

# 再生医療及び遺伝子治療製品の品質・安全性評価

2019年3月20日

山口照英  
金沢工業大学  
日本薬科大学



# 本日の話題

- 再生医療等製品（遺伝子治療製品）に関する基準や指針
- 再生医療等製品の製法確立と特性解析
  - ウイルス安全性／再生医療等製品の原材料の安全性
  - 製造工程での評価
  - 製品の特性解析
  - 最終製品の規格／試験法
- 遺伝子治療製品の製法確立・品質・安全性

# 細胞・組織加工医薬品等の製造に係る品質・安全性確保

- 「細胞・組織を利用した医療機器又は医薬品の品質及び安全性の確保について」平成11年7月30日付け医薬発第906号(平成21年5月18日付け薬食発第0518001号にて一部改正)
- 「ヒト又は動物由来成分を原料として製造される医薬品等の品質及び安全性確保について」平成12年12月26日付け医薬発第1314号
- 「ヒト(自己)由来細胞や組織を加工した医薬品又は医療機器の品質及び安全性の確保について」平成20年2月8日付け薬食発第0208003号
- 「ヒト(自己)由来細胞・組織加工医薬品等の品質及び安全性の確保に関する指針に係るQ&Aについて」平成20年3月12日付け事務連絡
- 「ヒト(同種)由来細胞や組織を加工した医薬品又は医療機器の品質及び安全性の確保について」平成20年9月12日付け薬食発第0912006号
- 「ヒト(同種)由来細胞・組織加工医薬品等の品質及び安全性の確保に関する指針に係るQ&Aについて」平成20年10月3日付け事務連絡
- 「ヒト(同種)体性幹細胞加工医薬品等の品質及び安全性の確保に関する指針」薬食発0907第3号 平成24年9月7日
- 「ヒト(自己)iPS(様)細胞加工医薬品等の品質及び安全性の確保に関する指針」薬食発0907第4号 平成24年9月7日
- 「ヒト(同種)iPS(様)細胞加工医薬品等の品質及び安全性の確保に関する指針」薬食発0907第5号 平成24年9月7日
- 「ヒトES細胞加工医薬品等の品質及び安全性の確保に関する指針」薬食発0907第6号 平成24年9月7日

# 生物由来原料基準

## • ヒト細胞組織加工製品原料基準

- ヒト細胞組織原料等を採取するに当たって、それらの利用の目的に応じ、問診、検診、検査等により、細菌、真菌、**ウイルス等の感染が否定**されていること
- ウイルス等の検査項目、検査手法の適切性
- **ウイルスの検査ではウィンドウ期を考慮した検査の実施**
- ドナーの適格性: 輸血や移植医療を受けたものの排除

## • 細胞の培養や加工に用いる試薬等

- 動物由来原料基準(培養細胞由来サイトカインやヒト血液由来増殖因子)
- 反芻動物由来原料基準(ウシ血清)
- 血漿分画製剤総則(アルブミン等)
- ストローマ細胞

欧米: 先端医療製品のRaw-Material Control

# 再生医療等製品に関連する他の指針

## 異種動物由来細胞・組織を用いる場合

- 「異種移植の実施に伴う公衆衛生上の感染症問題に関する指針について」平成14年7月9日付け医政研発第0709001号
- 「異種移植の実施に伴う公衆衛生上の感染症問題に関する指針」に基づく3T3J2株及び3T3NIH株をフィーダー細胞として利用する上皮系の再生医療への指針について」平成16年7月2日付け医政研発第0702001号

## 細胞に遺伝子工学的改変を加える場合

- 「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について」平成7年11月15日付け薬発第1062号
- 「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の改正について」平成14年3月29日付け医薬発第0329004号
- 「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の一部改正について」平成16年12月28日付け薬食発第1228004号

## 製造管理・品質管理

- 「ヒト(自己)由来細胞・組織加工医薬品等の製造管理・品質管理の考え方について」平成20年3月27日付け薬食監麻発第0327025号
- 「治験薬の製造管理、品質管理等に関する基準(治験薬GMP)について」平成20年7月9日付け薬食発第0709002号

# 次世代医療機器評価指標

- 「関節軟膏再生に関する評価指標」 薬食機発1215第1号(別添1)平成22年12月15日
- 「角膜内皮細胞シートに関する評価指標」 薬食機発0118第1号(別添1)平成22年1月18日
- 「角膜上皮細胞シートに関する評価指標」薬食機発0528第1号(別添1)平成22年5月28日
- 「重症心不全細胞治療用細胞シートに関する評価指標、角膜上皮細胞シートに関する評価指標」 薬食機発0118第1号別添3及び4 平成22年1月18日
- 「自己iPS細胞由来網膜色素上皮細胞に関する評価指標」 薬食機発0118第1号平成25年5月29日
- 「歯周組織治療用細胞シートに関する評価指標」 薬食機発1207第1号 平成23年12月7日
- 「ヒト軟骨細胞または体性肝加工製品を用いた関節軟骨再生に関する評価指標」 薬食機発0630第1号 平成28年6月30日
- 他

本評価指標は申請内容に関して拘束力を有するものではなく、個々の細胞・組織加工医薬品等についての試験の実施や評価に際しては、その時点の学問の進歩を反映した合理的根拠に基づき、ケース・バイ・ケースで柔軟に対応することが必要である。

# 日本の遺伝子治療関連指針

## ■ 臨床研究

### 遺伝子治療臨床研究に関する指針

2002年3月27日 文部科学省・厚生労働省告示第1号

2004年12月28日 文部科学省・厚生労働省告示第2号(全部改正)

2015年指針の改正

2019年2月 ゲノム編集を取り入れた指針の告示 4月施行

## ■ 薬事承認に向けた開発(治験)

### 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

1995年11月15日 厚生省薬務局長通知 薬発第1062号

2013年7月1日 医薬食品局審査管理課長通知: 確認申請制度の廃止に伴う改正

2015「遺伝子治療用製品等の品質及び安全性の確保に関する指針」(案)を厚生労働省に提出(小野寺班)

### 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

事務連絡  
2015.6.23

ウイルスとベクターの排出に関する基本的な考え方

事務連絡  
2015.6.23

腫瘍溶解性ウイルス

事務連絡  
2015.6.23

# 遺伝子治療の法規制の変化

- 薬事法の改正

医薬品、医療機器等の品質、有効性及び安全性の確保等に関する法律（医薬品医療機器等法/薬機法）

（平成25年11月27日公布、26年11月25日施行）

- ✓ 「医薬品」「医療機器」とは別に「再生医療等製品」という区分を新たに定義
- ✓ 「遺伝子治療を目的として、人の細胞に導入して使用するもの」は「再生医療等製品」に分類（遺伝子治療用医薬品ではなく遺伝子治療用製品）
- ✓ 「再生医療等製品」の条件・期限付承認制度の創設による早期実用化

- 再生医療等の安全性の確保等に関する法律

（26年11月25日施行）

- ✓ ex vivo遺伝子治療は遺伝子導入細胞を用いた臨床研究となり、再生医療新法の「高リスク」第一種再生医療等として特定認定再生医療等委員会により審査を受ける（ex vivoとin vivo遺伝子治療が異なる組織で審査を受ける）
- ✓ 「遺伝子治療臨床研究に関する指針」の一部改正について：ex vivo遺伝子治療の除外と薬事法の名称変更に伴う改正



# 本日の話題

- 再生医療等製品に関する基準や指針
- **再生医療等製品の製法確立と特性解析**
  - ウイルス安全性／再生医療等製品の原材料の安全性
  - 製造工程での評価
  - 製品の特性解析
  - 最終製品の規格／試験法
- 遺伝子治療製品の製法確立・品質・安全性

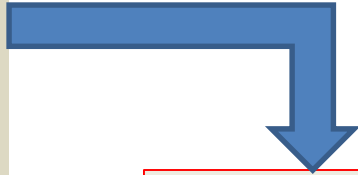
# 再生医療等製品の開発

## 細胞原料

- 患者の前処置(例:末梢血CD34陽性細胞採取のためのG-CSF投与)
- 細胞組織の採取・加工・選別・分離
- 採取施設要件
- 細胞受入れ試験

## 細胞種

- 自己由来細胞
- 同種由来細胞
  - iPS細胞
  - ES細胞
  - 骨髄間葉系幹細胞



製法の確立

培養、工程管理  
培養打ち切り条件  
(培養期間)  
製品の特性解析  
品質規格／出荷判定

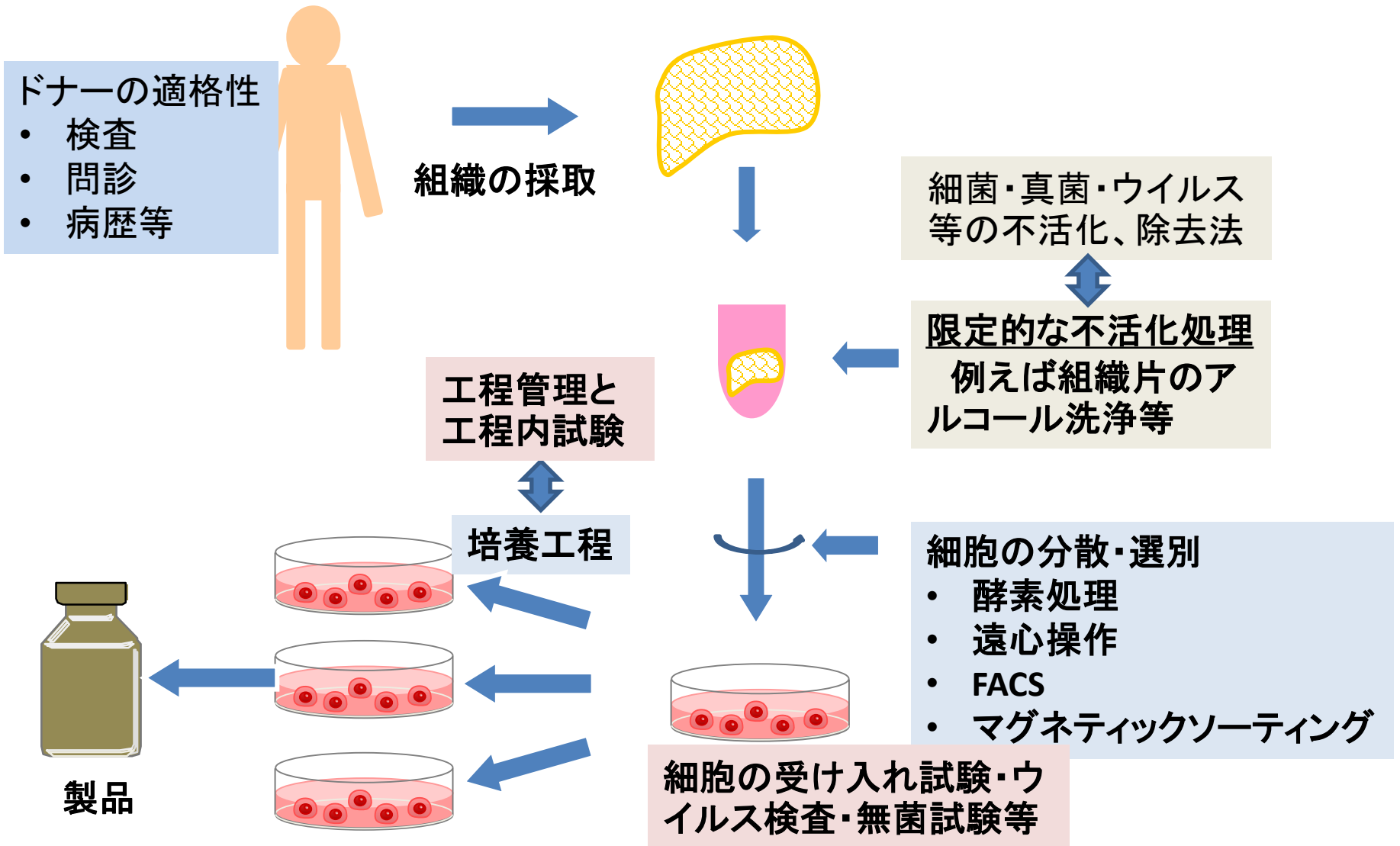
# ドナー適格性と細胞の試験

## ドナーとしての適格性(同種製品)

- 病歴(がんや腫瘍、神経疾患等)
- 輸血や臓器移植を受けたことのないもの(未知の感染症の排除)
- 海外滞在歴(輸入感染症やBSE)
- ウイルス検査(HIV、HCV、HBV、HTLV-1/2、パルボウイルスB19); NAT検査、血清学的検査、問診、サイトメガロウイルス感染、EBウイルス感染及びウエストナイルウイルス感染については必要に応じて検査
- 梅毒トレポネーマ、クラミジア、淋菌、結核菌等の細菌による感染症
- 重篤な代謝及び内分泌疾患
- 肝疾患
- 特定の遺伝性疾患や家族歴

ウイルス安全性に関して**ウインドウ期によるウイルス汚染リスク**を排除するために再試験の実施を考慮すること

# 細胞／組織の採取と細胞組織可能製品の製造工程への受け入れ



# 細胞の受け入れ試験

- 無菌試験
  - 試験結果が受け入れ時の後に得られるケースも
  - 必ずしも適用できない(口腔内細胞、角膜細胞)
    - 抗生物質を用いた培養の必要性
- ウイルス試験
- マイコプラズマ試験
  - 無菌試験同様に適用できない場合もある
- 表面抗原の発現試験

血清等を用いたスクリーニング  
検査と異なる結果もありえる\*

\*: Ferri C et al: Parvovirus B19 infection of bone marrow in systemic sclerosis patients. ClinExpRheumatol. 17, 718-720, 1999 ; Lundqvista,A et al. High frequency of parvovirus B19 DNA in bone marrow samples from rheumatic patients. J. Clin. Virol. 33, 71-74, 2005

生きた細胞を用いる再生医療製品では、ウイルス等の不活性化工程を導入することが不可能であり、かつウイルス検査のみではウイルス安全性を担保することには限界がある。ウイルス安全性は再生医療等製品の重要な柱

# ES細胞やiPS細胞由来製品

- 最適な細胞を選別後、均一な細胞集団としてバンク化やストック化される: ストック時の試験
- 目的とする機能細胞へ分化させた後、必要な特性解析や規格試験を実施
- さらに増幅後患者へ投与: 出荷規格

# 京都大学及び成育医療センターからの医療用ES細胞の作製計画を了承【厚生労働省部会】

- 厚生労働省厚生科学審議会再生医療等評価部会(2017年6月7日)
- 京都大学ウイルス・再生医科学研究所の末盛博文准教授らのチームが申請した再生医療用の胚性幹細胞(ES細胞)の作製計画を了承。文部科学省の特定胚等研究専門委員会は5月に計画を大筋で了承
- 厚労・文科両大臣が認可する見通し。認可されれば、国内初の臨床用ES細胞の作製が始まる。
- 計画では、医療機関から不妊治療で使われなかった余剰胚の提供を受け、臨床応用が可能なES細胞を20種類作製。年度内にも、国立成育医療研究センターなど再生医療を用いた治療を行う医療機関や研究機関に提供を開始。
- 厚労省によると、部会に先立ち開かれた審査委員会では、受精卵提供者からのインフォームド・コンセントを慎重に取得すべきとの意見が出たという。
- 国立成育医療研究センターもES細胞を用いた難病治療を目指す研究を予定しており、近日中に作製計画を両省に申請するとみられる。



- 成育医療研究センターからの樹立申請 2017年9月6日に承認

# iPS細胞由来再生医療等製品

- 京都大学:iPS細胞由来ドパミン神経前駆細胞を用いた医師主導治験を平成30年6月4日付で独立行政法人医薬品医療機器総合機構(PMDA)に提出、平成30年8月1日より治験を開始
- iPS細胞:再生医療用iPS細胞ストックプロジェクトでは、[HLA型](#)を、免疫拒絶反応が起きにくいホモ接合体で持つドナーから医療用のiPS細胞を作製



臍帯血

iPS作製

作製したiPS細胞のストック化

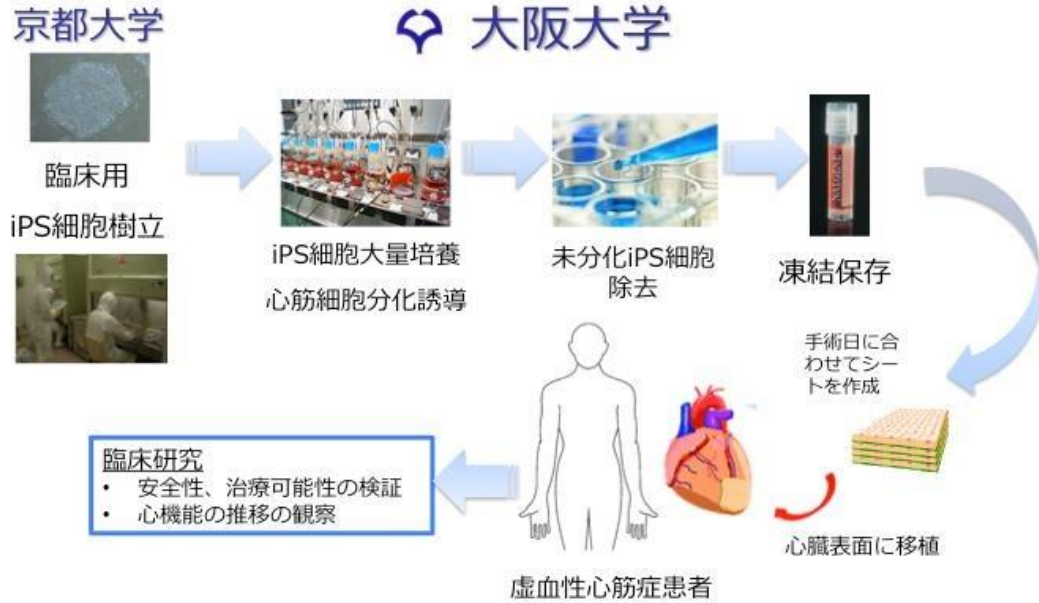


臨床研究としての開発(厚生労働省・再生医療等評価部会での承認)

