

## 第1回ゲノム編集専門部会

日時 平成30年11月8日(木)

13:00~15:00

場所 PMDA会議室1~4(6階)

<開会～出席状況確認及び配付資料確認>

○事務局(下川) ただいまより、ゲノム編集技術を応用した医薬品等のリスク評価の考え方に関する専門部会を開催いたします。本日は、お忙しい中をお集まりいただきましてありがとうございます。最初に新井レギュラトリーサイエンスセンター長より御挨拶申し上げます。

○新井レギュラトリーサイエンスセンター長 レギュラトリーサイエンスセンター長の新井と申します。本日はお忙しいところを本専門部会にお集まりいただきまして誠にありがとうございます。後ほど事務局から説明があると思いますが、この科学委員会は、PMDAが医薬品・医療機器等の審査や相談業務を行うに当たりまして、審査員が加速する技術革新にキャッチアップし、また、アカデミアと密接な連携を行う必要があるということから設置されたものです。

今回のテーマでありますゲノム編集技術は、御存じのとおり、平成28年10月に中国で肺がんの治療のためにCRISPR/Cas9を利用した世界初の臨床試験が行われたということで、臨床応用への期待も非常に高まってきています。しかしながら、その一方で、意図しないゲノム改変が起こったりという安全性への懸念も出てきている状況です。

このような状況を踏まえまして、PMDAにおきましても、ゲノム編集技術への対応が必要であると感じており、7月3日の科学委員会で本専門部会の設置が決定された次第です。本専門部会では、PMDAにおける審査・相談業務に役立てるため、ゲノム編集を応用した医薬品等のリスク評価の考え方を取りまとめたいただきたいと考えています。皆様、どうぞ活発な御議論、御提言をいただきたいと思っています。本日はよろしくお願い申し上げます。

○事務局(下川) PMDAからの出席者の御紹介につきましては机上配付資料にて代えさせていただきます。委員の出席状況を申し上げます。当専門部会の13名の委員のうち、現在12名の委員に御出席いただいています。全委員の過半数に達しておりますので、専門部会規程第7条の規定に基づきまして本専門部会の議決定数を満たしていることを御報告いたします。

次に、配付資料の確認をさせていただきます。座席表、議事次第、資料取扱区分表。ほかに、本資料としまして、資料1の委員名簿、資料2の科学委員会について、資料3は山口部会長の資料、資料4は真下委員の資料、資料5が三谷委員の資料です。そのほか、参考資料として1～7があります。不足等ございましたら事務局までお願いいたします。

次に、資料取扱区分表を御覧ください。資料は内容に応じて、取扱いとして「厳重管理」「取扱注意」「その他」に分類し、それに応じた対

応取ることとしています。本日の配付資料は、資料5が「取扱注意」となっておりまして、厳重に保管し、コピー等の複製、第三者への開示は御遠慮いただきますようお願いいたします。資料5以外は全て「その他」に該当しますので、委員各自で適切に保管・管理・廃棄をお願いいたします（※三谷委員の発言の中で最終的に資料5も「その他」に変更されたため、資料1～5は全て「その他」）。

それでは、山口部会長、議事の進行をお願いいたします。

### <委員紹介>

○山口部会長 本専門部会の部会長を務めさせていただいております山口です。本日は初めての専門部会ですので、先生方の自己紹介をお願いしたいと考えています。なお、本日は科学委員会（親委員会）より、委員長の井上先生、今泉先生、西川先生に御出席をいただいております。

まず、私から自己紹介させていただきます。次に小澤敬也先生、内田先生と回って、最後に親委員会からの先生方という順でお願いいたします。資料1の委員名簿を御参照いただきたいと思います。

私、山口は、日本薬科大学の客員教授、金沢工業大学の特任教授をしています。この専門部会部会長に選ばれたのは、臨床研究のほうで遺伝子治療臨床研究審査委員会の委員長をしているなど、そういうことが関係していると考えています。活発な御議論をお願いしたいと思っております。

○小澤(敬)委員 自治医科大学の名誉教授・客員教授を務めております小澤です。私は、この専門部会の副部会長を担当させていただくことになりました。専門は遺伝子治療で、ゲノム編集は直接的には取り組んでおりませんが、in vivo ゲノム編集では AAV ベクターが使われますし、また、今、力を入れている CAR-T 細胞療法ではゲノム編集が使われた臨床試験なども行われていますので大変関心を持っています。よろしくをお願いいたします。

○内田委員 国立医薬品食品衛生研究所の内田です。遺伝子治療の担当をしております。遺伝子治療のレギュラトリーサイエンスを専門としています。よろしくをお願いいたします。

○小野寺委員 国立成育医療研究センター成育遺伝研究部の小野寺です。私は小児科医でもありまして、主に遺伝性疾患を扱っており、今回、このようなゲノム編集というのは大変興味がありますので、是非、先生方にいろいろとお知恵をお借りして、よい医療を開発していきたいと思っておりますので、よろしくをお願いいたします。

○久米委員 自治医科大学の久米と申します。私も元小児科医で、今もですが、遺伝

子治療も専門です。私どもの大学でも、今はまだ計画段階ですが、ゲノム編集を用いた血友病の遺伝子治療等を計画していきまして、今回の議論は非常に大切なものだと思います。よろしくお願いいたします。

○島田委員 日本医科大学の名誉教授の島田です。今は PMDA で専門委員と、それから、AMED でプログラムオフィサーをやっています。担当は遺伝子治療とゲノム編集です。よろしくお願いいたします。

○高橋委員 筑波大学の高橋です。所属が トランスボーダー医学研究センターになっていますが、生命科学動物資源センターという、マウスを使ったゲノム編集をやっているセンターも兼任していきまして、実際にマウスの受精卵で改変を年間 150 ぐらいやっています。マウスですけれども、実際に使っている立場からいろいろ勉強させていただきたいと思っています。どうぞよろしくお願いいたします。

○谷委員 東京大学医科学研究所の谷と申します。よろしくお願いいたします。私は血液腫瘍内科医で、専門は免疫療法・遺伝子治療です。ゲノム編集に関しましては、遺伝子治療の走りのときに、先天性溶血性疾患の遺伝子治療を造血幹細胞を対象に基礎研究を進めておりました関係から、非常に興味を持っています。御指導のほどよろしくお願いいたします。

○那須委員 岡山大学の那須と申します。私は今、研究科長ということで大学全体の遺伝子治療と新薬の革新的医療技術創出拠点の責任者として活動していますとともに、泌尿器科医として長年、現在も行っていきますが、前立腺がんの遺伝子治療に関わる臨床試験に関わっていますので、そういったところからの観点で勉強させていただきたいと思います。どうぞよろしくお願いいたします。

○水口委員 大阪大学の水口です。私はアデノウイルスベクターを用いた遺伝子治療や、ワクチンあるいはウイルス療法に関する研究や、iPS 細胞を使った特に創薬に関する研究を行っていきまして、両システムともゲノム編集技術も使いながら研究しています。どうぞよろしくお願いいたします。

○西川委員 済生会宇都宮病院の西川と申します。親委員会からの出席で、前期に引き続き親委員会の委員を務めています。前職が国立医薬品食品衛生研究所の安全センター長でしたので、その関係で委員を務めています。専門は病理で、現在は病理医として毎日忙しくやっております。よろしくお願いいたします。

○今泉委員 同じく親委員会から出席させていただいております、名古屋市立大学の研究担当理事、副学長をしております今泉と申します。もともとは薬学で薬理が専門です。勉強させていただくのを非常に楽しみにしております。よろしくお願いいたします。

○井上科学委員会委員長 親委員会の委員長をしております、東京大学医科学研究所の井上と申します。専門は基礎分子生物学で、細胞のシグナル伝達やがんという研究です。ゲノム編集については実験室レベルはたくさんやっているのですが、いざ医薬品となった場合にどういう議論が問題点になるのか、そういうことに興味を持って参加させていただきたいと思っております。どうぞよろしくお願いいたします。

○三谷委員 埼玉医科大学の三谷と申します。私は遺伝子治療のベクター開発、基礎技術の研究をずっとやっております、その流れで、ウイルスベクターを使ったいわゆる遺伝子ターゲティング、染色体上の狙った部位に遺伝子を入れる技術といったことを研究しています。その関係で、最近出てきましたいろいろな新しい酵素の技術を用いてゲノム編集治療の基礎研究を、現在進めています。どうぞよろしくお願いいたします。

○真下委員 大阪大学医学系研究科のゲノム編集センターのほうでやらせていただいています真下と申します。先ほどの筑波大学の高橋先生と同様に、私は動物のほうも専門にしまして、遺伝子改変マウスや、特にラットを中心にゲノム編集を使ってゲノム編集改変動物を作っています。最近では新規のゲノム編集ツールの開発なども細胞を使ってやっております、ゲノム編集に関連した研究を勉強しながら頑張っています。今回、是非勉強していきたいと思っておりますので、よろしくお願いいたします。

#### <科学委員会について>

○山口部会長 どうもありがとうございます。本日は科学委員会や PMDA に親しみのない先生もいらっしゃいますので、事務局から簡単に御説明していただこうと思います。

○事務局(下川) 資料2を御覧ください。PMDAの業務は、大きく分けて3つあります。医薬品等が市販される前に承認審査を行いまして、市販後は安全対策、市販後に健康被害が発生すれば救済という、市販前から市販後までの一貫した安全対策を行っています。右の図にありますように、私どもはこれら3つで、国民の安全を守る世界に誇るシステムということで、「セイフティ・トライアングル」と呼んでいます。

次のページを御覧ください。これは、今申し上げた PMDA の3つの業務を行うに当たっての理念です。この中で、上から3つ目の理念ですが、「最新の専門知識と叡智をもった人材を育みながら、その力を結集して、有効性、安全性について科学的視点での的確な判断を行います」とあります。この科学的な視点での的確な判断のために、私どもはこの科学委員会の先生方のお力をお借りしたいと考えています。

下のスライドを御覧ください。科学委員会ができた背景です。再生医療など最先端技術を利用した製品の審査や相談業務を行うためには、最先端科学技術の研究内容を理解する必要があり、その上での確かな相談・助言が求められています。このためには、加速する科学技術にキャッチアップし、審査員の継続的な育成が必要ですので、アカデミアとの密接な連携を行うため、科学委員会を平成24年5月に設置するに至っています。

次のページを御覧ください。PMDAでは、先ほども申し上げましたが、医薬品・医療機器等の様々な開発段階での相談業務から承認審査、市販後の安全対策までの各段階での業務を行っていますが、その業務に資するよう最先端技術応用製品の評価方法につきまして、科学委員会においてアカデミアと審査員との意見交換を通じて模索していくこととしています。

