

平成28年度医療研究開発推進事業費補助金
(医薬品等規制調和・評価研究事業) 成果報告書

I. 基本情報

事業名：(日本語) 医薬品等規制調和・評価研究事業
(英語) Research on Regulatory Science of Pharmaceuticals and Medical Devices

補助事業課題名：(日本語) 核酸・遺伝子を用いた医薬品、ナノテクノロジーを応用した DDS 製剤等の品質及び安全性評価に関する研究
(英語) Studies on evaluation of quality and safety of oligonucleotide therapeutics, gene therapy products, and nanotechnology-based DDS formulations

補助事業担当者 (日本語) 国立医薬品食品衛生研究所 副所長 奥田晴宏
所属 役職 氏名：(英語) National Institute of Health Sciences, Deputy Director General, Haruhiro Okuda

実施期間：平成28年4月1日 ～ 平成29年3月31日

分担研究 (日本語) 研究統括と規制文書案の作成・監修
分担課題名：(英語) Supervision of Research groups and drafts of guidelines

補助事業分担者 (日本語) 国立医薬品食品衛生研究所 副所長 奥田晴宏
所属 役職 氏名：(英語) National Institute of Health Sciences, Deputy Director General, Haruhiro Okuda

II. 成果の概要 (総括研究報告)

革新的な医薬品の開発を促進するための規制科学を強化するために、我々は、核酸・遺伝子を用いた医薬品、ナノテクノロジーを応用した DDS 製剤等の品質及び安全性評価に関する研究を実施した。以下に本年度の研究成果を概括する。

核酸・遺伝子を用いた医薬品の品質及び安全性評価に関する研究

本年度は RNA を分解するタイプのアンチセンス (S オリゴ) をモデルにして、「合成過程で生成する不純物の分析・同定」および「不純物が標的以外の遺伝子発現に与える影響の解析」を実施した。大量合成を想定した液相合成法、少量合成の固相合成法のいずれの手法でアンチセンスを合成した場合でも、今回の実験条件下では基本的に精製後の画分に混入する不純物のプロファイルは同等であった。これらアンチセンスをヒト細胞に作用させ、内在性遺伝子の発現変動をマイクロアレイにより解析した。その結果、合成法に関わらず、合成過程で混入する不純物による標的外遺伝子の発現に対する影響は殆どないことを明らかとした。

遺伝子治療用製品の品質及び安全性評価に関する研究

遺伝子治療に用いる AAV ベクターの品質特性解析法として、ドロップレットデジタル PCR (ddPCR) を用いる新たな評価法を開発した。ddPCR を用いることにより、従来の qPCR では評価することのできない AAV ベクターと製造に用いたプラスミドの混入を区別して測定することや、ベクターゲノムの完全性を評価することが可能であり、AAV ベクターの新たな品質評価法・特性解析法として有用と考えられる。この ddPCR による新たな品質評価法は、AAV ベクター以外のウイルスベクターにも応用可能な汎用性のある品質評価法と考えられる。また、AAV ベクターの品質評価で重要な、ウイルスゲノムを含む粒子 (full particle) とゲノムを含まない中空粒子 (empty particle) の評価法として、従来の電子顕微鏡法と新たな客観的測定法として注目されている超遠心分析法 (AUC) を比較するため臨床グレードの AAV2, AAV8, AAV9 ベクターに適用し、AUC の利点と課題を明らかにした。

ナノテクノロジーを応用した DDS 製剤等の品質及び安全性評価に関する研究

本研究は、ナノ DDS 医薬品のサイズや形態等を解析する手法を構築し製剤技術によるナノ医薬品の分類を行うとともに、免疫毒性等に関する既存ガイドライン等の適応可能性及びナノ DDS 医薬品に特化した留意点について考察することを目的に行われた。ナノ結晶製剤を主な測定対象とし、製剤中に含有される有効成分のサイズ測定法の検討を行った。その結果、原子間力顕微鏡 (AFM) を用い、製剤中のナノサイズの結晶を観察することができた。また、海外で発表されている学術論文をもとに我が国で市販されているナノ DDS 医薬品候補の調査を行い、入手可能な製品について動的光散乱計、AFM を用いてサイズ測定を行った。さらに、医薬品の免疫毒性等の評価に関するガイドラインをもとに、ナノ DDS 医薬品に特化した留意点をまとめ、論文としてレギュラトリーサイエンス関連の雑誌に掲載された。

In order to facilitate regulatory science on promoting development of innovative pharmaceuticals, we studied evaluation of quality and safety of oligonucleotide therapeutics, gene therapy products, and nanotechnology-based DDS formulation.

