

遺伝子治療臨床研究に係る生物多様性影響評価 に関する申請について

- 諮問及び付議P 1

(北里大学病院)

- 第一種使用規程承認申請書P 3
- 生物多様性影響評価書P 6

(自治医科大学附属病院)

- 第一種使用規程承認申請書P17
- 生物多様性影響評価書P20

(参考資料)

- 厚生科学審議会科学技術部会遺伝子治療臨床研究作業委員会
遺伝子治療臨床研究に係る生物多様性影響評価に関する作業委員会…P33
- 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の概要等P35
- 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等（参照条文）P38
- 「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」の概要及び「遺伝子治療臨床研究に関する指針」との関係についてP42



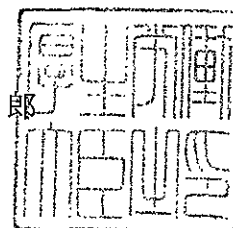
厚生労働省発科第0130003号

平成18年1月30日

厚生科学審議会会長

久道 茂 殿

厚生労働大臣 川崎 二郎

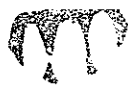


諮 問 書

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（平成15年法律第97号）第4条第1項に基づく第一種使用規程等の主務大臣承認に関し、下記の遺伝子治療臨床研究について、厚生労働省設置法（平成11年法律第97号）第8条第1項第1号イの規定に基づき、貴会の意見を求めます。

記

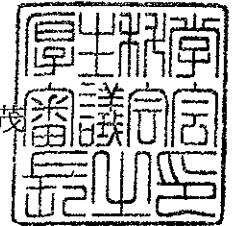
- 1 前立腺癌に対する Herpes Simplex Virus-thymidine kinase 遺伝子発現アデノウイルスベクター及びガンシクロビルを用いた遺伝子治療臨床研究
申請者 北里大学病院病院長 藤井 清孝
遺伝子組換え生物等の種類の名称
単純ヘルペスウイルスチミジンキナーゼを発現する非増殖性の遺伝子組換えヒトアデノウイルス5型 (Adv. RSV-TK)
- 2 AADC 発現 AAV ベクター線条体内投与による進行期パーキンソン病遺伝子治療の臨床研究
申請者 自治医科大学附属病院病院長 布施 勝生
遺伝子組換え生物等の種類の名称
ヒトアミノ酸脱炭酸酵素遺伝子を発現する非増殖性の遺伝子組換えヒトアデノ随伴ウイルス2型 (AAV-hAADC-2)



厚 科 審 第 9 号
平成18年1月30日

科学技術部会部会長
矢 崎 義 雄 殿

厚生科学審議会会長
久 道 茂



遺伝子治療臨床研究に係る生物多様性影響評価について（付議）

標記について、平成18年1月30日付け厚生労働省発科第0130003号をもって厚生労働大臣より諮問があったので、厚生科学審議会運営規程第3条の規定に基づき、貴部会において審議方願いたい。

第一種使用規程承認申請書

平成18年1月19日

厚生労働大臣 川崎 二郎 殿
環境大臣 小池 百合子 殿

申請者 氏名 北里大学病院
病院長 藤井 清孝
住所 神奈川県相模原市北里1丁目1番15号

第一種使用規程について承認を受けたいので、遺伝子組み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項の規定により、次のとおり申請します。

