

日本免疫治療学研究会
がん免疫細胞療法用臨床試験ガイドンス
－FDAガイドンスを踏まえた日本免疫治療学研究会の考え方－

日本免疫治療学研究会
免疫治療レギュラトリーサイエンス委員会／編

日本免疫治療学研究会(JRAI) 理事長

安元 公正

委員長 九州大学生体防御医学研究所 ゲノム病態学研究分野
九州大学病院 先端分子細胞治療科 教授

谷 憲三朗

委員 順天堂大学 客員教授

阿曾沼 元博

東京大学医学部附属病院 22 世紀医療センター 免疫細胞治療学講座 特任准教授

垣見 和宏

瀬田クリニックグループ 臨床研究・治験センター センター長

神垣 隆

国立がん研究センター 早期・探索臨床研究センター

中央病院 先端医療科 / 免疫療法開発分野 (併任)

北野 滋久

国立がん研究センター 早期・探索臨床研究センター 免疫療法開発分野長

中面 哲也

東京大学医科学研究所 先端医療開発推進分野 教授

長村 文孝

川崎医科大学 臨床腫瘍学 教授

山口 佳之

国立がん研究センター 生物統計部門 部門長

山中 竹春

(50音順)

【2014年5月20日制定】

目次

1. 序文.....	1
2. がん免疫細胞療法の特徴.....	3
3. 非臨床試験の考え方.....	4
3-1. 非臨床試験の目的	4
3-2. 非臨床試験デザインの推奨事項	4
3-2-1. 免疫細胞療法製品.....	4
3-2-2. 動物種を選択	4
3-2-3. モデル動物の選択	5
3-2-4. 非臨床Proof-of-concept (POC) 試験.....	6
3-2-5. 毒性試験	7
3-2-6. 製品投与における留意事項	8
3-2-7. Good Laboratory Practice (GLP)	8
3-2-8. 動物利用のReduce, Refine, Replaceの原則.....	8
3-2-9. 後期臨床試験に向けた製品開発.....	9
3-3. 免疫細胞療法製品の開発において特に留意すべき事項.....	9
4. 品質保証の考え方.....	10
4-1. 免疫細胞療法製品の規格.....	10
5. 臨床試験の考え方.....	11
5-1. 早期探索試験および後期検証試験の考え方.....	11
5-1-1. 被験者のがん種とその病期.....	11
5-1-2. フォローアップ期間.....	11
5-1-3. 継続投与および中止の規定.....	11
5-1-4. 薬物動態と免疫応答のモニタリング.....	12
5-2. 第I相試験のデザイン.....	13

5-3. 第Ⅱ相試験のデザイン.....	14
5-3-1. 単群第Ⅱ相試験.....	14
5-3-2. ランダム化第Ⅱ相試験.....	14
5-4. 第Ⅲ相試験のデザイン.....	15
5-4-1. 検証試験における試験デザイン.....	15
5-4-2. 対照群の設定.....	16
5-4-3. 評価項目.....	16
5-4-4. 安全性の評価.....	16
5-4-5. 有効性の評価.....	17
6. おわりに.....	18
7. 参考文献.....	19

1. 序文

免疫機構を介したがん治療，すなわちがん免疫療法の試みは，Coley博士（1881-1935）によるバクテリア混合ワクチン¹⁾ などおよそ1世紀前から始まったとも言われ，その長い歴史の中で大きな希望と期待，失敗と失望を幾度も繰り返してきた。近年になり，米国FDAにより二つの製品Provenge[®]（Sipuleucel-T，2010年FDA承認），Yervoy[®]（ipilimumab，2011年FDA承認）が承認を受けた²⁾。Provenge[®]は，ホルモン抵抗性の前立腺がんを適応とし，抗原提示細胞等からなる生物製剤である。他方，Yervoy[®]は抗原提示細胞からT細胞への抗原提示を抑制するCTLA-4という分子をブロックする抗体医薬品であり，メラノーマを適応とする。これらの製品の開発では，第I相の単群試験から始まり，第III相臨床試験においては，二重盲検，ランダム化比較のもとで多施設共同試験が行われ全生存期間の有意な延長が観察された。こうした背景をもとに現在，がん免疫療法は新たな治療方法として日本のみならず世界的にも注目されている³⁾。

がん免疫療法の一つであるがん免疫細胞療法は，患者自身の免疫細胞を用いることから化学療法や放射線療法など他の療法と作用機序が異なり，それらとの併用も可能であることからその普及が期待される。

しかしながら，我が国においては，がん免疫細胞療法が，がん治療法の一つとして普及するには程遠い状況である。日本免疫治療学研究会は，がん免疫細胞療法に関する学術活動・情報発信，臨床応用を主眼とした基礎研究の促進，一定の品質，安全確保のための細胞培養士・細胞培養施設の認定，および医療行政に対する提言などを目的に，このような行動の母体となる学術団体として設立された。日本免疫治療学研究会はこれまでにがん免疫療法に関連する細胞培養ガイドライン「免疫細胞療法 細胞培養ガイドライン」⁴⁾を作成（平成25年11月12日制定）し，当該ガイドラインは現在5団体（日本免疫学会，日本がん免疫学会，日本バイオセラピー学会，癌免疫外科研究会，血液疾患免疫療法研究会）の承認を得た段階である。

