

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改正案

はじめに

1. 本指針は、遺伝子治療用製品等の品質及び安全性の確保のために必要な基本的事項として、治験開始時までには明らかにしておくべき事項に加え、治験の進行にともなって充たすべき事項や遺伝子治療用製品等の治験において特に考慮すべき事項を示すものである。

しかしながら、遺伝子治療用製品等の種類や特性、臨床上の適用方法は多種多様であり、また、本分野における科学的進歩や経験の蓄積は日進月歩であるため、本指針を一律に適用したり、本指針の内容が全ての必要事項を包含しているとみなすことは必ずしも適切でない。したがって、個々の製品についての試験の実施や評価に際しては本指針の目的を踏まえ、その時点の学問の進歩を反映した合理的根拠に基づいて、ケース・バイ・ケースで柔軟に対応することが必要である。

2. 遺伝子治療用製品等の治験開始時までには明らかにしておくべき事項を得るための留意点は、ヒトへの適用に際し、支障となりうる明らかな品質及び安全性上の問題が当該遺伝子治療用製品等に存在するか否か、並びに製造に際し一定範囲内で製品の恒常性が確保されているか否かを確認することである。また、想定される製品のリスクを現在の知見及び技術を駆使して可能な限り排除し、さらには公知情報を含め当該遺伝子治療用製品等に関する全ての情報を用いて製品のリスク評価を行い、その結果を基にヒトへの適用に際して生ずると予想されるリスク・ベネフィットを十分に理解できるようにすることが重要である。

なお、製造販売承認申請時までには明らかにしておくべき事項については、治験の進行にともなって、本指針に沿って充たしていくことを前提としており、治験開始時までには、本指針に示された事項を全て充たすことを必ずしも求めているわけではない。製造販売承認申請時及び治験開始時までには明らかにしておくべき事項については、当該製品の由来、対象疾患、対象患者、適用部位、適用方法、加工方法等により大きく異なり、本指針内で具体的に明示できることも少ないため、個別に独立行政法人医薬品医療機器総合機構に相談することが望ましい。

目次

第1章 総則

1. 目的
2. 適用範囲
3. 定義

第2章 開発の経緯及びこれまでの臨床試験の実施状況

1. 開発の経緯
2. これまでの臨床試験の実施状況

第3章 製造方法

1. 遺伝子発現構成体

- (1) 遺伝子発現構成体の構造
- (2) 目的遺伝子の由来、構造及び機能
- (3) 発現調節要素の構造及び機能
- (4) 目的遺伝子からの発現産物の構造及び機能
- (5) その他の構成要素並びに翻訳可能領域の配置及び機能

2. 遺伝子導入方法及びベクターの特性

(1) ウイルスベクターを用いて遺伝子を導入する場合

- 1) ウイルスベクターの構造
 - ①当該遺伝子導入法を選択した理由及びその特徴
 - ②ベクターの粒子構造
 - ③遺伝子構造
- 2) ウイルスベクターの由来及び性質
- 3) ウイルスベクターの製造に用いる原料及び製造方法
 - ①製造に用いる原料
 - ②ベクターの製造に用いるプラスミド等の構築方法
 - ③製造に用いる細胞
 - ④ウイルスベクターの製造方法
- 4) ウイルスベクターの製造工程と工程管理
- 5) バンクシステム

(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) 非ウイルスベクターの構造
 - ①当該遺伝子導入法を選択した理由及びその特徴
 - ②非ウイルスベクターの構成
 - ③遺伝子構造
- 2) 非ウイルスベクターの由来及び性質
- 3) 非ウイルスベクターの製造に用いる原料及び製造方法

- ①製造に用いる原料
- ②ベクターの構築方法
- 4) バンクシステム

3. 標的細胞

- (1) *in vivo*投与方法（ベクターの投与）の場合
- (2) *ex vivo*投与方法（遺伝子導入細胞の投与）の場合
 - 1) 標的とする細胞の由来及び性質並びに選択理由
 - 2) ドナーの適格性
 - 3) 標的細胞の採取法
 - 4) 遺伝子導入細胞の調製方法
 - 5) 遺伝子導入細胞に残存する工程由来不純物の評価

第4章 品質管理

1. 規格及び試験方法

- (1) ベクターの特性解析及び品質試験
 - 1) 特性解析
 - 2) 感染性因子に関する試験
 - ①無菌試験（細菌及び真菌の否定試験）
 - ②マイコプラズマ否定試験
 - ③迷入ウイルス試験
 - ④増殖性ウイルス試験（ウイルスベクターを用いる場合）
 - 3) 純度試験
 - 4) 生物活性及びウイルス力価
 - 5) 含量（投与における物理量等）
 - 6) その他製品の特性に応じて実施する試験
- (2) 遺伝子導入細胞の特性解析及び品質試験
 - 1) 特性解析
 - 2) 感染性因子に関する試験
 - ①無菌試験（細菌及び真菌の否定試験）
 - ②マイコプラズマ否定試験
 - ③迷入ウイルス試験
 - ④増殖性ウイルス試験（ウイルスベクターを用いる場合）
 - 3) 純度試験
 - 4) 細胞数
 - 5) 細胞生存率

- 6) 生物活性
- 2. 製品化
- 3. ロット間製造管理
- 第5章 安定性試験
- 第6章 非臨床試験
 - 1. ヒトでの有効性を示唆するための試験
 - 2. 生体内分布
 - 3. 非臨床安全性試験
 - (1) 一般毒性評価
 - 1) 動物種を選択
 - ①一般原則
 - ②動物種の数
 - ③代替法の使用
 - 2) 試験デザイン
 - ①一般原則
 - ②用量設定
 - ③観察及び検査項目
 - ④回復性
 - (2) 遺伝子組込み評価
 - 1) 一般原則
 - 2) 生殖細胞への意図しない遺伝子組込みリスクの評価
 - (3) 腫瘍形成及びがん化の可能性の評価
 - 1) がん原性の評価
 - 2) 造腫瘍性の評価
 - (4) 生殖発生毒性評価
 - (5) ベクターに関する考慮事項（免疫原性及び免疫毒性評価）
 - (6) 増殖性ウイルス出現の可能性の評価
- 第7章 治験の実施が可能であると判断した理由
- 第8章 治験の概要
 - (1) 適応症として選択した疾患
 - (2) 治験計画
 - (3) 治験実施の正当性
 - (4) 被験者の選択基準及び除外基準
 - (5) 被験者の同意の取得方法
 - (6) 目標症例数及び実施期間
 - (7) 実施方法

- (8) 被験者フォロー予定
- (9) 治験における考慮事項
- (10) 遺伝子治療用製品等の患者以外への遺伝子導入の可能性及び環境に与える影響
について

第9章 倫理性への配慮

第1章 総則

1. 目的

本指針は、遺伝子治療用製品等の品質及び安全性の確保のために必要な基本的事項を定めるものである。

2. 適用範囲

本指針は、遺伝子治療用製品、遺伝子導入したヒト加工細胞製品及び疾病の予防を目的とした遺伝子発現構成体を含有する医薬品を適用範囲とする。遺伝子導入した非ヒト加工細胞製品及び野生型の腫瘍溶解性ウイルスは適用範囲ではないが、本指針を参考にすることができる。

