

第43回 ICH即時報告会

ICH S12

Nonclinical Biodistribution Considerations for Gene Therapy Products

遺伝子治療製品の非臨床生体内分布の 考え方について

MHLW/PMDA Deputy Topic Leader

滝島 佑人(PMDA)

背景

「遺伝子治療用製品等の品質及び安全性の確保について」

(令和元年7月9日付け薬生機審発0709第2号)

別添「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」

第4章 非臨床試験 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、毒性試験で組織特異的に検出された異常所見の毒性学的意義を考察する際に有用な場合がある。

新規遺伝子治療用製品等の治験開始前に生体内分布試験を実施しない場合には、その合理的な理由が明らかに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、血液等を採取し、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。

背景

遺伝子治療製品の非臨床生体内分布に関連する 海外規制当局のガイドライン等、国際的に合意された文書

① FDA

FDA/CBER 2018 Draft Guidance: “Long Term Follow-Up After Administration of Human Gene Therapy Products”

FDA/CBER 2015 – “Design and Analysis of Shedding Studies for Virus or Bacteria-Based Gene Therapy and Oncolytic Products”

FDA/CBER 2013 - “Preclinical Assessment of Investigational Cellular and Gene Therapy Products”

② EMA

EMA 2018 - “Guideline on the quality, non-clinical and clinical aspects of gene therapy medicinal products”

EMA 2018 - “Guideline on quality, non-clinical and clinical aspects of medicinal products containing genetically modified cells”

③ ICH

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」 2009年

④ International Pharmaceutical Regulators Programme (IPRP)

Gene Therapy Working Groupが作成したReflection paper “Expectations for Biodistribution (BD) Assessments for Gene Therapy (GT) Products” 2018年

- **ICH S12 EWGの活動状況の報告**
- **ICH S12ガイドライン草案の方針について**

進捗

達成時期	内容
～2021年4月	• Step1ガイドライン草案をEWG内で整備
2021年5月	• Step1 ガイドライン草案をMCに提出
2021年6月3日	• Step2a/b 到達

今後の予定

予測される達成時期	目標
2021年8月～9月	• 国内パブリックコメント募集及び説明会開催
2023年3月	• Step3
2023年5月	• Step4

* 上記のスケジュールは現在見直し中であり、変更の可能性がある。⁵

- ICH S12 EWGの活動状況の報告
- ICH S12ガイドライン草案について

- 1. Introduction**
 - 2. Definition of non-clinical biodistribution**
 - 3. Timing of non-clinical BD studies**
 - 4. Design of non-clinical BD studies**
 - 5. Specific considerations**
 - 6. Application of non-clinical BD studies**
- Note (生体内分布試験の動物数について)**
- Glossary (用語の定義)**

1.Introduction

● 目的

遺伝子治療製品の開発における非臨床BD試験の実施のための国際的に調和されたガイドライン。
非臨床BD評価のデザインや非臨床薬理試験及び毒性試験実施とBD評価のタイミングとの関連性を示す。
動物愛護の3Rの原則(使用動物数の削減、動物の苦痛軽減、代替法の利用)に従っている。

● 背景

遺伝子治療製品のBDプロファイルを理解する上で、動物を用いた試験(*in vivo*試験)は重要である。
早期臨床試験を実施するための非臨床薬理試験及び毒性試験の解釈及び試験デザインの構築のために
BDデータは有用である。

● ガイドラインの対象(Scope)

Products that mediate their effect by the expression (transcription or translation) of transferred genetic materials

- ・導入遺伝子を発現するように遺伝子改変された核酸(プラスミド、RNA等)、微生物(ウイルス、細菌、真菌等)及び*ex vivo* 遺伝子改変されたヒト細胞
- ・特定の転写や翻訳を伴わずに宿主細胞の遺伝子改変を意図した製品(ヌクレアーゼやガイドRNAをウイルス以外の手法によって導入する等)
- ・腫瘍溶解性ウイルス
- ・対象除外: 予防ワクチン、化学合成核酸・核酸アナログ
- ・非臨床Sheddingプロファイル及び生殖細胞への組込み評価は本ガイドラインの対象外

BDの定義

生物学的に適切な動物種での遺伝子治療製品の投与部位、標的組織・非標的組織及び体液*における分布、持続性、排泄

* 体液：血液、脳脊髄液、硝子体液含む

非臨床BD試験においては、採取した検体から遺伝子治療性製品、導入遺伝子又は発現産物を検出するための解析方法が必要である。

3. Timing of non-clinical BD studies

BDプロファイルの情報は非臨床開発の初期段階で入手するべきである。

BDデータは薬理試験及び毒性試験の解釈に有用であり、First-in-human試験デザインの検討に役立つことから、First-in-human試験の前にBD評価を実施すべきである。

4. Design of non-clinical BD studies

- 原則 (General Considerations)
- 被験物質 (Test Article)
- 動物種の選択 (Animal Species)
- 動物数及び性 (Group Size and Sex of Animals)
- 投与経路/用量設定 (Route of Administration and Dose Level Selection)
- 検体採取 (Sample Collection)

4. Design of non-clinical BD studies

● 原則 (General Considerations)

