

「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」に関する質疑応答

都道府県衛生主管部(局)薬務主管課宛事務連絡

平成元年 5 月

(問 1) 本通知中に用いられている「例えば」、「可能な限り」、「必要に応じ…」等の表現は、実施する事項の選択、実施する程度、実施方法に幅を持たせたものと理解してよいか。

(答) 本通知は、WHO、FDA、EC から出されている文書を極力参考にして整合性をとるよう努力してきた。ただし、本通知のみで、いかなる細胞培養医薬品にも対応できるよう網羅的に書かれているため、個別のケースを取り上げ、本通知をあてはめると、過度と思われる部分、不適切な部分、また、検討項目を追加した方が合目的的である部分などがある。従って、個別に書かれた欧米のそれらとの間にはかなり差異があるように見える。しかし、個別の特殊なケースでは、その生産物の特性、臨床適用法などを考慮して、本通知に書かれたことのなかから合目的的に項目を取捨選択し、添付資料を作成すべきと言う解釈で本通知を作成した。また実際の承認審査でも個別にみた場合、欧米と極端に違わないレベルのデータ要求度で審理されている。

本通知中に用いられている「例えば」、「可能な限り」、「必要に応じて…」という表現は、前述の考え方に基づいて使用されている。つまり、これらの表現は、実施する事項の選択、実施する程度、実施方法に幅を持たせたものであり、このケースバイケースの原則を up to date の科学情報をもとに充分考慮されたい。

#### 1. 一般的事項

(問 2) 本通知と組換え DNA 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(薬審第 243 号)との間に相違点がある場合、どちらを優先すべきか。

(答) 本通知(薬審 1 第 10 号)が適用できるところは本通知を優先する。

(問 3) 既承認の細胞培養でない方法で製造された医薬品と全く同一のものを、細胞培養で製造する場合、両者の比較は何をすればよいか。

(答)1. 非臨床試験は毒性の一般的留意事項ニ. 1. (5)、ホおよびへ. 10 を参照すること。2. 臨床試験における両者の比較については適切な方法で確認されたい。

(問 4) 欧米のガイドラインとの整合性は考慮されているか。

(答) 本通知作成の時点で、最新の情報を入手し整合性を図っている。ただし、欧米のガイドラインは医薬品の種類ごとに作成されているが、本通知は全ての種類の医薬品を包含するように作成している。

(問 5) 欧米で承認されたこれらの医薬品の国内承認申請に、当該国での各種資料を利用できるか。

(答) わが国の審査基準や各種通知などに適合しているものは利用できる。

(問 6) 体外診断用医薬品に用いるモノクローナル抗体についても、本通知が適用されるか。

(答) 体外診断用医薬品については、本通知は適用されない。

(問 7) CCL 細胞(continuous cell line)を種細胞株として使用可能かどうか。

(答) 可能である。但し、いかなる CCL も無原則に使用可能というわけではなく、使用する CCL をいかに characterize し、いかに管理するかが重要である。また、CCL 由来の医薬品における CCL 使用に関連して生ずる安全性の問題をクリアしていく必要がある。

## 2. 用語の定義

(問 8) すでに樹立されている細胞株をクローニングすることにより、医薬品として有用な物質を効率よく産生するクローンが分岐された場合、新たにクローニングされたクローンは「種細胞株」とみなしうるか。また、他研究者が樹立した細胞株が医薬品製造の基材となりうることを見出した場合、その細胞株をどのようにして「種細胞株」とすれば良いか。

(答)1. 新たなクローンは新たな種細胞株とみなす。新たな種細胞株については必要な各種検討を行うこと。

2. 本通知ロ. 1. (1)に従って種細胞株の由来及び特性を明らかにすること。

(問 9) 「マスター・セル・バンク」より直接製造用細胞が得られるような場合には「マスター・セル・バンク」を「製造用細胞バンク」として使用することは可能か。

(答) 可能である。

(問 10) 「一定の培養条件下で最低限の継代数」の具体的範囲とは何か。

(答) 細胞株の特性により異なるので、本通知の趣旨を理解して、個別に設定されたい。

## 3. 添付資料の範囲の取扱い区分について

(問 11) 開発途上での製造方法の変更はどう取り扱われるか。

(答) 承認申請のためのデータは、承認を受けようとする製造方法(種細胞株、培養方法、精製方法)により生産される医薬品の品質、有効性、安全性を担保するものであるため、原則として、変更後のデータが必要である。ただし、製造方法の変更前後の有効成分の同一性(例えば、物性、生物活性等)に関して、十分適切な情報が得られていれば、有効成分そのものにかかる変更前のデータのうち、非臨床生物試験のデータを使用することは可能である。

