



平成28年9月28日

第68回 日本生物工学会大会
シンポジウム「遺伝子改変技術によるセルエンジニアリングの革新:産業応用に向けて」

遺伝子治療の安全性評価 —ゲノム編集技術の応用における留意点—

国立医薬品食品衛生研究所
再生・細胞医療製品部

佐藤 陽治

本発表で述べられている見解は発表者の私見であって、国立医薬品食品衛生研究所および厚生労働省ならびに日本再生医療学会の公式な見解では必ずしもありません

薬事的には

I. 「ゲノム編集技術」とは何なのか？

薬事法の改正（平成25年11月）

1. 新しい法律名

「薬事法」

⇒「医薬品、医療機器等の品質、有効性及び安全性の確保等に関する法律」（“医薬品医療機器等法”，“薬機法”）

2. 新しい製品カテゴリー

「医薬品」「医療機器」

⇒「医薬品」「医療機器」「再生医療等製品」

3. 新しい審査制度（再生医療等製品の一部）

⇒条件・期限付製造販売承認（安全性確認＆有効性推定）

再生医療等製品の特性を踏まえた規制の構築

【医薬品・医療機器と別個の定義付け】

- (1) 医薬品や医療機器とは別に「再生医療等製品」を新たに定義し、「章」を設ける。

＜再生医療等製品の範囲＞

