

遺伝子治療臨床研究実施計画の申請及び 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

【 千葉大学医学部附属病院 】

課題名 : 切除不能悪性胸膜中皮腫を対象としたNK4遺伝子発現型
アデノウイルスベクターによる臨床研究

遺伝子治療臨床研究実施計画の申請

- 諮問 及び付議 P. 1
- 遺伝子治療臨床研究実施計画申請書 及び概要書 . . . P. 3
- 同意説明文書 P. 11

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

- 諮問 及び付議 P. 43
- 第一種使用規程承認申請書 P. 47
- 生物多様性影響評価書 P. 49
- 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 名簿 P. 83

厚 科 審 第 1 号
平成 24 年 1 月 4 日

科学技術部会部会長

永井 良三 殿

厚生科学審議会会長

垣添 忠生



遺伝子治療臨床研究実施計画について（付議）

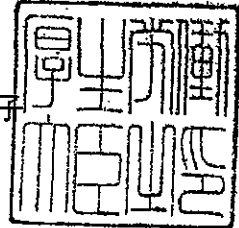
標記について、平成 24 年 1 月 4 日付厚生労働省発科 0104 第 1 号をもって厚生労働大臣より諮問があったので、厚生科学審議会運営規程第 3 条の規定に基づき、貴部会において審議方願いたい。

厚生労働省発科 0104 第 1 号
平成 24 年 1 月 4 日

厚生科学審議会会長

垣添 忠生 殿

厚生労働大臣 小宮山 洋子



諮 問 書

下記の遺伝子治療臨床研究実施計画について、その医療上の有用性及び倫理性に関し、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 号イ及び遺伝子治療臨床研究に関する指針（平成 14 年文部科学省・厚生労働省告示第 1 号）の規定に基づき、貴会の意見を求めます。

記

1. 申請日 平成 23 年 10 月 27 日

申請者 千葉大学医学部附属病院 病院長 宮崎 勝

遺伝子治療臨床研究の名称

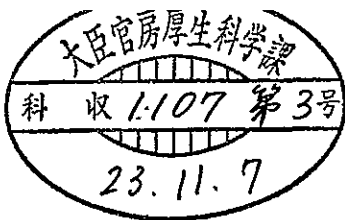
切除不能悪性胸膜中皮腫を対象とした NK4 遺伝子発現型アデノウイルスベクターによる臨床研究

2. 申請日 平成 23 年 11 月 14 日

申請者 岡山大学病院 病院長 榎野 博史

遺伝子治療臨床研究の名称

頭頸部・胸部悪性腫瘍に対する腫瘍選択的融解ウイルス Telomelysin を用いた放射線併用ウイルス療法の臨床研究



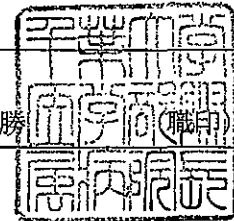
別紙様式第 1

遺伝子治療臨床研究実施計画申請書

平成 23 年 10 月 27 日

厚生労働大臣 殿

実 施 設	所在地	〒260-8670 千葉市中央区亥鼻 1-8-1
	名 称	千葉大学医学部附属病院 (電話番号) 043-222-7171 (FAX 番号) 043-224-3830
	代表者 役職名・氏名	千葉大学医学部附属病院長 宮 崎 勝



下記の遺伝子治療臨床研究について、別添の実施計画書に対する意見を求めます。

記

遺伝子治療臨床研究の課題名	総括責任者の所属・職・氏名
切除不能悪性胸膜中皮腫を対象とした NK4 遺伝子 発現型アデノウイルスベクターによる臨床研究	千葉大学大学院医学研究院 呼吸器内科学・教授 巽 浩一郎




別紙様式第1の別添


遺伝子治療臨床研究実施計画概要書

平成23年10月27日

研究の名称	切除不能悪性胸膜中皮腫を対象としたNK4遺伝子発現型アデノウイルスベクターによる臨床研究
研究実施期間	厚生労働大臣による了承の日より3年間

総括責任者	所属部局の所在地	千葉市中央区亥鼻1-8-1 (郵便番号260-8670)	
	所属機関・部局・職	千葉大学大学院医学研究院・呼吸器内科学・教授	
	氏名	巽 浩一郎	
実施の場所	所在地	千葉市中央区亥鼻1-8-1 (郵便番号260-8670)	
	名称	千葉大学医学部附属病院	
	連絡先	千葉市中央区亥鼻1-8-1 (郵便番号260-8670) 千葉大学大学院医学研究院・呼吸器内科学 (電話番号043-222-7171 内線5471)	
総括責任者以外の研究者	氏名	所属機関・部局・職	役割
	廣島 健三	東京女子医科大学大学院医学研究院 診断病理学 教授	病理学的診断、治療効果判定
	多田 裕司	千葉大学大学院医学研究院 呼吸器内科学 助教	患者の選定、患者への説明及び同意の取得、臨床試験の実施
	由佐 俊和	千葉労災病院 副院長 呼吸器外科部長 アスベスト疾患センター長	患者の選定、治療効果判定
	滝口 裕一	千葉大学大学院医学研究院 先端化学療法学 教授	患者の選定、患者への説明及び同意の取得、臨床試験の実施
	北村 淳史	千葉大学医学部附属病院 呼吸器内科学 医師	患者への説明及び同意の取得、患者の選定、臨床試験の実施
	北園 美弥子	千葉大学医学部附属病院 呼吸器内科学 医師	患者への説明及び同意の取得、患者の選定、臨床試験の実施
北園 聡	千葉大学医学部附属病院 呼吸器内科学 医師	患者への説明及び同意の取得、患者の選定、臨床試験の実施	

総括責任者以外の研究者	岩澤俊一郎	千葉大学医学部附属病院 呼吸器内科学 医師	患者への説明及び同意の取得、患者の選定、臨床試験の実施
	芦沼 宏典	千葉大学医学部附属病院 呼吸器内科学 医師	患者への説明及び同意の取得、患者の選定、臨床試験の実施
	田川 雅敏	千葉県がんセンター がん治療開発グループ 部長、 千葉大学大学院医学研究院 分子腫瘍生物学 客員教授	生物学的反応の検討、治療効果判定
	新行内雅斗	千葉県がんセンター 呼吸器内科 医長	患者の選定、治療効果判定
	島田 英昭	東邦大学大森病院 一般消化器外科 教授 千葉大学附属病院 疾患プロテオミクス研究部門 客員教授	生物学的反応の検討、治療効果判定
	松下 一之	千葉大学附属病院 疾患プロテオミクス研究部門 講師	ベクターの作製・保存・調製、生物学的反応の検討、治療効果判定
	白川 利朗	神戸大学大学院医学系研究科感染症センター 准教授	ベクターの作製・保存
	北田 光一	千葉大学医学部附属病院 薬剤部 教授	ベクターの保存・調製
	今井 千晶	千葉大学医学部附属病院 薬剤部 薬剤師	ベクターの保存・調製
松本 邦夫	金沢大学がん研究所 腫瘍動態制御研究分野 教授	生物学的反応の検討	

審査委員会が研究計画の実施を適当と認める理由	別紙のとおり	
	審査委員会の長の職名 千葉大学医学部附属病院 遺伝子治療臨床研究 審査委員会委員長	氏 名 松原 久裕 

研究区分	○遺伝子治療臨床研究	遺伝子治療標識研究
研究の目的	HGF (hepatocyte growth factor) は癌-間質相互作用のメディエーター等として様々な癌の浸潤・転移に関わり、また VEGF (vascular endothelial growth factor)、bFGF (basic fibroblast growth factor) などとともに腫瘍血管新生因子として同定さ	

