

様式第 1（第 7 条関係）

第一種使用規程承認申請書

令和 4 年 11 月 17 日

厚生労働大臣 殿

環 境 大 臣 殿

氏名 フェリング・ファーマ株式会社

申請者 代表取締役 津村 重吾

住所 東京都港区虎ノ門二丁目 3-17

虎ノ門 2 丁目タワー

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	E3 領域の一部を欠失し、E1 領域がヒトインターフェロンアルファ-2b 発現カセットに、また E2B 領域の一部がヒトアデノウイルス 2 型由来配列に置換された遺伝子組換えヒトアデノウイルス 5 型（rAd-IFN）
遺伝子組換え生物等の第一種使用等の内容	ヒトの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は、容器に密封し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 (2) 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。 (3) 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 (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、治療施設の他の区域と明確に区別された治療室内で、患者の膀胱内に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。

患者検体の取扱い

- (9) 患者から採取した尿検体（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。
- (10) 本遺伝子組換え生物等の投与後、排出等の管理を要する期間中の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。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患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) 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。
- (13) 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。
- (14) 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。 (15) 本遺伝子組換え生物等の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。 (16) 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、密封された状態で焼却等により不活化処理を行い、廃棄する。
--	--

第一種使用規程承認申請書 生物多様性影響評価書

rAd-IFN

一部変更申請日：令和4年11月17日

フェリング・ファーマ株式会社

本資料に記載の情報は機密であり、Ferring Pharmaceuticals A/S 又はフェリング・ファーマ株式会社を含むフェリンググループが所有権を有します。本資料に記載の情報は、いかなる形式でも、フェリング・ファーマ株式会社を含むフェリンググループの事前の文書による同意なしに、第三者に開示することはお控えください。

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（文献1～文献5）

ヒトアデノウイルス（以下「Ad」という。）は、アデノウイルス科マストアデノウイルス属に分類されるエンベロープを持たない直径 70～90 nm の中型 DNA ウイルスである（文献1、文献2）。現時点では7つの種（A～G）、55以上の血清型が知られており、血清型の違いにより感染宿主等や引き起こされる臨床症状が異なっている（文献1、文献2及び別紙1）。

アデノウイルスは分裂細胞・非分裂細胞のいずれにも感染し、呼吸器、消化管、角結膜、膀胱を始めとして骨格筋、脳、心臓のような高度に分化した組織にも感染することが知られているが、（文献2、文献3、文献4）、「E3領域の一部を欠失し、E1領域がヒトインターフェロナルファ-2b（以下「hIFNA2b」という。）発現カセットに、またE2B領域の一部がヒトアデノウイルス2型由来配列に置換された遺伝子組換えヒトアデノウイルス5型」（以下「rAd-IFN」という。）の骨格となったAd5型（以下「Ad5」という。）はAdCに分類され、自然環境においては、コクサッキー／アデノウイルス受容体（以下「CAR」という。）を細胞表面に発現したヒト細胞を主な標的として感染・増殖する（文献2、文献3、文献4）。

Ad（ヒトアデノウイルス）の増殖には種特異性があり、Adは自然環境においては、たとえ近縁種である非ヒト霊長類であっても宿主にならないとされている。しかし、実験室的には、Ad5の強制感染実験によりゴールデンハムスター（肺炎、ウイルス性肝炎）、コットンラット（肺炎、結膜炎）、ニュージーランド白ウサギ（結膜炎、眼瞼炎、虹彩炎）に対する病原性が報告されている。また、培養細胞においては、ゴールデンハムスター細胞、コットンラット細胞、イヌ細胞、ブタ細胞などにも感染しうる。なお、Ad5はヒトにおいて発がん性を有するとの明確な証拠はない（文献5）。

1997年に実施された疫学調査の結果では、山形の各年齢層におけるAd5に対する中和抗体保有率は1～2歳及び3～4歳では40～50%であるが、20歳以上ではほぼ100%であった（文献6）。また、1994年に福岡市住民を対象として実施された疫学調査の結果では、Ad5に対する中和抗体保有率は0～4歳で40.0%、5～14歳、15～19歳及び20～29歳では52.8～55.0%、並びに30～39歳、40～49歳、50～59歳及び60歳以上では70.0～90.0%であった（文献7）。

文献1 Alonso-Padilla J, Papp T, Kajan GL, Benko M, Havenga M, Lemckert A, et al. Development of Novel Adenoviral Vectors to Overcome Challenges Observed With HAdV-5-based Constructs. Mol Ther. 2016;24(1):6-16.

文献2 Hall K, Blair Zajdel ME, Blair GE. Unity and diversity in the human adenoviruses: exploiting alternative entry pathways for gene therapy. Biochem J. 2010;431(3):321-36.

文献3 Russell WC. Adenoviruses: update on structure and function. J Gen Virol. 2009;90(Pt 1):1-20.

文献4 Russell WC. Update on adenovirus and its vectors. J Gen Virol. 2000;81(Pt 11):2573-604.

- 文献 5 Wold WSM, Ison MG. Adenoviruses. In: Knipe DM, Howley PM, editors. *FIELDS VIROLOGY*. 6th ed: Lippincott Williams & Wilkins; 2013.
- 文献 6 水田克巳, 坂本美千代, 岡本道子, 後藤裕子, 村田敏夫, 村山尚子, et al. 1997 年の山形におけるアデノウイルス 1～7 型の血清疫学. *山形県衛生研究所報*. 1999;32:5-7.
- 文献 7 宮基良子, 本田己喜子, 香月隆延, 梶原一人, 堤康英, 前田義章. 福岡市民の各種ウイルス抗体保有状況調査－1. アデノウイルス. *福岡市衛生試験所報*. 1995;20:82-6.