3. 定義

- (1) 「遺伝子導入」とは、遺伝子発現構成体を細胞に導入することをいう。
- (2) 「遺伝子導入細胞」とは、遺伝子発現構成体が導入された細胞をいう。
- (3) 「遺伝子発現構成体」とは、目的遺伝子及びプロモーターやエンハンサー等、その発現調節に関わる要素をコードする配列を含む構成体をいう。
- (4) 「目的遺伝子」とは、タンパク質や特定の機能をもつ核酸をコードする配列をいい、製品の効能、効果又は性能の本質となる遺伝子をいう。
- (5) 「ベクター」とは、遺伝子発現構成体を宿主細胞に導入する際に使用される運搬体をいう。
- (6) 「ウイルスベクター」とは、野生型ウイルスゲノムの代わりに遺伝子発現構成体を組み込んだ組換えウイルスゲノムを含むウイルスからなるベクターをいう。
- (7) 「非ウイルスベクター」とは、ウイルスベクター以外のベクターをいい、プラスミド単独又はプラスミドとリポソーム等のキャリアーとの複合体等をさす。
- (8) 「バンクシステム」とは、ベクター製造を適切に行うための、マスターセルバンク (MCB)、ワーキングセルバンク (WCB)、マスターウイルスバンク (MVB)、ワーキングウイルスバンク (WVB) 等を指す。
- (9) 「マスターセルバンク (MCB)」とは、単一の細胞プールからの分注液で、一般的には、選択されたクローン細胞株から一定の方法で調製され、複数の適切な保存容器(アンプルやバイアル)に分注し、一定の条件下で保存したものをいう。マスターセルバンクはワーキングセルバンク (WCB) を調製するのに用いられる。
- (10) 「ワーキングセルバンク (WCB)」とは、マスターセルバンクから一定の条件で培養して得られる均一な細胞懸濁液を、複数の適切な保存容器に分注し、一定の条件下で保存したものをいう。
- (11) 「マスターウイルスバンク (MVB)」とは、ウイルスベクター製造の元になる種株

であり、選択されたクローンウイルス株から一定の方法で調製され、複数の適切な保存容器に分注し、一定の条件下で保存したものをいう。

- (1 2) 「ワーキングウイルスバンク (WVB)」とは、マスターウイルスバンクから一定の方法で調製して得られる均一なウイルス (懸濁) 液を、複数の適切な保存容器に分注し、一定の条件下で保存したものをいう。
- (1 3) 「ヘルパー」とは、ウイルスベクターを産生するために相補的な目的で用いられるものをいう。
- (1 4) 「パッケージング細胞」とは、ウイルスベクターの産生に用いられるヘルパー機能を有する遺伝子を導入した細胞をいう。

第2章 開発の経緯及びこれまでの臨床試験の実施状況

1. 開発の経緯

- ・ 対象疾患及び現行の治療法の概要を説明し、さらに、当該遺伝子治療用製品等の基礎試験成績からみた特徴及び有用性の概要を説明することで、当該遺伝子治療用製品等により対象疾患が治療可能であると考えに至った開発の経緯を理論的根拠を持って明らかにすること。
- ・ 遺伝子導入方法の概略を説明すること。投与経路及び投与方法 (ウイルスベクターを使うのか、非ウイルスベクターを使うのか、ベクターを直接投与する (*in vivo*法) のか、体外で遺伝子を導入した細胞を投与する (*ex vivo*法) のか等) の概要を示すとともに、当該遺伝子導入法の特徴、有用性等を説明した上で、対象疾患に適用する理由について説明すること。増殖性又はある特定の条件下のみで選択的に増殖性を示すウイルスベクターを使用する場合は、その増殖性の機序や治療のメカニズムに関する理論的根拠と臨床使用の妥当性について説明すること。
- ・ 投与される遺伝子治療用製品等の概要 (構造、製法、特性等) を説明すること。

2. これまでの臨床試験の実施状況

- ・ 同一の製品を用いたヒトへの臨床試験が国内又は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 (有効性及び安全性に関する情報) 及び予定している治験との相違点を説明すること。
- ・ 当該遺伝子治療用製品等の海外における申請状況及び臨床使用状況について説明すること。
- ・ 同一製品の臨床使用経験がない場合であっても、参考となる類似の製品を用いた臨床試験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説明すること。

第3章 製造方法

以下の項目に従い、遺伝子治療用製品等の構造及び製造方法に関して詳細に説明すること。その際、特に、ベクター、細胞、バンクシステム、添加剤等を含め、遺伝子治療用製品等の製造に用いた全ての原料等の構成成分を示すこと。さらに、製造工程のフローチャート等を用いてどのような工程管理が行われるのかを概略で示し、その妥当性を説明すること。また、製造工程を適切に管理することで、一定の品質を有する製品が製造されていることを保証し、品質特性（純度、生物活性等）の評価結果を示した上で、ヒトに投与するための品質が確保されていることを説明すること。

1. 遺伝子発現構成体

(1) 遺伝子発現構成体の構造

- ・ 遺伝子発現構成体の構造について、構造模式図にて示すこと。また、主な制限酵素切断位置及び構成成分（目的遺伝子、プロモーターやエンハンサー等の発現調節要素、複製単位、薬剤選択等遺伝子及びその他必要な要素）の配置を明らかにし、その遺伝子発現構成体の全塩基配列を示すこと。

(2) 目的遺伝子の由来、構造及び機能

- ・ 目的遺伝子の由来、構造、構築手順を詳細に説明すること。また、目的遺伝子の対象疾患に対して期待される作用機序について説明すること。
- ・ 天然には存在しない遺伝子配列が導入される場合や、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により導入する場合は、挿入された塩基配列に期待される作用機序及び生物活性について説明すること。
- ・ 目的遺伝子とそれに対応する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）を説明すること。

(3) 発現調節要素の構造及び機能

- ・ 目的遺伝子の発現調節に関わる要素（プロモーター、エンハンサー等）の構造及び機能について説明すること。目的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) 目的遺伝子からの発現産物の構造及び機能

- ・ 目的遺伝子の由来に関わらず、その発現産物の特徴についてこれまで得られている知見について明らかにするとともに、当該対象疾患に用いる妥当性を説明すること。
- ・ 目的遺伝子によってタンパク質が発現される場合、その発現産物の特徴についてこれまでに得られている知見を明らかにするとともに、想定される生体内での生物活性を示した上で、当該対象疾患に用いる妥当性を説明すること。また、当該発現タンパク質が医薬品としてヒトに投与された実績の有無について説明すること。なお、天然には存在しない改変タンパク質等をコードする遺伝子が導入される場合は、想定される免疫原性を含めその生物活性や安全性について説明すること。

- ・ 目的遺伝子によって核酸が発現される場合、その発現産物の特徴についてこれまでに得られている知見を明らかにするとともに、想定される生体内での生物活性を示した上で、当該対象疾患に用いる妥当性を説明すること。また、類似の核酸がヒトに投与された実績の有無について説明すること。
- (5) その他の構成要素並びに翻訳可能領域の配置及び機能
- ・ 導入される全ての遺伝子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ていないことをデータベース等により検索し、有害となりうる塩基配列が存在する場合、その配列を使用する理由と妥当性を説明すること。

2. 遺伝子導入方法及びベクターの特性

(1) ウイルスベクターを用いて遺伝子を導入する場合

1) ウイルスベクターの構造

① 当該遺伝子導入法を選択した理由及びその特徴

② ウイルスベクターの粒子構造

- ・ ウイルスベクターの粒子構造を説明すること。野生型ウイルス粒子との相違点があれば説明すること。

③ 遺伝子構造

- ・ ウイルスベクターの全塩基配列解析を可能な限り実施し、配列分析を行い、評価すること。配列分析はバリデートされた方法により行うこと。配列分析の方法を説明すること。少なくとも目的遺伝子、フランキング領域（目的産物をコードする塩基配列の5'及び3'両端に隣接する非コード領域をいう。）、プロモーター、エンハンサー、スプライシング配列、ウイルスの特性を変更するために行った改変領域等については、塩基配列解析を実施すること。その他の塩基配列のうち、機能が未知のものについては過去に報告された配列との相同性検索等の配列分析を行うこと。
- ・ 目的遺伝子配列が設計通りに安定に保持されているかどうかを評価するとともに、ウイルスベクター全体の遺伝子の安定性についても評価すること。また製造工程を通じての安定性についても評価すること。特に RNA ウイルスの場合には遺伝子の安定性についての評価は重要性が高いため、慎重に評価すること。