一方，がん免疫細胞療法が普及するためには臨床試験の活性化が求められるが，二重盲検など一般的な臨床試験デザインが必ずしも適切ではない場合がある。このような場合を考慮した上で，培養工程にとどまらず，培養成果である細胞が担がん患者に対し安全かつ有効であるか否かに関し，高い信頼性をもって評価できる臨床試験の実施が不可欠である。そこで，日本免疫治療学研究会は米国FDAの細胞療法関連ガイダンス，そして日本バイオセラピー学会のがん治療用ペプチドワクチンガイダンス⁵⁾を参考に，日本免疫治療学研究会の使命と責任においてがん免疫細胞療法の安全性の確保と信頼性の高い臨床試験の実施についてのガイダンスを作成し，ここに公開する。なお本ガイダンスで取り扱う細胞は全て患者自身に由来する免疫細胞，すなわち自己由来免疫細胞に限定する。

本ガイダンスの第2章ではがん免疫細胞療法の特徴を，従来の医薬品（低分子医薬品等）と異なる点も含めて述べる。この特徴を踏まえ，第3章では臨床試験の計画，実施に向けた非臨床試験のデザインを，第4章では患者へ投与する被験免疫細胞療法製品（以下，細胞製品）の品質保証をそれぞれ述べる。そして，第5章で，第I相臨床試験，第II相臨床試験，第III相臨床試験のデザインをそれぞれ述べる。

本ガイドンスは、作成された時点での科学的知見に基づくものであり、科学技術等の発達にともないその内容は適宜更新されるものである。また、本ガイドンスでは倫理的観点からの臨床試験デザインについて詳細に言及することはしないため、適宜「薬事法施行規則等の一部を改正する省令」（平成24年12月28日付厚生労働省令第161号）（改正GCP省令）、「臨床研究の倫理指針」（平成20年7月31日改正，厚生労働省）を参照することが望ましい。

2. がん免疫細胞療法の特徴

がん免疫細胞療法は、患者へ投与する細胞の種類に応じて2つに大別できる。すなわち、ワクチンとして、遺伝子導入腫瘍細胞や、樹状細胞など抗原提示細胞を投与する場合と、T細胞、NK細胞、NKT細胞、遺伝子導入T細胞などエフェクター細胞を投与する場合である。

抗原提示細胞を投与する場合、投与された抗原提示細胞はリンパ流によって所属リンパ節に到達し、以下の分子機構を介して免疫応答を誘導すると考えられている。すなわち、(1) 抗原提示細胞あるいは標的細胞表面上のヒト白血球型抗原 (human leukocyte antigen: HLA) による抗原提示、(2) T細胞受容体によるHLA-ペプチド複合体の認識、(3) 抗原特異的細胞傷害性T細胞の誘導という機構である。このように、抗原提示細胞はがんに対して免疫機構を介した間接作用によって効果を発揮するという特徴を有し、直接効果を発揮する従来の医薬品とは明らかに異なる作用機序を有している⁵⁾。

一方、腫瘍細胞を直接攻撃するエフェクター細胞を投与する場合は、抗原提示細胞を用いる場合に比べより迅速な免疫応答が期待される。また、エフェクター細胞による直接的な抗腫瘍効果に起因して、さらなる免疫応答の誘導も期待される。

さらに、これら免疫細胞を用いるがん免疫細胞療法は、従来の医薬品と比較して以下(1)～(5)のような特性を示す可能性があるため、がん免疫細胞療法の臨床応用に向けては、他の医薬品開発とは異なる課題を考慮する必要がある。

- (1). 原材料である細胞が患者に依存し、均一な細胞を得ることが困難であること
- (2). 製造工程の管理等が複雑であること
- (3). 非臨床試験の実施や、それにより得られたデータの解釈が困難であること
- (4). 最終製品の品質にある一定の基準を課すことは可能であるが、品質を均一にそろえることが困難であること
- (5). 投与後に、生体内での細胞増殖や他の細胞との細胞間相互作用の誘導により、持続的な生物学的活性や遅発性効果を有すること

一般的に、従来の医薬品は原材料、最終製品ともに化学的に合成され均一な品質を有する。医薬品開発に関する既存の規制はそのような前提のもと成り立つが、免疫細胞療法の場合、原材料の品質が従来の医薬品に比べてばらつくため、関連して最終製品の品質の均一性を保つことが困難である。細胞製品に一定の品質規格を設けることはその有効性、安全性を確保する上で必要であるが、造血幹細胞移植等と同様に、あるいはそれ以上に、従来の医薬品とは異なる個別化医療としての品質のばらつきを考慮するべきである。

3. 非臨床試験の考え方

3-1. 非臨床試験の目的

一般に、新薬の開発においては、当該薬物の薬理学的特性や毒性学的特性を明らかにすることを目的として非臨床試験が必要となる。がん免疫細胞療法においても、臨床試験における安全な初回投与量の決定あるいは細胞製品投与の際に生じる有害事象の予測に関する有用な情報が得られる可能性があり、治療に用いる細胞の特性に応じて適切な目的、試験方法で非臨床試験を実施することが求められる。ただし、従来の医薬品開発で求められる非臨床試験の実施が困難、あるいは必要ない場合もあり、そのような場合にはその理由を試験実施計画書等で明確にする必要がある。

非臨床試験の目的の例：

- (1). 抗腫瘍効果が期待される製品投与量の探索
- (2). 初回投与量、段階的増量投与計画の設定
- (3). 臨床試験において予定されている製品投与経路の安全性の確認
- (4). 被験者登録基準の設定根拠の提示
- (5). 臨床モニタリングに有用なバイオマーカー（一般臨床検査値を含む）の探索

3-2. 非臨床試験デザインの推奨事項⁶⁾

3-2-1. 免疫細胞療法製品

非臨床試験では、可能な限り、臨床試験で被験者へ投与される細胞を用いるべきである。また、*in vitro*や*in vivo*の試験で用いられる細胞製品は、予め確立された規格に従った特性を有するべきである。

