

The CMC Safety Issues on The Novel Biotechnology Therapeutics

Koji Kawakami, MD, PhD
Professor
Dept. of Pharmacoepidemiology
School of Medicine and Public Health
Kyoto University

第1回医薬品評価フォーラム, August 10, 2007

What is Biologics?

"Biologics, in contrast to drugs that are chemically synthesized, are derived from **living sources** (such as humans, animals, and microorganisms). Most biologics are complex mixtures that are not easily identified or characterized, and many biologics are manufactured using **biotechnology**. Biological products often represent the cutting-edge of biomedical research and, in time, may offer the most effective means to treat a variety of medical illnesses and conditions that presently have no other treatments available." (FDA-CBER)

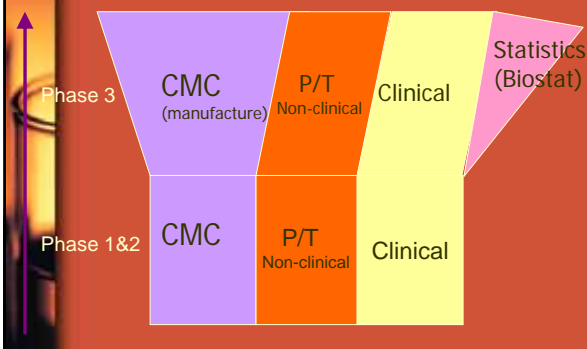
- Monoclonal antibody
- Therapeutic protein
- Nucleotide acids
- Gene therapy
- Somatic Cell Therapy
- Xenotransplantation
- Tumor Vaccines
- Allergen patch tests, Allergens
- Antitoxins, antivenoms, and venoms
- In vitro diagnostics
- Vaccines, prophylactic
- Toxoids and toxins intended for immunization
- Blood, blood components and related products

Biologics

FDA Organization

- [Center for Food Safety and Applied Nutrition](#)
- [Center for Drug Evaluation and Research](#)
- [Center for Devices and Radiological Health](#)
- [Center for Biologics Evaluation and Research](#)
- [Center for Veterinary Medicine](#)
- [Office of Regulatory Affairs](#)
- [National Center for Toxicological Research](#)

What does the regulatory agency review?



バイオ医薬品のレギュラトリーサイエンスの特徴

- 蛋白、ペプチド、抗体、核酸、糖質、遺伝子、細胞、組織 と多種多様
- ガイドラインはあるが、個々の事例により大きく異なる

Chemistry, Manufacture, and Control (CMC)

- Components used in product manufacturing
- Procedures used in product manufacturing
- State of product characterization
- In-process and final product testing of therapeutic product
- Product stability

Regulatory Concerns Common to All Biologicals

- **Product Biosafety**
-sterility, endotoxin, mycoplasma, adventitious agents
- **Product Characterization**
-identity, potency, purity, other assessments
- **Control of the Manufacturing Process**
-quality of materials and in-process tests, facility, SOPs, record keeping, QA/QC
- **Reproducibility/Consistency of Product Lots**
Lot release testing of final product, specifications

Comparability

"FDA may determine that two products are comparable if the results of the comparability testing demonstrate that the manufacturing change does not affect safety, identity, purity, or potency."

Comparable Does **Not** Equal Identical

from: FDA Guidance concerning Demonstration of Comparability of Human Biological Product, Including Therapeutic Biotechnology-derived Products, April 1996

CMC issues: Monoclonal antibodies

バイオ医薬品の申請パッケージ (CMC、非臨床) (1)

品質に関する要件

- **構造** (アミノ酸組成分析、アミノ酸配列分析、アミノ酸マッピング、糖鎖組成分析、RP-HPLC、ゲル濾過クロマトグラフィ)
- **高次構造** (NMR、X線解析)
- **規格確認** (RP-HPLC、SDS-PAGE、ペプチドマッピング、等電点電気泳動、力価)
- **純度試験** (RP-HPLC、GPC、重金属)
- **定量方法** (RP-HPLC、GPC、重金属)
- その他 (含量、性状、pH、水分、エンドキシン、無菌、微生物限度、蛋白質量、**生物学的性質**)

バイオ医薬品の申請パッケージ (CMC、非臨床) (2)

