

第一種使用規程承認申請書

令和4年1月13日

厚生労働大臣 殿  
環境大臣 殿

氏名 アステラス製薬株式会社  
代表取締役社長 安川 健司

申請者 印

住所 東京都中央区日本橋本町二丁目5番1号

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。

<p>遺伝子組換え生物等の種類の名称</p>	<p><i>rep</i> 及び <i>cap</i> 遺伝子を欠失し、アデノ随伴ウイルス8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、ヒトミオチュブラリン1を発現するアデノ随伴ウイルス (rAAV8-Des-hMTM1)</p>
<p>遺伝子組換え生物等の第一種使用等の内容</p>	<p>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</p>
<p>遺伝子組換え生物等の第一種使用等の方法</p>	<p>本遺伝子組換え生物等の原液の保管</p> <p>(1) 本遺伝子組換え生物等の原液は、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蔵庫又は冷凍庫において保管する。</p> <p>本遺伝子組換え生物等の原液の希釈液の調製及び保管</p> <p>(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。</p> <p>(3) 希釈液は、容器に入れ、漏出しない状態で保管する。</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、漏出させない措置を執って行う。</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、治療施設他の区画と明確に区別された治療室内で、静脈内に投与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。</p> <p>投与後の患者からの排出等の管理</p> <p>(6) 投与後、患者の投与部位を消毒し、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、医師の判断により必要とされる期間、対策を講じる。</p>

- (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等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、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、当該患者等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の原液の希釈液並びに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) 患者が自宅で用いたドレッシング材及び洗浄に用いた器材等は、二重袋等に厳重に封じ込めた状態で廃棄する。
- (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

	<p>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原液の希釈液及び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、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処理等により不活化処理を行い、廃棄する。</p>
--	---

(別紙様式)

## 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

本遺伝子組換え生物等の宿主は、アデノ随伴ウイルス (AAV) の血清型の 1 つである 8 型 AAV (AAV8) である。AAV はパルボウイルス科のディペンドウイルス属に属する線状一本鎖 DNA ウイルスであり、ウイルス粒子はエンベロープを持たず、正二十面体のカプシドを有し、物理的にきわめて安定である。AAV は、アデノウイルスやヘルペスウイルスなどのヘルパーウイルスの存在下で増殖する (文献 1)。

AAV8 はアカゲザル組織から発見された血清型で、ヒトの約 10%~30% で AAV8 に対する中和抗体を有することが報告されていることから、自然環境にも広く分布するものと考えられている (文献 2)。

#### 2 使用等の歴史及び現状

AAV は、医学生物学領域において遺伝子導入用ベクターとしての応用が最近とみに進んだウイルスの 1 つである。2 型 AAV (AAV2)、5 型 AAV (AAV5)、AAV8 及び 9 型 AAV (AAV9) に由来する遺伝子組換えウイルスについて遺伝子治療で汎用されているが (文献 3)、本遺伝子組換え生物等について国内での臨床使用の報告はない。国外においては、X 連鎖性ミオチューブラーミオパチー患者を対象とした本遺伝子組換え生物等 (rAAV8-Des-hMTM1) の臨床試験が行われている。申請日時点までに得られている情報として、本試験では、rAAV8-Des-hMTM1 の投与後に 4 例で死亡に至る重篤な肝胆道系有害事象が報告されている。詳細は別紙 4 に記載する。

#### 3 生理・生態学的特性

##### (1) 基本的特性

AAV は約 4.7 kb の線状一本鎖 DNA ウイルスであり、(+) 鎖及び (-) 鎖の両者が存在する。エンベロープを持たず直径 20~26 nm の正二十面体構造のカプシドを有する。

AAV は種々の細胞の表面に存在するヘパラン硫酸プロテオグリカンやラミニン等を受容体とするため宿主域は広い。また、非分裂細胞にも感染が可能である。野生型 AAV は標的細胞に感染すると核に輸送され、Rep タンパク質が関与して第 19 染色体長腕の AAVS1 領域 (19q13.3-qter) に組み込まれることがある。一方、rep 遺伝子を欠失した遺伝子組換え AAV ではゲノムに組み込まれる場合には、ランダムに組み込まれる傾向にあり、アクティブな遺伝子領域に挿入されやす

