

ゲノム創薬・創発フォーラム 第6回シンポジウム
「最先端治療法開発の多様な試みを眼科疾患創薬から学ぶ」
2021年3月29日(月) 13:00 - 18:00

開催趣旨

ゲノム創薬・創発フォーラムはヒトゲノム解明が進みつつあった1998年に発足したゲノム創薬フォーラムに源流をもちます。2013年には創薬だけでなく様々な医療分野への展開を目指したゲノム創薬・医療フォーラムとなり、2019年より、異なる分野の専門家の議論によるイノベーションを誘発したいという思いが「創発」という言葉に込められ、新たにゲノム創薬・創発フォーラムとして発足しました。

第6回目となる今回のシンポジウムは、眼科の最先端の治療法がメインテーマとなります。目は体表からアプローチしやすく、また視覚による評価は治療効果の判定を比較的容易にし、さらに閉じた小さな器官であるため、治療薬の投与量が少なく、かつ拡散しにくい、さらには他組織より免疫学的に寛容であるという様々な点から、新規の治療法を応用するのに好適な器官であると考えられます。事実、体内に導入するタイプの遺伝子治療の世界初の承認薬は遺伝性網膜疾患が標的でした。

今回のシンポジウムでは、眼科領域で開発中の細胞治療や遺伝子治療等に関する最新的话题を通じて、これがなぜ眼科疾患で順調に開発されているのか、これをどのように他器官の疾患に応用するのか？という点に議論が発展することを願って企画いたしました。

今回もオンライン開催となりますが、海外からの演者もお招きすることができました。是非、多くの皆様のご参加をお待ちしております。

オーガナイザー

東京大学医科学研究所 特任教授 渡辺 すみ子

エーザイ株式会社 執行役 メディソン開発センター長 中濱 明子

ゲノム創薬・創発フォーラム 第6回シンポジウム
The 6th Symposium of Genome Drug Discovery–Sohatsu Forum

日時:2021年3月29日 13:00–18:00 / Time & Date: 13:00–18:00, March 29th, 2021

会場:ネット会議 / Venue: Web meeting

主要テーマ:「最先端治療法開発の多様な試みを網膜疾患創薬から学ぶ」

Main theme: Understanding of multiple developmental approaches for novel therapy from drug discovery in ophthalmology

座長:東京大学医科学研究所 特任教授 渡辺 すみ子

イーザイ株式会社 執行役 メディシン開発センター長 中濱 明子

Chairs: Sumiko Watanabe, PhD, Adjunct Prof. The Institute of Medical Science, The University of Tokyo

Akiko Nakahama, Corporate Officer, VP, Head of Medicine Development Center, Eisai Co., Ltd.

13:00–13:05 開会挨拶 / Opening remark

東京理科大学 生命医科学研究所 教授 松島 網治

Koji Matsushima, MD, PhD, Prof. Graduate School of Biological Sciences, Tokyo University of Science

13:05–13:10 開催趣旨 / Organizing purposes

東京大学医科学研究所 特任教授 渡辺 すみ子 Sumiko Watanabe, PhD

13:10–13:25 1.「近視性網脈絡膜萎縮症に対する虹彩色素上皮細胞シートの開発」

ファーマバイオ株式会社 代表取締役 CEO 草野 仁

Development of retinal pigment epithelial cells sheet for Myopic choroidal atrophy

Hitoshi Kusano, MD, PhD, President & CEO, PharmaBio Co., Ltd.

13:25–14:10 2.「バイスペシフィック抗体技術による医薬品開発への応用」

中外製薬株式会社 メディカルアフェアーズ本部 プロダクトリサーチ部 添田 哲弘

Application of bispecific antibody technology to drug discovery

Tetsuhiro Soeda PhD, Product Research, Medical Affairs Division, Chugai Pharmaceutical Co., Ltd.

