

## 第一種使用規程承認申請書

2025年01月16日

厚生労働大臣 殿  
環境大臣 殿

氏名 Krystal Biotech Japan株式会社  
申請者 代表取締役 笠本 浩  
住所 東京都港区虎ノ門四丁目1番1号  
神谷町トラストタワー23階

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条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	1つの $ICP22$ 遺伝子及び2つの $ICP4$ 遺伝子領域を欠失し、2つの $ICP4$ 遺伝子領域にヒトVII型コラーゲンをコードする配列が挿入された遺伝子組換え単純ヘルペスウイルス1型 (B-VEC)
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>この第一種使用規程において、次に掲げる用語の意義は、それぞれ次のとおり定める。</p> <ol style="list-style-type: none"><li>「治療施設」とは、本遺伝子組換え生物等の原液の希釈液の調製及び患者への投与の両方を行う施設をいう。</li><li>「調製施設」とは、本遺伝子組換え生物等の原液の希釈液の調製を行うが、本遺伝子組換え生物等の原液の希釈液の患者への投与を行わない施設をいう。</li><li>「投与施設」とは、本遺伝子組換え生物等の原液の希釈液の患者への投与を行うが、本遺伝子組換え生物等の原液の希釈液の調製を行わない施設をいう。</li><li>「保管施設」とは、未開封の本遺伝子組換え生物等の原液を保管するのみで、原液の開封を伴う作業を行わない施設をいう。</li></ol> <p><b>本遺伝子組換え生物等の原液の保管</b></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、治療施設内又は調製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><b>本遺伝子組換え生物等の原液の希釈液の調製及びシリンジへの充填並びに保管</b></p> <p>(2) 本遺伝子組換え生物等の原液の添加剤ゲルでの希釈及び本遺伝子組換え生物等の希釈液の投与デバイスへの充填は、治療施設又は調製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) 治療施設内又は調製施設内における本遺伝子組換え生物等の希釈液の保管は、容器に入れ、漏出しない状態で遺伝子組換え生物等である旨を表示し、適切に保管する。</p> <p><b>運搬</b></p> <p>(4) 本遺伝子組換え生物等の治療施設及び調製施設内での運搬は、漏出</p>

	<p>させない措置を執って行う。</p> <p>(5) 本遺伝子組換え生物等の希釈液の投与施設までの運搬は、容器に入れ、漏出させない措置を執って冷凍された状態で行う。本遺伝子組換え生物等の希釈液の投与施設内での運搬は、漏出させない措置を執って行う。</p> <p><b>投与施設における本遺伝子組換え生物等の希釈液の保管</b></p> <p>(6) 投与施設において、本遺伝子組換え生物等の希釈液は、投与室内の適切に管理された冷凍庫において遺伝子組換え生物等である旨を表示し、適切に保管する。</p> <p><b>患者への投与</b></p> <p>(7) 本遺伝子組換え生物等の投与は、治療施設又は投与施設の決められた投与室内で、本遺伝子組換え生物等の希釈液を患者の皮膚創部に塗布する。投与時は、投与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><b>投与後の患者からの排出等の管理</b></p> <p>(8) 投与後、患者の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。</p> <p>(9) 投与を受けた患者が本遺伝子組換え生物等の投与を受けた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。</p> <p>(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、患者からの本遺伝子組換え生物等を含む排泄物等の環境への放出を最小限に留めるよう当該患者に適切な指導を行う。</p> <p><b>患者検体の取扱い</b></p> <p>(11) 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。</p> <p>(12) 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。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。</p> <p>(13) 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。）に従つて行う。</p> <p><b>感染性廃棄物等の処理</b></p> <p>(14) 治療施設又は調製施設における本遺伝子組換え生物等の原液の廃棄は、各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つて行う。</p>
--	---

	<p>(15) 治療施設又は調製施設における本遺伝子組換え生物等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っては、不活化処理を行い、十分に洗浄する。</p> <p>(16) 治療施設又は調製施設において生じた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) 治療施設又は調製施設において生じた本遺伝子組換え生物等の希釈液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希釈液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) 投与施設において、本遺伝子組換え生物等の希釈液が付着した可能性のある機器、器材等は、二重袋等に厳重に封じ込めた状態で治療施設又は調製施設が回収し、（15）又は（17）の規定に従って廃棄する。</p> <p>(19) 患者が自宅等で用いたドレッシング材等は、不活化処理を行い、二重袋等に厳重に封じ込めた状態で自宅等にて廃棄する。</p> <p>(20) 保管施設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、焼却処理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

### 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

1つの $ICP22$ 遺伝子及び2つの $ICP4$ 遺伝子領域を欠失し、2つの $ICP4$ 遺伝子領域にヒトVII型コラーゲンをコードする配列が挿入された[REDACTED]に由来する遺伝子組換え単純ヘルペスウイルス1型 (B-VEC) (以下「本遺伝子組換え生物等」という。) は遺伝子組換えウイルスであり、その宿主は単純ヘルペスウイルス (HSV: *Herpes simplex virus*) である。単純ヘルペスウイルスには2つの血清型 (単純ヘルペスウイルス1型 [HSV-1] と2型 [HSV-2] ) があり、いずれもヘルペスウイルス科アルファヘルペスウイルス亜科単純ウイルス属に分類されている<sup>1)</sup>。その中で、本遺伝子組換え生物等はHSV-1の[REDACTED]を基に作製されている。[REDACTED]はヒト[REDACTED]から採取された野生型HSV-1の臨床分離株であり、最初に配列決定された野生型HSV-1[REDACTED]と比較して[REDACTED]の非同義変異を持っており、より[REDACTED]であることが知られている<sup>2)</sup>。

HSV-1は主にヒトに感染するウイルスで世界中に広く分布しており、成人での血清反応陽性率は7-8割との報告がある<sup>1)</sup>。また、HSV-1は稀に動物への感染も報告されているが<sup>3,4,5)</sup>、ヒト以外で複製するとの報告はない。

#### 2 使用等の歴史及び現状 (人用若しくは動物医薬品としての利用又は産業的な利用の歴史及び現状を含む)

これまで、複製可能型遺伝子組換えHSV-1を生ワクチンとする臨床試験が実施されている<sup>1,6,7)</sup>。また近年、海外においてHSV-1組換えウイルスによる、悪性腫瘍治療の臨床試験が実施されている<sup>8,9,10,11)</sup>。その中で特に、ヒト顆粒球マクロファージ・コロニー刺激因子 (human GM-CSF) を発現する遺伝子組換えHSV-1 (talimogene laherparepvec) は、2015年に悪性黒色腫に対する腫瘍溶解性治療薬として米国及び欧州において承認された<sup>12,13,14)</sup>。

