

第一種使用規程承認申請書

令和元年 8 月 1 日

厚生労働大臣 根本 匠 殿

環境大臣 原田 義昭 殿

申請者 住所 東京都港区赤坂一丁目 11 番 44 号
氏名 POC クリニカルリサーチ株式会社
代表取締役社長 小澤 健夫

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	<i>rep</i> 及び <i>cap</i> 遺伝子を欠失し、ヒト Rab エスコートタンパク質 1 を発現するアデノ随伴ウイルス 2 型 (timrepigene emparvovec)
遺伝子組換え生物等の第一種使用等の内容	ヒトの遺伝子治療を目的とした投与、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	本遺伝子組換え生物等の原液の保管 (1) 本遺伝子組換え生物等の原液の保管は、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において行う。 本遺伝子組換え生物等の原液の希釈液の調製及び保管 (2) 本遺伝子組換え生物等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、作業室内での本遺伝子組換え生物等の拡散を最小限に

	<p>留める。</p> <p>(3) 希釈液は、容器に密封された状態で保管する。</p> <p>運搬</p> <p>(4) 本遺伝子組換え生物等の治療施設内での運搬は、密封した状態で行う。</p> <p>患者への投与</p> <p>(5) 本遺伝子組換え生物等の投与は、治療施設の他の区画と明確に区別された治療室内で、患者の網膜下に直接注入することにより行う。</p> <p>(6) 投与時は、治療室内での本遺伝子組換え生物等の拡散を最小限に留める。</p> <p>投与後の患者からの排出等の管理</p> <p>(7) 投与後、投与部位から排出される本遺伝子組換え生物等の環境への拡散が最小限となるよう、必要とされる期間はガーゼ及び眼帯による被覆を行う。</p> <p>(8) 患者の排出物等から第三者への本遺伝子組換え生物等の伝播を最小限とするために、本遺伝子組換え生物等の投与を受ける患者に適切な指導を行う。</p> <p>(9) 投与を受けた患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、本遺伝子組換え生物等の拡散を最小限に留めるために、必要とされる期間、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患者であることが情報提供されるよう、本遺伝子組換え生物等の投与を受ける患者に適切な指導を行う。</p> <p>患者検体の取扱い</p> <p>(10) 患者から採取した検体（以下「検体」という。）は、治療施設及び外部医療施設（以下「施設等」という。）の規定に従って取り扱う。</p>
--	--

(11) 本遺伝子組換え生物等の投与後、必要とされる期間に、検体の検査を外部の受託検査機関（以下「検査機関」という。）に委託する場合、本遺伝子組換え生物等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。検体は検査機関の規定に従って取り扱う。

(12) 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

(13) 本遺伝子組換え生物等の原液の廃棄は、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。

(14) 本遺伝子組換え生物等の原液の希釈液及び本遺伝子組換え生物等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。

(15) 本遺伝子組換え生物等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、本遺伝子組換え生物等の原液は、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) 本遺伝子組換え生物等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、本遺伝子

	<p>組換え生物等の原液の希釈液及び検体は漏出しない密封容器に入れ、本遺伝子組換え生物等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) 患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は、厳重に密閉した状態で保管し、廃棄する。</p> <p>(18) 治療施設外で保管された未開封の本遺伝子組換え生物等を廃棄する場合は、密封された状態で高圧蒸気滅菌を行い、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

アデノ随伴ウイルス（以下、AAV）は、パルボウイルス科ディペンドウイルス属に分類される小型のウイルスである。自然界において AAV は、ヒトその他の霊長類、ウマ、トリ、ウシ、ヒツジ等の脊椎動物に感染すると考えられており、現在までにヒトその他の霊長類から 100 種類以上の血清型の AAV が分離されている。AAV の系統や血清型により感染する動物種や組織・細胞指向性が互いに異なるものの、いずれもヒトに対する病原性は知られていない。このうち、ヒトから分離された AAV2 型（以下、AAV2）は、自然界ではヒト及び複数の哺乳動物に感染しうることが知られており（文献 1）、それ以外の植物及び微生物に感染するとの報告はない。多くのヒトが小児期までに AAV2 に不顕性感染しており、成人期以降も抗体を保持している（文献 2、文献 3）。

文献 1： Srivastava A. In vivo tissue-tropism of adeno-associated viral vectors. *Curr Opin Virol.* 2016 Dec; 21: 75-80.