下のスライドを御覧ください。科学委員会は、医薬品・医療機器等審査業務との科学的側面に関する事項を審議するものとなっています。上から2番目の○の部分にありますように、先端科学技術応用製品に関わる「審査(承認)基準」や「審査(開発)ガイドライン」ではなく、「各審査事項の科学的評価にあたって留意事項」の取りまとめなどを期待しています。また、個別品目の承認審査を行うものでもありません。

上から5番目の○ですが、委員名簿は専門部会委員も含め公開します。科学委員会、専門部会とも個別事例を基に議論することもあり得ますので、会議は非公開となっています。ただし、議事録は原則公開となっています。

次のページを御覧ください。科学委員会の親委員会、専門部会の役割についてです。親委員の役割は、議論すべきテーマの決定、そのトピック毎に専門部会を設置すること。それから、専門部会委員の選定を行うこと、専門部会において作成された報告書(案)等について確認する、となっています。一方、専門部会の役割は、親委員会で決定されたトピックについて議論を行い、報告書(案)をまとめることになっています。

下のスライドを御覧ください。科学委員会は2年を1つの期とし、この4月から4期目がスタートしています。親委員会、専門部会委員の任期はどちらも2年ですが、専門部会は報告書が作成されれば活動を休止します。また、専門部会の報告書は原則1年、最長2年で作成することとしています。

次のページを御覧ください。これは第4期科学委員会(親委員会)の委員名簿です。委員長は、御紹介がりましたが、東京大学医科学研究所

の井上先生、副委員長は東京都健康長寿医療センターの遠藤先生が務められています。

下のスライドをを御覧ください。第4期科学委員会のテーマです。親委員会で2つのテーマを決定していきまして、1つ目が「薬剤耐性菌感染症治療薬の臨床評価」、もう1つが本日の専門部会のテーマである「ゲノム編集技術を応用した医薬品等のリスク評価の考え方」となっています。

次のページを御覧ください。過去の科学委員会の成果は報告書としてまとめられまして、PMDA ホームページに掲載しています。下の最後のスライドは、これまで第1期から第3期までの報告書の一覧です。科学委員会の成果は、日本語の報告書としてまとめるほか、海外に向けて発信するために報告書を英訳しホームページに掲載するか、内容によっては英文学術雑誌に投稿も行っています。

最後に、参考資料7を御覧ください。これは過去の報告書の実例です。例として挙げていますのは、「iPS細胞等をもとに製造される細胞組織加工製品の造腫瘍性に関する議論のまとめ」と「抗悪性腫瘍薬開発における非臨床試験の活用に関する提言」の2つの例をお配りしています。最終的にはこのようなものを本部会で作成する予定ですので、御協力をお願いいたします。説明は以上です。

#### <専門部会の設置の目的、進め方等について>

○山口部会長 科学委員会について、今、事務局から説明していただきましたが、何か御質問等ございますでしょうか。もし科学委員会について疑問あるいは質問等がございましたら、後の議題の中でも議論していただければと思っています。

それでは、本日のメインの議題に移ります。ただいま事務局から説明していただきましたように、科学委員会で本年度2つのトピックが取り上げられ、そのトピックごとに専門部会が立ち上がっていきまして、その1つが本日の専門部会です。この専門部会の名称であります「ゲノム編集技術を応用した医薬品等のリスク評価の考え方に関する専門部会」は、先ほども言いましたように、平成30年7月3日に開催された親委員会で専門部会の設置が決まり、そのときに私が部会長として御指名いただくことになりました。本日、皆様とフェース・トゥ・フェースで本専門部会のゴールとタイムラインについて共有させていただければと思います。次に幾つか説明させていただきますが、これは実際に議論をしている中で変更していただければよいことであり、まだこれからどのようにやるかというのは議論の中で固まっていけばよいのだらうと思っています。

ます。

本日の専門部会の目的、検討のイメージですが、専門部会について私から簡単に説明させていただきたいと思います。スライドでも出ておりますが、資料3を御覧ください。

まず、専門部会設置の背景と目的です。このスライド及び次のスライドで、今のゲノム編集の背景について簡単に説明させていただきたいと思います。より具体的な話については、本日、三谷先生や真下先生からいろいろと御提案があると思っていますが、現時点で割と共有されている話としては、ゲノム編集というのは、もともと究極の遺伝子治療、目的として、変異のある遺伝子を正常な遺伝子に変換できるのではないかとということで、究極の遺伝子治療になるのではないかと期待されていたわけです。ですから、2つ目のポツにありますように、いわゆる先天性疾患の究極の遺伝子治療になるのではないかと思います。初期には ZFN や TALEN など、割と複雑な、技術的にもかなり高度な技術を要するような、人工タンパクの設計に特殊な技術が用いられていたのですが、CRISPR/Cas9 の発見によりターゲット遺伝子をはっきりすれば、ガイド RNA を簡単に設計することにより Cas9 酵素を導入する、非常に容易にゲノム編集ができるようになったことが挙げられます。このようなゲノム編集の中の新しい技術によって、CRISPR/Cas の開発によって、様々な疾患を目指したゲノム編集の開発が急激に進展していますし、たくさんの臨床試験が行われていると思います。

次のスライドです。先ほど申しましたように、究極の遺伝子治療になるのではないかと、もちろん今も期待はあるのだらうと思いますが、その一方で、当初から言われていた幾つかの副反応というか、目的外の作用、例えば、目的とする遺伝子配列にガイド RNA を合わせることによって、その遺伝子だけを切るというのではなく、別の遺伝子や、あるいは、非常に配列が類似したような遺伝子も切ってしまう可能性がある。そのようなオフターゲット効果や、改変した細胞と改変されていない細胞というモザイクになるのではないかと、そういう問題点が指摘されていたのですが、さらに、例えば相同組換えを起こすような導入をする場合、結果的にがん抑制遺伝子である P53 に変異がある場合が結構出てくること、あるいは、ゲノムの切断を行うことから、例えば染色体の切断を行うことによって、転座など、そういう染色体そのものの不安定性、さらに、*in vivo* ゲノム編集を行う場合は、改変を高率で行うために、長期にわたりゲノム編集酵素の発現が起こりますと、より変異が導入されやすくなるという可能性もあります。それで、FDA などは、ゲノム編集



に関しては、いわゆるレトロ、レンチと同じように長期にわたるフォローアップが必要ではないかというような考え方もあるようです。

次のスライドは、本部会の目的です。このような新たな技術で、しかも急速に発展しているゲノム編集に関して、遺伝子治療製品等の開発がされてくると思いますが、そのリスク評価に関する考え方を整理するという事。そして、より安全なゲノム編集の開発の促進と、そのことにより、PMDAにおける審査の参考になるような、いわばコンセプトペーパー、point to considerのようなものを作成することを目指してはどうかと考えています。

次のスライドは、検討のイメージです。以上のような背景を踏まえまして、まず、ゲノム編集とそれを導入するための技術によって分類してはどうか、この辺はいろいろ意見があるのではないかと思います。従来のウイルスベクター、Plasmidを用いて行うこともありますし、最近では、切るという工程をできるだけ短時間に終わらせたいということから、例えば Cas9 のタンパク質を導入する、あるいは、メッセンジャーRNA で Cas9 をコードして、あとはガイド RNA と混ぜて入れるという、そういう方法、そういうツールごとに分類してリスクを評価してはどうか。

それから、ゲノム編集技術の特性を踏まえた上で、その安全性について考慮事項をまとめるようなこと、この辺については、後ほど紹介していただくお二人の先生にお話を聞かせていたただけるのではないかと考えています。臨床試験の段階では、ゲノム編集特有の考慮事項、例えば先ほど申したようなロング・ターム・フォロー・アップをどのようにやったらよいかという点についても、この辺は関係してくることだと思っています。

このスライドとその次のスライドの2つは、検討項目の素案として書いたものですが、必ずしもこれにこだわる必要はなくて、もう少し整理し直す必要もあると思いますが、今の暫定的には、このように分けられるのではないかと。例えばゲノム編集しようとして、メインには、この3つ、ZFN、TALEN、CRISPR とありますが、それ以外にも、後で出てくるように、切らないゲノム編集技術というのもありますので、その辺との関係も必要になってくると思います。それで、先ほど申しましたように、これはゲノム編集ツールによる分類を行ってはどうか。それから、ゲノム編集の目的による分類、遺伝子破壊、ノックアウトするのか、相同組換えなのか、あるいは、エピジェネティックな作用も考えられますので、その辺も含めて分類してはいかがでしょうか。

あとは、非臨床、この辺が一番ターゲットになると思うのですが、ex

vivoゲノム編集と in vivoゲノム編集にかけて、どのような安全事項があるか、オフターゲット効果から染色体の不安定性、あるいは、in vivoゲノム編集ではどのようなところへターゲットニングするか。さらに、長期にわたって編集酵素が発現することによるリスクなど、そういうものについて評価を行うことになるのではないかと思います。最後に治験における留意事項です。

次のスライドは、専門部会の進め方です。繰り返しになるところは省きます。専門部会の下にワーキンググループを設置させていただいて、この中で、例えば、実際には point to consider を作成するにもエディティング、文書作成が必要になりますが、それはこの下にもう1つワーキンググループを作成させていただきまして、そこでまず素案を作らせていただきたいと思っています。それをこの専門部会で承認していただくというような進め方ではいかがかということです。ワーキングのメンバーについては、この専門部会委員の中から、専門部会後に部会長・副部会長で選ばせていただいて、その専門部会委員の了承を取ることとさせていただきたいと思っています。それで、ワーキンググループにおいて作成した素案については、ここで議論をさせていただいて、こことキャッチボールをしながら最終的な素案を作成していければと考えています。

次のスライドは、これからのスケジュールです。皆様と日程調整等をしてしながら、このようなスケジュールで、最終的には来年11月、1年ぐらいかけてこれが出来上がればよいのではないかと思います。以上です。

今の説明について何か御質問、あるいは、やるべきことなどに関して御意見等がございましたら、お願いいたします。よろしいでしょうか。本日は、お二人の委員の先生にお話していただいた後、最後にフリートーク、ブレインストーミングをやらせていただきたいと思っていますので、そこでいろいろな議論ができるのではないかと考えています。

次に、本専門部会の名称ですが、先ほど申しましたように、正式名称は「ゲノム編集技術を応用した医薬品等のリスク評価の考え方に関する専門部会」ですが、長いので簡単に呼称するためには、もう少し簡便な呼称でもよいのではないかと考えています。私からの提案ですが、「ゲノム編集専門部会」とさせていただきたいと思いますが、よろしいでしょうか。では、そのようなことで進めさせていただきたいと思っています。

