

第一種使用規程承認申請書

令和 2 年 7 月 22 日

厚生労働大臣 加藤 勝信 殿
環境大臣 小泉 進次郎 殿

氏名 キッセイ薬品工業株式会社
申請者 代表取締役社長 降旗 喜男 印
住所 長野県松本市芳野 19 番 48 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	E1A プロモーター領域がヒト E2F1 転写因子プロモーター領域に、E3 糖タンパク質 19K コード領域がヒト顆粒球・マクロファージコロニー刺激因子をコードする配列に置換された遺伝子組換えヒトアデノウイルス 5 型 (CG0070)
遺伝子組換え生物等の第一種使用等の内容	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
遺伝子組換え生物等の第一種使用等の方法	CG0070 の原液の保管 (1) CG0070 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。 CG0070 の原液の希釈液の調製及び保管 (2) CG0070 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防止する方策を講じて行い、作業室内での CG0070 の拡散を最小限に留める。 (3) 希釈液は、容器に密封された状態で保管する。 運搬 (4) CG0070 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) CG0070 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、患者の膀胱内に注入することにより行う。投与時に

は、治療室内での CG0070 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) CG0070 の投与後、患者の投与部位を消毒し、投与部位から排出される CG0070 の環境への拡散及び第三者への CG0070 の伝播が最小限となるよう、排出等の管理が不要となるまでの期間、対策を講じる。
- (7) CG0070 の投与後、排出等の管理が不要となるまでの期間、患者の排泄物等から第三者への CG0070 の伝播を最小限とするために CG0070 の投与を受ける患者に適切な指導を行う。
- (8) CG0070 の投与後、原則、排出等の管理が不要となるまでの期間、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。）での治療を受けることを避けるよう、患者に適切な指導を行う。
- (9) CG0070 の投与を受けた患者が、外部医療施設で治療を受ける場合には、CG0070 の投与後、排出等の管理が不要となるまでの期間、外部医療施設に対し第一種使用等の承認を受けた遺伝子組換え生物等が投与された患者であることが情報提供されるよう、CG0070 の投与を受ける患者に適切な指導を行う。
- (10) CG0070 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 CG0070 の有無を確認するために必要な検査を行う。
- (11) 投与された CG0070 の排出等の挙動が明らかになるまで、尿検体に対し、CG0070 の排出等の検査を経時的に実施する。

患者検体の取扱い

- (12) 患者から採取した検体（以下「検体」という。）は、治療施設又は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。
- (13) CG0070 の投与後、排出等の管理を要する期間中の検体の検査が外部の受託検査機関（以下「検査機関」という。）に委託される場合には、検体は、CG0070 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。検体の運搬は、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。検査機関に運搬された検体は、検査機関の規定に従って取り扱う。
- (14) 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

- (15) CG0070 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。
- (16) CG0070 の原液の希釈液及び CG0070 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、不活化処理を行った上で、十分に洗浄する。
- (17) CG0070 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、CG0070 の原液を、漏出しない密封容器に入れた上で、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)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。
- (18) CG0070 の原液の希釈液及び検体の廃棄を感染性廃棄物処理業者に委託する場合には、CG0070 の原液の希釈液及び検体にあつては、漏出しない密封容器に入れ、CG0070 が付着した可能性のある機器及び器材にあつては、二重袋等に厳重に封じ込めた状態で厳重な密閉を行った上で、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。
- (19) 治療施設外で保管された未開封の CG0070 を廃棄する場合には、密封された状態で高圧蒸気滅菌により不活化処理を行い、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

本遺伝子組換え生物等、すなわち「E1A プロモーター領域がヒト E2F1 転写因子(以下「E2F1」という。) プロモーター領域に、E3 糖タンパク質 19K (以下「E3 gp19K」という。) コード領域がヒト顆粒球・マクロファージコロニー刺激因子 (以下「GM-CSF」という。) をコードする配列に置換された遺伝子組換えヒトアデノウイルス 5 型」(以下「CG0070」という。) の宿主は、ヒトアデノウイルス 5 型 (以下「Ad5」という。) である (文献 1)。

Ad5 はアデノウイルス科マストアデノウイルス属ヒトアデノウイルス C に分類され、自然環境に広く分布する (文献 2)。

詳細を別紙 1 に示す。

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。)

