

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

マウスモデルに Adv.RSV-TK 溶液を投与した動物実験では、Adv.RSV-TK 注入 1 週間後、Adv.RSV-TK DNA は尿、精液及び精子には認めず、血中にはマウス 40 匹中 1 匹のみに認めた。Adv.RSV-TK の広がりには前立腺、精囊、精巣、骨盤リンパ節、消化管及び肝臓において観察された。動物に対する毒性所見は認められなかった（文献 11）。

共同研究者が所属する岡山大学医学部・歯学部附属病院において、2001 年以後、Adv.RSV-TK を用いた遺伝子治療臨床研究で 9 例（2 例は同一症例）の前立腺がん患者に Adv.RSV-TK 溶液の投与を行った。投与後の被験者の血液及び尿中の Adv.RSV-TK の有無を PCR 法により検査したところ、血液中への Adv.RSV-TK の移行は 1×10^9 プラーク形成単位（pfu）単回投与群においては認められず、 1×10^{10} pfu 単回投与群において投与後 30 分をピークに認められたが翌日には消失した。尿中への移行は投与直後において認められたが、多くの場合は 2 日目に消失した。被験者の個室管理期間中の医療従事者や被験者の家族等面会者の健康状態からみて、Adv.RSV-TK の環境中への放出及び医療従事者や面会者への感染は認められていない。

6 国外における使用等により得られた情報

1996 年 8 月より、放射線治療後の局所再燃がんに対する Adv.RSV-TK 及びガンシクロビルの併用療法の第 I 相臨床研究が米国 Baylor 医科大学で実施された。当該研究において Adv.RSV-TK 溶液を前立腺巣内に局所内投与された 18 名の患者の尿を検体として、PCR 法による Adv.RSV-TK DNA の確認が行われた。Adv.RSV-TK 投与後、尿中には Adv.RSV-TK DNA が、症例により差はあるが、0～32 日間（平均 6.8 日間）検出された（文献 12）。

文献 12 : Herman, J. R., et al.: Hum. Gene Ther. 10: 1239-1249 (1999)

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野生動植物等の特定

Adv.RSV-TK 及び Adv.RSV-TK 由来 RCA 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。

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

Adv.RSV-TK 及び Adv.RSV-TK 由来 RCA の感染性は野生型 Ad5 と同一と考えられるので、ほ乳動物に感染し、自然界ではヒト以外の動植物及び微生物に感染するとの報告はない。

(2) 影響の具体的内容の評価

Adv.RSV-TK が感染したほ乳動物で一過性に感染細胞で HSV-tk 遺伝子を発現する可能性はあるが、生体のごく一部の細胞で発現される条件下での HSV-tk 遺伝子そのものの病原性への関与は知られておらず、野生型 Ad5 を超える病原性を示すことはないと考えられる。

Adv.RSV-TK 由来 RCA の病原性は、野生型 Ad5 と同等であると考えられる。

なお、Ad5 を宿主とする遺伝子治療用ウイルスベクター（遺伝子組換え生物等）は 1990 年以後、国内外で汎用されているが（文献 13）、環境への悪影響に関する報告はない。1999 年に初めて遺伝子治療薬の投与に起因する死亡例が、Ad5 を宿主とするアデノウイルスベクターを用いた米国での遺伝子治療臨床研究において発生したが、その後の調査研究により、当該事例は、ベクター大量投与の結果、循環血中に漏れ出たベクターのウイルスたん

白により引き起こされた全身的免疫反応に起因するものであることが明らかにされている（文献 14）。

(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、Adv.RSV-TK 及び Adv.RSV-TK 由来 RCA の環境中への拡散は極めて微量である。さらに、Adv.RSV-TK は増殖能を失っているため、野生型アデノウイルスとの共感染がないかぎり、環境中で増殖することはない。さらに、Adv.RSV-TK が環境中で効率よく感染する対象はヒトに限られることを踏まえると、Adv.RSV-TK 及び Adv.RSV-TK 由来 RCA が被験者以外のヒトに対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

よって、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。

文献 13：日本遺伝子治療学会編：遺伝子治療開発研究ハンドブック，pp.360-368，エヌ・ティ・エス，東京（1999）

文献 14：Hum. Gene Ther. 13: 3-13（2002）

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

Adv.RSV-TK の有害物質の産生性は知られておらず、影響を受ける可能性のある野生動植物等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、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。

