

第一種使用規程承認申請書

令和 7 年 6 月 17 日

厚生労働大臣 殿

環 境 大 臣 殿

氏名 東京大学医科学研究所附属病院
 申請者 病院長 朴 成和
 住所 東京都港区白金台 4 丁目 6 番 1 号

第一種使用規程について承認を受けたいので、遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律第 4 条第 2 項（同法第 9 条第 4 項において準用する場合を含む。）の規定により、次のとおり申請します。

遺伝子組換え生物等の種類の名称	抗ヒト VEGF 抗体発現遺伝子及び大腸菌 <i>lacZ</i> 遺伝子を発現し、 γ 34.5 遺伝子・ <i>UL39</i> 遺伝子・ α 47 遺伝子を不活化された遺伝子組換えヒト単純ヘルペスウイルス 1 型 (F 株由来) (T-BV)
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) T-BV の原液は、容器に密封された状態で遺伝子組換え生物である旨を表示し、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原液の希釈液の調製及び保管</p> <p>(2) T-BV の原液の希釈液の調製は、治療施設の他の区画と明確に区別された作業室内でエアロゾルの飛散を最小限に留める方策を講じて行い、作業室内での本遺伝子組換え生物等の拡散を最小限に留める。</p> <p>(3) 希釈液は、容器に入れ、漏出しない状態で保管する。</p> <p>運搬</p> <p>(4) T-BV 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) T-BV 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、患者の腫瘍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) T-BV の投与後、排出等の管理が不要となるまでの期間、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。</p> <p>(7) 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</p>

	<p>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>(8) 投与された本遺伝子組換え生物等の排出等の挙動が明らかになるまで、本遺伝子組換え生物等の排出等の検査を経時的に実施する。</p> <p>(9) 遺伝子組換え生物等の予期しない増殖又は伝播が疑われた場合には、血液、体液、分泌液又は排泄物等に対する本遺伝子組換え生物等の有無を確認するために必要な検査を行う。</p> <p>患者検体の取扱い</p> <p>(10) 患者から採取した検体は、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>(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。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>(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。</p> <p>感染性廃棄物等の処理</p> <p>(13) T-BV 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。</p> <p>(14) T-BV の原液の希釈液並びに本遺伝子組換え生物等が付着した可能性のある機器及び器材の廃棄は、医療廃棄物管理規程に従って行う。再利用する機器及び器材にあつては、不活化処理を行い、十分に洗浄する。</p> <p>(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うえ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>(16) T-BV の原液の希釈液、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、T-BV の原液の希釈液及び検体は漏出しない容器に入れ、本遺伝子組換え生物等が付着した可能性のある機器及び器材は、二重袋等に厳重に封じ込めた状態で、感染性廃棄物処理業者へ運搬し、感染性廃棄物として廃棄する。</p>
--	---

	<p>(17) 治療施設外で保管された未開封の T-BV を廃棄する場合は、密封された状態で高温滅菌処理、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

単純ヘルペスウイルスはヘルペスウイルス科アルファヘルペスウイルス亜科に分類されている。これまでに分離されたウイルスは、I型（HSV-1）とII型（HSV-2）の二つであり（文献1）、T-BVの親株であるG47Δは単純ヘルペスウイルスI型（HSV-1）から作製された（文献2）。

ヒトにおいてのHSV-1の初感染は通常小児期に起こり、無症候性であることが多い。HSV-1に対する中和抗体の保有率は成人で7-8割程度である（文献1）。HSV-1の感染は種特異的であり、自然環境においては本来の宿主であるヒト以外での複製は報告されていない。実験室内では、一部の系統のマウス、ラット、ハムスター、ウサギ、またはサルには注射等による接種により感染させることができ、それらを用いてワクチンや遺伝子組換えHSV-1の安全性評価などの感染実験が報告されている（文献3-5）。また、ペット等として飼育されている動物（ウサギ、マーモセット、チンチラ）にまれにヒトからの接触感染が起こることが報告されている（文献6-8）。

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).

文献2：Todo, T. *et al.* Oncolytic herpes simplex virus vector with enhanced MHC class I presentation and tumor cell killing. *Proc Natl Acad Sci USA* 98: 6396-6401 (2001).

文献3：Lopez, C. Genetics of natural resistance to herpesvirus infections in mice. *Nature* 258: 152-153(1975)

文献4：Barahona, H. *et al.*, The owl monkey (*Aotus trivirgatus*) as an animal model for viral diseases and oncologic studies. *Lab Anim Sci.* 6: 1104-1112 (1976).

文献5：Deisboeck, T. S. *et al.* Development of a novel non-human primate model for preclinical gene vector safety studies. Determining the effects of intracerebral HSV-1 inoculation in the common marmoset: a comparative study. *Gene Ther.* 15: 1225-1233 (2003).

文献6：Grest, P. *et al.* Herpes simplex encephalitis in a domestic rabbit (*Oryctolagus cuniculus*). *J Comp Pathol* 126: 308-311.2002.

文献7：Huemer, H.P. *et al.* Fatal infection of a pet monkey with Human herpesvirus. *Emerg Infect Dis* 8: 639-642.2002.

文献8：Lefaux, B. *et al.* Nonhuman primates might be highly susceptible to cross-species infectivity by human alpha-herpesviruses. *Vet Pathol* 41: 302-304.2004.

