

## 第4回エクソソームを含む細胞外小胞（EV）を利用した 治療用製剤に関する専門部会

日時 令和4年3月30日（水）  
14：00～  
開催形式 Web会議

<開会>

- 事務局（澁岡先端技術評価業務調整役） それでは定刻となりましたので、「第4回エクソソームを含む細胞外小胞（EV）を利用した治療用製剤に関する専門部会」を開催させていただきます。本日は年度末のお忙しい中、お集まりいただきましてありがとうございます。

<委員出席状況報告及び配付資料確認等>

- 事務局（澁岡先端技術評価業務調整役） 最初に委員の出席状況を御報告いたします。当委員会の14名の委員のうち、現在13名に御出席いただいておりますので、全員の過半数に達しております。専門部会規程第7条の規定に基づき、本委員会の成立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。議事次第、資料目録、資料取扱区分表、資料1～3、参考資料1がございました。資料に不足等ありましたら、事務局までお申し付けいただければと思います。

次に、資料取扱区分表を御覧ください。資料は内容に応じまして取扱いとして「厳重管理」「取扱注意」「その他」と分類いたしまして、それに応じた対応を取ることとしております。本日の配付資料2及び資料3は「取扱注意」のため厳重に保管いただきまして、コピー等の複製、第三者への開示は御遠慮くださるようお願いいたします。資料1と参考資料1は「その他」に該当いたしますので、委員各自で適切に保管・管理・廃棄をお願いいたします。

本日もWeb会議でございますけれども、通信状況によっては、ビデオ送信の停止などをお願いする可能性があります。御協力をお願いいたします。また、マイクに関しましてはミュートの状態にさせていただいて、発言する際に有効としていただければと思います。また、今回Webの録音から文字を起こして議事録を作成いたします。速記業者の録音ではないため、議事録確認の際に先生方の御協力を頂く部分もあるかと存じます。この点、先にお詫び申し上げます。よろしくようお願いいたします。

それでは、高倉部会長、以後の議事の進行をお願いいたします。

<エクソソームを含む細胞外小胞（EV）を利用した治療用製剤に関する報告書の執筆担当委員からの報告>

- 高倉部会長 それでは早速始めさせていただきます。前回の第3回の専門部会では報告書の検討項目を議論いたしまして、その後、第2回目のワーキングを開催しました。その内容を資料1に概要をまとめていますが、皆様に素案を

御検討いただいたところですか。よろしいですか。この報告書全体として、項目が大分充足してまいりましたけれども、商用生産では大量精製が必要になると思われ、具体的な事例を検討するほうがいいのではないかと思います。そこで、吉岡先生、山口先生が論文をみつけてくださいましたので、事務局より皆様にお配りさせていただきました。まず、吉岡先生がスライドを用いて説明していただけるということです。吉岡先生、よろしくをお願いします。

○吉岡委員

よろしくをお願いします。紹介といっても、大それたことはできないのですけれども、次のスライドをお願いします。Advanced Drug Delivery Reviews (ADDR)誌にこのような論文が出ていまして、これは要はどうやったら大量のEVを取れるのかどうかということを議論しているレビューでありまして、山口先生からも精製方法ということで大量精製の主にカラムを用いた論文の紹介を頂きました。本日、主にこのADDRの論文プラス、山口先生に御紹介いただいた論文に軽く触れようかと思っております。この論文につきましては、臨床応用を想定した培養法について、現在までの報告を多角的に検証しているものであります。ただ精製法についてはそこまで深く触れていませんので、やはり何か具体例を挙げるといった場合は別の資料を探そうかと思います。

結論からいくと、臨床応用に即した培養方法というのは現段階ではこれといった確定した方法はなく、みんなかなりばらばらである、それでもやはりみんな工夫しているということが、この論文から分かります。

次のスライドをお願いします。この論文から今回の報告書の参考になりそうな見解というのは、1つは、大量にEVを取得する条件というのは、ふだんのラボベースでやっているものでは全然足りないということで、培養のスケールアウトかスケールアップかの選択を行う、若しくは両方行うということで、ただ、私はあまりスケールアウトという言葉聞いたことがなかったのですが、例えば2Dフラスコの本数を増やしたりすること、並列的にその量を増やすということのようです。左下の図のような低分子だけを通過させるような膜を用いて、10kDカットの膜とかを用いて、余分な栄養素とかは交換することができるのですけれども、細胞及びエクソソーム(EV)を外に出さないで、バイオリアクターの中で細胞とEVをどんどん濃縮していくということで、これは小容量かつEVがかなり濃縮されているような培養液を得られるらしくて、このような方法を取るか、スケールアップということで、タンク式のバイオリアクターを用いて何十リッターという培養を行うかということ想定しているとい

うことで、やはり報告書に関しても、こちらのほうを参考に、スケールアップかスケールアウトかのどちらにせよ、通常のラボ用のプロトコルではない方法を推奨することを記載すべきかなと思いました。ここで1つ書いてあったのは、ベストな戦略というのは、コストを抑えるため、1細胞あたりの培養液量を最小限にし、培養可能な表面積を増やすということで、浮遊細胞であれば簡単にそれができるのですが、接着細胞の場合、培養可能な表面積を増やすということがなかなか難しいようで、そこら辺をどうするかということが議論されていました。その場合、ホロファイバーなどを有効に使うということで、ただし、接着細胞の場合、バイオリアクターやホロファイバーで培養可能かを必ずチェックする必要があるので、どういう方法を取るかというのは、事前に決めておく必要があるのかと思いました。

次のページです。2つ目の大量にEVを取得する条件というのは、これは1細胞あたりのEVの分泌量を増加させるということで、ある報告によると、2D(平面)の培養より3D培養(バイオリアクター)のほうが、1細胞あたりのEV分泌量が多いとの報告があります。また、他にも細胞への刺激を与えることで分泌量が増えることも利用するということがあります。その刺激というのは、物理的な刺激、低酸素や低pH、サイトカイン刺激などがあるそうです。ただ、これの注意点として、培養方法や刺激などによって、先ほどの2Dと3D、かつホロファイバーなども培養方法ですらEVに様々な影響を与える可能性があるらしく、最終製品の同一性が治療効果に影響を与え得るか検討することが重要であるということが書かれていました。ただし、そもそもEVの特性評価や精製方法というのは標準化されていないため、これら評価方法の裏付けが必要で、こういった方法で標準化されているものが、こういった培養によって変化するかということをしちんと定めないといけないということだと思います。

3つ目の大量にEVを取得する条件というのは、EVの回収とか精製方法を検討するというので、例えば、我々がいつもやっているような超遠心法は回収効率が悪いことは明らかでありまして、タンジェンシャルフローフィルトレーションとかのほうが回収効率が良いということで、大量にEVを取得するためには培養方法かつ精製方法の検討が必要ということで、ただ、この論文自体には精製方法は、あまり研究をしていなかったのですが、どの方法を取るにしても、EVの精製を効率化するためには培養液が少量で済むことかと思われますので、事前に前処理する濃縮法や、そういった方法が取られるべきだということだと思います。ファイ

パーセルシステムなどをうまく活用する。これはベリタスの方法で、私も使ったことがあるのですが、先ほど言った中空糸膜を使って培養液は透過する一方で、中に EV をエンリッチするというような方法があると思います。そういったものを使って山口先生が紹介していただいた論文は、サイズ排除のクロマトグラフィーとか、アフィニティーカラムを組み合わせたものを使っていますので、そこら辺、やはりカラムを使うにはどうしても、ある程度、液を濃縮していたほうが良いということで、培養方法、かつ精製方法の工夫が必要ということです。