(問 12) 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

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

上記の「異なる」とは具体的にどういう意味か。

(答)「異なる」とは既承認の細胞培養医薬品の承認書の内容と異なる場合である。なお、承認申請書の製法欄には製造方法に関する事項を詳細に記載すること。

(問 13) 培養の方法、精製の方法が異なっても規格が同一の場合には、同一の医薬品と考えられるか。

(答) 規格の同一性のみをもって同一医薬品と考えることはできない。この種の医薬品の品質確保は、製造方法の一定性と、生産物に関する試験、解析のセットではじめて、目的が達せられるということであり、製造方法が異なれば、その時点で改めてバリデーションなり、試験なりが必要である。すなわち、Lot ごと品の品質の恒常性維持にしても、製造方法の一定性を前提にした上で設定した規格で管理がなされなければならない。規格及び試験方法が、製品に関するあらゆる品質、すなわち有効成分における不変性、あるいは adventitious agents や不純物の種類や量に関するすべての保証をしている訳でもないし、そのようなことは不可能である。承認申請時に提供された製造方法に関する詳細なバリデーションに関するデータを信頼し、それを前提として承認することが大原則である。従って、製法、精製法が変われば、品質、有効性、安全性に関する保証が変わる可能性があるため、改めてある程度のデータの取り直しが必要となる。換言すれば、製法、精製法の変更により、有効成分もその過程で変化する可能性が生じる。例えば、細胞培養法により製造されるインターフェロン  $\alpha$  のように、複数の成分からなる場合、精製法如何では、最終製品に入ってくる種類や組成比も変化する可能性がある。規格では、抗ウイルス作用により力価検定を行っているが、各成分の抗ウイルス作用と抗腫瘍作用は必ずしもパラレルとはいえないのでやはり臨床的(あるいは薬効学的)な検討が必要である。

結論として、規格は、製造方法の妥当性やプロセスバリデーションのデータ及びその製法によって製造された製品の有効性、安全性のデータを勘案して、定められるべきものである。従って、製法の変更により規格の見直しも必要であることも多い。規格さえ従来のものに適合していれば良いという考え方は考慮さ

れるべきでない。(問 14)「構造決定」に関する資料については、かならずしも可能ではないので、その場合は「構造に関する査料」でよいか。また、「不純物」について、不純物のみを取り出して試験するのか、あるいは不純物を含むバルクで試験をするのか。

(答) 1. 構造決定が可能でない場合のみ、それに代わるものとして構造に関する資料で差し支えない。ただし、現行の科学水準からみて妥当、常識的なレベルである必要がある。

2. 当該毒性評価が可能ならば、不純物を含むバルクで試験してよい。

(問 15)「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カ所以上、1カ所当たり20例以上)」について効能効果が複数ある場合、効能効果にかかわらず、必要な例数検討すればよいのか。

(答) 効能効果にかかわらず、まとめて必要な例数で検討すればよい。ただし、別のプロトコールによる臨床試験が必要なほど効能効果が異なる易合は、それぞれの主効能について検討することが望ましい。

#### 4. 添付書類の作成方法について

イ. 起源又は発見の経緯及び外国における使用状況等について

(問 16)「同種の細胞培養医薬品」の範囲を明確にしてほしい。

(答) 基本的には同一の化学構造のものがこれに該当する。しかし、細胞培養医薬品の場合には化学構造が同一でなくても同じ作用を持つものがあるので、それらは同種の中に考えられたい。

(問 17) 例えば細胞培養によらないで製造した同種の医薬品が、外国において開発または承認されていた場合、区分イで説明することを要しないと理解してよいか。

(答) このような場合にも原則として必要であると考ええる。

(問 18) 製造方法について欧米での申請項目に含まれない項目があるか。その場合、導入品について追加試験が必要か。

(答) 欧米での申請項目に含まれていない項目がある可能性もある。従って、場合によっては追加試験の必要なこともありうる。

(問 19) 細胞の樹立の経緯について未発表の細胞株は、医薬品製造用基材となりうるか。また、樹立されている細胞株をクローニングすることにより、医薬、製造用基材となりうるクローンが分離された場合、その細胞の由来、樹立方法、継代歴等としてクローニング時の記録を示せば良いのか。