BD試験は独立した試験として実施する、あるいは薬理/毒性試験に組込んでBD試験を実施する。

BD試験においては、臨床試験で用いる製品と同様の(representative)製品を、生物学的に適切な動物種に臨床投与経路で投与すべきである。

BD評価のデータの信頼性は重要である。

BD試験はGLP試験として実施することは必須ではないものの、毒性試験(GLP試験)の一部としてBD評価をする場合には、動物が生存中のパラメータや検体採取の過程はGLPに準じて実施する。

● 被験物質 (Test Article)

非臨床BD試験に用いる被験物質は臨床試験で用いる製品と同様の製品とすべきである。(製造工程、製品の特徴(力価等)、臨床での剤型を考慮)

例えば、臨床試験で用いるベクターと同じ遺伝子構造のベクターで、導入遺伝子としてマーカを発現するベクター等のBDデータが参考になる場合もある。

4. Design of non-clinical BD studies

● 動物種の選択 (Animal Species)

BD試験には、導入遺伝子が導入可能で、導入遺伝子からの発現が認められる、生物学的に適切な動物種を用いる。

(増殖ベクターの場合には増殖可能な動物種を選択することを入れるべきか?)

BDプロファイルには動物の性別、年齢、状態(健常動物/疾患モデル動物)も影響する。

また、遺伝子治療製品のベクターや導入遺伝子産物に対する動物の免疫反応も考慮すべきである。

● 動物数及び性 (Group Size and Sex of Animals)

一般的に推奨される非臨床BD試験に用いる動物数はNoteに記載した。

(Note:げっ歯類5匹以上/性/測定時点、非げっ歯類3匹以上/性/測定時点)

複数の試験(予備試験or 主要試験)の動物数を合計しても良い。

評価に用いた動物数の適切性や片性のみ試験に用いる場合の適切性は説明する必要がある。

4. Design of non-clinical BD studies

● 投与経路/用量設定 (Route of Administration and Dose Level Selection)

<投与経路>

BD試験の投与経路は臨床投与経路とすべきである。

新しい投与システムを臨床試験で用いることが計画されている場合には、当該デバイスを用いて実施した薬理/毒性試験においてBDデータを収集することを検討する。

<用量設定>

BDデータは薬理/毒性試験の解釈に用いるため、**BD試験の最高用量**は毒性試験の最高用量とすべきである。

臨床試験での投与量に相当する用量

薬理試験における最大薬理作用量

→ 適切な説明があれば**最高用量**として許容

臨床試験において反復投与が計画されている場合、BD試験でも反復投与を考慮し、通常は投与間隔を臨床での投与間隔よりも短くすることを検討する。

4. Design of non-clinical BD studies

● 検体採取 (Sample Collection)

検体(標的組織・非標的組織及び体液)の採取にあたり、コンタミネーションのリスクを最小化するように採取計画を立案する。各々の動物から採取した検体や採取した順番を記録すること等、事前に定めた手順に従って検体採取を実施することが重要。

検体採取時点は、遺伝子治療製品投与後、標的組織・非標的組織及び体液中の遺伝子治療製品の量がピークに達する時点、安定した(プラトーな状態の)時点及び減少する時点を予期して、これらの時点を設定する。

増殖性ベクターの場合には、検体採取時点の設定において、ベクターの増殖によるsecond peak及びそれに続く排出時期も考慮する。

反復投与の場合には、反復投与による遺伝子治療製品の蓄積性を評価できるように検体採取時点を設定する。

標準的な採取検体: 血液、投与部位、生殖器、副腎、脳、脊髄、肝臓、肺、心臓、脾臓

その他、ベクターの細胞・組織指向性、目的遺伝子の発現、投与経路、疾患の病態、動物の性別及び年齢を考慮して追加すべき採取検体を検討する。

5. Specific considerations

- 評価方法 (Assay Methodologies)
- 発現産物の評価 (Measurement of Transcribed/Translated Products)
- 薬理/毒性試験での生体内分布評価 (Nonclinical BD Assessment as a Component of a Pharmacology and Toxicology Studies)
- 免疫原性 (Considerations for Immunogenicity)
- *Ex-vivo* 遺伝子治療 (Considerations for *ex-vivo* genetically Modified Cells)
- 生殖器の分布 (BD Assessment in Gonadal Tissues)
- 追加のBD試験が必要な場合 (Triggers for Additional Nonclinical BD Studies)
- BD試験が省略可能/実施困難な場合 (Circumstances When Nonclinical BD studies May not Be Needed or Feasible)

5. Specific considerations

- 評価方法 (Assay Methodologies)

BD評価では、組織/体液中の遺伝子治療製品の遺伝子産物(DNA/RNA)の量を定量することが必要である。

- Real-time quantitative PCR (qPCR)が標準的な方法

- その他にベクター/導入遺伝子からの発現産物の検出方法として以下が例示

ELISA、IHC、western blot、ISH、digital droplet PCR (ddPCR)、flow cytometry、
*In vivo*又は*Ex vivo*イメージング技術等

- 発現産物の評価 (Measurement of Transcribed/Translated Products)

