

# 第一種使用規程承認申請書

令和3年10月29日

厚生労働大臣 殿  
環境大臣 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 關口 修平  
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	<i>rep</i> 及び <i>cap</i> 遺伝子を欠失し、アデノ随伴ウイルス5型に由来するキャプシドタンパク質及びアデノ随伴ウイルス2型に由来するITRを有し、ヒト網膜色素変性症GTPase調節因子ORF15（hRPGR.ORF15）タンパク質を発現する非増殖性遺伝子組換えアデノ随伴ウイルス（AAV5-hRKp.RPGR）
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	<b>AAV5-hRKp.RPGRの原液の保管</b> <b>(1)</b> AAV5-hRKp.RPGR（以下「本遺伝子組換え生物等」という。）の原液は、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保管する。 <b>本遺伝子組換え生物等の調製及び保管</b> <b>(2)</b> 本遺伝子組換え生物等は原液を希釈せずに投与する。原液の投与準備は、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。 <b>(3)</b> 投与準備済みの原液は、容器に入れ、漏出しない状態で保管する。 <b>運搬</b> <b>(4)</b> 本遺伝子組換え生物等の治療施設内での運搬は、漏出させない措置を執って行う。 <b>患者への投与</b>

- (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。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**

- (6) 投与後、患者の創部を縫合及び消毒し、創部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、医師の判断により必要とされる期間対策を講じる。
- (7) 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。
- (8) 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投与後排出等の管理が不要となるまでの期間、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、当該患者に適切な指導を行う。
- (9) 患者の排出モニタリングは、必要に応じて実施する。

#### **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、排出等の管理が不要となるまでの期間、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、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) 患者が自宅で涙液を拭うために用いた器材等は、二重袋等に厳重に封じ込めた状態で廃棄する。

	<p>(16) 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>(17) 本遺伝子組換え生物等の検体等の廃棄を感染性廃棄物処理業者に委託する場合には、検体は漏出しない容器に入れ、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、二重袋等に厳重に封じ込めた状態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>(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等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：ヒトアデノ随伴ウイルス 5 型 (human adeno-associated virus serotype 5)

科：パルボウイルス科 (*Parvoviridae*)

属：ディペンドウイルス属 (*Dependovirus*)

種：アデノ随伴ウイルス 5 型 (Adeno-associated virus - 5)

アデノ随伴ウイルス (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ている。AAV には抗原性の違いによる血清型があり、組織指向性に違いがみられる。現在までに 12 の血清型及び 108 を超える亜型が分離されている (文献 1)。AAV5-hRKp.RPGR (以下「本遺伝子組換え生物等」という。) は、血清型 5 型の AAV を宿主とし、ヒト *retinitis pigmentosa guanosine triphosphate regulator open reading frame 15* (*hRPGR.ORF15*) 遺伝子をコードする遺伝子組換え AAV ベクターである。

AAV は広く自然界に分布しており、10 歳時点で約 60% が AAV1、2、3 及び 5 に対する中和抗体を有することが報告されている (文献 2)。AAV5 は 1984 年にヒトから分離されたのが最初の報告である (文献 3)。

AAV はヒト以外の多くの動物種からも分離されている (文献 4)。AAV5 類似ウイルスはヤギ、ウシ、ウマ、ブタなどからの分離が報告されている (文献 5、文献 6、文献 7)。

### 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)

AAV5 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、AAV5 に由来する遺伝子組換えウイルスベクターを用いた急性間欠性ポルフィリン症 (rAAV2/5-PBGD) (文献 8)、血友病 A (AAV5-hFVIII-SQ) (文献 9、文献 10)、及び血友病 B (AMT-060) (文献 11) の遺伝子治療の開発が進行中である。

### 3. 生理学的及び生態学的特性

#### (1) 基本的特性

AAV はエンベロープを有さない直径約 20~26 nm の正二十面体のウイルス粒子であり、ゲノムは約 4.7 kb の一本鎖 DNA である (文献 12、文献 13)。AAV は細胞膜のヘパラン硫酸プロテオグリカンを認識して感染するため (文献 14) 宿主域は広く、非分裂細胞にも感染する。