- iPS由来心筋細胞シートを用いた重症心不全治療臨床研究
- iPS由来網膜色素上皮細胞を用いた加齢性黄斑変性症臨床研究
- iPS由来神経細胞を用いた脊髄損傷治療臨床研究
- iPS由来角膜上皮細胞シートを用いたSJ症候群等の臨床研究



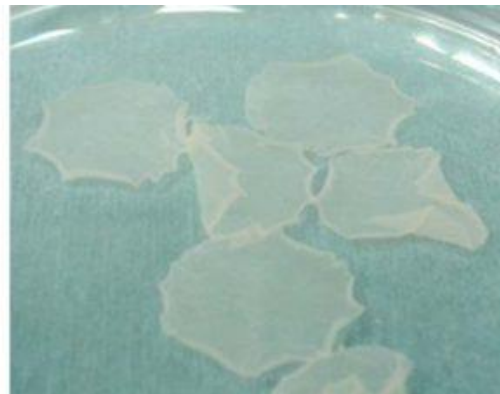
# iPS細胞由来心筋シートによる虚血性心筋症治療臨床研究



京都大学が樹立したiPS細胞より大量に心筋シート作製法の開発患者の手術日に合わせて心筋シートを作製

重症心不全患者3名を対象とした安全性評価

iPS細胞から誘導した心筋シート



心筋シートから産生される因子によりリモデリングや血管誘導により治療効果が発揮されると想定

大阪大学ホームページより

# iPS細胞やES細胞由来細胞を用いた 再生医療等製品

## iPS細胞やES細胞の受入れ試験

- iPS細胞を樹立し、ストック(バンクに相当)を作製した時点で徹底的な解析
- ウイルス汚染: ICH Q5A(バイオ医薬品のウイルス安全性)を参考に評価
- 無菌試験
- ゲノム変異(がん遺伝子等)や染色体解析により造腫瘍性リスクの評価

# 本日の話題

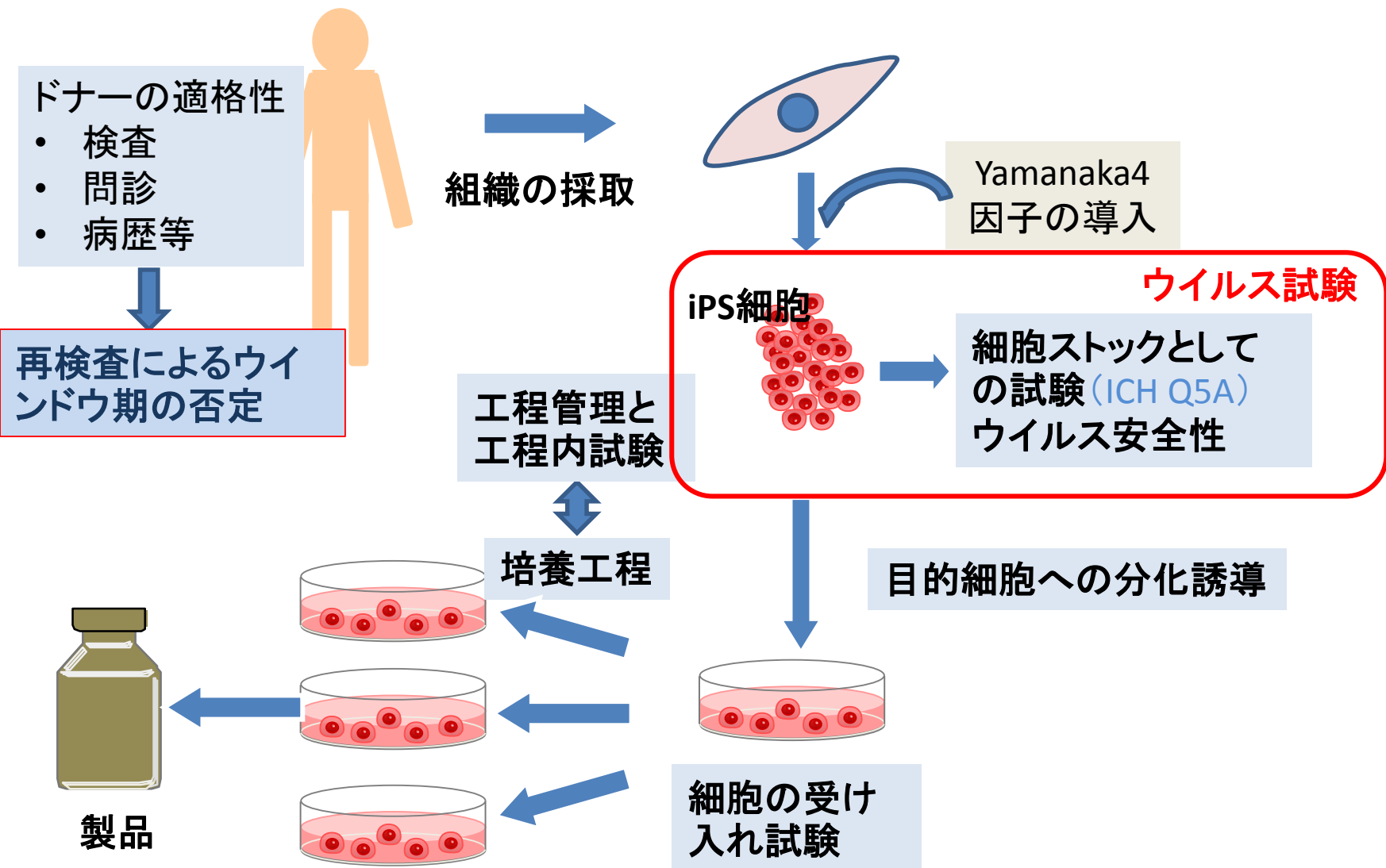
- 再生医療等製品に関する基準や指針
- 再生医療等製品の製法確立と特性解析
  - ウイルス安全性／再生医療等製品の原材料の安全性
  - 製造工程での評価
  - 製品の特性解析
  - 最終製品の規格／試験法
- 遺伝子治療製品の製法確立・品質・安全性

# ウイルス検査

- 自己細胞と同種細胞での試験要件の違い
  - 自己細胞の場合にはスクリーニング試験としての必要性は必須とはされていない: 但し、製造工程の汚染や製造従事者の安全性確保の観点求められる
- 同種細胞の場合は献血時の試験項目
  - 問診: 患者の健康状態、過去の病歴(輸血歴等)
  - 海外渡航歴
  - 血清学的試験
    - HCV: 抗体検査
    - HBV: 抗HBe抗原検査、抗HBc抗体検査
    - HIV: 抗体検査
    - HTLV-1/2: 抗体検査
  - 核酸増幅検査(NAT検査)
    - HBV、HCV、HIV
    - 感度・精度・頑健性の設定

血清学的試験とNAT  
を組み合わせたこと  
が有用

# 製法においてストックを構成する細胞 - 細胞バンクを含む



# 同種ヒト細胞を原材料として多数の患者に投与するためにバンクを構成する場合

ICH Q5A 細胞バンクレベルで一度は実施すべきウイルス試験

	MCB	WCB	CAL
<b>レトロウイルス及び内在性ウイルス試験</b>			
感染性試験	+	—	+
電子顕微鏡観察	+	—	+
逆転写酵素活性	+*1	—	+*1
その他細胞種特異ウイルス試験	適宜実施	—	適宜実施
<b>非内在性ウイルスまたは外来性ウイルス試験</b>			
in vitro試験	+	—*2	+
in vivo試験	+	—*2	+
抗体産生試験	+*3	—	—
その他細胞種特異ウイルス試験	適宜実施	—	—

\*1:レトロウイルス感染性試験が陽性のときは不要

\*2:CAL (イン・ビトロ細胞齢の上限の細胞) で試験が実施されるときは不要

\*3:例えばマウス, ラット, ハムスターでの抗体産生試験, 通常, げっ歯類由来の細胞に対し適用する.

# 原材料 (Raw Materials) 受け入れ

- 培養添加物

- ウシ胎児血清
- ヒトトランスフェリン
- ヒト繊維芽細胞増殖因子 (FGF)
- インターロイキン: e.g. IL-2、IL-4

- 培養マトリックス

- フィブロネクチン
- マトリゲル

- 細胞加工

- ブタトリプシン
- コラゲナーゼ

- 安定化剤

- ヒトアルブミン

## ウシ血清

米国連邦規制基準9CFR 113.53

- BVDV、B. adenovirus type、Bovine parvovirus、Bluetongue virus、Bovine respiratory syncytial virus、Rabies virus、Reovirus type 3
- 細胞変性性病原体
- 赤血球吸着性病原体
- マイコプラズマ
- 無菌試験

USP: GC BFS

- 細胞増殖試験
- ウイルス不活性化工程
- $\gamma$ 線照射(25-35Gr): 30Gr 以上では細胞の増殖促進効果が減衰
- UV照射: 十分な不活化効果がえられるか?

原料としての品質管理とウイルス等の汚染を排除した安全性確保

# 本日の話題

- 再生医療等製品に関する基準や指針
- **再生医療等製品の製法確立と特性解析**
  - ウイルス安全性/再生医療等製品の原材料の安全性
  - **製造工程での評価**
  - 製品の特性解析
  - 最終製品の規格／試験法
- 遺伝子治療製品の製法確立・品質・安全性



# 製造管理

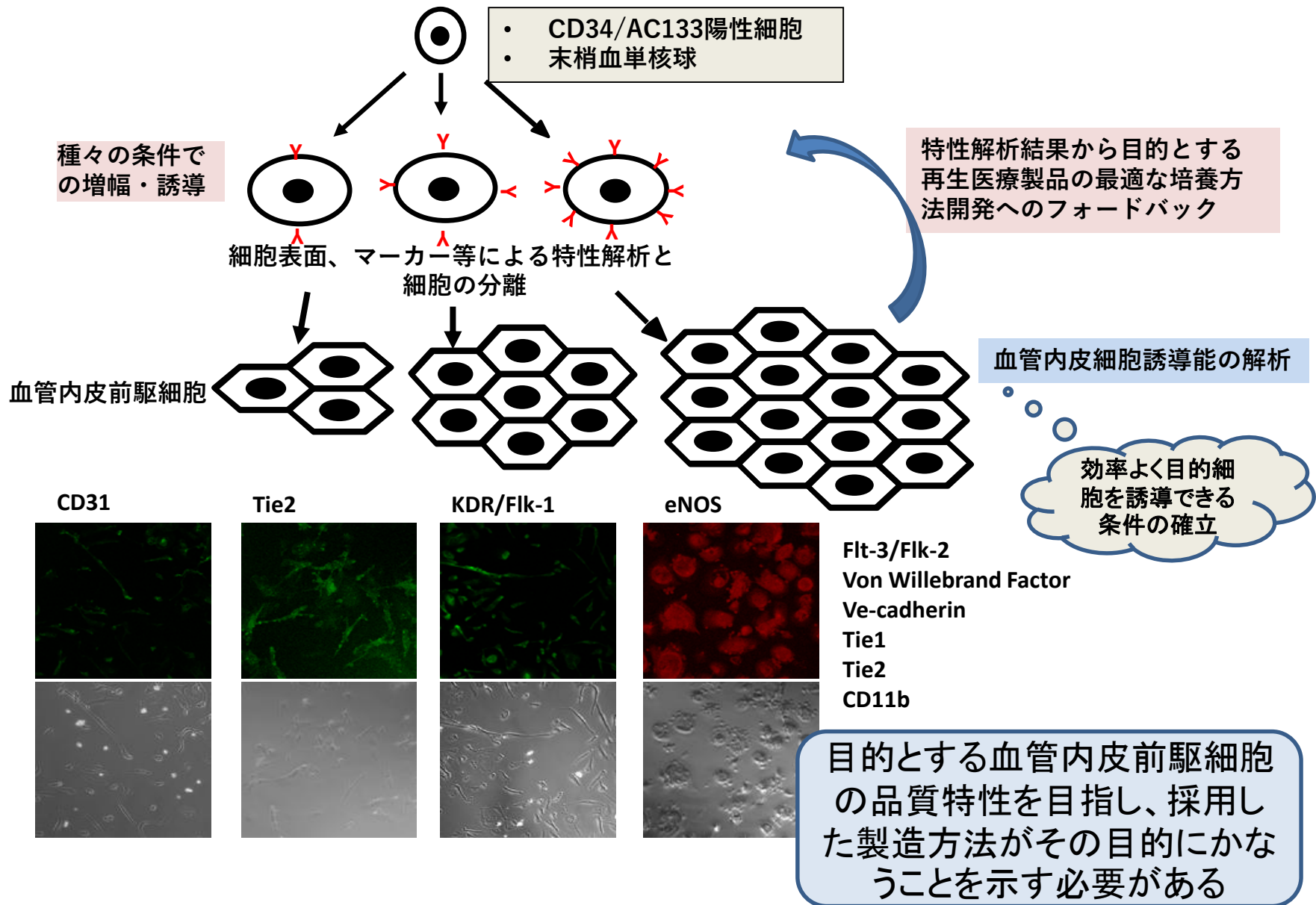
- 細胞の選別、ソーティング
  - FACS、磁気ビーズ、接着細胞の選別
- 培養条件
  - 培地組成: 血清、増殖因子、
  - 培養基質(フィブロネクチン、コラーゲン)
  - 温度、pH、酸素濃度
  - 播種細胞濃度
  - 細胞の生存性
  - 培養期間(継代数、細胞倍加数)
- 培養打ち切り条件
  - 培養以上件を超えた細胞での試験

# 製法開発における考慮事項

- 目的とする細胞の分離と増幅加工
  - Homologous Use と Non-homologous Use
    - 皮膚由来繊維芽細胞を拡大培養して用いる (HU)
    - MSCを神経細胞の前駆細胞として用いる (non-HU)
  - 純度の高い細胞; 拡大培養
  - 特定細胞のみを増幅; 分離操作
    - 培養工程の中での選別: MSCのトリ
- 培養条件と培養期間
  - 多くの細胞が in vitro 培養で **特性が変化** していく
    - 増殖能の低下
    - 細胞特性の変化・消失
  - 工程評価
    - 細胞培養の期間の設定
    - 細胞品質特性の恒常性を担保する培養期間の設定

生きている細胞を用いるという特性: 刻一刻と変化する

# 血管内皮前駆細胞の開発例



# FDAの品質特性確保の取り組み

## MSC consortium :

MSCを用いた細胞治療の増加に対応するために

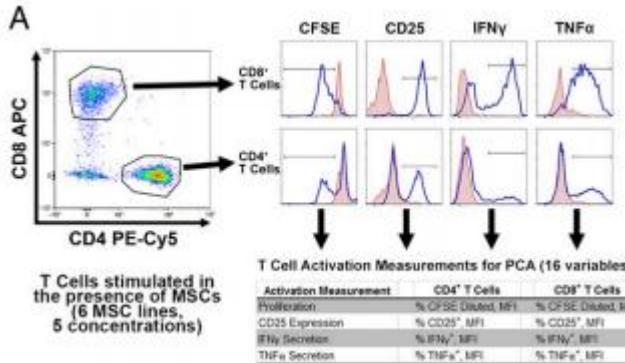
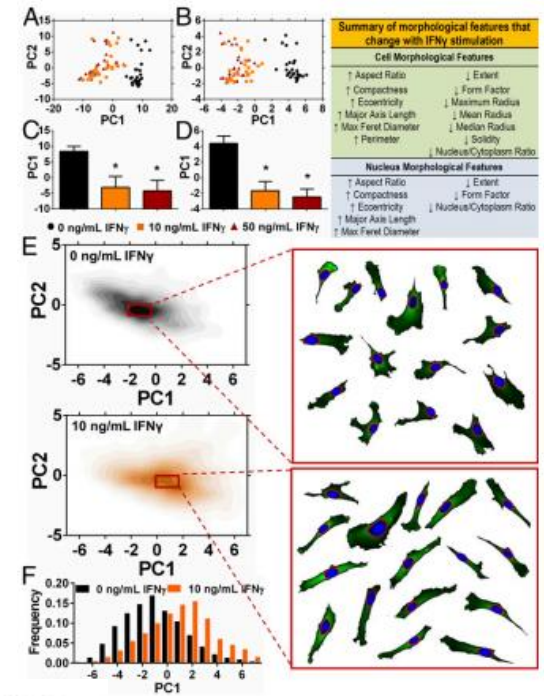
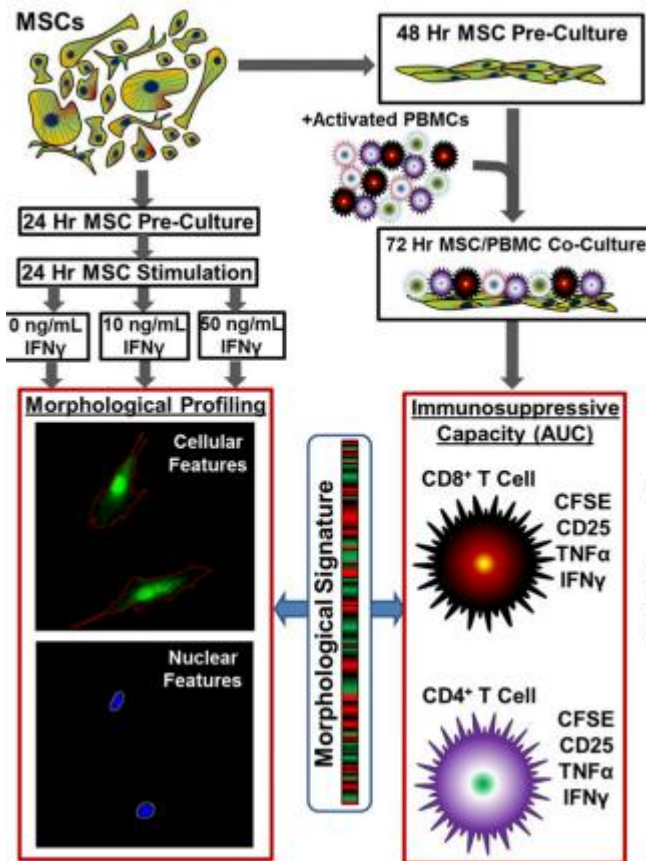
- **FDA's perspective:**

First of all, agency noted the lack of consensus in MSC field:

- Although **not an FDA requirement**, stakeholder efforts toward generating consensus on MSC definitions would be a useful development for the field, which would allow comparison across multiple studies and could facilitate potential clinical use.