14:10–14:55 3.「遺伝子導入ヒト脂肪細胞の特性と網膜変性疾患への遺伝子治療の展開」

セルジエンテック株式会社 代表取締役社長 麻生 雅是

Profile of gene-introduced human adipocytes and progression of gene therapy in retinitis pigmentosa diseases

Masayuki Aso, President, Cellgentech Co., Ltd.

14:55–15:40 4.「角膜内皮疾患に対する再生医療と創薬研究」

同志社大学生命医科学部医工学科 教授・アクチュアライズ株式会社 CSO 小泉 範子

Regenerative therapy and pharmaceutical research for corneal endothelium disease

Noriko Koizumi, MD, PhD, Prof. Faculty of Life and Medical Sciences, Graduate School of Life and Medical Sciences, Doshisha University / CSO, ActualEyes Inc.

Break

15:45–16:30 5.「深層学習による眼科画像診断」

自治医科大学眼科 准教授・DeepEyeVision 株式会社 代表取締役 CEO 高橋 秀徳

Deep learning-aided diagnostic imaging in ophthalmology

Hidenori Takahashi, MD, PhD, Associate Professor Ophthalmology Dept., Jichi Medical University / President & CEO, DeepEyeVison Inc.

16:30–17:15 6. Ocular gene therapy for Inherited Retinal Dystrophy

Claudio Spera, Global Brand Medical Director, Novartis Pharma AG

「遺伝性網膜ジストロフィーに対する眼科遺伝子治療」

クラウディオ スペラ、ノバルティスファーマ グローバルブランドメディカル部長

17:15–18:00 7.「キメラロドプシンを用いた視覚再生遺伝子治療の開発」

慶應義塾大学医学部眼科学教室 専任講師・

株式会社レストアビジョン 創業科学者 栗原 俊英

Development of gene therapy for ocular regeneration by chimeric rhodopsin

Toshihide Kurihara, MD, PhD, Assistant Prof. Dept. Ophthalmology, Keio University School of Medicine / Founding Scientist, Restore Vision Co., Ltd.

近視性網脈絡膜萎縮症に対する虹彩色素上皮細胞シートの開発

ファーマバイオ株式会社*¹、名古屋市立大学大学院医学研究科視覚科学分野*²

草野 仁*¹、安川 力*²

網膜色素上皮(RPE)は視細胞の恒常性維持に不可欠で、網膜色素変性症、加齢黄斑変性、病的近視など多くの疾患で RPE の機能障害が関与する。その一つである近視性網脈絡膜萎縮症は、比較的若年でも発症し、現在のところ病変拡大に対する治療法がなく時に重度の視力・中心視野障害に至ることから、その治療法の開発というアンメットニーズに迅速に応えるために治験を開始した。特に近年は、学齢期からの近視の増加もあり、潜在的な患者数の増加が予想されている。この他、RPE 機能の再建を目的とする再生医療として、世界中で細胞治療から遺伝子治療といった様々な試みが行われているが、未だ製品化されているものはほとんどない。

虹彩色素上皮(IPE)は、RPE と発生起源が同じで、IPE 細胞は RPE 細胞の構造や生理機能に関して多くの面で共通しているため、RPE の代替上皮として使用が可能と考えられている。我々は、人工物を用いることなく細胞自らが産生する細胞外マトリックス成分のみで、RPE が機能を発揮するために重要なブルッフ膜に類似した構造を作り出すことができる培養方法を応用して、IPE 細胞シートを作製することに成功したので、その概要について報告する。

バイスペシフィック抗体技術による医薬品開発への応用

中外製薬株式会社
メディカルアフェアーズ本部 プロダクトリサーチ部
添田 哲弘

抗体医薬は、低分子化合物では狙えない標的分子へのアクセス、高い特異性/親和性、及び良好な血中滞留性による長い作用時間等の優れた特性から、医薬品開発が進み、現在多くの抗体医薬が承認・使用されている。一方、抗体本来の作用に基づく従来の技術では、その力を発揮できる疾患・標的分子に限界が見えてきており、抗体工学の技術革新による限界の打破と新たな医療上の価値の創造が鍵となっている。

