

第一種使用規程承認申請書

令和2年4月1日

厚生労働大臣 加藤 勝信 殿
環境大臣 小泉 進次郎 殿

氏名 鹿児島大学病院
申請者 病院長 坂本 泰二 印
住所 鹿児島県鹿児島市桜ヶ丘 8-35-1

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。

<p>遺伝子組換え生物等の種類の名称</p>	<p>サバイビンプロモーター制御下に E1A 遺伝子を発現し、CMV プロモーター制御下に E1B19K 遺伝子を発現するように E1 領域が改変された制限増殖型ヒトアデノウイルス 5 型 (Surv.m-CRA-1)</p>
<p>遺伝子組換え生物等の第一種使用等の内容</p>	<p>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</p>
<p>遺伝子組換え生物等の第一種使用等の方法</p>	<p>本遺伝子組換え生物等の原液の保管 (1) Surv.m-CRA-1 原液（以下「原液」という。）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、治療施設内の施錠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溶液の原液の希釈は、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防止す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、密封した状態で保管する。</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、密封した状態で行う。</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、患者の腫瘍内に（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。</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。</p>

遺伝子組換え生物等の
第一種使用等の方法

- (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、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。
- (9) 投与終了後、排出等の管理が不要となる期間、患者からの本遺伝子組換え生物等の伝播を最小限に留める対策を講じる。
- (10) 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、分泌物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

- (11) 患者から採取した検体（以下「検体」という。）は、治療施設その他の外部医療施設（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期間までに、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る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) 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。
- (15) 本遺伝子組換え生物等の原液の希釈液及び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。
- (16) 患者が自宅で用いたドレッシング材及び洗浄に用いた器材等は、厳重に密閉した状態で廃棄する。

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

ヒトアデノウイルスはアデノウイルス科マストアデノウイルス属に分類されている（文献1、2）。これまでに分離されたウイルスは、中和抗体を誘導する抗原性及びキャプシドタンパク質のアミノ酸配列の違いで、少なくとも57のタイプに分けられている（文献1、2及び別紙1）。がん細胞でサバイビンプロモーター制御下に増殖し細胞死を誘導する腫瘍選択的制限増殖型ウイルス（Surv.m-CRA-1）はヒトアデノウイルス5型（Adenovirus 5：Ad5）を宿主として作製された。

Ad5は4歳以下の乳幼児の多くに感染しており、咽頭及び糞便からウイルスが分離される（文献2）。Ad1、2、5、又は6型に対する中和抗体保有率は1～2歳齢では46.7～93.3%で、20歳齢までに100%に達している（文献3）。自然環境において、主としてヒトに感染し増殖する。実験室内では、コットンラット及びニュージーランドウサギへの経鼻接種でウイルス増殖が報告されている（文献1）。

文献1：Knipe DM & Howley PM (2013) Fields VIROLOGY sixth edition (Lippincott Williams & Wilkins) pp 1704-1767.

文献2：畑中正一 (1997) ウイルス学 (朝倉書店) pp 198-208.

文献3：水田克巳, など. (1999) 1997年の山形におけるアデノウイルス1-7型の血清疫学. 山形県衛生研究所報 32:5-7.

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。）

Ad5を生ワクチン等に使用した報告はない。Ad5に由来する組換えアデノウイルスが遺伝子治療で汎用されている。

3. 生理学的及び生態学的特性（文献1、2及び別紙1参照）

(1) 基本的特性

Ad5及びヒトアデノウイルスの生活環、自然宿主、生体内分布、排出、実験動物への感染性、病原性、潜伏感染の有無、造腫瘍性等に関する詳細は別紙1に記載した。

ウイルスキャプシドは直径約90 nmの正二十面体で、エンベロープはない。ゲノムは約36 kbpの2本鎖DNAである。

(2) 生育又は生育可能な環境の条件

ヒトやコットンラットに感染し、増殖する。培養細胞では、ヒト由来の細胞でのみ効率よく増殖する。サル由来培養細胞で低レベルの増殖が起こる。経口感染することから推定

されるように、室温で比較的安定である。

(3) 捕食性又は寄生性

自然界では、ヒトやコットンラット等でのみ増殖を伴う感染が起こる。

(4) 繁殖又は増殖の様式

Ad5 は主としてヒト等に経口感染し、感染細胞の核内では染色体外遺伝子として存在する。E1A、E1B、E2 及び E3 などの初期遺伝子の発現に続き、ウイルス DNA の複製及びウイルス粒子構成タンパク質の産生が起こり、ウイルス粒子が形成される。感染細胞の溶解に伴い、ウイルス粒子が放出される。