ヒトアデノウイルスのうち、Ad5 が医薬品又は遺伝子治療を目的として利用された経験は知られていないが、ヒトアデノウイルス 4 型及び 7 型は経口生ワクチンとして米国の軍隊で利用されている (文献 3)。

一方、遺伝子組換えヒトアデノウイルス (主に Ad5) は、遺伝子治療用ベクターとしてこれまで全世界で 500 件以上の臨床試験に使用されている (文献 4)。その大半では、遺伝子組換え技術によってヒトアデノウイルスを非増殖性に改変したベクターが使用されているが、近年では、腫瘍細胞内で選択的に増殖して腫瘍細胞を破壊することを目的とした制限増殖型の「腫瘍溶解性ウイルス」として遺伝子組換えヒトアデノウイルスが使用される例も世界的に増加しており、国内においてもすでに臨床試験が実施されている (文献 5)。

詳細を別紙 1 に示す。

3. 生理学的及び生態学的特性

(1) 基本的特性

Ad5 のウイルス粒子は、エンベロープをもたない直径約 90 nm の正 20 面体構造であり、ウイルスタンパク質及び直鎖状 2 本鎖ウイルスゲノム DNA (約 36 kbp) から構成される。物理化学的に比較的安定なウイルスである (文献 2)。

詳細を別紙 1 に示す。

(2) 生育又は生育可能な環境の条件

Ad5 を含むヒトアデノウイルスは、一般的な自然環境下においては、ヒトにのみ感染して増殖する (文献 2)。

詳細を別紙 1 に示す。

(3) 捕食性又は寄生性

該当なし。

(4) 繁殖又は増殖の様式

Ad5 のヒト細胞への感染は、ウイルス粒子がヒト細胞表面にあるウイルス受容体に結合することによって開始する。受容体に結合したウイルス粒子は、エンドサイトーシスによって細胞内に取り込まれた後、そのウイルスゲノムが核内へ輸送される（なお、ウイルスゲノムが核内でヒトゲノムに定常的に組み込まれることは自然界では報告されていない）。ウイルスゲノムは核内に到達すると、強力な E1A プロモーターの支配のもと、最初に E1A 領域の転写が始まり、引き続き初期遺伝子群（E1A を含む E1、E2、E3 及び E4 領域）の転写・発現が行われる。初期遺伝子群から発現したウイルスタンパク質は核内においてウイルスゲノムを大量に複製させた後、ウイルス粒子の構造タンパク質群を主にコードしている後期遺伝子群（L1、L2、L3、L4 及び L5 領域）の転写・発現を促進する。細胞内にウイルス粒子が大量に生成すると細胞が壊れ（溶解し）、細胞内のウイルス粒子を放出する（文献 2）。

詳細を別紙 1 に示す。

(5) 病原性

ヒトアデノウイルスは、咽頭結膜熱、咽頭炎、扁桃炎、肺炎等の呼吸器疾患、流行性角結膜炎等の眼疾患、胃腸炎等の消化器疾患をはじめとして、出血性膀胱炎、肝炎、膵炎、脳炎にいたる多彩な臨床症状を引き起こす。このうち、上気道炎等の呼吸器疾患の原因となるのは、主にヒトアデノウイルス B、C 及び E である（文献 6）。

ヒトアデノウイルスは、呼吸器からの飛沫感染や接触による感染等、さまざまな経路で感染する。呼吸器を介した感染はヒトアデノウイルス B 及び E で多く、同 C は小児の糞便中に長期間排泄されて糞口感染することもあり、同 F は糞口感染でのみ流行すると考えられている。また、眼に対して、ヒトアデノウイルス D は汚染されたタオル、手指、水等を介して感染すると考えられている。ヒトアデノウイルスの潜伏期は、呼吸器系で 2～14 日、腸管系で 3～10 日、眼感染症で 7～14 日である。ヒトアデノウイルス感染症に対する治療は、基本的に対症療法が中心となる（文献 7）。

(6) 有害物質の産生性

感染細胞内で Ad5 のウイルスゲノム由来のタンパク質が産生されるが、細胞外に分泌される遊離有害物質は知られていない。

(7) その他の情報（不活化条件等を含む。）

ヒトアデノウイルスに汚染されたタオルや汚物等の消毒には、1%次亜塩素酸ナトリウム水溶液への浸漬又は高圧蒸気滅菌が推奨される。塩素消毒や高圧蒸気滅菌が困難な器具等に対しては、ホルムアルデヒド、グルタルアルデヒド、フェノール等の変性剤の使用、又は 56℃、30 分の加熱が有効である（文献 7）。