<委員からの講演：ゲノム編集の最新技術概要（真下委員）、ゲノム編集技術の安全性（三谷委員）>

○山口部会長 次に、先ほどから申していますとおり、本日はゲノム編集技術に関しての専門家である真下先生、三谷先生から御講演をいただこうと思っています。まず、真下先生に、ゲノム編集技術についてのオーバービューの御講演をいただきたいと思います。真下先生は日本ゲノム編集学会の副会長を務めていらっしゃいますので、技術分野全体を俯瞰するような視点、また、開発における視点等をお話しいただけるのではないかと思います。真下先生、御用意ができましたらよろしく願いいたします。

○真下委員 大阪大学の真下です。今回、資料をたくさん準備し過ぎたところもあるのですが、ざっと御紹介させていただきたいと思います。資料4を御覧ください。少し釈迦に説法的なところもあるのですが、概要を説明して、簡単に振り返ってみたいと思います。ゲノム編集というのは、遺伝子組換え技術とよく比較されると思いますが、組換え DNA 技術が 1973 年に出て、遺伝子改変マウスの作成とかいろいろされてきたと思います。先ほど御説明いただいた ZFN とか TALEN、CRISPR とありますが、それ以前にはメガヌクレアーゼといった、ゲノム上のたった 1 か所だけの遺伝子を変えるようなものも存在しておりまして、実は 1990 年代からいろいろゲノム編集、その当時はゲノム編集と言われていなかったのですが、遺伝子を変える新しい技術が出てきた。その頃はあまり日本でも注目されていなかった技術ですが、それがアメリカのほうではヒト細胞でできますよとかいろいろ注目され出して、2010 年に TALEN 等が出てきて、CRISPR/Cas9 で一気に広がっていったことになるかと思います。

ZFN、TALEN、CRISPR、これも本当に釈迦に説法で申し訳ありませんが、どれも同じく DNA、2 本鎖切断を入れることで狙った 2 万個なら 2 万個の遺伝子の中のたった 1 個だけの遺伝子を NHEJ のパスウェイを通して破壊する。あるいは相同配列を入れることで、相同組換え、HDR により遺伝子を挿入、あるいは置換するといったことができることになります。

CRISPR/Cas9 は、よくレビューでも言われておりますが、1987 年に遡って大阪大学の微研の中田先生、あるいは現在の九州大学の石野先生らによって、この繰返し配列が発見されたということになります。その当時は CRISPR とわれていなかったのですが、実はこの CRISPR が細菌・古細菌等で獲得性免疫を持っていると。要は 2 回目に感染した細菌等に感染したファージウイルス等の RNA、DNA を分解することができるものということで、微生物学者の間では広まっていたのですが、これを 2012 年に Emmanuelle Charpentier、Jennifer Doudna らが初めてゲノム編集技術として利用したということになります。

微生物の分野では、CRISPR/Cas9 は 3 つのステップにより獲得性免疫の

働きをしていると。若干、ゲノム編集技術にも関わるので少しだけ説明させていただきます。一度感染したときにウイルスの DNA の一部を自分の中に取り込んで、CRISPR 配列、CRISPR アレイとして取り込むと。大体一番先頭に取り込まれるわけですが、CRISPR 配列の近くにある Cas 遺伝子と一緒に働くことで、この過程を processing と言いますが、CRISPR からガイド RNA を作成して、Cas9、タンパク質と一緒に働くことで2回目に感染したファージウイルス、DNA、RNA を分解する。これを interference と言います。

こういった CRISPR の働きを使ってゲノム編集として皆さん利用しているわけですが、実は CRISPR はいろいろな種類の、要するに細菌で大体 40~50% ぐらい、古細菌で 70~90% ぐらいと言われておりますが、いろいろな細菌・古細菌が持っている CRISPR 配列、Cas9 はクラス 1 とクラス 2 と大きく 2 つのクラスに分かれております。クラス 1 の中には、Type I、Type III、Type IV と。クラス 2 の中には Type II、Type V、Type VI と、その中にも様々な CRISPR があって、何を言いたいかと言いますと、最近 CRISPR/Cas9 だけではなく、いろいろな CRISPR が出てきているということです。要するに、今でもいろいろな細菌を探せばいろいろな宝が眠っているのではないかと考えておまして、最近では CRISPR/Cas9、皆さんが使われるのは連鎖球菌由来のものが主になっておりますが、それ以外の CRISPR もたくさんあるということです。この Cas9 が連鎖球菌由来のものです。いずれにせよ、CRISPR/Cas9 を使って、今回の資料に関してはインターネット等でいろいろ拝借しておまして、引用等をしている所が多々あるかと思えます。また訂正して改めて資料を提出させていただきますので、よろしくお願ひします。CRISPR/Cas9 によっていろいろなことができるということになります。

特に Cas9 の一番有名なものは、Cpf1 というものを皆さんはお聞きになったことがあるかと思えます。最近ではこれを Cas12 と言われておまして、12 番目の Cas と言われるようになってきております。切り方が違うというところで、どちらも 2 本鎖切断を与えるという意味ではいいのですが、Cpf1 のほうはスティッキーエンドということで、Cas9 のほうは blunt end ということであります。

あともう 1 つは、PAM が違うということで、連鎖球菌由来 Cas9 は GG を認識するのに対して、Cpf1 は TT、あるいは TTT を認識するというので、このように PAM の認識が違う CRISPR もいろいろな種類が開発されているという状況になっております。駆け足で申し訳ありませんが、いろいろな種類を説明するという、概要ですのでどんどん進めさせていただきます

す。

もう1つ違う使い方としては、先ほどありましたように Cas9 の切断活性を除いたもの、dead Cas9、あるいは dCas9 と言ったりします。dead に関しては、Cpf1 など作られておりますし、その先いろいろなものも出てきております。使い方としてはいろいろあるのですが、代表的なものとしては CRISPRrepressor や activator ということで、ゲノム上の遺伝子の発現を調節するプロモーター領域等にくっついて切らずに dCas9 にくっ付いた後ろのタンパク質が遺伝子の発現を抑える。CRISPR interference、CRISPRi とか言っておりますが、こちらのほうは CRISPRa とか言ったりしますが、発現を抑えたり、発現を上げたりすることができるといことになります。下のほうでいきますと、これは dCas9 に GFP を付けることで、狙った遺伝子を光らせることができるといったものや、治療につながっていくような話ですと、メチル化、脱メチル化等もできる dCas にメチラーゼ、デメチラーゼをつなげたもの等が出てきて、特に遺伝子を発現するものとか、メチル化等はやはり遺伝子治療にもつながっていくのではないかとわれております。しかも、より安全ということも言えるのではないのでしょうか。

もう1つ、これは東京大学の佐藤先生が研究されている分野です。この Cas9 を2つに分けるスプリット Cas9 で、光を当てたときだけ分かれた Cas9 がくっついてゲノム編集が起こるといこと、これも安全性を上げる1つの技術として注目されております。普段は Cas9 が発現しても切らないのですが、光を当てたときだけ切れて、また切れなくなっていくというような技術になるかと思えます。

今、特にアメリカで一番注目されているものが切らないゲノム編集とよく言われております、日本では Target-AID、アメリカでは Base Editor と言われております。日本では神戸大学の西田先生らが中心に開発されておられますが、要は先ほどの dead Cas9 あるいは最近では Cas9 nickase と、DNA 1本だけを切るという酵素を、こちらのほうが効率が良いといこと、Cas9 nickase にシチジンデアミナーゼとか、その他の一塩基だけを変える酵素は複数ありますが、そういったものをつなぎ合わせることで、狙った遺伝子の、この場合は C から U に変わるわけですが、最終的には T に変わるということ、GC を AT に変えるとか、アメリカでは AT を逆に GC に変えるような酵素も出てきておまして、こういった酵素もどんどん使われるようになっていくのではないかと。この部分でいくと切らないことを売りにしてやっておりますので、従来の Cas9 よりも安全に、しかも人の病気で言われるのは一塩基置換を効率良く変えられると言われ

ております。要は変異を入れずに、よく一塩基のノックインを Cas9 を使ってやると、一塩基の置換もできますが、ゲノム欠失も起きてしまうと。これはゲノム欠失がほとんど起きないということでより安全だと言われております。

日本ではあまり言われていないのですが、今度は Cas13 というのもありまして、これは C2c2 とか、アメリカのブロード研究所のグループが開発しているものですが、RNA 編集という CRISPR も存在しております。

これは先ほどの Type でいきますと、TypeVI の CRISPR になります。ちなみに言い忘れましたが、Cas12 の Cpf1 は TypeV の CRISPR になります。こちらは TypeVI の Cas13 ということで、これも Cas9 と同じように Cas のタンパク質がくっつくのですが、くっつく相手が DNA ではなく、RNA ということで、ターゲットの RNA を認識して分解してしまう。いわゆるメッセンジャーRNA を分解して悪い遺伝子の発現を抑える。さらにこのグループは、Cas13 を dead にして、RNA の一塩基を変える酵素、ADAR2 といったこれも複数あるのですが、こういった酵素をくっ付けることで RNA 自体の一塩基変異を修復できるということも示しております。

これは治療ではないのですが、検出とかスクリーニングとか、診断にも使えるのではないかとと言われてきておりますが、RNA にくっつくことで、これは非常に感度よく、しかもその場で見れるという利点をいかして、ウイルス診断等にも使われている技術になります。この辺も今後いろいろと使われていくのではないかとということで、今回御紹介させていただきました。

以上がゲノム編集で、ここに御紹介させていただいているだけではなく、いろいろなグループが新しいゲノム編集ツール、しかも基礎技術、今、Cas9 の知財の競争等もありまして、どれが使いやすいのかとかいろいろありますが、そういったものを回避するような技術が、日本でも九州大学の中村先生らが頑張っているという状況です。

私の専門についてはざっといかせていただきます。私のほうは実験動物においてゲノム編集を利用しております。ゲノム編集技術によって、CRISPR/Cas9 が与えた影響というのは非常に大きくて、マウスでも非常に簡単に効率よく作れるようになったと。マウス以外の生物でも、特に私がやっているようなラットとか、あるいはサル、ブタとかいろいろな生物、哺乳動物ではない生物や植物などでもゲノム編集が非常に広がってきたということで、そのインパクトは非常に大きいと考えております。我々も CRISPR/Cas9 を使って非常に簡単に、しかも効率よくノックアウト動物や、ノックイン動物ができるようになったということで、今、ES 細