いと報告がある（文献4）。

## (2) 生育又は生育可能な環境の条件

AAV はヒトに感染はするが、ウイルス粒子を構成するために必要とされる遺伝子を有しないことから自律的な増殖能を欠損している。増殖には、*E1A*, *E1B*, *E2A*, *E4* 及び *VA* 遺伝子等を供給しうるアデノウイルス又はヘルペスウイルスなどのヘルパーウイルスの存在が必要である。

培養細胞を用いた *in vitro* での AAV 産生系においても同様に、供与核酸が搭載された AAV ゲノム領域を含むプラスミドに加え、*rep* 遺伝子、*cap* 遺伝子及びアデノウイルス由来 *E2A*, *E4*, *VA* を発現するヘルパープラスミドを、*E1A* 及び *E1B* を発現する培養細胞にコトランスフェクションした場合にウイルスの複製が起きる。

本ウイルスは物理化学的に極めて堅牢であり、常温においても安定である。

## (3) 捕食性又は寄生性

捕食性はない。AAV8 はヒト以外に、げっ歯類、サル等の哺乳類動物に感染することが知られている。

## (4) 繁殖又は増殖の様式

AAV は主に、経気道、又は経口で感染する。AAV の生活環は潜伏フェーズと溶解フェーズの2ステージに分けられる（別紙1、文献5）。

### 1) 潜伏フェーズ

野生型 AAV が単独で感染した場合、細胞膜の表面レセプターを介したエンドサイトーシスにより取り込まれ、エンドソームとして細胞質に存在する。エンドソームから脱出した AAV 粒子は核へ移行し、脱殻後に二本鎖 DNA の生成が起きる（別紙1-図1）。宿主ゲノムへの組込みに際しては、Rep78/Rep68 タンパク質が inverted terminal repeat (ITR) 領域と AAVS1 領域に共通な配列に結合し、Rep78/Rep68 を介した組換えにより標的細胞の第19染色体長腕の AAVS1 領域 (19q13.3-qter) に組み込まれると考えられている。

### 2) 溶解フェーズ

アデノウイルスの様なヘルパーウイルスと共感染した場合には、ヘルパーウイルス由来の *E1A*, *E2A*, *E4*, *VA* 遺伝子の産物の存在下、*rep* 及び *cap* 遺伝子の産物である Rep タンパク質やカプシドタンパク質が産生される。さらに、Rep タンパク質を介した AAV ゲノムの複製がおこり、パッケージされたウイルス粒子が産生され、感染細胞の破壊により大量のウイルスが細胞外に放出される（別紙1-図2）。

### 3) AAV ゲノムの構造及び転写

AAV ゲノムは両端に 145 塩基の ITR 構造を持ち、(+) 鎖の場合、その間の上流側半分は Rep タンパク質をコードし、下流側半分はカプシドタンパク質である VP1, VP2 及び VP3 をコードする（別紙1-図3）。Rep タンパク質は AAV プロモーターの活性調整、AAV ゲノムの複製及び第19番目染色体 AAVS1 領域への組込みに関与する。ITR はセルフプライマーとして複製の開始点となり、ニックにより乖離した 3'端から二重鎖が合成され、両端に ITR を持つ構造が複製される（別紙1-図2）。

#### (5) 病原性

パルボウイルス科のパルボウイルス属であるパルボウイルス B19 やサルパルボウイルスはウイルス複製にヘルパーウイルスを必要とせず、ヒトに感染し宿主細胞内で自律的に増殖し、宿主動物に、発疹症（伝染性紅斑等）、貧血、胎児水腫等の様々な病態を引き起こす。しかし、パルボウイルス科のディペンドウイルス属である AAV は、特に病原性が認められていない。なお、溶解フェーズにおける感染細胞の破壊は、AAV によるものではなく、ヘルパーウイルスによるものであり、AAV 自体が病原性を示すことがない。

#### (6) 有害物質の産生性

AAV8 のウイルス粒子自体及びそのゲノムにコードされるタンパク質に、有害物質を産生する活性はない。

#### (7) その他の情報

パルボウイルスに共通する性質として物理化学的に安定なカプシドを有していることから、不活化には 85℃ で数分の加熱処理が必要とされている。通常のオートクレーブ処理（121℃、20 分間）、次亜塩素酸ナトリウム処理又は 0.25% ラウリル硫酸ナトリウム（SDS）15 分処理により完全に不活化される。

