

日本医療研究開発機構 医薬品等規制調和・評価研究事業 事後評価報告書

公開

I 基本情報

研究開発課題名: (日本語) 遺伝子治療用製品の設計/製造方法変更に伴う品質・安全性評価に関する研究
(英語) Study on the evaluation of quality and safety for gene therapy products according to the manufacturing changes.

研究開発実施期間: 令和2年4月1日～令和5年3月31日

研究開発代表者 氏名: (日本語) 山口照英
(英語) Teruhide Yamaguchi

研究開発代表者 所属機関・部署・役職:
(日本語) 学校法人 金沢工業大学・加齢医工学先端技術研究所・所長/特任教授
(英語) Kanazawa Institute of Technology・Institute of Advance Medical and Engineering Technology for Aging・Director

II 研究開発の概要

研究開発の成果およびその意義等
和文

国内外で多様な遺伝子治療製品の承認が相次いでおり、世界では30製品近くが承認されており、国内でも8製品が承認されている。今後もその数は増えていくことが規定されており、すでに黎明期は過ぎており、成熟期に至っていると考えてよい。遺伝子治療では開発の進展に伴いベクターの設計変更や製法変更が頻繁に行われているが、その際の品質や安全性の同等性評価が大きな課題となっている。これは開発の進展に伴い、より高い有効性を目指す改変が行われたり、あるいは何らかの有害事象の発症が懸念された場合にプロモータやエンハンサーの配列を改変することにより、生産性の向上ばかりでなく、高い有効性や安全性を確保するために実施することも多い。さらには商用生産に至って大量製造を行うための拡大培養での製法変更も重要な点である。CAR-T細胞の開発でも開発の進展に従い、何度かの製法変更と、それに伴う同等性評価が必要とされており、技術の進展の激しい遺伝子治療製品の開発では、その進展に伴う設計/製法変更が頻繁に行われることが一般的である。

このような製法変更や製造変更時に、旧製法で得られている安全性や有効性等の様々なデータを新製法で用いるには新旧製品が同一の製品とみなすことが可能にかかっている。このために、新旧製品の品質

特性の高い同等性を示すことが重要であり、その評価の在り方をガイドライン等で明示することが求められてきた。このようなガイドラインに基づき製法変更前後の遺伝子治療用製品の同等性を十分に示すことにより、旧製法で得られた品質や安全性、場合によっては臨床データも新製法の製品で利用することが可能であり、迅速な遺伝子治療用製品の開発が促進される。一方で、遺伝子治療製品特有の課題として、製法変更に対してウイルスベクターのような複雑な分子にどのような解析手法を適用できるのかが課題となっている。したがってウイルスベクターなどの遺伝子治療用製品の製法や設計変更時の同等性評価に適用可能な試験法の例示やガイドラインの要望が高まっている。

本研究では遺伝子治療製品の開発における設計変更や製法変更における同等性評価のあり方について整理、その要件をまとめることを目的としていた。これらの成果についてコンセプトペーパーとしてまとめることにより遺伝子治療製品の開発でこのような変更を行う際に考慮すべき事項を明らかにする。

本研究では、AAV ベクターとレンチウイルスベクターを取り上げ、これらベクターについて、品質の同等性で利用可能なあらたな特性か解析法を開発するとともに、開発した解析手法で得られたウイルスベクターの品質特性が有効性、安全性の推定にどのように利用可能かについても検討を行なった。特に新たに開発した手法が従来の特性解析での評価法を凌駕していると期待される場合に、その有用性の確認を行い遺伝子治療用製品への適用を検証した。これらの評価法の開発等で得られた知見を踏まえて、遺伝子治療用製品の設計又は製造方法変更に伴う同等性評価法や安全性評価法を開発する。具体的には、ウイルスベクターのゲノムや核酸不純物評価、ウイルス粒子の特性解析、ウイルスベクターの有効性に関連する感染性の評価に関する研究を担当し、確立した品質・有効性・安全性評価の指標が設計/製法変更によって変化する可能性を明らかにすることとした。

AAV の設計/製法変更時の同等性評価法としてウイルスベクターのタンパク質成分である VP1~3 の構成比を解析する高感度 ion 交換クロマトグラフィー法やキャピラリー電気泳動の適用を検討し、その適用性を示すことができた。また有効性や過剰な免疫誘導の観点から課題となる完全型ウイルス粒子と中空粒子に対する比を高感度に検出可能な UHPLC 法を開発し、従来の HPLC より 50 倍も感度が高く、1% の中空粒子の混入を検出可能なことをあきらかにした。ウイルスベクターの製造に用いるプラスミド等が製造したベクターへの混入を解析するために ddPCR/qPCR を組合わせた解析手法、目的ウイルスベクターの遺伝子構成体の完全性試験としての適用可能な手法開発を行った。またウイルスベクターの生物活性測定の新たな手法として、表面プラズモン共鳴を利用した定量性の高い手法の適用可能性についても検討を行った。