文献 2： Berns KI, Parrish CR. Parvoviridae. In “Fields Virology 6th ed.” (Knipe DM, Howley PM eds.), pp.1768-91, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 2013.

文献 3： 村松 慎一. 筋萎縮性側索硬化症の遺伝子治療. *神経治療学.* 2017;34(3):262-5.

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）

遺伝子組換え AAV は、治療用供与遺伝子を細胞内で発現させるための遺伝子治療用ベクターとして世界的に汎用されている（文献 3、文献 4）。2017 年 11 月現在、遺伝子組換え AAV の臨床試験は全世界で種々の疾患を対象に 200 件以上実施されており、遺伝子組換え AAV2 の臨床試験に限っても 30 件以上（別紙 1 参照）、日本でも 2 件実施されているが（文献 5）、国内外にかかわらず遺伝子組換え AAV 本体に起因する安全性上の重大

な問題はこれまで報告されていない（文献 3）。人用又は動物用の医薬品又は再生医療等製品として、国内で製造販売承認を取得した遺伝子組換え AAV 製品は現在まで存在しないが、米国では遺伝子組換え AAV2 (voretigene neparvovec ; 網膜下投与) が両アレル性 RPE65 変異を伴う網膜ジストロフィー（レーバー先天性黒内障）を対象としたヒト遺伝子治療用医薬品として 2017 年に認可されている（文献 6）。また、欧州では遺伝子組換え AAV 1 型 (alipogene tiparvovec ; 筋肉内投与) が家族性リポタンパク質リパーゼ欠損症を対象としたヒト遺伝子治療用医薬品として 2012 年に認可されている（2017 年に販売終了 ; 文献 7）。

文献 4 : 小澤 敬也. AAV を利用した遺伝子治療. ウイルス. 2007;57(1):47-56.

文献 5 : J Gene Ther. Gene therapy clinical trials worldwide. Available at <https://www.wiley.com/legacy/wileychi/genmed/clinical/>.

文献 6 : Spark Therapeutics. “Luxturna” Prescribing Information. 2017.

文献 7 : ①Committee for Medicinal Products for Human Use (CHMP), European Medicines Agency (EMA). “Glybera” assessment report. 2012. ②CHMP, EMA. “Glybera” product information. 2017.

3. 生理学的及び生態学的特性

(1) 基本的特性

AAV2 をはじめとする AAV は、エンベロープを有さず、キャプシドタンパク質から構成される正 20 面体構造のキャプシド（外殻）の中に約 4.7 kb の線状 1 本鎖 DNA をゲノムとして含む直径 25 nm 前後のウイルスである。AAV のキャプシドは物理的／化学的に比較的堅牢であり、温度や pH による影響を受けにくい。AAV のゲノムはプラス鎖とマイナス鎖が混在しており、両端の末端逆行反復配列（以下「ITR」という。）の間に、①ウイルス遺伝子の複製・転写にかかわる 4 種の Rep タンパク質（Rep78、Rep68、Rep52 及び Rep40）をコードする *rep* 遺伝子、②3 種のキャプシドタンパク質（VP1、VP2 及び VP3）をコードする *cap* 遺伝子が存在する（文献 2、文献 3）。

AAV のゲノム構造を別紙 2 に示す (文献 4)。

(2) 生育又は生育可能な環境の条件

AAV は、自然界において、その系統や血清型に応じた特定の動物種への選択性が知られている。AAV2 についても、ヒト、マウス、イヌ、サル等の哺乳動物に感染しうることが知られている (文献 1)。

