

# 第一種使用規程承認申請書

2019年10月2日

厚生労働大臣 加藤 勝信 殿  
環境大臣 小泉 進次郎 殿

氏名 ヤンセンファーマ株式会社  
申請者 代表取締役社長 クリストファー・フウリガン  
住所 東京都千代田区西神田 3-5-2

第一種使用規程について承認を受けたいので、遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律第4条第2項（同法第9条第4項において準用する場合を含む。）の規定により、次のとおり申請します。

遺伝子組換え生物等の種類の名称	RS ウイルス A2 株に由来する安定的な pre-fusion 構造をとる F タンパク質をコードする遺伝子を含む非増殖型遺伝子組換えアデノウイルス 26 型 (Ad26.RSV.preF)
遺伝子組換え生物等の第一種使用等の内容	ヒトの予防接種を目的とした投与、保管、運搬及び廃棄並びにこれらに付随する行為
遺伝子組換え生物等の第一種使用等の方法	<b>Ad26.RSV.preF の原液の保管</b> (1) Ad26.RSV.preF の原液の保管は、容器に密封された状態で遺伝子組換え生物等である旨を表示し、治療施設内の適切に管理された冷凍庫又は冷蔵庫において行う。 <b>Ad26.RSV.preF の原液の希釈液の調製及び保管</b> (2) Ad26.RSV.preF の原液の希釈液の調製は、治療施設の他の区画と明確に区別された作業室内で行い、作業室内での Ad26.RSV.preF の拡散を最小限に留める。 (3) 希釈液は、容器に密封された状態で保管する。 <b>運搬</b> (4) Ad26.RSV.preF の治療施設内での運搬は、密封した状態で行う。 <b>被接種者への投与</b> (5) Ad26.RSV.preF の投与は、治療施設の他の区画と明確に区別された治療室内で、被接種者の筋肉内に投与することにより行う。投与時は、治療室内での Ad26.RSV.preF の拡散を最小限に留める。

### 投与後の被接種者からの排出等の管理

- (6) 投与後、被接種者の創部を消毒し、創部から排出される Ad26.RSV.preF の環境への拡散が最小限となるよう、医師の判断により必要とされる期間対策を講じる。
- (7) 被接種者の排出物等から第三者への Ad26.RSV.preF の伝播を最小限とするために、Ad26.RSV.preF の投与を受ける被接種者に適切な指導を行う。
- (8) 投与を受けた被接種者が当該治療施設以外の医療施設（以下「外部医療施設」という。）で治療を受ける場合には、Ad26.RSV.preF の投与後、排出等の管理が不要となる期間、外部医療施設に対し第一種使用等の承認を受けた遺伝子組換え生物等が投与された被接種者であることが情報提供されるよう、Ad26.RSV.preF の投与を受ける被接種者に適切な指導を行う。

### 被接種者検体の取扱い

- (9) 被接種者から採取した検体（以下「検体」という。）は、治療施設その他の外部医療施設（以下「施設等」という。）の規定に従って取り扱う。
- (10) Ad26.RSV.preF の投与後、排出等の管理が不要となる期間までに、検体の検査が外部の受託検査機関（以下「検査機関」という。）に委託される場合は、Ad26.RSV.preF が漏出しない容器に入れ、施設等から検査機関へ運搬する。運搬は、第一種使用規程の承認を受けている遺伝子組換え生物等が投与された被接種者の検体である旨を情報提供して行う。検体は検査機関の規定に従って取り扱う。
- (11) 検体の廃棄は、廃棄物の処理及び清掃に関する法律（昭和 45 年法律第 137 号）に基づいて施設等又は検査機関で定められた医療廃棄物の管理に係る規程（以下「医療廃棄物管理規程」という。）に従って行う。

### 感染性廃棄物等の処理

- (12) Ad26.RSV.preF の原液の廃棄は、治療施設内で不活化処理を行った上で、医療廃棄物管理規程に従って行う。
- (13) Ad26.RSV.preF の原液の希釈液及び Ad26.RSV.preF が付着した可能性のある機器及び器材の廃棄は、医療廃棄物管理規程に従って行う。再利用する機器及び器材にあっては、不活化処理を行い、十分に洗浄する。
- (14) 被接種者が自宅で用いたドレッシング材及び洗浄に用いた器材等が発生した場合は、厳重に密閉した状態で保管し、不活化処理を行った上で廃棄する。
- (15) Ad26.RSV.preF の原液の廃棄を感染性廃棄物処理業者に委託す

	<p>る場合には、Ad26.RSV.preF の原液は、漏出しない密封容器に入れた上で他の医療廃棄物と区別して保管し、感染性廃棄物処理業者へ運搬し、廃棄物の処理及び清掃に関する法律施行令（昭和 46 年政令第 300 号）の別表第 1 の 4 の項に定める感染性廃棄物（以下「感染性廃棄物」という。）として廃棄する。運搬は、第一種使用規程の承認を受けている遺伝子組換え生物等を含む廃棄物である旨を情報提供して行う。</p> <p>(16) Ad26.RSV.preF の原液の希釈液及び検体の廃棄を感染性廃棄物処理業者に委託する場合には、Ad26.RSV.preF の原液の希釈液及び検体は漏出しない密封容器に入れ、Ad26.RSV.preF が付着した可能性のある機器及び器材は厳重な密閉を行った上で感染性廃棄物処理業者へ運搬し、感染性廃棄物として廃棄する。</p> <p>(17) 治療施設外で保管された未開封の Ad26.RSV.preF を廃棄する場合は、密封された状態で高圧蒸気滅菌により不活化処理を行い、廃棄する。</p>
--	---

## 生物多様性影響評価書

### I. 宿主又は宿主の属する分類学上の種に関する情報

#### 1. 分類学上の位置付け及び自然環境における分布状況

学名及び一般名称 ヒトアデノウイルス 26 型 (Human adenovirus serotype 26)  
科 アデノウイルス科 (Adenoviridae)  
属 マストアデノウイルス属 (Mastadenovirus)  
種 D 亜群アデノウイルス (Human adenovirus subgroup D)  
株 血清型 26 (Serotype 26)