(5) 病原性

Ad5 の感染は不顕性に終わることが多いが、4 歳以下の乳幼児では急性熱性咽頭炎となる場合もある。いずれの場合も感染後に産生される中和抗体で再感染は阻止される。リンパ節に潜伏する例や小児の腸重積症に関わる可能性も指摘されている。

ヒトアデノウイルスの増殖サイクルに種特異性がある。Ad5 の感染実験においてはシリアンハムスター（ウイルス性肝炎、肺炎）、コットンラット（肺炎、結膜炎）、ニュージールランドホワイトウサギ（結膜炎、眼瞼炎、虹彩炎）に対する病原性が確認されている。

(6) 有害物質の産生性

Ad5 の感染で細胞内に産生される蛋白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）

物理的不活化法として Ad5 は 56℃、30 分の加熱で感染性を失う（文献 4）。アデノウイルスはエンベロープを持たないウイルスであり、消毒用エタノールの消毒効果はエンベロープを持つウイルスに比較すると弱く、逆性石鹼、イソプロパノールには抵抗性であるため、消毒薬としては次亜塩素酸ナトリウム、グルタールアルデヒドが推奨されている（文献 5、6）。

文献 4 : Bardell D (1976) A study of possible biohazards in the fluorescent antibody test using adenovirus, coxsackievirus, herpesvirus, and respiratory syncytial virus as antigens. *Journal of clinical microbiology* 4(4):322-325.

文献 5 : Rutala WA, Weber DJ, & the Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee (2008) *Guideline for Disinfection and Sterilization in Healthcare Facilities*.

文献 6 : 国立感染症研究所感染症情報センター (2003) 咽頭結膜熱 (IDWR 2003 年第 14 週号掲載) .

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

Surv.m-CRA-1 では、内因性の E1A プロモーターの代わりにマウスサバイビン遺伝子 (*Birc5*) プロモーター (以下、サバイビンプロモーター) が、また内因性の E1B プロモーターの代わりにヒトサイトメガロウイルス immediate early プロモーター (以下、CMV プロモーター) が挿入されている (別紙 2)。CMV プロモーターはプラスミド pRc/CMV (Invitrogen 社) から、PCR によりクローニングした (文献 7)。E1B19K 配列は、プラスミド pXC1 (Microbix Biosystems 社) から PCR によりクローニングした (文献 7)。BGHpA 配列は、ウシ成長ホルモン (bovine growth hormone) のポリ A 付加シグナル配列 (pA) であり、pRc/CMV プラスミドからクローニングした (文献 7)。

(2) 構成要素の機能

Surv.m-CRA-1 は、サバイビンプロモーターに依存して増殖し、癌細胞を選択的に破壊する。サバイビンは多くの癌細胞で強い発現が認められているため、癌細胞ではサバイビン遺伝子の発現制御を行っているサバイビンプロモーターが活性を示すことが知られている。癌細胞ではサバイビンプロモーターに結合する転写因子の活性が高いのに対して、正常細胞ではその活性は低い。Surv.m-CRA-1 では、サバイビンプロモーターの活性依存性に E1A 遺伝子が発現される。E1A タンパク質は、感染可能なウイルスを産生するために必要な遺伝子群の転写を活性化する。CMV プロモーターは、多くの細胞種で強力に安定した発現を示すプロモーターである。

E1B19K 配列は、アデノウイルスの増殖をコントロールする初期遺伝子 E1B のうち、55kD 蛋白をコードする領域を欠失した配列で、初期には p53 機能を欠失したがん細胞特異的にアデノウイルスの増殖を制御するとの報告がある (文献 8)。

文献 7 : Nagano S, Oshika H, Fujiwara H, Komiya S, & Kosai K (2005) An efficient construction of conditionally replicating adenoviruses that target tumor cells with multiple factors. *Gene therapy* 12(18):1385-1393.

文献 8 : Bischoff JR, et al. (1996) An adenovirus mutant that replicates selectively in p53-deficient human tumor cells. *Science* 274(5286):373-376.

