

様式第1（第7条関係）

第一種使用規程承認申請書

主務大臣 殿

令和6年12月26日

氏名 中外製薬株式会社
代表取締役社長 奥田 修

申請者

住所 東京都北区浮間五丁目5番1号

第一種使用規定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 8 型 rh74 株に由来するカ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、delandistrogene moxeparvovec マイクロジストロフィン遺伝子を発現する遺伝子組換えアデノ随伴ウイルス (delandistrogene moxeparvovec)
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 (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。</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 (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。</p> <p>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。</p> <p>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、患者の末梢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 (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</p>

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規程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。

(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。

感染症廃棄物等の処理

(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っては、不活化処理を行い、十分に洗浄する。

(14)患者が自宅等で用いたドレッシング材等は、二重袋等に厳重に封じ込めた状態で廃棄する。

(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)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。

(17)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。

(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

アデノ随伴ウイルス (AAV) は、パルボウイルス科デペンドウイルス属に分類される (文献1、2)。AAV は、宿主細胞で複製するためにヘルパーウイルス (通常はアデノウイルスで、場合によってはヘルペスウイルス) を必要とする。当初アデノウイルス調製時の混入粒子として発見された AAV は、様々な指向性を有する多数の血清型が同定された。しかし、全ての血清型でゲノムの大きさや構成といった特性は共通している。AAV は、約4.8 キロベース (kb) の一本鎖DNA ゲノムを保護するタンパク質の殻で囲まれている。

複数ある血清型のうち、AAV2 が最も研究されている。AAV 2 型は、そのゲノム配列も含め、最初に同定及び解析された AAV 血清型の 1 つである。生物学的特徴に関する早期の研究から、これまでに作製された大部分の組換え rAAV は、AAV 2 型 ITR を用いて遺伝子治療に利用されている (文献3、4)。

本遺伝子組換え生物等は、4 つの AAV 2 型 *rep* タンパク質及び3 つの rh74 株由来カプシドタンパク質をコードしているヘルパープラスミドから製造される。rh74 血清型は、霊長類のみでみられており、広範囲な組織に分布する。AAV 8 型と、アミノ酸が93%合致する。また、クレードE ウイルスrh10 に最も類似しており、99%のアミノ酸が同一である (別紙 1)。系統群は、VP1 カプシドタンパク質配列解析により決定される。興味深いことに、AAV 8 型を含むクレードは、ヒト及び非ヒト霊長類で認められている

(アカゲサル、ヒヒ、ブタオサルを含む) (文献 5)。

AAV は、抗原性の違いに基づき多くの血清型に分けられている (文献1、5、6)。これらの血清型は、自然界に広く分布している。ヒトでは小児期に初感染が起こること、成人の約半数が中和抗体を有することが知られている (文献1)。

AAV rh74 は、アカゲサルから分離された。rh74 株は、他の AAV 型で行われた非臨床及び早期臨床試験と比較して、リスクを増加させずに骨格筋及び心筋における遺伝子導入が効率的に行われる。

親 rh74 ウイルスは非病原性であり、ヒトの病気の原因となったことはない。

文献1 : Knipe D.M., and Howley P.M., Fields VIROLOGY, 6th edition, Vol 2, pp. 1768-1791 (2013).

文献2 : Tijssen P. , Handbook of Parvoviruses, Volume I, pp. 11-30 (1990).

文献3 : Naso M.F., et al., Adeno-Associated Virus (AAV) as a Vector for Gene Therapy. Bio-Drugs, 31 (4), 317-334 (2017).

文献4 : Pillay S., et al., An essential receptor for adeno-associated virus infection. Nature, 530 (7588), 108-112 (2016)

文献5 : Gao, G., et al., Clades of adeno-associated viruses are widely disseminated in human tissues. J. Virol. 78 (12), 6381-6388 (2004).

文献 6 : Mori. S., et al., Two novel adeno-associated viruses from cynomolgus monkey: pseudo-typing characterization of capsid protein. Virology, 330 (2) 375-383 (2004).