AAV5 は他の AAV と比べて多様性が高く、代表的な AAV2 とのアミノ酸配列相同性は、AAV の複製開始及びパッケージングに関与する *inverted terminal repeats* (ITRs) で約 58%、複製と転写を司る *rep* で約 67%、カプシドタンパク質 *cap* で約 56% である (文献 15、文献 16)。AAV5 は網膜、中枢神経系、肺への組織指向性が高く (文献 16、文献 17)、細胞表面の血小板増殖因子受容体 (PDGFR) を介して感染する (文献 18)。

## (2) 生育又は生育可能な環境の条件

AAVはヒトに感染するが、ウイルス粒子を構成するときに必要な *E1A*、*E1B*、*E2A*、*E4* 及び *VA* 遺伝子を有さず、自律的な増殖能を欠損したウイルスである。増殖にはこれらの遺伝子を供給する「ヘルパーウイルス」（アデノウイルス又はヘルペスウイルスなど）の存在が必要である（文献 19、文献 20）。

自然界において野生型 AAV はヒト以外の多くの動物に感染することが報告されている。実験動物（マウス・ラット・モルモット・ウサギ・ネコ・イヌ・サル・スナネズミ・ハムスター）への遺伝子組換え AAV ベクターを投与した報告もあり（文献 21）、これら動物に感染する可能性がある。遺伝子組換え AAV5 はマウス（文献 22）及びサル（文献 23）への遺伝子導入が報告されている。

AAV は常温で安定であり、広範な pH 領域（pH3～9）及び熱（56℃、1 時間）にも耐性を示す（文献 24）。

## (3) 捕食性又は寄生性

AAV は、動物細胞に感染することを除いて、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

AAV は経口、エアロゾル又は飛沫の経気道、並びに粘膜接触の経路により感染する（文献 25）。

ヘルパーウイルスと同時に感染した場合、AAV は感染個体で増殖し、分泌物とともに排泄され、ヘルパーウイルスとともに次の生物に感染する。ヘルパーウイルスが存在しない場合、*in vitro* では AAV の *rep* を介してヒト第 19 番染色体上の *AAVS1* に特異的に組み込まれることが報告されているが（文献 26）、*in vivo* では AAV ゲノムは染色体外に二本鎖環状 DNA として存在し、染色体への組込みはまれである（文献 27）。*rep* 遺伝子を欠く組換え AAV は染色体への組込みはほとんど起こらず、染色体外 DNA として維持される（文献 28）。

詳細を別紙 1 に記載する。

## (5) 病原性

これまでに野生型 AAV がヒト又は動物に病原性を示すことは報告されていない（文献 29）。

## (6) 有害物質の産生性

AAV5 の感染に際して細胞内で産生されるタンパク質性の毒素等は報告されていない。

## (7) その他の情報（不活化条件等を含む。）

AAV の不活化には、物理的不活化法として 121℃ で 30 分の加熱、化学的不活化法として塩素系消毒剤（0.5% 次亜塩素酸ナトリウム）及び 0.5% 過酢酸が有効であるが、70% イソプロパ

ノールは無効である（文献 30）。本遺伝子組換え生物等を廃棄する際には 121℃で 30～45 分加熱する。本遺伝子組換え生物等の投与時に漏出、飛散等の汚染が生じた場合には、25 分を超えて 0.5%次亜塩素酸ナトリウムを接触後、70%エタノールで清拭し乾燥させる。

硬表面での生存性に関し、ステンレス表面上で遺伝子組換え AAV1 の形質導入活性が経時的に減少するものの 6 日目まで検出されることが報告されている（文献 30）。