なお、細胞製品の種特異的性質（例：ヒト由来細胞医療製品）により、動物を用いた試験には限界があることから、非臨床試験は製品毎の特性に基づきデザインされるべきである。

3-2-2. 動物種を選択

一般に、開発製品のヒトに対する影響の予測に役立つ情報を非臨床安全性試験から得るためには、適切な動物種を選択が必要である。すなわち、試験対象に対して、ヒトへの投与時に予想される生物学的反応に類似した反応を示し試験結果がヒトへ外挿できる種を選択することが求められる。そのためには、開発製品（あるいはそのモデル動物）が十分に効力を発揮し、かつ臨床試験で使用予定の投与機器／手技への適合性を有する動物種を用いることが望ましい。なお、”非標準的な”試験種、すなわち遺伝子導入されたトランスジェニックマウス、ノックアウトマウス等や大型動物（例：ヒツジ、ブタ、ヤギ、ウマ、サル）などの利用については、それらを用いる妥当性を示すことが求められる。

一方、免疫細胞療法の場合、非自己由来の試料を細胞製品の製造に用いる場合には、免疫応答の問題に留意すべきである。遺伝子導入をした免疫細胞を治療に用いる場合、その目的で用いられるウイルスの複製、およびそれらによる感染に対する許容性／感染性についても考慮すべき場合がある。細胞製品の有効性や安全性は1つの動物種で十分に評価できる可能性もあるが、製品原料や投与経路を考慮するとより多くの動物種で試験を行うべき場合がある。*in vitro*試験（例：機能的アッセイ、免疫表現型検査、形態学的評価）および*in vivo*パイロット試験を行うことで動物種の設定の妥当性を検討したのちに、最終的な非臨床試験を実施することが推奨される。

ただし、細胞製品に関しては、動物を用いた試験からヒトを想定した新しい情報を得るには大きな限界があることや、動物愛護の観点からも科学的意義のある非臨床試験を実施することが可能であるか十分に検討することが求められる。従来の医薬品開発で求められている非臨床試験の実施が困難、あるいは必要性が極めて低く実施しない場合には、その科学的根拠を試験実施計画書等で明確にするとともに、*first-in-human*試験では患者のリスクを可能な限り軽減できるようデザインすべきである。

3-2-3.モデル動物の選択

モデル動物を用いた非臨床試験を実施することにより、投与量と活性や毒性との関係性についての洞察が得られる可能性がある。製品開発における基礎研究などで用いられるモデル動物は、製品の臨床試験をサポートするデータを得るためにも有用である場合がある。加えて、モデル動物の利用により、臨床試験中のモニタリングに利用可能な活性－リスクバイオマーカーを同定できる可能性がある。

ただし、これらのモデル動物を用いる非臨床試験には下記のような要素により限界が存在することを認識しておくべきである。

- (1). モデルについてのヒストリカルデータあるいはベースラインデータが限られていること
- (2). モデルの生理学および解剖学的特性から生じる技術的限界
- (3). 動物愛護など倫理的問題
- (4). 動物を用いた、ヒトの疾患の病態生理学的再現性の限界

それぞれのモデルは固有の長所と短所を有するため、細胞製品の特性および適応症例の進行度、重篤度などを考慮し適切なモデルを選択すべきである。

3-2-4. 非臨床 Proof-of-concept (POC) 試験

非臨床POC試験では、細胞製品の効力又は性能を裏付けるとともにその作用機序等を動物や細胞を用いて解析する。その主目的は、標的とする患者集団に対し細胞製品を投与することの利点を支持することである。そのため、その作用機序に不明な点が多い新規製品の評価において不可欠な場合が多い。また、非臨床POC試験で得られたデータは先に述べた動物種の選択に大きく役立ちうる。これらのことから、非臨床POC試験により下記の(1)–(5)を示すデータを得るべきである。

- (1). 薬理学的に有効な投与量範囲（最低有効量，生物学的至適投与量）
- (2). 適切な投与経路
- (3). 疾患の発現タイミングと比較した細胞医療投与タイミング
- (4). 適切な投与計画
- (5). 細胞製品の作用機序

動物を用いる非臨床POC試験のメリットは体内動態や移植した組織の解析が可能になることである。非臨床POC試験には、ヒト免疫細胞を動物へ投与する方法と、動物由来免疫細胞を動物へ投与する方法がある。臨床に用いるヒト免疫細胞を免疫不全マウスへ投与する場合、POCを証明することは可能であっても、安全性を予測することは困難である。他方、適切なモデル動物による試験をデザイン可能であれば、その動物自身の細胞を投与することによりPOCを検証可能である場合もあり得る。いずれにせよ、動物を用いた非臨床試験では、安全性、有効性に関する予測法としては限界があることを考慮した上で、目的に応じた適切な感度、特異性が期待される試験を計画すべきである。非臨床POC試験の真の意義は、ヒトに対する早期探索試験としてのPOC試験につなげ、さらにはヒトにおける後期検証試験に到達することにある。すでに多くのヒトでのデータ蓄積を有する免疫細胞療法においては、蓄積されたデータを利用して、非臨床でのPOCを科学的に検証することが可能であれば、動物を用いた試験を必要としないと判断される場合もあり得る。

一方、非臨床POC試験ではヒト免疫細胞を用いた*in vitro*試験も有用である。すなわち、*in vitro*試験により成長因子分泌、神経伝達物質の発現など細胞製品の生物活性に関連する適切なパラメータに関するデータを得ることによってもPOCをサポートすることができる。ただし、この試験単独では、生体内へ製品を投与した場合の成果を十分な信頼性を持って予想することは困難であるため、目的に応じて複数の適切なアプローチをとり、ヒトに対する早期探索試験としてのPOC試験につなげることが重要である。