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

自然界では野生型 Ad5 がヒト以外の動植物及び微生物に感染するとの報告はない。したがって、Adv.RSV-TK 及び RCA の感染性は、野生型 Ad5 と同様、環境中ではヒト以外には感染しないと考えられる。

(2) 影響の具体的内容の評価

Adv.RSV-TK が感染したほ乳動物で一過性に感染細胞で HSV-tk 遺伝子を発現する可能性はあるが、これが他のほ乳動物個体へ水平伝達することは非常に考えにくい。

(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、Adv.RSV-TK の環境中への拡散は極めて微量である。Adv.RSV-TK は増殖能を失っているため、被験者に野生型アデノウイルスが共感染しないかぎり、環境中で増殖することはない。さらに、Adv.RSV-TK が環境中で効率よく感染する対象はヒトに限られること並びにヒト体内の同一細胞に Adv.RSV-TK 及び野生型アデノウイルスが感染する可能性は極めて低いことも踏まえると、Adv.RSV-TK は環境中から比較的早期に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

よって、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

Adv.RSV-TK が感染する動植物等の種類は野生型 Ad5 と同等で、環境中ではヒトにのみ感染し、他のほ乳動物、植物及び微生物には感染しないと考えられる。

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るかぎり、Adv.RSV-TK 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。Adv.RSV-TK による感染細胞での HSV-tk 遺伝子の一過性発現は病原性をもたないので、野生型 Ad5 を超える病原性を示すことはないと考えられる。さらに、Adv.RSV-TK は増殖能を失っているため、野生型アデノウイルスとの共感染がないかぎり、環境中で増殖することはない。ヒト体内の同一の細胞に Adv.RSV-TK と野生型アデノウイルスが感染する可能性は極めて低く、Adv.RSV-TK は環境中から比較的早期に消滅すると考えられる。

極めて微量の Adv.RSV-TK 由来 RCA の環境中への放出も完全には否定できないが、アデノウイルス粒子へパッケージングできる DNA のサイズに上限があるため、RCA は野生型 Ad5 と同じになるか、あるいは野生型 Ad5 に極めて近い構造になると考えられる。RCA の感染性、増殖性、病原性及び核酸を水平伝達する性質は野生型 Ad5 と同等であり、ヒト及び他のほ乳動物、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、Adv.RSV-TK 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 ※添付省略

別紙 1： Adv.RSV-TK の全塩基配列

別紙 2： HSV-tk 遺伝子の塩基配列（1131 bp）、および HSV-tk のアミノ酸配列

別紙 3： Adv.RSV-TK の構造

別紙 4： 各バンク及び最終製品の品質管理試験の詳細

別紙 5： 受入れ試験の詳細

別紙 6： 北里大学病院相模原キャンパス図、北里大学医学部 M1 号館（生化学研究室 15：P2 実験室）、北里大学病院手術室、北里大学病院新棟 6 階 S 病棟（全体図・患者用個室拡大図）

