

第5回ゲノム編集専門部会

日時 令和元年10月29日(火)
14:00～

場所 PMDA会議室21～24(14階)

<開会>

○山口部会長　それでは定刻になりましたので、第5回ゲノム編集専門部会を開催したいと思います。本日はお忙しい中、ご出席いただきましてありがとうございます。まず、事務局のほうから委員の出席状況と資料の確認をお願いいたします。

<委員の出席状況と資料確認>

○事務局(下川)　委員の出席状況を申し上げます。13名の委員のうち、本日は12名にご出席いただいております。また、親委員会から小澤正吾委員にご出席いただいております。

次に配布資料の確認をさせていただきます。座席表、議事次第、資料取扱区分表のほかに、資料として資料1から6までありますが、資料1から3については枝番がありまして、それぞれ2種類ずつあります。資料に不足等があり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ご覧ください。本日の配布資料は、資料1-2、資料2-2、資料3-2、資料5、資料6は「取扱注意」のため厳重に保管し、コピー等の複製、第三者への開示はご遠慮くださいますようお願いいたします。それ以外は全て「その他」に該当しております。事務局からは以上です。

<第4回WG、第5回WG及び第6回WGについて(報告)～ゲノム編集専門部会報告書(案)について>

○山口部会長　それでは早速、議題のほうに入っていきたいと思います。前回5月27日に第4回専門部会を開催させていただきました。その後、エディティングをするためのWGを3回開催しております。第4回から6回までのWGの概要につきましては、6月17日に第4回WG、7月18日及び9月10日に、それぞれ第5回、第6回WGを開催いたしました。WGでの議論の内容については、資料1から資料3にまとめております。この内容につきましては、本日議論させていただきます資料4、要するに報告書案ですけれども、それに反映されておりますので、この場ではその説明は割愛させていただければと思っております。

まず、お配りしております資料5の「ゲノム編集技術を用いた遺伝子治療用製品等の品質・安全性等の考慮事項」についての報告書(案)は、これまでの6回のWGで議論してきた成果として作成したものであります。報告書(案)の説明の前に、まず資料4ですけれども、報告書(案)をまとめるに当たっての論点について、説明させていただければと思いま

す。

メインの論点ですけれども、ゲノム編集を適用する際の多様なツールが存在するという点で、今までは遺伝子治療ではウイルスベクターか、プラスミド等を用いておりましたけれども、ゲノム編集においては mRNA、あるいはゲノム編集タンパク質と sgRNA のコンプレックスを使うと、様々なツールが存在するという点で、それぞれツールごとに品質特性解析や安全評価の方法のスタンスが少しずつ異なってくるであろうという点で、そのツールごとに分類した評価をさせていただきました。

次が、ゲノム編集による二重鎖切断と非相同組換えの違いです。要するに切断によって遺伝子をロックアウトするようなケースと、さらに相同組換えを用いて新たな遺伝子を導入するケースの 2 つに大きく分けられるだろうと。そのときの解析手法や安全性評価の観点につきましては、次のゲノム編集に伴う安全性評価ということで、目的外の改変(オフターゲット作用)や、オンターゲット部位の大きな欠失や挿入変異が起きる可能性があること。相同組換えを導入した場合の、例えば p53 変異のリスクや染色体異常のリスクについての考え方を整理させていただきました。

さらに今までは *in vitro* が多かったのですけれども、*in vivo* ゲノム編集についても臨床試験が始まろうとしております。*in vivo* ゲノム編集適用に際しての生殖細胞の改変リスク、全身投与を行った場合の生殖細胞の改変リスクについても言及させていただいております。このときの課題となるのは、ゲノム編集は遺伝子に持続的な改変を導入することから生殖細胞の改変リスクというものと同時に、臨床適用に当たっては長期フォローアップ、これは、レトロやレンチと同じような考え方があるだろうと整理させていただきました。

資料 4 についてまとめますと、メインのところはこういうところであったのではないかと考えております。この点について、最初に何かご質問等がありましたら、その後、全体の報告書案についての議論をさせていただければと思います。全体としてはよろしいでしょうか。ありがとうございます。

それでは、個別のところに関して、少し議論をさせていただければと思います。実際には報告書案というのは資料 5 ですけれども、これそのものを議論すると、ものすごくタイトな文章が並んでおりますので、むしろそれを要約した形の資料 6 で議論させていただければと思います。横目で少し資料 5 を見ていただければと思います。

題名としましては、「ゲノム編集技術を用いた遺伝子治療用製品等の品質・安全性等の考慮事項について」の概要ということで、この場合の

「等」というのは、いわゆる遺伝子治療用製品等の「等」ではなくて、先ほど示しましたように、ゲノム編集には様々な技術があって、今までの遺伝子治療に該当しないようなケースもあるということから、この場合はそういう意味での「等」とさせていただきます。

専門部会の目的としては、今後、承認申請や治験相談に活用するために、現状のゲノム編集技術についてオーバービューし、それを応用して製造される遺伝子治療用製品についての全体像を包含するリスクを整理するということが、まずメインです。その上で、品質及び安全性等の評価、さらには臨床における長期のフォローアップに関する考慮事項について科学的な観点から取りまとめるということにしております。

報告書の構成ですけれども、序論、定義、そしてゲノム編集特有の課題として、3番、4番、この辺がゲノム編集技術というものについて、どういう技術解析方法があるかとか、その辺についての考え方です。さらに、それをベースにして安全性評価の考え方を整理しております。さらに治験において留意すべき事項、この辺が長期フォローアップとか、先ほど申しました生殖細胞の改変についての議論となります。大枠の中の1から4までの議論を先に説明させていただきまして、一度そこで切って、ご議論をいただければと思っております。