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。）

HSV-1を生ワクチンとして臨床に試みた報告としては、複製可能型遺伝子組換えHSV-1であるR7020が存在する（文献9-11）。その後、欧米ではHSV-1由来の遺伝子組換えウイルスの開発が進み、米国では悪性黒色腫に対する治療用ウイルス製剤talimogene laherparepvec（T-VEC）が世界初のがん治療用ウイルス製剤として2015年にFDAの承認を受けた（文献12）。国内においては、自然変異型あるいは遺伝子組換え型HSV-1を用いたウイルス療法の臨床開発が進められ、特に東京大学医科学研究所附属病院において、膠芽腫に対する遺伝子組換えウイルスG47Δの医師主導治験が実施されてきた。その成果により、G47Δは2021年、悪性神経膠腫を対象とした治療用ウイルス（再生医療等製品）として、我が国において製造販売承認（条件及び期限付）を取得した（文献13, 14）。さらに、G47Δの基本骨格に外来遺伝子を挿入して作製された機能付加型のがん治療用HSV-1の開発が進展しており、T-BVはその一例である。ヒトインターロイキン12を発現するT-hIL12については悪性黒色腫を対象に第Ⅰ／Ⅱ相医師主導治験が実施されている（jRCT2033190086）（文献15）。自然変異型の弱毒HSV-1であるHF-10も、悪性黒色腫などを対象に治験が行われた（文献16, 17）。

文献9：Martuza RL, Malick A, Markert JM, et al. Experimental therapy of human glioma by means of a genetically engineered virus mutant. *Science*. 1991;252(5007):854–856.

文献10：Hunter WD, Martuza RL, Feigenbaum F, et al. Attenuated, replication-competent herpes simplex virus type 1 mutant for the treatment of malignant gliomas. *J Neurosurg*. 1999;91(5):796–802.

文献11：Advani SJ, et al. A novel herpes simplex virus type 1 (R7020) for the treatment of cancer. *Cancer Res*. 1999;59(9):2055–8.

文献12：Andtbacka RHI, Kaufman HL, Collichio F, et al. Talimogene laherparepvec improves durable response rate in patients with advanced melanoma. *J Clin Oncol*. 2015;33(25):2780–2788.

文献13：Todo T, Ino T, Ohtsu H, et al. A phase I/II study of triple-mutated oncolytic herpes virus G47 Δ in patients with progressive glioblastoma. *Nat. Commun*. 2022;13(1):4119. doi: 10.1038/s41467-022-31262-y.

文献14：Todo T, Ito H, Ino Y, et al. Intratumoral oncolytic herpes virus G47Δ for residual or recurrent glioblastoma: a phase 2 trial. *Nat Med*. 2022;28:1630–1639.

文献15：Fukuhara H, Ino Y, Todo T. Oncolytic virus therapy: A new era of cancer treatment at dawn. *Cancer Sci*. 2016;107(10):1373–1379. doi:10.1111/cas.13027

文献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.

文献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.

3. 生理学的及び生態学的特性

(1) 基本的特性

単純ヘルペスウイルスはエンベロープを有し、成熟粒子は100-150 nmの大きさである。エンベロープの内側にテグメント、更にその内側にカプシドがあり、カプシド内にウイルスDNAが存在する。ゲノムは約152kbの2本鎖DNAである。ゲノム構造及びゲノムの塩基配列に関しては別紙1に記載する（文献1）。

(2) 生育又は生育可能な環境の条件

ヒトに感染し、増殖する。培養細胞では、ヒトの細胞およびVero細胞などの哺乳動物由来の一部の細胞で効率よく増殖する。粘膜表面の直接の接触による感染を主な感染経路とし、外界および室温では不安定である。飛沫感染は起こらない。ウイルスの感染機構（感染受容体、細胞内侵入経路、増殖機構、細胞外への排出、潜伏機構、野生型ウイルスで認められるmultiplicity reactivation等）の概要については別紙2に記載する（文献1, 18）。

(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は、ヒトの粘膜表面（通常は口腔咽頭）への直接の接触により感染する。接触感染以外の感染形式はない。感染した局所で複製した後、神経末端から感覚神経節（しばしば三叉神経節）にウイルスは移送され、潜伏感染（latency）を確立する。潜伏感染においてはウイルスの複製は行われず、別の宿主への感染性を有しない。潜伏感染から再活性化（reactivation）が起きると、ウイルスは皮膚粘膜（通常は口唇）で顕在化し、水疱を形成する（文献19）。潜伏感染の再燃などに際してウイルスはまれに脳炎を発症する。そのウイルス侵入経路については三叉神経説と嗅神経説がある（文献20）。

(5) 病原性

HSV-1は口唇ヘルペスの原因ウイルスで、初期感染は一般に軽症あるいは無症状である。再活性化時に口唇に水疱を形成する。まれに、角膜炎や脳炎を起こす。ヘルペス脳炎の発生は日本の調査では年間100万人に2.9人（文献21）、欧米では年間20万人に1人（文献19, 22）である。発癌性はない。免疫不全や新生児など特殊な条件を除くと、HSV-1はウイルス血症を生じることがなく、初期感染後全身に分布しない（文献23）。

ペット等として飼育されている動物（ウサギ、マーモセット、チンチラ）に、まれにヒトからの接触感染が起こり発病する場合があることが報告されている。

(6) 有害物質の産生性

HSV-1の感染で細胞内に産生されるタンパク質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。）

γ 34.5遺伝子は、HSV-1の病原性に深く関与しており、宿主細胞がウイルス感染時に誘導するタンパク質合成停止の仕組み、すなわち真核生物翻訳開始因子2 α (eukaryotic initiation factor 2 α : eIF2 α) のリン酸化を抑制する機能を持つ。この機構は、宿主のプロテインキナーゼ R (Protein Kinase R : PKR) 経路の抑制によって実現され、ウイルスのタンパク質合成と複製を継続させる。また、 γ 34.5は自食作用（オートファジー）を制御するBeclin-1と相互作用することで、感染細胞の死滅を防ぎ、ウイルスの生存に有利な環境を作り出す。