2. ベクターに関する情報

(1) 名称及び由来

該当せず。

- (2) 特性
該当せず。

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

Surv.m-CRA-1 の DNA の構造は、ヒトアデノウイルス 5 型より E1 遺伝子が除去され []、その領域に発現カセットが挿入されている。当該発現カセットは、サバイビンプロモーター下流に E1A 遺伝子と pA 配列、及び CMV プロモーターの下流に E1B 遺伝子と pA 配列とをそれぞれ連結し、さらに [] を連結したものである (別紙 2 参照)。

(2) 宿主内に移入された核酸の移入方法

Surv.m-CRA-1 作製の概要を以下に示す (別紙 3 参照)。

- ① E1A コーディング配列及び pA 配列 (E1A 遺伝子の内因性プロモーターを除く) を PCR により得た。この E1A DNA フラグメントを [] プラスミドに挿入し、プラスミド [] を作製した。(別紙 3、図 3)。
- ② E1B55kD 遺伝子、E1B 内因性プロモーター及び pA 配列を欠損させた変異型 E1B (mutant E1B : mt E1B) のコーディング配列 [] を PCR により得た。この mt E1B DNA フラグメントを [] プラスミドに挿入し、プラスミド [] を作製した (別紙 3、図 3)。
- ③ E1B19K 配列の下流に、BGHpA 配列及び [] を導入した。BGHpA 配列はプラスミド PCR を行い増幅した。BGHpA [] フラグメントを [] プラスミドに挿入し、 [] プラスミド (以下、BGHpA 及び [] は省略) を作製した。(別紙 3、図 4)。
- ④ [] プラスミドの E1A の上流にサバイビンプロモーター [] を、E1B19K の上流に CMV プロモーターをそれぞれ導入し、PCR を行い増幅し、プラスミド [] を作製した (別紙 3、図 4、図 5)。
- ⑤ [] プラスミド由来の [] 発現カセットを、E1 領域を欠失した Ad5 配列を有する [] の E1 欠失領域内へ導入し、 [] を作製した (別紙 3、図 5)。
- ⑥ プラスミド [] を制限酵素 [] で切断したのち、アデノウイルス産生細胞である HEK293 細胞にトランスフェクション後、ウイルスプラークを単離し、Surv.m-CRA-1 のシードウイルスとした。

(3) 遺伝子組換え生物等の育成の経過

上述のシードウイルスは、国立大学法人鹿児島大学大学院 医歯学総合研究科 先進

治療科学専攻 遺伝子治療・再生医学分野 小賤研究室において作成された。Surv.m-CRA-1 の固形がんを対象とする医師主導治験を実施するため、当該シードウイルスを種として、GMP (Good Manufacturing Practice) に準拠し原薬の製造が行われた [REDACTED]。製造工程の詳細、管理試験などについては別紙3 (図6、表1) に記載した。

Surv.m-CRA-1 GMP 原薬を、ガラスバイアルに無菌充填及び打栓した最終製品を輸入して医師主導治験に使用する。容器に密封した状態で日本へ輸送した最終製品は、治験実施施設内の保管場所の温度モニタリングを備えた施設可能な冷凍庫に施設の上、保管される。

4. 移入した核酸の存在状態及び当該核酸による形質発現の安定性

移入した核酸は Surv.m-CRA-1 の2本鎖 DNA ゲノムの一部として存在し、保管中は極めて安定で、感染する動植物等の種類及び感染様式が保管中に変化することはない。細胞に感染すると、Surv.m-CRA-1 のゲノムは核内の染色体外に存在し、サバイビンプロモーターに依存して増殖する。

5. 遺伝子組換え生物等の検出及び識別の方法並びにそれらの感度及び信頼性

Surv.m-CRA-1 は、必要に応じて、[REDACTED] より抽出した DNA サンプルより Surv.m-CRA-1 を特異的に検出する [REDACTED] を増幅 [REDACTED] するプライマー等を用いて定量的 PCR を行うことにより検出する。これらのプライマーを用いた PCR 法による血液及び尿中の Surv.m-CRA-1 の定量法は GLP (Good Laboratory Practice) 準拠で確立し、バリデーションが行われている (文献9)。本法による当該ウイルスの定量下限：[REDACTED]、検出限界：[REDACTED] であり、これらのプライマーを用いた定量的 PCR の感度は適切といえる。

文献9： [REDACTED]
[REDACTED]