ヒトアデノウイルス 26 型 (以下 Ad26) は D 亜群に属しており、1956 年に 9 カ月齢男児の肛門検体からの分離が最初の報告である。D 亜群のアデノウイルスは、B 亜群や C 亜群のアデノウイルスなどと比較して病原性が弱いと考えられる。Ad26 の感染はヒトのみで報告されており、一般に野生型の Ad26 は胃腸感染症、中等度の結膜炎及び極めて軽度の鼻炎を引き起こす。D 亜群のアデノウイルスは後天性免疫不全症候群 (AIDS) 患者の下痢でも認められている。

アデノウイルスは、A から G までの亜属に分類され、各亜群間のウイルス遺伝子の配列には 40% 程度の相違が認められる (文献 1)。一方、各亜群内では遺伝子の高い相同性がみられる。GenBank に配列が公表されているすべての D 亜群の遺伝子を用いた相同性の検討では約 94% の一致が認められた (文献 2)。また、C 亜群に属する Ad6 と比較的よく研究されている C 亜群に属する Ad2 及び Ad5 の DNA 配列もそれぞれ、98% 及び 94% の相同性が認められ、これら 3 株の間に高い相同性が示されている (文献 1 及び文献 3)。一方、D 亜群に属する Ad26 と C 亜群に属する Ad6 との間には約 34% の DNA の相違が報告されており (文献 1)、C 亜群と D 亜群はマストアデノウイルス属内で、遺伝子系統的に比較的遠い関係にあることが示されている (文献 3 及び文献 4)。

アデノウイルスは一般に軽度の気道感染症を引き起こすとされるが、多くの場合ウイルス学的、血清学的に感染が証明されるにもかかわらず自然に軽快し概して症状を伴わない。アデノウイルスのヒトからヒトへの感染は、糞口、飛沫、接触、性交などの経路を介して起こる。アデノウイルスの遺伝子は宿主細胞染色体外に存在し、宿主細胞への感染後に宿主細胞染色体 DNA に組み込まれる機構を有さない (文献 5 及び文献 6)。他の血清型と異なりヒトへの Ad26 の潜伏感染はこれまでに認められていない。

#### 2. 使用等の歴史及び現状 (人用若しくは動物用医薬品としての利用の歴史又は産業的な利用の歴史及び現状を含む。)

Ad26 そのものを利用した事例は知られていない。海外において、Ad26 に由来するウイルスベクターを用いた HIV (Ad26.ENVA.01) (文献 7 及び文献 8)、マラリア (Ad26.CS.01) (文献 9)、エボラ (Ad26.ZEBOV) (文献 10) 及び RSV ワクチン開発が進行中である。RSV ワクチンに関しては、成人被験者を対象とした Ad26.RSV.FA2 の VAC18192RSV1001 及び VAC18192RSV1003 試験を実施した。開発中の Ad26.RSV.preF の臨床試験を別紙 4 の 2 項に示

す。

### 3. 生理学的及び生態学的特性

#### (1) 基本的特性

アデノウイルスは、エンベロープを有さない70～90 nmの正20面体のウイルス粒子である。Ad26もエンベロープを有さない正20面体のウイルス粒子であり、約36 kbの2本鎖DNAゲノム（GenBank EF153474.1）を有する。ゲノム2本鎖DNAを包む正20面体の構造タンパク（カプシド）は、II、III、IV、VI、VIII、IX及びIIIaより構成され、中心部のV、VII、X及び末端タンパクは直接DNAと結合している（文献11）。野生型Ad26の粒子構造を別紙1に示す。

#### (2) 生育又は生育可能な環境の条件

アデノウイルスは、36℃では1週間、室温では数週間、4℃では数カ月間安定である（文献12及び文献13）。アデノウイルスは環境中で極めて安定であり、乾燥した一般的な無生物表面上で7日～3カ月間生存する。水道水、下水、海水中でも生存できる（文献14）。

自然界におけるAd26の感染はヒトのみで報告され、動物における感染は報告されていないが、Ad5など野生型のヒトアデノウイルスは、実験的に高用量のウイルスを接種することでマウス、ハムスター、コットンラット及びブタに感染する。遺伝子組換えAd26も、実験的に高用量でマウス及びコットンラットなどに遺伝子導入できることから、これらの動物でも感染は起こりうると考えられる。

#### (3) 捕食性又は寄生性

アデノウイルスは、動物細胞に感染することを除いては、その自然界における捕食者、被食者、寄生生物、競合生物及び共生生物はない。

#### (4) 繁殖又は増殖の様式

Ad26は主としてヒトの細胞に感染するが、他のアデノウイルスと同様に感染細胞の核内では染色体外遺伝子として存在する。E1A、E1B、E2及びE3などの初期遺伝子の発現に続き、ウイルスDNAの複製及びウイルス粒子構成タンパク質の産生が起これ、ウイルス粒子が形成される。感染細胞の溶解に伴い、ウイルス粒子が放出される。

詳細を別紙1に示す。

#### (5) 病原性

アデノウイルスは、一般に軽度の気道感染を生じさせるが、血清学的又はウイルス学的な感染の証拠が認められるものの無症候性の感染もあり、約半数の感染者にしか症状が現れない。このウイルスは大半の軽度な呼吸器疾患の原因であり、主にAd4及びAd7により生じ、発熱、鼻炎、咽頭炎、咳、及び結膜炎を生じる。他に気道、消化管、眼（急性濾胞性結膜炎）に症状がよく認められる。

アデノウイルスは地域的に血清型に偏りがあるものの全世界に広く分布しており、一年を通して存在し、一部の型については、季節性の流行がみられる。Ad5が最もよくみられ、Ad1及びAd2は地域性がみられる。ほとんどが出生後、数年のうちにアデノウイルスに感染すると