AAV は、エンベロープを持たないウイルスであり、加熱に加えて、pH 変化、プロテアーゼ処理、界面活性剤などに対して抵抗性を示し、環境中で比較的安定であると言われている。

文献 1 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 2 Calcedo R, Vandenberghe LH, Gao G, Lin J, Wilson JM. A worldwide epidemiology of neutralizing antibodies to adeno-associated Viruses. J. Infect. Dis. 2009;199:381-90.

文献 3 Lisowski L, Tay SS, Alexander IE. Adeno-associated virus serotypes for gene therapeutics. Curr Opin Pharmacol. 2015;24:59-67.

文献 4 Nakai H, Montini E, Fuess S, Storm TA, Grompe M, Kay MA. AAV serotype 2 vectors preferentially integrate into active genes in mice. Nature Genetics. 2003;34:297-302.

文献 5 Balakrishnan B, Jayandharan GR. Basic Biology of Adeno-Associated Virus (AAV) Vectors Used in Gene Therapy. Curr Gene Ther. 2014;14:86-100.

## 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

供与核酸は、両端の ITR に挟まれた次の①～⑤よりなる。詳細は別紙 2 に記載する。

##### ① ヒト Desmin プロモーター (human Desmin promoter)

ヒト Desmin 遺伝子のプロモーター配列であり、転写開始点上流 984 から下流 76 の配列からなる。具体的には NCBI Reference Sequence: NG\_008043.1 の 4017～5076 の配列である。ただし、2 か所の single nucleotide polymorphisms (SNPs) を含む (rs2854885 及び rs2854886)。

##### ② ヒトベータグロビンイントロン (human beta globin intron)

ヒトベータグロビン遺伝子 (hemoglobin subunit beta) のイントロン 2 のスプライスドナー部位及びスプライスアクセプター部位を含む部分配列からなる。具体的には NCBI Reference Sequence: NC\_018922.2 の 5246759～5246654 及び 5246283～5245839 の配列である。

##### ③ ヒトミオチューブラリン 1 遺伝子 (human myotubularin 1 coding sequence)

ヒトミオチューブラリン 1 (human MTM1, hMTM1) 遺伝子のコーディング領域及び Kozak 配列からなる配列であり、翻訳開始点上流 10 から終始コドンまでの配列からなる。具体的には、NCBI Reference Sequence: XM\_011531173.2 の配列である。

##### ④ ヒトベータグロビンポリアデニル化シグナル配列 (human beta globin poly-adenylation sequence)

ヒトベータグロビン遺伝子のポリアデニル化シグナル配列及びその周辺配列よりなる。具体的には NCBI Reference Sequence: NC\_018922.2 の 5245842～5245083 の配列である。

##### ⑤ その他の核酸断片

プラスミド構築時に移入された人工配列である。

なお、本遺伝子組換え生物等を構成するカプシドタンパク質は、pAudAAVhelp2-8 に搭載された AAV8 由来の *cap* 遺伝子にコードされたものである。

#### (2) 構成要素の機能

##### ① ヒト Desmin プロモーター

動物細胞で、筋組織特異的なプロモーターとして働く (文献 6)。

##### ② ヒトベータグロビンイントロン

ヒトベータグロビンイントロン遺伝子由来のイントロンであり、RNA のプロセッシングに寄与する。

##### ③ ヒトミオチューブラリン 1 遺伝子

ミオチューブラリンと呼ばれるタンパク質をコードする遺伝子である。ミオチューブラリンは種間

で高度に保存された脂質ホスファターゼであり、骨格筋細胞の発達、成熟、維持、機能に關与する（文献 7, 8, 9）。

④ ヒトベータグロビンポリアデニル化シグナル配列

ヒトベータグロビン遺伝子由来のポリアデニル化シグナルであり、RNA のプロセッシングに寄与する。

⑤ その他の核酸断片

プラスミド構築の過程で便宜のために挿入された制限酵素認識部位等であり、本遺伝子組換え生物等に新たな生物学的機能を付与するものではないと考えられる。

供与核酸の全塩基配列において、既知の有害配列（がん遺伝子、有害物質、トキシン）との相同性は認められなかった。また、目的外のオープンリーディングフレーム（ORF）が生じることによってタンパク質が産生される可能性は極めて低いと考えられた。相同性検索結果及び ORF 解析結果の概要を別紙 2 に記載する。

