

国立成育医療研究センター
遺伝子細胞治療推進センター 2周年記念シンポジウム
Q&A

シンポジウム内で頂きました質問に対してご登壇頂いた先生方から回答を頂きました。下記に掲載しておりますので、ご参照ください。

(質問) ゲノム挿入の解析に関して標準的な解析法は何か。また、**oncogene** への影響を評価する場合、こういった遺伝子を見る必要があるか。

(回答) これまでは LM-PCR (ligation-mediated PCR) や LAM-PCR (linear-amplification-mediated PCR) が行われ、LAM-PCR 法ではベクター配列を標的としたプライマーにて一本鎖を伸長し、片方の断片に一本鎖のアダプターをライゲーションして PCR にて増幅、その後に増幅フラグメントを解析することで挿入部位を同定する。なお、これら方法は使用する制限酵素依存的であり、そのため物理的破砕後にフラグメントを **bait** にて回収し、次世代シーケンサーにて解析する方法がある。挿入部位近傍のがん関連遺伝子解析は米国 NCBI OMIM (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/omim>) での家族性腫瘍原因遺伝子解析や英国サンガーセンター COSMIC (<http://cancer.sanger.ac.uk/census>) + 国立がん研究センター 柴田龍弘氏が挙げた Shibata List を参考にすることができる。

(質問) AAV に対する自然免疫反応は発現タンパク質に対する反応ではなく高用量投与したウイルス粒子やウイルスゲノム遺伝子に対する反応であると考え。高用量投与するような AAV 治療薬であれば必ずケアする必要があると考えるか。

(回答) AAV ベクターに対する免疫反応は投与直後に起こる自然免疫反応と投与後数ヶ月内に発症する獲得免疫反応があるが、AAV ベクターでの導入遺伝子発現に数日かかることを考えると初期反応はウイルスベクター (DNA 核酸/タンパク) そのものによると思われる。また、その反応は投与部位、投与量、さらには使用したベクター純度に関与すると思われ、その意味で大量ベクターの静脈内投与は血管内皮を含めた各臓器に最も影響を与える。一方、たとえ低用量であっても静脈投与による全身暴露や純度の低いベクター使用であれば自然免疫は一定範囲で活性化するため治療後のケアはいずれにおいても必要となる。

(質問) AAV の分布組織のベクター挿入解析について、異なる血清型のベクターや改変ベクターを用いる場合、非臨床試験でどのような評価が求められると考えるか。

(回答) 異なる血清型を用いた場合、感染組織・細胞種が異なるため感染効率 (遺伝子導入効率) を含めた生体内分布 (bio-distribution) の評価が必要となる。また、組織・細胞特異性を発揮するため改変ベクターにて異なる promoter/enhancer を用いた場合は目的とする組織・細胞種での発現 (on target) と目的としない組織・細胞種での発現 (off target) を評価し、同時に in vivo 試験においてその発現期間を評価することが重要である。

(質問) 運搬中の温度管理はどのように実施したか。

(回答) 温度ロガーを搬送用バッグに梱包し、同一搬送工程での温度変化を確認した。

(質問) 日本と海外で実施条件の違いはあるか。

(回答) 詳細は不明であるが、記録用紙等の英語表記への対応に苦慮した。

(質問) 製剤の投与速度はどのように決定したか。

(回答) リツキシマブの infusion reaction の対応を参考に治験担当医師と GCP センターとで決定した。方法は、プライミングとして使用したチューブ内生理食塩水を全量患者に投与し、その後治験製品を数分間かけて患者反応を確認しながら投与し、その後、徐々に速度を上げた。

(質問) 治験資材は最低限の搬入とは、患者登録が決まってから各資材が搬入されたのか。それとも最低限の数があらかじめ搬入されたのか。

(回答) 被験者の体重に合わせた量の治験製品の搬入であったため、被験者登録後にその被験者分として搬入した。

(質問) 85%の人が持っているアデノ随伴ウイルスに対する抗体がない人が対象とのことだが、それがネックでエントリーできないということはなかったのか。

(回答) 今回の患者において使用した AAV ベクター (8 型) 抗体が陰性にて登録が完了した。なお、85%のヒトが持つ抗体は 2 型 AAV であり、今回の血清型とは異なる。