国内では、2009年から膠芽腫、前立腺癌、嗅神経芽細胞腫に対するウイルス療法として、遺伝子組換えHSV-1であるG47Δを用いた臨床試験が実施され<sup>15)</sup>、2021年にテセルパツレブ (デリタクト<sup>®</sup>注) として条件期限付きで承認されている。また2014年からは膠芽腫を対象に第2相臨床試験が進められており、さらに自然変異型の弱毒HSV-1株 (HF-10) を用いて悪性腫瘍に対するウイルス療法とする治験も行われている<sup>16,17)</sup>。

ヒトVII型コラーゲン (以下「コラーゲン」という。) を発現する本遺伝子組換え生物等に関しては、米国において栄養障害型表皮水疱症の患者を対象とし、本遺伝子組換え生物等の有効性及び安全性を検証した第3相試験が終了し、2023年5月に承認を取得した。また、EUにおいても2023年11月に承認申請 (中央審査方式) し、現在審査中である。本遺伝子組換え生物等の試験結果の概略を別紙5に示す。

#### 3 生理学的及び生態学的特性

##### (1) 基本特性

HSV-1ウイルス粒子は直径100 nmの正20面体であり、カプシドがエンベロープで覆われている。カプシドの内部には、約150 kbpの直鎖状の2本鎖DNAが封入されており、ウイルスDNA

ゲノムには少なくとも74種類のウイルスタンパク質がコードされている。さらに、ヌクレオカプシドとエンベロープの間にテグメントと呼ばれる無定形構造が存在し、感染初期に重要な役割を担うウイルス性タンパク質が含まれている<sup>1,18,19)</sup>。

(2) 生育又は生育可能な環境の条件

HSV-1はヒトに感染し増殖する。HSV-1の感染は主に粘膜表面への直接的な接触で起こり、飛沫感染は起こらない。HSV-1は、ヒト細胞や Vero細胞などの限られた哺乳動物由来の培養細胞中で効率よく増殖するが、宿主から離れた場合、外界及び室温では不安定であるため、通常の環境条件下では長時間生存することはない<sup>1)</sup>。つまり、HSV-1にはヒト以外の自然宿主はなく、自然環境下で生存し続けることはできない。

(3) 捕食性又は寄生性

該当なし。

(4) 繁殖又は増殖の様式

HSV-1の感染は、通常ヒト口腔咽頭の粘膜表面へ直接接触することにより起こり、飛沫感染はしない。HSV-1は、感染した局所で複製した後、神経末端から感覚神経節に移動し、潜伏感染期となる。潜伏感染においては、HSV-1は複製せず、他のヒトや動物への感染性も有しない。しかし、HSV-1は紫外線照射、月経、感冒などの様々なストレスにより再活性化されると口唇などの皮膚粘膜で複製して水疱を形成する<sup>20)</sup>。潜伏感染の再燃などに際して、HSV-1はまれに脳炎を発症する<sup>21)</sup>。しかし、再活性化状態で常に病変が形成されるとは限らず、無症候症の場合もある。HSV-1は潜伏状態と活性化状態を繰り返し、宿主に終生存続する。

(5) 病原性

HSV-1の初期感染は一般的に軽症あるいは無症状であるが、再活性化時に口唇に水疱（口唇ヘルペス）を形成する<sup>21)</sup>。HSV-1はまれに角膜炎や脳炎を引き起こすこともある<sup>21)</sup>。しかしHSV-1は、免疫不全、新生児、又は乳児の初回重症感染症などの特殊条件下以外では、ウイルス血症を生じることがなく、初回感染後に全身に分布することはない。また、HSV-1の発癌性も報告されていない。なお、HSV-1感染症の治療には通常アシクロビル、ファムシクロビル、バラシクロビルなどの抗ウイルス薬が使用される。

HSV-1は、ヒトから飼育動物（ウサギ、チンチラなど）にまれに接触感染が起こり発病する場合があり<sup>22,23,24)</sup>、また、靈長類はHSV-1に易感染性であるとの報告がある<sup>5)</sup>。

(6) 有害物質の產生性

HSV-1の感染により感染細胞内に毒性のタンパク質が產生されたという報告はない。

(7) その他の情報（不活性化条件等を含む。）

HSV-1は宿主外では容易にエンベロープが破壊され、変性し感染性を失う。そのため自然環境下では2時間で死滅するとの報告がある<sup>25)</sup>。物理的処理では、pH（4未満）、温度（56°C以上で30分間又は60°Cで10分間）、マイクロ波（照射4分間）、又は紫外線照射（40 μW/cm<sup>2</sup>、15分間）などの条件下で速やかに感染性を失う<sup>26)</sup>。また、HSV-1は消毒液（70%イソプロパノール、70~90%エタノール、0.2%次亜塩素酸ナトリウム、ヨード溶液、グルタールアルデヒド、ホルマリン、10%ポビドンヨードなどなど）にも感受性があり、これらにより容易に不活性化される<sup>26,27)</sup>。

## 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

本遺伝子組換え生物等は、HSV-1 [REDACTED] のICP22遺伝子を欠失し、2箇所のICP4 遺伝子領域に [REDACTED] プロモーター、ヒトVII型コラーゲンα1遺伝子（以下「*hCOL7A1*遺伝子」という。）コード領域、[REDACTED] polyAシグナル配列からなる発現カセット（以下「*hCOL7A1*遺伝子 発現カセット」という。）が挿入されている（別紙2-1）。

[REDACTED] プロモーター領域は [REDACTED] 由来の [REDACTED] [REDACTED] であり、*hCOL7A1*遺伝子は [REDACTED] のアミノ酸からなるヒトVII型コラーゲンをコードする遺伝子に由来する。また、[REDACTED] polyAシグナル領域は、[REDACTED] 由来であり、ICP4 leftフランク及びICP4 rightフランクは、HSV-1ゲノム配列のICP4遺伝子座に隣接する領域である。

本遺伝子組換え生物等のゲノムの構築過程でHSV-1 [REDACTED] に挿入された制限酵素部位などを含む全ての人工的な塩基配列を別紙2-2に示す。また、本遺伝子組換え生物等ウイルスゲノムの全塩基配列を別紙2-3に、*COL7A1*遺伝子がコードするアミノ酸配列を別紙1に記載する。

