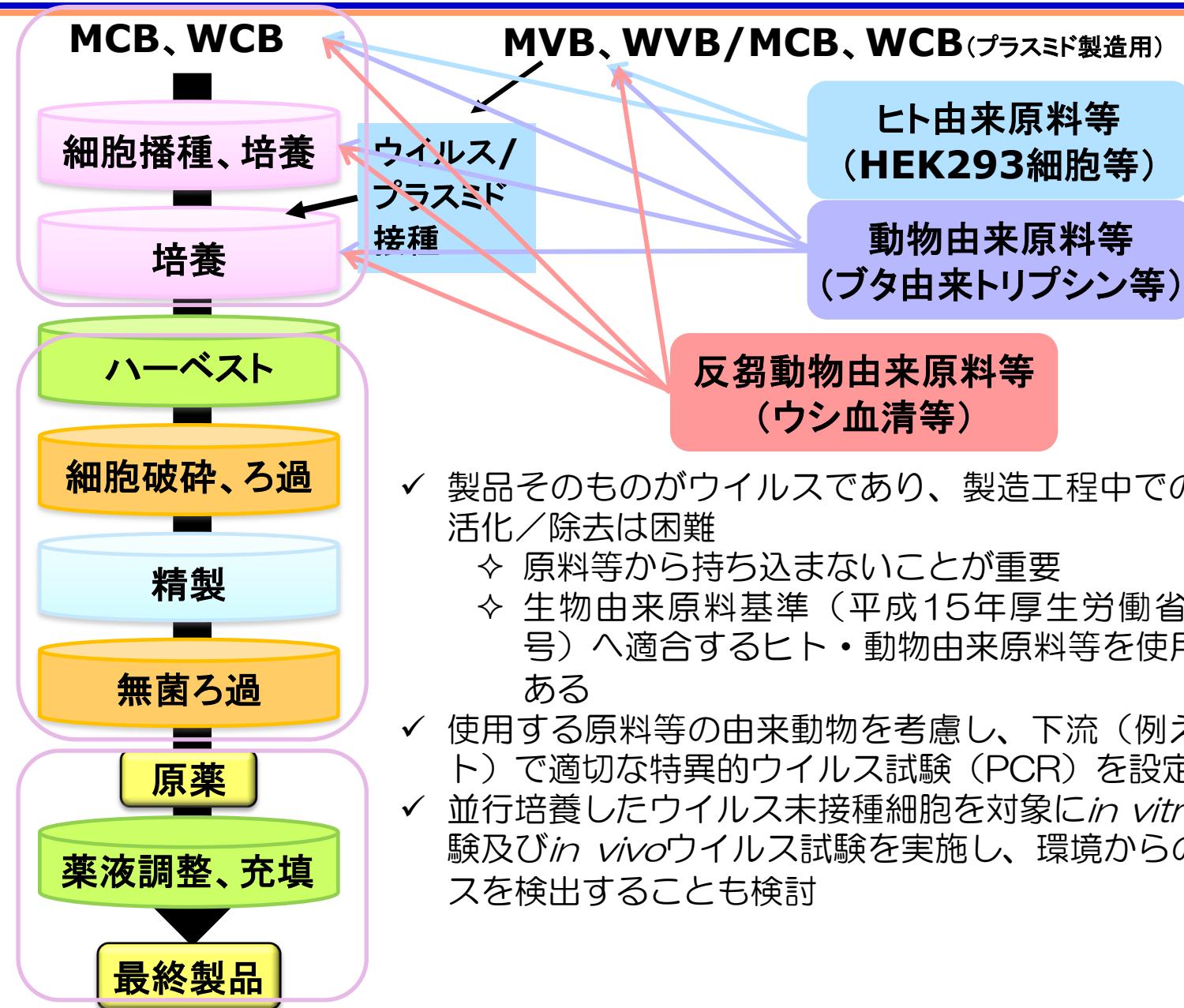
- ・ 最終的な製品特性の確保

各プロセスで期待した結果を得るために、工程を設計し、その実現のためには、そこに潜在化又は顕在化したリスクを管理していく必要がある。

製造工程の理解



原料等の管理



平成15年厚生労働省告示 第210号（平成26年9月26日改訂）

○再生医療等製品は、製造工程中にウイルス等の感染性物質を不活化／除去する工程 を設定することが困難であることが多い。。。

原料・材料からの感染性物質が製造工程に混入しないようにすることが重要！

生物由来原料基準における安全性確保の考え方

①ドナー（ドナー動物）の適格性

ドナー適格性を判断（問診及び検査）する、ドナー動物の健康状態を管理する。

②ウイルス試験の設定及び原材料の製造工程中のウイルス不活化／除去工程の設定

混入が想定されるウイルスの情報をもとにウイルスの混入リスクを管理する項目を設定する。ウイルス不活化／除去処理が可能であれば、原則、実施する。

③トレーサビリティの確保

原料の製造年月日、ロット等の記録の保管

生物由来原料基準に関する通知等

●生物由来原料基準の運用について

(平成26年10月2日付け薬食審査発1002第1号、薬食機参発1002第5号)