詳細を別紙 1 に示す。

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

CG0070 における供与核酸は、CG0070 構築時に移入された人工配列を除いて、以下の 2 種である。

① ヒト E2F1 プロモーター領域

② ヒト GM-CSF cDNA

各供与核酸の塩基配列及び塩基長を別紙 2 に、各供与核酸の塩基配列に係る GenBank 情報を別紙 3 に示す。また、供与核酸②がコードするアミノ酸配列を別紙 4 に示す。

(2) 構成要素の機能

① ヒト E2F1 プロモーター領域

ヒト E2F1 をコードする配列の上流にあるプロモーター領域で、その内部にヒト E2F1 結合配列を含む。遊離型の E2F1 が当該配列に結合すると下流にある遺伝子（例えば、E2F1 遺伝子）の転写が活性化されるが、通常は E2F1 にかん抑制遺伝子産物である Rb タンパク質が結合して複合体を形成することによって、E2F1 の活性を抑制している。一方、Rb 経路に異常が生じて Rb タンパク質が正常に機能していない、又は発現量が低下しているがん細胞においては、E2F1 プロモーター領域の下流にある遺伝子の転写が、遊離型の E2F1 によって強力に促進されることになる（文献 1）。

② ヒト GM-CSF cDNA

GM-CSF は主にマクロファージが分泌するサイトカインであり、造血系幹細胞／前駆細胞に作用して、顆粒球、単球、マクロファージ、樹状細胞等への分化・増殖を促進する。また、マクロファージや白血球を活性化したり、樹状細胞等の抗原提示能を増強する等の作用によって、免疫を賦活化する。

なお、米国においては遺伝子組換えヒト GM-CSF 製剤が 1991 年に医薬品として承認され、現在も販売されている（文献 8）。

各供与核酸に対する相同性解析の結果を別紙 3 に示す。

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

CG0070 ゲノム上の各遺伝子の配置について、その模式図及び全塩基配列を別紙 2 に示す。また、全塩基配列中、供与核酸等構成要素のそれぞれの位置を別紙 3 に示す。

(2) 宿主内に移入された核酸の移入方法

CG0070 の構築方法の概略は、以下のとおり。

- ① E1A プロモーター領域がヒト E2F1 プロモーター領域に置換された Ad5 の全塩基配列を搭載するプラスミドを制限酵素で消化して直鎖状としたもの
- ② E3 gp19K コード領域がヒト GM-CSF cDNA に置換された Ad5 の一部塩基配列を搭載するプラスミドを制限酵素で消化して直鎖状としたもの

の 2 種を大腸菌 BJ5183 株に共感染させ、目的とする CG0070 の全塩基配列をもつプラスミドが菌体内での相同組換えにより生じたクローンを単離し、プラスミドを精製した後、制限酵素で消化して直鎖状としたものを AE1-2a 細胞株（ヒト肺基底上皮腺癌細胞株 A549 由来）にトランスフェクションし、CG0070 ウイルス粒子（シードウイルス）を得た（文献 1）。

詳細を別紙 5 に示す。

(3) 遺伝子組換え生物等の育成の経過

CG0070 原液は、米国培養細胞系統保存機関（ATCC）から入手した HeLa-S3 細胞株から構築したセルバンクシステム及び CG0070 シードウイルスから構築したウイルスバンクシステムを用いて製造する。CG0070 原液における CG0070 濃度を検証し、必要に応じて濃度を調整後、無菌ろ過、小分け充填の過程を経て製品とする。

使用するセルバンク及びウイルスバンクに対しては、各種ウイルス否定試験を実施して外来性ウイルスの混入がないことを確認している。

製造方法の詳細を別紙 6 に示す。

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

CG0070 に移入された核酸は CG0070 のゲノムの一部として存在し、凍結保存中は安定に存在する。

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

非臨床試験

非臨床生体内分布試験において、CG0070 の検出は、定量的 PCR 法により行った。定量的 PCR 法の検出限界は 50 コピー/ μg DNA、定量限界は 100 コピー/ μg DNA であった。

米国臨床試験

これまで米国で実施した臨床試験では、CG0070 の検出は、定量的 PCR 法により行った（文献 9）。定量的 PCR 法の定量限界は 1500 コピー/mL であった。