6. 宿主又は宿主の属する分類学上の種との相違点

Surv.m-CRA-1 と宿主である Ad5 の違いは、E1A 遺伝子及び E1B 遺伝子の発現が、それぞれサバイビンプロモーター制御下及び CMV プロモーター制御下にあるか、あるいはウイルスの自然感染プログラムに従って進行するか、である。Surv.m-CRA-1 の DNA の構造は、Ad5 より E1 遺伝子が除去され [REDACTED]、その領域に発現カセットが挿入されている。当該発現カセットは、サバイビンプロモーター下流に E1A 遺伝子と pA 配列、及び CMV プロモーターの下流に E1B 遺伝子と pA 配列をそれぞれ連結し、[REDACTED] を連結したものである (別紙2、図1)。がん細胞では、サバイビンプロモーター依存性に E1A 遺伝子が発現され、ウイルスが増殖する。これらの点を除

くと、Surv.m-CRA-1 の感染する動植物等の種類、感染経路、伝搬様式等は野生型 Ad5 と同等であると考えられる。

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

治療施設における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) Surv.m-CRA-1 原液（以下「原液」という。）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、治療施設内の施錠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溶液の原液の希釈は、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防止す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、密封した状態で保管する。

運搬

- (4) 本遺伝子組換え生物等の治療施設内での運搬は、密封した状態で行う。

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、患者の腫瘍内に（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

- (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、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。

- (9) 投与終了後、排出等の管理が不要となる期間、患者からの本遺伝子組換え生物等の伝播を最小限に留める対策を講じる。
- (10) 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、分泌物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

- (11) 患者から採取した検体（以下「検体」という。）は、治療施設その他の外部医療施設（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期間までに、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る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) 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。
- (15) 本遺伝子組換え生物等の原液の希釈液及び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。
- (16) 患者が自宅で用いたドレッシング材及び洗浄に用いた器材等は、厳重に密閉した状態で廃棄する。

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

投与後、患者に重篤な症状等（咳嗽・気道分泌物増加等の呼吸器症状、嘔吐下痢等の消化器症状、頻尿・発熱等の尿路感染症状等）が出現し、医師により必要があると判断された場合は、XXXXXXXXXX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。

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

Surv.m-CRA-1 原液及び希釈液は、密封した容器に入れて運搬する。本遺伝子組換え生物等の投与は、他の区域と明確に区別された治療室で行う。

第三者への本遺伝子組換え生物等の伝播の可能性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。また、投与を受けた患者が外部医療施設で治療を受ける際には、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、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。

希釈液及び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。

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

(1) Surv.m-CRA-1 の前臨床研究 (文献 10、11)

Surv.m-CRA-1 を腫瘍細胞株

及び正常細胞

の培養液中に添加

し、

により細胞傷害性を検討した結果、当該ウイルスは腫瘍由来細胞株に対しては細胞傷害性を示したが、正常細胞に対しては細胞傷害性を示さなかった。

(2) Surv.m-CRA-1 の正常細胞への細胞傷害性 (文献 10、11)

上述(1)のとおり、Surv.m-CRA-1 は正常細胞に対して細胞傷害性は示さなかった。

(3) 体内の標的細胞以外の細胞への導入遺伝子と染色体への組込みによる正常細胞の傷害の可能性

アデノウイルスは腫瘍以外の細胞にも感染しウイルス遺伝子を導入することが可能であるが、導入遺伝子は宿主の染色体には組み込まれず、核内でエピゾーマル DNA として存在するため、染色体の傷害に伴う明らかな細胞への影響は報告されていない(文献 12)。また、Surv.m-CRA-1 のウイルス増殖は癌細胞特異的であり、正常細胞でのウイルス増殖並びに細胞傷害性は乏しいことから、標的となる癌細胞以外の正常細胞への影響は小さいと考えられる。

(4) 患者以外のヒトへの遺伝子導入の可能性

Surv.m-CRA-1 の患者以外のヒトへの感染の可能性は極めて低いが、投与を受けた患者から患者の家族や医療従事者への伝播を最小限に留める対策を講じる。現在、米国で実施されている同分野医薬（腫瘍溶解性アデノウイルス）の臨床試験においては、外来患者としてウイルスを投与された後、患者は帰宅することが可能であるが、Surv.m-CRA-1 の外来患者への投与の可否については臨床試験の結果を検討した上で判断する予定である。

(5) 動物実験でのウイルスの体内での増殖や体内分布、排出について（文献 13）

Surv.m-CRA-1 をハムスターに単回筋肉内投与 [] し、 [] に採取した []、並びに [] に採取した [] [] におけるウイルス量を PCR 法により検討した。その結果、投与 [] に [] [] で高濃度のウイルスが検出されたが、以後漸減傾向を示した。 [] では投与 [] に、 [] [] では投与 [] にウイルスは検出されなかった。 [] には投与 []、ウイルスは検出されなかった。