品質に関する要件 (続き)

- **安定性** (規格確認試験、純度試験、その他)
長期安定性試験、加速試験、苛酷試験、光安定性試験

非臨床に関する要件

- **薬理**
- **薬物動態** (免疫反応性、蛍光抗体法)、生物活性
- **毒性** (総抗体価測定、中和抗体価測定)
- CMC+臨床
- 酵素免疫測定、**生物学的同等性試験**、抗体産生

Tabulation of Relevant Product Release Tests

Part 610 Test	Test Method	Test Timing	Specification
Sterility	Specified	Final Product	Negative
Mycoplasma	Specified	Final Product	Negative
Purity (pyrogenicity)	Specified	Final Product	Pass
Identity	Not Specified*	Final Product	Product Specific*
Potency	Not specified*	Final Product	Product Specific*
Others as needed (ex: viability, cell dose, phenotypes)	Not Specified*	Final Product	Product Specific

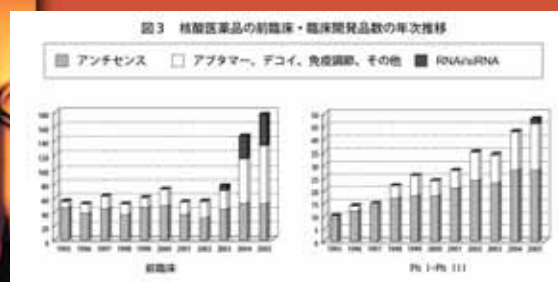
*To be developed by product manufacturer

CMC issues: Peptides & RNAi

Synthesized Therapeutics

- Regulated by FDA-CDER (2002-)
- Nucleotide acids
- Peptides (excl. vaccines)
- Protein Therapeutics
- Monoclonal antibodies

核酸医薬品の開発状況



出展：医薬産業政策研究所 政策研ニュース No.19 (2006/2)

Biologics Development in the US (RNAi)

Companies

Target disease

◆Acuity Pharmaceuticals	AMD (Phase II)
◆Alnylam Pharmaceuticals	AMD (Phase I) Respiratory syncytial virus (Phase I) Parkinson's disease (preclinical study)
◆Sirna Therapeutics	AMD (Phase II) hepatitis B,C (preclinical study) Asthma (preclinical study) Diabetes (preclinical study) Dermatology [Hair removal] (preclinical study)
◆Intradigm Corporation	Cancer (preclinical)

AMD, Age-related Macular Degeneration

CMC issues : Gene therapy

Components Used in Product Manufacture

- Vector
 - Viral bank/plasmid stock
 - Testing for safety and characterization
- Cells
 - Cell bank system
 - Testing for safety and characterization
- Other Reagents/Devices Used During Manufacture
 - Qualification program

Product Manufacturing

- Vector Production/Purification Methods
- Formulation of Final Product
 - formulation buffer
 - excipients
 - vector concentration
- Storage
- Report modifications to manufacturing and demonstrate comparability

Product Evaluation

- Demonstrate Safety and Quality of Product.
 - Testing
 - Safety (Sterility, Adventitious Viruses, Endotoxin, Mycoplasma)
 - Characterization (Identity, Purity, Potency, etc.)
- Demonstrate control of the Manufacturing Process.
 - Quality Assurance/Quality Control Program
- Demonstrate Product Consistency.
 - Specifications

Master Cell Bank

- Safety Testing
 - Sterility
 - Mycoplasma
 - Adventitious Virus
 - in vitro and in vivo virus
 - bovine and porcine viruses (or certified reagents)
 - specific human pathogens (human cell lines)
 - EBV, HBV, HCV, CMV, HIV 1&2, HTLV 1&2, AAV, B19
 - Others as appropriate for cell line
 - MAP Testing (murine cell lines)

Final Product: Safety

- Sterility
- Mycoplasma
- Endotoxin
- Adventitious Virus
 - In vitro virus
 - RCV
 - For adenoviral vectors current requirement is for <1 RCA in 3 X 10¹⁰ vp.

