

## in vivo 遺伝子治療の規制構築に向けた研究班中間報告書

### 1. 序論

遺伝子工学的改変を行ったウイルス等を直接体内に投与する in vivo 遺伝子治療は、臨床研究として行う場合は臨床研究法及び遺伝子治療等臨床研究に関する指針の対象となっているが、診療として行われる場合には特段の規制がかかっている。一方、遺伝子工学的改変を行った細胞を体内に投与する ex vivo 遺伝子治療については、再生医療等安全性確保法が細胞加工物を用いる医療技術を規制の対象としているため、臨床研究、診療のいずれの場合においても同法による規制がかかっている。

こうした中で、平成30年度に実施した調査事業において、インターネットの公開情報だけでも70の医療機関が in vivo 遺伝子治療の提供を既に自由診療として実施していたことが明らかになり、in vivo 遺伝子治療の臨床応用が進んできていることがわかっている。in vivo 遺伝子治療は、ex vivo 遺伝子治療と同様に、安全面や倫理面の課題、後世代への遺伝的影響、治療に用いるウイルス等による生物多様性への影響等の課題があると考えられており、昨年7月から厚生科学審議会再生医療等評価部会において行われている再生医療等の安全性の確保等に関する法律（平成25年法律第85号。以下「再生医療等安全性確保法」）の施行後5年の見直しの議論では、in vivo 遺伝子治療を安全に提供しながら開発・普及を推進していくためにも、診療も含めた何らかの法的枠組みを可及的速やかに設ける方向で検討すべきとの提言が同年12月25日にとりまとめられている。

本研究班では、このような in vivo 遺伝子治療の規制構築に向けてその想定されるリスクを明らかにするとともに、そのリスクを低減するためにどのような対策が必要かを明らかにし、その対策に合致した規制構築に向けたあり方を提言することを目的としている。具体的な方法としては、再生医療等安全性確保法において、ex vivo 遺伝子治療と合わせて in vivo 遺伝子治療も対象とすることについても意見が出されているが、in vivo 遺伝子治療は細胞加工物を用いる医療技術ではないため、同法の枠組みを単純に活用することは困難である。そのため、まずは in vivo 遺伝子治療の規制を検討する上で必要となる、対象とする技術の範囲、当該医療の提供にあたって求められる手続、使用するウイルスベクター等の安全性確保対策等の具体的な内容について、遺伝子治療の専門的な見地を踏まえた調査を行い、診療として行われる場合を含め、その規制の在り方に関して検討した。

再生医療等安全性確保法のように、法の対象として一定の医療技術を定め、診療も含めて規制をかける手法は他に類を見ない。同法では、安全面や倫理面での課題があること、用いられる細胞の人体へ及ぼす影響について未知な部分があること、細胞を介してウイルス等が伝搬するリスクがあること等を再生医療等の特徴的な要素として捉え、法の対象としている。in vivo 遺伝子治療についても、再生医療等と同様の課題に加え、遺伝子改変による後世代への遺伝的影響は未知であることなどを踏まえると、同じように法規制をとっていくことが適切と考えられる。

本研究班では、in vivo 遺伝子治療の規制の枠組みを検討するに当たって、まずは対象とする技術の範囲、当該医療の提供にあたって求められる手続、使用するウイルスベクター等の安全性確保対策等の具体的な内容について、遺伝子治療の専門的な見地を踏まえた調査を行い、in vivo 遺伝子治療の臨床適用におけるリスクを鑑みた上で、どのような規制を敷いていく必要があるのかを検討した。

### 2. 遺伝子治療を法で規制する場合の対象範囲について

#### (1) 検討の大枠

in vivo 遺伝子治療技術としてどのようなリスクが存在するかを整理するために、ex vivo 遺伝子治療やそれ以外の第 1 種再生医療に該当する特定細胞加工物を対象として、安全性確保や研究・医療提供における妥当性を含めてリスクの比較を行った。さらに安全性確保のために取られている対応についても比較検討を行うことにより、どのような制度設計を策定すればその安全性を確保しつつこのような先端技術の開発を促進していけるのかを議論した。また安全性確保においては、近年開発が進むゲノム編集技術の取扱いについても検討を行った。特にゲノム編集では従来の遺伝子治療で用いられるウイルスベクターやプラスミドでゲノム編集酵素を発現するのみならず mRNA での発現やゲノム編集酵素タンパク質そのものを in vivo、ex vivo での遺伝子改変に用いるということも行われており、このような新たなモダリティーに伴う安全性の考慮事項についても検討を進めた。なお、mRNA での発現やゲノム編集酵素タンパク質そのものを遺伝子改変に使用するゲノム編集技術によって、ウイルスベクターなどの従来技術によるリスクを回避できるという側面も指摘されている