序論としましては、ここに大きく書いてありますが、メインと考えられるのはゲノム編集技術の4ポツ目にありますけれども、細胞内・体内導入技術で、それぞれの技術がツールによって分けられていて、目的によって分類した上で、それぞれの特性を整理するとともにゲノム編集の特性を踏まえた品質・安全性評価の考え方をまとめるということにしております。

リスクに関する考え方は、対象疾患や種類や重篤度によって異なると考えられて、一概にリスクを全てのケースに当てはめるのは合理的ではないだろうと。臨床試験に関しては、そういうリスク・ベネフィットを考慮した上での個別の評価が必要になるという整理にさせていただきました。

定義です。ゲノム編集技術を大きく分けると、先ほど言いましたように様々な技術があるということで、従来の試料のように使われるウイルスベクターやプラスミドを用いて入れるケース。あるいは新しい導入方法として、ゲノム編集酵素をコードする mRNA を導入するケース。さらにゲノム編集タンパク質そのものを、TALEN とか ZFN だとタンパク質だけでいいわけですが、それを入れるケース。あるいは CRISPR/Cas9 の場合には、ガイド RNA とコンプレックスを作って細胞内あるいは体内に導

入するということになります。

ですから、この辺の①から③の技術を用いて、in vivo でのゲノム編集が行われる可能性がありますし、それぞれのこの技術を用いて、ex vivo の遺伝子治療も行われているということになります。ゲノム編集によってそれぞれの、どの改変技術を用いて細胞を改変したかによって、それぞれ改変技術ごとに少しずつリスクは違ってくるであろうと、その辺の整理をさせていただきました。

ゲノム編集技術特有の課題として、どういうことが挙げられるか、従来の遺伝子治療との差異を含めて整理をさせていただきました。特にゲノム編集技術で最初の頃からよく言われていたのが、target-specific 改変が行われるということが、ゲノム編集技術のメインのポイントですけれども、それは配列依存的であることからオフターゲット作用、要するに配列の類似した部位への切断、あるいは改変というものが起きるであろうということです。そのオフターゲット作用の評価、そのオフターゲット作用によって懸念されるのが、例えば細胞のがん化というようなりスクがあるであろうと。直接、がん遺伝子の活性化や、がん抑制遺伝子の不活化が起こる可能性があるという点に着目した形で整理しております。

特にゲノム編集技術は、従来の遺伝子オンの場合には、例えば AAV ベクターなどですと、遺伝子改変そのものは細胞の、ゲノムそのものは偶発的には改変する可能性があるのですが、メインではないだろうと。そういうものと違って、ゲノム編集技術は遺伝子そのものを改変する永続的な効果をもたらすということで、こういうリスクがあった場合には、その危険性が増大することになるかというような整理をしました。

DSB (二重鎖切断; double strand break) によって、染色体切断に伴うゲノムの不安定化や、従来の評価では検出できない染色体の大規模欠損、切断部位への目的外配列の挿入などという染色体異常を伴うような、がん化のリスクも併せて考える必要があるということになります。

もう1つは、特に in vivo ゲノム編集では、生殖細胞の意図しない遺伝子改変リスクというのがやはり懸念されます。in vivo ゲノム編集では、標的細胞以外のゲノム編集で特に起きる可能性があり、目的遺伝子以外の遺伝子改変が生じて、それらを確認したり排除することは困難であると。逆に言えば、ex vivo の場合には、目的外の改変、あるいはそういうケースがあった場合のセレクションということが一応考えられるのですけれども、in vivo ではなかなかそういうことが難しいということです。特に、ゲノム編集は、先天性遺伝子疾患の適用というようなことも十分に考えられますので、小児などに適用する場合、特に生殖可能年齢の患

者を適用する場合を含めて、in vivo ゲノム編集では生殖細胞への影響は懸念されるということで、その辺のことについてのリスクをどのように考えるかの整理をさせていただきました。

ゲノム編集技術の分類と、その品質特性に関する課題として、まず ZFN と TALEN が一番古くからやられている 2 つです。ZFN と TALEN について、それぞれ技術的には 1 か所の DSB を行うために、相補的な部分に対して、それぞれ一対の切断酵素を設計する必要があります。そうすることによって、逆に言うと認識特異性は高く、オフターゲット作用が起こりにくく、頻度は低いと言われております。

ただし、この ZFN と TALEN のオフターゲット作用についての解析は、CRISPR/Cas9 ほど報告はありません。むしろ、オフターゲット作用については、報告がないために、その辺の評価は慎重にする必要があるのだろうと。理論的にはリスクは低いだろうということは十分考えられるわけでありすけれども、その辺の評価の考え方を整理させていただきました。

CRISPR/Cas は、ガイド RNA そのものの設計によって DSB ができるという非常に簡便な方法ですけれども、オフターゲット作用の頻度とか評価、特に少数の細胞で起こるような低頻度のオフターゲット作用についての評価は、非常に難しいとされております。ですから、オフターゲット作用についての全ての解析が十分にできるわけではないという前提で、その評価をする必要があると。オフターゲット作用の低減化のための技術というのは、今も次々と開発されてきておりますので、その辺のところの知見については十分考慮しながら、どのようなガイド RNA を設計したらオフターゲット作用を低減化できるかということの評価する必要があるだろうというように整理させていただきました。