- 文献 1. Colella P, et al. Emerging Issues in AAV-Mediated *In Vivo* Gene Therapy. *Mol Ther Methods Clin Dev.* 2018;8:87-104.
- 文献 2. Weitzman MD, et al. Adeno-Associated Virus Biology. *Methods Mol Biol.* 2011;807:1-23.
- 文献 3. Bantel-Schaal U, et al. Characterization of the DNA of a defective human parvovirus isolated from a genital site. *Virology.* 1984;134(1):52-63.
- 文献 4. Gao GP, et al. Novel adeno-associated viruses from rhesus monkeys as vectors for human gene therapy. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2002;99(18):11854-9.
- 文献 5. Schmidt M, et al. Cloning and Characterization of a Bovine Adeno-Associated Virus. *J Virol.* 2004;78(12):6509-16.
- 文献 6. Arbetman AE, et al. Novel Caprine Adeno-Associated Virus (AAV) Capsid (AAV-Go.1) Is Closely Related to the Primate AAV-5 and Has Unique Tropism and Neutralization Properties. *J Virol.* 2005;79(24):15238-45.
- 文献 7. Li P, et al. Pre-existing antibodies to candidate gene therapy vectors (adeno-associated vector serotypes) in domestic cats. *PLoS One.* 2019;14(3):e0212811.
- 文献 8. D'Avola D, et al. Phase I open label liver-directed gene therapy clinical trial for acute intermittent porphyria. *J Hepatol.* 2016;65(4):776-83.
- 文献 9. Rangarajan S, et al. AAV5-Factor VIII Gene Transfer in Severe Hemophilia A. *N Engl J Med.* 2017;377(26):2519-30.
- 文献 10. Pasi KJ, et al. Multiyear Follow-up of AAV5-hFVIII-SQ Gene Therapy for Hemophilia A. *2020;382(1):29-40.*
- 文献 11. Miesbach W, et al. Gene therapy with adeno-associated virus vector 5-human factor IX in adults with hemophilia B. *Blood.* 2018;131(9):1022-31.
- 文献 12. Berns KI. Parvovirus Replication. *Microbiol Rev.* 1990;54(3):316-29.
- 文献 13. Tenenbaum L, et al. Evaluation of Risks Related to the Use of Adeno-Associated Virus-Based Vectors. *Curr Gene Ther.* 2003;3(6):545-65.
- 文献 14. Summerford C, et al. Membrane-Associated Heparan Sulfate Proteoglycan Is a Receptor for Adeno-Associated Virus Type 2 Virions. *J Virol.* 1998;72(2):1438-45.

- 文献 15. Chiorini JA, et al. Cloning and Characterization of Adeno-Associated Virus Type 5. *J Virol.* 1999;73(2):1309-19.
- 文献 16. Kaludov N, et al. Adeno-Associated Virus Serotype 4 (AAV4) and AAV5 Both Require Sialic Acid Binding for Hemagglutination and Efficient Transduction but Differ in Sialic Acid Linkage Specificity. *J Virol.* 2001;75(15):6884-93.
- 文献 17. Wiley LA, et al. Assessment of Adeno-Associated Virus Serotype Tropism in Human Retinal Explants. *Hum Gene Ther.* 2018;29(4):424-36.
- 文献 18. Pasquale GD, et al. Identification of PDGFR as a receptor for AAV-5 transduction. *Nat Med.* 2003;9(10):1306-12.
- 文献 19. Bauer HJ, et al. Herpesviruses Provide Helper Functions for Avian Adeno-associated Parvovirus. *J Gen Virol.* 1986;67:181-5.
- 文献 20. Buller RML, et al. Herpes Simplex Virus Types 1 and 2 Completely Help Adenovirus-Associated Virus Replication. *J Virol.* 1981;40(1):241-7.
- 文献 21. Srivastava A. *In vivo* tissue-tropism of adeno-associated viral vectors. *Curr Opin Virol.* 2016;21:75-80.
- 文献 22. Aschauer DF, et al. Analysis of Transduction Efficiency, Tropism and Axonal Transport of AAV Serotypes 1, 2, 5, 6, 8 and 9 in the Mouse Brain. *PLoS One.* 2013;8(9):e76310.
- 文献 23. Lotery AJ, et al. Adeno-associated virus type 5: transduction efficiency and cell-type specificity in the primate retina. *Hum Gene Ther.* 2003;14(17):1663-71.
- 文献 24. Bachmann PA, et al. Parvoviridae: Second Report. *Intervirology.* 1979;11(4):248-54.
- 文献 25. Baldo A, et al. General Considerations on the Biosafety of Virus-derived Vectors Used in Gene Therapy and Vaccination. *Curr Gene Ther.* 2013;13(6):385-94.
- 文献 26. Kotin RM, et al. Characterization of a preferred site on human chromosome 19q for integration of adeno-associated virus DNA by non-homologous recombination. *EMBO J.* 1992;11(13):5071-8.
- 文献 27. Schnepf BC, et al. Characterization of Adeno-Associated Virus Genomes Isolated from Human Tissues. *J Virol.* 2005;79(23):14793-803.
- 文献 28. Schnepf BC, et al. Genetic Fate of Recombinant Adeno-Associated Virus Vector Genomes in Muscle. *J Virol.* 2003;77(6):3495-504.
- 文献 29. Daya S, et al. Gene Therapy Using Adeno-Associated Virus Vectors. *Clin Microbiol Rev.* 2008;21(4):583-93.
- 文献 30. Howard DB, et al. Assaying the Stability and Inactivation of AAV Serotype 1 Vectors. *Hum Gene Ther Methods.* 2017;28(1):39-48.





