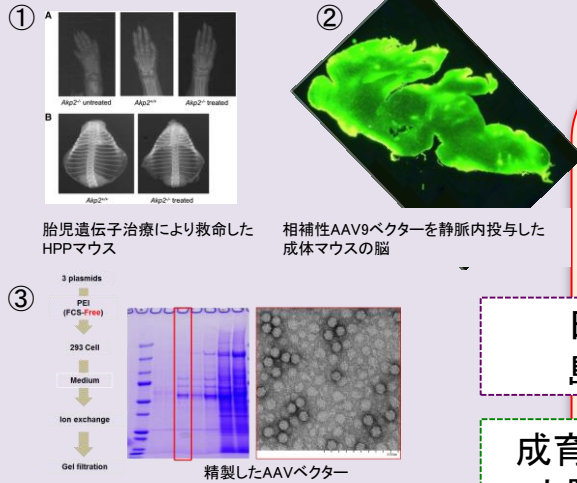


# 医薬品分野 遺伝性難病に対する遺伝子治療薬の臨床開発に向けた 安全性、有効性評価法の確立・ガイドライン作成・人材育成

## 3. AAVベクターの開発

- ① 低フォスファターゼ症(HPP)の遺伝子治療
- ② 異溶性白質ジストロフィーの遺伝子治療
- ③ AAVベクターの大量生産法



## 平成24, 25年の研究概要

1. 治験指針の見直し - ガイドラインの作成  
(欧米との比較、問題点の提起、素案の作成)

5. 人材交流・相互連携

日本医大  
島田 隆

成育医療研究C  
小野寺 雅史

PMDA審査業務担当者  
五十嵐友香 (NIHS)  
伴野太郎 (NIHS)

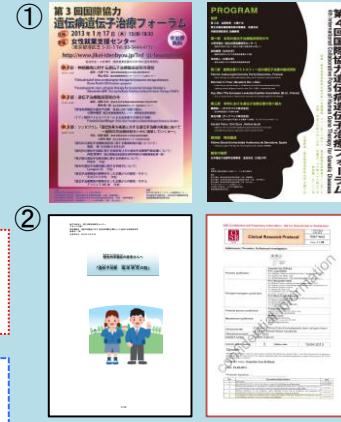
PMDAでのセミナー  
全体会議 (1回/月)

PMDA審査業務  
担当者

NIHS  
内田 恵理子

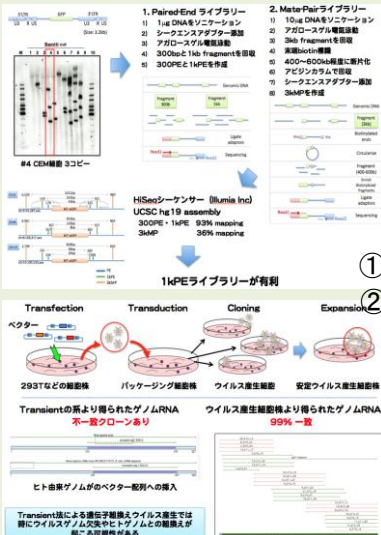
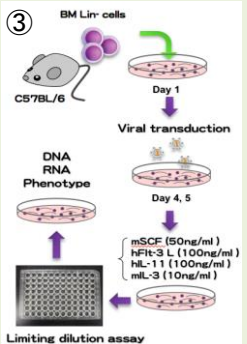
## 6. アウトリーチ・臨床研究

- ① シンポジウムの開催  
H24 難治性疾患に対する遺伝治療の実施に向けて」  
H25 本邦における遺伝子治療企業の取り組み」
- ② 遺伝子治療臨床研究 (成育)  
慢性肉芽腫症、ウイスコット・アルドリッチ症候群



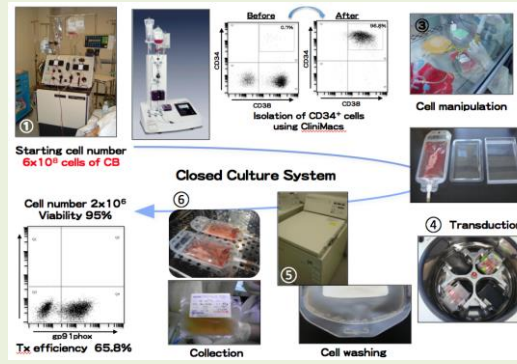
## 2. 安全性・品質検査法

- ① 遺伝子導入細胞の網羅的挿入部位解析
- ② ウイルス粒子内の全ウイルスゲノム解析
- ③ 遺伝子導入細胞のin vitro不死化アッセイ



## 4. 臨床用ベクター製造と遺伝子導入 慢性肉芽腫症用臨床ウイルスベクター製造

タカラバイオ社にて製造された臨床用MFGSgp91を用いた遺伝子導入実験 遺伝子導入効率が65.8%



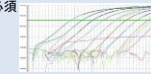
## 2. 安全性・品質検査法

### デジタルPCRを用いたベクターの品質解析

◎従来のリアルタイムPCR法

1wellあたりに含まれる核酸全体を増幅し、増幅サイクル数(Ct)の比較で定量する  
定量には濃度既知のStandard希釈列を用いた検査線が必要

利点：簡便、どこでも施設にもあるシステム  
欠点：定量にStandard必須

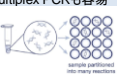


◎臨床検体などの生体試料を用いたsampleではPCR反応を阻害するような成分の混入により検出感度の低下がみられ微量検出は困難⇒リアルタイムPCRでは生体試料において感度低下を認めたがddPCRでは感度は不変であり、ddPCRの有用性が示唆された。

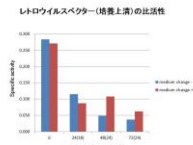
◎digital PCR法

1wellあたりに含まれる核酸を約20000個の微小区画に分けて増幅し、増幅した区画数の比較で定量する  
ポアソン分布を用いることで、ターゲットのコピー数を絶対定量することが可能

利点：定量Standard不要、multiplex PCRも容易  
欠点：時間とコストがかかる



◎ウイルスベクターの品質管理：規格では力価とゲノムコピー数との比率(比活性)の管理が重要：重要品質特性→標準品などでコピー数を絶対定量可能なddPCRは比活性の管理に有用



従来のリアルタイムPCR法 digital PCR法

比活性=感染性単位/ゲノムコピー数 比活性が高いほどウイルス量が多いことを示す