今、申しましたのは従来のゲノム編集技術でありまして、ゲノム切断を行わないゲノム編集というのも最近非常に活発に開発が進められております。Dead Cas9 とか、あるいはベースエディティングというものがありますけれども、こういう DSB を行わないゲノム編集技術に関しても、少なくともオフターゲット作用が全くないというわけではなくて、配列特異的なオフターゲット作用が起きる可能性はありますので、その辺について、どのようなオフターゲット作用が存在するか、あるいはその評価方法も含めて十分な説明が必要だろうという整理をさせていただきました。

次に、ゲノム編集ツールの遺伝子改変した細胞における留意事項です。ex vivo の遺伝子治療ですけれども、もともと従来の遺伝子治療用の改変

技術でありますツールで、ウイルスベクターやプラスミドを用いた場合、これらは従来の技術です。例えば CRISPR/Cas9 など AAV で導入するというを前提に設計されていたというところがありますし、そういう観点から、こういうベクターを作る場合には、従来の遺伝子治療と同じように、セルバンクシステムの構築とか特性解析、非臨床試験についても、従来の遺伝子治療用製品と同様の評価がおそらく必要なのであらうと考えられるわけです。ウイルスベクターを用いる場合には、感染性や細胞指向性の観点から目的及び目的外細胞での遺伝子改変のリスクなどの評価と安全性の観点からの評価というのは、やはり必要であると考えられております。

mRNA を用いた場合には、一番大きなポイントになるのは、国内外で製造販売された mRNA 製品というのは、まだありません。やはり mRNA 製品は、例えば iPS を作る場合でも mRNA を使われたりしているようなケースもありますけれども、今後は mRNA を用いた製法や品質管理の評価のための明確化が必要であると考えられました。特に、メチル化 Cap とか、天然にないような化学修飾を加える場合の評価のあり方について、場合によっては規制当局との十分な相談が求められるというような整理をさせていただきました。

一番時間を取ったのは、やはりタンパク質とガイド RNA でゲノム編集を行う場合ですけれども、目的外の遺伝子改変の危険性は、こういうタンパク質を導入した場合は、従来の考え方では、ゲノム編集以外のケースですけれども、そのリスクは、もちろんタンパク質性医薬品として考えた場合には、非常に低いはずなのですけれども、こういうゲノム編集においては、ほかの mRNA であろうと、ウイルスベクターであろうと、目的外の遺伝子改変の危険性が同じようにリスクとしては十分あり得るだろうということで、従来の遺伝子治療の視点を踏まえて同様の品質安全性評価を必要と考える必要があるだろうと。

ただもう1つ、やはり TALEN や ZFN もそうですけれども、こういうタンパク質性医薬品として作る場合の考え方としては、やはりバイオ医薬品の細胞バンクや品質管理の考え方を適用していく必要があるだろうと考えられます。それからもう1つは、ガイド RNA についてですけれども、ガイド RNA の品質評価については、「核酸医薬品の品質の担保と評価において考慮すべき事項について」という報告がありますけれども、こういうものが参考になるだろうと考えられるわけです。

ゲノム編集技術を応用して作られた細胞加工製品、要するにどの技術を用いても同じですけれども、ヒト細胞加工製品として考えた場合に、ゲ

ノム編集技術の品質に関しては、従来の遺伝子導入細胞、いわゆる遺伝子細胞加工製品と同様の考え方が適用できる。ただし、それぞれゲノム編集特有のことは、やはりプラスアルファして考えていく必要があるということになります。また、ゲノム編集加工製品の投与に際しても従来型の遺伝子導入細胞からなるヒト細胞加工製品と同様の非臨床安全性評価が必要なのではないかと整理させていただきました。

ゲノム編集の目的による分類としては、先ほど言いましたように、遺伝子破壊と相同組換え、要するにターゲットとして目的遺伝子を破壊したケースと、相同組換えを利用することによって用いるケースの2つに分かれるわけですが、相同組換えの場合にも、用いる細胞によって効率が極めて低い場合があることに十分留意する必要があるだろうと。組換えの頻度や、どの程度の組換えが起きたかということの評価は必要であるし、場合によっては遺伝子改変された細胞のみを選別・純化して行う場合がありますので、そういう場合の評価というのは重要になってくるということになります。DSBを2か所以上入れた場合には、もう1つは染色体の転座や欠失が起きて、場合によっては、がんキメラタンパク質の発生が起きるといえることが言われております。

ゲノム編集切断を伴わない遺伝子改変の場合には、起こさない技術についても、その持続性やオフターゲット作用についての評価を踏まえて、遺伝子治療用製品としての品質や安全性評価が必要であると考えられるわけです。

DSBを起こすゲノム編集の場合と同様に、細胞ごとにゲノムの改変の効率や特異性が変わり得ることを、どの程度に改変された、特に改変された細胞のみを純化する場合には、そういう純化に関する品質評価というものを行う必要があるだろうと考えられるわけです。

ここまでが品質評価で、安全性にも少し踏み込んでおりますけれども、この品質評価の考え方について、皆様のご意見をいただければと思っております。

○真下委員

今更ながらですけれども、とてもきれいにまとめられていて網羅的で、かつ最近のアメリカのゲノム編集の学会とかに行っていると、最近やはり見られるのが、まず1つは、目的による分類という中で、よく内因性と外因性の遺伝子をターゲットに、いわゆるゲノムの内因性のターゲットというのと、あとはウイルスとかを対象として、ウイルスのDNAをやっつけるとか、ああいった場合に、入れるものというのはCRISPR/Cas9とかと同じだとは思いますが、ただし、それはゲノムをやるのか、ウイルスのほうをやっつけるのかという考え方になったときに、これは遺