2) ウイルスベクターの由来及び性質

- ・ ウイルスベクターの由来、元になる野生型ウイルスの名称、構造、生活環、宿主域、物理化学的安定性、病原性、細胞傷害性等を説明するとともに、当該ウイルスを選択した理由を明らかにすること。特に当該ウイルスベクターの由来となるウイルスが臨床試験で用いられたことのないウイルスの場合は、ヒトに対する病原性、免疫原性、細胞傷害性、生体での持続性等について、詳細に説明すること。
- ・ 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可能であるか、種特異性・

組織特異性があるか、細胞周期への依存性等について説明すること。

- ・ 宿主特異性を変更するような改変を行っている場合は、どのような細胞に感染する可能性があるのか説明すること。
- ・ 遺伝子の導入効率及び目的遺伝子の発現効率について説明すること。
- ・ ウイルスベクターは染色体に組み込まれるのか、またはエピソームとして染色体外に存在するのか、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説明すること。その際、目的遺伝子の細胞内での安定性について説明すること。
- ・ ウイルスベクターの増殖性又は選択的増殖性の有無及び目的遺伝子発現の持続性の有無について、説明すること。
- ・ 当該ウイルスベクターの臨床使用等の実績及び最近の動向について説明すること。

3) ウイルスベクターの製造に用いる原料及び製造方法

① 製造に用いる原料

- ・ 製造工程の概略を示すフローチャート等において、各製造工程で使用されている原料等を明らかにすること。使用した培地に添加するものを含めて、製造中に用いる原料等についてその必要性を説明するとともに受け入れ規格、組成等を一覧表で示すこと。感染性因子による汚染を防止するために講じた対策及び処置についても説明すること。生物由来の原料を使用する場合は、「生物由来原料基準」（平成15年厚生労働省告示第210号）への適合性を説明すること。最終製品に持ち込まれる製造工程由来不純物についても、ヒトへの安全性が担保されているか説明すること。

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の製造方法

- ・ ウイルスベクターの製造に用いられる全てのプラスミドやウイルスの全塩基配列及び制限酵素切断地図並びに全ての構成成分の配置、構築方法、増幅法及び精製法を明らかにすること。また、これらプラスミドやウイルスを使用する根拠を説明すること。なお、ウイルスベクターの製造にヘルパーウイルスを用いる場合は、その名称、構造、生活環、宿主域、物理化学的安定性、病原性、細胞傷害性等を説明し、ウイルス製造に当該ヘルパーウイルスを選択した理由を明らかにすること。

③ 製造に用いる細胞

- ・ ウイルスベクターの製造に用いる細胞の名称、由来、病原性、増殖性、成長因子依存性、表現型、腫瘍形成能、安定性等を説明すること。細胞のウイルス安全性に関する試験データや試験の充足性について説明すること。
- ・ パッケージング細胞やウイルス産生細胞等の遺伝子改変細胞を使用する場合には、その由来となる細胞及びその性質を説明するとともに、遺伝子改変細胞の樹立法を培養条件及び遺伝子改変法、並びにクローン選択法を示した上で説明すること。また、増殖性ウイルス出現の可能性、増殖性、成長因子依存性、表現型、腫瘍形成能、安定性等について、元の細胞の性質から変化した点も含め説明すること。

- ・ 製造に用いる細胞の選択根拠を示すとともに、バンクシステム等により、製造に用いる細胞が適切に管理されていることを説明すること。

④ ウイルスベクターの製造方法

- ・ ウイルスベクターの製造に用いるプラスミドやヘルパーウイルス、パッケージング細胞、プラスミドの導入に用いるキャリアー等を含めてベクターの構築手順、増幅法及び精製法を詳細に説明すること。
- ・ ウイルスベクターの製造に上記以外の操作を行う場合はその方法の詳細と妥当性を説明すること。

4) ウイルスベクターの製造工程と工程管理

- ・ ウイルスベクターの製造工程について、細胞の培養方法、細胞増殖に用いた血清、成長因子、抗菌剤・抗真菌剤等の培地の組成、ウイルスベクター産生のためのプラスミド等の細胞への導入法、ウイルスベクター産生を行う間のおよその細胞継代数及び細胞播種密度並びに精製法（遠心、カラム精製、密度勾配遠心等）を含めた製造のための全ての工程について説明すること。
- ・ 製造工程のフローチャート等を用いてどのような工程管理が行われるのかの概略を示すとともに、その工程管理を設定した理由について説明すること。
- ・ 製造工程中に重要中間体が存在する場合、その管理方法、保存方法、必要に応じて規格等を設定すること。
- ・ 増殖性ウイルスを含めて品質管理に必要な安全性試験の実施時期、試験方法及び試験結果を説明すること。

5) バンクシステム

ウイルスベクターの製造に用いた細胞基材（パッケージング細胞、ウイルスベクター産生細胞、フィーダー細胞（使用する場合に限る。））、ウイルスベクター、プラスミド、ヘルパーウイルスについて、バンクシステムを構築した場合には、そのMCB、WCB、MVB及びWVBの構築方法、特性解析及び管理方法について説明すること。

<MCB及びWCB>

- ・ MCB 及び WCB について、その安全性、同一性、純度及び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。特に、細胞の無菌試験、マイコプラズマ否定試験、並びに *in vivo* 及び *in vitro* の迷入ウイルス試験を含めること。必要に応じて最終製品での増殖性ウイルス試験を設定すること。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。特に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 (HIV-1) 及び 2 型 (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 (HTLV-1) 及び 2 型 (HTLV-2)、エプスタイン・バーウイルス (EBV)、サイトメガロウイルス (CMV)、パルボウイルス B19 等について必要に応じて試験を実施すること。培養にウシ及びブタ由来の増殖因子等 (血清、血清由来成分、トリプシン等) を用いた細胞を用いる場合には、ウシ及び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、ICH-Q5D ガイドライン「生物薬品 (バイオテクノロジー応用医薬品/生物起源由来医薬品) 製造用細胞基材の由来、調製及び特性解析」に準じて、表現型、遺伝型、その他のマーカー等の試験を実施すること。レトロウイルス由来以外のウイルスベクターを製造する場合、MCB 又は WCB 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、電子顕微鏡等により確認することを考慮すること。

- ・ プラスミドの製造に用いる微生物セルバンクについては、菌株の同定及び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。
- ・ MCB 及び WCB の培養条件 (製造に用いる全ての培地や原料・添加剤を含めて)、保存方法、管理方法等を説明すること。ウイルスベクター産生細胞の遺伝的安定性については ICH-Q5B ガイドライン「組換え DNA 技術を応用したタンパク質生産に用いる細胞中の遺伝子発現構成体の分析について」を参考に *in vitro* 細胞齢の上限レベルでの解析等を行うことが有用である。

<MVB及びWVB>

- ・ MVBの由来についての情報、MVB及びWVBの作製方法、製造に用いた培地及び原料、無菌試験、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等の感染性因子試験、増殖性ウイルスの否定試験、純度試験、ウイルスベクターとしての特性解析等の結果に基づいて保存方法及び管理方法を説明すること。レトロウイルス由来以外のウイルスベクターを製造する場合は、MVB又はWVB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、電子顕微鏡等により確認することを考慮すること。

