

平成 28 年度 委託研究開発成果報告書

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

研究開発課題名 : (日本語) 遺伝子治療におけるカルタヘナ法の第一種使用規程の考え方に関する研究
(英語) Study on the point of view about regulations on Type I Use of Living Modified Organisms in the Cartagena Law applicable for gene therapy clinical trials in Japan

研究開発担当者 (日本語) 国立成育医療研究センター 研究所 成育遺伝研究部 部長 小野寺 雅史
所属 役職 氏名 : (英語) Masafumi Onodera, Head of Department of Human Genetics,
National Center for Child Health and Development

実施期間 : 平成 28 年 6 月 15 日 ~ 平成 29 年 3 月 31 日

分担研究 (日本語) 海外規制動向調査、レンチウイルスの体外排出プロファイルの評価
開発課題名 : (英語) Research on foreign regulations of environmental effects of viral shedding and evaluation of the viral shedding profiling of lentivirus

研究開発分担者 (日本語) 国立成育医療研究センター 研究所 成育遺伝研究部 部長 小野寺 雅史
所属 役職 氏名 : (英語) Masafumi Onodera, Head of Department of Human Genetics,
National Center for Child Health and Development

分担研究 (日本語) 海外規制動向調査、ウイルス排出の NAT 試験の標準化
開発課題名 : (英語) Research on foreign regulations of environmental effects of viral shedding and standardization of NAT tests for viral shedding

研究開発分担者 (日本語) 日本薬科大学 客員教授 山口照英
所属 役職 氏名 : (英語) Teruhide Yamaguchi, Visiting Professor of Nihon Pharmaceutical University.

分担研究 (日本語) 海外規制動向調査、AAV の体外排出プロファイルの評価
開発課題名 : (英語) Research on foreign regulations of environmental effects of viral shedding and evaluation of the viral shedding profiling of AAV

研究開発分担者 (日本語) 日本医科大学 大学院医学研究科 分子遺伝医学分野 大学院教授 岡田尚巳
所属 役職 氏名 : (英語) Takashi Okada, Professor of Department of Biochemistry and Molecular

II. 成果の概要（総括研究報告）

（和文）

1. 体液中の残存する遺伝子組換えウイルスの測定法について

現在、臨床試験で使用されている複数のウイルスベクターに関して体内分布や体液への排出量をモニタリングし、その排出量での感染性の有無を感受性の高い細胞株を用いて検証することで、排出シグナルと感染性の相関を明らかにする。

- ・ タカラバイオ社に臨床用ベクターに準じたウイルスベクターの製造を依頼し、5種類ベクター（レンチウイルス、アデノ随伴ウイルス2型、8型、9型、アデノウイルス）を入手した。
- ・ これらウイルスベクターを高感度で検出できる real-time PCR の測定系を樹立している。

2. 海外での遺伝子治療に関する情報の入手について

遺伝子治療が先行する欧米の規制当局や臨床用ウイルスベクターの開発者等と対面的な情報交換を行い、海外での拡散防止措置や患者管理等を調査する。

- ・ 海外での遺伝子治療のウイルス排出の規制についての現状を確認するため平成28年12月に分担研究者の山口が米国FDAを訪問し、FDA Office of Cellular and Gene Therapyの環境影響評価、CMC、非臨床の担当者と面会し、米国における治験申請時や承認時、さらには承認後における遺伝子治療用ウイルスベクターやウイルス体外排出や環境影響に関する規制の情報を入手した。

3. ガイダンスの策定

日本遺伝子細胞治療学会関係者や規制当局と検討会を開催し、本研究で得られた実験データや海外調査結果を基にしたカルタヘナ規制運用の在り方ならびにガイダンスの策定に関する話し合いを持ち、最終的には遺伝子組換えウイルスの第一種使用に関する適切な患者管理法の作成を検討する。

- ・ レンチウイルスベクターやアデノ随伴ウイルスに関するカルタヘナ第一種使用規程申請に関する申請書記載ガイダンスを作成した。
- ・ 平成29年1月18日に東京慈恵会医科大学において厚生労働省や医薬品医療機器総合機関の関係者を含めた班会議を公開シンポジウムのかたちで開催し、国内の遺伝子治療実施者による我が国のカルタヘナ規制に関する問題点の共有化を図った。なお、当シンポジウムはアカデミアや企業関係者等が約100名程度参加し、積極的な意見交換がなされた。

