

細胞培養技術を応用して製造される医薬品の承認申請に必要な 添付資料の作成について

薬審1第10号

昭和63年6月6日

各都道府県衛生主管部(局)長

厚生省薬務局審査第一課長

厚生省薬務局審査第二課長

厚生省薬務局生物製剤課長

今般、標記について下記のとおり取り扱うこととしたので、貴管下関係業者に対し周知方よろしくお願いしたい。

なお、本通知は、細胞培養技術を応用して製造されるペプチド又はタンパク質を有効成分とする医薬品（以下「細胞培養医薬品」という。）に適用する。ただし、学問の進歩等を反映した合理的根拠に基づく場合には、別途考慮することとする。

おって、本通知における用語は次の定義による。

1. 「細胞培養技術」とは、目的産物の構造遺伝子を保有するヒト又は動物細胞を増殖させ、当該遺伝子の生産物を得る技術をいう。
2. 「種細胞株」とは、医薬品製造基材として樹立された細胞株をいう。
3. 「マスター・セル・バンク」とは、種細胞株を一定の培養条件下で最低限の継代数を経て増殖させ、複数のアンプルに分注したものをいう。
4. 「製造用細胞バンク」とは、マスター・セル・バンクの一個又は複数個のアンプルをプールして得た細胞浮遊液を一定条件下でさらに増殖させ、複数のアンプルに分注したものをいう。

記

添付資料の範囲の取扱い区分について

- 1 ア及びイに掲げる医薬品については、原則として、昭和55年5月30日薬発第698号厚生省薬務局長通知（以下「局長通知」という。）の別表2 - (1)の1 - (1)新有効成分含有医薬品として取り扱う。

ア これまで同一有効成分の細胞培養医薬品が承認されていない細胞培養医薬品

イ 既承認の細胞培養医薬品と種細胞株が異なる細胞培養医薬品

- 2 ウからオまでに掲げる医薬品については、原則として、局長通知別表2 - (1)の1 - (8)その他の医薬品として取り扱う。

ウ 既承認の細胞培養医薬品と培養の方法が異なる細胞培養医薬品

エ 既承認の細胞培養医薬品と精製の方法が異なる細胞培養医薬品

オ その他の細胞培養医薬品

ただし、ウ及びエに掲げる医薬品については、局長通知別表2 - (1)の1 - (8)に規定されるもののほか、次の資料を提出すること。

製造方法、構造決定及び物理的・化学的性質等

毒性試験のうち不純物に係る抗原性試験及び発熱性物質試験

安全性を確認する目的で詳細な検討がなされた臨床試験(2力所以上、1力所当

たり20例以上)

添付資料の作成方法について

細胞培養医薬品の製造(輸入)承認申請の際に必要な添付資料は、局長通知別表1のイからトまでの各区分ごとに以下の点に留意して作成すること。

イ 起原又は発見の経緯及び外国における使用状況等について

外国において開発又は承認されている同種の細胞培養医薬品がある場合には、その使用状況、副作用の発生状況等について詳細に説明すること。

ロ 物理的・化学的性質並びに規格及び試験方法等について

1 製造方法について

次の点に関する詳細なデータを集積すること。

(1) 種細胞株の由来及び特性を明らかにすること。

細胞の起源と歴史

細胞の由来、樹立方法、継代歴等に関する情報を可能な限り記載すること。

細胞の特性

例えば形態学的特徴、増殖特性、細胞遺伝学的性質、免疫学的表現型、アイソザイム、ウイルスゲノムの存在、造腫瘍性、目的産物の産生能等の細胞の性質をできる限り詳しく記載すること。

(2) 細胞の調製・培養・保存方法及びその管理方法を明らかにすること。

マスター・セル・バンクの調製・保存方法及びその管理方法

製造用細胞バンクの調製・保存方法及びその管理方法

医薬品製造条件を超えて増殖された細胞について(1)「細胞の特性」の項に記載された特性を指標として安定性を明らかにすること。

各段階の細胞の培養条件を明らかにすること。

及び の段階の細胞について、細菌、マイコプラズマ、真菌の混入を否定すること。

及び の段階の細胞について、その細胞が由来した動物種に存在が予想されるウイルスに着目した検討を行い、合理的理由がある場合を除き、その存在を否定すること。また、細胞の増殖に動物を用いる場合には、 の段階の細胞について、その動物種に存在が予測されるウイルスに着目した検討を行い、その存在を否定すること。