Final Product Characterization (cont)

- Purity
 - cell substrate DNA, RNA, protein, other reagents used in manufacture
- Potency
 - Qualified assay required by end of phase II
 - Assay should reflect intended biological effect of product
- Stability
 - Collect data early and often.
- Development of Lot Release Specifications

Approaches to Release Testing (1)

- Sterility
 - **Regulation:**
 - 14 day sterility assay on final product
 - Entire contents of one vial
 - **Approach:**
 - Reagents all sterile
 - Sample 48-72 hours or after last manipulation
 - Sample final product & initiate 14 day sterility culture
 - Results of Gram stain available
 - Action plan in the event of positive for microorganisms

Approaches to Release Testing (2)

- Mycoplasma
 - Regulation: 21-28 day culture, 5-7 day fluorescent
 - Approach: PCR (6-8 hour test)
- Potency
 - Normally: bioassay
 - Approach:
 - correlate the quantitative level of a phenotypic marker with a bioassay

CMC issues: Cellular & Tissue Therapies

細胞製剤としての特徴につき IND申請に含まれるべきこと

1. 細胞 - allogenic, autologous
細胞ソース、修飾プロトコル、採取方法、ドナースクリーニング、病原体検査 (allogenic)
2. 細胞バンクシステム Master Cell Bank (MCB)、Working Cell Bank (WCB)
安全性、アイデンティティ、純度、安定性
細胞の活性度、培養条件、保存条件、継代後のフェノタイプの安定性
3. 試薬
最終製剤に含まれないこと (FBS、トリプシン、成長因子、サイトカイン、抗体、抗生物質など)
ソース、質、品質保証 (CoA)
4. コンビネーションプロダクト
SOPPガイドラインが公布済み
Office of Combination Productsによるコーディネイト

細胞製剤としての製造につき IND申請に含まれるべきこと

1. 細胞の準備
採取方法、閉鎖システムか否か、放射線により増殖不能にしても必要な特性を維持しているか、ひとつひとつのプロセスにかかる時間
2. 最終段階での回収
遠心、洗浄の状態と方法
3. 最終製剤の組成
細胞の濃度、運搬データ

細胞製剤としての評価につき IND申請に含まれるべきこと

1. 微生物の混在
Sterilityテスト、テスト時期、マイコプラズマ
外来性病原体については *in vitro* (ウイルスによる細胞感作)、*in vivo* (マウス、卵)
2. アイデンティティ
複数の細胞が使用されている場合、区別が必要、細胞表面マーカー、遺伝子多型
3. 純度
製造に使用した試薬の混在、エンドキシンレベル (Pyrogenicity)
<8 EU/kg 体重 / dose
4. 力価・活性
相対的生物学的機能の評価、Phase 2終了時までに測定法を開発すること
5. その他
細胞治療薬に General safety は不要、バイアビリティ (> 70%)、細胞数 (ドーズ) の最小量、最大量とその理由

cGTP (current Good Tissue Practice)

- 米国では、ヒト由来の細胞を用いた製剤に関してcGTPが設けられている。また医薬品の製造に関しては21 Code of Federal Regulations Parts 210 and 211においてcGMPが制定されている。