伝子治療ではないと言えばそうかもしれないですけども、その考え方をどう解釈していいのかなというところが疑問に感じました。

- 山口部会長 ありがとうございます。これは議論をしたときに、例えばワクチン製造などで組換えワクチンのことを考えたときには、逆に製造の場でゲノム編集を我々は扱うことはほとんどないだろうと理解していたのですが、先生の話は、むしろそういうときにも使うということでしょうか。それとも、例えば細胞そのものの中に内在性のウイルスがいて、それをノックアウトしたいようなケースというのがありますが、そういうケースとして使われるケースなのでしょうか。
- 真下委員 細胞のところもあると思うのですけれども、やはり体内に入れるほうも、今後、検討課題に上がってくるのかなというふうには思います。
- 山口部会長 というのは、入れる細胞そのものの中のウイルスをターゲットに。
- 真下委員 ウイルスをなくす、除去する。
- 山口部会長 除去するということですね、やはり。ウイルスの生産に用いるという話ではないと。
- 真下委員 そうではないです。
- 山口部会長 分かりました。
- 久米委員 そこのところをもう少し詳しくお聞きしたいのですが、感染症が対象ということでしょうか。
- 真下委員 そうですね。
- 久米委員 分かりました。
- 山口部会長 一応、遺伝子治療として考えたときの話で、今の話は例えば、再生医療の中で、どうしてもこの細胞を使いたいときに、この細胞に内在性のウイルスがいてしまって、それをノックアウトするようなケース。例えば考えられるのは、レトロウイルスが動物の所に作っただけですね。それをもうノックアウトして使いたいというようなケースになるでしょうか。
- 真下委員 ゲノムの中に入り込んでいるようなレトロウイルスなどは、この考えでおそらく一番いいと思うのですけれども、ゲノムの外にあるもの、もう1つ、先ほどの感染症の話もそうですけれども、プラスで考えるとRNA編集になってくると思うのです。ゲノムのDNAを対象としているのと、ウイルスのDNAを対象にしているのと、RNAを対象にした広義でのゲノム編集と言っているのでしょうか、そういった場合にゲノムは攻撃しない、切らないゲノム編集の1つの話かもしれないのですけれども、RNAだけを分解するとか、RNAを変えるといるところが最近出てきていると思います。その場合は、どこの区分に入るのかなというところを少し疑問に思った

ので、今更ですみませんが、申し上げました。

- 小野寺委員 B型肝炎やC型肝炎に対するゲノム編集の応用ということですね。
- 真下委員 はい。
- 小野寺委員 おそらく、この前、議論になったRNA編集をどこまで考えるかという話かと思えます。これは私の理解ですが、今回のゲノム編集の対象はあくまでもDNAレベルでの変換で、RNAレベルやヒストン等の変換は今回の定義に入らないと思えます。ですから、将来的に定義の変更は必要かもしれませんが、今回はそこまで想定しないと思えます。いかがでしょうか。
- 山口部会長 小野寺先生と私も同じで、最初はそういう議論で進んだかと思うのです。mRNA そのもののゲノム編集も既にやり始めておりますよね。ただ、その場合に、遺伝子治療的な評価でいいのか、ただ、再生医療等製品にはmRNAはもちろん入っているのですけれども、おそらく、遺伝子治療と少し違うスタンスで入っているのかなと。そういう意味では、ゲノム編集におけるmRNAの位置付けと、再生医療等製品でのmRNAの位置付けは少し違っているかなと私は思っておりました。もう一つは、ウイルスそのものをターゲットにして、それをクリアランスしてしまうというのは、将来の課題にはもちろんなると思うのですけれども、今の時点でそこを整理しきれないかなというのは、少しそういう意味で思っておりました。
- 久米委員 今のお話を伺っていますと、WGの議論の中では、いわゆる確かにゲノムですからDNAの編集というのを主に考えていたのですが、それに使うツールなど、あるいはそれが及ぼすリスクというものの考え方は基本的には適用できるのではないかと思うので、これからそういったものの用途、あるいは使いみちがいろいろ出てきたときには、いろいろ考えなければいけないことはあるのですが、基本的にはこのリフレクションペーパーの考え方、ツールの安全性やオフターゲットの考え方などは適用できるのではないかと思うのです。
- 佐藤審議役 mRNAの取扱いは、この専門部会の第2回の際に、議論をさせていただいていると思えます。いわゆる広義の遺伝子治療という中には、mRNAが入るという整理に、これまでなってきたはいるのですけれども、一応、この専門部会での議論は、DNAがターゲットということで議論をスタートしています。
- 久米先生がおっしゃるように、ここでの考え方はやはりmRNAのターゲットにしたものであったとしても、それはやはり適用可能な部分は相当あるのだらうと思うのですが、具体的なところで、まだ出てきていない状況もありまして、一応この専門部会のタイムリミットというところから考えると、現時点での技術のスナップショットという形でレポートを

書かざるを得ないところもあります。

一応、問題提起として、RNA に関するものが出てきたとしても、例えば感染症も含めて、それをターゲットにしたものも、この専門部会でのレポートの考え方は応用可能ではあるが、具体的な検討は、そういった技術の進展を見ながら、また検討するというようなことを一文として付け加えさせていただくとか、そういうことで対応いただけるのかなと思っています。

○山口部会長

ありがとうございました。非常に興味深い提言をいただき、ちょっとディスカッションを進めたことが喜ばしいかなと思います。ほかにございませんでしょうか。よろしければ、次の安全性の所を説明させていただければと思います。