ヒトに病原性を示す可能性のあるウイルスが存在する細胞は原則として使用しないこと。

及び の段階について、レトロウイルス等の内因性病原体の存在の有無を逆転写酵素活性測定法、電子顕微鏡観察法等の適正な方法により明らかにしておくこと。また、同様の試験を適当な誘発処理を行った細胞についても行うこと。

(3) 目的産物の分離、精製の方法を明らかにすること。

精製工程は、製造方法のフローチャートの一部として説明すること。

目的物と不純物(例えば不純蛋白質、DNA等)との分離方法及びその効率を明らかにすること。また、製造方法にウイルスを用いる場合及び種細胞株に内因性ウイルス等が存在する場合のように目的産物中にウイルス混入の可能性のある場合には、そのウイルスの不活化又は除去の方法及びその効率を明らかにすること。

目的産物については、必要に応じハイブリダイゼーション法によりレトロウイルスの存在を否定すること。ヒト抗体の場合にはEBウイルスDNAの存在を否定すること。また、製造のため細胞の増殖に動物を用いた場合には、目的産物中の動物由来ウイルスを

否定すること。

2. 構造決定及び物理的・化学的性質等について

(1) 構造・組成について

例えば次の項目についての検討を行い、目的有効成分の構造・組成を可能な限り明らかにすること。

アミノ酸組成

末端アミノ酸

ジスルフィド結合がある場合には、その位置

ペプチド分析

アミノ酸配列（高分子の場合には、可能な範囲での末端域アミノ酸配列）

糖組成

モノクローナル抗体の場合には、免疫グロブリンクラス、サブクラス

(2) 物理化学的性質について

例えば次の項目について検討すること。

分光学的性質（紫外吸収スペクトル等）

電気泳動的性質（ポリアクリルアミドゲル電気泳動等）

等電点（ゲル等電点電気泳動等）

分子量（SDSゲル電気泳動等）

液体クロマトグラフパターン

高次構造（円二色性等）

(3) 免疫化学的性質について

同一性、純度の検定、定量法等に利用される目的有効成分の免疫化学的性質に関する情報を提供すること。例えば、目的有効成分とこれに特異的な抗体との反応性について、イムノアッセイ、免疫電気泳動等の適当な方法を用いて明らかにすること。

(4) 生物学的性質について

次の項目について可能な限り明らかにすること。

生物学的活性及び純度（比活性等）等

酵素の場合には、酵素化学的性質

モノクローナル抗体等については例えば次の性質について必要に応じ検討すること

- ・ 標的抗原に対する特異性
- ・ 疑似抗原に対する交差反応性
- ・ モノクローナル抗体の組織学的結合性

標的細胞や生物学的作用が多様なものに関しては、それらについて可能な限り明らかにすること。

3 規格及び試験方法について

例えば次の項目について、細胞培養医薬品の特質を的確にとらえた規格及び試験方法を設定すること。

(1) 起原又は本質

細胞培養医薬品であることを明示すること。

(2) 性状

外観

溶解性、結晶性及び安定性（吸湿性等）

- (3) 確認試験
理化学試験のほかバイオアッセイ又はイムノアッセイなども目的に応じて用いること。
- (4) 構成アミノ酸
- (5) ペプチドマップ
必要に応じ設定すること。
- (6) 糖の含量
- (7) 純度試験
溶状など一般の医薬品と同様の項目のほか、細胞又は培地等由来のDNA、ポリペプチド、タンパク質、分解生成物などで許容限度を定める必要のあるものについては、液体クロマトグラフ法、イムノアッセイ、DNAハイブリダイゼーション法等を用いて設定すること。
また、製造方法又は用法・用量などを勘案して、重金属及びヒ素の試験を設定すること。
- (8) 乾燥減量試験又は水分定量法。
必要に応じ設定すること。
- (9) 強熱残分試験
必要に応じ設定すること。
- (10) 生物学的活性試験
生物由来の複雑な物質の同等性、純度又は力価の保証については、物理的化学的方法だけでは証明できない場合が多いので、その場合には生物学的活性試験を特殊性能試験として採用することを検討すること。また、モノクローナル抗体の場合は、例えば抗原性特異性試験及び補体結合性試験等の採用を検討すること。
- (11) 発熱性物質試験
- (12) 定量法
物理的化学的試験又は生物学的活性試験のいずれかの方法を用いて設定すること。なお物理的化学的試験により設定する場合には、活性との相関が確認されていること。