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。）

米国においては新兵を対象にした Ad 4 型・7 型の経口生ワクチンが承認されているが（文献 8）、国内外で Ad5 を含んだ生ワクチンが承認された事例はない。1974 年に米国において Ad5 経口生ワクチンの臨床研究が実施され（該当被験者数 11 例）、有害事象はみられなかったとの報告がある（文献 9）。

E1 領域を欠損させた Ad5 由来の遺伝子組換え Ad（Ad ベクター）を用いた遺伝子治療は 1993 年に初めて実施され（文献 10）、国内でも 1999 年に初めて実施されている（文献 11）。世界的な遺伝子治療臨床試験データベースである The Journal of Gene Medicine “Clinical Trials Database”（文献 12）によれば、2016 年 8 月までに実施された遺伝子治療臨床試験の数は 2409 であり、このうち 528 試験（21.9%）で Ad ベクターが用いられており、遺伝子治療において広く使用されている。

- 文献 8 横浜市衛生研究所. アデノウイルス感染症について. Available from: <http://www.city.yokohama.lg.jp/kenko/eiken/idsc/disease/adenovirus1.html>.
- 文献 9 Schwartz AR, Togo Y, Hornick RB. Clinical evaluation of live, oral types 1, 2, and 5 adenovirus vaccines. *Am Rev Respir Dis*. 1974;109(2):233-9.
- 文献 10 Crystal RG. The Gordon Wilson Lecture. In vivo gene therapy: a strategy to use human genes as therapeutics. *Trans Am Clin Climatol Assoc*. 1995;106:87-99.
- 文献 11 Fujiwara T, Tanaka N, Kanazawa S, Ohtani S, Saijo Y, Nukiwa T, et al. Multicenter phase I study of repeated intratumoral delivery of adenoviral p53 in patients with advanced non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol*. 2006;24(11):1689-99.
- 文献 12 Gene Therapy Clinical Trials Worldwide (Provided by the Journal of Gene Medicine). WILEY; 2016 [updated August 2016]. Available from: <http://www.wiley.com/legacy/wileychi/genmed/clinical/>.

3 生理学的及び生態学的特性

(1) 基本的特性

Ad 及び Ad5 の生活環、自然宿主、生体内分布、排出、実験動物への感染性、病原性、潜伏感染の有無、発がん性等に関する詳細は別紙 1 に記載した。

Ad5 は Ad C に分類され、直径約 90 nm の正 20 面体型のキャプシド及び単一の直鎖状 2 本鎖 DNA (約 36 kb) のゲノムを持ち、Ad のキャプシドは主に 3 種類のタンパクから構成される。また、Ad 遺伝子群は、その転写時期がウイルス DNA 複製の前であるか (初期)、後であるか (後期) によって大別され、初期転写領域にコードされるタンパクの中では E1A 領域のタンパクが最初に発現し、E1B～E4 領域にコードされるタンパクの発現をトランスアクチベーションすることが知られている (文献 13)。

(2) 生育又は生育可能な環境の条件

Ad はヒトやコットンラットに感染し増殖し、培養細胞ではヒト由来の細胞でのみ効率よく増殖すること、またサル由来培養細胞で低レベルの増殖が起こることが知られている。経口感染することから推定されるように、Ad は宿主生物の外にあって、36℃では 1 週間、室温では数週間、4℃では数ヵ月間安定である。また、乾燥した場所では 7 日間から 3 ヶ月間安定である (文献 14)。

(3) 捕食性又は寄生性

Ad は自然界では、ヒトやコットンラット等で増殖を伴う感染を起こす。

(4) 繁殖又は増殖の様式

Ad5 は主としてヒト等に経口感染し、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の産生が起こり、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。

(5) 病原性

Ad5 は、急性呼吸器疾患 (風邪症候群など)、角結膜炎、乳幼児下痢症などを引き起こす。多くの Ad5 は体内の潜伏期間が 5～7 日で、便や飛沫、直接接触により感染する。Ad5 の場合には重篤な症状を示さずに不顕性感染のまま終わるケースが多いが (免疫抑制患者では肝炎など重症となるケースもある。)、乳幼児における急性発熱性咽頭炎の起因ウイルスとして知られている。Ad5 に対する抗ウイルス薬としては Cidofovir が抗ウイルス効果を持つ可能性が示唆されているが (文献 15)、適応を持つ医薬品は存在しないことから対症療法が中心となり、一般的に予後は良好である (文献 16)。

Ad5 は通常、動物に対して病原性を示さず、動物ではその動物種固有のアデノウイルスのみが病原性を示す (文献 5)。

(6) 有害物質の産生性

Ad5 の感染で細胞内に産生されるタンパク等の毒性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。)

Ad の消毒・不活化には高圧蒸気滅菌（121℃、15 分）、乾熱滅菌（160～170℃、1 時間）、約 0.5% の次亜塩素酸ナトリウム水溶液、70%エタノール、2%ホルムアルデヒドなどが推奨されている（[文献 14](#)）。

- 文献 13 近藤小貴, 寺島美保, 福田尋充, 斎藤泉, 鎌ヶ谷裕美. アデノウイルスペクターの遺伝子工学. ウイルス. 2007;57(1):37-46.
- 文献 14 Office of Research Compliance. Pathogen Safety Data Sheet—Adenovirus. Montana State University.
- 文献 15 De Clercq E. Clinical potential of the acyclic nucleoside phosphonates cidofovir, adefovir, and tenofovir in treatment of DNA virus and retrovirus infections. Clin Microbiol Rev. 2003;16(4):569-96.
- 文献 16 国立感染症研究所. アデノウイルス解説ページ—アデノウイルスの種類と病気. Available from: <http://www.nih.go.jp/niid/ja/aden-pfc-m/2110-idsc/4th/4326-aden-virus-page2.html>.