先ほどの品質のところの説明にあった、メインに議論していたのはオフターゲットの作用について、あるいは先ほどの p53 や染色体異常等についての議論をさせていただきました。特にオフターゲット作用については、現時点でやられているオフターゲットをどう評価していくかというストーリーと考えると、少なくとも最初に *in silico* 解析をするだろうと。*in silico* 解析でどういうところに類似性があるか、どういうところがオフターゲットを受けやすいかということ、まず明らかにした上で、実際にそういうところが起きているか、起きやすいか、起きるかどうか。それを実験的手法を用いて確認する必要があるとしました。すなわち GUIDE-seq や DIGENOME-seq、そういう様々な技術を用いて、実際にそれが起きているかどうか。しかも、そのときの解析手法としては、細胞を使うのではなくて、例えばその細胞から extraction した染色体 DNA に apply したり、あるいはその細胞そのものに apply した解析というのが行われているということになっています。

そういう評価は、*in silico* だけではなくて、実験的手法による評価というのは必須であろうとなるわけですが、対象としている細胞に関して特に分裂の少ない細胞というのはなかなか解析が難しいという面もございます。もう 1 つは、そこに書いたような次世代シーケンサーを用いたような場合でも低頻度のオフターゲットの作用、例えば 0.1% 以下におけるオフターゲットというのは、まず検出が非常に難しいだろうと。ただ、オフターゲットの低減化には *in silico* 解析のほかに、よりガイド RNA の設計とか、*in vitro* 解析を組み合わせたオフターゲット部位の検索とか、そういうものを評価することが非常に重要であるということを報告書の中でまとめさせていただきました。

さらに、オフターゲット作用について、普通、遺伝子治療では動物での

試験というのは *in vivo* 遺伝子治療では重要になって、例えば *biodistribution* とか、そういう評価からやっていくわけですが、ゲノム編集というのは、ゲノム配列特異性があるために、実際には種差のある動物での評価というのはほとんど困難ではないかという整理をさせていただきました。

ただ、ゲノム編集で、そのようなオフターゲット作用とか、がん化のリスクという評価をする場合には、遺伝子の場合には、場合によってはクローナリティの解析で、どこかで外遺伝子が活性化されたためによる異常増殖などはないか。*in vivo* ゲノム編集の場合は、場合によってはターゲットとしている細胞、あるいはターゲットとしていないけれども、ゲノム編集が起きてしまう可能性のある細胞も含めて、*in vitro* での解析を参考にすることが有用ではないかという提言をさせていただいております。

もう1つは、ゲノム編集の目的外の挿入ということで、ここ数年の間にゲノム編集についてのリスクということでいくつかの違う観点からの論文がございましたが、その1つとして、DSBの修復の過程で、大きな遺伝子断片の挿入や逆位の発生、あるいはウイルスベクターそのもののゲノムの挿入ということも起き得るとということが報告されております。ですから、ターゲットサイトの評価が必要ですし、このDSBに伴う染色体異常については、Gバンド解析、Qバンド解析やマルチFISHとか、あるいはCGHなどの評価というのが有用ではないか。こういうことを評価の中のポイントとして入れるべきではないかという提案をさせていただいております。

p53についても、homologous recombinationを起こしたときにp53がノックアウトされている細胞ほどゲノム編集が起きやすい。これは普通はブレイクして、そういう異常が起きたときには、p53によってapoptosisを起こさないようにしているために、逆にp53がノックアウトされて起きている細胞ほど、homologous recombinationが多いと。さらにその論文では、そのp53をノックアウトした場合には、このhomologous recombinationが多かったという報告もありまして、こういうところは評価しておく必要があるだろうということで提案させていただいております。

標的細胞によるがん化のリスクの違いです。これは従来の遺伝子治療でも、がん化を起こしたのは、いわゆる造血幹細胞の遺伝子治療、特にレトロで改変したときにがん化が起きていますので、がん化のリスクというのは、細胞ごとによって変わるだろうということが想定されるわけで

す。

ただ、先ほど述べましたように、ゲノム編集の場合には、DSBを2つ以上起こしてしまうと、転座という、また別の要素もありますので、そういうことの評価を踏まえた上で、一般的には体細胞ではリスクが非常に低くて、逆に iPS/ES 細胞あるいは造血幹細胞でのゲノム編集は、造血幹細胞以外の体細胞に比べてリスクは高いと一応、この時点では考えさせていただきました。

もう1つは、ゲノム編集酵素の安全性で考えなければいけないのは、免疫原性の問題です。これは酵素そのものが細菌由来ですので、ゲノム編集酵素に対する抗体が、例えば *ex vivo* 遺伝子治療で投与した場合でも、免疫原性が現れたという報告もありますので、そういう意味での免疫原性の評価、そういうことが評価の1つとして重要なポイントになるだろうというように考えられるのです。

それから、*in vivo* ゲノム編集は先ほど申しましたように、動物を用いた場合には、なかなか配列特異性がないものですから、十分な評価手法とはならないわけですが、改変された遺伝子について何らかの安全性の懸念のある場合には、いわゆる POC 試験で、動物の相同遺伝子を改変するというようなケースを想定して書いておりますが、そういう場合に効力を裏付ける成績等とともに標的遺伝子の改変に関連した体内動態や安全性の評価というものが有用であろうという整理をさせていただきました。

最初のほうにも少し述べましたが、ゲノム編集酵素のターゲティングと改変効率です。*in vivo* ゲノム編集では、どこの生体内に分布したかということの評価する。特に、これは *in vivo* でウイルスベクター等を用いた場合に、ウイルスの生体内分布ということから、どういう所に分布するか。場合によって、そういうゲノム編集酵素をコードするウイルスベクター等が生殖細胞に分布が認められた場合には、生殖細胞の遺伝子治療用ベクターの意図しない組み込みリスクに関する ICH consideration を参考にして評価をする必要があるだろうと整理をさせていただきました。