<i>hRPGR.ORF15</i>	ヒト	ヒト網膜 cDNA に由来する、 <i>hRPGR</i> の ORF15 変異体のコード配列。 <i>hRPGR</i> 遺伝子には RPGR.Ex1-19 及び RPGR.ORF15 のスプライシングバリエーションが存在し、RPGR.ORF15 は主に網膜に発現する。[REDACTED] [REDACTED] [REDACTED] [REDACTED] 発現産物の RPGR.ORF15 は、網膜内において杆体及び錐体の内節と外節をつなぐ結合繊毛に局在し、結合繊毛を介したタンパク質輸送に関与していると考えられている（文献 1、文献 2）。
[REDACTED]	[REDACTED]	[REDACTED] ポリアデニル化シグナル。
[REDACTED] [REDACTED]	[REDACTED]	[REDACTED]
3' ITR	AAV2	AAV2 [REDACTED] ITR。ウイルス DNA の複製起点及びウイルスゲノムのパッケージングシグナルとして機能する。ITR は、標的細胞において持続して存在するよう導入遺伝子カセットの両端に T 字型の安定した構造を形成する。

2. ベクターに関する情報

(1) 名称及び由来  
該当なし

(2) 特性  
該当なし

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  
本遺伝子組換え生物等のゲノム及び発現される *hRPGR* タンパク質の構成を別紙 2 に示す。本遺伝子組換え生物等のゲノムは *hRPGR.ORF15* 発現カセット及びその両側の野生型 AAV2 のウイルスゲノム由来の ITR からなる。*hRPGR.ORF15* 発現カセットは、[REDACTED]  
[REDACTED] *hRPGR.ORF15* 遺伝子、[REDACTED] ポリアデニル化シグナル及び [REDACTED]  
[REDACTED] からなる。

(2) 宿主内に移入された核酸の移入方法  
本遺伝子組換え生物等は、ヒト胎児腎細胞に由来する HEK293 細胞に [REDACTED]  
プラスミド、[REDACTED] プラスミド ([REDACTED] プラスミド) 及び [REDACTED] プラスミド ([REDACTED])

■■■■■プラスミド) の3種類のプラスミドをトランスフェクションすることにより製造される。

■■■■■プラスミドは本遺伝子組換え生物等の供与核酸を搭載しており、■■■■■プラスミドは■■■■■を提供し、■■■■■プラスミドは■■■■■を提供する。本遺伝子組換え生物等は、■■■■■により制御され、網膜特異的 RPGR アイソフォームである RPGR.ORF15 を安定発現する欠失変異体を有する。

HEK293 細胞は、本遺伝子組換え生物等の産生に必要な E1A 及び E1B を有する。各プラスミドの詳細は、別紙3に記載する。

### (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海外の製造施設において製造される。

本遺伝子組換え生物等は、HEK293 細胞のセルバンクを解凍し培養し、■■■■■  
■■■■■プラスミド、■■■■■プラスミド (■■■■■プラスミド) 及び■■■■■  
プラスミド (■■■■■プラスミド) の3種類のプラスミドをトランスフェクションすることにより製造され、■■■■■原薬及び製剤の製造工程の詳細、並びに工程内管理試験を別紙3に示す。■■■■■品質試験項目には自己複製型 AAV (rcAAV) の試験を設定し、増殖型の AAV が出現しないことを確認している。

## 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

本遺伝子組換え生物等に移入した核酸は、本遺伝子組換え生物等の一本鎖 DNA ゲノムとして存在する。また、本遺伝子組換え生物等は *rep* 遺伝子及び *cap* 遺伝子を欠損した非増殖型であり、ヘルパーウイルスが存在しても複製されることはない。