考えられ、10歳までに1つ以上の型のウイルスに感染するが、約半数は無症候性感染である。アデノウイルスの血清型により組織に対する指向性が異なるため、発症する疾患に重複はあるものの、血清型と疾患との間に関連性がみられる。B、C及びE亜群に属するAd1、Ad2、及びAd5による咽頭炎・扁桃炎、Ad3、Ad4及びAd7型による咽頭炎に結膜炎を伴う咽頭結膜熱並びにAd11型による出血性膀胱炎はよく知られている。また、D亜群に属するAd8、Ad9及びAd37による流行性角結膜炎、F亜群に属するAd40及びAd41による胃腸炎などもよく知られている（文献13）。

Ad26はD亜群に属しており、B又はC亜群のアデノウイルスに比較して病原性が弱いと考えられている。Ad26に関する報告は少ないが、野生型Ad26による胃腸感染症及び眼感染症に関するものがある。野生型Ad26の分離及び疾患原因としての野生型Ad26に関する現在までの報告を以下に示す。

野生型Ad26は1956年に9カ月齢男児の肛門検体から分離されている（文献15）。別々の小児の肛門及び咽頭から全部で4株が分離された。これらのウイルスが検出された小児に軽度の疾患がみられた場合もあったが、いずれも分離されたアデノウイルスとの病原学的関連性は認められなかった。したがって、野生型Ad26は症状を伴わないか又は軽微の腸管感染を発症させるものと思われた。

Kaselら（文献16）は、ヒトを対象とした野生型Ad26の誘発試験を行い、結膜嚢又は鼻腔内に接種すると症候を伴った感染が成立することを報告した。結膜嚢に接種した場合には、最初の1週間に、眼からのウイルス分離を伴う自然に軽快する中等度の結膜炎が認められた。抗Ad26抗体陽性者では、症状は比較的軽度であった。鼻腔内に接種した場合には、主訴を伴わない程度の鼻炎が発現した。鼻への接種では眼疾患を生じなかった。鼻腔内接種時のウイルス排出についての検討はなされなかった。

アデノウイルスは極めてまれに髄膜脳炎を引き起こす場合がある。Dubberkeらは、重度の脳腫瘍及び放射線治療歴のある免疫能の低下した患者において野生型Ad26の感染が急性髄膜脳炎の原因となった極めてまれな症例を報告している（文献17）。

1例のAIDS患者において、Ad26は下痢と関連していた（文献18）。

#### (6) 有害物質の産生性

感染細胞内で宿主ゲノム由来のタンパク質が産生されるが、細胞外に分泌される遊離有害物質は知られていない。

#### (7) その他の情報（不活化条件等を含む。）

Ad26.RSV.preFの汚染除去には、以下の方法の有効性が確認されている。

- ・ 表面汚染廃棄物：0.1モル濃度の水酸化ナトリウム液を用いて15分間浸漬
- ・ 飛散を含む液状汚染廃棄物：0.25モル濃度の水酸化ナトリウム液、又は1%濃度のVirkon液（ペルオキソ一硫化水素カリウム及び塩化ナトリウムを含む市販の消毒液）を用いて15分間浸漬

アデノウイルスの不活化には、物理的不活化法として121°C、30分の加熱、化学的不活化法として塩素系消毒剤（例：0.5%濃度の次亜塩素酸ナトリウム液等）が有効であり、アデノ

ウイルスによる汚染廃棄物の消毒に使用できる（文献19）。

Ad26.RSV.preFの投与終了後に、必要に応じて、作業室の床又は作業台等の上を80%消毒用エタノール等で十分に清拭し消毒する。特に明らかな漏出、飛散等の汚染が生じた場合には、調剤室の設備や作業台の表面を0.5-1.0%塩素系消毒薬で除染する。

- 文献1. Turner MA, Middha S, Hofherr SE, et al. Comparison of the Life Cycles of Genetically Distant Species C and Species D Human Adenoviruses Ad6 and Ad26 in Human Cells. *J. Virol.* 2015;89:12401-17
- 文献2. Robinson CM, Seto D, Jones MS, et al. Molecular evolution of human species D adenoviruses. *Infection, Genetics and Evolution.* 2011;11:1208–17.
- 文献3. Weaver EA, Hillestad ML, Khare R, et al. Characterization of species C human adenovirus serotype 6 (Ad6). *Virology.* 2011;412:19–27.
- 文献4. Robinson CM Singh G, Lee JY, et al. Molecular evolution of human adenoviruses. *J. Sci Rep.* 2013;3:1812.
- 文献5. Chuah MK, Collen D, VandenDriessche T. Biosafety of adenoviral vectors. *Curr Gene Ther.* 2003;3:527-43.
- 文献6. Feuerbach FJ, Crystal RG. Progress in human gene therapy. *Kidney Int.* 1996;49:1791-4.
- 文献7. Baden LR, Walsh SR, Seaman MS, et al. First-in-human evaluation of the safety and immunogenicity of a recombinant adenovirus serotype 26 HIV-1 Env vaccine (IPCAVD 001). *J Infect Dis.* 2013;207:240-7.
- 文献8. Barouch DH, Liu J, Peter L, et al. Characterization of humoral and cellular immune responses elicited by a recombinant adenovirus serotype 26 HIV-1 Env vaccine in healthy adults (IPCAVD 001). *J Infect Dis.* 2013;207:248-56.
- 文献9. Creech CB, Dekker CL, Ho D, et al. Randomized, placebo-controlled trial to assess the safety and immunogenicity of an adenovirus type 35-based circumsporozoite malaria vaccine in healthy adults. *Hum Vaccin Immunother.* 2013;9:2548-57.
- 文献10. Milligan ID, Gibani MM, Sewell R, et al. Safety and immunogenicity of novel adenovirus type 26- and modified vaccinia ankara-vectored ebola vaccines: a randomized clinical trial. *JAMA.* 2016;315:1610-23.
- 文献11. McConnell MJ, Imperiale MJ. Biology of adenovirus and its use as a vector for gene therapy. *Hum Gene Ther.* 2004;15:1022-33.
- 文献12. Flomenberg P. Adenovirus infections. *Medicine.* 2009;37:676-8.
- 文献13. Robinson C, Echavarria M. Adenoviruses. In: Murray PR, Baron EJ, et al. editors. *Manual of clinical microbiology*, 9th ed. Washington, DC: ASM Press;2007.P.1589-600.