Results of our research in the fiscal year are summarized as follows:

Studies on evaluation of quality and safety of oligonucleotide therapeutics

We obtained experimental data for evaluation of quality and safety of oligonucleotide therapeutics. In this study, we identified product-related impurities, such as deletion sequence impurities from the full-length product, which are formed during synthesis process. We also examined how product-related impurities affect the expression of unintended RNAs.

Study on quality and safety evaluation methods of gene therapy products

We developed a new evaluation method for quality and characterization of adeno-associated viral (AAV) vectors used for gene therapy by droplet digital PCR (ddPCR). We demonstrated that ddPCR method could discriminate contaminated AAV vector plasmid used for vector production from AAV vector genome, which qPCR-based method could not discriminate. Integrity of AAV vectors could also be evaluated by ddPCR method, suggesting that this new method is useful for quality evaluation of AAV vectors. This ddPCR-based method is applicable for other viral vectors. We also tried to compare analytical ultracentrifugation (AUC) method with traditional transmission electron microscopy (TEM) method for evaluation of full particle and empty particle of clinical grade AAV2, AAV8, and AAV9 vectors, and showed the advantage and weak point of AUC.

Studies on evaluation of quality and safety of nanotechnology-based DDS formulations

The purpose of this study is to establish the analytical techniques for size and morphology of the

nanotechnology-based DDS formulations (nanomedicines) and classify nanomedicines by formulation techniques. This study also aims to discuss the applicability of the general guidelines for immunotoxicity study to nanomedicines and the points to consider specific to nanomedicines. We studied the size measurement of active pharmaceutical ingredients in formulations, mainly nanocrystal formulations. We could observe the nano-sized crystals by use of atomic force microscopy (AFM). We also searched the candidate nanomedicines in clinical use in Japan based on the scientific journal papers, and the sizes of available candidate nanomedicines were measured by use of dynamic light scattering and AFM. We further discussed the points to consider for immunotoxicity studies specific for nanomedicines based on the general guidelines for immunotoxicity studies for pharmaceuticals and the discussion was published in the journal concerning regulatory science.

III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧（国内誌 1件、国際誌 0件）

1. 加藤くみ子, 石原比呂之, 友田寛, 松田嘉弘, 永井尚美, 花田博幸, 久田茂, 小野寺博志, 西山伸宏, 原島秀吉, 松村保広, 片岡一則, 合田幸広, 奥田晴宏, 川西徹. リポソーム製剤の特性と評価. 医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス. 2016, 47 (5), 333-341

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

(4) 特許出願

平成28年度医療研究開発推進事業費補助金
(医薬品等規制調和・評価研究事業) 成果報告書

I. 基本情報

事業名：(日本語) 医薬品等規制調和・評価研究事業
(英語) Research on Regulatory Science of Pharmaceuticals and Medical Devices
補助事業課題名：(日本語) 核酸・遺伝子を用いた医薬品、ナノテクノロジーを応用したDDS製剤等の品質及び安全性評価に関する研究
(英語) Studies on evaluation of quality and safety of oligonucleotide therapeutics, gene therapy products, and nanotechnology-based DDS formulations
補助事業担当者 (日本語) 国立医薬品食品衛生研究所 遺伝子医薬部 研究員 吉田徳幸
所属 役職 氏名：(英語) Division of Molecular Target and Gene Therapy Products, National Institute of Health Sciences, Researcher, Tokuyuki Yoshida

実施期間：平成28年4月1日 ～ 平成29年3月31日

分担研究 (日本語) 核酸医薬品の品質及び安全性評価に関する研究
分担課題名：(英語) Studies on evaluation of quality and safety of oligonucleotide therapeutics
補助事業分担者 (日本語) 国立医薬品食品衛生研究所 遺伝子医薬部 研究員 吉田徳幸
所属 役職 氏名：(英語) Division of Molecular Target and Gene Therapy Products, National Institute of Health Sciences, Researcher, Tokuyuki Yoshida

II. 成果の概要 (総括研究報告)

補助事業代表者：国立医薬品食品衛生研究所 副所長 奥田晴宏 総括研究報告を参照。

III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧 (国内誌1件、国際誌0件)

1. 吉田徳幸, 井上貴雄. 核酸医薬の国内外の規制動向. PharmStage. 2016, 16, 11-18.