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。）

いかなる血清型も生ワクチンに使用した報告はない。AAV は、非病原性であること、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。（文献 7、8）。

文献 7：Daya S., Berns K.I., Gene therapy using adeno-associated virus vectors. Clin Microbiol Rev., 21 (4), 583-593 (2008).
文献 8：Wang J.H., et al., Adeno-associated virus as a delivery vector for gene therapy of human diseases. Sig Transduct Target Ther., 9:78 (2024).

3 生理学的及び生態学的特性

（1）基本的特性

AAV2 型ゲノムは、4.7 kb の一本鎖 DNA である。ゲノムは、2 つのオープンリーディングフレームを有し、145 ヌクレオチド（nts）の ITR に隣接している。ITR は複製開始点であり、次の二本鎖合成時のプライマーとなる。複製工程では、ITR 内に位置する結合要素（RBE）

（RBE 及び RBE'）及び末端分離部位（TRS）が重要となる。AAV 複製における役割に加えて、ITR は AAV ゲノムのパッケージ、転写、部位特異的組込み等において必須となる（文献 9）。
rep 遺伝子は、DNA 複製のために 4 つの Rep タンパク質（Rep78、Rep68、Rep52 及び Rep 40）を産生する。*cap* 遺伝子は、カプシド（構造タンパク質）形成のために、カプシドタンパク質（VP1、VP2 及び VP3）を産生する。

rh74 の主な受容体は、宿主細胞への効率的な接着を担う、ヘパラン硫酸プロテオグリカン（HSPG）である。ヒト線維芽細胞増殖因子 1（FGFR1）及び肝細胞増殖因子受容体（c-MET）は、AAV2 共受容体と考えられると報告されている（別紙 1、文献 4）。

遺伝子組換えアデノ随伴ウイルス 2 型の構成及び機能を含む基本的な特性につき、別紙 1 に示す。

（2）生育又は生育可能な環境の条件

ヒトに感染するが、増殖にはアデノウイルス又はヘルペスウイルス等（いわゆる「ヘルパーウイルス」）の存在が必要である。AAV は増殖のためには生きている細胞が必要で、細胞外ではいかなる環境でも増殖できないが、ウイルス粒子自体は常温において安定である。

（3）捕食性又は寄生性

自然界では、ヒトやサルなどの哺乳類動物に感染する。ヘルパーウイルスが共感染した場合は増殖するが、ヘルパーウイルスが存在しない場合はエピソームとして潜伏する。まれに第 19 番染色体に組み込まれることがある（文献 9）。

（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、経気道感染、糞口感染、接触感染などが挙げられる。AAV の感染経路は、ウイルスの細胞表面への付着及び主要グリカン受容体との結合である。ヘルパーウイルス由来の E1a、E1b、E2A 及び E4orf6 タンパク質、並びに VA RNA 存在下において、*rep* 及び *cap* 遺伝子の転写産物が産生され、AAV ゲノムが複製され、AAV 粒子が構築される。

(5) 病原性

AAV の感染は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。

(6) 有害物質の産生性

AAV2 型のウイルス 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（不活化条件等を含む。）

AAV の不活化は、環境中への拡散を最小化するために重要な安全対策である。少なくとも 5 分間、0.25%過酢酸、ヨード又は10%クロロックスブリーチといった、試験施設で一般的に用いられている複数の薬剤を使用して処理を行うことにより、AAV は不活化される（文献10）。

高圧蒸気殺菌法による蒸気滅菌（121 °C、30 分間）、さらに乾燥サイクルを 30 分間行うことで、AAV は効率的に不活化される（文献 10）。

また、AAV ウイルスのカプシドタンパク質は 100°C未満で融解すること、DNA も高温下で分解し、190°Cでは消失することから、通常の焼却処理（800°C程度）により AAV は不活化される（文献 11-13）。

本遺伝子組換え生物等は淡水、水道水、下水、海水及びその他の物質（プラスチック、カニューレ、針など）といった細胞外の環境中では、1 箇月を超えて生存できない（文献14）。

文献 9 : Chen, C. L., et al., Molecular characterization of adeno-associated viruses infecting children. J. Virol., 79 (23), 14781- 14792 (2005).