本遺伝子組換え生物等が標的細胞に感染すると、細胞の核内に移行した本遺伝子組換え生物等の一本鎖 DNA が複製され環状二本鎖 DNA となり、安定したエピソームとして存在し、導入遺伝子を発現するよう転写される。

また、本遺伝子組換え生物等は凍結保存下で安定であることを確認している。

## 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

海外第 I/II 相試験における本遺伝子組換え生物等の生体内分布及び排出の評価として、■■■■■  
■■■■■本遺伝子組換え生物等由来の DNA 配列の検出及び定量に qPCR 法を用いた。

本分析方法は ICH Q2 (R1) ガイドラインに従ってバリデートされ、設定したパラメータ (線形性、範囲、精度、定量下限及び検出限界) において特異性、正確性及び頑健性を示した。

定量下限 (Limit of Quantification) は■■■■■、検出限界 (Limit of Detection) は■■■■■であった。

定量法及びそのバリデーションについては、別紙 5 (Bioanalysis plan) 及び別紙 6 (Validation report) に示す。

なお、当該 qPCR 法においては、野生型のアデノ随伴ウイルス 5 型及びヒトゲノム上の配列と区別できる設計がされた Primer を用いている。

#### 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 AAV5 と本遺伝子組換え生物等の間には以下の相違点がある。

本遺伝子組換え生物等は *rep* 及び *cap* 遺伝子を欠失しているため、これらの領域にコードされているウイルスタンパク質を発現できない。*rep* 及び *cap* 遺伝子はそれぞれウイルス DNA の複製及び AAV 粒子の形成に必要なため、ヘルパーウイルスと共感染しても本遺伝子組換え生物等の増殖は起こらない。

宿主である AAV5 はヘルパーウイルス非存在下で細胞に感染すると、*rep* を介して AAVS1 に特異的に組み込まれる可能性があるが (文献 3)、本遺伝子組換え生物等は *rep* を欠失しているため染色体の特定の部位への組み込みはほとんど起こらず、染色体外 DNA として維持される (文献 4)。

本遺伝子組換え生物等は、*rep* 及び *cap* タンパク質の代わりに、  
プロモーターの働きにより hRPGR.ORF15 タンパク質を発現する。

一方、本遺伝子組換え生物等は AAV5 由来カプシドタンパク質で遺伝子発現カセットを内包しているため、組織指向性は宿主である AAV5 と同様である。

文献 1. Hong DH, et al. RPGR isoforms in photoreceptor connecting cilia and the transitional zone of motile cilia. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2003;44(6):2413–21.

文献 2. Wright RN, et al. Misexpression of the constitutive Rprgr(ex1-19) variant leads to severe photoreceptor degeneration. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2011;52(8):5189-201.

文献 3. Kotin RM, et al. Characterization of a preferred site on human chromosome 19q for integration of adeno-associated virus DNA by non-homologous recombination. EMBO J. 1992;11(13):5071-8.

文献 4. Schnepf BC, et al. Genetic Fate of Recombinant Adeno-Associated Virus Vector Genomes in Muscle. J Virol. 2003;77(6):3495-504.

### 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

##### AAV5-hRKp.RPGR の原液の保管

- AAV5-hRKp.RPGR（以下「本遺伝子組換え生物等」という。）の原液は、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保管する。

##### 本遺伝子組換え生物等の調製及び保管

- 本遺伝子組換え生物等は原液を希釈せずに投与する。原液の投与準備は、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。
- 投与準備済みの原液は、容器に入れ、漏出しない状態で保管する。

##### 運搬

- 本遺伝子組換え生物等の治療施設内での運搬は、漏出させない措置を執って行う。

##### 患者への投与

- 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。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

- 投与後、患者の創部を縫合及び消毒し、創部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、医師の判断により必要とされる期間対策を講じる。
- 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。
- 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投与後排出等の管理が不要となるまでの期間、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、当該患者に適切な指導を行う。
- 患者の排出モニタリングは、必要に応じて実施する。

##### 患者検体の取扱い

- 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。

- 本遺伝子組換え生物等の投与後、排出等の管理が不要となるまでの期間、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、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。
- 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