自然界での AAV2 の安定性に関して、細胞の染色体に潜伏感染している AAV2 ゲノムは、細胞が生存しているかぎり安定に存在する (ただし、核内の染色体外にエピソードとして存在する AAV2 は、細胞分裂のたびに希釈される)。また、感染細胞から放出される AAV2 粒子は、物理的/化学的に比較的堅牢なキャプシドで覆われていることから、自然界で安定に存在する (文献 2)。

(3) 捕食性又は寄生性

(該当せず)

(4) 繁殖又は増殖の様式

AAV2 が細胞に感染する際には、細胞表面に存在するヘパラン硫酸プロテオグリカン (文献 8) や膜貫通型タンパク質 KIAA0319L (文献 9) に AAV2 が結合して細胞内に取り込まれることが示唆されているが、他に線維芽細胞増殖因子受容体 (FGFR)、 $\alpha\beta_5$ インテグリン、肝細胞増殖因子受容体 (HGFR; c-Met) 等が共受容体として関与するという報告 (文献 4) もあり、AAV2 が標的細胞に侵入する機構の詳細は明らかになっていない。

AAV2 をはじめとする AAV は、DNA 合成酵素や 1 本鎖 DNA 結合タンパク質等のウイルスが自律的に複製・増殖するために必要なタンパク質をコードする遺伝子をもたないことから、細胞に単独感染しただけでは自律的に増殖できず、殆どが核内でエピソードとして存在する。また、感染細胞の第 19 番染色体 DNA の AAVS1 領域に Rep タンパク質により組み込まれることがある。細胞の分裂・増殖時には細胞の染色体とともに AAV ゲノムも複製されるものの、AAV がウイルス粒子を構成することはない。なお、組換え AAV ベクターでは、*rep* 遺伝子を欠損させていることから、感染した細胞の第 19 番染色体 DNA

の AAVS1 領域に組み込まれず、殆どが核内でエピソームとして存在する。一方、AAV がアデノウイルスやヘルペスウイルス等のいわゆる「ヘルパーウイルス」と共感染すると、ヘルパーウイルスの複製・増殖機能を同一細胞内で AAV が共用することによって AAV も自律的な複製・増殖が可能となり、結果として、細胞内で複製・増殖した大量の AAV 粒子が細胞破壊を引き起こし、AAV 粒子が放出される（溶解感染）（文献 2、文献 4）。AAV の生活環及び遺伝子組換え AAV ベクターによる遺伝子導入経路を別紙 3 に示す（文献 4 及び文献 10）。

AAV の増殖様式を考慮すると、AAV はアデノウイルスやヘルペスウイルスと同時に細胞へ共感染する可能性が高いと考えられることから、AAV の感染経路として、経気道、経口及び経結膜、並びに糞便や性行為を介した経路が想定されている（文献 2）。

AAV2 については、主に経気道又は経口でヒトに感染し、主に扁桃において検出される（文献 11）。ヘルパーウイルスと同時に感染した場合には、感染したヒト個体内で増幅し、ヘルパーウイルスとともに分泌物中に排出され、他のヒトに感染する（水平感染）と推定される。

In vitro の条件下では、非分裂細胞を含めた広範な細胞種に AAV を感染させることが可能である。さらに、AAV をヘルパーウイルスと共感染させると、本来感染しない異なる動物種に由来する培養細胞内でも複製が起こり得る。このことから、自然界においても、複数の異なる系統の AAV がヘルパーウイルスと共感染した場合には、AAV 間で相同組換えを起こす可能性を完全には否定できない。

(5) 病原性

AAV2 をはじめとする AAV の感染はいずれも不顕性に終わると考えられており、これまで感染に伴ういかなる病原性も知られていない（文献 2、文献 3、文献 4）。なお、健康な日本人における AAV2 に対する中和抗体の保持率は、35.3%であったとの調査結果が 2014 年に報告されている（文献 12）。