# FDA MSC Consortium

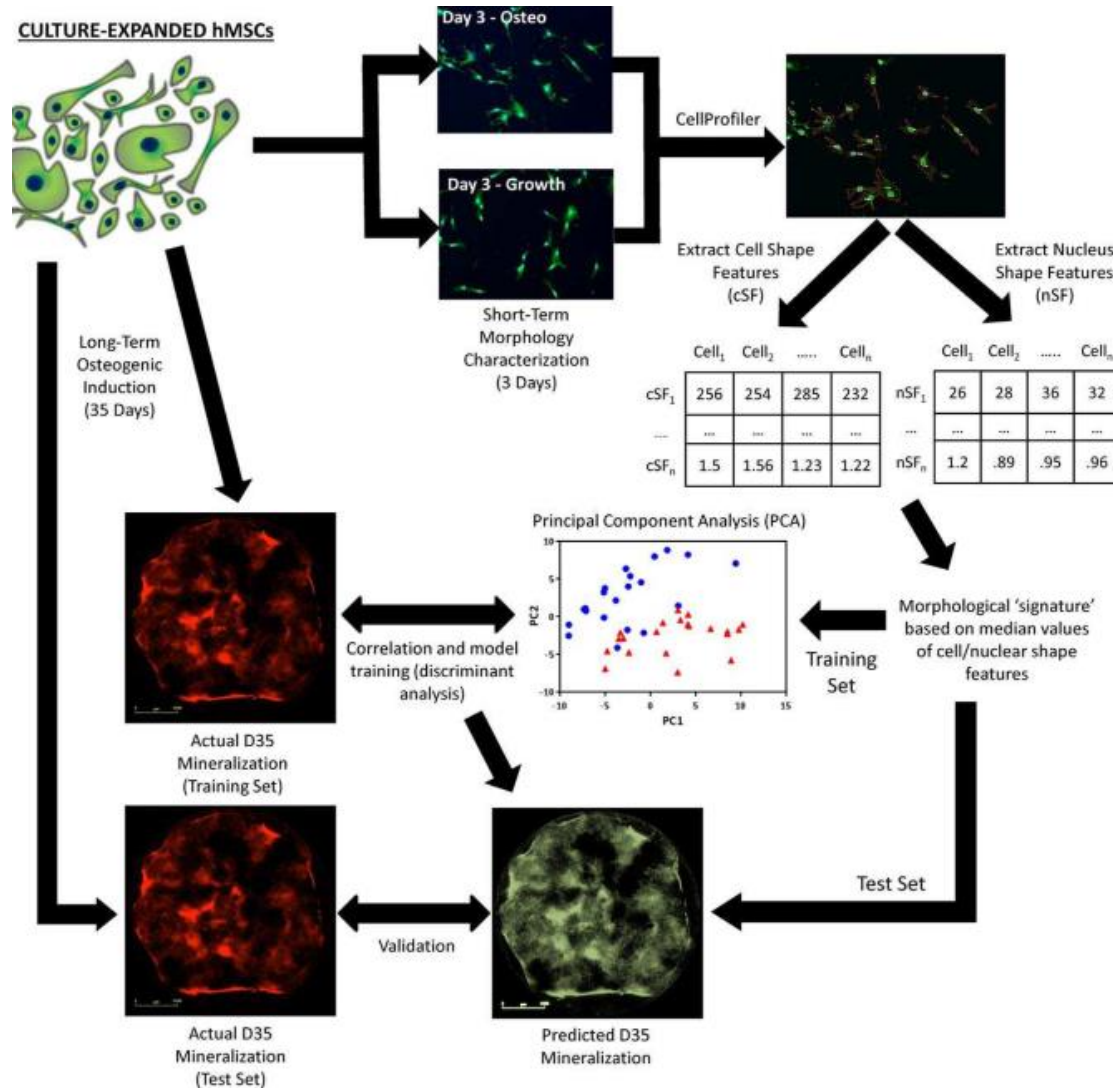
- MSCの免疫抑制機能を予測する指標の開発



経時的に細胞の形態変化をおこなうことにより、細胞の機能分化能を予測することを開発。

# FDA MSC Consortium

- Development of strategies to improve cell therapy product characterization



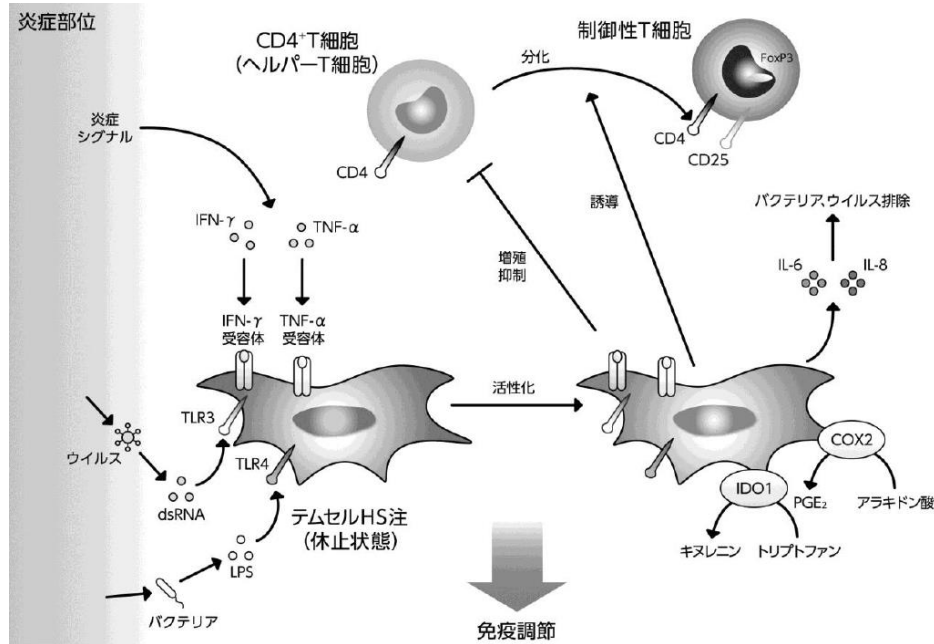
FDAはMSC Consortiumを立ち上げ開発が進むMSCの品質特性解析を進めている。その一つとして、MSCの分化機能を予測する指標を開発



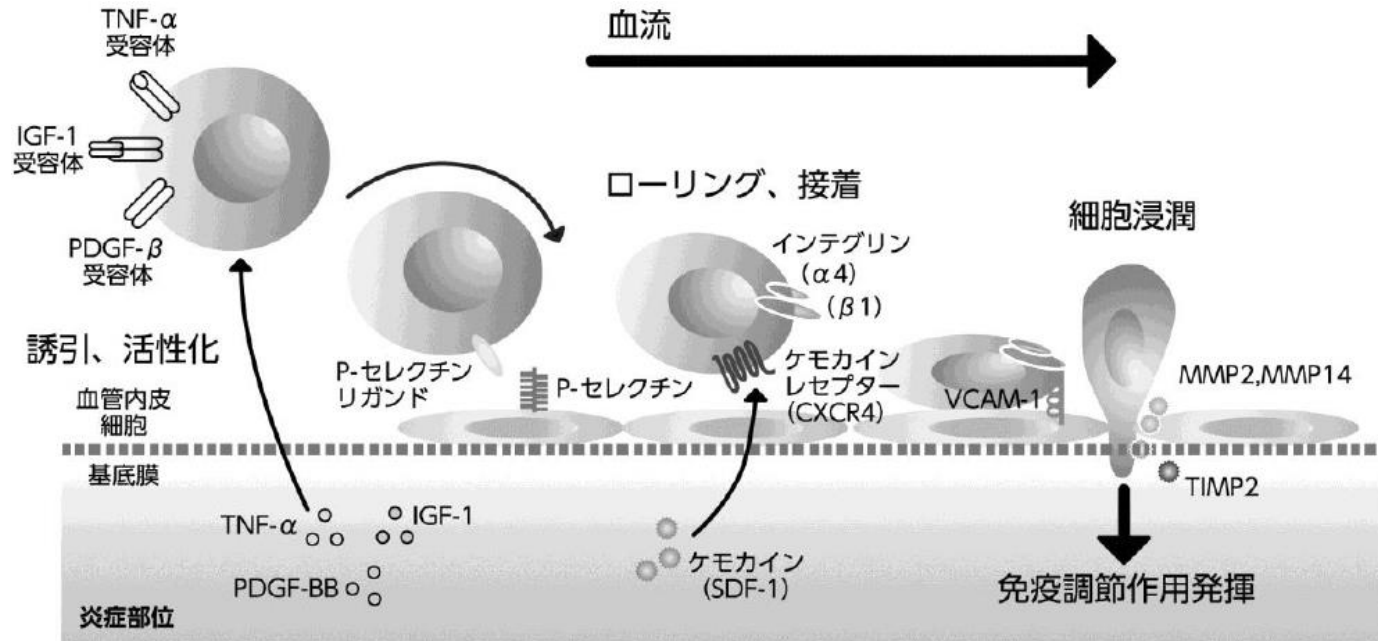
MSCを用いた再生医療の開発が進むが、培養条件、培養経緯、由来等を含めてMSCと総称できる均一な機能を持つ細胞ではない

Marklein et al (2016) Size and shape of human mesenchymal stem cells may predict future biochemical behavior potentially linked to supporting bone growth, *Stem cells*, 34:935–947

# テムセル: JCR 造血幹細胞移植後の急性移植片対宿主病 (GVHD)



造血幹細胞移植における急性GVHDを効能とする。  
 MSCが免疫抑制機能を持つことは広く知られているが、投与された全ての細胞が同じ機能を持つのかという課題  
 例えば将来的に製法変更をした時に、MOAを担う細胞が製法変更前後で同等であるか。



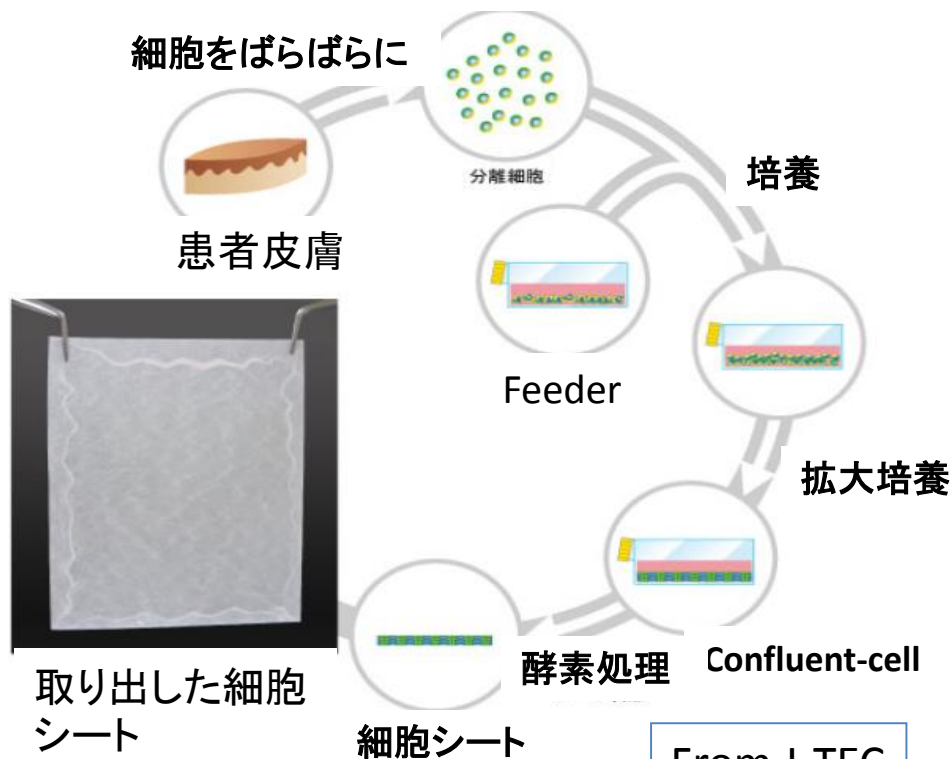
**FDA MSC Consortium MSCの特性指標:  
Cell Surface Marker Characterization Proposed in MSC-Based Product INDs**

Table 1 MSC-Based Product Phenotypic Marker Expression Proposed in MSC-Based Product INDs						
Usage RANK	Common Product Marker Name	% Usage	Range Described RANK	% with Range Described	Av. Min. % $\pm$ SD	Av. Max. % $\pm$ SD
1	CD45	91	2	58	0 $\pm$ 0	7 $\pm$ 6.84
2	CD105	73	1	67	88 $\pm$ 7.54	100 $\pm$ 0
3	CD90	61	3	36	87 $\pm$ 7.17	100 $\pm$ 0
4	CD73	52	4	29	86 $\pm$ 7.24	100 $\pm$ 0
5	CD34	48	7	21	0 $\pm$ 0	9 $\pm$ 6.56
6	CD14	47	6	24	0 $\pm$ 0	7 $\pm$ 7.00
7	HLA Class II	44	5	27	0 $\pm$ 0	9 $\pm$ 7.15
8	CD44	30	—	—	—	—
9	HLA Class I	26	10	14	74 $\pm$ 18.60	100 $\pm$ 0
10	CD29	24	—	—	—	—
11	CD106	23	—	—	—	—
12	CD19	21	—	—	—	—
13	CD80	21	—	—	—	—
14	CD86	21	—	—	—	—
15	CD166	20	8	18	92 $\pm$ 4.52	100 $\pm$ 0
16	CD10	18	—	—	—	—
17	CD146	15	9	15	67 $\pm$ 4.83	100 $\pm$ 0
18	CD40	15	—	—	—	—
19	CD11b	14	—	—	—	—
20	CD200	12	—	—	—	—



# 自家培養皮膚ジェイス (JACE)

- 米国グリーン教授の方法に準じて製造された自家培養表皮
- 適用疾患: 自家植皮のための患皮面積が確保できない重篤な広範囲熱傷。体表面積の30%以上の熱傷を適応対象。先天性巨大色素性母斑
- 採取皮膚組織: 最低1cm<sup>2</sup>以上
- 移植された自家培養表皮は、通常、1週間程度で生着し、3~4週で基底膜が完成、移植してから1年後には真皮と表皮の境界に緩やかな波状の表皮突起が形成されと考えられている



移植した細胞シートから幹細胞が増幅してきている可能性 ⇒ 長期の生着に寄与しているのでは

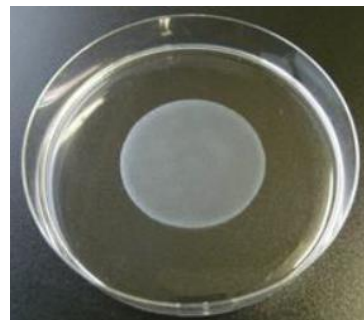


長期生着に寄与する細胞の特性解析の必要性

# ヒト(自己)骨格筋由来 細胞シート(ハートシート)

虚血性心疾患による重症心不全患者を対象とした再生医療製品  
患者自身の大腿部から骨格筋芽細胞(骨格筋のもとになる幹細胞)を採取し、試験管ないで培養増幅させる(細胞を増やす)。  
できた細胞をシート状にして患者の心筋の表面に貼り付ける  
貼り付けた細胞シートが心筋細胞になるわけではない(分泌された因子が心不全を回復させると考えている)

再生医療に用いる細胞は、患者自身の細胞を用いる自家細胞製品と他人の細胞を用いる他家細胞製品に分類することができる。自家細胞製品は拒絶反応がないという反面、完全オーダーメイド製品なので高コストになると予想され、また疾病を持つ患者さんからの細胞を摂取するために身体的負担が掛かる。さらに製造している間に感受の病状が進行することもある