抗体工学の技術革新の中で、バイスペシフィック抗体技術は近年目覚ましい進歩を遂げている。バイスペシフィック抗体は、2種の抗原/部位を認識する特性から、①2種の病原物質の同時阻害による薬効増強、②同一抗原の異なるエピトープに結合することによる薬効増強、③2種の蛋白質を接近させることによる薬効発現、④2種の細胞を架橋することによる薬効発現、⑤同一細胞上の2種の膜蛋白質の架橋による薬効発現、等の従来の抗体医薬では達成できない作用を付与できるポテンシャルを有することが強みである。

一方、2種類の抗体H鎖、L鎖を発現させる過程で、目的の組み合わせ以外の副産物ができることによる製造工程の煩雑さや収量の減少など工業製造で多くの課題が存在し、医薬品開発の障壁となっていた。そのため、工業製造における発現・精製効率を改善する技術が多く開発されてきた。

現在、バイスペシフィック抗体の技術革新により、工業製造の課題は解決しつつあり、バイスペシフィック抗体の特性を生かし、癌や免疫疾患だけでなく新規疾患領域での開発も各社進行している。

本発表では、抗体医薬の概略と現況、当社が開発したバイスペシフィック抗体技術を用いて医薬品開発に成功した事例、及び今後の医薬品開発の応用例として眼科領域での展開を紹介する。

遺伝子導入ヒト脂肪細胞の特性と網膜変性疾患への遺伝子治療の展開

セルジェンテック株式会社
代表取締役社長
麻生 雅是

先天性遺伝性疾患の多くは、血中への酵素やタンパク質の補充を目的として、再生医療や遺伝子治療が有効であることが次第に明らかになってきている。酵素・タンパク質の補充を目的とした遺伝子治療は、アデノ随伴ウイルスベクターに代表されるベクターに治療に必要な遺伝子を搭載し、そのベクターを直接体内に投与する *in vivo* 遺伝子治療と、血中に治療タンパク質を補充できる優れた特性を有する細胞を用い治療に必要な遺伝子を導入し、その細胞を移植する *ex vivo* 遺伝子治療の2つの方法に分類される。この *ex vivo* 遺伝子治療に適した細胞に出会うことは、酵素補充療法が有効な疾患に対して、汎用性ならびに持続性の高い治療法へと繋がる可能性がある。

私たちは、従来形成外科領域で移植治療に利用されている脂肪細胞に着目し、治療に必要な遺伝子を導入したヒト脂肪細胞 Genetically-modified human adipocytes “GMAC”を用いた *ex vivo* 遺伝子治療・再生医療の実用化を目指している。分化した脂肪細胞のがん化は、稀であることはよく知られ、また近年の研究から、脂肪細胞の形質は安定しており、脂肪細胞の寿命は10年と言われている。更に多くの生理活性物質を分泌する分泌器官としても研究が進んできた。

私たちは、そのような特性を有する脂肪細胞を用い、酵素・タンパク補充療法が適応できる疾患から、治療法がなく、腎機能障害・腎不全などを併発するレシチン:コレステロールアシルトランスフェラーゼ (LCAT) 欠損症を対象として、LCAT 遺伝子導入ヒト脂肪細胞 (LCAT-GMAC) の移植による *ex vivo* 遺伝子治療・再生医療を第一種再生医療臨床研究下で実施し、永きにわたる LCAT 補充に成功している。現在、治験を実施中で、LCAT-GMAC の再生医療製品としての製造承認取得を目指している。

さらに、臨床応用展開として酵素・タンパク質の補充療法が適用されている、または有効性が推定されるが治療法のない遺伝性疾患を対象に、GMAC のプラットフォーム技術の展開を図っている。

また、種々の組織に対する作用を有する生理活性物質を GMAC に発現させ、その標的組織として、閉鎖系であり、容量の関係から移植用量も少ない、そして免疫寛容がいわれている眼への GMAC 移植による網膜疾患へのアプローチも行っており、今後、対象疾患の病態特性や導入遺伝子の薬効発現や安全性の課題を克服し、遺伝病のみならず多くの難病疾患への応用展開を志向する。