- 文献14. Enriquez CE, Hurst CJ, Gerba CP. Survival of the enteric adenoviruses 40 and 41 in tap, sea, and waste water. *Wat Res.* 1995;29:2548-53.
- 文献15. Rosen L, Baron S, Bell JA. Four newly recognized adenoviruses. *Proc Soc Exp Biol Med.* 1961;107:434-37.
- 文献16. Kassel JA, Evans HE, Spickard A, et al. Conjunctivitis and enteric infection with adenovirus types 26 and 27: responses to primary, secondary and reciprocal cross-challenges. *Am J Hyg.* 1963;77:265-82.
- 文献17. Dubberke ER, Tu B, Rivet DJ. Acute meningoencephalitis caused by adenovirus serotype 26. *J Neurovirol.* 2006;12:235-40.
- 文献18. Hierholzer JC. Adenoviruses in the immunocompromised host. *Clin Microbiol Rev.* 1992;5:262-74
- 文献19. Rutala WA, Weber DJ and the Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee. *Guideline for Disinfection and Sterilization in Healthcare Facilities, 2008.* CDC. Last update: May , 2019.

## II. 遺伝子組換え生物等の調製等に関する情報

### 1. 供与核酸に関する情報

#### (1) 構成及び構成要素の由来

Ad26.RSV.preF は、供与核酸として、ヒトサイトメガロウイルス (CMV) プロモーター、目的遺伝子である RSV A2 株の pre-F タンパク質をコードする遺伝子、SV40 ポリアデニレーション (polyA) 配列、及び複数のリンカー配列からなる pre-F 発現カセットを有する。また、Ad26.RSV.preF では、E1 領域及び E3 領域の一部が除かれ、E4orf6 が Ad5 の対応する配列に置換されている。

#### (2) 構成要素の機能

Ad26.RSV.preF の構成要素及び欠失領域の一覧を別紙 2 に示す。

Ad26.RSV.preF は、Ad26 を骨格とする非増殖型の遺伝子組換えウイルスに、Respiratory Syncytial Virus (RSV) の感染時の細胞膜融合に関与する F タンパク質の遺伝子を改変して融合前の構造に安定化させた (preF) 遺伝子を組み込んだ RSV 予防ワクチンである。

Ad26.RSV.preF は、Ad 26 のゲノムから複製に必要な E1 領域が除去されており、複製能を欠損している。外来抗原遺伝子挿入のために十分な領域をウイルスゲノム内に確保するために、宿主細胞内での維持に関与する E3 領域の大部分も除去されている。したがって、Ad26.RSV.preF の製造時には増殖性感染及び複製を起こさせるために、E1 (Ad5 由来) を補完する組換え細胞株 (HEK293、PER.C6) により E1 欠損を補う必要があり (文献 20)、この遺伝子操作がされていないヒト細胞中では、Ad26.RSV.preF は複製されない。

Ad26.RSV.preF の目的遺伝子は CMV プロモーター及び SV40 polyA により制御されている。患者への筋肉内接種後、CMV プロモーターは目的遺伝子の発現を担う制御因子となり、SV40 polyA は目的遺伝子の発現を補助する。Pre-F 発現カセットの塩基配列及び目的遺伝子から発現される pre-F タンパク質のアミノ酸配列を別紙 2 に示す。

発現する pre-F タンパク質は野生型の RSV の F タンパク質を改変したものであり、下記の膜融合活性は失われている。野生型の RSV F タンパク質は、ウイルスのクラス I 膜融合タンパク質 (文献 21、文献 22) であり、単独でウイルス膜と細胞膜の膜融合に関与するが、宿主細胞での発現時には隣接細胞膜間の膜融合にも関与する。RSV の F タンパク質は、準安定な融合前の立体構造から、安定な融合後の立体構造に遷移する。より強力な中和抗体を誘導するエピトープが pre-F タンパク質に存在することが示されていることから、pre-F の立体構造が安定化するように改変した RSV F タンパク質の完全長のコード配列を Ad26.RSV.preF の目的遺伝子とした。改変の詳細は別紙 2 に示す。なお、pre-F を含む供与核酸由来の産物に発癌性又は毒性は示されていない。

### 2. ベクターに関する情報

#### (1) 名称及び由来

該当せず

#### (2) 特性

該当せず

### 3. 遺伝子組換え生物等の調製方法

#### (1) 宿主内に移入された核酸全体の構成

Ad26.RSV.preF は、Ad26 の E1 領域及び E3 領域の一部を除去し、E4 領域の一部を Ad5 の対応する配列と置換した改変型 Ad26 に供与核酸を挿入したものである。Ad26.RSV.preF の構造概略図を別紙 3 に示す。

#### (2) 宿主内に移入された核酸の移入方法

Ad26.RSV.preF は、pre-F 発現カセットを有するプラスミド (pAdapt26.RSV.preF) と Ad26 に由来する改変型ゲノム配列を有するプラスミド (Ad26 コスミド) をヒト胚性網膜芽細胞由来細胞株 (PER.C6 細胞) に共導入して得られる。pAdapt26.RSV.preF と Ad26 コスミドの相同組換えにより、完全なウイルス粒子を形成するために必要なウイルス遺伝子を、E1 及び E3 を除きすべて含む Ad26.RSV.preF ゲノムが構築される。pAdapt26.RSV.preF 及び Ad26 コスミドの作製方法の詳細を別紙 3 に示す。