骨格筋芽細胞シート

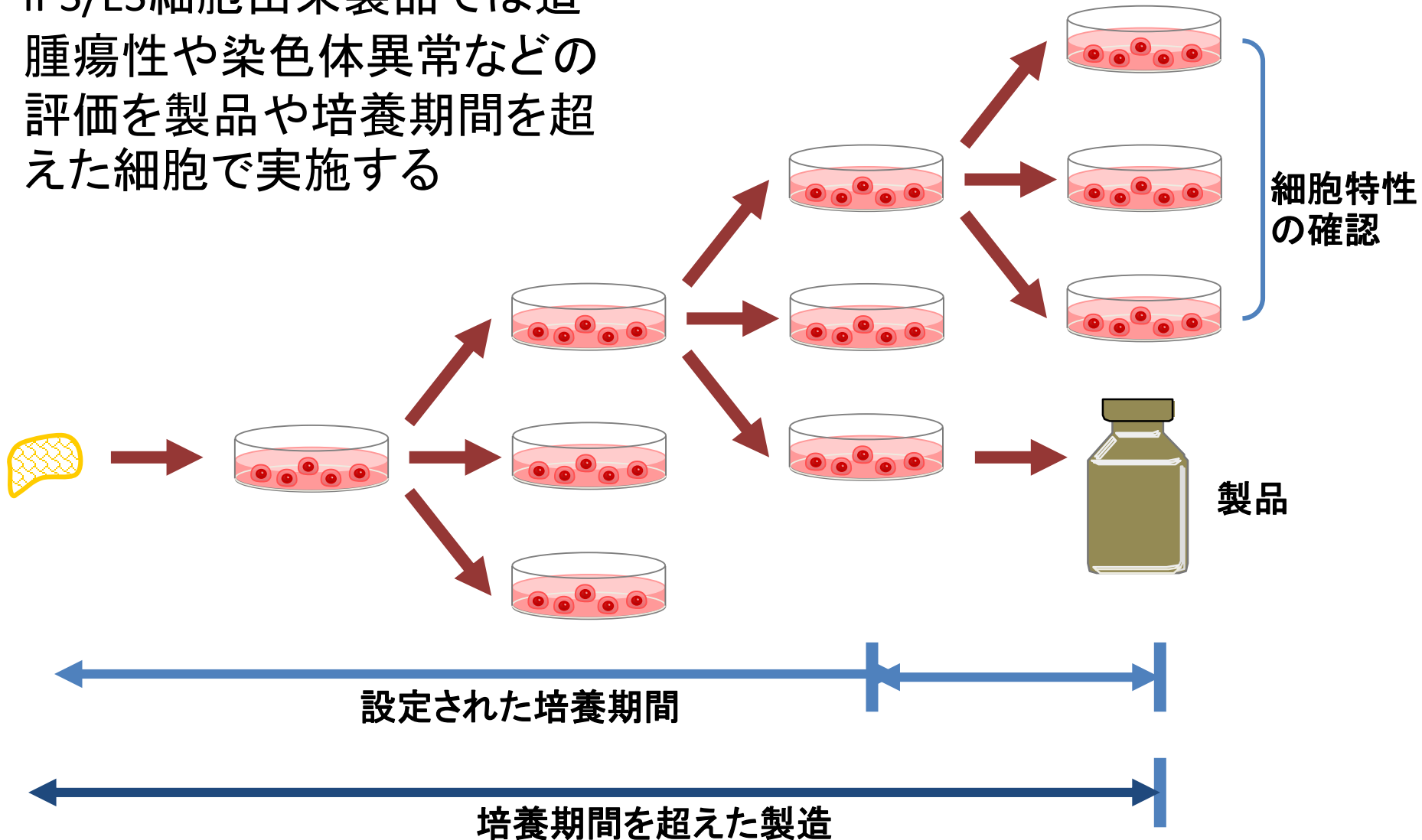
患者の心筋に貼り付ける

# 本日の話題

- 再生医療等製品に関する基準や指針
- 再生医療等製品の製法確立と特性解析
  - ウイルス安全性
  - 再生医療等製品の原材料の安全性
  - 製造工程での評価
  - 製品の特性解析
  - 最終製品の規格／試験法
- 遺伝子治療製品の製法確立・品質・安全性

# 培養期間を超えて培養した細胞の確認

iPS/ES細胞由来製品では造  
腫瘍性や染色体異常などの  
評価を製品や培養期間を超  
えた細胞で実施する



# 造腫瘍性試験

- 造腫瘍性リスクのある場合
  - 特性の幹細胞由来の細胞バンク、遺伝子改変細胞、長期に亘って培養した細胞
- 造腫瘍能の試験系
  - 軟寒天コロニー形成試験、フォーカス形成試験、成長因子非依存性増殖の有無(クローナリティー)、ヌードマウスへの皮下移植による造腫瘍性試験(WHO TRS878)
- 臨床投与を類似した部位への投与(FDA)
  - 必ずしも適切とは言えないかもしれない(眼内投与:被検量限界)
- 試験動物の選択、投与量、陽性コントロール
  - ヌードマウスを用いるより、さらに高感度な方法としてNOGマウス、NSGマウスを用いる系が考えられるが標準化されていない
  - 全ての腫瘍細胞が陽性となるわけではない
  - ワクチン製造での評価などと異なり投与量、投与部位、観察期間などについてコンセンサスが得られているわけではない

# iPS細胞／ES細胞の造腫瘍性試験

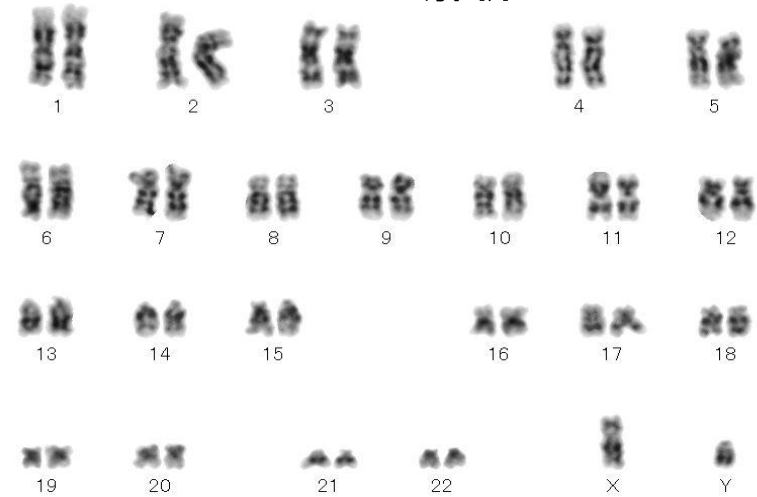
- **iPS細胞やES細胞は奇形腫を形成する細胞**
  - iPSやES細胞を用いた再生医療製品を開発する際に作製されたiPS細胞やES細胞ストックでの造腫瘍性試験と機能分化をさせた最終製品での造腫瘍性試験の意味は異なる
- **樹立したiPS細胞／ES細胞ストックでの試験**
- **ゲノム変異の解析**
  - 核型(G-バンド解析)、及び全エクソンの塩基配列の異常を解析
  - 既知発がん遺伝子における異常; がんゲノム変異データベース
  - iPS細胞では誘導に用いた遺伝子の染色体への挿入の有無
  - ゲノムの不安定性
  - 必要であればホールゲノム配列の確認
- **iPS細胞／ES細胞由来細胞組織加工製品の試験**
  - 最終製品の試験では少量しか含まれない未分化細胞を検出できることを評価する必要
  - 最終製品を未分化多能性幹細胞培養条件に戻して培養してiPS細胞等のコロニーが出現しないことの確認
  - 軟寒天コロニー形成試験、フォーカス形成試験、成長因子非依存性増殖アッセイ、ヌードマウスへの皮下移植(感度の十分性の評価が必要)

# 製造工程を通じた細胞特性の安定性

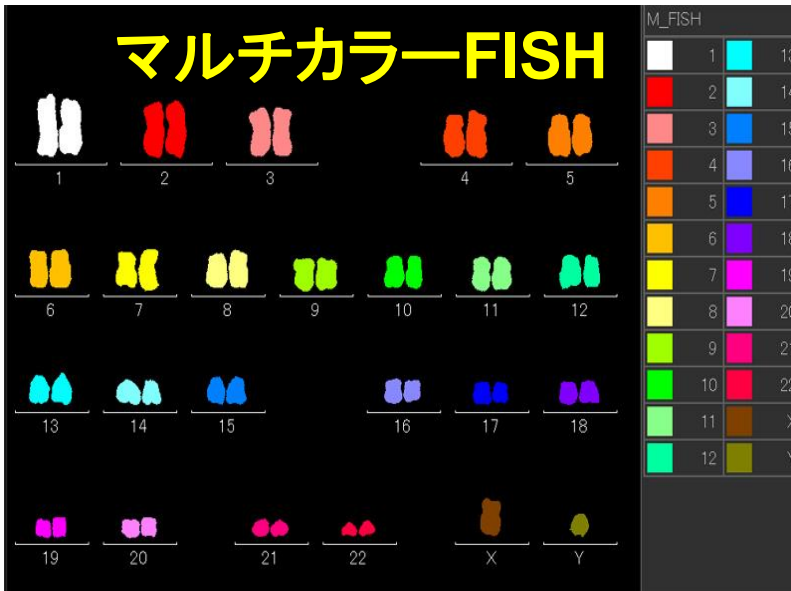
## 遺伝的安定性

- G-バンド解析
- Q-バンド解析
- m-FISH
- Comparative Genomic Hybridization CGH
- SNP変異解析
- 全ゲノム解析

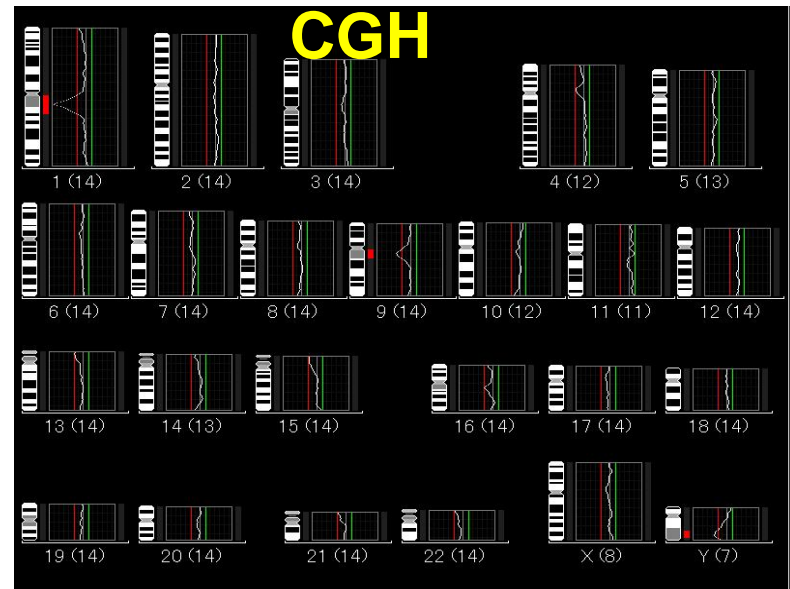
## Gバンド解析



## マルチカラーFISH



## CGH



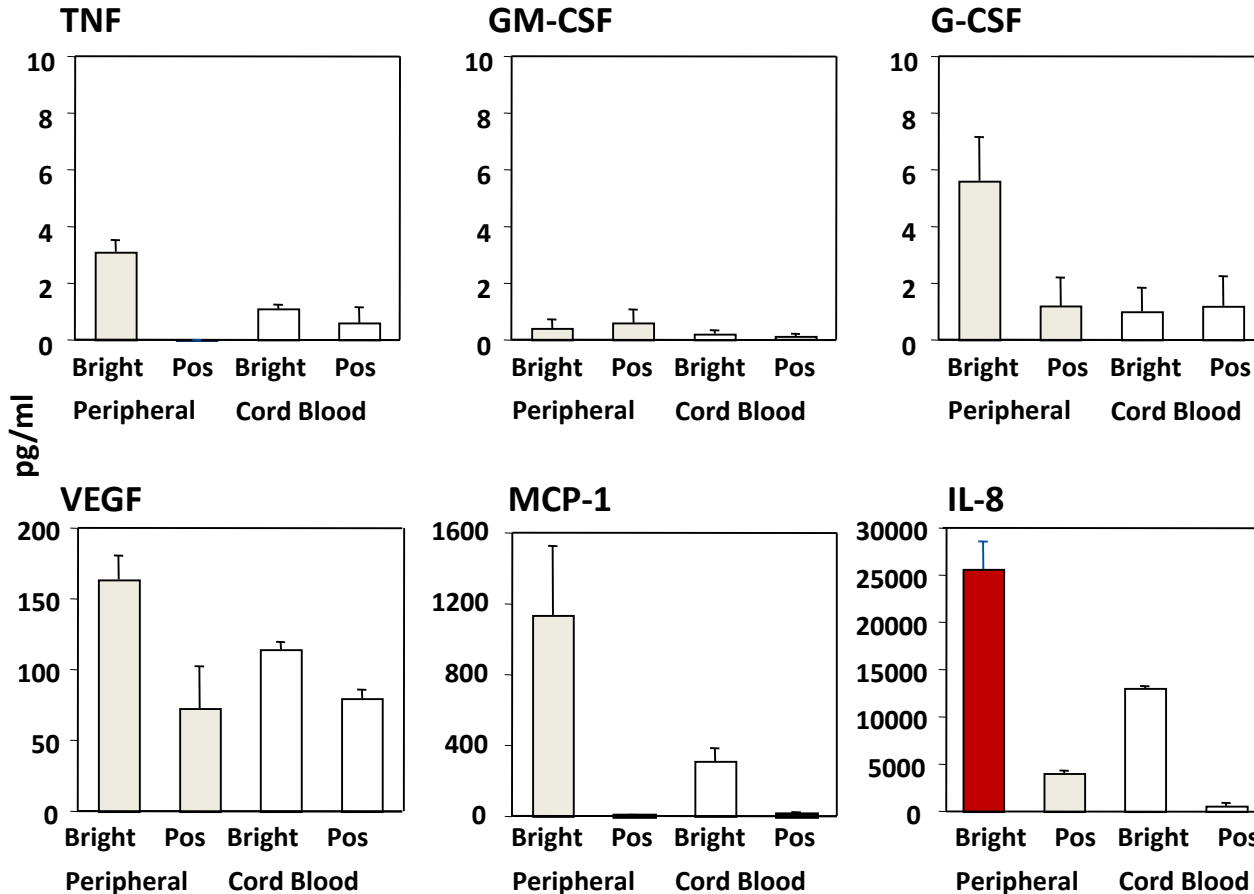
# 本日の話題

- 再生医療等製品に関する基準や指針
- **再生医療等製品の製法確立と特性解析**
  - ウイルス安全性／再生医療等製品の原材料の安全性
  - 製造工程での評価
  - 製品の特性解析
  - **最終製品の規格／試験法**
- 遺伝子治療製品の製法確立・品質・安全性



# 細胞特性解析: サイトカインや増殖因子産生能

## 血管内皮前駆細胞が放出するサイトカインの解析



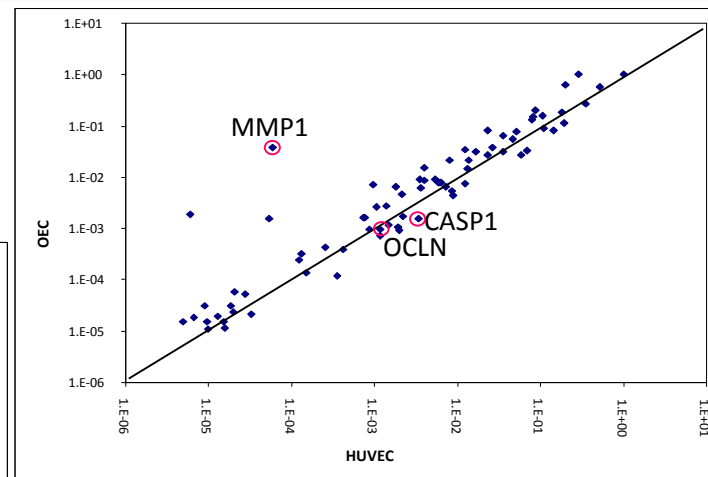
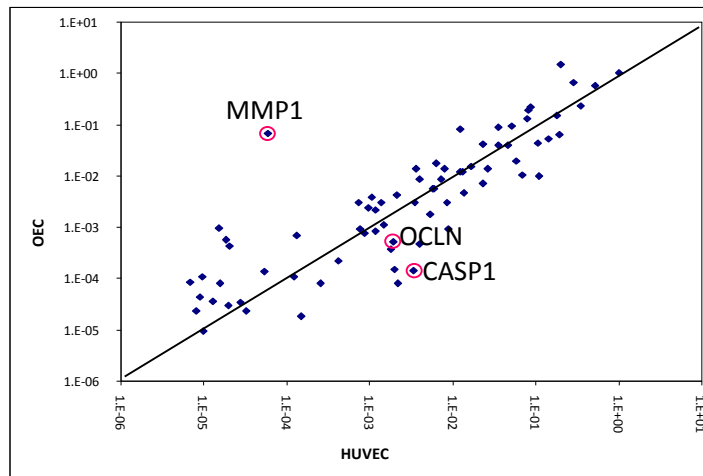
- 有効性及び安全性の面から評価をする必要がある
- 細胞の産生能は刻一刻と変化している
- **有効成分と考えられる場合には出荷規格として設定**

- 血管内皮前駆細胞が産生する血管内皮細胞により血管形成を促進する可能性
- 細胞が分泌するサイトカインや増殖因子の役割

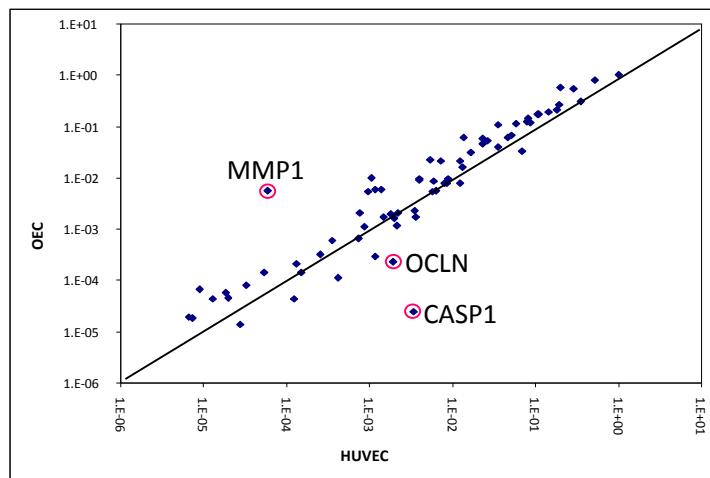
# 細胞特性解析：特定遺伝子発現

## 遺伝子発現比較結果

S222 (管腔形成能 中)



S3 (管腔形成能 低)



- 管腔形成に関わる遺伝子の探索
- 製法開発における培養条件の最適化

開発対症である細胞に求めるその機能に関連する品質特性、生物活性を、表現系をあきらかする

# 最終製品の品質管理

- (1) 細胞数並びに生存率
- (2) 確認試験
- (3) 細胞の純度試験
- (4) 細胞由来の目的外生理活性物質の試験
- (5) 製造工程由来不純物試験
- (6) 無菌試験及びマイコプラズマ否定試験
- (7) エンドトキシン試験
- (8) ウイルス試験
- (9) 効能試験
- (10) 力価試験
- (11) 力学的適合性試験

- 全ての品質管理項目の実施を求めている
- 恒常性が担保されていれば最終製品ごとの試験が不要の場合も
- 中間工程試験で品質・安全性を担保できれば最終製品での試験は不要