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

rAd-IFN では野生型 Ad5 の E1 領域 [E1A 領域のタンパクコード領域 [] 及び E1B 領域のタンパクコード領域 [] 並びにプロテインIXコード領域の [] を含む。] が hIFNA2b 発現カセットに人為的に置換されており、当該発現カセットは① [] エンハンサー／プロモーター配列、②ヒトアデノウイルス 2 型（以下「Ad2」という。） [] 配列（以下「 [] 」という。）、③ヒトインターフェロンアルファ-2b コード領域（以下、hIFNA2b 遺伝子）を含んでいる（別紙 2）。

また、rAd-IFN の構築過程において、当該発現カセットに隣接した領域（主に E2B 領域 []）が野生型 Ad5 の配列から Ad2 の配列に置換されている。なお、rAd-IFN では野生型 Ad5 E3 領域の一部も除去されている。rAd-IFN の全塩基配列は別紙 2 に示す。

[] [] エンハンサー／プロモーター配列、Ad2 []、[] 配列、hIFNA2b コード領域及び [] [] シグナル、並びに [] 野生型 Ad5 の配列から Ad2 の配列に置換された E2 領域など、rAd-IFN の野生型 Ad5 と異なる部分（供与核酸）の由来は、以下のとおりである。hIFNA2b 発現カセットの構造及び各塩基配列については、別紙 2 に示す。

<hIFNA2b 発現カセット（ [] 塩基対）における供与核酸>

① [] [] エンハンサー／プロモーター配列 [] 塩基対)

由来： []。rAd-IFN の構築に際してはプラスミド [] から供与。

塩基配列：「 [] 」 ([]) [] 番目の塩基配列に一致。このうち [] 番目がエンハンサー領域、 [] 番目がプロモーター領域 ([] []) とされている。

② Ad2 [] ([] 塩基対)

由来：Ad2。rAd-IFN の構築に際しては①と同じくプラスミド [] 上の当該配列を利用。

塩基配列：「 [] 」 ([]) [] 番目、 [] 番目及び [] 番目の塩基配列（文献 17）を直列に連結させた配列（文献 18）に [] 塩基を除いて一致。

③ hIFNA2b コード領域 ([] 塩基対)

由来： []。プラスミド [] 上の [] [] 配列及びプラスミド [] 上の [] hIFNA2b コード配列 [] を一般的な遺伝子工学的手法を用いて増幅・連結させて、 [] (最初の [] アミノ酸部分) を含む hIFNA2b (全長 [] アミノ酸。最後の [] 塩基対は終結コドン) の cDNA を作製。

塩基配列：「[redacted]」（[redacted]）[redacted]
[redacted] 番目の塩基配列にほぼ一致。このうち [redacted] 番目が [redacted] 配列とされている。

③-1 [REDACTED]配列 ([REDACTED]塩基対)

[redacted] 番目の配列が、[redacted]
 ([redacted]) [redacted] 番目の塩基配列にほぼ一致。

③-2 hIFNA2b 遺伝子 (塩基対)

番目の配列が、「
 番目の塩基配列に完全一致。

＜hIFNA2b 発現カセット以外の供与核酸＞

① Ad2 の E2 領域 (塩基対)

由来：Ad2

塩基配列： [redacted] 番目の配列が「 [redacted] 」 ([redacted]
[redacted]) [redacted] 番目にほぼ一致。

①-1 ■■■ シグナル (■ 塩基対)

塩基配列： [redacted] 番目の配列が「 [redacted] 」 ([redacted]
[redacted]) [redacted] 番目に一致。

①-2 配列 (塩基対)

塩基配列： 番目の配列が の 番目にほぼ一致。

①—3 ██████████前駆体██████████ (██████████塩基対)

塩基配列 [] 番目の配列が [] の [] 番目にほぼ一致。

①-4 [REDACTED] ([REDACTED] 盐基对)

塩基配列：[redacted] 番目の配列が [redacted] の [redacted] 番目に一致。

(2) 構成要素の機能

＜hIFNA2b 発現カセットにおける供与核酸＞

① ■■■ エンハンサー／プロモーター配列

rAd-IFN 上の hIFNA2b 遺伝子を強力かつ恒常的に発現させる。

② Ad2

rAd-IFN 上の hIFNA2b 遺伝子の転写を促進する（文献 18）。

③ hIFNA2b コード領域

hIFNA2b タンパクは、ナチュラルキラー細胞及び単球（マクロファージ）を活性化させて腫瘍細胞に対する細胞障害性を高めたり、腫瘍細胞増殖抑制作用、抗ウイルス作用を示すなど多彩な作用を示す（文献 19）。hIFNA2b cDNA から発現する hIFNA2b タンパクのアミノ酸配列は別紙 2 に示す。

③-1 配列（塩基対）

機能：細胞質内で生合成されたタンパク質の、及びを指示するを発現させる。

③-2 hIFNA2b 遺伝子（塩基対）

機能：ヒトインターフェロンアルファ 2b を発現させる。

<hIFNA2b 発現カセット以外の供与核酸>

① Ad2 の E2 領域

①-1 配列（塩基対）

機能：の塩基下流で一次転写産物を切断するとともに、鋳型に依存せずにを付加する。

①-2 配列（塩基対）

機能：移行期の転写開始部位であり、DNA 合成開始後に転写が始められる。に関与する。

①-3 前駆体（塩基対）

機能：アデノウイルスゲノムの 5' 末端のに共有結合するの前駆体をコードしている。は、L3 プロテアーゼにより成熟化され、となる。

①-4 配列（塩基対）

機能：DNA 鎖を鋳型として二本鎖 DNA を合成する。

Ad5 の配列から E1B 領域の 3' 末端側の及び E2B 領域の一部が Ad2 の配列に置換されているが、Ad2 も Ad5 も同じ Ad C に分類され、実際、当該領域の Ad2 の塩基配列を Ad5 の相当する配列と比較しても約の違いしかない（Ad5 の配列に対して Ad2 は塩基が挿入、塩基が欠失、塩