項目	cGTP	cGMP
組織と人員	1271.170項	subpart B
手順(リスク回避: 感染拡大の防止措置)	1271.180項	subpart F
施設(清潔、衛生、コンタミネーション回避)	1271.190項	subpart C
環境コントロール(コンタミネーション回避: 温度、湿度、換気、除菌、メンテナンス)	1271.195項	subpart C
設備(必要機器の設置、清掃、メンテナンス、校正)	1271.200項	subpart D
製造の管理	1271.220項	subpart F
作業工程中のラベリング	1271.250項	subpart G
人際と出荷(感染症検査、コンタミネーション、梱包)	1271.265項	subpart E, H, K
記録記録の管理、保存	1271.270項	subpart J
不具合の報告(記録、再調査と評価)	1271.320項	subpart J
製造者の脱色	1271.350項	subpart J
製品のラベリング	1271.370項	subpart G
cGTP subpart Cに關する)除外、代替の申請	1271.155項	
品質プログラムの設立と維持(施設設備、教育、モニタリング、検査など)	1271.160項	
確品と試薬(適合性の検査、試薬のロット確認)	1271.210項	
製品の修正(修正時の感染の防止)	1271.215項	
製造の改善	1271.225項	
製造のパラメーション	1271.230項	
設備(コンタミネーションの防止、温度、湿度)	1271.260項	
トラッキング(製造工程の追跡、廃棄後の追跡)	1271.290項	
21 CFR 211 PHS Actにらびに本項目の規制の適用	1271.300項	
FDAによる検査	1271.400項	
HCT/PSの輸出入	1271.420項	
製品の保持、リコール、破損品、製造停止の処置	1271.440項	
品質管理部門の責務(製品の安全性、同一性、濃度、有効性、純度など)		211.22項
製造工程における原料の算出		211.103項
加工中の原料および製品のサンプリングと試験(重量、分装時間、均一性、同質性、溶解時間および速度、溶解性、完全性、溶液のpHなど)		211.110項
製造工程の終了までの期間設定		211.111項
QCにおける不正開始防止の監視		211.132項
人薬手帳		211.142項
安定性試験(保管温度、期間の推定など)		211.166項
特別試験(熱震、パクロフェンフリー試験など)		211.167項
予備品の試験、保存		211.170項
試験動物の管理		211.173項
ベニシリンの非コンタミネーション確認試験		211.176項
100%の同一性保証のためのテスト-製品と個別製品の記録(名前、濃度、有効性、測定、測定、測定)		211.186項
製品記録の記録(日付、個別製品の同一性、測定、測定など)		211.188項

GTP and GMP

- cGTPでは試薬、製品についてPHS Actに基づいているかどうかの適合性を要求しているのに対してcGMPでは該当する項目はない
- cGTPではHCT/PSの使用後についても追跡が可能となるように個別化、追跡記録について明記していること、そして、これらのcGTP規則についてFDAの査察および相談ができることが定められている
- cGMPでは、品質部門を製造部門とは別に設けること、検体の採取および所定の試験検査を実施し、製品の安全性、同一性などの性状に関して品質管理を行うことを規定している

Ancillary Materials

- Cytokines, growth factors, culture media, plasticware, etc.
- Human clinical grade materials, e.g., U.S. Pharmacopeia (USP) or FDA approved
- The origins of all materials used

Quality Control & Quality Assurance

- The environment surrounding the class 100 biological safety cabinet to conform to class 10,000
- GTP/GMP compliance audit of the manufacturing facility
- Validation of aseptic processing
- Personnel training, e.g., process simulation

がん原性試験の実施が必要な医薬品

- 臨床での使用が少なくとも6ヵ月以上継続される場合
- がん原性が懸念される場合
 - 遺伝毒性試験の成績からがん原性が懸念される場合
 - 同種同効の医薬品にヒトに関連するようがん原性が知られている場合
 - 構造活性相関から遺伝毒性またはがん原性が示唆される場合
 - 反復投与毒性試験において前腫瘍性変化等がみられる場合
 - 親化合物(未変化体)または代謝物が長期間組織に停滞し局所の組織変化あるいは病的変化を引き起こす場合

試験項目

1. げっ歯類を用いる長期がん原性試験
2. 短期・中期in vivoげっ歯類発がん性試験
1と2、または1をげっ歯類2種で実施

厚生労働省ガイドライン
げっ歯類を用いる長期がん原性試験

動物種: ラットを推奨
投与期間: 24-30ヶ月(ラット)
動物数: 雌雄各50匹/群
用量段階: 3段階以上と対照群
曝露経路: 臨床適用経路が望ましい
検査: 全例について剖検し、器官・組織の肉眼的観察を行う
病理組織学的検査: 最高用量群と対照群の全例及び死亡例等

細胞製剤による腫瘍原性(1)

細胞製剤による腫瘍原性については、日本の医薬審326号(平成12年)では、ICHの合意に基づいて個々の対応と書いてあるが、FDAでは原則としてathymicヌードマウスの皮下に細胞を移植し、3(6)ヶ月間腫瘍ができるかを観察することが求められている。

細胞製剤による腫瘍原性(2)