八 安定性について

一般の医薬品と同様に検討すること。

二 毒性について

細胞培養医薬品の毒性については、被験成分の特性などからみて従来一般の医薬品の場合とは異なる観点や方法で実施すべき点が多い。しかし、当該分野における知見の蓄積や経験は乏しく、また今後細胞培養医薬品の種類、特性、臨床適用法などはさらに一段と多種、多様になることが予測されるので、現時点で試験の実施基準、実施方法について一律に定めることは合理的ではない。したがって、当該医薬品の臨床上の安全性の適正な評価に資することを目的として、その時点で最も科学的に適切な試験がなされ、データが蓄積されることを一般原則とした上で、個々の医薬品についての試験の内容及び範囲に関しては、当該医薬品の特性、臨床適用法などを配慮しつつ、当面ケース・バイ・ケースで対処することとする。ただし、試験の種類・項目及び試験方法の取捨選択に際しては、その合理的根拠について十分説明できることが必要である。なお、その際には、例えば以下の留意点を考慮すること。

1 一般的留意事項

- (1) 当該医薬品の製造方法、物性、薬理作用、作用機序、生体内動態、効能・効果、用法・用量等を十分ふまえた上で合理的な毒性試験を実施すること。なお、不純物の種類や含量、有効成分と不純物との相関、被験物質が賦形薬を含む場合には賦形薬の影響についても配

慮し、結果の解釈にあたってはこれらを整理して考察すること。ただし、予測される不純物については可能な限り精製過程で除去することで安全性を確保する方向が望ましい。

- (2) 試験動物は、可能な限り有効成分に生物学的応答をする動物種を選択することが望ましい。とくに、亜急性毒性試験、生殖に及ぼす影響に関する試験ではこの点を配慮すること。なお、試験動物種の選択理由を明確にしておくことが望ましい。
- (3) 投与経路、投与頻度及び投与期間は可能な限り臨床上の用法に基づいたものとする。
- (4) 反復投与試験を行う場合には、試験動物における抗体産生状況に関する検査を実施すること。抗体産生による薬理作用に及ぼす影響についても解析すること。また、産生抗体がどの抗原に由来するかについても解析しておくこと。なお、可能な限り抗体が産生されにくい試験動物を選ぶことが望ましい。
- (5) 細胞培養医薬品の有効成分がヒト由来成分のものと全く同一であり、かつその成分が既に毒性学的に研究されているものであれば、毒性試験の一部を省略することは差し支えない、ただし、不純物由来の毒性については、十分検討しておくことが必要である。
- (6) 既存の毒性ガイドラインが合理的に適用できる部分については、極力それに基づいて試験を行うこと。

2 急性毒性試験

必ず実施すること。試験動物は原則として2種以上とし、動物種の選択は必ずしも上記の(2)の基準によることはない。

3 亜急性毒性試験

臨床適用での投与回数や投与期間がきわめて限定されたワクチンなどのケースを除き、実施すること。ただし、抗体産生などで意義ある試験の続行が不可能なときは、試験期間を合理的に短縮することができる。

4 慢性毒性試験

必要に応じ実施すること。ただし合理的な理由がある場合には省略することができる。

5 生殖に及ぼす影響に関する試験

必要に応じ実施すること。ただし合理的な理由がある場合には省略することができる。

6 変異原性試験

必要に応じ実施すること。実施に際して哺乳類由来の培養細胞を用いる試験を優先的に行い、その結果疑わしい所見が得られた場合には、さらに適切な *in vivo* 試験を追加することが望ましい。

7 がん原性試験

必要に応じ実施すること。ただし合理的な理由がある場合には省略することができる。

8 依存性試験及び局所刺激性試験

必要に応じ実施すること。ただし合理的な理由がある場合には省略することができる。

9 抗原性試験

臨床上長期連用する可能性がある薬剤やその化学構造がヒト由来成分とは明らかに異なる有効成分を含む薬剤については実施すること。ただし、合理的な理由がある場合には省略することができる。

10 発熱性物質試験

ウサギを用いる発熱性物質試験によって検討すること。なお、これ以外にも発熱性物質を検出するための他の試験方法を検討することが望ましい。

11 その他

当該医薬品の生理活性に関係する毒性の発現に着目すること。また、生体免疫系への作用が明らかに予測される医薬品やこれを意図する医薬品については、免疫毒性にとくに着目した検討を行うこと。