次のページです。もう 1 つこの論文で議論されていたのは、EV の定量化と特徴付け、品質チェックに当たるとは思いますが、これも検討することが必須ということで、この文を抜き出しているのですが、これを要約すると、実際の EV の分離精製と、EV の特性評価のプロセスにおける標準化の欠如というのが、EV 分離の異なる段階におけるタンパク質系の含有量や粒子数の観点から、たくさん EV が取れた、取れていないというものに関して、その報告にばらつきが生じる原因となるということで、これは EV の収量や純度の違いがこれらの側面に大きく依存する可能性があるため、技術間の比較可能性が低いということになります。つまり、あるグループからは、例えば PMDA に持って来られて、これぐらい EV を取っていて、こういう EV、これぐらいの量を打ちたいです、EV の量はこれぐらいですというときに、その基準が本当に妥当かどうかというのが、なかなか技術的に評価することが難しいということで、それぞれの報告において収量とか純度を単純に比較できないから、例えば PMDA からこれぐらいの量を入れるのは妥当ですかと聞かれたときも、それが正しいかどうかというのを明確にできないということで、これを報告書にもやはり問題として取り上げないといけないのかなと思っています。

この論文では、タンパク質定量とナノサイトなどによる粒子数のカウントがスタンダードになっているが、検出された粒子が全て EV とも限らない上に、タンパク質量に関しては、これは夾雑タンパク質が含まれる時点で、イコール EV 量にはならないことに注意するというのと、ナノサイトとかも操作者やソフトのバージョンの設定によって、これは私も経験しているのですが、だいぶ結果が異なることが示されており、標準化という点では、粒子数を用いることにも注意が必要ということで、この論文の結論的には、結局、コストと手頃さを考えたら、これら 2 つというのは、タンパク質定量とその粒子数のカウントというのがスタンダードになり続けるとおられると書かれていました。

次のスライドをお願いします。これは大量培養をするときに、チェックポイントというのが幾つかあって、どれくらいの細胞数をまくのか、どれくらいエクспанションするのか、あとはその出てきたEVが、そのメディアウム中にどれくらいあるのかというのを随時チェックして、品質をチェックした後に、アイソレーション、ピュリフィケーションすることで、その取れたパーティクルがどれくらいあるのか、タンパクがどれくらいあるのかというチェックポイントがあるということで、幾つか、チェックポイントを作っておくことを推奨することを記載したほうがいいのかなどは思います。

次は、午前中にメールが来たので、この後、山口先生が恐らく、臨床試験の実情というものを説明してくれると思います。私は簡単にということで、やはりEVを使った臨床試験というのがあまり細かく記載されていないようなのですけれども、幾つか大規模での培養という戦略を取られているものがあって、それがCodiak社というのがやはり有名で、バイオリクターを用いて大量培養しているということがよくされていました。ただ、いずれも臨床試験の段階では、決まった培養方法というのではなくて、様々な方法が取られているそうです。

次は、一方、これは記述があったというだけで、どうこうというわけではないのですけれども、EVの精製やその特性解析が難しいことは明らかなので、別の考え方として、純度を考慮する。ここで言うと、100%ピュアなEVだけを取ってくるということを考慮するより、治療効果に焦点を当てて、EVが濃縮されたセクレトームとして製品を認めることも必要ではないかという記載がありました。つまり、どこまで精製度を求めるのかということと、その治療効果でファンクショナルアッセイとか、ポテンシーアッセイというのか、こういったものを解析、品質チェックの項目に入れるべきだということだと思います。私の論文紹介は、これで大体終わりです。ありがとうございました。

- 高倉部会長 吉岡先生、どうもありがとうございました。この論文の発行年の記載がなかったのですが。
- 吉岡委員 2021年の夏頃です。
- 高倉部会長 2021年ですか。ありがとうございます。何か御質問、御意見がございましたら、自由に御発言ください。最後の記述というのが、純度よりも確実に、例えばタンパクあたりこれくらいの活性がある、細胞が分泌したトータルのセクレトームとしての力価的な考え方ですね。
- 吉岡委員 そうですね。そこで担保して、それを製品とすればいいのではないかと

というような考えに、どうやら至るみたいで。やはりこれは精製法が確立されていないという問題と、EVの特性上いろいろな複合タンパクなので、純度を決めるのが難しいというのがあるのだと思います。

○高倉部会長　なるほど。純度にこだわりすぎることはいかなものかというのが、この視点なのですね。

○吉岡委員　そうですね。

○高倉部会長　これはフランスのグループですか。

○吉岡委員　フランスのグループで、私もあまりこの人たちを存じ上げないのですけれども、フランスで言えば、Dr. テリーたちが有名なのですけれどもこの中に入っていなかったのも、これがどういったグループなのか、私は存じ上げていなくて。

○高倉部会長　はい。EVの研究自体はもちろんいろいろしているのですね。レビューで他のところで紹介しているだけではなくて、自分たちもその経験をしているのですね。

○吉岡委員　そうですね。多分、大量培養とかの経験があるので、こういったことを書いているのだと思います。

○高倉部会長　なるほど。ありがとうございます。何かありませんでしょうか。タンパクと粒子数のカウントぐらいしかないですよ、取ってきたものの評価法としては。

○吉岡委員　そうですね。ただ、それでいかなものかという問題提起はされているのですけれども、結局、今それしかないからそれでやるしかないという結論になっていました。

○高倉部会長　なるほど。秋吉先生どうぞ。

○秋吉委員　今おっしゃられた点は、私もアグリーなのですが、もし、標準化指標として、粒子数のカウントを記載する場合、一般に用いられるナノサイト装置でも正確に測定できていないということは、何か考えておく必要があるかなというように思います。吉岡先生もきっとそう思われますよね。

○吉岡委員　思います。私もいろいろ粒子をカウントする機械を使って測ると、例えばナノサイトというのはどの機械よりも濃度が1桁多く出るので。だからナノサイトの中にも設定とかソフトのバージョンが違えば、数が1.5倍とか2倍違うようになりたりすることはざらにあるので。

○秋吉委員　そうなのですね。でも、1つの標準としてというのでしたらいいのですよね。

○吉岡委員　そうですね。

○秋吉委員　一方、細胞の機能というのと結び付けたセットでということになるので

すかね。

○吉岡委員 そうだと思います。

○秋吉委員 この論文の Gazeau 先生というのは私も知っていますが、それなりにエクソソーム研究をやっておられる先生というような感じがしています。以上です。

○高倉部会長 ありがとうございます。他はいかがでしょうか。大体よろしいでしょうか。山口先生どうぞ。

○山口委員 確かにそのとおりにかと思えます。EV が完全に精製できるということはなかなか難しいと思うので、有効成分として EV がどのぐらい含まれているということが分かれば、まず1つはいいのだらうと思えます。その一方で生産の恒常性ということ考えたときに、例えば、目的とする以外の EV の量比がロットごとに変わるというのは、多分これはまずかろうというように思います。そういう意味での品質の恒常性というところは担保した上での、この話かなと思いました。以上です。

○高倉部会長 山口先生、ありがとうございました。それではよろしいでしょうか。今の報告内容について、主に吉岡先生の所ですよ。適宜、報告書へ反映をお願いします。

○吉岡委員 今回のバージョンでは反映できなかったのですが、もうちょっと待ってください。次で反映させるようにします。

○高倉部会長 よろしくお願いします。

○瀬尾委員 1つ、いいですか。

○高倉部会長 どうぞ。

○瀬尾委員 そもそもきれいに精製したところでそれが本当に精製されているかどうかということは EV は分からないので、私が提案したいのは、最初の培養上清中にあるタンパク質からどれくらい余計なものを除去されたものが得られたかということが重要な指標になるような気がしているのですが、いかがでしょうか。

○吉岡委員 確かにそうですね。精製度としては、ビフォーアフターみたいなのを示したほうがいいのかもかもしれません。あとは、例えば完全にこの物質は入ってはいけないというものが分かればいいのですが。