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. Gapmer型アンチセンスの相補結合依存的オフターゲット効果に関する研究, ポスター, 吉田徳幸, 内藤雄樹, 佐々木澄美, 内田恵理子, 小比賀聡, 内藤幹彦, 井上貴雄, 第43回日本毒性学会学術年会, 2016/6/30, 名古屋.
2. アンチセンス医薬品による相補配列依存的オフターゲット効果に関する研究, ポスター, 吉田徳幸, 内藤雄樹, 佐々木澄美, 内田恵理子, 小比賀聡, 内藤幹彦, 井上貴雄, 第8回日本RNAi研究会, 2016/8/31, 広島.
3. アンチセンス医薬品の細胞内動態に関連する分子の探索, ポスター, 佐々木 澄美, 吉田徳幸,

内田恵理子, 内藤幹彦, 佐藤陽治, 小比賀聡, 井上貴雄, 第10回バイオ関連化学シンポジウム, 2016/9/7, 金沢.

4. 開発中止品目の整理と考察-毒性発現の観点から-, 吉田徳幸, 井上貴雄, 第7回核酸医薬レギュラトリーサイエンスシンポジウム, 2017/3/15, 東京.

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

1. 核酸医薬における基礎と開発の現状, 吉田徳幸, R&D支援センター主催セミナー, 2016/9/15, 東京.

(4) 特許出願

なし

平成28年度医療研究開発推進事業費補助金 (医薬品等規制調和・評価研究事業) 成果報告書

I. 基本情報

事業名： (日本語) 医薬品等規制調和・評価研究事業
(英語) Research on Regulatory Science of Pharmaceuticals and Medical Devices

補助事業課題名： (日本語) 核酸・遺伝子を用いた医薬品，ナノテクノロジーを応用したDDS製剤等の品質及び安全性評価に関する研究
(英語) Studies on evaluation of quality and safety of oligonucleotide therapeutics, gene therapy products, and nanotechnology-based DDS formulations

補助事業担当者 (日本語) 国立医薬品食品衛生研究所 遺伝子医薬部 第一室長 内田 恵理子
所属 役職 氏名： (英語) Eriko Uchida, Head of 1st section, Division of Molecular Target and Gene Therapy Products, National Institute of Health Sciences

実施期間： 平成28年 4月 1日 ～ 平成29年 3月31日

分担研究 (日本語) 遺伝子治療用製品の品質及び安全性評価に関する研究
分担課題名： (英語) Study on evaluation of quality and safety of gene therapy products

補助事業分担者 (日本語) 国立医薬品食品衛生研究所 遺伝子医薬部 第一室長 内田 恵理子
所属 役職 氏名： (英語) Eriko Uchida, Head of 1st section, Division of Molecular Target and Gene Therapy Products, National Institute of Health Sciences

II. 成果の概要（総括研究報告）

補助事業代表者： 国立医薬品食品衛生研究所・副所長・奥田 晴宏 総括研究報告を参照。

III. 成果の外部への発表

- (1) 学会誌・雑誌等における論文一覧（国内誌 4件、国際誌 1件）
 1. 内田恵理子：遺伝子治療をめぐる我が国の規制動向、日本臨床 75(5), 795-800 (2017)
 2. Yamaguchi T, Uchida E. Oncolytic Virus: Regulatory Aspects from Quality Control to Clinical Studies, *Current Cancer Drug Targets*, 2017 Feb 22. doi: 10.2174/568009617666170222142650 [Epub ahead of print]
 3. 内田恵理子,内藤幹彦. 遺伝子治療. **臨床薬学テキストシリーズ バイオ医薬品と再生医療**, 2016, 120-133.
 4. 山口照英, 内田恵理子. 遺伝子治療の審査体制と海外動向. **遺伝子医学 MOOK 30**, 2016, 288-296 .
 5. 山口照英, 内田恵理子: 遺伝子治療関連法規、“細胞治療認定管理師制度指定カリキュラム”, 細胞治療認定管理師制度審議会カリキュラム委員会編, 日本輸血・細胞治療学会,2016, 28-38.
- (2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表
 1. 遺伝子治療等臨床研究に関する指針について、口頭、内田恵理子, 第2回日本遺伝子細胞治療学会遺伝子治療臨床試験トレーニングコース, 2016/7/27, 国内.
 2. ドロップレットデジタル PCR(ddPCR)を用いたアデノ随伴ウイルスベクターの含量及び品質評価, ポスター, 古田美玲、山口照英、内藤幹彦、内田恵理子, 日本薬学会第 137 年会, 2017/3/25, 国内.
- (3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み
 1. 遺伝子治療概論－遺伝子治療用製品開発の現状と展望、内田恵理子、横浜市立大学大学院, 2016/11/28、国内
 2. ゲノム編集と遺伝子治療、内田恵理子、横浜市立大学大学院、2016/11/28、国内
 3. 遺伝子治療用製品の開発における国内と海外の規制動向－5年間の進展－、内田恵理子、ヒューマンサイエンス振興財団規制動向調査班勉強会、2016/6/16、国内
 4. 遺伝子治療について、内田恵理子、大阪大学第二特定認定再生医療等委員会、2016/5/13、国内
- (4) 特許出願
該当なし