文献 10 : Howard D. B. and Harvey B. K., Assaying the Stability and Inactivation of AAV Serotype 1 Vectors. Hum. Gene Ther. Methods, 28 (1), 39-48 (2017).

文献 11 : Rayaprolu V., et al., Comparative analysis of adeno-associated virus capsid stability and dynamics. J Virol., 87 (24), 13150-60 (2013).

文献 12 : Kostelic M. M., et al., Stability and Dissociation of Adeno-Associated Viral Capsids by Variable Temperature-Charge Detection-Mass Spectrometry. Anal Chem., 94 (34), 11723-11727 (2022).

文献 13 : Karni M., et al., Thermal Degradation of DNA. DNA Cell Biol., 32 (6), 298-301 (2013).

文献 14 : Tenenbaum L., et al., Evaluation of Risks Related to the Use of Adeno-Associated Virus-Based Vectors. Curr. Gene Ther., 3 (6), 545-565 (2003).

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

供与核酸の構成は、MHCK7 プロモーター／エンハンサー、キメラ SV40 イントロン領域、delandistrogene moxeparvovec マイクロジストロフィン遺伝子（以下、*hMicro-Dys* 遺伝子）、ポリ A 付加シグナル配列である。プラスミドは、最適化された delandistrogene moxeparvovec マイクロジストロフィン 遺伝子及びポリ A シグナルの人工配列を有するコドンと共に構築される。詳細は、別紙2 及び別紙3 に示す。

(2) 構成要素の機能

- MHCK7 プロモーター/エンハンサーは、骨格筋及び心筋にて、選択的に delandistrogene moxeparvovec マイクロジストロフィンを発現する。
- キメラ SV40 イントロン領域は、スプライシングの SA 及びSD 部位を有する。
- delandistrogene moxeparvovec マイクロジストロフィン 遺伝子は、機能的な delandistrogene moxeparvovec マイクロジストロフィン タンパク質をコードし発現させる。
- ポリ A シグナルは、効率的な delandistrogene moxeparvovec マイクロジストロフィン mRNA のポリアデニル化及び転写終結を行う。

delandistrogene moxeparvovec ベクターゲノム配列の相同性検索及び delandistrogene moxeparvovec プラスミドの ORF 解析の結果、がん遺伝子、有害物質又は毒素に関する肯定的な結果は得られなかった。相同性検索及び ORF 検索の結果を、別紙6 に示す。加えて、科学文献にてこれまでに同定されたがん遺伝子関連配列に基づいて、遺伝子が同定及びランク付けされる「OncoScore」(<http://www.galseq.com/oncoscore.html>) を用いて、バイオインフォマティクスマイニングを実施した。完全長ヒトDMD 遺伝子は4.25 とランク付けされ、がん遺伝子としては極めて低いリスクに分類される。

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

delandistrogene moxeparvovec マイクロジストロフィン[®]は、3 種類のプラスミドを接着性のヒト胎児腎臓由来細胞株（HEK293）に一過性トランスフェクションすることにより製造される。

- (i) MHCK7.udys.KAN.SGR 導入遺伝子プラスミドは、MHCK プロモーターの転写制御下の AAV2 ITR、delandistrogene moxeparvovec マイクロジストロフィン遺伝子を含む
- (ii) pNLRep2-Caprh74kan.SGR パッケージングプラスミドは、複製、増殖及びカプシドの形成に必要なウイルス固有の野生株 AAV2 *rep2* 遺伝子並びに AAV 血清型 rh74 に由来する野生型 AAV カプシドタンパク質をコードする AAVrh74 CAP 遺伝子を含む。
- (iii) pHELP-kanV4.SGR ヘルパープラスミドは、AAV の複製に重要な [REDACTED] を含む。