AAV8 の増殖と複製には、ゲノム両端に存在する反復配列 ITR とウイルス固有の非構造タンパク質である Rep タンパク質（及びヘルパーウイルスの働き）が必要であり、また感染の標的細胞はウイルスカプシドによって規定される。したがって、ウイルスゲノム両端の ITR の間のウイルスタンパク質コード領域を hMTM1 に置き換えた rAAV8-Des-hMTM1（筋特異的ヒト Desmin プロモーター下ヒト MTM1 遺伝子を発現する組換え型 AAV8、ウイルスカプシドは野生型 AAV8 と同じ組成）については、ヘルパーウイルス存在下でも増殖性を持たず、また感染の標的細胞は野生型 AAV8 と同様であると考えられる（文献 10）。

文献 6 Pacak CA, Sakai Y, Thattaliyath BD, Mah CS, Byrne BJ. Tissue specific promoters improve specificity of AAV9 mediated transgene expression following intra-vascular gene delivery in neonatal mice. *Genet Vaccines Ther.* 2008;6:13.

文献 7 Blondeau F, Laporte J, Bodin S, Superti-Furga G, Payrastre B, Mandel JL. Myotubularin, a phosphatase deficient in myotubular myopathy, acts on phosphatidylinositol 3-kinase and phosphatidylinositol 3-phosphate pathway. *Hum Mol Genet.* 2000;9:2223-9.

文献 8 Laporte J, Blondeau F, Buj-Bello A, Mandel JL. The myotubularin family: from genetic disease to phosphoinositide metabolism. *Trends Genet.* 2001;17:221-8.

文献 9 Raess MA, Friant S, Cowling BS, Laporte J. WANTED - Dead or alive: Myotubularins, a large disease-associated protein family. *Adv Biol Regul.* 2017;63:49-58.

文献 10 Grimm D, Pandey K, Nakai H, Storm TA, Kay MA. Liver transduction with recombinant adeno-associated virus is primarily restricted by capsid serotype not vector genotype. *J Virol.* 2006;80:426-39.



## 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 hMTM1 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。hMTM1 発現カセットは、ヒト Desmin プロモーター、ヒトベータグロビンイントロン、hMTM1 コード配列、ヒトベータグロビンポリアデニル化シグナル及び制限酵素切断部位等に由来する人工配列からなる。rAAV8-Des-hMTM1 の調製には、  
[REDACTED]  
[REDACTED] プラスミドを用いる。プラスミドの詳細は別紙 3 に記載する。

### (2) 宿主内に移入された核酸の移入方法

rAAV8-Des-hMTM1 は、[REDACTED] プラスミドを HEK293 細胞株に導入することにより産生される。プラスミド及びセルバンクの調製方法の詳細は、別紙 3 に記載する。

### (3) 遺伝子組換え生物等の育成の経過

アステラスの子会社である Audentes Therapeutics, Inc. (Astellas Gene Therapies ; South San Francisco, CA, USA) において、プロセス及び品質管理を実施する。rAAV8-Des-hMTM1 は、HEK293 細胞発現系において産生される。rAAV8-Des-hMTM1 製造工程は、バッチ細胞培養、トランスフェクション、ハーベスト及び精製から成り、精製バルク（原薬）を提供する。

品質管理の詳細は別紙 3 に記載する。精製バルク（原薬）の品質試験において、力価及び含量に加えて、プラスミド残留試験及び増殖性 AAV (rc-AAV) 試験が実施される。

#### 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

AAV に移入された核酸は一本鎖 DNA ゲノムの一部として存在し、凍結下、安定に保存される。細胞に感染すると、本遺伝子組換え生物等のゲノムは通常、核内で染色体外の二本鎖 DNA (エピゾーム) として長期にわたって存在し、発現カセットに挿入されている *Desmin* プロモーター制御下、hMTM1 タンパク質が構成的に発現する。hMTM1 の発現は細胞の遺伝子に変化が起こらない限り、また細胞が分裂しない限り継続するものと考えられる。