(6) 有害物質の産生性

AAV2 の感染に際して細胞内に産生されるウイルスゲノム由来のタンパク質に有害性は

ない。

(7) その他の情報（不活化条件等を含む）

AAV2をはじめとする AAV は、以下の方法によって不活化される（例えば、文献 13）。

- 1%以上の次亜塩素酸ナトリウム水溶液（使用当日に希釈して調製）、2%グルタルアルデヒド水溶液又は 0.25%ドデシル硫酸ナトリウム（SDS）水溶液に 15 分以上浸漬
- 121℃、2 気圧、1 時間で高圧蒸気滅菌（オートクレーブ）

文献 8 : Summerford C, Samulski RJ. Membrane-associated heparan sulfate proteoglycan is a receptor for adeno-associated virus type 2 virions. *J Virol.* 1998;72(2):1438-45.

文献 9 : Pillay S, Meyer NL, Puschnik AS, *et al.* An essential receptor for adeno-associated virus infection. *Nature.* 2016;530(7588):108-12.

文献 10 : Balaji Balakrishnan and Giridhara R. Jayandharan. Basic Biology of Adeno-Associated Virus (AAV) Vectors Used in Gene Therapy. *Current Gene Therapy*, 2014, 14: 1-15.

文献 11 : Chen CL, Jensen RL, Schnepf BC, *et al.* Molecular characterization of adeno-associated viruses infecting children. *J Virol.* 2005;79(23):14781-92.

文献 12 : Mimuro J, Mizukami H, Shima M, *et al.* The prevalence of neutralizing antibodies against adeno-associated virus capsids is reduced in young Japanese individuals. *J Med Virol.* 2014;86(11):1990-7.

文献 13 : Rutgers Environmental Health and Safety, Rutgers, The State University of New Jersey University. Adeno-associated viral vectors: Standard operating procedures. 2013.

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

非増殖性の遺伝子組換え AAV2 である timrepigene emparvovec (以下「本遺伝子組換え生物等」という。)に含有される一本鎖 DNA は、野生型 AAV2 のゲノム両端に存在する ITR のみを残し、両 ITR の間に存在する *rep* 及び *cap* 遺伝子が以下①～⑥の配列を含む供与核酸及び約 [REDACTED] 塩基対の複数のリンカーによって置換されている(文献 14、文献 15)。

① [REDACTED] エンハンサー

② [REDACTED] プロモーター

③ [REDACTED]

④ ヒト Rab エスコートタンパク質 (REP1) コード領域

⑤ [REDACTED]

⑥ [REDACTED] ポリ A 付加シグナル

各供与核酸の詳細を別紙 4 に示す。

なお、本遺伝子組換え生物等は、AAV2 の複製・転写に関わる *rep* 遺伝子を欠くことからヘルパーウイルス存在下においても増殖性を失っており、一方で、「2. ベクターに関する情報」の項で後述するプラスミド [REDACTED] 由来のウイルスキャプシド (VP1、VP2 及び VP3) に上記一本鎖 DNA がパッケージされて産生されることから、野生型 AAV2 と同様の標的細胞に感染し、感染した細胞内で REP1 遺伝子が発現される。

(2) 構成要素の機能

上記①～⑥の供与核酸がもつ機能は、それぞれ以下のとおり。

① [REDACTED] エンハンサー：下流に存在する遺伝子の転写を強力に促進する [REDACTED]

② [REDACTED] プロモーター：下流に存在する遺伝子の転写を強力に促進する [REDACTED]

- ③ [REDACTED]
[REDACTED]
[REDACTED] (文献 16)。
- ④ ヒト REP1 コード領域：細胞内で新たに合成されたヒト Rab タンパク質 (Ras スーパーファミリー (低分子量 G タンパク質) に属する、膜輸送における普遍的な制御因子) にシャペロンとして結合し、Rab タンパク質ゲラニルゲラニル転移酵素と相互作用することにより Rab タンパク質の脂質化修飾 (ゲラニルゲラニル化) を補助する。さらに、ゲラニルゲラニル化 Rab タンパク質とも結合して、細胞質内での当該タンパク質の安定化にも寄与する (文献 17)。REP1 をコードする X 染色体上の *CHM* 遺伝子の異常により REP1 の機能が失われることによって、コロイデレミア (全脈絡膜萎縮症) を発症する (文献 15)。REP1 は「Rab タンパク質ゲラニルゲラニル転移酵素コンポーネント A1」とも称されていた (文献 18)。
- ⑤ [REDACTED]
[REDACTED]
- ⑥ [REDACTED] ポリ A 付加シグナル：mRNA の 3'末端にポリ A 鎖を付加する。

