

# ゲノム編集技術を用いた 遺伝子治療に関する海外の規制状況



国立医薬品食品衛生研究所  
遺伝子医薬部 第1室  
(遺伝子治療担当室)  
内田 恵理子

第2回科学委員会ゲノム編集専門部会  
2018年12月25日

# 欧州の遺伝子治療関連ガイドラインと ゲノム編集技術への対応

# ゲノム編集／遺伝子治療医薬品の定義

- ゲノム編集は生物のDNAの改変を可能とする技術である。これらの技術を用いることによりゲノム上の特定部位への遺伝子の挿入、除去、改変が可能である。(NIH National Library of Medicine)
- ゲノム編集とは、ゲノムDNAの特定配列に意図する改変を導入すること (Komor et al, Cell 2017)
- 遺伝子治療医薬品(GTMP)とは、次のような特性を持つバイオ医薬品である (Commission Directive 2009/120/EC)
  - a. 有効成分として組換え核酸を含む製品から構成され、遺伝子配列の制御、修復、置換、挿入、欠失をヒトに引き起す製品  
It contains an active substance which contains or consists of a recombinant nucleic acid used it of administered to human beings with a view to regulating, repairing, replacing, adding or deleting a genetic sequence
  - b. 治療、予防、診断の効果が製品に含まれる組換え核酸配列に依存するもの、または組換え核酸からの発現産物が寄与するもの
  - c. 遺伝子治療医薬品には感染症予防のためのワクチンは含まれない

# EMAの遺伝子治療ガイドライン

## ● 遺伝子治療用製品の品質・非臨床・臨床ガイドライン

Guideline on the quality, non-clinical and clinical aspects of gene therapy medicinal products (2018.3)

- **ゲノム編集も考慮した改正**
- This guideline is applicable to GTMPs containing recombinant nucleic acid sequences (e.g. DNA vectors) or genetically modified micro-organisms or viruses. **This may including gene editing tools, listed above if they contain recombinant elements, e.g. delivery vectors.**
- EU規制上の遺伝子治療用医薬品(GTMP)の定義からはずれるゲノム編集ツールもあるが、遺伝子治療としての考え方が適用できる

## ● 遺伝子改変細胞製品の品質・非臨床・臨床ガイドライン(改正案)

Guideline on quality, non-clinical and clinical aspects of medicinal products containing genetically modified cells (Draft, 2018.7 )

- **ゲノム編集とCAR-T/TCR-Tを考慮した改正案**
- Genetic modification can be obtained through a variety of methods (e.g. viral & non-viral vectors, mRNA, **genome-editing tools**).

# ex vivoゲノム編集 vs. in vivoゲノム編集

	ex vivoゲノム編集	in vivoゲノム編集
有効成分	改変された細胞	ゲノム編集に用いるツールやターゲット組織に導入するためのDDSシステム
ゲノム編集結果の解析	製品レベル(細胞)で解析可能	どのようなゲノム編集が行われたかを直接解析不可能 代替指標による評価
ゲノム編集用ツールの存在状態	製品の有効成分の一つではない(患者への適用時には消失している可能性も)	投与されたゲノム編集用ツールの消長を評価することが困難
組織指向性	<ul style="list-style-type: none"> <li>細胞の選別</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>使用するベクターの選択</li> <li>ゲノム編集酵素遺伝子を発現するプロモータの選択</li> </ul>
望ましくない改変細胞の除去	特性解析や選別を通じて除去可能	有害事象が起きても遺伝子改変された細胞は除去不可能

# ゲノム編集医薬品の出発原料の考察

## ex vivoゲノム編集

- 出発原料
  - 改変用酵素をコードするベクター（mRNAを含む）
  - 改変用酵素タンパク質
  - ゲノム編集に用いられる核酸
  - ノックインするための核酸テンプレート
  - 改変を行うための細胞
- （細胞）バンクシステムからこれら出発原料の製造までGMP基準に従う

## in vivoゲノム編集

- 他の遺伝子治療ベクター、核酸、タンパク質医薬品と同様

# 品質に関する考慮事項

## ゲノム編集医薬品の特性解析と品質管理

- 確認試験、純度、力価、安全性の観点
  - 他のex-vivo遺伝子改変細胞や、in vivo投与を行うウイルス、ウイルスベクター、タンパク質と同様
- ゲノム編集医薬品特有の事項
  - オンターゲットサイトの改変効率、製品中のゲノム編集された細胞の比率
  - オフターゲットサイトの解析  
(ex vivoゲノム編集のプロセスバリデーション)
  - ゲノム編集用ツールの消失、低下、持続性  
(ex-vivoゲノム編集)
  - オンターゲットサイトの特性解析  
(個人ごとに異なる多型性)