これら 3 種類のプラスミドは、kanamycin 耐性遺伝子を有している。各プラスミドの作製履歴の詳細は、別紙 3 に示す。

（１）宿主内に移入された核酸全体の構成

AAV2 の両端の ITR 以外の領域（*rep* 及び *cap* 遺伝子）を、供与核酸（MHCK7 プロモーター、キメラ SV40 イントロン、delandistrogene moxeparvovec マイクロジストロフィン 遺伝子及び合成 PolyA）で置換した。供与核酸の配列は、別紙 2 に示す。

（２）宿主内に移入された核酸の移入方法

宿主への核酸の移入は、3 種類のプラスミド（MHCK7.udys.KAN.SGR、pNLRep2-Caprh74kan.SGR、pHELP-kanV4.SGR）を HEK293 細胞にトランスフェクションすることにより行う。HEK293 細胞の履歴、調製及び特性解析は、別紙 3 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の安全性、有効性、純度及び力価の品質を確保するため、重要品質特性（CQA）を同定し、管理した。試験方法（別紙 3 中の表 4 及び表 5）は、高い精度及び真度を有しており、製剤の品質がロット間で同じであることが示されている。品質管理及び規格の要約につき、別紙 3 に示す。

製造所の所在地は、米国である。当該所在地の情報及び本遺伝子組換え生物等の製造工程は、別紙 3 に示す。

HEK293 細胞における delandistrogene moxeparvovec マイクロジストロフィンの作製過程で、delandistrogene moxeparvovec マイクロジストロフィンと pNLRep2-Caprh74 が組換えを起こし、増殖性 AAV（rcAAV）が生成する可能性は極めて低いが完全には否定できない。しかし、rcAAV が生じたとしてもヘルパーウイルスなしに増殖することはできない。又、rcAAV が環境に放出されるような事態においても、rcAAV 感染は野生型 AAV 感染と同様であると考えられる。なお、rcAAV の混入が無いことを確認するため、原薬の規格試験において管理される。

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

移入された核酸は、**delandistrogene moxeparvovec** マイクロジストロフィン 遺伝子の一本鎖 DNA ゲノムの一部として AAV の ITR 間に挟まれる。AAV は非常に安定であることが示されており、活性を失わないか、ほとんど失うことなく、幅広い温度及び pH 変化に耐えられる。AAV 粒子は、幅広い pH 及び温度範囲内の通常的环境条件下で、最長数週間にわたり宿主細胞外で安定状態にある。

AAV は、カプシドの高い安定性のため、室温で最低 1 ヶ月間感染性を保つ（文献 15、3）。細胞の感染後、**delandistrogene moxeparvovec** マイクロジストロフィンは、核へ移行し、二本鎖 DNA へと変換され、染色体とは独立して存在する（文献 16、17、18）。遺伝子発現の持続は、非分裂細胞において高いと考えられる。

初期臨床試験において、投与 24 週間経過後、エピソームが **delandistrogene moxeparvovec** マイクロジストロフィンをコードする遺伝子の安全性及び安定性（持続性）を示した。

文献 15 : Xu, R., et al., Stability of infectious recombinant adeno-associated viral vector in gene delivery. Med. Sci. Monit. 11(9), 305-308 (2005).

文献 16 : Yan, Z., et al., Inverted terminal repeat sequences are important for intermolecular recombination and circularization of adeno-associated virus genomes. J. Virol. 79(1), 364-379 (2005).

文献 17 : Schnepf, B. C., et al, Genetic fate of recombinant adeno-associated virus vector genomes in muscle. J. Virol. 77(6), 3495-3504 (2003).

文献 18 : Grimm, D., et al. Liver transduction with recombinant adeno-associated virus is primarily restricted by capsid serotype not vector genotype. J Virol. 80(1),426-439 (2006).