胞もだんだん要らなくなってきたと言われております。

これもモデル動物としてスライドに載せたのですが、ノックインする技術というのがいろいろな所から出ております。大きな遺伝子を入れるとか、ヒトの遺伝子をそのまま入れておくことで、最近注目されているのが、モデル動物をヒト化したような人の遺伝子を持ったようなヒト化動物なども開発されてきており、モデル動物というのも非常に進んできているということもありますし、flox マウス、コンディショナルマウスなどを作るのにも非常に簡単に効率よくなってきたということです。

ノックアウト、ノックイン、しかもエレクトロポレーションを使って非常に簡単にノックアウトモデル動物を作ったり、flox マウスとか大きな遺伝子なども、今入るようになってきました。ここは今後の課題と書いていますが、この課題も克服されつつあって、いろいろなモデル動物ができるようになってきたということになります。

こういった状況の中で、今、ゲノム編集がどういう立ち位置かということ、やはり遺伝子治療に非常に期待されているということかと思えます。北海道大学の石井先生らが倫理的なところをよくテレビとかでも説明されておりますが、その部分が今回の部会で検討されるということですし、私の専門外のところにもなってきますので、ここは飛ばさせていただきます。

基本的には先ほどの資料にもありましたように、体外でやる場合と、体内でやる場合、ex-vivo と in-vivo は分けて考えたほうがいいのではないかと当然思います。この辺の資料も自治医大の大森先生からお借りしていますが、勝手にお借りして申し訳ありません。そのほかにも受精卵のほうは、動物などでは非常に効率よくできるということもありますので、ヒトの受精卵というところも今後検討事項に入っていくのかなと考えております。そんな中で、今回のテーマであるオフターゲット効果というものが検討としては非常に重要になってくることは自明なことかと思えます。

オフターゲット効果を減らすためにということで、いろいろな努力がなされております。ここに挙げる以外にもあると思いますが、まずはコンピューター予測ということで、できるだけガイド RNA や CRISPR RNA がくっつく、そこだけにくっつくようなガイド RNA を選ぶというところから入ると思います。そんな中でも、最近では AI を入れて切断効率とか、あるいはほかの部分の切らない特異性の部分での効率とか、そういったものを高める努力もなされているように聞いております。

それ以外にも Cas9 酵素のアミノ酸を変えることでより特異性の高い

CRISPR/Cas も改良されてきています。いろいろな改良型 Cas9 も報告されておりますが、総じて、やはり切断効率のほうが若干下がっていくと言われております。先ほどもありました Cas9 は、通常 DNA から RNA になってタンパクで働くということで、切れるゲノム編集の働く時間を短くする、タンパク質での導入がより安全性を増すのではないかとということも言われております。

全ゲノム解析も最近非常に簡単になってきておりますので、最終的にはゲノム解析をすることでより安全性を強めていこうという話が出てきております。

先ほどの議題にもありましたが、サンガー研究所の Allan Bradley らが、報告したトピックとして、実は Cas9、小さいインデルを入れると言われていたのですが、予想に反してこういう大きな欠失変異も入るのではないかとという報告があつて、私たちもいろいろな細胞を使って、実験をやつて追試したところ、確かにこういった大きな変異も見られることが分かりましたので、これは重要な案件かなと考えております。時間がきましたので、最後にこれは宣伝になりますが、『医療応用を目指すゲノム編集』ということで、大阪大学の医学研究科長の金田先生と一緒にこういった本も監修として出されております。以上です。どうもありがとうございました。

○山口部会長

真下先生、どうもありがとうございました。CRISPR/Cas を最初は中心に、様々な CRISPR が開発されているというお話かと思ひます。安全性についても複数の危惧があるということをお紹介いただきましたが、10 分弱ですが時間を取っておりますので、御質問等ありますか。私のほうから最初に、様々な Cas9 のタイプは、一般的にそういうときに、入れられるツールとしては、ほとんどはプラスミド、あるいはウイルスベクター等を用いて入れたケースがほとんどですか。それとも最後にお話がありましたように、例えばタンパク質で入れるというような、そういうふうなケースとか、その辺の入れるツールとの関係はどこまで分かっておりますか。

○真下委員

主に治療等を念頭にしたことだと思ひますが、そういった場合は、今のところはウイルスベクターが多いかと思ひます。ただ、研究レベルでの段階ですが、ウイルスベクターを使わないデリバリー方法というのは幾つか開発されております。例えばクリームでタンパク質でパッと入れてしまふとか、そういう方法は今後出てくるかもしれないと思ひております。

○山口部会長

ありがとうございます。



- 谷委員 大変詳細にありがとうございました。幾つか教えていただきたいと思えます。RNA をターゲットにする方法がありました。細胞のどこで作用を持つのでしょうか。
- 真下委員 .やはり、Cas9 と同様に 20 ベースぐらいを認識して作用しますので、例えばメッセンジャーRNAなどは、20 ベースだと大体特異的にある遺伝子のメッセンジャーRNA を認識できますので、その遺伝子を特異的に破壊するとか、そういうことができます。
- 谷委員 細胞質内での作用が可能ということによろしいですか。
- 真下委員 そうですね。細胞質に出て、ですので DNA の場合は核内で編集するのですが、RNA の場合は核外にいくようなシグナルを付けておいて編集するということになります。
- 谷委員 ありがとうございます。私は血液内科医の観点から、多くの白血病の原因となっている転座を人工的に誘導できないかなと思っていた時代があるのですが、本技術は大動物の骨髄細胞などで人工的に標的遺伝子間の転座を誘導する技術になっていく可能性はあるのでしょうか。
- 真下委員 これは、この論文はどちらかというと、予期せぬ転座が起こり得るといような言い方をしています。しかし、CRISPR の論文に関しては、2つ使って意図的に転座を起こすことも論文上は報告されております。
- 谷委員 ありがとうございます。
- 小澤(敬)委員 ゲノム編集技術には古典的な ZFN とか、次の TALEN とかもあって、CRISPR/Cas と言うと、研究者がこれからやっていくには、もちろん CRISPR/Cas9 は扱いやすいと思いますが、企業がこれからいろいろ臨床試験等をやっていく場合には、特に Collectis 社などは日本でもこれから始めるとは思います。TALEN を使ってやっていくわけですが、それでクラシックな方法と最近の方法に関して、リスクという面ではどんな感じですか。特に Collectis 社の方などは、“CRISPR/Cas9 はみんなやっているけれども、我が社の TALEN は安全性の点では良い”とか、言われたりするのですが、相対的なリスク等はいかがですか。
- 真下委員 評価する人によってもいろいろ言い方がありますので難しいと思います。一般的には TALEN のほうがオフターゲット効果は少ないのではないかとはいわれております。恐らく、一番皆さんほかの技術を使うところのメリットとしては知財関係かなとは思いますが。
- 小澤(敬)委員 ただ、向こうから日本に入ってきてしまうのしょうから、いろいろ審査するときはどう考えるかということです。
- 真下委員 おっしゃるとおりです。いずれにせよ、ゲノムを切断するという次元では CRISPR も TALEN も ZFN も同レベルのものかなと、若干の違いはあるに

せよ、むしろ切らないような技術として、今出ているような Base Editor とかあるいは遺伝子発現を調節するものとか、そういったものとの評価になると全然次元の違う話になるのかなと思います。

○小澤(敬)委員 もう1つ、オフターゲット効果という用語ですが、効果と言うと何だか良いことのような印象があるのです。大分そういう言い方が一般的になってしまいましたが、本当にそれが良いのかどうか、オフターゲット作用とか、もう少しニュートラルな日本語のほうが良いような気もするのですが、いかがですか。

○真下委員 そうですね。おっしゃられることは正しく、これは単純にオフターゲットエフェクトという英語からきて、それを効果という人がいる。実際の日本語に直したときにどうすべきかというのは、恐らく、学会等でそういう専門用語の定義みたいなものをまとめるような形にしてやっていくのがいいのかなとか、そういうふうに思います。

○小野寺委員 当然、臨床の場合、オフターゲットの問題はあると思いますが、先生方が行われているマウス実験において、例えばノックアウトマウスを作製の際にオフターゲットはどの程度見られるものでしょうか。

○真下委員 当初、技術が出たときには Candidate を見たりとかたくさんしました。私たちは最初 RNA でずっとやっていましたが、最近はタンパクでやりますので、今までオフターゲット変異は見つかったことはなくて、最近では調べなくなりつつあるというか、そういう状況になっております。

○小野寺委員 その場合、生じたオフターゲットがノックアウトマウスでのフェノタイプにどのような影響を与えるかですが、その辺はどのようにお考えでしょうか。

○真下委員 おっしゃられるとおりです。治療は別ですが、動物に関して言えば、やはり、フェノタイプに影響するまでの本当に大きな変異をオフターゲットで与えるかと言われると、そういう文献はあまり見たことがありません。むしろ遺伝的背景の違いとかアレルの違いとか、飼っている間に変異が入ってしまったとか、そういったものが影響を与えるほうが大きいのかなと。

○水口委員 断片的にいろいろなニュースを聞くのですが、知財のほうはどういうふうに整理されようとしていて、どうファイトされているのですか。

○真下委員 すみません、私も完全にはフォローアップしきれていないところですが、間違っていたらすみません、日本では一応今ブロードとパークレーのほうで2つで争っているというところで、どちらも一応日本では成立したということになっていて、今まではブロードが先に成立していたところもありますので、ブロードの知財を使った企業はたくさんいたと思います

が、現状、これからどうなるのかというところを日本の企業も懸念しているところかなと思います。アメリカのほうでもやはりブロードが成立して、ヨーロッパのほうでは逆にパークレーのほうで成立したと聞いております。しかし、アメリカのほうでもそれでまた再び争うとか、そういうことになっていて、実際最終的に、本当にどちらか一方だけの知財を確保して使えるのかというところが、まだ皆さん懸念事項かなと思います。

○山口部会長　　ちょっと私から1点、今まで切るほうと、切らないほう、エピジェネティックもありますが、そういうふうなときに、対立アレルのところの両方を、例えばロックアウトするケースが切るほうと、切らない Cas でもいいのですが、あるいはエピジェネティックでもいいのですが、その違いはありますか。

