伝令リボ核酸に関する規制動向調査 報告書 2020 年 2 月 20 日

株式会社シード・プランニング メディカル・バイオチーム

目次

I. 事業概要	4
1. 本調査の背景と目的	4
2. 調査概要	4
3. 実施方法	4
(1)調査対象の国際会議	5
(2)論文調査	
・・・・・・・・・・・(3)mRNA に係わる国内・海外 KOL(Key Opinion Leader) ヘインタビュー	
Ⅲ. 調査のまとめと考察	
1. mRNA 製品の概要	
2. mRNA 製品の経緯	8
3. mRNA 製品の開発動向	11
(1)対象疾患	
(2) DDS	
(3)mRNA 製品の製造	
4. mRNA 製品関連の規制動向	
(1)mRNA 製品と遺伝子治療用医薬品、核酸医薬品との違い	
(2)遺伝子治療医薬品の定義	
(3)規制の枠組み	
(4)出発物質	
(5)品質特性解析	
(6)力価試験(potency assay)	
(7)非臨床·臨床試験	
(8)日米欧の比較	
(9)参照ガイドライン	
Ⅲ. 調査結果	
1. 国際会議から得られた結果	
(1) CSHL Meeting RNA & Oligonucleotide Therapeutics	47
(2) Keystone Symposia: Protein Replacement through Nucleic Acid Therapies	
(4) TIDES 2019	
(5) Nucleosides, Nucleotides and Oligonucleotides Gordon Research Conference	
(6) Oligonucleotide Therapeutic Society meeting	
(7) DIA/FDA Oligonucleotide-Based Therapeutics Conference	
(8) International mRNA Health Conference	

(9)TIDES Europe	75
2. ヒアリング結果	79
(1)国内 KOL(4名)	79
(2)海外 KOL	84
1) mRNA 医薬開発企業(CSO)	84
2) mRNA 医薬開発企業(研究開発担当)	87
3) バイオテクノロジーCRO	91
4) mRNA 医薬開発企業(CMC 担当、規制関連担当)	94
5) mRNA 医薬開発企業(CMC 担当、規制関連担当)	
6) mRNA 医薬開発企業(CTO)	103
7) mRNA 医薬 CMO 開発企業(Business Development)	107
8) 米国規制関連コンサルタント	110
3. mRNA 医薬品開発企業の動向	112
(1) Argos Therapeutics	
(2) Arbutus Biopharma	
(3) BioNTech	116
(4) CureVac	
(5) Ethris	121
(6) eTheRNA	122
(7) Intellia	123
(8) Moderna	124
(9) Stemirna	126
(10) Translate Bio	127
(11) Ultragenyx	128
4 mRNA 関連重要論文リスト	129

I. 事業概要

1. 本調査の背景と目的

医療研究開発革新基盤創成事業(以下、「CiCLE」という。)では、産学官連携により、我が国の力を結集し、医療現場ニーズに的確に対応する研究開発の実施や創薬等の実用化の加速化等が抜本的に革新される基盤の形成、医療研究開発分野でのオープンイノベーション・ベンチャー育成が強力に促進される環境の創出を推進することを目的としている。遺伝子治療薬等の研究開発においては、開発された技術の選抜・評価等に資するため、これら技術の成果を標準化し、製薬企業等での創薬研究開発において利用可能なものとしていくことが望まれる。これらを念頭に CiCLE において効果的な成果を得る事を目的として、遺伝子治療薬等とくにこの中でも伝令リボ核酸(以下、「mRNA」という。)に関する国内外の規制動向を調査した。

2. 調査概要

核酸医薬品は天然型・化学修飾型ヌクレオチドを基本骨格とする薬剤で、遺伝子発現を介さず直接生体に作用することを特徴とする。代表的な核酸医薬品にはアンチセンスオリゴ、siRNA、アプタマー、デコイなどがあり、これらによる治療薬の開発が盛んに進められている。核酸医薬品は高い特異性に加えて mRNA など従来の医薬品では狙えない細胞内分子を標的にでき、癌や遺伝性疾患に対する革新的な治療薬になると期待されている。一方で、近年は DNA の情報を写し取るための RNA である mRNA を利用した治療薬開発が注目されている。mRNA 製品は核酸医薬品の範疇に入れられることもあるが、化学合成によらず生産されることや細胞内でタンパク質発現を介して作用することから、遺伝子治療薬に分類されることが多い。mRNA 製品の分類については、「4.本書の見方」の項で詳細に論じる。

本調査では、遺伝子治療薬の中でも最新の対象技術である mRNA に係わる創薬の規制動向を調査した。

3. 実施方法

mRNA に係わる様々な視点から技術革新につながる開発行為が国内外で進んでおり、これらに関する規制動向を把握するために、国際会議へ参加することで情報を入手した。また、既に公開されている重要かつ最新の技術情報を公開論文から入手した。さらに、KOL(Key Opinion Leader)に接し、インタビューにより情報を入手した。それらの結果をもとに、報告書として取りまとめを行った。

調査内容、及びその調査手法の概要を下表に示す。

(1)調査対象の国際会議

	国際会議名称	開催時期	開催国
1	CSHL Meeting RNA & Oligonucleotide Therapeutics	2019年3月27日~3月30日	米国
2	Keystone Symposia: Protein Replacement through Nucleic Acid Therapies	2019 年 4 月 7 日~4 月 10 日	米国
3	American Society of Gene & Cell Therapy	2019 年 4 月 29 日~5 月 2 日	米国
4	TIDES 2019	2019 年 5 月 20 日~5 月 23 日	米国
5	Nucleosides, Nucleotides and Oligonucleotides Gordon Research Conference	2019 年 6 月 23 日~6 月 28 日	米国
6	15 th Annual Meeting of the Oligonucleotide Therapeutics Society	2019年10月13日~10月16日	ドイツ
7	DIA/FDA Oligonucleotide-Based Therapeutics Conference	2019年10月28日~10月30日	米国
8	International mRNA Health Conference	2019年11月11日~11月12日	ドイツ
9	TIDES Europe	2019年11月12日~11月15日	オランダ

(2)論文調査

mRNA 製品の開発並びに製造にかかわる論文をリストアップし、さらに重要論文を抽出。安全性、製造品質にかかわる内容に着目し、取りまとめを行った。

(重要 25 報+規制関連論文:詳細別紙)

(3)mRNA に係わる国内・海外 KOL(Key Opinion Leader) ヘインタビュー

インタビューを実施した国内外の KOL を以下に示す。

	所属	対象者役職	ヒアリング実施日
1	バイオ医薬品開発企業/コンサルタント	代表	2019年5月8日
2	T 大学	教授	2019年5月15日
3	N 大学 / K 大学 、 他 1 名	客員教授、 規制の専門家	2019年8月1日
4	mRNA 医薬開発企業 A 社	Chief Scientific Officer and Chief Operating Officer	2019年5月20日
5	mRNA 医薬開発企業 A 社	Senior Research Fellow	2019年5月21日
6	バイオテクノロジーCRO A 社	Director of Analytics and Bioanalytics	2019年5月22日
7	mRNA 医薬開発企業 M 社	Head of CMC Project management,	2019年10月29日

		Global Head of Regulatory	
8	mRNA 医薬開発企業 B社	Vice President, Head of regulatory affairs	2019年11月11日
9	mRNA 医薬開発企業 E 社	Maneging Director/CTO	2019年11月13日
10	mRNA 医薬 CMO 企業 T社	Associate Director Business Development, Senior Director Business Development	2019年11月14日
11	米国規制関連コンサルタント A 社	President	2019年11月22日

4. 本報告書の見方

本報告書では、有識者ヒアリングや国際会議で得られた情報をもとに考察コメントを記載している。考察コメントの元となる国際会議の詳細情報、ヒアリング結果の詳細情報は第Ⅲ章を参照ください。

Ⅱ.調査のまとめと考察

1. mRNA 製品の概要

mRNA 製品は、メッセンジャーRNA (mRNA) を体内に直接投与して、mRNA によってコードされたタンパク質を標的細胞で発現させることによって治療を行う再生医療等製品 (※)のことである。近年、世界的に研究開発が活発化しており、近い将来の実用化が期待される創薬技術の中で最も注目されているモダリティーの一つである。導入した mRNA からタンパク質を発現させるという遺伝子治療用製品の側面と核酸分子を投与するといった核酸医薬品の側面を有する。

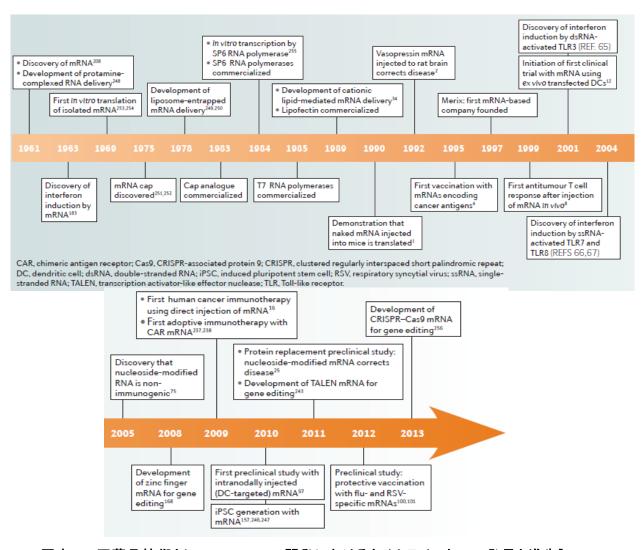
mRNA 製品は治療法として以下のメリットがあると考えられる1,2。

- mRNA を細胞質に送達することで有効成分である標的タンパク発現を誘導できる。
- mRNA は核内への輸送が不要で、ゲノムへの挿入変異リスクもない。
- mRNA は非分裂細胞にも導入可能である。
- mRNA は原理的にどのようなタンパク質でも産生することができ、がんワクチンとしてはがんの個別化治療に、感染症予防ワクチンとしてはウイルス変異への迅速な対応、パンデミックへの対応が期待される。
- 疾患治療用 mRNA としては、更に広範な応用の可能性があり、酵素補充療法や成長因子徐放など分泌因子を局所、または全身に徐放させる目的だけでなく、標的細胞のシグナル制御、分化誘導などを通じて、再生医療やゲノム編集治療への応用も期待される。
- 今後の技術開発によっては、迅速且つ低コストでの大量生産が可能と見込まれる。
- *本報告書では、一部、mRNAを導入したヒト細胞加工製品も取り挙げている。

2. mRNA 製品の経緯

Wolff, J.A. らによって、合成された mRNA を投与した最初の報告は、1990 年に Science 誌に発表された 3 。プラスミド DNA (pDNA) を動物の骨格筋に投与してタンパク発現させた、非ウイルス性遺伝子導入である。しかし、この際の in vivo 投与では、mRNA によるタンパク質の発現量は、pDNA の投与に比べるとかなり低いものであった。これは mRNA が生体内で非常に不安定であったためと考察されている。

1995 年には、ヒト CEA (がん胎児性抗原) をコードする mRNA を構築し、リポソーム媒介トランスフェクション後の in vitro でのマウス線維芽細胞における CEA 発現を誘導した 4 。 1997 年には mRNA 技術をベースとした最初のベンチャー企業 Merix Bioscience (Argos Therapeutics の前身) が設立された。1999 年には、RNA メラノーマワクチンの研究が開始された。2001 年には、ex vivo でトランスフェクトされた樹状細胞を用いたた mRNA を用いた最初の臨床試験の開始された 5 。2009 年にはヒトのがん免疫療法として、mRNA が直接投与された 6 。



図表 1 医薬品技術としての mRNA の開発におけるタイムラインキーの発見と進歩7

2010年代に入り、報告が急増している。その大きな要因として、ARCA法が開発されたことが挙げられる 8 。m7G CAP構造をanti-reverse cap analog(ARCA)に、ウリジン(U)をシュードウリジンに化学修飾した安定なmRNAを合成する手法である。真核生物のmRNAがタンパク質を発現するには、mRNAの 5 、末端にcap構造を付加する必要があるが、付加する方向を制御することが難しかった。ARCA法は、その方向を制御できるため、mRNAによるタンパク発現効率を上げることができる。この技術を応用したmRNA製品を開発する米Moderna Terapeuticsは2010年から2015年までに9億5千万ドルの資金を調達したことで注目された 9 。近年では、より高い翻訳効率をもつcap1構造もある。

図表 2 真核生物の mRNA の cap 構造 8

またコドン最適化(codon optimization)も重要である。コドンの組成は翻訳効率に影響を及ぼすことが知られている 7。外部から投与する DNA や mRNA の配列を最適化する技術 codon optimization が、1990 年代後半から 2000 年代にかけて活発に研究された 1。これらの技術は mRNA 投与後の翻訳効率を高める方法として、生体内投与だけでなく、培養細胞に対する in vitro transfection においても有用な技術である。

3. mRNA 製品の開発動向

mRNA を活用した医薬品には大きなメリットがあると期待されているにもかかわらず、開発が進まなかった理由として、

- mRNAに適切にcapを付加する工程が確立されていなかった。
- 薬効 (タンパク翻訳効率) および安全性向上を担保する上で、自然免疫による認識回避は 必要であるが、そのために使用する修飾ヌクレオシド原料の供給が確立されていなかっ た。
- 環境中に存在するRNA分解酵素を排除することが困難であった。
- 生体中に存在するRNA分解酵素により分解されやすく不安定であり、適切な送達技術を確立する必要があった。

などの課題があったためである 1 。しかし、これらの課題を解決することを目的とし、その技術を医薬品開発に提供するベンチャー企業があらわれ 2 、細胞内での安定性や DDS 技術が向上したことで、欧米では多数の開発パイプラインが進行中である。現在、mRNA 製品を主体的に開発している企業は、独 CureVac、独 BioNTech、米 Moderna Therapeutics などである。

それらの開発パイプラインの適応は、感染症予防ワクチンと治療用タンパク質の発現に大別され、実用化が早いのは感染症予防ワクチン用途のmRNA製品であると予想される。

世界のがん、感染症予防、難病等を対象とした企業主導の臨床試験の実施状況は以下の表に取りまとめた。

図表 3 mRNA 製品開発の開発概要

領域	開発ステージ(件数)	開発企業(国)
感 染 症 予 防 ワクチン	非臨床(5) Ph I (7) Ph II (1)	Arcturus Therapeutics(米)、BioNTech(独)、 CureVac(独)、eTheRNA(ベルギー)、Moderna(米)
がんワクチン	非臨床(4) Ph I (10) Ph I / II (3) Ph II (2)	Argos Therapeutics(米)、BioNTech、eTheRNA、BioNTech/Genentech(米)、Boehringer Ingelheim(独)、CureVac、CureVac/Eli Lily(米)、Moderna、Moderna/Merck(米)
難 病 (タンパ ク補充療法)	非臨床(13) Ph I / II (1)	Arcturus Therapeutics/the Cystic Fibrosis Foundation(米)、BioNTech、CureVac、Ethris (独)、Moderna、Translate Bio(米)/the Cystic Fibrosis Therapeutics Development、Translate Bio
その他 (タン パク補 充 療 法)	非臨床(2) PhⅡ(1)	Ethris、Ethris/AstraZeneca(英)、Moderna、 Moderna/AstraZeneca(英)

(各社HPからシード・プランニング調べ 2019年12月時点)

(1)対象疾患

現在 mRNA 製品実用化に向けて最も開発が進んでいるのは、ワクチンとしての応用である。感染症予防ワクチンおよびがんワクチンが 2 大適応で、いずれも mRNA からのタンパク質発現によって抗原提示を行うという点では共通し、核酸配列を変えることによってどのような抗原タンパクに対しても対応可能であることがポイントとなる。

①感染症予防用 mRNA ワクチン

感染症予防用ワクチンは既に国内外で多数販売されている。それらは以下の 3 種類に大別される。

- ・ 生ワクチン (弱毒化したウイルスや細菌)
- ・不活化ワクチン (病原性をなくしたウイルス粒子や菌体)
- ・トキソイド (無毒化した毒素)

いずれも、製造の過程で病原性をなくすようになっているが、副作用のリスクは皆無ではない。しかし、予防用ワクチンは健康な国民に接種されるため、安全性の確保が至上命題である。

一方、mRNAを予防用ワクチンとして開発する場合は、病原体を用いることなく製剤の製造が可能である。理論的には、核酸配列を変更すれば任意のワクチンを製造できることになる。

また、mRNA ワクチンは、従来のワクチン製造法である鶏卵法、細胞培養法、動物接種法、遺伝子組み換え法のいずれよりも早く製造でき、大量生産も可能であることから医学的且つ経済的なメリットを有する。

現在、Moderna を中心に、BioNTech、CureVac などの欧米ベンチャー企業やGlaxoSmithKline が積極的に感染症予防用 mRNA ワクチンを開発している。主な対象疾患はエイズ、インフルエンザ、ジカ熱などである。その多くは従来のワクチンと同様に皮内投与である。ただし、mRNA のみでは免疫賦活化作用が十分でなく、アジュバントとの併用となっている。さらに、mRNA 分子を部分的に二本鎖構造として、抗原提示能と免疫賦活化作用を併せ持つ mRNA 開発も、まだ基礎段階であるが研究が進められている 1。

直近では 2020 年に入って中国武漢から感染が拡大している新型コロナウイルス(2019-nCoV)に対しても、Moderna、CureVac の両社が CEPI(感染症流行対策イノベーション連合)の支援を受け、mRNA ワクチンの緊急開発を進めている。特に Moderna は CMV 感染症 ワクチン(現在フェーズ II)等の経験を活かし、着手後わずか 25 日間でワクチンの設計・生産を完遂し、NIH に最初の治験用のバッチを出荷したと 2020 年 2 月 11 日(現地時間 2 月 10 日)に発表した 10 。 2019-nCoV のワクチン緊急開発は多くの企業が様々なモダリティで取り組んでいるが、Moderna の開発スピードは現在のところ最も速いと言える。配列さえ分かれば迅速に開発できるという mRNA 製品の利点が、こうしたアウトブレイクの抑制においても強みとなることが期待される。

図表 4 感染症予防用 mRNA ワクチンの開発状況

企業名	疾患名	投与方法	開発ステージ	パートナー	備考
Argos	HIV	皮内	PhⅡ(中止)		有効性なし
Therapeutics					
BioNTech	結核	-	非臨床	the Bill & Melinda	
				Gates Foundation	
	10 個以上のターゲット	_	非臨床		
eTheRNA	HIV	鼻腔内	PhⅡ(中止)		有効性なし
CureVac	狂犬病	皮内	Ph I		
	インフルエンザ	皮内	非臨床		
	(ラッサ熱、狂犬病、黄熱	_	非臨床	CEPI	
	病)				
	(マラリア、ロタウイルス、	-	非臨床	the Bill & Melinda	
	ユニバーサルインフルエン			Gates Foundation	
	ザ)				
Moderna	CMV 感染症	筋注、皮	Ph II		
		内			
	インフルエンザ (複数パ	筋注、皮	Ph I		
	イプライン)	内			
	hMPV+PIV3(小児)	筋注、皮	Ph I		
		内			
	hMPV+PIV3(成人)	筋注、皮	Ph I		
		内	_		
	ジカ熱	筋注、皮	Ph I		
		内	_		
	チクングニア熱	筋注、皮	Ph I		
		内			
	RSV	筋注、皮	Ph I		
		内			

(各社 HP からシード・プランニング調べ 2019 年 12 月時点)

②がん治療用 mRNA(がんワクチン)

mRNAは抗原を発現させるだけでなく、Toll様受容体(TRL)を介して免疫系を活性化させる可能性があることも分かってきた 11 。そのため、各患者の腫瘍に固有の変異を同定し、その変異を含む抗原をコードするmRNAを用いた個別化がん治療用ワクチンが注目されている。

mRNAがんワクチンの開発で先行しているのはBioNTechで、2017年にメラノーマ患者に対するネオアンチゲンmRNAワクチンの治療効果を報告し、世界中から注目された 12 。その他、腎がん、肺がんなどを含む固形がんでのネオアンチゲンmRNAワクチンの臨床試験がBioNTech、CureVac、Moderna等によって進められ、一部は既にフェーズIIまで進んでいる 2 。がんmRNAワクチンはPD-(L) 1阻害剤など免疫チェックポイント阻害剤との併用で、がん免疫治療の効果を高めることが基礎試験で検証されている。BioNTechはGenentechと抗PD-L1抗体Atezolizumabとの併用による臨床試験を進めており、さらにModernaもMerckの抗PD-1抗体Pembrolizumabと同様な併用試験を進めており、後者については既に昨年の米国臨床腫瘍学会(ASCO)で途中経過の成績が報告されている。今後、これらの併用でのPOCが取得された場合には、規制当局が、がん個別化ワクチン療法のプラットフォームを薬剤承認の対象とするかが大きなポイントになると思われる。

図表 5 mRNA がんワクチンの開発状況

企業名	疾患名	投与方法	開発ステージ	パートナー	備考
Argos	転移性腎がん	皮内	Ph Ⅲ(中止)		財政事情
Therapeutics	腎細胞がん	皮内	Ph Ⅲ(中止)		財政事情
	非小細胞肺癌		Ph II(中止)		財政事情
eTheRNA	悪性黒色腫	リンパ 節 内	Ph II		
	肺がん(ネオアジュバンド)	腫瘍内	Ph I		
BioNTech	悪性黒色腫	鼻 腔 内 / 静注	Ph I	Genentech	
	頭頚部がん	静注	Ph I	Genentech	
	HPV ポジティブ頭頚部が ん	皮内	Ph II		
	転移性去勢抵抗性前立 腺がん	静 脈 内 ボ ーラス	Ph I∕Ⅱ		
	トリプルネガティブ乳がん		Ph I		
	その他がん(卵巣がん含む)	_	非臨床		
	複数固形がん(複数パイプライン)	_	非臨床		
	すい臓、その他がん	_	非臨床		
CureVac	扁平上皮がん	腫瘍内	Ph I	Eli Lily	
	肝細胞がん	腫瘍内	Ph I	Eli Lily	
	Shared がん抗原 (5 プログ ラム)	_	Ph I	Eli Lily	
	非小細胞肺がん	腫瘍内	Ph I	LUDWICK Cancer Center/ Boeheringer Ingelheim	
	黒色腫、腺様嚢胞癌、皮 膚の扁平上皮がん、頭頸 部がん	腫瘍内	Ph I		
	固形がん	_	非臨床		
Moderna	固形がん (複数パイプライン)自家がんワクチン	筋 注 、皮内	Ph I∕Ⅱ	Merck	
	固形がん、リンパ腫	腫瘍内	Ph I/Ⅱ		
	KRAS ワクチン(肺、大腸、 すい臓)	筋注	Ph I	Merck	

(各社 HP からシード・プランニング調べ 2019 年 12 月時点)

③たんぱく補充療用 mRNA

mRNA 製品を、感染症予防または、がん以外の治療に用いる場合、成長因子や酵素などの分泌型タンパク、または標的となった細胞内または細胞膜上で発現するシグナル因子・膜タンパクなどを補充することが主な目的とされている。前者は標的細胞から局所あるいは全身にタンパク質が分泌されるので、リコンビナントタンパク質の投与による治療がベンチマークとなる。この分野で開発が先行しているのは Modera と AstraZeneca が行う心虚血疾患に対する VEGF をコードする mRNA 製品で、現在フェーズ II である。 VEGF などの成長因子は、過剰投与による組織の異常が起きやすく、mRNA を用いることによって、正常な血管再生を促進する VEGF の最適な局所濃度環境が得られると説明されている。 2019 年 2 月に

は、2型糖尿病患者に対する VEGF mRNA の皮下投与に関する安全性試験も報告され、局所での血流改善効果および明らかな有害事象の無かったことが示されている¹³。

尿素サイクル異常の OTC (オルニチントランスカルバミラーゼ) 欠損症に対する開発も多い。Arcturus Therapeutics は CureVac とともに開発していたが、2019 年 2 月、CureVac が離脱したことにより、Arcturus 単独で開発を続行している 14 。Moderna も OTC 欠損症を標的とした mRNA を製品の前臨床試験のデータを 2019 年 4 月に開催された American Society of Gene & Cell Therapy (ASGCT) Annual Meeting で発表している (2020年2月時点で、パイプラインとしての公表はされていない)。Translate Bio はフェーズ I まで進んだばかりであったが、2019 年9月に開発中止を発表した 15 。同社によると、DDS 用の LNP (脂質ナノ粒子) に起因する薬物動態および安全性プロファイルの懸念があったとのことである。

図表 6 タンパク補充療法用 mRNA の開発状況

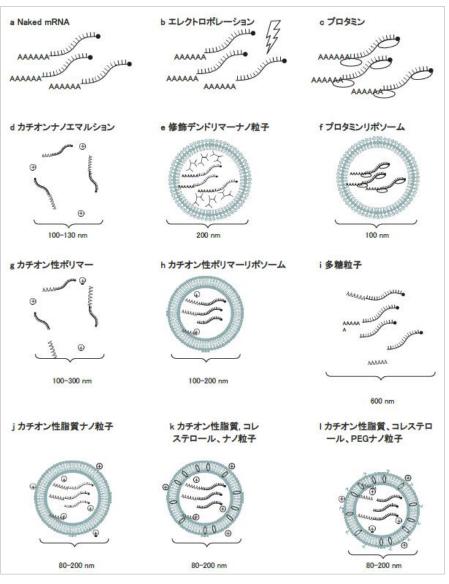
企業名	疾患名	投与方法	開発ステージ	パートナー	備考
Arcturus	オルニチントランスカルバ	_	非臨床	(CureVac 離脱)	
Therapeutics	ミラーゼ欠損症(尿素回				
	路障害)				
	囊胞性線維症	_	POC	the Cystic	
				Fibrosis	
				Foundation	
BioNTech	5 つのターゲット	_	選定中		肝臓標的
	肝臓	_	非臨床		非公開
	希少疾患	_	非臨床		非公開
	希少疾患	_	非臨床		非公開
	非公開プログラム眼、肺	_	非臨床		非公開
CureVac	肝臓(遺伝子編集)	_	非臨床		
	肝臓	_	非臨床		
	抗体をコードする mRNA	_	非臨床		
	非公開(目、肺)	_	非臨床		
Ethris	原発性線毛機能不全症	_	非臨床		
	候群(PCD)				
Moderna	ファブリー病	_	非臨床		
	メチルマロン酸血症(先天	_	Ph I / Ⅱ		
	性代謝異常				
	プロピオン酸血症	_	非臨床		
	フェニルケトン尿症	_	非臨床		
	糖原病 I 型(小児)	_	非臨床		
	心筋虚血	心筋内	Ph Ⅱ	AstraZeneca	
Translate Bio	囊胞性線維症	吸入	Ph I / Ⅱ	the Cystic	
				Fibrosis	
				Therapeutics	
				Development	
				Network	
	オルニチントランスカルバ	静注	Ph I (中止)		
	ミラーゼ欠損症				
	肺疾患	吸入	探索		

(各社HPからシード・プランニング調べ 2019年12月時点)

(2) DDS

mRNA を治療または予防目的で応用するためには、細胞内の目的の場所に mRNA を安定な形で送達しなければならない。そのためには DDS が必要となる。 mRNA の 投与法としては、mRNA をそのまま局所投与(ただし免疫原性を制御された mRNA が用いられている)、または既存の脂質ナノ粒子(LNP)などを応用した投与が行われている。

細胞質に効率的に mRNA 製品を送達するには細胞膜を透過させなければならない。 mRNA 取り込み機序は細胞の種類に依存することが示唆されており、 mRNA 複合体の物理化学的性質は各臓器および構成細胞への mRNA の分布に大きく影響すると考えられている。 さらに、送達用キャリアの種類別に、様々な投与経路や標的が検討されている(次頁の表参照(ワクチンの例)) 2 。



図表 7 mRNA 製品の主な送達方法

(Nature Reviews Drug Discovery²より引用改変)

図表 8 In vivo 投与用 mRNA ワクチン複合体

キャリアの種類	投与経路	生物種	標的
市販トランスフェクション試薬	経鼻	マウス	OVA(オボアルブミン)
プロタミン	皮内	マウス、フェレット、ブタ、ヒト	インフルエンザウイルス、メラノーマ、非小細胞肺がん、前立腺がん、狂犬病ウイルス、OVA発現がんモデル、Lewis肺がん
プロタミンリポソーム	静注	マウス	肺がん
多糖粒子	皮下	マウス、ウサギ	インフルエンザウイルス
カチオンナノエマルジョン	筋注	マウス、ウサギ、フェレット、アカゲザル	インフルエンザウイルス、RSV、 HIV-1、ヒトサイトメガロウイルス、 連鎖球菌、HCV、狂犬病ウイルス
カチオン性ポリマー	皮下、筋注	マウス	インフルエンザウイルス、HIV-1
カチオン性ポリマーリポソーム	静注	マウス	メラノーマ、膵がん
カチオン性脂質ナノ粒子	皮内、静注、 皮下	マウス	HIV-1, OVA
カチオン性脂質、コレステロー ルナノ粒子	静注、皮下、 脾臓内	マウス	インフルエンザウイルス、メラノ ーマ、モロニーマウス白血病ウ イルス、OVA、HPV、結腸がん
カチオン性脂質、コレステロール、PEGナノ粒子	皮内、筋注、皮下	マウス、コットンラッ ト、アカゲザル	ジカウイルス、インフルエンザウイルス、RSV、ヒトサイトメガロウイルス、狂犬病ウイルス、メラノーマ
デンドリマーナノ粒子	筋注	マウス	インフルエンザウイルス、エボラ ウイルス、トキソプラズマ、ジカ ウイルス

(Nature Reviews Drug Discovery²より引用改変)

(3)mRNA 製品の製造

GMP 製造の mRNA は、組換え酵素、リボヌクレオチド三リン酸(NTP)および DNA 鋳型との in vitro 反応により製造される。よって、従来の生または不活化ウイルスワクチン、もしくはタンパク質サブユニットワクチンの製造と比べて、迅速かつ簡便な製造が期待できる。その反応収率と簡便さにより、小さな GMP 設備で迅速な mRNA 生産が可能になる。製造工程は配列に依存し、主に mRNA の長さ、ヌクレオチドおよびキャッピング、ならびに生成物の精製によって決定される。ただし、極端に長い mRNA では、特定の配列特性が製造を困難にする可能性がある。現在のところ、製造工程は、抗原をコードする mRNA のほとんど全てを製造できるよう標準化されており、新興感染症への迅速な対応に特に適している。

mRNAのGMP生産に必要なすべての酵素および反応成分は市販業者から入手可能であり、細胞培養ベースのワクチン製造の際、安全性上の課題となっている外来因子の混入を回避できる。プラスミドDNA、ファージポリメラーゼ、キャッピング酵素、NTPなどほぼ全ての成分は、GMP準拠の製造のために必要な基準を満たした状態のものが容易に入手できるが、入手可能量の限界や、高コストなどの課題も挙げられる。しかし、mRNA治療薬が商用生産されるようになれば解決されることが期待できる。

mRNA の製剤化は非常に重要な課題である。初期段階の研究では多くの場合凍結保存されているが(-70° C)、ワクチンの流通に適した温度で安定である製剤化検討が続けられている。その結果、安定した冷蔵製剤または室温製剤を作ることができることが報告されている。CureVac 社の RNActive 技術では、凍結乾燥後、 5° C で 3 年間、 40° C で 6 ヵ月間保存できる。別の報告では、凍結乾燥後の naked RNA は冷蔵条件下で少なくとも 10 カ月間安定であること報告されている。mRNA の安定性は、ナノ粒子内でのパッケージングまたはRNA 分解酵素阻害因子との共製剤化によっても改善され得ることが期待されている。脂質カプセル封入 mRNA については、凍結状態では少なくとも 6 ヵ月間安定であることが報告されているが、非凍結状態でのそのような mRNA 脂質複合体の長期保存はまだ報告されていない $^{\circ}$ 2。

4. mRNA 製品関連の規制動向

日米欧ともに、現時点で mRNA 製品に特化した規制ガイドラインは存在しない。 mRNA はオリゴヌクレオチド核酸に比べ分子量が非常に大きく、且つ不安定であるため、製造や品質管理の方法(評価手法など)が確立されておらず、開発企業各社はそれぞれ手探りの状態である。

現状では、遺伝子治療用を含め既存のガイドラインが参照されているが、mRNAには適合しない部分もある。また、ケースバイケースで判断せざるを得ない事項が多く、"全てのmRNA製品に適合するガイドライン"を作成することは難しいというのが本調査を通じて得た結論である。

しかし、FDA、EMAの監督下で実施された mRNA 製品の臨床試験の数が増加している。これは、規制当局がヒトでの有効性と安全性を立証するために、様々な機関による提案を受け入れていることを示すものである。さらに、国内でも有識者らが mRNA 製品の品質・安全性評価について私見を述べている。

以降に日米欧の規制の現状と課題についてまとめた。これらの課題については、開発企業と規制当局がともに議論しながら解決すべきであるというのが、本調査でヒアリングした有識者に共通の認識であった。

なお、mRNA 製品の規制に関する、 "The European Regulatory Environment of RNA-Based Vaccines"というタイトルの論文が発表されている¹⁶。本調査で mRNA 製品の規制に関する論文を収集したところ、mRNA 製品の規制について当局の見解が示された論文はこれのみであった。筆頭著者はドイツ PEI(Paul Ehrlich Institute)の Thomas Hinz 氏である。Hinz 氏は mRNA Health Cnference の Regulatory Session でもスピーカーを務めていたため、EMA の見解を収集するためにも同 Session を聴講した。

(1)mRNA 製品と遺伝子治療用医薬品、核酸医薬品との違い

mRNA 製品を開発している企業は、既存の遺伝子治療のガイドラインを部分的に参照している(詳細は後述)。しかし、mRNA 製品は、遺伝子治療とも、核酸医薬とも異なる点が多々あるため、既存のガイドラインでは対応しきれないケースが生じている。それらの違いを下記表に整理した。

図表 9 mRNA 製品と遺伝子治療用医薬品、核酸医薬品との違い

		核酸医薬品 (アンチセンス)		
投与	形態	単独 DDS(脂質ナノ粒子など) ex vivo(細胞)	in vivo ex vivo(細胞)	単独 DDS(コンジュゲートなど)
化学	構造	mRNA (数百~数千塩基程度)	目的遺伝子を搭載したベクター(数千塩基以上)	オリゴヌクレオチド (十~数十塩基程度)
作用	機序	投与した mRNA からタンパ ク質を発現(一時的)	ベクターによって導入され た遺伝子からタンパク質を 発現	RNA 上の標的配列に結合 しタンパク質の発現を制御 (一時的)
製造	方法	in vitro 転写システム	遺伝子組換え技術を用い て細胞内で産生	化学合成
	品質特性	非天然型、天然型	天然型	非天然型
特徵•	不純物	・非 Cap 付加体など・製造工程由来不純物(反応酵素, テンプレートDNA など)	・プラスミド不均一性 ・製造工程由来不純物 (宿主細胞由来タンパク 質, DNAなど)	・オリゴヌクレオチド類縁物 質(n-1 など)
懸念点	PK	生体内分布により評価 (発現の持続性)	生体内分布により評価	DME を評価
はなど	安全性		遺伝子組込み評価	・オンターゲット毒性 ・オフターゲット毒性 (狭義, クラスエフェクト)
	免疫原性	TLR を介した免疫刺激		TLR を介した免疫刺激
	応疾患 見発事例)	・先天性疾患・がん治療用ワクチン・感染症予防ワクチン など	・先天性疾患 ・がん など	・先天性疾患・がん など

(総説「mRNA 製品の品質・安全性評価の考え方」エラー! ブックマークが定義されていません。、を基にシード・プランニング作成)

(2)遺伝子治療医薬品の定義

臨床開発が先行している米国と欧州では、mRNA製品は遺伝子治療医薬品として規制されている(ただし、感染症予防ワクチンとして開発する場合は除外される¹⁷)。日本の遺伝子治療等臨床研究に関する指針(2019年4月施行)¹⁸では、mRNAは細胞内でタンパク質を発現して薬効を発揮することから、遺伝子治療製品に類似した特性があるとされ、再生医療等製品の中の遺伝子治療等製品とされた(ゲノム編集技術も含まれる)。

FDA が 1998 年に公布した「Guidance for Industry: Guidance for Human Somatic Cell Therapy and Gene Therapy」において、遺伝子治療は"生細胞の遺伝物質の修正に基づいた医学的介入"と定義されている。具体的には、以下の作用を示すものとされている(各種ガイドラインは後の頁に一覧で掲載)。

- ・疾患の原因となる遺伝子を健康な遺伝子のコピーに置き換えること
- ・ 適切に機能していない疾患を引き起こす遺伝子を不活性化する
- ・疾患の治療に役立つ新しい遺伝子や改変された遺伝子を体内に導入する

治療用、予防用、識別用のマーキング目的の医学的介入も、遺伝子治療の範疇となっている。 in vivo 、ex vivo ともに、遺伝子治療薬は生物学的製剤として規制される。このうち、ヒト細胞を用いた ex vivo 遺伝子治療薬は、ヒト細胞治療薬として、HCT/P(Human cells, tissues, or cellular or tissue-based products)にも該当する。

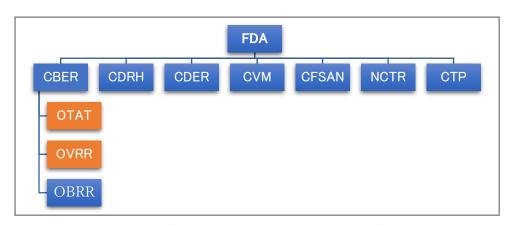
- 一方、EUではDirective 2001/83/EC において、遺伝子治療医薬品を、
- ・ 遺伝子配列を調節・修復・置換・追加・削除する目的で使用される、組換え核酸を有効成分とした医薬品であり、
- ・且つ、その治療・予防・診断効果が組換え核酸配列または当該配列の遺伝子発現の産物 に直接関連しているもの。

と定義している。核酸配列や遺伝子改変微生物、ウイルスを含有するもの(=in vivo 遺伝子治療薬)と、遺伝子改変細胞を含有するもの(=ex vivo 遺伝子治療薬)の双方が遺伝子治療医薬品の範疇に含まれた。Regulation (EC) No 1394/2007 に基づき、遺伝子治療医薬品は体細胞治療医薬品および組織工学医薬品とともに、先端医療医薬品 (ATMPs: Advanced-therapy medicinal products)と総称される。ただし、ex vivo 遺伝子治療薬は、遺伝子治療医薬品の定義のほか、体細胞治療医薬品ならびに組織工学医薬品の定義にも該当するが、その場合もRegulation (EC) No 1394/2007 に則り、遺伝子治療医薬品として扱われる。

(3)規制の枠組み

米国では、現在、mRNA 製品の規制は、FDA の生物製品評価研究センターCBER (Center for Biologics Evaluation and Research) の一部門である細胞組織・先進治療局 OTAT (Office of Tissues and Advanced Therapies) が担っている。CBER は、規制を効率的に遂行するため、2016 年 10 月、同センターの細胞組織遺伝子治療局 OCTGT (Office of Cellular, Tissue and Gene Therapies) の代わりに OTAT を新設している(下図参照)。

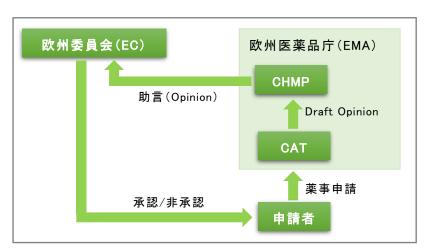
ただし、mRNAを感染症予防ワクチンとして開発する場合は、同センターのワクチン研究審査局OVRR (Office of Vaccines Research and Review) が審査する。



