



# 非臨床安全性試験、GLP

独立行政法人 医薬品医療機器総合機構 (PMDA)

再生医療製品等審査部

角田 聡



2016JSGT臨床試験トレーニングコース  
COI開示

発表者名:角田 聡

演題発表に関連し、開示すべきCOI  
関係にある企業等はありません。

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をご留意ください。

# 非臨床安全性評価の目的

---

## 治験時のヒトの安全性を担保すること

- ✓ 治験の副作用の予測
- ✓ 毒性標的の器官・組織把握
  - ヒトで困難な高用量、過酷な曝露条件下
  - 毒性の用量依存性及び回復性
- ✓ 治験の初回投与量の推定、投与増量幅の把握
- ✓ 治験の中止基準設定

# 本日の内容

---

## 非臨床安全性評価のポイント

- ✓ 指針を踏まえた検討
- ✓ 生殖細胞への組込みリスク

## 非臨床安全性試験の信頼性確保のポイント

- ✓ GLP適用試験
- ✓ GLP非適用試験

### ◆ 指針

遺伝子治療用製品の品質及び安全性の確保に関する指針(以下、指針)薬食審査発0701第4号、平成25年7月1日

### ◆ 生殖細胞への組込みリスク

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な考え方(以下、生殖細胞への組込みリスク)

# 遺伝子治療用製品非臨床安全性評価

---

## 治験開始前に評価が必要な項目（パッケージ）

- ✓ 一般毒性試験、生体内分布試験の実施
- ✓ 生命維持に関わる重要な器官・組織への影響
- ✓ 非増殖性ベクターにおける増殖性ウイルスの出現
- ✓ 正常細胞及び正常組織を傷害する可能性
- ✓ 染色体への挿入変異リスク・生殖細胞への組込みリスク
- ✓ 導入遺伝子が異常発現した場合のリスク
- ✓ 細胞の増殖性の変化、腫瘍形成及びがん化のリスク
- ✓ 製品の成分、導入遺伝子の発現産物又は遺伝子を導入した細胞の望ましくない免疫反応
- ✓ 製造工程由来不純物の安全性評価

# 一般毒性試験のポイント

---

## 試験計画立案のポイント

- 使用製品(ベクター)
- 動物種
- 投与量、投与回数、投与期間、投与経路
- 群構成、動物数(回復性評価)
- 観察・検査項目の設定

## 一般毒性試験成績からわかること

- 毒性標的、毒性所見、毒性の用量反応性把握、NOAEL、回復性の有無
- 初回投与量の設定、投与量の増量幅
- 正常細胞・組織へ与えるリスク(病理組織学的検査)
- 過剰発現時のリスク(高用量投与時の毒性)

# 被験製品（ベクター）の留意点

---

## ポイント1: 治験で投与する製品を原則使用

ヒトへ投与される製品の安全性を担保することが目的

## ポイント2: 特性解析、含量測定

動物へ投与される(た)製品に対する品質及び特性の担保

## ポイント3: 調製可能最大濃度の検討

投与可能最大量(MFD)を決定根拠の一つ

## ポイント4: 臨床試験の製品と異なる場合

試験結果への影響を検討

- ✓ 発現産物の特性(効力等)
- ✓ 組み込み能、発現効率

例) 品質面から一貫性(同等/同質性)の説明

# 動物種の選択

## 動物種

- 発現ベクターに搭載した目的遺伝子の発現すること
- 目的遺伝子由来の発現産物が効力を示すこと
- 発現ベクターのものとなる野生型ウイルスの感染性、細胞指向性がヒトに類似(同様)なこと
- 臨床試験時の投与に準じた方法が可能

## 動物種数

- 動物1種評価も可
- ⇒ 選択の妥当性を説明。例)ベクターの感染性、発現効率、発現産物の薬理活性等に種差が低い等。感染・発現の種特異性
- 特殊な臨床適用経路の場合
- ✓ 投与部位局所評価の観点からヒト投与方法が可能な種を追加