（英文）

1. Measurement of residual genetically modified viruses in body fluids

We monitor the bio-distribution of several viruses often used in current clinical trials and measure the quantity of them remaining in each body fluid. Besides, we also evaluate the degree of infectivity of them in a dose-escalation manner using cell lines with high susceptibility and finally elucidate the correlation between the viruses egesting from a patient's body and their infectivity. To addresses these issues,

- ・ we asked Takara-Bio Inc. to produce five vectors derived from lentivirus, adeno associated virus type II, VIII, IX, and adenovirus, the quality of which was comparable to that of clinical vectors and obtained them by January, 2017.
- ・ we prepared to establish a highly sensitive detection system for the viruses using real-time PCR.

2. Available information about gene therapy clinical trials abroad

We procure information on measurements for non-egestion of viral vectors and isolation of patients through the discussion with regulatory authorities and developers of clinical vectors in US and EU where gene therapy is advanced. To addresses these issues,

- Dr. Yamaguchi discussed with staffs at FDA on December, 2016 and obtained information about the regulation of evaluation of viral-shedding and its environmental effects in US.

3. Available information about gene therapy clinical trials abroad

We hold meetings with staff of the Japanese Society of Gene and Cell therapy and Japanese regulatory authority and discuss the point of view about regulations on Type I Use of Living Modified Organisms in the Cartagena Law applicable for gene therapy clinical trials in Japan and finally compile a basic plan to put the regulations into practice. To addresses these issues,

- we made writing manuals for the application form about Type I Use of Living Modified Organisms of lentiviral and AAV vectors.
- we held a public symposium as a meeting with person involved at the Jikei University of Medicine on January 18, 2017 and shared problem consciousness against the Law with those present there. Almost 100 people from academia and private companies participated with the meeting and exchanged their opinions actively.

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 10 件）

[英文]

- 1) Naiki Y, Miyado M, Horikawa R, Katsumata N, Onodera M, Pang S, Ogata T, Fukami M. Extra-adrenal induction of Cyp21a1 ameliorates systemic steroid metabolism in a mouse model of congenital adrenal hyperplasia. *Endocr J* 63: 897-904, 2016.
- 2) Nagaya M, Watanabe M, Kobayashi M, Nakano K, Arai Y, Asano Y, Takeishi T, Umeki I, Fukuda T, Yashima S, Takayanagi S, Watanabe N, Onodera M, Matsunari H, Umeyama K, Nagashima H. A transgenic-cloned pig model expressing non-fluorescent modified Plum. *J Reprod Dev* 62: 511-520, 2016.
- 3) Kawano Y, Nakae J, Watanabe N, Kikuchi T, Tateya S, Tamori Y, Kaneko M, Abe T, Onodera M, Itoh H. Colonic Pro-inflammatory Macrophages Cause Insulin Resistance in an Intestinal Ccl2/Ccr2-Dependent Manner. *Cell Metab* 24: 295-310, 2016.
- 4) Ichida Y, Utsunomiya Y, Onodera M: Effect of the linkers between the zinc fingers in zinc finger protein 809 on gene silencing and nuclear localization. *BBRC* 471: 533-538, 2016.
- 5) Obayashi N, Arai K, Nakano N, Mizukami T, Kawai T, Yamamoto S, Shimizu H, Nunoi H, Shimizu T, Tang J, Onodera M: Leopard skin-like colonic mucosa: A novel endoscopic finding of chronic granulomatous disease-associated colitis. *J. Pediatr Gastroenterol Nutr* 62: 56-59, 2016.
- 6) Ichida Y, Utsunomiya Y, Onodera M: The third to fifth zinc fingers play an essential role in the binding of ZFP809 to the MLV-derived PBS. *BBRC* 469: 490-494, 2016.
- 7) Tomono T, Hirai Y, Okada H, Adachi K, Ishii A, Shimada T, Onodera M, Tamaoka A, Okada T: Ultracentrifugation-free chromatography-mediated large-scale purification of recombinant adeno-associated virus serotype 1 (rAAV1). *Mol Ther Methods Clin Dev* 3: 15058, 2016.
- 8) Miyoshi S, Tezuka T, Arimura S, Tomono T, Okada T, *Yamanashi Y. *DOK7* gene therapy enhances

motor activity and life span in ALS model mice. *EMBO Molecular Medicine*. 2017, in press.

