

第10回 核酸医薬レギュラトリーサイエンスシンポジウム

【日時】2018年7月10日(火)14:30-16:40

【場所】九州大学医学部百年講堂 大ホール

* 日本核酸医薬学会第4回年会「シンポジウム4 (レギュラトリーサイエンス)」にて開催。

* 本シンポジウムを聴講するには、日本核酸医薬学会第4回年会に御参加頂く必要があります。

mRNA医薬の開発動向と品質・安全性評価の考え方

14:30~14:45 講演1 mRNA医薬品とは何か？

北海道大学病院 臨床研究開発センター 荒戸 照世

14:45~15:05 講演2 mRNA医薬の研究開発動向

東京医科歯科大学 生体材料工学研究所 位高 啓史

15:05~15:15 講演3 mRNAワクチンの開発動向

アキュルナ株式会社 秋永 士朗

15:15~15:30 講演4 mRNA医薬品の生産

ルクサナバイオテック株式会社 佐藤 秀昭

15:30~15:50 講演5 mRNA製品の品質・安全性評価について

金沢工業大学／日本薬科大学 山口 照英

15:50~16:40 パネルディスカッション(質疑応答/意見交換)

モデレーター: 国立医薬品食品衛生研究所 井上 貴雄

パネリスト: 荒戸 照世、位高 啓史、秋永 士朗、佐藤 秀昭、山口 照英

真木 一茂(医薬品医療機器総合機構)

mRNA 医薬品とは何か？

○荒戸照世¹

¹北海道大学病院 臨床研究開発センター

What is mRNA medicine?

○Teruyo ARATO¹

¹Hokkaido University Hospital

mRNA 医薬品は、mRNA を体内に投与して目的とするタンパク質を発現させるものであり、主にはがん免疫療法、感染症ワクチン等の形で開発が進んでいる。mRNA 医薬品は、タンパク質医薬品を投与する場合と異なり、導入した mRNA からタンパク質を発現させるという遺伝子治療の側面と核酸分子を投与するといった核酸医薬品の側面を有する。そこで mRNA 医薬品の開発に際して留意すべき特徴について、特に核酸医薬品、遺伝子治療と比較しながら紹介したい。

	核酸医薬品 (アンチセンス)	mRNA医薬品		遺伝子治療		タンパク質医薬品
			ゲノム編集 (mRNA)			
投与形態	単独 DDS	単独 DDS(LNPなど) ex vivo(細胞)	主にex vivo	in vivo ex vivo		単独
化学構造	20塩基程度の ポリヌクレオチド	3,000塩基程度の mRNA		目的遺伝子をベクター/ プラスミドに搭載 (数千塩基)		アミノ酸が数十以上 ペプチド結合
作用機序	標的配列に結合し タンパク質の発現を 阻害(一時的)	投与したmRNAから タンパク質を発現 (一時的)		ベクター/プラスミドに よって導入された遺伝子 からタンパク質を発現		タンパク質そのものを 投与・補充 (一時的)
製造方法	化学合成	主にin vitroで転写		遺伝子組換え技術を用 いて細胞内で産生		遺伝子組換え技術を用 いて細胞内で産生
特徴・ 懸念点 など	品質 特性	非修飾、修飾	非修飾、修飾 (CAPの修飾など)		非修飾(天然)	基本的には天然型の アミノ酸から成る
	不純物	オリゴヌクレオチド 類縁物質(n-1等)	製造工程由来不純物 (製造に用いた鋳型 DNA、ポリメラーゼ)		・製造工程由来不純物 ・増殖性ウイルス発現の 可能性	製造工程由来不純物 (宿主細胞由来DNA・ タンパク質等)
	PK	ADMEを評価	発現の持続		・生体内分布により評価 ・生殖細胞への組み 込み リスク	ADMEを評価
	安全性	オフターゲット毒性 クラスエフェクト 肝・腎毒性		転座の 懸念	挿入変異等による がん化の可能性	CRS(抗体など) 急性輸注反応
	免疫 原性	TLRを介した 免疫刺激	免疫反応(CAPの修飾 による場合もある)		ベクター・発現タンパク質 による免疫反応	投与タンパク質や製造 工程由来不純物(HCP) による免疫反応
適応疾患 (開発事例)	先天性疾患など	タンパク質補充療法 がん免疫療法 感染症ワクチン		先天性疾患 がん	先天性疾患など モノクローナル抗体	