○瀬尾委員 そうですね。

○吉岡委員 参考にさせていただきます。

○高倉部会長 ありがとうございます。そうしましたら全体の話に入っていきたいと思えます。各項目の執筆分担のアップデート内容について検討していきたいと思えます。資料3を共有いただけますでしょうか。今から出てくる

ものは第2回のワーキングの後、読みづらくなっていましたので、一旦見え消しを確定したものです。修正やメモがある箇所を中心に検討したいと思います。各執筆委員から参考文献も記入していただいています。どうもありがとうございました。

それでは順番に、まず、イントロダクションの部分から、エクソソームの開発の現状と課題ということで、これも吉岡先生になりますけれども、その後アップデートして先ほどの内容は反映されていないということですが、現状について簡単に御紹介いただいてよろしいでしょうか。

○吉岡委員

イントロダクションに関しましては改変型 EV についてということで、少し下のほうにコメントがありまして、改変型の EV についての記述が増えたのと、それに対して、改変型に対する言葉というのを何にしようかということで、取りあえずナイーブ EV と付けたのですが、要は、ナイーブ EV というのは、例えば MSC の EV そのものを何も細胞をいじらずに、細胞から出てきたものに対して使う言葉としています。

コメントとしては、三浦先生が DC 由来の EV と主語が分からないということで、これは追記しました。たくさん校正されていますけれども、直した箇所はそれほど多くはないです。再生部からの「障害」という字が違うのではないかとということで、すみません、これは完全に変換ミスで、傷つくほうの「傷害」です。赤字で書いてある所が三浦先生に御指摘を頂いた所で足してあります。もう1つ、再生部から「無増悪生存期間の延長でしょうか」ということで、ちょっと省略して書きすぎました。「無増悪生存」と書いてしまったので、これは後で直しておきます。

あとは、石井先生からの御指摘で、「EV の免疫原性との整合性の点で、問題ないか、確認をお願いします」ということで、これは武内先生の所でしょうか、比較するべきところは。ラインの 432 と書かれているので、「免疫原性とかもたない」と書いたら、前回三浦先生に「もたず」というのではなく「低く」としたらどうかということで、「低く」と書いたのですが、ここの下の 432 との整合性で問題ないかということを確認お願いいたしますということで、私は「低く」でいいのではないかと思ったのですが、432 のほうは、あまり「免疫原性」があるかどうかとか記載されていなかったの、ここをどうまとめたらいいのかということをお伺いしたいです。これは後で、武内先生の所で確認しましょうか。

○高倉部会長

そうですね。免疫原性について「もたず」より、やはり「低い」、「低く」のほうがいいですね、高くないわけなので。

○吉岡委員

そうですね。ゼロを証明するのは難しいので。

- 高倉部会長 はい。EV の免疫原性について、後の武内先生の所で免疫原性についてのところに、そもそも本来のものがどうかということをお書きしていないのではないかとということなので、武内先生、覚えておいてください。後ほど。
- 武内委員 分かりました。
- 高倉部会長 吉岡先生が、今まで改変型で DDS にするのと、そのまま使うものとの関係をはっきりさせるようにネーミングを考えていただいて、そのまま使うものを「ナイーブ」、今見えている所は「改変型 EV」、これでいいのかということですか。
- 吉岡委員 多分、前は改変型 EV で一応、賛成を得られたと思うので、それに対する言葉がもし何かあれば参考にさせていただきます。
- 高倉部会長 改変しない EV というよりは、ナイーブとしてはどうかという御提案ですね。これは今それを話し合うと時間が不足しますので、今御提案いただいているということで、皆様にお伝えしたという形にしたいと思います。
- 吉岡委員 それに伴って、改変型 EV の説明を付けたところが新しくなっています。
- 高倉部会長 赤字ですね。
- 吉岡委員 はい。
- 高倉部会長 上記の特徴を有した EV に薬を内封したり、遺伝子改変したものがこの話ですということですね。
- 吉岡委員 そういう説明です。
- 高倉部会長 はい。
- 吉岡委員 多分、これで一応、ここのイントロダクションは終わりです。その下をお願いします。もう1つありました。石井先生から、「作用機序が明確であったとしても、品質評価の際には、in vitro 評価系が必要になると考えます」ということで、これは確かに、そうです。私の書き方がよくなかったです。こちら、後で直しておきます。
- 高倉部会長 そうですね。引用を付けていただいて。
- 吉岡委員 はい。
- 高倉部会長 イン트로に関しては、大体こういう感じでよろしいですね。
- 吉岡委員 はい。
- 高倉部会長 何か御意見、コメントがございましたら。
- 吉岡委員 石井先生、特にこれで大丈夫でしょうか。
- 石井委員 はい、大丈夫です。
- 高倉部会長 それでは、次に進ませていただきたいと思います。次は2番です。製法

開発と品質特性解析の項目で、御担当いただいたのは石井先生で、ここは以前からあまり修正点がない所ですが、ざっと御説明いただいてよろしいですか。

○石井委員 御指摘いただきました「iPS 細胞由来細胞」と「iPS 由来細胞」を、「iPS 細胞由来細胞」で統一しました。今回の修正はほとんど記載整備です。Q5D と Q5B のガイドラインに関するご指摘ですが、Q5D は全体に関わる記載で、遺伝子組換えのときにプラス Q5B ということが明確になるように、267 行目の所を少し整備いたしました。

○高倉部会長 はい。267 の所に下げていってもらえますか。

○石井委員 参考文献の掲載は後で追加いたします。以上です。

○高倉部会長 はい。他に何かよろしいでしょうか。ここは大きな変更がなかったと思います。次は 2.2、培養法とエクソソームの製造・精製です。これも吉岡先生、お願いします。

○吉岡委員 こちらはこの前、再生部からこの質問があって、「EV が薬理作用の本体であることを明確に示すような製造工程を経ることが必要、という意図でしょうか」ということで、補足して、再生部からありがとうございましたと来たので、これは大丈夫そうです。

○高倉部会長 はい。

○吉岡委員 その1つ下の質問も、この点を踏まえというのは、「したがって」というようにまとめさせていただきました。次の下のものは、これも 3 月 14 日のほうでお返ししたとおりでこれも解決したということで、念のため追記させていただいたということで、これは解決でよいかと思います。

○高倉部会長 はい。

○吉岡委員 その下が、これが前回少し意図が分かりにくいということで、これも補足させていただきました。一応、赤文字で書いてみました。それで OK という事だと思われま。これは、私が 100nm と書いてしまいましたけれども、200nm の間違いです。ここはこのような感じですが、後で、先ほどの読んだ論文等の観点ももうちょっと付け加えて、1、2 文加えることはあると思いますが、よろしくお願いします。

○高倉部会長 ありがとうございます。引用の文献も付いているということで。何か皆様からありますでしょうか。よろしいですか。

では、次はエクソソーム特有の品質特性解析です。武内先生お願いいたします。

○武内委員 用語の修正です。エクソソームと書いていたのを EV に変えたり、原薬・製剤を製剤に統一したというのが全体を通した修正になります。あと、

石井先生と PMDA の先生に御指摘いただいている点に一部対応していますので、それについて御紹介いたします。

まず最初は、「平均特性値の評価に加え」と変更させていただきました。2 番目は、石井先生からコメントを頂いています用語の問題です。私はその目的とする有効成分と記載していますが、有効成分というのは厳密には EV のことを指すのではないかということで、おそらくここは活性成分というような用語に修正したほうが良いということによろしいですか。そのような理解でよろしいですか。