#### (2) 構成要素の機能

本遺伝子組換え生物等は、複製能を欠損し、染色体DNAへの組込み能のない1型単純ヘルペスウイルス（HSV-1）ベクターであり、*hCOL7A1*を発現する。

[REDACTED] すなわち [REDACTED] においては、少なくとも [REDACTED] 遺伝子内にある [REDACTED] の変異により [REDACTED] が低下すること<sup>28,29)</sup>、及び [REDACTED] に存在する [REDACTED] により、[REDACTED] が低下することが知られている<sup>28,30)</sup>。本遺伝子組換え生物等は、HSV-1 [REDACTED] からICP22遺伝子を削除し、2箇所のICP4遺伝子座をそれぞれ*hCOL7A1*遺伝子発現カセットに置換したものである。*hCOL7A1*遺伝子はヒトVII型プロコラーゲンをコードする遺伝子であり、[REDACTED] polyAは転写部位の終結を伝達するシグナルである。それぞれの*hCOL7A1*遺伝子は、[REDACTED] [REDACTED] プロモーターにより発現し、本遺伝子組換え生物等による感染時に*hCOL7A1*の [REDACTED] 発現を可能とする。さらに、本遺伝子組換え生物等の潜在的な細胞毒性効果をさらに低減するために、IE遺伝子であるICP22を完全に削除している。また、ICP47遺伝子の機能により、MHCクラスI 抗原提示を阻害することで、宿主細胞での持続性を高め続けている。ICP4 遺伝子が削除されているため、単独では遺伝子組換え生物等は複製することはできない。外因性ICP4遺伝子を欠く非補完細胞では増殖性を示さないことから、ウイルスICP4遺伝子の両方のコピーが完全に不活性化していることを確認している。また、人工配列はプラスミド構築過程において便宜的に挿入されたもので、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。遺伝子挿入箇所近傍のオープンリーディングフレーム（ORF）の検索及び評価を行ったが、毒性、がん原性などの有害性を示す配列は検出されなかった（別紙2-4）。

## 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造

本遺伝子組換え生物等は、HSV-1 [REDACTED] のIE遺伝子であるICP4遺伝子2箇所が完全に削除され、各COL7A1遺伝子が各ICP4遺伝子座に挿入されている。それぞれのCOL7A1遺伝子は、[REDACTED] プロモーターにより発現し、感染時に遺伝子組換え生物等によるhCOL7A1遺伝子の[REDACTED] 発現が可能となる。また、IE遺伝子であるICP22遺伝子が完全に削除されている。詳細を別紙3に示す。

### (2) 宿主内に移入された核酸の移入方法

最初にHSV-1 [REDACTED] のゲノムのICP22遺伝子座の[REDACTED] 領域を欠失させ、次に、ICP22遺伝子の欠失した[REDACTED] のゲノムから2箇所のICP4遺伝子を欠失させ、さらに、[REDACTED] プロモーター、[REDACTED] 遺伝子及び[REDACTED] のpolyAシグナルをコードするプラスミドとの[REDACTED] 、ICP4遺伝子のあった領域を[REDACTED] に置換し、[REDACTED] を得る。

[REDACTED] に、調製した[REDACTED] プラスミドをトランスフェクトして[REDACTED] に感染させ、[REDACTED] 、[REDACTED] 中に[REDACTED] 箇所ある[REDACTED] プロモーターと[REDACTED] polyAシグナル間の[REDACTED] をhCOL7A1に置き換える。以上の操作により、本遺伝子組換え生物等を作製する（詳細は別紙4-1）。

### (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のマスターウィルスバンク（MVB）を樹立している。これを、マスターセルバンク（MCB）及びワーキングセルバンク（WCB）が樹立している[REDACTED] 細胞に感染させ、その大量培養によって本遺伝子組換え生物等を増殖させる。本遺伝子組換え生物等の製造は、全て[REDACTED] で行われる（詳細は別紙4-2）。

本遺伝子組換え生物等はウイルス遺伝子複製に必要な2箇所のICP4遺伝子を欠損しているため自己複製できない。また、[REDACTED]

[REDACTED] 、原理的に製造時に増殖性ウイルスが出現する可能性はない。このことを確認するために、ウイルス量を測定する品質試験として[REDACTED] で本遺伝子組換え生物等が増殖しないことを確認する。その時の検出限界（LOD）は[REDACTED] である（詳細は別紙4-4）。

## 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の[REDACTED] での長期安定性試験が実施されており、[REDACTED] 以上安定であることが確認されている。導入遺伝子は組換えHSV-1の二本鎖ゲノムDNAの一部として存在し[REDACTED] で極めて安定に存在する。また本遺伝子組換え生物等の感染性も[REDACTED] に変化することはない。

患者の皮膚創部に投与された本遺伝子組換え生物等は、創部組織中の角化細胞や線維芽細胞に感染するが、複製に関与する2箇所の $ICP4$ 遺伝子が欠損しているため細胞内で増殖することはない。本遺伝子組換え生物等のDNAは核内に移行するが染色体には取り込まれず2本鎖DNAの状態で核内に存在する。感染細胞の核内においては、本遺伝子組換え生物等に導入された $COL7AI$ 遺伝子の転写が起こり、細胞質内においてVII型コラーゲンが産生され、細胞外に放出される。VII型コラーゲンは細胞外にてプロテアーゼにより成熟型のVII型コラーゲンとなり、表皮と真皮と繋ぎ止める役割を果たす（別紙6参照）。導入遺伝子の発現は感染細胞がターンオーバーしない限り継続すると考えられる。

## 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

非臨床試験における検体は [REDACTED] であり、臨床試験における検体は [REDACTED] [REDACTED] である。各検体中の本遺伝子組換え生物等は、[REDACTED] [REDACTED] により定量する。本遺伝子組換え生物等の中に存在する [REDACTED] の遺伝子配列がユニークであるため、この配列を [REDACTED] で測定することにより本遺伝子組換え生物等を定量する。

各検体は [REDACTED] 調製され、そのうちの [REDACTED] が反応液 [REDACTED] に添加され本遺伝子組換え生物等の測定が行われる。反応は [REDACTED] 行われるため、検体量の [REDACTED] が各試験で使用される。

標準曲線は、[REDACTED] 用いて作成し、検出限界は [REDACTED] である。なお、本試験法は、真度、精度（併行精度、室内再現精度）、直線性、範囲、特異性及び頑健性についてバリデートされている（別紙7参照）。

## 6 宿主又は宿主の属する分類学上の種との相違点

本遺伝子組換え生物等はウイルス遺伝子複製に必要な2箇所の $ICP4$ 遺伝子を欠損しているため自己複製できない。

本遺伝子組換え生物等の他の機能は保持されているため、その標的細胞、感染経路及び感染メカニズムはHSV-1ウイルスと同じである。また、細胞に感染した本遺伝子組換え生物等は染色体には組み込まれず、核内で二本鎖DNAの状態で存在する。

本遺伝子組換え生物等には発現プロモーターの下流に $COL7AI$ 遺伝子が配置されているため、本遺伝子組換え生物等が感染した細胞ではVII型コラーゲンが産生される。

### 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

この第一種使用規程において、次に掲げる用語の意義は、それぞれ次のとおり定める。

- 1) 「治療施設」とは、本遺伝子組換え生物等の原液の希釈液の調製及び患者への投与の両方を行う施設をいう。
- 2) 「調製施設」とは、本遺伝子組換え生物等の原液の希釈液の調製を行うが、本遺伝子組換え生物等の原液の希釈液の患者への投与を行わない施設をいう。
- 3) 「投与施設」とは、本遺伝子組換え生物等の原液の希釈液の患者への投与を行うが、本遺伝子組換え生物等の原液の希釈液の調製を行わない施設をいう。
- 4) 「保管施設」とは、未開封の本遺伝子組換え生物等の原液を保管するのみで、原液の開封を伴う作業を行わない施設をいう。