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

delandistrogene moxeparvovec マイクロジストロフィンは、ウイルスベクタープロモーターを特異的に PCR 増幅することで検出される。本測定で使用している ddPCR 法では、尿及び唾液試料中 1 mL にそれぞれ 500 及び 2500 コピー、糞便試料 DNA 1 µg 中に 200 コピーのゲノムがあれば検出することができる。本測定法のバリデーションレポートは、別紙 5 に示す。

6 宿主又は宿主の属する分類学上の種との相違点

挿入された遺伝子等（供与核酸） による相違

宿主の rh74 ウイルスゲノムは、複製及びカプシドタンパク質機能をそれぞれコードする 2 つのオープンリーディングフレーム（*rep* 及び *cap*）がある 4,680 ヌクレオチド（nt）で、両端に 145 nt の ITR を有する。一方、本遺伝子組換え生物は目的遺伝子（*delandistrogene moxeparvovec* マイクロジストロフィンをコードする遺伝子）を挿入するため、宿主から *rep* 及び *cap* 遺伝子が欠失している。

削除された遺伝子の影響

delandistrogene moxeparvovec マイクロジストロフィンゲノムは、*rep* 及び *cap* 遺伝子を欠損しているため、ウイルス構造タンパク質は発現しない。又、ヘルパーウイルスが存在しても複製することはない。

感染する動植物の種類、感染経路、伝播様式

delandistrogene moxeparvovec マイクロジストロフィンは、野生型 AAV と感染する動植物の種類等が同等であると考えられる。野生動物及び野生植物の多様性が AAV により影響を受けたという報告はない。

AAV が、他の微生物を減少させる性質を有するという報告はない。

供与核酸の一部を保持した rcAAV が生じる可能性は否定できないが、供与核酸が生物多様性に影響を与える因子となる可能性は低い（文献 16、17、18）。

delandistrogene moxeparvovec マイクロジストロフィンは、細胞に感染すると、その DNA は主に核内の染色体外に存在する。組換えエピソードの DNA が、宿主のゲノムに組み込まれる頻度は極めて低い（文献 3）。

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、治療施設の他の区画と明確に区別された治療室内で、患者の末梢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規程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。
- (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ついては、不活化処理を行い、十分に洗浄する。
- (14) 患者が自宅等で用いたドレッシング材等は、二重袋等に厳重に封じ込めた状態で廃棄する。
- (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) 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。
- (17) 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。

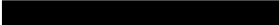
3 承認を受けようとする者による第一種使用等の開始後における情報収集の方法


臨床試験における本遺伝子組換え生物等の静脈内投与後の唾液、糞便及び尿中についてのウイルス排出試験は、実施済みである。詳細なデータは別紙 4 に示した。本遺伝子組換え生物等の静脈内投与後の排出等のデータは十分に得られたため、追加のウイルス排出試験の実施は予定されていない。

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

本遺伝子組換え生物等の非臨床安全性は、毒性及び生体内分布試験により特徴付けられた。本遺伝子組換え生物を雄mdx マウス又は雌雄 WT マウスへ投与した後、化学及び血液学に関連する変化、ベクターに関連する死亡や臨床症状は、観察されていない。本遺伝子組換え生物の生体内分布は、複数の組織で検討されており、当該データは別紙 4 に示す。delandistrogene moxeparvovec マイクロジストロフィンタンパク質の発現は、遺伝子投与後 Week 12 の時点で、骨格筋、心筋及び横隔膜組織にて、顕著に認められた（別紙 4 中の図 5）。


マウスに IV 投与後、本遺伝子組換え生物等は尿及び糞中に排泄され、両排泄物中の最高濃度は投与後 2 日（初回検体採取）に認められ、その後尿中では投与後約 10 日まで、糞中では投与後約 44 日まで測定可能であった。臨床試験における本遺伝子組換え生物等の静脈内投与後の唾液、糞便及び尿中についてのウイルス排出試験は、実施済みである。詳細なデータは、別紙 4 に示す。

