様式第1（第7条関係）

第一種使用規程承認申請書

令和5年5月31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、改変型ヒト CD59 を発現する遺伝子組換えアデノ随伴ウイルス 2 型 (AAVCAGsCD59)
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	<p>本遺伝子組換え生物等の原液の保管</p> <p>(1) AAVCAGsCD59（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。</p> <p>本遺伝子組換え生物等の調製及び保管</p> <p>(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。</p> <p>(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。</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、治療施設の他の区画と明確に区別された治療室内で、患者の硝子体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。</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</p>

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) 患者が自宅で用いた涙液を拭った資材等は、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

	<p>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

rep 及び *cap* 遺伝子を欠失し、改変型ヒト CD59 を発現する遺伝子組換えアデノ随伴ウイルス 2 型 (AAVCAGsCD59、以下「本遺伝子組換え生物等」という。) の宿主は、パルボウイルス科 (*Parvoviridae*) パルボウイルス亜科 (*Parvovirineae*) デペンドパルボウイルス属 (*Dependoparvovirus*) に属するヒトアデノ随伴ウイルス (*adeno-associated virus*) (以下、AAV) と呼ばれるウイルスの一つである (文献 1、2)。

AAV の主な血清型 (AAV2、AAV5 等) では、小児期の感染により、成人の約半数が中和抗体を有するとされるが、ヒトへの病原性を有する AAV の報告はない。

AAV 自体は、自己複製機能を欠損しているため、複製には AAV の感染細胞に共感染したアデノウイルス等のヘルパーウイルスの複製機能を利用する必要がある。

本遺伝子組換え生物等のゲノムの一部及びキャプシドタンパク質は、AAV2 に由来する。

AAV は通常ヒトを自然宿主とするが、サル等の霊長類から単離される場合もあり、哺乳動物へ感染することも知られている。

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)

AAV は、病原性がないこと、感染が長期化すること、組織指向性が柔軟であること等の特性が知られており、遺伝子治療用製品のベクターウイルスとして開発が盛んに行われている。海外において、AAV2 に由来する遺伝子組換えウイルスベクターを用いた遺伝性網膜ジストロフィーに対する Luxturna (*voretigene neparvovec-rzyl*) (文献 3) が販売されており、国内では、AAV9 を用いた脊髄性筋萎縮症に対するゾルゲンスマ (オナセムノゲン アベパルボベク) (文献 4) が販売されている。

3. 生理学的及び生態学的特性

(1) 基本的特性

野生型 AAV は直径 23~28nm 程度の正二十面体構造のエンベロープを有さないウイルス粒子で構成されており、必須の脂質、糖質、アクセサリタンパク質、ヒストンなどは持たない。

AAV ゲノム DNA は 4~6kb の直鎖の DNA 分子であり、ゲノム DNA がプラス鎖かマイナス鎖かに関わらず感染性を有する。AAV ゲノム DNA は、両端には逆位末端反復配列 (以下「ITR」という。) が存在し、その間に *rep* 遺伝子及び *cap* 遺伝子が挟まれた構造となっている。

rep 遺伝子は、DNA の複製に必要な 4 つの非構造タンパク質である Rep タンパク質 (Rep40、Rep52、Rep68 及び Rep78) をコードする。*cap* 遺伝子は、構造タンパク質である 3 つのタンパク質 (VP1、VP2 及び VP3) をコードする。ITR は、DNA の複製開始、ウイルス

粒子へのウイルスゲノムのパッケージング、宿主細胞ゲノムへのウイルスゲノムの組み込み及びその後のウイルスゲノムの切出しに必要な配列を含む。

AAVは、キャプシドタンパク質のアミノ酸配列の違いによって100以上の型に分類され、型によって感染組織指向性は異なる。AAVの受容体は（以下「AAVR」という。）多くの型で共通していることが知られているが（文献5）、型ごとに異なる副受容体（以下「副受容体」という。）が感染に必要なことも知られており、副受容体の違いによって指向性が異なると考えられている（文献6）。