(答)1. 原則としてなり得ないが細胞の樹立の経緯については添付資料で十分明らかに出来る場合もあると考えられるので、この場合には個別に相談されたい。

2. クローニング時の記録及び細胞株が樹立されるまでの知り得る経緯も記載する必要がある。

ロ. 物理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

(問 20) 細胞の特性の各項目についてどの程度まで明らかにすべきか、具体的な実施方法をガイドラインとして示していただきたい。

(答) 具体的な実施方法については、当面は WHO その他の指針を参考にされたい。なお、本通知の記載項目は、あくまで例示に過ぎない。

本項目の目的は、製造方法の一定性を守る最も重要な種細胞株の特性を充分把握するためのもので、細胞株ごとに適切と思われる項目を選び、適切な方法で、詳細に検討されたい。また、通知の例示以外でも、特性の記載に必要な項目があれば採用すること。

どの程度まで資料を必要とするかは、その細胞株自体を医薬品製造基材として、安全性、有用性の観点からどのように評価するか、またどの様な大量培養方法を選択し、どの程度まで厳密に細胞の安定性をチェックする必要があるか、など各種条件によって異なるので一律にはいえない。

(問 21)1. 細胞の特性の「造腫瘍性」の試験に関してどのような試験法を用いたらよいか。宿主としてヌードマウス以外の動物を用いる場合、免疫抑制剤は使用できるか。

2. 造腫瘍性のデータはどのように評価されるのか。造腫瘍性がある場合はどのように評価されるのか。

(答)1. 試験法に関しては、WHO や FDA の指針に準拠されたい。ヌードマウスに加え、他の動物を用いる場合、免疫抑制剤の使用は可能である。

2. 目の目的は、造腫瘍性の程度又は有無を正確に把握することである。造腫瘍性の程度の大幅な変化又はその有無に変化が生じた場合、細胞特性に変化が起こったという指標となり、細胞株の安定性上、疑義が生まれる。

(問 22) in vitro で増殖・継代してきた細胞株を動物を用いる方法で増殖させた場合、細胞の表面マーカー等一部の細胞特性において、細胞の増殖方法に特異的かつ reversible な一定の変化が常に観察されるような時、この変化は細胞の増殖方法に由来する変化とみなし、細胞株としての安定性は保持されていると考えることができるか。

(答) 原則として細胞株の安定性は保持されていると考えることができる。

(問 23)「医薬品製造条件を超えて増殖された細胞」について、「条件を超えて」を具体的に示されたい。

(答) 製造用細胞バンクから起こして、細胞を増殖させ、通常、医薬品を製造する条件をさらに超えて増殖させても、なおその細胞は安定であるという保証を得ておいて、製造方法の恒常性、つまり生産物の恒常性を保証しようということである。

例えば、実際の医薬品の製造を 20PDL 付近まで増殖させた細胞で行うとすれば、30PDL 又は 35PDL 程度まで増殖させた細胞がこれに該当するであろう。

(問 24) 細菌、マイコプラズマ、真菌の「混入を否定」について具体的に示されたい。例えば培養細胞の顕微鏡写真で評価してもよいか。

(答) 細菌、マイコプラズマ、真菌の混入の否定については、たとえば生物学的製剤基準の一般試験法や WHO の指針に準拠すれば良い。またこれらに加え、標準培地で増殖しにくい微生物を検出するために電顕で検査することも考えてよい。

(問 25) 検討すべきウイルスについて、具体的ウイルス名とそのチェック方法を示されたい。

(答) 具体的ウイルス名については、現在のところ公式の資料は整備されていない。また、チェック方法については、当面、わが国の生物学的製剤の生ウイルスワクチンの外来ウイルス等否定試験、WHO、FDA、あるいは EC の指針の中で述べられているような対象や方法を参照されたい。

(問 26)「合理的理由がある場合を除き、その存在を否定すること」の「合理的理由」を示されたい。例えば、種細胞(又は組換え体の場合には宿主細胞)が樹立された細胞株であり各研究機関等で長期に使用され、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関して、報告例がない場合は、合理的理由に該当すると考えてよいか。またその細胞が由来した動物に存在が予想されるウイルスが非病原性であるのであれば、合理的理由に該当すると考えてよいか。

(答) 由来動物に存在が予想されるウイルスは基本的に否定すべきである。従って、ウイルスの存在する細胞の使用は例外的な処置であり、「合理的理由」とはきわめて有用な医薬品を生産する細胞であるが、ウイルスフリーとしては樹立困難な場合、又は他に代え得るべき細胞株が存在しない場合など万やむを得ないことを示す。質問中の例だけでは合理的理由となりえない。

