

I . 総括研究報告

厚生労働行政推進調査事業費補助金（厚生労働科学特別研究事業）
総括研究報告書

遺伝子導入を行わずに遺伝子操作を加える再生医療等技術の
安全性評価指標の構築に関する研究

研究代表者 山口照英 金沢工業大学 加齢医工学先端技術研究所 特任教授

研究要旨

再生医療の適切な社会展開に向け、再生医療等安全性確保法に基づいて審査、実施される遺伝子改変技術を用いた再生医療等技術に関し、ヒト細胞の新たな遺伝子改変技術としてゲノム編集技術を利用した細胞加工技術の開発が進む可能性が高い。そこで、特定認定再生医療等委員会での適切かつ迅速な審査に資する目的で、開発が進むゲノム編集技術による遺伝子改変の適用範囲と遺伝子改変に伴う安全性の評価に係る考え方を示した。

研究分担者

荒戸 照世（北海道大学病院 臨床研究開発センター 教授）

内田 恵理子（国立医薬品食品衛生研究所 遺伝子医薬部 第一室室長）

岡野 栄之（慶應義塾大学医学部生理学教室 教授）

小野寺 雅史（国立成育医療研究センター研究所 成育遺伝研究部 部長）

谷 憲三郎（東京大学医科学研究所 ALA 先端医療学社会連携研究部門 特任教授）

前川 平（京都府保健環境研究所 所長）

松山 晃文（藤田医科大学 医学部 再生医療学講座 主任教授）

A. 研究目的

再生医療等安全性確保法では、再生医療等に「遺伝子を導入する操作を行う医療技術」が含まれるものと定義されているが、遺伝子導入を行わずに遺伝子操作を加える技術（ゲノム編集技術）については、「遺伝子を導入する操作」が行われないことから、現在の再生医療等安全性確保法ではその定

義に含まれていない。

体内で遺伝子操作を行う研究に適応される「遺伝子治療等臨床研究に関する指針」では、ゲノム編集技術を取り入れた改正が行われた。また、厚生科学審査会 再生医療等評価部会からは、ゲノム編集技術を用いた遺伝子治療については、再生医療等安全性確保法で適切に定義されるように提言

を受けているため、体外で遺伝子操作を行う遺伝子治療においてもその定義を整理する。

さらに、再生医療では体外で細胞に遺伝子操作を行うため、ヒトへ投与した後の安全性に加え、ヒトへ投与する前の遺伝子改変細胞の安全性についても検証を行う必要がある。そのため、ゲノム編集技術を用いる再生医療の安全性に関連する課題を本研究で整理し、認定再生医療等委員会における審査に係る基本的な考え方のとりまとめを行う。

B.研究方法

ゲノム編集技術は、既に汎用性のある試薬も販売されており、基礎研究としては日常的な研究手段となっている。その一方で、安全性に関する様々な研究も実施されてきており、複数のリスクが指摘されている。さらに、ゲノム編集技術の種類も増えてきているが、いずれの技術においても、リスクについては未解明の部分が多い。

まずは会議体にて、再生医療等安全性確保法での遺伝子治療の定義を整理する。次に、ゲノム編集技術の最新の開発状況やリスクについて、文献による調査を行う。また、遺伝子治療の専門家5人からヒアリングを行うことで得られた資料をもとに、会議体で検討を行う。具体的な検討方法としては以下を予定しており、ゲノム編集技術の安全性を十分に確保するために、ヒトに対してゲノム編集技術を用いた遺伝子治療を行う際の認定再生医療等委員会での審査における評価のポイントを明らかにする。

1. 「遺伝子治療等臨床研究に関する指針」

の改訂を行う際に参考にされた「ゲノム編集技術を取り入れた遺伝子治療等臨床研究における品質、安全性確保等に関する研究」の結果も参照し、会議体で再生医療等安全性確保法での遺伝子治療の定義を整理する。