動物種は合理的な根拠に基づき選択！

一般的に  
使用



ラット  
マウス

ベクターの  
感染性が  
ヒトに類似



シリアン  
ハムスター



# 投与経路、投与量、投与回数・期間

---

## 投与方法

- 原則、臨床適用経路(動物で実施可能な場合)
- 臨床適用経路が困難(特に、腫瘍組織内投与の場合)
  - ✓ 局所への影響(代替部位)
  - ✓ 全身への影響(静脈内投与など、全身曝露が見込まれる経路)

## 投与量

- 毒性が見込まれる量～想定無毒性量(NOAEL)  
(NOAELの必要性:対象疾患に応じて)
- 最高用量の設定
  - ✓ 臨床ヒト投与量からの十分な安全倍率
  - ✓ 意図する薬理作用の最大量
  - ✓ 最大耐量(MTD)、投与可能最大量(MFD)

## 投与回数 ・期間

- 治験における投与回数・期間の安全性を担保
  - ✓ 参考となるガイドライン
    - ICH-S6(バイオ医薬品の非臨床安全性評価)
    - ICH-S9(抗悪性腫瘍薬の非臨床評価)

# 群構成、動物数、観察・検査項目

---

## 群構成

- 媒体対照群
- 製品投与群(複数用量設定)
- 回復性評価群(評価が必要な場合)

## 動物数

評価可能と考える適切な動物数 \*

\* 最終評価(剖検時)に必要な動物数の確保

## 観察・検査項目

通常観察・検査項目 \*

- 一般状態
- 体重、摂餌量、飲水量
- 臨床検査

(血液・血液生化学検査、尿検査及び眼科学的検査など)

- 剖検、器官重量、病理組織学的検査(全身の器官・組織)

\* 観察・検査項目を省略する場合は根拠を説明

様々な知見(情報)が得られるような計画(評価)をお勧めします

動物数、観察・検査項目の参考資料

「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について」、別添「医薬品毒性試験法ガイドライン」

# 生体内分布試験 ～ポイント～

---

## 試験計画立案のポイント

- ✓ 使用製品（ベクター）
- ✓ 動物種
- ✓ 投与量、投与回数、投与期間、投与経路
- ✓ 群構成、動物数（経時的変化の把握）
- ✓ 評価対象の臓器・器官
- ✓ 被験製品の定量的評価

## 分布試験からわかること

- ✓ 分布器官・組織の把握（特に生命維持に係わる器官）
- ✓ 生体内における経時的な変化（増加・減少傾向）
  - ⇒ 生体内におけるベクターの複製能
- ✓ 生殖細胞への恒常的な組込みリスク

# 生体内分布試験 ～実施条件のポイント～

## ベクターの生体内分布の観点から評価

評価目的	<ul style="list-style-type: none"><li>全身の器官及び組織分布、持続性、消失</li><li>意図しない組織、生殖細胞への組み込みリスク</li></ul>
動物種	<ul style="list-style-type: none"><li>一般毒性試験と同じ観点</li></ul>
投与量	<ul style="list-style-type: none"><li>臨床試験の投与量を超え、組み込みリスクが評価可能量</li><li>一般毒性試験と同投与量</li></ul>
投与経路	<ul style="list-style-type: none"><li>臨床適用経路(一般毒性試験と同経路)</li><li>臨床適用経路が困難<ul style="list-style-type: none"><li>✓ 全身曝露を考慮した経路(静脈内投与等)</li></ul></li></ul>
投与回数	<ul style="list-style-type: none"><li>単回投与</li></ul>
投与期間	<ul style="list-style-type: none"><li>臨床試験を反映した回数・時期(長期間の分布が見込まれる場合)</li><li>一般毒性試験と同条件</li></ul>
動物数	<ul style="list-style-type: none"><li>経時的な評価が可能な数(群)</li></ul>
評価対象	<ul style="list-style-type: none"><li>原則、全身の器官・組織</li></ul>
測定方法	<ul style="list-style-type: none"><li>定量的PCR等、ベクターのコピー数を測定など</li></ul>