$UL39$ 遺伝子は、ウイルス由来のリボヌクレオチドレダクターゼ (ribonucleotide reductase) の大サブユニットをコードしており、ヌクレオチドの合成に関与する。この酵素は細胞周期が停止している非分裂細胞、特に神経細胞のような低増殖性細胞においてもデオキシヌクレオシド三リン酸 (deoxynucleoside triphosphates : dNTPs) の供給を可能にし、ウイルス複製を支える。

$\alpha 47$ 遺伝子は、ウイルス感染細胞が宿主の免疫監視から逃れるための機構に関与している。具体的には、主要組織適合抗原クラスI (Major Histocompatibility Complex class I : MHC-I) 分子の細胞表面発現を抑制することで、細胞傷害性Tリンパ球 (Cytotoxic T Lymphocyte : CTL) による認識と排除を回避する。この作用は、抗原処理過程において中心的役割を果たすヒト抗原ペプチド輸送体 (Transporter associated with Antigen Processing : TAP) の機能を妨害することにより生じる。

HSV-1はエンベロープを有するウイルスで、エンベロープが破壊・変性すると容易に感染性を失う。宿主から離れると環境中では2時間で死滅する（文献25）。Biosafety上、消毒薬 (chemical disinfectants) に対する感受性の点でlipid virusesに分類され、微生物の中で消毒薬に対する感受性が最も高い（文献24）。HSV-1を速やかに不活化する消毒薬 (chemical disinfectants) は以下のものを含む：70%イソプロパノール、70-90%エタノール、塩素系漂白剤（例えば0.2%次亜塩素酸ナトリウムなど）、ヨード溶液、グルタルアルデヒド、ホルマリン、10%ポビドンヨードなどがあり、またHSV-1は0.5~0.1% グルコン酸クロルヘキシジン、0.2~0.05% 塩化ベンザルコニウムに対して感受性がある（文献24, 26-30）。物理的不活法 (physical inactivation) として、HSV-1は[]加熱や紫外線照射 []で速やかに感染性を失う。

文献18 : Muylaert, I. *et al.* Contributions of nucleotide excision repair, DNA polymerase η , and

homologous recombination to replication of UV-irradiated herpes simplex virus type 1. J Biol Chem 285: 13761-13768.2010.

- 文献19 : Wald, A. *et al.* Persistence in the population: epidemiology, transmission. In *Human Herpesviruses*. Arvin A. *et al.* eds., pp656-671, Cambridge University Press, Cambridge (2007)
- 文献20 : Mori, I. *et al.* Olfactory transmission of neurotropic viruses. J Neurovirol 11: 129-137 (2005).
- 文献21 : Kamei, S. *et al.* Nationwide survey of the annual prevalence of viral and other neurological infections in Japanese inpatients. Intern Med 39: 894-900 (2000).
- 文献22 : Whitley, R. *et al.* Herpes simplex virus infections of the central nervous system: therapeutic and diagnostic considerations. Clin Infect Dis 20: 414-420 (1995)
- 文献23 : Harel, L. *et al.* Presence of viremia in patients with primary herpetic gingivostomatitis. Clin Infect Dis 39: 636-640.2004.)
- 文献24 : Biosafety Manual: Lawrence Berkeley National Laboratory
(<http://www2.lbl.gov/ehs/biosafety/manual/assets/docs/BIOSAFETY-MANUAL-FINAL-5-20.pdf>).
- 文献25 : Assar, S. *et al.* Survival of Microorganisms in the Environment. In *Disinfection, Sterilization, and Preservation*. 5th edn Block S. ed., pp1221-1242, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia (2001)
- 文献26 : Croughan, W. *et al.* Comparative study of inactivation of herpes simplex virus types 1 and 2 by commonly used antiseptic agents. J Clin Microbiol 26: 213-215 (1988)
- 文献27 : Material safety data sheet- infectious substances: Public health agency of Canada
(<http://www.phac-aspc.gc.ca/lab-bio/res/psds-ftss/herpes-eng.php>)
- 文献28 : Centers for Disease Control and Prevention ed., Guideline for hand hygiene in health-care settings: Morbidity and mortality weekly report (MMWR) 51 (2002)
- 文献29 : 大久保 憲 監修、消毒薬テキスト 新版 : 協和企画 (2005)
- 文献30 : 川名林治 他 : ポビドンヨード(PVP-I)によるウイルスの不活化に関する研究—市販の消毒剤との比較 臨床とウイルス 26: 371-386 (1998)

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

宿主は野生株ウイルス（HSV-1 F株）である。外来遺伝子としては ①ヒト血管内皮成長因子（VEGF）に対する [REDACTED] cDNA ②大腸菌（略称 E. coli）由来の*lacZ*遺伝子のcDNA を有する。構成の詳細は別紙3に、供与核酸の塩基配列は別紙4に、抗ヒトVEGF抗体発現遺伝子に対応するアミノ酸配列は別紙5に記載する。

(2) 構成要素の機能

導入された [REDACTED]、T-BVに感染した細胞において [REDACTED] 発現される。発現される抗体は、血管新生因子であるVEGFに対する中和活性を有し、腫瘍局所における血管透過性の抑制や浮腫の抑制を介して、腫瘍環境を制御する作用を示す。VEGF阻害により、抗腫瘍効果の増強、特に脳腫瘍においては浮腫形成の抑制による治療安全性の向上が期待される。なお、本抗体は [REDACTED] [REDACTED] その毒性はすでに臨床的に確認されている。また、抗ヒトVEGF抗体は病原性や毒素産生性に関与しておらず、本供与核酸の導入によりT-BVの感染性が野生型HSV-1から変化することはないと考えられる。