○真下委員　　効率の話ですか。

○山口部会長　　はい、そうです。

○真下委員　　ゲノム編集でやはり両アレルを変えたいというところは、多分、すごく強くあると思います。両方変える技術というのでも幾つか出つつあります。それが100%できるかと言うと、なかなかそれは難しいと思いますし、細胞では結構大変なところもあるかと思えます。それはいろいろな酵素を入れて、両方変えられますよとかありますし、切らないほう、特にロックインになってくるともっと難しくなるということだと思います。その中で、まず今一番動いているのは、1つが正常で1つが異常なときに、異常のほうだけを変える。あるいは正常のアレルだけを使って変えるという方法が有望かなと考えております。

○山口部会長　　ありがとうございます。よろしいですか。大体、先生の持ち時間を使わせていただきましてありがとうございました。それでは、次に三谷先生から御講演をいただきたいと思えます。三谷先生は安全で安定した遺伝子治療を行うための遺伝子治療修復の技術の開発に取り組んでおられますので、ゲノム編集技術の安全性について御講演をいただければとお願いしております。三谷先生、御準備ができましたらよろしく願います。

○三谷委員　　埼玉医科大学の三谷です。私はゲノム編集の中で特に医療応用を考えた場合の安全性について、私なりにまとめてみました。実は今日は先ほどのリストにありました専門部会の先生方だけかと思っております、遺伝子細胞治療学会の先生方が多いので、前提となる部分を飛ばしておりましたので、資料を至急少し追加しました。あともう1つ、配布資料の取扱区分は「その他」で結構です。

それでは始めさせていただきます。いきなり安全性の話から行こうと思っていたのですが、まず、遺伝子治療の一般的な話と、ゲノム編集は今どのような形で遺伝子治療に使われているのかを簡単に御紹介したいと思います。最初のスライドは、非常に有名な、遺伝子治療が初めて臨床でうまくいった SCID-XI のレトロウイルスベクターを用いた治療についてです。これは非常に注目を浴びたわけですが、その何年か後に一部の患者さんに白血病が発症しました。これは、もともと用いられたレトロウイルスベクターの染色体への挿入変異、いわゆる insertional mutagenesis によって、挿入された近傍のがん遺伝子を活性化したことがそのがん化の1つの大きなステップになっていました。そのことから、いろいろな遺伝子治療の技術の開発、例えばレンチウイルスベクターの開発とかが進んだわけですが、また、もう1つのアプローチとして、遺伝病の治療に限りますけれども、遺伝子を加えるのではなくて直接に直そうという考えはこの当時からあったわけですが、そこから研究も進みまして、我々もいろいろとやってきたわけですが、最終的に ZFN (zinc finger nuclease)、TALEN、そして現在の CRISPR/Cas が出てきたことによって、遺伝子修復を用いる治療が非常に現実的なものになったということです。

これから何枚かのスライドで、現在行われている代表的なゲノム編集を利用した遺伝子治療臨床試験についてお話します。1つ目は ZFN を導入することによって HIV のコ・レセプターである CCR5 をノックアウトする治療です。これによってエイズの患者さんで HIV の拡散を防ぐといった仕組みです。最初は T 細胞をターゲットにして、またアデノウイルスベクターでこの ZFN を導入していましたが、現在は血液幹前駆細胞を標的として、かつ ZFN のメッセンジャー RNA を導入するプロトコルに変わって、続けられております。

またもう1つ有名な TALEN を使った例ですが、いわゆる CAR-T とゲノム編集を組み合わせた例です。このキメラ抗原受容体を用いたがんの免疫療法というのが今非常に注目を浴びているがんの遺伝子治療の1つですが、それを患者さんごとに CAR-T 細胞を準備するのではなく、ユニバーサル細胞のようなものを作る目的で、Cellestis 社が支援して、TALEN を用いることにより T 細胞受容体のアルファ鎖をノックアウトすることによって、off-the-shelf 若しくはユニバーサルと言われている CAR-T 細胞を作る試みです。実際にこれも臨床で既にうまくいったことが報告されております。CRISPR に関しては先ほど山口先生からのお話にありましたように、幾つか実際に特に中国で臨床応用しつつあるということで、あまり詳しい情報は出てきておりませんが、主にがんの免疫療法との

絡みということです。ここまでの話で出てきた例は、多くの場合は遺伝病ではなくて、やはりがん、若しくは感染症といったものです。がんの遺伝子治療を考えた場合に、あまりオフターゲット変異は問題にならないわけで、リスクベネフィットを考えた上で非常にベネフィットが大きいもの、また、遺伝子修復ではなくてノックアウトをする方が効率が高いので、ノックアウトを利用する治療として、かなり先行して臨床で用いられていった例になると思います。

ただ、1年ほど前に Sangamo 社が、肝臓の遺伝性代謝疾患の患者さんの治療として *in vivo* のゲノム編集の臨床試験を始めました。去年の11月だったと思います。ZFN を用いて、治療遺伝子の cDNA を患者さんの肝細胞のアルブミンの遺伝子座にノックインするストラテジーです。これは相同組換え修復を用いており、効率はそれほどよくないのですが、アルブミンの遺伝子の発現量は非常に高いということで、低い相同組換え修復効率を発現量でカバーするのです。あともう1つ良い点は、例えばこの場合は、ZFN を1つデザインしておけば、あとはほかのいろいろな遺伝子をこの染色体部位に入れることができるので、遺伝子ごとに新しく安全性をチェックする必要がなくなるのです。その治療効果については先日何か報告があったらしいですが、評価についてははっきりせず両方の意見があるようです。こうした治療も実際に始まっております。

またこれは少し前、ClinicalTrials.gov のサイトで調べてきたものですが、現在臨床で進んでいると思われるゲノム編集を使った治療の例です。御覧になってお分かりのように、ほとんどが PD1 ノックアウトとかその他もろもろのがんに対するゲノム編集になります。また、ほとんどのプロトコルは中国で行われています。一方で、それ以外のターゲットとして、ある総説論文から取ってきた表ですが、ZFN 若しくは TALEN、CRISPR 系の 3 つの大きなベンチャーが現在進めているものです。がん以外にも、先ほど申し上げました遺伝病への応用というのも、少しずつこれから臨床に入りつつあるというのが現状だと思います。

という前置きで、今日の資料に入りたいと思います。すなわちゲノム編集を治療で使う場合はあくまでも遺伝子治療の技術の1つという捉え方で良いのではないかと思います。いろいろな規制を考える上で遺伝子治療であることが大前提で、ゲノム編集だから何か特別にということはないのです。強いて言うならば、安全性の課題としてはまず従来の遺伝子治療が持っている課題をどう考えるかということです。同じベクター系を用いるならばゲノム編集でも従来の遺伝子治療と同じようなことを考えなければなりません。では、ゲノム編集に特有の問題は何かというと、

1つはオフターゲット変異の問題です。2つ目には、過去に従来の遺伝子治療、遺伝子付加治療で問題になりましたように、遺伝子治療産物の免疫原性というものが、安全性や治療効果にも関わってくる問題ですけれども、それをどう評価するかということを考えなければならないと思います。特に現在ゲノム編集に使っている酵素の多くは細菌由来ですのでどう考えても非常に immunogenic であり、これをどう考えるかが課題になるのではないかと思います。

その辺から見まして、実際にそのゲノム編集に使われるような CRISPR の Cas9 のうち、SaCas9 とか SpCas9 に対する抗体や T 細胞といったものがどれくらい正常な集団にあるかを調べた論文が幾つかあります。その結果は対象集団によって全然違うのですが、significant な割合の方が実際に細菌感染を起こして、かつ Cas9 のような細菌タンパク質に対する抗体などを既に持っているようです。ですから、こういった患者さんに対しては恐らく最初はゲノム編集はできないのではないかとさえ思います。またマウスの実験で、AAV、若しくはプラスミドで、筋肉でゲノム編集した場合に非常に強い免疫応答が出てしまったことも、2年ほど前に George Church のラボが『Nature Methods』に出しています。そうしたことも実際に分かっていますので、人に行う場合にはそういうことも気にしなければいけないと思います。

先ほどお話にありましたように、この辺の副作用をいかに低く抑えるということに関して、やはりデリバリーの方法を工夫する必要があるのではないかと考えられます。現在の遺伝子治療に使われているウイルスベクターは強く長期的に遺伝子を発現することが長所として使われている場合が多いので、短期的に何かコントロールする形で発現させなければいけないのではないかと思います。またそうなった場合にも、現在の細菌由来の酵素を使ったゲノム編集であれば恐らく免疫抑制性が必要で、それをした場合に、従来の遺伝子付加治療と比べてどれだけ有利かということも、リスク/ベネフィットを考える上では問題です。さらには現在はマウスを使ったいろいろな前臨床研究が出てきていますが、マウスから大型動物へ、また人に移行するときに、従来の遺伝子治療もかなり大きな壁を越えなければいけなかったことがありますので、その辺もこれから注意深く検討していく必要があるのではないかと思います。

よく話題になるオフターゲット効果若しくはオフターゲット変異についてもう少し御説明しますと、それを検出する方法について幾つかのカテゴリーに分けることが出来ます。1つは全ゲノムシーケンズです。それは理屈としては正しいのですが、そもそもの変異が細胞 100 個に 1 個、

若しくは1,000個に1個といった場合に、それを検出するために何千倍のカバレッジで全ゲノムシーケンスをやるのかとなっていて、あまりにも現実的ではないということがあります。また、一番よく使われているのが、オンラインのオフターゲット部位予想プログラムで、いくつか知られています。そこでCRISPRの標的配列を入れると、似たような配列のリストとスコアが出てきて、それを基に予想できることが出来ます。しかし、実際には細胞の中でCRISPRが切るオフターゲット部位をそれほど反映していないという結果も出ているようです。

現在恐らくもっとも信用できるのは、細胞レベル若しくは普通の1.5 ml チューブの中での酵素反応のような形で、CRISPR、それはZFNでもTALENでも良いのですが、酵素を発現させて、ゲノムの中に二本鎖切断を入れて、そこにタグを導入して、その部分を回収してくる方法です。細胞レベルでやる場合は例えばGUIDE-seqとかBLESSという方法がよく使われると思います。また、通常の実験で使う制限酵素のような形でやるアッセイとしてはCIRCLE-seqが一番よく使われています。こういった方法でゲノムワイドにバイアスのない形でオフターゲット部位を探してくるという方法が一番信用性があり、かつ必要であると現在考えられています。こうやってあらかじめモデル細胞でオフターゲット配列の候補を何十カ所と出してきて、実際にゲノム編集を行った後でそのターゲット部位に対してdeep sequencingをして、変異の頻度を見るのが一般的な解析法です。いきなり標的細胞にゲノム編集をしてどこにオフターゲット変異が入ったかを見つける方法があれば一番良いのですが、そのような方法はまだないです。ここにあるGUIDE-seqも多量のオリゴを細胞に導入するために非常に毒性が強く、細胞株ではできるのですが、例えばCD34とかその他の細胞でほとんどうまくいかないみたいなので、その辺の技術的なハードルはまだあると思います。