# ゲノム編集医薬品開発の重要課題

- ◆ ゲノム編集用ツールの設計の適切性確認
- ◆ オンターゲット効果及びオフターゲット変異の解析
  - どのような種類、どの程度の変異がおこるのか
  - オフターゲット変異により起こりえる結果の解析
- ◆ 遺伝子改変と提案されている治療効果との相関
- ◆ 治療コンセプト(mode-of-action)に依存した有効性を示唆する結果(POC)、薬理効果、in-vivoの生体分布試験など
- ◆ 安全性試験:
  - オンターゲット効果やオフターゲット効果の同定、及びゲノム編集ツールの投与の経路等を考慮した一般毒性試験
  - ゲノム編集した細胞のポリクローナリティーや造腫瘍性
  - 免疫原性

# オフターゲットサイトの解析(1)

## 予測されるオフターゲット部位

目的とする部位

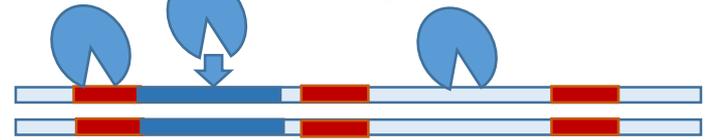


コンピュータ予測

in-silico解析による数塩基のミスマッチを許容する相同塩基配列の同定、予測 (CRISPOR, Cas-Off-Finder等による解析)

+

Cas9-gRNAによる切断



ターゲット配列のPCR増幅

細胞内あるいはin vitro (cell free)でのゲノムワイドで偏りのないオフターゲット切断候補部位の評価 (GUIDE-seq、BLESS、CIRCLE-seq等)

評価されたオフターゲット部位

代表的な標的細胞/組織でCasによる変異部位の検出

相同性に基づく方法と基づかない方法により同定されたオフターゲットサイトについて、代表的な細胞種 (in vitro and/or in vivo) を用いて次世代シーケンサーやLAM-HTGTSにより解析

LAM-HTGTS: Linear amplification-mediated high throughput genome-wide translocation sequencing

9

## オフターゲットサイトの解析(2)

- 評価試験において、Indel(挿入欠失)単独の頻度と(Indelの頻度+ゲノム編集ツール)を定量
  - 改変した細胞での評価
  - 検出法の感度、閾値の妥当性(ゲノム編集細胞 vs. 細胞)
  - ゲノム編集の様式と編集される遺伝子の大きさの決定
  - オフターゲットゲノム編集によって引き起される事象の評価
- 染色体の転座や欠失の解析  
特に目的としない異なる部位で起きている可能性の解析
  - 例: FISH、核型分析、アレイを用いたゲノムハイブリダイゼーションアッセイ(CGH)

Indel-frequency: ゲノムの挿入ないしは欠失、あるいはその両方の頻度

# 規制要件の観点

## 全体を通じてのリスク・ベネフィットバランスの考慮において鍵となる事項

- 品質及び非臨床(場合によっては臨床)データセット
- 疾患の重篤性、対象患者数、他の治療法の有無
- 臨床試験デザイン、治験モニタリング、フォローアップ
- 方法の実現可能性
- 他のゲノム編集技術とそれぞれのリスクプロファイル
  - 各方法の評価に関しては科学に基づきケースバイケースで判断
  - それぞれの検討に際してはリスクベースアプローチを採用

# EU 要約と結論

- ゲノム編集技術は極めて新しい医薬品創成につながる技術である
- 新規性の高い技術であり、ゲノム編集の有効性や大規模な適用可能性を含めて、その手法の再設計の容易さが有り、急速に改良されていく可能性が高い
- 迅速な開発の進展が見込まれると共に早期の治験開始が期待されている
  - 製品開発に伴い新たな規制的な要求事項を設定していく必要がある
  - 基本的な規制的要求事項は既存ガイドラインでカバーされていると思われる
  - ゲノム編集製品に特有の規制的要件については従来のガイドラインでカバーして切れていない
- 早期から開発者と規制当局の間で連絡を取り情報交換することが必要である