(質問) 排泄後に衣服は交換したか。

(回答) その都度の交換はしていない。

(質問) 排泄時の飛沫発生に対する管理はどのように実施したか。

(回答) 具体的な措置は実施していない。なお、当該患者は成人であったため排泄時の飛沫には予め注意をお願いした。

(質問) 小児治療の場合、どの程度までの採血量が許容範囲と考えるか。

(回答) 必要最小限が望ましいが、ケースバイケースであり、一概に回答できない。

(質問) 自宅での行動制限 (風呂, 洗濯等) は投与後いつまで実施したか。また、解除の目安はどのように決めたか。

(回答) ウイルスベクター排出が確認されている期間。なお、解除の目途は治験企業の指示による。

(質問) 治験依頼者からは施設マニュアル、患者マニュアルなどに関してどの程度具体的な資料が提供されたか。また、足りないと感じた資料などはあったか。

(回答) 試験として決められた手順を記載したマニュアルは提供された。一方、施設の運用（ベクター調製場所や投与場所）による修正が必要となり、当施設用のマニュアルを作成した。被験者への説明資料は、日常生活の具体的な記載が不足していたため、当施設で追加版を作成した。

(質問) 関連部署への周知を必要最低限とするには、どのような対策が考えられるでしょうか。また、モックはどの段階をもって問題ない（実際の治験に進んでよい）と判断したか。

(回答) 当センターでは以下の対策を講じた

- ・ センター内メーリングリスト作成
- ・ 資料（フローチャート、手順書以外にもチェックリストや動画資料など）

医療機関に求められる要件が必須事項か推奨事項かにもよるが、実施したモック記録から製品要件や規定手順に重大な逸脱がないと判断するまで実施した。一方、各工程における手順が明確に決められない場合は関係者内で共有し、受け容れ可能な対応について検討した。

(質問) 現時点でもっとも開発の見込みのある遺伝性疾患は何か。

(回答) 「次期開発戦略に向けた市販後患者フォローアップの体制構築」（小野寺スライド）を参照。

(質問) ズルゲンスマの投与が決まってから院内での話し合いやマニュアル作成を行ったか。あるいは以前よりウイルスベクター治療を見据えた院内対応を準備されていたか。

(回答) 前例として血友病治験を実施していたため患者決定前にズルゲンスマ投与に対する一般的な対応を検討していた。なお、候補患者決定にてより詳細な実務的対応を関係者内の協議にて準備した。

(質問) マニュアルを作成した経験を踏まえ、どこまでの感染対策を治験実施者から指定するべきと考えるか。

(回答) 通常、医療機関は感染ウイルスの種類に応じて一連の院内感染対策（PPEならびに陰圧管理を含む個室管理）を執っている。よって、今回の遺伝子組換え AAV ベクターにおいてはアデノウイルス感染症と同等の感染対策を選択した。つまり、治験実施者は使用する遺伝子組換えウイルスベクターと同様の感染性ウイルスの指定あるいは一連の院内感染対策を指定することが望ましい。ただ、これは極めて困難にて case by case でその対応を決定するしかないと思われる。

(質問) AAV9 抗体の測定に関して各医療機関で測定法は統一されているか。

(回答) ない。企業が委託している検査会社に依頼して測定する。

(質問) 投与液の調製自体に、手技的な困難さはあったか（訓練が必要、等）。

(回答) 作業自体に困難さはないが、漏洩に注意が必要であり、予めの作業確認は必要と思われる。

(質問) コロナウイルス感染対策の解除後に院内運用基準の見直しは必要と考えるか。

(回答) 必要と考える。

(質問) FVIII 遺伝子治療後、長期間にわたりベクターの体外排出が起こる理由は何か。

(回答) FVIII のみならず、ある一定量の遺伝子組換え AAV ベクターを静脈内に投与することで全身臓器への分布があり、排泄物（糞便）を含めた長期にわたる体外排出が数ヶ月にわたり起こる。なお、局所への投与（脳内や腫瘍内）ではその期間は短縮される。

(質問) AAV 抗体を保有していると効果が得られないとのことだが、これは遺伝子治療にとって現状どれくらいの弊害が想定されるか。

(回答) 基本的に抗体が存在するとウイルス不活化が起こり、感染能が低下するため既存抗体に対しては血漿交換や B 細胞除去などが検討はされているが、2 型 AAV をカプシドに持つベクターではかなりの患者がその対象とはならない。なお、局所（眼底や脳実質）では影響は少なく、現在でも 2 型でのベクター開発がされている。

(質問) 血友病の遺伝子治療に特有のご苦労や課題はあるか。

(回答) 致命的な疾患ではないため、希望者が必ずしも多くない。

(質問) AAV 抗体保有者にも治療できるような取り組みをしているか（血清交換や抗体の一時的ノックダウンなど）。

(回答) 血漿交換やリツキシマブ治療が試みられているが、現時点の治験では、抗 AAV 抗体陰性が選択基準となっている。

(質問) CReARID ではどのような啓もう活動が行われているか。

(回答) 特に行ってはいない。基本的にはいわゆる口コミ・評判での周知。

(質問) 遺伝性疾患は、今後出生前の遺伝子検査などで診断される可能性などは広がってきているか。

(回答) NIPT であれば、急速に対象疾患が拡大することはないと思う。

(質問) MPSII に関しては、中枢移行性のイズカーゴでも中枢症状に対応できるようになってくるのではないかとと思われるが、それ以上に遺伝子治療の必要性はあると考えるか。