それ以外としては、先ほど言いましたように、動物を用いた試験を実施してもゲノム編集についてはなかなか有用な情報が得られる可能性は少ないのですが、ただ、その一方で *in silico* 解析やヒト細胞を用いた *in vitro* 解析での検討というものは非常に有用な情報をもたらしてくれるのではないかという提言をさせていただいております。こういうような解析によって、*in vitro* ゲノム編集の開発では、こういう方法で潜在

的なリスクを評価した上で、適用疾患を考えた上で慎重に臨床開発を進めていけばいいのではないかという考え方にまとめさせていただきました。

最後に、治験における留意事項です。ゲノム編集に関しては、先ほどのリスクに書いたように、遺伝子治療用製品と同様のリスク、あるいは p53 や染色体の転座等のリスク、こういうことがあるために長期フォローアップが欠かせないであろうと。ただし、この長期フォローアップについては全て一律ではなく、細胞種ごとのリスクを分けてもいいのではないかという考え方をしております。これが 2 番目で、長期フォローアップの期間というのは、それぞれどういう遺伝子をターゲットにするか等を含めて、長期フォローアップ計画の期間設定が望ましいと考えられるわけです。

in vivo ゲノム編集では、目的外の細胞・組織への導入リスクも含めて、さらに生殖細胞において遺伝子の改変リスクを含めた評価が必要になるだろうと。ただし、先ほど申しましたように、乳児、小児とか、そういう改変をした場合に、将来、生殖細胞が改変されてしまうようなリスクに関しては、抗悪性腫瘍薬というのはゲノムを改変してしまうというリスクがあるときに使われているガイドンスで、つい最近に出されたものなのですが、おそらくこの考え方は参考にできるのではないかというまとめ方をさせていただいております。

最後のまとめです。ここで一番重要なポイントは、この報告書というのは開発している企業だけではなくて、審査を行うレビュアーにも参考にさせていただくことを期待して書いております。したがって、実際にこの評価に当たっては、PMDA 再生医療製品等審査部の意見を十分に聴かせていただいて、かなり修正などを取り込ませていただいております。ただし、ここにも書かせていただきましたけれども、先ほどの議論もありましたように、ゲノム技術は非常に急速に進歩しているので、しかも適用範囲も拡大していることから、適宜見直していくことが必要ではないかというまとめをさせていただいております。以上です。

○岡田委員 細かいことなのですが、in silico でオフターゲットを使うと予測すること自体が難しいと言いますか、それだけではつかみにくいということがあったと思うのですが、それだけではなくて、予測ツールが違えば、なかなか同じような結果が出てこないということもあったと思うのですが、そういうことも注意喚起しておく必要があるのかなと思いました。

○山口部会長 先生がおっしゃるのは、in silico だけでは駄目だということプラス、しかも、それと実際に解析した結果のずれとか、そういうことですか。

- 岡田委員 そうですね。in silico で不十分だから、実験的な予測が必要だということだけではなくて、in silico の予測ツールによって、その度に結果が同じように出てこないということに注意しないといけないということも1つポイントかなと思っていました。
- 山口部会長 in vitro の評価について、何かありますか。
- 内田委員 真下先生がお話されていたかもしれません。
- 真下委員 in silico も本当にいろいろなツールが出ていますし、大きく2種類と言いますか、本当にゲノムの情報だけで似たような配列をピックアップするような、それでリピートをなくしたりとか、そういう形で作るものと、最近はいろいろなデータを取り込んでいって、効率も含めて、将来的には安全性も含めてというようになっていくとは思いますが、要するに、もっとAIに近付いていくような形で、大規模予測というようなものも今後は出てくると思うのですが、そういった意味では、そのような、より進んだものを使うと、より安全にはなっていくのだろうとは思いますが、おっしゃるように、in silico の解析予測はプログラムによって全然レベルが違うというようなことはあるとは思いますが。
- 山口部会長 染色体の構造によっても、細胞のステージなども含めてですが、おそらく違うだろうという議論はしたのですが、どこまで違うのだということまでは書き切れなかったところはあるかと思えます。
- 島田委員 in silico のものは、現時点では極めて不完全であると言いますか、そういう情報しか得られないということを書いておけば、プログラムごとの違いとか、そういうことも含めて注意喚起をしておけばいいのではないのでしょうか。
- 山口部会長 島田先生の言われるとおりかと思えます。もう1つは、最後に少し述べさせていただきまされたように、どんどんバージョンアップしていくので、つい最近では2019年に出されたものでは、造血幹細胞のオフターゲット作用まで測定できるという提案はあるのですが、ただ、その評価はまだ定まっていないような気がしているのですが、その辺はどうでしょうか。
- 島田委員 そうですね。そのように思います。
- 山口部会長 まだゴールドンスタンダードはないということかなと思えます。
- 谷委員 それは前向きにグループスタディのような形で大規模に行われていっているのでしょうか。
- 真下委員 そうですね。それはいろいろなプロジェクトが動いておりまして、細胞の中でいろいろな評価しながら、そのデータをどんどん出していくということ動いています。