- 高倉部会長 そうですね。有効成分、活性成分、責任分子、薬理作用に関わる分子、いろいろな言い方がありますが。
- 武内委員 もしかしたら他の報告書全体を通じて、この辺の用語はそろえたほうが良いのかなと。
- 高倉部会長 統一したほうが良いかもしれないですね。
- 武内委員 ですので、石井先生から御提案いただいたような形で、全体を通して整理していくと良いのかなと思いました。
- 高倉部会長 はい。
- 武内委員 取りあえず、この部分に関しては活性成分と修正しておきます。
- 高倉部会長 石井先生、それでよろしいですか。
- 石井委員 そうですね。多分実際の薬理作用に関わるのは、特定の RNA のようなことを意図されているとすると、活性成分など、そのような表現が良いかなと思います。有効成分とすると、その製剤の中で管理する主体と言いますか、ある要件を満たす sEV の集団のことになると思います。
- 武内委員 分かりました。この品質特性解析のところを全体を通して見直しておきます。ありがとうございます。
- 次に進んでいただき、石井先生から御提案いただいているのは、513 行目付近かと思いますが、どのように不純物の評価をするのかという比活性の考え方です。御提案いただいたとおり、粒子のプロファイル解析で EV 粒子の割合を評価するという、それからポテンシーアッセイですね、力価測定により標準化したり、比較評価したりそのような方法が挙げられるのではないかとこのことを併記しています。そこから下を御覧ください。
- 高倉部会長 先ほどの免疫原性のところですね。
- 武内委員 そうですね。ここは前回からの修正もあり、免疫反応に関しては、後の項目 4 のところに大部分が移りましたので、そこでまた評価させていただきます。

- 高倉部会長 はい。
- 武内委員 最後に、石井先生から御指摘いただいておりますが、2.3.4にEV製剤の品質管理という項目でまとめさせていただきました。たしかにこれを読み直しますと、製法変更したときの留意事項のように思えます。今回の項目内容は品質特性解析ということで内容からは外れると思いますので、ここは削除するのが良いのではないかと思います。以上です。
- 高倉部会長 ありがとうございます。ですから、そのような観点からすると、ここでこのような内容は特に必要ではないですね。
- 武内委員 そうですね。
- 高倉部会長 はい、分かりました。
- 武内委員 どうもありがとうございます。
- 高倉部会長 皆さん、今の武内先生のパートで何かございますでしょうか。先ほど、改変型EVの場合というのがありましたよね。もう少し前のところに。
- 武内委員 450ぐらいですか。
- 高倉部会長 そうでない場合は、吉岡先生が整理されたナイーブですよ。
- 武内委員 そうですね。
- 高倉部会長 だから定義がされるので、そのまま使う場合と遺伝子改変をする場合を対比させてやる時は、やはりナイーブについてはということが後ほど全体を通して整理すべきかなと思いましたが発言いたしました。
- 武内委員 そうですね。
- 高倉部会長 まだ、そこは必要ないと思いますけど。
- 武内委員 ありがとうございます。
- 高倉部会長 よろしいですか。ありがとうございました。
- それでは、次のパートに移りたいと思います。ウイルスのところですか。感染因子に対する安全性評価ということで、ここは岡田先生、山口先生に御対応いただいているところですが、御説明はどちらにさせていただきますか。
- 山口委員 山口からさせていただきますが、よろしいでしょうか。
- 高倉部会長 山口先生お願いいたします。
- 山口委員 全体として、記載整備的なところが多かったです。特に、後ろのほうは表とか、そのようなことを変えた点と、それぞれ幾つかのポイントについて文献を添付しました。この最初のところで、映していただいている下のほうに自己由来製品というのがあったのですが、自己由来製品もこの中のファーストパラグラフの方に入れておいたほうが良いという石井委員のコメントもあり、上のパラグラフに移しました。ただ、再生でも

同じですが、自己由来製品はウイルスを全く検査しなくてもいいということではなく、例えば再生医療等製品など交差汚染の問題があり、特に重要なウイルスなど検査されている場合が多いですので、そのようなところを注意点として記載いたしました。

あとは、異なるドナーからのドナーセルバンクを記載いたしました。あと570行ですが、上にも書きましたが、ウイルスクリアランス工程の適用は、もう無理という感じで書くのか、困難な場合が多いと書くのか、特に精製法を幾つか調べましたが、場合によっては、非常に高度な精製をやっているケースもあります。論文はなかったのですが、会社のホームページからこのような精製ができるというのも記載されておりました。

そのようなことも含めて、ウイルスクリアランス工程の適用が困難な場合は、今の時点ではなかなか難しいとは思いますが、もう無理だと書いてしまわず、困難な場合が多いとしたほうがいいのかと思います修正いたしました。以上です。

○高倉部会長 御説明ありがとうございました。どなたか御質問、コメントありますか。それでは、次に進みたいと思います。次は非臨床試験として、生体内分布と目的外の臓器・細胞への望ましくない分布ということで、動態評価法、瀬尾先生にアップデートしていただいたのでしたか。

○瀬尾委員 そうです。

○高倉部会長 あまり変わっていないですね。

○瀬尾委員 あまり変わっていません。リファレンスを加えているのが一番大きな変更で、あとは文字を少し変えるとか削除などだけです。

○高倉部会長 では表記上の微修正ということで、下げていただけていますか。そうしたら POC 薬理試験のところは、華山先生にお願いしてよろしいですか。

○華山副部会長 華山です。前回、宿題を頂き、まだ未記載だったこの POC 薬理試験について記載しました。初回ですので、一回全体を通して読ませていただきます。

○高倉部会長 お願いします。

○華山副部会長 特に、宿題として御提案いただいたのが、このマウス・大型動物からヒトへの適用、特にマイクロ RNA が違うなど、そういったことについての記載ということで書かせていただきました。読みます。「EV の薬理試験は、低分子薬あるいはタンパク質製剤などで実施される試験と基本的には同様であり、それぞれの疾患に応じた試験を実施する。ただし、比較対照群の選択、EV 投与量の単位については EV 特有の事項として、以下のよう

な対応が考えられる。また、EVの薬効成分としてはタンパク質や核酸である場合が多く、薬理試験における種差の取り扱いにも注意が必要である」と、まずイントロにしました。

3.2.1の比較対照群においては「EVの機能研究では、用量反応関係の評価することが基本となる」。この辺は、MISEV2018の記載にいろいろと書かれていましたので、そこを参考にさせていただきました。「EV含有試料液、EVを除去後の試料液、EVのみの3者による機能活性の定量的比較が必要である」とMISEVに書かれていましたので、そのまま引用しております。

また比較対象群として、先ほどはナイーブEVでしたが、私は天然EVが良いのではないかと考えています。ここでは天然EVと書いておりますが、「天然EVの場合は異なる生体液や組織・細胞から採取した天然EVを、改変EVの場合は機能分子を含まないあるいは変異体に置き換えたEVを用いることが推奨される」と。PMDAからは「考えられる」ぐらいにしておいたほうが良いかもしれないというコメントを頂いております。

次に3.2.2。これは先ほどの吉岡先生の提案された項目ですが、ここに書かせていただき、EV投与量の単位として項目立てを行いました。「EV投与量の単位としては、粒子数や総タンパク質量が広く用いられており、非臨床試験においてもこれらの単位の使用が想定される。一方でこれらの単位はEVの純度や質の影響を受けやすく、安定した試験結果を得づらいつい場合がある。そのような場合、機能分子が明確であれば、その含量をEV活性の単位として用いることも可能である（例えば、IL-2 XXmg相当、microRNA XXコピー相当など）。一方、機能分子が不明である場合は、代表的な薬理試験において定義した生理学的力価を単位（ユニット）として用いることも想定される」という形で記載いたしました。