詳細を別紙 7 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

CG0070 では Ad5 の E1A プロモーター領域がヒト E2F1 プロモーター領域に、及び Ad5 の E3 gp19K コード領域がヒト GM-CSF cDNA に置換されていることから

- ① CG0070 ゲノム上に遺伝子が存在するすべてのタンパク質、すなわち Ad5 由来のウイルスタンパク質（遺伝子が欠失した E3 gp19K を除く）及び CG0070 ゲノム由来のヒト GM-CSF の発現がヒト E2F1 プロモーターに直接的若しくは間接的に支配されることとなり、正常細胞では Rb タンパク質が結合して不活化されているヒト E2F1 転写因子が、Rb タンパク質若

しくは Rb 経路に異常がある多くの腫瘍細胞では不活化されずにヒト E2F1 プロモーターに結合してその活性を発現させ、それが CG0070 ゲノム上の全タンパク質の発現につながること

② E3 gp19K 遺伝子が失われていることから、E3 gp19K の発現がみられないことの 2 点が野生型 Ad5 と異なるが（文献 1）、感染する動植物等の種類、感染経路、伝播様式等は野生型 Ad5 と同等である。

なお、CG0070 で遺伝子が欠失している E3 gp19K は、ヒト生体側の免疫監視機構を Ad5 が回避するための働きの一部を担っていると一般的には考えられており（文献 2）、E3 gp19K が発現しなくともウイルスの複製・増殖自体には大きな影響を与えない。

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

CG0070 の原液の保管

- (1) CG0070 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。

CG0070 の原液の希釈液の調製及び保管

- (2) CG0070 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防止する方策を講じて行い、作業室内での CG0070 の拡散を最小限に留める。
- (3) 希釈液は、容器に密封された状態で保管する。

運搬

- (4) CG0070 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) CG0070 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、患者の膀胱内に注入することにより行う。投与時には、治療室内での CG0070 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) CG0070 の投与後、患者の投与部位を消毒し、投与部位から排出される CG0070 の環境への拡散及び第三者への CG0070 の伝播が最小限となるよう、排出等の管理が不要となるまでの期間、対策を講じる。
- (7) CG0070 の投与後、排出等の管理が不要となるまでの期間、患者の排泄物等から第三者への CG0070 の伝播を最小限とするために CG0070 の投与を受ける患者に適切な指導を行う。
- (8) CG0070 の投与後、原則、排出等の管理が不要となるまでの期間、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。）での治療を受けることを避けるよう、患者に適切な指導を行う。
- (9) CG0070 の投与を受けた患者が、外部医療施設で治療を受ける場合には、CG0070 の投与後、排出等の管理が不要となるまでの期間、外部医療施設に対し第一種使用等の承認を受けた遺伝子組換え生物等が投与された患者であることが情報提供されるよう、CG0070 の投与を受ける患者に適切な指導を行う。
- (10) CG0070 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 CG0070 の有無を確認するために必要な検査を行う。
- (11) 投与された CG0070 の排出等の挙動が明らかになるまで、尿検体に対し、CG0070 の排出等の検査を経時的に実施する。

患者検体の取扱い

- (12) 患者から採取した検体（以下「検体」という。）は、治療施設又は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。
- (13) CG0070 の投与後、排出等の管理を要する期間中の検体の検査が外部の受託検査機関（以下「検査機関」という。）に委託される場合には、検体は、CG0070 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。検体の運搬は、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。検査機関に運搬された検体は、検査機関の規定に従って取り扱う。
- (14) 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。