また、次世代シーケンスを使ったアッセイ系になりますと、Sequenceのエラーがありますので、それを超えたレベルでの感度はなかなか難しくなっているということも検出限度の問題として出てくると思います。もう一つ、これまでの話は染色体DNAを切って行う方法ですが、先ほどお話にありましたようなbase editingでは染色体は切らないので、それに対するアッセイをどうするかということも、もう一つの課題となります。

今お話したのがよく言われる酵素のオフターゲット変異ですけれども、実際にゲノム編集をした際の変異の原因はそれだけかということ、決してそうではありません。例えば我々も色々と研究したのですが、ウイルス

ベクターなどで細胞外から DNA を入れると、かなりの頻度で染色体に組み込まれます。これはその気になって探したら見つかります。通常はほとんど染色体には入らないという認識ですが、確かに入ります。それは、例えば CRISPR のオフターゲット変異よりも高い頻度ではないかと思えます。

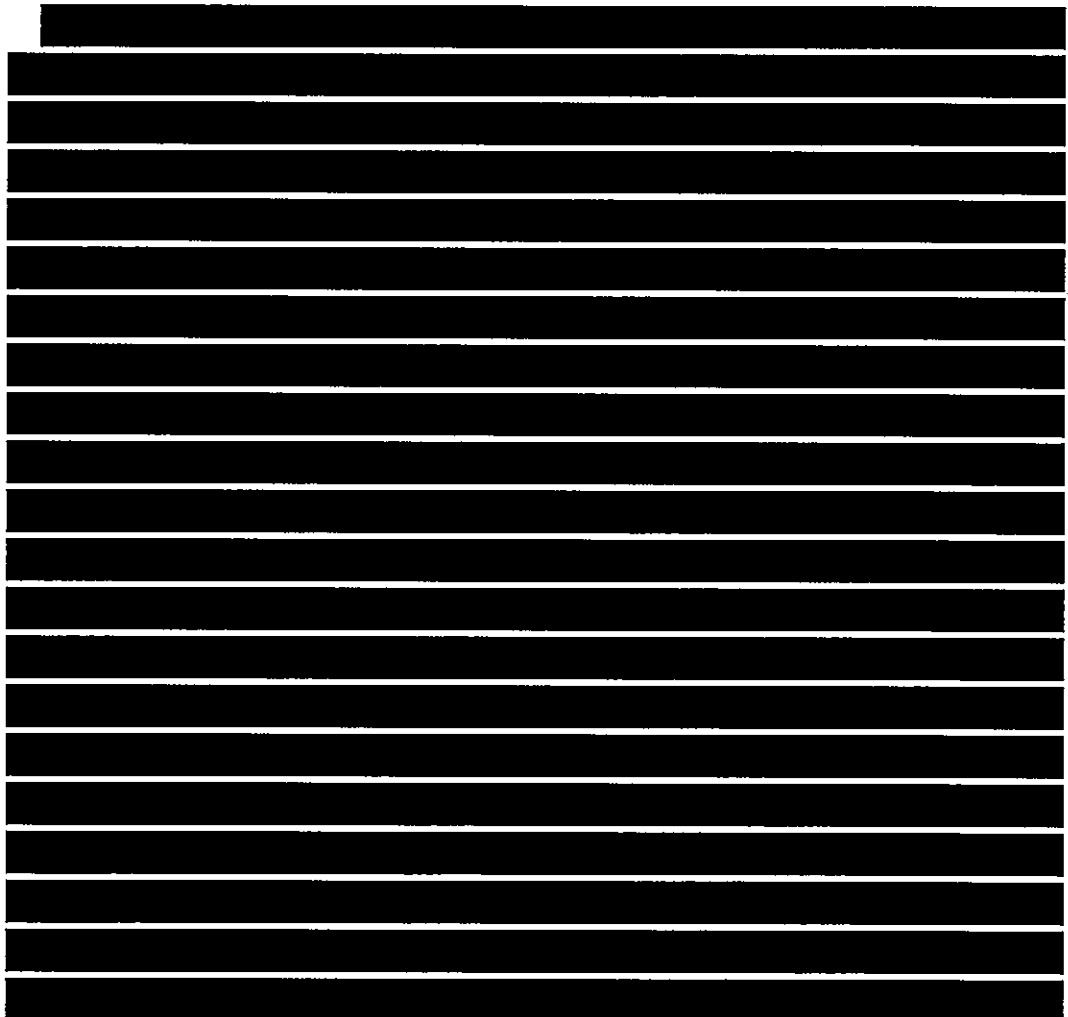
もう1つ、ストラテジーによりますが、例えば iPS 細胞で遺伝子を直した完全なクローンを1個取ってきたとします。そこから10の8乗まで細胞を増やして移植することを考えて、教科書的に10の10乗塩基に1つ DNA 複製ごとにエラーが入るとすると、個々の細胞当たりランダムに10個ぐらい変異が入る計算になります。ですから、これはかなり無視できない頻度になります。また、オフターゲット変異を解析するのに問題となるのが、我々のもつ DNA レベルのバリエーションとか、多型ですね。以上のような点についていろいろと考えながら、オフターゲット変異というものを検出して評価する必要があるということです。

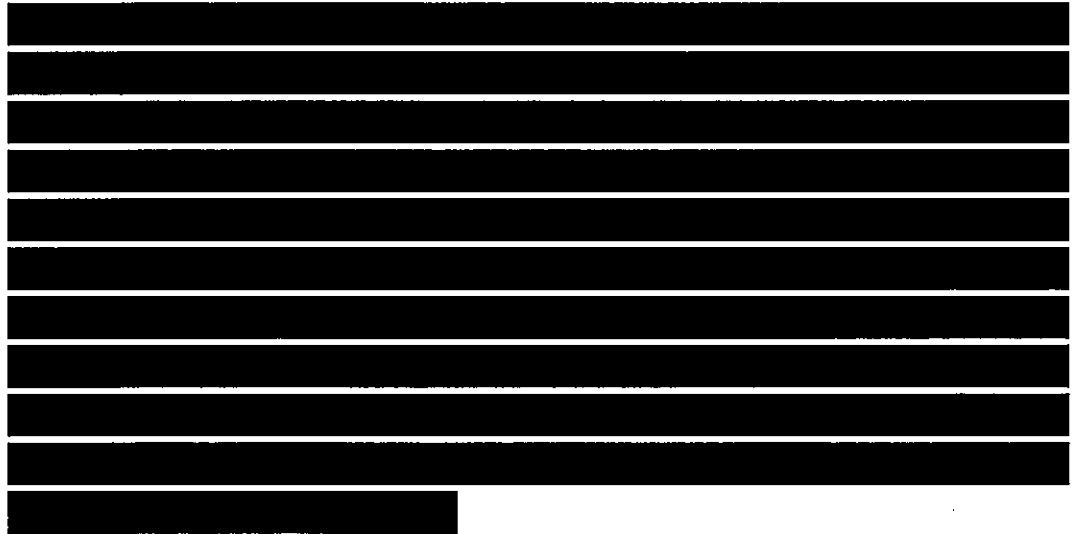
しかしこれは後でもう少し話しますが、in vivo の場合は、例えばマウスとかサルでゲノム編集をやった場合に、対象となる生物のゲノム配列はヒトと違うので、オフターゲット変異の評価は不可能なのです。その一方、恐らくいくら DNA 変異が入った結果で細胞が死んでも問題ではなく、極端に言うと変異によってがんが起きるかどうかが問題です。DNA 変異をいろいろと探し始めるとどんどん見つかりますし、例えば iPS 細胞の例でもあったように、臨床で使おうとすると変異が見つかるので、いかに問題となる変異かどうかを判断するアッセイ法を構築することが必要になると思います。先ほど少し言いました転座の話で、2つほど探してきた論文では、大体培養細胞レベルで10の3乗から4乗の細胞に1つの頻度で転座が起きています。オフターゲット部位を探す技術の1つに転座を利用する方法があります。それを開発している人に聞いたら、「転座はたくさん見つかりますよ」と言っていました。それでも今ある方法ではなかなか見つけれられないのです。これも含めて、がん化に関係ない転座であれば大丈夫なのではないかという考えで良いと思っています。

今年のアメリカの遺伝子細胞治療学会の前日に、プレミーティングのワークショップがありました。その中で、昔からオフターゲット変異の研究をやっているある研究者の話では、これまで散々いろいろなオフターゲット部位を解析したが、がん抑制遺伝子の中にオフターゲット変異があった例はなかったということです。ですから確率の問題なのですが、オフターゲット変異で遺伝子を壊してがんになることが問題だと考えると、そのリスクは非常に低いと考えて良いのではないかとというのが、現



在の欧米の研究者のコンセンサスだと思います。ただし、そのためには、先ほど言いましたようないろいろなオフターゲット部位を検出する方法を用いて、自分たちのターゲットに対するオフターゲット変異の頻度なり場所をきちんと解析したという前提です。注意深くデザインしたものであればかなり安全だというのが、今のコンセンサスになりつつあるようです。ですので、そうしたことも含めて特にがん化に結びつくようなゲノム編集によるオフターゲット変異とその影響をいかに評価するかというのが、また、リスクはゼロになりませんのでどこに安全か否かのクライテリアをセットするかが大きな課題ではないかと思います。1つ参考なのは、例えば PMDA で何年か前に行われた iPS 細胞を用いる際の安全性に関する議論の中で、今日の参考資料の報告書の5ページぐらいにあったと思いますが、どうやって iPS 若しくはそこから由来する細胞の安全性を評価するかといった場合に、がん関連遺伝子 250 個ぐらいに絞ってそこに変異があるかどうかを見ることが提唱されています。そういうことも、機能的な評価の代わりとして十分参考になるのではないかと思います。





リスクはどうしてもありますし、各々の疾患にはいろいろな治療法があります。特に遺伝子治療を昔からやっている研究者は、とにかく安全でなければと考えています。ゲノム編集技術から入ってきた研究者はそこまでの考えはないかもしれませんが、やはり遺伝子治療の長いつらい歴史を経験しておられる先生方はどうしても安全性が心配になります。そうしたことからどうしても慎重にはなるのですが、一方、非常に可能性のある治療法です。先ほど話しましたプロトコルあるいは導入法によってリスクは全然違うと思います。安全性は、オフターゲット変異とかに関しては明らかに *ex vivo*、血液細胞のほうが評価しやすいですし、リスク/ベネフィットを考えるとがんとかのほうが遺伝病よりもリスク/ベネフィットは大きいです。また効率を考えるとノックアウトのほうがいい、などいろいろな分け方がありますので、大雑把に言うとそのプロトコルごとに評価せざるを得ないのではないかと思います。