# 想定される細菌感染症

## 米国の病院での汚染菌のサーベイ結果

- コアグララーゼ陰性ブドウ球菌(31%)、黄色ブドウ球菌(20%)、エンテロコッカス属菌(9%)、カンジダ属菌(5%)、E.coli(3%)、クレブシエラ属菌(2%)、緑膿菌(2%)

The Pew Charitable Trust. Report on US. Illness and death associated with compounded medicines. September 06, 2014

## 2006～2016年：輸血後細菌感染症の発症状況（日赤 医薬品情報）

- Staphylococcus aureus(黄色ブドウ球菌)(3件), Streptococcus dysgalactiae ssp. equisimilis(G群溶血性レンサ球菌)(3件), Streptococcus agalactiae(B群レンサ球菌),
- Staphylococcus pyogenes(A群溶血性レンサ球菌), Serratia marcescens(セラチア)
- Escherichia coli(大腸菌), Citrobacter koseri

## 各種迅速試験法の特徴 — 測定原理、検出限界等

代表的な検出法	技術要件	検出限界 (cfu/ml)	解析に要する時間	サンプルサイズ(ml)	長所と欠点
グラム染色	クラシカルな染色	$10^4 \sim 10^5$	30分	0.1	
バクトアラート	呼吸法(CO <sub>2</sub> 測定)	1-10	ON～7日間	5-10	高価、生細菌測定
ScanRDI システム	固相サイトメトリー	1-10	2-3 時間	1-500	特殊機器
Milliflex迅速系	ATP検出法	1-10	5-7 日間	1-500	
FACS 解析	フローサオトメトリー解析	10-100	6-8 時間	0.1-2	汎用機器
PCR(多数の核酸増幅法)	核酸増幅法	1-100	2-4 時間	0.2-2	迅速、高感度、儀陽性、汚染リスク
TAM V	マイクロカロリーメトリー	1-10	2-7 日間	1	特殊機器

# マイコプラズマ試験法改正の背景\_\_日局17

2014年6月に公表\*・パブコメ、2016年3月7日厚生労働省告示第64号

## ■主な改正点:C法(PCR法)の全面改正

### C. 核酸増幅法(NAT)

■16局:特定のプライマーを用いたPCR法の例示

⇒NATのバリデーション法の提示(様々な手法が利用可能)

■C法の位置づけを改正:「培養法(A法)」と「指標細胞を用いたDNA蛍光染色法(B法)」による試験を実施する。ただし、適切なバリデーションを実施することにより、C法をA法やB法の代替法として用いることができる。

■欧米薬局方との国際調和、生物学的製剤基準との調和

■同等性試験を実施し、NATとA法又はB法の検出感度を比較

NATをA法、B法の代替法とする場合

A法を代替する場合:

7種のマイコプラズマ全てについて10 CFU/mLを検出可能なことを示す

B法を代替する場合:

7種のマイコプラズマ全てについて100 CFU/mLを検出可能なことを示す

\*[http://www.pmda.go.jp/public/pubcome\\_201406\\_2/file/029-1406.pdf](http://www.pmda.go.jp/public/pubcome_201406_2/file/029-1406.pdf)

日本薬局方フォーラム23 (2), 145-149 (2014)

# 細胞及び測定市販キットの比較

## 細胞

Vero細胞(JCRB細胞バンクJCRB0111)

Mesenchymal stem cell(MSC; Lonza)

CHO-DG44細胞(Life Technologies)

## マイコプラズマ測定市販製品

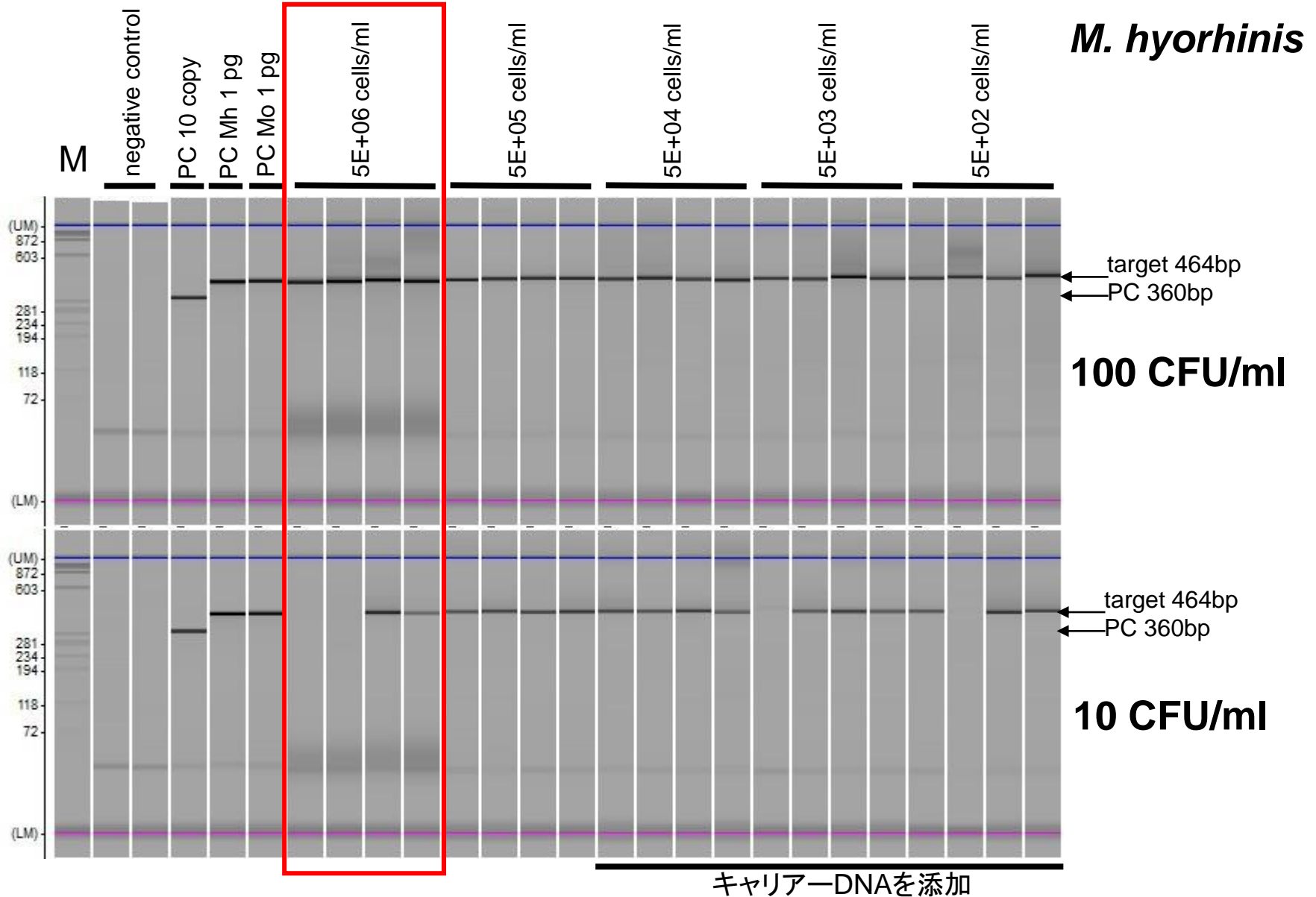
MycotoOL PCR Mycoplasma Detection Prep Kit (Roche Diagnostics)

MycotoOL Mycoplasma Real-Time PCR Kit (Roche Diagnostics)

Mycoseq Mycoplasma Detection Kit (Life Technologies)

キット名		MycotoOL (PCR)	MycotoOL (real-time PCR)	Mycoseq
会社		Roche Diagnostics		Life Technologies
特化		CHO-DG44		特にない
抽出	沈殿媒体	1E+05 cells/ml以下の場合、沈殿媒体の使用が推奨(オプション)		マイコプラズマゲノムDNAを結合できる磁石ビーズ(常備)
	推奨検体量	1 ml		10 ml
	細胞濃度上限	5E+06 cells/ml		1E+06 cells 1E+06 cells以上 2E+08 cells以下の場合、細胞を取り除き上清を使用
核酸増幅	ターゲット	16S rRNA	16S rRNA	非公開
	配列	公開	非公開	非公開
	real-time PCR原理	-	probe法	インターカレーター法 SYBR Green I 46
公表検出下限		< 10 CFU/ml	< 10 CFU/ml	< 10 CFU/ml

# 細胞変更によるマイコプラズマ検出への影響\_\_ヒトMSCの場合



# まとめ

- 新法の制定により再生医療等製品は医薬品とは別枠の製品とされたが品質や安全性に対する考え方が変わったわけではない
- 生きている細胞という非常に不安定で刻一刻と変化する細胞を一定の品質を担保して製造するための製法管理の重要性
- 特にウイルス等の感染因子に対する安全性確保の重要性
- 通常の医薬品と異なり、製造後の有効期間の短い再生医療等製品の出荷試験については合理的な考え方を適用することが望ましい: そのための基礎的データを取得しておくことの重要性
- 迅速試験法の適用による安全性確認の有用性. 迅速試験で投与の判断を行った場合に、通常の試験による無菌性の確認が望ましい



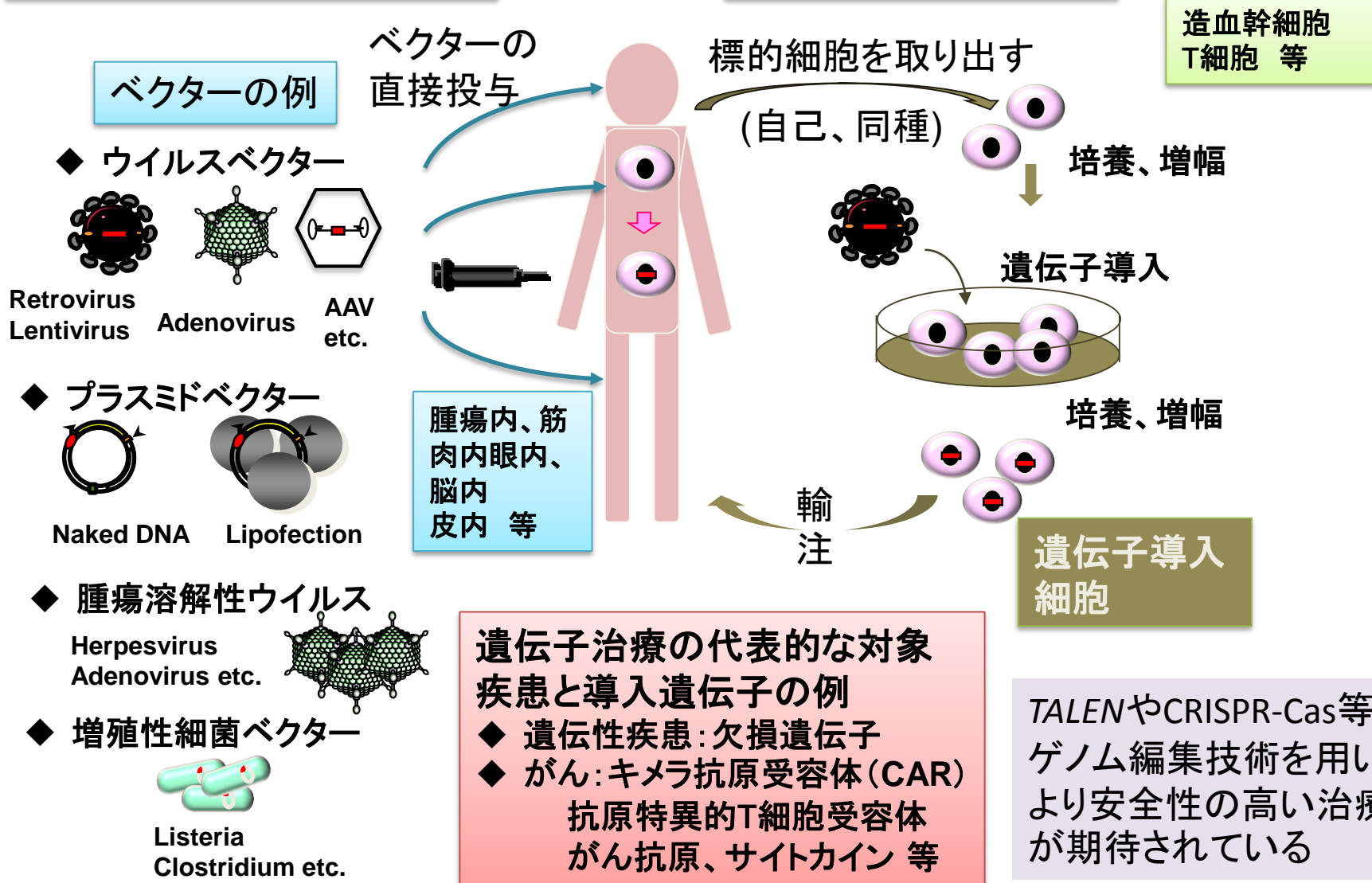
# 本日の話題

- 再生医療等製品（遺伝子治療製品）に関する基準や指針
- 再生医療等製品の製法確立と特性解析
  - ウイルス安全性／再生医療等製品の原材料の安全性
  - 製造工程での評価
  - 製品の特性解析
  - 最終製品の規格／試験法
- **遺伝子治療製品の製法確立・品質・安全性**

# 遺伝子治療用製品の種類と遺伝子治療の方法

## 遺伝子治療用ベクター製品 (in vivo 遺伝子治療)

## 遺伝子導入細胞製品 (ex vivo 遺伝子治療)



# 遺伝子治療ベクターと臨床適用

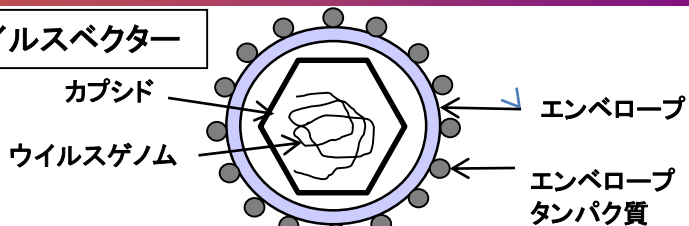
- 遺伝子治療ベクターとして用いられるもの
  - ウイルスベクター
    - 非増殖性
    - 増殖性ベクター(腫瘍溶解性ウイルス等)
  - プラスミド
  - 細菌ベクター(腫瘍溶解性組換え細菌)
  - mRNAやタンパク質+ガイドRNA(CRISPR/CAS9): 遺伝子を用いない遺伝子改変が可能に
- ベクターとしての特徴
  - 染色体への挿入(インテグラーゼ活性をもつ)
  - 核内での遺伝子発現(アデノウイルスベクター、プラスミド)
  - 核外での遺伝子発現(センダイウイルスベクター)