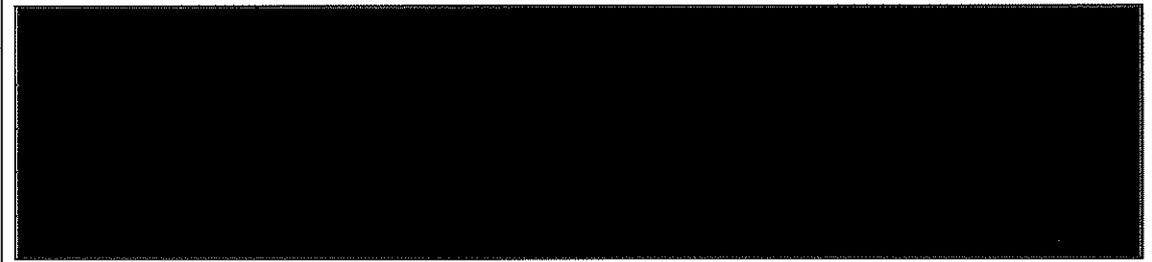
感染性廃棄物等の処理

- (15) CG0070 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。
- (16) CG0070 の原液の希釈液及び CG0070 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、不活化処理を行った上で、十分に洗浄する。
- (17) CG0070 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、CG0070 の原液を、漏出しない密封容器に入れた上で、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）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。
- (18) CG0070 の原液の希釈液及び検体の廃棄を感染性廃棄物処理業者に委託する場合には、CG0070 の原液の希釈液及び検体にあつては、漏出しない密封容器に入れ、CG0070 が付着した可能性のある機器及び器材にあつては、二重袋等に厳重に封じ込めた状態で厳重な密閉を行った上で、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。
- (19) 治療施設外で保管された未開封の CG0070 を廃棄する場合には、密封された状態で高圧蒸気滅菌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

国際共同第Ⅲ相試験（BOND3 試験）では、以下のようなウイルス排出検査の実施を予定している。

- 1) 被験者からの尿、唾液及び血液の採取を以下の時点で行う。なお、◎は [REDACTED]、
[REDACTED] 及び [REDACTED]、○は [REDACTED] 及び [REDACTED]、●は [REDACTED]
に採取することを示す。



- 2) 被験者から採取した尿、唾液及び血液の各検体に対して、定量的 PCR により CG0070 DNA を検出・定量する。また、尿検体に対しては、CG0070 の感染力価も測定することを検討している。
- 3) 上記検討は、BOND3 試験の被験者のうち を対象に実施予定。

BOND3 試験における用法・用量などの詳細を別紙 9 に示す。

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

非臨床安全性試験

雌マウス（各群 n=16）に、界面活性剤で膀胱内を前処置した後、CG0070（0、 0.6×10^8 、 1.9×10^9 及び 0.6×10^{11} vp）を膀胱内に反復投与した（3日に1回の頻度で計6回）。CG0070 投与に起因した局所免疫反応として回復性のある膀胱の炎症が認められたものの、忍容性は良好であった。

非臨床生体内分布試験

雌マウス（n=15）に、界面活性剤で膀胱内を前処置した後、CG0070（ 6.4×10^{10} vp）を膀胱内に単回投与した。投与後3及び28日のCG0070 DNAの生体内分布を定量的PCR法により評価した結果、CG0070 DNAは膀胱に局在し、血液、血清、卵巣、脳、心臓、肺、肝臓、脾臓、腎臓及び尿管には検出されなかった。膀胱中のCG0070 DNAは投与後3日から28日にかけて減少し、28日では定量限界未満又は検出されなかった。また、リンパ節では、投与後3日に5例中1例でわずかにCG0070 DNAが検出されたものの、投与後28日ではまったく検出されなかった。

詳細を別紙8に示す。

6. 国外における使用等により得られた情報

現在までに CG0070 の臨床試験として、筋層非浸潤性膀胱癌（以下「NMIBC」という。）に対する以下の 3 試験が米国で実施された。

試験名・ ClinicalTrials.gov No.	相・デザ イン	対象患者	被験者数	用法・用量
V0046 試験 #NCT00109655 (文献 9)	第 I 相・ 非盲検 非対照	ウシ型弱毒性結核菌（以下「BCG」という。）治療後の筋層非浸潤性膀胱がん（以下「NMIBC」という。）患者	35 <u>内訳</u> 単回投与群 13 反復投与群(A) 13 反復投与群(B) 9	<u>単回投与群</u> 以下のいずれかの用量の CG0070 を単回膀胱内注入 ・ 1×10^{12} vp ・ 3×10^{12} vp <u>反復投与群</u> <u>A</u> ：以下のいずれかの用量の CG0070 を 4 週に 1 回ずつ計 3 回（3 ヶ月時点で持続的完全寛解（CR）の場合、追加で 3 回の投与可能）膀胱内注入 <u>B</u> ：以下のいずれかの用量の CG0070 を週 1 回ずつ計 6 回膀胱内注入 ・ 1×10^{12} vp ・ 3×10^{12} vp ・ 1×10^{13} vp
BOND 試験 #NCT01438112	第 II 相・ 非盲検 群間比較	BCG 治療無効で膀胱全摘を拒否した NMIBC 患者	22 <u>内訳</u> CG0070 群 15 対照群 7	<u>CG0070 群</u> 1×10^{12} vp の CG0070 を週 1 回ずつ計 6 回膀胱内注入 <u>対照群</u> 以下のいずれかのレジメンを週 1 回ずつ計 6 回膀胱内注入 ・ マイトマイシン C 40 mg ・ ゲムシタピン 2000 mg ・ インターフェロン α -2a 100 MU ・ パルルピシン 800 mg
BOND2 試験 #NCT02365818 (文献 10)	第 II 相・ 非盲検 単群	BCG 治療無効で膀胱摘除を拒否した NMIBC 患者	68	1×10^{12} vp の CG0070 を週 1 回ずつ計 6 回膀胱内注入 <u>3 ヶ月時点で有効例</u> 初回投与後、6・12・18 ヶ月時点で反復投与（のべ 24 回注入） <u>3 ヶ月時点で無効例</u> 初回投与後、3・12・18 ヶ月時点で反復投与（のべ 24 回注入）