**一般毒性と生体内分布試験の同一条件実施も考慮**

# 生命維持に関わる重要な器官・組織への影響

---

## 生命維持に係る重要な器官・組織

中枢神経系、呼吸器系、心血管系

## 評価のポイント

- 低分子化合物の安全性薬理評価は馴染まない
- ✓ コアバッテリー試験実施の重要性は低い
- バイオ医薬品の考え方を参考にリスク評価
- ✓ 作用機序、一般毒性・分布試験成績
- リスクがある場合
- ✓ 対象疾患の重篤度・影響を考慮
- ✓ 臨床試験でのモニタリング(マーカーの検討)
- ✓ 懸念に特化した試験の実施(ケースバイケース)

# 非増殖性ベクターにおける増殖性ウイルスの出現

---

## 評価のポイント

- 製造用パッケージング細胞での増殖性ウイルスの出現  
(品質面からの評価)
  - 遺伝子導入細胞からの増殖ウイルス出現の検討  
(*ex vivo* 治療)
  - 変異又は内在性ウイルス断片との組換えによる増殖性ウイルス出現の可能性
- 
- ウイルスベクターの特性を踏まえた説明が必要
  - 説明が困難な場合: 生体内分布試験等 (*in vivo* 試験) の評価も考慮

# 正常細胞及び正常組織を傷害する可能性

---

## 評価のポイント

- 発現産物の作用機序からの考察(リスクの有無)
- *in vitro* 試験における評価(細胞増殖への影響)
  - ✓ 培養細胞を用いる試験
- *in vivo* 試験における評価(正常組織への影響)
  - ✓ 一般毒性試験における病理組織学的検査

## 特に

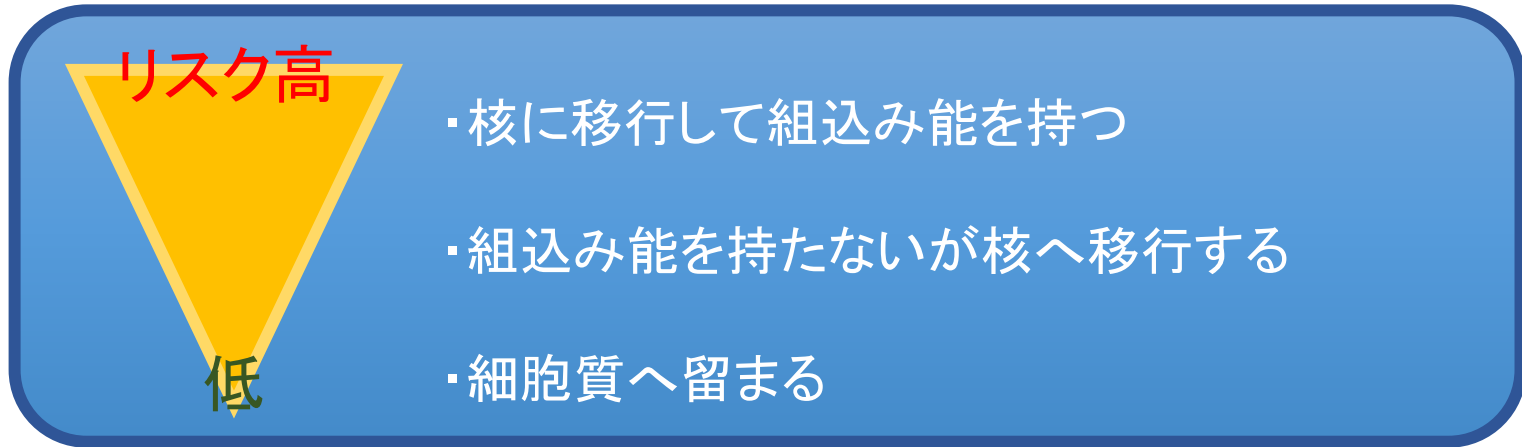
発現産物に由来する効力 ⇒ 細胞増殖抑制・殺細胞性など  
(抗腫瘍性作用)等を目的