3-2-5. 毒性試験

一般に、毒性試験は、開発製品の臨床試験のリスクとベネフィットのバランスを許容可能なものにするために有用である。安全性評価により、潜在的な局所毒性、全身毒性およびそれらの発現様式（急性または遅延性）の解明、製品投与量が毒性の発現に及ぼす影響を評価することが望ましい。

安全性試験のデザインにおいては、下記の点について考慮すべきである。

- (1). 適応疾患
- (2). 開発製品あるいはその類似製品の非臨床試験あるいは臨床試験に関して公表されている安全性情報の量と質（既知の毒性または有害事象）
- (3). 開発製品あるいはその類似製品に関して、既にある薬効薬理（*in vitro*/*in vivo*）データまたはPOCのデータの量と質
- (4). 臨床試験で適用予定の投与機器／手技、または関連する機器／手技をとまなう過去の非臨床／臨床経験
- (5). 開発製品に対する動物種の生物学的応答性
- (6). 開発製品の作用機序
- (7). 開発している細胞製品固有の性質
- (8). モデル動物を利用する場合、その病態生理学

また、毒性試験の全体的なデザインは、計画されている臨床試験のデザインと可能な限り同様にすべきである。加えて、非臨床毒性試験には下記 (1)–(8) を考慮することが望ましい。

- (1). 開発製品の新規性、安全性、動物種、モデル動物、製品の投与方法に応じて必要な動物数は変化する。
- (2). 対照群としては、開発製品を投与しない動物、製造工程で用いる培養液のみを投与する動物などが例として挙げられる。選択した対照群についてはその妥当性を示すべきである。
- (3). 非臨床安全性試験における開発製品投与量は、臨床試験での投与量範囲をカバーすべきである。ただし、非臨床試験における最大投与量は、動物のサイズや組織体積／サイズ、投与経路、または製品製造キャパシティーなどにより制限を受ける可能性がある。設定した投与量の妥当性を示すべきである。
- (4). 臨床試験実施計画を反映した製品投与スケジュール（可能な範囲で）
- (5). 臨床試験で使用する予定の投与機器／手技を、毒性試験における開発製品を投与する際にも用いるべきである。当該機器／手技を用いない場合は、その妥当性を示すべきである。
- (6). 殺処分の適切なタイムポイントは、用いられる動物モデル、開発製品、投与計画、観察される薬理学的反応、計画される患者集団に応じて異なる。POC試験などに基づき、適切なタイムポイントを設定すべきである。
- (7). 標準的なモニタリングパラメータとしては、臨床的所見、体重、身体検査、食物の摂取量／食欲、（可能なならば）水の摂取量、臨床病理学的検査（血清化学的検査、血液学的検査、検尿）、臓器体重、病理学的検査などが挙げられる。

- (8). 製品特異的な試験パラメータの例として、液性免疫応答または細胞性免疫応答、行動実験、神経学的検査、眼科検査、心臓評価、イメージング (MRI, 超音波, X線など)、異常な/異所性の成長 (過形成, 腫瘍)、関連バイオマーカー、特殊な組織病理学的検査 (免疫組織化学染色など) などが挙げられる。開発製品の特性や適応症例の進行度、重篤度などに応じて適切なパラメータを設定すべきである。

ただし、医療としてすでに数多く実施されている細胞製品においては、今までの安全性データを参考にすることは十分に可能と考えられる。なお、非臨床試験が必要ないとする場合には、その根拠を試験実施計画書に記載する必要がある。

3-2-6. 製品投与における留意事項

非臨床試験における細胞製品の投与経路は、臨床試験における投与経路を模倣することが望ましい。これは、有効性評価のためだけでなく、投与機器/手技に由来する、潜在的リスクを臨床試験開始以前に可能な限り明らかにするためである。もし臨床試験の投与経路を模倣することができない場合、代替の投与方法を提示し、その妥当性を科学的に示すべきである。

3-2-7. Good Laboratory Practice (GLP)

非臨床安全性試験/in vitro および in vivo の薬効薬理/POC 試験における GLP 遵守は推奨されることではあるが、実施が困難な場合には適切に品質管理された試験を行う必要がある。

非臨床試験デザイン中に、評価項目として安全性パラメータが組み込まれている場合、試験は予め作成された臨床試験実施計画書に従い実施されるべきである。これらの試験により得られるデータは、計画されている臨床試験の実施を支持するために十分な質を有するべきである。開発者は、予めデザインされた臨床試験実施計画書からの全ての逸脱、およびそれらが試験の結果や解釈に及ぼしうる影響を示すべきである。

3-2-8. 動物利用のReduce, Refine, Replaceの原則

非臨床試験における動物利用について”3R”, すなわち動物のReduce (使用数削減), Refine (苦痛軽減), Replace (代替法利用) が推奨される。それぞれの免疫細胞療法に対する非臨床試験は、臨床における安全性や有効性をより的確に予測するため、個別にデザインされるべきである。そのデザインを通し、下記のような方法で動物利用のReduce, Refine, Replaceが図られることが望ましい。

- (1). 使用動物数を削減することによるReduce (可能であればいつでも)
- (2). 疼痛管理や画像診断技術の利用などによるRefine
- (3). *in vitro*試験やコンピュータシミュレーションによる、動物試験のReplace (代替案が存在する、または改善可能な場合)