「再生医療製品」「細胞加工製品」

- ① 人又は動物の細胞に加工を施したものであって、目的が
 - イ 人又は動物の身体の構造・機能の再建・修復・形成
 - ロ 人又は動物の疾病の治療・予防

- ② 人又は動物の疾病の治療を目的として、人又は動物の細胞に導入されて、体内で遺伝子を発現するもの（→遺伝子治療）

「遺伝子治療薬」「遺伝子治療用製品」

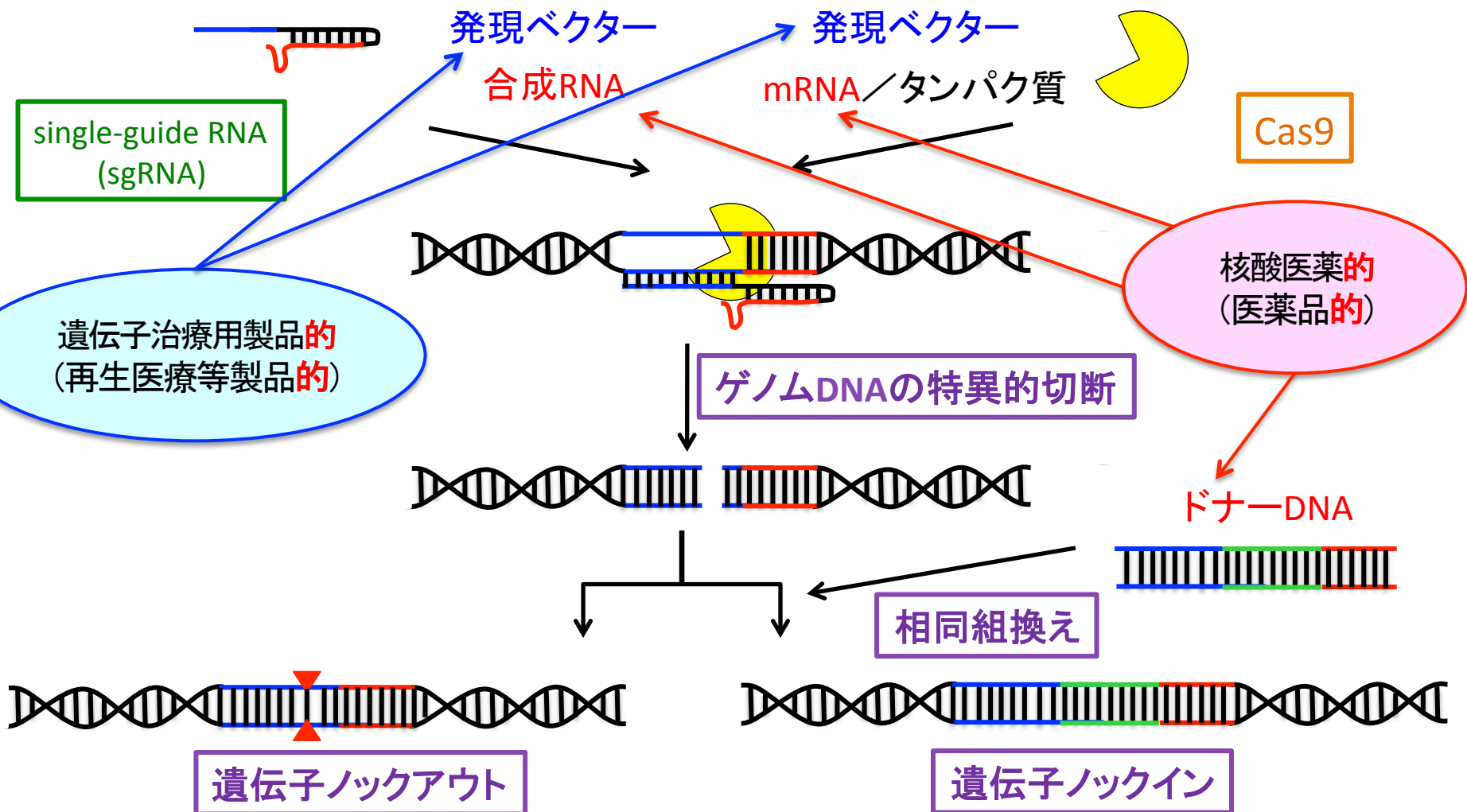
(参考)再生医療等製品に該当しないものの例

- ヒト赤血球・ヒト血小板・新鮮凍結血漿
- 血漿分画製剤
- 移植医療(造血幹細胞、臓器等)
- 生殖補助医療用の受精胚及び配偶子
- プラセンタエキス(胎盤組織)
- ヒト羊膜、ヒト硬膜
- 生体弁
- 創傷用ハイドロゲルや無機多孔体等の足場材料
- 入歯・骨セメント
- 人工関節・人工血管
- 細胞保存液、細胞の培養上清
- 生物学的製剤基準に記載されている弱毒生ワクチン
- アンチセンスオリゴヌクレオチド・核酸誘導體
- リボザイム、アプタマー

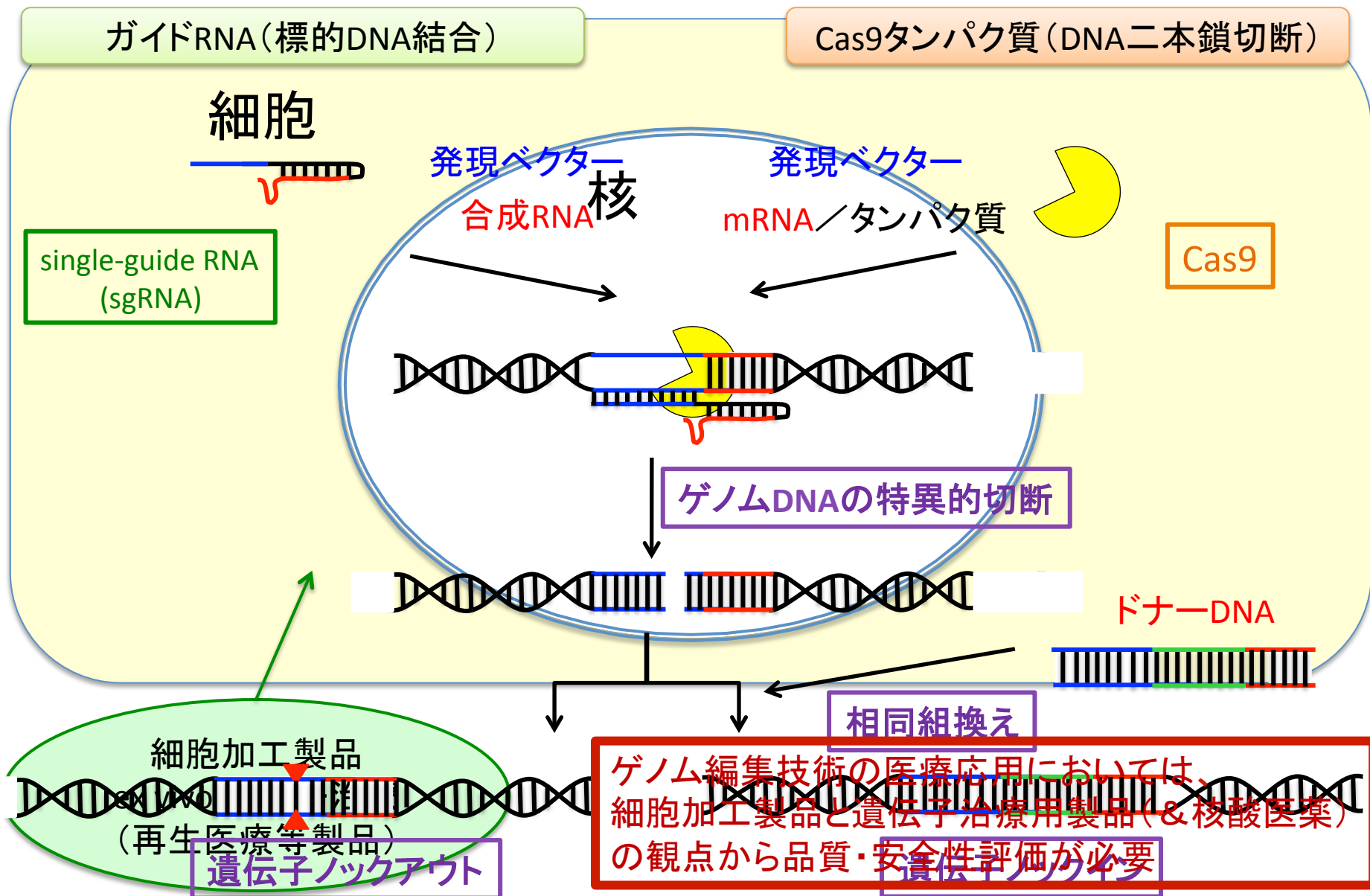
ゲノム編集(例: CRISPR/Cas9)