本遺伝子組換え生物等は野生型ウイルスである AAV8 の *rep/cap* 領域を欠失しているため、ヘルパーウイルス依存性の複製能を喪失している。アデノウイルス等のヘルパーが感染しており、かつ *rep* 遺伝子と *cap* 遺伝子を発現している細胞に感染した場合に限り、本遺伝子組換え生物等は感染性ウイルスを産生しうるが、自然環境中でこのような細胞に感染する可能性はほとんど無いと考えられる。したがって、本遺伝子組換え生物等は外界に漏出しても、複製して増殖することは無く、減少する一方であると考えられる。

#### 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

rAAV8-Des-hMTM1 の検出には定量的 polymerase chain reaction (qPCR) を用いる。rAAV8-Des-hMTM1 は宿主の AAV8 に存在しない *hMTM1* 遺伝子を含むが、正常ヒト組織は *MTM1* を発現しているため、プライマーを [REDACTED] [REDACTED] が増幅するよう設計し、宿主の AAV8 ではなく、また正常ヒト組織に発現する *MTM1* でもない rAAV8-Des-hMTM1 を特異的に検出する qPCR 法を確立した。qPCR 法では [REDACTED] を用いて、それぞれ 10 コピーの rAAV8-Des-hMTM1 ベクター DNA があれば検出することができる。

#### 6 宿主又は宿主の属する分類学上の種との相違

本遺伝子組換え生物等と宿主である AAV8 との間には以下の相違点がある。

##### (1) *rep* 遺伝子, *cap* 遺伝子の有無による相違について

本遺伝子組換え生物等は AAV8 のウイルス粒子を構成するために必要な遺伝子を有しないため、ヘルパーウイルス存在下でもウイルス粒子を複製しない。ヘルパーウイルスと共感染した細胞やヘルパーウイルス由来の増殖に必要な遺伝子を恒常的に発現している細胞において、*rep* 遺伝子及び *cap* 遺伝子が供給されなければ本遺伝子組換え生物の複製は起こらない。

##### (2) 挿入遺伝子について

本遺伝子組換え生物等は hMTM1 発現カセットを有する。hMTM1 遺伝子の上流に配置された *Desmin* プロモーターは哺乳類筋組織特異的に遺伝子発現することが期待される。

## 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

#### 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蔵庫又は冷凍庫において保管する。

#### 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、容器に入れ、漏出しない状態で保管する。

#### 運搬

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

#### 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、静脈内に投与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、患者の投与部位を消毒し、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、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等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、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、当該患者等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の原液の希釈液並びに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) 患者が自宅で用いたドレッシング材及び洗浄に用いた器材等は、二重袋等に厳重に封じ込めた状態で廃棄する。
- (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。
- (17) 本遺伝子組換え生物等の原液の希釈液及び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、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。
- (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処理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

国内での情報収集は現在のところ予定していない。米国、カナダ及び欧州にて実施中の臨床試験（ATX-MTM-002試験、文献11）におけるウイルス排出データの詳細については、別紙5に記載する。

文献 11 臨床試験情報 (ClinicalTrials.gov) : NCT03199469, Gene Transfer Clinical Study in X-Linked Myotubular Myopathy (ASPIRO):  
<https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03199469?term=ASPIRO&draw=2&rank=1>

#### 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

MTM1 変異マウスに対して、AAV8-Des-murine MTM1 の静脈内投与を行った結果、6 カ月の観察期間で顕著な筋病理の改善、筋機能の改善、及び生存延長効果が認められた (文献 12)。また、MTM1 変異イヌに対して、AAV8-Des-canine MTM1 の静脈内投与を行った結果、9 カ月の観察期間で高い忍容性、筋病理の改善及び生存延長効果が認められた (文献 13)。また、rAAV8-Des-hMTM1 については、MTM1 変異マウスでの有効性、XXXXXXXXXXでの毒性、MTM1 変異マウス及び MTM1 変異イヌでの臓器中、並びにXXXXXXXXXXでの血中及び臓器中生体内分布評価及びミオチュブラリンのタンパク質発現及び mRNA 発現評価等を実施しており、それぞれの試験結果については、別紙 4 に記載した。

文献 12 Childers MK, Joubert R, Poulard K, Moal C, Grange RW, Doering JA, et al. Gene therapy prolongs survival and restores function in murine and canine models of myotubular myopathy. *Sci Transl Med.* 2014;6:200ra10.