(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) 非ウイルスベクターの構造

- ① 当該遺伝子導入法を選択した理由及びその特徴
- ② 非ウイルスベクターの構成

- ・ プラスミド単独、リポソーム等のキャリアーを用いる等、非ウイルスベクターの構成について説明すること。

③ 遺伝子構造

- ・ 非ウイルスベクターの全塩基配列解析を実施し、配列分析を行い、評価すること。配列分析はバリデートされた方法により行うこと。配列分析の方法を説明すること。
- ・ 目的遺伝子配列が設計通りに安定に保持されているかどうかを評価するとともに、非

ウイルスベクター全体の遺伝子の安定性についても評価すること。また製造工程を通じての安定性についても評価すること。

2) 非ウイルスベクターの由来及び性質

- ・ 非ウイルスベクターの由来となるプラスミドの名称、構造、物理化学的安定性、病原性、細胞傷害性等を説明するとともに、当該プラスミドを選択した理由を明らかにすること。特に臨床試験で用いられたことのないプラスミドの場合は、ヒトに対する病原性、免疫原性、細胞傷害性、生体での持続性等について、詳細に説明すること。非ウイルスベクターに使用される DNA 以外のキャリアー等の構成成分（タンパク質、糖質、脂質等）についても上記の内容について詳細に説明すること。
- ・ どのような細胞に遺伝子導入が可能であるか、種特異性又は組織特異性があるか、細胞周期への依存性等について、当該非ウイルスベクターによる遺伝子導入法を含めて説明すること。
- ・ 遺伝子の導入効率及び目的遺伝子の発現効率について説明すること。
- ・ 非ウイルスベクターは染色体に組み込まれるのか、またはエピソームとして染色体外に存在するか、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説明すること。その際、目的遺伝子の細胞内での安定性について説明すること。
- ・ 目的遺伝子発現の持続性の有無について説明すること。
- ・ 当該非ウイルスベクターの臨床使用等の実績及び最近の動向について説明すること。

3) 非ウイルスベクターに用いる原料及び製造方法

① 製造に用いる原料

- ・ 製造工程の概略を示すフローチャート等において、各製造工程で使用されている原料を明らかにすること。使用した培地に添加するものを含めて、製造中に用いる原料等についてその必要性を説明するとともに受け入れ規格、組成等を一覧表で示すこと。感染性因子による汚染を防止するために講じた対策及び処置についても説明すること。生物由来の原料を使用する場合は、「生物由来原料基準」（平成15年厚生労働省告示第210号）への適合性を説明すること。最終製品に持ち込まれる製造工程由来不純物についても、ヒトへの安全性が担保されているか説明すること。

② 非ウイルスベクターの製造方法

- ・ プラスミドの製造方法
 - ヒトに導入されるプラスミドの構築手順、増幅法及び精製法を詳細に説明すること。
 - バンクシステム等により、ヒトに導入されるプラスミドの製造が適切に管理されていることを説明すること。
- ・ プラスミドとの複合体を構成するキャリアーの製造方法

- 非ウイルスベクターとして使用するキャリアー等の構成成分の調製法、精製法等を詳細に説明すること。
- キャリアー等の製造に生物由来の原料を使用する場合は、「生物由来原料基準」への適合性を説明すること。
- キャリアー等の製造において一定の品質の恒常性が担保されるための適切な工程管理がなされていることを示すこと。

4) 非ウイルスベクターの製造工程と工程管理

- ・ 製造工程のフローチャート等を用いてどのような工程管理が行われるのかの概略を示すとともに、その工程管理を設定した理由について説明すること。
- ・ 製造工程中に重要中間体が存在する場合、その管理方法、保存方法、必要に応じて規格等を設定すること。

5) バンクシステム

非ウイルスベクターの製造に用いた大腸菌等の基材について、バンクシステムを構築した場合には、その構築方法、特性解析及び管理方法について説明すること。

3. 標的細胞

(1) *in vivo*投与方法（ベクターの投与）の場合

ヒトへの投与方法、投与部位（腫瘍内投与等）、キャリアー、機器等について詳細に説明すること。また、標的細胞・組織の生物学的特徴についても説明すること。特に、標的細胞・組織が目的遺伝子を欠損している場合には、遺伝子導入によってもたらされる特徴を詳細に説明すること。また、その他の細胞・組織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説明し、当該細胞・組織を標的細胞・組織として選択した理由を説明すること。

(2) *ex vivo*投与方法（遺伝子導入細胞の投与）の場合

1) 標的とする細胞の由来、生物学的特徴及び選択理由

- ・ 標的細胞の由来（細胞又は組織の種類、自己又は同種の細胞の由来）及び生物学的特徴について説明すること。
- ・ 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説明し、当該細胞を標的細胞として選択した理由を説明すること。

2) ドナーの適格性

- ・ 患者の自己細胞を用いる場合、被験者としての適格性に関するウイルス感染症の情報を示すこと。培養工程により病原体の増殖の有無を評価することが望ましい。
- ・ 同種細胞を用いる場合は、ウイルス等感染性因子のうちHIV-1、HIV-2、HBV、HCV、

HTLV-1、HTLV-2、パルボウイルスB19については必ず、またCMV、EBVその他のウイルスは必要に応じて否定するためのドナースクリーニング試験を行い、その結果を明らかにすること。またドナーに関する血清学的試験、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及び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。

- ・セルバンクを使用する場合は、起源、由来、バンクの調製方法、保存方法、管理方法、更新法、凍結前の細胞に対するウイルスその他の感染性微生物による汚染の否定、凍結前の細胞生存率、解凍後の細胞生存率等の確認試験方法及び試験結果について説明すること。

3) 標的細胞の採取法

- ・細胞の採取法、採取量、採取の回数及び間隔について、用いる機器を含めて説明すること。細胞の採取法については、*in vivo*でサイトカイン等を用いてドナー細胞を動員する方法を用いた場合にはその具体的内容を詳細に説明すること。

4) 遺伝子導入細胞の調製方法

- ・標的細胞の培養方法、培養日数、純度、遺伝子導入方法、成長因子依存性等について、原料及び用いる機器を含め詳細に説明すること。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。
- ・キャリアー等を使用している場合又は遺伝子導入に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。
- ・細胞の培養及び遺伝子導入に用いる原料に関しては、組成等を一覧表で示すとともに、感染性因子の汚染の混入防止のために講じる対策及び処置についても説明すること。生物由来の原料を使用する場合は、「生物由来原料基準」への適合性を説明すること。
- ・用いる機器に関しては、必要な性能が確保されていることを説明すること。
- ・遺伝子導入細胞に放射線照射等の処理を行う場合、その時期及び方法を説明すること。
- ・培養期間を通じて、細胞表現型に望ましくない変化が生じないことを確認する試験方法及びその試験結果について説明すること。
- ・遺伝子導入細胞を凍結保存後に使用する場合は、細胞の凍結法、解凍法、凍結保存有効期間、及び解凍後の細胞生存率等の確認試験方法及び試験結果について説明すること。
- ・必要に応じて、複数のドナー細胞間の交差汚染及び取り違えの防止策、製造従事者の安全対策等について説明すること。

5) 遺伝子導入細胞に残存する工程由来不純物の評価

- ・ 遺伝子導入細胞をヒトに投与する前に行う操作（洗浄操作等）を説明し、原料等の残留量の確認試験方法及び試験結果について説明すること。なお、必要に応じて感染性を有するウイルスベクターの残存性について評価すること。