#### (3) 遺伝子組換え生物等の育成の経過

野生株から宿主株の育成の経緯を別紙 1 に示す。Ad26.RSV.preF の製造において、E1 を補完する製造用細胞として PER.C6 細胞を用いる。Ad26.RSV.preF は、PER.C6 細胞内での Ad26 の産生量を確保するために、Ad26 の E4 orf6 は Ad5 型に置換されている (文献 23)。

Ad26.RSV.preF 原薬は、ウイルスシードを製造用細胞である PER.C6 細胞中で増殖させた後、精製し製造する。原薬を希釈した後充てんし、製剤を製造する。原薬及び製剤の製造方法、規格及び試験方法、並びに製造及び品質管理試験の実施設に係る詳細を別紙 3 に示す。原薬の規格試験により、増殖性アデノウイルス (RCA) が混在しないことが確認されている。

また、製造用細胞及びウイルスシードについてはバンクシステムを構築している。ウイルスシードの詳細を別紙 3 に示す。

### 4. 移入した核酸の存在状態及び当該核酸による形質発現の安定性

移入された核酸は、Ad26.RSV.preF 粒子のゲノム DNA の一部として存在し、製剤としての保管中は安定である。

細胞に侵入すると、Ad26.RSV.preF ゲノム DNA は、核内の染色体外に比較的安定に存在し、宿主細胞の遺伝子には取り込まれないので、細胞の分裂及び細胞死によって自然に減衰していくと推定される。細胞内に侵入した Ad26.RSV.preF ゲノム DNA の安定性について詳細を別紙 2 に示す。

Ad26.RSV.preF の目的遺伝子及び遺伝子組換えウイルス全体の遺伝子の安定性について、原薬製造に用いるウイルスシードの全ゲノム配列分析をサンガー法で行い、参照配列と一致していることを確認している。また原薬 Ad26.RSV.preF について PCR 法により目的遺伝子を確認することで、原薬の製造工程を通じた目的遺伝子の安定性を確認している。詳細を別紙 2 に示す。

## 5. 遺伝子組換え生物等の検出及び識別の方法並びにそれらの感度及び信頼性

Ad26.RSV.preF の排出試験では、様々な生体試料中の Ad26.RSV.preF 由来の DNA を qPCR 法によって検出した。適切にバリデートされたこの方法は、real-time PCR によって Ad26.RSV.preF の E3 の連結部分を特異的に増幅し検出するプライマー及びプローブを用いており、遺伝子組換え Ad26 ワクチンに特異的であり、野生型 Ad26 ウイルスは検出しない。陰性対照、標準及び各被検試料の Ad26.RSV.preF 由来の DNA を増幅し、標準試料から検量線を作成して各試料中の Ad26.RSV.preF の DNA のコピー数を求めることができる。この方法における 1 反応あたりの検出限界 (LOD) 及び定量限界 (LLOQ) は、それぞれ 10 及び 100 コピーであった。したがって、各検体における LOD は、200 (スワブ又は接着性被覆材) から 2500 (血清検体) コピー/mL に相当する。排出試験に用いられる qPCR 法は、高感度であり、RSV.preF 遺伝子を導入した Ad26 ワクチンに特異的である。

## 6. 宿主又は宿主の属する分類学上の種との相違点

宿主である Ad26 と本遺伝子組換え生物の間には以下の相違点がある。

Ad26.RSV.preF は Ad26 の E1 及び E3 領域の遺伝子を欠失しているため、これらの領域により転写調節を受けるウイルスタンパク質群を発現できない。E1A 及び E1B 遺伝子由来のタンパク質はウイルス DNA の複製に必要なため (文献 24)、E1A 及び E1B 遺伝子を発現している細胞中でなければ Ad26.RSV.preF は複製されない。また、Ad5 由来の E1 を補完する PER.C6 細胞で、効率よくウイルスの複製がおこるように、Ad26.RSV.preF は E4 領域の一部を Ad5 の対応する配列に置換しており、Ad26.RSV.preF が感染した細胞では、Ad5 型の E4orf6 タンパク質が産生される。また、Ad26.RSV.preF ではアデノウイルスの E1 が pre-F タンパク質の遺伝子に置換されており、これを CMV プロモーターで発現させている。宿主及び本遺伝子組換え生物の塩基配列の比較を別紙 1 に示す。

文献20. Fallaux FJ, Bout A, van der Velde I, et al. New helper cells and matched early region 1-deleted adenovirus vectors prevent generation of replication-competent adenoviruses. Hum Gene Ther. 1998;9:1909-17.

文献21. Collins P. L. & Melero J. A. Progress in understanding and controlling respiratory syncytial virus: still crazy after all these years. Virus. Res. 2011;162:80-99.

文献22. McLellan JS, Ray WC, Peeples ME. Structure and function of RSV surface glycoproteins. Curr. Top. Microbiol. Immunol. 2013;372:83-104

文献23. Abbink P, Lemckert AA, Ewald BA, et al. Comparative seroprevalence and immunogenicity of six rare serotype recombinant adenovirus vaccine vectors from subgroups B and D. J Virol. 2007;81:4654-63.

文献24. Feuerbach FJ, Crystal RG. Progress in human gene therapy. Kidney Int. 1996;49:1791-4.