なお、やむを得ずウイルスの存在する細胞株を用いる時は、そのウイルスを可能な限り明らかにし、また精製工程などでの不活化、除去に関するバリデーションを明確にする必要がある。さらに、最終製品についてその存在を否定せねばならない。

しかしながら、ウイルスの種類によっては、いかにプロセスバリデーションをしようとも、ある種のウイルスを含む細胞はヒト用医薬品の製造基材としてはそもそも使うべきではない。FDA、WHO、EC などの混在ウイルスに関する資料を参照されたい。

(問 27) ウイルスに着目した検討において、感染性を失ったウイルスの感染、ウイルスゲノム断片が染色体に組み込まれている場合、および、形質転換にウイルスゲノム断片を用いた場合について説明されたい。

(答)1. 感染性のウイルス粒子として発現しない、複製しないという試験を実施すること。

2. プロセスバリデーションを行って精製過程が不活化、除去に有効であることを検証しておくこと。

3. 最終産物での残存DNA量の試験、という組み立てで安全性を立証すれば、医薬品製造の細胞基材として使用する事はさしつかえない。

(問 28) レトロウイルス等の内因性病原体について、その存在の有無を検討、方法は Points to Consider(FDA)に準拠してよいか。また「適当な誘発処理」とはどのようなものか。

(答) FDA あるいは EC 等で述べられている方法を参照されたい。誘発剤としては BdUR、IdUR などがある。

(問 29) レトロウイルス等の内因性病原体の存在の有無について、マスター・セル・バンク及び医薬品製造条件を超えて増殖された細胞の両段階で実施する意味は何か。

(答) 継代中あるいは大量培養する過程でなんらかの要因で誘発される可能性があるため、両段階で試験すること。

(問 30) 逆転写酵素活性の有無は、活性そのものを調べるのか、抗体を使った蛋白自身の測定を行うのか。

(答) 活性の有無を調べればよい。

(問 31) 精製工程について、どの程度詳細に記載すればよいか。

(答) adventitious agents その他不純物の不活化、除去に関する情報が得られるよう出来るだけ詳細に記載されたい。

(問 32) 「分離方法・効率を明らかにする」ということは、総ての段階の分離効率を示すことか。

(答) 必ずしも総ての段階で示す必要はない。ただし、とくに問題となる特定の不純物については、どの段階で分離され、あるいはどのような効率で除去されるという情報を提示すること。

(問 33) 「製造方法にウイルスを用いる場合」とは、ウイルスで誘導することと解釈してよいか。また「内因性ウイルス」とはどのようなものか具体的名称を示されたい。

(答)1. ウイルスで誘導する場合のみとは限らない。

2. レトロウイルスあるいは染色体に組み込まれた形の EB ウイルスなどをさす。

(問 34) 「レトロウイルスの存在の否定」について、検出法はハイブリダイゼーション法に限るのか。

(答) 特にハイブリダイゼーション法に限らないが、試験の目的にかなうということであれば、他の試験でもよい。

(問 35) 「レトロウイルスの存在の否定」に関し、否定に必要な検出限界の設定値の具体的数値とその根拠を示されたい。

(答) 検出は最新の技術で実施すること。

(問 36) 目的産物におけるウイルス否定について、製造に用いる細胞でのウイルスの存在が否定されていても行う必要があるのか。

(答) 細胞レベルで否定されていれば、目的産物のレベルで否定試験を実施する必要はない。

(問 37) 細胞の増殖に動物を用いる易合、その動物種に存在が予測されるウイルスについて、飼育中の動物で存在が否定されていても、目的産物についてウイルス否定試験が必要なのか。

(答) 種細胞株やマスター・セル・バンクの場合は、一度否定しておけば良いが、動物の場合には、動物個体が変わるのでこのような扱いはできない。使用する総ての動物についてその都度、個体毎にウイルス否定試験を行うならばそれでもよいが、むしろ目的産物レベルで実施する方が容易である。

