

2024年12月6日

第20回核酸・遺伝子医薬レギュラトリーサイエンスシンポジウム

AAVベクター製品の 非臨床安全性評価に関するPMDAの考え

独立行政法人 医薬品医療機器総合機構
毒性領域
直田 みさき

発表演者は、独立行政法人医薬品医療機器総合機構（PMDA）の職員です。

本発表及びパネルディスカッションでの発言は個人的見解に基づくものでありPMDAの公式見解を示すものではありません。

第20回 核酸・遺伝子医薬レギュラトリーサイエンス シンポジウム

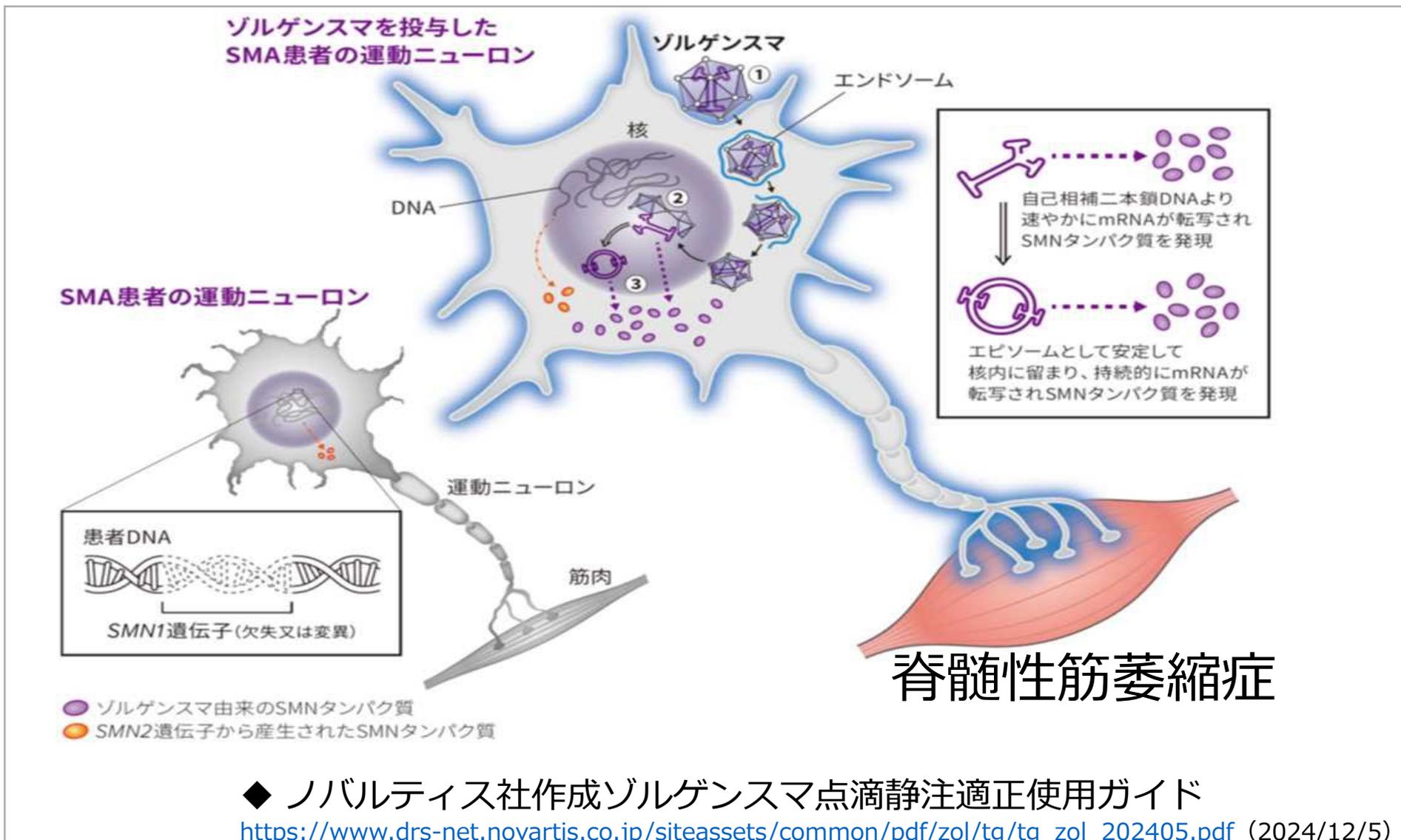
発表者 : 直田 みさき

所属機関 : 独立行政法人医薬品医療機器総合機構

開示すべき利益相反:

演題発表に関連し、開示すべきCOI 関係にある企業等
はありません。

本邦における初めてのAAVベクター製品 ゾルゲンスマ点滴静注



Pathology

遺伝子・タンパク質
の機能の消失

遺伝子の機能の異常
タンパク質の蓄積

Concept

遺伝子の**補充・追加**

遺伝子の**修復**

遺伝子発現**調節**

Tool

ウイルスベクター

- AAV
- アデノ
- レトロ
- レンチ
- ヘルペス
- センダイ

非ウイルス
ベクター

- プラスミド
- mRNA

ゲノム編集

- Nucleases
- ZNF
 - TALEN
 - CRISPR/Cas

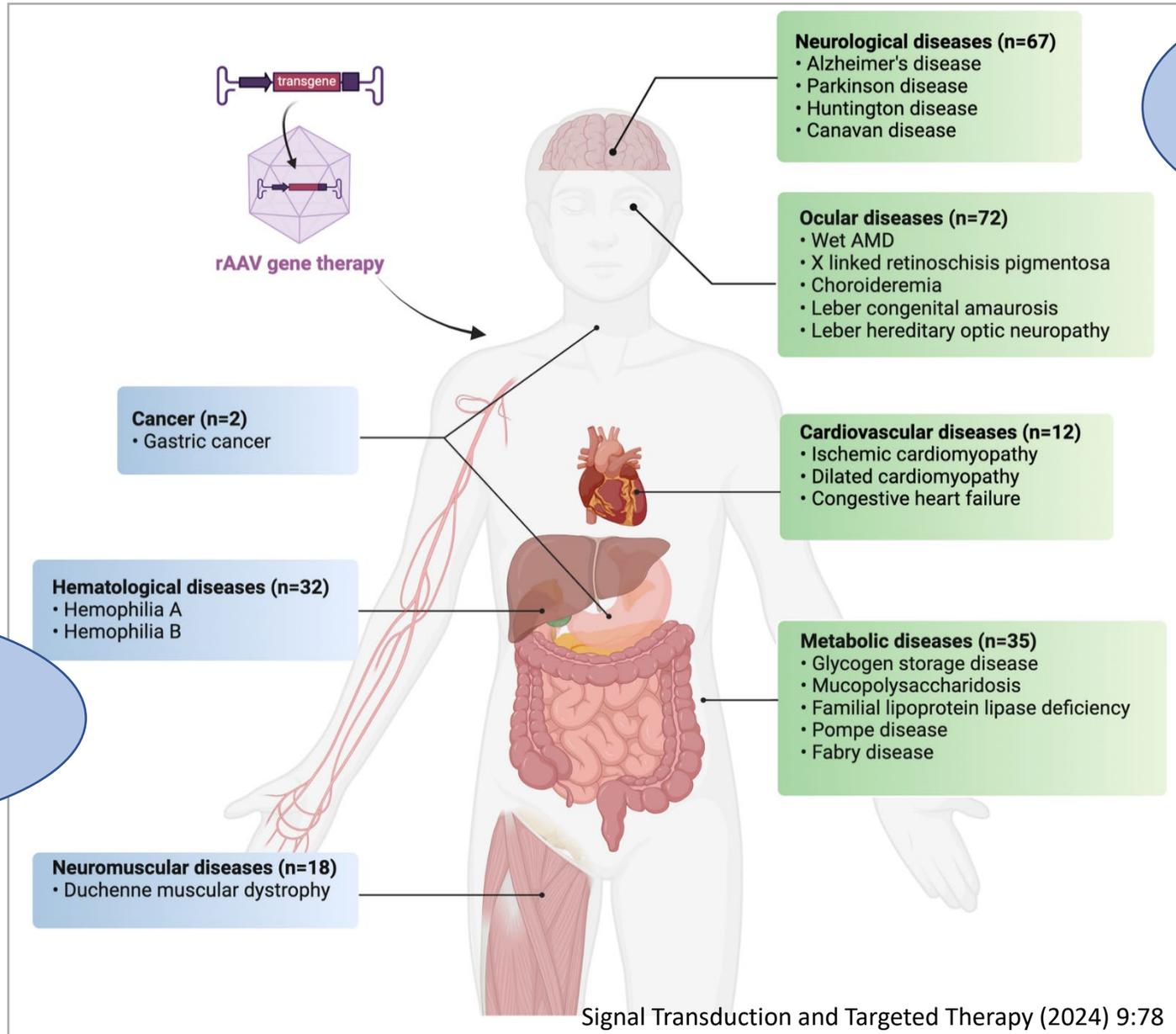
核酸

- ASO : RNA分解、
スプライシング調節
- siRNA : RNA分解
- miRNA : 翻訳阻害

遺伝子治療用製品（予防を除く）

医薬品

AAVベクターの開発対象疾患



蓄積する異常タンパクを分解する酵素の遺伝子を導入

血液凝固因子の遺伝子を導入

不足する代謝酵素の遺伝子を導入

遺伝子治療用製品等の 非臨床安全性評価に関する指針

薬生機審発0709第2号
令和元年7月9日

各都道府県衛生主管部（局）長 殿

厚生労働省医薬・生活衛生局医療機器審査管理課長
（ 公 印 省 略 ）

遺伝子治療用製品等の品質及び安全性の確保について

遺伝子治療の目的に使用される医薬品（治験薬を含む。以下「遺伝子治療用医薬品」という。）については、「遺伝子治療用医薬品の品質及び安全性の確保について」（平成25年7月1日付け薬食審査発0701第4号厚生労働省医薬食品局審査管理課長通知。以下「旧課長通知」という。）において、品質及び安全性確保のために必要な基本的要件として「遺伝子治療用医薬品の品質及び安全性の確保に関する指針」（以下「旧指針」という。）を定めているところです。

適用範囲

遺伝子治療用
製品
(*in vivo*)

遺伝子導入細胞からなる
細胞加工製品
(*ex vivo*)

ベクターの特性

- ✓ プロモーターや目的遺伝子の機能的特性
- ✓ ウイルスベクターの由来・性質
 - 物理化学的安定性、病原性、細胞傷害性
 - 種特異性や組織特異性を変更するような改変の有無
 - 遺伝子導入の効率
 - 目的遺伝子の発現効率
 - ウイルスベクターの細胞での存在状態
 - 染色体への挿入部位の特異性
 - ウイルスベクターの増殖性