ここはPMDAからのコメントとしては、「特に述べる必要はないのではないかと」頂いているのですが、その辺は皆様の御判断で。「バイオ医薬品、核酸医薬品では臨床での用法・用量を踏まえて、ケースバイケースで、すでに、ユニットが導入されていることもあり、あえて本文章では述べる必要が少ないように思いました」とあるのですが、それはやはり、最初の議論からどこかで記載しておいたほうが良いのではないかと個人的には思っております。

最後に3.2.3です。種差microRNAについて、「EVの機能分子のほとんどはタンパク質や核酸であり、種差の影響が大きい為、非臨床試験の結果を臨床試験に適応する際に困難が生じる。そのため、in vivo薬理試験

では可能な限り、標的となる細胞や分子をヒト化した実験動物を用いた試験を行うことが望ましい。ヒト化が困難な場合には *in vitro* 薬理試験で、ヒト細胞系と実験動物細胞の両方を用いて EV による用量反応関係を検証し、感受性の違いに関するデータを取得した上で動物実験を行う」と書かせていただきました。

ここにおいて PMDA からの意見としては、タイトルは「動物種の選択」としてはいかがでしょうかということと、あと「通常医薬品では、まず臨床で使えることを優先されることから、以下の代案を御提案します」と書かれていることは一緒でもう少し抽象的にまとめていただいているのですが、そういったサジェスチョンがあります。基本的に言いたいことはこういった種差の影響ということですので。そちらについて、あとは文書をブラッシュアップしてきたいと思っております。以上です。

○高倉部会長 華山先生、御説明ありがとうございました。新しく作っていただいた部分ですが、先生方から御意見、御質問がありましたらよろしくお願いたします。

○山口委員 3.2.2 で、PMDA からのコメントが来ているところがあったかと思いますが、この部分、特に後段ですが、恐らく、華山先生が意図されているのは、1つは生物活性で表示することもできるし、もう1つは物理量で表示するという、例えば遺伝子量の中でもベクター量という物理量で表示することがありますので、多分、PMDA の意図は物理量か生物活性かその両方という感じぐらいでいいのかなと私が勝手に読みました。

○華山副部会長 もう少し短くするということですかね。直接担当者の方に御相談させていただきます。

○山口委員 よろしくお願いたします。

○真木スペシャリスト PMDA の非臨床のコメントをした者です。華山先生、御説明いただきありがとうございました。EV 製剤の文書全体として、このユニットの考え方を明確にするのは大事だと私も思います。ただ、全体を見回してみたときに、例えば、前半のほうで品質で薬理活性など定義などの記載もありますので、そこで述べるのもありなのかなと思っております。

○華山副部会長 ありがとうございます。全体の中でのこの文章の立ち位置ということですね。

○真木スペシャリスト ユニットの考え方について、薬理試験の中で記載されています。例えば、バイオ医薬品でもそのような考え方はありますが、薬理試験において特段の留意点はガイドライン等で記載されていません。むしろ、品質特性を定める際に、ユニットは定義されていると私は理解しており

ますので、他の医薬品と同様に、必ずしも薬理試験で改めて記載しなくてもよいかとも思いました。

- 華山副部長　そうですね。ただ、吉岡先生の最初のお話にもあったように、EV 特有の問題があり、その品質が必ずしも活性とは結び付かないところがあるので、それが POC の段階で、こういった定義が必要かなと考えた次第です。ありがとうございます。
- 真木スペシャリスト　理解いたしました。ありがとうございます。次に、薬理試験の種差に関する記載についてコメントさせていただきました。基本的に考え方としては、先生が書いていらっしゃる通り、ヒトと動物では反応性が大きく異なると考えられます。例えば、ヒトで臨床に使うもの、臨床候補品と私は呼んでいます。それが動物でうまく薬理作用を発現すればいいのですが、そうでない場合にはいろいろ工夫が必要です。例えば細胞加工製品の場合、動物同等品作製して評価することも考えられますが、ヒト化動物を用いた安全性評価は、医薬品や再生医療等製品において求めていることから、修正させていただきました。
- 華山副部長　ありがとうございます。反映させていただきます。
- 高倉部会長　その他、よろしいでしょうか。
- 先ほどの有効成分や活性成分が出てきましたよね。そことうまく対応させておけば、この物理量か力価的なものなのかというところ、物の管理のところと薬理活性のところとうまく対応するような流れにしておいたらいいと思いました。
- 華山副部長　ありがとうございます。
- 高倉部会長　調整していただくと、これはもっとブラッシュアップしていけば、そこは合わさると思います。
- 華山副部長　そうですね。重複にならないように連携を取りながら書かせていただきます。
- 高倉部会長　ついでに、ここで出て来たので、ナイーブか天然か、どうしましょうか。
- 華山副部長　そうですね。ナイーブというのは免疫学者からするとナイーブ T 細胞とか、活性化されていないイメージが強くて、活性化された T 細胞も天然なので、少し違うかなと。やはり、天然、改変が日本語ですし、個人的には良いのではと思った次第です。皆様の御意見にお任せいたします。
- 高倉部会長　吉岡先生いかがですか。
- 吉岡委員　私も別に天然でもいいのかな。改変型が日本語なので、それに対するのが天然ということになるのかなと思います。私が論文ベースで調べると結構ナイーブ EV とエンジニア EV というのがあり、それが対になってい

ることが多かったので、ナイーブの日本語は何だろうと思ったので片仮名でナイーブと記載しました。だから私は天然でも良いと思います。

- 高倉部会長 免疫から遠い人が使ってしまったのではないですか。
- 吉岡委員 そうかもしれないですね。
- 高倉部会長 華山先生が違和感を感じられるのは確かに、そう言われてみると、確かにナイーブというのはTセルで言うところだとそうだなと思います。
- 華山副部会長 活性化させた細胞から回収したエクソソームはナイーブではないのかと  
なってしまうのですよね。
- 高倉部会長 他の先生方は何か御意見ありますか。方向性に関する御意見はだいたい  
お二人からいただきましたが。
- 瀬尾委員 私も一応、免疫学なので、天然のほうが良いですね。
- 高倉部会長 そちらに1票入りましたね。その方向で進めていただけて良いのかなと  
思います。今の華山先生に新しく作っていただいたのは、それでよろし  
いのですか。今出ました意見を基にブラッシュアップをお願いできたらと  
思います。
- 華山副部会長 承知しました。
- 高倉部会長 次は3.3です。非臨床安全性試験、ここはPMDAの毒性スペシャリスト  
に執筆していただいた分ですが、特に変更はありませんので、もし何か  
お気づきの点があればお伺いしますが。
- 真木スペシャリスト 高倉先生からコメントを頂いたとおり、大きな変更はないので  
すが、前回の専門部会で御指摘いただいたトキシコキネティクスについて  
アップデートしております。
- 高倉部会長 そうですか。では、そこを映してください。
- 真木スペシャリスト トキシコキネティクスについて、前回の部会では、天然型を想定  
してトキシコキネティクスの評価は基本的には特に必要ないと申し上げ  
ました。その際、高倉部会長から、改変型のように人工的なものを入  
れた場合はどうなのですかという宿題を頂きましたので、改変型EVの場  
合も想定し、ヒトでの安全性が担保されていない化学物質が利用され、  
安全性に懸念があれば、データ収集の必要性を検討すると追記させてい  
たきました。
- 高倉部会長 ありがとうございます。そうですね、ここでも改変型のEVにおいて、  
懸念があれば必要性を検討するという表現で書いていただいています。  
この点に関して何か御意見、御質問がありましたら。よろしいですね。  
御対応いただき、どうもありがとうございました。
- そうしましたら、次の臨床開発のところでは、ここは三浦先生と武内