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の臨床試験は、海外第 I/IIa 相試験（SRP-9001-101 試験）及び海外第 II 相試験（SRP-9001-102 試験）の 2 試験が完了しており、海外第 Ib 相試験（SRP-9001-103 試験）、海外第 II 相試験（SRP-9001-302 試験）、2 つの国際共同第 III 相試験（SRP-9001-301 試験及び SRP-9001-303 試験）及び長期フォローアップ試験（SRP-9001-305 試験）の 5 試験が進行中である。これまでに得られている安全性データの要約を、以下に示す。SRP-9001-103 試験で得られたウイルス排出試験の結果の詳細は別紙 4 を参照のこと。

SRP-9001-301 試験は、4 歳以上 8 歳未満の歩行可能な男性 DMD 患者を対象に実施中のランダム化二重盲検プラセボ対照クロスオーバー第 III 相国際共同（日本を含む）試験であり、2 パートで構成される。本試験のパート 1 では、131 例が本遺伝子組換え生物等（ 1.33×10^{14} vg/kg）又はプラセボのいずれかに 1:1 の比でランダムに割り付けられ、合計 125 例に治験製品（本遺伝子組換え生物等：63 例、プラセボ：62 例）が投与され、52 週間の追跡期間を完了した。本試験パート 1 の安全性の結果は、本遺伝子組換え生物投与等の忍容性が概ね良好であったことを示している。治験製品と関連のある有害事象の大部分は軽度又は中等度であり、最初の 90 日間以内に発現し、回復した。本遺伝子組換え生物等群の 75%を超える患者に副作用が認められ、最も高頻度に認められた事象は嘔吐、悪心、食欲減退及びグルタミン酸脱水素酵素増加であった。本遺伝子組換え生物等群の重篤な有害事象の発現割合はプラセボ群に比べて高かった（それぞれ 22.2%、8.1%）。本遺伝子組換え生物等群のみに重篤な副作用が発現した。重篤な有害事象として本遺伝子組換え生物群の 1 例に心筋炎が報告されたが、通常の臨床検査によりモニタリング可能であった。

SRP-9001-101 試験は、DMD 患者に delandistrogene moxeparvovec マイクロジストロフィン遺伝子を含む rAAV の遺伝子導入を行う第 I/IIa 相非盲検非ランダム化単回投与試験である。4 例の DMD 患者が本遺伝子組換え生物等の投与を受け、投与後 5 年間の追跡期間を完了した。本遺伝子組換え生物等の投与は概ね安全で忍容性が良好であることが示された。有害事象の重症度はすべて軽度又は中等度であった。重篤な有害事象、有害事象による試験中止及び死亡は認められなかった。急性肝障害の有害事象は十分にモニタリングされ、管理可能であった。免疫介在性筋炎に該当する有害事象も認められなかった。

SRP-9001-102 試験は、スクリーニング時に 4 歳以上 8 歳未満の DMD 患者を対象とした 3 パートからなるランダム化二重盲検プラセボ対照クロスオーバー第 II 相試験であり、41 例の DMD 患者が本遺伝子組換え生物等の投与を受けた。本試験は完了しており、本遺伝子組換え生物等の投与は概ね安全で忍容性が良好であることが示された。全試験期間を通じて、死亡又は有害事象による試験中止は認められなかった。パート 1 では、すべての患者に有害事象が 1 件以上発現し、大部分は軽度又は中等度であった。本遺伝子組換え生物等群では 3 例（15.0%）に重篤な有害事象が認められ、その内訳は横紋筋融解症及びトランスアミナーゼ上昇が各 1 例、肝損傷及び横紋筋融解症が 1 例であった。プラセボ群では 2 例（9.5%）に重篤な有害事象が認められ、その内訳は横紋筋融解症及び上腕骨骨折が各 1 例であった。上腕骨骨折を除くすべての重篤な有害事象は副作用と判断された。試験期間中のいずれの時点でも免疫介在性筋炎は認められなかった。パート 2 の安全性の結果は、パート 1 の安全性の結果と類似しており、パート 2 及び 3 の安全性の結果から新たな安全性の懸念は特定されなかった。