基が置換) ことから、rAd-IFN の当該領域にコードされるタンパク []、 [] 及び [] は、実質的に野生型 Ad5 のタンパクと違いがないと考えられる。なお、E1A 領域を持たない rAd-IFN では ([] 細胞等のヘルパー細胞内での増殖・複製時を除いて) 当該配列上のコード領域が発現することはない (文献 13)。

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。

文献 17 Gingeras TR, Sciaky D, Gelinas RE, Bing-Dong J, Yen CE, Kelly MM, et al. Nucleotide sequences from the adenovirus-2 genome. J Biol Chem. 1982;257(22):13475-91.

文献 18 Logan J, Shenk T. Adenovirus tripartite leader sequence enhances translation of mRNAs late after infection. Proc Natl Acad Sci U S A. 1984;81(12):3655-9.

文献 19 MSD 株式会社. 遺伝子組換え型インターフェロン α -2b 製剤, イントロン A 注射用 300、同 600、同 1,000 添付文書及び医薬品インタビューフォーム. 2015 年 7 月改訂.

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

rAd-IFN は、Ad5 の E1 領域及び E2B 領域の一部が、それぞれ、hIFNA2b 発現カセット及び Ad2 由来配列に置換され、E3 領域を欠失した構造をとっている。rAd-hIFN の全塩基配列、hIFNA2b 発現カセットの構造、rAd-hIFN 全体的な構造及び rAd-hIFN の全塩基配列と既知の塩基配列との相同性を確認した結果を別紙 2 に示す。

(2) 宿主内に移入された核酸の移入方法

rAd-IFN 構築方法の概要は以下のとおりであり、詳細は別紙 3 に示す。

hIFNA2b 発現カセット、[redacted] 及び Ad 由来配列等が構築・搭載されたプラスミド [redacted] を制限酵素 [redacted] で消化後、[redacted] により精製したもの、及び E3 領域が一部除去された遺伝子改変 Ad5 である [redacted] を制限酵素 [redacted] で消化した後、[redacted] により精製したものを [redacted] 細胞にそれぞれ導入し、当該細胞内で相同組換えを起こさせて、適切な rAd-IFN シードウイルスを選抜した。なお、[redacted] は野生型 Ad5 から E3 領域の一部が除去されているとともに、[redacted] の発現遺伝子が挿入されている。

選抜したシードウイルスから [redacted] 細胞を用いてプラーク純化及びバンク化が、数社の施設において繰り返し行われ、最終的に [redacted] で rAd-IFN マスターウイルスシードストック（以下「MVSS」という。）及び当該 MVSS からワーキングウイルスシードストック（以下「WVSS」という。）が製造され、これらを患者に投与する rAd-IFN 溶液の製造原料とした。なお、[redacted]、融合発現遺伝子等は、最終的に rAd-IFN より除かれている。

(3) 遺伝子組換え生物等の育成の経過

治験用製剤の品質管理の概要（工程内管理試験並びに規格試験及び試験方法）を別紙 3 に示す。

rAd-IFN への増殖性アデノウイルス（以下「RCA」という。）の混入量については、規格試験及び工程内管理試験によって厳重に管理されている〔ローラーボトル法を用いた場合、rAd-IFN 原薬において陽性を示す培養容器数は [redacted] 個中 [redacted] 個以下（[redacted] vp 中に [redacted] RCA（pfu）未満（従来の培養フラスコ法では [redacted] vp 当たり [redacted] RCA（pfu）未満に相当））〕。

患者に投与する rAd-IFN 製剤は、海外施設にて [redacted] 細胞をパッケージング細胞として上記 WVSS から GMP（GCTP）を遵守して製造される。製造された rAd-IFN 製剤はガラスバイアルに無菌充てん・打栓され、密封された後に、凍結した状態で日本へ輸送される。なお、製剤は、Syn3NODA（[(N-(3-コラミドプロピル)-N-(3-ラクトビオナミドプロピル)]-コラミド）を添加剤として含んでいる。

その後、日本国内では、輸入者であるフェリング・ファーマ株式会社、あるいはフェリング・ファーマ株式会社が指定する「保管・配送業務」を委託する機関が施錠された冷凍庫に保管した後、治療施設へと輸送し、治療施設内の施錠された冷凍庫に保管される。

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

移入した核酸は rAd-IFN の 2 本鎖 DNA ゲノムの一部として存在し、保管中は極めて安定で、感染する動植物等の種類及び感染様式が保管中に変化することはない。細胞に感染すると、rAd-IFN のゲノムは核内の染色体外に存在し、hIFNA2b コード領域から mRNA が転写され、hIFNA2b タンパクが発現する。

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

rAd-IFN の検出は、例えば、宿主である Ad5 に存在しない ██████████ ██████████ を定量的 PCR で特異的に増幅・定量することにより可能である（文献 20）。ヒト全血及び尿中 ██████████ ██████████ 検出に用いた定量的 PCR の測定法を示す（資料 1）。

分析法バリデーションの結果、米国第 I 相及における当該方法の定量下限は全血を検体とした場合には 1×10^4 コピー/mL、尿を検体とした場合には 5×10^4 コピー/mL であり（文献 21）、第 II 相臨床試験における全血及び尿を検体とした場合の定量下限はいずれも 1×10^3 コピー/mL であった（文献 22）。

文献 20 Nagabhushan TL, Maneval DC, Benedict WF, Wen SF, Ihnat PM, Engler H, et al. Enhancement of intravesical delivery with Syn3 potentiates interferon- α 2b gene therapy for superficial bladder cancer. Cytokine Growth Factor Rev. 2007 Oct-Dec;18(5-6):389-94.