## (2) 具体的検討

in vivo 遺伝子治療および ex vivo 遺伝子治療において規制すべき範囲について検討を行った。特にゲノム編集では多様なモダリティーが用いられるのと同時に、ゲノム編集の技術が遺伝子改変だけでなく遺伝子発現制御にまで及ぶために、その検討すべき範囲については、現時点では未だ技術的に想定されるのみの範囲のものであっても技術開発が急速に進んでいることを考慮し、その進歩を先取りするように技術範囲を大きく包含することとした。

表 1 に示すように従来のウイルスベクターやプラスミドを用いるモダリティーとタンパク質や mRNA を利用した遺伝子改変技術を縦糸として、どのような改変を行うかを横糸とした分類をし、検討を行った。その結果、従来の遺伝子導入技術に加え、ゲノム編集による遺伝子改変技術も評価すべき対象とすることについては目的外の遺伝子改変リスクやそれによるがん化リスク、さらにはゲノム編集酵素等の免疫原性のリスクが存在するという理由で異論のないところであった。この様な技術には目的遺伝子の DNA メチル化や脱メチル化などによるエピジェネティック改変も含まれている。一方、DNA の改変ではなく目的 DNA の周辺のヒストンをアセチル化、あるいはメチル化することにより目的遺伝子の発現を誘導したり阻害したりする技術については、改正された遺伝子治療等臨床研究に関する指針（「遺伝子治療臨床研究指針の全部改正」厚生労働省告示。以下「遺伝子治療臨床研究指針」という。）でも明確に定義に含まれていない。ただし、ゲノム編集の技術革新は急速に進歩する可能性があることから、仮に法的に規制するのであれば、その範囲として大きく網をかけておく必要があるという意見も出された。一方、siRNA、miRNA、アンチセンス核酸などのオリゴ核酸による遺伝子発現制御については、これらの技術からのタンパク等の遺伝子発現が行われないこと、さらに「医薬品、医療機器等の品質、有効性及び安全性の確保等に関する法律」（平成 26 年法律第 84 号。以下「薬機法」という。）上の再生医療等製品が遺伝

子改変とは明確に区別されてきていることから、このようなオリゴ核酸についてはその対象から外すべきとされた。ただ、これらのオリゴ核酸がウイルスベクター等で細胞等に導入された結果、発現する場合には、従来通り遺伝子導入技術と考えるべきとされた。

また、mRNA を改変する RNA 編集技術についても遺伝子治療臨床研究指針では明確に定義されていないが、これらの技術要件についても技術革新の急展開を見据えた法的な規制の必要性について検討が必要とされた。その一方で、mRNA を用いた目的タンパク質発現技術は感染防御ワクチンやがんワクチン等で臨床利用がすでに始まっているが、遺伝子治療臨床研究指針ではゲノム編集以外のこのような mRNA によるタンパク質発現は遺伝子治療の定義に含まれていない。このような mRNA の適用は、ベクターを用いた遺伝子発現と異なり、染色体の改変が惹起されることはなく、また mRNA は比較的不安定でそのタンパク質の発現は一過性のためリスクは比較的低いと想定されているからにはほかならない。一方で、薬機法では mRNA によるタンパク質発現は遺伝子治療用製品等とされていることから、新たな法律の範囲内に含める必要があるのかどうかについて、想定されるリスクを基に整理しておくことが望ましいとされた。

さらに、今般、アルファウイルスの RNA 増幅機構を利用した、細胞内で増幅可能な mRNA 製品がワクチンとして開発されている。この技術は非常に少量の mRNA の投与によって目的タンパク質を大量に発現できるシステムとして利用されているが、このようなアルファウイルス等の細胞内での RNA 増幅システムを用いる場合には、RNA センサー活性化による免疫系の賦活化が起きることが知られており、免疫誘導系としての有用性がある一方で、過剰な免疫毒性が惹起される可能性がある。このために、自己増殖性 mRNA についてはそのリスクから遺伝子治療と同様の配慮が必要ではないかとの意見があった。