- ✓ *In vitro* 及び *in vivo* 試験から慎重な検討

# 染色体への挿入変異リスク・生殖細胞への組込リスク

---

## ベクター特性からの染色体組込みリスク



## リスクの高いベクター(高リスクベクター)

- ベクターの宿主染色体への組込み能
- ウイルス特有の酵素(インテグラーゼ)活性

例)レトロウイルスベクター

例)レンチウイルスベクター



# 染色体への挿入変異リスク・生殖細胞への組込リスク

---

## 意図しない組込みリスク

- 染色体組込み能有、核内移行性ベクター  
(特定部位への挿入、挿入による遺伝子変異)
- ベクター改変による生殖細胞への分布能獲得  
(細胞指向性、細胞宿主選択性の変更)
- 生殖組織への高曝露  
(臨床適用経路: 静脈内投与、高投与量)
- 生体内における複製能の有無  
(生殖組織に対する曝露量の増加)

# 染色体への挿入変異リスク・生殖細胞への組込リスク

---

## 評価のポイント

- ベクターの特性面
  - ✓ ICH見解のリスク分類 ⇒ 高リスクベクターの使用の有無
  - ✓ 細胞への組込み数
  - ✓ 特定位置への組込みによる挿入変異の誘発
- 正常細胞への組込み能の検討 (*in vitro*)
- 生体内分布試験における生殖細胞への分布、経時的な変化
- 組込みリスクの重要度
  - ✓ 重要度: 低  
既存治療無効な進行がん、生命維持に関わる重篤な疾患
  - ✓ 重要度: 高  
生殖可能なヒトへの投与、治療後長期間の生存が見込まれる疾患

# 細胞の増殖性の変化、腫瘍形成及びがん化のリスク

---

## がん化及び腫瘍細胞に対するリスク

- 発現ベクター
  - ✓ ベクターの染色体組込み能・核内移行性
  - ✓ 挿入変異によるがん遺伝子の影響
  - ✓ パッケージ細胞由来のがん遺伝子の取り込み
- 目的遺伝子由来の発現産物
  - ✓ プロモーター活性によるがん細胞増殖の活性化
  - ✓ がん細胞に対する増殖促進作用
  - ✓ 免疫系に対する過度な抑制作用

# 細胞の増殖性の変化、腫瘍形成及びがん化のリスク

## 評価のポイント

- ベクターの染色体組込みリスク
  - ✓ 正常細胞へ組込み込んだ場合の悪性形質転換(がん化)
- 染色体特定部位への挿入変異リスク
  - ✓ 挿入による特定遺伝子(がん遺伝子)の活性化
- 目的遺伝子由来の発現産物のリスク
  - ✓ 作用機序  
(増殖因子、プロモーター活性、免疫抑制等)
  - ✓ 公表文献等からのリスク調査
  - ✓ 一般毒性試験結果からリスク評価
  - ✓ がん細胞に対する増殖能への影響
- ヒト臨床研究がん発生事例との比較
  - ✓ 患者層、使用ベクター、発現産物等の違い

説明が困難  
⇒試験実施を考慮

# 望ましくない免疫反応が生じる可能性

---

## 免疫反応に対するリスク

- ウイルスベクター
  - ✓ 抗ウイルスベクター抗体の産生(効果の減弱)
- 非ウイルスベクター
  - ✓ 自然免疫への影響(細胞への取り込み作用)
- 目的遺伝子由来の発現産物
  - ✓ 異種タンパクによる免疫反応(アナフィラキシー反応等)
  - ✓ 免疫細胞への影響(免疫抑制、亢進等)