文献 21 Dinney CP, Fisher MB, Navai N, O'Donnell MA, Cutler D, Abraham A, et al. Phase I trial of intravesical recombinant adenovirus mediated interferon- α 2b formulated in Syn3 for Bacillus Calmette-Guerin failures in nonmuscle invasive bladder cancer. J Urol. 2013;190(3):850-6.

文献 22 FKT Therapies. Clinical Study Report—A Phase II, Randomized, Open Label, Parallel Arm Study to Evaluate the Safety and Efficacy of rAd-IFN/Syn3 Following Intravesical Administration in Subjects with High Grade, BCG Refractory or Relapsed Non-muscle Invasive Bladder Cancer (NMIBC). 2015.

資料1 ヒト全血及び尿中 rAd-IFN 特異 DNA 検出に用いた定量的 PCR の測定法

6 宿主又は宿主の属する分類学上の種との相違点

rAd-IFN は、野生型 Ad5 と異なり、[REDACTED] プロモーターから転写される hIFNA2b を発現する。また、rAd-IFN は Ad5 E1 領域の遺伝子を欠失していることから、これらの領域にコードされているウイルスタンパク群を発現できない。すなわち、E1 領域に含まれる E1A 及び E1B 遺伝子から作られるタンパクはウイルス DNA の複製に必要であるが（文献 13）、これらを欠く rAd-IFN は E1A 及び E1B 遺伝子を持続的に発現している細胞（例えば、ヘルパー細胞である [REDACTED] 細胞）や Ad と共感染した細胞でなければ rAd-IFN の増殖は起こらない。これらの点を除くと、感染する動植物等の種類、感染経路、伝播様式等も含め、rAd-IFN は野生型 Ad5 と同等である。

rAd-IFN の製造工程においては、rAd-IFN 増殖のために [REDACTED] 細胞（ゲノムに Ad5 の E1 領域が挿入されている。）を使用するが、rAd-IFN の [REDACTED] 細胞への感染後、rAd-IFN 及び [REDACTED] 細胞の E1 領域のフランキング領域の相同性から、その増殖中に rAd-IFN の hIFNA2b 発現カセット部分が [REDACTED] 細胞ゲノムにあった E1 領域と置き換わることにより、rAd-IFN が再び増殖能を獲得する可能性がある。しかしながら、その発現頻度は稀であり（「3 遺伝子組換え生物等の調製方法」、(3)項参照）、またその RCA は、相同組換えにより E1 領域が復元され、その結果 rIFN 発現カセットが除かれたものであることから、ヒトや動植物等への感染性、感染様式、病原性など、生物多様性に影響を与える性質は野生型 Ad5 と同等であると考えられる。

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

1. 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、容器に密封し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。

2. 本遺伝子組換え生物等の調製及び保管

- (2) 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。

- (3) 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。

3. 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。

4. 患者への投与

- (5) 本遺伝子組換え生物等の投与は、治療施設の他の区域と明確に区別された治療室内で、患者の膀胱内に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。

5. 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。

6. 患者検体の取扱い

- (9) 患者から採取した尿検体（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。
- (10) 本遺伝子組換え生物等の投与後、排出等の管理を要する期間中の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。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患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。

7. 感染性廃棄物等の処理

- (12) 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。
- (13) 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。
- (14) 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。
- (15) 本遺伝子組換え生物等の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。
- (16) 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、密封された状態で焼却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

国内で計画する臨床試験において、バリデートされた定量的 PCR 法を用いて、尿中の ██████████ を測定する（別紙 4）。

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

(1) 非臨床試験及び臨床試験の結果

(a) rAd-IFN の反復膀胱内投与毒性試験 (文献 23)

カニクイザルに本品 [rAd-IFN : 2.5×10^{11} (低用量群 ; 雌雄各 3 匹 + 回復群として雌雄各 2 匹) 又は 1.25×10^{13} vp/day (高用量群 ; 匹数は低用量群と同じ) 、Syn3 : 25 mg/day] を Day 1 及び 91 に 2 回膀胱内投与した結果、rAd-IFN/Syn3 投与群における毒性所見は可逆的な投与局所 (膀胱、尿道及び尿管) の軽微～中等度の炎症、潰瘍、細胞過形成及び細胞質空胞化などが見られたのみで、全身毒性は認められなかった。

血中、組織中及び尿中 rAd-IFN 特異 DNA を定量的 PCR により計測した結果の詳細を別紙 5 に示す。血中 DNA 量及び検出例数ともに低用量群に比べて高用量群で高かったが、低用量群及び高用量群ともに 1 回目及び 2 回目投与後の DNA 量及び検出例数ともに明らかな差はなかった。膀胱組織中 rAd-IFN 特異 DNA は、投与後 1 週間 (Day 8 及び 98) では全例で検出され、低用量群に比べて高用量群で高値であったが、低用量群及び高用量群ともに 1 回目及び 2 回目投与後の DNA 量及び検出例数に明らかな差はなかった。肝臓及び腎臓組織においては数例で、精巣及び卵巣組織ではそれぞれ 1/3 例で rAd-IFN 特異 DNA が検出されたが、組織蓄積性は認められなかった。rAd-IFN/Syn3 投与群の多くの動物において、尿中 rAd-IFN 特異 DNA が投与日 (Day 1 及び 91) に検出されたが、いずれの動物においても 2 回目投与前には検出されなかった。