SRP-9001-103 試験は、実施中の非盲検単群単回投与第 Ib 相試験であり、複数のコホートで構成された。48 例の DMD 患者が本遺伝子組換え生物等の投与を受けた。48 例全例に 1 件以上の有害事象が発現した。主な有害事象（30%超）は、嘔吐、悪心、食欲減退及びグルタミン酸脱水素酵素増加であった。副作用は 42 例（87.5%）に 205 件発現し、大部分が軽度であった。試験期間中に死亡は報告されなかった。重篤な有害事象が 5 例に 6 件報告され（嘔吐及び免疫性筋炎が各 2 件、高トランスアミナーゼ血症及び心筋炎が各 1 件）、すべて副作用と判断された。重篤な有害事象はすべて回復した（心筋炎及び免疫性筋炎は後遺症を伴う回復）。

また、本遺伝子組換え生物等のベクター排出解析は、SRP-9001-103 試験においてデータを収集済みである。本遺伝子組換え生物等の投与後、唾液及び尿中のベクター量の平均最高濃度は、Day 1 から Day 2 の間に認められ、糞便中のベクター量の平均最高濃度は、Week 1 に認められた。唾液、糞便及び尿中のベクター排出量のピーク時から Week 4 までの減少率は、99.5%を超えた。すべてのマトリックスにおいて、Week 4 までにいずれかの被験者で BLOD (below limit of detection) が認められた。

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

本遺伝子組換え生物等の感染宿主域は野生型 AAV と同じであると考えられ、ヒト細胞を含む広範囲の動物種の細胞に感染するが、微生物には感染せず、影響を受ける可能性のある微生物は特定されていない。

(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

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よる限り、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

本遺伝子組換え生物等の感染宿主域は野生型 AAV と同等で、ほ乳動物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

delandistrogene moxeparvovec マイクロジストロフィンタンパク質を発現することにより、本遺伝子組換え生物等が病原性を獲得することはない。

霊長類宿主から分離されたアデノ随伴ウイルス（例：rh74）について、動物及び植物種で既知の病原性はない。

親 rh74 ウイルスは非病原性で、ヒトの病気との関連性は示されていない。同様に、遺伝子組換えウイルスベクター（本遺伝子組換え生物）にも、病原性はない。

本遺伝子組換え生物等が感染した動物で、一過性に delandistrogene moxeparvovec マイクロジストロフィン遺伝子が発現する可能性はある。動物体内の生理学的範囲の限界内で生産される少量の

ジストロフィン、何らかの副作用をもたらさない。本遺伝子組換え生物等に由来する rcAAV は、野生型又は本遺伝子組換え生物等と同様に病原性をもたないと考えられている。AAV に由来する遺伝子組換えウイルスは 1999 年以後、米国で使用されているが（文献 3、19）、環境への悪影響に関する報告はない。また、これまでの臨床試験から得られた安全性データを総合すると、本遺伝子組換え生物等の投与の忍容性は良好であり、DMD 患者において許容可能かつ一貫性のある安全性プロファイルが示された。

（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り、本遺伝子組換え生物等及び本遺伝子組換え生物等由来 rcAAV 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、ヘルパーウイルス無しでは増殖することはない。

（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よるかぎり、生物多様性の影響が生ずるおそれはないと判断される。

文献 19 : Kay, M. A., et al., Evidence for gene transfer and expression of factor IX in Haemophilia B patients treated with an AAV vector. Nat. Genet. 24(3), 257-261 (2000).