Ex vivo遺伝子導入 ⇔ ヒトへの直接投与

# 主な遺伝子治療用ベクターの構造例

## レトロウイルスベクター

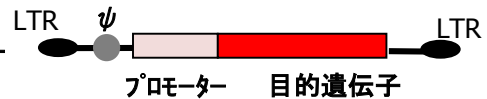


### ウイルスゲノムの構造

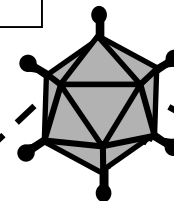
野生性  
レトロウイルス



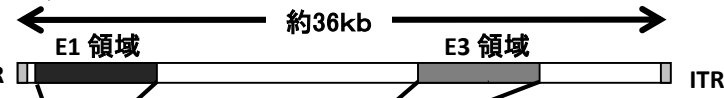
非増殖性  
レトロウイルスベクター



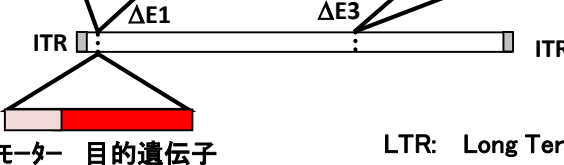
## アデノウイルスベクター



野生型  
アデノウイルス



非増殖性  
アデノウイルスベクター

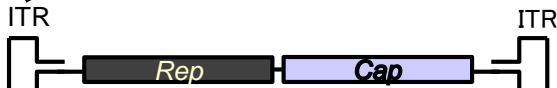


LTR: Long Terminal Repeat  
ψ: パッケージングシグナル  
ITR: Inverted Terminal Repeat

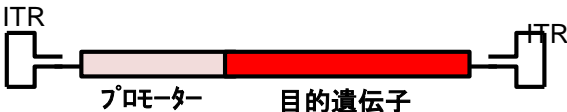
## アデノ随伴ウイルス (AAV) ベクター



野生型 AAV

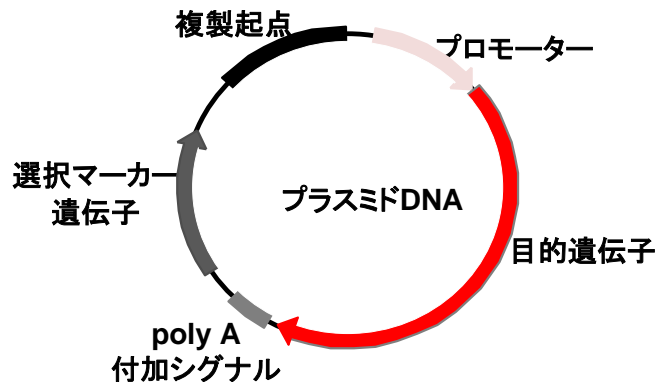


AAV ベクター

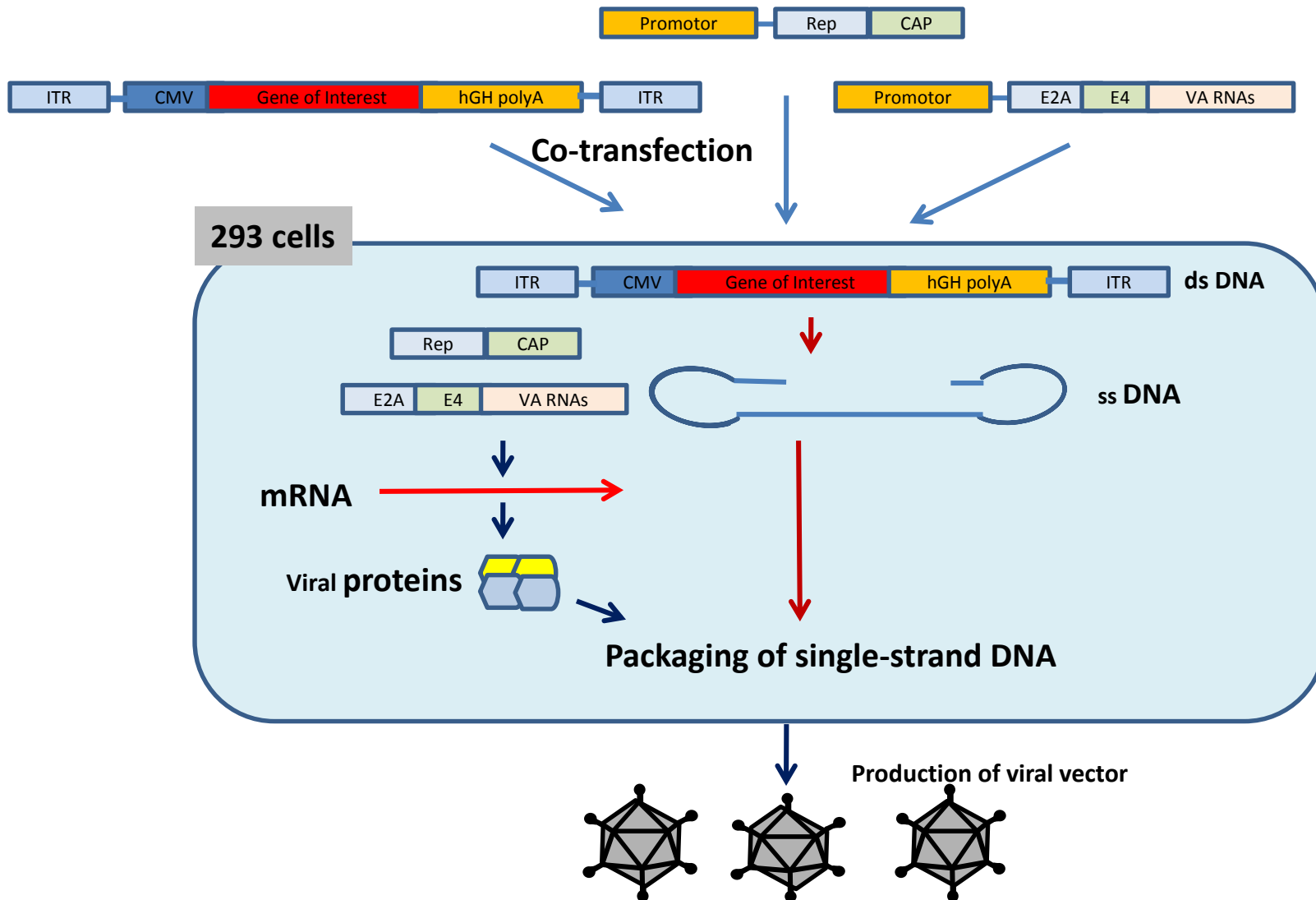


約4.7kb

## プラスミドベクター

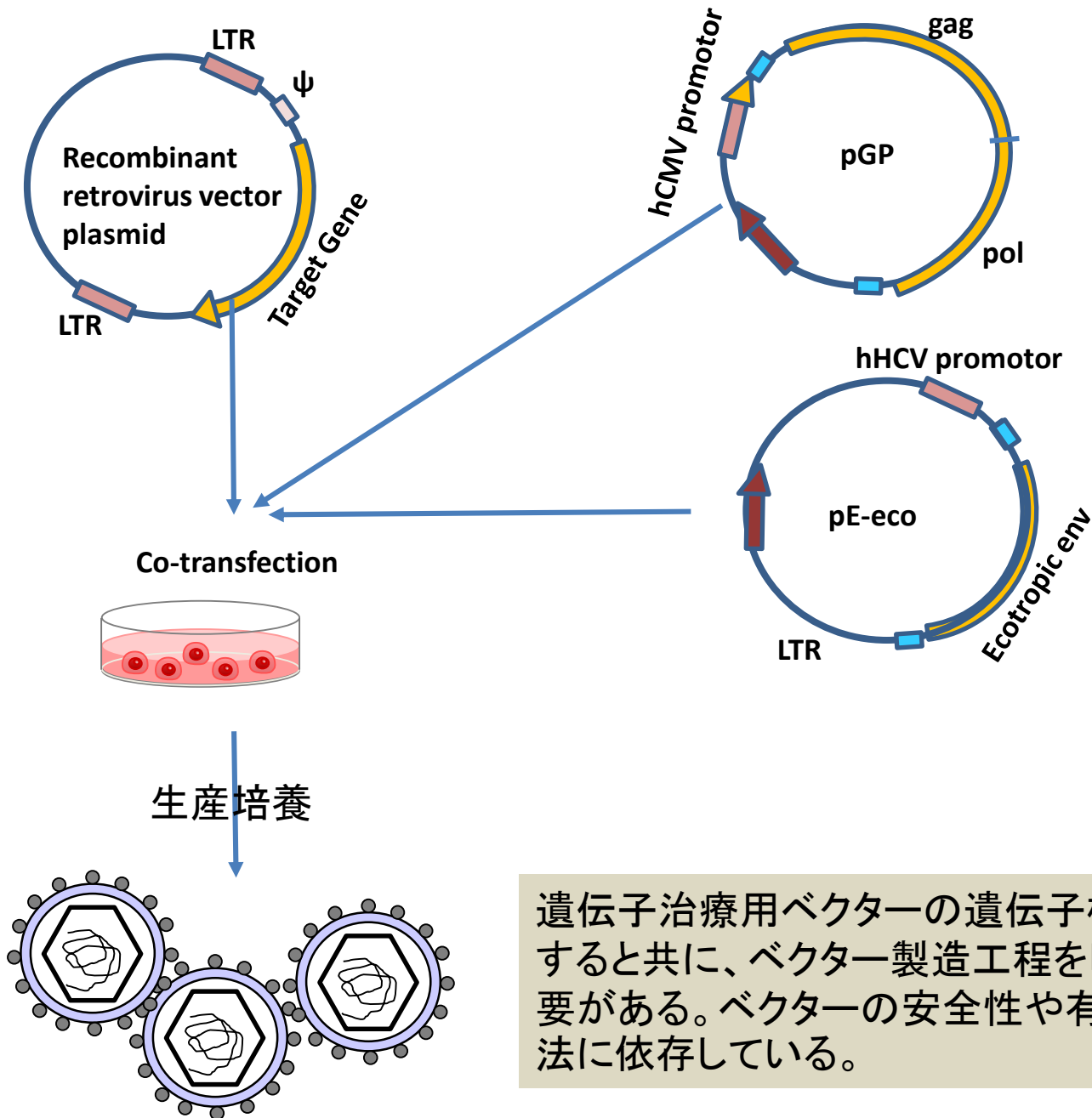


# ウイルスベクターの製造スキーム AAVやAdV



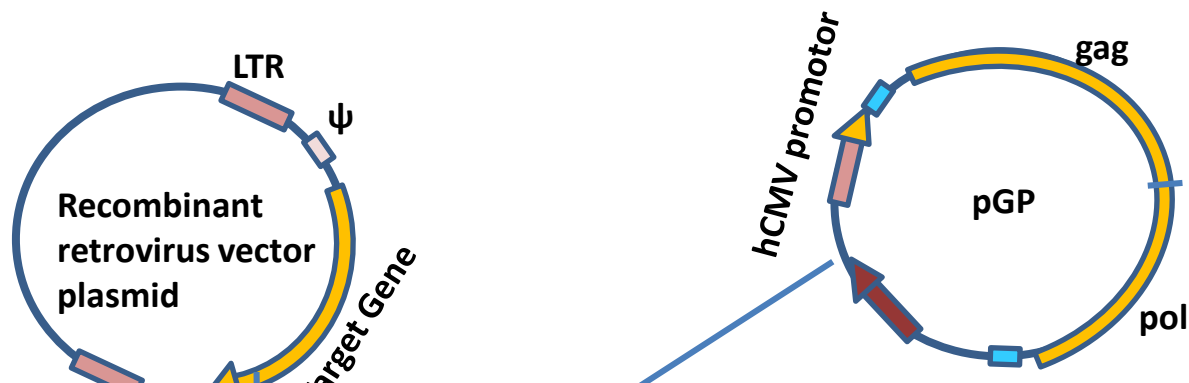
遺伝子治療用ベクターの遺伝子構造を明らかにすると共に、ベクター製造工程を明らかにする必要がある。ベクターの安全性や有効性は製造方法に依存している。

# レトロウイルスベクターの製造スキーム



遺伝子治療用ベクターの遺伝子構造を明らかにすると共に、ベクター製造工程を明らかにする必要があります。ベクターの安全性や有効性は製造方法に依存している。

## Retoro ウイルスベクターの製造スキーム



製造工程において遺伝的変異が起きる可能性 ⇒ ベクターの遺伝子配列解析  
製造に用いる生産細胞がウイルスに汚染されている可能性

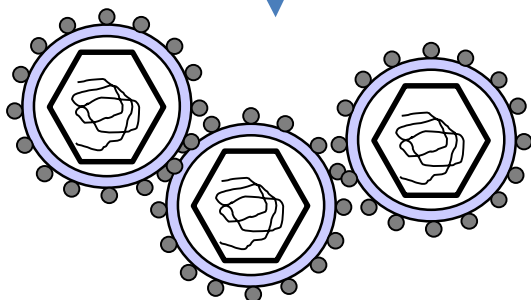
製造工程中に外来性ウイルスが迷入する可能性

⇒ ウイルス試験

⇒ 増殖性ウイルスベクターを用いる場合には目的とするウイルスベクター  
がウイルス試験を妨害する可能性 ⇒ 目的ウイルスに対する中和抗体を使用  
してウイルス試験を実施

相同組換えにより増殖性ウイルスが出現する可能性 ⇒ 増殖性ウイルス試験

生産培養



遺伝子治療用ベクターの遺伝子構造を明らかにすると共に、ベクター製造工程を明らかにする必要がある。ベクターの安全性や有効性は製造方法に依存している。

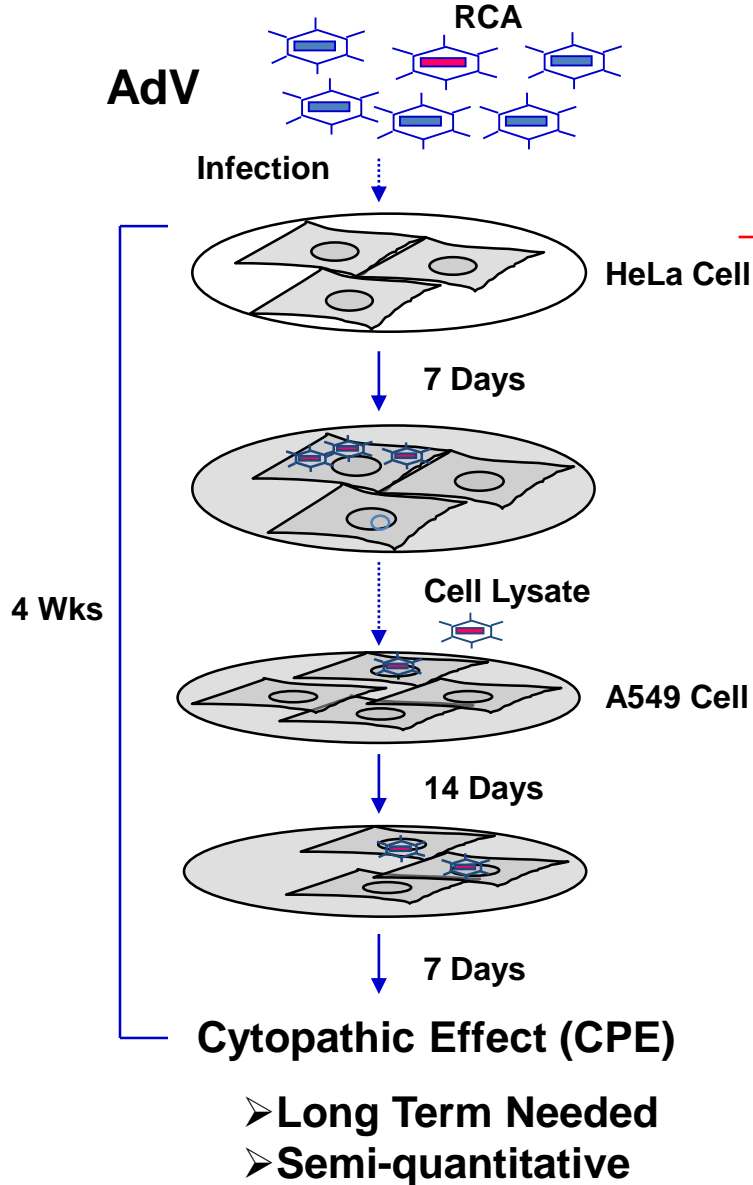
# 生産したベクターのウイルス安全性等

- バンク化した生産細胞のICH Q5Aを参考としてウイルス試験
- 培養後のバルクハーベストでの迷入ウイルス試験
  - インビトロウイルス試験
    - 例えばヒト細胞を用いる場合、MRC-5、Vero細胞、HEK293細胞などを用いて細胞傷害性(CPE)や赤血球凝集反応などを指標として感染性ウイルスの検査
  - 特に懸念されるウイルスについてNATによる検査
  - 感染性の検出ではウイルスベクターとの競合が起こる可能性がある
- バルクハーベストでの増殖性ウイルス否定試験
- ウイルスベクターの製造工程由来不純物の試験



# RCAの検出法: CPE法とInfectivity PCR法

## <Conventional Cell Culture / CPE Method>



## <Infectivity PCR>

1~9 Days

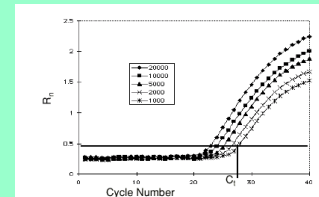
**Cell Pellet**



**DNA Extraction by  
Glass Beads**

**Quantification of E1 DNA  
by Quantitative PCR**

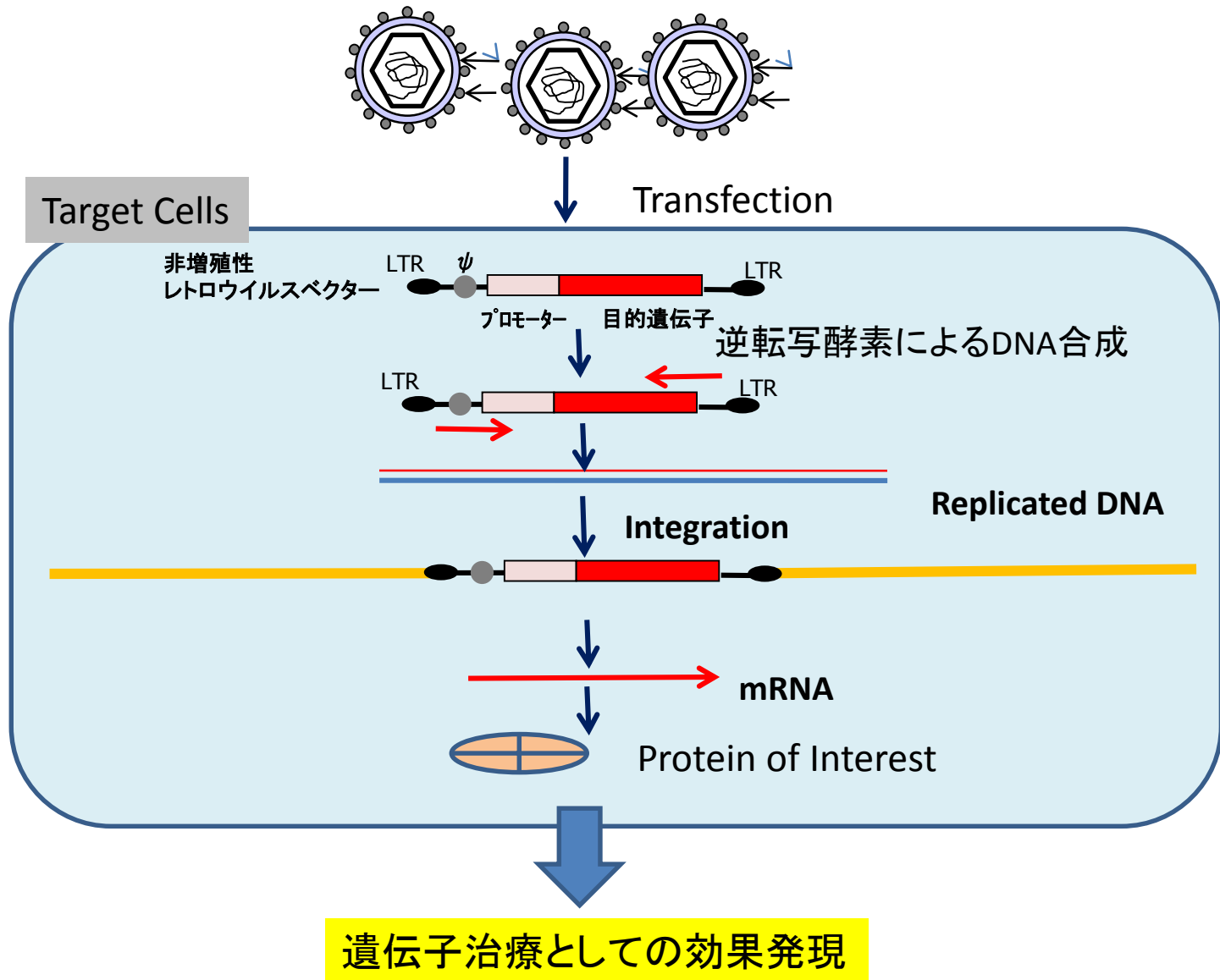
1~2 Days



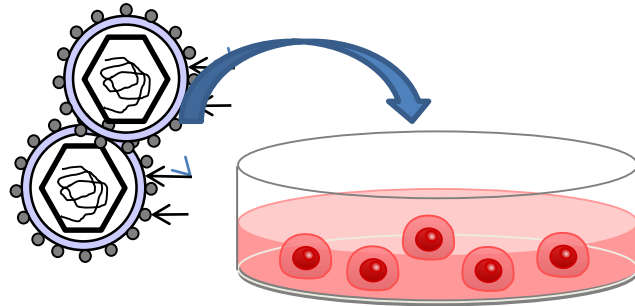
**Sensitivity : 1 pfu in Starting Materials**