# 望ましくない免疫反応が生じる可能性

---

## リスク評価のポイント

- 抗ウイルスベクター抗体の産生
  - ✓ ヒトでの抗体産生の可能性、ヒトにおける抗体の保持状況等(公表文献等)
  - ✓ 一般毒性試験における抗体産生の確認(必要に応じて)
- 非ウイルスベクターの免疫への影響
  - ✓ 細胞への取り込み後の想定される反応を考察(公表文献等)
- 目的遺伝子由来の発現産物の異種タンパクによる免疫反応
  - ✓ 動物では評価困難な場合が多い。治験でモニタリング(リスク管理)
- 目的遺伝子由来発現産物の免疫細胞への影響(免疫抑制、亢進等)
  - ✓ 作用機序からの評価。治験でモニタリング(リスク管理)

# 製造工程由来不純物の安全性評価

---

## 原則

製造工程から最終製品に残留する可能性のある物質を把握  
可能な限り、最終製品から除去

### Step1: 製品中の残存量の推定

可能な限り理化学的分析法により把握  
製造工程中の希釈率等から推計

### Step2: 不純物のヒトへの曝露量を推定

製品中の残存量と臨床投与量から曝露量を推定

### Step3: 曝露量におけるヒトへの安全性を評価

# 製造工程由来不純物の安全性評価

## ヒトへの安全性評価方法

### 1. 既存情報からの評価

新規物質 (化学物質・バイオ)	無毒性量 (NOAEL) 最小薬理作用量 (MABEL) など
内因性物質	ヒト生理的血中濃度 など
臨床適用経路 使用実績	医薬品、輸液の投与量実績 など 医薬品添加物としての許容投与量 など
ガイドラインの 許容値、閾値	ICH-Q3C : 残留溶媒の許容値 (DMSO 等) ICH-Q3D : 元素不純物 (培地中の金属イオン 等) ICH-M7 : 毒性学的閾値 (LTL)

### 2. 評価困難な場合

毒性試験における評価を考慮



# PMDAとの相談区分と方法

非臨床安全性評価に必要な項目は、個々の細胞加工製品で異なる

⇒ 必要な非臨床安全性試験についてPMDAへ相談することを勧める

Pharmaceutical Affairs Consultation on R&D Strategy

**fmda**

**薬事戦略相談**

厚生労働省の補助を受けて  
革新的医薬品・医療機器の実用化に向けて  
開発初期から必要な試験・治験に関するアドバイスをを行います！

**薬事戦略相談とは？**  
日本の革新的医薬品・医療機器の輸出に向けて、有望なシーズをお持ちの大学・研究機関、ベンチャー企業が主な対象です。  
実用化に向けて必要となる試験・治験計画に関して、薬事承認審査担当(PMDA)が指導・助言を行います。

**お申し込み方法は？**  
まずは、事前に簡単な質問表の回答(事前相談)を資料で付けておきますので、お電話にてご連絡ください。  
なお、事前相談の本体料は有料ですが、研究費や売上金等の一定額以上の場合、自費での相談も可能です。

**薬事戦略相談とは？**

**お申し込み方法は？**

**fmda** 独立行政法人 医薬品医療機器総合機構  
Pharmaceutical and Medical Devices Agency  
富田マナメント部 薬事戦略相談室  
〒100-0001 東京都千代田区富田 1-1-1  
TEL 03-3506-9582 FAX 03-3506-9593  
メールアドレス yakujsenryaku@pmda.go.jp

詳しくはPMDAのホームページをご覧ください。  
<http://www.pmda.go.jp>

PMDA  
薬事戦略相談

検索 検索

PMDAは薬事法に基づいて医薬品・医療機器の承認審査等を実施する機関です。

- 細胞加工製品の相談区分
- ✓ 再生医療等製品等の品質及び安全性に係る相談
- ✓ 薬事開発等戦略相談(開発ロードマップ相談)
- 相談の特徴
- ✓ 1回の申込みで複数回の相談が可能
- ✓ 有料(大学・ベンチャー等、低額要件有)
- ✓ PMDAの見解を伝え、具体的な指導・助言