図表 10 FDA の組織図とmRNA 製品の規制担当部門

(シード・プランニング作成)

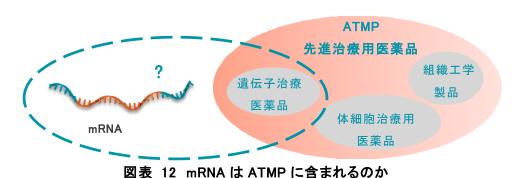
EUでは、Regulation (EC) No 1394/2007 に基づいて、EMA の内部に 先進医療委員会 (The Committee for Advanced Therapies: CAT) が設立された。CAT は、EMA に提出された ATMP に係る薬事申請に対 して、ヒト用医薬品委員会 (Committee for Medicinal Products for Human Use: CHMP) が最終的な見解をまとめて欧州委員会 (EC) に助言する前に、ドラフト版の見解を準備する役割を担っている(下図参照)。



図表 11 欧州での審査手順

(シード・プランニング作成)

mRNAがATMPに含まれるかどうかについては、組換え核酸に直接関連する効果を有する遺伝子配列を調節、修復、置換、付加または削除するmRNA製品は、ATMP(予防ワクチンを除く)であると見なされる。実際に、CureVacのmRNA製品はATMPとして審査されている 19 。ただし、今後も全てのmRNA製品がATMPと見なされるかどうかは不明である。なお、EUではATMPの販売承認に関する規制の原則として、リスクベースアプローチ(riskbased approach)が採られている 20 。



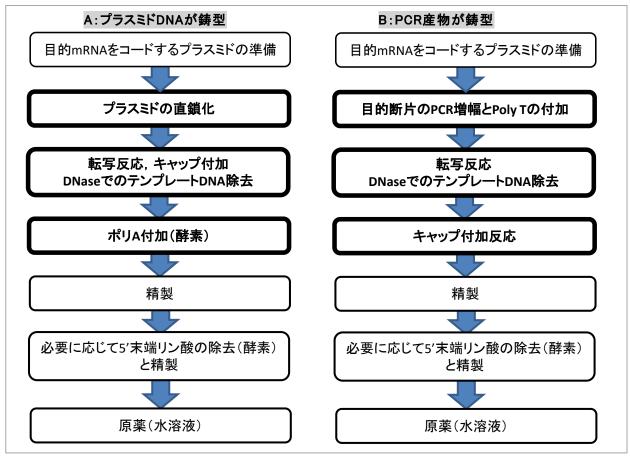
(TIDES Europe, CureVac発表スライドより引用改変)

EUでは、mRNA製品であっても、感染症予防を目的とする場合は、遺伝子治療ではなく、従来の感染症予防ワクチンとして規制される。感染症予防ワクチンは、Directive 2001/20/EC (the EU Clinical Trials Directive) に則り、臨床試験の実施に際して各国の規制当局による承認が必要となる。しかし、複数の国で臨床試験を実施する際に、統一のClinical Trial Authorization (CTA) Applicationを提出し審査をするためのVoluntary Harmonization Procedure (VHP)という枠組みが存在する。この制度を利用することで、各国毎の異なる照会事項や、治験実施計画に関する異なる要求を回避することができ、迅速な治験の実施が可能となる。

ワクチンの承認申請(marketing authorization application; MAA)プロセスについては、各国それぞれにおいて承認の取得する方法と、EU加盟国内で統一のプロセスが存在する。統一の承認プロセスの場合は、CHMPの傘下のVaccine Working Party (VWP) が審査を行い、承認の可否についての勧告を行う。

(4)出発物質

mRNA製品をGMP準拠で製造するには、出発物質を特定する必要がある。mRNAの合成方法は主に以下の2つに大別される $^{x j-1}$ ブックマークが定義されていません。。「プラスミドを直鎖化し、転写反応、キャップ付加、DNaseでテンプレート(鋳型)DNAの除去を行った後、ポリAを付加する方法」(下図A)と、「目的断片のPCR増幅とポリTの付加を行った後、転写反応、DNaseでテンプレートDNAの除去を行い、キャップを付加する方法」(下図B)である。下図Aは長いポリAを付加できるがサイズにばらつきが生じる。一方、下図Bは一定長のポリAを確実に付加できるが、付加できるサイズが短いといった特徴がある。



図表 13 mRNA の主な合成方法

(総説「mRNA 製品の品質・安全性評価の考え方」エラー! ブックマークが定義されていません。、を基にシード・プランニング作成)

出発物質についてEUは、活性物質として用いられるin vitro転写mRNAについては、直鎖化したテンプレートDNAを出発物質とみなすべきであるとの見解を示している 21 。しかし、PCR産物を鋳型にした場合の出発物質については明確に定まっていない(TIDES Europe,CureVacプレゼンより 19)。一方、FDAは、「PCR産物を鋳型にした場合、PCR製品の生産者やその管理方法について情報提供し、そのテンプレートがmRNAの製造に適していることを証明しなければならない」との見解を述べている(DIA/FDA Oligonucleotide-Based Therapeutics Conference、FDAプレゼンより 22)。

さらに、EUでは、遺伝子治療用医薬品の製造の出発物質として使用されるベクターおよび nakedプラスミドについては、遺伝子導入に用いるベクターまたはプラスミドの製造に用いる バンク系からGMPの原則が適用されるとも述べられている 23 。FDAも同様の見解を示している (DIA/FDA Oligonucleotide-Based Therapeutics Conference, FDAプレゼンより)。 日本の 有識者は「プラスミドをテンプレートとして転写反応を行うところ以降を、製造工程と捉える ことが考えられる。ただし、それ以前のプラスミドの作製方法についても、原材料の管理の観点から十分な説明が必要である」と述べている $^{25-1}$ 2

EU及び米国のガイドラインでは、DNAは通常原薬として記載されており、期待される品質、特性解析、製造工程の記述または分析方法はこの仮定に基づいている。しかし、現行のガイドラインは漠然としており、且つ、mRNAの出発物質を網羅してるわけではない点が課題である。例えば、PCR産物および直鎖化プラスミドDNAはカバーされていない 24 。

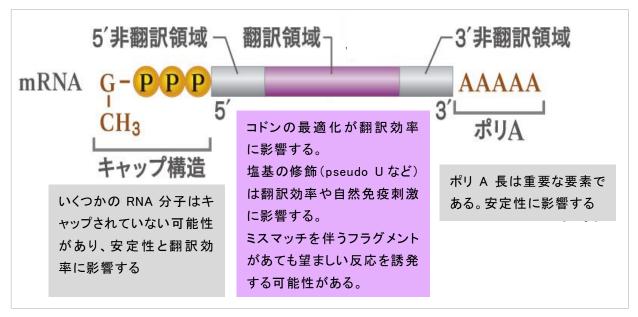
なお、CureVac は TIDES Europe でのプレゼンにおいて、「(当社は)ICH Q7 に完全な形で準拠しているわけではないが、直鎖化した鋳型プラスミド DNA を出発物質と見なすべきである。最も大きな課題として、プラスミド(naked DNA)が出発物質として見なされた場合には、細胞状態の時点から ATMP が適用されることになってしまうということが挙げられる。 ATMP ガイドライン EMA/CAT/852602/2018 案の公開協議中にコメントによると、ATMP ガイドライン案では PCR 産物および直鎖化プラスミド DNA は対象に含まれていない。WCB とMCB の双方に適用される GMP 原則はあるのか、また開発段階、First-in-human 試験及び検証的試験には異なる要件があるかも不明である」と述べている 19 。

(5)品質特性解析

mRNA 原薬の CQA (Critical Quality Attributes) として以下の項目が挙げられると Moderna は述べている²⁵。

- · Cap content
- · ポリA長
- · 純度/完全性
- 配列

mRNA 製品において、同一性と完全性は重要な品質特性である。下図は mRNA の構造特性が医薬品としての安全性と有効性に影響を与えることを示したものである。



図表 14 mRNA の構造と品質特性への影響

(総説「mRNA 製品の品質・安全性評価の考え方」エラー! ブックマークが定義されていません。、 TIDES Europe, CureVac 社発表内容 ¹⁹を基にシード・プランニング作成)

理論的には、設計図通りの mRNA を合成できるはずだが、実際は異なる。その原因として、例えば in vitro 転写における転写エラー変異や、タンパク質に反映されない非コード領域の変化が挙げられる。またコドンの転写ミスによるサイレント変異が生じたり、ミスマッチのある断片や構成体が望ましい反応を引き起こす可能性がある。

確認試験について、EU は、RNA 及び DNA ベクター、プラスミド又は人工染色体 DNA の試験には、治療配列及び調節/制御配列の確認を含む遺伝的同一性及び完全性の試験、一連の試験を用いた外来性物質の不使用、無菌性及びエンドトキシンレベルを含む試験を含まなければならないとの見解を示している 21 。

FDA は、確認試験によって製品を独自に特定し、同一施設内の他の製品と区別することを推奨するとの見解を示している²⁶。さらに、FDA は、遺伝子治療用製品に対し、原薬の一次、二次又は高次構造、翻訳後修飾、及び/又は細胞型の分布を確認するデータを要求しているが、多数のパイプラインを保有している M 社へのヒアリング²⁷では、

- ・ コドンの最適化については、FDA は特段の懸念を示しておらず、オリゴヌクレオチドと 比較して、非翻訳領域の配列変異についは寛大とのことである。
- ・ むしろ、欧米での開発進展において留意すべきは API の変更であり、配列における小さな変更は通常許容されるが、変更した際に取られるアプローチは、少人数で慎重な臨床開発が求められる変更に伴う毒性プロファイルに変わりがないことを証明し、変更後は最初の3名ほどの患者からより慎重な対応を取ることになる。

とのコメントを得ている。

また、mRNA の受託合成をおこなう T 社が、「まずは非免疫原性な mRNA を製造すべき、そのためにも製品の特性解析は重要である。さらに、精製工程は特に重要である。反応液中の塩や NTPs, cap analog, proteins, residual DNA, truncated mRNA, dsRNA などの除去が重要であるが、その程度については、mRNA の用途(単回投与 or 反復投与)などによって、求める純度が異なる」と述べている 28 。実際に、治験実施中の CureVac は、TIDES 2019 でのプレゼンのなかで、「例えば、感染症ワクチンでは許容できる純度でも、タンパク補充療法など週 1 回投与を数年続ける場合などは、より純度の高い mRNA が求められる」と述べていた。ドイツ PEI も mRNA Health Conference でのプレゼン後の質疑応答にて「純度の基準はなく、ケースバイケースで判断する」と述べている 29 。

全般的に、mRNA の特性解析のための分析手法は全て確立されているわけではなく、開発企業が規制当局と相談しながら、妥当な分析手法を開発している途上である。

(6)力価試験(potency assay)

力価試験(potency assay)が遺伝子治療製品の同等性/同質性評価の主要な構成要素である。mRNA製品の場合、発現したタンパク質で確認することになるが、フェーズ I 試験までにどこまで必要かは明確になっていない。好ましくは、力価測定法は臨床的作用機序を反映すべきであり、選択した力価測定法とその許容限界値との関連性については、その妥当性を示す必要があるというのが、FDA、EMAに共通の方針である。

しかし、mRNA 製品の場合は mRNA そのものに薬効があるわけではなく、mRNA が細胞に取り込まれた後に発現したタンパク質が薬効を示すため、mRNA 製品の力価試験は難しい。 開発段階ごとに妥当な力価試験法を確立することが望ましいが、開発初期には、力価試験法が完全に開発されていない可能性があることは当局にも認識されている ²¹。

これらの点において M 社は、本調査のヒアリングで以下のように述べていた 30。

- ・ 力価試験法の開発に際しては、試験法が mRNA の functional biology (encode したタンパク質の発現) のみを測定していることを説明/立証することが重要である。規制当局が期待することは、測定法に求められる「測定対象以外のものは測定しない」ことであるが (specific ability) 、そうした試験法の開発は容易でない。
- ・ より速い段階から力価試験法の開発を進める必要がある。はじめはテスト形式で運用するが、開発段階が進むとともに acceptability などを設定していく。欧米で臨床試験を開始するために申請書には試験法を加えている。Phase1 の段階で示さないケースもあったが、最近は示さないことはない。

(7)非臨床・臨床試験

遺伝子治療用製品(ATMP)は risk based approach を用いて開発すべきであるというのが 当局の方針である 30 。ATMP に関連するリスクには以下のものがあるが、mRNA にはあては まらないものもある。

- 望ましくない免疫原性
- 腫瘍形成
- 不要な組織形成
- 不適当な生殖細胞系形質導入
- 構造成分からの毒性化合物の分解/溶出による毒性
- 細胞/器官の望ましくないターゲティング
- 治療用遺伝子の異常な発現

CureVac は、TIDES Europe のプレゼンにおいて、以下の試験・研究は mRNA 製品の場合には不要であると述べていた ¹⁹。

- · 排出試験(非臨床/臨床)
- ・ 遺伝毒性の評価
- ・ 腫瘍形成性の評価
- ・ 複製可能なベクターの出現、新株の出現、既存のゲノム配列の再編集など、ウイル スまたは細胞の遺伝子治療に関連する研究

国内では mRNA 製品の臨床試験は未だ実施されていない。しかし、規制当局担当者を含む有識者らが、総説「mRNA 製品の品質・安全性評価の考え方」17を発表している。それによると、品質と安全性は、まず mRNA の構造が天然型、非天然型のいずれであるかによって評価方法を分けるべきとの考え方が示されている(以下の表参照)。なお、ここで言う非天然型 mRNA とは、生体内に存在しない修飾が施されている場合(例えば、新規化合物をキャップアナログ等として用いる場合)を指している。

図表 15 非臨床安全性評価の考え方(国内)

	mRNA 製品					
天然型/非天然型	非天然型	天然型				
参考となる指針など	ICH S6, M3	ICH S6				
毒性評価の考え方	・修飾核酸やその代謝産物の毒性 ・発現タンパク質の毒性	・発現タンパク質の毒性				
一般毒性試験(動物種)	2 種	適切であれば 1 種で可				
遺伝毒性試験	0	-				
生殖発毒性試験	Δ	Δ				

がん原性試験	Δ	-
安全性薬理試験	0	_
その他	相同遺伝子の利用	

(○:試験対象、△:場合によっては試験対象)

(総説「mRNA 製品の品質・安全性評価の考え方」エラー! ブックマークが定義されていません。、を基にシード・プランニング作成)

(8)日米欧の比較

本調査での海外 KOL へのヒアリング結果の概要を下記表にまとめた³¹。 mRNA 製品の開発に従事している、または知見のある企業担当者から規制の実態に関するコメントを得られた。

図表 16 mRNA 製品の規制に関するヒアリング結果のまとめ

1. 日米欧の 3 極において、mRNA 製品に特化した規制ガイドラインは存在していないと聞いているが、規制当局が Reflection Paper, 留意文書(Points to Consider Document)、White Paper 等を作成しようという動きはあるのか。		
mRNA 医薬開発企業 A社	・ 今後、FDA は mRNA に特化した何らかのガイドラインを作成すると思う。特に、免疫原性を示す二重鎖 DNA(dsDNA)について明確な基準がないことが課題である。	
バイオテクノロジ 一CRO A社	・ CMO の視点からして mRNA のガイダンスはまだ早すぎると感じる。現時点で重要なのは identity と何らかの purity value、dsRNA の数値を提供すること。ガイダンスドキュメントを作らず、recommendation にとどめておいたほうが良いと思う。	
mRNA 医薬開発企業 M社	・ EMA, FDA は mRNA を遺伝子治療としてとらえている。 mRNA に特化したガイダンスはなく、遺伝子治療に関するガイダンスが準用されているが、うまく適合しない箇所が多くある。 Gene Therapy ではベクターを用い、それに関する記載が多いが、 mRNA は用いていない。 mRNA に適合した公正なガイドラインの作成(改定)は課題である。	
mRNA 医薬開発企業 B社	・ mRNA に特化したガイダンスは存在しない。	
mRNA 医薬開 発企業 E社	_	
m RNA 医薬 CMO企業 T社	・欧州には公式なガイダンスがあるはずである。mRNA を遺伝子治療薬品として分類し、EMA はあらゆる mRNA に適用したいと思っている。遺伝子治療医薬品に特化したガイダンスを持っている。米国には、mRNA を分類するような公式のガイダンスは存在しないが、多くの人は EMA のガイドラインを適用している。	
米国規制関連コ ンサルタント A 社	私が思うに、ガイダンスを作成することができる唯一の方法は、大きな遺伝 子治療に対して作るか、レンチウイルスベクターではないことである。	
2. FDA/EMA は、mRNA 製品を低分子化合物からなる医薬品と同様に品質評価しようとしているのか。		
mRNA 医薬開発企業 A社	・ EMA, FDA は、mRNA を生物学的製剤とみなすと言っている。mRNA は一種の遺伝子治療としてみなされている。	
バイオテクノロジ ーCRO A社	 EU には FDA のように CDER と CBER の分け方がない。 mRNA は cell-free で製造でき、酵素のみの biological プロセスである(生物を必要としない製造方法)。現在米国では CBER が管轄しているが、いつ CDER が入ってきても不思議ではないと考える。 	
mRNA 医薬開 発企業 M社	 Specification や quality attribute は traditional biologics (組み換えタンパクや抗体など) に類似している。 低分子では impurity profile をより高い特異性と分解能を持って評価することが求められるが、mRNA では特段求められない。 	
mRNA 医薬開	・ EMA は異なるアプローチをとっている。	

発企業 B社					
mRNA 医薬開 発企業 E社	・それはない。				
m RNA 医薬 CMO企業 T社					
米国規制関連コンサルタント A社	・米国では、mRNA製品はオリゴヌクレオチドとはみなされていない。mRNA製品は欧州でのみ規制されており、欧州と同様に規制されている。欧州は遺伝子治療として規制しており、米国では mRNA は遺伝子治療、非ウィルス性の遺伝子治療として規制されている。				
3. GMP 準拠で製	3. GMP 準拠で製造する場合、FDA が指定している、mRNA 製品の品質評価項目はあるのか。				
mRNA 医薬開 発企業 A社	・ Potency assay は、mRNA 原薬/製剤の規格試験として CBER が要求する項目である。				
バイオテクノロジ 一CRO A社					
ONO X II	・ 品質評価については、EU/FDA は我々の control strategy に合意している。				
mRNA 医薬開 発企業 M社	・開発の初期段階で多くの CQA を調査し、複数のアッセイを評価する必要がある。遺伝子治療は製品、CQA を完全に特徴づけるには複数のアッセイが必要な場合がある。当社では mRNA 製品には直交分析法を用いて純度を評価している。				
mRNA 医薬開 発企業 B社	_				
mRNA 医薬開発企業 E社	・確かなことは言えないが、品質評価項目は現在開発中のはずだと思う。私の知る限り、参加している企業は全て、自社の品質パラメータを持っている。				
m RNA 医薬 CMO企業 T社	・ 遺伝子治療製品に関する EMA のガイドラインにおいては、バイオバーデン、エンドトキシン、形質(identity)、potency について試験を行うことが重要とされている。加えて、シークエンスに期待されていた action は in vitro の生物学的 activities によって示されるべきだと彼らは言っている。				
米国規制関連コ ンサルタント A 社	・ FDA による GMP の特別な品質評価というのは存在せず、ほとんどは ICH のガイドラインに従っている。				
4. 短鎖核酸(siRNA, ASO など)と比較して、mRNA 特融の Critical Quality Attributes は何か。どのような試験法でどのような規格設定が求められているのか (Cap content, polyA tail, purity/integrity, sequence など)					
mRNA 医薬開発 企業 A 社	・ mRNA 原薬の製造(DNA テンプレートからの転写)では、様々な mRNA が合成されるが、一定の割合で転写エラーも発生することから、異なる塩基配列の mRNA も合成されている。これに対し CBER は、ロット内に混在する異なる mRNA 分子種の分布 (population/distribution)をロット間で一定に保つことで、製造の再現性や均一性、同等性を担保するという考え方を採用している。 ・ 当社の場合はタンパク補充療法に注力しているので、mRNA の純度には非常に神経質になっている。この場合、投与した物質により免疫原性が上がると問題になるためである。 ・ 純度について明確な基準はないが、少なくとも AST、ALT(いずれも肝機能のマーカー)などの上昇がないことと、サイトカインの過剰な産生が起こらないことを基準にしている。				

バイオテクノロジ 一CRO A社	・ mRNA の不純物に関しては現段階で特定できるツールがない。多くの不純物があり、特定する手段や分ける手段も無い。しかし、今後、分析技術が進歩することにより、必要な条件も増えていく。
mRNA 医薬開 発企業 M社	・ potency assay が挙げられる。Potency assay の開発に際しては、試験法が mRNA の functional biology(つまりは encode したタンパク質の発現)のみを測定していることを説明/立証することが重要である。
mRNA 医薬開 発企業 B社	・ タンパク質と比較して、mRNA は分子よりも非常に単純である。4 つの構成要素しかなく、特別な構成を必要としない。それが細胞内に入るや否や特性を表すので、通常は potency assay が求められる。
mRNA 医薬開発企業 E社	・プラスミド DNA の残留物について思い浮かぶが、一般的には、バイオバーデンが重要なのは当然である。薬の中にコーディング DNA が含まれていないことを証明する必要がある。
m RNA 医薬 CMO企業 T社	 Cap content, polyA tail, purity/integrity, sequence、これらはその通りだと思う。多くの人は、フラグメントアナライザー分析に頼っており、purity を測定するには CE ベースの分析や HPLC 法を使用しており、一般的には、これが業界を牽引する人々が使用するアプローチである。CureVac、BioNTech、Moderna は、HPLC を使用していると言っているし、それでpurity を測定していると私は考えている。
米国規制関連コ ンサルタント A 社	_
	IA, ASO など)と比較して、API の製造に関し mRNA 特融な規制要件など FDA
が重要視している	点はあるのか。
が重要視している mRNA 医薬開発 企業 A社	点はあるのか。 ・ shortmers や double-stranded RNA を作ってしまい、これらを除去するのは非常に難しかったが、ここ数年で各社が方法を開発しており、FDA やEMA もこの情報をほしがると思う。
mRNA 医薬開発	・ shortmers や double-stranded RNA を作ってしまい、これらを除去するのは非常に難しかったが、ここ数年で各社が方法を開発しており、FDA や
mRNA 医薬開発 企業 A 社 バイオテクノロジ	 shortmers や double-stranded RNA を作ってしまい、これらを除去するのは非常に難しかったが、ここ数年で各社が方法を開発しており、FDA や EMA もこの情報をほしがると思う。 EU/FDA は、dsRNA をできるだけ混入させないことが非常に重要と考えて
mRNA 医薬開発 企業 A 社 バイオテクノロジ ーCRO A 社 m RNA 医薬開	 shortmers や double-stranded RNA を作ってしまい、これらを除去するのは非常に難しかったが、ここ数年で各社が方法を開発しており、FDA やEMA もこの情報をほしがると思う。 EU/FDA は、dsRNA をできるだけ混入させないことが非常に重要と考えていると思う。 mRNA に特有な規制要件はない。GMP quality は規制当局からの要件ではないが、Plasmid の製造工程や技術, control や critical pass などの記
mRNA 医薬開発 企業 A 社 バイオテクノロジ ーCRO A 社 mRNA 医薬開 発企業 M 社	 shortmers や double-stranded RNA を作ってしまい、これらを除去するのは非常に難しかったが、ここ数年で各社が方法を開発しており、FDA やEMA もこの情報をほしがると思う。 EU/FDA は、dsRNA をできるだけ混入させないことが非常に重要と考えていると思う。 mRNA に特有な規制要件はない。GMP quality は規制当局からの要件ではないが、Plasmid の製造工程や技術、control や critical pass などの記載が要求される。 RNA 製品や製造プロセスなどについては、規制当局から常に、もしくは今まさに尋ねられているようなことだと思う。生物学的プロセスと、組み換え酵素の使用、プロセスを持っていることを示すこと、動物由来の素材を使用し
mRNA 医薬開発 企業 A 社 バイオテクノロジーCRO A 社 mRNA 医薬開発企業 M 社 mRNA 医薬開発企業 B 社 mRNA 医薬開	・ shortmers や double-stranded RNA を作ってしまい、これらを除去するのは非常に難しかったが、ここ数年で各社が方法を開発しており、FDA やEMA もこの情報をほしがると思う。 ・ EU/FDA は、dsRNA をできるだけ混入させないことが非常に重要と考えていると思う。 ・ mRNA に特有な規制要件はない。GMP quality は規制当局からの要件ではないが、Plasmid の製造工程や技術、control や critical pass などの記載が要求される。 ・ RNA 製品や製造プロセスなどについては、規制当局から常に、もしくは今まさに尋ねられているようなことだと思う。生物学的プロセスと、組み換え酵素の使用、プロセスを持っていることを示すこと、動物由来の素材を使用しないことなど。安全性の懸念もある。 ・ mRNA は先端医療医薬品(ATMP)であるのに、合成オリゴヌクレオチドは化学的な存在であるとして、別々に規制されている。in vitro 転写で作られたmRNA をワクチンとして使用するなら、合成オリゴヌクレオチドと比較してタイプの異なる規制がすでに適用されている。将来的には mRNA に対して、

6. mRNA 製品の開発において、FDA/EMA は mRNA 特有の懸念事項は何だと考えているの か。例えば、以下の事項について FDA/EMA は懸念しているのか。 ヌクレオチドが、過剰に修飾されている 配列が天然型とは異なる (codon optimization???) mRNA を投与することにより、生体内に同一のタンパク質をコードする mRNA が過剰 に存在する (exaggerated pharmacology) ・ 天然型か非天然型かについては、当局はあまり気にしていない。 ・ 化学修飾については、FDA の中にも長期毒性を懸念している人もいるが、 mRNA 医薬開発 具体的な開発指針は出ていない。 ・ exaggerated pharmacology については、前臨床モデルで証明できる。懸念 企業 A社 は、疾患によって毒性プロファイルが異なる可能性があり、疾患によって特 異的な毒性試験が必要であるかもしれない点である。 ・ Enzymatic プロセスを使用する場合、酵素のソースを明確に示す必要があ る。これが生物由来の場合、TSE(伝達性海綿状脳症)や BSE(海綿状脳 症)の疑いがないか明確に証明する必要がある。 ・ LNP の分析手法。 バイオテクノロジ ・ 天然型と非天然型の mRNA に関しては、cap 0 structure は免疫反応が 一CRO A 社 認められるためこれは課題になるかもしれない。 現在の技術ではすべての問題を解決することはできない。早い段階で規制 当局と science advice meeting を設け、CMC 戦略などが妥当かを判断し てもらうべき。 ・ オリゴヌクレオチド(短鎖核酸)は CDER によるレビューであるが、mRNA は m RNA 医薬開 OTAT が管轄で、より科学的レビューを指向するという特徴を有する。発現 発企業 M社 させたタンパクについては、Exaggerated pharmacology の懸念がある。 · これは、より前臨床的な問題であり、薬学や mRNA の薬物動態学から見な m RNA 医薬開 ければならない。 mRNA を見るだけでなく、タンパク質である mRNA から何 発企業 B社 がもたらされるかということも見なければならない。 Paul Ehrlich Institute とのやり取りの中では、彼らは私たちが適用する修 m RNA 医薬開 飾については何の心配もしていない。しかし我々と話したことのある人々、 発企業 E社 投資家やコンサルタントらは、我々が修飾されたヌクレオチドを使うことでど ういったことが生じうるかを研究するようにアドバイスしてくる。 m RNA 医薬 CMO 企業 T社 米国規制関連コ ・ mRNA を標準化するには、仮にそれらが天然に存在していたとしても、 ンサルタント A mRNA に対して何らかの修飾を行わなければならない。 7. mRNA 製品の適応が異なっても、毒性評価の基準は同じなのか。例えば、EMA では、感染症 予防ワクチンとしての mRNA は遺伝子治療とはみなされていないと聞いている。 ・ FDA にとっては、医薬品原薬(API)としての mRNA よりも、むしろ LNP(脂 質ナノ粒子)の毒性の方が主な懸念点になっている。 現在は mRNAと siRNA の毒性試験は基本的に同じであるが、mRNA では 分析手法と使用される LNP が異なることが挙げられる。また、siRNA では mRNA 医薬開発 オリゴヌクレオチドの PK をやるが、mRNA では mRNA とコードするタンパク 企業 A社 質の PK を出す必要がある。 ・ ヒトパピローマウイルス(HPV)のように、感染することで癌を発症する感染 症でも、予防ワクチンとして規制されると思う。 バイオテクノロジ 一CRO A 社

m RNA 医薬開	・ 一般的に、毒性評価基準は同じである。抗体医薬の開発で見られる基準
発企業 M 社	変化の違いほどもない程度である。
mRNA 医薬開	_
発企業 B社	
mRNA 医薬開	・ 毒性基準は同じ。これは先端医療医薬品(ATMP)に関しては一般的に受け
発企業 E 社	入れられていることである。
	・ ワクチンの場合には補助的薬剤として使用されうる。それを医薬品に入れ
m RNA 医薬	ることは有利に働く。しかしながら、規制当局は2本鎖がその中にどれくら
CMO 企業 T社	いあるのかをいまだに知りたがっている。
米国規制関連コ	・ mRNA は API だが、一般的に有効成分は翻訳されたタンパク質である。そ
ンサルタント A	のため、通常、毒性評価の基準は ICH S6 や ICH M3 ガイドラインが適用さ
社	れる。
8. mRNA 製品の	規制について、EMA と FDA とで見解が異なる部分があるのか。
mRNA 医薬開発	・ 双方で話し合っているので特に変わらない。我々も FDA とドイツの Paul
企業 A社	Ehrlich Institute と話し合ったが見解はほぼ同じだった。
バイオテクノロジ	
ーCRO A 社	
mRNA 医薬開	・ 今のところ欧米間で違いは見られていないが、上市に向けた協議の中で、
発企業 M社	両者間で基本的な違いが表れるかもしれない。
mRNA 医薬開	P. And Carlotte Market Control of
発企業 B社	_
	・ FDA については知らないが、Translate Bio 社は、FDA が EMA よりも注文
m RNA 医薬開	が少ないと考えているそうだ。しかし、欧州の人からは、FDA の方がより大
発企業 E社	きなハードルであると聞くこともある。
m RNA 医薬	・ 最も大きな懸念は常に毒性に関するものだと思う。(異なる部分のコメント
CMO 企業 T社	特になし)
米国規制関連コ	
ンサルタント A	・ FDA に比べ EMA の方がより具体的である。
社	
	DDS 製剤の規制について、貴社が懸念していることはあるのか。または、規制
当局に対し、貫社	が主張したいことは何か。
mRNA 医薬開発	・ DDS 製剤に用いる LNP の毒性評価が厳しいであろうことを懸念している。
企業 A社	ししの 表別に用する Livi の事 圧 m m n. 放しい (の)の J C C で 恋 心 し ている。
バイオテクノロジ	
—CRO A 社	
	・米国はこれら lipid は活性体 (active)とは考えない傾向があるのか?
	Lipid は何に寄与しているのか? mRNA 原薬に適切に寄与しているの
m RNA 医薬開	か? 欧州にて個々の国から得たフィードバックでは(central advice は要
発企業 M社	求していない)、それぞれにおいて一致した考えはなく、予防感染症ワクチ
	ン部門の職員間で一致した合意事項がシェアされているわけではないよう
D.1.4 == #= ==	である。
m RNA 医薬開	_
発企業 B社	
mRNA 医薬開 発企業 E社	_

m RNA 医薬 CMO企業 T社	・懸念の大部分は、粒子の粒度分布、脂質のクリアランス、半減期はどれくらいかということと、ペイロード外に(outside of payload)粒子に何らかの毒性があるかもしれないということだろう。毒性学においてはペイロードなしの脂質ナノ粒子を送達することが重要であり、送達担体(delivery vehicle)の毒性学的なプロフィールを示すことが重要である。		
米国規制関連⊐			
ンサルタント A	_		
社			
10. タンパク補充療法に mRNA を用いることについて、規制当局が懸念していることは何か。			
	・ 投与回数が多くなるため、LNP の毒性が課題となる。		
mRNA 医薬開発 企業 A 社	・疾患によっては、過剰に発現したタンパクが問題となる可能性がある。疾 患ごとに異なる毒性試験が求められるかもしれない。		
バイオテクノロジ	・ 反復投与による LNP の肝毒性への懸念や、免疫系の亢進とそれによる抗		
ーCRO A 社	体産生(中和抗体産生)などの問題。		
	# 5 H 0 0 の プログニノナ D ' NND L 1		
mRNA 医薬開 発企業 M社	・我々は2つのプログラムを Doctor's IND として臨床試験を行っている。これらは細胞内でのタンパク質合成のため、タンパク質補充療法に関して推測することはできないが、規制当局が懸念することはないと考える。		
mRNA 医薬開	_		
発企業 B 社			
m RNA 医薬開	_		
発企業 E 社			
m RNA 医薬			
CMO 企業 T社			
米国規制関連コ			
ンサルタント A	_		
社			
	↑		
mRNA 医薬開発	・ 同じく OTAT が担当すると思う。 mRNA によるゲノム編集は transient であ		
企業 A 社	るからあまり問題ないと思う。		
バイオテクノロジ			
ーCRO A社	_		
	サムの末期はでもてので、咳亡期炎と光はていて入せに明くのだしいので		
mRNA 医薬開 発企業 M社	・ 我々の専門外であるので、臨床開発を進めている会社に聞くのがよいのではないか。		
m RNA 医薬開	100.00 10 0		
一発企業 B 社	・関与していない。		
	・ mRNA は mRNA として将来規制されるであろう、しかし Cas9 に関しては、		
	例えば Cas9 にはオフターゲット効果という懸念がある。 伝達されるものが		
m RNA 医薬開	タンパク質であっても mRNA としてのタンパク質であっても、それを明らかに		
発企業 E社	する必要がある。医薬品そのものについては、医薬品には違いはあれど、		
	生物学的な危険(biological hazards)は、ゲノム編集から生じるのであり、		
	mRNA に由来するものではない。		
m RNA 医薬			
CMO 企業 T社			
	・ FDA にもガイダンスがなく、多少のレファレンスがあるだけである。 FDA の		
V F + + + + + + + + + + + + + + + + + +	ガイダンスは 2013 年に作られたものであり、EU のガイダンスは 2018 年の		
米国規制関連コ	ものだ。ガイダンスは一般的なものであり、specific はおそらくケーススタデ		
ンサルタント A	イーになるだろう。		
社	1 になるだろう。 · 規制当局の懸念は体液性応答および細胞性応答、生体内分布、オフター		
	ェーダルニュロン窓ぶは色水は上心宣のよい風地に上心宣、土色のカカカ、オノダー		
	ゲット効果である。		

多数のパイプラインを保有する M 社は、ヒアリングにおいて、「今のところ欧米間で違いは見られていない。ただし、我々は現在 phase~1, phase~2 の段階であり、今後上市に向けた協議の中で、両者間で基本的な違いが表れるかもしれない。各国の規制当局との会議などでは、目標達成のための効力(leverage)として、開発が進む毎に可能な限り EMA や FDA との間でのやり取りすることにしている。こうした事例は重要で意図的に蓄積している」と述べていた 27 。

本調査の結果、国内では、非公式ではあるが、まず mRNA の構造が天然型、非天然型のいずれであるかによって評価方法を分けるとの考え方が示されている ¹⁷。一方、臨床開発が先行している欧米では、用途別(感染症予防ワクチン、タンパク補充療法、がん免疫療法)に規制が異なっている。 mRNA に特化したガイドラインは FDA、EMA にも作成していないが、そのために開発企業が困っているという声は聞かれず、「規制当局はケースバイケースで判断する」とのコメントが多く得られた。

(9)参照ガイドライン

FDAは、ヒト遺伝子治療とは「遺伝子の発現を修正または操作したり、治療に使用するために生細胞の生物学的特性を変更したりすること」と定義している³²。それに基づき、mRNA製品を遺伝子治療に分類している。

EU は、遺伝子治療用医薬品の定義においては、遺伝子治療を「組み換え型核酸という作用物質を有する生物学的な医薬品」であるとし、また「遺伝子配列の調節、修復、置換、付加又は欠失を目的として、ヒトに使用され又は投与される組換え核酸を含有し、又はそれからなる活性物質を含有する」ものと定め、感染症に対するワクチンや RNA、DNA、オリゴヌクレオチドといった化学的に合成された核酸は例外として扱われている 20。実際に複数の mRNA 製品が ATMP として規制されている。

よって、mRNA 製品の開発に際しては、下記の遺伝子治療に関連する主なガイドラインを参照されている。しかし、これらのガイドラインではカバーし切れない部分があるため、開発企業は正当な根拠をもって規制当局と相談することが望ましいと CueVac は述べている (TIDES Europe でのプレゼンより 19)。

(1)FDA のガイドラインリスト(Cellular & Gene Therapy Guidances)

【mRNA 製品開発のために参照すべきガイドライン】

• Chemistry, Manufacturing, and Control (CMC) Information for Human Gene
Therapy Investigational New Drug Applications (INDs); Draft Guidance for
Industry

7/2018 (Corrected July 20, 2018. This document supersedes the draft guidance of the same title dated July 2018.)

(ヒト遺伝子治療研究用新薬申請のための化学、製造、および管理(CMC)情報(インデックス;業界向けガイダンス案)

• Considerations for the Design of Early-Phase Clinical Trials of Cellular and Gene Therapy Products; Guidance for Industry

6/2015

(細胞及び遺伝子治療製品の早期臨床試験のデザインに関する考慮事項;業界向 けガイダンス)

• Guidance for Industry: Preclinical Assessment of Investigational Cellular and Gene Therapy Products

(This guidance finalizes the draft guidance entitled "Guidance for Industry: Preclinical Assessment of Investigational Cellular and Gene Therapy Products" dated November 2012) 11/2013

(治験細胞・遺伝子治療薬の前臨床評価;業界向けガイダンス)

• Guidance for Industry: Clinical Considerations for Therapeutic Cancer
Vaccines

10/2011. (This guidance finalizes the draft guidance of the same title dated September 2009.)

(がん治療用ワクチンの臨床的考慮事項;業界向けガイダンス)

• <u>Guidance for Industry: Potency Tests for Cellular and Gene Therapy Products</u> 1/2011. (This guidance finalizes the draft document of the same name, dated October 2008.)