導入された*lacZ*遺伝子は宿主 [REDACTED] [REDACTED] 発現される。 β -ガラクトシダーゼ [REDACTED] は酵素活性を保持し、基質X-galを加水分解し青色の沈殿物とする。大腸菌 β -ガラクトシダーゼは、形質転換した大腸菌やベクター感染細胞のマーカーとして用いられ、それらにX-galを加えて識別する方法は一般に広く用いられている。本酵素は大腸菌（*Escherichia coli*）をはじめとする真正細菌において乳糖を加水分解してグルコースおよびガラクトースを生成する糖代謝酵素として自然界に存在し、栄養源の利用に関与するものである。その生理的機能は代謝活性に限られており、病原性や毒素産生性には関与していない。また、同酵素は長年にわたり分子生物学的研究や遺伝子導入実験において使用されているが、これまでにヒトを含む高等動物に対する毒性や有害性が報告された例はない。したがって、この供与核酸の導入の結果生じる β -ガラクトシダーゼ [REDACTED] によって、T-BVの感染性が野生型HSV-1から変化することはないと考えられる。

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

(1) 宿主内に移入された核酸全体の構成

HSV-1の [REDACTED] の欠失が加えられており、本来の [REDACTED] は発現されない。その部位に*lacZ* cDNAと抗ヒトVEGF抗体発現カセットが挿入されている。また、宿主HSV-1の γ 34.5遺伝子 [REDACTED] 欠失しており、また、 α 47遺伝子 [REDACTED] も欠失している（別紙4）。

(2) 宿主内に移入された核酸の移入方法

HSV-1 [REDACTED] から γ 34.5遺伝子領域の [REDACTED] を欠失させたものを得た。これとHSV-1 [REDACTED] との [REDACTED] 組換えにより、 γ 34.5遺伝子部位に [REDACTED] 欠失を有するHSV-1（R3616）を得た。

次に、HSV-1 [REDACTED]

[REDACTED]
[REDACTED] これと、上述のR3616との [REDACTED] 組換えにより、 γ 34.5遺伝子部位の欠失と U_L 39遺伝子部位への*lacZ*遺伝子挿入を有するHSV-1（G207）を得た（文献31）。

次に、HSV-1 [REDACTED]

[REDACTED]
[REDACTED] これと上述のG207との [REDACTED] 組換えにより、 γ 34.5遺伝子部位の欠失、 U_L 39遺伝子部位への*lacZ*遺伝子挿入、及び α 47遺伝子部位の欠失を有するHSV-1（G47 Δ ）を得た（別紙3；文献17, 32）。

T-BACは [REDACTED] を基本骨格とし、 [REDACTED] 耐性遺伝子を有している。 [REDACTED]

[REDACTED]
[REDACTED]

と、G47 Δ のDNAとの [REDACTED] 組み換えによりT-BACを得た。

SV-01は [REDACTED] を基本骨格とし [REDACTED] 耐性遺伝子、 [REDACTED]

[REDACTED]
[REDACTED]
[REDACTED] 配列を持つ。CMVプロモーターと*lacZ*は

抗VEGF抗体（ベバシズマブと同一配列）発現遺伝子のcDNAは、
部位に挿入され、Bev/SV-01が構築された。T-BACと
Bev/SV-01との間で
を行い、T-BAC/Bev/SV-01を得た。その後、
によりベクター由来の不要配列（例：薬剤耐性遺伝子など）を除去し、最終的にT-BVが得られた。

(3) 遺伝子組換え生物等の育成の経過

[illegible]

文献 32 : Johnson, P. *et al.* Improved cell survival by the reduction of immediate-early gene expression in

replication-defective mutants of herpes simplex virus type 1 but not by mutation of the virion host shutoff function. J Virol 68 : 6347-6362 (1994).

文献33 : Fukuhara, H. *et al.* Triple gene-deleted oncolytic herpes simplex virus vector double-armed with interleukin 18 and soluble B7-1 constructed by bacterial artificial chromosome-mediated system. Cancer Res 65: 10663-10668.2005.

文献34 : Kuroda, T. *et al.* Flip-Flop HSV-BAC: bacterial artificial chromosome based system for rapid generation of recombinant herpes simplex virus vectors using two independent site-specific recombinases. BMC Biotechnol 6: 40.2006.

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

移入及び欠失させた核酸はHSV-1の2本鎖DNAゲノムの一部として存在し、保管中は安定である。T-BVが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。

T-BVが細胞に感染すると、T-BVのゲノムは核内の染色体外に存在し、感受性を有する培養増殖細胞 [REDACTED] もしくはヒト体内では腫瘍細胞に限ってウイルス複製が起こる（「6. 宿主又は宿主の属する分類学上の種との相違」の項に詳述）。感染細胞内で [REDACTED] 抗ヒトVEGF抗体と大腸菌β-ガラクトシダーゼが発現される。

T-BVはHSV-1ゲノムの互いに離れた4箇所（3つの遺伝子）に欠失を生じる操作が加えられているため、組換えにより自然に野生型のHSV-1に復する可能性はきわめて低い。 [REDACTED]

[REDACTED]
[REDACTED]
[REDACTED]
[REDACTED]
[REDACTED]
[REDACTED]
[REDACTED]
[REDACTED]
[REDACTED]

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 >

T-BVは野生型のHSV-1に存在しない*lacZ*遺伝子を含むので、挿入された*lacZ*遺伝子と隣接するHSV-1の [REDACTED] PCRで [REDACTED]（文献35）。 [REDACTED]

[REDACTED] また、感染細胞のX-gal染色を行うことによっても、T-BV（青色に染色）と野生型HSV-1（染色されない）を区別することができる。 [REDACTED]