第4章 品質管理

遺伝子治療用製品等の品質を確保するため、特性解析の結果に基づいて、製品に期待する品質特性を考慮した規格及び試験方法を設定するほか、製造毎の均質性を確保するために重要中間体の管理も含めた製造毎の変動を管理できる品質管理を行うこと。

1. 規格及び試験方法

遺伝子治療用製品等として治験に用いるベクター及び遺伝子導入細胞について、特性解析を行うとともに、以下に示す項目を参考に規格設定のための適切な試験方法を設定すること。設定した規格項目及び値は、治験の進展に伴い、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、感染性因子の試験を除き、治験に入る際には暫定値を設定しておくことも可能である。製造工程中に重要中間体が存在する場合や、最終製品での管理が必ずしも適切でない項目については、製造工程内での管理方法、保存方法、規格等を設定する必要がある。なお、最終製品が遺伝子導入細胞の場合は、細胞の調製に用いたウイルスベクター又は非ウイルスベクターの特性解析及び品質試験結果を明らかにする必要がある。

実用化のため製法変更やスケールアップ等を行う場合には、適切な比較試験等を実施し、製法変更の妥当性を確認すること。製法変更前後の製品について同等性が示されない場合には、旧製法で製造された製品を用いて得られた特性解析データ及び非臨床データについて、新製法で得られた製品を用いて再度取得しなければならない可能性に留意する必要がある。

(1) ベクターの特性解析及び品質試験

1) 特性解析

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、プロモーター及びエンハンサーの配列、場合によってはベクターの全塩基配列を確認すること。また、全塩基配列を確認しない場合でも、詳細な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であることを確認することが必要である。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、発現量及び持続性について *in vitro* 試験等によりデータを取得すること。また、必要に応じて、標的細胞以外の細胞での発現について、データを取得しておくこと。

2) 感染性因子に関する試験

感染性因子に関する試験について、セルバンク、ウイルスバンク、中間工程及び最終製品

の各段階で適切に実施すること。*in vivo* 投与の場合、無菌試験及び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実施すること。ウイルス試験について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、合理的な場合には、未精製バルク又は適切な工程内各中間製品を対象として試験を実施すること。

① 無菌試験（細菌及び真菌の否定試験）

治験に用いるベクターについて、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、これに準じて試験を行うこと。使用される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。

② マイコプラズマ否定試験

局方参考情報のマイコプラズマ否定試験に準じて試験を行うこと。

③ 迷入ウイルス試験

- ・ 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、*in vitro* ウイルス試験等、迷入ウイルスを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、特にヒトに対して感染性や病原性を示す可能性のある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 HEK293 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）等他のヒトに対して感染性や病原性を示す可能性のあるウイルスの試験を考慮すること。
- ・ マウス等のげっ歯類由来のパッケージング細胞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すること。

④ 増殖性ウイルス試験

- ・ 非増殖性ウイルスベクターの場合は、適切な感度を示す方法により増殖性ウイルス試験を実施すること。非増殖性のレトロウイルスベクター及びレンチウイルスベクター等を使用する場合は、増殖性レトロウイルス（複製可能レトロウイルス（RCR）及び複製可能レンチウイルス（RCL）等）否定試験を各々のバンクシステム、製造終了後の未精製バルク及び最終製品に対して実施すること。他の非増殖性ウイルスベクターを使用する場合は、増殖性ウイルス否定試験を各々のバンクシステム及び最終製品に対して実施すること。なお、試験方法の概要、検出感度及び試験結果については詳細に説明すること。
- ・ ウイルスベクターの製造に他のウイルスを用いた場合、使用した他のウイルスの最終製品への混入を適切な感度を示す方法によって否定すること。
- ・ 増殖性又は制限増殖性ウイルスベクターを使用する場合は、最終製品において目的遺伝子を欠いたウイルスベクター、復帰突然変異体等の目的外となる増殖性ウイルスの

存在を各々のセルバンクシステム及び最終製品において適切な感度を示す方法で確認し、否定すること。

3) 純度試験

- ・ エンドトキシン試験、発熱性物質試験、ベクターの製造に用いる DNA 又は RNA、タンパク質、ペプチド、培地添加物、溶媒、血清等の原料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。検体量又は被検試料の特性から局方エンドトキシン試験法の適用に合理性がない場合には、局方エンドトキシン試験法を参考にし、適切な試験を実施すること。
- ・ プラスミドベクターの場合、総 DNA 又は RNA の定量試験、サイズ及び構造に関する試験、プラスミドの性状（スーパーコイル、オープンサーキュラー、線状）に関する均一性試験宿主 DNA 及び宿主タンパク質の混入に関する試験を純度試験に含めることを考慮すること。
- ・ ウイルスベクターの場合、製造に用いるヌクレアーゼ、プラスミド DNA、ヘルパーウイルス、ベクター産生細胞由来のタンパク質及び DNA、非感染性粒子等の残存量について純度試験に含めることを考慮すること。

4) 生物活性及びウイルス力価

ベクターの発現産物の生物活性に関する全ての試験結果を説明すること。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の測定結果と期待される臨床効果との関連について考察すること。これらの生物活性に関する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、感染性粒子と非感染性粒子の比率を求め、そのウイルス力価（比活性）を測定することで適切な規格を設定するか、又はウイルス粒子あたりの感染価を測定することで適切な規格を設定すること。

5) 含量（投与における物理量等）

ベクターの含量は、ウイルスベクターにあつては、ウイルス粒子数又はウイルス力価、非ウイルスベクターにあつては、プラスミド DNA の濃度として示すこと。

6) その他製品の特性に応じて実施する試験

用いるウイルスベクター、非ウイルスベクター、そのキャリアー等に特異的な試験（粒子径分布等）について説明すること。

(2) 遺伝子導入細胞の特性解析及び品質試験

1) 特性解析

遺伝子導入細胞の特性解析として、細胞表面マーカーやサイトカイン産生能等を解析することで遺伝子導入細胞の種類を同定し、細胞1個あたりの導入遺伝子のコピー数とベクター挿入部位の解析を行うこと。さらに目的としない細胞群への遺伝子導入については安全性面からの評価を行い（例えば、T細胞への遺伝子導入を目的としている場合、採取した細胞集団に造血幹細胞が含まれている可能性とその造血幹細胞への遺伝子導入効率）、挿入変異に関する造腫瘍性等に関しては適切な試験系を用いて評価すること。

*in vitro*での分化誘導を目的とした遺伝子導入の場合には、*in vitro*での培養期間の設定及び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、遺伝子発現等）を行うこと。さらに、必要に応じて遺伝子導入に用いたベクターの残存性について評価すること。

2) 感染性因子に関する試験

感染性因子については、セルバンク、ウイルスバンク、中間工程及び最終製品の各段階で適切に実施すること。無菌試験及び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。ウイルス試験については、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、合理的な場合には、未精製バルク又は適切な工程内各中間製品を対象として実施すること。

① 無菌試験（細菌及び真菌の試験）

- ・ 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。ただし、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、試験結果がヒト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。遺伝子導入細胞を使用前に凍結して保存する場合には、ヒトに投与する前に無菌試験の結果が得られるように、凍結直前又は凍結後の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

- ・ 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、これに準じて試験を行うこと。遺伝子導入細胞はヒトに投与するまでの期間が限られている場合もあることから、被検試料に対するマイコプラズマ否定試験として迅速法を採用する等、ヒトへの投与前に結果が判明する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、試験結果が投与の後に判明する場合も想定されるが、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 迷入ウイルス試験