(細胞および遺伝子治療製品の力価試験;業界向けガイダンス)

Guidance for FDA Reviewers and Sponsors: Content and Review of Chemistry,
 Manufacturing, and Control (CMC) Information for Human Gene Therapy
 Investigational New Drug Applications (INDs)

4/2008

(ヒト遺伝子治療治験薬(IND)の化学、製造、および管理(CMC)情報の内容とレビュー; FDA審査官およびスポンサー向けガイダンス)

• Guidance for Industry: Gene Therapy Clinical Trials - Observing Subjects for Delayed Adverse Events

11/2006

(遺伝子治療の臨床試験・遅延有害事象の被験者の観察;業界向けガイダンス) (ゲノム編集用の mRNA は対象。それ以外は対象外)

• Guidance for Industry: Guidance for Human Somatic Cell Therapy and Gene
Therapy

3/1998

(ヒト体細胞治療および遺伝子治療に関する指針;業界向けガイダンス)

【開発品目によっては参考になるガイドライン】

• Expedited Programs for Regenerative Medicine Therapies for Serious
Conditions; Guidance for Industry

2/2019

(重篤な病態に対する再生医療のための迅速プログラム;業界向けガイダンス)

• Evaluation of Devices Used with Regenerative Medicine Advanced
Therapies; Guidance for Industry

2/2019

(再生医療の先進的治療に使用される機器の評価;業界向けガイダンス)

• Long Term Follow-up After Administration of Human Gene Therapy Products;
Draft Guidance for Industry

7/2018

(ヒト遺伝子治療製品投与後の長期フォローアップ;業界向けガイダンス案) (ゲノム編集用の mRNA は対象。それ以外は対象外)

• Testing of Retroviral Vector-Based Human Gene Therapy Products for Replication Competent Retrovirus During Product Manufacture and Patient Follow-up; Draft Guidance for Industry

7/2018

(製品製造および患者追跡中の複製コンピテントレトロウイルスのためのレトロウイルスベクターに基づくヒト遺伝子治療製品の試験;業界向けガイダンス案)

• <u>Human Gene Therapy for Hemophilia; Draft Guidance for Industry</u> 7/2018

(血友病のヒト遺伝子治療;業界向けガイダンス案)

• Human Gene Therapy for Rare Diseases; Draft Guidance for Industry 7/2018

(希少疾患のヒト遺伝子治療;業界向けガイダンス案)

 Human Gene Therapy for Retinal Disorders; Draft Guidance for Industry 7/2018

(網膜疾患のヒト遺伝子治療;業界向けガイダンス案)

 Same Surgical Procedure Exception under 21 CFR 1271.15(b): Questions and Answers Regarding the Scope of the Exception; Guidance for Industry 11/2017

(21CFR 1271.15 (b) に基づく同一の外科的手続例外:例外の範囲に関する質問と回答;業界向けガイダンス)

• <u>Deviation Reporting for Human Cells, Tissues, and Cellular and Tissue-Based</u> <u>Products Regulated Solely Under Section 361 of the Public Health Service Act</u> <u>and 21 CFR Part 1271; Guidance for Industry</u>

9/2017

(公衆衛生サービス法第 361 条および 21CFR Part1271 に基づいて単独で規制されたヒト細胞、組織、ならびに細胞および組織ベース製品に関する逸脱報告;業界向けガイダンス)

 Recommendations for Microbial Vectors Used for Gene Therapy; Guidance for Industry

9/2016

(遺伝子治療に使用される微生物ベクターに関する推奨事項;業界向けガイダンス)

Design and Analysis of Shedding Studies for Virus or Bacteria-Based Gene
 Therapy and Oncolytic Products; Guidance for Industry

8/2015

(ウイルスまたは細菌ベースの遺伝子治療および腫瘍溶解性製品の排出試験の設計と分析;業界向けガイダンス)

• Determining the Need for and Content of Environmental Assessments for Gene Therapies, Vectored Vaccines, and Related Recombinant Viral or Microbial Products; Guidance for Industry

3/2015

(遺伝子治療、ベクターワクチン、および関連する組換えウイルスまたは微生物 製品の環境評価の必要性と内容の決定;業界向けガイダンス)

• Guidance for Industry: BLA for Minimally Manipulated, Unrelated Allogeneic Placental/Umbilical Cord Blood Intended for Hematopoietic and Immunologic Reconstitution in Patients with Disorders Affecting the Hematopoietic System 3/2014. (This guidance finalizes the draft guidance of the same title dated June 2013.)

(造血系に影響を及ぼす疾患患者における造血および免疫再構築を目的とした最小限に操作された無関係な同種異系胎盤/臍帯血に対するBLA;業界向けガイダンス)

• IND Applications for Minimally Manipulated, Unrelated Allogeneic

Placental/Umbilical Cord Blood Intended for Hematopoietic and Immunologic

Reconstitution in Patients with Disorders Affecting the Hematopoietic System

- Guidance for Industry and FDA Staff

3/2014. (This guidance finalizes the draft guidance of the same title dated June 2013.)

(造血系に影響を及ぼす疾患患者における造血および免疫再構築を目的とした最小限に操作された無関係な同種異系の胎盤/臍帯血に対する IND の適用;業界および FDA スタッフ向けガイダンス)

• Guidance for Industry: Preparation of IDEs and INDs for Products Intended to Repair or Replace Knee Cartilage

12/2011. (This guidance finalizes the draft guidance of the same title dated July 2007.)

(膝軟骨の修復または交換を目的とした製品の IDE および IND の準備;業界向けガイダンス)

• <u>Guidance for Industry: Cellular Therapy for Cardiac Disease</u>
(This guidance finalizes the draft guidance entitled "Guidance for Industry:

Somatic Cell Therapy for Cardiac Disease" dated March 2009 (April 2, 2009, 74 FR 14992). 10/2010.

(心臓疾患の細胞治療;業界向けガイダンス)

• Guidance for Industry: Considerations for Allogeneic Pancreatic Islet Cell
Products

9/2009

(同種膵島細胞製品に関する考慮事項;業界向けガイダンス)

Guidance for FDA Reviewers and Sponsors: Content and Review of Chemistry,
 Manufacturing, and Control (CMC) Information for Human Somatic Cell
 Therapy Investigational New Drug Applications (INDs)

4/2008

(ヒトの体細胞療法の治験薬(IND)の化学、製造、および管理(CMC)情報の内容とレビュー; FDA審査官およびスポンサー向けガイダンス)

• Eligibility Determination for Donors of Human Cells, Tissues, and Cellular and Tissue-Based Products; Guidance for Industry

8/2007

(ヒト細胞、組織、細胞および組織ベースの産物の供与体の適格性判定;業界向けガイダンス)

Guidance for Industry; Supplemental Guidance on Testing for Replication
 Competent Retrovirus in Retroviral Vector Based Gene Therapy Products and
 During Follow-up of Patients in Clinical Trials Using Retroviral Vectors
 11/2006

(レトロウイルスベクターを用いた遺伝子治療製品における増殖性レトロウイルス試験およびレトロウイルスベクターを用いた臨床試験における患者の追跡中の 試験に関する補足指針;業界向けガイダンス)

②EMA のガイドラインリスト(Gene Therapy)と関連文書

【mRNA 製品開発のために参照すべきガイドライン】

• Quality, non-clinical and clinical requirements for investigational advanced therapy medicinal products in clinical trials

(品質、臨床試験における治験薬の非臨床的及び臨床的要件)

• Safety and efficacy follow-up and risk management of advanced therapy medicinal products

(ATMP の安全性と有効性の追跡およびリスク管理)

• Quality, preclinical and clinical aspects of gene therapy medicinal products (遺伝子治療医薬品の品質、前臨床及び臨床的側面)

• Quality, non-clinical and clinical aspects of medicinal products containing genetically modified cells

(遺伝子組換え細胞を含有する医薬品の品質、非臨床的及び臨床的側面)

• Non-clinical studies required before first clinical use of gene therapy medicinal products

(遺伝子治療用医薬品の初回臨床使用前に必要な非臨床試験)

- Risk-based approach according to Annex I, part IV of Directive 2001/83/EC applied to advanced therapy medicinal products
 (ATMP に適用される指令 2001/83 / EC の Annex I, part IV に基づくリスクベースのアプローチ)
- Follow-up of patients administered with gene therapy medicinal products
 (遺伝子治療医薬品を投与された患者の追跡調査)
 (ゲノム編集用の mRNA は対象。それ以外は対象外)

【開発品目によっては参考になるガイドライン】

- <u>Development and manufacture of lentiviral vectors</u>
 (レンチウイルスベクターの開発と製造)
- Non-clinical testing for inadvertent germline transmission of gene transfer vectors

(遺伝子導入ベクターの意図しない生殖細胞への組み込みに関する非臨床試験)

• Scientific requirements for the environmental risk assessment of gene-therapy medicinal products

(遺伝子治療医薬品の環境リスク評価のための科学的要件)

【mRNA 製品開発のために参照すべき Reflection papers】

 Design modifications of gene therapy medicinal products during development (開発中の遺伝子治療製品の設計変更)

【開発品目によっては参考になる Reflection papers】

- Quality, non-clinical and clinical issues relating specifically to recombinant adeno-associated viral vectors
 - (特に組換えアデノ随伴ウイルスベクターに関連する品質、非臨床的および臨床的問題)
- <u>Management of clinical risks deriving from insertional mutagenesis</u> (挿入変異誘発に由来する臨床的リスクの管理)

【mRNA 製品開発のために参照すべき Questions and answers】

Questions and answers on gene therapy
 (遺伝子治療に関する Q&A)

【開発品目によっては参考になる ICH Considerations】

- <u>ICH Considerations: general principles to address virus and vector shedding</u> (ICH での考慮事項:ウイルス及びベクターの排出に対処するための一般原則)
- ICH Considerations: oncolytic viruses
 (ICH での考慮事項: 腫瘍溶解性ウイルス)

【開発品目によっては参考になる Position statements】

• <u>Creutzfeldt-Jakob disease and advanced therapy medicinal product</u> (クロイッツフェルト・ヤコブ病と ATMP)

※EUにおいては、他の医薬品と同様にMAAに対しても、

以下の規制及び科学的要件が適用される。特に Directive 2001/83/EC については、ATMPs を対象に含めるために 2 度にわたり修正が加えられたものである。また ATMPs に特化した医薬品の製造管理及び品質管理の基準に関するガイドラインや Directive 2001/20/EC (GCP)なども存在している。

※下記の指令等のうち、○は参照すべもの、△は参考となるもの。

- Regulation(EC)1394/2007 (○) (ATMPの全体的な枠組み)および <u>Directive 2009/120/EC (△)</u> によりATMPに関して修正された<u>Directive</u> 2001/83/EC (○)
- Guidelines on Good Manufacturing Practice specific to ATMPs, EudraLex, Volume 4 (○)
- <u>Directive 2001/20/EC(△)</u> (GCP); <u>Regulation EU No 536/2014(△)</u> (Clinical Trial Regulation)に置き換えられる(可能性がある。2021年)
- <u>Directive (EC) No 726/2004 (△)</u> (医薬品の認可及び監督に関する手続き)

③ICH のガイドラインリスト

【mRNA 製品開発のために参照すべきガイドライン】

• Q5B: Quality of Biotechnological Products: Analysis of the Expression
Construct in Cells Used for Production of R-DNA Derived Protein Products

(Q5B:組換え DNA 技術を応用したタンパク質生産に用いる細胞中の遺伝子発現構成体の分析)

- Q5C: QUALITY OF BIOTECHNOLOGICAL PRODUCTS:STABILITY
 <u>TESTING OF BIOTECHNOLOGICAL/BIOLOGICAL PRODUCTS</u>
 (Q5C:バイオ製品の品質:バイオ製品の安定性試験)
- Q5D: ERIVATION AND CHARACTERISATION OF CELL SUBSTRATES

 USED FOR PRODUCTION OF BIOTECHNOLOGICAL/BIOLOGICAL

 PRODUCTS

(Q5D:生物薬品 (バイオテクノロジー応用医薬品/生物起源由来医薬品)製造用細胞基剤の由来、調製及び特性解析)

Q6B: SPECIFICATIONS: TEST PROCEDURES AND ACCEPTANCE
 CRITERIA FOR BIOTECHNOLOGICAL/BIOLOGICAL PRODUCTS
 (Q6B:規格:バイオテクノロジー応用製品/生物起源由来製品の試験方法及び受入れ基準)

【引用資料】

- 1 メッセンジャーRNA 医薬を実現する DDS 開発と疾患治療への応用 JST Drug Delivery System 31-4, 2016
- 2 Nature Reviews Drug Discovery volume 17, pages 261-279 (2018)
- 3 Science. 1990, 247, p.1465-1468
- 4 Cancer Res. 55,1397-1400 (1995).
- 5 J Clin Invest. 2002 Feb;109(3):409-17.
- 6 J. Immunother. 32, 498-507 (2009)
- 7 Nature Reviews Drug Discovery volume 13, pages 759-780 (2014)
- 8 Nucleic Acids Res. 2016 Sep 19; 44(16): 7511-7526.
- 9 遺伝子発現制御の歴史と応用 生物工学会誌 第93巻第12号
- 10 Moderna プレスリリース 2020年2月10日
- 11 J Immunother. 2011 Jan;34(1):1-15.
- 12 Nature. 2017 Jul 13;547(7662):222-226.
- 13 Nature Communications volume 10, Article number: 871 (2019)
- 14 Arcturus Therapeutics プレスリリース 2019年2月11日
- 15 Translate Bio プレスリリース 2019 年 9 月 9 日
- 16 Methods Mol Biol. 2017;1499:203-222.
- 17 Front. Pharmacol., 30 August 2019 | https://doi.org/10.3389/fphar.2019.00921
- 18 厚生労働省 遺伝子治療等臨床研究に関する指針」の全部改正について(通知)
- 19 Ⅲ章 調査結果 1.国際会議 (9) TIDES-EU での CueVac のセッション "Regulatory View on mRNA Challenges in the Context of ATMP/Gene Therapy Guidelines"
- 20 Part IV of Annex I to Directive 2001/83/EC
- 21 draft ATIMP guideline EMA/CAT/852602/ 2018 (ATIMP: advanced therapy investigational medicinal product)
- 22 Ⅲ章 調査結果 1.国際会議 (7) DIA-FDA での FDA のセッション "Regulatory CMC consideratins for oligonucleotide-based Gene Therapy products: A CBER perspective" 後の質疑応答
- 23 Guidelines on Good Manufacturing Practice specific to ATMPs; EudraLex Volume 4
- 24 draft ATIMP guideline EMA/CAT/852602/2018 の公開講義中のコメント
- 25 第Ⅲ章 1 国際会議 (7)DIA-FDA での Moderna のセッション "Manufacture and control of mRNA drug substance"
- 26 CMC information for human gene therapy INDs, draft, FDA, 2018
- 27 第Ⅲ章 2 ヒアリング結果 (2) 海外 KOL, mRNA 医薬開発企業 M 社
- 28 第Ⅲ章 1 国際会議 (4) TIDES 2019, TriLink BioThechnologies のセッション "Topic 5: mRNA analytics"
- 29 第Ⅲ章 1 国際会議 (8)mRNA Health Conference, Regulatory Session での質疑応答
- 30 EMA/CAT/CPWP/686637/2011
- 31 Ⅲ章 調査結果 2.ヒアリング結果 (2) 海外 KOL
- 32 FDA, Vaccines, Blood & Biologics, Cellular & Gene Therapy Products, What is Gene Therapy? (https://www.fda.gov/vaccines-blood-biologics/cellular-gene-therapy-products/what-gene-therapy)

Ⅲ. 調査結果

1. 国際会議から得られた結果

(1) CSHL Meeting RNA & Oligonucleotide Therapeutics

学会名	6 th Cold Spring Harbor Laboratory Meeting on RNA & OLIGONUCLEOTIDE				
	THERAPEUTICS				
	(URL:https://meetings.cshl.edu/)				
開催月日	2019 年 3 月 27 日~ 30 日	開催場所	Cold Spring Harbor Laboratory		

概要;

Cold Spring Harbor Laboratory は Molecular Biology の聖地の一つであり、分子生物学の様々な分野での最先端の Discussion が行われる、 CSHL Meeting で有名である。 RNA & OLIGONUCLEOTIDE THERAPEUTICS は中でも応用に近いという点でやや異色な感じがあるが、2011年の第1回から一年置きの開催で第6回目となる。

今回のミーティングは First RNAi Therapeutic Approved が副題になって おり、 Alnylam の Manoharan 一人が Keynote Speaker に選ばれていることからもわかる通り、siRNA が中心であり、mRNA 関係はまだ少ない。しかし、最後のセッションが Emerging NAT であり、そこで Moderna 、 Intellia の発表があった。 Moderna はまた、 Delivery のセッションでも mRNA vaccine に有効な LNP の発表を行った。 Safety のセッションで予定されていた Moderna の Joe Senn の発表は残念 ながらキャンセルとなった。 演題数は少ないが、インパクトのある発表であり、オーガナイザーの一人 Vertex の Laura Sepp Lorenzino は最後の Concluding Remarks で、 "次回(2 年後)は、ミーティングのタイトルを変えなければいけない"と述べていた。

1)mRNA Therapeutics

(発表者; Melissa J. Moore. Moderna Therapeutics)

Moderna のテクノロジーの概略を示した後、特に 1) Endsomal Escape を逃れる LNP の開発と、2) CDS 領域の mRNA 構造の最適化について述べた。

Moderna のパイプラインは開示されているものが 21 個あり、それぞれについて最適なデリバリー が検討されている。

1) Endosomal Escape 可能な LNP の開発

今回の Delivery の Session で Chair の Steven Dowdy が、「NAT にとって 40 年来の未解決問題」とした Endosomal Escape 問題であるが、Moderna は相当の改善を LNP で達成しているようであった(未発表)。

2)コーディング領域 の配列、構造最適化

Therapeutic RNA を物質としてみた場合、長さの平均は 1,700nt、最大 4,000nt、分子量平均は

560,000Da となる。これはコードするタンパク質の平均 10 倍である。また、複雑な高次構造を有しているが、それはダイナミックに変化する。そうした「モノとしての RNA」を良く理解することが重要である。導入 RNA を必要な細胞で高い発現を達成するには、Cap から PolyA までの様々な最適化が必要であり、Moderna では月間 1,000 種類以上の mRNA を作製して、様々な検討が行われている。

【質疑応答】

- Q. RNA 結合タンパク質についても 考慮にいれているか?
- A. 今回は、触れなかったが当然考えている。翻訳因子 eIF4E は問題でない。In Vitro 翻訳の場合と違って、細胞内では開始因子は足りている。核から転写された RNA と違って、細胞外から導入した RNA は結合タンパク質は異なることを考慮にいれるべき。
- Q. ミスインコポレーションによる問題はいかがか?
- A. 教科書的には RNA Polymerase の間違いは 1/1,000 以下とされており、問題ないだろう。
- Q. PolyAの最適化はしたか?
- A. 別の実験で 100nt の PolyA が最大の発現 をするという結果を得ており、今回の実験は 100nt に統一した。
- Q. mRNA の分解のメカニズムは何か?
- A. 分解は Exonuclease がメインである。3 Exosome と 5 Decapping による。
- Q. 二次構造とコドンのスペースにおいて、Viral Genome がどこにあるか?mRNA のデザイン に参考にならないか?
- A. 面白い着眼点なので、 参考にしたい。

②Local delivery of mRNA in lipid nanoparticles for immunizationagainst infectious diseases (発表者; Kimberly J. Hassett.Moderna)

Delivery Section で発表された Moderna の Vaccine に特化した LNP の演題である。データは今年2月に電子発表されたばかりの論文(文献 1、Mol. Therapy, 15, 1-11, 2019)と 2017 年の同じく Mol. Therapy 発表のインフルエンザ vaccine の非臨床プラス P1 の Interim Analysis の論文(文献 2、Mol. Therapy, 6, 1316-1327, 2019)の内容が主であった。発表者は文献 1 の筆頭著者の KJ. H assett であった。

mRNAのDDSに求められる条件としては、

- 1) 生体内で mRNA を守り安定に保持する。
- 2) 標的臟器に効率的に運ぶ。
- 3) 免疫系への認 識を弱める。
- 4) 細胞内に効率よく運び、エンドソームから抜ける。等がある。

標的遺伝子、疾患、臓器、投与ルート、投与物質により、それぞれ最適な DDS を開発して使う必

要がある。 mRNA のデリバリーは主に LNP が主流であり、Moderna も LNP を使っている。

【質疑応答】

- Q. PEG-lipid の最適化はおこなったのか?
- A. 今回はしていない。脂質組成は固定して、カチオン性脂質のみをスクリーニングした。
 - ① Using lipid nanoparticles to efficiently deliver CRISPR/Cas9 forgenome editing in rodents and non human primatesLocal delivery of mRNA in lipid nanoparticles for immunizationagainst infectious diseases(発表者: R. Parmar, Intellia Therapeutics,)

Intellia Therapeutics はボストンにあるゲノム編集に特化した企業で、2014 年設立と CRISPR 企業の中では老舗の一つである。CRISPR/CAS9 の発見者の一人である J.Doudna が Founder の一人である。Cas9 を mRNA-LNP で供給することを明言している数少ない企業でもあり、今回は、Regeneron と組んで一番進んでいる ATTR について技術的視点からの発表であった。前半のマウスのデータについては、2018 年 2 月の Cell Reports に発表済みである。

今回は基礎研究の報告であったため、臨床試験計画等の発表はなかったが、Intellia のウェブサイトによると、さらに NHP での毒性試験結果等を揃えて、2020 年に IND 申請予定となっている。

【質疑応答】

- Q. LNP のパーティクルサイズはどの位か?
- A. $N-F_{1}$ $N-F_{1}$ N
- Q. 2 '-O-Me よりよい (安定の良い) 修飾があるのでは?
- A. 調べていないと思う。
- Q. オフターゲット効果はないか NGS で調べたか?
- A. NGS で調べた限り、問題となるオフターゲット効果は見出されていない。
- Q. Cas9 抗体が一部で問題になっているが、どうか?
- A. 今のところ観察されていない。

(2) Keystone Symposia: Protein Replacement through Nucleic Acid Therapies

学会名	Keystone Sympos ia Protein Replacement through Nucleic Acid Therapies (L3)			
開催月日	2019 年 4 月 7 日~ 10 日 開催場所 Steamboat Grand·Steamboat			
	Springs, Colorado USA			

概要;

Keystone Symposiaon Molecular and Cellular Biology は、約30年の歴史を有する分子細胞生物学のシンポジウムのシリーズであり、米国・カナダの西部の山岳地帯で主として冬季に行われて来たが、近年は規模拡大に伴い、アジア やヨーロッパ等世界中で時期も一年中に渡り、年間 $50\sim60$ ものテーマで開催されている。今回の Protein Replacement throughNucleic Acid Therapies (L3) は、デンバーから車で 4 時間の Steamboat Springs という スキーリゾートで開かれた。このテーマで Keystone Symposia が開催されるのは初めてであり、交通の便の悪さもあってか参加者は約100名と小じんまりとしたミーティングとなった。

Main Sponsor は Moderna、NovoNordiskA/S、Sarepta Therapeutics であり、 Scientific Organizer として Pad Chivuknula (Arcturus、COO&CSO)、Jean Bennett (U. Pennsylvania, Spark の Co founder 、 Paloma G langrande Moderna)が名を連ねている。 Protein Replacement ということで、mRNA と Gene T heapy、一部 Gene Editing の演題が並び、直接比較するような実験は見られないものの、それぞれの特徴を知るには良い機会であった。

以下に mRNA Therapeutics の演題を中心に①General、②Protein Replacement、③ Vaccine の順にまとめる。

(1)General

; Effective Non Viral Vectors for Delivery of mRNA in vivo (Keynote)

(発表者; Pieter Cullis, University of British Columbia, Canada)

P.Cullis は、長年 LNP 業界をリードしてきた大御所であり、Canadian Liposome Company,Inex Pharmaceuticals (後の Tekmira Pharmac euticals), Northern Lipids Inc., LipexBiomembranes Inc.,最近では Acuitas Pharmaceuticals 及び Precision NanoSystems LNP の製造機械を開発販売いった、数々の企業の Founder になっている。今回は Keynote Address として、mRNA 向け LNPの現状に関しての Review を発表した。

; LNPs for Delivery of mRNA Therapeutics: Lessons from Translation

(発表者; Paul Burke, Burke Bioventures LLC, USA)

LNP 核酸医薬についてのレビューであった。 Burke は製薬企業で核酸医薬の研究開発に従事した経験がある。

2012年にLNP核酸医薬は数多く開発に上がっていたが、Patisiran以外は成功に至らなかった。LNPは非常に非効率なデリバリーシステムであり、搭載核酸の0.5%しか実際に使われない。従って、まだまだ進歩の余地があり、Arcturus 社のLUNARはMC3の発現量を10倍まで上げた。近

年は様々な臓器に最適な LNP を作る試みがされているが、いずれも 4-Component の類似のシステムである。繰り返し投与できることも重要な性質である。

2)Protein Replacement

; Nucleic Acid Therapeutics for Cystic Fibrosis Delivered by Targeted Nanoparticles

(発表者; Stephen L. Hart, University College London, UK)

Cystic Fibrosis は Caucasoid に多い遺伝病で、発症率は出生数 2,500 あたり 1 名である。Cl Channel である CFTR 遺伝子の異常による。患者数も多く、治療ニーズもある遺伝病であり、遺伝子治療も含め様々な検討がされている。演者らは CFTR の補充のほか、ENaC (epithelial Na+channel)を siRNA で抑制するといった治療も研究している。

; mRNA Transcript Activated Matrix for Bone RegenerationN

(発表者; Manish Aneja, ethris GmbH, Germany)

Ethris はドイツにある mRNA Therapeutics を早期より志向しているベンチャー企業である。 The Stabilized Non-Immunogenic mRNA (SNIM®RNA) と名付けた独自プラットフォーム技術を有しており、修飾塩基の割合を限定しているところが特徴である。規制の観点からも興味深い。パイプラインは呼吸器系が先行しており、AstraZeneca とも提携している。

; Short Talk: Effective Delivery of Therapeutic mRNA using Peptide Based Nanoparticles (発表者; John H. Lockhart, University of South Florida, USA)

この演題は、ポスター発表からの選抜された Short Talk である。彼らはハチ毒由来の細胞透過性塩基性ペプチド p5 RHH を用いて mRNA をナノ粒子化し、肝臓にトラップされずに他の組織で発現させることを試みた。p5RHH 自体は siRNA 等のデリバリー手段として研究されてきたようであるが、mRNA に 用いられたのは初めてのようである。

; Protein Replacement with mRNA

(発表者; Pad Chivukula, Arcturus Therapeutics, Inc., USA)

Pad Chivukula は Arcturus の CSO/COO であり、本学会の Scientific Organizer の一人である。Arcturus は LUNAR という独自の脂質系の Nanoparticle 技術を有し、当初は siRNA、miRNA 医薬の開発を目指していたが、最近では軸足を mRNA 医薬に移しつつある。様々なパートナー企業と早期から組んで進めている。

; mRNA Medicine for Introducing Therapeutic Transcription FactorsProtein Replacement with mRNA (発表者; Keiji Itaka, Tokyo Medical andDental University, Japan)

Polyplex nanomicelle の特徴紹介から、RUNX1mRNA による変形性関節症 (OA) 治療、さら

に論文発表になったばかりの RUNX1mRNA による椎間板治療の発表であった。

【質疑応答】

- Q. Polyplex Micelle の分子量は?
- A. PEG は $42 \,\mathrm{k}$ (この実験では)、ASP の重合度は $50 \,\mathrm{程度だが}$ 、バッチによって多少は異なる。
- Q. DDS が Biodegradable とのことだが、In Vivo での Half Life はどの位か?上記 PadChivukula から
- A. Vivoでは測定が難しく定量化はできてないが、RNAをリリースした後は速やかに分解する。
- Q. 使っている mRNA に修飾は入れているか?
- A. ここでは特に修飾等はいれず野生型を使っている。修飾を入れた方が安定で Immunogenicity が減るのは明らかなので、必要に応じて使っていきたい。

; Advancing the Development of mRNA Therapeutics to Restore Protein Function

(発表者; Jia Tay, TranslateBio, USA)

Translate Bio は mRNA Therapy に特化したベンチャー企業である。旧 RaNA Therapeutics という 「PRC 2 と LncRNA の結合を短鎖核酸で阻害して転写を活性化する」というコンセプトの企業が、Shire の mRNA 医薬技術 MRT と研究者を取り入れ社名も変えて 2017 年に再発足したものである。テクノロジープラットフォームは MRT と名付けられているが、通常の mRNA-LNP という印象で、一見したところ明確な特徴は見当たらない。設立約 2 年であるが、パイプラインは豊富で、進んでいるものは CysticFibrosis および OTC と、先の Arcturus と同じ標的であるが、こちらは Phase I と FDA で Clinical Fold 中であり、やや先行している。

; Protein Replac

ement with mRNA for Inherited Met abolic Diseases

(発表者; Paloma Giangrande, Moderna, USA)

Moderna は言うまでもなく mRNA Therapeutics の最強のプレーヤーである。今回の発表者の Paloma Giangrande は、Rare Disease の Director である。今回は Moderna の遺伝性代謝稀少疾 患に関する取り組みについて紹介された。

3 Vaccine

;(発表者;Drew Weissman, University of Pennsylvania, USA)

D.Weissman は、Pennsylvania 大で長く自然免疫 RNA Sensor、感染症関連 RNA 研究を行ってきた。昨年には BioNTech と mRNA 感染症ワクチンに関して、大きな提携をしている。今回はいくつかの mRNA 感染症ワクチンの活性について発表された。

; Self-Amplifying RNA Vaccines for Venezuelan Equine Encephalitis Virus

(発表者; Marcelo Samsaa, Lesley C. Dupuy, Jeffrey B. Ulmera and Dong Yu GSK, Rockville, MD, USA; United States Army Medical Research Institute of Infectious Diseases, Fort Detrick, MD, U SA POSTER 1021Drew Weissman, University of Pennsylvania, USA)

ユニーク な mRNA Therapy として、GSK のグループによる Self Amplifying RNA Vaccine に 関する発表があった。元々は Novartis の研究であったが、2015 年のがん事業とワクチン事業の交換によって GSK に移管された。彼らの Self Amplifying mRNA(SAM)は、プラス 1 本鎖 RNA ウイルスであるアルファウイルスの複製機構を有し、ウイルスの構造タンパク質をコードする部分を導入したい遺伝子に置き換えたものである。この構造により細胞内では自己複製する。

(3) American Society of Gene & Cell Therapy

学会	全 名	22 nd Annual Meeting of American Society of Gene and Cell Therapy (ASGCT)			
開催	崖月日	2019 年 4 月 29 日~5 月 2 日 開催場所 Washington Hilton, Washington,			
				USA	

概要;

遺伝子治療の分野で世界最大の学会であり、2009 年に ASGT から細胞治療を含む形で ASGCT に 改組されて 10 年目にあたる。遺伝子治療分野の急速な進展に伴い、参加者が昨年より大幅に増加した とのことであり(昨年 3,500 人、今年 4,700 人)、会場はどこも人であふれていたが、日本からの参加 者は非常に少なかった。

①LNP 作製技術

mRNA 医薬の DDS は Lipid Nanoparticle (LNP) が標準であり、Moderna や Intellia などの mRNA 医薬を目指す企業は独自にカチオン脂質を改良し、臓器ごとに特化した LNP を開発している。そこで問題となるのが LNP 合成の再現率の低さ(ロット間差)であり、特にスケールアップが容易でない点が課題であった。 LNP 業界の大御所 P.Curris (U.British Columbia)が作った Precision NanoSystem 社は独自のナノ流路を有する LNP 作製装置 NanoAssembler を開発し、Reproducibility と Scalability に優れることから業界標準となりつつある。

②mRNA 医薬の製造

mRNA 医薬の製造については、Moderna、BioNTech、CureVac 等のメジャープレーヤーは自社で製造設備を有しており、CMO として生産を受託しているところはまだ数えるほどしかない。今回、BioNTech が 100%出資する CMO(子会社の BioNTech Innovative Manufacturing Service)がブースを出していた。同社は mRNA の In vitro transcription(IVT)製造を請け負っており、mRNA の GMP 製造も含め、100mg から 10g の生産が可能とのことである。他に細胞やウイルスベクターの製造も行っている。

数少ない mRNA の CMO である TriLink は CMC の責任者の Anton McCaffrey が発表した。mRNA 医薬の製造の注意点についてレビューしていた。

③mRNA 医薬(Moderna)

Moderna のセッションでは、公表されていないアカデミアとの共同研究について、アカデミアの研究者が発表するケースが多く見られた。

Moderna 自体の発表としては遺伝性疾患に対する mRNA 治療であった。同社は、現在のワクチン優先のパイプラインの後に、遺伝性の稀少疾患の mRNA 治療(主として肝標的)をアカデミアと共同で数多く進めているようである。

④規制動向

FDA からの発表は、2 題あった(CBER の Puri 氏、Schultz 氏)。Raji Puri 氏は FDA から見た Cell & Gene Therapy の現状について概説した。mRNA 医薬を含む Cell & Gene Therapy は CBER の OTAT (the Office of Tissues and Advanced Therapies)が担当するが、扱う IND & IDE 数は 2016 年の 223 件から 2018 年の 417 件と遺伝子治療を中心に 2 倍近くに増えている。Gene Therapy については、2018 年 7 月に Draft Gaidunce Document が発出されている。INTERACT(旧 pre-pre-IND)という事前相談システムを活用して欲しいとのことであった。一般論に終始はしたが、とにかく 早く相談に来れば協力するというスタンスであった。

もう一人の Kimberly Schultz 氏も部署は同じである。Gene Therapy Products(GTPs)の範疇に Plasmid DNA、mRNA、Human Genome Editing Products(gRNA, RNP, Endonucleases)が含まれる。こちらは開発の観点から途中でアッセイ系や作製方法、サイトが変わった時にどう考えるかという話題であった。実例がないので一般論に終始した点は否めないが、GTPs は複雑な薬剤であるため、従来の方法にとらわれずに柔軟に対応するので、早めに相談するようにということを強調していた。

(4) TIDES 2019

学会名	TIDES: Oligonucleotide & Peptide Therapeutics			
開催月日	2019年5月20日~23日	開催場所	Manchester Grand Hyatt in San Diego, CA	

概要;

TIDES は世界最大の核酸医薬(オリゴヌクレオチド)およびタンパク医薬(ペプチド)の初期探索研究から臨床開発、商業化までを加速することを目的とし、製薬企業やアカデミア、規制当局から多くの参加者が集う国際学会である。姉妹カンファレンスとして、TIDES Europe, Asis TIDES があり、それぞれ年1回開催されている(計年3回)。

本学会は従来の発表内容などがから、分子生物学・臨床的内容よりも Process (chemistry, manufacturing) に関する発表が多く、そうした機器や分析、製造サービスなどを受託する企業など 100 を超える関連企業の出展もあり、情報交換や商談の機会となっている。また規制当局の参加も多くみられる。

近年、核酸医薬の承認が相次いでおり、昨年末には世界初の siRNA パチシランが FDA から販売承認を受けたこともあり、今年の Keynote presentation として、アンチセンスオリゴヌクレオチド開発で世界をリードする Ionis 社 CEO の発表から始まり、Alnylam 社の開発トップのプレゼンが用意され、業界的な盛り上がりも見られた学会であった。

また数年前から、新技術の動向に合わせ、mRNA Therapeutics and CRISPR Therapeutics に特化するトラックが増設され、多くの参加者が見られた。

mRNA については、独自の技術で最適化し、独自の製法でより高活性・高純度の mRNA を製造し、独自の DDS で動物 POC を得、臨床試験に進めているという発表が大半であった。Moderna、Cure Vac、BioNTech など、mRNA 医薬の開発をリードする企業からの発表は、そのデータ量や開発の進捗具合において圧倒的ではあったが、いずれの技術がスタンダードなるかは今後の展開次第の様にも思われる。Personalized medicine にまつわる発表もいくつかあり、また臨床開発も進んでいるようで、mRNA 医薬においては、重要な領域の 1 つであるとの印象を受けた。

Topic 1: LUNAR® Enabling mRNA Therapeutics and Vaccines,

Pad Chivukula, Ph.D., CSO and COO, Arcturus Therapeutics

<要旨> mRNA 医薬のチャレンジは標的細胞への mRNA の送達にあり、Arcturus 社が有する LUNAR®プラットフォーム技術は、mRNA を肝臓、肺、その他臓器の適切な細胞に効率よく送達する 技術である。

<主な発表事項>

- Arcturus Therapeutics (https://arcturusrx.com/) は San Diego に拠点を有する preclinical stage bio venture。2013 年創業で現在80 名の社員を有する (NASDAQ 上場)。
- 事業の基盤技術は、LNP である LUNAR®と UNA(Unlocked Nucleic Acid)核酸で、これら特許

のライセンスを有する。Janssen Pharma, Ultragenyx Pharma, Takeda, Synthetic Genomics などとの事業提携のもと RNA 創薬を進めている。

- 前臨床段階のパイプラインを複数有し、希少疾患, HBV, NASH, CF, vaccine を対象とする, mRNA, Replicon RNA, siRNA, ASO, miRNA, ゲノム編集などの研究開発を進めている。
- 主要なパイプラインは LUNAR-OTC と LUNAR-CF で、何れも LUNAR を用いた mRNA 医薬。 LUNAR-OTC は、オルニチントランスカルバミラーゼ (OTC) 欠損症治療薬として、前臨床 data package のとりまとめを進めており、来年の臨床入りを目指し、現在 mRNA 原薬の大量合成など を進めている(key process)。

Topic 2: Safe delivery of nucleic acid cargoes using anionic carriers,

Steffen Panzner, Ph.D., CEO, Lipocalyx GmbH, Germany

<要旨>アニオン性キャリアーは免疫原性が大幅に軽減されるため、核酸の安全な送達を可能とする。 反復投与や抗原提示細胞に存在する標的治療に新しい道を示す技術である。

<主な発表事項>

- Lipocalyx は 2011 年創業した新規の形質導入剤 (transfectant)の研究開発を行う。
- 主力製品である Viromer®は、インフルエンザウイルスが有するエンドソーム脱出時に機能する フュージョンタンパクをまねて合成された新規のポリマー。
- RNAやDNAと結合すると電化が中性化し、ウシ血清や細胞培養液中のタンパク質との複合体形成が抑制され、また細胞表面での電化的トラップを回避することが可能。また優れたエンドソームからの離脱作用を有し、in vitroのみならず in vivo でも優れた transfection 材として作用する。

Topic 3: Advancing the delivery of LNP-encapsulated mRNA Therapeutics,

Frank DeRose, Ph.D., Senior VP, Translate Bio

<要旨> Translae Bio は LNP に包まれた mRNA が様々な標的組織に送達され目的とするタンパク質が産生されることを確認している。この独自の LNP 肺送達技術を用い、我々のリードプログラムとして、嚢胞性繊維症 (CF) を適応症とする臨床試験を開始しており、現在、異なる投与ルートによる様々な疾患への可能性を検証している。 mRNA-LNP の様々な投与ルートによる優れたタンパク質発現と標的組織への分布を紹介する。

<主な発表事項>

- mRNA 創薬の鍵は、第一に標的臓器へのデリバリーであり、mRNA の最適化による安定性の強化 とタンパク発現活性の向上にある。また mRNA の大量合成が重要であるが、その工程は配列に関 係なく、いかなる mRNA の製造にも適用できる、非常に flexible なプロセスである。
- 独自の精製方法を開発したことから、高純度の mRNA を製造することが可能となり、それにより mRNA の高活性化を達成している。品質を評価する上で、やはり分析法が鍵で、CE(UV)法や アガロースゲルを用い純度、均一性、同一性を確認しているデータが示された。
- 製剤としては LNP を用いているが、それぞれターゲットとする臓器 (肺、肝臓、眼、CNS、リンパ系) ごとに LNP の構成成分などを最適化している。

Topic 4: Design Aspects of lipid nanoparticles for mRNA delivery,

James Heyes, Ph.D., Genevant Sciences, Canada

<要旨> Genevant 社独自の LNP 技術は、世界で最も開発の進む RNA 医薬である Onpattro™ に使用されている DDS で、近年、mRNA 医薬にも使用されているが、LNP を構成する lipids の構造変化がどのような生物的機能に影響を与えるのか、齧歯類・NHP にて検討した結果を紹介する。mRNA の治療薬としての指標を最大化するために重要な特性(活性、免疫刺激性、体内分布など)にフォーカスする。