◆ 遺伝子治療用製品等の品質及び安全性の確保について（令和元年7月9日）

AAVの特徴

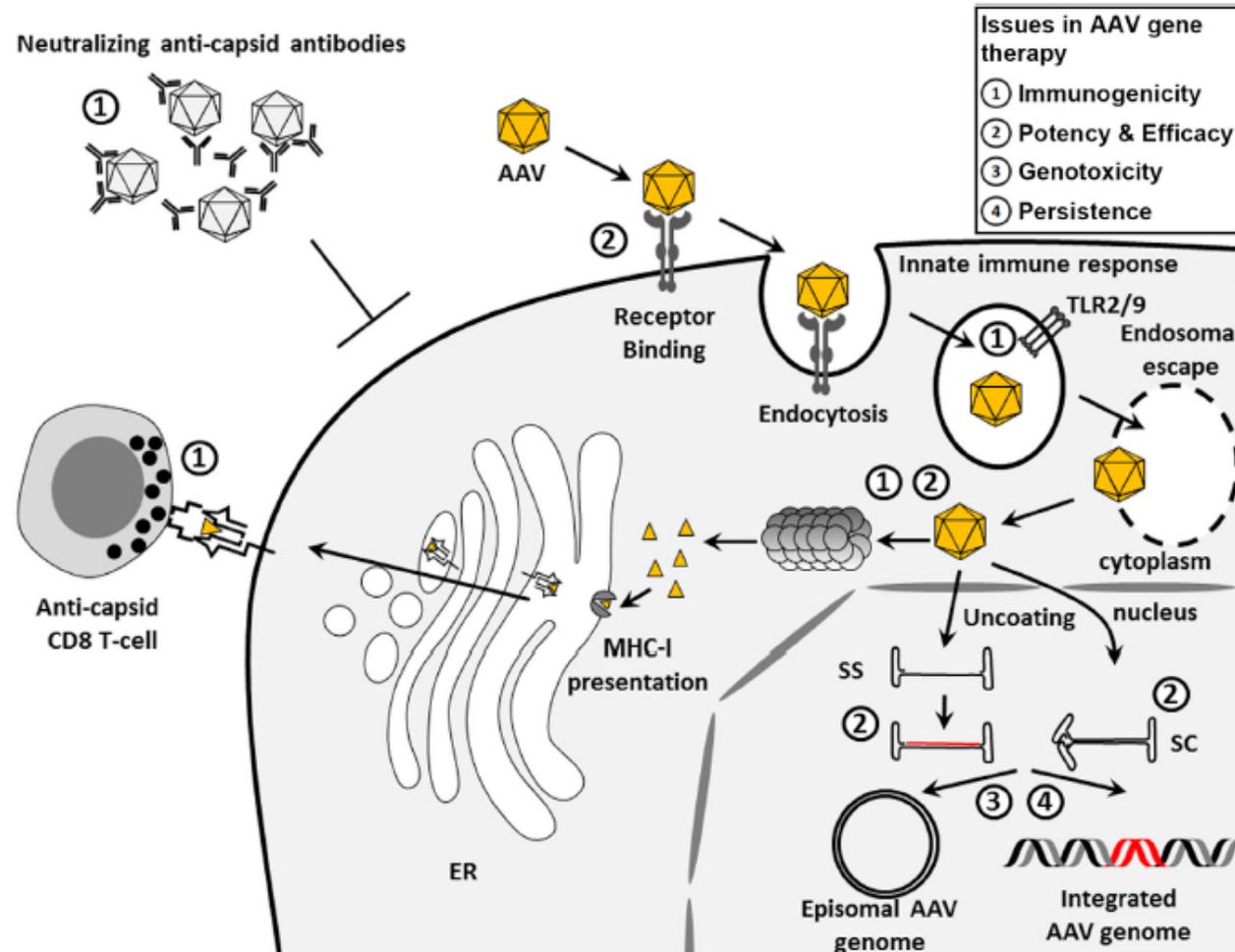


- ヘルパーウイルスの非存在下では複製できない
- 野生型AAVの病原性はない
- 免疫原性が低い



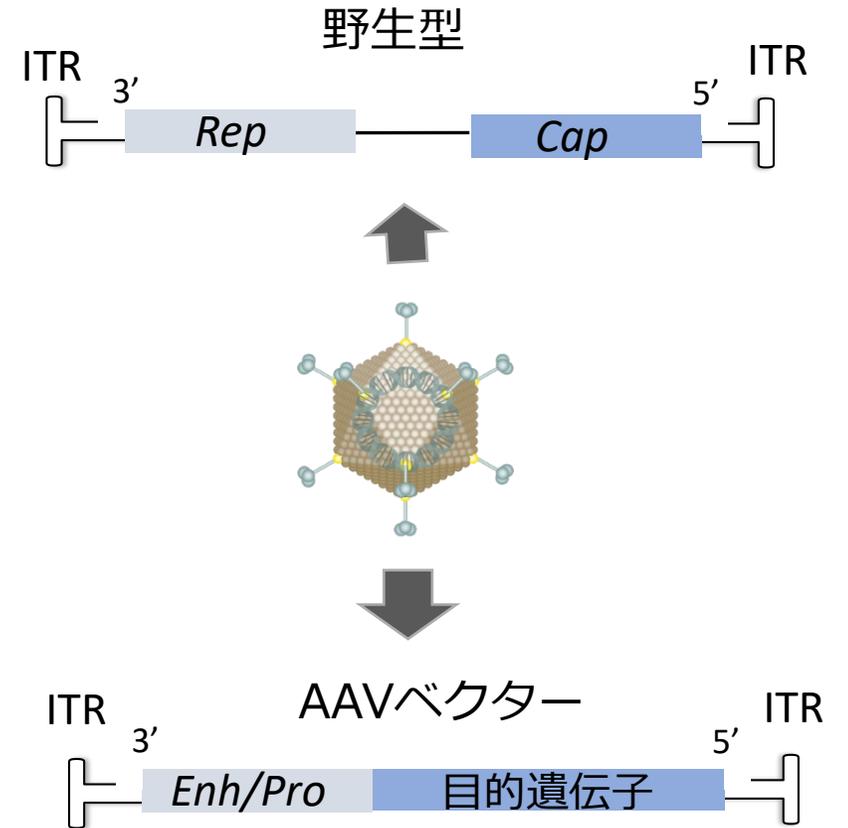
- AAVの主な血清型では、小児期の感染により成人の約半数が中和抗体を保有。→抗体保有患者で効果を期待しにくい。
- ゲノムが1本鎖DNA。遺伝子発現がおこるために2本鎖になる必要があり、遺伝子発現効率が良くない。→大量投与が必要