#### 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、治療施設内又は調製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原液の希釈液の調製及びシリンジへの充填並びに保管

- (2) 本遺伝子組換え生物等の原液の添加剤ゲルでの希釈及び本遺伝子組換え生物等の希釈液の投与デバイスへの充填は、治療施設又は調製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) 治療施設内又は調製施設内における本遺伝子組換え生物等の希釈液の保管は、容器に入れ、漏出しない状態で遺伝子組換え生物等である旨を表示し、適切に保管する。

#### 運搬

- (4) 本遺伝子組換え生物等の治療施設及び調製施設での運搬は、漏出させない措置を執って行う。
- (5) 本遺伝子組換え生物等の希釈液の投与施設までの運搬は、容器に入れ、漏出させない措置を執って冷凍された状態で行う。本遺伝子組換え生物等の希釈液の投与施設での運搬は、漏出させない措置を執って行う。

#### 投与施設における本遺伝子組換え生物等の希釈液の保管

- (6) 投与施設において、本遺伝子組換え生物等の希釈液は、投与室内の適切に管理された冷凍庫において遺伝子組換え生物等である旨を表示し、適切に保管する。

#### 患者への投与

- (7) 本遺伝子組換え生物等の投与は、治療施設又は投与施設の決められた投与室内で、本遺伝子組換え生物等の希釈液を患者の皮膚創部に塗布する。投与時は、投与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

- (8) 投与後、患者の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。

- (9) 投与を受けた患者が本遺伝子組換え生物等の投与を受けた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。
- (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、患者からの本遺伝子組換え生物等を含む排泄物等の環境への放出を最小限に留めるよう当該患者に適切な指導を行う。

#### 患者検体の取扱い

- (11) 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。
- (12) 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。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。
- (13) 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

- (14) 治療施設又は調製施設における本遺伝子組換え生物等の原液の廃棄は、各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。
- (15) 治療施設又は調製施設における本遺伝子組換え生物等の希釀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っては、不活化処理を行い、十分に洗浄する。
- (16) 治療施設又は調製施設において生じた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) 治療施設又は調製施設において生じた本遺伝子組換え生物等の希釀液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希釀液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) 投与施設において、本遺伝子組換え生物等の希釀液が付着した可能性のある機器、器材等は、二重袋等に厳重に封じ込めた状態で治療施設又は調製施設が回収し、(15) 又は(17)の規定に従って廃棄する。
- (19) 患者が自宅等で用いたドレッシング材等は、不活化処理を行い、二重袋等に厳重に封じ込めた状態で自宅等にて廃棄する。
- (20) 保管施設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压蒸気滅菌処理、焼却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

本遺伝子組換え生物等が意図せずに第三者に感染する可能性は潜在的なリスクとなる。しかしながら、現実的には、本遺伝子組換え生物等は、投与部位又は創部の包帯に直接触れることによってのみ第三者への感染が起こりうる。そのため完了した第1/2相試験及び第3相試験（以下「B-VEC-03試験」という。）では、創傷部位に本遺伝子組換え生物等を含む治験薬（以下「治験薬」という。）を塗布した後の拡散の可能性を排除するため、創傷部位よりわずかに大きく切った疎水性包帯（[REDACTED]）で創傷を覆い、次にこの疎水性包帯を覆うように標準治療用包帯を施す処置をした。疎水性包帯は[REDACTED]留置した後取り外されたが、[REDACTED]の結果、本遺伝子組換えウイルスが検出されたのはごく少数[REDACTED]であった。[REDACTED]から検出されたごくわずかの遺伝子組換えウイルスが塗布後に[REDACTED]に残った本遺伝子組換え生物等か、[REDACTED]から排出されたものは特定できないが、試験された[REDACTED]において感染性ウイルス粒子は検出されなかった。したがって、本遺伝子組換え生物等は局所投与後に[REDACTED]に限局的に保持されて効率的に形質導入されると共に、塗布後に[REDACTED]に残存するごくわずかの遺伝子組換えウイルスは非感染性であることが実証された。また、臨床試験において、[REDACTED]にも遺伝子組換えウイルスは検出されたが、[REDACTED]に残存する遺伝子組換えウイルスと同様に感染性がないと考えられる。

以上の結果より、本邦の臨床試験では本遺伝子組換え生物等の排出は調査しなかった。しかしながら、B-VEC-03試験において、投与から[REDACTED]に採取した[REDACTED]の一部において高濃度の非感染性の本遺伝子組換え生物等が検出されたことを踏まえ、本邦の第3相臨床試験（B-VEC-EX-02-JP）では、標準治療用包帯の創部とは逆の面まで体液が浸潤した場合の対応策を患者へ指導した。包帯は手袋をつけて取り外され、本遺伝子組換え生物等の希釈液に触れる可能性のあるもの（標準治療用包帯を含む）は、二重袋等に厳重に封じ込めた状態で自宅等にて廃棄、又は治療施設が回収し、医療廃棄物として処理した。以上の対策を講ずることにより、本遺伝子組換え生物等の環境中への拡散を最小化できると考える。

#### 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

＜非臨床試験＞

##### 1) 単回投与毒性試験

[REDACTED]に本遺伝子組換え生物等[REDACTED]又は対照（溶媒）を[REDACTED]投与し、死亡率、一般状態、体重変化、摂餌量、臨床所見及び解剖学的病理所見を調べる毒性試験を実施した。投与後[REDACTED]の観察期間において、本投与量での忍容性が確認され、本試験における無毒性量は[REDACTED]とされた。

[REDACTED]と混合した[REDACTED]の本遺伝子組換え生物等（又は溶媒）を[REDACTED]投与し、死亡率、臨床観察、体重、摂餌量、臨床及び解剖学的病理所見に基づいて[REDACTED]に毒性評価を行った。[REDACTED]に対する本遺伝子組換え生物等に関連した影響は認められなかった。本遺伝子組換え生物等に関連した死亡率や肉眼的又は顕微鏡的観察所見も認められなかった。所見の重症度が軽度であり、[REDACTED]の本遺伝子組換え生物等を投与した動物の健康状態に影響がなかったことから、この用量においては有害な影響はないと考えられた。

##### 2) 反復投与毒性試験

[REDACTED]に[REDACTED]、[REDACTED]及び[REDACTED]を設定し、本遺伝子組換え生物等を[REDACTED]

投与した際の反復投与毒性を調べた。観察項目は死亡率、一般状態、体重変化、摂餌量、臨床及び解剖学的病理所見であった。この結果、[REDACTED]を投与した群で忍容性が認められたが、[REDACTED]の投与群では、本遺伝子組換え生物等に関連した投与部位での[REDACTED]が認められた。そのため、無毒性量は[REDACTED]とされた。