先生ですが、武内先生にお願いしてよろしいですか。

○武内委員 はい、よろしく申し上げます。ここも同じように用語の修正等がメインになるかと思えます。下の校正されているところですが、ここがメインの変更になるかと思えます。最初に吉岡先生から免疫原性のお話が出たかと思えますが、全体を通して今回報告するのは、恐らく MSC がメインになってくると思えます。MSC というのは、再生医療での実績から、恐らく MSC 由来 EV というのは免疫原性が低いのではないかと想定されますので、いわゆる HLA の適合性をそこまで考慮する必要はないのだろうと考えられます。

最初のバージョンでは、もう既に削除しているところですが、「以上のことから、使用する EV の HLA 分子発現にあわせて、レシピエントとの組織適合性を考慮すべきである」と、900 行、901 行目の所を書いてあるのですが、そこまで考慮する必要はないかなということで削除しています。メインの修正はそこで、以上です。

○高倉部会長 三浦先生は、本日おられません、MSC と DC は同格ではありませんが、DC についても取り上げるという話があったかなと思えます。三浦先生もこの部分で、MSC についてはあえて記述しないというのはいいのですが、DC についてもここはいいというところで一致されているという理解でよろしいですか。

○武内委員 そうですね。MSC と DC で免疫に対する作用の方向性が違うということで、どのように書くかを考えていったわけですが、DC については一言、900 行目の所ですが DC 由来 EV は HLA のクラス I 及びクラス II を発現するという事だけですね。

○高倉部会長 事実だけで、前のは注意しなければいけないと書いてあったのですよね。

○武内委員 そうですね。そこは少し弱めたほうが良いかなと。

○高倉部会長 なるほど。

○武内委員 というのは、メインが MSC という考えです。

○高倉部会長 では、この表現でここでは十分だということですね。

○武内委員 はい。

○高倉部会長 分かりました。ありがとうございます。皆様から何かありますか。ですから、後でと言われていた点はこの辺りのことでしたか。抗原性はそもそも低いという書き方で宜しかったですか。

○武内委員 そうですね。低いと。

○高倉部会長 そういうトーンになっていますね。そうしていただいたことで MSC が元々そうで、DC は発現しているという文章が書いてあるだけなので。

- 武内委員 そのような考えで書いています。
- 高倉部会長 ありがとうございます。他に何かありませんでしょうか。  
それでは、次はPK/PDですかね。少し下げていってください。ここは華山先生に書いていただいて修正も頂いていますが、説明をお願いしたいと思います。
- 華山副部会長 前回初稿を挙げさせていただき、皆様の議論で少し文書がこなれたような形で修正をかけております。書いている内容は基本的に変わっておりません。再生部から「臨床開発においては、EV としての特殊性は免疫原性を除いては特になく、開発手法としては低分子化合物、RNA、タンパク質医薬品を参照にする、等の言及があっても良い」という形でコメントを頂きましたので、その文書を最後に加えております。個別の MSC と樹状細胞に関しても修正はほとんどありません。  
続いて、4.3 の用量にいきましょうか。こちらも前回宿題を頂き、新たな文書を作成してまいりました。では読ませていただきます。「ヒトにおける初回投与試験は単回投与および反復投与の群間用量漸増法で実施される。基本的には、『医薬品開発におけるヒト初回投与試験の安全性を確保するためのガイダンス』、令和元年 12 月 25 日薬生薬審発 1225 第 1 号に準ずる。ヒト由来の内在性分子を含む天然型 EV については、安全係数を低く設定することが可能であると考えられるが、非内在性分子を含む改変 EV の場合は、その分子の特性を踏まえた安全係数の設定が重要と考えられる。加えて、非臨床試験で用いた動物とヒトでは効果が大きく異なる場合もあるため、安全係数の設定において考慮が必要である。非臨床試験結果から予想できない有害作用が発現し得るリスクが高い場合など(例えば、免疫系を標的とした EV)は推定最小薬理作用量をもとに、初回投与量を設定することが推奨される。いずれの場合においても、健康成人における初回投与量は PAD(Pharmacologically Active Dose)より低用量とする。また、反復投与試験においては、EV の免疫原性にも注意が必要であり、慎重に投与量の設定を行うべきである(4.1.1.EV に対する免疫反応を参照)」という形で記載いたしました。以上です。
- 高倉部会長 ありがとうございます。御質問、コメント等ありましたらお願いいたします。これは PMDA でも見ていただき、特にコメント等が付いていませんが、御確認いただいたという理解でよろしいでしょうか。
- 真木スペシャリスト PMDA 非臨床毒性担当です。ここは精査しておりません。
- 華山副部会長 そうなのですか。では是非、精査をお願いします。我々も初めて書く文章で、あまりやったことがないので。

- 真木スペシャリスト ありがとうございます。『医薬品開発におけるヒト初回投与試験の安全性を確保するためのガイダンス』の作成に関わっていますので、精査させていただいた上で、修正等対応させていただきます。
- 高倉部会長 お願いします。
- 華山副部会長 そちらからのコメントを是非よろしくお願いいたします。
- 高倉部会長 では、華山先生の初稿を皆さんと共有したということで、後ほど PMDA でも確認していただくということで、次回、議論したいと思います。
- 華山副部会長 お願いします。
- 高倉部会長 どうもありがとうございました。これが最後でしたよね。それでは一通り終わりましたが、ここまでで何か。
- 真木スペシャリスト 高倉先生、臨床の項で質問をよろしいでしょうか。華山先生がEVの免疫原性にも注意が必要でありと書かれているのですが、そうするとこの場合、免疫原性は低いとしつつも注意が必要という方向性で統一するのでしょうか。4.2の「EVとしての特殊性は免疫原性を除いては特になく」と記載されております。EV特有の免疫原性については、どのように考えればよろしいでしょうか。
- 華山副部会長 これは免疫原性が低いという意味ではなくて、やはり反復投与をすると免疫原性が高いという意図で書いているのです。
- 真木スペシャリスト もう1つ4.2にも。ここですね。「EVとしての特殊性は免疫原性を除いては特になく」という。
- 華山副部会長 だから免疫原性が特殊性ということですか。これは再生部から頂いたコメントなのですけれども、免疫原性は注意したほうが良いということだけです。
- 真木スペシャリスト EV製剤については、その特異性により、免疫原性にも留意する必要があるとのご主旨と理解しました。
- 高倉部会長 そうですね。前半ではそもそもMSC由来のものは免疫原性が低いから、基本は非常に低いという立場でいくという話になっていましたよね。それでいくと、このPK/PDをやるところでは、やはり低いと言えども注意をするという立場で書いてある。繰り返し投与で可能性が上がってくるというのは、十分理解できる。ここもやはり特殊性があるということですよ。
- 華山副部会長 ここら辺は細胞治療などではどうですか。細胞治療などの場合はそんなに何度も繰り返し投与するということはないですよ。EVは結構何度も投与するということはあります。
- 高倉部会長 投与する可能性はありますよね。

○華山副部長 それは免疫原性としてはかなりあるのではないかと、個人的には思うのです。確かに前半の MSC の先ほどの武内先生の所では低いということにしましたよね。でもそれは何を根拠に？ということになっているのです。誰もやったことがないので。

○黒田委員 黒田です。前提として使っている細胞の対象が、それぞれ違うことをお話ししているかもしれないので。最後の華山先生から頂いた部分は、何をを使うかということ想定しないで書いていらっしゃるので、このままでもいいような気はしています。