AAVベクターによる遺伝子導入とタンパク発現

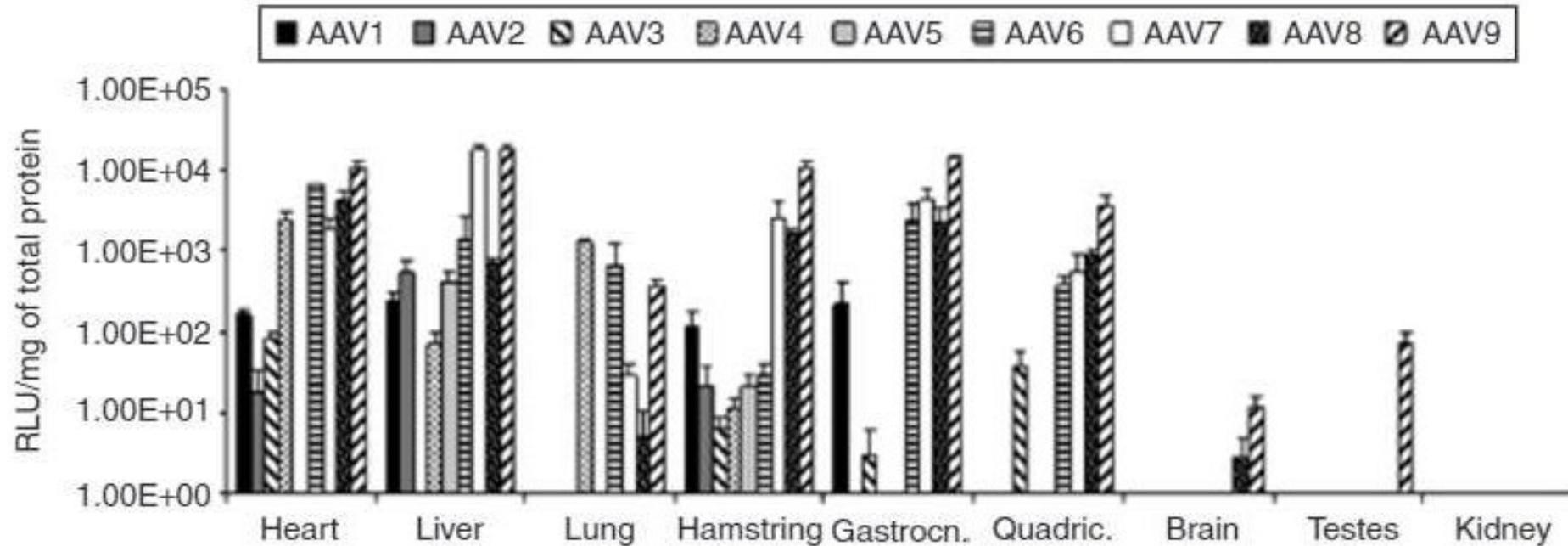


AAVベクターの 細胞内での存在状態と特徴

- AAVゲノムは核に移行後、染色体外に長期的に安定して存在。→非分裂細胞では年単位の遺伝子発現
- 宿主の19番染色体への組込みに関与する*rep*遺伝子を欠く。→挿入変異によるがん化リスク低い
- 低頻度であるが、組み込まれた場合、ランダムな傾向、肝細胞の場合はアクティブな遺伝子領域に起こりやすい



血清型と組織指向性



Analysis of AAV serotypes 1-9 Mediated Gene Expression and Tropism in Mice After Systemic Injection (Molecular Therapy, 2008)

AAV1 : 筋肉細胞 (局所投与)

AAV2 : 網膜

AAV5 : 肝細胞

AAV8/9 : 筋肉細胞 (全身投与)

AAV9 : 血液脳関門通過

遺伝子治療用製品の ウイルスベクターの特徴

	染色体への 組込み	分裂 細胞	遺伝子導入 非分裂 細胞	遺伝子 発現期間	野生型 ウイルスの 病原性	主な 投与法	その他
AAV アデノ随伴	低い	○	○	長期	なし	In vivo	ゲノムサイズの制限 <4.7kb
アデノ	低い	○	○	短期	あり	In vivo	免疫原性
レトロ	○	○	×	長期	あり	Ex vivo	挿入変異
レンチ	○	○	○	長期	あり	Ex vivo	挿入変異
センダイ	×	○	○	短期	なし	In vivo	免疫原性