### 3) 体内分布試験

上記の単回[REDACTED]投与試験において[REDACTED]を採取し[REDACTED]により体内分布を調べた。[REDACTED]の濃度で本遺伝子組換え生物等を投与した[REDACTED]の全てで本遺伝子組換え生物等DNAが検出された。本遺伝子組換え生物等を投与した動物から採取した他のサンプルの大部分で本遺伝子組換え生物等は検出されなかった。

上記の反復投与試験において本遺伝子組換え生物等を投与した[REDACTED]を採取し[REDACTED]により体内分布を調べた。その結果、投与[REDACTED]に[REDACTED]で本遺伝子組換え生物等が検出された。[REDACTED]検体では[REDACTED]と[REDACTED]でも本遺伝子組換え生物等が検出された。[REDACTED]では時折検出されることがあり、[REDACTED]の[REDACTED]検体でも検出された。しかし、これら[REDACTED]で検出された本遺伝子組換え生物等はいずれも[REDACTED]といずれも低レベルであった。一方、投与部位では[REDACTED]の全検体で本遺伝子組換え生物等が検出され、その量は[REDACTED]と高レベルであった。[REDACTED]では投与後[REDACTED]においても高レベル量が検出された。

回復期[REDACTED]の動物では、[REDACTED]と、[REDACTED]、[REDACTED]で本遺伝子組換え生物等が検出されたが、その量は[REDACTED]と低レベルであった。同時期に、[REDACTED]において検出される本遺伝子組換え生物等の[REDACTED]は大半が検出限界以下であった。

以上の結果から、本遺伝子組換え生物等の[REDACTED]以外の組織への分布は少なく、また顕著な蓄積もなかった。

別途実施の[REDACTED]を用いた単回投与毒性試験においても、本遺伝子組換え生物等は[REDACTED]以外への分布及び蓄積はほとんど認められなかった。

### <臨床試験>

#### 1) KB103-001試験

栄養障害型表皮水疱症の患者を対象として、本遺伝子組換え生物等を様々な頻度で患者創部に投与する第1/2相臨床試験を米国にて実施した。第1相パート（被験者：2例、創部： $<10\text{cm}^2$ 、1回の投与量： $1 \times 10^8 \text{ PFU/創部}$ ）及び第2相bパート（被験者：5例、創部： $<20\text{cm}^2$ 、1回の投与量： $2 \times 10^8 \text{ PFU/創部}$ ）においては、投与後に被験者の[REDACTED]を[REDACTED]にて調べたが、投与日から[REDACTED]の調査期間中に本遺伝子組換え生物等は検出されなかった（別紙8）。

同様に、第2相aパート（被験者：4例、投与量： $3 \times 10^8 \text{ PFU/創部}$ 又は $6 \times 10^8 \text{ PFU/創部}$ ）、第2相bパート（被験者：5例、創部： $<20\text{cm}^2$ 、1回の投与量： $2 \times 10^8 \text{ PFU/創部}$ ）、及び第2相cパート（被験者：1例、創部： $65.29\text{cm}^2$ 、1回の投与量： $8 \times 10^8 \text{ PFU/創部}$ ）においては、[REDACTED]を用いて[REDACTED]での排出ウイルスを測定した。その結果、全パートにおいて投与期間中に[REDACTED]に低レベルの本遺伝子組換え生物等が検出されたが、投与後[REDACTED]の来院時には検出下限レベルであった。

#### 2) B-VEC-03試験

第3相試験においても、本遺伝子組換え生物等を投与後に、被験者体内及び環境への排出を[REDACTED]を用いて、[REDACTED]毎の患者訪問日に測定した。また、[REDACTED]の感染性ウイルス粒子についても調べた。その結果、全ての[REDACTED]において本遺伝子組換え生物等の排出は検出限界以下であつ

た。このことは、本遺伝子組換え生物等が全身に排出されることがほとんどないことを意味している。わずかの割合 [REDACTED] ではあるが、[REDACTED] に遺伝子組換えウイルスが検出されたが、感染性の粒子は検出されなかった。このことは、投与された本遺伝子組換え生物等は [REDACTED] 効率的に [REDACTED] に取り込まれて行くこと、また [REDACTED] にわずかに遺伝子組換えウイルスが残存しても、それらに感染性はないことを示している。[REDACTED] についてはかなりの割合で遺伝子組換えウイルスが検出された。その量には幅があり、[REDACTED] であった。[REDACTED] の場合と同様に [REDACTED] で検出される遺伝子組換えウイルスについても感染性はないと考えられる。

以上のことから、本邦での日本人を対象とした臨床試験において、本遺伝子組換え生物等の排出を調査しなかった。

## 6 国外における使用等により得られた情報

本情報は、「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」の項に記載した。

#### IV 生物多樣性影響評估

## 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性は野生型HSV-1と同一と考えられることから、微生物に感染することはない。また、本遺伝子組換え生物等は複製能を欠いていることから、自然界では伝搬及び複製しない。さらに、本遺伝子組換え生物等は有害物質を産生せず、他の微生物に影響を与える可能性もない。このため、本遺伝子組換え生物等に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) 影響の具体的な内容の評価

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の判断

本遺伝子組換え生物等が感染する可能性のある微生物はないと考えられることから、微生物の生物多様性に影響を与えるおそれはない。

## 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

自然界における本遺伝子組換え生物等の主な感染宿主は、野生型HSV-1と同じくヒトであり、稀にヒト以外の霊長類やペット動物にも感染する。

## (2) 影響の具体的な内容の評価

、最悪の場合、通常ヒトに感染する野生型の親株HSV-1と同程度の病原性を持つ可能性がある。野生型の親株HSV-1は軽度の局所的皮膚病変を引き起こすヒト病原体として知られ、一次感染は口腔粘膜組織(例: 口唇ヘルペス)で最も一般的に発生するが、通常軽度であり自然に治癒する。

本遺伝子組換え生物等は [REDACTED] を出発株として使用し、HSV-1のIE遺伝子である $ICP4$ 及び $ICP22$ を欠失させることにより、複製機能を欠損し、野生型 [REDACTED] よりもさらに細胞毒性が低いものになっている。また、本遺伝子組換え生物等は $ICP4$ 遺伝子領域の欠失により、感染したヒト細胞においてヘルペスウイルスを標的とする一般的に処方される抗ウイルス薬（アシクロビルやバラシクロビルなど）の標的であるHSV-1 DNAポリメラーゼ（UL30）を発現しないが、仮に $ICP4$ 遺伝子の復帰等によりUL30を発現するヘルペスウイルスが出現し、ヘルペス性病変又は他のウイルス関連疾患の症状が現れるという稀有な事象があった場合にも、抗ウイルス薬により対処が可能である。したがって、親株と比較して、本遺伝子組換え生物等に関連する特別の危険性はない。