ガイドRNA(標的DNA結合)

Cas9タンパク質(DNA二本鎖切断)



ゲノム編集(例:CRISPR/Cas9)



Ⅱ. 再生医療等製品(細胞加工製品・遺伝子治療用製品) および核酸医薬の品質・安全性確保の上での課題

細胞加工製品の品質・安全性確保のキーポイント

細胞・組織利用医薬品等の取扱い及び使用に関する基本的考え方
医薬発第1314号 別添1(2000年)

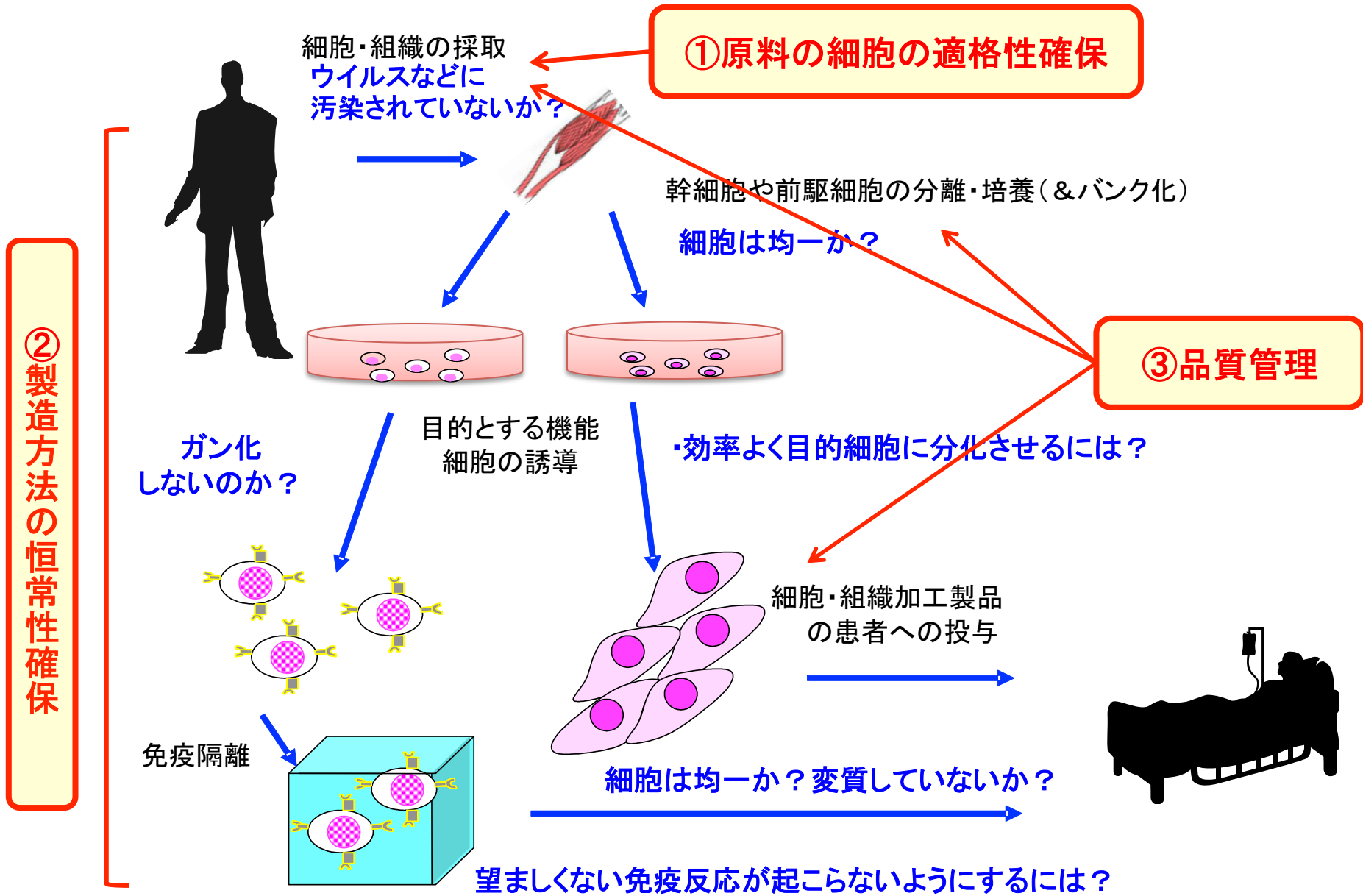
① 原料の細胞の適格性確保

- ドナーの適格性
- ウイルス安全性
- 採取方法の妥当性

② 製造方法の恒常性確保

③ 品質管理

再生医療等製品(細胞加工製品)の品質・有効性・安全性の確保



「製造方法の恒常性」や 「品質管理・品質保証」が大切な理由

製造に用いる細胞は生きている＝複雑・動的な性質

- ・・・製品の品質は製造工程の影響を受けやすい
- ・・・品質の変動 ⇒ 作用・毒性に影響

開発段階(基礎→非臨床→臨床)に応じた製法変更が多い

(培養方法・汚染物質不活化・効率向上・コスト削減・製造のスケールアップなど)

- ・・・製法の変更前後での品質の同等性を示す必要がある

細胞加工製品の品質

原材料・最終製品の管理と製造工程の管理によって確保

Product=Process

遺伝子治療用製品安全性上の問題点

- ① 染色体への遺伝子挿入による発がんの可能性
- ② 生殖細胞への遺伝子導入の可能性
- ③ ウイルス・ベクターが増殖能を獲得する可能性
- ④ ウイルスやベクターの排出：患者や医療従事者への感染リスク

遺伝子治療用製品の非臨床安全性評価

遺伝子治療用医薬品の品質及び安全性の確保について
薬食審査発0701第4号 平成25年7月1日