<主な発表事項>

- Genevant 社独自の LNP 技術は、siRNA として世界で初めて承認取得したパチラシン (Alnylam 社 ATTR アミロイドーシス治療薬)に使用され、既に 400 名以上の様々な患者で使用実績のある DDS である。
- LNP の懸念事項としては反復投与による肝毒性であるが、HBV やがんなど多くの臨床試験で使用され、これまでに多くの安全性データが蓄積されている。

Topic 5: Delivering mRNA products from discovery through development — opportunities and challenges, Hari Puja, Head of Technical Development, Moderna Therapeutics

<要旨>mRNA デリバリーに関する課題として、ディスカバリーから開発まで、異なる治療領域や異なる投与ルート(感染性ワクチン、治療ワクチンにおける局所投与から、全身投与まで)について紹介する。

<主な発表事項>

- mRNA は、これまで創薬の対象となしえなかった標的をターゲットにできると期待される新規な drug modality である。
- Moderna は、主に3つの領域で開発を進めてきた。ワクチンの領域では、始めはインフルエンザ ワクチンの研究から始め、その後 CMV ワクチンとして、6 種類の mRNA を用い、5 量体 (pentamer)タンパク質と gB タンパクを細胞内で製造し細胞表面に発現させるワクチンの開発進め、その後、personalized がんワクチンの開発を進めている。
- タンパク補充療法としては、AstraZeneca と VEGF の研究開発を進め、その後、癌免疫療法として、がん細胞表面タンパクの OX40L をコードする mRNA の開発を進め,現在は OX40L+IL23+IL36yの3種類のmRNAによるがん免疫療法を進めている。
- 3つ目の領域として、抗体を産生する mRNA 医薬として、light chain と heavy chain をコードする mRNA を用い、細胞内や、全身へ分泌される抗体による治療をめざしている。

Topic6: mRNA analytics

Julie Powers, Ph.D., Associate Director, Production, TriLink BioThechnologies

<主な発表事項>

TriLink 社は 1996 年創業で、化学修飾した核酸オリゴの合成を得意とするオリゴハウス (CMO)である。2017 年に Maravai LifeSciences に買収されている。特に mRNA や長鎖 RNA の受託製造として、ラボグレードから臨床用 cGMP 適合原薬まで、高品質な核酸の製造をリードする会社。

- mRNA を製造する際に留意すべき点として、まずは非免疫原性な mRNA の製造にある。その 為にも製品の characterization は重要で、目的とする mRNA とそれ以外の外来性 mRNA の分 析が重要。また免疫原性を抑制する方策として、化学修飾(シュードウリジン)や Cap 構造の 修飾、更に dsRNA の除去があげられる。
- 精製工程は特に重要である。反応液中の塩や NTPs, cap analog, proteins, residual DNA, truncated mRNA, dsRNA などの除去が重要であるが、その程度については、mRNA の用途 (single dose or 反復投与) などによって、求める純度が異なってくる。
- Specification については、一般的なものはあるが、基本的には mRNA の構造や開発ステージ、 適用、用法・用量などによって異なり、また最先端の分析法などにも依存することから、クラ イアントが設定することになる。
- Capping efficiency assay: Cap 構造は mRNA の翻訳効率に大きく関与することから、製造工程における cap 構造体の製法管理は重要である。
- mRNA の翻訳能(品質)に影響を与える要因として、polyA tail の構造がある。mRNA の安定性に影響を与える構造体であるが、その製造法として、DNA テンプレートに polyA tail を加える方法がある。しかし長鎖のため不安定化し、変異などを起こす可能性がある。別の方法として、転写後の修飾として polyA ポリメラーゼを用いる方法がある。300~400 ベースの polyA を付加することが可能であるが、コストが高くなる。mRNA 製造においては、バッチ間での均一性など、製造条件の検討が重要となる。

mRNA Discovery and Development

Topic 1: Inhibition and degradation of drug targets using bioPROTAC mRNAs — A novel approach with broad therapeutic potential

Anthony Partridge, Ph.D., Senior Principal Scientist, Early Discovery Pharmacology, Merck Sharp & Dohme

<要旨> 歴史的に難しい標的に対し、"標的化分解技術"を開発した。2 つの構成要素(①治療標的に高い親和性のあるタンパクミニタンパク/ペプチド、および、そのタンパク/ペプチドに結合する。② E3 リガーゼ受容体)からなる、結合構造体を作成した。この'bioPROTACs'プラットフォーム技術は頑強な分解能を有することを多くの構造体で証明し、現在、bioPROTAC mRNA として、研究ツールや治療への応用を検討している。

<主な発表事項>

• Proteolysis targeting chimera (PROTAC)は、細胞内の不要なタンパクをユビキチンを介し、分解する機能。2つのタンパク質(3ユビキチンリガーゼと標的タンパク質に結合するタンパク質) から構成される。この機能を mRNA 医薬を用い、細胞内で PROTAC を製造し、治療しようとする試みとして、bioPROTAC 技術を開発。 DDS には LNP を使用。

Topic 2: Evaluation of modified interferon alpha mRNA constructs for the treatment of non-melanoma skin cancer

Markus Mandler, Ph.D., CSO, Accanis, Austria

<要旨> インビトロで転写された(IVT) mRNA の適用は、選択的に選択された組織または臓器において、治療としてタンパク質を一時的に産生するための、ますます一般的に用いられている戦略である。ここでは皮膚に焦点を当て、ヒトの皮膚組織外植片技術が、in situ での異なる IVT インターフェロン α (IFN- α) mRNA 構築物の発現効果を評価するために使用できるかどうかを試験することを目的とした。

<主な発表事項>

• ヒトの皮膚組織の移植片を用い、mRNA を発現させ、その系を mRNA の最適化におけるスクリーニング系として使用するというアイデアである。INF-α に関する様々な mRNA を用い、実際に高活性な mRNA を選択できたとしている。

Topic 3: Messenger RNA therapeutics for bone regeneration and for pulmonary diseases Christian Plank, Ph.D., CTO, Ethris GmbH, Germany

<要旨> Ethris 社は、mRNA の局所投与に特化した会社で、骨の再生や肺遺伝子疾患に対する mRNA 医薬の治療的効果を紹介する。

<主な発表事項>

- Ethris 社は、2009 年創業で、SNIM® RNA platform (Stabilized Non-Immunogenic mRNA)と、独自のデリバリー技術を有する。
- デリバリーは経肺技術(ネブライザー)に特化しており、呼吸器系絨毛関連疾患や CF のパイプラインを有する(前臨床段階)。パートナーとして、Medimmune、AstraZeneca と Discovery 段階の研究を進めている。

Topic 4: Novel mRNA immunotherapies

Robert Jabulowsky, Ph.D., Deputy Head of Project Management, BioNTech AG, Germany

<要旨>mRNA はそのユニークな特性から、容易にがん免疫療法に用いられることが期待される。その可能性を紹介する。

<主な発表事項>

- BioNTech は 3 つの領域として、がん免疫療法、感染症ワクチン、タンパク補充療法において mRNA 医薬の開発を進めている。
- がん免疫療法としては、患者個別の mRNA 医薬として 3 つのレベルでカスタムメイドされた mRNA の開発を進めている (FixVAC、 RNA Warehouse、IVAC® Mutanome) 。
- FixVAC は 90%以上の患者をカバーできるネオアンチゲンの組み合わせをあらかじめ決め、vial に充填した製剤。RNA Warehouse は、複数のネオアンチゲンを製造・保管しておき、患者ごと遺 伝情報に基づき保管されているネオアンチゲンを選択し混合して使用するカクテル製剤。 IVAC® Mutanome は完全に、個々人の遺伝情報に基づきカスタムメイドする mRNA 製剤である。これら3つのコンセプトにて、現在臨床試験が進められている。

Topic 5: Nucleoside-modified mRNA immunization against infectious disease

Norbert Pardi, Ph.D., Research Assistant Professor of Medicine, University of Pennsylvania

<要旨> LNP encapsulated mRNA ワクチンは、免疫原性と様々な感染性病原体(Zika, エボラ、インフルエンザウイルス)に対する保護効果が証明されている。この新しいタイプのワクチンについて最近の知見などをアップデートする(発表済みの論文と同内容)。

Topic 6: mRNA based vaccines expressing RSV are immunogenic and protective in preclinical models of respiratory syncytial virus infection

Pedro Cejas, Ph.D., Associate Principle Scientist, Merck

<要旨> Moderna と共同で、修飾 mRNA による LNP を用いた、RSV (Respiratory syncytial virus) に対するワクチン開発を進めている。免疫原性とウイルス保護作用に関する動物モデル(マウス、ラット、サル)を用い、様々な RSV F 変異体に対する mRNA ワクチンのパネル評価を行った。結果として、全長で安定化された prefusion RSV F タンパクは免疫原性があり保護作用があることを確認。 mRNA による RSV ワクチンは動物モデルで有望であることが示され、早期の臨床入りが期待される。

Topic 7: Program on self-amplifying RNAs for prophylactic vaccination

Nicolas Delahaye, Ph.D., Technology Project Leader, GSK

<要旨> GSK は self-amplifying mRNA (SAM) を開発。SAM は複数の動物モデルで、異なった疾患に対しより強固で、持続性があり、幅広い免疫反応を惹起することを確認。SAM の基本的な説明と、前臨床 POC11、GSK のプラットフォーム技術について説明した。

mRNA CMC and Manufacturing

Topic 1: Characterization of critical quality attributes of mRNA

Penggao Duan, Ph.D., Principal Scientist, Moderna Therapeutics

<要旨>不純物としてのmRNA類縁物には、転写未了や製造工程中の分解に由来する短鎖mRNAや、capping されていないmRNA, point mutationや、insertion, deletionなどを起こしているmRNAがある。こうしたmRNA類縁物質(不純物や変異体)のcharacterizationに関して、生化学や生物物理的手法の組み合わせを用いる多様なケーススタディーを検討した。

Topic 2: Defining critical quality attributes for RNA nanoparticle manufacturing from extended characterization,

Heinrich Haas, Ph.D., Vice president, RNA formulation & drug delivery, BioNTech AG

<要旨>臨床に用いる RNA ナノ粒子の品質規格は重要である。一般的な試験法に加え、最先端の試験 法を用いることにより品質の鍵となる要因を明らかにし、適切な規格設定が支持される。今回、ナノ粒子の集合条件が体系的に異なる RNA ナノ粒子について結果を紹介する。複数の独立した分析法(e.g., small angle X-ray scattering (SAXS), binding studies, spectroscopic techniques)による結果から、構造パラメータを生物活性や標的分子の選択性に相関させることが可能となった。

<主な発表事項>

• 肝臓ではなく、肺と脾臓をターゲットとした LNP について検討した。lipid と RNA の比率を変えることで、デリバリーがコントロールできることを基礎とし研究が始まった (RNA が多いと脾臓に集積し、liquid が多いと肺に集積する (ネガティブチャージは脾臓に、ポジティブチャージ

は肺に))。脾臓はがんワクチンを適応とした際の標的細胞となる。

• 製剤化においては、工程中の様々な条件について検討し、パラメータや規格を設定、データに基づき正当化する必要がある。

Topic 3: Manufacturing and characterization of mRNA constructs

Ulrich Blaschke, PH.D., Vice president for technical development, CureVac

<要旨>CureVac では、感染症ワクチンおよびがんワクチンなどの領域で初期臨床試験を行っている。 そうした段階における mRNA 原薬の製造および characterization では、単に新しい技術の開発だけで なく、原材料に対する試験法や供給源から始まり、製法工程におけるパラメータの分類や特徴づけな ど、すべての CMC 工程に対し、規制当局の期待に応えられるような明快な方向性が必要である。

<主な発表事項>

- 感染症ワクチンおよびがんワクチンなど様々な領域で臨床試験を行っているが、異なる適応症では異なる品質を検討することがある(不純物など許容できる量が適応症でことなる:例えば、感染症ワクチンでは許容できる純度でも、補充療法など週1回投与を数年続ける場合などは、より純度の高いmRNAが求められる)。
- mRNAはIVT法を用いて合成 (DNA テンプレートからの転写、テンプレート分解、精製、Capping、精製)。精製法としては HPLC を用いた工程を開発。Product-related/Process-related impurities として、短鎖・長鎖 mRNA や、dsRNA, などを効率的に除去ができる。

(5) Nucleosides, Nucleotides and Oligonucleotides Gordon Research Conference

学会名	Gordon Research Conference Nucleosides, Nucleotides and Oligonucleotides				
開催月日	2019年6月23日~6月27日	開催場所	Salve Regina University Newport, RI, USA		

概要;

Gordon Research Conference (GRC) は基礎研究のトピックスに関して、研究者が泊まり込みで議論する形式のミーティングで、幅広い分野でそれぞれ原則 1 年置きに開かれている。この Nucleosides, Nucleotides and Oligonucleotides (NNO) は今年は 20 回目にあたり、始まった当初は核酸化学の細かい合成の話が主だったようであるが、段々と生物学、そして薬学・医学の分野まで含む Conference へと進化していったとのことである。事務局発表によると参加者は全部で 188 人、うち企業からの参加が 27%とのことで、GRC 全 Meeting の平均が 7%ということなので、かなり企業研究者の参加が多いと言える。

Keynote Session: mRNA Therapeutics

Melissa Moore (Moderna Therapeutics, USA)

今回の Oral Presentation の中で最も長い 50 分の発表であった。mRNA 医薬の歴史と、最新の Moderna の現状 (5/9 の Moderna Annual Science Day の IR 用の発表のスライドを多く使用) をレビューした。

まず mRNA 医薬の優位性として Biologics では狙えない細胞内標的をも狙える点を挙げた。 mRNA を体外から投与して発現させようという試みはかなり古く、1990 年の Wolff の Science 論文 に始まる。ここではマウスへの投与で DNA による発現のネガティブコントロールであったが、 mRNA の方も発現することがわかった。ただ、そこから表舞台に登場するまでには長い時間がかかった。その理由として、3 つのポイントを挙げた。

- ①mRNA が非常に大きいこと。
- ②Immune system: RNA ウイルス特に一本鎖 RNA ウイルス (largest family flu Zika など) は TLRs に認識され、RIG-I 様受容体に認識される (dsRNA)。非常に感受性の高い受容体であるため、回避が難しい。
- ③翻訳を介さないと効かないこと。修飾を導入した結果として、Ribosome に認識されなくなると 失敗。以上の問題点を回避しないと医薬品にすることができなかった。

Moderna のパイプラインのうち主力を占めるワクチンについては複数の mRNA を同時に発現させる戦略をとっている。DDS の改良にも力を入れている。

"Optical and Chemical Control of mRNA"

Anna Maria Kietrys (Stanford University, USA)

Stanford 大学の Chemical Biology の Kool Lab のポスドク Kietrys が、光および低分子化合物に

よる mRNA の発現コントロールについて発表した。RNA を Caging technology と呼ばれる手法を使って、photocloaking agents (PCAs) と呼ばれる化合物を RNA の 2 '-OH 位に結合させて不活化させておき、光を当てることによって Uncloaking させて活性化させるというものである。PCA は細胞毒性等がないため様々な応用が考えられる。Spinach や Broccoli といった蛍光アプタマーの制御や、ハイブリダイゼーションや翻訳制御等の応用例も示した。sgRNA を制御することで Cas9 によるゲノム編集も制御できる。

"Enhancement of Protein Expression of saRNA Vaccines by cis-Encoded Interferon Inhibiting Viral Proteins"

Blakney, Anna K (Imperial College London) #P6

自己複製する RNA Self-amplifying RNA (saRNA)の活性向上について発表された。彼女らは VEEV (Venezuelan Equine Encephalitis Virus)由来のレプリコンを使って細胞内で自己複製する RNA を医薬に使おうとしている。問題は宿主の免疫をどう防ぐかであるが、本演題では IFN 抑制タンパク質を同時に発現させることで目的を達成している。

(6) Oligonucleotide Therapeutic Society meeting

学会名	Oligonucleotide Therapeutic Society meeting (OTS)			
開催月日	2019 年 10 月 13 日 - 10 月 16 日 開催場所 Holiday Inn Munich City Centre Munich, Germany			

概要:

本学会は Oligonucleotide Therapeutic Society (OTS) 年次総会として、年に1度、米国と欧州で交互に行われており、本年はドイツのミュンヘンでの開催であった。本学会は核酸医薬分野でメインの国際学会であるが、企業とアカデミアが対等の立場で参加する、cross-disciplinary として化学、生物、臨床の専門家が同じ場所で議論するといった思想があり、Alnylam、Ionis などバイオベンチャーの幹部が役員にも名を連ねている。

今年の学会の Lifetime Achievement Award は Alnylam 社のサイエンスを長年率いてきた研究担当 Senior Vice President の Muthiah Manoharan に与えられた。

mRNA 医薬については Oligonucleotide と冠しているためスコープに入れるかどうかの議論はあるようだが、TIDES 等と同様に関係の演題が見られる。製薬企業の参加者も多数見られるが、日本からの参加者は今年は少なかった。

"mRNA Therapy for Rare Diseases: Optimization of Payload and Delivery System" Peter Lutwyche, PhD, Genevant Sciences Corp

Genevant は独自の DDS テクノロジーをベースにしたカナダの企業で、当初は siRNA 薬を中心に研究開発していたが(Patisiran で使われている LNP を創成した Tekmira が母体)、siRNA 医薬の潮流がリガンド核酸にシフトしてきたこともあってか、最近は mRNA 医薬に力を入れている。最近大日本住友製薬によって買収された Royvant の傘下にある企業である。今回は前半で稀少疾患に対する mRNA-LNP 医薬を開発する際に一般的な重要事項を述べ、それに適した LNP を開発している点、後半に BioNTech と共同開発している Ornithine Transcarbamylase(OTC)欠損症に対する mRNA-LNP について述べた。稀少疾患に対する mRNA 用の LNP(静脈投与)に求められる要件としては、

- 1) 優れた PK と Biodistribution
- 2) 細胞への取り込みと Endosomal Escape 能
- 3) 免疫系の回避
- 4) 低毒性
- 5) 翻訳効率 (これは主に mRNA の方の問題) といった点であり、 基本的には siRNA 用 LNP と考え方は変わらない

"mRNA Medicines Enable Intracellular, Membrane-bound, and Extracellular Secrete Therapeutics"
Tal Zaks, MD, PhD, Moderna Therapeutics

Moderna は今回は数あるパイプラインのうち Chikungunya virus の抗体をコードする mRNA、mRNA-1944 の Phase1 データの発表であった。チクングニヤ熱はデング熱やウエストナイル熱と同

じく蚊が媒介する熱帯伝染病である。致死率は 0.1%と低いが高熱と関節痛、頭痛、眼の炎症等を伴う。アメリカ国防高等研究計画局(DARPA)の資金が入っているプログラムであり、危機管理上も重要という観点もあるのであろう。なお、Moderna は Chikungunya virus の mRNA ワクチンも開発していたが、最新のウェブサイトにあるパイプライン表からは消えており、こちら 1 本に絞った模様である。

"Editing in Rodents and Non-Human Primates"

S. C. Alexander Intellia Therapeutics

LNP-hagl mRNA Reduced Liver Glycogen Accumulation and Decreased Hepatic Hypertrophy in a Mouse Model of Glycogen Storage Disease III

Stephanie Watters Ultragenyx (&Arcturus)

Ultragenyx は稀少疾患を専門とする企業であるが、最近では Arcturus と組んでmRNA 創薬に力を入れている。両者は 2019 年 6 月に提携拡大を発表し、Ultragenyx が Arcturus の 37.7%の株をもつ筆頭株主となり、最大 12 の稀少疾患を標的とした核酸医薬(mRNA, siRNA, DNA)の研究開発を行うとしている。

PAH mRNA Treatment Reduced Plasma Phenyl in Phenylketonuria Mouse Model Arjun Natesan Ultragenyx (& Arcturus)

Ultragenyx & Arcturus の 2 題目はフェニルケトン尿症 (PKU) に対する原因遺伝子 PAH (フェニルアラニン水酸化酵素) mRNA の投与である。前題と同様にコドン最適化した PAH mRNA を LUNAR により、PKU モデルマウスに全身投与した。

Using Lipid Nanoparticles to Efficiently Deliver CRISPR/Cas9 for Genome Editing in Rodents and Non-Human Primates

S. C. Alexander, Intellia Therapeutics

Intellia は数あるゲノム編集治療を目指す企業の中で、珍しく mRNA で Cas9 を導入しようとしている企業である。独自の LNP を開発し、合成 sgRNA と Cas9 mRNA を導入することによって、In Vivo または Ex Vivo のゲノム編集治療を目指している。今回のポスターでは、最も進んでいる In Vivo プログラムである Transthyretin Amyloidosis に対して変異 TTR を CRISPR による編集を目指した研究開発(NTLA-2001)を紹介した。

(7) DIA/FDA Oligonucleotide-Based Therapeutics Conference

学会名	DIA Oligonucleotide therapeutic					
開催月日	2019年10月28日~30日	開催場所	Bethesda Center	North	Marriott	Conference

Executive Summary

DIA/FDA Oligo は、核酸医薬の開発で世界をリードする企業や規制当局から集まり、核酸医薬の開発に関する教育や最新情報のシェア、協議・意見交換などを目的とした会議である。3日間行われ、共通の話題から、CMC、非臨床、臨床などの各部門別の Track も用意されている。今回参加した企業・規制当局などは、合わせて 116 社/団体におよぶ。

Keynote Address

A. Caplan 氏 (NYU School of Medicine)より、"The Ethical Challenges of Genetic Therapies"と題し、今後、科学的にも倫理的にも難しい問題を含んでいる遺伝子治療において、如何に患者を保護していくかに焦点を合わせた発表があった。

Session 1: Rare Disease

Timothy Yu (Boston Children's Hospital), Matt Buck (VP, Regulatory Affairs, Ionis Pharma), Lucas Kempf (Medical Officer, FDA)の 3 人からプレゼンテーションがあった。

Session 6 Track C: Control strategy and regulatory considerations for manufacture of mRNA drug substance

Moderna からは、mRNA 原薬の製造戦略、短鎖核酸との違いなどについて発表があり、FDA (OTAT)からは規制当局(発表者本人)が考える品質管理などに関する概要が発表され、その後 panel discussion が行われた。

【質疑応答】

- Q. 出発物質は何になるのか。
- A. 医薬品または mRNA の効用はテンプレート次第となる。その意味においては、あくまでも医薬品の製造目的においては、マスター細胞バンクの性質が重要であり、よって製造段階の開始点と位置付けている。
- Q. 先ほどの発表では「プラスミド 90%、In Vitro 転写 10%」とのことだったが、PCR テンプレートを用いた場合はどうなるのか。
- A. その場合も PCR 製品の生産者やその管理方法について情報提供し、そのテンプレートが mRNA の製造に適していることを証明しなければならない。
- Q. 本当にマスター細胞バンクを開始点と位置付けなければならないのか。
- A. そのように考える。実際に二次汚染などを理由として、プラスミドが純粋な DNA テンプレートではなくなってしまう場合がある。その場合、mRNA の性質に影響を与え得る。

- **Q.** 先ほどの説明においては、最終的な医薬品物質は医薬品原薬として取り出すということになっていた。その点について課題はないのか。
- A. RNA を乾燥させることもできるが、その必要はあまりないだろう。医薬品製造プロセスのためのソリューションとして維持した方が容易であるというだけという理由でそのような方式を採用している。

少なくとも Moderna においては、mRNA の多くをナノ粒子へと変換させる。その後のステップとしては、リキッドソリューションを足すという形となり、便利である。

- Q. 配列の長さが4倍というのはどういう意味か。
- A. すべてのヌクレオチドがある方向に向かって 2 倍、もう一方に向かって 2 倍、合計 4 倍になるという意味である。ヌクレオチドが変化すればアミノ酸も変化し、医薬品の効用や安全性にも大きな影響をもたらす可能性がある。よってコーディング領域が確実にアミノ酸の配列をコード化しているということを明記する必要がある。
- Q. リボ核酸の免疫刺激が発生したことはあるのか。
- A. Poly IC は確かに免疫刺激をもたらす。よって我々は Poly IC を用いていない。ただし、in vitro 転写反応として二本鎖 RNA が発生することはあり得る。当社は、in vitro 翻訳の早期 段階でそのような事態を防ぐか、または純化プロセスで除去することで対応している。
- **Q.** 遺伝子そのものに大きな影響を与えるという意味では、「遺伝子治療」の定義には適合しないのではないか。
- A. 細胞による転写または翻訳が必要な物質を扱うという意味で遺伝子治療薬品に含めている。 細胞がその機能を果たすために一定のプロセスを必要とするという点において、例えばオリ ゴ糖食品などとは区別できると考えている。
- Q. しかし、細胞組成の動きに任せるという点においては、アンチセンス核酸や siRNA と何ら変わりが内容にも思えるが。
- A. FDA 生物製品評価研究センターによると、何もしなければ存在しないであろうタンパク質をエンコードするという点を重視しているとのことだった。

つまりオリゴ糖食品では生じないであろう懸念をもたらす、転写や翻訳が行われるという点に大きな違いがあるというわけである。

- Q. オリゴヌクレオチドに特化したガイドラインが必要と思うか。
- A. その必要性はあると思う。多くの遺伝子治療関連のガイダンスは、ベクターに関する説明から始まるが、我々が扱う領域においてはベクターが存在しない。またその他の点でも mRNA に該当しないものが多く見受けられる。一方でこれらのガイドラインは mRNA を例外扱いはしていない。規制当局が柔軟な対応をしてくれてはいるものの、mRNA に特化したガイドラインがあれば有用なことは言うまでもない。

欧州においては遺伝子治療のガイダンスが適用されてはいるものの、従来の遺伝子治療とは明確な違いがあることも認めている。またリスクが低ければ、ガイドラインの一部は適用されないというリスクベースのアプローチを採用している。

- **Q.** 米国の本領域の規制を管轄している医薬品評価研究センターによる規制は必要だと思うか。
- A. 道筋を示すものとして、適用可能なガイドラインは必要。複数のガイドラインの中から何を参照すべきかを決めるのは各自の責任となるだろう。
- Q. プラスミドの安定性とその管理方法について聞きたい。

- A. これら医薬品の多くはその他様々な目的で利用される施設で製造されるので、二次汚染が発生する危険がある。よってそのような事態が起きていないことを証明するための試験体制を用意する必要がある。
- Q. mRNA が生成されるまでに、配列が変更されたり、プラスミドが変性することはないのか。
- A. mRNA についてはそれほど大きな懸念はない。純化手続きがあり、またプラスミドは線状化された上で、特定の mRNA を特定のサイズにて生成することができるからである。仮にプラスミドが変性しても、同一の mRNA を得ることができる。
- Q. mRNA の配列状態を確認するための試験を実施するに当たっての課題はあるのか。
- A. 大きな問題はない。既存の微生物学技術で十分対応可能である。
- Q. どのような配列を扱っているのか。
- A. 一本鎖の in vitro 転写であり、極めてシンプルである。
- Q. 効能試験にはどのような意義があるのか。
- A. mRNA やプラスミドによって生成されたタンパク質が一定の作用をするということを証明することにある。
- Q. 液状のナノ粒子をとなった医薬品の最終形態をどのように管理及びリリースしているのか。
- A. 多くのナノ粒子を扱っているが、その他の治験用医薬品の試験用パネルと特に大きな違いはない。
- Q. 製剤原料と医薬製品の両方の効力検定を行う必要はないということで問題ないか。
- A. 最終的な医薬品のみを対象としており、製剤原料は必要ない。
- Q. 脂質ナノ粒子システムの管理はどれほど必要とされるのか。
- A. 脂質の不純物濃度を測定する必要がある。脂質の代謝が望ましくない影響をもたらす可能性がある。脂質ナノ粒子に関しては ICH Q3B は参照していない。

(8) International mRNA Health Conference

学会名	7th International mRNA Health Conference			
開催月日	2019年11月11日~12日	開催場所	Hilton Berlin, Berlin, Germany	

概要;

mRNA Therapeutics に特化した唯一の国際学会である mRNA Health Conference に初めて参加した。本学会は 2013 年からアメリカ(ボストン)とドイツで交互に行われており、今回が第7回に当る。当初から CureVac、Moderna、BioNTech を中心としたベンチャー企業が主体となって会を運営している点が特徴であり、企業研究者が多数を占める点はオリゴ核酸医薬の分野で少し先を行く Oligonucleotide Therapeutics Society meeting(OTS)と似た雰囲気である。

2 日弱の日程に対し、口頭発表 40 題、ポスター50 題とかなり密なスケジュールである。登録参加者は 340 人と米国開催の昨年よりは微減であったが、ヨーロッパからの参加者を中心に mRNA 医薬研究開発の産学プレーヤーのほぼ全てが集った。

Keynote: Hidden treasures of the RNA world: RBPs from moonlighting to riboregulation Matthias Hentze (European Molecular Biology Laboratory Heidelberg)

今年の Keynote は EMBL で RNA Binding Proteins(RBP)の網羅的解析の第一人者 Hentze で、PolyA RNA をビーズに Capture して、そこに結合するタンパク質を UV クロスリンクし、Proteome(MS)解析をすることで網羅的に RBP を取得する方法(RNA interactome capture(RIC))の開発とその結果をレビューした。

"A synthetic biology platform for next generation "smart" mRNAs"

Jacob Becraft (Strand Therapeutics):

Keynote に続くセッションでは、mRNA の発現を mRNA や低分子化合物で制御しようという話題であった。進展著しい合成生物学 Synthetic Biology により RNA の発現を時空間的に自在に制御し、所望の「スイッチ」「回路」を作ろうという試みで、現状の「mRNA 医薬」にはすぐにフィットしないが、「次世代の」mRNA 医薬や Gene Therapy には重要になると思われる。

"Linkage between LNP-mRNA Escape and Packaging into Evs - mRNA loading into Evs and in vivo delivery"

Hadi Valadi (Univ.Gothenburg Sweden)

著者の Valadi は「Exosome を介して mRNA が細胞間を移る」ということを明確に示した 2007 年の Exosome/miRNA 業界では有名な論文 (Nat. cell Biol. 9, 654-659 (2007)) の 1st Author であるが、独立してからもこのテーマを追求しているようである。

"Engineered yeast mutants for accumulation and package mRNA of interest: a proof of concept study"

Chantal Pichon (University of Orléans)

mRNA を In vitro 転写ではなく細胞に作らせようという試み (BioProduction) は以前よりあるが、動物細胞ではコストがかかる上、得られた mRNA を翻訳させずに集めて精製するのが困難である。味の素のグループがコリネ菌でトライしており、今回の TIDES Europe でも発表があった。

"Engineering mRNA nanotherapeutics for selective delivery and sustained translation"

Piotr Kowalski (MIT)

Kowalski は MIT の D.Anderson のラボのポスドクである。前半では Amino-Polyester (APE) を使って効率的に多数の LNP を合成し、Luc mRNA を Vitro、Vivo で発現させ、発現効率と組織分布を見るという発表であった。後半は Circular RNA(CircRNA)の話題であった。CircRNA は Exonuclease の攻撃を受けず RNA が安定化する、翻訳効率が上がる等のことから、一部で mRNA Therapeutics の構造として注目されている。

"Latest State-of-Art Disposable Bioprocesses for Production of High Quality Recombinant Enzymes for mRNA and DNA Workflows"

Juozas Šiurkus (ThermoFisher)

mRNA 医薬の合成については現在のところ IVT が唯一の選択肢であるが、Thermo Fisher Scientific と TriLink(他に NEB)は Supplier の立場から発表があった。Thermo は今年の 2 月に BioNTech に mRNA Vaccine 用の Raw Material (Nucleotides、Enzyme 他)を供給することを プレスリリースしている。今回は IVT に用いる組換え酵素の品質管理に Focus した発表であった。

"mRNA Expressing Cytosine and Adenine Base Editors Mediate Efficient Base Corrections In Vitro and In Vivo"

Anton McCaffrey (TriLink)

TriLink はmRNAの CRO/CMO として著名な企業であるが、今回の発表では今極めてホットな分野である Base Editor(塩基編集技術)を mRNA で行うという基盤的な研究について述べた。Base Editing は DNA(あるいは RNA)の塩基部分をピンポイントで書き換える技術である。

"Characterizing the therapeutic application of messenger RNA-lipid nanoparticles"
Thomas D. Madden (Acuitus)

Acuitus はカナダの LNP を Core Technology とした mRNA 創薬ベンチャーで今回のトピックスの一つが Base Editing。標的はフェニルケトン尿症であり Phenylanaline Hydroxylase (PAH) の変異を APOBEC-SaCas9 KHH mRNA の導入による Base Editing で修正するというものである。

"Understanding the nature and source of dsRNA by-products during in vitro transcription. Aleks Schein:

Extra-long mRNA for treatment of Duchenne Muscular Dystrophy"

Monica Wu (Artbioscience)

Art Bioscience は 2015 年設立の稀少疾患、特にディシェンヌ型筋ジストロフィー(DMD)をmRNA 医薬で狙おうとしているイスラエルのベンチャー企業である(DMD 患者家族 2 名がFounder)。DMD 遺伝子は非常に巨大で、mRNA の全長は 14kb (427KDa)にもおよび、従来、遺伝子治療やmRNA 治療の対象の範疇外と考えられてきた。彼らは繰り返し配列を短くした各種 DMD mRNA をデザインし、In Virto で DMD タンパク質の発現をスクリーニングした。

"Infusion reactions as a safety barrier in RNA therapy: animal models for prediction and prevention"

Janos Szebeni: (Semmelweis University, SeroScience)

ナノ粒子を用いた医薬の重篤な副作用の一つが、免疫の活性化であり、補体(C)活性化関連 偽アレルギー(CARPA; complement activation-related pseudoallergy)や infusion reaction (IR、急性輸液反応)などが大きな問題となっている。また ABC(Accelerated Blood Clearance)効果で PK が大きく異なることも問題である。演者らは CARPA、IR のモデルとして Pig(ブタ)が感受性が高くヒトへの外挿性も高いことを示し、毒性評価のモデル動物として組み入れることを提唱している。

Regulatory Session

Chair Person: BioNTech 社 Dr. Andreas Kuhn

Speaker 1: ドイツ Paul-Ehrlich-Institut (PEI: パイ) Dr. Thomas Hinz

PEI は医薬品のマーケティング認可を管轄している。欧州では、欧州医薬品庁(EMA)が中央集権型の医薬品の許認可機能を担っている。つまり、この機関より得た許認可はすべての EU 加盟国で有効となる。

EMA の先進療法委員会は、In vitro 転写による mRNA として、2 つの事例を示している。一つは抗原に関連した非小細胞肺がんであり、もう一つはその遺伝子治療である。

法的には次のように定められている。まず遺伝子治療薬は生物学的製品でなければならない。次に組み換え型の核酸で構成されているという定義があり、すべての mRNA の事例が該当すると思われる。また、遺伝子配列の修復、交換、追加、削除を行うことを目的として人体に施されるものであるとの定義もあるが、ほとんどが組み換え型核酸を人体に与えるものであると理解している。よって In vitro 転写による mRNA は、遺伝子治療として位置づけられることになる。

一方の米国においては、遺伝子治療薬の概念はより大きく、遺伝的物質の転移や翻訳といった効果をもたらすものと定めている。

【パネルディスカッション】

- Q. mRNA の純度のベンチマークとは?
- A. ケースバイケースの判断となる。
- Q. 規制当局はどのように見ているのか。
- A. 一般的にはケースバイケースの判断となる。例を挙げると 80%がキャッピング化されたのであれば、80%で十分であることを正当な理由で説明できなければならない。
- Q. 治療目的で遺伝子を人間の身体に注入するのであれば、強い免疫反応を起こさないことが当然のことながら条件となる。
- A. しかしながら、不純物が何であり、どれほど混入しているかといったことが明確に定められているわけではない。 臨床段階に移行するまでに十分な試験を行ったということを規制当局に対してきちんと示すことが大事ということであり、具体的に何と何の検査を行えば大丈夫といった単純な話ではない。

規制当局に対しては、臨床試験前の段階であれば自らが最良と判断した要素を提供すればよいが、臨床試験段階に一度入ってしまうと、記載内容を変更するに当たって事態は非常にややこしくなる。変更前と変更後で商品が同一であるまたは比較可能なものとして提示しなければならないからだ。

- Q. mRNA 医薬品は、生物学的製剤なのか、遺伝子治療薬なのか、それとも幹細胞なのか、様々なカテゴリーに区別され得るが、この点はどうなのか。ちなみに米国には、アメリカ食品医薬品局の中に CDER と CBER という機関がある。mRNA は通常は CBER の管轄となるが、ヌクレオチドはまた別の管轄になる可能性がある。また遺伝子組み換え細胞において当局に対して臨床試験申請を行うのであれば、環境リスク評価を実施しなければならない。つまりmRNA に限定された問題ではなく、デリバリー技術なども観点も考慮するのが重要なのではないだろうか。
- A. 遺伝子治療薬品に対しては効力検定が義務付けられている。この効力検定が今述べられた趣旨に該当するだろう。
- Q. 規制という観点において、研究段階から製造管理責任を問う GMP 製造にはどのタイミングで移行すべきなのか。
- A. 効果があることを示すデータが得られてから移行するというのが理に適っているのではないか。
- **Q**. 毒性検査を含む臨床前試験を実施している最中に良い研究結果が出たら臨床段階へ移行してよいということか。
- A. いや、そういう意味ではない。臨床前段階においては、GMP 製造ほどの精度は求められてい

ない。毒性検査などでは、確かに GMP 準拠にできるだけ近いものを用意することが求められてはいるものの、必ずしもすべてを完璧に用意しなければならないというわけではない。例えば酵素を異なる業者から調達するとなれば問題になるかもしれないが、同一手続きを臨床前段階から GMP 製造に至るまで維持するのであれば、研究開発用の実験室で取得したデータで十分なはずである。

- Q. GMP 製造はどの時点から開始となるのか。細胞を見つけたときか、それとも使用する mRNA を生成した後になるのか。
- A. 私の理解では、薬剤の検査終了後の生成過程においてリボ核酸が保持される段階から GMP が 開始されるはずである。ただし、この点については、必ずしも関係者全員の見解が一致しない かもしれない。
- **Q.** 複数のリボ核酸が存在する場合に、一つの突然変異が代表性を持つことになるのだろうか。もちろん、その水準は費用とも関係してくるとは思うが、この点について確認したい。例えばリボ核酸が 5 つあったとして、それぞれに突然変異が起こったが、そのうち一つの突然変異だけを検査するという意味合いである。
- A. そうだとすれば、それぞれ 5 つの特徴が明確に区別されるということになる。規制的な観点としては、リボ核酸の特性評価はデータのサブセットとなる。

今述べられているのは、エンコード化されていないタンパク質がそれぞれ異なる突然変異を起こした状況だと理解している。その場合、突然変異を起こしたタンパク質を試験対象としなければならないというのが私の即時的な回答となる。

(9)TIDES Europe

学会名	TIDES Europe: Oligonucleotide & Peptide Therapeutics		
開催月日	2019 年 11 月 12 日~15 日 開催場所 RAI Amsterdam Convention Centre,		
			Amsterdam

概要;