- ・ 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。

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）

- ・ 非増殖性ウイルスベクターを用いて製造した遺伝子導入細胞について、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、RT-PCR 等の方法により増殖性ウイルス否定試験を実施すること。試験方法の概要、検出感度及び試験結果について説明すること。
- ・ ベクターの製造にヘルパーウイルスを用いた場合、使用したウイルスの最終製品への混入に関する適切な否定試験を実施すること。

3) 純度試験

エンドトキシン試験、発熱性物質試験、細胞の活性化又は加工に用いたタンパク質又はペプチドの残存、製造に用いたサイトカイン、成長因子、抗体、血清等の原料に関する適切な純度試験を実施すること。さらに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。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に合理性がない場合には、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。

4) 細胞数

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し、設定の根拠を説明すること。また、投与される細胞数の上限値が設定されている場合には根拠を説明すること。

5) 細胞生存率

遺伝子導入細胞を投与する場合、投与時の細胞生存率の下限値を設定すること。

6) 生物活性

遺伝子導入細胞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説明すること。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。

2. 製品化

- ・ 遺伝子治療用製品等の製品化方法について詳細に説明すること。ベクター及び遺伝子導入細胞に関して、最終的に投与する溶液等の最終組成を表で示すこと。その際、各

構成成分（ベクター及び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、使用実績等を説明すること。

- ・ 製品の無菌性及び純度を確保するための方法として、例えば無菌製品化工程等について説明すること。また、混入物及び分解物として検出対象とした物質とその理由、用いた試験方法、検出感度並びに試験結果を説明すること。
- ・ 使用する容器に関する情報や、移動の際に破損汚染を防ぐような工夫、例えば二次容器について説明すること。
- ・ 遺伝子治療用製品等のヒトへの投与に際して特殊な機器が必要なもの、又は医療材料等との複合製品については、医療機器としての承認が得られている場合には、使用方法及び安全性に関する資料を入手し、確認すること。また、治験の実施に際して特別に開発された機械器具等を用いる場合には、その使用の妥当性を示すデータ及びヒトに用いることの安全性を担保するデータについて説明すること。

3. ロット間製造管理

- ・ 臨床開発の進行に従い、承認申請を考慮して複数のロットの試験を実施し、その結果に基づいた製品の均質性及び恒常性が得られるためのロット管理の方法について考慮すること。
- ・ 製品原液及び製品について、ロット間製造管理の方法を説明すること。重要品質特性の特定、それに関連する重要工程パラメータの特定及び管理幅の設定、並びに原料管理の設定を前提とし、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こと。規格試験項目としては、第4章、1. 規格及び試験方法を参照すること。
- ・ 設定の根拠を示すに当たって用いたロット数の妥当性について説明すること。

第5章 安定性試験

遺伝子治療用製品等のヒトに投与するまでの安定性を評価し、適切な保存条件及び保存期間を設定すること。ベクター又は遺伝子導入細胞の一定期間の保存又は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、ベクター又は遺伝子導入細胞の有効性及び安全性への影響を検証すること。

なお、製造販売承認申請時には、ICH-Q5C ガイドライン「生物薬品（バイオテクノロジー応用製品／生物期限由来製品）の安定性試験」を参考に遺伝子治療用製品等について、使用期間を考慮し、適切な安定性試験を行い、保存方法及び有効期限を設定するとともに設定根拠を明らかにすること。その設定の根拠を示すに当たって用いたロット数の妥当性について説明すること。

第6章 非臨床試験

非臨床試験の主な目的は、ヒトでの応答が予測される薬理学的及び毒性学的影響を明らか

にするためのもので、治験開始前のみならず、治験中においても必要に応じて実施すべきものである。

1. ヒトでの有効性を示唆するための試験

ヒトでの有効性が期待できるデータを、*in vitro* 及び *in vivo* 試験により明らかにすることが求められる。導入した遺伝子の発現量、遺伝子発現の制御及び発現の持続性についてのデータを得るために *in vitro* 試験の実施が求められるが、*in vitro* 試験のみではヒトに投与した際の薬理的及び毒性学的影響を評価することは困難な場合が多いため、可能な限り *in vivo* 試験により有効性を予見できるデータを得ておくこと。

開発する遺伝子治療用製品等についてヒトでの有効性が期待されることを示すには、遺伝子治療用製品等により導入された遺伝子等が、ヒトに投与された場合と同様に薬理作用を惹起することが期待される病態モデル動物を選択することが有用である。動物種差により、ベクターに搭載された目的遺伝子がヒトと同様の薬理作用を惹起する適切なモデル動物が利用できない場合には、目的とするヒト遺伝子と相同なモデル動物由来の遺伝子を発現するベクターを用いた試験を検討すること。その場合には、得られたデータのヒトへの外挿性について、十分な妥当性が説明されなければならない。

in vivo 試験では、1) 薬理的な作用が見られる投与量(最小薬理作用量(MABEL: Minimal Anticipated Biological Effect Level) 及び最適用量)の検討、2) 至適投与ルート確立、3) 最適な投与スケジュールの解明及び4) 目的とする遺伝子治療用製品等の作用機序、想定される生物活性の明確化等が目的とされる。

2. 生体内分布

遺伝子治療用製品等の安全性及び有効性を評価するための基礎データとして、適切な動物を用いて遺伝子治療用製品等の生体内分布を明らかにすること。生体内分布の解析から、目的とする生体組織への分布だけでなく、目的としない生体組織及び生殖細胞への分布を明らかにすることにより、ヒトでの安全性や意図しない組込みリスクを評価する際に着目すべき器官を明らかにすることが可能になる。ベクターの分布や消失を含めた持続性を明らかにすることにより、ヒトでの適切な解析時期に関する情報が得られる。さらに、生体内分布データは、被検動物で組織特異的に検出された有害事象の要因の解明に役立つ。

新規遺伝子治療用製品等の治験の開始前に生体内分布試験を実施しない場合には、その妥当性が説明されなければならない。

生体内分布の解析では、遺伝子治療用製品等を投与後、一定時間ごとに組織、血液等を採用し、定量的 PCR 等を用いてベクターのコピー数を測定すること。さらにベクターのコピー数の経時的な変化を測定することによりその消長に関する情報が得られる。特定の組織、体液等に遺伝子発現構成体の存在が示された場合には、必要に応じて使用した遺伝子発現構成体からの目的遺伝子等の発現について解析すること。

3. 非臨床安全性試験

非臨床安全性試験は、治験開始前のみならず、臨床開発の進行や、臨床試験の拡大に伴って適時実施すべきものであり、ヒトで懸念される毒性学的影響を明らかにすることを目的とする。1) 臨床試験における初回投与量の設定、投与量の増量幅及び最高臨床投与量の設定、2) 毒性学的標的臓器の特定、3) 臨床試験での副作用を把握するための指標の特定、4) 臨床試験の中止基準等を設定するために実施される。

なお、製造販売承認申請時に添付すべき遺伝子治療用製品等の非臨床安全性試験に関する資料は、他の再生医療等製品と同様、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）に基づく基準（以下、「GLP」）に従って収集され、かつ、作成されたものでなくてはならない。しかしながら、非臨床安全性試験を実施する上で、GLP適用での実施が困難な試験もことも考えられることから、GLPに適用しない部分を明確にした上で、当該部分が非臨床安全性評価全体におよぼす影響を評価する必要がある。