<p>遺伝子組み換え生物等の種類の名称</p>	<p>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)</p>
<p>遺伝子組み換え生物等の第一種使用等の内容</p>	<p>治療施設におけるヒト遺伝子治療を目的とした使用、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>治療施設の所在地 神奈川県相模原市北里 1 丁目 15 番 1 号 治療施設の名称 北里大学病院</p> <p>(1) Adv.RSV-TK 溶液は、容器に密封後、凍結状態で治療施設に輸送し、施設内の P2 レベルの実験室内の冷凍庫に保管する。</p> <p>(2) 凍結状態の Adv.RSV-TK 溶液の融解、希釈及び分注操作は、P2 レベルの実験室内の安全キャビネット内で行う。Adv.RSV-TK 希釈溶液の保管は、P2 レベルの実験室内の冷凍庫において行う。なお、Adv.RSV-TK 希釈溶液又はその凍結品を開放系区域を通過して他の P2 レベル区域に運搬する場合には、二重に密閉した容器に入れて運搬する。</p> <p>(3) Adv.RSV-TK 溶液（希釈溶液を含む。）を廃棄する際には、滅菌処理を行った後、本施設で定められたバイオセーフティ安全管理規程（以下「バイオセーフティ規程」という。）に従い廃棄する。</p> <p>(4) 被験者に対する Adv.RSV-TK の投与は、環境中への拡散防止措置を適切に執った個室（以下「個室」という。）内において、ハイリスク前立腺がんの前立腺病巣の中に Adv.RSV-TK 希釈溶液を注入することにより行う。Adv.RSV-TK 投与に用いた注射針、注射器、チューブ等の器具は使い捨てとし、個室で適切に消毒を実施した後、バイオセーフティ規程に従い廃棄する。</p> <p>(5) 投与後 2 4 時間まで、被験者を個室で管理し、検査等の理由で被験者が一時的に個室外の開放系区域に出る場合には、マスク及びガウン着用等のウイルス漏出予防措置を義務付ける。</p> <p>(6) 個室における管理期間中の被験者の排泄物等（血液、体液、尿及び糞便等）は、個室で適切に消毒を行い、バイオセーフティ規程に従い廃棄する。なお、臨床検体として使用する被験者の排泄物等の取扱いは、上記 Adv.RSV-TK 溶液の取扱いに準じる。</p> <p>(7) 個室における管理期間中、被験者に対して侵襲的に使用した器具等及び被験者の排泄物等に接触した器具等は、個室において適切に消毒を実施した後、バイオセーフティ規程に従い廃棄するか、又は個室で十分洗浄する。</p>

遺伝子組換え生物等の第一種使用等の方法	<p>(8) 個室における被験者の管理を解除する前に、被験者の血液及び尿中の Adv.RSV-TK が陰性であることを確認する。Adv.RSV-TK が確認されたときは、個室における管理を継続する。</p> <p>(9) 個室における管理解除後に被験者の血液又は尿中から Adv.RSV-TK が検出された場合には、直ちに被験者を個室における管理下に移し、上記(5)から(8)までと同様の措置を執る。</p>
---------------------	--

生物多様性影響評価書

(区分：遺伝子治療臨床研究)

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の違いで 51 の血清型に分けられており (文献 1, 2)、Adv. RSV-TK はヒトアデノウイルス 5 型 (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, 6 に対する中和抗体保有率は 1~2 歳齢では 46.7~93.3% で、20 歳齢迄に 100%に達している。(文献 3)。自然環境において、ヒト以外の動物での増殖は報告されていない。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: Kaipe DM, Howley PM ed., Fields VIROLOGY fourth edition, pp.2265-2326, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia (2001)

文献 2: 畑中正一編, ウイルス学, pp.198-208, 朝倉書店, 東京 (1997)

文献 3: 水田克巳など, 山形県衛生研究所報(0513-4706)32 号 Page5-7(1999.12)

2 使用等の歴史及び現状

Ad5 を生ワクチン等に使用した報告はない。Ad5 に由来するウイルスベクターが遺伝子治療で汎用されている (IV 章参照)。

3 生理・生態学的特性 (文献 1、2)

(1) 基本的特性

ウイルスキャプシドは直径 80 nm の正二十面体で、エンベロープはない。ゲノムは約 36 kb の 2 本鎖 DNA である。

(2) 生育又は生育可能な環境の条件

ヒトに感染し、増殖する。培養細胞でも、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、ヒトに経口感染し、増殖したウイルスは便と共に排泄される。