なお、野生型 AAV2 のゲノム両端の ITR 間に存在する *rep* 及び *cap* 遺伝子は、それぞれウイルス遺伝子の複製・転写にかかわる 4 種の Rep タンパク質 (Rep78、Rep68、Rep52 及び Rep40) 及び 3 種のキャプシドタンパク質 (VP1、VP2 及び VP3) をコードするが、本遺伝子組換え生物等はこれらの遺伝子が、上記①～⑥の配列を含む供与核酸及び約 10～80 塩基対の複数のリンカーによって置換されているため、ヘルパーウイルスの存在下において哺乳類の細胞に感染した場合にも自律的な複製・増殖能を示さない。

文献 14 : Tolmachova T, Tolmachov OE, Barnard AR, *et al.* Functional expression of Rab escort protein 1 following AAV2-mediated gene delivery in the retina of choroideremia mice and human cells ex vivo. *J Mol Med (Berl)*. 2013;91(7):825-37.

文献 15 : Barnard AR, Groppe M, MacLaren RE. Gene therapy for choroideremia using an adeno-associated viral (AAV) vector. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2014;5(3):a017293.

██████████ : アデノウイルス 5 型の E2A 及び E4 領域、並びに VA 領域を搭載し、ヘルパーウイルスの代わりに用いられる。

██████████ : Rep タンパク質群及びキャプシドタンパク質群をコードする。パッケージング細胞としては、アデノウイルス 5 型 E1 領域を有するヒト胎児腎臓細胞 293 (ATCC CRL-1573 : 以下、HEK293 細胞) を用いる。

各プラスミドの構造及び全塩基配列を別紙 5 に、また、各プラスミドの構築方法を別紙 6 にそれぞれ示す。さらに、HEK293 細胞のセルバンクの構築方法及び品質管理試験の詳細を別紙 7 に示す。

(3) 遺伝子組換え生物等の育成の経過

本遺伝子組換え生物等は、██████████ (ベルギー) 又は ██████████ (ベルギー)、あるいは ██████████ (米国) において、上記の 3 種のプラスミド ██████████ を、HEK293 細胞へ同時に導入することによって産生する。

本遺伝子組換え生物等の産生方法及び品質管理試験の詳細を別紙 8 に示す。

本遺伝子組換え生物等を HEK293 細胞内で産生する過程で、██████████ ██████████ が組換えを起こすことによって「本遺伝子組換え生物等に由来する、増殖能を獲得したウイルス」(replicaton-competent AAV ; 以下「rcAAV」という。)が生じる可能性が考えられる。しかし、そのような rcAAV は、AAV 粒子内にパッケージングできるゲノム長を踏まえると、ほぼすべての供与核酸を喪失していると考えられる。また、このような rcAAV も、野生型 AAV と同様、AAV のヘルパーウイルスとなるアデノウイルスや単純ヘルペスウイルス等が同一細胞内に共存しないかぎり、増殖することは不可能である。

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

II-1-(1)に記載した供与核酸は本遺伝子組換え生物等の 1 本鎖 DNA ゲノムの一部として AAV2 ITR に挟まれた領域に存在しており、本遺伝子組換え生物等の保管中には極めて安定であることから、感染する動植物等の種類、感染様式等が本遺伝子組換え生物等の