- ✧ Rapid
- ✧ Sensitive
- ✧ Quantitative

# ウイルスベクターによる細胞の遺伝子改変



# 遺伝子治療ベクターの品質特性評価



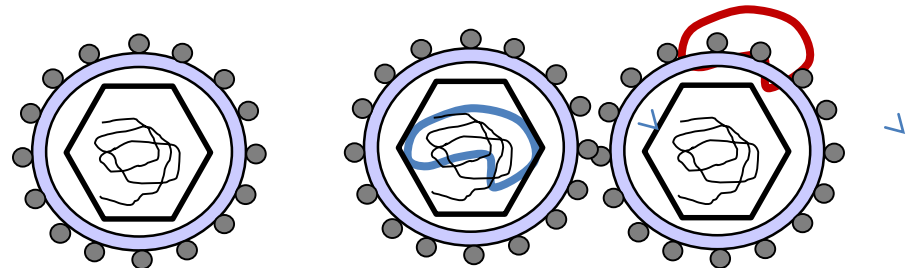
感染効率  
目的遺伝子の発現効率  
遺伝子発現の持続性

ウイルス粒子数(電顕  
やqPCR)

感染性/粒子数  
(感染性のない  
ウイルス粒子  
の評価)

- 目的遺伝子の発現
- ウイルスベクターに混入した宿主遺伝子断片等
- 電顕観察によりウイルス遺伝子をもつ粒子とカラの粒子の評価
- 感染可能な細胞の評価(ウイルスベクターの細胞指向性)
- レーザ回折・散乱法粒子径分布測定による粒子径分布の測定
- 増殖性ウイルスの測定 RCAはウイルス粒子 $3 \times 10^{10}$ に1個以下

- 迷入ウイルス
- 無菌試験
- マイコプラズマ否定試験
- エンドトキシン



製造に用いたプラスミド( )や宿主遺伝子断片( )の混入

# ウイルスベクターにより挿入変異による造腫瘍性リスク

免疫不全マウスを用いた造腫瘍性試験

→ X-SCIDでの発ガンには3-5年以上の年月を要している

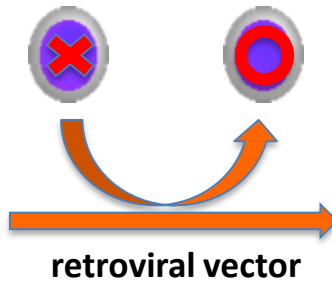
→ 長期フォローアップの重要性

## レトロウイルスベクターの挿入変異によるがん化

X-SCID遺伝子治療:造血幹細胞を使用した理想的な遺伝子治療



CD34陽性細胞

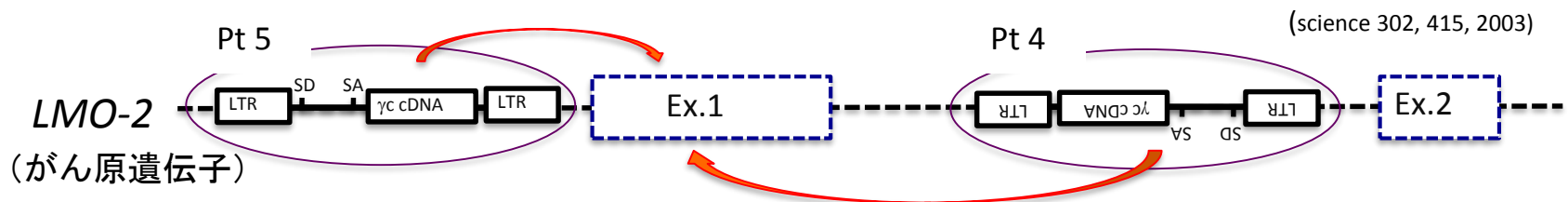


After his gene therapy, he was running around at home

- He is a normal little boy now -

(science, 2000)

### LMO-2遺伝子座への挿入による白血病の発症



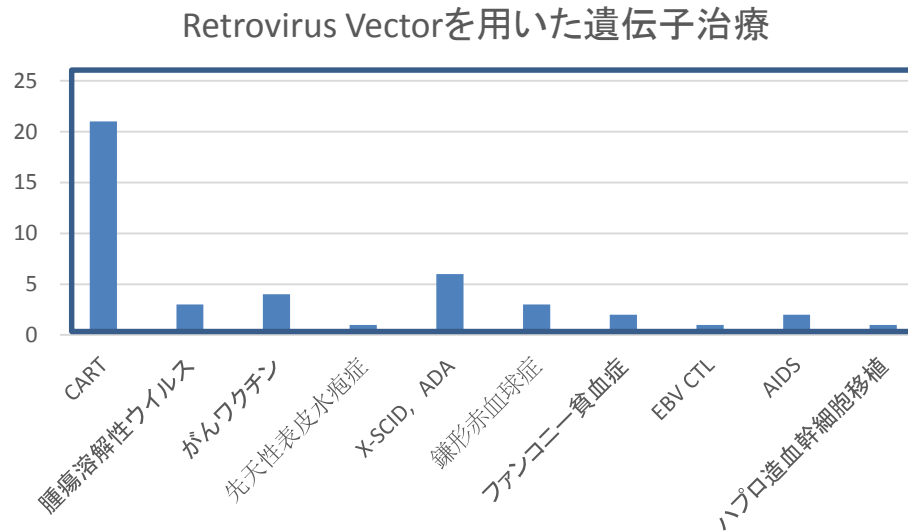
# 慢性肉芽腫症に対する造血幹細胞を標的とした遺伝子治療臨床研究でのMDS発症(2017年7月)

- 我が国で実施されている慢性肉芽腫症(CGD)の遺伝子治療において骨髄異形成症候群(MDS)の発症が認められた。
- レトロウイルスベクターを用いた造血幹細胞をターゲットとし遺伝子治療
- 海外でもレトロウイルスベクターを用いたCGD遺伝子治療においてMDSの発症が報告されていた
- 海外のCGD遺伝子治療においてもMDS発症が認められていたが、今回用いられているレトロウイルスベクターは、これまでMDSの発症が認められていないベクターであった
- レトロウイルスベクターががん遺伝子であるEVI1をコードするMECOM( MDS1 and EVI1 complex locus )<3q26.2> )に挿入されている細胞のクローナルな増殖が認められた

**発ガンは造血幹細胞を対象としたレトロウイルスベクターを用いたex-vivo遺伝子治療でのみ起こっている(体細胞遺伝子治療では造腫瘍性は知られていない)**

# 体性幹細胞を対象としたレトロウイルス遺伝子治療の挿入変異やがん化の評価

- 間葉系幹細胞や脂肪幹細胞のレトロウイルスベクター（インテグラーゼ活性を持つベクター）の挿入変異のリスク



CART等のCTL遺伝子治療において最も多くレトロウイルスベクターが使用されている。一方で先天性希少疾患の治療において造血幹細胞を含めた体性幹細胞治療にもレトロウイルスベクターが使用されている（挿入変異の評価や長期フォローアップが必要）。

# FDAの遺伝子治療長期フォローアップGL

- ベクターごとのリスクに応じたフォローアップ対策
- 基本的なフォローアップ期間としては15年。最初の5年間は毎年の検査を実施し、残り10年間は定期的な問診を行う
- 長期に渡る遅発性有害事象に関しては、全ての遺伝子治療薬が同じリスクを持つわけではない
- 極めて予後の悪い患者、病状の重い患者、発ガン性のある治療薬を投与されている患者などに同様のフォローアップを適用することは困難
- それぞれの遺伝子治療薬の特性に応じたフォローアップを行う必要がある
- 遅発性有害事象のリスクが極めて低いケースでは長期フォローアップを求めない

## モニタリング対象

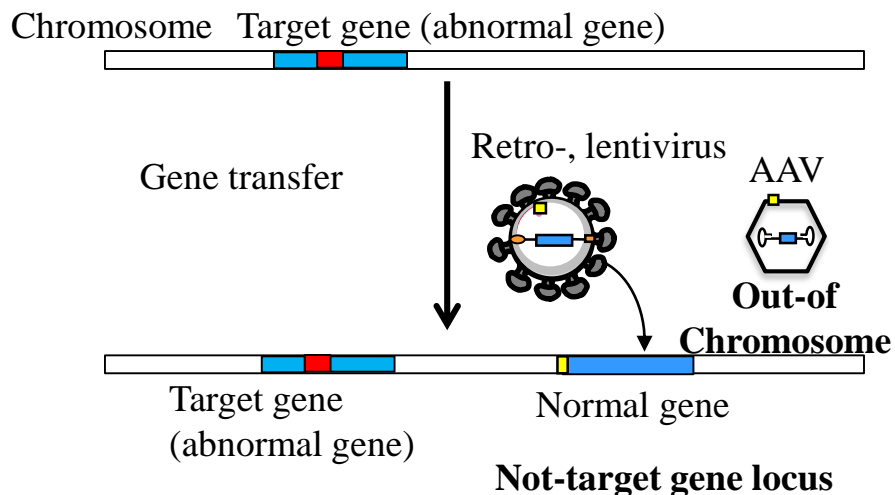
- レトロウイルスベクターによる発癌
- De novo 由来がんの発症の有無
- 神経疾患の発症の有無
- リウマチ性疾患の発症の有無
- 免疫性疾患／血液疾患の発症の有無等を含める

## 他局の対応

- 有害事象の長期フォローアップに関しては、各極ごとにモニタリング体制が求められている
- 他の地域(EUで開発されている遺伝子治療薬をFDAに)への治験申請する場合も想定され、議論の継続により基本原則の調和が達成されることが望ましい

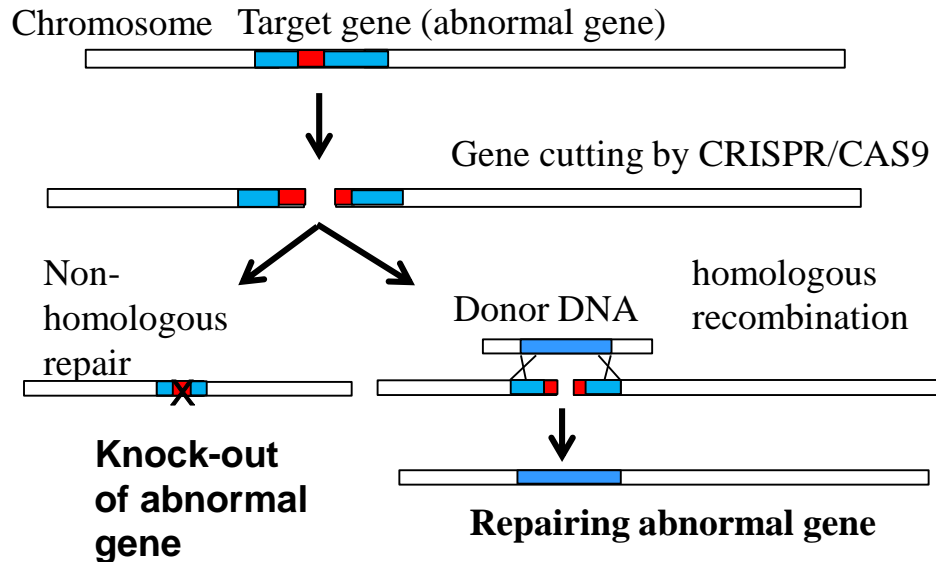
# 究極の遺伝子治療としてのゲノム編集への期待

## Traditional gene therapy



- Gene addition or complement
- No change of abnormal gene
- Difficult to control the insertion
  - ➔ Risk of tumor
- Difficult to control the expression of gene

## Gene therapy using gene-editing



- Repair the abnormal gene or knock-out  
(for congenital gene disease)
- 異常遺伝子の変異を修復 (究極の遺伝子治療)
- がん化を生じない安全な部位への遺伝子導入
- 遺伝子の発現調節も可能

従来の遺伝子治療では実現できない治療が可能  
染色体切断に伴う副作用の可能性



# 「遺伝子治療等臨床研究に関する指針」の問題点

## 第一章 総則

### 第二 用語の定義

一 この指針において「**遺伝子治療等**」とは、疾病の治療や予防を目的として**遺伝子又は遺伝子を導入した細胞を人の体内に投与すること**をいう。

- ウイルスベクターやプラスミドを用いるゲノム編集
- 外来遺伝子を導入するゲノム編集

遺伝子治療

- ゲノム編集用酵素をタンパク質やmRNAで導入
- ガイドRNAにオリゴRNA、塩基の書換えにオリゴDNAを用いたゲノム編集

現行指針・Q&A  
では対象外

指針に基づく審査  
が行われない

## 医薬品医療機器総合機構(PMDA)科学委員会

ゲノム編集に関する専門部会を設置

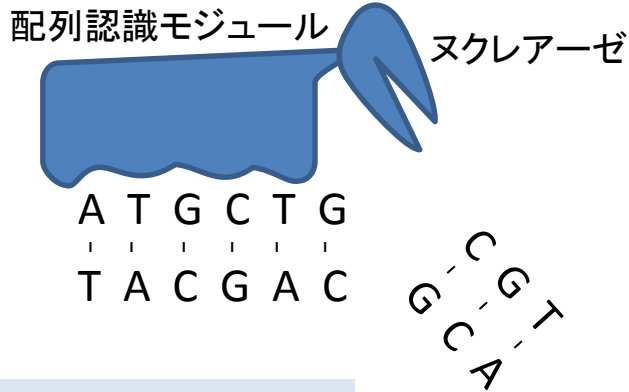
2019年度内にゲノム編集についてのコンセプトペーパーの作成

# Clinicaltrial.govに登録済のゲノム編集臨床試験

受理年	対象疾患	状況	ゲノム編集の種類、導入法			標的細胞・組織・臓器	標的遺伝子	ゲノム編集目的	治験段階
			ZFN	アデノ	ex vivo				
2009	HIV	終了	ZFN	アデノ	ex vivo	T細胞	CCR5	KO	Phase 1
2010	HIV	終了	ZFN	アデノ	ex vivo	T細胞	CCR5	KO	Phase 1
2010	HIV	終了	ZFN	アデノ	ex vivo	T細胞	CCR5	KO	Phase 1/2
2012	HIV	実施中	ZFN	アデノ	ex vivo	T細胞	CCR5	KO	Phase 1/2
2014	HIV	実施中	ZFN	mRNA	ex vivo	T細胞	CCR5	KO	Phase 1/2
2015	HIV	リクルート中	ZFN	mRNA	ex vivo	造血幹細胞	CCR5	KO	Phase 1
2015	HIV	リクルート中	ZFN	mRNA	ex vivo	T細胞	CCR5	KO	Phase 1
2016	血友病B	リクルート中	ZFN	AAV	in vivo	肝臓	アルブミン座	遺伝子導入	Phase 1
2016	ムコ多糖症1型	未実施	ZFN	AAV	in vivo	肝臓	アルブミン座	遺伝子導入	Phase 1
2016	ALL、CML	リクルート中	TALEN	mRNA (CARはレンチ)	ex vivo	T細胞	TCR, CD52	KO (UCART19)	Phase 1
2016	非小細胞肺癌	実施中	CRISPR		ex vivo	T細胞	PD-1	KO	Phase 1
2016	子宮頸部前がん病変	未実施	ZFN	plasmid	in vivo	子宮頸部	HPV	KO	Phase 1
2016	小児ALL	リクルート中	TALEN	mRNA (CARはレンチ)	ex vivo	T細胞	TCR, CD52	KO (UCART19)	Phase 1
2016	膀胱がん	未実施	CRISPR		ex vivo	T細胞	PD-1	KO	Phase 1
2016	腎細胞がん	未実施	CRISPR		ex vivo	T細胞	PD-1	KO	Phase 1
2016	前立腺がん	未実施	CRISPR		ex vivo	T細胞	PD-1	KO	Phase 1
2017	ムコ多糖症2型	未実施	ZFN	AAV	in vivo	肝臓	アルブミン座	遺伝子導入	Phase 1
2017	EBウイルス性腫瘍	未実施	CRISPR		ex vivo	T細胞	PD-1	KO	Phase 1
2017	パピローマウイルス性子宮頸部上皮内部腫瘍	未実施	TALEN, CRISPR	plasmid	in vivo	子宮頸部	HPV16, HPV18 E7	KO	Phase 1
2017	食道がん	リクルート中	CRISPR		ex vivo	T細胞	PD-1	KO	Phase 2