(b) 米国第 I 相及び第 II 相臨床試験 (文献 24、文献 22)

米国で行われた第 I 相試験、及び第 II 相試験の詳細については、次項 6 で示した。

これまでに行われた米国臨床試験では、rAd-IFN/Syn3 は一般の治療室で投与され、特別な個室による被験者の管理は行われていない。被験者は投与当日に治験実施施設から解放され、投与後 7 日間は排尿前に約 120 mL の次亜塩素酸ナトリウム水溶液 (濃度約 5%) を便器に注ぎ、排尿後はそのまま 15 分放置してから水を流すように指導をしている。現在までに、これらの管理方法を用いた臨床試験において、rAd-IFN/Syn3 を扱う施設の医療従事者やその家族に本品との関係が疑われる健康上の問題が発生したとの報告はない。

(2) 自然環境中での生存性

rAd-IFN の自然環境中 (外界) での生存性に関する情報はないが、rAd-IFN は、1) E1a 領域、E1b 領域、E3 領域の一部、及び Protein 9 領域がアデノウイルスゲノムから除かれていること、2) XXXXXXXXXX Promoter と共に IFNA2b を発現するコードが導入されていること以外は、野生型 Ad5 と同じである。したがって、rAd-IFN の自然環境中の生存性は野生型の Ad5 と同様と考える。

アデノウイルス 5 型は、水生環境で頻繁に検出される Ad 株であり (文献 25) 、Ad は、下水中に最も普通に認められる腸内ウイルスである (文献 26) 。生存性は温度上昇に影響されず、乾燥に強く、低湿度の状況下で 12 週間以上生存し、UV 照射に対しても強いが (文献 27) 、水道水中の遊離塩素により不活性化されることが知られている (文献 28) 。

(3) 環境及びヒトの健康に及ぼす影響

rAd-IFN は E1a 領域および E1b 領域が欠損しており複製能力を欠き、また、rAd-IFN はウイルスの外郭であるカプシドの安定化に寄与する Protein 9 領域を含まないことから、ベクターとしての安定性は低い（文献 29、文献 30、文献 31）。一方、XXXXXXXXXX 細胞を用いる rAd-IFN の製造工程や、個体における野生のアデノウイルスやヘルパーウイルスとの相同組換えにより、RCA の出現が考えられるが、rAd-IFN 製造工程において RCA のレベルが厳密に管理されていること、非増殖性の Ad により治療を行った患者において治療後 RCA は認められなかったとの報告があること（文献 32）、またウイルスに感染された細胞は免疫系により制御されることから、RCA の出現が環境及びヒトの健康に及ぼす影響はないと考える。

本試験においては、尿中に排出された rAd-IFN の感染性及び水平伝播については検討されていないが、rAd-IFN が感染する動植物等の種類、感染経路、伝播様式等も含め、野生型 Ad5 と同等であると考えられ（生物多様性影響評価書 II-6 項参照）、尿中に排出された rAd-IFN の飛散等により、眼、鼻、口等の粘膜曝露により水平感染する可能性は否定できないものの、大部分の成人はすでに野生型 Ad 感染による抗体を有していることから、重篤な症状を示さずに不顕性感染するものと思われる（別紙 1）。したがって、尿中に rAd-IFN 特異 DNA が検出され、それが感染性のあるウイルス由来のものであっても、排出された rAd-IFN がヒトの健康に重大な影響を及ぼすリスクは低いものとする（別紙 6）。

- 文献 23 Veneziale RW, Kishnani NS, Nelson J, Resendez JC, Frank DW, Cai XY, et al. Toxicity and exposure of an adenovirus containing human interferon alpha-2b following intracystic administration in cynomolgus monkeys. *Gene Ther.* 2012;19(7):742-51.
- 文献 24 Schering-Plough Research Institute. A Phase 1 Study of the Safety and Tolerability of Intravesical Administration of SCH 721015 in Patients with Transitional Cell Carcinoma of the Bladder. 2011.
- 文献 25 Fong TT, Lipp EK. Enteric viruses of humans and animals in aquatic environments: Health risks, detection, and potential water quality assessment tools. *Microbiology and Molecular Biology Reviews.* 2005;69(2):357-71.
- 文献 26 Nwachuku N, Gerba CP. Emerging waterborne pathogens: can we kill them all? *Current Opinion in Biotechnology.* 2004;15:175-80.
- 文献 27 Sobsey MD, Meschke JS. Virus Survival in the Environment with Special Attention to Survival in Sewage Droplets and Other Environmental Media of Fecal or Respiratory Origin. World Health Organization; Geneva, Switzerland: 2003.
- 文献 28 Page MA, Shisler JL, Marinas BJ. Mechanistic aspects of adenovirus serotype 2 inactivation with free chlorine. *Appl Environ Microbiol.* 2010;76:2946-2954.
- 文献 29 Yang X, Agarwala S, Ravindran X, Vellekamp G. Determination of particle heterogeneity and stability of recombinant adenovirus by analytical ultracentrifugation in CsCl gradients. *J Pharmaceutical Sciences.* Feb 2008; 97 (2): 746-763.