以上のように新たに開発して解析手法を含めて、製法変更時に実施すべき同等性評価を見据えた AAV ベクターの品質評価法の確立を目指した検討の一環として、特に開発が進んでいる AAV2 及び AAV8 ベクターを取り上げ、宿主細胞 (HEK293、HEK293T、SF9 細胞)、細胞からの抽出か上清からか、複数の精製法の違いを組合わせた製法変更モデルでの製品を調製して、今回開発した手法、及び従来法とを比較検討した。試験的に適応した製法変更がどのような品質特性に影響するのかを検討した。これらの結果は製法変更と品質特性の差異とが相関性を一義的に示すことはできなかったが、この結果は予想されたとおりであり、それぞれ製法変更ごとに比較試験を実施する必要性が明確にされた。特に今回取り上げた、AAV2 及び AAV8 での製法変更モデルで実施した、試験製造ベクター製品について、ゲノムタイター、感染力価、粒子数、完全粒子数/中空系粒子数、ゲノム完全性、タンパク質成分構成比、核酸不純物、タンパク質不純物等の解析は実際の製法変更において、実施すべき必須項目であることが示された。またこれらの解析のために新たに開発、あるいはウイルスベクターに摘要した UPHLC をはじめ様々な解析技術の有用性も示された。このようウイルスベクター製品にこれまで適用経験のない解析手法の有用性が示されたことは、遺伝子治療製品の開発では、より最新の手法開発の重要性を示すことができたといえる。

レンチウイルスベクターについても、複数のベクター調製法や安定化剤の有無などの製造での変更モデル、さらには安定化剤の有無や、その安定化剤の存在下にカラムクロマトグラフィーと磁気ビーズ吸着法などを

組合わせた新たな精製法の開発を製法変更モデルとして実施した。安定化剤の存在下では従来法より高い精製度が得られることが確認でき精製法の変更モデルとしての有用性が示された。

以上のウェットな研究の成果を踏まえて、遺伝子治療製品の製法変更における同等性評価のありかたについて、製薬団体も交えタスクフォースを立ち上げ、まず製法変更事例の調査にはじまり、製法変更と予測される品質特性への影響、同等性評価試験法の適用性、どの時点で評価を行うべきかのモデル事例のケーススタディを行った。またウェットな研究から得られた成果とのすり合わせも行い、コンセプトペーパーからガイドライン案をこのタスクフォースの成果として作成した。

英文

Many of gene therapy products have been approved in Japan and abroad, with nearly 30 products approved worldwide and 8 products approved in Japan. The number is expected to increase in the future. It should be noted that the dawn of a new era has already passed, and the market has reached a mature stage. In gene therapy, the design of vectors and changes in manufacturing methods are frequently conducted as development progresses, and the evaluation of comparability in terms of quality and safety has become a major issue. This is because, as development progresses, modifications are made to achieve higher efficacy or to improve safety by modifying the promoter or enhancer sequence when there is concern about the occurrence of some adverse event. In the development of CAR-T cells, several process modifications and equivalence evaluations are required in accordance with the progress of development, and in the development of gene therapy products, which is a rapidly advancing technology, design/process modifications are frequently conducted in accordance with the progress.

In this study, we have proposed the requirements for equivalence assessment of design and manufacturing process changes in the development of gene therapy products. The results of this study will be summarized in a concept paper to clarify the issues to be considered when making such changes in the development of gene therapy products.

In this study, we have focuses on AAV vectors and lentiviral vectors, develop evaluation methods for the quality, efficacy, and safety of these vectors, verify their application to gene therapeutic products, and, based on the findings obtained through the development of these evaluation methods, develop equivalence and safety evaluation methods for changes in the design or manufacturing methods of gene therapeutic products. We will also develop equivalence and safety evaluation methods for changes in the design or manufacturing methods of gene therapeutic products based on the knowledge obtained from the development of these evaluation methods. Specifically, the project will be responsible for research on the evaluation of genomic and nucleic acid impurities in viral vectors, the characterization of viral particles, and the evaluation of infectivity related to the efficacy of viral vectors, and will clarify the possibility that established quality, efficacy, and safety evaluation indices may change due to changes in design/production methods.

We developed many methods for evaluating the equivalence of AAV design/process changes by evaluating the structure and other properties of the protein components of viral vectors, and verified its application to equivalence evaluation at the time of process changes. Research was conducted to establish a quality evaluation method for AAV vectors with a view to equivalence evaluation, and to clarify the relationship between changes in manufacturing methods and changes in quality characteristics. In particular, we focused on AAV2 and AAV8, and analyzed genome titer, infection titer, particle count, complete particle count/hollow-fiber particle count, genome integrity, protein component composition ratio, nucleic acid impurities, protein impurities, etc. for these vectors that were test manufactured by changing production cells, culture conditions, purification methods, and other factors. For these analyses, we also developed various analytical techniques, e.g. using UPHLC. The results obtained suggest that it is possible to distinguish the case of the characteristics that may change when the manufacturing process is changed.

For lentiviral vectors, the development of a new purification method and the comparative evaluation of vectors

prepared by multiple methods allowed us to identify trends in the variation of quality characteristics.

In parallel with the above wet research, we conducted a guideline on how equivalence should be evaluated in changing the manufacturing process of gene therapy products with the cooperation of experts and related industries. As a result, a draft guideline was developed.