<臨床試験>

PCR法による検出の信頼性については、同様の定量的PCR法を用いたウイルス検出法がすでにG207（二重変異遺伝子組換えHSV-1）の臨床試験で用いられており、XXXXXXXXXX
XXXXXXXXXX 信頼性が確立している（文献37, 38）。

- 文献35 : Todo, T. *et al*. Viral shedding and biodistribution of G207, a multimutated, conditionally replicating herpes simplex virus type 1, after intracerebral inoculation in aotus. *Mol Ther* 2: 588-595 (2000).
- 文献36 : Carew, J. *et al* .Selective infection and cytolysis of human head and neck squamous cell carcinoma with sparing of normal mucosa by a cytotoxic herpes simplex virus type 1 (G207). *Hum Gene Ther*. 10: 1599-1606, 1999
- 文献37 : 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.
- 文献 38 : DeBiasi, R. *et al*. Use of PCR for the diagnosis of herpes virus infections of the central nervous system. *J Clin Virol*. 25: S5-11 (2002)

6. 宿主又は宿主の属する分類学上の種との相違

T-BVはウイルスゲノムに遺伝子操作が加えられた遺伝子組み換えHSV-1であり、*UL39*、 $\gamma34.5$ 、 $\alpha47$ の領域にコードされているウイルス蛋白質を発現できない。*UL39*遺伝子

(ribonucleotide reductase (RR)の大サブユニットをコードする) および $\gamma34.5$ 遺伝子はともに正常細胞でのウイルス複製に必要な遺伝子であり、これらを欠失したウイルスは腫瘍細胞でのみ複製が可能となる。

$\gamma34.5$ はHSV-1の病原性に関連した遺伝子で、これを欠失させた変異株は正常細胞でのウイルス複製能が著しく減弱することが判明している(文献39)。正常細胞ではウイルス感染が起こると二本鎖RNA依存性プロテインキナーゼ(double stranded RNA-activated protein kinase: PKR)がリン酸化され、それが翻訳開始因子eIF-2aをリン酸化し、その結果ウイルス蛋白を含む細胞内での蛋白合成が遮断される。 $\gamma34.5$ 遺伝子産物はリン酸化PKRに拮抗してウイルス蛋白の合成を可能にするが、 $\gamma34.5$ 遺伝子欠失HSV-1は正常細胞では複製を行えない。しかし、正常細胞とは異なり、腫瘍細胞では普遍的にPKRのリン酸化が低いため、 $\gamma34.5$ 遺伝子欠失のHSV-1でも複製可能となると考えられている(文献40)。

RRはウイルスDNA合成に必要な酵素であるが、この遺伝子を不活化すると、ウイルスは非分裂細胞では複製できず、分裂が盛んでRR活性の上昇した細胞でのみウイルスの欠落酵素が補われてウイルス複製が可能となる(文献41)。

一方、 $\alpha47$ 遺伝子を欠失したウイルスは感染細胞でのtransporter associated with antigen presentation (TAP)に拮抗する機能を失うため、感染細胞のMHCクラスIの発現が維持され、免疫系による認識を促進する。同時にゲノム上で重複して位置する*UL11*遺伝子の発現を早めることで、 $\gamma34.5$ 欠失ウイルスの減弱した複製能力を腫瘍細胞において選択的に回復させる(文献17, 31, 42)。

*UL39*領域には抗ヒトVEGF抗体発現cDNAと大腸菌*lacZ* 遺伝子cDNAが挿入されており、T-BVの感染した細胞内で██████に発現される。

T-BVはVero細胞内では複製するが、T-BVの複製能力は親株(F株)に比較すると減弱している。

T-BVの感染性は野生型HSV-1と同じであり、ヒトを宿主とする。ヒトや動植物等への感染性、感染様式など、生物多様性に影響を与える性質は野生型HSV-1と同等であると考えられる。腫瘍細胞でのみウイルス複製が可能であることから、自然界では伝搬・複製し得ない。

文献39 : Chou, J. *et al.* Mapping of herpes simplex virus-1 neurovirulence to $\gamma134.5$, a gene nonessential for growth in culture. *Science* 250: 1262-1266 (1990)

文献40 : Farassati, F. *et al.* Oncogenes in Ras signalling pathway dictate host-cell permissiveness to herpes simplex virus 1. *Nat Cell Biol* 3: 745-750 (2001)

文献41 : Goldstein, D.J. *et al.* Factor(s) present in herpes simplex virus type 1-infected cells can

compensate for the loss of the large subunit of the viral ribonucleotide reductase:

characterization of an ICP6 deletion mutant Virology 166: 41-51 (1988)

文献42 : Cassady, K. *et al.* The second-site mutation in the herpes simplex virus recombinants lacking the γ_1 34.5 genes precludes shutoff of protein synthesis by blocking the phosphorylation of eIF-2 α . J Virol. 72: 7005-7011 (1998).

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

本遺伝子組換え生物等の原液の保管

- (1) T-BV の原液は、容器に密封された状態で遺伝子組換え生物である旨を表示し、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原液の希釈液の調製及び保管

- (2) T-BV の原液の希釈液の調製は、治療施設の他の区画と明確に区別された作業室内でエアロゾルの飛散を最小限に留める方策を講じて行い、作業室内での本遺伝子組換え生物等の拡散を最小限に留める。
- (3) 希釈液は、容器に入れ、漏出しない状態で保管する。

運搬

- (4) T-BV 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) T-BV 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、患者の腫瘍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) T-BV の投与後、排出等の管理が不要となるまでの期間、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。
- (7) 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。
- (8) 投与された本遺伝子組換え生物等の排出等の挙動が明らかになるまで、本遺伝子組換え生物等の排出等の検査を経時的に実施する。
- (9) 遺伝子組換え生物等の予期しない増殖又は伝播が疑われた場合には、血液、体液、分泌液又は排泄物等に対する本遺伝子組換え生物等の有無を確認するために必要な検査を行う。