- FDAの考え方の推移について
 - 実効性のあるガイドラインとしては、PTC: "Points to consider in the characterization of cell lines used to produce biologicals"(1993年)
"athymicヌードマウスの皮下に細胞を移植し、3ヶ月間腫瘍ができるか"
- 試験方法についてはその後いろいろと議論があるようで、最近はこのPTCに書かれている方法を改良した試験法が良いと考えられている。
- さらに、2006年9月に公布された
Characterization and Qualification of Cell Substrates and Other Biological Starting Materials Used in the Production of Viral Vaccines for the Prevention and Treatment of Infectious Diseases
ドラフトガイダンスにて、催腫瘍性のためのテスト方法が書かれている。

Guidance for Reviewers: Instructions and Template for Chemistry, Manufacturing, and Control (CMC) Reviewers of Human Somatic Cell Therapy INDs

Draft Guidance, FDA-CBER (August 2003)

Guidance for FDA Review Staff and Sponsors: Content and Review of Chemistry, Manufacturing, and Control Information for Human Gene Therapy Investigational New Drug Applications.

Draft Guidance, November, 2004.

CMC issues: Cancer vaccines

Cancer Vaccines

- Cellular
- Tumor lysates
- Purified proteins including fusion and conjugated proteins
- Miscellaneous products such as KLH
- Bacterial lysates or bacterial cell wall products
- Peptides (<30 aa)
- MAbs and cytokines used solely as an ex vivo constituent in manufacturing a biologic
- Anti-idiotypes

Procedures used in manufacturing (DC immunotherapy)

- Isolation of monocytes
- Production and harvesting of DC
- Antigen protein loading of DC
- Formulation, filling, and cryopreservation
- Release testing

General Issues with Cellular Cancer Vaccines (1)

- Radiation- dose
Proliferation incompetent auto or allo tumor cells, DC-tumor for vaccine or DTH testing
- Purity and Identity
 - Phenotype of source and final product
 - Acceptable activation markers for DC; include several
 - Other cellular contamination acceptable; include many markers for identity

General Issues with Cellular Cancer Vaccines (2)

- Potency (functional assessment of activity)
 - Antigen presentation
 - Ability to induce immune response (e.g., proliferation of allo responder cells, production of cytokines by responder cells, cytotoxicity or any other correlation with biological activity)
- Potency assay in place at phase I/II and established at Phase 3

General Issues with Cellular Cancer Vaccines (3)

- Patient segregation and tracking
- Screening of donor for human pathogens
- Labeling (Caution: New Drug - Limited by Federal Law to investigational use)
- Yearly manufacturing summary reports - include all lot release data and characterization of product in tabular form
- Quality Assurance/Quality Control

Purified Proteins, Peptides and Others

- Recombinant DNA derived Tumor Antigens
- Heat shock proteins
- Idiotypic and Anti-idiotypic Antibodies
- Fusion Proteins (heat shock protein-peptide)
- Synthetic Peptides
- Gangliosides and KLH or conjugates with saponin adjuvant mixed with cytokines
- Tumor cell lysates and shed/secreted Tumor Antigen

Elements of cGMP

- Adequate documentation/records
- Quality control/assurance
- Production and process controls
- Personnel training & certification
- Environmental monitoring
- Equipment calibrated/qualified
- Facility design to control operations
- Validation



U.S. Food and Drug Administration



Guidance for Industry:

INDs - Approaches to Complying with cGMP During Phase 1

(Draft Guidance)

FDA-CDER&CBER

January 2006

Background

- 1978年9月の医薬品・生物製剤に関するcGMP通達 (21CFR 210・211) は市販後の製造を念頭においたものであった。
- 1991年 Guideline on the Preparation of Investigational New Drug Products (Human and Animal) ではスモールスケールや研究室レベルでの製造は念頭に置かれていなかった。 incremental approachが必要
- 本ガイドラインでは、研究室レベル・Exploratory studies・multi-product・multi-batchテストといった状況下や、生物(工学)製剤・無菌製剤への適用を想定している。

Scope

- Investigational (未承認) の合成およびnon-recombinantの治療用製剤、ワクチン、アレルゲン、体内診断用製剤、血漿由来製剤、血液・血液成分、遺伝子治療、体性細胞治療、xenotransplantationが適用となる。
- < 適用外 >
- PHS actのSection361のみで規定されるヒト細胞あるいは組織製剤
- デバイス
- Phase 2&3用の医薬品・生物製剤
- 既に承認を受けている医薬品・生物製剤を適用拡大などのためにPhase 1にて用いる場合