mRNA 医薬の研究開発動向

位高 啓史¹

¹東京医科歯科大学 生体材料工学研究所

Development of mRNA-based drugs

Keiji Itaka¹

¹Institute of Biomaterials and Bioengineering, Tokyo Medical and Dental University (TMDU)

新しい遺伝子治療の手法として、mRNA 医薬の可能性に注目が集まっている。その医学的意義としては、原理的にゲノム挿入リスクが無い安全性が最も重要な点である。また mRNA の modification や DDS キャリアの工夫により、mRNA 分子による免疫誘導を抑制することが可能で、mRNA 医薬の反復投与を前提とした治療計画が可能となっている。一方作用メカニズムの観点からは、mRNA は核へ移行する必要が無く、細胞質に導入されればタンパク質発現するので、種々の組織・細胞が標的となり得る。また核酸配列は自在に変えられるので、どのようなタンパク質をコードした mRNA でも導入は可能である。かなり大きなタンパク質（塩基配列で数千 bps 以上）でも大丈夫だが、単位重量当たりの mRNA のコピー数が減ることになるので、あまり大きなタンパク質では効率面で不利かもしれない。

動物への *in vivo* mRNA 投与の報告は 1990 年代からあるが、治療応用の報告が増えてきたのは 2010 年代に入ってからで、特にワクチンの分野での最近の研究開発の活性化は目覚ましい。がんおよび感染症領域で、相当数の臨床治験が欧米で既に行われている。mRNA ワクチンについては本シンポジウムでの別演題で議論される予定なので、ここで詳細は触れないが、核酸配列を自在に変えられる mRNA が「個別化医療」とのキーワードにぴったりはまり、一気に実用化に向けて進んでいる状況である。

一方治療用タンパク質をコードした mRNA を生体内投与することによる治療は、疾患モデル動物を用いた研究は近年著しく増加しているものの、臨床応用の観点からはまだ「夜明け前」の状況と言える。投与するタンパク質としては、成長因子等の分泌型タンパクおよび転写因子など細胞内タンパクの 2 種に大別され、標的となる細胞や治療効果を得るための戦略などは当然異なってくる。前者は VEGF, BMP などが代表例で、従前より行われているリコンビナントタンパクを用いた治療がベンチマークとなるが、単にタンパク投与を mRNA に置き換えるだけでなく、*pharmacokinetics* の違いやタンパクの翻訳後修飾の効果など、mRNA を用いることによるユニークな治療効果を示すことが重要な差別化となる。

一方、生体内の細胞機能制御・分化等を目的とした細胞内タンパクの投与は、安全性の問題から DNA やウイルスベクターを用いた投与は難しく、mRNA でなければできない治療戦略となる可能性が高い。低分子創薬におけるスクリーニングプロセスが不要で、医学・分子生物学研究で得られたシグナル分子などに関わる成果を直接応用できることもポイントである。自験例ながら、軟骨誘導性転写因子を mRNA で関節内投与し、軟骨細胞の活性化、軟骨変性抑制の治療効果を得たことは、mRNA による新しい医薬品マーケットの創出に繋がる有力な成果である。

本発表では以上のような点を中心に、mRNA 医薬に関わる世界の研究開発動向を overview し、その実用化に向けた今後の課題、研究開発のポイントなどを考えていきたい。

mRNA ワクチンの開発動向

○秋永士朗

アキュルナ (株)

Recent trend for mRNA vaccine development

○Shiro Akinaga

AccuRna Inc.