遺伝子改変されていない腫瘍溶解性ウイルスについては遺伝子治療臨床研究指針では遺伝子治療の対象外とされているが、そのリスクについては遺伝子組換え型の腫瘍溶解性ウイルスと同様であることから、使用要件について可能な限り国が関与することが望ましいとして申請者の求めに応じて国で審査できることにしている。クリニック等でこのような遺伝子組換えされていない腫瘍溶解性ウイルスを利用する場合にはその増殖性ゆえに免疫弱者などの第 3 者への伝播リスクを有しており、遺伝子改変されている腫瘍溶解性ウイルスと同様のリスクを有していると考えられることから技術として同じ規制の枠組みに入れるべきではないかとの意見があった。

### 3. 第 1 種再生医療に用いられる特定細胞加工物と ex vivo 遺伝子治療、in vivo 遺伝子治療とのリスクの比較及びその対応

第 1 種再生医療には ex vivo 遺伝子治療が含まれるが、第 1 種に含まれる他の特定細胞加工物と ex vivo 遺伝子治療に用いられる細胞加工物に内包されるリスクにどのような違いがあるか検討した。そのような検討を踏まえたうえで、in vivo 遺伝子治療と ex vivo 遺伝子治療のリスクの違いや求められる対応策を整理することにより、従来の枠組みと in

vivo 遺伝子治療を対比するべきか、又は ex-vivo 遺伝子治療を含めた遺伝子治療全般と第 1 種再生医療とを対比して規制的枠組みを構築すべきかについて検討した。

第 1 種再生医療に用いられる細胞加工物と ex-vivo 遺伝子治療を比較すると、共通する安全性項目としてウイルス安全性がある一方で、第 1 種細胞加工物では同種細胞を用いる場合に拒絶反応や GVHD リスクが想定されるが、自己細胞を用いた ex-vivo 遺伝子治療では導入した発現産物による免疫原性が大きな懸念とされる。また、がん化リスクはどちらの細胞加工物でも重要なリスク要因となるが、ex vivo 遺伝子治療では染色体への遺伝子組込みあるいはゲノム編集による遺伝子改変操作に起因するがん化が大きなリスク要因となる。さらにウイルスベクターを用いる場合には増殖性ウイルスへの復帰変異のリスクも考慮する必要がある。

一方、in vivo 遺伝子治療では、染色体への遺伝子組込み・遺伝子改変を目的としない場合にもそのリスクはあり、またウイルスベクターを用いた場合には増殖性ウイルスへの復帰変異のリスクは ex vivo と同様にある。一方ゲノム編集ではこの技術が基本的に遺伝子の改変を目的とすることから、目的としない遺伝子の改変 — オフターゲット作用やオンターゲット変異など — によるがん化等のリスクが想定されている。さらに、生殖細胞の改変リスクや投与された被験者からの排出による第 3 者への伝播リスクがある。特にウイルスベクターを用いた場合には免疫弱者の第 3 者への伝播により、重篤な副作用を引き起こす可能性もある。また、ウイルスベクターの大量投与によりウイルスタンパク質に対する免疫応答と推定される致死的な副作用も報告されている。また、RNA ウイルスを用いる場合にはウイルスセンサーや TLR 活性化による免疫毒性リスクもありえる。

以上のようなリスクに対して、それぞれ対応する方策がとられている。ex vivo 遺伝子治療と in vivo 遺伝子治療で共通するものは遺伝子導入ないしは遺伝子改変技術に伴うリスクであり、そのリスクによる変異を検出し、必要に応じて変異細胞を排除するという方策がとられている。分化した細胞ではがん化等のリスクが比較的低いとされているが、造血幹細胞等の幹細胞を用いる場合にはがん化等のリスクが高いとされている。特に開発が進むゲノム編集ではオフターゲット作用やオンターゲット変異を引き起こす可能性があることから、開発に当たってはがん遺伝子等の変異の可能性などの評価が必要とされている。このようにがん化等のリスクを排除できない場合には、投与を受けた患者に対して長期に亘るフォローアップ観察を行うことにより、有害事象を早期に検出して適切に対応するという方策がとられている。このような技術の現状から ex vivo 遺伝子治療、in vivo 遺伝子治療ともに遺伝子導入や遺伝子改変に伴うリスクへの対応として長期フォローアップの考慮が必要とされている。

ex vivo 遺伝子治療を含む第 1 種細胞加工物については再生医療等安全性確保法の適用を受け、その安全性確保において厚生労働省の審議会において適合性の確認が行われる。in vivo 遺伝子治療臨床研究は該当するすべての技術が臨床研究法の適用を受けると想定され、また遺伝子治療臨床研究指針の適用を受けるため、厚生労働大臣の意見を求め、その安全性