- 文献 30 Ihnat PM, Vellekamp G, Obenauer-Kutner LJ, Duan J, Han MA, Witchey-Lakshmanan LC, Grace MJ. Comparative thermal stabilities of recombinant adenoviruses and hexon protein. *Biochimica Biophysica Acta*. 2005.1726: 138-151.
- 文献 31 Parks RJ. Adenovirus Protein IX: A new look at an old protein. *Molecular Therapy*. Jan 2005, 11 (1):19-25.
- 文献 32 Schenk-Braat EAM, van Mierlo MMKB, Wagemaker G, Bangma CH, and Kaptein LCM. An inventory of shedding data from clinical gene therapy trials. *J. Gene Medicine*. 2007; 9: 910-921.

6. 国外における使用等により得られた情報

(1) 米国 rAd-IFN/Syn3 第 I 相臨床試験（プロトコール番号 P03816）（文献 24）

米国 rAd-IFN/Syn3 第 I 相臨床試験においては、2 回以上の BCG 膀胱注入療法実施後に再発した筋層非浸潤性膀胱癌（以下、「NMIBC」という。）患者 17 例に $2.25 \times 10^{11} \sim 2.25 \times 10^{13}$ vp の rAd-IFN を単回膀胱内投与し（うち 5 例は投与後 3 ヶ月以降に再投与を受けたことから、のべ投与例数は 22 例）、投与開始後 1（投与終了時）、2、6、24、48 及び 72 時間の全血並びに Day 1（投与日）～7 の連日及び Day 14 の尿を採取し、定量的 PCR（定量範囲：検体が全血の場合には $1 \times 10^4 \sim 1 \times 10^9$ コピー/mL、尿の場合には $5 \times 10^4 \sim 1 \times 10^9$ コピー/mL）により rAd-IFN 特異 DNA を測定した。

その結果、全血中には全例・全時点で rAd-IFN 特異 DNA が検出されなかったが、尿中においてはどの用量群も rAd-IFN 特異 DNA が検出され、最も濃度が高い 2.25×10^{13} vp 投与群では、rAd-IFN 特異的 DNA が投与日（Day1）から Day14 まで認められた。なお、これらの rAd-IFN 特異 DNA を認めたサンプルの感染性の有無については確認していない（別紙 6）

(2) 米国 rAd-IFN/Syn3 第 II 相臨床試験（プロトコール番号 rAd-IFN-CS-002）（文献 22）

米国 rAd-IFN/Syn3 第 II 相臨床試験においては、高グレードの BCG 抵抗性 NMIBC または再発性 NMIBC 患者 40 例に 7.5×10^{12} 又は 2.25×10^{13} vp の rAd-IFN を 3 ヶ月おきに最大 4 回膀胱内投与し、初回及び 2 回目投与時の投与開始後 1（投与終了時）、2、24、72 時間及び Day 12 の全血並びに Day 1（投与前）、2、4 及び 12 の尿を採取し、定量的 PCR（定量範囲は 1 と同じ）により rAd-IFN 特異 DNA を測定した。

その結果、全血中には 2.25×10^{13} vp 投与群の 1/19 例において 2 回目投与後 1 時間に rAd-IFN 特異 DNA が検出された以外には、全例・全時点で rAd-IFN が検出されなかった。一方、尿中においては、 7.5×10^{12} vp 投与群及び 2.25×10^{13} vp 投与群とも、rAd-IFN 特異的 DNA が Day2 から Day12 まで認められた。多くの患者において Day2 の rAd-IFN 特異的 DNA コピー数が最も高く、Day4 のコピー数はピーク時の 13%（中央値）、Day12 はピーク時の 1%（中央値）のコピー数であった。一方、Day4 あるいは Day12 において最も高いコピー数を認めた被験者が 7.5×10^{12} vp 投与群で 2/14 例、 2.25×10^{13} vp 投与群に 4/19 例に認められ、また、3 か月後の 2 回目投与直前において、 7.5×10^{12} vp 投与群に 1/14 名、 2.25×10^{13} vp 投与群 2/19 例に rAd-IFN 特異 DNA が確認された（別紙 6）。

(3) 米国 rAd-IFN/Syn3 第 III 相臨床試験（プロトコール番号 rAd-IFN-CS-003）（文献 33）

現在実施中の当該臨床試験においては、BCG 不応性の NMIBC 患者に 2.25×10^{13} vp の rAd-IFN が投与されているが、全血、尿等の rAd-IFN 特異 DNA は測定されていない。（別紙 6）

なお、患者に対しては、投与後 7 日間は必ず排尿前に約 120 mL の次亜塩素酸ナトリウム水溶液（濃度約 5%）を便器に注いでおき、排尿後はそのまま 15 分放置してから水を流すよう指導されている。

文献 33 FKD Therapies. Clinical Study Protocol—A Phase III, Open Label Study to Evaluate the Safety and Efficacy of INSTILADRIN (rAd-IFN/Syn3) Administered Intravesically to Patients with High Grade, BCG Unresponsive Non-muscle Invasive Bladder Cancer (NMIBC). 2016.

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

rAd-IFN の感染宿主は野生型 Ad5 と同一と考えられることから、野生型 Ad5 と同様に、rAd-IFN により影響を受ける可能性のある微生物はないと考える。なお、rAd-IFN 単独で増殖は起こらない。

また、野生型 Ad と共感染した場合に、野生型 Ad が rAd-IFN の hIFNA2b 発現カセットを取り込むことにより複製可能な rAd-IFN に変異する可能性が考えられるが、上述したように rAd-IFN の感染宿主は野生型 Ad5 と同一と考えられることから、複製可能な rAd-IFN により影響を受ける可能性のある微生物はないと考える。

(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

他の微生物を減少させる性質について、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従えば、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

rAd-IFN の感染宿主は野生型 Ad5 と同一であると考えられることから、野生型 Ad5 と同様に、rAd-IFN が自然界で感染する主な対象はヒトであると考えられる（[文献 1](#)～[文献 5](#)）。