文献 13 Mack DL, Poulard K, Goddard MA, Latournerie V, Snyder JM, Grange RW, et al. Systemic AAV8-mediated gene therapy drives whole-body correction of myotubular myopathy in dogs. *Mol Ther.* 2017;25:839-854.

#### 6 国外における使用等により得られた情報

2017 年より米国、カナダ及び欧州にて、5 歳未満の X 連鎖性ミオチュブラーミオパチー患者を対象に rAAV8-Des-hMTM1 を静脈内投与する臨床試験 (ATX-MTM-002 試験) が行われている。本試験では rAAV8-Des-hMTM1 の 2 用量を評価している。申請日時点までに得られている情報として、rAAV8-Des-hMTM1 投与後に、4 例 (高用量 3 例, 低用量 1 例) で死亡に至る重篤な肝胆道系有害事象が認められた。また、本試験において、rAAV8-Des-hMTM1 投与後の患者の尿、唾液及び糞便を対象に、*hMTM1* 遺伝子の一部を PCR で増幅及び定量する方法で、ウイルス排出の有無を確認した。安全性及びウイルス排出データ等の詳細については、別紙 4 及び 5 に記載する。

## 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野生動植物等の特定

rAAV8-Des-hMTM1 の感染宿主は野生型 AAV8 と同一と考えられるが、野生型 AAV8 が微生物に感染するとの報告はない。また、競合及び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。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

該当なし。

#### (3) 影響の生じやすさの評価

該当なし。

#### (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、他の微生物を減少させる性質について、当該第一種使用規程に従って使用等を行う限り、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

rAAV8-Des-hMTM1 の感染宿主は野生型 AAV8 と同一と考えられるので、自然界で感染する対象は哺乳動物である。

### (2) 影響の具体的内容の評価

ATX-MTM-002 試験において死亡に至る重篤な肝胆道系有害事象が認められているものの、現時点では、rAAV8-Des-hMTM1 の投与により病原性が示されたかどうかは不明である。なお、野生型 AAV8 と同様に、rAAV8-Des-hMTM1 もしくは *rep/cap* 領域を目的遺伝子で置換した AAV の感染による病原性は知られていない。

### (3) 影響の生じやすさの評価

第一種使用規程承認申請書に記載した遺伝子組換え生物等の第一種使用等の方法による限り、rAAV8-Des-hMTM1 及び rAAV8-Des-hMTM1 由来 rc-AAV の環境中への拡散は極めて微量である。また、rAAV8-Des-hMTM1 自体はヘルパーウイルス（アデノウイルス等）及び野生型 AAV と同時に共感染しない限り増殖することはない、rAAV8-Des-hMTM1 由来の rc-AAV も、ヘルパーウイルスと共感染しない限り、環境中で増殖することはない。

したがって、第一種使用規程承認申請書に記載した遺伝子組換え生物等の第一種使用等の方法による限り、rAAV8-Des-hMTM1 の投与後に重篤な有害事象等が認められた場合であっても、当該患者から第三者に伝播し、影響を及ぼす可能性は極めて低いと考えられる。

### (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、病原性について、当該第一種使用規程に従って使用等を行う限り、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

rAAV8-Des-hMTM1 の感染宿主は野生型 AAV8 と同一と考えられるので、自然界で感染する対象は哺乳動物である。

#### (2) 影響の具体的内容の評価

rAAV8-Des-hMTM1 が感染した細胞内で hMTM1 タンパク質が発現するが、分泌されることはない。異種動物においてアレルゲンとなる可能性を除いては、hMTM1 タンパク質の有害性は知られていない。

ATX-MTM-002 試験において死亡に至る重篤な肝胆道系有害事象が認められているものの、現時点では、rAAV8-Des-hMTM1 の投与によって発現した hMTM1 タンパク質の影響によるものかどうかは不明である。