○華山副部長 「注意せよ」ぐらいの程度のことで。

○黒田委員 そういう形で書いてもらえればいいのかと。ないとやはりそこは問題かもしれないから、あってもいいのかなと思いました。

○華山副部長 では、イントロと武内先生の所は取りあえずこのままの形で、特に変える必要はないという解釈でよろしいですか。

○山口委員 山口です。最後に御紹介する予定の当日参考資料で、クリニカルトリアルでどういうことをされているかを紹介させていただきたいと思いません。

○高倉部会長 そうですね。それを聞いてから、今のところを議論しましょうか。

○山口委員 私自身もその辺は、どこまで免疫原性が必要なのか分からなかったものですから調べさせていただきました。

○高倉部会長 それでは、ここで山口先生の御発表をお願いしたいと思います。

○山口委員 御存じのように NIH クリニカルトリアルで、たくさんのデータが載っていますので、そこからエクソソームで抽出しました。

次のスライドをお願いいたします。「エクソソーム」で検索すると 255 件ですけれども、「エクソソーム投与」にすると 120 何件しかありません。ただしこの 120 何件も既に実施されているというところがあるのですが、治療用製剤としてエクソソームを使ったケースは 39 件ありました。

組換え細胞を用いた場合は 5 件です。治療用製剤の中に 5 件あるということは、それなりのインパクトがあるのではないかと思います。この中で赤字で書いておりますように、例えば羊水由来とか、免疫系細胞由来の中でも特に MSC などに関しては免疫抑制能があることから使われているケースもありますので、この辺も少し注意が必要かと思っております。

その下で書いてあるように、CD24 とか、後で出てくるゾフィンという羊水由来のところにあるタンパク質を使ったケースが次のスライドです。まず CD24 を使ったものです。これはほとんどが COVID-19 のときにいわゆるサイトカインストームが起きたり免疫系の過剰反応によるケースが多

いので、それを抑制するために使われているケースです。非常に特殊な例と考えられるかもしれませんが、使っている3つとも HEK293 由来のエクソソームです。その中に免疫抑制分子として、CD24 を発現させています。一方で、CD24 を発現させることによって、過剰な免疫応答を抑制するという目的で使われています。その中で HLA を合わせているという記載はありませんでした。当然 HEK293 なので、HLA は違うと思うのですが、ここから作られたものは HLA に合わせるというところはありませんでした。

次のスライドをお願いします。その他にこれはいわば DDS に近い治療法ですが、MSC の中に siRNA を強制導入してそこから作られた場合でも、例えば HLA-A、B、C は陽性で、HLA-DR が陰性だという記載です。ですから HLA がないという記載ではないので、その辺はひょっとしたら注意が必要かと。要するに、HLA の不一致があるとリスクがあるという話ではなくて、それでも使っておられるというところがここから読み取れるかと思いました。

次のスライドをお願いします。これは今の作り方です。この中で HLA を合わせるというストーリーは読み取れませんでした。

次のスライドをお願いします。もう一方で COVID-19 に関しては、やはりいろいろなことがやられておりました。ゾフィンというのは免疫抑制のところで使われるようで、過剰免疫で。この場合も免疫、HLA 等を合わせるということも行われておりませんでした。もともと遺伝子組換え細胞を用いたケースを調べたいという目的で調査をしたのですが、それ以外の同種、同種製品のようなものも含めて、HLA を合わせてという論文は見つけれませんでした。ただ、そのことが全く問題でないわけではありません。その前の論文で紹介させていただいたように、やはり HLA のことはきちんと気にはしているのですが、臨床試験において HLA を合わさずに幾つかの試験が行われているという点が非常に着目すべき点かと思っております。

次のスライドをお願いします。COVID-19 の治療法として開発が行われており、国内でも AMED の研究で、COVID-19 の治療のためにエクソソームが作られております。この場合、先ほどから議論になっている MSC 由来のエクソソームです。この場合は MSC であるからかもしれませんが、HLA を合わせるということはやっておりません。

次のスライドをお願いします。これは MSC 以外の幹細胞を使った試験で、先ほど少し述べたものです。その場合も幹細胞なので、比較的 HLA の

発現は低いかもしれませんが。普通再生医療で iPS 由来の場合でも免疫抑制剤を使ったりすることがあるのですけれども、エクソソームに関してはその記載はありませんでした。ですから相対的に見て、エクソソームに関して HLA を合わせているところはみつけれませんでした。

次のスライドをお願いします。オートローガスの場合にももちろんあります。オートローガスの場合には当然 HLA を合わせるということは必要ないわけです。

次のスライドをお願いします。その他に培養細胞に scaffolds 遺伝子発現して細胞単離をして、それを大量培養してエクソソーム単離をして、それぞれの標的を載せるという、この中の Stat 6 などでもそうですけれども今までとはちょっと違うこういう実験データがありました。

次のスライドをお願いします。この調査結果からは是非、御議論を頂きたいと思っております。まず製品と品質特性解析の項目への言及というのは、例えば今の組換え細胞を使ったときの対応として幾つか記載していただいておりますけれども、この場合に気になったことがあります。先ほどちょっと紹介した CD24 に関しては、HEK293 という遺伝子改変した細胞をクローン化して使っているようなケースと、一過性に遺伝子改変をするようなケースを分けて書く必要があるかどうかです。一過性の場合にはもう記載が困難になってくるかと思うので、その辺については「また別途考慮すべき」ぐらいにしておくかという点です。

臨床試験についての HLA の対応というのは、必ずしも HLA の一致を求めている記載はないのです。免疫原性について私は不要だとは思わないのですけれども、どの程度記載したらいいかというのを少し議論していただきたいと思っております。その他にトロピズム制御については、DDS の観点のような気もしますけれども、そういう開発をされているケースもあります。この辺については臨床研究をやられておりますので、その点から読み取れるものがあるかどうかを議論していただければ有り難いと思いました。以上です。

○高倉部会長 山口先生、貴重な情報提供をどうもありがとうございました。御質問、御意見がありましたら、どうぞよろしく願いいたします。HLA については今紹介していただいたように、FDA は HEK から取ってきた HLA のことは気にしないでヒトに投与してもいいですよという立場ですか。

○山口委員 そうですね。治験でやっていますので。

○高倉部会長 そうですよ。恐らくそれは治療の対象によるのではないかと考えるのですか。

- 山口委員　　私もそう思います。今回のケースだと、COVID-19 のいわゆるサイトカインストームなどの急性期治療をしているときに、投与するというケースで考えているのかということです。ただ2点ほど御紹介したように、COVID-19 はそうですけれども、それ以外の細胞で同種由来のものを使っているケースもあります。その場合そのところのHLAの一致を求めているような記載はなかったのです。その辺でどこまでHLAにこだわらないといけないのか、少し御議論を頂けると有り難いなと思いました。
- 高倉部会長　　なるほど。サイトカインストームで瀕死の状態を救うためには、HLAなどいちいち言われていられないという感じも、確かに分かりますけどね。皆様どうですか。前半は免疫原性は基本的に低いという立場で書いていて、繰り返し投与とかPK/PDなど、より治療効果を追求して投与する場合にはやはり注意しなくていいということにはならないと思いますので、その辺りの落としどころによってくるような気がします。
- 山口委員　　例えば血液製剤の中で精製されたものではなく、フレッシュフローズンプラズマとか、かなりエクソソームライクのものが含まれているケースも当然あります。その場合もちろんHLAは合わせませんので投与されているわけですが、ただ、もう一方で細胞を除いておいたり、最近洗浄血小板というものが使われていたりしております。洗浄血小板というのは、血小板にはある程度プラズマが入っているわけですが、その場合に少し免疫応答の、そういう毒性が出る方がいらっしゃるため、そういう人用に洗浄した血小板が使われていることがあります。そうすると恐らくプラズマのようなある程度、免疫原性のものがあるというのは、そういう想定からされていると思います。ですから高倉先生がおっしゃったように、免疫原性を考慮しなくてもいいという話ではなくて、その頻度がどの程度かというところが1つのキーになるかと思いました。
- 高倉部会長　　華山先生はその辺り、どういう御意見ですか。
- 華山副部会長　　HLAに関しては、我々改変EVを研究している立場からすると、 $\beta$ 2-マイクログロブリンを潰すだけで全部出なくなるので、すごく簡単に制御することができます。そうすると細胞だったら普通、NK細胞に拒絶されてしまうので困るのですけれども、EVに関してはそういったことも起こらないので、本来は全部 $\beta$ 2-マイクログロブリンを潰すものを使うべきだと、個人的には思っているのです。ただ、それはちょっとToo muchとおっしゃるのも理解できます。山口先生に示していただいたとおり、今のところは大きな事故がないというところであれば、どうでしょう。それに追随するのも一つの手だとは思っています。しかし何か事故があった