2. 多様なゲノム編集技術について文献での調査を行い、ゲノム編集技術の種類ごとに分類する。特にゲノム切断を行う技術とゲノム切断を行わない技術、さらにエピジェニックな改変を行う技術に分類する。
3. 上記の分類ごとに、惹起される可能性のある望ましくない変異や特定遺伝子の変異の可能性、その発現頻度等についても文献で調査を行う。調査結果に基づき、ゲノム編集で細胞の遺伝子改変を行う場合に確認しておくべき審査基準や安全性に係るデータを明確にする。
4. 遺伝子治療の専門家からヒアリングを行い、ゲノム編集技術の種類ごとに用いられる要素技術を整理し、認定再生医療等委員会で審査を行う際に記載すべき技術事項と一連の改変操作についての記載事項を明確にする。
5. 上記2～4から作成された資料をもとに、会議体にて安全性に係る評価項目を整理し、認定再生医療等委員会で審査を行う際のポイントも明らかにする。

得られた成果については、厚生科学審査会再生医療等評価部会でも確認を行い、審査基準としての適切性について検討をする。

C.研究成果

「ゲノム編集技術を用いた再生医療における基本的考え方について」として、遺伝子導入を行わずに遺伝子操作を加える技術（ゲノム編集技術）に係る再生医療等提供計画について、特定認定再生医療等委員会で審査する際の基本的な考え方を提示した（別添資料1）。この基本的考え方に拠って、「再生医療等の安全性の確保等に関する法律等の一部改正案」として、再生医療等安全性確保法施行規則第2条第2項、再生医療等安全性確保法施行規則の取扱い省令第2条第2項関係通知、遺伝子工学的改変に係るQA、再生医療等提供基準チェックリストの改定案を作成した（別添資料2）。

再掲

別添資料1

ゲノム編集技術を用いた再生医療における基本的考え方について

別添資料2

再生医療等の安全性の確保等に関する法律等の一部改正案

D. 考察

ゲノム編集技術は、目的とする遺伝子の異常配列の修復や、特定の疾患遺伝子をピンポイントで破壊することができるようになる技術であり、このような特定部位の遺伝子を自在に改変できれば、究極の遺伝子改変技術として多様な疾患に応用できることが期待されている。一方で、同技術により、目的としないゲノムDNA部位にも変異が入る可能性や、また、がんを発症させる可能性も指摘されるなどのリスクも指摘されている。

ゲノム編集技術は急速に進展しており、日本ではまだ実施されていないが、海外ではすでに臨床試験が実施されており、平成28年からはその件数も急増している。そのため日本でもヒトに対して再生医療等として実施される時期は近いとされているが、ゲノム編集技術の安全性は確立されておらず、ヒトへの投与の際には再生医療等安全性確保法の下で適切に審査が行われるべきである。しなしながら、現法では、ゲノム編集技術について明確に適宜されていない。そのため、再生医療等安全性確保法第2条第4項に定める「加工」には該当するものの、同条第5項に定める第一種再生医療等には含まれず、「ヒトの生命及び健康に与える影響が明らかではない又は相当の注意をしてもヒトの生命及び健康に重大な影響を与えるおそれがある」技術であるにも関わらず、第一種再生医療等として審査が行われない状況となっている。

また、再生医療では体外で細胞に遺伝子操作を行う特殊性から、ヒトへの投与前の細胞の安全性についても検証を行う必要があるが、現状、その審査における評価基準や必要なデータは明確になっておらず、なるべく早く、一定の考え方を示す必要がある。

なお、遺伝子工学的改変に用いられる技術の範囲については、科学技術の進歩に伴い変化していくことが予想され、適宜検討を重ねていくことが必要と考えられる。

E. 結論

ゲノム編集技術を用いた再生医療の適切な社会展開に向け、再生医療等安全性確保法に基づいて審査、実施される再生医療等

技術に関し、安全性の評価に係る基本的な考え方を示した。特定認定再生医療等委員会での適切かつ迅速な審査に資することが期待される。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