非臨床試験においては、いずれの動物種においても、肝臓における MTM1 タンパク質の発現量は標的臓器である筋肉と比較し顕著に低く、また、hMTM1 タンパク質が筋肉で高発現している ██████████ で有害所見は認められていない。

#### (3) 影響の生じやすさの評価

第一種使用規程承認申請書に記載した遺伝子組換え生物等の第一種使用等の方法による限り、rAAV8-Des-hMTM1 は投与を受けた患者の体内に限定的に留まるのみであり、rAAV8-Des-hMTM1 の環境中への拡散は極めて微量であるため、第三者及び他の動植物が影響を受けることはない。また、rAAV8-Des-hMTM1 自体はヘルパーウイルス（アデノウイルス等）及び野生型 AAV と同時に共感染しない限り増殖することはない。また、rAAV8-Des-hMTM1 由来の rc-AAV も、ヘルパーウイルスと共感染しない限り、環境中で増殖することはない。

したがって、第一種使用規程承認申請書に記載した遺伝子組換え生物等の第一種使用等の方法による限り、rAAV8-Des-hMTM1 の投与後に重篤な有害事象等が認められた場合であっても、rAAV8-Des-hMTM1 の投与によって発現した hMTM1 タンパク質が第三者に対して影響を及ぼす可能性は極めて低いと考えられる。

#### (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、有害物質の産生性について、当該第一種使用規程に従って使用等を行う限り、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等の特定

rAAV8-Des-hMTM1 の感染宿主は野生型 AAV8 と同一と考えられるので、自然界で感染する対象はヒト以外には、カニクイザル、アカゲザル、イヌ、ラット、マウスなどの哺乳動物である。

##### (2) 影響の具体的内容の評価

rAAV8-Des-hMTM1 は、感染動物のゲノムに組み込まれ得る確率は極めて低い。また、遺伝子組換え AAV の供与核酸が他の動物にさらに水平伝達されるとの報告はない。

##### (3) 影響の生じやすさの評価

第一種使用規程承認申請書に記載した使用方法に従う限り、rAAV8-Des-hMTM1 環境中への拡散は極めて微量である。また、rAAV8-Des-hMTM1 自体はヘルパーウイルス（アデノウイルス等）及び野生型 AAV と同時に共感染しない限り増殖することはなく、rAAV8-Des-hMTM1 由来の rc-AAV も、ヘルパーウイルスと共感染しない限り、環境中で増殖することはない。したがって、仮に微量な rAAV8-Des-hMTM1 が環境中に拡散しても、やがて消滅すると考えられる。

##### (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、核酸を水平伝達する性質について、当該第一種使用規程に従って使用等を行う限り、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。

## V 総合的評価

rAAV8-Des-hMTM1 の感染宿主は野生型 AAV8 と同一と考えられるが、野生型 AAV8 が自然界で感染する対象は哺乳動物であり、他の微生物を減少させるおそれは報告されていない。

第一種使用規程承認申請書に記載した遺伝子組換え生物等の第一種使用等の方法による限り、本遺伝子組換え生物等の環境中への拡散は極力抑えられており、拡散したとしても、極めて微量である。

rAAV8-Des-hMTM1 では、野生型 AAV8 の *rep/cap* 領域が hMTM1 発現カセットに置換されているが、野生型及び *rep/cap* 領域を目的遺伝子で置換した AAV の感染による病原性は知られていない。また、rAAV8-Des-hMTM1 はヘルパーウイルスに加えて、野生型 AAV が同時に共感染しない限り増殖することはないため、野生型 AAV と比較して増殖性は著しく減退している。また野生型 AAV と共感染した感染細胞内で組換えが起こることにより新たな rc-AAV が生じても、供与核酸がさらに水平伝達される可能性は極めて低い。

したがって、第一種使用規程承認申請書に記載した遺伝子組換え生物等の第一種使用等の方法による限り、rAAV8-Des-hMTM1 の投与後に重篤な有害事象等が認められた場合であっても、当該患者から第三者に伝播し、rAAV8-Des-hMTM1 又は発現した hMTM1 タンパク質による影響が生じる可能性は極めて低いと考えられる。