保管中に変化することはない（文献 20）。

また、本遺伝子組換え生物等が細胞に感染すると、そのゲノムが細胞の核内に移行して 2 本鎖 DNA となるが、本遺伝子組換え生物等が AAV *rep* 遺伝子をもたないことから、その多くが細胞の染色体とは独立したエピソームとして存在すると考えられ、細胞の染色体への組込みは稀である（文献 21、文献 22、文献 23）。この 2 本鎖環状 DNA 状態にあるエピソームからヒト REP1 が転写される。ヒト REP1 の発現は、本遺伝子組換え生物等が感染した細胞のゲノム構造等に大きな変化が起こらないかぎり、又は当該細胞が分裂しないかぎり継続すると考えられる。網膜細胞は一般的に非分裂細胞であることから、ヒト REP1 の長期的な発現が期待される。

文献 20 : Xu R, Rahimi M, Ma H, *et al.* Stability of infectious recombinant adeno-associated viral vector in gene delivery. *Med Sci Monit.* 2005;11(9):BR305-8.

文献 21 : Yan Z, Zak R, Zhang Y, *et al.* Inverted terminal repeat sequences are important for intermolecular recombination and circularization of adeno-associated virus genomes. *J Virol.* 2005;79(1):364-79.

文献 22 : Schnepf BC, Clark KR, Klemanski DL, *et al.* Genetic fate of recombinant adeno-associated virus vector genomes in muscle. *J Virol.* 2003;77(6):3495-504.

文献 23 : Grimm D, Pandey K, Nakai H, *et al.* Liver transduction with recombinant adeno-associated virus is primarily restricted by capsid serotype not vector genotype. *J Virol.* 2006;80(1):426-39.

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

本遺伝子組換え生物等は宿主である AAV2 に存在しない [] プロモーターを含むことから、当該プロモーター配列の一部をリアルタイム PCR で増幅・定量する方法により検出される。この方法の検出限界は試料 [] に対して本遺伝子組換え生物等 []、同じく定量限界は [] とされている（文献 24 []）。

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

ヒト遺伝子治療を目的とした投与、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

本遺伝子組換え生物等の原液の保管

- (1) 本遺伝子組換え生物等の原液の保管は、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において行う。

本遺伝子組換え生物等の原液の希釈液の調製及び保管

- (2) 本遺伝子組換え生物等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、作業室内での本遺伝子組換え生物等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) 本遺伝子組換え生物等の治療施設内での運搬は、密封した状態で行う。

患者への投与

- (5) 本遺伝子組換え生物等の投与は、治療施設の他の区画と明確に区別された治療室内で、患者の網膜下に直接注入することにより行う。

- (6) 投与時は、治療室内での本遺伝子組換え生物等の拡散を最小限に留める。

投与後の患者からの排出等の管理

- (7) 投与後、投与部位から排出される本遺伝子組換え生物等の環境への拡散が最小限となるよう、必要とされる期間はガーゼ及び眼帯による被覆を行う。

- (8) 患者の排出物等から第三者への本遺伝子組換え生物等の伝播を最小限とするために、本遺伝子組換え生物等の投与を受ける患者に適切な指導を行う。

- (9) 投与を受けた患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、本遺伝子組換え生物等の拡散を最小限に留めるために、必要とされる期間、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患者であることが情報提供されるよう、本遺伝子組換え生物等の

投与を受ける患者に適切な指導を行う。

患者検体の取扱い

- (10) 患者から採取した検体（以下「検体」という。）は、治療施設及び外部医療施設（以下「施設等」という。）の規定に従って取り扱う。
- (11) 本遺伝子組換え生物等の投与後、必要とされる期間に、検体の検査を外部の受託検査機関（以下「検査機関」という。）に委託する場合、本遺伝子組換え生物等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。検体は検査機関の規定に従って取り扱う。
- (12) 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

