

様式第 1 (第 7 条関係)

第一種使用規程承認申請書

令和 3 年 3 月 11 日

厚生労働大臣 殿
環境大臣 殿

氏名 ノバルティスファーマ株式会社
申請者 代表取締役社長 李堯 (印)
住所 東京都港区虎ノ門 1 丁目 23 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。

<p>遺伝子組換え生物等の種類の名称</p>	<p>CD19 特異的キメラ抗原受容体を発現し、水疱性口内炎ウイルス由来 G タンパク質をエンベロープに持つ 3’LTR の U3 領域の大部分を欠失した非増殖性遺伝子組換え 1 型ヒト免疫不全ウイルス (CTL019(murine)HIV-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により遺伝子導入した自家 T 細胞製品 (YTB323) の使用等の方法</p> <p>保管 (1) YTB323 は、漏出しない容器に入れた状態で遺伝子組換え生物等を含有する旨を表示し、治療施設内の適切に管理された気相式液体窒素タンク又は冷凍庫において保管する。</p> <p>運搬 (2) YTB323 の治療施設内での運搬は、漏出しない容器に入れた状態で行う。</p> <p>患者への投与 (3) YTB323 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、患者の静脈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>感染性廃棄物等の処理 (4) YTB323 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。 (5) YTB323 に直接接触した、注射針、バッグ、カテーテル等の器具類及び器材等は、医療廃棄物管理規程に従って廃棄する。</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

CTL019(murine)HIV-1（以下、本遺伝子組換え生物等）の宿主は、ヒト免疫不全ウイルス-1（HIV-1）である。HIV-1は、レトロウイルス科レンチウイルス属に属する種である（文献1）。HIV-1は霊長類を宿主とし、ヒトに感染することにより後天性免疫不全症候群（AIDS）を引き起こす。

文献1：宮沢孝幸（2005）4. レンチウイルスの進化とレセプター特異性. ウイルス; 55(1): 27-34.

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。）

宿主であるHIV-1に由来する非増殖性の遺伝子組換えウイルスは、遺伝子治療用ベクター及び分子生物学の研究用試薬として広く用いられている（文献2）。

また、本遺伝子組換え生物等は、キムリア点滴静注の製造に用いられるレンチウイルスベクターと同じである。

文献2：三好浩之（2002）2. レンチウイルスベクターを用いた造血幹細胞への遺伝子導入. ウイルス; 52(2): 225-31.

3. 生理学的及び生態学的特性

（1）基本的特性

HIVは直径が100～120 nmの球形の粒子であり、エンベロープタンパク質（gp 120及びgp 41）を含む脂質二重膜から成る。コアを形成する主な構造タンパク質は、脂質二重膜の内側を裏打ちするマトリックス（gp17）と、コアゲノムRNAを内含するコアシェル又はカプシドを形成するカプシドタンパク質（gp24）である。コアは、ウイルスプロテアーゼ、逆転写酵素、インテグラーゼ、Vpu、Vif、Vpr、Nef及び9.2 kbの同一の一本鎖RNA2分子から成る（文献3、4、5）。

（2）生育又は生育可能な環境の条件

野生型HIVはチンパンジー及びヒトに感染する（文献6）。HIVは、血液または体液を介して感染し、空気中や水中では死滅することが一般的に知られている（文献7）。

（3）捕食性又は寄生性

該当せず

（4）繁殖又は増殖の様式

他のウイルスと同様に、HIV-1は宿主に感染した場合にのみ増殖が可能である。HIV-1は、宿主の血液や体液中に存在し、他の個体が血液や体液を介してそれに接触することで感染する。HIV-1が細胞に感染し増殖する過程は、CD4及びco-receptorへ結合、脱殻、逆転写、DNAの核移行と組み込み、転写、ウイルスRNAの核外移行、翻訳、タンパク質の集合、ウイルスRNAの取り込み、ウイルス粒子の遊離、成熟の段階を経る。（文献8）

(5) 病原性

HIV-1はヒトに感染することにより後天性免疫不全症候群（AIDS）を引き起こし、適切な治療が施されないと重篤な全身性免疫不全により日和見感染症や悪性腫瘍を引き起こす。主な感染経路には、(1)性的接触、(2)母子感染、(3)血液によるものがある。（文献9）。

(6) 有害物質の産生性

HIV-1が有害物質を産生することはない。また、HIV-1に感染したことにより細胞が有害物質の産生能を獲得するとの情報はない。

(7) その他の情報（不活性化条件を含む）

HIVの滅菌及び不活性化条件として、WHOより① 121°C、15分以上の高圧蒸気滅菌、② 170°C、2時間の乾熱滅菌、③ 20分間の煮沸消毒、④ 2%グルタルアルデヒド、⑤ 6%過酸化水素水、⑥ 有効塩素濃度0.05%以上の次亜塩素酸ナトリウムなどが有効であると報告されている（文献10）。

また、30分間の紫外線照射で細胞存在下のHIVを不活性化できるとの報告もある（文献11）。

文献3：Sierra S, Kupfer B, Kaiser R. (2005); Basics of the virology of HIV-1 and its replication. J Clin Virol; 34(4): 233-44.