## 2. 構造決定及び物理化学的性質等について

(問 38) 構造・組成について、導入品についても、これらの項目を総て網羅する必要があるか。

(答) 本通知中の「例えば」の趣旨を理解し、必要な項目は網羅されたい。

(問 39) 構造・組成の項における「アミノ酸組成」及び「ペプチド分析」について、規格の項における「構成アミノ酸」及び「ペプチドマップ」との違いは何か。

(答) 「アミノ酸組成」とは、構造決定のためのものであり、生産された目的タンパク質に含まれる全アミノ酸を検出、定量し、タンパク質当りのそれぞれのモル濃度、つまりアミノ酸組成を明らかにすることを意味している。従って、場合によっては、いくつかの加水分解法や定量法を組み合わせる必要がある。規格の項の「構成アミノ酸」とは、Lot by Lot の品質管理のためのものであり、例えば、代表的な一つの加水分解法を用いて検出可能なアミノ酸相互の相対的モル比で表すこともできる。

また、「ペプチド分析」とは、構造決定のための手段であるから、適切な分解法で各ペプチドに分離した後、場合によっては各ペプチド断片のアミノ酸組成・アミノ酸配列などを調べ、それらの結果を総合して、

タンパク質全体の構造決定の資料とする事を目的とする。一方、「ペプチドマップ」は規格であるから、タンパク質を分解後、各ペプチド断片のマップ、例えば、HPLC 法で行うときはそのパターンを然るべき標準物質由来の HPLC パターンと比較することを意味している。

(問 40) 「特異的な抗体との反応性」について、用いる抗体の規格はどのようなものが必要か。

(答) 免疫化学的性質として、抗体を利用しようとするそれぞれの試験の目的に叶うような特異性を有している抗体であることが表現できるような規格であればよい。

(問 41) 「疑似抗原に対する交差反応性」における「疑似抗原」の意味を示されたい。また、「疑似抗原」の設定はどのようにすれば良いか。

(答)「疑似抗原」とは、当該モノクローナル抗体が本来目的とする抗原以外で、アミノ酸あるいは糖鎖構造等にホモロジーをもつために、同一のエピトープ、あるいは立体構造が近似な抗原エピトープを有し、当該抗体と反応するものである。即ち、ある特異抗体と反応する標的抗原以外の抗原のこと。

また、抗体を投与した時に目的とする組織・細胞以外で同一の抗原エピトープを有する可能性があり、交差反応するかもしれない組織や臓器を設定対象として考慮すべきである。

なお、FDA や EC の指針に記載されているので参照されたい。

### 3. 規格及び試験方法について

(問 42) 規格及び試験方法について、いかなる場合でも全項目を実施する必要があるのか。(答) 規格及び試験方法については、「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」という趣旨をよく理解されたい。従って、個別項目について設定が必要かどうかは、それぞれ具体例にあたって考えないと一律には答えられない。規格の設定は、製剤の種類、長期連用するホルモンのようなものか、連用しないワクチンのようなものかなどもによっても必ずしも一律にならない。

ただ、そうした中で、「必要に応じ」と断り書きしてある項目は、試験に必要なサンプルの量の問題、試験の意義などから、比較的ゆるやかな考え方でもよいと思われる項目を示していると解釈していただきたい。

また、規格は全体として目的とする医薬品の品質の恒常性を図るためのものであるから、例えば、他の項目で医薬品の品質の確認がある程度なされていれば、確認試験の比重は相対的に軽くなり、同一原理の、同一趣旨の試験をそれぞれ別の項目で重複させる必要はない。

(問 43) 同種の既承認生物学的製剤が存在する場合、生物学的製剤基準との整合性について示されたい。

(答) 新規製品については、まずこの通知の趣旨に沿って構成し、生物学的襲剤基準として設定するのが適するものと、基準外規格として設定するのが適当なものに区分けして、基準を作成すること。

(問 44) 確認試験の項の説明では理化学試験による確認が必須のように受け取れるが、必須なのか。また、理化学試験とはどのような試験をさすのか例示されたい。

(答) 理化学試験を第一義の試験として考えられたいが、規格全体の中でその製品をどう確認するか、ということであるから、他の項目で十分な理化学試験を用いている場合までは必ずしも理化学試験が必須と考える必要はない。

理化学試験として代表的な方法をあげるとすれば、HPLC 法や電気泳動法がまず考えられる。

(問 45) 構成アミノ酸は規格として必須か。

(答) 分子量の大きな蛋白質の場合は、ペプチドマップの方が合理的と考えられるが、それ以外の場合は、原則として構成アミノ酸は設定されたい。

(問 46) 原液(原体)に、人血清アルブミンなどの蛋白質が含まれている場合、原液の規格として構成アミノ酸、ペプチドマップは必要か。また、薬剤の有効成分が複数の糖蛋白から成る場合も構成アミノ酸、ペプチドマップの規格が必要か。