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宿主域は野生型 AAV と同等で、ほ乳動物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生産により、感染細胞内で delandistrogene moxeparvovec マイクロジストロフィンタンパク質が新たに産生されるが、delandistrogene moxeparvovec マイクロジストロフィンタンパク質の過剰生産による有害性は知られていない。他に新たな有害物質が産生されることはない。

(3) 影響の生じやすさの評価

第一種使用規程に基づいて使用する限り、影響を生じることはない。また、臨床試験等で有害作用は示されていない。

(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断

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、有害物質の産生性に基づいて、生物多様性の影響が生ずるおそれはないと判断される。

り、有害物質の産生性に基づいて、生物多様性の影響が生ずるおそれはないと判断される。

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宿主域は野生型 AAV と同等で、ほ乳動物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

患者に投与された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の 3 種のウイルスが同一の細胞に感染した場合（三重感染）に限り、水平感染が発生する可能性がある。また、rcAAV が発生した場合は、ヘルパーウイルスと共感染すると水平感染が発生する可能性がある。野生型 AAV ゲノムは、低い確率で感染細胞ゲノムに挿入されることが知られている。

(3) 影響の生じやすさの評価

患者に投与された本遺伝子組換え生物等が水平感染を生ずるためには、三重感染が必要であり、その可能性は極めて低い。また、rcAAV が発生した場合であっても、ヘルパーウイルスとの共感染が必要であるため、rcAAV の発生率も考慮すると、その可能性は極めて低い。野生型 AAV は低い確率で感染細胞ゲノムに挿入されることが知られているが、本遺伝子組換え生物等は *rep/cap* 遺伝子を失っているために増殖能力がなく、水平感染が発生したとしても、本遺伝子組換え生物等由来の核酸が感染細胞のゲノムに組み込まれ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

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よる限り、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

mdx マウス及び雌雄 WT マウスにおける本遺伝子組換え生物等の非臨床試験において、雌雄生殖器官（精巣及び卵巣）でごく僅かなベクターDNA が検出されたが、AAV の生殖細胞への組込みに関する公表文献（文献 20、21、22、23）及び AAV の臨床試験に関する公表文献（文献 24）に基づき、本遺伝子組換え生物等が生殖細胞に組込まれる可能性及び垂直感染する可能性は極めて低いと判断される。

文献 20 : Favaro, P., et. al., Host and Vector-Dependent Effects on the Risk of Germline Transmission of AAV Vectors. Mol. Ther, 17(6), 1022–1030 (2009).

- 文献 21 : Ferla, R., et. al., Non-clinical Safety and Efficacy of AAV2/8 Vector Administered Intravenously for Treatment of Mucopolysaccharidosis Type VI, *Mol. Ther. Methods Clin Dev*, 24(6):143-158. (2017).
- 文献 22 : Spronck, L., et. al., No evidence of germline transmission of vector DNA following intravenous administration of AAV5-hFIX to male mice. Poster presentation at the National Hemophilia Foundation's "71st Bleeding Disorders Conference", October 3 - October 5, 2019, Anaheim, California. (2019).
- 文献 23 : Rajasekaran, S., et. al., Infectivity of adeno-associated virus serotypes in mouse testis. *BMC Biotechnology*, 18(70), (2018).
- 文献 24 : Arruda, V., et. al., Lack of Germline Transmission of Vector Sequences Following Systemic Administration of Recombinant AAV-2 Vector in Males. *Mol Ther.*; 4(6): 586-92, (2001).

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AAV と同等で、ほ乳動物に感染する可能性がある。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、本遺伝子組換え生物等の量は極めて少ないと考えられる。

AAV の病原性に関する文献はないことから、ヒトに対する影響はないと考えられる。さらに、本遺伝子組換え生物等は増殖能を失っているので、野生型AAV 及びそのヘルパーウイルスであるアデノウイルス等との三重感染がない限り、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はやがて環境中から消滅すると考えられる。

極めて微量の本遺伝子組換え生物等由来の rcAAV の環境中への放出も完全には否定できないが、AAV 粒子へパッケージングできる DNA のサイズに上限があるため、rcAAV は野生型 AAV と同じになるか、あるいは短い外来遺伝子を含んでいても野生型 AAV に極めて近い構造になると考えられる。rcAAV の感染性、増殖性、病原性及び核酸を水平伝達する性質は野生型 AAV と同等であり、ヒト及び他のほ乳動物、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。

従って、上述した包括的な評価より、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よる限り、日本において、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。