### III. 遺伝子組換え生物等の使用等に関する情報

#### 1. 使用等の内容

ヒトの予防接種を目的とした投与、保管、運搬及び廃棄並びにこれらに付随する行為

#### 2. 使用等の方法

##### Ad26.RSV.preF の原液の保管

- (1) Ad26.RSV.preF の原液の保管は、容器に密封された状態で遺伝子組換え生物等である旨を表示し、治療施設内の適切に管理された冷凍庫又は冷蔵庫において行う。

##### Ad26.RSV.preF の原液の希釈液の調製及び保管

- (2) Ad26.RSV.preF の原液の希釈液の調製は、治療施設の他の区画と明確に区別された作業室内で行い、作業室内での Ad26.RSV.preF の拡散を最小限に留める。
- (3) 希釈液は、容器に密封された状態で保管する。

##### 運搬

- (4) Ad26.RSV.preF の治療施設内での運搬は、密封した状態で行う。

##### 被接種者への投与

- (5) Ad26.RSV.preF の投与は、治療施設の他の区画と明確に区別された治療室内で、被接種者の筋肉内に投与することにより行う。投与時は、治療室内での Ad26.RSV.preF の拡散を最小限に留める。

##### 投与後の被接種者からの排出等の管理

- (6) 投与後、被接種者の創部を消毒し、創部から排出される Ad26.RSV.preF の環境への拡散が最小限となるよう、医師の判断により必要とされる期間対策を講じる。
- (7) 被接種者の排出物等から第三者への Ad26.RSV.preF の伝播を最小限とするために、Ad26.RSV.preF の投与を受ける被接種者に適切な指導を行う。
- (8) 投与を受けた被接種者が当該治療施設以外の医療施設（以下「外部医療施設」という。）で治療を受ける場合には、Ad26.RSV.preF の投与後、排出等の管理が不要となる期間、外部医療施設に対し第一種使用等の承認を受けた遺伝子組換え生物等が投与された被接種者であることが情報提供されるよう、Ad26.RSV.preF の投与を受ける被接種者に適切な指導を行う。

##### 被接種者検体の取扱い

- (9) 被接種者から採取した検体（以下「検体」という。）は、治療施設その他の外部医療施設（以下「施設等」という。）の規定に従って取り扱う。
- (10) Ad26.RSV.preF の投与後、排出等の管理が不要となる期間までに、検体の検査が外部の受託検査機関（以下「検査機関」という。）に委託される場合は、Ad26.RSV.preF が漏出しない容器に入れ、施設等から検査機関へ運搬する。運搬は、第一種使用規程の承認を受けている遺伝子組換え生物等が投与された被接種者の検体である旨を情報提供して行う。検体は検査機関の規定に従って取り扱う。
- (11) 検体の廃棄は、廃棄物の処理及び清掃に関する法律（昭和 45 年法律第 137 号）に基づいて施設等又は検査機関で定められた医療廃棄物の管理に係る規程（以下「医療

廃棄物管理規程」という。)に従って行う。

#### 感染性廃棄物等の処理

- (12) Ad26.RSV.preF の原液の廃棄は、治療施設内で不活化処理を行った上で、医療廃棄物管理規程に従って行う。
- (13) Ad26.RSV.preF の原液の希釈液及び Ad26.RSV.preF が付着した可能性のある機器及び器材の廃棄は、医療廃棄物管理規程に従って行う。再利用する機器及び器材にあつては、不活化処理を行い、十分に洗浄する。
- (14) 被接種者が自宅で用いたドレッシング材及び洗浄に用いた器材等が発生した場合は、厳重に密閉した状態で保管し、不活化処理を行った上で廃棄する。
- (15) Ad26.RSV.preF の原液の廃棄を感染性廃棄物処理業者に委託する場合には、Ad26.RSV.preF の原液は、漏出しない密封容器に入れた上で他の医療廃棄物と区別して保管し、感染性廃棄物処理業者へ運搬し、廃棄物の処理及び清掃に関する法律施行令（昭和 46 年政令第 300 号）の別表第 1 の 4 の項に定める感染性廃棄物（以下「感染性廃棄物」という。）として廃棄する。運搬は、第一種使用規程の承認を受けている遺伝子組換え生物等を含む廃棄物である旨を情報提供して行う。
- (16) Ad26.RSV.preF の原液の希釈液及び検体の廃棄を感染性廃棄物処理業者に委託する場合には、Ad26.RSV.preF の原液の希釈液及び検体は漏出しない密封容器に入れ、Ad26.RSV.preF が付着した可能性のある機器及び器材は厳重な密閉を行った上で感染性廃棄物処理業者へ運搬し、感染性廃棄物として廃棄する。
- (17) 治療施設外で保管された未開封の Ad26.RSV.preF を廃棄する場合は、密封された状態で高圧蒸気滅菌により不活化処理を行い、廃棄する。

### 3. 承認を受けようとする者による第一種使用等の開始後における情報収集の方法

申請者は Ad26.RSV.preF の安全性に関する臨床データを海外で実施中の臨床試験で収集している（III章-6 参照）。国内で治験を実施する際、海外臨床試験で設定している検査項目を含めモニタリングを行うことを予定している。治験実施計画書に従って検査を行い、被験者の臨床症状を観察する。また、被験者について、局所反応性と（重篤な）有害事象についてモニターする。

### 4. 生物多様性影響が生じるおそれのある場合における生物多様性影響を防止するための措置

該当せず。

### 5. 実験室等での使用等又は第一種使用等が予定されている環境と類似の環境での使用等の結果

#### 生体内分布試験

ニュージーランドホワイトウサギに、Ad26.RSV.preF ( $1 \times 10^{11}$  vp) 又は Ad26.RSV.preF ( $1 \times 10^{11}$  vp) + RSV preF タンパク質 (150 $\mu$ g) を単回筋肉内投与し、生体内分布を評価した。分析した器官及び組織は、血液、卵巣/精巣、肝臓、胸腺、心臓、肺、腎臓、脾臓、膝窩リン

関節、腸間膜リンパ節、腸骨リンパ節、骨髄、脳、並びに投与部位の皮膚及び大腿筋であった。Ad26.RSV.preF 由来の DNA の分布は、初回検体採取時である Day 11 において投与部位（皮膚）、脾臓、腸骨リンパ節及び膝窩リンパ節に認められた。経時的に減少し、最終検体採取時である投与後 180 日では、腸骨リンパ節にのみ認められたが、そのコピー数は定量限界付近であった。RSV preF タンパク質の併用投与は Ad26.RSV.preF 由来の DNA の生体内分布及び持続性に影響を与えなかった。以上のとおり、Ad26.RSV.preF 由来の DNA は限られた組織に分布し、経時的に減少することが示された。