場合に、このガイドラインにちゃんと記載されていないじゃないかというリスクはあると思うのです。ですので、そこら辺は曖昧というか、記載の方法にもよると思うのですが、注意が必要であるぐらいは書いておいたほうが後々何かあった場合に対応がしやすいのではないのでしょうか。

もう一方、私が最後に書いたのは、反復投与においては必ずしも HLA に限ったものではありません。いろいろな細胞の中に含まれている特殊なものが、何度も打つことによってアレルギーみたいな形で免疫を変に活性化することがありますので、そういったことに対する注意が必要というのは記載しておいてもいいかとは個人的には思っております。以上です。

- 高倉部会長      ありがとうございます。その他に先生方から御意見を頂けますか。山口先生、どうぞ。
- 山口委員      私も華山先生のおっしゃったとおりだと思っています。例えば組換えの場合、目的の細胞を本来でない所に発現させる場合もありますよね。そうするとより免疫原性ができる可能性もあります。そういう意味では、やはり免疫原性の注意はしておくべきかと思いました。
- 高倉部会長      そうですね。だから注意の程度を、どういう文章の感じにしておくかというところですね。大体皆さん、基本的に MSC を使ったものは低いとして、樹状細胞の場合は MSC の I、II が発現しているとだけそこに書いて、動物に繰り返し投与したりヒトに繰り返し投与したりするシチュエーションだったら免疫原性についても注意は必要であるという立場で、全体のトーンにするというのが恐らく適当ではないかと思うのですが、各パーツでどうのように落とし込むかというのはもう少し時間を掛けて整理していったらどうかと個人的には思っています。
- 高倉部会長      石井先生どうぞ。
- 石井委員      今の議論の報告書への落とし込み方として、どのぐらい注意が必要かというのは難しいと思いますので、免疫原性の程度に影響する要因を、整理して書いていただけないかと思いました。適応疾患やエクソソームの種類、エクソソームの種類だったら改変してある場合や、DC 由来である等の要因により、リスクのレベルが異なってくると思いますので、要因を整理しておく製品ごとにケースバイケースで、この製品の場合にはより注意が必要ということを、開発者が理解しやすいのではないかと思います。以上です。
- 高倉部会長      それを整理して、どこかに免疫原性のことを。むしろ前のほうですか。どういう要因が考えられるか。HLA 分子その他、最終的に製剤中に入って

くるようなものはやはり生体にとっては異物になる可能性があるのですが、それを場合分けするのは難しいですけれども、可能な範囲で整理するというのが、今の御意見だったかと思えます。石井先生、入れるとしたら先ほどの武内先生の所ですか。物としてよりは、後ろのもっと臨床に近い所ですかね。

○石井委員 臨床の所だろうと思えます。

○高倉部会長 やはりいろいろな細胞のソース、改変しているとかしてないとか、DCであるとか MSC であるとか、対象疾患、繰り返し投与とか臨床の所で、これこれの因子があるからケースバイケースで、必要に応じて免疫原性については注意をします。華山先生の現状の文章では、そういう感じになっていますよね。それが一体どういうファクターで重要度が左右されるかということを入れておくと、申請するほうは判断がしやすくなりますよね。

○山口委員 確かにリスク管理ができるが一番いいかとは思いますが。ただ再生医療の場合でも、それぞれケースバイケースで分けて考えております。例えば iPS 由来の細胞を心筋に投与するときも、免疫抑制剤を使います。そうしないとすぐに拒絶されてしまいますから。このように様々なケースがありますから、免疫拒絶という意味では再生医療のケースは非常に参考になるかと思うので、できれば再生医療のケース分けのところを PMDA の意見も聞きながら少しケース分けをして記載していくということではいかがでしょうか。

○高倉部会長 なるほど、iPS の場合はリスク分類がされているのですね。

○山口委員 リスク分類まではされていないのですけれども、どういう考え方でいかかという。

○高倉部会長 そうしたら PMDA のほうで iPS の移植のときにどういうスタンスで考えられるかということ整理いただきそれを参考として、次回までのワーキングに落とし込んだらいいのですか。進め方としてはどのようになりますか。この後、資料を準備していただいたら、このメンバーで共有はできますよね。その上で、今の報告書にどのように組み込んでいけるかということを検討するという方向でよろしいですか。

○山口委員 できればその辺について、華山先生などと相談させていただければということではいかがでしょうか。

○高倉部会長 そうですね。出てきた段階で華山先生や山口先生辺りに原案的なものを考えていただいて、皆さんの御意見を伺ってもらおうという方向でいいですかね。

○華山副部長 承知しました。

○高倉部会長 今日は免疫原性があちらこちらで話題になりましたけれども、それでは、そういう形で今後は少し情報を精査した上で、どのようにこの報告書に反映していくかということを決めていきたいと思います。ありがとうございました。

シナリオとはだいぶ違ってしまったのですけれども、事務局、今日相談すべきことは大体これで終わりましたか。

○事務局（浜岡先端技術評価業務調整役） はい。ありがとうございます。

<その他>

○高倉部会長 大丈夫ですね。では、今日のディスカッションはこの辺りまでということで、今後の方向性についてです。以前、第1回でもお知らせしたように、これからも報告書の素案について専門部会で検討を行うということを予定しております。次回は5月11日の水曜日に第3回目のワーキングが予定されており、そこで執筆担当の先生から御担当項目の概要案を御説明いただく予定です。執筆担当をされていない調査とインプットを御担当する先生方がワーキングに御出席されるかは、可能な範囲で結構ですけれども、事前のメールベースのディスカッションに是非御参加いただくと助かりますのでよろしくお願いいたします。また御担当項目グループ全員でのWeb会議も事務局で設定していただけるということなので、必要に応じて調整をお願いしたいと思います。

今回、執筆をお願いした先生方には、ずっとお時間を取っていただいて恐縮ですけれども、同じ担当項目グループの先生方とまたこれまでどおりメールベースで御相談していただき、素案のアップデートをお願いしたいと思います。4月22日の金曜日を、一応期日とさせていただきたいと思いますので、4月22日(金)までに事務局に御提出いただけますか。もし御執筆の上で不明点がありましたら、私あるいは事務局に御相談いただきたいと思います。適宜ワーキング形式のWeb打合せなどを活用しながら進めさせていただきたいと思います。

私のほうからは以上ですけれども、何か御質問等がありましたらお願いいたします。よろしいですね。報告書もだいぶ形が整ってきましたので、リファレンスも入ってゴールにすごく近づいた感じがします。引き続きよろしくお願いしたいと思います。本日の議事は以上となります。事務局から他に何かありますか。

○事務局（浜岡先端技術評価業務調整役） 本日は御議論いただきましてありがとうございます。

ございます。今回御議論いただいた報告書案で確定したものについては、見え消しやメモを消した上でまた配布させていただければと思いますので、よろしく申し上げます。次回の専門部会は6月20日の月曜日、午後2～4時までの開催を予定しております。詳細等については、追って御連絡させていただきます。以上です。

<閉会>

○高倉部会長　　また次回もよろしく申し上げます。今日はこれにて終わりとさせていただきます。どうもありがとうございました。