や研究の妥当性が審査される。一方、*in vivo* 遺伝子治療が医療として提供される場合には、臨床研究法も遺伝子治療臨床研究指針の適用も受けないために、患者の合意のもとに医師による自由診療として実施されてしまう可能性がある。上記のような遺伝子導入や遺伝子改変のリスクを内包する技術が自由診療として適用される可能性があり、早急に対応が必要ということで班員の意見が一致した。

#### 4. *ex vivo* 遺伝子治療と *in vivo* 遺伝子治療のモダリティーごとのリスク比較

*ex vivo* 遺伝子治療及び *in vivo* 遺伝子治療のモダリティーごとのリスク要因を抽出することにより、規制的要件として共通する部分が多いのか、むしろ *ex vivo* 遺伝子治療では特定細胞加工物としての規範になじむのかを整理した。

*ex vivo* 遺伝子治療では細胞の改変に用いるモダリティーが異なっても、リスクは *in vivo* と比較的共通していると考えられる。特に免疫原性は、自己細胞を用いている場合であっても、発現する遺伝子産物が免疫原性を惹起する可能性がある。すなわち遺伝子導入による非自己タンパク質の持続的な発現により、液性免疫のみならず遺伝子発現細胞に対する CTL の誘導も想定される。*ex vivo* でのゲノム編集遺伝子治療であっても発現されるゲノム編集酵素が免疫原性を持つことが知られており、細菌タンパク質であるゲノム編集酵素に対する抗体を既に持つヒトがいることも知られている。また、造血幹細胞などの幹細胞へのゲノム編集の適用に際しては、分化した細胞と異なりがん化のリスクが高いことから長期フォローアップが必須になると考えられる。

*in vivo* 遺伝子治療では *ex vivo* 遺伝子治療のリスクに加え、生殖細胞の改変リスクやウイルスベクター用いる場合のウイルスの排出リスクが想定される。ゲノム編集を *in vivo* で適用する場合には、いずれのモダリティーを用いるにしても生殖細胞の改変リスクがあり、そのリスクをどのように回避するかも大きな課題となる。基本的には特定の組織・臓器にのみ投与（局所投与）することや組織指向性の高いモダリティー、あるいは組織特異的プロモーターの使用によるゲノム編集酵素の組織特異的発現などの技術を用いることが想定される。

さらに、ウイルスベクターを用いる場合、特に大量に投与する場合には、ウイルス抗原に対する免疫応答も重要なリスクとなる。また RNA ウイルスや外来性 mRNA によるウイルスセンサー活性化による免疫毒性や TLR 活性化などによる過剰免疫応答の懸念がある。強い免疫応答に対しては免疫抑制剤の投与も行われており、mRNA やタンパク質によるゲノム編集でも免疫原性については様々な対処法が工夫されていく可能性がある。

またいずれのモダリティーを用いるにしても、がん化のリスクに対応するために長期フォローアップについて考慮が必要であり、遺伝子発現の持続性など、リスクに応じてフォローアップの期間が異なると考えられる。

これまで X-SCID、WAS、CGD などの造血幹細胞をターゲットとした *ex vivo* 遺伝子治療において白血病の発症が報告されている。これらの治療開発では *in vitro*、*in vivo* 造腫瘍性試験によりがん化リスクの評価が行われてきたがこれらの試験ではそのリスクを予測す

ることが困難であった。従って ex vivo と in vivo 遺伝子治療における造腫瘍リスクを考慮するといずれにおいても全てのリスクをあらかじめ評価できるものではなく、リスク低減策をとったとしても臨床適用後の長期フォローアップが非常に重要となる。

上記のように第1種再生医療に指定される特定細胞加工物としての ex vivo 遺伝子治療と in vivo 遺伝子治療のリスクやリスクを回避・低減化するための対策について検討を行った。ex vivo 遺伝子治療も in vivo 遺伝子治療も共にゲノム改変に伴うリスクが（ウイルスベクターの種類によりリスクの程度は異なるものの）共通している。これは遺伝子治療の当初からの大きな懸念点である。また導入する遺伝子の発現産物やウイルスベクターそのものの抗原性（これもウイルスベクターの種類により強さは異なる）、ゲノム編集酵素の免疫原性など免疫毒性のリスクが共通して存在する。一方で in vivo 遺伝子治療では生殖細胞の改変リスクや目的以外の細胞組織での遺伝子改変が起こるリスクがある。このようなリスクを考慮して、ex vivo 遺伝子治療と in vivo 遺伝子治療を一つの技術要件として規制対象とするべきか、細胞を改変する従来の細胞加工物と in vivo 遺伝子治療を分けて規制をするべきか議論を行ったところ、必ずしも統一された結論は得られなかったが、いずれにしても現在の再生医療等安全性確保法と類する規制が必要と考えられることで一致した。