平成 28 年度医療研究開発推進事業費補助金 (医薬品等規制調和・評価研究事業) 成果報告書

I. 基本情報

事業名： (日本語) 医薬品等規制調和・評価研究事業
(英語) Research on Regulatory Science of Pharmaceuticals and Medical Devices

補助事業課題名： (日本語) 核酸・遺伝子を用いた医薬品、ナノテクノロジーを応用した DDS 製剤等の品質及び安全性評価に関する研究
(英語) Studies on evaluation of quality and safety of oligonucleotide therapeutics, gene therapy products, and nanotechnology-based DDS formulations

補助事業担当者 (日本語) 国立医薬品食品衛生研究所 室長 加藤くみ子

所属 役職 氏名： (英語) Kumiko Sakai-Kato, Section Head, National Institute of Health Sciences

実施期間： 平成 28 年 4 月 1 日 ～ 平成 29 年 3 月 31 日

分担研究 (日本語) ナノテクノロジー応用 DDS 製剤の品質及び安全性評価に関する研究
分担課題名： (英語) Studies on evaluation of quality and safety of nanotechnology-based DDS formulations

補助事業分担者 (日本語) 国立医薬品食品衛生研究所 室長 加藤くみ子

所属 役職 氏名： (英語) Kumiko Sakai-Kato, Head, National Institute of Health Sciences

II. 成果の概要（総括研究報告）

・ 補助事業代表者による報告の場合

・ 補助事業分担者による報告の場合

補助事業代表者：国立医薬品食品衛生研究所 副所長 奥田晴宏
総括研究報告を参照。

III. 成果の外部への発表

（1）学会誌・雑誌等における論文一覧（国内誌 1 件、国際誌 1 件）

1. Kozaki, M., Kobayashi, S., Goda, Y., Okuda, H., Sakai-Kato, K. Evaluating the properties of poly(lactic-co-glycolic acid) nanoparticle formulations encapsulating a hydrophobic drug by using the Quality by Design approach. Chem. Pharm. Bull. 2017, 65, 218–228.
2. 加藤くみ子, 石原比呂之, 友田寛, 松田嘉弘, 永井尚美, 花田博幸, 久田茂, 小野寺博志, 西山伸宏, 原島秀吉, 松村保広, 片岡一則, 合田幸広, 奥田晴宏, 川西徹. リポソーム製剤の特性と評価. 医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス 2016, 47(5) 333-341.

（2）学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. ナノテクノロジー応用医薬品の分類とサイズ・形態解析法に関する研究, ポスター, 加藤くみ子, 南條邦江, 原矢佑樹, 合田幸広, 奥田晴宏, 日本薬学会第 137 年会, 2017/3/26, 国内.
2. 核酸医薬の送達技術に関連したガイドライン等の概要, 口頭（講演）, 加藤くみ子, 核酸医薬学会, 2016/11/16, 国内.
3. Japanese Regulatory Science and Standards Perspective on Nanotechnology, 口頭（講演）, Kumiko Sakai-Kato Global Summit on Regulatory Science (GSRS16), 2016/9/7, 国外.
4. The Japanese liposome guideline and related regulatory science activities, 口頭（講演）, Kumiko Sakai-Kato Global Summit on Regulatory Science (GSRS16), 2016/9/8, 国外.
5. リポソーム製剤ガイドライン案の作成, 口頭（講演）, 加藤くみ子, 第 32 回日本 DDS 学会 学術集会 2017/7/1, 国内.
6. Regulatory science research on nanomedicines in Japan, 口頭（講演）, Kumiko Sakai-Kato, The European Summit for clinical nanomedicines 2016, 2016/ 6/28, 国外

（3）「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

1. ナノ医薬品（ナノメディシン）に関する参考情報
http://www.nihs.go.jp/drug/section4/nanomedicine_j/nano_j.html

（4）特許出願 該当なし