自然界においてヒト以外で増殖を伴う感染が起こるかどうかは明らかでない。ヒトよりAAV2、AAV3、AAV5、AAV6が、非ヒト霊長類よりAAV1、AAV4、AAV7、AAV8、AAV9、AAV10、AAV11が同定されている。ほとんどのAAVのキャプシドタンパク質はどれも構造的に類似しており、2型キャプシドのアミノ酸配列に対して80～88%の相同性、DNA配列で78～82%の相同性を有する。

AAVは血清型や系統に応じて、特異性の高い臓器が異なることが知られており、本遺伝子組換え生物等の宿主であるAAV2は神経に特異性が高いことが報告されている（文献7）。

(2) 生育又は生育可能な環境の条件

AAVが細胞に単独感染した場合は、自律的な増殖ができず、二本鎖環状DNA（以下「エピソーム」という。）として又は染色体へ組み込まれた状態で潜伏感染する。一方で、アデノウイルスやヘルペスウイルス等のヘルパーウイルス（以下「ヘルパーウイルス」という。）が共存する場合は、これらの*E1A*、*E1B*、*E2A*、*E4*及び*VA*遺伝子機能を利用して、AAVゲノムの複製とウイルス粒子の構成が起こる。培養細胞でも同様にヘルパーウイルスの感染が成立する場合にのみ増殖が起こる。

細胞外に放出されたAAVは常温において感染性が維持される。

(3) 捕食性又は寄生性

AAVが他の生物を捕食することはない。

(4) 繁殖又は増殖の様式

野生型AAVのヒトへの感染経路としては、経気道感染、糞口感染、接触感染などが知られている。感染する際には、AAV受容体及び副受容体を介したエンドサイトーシスによりウイルス粒子が取り込まれ、細胞内侵入後は、核膜孔複合体を通過して核内に移行すると考えられている。

AAVとアデノウイルス等のヘルパーウイルスが同時に感染している場合、AAVは感染細胞及び感染個体で増幅し、ヘルパーウイルスと共に分泌物と一緒に排泄され、次の生物に感染する。

ヘルパーウイルスが共存しない場合は、AAVのゲノムは感染細胞において複製することなく、エピソームとして核内に潜伏するが、まれに、Repタンパクの関与により、第19染色体長腕のAAVS1領域への組み込まれることがある（文献8、9）。

一般的な遺伝子組換え AAV（以下「組換え AAV」という。）では、*rep* 遺伝子を欠失しているため、染色体への部位特異的組み込みは起こらない。組換え AAV の細胞染色体へのランダムな組み込みは低頻度で起こりうるが、その場合でも活発に転写されている遺伝子領域に挿入されやすいとの報告がある（文献 10）。

(5) 病原性

野生型 AAV の感染は不顕性に終わると考えられており、これまで野生型 AAV の感染に伴う病原性は知られていない。

なお、野生型 AAV2 の染色体への組み込みと肝がん発症との関連を示唆する報告があるが、これまでに AAV を用いて実施された臨床試験において AAV 感染が原因の肝がんの発症は確認されていない（文献 11）。

(6) 有害物質の産生性

野生型 AAV の感染に際して細胞内で産生されるタンパク質が病原性又は毒性を示すという報告はない。

(7) その他の情報（不活化条件等を含む。）

AAV は、一般的なパルボウイルスと同様に、エンベロープを持たないウイルスであるため、物理化学的に比較的安定であり、乾燥に抵抗性があり、常温において感染性が維持される。

AAV の不活化には、加熱（85℃、数分間）、次亜塩素酸ナトリウム（1,000ppm）、水酸化ナトリウム、紫外線（UV）照射等による処理が必要とされている（文献 1）。また、オートクレーブ処理（121℃、20 分間）により完全に不活化される。

参考文献

1. Chapter6, Parvoviridae. Fields VIROLOGY 7th ed. Lippincott Williams & Wilkins. Philadelphia (2022) 2. 173.
2. International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV) (2020)
3. Spark Therapeutics, Inc. Luxturna package insert. Revised: 5/2022.
4. ノバルティス ファーマ株式会社. ゾルゲンスマ点滴静注 再生医療等製品 インタビューフォーム. 2023 年 2 月改訂（第 8 版）.
5. Pillay S, Meyer NL, Puschnik AS, et al. An essential receptor for adeno-associated virus infection. Nature (2016) 530. 108-112.
6. Srivastava A. In vivo tissue-tropism of adeno-associated viral vectors. Curr Opin Virol (2016) 21. 75-80.