(答) 具体例によって判断せざるを得ないが、その際、規格の他の試験項目との兼ね合い、分子量などの物性にもよるが、原則として実施されたい。ただし、構成アミノ酸、ペプチドマップの両方は必ずしも必要ではない。

また、複数の糖蛋白の場合も、技術的に可能であり、かつ必然性があれば実施すること。

(問 47) 重金属、ヒ素の試験はどのような場合に省略可能か。また、試験量が少なくて済む変法規定は可能か。

(答) 重金属、ヒ素は本通知の中で、「製造方法または用法・用量等を勘案して」と記載している。これは実施しない理由の事例であり、それを合理的に説明すれば良いということである。実施せざるを得ない場合は、当然変法規定は可能である。

(問 48) 「生物学的活性試験」は定量法の「生物学的活性試験」と同一の規格項目として設定してよいのか。

(答) 規格全体として考えるから、定量法で同じ生物学的活性試験を設定している場合は、特に重ねて設定することはない。

(問 49)「発熱性物質試験」は「毒性について」の項における「発熱性物質試験」とどの様に異なるのか。

(答) 規格として設定する発熱性物質試験は、「毒性について」の項のいろいろな基礎的検討結果もふまえた上で、ある一定の投与量の、1種類の試験を行うことで良いが、「毒性について」の項では、各種用量、各種試験方法での発熱性に関する基礎的検討を行う必要がある。また、発熱機構についての考察が求められる場合がある。

(問 50) 力価(活性)と相関する免疫学的測定法が存在する場合には、含量の試験方法としてこれを採用できるか。また、免疫学的測定法が可能な場合には、生物学的活性試験を省略できるか。また、安定性試験での測定項目として力価(活性)の代わりにこれを代替することは可能か。

(答) 定量法として、免疫学的方法の採用は可能である。ただし、免疫学的測定法を採用する場合は、半定量的な生物学的活性試験を行う必要がある。

また、安定性試験で免疫学的測定法を含量の試験方法として採用することは可能だが、少なくとも試験開始時と終了時に力価(活性)を測定して、生物活性面で経時変化がないことを確かめておく必要がある。

## 二. 毒性について

(問 51) II、二、4、5、6、7、8、9 「合理的な理由」についてその考え方を示していただきたい。

(答) 個別のケースについては、申請者の側で考慮すべきものとするが、下記の点も参考となる。

- ・製品の種類、特性:例えば薬理作用、作用機序、生理的濃度で薬効を期待するものか、薬理的量で薬効を期待するものか、天然型かあるいは天然型とのかけ離れ具合、ホルモン、酵素、成長因子、サイトカイン、モノクローナル抗体あるいはワクチンといったものかということがあげられる。なお、効かすのは生理的量であっても、その局所(例えば中枢神経系)での有効濃度を達成するために全身的に過剰に投与する場合なども考慮する必要がある。

- ・投与頻度や投与期間

- ・投与経路:外用剤と静注剤では異なる。ヒトの天然型のものでも全身的に投与する時は、本来エンドクライン的なものあるいはオートクライン的なものでは exposure されないような部位が暴露されることになる。ただ天然型であるということだけではなく投与経路も当然問題になる。

- ・投与対象:患者の年齢・性別・状態

- ・投与の目的:治療に使うのか、予防に使うのか、診断的なものか

- ・他の毒性試験や一般薬理試験、その他の非臨床試験の結果

- ・従来臨床での使用経験、その他の公表されたデータ

・不純物:理化学的試験法、あるいは免疫学的試験法などで、どの程度不純物について分析できているのかも考慮の対象になる。

## 1. 一般的留意事項

(問 52) モノクローナル抗体の安全性試験のあり方を問う。

(答)・詳細については今後の検討課題である。当面は、製剤の特性・臨床適用法などを考慮して、合理的と思われる試験の種類、項目及び方法を取捨選択して取り組んで頂きたい。

・なお、モノクローナル抗体製剤で安全性上、特に留意しなければならないことは、目的とする組織、細胞以外で、同一の抗原エпитープを有するもの、即ち疑似抗原と反応する交差反応性、Fc、補体レセプターを介した目的組織、細胞以外との非特異的結合性、あるいは未知の吸着方式での非特異的な目的以外の組織、細胞への吸着性などである。こうしたことが組織の機能に障害をおこす可能性は安全性上問題になる。