文献4：Fanales-Belasio E, Raimondo M, Suligoi B, Buttò S. (2010); HIV virology and pathogenetic mechanisms of infection: a brief overview. Ann. Ist. Super. Sanita; 46(1): 5-14.

文献5：German Advisory Committee Blood (Arbeitskreis Blut), Subgroup 'Assessment of Pathogens Transmissible by Blood'(2016); Human Immunodeficiency Virus (HIV). Transfus Med Hemother; 43(3): 203-22.

文献6：武内寛明（2018）新規HIV-1感染制御宿主因子の同定およびその機能解明. 日本エイズ学会誌; 20: 117-23.

文献7：<http://www.city.yokohama.lg.jp/kenko/eiken/idsc/disease/hiv.html>

文献8：小柳義夫（2005）1.HIV感染増殖とその宿主細胞性因子の概略：細胞への侵入者の軌跡. ウイルス; 55(2): 251-8.

文献9：<https://www.niid.go.jp/niid/ja/kansennohanashi/400-aids-intro.html>

文献10：WHO (1989); Guidelines on sterilization and disinfection methods effective against human immunodeficiency virus (HIV)

文献11：Druce J.D., Jardine D., Locarnini S.A., Birch C.J. (1995); Susceptibility of HIV to inactivation by disinfectants and ultraviolet light. J. Hosp. Infect.; 30: 167-80.

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、ヒト免疫不全ウイルス-1（HIV-1）に由来し、増殖能を欠損させた遺伝子組換えSIN型LTRを有するレンチウイルスベクターである。

供与核酸には、5'より順に、HIV-1由来のR U5領域（5'LTR）、パッケージング（Ψ）シグナル、tat2/rev2 splice acceptorを含むrev response element（RRE）、cPPT、発現カセット、PPT、及びU3領域の塩基配列を一部削除した3' SIN型LTRが含まれる。

発現カセットには、XXXXXXXXXXプロモーター、導入遺伝子であるCTL019遺伝子（CAR導入遺伝子）、及び改変型WPPE（Woodchuck hepatitis virus post-transcriptional regulatory elements：ウッド

チャック肝炎ウイルス転写後調節因子) 配列が含まれる。

CAR導入遺伝子は、抗CD19マウスモノクローナル抗体FMC63由来の単鎖可変フラグメント(抗CD19 scFv)、ヒトCD8 α ヒンジ及び膜貫通ドメイン、及びシグナルドメイン(ヒト4-1BB及びCD3 ζ)をコードする遺伝子からなる。

別紙1にベクターの構造、供与核酸、及び塩基配列を示す。また、タンパク質コード領域についてはアミノ酸配列を示す。

(2) 構成要素の機能

発現カセットとして寄与する要素は次のとおりである(より詳細は別紙1に記載)。XXXXXXXXXXプロモーターは転写プロモーターとして機能する。CAR導入遺伝子は、CD8 α リーダーペプチドが輸送シグナル、抗CD19 scFvが標的認識部位、CD8 α ヒンジ及び膜貫通ドメインは細胞内外のドメインの連結部位、4-1BB(CD137)及びCD3 ζ ドメインは細胞内シグナル伝達ドメインとして機能する。WPREは翻訳を安定化し、遺伝子発現を高める。

発現カセット以外に機能する要素は次のとおりである(より詳細は別紙1に記載)。5'側RU5及び3'側SIN U3、RU5はHIV-1ゲノム骨格のLTRの部分構造である。PSIはパッケージングシグナルとして働く。PPTはDNA合成開始に寄与し、cPPTの詳細な機能は不明であるが遺伝子導入効率を高めるとされている。RREはRNAの細胞質への輸送に寄与する。

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

5'より順に、SIN型U3、RU5領域、パッケージング(Ψ)シグナル、RRE、cPPT、発現カセット、PPT、及び3' SIN型LTRが含まれる。発現カセットには、XXXXXXXXXXプロモーター、CAR導入遺伝子、及び改変型WPRE配列が含まれる。