ホ 薬理作用について

一般の新医薬品と同様に検討すること。ただし、細胞培養医薬品の有効成分が生体由来成分のものと全く同一であることが証明され、かつ、その成分が既に薬理的に研究されているものであれば、次の試験を除き省略することは差し支えない。

- 1 生体由来の同種の医薬品との比較を含めた基本的な効力薬理試験
- 2 必要な場合には、生体由来の同種の医薬品との高次構造の同等性の証明を含めて、次の性質を確認する試験

レセプターとの結合性、結合状態及び結合親和力

各種標的細胞がある場合には、それに及ぼす生物効果

ワクチンの場合には、免疫原性及び抗体との反応特性

ヘ 吸収、分布、代謝及び排泄について

吸収、分布、代謝、排泄に十分な検討を加えることは、一般の医薬品と同様、薬物の効果及び持続時間、作用機序等の予測に必要であるばかりでなく、ひいては副作用の発現の推定にも多大の情報を与えることになる。しかしながら細胞培養医薬品の特性のためその試験に関する一般的指針を確定することは困難であることから、以下に述べることについても、その実施に当たっては個々の細胞培養医薬品について適宜取捨選択があってもやむを得ないとする。また、当該医薬品の体内動態を明確にするという目的に沿うように、被験物質として精製バルク又は目的とする製剤を適宜選択することが必要である。なお、この方面のデータの蓄積が少ないことを考えれば、以下の項目に沿ったデータを収集、蓄積する努力が払われることが望ましい。

1 定量法

原則として2種以上の定量法により検討すること。この内一つは可能な限り活性による測定が望ましい。

2 動物

薬効・薬理試験、毒性試験及び臨床試験との対応を考えて適切な動物を使用すること。

3 ヒト

原則としてヒトでの動態に関するデータを取ること。

4 投与方法

一般の医薬品と同一の考え方で選択すること。

5 血漿又は血清中濃度（以下、「血中濃度」という。）

単回投与 このデータは例外的な場合を除き必須である。いくつかの投与量水準につき血中濃度のパターンを明確にするとともに、それより半減期、AUC及び吸収のある場合にはC_{max}、T_{max}など吸収速度の指標となり得る数値を求めること

反復投与 このデータも原則として必須である。このデータにより蓄積性につき考察すること。

6 分布

一般の医薬品と同様に主要臓器につき単回投与及び反復投与により測定することが望ましい。反復投与データにより蓄積性につき考察すること。標的臓器が明確な場合にはこれへの

分布を検討することが望ましいが、モノクローナル抗体等を用いて標的臓器への分布性能を高めた場合には、この分布を実証するデータは必要である。また、有害作用をもたらす可能性のある臓器が明確な場合には、これへの分布も同様に検討すること。

7 代謝

血中、尿中での代謝物の定量が望まれる。それが不可能な場合には、*in vitro*系により、代謝速度、代謝部位を推定できる程度のデータが必要である。特に、生体中で代謝されてから作用を表わすもの、代謝物に何等かの作用が考えられるもの、局所で作用を発現するように設計されているものなどについては、詳細な検討が必要である。

8 排泄

原則として血中濃度測定試験に対応するデータが必要である。このデータにより吸収性や蓄積性について考察すること。

9 生物学的同等性

一般の医薬品と同様に検討すること。

10 その他

同一有効成分・剤形・投与法の医薬品が承認されている細胞培養医薬品の場合にはすでに十分な吸排データが蓄積されているならば、従来品と比して同等であるとのデータがあればよいと考えられるが、この場合でもただちにヒトによる試験をすることはせず、適当な動物試験により、先ず動物についての同等性を確かめておく必要がある。

ト 臨床試験について

第 相，第 相及び第III相と段階的に慎重に行い，有効性及び安全性について，精密かつ客観的な考察を行うこと。

細胞培養医薬品については、特に次の項目について、詳細に検討すること。

- 1 局所的及び全身のアレルギー
- 2 抗体産生（有効成分に対する抗体及び宿主の抗原と反応するような抗体）
- 3 投与部位の局所反応
- 4 抗体との相互作用による薬物動態の変化及び有効性に対する影響
- 5 発熱性

なお、既に生体由来のものが市販されている場合には、生体由来のものを用いている患者と細胞培養医薬品を用いている患者について、抗体の推移、作用の変動などを観察し、比較考察するほか、予測される治療期間、患者数などを考慮し、必要に応じて精密かつ客観的な比較試験を行うこと。