### 毒性試験

雌雄のニュージーランドホワイトウサギに Ad26.RSV.preF ( $1 \times 10^{11}$  vp/投与) を 2 週間間隔で計 5 回筋肉内投与した。その結果、ELISA によって RSV F タンパク質特異的な免疫応答の誘導が確認された。忍容性は良好であり、対照群と比較して血中フィブリノーゲン値及び C-反応性タンパク質値の増加、腸骨リンパ節にリンパ系細胞の増加及び胚中心の細胞増加、脾臓に胚中心の細胞増加、並びに投与部位に炎症性反応が認められたが、いずれも軽度な変化であり、ワクチン投与に対する有害な生理的反応は認められなかった。これらの変化は最終投与後 2 週間の休薬により回復又は回復傾向を示した。

## 6. 国外における使用等により得られた情報

### 臨床試験

遺伝子組換え Ad26 ワクチンを用いて実施された多くの臨床試験成績から、これらのワクチンの安全性及び忍容性は良好であることが示されている。

#### (1) 安全性及び忍容性

完了済み又は実施中の Ad26.RSV.preF を用いた臨床試験の概要を別紙 4 に示す。現在までにこれらの試験から得られたデータより、Ad26.RSV.preF の筋肉内接種による免疫原性の獲得が確認された。また、これまでに安全性の懸念は示されていない。

#### (2) 排出

異なる遺伝子組換え Ad26 ワクチンの排出評価として、Ad26.ENVA.01 を用いた IPCAVD001 試験（文献 25、文献 26）並びに Ad26.ENVA.01 及び Ad35.ENV（Ad35 を骨格とした HIV ワクチン）を用いた IPCAVD004 試験（文献 27）について記載する。

被験者から採取された尿及び口咽頭の検体からウイルスを培養し、感染性アデノウイルスの排出の有無を解析した結果、いずれの試験においてもアデノウイルスは検出されなかった。更に、Ad26.ZEBOV（文献 28）を用いた VAC52150EBL2001 試験では、被験者から採取された鼻腔及び尿の検体を定量 PCR で解析し、ウイルス粒子の排出について検討されたが、いずれの検体からも検出されなかった。

これらの非増殖性遺伝子組換え Ad26 の排出データについて、別紙 4 に詳細を記載する。

別紙 4 に記載した非増殖性遺伝子組換え Ad26 を用いた臨床試験における排出評価の結果は、これらの非増殖性遺伝子組換えアデノウイルスを筋肉内接種した場合、接種後 1 日目の初期より、いずれの時点においても感染性アデノウイルス及び遺伝子組換えアデノウイルスの DNA が体外へ排出されないことを示している。排出は挿入遺伝子でなく、主として遺伝子組

換えアデノウイルスの外殻タンパク質の性質に依存すると考えられ、筋肉内接種では Ad26.RSV.preF もこれらの遺伝子組換えアデノウイルスと同様の排出を示すと推測することができる

現在、ヒトに Ad26.RSV.preF を筋肉内接種したときの体外への排出を評価する臨床試験（VAC18193RSV1005 試験）が海外で実施中である。

VAC18193RSV1005 試験は 18 歳以上の成人 24 例 [男性 16 例、女性 8 例、うち 65 歳以上の高齢者 4 例（男性 3 例、女性 1 例）を含む] を対象とした単施設、非盲検、単群第 I 相試験である。本試験では、参加者に  $1 \times 10^{11}$  vp の用量で Ad26.RSV.preF を単回接種し、接種後 26 週までの試験期間、本剤の排出が評価される。接種前及び接種後の適切な時点で接種部位の接着性被覆材、接種部位スワブ、中鼻甲介スワブ、咽頭スワブ、直腸スワブ、尿及び精液（男性参加者のみ）の検体が採取される。さらに、Ad26.RSV.preF の移行範囲を理解する目的で、薬物動態分析のための血液検体が採取される。排出の評価は qPCR 法により測定される。接種後 28 日目で実施された一次解析時点では、すべての参加者が試験に参加中であり、そのうち 22 例からすべての検体を採取することができた。

一次解析より得られた予備データでは、Ad26.RSV.preF に特異的な DNA が検出されたのは主として接種部位であり、他の分泌物中では認められたとしても低頻度できわめて低レベルであった。野生型 Ad26 又はその他のアデノウイルスとの同時感染により Ad26.RSV.preF の増殖能の再獲得が起こる可能性は低いと評価されており、そうした遺伝子組換え構築物に由来するリスクは、野生型 Ad26 や Ad26 以外のアデノウイルスのリスクを上回るものではないと推定されている。これらの考察に基づき、申請者は、Ad26.RSV.preF の環境への影響リスクは無視できる範囲であると考えている。

本試験の詳細については、別紙 4 に記載する。

#### 参考文献

- 文献25 Baden LR, Walsh SR, Seaman MS, et al. First-in-human evaluation of the safety and immunogenicity of a recombinant adenovirus serotype 26 HIV-1 Env vaccine (IPCAVD 001). *J Infect Dis.* 2013;207;240-7.
- 文献26 Barouch DH, Liu J, Peter L, et al. Characterization of humoral and cellular immune responses elicited by a recombinant adenovirus serotype 26 HIV-1 Env vaccine in healthy adults (IPCAVD 001). *J Infect Dis.* 2013;207;248-56.
- 文献27 Baden LR, Karita E, Mutua G, et al. Assessment of the Safety and Immunogenicity of 2 Novel Vaccine Platforms for HIV-1 Prevention: A Randomized Trial. *Ann Intern Med.* 2016;164(5):313-22.
- 文献28 Milligan ID, Gibani MM, Sewell R, et al. Safety and immunogenicity of novel adenovirus type 26- and modified vaccinia ankara-vectored ebola vaccines: a randomized clinical trial. *JAMA.* 2016;315;1610-23.