(2) 宿主内に移入された核酸の移入方法

セルバンク化したパッケージング細胞(HEK293T)及び4種のプラスミドを用いた一過性トランスフェクションによりウイルス粒子を産生させることで、ウイルスベクターゲノムがウイルス粒子内に取り込まれる。別紙1にプラスミドの情報及びパッケージング細胞の情報を記載する。

(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は、別紙1に示した4種のプラスミドでHEK293T細胞に一過的にトランスフェクションさせた後、XXXXXXXXXX、XXXXXXXXXXを経て充填、保管される。また、出荷試験が行わ

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. 本遺伝子組換え生物等により遺伝子導入した自家T細胞製品（YTB323）の使用等の方法

保管

（1）YTB323は、漏出しない容器に入れた状態で遺伝子組換え生物等を含有する旨を表示し、治療施設内の適切に管理された気相式液体窒素タンク又は冷凍庫において保管する。

運搬

（2）YTB323の治療施設内での運搬は、漏出しない容器に入れた状態で行う。

患者への投与

（3）YTB323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、患者の静脈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。

感染性廃棄物等の処理

（4）YTB323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。

（5）YTB323に直接接触した、注射針、バッグ、カテーテル等の器具類及び器材等は、医療廃棄物管理規程に従って廃棄する。

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

YTB323の投与を受けた患者の体内における増殖性レンチウイルスの確認は、米国等で実施中の国際共同治験（A12101試験）において、末梢血検体を用いた水疱性口内炎ウイルスの糖タンパク質（VSV-G）の定量ポリメラーゼ連鎖反応（q-PCR）検査によって実施している。A12101試験に日本が参加する場合には、日本人患者のVSV-G qPCR検査を実施する予定である。

なお、YTB323の使用の開始後における、患者の血液や排泄物中の本遺伝子組換え生物等（感染性粒子）の測定は不要であると考え（根拠は別紙4に記載）。

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

生物多様性影響が生じるおそれがないため、該当せず

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

YTB323中の本遺伝子組換え生物等の残存に関する試験結果は、別紙4に記載した。

本遺伝子組換え生物等及び健康人由来T細胞を用いて調製した遺伝子導入T細胞を免疫不全マウスであるNOD/SCID/IL2R-null (NSG) マウスに静脈内投与した。各投与群の血液生化学的検査、病理検査においてxGVHDに関連する所見以外に投与に関連する変化はみられず、各臓器において腫瘍細胞の浸潤や増殖を示す所見や造腫瘍性は認められなかった（別紙5）。

6. 国外における使用等により得られた情報

YTB323を用いた臨床試験（A12101）は、米国等において実施中である。最新の治験品概要書作成時点（安全性データカットオフ日：2020年5月15日）において、YTB323を輸注された7名中4名に、重篤な有害事象としてサイトカイン放出症候群（3名）、発熱性好中球減少症、末梢性ニューロパチー、末梢腫脹、及び敗血症（各1名）が認められた。サイトカイン放出症候群及び発熱性好中球減少症は治験治療と関連ありと判断された。なお、YTB323中に本遺伝子組換え生物等が残存する可能性は完全には否定できないが、仮に残存したとしてもその量は極めて少なく、速やかに血中で不活化されるため、本遺伝子組換え生物等とこれらの重篤な有害事象との関連はないと考える。また、YTB323に関連した水平伝達を示唆する有害事象や知見に関する報告はない。生物多様性影響評価に関してはIV項に記載した。

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及びRCLはVSV-G envタンパク質を持つので、広範囲の動物に感染しうるが、微生物への感染性は知られていない。したがって、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

以上より、他の微生物を減少させる性質について、当該第一種使用規程に従って使用等を行う限り、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及びRCLはVSV-G envタンパク質を持つので、患者体外に排出された場合には野生型VSVと同様、ヒトやほ乳類から非ほ乳類まで広範囲の動物に感染しうる。したがって、これらの生物種は本遺伝子組換え生物等の核酸を伝達されることにより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はヒト、イヌ、サル等の細胞への挿入変異によってがん化を引き起こす可能性がある。HIV-1のうち病原性の高い遺伝子を欠損させているため、ヒトに対する病原性は宿主よりも低いと考えられる。本遺伝子組換え生物等による遺伝子導入がなされCAR遺伝子がTリンパ球において発現した場合、このCAR T細胞はCD19発現細胞特異的な細胞傷害活性を獲得するため、CD19を発現するB細胞系腫瘍細胞のみならず正常のB細胞をも傷害する。したがって、B細胞の減少に伴う抗体産生機能の低下等により免疫機能が低下する可能性がある。このCAR T細胞の影響を受ける可能性のある生物はヒトに限られる。