- ① 非増殖性のウイルスベクターにあつては、**増殖性ウイルスが出現しないことを適切に検査すること**。また、検査方法の適切性について、説明を行うこと。
- ② 正常細胞又は正常組織に**傷害を与える可能性**について、説明を行うこと。
- ③ 導入遺伝子の安定性、存在状態、細胞当たりの導入数、**染色体に組み込まれる可能性**等を調査し、安全性について、説明を行うこと。
- ④ 導入遺伝子からの**発現産物に関する安全性**について、説明を行うこと。
- ⑤ 細胞の増殖能の変化、**腫瘍形成及びがん化の可能性**について、説明を行うこと。
- ⑥ 製品の成分、導入遺伝子の発現産物又は遺伝子が導入された細胞による**望ましくない免疫反応が生じる可能性**について、説明を行うこと。
- ⑦ 遺伝子治療用医薬品の特性に応じて、一般毒性試験の実施を考慮すること。

核酸医薬の実用化の上での課題

- ① 核酸は血液中では短時間で分解され、組織・細胞移行性がないため、現在は局所投与が主
- ② 化学修飾や細胞膜透過配列の付加、リポソーム封入などのDDSが重要
- ③ Off-target効果（目的以外の非特異的な遺伝子への影響）
- ④ インターフェロン応答による副作用

CRISPR/Cas9のOff-target効果と目的外変異

- CRISPR/Cas9は、Zincfinger NucleaseやTALENと比較した場合、活性と簡便性に優れるが、これら2つの方法よりも特異性が低い。
 - ⇒ “Off-target効果” 「標的外の切断」が起こる
- 目的とする配列が得られるかどうかは、細胞のDNA修復機構に依存する。
 - ＝ 「切断部位における目的外配列」も生じる
 - ⇒ 処置後の配列確認と細胞の選択が重要