遺伝子治療用製品等の 非臨床安全性評価

- ✓ 一般毒性評価（生命維持に関わる重要な器官・組織への影響の評価を含む）
- ✓ 遺伝子組込み評価
- ✓ 腫瘍形成及びがん化の可能性の評価
- ✓ 生殖発生毒性評価
- ✓ 免疫毒性評価
- ✓ 非増殖性ベクターにおける増殖性ウイルスの出現の可能性の評価

単回投与で長期間作用するため、治験開始前にすべての項目の評価が必要

毒性試験（動物種選択）

薬理作用を示す動物、例えば、

- ベクター
 - ✓ ヒトと同じ感染性、増殖性、細胞・組織指向性を示すか
- 発現産物
 - ✓ ヒトでのリスクが明らかか
 - ✓ ヒトと同じ薬理作用を示すか
 - ✓ 標的細胞で発現するか
- 解剖学的特徴
 - ✓ 臨床での投与方法が適用できるか



以上が考慮されれば、動物種1種で良い場合もある

毒性試験（用量）

最高用量：

原則として、最大耐量、投与可能な最大量
又は意図する薬理作用が最大となる量

臨床投与量との比較から説明する場合

- ・ 遺伝子導入/発現効率の種差
- ・ 薬理活性の種差

毒性試験（観察期間）

試験期間： 最大で6カ月

◆ ICH S6 GL「バイオテクノロジー応用医薬品の非臨床における安全性評価」
(平成24年3月23日)

- ベクターの発現期間（目的遺伝子由来の核酸・タンパク質の発現の経時的な変化）
- 免疫原性
- 臨床での適応症、治療コンセプト（補充療法か否か）
- その他：内在性タンパクか否か、目的タンパクの医薬品としての使用経験、ヒトにおける安全性情報、目的タンパクを過剰発現させた遺伝子改変動物に関する情報

毒性試験（評価項目）

- 一般状態
- 体重、摂餌量
- 血液・血液生化学検査、尿検査、眼科学的検査など
- 剖検、器官重量、病理組織学的検査

ただし

評価項目は製品の特性、既存の情報を踏まえ
ケースバイケースに検討

◆ 反復投与毒性試験に係るガイドラインの一部改正について（平成11年4月5日）

染色体に遺伝子が組み込まれる可能性

高
リスク



低
リスク

ベクターの特性

- ✓核に移行して組み込み能を持つ (レトロ、レンチ)
- ✓核へ移行するが組み込み機構を持たない (AAV、アデノ、プラスミド)
- ✓細胞質へ留まる (センダイ、mRNA)

標的細胞の分化の程度

未分化な細胞
(造血幹細胞)

分化した細胞
(T細胞、筋肉細胞)

投与経路/投与量

静脈内
/高用量

局所投与
/低用量

- ◆ 遺伝子治療用製品等の品質及び安全性の確保について (令和元年7月9日)
- ◆ ICH 見解「生殖細胞へ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対応するための基本的な考え方」について (平成27年6月23日)

ベクター遺伝子組み込みの懸念

1. 挿入変異による細胞の**がん化**
2. ベクターDNA の**生殖細胞への組み込みによる次世代への移行**。生殖細胞の改変は次世代への移行につながるものであり、特に懸念される。リスクは最小にするべき。

ベクター遺伝子組み込みのリスクに関する知見

- 動物ではAAVベクター投与により、発がんを示唆するデータがある。
- ヒトでは、AAVベクターによる遺伝子治療において発がんの明確なリスクは示唆されていない。
- 「 10^{12} vg/kgレベル（臨床での全身投与の用量程度に相当）の筋肉内又は静脈内投与時に、 10^{-4} ~ 10^{-5} の頻度で骨格筋又は肝臓にランダムに組み込みが認められる」（Molecular Therapy 20: 6, 1177–86, 2012）。
- 「AAVベクターの大量血中投与では精液中移行、ただし精子への遺伝子導入は確認されていない。」（Nat Med 12:342-47, 2006）