#### 5. ex vivo 遺伝子治療及び in vivo 遺伝子治療を審査する委員会の要件

ex vivo 遺伝子治療及び in vivo 遺伝子治療の審査を実施する委員会の要件にウイルスベクター等の製造や取扱い、遺伝子導入や遺伝子改変といった先端技術を評価する委員会の構成要件について検討した。遺伝子導入を目的とする従来の遺伝子治療ではウイルスベクターやプラスミドの製造、管理、適用については遺伝子組換え技術としての要件が必要となる。例えばウイルス製造では多くの場合 P2 レベルでの封じ込め施設での製造、保管、異動が必要であり、特にウイルスベクターを用いる場合、陰圧と陽圧を複雑に使い分ける施設が必要となる場合がある。さらに細胞への遺伝子導入に際しても CPC も従来の細胞製造の要件に加えて封じ込めの対応が必要な工程が含まれる。その製造（ウイルスベクターおよびプラスミド）や臨床適用（ウイルスベクター）ではカルタヘナ法に基づいた対応も求められる。

基本的には特定認定再生医療等委員会の要件に一致するが、ex vivo 遺伝子治療では、組換え DNA 技術を用いたウイルスベクター製造等の組換え生物の取扱いについて識見を有する者が必要と考えられる。ウイルスの専門家が必要との意見もあるが、遺伝子治療の専門家であればウイルスの専門家を兼ねている可能性も考えられる。

一方 in vivo 遺伝子治療では組換え DNA 技術を用いたウイルスベクター製造等に識見を有するものに加え、遺伝子治療のヒトへの影響について十分な科学的知見及び医療上の識見を有する者を追記した。

#### 6. 最後に

in vivo 遺伝子治療において想定されるリスクに関して主として ex vivo 遺伝子治療のリ

スクと比較した評価を行い、その低減策や臨床適用に当たっての対応策についても評価した。また、国や医療機関における評価について審査に当たる委員に求められる要件についても検討を行いその中間報告としてまとめた。今後さらに検討を進めて最終報告書として取りまとめを行う予定である。

表1. 特別研究班で検討すべき遺伝子治療技術および関連・類縁技術の範囲の整理の一案

技術等の対象					
技術等の対象 遺伝子情報等の 改変技術に基づく分類	遺伝子発現	DNA		RNA	組換えDNA技術を利用していない ケース
		DNAの改変	遺伝子発現制御技術 (エピジェネティクス)	mRNA発現制御	
遺伝子等導入技術	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ウィルスベクター (AAV, アデノ, センダイ等)</li> <li>・プラスミド</li> <li>・腫瘍溶解性ウィルスの導入による遺伝子発現</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ウィルスベクター (レトロ, レンチ)</li> <li>・プラスミド (トランスポゾン発現) の導入による遺伝子の染色体への組み込み</li> </ul>	ウィルスベクターやプラスミドによるエピジェネティック遺伝子発現制御(※1)	shRNA発現ベクターの導入による標的遺伝子の遺伝子破壊(KO)等	非組換え(遺伝子改変をされていない)腫瘍溶解性ウィルス(※2)
	mRNA導入による遺伝子発現				
ゲノム編集技術		CRIPR/Cas9、ZFN、TALENを用いた標的遺伝子の遺伝子破壊(KO)や相同組換えによる遺伝子改変	CRISPR/dCasなどを用いた特定塩基配列への結合と標的遺伝子のDNAメチル化・脱メチル化  ゲノム編集技術を応用したヒストンアセチル化やメチル化	RNA編集技術を用いた遺伝子発現調節	
その他の遺伝子発現制御技術			<ul style="list-style-type: none"> <li>・DNAメチル化阻害剤</li> <li>・ヒストン脱アセチル化酵素阻害剤</li> <li>・DNA結合タンパク質</li> <li>・デコイオリゴ核酸</li> </ul>	siRNA、miRNA、アンチセンス核酸	

脚注1. 濃い青色セルは現行の遺伝子治療臨床研究指針の適用範囲

脚注2. 薄い青色セルは遺伝子治療臨床研究指針における適用範囲ではないがその関連技術・類縁技術の検討範囲

(※1)現時点では対応する技術開発が行われているわけではない

(※2)安全性の観点から遺伝子治療と同等の取り扱いが望ましい類縁技術