以上の所見から、Surv.m-CRA-1 を腫瘍内に局所投与した際に腫瘍組織以外に漏出したウイルスが他の非腫瘍組織に分布しても増殖はみられず、時間の経過とともに減衰し全身的なウイルス暴露は少ないことが示唆される。

(6) 自然環境中（外界）でのウイルスの生存性

20℃の水中でアデノウイルスの感染性が保持される期間は 1 週間～1 ヶ月間と報告されている（文献 14）。また、乾燥条件下でアデノウイルスは 7 日から 3 ヶ月残存するという報告もある（文献 15）。

(7) 類似した制限増殖型アデノウイルスを用いた臨床試験の結果

Surv.m-CRA-1 と同じ Ad5 をバックボーンとする制限増殖型アデノウイルスを用いた臨床試験における、生体内分布や排出に関する結果の概要を示す。

投与されたウイルスは、血中では投与 30 分後から検出され、12～24 時間で一度投与前のレベルに戻り、2～8 日目にセカンドピーク、または多くの被験者でウイルスの検出を認めたと報告されている。




























アデノウイルスの感染後、新規のウイルスが複製される時間は 24～36 時間であるため、数時間の時点で検出されるウイルスは投与されたウイルスそのものであり、セカンドピーク時点のウイルスは体内の感染細胞内で複製されたウイルスであると考えられる。

Small らは、さらに尿及び唾液中に排出されるウイルスについて 1、2、4、8、15 及び 29 日後に評価を行っている（文献 16）。唾液中のウイルスは 29 人中 3 人が陽性（4 日後に 2 人、8 日後に 1 人）で、尿中のウイルスは全例が陰性であり、血液中のウイルス検査と比較し、尿・唾液での検出率は低かった。喀痰や便においてもウイルス検査が行われて

いるが、血液中のウイルス検査による方が検出割合は高いという結果であった。

7つの臨床試験の結果をまとめた表を別紙4に記載した。

(8) Surv.m-CRA-1 を用いた第 I 相試験の結果

進行性固形がんを対象とした Surv.m-CRA-1 の腫瘍局所投与による安全性/忍容性及び予備的な有効性検討のためのオープンラベル用量漸増試験（以下、Surv.m-CRA-1 第 I 相試験という）において、低用量（ viral particle, 以下 vp）、中用量（ vp）、高用量（ vp） に投与後の体液中ウイルス定量を行った（未発表データ）。低用量では  例で  のウイルスが  のみ陽性で、 では陰性。他の  例は  で陰性であった。中用量では、 は  例で  まで陽性。 は  例が  に陽性、もう  例は  まで  であったが、 以降は  以下と低濃度であった。高用量  例では、 は  まで陽性、 すべてで陰性であった。すべての患者において上気道症状などアデノウイルス感染症の症状は認めなかった。

また、Surv.m-CRA-1 の体内分布や排出、水平感染に関する詳細なデータは別紙4に記載した。

文献 10 : 



文献 11 : 



文献 12 : Russell WC (2000) Update on adenovirus and its vectors. The Journal of general virology 81(Pt 11):2573-2604.

文献 13 : 



文献 14 : 国立保健医療科学院 (2012) 飲料水水質ガイドライン第 4 版（日本語版）（国立保健医療科学院）.

文献 15 : Kramer A, Schwabke I, & Kampf G (2006) How long do nosocomial pathogens persist on inanimate surfaces? A systematic review. BMC infectious diseases 6:130.

文献 16 : Small, E. J., et al. (2006) A phase I trial of intravenous CG7870, a replication-selective, prostate-specific antigen-targeted oncolytic adenovirus, for the treatment of hormone-refractory, metastatic prostate cancer. Mol Ther 14(1), 107-117.