1. 論文発表

該当なし

2. 学会発表

未定

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

該当なし

2. 実用新案登録

該当なし

3. その他

該当なし

. 別添資料

ゲノム編集技術を用いた再生医療における基本的考え方について

「ゲノム編集のリスク及びゲノム編集技術をどこまでex-vivo遺伝子治療として考えるかについての議論のまとめ」

研究班会議を総括し、ゲノム編集技術の適用範囲とそのリスクの違い、またゲノム編集技術により遺伝子改変した細胞を用いた細胞加工物の評価ポイントと、その評価基準について取りまとめた。この班会議では次のような議論を行い、ex vivo遺伝子治療におけるゲノム編集技術の範囲について図としてまとめた（図1参照）。その結果、ゲノム編集として、エピゲノム改変とヒストンのアセチル化はその他技術と区別ができるものと考えられた。ただし、CRISPR/Casを応用して特定の遺伝子を認識し、その部位の転写のみを亢進するような遺伝子の活性化技術（ゲノムに変化は惹起されない）については、やはりゲノムそのものが変化していない場合にはゲノム編集とは見なさないとの結論に至った。しかし、明確に区別できるかという意見もあり、現時点では上記整理とするが、今後、新たな技術が出てきた際に、必要に応じて追加の議論を行うことも検討されるべきである。

ゲノム編集のリスクについての議論においては、治療後のリスクとしてゲノム変異に伴う発がん等が挙げられ、同技術を用いた再生医療等については遺伝子治療の専門家を有する委員会で審査を行うべきと考えられた。iPS細胞をゲノム編集後にバンク化して原料細胞として用いる場合については、バンク化の時点で十分な解析が実施されている場合に限り、その解析データは確認するとしても、従来のiPS細胞を用いた再生医療等提供計画の審査体制と同様でよいと考えられた。ただし、iPS細胞を機能細胞へ誘導した後にゲノム編集を行うのであれば、当該細胞を用いる再生医療等提供計画については遺伝子治療の専門家を有する委員会で審査を行うことが必要とされた。

一方、ゲノム編集を含めた遺伝子を改変する操作を行った細胞については、EMAの幹細胞のリスクに関するReflection Paperなどを参考にすると、その細胞ごとにリスクが異なるものと想定される。遺伝子改変を実施する対象細胞からみたリスクと、遺伝子改変細胞の適用症を考慮したリスクベネフィット論も考慮する必要があると考えられる。ゲノム編集は従来型の造腫瘍性（ベクターに含まれるプロモータの挿入）のリスクではなく、染色体切断に伴う転座やP53の異常等の異なるリスクになると想定され、特に造血幹細胞を遺伝子改変した場合等は、そのリスクが非常に高くなると想定されることを考慮する必要がある。これらの考え方は、今後の審査における重要なポイントとなると考えられる。

以上の議論を基に、対象となるゲノム編集技術の範囲やその運用についても取りまとめを行い、再生医療等評価部会への説明や各委員会へ発出することで、ゲノム編集された細胞を用いた再生医療等提供計画の審査を行う際の考え方を共有する。

(図 1)

省令第2条

(第一種再生医療等技術) 第二条の二
「…遺伝子を導入又は改変する操作を行った細胞…」の文言で対応
遺伝子治療等臨床研究に関する指針の文言と同じ

- ・Double Stand Break
- ・Single Stand Break
- ・based editing
- ・エピゲノム(メチル化)
- ・ヒストンの修飾
- ・特定の遺伝子配列への結合と転写促進

← ここまでを対象とする
(遺伝子治療等臨床研究と同じ)

どのように 運用するのか？

	Ex vivo遺伝子治療(阪大第二)	プロモーター×造血幹細胞 (リスク高)	細胞
第1種	・プラスミド ・ウイルスベクター ・ゲノム編集 (含:タンパク質、核酸)	・造腫瘍性の評価 ・長期follow up ←特に重要 ゲノム編集: 細胞側のリスクも考慮 融合タンパク出現の懸念	iPS
	ゲノム編集を行った細胞をバンク化	どちらで審議するか	ゲノム編集を行った細胞をバンク化
第2種 第3種	議論 ・タンパク質:細胞外→培地添加物扱い 細胞内:なんらかの操作が必要→リスク? ・mRNA:タンパクの発現が一過性か、持続的かによって リスクは異なる? ・むしろ低分子化合物の方が懸念があるかもしれない		ゲノム編集以外の ・タンパク質(細胞内外) ・mRNA(発現時間によらない) ・核酸 ・低分子化合物 の添加