# 薬事戦略相談の進め方

- 製品の特性により必要な試験が異なることがあること
  - 複数回の相談が可能であること
- ⇒ 試験計画と試験成績についてのご相談(2回以上)を勧める

## 一般的な相談の進め方

- 非臨床安全性試験計画の適切性に関する相談
    - ✓ 試験パッケージの適切性(一般毒性、生体内分布、がん化懸念など)
    - ✓ 個々の計画の適切性(投与量・期間、動物種、観察・検査項目等)
  - 非臨床安全性試験成績の妥当性<sup>1)</sup>に関する相談
    - ✓ 個々の試験成績の充足性・妥当性、治験開始の可否判断
- <sup>1)</sup> 治験開始時の被験者の安全性確保の観点から評価

# 本日の内容

---

## 非臨床安全性評価のポイント

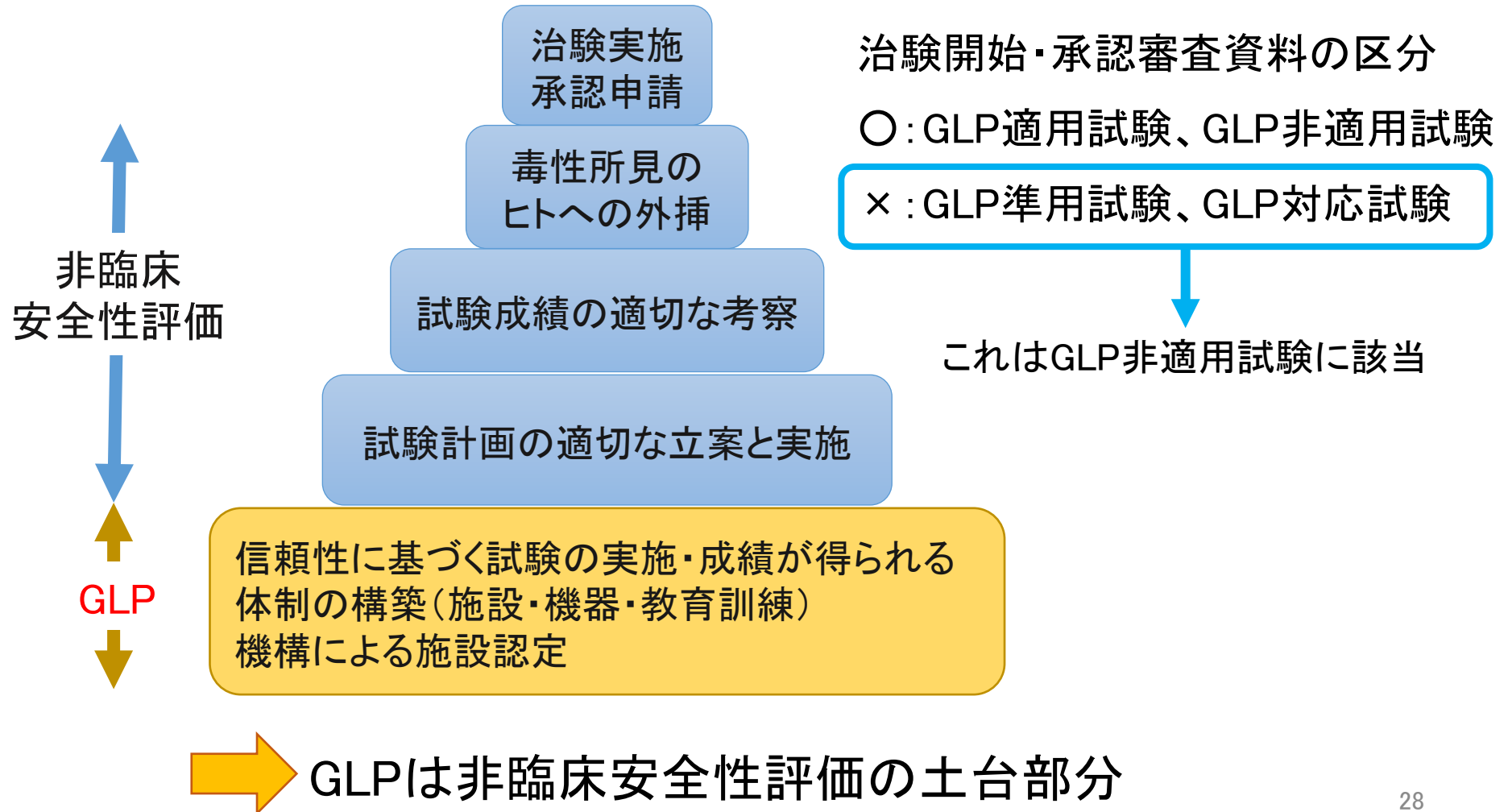
- ✓ 指針を踏まえた検討
- ✓ 生殖細胞への組み込みリスク

## 非臨床安全性試験の信頼性確保のポイント

- ✓ GLP適用試験
- ✓ GLP非適用試験

# GLPとは

## Good Laboratory Practice



# 遺伝子治療用製品とGLPの関係

---

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(薬機法)が改正され、非臨床安全性試験について以下の事項が規定。

「製造販売承認申請書に添付すべき資料を作成するための試験は、「再生医療等製品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準に関する省令」(平成26年厚生労働省令第88号。以下「GLP」という。)を遵守するとともに、十分な設備のある施設において、経験のある研究者により、その時点における医学、薬学、工学等の学問水準に基づき、適正に実施されたものでなければならない(薬食発0812 第30号、平成26年8月12日)」

- ✓ 再生医療等製品には遺伝子治療製品も該当
- ✓ 非臨床安全性試験については、原則、GLP適用下の試験が必要

# GLP対応の課題

---

- 遺伝子治療用製品をGLP下で取り扱える施設が少ない。
  - (動物飼育設備、実験区域の対応)