3-2-9. 後期臨床試験に向けた製品開発

開発を後期臨床試験へ進めるにあたり、顕著な課題がある場合には追加の非臨床試験を実施することを検討する。例えば、早期臨床試験と後期臨床試験の間で製造工程の変更がある場合、追加の *in vitro* および/または *in vivo* 非臨床試験により細胞製品の同等性を示す必要がある。このような同等性試験を行うことで、製造工程変更前の細胞製品について収集されたデータが開発後期、および規制当局による製品の承認のために役立つこととなる。解決する必要がある課題は製品の種類や対象とする患者集団により異なるが、投与計画の変化に伴う同等性評価、発がん性/腫瘍原性の評価、生殖毒性/発達毒性の評価などの実施が考えられる。ただし、免疫細胞療法では分化した細胞を投与するため、幹細胞を用いる細胞医療に比べて、発がん性/腫瘍原性が低いことを考慮すべきである。

3-3. 免疫細胞療法製品の開発において特に留意すべき事項

ここまで、非臨床試験の考え方を述べたが、医療としてすでに数多く実施されている免疫細胞療法においては、今までの安全性データや投与量、投与経路、および投与スケジュールのデータを参考にすることは十分に可能と考えられる。免疫細胞療法に関しては、動物を用いた試験からヒトを想定した新しい情報が得られることには大きな限界があるものと考えられることや、動物愛護の観点からも非臨床試験を必要最小限にとどめることが望ましいため、科学的意義のある非臨床試験を行うべきである。特に、「3-2-4. 非臨床POC試験」は、ヒトに対する早期探索試験としてのPOC試験につなげることが目的であり、「3-2-5. 毒性試験」については、多くの免疫細胞療法においてはヒトに投与してはじめて有益な情報が得られると考えられることから、これらのことを踏まえて、試験計画者は非臨床試験の必要性について十分検討することが求められる。ただし、必要ないとする場合にあっては、その科学的根拠を試験実施計画書に記載し、可能な限りリスクを軽減できるように *first-in-human* 試験をデザインする必要がある。

他方、既存の免疫細胞療法とはまったく異なる、新しいタイプの免疫細胞療法の開発においては、安全性試験やPOC試験として動物を用いた非臨床試験の必要性が高いと考えられているが、この場合も同様に、科学的意義のある非臨床試験のみを行うべきであるという前提にもとづく計画が必要である。

4. 品質保証の考え方

臨床試験において、一定の品質で製造された細胞製品を使用することは、被験者の安全性保護のためのみならず、試験結果の信頼性・再現性を確保する上で不可欠である。

一方で、免疫細胞療法の場合、細胞製品の原材料を患者自身から採取するため最終製品の品質を均一に保つことが従来の医薬品に比べ困難である。細胞製品においても、一定の品質規格を設けることはその有効性、安全性を確保する上で必要であるが、自己細胞／組織輸血や移植医療のように、従来の医薬品とは異なり品質を均一に保つことが困難であることを考慮するべきである。その上で、品質保証は、製品規格設定、原材料の品質管理、製造工程の妥当性検証と適切な管理など様々な方法を組み合わせることにより成し遂げられる。⁷⁾

研究開発時の品質保証は、開発の進展に連動し、臨床試験の目的や方法により求められる事項の程度に差異がある場合も想定され、一律に規定することは困難であるという特徴がある。よって、開発に伴う段階的な状況やリスクを考慮して柔軟に運用すべきである。

本ガイダンスはがん免疫細胞療法の臨床試験を中心に扱うため、本ガイダンスでは、下記「4-1.被験免疫細胞療法製品の規格」のみを記載する。詳細は日本免疫治療学研究会のガイドライン「免疫細胞療法 細胞培養ガイドライン」（平成 25 年 11 月 12 日制定）を参照のこと。

4-1.免疫細胞療法製品の規格

免疫細胞療法の安全性を確保するために下記 (1) - (11) のような検査を推奨する。これらの項目から、細胞製品の特性を踏まえて適切な規格を設定すべきである。

- (1) 細胞数並びに生存率
- (2) エンドトキシン試験
- (3) 無菌試験及びマイコプラズマ否定試験
- (4) 製造工程由来不純物試験
- (5) 細胞の純度試験
- (6) 細胞由来の目的外生理活性物質に関する試験
- (7) ウイルス等の試験
- (8) 加工細胞の特性解析
- (9) 効能試験
- (10) 細胞・組織由来の生理活性物質に関する考慮
- (11) その他の試験等

無菌試験等、安全性にかかわる試験の結果は、細胞製品を患者に投与する前に示すべきである。しかし、それらの結果が、投与後にのみ得られる場合は、投与後に無菌性等が否定された場合の対処方法を予め設定しておく必要がある⁷⁾。

5. 臨床試験の考え方

5-1. 早期探索試験および後期検証試験の考え方

がん免疫細胞療法に対する臨床試験の主な目的は、第Ⅰ相試験では当該治療の安全性及び忍容性を評価し、必要であれば、最大耐用量（MTD：maximum tolerated dose）や推奨投与量の決定を決定すること、第Ⅱ相試験では当該治療の生物学的活性（抗腫瘍活性や免疫反応等）の評価やレジメンの最適化を行うこと、第Ⅲ相試験では当該治療の有効性と安全性の検証を行うことにある。早期探索試験および後期検証試験に関連して考慮すべき点を以下に示す。

5-1-1. 被験者のがん種とその病期

がん種、病期、前治療歴（殺細胞性または免疫抑制性の化学療法、放射線療法など）などが異なる被験者集団を対象とする場合、それらの多様性ががん免疫細胞療法によって誘導される反応に影響を及ぼすことで、結果の解釈が難しくなる可能性がある。被験者集団の選択に際しては、開発早期の段階から、用いる細胞の特性、期待される治療効果やその評価方法の種類、実行可能性などを考慮した上で、適切な被験者集団を設定することが望ましい。