7. 伴野太郎, 岡田浩典, 岡田尚巳. 遺伝子導入用ウイルスベクターの特徴と作製法. *Pharma Medica* (2015) 33(4). 15-22.
8. Schnepf BC, Clark KR, Klemanski DL, et al. Genetic fate of recombinant adeno-associated virus vector genomes in muscle. *J Virol* (2003) 77(6). 3495-3504.
9. 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). 426-439.
10. Nakai H, Montini E, Fuess S, et al. AAV serotype 2 vectors preferentially integrate into active genes in mice. *Nat Genet* (2003) 34(3). 297-302.
11. Srivastava A, Carther BJ. AAV Infection: Protection from Cancer. *Hum Gene Ther* (2017) 28(4). 323-327.

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

AAVCAGsCD59（以下「本遺伝子組換え生物等」という。）は、アデノ随伴ウイルス 2 型（AAV2）のカプシドを有し、AAV2 由来の逆位末端反復配列（ITR）に挟まれた ████████ 型ヒト CD59 の cDNA（*sCD59*）を含む一本鎖 DNA ゲノムを持つ非増殖性遺伝子組換えアデノ随伴ウイルス（rAAV）である。

本遺伝子組換え生物等の供与核酸は、5'末端側 ITR（Left AAV ITR）、████████████████████、████████████████████、*sCD59*、████████████████████ ポリアデニル化シグナル（██████pA）、3'末端側 ITR（Right AAV ITR）から構成される。

本遺伝子組換え生物等の供与核酸の構成要素及び構成要素の由来する生物の詳細を表 1 に示す。また、構成要素の詳細については別紙 2 に示す。

(2) 構成要素の機能

本遺伝子組換え生物等の供与核酸の構成要素、由来する生物及び機能を下記表 1 に示す。

また、構成要素の詳細については別紙 2 に示す。

本遺伝子組換え生物等の供与核酸の相同性検索を行った結果、有害な DNA 配列が含まれていないことを確認している。相同性検索結果については別紙 2 に示す。

表 1 供与核酸の構成要素、由来する生物及び機能

構成要素	由来する生物	機能
Left AAV ITR	AAV2 ゲノム	AAV2 ████████ 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。
████████████████████	████████	████████████████████
████████████████████	████████	████████████████████
████████████████████	████████	████████████████████
████████████████████	████████	████████████████████
████████████████████	████████	████████████████████
████████████████████	████████	████████████████████
████████████████████	████████	████████████████████

本遺伝子組換え生物等は██████████製造施設において製造される。

本遺伝子組換え生物等は、██████████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 HEK293F 細胞へ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。██████████品質試験項目には増殖性 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1相試験（██████████）における本遺伝子組換え生物等の生体内分布の評価として、██████████の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。本分析方法の定量下限（LLOQ : lower limit of quantification）は ██████████であった。██████████
██████████の本遺伝子組換え生物等由来の DNA 配列の分析方法バリデーション報告書を参考情報として別途提出する。

その後、分析方法を変更した（アッセイの種類及び感度が改善され、バリデートされた）ため、海外第2b相試験（██████████）以降は変更後の分析方法を用いる計画である。分析方法及びそのバリデーションについての報告書は作成中である。

海外第2b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、██████████
██████████の本遺伝子組換え生物等由来の DNA 配列を qPCR 法を用いて定量する予定である。

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 AAV2 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らない。

宿主である AAV2 はヘルパーウイルス非存在下で細胞に感染すると、rep を介して染色体上の AAVS1 領域に特異的に組み込まれる可能性があるが（文献 1）、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、エピソームとして染色体外 DNA にて維持される（文献 2）。

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 sCD59 タンパク質を発現する。

一方、本遺伝子組換え生物等は AAV2 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 AAV2 と同様である。

参考文献

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.
2. 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

本遺伝子組み換え生物等の原液の保管

- AAVCAGsCD59（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、患者の硝子体内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。
- 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。