本学会は本家の TIDES (USA)、TIDES Asia と並び、ペプチド、オリゴヌクレオチドの創薬応用に関する Conference である。ほとんどが企業の発表であり、CMC、分析関係の発表・ブースも多く、情報交換・商談に重点が置かれている。

'TIDE' の名称は付かないものの mRNA Therapeutics and CRISPR Therapeutics の Track も最近設けられるようになっている。

"TriMix Based mRNA Immunotherapies"

Stefaan De Koker, Ph.D., eTheRNA, Belgium

eTheRNA は 2013 年設立のベルギーのブリュッセル大学発のベンチャーでがんと感染症の Immunothrapy を mRNA 医薬でやろうとしている。コア技術は TriMix technology と名付けたもので、TLR4、CD40L、CD70 の 3 種の mRNA を樹状細胞に発現させる。

"Messenger RNA Therapeutics for Primary Ciliary Dyskinesia*"

Christian Plank, Ph.D., ChiefTechnology Officer, Ethris GalNAc Cluster: Process GmbH, Germany

Ethris は 2009 年という早い時期に設立されたドイツの mRNA 創薬ベンチャーであり、他の競合とは違いワクチンではなくタンパク質補充療法に絞ったパイプラインである。基本技術は SNIM RNA Technology と名付けた修飾塩基を一定割合だけ入れたタイプの mRNA で、それにより高発現と免疫刺激回避を両立させている。 DDS としては、Dendrimer 構造をもつ polyamidoamine (PAMAM)を使っている。疾患領域は最近は呼吸器領域に集中しており、AstraZeneca とも提携している。

"Delivering of Novel Cure: Unbridling the Power of mRNA-based Medicines" Hangwen Li M.D., Ph.D., Chairman and CEO, Stemirna Therapeutics, China

Stemirna は、中国上海にある mRNA 創薬のベンチャーで米国 MD Anderson Cancer Center 他の研究者、医者数人が中国に戻って起業した会社である。独自技術は LPP と呼ばれる Core Shell Structure Platform の DDS であり、mRNA 創薬の狙いとしてはがん、感染症ワクチン、酵素補充療法と多々あるようであるが、最も進んでいて力をいれているのは個別化がんワクチンである。

"Inhibition and Degradation of Drug Targets Using bioPROTAC mRNAs – A Novel Approach with Broad Therapeutic Potential"

Anthony Partridge, Early Discovery Pharmacology, Translational Medicine Research Centre, Merck Sharp & Dohme, Singapore

MSD (Merck Sharp&Dohme) のシンガポールからの発表である。PROTAC とは Proteolysis Targeting Chimeras (タンパク質誘導キメラタンパク質) の略であり、

- 1)標的タンパク質(POI)と結合するためのリガンドと、
- 2) E3 ユビキチンリガーゼと結合するためのリガンドを、
- 3) 両末端リガンドを繋ぐクロスリンカーでつなぐ

ことにより POI を選択的に分解する技術、薬物のことを指す。彼らは BioPROTAC を医薬品にするに当って、mRNA モダリティが最適と考え、検討を開始している。

"Mass-Production of Target RNA by Microorganism Shuhei Hashiro, Research Scientist"

Research Institute for Bioscience Products & Fine Chemicals, Ajinomoto Co., Inc., Japan

味の素はジーンデザインを傘下に収め、本会の Sponsor にもなるなど、核酸医薬に力を入れている。本会でも Ajinomoto Bio-Pharma Services(含むジーンデザイン)が、ブースを出しており、固相合成及び独自の液相合成(AjiPhase)までを受託できる CDMO としてのアピールをしていた。本発表はスポンサーセッションで前半は会社と上記 AjiPhase の宣伝であったが、後半は全く異なる初期研究の話題で、微生物研究者による羽城氏が会開発した mRNA のコリネバクテリウムによる大量生産の発表であった。

Regulation

"Regulatory View on mRNA Challenges in the Context of ATMP/Gene Therapy Guidelines" Margit Schnee, Ph.D., Regulatory Affairs Manager CMC, CureVac AG, Germany

ドイツの mRNA 医薬企業の CureVac の Regulatory 担当者は EU の mRNA の Regulation を中心に US と比較しながら述べた。

【概要】

基本は biologics/biotechnological products のガイドラインに従うが、加えて ATMP(Advanced therapy medicinal products)、Gene Therapy のガイドラインに入るケースもある。

FDA の定義では Gene Therapy に入り、EU では ATMP、そして Gene Therapy に入るが、予防ワクチンの場合は入らない。mRNA に特化したガイドラインはない。既に EU では ATMP として分類されているケースが複数ある。FDA では CBER の中の OTAT(Office of application of Tissues and Advanced Therapies)という部署が担当する。

Starting Material は GMP が要求されるが、鋳型の pDNA ベクターは Starting material とされる。 一方で PCR Products を鋳型にした場合は、はっきり定まっていない。また、Potency Assay について はタンパク質の発現で見るが、PI までにどこまでが必要かは明確でない。

CMC においては Identity & Integrity の分析が求められ、RNA の長さや配列決定が必要であるが、HPLC の感度等から分析には限界がある。非臨床及び臨床試験においては、Risk Based Approach が基本となる。PK では、Germline に入るリスクを知るための体内分布、ヒトの体内分布、遺伝子発現を含むデータが求められる。毒性試験では、不純物の in vivo 効果の評価や、MABEL の評価が求められる。

臨床においても Gene Therapy のガイダンスは EMA、FDA にあるが、クリアではない。当局と話し合いながら、新たに出るガイダンスも参考にする必要がある。

【詳細】

1. mRNA 製品の適用ガイドラインの欧米比較

RNA は細胞ほど複雑な構造とはなっていない。ただし、出発物質となるプラスミド DNA を用いて生成された 4 種類のリボ核酸からは、不純物が生じる可能性がある。この事実は、「ゲノムへの組込みなし」「一過性の発現」「短い半減期」「患者に複製なし」「既存の患者免疫なし」「天然の翻訳後修飾を組み込んだ患者自身の細胞によって産生されるタンパク質」「環境リスクなし」「転写過程を標準化できる」といった mRNA の特殊性につながる。そしてこれらの特徴こそが、核酸を患者に投与を行うその他の遺伝子治療とは大きく異なる点であり、よって異なるガイドラインが必要とされる所以である。そのうちいくつかはすべての医薬品に適用されるものであり、さらには生物学や生物科学関連領域や、遺伝子治療のみに限定されたガイドラインなどが用意されている。中でも先端医療を対象としたものが ATMPs である。

FDA は遺伝子治療を「遺伝子の発現を改変または操作したり、治療用に生きた細胞の生物学的特性を変化させたりしようとするもの」と定義している。よって、遺伝子が単なる DNA として分類されただけでなく、mRNA として扱われた時点で、この定義に該当することになる。また欧州のように、例外規定が定められていないことも注目に値する。

一方の EU における遺伝子治療用医薬品の定義においては、遺伝子治療を「組み換え型核酸という作用物質を有する生物学的な医薬品」であるとし、また「遺伝子配列の調節、修復、置換、付加又は欠失を目的として、ヒトに使用され又は投与される組換え核酸を含有し、又はそれからなる活性物質を含有する」ものと定めている。また感染症に対するワクチンや RNA、DNA、オリゴヌクレオチドといった化学的に合成された核酸は例外として扱われている。

2. 出発物質

ICH Q11 で要求されている通り、必要な出発物質を定義しなければならない。この定義は、品質要求事項を送る上で、極めて重要である。

プラスミド(裸の DNA)が出発物質として見なされた場合には、細胞状態の時点から ATMP が適用されることになってしまうということが最大の課題である。

3. 力価測定法

力価は「生物活性の量的尺度」と定義されており、後に「一定の生物学的効果を達成するための製品の比能力又は能力」という定義が加わった。複雑な生成物の特徴づけのための重要なパラメータであり、遺伝子治療製品の同等性/同質性評価の主要な構成要素でもある。臨床作用機序を反映すべきことが好ましく、選択した力価測定法とその許容限界値との関連性については、その妥当性を示す必要がある。

4. 特性解析

分析手法について、とりわけ同一性と完全性に絞って説明する。この点においても、mRNA は特殊である。完全性を保証するための判定基準は、効力と安全性に関連したものとなるはずである。その他のものと区別するという意味では、mRNA であることさえ証明できればよいので、UV 分光法、RN アーゼに対する感受性などの分析を用いることもできるが、完全な証明ではなく、あくまでも可能性があることを証明するに過ぎない。

5. 非臨床、臨床の課題

非臨床および臨床上の課題としては、ATMP はリスクに基づくアプローチ(EMA/CAT/CPWP/686637/2011)を用いて開発すべきである、ということが言える。ATMP に関連するリスクには、望ましくない免疫原性、腫瘍形成、不要な組織形成など様々なものが含まれる。その他には指令2009/120/EC に記載されている遺伝子治療用医薬品特有の要件があるが、mRNA ベースの産物とは無関係のように思われ、また実際に同指令に記載されている「製品の種類によって異なる」といった表現によってその事実は認められている。よって、必要とされる(非)臨床パッケージの範囲は、遺伝子治療用医薬品のリスクプロファイル基づき、あくまでも事例ごとに決定していくしかない。

6. 結論

結論としては、正当な根拠を持って、当局と話し合うことが肝要ということになる。そうした話し合いは義務付けられているわけではないが、当局は総じて協力的であり、またリスクを低下させるのに大いに役立つ。また ATIMP ガイドライン EMA/CAT/852602/2018 の編集作業は最終段階にあり、また当局は新たな遺伝子編集療法について、より多くの指針を提供しようとしていることも今後の助けになるだろう。

2. ヒアリング結果

(1)国内 KOL(4名)

- 1. 日米欧の 3 極において、mRNA 製品に特化した規制ガイドラインは存在していないと聞いているが、規制当局が Reflection Paper、留意文書(Points to Consider Document)、White Paper 等を作成しようという動きはあるのか。
- ・ mRNA に特化した規制ガイドラインを作成しよういう取り組みは聞いたことがない。
- ・ mRNA 医薬品といっても、ワクチンと補充療法とゲノム編集では当然、規制の在り方も変わるべきであり、「mRNA 医薬品」という形でのガイドラインができるかは疑問である。
- ・ FDA については、mRNA 医薬品のパターンによって対応が異なる。
- ・ 投与目的は感染症予防以外に補充療法もあるし、ゲノム編集に用いるという研究も盛んである。目的によってガイドラインの適応範囲が異なると思うので、全てのパターンに対応した規制をかけることは難しい。
- ・ おそらく、FDA では CBER(Center for Biologics Evaluation and Research)が mRNA を担当していると思われる。
- ・ 予防ワクチンは、また違った考え方で規制されるので、遺伝子治療であっても CBER の中で担当部署が分かれると思う。
- ・ 現在の mRNA の規制はケースバイケースだと思う。対象疾患・患者に応じて、リスクの程度、修 飾の有無、デリバリー用ベクターの有無などによって規制が変わると思う。
- ・ 核酸医薬の場合は、日本でガイドラインのドラフトが発表され、ICH に向けての動きがある。
- ・ mRNA を核酸医薬に含めない理由のひとつは分子のサイズで、作用機序が核酸医薬とは全く 異なるということも挙げられる。
- ・ 核酸医薬(オリゴヌクレオチド)に特化したガイドラインもないので、関係者は皆困っていると思う。唯一、ICH S6 ガイドラインがあるくらい。そこで、ケースバイケースという考え方が役立っている。
- ・ 核酸医薬のガイドラインが固まれば、mRNA もそれに近い考え方を適応できるので、順次それに当てはめ、mRNA も混乱なく整理できると思う。
- ・ ICH では、年に 1 回、日米欧中韓の規制当局に対し、新規トピックスについてヒアリングをしている。
- ・日本からは昨年、一昨年と核酸医薬を提案しているが、時期尚早ということで、未だトピック化されていない。ただし、2019年の DIA シンポジウムでは日米の二国間で核酸医薬の問題点について議論することになっている。そのような取り組みから議論が広がっていくと思う。

2. mRNA 製品は mRNA の末端が化学修飾されているが、それについての規制に言及している専門家はいるのか。

- ・聞いたことがない。しかし、修飾しないと、分解されやすいので修飾しないわけにはいかない。 naked プラスミドや、初期の核酸医薬は生体内で分解されたとしても、元々生体内にある成分 と同じである。
- · 一方、修飾すると、修飾に用いた化合物分子や、その代謝物の毒性が懸念される。
- ・修飾に用いた分子がどの範囲までなら毒性の懸念が払拭されるかは、わからない。生体内にあるものと同じ修飾分子を用いたとしても、量の問題もある。少なくとも天然型の核酸であれば、分解後のことは、あまり懸念されない。
- ・ 例えば、遺伝子治療薬の規制が一部適応されるように思う。米国 A 社が遺伝子治療薬の承認を得た過程でも、投与した DNA の分解産物についての議論はあまりなく、むしろ発現したタンパクの影響についての議論が多かった。発現したタンパクが生物活性を示すのか、または抗原性を示さないということが重視された。この点についてはバイオ医薬品の考え方が適応されていると言える。

3. mRNA 製品は海外では用途別に規制されているようだが、日本では天然型か、あるいは非天然型かによって規制を変えるべきとの意見がある。「非天然型とは新規制のある修飾が施されているもの」とのことだが、非天然型の定義をどのように捉えればよいのか。

- どのような修飾かによって異なる。
- ・ 例えば、in vitro transcription で作成された mRNA の cap 構造は、厳密には天然のものとは全く異なる。しかし、科学的に証明することは難しいものの、全体の配列が天然型とは異なっても、物質としては同じはずである。いずれ分解されるものなので、大丈夫だと見なされているようである。
- ・難しいのは、同じタンパクをコードしているのに、塩基配列が異なる場合である。4 つの塩基の 組成が変わるということなので、一つでも配列が異なると安全性試験を最初からやり直すという 展開は非現実的である。自分は海外の規制の生データを見たことはないが、その点が議論に なっているとは思えない。
- ・ 現実には、リポソームに内包された mRNA や、Naked mRNA(予防ワクチン)の様々な治験が進行中だが、それぞれ異なる安全性の評価を求められているとは思えない。共通の評価基準で規制されているのではないか。また、それが mRNA のメリットだと思う。
- ・日本では未だ臨床試験が実施されていないので、最終的にどのようになるかは未定。
- ・ 先ほども述べたとおり、国内では、現時点で、天然型か非天然型かが判断基準の一つとなる。あいにく欧米での展開はよくわからない。
- ・ 非天然の定義だが、シュードウリジンやメチル化された塩基は体内に普通に存在している。しかし量の問題はわからない。わからないから、やめるのか、気をつけて進むのかは自分ひとりで 決めることではない。
- ・ 海外では修飾された mRNA を使うことが当たり前になっている。
- ・ 積極的に修飾する理由は単に特許戦略である。実際には、おそらく、程度の差はあっても修飾は必須ではないだろう。
- ・ ほとんどの場合、修飾核酸を使っている。例えば、メチル化ウリジンを使用したりしている。その 混合比率のレシピが、個々の企業の財産である。
- ・ mRNA は体内で分解されやすいので、標的への送達性を高めるよう、何らかの化学修飾が施された核酸と考えてほしい。修飾の程度は問わず、基本的に少しでも生体内とは異なる修飾があれば非天然型と見なす。
- ・ ただし、cap 構造や pseudo $U(\Psi)$ のような修飾もあるが、それらは生体内にも存在する修飾なので、大過剰でなければ、医薬品の審査において動物での試験は不要としている。
- ・ 既にΨ を含め、ウリジンの修飾体が mRNA 医薬に利用されている。
- ・ わずかでも生体内にある修飾であれば、天然型と見なすかどうかは、mRNA 医薬をヒトに投与 した場合の総量を考慮する。
- ・ 例えば、成長ホルモンやインスリンはヒトの体内に元々存在するが、医薬品として投与することで、体内に大量に存在すると何が起こるかわからない。
- ・よって、その医薬品を投与することによる不安要素があるなら、試験が必要になる。投与量と同じ量が既に体内にあるなら、わざわざ動物で試験をしなくても安全性は担保されると思う。しかし、生体内の10倍、100倍の量を投与すると懸念の程度は異なる。

欧米では用途で規制を分けているようだが。

- ・ 医薬品の一般的な考え方として患者数が数百万人で投与期間が長い疾患、難病のように患者数が少ない疾患、予後の短いがんなど疾患によって規制が変わる。mRNA に限らず、全ての化学合成医薬品に共通の考え方である。
- ・ 作用機序に応じて、毒性試験のパッケージは異なる。例えば、mRNA がホルモンを発現するなら、タンパク質医薬品と同じ考え方が適応される。ワクチンとして投与するなら、液性免疫と細胞性免疫では試験パッケージが異なる。液性免疫なら抗体を介する反応なので動物で再現しやすい。
- ・ 一方、細胞性免疫は T 細胞を活性化させる反応なので、ヒトと動物の MHC の違いが動物での 評価を難しくする。医薬品の作用機序によって、可能な試験、不可能な試験があるという考え方 は欧米でも日本でも同じだと思う。

- ・ mRNA には 2 つの考え方がある。mRNA がタンパクを発現して、そのタンパクに注目して何が 起こるのかを評価する毒性試験であれば、ワクチンは非常に限定的である。しかし、新規性の ある修飾が多く、化学合成品であることを考慮すると毒性評価が厳しくなる。
- ・ mRNA の共通項になるような規制は不可能である。 バリエーションが多過ぎるので、どうしてもケースバイケースになる。
- ・「発現するタンパクの機能」と、「モノの性質として天然型か非天然型か」、くらいの切り口でルールを決めないといけないと思うが、対象疾患など、それ以上のことを考慮すると規制が細分化し過ぎてしまう。

mRNA を生物製剤の原材料として捉えるという考え方があるのか?

- ・ mRNA が生物製剤の原料であるという言い方には馴染みがない。
- ・ 原則として mRNA が天然の組成であれば、少なくとも異物としては審査しないという方向であった。例えばシュードウリジンは修飾ヌクレオシドではあるが、実はヒトの RNA にも豊富に存在することがわかっている。
- ・ 一方で、阪大の小比賀聡先生の発明された、天然には存在しない壊れにくい修飾核酸などは、 物質としての安全性評価をきちんとすべきということであった。
- ・しかし、mRNA は Naked の状態では、ほぼ使えないので、DDS が必要になる。その DDS を異物と見なす規制については当然議論される。

天然に存在する修飾のみを含む mRNA なら問題ないとのことであったが、生体内に過剰に存在させてしまうという量についての懸念はあるのか。

- ・ 結論としては全く未解明である。同じタンパクをコードした mRNA が細胞内に一気に入るとどうなるかは、悲観的に考えると何が起こるかわからないという懸念が実はある。
- ・予防ワクチンとして局所に投与した場合、決定的な問題は起きていないと思う。ただし、RNA は元々体内にある物質なので、それに対する免疫原性は制御されていると考えると、急性の有害事象は発生しないかもしれない。しかし、翻訳の過程で同一のタンパクを発現する RNA が不自然に過剰に存在すると、細胞にどのような影響が生じるかは喫緊の研究課題である。その点について我々も治療とは別に、in vitro で色々調べているところである。
- · それでも、特に欧米で治療用 mRNA の開発はどんどん進んでいる

4.ゲノム編集に mRNA を用いることについての規制はどのようになるか。

- ・ゲノム編集目的で mRNA を投与する場合は、当然、オフターゲット効果が懸念される。Cas9 タンパクを発現させるためには、ガイド RNA を核内に到達させる必要があるが、現在そのための良いデリバリー方法がないため、mRNA を用いるほうが効率的だという考えが広まってきている。mRNA をデリバリーする方法はいくつか開発されている。
- ・ ゲノム編集に mRNA を用いる場合は遺伝子治療として規制されると思うが、それが全てではない。
- mRNA はケースバイケースで規制されると思う。
- ・ 単一のガイドラインで mRNA 医薬を規制することは難しいと思う。
- ・ FDA には、ゲノム編集に特化したガイドラインは未だないが、ゲノム編集の臨床応用については評価しているので、"ゲノム編集技術を応用した遺伝子治療"として評価していると思う。
- ・オフターゲット効果をどこまで評価すべきかについては、わからない。ex vivo でのゲノム編集であれば網羅的に試験することが可能だが、果たしてそれが適切なのかわからないし、in vivo なら尚更である。
- ・ 補充療法であってもゲノム編集技術を応用していれば、それに特化したガイドラインが必要だろ うと個人的には思う。
- ゲノム編集は有力なツールである。
- ・ 薬として使う(in vivo でのゲノム編集?)場合については、どうなるかよくわからない。
- ・物質としての mRNA の安全性はゲノム編集目的でも、補充療法目的でも問題ないが、ゲノム編集そのもののリスク評価が全く定まっていないと思う。そこは並行して考えねばならない。ゲノム編集の規制については RNA だけの問題ではないので、別枠で検討すべきことだと思う。

- ・ ゲノム編集のガイドラインについては、科学委員会で作成中である。ただし、ゲノム編集全体のガイドラインである。mRNA によるゲノム編集は、その一部にすぎない。
- ・ 用途に応じて、mRNA のガイドラインを作るべきか、用途にかかわらず共通のガイドラインを作るかだが、いずれにしても、品質評価は共通項である。

5. mRNA 製品は遺伝子治療のカテゴリーに入るのか。

- ・ mRNA を補充療法に用いる場合は遺伝子治療にかなり近いと思う。ただし、異なるのはデリバリーの問題と修飾がある点。
- ・ mRNA を感染症予防ワクチンとして用いる場合は、当該動物種できちんと免疫を惹起するかどうかは問われると思う。よって、遺伝子治療+予防ワクチンの考え方が適応されるように思う。
- ・ 単なる遺伝子治療であれば、多めの量を投与しないといけないが、予防ワクチンであれば免疫 反応が起こればよいので、過剰に投与する必要はないと思う。DNA ワクチンの開発経験から言 えることは、投与量については種差が大きいようである。
- ・ RNA 医薬品は、ウイルスベクターを用いる遺伝子治療やプラスミド DNA と類似した作用機序になるはずだが、同じ規制にはならない。まず、作用機序的に遺伝子の発現方法が異なる。
- ・ウイルスベクターは細胞に感染し、DNA なら核内に到達するといったプロセスを経るが、mRNA の場合はそのプロセスが不要である。細胞質で翻訳させればよいので、効果が非常に早く現れる。動物に mRNA を投与すると、数分(もう少しかかるかも)で翻訳が始まる。
- ・ 遺伝子治療という狭いカテゴリーに mRNA が含まれるのか否かについては、国内でも 3~4 年前から様々な意見があった。
- ・ 日本では再生医療等製品の指針に、ちょうど当てはまる。この指針には、ウイルスベクター製品 やプラスミドベクター製品のカテゴリーとは別に、"遺伝子発現治療製品"というカテゴリーが独 立して存在している。

6. mRNA 製品の安全性、毒性等の品質評価はどのようにすべきか。

- ・ バイオ医薬品の場合、薬剤の選択性が非常に高いため、オフターゲット効果は稀で、 exaggerated pharmacological response がほとんどである。そのため、非臨床試験では、100% の薬理反応が得られる用量を投与すればよいとなっている。
- ・ 昔は、ヒトへの投与量をはるかに超える量を動物に投与していたが、ICH S6(R1)「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」において、"100%の薬理反応が得られる用量または臨床用量の10倍のうち、どちらか高いほうの用量"でよいと決まった。このような考え方が素地としてあるので、mRNA 医薬品にも適応すればよいと思う。
- · 基本的な考え方は exaggerated pharmacology である。
- ・さらに、修飾に用いた分子の評価のために核酸医薬のガイドラインを参照することになる。
- ・ デリバリーツールとして、ミセル、ベクターなどの使用も想定されるので、それぞれに対応したガイドラインを参照する。
- ・ vivo の薬理データ(例えばマウスの受容体と親和性が同程度である)や、塩基配列のホモロジー検索の結果などを踏まえ、適切な動物種の選定を行う。
- ・ バイオ医薬品などにおける過去の経験から適切な動物種(relevant animal species)を選択しなければならず、既存のガイドラインなどが参考となる。
- ・ プラスミド DNA のガイダンスは、mRNA の非臨床試験にも参考になる部分がある。
- ・ 品質評価について、欧米の考え方は共通。一部は核酸医薬の考え方が適応できるし、純粋に 天然型であれば、安全性の評価は簡単である。
- ・しかし、品質評価の方法が定まっていない。
- ・ DNA ならシーケンスをすれば変異を確認できるが、mRNA でダイレクトシーケンスをするのは非常に大変なので、どのように品質評価をしているのだろうか。あるいは、核酸医薬なら質量分析計にかけられても、mRNA はサイズが大き過ぎて難しいだろう。Poly A の不均一性もある。キャピラリー電気泳動をするのか。

- ・ 力価、生物活性の評価も気になる。in vitro で transfection して生物活性を評価することもできるが、ロットリリースでそのような試験をするのも大変である。
- ・ 非臨床のガイドラインンは、品質評価の方法さえ、きちんと定まれば、あとは応用編なので考慮 すべき事項はあまりない。
- ・ Naked の mRNA を投与する場合は修飾の有無と、ナノ粒子にして DDS を利用するかどうかを 別途考慮すべきだが、それは化学合成医薬品とバイオ医薬品の考え方を当てはめればすむ。
- ・ さらに、mRNA は、核酸医薬のように複雑なハイブリダイズディペンデントな毒性は、あまり懸念しなくてよい。
- ・ よって、非臨床で mRNA に特化したガイドラインはそれほど必要ないと思う。ただ、特性評価の 方法は最も重要である。品質に関連する毒性評価などは必要になるかもしれない。

7. 臨床評価、有効性評価についてはどのようにすべきか。

- · DNA に比べれば、mRNA のほうが有効性は出やすいように思う。
- ・薬効の持続が短いということは欠点かもしれないが、ゲノム編集に mRNA を利用する場合はオフターゲット効果のリスクが低くなるので、むしろ利点である。
- ・ 現実には、リポソームに内包された mRNA や、Naked mRNA(予防ワクチン)の様々な治験が進行中だが、それぞれ異なる安全性の評価を求められているとは思えない。共通の評価基準で規制されているのではないか。また、それが mRNA のメリットだと思う。
- ・ 日本では未だ臨床試験が実施されていないので、最終的にどのようになるかはわからない。
- ・ まずは、mRNA が安全であるというエビデンスを構築しなければならない。そこで、予防ワクチン として投与することで、mRNA 自体の安全性が証明できると思う。おそらく欧米の人も同様に考 えていると思う。
- ・ がんワクチンとしての mRNA の治験も Phase 2 くらいまで進んでいるものが多い。詳しい情報を 持ち合わせていないが、ヒトと動物との種差について完璧なエビデンスはないままに、治験を始 めていると思う。mRNA をがんワクチンとして用いる場合、抗原となるタンパクを選ばないという 点がメリットであるので、個別化医療となる。
- · mRNA に特化した臨床評価は必要ない。対象疾患ごとに評価方法は定まっているので。
- ・ただし、動物では不可能な試験があれば、臨床試験で評価しないといけない。
- ・しかし、臨床での有効性の評価については既存の評価方法を適応できる。
- ・ 医薬品開発企業が、特性解析の方法を開発するだろう。それが重要である。

(以上、シード・プランニング作成)

(2)海外 KOL

1) mRNA 医薬開発企業(CSO)

ヒアリング日時	2019 年 5 月 20 日	
所属機関	mRNA 医薬開発企業 A社	
部署·役職 Chief Scientific Officer and Chief Operating Officer		

- 1. 日米欧の 3 極において、mRNA 医薬品に特化した規制ガイドラインは存在していないと聞いているが、規制当局が Reflection Paper, 留意文書(Points to Consider Document)、White Paper 等を作成しようという動きはあるのか。
- ・ siRNA は CDER で低分子として規制されている。低分子の薬剤は purity が 99.9%と非常に高いが、オリゴヌクレオチドでは purity が 85%でも米国と欧州では特に問題とされない。 mRNA は分子量は大きいが、ex vivo で細胞を使用せず合成されるので、CDER で規制されると考えていたが、CDER と EU の規制当局に相談に行ったところ、mRNA は生物学的製剤とみなすと言われた。これは短鎖 RNA と大きな違いであり、米国では mRNA は CBER と OTAT で規制されている。 mRNA は一種の遺伝子治療としてみなされているので、IND と NDA の審査は CBER と OTAT を通す必要がある。

CDER: Center for Drug Evaluation and Research

CBER: Center for Biologics Evaluation and Research

OTAT: Office of Tissues and Advanced Therapies

- 2. mRNA の製造では異なる塩基配列の mRNA などの impurity が出ると思われるが、これはどのように規制されるのか。また、ロットごとに差が認められた場合、これはデータを取り直す必要が出てくるのか。
- ・ mRNA 原薬の製造 (DNA テンプレートからの転写) では、様々な mRNA が合成されるが、一定の割合で転写エラーも発生することから、異なる塩基配列の mRNA も合成されている。これに対し BER は、ロット内に混在する異なる mRNA 分子種の分布 (population/distribution) をロット間で一定に保つことで、製造の再現性や均一性、同等性を担保するという考え方を採用している。様々な試験法に基づきロット間差を担保するが、一定の範囲にあるロットは同一であると考えることから、データの再取得などは基本的に不要と考える。
- ・ 1 つの試験項目に cell-based assay (potency assay) があり、mRNA 原薬/製剤の規格試験として CBER が要求する項目である。製造スケールが 1g から 10g、10g から数 kg になった場合も、同様の考え方で、異なる mRNA 分子種の分布が同一であることを示すことが重要である。
- ・ mRNA の impurity profile としては、オリゴヌクレオチドと同様で、どのような不純物が含まれるか随分と理解が進んできている。 mRNA の purity に関しては、どの程度の純度が妥当であるかはわからない。それは現在の分析機器では purity を正確に計測できないためでもある。 RT-PCR で mRNA のシーケンスを特定し、85%から 90%以上が同じであることを二重に確認することが重要。

3. mRNA 医薬品の開発において、FDA は mRNA 特有の懸念事項は何だと考えているのか。例えば、以下の事項について FDA は懸念しているのか。

ヌクレオシドが、過剰に修飾されている

.

- ・ 配列が天然型とは異なる
- mRNA を投与することにより、生体内に同一のタンパク質をコードする mRNA が過剰に存在する
- ・ mRNA は analytical release が鍵であり、このような会議で mRNA を製造できる企業が 3~4 社しかないのはそのためである。 mRNA は非常に immunogenic で purity が重要になるため、どのような精製工程を有し、製造拡大するかが重要になる。 T7 RNA polymerase は mRNA の作成に向いておらず、shortmers や double-stranded RNA を作ってしまい、これらを除去するのは非常に難しい。そのためこれらを除去する良い方法が必要となり、除去したことを assay などで証明できなければならない。これは非常に難しかったが、ここ数年で各社が方法を開発しており、FDA や EMA もこの情報をほしがると思う。安全性試験では、不純物について、自社が指定する範囲まで問題なかったと証明できれば、臨床試験などに進める。
- ・ 非天然型と天然型に関しては多くの議論がある。個人的にはどちらでも大丈夫だと感じている。 Translate Bio と CureVac は天然型で我々と Moderna、BioNTec は非天然型を使っている。非 天然型であろうと、塩基は自然のもののため、当局はあまり気にしていない。オリゴヌクレオチド (siRNA や ASO などの短鎖核酸オリゴ)の分野で用いられる修飾は unnatural (人工的)な 化学修飾である一方、mRNA で非天然型といわれる塩基は天然に存在する修飾塩基で、このような modification は体内でも自然発生している。 Modification が良いか悪いかは前臨床試験を 行って判断し、安全性や有効性のデータを提供できれば良い。天然型と非天然型でも同じものを 提供する必要があるので、承認への期間が異なることもないと考える。
- ・ Cell-based assay が IND に必要かどうかは相談する必要があるが、上市するためには必要となる。目的とする(活性を有する) mRNA を製造できるという証拠を示さなければならない。当局は製造した mRNA が目的のタンパク質を体内で製造できるのか知りたいので、それを証明するために potency assay が必要となる。
- ・ Exaggerated pharmacology(mRNA 投与によるタンパク質の過剰合成)は問題として挙げられているが、タンパク質の蓄積が無い、または supraphysiological level で合成されたとしても有害事象がないことを証明すればよい。これは前臨床モデルで証明できる。懸念として挙げられているのは、疾患によって毒性プロファイルが異なる可能性があり、疾患によって特異的な毒性試験が必要であるかもしれない。つまり、異なる疾患では一定のタンパク質が多すぎると問題になる可能性があるので、別の疾患に用いるのであれば何か特定な毒性試験を実施する必要が出てくるかもしれない。現在は mRNA と siRNA の毒性試験は基本的に同じであるが、mRNA では分析手法と使用される LNP が異なることが挙げられる。また、siRNA ではオリゴヌクレオチドのPK をやるが、mRNA では mRNA とコードするタンパク質の PK を出す必要がある。
- 4. mRNA 医薬品の適応が異なっても、毒性評価の基準は同じなのか。例えば、EMA では、感染症予防ワクチンとしての mRNA は遺伝子治療とはみなされていないと聞いている。
- ・ 米国でも同じ考え。感染症予防ワクチンは遺伝子治療とはみなされず、FDA の特別なワクチン 部門に行く。1、2回の投与のみで長期投与ではないため考え方が違う。そのため、OTAT は主 にタンパク質補充療法の規制に関与し、ワクチンには関わらない。動物実験や毒性試験が多少異 なる可能性はあるが、spec(CMC に関する品質基準・規程)は同じであると考えられる(purity、nanoparticlestability など)。ワクチンでは immunogenicity を見る必要があるが、動物実験は

一種でよく、局所 IM なので、一般的な毒性試験で求められるほどの試験を行う必要はない。そのため承認も非常に早い。

- 5. mRNA 医薬品の規制について、EMA と FDA とで見解が異なる部分があるのか。
- ・ 双方で話し合っているので特に変わらない。我々も FDA とドイツの PEI (パウル・エールリヒ 研究所) と話し合ったが見解はほぼ同じだった。
- 6. mRNA 医薬品の DDS 製剤の規制について、貴社が懸念していることはあるのか。または、規制当局に対し、貴社が主張したいことは何か。
- ・ 規制ではないが、biodegradability や clearance、PK という一般的にやることを検証する必要がある。 FDA も同じような要件を求めてくると感じる。ヒトでは PK のみをみることになると思う。
- ・ LNP はポリマーと比べ biodegrade しやすく、低分子であり、FDA が好んでいる。PI は良い分子だが、biodegrade が難しく蓄積していないかを証明するのが難しい。ワクチンでは数回の投与でよいが、長期治療で週十回投与することになると DDS が大きな問題となってくる。
- 7. ゲノム編集目的で mRNA を投与することについて、規制当局が懸念していることは何か。
- ・ 同じく OTAT が担当すると思う。 mRNA によるゲノム編集は transient であるからあまり問題 ないが、CRISPR-CAS9 などではガイド鎖に対する bioinformatics や off target に多くの注目が 集まっている。

2) mRNA 医薬開発企業(研究開発担当)

ヒアリング日時	2019年5月21日	
所属機関	mRNA 医薬開発企業 A 社	
部署·役職 Frontier Science Division, Senior Research Fellow		

1. mRNA 医薬品を開発している企業は、感染症予防目的であれば規制のハードルは低いと見なしているのか。

・ その通り。感染症予防であれば免疫系を活性化すればよいだけなので、製剤に多少不純物が混ざっていても免疫を惹起できる。むしろ不純物にアジュバント効果があると示唆されている。

2. mRNA の純度についてはどうか。

- 当社の場合はタンパク補充療法に注力しているので、mRNAの純度には非常に神経質になっている。この場合、投与した物質により免疫原性が上がると問題になるためである。
- ・ 純度について明確な基準はないが、少なくとも AST、ALT (いずれも肝機能のマーカー) など の上昇がないことと、サイトカインの過剰な産生が起こらないことを基準にしている。
- ・ 肝毒性については化学修飾されたヌクレオチドを用いることで回避できるが、不純物については 免疫原性の有無が鍵となる。特に、in vitro translation 反応系で mRNA を合成すると、現時点 では二重鎖 RNA (dsRNA) を完全に除去することは不可能である。この二重鎖 RNA を除去す ることが現時点で課題となっている。

3. 非天然型の mRNA の規制についてはどうか。

- 5'Cap 構造については、規制当局は懸念していないと思う。
- ・ 化学修飾については、FDAの中にも長期毒性を懸念している人もいるが、具体的な開発指針は 出ていない。
- ・ まず、予防ワクチンとして mRNA が承認されるだろう。その後、状況によっては規制が厳しくなる可能性はある。

4. FDAとEMAの違いについてはどうか。

- ・ 規制に関して、FDAと EMAとで決定的な違いがあるかどうかはわからない。
- ・ ヒトパピローマウイルス (HPV) のように、感染することで癌を発症する感染症でも、予防ワクチンとして規制されると思う。

5. 同じアミノ酸をコードする場合でも、塩基配列が異なると、配列毎に非臨床のデータを採る必要があるのか。

- 現時点で、FDAから、そのような試験は求められていない。
- ・ むしろ、化学修飾を加えた際に、ミスリーディングが起こる可能性が議論されている。その点について当社では、mRNAが発現したタンパクのアミノ酸配列を質量分析計で解析している。今のところ、当社では99%以上の確立でミスリーディングは起こっていない。起こらないような化学修飾を施してある。この"99%以上"という基準は、規制当局から求められたわけではなく、自社基準の規格である。

- ・ 他社も質量分析計で解析しているかどうかまでは知らない。ただし、mRNA を逆転写し、DNA の配列を確認することで、mRNA がきちんと合成されていると見なす作業をルーチンでおこなっていると聞いたことがある。
- ・ 最近では、mRNAの配列をダイレクトに読める装置が出てきている。しかし、化学修飾された mRNAを読むと、エラーが多数出てしまうので、その装置の信頼性が未だわからない。
- ・ 修飾の多い Moderna 社の mRNA については、今のところ問題は生じていないようである。

6. FDA が懸念する点は何か。

- ・ 当社の場合は LNP (Lipid Nano Particle) に mRNA を封入している。FDA にとっては、医薬 品原薬 (API) としての mRNA よりも、むしろ LNP の毒性ほうが主な懸念点になっている。タンパク補充が目的の場合、投与回数が多くなるので、LNP 中の脂質や、ナノ粒子の生体内蓄積 が起こるのではないかということが、非常に懸念されている。
- ・ LNP は、Drug Substance(製剤原料)と Drug Product(製剤)の両方で試験することを求められている。Alnylam 社の「Onpattro」(siRNA 製剤、一般名 patisiran、3 週毎に静注)の申請データなどを参考に試験している。mRNA と siRNA では異なることは承知しているが、似たような LNP 製剤なので、同社の動向に注目している。Onpattro の投与用量は 0.3mg/kg だが、ターゲットにもよるが mRNA をタンパク補充目的で投与するなら、それよりもかなり多くしないと薬効を示さない(マウス)ので、API の量も多くなると予想している。なお、予防ワクチンとして投与する場合の用量は少なくてすむ。
- ・ Alnylam 社は当初、DDS で失敗したので、LNP についての規制は厳しい。
- ・ mRNA については、かなり純度の高いものを作ることができるようになっているので、FDA は あまり懸念していない。もちろん、長期毒性についてのデータは未だ採れていないが。
- ・ 今後、FDAは mRNAに特化した何らかのガイドラインを作成すると思う。特に、免疫原性を示す二重鎖 DNA(dsDNA)について明確な基準がないことが課題である。今のところ、dsRNAの定量は抗体によるドットブロット法が主流であるが、その抗体が、おそらく100pg以下になると検量線から外れてしまい、データの信頼度が下がるということはある。実際に、それ以下の数値が得られた場合、サイトカインの誘導性も認められていない。