患者検体の取扱い

- (10) 患者から採取した検体は、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。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。
- (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) T-BV 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) T-BV の原液の希釈液並びに本遺伝子組換え生物等が付着した可能性のある機器及び器材の廃棄は、医療廃棄物管理規程に従って行う。再利用する機器及び器材にあつては、不活化処理を行い、十分に洗浄する。
- (15) 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うえ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) T-BV の原液の希釈液、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、T-BV の原液の希釈液及び検体は漏出しない容器に入れ、本遺伝子組換え生物等が付着した可能性のある機器及び器材は、二重袋等に厳重に封じ込めた状態で、感染性廃棄物処理業者へ運搬し、感染性廃棄物として廃棄する。
- (17) 治療施設外で保管された未開封の T-BV を廃棄する場合は、密封された状態で高温滅菌処理、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

T-BVはG47Δと同じ基本骨格を持ち、その体外排出についてはG47Δと同様と予想される。

G47Δに関してはその脳腫瘍内投与後の体外排出に関する臨床データを

。T-BVの使用においても 情報収集を行う（別紙

9)。

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

第一種使用規程の内容に従って使用等を行う限り、生物多様性影響が生じるおそれはなく、生物多様性影響を防止するための追加措置は行わない。T-BVは、HSV-TK遺伝子を保持しているため、アシクロビル等の抗ウイルス薬に対する感受性を有しており、ヒトへ感染した際には抗ウイルス薬投与によって制御できる。

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 >

HSV-1に感受性のあるサル (*Aotus nancymae*) に、G207 (G207は二重変異を有する遺伝子組換えHSV-1である。G207を基にG47Δは作製され、T-BVはG47Δを基に作製された。) を脳内に定量的に投与した非臨床試験において、野生型HSV-1 (F株) は 1×10^3 pfuで脳炎を生じ投与後5日で死亡させたが、G207は 10^9 pfuでも毒性を示さなかった (文献10, 33)。G207の脳内投与後 (3×10^7 pfu)、1, 3, 7, 10, 14, 21, 31日めに唾液、涙、膺分泌液を採取し、ウイルス排出の有無が検証されたが、いずれの検体からも感染性ウイルス及びG207のDNAは検出されなかった (文献35)。G207の脳内投与1ヶ月後 (3×10^7 pfu) もしくは2年後 (10^9 pfu) の解剖で採取した全身の組織検体からのPCRによるDNA残存の検索では、G207のDNAが中枢神経系(注入部位、同側の前頭葉、側頭葉、頭頂葉、脳幹、及び対側の前頭葉)に局限して検出された。

BALB/cマウスにLD₅₀量の野生型HSV-1の脳内投与を行い、生き延びてHSV-1の潜伏感染を確立したマウスに、G207 (1×10^7 pfu)を脳内投与しても潜在HSV-1の再活性化を誘発しなかった (文献43)。T-BVに関連する事項は別紙11に記載する。A/Jマウスの脳内にT-BV (5×10^6 pfu)を単回投与し、投与後24時間および48時間に主要臓器 (脳、肺、心臓、肝臓、腎臓、筋、血液、生殖器) を摘出して定量PCRによりウイルスDNAの分布を評価した結果、脳以外の臓器からはT-BV DNAは検出されず、脳に局限して検出された。これにより、T-BVの体内分布は局所に限られ、全身性の拡散が起きないことが示唆された。

< 臨床試験 >

T-BVは3つのウイルス遺伝子を変異させた遺伝子組換えHSV-1であり、その基本骨格はG47Δと同じである。G47Δは、膠芽腫に対するウイルス療法臨床試験として、東京大学においてヒトに対し使用されている。

2009年には米国アラバマ大学バーミングハム校から G207 第 Ib 相試験の結果が報告された（文献 37）。再発膠芽腫の患者 6 名に対し、 1.5×10^8 pfu の G207 を定位的に腫瘍内に投与した後、開頭手術にて投与部を含めた腫瘍切除と、摘出腔壁への 1×10^9 pfu の G207 注入を行なった。有害事象や腫瘍の画像変化の評価に加え、摘出組織内での G207 複製などが検討された。G207 投与後 24 時間、72 時間、7 日、1 ヶ月、3 ヶ月、6 ヶ月、9 ヶ月、1 年の各時点で患者の血液、唾液、尿、及び結膜スワブが採取され、ウイルス排出の有無が検証されたが、いずれの検体からも G207 の DNA は検出されなかった。

2014 年に同じく米国アラバマ大学バーミングハム校から報告された放射線治療併用 G207 第 I 相試験では、9 例の再発悪性神経膠腫に対し 1×10^9 pfu の G207 の腫瘍内投与と放射線局所照射（5Gy、1 回照射）が行われた。G207 投与後 2 日、4 日、28 日、3 ヶ月、6 ヶ月の各時点で患者の血液と唾液が採取され、ウイルス排出の有無が検証されたが、いずれの検体からも G207 の DNA は検出されなかった（文献 32）。

γ 34.5 遺伝子のみを欠失した第一世代遺伝子組換え HSV-1 の 1716 を用い、再発悪性グリオーマ患者 9 例を対象に英国で第 I 相臨床試験が行われた（文献 45）。1716 は定位脳手術により脳腫瘍内に単回投与され、 10^3 pfu から 10^5 pfu まで 3 例ずつ用量を増加した。投与後 2 日目、6 日目、その後 4 週後まで週 1 回、血清と口腔粘膜を採取しウイルス排出検査を行ったところ、感染性の HSV-1 はいずれの患者からも検出されなかった。またヘルペスウイルス感染症の皮膚症状も見られなかった。次に行われた proof of principle (POP) 試験では、再発悪性グリオーマ 12 例に対して定位脳手術により 10^5 pfu を脳腫瘍内に単回投与し、その 4-9 日後に腫瘍摘出を行ってウイルス複製の有無について解析した（文献 46）。2 例で、摘出腫瘍組織から感染性ウイルスが検出された。PCR では 10 例の投与部位から 1716 の DNA が検出された。1 例において、投与 5 日後（腫瘍摘出の翌日）の血清から HSV-1 の DNA が PCR で検出され、その後速やかに陰性化した。他の 11 例では一度も血清中から HSV-1 の DNA は検出されなかった。