(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。

(6) 有害物質の産生性

Ad5 の感染で細胞内に産生されるたん白質等の毒性は報告されていない。

(7) その他の情報

Ad5 は 56℃、30 分の加熱で感染性を失う (文献 4)。

文献 4 : Bardell D, J of Clin Microbiol, pp. 322-325 (1976)

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

ラウスサルコーマウイルス (略称 RSV) プロモーター (309kb)、Herpes Simplex Virus - thymidine kinase (HSV-tk) (1659 kb) をコードする DNA 及び SV40 の poly A 付加シグナルを宿主に導入した。(供与核酸の全塩基配列及び対応するアミノ酸配列は別紙 1)。

(2) 構成要素の機能

RSV プロモーターは HSV - tk 遺伝子のみを転写させることになり、HSV - tk が発現される。RSV プロモーターの方向と E2 及び E4 遺伝子の向きは逆方向になるため、RSV プロモーター活性が E2 及び E4 遺伝子の転写を引き起こすことはない。また、SV40 ポリ A シグナルにより転写が終了する。

これらの供与核酸の導入によって、Adv.RSV-TK の感染性及び増殖性が Ad5 から変わ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

Adv. RSV-TK は pADL. 1/RSV. tk 及び pJM17 の二つプラスミドより作製される。pADL. 1/RSV. tk は RSV-LTR の転写制御下にある HSV-tk 遺伝子を含む。pJM17 はパッケージサイズを越える欠アデノウイルスゲノムが含まれ「ヘルパー」ウイルスプラスミドである。

ベクターの構造は別紙 2。

(2) 特性

pADL.1/RSV-tkはAmpicilin耐性遺伝子を有し、pJM17はAmpicilinおよびTetracycline耐性遺伝子を有している。

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

Ad5 の E1 領域を供与核酸と置換し、E3 領域を削除した (Ad5 及び Adv.RSV-TK のゲノム構造の図は別紙 3)。

(2) 宿主内に移入された核酸の移入方法

pADL. 1/RSV. tk は pXCJL.1 (McMaster 大学 Frank Graham 氏より提供された) の Xba I と Cla I サイトの間に、RSV-LTR プロモーターを組み込んで作製する。この BamH I サイトに、HSV-TK 及び polyA tail を含む 2.8 kb の Bgl II/BamH I フラグメントをインサートして、pADL.1 RSV-tk を得る。この pADL.1 RSV-tk を pJM17 と共に、リン酸カルシウム法によってヒト胎児腎細胞 (293 細胞) に導入し、細胞内での相同組換えにより生じる遺伝子組換えアデノウイルス Adv.RSV-TK を得る。

(概略図は別紙 2)。

(3) 遺伝子組換え生物等の育成の経過

Adv.RSV-TK はウイルスの E1、E3 領域を欠失している。E1A 及び E1B 遺伝子産物はウイルス DNA の複製に必要なので、これらの遺伝子を継続的に発現している 293 細胞を使って増殖させた。Adv.RSV-TK の最終製品は米国 Baylor 医科大学細胞遺伝子治療センターで製造した。製造工程は現行の米国 GLP 基準に従ってセルバンク

システム及びウイルスバンクシステムを用い、各バンクの品質管理は FDA 基準に従った（各バンク及び最終製品の品質管理試験の詳細は別紙4）。凍結した状態で日本へ輸送した最終製品は、岡山大学医学部歯学部附属病院遺伝子細胞治療センターにおいて受け入れ試験を実施する（受け入れ試験の詳細は別紙5）。

最終製品は北里大学医学部M1号館7階生物化学系研究室15（P2レベル）のディープフリーザーに施錠の上、保管する（当該治療施設の地図及び保管場所の概略図は別紙6）。