さらに、野生型HSV-1の*ICP4*遺伝子は、本遺伝子組換え生物等の導入遺伝子（*COL7A1*）と塩基配列が大きく異なり、加えて本遺伝子組換え生物等では*ICP22*遺伝子も欠損しているため、野生型HSV-1との間で相同組換えが起り新たな遺伝子組換えウイルスが発生するリスクはほとんどないと考えられ<sup>31)</sup>、臨床試験又は米国での市販後においても本遺伝子組換え生物等に該当する複製可能なウイルスが生じたという報告はない。仮に野生型HSV-1と本遺伝子組換え生物等との間で*ICP4*欠失型が*ICP4*野生型へ復帰する相同組換えが起こっても、新たに

生じる遺伝子組換えウイルスは、増殖性と病原性において野生型HSV-1と同等もしくはそれ以下であることが考えられる。

栄養障害型表皮水疱症の患者を対象として、本遺伝子組換え生物等を様々な頻度で患者創部に投与する第1/2相臨床試験が海外で実施されている。第1相パート（被験者：2例、創部： $<10\text{cm}^2$ 、1回の投与量： $1\times10^8\text{ PFU/創部}$ ）、第2相aパート（被験者：4例、創部： $<20\text{cm}^2$ 、1回の投与量： $3\times10^8\text{ PFU/創部}$ 又は $6\times10^8\text{ PFU/創部}$ ）、第2相bパート（被験者：5例、創部： $<20\text{cm}^2$ 、1回の投与量： $2\times10^8\text{ PFU/創部}$ ）、及び第2相cパート（被験者：1例、創部： $65.29\text{cm}^2$ 、1回の投与量： $8\times10^8\text{ PFU/創部}$ ）において、死亡例、重篤な有害事象及び重要な有害事象は認められていない。■■■■■の有害事象が認められたが、そのうち■■■■■が本遺伝子組換え生物等の投与と関連する可能性があり、他の■■■■■は関連する可能性がないと判定された。また、■■■■■の有害事象のうち■■■■■、■■■■■であり、それらは全て治験実施中に軽快した。本遺伝子組換え生物等がヒト以外に感染する可能性は無く、仮に感染した場合でも宿主細胞において、VII型プロコラーゲンが産生されるが、これが宿主に悪影響を及ぼす可能性はない。

### (3) 影響の生じやすさの評価

本遺伝子組換え生物等には病原性はなく、自然界においても伝搬や複製を行う可能性がない。そのため、当該第一種使用規程に従って本遺伝子組換え生物等を使用する場合、被験者以外の第三者や動物に悪影響を及ぼす可能性はない。上述の臨床試験においても、本遺伝子組換え生物等と潜伏感染している内在性HSV-1との相同組換えにより新たな遺伝子組換えウイルスが発生したとの報告はない。

### (4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無の判断

本遺伝子組換え生物等と野生型HSV-1との間に組換えが生じる可能性は、以下の理由から極めて低いと考えられる。①本遺伝子組換え生物等と野生型HSV-1が患者の局所創傷皮膚部位に同時に存在する可能性は低い。②たとえ野生型HSV-1が共存していても、HSV-1のDNA複製と組換えは互いに密接に関連していることから、相同組換えを起こすためには、本遺伝子組換え生物等のウイルス粒子がHSV-1感染細胞に侵入し、そこで野生型HSV-1と同時期に複製する必要があるが<sup>32)</sup>、この可能性は低い。さらに、③この極めてまれな状況で組換えを起こすためには、B-VECのCOL7A1導入遺伝子に隣接する領域と野生型HSV-1の対応する領域との間に十分な遺伝的相同性が必要となるが<sup>31)</sup>、野生型HSV-1のICP4遺伝子は、本遺伝子組換え生物等の導入遺伝子（COL7A1）と塩基配列が大きく異なり、加えて本遺伝子組換え生物等ではICP22遺伝子も欠損しているため、本遺伝子組換え生物等と野生型HSV-1との遺伝的相同性は十分ではない。加えて、④野生型HSV-1が同時感染中の非複製HSV-1（本遺伝子組換え生物等）から遺伝子を導入して複製可能な新たな組換えウイルスへ変わるために、導入する遺伝子を、必須でないゲノム遺伝子座に挿入させる必要があるが<sup>31)</sup>、この可能性は低い。以上のことから、本遺伝子組換え生物等と野生型HSV-1との組換えの可能性と新たな組換えウイルス出現の可能性は極めて低いと考えられる。したがって、当該第一種使用規程に従って本遺伝子組換え生物等を使用する場合、生物多様性に悪影響を及ぼす可能性はない。

## 3 有害物質の產生性

### (1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定

自然界における本遺伝子組換え生物等の主な感染宿主は、野生型HSV-1と同じくヒトであり、稀にヒト以外の靈長類やペット動物にも感染する。

## (2) 影響の具体的内容の評価

トに感染する野生型の親株HSV-1と同程度の病原性を持つ可能性がある。野生型の親株HSV-1は軽度の局所的皮膚病変を引き起こすヒト病原体として知られ、一次感染は口腔粘膜組織（例：口唇ヘルペス）で最も一般的に発生するが、通常軽度であり自然に治癒する。

本遺伝子組換え生物等は [REDACTED] を出発株として使用し、HSV-1のIE遺伝子である*ICP4*及び*ICP22*を欠失させることにより、複製機能を欠損し、野生型 [REDACTED] よりもさらに細胞毒性が低いものになっている。本遺伝子組換え生物等が宿主細胞に感染した場合、導入遺伝子からの産物はVII型コラーゲンであり、その毒性は知られていない。またこれまで、本遺伝子組換え生物等で治療された被験者又は患者には、VII型コラーゲンの過剰発現による有害事象は報告されていない。さらに、GLP下での毒性試験でも本遺伝子組換え生物等は、独自の内因性VII型コラーゲンを発現する健康な動物では一般的に忍容性があり、高レベルのVII型コラーゲンが皮膚に重大な有害作用を及ぼさないことが示唆されており、VII型コラーゲンの過剰発現に関連する特定のリスクを示唆する報告はこれまで知られていない。

また、野生型HSV-1の*ICP4*遺伝子は、本遺伝子組換え生物等の導入遺伝子（*COL7A1*）と塩基配列が大きく異なり、加えて本遺伝子組換え生物等では*ICP22*遺伝子も欠損しているため、野生型HSV-1との間で相同組換えが起こる可能性はほとんどなく<sup>31)</sup>、本遺伝子組換え生物等に該当する複製可能なウイルスが自然に生じる可能性もないと考えられる。仮に野生型HSV-1と本遺伝子組換え生物等との間で*ICP4*欠失型が*ICP4*野生型へ復帰する相同組換えが起こっても、新たに生じる遺伝子組換えウイルスは、有害物質の産生性において野生型HSV-1と同等もしくはそれ以下であることが考えられる。