(1) 一般毒性評価

1) 動物種の選択

① 一般原則

非臨床安全性試験を実施する上では適切な動物種を選択することは重要であり、ヒトへ外挿可能なデータが得られるように、遺伝子治療用製品等がヒトで期待される薬理学的作用を示す動物種を選択する必要がある。動物種の選択においては、①発現ベクターに搭載した目的遺伝子が標的細胞で発現すること、②目的遺伝子由来の核酸、タンパク質等がヒトで期待される薬理学的作用を発揮すること、③ウイルスベクターを用いる場合には、ウイルスベクターの由来となった野生型ウイルスがヒトと同様の感染性及び細胞指向性を示すこと、④臨床試験での投与方法を適応できること等を考慮する必要がある。また、これらを踏まえて非臨床安全性試験に用いる動物種の適切性を説明する必要がある。また、遺伝子治療用製品等の非臨床安全性は、健常動物を用いた毒性試験だけでなく、病態モデル動物を用いた有効性を予測するための試験において安全性評価項目を含めることで評価できることもある。遺伝子治療用製品等が選択的な組織・細胞への指向性を持つように設計されている場合には、生体内分布試験を実施することに加えて、標的組織での遺伝子発現の特異性、期間及び生物活性を適切なモデル動物で確認すること。

② 動物種の数

医薬品の非臨床安全性は、通常、2種類の動物種を用いて評価されるが、遺伝子治療用製品等についてはその特性を踏まえると、1種類の適切な動物種のみでの評価で十分な場合がある（ベクターや目的遺伝子の生物学的特性が十分に解析されている場

合、非臨床安全性評価における適切な動物種が 1 種類しか確認されない場合等)。このような場合には、1 種類の動物種で評価することの妥当性を説明する必要がある。また、臨床試験での投与方法に関する非臨床安全性試験がげっ歯類等の小動物で実施できない場合には、全身への影響については代替投与経路で評価することも可能であると考えられるが、臨床適用部位（局所）への影響に関しては非げっ歯類等の大動物を用いて評価することを検討する必要がある。

③ 代替法の使用

通常の実験動物の中から適切な動物種が選択できない場合には、遺伝子改変動物又は動物由来の目的遺伝子を利用する代替法も想定される。しかしながら、これらを用いた非臨床安全性試験は、有害性の検出、臨床試験におけるバイオマーカーの同定等に役立つ可能性はあるが、量的なリスク評価には必ずしも適さないことに留意する必要がある。

2) 試験デザイン

① 一般原則

毒性試験の実施にあたっては、目的とする適応疾患を考慮した上で、1) 類似の遺伝子治療用製品等又は類似製品での *in vivo*、*in vitro* での生物活性等に関する情報、2) 目的遺伝子からの発現タンパク質等に関する生物学的特性及び安全性情報、3) 臨床試験で想定されている投与方法に関する情報、及び投与に用いる機器に関する使用方法等の情報（、4) 遺伝子治療用製品等に対する非臨床安全性試験で用いる動物の生物学的反応、5) 遺伝子治療用製品等の作用機序等を考慮して試験をデザインする必要がある。

なお、遺伝子治療用製品等に関する一般毒性試験の試験デザインは、「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」（平成元年 9 月 11 日付薬審 1 第 24 号厚生省薬務局審査第一・審査第二・生物製剤課長連名通知）の別添「医薬品毒性試験法ガイドライン」を参照し、遺伝子治療用製品等の特性を踏まえて毒性試験の試験デザインを設定する必要がある。

② 用量設定

遺伝子治療用製品等の投与量の設定にあたっては、薬理作用の用量反応関係とともに、遺伝子治療用製品等の遺伝子導入効率、発現効率、薬理活性の種差等を考慮する必要がある。適切な対照群を選択した上で、用量依存性を確認するためには複数の投与群を設定する必要がある。毒性試験における最高用量は、臨床投与量、意図する薬理作用が最大となる用量、最大耐量（MTD：Maximum Tolerated Dose）、投与可能な最大量（MFD：Maximum Feasible Dose）等の適切な限界量を踏まえて考慮すべきであり、選択した最高用量の妥当性を説明する必要がある。

③ 観察及び検査項目

医薬品の毒性試験と同様に、動物の死亡（死因を含む。）、一般状態、体重、摂餌量、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査、眼科的検査、器官重量、剖検、病理組織学的検査等を実施する必要がある。また、病理組織学的検査においては、生体内分布試験により分布が確認された組織・臓器のみならず、少なくとも主要臓器（脳、肺、心臓、肝臓、腎臓、脾臓等）、生殖器（精巣及び卵巣）及び投与部位を評価する必要がある。また、遺伝子治療用製品等の特性を踏まえて、主要な生理的機能（循環器系、呼吸器系、中枢神経系等）への影響を明らかにし、薬理作用に関連する評価項目（免疫機能検査、行動検査、神経学的検査、細胞増殖活性パラメータ等）の追加を検討することも考えられる。

④ 回復性

毒性試験で重篤な毒性所見が認められ、臨床において安全性に懸念が生じる場合には、回復性試験又は科学的評価（病変の範囲及び重篤度、作用がみられた器官系の再生能、並びにその作用を示す既存薬の知見）に基づいて、毒性の回復性を評価すべきである。

（２）遺伝子組込み評価

１）一般原則

遺伝子治療用製品等の染色体への組込みの可能性については評価が必要である。がん等の生命を脅かす疾患であり長期間の余命が期待できない患者を対象とする場合には、必ずしも組込みの可能性について評価することは必要とされないが、対象疾患を考慮して染色体への組込みの可能性についての評価は行うこと。例えば、染色体へ挿入されるレトロウイルスベクター及びレンチウイルスベクターでは、細胞１個あたりに組み込まれるコピー数及び特定の部位に組み込まれる可能性に関して評価しておくこと。さらに、挿入変異による特定の遺伝子の活性化による発がんの可能性を評価することは重要である。また、アデノウイルスベクター及びプラスミドDNAのように染色体への組込み能を持たない遺伝子治療用製品等の場合には、低い挿入を検出する感度の高い試験の実施を考慮すること。また、T細胞や筋肉細胞等の分化した細胞に比べて造血幹細胞のような未分化性の高い細胞を標的とする場合には挿入変異のリスクが高いことを考慮すべきである。

２）生殖細胞への意図しない遺伝子組込みリスクの評価

ベクターを直接生体に投与する場合、生体内分布試験により生殖細胞への分布が認められた場合には、生殖細胞の染色体への組込みリスクについて、適切なモデル動物を用いて評価すること。ただし、がん等で生命を脅かす疾患であり長期間の余命が期待できない患者を対象とする場合においては、必ずしも生殖細胞の染色体への組込みリスクを評価することを求めるものではない。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 27 年 6 月 23 日付け 事務連絡）を参考にすることが望ましい。

(3) 腫瘍形成及びがん化の可能性の評価

遺伝子治療用製品等による腫瘍形成及びがん化のリスクは、ベクターのがん原性（発現産物によるプロモーター作用、染色体への挿入変異等）又は *ex vivo* 投与方法における遺伝子導入細胞の細胞調整（例えば、使用するサイトカインの種類）やベクターの染色体挿入変異による造腫瘍性の観点から評価する必要がある。これらの評価結果について患者へ適切に情報提供し、リスク管理計画の策定に反映すること。

1) がん原性評価

遺伝子治療用製品等について、化学合成医薬品の評価に用いられる標準的ながん原性試験を実施することは適切ではないと考えられるが、がん原性評価は必要であり、臨床使用期間、適用患者集団、遺伝子導入の標的細胞・組織の特性、並びにベクター及び構成成分の特性（遺伝子組み込み、遺伝子発現構成体及び目的遺伝子由来の発現産物の特性等）、使用したキャリア等を踏まえて、「医薬品のがん原性試験に関するガイドラインの改正について」（平成20年11月27日付け）を参考に、検討することが必要である。その結果、がん原性評価が必要である場合には、公表データ、ウイルスベクターの由来となった野生型ウイルスの特性、類似する製品に関する情報、発現産物の生物学的特性及び作用機序、*in vitro* 試験成績、一般毒性試験成績、臨床試験成績等を踏まえて、科学的な重要度 (Weight of Evidence) に基づくアプローチにより、発がんのリスクを評価する必要がある。