- (13) 本遺伝子組換え生物等の原液の廃棄は、治療施設内で不活化処理を行った上で、施設等及び検査機関の医療廃棄物管理規程に従って行う。
- (14) 本遺伝子組換え生物等の原液の希釈液及び本遺伝子組換え生物等が付着した可能性のある機器及び器材の廃棄は、施設等及び検査機関の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。
- (15) 本遺伝子組換え生物等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、本遺伝子組換え生物等の原液は、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) 本遺伝子組換え生物等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、本遺伝子組換え生物等の原液の希釈液及び検体は漏出しない密封容器に入れ、本遺伝子組換え生物等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) 患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は、厳重に密閉した状態で保管し、廃棄する。

(18) 治療施設外で保管された原液及び未使用の本遺伝子組換え生物等を廃棄する場合は、密封された状態で高圧蒸気滅菌を行い、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
第一種使用等開始後の情報収集は行わない。

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
該当なし。

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
正常雄ラットに本遺伝子組換え生物等を単回網膜下投与した非臨床試験で毒性はみられなかった。また、当該試験において、投与後 [REDACTED] の [REDACTED] [REDACTED] [REDACTED] 本遺伝子組換え生物等に由来する DNA をリアルタイム PCR [REDACTED] [REDACTED] により計測したところ、 [REDACTED] 投与後 [REDACTED] に、 [REDACTED] 本遺伝子組換え生物等由来 DNA が検出された。 [REDACTED] [REDACTED] 本遺伝子組換え生物等由来 DNA が検出された [REDACTED] であった。なお、投与後 [REDACTED]、 [REDACTED] [REDACTED] の本遺伝子組換え生物等由来 DNA は検出限界未満であった。(文献 24 [REDACTED])。

6. 国外における使用等により得られた情報
本遺伝子組換え生物等の国外医師主導臨床試験 [REDACTED] 試験 ([REDACTED]) において、本遺伝子組換え生物等が網膜下に投与されたコロイデミア患者 [REDACTED] 例中の [REDACTED] ゲノム粒子 (gp) が投与された [REDACTED] 例で本遺伝子組換え生物等の [REDACTED] [REDACTED] への排出が調べられた。その結果、 [REDACTED] 例で [REDACTED] 中に、 [REDACTED]

例で■■■■に本遺伝子組換え生物等が検出されたが、いずれも投与後■■■■のみであり、■■■■以降は定量下限値以下であった（別紙 11）。

上記■■試験でこれまでに本遺伝子組換え生物等が投与された■■例において、本遺伝子組換え生物等との因果関係が否定できない副作用は、投与眼の炎症等、■■例で■■件発現したが（本遺伝子組換え生物等の投与量はすべて■■■■）、いずれも軽度～中等度であり、重度なものは認められていない。その内訳を別紙 12 に示す。

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

本遺伝子組換え生物等が感染する動植物等の種類は野生型 AAV2 と同等で、これらのウイルスが微生物に感染するとの報告はない。ヒト REP1 を発現すること及び非増殖性であること以外は、その他の特性についても本遺伝子組換え生物等は野生型 AAV2 と同等と考えられ、本遺伝子組換え生物等が競合や有害物質の産生等で他の微生物を減少させる性質はないと考えられる。したがって、影響を受ける可能性のある微生物は特定されなかった。

(2) 影響の具体的内容の評価

(該当せず)

(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

以上より、第一種使用規程に従った使用を行うかぎり、他の微生物を減少させる性質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

本遺伝子組換え生物等が感染する動植物等の種類は、野生型 AAV2 と同様と考えられ、ヒトを含む哺乳類が影響を受ける可能性がある。

(2) 影響の具体的内容の評価

AAV2 に由来する非増殖性遺伝子組換えウイルスが国内外で既にヒトに投与されており、

当該ウイルスによる病原性は確認されていない。本遺伝子組換え生物等により、感染細胞内でヒト内在性タンパク質であるヒト REP1 が新たに産生されるが、その他に新たな有害物質が産生されることはない。ヒト REP1 は、血中には放出されず、細胞内で小胞輸送に関与するタンパク質であるが、その有害性は知られていない。また、ヒト REP1 の過剰発現による有害性も認められていない（文献 26）。