上記の試験のうち、尿中及び血中 CG0070 DNA 濃度の測定時点が最も多く設定され、濃度の時間的推移が検討可能な V0046 試験の結果を以下に示す。

V0046 試験

V0046 試験における尿中及び血中の CG0070 DNA 測定ポイント、陽性率は以下のとおりである。詳細は別紙 9 に示す。

	単回投与群：n = 13	反復投与群(A)：n = 13 (4 週に 1 回 × 3 回*2 投与)	反復投与群(B)：n = 9 (週 1 回 × 6 回投与)
測定ポイント	投与前 (Screening)、Day 1、2、5、8、15、22 及び	投与前 (Screening)、Day 1、2、8、15、29、30、	投与前 (Screening)、Day 1、2、8、9、15、16、22、

	29	36、43、57、58、64、71、85 及び 91*3	23、29、30、36、37、43、50、64 及び 91
尿中 DNA の陽性率	11/11*1 (100%) Day 5 に最高濃度に達し、以降単回投与群の全用量で尿中 DNA 濃度が減少していた。 Day 2 から Day 5 にかけて、58.3% (12 例中 7 例) において尿中 DNA 濃度が上昇し、うち 4 例では 10 倍以上の濃度となった。Day 29 時点では、全例の尿中 DNA 濃度が定量限界未満となった。	13/13 (100%) 反復投与毎に尿中 DNA 濃度は減少していた。投与量が最も多い投与群 (1×10^{13} vp) において、概して平均尿中 DNA 濃度が高かった。最終投与 29 日後 (Day 85 又は Day 91 ; 一部、最終投与後 3 ヶ月経過した症例を含む) において、27.3% (11 例中 3 例) において尿中 DNA が検出された。	9/9 (100%) 多くの測定ポイントにおいて、投与量が最も少ない投与群 (1×10^{12} vp) が投与量の多い投与群 (3×10^{12} vp 又は 1×10^{13} vp) と比較して尿中 DNA 濃度が高かった。最終投与 29 日後 (Day 64) には、11.1% (9 例中 1 例) の症例において尿中 DNA が検出された。
血中 DNA の陽性率	1/13 (8%)	1/13 (8%)	1/9 (11%)
備考	*1 : 2 例の個別データは確認できず。	*2 : 3 ヶ月時点で持続的完全寛解の場合、追加で 3 回の投与可能。 *3 : Day 85 に測定した場合、Day 91 の測定は不要。	

CG0070 の予期しない増殖又は伝播が疑われる副作用及び被験者以外への二次感染について

米国で実施された 3 試験を通じて、CC0070 の予期しない増殖又は伝播が疑われる副作用及び被験者以外への二次感染が発生したとの報告はない。

その他、詳細を別紙 9 に示す。

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

以下の理由から、CG0070 が特定の微生物を減少させる可能性はない。

- 野生型 Ad5 と同じく、CG0070 は微生物に感染しない。
- CG0070 がヒトの腫瘍細胞以外のヒト細胞に感染しても、供与核酸由来のヒト GM-CSF が発現する可能性は限定的であり、さらに、GM-CSF 自体にも、それだけで微生物を減少させる作用はない。
- 他の微生物との競合における優位性について、CG0070 は野生型 Ad5 と同等以下と考えられる。