(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限り、たとえ本遺伝子組換え生物等がYTB323中に存在したとしても、それが患者に投与されることによって当該施設外に出る可能性は極めて低く、出たとしてもごく微量である。また、別紙4に記載したように、本遺伝子組換え生物等はヒト血清により速やかに不活化される。さらに、本遺伝子組換え生物等は増殖能を欠損しているため、通常の細胞に感染してもウイルス粒子を産生することはない。また、HIV-1のうち病原性の高い遺伝子を欠損させているため、病原性がある可能性は低いと考える。

一方、本遺伝子組換え生物等の製造工程中に出現したRCLがYTB323に混入して患者に輸注された場合には患者体内でRCLが産生される可能性がある。しかし、別紙2に示すように本遺伝子組換え生物等は、RCL出現の可能性が極めて低い第3世代のレンチウイルスベクターシステムによって製造されているうえに、本遺伝子組換え生物等及びYTB323のRCL陰性を確認してから使用するため、患者体内にRCLが侵入す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

当該第一種使用規程に従って使用等を行う限り、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

本遺伝子組換え生物等及びRCLはVSV-G envタンパク質を持つので、患者体外に排出された場合には野生型VSVと同様、ヒトやほ乳類から非ほ乳類まで広範囲の動物に感染しうる。したがって、これらの生物種は本遺伝子組換え生物等の核酸を伝達されることにより影響を受ける可能性がある。

(2) 影響の具体的内容の評価

感染細胞内で CAR が新たに産生されるが、有害な作用はなく、他に新たな有害物質が産生されることはないため、生物多様性への影響はない。

(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

当該第一種使用規程に従って使用等を行う限り、有害物質の産生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。

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及び RCL は VSV-G env タンパク質を持つので、患者体外に排出された場合には野生型 VSV と同様、ヒトやほ乳類から非ほ乳類まで広範囲の動物に感染しうる。したがって、これらの生物種は本遺伝子組換え生物等の核酸を伝達されることにより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又は RCL によってこれらの遺伝子組換え生物等の核酸が野生動物のゲノム中に組み込まれる可能性がある。

(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使用等の方法による限り、本遺伝子組換え生物等が YTB323 とともに患者に投与されることによって当該施設外に出たとしてもごく微量である。ごく微量の本遺伝子組換え生物等によって野生動物に核酸が伝達される可能性は非常に低い。本遺伝子組換え生物等は増殖能を欠損しているため、通常の細胞に感染してもウイルス粒子を産生することはない。また、同一細胞に配列相同性を有するレトロウイルスが共感染し、組換えが発生しない限り増殖性獲得は起こらないため、その確率は極めて低い。さらに、野生株との相同組換えにより新たに生じた遺伝子組換え生物等の供与核酸が他の動物等に水平伝達される確率はさらに低い。万一、遺伝子組換え生物等に該当する RCL が多量に出現した場合には、血液、体液等を通じて他の個体に RCL が感染し、その核酸が伝達される可能性が否定できないが、別紙 2 に示すように本遺伝子組換え生物等と配列相同性を有するレトロウイルスとの相同組換えにより新たに RCL が出現す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

以上より、核酸を水平伝達する性質について、当該第一種使用規程に従って使用等を行う限

り、生物多様性影響が生ずるおそれはない。

5. その他の性質

本遺伝子組換え生物等が感染可能な野生動物等の生殖系細胞のゲノム中に組み込まれて、核酸を垂直伝達する可能性は完全には否定できない。しかし、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によりその核酸が野生動物に伝達される可能性は非常に低い。RCLが出現しない限り、本遺伝子組換え生物等の核酸が伝達される細胞は本遺伝子組換え生物等が最初に感染した細胞に限られ、その細胞が生殖系細胞である確率は低いと考えられる。また、RCLが出現する可能性は極めて低い。以上から、本遺伝子組換え生物等又はRCLの核酸が生殖系細胞に伝達される可能性は極めて低い。よって、核酸を垂直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。

V 総合的評価

本遺伝子組換え生物等及びRCLはVSV-G envタンパク質を持つので、患者体外に排出された場合には野生型VSVと同様、ヒトやほ乳類から非ほ乳類まで広範囲の動物に感染しうるが、自然界で植物及び微生物に感染することはないと考えられる。

第一種使用規定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、その量は検出レベル以下であると推定される。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、環境中で増殖することはない。

本遺伝子組換え生物等は、野生型VSVと同様に感染及び核酸を水平伝達しうるが、当該第一種使用規程に従って使用等を行う限り、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。

従って、第一種使用規定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。