	<p>れている。NK4はHGFα鎖由来の分子で、HGFとその受容体であるc-Metとの結合を阻害する。その結果NK4はHGF/c-Metのシグナル伝達を阻害し、当該分子の機能を阻害する。さらにNK4はVEGF, bFGFによる血管新生作用も阻害することが知られている。本研究は、HGF/c-Metのシグナル伝達や血管新生がその進展に関与している悪性胸膜中皮腫に対して、NK4遺伝子を発現するアデノウイルスベクター(Ad5CMV-NK4)を使用し、当該疾患に対する当該遺伝子治療の安全性及び有用性を検討することを目標としている。すなわち本臨床研究は、切除不能で化学療法無効あるいは化学療法拒否の悪性胸膜中皮腫症例に対する、Ad5CMV-NK4胸腔内投与の臨床研究であり、当該遺伝子治療の安全性を検討し、さらに局所の抗腫瘍効果を検討することにある。また、癌に伴う病的状態に対してQOL(Quality of Life)の評価、疼痛の評価、Performance Statusの評価をおこない、その改善効果も評価する。さらに、治療群の病理標本及び試料が採取可能であれば、病理組織学的及び分子生物学的解析を行う。</p>
<p>対象疾患及びその選定理由</p>	<p>悪性胸膜中皮腫は体腔内面を広く覆う漿膜に発生する腫瘍で、胸膜、腹膜、心臓や稀に精巣鞘膜からも発生する。疫学的研究から悪性胸膜中皮腫はアスベスト曝露が主因であり、曝露から平均38年にわたる長期の潜伏期間を経て発症する。多くの場合患者は高齢者であり呼吸機能が低下している例も多い。また典型的な症状を欠くこともあって、早期発見が困難な疾患である。過去のアスベスト使用量と悪性胸膜中皮腫の潜伏期を考慮すると、米国では患者発生のピークを過ぎたと推測されるが、欧州諸国、豪州、及び日本では、今後も症例数の増加が継続することが考えられ、欧州と日本では2025年頃をピークに累計死亡者数がそれぞれ、25万人及び10万人と予測されている(New Engl J. Med., 353: 1591-1603, 2005)。さらにアスベストが現在も使用され、しかもその使用量が増加している経済新興国(中国、インドなど)では今後とも患者数が増加する事が予想されている。このように悪性胸膜中皮腫は今後、重要性を増す疾患でありながら、アスベスト曝露後の悪性胸膜中皮腫発症の予防法が知られておらず、簡便かつ有用な診断法に乏しく早期発見が困難であり、さらに本疾患は有効な治療法が確立されておらず、現実の臨床症例の多くは進行例であり治療の選択肢が非常に限られている。</p> <p>悪性胸膜中皮腫は、びまん性に胸腔内に進展するため、外科的切除や放射線療法にはおのずと限界がある。手術は腫瘍の進展が一側の胸腔内に留まりリンパ節転移、遠隔転移を有さない早期症例が適応とされるが、切除境界が決定し難く胸膜肺全摘術という侵襲の強い術式となり、このため術後の呼吸不全などが起こりやすく患者のQOLが著しく低下する。また、術後の局所再発も高頻度で外科療法のみでの根治性を期待することは困難である。放射線治療に関しても、悪性胸膜中皮腫自体が放射線抵抗性であり、腫瘍の進展形式から照射野が広範になるため、呼吸機能の低下を伴う上に、放射線性肺臓炎や心膜炎なども危惧される。したがって放射線治療は術後療法又は疼痛緩和等の目的で施行されるにすぎない。以上のように上記の治療法には限界があることから、大半の症例では化学療法が施行されている。これまでもアンスラサイクリン系を初め多くの薬剤が検討されてきたが、単剤で10%以上の奏効率を示すものは数少なく、比較的有効とされた薬剤も少数例での第II相臨床試験であるために、エビデンスレベルは必ずしも高くない。しかし、その中においてシスプラチン+ペメトレキセド併用とシスプラチン単剤の第III相比較試験の結果、併用群が単剤使用群に比べて、奏効率、無増悪期間中央値、生存期間中間値とも優れており(H3EMCJMCH試験、J. Clin. Oncol., 21: 2636-2644, 2003)、シスプラチン+ペメトレキセドが化学療法における第一選択薬剤となっている。</p> <p>現在、この両剤を用いた化学療法に放射線、手術を含めたmultimodality treatmentの有効性が検討されているが、それ以外の治療法の開発も当該疾患の治療選択肢を広げることに大いに貢献できるはずである。悪性胸膜中皮腫は幸いに</p>

	<p>も遠隔転移が少なく、胸腔内に浸潤をきたすために、本研究で使用するウイルスベクターによる遺伝子治療の利点を生かしやすい。すなわち胸腔内投与したウイルスベクター製剤は、拡散せずに閉鎖空間である胸腔内に留まり、その結果腫瘍との接触時間が増加し遺伝子導入効率が上昇する。しかも胸腔内は陰圧のためウイルスベクターは胸腔内全域に行き渡り、播種病変に対してもじゅうぶんに接触が可能である。またウイルスベクターに対する抗体産生は通常の投与経路と比較しても大差なく、このためウイルスの全身への拡散を阻害でき、さらに胸腔内投与ではアデノウイルスベクターの特性である肝への過剰な集積が起こりにくく、肝障害が少ないと想定される。また、悪性胸膜中皮腫の進展には血管新生が深く関与しており、この阻害が当該疾患に対して抗腫瘍効果を発揮できると想定している。</p>
<p>遺伝子の種類及びその導入方法</p>	<p>本遺伝子治療で用いる NK4 遺伝子はシグナル配列を含めて 473 残基のアミノ酸をコードしている。NK4 蛋白質は HGF/c-Met 系のシグナル伝達の活性化に拮抗し、VEGF 等を介した血管新生阻害活性も有しており、がんの増殖と進展を阻害して抗腫瘍作用を発揮する。本遺伝子治療では、サイトメガロウイルス (CMV) の転写調節領域で NK4 cDNA を発現させるタイプ 5 型アデノウイルスベクター (Ad5CMV-NK4) を用いる。Ad5CMV-NK4 では、アデノウイルスの初期転写因子である E1A/E1B をコードする遺伝子を欠損させて、その欠損領域に CMV 転写調節領域、ヒト NK4 cDNA、SV40 ウイルスのポリアデニレーションシグナルが組み込まれている。その結果、Ad5CMV-NK4 はそれ自体では増殖能を持たず非増殖性であるが、E1A/E1B 遺伝子産物が持続的に発現する細胞内では増殖し、この性質を利用してウイルスの増幅と調製が可能である。本臨床研究では Ad5CMV-NK4 ウイルスを胸腔内に投与することにより、NK4 遺伝子の腫瘍内導入を行う。アデノウイルスは染色体への組み込み機構を有しておらず、導入遺伝子の発現も細胞の分裂や細胞死によって一過性となり、遺伝子発現による有害事象が継続する可能性は低い。また、ヒト正常線維芽細胞株に当該ウイルスを感染させた場合は、細胞毒性を示さず、その増殖にも影響を与えなかった。さらにヒト悪性胸膜中皮腫培養細胞を用いた結果から、遺伝子導入効率は細胞によっても異なるが、多くの細胞で plaque forming unit (pfu)=30 のウイルス量で 60% 以上の細胞に遺伝子が導入される。実際の臨床例では、タイプ 5 型ウイルスの受容体発現が異なり遺伝子導入効率も同じではないが、アデノウイルスは高効率のベクターとして調整可能であるため、高効率の遺伝子発現が期待できる。また、NK4 蛋白質は分泌蛋白で、細胞表面に存在する c-Met に結合して生物学的活性が惹起されるため、遺伝子が導入されなかった腫瘍細胞に対しても抗腫瘍効果の誘導が期待できる。また本疾患においては、通常の抗がん剤治療の方法を変更することはなく、その効果の上に当該ベクターによる効果が付加されると考えられる。</p>
<p>これまでの研究成果</p>	<p>NK4 蛋白質を投与することにより、肺がん、乳がん、前立腺がんにおいて浸潤・転移能が抑制され、腫瘍血管新生阻害等による腫瘍の増殖阻害が認められる。さらに Ad5CMV-NK4 投与により、ヒト腫瘍の浸潤・転移の阻害、増殖抑制が生じる。悪性胸膜中皮腫細胞を使用した場合、Ad5CMV-NK4 の投与によって、ヌードマウスの皮下に生着した当該腫瘍の増殖が阻害された。上記のいずれにおいても NK4 蛋白質投与、Ad5CMV-NK4 投与による目立った副作用は観察されなかった。Ad5CMV-NK4 を用いた遺伝子治療は、その遺伝子産物の性質からしても有害事象の少ない、比較的安全性が確保されている方法ではないかと考えられる。</p>
<p>安全性についての評価</p>	<p>Ad5CMV-NK4 ウイルスはヒトアデノウイルス 5 型から作成されている。ヒトアデノウイルス 5 型は、多くの疫学調査等からヒトに対するがん原性が認められておらず、一般的には幼児期において気道感染によりいわゆる「かぜ」症状をおこすウイルスの 1 つである。Ad5CMV-NK4 は E1 領域遺伝子を欠損させた非増殖性ウイルスベクターである。Ad5CMV-NK4 を正常気道上皮細胞、ヒト線維芽細胞に</p>