(2) 影響の具体的内容の評価

該当なし。

(3) 影響の生じやすさの評価

該当なし。

(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断

以上より、第一種使用規程に基づいた使用等を行う限り、他の微生物を減少させることに起因する生物多様性影響評価が生ずるおそれはないと判断される。

2. 病原性

(1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定

野生型 Ad5 と同じく、CG0070 が自然界で感染する対象はヒトのみである。

(2) 影響の具体的内容の評価

野生型 Ad5 と異なり、CG0070 はヒト腫瘍細胞内で選択的に増殖し、それ以外のヒト細胞内で増殖する可能性が限定的であることから、CG0070 が野生型 Ad5 を超える病原性をもつことはない（別紙 10 参照）。

(3) 影響の生じやすさの評価

当該第一種使用規程に従って使用等を行うかぎり、CG0070 が第三者に伝播する可能性は極めて小さいと考えられる。実際に、米国で実施された CG0070 臨床試験 3 試験においても、二次感染例の報告はない（第 III 章第 6 項参照）。

(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断

以上より、当該第一種使用規程に従って使用等を行うかぎり、病原性に起因した生物多様性影響が生ずるおそれはない。

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

野生型 Ad5 と同じく、CG0070 が自然界で感染する対象はヒトのみである。

(2) 影響の具体的内容の評価

野生型 Ad5 と異なり、CG0070 はヒト腫瘍細胞内で選択的にヒト GM-CSF を発現する（別紙 10 参照）。

米国で承認されている遺伝子組換えヒト GM-CSF 製剤の臨床試験において、持続静注による過量投与（推奨用量の 16 倍）を 7～18 日間連続して 4 例に行った結果、GM-CSF の作用である白血球増多の他に、呼吸困難、倦怠感、悪心、発熱、皮疹、洞性頻脈、頭痛及び悪寒の副作用がみられた（いずれも投与中止によって回復）と報告されていることから（文献 8）、CG0070 の投与によって供与核酸由来のヒト GM-CSF が体内で過剰発現した場合には、同様の症状が生じ得ると考えられる。

(3) 影響の生じやすさの評価

野生型 Ad5 と異なり、CG0070 はヒト腫瘍細胞内で選択的にヒト GM-CSF を発現するが、それ以外のヒト細胞内でヒト GM-CSF を発現する可能性は限定的である。また、米国で承認されている遺伝子組換えヒト GM-CSF 製剤に関して、推奨用量静注時の最高血中濃度（平均値）が 16.7 ng/mL と報告されているのに対して（文献 8）、米国で実施された CG0070 臨床試験（V0046 試験）におけるヒト GM-CSF 最高血漿中濃度の実測値はその 1/50 以下であり（文献 9）、ヒト GM-CSF の過剰発現によって副作用が発生する可能性は極めて小さいと考えられる。

(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断

以上より、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。

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

野生型 Ad5 と同じく、CG0070 が自然界で感染する対象はヒトのみである。

また、野生型 Ad5 及び CG0070 がヒト細胞に共感染した場合、相同組換えによって CG0070 の供与核酸が野生型 Ad5 のゲノムに組み込まれる可能性が考えられる。

(2) 影響の具体的内容の評価

野生型 Ad5 由来の遺伝子配列が自然界でヒトゲノムに定常的に組み込まれたとの報告は、これまででない。

また、相同組換えによって CG0070 の供与核酸が野生型 Ad5 のゲノムに組み込まれた場合には、①当該核酸がヒト E2F1 プロモーターであれば、その Ad5 はヒト腫瘍細胞内では選択的に増殖するが、それ以外のヒト細胞内で増殖する可能性が限定的となり、野生型 Ad5 に比べて自然界での増殖能が劣ることになり、②当該核酸がヒト GM-CSF cDNA であれば、その Ad5 は感染したヒト細胞内でヒト GM-CSF を産生するので、ヒト生体側の免疫機能によって野生型 Ad5 以上に生体から排除されやすくなると考えられる。

(3) 影響の生じやすさの評価

患者の膀胱内に投与された CG0070 のほとんどは尿中に排泄されるが、野生型 Ad5 と異なり、CG0070 はヒト腫瘍細胞内で選択的に複製され、それ以外のヒト細胞内で複製される可能性が限定的であることも踏まえると、CG0070 の供与核酸がヒトに伝達される可能性は野生型 Ad5 以下であり、極めて小さいと考えられる。また、当該第一種使用規程に従って使用等を行うかぎり、野生型 Ad5 及び CG0070 がヒト細胞に共感染し、それぞれが当該細胞内で複製され、その過程で相同組換えによって CG0070 の供与核酸が野生型 Ad5 のゲノムに組み込まれる可能性も極めて小さいと考えられる。