・不純物としてポリマーなど混入してくると、組織細胞への非特異的吸着が起り易くなるので、そうした可能性にも留意する必要がある。

・抗体に放射性同位元素とか毒素・薬剤を標識したものは、それなりの安全性試験の配慮が必要になるであろう。ケースバイケースということである。

・FDA 等では交差反応性の試験方法を示している。FDA では in vitro の各種ヒト組織を用いた試験を先ず実施することと、さらに in vivo の試験についても言及し、交差反応をおこす同一抗原(あるいは疑似抗原)をもつような動物がある場合には、それを利用することとしている。

(問 53) (3)の「可能な限り臨床上の用法に基づいたものとする」と(6)の関係について、もう少し詳しく説明して欲しい。

(答) 一般的留意事項の中では、(1)～(5)が(6)に優先すると考えてよい。(6)は(1)～(5)をふまえた上で、なおかつ、具体的な実施方法について合理的に選用できる部分があれば、それを参考にされたいとの趣旨であり、(6)が優先するとの意味ではない。

(問 54)・(4)の「抗体産生状況……」について

抗体を直接測定せず、被験物質が血中に維持されていることを証明することで、代用できるか。

・「産生抗体がどの抗原に由来するか」について抗原決定基を決定して、さらにその一次～高次構造を示せということか。

・「抗体が産生されにくい試験動物」とは霊長類を選択せよということか。

(答) ・「抗体産生状況……」については、直接に抗体を測定していただきたい。

・一次構造のような詳しい情報は不要である。ここは有効成分由来なのか、(有効成分由来の分解物も入るかも知れないが)、不純物由来、つまり、細胞由来、培地由来か等について知りたいということである。

・抗体が産生されにくい試験動物とは、必ずしも霊長類ということではない。

(問 55)「不純物由来の毒性……」という記述の中の「不純物」とは、製造方法に由来する有効成分以外のものも含まれるか。

(答) 不純物には、製造方法に由来する有効成分以外のものの他に、保存中に生成する分解物も含まれる。

(問 56) (5)の被験物質が低毒性である場合、投与量の上限値ほどの程度となるか。たとえば物理的に投与可能な最大量まで投与する必要があるかどうか。

(答) 必ずしも物理的に投与可能な最大量まで投与する必要はない。

## 2. 急性毒性試験

(問 57) 「試験動物は原則として 2 種以上」とは、「小動物 1 種、大動物 1 種」でも良いということか。

また感受性が高ければ、「どちらか一方での 2 種以上」でも良いという意味か。

(答) 小動物 1 種、大動物 1 種でよい。

「どちらか一方」については、動物から 2 種ならばよいが、げっ歯類から 2 種選ぶのは認められない。

## 3. 亜急性毒性試験

(問 58)「抗体産生」について

抗体産生などの問題があり、無影響量を求められない場合も考えられるが、差し支えないか。

(答) 厳密な意味での無影響量は求めなくてもよい。

(問 59) 試験期間は、抗体価の上昇が発現しない期間の投与で良いのか。

(答) よい。一般論であるが、それ以上試験を続行する意義が認められない時点で中止せざるを得ないであろう。

## 4. 慢性毒性試験

(問 60)「必要に応じ実施する」について、その判断基準について見解を示してほしい。

(答)判断基準は難しく、ケースバイケースになろう。

(問 61)・有効成分に対する中和抗体、(あるいは有効成分の薬理作用を中和する抗体)の出現は、慢性毒性試験を省略する合理的理由たりうるか?

・例えば中和抗体産生がみられ、被験物質の血中濃度の推持が困難であるということも「合理的な理由」となるか。

(答)・中和抗体の出現だけでは直ちに合理的理由とは言えない。まず抗体を産生しにくい試験動物を選択する努力をしたかどうかということも、当然、考慮の対象になる。

・しかしながら、抗体の出現のために試験の続行、あるいは結果の評価が困難であり、試験そのものの意味がないといった場合は、合理的理由となろう。

・もちろん、理由の一つにはなりうる。これだけで直ちに理由の十分条件になるかどうかは、検討の余地がある。

## 5. 変異原性試験

(問 62) 変異原性試験「哺乳類由来の培養細胞を用いる試験を優先的に行ない」に関して

・遺伝子突然変異検出系を指すのか、それとも染色体異常検出系のことか。

・本試験に使用するための代表的な培養細胞はあるのか?