主要なBD評価は、遺伝子治療製品の遺伝子産物を定量することである。

転写されたRNA量や翻訳されたタンパク量の定量も遺伝子治療製品の安全性及び活性プロファイルの特徴を把握するために有用である。

実施すべきBD評価の範囲は製品ごとにrisk-based approachに基づき様々な観点から検討する。

5. Specific considerations

- **薬理/毒性試験での生体内分布評価 (Nonclinical BD as a Component of a Pharmacology and Toxicology Studies)**

BD試験は独立した試験として実施しても良いが、非臨床薬理/毒性試験の一部としてBD評価をしても良い。

- **免疫原性 (Considerations for Immunogenicity)**

特に非ヒト霊長類や他の非げっ歯類においては、既存免疫が遺伝子治療製品のBDプロファイルに影響を与える可能性があるため、ベクターに対する既存免疫を調査することを検討する。

ベクターに対する既存免疫が認められないことが望ましいが、免疫が認められた場合でも、BD試験を当該動物で実施できる可能性はある。

種特異的な転写/翻訳産物であるために、動物ではその発現タンパク質に対する免疫反応が増強する場合には、BD試験の結果は有用ではない。

免疫抑制動物をBD評価のみを目的として使用することは推奨されない。

5. Specific considerations

- **Ex-vivo 遺伝子治療 (Considerations for ex-vivo genetically Modified Cells)**

Ex vivo modified GT product

cells that are transduced/transfected *ex vivo* and then administered to the animal/human subject

細胞の種類、投与経路及び体内で期待される分布によってBDが決まる。

遺伝子改変したヒトT細胞は動物ではGVHDが発現するため動物でのBD評価は難しい。一般的に*ex vivo*遺伝子改変した造血系の細胞は、投与後、生体内での広範な分布が想定されることから、これらの細胞のBD評価は重要ではない。

- **生殖器の分布 (BD Assessment in Gonadal Tissues)**

適切な手法により(BD試験で設定された全ての測定時点において、生殖器にベクター又は導入遺伝子産物が認められない場合には、追加の評価は不要。

生殖器にベクターが持続して検出された場合には、生殖細胞及び非生殖細胞でのベクター量を測定する。これらのデータは、他の要因と共に、生殖細胞への組み込みリスク評価に有用な情報となる。(「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」を参照)

5. Specific considerations

- 追加のBD試験が必要な場合 (Triggers for Additional Nonclinical BD Studies)

臨床開発計画が変更された場合：投与経路、投与量増加、投与計画 (regimen) の変更、片性のみを対象疾患から両性を対象とした疾患に変更等。

ベクター指向性が変わるようなベクター構造又は血清型等の変更。

発現カセットの変更はベクターのBDプロファイルに影響を与えないが、プロモーターの配列を変更する等の改変をした場合には、RNA/タンパク質の分布評価を検討する。

遺伝子治療製品の最終製品に影響を与えるような製造工程の変更(ウイルス指向性を変える可能性がある添加剤の追加等)、重要な品質特性の変更(空カプシドとフルカプシドの割合、*in vitro*遺伝子導入効率、力価)

その他、製造工程の変更に伴う要因(ウイルス粒子サイズ、凝集、抗原性、他の宿主因子との相互作用)

5. Specific considerations

- **BD試験が省略可能/実施困難な場合(Circumstances When Nonclinical BD studies May not Be Needed or Feasible)**

同一の遺伝子治療製品について、他の適応疾患での臨床使用ために取得した非臨床BDデータが既に存在しており、新たな臨床適応疾患での開発にあたり、既存のBDデータで充足すると考えられる場合は非臨床BD試験省略可能。

ただし、新たな臨床の適応疾患に対する投与量、投与計画等を考慮する必要がある。

同じベクター構造を有し、異なる転写/翻訳産物を発現する、既に特徴が把握されている遺伝子治療製品において、BDデータが取得されている場合には、適切な説明があれば追加の非臨床BD試験の実施を省略できる可能性がある。

臨床での対象患者のBDプロファイルを把握するために有用な生物学的に適切な動物種が存在しない場合がある。例えば、ベクターが結合するヒト細胞上の標的分子が動物細胞では存在しない場合等。このような場合、幅広い総合的な議論が重要であり、BD評価又はBD予測のための代替法について科学的に適切性を説明することが必要。

6. Application of Nonclinical BD Studies

遺伝子治療製品を動物に投与した場合のBDプロファイルの情報は非臨床開発において重要である。

非臨床BDデータは、以下に有用である。

- ・薬理/毒性試験結果の解釈
- ・薬理/毒性試験計画の立案
- ・薬理/毒性試験で認められた所見と遺伝子治療製品との関連性を理解するため
- ・First-in-human試験における安全な投与方法、適切なモニタリング及び長期フォローアップ評価

非臨床BDデータの臨床の対象患者への外挿性については以下の点を考慮する
(投与経路、投与量、投与regimen、動物の免疫反応)

公開中のICH S12ガイドライン草案

https://database.ich.org/sites/default/files/ICH_S12_Step2_DraftGuideline_2021_0603.pdf

ご清聴ありがとうございました