Talimogene laherparepvec を用い、主に悪性黒色腫を対象に進行性固形腫瘍患者に対する臨床試験が行われた（文献 12, 44, 47, 48）。腫瘍内単回投与（ 10^6 、 10^7 、もしくは 10^8 pfu/mL）

（被験者 13 名）では、2 名の被験者の投与後 8 時間から 1 週間の血液と、2 名の被験者の投与後 8 時間から 1 週間の尿から、定量的 PCR により talimogene laherparepvec の DNA が検出された。反復 3 回投与（ 10^6 、 10^7 、もしくは 10^8 pfu/mL）（被験者 17 名）においては、8 名の被験者の投与後 1 時間から 8 時間の血液から talimogene laherparepvec の DNA が検出された。尿からはいずれの被験者からも talimogene laherparepvec の DNA は検出されなかった。投与部位のスワブからのプラークアッセイでは、単回投与を受けた被験者のうち 3 名から投与後最長 2 週間後まで感染能を有するウイルスが検出され、反復投与を受けた被験者うち 1 名から 1 回のみ感染能を有するウイルスが検出された。投与部位を覆ったドレッシング材の外側からは感染能を有するウイルスは検出されなかった。

国外におけるT-BVの使用実績はない。

- 文献45 : 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.
- 文献46 : 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.
- 文献47 : Hu, J.C. *et al.* A phase I study of OncoVEX^{GM-CSF}, a second-generation oncolytic herpes simplex virus expressing granulocyte macrophage colony-stimulating factor. *Clin Cancer Res* 12: 6737-6747.2006.
- 文献48 : 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.

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

T-BVの感染性は野生型HSV-1と同一と考えられ、微生物に感染するとの報告はない。また、T-BVは腫瘍細胞及び実験室内における一部の増殖中の培養正常細胞でのみウイルス複製が可能であることから、自然界では伝搬・複製し得ない。有害物質の産生もなく、競合や有害物質の産生により他の微生物を減少させることはないと考えられる。よって、影響を受ける可能性のある微生物は特定されなかった。

(2) 影響の具体的内容の評価

該当せず。

(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

よって、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おいて、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

T-BVの感染性は野生型HSV-1と同一と考えられるので、自然宿主はヒトのみである。さらに、腫瘍細胞でのみウイルス複製が可能であることから、自然界では伝搬・複製し得ない。なお、実験室内で用いられる一部の系統のマウス、ラット、ハムスター、ウサギ、またはサルは感受性があり、注射等による接種によりT-BVを感染させることができる。また、ペット等として飼育されている動物（ウサギ、マーモセット、チンチラ）は感受性があると推定され、注射等による接種を行えばT-BVを感染させることができると推定される。

(2) 影響の具体的内容の評価

T-BVは、G47Δを基本骨格とした遺伝子組換えHSV-1であり、HSV-1ゲノム上の $UL39$ 、 $\gamma34.5$ 、 $\alpha47$ の3つの遺伝子に欠失変異が加えられている。これらの改変により、T-BVはヒト正常組

織に対しては複製能を有さず、腫瘍細胞でのみウイルス複製が可能となっている。T-BVにはさらに、抗ヒトVEGF抗体発現cDNAおよび大腸菌由来lacZ遺伝子cDNAが供与核酸として挿入されており、これらはT-BVが感染した腫瘍細胞に導入され、XXXXXXXXXX 発現される。XXXXXXXXXX

XXXXXXXXXX T-BVから発現される抗ヒトVEGF抗体は腫瘍細胞で発現することから、XXXXXXXXXX 可能性が理論上は考えられる。抗体の糖鎖修飾はXXXXXXXXXXに由来し、その構造の違いによってXXXXXXXXXXに影響を与えることが知られている。しかしながら、これらは既知のXXXXXXXXXXに関わる修飾であり、既承認の抗VEGF抗体で認められていない新たな病原性や毒性を惹起することは想定されない。また、VEGFに対する中和能はXXXXXXXXXXに依存しており、XXXXXXXXXXの影響をほとんど受けないことから、抗原結合能が損なわれる可能性も極めて低い。さらに、T-BVによる抗体発現はXXXXXXXXXXのものであり、XXXXXXXXXX
XXXXXXXXXXことが示されている。したがって、XXXXXXXXXXの違いによって新たな病原性や毒性が生じる可能性は極めて低いと判断される。また、lacZ遺伝子から発現されるβ-ガラクトシダーゼXXXXXXXXXXも、人体に対して毒性や病原性を有しない。lacZ遺伝子を発現する第二世代複製型遺伝子組換えHSV-1であるG207が第I相臨床試験においてヒト脳腫瘍内に投与されており、XXXXXXXXXX lacZ遺伝子生成物の安全性が確認されている。

理論上は、ヒト体内に潜伏感染している野生型HSV-1との相同組換えにより、T-BVの欠失領域が補完されて一部の機能を有する復帰型HSV-1が生じる可能性も考えられる。しかし、T-BVに加えられた遺伝子変異は、HSV-1ゲノム上の離れた4箇所（3つの遺伝子）に位置しており、それら全てが自然条件下で同時に組換えを受けて病原性を回復する可能性は非常に低いと考えられる。これまでに、欧米における遺伝子組換えHSV-1を用いた複数の臨床試験が完了または進行中であり、また国内でも東京大学においてG47Δを用いた複数の臨床試験が行われているが、XXXXXXXXXX