## (3) 影響の生じやすさの評価

本遺伝子組換え生物等は感染した細胞において増殖する能力はなく、導入遺伝子の産物はVII型プロコラーゲンで毒性はない。そのため、本遺伝子組換え生物等が被験者以外の第三者に感染して毒性を示す可能性はない。また、上述の臨床試験及び米国での市販後においても本遺伝子組換え生物等と潜伏感染している内在性HSV-1との相同組換えにより新たな有害物質が産生されたとの報告はない。

## (4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無の判断

本遺伝子組換え生物等と野生型HSV-1との間に組換えが生じる可能性は、以下の理由から極めて低いと考えられる。①本遺伝子組換え生物等と野生型HSV-1が患者の局所創傷皮膚部位に同時に存在する可能性は低い。②たとえ野生型HSV-1が共存していても、HSV-1のDNA複製と組換えは互いに密接に関連していることから、相同組換えを起こすためには、本遺伝子組換え生物等のウイルス粒子がHSV-1感染細胞に侵入し、そこで野生型HSV-1と同時期に複製する必要があるが<sup>32)</sup>、この可能性は低い。さらに、③この極めてまれな状況で組換えを起こすためには、B-VECの*COL7A1*導入遺伝子に隣接する領域と野生型HSV-1の対応する領域との間に十分な遺伝的相同性が必要となるが<sup>31)</sup>、野生型HSV-1の*ICP4*遺伝子は、本遺伝子組換え生物等の導入遺伝子（*COL7A1*）と塩基配列が大きく異なり、加えて本遺伝子組換え生物等では*ICP22*遺伝子も欠損しているため、本遺伝子組換え生物等と野生型HSV-1との遺伝的相同性は十分ではない。加えて、④野生型HSV-1が同時感染中の非複製HSV-1（本遺伝子組換え生物等）から遺伝子を導入して複製可能な新たな組換えウイルスへ変わるために、導入する遺伝子を、必須でないゲノム遺伝子座に挿入させる必要があるが<sup>31)</sup>、この可能性は低い。以上のことから、本遺伝子組換え生物等と野生型HSV-1との組換えの可能性と新たな組換えウイルス出現の可能性は極めて低いと考えられる。したがって、当該第一種使用規程に従つて本遺伝子組換え生物等を使用する場合、有害物質の産生性に起因した生物多様性に悪影響が生じるおそれはない。

## 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HSV-1と同じであると考えられるため、水平感染により影響を受ける可能性のある動物種は主にヒトである。

### (2) 影響の具体的な評価

野生型HSV-1の*ICP4*遺伝子は、本遺伝子組換え生物等の導入遺伝子 (*COL7A1*) と塩基配列が大きく異なり、加えて本遺伝子組換え生物等では*ICP22*遺伝子も欠損しているため、野生型HSV-1との間で相同組換えが起こる可能性はほとんどなく<sup>31)</sup>、本遺伝子組換え生物等に該当する複製可能なウイルスが自然に生じる可能性もないと考えられる。仮に野生型HSV-1と本遺伝子組換え生物等との間で*ICP4*欠失型が*ICP4*野生型へ復帰する相同組換えが起こっても、新たに生じる遺伝子組換えウイルスは、感染性において野生型HSV-1と同等もしくはそれ以下であることが考えられる。また、本遺伝子組換え生物等は被験者以外の第三者に感染しないように取り扱われるが、仮に感染した場合でも、導入遺伝子からの産物はVII型コラーゲンであり、その毒性は知られていない。また、本遺伝子組換え生物等は複製することはないため、ヒトからヒトへの伝播の可能性はほとんどない。上述の臨床試験及び米国での市販後において、本遺伝子組換え生物等が被験者以外の第三者に感染したという報告はない。

### (3) 影響の生じやすさの評価

本遺伝子組換え生物等は、野生型HSV-1に存在する2箇所の*ICP4*遺伝子と1箇所の*ICP22*遺伝子を欠損し、2箇所の*ICP4*遺伝子領域に各々目的とするVII型コラーゲン遺伝子 (*COL7A1*) を導入したものであり、それ以外は野生型HSV-1と同じであるため、機能的には野生型HSV-1と同様に感染細胞の核内に存在し続け、染色体に組み込まれることはない。

また、本遺伝子組換え生物等は、複製に必要な2箇所の*ICP4*遺伝子が欠失変異しているため宿主内で複製することもない。さらに野生型HSV-1の*ICP4*遺伝子と本遺伝子組換え生物等の導入遺伝子 (*COL7A1*) とはゲノムが大きく異なり、加えて本遺伝子組換え生物等では*ICP22*遺伝子も欠損しているため、野生型HSV-1との間で相同組換えを起こす可能性は少ないと考えられる<sup>31)</sup>。仮に野生型HSV-1と本遺伝子組換え生物等との間で*ICP4*欠失型が*ICP4*野生型へ復帰する相同組換えが起こっても、新たに生じる遺伝子組換えウイルスは、感染性において野生型HSV-1と同等もしくはそれ以下であることが考えられる。

### (4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無の判断

本遺伝子組換え生物等と野生型HSV-1との間に組換えが生じる可能性は、以下の理由から極めて低いと考えられる。①本遺伝子組換え生物等と野生型HSV-1が患者の局所創傷皮膚部位に同時に存在する可能性は低い。②たとえ野生型HSV-1が共存していても、HSV-1のDNA複製と組換えは互いに密接に関連していることから、相同組換えを起こすためには、本遺伝子組換え生物等のウイルス粒子がHSV-1感染細胞に侵入し、そこで野生型HSV-1と同時期に複製する必要があるが<sup>32)</sup>、この可能性は低い。さらに、③この極めてまれな状況で組換えを起こすためには、B-VECの*COL7A1*導入遺伝子に隣接する領域と野生型HSV-1の対応する領域との間に十分な遺伝的相同性が必要となるが<sup>31)</sup>、野生型HSV-1の*ICP4*遺伝子は、本遺伝子組換え生物等の導入遺伝子 (*COL7A1*) と塩基配列が大きく異なり、加えて本遺伝子組換え生物等では*ICP22*遺伝子も欠損しているため、本遺伝子組換え生物等と野生型HSV-1との遺伝的相同性は十分ではない。加えて、④野生型HSV-1が同時感染中の非複製HSV-1（本遺伝子組換え生物等）から遺伝子を導入して複製可能な新たな組換えウイルスへ変わるために、導入する遺伝子を、必須でないゲノム遺伝子座に挿入させる必要があるが<sup>31)</sup>、この可能性は低い。以上のことから、本遺伝子組換え生物等と野生型HSV-1との組換えの可能性と新たな組換えウイルス出現の可能性は極めて低いと考えられる。したがって、当該第一種使用規程に従つて本遺伝子組換え生物等を使用する場合、核酸を水平伝達する性質に起因した生物多様性に悪影響が生じるおそれはない。