- ◆ 生物由来原料基準の用語の解説について記載されている。

(例)

動物由来原料基準の要件(1)

医薬品等の原料等として用いる動物に由来するもの((略))については、健康な動物に由来する場合を除き、無菌性の担保、ウイルス感染リスクの検証その他の必要な事項が行われていることを確認しなければならない。

運用通知の7(2)

動物由来原料基準(1)の「健康な動物」とは、第十六改正日本薬局方参考情報18.日局生物薬品のウイルス安全性確保の基本要件4 の 4.1 に規定するものであり、…

●生物由来原料基準の運用に関する質疑応答集（Q&A）について

(平成27年6月30日付け事務連絡)

- ◆ 生物由来原料基準に関する製造販売承認書の記載を修正する際の事務手続き等について、主にQ&Aとしてまとめられている。
- ◆ 生物由来原料基準の解釈についてのQ&Aもあるので、参照していただきたい。

生物由来原料基準の内容

＜目次＞

第1 通則

第2 血液製剤総則

- 1 輸血用血液製剤総則
- 2 血漿分画製剤総則

第3 ヒト由来原料総則

- 1 ヒト細胞組織原料基準
- 2 ヒト尿由来原料基準
- 3 ヒト由来原料基準

第4 動物由来原料総則

- 1 反芻動物由来原料基準
- 2 動物細胞組織原料基準
- 3 動物由来原料基準

第1 通則

本基準の対象を規定し、用語を定義。

第3 ヒト由来原料総則

1 ヒト細胞組織原料基準

再生医療等製品の原料となる細胞は、本基準への適合性を説明する必要がある。

3 ヒト由来原料基準

再生医療等製品の材料として使用されるヒト由来の成分は本基準への適合性を説明する必要がある。(例:ヒト血清トランスフェリン、ウイルスベクター製造に使用したHEK293細胞等)

第4 動物由来原料総則

1 反芻動物由来原料基準

再生医療等製品の材料として使用される反芻動物由来の成分は本基準への適合性を説明する必要がある。(例:FBS等)

3 動物由来原料基準

再生医療等製品の材料として使用される動物由來の成分は本基準への適合性を説明する必要がある。(例:FBS、ブタ由来トリプシン等)

生物由来原料基準の具体例～動物由来原料基準～

要件	
(1)	医薬品等の原料等として用いる動物に由来するもの(動物細胞組織原料等及び細菌、真菌、ウイルス等の感染リスクが否定されていることが科学的に公知のものとされるものを除く。以下「動物由来原料等」という。)については、健康な動物に由来する場合を除き、無菌性の担保、ウイルス感染リスクの検証その他の必要な事項が行われていることを確認しなければならない。
(対応例)	原料等の由来動物が、ヒトの食用のために動物の解体を行うと畜場において、適切な管理のもとでと畜されていることを確認する。
(3)	動物由来原料等について、製造工程において、細菌、真菌、ウイルス等を不活化又は除去する処理を行わなければならない。ただし、当該処理を行わない合理的な理由がある場合であって、その旨が、製造販売の承認の際に交付される承認書に記載されているものについては、この限りでない。
(対応例)	原料等の製造工程におけるウイルス不活化／除去能について、ウイルスバリデーション試験結果等の科学的な根拠に基づいて評価されている。

原料等の管理

MCB、WCB

細胞播種、培養

培養

ハーベスト

細胞破碎、ろ過

精製

無菌ろ過

原薬

薬液調整、充填

MVB、WVB/MCB、WCB(プラスミド製造用)

ヒト由来原料等
(HEK293細胞等)

動物由来原料等
(ブタ由来トリプシン等)

反芻動物由来原料等
(ウシ血清等)