角膜内皮疾患に対する再生医療と創薬研究

同志社大学生命医科学部医工学科 教授
アクチュアライズ株式会社 CSO
小泉 範子

角膜内皮細胞は角膜の透明性維持に必須の細胞であるが、生体内における再生能力が極めて低い。そのためフックス角膜内皮ジストロフィなどの疾患や、白内障手術などによって角膜内皮細胞が障害されると、角膜に浮腫と混濁を生じる「水疱性角膜症」となって重症の視力障害をきたす。水疱性角膜症に対する現在の唯一の治療法はドナー角膜組織を用いた角膜移植であるが、ドナー不足や拒絶反応などの問題があり、新しい治療法の開発が望まれている。

我々は 2003 年から角膜内皮再生医療の開発に取り組み、ヒト角膜内皮細胞の培養法および移植手技を確立、カニクイザル水疱性角膜症モデルを用いた前臨床試験を経て、2013 年 12 月に京都府立医科大学において細胞注入治療の First-in-Man 臨床研究を開始した。本治療法は、生体外で拡大培養した他家角膜内皮細胞を、細胞接着促進作用を持つ Rho キナーゼ阻害剤とともに角膜の裏側にある前房内に注入し、数時間うつむき姿勢を取ることで効率的に角膜に生着させる治療法である (Kinoshita S, *et al.* N Engl J Med, 2018)。2017 年 4 月までに 35 例の水疱性角膜症に対する細胞注入治療を臨床研究として実施し、本治療法はシンプルな手術手技による低侵襲な治療であり、拒絶反応や重篤な術後合併症を認めず、全ての症例において角膜浮腫と視力の改善が得られるなど、高い治療効果が得られることを確認した。

現在、同志社大学では「細胞注入治療をユニバーサルな再生医療等製品として国内外の患者に届けること」を目標として、大学発ベンチャーとの連携のもと、細胞調整不要で Ready-to-Use なバイアル製品の開発に取り組んでおり、日米における薬事承認を目指した治験の準備を進めている。さらに我々は、世界の角膜移植原因の 39%を占めるフックス角膜内皮ジストロフィに対する点眼治療薬の開発にも取り組んでいる。

日本では年間に約 3 千件、米国では約 7 万件の角膜移植が行われており、その約半数が角膜内皮疾患に対する移植である。バイアル製品の实用化により、これらの角膜移植が再生医療に置き換わるのみならず、より多くの症例に適応が広がると予測される。これらのアカデミア発の研究シーズを实用化することにより、眼科医療の概念を変える新しい治療法を医療現場に届けたいと考えている。

深層学習による眼科画像診断

自治医科大学眼科 准教授
DeepEyeVision 株式会社 代表取締役 CEO
高橋 秀徳

画像認識の自動化は、機械学習と呼ばれる技術が使われてきたが、写った物の特徴量を機械的に得ることが困難で、精度が動物の画像認識に遥かに及ばなかった。動物の視覚野は層状の神経細胞ネットワークが多層に(深く)繋がって構成されるが、プログラムで模倣することが、技術的にも計算資源的にも困難であった。3層を超えるものを深層学習と呼ぶ。一般画像認識コンテストの ImageNet Large Scale Visual Recognition Competition (ILSVRC)でそれらの技術が競われてきたが、2012年に深層学習が現れ、それまで1-2%の精度差を競っていたところに10%の精度向上をもたらし、世界中で深層学習が研究された結果2015年にはヒトの、それも画像認識専門家の画像認識能力を上回った。