5 その他の性質

なし。

## V 総合的評価

本遺伝子組換え生物等の主な感染宿主は野生型HSV-1と同じヒトであり、その他にヒト以外の靈長類及び一部のペッコット動物にも感染する可能性がある。しかしながら、本遺伝子組換え生物等は複製能を欠いているため、自然界においてヒト及び感染動物からの水平感染が拡大することはない。

さらに、野生型HSV-1の*ICP4*遺伝子と本遺伝子組換え生物等の導入遺伝子（*COL7AI*）とはゲノムが大きく異なり、加えて本遺伝子組換え生物等では*ICP22*遺伝子も欠損しているため、野生型HSV-1との間で相同組換えが起こる可能性はほとんどなく、本遺伝子組換え生物等に該当する複製可能なウイルスが自然に生じる可能性もないと考えられる。

本遺伝子組換え生物等は被験者以外の第三者に感染しないように取り扱われるが、仮に感染した場合でも、導入遺伝子からの産物はVII型コラーゲンであり、その毒性は知られていない。本遺伝子組換え生物等の臨床試験及び米国での市販後においても、被験者又は患者以外の第三者への感染や被験者における本遺伝子組換え生物等の産物による毒性は報告されていない。

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従えば、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。

## 引用文献

- 1) Roizman, B. et al. Herpes simplex viruses. In Fields' virology, 6th edn, ed. Knipe, D. M., Howley, P. M. ed. pp1823-1897, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia (2013).
- 2) [REDACTED]
- 3) Grest, P. et al. Herpes simplex encephalitis in a domestic rabbit (*Oryctolagus cuniculus*). *J Comp. Pathol.* 126: 308-311 (2002).
- 4) Huemer, H.P. et al. Fatal infection of a pet monkey with Human herpesvirus. *Emerg. Infect. Dis.* 8: 639-642 (2002).
- 5) Lefaux, B. et al. Nonhuman primates might be highly susceptible to cross-species infectivity by human alpha-herpesviruses. *Vet Pathol* 41: 302-304(2004).
- 6) Cadoz, M. et al., Phase 1 trial of R7020: A live attenuated recombinant herpes simplex (HSV) candidate vaccine. Presented at the 32nd Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy, Anaheim, CA, October 11-14 (1992).
- 7) Whitley, R. & Roizman, B. Herpes simplex viruses: Is a vaccine tenable? *J Clin. Invest.* 110: 145-151 (2002).
- 8) Markert, J. et al. Conditionally replicating herpes simplex virus mutant, G207 for the treatment of malignant glioma: results of a phase I trial. *Gene Ther.* 7: 867-874 (2000).
- 9) Rampling, R. et al. Toxicity evaluation of replication-competent herpes simplex virus (ICP 34.5 null mutant 1716) in patients with recurrent malignant glioma. *Gene Ther* 7: 859-866 (2000).
- 10) Papanastassiou, V. et al. The potential for efficacy of the modified (ICP 34.5(-)) herpes simplex virus HSV1716 following intratumoural injection into human malignant glioma: a proof of principle study. *Gene Ther.* 9: 398-406 (2002).
- 11) Harrow, S. et al. HSV1716 injection into the brain adjacent to tumour following surgical resection of high-grade glioma: safety data and long-term survival. *Gene Ther.* 11: 1648-1658 (2004).
- 12) Hu, J.C. et al. A phase I study of OncoVEXGM-CSF, a second-generation oncolytic herpes 20 simplex virus expressing granulocyte macrophage colony-stimulating factor. *Clin. Cancer Res.* 12: 6737-6747 (2006).
- 13) Senzer, N.N. et al. Phase II clinical trial of a granulocyte-macrophage colony-stimulating factor-encoding, second-generation oncolytic herpesvirus in patients with unresectable metastatic melanoma. *J Clin. Oncol.* 27: 5763-5771 (2009).
- 14) Andtbacka, R.H. et al. Talimogene laherparepvec improves durable response rate in patients with advanced melanoma. *J Clin. Oncol.* 33: 2780-2788 (2015).
- 15) Todo, T. et al. Oncolytic herpes simplex virus vector with enhanced MHC class I presentation and tumor cell killing. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*, 98: 6396-6401 (2001).
- 16) Fujimoto, Y. et al. Intratumoral injection of herpes simplex virus HF10 in recurrent head and neck squamous cell carcinoma. *Acta Otolaryngol.* 126: 1115-1117 (2006).
- 17) Kimata, H. et al. Pilot study of oncolytic viral therapy using mutant herpes simplex virus (HF10) against recurrent metastatic breast cancer. *Ann. Surg. Oncol.* 13: 1078-1084 (2006).

- 18) Nishiyama, Y. Herpes simplex virus gene products: the accessories reflect her lifestyle well. *Rev. Med. Virol.* 1-14 (2004).
- 19) Nishiyama, Y. et al. Function of herpes simplex virus gene products. *Virus*, 51: 29-36 (2001).
- 20) Wald, A. & Corely, L. Persistence in the population: epidemiology, transmission. In *Human Herpesviruses*. Arvin A. et al. eds., pp656-671, Cambridge University Press, Cambridge (2007).
- 21) Mori, I. et al. Olfactory transmission of neurotropic viruses. *J Neurovirol.* 11: 129-137 (2005).
- 22) Longa, C.S. et al. Human herpesvirus 1 in wild marmosets, Brazil, 2008. *Emerg. Infect. Dis.* 17:1308-10 (2011).
- 23) Wohlsein, P. et al. Spontaneous human herpes virus type 1 infection in a chinchilla (*Chinchilla lanigera* f. dom.). *Acta Neuropathol.* 104:674-8 (2002).
- 24) Weissenbock, H. et al. Naturally occurring herpes simplex encephalitis in a domestic rabbit (*Oryctolagus cuniculus*). *Vet. Pathol.* 34:44-7 (1997).
- 25) Assar, S.K. & Block, S.S. Survival of Microorganisms in the Environment. In *Disinfection, Sterilization, and Preservation*. 5th edn Block S. ed., pp1221-1242, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia (2001).
- 26) Croughan, W.S & Behbehani, A.M. Comparative study of inactivation of herpes simplex virus types 1 and 2 by commonly used antiseptic agents. *J Clin. Microbiol.* 26:213-5 (1988).
- 27) Jerome, K.R. & Morrow, R.A. Herpes simplex viruses and Herpes B virus. In: Murray P (ed). *Manual of Clinical Microbiology*. 9th ed. Washington (DC): ASM Press; p1530-1544 (2011).
- 28) [REDACTED]
- 29) [REDACTED]
- 30) [REDACTED]
- 31) [REDACTED]
- 32) [REDACTED]