- 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。
- 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。
- 患者が自宅で涙液を拭うために用いた器材等は、二重袋等に厳重に封じ込めた状態で廃棄する。
- 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。
- 本遺伝子組換え生物等の検体等の廃棄を感染性廃棄物処理業者に委託する場合には、検体は漏出しない容器に入れ、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、二重袋等に厳重に封じ込めた状態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。
- 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等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

申請者は本遺伝子組換え生物等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には、海外臨床試験で設定している検査項目を国内においても可能な限り設定し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、本遺伝子組換え生物等の生体内分布及び排出の評価については、本品投与 [REDACTED] において採取した検体 [REDACTED] を用いて、qPCR 法により検体中の本遺伝子組換え生物等由来の DNA 配列の検出及び定量を実施する予定である（概要を別紙 4 に示す）。

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

本遺伝子組換え生物等を単回網膜下投与したときの生体内分布をマウス及びウサギで評価した。生体内分布は毒性試験の一部として実施した。

マウス6カ月間単回投与試験では、雌マウスに本遺伝子組換え生物等を単回網膜下投与し、投与6カ月後の生体内分布及び血中排出を評価した。ベクター投与眼の網膜を除き、評価した全ての組織及び血清でベクターゲノムは陰性であった。

マウス8週間単回投与試験では、雌雄マウスに本遺伝子組換え生物等を単回網膜下投与し、投与7、28及び56日後の生体内分布及び血中排出を評価した。ベクターゲノムは主に肝臓、腎臓、リンパ節、脳、肺及び副腎に分布した。いずれの組織でも投与28又は56日後にベクターゲノムの減少又は消失がみられた。投与7日後の血清はベクターゲノム陰性であった。

ウサギ8週間単回投与試験では、雌雄ウサギに本遺伝子組換え生物等を単回網膜下投与し、投与7、28及び56日後の生体内分布、並びに涙液及び血中排出を評価した。比較的低レベルのベクターゲノムが主に視神経路（上丘、視交叉、視神経及び網膜色素上皮）、肝臓及び脾臓に分布した。投与7日後の血清及び涙液はベクターゲノム陰性であった。

毒性試験

本遺伝子組換え生物等を単回網膜下投与したときの毒性をマウス及びウサギで評価した。

マウス6カ月間単回投与試験では、雌マウスに本遺伝子組換え生物等〔XXXXXXXXXX〕vg/eye〔新測定法相当（測定法の表記については別紙3及び4参照）〕を単回網膜下投与して毒性を評価した。外観及び行動、網膜の機能及び構造、主要組織の剖検及び眼の病理組織学的検査で明らかな毒性はみられなかった。

マウス8週間単回投与試験では、雌雄マウスに本遺伝子組換え生物等〔XXXXXXXXXX〕vg/eye（旧測定法）を単回網膜下投与して毒性を評価した。外観及び行動、体重、眼の観察及び眼底検査、網膜の機能及び構造に明らかな異常はみられなかった。また、剖検、眼、並びにベクターゲノム陽性を示した肝臓及び腎臓の病理組織学的検査で有害な所見はみられなかった。ベクターカプシドに対する低レベルの血清中抗AAV5 IgG抗体がみられた。中和活性のピークは投与約4週後であった。

ウサギ8週間単回投与試験では、雌雄ウサギに本遺伝子組換え生物等〔XXXXXXXXXX〕vg/eye（旧測定法）を単回網膜下投与して毒性を評価した。外観及び行動、体重、眼の観察及び眼底検査、網膜の機能及び構造、血液学的検査及び血液生化学的検査に明らかな異常はみられなかった。また、剖検、眼、並びにベクターゲノム陽性を示した肝臓及び脾臓の病理組織学的検査で有害な所見はみられなかった。ベクターカプシドに対する血清中抗



AAV5 IgG 抗体が少数例でみられた。中和活性はほとんどの動物でみられ、投与 56 日後に最も顕著であった。

## 6. 国外における使用等により得られた情報

### 臨床試験

現在までに完了した、ヒトにおける本遺伝子組換え生物等の臨床試験はない。実施中の第 1/2 相試験である MGT009 試験のデータが得られている。MGT009 試験の概要を別紙 4 に示す。