	<p>感染させた結果、正常細胞の増殖に影響を与えない。Ad5CMV-NK4をマウス尾静脈から単回投与した毒性試験の結果、6.5×10^9 pfu/kg (体重) までの用量において、重篤な毒性症状は認められなかった。この用量は本試験で使用する最高用量 (1×10^{12} virus particle(vp)で 1×10^{11} pfu に相当) の約3倍量 (ヒト体重を 50 kg を仮定) に相当する Ad5CMV-NK4 を静脈経路で投与した場合に相当している。実際の臨床研究では、より毒性の低い投与方法として、Ad5CMV-NK4 を 100 ml に希釈して胸腔内に注入する。アデノウイルスは遺伝的に安定な二重鎖 DNA ウィルスであり、生体内で突然変異が起きる可能性は低い。また宿主細胞のゲノムに組み込まれる可能性は極めて少なく、Ad5CMV-NK4 ウィルスを患者に投与しても、体内で野生型ウィルス等との組換えにより増殖性ウィルスが出現する可能性も極めて低い。本研究に用いられる Ad5CMV-NK4 は、cGMP 基準に従ってマスターセルバンク、マスターウィルスシードストックなど原材料から製造工程、最終製品に至るまで一貫した品質管理のもとに、神戸バイオメディカル創造センターBiologics Laboratory を運営管理している神戸大学発ベンチャーのジ GMJ (旧株式会社ジーンメディスンジャパン) 社において生産されている。最終製品については、無菌試験、エンドトキシン検出試験、Replication-competent adenoviruses (RCA) 検出試験などが施行され、当該ウィルスの安全性が確認されている。なお、ウィルスを cGMP 基準で生産する際に、ウィルス産生細胞として PER.C6 細胞を使用しており相同組換えによって生ずる RCA 混入の可能性は理論的にはない。臨床試験の対象となった患者に野生型アデノウイルスが同時に感染しても上記のように RCA が出現する確率は極めて低い。しかし臨床研究の実施にあたって、当該研究に係る規定の遵守、患者に対するじゅうぶんな観察、検査などにより RCA の出現を検出し、RCA の施設外への拡散を防止する。なお千葉大学において、すでに p53 がん抑制遺伝子発現アデノウイルス (タイプ 5 型) を用いた食道がんに対する臨床研究が実施され、10 症例に対して 51 回のウィルス投与が施行されているが、当該臨床試験においてアデノウイルスによる重篤な副作用は見られなかった。</p> <p>胸腔内に非増殖性アデノウイルス (HSV-TK 遺伝子あるいは interferon-β 遺伝子を有する) を投与した症例は米国の 42 例があるが、いずれにおいて重篤な有害事象は報告されていない (Clin. Cancer Res., 11:7444-7453, 2005, Clin. Cancer Res., 13:4456-4466, 2007)。ただし、NK4 遺伝子を発現するアデノウイルスをヒトに投与した例はない。</p>
<p>遺伝子治療臨床研究の実施が可能であると判断する理由</p>	<p>切除不能悪性胸膜中皮腫症例に対する標準的治療は、シスプラチンとペメトレキセドの併用が主体であるが、生存期間中央値は 12.1 箇月にすぎない。また高齢者の患者が比較的多く、侵襲の少ない治療が望まれるが、実際上記抗がん剤に加えてさらなる治療効果を求める場合に有用な手段に乏しい。またシスプラチンとペメトレキセドの第一選択薬剤に抵抗性となった症例に対して、第二選択薬として有用な薬剤は知られていない。そこで本臨床研究は、アデノウイルスベクターの胸腔内投与によって血管新生阻害剤を腫瘍局所で作用させようとするものである。化学療法無効あるいは拒否の悪性胸膜中皮腫患者を対象として、病名の告知、本研究のじゅうぶんな説明によって患者の同意が得られている場合、当該遺伝子医薬の臨床効果は不明であるものの、ウィルス製剤の安全性が確保され、しかも胸腔内投与は通常の治療手技であることから、倫理的に許容できると考えられる。当該施設では、ウィルスベクターを用いた基礎的な研究も豊富であり、各種腫瘍における遺伝子治療の基礎的なデータを多くの学会にて報告してきている。さらに、千葉大学病院では、10 例の食道癌症例に p53 遺伝子発現アデノウイルスベクターを合計 51 回の治療を実施した実績があり、またじゅうぶんにウィルスベクターの拡散を防止できる施設を有している。アデノウイルスベクター投与による有害事象は、局所の疼痛や一時的な発熱など特段重篤なものがないことが知られており、胸腔内投与例は少ないとはいえ、従来知見を大きくこえて危険性が高まるとは想定し難い。また治療中の患者のバイオハザードの解析結果</p>

	から、水平感染の危険性がほとんどないことが確認されている。
実施計画	<p>対象は切除不能の悪性胸膜中皮腫症例である。文書により同意を得た被験者に、胸腔内に穿刺針を用いて腫瘍部位に近い部位より Ad5CMV-NK4 の調製液を生理食塩水 100 ml に混和し投与する。試験期間は 28 日（4 週間）とし、第 1 日目に Ad5CMV-NK4 を 1 回投与し、4 週間後（試験期間終了時）まで安全性について、また 4 週間後並びに試験終了 1 箇月後に抗腫瘍効果を判定する。合計 9 例で投与量増量試験（低用量：1×10^{10} vp、中用量：1×10^{11} vp、高用量：1×10^{12} vp）を行う。主要評価項目は安全性の評価であり、理学所見、血液学的検査、生化学的検査、尿検査、心電図等の各種検査及び、アデノウイルスベクターの排泄調査、抗アデノウイルス抗体の検出を行う。さらに、Positron emission tomography-CT あるいは CT 画像による腫瘍量の測定、血清中からは NK4 及び HGF 蛋白質、抗 NK4 抗体、抗 HGF 抗体、抗アデノウイルス抗体、胸水採取が可能であれば胸水中の NK4 及び HGF 蛋白質量、胸水中細胞における NK4 遺伝子の導入及び発現量の検討及び HGF シグナル経路の活性化を評価する。上記の検討項目は、通常の化学療法を受ける悪性胸膜中皮腫患者の治療経過観察に要する検査と大差なく、身体的負担は同等であると考えられる。効果判定の判断として、上記の画像診断による抗腫瘍効果に加えて、癌に伴う病的状態（QOL 評価、疼痛評価、Performance Status）に対する効果を検討する。</p> <p>全患者について、Ad5CMV-NK4 投与終了後上記の期間まで安全性を確認する。さらに重篤な副作用は回復するまで追跡調査する。フォローアップは、死亡ないしは投与開始後 1 年が経過するまで 2 箇月毎に行う。将来における解析及び研究のため被験者の血清等の検体は可能な限り保管する。</p>
備考	<p>1) 被験者の同意取得について：被験者は本臨床研究について文書に基づいて説明を受け、その内容と期待される治療効果及び危険性をじゅうぶんに理解し、自主的に同意した上で同意書に署名した者とする。なお、被験者はその申し出により同意を撤回し、本臨床研究への参加を中止することができる。</p>

臨床研究課題名

切除不能悪性胸膜中皮腫を対象とした NK4 遺伝子発
現型アデノウイルスベクターによる臨床研究

説明同意文書

よくお読みください

臨床研究参加の説明書

「切除不能悪性胸膜中皮腫に対する遺伝子治療」

この説明書は、「切除不能悪性胸膜中皮腫を対象とした NK4 遺伝子発現型アデノウイルスベクターによる臨床研究」に参加される予定の患者さんに、具体的な内容をご説明するためのものです。

この説明書の内容について、わからないことやお聞きになりたいことがありましたら、いつでもご遠慮なくお申し出ください。

千葉大学医学部附属病院 呼吸器内科

千葉大学大学院医学研究院 呼吸器内科学

目次

1. はじめに -臨床研究とは-	3
2. 悪性胸膜中皮腫の治療法と課題について	3
3. この臨床研究の概要と目的	5
4. この臨床研究の特色と背景	5
5. この臨床研究に参加していただくための条件	8
6. 臨床研究の具体的な方法	10
7. 臨床研究中の検査について	12
8. 臨床研究を中止させていただく場合があります	15
9. この臨床研究に際して予想される危険性について	16
10. 予想される効果	18
11. 悪性胸膜中皮腫の治療法の選択について	18
12. 治療にかかわる費用について	20
13. 健康被害の治療とその医療費について	21
14. この臨床研究に関連した新しい情報についてはすぐにご説明 いたします。	22
15. この臨床研究に参加しなくても不利益は受けません。 参加していただいた場合でも、いつでもやめることができます。	22
16. プライバシーの保護について	23
17. 守っていただきたいことについて	24
18. 臨床研究担当医師について	25
19. 患者さんからの質問ならびに臨床研究担当医師からの説明	26

NK4 遺伝子治療に関するご説明文書

1. はじめに -臨床研究とは-

千葉大学医学部附属病院では、悪性胸膜中皮腫の患者さんに最善の治療を提供するとともに、より優れた新しい治療法の開発を目指した研究を行っております。私たちは現在、悪性胸膜中皮腫に有効と思われる薬を開発していますが、今回の臨床研究の治療方法に関して、その期待される効果と安全性についてご説明し、あなたに治療にご協力いただきたいと考えています。もちろん、この臨床研究への参加に際しては、あなたの自由な意志が尊重されます。

臨床研究とは、ある病気の患者さんに新しい治療法を試みて、それが安全であるかどうか、あるいは効果があるかどうかを判定するために医師が行う研究です。その治療法は、患者さんで行う前に動物実験をはじめとする様々な基礎的な研究を行って、少なくとも動物実験レベルでは安全であること、効果があることが確認されたものです。

この臨床研究については、国の定めた指針に基づいて計画され、実施する病院の倫理委員会と国の審議会の審議を受けた後に行われます。私たちの研究もこのような審査を受けた後に実施するものです。ただし、動物で安全で効果があったからといって、人でも同じように安全で効果があるとは言い切れません。したがって多くの患者さんに応用する前に、少ない患者さんで治療を行ってみて、安全性と効果を確かめる必要があります。このように、臨床研究には文字通り研究的な一面があることを十分ご理解ください。それでは、以下の文章を読み、説明をお聞きください。