別紙 7： 北里大学病院廃棄物管理規程

遺伝子治療臨床研究に係る第一種使用規程の承認状況一覧

平成19年3月 現在

番号	承認日 (承認番号)	実施施設	遺伝子組み換え生物等の種類の名称	研究課題名	ベクターの種類	対象疾患	導入方法(概要)
1	H17.9.1 (05-36V-0001)	北海道大学病院	ヒトアデノジンデアミナーゼcDNA遺伝子配列を含み、テナガザル白血病ウイルスenv蛋白質をエンベロープに持つ非増殖性の遺伝子組換えモロニーマウス白血病ウイルス(GCsa0M-ADA)	アデノジンデアミナーゼ欠損症における血液幹細胞を標的とする遺伝子治療臨床研究	モロニーマウス白血病ウイルス由来レトロウイルスベクター	ADA欠損症	レトロウイルスベクターにより自己血液幹細胞(CD34陽性細胞)に遺伝子導入後、患者に静注
2	H17.9.1 (05-36V-0002)	筑波大学附属病院	単純ヘルペスウイルス1型チミジンキナーゼ及び細胞内領域欠損ヒト低親和性神経成長因子受容体を発現し、マウスアノプオトロピックウイルス4070Aのenv蛋白質をエンベロープに持つ非増殖性の遺伝子組換えモロニーマウス白血病ウイルス(SFCMMI-3)	同種造血幹細胞移植後の再発白血病に対するヘルペスウイルス・チミジンキナーゼ導入トナー-Tリンパ球輸注療法の臨床研究	モロニーマウス白血病ウイルス由来レトロウイルスベクター	再発性白血病	レトロウイルスベクターによりHSV-TKをex vivo導入したトナー末梢血Tリンパ球による輸注(DLT)
3	H17.9.1 (05-36V-0003)	財団法人癌研究会附属病院	ヒト多剤耐性遺伝子MDR1遺伝子配列を含み、マウスアノプオトロピックウイルス4070Aのenv蛋白質をエンベロープに持つ非増殖性の遺伝子組換えハーペーマウス肉腫ウイルス(HaMDR)	乳癌に対する癌化学療法の有効性と安全性を高めるための耐性遺伝子治療の臨床研究	ハーペーマウス肉腫ウイルス由来レトロウイルスベクター	乳がん	レトロウイルスベクター(HaMDR)を患者の造血幹細胞にex vivo導入後移植
4	H17.9.1 (05-36V-0004)	神戸大学医学部付属病院	単純ヘルペスウイルスチミジンキナーゼ遺伝子配列を含む非増殖性の遺伝子組換えヒトアデノウイルス5型(Ad-OC-TK)	前立腺癌転移巣及び局所再発巣に対する臓器特異性プロモーターオステオカルシンプロモーターを組み込んだアデノウイルスベクター(Ad-OC-TK)及びバランシクロピルを用いた遺伝子治療臨床研究	アデノウイルスベクター	前立腺がん	アデノウイルスベクターによる転移巣、再発巣へのin vivo局所投与後、バランシクロピル経口投与
5	H17.9.1 (05-36V-0005)	岡山大学医学部・歯学部附属病院	単純ヘルペスウイルスチミジンキナーゼを発現する非増殖性の遺伝子組換えヒトアデノウイルス5型(Adv.RSV-TK)	前立腺癌に対するHerpes Simplex Virus-thymidine kinase遺伝子発現アデノウイルスベクター及びバランシクロピルを用いた遺伝子治療臨床研究	アデノウイルスベクター	前立腺がん	アデノウイルスベクター(Ad5CMV-p53)の癌組織へのin vivo直接投与
6	H18.1.31 (06-36V-0001)	九州大学病院	ヒト塩基性線維芽細胞増殖因子(hFGF-2)を発現する非増殖性の遺伝子組換えセンチウイルス(SeV/gF-hFGF2)	血管新生因子(線維芽細胞増殖因子:FGF-2)遺伝子搭載非伝播型組換えセンチウイルスベクターに対する血管新生遺伝子治療臨床研究	センチウイルスベクター	閉塞性動脈硬化症・パーキンソン病	センチウイルスベクター(FGF-2)を大腿及び下腿に注射
8	H18.10.31 (06-36V-0002)	自治医科大学附属病院	ヒトアミノ酸脱炭酸酵素遺伝子を発現する非増殖性の遺伝子組換えヒトアデノウイルス2型(AAV-hAADC-2)	AAADC発現AAVベクター線条体内投与による進行期パーキンソン病遺伝子治療の臨床研究	アデノ随伴ウイルスベクター	進行期パーキンソン病	患者の線条体に、hAADC遺伝子を組み込んだAAV-2ベクターを定位脳手術的に注入
7	今回審議	北里大学病院	単純ヘルペスウイルスチミジンキナーゼを発現する非増殖性の遺伝子組換えヒトアデノウイルス5型(Adv.RSV-TK)	前立腺癌に対するHerpes Simplex Virus-thymidine kinase 遺伝子発現アデノウイルスベクター及びバランシクロピルを用いた遺伝子治療臨床研究	アデノウイルスベクター	前立腺がん	HSV-TK遺伝子発現アデノウイルスベクターを前立腺内に注入
9	審議中	岡山大学医学部・歯学部附属病院	インターロイキン-12を発現する非増殖性の遺伝子組換えヒトアデノウイルス5型(Adv/IL-12)	前立腺癌に対するInterleukin-12 遺伝子発現アデノウイルスベクターを用いた遺伝子治療臨床研究	アデノウイルスベクター	前立腺がん	IL-12遺伝子発現アデノウイルスベクターの局所投与(前立腺局所又は転移巣)