- 谷委員 そのうち、それがバンキングされて1つのものとなって、使えるようなことを目的に動いているという理解でよろしいですか。
- 真下委員 そうです。
- 谷委員 in vivo のゲノム編集の件ですが、FDA の Guidance for Industry について先ほどお話いただいたのですが、ここでは遺伝毒性を持つ抗悪性腫瘍薬のリスク管理の手法に関しては、どの程度のものが出来上がっているのでしょうか。つまり、造血幹細胞移植を受けられた方は、まさに、これに該当するように思います。
- 山口部会長 再生医療製品等審査部の毒性担当の方のご意見で、おそらくこれが一番参考になります。要するに、遺伝毒性のあるものを用いてやったときの、特に生殖細胞への影響ということで、これが一番、現時点でよく考えられている報告書ではないかということです。資料5の最後の所をご覧いただきたいのですが、ドラフトではなくてファイナルの遺伝毒性を持つ抗悪性腫瘍薬のガイダンスとして出ております。その中に、生殖細胞への改変のリスクなどについても、リスクがあるからどうしたらいいという話ではなくて、どういうリスクがあり得るかということを書いていると。
- 谷委員 リスクだけが示されており、それに対してそれを予防する手段などについても患者に情報提供ができれば良いと思います。
- 山口部会長 インフォームするということです。回避する方法があるわけではないということではあります。
- 谷委員 実際には、強力な前処置を受けられた後に骨髄移植を受けられた方でも、体外受精ではなく自然受精で子供さんができている方が、稀に男性にはいらっしゃるのです。どの程度の根拠を持って言えるのか疑問に思い、お聞きしました。
- 島田委員 私はそのファイナルのガイダンスは見たことがないのかもしれないのですけれども、主に妊孕性の問題で、妊娠できなくなってしまうかもしれないということを、前もってインフォームド・コンセントをきちんとするというのが1つの大きな柱なのだと思います。生まれてくる子供の危険性についても書いてあったかもしれないのですけれども。今、ゲノム編集で我々が心配しているようなこととは、少し違う印象があります。
- 山口部会長 そうですね。
- 島田委員 今は日本でも子供たちの白血病の治療などをやっていて、妊娠率が下がってしまうというのは問題になっています。
- そういうことに対するインフォームド・コンセントをきちんと取るというのは、日本でも重視されていて、それが1つの柱ですね。

- 山口部会長 造血幹細胞などでも、精子バンクと卵子バンクをやっていますので。
- 島田委員 だから、精子バンクとか、場合によっては卵子バンクということまで。そういうことも、選択肢としてインフォームしています。
- 谷委員 踏み込んでいくと、今、体外受精はかなり頻繁に行われ始めているので、このような方向での盛り込み方も今後は可能かなと思います。
- 島田委員 今や、精子バンクのできるような年齢ではなくて、新生児からやってしまおうと言っているぐらいですから。
- 谷委員 理論的には可能です。
- 山口部会長 特に議論しているときに気にしたのは、先天性疾患の患者であるとする、今のよう、そういうことは無理なので、ただリスクを伝えるしかないのだろうな、命を救うためのことが優先するということに理解しているだろうと。
- 島田委員 それで、インフォームド・コンセントだけはきちんと取らなくてはいけないというのが、今の考えなのですよ。
- 谷委員 今後はインフォームド・コンセントと、それプラス次のことも患者に伝えてあげることができれば、さらに良いかと思います。単にインフォームドするだけで済ませるべきではなく、後のフォローアップが必要だと理解しますので、とりうる手段があれば、その情報も説明文中に将来的には盛り込んでいただきたいと思います。
- 山口部会長 ありがとうございます。ほかよろしいですか。
- 佐藤審議役 いろいろありがとうございます。確認と言いますか、オフターゲットの所なのですが、共通事項のところ一言触れてある部分ですが、細胞の全ゲノムシーケンスの確認で、オフターゲットが起こっているかどうかを確認する手段の、「例示的に想定される」という言い方をしているのですが、このレポートが世の中に出たときに、つまみ食いをされる可能性があります。この辺りのスタンスとして、「手段としては想定されるけれども、0.1%以下の頻度で起こるものの検出は極めて困難」ということが書いているのですが、やったほうが良いというスタンスなのか、どういう読み方をすればいいのかは、これが出た後に我々はすごく悩まされるかなと思って読んでいたのですが、そこはいかがでしょうか。
- 島田委員 初期には全ゲノムというのは選択肢はあったほうが良いのではないですか。まだ何が起こるか全然分からないという段階でやっているのですね。
- 山口部会長 個別ロットでやる話と、開発をしていく途中での解析と、2通りあると思うのです。

- 佐藤審議役 そうですね。
- 山口部会長 実際には、開発の途中では、場合によってはそういうこともやるかもしれない。だけれども、ただ、それを個別でやることはまずないと思うのです。個別で、そのようなことを求めることはないと思うのです。ただ、もう1つは個人ごとに違いもあるわけで、結局、シーケンスをしても、もともと細胞そのものがばらばらというか、正直に言って、ヌクレアーゼはもともとのベースの違いの上に差があるために、そういう評価をしないといけないので、ただ私は、One of Them でしかないとは思っております。
- 佐藤審議役 これまでの様々な事例の積み重ねと言いますか、他の事例から見ていったときに、自家で、かつ ex vivo というのは、個々でやるべきかどうかという議論になりかねないところがありまして、それを少し心配をして申し上げた部分ではあります。
- 山口部会長 ありがとうございます。
- 久米委員 個人的には、いわゆる FDA のガイダンスでも、recommend というのは should ではないという言い方をしています。私は個人的には should でも recommend でもなく、よくて encouraged かなと思っているのですが。
- 佐藤審議役 英語だったら should でも大丈夫だと思います。
- 内田委員 我々の所でも iPS 細胞をゲノム編集をした後、クローニングした細胞についての全ゲノム解析データをゲノム編集前後で比較したことがあるのですが、1万箇所以上違っていて、おそらく培養工程で変異が入るといものと、ゲノム編集で変異が入っていることの区別ができないというデータが出ています。
- 全ゲノム解析と in silico 解析を組み合わせ、in silico で検出されたところに、全ゲノムで変異があるかどうかを見るという形の使い方はできると思うのですが、全ゲノムを見るだけでオフターゲット変異が分かるということはないと考えています。ただ、iPS 細胞で、最終的にはクローニングして用いるものだと、全ゲノム解析をやらなければいけないかなというところはあると思っています。一応、我々のデータとしてそういうデータがあるということをお伝えしておきます。
- 山口部会長 ありがとうございます。
- 谷委員 価格が安くなれば、理想的には前後を比べることができれば良いのですが、現実的にはいろいろな面で大変でしょうね。
- 内田委員 価格はかなり安くなってきているようなのですが、ただ、全ゲノム解析をして、その後で、どこが変化しているかを探す情報解析のほうが大変だということはありません。