2. 悪性胸膜中皮腫の治療法と課題について

悪性胸膜中皮腫は肺の外側の胸膜にできる悪性腫瘍(がん)の一種で、胸壁の内部にそっ

て広がり、心臓を包む心膜なども巻き込んでいく性質をもっています。現在その標準的な治療法には手術、放射線治療、化学療法があります。

手術は病巣が片方の胸腔に限局した、ごく早期の方がその治療の対象となります。しかし広域にわたって胸膜・胸壁を切除したり、片方の肺を丸ごと一緒に切除したりと、手術後の呼吸機能が低下したり、手術によって体に与える影響（侵襲）としてはかなり大きなものがあります。また手術で完全に切りきったと判断される場合でも、実際には手術後の再発も比較的高くみられ、完全に治癒することはなかなか難しいと考えられています。

また悪性胸膜中皮腫には、あまり放射線治療の効果も期待できません。がんが胸腔内を這うように拡がるために、放射線照射の目標を定めにくく、また照射範囲が広がるため、照射ががん組織の周囲の正常な組織（肺、せき髄など）にも及び、これらの組織に与える放射線障害（副作用）を無視できないからです。したがって放射線治療だけでは、悪性胸膜中皮腫の治癒は期待できず、現在では疼痛コントロールなど症状の緩和目的で行われています。

したがって、手術で切除不可能な悪性胸膜中皮腫に対しては、現在は抗がん剤による化学療法が主に行われています。これまで悪性胸膜中皮腫に対する標準的な化学療法がありませんでしたが、ここ最近、シスプラチンとペメトレキセドという2つの抗癌剤を併用して点滴投与することで、生命予後（治療後の生存率）が改善する事が明らかになっています。しかし、この組み合わせをもってしても、生存期間中央値（治療開始から半分の患者さんが亡くなるまでの期間）は 12.1 ヶ月です。最近では、化学療法、放射線治療、手術を組み合わせた集学的治療についての臨床試験が行われ始めていますが、患者さんに与える侵襲も大きく、また生命予後に与える結果に関してはまだ明確ではありません。

このような治療の状況で、手術、放射線、化学療法による治療成績は良好ではなく、長期の生存はあまり期待できず、特に再発の場合実際には3年間生存できた方はほとんどいないのが現状です。したがって今までの治療法以外の新しい治療法の開発が必要となってきております。

3. この臨床研究の概要と目的

この臨床研究では、悪性胸膜中皮腫の患者さんの中で、手術を実施するのが困難あるいは不可能で、①抗がん剤による治療を行ったもののあまり効果が認められなかった患者さんや、②抗がん剤による治療を望まない患者さんに対して、NK4 という遺伝子を有するアデノウイルスを用いる遺伝子治療を行います。NK4 遺伝子を有するアデノウイルスは、すでに基礎的な研究で抗がん剤としての治療効果が認められています。しかし、悪性胸膜中皮腫に対する遺伝子治療に限らず、遺伝子治療そのものに関する臨床研究は、まだ研究段階の治療です。患者さんに行って本当に効果があるかどうか、安全に行えるかどうか分からないところもたくさんあります。今回の臨床研究の主たる目的は、この治療法の安全性の確認であり、どのような副作用が起こるのか、ということ調べます。次に、がんが進行するのを抑えたりすることがすこしでもできるのか、症状がすこしでも軽快するのか、そして可能であればがん細胞にどのような作用があるのか、ということを検討することです。

なお、この臨床研究では、1 回だけアデノウイルスを投与します。その後 1 ヶ月の間、アデノウイルスによる効果や影響を観察させていただきます。したがって、アデノウイルス投与後 1 ヶ月の間は、特別の理由がなければ、抗がん剤の投与は致しません。またアデノウイルス投与は、これまで受けられた抗がん剤投与が終わってから少なくとも 1 ヶ月の間をおいてからになります。アデノウイルス投与は 1 日で終了いたしますので、ウイルス投与前後 2 ヶ月は抗がん剤の投与はないということになります。なお、患者さんの診察や治療は、アデノウイルス投与後 1 ヶ月の観察期間を過ぎても継続して行います。

4. この臨床研究の特色と背景

この臨床研究の大きな特色は、従来の治療法とは異なり、遺伝子を治療に使用することです。遺伝子が体内の細胞に入ると蛋白質を作り、作り出された蛋白質がその効果を発揮することを期待しているものです。この臨床研究で私たちは、NK4 と呼ばれる遺伝子を使

用します。NK4 はもともと体内に存在する HGF（肝細胞増殖因子）という蛋白質が分解されてできる蛋白質です。動物実験の結果、この NK4 遺伝子をがん細胞に導入すると、NK4 蛋白質が作られて、その結果がんの増殖が止まる、がん細胞が死滅する、がんの他の臓器への浸潤が抑制される、がんの転移を防ぐ等の効果があることがわかっています（図 1）。しかし、ヒトに対して臨床研究が実施され、同様な効果があると証明されたわけではありません。そもそも今回の NK4 遺伝子を用いた臨床研究は、世界で最初のもので、また遺伝子治療による悪性胸膜中皮腫を対象とした臨床研究も、これまで報告された限りにおいて、米国を中心に 54 例（このうち、アデノウイルスによる治療は 42 例です）の患者さんに対して実施された以外はありません。

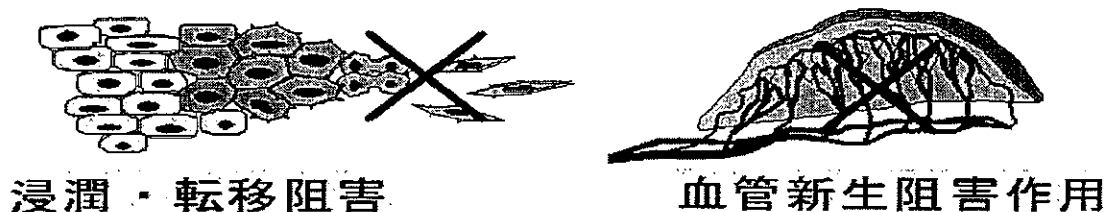
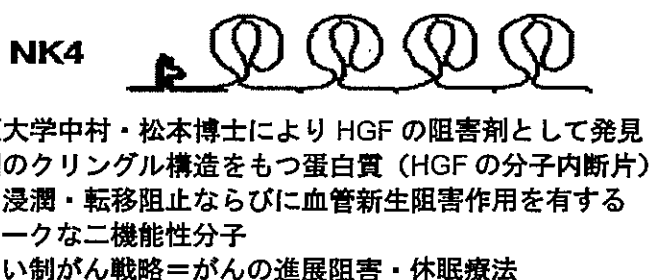


図 1. NK4 の構造と機能の概略

NK4 遺伝子をがん細胞に導入するには、アデノウイルスというウイルスを使用します。天然のアデノウイルスは、風邪などの呼吸器障害を起こすことが多いウイルスですが、大部分の方は自然に治ってしまいます。遺伝子をがん細胞に導入する運び屋（ベクター）として用いるアデノウイルスは、ヒトの体内で増殖できないようにウイルスを変化させて、いわば無毒化させています。この変化させたウイルスは、「アデノウイルスベクター」（図 2）と呼ばれています。

あなたの悪性胸膜中皮腫に注射するアデノウイルスベクターは、共同研究者である神戸

大学の関連施設で作られています。このアデノウイルスベクターの基本的な構造は、すでに千葉大学先端応用外科が、食道がんを対象に行った遺伝子治療の臨床研究で用いたベクターと同じものです。今回用いるベクターは、食道がん で用いた p53 遺伝子の代わりに NK4 という遺伝子を組み込んだものです（使用する医薬としては Ad5CMV-NK4 という名称です）。今回の臨床研究は、主にこのアデノウイルスベクターを投与した場合の安全性および身体での反応を検討し、さらに有効性を検討するものです。この臨床研究には、合計で 9 人の患者さんに参加していただく予定です。NK4 遺伝子を投与する臨床研究は今回が世界で初めてであり、ヒトにおける安全性については確認されていませんが、ネズミを用いた試験では、重大な副作用は認められませんでした。また、米国では、今回用いるアデノウイルスベクターとほぼ同様の構造をした 2 種類のアデノウイルスベクターを使って、合わせて 42 人の悪性胸膜中皮腫の患者さんの胸腔内に投与された経験（臨床研究）がありますが、その結果から、今回の治療に使う予定のベクターの量では重症な副作用がないことが予想されます。