また、マスターウイルスバンク、マスターセルバンク及びワーキングセルバンクは、すべて米国 Baylor 医科大学細胞遺伝子治療センターに保管されている。

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 Adv.RSV-TK 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（文献5、6）。

細胞に感染すると、Adv.RSV-TK のゲノムは核内の染色体外に存在し、HSV-tk が転写される。HSV-tk の発現は一過性である（文献5、6）。

Adv.RSV-TK を293細胞で増殖させる過程で、293細胞染色体に組み込まれている E1 遺伝子と Adv.RSV-TK ゲノムの間で相同組換えが起こり、増殖能を獲得したウイルス（RCA）が生じる可能性がある。生じる可能性のある RCA の大部分は、供与核酸を失った Ad5 の E3 領域欠損株ないしは Ad5 そのもの（これらは遺伝子組換え生物等に該当しない）と考えられるが、供与核酸の一部を保持した RCA（遺伝子組換え生物等に該当）が生じる可能性は否定できない。

文献5：Hum Gene Ther 7:515-523,1996.,

文献6：Int J Can 70:183-187, 1997.

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

Adv.RSV-TK は宿主の Ad5 に存在しない HSV-tk 遺伝子を含むので、HSV-tk 遺伝子 DNA の一部を PCR で増幅、定量する方法で Adv.RSV-TK を検出できる。細胞から抽出した DNA 1 µg 中に1コピーの Adv.RSV-TK があれば検出することができる（文献7）。

Adv.RSV-TK 由来の RCA はアデノウイルスに感受性をもつ細胞（ヒト子宮頸癌由来 HeLa 細胞）を用いたバイオアッセイが一般的に行われており、この方法の検出感度及び信頼性は高く、FDA もこの検出方法を推奨している。

文献7: Sterman DH et al: Human gene Therapy.9:1083-1092,1998.

6 宿主又は宿主の属する分類学上の種との相違

Adv.RSV-TK は Ad5 の E1 及び E3 領域の遺伝子を欠失しているため、これらの領域にコードされているウイルスたん白質群を発現できない。E1A 及び E1B 遺伝子から作られるたん白質はウイルス DNA の複製に必要なため (文献 1、2)、E1A 及び E1B 遺伝子を持続的に発現している細胞 (例えば 293 細胞) や Ad5 と共感染した細胞でなければ Adv.RSV-TK の増殖は起こらない。また、Adv.RSV-TK は外来 RSV プロモーターから転写される HSV - tk 遺伝子のみが発現することになる。(文献 4,5)。これらの点を除くと、Adv.RSV-TK 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 とまったく同等である。

Adv.RSV-TK 由来の RCA は、遺伝子組換え生物に該当するものも含め、ヒトや動植物等への感染性、感染様式、病原性など、生物多様性に影響を与える性質は野生型 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遺伝子治療を目的とした使用、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

治療施設の所在地 神奈川県相模原市北里 1-15-1

治療施設の名称 北里大学病院

- (1) Adv.RSV-TK 溶液は、容器に密封後、凍結状態で治療施設に輸送し、施設内の P2 レベルの実験室内の冷凍庫に保管する。
- (2) 凍結状態の Adv.RSV-TK 溶液の融解、希釈及び分注操作は、P2 レベルの実験室内の安全キャビネット内で行う。Adv.RSV-TK 希釈溶液の保管は、P2 レベルの実験室内の冷凍庫において行う。なお、Adv.RSV-TK 希釈溶液又はその凍結品を開放系区域を通して他の P2 レベル区域に運搬する場合には、二重に密閉した容器に入れて運搬する。
- (3) Adv.RSV-TK 溶液 (希釈溶液を含む。) を廃棄する際には、滅菌処理を行った後、