品質管理その2 セルバンク／ウイルスバンク

バンクの構築までにどのようなヒト・動物由来原料を使用したかに基づきリスク評価を行い、そのリスク評価に基づき、試験を設定する必要がある。

■ MCB／WCB

- 構築方法
- 特性解析

安全性（無菌試験、マイコプラズマ否定試験、*in vivo*及び*in vitro*迷入ウイルス試験、レトロウイルス及び内在性ウイルス試験等）

同一性、純度、特性（細胞確認試験、生存率等）、安定性

- 管理方法

■ MVB／WVB

- 製造方法
- 特性解析

安全性（無菌試験、マイコプラズマ否定試験、*in vivo*及び*in vitro*迷入ウイルス試験、増殖性ウイルス試験等）、ベクターの構造解析

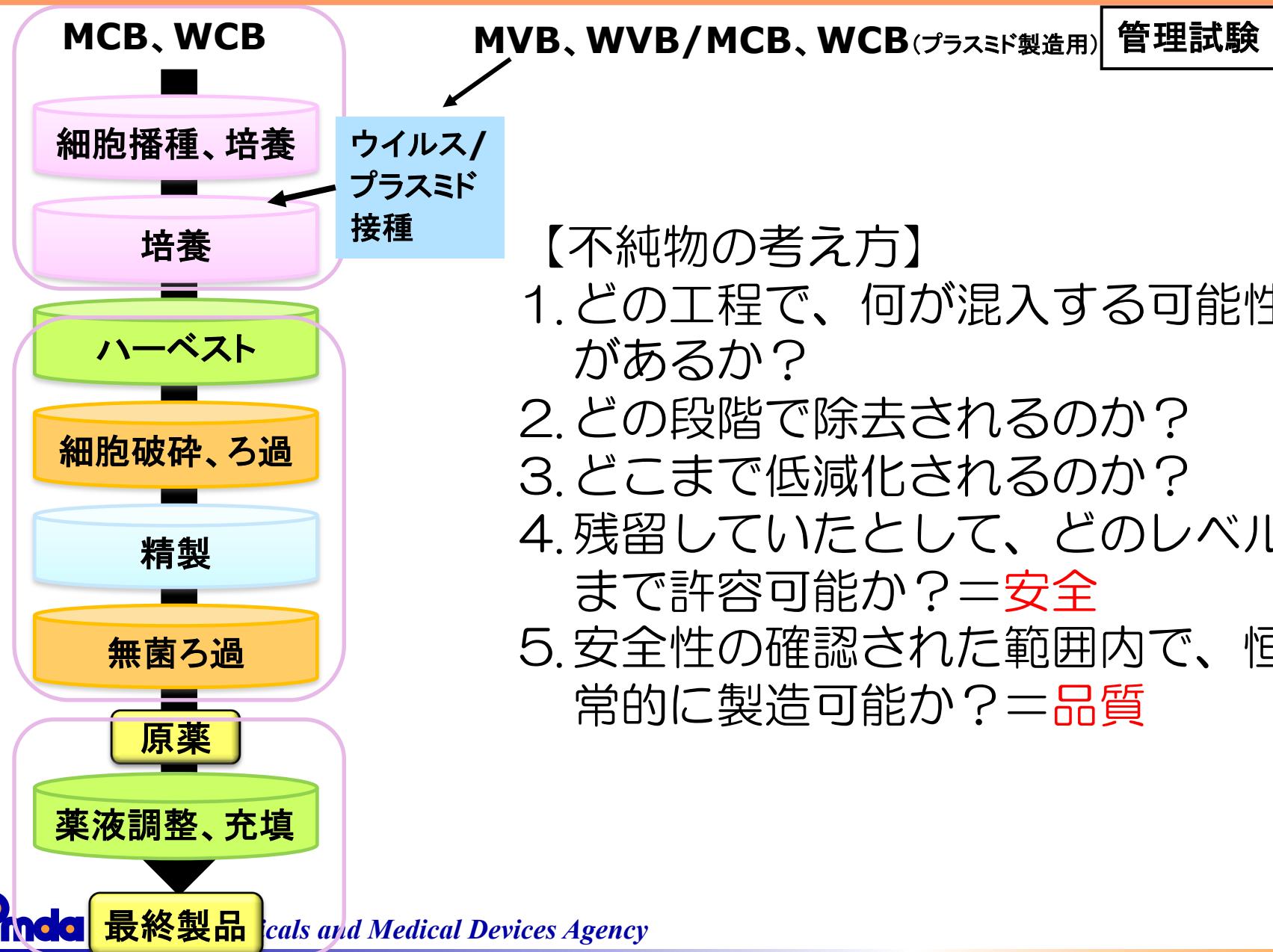
- 管理方法

品目毎にケースバイケースで検討する必要があるが、ICH Q5A、Q5Dガイドライン等が参考となる

「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」（ICH-Q5A）

「生物薬品（バイオテクノロジー応用医薬品/生物期限由来医薬品）製造用の由来、調整及び特性開発」（ICH-Q5D）

原料等の管理



【不純物の具体的な考え方】

1. どの工程で、何が混入する可能性があるか?
→原材料のリストアップ
2. どの段階で除去されるのか?
→不活化工程、精製工程の検討
3. どこまで低減化されるのか?
→クリアランスの検討
4. 残留していたとして、どのレベルまで許容可能か?
= **安全性** (非臨床安全性試験、過去の臨床投与経験)
5. 安全性の確認された範囲内で、恒常に製造可能か?
= **品質** (ロット分析結果の検討)

製造工程で何らかの逸脱が起きた場合、工程由来不純物の変動をモニタリングしておくことで、逸脱に対処できる可能性がある。

- 遺伝子治療等製品の品質は、規格設定のみで担保できるものではありません。
- 開発初期においては、幅広い品質特性を検討し、個々の製品に応じた重要品質特性を絞り込んでいく過程が必要です。
- 重要品質特性を、原材料、細胞やウイルスバンク、製造工程内管理、原薬及び製剤の規格、いずれの段階で管理すべきか十分に検討し、設定することが必要です。
- 一度決めた管理項目は、開発を通じて得られた情報に基づき、常に見直しを行うことが重要です。
- 個々の製品に応じて留意すべき点は異なります。懸念点がある場合には、PMDAのRS戦略相談等をご利用ください。

ご清聴いただき
ありがとうございました。

機構のホームページもご覧くださいませ。

<https://www.pmda.go.jp>

<https://www.pmda.go.jp/english/index.html>