染色体へのベクター-遺伝子組み込み 評価の実際

- 細胞あたりのウィルスコピー数
- 挿入部位に関する情報
- ベクターの生殖器への分布(*in vivo*)の推移
- ベクターの特性、投与経路 など

特段の理由がない限り、*in vivo*における挿入部位解析等の組み込み評価は求めている。

生殖細胞の染色体への 遺伝子組み込みリスク

- 生体内分布評価においてベクターが生殖組織で検出されない場合、生殖細胞への遺伝子の組み込みを確認するためのそれ以上の試験は必要ない
- ベクターが生殖組織で検出された場合は、検出されたベクター量が経時的に減少し、検出限界以下になるかどうかを調べる動物試験の実施が必要
- 分布は、生殖細胞か非生殖細胞か

◆ ICH 見解「生殖細胞へ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対応するための基本的な考え方」について（平成27年6月23日）

生殖細胞にベクターの分布が認められたとき

リスク

- 生殖細胞へのベクターの分布量と組み込み頻度から、リスクの定量的な評価（分布レベル：肝細胞>>生殖細胞、精原細胞や卵子の数）
- ヒト精液中のベクターゲノムの排出期間の確認。精子形成サイクルの70日間を大きく超えてヒト精液中にベクターが検出される場合には、精原細胞にベクターが組み込まれている可能性があるかと判断できる。