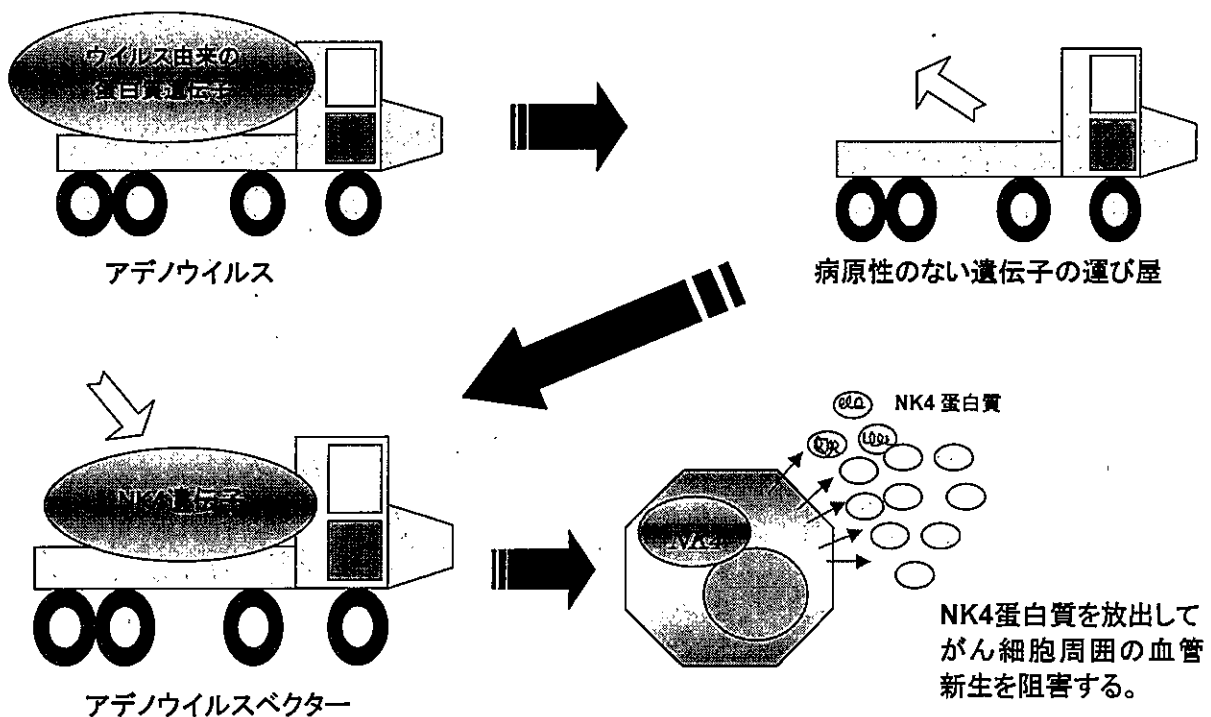


図 2. アデノウイルスベクターの構造とその作用

5. この臨床研究に参加していただくための条件

この臨床研究に参加していただく患者さんは、悪性胸膜中皮腫と診断された方で、がんの状況から外科的な手術によりがんを完全に除去するのは難しいと判断された患者さん（切除に伴う危険性の高い方、切除しても生命の延長が期待できない方）が対象となります。

悪性胸膜中皮腫はその進行度に応じて4つのステージに分けられており、あなたの現在の病期はステージ（ ）です。

投与に先立ち、投与可能であるか否かを確認するためにいくつか検査を行います。実施するのは、理学検査（聴診や体温、脈拍測定等）、血液検査（エイズウイルス、肝炎ウイルスの検査を含む）、血圧測定、唾液・血液及び尿におけるアデノウイルスベクターの有無（試料を集め、後日の検査の対照に使用します）、心電図、尿検査、疼痛評価（痛みの状況をお尋ねする検査）またはがんの大きさを測定するための画像診断（X線撮影、CTスキャン、可能であればPET-CT）などです。なお、臓器または組織移植歴のある方（腎臓移植や骨髄移植など）は、この臨床研究に参加することはできません。以下にこの臨床研究への参加できる方の条件と参加できない方の条件についてご説明いたします。

この臨床研究に参加できる方

- 1) 切除手術不能な悪性胸膜中皮腫を有しており、放射線による治療を受けたことがない方。
- 2) 以下のいずれかに当てはまる方。
 - A) 抗がん剤による治療を受けたものの、あまり効果がなかった方。
 - B) 抗がん剤による治療を望まない方。

なお、以前抗がん剤による治療を受けたことがある方は、治療用アデノウイルスベクターの投与を受けるまで4週間以上の間をおく必要があります。
- 3) 患者さん本人が、文書を用いて十分な説明を受けたうえで臨床研究の参加に同意し、同意書に署名した方。
- 4) 胸腔内に治療用アデノウイルスベクターが直接投与できる方。

- 5) 年齢が 20 歳以上 80 歳以下の男性及び女性
- 6) 現在、日常生活が制限なく行えるか、あるいは歩行可能で自分の身の回りのことは全て可能だが作業はできず、ベッド上で過ごす時間が一日の半分以下である方。
- 7) 女性の場合は妊娠・授乳をしていない方。コンドームを用いた避妊に同意された方。
- 8) 骨髄機能や肝機能、腎機能等が適切である方。

この臨床研究に参加できない方

- 1) コントロール不可能な活動性感染症等、がん以外の重い疾患がある方。
- 2) 悪性胸膜中皮腫以外の他のがんの治療をうけた方あるいはうけている方。ただし、すでに完治して 2 年以上経っている方は参加できます。
- 3) 脳への転移がある方。
- 4) 胸腔内に治療用アデノウイルスベクターが直接投与できない方。
- 5) 本臨床研究登録前 4 週間以内に、他の未承認試験薬の臨床試験に参加したことのある方。
- 6) 本臨床研究登録から試験期間終了までの間（1 ヶ月半から 2 ヶ月）に本臨床研究以外の抗がん剤治療等の中皮腫の治療を受ける予定のある方。
- 7) すでに胸膜癒着術という手術を受けたことがある方。
- 8) 中程度以上の末梢神経障害のある方。
- 9) 間質性肺炎や肺線維症にかかっている方。
- 10) 研究計画書に従った治療や経過観察が難しい事情がある方。
- 11) 過去にアデノウイルスベクターを用いた遺伝子の導入療法を受けたことがある方。
- 12) 骨髄移植や臓器移植の治療を受けたことがある方。
- 13) 妊娠されている方、妊娠の可能性のある方、授乳中の方。また避妊に同意頂けない方。
- 14) 血清検査により、エイズウイルス又は肝炎ウイルスに感染していると判断される方。
- 15) その他、臨床研究担当医師が本研究の対象として不相当と判断した方。

6. 臨床研究の具体的な方法

参加することが決まった時点で、NK4 遺伝子を組み込んだアデノウイルスベクターを以下の方法により投与いたします。

試験期間は 28 日間(4 週間)です。試験開始第 1 日目にアデノウイルスベクターを胸腔内に投与します。その後安全性を検討する検査を行い、試験期間終了時とその後も治療効果の判定をします (図 3)。

投与量は、ウイルス量として低用量(1×10^{10} vp)、中用量(1×10^{11} vp)、高用量(1×10^{12} vp) の 3 群を設定します (vp はウイルス量を示す単位で viral particle の略称で、ウイルス粒子の数量を示します)。

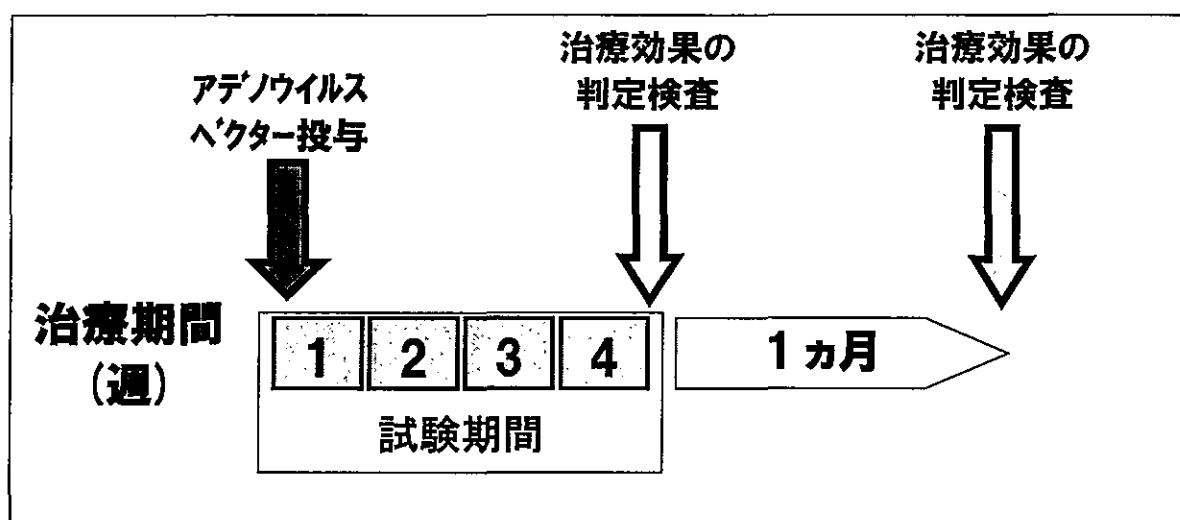


図 3. 臨床研究のスケジュール

- アデノウイルス投与による遺伝子治療は、試験開始第 1 日目に行います。
- 治療開始後安全性を検討する検査をほぼ毎週行い、試験期間終了時とその後も治療効果を判定する検査を行います。
- アデノウイルスベクターの投与は 1 回でその投与量は、低用量 (1×10^{10} vp)、中用量 (1×10^{11} vp)、高用量 (1×10^{12} vp) の 3 通りです。それぞれ 3 名の方の治療を行って徐々に投与量を増やしていきます。
- 現在までに、_____名の方が治療を受けていらっしゃいます。