本施設で定められたバイオセーフティ安全管理規程（別紙7）（以下「バイオセーフティ規程」という。）に従い廃棄する。

- (4) 被験者に対する Adv.RSV-TK の投与は、環境中への拡散防止措置を適切に執った個室（以下「個室」という。）内において、ハイリスク前立腺がんの前立腺病巣の中に Adv.RSV-TK 希釈溶液を注入することにより行う。Adv.RSV-TK 投与に用いた注射針、注射器、チューブ等の器具は使い捨てとし、個室で適切に消毒を実施した後、バイオセーフティ規程に従い廃棄する。
- (5) 投与後 24 時間まで、被験者を個室で管理し、検査等の理由で被験者が一時的に個室外の開放系区域に出る場合には、マスク及びガウン着用等のウイルス漏出予防措置を義務付ける。
- (6) 個室における管理期間中の被験者の排泄物等（血液、体液、尿及び糞便等）は、個室で適切に消毒を行い、バイオセーフティ規程に従い廃棄する。なお、臨床検体として使用する被験者の排泄物等の取扱いは、上記 Adv.RSV-TK 溶液の取扱いに準じる。
- (7) 個室における管理期間中、被験者に対して侵襲的に使用した器具等及び被験者の排泄物等に接触した器具等は、個室において適切に消毒を実施した後、バイオセーフティ規程に従い廃棄するか、又は個室で十分洗浄する。
- (8) 個室における被験者の管理を解除する前に、被験者の血液及び尿中の Adv.RSV-TK が陰性であることを確認する。Adv.RSV-TK が確認されたときは、個室における管理を継続する。
- (9) 個室における管理解除後に被験者の血液又は尿中から Adv.RSV-TK が検出された場合には、直ちに被験者を個室における管理下に移し、上記(5)から(8)までと同様の措置を執る。

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

被験者への投与後、被験者体内で増殖能を獲得した遺伝子組換えウイルスの有無については血液、尿中を用いて、PCR 法にて検査し、検出された場合は消失するまで追跡する。

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

遺伝子組換えウイルス投与後の被験者については PCR 法にて血液、尿中の遺伝子組換えウイルスを消失するまで追跡する。

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

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、ベクターの DNA が尿、精液、精子にはみとめず、血中はマウス 40 匹中一匹にのみに認めた。Adv.RSV-TK の広がりには前立腺、精嚢、精巣、骨盤リンパ節、消化管、肝において観察された。動物に対する毒性所見は認められていなかった。(文献 8)。

共同研究施設である岡山大学医学部歯学部附属病院において、同一ベクターを用いた遺伝子治療臨床研究を平成 13 年以後、これまで前立腺がん患者に Adv.RSV-TK の投与を行っているが、投与後の被験者の血液、尿及び喀痰中の Adv.RSV-TK の有無を PCR 法により検査したところ、投与後 24 時間後に Adv.RSV-TK が消失した。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も認められていない。

文献 8: Timme et al: Cancer Gene Therapy. 5:74-82,1998.

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、米国 Baylor 医科大学で実施された第 I 相臨床試験は放射線治療後に局所再燃癌に対する Adv.RSV-TK 及びガンシクロピルの併用療法。Adv.RSV-TK は前立腺巣内に局所内投与において、18 名の患者の尿を検体として用いた PCR 法が行われた。Adv.RSV-TK 投与後尿中にはアデノウイルス DNA の存在は症例により、差があるが、0-32 日間 (平均 6.8) 検出された。(文献 9)。

文献 9 : Herman JR et al: Human gene Therapy. 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、自然界で感染する対象はヒトのみである (文献 1、2)。

(2) 影響の具体的内容の評価

Adv.RSV-TK が感染したヒトで一過性に HSV-tk 遺伝子を発現する可能性はあるが、これによるヒトへの病原性は知られていない (文献 7)。

Adv.RSV-TK 由来 RCA の病原性は、野生型 Ad5 と同等である。

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 10)、環境への悪影響に関する報告はない。1998 年に初めて遺伝子治療薬の投与に起因する死亡例が、当該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 10)。

(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 が効率よく感染する対象はヒトに限られること（文献 1、2）及び HSV-tk 遺伝子の発現は HSV-tk 活性因子を発現する細胞に限定されていること（文献 7）も踏まえると、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 10：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、エヌティ・エス p360-368,1999.