眼科は病理・放射線科に並んで画像診断の割合の高い科である。その眼科で最も撮影される画像は眼底写真である。凸レンズを用いることで画角45度の眼底写真が明瞭に撮影される。中心には視力に重要な黄斑が写り、その鼻側15度の位置に視神経乳頭があり、そこから網膜動静脈が枝分かれしている。このように極めて規格化された画像が得られるため、2012年の深層学習誕生の前から、通常の機械学習で画像診断が試みられてきた。そのメインターゲットは糖尿病網膜症であり、世界1億人の患者がおり失明原因のトップクラスで、早期発見で失明を予防できる疾患である。主に網膜の点状出血を検出するようにアルゴリズムを研究者が調整して診断につなげていた。しかし深層学習によって画像の特徴量を機械的に選択可能になると、糖尿病網膜症の眼底写真と正常な眼底写真を多数集めたビッグデータを学習して実用的な診断精度を達成した。

一方、病理写真は組織によって、また検体の切り方によって様々な形を取りうるため、写真の撮り方から病気を推測してしまうように学習するリスクがある。別の科で例えば皮膚科の疾患であれば、引きの写真ならばまん性で広範囲の疾患、拡大写真であれば単発の疾患と予測されてしまう。これは説明可能AIと言って画像のどの部分を見て判断しているかを明らかにする技術により、疾患そのものではなく背景を見て判断しているなどあれば除外できる。

また、放射線科領域は基本3Dであるところが一般写真と異なる。しかし眼底写真も、カラーであれば平面に3原色に加わって3ベクトルである。グレースケールの3Dであれば実はそう大きく変わるわけではないが、追加で一定の技術革新が必要であった。

今後、患者が納得しうる精度を達成するために、深層学習にありがちなヒトでは逆に間違えないような誤認識の排除、マイナー疾患対応するための少数データの学習、診断の理由を説明する技術、などが必要とされ、研究されている。実用化されている一部の事例や自験例も紹介し解説する。

Ocular gene therapy for Inherited Retinal Dystrophy

Novartis Pharma AG
Global Brand Medical Director
Dr. Claudio Spera

In the 70's, growing interest in gene therapy was inspired by the recognition that—at least in principle—a single treatment might achieve durable, potentially curative clinical benefit. In the 90's: Translation of gene therapy concepts to patient care began in the early 1990s but was plagued by repeated cycles of optimism followed by disappointing clinical trial results. A number of these early experimental therapies were found to provide no clinical benefit or produce unexpected toxicities that in some cases led to widely publicized patient deaths – Jesse Gelsinger died as a result of an immune response to adenovirus in 1999. Most recently, in 2000: Development of new vectors and a better understanding of target cells sparked a second generation of clinical trials in the late 1990s and early 2000s.

Voretigene neparvovec is a suspension of an adeno-associated virus vector-based gene therapy for subretinal injection that contains a live, non-replicating adeno-associated virus serotype 2 which has been genetically modified to express the human *RPE65* gene. The *RPE65* gene encodes a protein, RPE65, that helps convert the light entering the eye into electrical signals that are transmitted to the brain, enabling sight. Vector injection into the subretinal space results in transduction of some retinal pigment epithelial cells with cDNA encoding normal human RPE65 protein, thus providing the potential to restore the visual cycle.

The adeno-associated virus (AAV) is an ideal vector for ocular gene therapy: 1) viral machinery removed so that it is non-pathogenic; 2) very efficient cellular entry and transit to nucleus; 3) small (25 nm), ~5 kb single-stranded DNA genome; 4) efficiently targets various retinal layers; 5) able to transduce target cell after subretinal delivery; 6) consistent safety profile and low immunogenicity and 7) DNA is not integrated into the chromosome. It's small size is suitable thus, for genes whose cDNA exceeds 5 kb, such as: *ABCA4* and *STGD* (Stargardt disease), *MYO7A* and *USH1B* (Usher 1B syndrome) and *CEP290*.

Optimization of voretigene neparvovec for gene therapy is critical to its efficacy: 1) modified Kozak sequence (strong promoter ensures high expression of the *RPE65* gene); 2) empty capsids removed (pure preparation and low but concentrated dose means that both eyes can be injected); 3) surfactant added (prevents vector loss during storage and administration).