- あなたは、（低・中・高）用量で、 _____ vp の投与量です。

投与は超音波によって投与する部位の位置を確認しつつ、がんに近い肋骨の間から細い注射針を用いて、胸腔内にゆっくりと注入します。ウイルスは生理的食塩水に溶かして100ミリリットルになっています。（図4）。注射針を刺す箇所の不快感緩和のため、臨床研究担当医師が局所麻酔を行う場合があります。またウイルスを投与後一定の時間、ウイルスとがん組織との接触を高めるため、体の位置を決めてその姿勢を取って戴くことがあります。これは、胸腔内は液体の移動が可能な空間であるため、一度注入されたウイルスを広く行き渡らせるためです。また、胸腔内に100ミリリットルの液体を注入しますが、この胸腔内に100ミリリットルの液体が貯留することによって、痛みが生じることはありません。

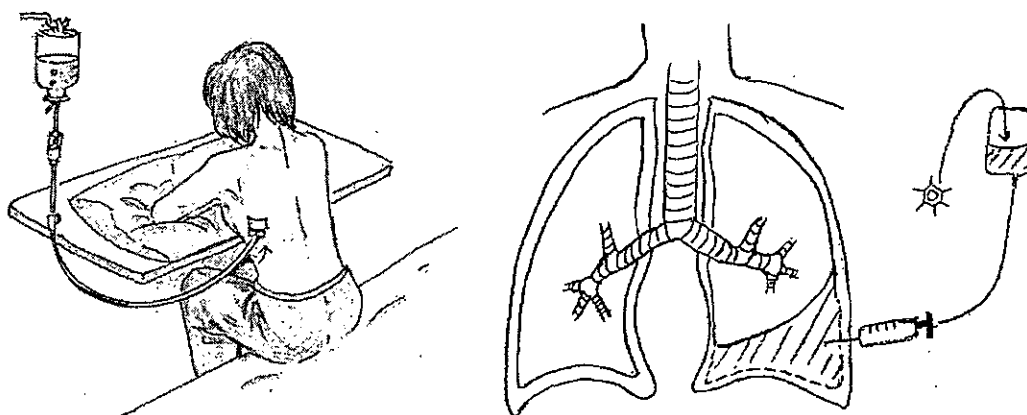


図4. アデノウイルスベクターの注入方法

入院期間はあなたの健康状態により異なります。治療に使われたウイルスベクターのうち尿を介して体外に出るものはごく一部分と思われますが、仮に体外に出た場合にそのウイルスベクターが他人に感染する可能性が全くないとはいえません。そこで、アデノウイルスベクターを投与した後、ある期間（下記）隔離された個室（東棟3階の感染症管理治療部：面会は可能です）で過ごしていただきます。また、1週間は、排泄物や個室から持ち出すものについて、医療スタッフが決められた消毒作業を行います。また、必要と判断された場合に、アデノウイルスベクターの排泄があるかどうかを確認し、ウイルスの排泄

がなくなるまでの間は排泄物の消毒作業を行います。ウイルスが体外に排泄されると考えられるのは、尿を介してです。アデノウイルスベクターが排泄されないことが証明されるまでは退院することができません（通常は投与から7～10日間程度と推測されます）。この排泄の有無の検査は、唾液、血液、尿の一部を採取して行います。また、アデノウイルスベクターが排泄されないことが確認されれば退院可能となります。

7. 臨床研究中の検査について

この臨床研究に参加されている期間の種々の検査につきましては、表1に示します。まず悪性胸膜中皮腫かどうか診断を確定するためがん組織の一部を採取し病理検査が行われておりますが、この際に採取された組織の一部を用いて検査をさせていただきます。この目的は、NK4 遺伝子を注入前に、がん組織中の NK4 遺伝子の状態を記録するためです。また体内のアデノウイルスベクター分布・排泄を検査するために、当初は週2回、その後は週1回、血液、尿、唾液を採取させていただきます（必要と判断された場合は追加して実施します）。採取したサンプルは、将来における分析・解析・研究のために超低温フリーザーにて保管されます。この臨床研究にご同意いただくことは、このサンプル採取と保存にご了解をいただくことを含んでおります。

あなたの身体が今回投与されたアデノウイルスにより有害な影響を受けていないかをチェックするため、定期的にくいつかの検査を行います。実施するのは、理学検査、血圧測定、血液検査、心電図及び尿検査などです。またがんに対する効果も検討するため、X線撮影、CT スキャン（可能であれば PET-CT）、血液検査（腫瘍マーカーの検査）、疼痛評価などを行います。また、胸水などが蓄積してくれば、胸水を採取し、そこに含まれている細胞の検査も可能であれば行います。

投与終了後は、臨床研究担当医師が定期的に経過を診察させていただきます。この臨床研究の治療が開始された日から1年間は、がんの状況と疼痛評価などの把握にご協力をお願いします。また、この臨床研究に参加している間は、他の臨床試験には参加できませんのでご了解お願いいたします。なお、アデノウイルス投与後1ヵ月を過ぎれば、患者さん

の状況や希望に応じて適切な治療を行います。

この臨床研究には、3年間の研究期間内に合計で9名の患者さんに参加していただく予定です。

- 1) 試験開始前 3 日以内に実施します。
- 2) 他の抗がん治療を行う場合や、試験の中止を希望された場合、試験を中止します。
- 3) 入院していた場合はこの検査を実施します。
- 4) 治療開始後は診療時に実施します。
- 5) 投与の前後に実施します。
- 6) 臨床研究期間を通じて、同一の測定方法を用います。
- 7) 投与後は 48 時間の間モニターを装着して頂きます。
- 8) 女性の方のみ実施します。
- 9) 実施が可能な場合だけ実施します。
- 10) 実施が可能な時点で実施します。
- 11) 実施が可能な時点で実施します。
- 12) 実施可能な方のみ実施します。
- 13) 実施可能な方のみ実施します。
- 14) 唾液、血液および尿について、ウイルス排泄がなくなるまで PCR 検査を実施します。

8. 臨床研究を中止させていただく場合があります。

以下の場合はこの臨床研究の実施を中止いたします。

1. 対症療法でも対処できないほどの重い副作用が、アデノウイルス投与中に認められたとき。
2. アデノウイルス投与後 1 カ月以内に、この臨床研究以外の抗がん剤投与など臨床試験の評価に影響を与える治療を行ったとき。
3. あなたが妊娠しているなど、上記の臨床試験に参加できない条件に当てはまることが明らかになったとき。
4. あなたが臨床研究への参加の辞退を申し出たとき。
5. 臨床研究担当医師が医学上中止の必要があると判断したとき。
6. 臨床試験の実施に関して承認をうけた計画書に従っていないことが判明し、これが計画書に対する重大な違反と判断されるとき。

この臨床研究が中止となった場合には、その時点でご相談の上で、あなたにとって適切な治療方法へ変更いたします。

9. この臨床研究に際して予想される危険性について

NK4 遺伝子を組み込んだアデノウイルスベクターを人の体内に注入する遺伝子治療はこれまで行われておらず、その危険性を正しく評価することは困難です。しかし、小動物（マウス）を用いた安全性試験の結果から、この臨床研究を安全に行うことがおそらく可能であると現在判断しています。また、このアデノウイルスを人体に投与する臨床研究は、米国を中心に少なくとも 500 名を越える方を対象に行われており、中国では実際にがん治療に医師がアデノウイルスを使用しております（少なくとも 3,000 人以上の方に使用されています）。したがってこれまでの経験から、アデノウイルスベクターの副作用について、かなりのことが明らかになっております。アデノウイルスは注射で投与しますので、最も多く認められた副作用は、注射した部位の痛みです。この痛みは、鎮痛剤を必要とする強い痛みではなく、いずれも投与後半日程度のうちに消失しています。また、発熱が多くの方に見られましたが、いずれも 39-40 °C 以下の発熱で、時間経過とともにあるいは解熱剤を使用して消失しています。そのほかには、注射部位の腫れや出血、発疹、精神的な不安、さむけ、場合によっては頭痛などインフルエンザのような上気道感染症の症状、悪心、軽度の浮腫などがあります。ただし、これらはアデノウイルスをどの部位に、どの程度の量を投与するかによって異なってきます。