まとめのスライドは、今お話したことの繰り返しですので省略させていただきます。以上です。

○山口部会長      ありがとうございました。安全性に関して、旬の詳細な御紹介をいただけたかと思えます。先生方のほうから、三谷先生に何か御質問等ありませんでしょうか。

○島田委員      三谷委員のディスカッションは、大変に重要で、これらの問題点をこの委員会で議論していかなければいけないのかなと思います。基本的にはここで言っていることは、もう既に遺伝子治療の段階、クラシカルな遺伝子治療で議論されていたことですよね。ゲノム編集に、特異的問題というより、かつてはできなかったことが、できるようになったので、そういう意味では心配が少し増えたかという気がします。

例えば、オフターゲットの問題も、これまでの遺伝子治療でも大変な

問題だったわけです。今はっきりしているのは、レトロウイルスによる発癌で何が原因かと言うと、レトロウイルスの強力なプロモーターが癌遺伝子の近傍に入ってしまったという。それによって、growth advantageが出てしまったということなのです。

ですから、ゲノム編集で、今問題にしているような、例えばランダムに、塩基が1個変わったとか、indelが入ったみたいなことでは、growth advantage がなければ、千個に一個、一万個に一個、そんなことが起こっても、あまり問題にはならないのです。

ただ一つ、これはゲノム編集だけではないのだけれども、クラシカルな遺伝子治療でも、一番問題にしていたのは生殖細胞なのです。これは今後、in vivo のゲノム編集をやり出したとすると、卵子に1個、もし変な所に遺伝子が入ってしまったら、これは何か起こる可能性があるのです。けれども、今これは調べようがないのです。これをどうするかというのは、やはり議論はすべきだと思います。最終的にはやはりリスクアンドベネフィットで考えるしかないかなというのが私の考えです。

○三谷委員

ありがとうございました。おっしゃるとおりで、恐らくオフターゲット変異というものが出た当初から問題とされて、それがいまだに、かなり問題となっているところが大きいです。それがほとんど唯一のゲノム編集に特有の問題とって良いと、先生のおっしゃるとおりだと思います。

最後におっしゃったジャームラインに入るかどうかは、その評価は恐らく難しいですね。基本的にはデリバリーがどうかという話だと思うのです。ゲノム編集というのも、基本的にはそのゲノム編集のツールをまずデリバーして、そこでその中の一部の細胞で標的 DNA を切って、修復エラーが起きて、そこで更に相同組換え修復の場合うまく相同組換えが起こるといふ、幾つかのステップが必要となります。従来遺伝子治療のように、デリバーすればいいといったものに加えて、更に幾つかステップが必要です。ですので、まだ効率はそれほど高くないです。リスクの頻度はデリバリーにかなり依存した問題だと思いますが、どうなのでしょう。まだ将来の課題だと思いますが、現在は恐らく今の遺伝子治療技術でジャームラインうんぬんということは問題となっていないことを考えると、現時点ではゲノム編集においてもまだ問題にはなっていないかなというような印象を持っています。

○島田委員

私は逆だと思っていて、遺伝子治療が始まったときには、いかにジャームラインへの遺伝子導入を防ぐかというのが大きな議論になっていた。ですから、ターゲティングのできないウイルスベクターなどをヒトに直接投与するというのは、初期には危険だと考えられていたのです。

ところが、今実際に、全然ターゲッティングのできないウイルスベクターが大量にヒトに投与されている。今の段階ではゲノム編集も、どの細胞にでも入ってしまうような方法でしかデリバリーしていないわけです。ジャームラインは、かつては問題になっていたのだけれども、これまでの遺伝子治療で何も起こっていないからいいということに、今はしてしまっているのですが、それこそ長期の、何十年後ということを考えてみると、これはまだ考慮すべき問題ではあるのです。それに対する良い改良方法が、今のところまだ見つかっていないですから。

- 山口部会長      コメントしにくいでしょう。
- 三谷委員        おっしゃるとおりです。
- 島田委員        デリバリー、重要ですよ。
- 三谷委員        はい、アッセイがなかなか難しい。マウスで代わりにやるわけにもいかないとは思いますが、ただ、そのリスクがどれぐらいかというところですね。
- 山口部会長      谷委員どうぞ。
- 谷委員        今の議論は非常に大切だと思います。それで先ほどのお話で、がん抑制遺伝子には入って行ってないということは、逆にオンコジーン又は転写因子の所には入っていきやすいということなのではないでしょうか。
- 三谷委員        どうなのでしょう、その話は。そのときはそういうディスカッションにはなりませんでしたが、このウイルスベクターを使ってどこに行きやすい、行きにくいというよりも、やはりそれぞれのデザインによるものだと思います。そこは私はなんとも言えません。
- 谷委員        例えば、これは先ほどの卵細胞の問題にもつながると思います。がん抑制遺伝子に入っていないが、転写因子遺伝子近傍に入っていくのであれば、オフターゲッティングの危険性は全くゼロとは言い切れない。ただし休眠期の卵細胞には入って行かない可能性が高い。ただし精子には入っていくといった問題が出てきますね。
- 三谷委員        そうですね、それはリスクとしては、小さくてもあると思います。ですから、もう1つ私が言いたかったのは人工制限酵素のオフターゲット変異以外にもたくさん変異も入っているということです。ゲノム編集によるエラーだけではなくて。そういうことをまとめて考えると、動物に打ってがん化を見るとか、そういった方法で見ないと、恐らくなかなか評価はできないのではないかと思います。
- 小野寺委員      今の質問に絡むのですけれども、同じゲノム配列を持っていても、細胞の種によってオフターゲットの入り方が異なりますよね。そこで、同一細胞種でも分裂している場合と静止期ではオフターゲットの入り方が異

なるというようなデータはあるのでしょうか。

○三谷委員 それは多分、真下先生に振りたいような御質問で、あまり影響はないイメージなのですが、すみません、分かりません。

○小野寺委員 逆に言えば、今後はターゲットとなる疾患や培養条件等に基づきプロトコルごとで安全性評価を決めていく必要があると思ひ、このような質問をしました。

○山口部会長 ありがとうございます。非常に良い議論が続いています。ブレインストーミングにこのまま入ってしまってもいいのではないかと考えています。真下先生も、三谷先生も加えて、このままブレインストーミングを続けていきたいと思ひます。

私から1点質問したいのは、最初のほうで出していただいたところで、がんが起きたのは造血幹細胞が4種類あって、そのうちの3つですよ。FDA もやはりがんが起きやすいのは、造血幹細胞しか起きていないだろうという認識だったのかなと思うのです。いろいろな所に、従来のベクターでもいろいろ入っているとは思ひのですけれども、がんが起きやすいというのは、造血幹細胞のような特殊なというか、センシティブな細胞には起きやすい。そうするとゲノム編集を使ったときのリスクとして、普通の細胞と造血幹細胞で大きく違うのではないか。その辺がちょっと感じているところなのですが、先生、何か御意見ありますか。

○三谷委員 それに対しては、私もよく知らないのですけれども、小野寺先生、何か。

○小野寺委員 今回の遺伝子治療という、もちろん造血幹細胞での話ですけど、やはり疾患の違いが大きいと思ひています。つまり、ある条件下において増えやすい、俗に言う増殖優位性があるかないかによって腫瘍化が起こる。また、T細胞のサーベイランスも重要で、このサーベイランスがしっかりしていると腫瘍化は起こりにくい等です。その意味で、疾患の関与が大きいと思ひています。

○小澤(敬)委員 疾患も大変重要でしょうけれども、やはり細胞種が結構重要で、例えばCAR-T療法の中で1つ面白い発表があったのですけれども、レンチウイルスベクターを使った方法の場合ですが、挿入変異が起きてTET2の遺伝子に変異が起きて、そのCAR-T細胞のクローナルエクспанションが起きているのです。でも、そういうT細胞エクспанションがクローナルに起きている症例では良い効果が認められたというもののなのです。

ですから、T細胞レベルの場合には、挿入変異というものが起きて、TET2という恐ろしい遺伝子のところがダメージを受けても、結果的に臨床的にはむしろ良かったという感じですので、やはり造血幹細胞レベルのゲノムの変異と、Tリンパ球などの分化の進んだ細胞の場合では、ず

いぶん違うような感じがします。

○山口部会長      ありがとうございます。谷先生どうぞ。

○谷委員            今のお話は恐らく、セカンドヒットがどのタイミングで遺伝子中に入るかではないかと思えます。ゲノムにファーストヒットが入った後に細胞が増殖して、そこでセカンドヒットが入る時期が早く来るか遅く来るかによって、細胞が悪性化するかどうかとも変わってくるのではないのでしょうか。

○小澤(敬)委員    それは確かに CAR-T の場合、観察期間が短いので、難しい問題がありますけれども、そこでやはり疾患が問題になってきて、遺伝性疾患の場合は長期的な安全性が求められますので、相当注意しないといけないのですけれども、がんが対象の場合、とりあえず、がんをどうするかというところが勝負なので、それほど長期的な心配をしている余裕はなくて、かなりのリスクは許されると思うのです。もちろんその患者はずっとみたら、T 細胞レベルのそういう TET2 遺伝子の変異でも、何が起こるかは心配ではありますけれども、許されることは許されると思うのです。

○山口部会長      那須先生、どうぞ。

○那須委員          私も昔から前立腺がんでやっていて、生殖細胞うんぬんで大変苦労した経験があるのです。それとは全く違う話ですけれども、これは真下先生かなと思うのですけれども、先生の発表の中で、我々は今ここで医療のことを話していますけれども、実はこの技術は食品とか産業とかいろいろなところ、食品ですよ。そういうところでも当然使われているのです。そこでの議論とここでの議論というのは、どういう感じでしょうか。同じようなことを議論されているのでしょうか。

○真下委員          恐らく食品に関しては、明らかに遺伝子組換えのところですよ。その倫理的というところであれですけれども、その部分が遺伝子組換えとなるのかもしれないのか、安全性がどうなのかということは、多分全然次元が違うのでは。全然と言ったらちょっとオーバーですけれども、大分議論が違うなと感じています。それで答えになっていますか。