(答) ・できれば遺伝子突然変異検出系と染色体異常検出系の両方をやっていただきたい。しかし、どうしてもできないケースは、染色体異常検出系をやっていただきたい。ケースバイケースで考えること。

・ 遺伝子突然変異系はチャイニーズハムスターの V79、CHO その他を、染色体異常検出系は CHL、CHO、ヒトリンパ球等を使うこと。

## 6. 抗原性試験

(問 63)「明らかに異なる有効成分」について具体的に示してほしい。

(答) 明らかに異なる有効成分は、タンパク工学的手法により、いろいろアミノ酸配列を変えることによりこれから出てくると思われる。

したがって、アミノ酸配列をある程度以上変更したものは、明らかに異なる有効成分として試験を実施していただくことになろう。

## 7. 発熱性物質試験

(問 64)「発熱性物質試験」は GLP 対応とする必要があるか？ なお昭和 57 年 3 月 31 日薬発 313 号薬務局長通知「医薬品の安全性試験の実施に関する基準について」の「1 一(1)適用される試験範囲」中には、「発熱性物質試験」は明示されていない。

(答) 毒性試験として行われる場合には、GLP 対応とする必要がある。

(問 65)「ウサギを用いる発熱性物質試験」について

ウサギ以外の試験法が確立されれば、それを用いてもよいか。

(答) もちろん他の方法を用いてもよいが、ウサギを用いる方法も実施していただきたい。

(問 66)「他の試験方法」について

具体的には何を指すのか。

(答) たとえば、ヒト単球を用いた試験などが考えられよう。

## 8. その他

(問 67)「免疫毒性にとくに着目した検討」

具体的にはどのような点が必要か。

(答) たとえば、T のサブセットも含めて T 細胞、あるいは B 細胞、マクロファージ系統の細胞、ナチュラルキラー細胞といった免疫系の細胞等が関連する免疫系を介した毒性作用に着目することである。

EC では、免疫毒性についてヒトの状態を予測するのはなかなかむずかしく、一律に固定化して試験を考えるのは妥当ではないとした上で、場合によっては目的物質の抗原性、抗体産生の有無、抗体産生の Pharmacokinetics、イムノグロブリンや補体などとの結合性の有無、免疫系の細胞機能を障害するような作用の有無、あるいは免疫系の機能に影響を与えるような活性物質を放出するかどうか、などについて検討することを示唆している。

へ. 吸収、分布、代謝及び排泄について

(問 68) 分析方法として、放射化学的、免疫学的、薬理学的方法があるが、これらに差異がある場合、合理的な決め方は？

(答) 合理的な順位づけはむずかしい。ケースバイケースで判断すること。

(問 69) 原則として 2 種以上、1 つは活性による測定が望ましい、となっているが、ラジオアイソトープ標識した標品を用いる試験は実施しなくてもよいのか。(たとえば、活性と免疫活性の 2 種でいいのか)。

(答) 定量法だけを捉えて考えるとすれば、標識体による測定は不要になる。ほかの定量法で十分感度よく働いているということなら、それだけでよい。

しかしながら、実際問題として、たとえば、各種臓器への分布を考えると、現状では一般医薬品でもそうだが、放射性の同位元素でラベルした化合物で測定することが一投的であり、標識化合物での測定も欠かせない方法になるのではないかと考えられる。

(問 70) 反復投与する期間は何を目安に定めればよいのか。この場合も 2 種以上の定量が必要か。

(答) 考え方としては、臨床上反復投与する薬があるとするれば、臨床投与における体内での定常状態になるのか否か、蓄積性、酵素系への影響等が推測できるような反復投与をしていただきたい。

また、この場合も原則として 2 種以上の定量法が必要である。

(問 71)「反復投与データにより蓄積性につき考察すること」とあるが、タンパク質製剤の場合、速やかに分解、排泄される。特に静脈内投与では、投与後数時間で 100%尿中に排泄され、体内に残らないと判断される化合物で反復投与データをとる必要があるか。

(答) 原則として必要である。

(問 72)「血中・尿中での代謝物の定量」の意味を説明していただきたい。

(答) 血中・尿中での代謝物の定量についてであるが、たとえば、タンパク質の医薬品の場合には、当然、加水分解されて代謝されていくと思う。だから、どれが代謝物かということになると最終的な同定、定量は不可能になるし、時には意味がないということになると思う。しかし、最初どこから切れて、次第に小さなフラクションになっていくといったところをみせてもらえばという意味で、代謝物の定量と表現した。

尿中の放射能を測っていくと、放射能の投与量と排泄された放射能を比較すれば、そこでどの程度放射能の回収が行われたか、蓄積性がどうかといったことがわかる。その意味で「血中・尿中の代謝物の定量」といった文章にした。