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

<非臨床試験>

生体内分布試験

マウス及びカニクイザルに本遺伝子組換え生物等を単回硝子体内投与したときの生体内分布の評価を毒性試験の一部として実施した。

マウスを用いた6カ月間単回投与試験では、雌雄マウスの片眼に本遺伝子組換え生物等を 1.42×10^8 及び 3.56×10^9 vg/眼の用量で単回硝子体内投与し、投与後6カ月までの生体内分布を評価した。本遺伝子組換え生物等由来のDNAは主に右眼（投与眼）で検出された。右眼よりも検出量は少なかったが、左右視神経及び脳でも本遺伝子組換え生物等由来のDNAが検出され、投与後1カ月から6カ月にかけて減少した。肝臓、心臓、肺、下顎リンパ節及び血液では本遺伝子組換え生物等由来のDNAが検出されたが定量下限未満又は低値であり、腎臓、胸腺及び生殖器では検出されなかった。

カニクイザルを用いた6カ月間単回投与試験では、雄サルの両眼に本遺伝子組換え生物等を 7.1×10^9 及び 1.78×10^{11} vg/眼の用量で単回硝子体内投与し、投与後6カ月までの生体内分布を評価した。本遺伝子組換え生物等を投与した動物の硝子体液及び網膜に本遺伝子組換え生物等由来のDNAが認められた。下顎リンパ節、腸間膜リンパ節、視交叉（ 1.78×10^{11} vg/眼のみ）、視索、視神経（ 1.78×10^{11} vg/眼のみ）、脾臓及び眼房水において本遺伝子組換え生物等由来のDNAが検出された。外側膝状核、肺、及び肝臓でも本遺伝子組換え生物等由来のDNAが検出されたが、定量下限未満であった。血液では、Day 1からWeek 26まで本遺伝子組換え生物等由来のDNAがわずかに検出された。一方、精巣、視床、小脳、後頭皮質、心臓、腎臓及び胸腺では本遺伝子組換え生物等由来のDNAは検出されなかった。

生体内分布試験の詳細を別紙4に示す。

排出試験

非臨床試験において排出試験は実施していないが、生体内分布試験の一部として本遺伝子組換え生物等の血中移行を検討した。マウスの片眼に本遺伝子組換え生物等を最大 3.56×10^9 vg/眼の用量で単回硝子体内投与したとき、投与後6カ月まで血中の本遺伝子組換え生物等由来のDNAは定量下限未満であった。カニクイザルの両眼に本遺伝子組換え生物等を最大 1.78×10^{11} vg/眼の用量で単回硝子体内投与したとき、投与後5週まで血中で本遺伝子組換え生物等由来のDNAがわずかに認められたが、投与後3カ月以降は定量下限未満であった。本邦で承認済みのAAV9を用いた再生医療等製品ゾルゲンスマをヒトに単回静脈内投与したとき、糞便、尿及び唾液中の本品ゲノムDNA濃度は投与後30日までに定量下限値付近、及び投与後60日までに検出限界値付近まで減少した（文献1）。以上を踏まえると、本遺伝子組換え生物等が投与後長期間に渡って血中に認められないことから、本遺伝子組換え生物等は高濃度で体外に排出されるリスクは低いと推察される。

現在実施中の ████████ 試験では、被験者の ████████ を用いて本遺伝子組換え生物等の排出を確認する。

毒性試験

本遺伝子組換え生物等を単回硝子体内投与したときの毒性をマウス及びサルで評価した。マウスを用いた 6 カ月間単回投与試験では、マウスの右眼に本遺伝子組換え生物等 (1.42×10^8 及び 3.56×10^9 vg/眼) を単回硝子体内投与して毒性を評価した。その結果、 3.56×10^9 vg/眼まで忍容性は良好であった。本遺伝子組換え生物等に関連した所見として、投与 1 カ月後の病理組織学的検査で、投与眼及び下顎リンパ節に軽微～軽度の用量依存的な炎症反応が認められたが、投与 3 及び 6 カ月後にはこれらの所見は認められなかった。

カニクイザルを用いた 6 カ月間単回毒性試験では、サルの両眼に本遺伝子組換え生物等 (7.1×10^9 及び 1.78×10^{11} vg/眼) を単回硝子体内投与して毒性を評価した。その結果、 1.78×10^{11} vg/眼まで忍容性は良好であった。