○山口部会長 [redacted] それを requirement にするのは私は難しいような気がしています。その辺も、ものすごくコンピュータが進めばいくのかもしれないのですが。ありがとうございました。ほかにいかがでしょうか。

○岡田委員 報告書の所で、AAV の応用について記載が少しあると思うのですが、今年に入ってから AAV を使って工程で integration をやると、AAV ベクターは integration しやすいという論文が、例えば『Nature Communications』などにも出ていますが、2019 年の論文にあまり利用されていないので、ネガティブな方向に引っ張るわけではないのですが、注意喚起として入れておいたほうが最近の話題としてはいいのかなと思います。

○山口部会長 ありがとうございます。入れられるかどうかは少し考えさせていただければと思います。ほかにいかがでしょうか。よろしいでしょうか。
いろいろな意見をいただきまして、先ほど少し、こういう一文を入れておいたほうがいいのではないかとということも伺いました。大きな修正ではないと思いますが、間違った解釈をされないとか、そういうためにはこのような修正はあったほうがいいのではないかとということもいただきました。それに関しては、もし必要であれば修正させていただいて、今、全文を見ながら言っているわけではありませんで、もう一度全文を眺めながら、採否について、可能でしたら部会長に一任していただくとありがたいと思うのですが、いかがでしょうか。

(異議なし)

○山口部会長 ありがとうございます。では、そのようにさせていただければと思います。

本日は最後の専門部会なので、今申しましたように、この後、ご意見をいただいた部分について、必要であれば修正した上で、できれば 12 月 10 日の科学委員会で、このようなまとめを行ったという報告をさせていただければと思っています。今申しましたように、提出までについて部会長に一任していただければと思います。よろしいでしょうか。

(異議なし)

○山口部会長 それでは、そのようにさせていただきます。事務局から何かございますでしょうか。

<PMDA からの挨拶>

○事務局(下川) 本日は最後のゲノム編集専門部会ですので、審議役の佐藤より、ご挨拶させていただきます。

○佐藤審議役 最後にご挨拶ということで、事務局からご紹介がございました。今年の11月から約1年にわたりまして、ゲノム編集専門部会でご議論いただきまして、本日報告書がおおよそ取りまとめということになりました。山口部会長をはじめといたしまして、WG、そして専門部会の先生方のご尽力の賜物と、心より御礼を申し上げたいと思います。

科学委員会においては、PMDAが科学技術、医薬品・医療機器・再生医療等製品に今後応用されてくる技術、革新的な技術にキャッチアップしていく、そして、それに対して様々な科学的な観点からアドバイスをいただきながら、こういった技術分野の審査等をこれから進めていくという意味で、非常に大きな意味を持つ委員会です。このレポートも国内だけでなく、国際的な部分に対しても非常に大きなインパクトを持つものになるのではないかと考えております。

欧米でも、様々なゲノム編集に関する考え方、ガイダンス等は、案の形のものが出始めているわけですが、今回、ここで *ex vivo*、*in vivo*、全てを含めた体系を留意事項としてまとめていただいたというのは、おそらく世界でもこれが初めてではないかと思っています。

今、世界の規制当局のトップ会合という形で、ICMRA というのがあります。その中で *horizon scanning* の活動というもので、国際間で様々な協力をしていこうというプロジェクトがございまして、*horizon scanning* というのは、今後、医薬品・医療機器・再生医療等製品に応用されるような先進技術について、あらかじめその技術評価を行って、将来実用化される際の参考にしていく、それが規制に対してどういうインパクトがあるかということをおあらかじめ見ていくというものです。ゲノム編集というものの自体が、ICMRA という規制当局のトップ会合の中でも *horizon scanning* の一環として非常に注目を集めています。今回、こういう形で科学委員会で取りまとめいただいたものが、即、世界の国際協力的な部分での *horizon scanning* というものに日本が大きく貢献するインプットができるものになるような状況になっております。本当に、こういうアップデートなご議論を、非常にフットワーク軽く先生方にお願ひできたのは大変よかったですのではないかと、日本の今後の国際貢献という観点でも、私は非常に価値があるのかなというように思っております。

本当に、本専門部会の先生方のご協力に改めて御礼を申し上げまして、最後のご挨拶とさせていただきます。どうもありがとうございました。

<閉会>

○山口部会長 佐藤審議役、ありがとうございました。私からも、これまでの報告を取

りまとめてご尽力をいただきました WG、そして本専門部会の先生方に感謝するとともに、エディティングのところでご協力いただいた再生医療製品等審査部の方々にも感謝を申し上げたいと思います。

佐藤審議役が少しコメントされましたが、ICMRA で少し取り上げられるということで、できるだけ、これも前から宿題として伺っているのですが、論文化してほしいということもありますので、それについても科学委員会での最終的な承認が得られましたら、できるだけ速やかに論文化させていただければと思います。皆さんの名前を入れて発表させていただければと思っています。本日はどうもありがとうございました。