(回答) イズカーゴが中枢神経症状にどの程度有効かは現時点では不明であり、投与回数を考慮すると遺伝子治療の方が優位と思われる。

(質問) オプショナルスクリーニングにゲノム解析などが追加される計画はあるか。
原因遺伝子が判明しているもののパネル検査など、治療法が存在しないものでも対象としていく計画などはあるか。

(回答) オプショナルスクリーニングをゲノム解析に利用することは可能であるが、全ての患者を同定できるかは不明。有望な治療法が開発される可能性や治験があればその疾患に対するスクリーニングは実施したと思うが、適切なインフォームドコンセントのプロセスは必要。

(質問) 今後、オプショナルスクリーニングは全国的に普及していくか。

(回答) すでに全国的に普及してきている。

(質問) オプショナルスクリーニングについて、今後、筋ジストロフィーなどの対象疾患の広がりは予定しているか。

(回答) スクリーニング法の開発状況次第で検討していく。

(質問) スクリーニング検査をする前に遺伝カウンセリングを必須にすることは必要と考えるか。

(回答) スクリーニングは診断ではないので遺伝カウンセリングは不要。ただし、発症前診断となるので診断時の遺伝カウンセリングは必要。

(質問) 妊娠中絶は母体への負荷が大きいため、出生前検査ではなく PGT-A を実施することはどうか。

(回答) PGT-A (preimplantation genetic testing for aneuploidy) はすべての疾患に適用されてはおらず、また、本スクリーニングは治療法が存在する疾患を対象としており妊娠中絶を目的としていない。

(質問) 乳児、幼児でもオプショナルスクリーニングは有効か。

(回答) 可能である。

(質問) アンジェスの出資は成育医療センターの検査室に対してか。また、広げるために無償で行っている地域もありますが、どのように考えるか。

(回答) アンジェスは独自に衛生検査所を設立し、オプショナルスクリーニングを実施している。なお、スクリーニングを無償で行うことには個人的には反対である。

(質問) 海外なら遺伝子治療ができる疾患が見つかった場合どう対応するか。

(回答) 日本でできる治療を優先するが、疾患においては海外での遺伝子治療法の選択肢も検討する。

(質問) 製品によって求められている製販後調査の内容が異なっているが、どの調査を実施する必要があるか、また、どのように決定されるか。

(回答) 最終的には PMDA との話し合いにより決定されるが、基本的には治験を含む開発段階での「いまだ不足している情報」を基に決定される。一方、遺伝子治療用製品を含む再生医療等製品は全例使用成績調査が必要である。また、「使用成績比較調査」に関しては治験において「対照群の設定がない」あるいは「対照群が少ない場合」に市販後に必要な対照群の設定あるいは historical control が要求され、市販後臨床試験は適応拡大を目指した場合に設定される。なお、その計画内容は各製品に特性によると思われ、詳細は PMDA に相談。

(質問) 制限増殖型アデノウイルスを使用した製品で治療後のフォローアップにおいて、投与後、患者から体外排出されたウイルスに対する対応はどのようにすればよいか。PCR 陽性でも感染性が否定された場合はどうか。

(回答) 制限増殖型アデノウイルスを含む腫瘍溶解性ウイルスの場合は大半が腫瘍等への局所投与になり全身への影響は少ない。その意味で、静脈注射等による全身投与のような多くの体液でもモニタリングは不要と考える。次に、カルタヘナ法第一種使用規程はあくまでも感染性ウイルス（環境への影響）に対するものなので PCR が陽性でも感染性が否定された場合は不活化を含む体液処理やモニタリングは不要。一方、たとえ感染性ウイルスが排出されたとしても環境（第三者）への影響が極めて低いと考えられる場合は治験等の排出試験結果をもって不活化・モニタリングが不要になる場合がある。

(質問) 必ずしも致死性が高くなくても、遺伝子治療は受け入れられるか。

(回答) 現行の遺伝子治療研究指針では、

1. 重篤な遺伝性疾患、がん、後天性免疫不全症候群、その他の生命を脅かす疾患又は身体の機能を著しく損なう疾患であること。
2. 遺伝子治療臨床研究による治療効果が、現在可能な他の方法と比較して優れていることが十分に予想されるものであること。

とあり、必ずしも致死性には限定されない。

(質問) NRMD の利活用に関してどのように考えるか。

(回答) これに関しては使用している企業に確認して欲しい。

以上