一般に、進行期において有効性と安全性が認められれば、より早期の病期を対象に臨床開発が進められる場合がある。ただし、術後等で病変のない患者は、免疫活性化までの適切な時間を確保することができるが、また、全生存期間の評価には長期間を有することが多い。

5-1-2. フォローアップ期間

がん免疫細胞療法においては、投与する細胞の特性、遺伝子改変の有無などを踏まえて、適切なフォローアップ期間を設定すべきである。製品によっては、活性の持続期間を決めることができない等の理由により、長期間のフォローアップが適切な場合もある。例えば、動物試験あるいは他の科学的知見から、製品中の細胞が形質転換、移動することなどによって異所性組織を発達させる懸念がある場合は、長期の安全性モニタリングが望まれる。

5-1-3. 継続投与および中止の規定⁵⁾

従来のがんに対する薬物療法では、病勢の進行・再発が認められれば、施行中の治療を中止することが一般的であるが、がん免疫細胞療法においては、ときに治療施行から免疫反応が誘導されるまでに一定の時間を要し、遅発性の効果発現が観察されることから、薬剤の継続投与が望まれる場合がある。

一方、がん免疫細胞療法を病勢の進行・再発の後にも継続して投与することにより、他治療の選択の機会を失う可能性があることも考えられる。したがって、がん免疫細胞療法の臨床試験を実施する際は、治療の継続・中止の基準について十分に検討し、試験計画を立案する必要がある。

5-1-4. 薬物動態と免疫応答のモニタリング⁵⁾

一般的な医薬品の開発では、薬物の血中濃度、組織分布、代謝および排泄についての科学的データを収集する目的で、薬物動態と薬力学の解析が求められる。しかしながら、がん免疫細胞療法においては、投与された細胞は血流あるいはリンパ流から免疫系を介して作用を発揮するものであり、投与細胞の血中濃度を測定する意義を見いだすことは困難な場合がある。非臨床試験のデータも吟味した上で、薬物動態解析の必要性について検討すべきである。

一方、免疫細胞の作用機序として、がんに対する直接の免疫応答、あるいはがん抗原特異的免疫応答の惹起によって抗腫瘍活性を引き起こすと考えられることから、免疫応答のモニタリングは、薬免疫力学 (pharmacimmunodynamics) 解析として、次の理由から重要である。

- ・早期探索試験において、細胞製品が目的とする免疫応答を誘導する用量や投与スケジュールを最適化するのに有用である
- ・後期検証試験において、有効性の指標と免疫応答の種類や強度の関係の解析に有用である

重要な免疫応答をモニタリングするためには複数のアッセイ法が必要であることが多い。適切なアッセイ法がない場合、抗腫瘍効果にとって、最も重要で関連性が強いと考えられる免疫応答を評価するアッセイ法を開発すべきである。*in vitro*および/または*in vivo*のデータにもとづき想定されたがん抗原特異的免疫応答をモニタリングするために、可能であれば、少なくとも2種類の免疫学的アッセイ法を用いることが推奨される。アッセイの種類としては、がん細胞特異的細胞傷害試験、免疫細胞特異的IFN- γ ELISPOTアッセイ、免疫細胞特異的テトラマーフローサイトメトリーなどが考えられる。各測定においては、結果に対する再現性についてバリデーションしておく必要がある。アッセイ条件や、陽性・陰性コントロール、陽性・陰性のカットオフ値および結果解析に用いる統計的手法は、臨床試験実施計画書の中に明記されるべきである。

5-2. 第 I 相試験のデザイン

がん薬物療法の第 I 相試験では、がん患者を対象として有害事象の頻度やグレードが評価され、MTDが探索される。その理由は、特に、殺細胞性抗がん剤の場合、治療に用いる用量を増やすほど毒性だけでなく効果も増加すると期待されており、許容可能なMTDを投与することが最大の効果をもたらすと考えられているからである。いわゆる「3+3デザイン」が最もよく用いられており、3+3デザインには、コホート間で減量を認める場合などいくつかのアルゴリズムが存在するが、最も単純なものは次の手順を踏む。最初に3例の被験者が登録されて試験が開始される。用量規定毒性（dose limiting toxicity: DLT）がいずれの対象被験者にも認められなかった場合、次に高い用量へ新たに3例が登録される。もし、ある用量において3例中1例にDLTを認められれば、同じ用量に新たに3例を登録する。計6例中2例以上にDLTを認めた場合、MTDを超えたと判断し、当該用量がMTDとして同定される。

3+3デザイン以外の用量探索デザインも存在する。たとえば、用量と毒性の間の発現関係に統計モデルを明示的に仮定し、用量および毒性のデータの蓄積に応じて、当該統計モデルのモデルパラメータを更新し、その結果に基づいて、増量または減量を決定する「連続再評価法（continual reassessment method, CRM）」が有名である。また、個体内で増量を行うことを許容する「加速漸増デザイン（accelerated titration design, ATD）」も利用できる場合がある。

がん免疫療法では、探索された用量の範囲内でDLTが発現することがなく、MTDが同定されない場合がある。3+3デザインでは、検討される各用量で治療される患者は3人から6人であるので、当該用量に関する毒性や効果の情報は限られる。そこで、3+3デザインの一般化としてコホートサイズを変更する「A+Bデザイン」も考えられ、探索する用量水準の数がそれほど多くなければ、1コホートサイズを大きくすることでより精度の高い情報を収集することが可能である。ただし、次用量に増量するまでに、3+3デザインに比べて多くの患者を必要とすること、効果のない低い用量で相当数の患者を治療してしまう可能性があること、標的とするDLT発現確率が3+3デザインと異なる可能性があること、などの点に注意を払う必要がある。同様に、コホートサイズを大きくした修正型CRMなどの用量探索デザインも考えられる。なお、3+3デザインやその他のデザインによって、検討する用量を一つに絞り込めた場合、その用量に対するコホートサイズを大きくすることにより詳細な毒性評価を行うことが考えられる。