(3) 影響の生じやすさの評価

第一種使用規程に従って使用する限り、本遺伝子組換え生物等の環境中への拡散は極めて微量である。また、本遺伝子組換え生物等は増殖能を失っていることから、環境中で増殖することはない、環境中に拡散しても、やがて消滅すると考えられる。したがって、本遺伝子組換え生物等が第三者及び野生動物に対して病原性を示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

以上より、第一種使用規程に従った使用を行うかぎり、本遺伝子組換え生物等及び rcAAV は、野生型 AAV2 と同様に、ヒトを含む哺乳類に対して病原性を示さないと考えられ、病原性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。

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

本遺伝子組換え生物等が感染する動植物等の種類は、野生型 AAV2 と同様と考えられ、ヒトを含む哺乳類が影響を受ける可能性がある。

(2) 影響の具体的内容の評価

本遺伝子組換え生物等により、感染細胞内でヒト内在性タンパク質であるヒト REP1 が新たに産生されるが、その他に新たな有害物質が産生されることはない。ヒト REP1 は、血中には放出されず、細胞内で小胞輸送に関与するタンパク質であるが、その有害性は知られていない。また、ヒト REP1 の過剰発現による有害性も認められていない（文献 26）。

(3) 影響の生じやすさの評価

第一種使用規程に従って使用する限り、本遺伝子組換え生物等の環境中への拡散は極めて微量である。また、本遺伝子組換え生物等は増殖能を失っていることから、環境中で増殖することはない、環境中に拡散しても、やがて消滅すると考えられる。さらに、上記に示すとおり本遺伝子組換え生物等によりヒト REP1 以外に新たな物質が産生されることはなく、ヒト REP1 の有害性は知られていない。したがって、本遺伝子組換え生物等が第三者及び野生動物に対して有害物質の産生性に起因する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

以上より、第一種使用規程に従った使用を行うかぎり、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ないと判断される。

文献 26 : Tolmachova T, Tolmachov OE, Barnard AR, *et al.* Functional expression of Rab escort protein 1 following AAV2-mediated gene delivery in the retina of choroideremia mice and human cells ex vivo. *J Mol Med (Berl)*. 2013 Jul;91(7):825-37.

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

本遺伝子組換え生物等が感染する動植物等の種類は、野生型 AAV2 と同様と考えられ、ヒトを含む哺乳類が影響を受ける可能性がある。

(2) 影響の具体的内容の評価

本遺伝子組換え生物等のゲノム DNA が第三者や動物等のゲノムに組み込まれる可能性は完全には否定できないが、本遺伝子組換え生物等は野生型 AAV 及びヘルパーウイルスと共感染しない限りは環境中で増殖することはない。したがって、本遺伝子組換え生物等のゲノム DNA が第三者や野生動物に水平伝達される可能性は低い。

(3) 影響の生じやすさの評価

第一種使用規程に従って使用する限り、本遺伝子組換え生物等の環境中への拡散は極めて微量である。また、本遺伝子組換え生物等が複製されるのは、野生型 AAV 及びヘルパーウイルスが共感染した場合に限られることから、環境中で増殖することはなく、環境中に拡散しても、やがて消滅すると考えられる。したがって、本遺伝子組換え生物等が第三者及び野生動物に対して核酸を水平伝達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

以上より、第一種使用規程に従った使用を行うかぎり、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ないと判断される。

5. その他の性質

(なし)

V 総合的評価

本遺伝子組換え生物等が感染しうる動物はほ乳類動物であり、影響を受ける可能性のある植物及び他の微生物はない。また、本遺伝子組換え生物等は野生型 AAV と同様に病原性はない。第一種使用規程に従う限り、第三者が本遺伝子組換え生物等に曝露される可能性は低く、有害な影響が生ずる可能性も低いと考えられる。さらに、本遺伝子組換え生物等は複製能を欠失している。したがって、第一種使用規程承認申請書に記載された本遺伝子組換え生物等の第一種使用等を行う限り、本遺伝子組換え生物等による生物多様性影響が生じるおそれがないと判断される。