XXXXXXXXXX（別紙10；文献12-14, 37, 45-50）。

（3）影響の生じやすさの評価

T-BVは投与されたヒトの腫瘍細胞に局限してウイルス複製を行い、ヒト正常組織に対しては病原性がない。さらに、自然界ではT-BVが伝搬・複製し得ないことから、当該第一種使用規程に従って使用等が行われる限り、T-BVが被験者以外の第三者や、（1）で特定された動物（ウサギ、マーモセット、チンチラ等）に感染し、病原性を示す可能性は非常に低いと判断さ

に加えられた遺伝子変異は、HSV-1ゲノム上の離れた4箇所（3つの遺伝子）に位置しており、それら全てが自然条件下で同時に組換えを受けて病原性を回復する可能性は非常に低いと考えられる。これまでに、欧米における遺伝子組換えHSV-1を用いた複数の臨床試験が完了または進行中であり、また国内でも東京大学においてG47Δを用いた複数の臨床試験が行われているが、

（別紙10；文献12-14, 37, 45-50）。

（3）影響の生じやすさの評価

T-BVは投与されたヒトの腫瘍細胞に局限してウイルス複製を行い、ヒト正常組織に対しては病原性がない。さらに、自然界ではT-BVが伝搬・複製し得ないことから、当該第一種使用規程に従って使用等が行われる限り、T-BVが被験者以外の第三者や、（1）で特定された動物（ウサギ、マーモセット、チンチラ等）に感染し、病原性を示す可能性は非常に低いと判断される。

T-BVによる抗体の発現は、
、非臨床試験の結果から、
と想定される。したがって、抗VEGF抗体による有害な影響が生じる可能性は極めて低いと判断される。

また、セカンドピークの可能性については、

と考えられる。さらに、HSV-1は アデノウイルスのように全身性の増殖動態に基づく

したがって、T-BV投与において
判断される。

よって、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多様性影響が生ずるおそれはないと判断される。

(1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定

(2) 影響の具体的内容の評価

通常の用法・用量においてはヒトに対して病原性や毒性を示さないことが確認されている。また、*lacZ*遺伝子から発現されるβ-ガラクトシダーゼも、人体に対して毒性や病原性を有しない。*lacZ*遺伝子を発現する第二世代複製型遺伝子組換えHSV-1であるG207が第I相臨床試験においてヒト脳腫瘍内に投与されており、安全性が確認されている。

理論上は、ヒト体内に潜伏感染している野生型HSV-1との相同組換えにより、T-BVの欠失領域が補完されて一部の機能を有する復帰型HSV-1が生じる可能性も考えられる。しかし、T-BVに加えられた遺伝子変異は、HSV-1ゲノム上の離れた4箇所（3つの遺伝子）に位置しており、それら全てが自然条件下で同時に組換えを受けて病原性を回復する可能性は非常に低いと考えられる。これまでに、欧米における遺伝子組換えHSV-1を用いた複数の臨床試験が完了または進行中であり、

(別紙10；文献12-14, 37, 45-50)。

(3) 影響の生じやすさの評価

T-BVは投与されたヒトの腫瘍細胞に局限してウイルス複製を行い、ヒト正常組織に対しては病原性がない。さらに、自然界ではT-BVが伝搬・複製し得ないことから、当該第一種使用規程に従って使用等が行われる限り、T-BVが被験者以外の第三者や、(1)で特定された動物（ウサギ、マーマセット、チンチラ等）に感染し、病原性を示す可能性は非常に低いと判断される。

(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断

よって、当該第一種使用規程に従って使用等を行うかぎり、核酸を水平伝達する性質に起因した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

T-BV が感染する動植物等の種類は、野生型 HSV-1 と同等であり、自然宿主はヒトに限定される。これまでの知見において、自然界に存在する他の哺乳動物、植物、あるいは微生物に感染・拡散するという報告はない。

T-BV に導入された抗ヒト VEGF 抗体遺伝子および大腸菌由来 *lacZ* 遺伝子の発現は、ヒト腫瘍細胞内で [REDACTED]、いずれの遺伝子産物も環境中における安定性や他生物への影響を及ぼすものではないと考えられる。

さらに、 [REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

加えて、T-BV は腫瘍細胞に対して選択的に複製するように設計されており、正常細胞での複製能を欠いている。別個体のヒトに対する水平感染の可能性は極めて低く、環境中におけるウイルスの自律的な拡散能力も限定的である。また、T-BV は HSV-1 ゲノム上の複数の異なる箇所 ($UL39$ 、 $\gamma34.5$ 、 $\alpha47$) に欠失または挿入変異を有しており、これらが自然界において再結合して野生型ウイルスへと復元される可能性も極めて低い。

したがって、第一種使用規程承認申請書に記載した遺伝子組換え生物等の第一種使用等の方法に従えば、T-BV 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。

生物多様性影響評価書別紙一覧

別紙 1 : HSV-1 のゲノム構造及びゲノムの塩基配列に関する情報

別紙 2 : HSV-1 の感染機構の概要

別紙 3 : T-BV の構成と作製方法

別紙 4 : 遺伝子改変領域の塩基配列

別紙 5 : 遺伝子改変領域のアミノ酸配列

別紙 7 : T-BV 製造のフローチャート

別紙 8 : 品質試験

別紙 9 : ウイルス排出試験の情報収集

別紙 10 : 臨床試験におけるウイルス排出検査

別紙 11 : T-BV 安全性試験概要