再生医療等の安全性の確保等に関する法律等の一部改正案

再生医療等の安全性の確保等に関する法律施行規則（平成 26 年厚生労働省令第 110 号）
新旧対照表

（下線の部分は改正部分）

改 正 案	現 行
「再生医療等技術の分類」について	「再生医療等技術の分類」について
省令第 2 条第 2 項 遺伝子を <u>導入若しくは</u> 改変する操作を行った細胞又は当該細胞に培養その他の加工を施したものをを用いる医療技術（前号に掲げるものを除く。）	省令第 2 条第 2 項 遺伝子を導入する操作を行った細胞又は当該細胞に培養その他の加工を施したものをを用いる医療技術（前号に掲げるものを除く。）

「再生医療等の安全性の確保等に関する法律」、「再生医療等の安全性の確保等に関する法律施行令」及び「再生医療等の安全性の確保等に関する法律施行規則」の取扱いについて（平成 26 年 10 月 31 日付け医政研発 1031 第 1 号厚生労働省医政局研究開発振興課長通知）
新旧対照表

（下線の部分は改正部分）

改 正 案	現 行
「再生医療等技術の分類」について	「再生医療等技術の分類」について
(2) 省令第 2 条第 2 項関係 「遺伝子を導入 <u>若しくは改変</u> する操作を行った細胞又は当該細胞に培養その他の加工を施したものをを用いる医療技術」とは、生体の外に取り出した細胞に遺伝子を導入 <u>する技術や、ゲノム編集技術（ZFN、TALEN、CRISPR/Cas 等）により特定の塩基配列を標的として遺伝子改変した細胞を体内に投与する治療法をいうものである。</u> 例えば、悪性腫瘍に対するリンパ球活性化療法のうちリンパ球に遺伝子を導入するような技術 <u>やゲノム編集により T 細胞の膜タンパク質遺伝</u>	(2) 省令第 2 条第 2 項関係 「遺伝子を導入する操作を行った細胞又は当該細胞に培養その他の加工を施したものをを用いる医療技術」とは、生体の外に取り出した細胞に遺伝子を導入し、それを体内に投与する治療法をいうものであり、例えば、悪性腫瘍に対するリンパ球活性化療法のうちリンパ球に遺伝子を導入するような技術が挙げられること。なお、遺伝子発現を介さずに直接標的に作用するオリゴ核酸である核酸医薬を用いた技術は、「遺伝子を導入した細胞を用いた医療技

<p><u>子をロックアウト(破壊)する技術等</u>が挙げられること。なお、遺伝子発現を介さずに直接標的に作用するオリゴ核酸である核酸医薬を用いた技術は、「遺伝子を導入した細胞を用いた医療技術」に含まれないものであること。</p> <p><u>遺伝子の導入を行わず、タンパク質とガイドRNA あるいはそれらをコードする mRNA を用いたゲノム編集技術により遺伝子改変した場合でも、従来の遺伝子導入を行った細胞と同様のリスクが危惧されることから、遺伝子を導入する操作を行った細胞を用いる医療技術と同様の審査を行うこと。</u></p>	<p>術」に含まれないものであること。</p>
--	-------------------------

再生医療等の安全性の確保等に関する法律等に関するQ&A新旧対照表

(下線の部分は改正部分)