遺伝子を運ぶアデノウイルスベクターは改良されており、このままで感染症を起こすことはありませんが、まれにウイルスが変化し、感染症がおきる可能性を否定できません。しかしこのアデノウイルスは、通常かぜ以外の疾患を起こさないため、たとえアデノウイルスベクターが感染力を持っても、重い合併症の心配はないと考えられます。しかし、生体防禦の担い手である免疫系（リンパ球、抗体など）が、アデノウイルスベクターそのものに強く反応して、急性アレルギー反応やそれによるアデノウイルスベクターの急速な破壊により、かゆみ、発疹、息苦しさ、喘鳴、低血圧等の症状が発現する場合があります。この臨床研究とは別の遺伝子を用いた研究で、オルチニントランスカルバミラーゼという肝臓の重要な酵素を生まれつき作ることができない患者さんに、その酵素を作る遺伝子をアデノウイルスベクターに組み込んで、肝臓の動脈内に直接注入するという遺伝子治療の臨床研究が米国の大学で行われました。この研究で、初めの 17 例までは特に重い副作用

は認められませんでした。18 例目の患者さんが投与 1 日後に黄疸が認められ、その 3 日後に多臓器不全のため亡くなりました(1999 年)。今回の臨床研究では、(1) ベクターを肝臓の動脈内に直接投与するのではなく胸腔内に投与すること(アデノウイルスベクターは肝臓に集積をして、大量に投与すると肝障害をおこすことが知られています)、(2) 今回使用するベクターの量が米国死亡例の 10 分の 1 程度であること、の 2 点が異なっています。

胸腔内にアデノウイルスを投与した臨床研究については、米国でアデノウイルスベクターを用いた 2 つの遺伝子治療研究の報告があり、合計 42 名の患者さんに投与が行われました。このうち、今回の臨床研究で使用する最高用量(すなわち高用量、 1×10^{12} vp の群)を超えるウイルスの投与を受けた患者さんは 30 名です。これらの患者さんに生じた副作用には、血液中のリンパ球の減少、肝機能の障害などがありましたが、いずれも自然に回復しています。その他、低血圧と低酸素、低ナトリウムや低カリウム血症にともなう心室性期外収縮と頻脈が観察されましたが、いずれも酸素吸入、輸液にて改善しております。さらに胸痛、鼻炎、一時的な発熱、貧血も報告されていますが、これも症状はあまり重くありませんでした。以上の米国での研究結果から、今回の臨床試験でも、特に重い副作用は出ないと予想しておりますが、慎重な投与を心がけるように致します。

また今回の胸腔内へのウイルスの投与の場合において頻度の高い危険性は、疼痛、出血、気胸です。さらに可能であれば、胸腔内での組織または細胞採取、胸水の採取を行いますが、これらの処置での危険性も疼痛、出血、気胸です。しかし、これらの危険性は、がんの患者さんで通常の診断・治療目的で実施される組織、胸水の採取等の場合と変わりありません。また、今回の遺伝子治療に限らず胸腔内に針を刺し入れる操作により、胸腔内の腫瘍細胞が体表面に出て腫瘍を形成することがありますが、放射線をその部位に照射することによって事前にこれを予防するなど、適切に処置を行います。

NK4 蛋白質自体の作用から推測される副作用としては、NK4 が HGF の生理作用を抑えることによる軽度の肝障害、創傷治癒の遅延などがあります。特に、肝障害あるいは組織障害の発生時には、肝再生の抑制・遅延、障害を受けて組織の創傷治癒の遅延が考えられます。NK4 ががん組織の血管新生を阻害することによって懸念される副作用としては、す

でにがん治療に利用されている Bevacizumab (商品名：アバステン)と同様に、胃腸穿孔、出血、血栓症、高血圧などがあります。また、NK4 遺伝子を有するアデノウイルスベクターによる、想定外の副作用もあり得ます。

いずれにしましても、これらの副作用が予期された時点で、あるいはそれが生じた時点で、適切な処置を講じて副作用の悪化を防ぎ、またその軽減を図るようにいたします。

10. 予想される効果

このウイルスベクター投与によって、がんの増殖が停止したり、縮小したりする可能性があります。またがんに関連する症状（たとえば痛み、食欲低下）が緩和される可能性もあります。しかしながら、本治療法の有用性を証明する臨床のデータはなく、あなたにとってこのウイルスベクターが有用かどうかはわかりません。今までに行われた種々の基礎研究の結果では、この治療用ベクターに組み込まれた NK4 遺伝子のがん細胞に導入すると、がんの増殖が止まったり、抗がん剤の効果が高まる可能性があることがわかってきています。これらの作用は、ヒトの悪性胸膜中皮腫の培養細胞を用いた研究や、実験動物を用いた研究でも観察されております。しかし、あなたにとって一体どのような効果があるかどうかは全く不明です。

11. 悪性胸膜中皮腫の治療法の選択について

この遺伝子治療法は、現在のがんに対する治療にとって代わるものではありません。本臨床研究では、抗がん剤による化学療法が有効でなかった患者さん、化学療法を受けないと決められた患者さんに、アデノウイルスを投与する遺伝子治療を行います。

悪性胸膜中皮腫の通常の治療は手術療法、放射線治療、抗がん剤による化学療法があり、またこれらを組み合わせた治療も行われています。どの治療法を選択するかは、患者さんの病状、体力などによってほぼ決まってくることになります。

- 1) 手術療法は、もし実施可能な状況であれば、治療効果が最も期待できる治療法です。ただしがんが広範に広がり周囲の組織に広がっている場合、手術に耐えられる体力がない場合は行えません。悪性胸膜中皮腫の手術は胸壁を切除するため、高度な技術が必要で熟練した胸部外科医のもとでしか行う事ができず、それでも数%の確率で手術によって生命を落とす危険もあります。さらにがんが局所にとどまらず、他の臓器等への転移があきらかな場合も治療効果は期待できません。
 - 2) 放射線治療はがんの部位を中心に放射線をあてる治療法です。手術に比べ臓器を切除しないため機能が温存されます。ただし現在までのところ完全に治癒させる方法とは言えません。照射部位によって副作用は異なりますが、肺臓炎、心、脊髄などの障害を起こすことがあります。悪性胸膜中皮腫は胸腔内をほうように拡大するため、照射の範囲を広く取らざるを得ず、他のがんと比べて副作用が強くなる可能性があります。すでに放射線治療を行っている場合には同じ部位に繰り返し放射線治療を行うことはできません。
 - 3) 抗がん剤による治療として、幾つかの薬剤が認められていますが、単独の薬剤で効果が期待できる（がんが小さくなる）割合は 25%以下であることから、単一薬剤での効果はあまり期待できません。悪性胸膜中皮腫は症例数が少ないため、肺がんのような大きな規模な臨床試験が行えず、限られた人数による結果しか明らかになっていません。その中で現在ではシスプラチンとペメトレキセドという 2 剤の組み合わせによる治療が最も治療成績がよく、一般的に行われています。この組み合わせでは部分的にがんが小さくなる確率（部分奏効率 Partial Response）は 41%で、必ずしも満足できるものではありません。その他の薬剤の組み合わせについても各国で臨床試験がされていますが、シスプラチンとペメトレキセドの組み合わせ治療とほとんど効果が変わりません。また、上記化学療法で効果がない場合、次に有効な抗がん剤（組み合わせを含みます）は、残念ながらこれまでのところ知られておりません。
- あなたの場合は、上記の化学療法を行った結果、残念ながらあまり効果がなかったことが分かっています。
- あなたの場合は、化学療法を受けることを望まないという意思表示がなされてい

ます。

- 4) その他、症状を緩和する対症療法のみを行い、積極的な治療（がんを小さくしたり生存期間をなるべく延長したりする目的での治療）を受けないという選択肢もあります。特にごく早期で手術が可能である一部の方を除いて、完全に治癒を目指すということが困難であるという事が残念ながら分かっています。そこで、いろいろな条件を考慮して、症状の緩和や苦痛を除くことを最大の目的として、あえて積極的な治療を受けないという選択をとる方もおられます。この場合でも、体力を消耗しない程度にがんに対する治療を併用することも可能です。なお、積極的な治療を行う場合も、苦痛を除去するためには最大の措置を行います。

なお、あなたの場合、手術療法、放射線治療はすでに困難であることが判っております。

12. 治療にかかわる費用について

通常の診療では、費用は患者さんの医療保険で支払われ、その費用の一部を定められた割合にしたがって患者さんが負担しています。したがって、あなたが悪性胸膜中皮腫と診断され、入院されていた場合、通常の診療にかかる費用については、あなたの医療保険でまかなわれ、個室料金などの自己負担分の医療費についてもご負担いただくこととなります。一方臨床試験に関わる医療費は、患者さんの医療保険でまかなわれる部分と研究者が自らの研究費でお支払いする部分とに分かれます。しかし、今回本臨床試験に参加される場合、入院から退院まで基本的に遺伝子治療に関わることですので、臨床試験実施に必要な費用、たとえば使用する感染症管理治療部の個室に関わる費用、遺伝子治療に必要な薬剤や、これに関連する特殊な検査などについては、基本的には私たちの研究費から支払われ、患者さんにご負担頂く費用はありません。