7. がんのネオアンチゲン療法についての規制はどうか。

- ・ ネオアンチゲンとして投与される各種 mRNA について、それぞれの mRNA が目的の抗原を提示していることまでは、確認していないと思う。製造原薬の規格試験に関して、FDA はそこまで求めていないと思われる (mRNA の抗原提示について bioassay などで確認していないのか、前臨床試験などで mRNA の作用として目的とする抗原提示を調べていないのかについては言及なし。製造に関して FDA が求めていないのは規格試験なのかについても言及なし)。
- 一方、安全性についての規制はわからない。
- ・ 有効性の確認方法についても、わからない。マウスとヒトでは確かに抗原の提示方法が異なるは ずである。当社のパートナー企業から情報が入ってきたら、シェアさせていただく。

8. ゲノム編集目的で mRNA を投与することについて、規制当局が懸念していることは何か。

・ 当社もゲノム編集を手掛けているが、規制基準がなく、非常に困っている。

- ・ 数年前まで、mRNAによるゲノム編集は遺伝子治療と見なされていたが、最近では生物製剤と 見なされているので、規制方法が全く変わってしまう。現在、mRNAによるゲノム編集のガイ ドラインは作成中だと聞いている。
- ・ オフターゲット効果が最大の懸念点とされているが、実際にそれを評価する方法(例えば、in vitro の試験で十分なのか) は試行錯誤中だと思う。Sangamo Therapeutics 社が臨床試験を始めているので、同社がどのような試験をしているのかという情報を収集中である。
- ・ 当社としては、安全性を確実に証明することを求められると困る。例えば、長期毒性よりも、免疫原性は本当に大丈夫であることを証明せよと言われると困ってしまう。
- ・ 現在、Cas タンパクによるゲノム編集に比べ、Cas 9 mRNA はすぐに壊れるため、オフターゲットのリスクはかなり低くなるという論文が多数発表されている。よって、将来的には、投与後のフォローアップ期間は短くなるのではと予想している(注:挿入型ウイルスベクターを用いた遺伝子治療は15年間のフォローアップが必要)。

9. 敢えて心筋に mRNA 投与するのはなぜか。

・ Moderna 社と AstraZeneca が VEGF-A mRNA を心筋に投与しているのは、心筋には mRNA が 入りやすいからである。DDS が不要で、Naked の状態で RNA を投与できる。

10. 自己複製型 RNA のリスクは何か。

- ・ Self-replicating RNA(自己複製型 RNA)は、増殖するとはいっても、長期にわたって増殖する わけではなく、徐々に分解されてゆくため、安全性の懸念はさほどでもない。
- ・ しかし、かなり長い RNA なので、製造は難しい。投与量を減らせるものの、製造原価は高くなる。
- ・ なお、ウイルス由来のタンパクを発現させて複製するので、ウイルス由来タンパクに対する毒性 も懸念されている。

11. 規制当局との相談について。

- ・ FDAのCBERとは3ヶ月に1回くらいの頻度で、製造や毒性試験について相談している。
- ・ 当社はドイツ CureVac 社とも提携しているので、ドイツ規制当局の PEI (Paul-Ehrlich-Institute) にも一度訪問した。PEI は mRNA 医薬品をかなり前向きに捉えているようである。
- ・ mRNA 医薬品の開発については、CRO に依頼する企業が多いと思う。

12. 毒性の評価はどのようにしているのか。

- サロゲートを用いた毒性評価試験はない。
- ・ 当社では、FDAからデータの開示を求められた場合に備えて、LNP製剤に関する様々なデータ を収集している。例えば、LNP、mRNA、発現タンパクのうち、どれに由来する毒性なのかわ かるようにしている。

13. 有効性の評価はどのようにしているのか。

・ マウスとヒトでは、塩基配列が異なるので、ヒト型の酵素をマウスに投与しても酵素活性を示さないこともある。

- ・ 当社のパイプラインは、オルニチントランスカルバミラーゼ(OTC)欠損症をターゲットにしている。OTC は ミトコンドリアに局在するが、マウスとヒトでは配列が異なるため、マウスの試験でヒト OTC のミトコンドリア 内での局在化をうまく再現できないということもある。単に活性が認められればよいというわけではない。
- ・ 生物活性については、mRNA のバッチ毎に活性を測定している。in vitro のアッセイ系を構築し、ヒトとマウス、それぞれの細胞で活性を測定している。FDA に相談する前に、KOL のアドバイスを受けてデータを採っている。
- ・ NHP(Non Human Primates: 非にト霊長類)で試験をする場合は、活性よりも毒性試験が中心となる。 それ以外では、投与量の確認が目的となる。

3) バイオテクノロジーCRO

ヒアリング日時	2019 年 5 月 22 日	
所属機関	バイオテクノロジーCRO A 社	
部署 * 役職 Director of Analytics and Bioanalytics		

1. mRNA 医薬品の開発において、mRNA 特有の懸念事項はあるのか。

- ・ Enzymatic プロセスを使用する場合、酵素のソースを明確に示す必要がある。これが生物由来の場合、TSE (伝達性海綿状脳症) や BSE (海綿状脳症) の疑いがないか明確に証明する必要がある。最終生成物に関しては mRNA と他のオリゴヌクレオチドで必要な要件は非常に似ていると思う。一般のオリゴヌクレオチドに関しても ICH ガイドラインは 1 対 1 で使用することはできず、現在オリゴヌクレオチド治療薬に関しても特定の規制があるわけではない。
- ・ そして FDA と EU から得られる提言は「ICH ガイドラインをできるだけ参考とする」だが、オリゴヌクレオチドに該当しない項目もある。ICH に遵守しない項目がある場合、何故このようにしたかを正当化しなくてはならない。mRNA でも同様である。
- ・ 大きな分子に関しては、現在の ICH ガイドラインでは解決できない分析面での課題がある。例 として metabolites (代謝物) による毒性のリスク分析が必要となるが、代謝物を特定するのは 難しくどのように行うかが課題となる。また、体に従来ある天然型の mRNA に類似した mRNA を作成したとしても、これらを区別できるかも課題として挙げられ、現在の技術ではすべての問題を解決することはできない。現在できることは、行ったことを正当化できるようにすること。そのため、早い段階で規制当局と science advice meeting を設け、CMC 戦略などが妥当かを判断してもらう必要がある。妥当なリスク分析が行われているのであれば妥当であると考えられる。
- ・ 現在行われている分析技術を使用した場合、90年代に承認された抗体医薬のほとんどは承認されないと思われるので、時代によっての変化があることを理解する必要がある。まだ初期の段階なので、4-5年前 Moderna も最初は一般的なゲルを使って mRNA のサイズを分析する identity test を行っており、これが承認されていた。そして現在は分析技術が進み、capや poly A の分析を行うようになった。そのため、分析技術が進歩することにより、必要な条件も増えていく。今日の基準は明日の基準ではなくなるように急速に進歩している。
- 一次の課題としては LNP が挙げられる。LNP に関しては Alnylam Pharmaceuticals の「Onpattro」と同じような分析、encapsulation efficiency や potency assay、薬物の identity test、particle size などオリゴヌクレオチドで使用された検査が使えるのではないかと思う。手法は異なるかもしれないが、これらは必要であり、drug substance に関しては大きすぎるため質量分析法が使えず、シーケンシングなど別の手法を考えなければならない。だが、従来のsanger シーケンシングを使用する際、DNA に転記する必要があり、その場合 polymerase のerror rate を考慮しなければならない。この問題は規制当局と話し合う必要がある。
- 天然型と非天然型の mRNA に関しては、cap 0 structure は免疫反応が認められるためこれは 課題になるかもしれない。Poly A は安定性に関係するが、安全性の問題ではないため、どれだ け重要になるかはわからない。私の考えとしては identity と cap assay が非常に重要だと思う。 後は従来の endotoxin や bioburden などの分析が必要となる。また mRNA を製造(転写) する ために DNA プラスミドを使用するので、これが最終的な製品に存在しないか一定の基準以下で

- ある必要がある。またオリゴヌクレオチドでは重要でなかったが、mRNAでは protein assay は 重要である。これら protein が体の中で immune effect を誘発する可能性があるため。
- mRNA の不純物に関しては現段階で特定できるツールがない。多くの不純物があるため、これらがなにかを特定する手段や分ける手段も無い。TriLink の講演ではピークの+/-10%を製品として考えるといっていたがこれも予測であり証明する方法はない。再現性があり、robust な方法で製造していくしかない。n-1 や n-2 は poly A が heterogenous のためまったく参考にならない。我々が分析するとき、100 ぐらいのベースだと 80-90 から始まり、115-120 が認められ、n-10 や n+10 があるためどのように不純物を特定するかが難しい。Double-stranded RNA (dsRNA) に関しては、TriLink が発表していた spot assay を使用する方法は興味深いと感じた。我々はまだdsRNA を効果的に特定する技術を有しない。これは dsRNA も heterogenous であるため。Poly A を作る段階でこの double-strand が起こっており、poly A が poly U になり、double-strand の箇所が作成させているのではないかと感じている。そしてこれを不純物として purify する必要がある。Moderna と仕事をしているときにこのような poly U のバッチが多く認められた。そのため、dsRNA の多くはこの poly U だと思うが、証明する方法はない。我々は mRNA を製造しているわけではないので、ここに関してはあまりわからない。現在はこの dsRNA をモニターするために有効な assay はないと思うので、各社はここに力を入れることが重要だと思う。米国や EU の規制当局もこれが immunogenic であり、purify することが重要だと考えていると思う。
- ・ mRNA の purity は現在あまり重要だと思わない。お客さんが 1000bp や 5000bp の mRNA を持ち込むが自己複製を始めると 9000bp になる。この大きさになるとどの分析機器でも purity を評価することは困難になる。そのため現在提供されている purity の値はただの数字で batch からbatch での一貫性を示すものでしかない。現段階では 70%の purity が必要だとしても、別の手法で分析したら 60%になるかもしれないし、80%になるかもしれず、どれが正解かがわからない。今は capillary gel electrophoresis や size exclusion HPLC、RT-HPLC が使用されているが、どの mRNA にどれが良いかはわからない。
- ・ siRNA と mRNA の違いはサイズで、mRNA ではオリゴヌクレオチドのような high resolution が取得できず、不純物の特定ができない。そのため同一ではない。
- ・ CMO の視点からして mRNA のガイダンスはまだ早すぎると感じる。これは市場が急速に進んでいるためで、後数年まてばこれら企業が良いソリューションを提供してくると思う。これを参考としてガイダンスドキュメントを作成し、最低限何が必要かを提示すればよい。現時点で重要なのは identity と何らかの purity value、dsRNA の数値を提供すること。現時点ではガイダンスドキュメントを作らず、recommendation にとどめておいたほうが良いと思う。またこのような recommendation を作るためには現在臨床試験を行っている企業と FDA や EMA と日本の規制当局 (ICH の 3 国)をテーブルに集めて話し合わせ、white paper を作るのが現実的だと思う。White paper があれば他の企業はすごく助かると思う。

2. より個別化した mRNA 医薬品で、個人に提供する製品が異なる場合、製品ごとに毒物試験を行う必要があるのか。

・ 昨日 MIT の方が少女のために antisense structure を作成したという講演があった。最後までは 聞けなかったが、antisense の分野ではあるが非常に面白い提案がされていた。特定の化合物の クラスにおいて毒性のデータベースを作成することで、この膨大なデータから安全性報告がない化合物であっても、同じような化学的装飾の化合物クラスであればどのような反応があるかを予測することができる。また違いがあればサブグループに分け、pharmacology に由来する毒性を削り、この化合物を(mRNA を例とすると)IV で投与し、この LNP を使用すればどう安全であるかなど推測できるのではないか。この化合物クラス毎のデータベースを持つアイデアは非常に良いと考えており、膨大な安全性データが集まることによりこのような個別化医療は実現できると思う。Public health に必要なものであるため、このようなデータベースは規制当局で管理し、公開したほうが良いと感じるが企業がこれに同意するかはわからない。だが個別化医療のためにはこのようなことが必要ではないかと感じている。また講演者が言っていたのは、A さんがこの治療を受け B さんが受けない場合に非常に透明性のあるアプローチで明確なパラメーター(チェックリストのような)が必要であると話していた。これがなければ、米国などでは何故受けられないのか議論になってしまう。そのため個別化医療で透明性は非常に大事になる。

- 現在 mRNA therapeutics の主流は 2 つに分かれると考えている。1 つは LNP で肝臓などの臓器 に送り込みタンパク質を発現させる補充療法で、2 つめはワクチンである。ドイツの規制では、ワクチンは PEI が、タンパク質補充療法は BfArM と EMA が規制に関わり、両者で規制要件が異なる。例としてワクチン製品では PK を示す必要はないが、タンパク質補充療法では PK と PD を示す必要がある。現在、mRNA 開発でリードする著名な会社は、反復投与による LNP の肝毒性への懸念や、免疫系の亢進とそれによる抗体産生(中和抗体産生)などの問題から、まずは(投与回数の少ない)ワクチンとしての開発を進めている。ワクチンでは免疫系の亢進が治療目的であり利点となるが、タンパク質補充療法では回避されるべきであり、薬剤に求められる要件が違う。ワクチンには緊急性のニーズが高いので、一般的な薬剤と同じ規制をかけると開発に時間がかかり、実用化までに死者が増えてしまうなどの状況を避けねばならない。そのためワクチン開発はいつでもフェーズ 4 の承認であり、比較的早く上市できる。
- EU には FDA のように CDER と CBER の分け方がない。mRNA は cell-free で製造でき、酵素 のみの biological プロセスである (生物を必要としない製造方法)。現在米国では CBER が管轄しているが、一般的には生物を必要としないため CDER が関わっていても良いと考えられる。これに関して最終的な判断はされておらず、いつ CDER が入ってきても不思議ではないと考える。EU ではこのような区別はない。ワクチンに関しては PEI で、タンパク質補充療法は EMA が管理しており、上市の申請をするためには EU 各国の保健機関にいく必要があり、ドイツでは BfArM になる。臨床試験の申請は EMA か PEI でできる。EU は複雑であり、ドイツとフランスで法律の違いがあるため上市の申請は各国ごとに用意する必要がある。

4) mRNA 医薬開発企業(CMC 担当、規制関連担当)

ヒアリング日時	2019年10月29日 12:00-13:00	
所属機関	mRNA 医薬開発企業 M 社	
KOL 1	Head, CMC Project Management	
KOL 2	Global Head of Regulatory	

- 1. 日米欧 3 極において、mRNA 医薬品に特化した規制ガイドラインは存在していないと聞いているが、規制当局が Reflection Paper, 留意文書(Points to Consider Document)、White Paper 等を作成しようという動きはあるか。
- ・ EMA, FDA は mRNA を遺伝子治療としてとらえている。 mRNA に特化したガイダンスはなく、遺伝子治療に関するガイダンスが準用されているが、うまく適合しない箇所が多くある。
- ・ 遺伝子治療ではベクターを用い、それに関する記載が多いが、mRNA は用いていない。mRNA に適合した公正なガイドラインの作成(改定)は課題である。
- ・ mRNA 医薬品に特化したガイドラインを作成することにはメリットもデメリットもある。 mRNA 医薬品に特化したガイドライン、既存の(関連する)ガイダンスの適用性の解釈は非常 に自由であることがわかった。 そのため、たとえば、遺伝子治療に期待されているものの、 mRNA にはほとんど適用されないことを、規制当局は我々にさせようとはしていない。特化したガイドラインがあれば便利だろうが、我々は困っていない。
- ・ 我々の戦略は、自身で規制の方法を開発し、それを規制当局に提示することである。 mRNA を どのように制御すべきであるかという観点で、我々は Moderna としての具体的な意見を出して いる。現在、競合他社が行っていることについては、我々は検討していない。
- 規制当局とはすぐに利用できる交流があり、以前にないほどやり取りをしている。彼らはサイエンスに興味をもっており、物事を理解したいのである。科学的文書として提示している我々の経験は、正しいサイエンスの原理にもとづき、一般的に受入れられるものである。
- 2. FDA は、mRNA 医薬品を低分子化合物からなる医薬品と同様に品質評価しようとしているのか。
- ・ Specification や quality attribute は低分子薬に対するものよりも、traditional biologics (組み換えタンパクや抗体など) に類似している。低分子では impurity profile をより高い特異性と分解能を持って評価することが求められるが、mRNA では特段求められない。どのように考え評価を行ったのかなど、確信が持てるような説明が常に求められる。
- ・ "Traditional biologics"とは組み換えタンパクや抗体などで、低分子に比べ well characterize されていない分子のこと(当時の技術では)。
- 3a. GMP 準拠で製造する場合、FDA が指定する mRNA 医薬品の品質評価項目はあるか。
- ・ 品質評価については、EU/FDA は我々の control strategy に合意している。詳細はプレゼンのセッションで。
- ・ Traditional biologics において典型的な、開発段階に応じた potency assay の開発が一様に求められる。

- 3b. 短鎖核酸(siRNA, ASO など)と比較して、mRNA 特有の Critical Quality Attributes は何か、どのような試験法でどのような規格設定が求められているか(Cap content, polyA tail, purity/integrity, sequence (Asia Tides 2019 presentation より)。
- ・ 2019 のプレゼン以外としては、potency assay が挙げられる。Potency assay の開発に際しては、試験法が mRNA の functional biology(つまりは encode したタンパク質の発現)のみを測定していることを説明/立証することが重要である。規制当局が期待することは、測定法に求められる「測定以外のものは測定しない」ことであるが(specific ability)、そうした試験法の開発は容易でない。
- ・ より速い段階から potency assay の開発を進める必要がある。はじめはテスト形式で運用するが、開発段階が進むとともに acceptability などを設定していく。欧米で臨床試験を開始するために申請書には試験法を加えている。Phase1 の段階で示さないケースもあったが、最近は示さないことはない。
- ・ ワクチン関連部署に比べ、OTAT (office of tissues and advanced therapies)はかなり時間をかけて評価する。
- 3c. 短鎖核酸(siRNA, ASO など)と比較して、API 原薬の製造に関し mRNA 特有な規制要件など FDA が重要視している点はあるか。
- ・ mRNA に特有な規制要件はない。
- ・ Starting material に関し、初期臨床開発においては GMP quality plasmid は使用していない。 GMP quality は規制当局からの要件ではないが、Plasmid の製造工程や技術, control や critical pass などの記載が要求される。臨床開発初期段階であったとしても、single-host environments adapted ?でなくとも、最終的には 1 製品となることから、mRNA 配列を決める plasmid は単なる原材料ではなく critical starting material とすべきと我々は考える。
- ・ Plasmid の製造においては、真核生物由来の物質は用いない。理由は、mRNA の製造には原核 生物の酵素(具体的には bacteriophase polymerase)を用いるためで、真核生物のプロモーター 要素を必要としない。如何なる残留プラスミドの遺伝子への組み込みをも予防するためである。 プロモーター部位への外来遺伝子の組み込みや oncogene などの組み込みリスクを避けるためで ある。
- 4. mRNA 医薬品の開発において、FDA は mRNA 特有の懸念事項は何だと考えているか。例えば、以下の事項について FDA は懸念しているか。
 - ヌクレオシドが、過剰に修飾されている (over modification)
 - ・ 配列が天然型とは異なる (codon optimization)
 - mRNA を投与することにより、生体内に同一のタンパク質をコードする mRNA が過剰に存在する (exaggerated pharmacology)
- ・ オリゴヌクレオチド(短鎖核酸)は CDERによるレビューであるが、mRNAは OTARが管轄で、より科学的レビューを指向するという特徴を有する (much more scientific oriented)。彼らは非常に熱心で、最初の段階から science に焦点を合わせ道理にかなった評価を行う。臨床段階への移行を可能とするまで、未解決な問題に対する対処法を協議し、最終的にはスポンサーとして、包括的な申請書を作成することができる。

・ オリゴヌクレオチドのフィールドから来た者として感じることは、CBER はより Pharmacology に注目しているように思うがどうか? Pharmacology に注目している理由は、つまりはコードしているタンパク質の発現に関するが、mRNA を投与し意図する効果が見られるか、意図する治療効果が意図するタンパクの発現に起因するかなど科学的に立証する為にある。また遺伝子治療で強調されていることは開始ドーズに関してであり、toxicology データと共に pharmacology に基づき検討・評価されているからである。遺伝子治療同様、mRNA に特徴的であるかどうかはわからないが。

Over-modification:

- ・ FDA 当局は特段の懸念は持っていない。我々は天然に起こっている修飾を用いているが、これらは Xeno-biologics ではない。ASO などに見られる 2'-MOE chemistry など非天然的な修飾とは異なり、mRNA では非天然な化学修飾は行われていない。そうした一連の分子的な同等性 (comparability)が科学的に知られている。
- M 社は 5 methoxy pseudo uridine を用いているが(Ψ, 5-methoxy-uridine, N1mΨの間違いか?)、リボソーム RNA でよく見られる修飾である。リボソーム RNA は全 RNA の 85% を占める一方、mRNA は 3-5%程度である。投与された mRNA は代謝経路に入り、リボゾーム RNA に再利用される。相対的な量を考えると、ISIS (Ionis)は oligonucleotide を細胞内に多く蓄積させているが、我々が達成できている mRNA に比べればはるかに高い量である。希少な修飾核酸が使われていても天然にあるものであるなら、さほど気にならないレベルであると考える。

Codon optimization:

- ・ FDA 当局は特段の懸念は持っていない。それを開発するのはスポンサーの責任であり、mRNA の配列に関し FDA が何かを求めることは一切ない。同一なタンパク質が発現される必要があるが、oligonucleotide と比較して、コドン領域でない箇所の配列変異についは寛大である。
- ・ 欧米での規制として開発が進むにつれ留意すべきは API の変更である。(臨床段階での)配列 における小さな変更は通常許容されるが、変更した際に取られるアプローチは、少人数で慎重な 臨床開発が求められる(transition to clinic in a slow and in a small way)。変更に伴う pharma safety profile に変わりないことを証明し、変更後は最初の3名ほどの患者からより慎重な対応 を取ることになる。
- ・ 変更に伴っては、同等性を示すために十分な前臨床 pharmacology 試験などを行い、積極的に当 局に提出している。各種分析試験や pharmacology などを完全に証明しても、最初の患者での臨 床試験はより慎重にアプローチしていく。

Exaggerated pharmacology:

・ 2つの観点がある。1つは、細胞内での翻訳機構を圧倒することで細胞内のバランスを障害するか否か? siRNA で知られていることであるが RNAi 機構が miRNA の機構に重要であり、 Exaggerate pharmacology が懸念されることと類似している。これに関して答えは No であると考える。これまでに基礎的研究でそうした結果は得られていないし、用量依存的な phenotype や安全性プロファイルの変化などは見られていない。問題として、非臨床試験自体が検出可能なのか、臨床での多様な要素に関与しているかなどの懸念事項がある。

・ 一方、発現させたタンパクについては、Exaggerated pharmacology の懸念はあり、それぞれの タンパク質ごとに検討する必要がある。遺伝子治療と異なり、mRNA は生理的に近い、もしく は場合によっては治療用タンパクを超え、生理レベルをはるかに超えるレベルでタンパク質を発 現することが可能である。赤血球増殖については、EPO による場合に比べて 1,000 倍以上の血 中濃度を達成することができている。この技術を用い望む如何なるタンパク質も過剰発現させる ことが可能であるため、標的タンパク質の過剰発現に関しどのような影響があるのか検討する必 要がある(標的とする適応症により、case by case の対応が求められる)。

5. mRNA 医薬品の適応が異なっても毒性評価の基準は同じか。例えば、EMA では感染症予防ワクチンとしての mRNA は遺伝子治療とはみなされていないと聞いている。

- ・ 一般的に、毒性評価基準は同じである。抗体医薬の開発で見られる基準変化の違いほどもない程度である。一般的に RNA/mRNA 医薬に特徴的かは定かでないが、動物の使用については、正当性が示せる範囲で動物数を削減する動きがあり(動物種/数)、げっ歯類での試験が妥当ならNHP 試験を控えることもできる。こうした考え方は一般的で、遺伝子治療薬から典型的な化合物や biologics を評価する FDA 審査官のなかでは共通であり、EMA や FDA 間でもきわめて首尾一貫している。
- ・ 包括的な安全性評価パッケージを考える際に、mRNAの遺伝毒性試験は要求されていない。しかしながら、用いる賦形剤については異なる。
- mRNAの遺伝毒性試験が何ら意味を持たないことについては問題ないと考えるが、新しい革新的技術については、その評価のアプローチ方法に対し審査官は驚くほど実際的で慎重である。
 (mRNA 医薬プラットフォーム技術に対する不確定性があるなら、その最終的な代謝経路?などを考慮し、慎重に検討する必要がある)
- ・ ICH ガイダンスには必要な要件が十分に記載されている。一方 FDA specific なガイダンスとして、ICH を補填している場合もあるし、ICH と異なったガイダンスも存在する。
- ・ 我々は、毒性評価の動向や個別の情報、免疫原生や遺伝毒性、ナノ粒子構造体の単一な動態など、いくつかの見地から、mRNAの配列に関係なく、1つのスタディをプログラム間で活用することが適切な場合がある。Bio-distribution 試験についても同様の考え方が適応可能であろう。一方、同様の考え方は発現タンパクには必ずしも当てはまらず、開発が進むにつれ検討の重要性がより増すことになる。

6. mRNA 医薬品の規制について、EMA と FDA とで見解が異なる部分があるか。

- ・ 今のところ欧米間で違いは見られていない。ただし、我々は現在 phase 1, phase 2 の段階であり、今後上市に向けた協議の中で、両者間で基本的な違いが表れるかもしれない。各国の規制当局との会議などでは、目標達成のための効力(leverage)として、開発が進む毎に可能な限り EMAや FDA との間でのやり取りなどをクロストークすることにしている。こうした事例は重要で意図的に集積している。
- 7. mRNA 医薬品の DDS 製剤の規制について、貴社が懸念していることはあるか。または、規制当局に対し、 貴社が主張したいことはあるか。

- ・ これは open topic である。米国では、LNP の Lipid は薬の適切な送達、つまり mRNA に貢献しているので、活性があると考える傾向があるが、少なくとも欧州の個々の国から得たフィードバックでは central advice は要求していない。それぞれにおいて一致した考えはなく、予防感染症ワクチン部門の職員間で一致した合意事項がシェアされているわけではないようである。Lipidが原薬に影響を与えるのか、もしくは賦形剤としてのみの役割を有するのか、今後も継続していく協議事項であると考える。
- ・ LNP に対する control strategy は Tekimia 社や Alnylam 社など他で見られるものと、何ら変わりないと考える。
- ・ In vitro release 試験に関して、一度当局の意見を聞いた経験がある。リポソームは LNP とは構造が異なり少なくとも1つの脂質二重層を持つ。リポソームは標的部位に到達するまで薬剤を保持し、到達後は緩やかに薬剤をリリースする様に設計されている。一方 LNP は安定であるように設計されており、標的細胞内のエンドソームに到達するまでは薬剤をリリースしないように設計されている。従って、こうしたリポソームで要求される in vitro release 試験は LNP には不適切であることを確認しており、FDA からもそうした要求は一切ない。

8. タンパク補充療法に mRNA を用いることについて規制当局が懸念していることは何か。

- ・ 我々は2つのプログラムを Doctor's IND として臨床試験を行っている。これらは細胞内でのタンパク質合成のため、タンパク質補充療法に関して推測することはできないが、規制当局が懸念することはないと考える。
- ・ mRNA が体内を循環することは期待しないことから、伝統的な PK 試験は行わないが、加えて 発現タンパクも細胞内のみで体内循環を期待しないので、挑戦的ではあるが、製剤に関し行われ る薬理試験を clinical pharmacodynamics に変更できるかもしれない。タンパク質がどこで発現 し、臨床でどのように characterize されるかによるニュアンスの差はあるが、規制当局が懸念す ることは全くない。

5) mRNA 医薬開発企業(CMC 担当、規制関連担当)

ヒアリング日時	2019年11月11日 12:00-13:00	
所属機関	mRNA 医薬開発企業 B社	
KOL 1	Vice Presidentt, Head of RNA Biochemistry and Manufacturing	
KOL 2	Head of regulatory affairs	

- 1. 日米欧 3 極において、mRNA 医薬品に特化した規制ガイドラインは存在していないと聞いているが、規制 当局が Reflection Paper, 留意文書(Points to Consider Document)、White Paper 等を作成しようという動き はあるか。
- ・ mRNA に特化したガイダンスは存在しない。いくつかの例外はあるが、mRNA は、米国でも欧州でも、遺伝子治療にとってはあまり重要でないとみられている。遺伝子治療ガイドラインが近年高まりを見せているが、これらはむしろウイルスベクターのためのものであり、完全ではない。我々はこのように見ている。
- ・ White papers やその他に関する規制当局の計画については語ることができない。何かが準備されているとは聞いたことがない。我々はこの分野において、当局と頻繁にやり取りのある企業の1つであることは間違いない。オリゴヌクレオチドの分野において、いかにしてそれを確立するかということに、企業が取り組み始めている。オリゴヌクレオチドの分野が企業が主導権を握っている。なぜなら彼らは、自分たちが科学的原則を明示するまでは、規制するための何かを持ち合わせていなかった。そして、これらの原則のいくつかが、今では規制の一部となっている。
- ・ 我々が見なければならないのは mRNA の現状だと思う。まだ始まったばかりなので、10~20 年 も遅れている。今回のように、日本のエージェンシーがそれについてイニシアチブをとっている というのは素晴らしい。欧州や米国の規制当局については、企業が製品について彼らを教育しな ければならなかった。
- 2. EMA は、mRNA 医薬品を低分子化合物からなる医薬品と同様に品質評価しようとしているのか。
- ・ そうではない。彼らは異なるアプローチをとっている。なぜなら、1つ明白なのは、siRNAやアンチセンスオリゴヌクレオチドとは対照的に、mRNAはより生物学的な分子であり、先端医療医薬品(ATMPs)の一部であるという認識は、FDAのCBERもEMAも共通している。それは最終的にはより専門的な領域になり、エージェンシーの一部がそれを取り扱うが、あなた方の標準分子のように、それを取り扱うのは1つのエージェンシーだけではない。
- ・ the big guidelines がすでに言及しているように、遺伝子治療における先端医療医薬品(ATMP)ガイドラインは、RNA にとってより関連の度合いが高いが、これもエージェンシーからのものはわずかである。これらのガイドラインを使用するために、彼らは遺伝子治療を用い、常にフィットするわけではないがそれを mRNA にも適用した、というのが現状である。
 - 3. 製品ユーザーは、mRNA が製品原料であり、それを評価することをどのように考えているか。どのようにして医薬品と best RNA を比較するのか。
- ・ mRNA は API(原薬、有効成分)である。関心を引くのはその一部である。以降のこれに関する質問はだいたい、API プロセスはどこから始まるかというもののはずだ。それは明日、我々が議論するトピックになるだろう。あなた方はワシントン D.C.の会合で聞いたかもしれないが、それは DNA テンプレート(増幅対象)である。我々はこれを原材料として考えている。しかし、3週

間ほど前に FDA から強い意見が出されたが、FDA は GMP がすでに DNA において始まっていると述べている。あなた方はエージェンシー内においてすら、異なる人々から異なる回答を得るだろうことは間違いない。なぜなら、EMA のガイドラインやドラフト版では DNA は原材料であり、セルバンクは GMP でなければならないとされている。これらはとても難しいトピックである。

- 4a. 短鎖核酸(siRNA,、ASO など)と比較して、mRNA 特有の Critical Quality Attributes は何か、どのような試験法でどのような規格設定が求められているか(Cap content, polyA tail, purity/integrity, sequence (Asia Tides 2019 presentation より)。
- ・ siRNA については一般的に、分子を物理的に試験すると、すべてのヌクレオチドは正しいものという結果が出て、どういった修飾であれ、すべての修飾を手にする。mRNA は生物学的なプロダクトであり、人々は抗体やその他のタンパク質と一緒に経験も獲得する。時には、まだそれが機能していなくとも、すべてのものがシーケンス、サイズとして問題ないように感じられる。なぜならそれはまだ正しくホールドされていないからだ。mRNA についても同様の懸念があると思われる。少なくとも規制当局はそのように考えているだろう。そして彼らが常に人々に問うのは、yes という結果を見せることだけでなく、我々には a cap がある、ということだ。ポリ A 鎖(poly-A tail) やこれらすべてのものは yes を示しており、分子は有効に機能する。規制当局内部でも、企業と規制当局の間でも、再び議論が起こっている。なぜなら科学的見地に立てば、タンパク質と比較して、mRNA は分子よりも非常に単純である。4 つの構成要素しかなく、特別な構成を必要としない。それが細胞内に入るや否や特性を表すので、Christine が言うように、通常は potency assay が求められる。
- 4b. 短鎖核酸(siRNA, ASO など)と比較して、API 原薬の製造に関し mRNA 特有な規制要件など EMA が重要視している点はあるか。
- ・ DNA テンプレートについて同様の疑問があり、そして GMP プロセスを開始する準備ができていると思う。RNA 製品や製造プロセスなどについては、規制当局から常に、もしくは今まさに尋ねられているようなことだと思う。これは間違いなく主要な論点である。
- ・ その他としては、生物学的プロセスと、組み換え酵素の使用である。他にも、プロセスを持っていることを示すこと、動物由来の素材を使用しないことなど。安全性の懸念もある。もし何かしら化学的なことを行うなら、あなた方はそれが許容されるという選択をしたということだ。これらは私のホスホロアミダイト(phosphoramidites)である、これらは私の solvent(溶媒、溶剤)であると示すのは簡単だ。組み換え酵素を用いれば、発酵のための酵素など、生活の中で使用する触媒の中にもそれが存在するかもしれない。何らかの媒体として存在してきた、もしくはコラムにあるように、これらヘパリンを含む酵素の精製のために使用されてきた例さえある。これはもちろん、安全性に懸念のありうるものである。したがって、真に化学的な合成の場合と、何らかの酵素を使用して合成を行う、より生物学的なプロセスの場合では、違いがあると考える。
- 5. mRNA 医薬品の開発において、EMA は mRNA 特有の懸念事項は何だと考えているか。例えば、以下の事項について EMA は懸念しているか。
 - ヌクレオシドが、過剰に修飾されている (over modification)

- ・ 配列が天然型とは異なる (codon optimization)
- mRNA を投与することにより、生体内に同一のタンパク質をコードする mRNA が過剰に存在する (exaggerated pharmacology)
- ・ 我々は製造と同様、CMC も知っているが、これはどちらかというと前臨床の人たちに対する疑問だろう。彼らは、コドン最適化とはあなた方の作るタンパク質が依然として機能していることだと確信できる。タンパク質が正しく fall するためには、ある点において希少なコドンを持っていることが重要だ、と想像できるだろう。通常、我々の仕事は、シークエンスを得るところから始まり、そのシークエンスが正しいものかどうかを、他の人々が我々に言わなければならない。そして6つのうちの3番目についてもある意味同様である。これは、より前臨床的な問題である。私は、我々が相互作用からいかに素早く、何を得るかを知っている。通常、彼らがしなければならないことは、薬学やmRNAの薬物動態学から見なければならない。例えば、どのくらいの期間、それがそこにあるか、どこにあるかなどだ。しかし同時に、それがとどまらないかを確認するためだけにタンパク質を見なければならない。つまり、これはmRNAを評価することを多少複雑なものにする、なぜならmRNAを見るだけでなく、タンパク質であるmRNAから何がもたらされるかということも見なければならないからである。
- 6. ゲノム編集目的で mRNA を管理することに関して、規制当局はどのようなことを懸念しているか。
- ・ ゲノム編集プロセスについては、我々は関与していない。知見がなくて申し訳ない。より新しいトピックだ。あなた方はおそらく、Chris、Pine、Katherineの行うカンファレンスに行った方がいいと思う。

6) mRNA 医薬開発企業(CTO)

ヒアリング日時	2019年11月13日 12:00-13:00	
所属機関	mRNA 医薬開発企業 E 社	
KOL 1	Managing Director/CTO	

- 1. EMA は、mRNA 医薬品を低分子化合物からなる医薬品と同様に品質評価しようとしているのか?
- それは全くない。
- ・ 日本の規制当局者の中には、operating mRNA が天然型か非天然型かによって決定されるべきと考える人もいるようである。もし、あなたが mRNA 医薬品は非天然型であってほしいなら、日本の規制当局は柔軟性がないということになる。この意見について、どう思うか?
- ・ 我々の使用している mRNA は、非天然型である。なぜかというと、まず第一に我々はコドン最適化を行っている。我々は、修飾を受けたヌクレオチドを使い、天然型の mRNA とは異なる非翻訳領域を使用している。このレビューによると、非天然型の mRNA やデバイスは何を identify するのか?我々のケースでは、以下のものが当てはまるだろう。我々が作るようなものは自然界には存在しない。そして、全ての mRNA を即興で作るためだけに、私たちはテストを行った。今のところ、天然型のものは効力がとても弱く、とても免疫反応的なので、我々はコドン最適化を行い、非翻訳領域を選別して、修飾を受けたヌクレオチドを使用する。
- 2. データを作成しているが、これは規制当局から要求されたものか。データ開発を依頼されたのは欧州の規制当局だと思うのだが。
- ・ Potency についていえば、どんな領域でも示さなければならない。少なくとも我々のケースでは、単純な in vitro 翻訳アッセイに入る(into a simple in vitro translation assay) という第 1 相試験をクリアできる正しいタンパク質が合成されたことを示さなければならない。その際、我々は、mRNA が機能すると実際に証明できる機能アッセイを開発しなければならないと言われた。Mr.Kuhn が昨日の講演で指摘したように、少なくとも、我々は mRNA だけでなく、医薬製品そのものについて証明しなければならない。そのためには、細胞を翻訳できることが必要であり、これらの細胞内で目的のタンパク質を見つけることができなければならない。

3a. GMP 準拠で製造する場合、FDA が指定する mRNA 医薬品の品質評価項目はあるか?