This proof-of-study was done in briard dogs with childhood blindness due to *RPE65* mutations. Subretinal administration of voretigene neparvovec restored functional vision in 23 of the 26 eyes

in canine and vision was intact over 10 years after treatment. This proof-of-concept study was the first to show that gene therapy can restore vision in a large-animal model of a human retinopathy.

The comparison of dark-adapted ERGs after subretinal AAV-*RPE65* therapy in the mutant dog shows an improved b-wave threshold, a large increase of a- and b-wave amplitudes (although not to normal levels), and an ERG waveform shape that is now similar to that of controls. Traces start at stimulus onset; stimulus luminance is to the left of key traces.

The pivotal 301 trial compared patients treated bilaterally with voretigene neparovec versus no treatment arm. The novel primary endpoint was a multi luminance mobility test (MLMT) designed to provide clinical meaningful assessment of functional vision and evaluate potential changes in functional vision over time, including after intervention in a clinical research setting. At 1 year, the analysis of the bilateral MLMT change score indicated a statistically significant treatment effect, with a mean (95% CI) group difference (Intervention – Control) of 1.6 (0.72, 2.41; $p = 0.001$). The most common ocular adverse events in clinical trials were conjunctival hyperemia, cataract, increased intraocular pressure and eye inflammation. [Russell et al. Lancet. 2017 Aug 26;390(10097):849–860]

キメラロドプシンを用いた視覚再生遺伝子治療の開発

慶應義塾大学医学部眼科学教室 専任講師
株式会社レストアビジョン 創業科学者
栗原 俊英

遺伝性網膜疾患 (Inherited retinal diseases: IRD) は、希少疾患であるが有効な治療法がまだ確立しておらず、失明原因の上位を占める。国内では代表的な IRD である網膜色素変性症が視覚障害原因第 2 位であり、有効な治療の確立が望まれている。そのため、IRD の病態進行抑制や失われた視機能を再建する研究が、現在世界中で行われている。IRD の原因遺伝子は主に、視細胞の光受容、外節や内節、結合絨毛の構造、視覚サイクル、網膜の発生、シナプス機能、小胞輸送、脂質代謝、貪食能などを機能するタンパク質をコードしており、これまで 300 種類以上見つかった。そのうち、網膜色素上皮細胞に存在し視覚サイクルに関わる RPE65 の変異により、レーベル先天黒内障あるいは網膜色素変性症が発症しうるが、アデノ随伴ウイルス(adeno-associated virus: AAV)ベクターを用いた網膜下注射による RPE65 遺伝子補充療法が、臨床治験で安全性と有効性が確認され、2017 年に米国で遺伝子治療薬「ラクスターナ」として認可されている。Argus II や Alpha-IMS などの人工網膜による視覚再建治療技術に続き、ラクスターナの登場で、IRD に対する遺伝子治療が注目されている。

緑藻類クラミドモナスの光応答に使われる光受容体チャネルロドプシンを利用して、神経細胞活動を光依存的に制御する「オプトジェネティクス」技術が確立され、神経科学分野の発展に近年大きく寄与してきた。オプトジェネティクス技術を応用して、網膜変性疾患の残存した内層網膜にチャネルロドプシンを異所的に遺伝子導入することで、失われた視機能を再建させる方法が注目されている。進行した網膜色素変性症患者に対して、硝子体内注射で AAV ベクターを利用してチャネルロドプシンなどの光受容体を遺伝子導入する臨床治験がすでに複数始まっており、その安全性と治療効果が検討されている。我々は微生物型と動物型の光受容体をハイブリッドさせた「キメラロドプシン」を作成し、網膜変性モデル動物の変性網膜に遺伝子導入することで、これまでに報告された視覚再建に用いられる光受容体よりも高い感度と網膜変性進行に対する抑制効果が得られることを見出した。

本講演では、キメラロドプシンを用いた遺伝子治療の特性を紹介し、今後の発展性について議論したい。