○欠米委員          今までの議論を聞いていて、これは科学委員会ですから、科学のことも大事なわけけれども、委員会の目的は審査のために資するということですよね。そういう意味で考えて、ゲノム編集は私も素人なのですけれども、ちょっと考え方が変わったのは、先月ヨーロッパの遺伝子細胞治療学会で、EMA 主催のシンポジウムがあって、その中でポール・エーリッヒ研究所の方が EU パースペクティブ・ジーン・エディティングという講演をしてくださったのです。

その時の整理の仕方が非常に良くて、審査の立場からすると、やはり

物から入りますから、その立場から見た時にどうなのだというところから整理していくと、非常にどこまでが分かっている、これまでの考え方が適用できて、そこで適用できないときには、新しい科学の考え方を持ち込まなければいけないというところを、まずどこまでというのを線を引くというか、考えるのがこの委員会の考え方なのではないかというのが1つです。

あと、先ほど島田先生がおっしゃっていたように、遺伝子治療屋として考えると大体の議論はこれまでされてきたことなのですが、遺伝子治療を大きくざっくり、2掛ける2のマトリックスで考えてみると、in vivo 遺伝子治療と ex vivo 遺伝子治療が1つのディメンションになって、もう1つのディメンションがインテグレーションベクターか、ノンインテグレーションベクターかということなのです。

ノンインテグレーションベクターの場合は、in vivo も ex vivo も両方使われるのですけれども、インテグレーションベクターは基本的には ex vivo 遺伝子治療にしか使われていなくて、例外的にはがんに対して、例えば頭の中に打ち込むとか、そういうものすごく限られた使い方しかなかった。そのたった1つ空いている象限、要するにインテグレーションベクターを in vivo で使うに非常に近いところだと思って、そこまで議論されていなかったのも、こここのところの議論が複雑になってくるのですが、そこは in vivo ユースのときの例えばバイオディストリビューションとか、今までやられてきたようなことをベースに考えていくと、ある程度のところまでは行って、それで見られないところをこれからどうするかということになってくるのではないかと思います。

○山口部会長

ありがとうございます。1点目のほうは、久米先生から EMA のスライドを提供いただいています、これはこういう中で共有させていただいて、今後の議論にしたいと思います。

2点目の話は、多分もともとゲノム編集は ex vivo が主だろうと思っていたのですけれども、結構幾つか in vivo をダイレクトにやる、例えば脳内などの技術が出てきているかと思うのです。その辺の in vivo ゲノム編集で、幾つか御紹介いただきましたけれども、その辺でゲノム編集を in vivo でどこまでのリスクを考えるか、その辺のコメントがございましたら。

○三谷委員

どこまでのリスクを考えるというのは、どういうことでしょうか。

○山口部会長

例えば久米先生がおっしゃったように、多分今まで遺伝子治療でレトロを in vivo で使うというケースは非常に特殊なケースだと。がんなどだと有り得るかなという程度の話だったと思うのです。ゲノムそのものを切

ってしまったりするような治療を、in vivo でやるという技術に適用するときに、リスクはどう考えていくべきかという、その辺の話かと思ったのです。

○三谷委員 うまく考えがまとまっていないのですが。ですから in vivo でリスクとしては、やはり in vivo だと、オフターゲットのようなことを言いますけれども、なかなか外に出して評価するのが難しいということと、追跡するのが難しいといったことがあると思うのです。in vivo で行われる遺伝子治療の場合、先ほど久米先生がおっしゃったように、ほとんどはエピソーマルなベクターでしかない。先ほどのお話で、そういう分け方ができるのだと、私も勉強になったのですけれども、インテグレーションさせるというのを評価する。

○久米委員 インテグレーションさせることを最初から狙って、ベクターの形でやる場合もあるのですけれども、例えばタンパクだろうがメッセンジャーRNAだろうが、実際にはインテグレーションされず、すぐ消えてしまうものなのですが、効果は結局インテグレーションされたものと同じですよ。

○三谷委員 そうですね。

○久米委員 ということで、考え方が俯瞰できるのではないかと思ったのです。

○三谷委員 そうですね。ですからそれを、in vivo をやはり動物でやるしかないのではないかと思うのですけれども、そこをいかに患者さんの中に起きていることを再現できるかということですよ。

○久米委員 もう1つ、多分 in vivo でやろうとすると、効率を上げるために結構長いこと発現させないといけない。そうなったときのオフターゲット作用というのを、かなり長く続く可能性もあるかなと。

○三谷委員 昔から研究をやっておられる研究者であれば、in vivo のゲノム編集はちょっと危険すぎると思われるでしょう、持続的にずっと例えば ZFN を発現し続けるということに対する影響と、遺伝毒性両方ですよ。それは多分問題外だと個人的には思っていますが、では AAV ではなくタンパクとか RNA を使ってやるときに、それをどう評価するかということも重要になるかなと思っています。

○山口部会長 ありがとうございます。

○佐藤審議役 審査側といいますか、行政側から少し質問します。今日のお話をお伺いしていて、これまでの遺伝子治療ですと、遺伝子治療ベクターに関しての品質安全性というところで、審査側でも考慮してきた部分について、かなりの部分が共通するところだったと思います。

その中で、こういったゲノム編集に特異的に、もう少し考慮しなければならない部分、また逆にこういったものの特性から見て、考慮しなく



ていい部分が、遺伝子治療の考え方にプラスアルファでアドオンされていくようなものが、恐らくこの委員会でこれから議論いただくことになるのだろうと思いました。

1点、今の話にも関係あるのですが、バイオディストリビューションを考えたときに、これまで遺伝子治療のベクター、特に *in vivo* で投与したもののときに、シェディングの問題が常に出てきました。これは非常に審査をする側としても、相当労力を使うし、実際に臨床をやられる側の方も、非常に大変な思いをされていた部分があるのです。

やはりこういったゲノム編集をやる場合でも、その考え方は同じということなのでしょうか。というのが、私の質問です。

○山口部会長

ありがとうございます。なかなか答えにくいところもあるかと思うのですが、恐らく私は、メッセージとタンパクを使う限りは、シェディングというのはほとんど考えることはないだろうと。ただ、ウイルスベクターを使った場合には、当然有りうるだろうと。先程ちょっと島田先生がおっしゃったように、非常に高濃度のものを使ったときに、それは非常に大きな問題になるかと思えます。

もう1つ、今、佐藤審議役の質問で、一番皆さんにお聞きしたいところが、リスクというところで切る酵素であると考えたときに、昔ウイルスベクターを3つに分けたのです。1つは細胞の中に入って、ゲノムにインテグレーションされるもの、インテグレーションされないものは2番目のリスク、細胞外で、例えばセンダイウイルスみたいなものは、ほとんどインテグレーションがないから、インテグレーションから見たときには、そういう3つの分類ができるだろうと。

ゲノム編集を考えたときに、ゲノムを切るやつというところから考えると、レトロ、レンチに近いところがあるのか。その辺は、恐らく審査のときにも関係してくることかなと、質問をお聞きして思った次第です。どなたかコメントをいただくと助かります。

○内田委員

はっきり分かっているわけではありませんが、レトロ、レンチはインテグレーションはされますが、明らかに二本鎖が切断されたという状態になるわけではないと思うのです。一方、ゲノム編集は完全に二本鎖を切断してから、それが修復されることになるので、インテグレーションの場合はどこに起こるか分からないというリスクはありますけれども、二本鎖切断に伴うリスクは、ゲノム編集のほうが大きくなる可能性があるのではないかと思います。

特に *in vivo* だと、ベースエディティングが使えるとは思いますが、それでも、二本鎖切断型の場合、かなりリスクが大きいかなと感じています。

- 山口部会長      ありがとうございます。ほかに。
- 小野寺委員      これも以前質問したことですけど、たとえば Dead Cas でもゲノムを切断することはあるでしょうか。つまり、理論的には切断しない Dead Cas でもある一定の割合でゲノムを切断するとなると安全性の観点から次世代シーケンサー等による評価が必要になると思います。
- 真下委員      私の知っている限りでは、Dead Cas に関して切れたという報告は、あまりないのではないかと思います。ベースエディティングの場合は nickase を使います。あれは切れますね。それで変異がやはり入ります。あちらはもう明らかに、一本鎖しか切らないのですけれども、変異は十分入る。Dead Cas はあまり聞いたことがないですね。切らない酵素をやっていますので、細胞でやっている限り、切れたというのは見たことがないです。
- 山口部会長      ありがとうございます。最後に今後の進め方を、最初のほうに私が少し紹介しましたがけれども、別に決まっているわけではありません。資料3のところで紹介しましたように、今日のように非常にいい議論ができたと思います。佐藤審議役からもコメントがありましたように、今後目的としては、PMDA の審査に役立つようなものを作っていくということが、非常に大きな目的だと思います。
- リスクも、何もかも危ないというのではなくて、今までの使える評価技術、これまでの経験を積み重ねたところはもちろんあるわけで、その辺で問題ないところはもちろん、多分プラスアルファで問題になるところが、どこなのかということのを少し明確にして、それが審査の役に立つようなものを、例えばコンセプトペーパーのような形でエディティングしていけばいいと思っています。
- 将来的には、先ほど1年間という形で御提案しましたし、その中身としては、そこの中に書いてあるように、今のところこのように考えていますけれども、議論を聞いていても少しずつ技術そのものが進歩していますので、この1年間の中でさらにインプットされてくる可能性があるかと思っています。
- ただ、こういう形で、もしここはこういうふうにしたほうがいいのかというのがありましたら、2週間ほどの間に最初に描いていました検討のイメージ(案)と書いてあるのを、こう変えたほうがいいのか、そういう御意見をいただければいいと思っています。
- ですから恐らく、三谷先生や真下先生からいただいた御意見、今日の情報も含めてインプットさせていただきたいと思っています。その辺は今後そういうインプットの仕方を、皆さんと一緒に検討させていただ

ればと思います。

もう1つ最後に、この下に更にエディティンググループというのを作らせていただきたいということで、御了解いただければと思っています。エディティンググループについては、私と小澤敬也先生にお任せいただいて、その中で作ってこちらにどういうふうなものにするかと、御提案できるようにしたいと考えています。何かその辺で御質問等ありますでしょうか。

よろしいでしょうか。それではその方向性で進めさせていただければと思います。事務局から何かありますか。

<その他>

○事務局(下川) 次回の専門部会ですが、12月25日火曜日、14時から16時を予定しています。詳細については、追って御連絡いたします。

<閉会>

○山口部会長 ありがとうございます。全体を通してほかに何もなければ、本日の議論は終了したいと思います。よろしいでしょうか。本日は先生方ありがとうございました。