- ・ 確かなことは言えないが、それは現在開発中のはずだと思う。Mr. Kuhn がグループの一 員だと思う。そしてわが社からも、このようなガイドライン作成について FDA や EMA と何らかのやり取りのある人間が 1 人参加している。私の知る限り、参加している企業 は全て、自社の品質パラメータを持っている。我々がこれを示した際、Paul Ehrlich Institute は、我々の mRNA に対して、非常に高い基準の価格を提示したということだ けは言える。純度が高く、狭い limit の仕様である。
- 3b. 短鎖核酸(siRNA、ASO など)と比較して、mRNA 特有の Critical Quality Attributes は何か。どのよ

うな試験法でどのような規格設定が求められているか(Cap content, polyA tail, purity/integrity, sequence (Asia Tides 2019 presentation より)。

- ・ mRNA に特有の CQA(critical quality attributes)については、全て答えたと思う。
- ・ そう思う。Mr. Hinz も昨日指摘したように、cap content にはポリ A 鎖(poly-A tail) の 長さが purity、integrity を決定するアッセイが必要である。これがキャピラリー電気泳動と一緒になり、そしてプラスミド DNA に対するいくつかの規制がある。例えば、校正しなければならない金属イオンのように、特定の許可された制限(permitted limits)がある。エンドトキシンや残留バイオバーデンがあり、アッセイシークエンスを行わなければならない。もちろん、医薬製品が正しいシークエンスを含有していることを証明しなければならない。実際、我々の場合は、2 回テストを受ける必要があり、そのうち 1 回はmRNA そのものについてテストが必要である。mRNA がフォーミュレーションされる際、我々の場合それは脂質ナノ粒子フォーミュレーションだが、mRNA を作成したCMO とフォーミュレーションを行った主体の間にミスがなかったことを確認するためのテストを再度行っている。

それ以外の安全性対策はあるのか。

・ プラスミド DNA の残留物について思い浮かぶが、それ以外は全て述べたと思う。一般的 には、バイオバーデンが重要なのは当然である。

PCR 製品はプラスミドの代わりにテンプレートとして使用されるのか。どのような状況か。

・ 現在は、プラスミドを使用している。しかし、同時に PCR ベースのテンプレートも使用している。そこではプラスミド DNA に対して何が正しく求められるのか定かではない。より厳格なものが要求されるだろう。なぜならそれには抗生物質耐性のある遺伝子がまだ含まれるからだ。PCR テンプレートはこれを含んでいない。薬の中にコーディング DNA が含まれていないことを証明する必要がある。たとえそれに関する規制がないとしてもだ。私は安全のために、プラスミド DNA として単純に同じテストを行うだろう。

in vitro 転写における RNA ポリメラーゼの使用については、IBT の酵素に関して何らかの規制があるか。どのような品質を必要としているのか。

- その通り。
- ゴールは動物由来のものを使用せずに生産することだ、ということだけは知っている。
- ・ Thermo Fisher や NEP、Roche などの他企業では、始まったばかりだ。各社は異なる品質を提供している。動物由来不使用の努力をしている企業もあれば、すでにそれを提供している企業もある。彼らは GMP 準拠の設備を準備しており、NEP などは設備の新設に多額の投資を行っている。近い将来、酵素に関する規制がなされると考えている。今のところは比較的自由だが、酵素の製造者も我々も、現在使用できる基準の中では、より高いものを採用している。

3c. 短鎖核酸(siRNA、ASO など)と比較して、API 原薬の製造に関し mRNA 特有な規制要件など EMA が重要視している点はあるか。

- ・ まず第一に、これは開発中だが、Mr.Hinzが昨日指摘したように、我々の場合 mRNA は 先端医療医薬品(ATMP)であるのに、合成オリゴヌクレオチドは化学的な存在であるとし て、別々に規制されている。面白いことに、もし in vitro 転写で作られた mRNA を使う 際に、それをワクチンとして使用するなら、合成オリゴヌクレオチドと比較してタイプ の異なる規制がすでに適用されている。将来的には mRNA に対して、より精密な規制が 開発されるだろう。
- 4. mRNA 医薬品の開発において、EMA は mRNA 特有の懸念事項は何だと考えているか。例えば、以下の事項について EMA は懸念しているか。
 - ヌクレオシドが、過剰に修飾されている(over modification)
 - ・ 配列が天然型とは異なる (codon optimization)
 - mRNA を投与することにより、生体内に同一のタンパク質をコードする mRNA が過剰に存在する (exaggerated pharmacology)
- ・ Paul Ehrlich Institute とのやり取りの中では、彼らは私たちが適用する修飾については何の心配もしていない。しかし我々と話したことのある人々、投資家やコンサルタントらは、我々が修飾されたヌクレオチドを使うことでどういったことが生じうるかを研究するようにアドバイスしてくる。例えば、ゲノム DNA の中に何らかのリスクが生じていないかということである。そして生化学のテキストのヌクレオチドの代謝の部分、分解経路(the degradation pathway)、DNA と mRNA の間に link があることなどを見なければならない。ヌクレオチドは再利用が可能である。
- ・ しかし我々のケースでは、それが実質的には不可能であると主張することができた。相当な量がゲノムに入り込んだのだが、規制に関するアドバイザーはそれに関してすでに考慮している。なぜなら規制当局がこのような質問をしてくる可能性があるからだ。現時点ではNoである。しかし、例えば、シュードウリジン(pseudouridine)に関して、またシュードウリジンについては、彼らはタンパク質を突然変異させる必要があるというpublications があるが、これを読んだ規制当局は、タンパク質が正しいシークエンスを持っていたことを証明するエビデンスがあるかと聞いてくるだろう。

規制について特別な懸念があるのか。

- ・ そのような質問はほとんど聞かない。我々の使用するヌクレオチドのリストがここにある。我々は mRNA の部分的な修飾しか行わない。今のところ、1 つの修飾だけを使用することと 100%修飾を使用することについて、将来的により簡単になるようなトピックはない。なぜなら、もしあなたが部分的な修飾を行うとすればあなたはたった 1 つだけのproduct を持つことになるが、このシークエンスではそれはどこにでも起こりうる。もしあなたが 2 つの部分的な修飾を行うなら、状況はより複雑なものになるだろう。
- 5. mRNA 医薬品の適応が異なっても毒性評価の基準は同じか。例えば、EMA では感染症予防ワクチンとしての mRNA は遺伝子治療とはみなされていないと聞いている。
- ・ その通り。私の知る限り、その通りだ。遺伝子治療の領域においては、まさにそう。 我々の場合でいえば、単一の talk 種を持つことに Paul Ehrlich Institute は満足してい

る。私が思うに、これは先端医療医薬品(ATMP)に関しては一般的に受け入れられていることである。我々の場合、経肺投与(pulmonary delivery)では、何が正しいのかについていまだに議論がある。なぜなら、普通、この低分子薬に関しては、ラットを使うことが多いが、ラットで行うことに、非常に高価な mRNA がそれほど多く必要だろうか。したがって、我々はもっと大きな種を使うことを主張する。そうでなければ薬学的毒性学的な全てのプログラムを実施しなければならなくなる。我々は、第1相試験については、発がん性試験を行わないよう主張する。なぜなら、我々の標的分子には indication がなく、発がんやその他の現象において、どのような働きもするからである。

6. mRNA 医薬品の規制について、EMA と FDA とで見解が異なる部分があるか。

・ FDA については知らないが、昨日の講演の中で、アメリカの同業者と違いがあると聞いた。Translate Bio 社は、FDA が EMA よりも注文が少ないと考えているそうだ。しかし、欧州の人からは、FDA の方がより大きなハードルであると聞くこともある。これは単に、国外に出るということはより難しいということだと思う。

7. ゲノム編集目的で mRNA を管理することについて規制当局が懸念していることは何か。

- ・ mRNA に関して言えば、これは単なるツールである。 mRNA は mRNA として将来規制 されるであろう、しかし Cas9 に関しては、例えば Cas9 にはオフターゲット効果がある。ゲノム編集に関する懸念がある。この分野はこの間に大きく発展しているにも関わらず、いまだにオフターゲット効果という懸念があり、deliver されるのがタンパク質であっても mRNA としてのタンパク質であっても、それを明らかにする必要がある。 医薬品そのものについては、異なるかもしれない。過去に信じられていたのは、Cas9 の共同 delivery がガイド RNA とともに mRNA をエンコードするとか、我々がそれらを別々に deliver したということである。このやり方だと異なる医薬品を手にすることになるだろう。
- ・ さらに、それがタンパク質ガイド RNA 複合体である場合、組み換えタンパク質には、多くの規制があり、タンパク質側にはどれかわからないが異なる規制が適用されるだろう。もし、それら双方がある RNA 種の場合には、核酸に関する規制が一般的には適用されるだろう。つまり、医薬品には違いはあれど、生物学的な危険(biological hazards)は、ゲノム編集から生じるのであり、mRNA に由来するものではない。

7) mRNA 医薬 CMO 開発企業 (Business Development)

ヒアリング日時	2019年11月14日 13:00-14:15	
所属機関	mRNA 医薬 CMO 企業 T社	
KOL	Associate Director Business Development	
KOL	Senior Director Business Development	

- 1. 日米欧 3 極において、mRNA 医薬品に特化した規制ガイドラインは存在していないと聞いているが、規制当局が Reflection Paper, 留意文書(Points to Consider Document)、White Paper 等を作成しようという動きはあるか。
- ・ 私の理解では、欧州には公式なガイダンスがあるはずである。彼らは遺伝子治療薬品として mRNA を分類し、そして彼らとしては、あらゆる mRNA に適用したいと思っている、遺伝子治療医薬品に特化したガイダンスを持っている。予防ワクチンは同じカテゴリーに入らないなど、いくつかの例外はあると思う。彼らは、予防ワクチンに特化したmRNA のいかなるガイダンスも出していない。
- ・ 何のカテゴリーにも入らないのか?
- ・ 入らない。予防ワクチンは例外だが、タンパク質の置き換え(protein replacement)や遺 伝子編集の他の全てのケースは、遺伝子治療医薬品に分類される。米国には、mRNA を 分類するような公式のガイダンスは存在しないが、多くの人は EMA のガイドラインを適 用している。
- 2. GMP 準拠で製造する場合、EMA が指定する mRNA 医薬品の品質評価項目はあるか?
- ・ 遺伝子治療製品に関する EMA のガイドラインにおいては、バイオバーデン、エンドトキシン、形質(identity)、potency について試験を行うことが重要とされている。加えて、シークエンスに期待されていた action は in vitro の生物学的 activities によって示されるべきだと彼らは言っている。使用前に、in vitro で、何がその potency であるかを決定するために、すべての mRNA は release criteria として表されるべきである。
- 3a. 米国には特定のガイドラインがなく、欧州には厳格なガイドラインがあるとのことだったが、同調した (harmonized)ガイドラインがあるべきだと思うか。
- ・ そう思う。欧州はより明確なガイドラインを出すのに対して、FDA はどうか?例えば、欧州では、先進治療製品について、ガイドラインの中に、異なる製品に対する 7 つのカテゴリーがある。一方で、米国には、先進治療は細胞ベースの治療と生物学的なものの 2 つの製品カテゴリーしかない。この状況が変わるとは思わない。FDA のものは常に、欧州のガイドラインに比べ、明確さが大きく欠けている。
- 3b. 短鎖核酸(siRNA、ASO など)と比較して、mRNA 特有の Critical Quality Attributes は何か。どのような試験法でどのような規格設定が求められているか(Cap content, polyA tail, purity/integrity, sequence (Asia Tides 2019 presentation より)。
- ・ それらは適切だと思う。基本的に、Cap content とポリ A 鎖コンテンツ(poly-A tail content)は、in vitro potency アッセイを関連付けるために使用することができる。そし

てキャッピング(capping)のパーセンテージが低いほど、タンパク質は少なくなる。もし、短鎖を持っていれば、通常、半減期は短くなり、mRNAの発現が長くならない(less prolonged)。そして、potency データを見ること、関連付けることが重要である。また、identity、purity、integrity のためのシークエンスについては、使用可能な多くの異なる手法がある。これらの手法は業界全体にわたって、ある程度使用されている。多くの人は、基本的にフラグメントアナライザー分析に頼っており、purity を測定するにはCEベースの分析や HPLC 法を使用しており、一般的には、これが業界を牽引する人々が使用するアプローチである。CureVac、BioNTech、Moderna はどこも、HPLC を使用していると言っているし、それで purity を測定していると私は考えている。

4. mRNA 医薬品の規制について、EMAとFDAとで見解が異なる部分があるか。

- ・ 最も大きな懸念は、常に毒性に関するものだと思う。2本鎖 RNA コンテンツ(double stranded RNA content)に対して、非常に敏感な人は多い。なぜなら、これは免疫賦活性 impurity に大きな影響を与えうるからである。そのコンテンツを測定することは、より 一層重要である。ここ数年を通して、人々はこの点にとても注力していると思う。
- ・ 私は過剰な修飾やコドン最適化(codon optimization:「配列が天然型とは異なる」)についてまったく懸念がないとは思わない。多くの人は、いくつかの理由により、天然に発生するヌクレオチド(naturally occurring nucleotides)を使用している。非天然に発生するヌクレオチドがあったが、これに毒性がないと言うことに対しては懸念を感じる。

5. タンパク質の置き換えは、mRNA の作用とは状況が異なるということか。2 本鎖 RNA に作用する mRNA については問題がない、という意見がある。

・ ワクチンの場合には、補助的薬剤として使用される可能性がある。それを医薬品に入れることは有利に働く。しかしながら、規制当局は、2本鎖がその中にどれくらいあるのかをいまだに知りたがっている。企業がそれをモニタリングすることや、バッチ間の一貫性を追及していることも知りたがっている。なぜなら、もしそれを補助薬剤として入れるなら、それがどれくらい含まれているのか知っていることが重要だからである。

6. どれくらい入っているかを測定する特別な手法はあるか。

- ・ どれぐらい許容するかについてのガイダンスがない。スロットブロット法 (a slot blot assay)を用いる人は多い。彼らは 2 本鎖 RNA を bind するために a J2 antibody を使用し、内容物(the content)を探し、2 本鎖 RNA を作成する。そしてそれを同じブロット上に乗せ、イメージングを利用して 2 本鎖 RNA の 100 万の内容物から 1 つのパーツを関連付ける。
- ・ 比較に際して他のプロセス汚染物質もありうると思っている。オリゴヌクレオチドも含めた全ての化学分子ということだが、不純物(impurities)になりうる酵素や他のプロセス構成要素(process components)を扱っている。このプロセスで使用されたあらゆる酵素が取り除かれていることだと思うが、それと残余タンパク質は別物である。純粋な固相合成プロセス(Purely solid phase synthetic processes)では、不純物が何であるかを特徴づける(characterize)ことはとても容易であり、mRNAでは process impurities 分解生成物

が関与する可能性のあるものを突き止めることは、より一層難しい。なぜなら分子はより一層複雑で、プロセスも異なるうえに複雑だからだ。

7. mRNA 医薬品の DDS 製剤の規制について、貴社が懸念していることはあるか。または、規制当局に対し、貴社が主張したいことはあるか。

- ・ 薬物送達に関して言えば、多くの人は、フォーミュレーションされていない (unformulated)RNA も脂質ナノ粒子内(in lipid nanoparticles)でフォーミュレーション されたものも送達している。我々はフォーミュレーションの企業ではないのでそのステップは行わないが、聞いたところによると、あなたがそれに関して持っている懸念の大部分は、粒子の粒度分布、脂質のクリアランス、半減期はどれくらいかということと、ペイロード外に(outside of payload)粒子に何らかの毒性があるかもしれないということだろう。毒性学においてはペイロードなしの脂質ナノ粒子を送達することが重要であり、送達担体(delivery vehicle)の毒性学的なプロフィールを示すことが重要である。
- ・ オリジナルの siRNA から、何らかの情報を引き出すことができると思う。はじめのうち は脂質ナノ粒子と一緒にフォーミュレーションされていたが、安全性プロフィール(the safety profile)を理由に、だんだんと GalMac ヌクレオチドに変わっていった。
- ・ mRNA には直接利用できないかもしれないが、siRNA を使用すれば、患者に対し、キログラム当たり 1 ミリグラム多く配送できると思っているが、脂質ナノ粒子は Jessica が言うように、まだ綿密にモニタリングしなければならない。毒性効果に関しては、ペイロードのない未加工の脂質ナノ粒子(LNP)のみである。

8) 米国規制関連コンサルタント

ヒアリング日時	2019年11月21日 10:00-10:30	
所属機関	米国規制関連コンサルタント A 社	
KOL	President	

- 1. FDA は、mRNA 医薬品を低分子化合物からなる医薬品と同様に品質評価しようとしているのか。日本の規制担当者のなかには、生体内とは異なる修飾がされた mRNA drug を、オリゴヌクレオチドとして規制しようとする人もいたのだが、どう思うか。
- ・ そうではないだろう。mRNA 医薬品はバイオ医薬品として規制される。FDA の CBER が規制しており、生物学的なものである。オリゴヌクレオチドは、the Center for Drug の中でも異なる部署で、医薬品として規制されている。

mRNA は新しいオリゴヌクレオチドとして、生体内(in vivo)とは異なる修飾がされているか。

- ・ その通り。米国では、mRNA 医薬品はオリゴヌクレオチドとはみなされていない。
- ・ mRNA 医薬品は欧州でのみ規制されており、欧州と同様に規制されている。欧州は遺伝子治療として規制しており、米国では mRNA は遺伝子治療、非ウイルス性の遺伝子治療として規制されている。
- 2. GMP 準拠で製造する場合、FDA が指定する mRNA 医薬品の品質評価項目はあるか。
- ・ FDA による GMP の特別な品質評価というのは存在しない。彼らは ICA のガイドラインに従っている。そして精製(purification)に注目した場合には、仕様や fidelity など、わずかに異なるものがあるかもしれない。タンパク質ベースの治療のためのアッセイとは異なる不純物(impurities)に関係するプロセスがある。これは mRNA に特有の不純物の例を挙げるだけだが、そこではヌクレオチドを使用するかもしれないし、RNA ポリメラーゼやテンプレートを使用するかもしれない。
- 3. mRNA 医薬品の開発において、FDA は mRNA 特有の懸念事項は何だと考えているか。例えば、以下の事項について FDA は懸念しているか。
 - ヌクレオシドが、過剰に修飾されている (over modification)
 - ・ 配列が天然型とは異なる (codon optimization)
 - ・ mRNA を投与することにより、生体内に同一のタンパク質をコードする mRNA が過剰に存在する(exaggerated pharmacology)
- ・ mRNA を標準化するには、仮にそれらが天然に存在していたとしても、業界は mRNA に対して何 らかの修飾を行わなければならない。
- ・ 疑似領域や例えばコドン最適化などを活用しようとする人もいる。このような類の修飾や Cap A 構造を取得するというのは、より高い発現のために Cap-A 領域に対して何らかの修飾が行われるということだと思う。
- ・ 現在では、天然の修飾から生じる修飾をいくつか使用している。しかし、ASO や siRNA のように geno bio modification でなく、人為的な修飾でもないものが、mRNA に関連するかどうか疑問である。たとえ、天然の修飾を利用していたとしても、企業がそのような天然の修飾をたくさん使用した時、それは自然環境とは別物なのではないか。このよ

うな修飾や、たとえ天然のものであっても過剰な修飾に関する毒性への懸念はないのか?それが好ましくないとすれば、その安全性についてテストを行うだろう。

4. FDA や規制当局は、このような過剰に修飾に対する特定の懸念を感じているか。

・ 既に言ったように、人々は特許を受けられるような(to have patentability)クレイジーなアイデアや奇抜なテクノロジーを思いつく。子どものように斬新なものを思いつき、そしてあなたにそれが安全であると示し、そしてたいていは承認される。

5. ゲノム編集目的で mRNA を管理することについて、規制当局が懸念していることは何か。

- ・ ゲノム編集は Cas のように何か異なるものであり、現在は、FDA にさえもガイダンスがなく、多少のレファレンスがあるだけである。
- FDA のガイダンスは 2013 年に作られたものであり、EU のガイダンスは 2018 年のものだ。ゲノム編集についても、ゲノム編集のために開発された非常に多くの新しいテクノロジーがある。さらに、もしガイダンスがあるなら、それは特別なものでなければならない。
- ・ ゲノム編集は遺伝子治療の一部であると考えることができる。ゲノム遺伝子編集や mRNA に特化したガイダンスを作成するだろう。そこにはいくつかの主要な一般原則が あり、有用だと思われる modality それぞれに対して責任を負うだろう。しかし、詳細は おそらくケーススタディになるだろう。

6. 業界はどのようにして規制当局に伝達するのか。

- ・ 私たちはキーとなる科学的なカンファレンスをどこでやるか検討していた。そのカンファレンスで、FDAと企業が競争関係にならないように議論させることに成功し、我々はガイダンスを作成した。
- 新しいテクノロジーに関して、規制当局はこれら全ての専門家になることができる。アカデミックな場から人々を呼ぶことができる。

3. mRNA 医薬品開発企業の動向

(1) Argos Therapeutics

会社名	旧)Argos Therapeutics, Inc.	URL	http://www.argostherapeutics.com/
	→新)CoImmune Inc.		
所在地	4233 Technology Drive Durham, NC 27704		
代表者	Jeffrey D. Abbey (CEO)		

ArgosTherapeutics (現 CoImmune) は、がんと Arcelis と呼ばれる技術プラットフォームに基づく感染性疾患の治療のための個別免疫療法の開発と商業化に焦点を当てている。

Argos の Arcelis 技術プラットフォームは、個別免疫療法を生成するために、患者自身のが ん細胞やウイルスの成分を利用している

2019 年 2 月 Genexine と SCM Life Science は、Argos Therapeutics を 11.1 百万ドル 00,000 (約 12 億円) を買収したと発表。この買収協定には、20,000 平方フィートの cGMP 細胞治療施設が含まれている。この買収のよって、会社名を CoImmune Inc.に変更。同社は、独自のパイプライン開発を含め、免疫腫瘍療法の戦略的組み合わせを用いて第 2 相段階臨床試験を開始する準備を進めている。cGMP 製造能力を活用して細胞ベース製品の製造受託の提供を計画している目指す。

①プラットフォーム技術の概要 (Arcelis® Technology Platform)

Arcelis®は、メモリ T 細胞を特異的に標的とすることによって免疫抑制を克服するように設計されている。このプラットフォーム技術は、様々ながんおよび感染症の治療に潜在的に適用される可能性があり、他の個別化された免疫療法を阻害する多くの製造および商業化の課題を克服するために特に設計されている。

Arcelis®プロセスは、疾患特異的抗原の供給源としての小さな疾患サンプルまたは生検のみを使用し、そして白血球アフェレーシス法によって収集された細胞から最適化された患者自身の樹状細胞を使用する。

独自のプロセスでは、患者の疾患サンプルから単離された RNA を使用して、樹状細胞を標的とする疾患特異的抗原を標的とする樹状細胞をプログラムする。

次いで、これら活性化抗原負荷樹状細胞を患者の血漿で処方し、個別化免疫療法として皮内 注入することによって投与する。

がん免疫

2017 年 2 月 22 日、転移性腎細胞がん(mRCC)を対象とする自家樹状細胞療法 rocapuldencel-T (AGS-003) の大規模フェーズ 3 (ADAPT、NCT01582672) について、独立 データモニタリング委員会 (IDMC) が試験中止を提言したと発表されている。主要評価項目 である全生存期間 (OS) の有意改善が見込めないという判断に基づくものである。

HIV

Arcelis®を活用した成人 HIV 患者に対する臨床試験のフェーズ 1/2 を実施している。この試験では、HIV を根絶するために vorinostat との併用が検討されている。2016 年 7 月、ステ

ージ2の最初の患者が投与された。

また、HIV に感染した小児患者において、AGS004 単剤療法の臨床試験開始フェーズ 2 臨床試験を支持する予定。

②開発パイプライン

ArgosTherapeutics(現 CoImmune)の開発パイプライン

種別	開発番号	対象疾患	開 発 ス テ ー ジ	備考
がん免疫療法	AGS-003	転移性腎細胞癌(mRCC)	PhⅢ	中止
	AGS-004	HIV(成人)	Ph I / Ⅱ	
		HIV(小児)	Ph II	

(2) Arbutus Biopharma

会社名	Arbutus Biopharma Co.	URL	http://www.arbutusbio.com/
所在地	701 Veterans Circle Warminste	r, Pennsy	Ivania United States 18974
代表者	WilliamH.Collier I (CEO)		

B型肝炎ウイルス(HBV)による慢性 B型肝炎の治療法を開発している上場企業である(NASDAQ: ABUS)。

①プラットフォーム技術の概要(LNP Technology)

Arbutus の脂質ナノ粒子(LNP)技術は、現在までに RNAi 送達技術として最も広く採用されている。RNAi 薬を脂質(脂肪または油)からできた小さな粒子にカプセル化することを可能にし、静脈内投与を可能とした。

Arbutus 独自のデリバリー技術

Arbutus が開発した業界トップの LNP プラットフォームは、臨床的に検証された唯一の LP デリバリー技術であり、複数の臨床プログラムにおいて 400 人以上の患者で安全性と有効性を評価している。

RNAi 以外にも mRNA に基づく薬物の効果的な送達ために Arbutus の LNP Technology が 重要である。RNAi トリガー分子開発プログラムを通じて得られた LNP 技術の改善を活用することにより、mRNA の送達を大幅に改善し、mRNA 治療の開発を可能にした。

Arbutus 独自の製造方法は、製品開発目的に適した条件下で、再現性の高い mRNA カプセル化を可能にする唯一の真にスケーラブルな方法であると考えられている。一般に、規制当局は GMP 製品開発のために 90%以上のカプセル化を必要とするが、これは Arbutus の本質的にスケーラブルなプロセスを用いて容易に達成できる目標である。

また、最新世代の脂質技術も採用している。その結果、より堅牢な製造プロセスが得られ、カプセル化効率が向上し、mRNA力価が大幅に増加する。

②開発パイプライン(mRNA 関連のパイプラインなし)

Arbutus Biopharma の開発パイプライン

種別	開発番号	対象疾患	開発ステージ	備考
核酸医薬	AB-729	B型肝炎	Ph II	GalNAc-RNAi
核酸医薬	AB-452	慢性B型肝炎	非臨床	RNA 阻害剤の抗 HBV 阻害剤
核酸医薬	AB-506	B型肝炎	非臨床 (候 補 物 質 選 択)	経口 HBV カプシド阻害薬
核酸医薬	AB-756	B型肝炎	非臨床	RNA 干涉(RNAi)治療、皮下注射
核酸医薬	TKM-Ebola	エボラ熱	非臨床	

(3) BioNTech

会社名	BioNTech SE URL https://biontech.de/
所在地	本社: An der Goldgrube 12 D-55131 Mainz Germany
	製造施設:BioNTech Innovative Manufacturing Services GmbH
	Vollmersbachstr. 66 D-55743 Idar-Oberstein
代表者	Ugur Sahin(CEO)

BioNTech は、2008年に腫瘍は、個々の患者によって独特であり、個々の患者の治療は個別に行われるべきであるとの認識に基づいて設立された。

①プラットフォーム技術の概要

A. FixVac Platform

BioNTech の FixVac 製品候補は、既知の癌特異的共有抗原をコードする、未修正の薬理学的に最適化された mRNA の選択された組合せを含む。それらは、独自の免疫原性 mRNA 骨格および独自の RNA リポプレックスを特徴とするか、または RNA-LPX を特徴とし、安定性および翻訳を増強するようにデザインされ、標的樹状細胞および自然免疫応答の両方を促進するように設計された、RNA-LPX または RNA-LPX である。

BioNTech は現在、転移性メラノーマのフェーズ 1 試験で BNT111 を含む臨床試験で FixVac 製品候補を検討中であり、HPV 陽性頭頸部がんのフェーズ 1 試験では BNT113、トリプルネガティブ乳がんにおけるフェーズ 1 試験では BNT114 での臨床試験を行っている。

B. iNeST (ネオアンチゲン療法)

BioNTech の iNeST 免疫療法は、修飾されていない、薬理学的に最適化された患者に特異的なネオアンチゲンをコードする mRNA を、最大 20 個、患者に投与するものであり、また、独自の RNA-LP-XX 製剤を特徴とする。BioNTech は Genentech と共同で、iNeST 製品候補のRO7198457(BNT122)の 2 つの臨床試験を実施している。この試験では、転移性メラノーマにおける免疫チェックポイント阻害薬併用のランダム化フェーズ 2 試験、およびフェーズ 1 a では単剤療法、フェーズ 1 b ではアテゾリズマブとの併用試験を含む。

C. ITIT; Intratumoral Immunotherapies (腫瘍内免疫療法)

腫瘍内免疫治療は、全身投与に関連する毒性がなく、腫瘍に対する自然免疫応答および適応免疫応答を促進するように設計されている。腫瘍の微小環境を変化させ、T細胞の活性化を促進するために、サイトカインコード mRNA を直接腫瘍に注入することを含む。BioNTech は、Sanofi と共同で開発している。

D. RiboMab (次世代抗体医薬)

抗体医薬は製造および開発のコストが非常の大きい。一方、mRNA はより単純で安価な製造プロセスを含むだけでなく、抗体医薬よりもはるかに低い投与量で効果を見込める。RiboMab は単に mRNA の塩基配列をコードするだけで、体はその生産作業自体を行う。このシンプル さによって、開発期間が短縮され、新薬の目標がより多様になる。

E. RiboCytokines (rCK)

免疫調節因子としての自然な役割のために、組換えサイトカインは現在、多くの感染性、炎症性、自己免疫および悪性疾患の治療に用いられている。サイトカインを治療に用いる際の主要な課題の1つは、血中半減期が短いことである。これは治療効果を阻害し、頻繁に投与する必要があり、しばしば用量依存的毒性を引き起こす。BioNTech は、組換えサイトカインの限界に対処するために設計された新規のmRNAベースのプラットフォーム技術RiboCytokinesという技術を開発した。

F. Infectious diseases (INF)

免疫システムを感染症に対してより効果的に誘導するために、BioNTech の mRNA 技術を活用している。BioNTech の感染症ワクチン候補は、T 細胞を活性化する標的病原体に特異的な改変 mRNA コード抗原を含む。BioNTech はファイザーと協力して、mRNA ベースの免疫療法技術を用いたインフルエンザワクチンの開発を進めている。

G. <u>希少疾患 (RD</u>)

治療用の組換えタンパク質をコードする mRNA を希少疾患の治療に用いる方法を開発している。

H. CAR-T Cell Platform (CAR-T 細胞療法)

がん患者由来の T 細胞を用いた CAR-T 細胞療法を開発している。

②開発パイプライン

BioNTech の開発パイプライン

種別	開発番号	対象疾患	開発ステージ	備考
FixVac	BNT-111	進行性メラノーマ	Ph I	腫瘍切除後の補 助療法
FixVac	BNT-112	前立腺がん	非臨床	
FixVac	BNT-113	HPV 陽性頭頸部がん	Ph I	
FixVac	BNT-114	トリプルネガティブ乳がん	Ph I	
FixVac	BNT-115/116	卵巣がんを含む他のがん	非臨床	
iNeST	BNT-121	転移性メラノーマ	Ph I	Genentech と共同
iNeST	BNT-122	1L 黒色腫(CPI)	Ph II	Genentech と共同
iNeST	BNT-122	局所転移性固形がん	Ph I	Genentech と共同
ITIT	BNT-131	固形がん	Ph I	Sanofi と共同
rMAB	BNT-141	複数固形がん	非臨床	
rMAB	BNT-142	複数固形がん	非臨床	
rCK	BNT-151	複数固形がん	非臨床	ヒトインターロイキ ン-2 または IL-2

				サイトカインの修 飾されたバージョ ンをコード
rCK	BNT-152	複数固形がん	非臨床	IL-7 をコード
rCK	BNT-153	複数固形がん	非臨床	IL-2 分泌促進
INF	BNT-161	インフルエンザ	非臨床	Pfizer と共同
RD	BNT-171	5 つの希少疾患因子	非臨床	Genevant と共同
INF	選定中	10 以上の因子	非臨床(探索)	

(HP 等を基にシード・プランニング作成)

③製造

BioNTech は、自社の能力を拡大するために初期段階で投資を行うことに決め、デジタルファクトリパートナーSiemens とともに製造と生産を統合することで、完全自動化された mRNA 治療のプロセスを開発した。BioNTech は、ドイツで 3 つの GMP 認証製造施設を運営している。ここでは、自社パイプラインと外部顧客向けの mRNA 治療薬を開発するために、mRNA 医薬を製造している。ドイツの第 4 施設では、BioNTech の開発プログラム内での広範な免疫監視活動を支援するためにカスタムペプチドを製造している。

BioNTech の子会社である BioNTech Innovative Manufacturing Services GmbH (BioNTech IMFS)は、1999 年から GMP 準拠の細胞製品を製造しており、2011 年に mRNA について最初の GMP ライセンスを取得し、2014 年から個別化 mRNA 製品を製造している。

BioNTech は、医薬品の製造・供給能力を拡大し、自社の臨床開発を支援するとともに、CMO としての役割を果たしている。現在までに、500以上の原薬バッチを製造している。

(4) CureVac

会社名	CureVac AG.	URL	https://www.curevac.com/
所在地	本社: Tübingen, Germany Paul	-Ehrlich-	Str. 15 72076 Tübingen
	臨床開発製造施設:One Upland	d Road	Norwood, MA 02062
代表者	Daniel L. Menichella		

CureVacvac の創業者である Dr.Ingmar HoErr(当時の博士課程学生)は、組織に直接投与すると、最適化後の複雑な再構築や分子パッケージングを必要とすることなく、治療ワクチンや薬剤として使用できることを発見した。2000 年に設立された CureVac は、医療目的で mRNA をうまく利用できるようにした世界で最初の会社である。独自の mRNA 技術を利用して、医療的なニーズの最も大きいオーダーメイドのソリューションを提供している。

①プラットフォーム技術

CureVac の mRNA 技術は、ヒトの体内で独自の薬を作り出すことを可能にした。mRNA 分子の不安定性を克服するという名称のもとで、長年の研究とヌクレオチド解析の積層から CureVac 法を開発した。

各 CureVac 製品は、5'および 3'非翻訳領域をカスタマイズするテーラード分子創製と考えられており、mRNA 配列の翻訳を確実にするためのオープンリーディングフレームは、体内でのタンパク質翻訳を理想的なレベルにする。また、CureVac 製品がタンパク質の発現のために体内の細胞に侵入することを確実にするために、戦略的パートナー企業とともに特異的なキャリア分子を開発した。

②開発パイプライン

CureVac の開発パイプライン

種別	開発番号	対象疾患	開発ステージ	備考
がん免疫治療	CV8102	メラノーマ、腺様嚢胞が ん、皮膚、頭頸部の扁平 上皮がん	Ph I	非コードの一本鎖 RNA に基づく TLR7/8/RIG-1 ア ゴニスト
がん免疫治療	CV0903	固形がん∷mRNA 腫瘍内 カクテル	非臨床	
がん免疫治療	新抗原	(5 プログラム、未発表)	非臨床	Eli Lilly と共同
がん免疫治療	CV9202 自己アジュバン ト mRNA ワクチ ン	非小細胞肺がん(6 つの 抗原を標的	Ph I	Boehringer Ingelheim 、 Ludwig Cancer Research と共同
遺伝子編集	新規な Cas9mRNA 構 築物	肝臓	非臨床	CRISPR Therapeutics と共 同開発
		希少疾患	非臨床	
	抗体をエンコー ドする mRNA	希少疾患	非臨床	
		(非公開プログラム眼、肺)	非臨床	

種別	開発番号	対象疾患	開発ステージ	備考
mRNA ワクチ	CV7202	狂犬病	Ph I	
ン				
mRNA ワクチ	CV7301	インフルエンザ	非臨床	
ン				
mRNA ワクチ	CEPI	非公開	非臨床	CEPI と共同開発
ン				
mRNA ワクチ	多種	マラリア、ロタ、インフルエ		ビル&メリンダゲイ
ン		ンザ		ツ財団と共同開
				発

(HP 等を基にシード・プランニング作成)

③製造

CureVac は、エンド・ツー・エンド製造プロセスを開発し、その製造方法や技術を網羅する広範な知的財産を有している。独自の GMP 準拠の工場において、自社の mRNA 医薬を製造している。

また大規模な製造施設を必要としないモバイル携帯型の「RNA Printer®」を開発している。2週間ごとに1g以上の製品を製造することで、アウトブレイクへの迅速な対応を支援し、病院内での個別化医療を提供することができる。

「RNA Printer®」は、既知の病原体を標的とすることができる mRNA ワクチン候補を迅速に生産するための、可動性の自動製造施設である。ラッサ熱、黄熱病、狂犬病なども含まれているが、そのプロトタイプは、まだ発見されていない新たな病原体に対する迅速な反応をもたらす可能性もある。

(5) Ethris

会社名	Ethris GmbH	URL	https://ethris.com/
所在地	Semmelweisstr. 3 82152 Planegg	g	
代表者	DR. GITA DITTMAR(CEO)		

Ethris は、2009年に Dr. Carsten Rudolph と Dr. Christian Plank によって設立された。ドイツ国内外の一流学術機関と医療機関との戦略的パートナーシップを数多く確立し、世界中の企業バイオテクノロジーや製薬会社と提携を結んでいる。 mRNA に基づく治療法について Ethris は、呼吸器疾患に焦点を当て、戦略的パートナー(AstraZeneca)と協力している。

①プラットフォーム技術(SNIM® RNA platform)

Ethris は安定化非免疫原性 mRNA(SNIM®RNA)と、SNIM®RNA デリバリーのための独自のデリバリー技術の 2 つの技術を開発した。SNIM®RNA は、mRNA の不安定性と免疫原性を克服し、構成要素の化学修飾によって自然免疫系を回避する。これにより、SNIM®RNA は反復投与が可能となり、ヒト体内で治療用タンパク質の持続的産生をもたらす。

②開発パイプライン

タンパク質補充療法に絞ったパイプラインである。詳細は未発表だがネブライザーを用いた 投与を考えている様子である。

Ethris の開発パイプライン

種別	開発番号	対象疾患	開発ステージ	備考
タンパク質 補	ETH42	原発性線毛機能不全症	非臨床(POC)	
充療法		候群(PCD)		
タンパク質 補	ETH43	原発性線毛機能不全症	探索	
充療法		候群(PCD)		
タンパク質 補	非公開	肺疾患	探索	
充療法				
タンパク質 補	非公開	COPD、喘息、特発性肺	非臨床(POC)	アストラゼネカと
充療法		線維症(IPF)		共同

(HP 等を基にシード・プランニング作成)

2017 年 8 月、Ethris は AstraZeneca とそのグローバル生物製剤研究開発部門である MedImmun 社との 5 年間の戦略的研究協力を発表した。Ethris は、独自の SNIM®RNA 技術と MedImmune の Innovative Medicine(IMMED)を独占的に活用し、喘息や慢性閉塞性肺疾患 (COPD) 、特発性肺線維症 (IPF) などの疾患で新たな標的を探索する。

③製造

cGMP 対応の製造技術についてはパートナーを探している。

(6) eTheRNA

会社名	eTheRNA immunotherapies NV URL	https://www.etherna.be/
所在地	Statutory address Galileilaan 19 284	5 Niel - Belgium
代表者	Steven Powell(CEO)	

eTheRNA は、癌および感染症の治療に mRNA ベースの免疫療法を適用した臨床段階のベルギーのバイオテクノロジー企業である。eTheRNA の目標は、これら免疫療法を癌患者に長期の臨床寛解をもたらすために商業化することである。

2013 年に「ブリュッセル自由大学」(VUB)の TriMix technology の開発を継続するスピンオフ企業として設立された。2015 年 7月 TriMix 技術に関する世界的な独占ライセンスを取得。これにより、メラノーマおよび乳癌における臨床研究のために、mRNA ベースの免疫療法の開発を継続することが可能となった。2017 年にベルギーのニールに移転し、2018 年 10 月に cGMP 準拠の mRNA 製造研究所が設立された。

①プラットフォーム技術 (TriMix technology)

コア技術の TriMix technology は、TLR4、CD40L、CD70 の 3種の mRNA を樹状細胞に発現させる。Ex Vivo 投与の場合は、がん患者から樹樹状細胞を単離し Electroporation によって TriMIX を導入し、患者に戻すという療法である。In Vivo 投与の場合はワクチンとして、LNP を用いて皮内投与する。