MTDが観察されない場合は、推奨投与量が、治療に用いる免疫細胞の培養上の制約など技術的問題や、投与部位の解剖学的問題などにより規定される可能性がある。そのような場合、試験前に免疫反応の測定の信頼性や妥当性が確保されるのであれば、毒性以外に免疫反応を用量探索の指標として直接用いるデザイン、あるいは、CRMデザイン等の応用により、毒性と免疫反応の両方を主要エンドポイントとすることも検討することができる。

がんワクチンでしばしば経験される場所であるが、毒性面で問題が生じないことが科学的合理性の下に強く予想される場合には、第Ⅰ相部分で安全性を確認した後に、引き続いて第Ⅱ相試験を実施する第Ⅰ/Ⅱ相デザインの可能性を検討することが可能である。

5-3. 第Ⅱ相試験のデザイン

5-3-1. 単群第Ⅱ相試験

第Ⅱ相試験において、腫瘍縮小の有無を評価する場合、殺細胞性抗がん剤のときと同様に単群（single-arm）デザインを用いることができる。単群の第Ⅱ相試験では、がん免疫療法の奏効割合が閾値（threshold）奏効割合を超えるかどうかの評価され、無効中止に関する中間解析を行う二段階デザインを検討することができる。また、二値の評価項目であれば、たとえば、免疫反応の有無を主要評価項目とした試験にも同様のデザインが可能である。閾値の設定は、評価項目・がん種ごとの歴史対照（historical control）に基づいて、設定されるべきである。

5-3-2. ランダム化第Ⅱ相試験

がん免疫療法によっては、腫瘍縮小効果が得られなくても増悪の遅延や生存延長が期待できる可能性があり、そのような場合には、第Ⅱ相試験の段階から無増悪生存期間（PFS）または全生存期間（OS）を主要評価項目とすることが可能である。同一のがん種および病期に限っても、疾患の重篤度は幅広い範囲に及ぶことが予想される場合、PFSやOSは患者選択バイアスの影響を受けやすいので、同時対照を設定したランダム化試験が望ましい。対象疾患の経過があまり明らかでない場合も同時対照を設けることは有用である。十分に比較可能な歴史対照データが得られる場合のみ単群試験を採用すべきである。

一般に、ランダム化第Ⅱ相試験の目的としては、対照群との「比較」、または、複数の候補治療の中から次相（第Ⅲ相）で用いる試験治療を「選択」することが考えられる。前者の場合、その時点の標準治療を対照群において、それとの「比較」を行う。ただし、検証試験の位置づけではないので、通常の5%よりも大きな有意水準が許容される。このような「比較」を目的とするランダム化試験に基づいて、次相の検証段階で設定すべき効果の大きさに関する情報を得ることができる。

同時対照が存在する試験では、被験者、治験参加医師、測定者などの盲検化によって、試験結果にバイアスが生じる可能性を小さくすることができる。ただし、免疫細胞療法における細胞投与あるいは原料の採取のために侵襲的な手技が必要になることがあり、そのような場合に、盲検化のために対照群の患者に侵襲を加えることは一般に望ましくない。盲検化の有無は、試験にバイアスのかかる程度、実施可能性などを考慮して決定すべきである。

第Ⅱ相試験の段階で、投与量、投与スケジュール、投与経路、併用薬などについて、最適なレジメンを選択すべき状況がある。第Ⅲ相試験の前に比較的小規模なランダム化試験に基づいてレジメンを最適化することにより、第Ⅲ相試験での成功確率を高めることが期待できる。複数レジメンの中から最適なレジメンを選択するために、主要評価項目の値に基づいて順位付けをする選択デザインや、がん以外の一般薬でよく用いられる用量反応性を調べるためのデザインがある。

5-4. 第Ⅲ相試験のデザイン

第Ⅲ相試験は、第Ⅰ相および第Ⅱ相試験から得られたデータをもとに、有効性と安全性を検証し、標準治療を確立するために実施される。がん免疫細胞療法の特徴を理解し、細胞製品や適応症に応じた適切な目的を設定するなど、適切な臨床試験デザインが求められる。第Ⅲ相試験は、早期探索試験におけるデータを基に計画されるべきであり、特に安全性について何らかの問題があることが早期探索試験で明らかとなった場合、その問題については第Ⅲ相臨床試験のなかで慎重に評価していく必要がある。

5-4-1. 検証試験における試験デザイン

開発するがん免疫細胞療法の有効性、安全性、その他の要因（利便性、経済性等）に基づいて、優越性または非劣性を検証する試験デザインが設定される。がん免疫細胞療法の効果を評価するためには、設定したエンドポイントにおける優越性試験のほか、現在の標準治療に比べ、がん免疫細胞療法の方が安全性をはじめとした側面において優れていると考えられる場合、非劣性試験デザインが許容される場合もある。非劣性試験においては、非劣性マージンの設定や、試験における分析感度に特に注意が必要である。

がん免疫細胞療法の種類によっては、非劣性仮説を検証し、非劣性が証明された場合、続いて、優越性を検証するデザインも可能である。非劣性が証明された後に優越性が証明できれば優越性が結論され、優越性が証明できなければ非劣性を結論する。