- 9) Takahashi K, Igarashi T, *Miyake K, Kobayashi M, Yaguchi C, Iijima O, Yamazaki Y, Katakai Y, Miyake N, Kameya S, Shimada T, Takahashi H, Okada T. Improved Intravitreal AAV-Mediated Inner Retinal Gene Transduction after Surgical Internal Limiting Membrane Peeling in Cynomolgus Monkeys. *Mol Ther*. 2017, 4, 296-302.
- 10) Nakamura-Takahashi A, Miyake K, Watanabe A, Hirai Y, Iijima O, Miyake N, Adachi K, Nitahara-Kasahara Y, Kinoshita H, Noguchi T, Abe S, Narisawa S, Millan JL, Shimada T, *Okada T. Treatment of hypophosphatasia by muscle-directed expression of bone-targeted alkaline phosphatase via self-complementary AAV8 vector. *Mol. Ther. Methods Clin. Dev*. 2016, 3, 15059.

[和文]

- 1) 小野寺雅史 我が国の遺伝子治療実施に関する現状 Pharmstage 15: 29-35, 2016.
- 2) 小野寺雅史 遺伝性疾患に対する遺伝子治療 BioIndustry 32: 41-48, 2015.
- 3) 小野寺雅史 IPEX 症候群 小児科診療 79 suppl 205, 2016
- 4) 小野寺雅史 慢性肉芽腫症 遺伝子医学 MOOK30 141-145, 2016

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

- 1) Influence of virus production methods on genotoxic potential of gene transfer vectors. 口頭第 21 回日本遺伝子治療学会,大阪 Takahashi S, Uchiyama T, Onodera M. 2016/5/25 国内.
- 2) Duchenne 型筋ジストロフィーの遺伝子細胞治療, 口頭, 岡田尚巳, 第 2 回日本筋学会シンポジウム, 2016/08/06, 国内.
- 3) Attractive characteristics of scAAV vectors and improved methods for efficient production, 口頭, Okada T, The 22nd Annual Meeting of Japan Society of Gene and Cell Therapy (Technical- Seminar), 2016/7/29, 国内.
- 4) AAV vector transduction strategy with MSCs-mediated immune-modulation to ameliorate neuromuscular disorders, 口頭, Okada T, The 29th Annual and International Meeting of the JAACT, Symposium (Gene therapy and cell therapy), 2016/11/12, 国内.
- 5) AAV ベクターを用いた遺伝子治療の現状と課題, 口頭, 岡田尚巳, 第 1 回 日本遺伝子細胞治療学会 若手研究会セミナー, 2016/12/9, 国内.

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

- 1) 原発性免疫不全症の対する遺伝子治療について, 小野寺雅史, 一般公開フォーラム, 2017/1/18 東京
- 2) 遺伝子導入用ウイルスベクター開発の現状と今後の展望, 岡田尚巳, ヒューマンサイエンス振興財団 規制動向調査班, 2016/9/15, 国内.

(4) 特許出願

特になし

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) 遺伝子治療におけるカルタヘナ法の第一種使用規程の考え方に関する研究
(英語) Study on the point of view about regulations on Type I Use of Living Modified Organisms in the Cartagena Law applicable for gene therapy clinical trials in Japan

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 6月15日 ～ 平成29年 3月31日

分担研究 (日本語) ウイルスベクターの感染性評価、海外規制動向調査
分担課題名：(英語) Study on infectivity assessment of viral vectors and international regulatory trends for viral shedding and environmental risk assessment

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： 国立成育医療研究センター研究所・成育遺伝研究部・小野寺雅史 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 3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: 10.2174/1568009617666170222142650 [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.

- 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.

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

- 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.
- 検討会開催の経緯、口頭、内田恵理子、カルタヘナ法に基づく運用の在り方に関する検討会公開フォーラム、2017/1/18, 国内.
- 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

- 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
- 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
- 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
- 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