(2) 影響の具体的内容の評価

rAd-IFN が感染したヒトで hIFN タンパクが一時的に発現するが、これによるヒトへの病原性は知られていない。また、rAd-IFN に由来する RCA の病原性は野生型 Ad5 と同等と考える。

(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従えば、rAd-IFN の環境中への拡散は極めて微量である。また、rAd-IFN は増殖能を失っており、野生型 Ad との共感染がないかぎり環境中で増殖することはない。細胞内において野生型 Ad との共感染により RCA が発生する可能性はあるが、当該 RCA のゲノム DNA は hIFNA2b 発現カセットが E1 領域に置換され、E3 領域の一部が依然欠損した場合が多いと考えられる（[文献 34](#)）。また、ヒトに Ad を投与した試験にお

いて RCA は認められなかったとの報告があることから（文献 32）、RCA が発生する頻度は低いと考える。

したがって、rAd-IFN が効率よく感染する対象はヒトに限られることも踏まえると（文献 1～文献 5）、わずかに環境中に拡散したとしても rAd-IFN はやがて環境中から消滅すると考えられ、また共感染により影響を及ぼすような RCA が発生する頻度は低いと考えられることから、rAd-IFN が水平伝達により及ぼす影響の生じやすさは小さいと考える。なお、rAd-IFN の核酸を水平伝達する可能性は野生型 Ad5 と同等と考える。

(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断

病原性について、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従えば、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 34 Zhu J, Grace M, Casale J, Change A T-I, Musco ML, Bordens R, Greenberg R, Schaefer E, and Indelicato SR. Characterization of replication-competent adenovirus isolates from large-scale production of a recombinant adenovirus vector. Human Gene Therapy. Jan 1999; 10: 113-121.

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

rAd-IFN の有害物質の産生性は知られておらず、影響を受ける可能性のある野生動植物等はないと考える。

(2) 影響の具体的内容の評価

rAd-IFN のヒト細胞への感染により産生されるインターフェロンアルファ-2b は生理活性物質であり、炎症起因性がある。また、インターフェロンアルファ-2b はイントロン A 注射用として発売されており、C 型慢性肝炎におけるウイルス血症の治療に用いられている。

(3) 影響の生じやすさの評価

本品膀胱内投与による臨床試験で認められた有害事象は、排尿困難及び尿意切迫、疲労、頻尿であった。また、インターフェロンアルファ-2b を有効成分とするイントロン A 注射用は、C 型慢性肝炎におけるウイルス血症等の治療薬として長年の使用経験があり、重大な安全性の問題が生じていないことから、本品の安全性には問題がないと考える。

(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断

有害物質の産生性について、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従えば、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

rAd-IFN の感染宿主は野生型 Ad5 と同一と考えられることから、野生型 Ad5 と同様に、rAd-IFN が rAd-IFN が自然界で感染する主な対象はヒトであると考え（文献 1～文献 5）。

(2) 影響の具体的内容の評価

rAd-IFN の核酸を水平伝達する性質は野生型 Ad5 と同等と考える。rAd-IFN が第三者に水平感染する可能性は否定できないが、非増殖性であり、二次感染が起きる可能性は低いと考えられる。また、Ad では動物細胞ゲノムへの選択的な組込みが起らず、遺伝子組換え Ad の供与核酸が動物細胞ゲノムへと水平伝達される可能性も極めて低いと考えられる。細胞内において野生型 Ad との共感染により RCA が発生する可能性はあるが、当該 RCA のゲノム DNA は hIFNA2b 発現カセットが E1 領域に置換され、E3 領域の一部が依然欠損した場合が多いと考えられる（文献 34）。また、ヒトに Ad を投与した試験において RCA は認められなかったとの報告があることから（文献 32）、RCA が発生する頻度は低いと考える。

(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従えば、rAd-IFN の環境中への拡散は極めて微量である。また、rAd-IFN は増殖能を失っており、野生型 Ad との共感染がないかぎり環境中で増殖することはない。

したがって、rAd-IFN が効率よく感染する対象はヒトに限られることも踏まえると（文献 1～文献 5）、わずかに環境中に拡散したとしても rAd-IFN はやがて環境中から消滅すると考えられ、また共感染により影響を及ぼすような RCA が発生する頻度は低いと考えられることから、rAd-IFN が水平伝達により及ぼす影響の生じやすさは小さいと考える。

(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断

核酸を水平伝達する性質について、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従えば、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

rAd-IFN は複製に必要な E1 領域を持たないことから増殖能を有さず、E1 遺伝子を持続的に発現している細胞（例えば █████ 細胞）や Ad と共感染した細胞でなければ rAd-IFN の増殖は起こらない。また共感染した場合でも、RCA は増殖可能ではあるものの rIFNA2b カセットを含まず、他方の Ad は E1 領域を含まないことから増殖が不可能である。さらに、rAd-IFN の感染する動植物等の種類、感染経路、伝搬様式等は野生型 Ad5 と同等であると考えられ、rAd-IFN が生物多様性に影響を与える可能性は小さいと考えられる。

一方、rAd-IFN が感染することにより hIFNA2b タンパクが一時的に発現するが、これまで実施された非臨床安全性試験及び米国での臨床試験の結果から、rAd-IFN による hIFNA2b タンパクの発現がヒトに強い病原性を引き起こす可能性は小さいと考えられる。

これらのことから、rAd-IFN がヒト及び他の動植物並びに微生物に新たな影響を与えることはないと考えられるが、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り、rAd-IFN の環境中への不必要な拡散を抑える計画である。

以上より、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従って rAd-IFN を使用すれば生物多様性影響が生ずるおそれはないと判断した。