2) 造腫瘍性評価

遺伝子導入細胞の作製に用いたベクターのがん原性評価を実施した上で、関連するヒト細胞加工製品等の品質及び安全性確保に関する指針に準じて、増殖性の変化、腫瘍形成及びがん化のリスクを評価する必要がある。

(4) 生殖発生毒性試験

受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験は、一般毒性試験における病理組織学的検査で生殖器官への影響が懸念される場合に必要である。胚・胎児発生に関する試験、出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験については、適用患者集団、遺伝子治療用製品等の生物学的特性（一般毒性、薬理作用、曝露量、生体内分布、胎盤通過性、細胞指向性等）を踏まえて、試験実施の必要性を検討する必要がある。

(5) ベクターに関する考慮事項（免疫原性及び免疫毒性）

ベクター及びベクター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説明すること。治療効果を得るために必要な発現量の安全域について説明すること。非臨床試験において、遺伝子を過剰に発現させた場合の試験結果から、ヒトにどのような影響を与える可能性があるか説明すること。

ベクター及びベクターからの発現産物による抗原性の賦与その他の望ましくない免疫

反応を惹起する可能性について説明すること。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に対する免疫反応性について、非臨床試験に用いた動物種とヒトでの種差について十分に検討しておくことが必要である。

適当な動物モデルが利用可能であり類似したベクターで免疫毒性が知られている場合、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影響の評価及び自己免疫及び移植細胞－宿主間反応について記載する。

(6) 増殖性ウイルス出現の可能性

非増殖性ウイルスベクターを使用する場合には、パッケージング細胞での製造において増殖性ウイルス出現の有無を評価することに加え、*ex vivo* 投与方法における遺伝子治療では遺伝子導入細胞からの増殖性ウイルスベクターの出現の有無について評価を行うこと。増殖性ウイルスの検出に用いた試験方法については、その検出感度等を含め適切なバリデーションがなされていなければならない。さらに可能であれば、*in vivo* 投与された遺伝子治療用製品等からの増殖性ウイルスの出現の可能性について動物モデルで評価すること。

突然変異又は内在性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の程度を評価すること。

第7章 治験の実施が可能であると判断した理由

第2章から第6章を総括し、現在の知見で遺伝子治療用製品等の安全性が適切に確保されており、品質、安全性及び期待される有効性の面から臨床試験を行うことの妥当性を説明すること。

第8章 治験の概要

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、予後等の対象疾患に関して現在得られている知見を簡潔に説明すること。

2. 治験計画

治験を含め、被験者に対して行われる治療内容を説明すること。

3. 治験実施の正当性

遺伝子治療用製品等により、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こと。また、目的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こと。既存の治療法と比べて優れていると考えられる点及び想定されるリスクを踏まえ、遺伝子治療を行うべき理由を説明すること。

4. 被験者の選択基準及び除外基準

選択基準及び除外基準について説明すること。

5. 被験者の同意の取得方法

インフォームド・コンセント及びインフォームド・アセントの実施方法について説明すること。

6. 目標症例数及び実施期間

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説明すること。

7. 実施方法

治験の具体的な実施方法について説明すること。投与量、投与回数及び投与部位の妥当性について説明すること。また、遺伝子治療用製品等の投与に際して特別な前処置を行う場合には、前処置による被験者への影響及び安全性について説明するとともに、前処置により有害事象が発症した場合の対処方法について明らかにしておくこと。

8. 被験者フォロー予定

被験者に投与されたベクター、遺伝子導入細胞の生体内分布、遺伝子導入細胞の生存及び目的遺伝子の発現様式、増殖性ウイルスの発生の有無並びに投与による臨床症状に関して観察予定を説明すること。追跡調査期間はベクターの種類によって適切な期間を設定すること。染色体組込型ベクターでは、最低、年に一度の観察として、目的遺伝子の持続性、及び実施が可能な場合は遺伝子導入細胞のクローナリティーの評価を実施すること。追跡調査の結果により観察期間が延長することがある。この間、有害事象が発症した場合の原因究明のために、ベクター又は遺伝子導入細胞を含む最終産製品の保存を考慮すること。

9. 治験における考慮事項

治験においては、予期せぬ免疫反応が起こることを考慮し、適切な試験計画を立て患者の状態を把握すること。ウイルスベクターを用いて複数回にわたる投与を行う場合には、当該ウイルスベクターに対して抗体産生が起こる可能性について留意する必要がある。また、欠損遺伝子に相当するタンパク質を発現するベクターを投与する場合には、発現タンパク質に対して免疫応答が惹起される可能性について留意する必要がある。特にベクター又は発現タンパク質に対する抗体産生や予期しない免疫応答を考慮し、適切に評価出来る試験計画を立て、患者の状態を把握すること。

10. 遺伝子治療用製品等の被験者以外への遺伝子導入の可能性及び環境に与える影響につ

いて

被験者に投与した遺伝子が、投与を受けた被験者以外の周囲の第三者に導入される可能性について説明すること。記載の内容にあたっては、ICH見解：ウイルスとベクターの排出に関する基本的な考え方（厚生労働省医薬食品局審査管理課、平成27年6月23日付け 事務連絡）を参考にすること。

第9章 倫理性への配慮

遺伝子治療用製品等の開発にあたっては、その倫理性が特に求められていることから、倫理的事項についても十分に配慮すること。

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改定案に関する質疑応答（Q&A）

Q1. 本指針は遺伝子導入された非ヒト由来加工細胞製品を適用範囲としているか？

A1. 適用範囲とならないが、開発の過程で本指針を参考にすることは有用と考える。

Q2. ウイルスベクターにおける遺伝子発現構成体は何を指すのか？

A2. ウイルスベクター中のウイルスゲノム全体を指す。

Q3. 第2章、2.、同一製品の臨床使用経験がない場合で、類似の製品を用いた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説明すること。」における「類似の製品」とは何か？

A3. 例えばプロモーター、エンハンサー等に違いはあるものの、開発しようとする製品の有効性及び安全性の説明に利用することが可能である製品を想定している。

Q4. 第3章、1.、(5)、「導入される全ての遺伝子の翻訳可能領域を明らかにすること」の「翻訳可能領域」はどの部分を指すのか？

A4. 翻訳可能領域は、遺伝子発現構成体の中で、翻訳可能な目的遺伝子及び目的遺伝子以外の遺伝子の全ての塩基配列を指す。

Q5. ベクターの構築手順について、どの程度の説明が必要か？

A5. 遺伝子の入手方法、ベクターの構造、ベクターの作製方法、フロー図等によるベクターの作製過程を記載する必要がある。

Q6. ウイルスベクターの全塩基配列解析は必須であるか？

A6. ウイルスベクターの全塩基配列解析は、データベースから得られた理論的配列解析だけでなく、実際のウイルスベクター内にある塩基配列を解析し、理論的配列と比較することは重要と考える。ただ、ウイルスベクターによっては全塩基配列の解析が困難な場合も想定されるため、「可能な限り」としている。

Q7. 遺伝子治療のフォロー期間はどのように設定すればよいか？

A7. 使用するベクターの種類や疾患等によってフォロー期間は異なるため、一律に決定することは困難であり、機構と個別に相談してほしい。