  - (遺伝子製品取り扱い整備(人員教育など))
- 投与に用いる製品の特性解析、含量測定が特殊。GLP下の測定が困難な場合が多い。
  - (測定機器等のGLP対応、SOP整備等)
- 承認申請時の非臨床安全性試験資料は、原則、GLP適用下で試験を実施し、信頼性を確保する必要
- 現状の試験環境から、GLP適用試験が困難なケースも考慮
- 当面の間、GLP非適用試験が承認申請資料となることも想定
- **ただしGLP非適用試験でも信頼性確保は必要。**個々の試験実施状況を踏まえてケースバイケースで信頼性を判断

# GLP非適用試験の信頼性相談について

## ◆ 信頼性基準適合性調査相談(有料)(通知の別添21)

- ア 優先対面助言品目に指定された再生医療等製品(通知の別添20)又は再生医療等製品事前評価相談(通知の別添9)の申し込みを行った再生医療等製品の承認申請時に添付する予定の資料について、信頼性基準への適合性に関する事項
- イ 個別の事案について、実施する又は実施した治験のGCPに関する事項、先進医療B等の臨床試験のGCP適合性に関する事項、条件及び期限付承認又は承認後に実施した調査・試験のGPSPに関する事項、実施した非臨床試験のGLPに関する事項

## ◆ GCP/GLP/GPSP調査簡易相談(有料)(通知の別添15)

GCP、GLP、GPSP又は適合性書面調査に関する一般的な簡易な相談です。

- ア GCP、GLP、GPSP又は適合性書面調査の規定の解釈及び適合の必要性に関するもの
- イ GCP、GLP、GPSP又は適合性書面調査に係る手続きに関するもの

- 非GLP下で実施の非臨床安全性試験を承認審査資料に使用
- ✓ 上記の相談制度の活用をお勧めします。

通知:平成24年3月2日付け薬機発第0302070号「独立行政法人医薬品医療機器総合機構が行う対面助言、証明確認調査等の実施要綱等について」

<http://www.pmda.go.jp/review-services/f2f-pre/consultations/0036.html>

# 最後に

---

## 非臨床安全性試験は ヒトのリスクアセスメント のため

決して、チェックリストではありません！

ご清聴ありがとうございました。