# 米国の遺伝子治療関連ガイドラインと ゲノム編集技術への対応

# 遺伝子治療製品の定義

- **Guidance for Human Somatic Cell Therapy and Gene Therapy (1998)**
  - Gene therapy is a medical intervention based on **modification of the genetic material of living cells**
  - **遺伝物質を送達するための組換えDNA物質(recombinant DNA materials)が遺伝子治療製品**
- **Chemistry, Manufacturing, and Control (CMC) Information for Human Gene Therapy Investigational New Drug Applications (INDs) (Draft, 2018.7)**
  - Human gene therapy products are defined as **all products that mediate their effects by transcription or translation of transferred genetic material or by specifically altering host (human) genetic sequences**. Some examples of gene therapy products include nucleic acids, genetically modified microorganisms (e.g., viruses, bacteria, fungi), engineered site-specific nucleases used for human genome editing, and ex vivo genetically modified human cells.
  - **遺伝物質の転写、翻訳により効果を示すもの、または人の遺伝子配列に特異的な変化をもたらすものが遺伝子治療製品**
  - **ゲノム編集に用いる部位特異的ヌクレアーゼも遺伝子治療製品と定義(法律上はいずれもBiological product)**

# ゲノム編集による遺伝子治療ガイダンス改正案

- 遺伝子治療製品のIND申請における化学、製造、品質管理情報に関するガイダンス(改正案)

## Chemistry, Manufacturing, and Control (CMC) Information for Human Gene Therapy Investigational New Drug Applications (INDs) (Draft, 2018.7)

- 腫瘍溶解性ウイルスやバクテリアベクター、**ゲノム編集**、ex vivo遺伝子改変細胞等の新たな製品やCTD(医薬品承認申請のための国際共通化資料)を考慮した改正案
- ゲノム編集特有の記載はほとんどなし

- 遺伝子治療製品投与後の長期フォローアップに関するガイダンス(改正案)

## Long Term Follow-Up After Administration of Human Gene Therapy Products (Draft, 2018.7)

- これまでの遺伝子治療の臨床経験と、**ゲノム編集**やトランスポゾンベクターなどの新しい遺伝子治療を考慮した改正案
- ゲノム編集技術はオフターゲット変異をゲノムに与える可能性があり、未知の予測不能なリスクを被験者や患者に与えるリスク、遅発性の有害事象を生じるリスクがある
- ゲノム編集技術を用いた場合は**全て長期フォローアップ(LTFU)観察を行う**必要がある

# LTFU:ゲノム編集用製品での非臨床評価の考慮事項

- ゲノム編集による遅発性有害事象のリスク要因 (ex vivo, in vivo)
  - ゲノム編集は宿主ゲノムに永続的な変化を与える
  - ゲノム編集は目的外のゲノム改変により、遺伝子発現の異常や染色体の転座、悪性腫瘍の誘導などをもたらす可能性がある
  - 組込型ベクターを用いてゲノム編集コンポーネントを導入する場合は挿入変異によるがん化のリスクがある
  - ゲノム編集コンポーネントや発現産物に対する免疫応答の可能性
- 非臨床安全性評価で考慮すべき事項
  - ゲノム編集に用いる技術
  - ex vivoで改変する細胞の種類
  - ゲノム編集コンポーネントのデリバリーに用いるベクター
  - 臨床での投与経路

# LTFU:ゲノム編集用製品での臨床における考慮事項

**フォローアップ期間:15年間**(組込型ベクターと同じ)

1. オフターゲット活性に関する非臨床試験(INDELに関するin vivo, in vitro, in silico解析等)の結果に基づき遅発性有害事象のモニタリング計画を立案すること  
(例:肝細胞でがん抑制遺伝子に影響する場合、フォローアップ観察に肝がん発生の評価のモニタリング計画を組み込む)
2. ゲノム編集の標的組織に特異的な有害事象をモニタリングすること
3. ゲノム編集の標的組織を直接モニタリングすることが困難な場合(脳など)、ゲノム編集用製品の効果について代替案を提案すること
4. オフターゲット活性とオンターゲット活性の量比を求め、オンターゲット効果の測定値からオフターゲット活性を予測してフォローアップ計画を立てること
5. ゲノム編集用製品を全身投与する場合、臨床での安全性モニタリングは標的組織・臓器でのオフターゲット作用だけでなく、他の組織・臓器でのオフターゲット作用も調べること

# まとめ

- 欧米は、ゲノム編集技術を考慮した遺伝子治療関連ガイドラインの改正(案)を2018年に公表
- 欧米共に、ゲノム編集技術を用いた遺伝子治療も、基本的には遺伝子治療の従来考え方が適用されるが、ゲノム編集特有の考慮事項もある、としている
- 欧州は、ex vivo遺伝子改変細胞製品のガイドライン改正案に、ゲノム編集による遺伝子改変細胞に対する考慮事項を詳細に提示
- 米国は、長期フォローアップガイダンスの改正案で、ゲノム編集はゲノムに永続的な改変をもたらすことから、挿入型ウイルスベクターを用いた遺伝子治療と同様の15年間のフォローアップを求めている