(例) 切断部位への目的外配列の挿入

マウス受精卵・マウス由来細胞での報告

SCIENTIFIC REPORTS | 5:12281 | DOI: 10.1038/srep12281

Double strand break repair by capture of retrotransposon sequences and reverse-transcribed spliced mRNA sequences in mouse zygotes

Ryuichi Ono^{1,2,*}, Masayuki Ishii^{2,*}, Yoshitaka Fujihara³, Moe Kitazawa², Takako Usami⁴, Tomoko Kaneko-Ishino⁵, Jun Kanno¹, Masahito Ikawa³ & Fumitoshi Ishino^{2,6}

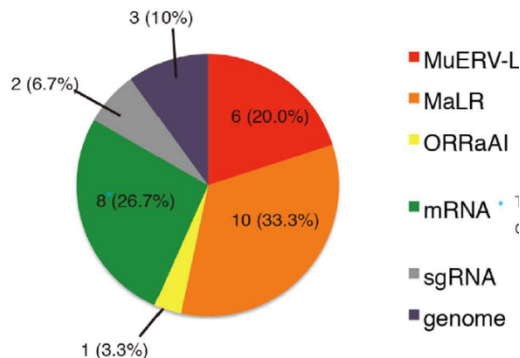
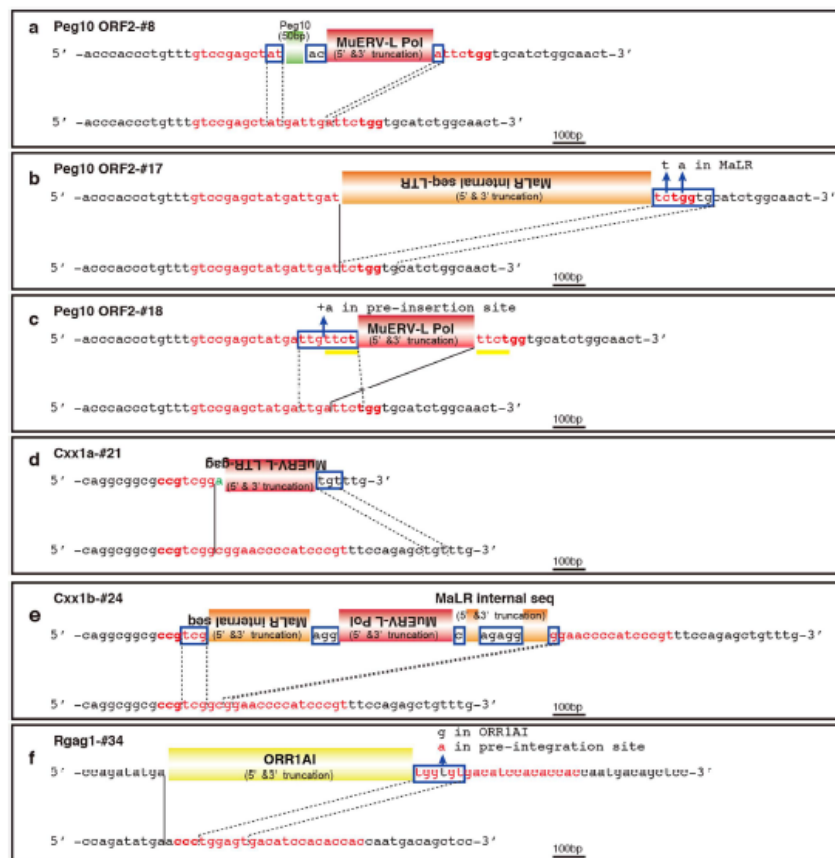
CRISPR/Casで二重鎖切断を行った受精卵に由来する93匹のマウス

⇒このうち、57匹にアレル変異、
⇒このうち、22匹に切断部位への挿入(*)

*挿入配列は、レトロトランスポゾン、mRNAの逆転写産物(cDNA)、sgRNAなど



ヒト細胞で同様の現象があるかは未確認



まとめ

- ゲノム編集技術を医療応用する際には、使用する各ツールについて、**遺伝子治療用製品**または**核酸医薬**の場合に似た安全性・品質の評価が必要
- *Ex vivo*においてゲノム編集を行った細胞に関しては、**細胞加工製品**としての安全性・品質の評価が必要
- CRISPR/Casは簡便で高効率な系だが、**標的部位以外の切断 (Off-Target効果)**や**切断部位への目的外配列の挿入**を生じやすい。これらがゲノム編集後の細胞 (細胞加工製品) の安全性に及ぼす影響と、これらをどのように、どの程度まで評価すべきかについては今後の課題