6. 国外における使用等により得られた情報

国外において、これまで Surv.m-CRA-1 の使用実績はない。

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等の特定

Surv.m-CRA-1 の感染性は野生型 Ad5 と同一と考えられるので、微生物に感染せず、また、競合、有害物質の産生により他の微生物を減少させることはほとんどないと考えられる。相同組換えにより新たな遺伝子組換えウイルスが仮に生じたとしても、その感染性は野生型ウイルスと同等又はそれ以下であり、他の類縁ウイルスに対する影響はないと考えられる。

(2) 影響の具体的内容の評価

該当せず。

(3) 影響の生じやすさの評価

該当せず。

(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断

他の微生物を減少させる性質について、第一種使用規程承認申請書に記載した遺伝子組換え生物等の第一種使用等の方法において、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

Surv.m-CRA-1 の感染性は野生型 Ad5 と同一と考えられるので、自然界で感染する主な対象はヒトである（文献 1、2）。Ad5 の感染実験によりシリアンハムスター、コットンラット、ニュージーランドホワイトウサギに対する病原性が確認されている。

(2) 影響の具体的内容の評価

Surv.m-CRA-1 の患者以外のヒト及び動物への感染の可能性は極めて低い。製造過程において増殖性アデノウイルス（RCA）が製剤中に混入する可能性が完全には否定できないが、混入した RCA の病原性は野生型 Ad5 と同等と考えられる。

(3) 影響の生じやすさの評価

第一種使用規程承認申請書に記載した遺伝子組換え生物等の第一種使用等の方法において、Surv.m-CRA-1 の環境中への拡散は無いが、あっても微量である。Surv.m-CRA-1 の感染する動植物等の種類、感染経路、伝搬様式等は野生型 Ad5 と同等であると考えられる。さらに、Surv.m-CRA-1 が効率よく感染する対象は主にヒトであること（文献 1、2）、

Surv.m-CRA-1 のウイルス増殖は癌細胞特異的（優位）であり、正常細胞でのウイルス増殖並びに細胞傷害性は乏しいことを踏まえると、Surv.m-CRA-1 が患者以外のヒトに対して感染し増殖して病原性を示す可能性は極めて少ないと考えられる。

(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断

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、生物多様性影響が生ずるおそれはないと判断される。

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

Ad5 の感染実験によりシリアンハムスター、コットンラット、ニュージーランドホワイ トウサギに対する病原性が確認されている。Surv.m-CRA-1 は上記の動物に影響を与える可能性がある。

(2) 影響の具体的内容の評価

Surv.m-CRA-1 の有害物質の産生性は知られておらず、具体的な影響を生じる可能性は低いと考えられる。

(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

有害物質の産生性について、第一種使用規程承認申請書に記載した遺伝子組換え生物等の第一種使用等の方法において、生物多様性影響が生ずるおそれはないと判断される。

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等の特定

Ad5 の感染実験によりシリアンハムスター（ウイルス性肝炎、肺炎）、コットンラット（肺炎、結膜炎）、ニュージーランドホワイ トウサギ（結膜炎、眼瞼炎、虹彩炎）に対する病原性が確認されている。Surv.m-CRA-1 は上記の動物に影響を与える可能性がある。

(2) 影響の具体的内容の評価

Surv.m-CRA-1 の核酸を水平伝達する性質は野生型 Ad5 と同等である。Ad5 またはそれ以外のアデノウイルスと Surv.m-CRA-1 が共感染した際に、Surv.m-CRA-1 が増殖、また相同組換えにより RCA が出現する可能性がある。しかし、Surv.m-CRA-1 は外来性の治療遺伝子などを発現せず、生じた RCA の影響は野生型 Ad5 と同等と考えられる。

(3) 影響の生じやすさの評価

第一種使用規程承認申請書に記載した遺伝子組換え生物等の第一種使用等の方法によるかぎり、Surv.m-CRA-1 の環境中への拡散は極めて微量である。Surv.m-CRA-1 が効率よく感染する対象は主にヒトであること（文献 1、2）及び正常細胞内での増殖能は乏しいことも踏まえると、Surv.m-CRA-1 はやがて環境中から消滅すると考えられる。

(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断

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かぎり、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

なし。

V. 総合的評価

本研究に用いる Surv.m-CRA-1 は、アデノウイルスの E1A 及び E1B 遺伝子の発現調節領域のみ改変した増殖性ウイルスである。Surv.m-CRA-1 は、増殖を制御する遺伝子を改変することにより、腫瘍細胞内にて旺盛に増殖する一方で、正常細胞では増殖が極めて乏しい、腫瘍選択性の増殖能を持つウイルスである。Surv.m-CRA-1 の感染する動植物等の種類、感染経路、伝搬様式等は野生型 Ad5 と同等である。このため、ヒト及び他の哺乳動物、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。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、Surv.m-CRA-1 の環境中への拡散は極力抑えられる。Surv.m-CRA-1 使用により生物多様性影響が生ずるおそれはないと判断される。