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

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、自然界で感染する対象はヒトのみである（文献 1、2）。

(2) 影響の具体的内容の評価

Adv.RSV-TK が感染したヒトで一過性に HSV-tk 遺伝子を発現する可能性はあるが、これによるヒトへの核酸の水平伝達は知られていない（文献 7）。

Adv.RSV-TK 由来の遺伝子組換え生物に該当する RCA が出現したとしても、核酸を水平伝達する性質は野生型 Ad5 と同等である。

(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。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 が効率よく感染する対象はヒトに限られること（文献 1、2）及び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 はやがて環境中から消滅すると考えられる。

Adv.RSV-TK 由来の遺伝子組換え生物に該当する RCA が出現したとしても、核酸を水平伝達する可能性は野生型 Ad5 と同程度である。

(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、ヒトにのみ感染し、自然界で他のほ乳動物、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 HSV-tk 遺伝子の一過性発現はヒトに病原性をもたないので、ヒトに対する影響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 はやがて環境中から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、或いは短い外来遺伝子を含んでいても野生型 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。

第一種使用規程承認申請書

平成18年1月25日

厚生労働大臣 川崎 二郎 殿
環境大臣 小池 百合子 殿

申請者 氏名 自治医科大学附属病院
病院長 布施 勝生
住所 栃木県下野市薬師寺 3311-1

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>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随伴ウイルス2型(AAV-hAADC-2)</p>
<p>遺伝子組換え生物等の第一種使用等の内容</p>	<p>治療施設におけるヒト遺伝子治療を目的とした使用、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>治療施設の所在地：栃木県下野市薬師寺3311番地1 治療施設の名称：自治医科大学附属病院</p> <p>(1) AAV-hAADC-2 溶液は、容器に密封後、凍結状態で治療施設に輸送し、施設内の実験室内の冷凍庫に保管する。</p> <p>(2) 凍結状態の AAV-hAADC-2 溶液の融解、希釈及び分注操作は、P2 レベルの実験室内の安全キャビネット内で行う。 AAV-hAADC-2 希釈溶液の保管は、P2 レベルの実験室内の冷凍庫において行う。なお、AAV-hAADC-2 希釈溶液又はその凍結品を開放系区域を通じて他の P2 レベル区域に運搬する場合には、二重に密閉した容器に入れて運搬する。</p> <p>(3) AAV-hAADC-2 溶液（希釈溶液を含む。）を廃棄する際には、滅菌処理を行った後、本施設で定められた医療廃棄物管理規程（以下「医療廃棄物管理規程」という。）に従い廃棄する。</p> <p>(4) 被験者に対する AAV-hAADC-2 の投与は、環境中への拡散防止措置を適切に執った室内（以下「クリーンルーム」という。）において、両側の被殻の中に AAV-hAADC-2 希釈溶液を定位脳手術によって注入することにより行う。AAV-hAADC-2 投与に用いた注射針、注射器又はチューブ等の器具は使い捨てとし、クリーンルーム内で適切に消毒を実施した後、医療廃棄物管理規程に従い廃棄する。</p> <p>(5) 投与後72時間まで、被験者をクリーンルーム内で管理し、検査等の理由で被験者が一時的にクリーンルーム外の開放系区域に出る場合には、マスク及びガウン着用等のウイルス漏出予防措置を義務付ける。</p> <p>(6) クリーンルームにおける管理期間中の被験者の排泄物等（血液、体液、尿及び糞便等）は、クリーンルーム内で適切に消毒を行い、医療廃棄物管理規程に従い廃棄する。なお、臨床検体として使用する被験者の排泄物等の取扱いは、AAV-hAADC-2 溶液の取扱いに準じる。</p>