mRNA ワクチンは従来のワクチン療法に代わる新たなワクチン療法として大きな注目を集めている。その最大の理由は mRNA ワクチンが従来のワクチンと比較して、1)Potency が高く、2)比較的安価に大量合成が可能であり、3)安全性に優れていることが挙げられる。mRNA ワクチンが発展した背景には mRNA 分子の特性分析による安定化および発現効率の画期的な上昇、精製方法の大幅な改良、DDS 技術の改良、ウイルスを用いた自己増幅の向上等の技術革新が貢献している。

感染症予防ワクチンが公衆衛生に及ぼす効果は甚大であり、既に 25 以上の感染症に対するワクチンが確立されており、天然痘を始めとする複数の感染症が撲滅されるに至っている。一方、従来のワクチン療法の開発は基本的に病原体或いは毒素を用いた研究開発であり、その研究開発プロセスは非常に複雑で、理論的と言うよりは経験則に基づいており、健康成人での Phase I 試験の必要性も含めて安全性が大きな課題となっている。近年、新型インフルエンザ、SARS、ジカ熱、デング熱、エボラ出血熱などの新興感染症が大きな社会問題となる中、従来のワクチン療法開発だけでは明らかに不十分な状況が出現し、こうした致死性の新興感染症ワクチン開発を念頭に複数のバイオテック企業、GSK 等が mRNA ワクチンの開発に本腰を入れている。その中でも Boston のバイオテック企業 Moderna は mRNA ワクチンに関する白書を 2017 年 5 月に発表し注目を集めている。Moderna のジカ熱ワクチンは、その基礎研究の成績が Cell 誌に発表され(Cell 168, 1114-1125, 2017)、動物実験での画期的な効果が報告され、既に Phase I/II 試験に進んでいる。同社はエボラ出血熱の mRNA ワクチンにも取り組んでおり、その基礎試験成績を昨年報告した(J Infect Dis. 217:451-455, 2018)。ドイツのバイオテック企業 CureVac も積極的に感染症 mRNA ワクチンに取り組んでおり、狂犬病ワクチンの臨床治験成績が今年の Lancet 誌に報告している(Lancet 390, Issue 10101, 23-29 1511-1520 2017)。

ペプチドワクチンを中心とするがんの治療用ワクチンは大規模臨床試験で十分な効果を検証することが出来ず、一時期のブームが去り過酷なサバイバルレースが展開されている。一方で、PD-(L)1 抗体を中心とする Immune Checkpoint Blockade 療法はこれまで免疫療法には不適応と考えられて来た、非小細胞肺癌、ホジキンリンパ腫、膀胱がん、頭頸部がん、肝臓がん等にも有効性を示すことから、がん治療の世界では免疫療法が主役の座を奪いつつある。近年、がん患者個々に対する個別化医療の動きが進みつつあるが、その中で重要な位置づけにあるのが遺伝子変異によって生ずる“Neo-antigen”に対する個別化がんワクチンである。一人の患者でも複数の neo-antigen 候補が存在することから、複数の mRNA を用いる mRNA ワクチンに注目が集まっており、その先頭に立つのがドイツのバイオテック企業 BionTech であり、昨年メラノーマ患者での mRNA ワクチンの治療効果に関する論文を発表し (Nature 547:222-229, 2017)、世界中から注目された。同社はこの領域で既に Roche/Genentech と提携しており、同様に Moderna は Merck と、CureVac は Eli Lilly と、それぞれ同じ領域での提携を発表しており、Neo-antigen mRNA ワクチンと PD-(L)1 抗体の併用を睨んだ開発競争が水面下で繰り広げられている。

mRNA 医薬品の生産

○佐藤 秀昭¹

¹ルクサナバイオテック株式会社

Manufacturing of mRNA Therapeutics

○Hideaki Sato

¹ Luxna Biotech Co.,Ltd.