#### (1) 安全性及び忍容性

MGT009 試験における [REDACTED] 時点までに得られた安全性データから、本遺伝子組換え生物等の単回、片眼、網膜下投与の忍容性は良好であることが示唆された。

#### (2) 排出

MGT009 試験において本遺伝子組換え生物等の投与を受けた被験者より採取した [REDACTED] [REDACTED] 検体を、qPCR 法を用いて分析した。投与後 [REDACTED] に採取した試料を用いて中間解析を実施した。本遺伝子組換え生物等の排出は [REDACTED]、少数の被験者において [REDACTED] 排出が認められたが、 [REDACTED] においては排出が認められた被験者はいなかった。

## 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

AAV5-hRKp.RPGR（以下「本遺伝子組換え生物等」という。）の感染性は野生型の AAV5 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

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

上記より、影響を受ける可能性のある微生物は特定されず、他の微生物の減少を介した生物多様性影響が生じ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の感染性は野生型の AAV5 と同じであり、自然界で影響を受ける可能性がある動植物は、ヒトを含む哺乳動物に限られる。

#### (2) 影響の具体的内容の評価

本遺伝子組換え生物等が感染した動物において、視細胞に局限して一過性に RPGR.ORF15 が産生される可能性はあるが、ヒト内因性タンパク質であり、発がん性又は毒性作用を示すことはないと考えられる。本遺伝子組換え生物等は非増殖性であり、増殖性アデノ随伴ウイルス（RCAAV）を生じるためには、野生型 AAV 及びヘルパーウイルスとの同時感染、かつ本遺伝子組換え生物等と野生型 AAV との間で組換えが起こる必要があり、生体内で RCAAV を生じる可能性は極めて低いと考えられる。なお、製品中に RCAAV が検出されないことを確認している。

#### (3) 影響の生じやすさの評価

本遺伝子組換え生物等は病原性を示す可能性が低く、仮に排出された場合でも、第一種使用規定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じるおそれは極めて低いと判断される。

### 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の感染性は野生型の AAV5 と同じであり、自然界で影響を受ける可能性がある動植物は、ヒトを含む哺乳動物に限られる。

#### (2) 影響の具体的内容の評価

本遺伝子組換え生物等が感染した動物において、視細胞に局限して一過性に RPGR.ORF15 が産生される可能性はあるが、ヒト内因性タンパク質であり、毒性作用を示すことはないと考えられる。また、供与核酸に対する相同性検索の結果、有害な DNA 配列は含まれないことが確認されている。

#### (3) 影響の生じやすさの評価

本遺伝子組換え生物等は有害物質を産生する可能性が低く、仮に排出された場合でも、第一種使用規定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ないと判断される。

### 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

本遺伝子組換え生物等の感染性は野生型の AAV5 と同じであり、自然界で影響を受ける可能性がある動植物は、ヒトを含む哺乳動物に限られる。

#### (2) 影響の具体的内容の評価

野生型 AAV5 はヘルパーウイルス非存在下で細胞に感染すると、*rep* 遺伝子を介して AAVS1 へ部位特異的に組み込まれることが知られているが（文献 1）、本遺伝子組換え生物等は *rep* 遺伝子を欠失しているため組み込まれる可能性は低いと考えられることから、水平感染及び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と考えられる。

RCAAV を生じるためには、野生型 AAV 及びヘルパーウイルスとの同時感染、かつ本遺伝子組換え生物等と野生型 AAV との間で組換えが起こる必要があり、生体内で RCAAV を生じる可能性は極めて低いと考えられることから、RCAAV の感染により核酸を水平伝達する可能性は極めて低いと考えられる。

(3) 影響の生じやすさの評価

本遺伝子組換え生物等は核酸を水平伝達する可能性が低く、仮に排出された場合でも、第一種使用規定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ないと判断される。

5. その他の性質

該当なし

文献 1. Kotin RM, et al. Characterization of a preferred site on human chromosome 19q for integration of adeno-associated virus DNA by non-homologous recombination. EMBO J. 1992;11(13):5071-8.

## V 総合的評価

本遺伝子組換え生物等の感染しうる宿主はヒトを含めた哺乳動物であり、影響を受ける可能性のある植物及び他の微生物はない。本遺伝子組換え生物等は非増殖性で、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、第一種使用規定に基づいて本遺伝子組換え生物等を使用する限り、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、及び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。