改正案	現行
Q&A その1	Q&A その1
<p>Q5：省令第2条第2号の「<u>遺伝子を導入若しくは改変</u>する操作を行った細胞」に遺伝子ロックダウンを行った細胞は該当するのか</p> <p>A5：遺伝子ロックダウンを行った細胞を作製するために、例えばウイルスベクターやプラスミドを用いて遺伝子を導入する操作を行わない場合は、「<u>遺伝子を導入若しくは改変</u>する操作を行った細胞」には該当しない。 <u>しかし、タンパク質や mRNA などの遺伝子導入以外のゲノム編集技術を用いて特定遺伝子のエピジェネティックな改変により遺伝子ロックダウンを行った場合は「遺伝子を改変する操作を行った細胞」に該当する。</u></p>	<p>Q5：省令第2条第2号の「<u>遺伝子を導入</u>する操作を行った細胞」に遺伝子ロックダウンを行った細胞は該当するのか</p> <p>A5：遺伝子ロックダウンを行った細胞を作製するために、例えばウイルスベクターやプラスミドを用いて遺伝子を導入する操作を行わない場合は、「<u>遺伝子を導入</u>する操作を行った細胞」には該当しない。</p>
<p>Q6：癌免疫療法において、培養したリンパ球等を静脈内投与ではなく、皮下注射又は腹腔内投与する場合も相同利用となり、第三種再生医療等技術に該当するのか。</p>	<p>Q6：癌免疫療法において、培養したリンパ球等を静脈内投与ではなく、皮下注射又は腹腔内投与する場合も相同利用となり、第三種再生医療等技術に該当するのか。</p>

<p>A6：該当する。なお、遺伝子を導入<u>又は改変</u>する操作を行った細胞や他家細胞等を用いる場合はこの限りでない。</p>	<p>A6：該当する。なお、遺伝子を導入する操作を行った細胞や他家細胞等を用いる場合はこの限りでない。</p>
<p>Q7：培養せずに製造された脂肪組織間質細胞を血管新生のために用いる場合、第三種再生医療等技術に該当するか。</p> <p>A7：相同利用ではないため、第二種再生医療等技術に該当する。なお、遺伝子を導入する操作<u>又は改変</u>を行った細胞や他家細胞等を用いる場合はこの限りでない。</p>	<p>Q7：培養せずに製造された脂肪組織間質細胞を血管新生のために用いる場合、第三種再生医療等技術に該当するか。</p> <p>A7：相同利用ではないため、第二種再生医療等技術に該当する。なお、遺伝子を導入する操作を行った細胞や他家細胞等を用いる場合はこの限りでない。</p>
<p>Q&Aその2</p>	<p>Q&Aその2</p>
<p>Q1：骨髄から採取した間質細胞を培養せずに血管新生に用いる場合<u>又は自己臍帯血から採取した細胞を培養せずに脳性麻痺の治療に用いる場合</u>、第三種再生医療等技術に該当するか。</p> <p>A1：相同利用ではないため、第二種再生医療等技術に該当する。なお、遺伝子を導入する操作<u>又は改変</u>を行った細胞や他家細胞等を用いる場合は、第一種再生医療等技術に該当する。</p>	<p>Q1：骨髄から採取した間質細胞を培養せずに、血管新生に用いる場合、第三種再生医療等技術に該当するか。</p> <p>A1：相同利用ではないため、第二種再生医療等技術に該当する。なお、遺伝子を導入する操作を行った細胞や他家細胞等を用いる場合は、第一種再生医療等技術に該当する。</p>
<p>(削る)</p>	<p>Q2：自己臍帯血から採取した細胞を培養せずに、脳性麻痺の治療に用いる場合、第三種再生医療等技術に該当するか。</p> <p>A2：相同利用でないため、第二種再生医療等技術に該当する。なお、遺伝子を導入する操作を行った細胞を用いる場合は、第一種再生医療等技術に該当する。</p>

再生医療等提供基準チェックリスト新旧対照表

(下線の部分は改正部分)

改 正 案	現 行
2．細胞培養加工施設の項目について	2．細胞培養加工施設の項目について
省令第92条	省令第92条

<p>製造管理及び品質管理を行う際に、品質リスクマネジメントの活用を考慮しているか。<u>(細胞加工に用いる重要な原材料の品質管理受け入れ基準等を設けているか。また、加工に用いるウイルスベクターやプラスミド、タンパク質、mRNA などの品質試験結果を保管しているか)</u></p>	<p>製造管理及び品質管理を行う際に、品質リスクマネジメントの活用を考慮しているか。</p>
---	--