(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断

以上より、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。

5. その他の性質

核酸を垂直伝達する性質に関して、増殖型の遺伝子組換え Ad5 を雄マウスに前立腺内投与したところ、投与後 28 日においても前立腺、精巣等で当該遺伝子組換え Ad5 の DNA が細胞あたり 1 コピー未満の濃度で検出されたものの、その期間内の交尾により得られた胚ではまったく検出されなかったとの報告がある（文献 11）。また、 β -ガラクトシダーゼ遺伝子を搭載した増殖型の遺伝子組換え Ad5 をマウスの精巣及び卵巣へ直接投与したところ、その後、人工授精にて得られた胚において β -ガラクトシダーゼ遺伝子の発現は観察されていない（文献 12・13）。

加えて、ヒトアデノウイルスに自然感染したヒトや、膀胱内投与を含めてヒトアデノウイルスの投与を受けたヒトに関して、ヒトアデノウイルスの核酸が垂直伝達したとの報告もこれまでになく（文献 14）、さらに、野生型 Ad5 由来の遺伝子配列が自然界でヒトゲノムに定常的に組み込まれたとの報告もこれまでにないことから、CG0070 についても、少なくとも当該第一種使用規程に従って使用等を行うかぎり、CG0070 の投与を受けた患者から CG0070 の核酸が垂直伝達するおそれはないと考えられる。

V 総合的評価

CG0070 は、自然界ではヒトのみに感染することが知られている野生型 Ad5 の遺伝子を改変することによって、ヒト腫瘍細胞内で選択的に増殖し、それ以外のヒト細胞内で増殖する可能性を限定的にするとともに、増殖に伴ってヒト GM-CSF を発現するようにしたものである。

このため、他の微生物を減少させる性質の観点では、CG0070 は野生型 Ad5 と同じく微生物に感染しないこと、ヒト GM-CSF には微生物を直接的に減少させる作用がないこと、及び他の微生物との競合における優位性についても CG0070 は野生型 Ad5 と同等以下と考えられることから、CG0070 が特定の微生物を減少させる可能性はないと判断した（第IV章第1項参照）。

また、病原性の観点でも、CG0070 が野生型 Ad5 を超える病原性をもつことはなく、当該第一種使用規程に従って使用等を行うかぎり、病原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した（第IV章第2項参照）。

有害物質の産生性の観点では、CG0070 は増殖に伴ってヒト GM-CSF を発現するものの、米国で実施された CG0070 臨床試験の成績を踏まえると、当該第一種使用規程に従って使用等を行うかぎり、ヒト GM-CSF の過剰発現による副作用が発生する可能性は極めて小さく、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した（第IV章第3項参照）。

核酸を水平伝達する性質の観点では、野生型 Ad5 由来の遺伝子配列が自然界でヒトゲノムに定常的に組み込まれたとの報告はなく、CG0070 でも同様と考えられること、及び当該第一種使用規程に従って使用等を行うかぎり、CG0070 が第三者に伝播する可能性は極めて小さいと考えられることから、CG0070 の供与核酸がヒトゲノムに組み込まれること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した。

また、野生型 Ad5 及び CG0070 がヒト細胞に共感染した場合には、相同組換えによって CG0070 の供与核酸が野生型 Ad5 のゲノムに組み込まれる可能性が想定されるものの、CG0070 の供与核酸がゲノムに組み込まれた Ad5 の自然界における増殖能は野生型 Ad5 に劣ると考えられること、並びに当該第一種使用規程に従って使用等を行うかぎり、野生型 Ad5 及び CG0070 がヒト細胞に共感染し、それぞれが当該細胞内で複製され、その過程で相同組換えによって CG0070 の供与核酸が野生型 Ad5 のゲノムに組み込まれる可能性も極めて小さいと考えられることから、当該第一種使用規程に従って使用等を行うかぎり、CG0070 の供与核酸が野生型 Ad5 のゲノムに組み込まれることに起因した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した（第IV章第4項参照）。

したがって、第一種使用規程承認申請書に記載された遺伝子組換え生物等の第一種使用等を行う限り、CG0070 による生物多様性影響が生ずるおそれがないと判断される。

文献一覧：別紙 11