早期探索試験の結果などに基づいて検討される検出すべき群間差、ならびに適切な有意水準や検出力の値から必要症例数や必要イベント数を設定する。また、がん領域では、第Ⅲ相試験であっても、数百例の中規模試験となることが多いため、ランダム化の際の層別因子の選択には慎重な検討が必要である。

5-4-2. 対照群の設定

対照群はその時点での標準治療を用いることが原則である。対照群に標準治療を設定しないことは、非倫理的な可能性がある。標準治療がない疾患では無治療またはプラセボが対照群となる。プラセボ対照を含む試験において盲検化を行うことは、適切に実施されれば、バイアスを減らすことにつながるが、本ガイドンス「5-3. 第Ⅱ相試験のデザイン」で述べたように、免疫細胞療法においては原料の採取や、調整後の細胞の投与の際に被験者に負担をかける場合もあり、プラセボ対照の設定は慎重に計画する必要がある。がん免疫細胞療法によって引き起こされる反応によって、がん免疫細胞療法を投与された被験者が容易に同定され得ることが考えられる。したがって、試験全体を通じて盲検性を維持させるためには、試験薬投与、投与後の被験者の管理および評価の解析の各段階において、異なる人員が携わるようにする必要があるかもしれない。

5-4-3. 評価項目

第Ⅲ相試験の主要評価項目には、切除不能の進行がんでは、主に全生存期間 (overall survival: OS)、無増悪生存期間 (progression-free survival: PFS) などが用いられる。PFSが採用されることもあり得るが、がん免疫療法によっては増悪に基づく評価は適切でない可能性があり、慎重な計画が求められる。切除可能の早期がんでは、全生存期間、無再発生存期間 (relapse-free survival: RFS)、無病生存期間 (disease-free survival: DFS) などが用いられる。がん種、病態 (治癒切除後か切除不能かなど)、試験期間などを考慮して、適切な評価項目を選択すべきである。

Quality-of-Life (QOL) を含む患者評価アウトカム (Patient-Reported Outcome; PRO) や医療コストを加味した経済性の指標については、主要評価項目の結果を補足する指標として、今後の積極的な活用が期待される。

5-4-4. 安全性の評価

第Ⅲ相試験において、安全性は対照群との比較により評価され、一般に副次評価項目として設定される。予期せぬ有害事象や重篤な有害事象の発生時の報告義務や治療との関連性、対応などについては、その手順を臨床試験実施計画書で規定する必要がある。

5-4-5. 有効性の評価

第Ⅲ相試験において有効性は主要評価項目を中心に評価される。この解析においては、生存期間中央値や生存割合をKaplan-Meier法によって推定し、また、群間比較にはLog-rank検定が用いられることが一般的である。

しかし、がん免疫細胞療法においては、治療施行から免疫反応が誘導されるまでに一定の時間を要し、遅発性の効果発現が観察される場合がある。このようながん免疫療法に特有の免疫学的作用機序が、科学的合理性をもって事前に想定される場合は、試験群と対照群のハザード比が時間を通じて一定である場合（比例ハザード性）に検出力がもっとも高くなるように計画されているLog-rank検定の代わりに、Harrington-Fleming法で提唱されているような、観察期間の後期に重みを付けた統計解析の必要性も想定されるところである。ただし、Harrington-Fleming検定は、Log-rank検定と異なり、パラメータにより特徴づけられるパラメータ族から構成されるので、事前に、合理的なパラメータ設定の下に適切な検定を計画しなければならない。

効果の遅延は、イベント数の不足を引き起こす可能性があるので、主たる解析を行う時期について、総イベント数をモニタリングしながら適切に見極める必要がある。また、比例ハザード性の成立が期待できない場合は、中間解析の実施時期や非劣性の評価を行う方法や時期について、慎重な検討が求められる。

有効性の副次評価項目として、無増悪生存期間や奏効率が設定されることがあるが、これ以外の副次評価項目も含め、開発するがん免疫細胞療法の特性に応じて適切に設定されるべきである。

6. おわりに

がん免疫細胞療法を開発する上で、活発な臨床試験の推進が不可欠である。活発な臨床試験の推進には、適切な臨床試験ガイドランスの作成が必要である。このような背景にもとづき、日本免疫治療学研究会は「がん免疫細胞療法用臨床試験ガイドランス」を公開した。言うまでもなく、今後のがん免疫細胞療法研究の進歩に伴い、本ガイドランスの定期的な見直しが求められるであろう。本領域の研究者のみならず規制当局や企業の方々からの積極的なコメントを歓迎するものである。

7. 参考文献

- 1) Nauts H.C. *The bibliography of reports. Concerning the experimental clinical use of Coley toxins.* Cancer Research Institute. New York (1975)
- 2) Malleman I., Coukos G., Dranoff G. Cancer immunotherapy comes of age. *Nature*, 480, 480-489 (2011)
- 3) 後藤重則, 阿曾沼元博; 総説 国際的にみたがん免疫細胞治療の研究開発の現状と展望; *医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス*, 44 (6), 458-463 (2013)
- 4) 免疫細胞療法 細胞培養ガイドライン; 日本免疫学会, 日本がん免疫学会, 日本バイオセラピー学会, がん免疫外科研究会, 血液疾患免疫療法研究会, 日本免疫治療学研究会 (2013年11月制定)
- 5) がん治療用ペプチドワクチンガイドランス; 日本バイオセラピー学会 がん治療用ペプチドワクチンガイドランス委員会 (2012年12月改訂)
- 6) Preclinical Assessment of Investigational Cellular and Gene Therapy Products. FDA Guidance (2013年11月)
- 7) ヒト(自己)由来細胞や組織を加工した医薬品又は医療機器の品質及び安全性の確保について: 薬食発第0208003号 (2008年2月8日)