評価

管理

- 避妊（治療期間中+ α ）、ベクターの精液中の排出やリスク評価結果から検討

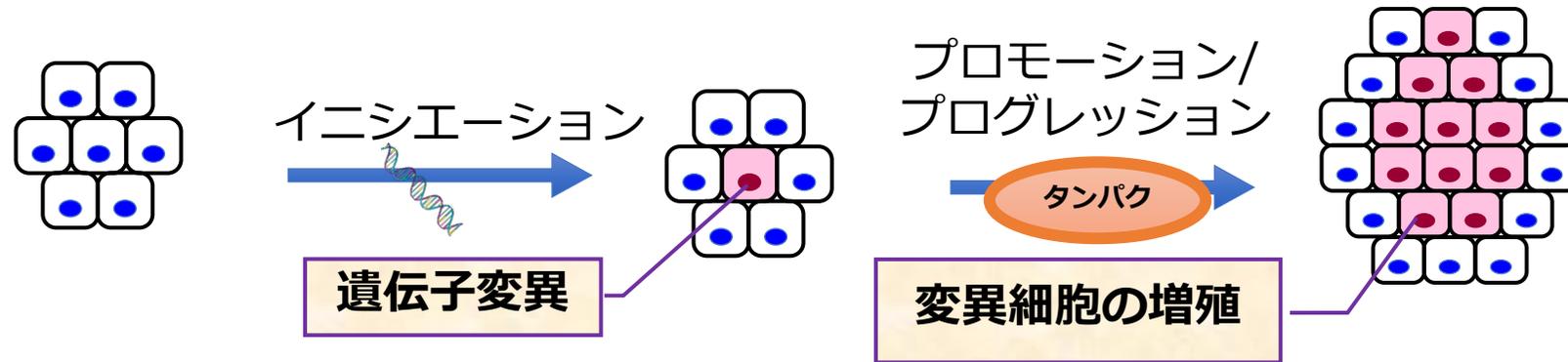
コミュニケーション

- 想定されるリスクについてのわかりやすい情報提供
- 妊孕性温存に関する情報や相談先の情報提供

ベネフィット

- 治療上のベネフィットと生殖細胞へのベクター組み込みのリスクのバランス
- 対象疾患の重篤性

がん化の可能性（がん原性）の評価



遺伝子組込み

- ✓がん遺伝子の活性化
- ✓がん抑制遺伝子の破壊

発現産物

- ✓プロモーター活性
- ✓細胞増殖作用
- ✓免疫抑制作用

DNAのイラストは
TogoTVより引用

がん化の可能性（がん原性）まとめ

遺伝子組込みによるリスク

発現産物によるリスク



標準的ながん原性試験は適切ではない

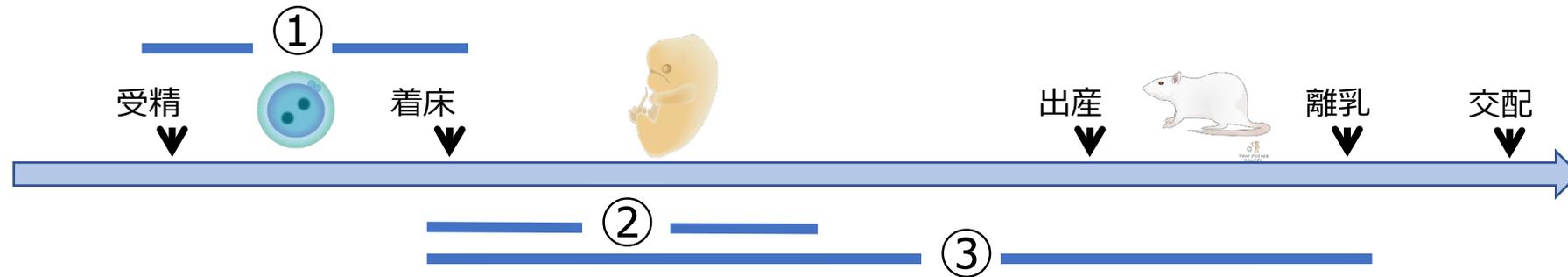
- 既存情報に基づく考察
（ベクターの特性、発現産物の生物学的特性）
- 組込みリスク評価結果、毒性試験成績

生殖発生毒性試験

① 受精能および着床までの初期胚発生



一般毒性試験での生殖器官の評価



イラストはすべてTogoTVより引用

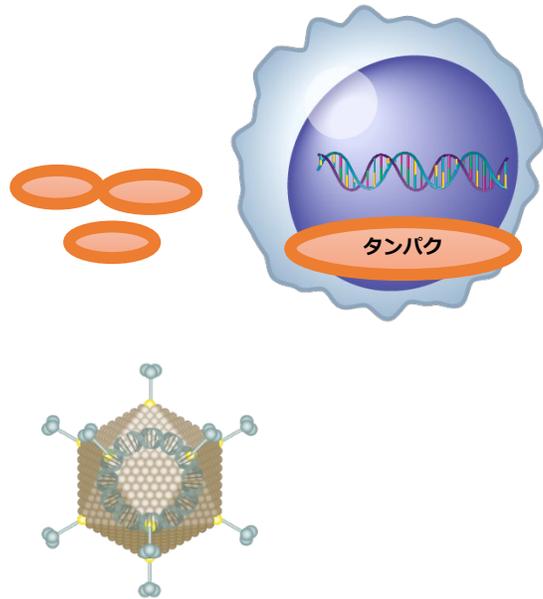
② 胚・胎児発生

③ 出生前および出生後の発生並びに母体の機能



胎盤通過性、組織・細胞指向性、発現タンパクの作用などから試験の要否を検討

免疫毒性の評価



ベクターや発現産物による免疫系への悪影響を評価

動物では**特異的な免疫反応**が発現する可能性があることから、試験成績の解釈に留意する

AAVベクター製品の安全性

ヒトにおける既知のリスク

- 大量投与による免疫反応
- 肝障害（カプシドペプチドの抗原提示による細胞傷害性T細胞の誘導）
- 血栓性微小血管症（補体、Toll様レセプターの活性化）

潜在的リスク