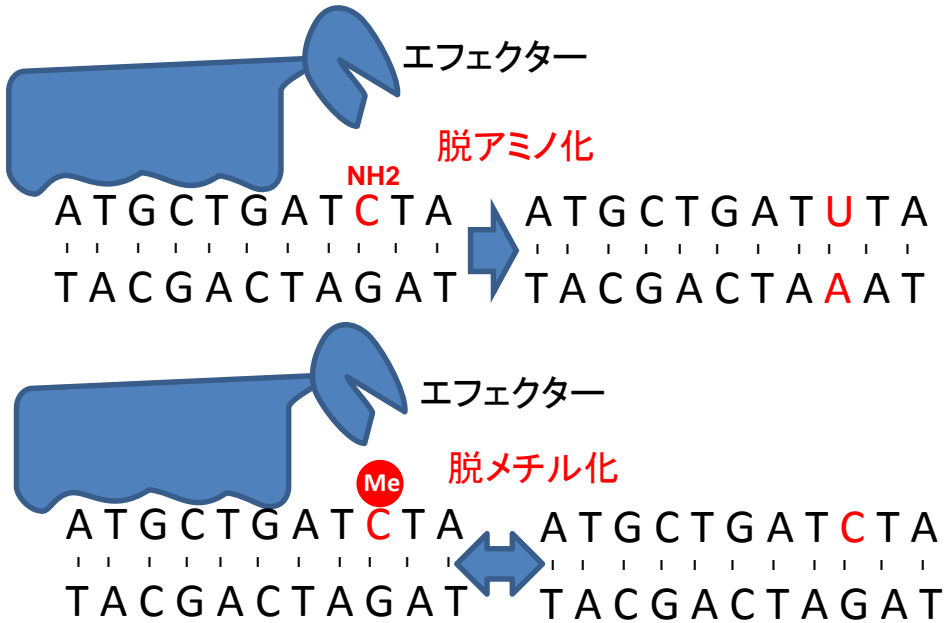
# ゲノム編集の遺伝子治療としての定義及び遺伝子治療の範囲

## ゲノム編集による遺伝子切断



DNA二本鎖切断 → 欠失／挿入  
相同組換え

## 切断しないゲノム編集



脱アミノ化  
(デアミナーゼ)  
リコンビナーゼ → 点変異  
組換え

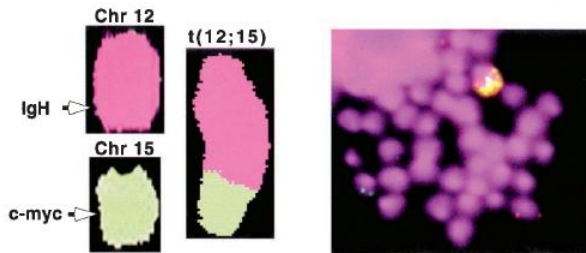
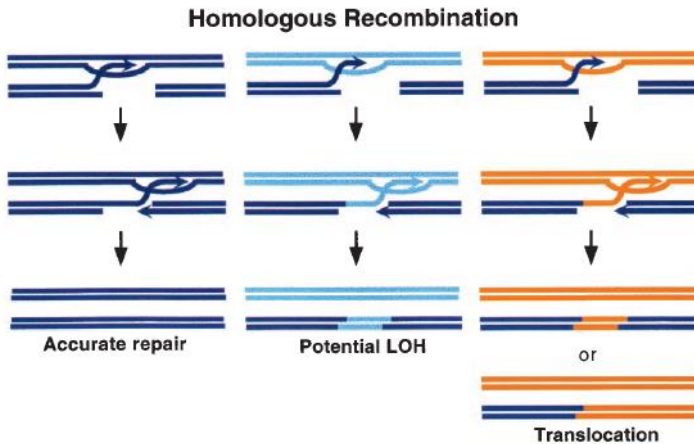
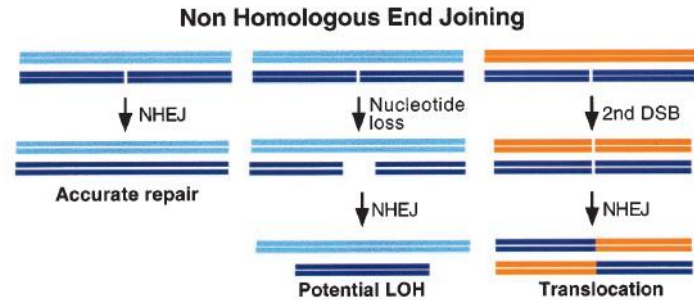
DNAメチル化/  
脱メチル化

転写制御因子  
ヒストン修飾

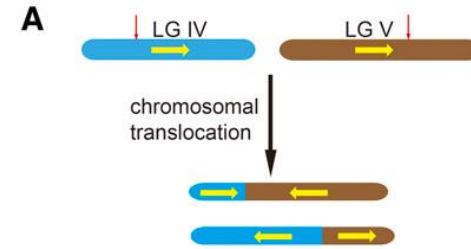
遺伝子改変  
に該当

遺伝子発現制御

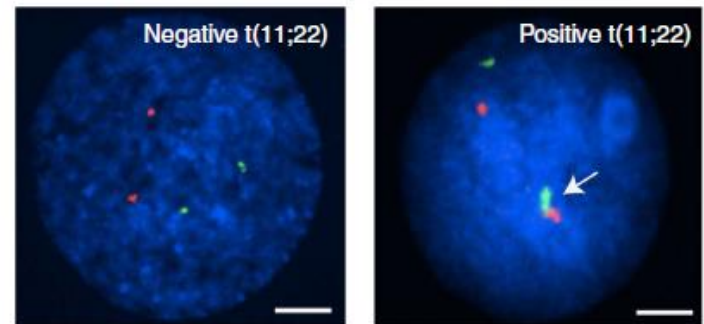
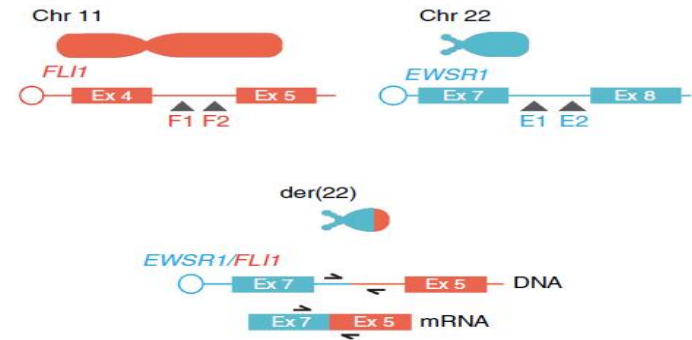
# ゲノム編集の安全性評価: 染色体転座リスク



Ferguson & Frederick :DNA double strand break repair and chromosomal translocation: Lessons from animal models. *Oncogene* 20: 5572 (2001)



Chen et al: Targeted Chromosomal Translocations and Essential Gene Knockout Using CRISPR/Cas9 Technology in *Caenorhabditis elegans*. *Genome Research* 2017



Torres et al: Engineering human tumour-associated chromosomal translocations with the RNA-guided CRISPR-Cas9 system. *Nature Communications* 2014

# 先端医療技術のコストの課題と普遍化

## 遺伝子改変したCART019による画期的な効果

Emma Whitehead は2010年に急性白血病になり、抗がん剤治療も効かず余命半年と宣告されCART療法に最後の望みを託す。CART療法では重篤な副作用も出たが白血病細胞が駆除され、現在もALLサバイバーとして元気に生活している。



## CAR T細胞療法製剤の開発

- FDA 2017年に2つの抗CD19 CARを発現する自己CTL細胞を承認
- Novartis社のCART製品KymriahがFDAから承認. 小児・若年r/r B-ALL適応. 2017年10月9日
- 米Kite Pharma社の**CART製品である**Yescarta (axicabtagene ciloleucel)が**FDAから承認**. 2種以上の全身療法でも有効性が得られなかった再発/難治性の**大細胞型B細胞性リンパ腫**の成人患者. 2017年10月18日
- がん治療を受けた患者ではCARTの製造が困難なことが多い
- ユニバーサルCART製品の開発 (FDAが同種由来CARTの治験を承認.2018)
- サイトカインストーム症、毛細管漏出症、脳症などの致死的副作用
- 2019年2月20日 Kymriah: 再生医療等製品・生物由来技術部会が製造販売を承認

今後CART019 以外のCTL製品がでてくるか: 固形がん

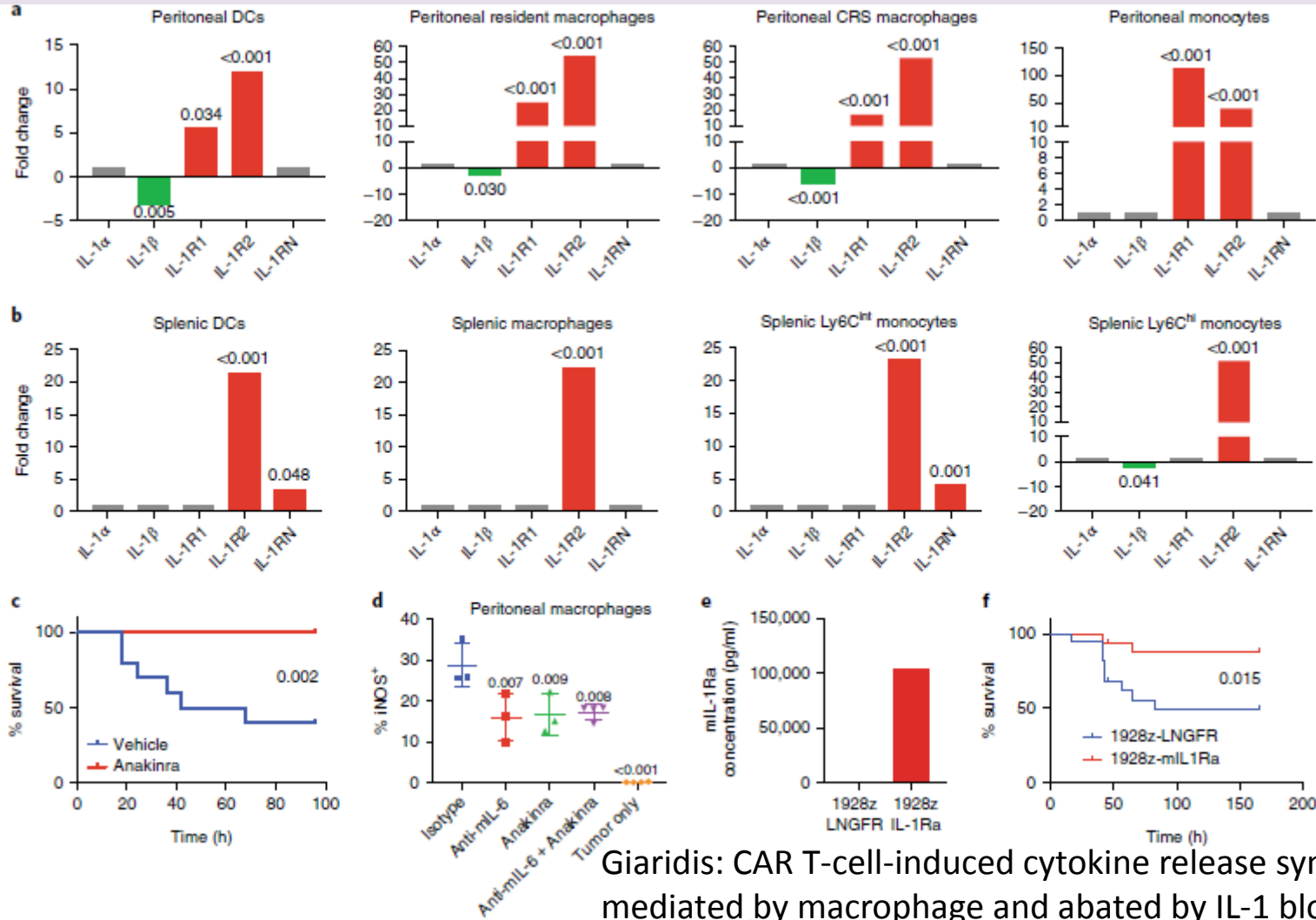
ユニバーサルドナー細胞技術の実用化

高額な医療費の課題

# CAR T細胞療法製剤の開発

- FDA 2017年に2つの抗CD19 CARを発現する自己CTL細胞を承認
- Novartis社のCART製品KymriahがFDAから承認.小児・若年r/r B-ALL適応. 2017年10月9日
- 米Kite Pharma社のCART製品であるYescarta (axicabtagene ciloleucel)がFDAから承認. 2種以上の全身療法でも有効性が得られなかった再発/難治性の<sup>パ</sup>大細胞型B細胞性リンパ腫の成人患者. 2017年10月18日
- がん治療を受けた患者ではCARTの製造(増幅)が困難なことが多い⇒ゲノム編集を用いたユニバーサル化
- ユニバーサルCART製品の開発(FDAが同種由来CARTの治療を承認.2018) ⇒ 高額治療費の課題への対応
- サイトカインストーム症はIL-6R抗体により対処可能だが、**毛細管漏出症、致死的脳症などの重篤な副作用をどのように制御していくかが課題**

# CART開発とバイオ医薬品



Giardis: CAR T-cell-induced cytokine release syndrome is mediated by macrophage and abated by IL-1 blocked.

Nature . 2018

抗IL-1受容体アンタゴニスト(Anakinra)が致死的脳症に効果がある可能性

CARTのような先端医薬品の実用化がバイオ医薬品によって支えられている

⇒ バイオ医薬品の新たな領域

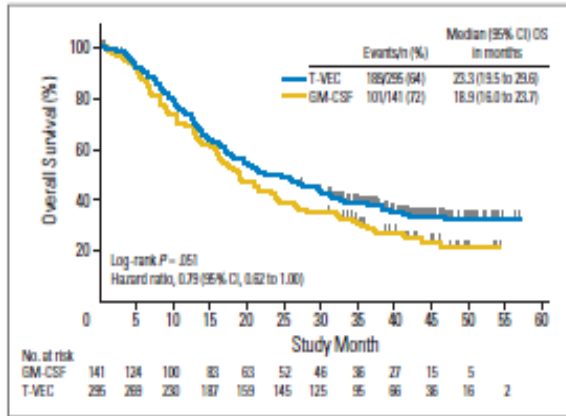
# FDA: メラノーマの治療に対し、初めて腫瘍溶解性ウイルス療法薬 talimogene laherparepvec を承認 (2015-11-7)

腫瘍溶解性ウイルスの臨床有効性の概念の変更:  
腫瘍溶解によるバイスタンダー効果の重要性

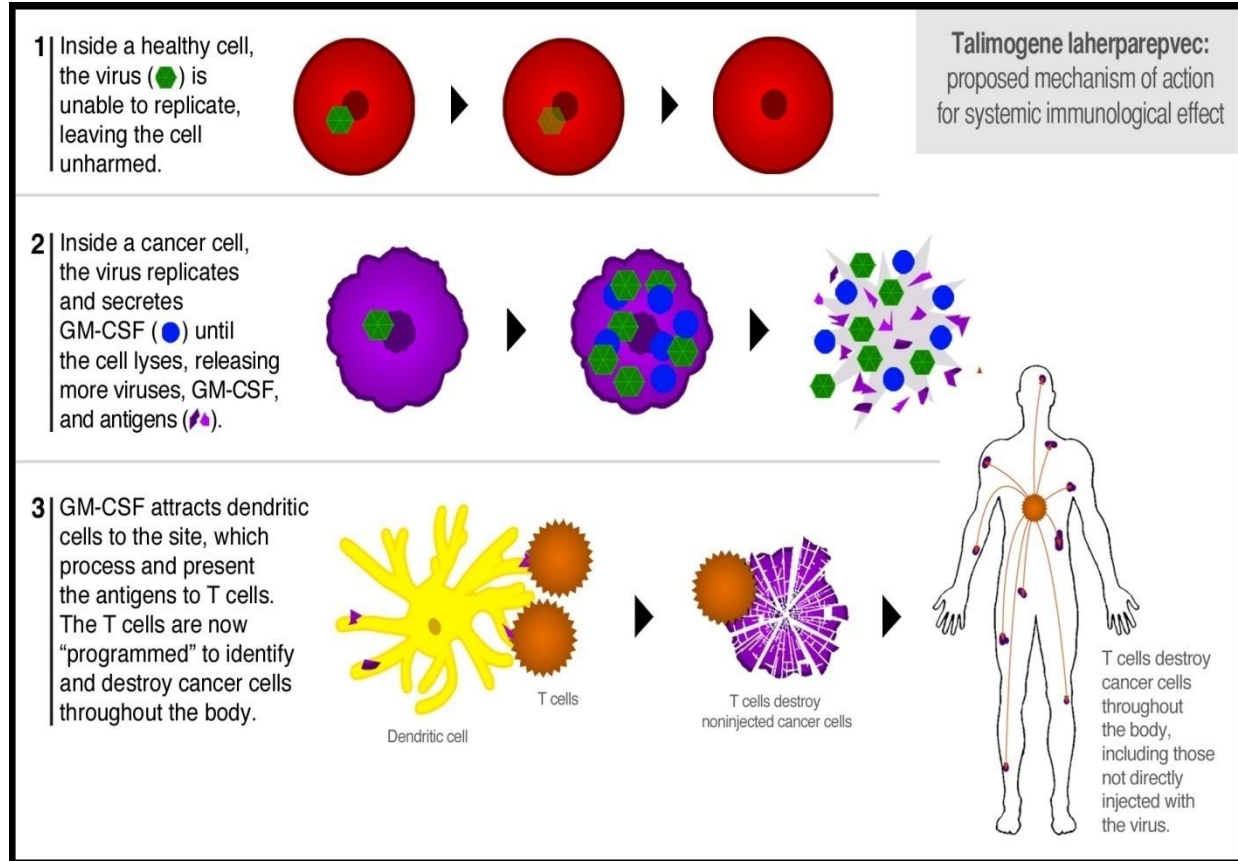
Oncolytic virotherapy



oncolytic immunotherapy



遅延型の有効性: 免疫応答が認められるまで時間を要する



がん効率的に死滅させる機能以上に宿主免疫応答に重要な役割が期待



# まとめ

---

- 非常に多様な遺伝子治療製品の開発が進んでいる。
- 初期に想定していなかった増殖性ウイルスを用いた治療やバイスタンダード効果を期待する製品も多くなっている
- 遺伝子治療製品の品質・安全性に関しては製造においてどのようなプラスミドが用いられたか、遺伝的安定性・変異などの評価が重要
- 進歩の激しい遺伝子治療用製品の開発を促進させるために、最新の科学的レベルに基づく評価を積極的に取り入れることが重要
- ゲノム編集技術は技術的要件も含めて従来の遺伝子導入型遺伝子治療と異なる評価が必要

ご静聴ありがとうございました

ご質問がございましたら