毒性試験の詳細を別紙 4 に示す。

< 臨床研究 >

本遺伝子組換え生物等と同一の遺伝子を搭載した組換え AAV を用いた臨床研究は実施されていない。

< 臨床試験 (治験) >

ヒト ████████ CD59 (sCD59) を発現する本遺伝子組換え生物等を用いた遺伝子治療臨床試験は 2 試験が実施済み、1 試験が実施中である。

実施済み ; Phase 1 試験

██████ ████████ ████████ ████████ 試験では、各試験それぞれ患者 ████████ ████████ に対して本遺伝子組換え生物等が投与された。

実施中 ; Phase 2 試験

██████ 試験は、加齢黄斑変性症に伴う地図状萎縮の治療を目的とした、無作為化、二重盲検、多施設共同、用量設定、シヤム対照、第 2b 相臨床試験である。本試験では 300 例の組み入れを目標とし、本遺伝子組換え生物等を投与し、██████ に関する評価を実施する。

6. 国外における使用等により得られた情報

██████ 試験 : GA を伴う萎縮型 AMD の患者 ████████ ████████ に対して本遺伝子組換え生物等 (████████ ████████ ████████ ████████ ████████) を硝子体内投与した海外臨床試験である。

1. 安全性及び忍容性

GA を伴う萎縮型 AMD の治療において、本遺伝子組み換え生物等の硝子体内投与 (全 3 用量) は安全であり、忍容性は良好であった。

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

野生型 AAV は、競合、有害物質の産生等により他の微生物を減少させることは知られていない。本遺伝子組換え生物等は、*rep* 及び *cap* 遺伝子の欠失並びに供与核酸の導入の他は野生型 AAV と本質的に同一であり、これらの改変による感染宿主域の変化はない。よって、本遺伝子組換え生物等及び rcAAV により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

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された遺伝子組換え生物等の第一種使用等の方法によるかぎり、他の微生物を減少させる性質に基づいて、生物多様性の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

野生型 AAV はヒトを自然宿主とし、自然界では、ヒト、サル等の哺乳動物が影響を受ける可能性がある。本遺伝子組換え生物等は、*rep* 遺伝子及び *cap* 遺伝子の欠失並びに供与核酸の導入の他は野生型 AAV と本質的に同一であり、これらの改変による感染宿主域の変化はない。

(2) 影響の具体的内容の評価

本遺伝子組換え生物等は、*rep* 及び *cap* 遺伝子の欠失並びに供与核酸の導入の他は野生型 AAV と本質的に同一であり、供与核酸である CD59 の病原性は知られていないことから、AAV と同様に病原性を持つ可能性は低いと考えられる。

また、AAV 粒子がパッケージ可能なゲノムサイズを考慮すると、rcAAV は野生型 AAV と同一又は極めて近い構造になると考えられるため、rcAAV が病原性を持つことはないと考えられる。

ないと考えられる。

本遺伝子組換え生物等由来のDNAが網膜の神経節細胞等の核に導入されると、導入遺伝子は転写及び翻訳され、sCD59タンパク質が産生される。本遺伝子組換え生物等由来のsCD59タンパク質は、

を除きヒトにおいて発現している天然CD59タンパク質と同一であるため、このCD59タンパク質に対する免疫応答が生じる可能性は低いと考えられる。

CD59の主な機能は、膜侵襲複合体（MAC）の形成に不可欠な構成タンパク質であるC9の動員を妨げることにより、細胞表面でのMACの形成を阻害することである。ヒトCD59を全身性に発現させたトランスジェニックブタでは、CD59の発現に関連した肉眼的及び病理組織学的異常は認められなかった（文献4）。また、機能性C9を産生できないC9-R95X変異をホモ接合性に有する集団（日本人の約0.12%に存在）は、髄膜炎菌性髄膜炎のリスクが高いものの健康的な日常生活を過ごすことが可能である（文献5）。したがって、ヒトにおいてsCD59の過剰発現（MAC形成阻害）が有害となる可能性は低いと考えられる（文献6）。

マウスに本遺伝子組換え生物等を 1.36×10^9 vg/眼 [海外第 I 相試験における高用量の 2.5 倍（硝子体容積に基づく）] で硝子体内投与した非臨床試験において、主に投与眼でsCD59 mRNA が検出されたが、この発現に関連する有害所見は認められなかった。また、本遺伝子組換え生物等を硝子体内投与した海外第 I 相試験では、最大 1.071×10^{12} vg までの安全性及び良好な忍容性が確認されている（別紙 5 参照）。