- ベクターの組み込みによる発がんリスク
- 生殖細胞へのベクター組み込み
- 後根神経節に対する毒性（遺伝子導入による細胞ストレス？）

更なる議論が必要

- 組み込みリスク評価（発がんリスク、次世代への移行のリスク）
- リスクベネフィット
- リスクコミュニケーション
- 長期フォローアップ

AAVベクター製品の 非臨床安全性評価

- 何を/どこまで/いつまでに評価すべきかの判断は、事例の蓄積等により今後変わる可能性がある。
- 臨床試験成績、開発と並行して新たに得られた非臨床試験成績、文献情報など、広く情報を収集した上で、リスク評価を行い、リスクベネフィットを理解しヒトへの投与の可否を判断する必要がある。

ご清聴ありがとうございました

関連GLなど

- ◆ 遺伝子治療用製品等の品質及び安全性の確保について（令和元年7月9日）
- ◆ ICH S6 GL「バイオテクノロジー応用医薬品の非臨床における安全性評価」（平成24年3月23日）
- ◆ ICH 見解「生殖細胞へ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対応するための基本的な考え方」について（平成27年6月23日）
- ◆ 反復投与毒性試験に係るガイドラインの一部改正について（平成11年4月5日）
- ◆ 標的特異性を有する *in vivo* 遺伝子治療用製品の開発における留意事項 -- *in vivo* CAR-T の開発など（令和6年7月4日科学委員会）
- ◆ Points to consider for non-clinical safety evaluation of *in vivo* gene therapy products. *Translat Regulat Sci.* 5: 36–39 2023
- ◆ <https://www.pmda.go.jp/review-services/drug-reviews/about-reviews/ctp/0007.html>