②開発パイプライン

臨床試験に入っているパイプラインがあり、ECI-006 はメラノーマを対象に MAGE-A3,C2、Tyrosinase、Gp100 、PRAME というメラノーマのがん抗原 5 種のmRNA の上記 TriMIX を同時に打つという Phase1 試験を実施中である。また、最適な LNP については自社で脂質スクリーニングを進めており、33 種からワクチン用に最も適した LNP を選抜している。

eTheRNA immunotherapies の開発パイプライン

種別	開発番号	対象疾患	開発ステージ	備考
免疫療法	ECI-006	メラノーマ(リンパ節内送	Ph I	
		達)		
		乳がん(ネオアジュバンド;	Ph I	
		腫瘍内送達)		
	4 つの試験	メラノーマ	Ph I I a	EX-Vivo DC

(HP 等を基にシード・プランニング作成)

③製造

eTheRNA は、研究用途の mRNA を製造してきた。2018 年 10 月には、ベルギー連邦医薬品医療製品・医療製品開発庁が認定した cGMP 施設を設立した。この施設では、フェーズ 1 および 2 の臨床開発プログラムに関する TriMix を製造可能である。さらに同社は、製造規模の拡大も検討している。

(7) Intellia

会社名	Intellia Therapeutics, Inc.	URL	https://www.intelliatx.com/
所在地	40 Erie Street, Cambridge, MA	02139	
代表者	John Leonard, M.D.(CEO)		

Intellia Therapeutics はボストンにあるゲノム編集に特化した企業で 2014 年設立と CRISPR 企業の中では老舗の一つである。CRISPR/CAS9 の発見者の一人である J.Doudna が Founder の一人である。Cas9 をコードする mRNA-LNP を開発すると明言している数少ない企業である。

①開発パイプライン

Intellia Therapeutics の開発パイプライン

種別	開発番号	対象疾患	開 発 ス テ ー ジ	備考
In vivo Therapies	ATTR Progrum (NTLA-2001)	ATTR(野生型および変異型トランスサイレチン型心アミロイドーシス)	有効性評価	Regeneron と共同
	KLKB1 HAE program	遺伝性血管性浮腫(HAE)	探索	
		その他 複数	基礎	Regeneron と共同
Ex vivo		鎌状赤血球症	有効性評価	Novartis と共同
	NTLA-5001	急性白血病	有効性評価	
		固形がん	基礎	
	非公開	CAR-T、造血幹細胞 (HSC)、ovarian somatic cells(OSC)	非公開	Novartis と共同

(8) Moderna

	会社名	Moderna Therapeutics Inc.	URL	https://www.modernatx.com/about-us			
Ī	所在地	本社: 200 Technology Square Cambridge, MA 02139					
		臨床開発製造施設: One Upland Road Norwood, MA 02062					
I	代表者	Stéphane Bancel(CEO)					

Moderna は mRNA 医薬のリーディングカンパニーで、最も多くのパイプラインを保有している。同社は、ベンチャーキャピタル Flagship Venture Labs と、Harvard University 教授の Derrick Rossi 氏、Massachusetts General Hospital Cardiovascular Research Center サイエンスディレクター/ Harvard University stem cell and regenerative biology 教授のKenneth Chein 氏(現 Karolinska Institutet)、Massachusetts Institute of Technology David H. Koch Institute 教授、Robert Lange 教授によって 2010 年後半に設立されたベンチャー企業である。Scientific Advisory Board には前述の教授らの他に 2009 年ノーベル生理学・医学賞を受賞した Jack Szostak も参画している。「messenger RNA Therapeutics™」はDerrick Rossi 教授のもとで開発された技術である。

同社は約2年間のステルスの活動ののち、多数のメガファーマとのコラボレーションの締結 を成功させており、これまでに調達した資金は10億ドルを大きく上回っている。

①messenger RNA Therapeutics™

messenger RNA Therapeutics は、mRNA の塩基のウラシルを N1-methyl-pseudouridine に改変することで、mRNA の免疫原性を低減させ、安定性を高めたものである。

- cap 構造と polyA tail を持つと同時に、安定化のために化学修飾(※)が施された人工合成 RNA であるため、ヌクレアーゼ耐性があり、安定的に細胞内に導入、発現させることが可能である。
- mRNA を用いた薬物候補を、数週間のうちに開発し、テストすることが可能であり、コンセプトから first-in-human 研究までを迅速に行うことが可能となる。
- ●全ての messenger RNA Therapeutics は、同じ無細胞生産工程で、同じ試薬を使用して作製さるため、迅速でコストパフォーマンスの良い GMP 製造が可能となる。

②開発パイプライン

Moderna Therapeutics の開発パイプライン

種別	開発番号	対象疾患	開 発 ス テ ー ジ	備考
予防ワクチン	mRNA-1172	RSV vaccine	Ph I	
	mRNA-1777		Ph I / Ⅱ	Merck 実施権
	mRNA-1647	CMV vaccine	Ph I / Ⅱ	
	mRNA-1653	hMPV+PIV3 vaccine	Ph I / Ⅱ	
	mRNA-1440	Influenza H10N8 vaccine	Ph I / Ⅱ	資金調達

	mRNA-1851	Influenza H7N9 vaccine	Ph I / Ⅱ	資金調達
	mRNA-1893	Zika vaccine	Ph I	BARDA ファンド
	mRNA-1388	Chikungunya vaccine	Ph I / Ⅱ	
がんワクチン	mRNA-4157 NCI-4650	Personalized cancer vaccine (PCV)	Ph I	Merck と共同
	mRNA-5671			Merck と共同
がん免疫	mRNA-2416	OX40L Solid tumors/lymphoma Advanced ovarian carcinoma (Ph 2 cohort)	Ph I / II	
	mRNA-2752	OX40L+IL23+IL36 γ (Triplet) Solid tumors/lymphoma	Ph I	
	MEDI1191 IL12 Solid tumors		Ph I	AstraZeneca と 共同
局 所 再 生 医療	AZD8601	VEGF-A Myocardial ischemia	Ph II	AstraZeneca 実 施権
全身分泌治療	mRNA-1944	Antibody against Chikungunya virus	Ph I	
	AZD7970	Relaxin Heart failure	非臨床	AstraZeneca と 共同
	mRNA-3630	α-GAL Fabry disease	非臨床	
全身細胞治療	mRNA-3704	MUT Methylmalonic acidemia, MMA	Ph I	
	mRNA-3927	PCCA+PCCB Propionic acidemia, PA	非臨床	
	mRNA-3283	PAH Phenylketonuria, PKU	非臨床	
	mRNA-3745	G6Pase Glycogen Storage Disorder Type 1a, GSD1a	非臨床	

(HP 等を基にシード・プランニング作成)

③GMP 製造

2016 年 9 月、Moderna はマサチューセッツ州ノーウッドに最先端の GMP 製造施設を建設した。この施設は 20 万平方フィートの広さがあり、API の製造から製剤化まで対応している。年間 40 ロット製造可能で、将来的に 100 ロットまで製造可能と同社は発表している。

(9) Stemirna

	会社名	Stemirna Therapeutics Co., ltd.	URL	http://www.stemirna.com/
	所在地	上海市浦东新区新金桥路 1088 号 A 栋 415 室		
ĺ	代表者	Stéphane Bancel(CEO)		

Stemirna は MD アンダーソンがんセンターの博士号取得者のグループによって設立された。同社の目的は、mRNA 治療薬プラットフォーム、GMP 製造センター、ネオアンチゲンライブラリーおよび mRNA 医薬品臨床協力プラットフォームを含む包括的な mRNA 治療産業チェーンを構築することである。

1LPP Delivery Platform

LPP (lipopolyplex) ナノデリバリープラットフォームは、ポリマー混合 mRNA をコアとし、脂質をシェルとするコアシェル(2 層)構造である。従来の LNP プラットフォームと比較して、コアシェル構造の LPP 粒子は mRNA の保護に優れており、ポリマーが分解されるにつれて mRNA を徐々に放出させることが可能である。

この LPP プラットフォームは、樹状細胞への選択性が非常に高いため、T細胞への抗原提示を通じて免疫応答を高めることが可能となる。

LPP/mRNA®は、新しいモデルのナノキャリアデリバリープラットフォームであり、ユニークな2層構造を通してmRNA薬物デリバリーの安全性と有効性を保証する。

②開発パイプライン

Stemirna には現在、mRNA に基づく個別化がんワクチン、感染症予防ワクチン、タンパク質補充療法および遺伝性疾患の分野に焦点を当てて、独自の mRNA 医薬品プロジェクトが十数件以上開発されている。

Stemirna はまた、中国のいくつかの第三病院との共同で臨床開発を行っている。ロードマップによると、Stemirna は 2020 年までに、中国と米国の両方で最初の臨床アプリケーションを申請している。Stemirna は 2022 年までに、中国と海外の臨床試験段階に入る革新的な新薬を複数発売する予定である。

Stemirna Therapeutics の開発パイプライン

種別	開発番号	対象疾患	開 発 ス テ ー ジ	備考
がんワクチン	_	進行性食道がん 非小細胞肺がん	_	open-label pilot study
	_	進行性食道 扁平上皮がん 膵腺がん	_	open-label pilot study

(10) Translate Bio

会社名	Translate Bio, Inc.	URL	https://translate.bio/
所在地	29 Hartwell Ave Lexington, MA 02421		
代表者	Stéphane Bancel (CEO)		

Translate Bio は、タンパク質または遺伝子の機能不全によって引き起こされる疾患の治療に注力しえおり、独自の mRNA 治療プラットフォームを用いて、機能性タンパク質をコードする mRNA を作製している。

① プラットフォーム技術(MRT™ platform)

Translate の MRTTM プラットフォームは、当初は Shire で開発され、2016 年以降は Translate で開発されている。2 つのパートから構成されている。安定性を向上させ、タンパクの発現を最適化させた mRNA と、特定の組織にデリバリーするための LNP を含む粒子から成る。

②開発パイプライン

Translate Bio の開発パイプライン

種別	開発番号	対象疾患	開 発 ス テ ー ジ	備考
直接投与(吸入)	MRT5005	囊胞性線維症	PI/I	オーファン指定 (FDA、2015 年)
直接投与(吸入)	_	特発性肺線維症	探索	
直接投与(吸入)	_	線毛機能不全症候群(PCD)	探索	
直接投与(吸入)	_	肺動脈性肺高血圧症	探索	
静注	_	肝臓	探索	非開示
ワクチン	_	感染症	最適化	Sanofi と共同
ワクチン	_	がんワクチン	探索	非開示

(HP 等を基にシード・プランニング作成)

③GMP 製造

2019 年 9 月、Translate Bio は、CMO である Albany Molecular Research Inc. (AMRI) を臨床試験用の mRNA の製造に採用した。5 年間の契約に基づき、AMRI は Translate Bio 専用の臨床製造施設を構築する。まずは、MRT5005 の製造を行う。

(11) Ultragenyx

会社名	Ultragenyx Pharmaceutical Inc.	URL	https://translate.bio/
所在地	29 Hartwell Ave Lexington, MA 02421		
代表者	Stéphane Bancel(CEO)		

Ultragenyx は稀少疾患を専門とし、2010 年に設立された。最近では Arcturus と組んでmRNA 創薬に力を入れている。両社は 2019 年 6 月に提携拡大を発表し、Ultragenyx がArcturus の 37.7%の株をもつ筆頭株主となり、最大 12 の稀少疾患を標的とした核酸医薬(mRNA, siRNA, DNA) の研究開発を行うとしている。

Ultragenyx Pharmaceutical の開発パイプライン

種別	開発番号	対象疾患	開 発 ス テ ー ジ	備考
	UX053	糖原病Ⅲ型	前臨床	Arcturus と共同

4. mRNA 関連重要論文リスト

図表 17 mRNA 関連重要論文リスト

図表 17 mRNA 関連重要論文リスト					
タイトル 原文	Journal	発表 年	著者名	URL	
Safety and immunogenicity of a mRNA rabies vaccine in healthy adults: an open-label, non-randomised, prospective, first-in-human phase 1 clinical trial	The Lancet 390(10101): 1511-1520.	2017	Alberer, M., et al.	https://www.ncbi.nlm.ni h.gov/pubmed/28754494	
Systemic Messenger RNA Therapy as a Treatment for Methylmalonic Acidemia	Cell Rep 21(12): 3548- 3558	2017	An, D., et al.	https://www.ncbi.nlm.ni h.gov/pubmed/29262333	
Innate immune response and programmed cell death following carrier mediated delivery of unmodified mRNA to respiratory cells	J Control Release 167(2): 157-166.	2013	Andries, O., et al.	https://www.sciencedire ct.com/science/article/pi i/S0168365913000709	
Synthetic biology devices and circuits for RNA-based 'smart vaccines': a propositional review.	Expert Rev Vaccines 14(2): 313-331	2015	Andries, O., et al.	https://www.tandfonline .com/doi/abs/10.1586/14 760584.2015.997714	
N(1)-methylpseudouridine-incorporated mRNA outperforms pseudouridine-incorporated mRNA by providing enhanced protein expression and reduced immunogenicity in mammalian cell lines and mice	J Control Release 217: 337-344	2015	Andries, O., et al.	https://www.sciencedire ct.com/science/article/pi i/S0168365915300948	
In vitro synthesis of modified mRNA for induction of protein expression in human cells.	J Vis Exp(93): e51943	2014	Avci ⁻ Adali, M., et al.	https://www.jove.com/vi deo/51943/in-vitro- synthesis-modified- mrna-for-induction- protein-expression	
Chemically modified RNA induces osteogenesis of stem cells and human tissue explants as well as accelerates bone healing in rats	Biomaterials 87: 131-146	2016	Balmayor, E. R., et al.	https://www.sciencedire ct.com/science/article/pi i/S0142961216001320	
Biocompatible, Purified VEGF-A mRNA Improves Cardiac Function after Intracardiac Injection 1 Week Post- myocardial Infarction in Swine	Molecular Therapy - Methods & Clinical Development 9: 330-346	2018	Carlsson, L., et al.	https://www.sciencedire ct.com/science/article/pi i/S232905011830041X	
TAIL-seq: genome-wide determination of poly(A) tail length and 3' end modifications	Mol Cell 53(6): 1044- 1052.	2014	Chang, H., et al.	https://www.sciencedire ct.com/science/article/pi i/S109727651400121X	
A Targeted and Stable Polymeric Nanoformulation Enhances Systemic Delivery of mRNA to Tumors	Mol Ther 25(1): 92-101.	2017	Chen, Q., et al.	https://www.sciencedire ct.com/science/article/pi i/S1525001616453608	
Multifunctional triblock copolymers for intracellular messenger RNA delivery	Biomaterials 33(28): 6868- 6876	2012	Cheng, C., et al.	https://www.sciencedire ct.com/science/article/pi i/S0142961212006564	
Chemically modified RNA activated matrices enhance bone regeneration.	J Control Release 218: 22-28.	2015	Elangovan, S., et al.	https://www.sciencedire ct.com/science/article/pi i/S0168365915301504	
Nonviral delivery of self-amplifying RNA vaccines.	Proc Natl Acad Sci U S A 109(36): 14604- 14609.	2012	Geall, A. J., et al.	https://www.pnas.org/co ntent/109/36/14604.shor <u>t</u>	
Systematic discovery of structural elements governing stability of mammalian messenger RNAs.	Nature. 485(7397):264- 8.	2012	Goodarzi, H., et al.	https://www.nature.com/articles/nature11013	
Tendon healing induced by chemically modified mRNAs.	Eur Cell Mater 33: 294- 307.	2017	Groth, K., et al.	https://pdfs.semanticsch olar.org/909f/bd6d152b9 11077804d386c4faa30e1 730fc6.pdf	
Synthesis of anti-reverse cap analogs (ARCAs) and their applications in mRNA translation and stability. Nonviral, cationic lipid-mediated	Methods Enzymol 431: 203-227 Methods Mol	2007	Grudzien-Nogalska, E., et al. Hecker, J. G.	https://www.sciencedire ct.com/science/article/pi i/S0076687907310112 https://link.springer.co	
delivery of mRNA	Biol 969: 73- 88.			m/protocol/10.1007/978- 1-62703-260-5_5	
Non-Viral, Lipid-Mediated DNA and mRNA Gene Therapy of the Central Nervous System (CNS): Chemical-Based Transfection	Methods Mol Biol 1382: 307- 324	2016	Hecker, J. G.	https://link.springer.co m/protocol/10.1007/978- 1-4939-3271-9_23	
Synthetic chemically modified mrna-	Mol Pharm	2015	Huang, C. L., et al.	https://pubs.acs.org/doi/	

based delivery of cytoprotective factor promotes early cardiomyocyte survival post-acute myocardial infarction.	12(3): 991-996.			abs/10.1021/mp5006239
Optimization of a Degradable Polymer- Lipid Nanoparticle for Potent Systemic Delivery of mRNA to the Lung Endothelium and Immune Cells.	Nano Lett 18(10): 6449- 6454.	2018	Kaczmarek, J. C., et al.	https://pubs.acs.org/doi/ abs/10.1021/acs.nanolet t.8b02917
Increased erythropoiesis in mice injected with submicrogram quantities of pseudouridine-containing mRNA encoding erythropoietin.	Mol Ther 20(5): 948-953.	2012	Kariko, K., et al.	https://www.sciencedire ct.com/science/article/pi i/S1525001616319347
Generating the optimal mRNA for therapy: HPLC purification eliminates immune activation and improves translation of nucleoside modified, protein encoding mRNA.	Nucleic Acids Res 39(21): e142	2011	Kariko, K., et al.	https://academic.oup.co m/nar/article/39/21/e14 2/1104771
Efficacy and immunogenicity of unmodified and pseudouridine modified mRNA delivered systemically with lipid nanoparticles in vivo.	Biomaterials 109: 78-87.	2016	Kauffman, K. J., et al.	https://www.sciencedire ct.com/science/article/pi i/S0142961216304847
Expression of therapeutic proteins after delivery of chemically modified mRNA in mice.	Nat Biotechnol 29(2): 154-157.	2011	Kormann, M. S., et al.	https://www.nature.com/articles/nbt.1733
Synthesis, properties, and biological activity of boranophosphate analogs of the mRNA cap: versatile tools for manipulation of therapeutically relevant cap-dependent processes.	Nucleic Acids Res 42(16): 10245-10264.	2014	Kowalska, J., et al.	https://academic.oup.co m/nar/article/42/16/102 45/2903219
Systemic RNA delivery to dendritic cells exploits antiviral defence for cancer immunotherapy.	Nature 534(7607): 396- 401.	2016	Kranz, L. M., et al.	https://www.nature.com/articles/nature18300
Self-adjuvanted mRNA vaccination in advanced prostate cancer patients: a first-in-man phase I/IIa study.	J Immunother Cancer 3: 26.	2015	Kubler, H., et al.	https://jitc.biomedcentral.com/articles/10.1186/s40425-015-0068-y
mRNA-mediated glycoengineering ameliorates deficient homing of human stem cell-derived hematopoietic progenitors.	J Clin Invest 127(6): 2433- 2437.	2017	Lee, J., et al.	https://www.jci.org/artic les/view/92030
Structurally Programmed Assembly of Translation Initiation Nanoplex for Superior mRNA Delivery	ACS Nano 11(3): 2531- 2544.	2017	Li, J., et al.	https://pubs.acs.org/doi/ abs/10.1021/acsnano.6b 08447
Efficient Targeting and Activation of Antigen-Presenting Cells In Vivo after Modified mRNA Vaccine Administration in Rhesus Macaques.	Mol Ther 25(12): 2635-2647.	2017	Liang, F., et al.	https://www.sciencedire ct.com/science/article/pi i/S1525001617303659
Rhesus Macaque Myeloid-Derived Suppressor Cells Demonstrate T Cell Inhibitory Functions and Are Transiently Increased after Vaccination.	J Immunol 200(1): 286- 294.	2018	Lin, A., et al.	http://www.jimmunol.or g/content/200/1/286.abs tract
Driving vascular endothelial cell fate of human multipotent Isl1(+) heart progenitors with VEGF modified mRNA.	Cell Res 23(10): 1172- 1186.	2013	Lui, K. O., et al.	https://www.nature.com/articles/cr2013112
Unmodified mRNA in LNPs constitutes a competitive technology for prophylactic vaccines	NPJ Vaccines 2: 29.	2017	Lutz, J., et al.	https://www.nature.com/articles/s41541-017-0032-6
Intrathecal delivery of frataxin mRNA encapsulated in lipid nanoparticles to dorsal root ganglia as a potential therapeutic for Friedreich's ataxia.	Sci Rep 6: 20019.	2016	Nabhan, J. F., et al.	https://www.nature.com/articles/srep20019
Zika virus protection by a single low- dose nucleoside modified mRNA vaccination.	Nature 543(7644): 248- 251.	2017	Pardi, N., et al.	https://www.nature.com /articles/nature21428
In vitro transcription of long RNA containing modified nucleosides.	Methods Mol Biol 969: 29- 42.	2013	Pardi, N., et al.	https://link.springer.co m/protocol/10.1007/978- 1-62703-260-5_2
Lipopolyplex potentiates anti-tumor immunity of mRNA-based vaccination.	Biomaterials 125: 81-89.	2017	Persano, S., et al.	https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0142961217300996
Protective efficacy of in vitro synthesized, specific mRNA vaccines against influenza A virus infection.	Nat Biotechnol 30(12): 1210- 1216.	2012	Petsch, B., et al.	https://www.nature.com/articles/nbt.2436
Transfection efficiency and transgene expression kinetics of mRNA delivered in naked and nanoparticle format.	J Control Release 166(3): 227-233.	2013	Phua, K. K., et al.	https://www.sciencedire ct.com/science/article/pi i/S0168365913000023
Synthetic mRNAs for manipulating cellular phenotypes: an overview	N Biotechnol 32(1): 229-235.	2015	Quabius, E. S. and G. Krupp	https://www.ncbi.nlm.ni h.gov/pubmed/24816460

mRNA capping: biological functions and applications.	Nucleic Acids Res 44(16): 7511-7526.	2016	Ramanathan, A., et al.	https://academic.oup.co m/nar/article/44/16/751 1/2460195
Vaccine Mediated Protection Against Zika Virus-Induced Congenital Disease.	Cell 170(2): 273-283 e212.	2017	Richner, J. M., et al.	https://www.sciencedire ct.com/science/article/pi i/S0092867417307596
Personalized RNA mutanome vaccines mobilize poly-specific therapeutic immunity against cancer.	Nature 547(7662): 222- 226.	2017	Sahin, U., et al.	https://www.nature.com/articles/nature23003
mRNA-based therapeutics - developing a new class of drugs.	Nat Rev Drug Discov 13(10): 759-780.	2014	Sahin, U., et al.	https://www.nature.com/articles/nrd4278?cache Bust=1508171532658
Translation of Angiotensin-Converting Enzyme 2 upon Liver- and Lung- Targeted Delivery of Optimized Chemically Modified mRNA.	Molecular Therapy - Nucleic Acids 7: 350-365.	2017	Schrom, E., et al.	https://www.sciencedire ct.com/science/article/pi i/S2162253117301567
Translational control in cancer.	Nat Rev Cancer 10(4): 254-266.	2010	Silvera, D., et al.	https://www.nature.com/articles/nrc2824?cache/Bust=1508197638219
Dis3-like 1: a novel exoribonuclease associated with the human exosome.	EMBO J 29(14): 2358- 2367.	2010	Staals, R. H., et al.	http://emboj.embopress. org/content/29/14/2358. abstract
Elimination of large tumors in mice by mRNA-encoded bispecific antibodies.	Nat Med 23(7): 815-817.	2017	Stadler, C. R., et al.	https://www.nature.com/articles/nm.4356
In vitro and in vivo mRNA delivery using lipid-enveloped pH-responsive polymer nanoparticles.	Mol Pharm 8(3): 774-787.	2011	Su, X., et al.	https://pubs.acs.org/doi/ abs/10.1021/mp100390w
Poly(A)-tail profiling reveals an embryonic switch in translational control.	Nature. ;508(7 494):66-71.	2014	Subtelny, A. O., et al.	https://www.nature.com/articles/nature13007
N1-methyl-pseudouridine in mRNA enhances translation through eIF2alpha-dependent and independent mechanisms by increasing ribosome density.	Nucleic Acids Res 45(10): 6023-6036.	2017	Svitkin, Y. V., et al.	https://www.ncbi.nlm.ni h.gov/pubmed/28334758
In Vivo Introduction of mRNA Encapsulated in Lipid Nanoparticles to Brain Neuronal Cells and Astrocytes via Intracerebroventricular Administration.	Mol Pharm 15(5): 2060- 2067.	2018	Tanaka, H., et al.	https://pubs.acs.org/doi/ abs/10.1021/acs.molpha rmaceut.7b01084
Activation of pluripotency-associated genes in mouse embryonic fibroblasts by non-viral transfection with in vitroderived mRNAs encoding Oct4, Sox2, Klf4 and cMyc.	Biomaterials 33(2): 412-417.	2012	Tavernier, G., et al.	https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0142961211011380
Sequence-engineered mRNA Without Chemical Nucleoside Modifications Enables an Effective Protein Therapy in Large Animals.	Mol Ther 23(9): 1456- 1464.	2015	Thess, A., et al.	https://www.sciencedire ct.com/science/article/pi i/S1525001616302738
PEGylation Improves Nanoparticle Formation and Transfection Efficiency of Messenger RNA	Pharm Res. 28(9):2223-32.	2011	Uzgun, S., et al.	https://link.springer.co m/article/10.1007/s1109 5-011-0464-z
Systemic delivery of modified mRNA encoding herpes simplex virus 1 thymidine kinase for targeted cancer gene therapy.	Mol Ther 21(2): 358-367.	2013	Wang, Y., et al.	https://www.sciencedire ct.com/science/article/pi i/S1525001616305962
Highly efficient reprogramming to pluripotency and directed differentiation of human cells with synthetic modified mRNA.	Cell Stem Cell 7(5): 618-630.	2010	Warren, L., et al.	https://www.sciencedire ct.com/science/article/pi i/S1934590910004340
Results of the first phase I/II clinical vaccination trial with direct injection of mRNA.	J Immunother 31(2): 180-188.	2008	Weide, B., et al.	https://journals.lww.co m/immunotherapy- journal/Abstract/2008/0 2000/Results of the Fir st_Phase_I_II_Clinical. 7.aspx
Direct injection of protamine-protected mRNA: results of a phase 1/2 vaccination trial in metastatic melanoma patients.	J Immunother 32(5): 498-507.	2009	Weide, B., et al.	https://journals.lww.co m/immunotherapy- journal/Abstract/2009/0 6000/Direct Injection o f Protamine protected mRNA8.aspx
	1	<u> </u>	I .	

	T	1	T	I -
Translational control by changes in poly(A) tail length: recycling mRNAs.	Nature structural & molecular biology 19(6): 577-585.	2012	Weill, L., et al.	https://www.nature.com/articles/nsmb.2311
Modified mRNA directs the fate of heart progenitor cells and induces vascular regeneration after myocardial infarction.	Nat Biotechnol 31(10): 898- 907.	2013	Zangi, L., et al.	https://www.nature.com/articles/nbt.2682
Massively parallel functional annotation of 3' untranslated regions.	Nat Biotechnol 32(4): 387-391.	2014	Zhao, W., et al.	https://www.nature.com/articles/nbt.2851
Multiple injections of electroporated autologous T cells expressing a chimeric antigen receptor mediate regression of human disseminated tumor.	Cancer Res 70(22): 9053-9061.	2010	Zhao, Y., et al.	http://cancerres.aacrjou rnals.org/content/70/22/ 9053.short
A New RNA-Based Adjuvant Enhances Virus-Specific Vaccine Responses by Locally Triggering TLR- and RLH- Dependent Effects.	J Immunol 198(4): 1595- 1605.	2017	Ziegler, A., et al.	http://www.jimmunol.or g/content/198/4/1595.ab stract
Lipid-mediated delivery of RNA is more efficient than delivery of DNA in non-dividing cells.	Int J Pharm 389(1-2): 232- 243.	2010	Zou, S., et al.	https://www.sciencedire ct.com/science/article/pi i/S0378517310000529
Drug metabolism and pharmacokinetic strategies for oligonucleotide and mRNA-based drug development.	Drug Discov Today.23(10):1 733-1745	2018	Andersson S, Antonsson M, Elebring M, Jansson-Löfmark R, Weidolf L.	https://www.sciencedire ct.com/science/article/pi i/S1359644617301691
Transcript-activated collagen matrix as sustained mRNA delivery system for bone regeneration.	Control Release	2016	Badieyan ZS, Berezhanskyy T, Utzinger M, Aneja MK, Emrich D, Erben R, Schüler C, Altpeter P, Ferizi M, Hasenpusch G, Rudolph C, Plank C.	https://www.sciencedire ct.com/science/article/pi i/S0168365916306216
Lipid Nanoparticle Formulations for Enhanced Co-delivery of siRNA and mRNA.	Nano Lett.	2018	Ball RL, Hajj KA, Vizelman	https://pubs.acs.org/doi/ abs/10.1021/acs.nanolet t.8b01101
Modified mRNA for BMP-2 in Combination with Biomaterials Serves as a Transcript-Activated Matrix for Effectively Inducing Osteogenic Pathways in Stem Cells.	Stem Cells and Development	2017	Balmayor ER, Geiger JP, Koch C, Aneja MK, van Griensven M, Rudolph C, Plank C.	https://www.liebertpub. com/doi/abs/10.1089/scd .2016.0171
Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator-mRNA delivery: a novel alternative for cystic fibrosis gene therapy.	Gene Med	2013	Bangel-Ruland N, Tomczak K, Fernández E, Leier G, Leciejewski B, Rudolph C, Rosenecker J, Weber WM.	https://onlinelibrary.wil ey.com/doi/abs/10.1002/j gm.2748
Self-amplifying mRNA vaccines.	Adv Genet	2014	Brito LA, Kommareddy S, Maione D, Uematsu Y, Giovani C, Berlanda Scorza F, Otten GR, Yu D, Mandl CW, Mason PW, Dormitzer PR, Ulmer JB, Geall AJ.	https://www.sciencedire ct.com/science/article/a bs/pii/S00652660140000 66
Evading innate immunity in nonviral mRNA delivery: don't shoot the messenger.	Drug Discov Today.	2016	Devoldere J, Dewitte H, De Smedt SC, Remaut K.	https://www.sciencedire ct.com/science/article/pi i/S1359644615002809
Poly(glycoamidoamine) Brushes Formulated Nanomaterials for Systemic siRNA and mRNA Delivery in Vivo.	Nano Lett.	2016	Dong Y, Dorkin JR, Wang W, Chang PH, Webber MJ, Tang BC, Yang J, Abutbul-Ionita I, Danino D, DeRosa F, Heartlein M, Langer R, Anderson DG.	https://pubs.acs.org/doi/ abs/10.1021/acs.nanolet t.5b02428
Adjuvant effects of a sequence- engineered mRNA vaccine: translational profiling demonstrates similar human and murine innate response.	Journal of Translational Medicine	2017	Edwards DK, Jasny E, Yoon H, Horscroft N, Schanen B, Geter T, Fotin-Mleczek M, Petsch B, Wittman V.	https://translational- medicine.biomedcentral .com/articles/10.1186/s1 2967-016-1111-6
Cationic lipid-assisted nanoparticles for delivery of mRNA cancer vaccine.	Biomater Sci.	2018	Fan YN, Li M, Luo YL, Chen Q, Wang L, Zhang HB, Shen S, Gu Z, Wang J.	https://pubs.rsc.org/en/c ontent/articlelanding/20 18/bm/c8bm00908b/una uth#!divAbstract

T I D I I D I I		2010	B 11: 7D 4 : 7777	I
Leveraging Rational Protein Engineering to Improve mRNA Therapeutics.	Nucleic Acid Ther.	2018	Farelli JD, Asrani KH, Isaacs C, deBear JS, Stahley MR, Shah A, Lasaro MA, Cheng CJ, Subramanian RR.	https://www.liebertpub. com/doi/abs/10.1089/nat .2017.0697
Human cellular CYBA UTR sequences increase mRNA translation without affecting the half-life of recombinant RNA transcripts.	Scientific Reports	2016	Ferizi M, Aneja MK, Balmayor ER, Badieyan ZS, Mykhaylyk O, Rudolph C, Plank C.	https://www.nature.com /articles/srep39149
mRNA vaccination with charge altering releasable transporters elicits human T cell responses and cures established tumors in mice.	Proc Natl Acad Sci U S A.	2018	Haabeth OAW, Blake TR, McKinlay CJ, Waymouth RM, Wender PA, Levy R.	https://www.pnas.org/co ntent/115/39/E9153.sho rt
Characterizing exogenous mRNA delivery, trafficking, cytoplasmic release and RNA protein correlations at the level of single cells.	Nucleic Acids Res.	2017	Kirschman JL, Bhosle S, Vanover D, Blanchard EL, Loomis KH, Zurla C, Murray K, Lam BC, Santangelo PJ.	https://academic.oup.co m/nar/article/45/12/e11 3/3760188
Preclinical evaluation of mRNA trimannosylated lipopolyplexes as therapeutic cancer vaccines targeting dendritic cells.	J Control Release.	2018	Le Moignic A, Malard V, Benvegnu T, Lemiègre L, Berchel M, Jaffrès PA, Baillou C, Delost M, Macedo R, Rochefort J, Lescaille G, Pichon C, Lemoine FM, Midoux P, Mateo V.	https://www.sciencedire ct.com/science/article/pi i/80168365918301743
A multifunctional DNA nano-scorpion for highly efficient targeted delivery of mRNA therapeutics.	wires	2018	Li D, Mo F, Wu J, Huang Y, Zhou H, Ding S, Chen W.	https://onlinelibrary.wil ey.com/doi/abs/10.1002/ wnan.1530
Enhanced intranasal delivery of mRNA vaccine by overcoming the nasal epithelial barrier via intra- and paracellular pathways.	Control Release.	2016	Li M, Zhao M, Fu Y, Li Y, Gong T, Zhang Z, Sun X.	https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168365916301079
mRNA Polyplexes with Post-Conjugated GALA Peptides Efficiently Target, Transfect, and Activate Antigen Presenting Cells.	Bioconjug Chem.	2019	Lou B, De Koker S, Lau CYJ, Hennink WE, Mastrobattista E.	https://pubs.acs.org/doi/ abs/10.1021/acs.bioconjc hem.8b00524
A new developing class of gene delivery: messenger RNA-based therapeutics.	Biomaterials Science	2017	Meng Z, O'Keeffe-Ahern J, Lyu J, Pierucci L, Zhou D, Wang W.	https://europepmc.org/a bstract/med/29063914
Lipid·based mRNA vaccine delivery systems.	Expert Rev Vaccines	2015	Midoux P, Pichon C.	https://www.tandfonline .com/doi/abs/10.1586/14 760584.2015.986104
Heavily and fully modified RNAs guide efficient SpyCas9-mediated genome editing.	Nature Communicatio ns	2018	Mir A, Alterman JF, Hassler MR, Debacker AJ, Hudgens E, Echeverria D, Brodsky MH, Khvorova A, Watts JK, Sontheimer EJ.	https://www.nature.com/articles/s41467-018-05073-z
mRNA delivery using non-viral PCL nanoparticles.	Biomater Sci.	2015	Palamà IE, Cortese B, D'Amone S, Gigli G.	https://pubs.rsc.org/en/c ontent/articlehtml/2015 /bm/c4bm00242c
Challenges and advances towards the rational design of mRNA vaccines.	Trends Mol Med	2013	Pollard C, De Koker S, Saelens X, Vanham G, Grooten J.	https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1471491413001664
Targeted mRNA Therapy for Ornithine Transcarbamylase Deficiency.	Mol Ther	2018	Prieve MG, Harvie P, Monahan SD, Roy D, Li AG, Blevins TL, Paschal AE, Waldheim M, Bell EC, Galperin A, Ella-Menye JR, Houston ME.	https://www.sciencedire ct.com/science/article/pi i/S1525001618300066
Systemic delivery of factor IX messenger RNA for protein replacement therapy.	Proc Natl Acad Sci U S A.	2017	Ramaswamy S, Tonnu N, Tachikawa K, Limphong P, Vega JB, Karmali PP, Chivukula P, Verma IM.	https://www.pnas.org/co ntent/114/10/E1941.sho rt
Modified mRNA Vaccines Protect against Zika Virus Infection.	Cell.	2017	Richner JM, Himansu S, Dowd KA, Butler SL, Salazar V, Fox JM, Julander JG, Tang WW, Shresta S, Pierson TC, Ciaramella G, Diamond MS.	https://www.sciencedire ct.com/science/article/pi i/S0092867417301952

Lipid Nanoparticle-Delivered Chemically Modified mRNA Restores Chloride Secretion in Cystic Fibrosis.	Mol Ther	2018	Robinson E, MacDonald KD, Slaughter K, McKinney M, Patel S, Sun C, Sahay G.	https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S152500161830217X
Monitoring Translation Activity of mRNA-Loaded Nanoparticles in Mice.	Mol Pharm	2018	Rosigkeit S, Meng M, Grunwitz C, Gomes P, Kreft A, Hayduk N, Heck R, Pickert G, Ziegler K, Abassi Y, R 7 h der J, Kaps L, Vascotto F, Beissert T, Witzel S, Kuhn A, Diken M, Schuppan D, Sahin U, Haas H, Bockamp E.	https://pubs.acs.org/doi/ abs/10.1021/acs.molpha rmaceut.8b00370
High-throughput in vivo screen of functional mRNA delivery identifies nanoparticles for endothelial cell gene editing.	Proc Natl Acad Sci U S A	2018	Sago CD, Lokugamage MP, Paunovska K, Vanover DA, Monaco CM, Shah NN, Gamboa Castro M, Anderson SE, Rudoltz TG, Lando GN, Mummilal Tiwari P, Kirschman JL, Willett N, Jang YC, Santangelo PJ, Bryksin AV, Dahlman JE.	https://www.pnas.org/co ntent/115/42/E9944.sho rt
Maximizing the Translational Yield of mRNA Therapeutics by Minimizing 5'-UTRs.	Tissue Eng Part A.	2019	Trepotec Z, Aneja MK, Geiger J, Hasenpusch G, Plank C, Rudolph C.	https://www.liebertpub. com/doi/abs/10.1089/ten .TEA.2017.0485
Co-delivery of nucleoside-modified mRNA and TLR agonists for cancer immunotherapy: Restoring the immunogenicity of immunosilent mRNA.	Control Release	2017	Verbeke R, Lentacker I, Wayteck L, Breckpot K, Van Bockstal M, Descamps B, Vanhove C, De Smedt SC, Dewitte H.	https://www.sciencedire ct.com/science/article/pi i/S0168365917308854
Mutanome Engineered RNA Immunotherapy: Towards Patient- Centered Tumor Vaccination.	Immunol Res.	2015	Vormehr M, Schrörs B, Boegel S, Löwer M, Türeci Ö, Sahin U.	https://www.hindawi.co m/journals/jir/2015/595 363/abs/
Kinetics of mRNA delivery and protein translation in dendritic cells using lipid-coated PLGA nanoparticles.	Nanobiotechnol ogy.	2018	Yasar H, Biehl A, De Rossi C, Koch M, Murgia X, Loretz B, Lehr CM.	https://jnanobiotechnolo gy.biomedcentral.com/a rticles/10.1186/s12951- 018-0401-y
Towards superior dendritic-cell vaccines for cancer therapy.	Nat Biomed Eng.	2018	Saxena M, Balan S, Roudko V, Bhardwaj N.	https://www.nature.com /articles/s41551-018- 0250-x