なお、異種動物においては、アレルゲンとなる可能性を除いては、CD59 タンパク質の有害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かぎり、本遺伝子組換え生物等が環境中へ拡散する可能性は低く、拡散したとしても極めて微量である。また、本遺伝子組換え生物等は、ヘルパーウイルスと共感染しても増殖することではなく、野生型AAV及びヘルパーウイルスが三重感染した場合のみ増殖が起こりうるが、その可能性は極めて低い。さらに、rcAAVが発生した場合であっても、環境中で増殖するためには、ヘルパーウイルスとの共感染が必要であるため、その可能性は極めて低い。

製造工程で生じうるrcAAVは、rcAAVが環境中へ拡散する可能性は極めて低く、ヘルパーウイルスと共感染しないかぎり、環境中で増殖することはない。

よって、本遺伝子組換え生物等が発現するCD59タンパク質が第三者、野生動植物等に対して有害作用を示す可能性は極めて小さいと考えられる。

（4）生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断

当該第一種使用規程に従って使用等を行うかぎり、有害物質の産生性に起因した生物

と判断される。

5. その他の性質

野生型AAVについては、トランスポゾンやプラスミド等の可動性遺伝因子 (mobile genetic elements) は知られておらず、当該第一種使用等によってそれらを介した遺伝子の伝搬が起こることはないと考えられる。

参考文献

1. Srivastava A, Carther BJ. AAV Infection: Protection from Cancer. *Hum Gene Ther* (2017) 28(4). 323-327.
2. Mingozzi F, High KA. Immune responses to AAV vectors: overcoming barriers to successful gene therapy. *Blood* (2013) 122(1). 23-36.
3. Muhuri M, Maeda Y, Ma H, et al. Overcoming innate immune barriers that impede AAV gene therapy vectors. *J Clin Invest* (2021) 131(1). e143780.
4. Deppenmeier S, Bock O, Mengel M, et al. Health status of transgenic pigs expressing the human complement regulatory protein CD59. *Xenotransplantation* (2006) 13(4). 345-356.
5. Nagata M, Hara T, Aoki T, et al. Inherited deficiency of ninth component of complement: An increased risk of meningococcal meningitis. *The Journal of Pediatrics* (1989) 114(2). 260-263.
6. Kira R, Ihara K, Takada H, et al. Nonsense mutation in exon 4 of human complement C9 gene is the major cause of Japanese complement C9 deficiency. *Hum Genet* (1998) 102(6). 605-610.

V 総合的評価

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、哺乳動物に感染する。自然界で植物及び微生物に感染するとの報告はない。

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かぎり、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。

本遺伝子組換え生物等は、*rep* 及び *cap* 遺伝子の欠失並びに供与核酸の導入の他は野生型 AAV と本質的に同一であり、本遺伝子組換え生物等による可溶性 CD59 遺伝子の発現はヒト及び他の哺乳動物に病原性、有害物質の産生性及び核酸を水平伝達する性質をもたないことから、生物多様性への影響はないと考えられる。

また、本遺伝子組換え生物等は増殖能を失っているため、野生型 AAV 及びヘルパーウイルスと三重感染しないかぎり、環境中で増殖することはなく、その可能性は極めて低い。

rcAAV は野生型 AAV と同一又は極めて近い構造になると考えられるため、本遺伝子組換え生物等由来の rcAAV が環境中に放出される可能性は極めて低く、rcAAV は野生型 AAV2 と同一又は極めて近い構造になると考えられるため、rcAAV が病原性、有害物質の産生性及び核酸を水平伝達する性質によりヒト及び他の哺乳動物等に影響を与えることはないと考えられる。

ヒト体内の同一の細胞に本遺伝子組換え生物等と野生型 AAV 及びそのヘルパーウイルスが感染する可能性は極めて低く、本遺伝子組換え生物等はやがて環境中から消滅すると考えられる。

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かぎり、本遺伝子組換え生物等による生物多様性影響が生ずるおそれはないと判断される。