## IV. 生物多様性影響評価

### 1. 他の微生物を減少させる性質

#### (1) 影響を受ける可能性のある微生物の特定

Ad26.RSV.preF の感染宿主は野生型 Ad26 と同じと考えられるので、微生物に感染せず、競合又は有害物質の産生により他の微生物を減少させることはないと考えられる。よって、影響を受ける可能性のある微生物は特定されない。

#### (2) 影響の具体的内容の評価

Ad26.RSV.preF が環境中に排出されたとしても、Ad26.RSV.preF は複製能がなく、製剤は replication-competent adenovirus (RCA) を含んでおらず、ヒト以外の宿主はなく、細菌性プラスミドやコスミド配列、細菌抵抗性遺伝子のような細菌に選択上有利に働く配列を有していないことから、微生物に影響を与えないと考えられる。

#### (3) 影響の生じやすさの評価

該当せず。

#### (4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断

上記より、第一種使用規定に基づいた使用等を行う限り、他の微生物を減少させることに起因する生物多様性影響が生ずるおそれはないと判断される。

### 2. 病原性

#### (1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定

Ad26.RSV.preF の感染宿主は野性型 Ad26 と同じと考えられるため、自然界で影響を受ける可能性のある動植物はヒトに限られる。

#### (2) 影響の具体的内容の評価

RSV の F タンパク質は野性型 RSV の病原性に関与し、ウイルス膜と細胞膜の間の膜融合を媒介することが知られているが、RSV の pre-F タンパク質が改変されており、発がん性又は毒性作用を示すことはないと考えられる。Ad26.RSV.preF は、非増殖性で病原性を示す可能性が低い。増殖性アデノウイルス (RCA) が製品に残存しないことが確認されており、RCA により病原性が示されることもない。

#### (3) 影響の生じやすさの評価

Ad26.RSV.preF を含有する製品は病原性を示す可能性が低く、仮に排出された場合でも、第一種使用規程に基づいた使用等を行う限り、環境中への拡散は限られており、第三者に水平感染する可能性は極めて低い。

#### (4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断

上記より、第一種使用規定に基づいた使用等を行う限り、病原性に起因する生物多様性影響が生ずるおそれは極めて低いと考えられる。

### 3. 有害物質の産生性

#### (1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定

Ad26.RSV.preF の感染宿主は、野生型 Ad26 と同じと考えられることから、自然界で影響を受ける可能性のある動植物はヒトに限られる。

#### (2) 影響の具体的内容の評価

RSV の F タンパク質は野生型 RSV の病原性に関与することが知られているが、Ad26.RSV.preF が産生する preF は F タンパク質を改変したものであり、免疫原性を除いて有害性は認められていない（別紙 5 参照）。また、他に新たな有害物質が産生されることはない。

#### (3) 影響の生じやすさの評価

本遺伝子組換え生物等を含有する製品は、有害性を示す可能性が低く、仮に排出された場合でも、第一種使用規程に基づいた使用等を行う限り、環境中への拡散は限られており、第三者に影響を及ぼす可能性は極めて低い。

#### (4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断

上記より、第一種使用規定に基づいた使用等を行う限り、有害物質の産生性に起因する生物多様性影響が生ずるおそれは極めて低いと考えられる。

### 4. 核酸を水平伝達する性質

#### (1) 影響を受ける可能性のある野生動植物又は他の微生物の特定

Ad26.RSV.preF の感染宿主は、野性型 Ad26 と同じと考えられるので、自然界で影響を受ける可能性のある動植物はヒトに限られる。

#### (2) 影響の具体的内容の評価

Ad26.RSV.preF は非増殖性でありヒトゲノムに組み込まれないため、水平感染とそれに続く水平伝達により供与核酸が第三者に伝播される可能性は極めて低い。一方、Ad26.RSV.preF と野性型アデノウイルスが共感染した場合には、相同組換えにより新たな増殖型遺伝子組換えアデノウイルスが生じる可能性は低いものの、完全には否定できない。

#### (3) 影響の生じやすさの評価

Ad26.RSV.preF は、野性型ウイルスとの共感染により、相同組換えを起こす可能性がある。しかし、野性型のアデノウイルスの感染は、呼吸器、消化管及び眼であり、投与部位である筋肉に感染することはない。また、生体内分布試験及び排出試験の結果から、Ad26.RSV.preF の呼吸器、消化管及び眼への曝露は認められなかった。したがって、供与核酸がウイルス間の相同組換えにより水平伝達される可能性は極めて低いと考えられる。

また、Ad26.RSV.preF は、その供与核酸が第三者に水平伝達される可能性が低く、仮に排出された場合でも、第一種使用規程に基づいた使用等を行う限り、環境中への拡散は限られており、第三者に影響を及ぼす可能性は極めて低い。

#### (4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断

上記より、第一種使用規定に基づいた使用等を行う限り、核酸を水平伝達する性質に起因す

る生物多様性影響が生ずるおそれは極めて低いと考えられる。

#### 5. その他の性質

該当なし

## V. 総合的評価

本遺伝子組換えウイルス（Ad26.RSV.preF）の感染しうる動物はヒトであり、影響を受ける可能性のある植物及び他の微生物はない。Ad26.RSV.preF は非増殖性で、病原性はなく、感染細胞のゲノムに組み込まれる機構を有していないため、その伝播性及び核酸の水平伝達性は極めて低い。したがって、第一種使用規定に従って Ad26.RSV.preF を使用する限り、他の微生物を減少させる性質、病原性、核酸を水平伝達する性質、並びにその他の性質に基づいて生物多様性影響が生じるおそれは極めて低いと考えられる。