mRNA 創薬は、ゲノム組み換えリスクがない、一過性発現に向いているなどの特徴から、ワクチンへの活用や酵素補充療法の別法として大きな注目を浴びており、臨床開発ステージの mRNA 医薬品も増加してきている。一方で生産に関しては、mRNA 医薬品開発を進める moderna 社、CureVec 社などが内製で開発を進めてきた背景などから情報が十分ではなかったが、海外において複数の企業が mRNA 原薬受託製造を事業化してきており具体的な状況が明らかになりつつある。本発表は、本邦において今後 mRNA 創薬を考慮していくに当たり、mRNA 原薬製造の状況を理解することは重要であることから、そのイントロダクションとして企図された。臨床開発が進んでいる mRNA 医薬品の多くは mRNA-脂質ナノ粒子 (Lipid Nanoparticle, LNP) 複合体であるが、本発表では mRNA 原薬に絞って議論する。

mRNA 原薬製造は、以下の概略フローにより実施される。

1) 目的 mRNA をコードするプラスミドの準備、2) テンプレート DNA の調製 (プラスミドの直鎖化もしくは PCR による増幅)、3) 逆転写反応、キャップ構造付加、ポリ A 付加、4) 精製、5) 5'末端リン酸の除去、6) in process 品質評価、7) ろ過、8) リリース試験 mRNA 合成の中心となる 3) の工程は、通常実験ラボで実施されている *in vitro* transcription (IVT) のグラムスケール反応によってされており、逆転写酵素、ヌクレオチド 3 リン酸、テンプレート DNA、キャップアナログなどのコンポーネントから構成されているが、スケールアップでの生産再現性、キャップ構造の選択、ポリ A 長の一定化などに各社ノウハウが存在する。mRNA 原薬特有の問題として考えられる DNA の混在を、プロセスによって除去する工程も品質の観点から重要である。

mRNA の副作用として考慮しなければならないポイントとしては、dsRNA による Protein Kinase R (PKR)、長鎖 dsRNA による MDA5、5'3'リン酸化による RIG-I、5'3'リン酸化と CapO による IFITs などの細胞質内センサーを介した細胞死を誘起する免疫応答である。これらを回避するために、キャップ構造の改変、シュードウリジンなどの修飾塩基の活用、5'末端リン酸基の除去などが実施される。これらの修飾改変は適切な長さのポリ A 付加と共に mRNA の安定化技術としても活用される。

mRNA の品質評価は、高分子体であるが故に特に純度の評価、配列の確認が難しく、各社バイオアナライザーでの純度分析をベースとしながら技術の工夫を進めている。

本発表では海外における製造の状況を概説しながら、国内で今後 mRNA 医薬品の製造及び品質評価にどう取り組むべきかの話題提供としたい。

mRNA 製品の品質・安全性評価について

山口照英¹

内田恵理子²

¹ 金沢工業大学／日本薬科大学

² 国立医薬品食品衛生研究所

Quality and safety issues on mRNA medicinal products

○Teruhide Yamaguchi

Eriko Uchida

¹ Kanazawa Institute of Technology

² National Institute of Health Sciences

疾患の治療や感染防御のためにヒト体内で目的とするタンパク質を発現させる手法としてはこれまで、プラスミドやウイルスベクターが使われてきた。治療目的の場合には遺伝子治療としての評価が必要であり、プラスミドを用いる場合でも遺伝子挿入や生殖細胞への遺伝子組み込みリスクの評価が必要とされている。一方、mRNA のインビトロ合成技術の進歩や細胞内での安定化技術の向上もあり、mRNA を用いた目的タンパク質の発現誘導が人に適用されるようになってきた。

先進国ではプラスミドを用いた承認製品はないが、遺伝子治療製品の一つとして、既にガイドライン等で品質や非臨床データについての考え方が示されている。さらにプラスミドを用いた DNA ワクチンについての concept-paper も発出されている。一方、mRNA を利用したタンパク質発現系は、がんワクチンとして以前より開発が進められており、患者由来がん細胞に mRNA を導入してがん抗原の発現を誘導したり、患者の樹状細胞に抗原を発現させ、抗原刺激を与えるなどの臨床試験が数多く実施されるようになってきている。タンパク質を発現させる機能からみれば mRNA 製品とプラスミド製品の類似性は高いと考えられ、mRNA 製品の品質や安全性評価には上述のガイドラインを参考にできる部分が多いと考えられる。非臨床での体内分布や発現の持続性などの評価はその解析手法を含めて適用できると考えられる。