しかし、本臨床試験に参加された場合でも、あなたの医療保険でまかなわれることがあり、それは次のような通常の診療にかかわる費用です。

- 悪性胸膜中皮腫以外の疾患（たとえば糖尿病など）があり、その疾患に関する検査・治療を行う必要があり、本臨床試験実施期間中にそれを実施した場合の費用

一方研究グループの研究費で負担するのは、次のような遺伝子治療に関連するものと、それに関わる検査の費用です。

- 遺伝子治療のために使用する病室の費用
- 遺伝子治療に使用する薬剤（アデノウイルス製剤）の費用
- 遺伝子治療を実施する手技（胸腔内投与）やそれに使用する物品に関する費用
- アデノウイルスベクターの排泄状況、抗アデノウイルス抗体検査など遺伝子治療の安全性に関わる検査の費用
- がん組織や胸水を調べ、治療効果を検討するための特殊検査の費用

もし、詳しい費用の内容をお知りになりたいというご希望があれば臨床研究担当医師等ご連絡下さい。

1 3. 健康被害の治療とその医療費について

この臨床研究は、これまでの報告に基づいて科学的に計画され、その実施にあたっては慎重に行われます。重い副作用などの健康被害がおこらないように注意深く行ってまいりますが、もし臨床研究の期間中あるいは終了後に遺伝子治療に由来するなんらかの副作用が起こった場合には、現在の医療水準で私たちが行うことができる最善の治療を行います。もしこの臨床研究への参加によってあなたの健康に被害が生じた場合、健康被害の治療に要する費用については病院が負担しますので、患者さんの負担はありません。一方、医療費以外の実費や休業補償、後遺障害に対する補償、差額ベッド料金の補填、医療手当て等その他の補償は受けられません。なお、本臨床試験への参加の同意は、患者さんが賠償請求権を放棄することを意味するものではありません。例えば、遺伝子治療に由来するなんらかの重い副作用が起こって、幸いにも一旦助かったとしても、治療の継続が困難となり、最終的にはお亡くなりになる可能性もあります。このような場合には、遺伝子治療の副作用に由来する急性期と回復期の医療費について、病院が負担いたします。しかし、症状が固定した後の医療費は補償されません。また、急性期と回復期の医療費にかかる医療費以外の費用として、例えばお見舞いなどでご家族が病院においでになる時の交通費や食事代なども補償されません。

さらに、あなたやご家族がこの治療に関係して仕事を休んだりしたために収入が減ったとしても、それも補償されません。

この臨床研究では、アデノウイルスベクターを胸腔内へ注入するという治療を行います。この治療には現時点では予測できない副作用が起こる可能性もありますが、いかなる状況においても私たち研究グループは、患者さんの状況の応じて適切な処置を行います。

1 4. この臨床研究に関連した新しい情報はすぐにご説明いたします。

臨床研究への参加を続けるかどうかに関して、あなたの意志決定に影響するような重大な所見が新たに得られた場合、あるいは臨床研究の内容の大幅な変更（スケジュールや投与方法の変更など）があった場合には、その内容を速やかにお知らせいたします。その場合には、この臨床研究への参加を続けられるかどうかについて、あなたの意思をお尋ねします。

1 5. この臨床研究に参加しなくても不利益は受けません。

参加していただいた場合でも、いつでもやめることができます。

この臨床研究への参加は、あなたの自由な意思が尊重されます。したがって、あなたがこの臨床研究への参加に同意されない場合でも、今後の治療において不利益を受けることは一切ありません。病状に応じた治療法によって、最善の努力をいたします。また、いったんこの臨床研究への参加に同意された後でも、いつでもあなたのご希望によりこの臨床研究への参加を取りやめることができます。臨床研究参加を取り消しても、これまでと同様の治療を受けることができ、取り消したことにより不利益を受けることは一切ありません。そのほかの治療法については、1 1. 悪性胸膜中皮腫の治療法の選択についての内容を参考にしてください

い。

化学療法を希望されなかった方が、遺伝子治療を受けた後に化学療法を希望された時は、化学療法を受けられる状態かどうかを確認した後で、化学療法を受けることもできます。あるいは、遺伝子治療を受けず、その後に化学療法を希望された場合も、同様に状況を確認の上、化学療法を受けることも可能です。遺伝子治療を受けられた場合、その1ヵ月間は基本的には化学療法を受けることはできません。遺伝子治療終了後1ヵ月間たった後の治療については、病状等に応じてさらにご相談の上、適切な治療法を選択致します。

ただし、アデノウイルスベクターを胸腔内へ注入した後は、アデノウイルスベクターを取り除くことができませんので、たとえあなたが臨床研究の中止を希望されたとしても、あなたの体からアデノウイルスベクターが排泄されないことが証明されるまでは、退院することができません。この期間はアデノウイルスベクターの注入後、7~10日間程度と予想していますが、状況によってその期間は前後します。退院後は、希望される治療等を受けることができます。

16. プライバシーの保護について

この臨床研究の結果は、医学関係の専門の学会、医学雑誌などに発表されることがありますが、その際にあなたの名前や身元などが明らかになるようなことはありません。しかし、研究へのあなたの参加はマスメディア等の関心を引くかもしれません。臨床研究担当医師はできる限り秘密を守る努力をします。

また、あなたが、遺伝子治療臨床研究に参加されることを承諾されますと、遺伝子治療の内容を確認するため、もしくは適切に実施されていることを確認するために、学内の臨床研究審査委員会の人や厚生労働省や文部科学省の人のほか、千葉大学が確認依頼をした医療に携わる資格（医師や薬剤師など）をもつ学外の人が、あなたのカルテをみるがありますが、こういった方は法律上の守秘義務がありますので、あなたやあなたのご家族のプライバシーが外部に漏れる心配はありません。臨床研究の結果の整理を専門の企業が請け負うことがあるかもしれませんが、この場合においても、個人を特定できるような事柄は伏せて行わ

れますので、あなたの名前や身元などが明らかになるようなことはありません。

なお、この遺伝子治療臨床研究に参加されることを承諾される日以前の通常診療において実施された検査の結果も、この遺伝子治療臨床研究のために使用されることがありますが、その場合も同様にあなたのプライバシーは保護されます。

また、このアデノウイルスベクターを、将来一般の治療薬としてあなたと同じ病気で悩む患者さんに使用するためには、厚生労働省で定められた基準に従って、さらに詳細な臨床試験を行い、より多くの患者さんの有効性と安全性のデータを集めなければなりません。そのためには、大学病院だけではなく、アデノウイルスベクターを開発する企業（製薬会社）にも臨床研究の企画・立案に参加してもらう必要がでてくるかも知れません。その際、この臨床研究の結果は、アデノウイルスベクターを開発するための資料として、当該企業に開示されるかもしれません。もちろん、企業に開示する情報は今回の臨床研究結果に限定したもので、参加していただいたあなたの個人情報（名前など）は記号などに置き換え、プライバシー保護を厳守致します。ただ、現時点において、このような企業はなく、またそれを希望している企業もありません。

また、個人情報の開示、訂正、利用停止等に関しては、患者さんのお申し出に応じて手続きすることが可能です。手続き方法につきましては、このご説明文書の最後に添付した参考資料：国立大学法人千葉大学個人情報開示請求等取扱規程をご参照ください。

17. 守っていただきたいことについて

妊娠する可能性がある女性は、臨床研究開始前に妊娠検査（尿検査）を行って妊娠していないことを確認する必要があります。現在のところ、この治療法の胎児に対する長期の影響は確認されていないため、臨床研究参加中は医学的に確立された避妊法を実施していただくようお願いいたします。もし妊娠された場合は本臨床研究を中止していただくこととなります。また、あなたとあなたの配偶者には、臨床研究参加中は障壁法による避妊を行うようお願いいたします。あなたかあなたの配偶者が妊娠された場合は、その旨を臨床研究担当医師にお

申し出ください。なお、この臨床研究に参加中あるいは終了後に、他の診療科や他の病院・医院などを受診する際、可能なかぎり本臨床研究担当医師にご相談ないしはご連絡下さい。

18. 臨床研究担当医師について

総括責任者 : 巽 浩一郎

臨床研究担当医師 : 多田 裕司

連絡先 : 千葉大学医学部附属病院 呼吸器内科

〒260-8677 千葉県千葉市中央区亥鼻 1-8-1

(TEL) 043-222-7171 (内線 5471)

(FAX) 043-226-2176

19. 患者さんからの質問ならびに担当医からの説明

この臨床研究について十分に理解していただきましたでしょうか？もし、この臨床研究に参加してもよいとお考えでしたら、次のページにある「臨床研究への参加に関する同意書」という用紙にご署名いただきたいと思います。また、わからないこと、心配なことがありましたら、どうぞ遠慮なく総括責任者あるいは臨床研究担当医師にご質問ください。

医療機関名	:	千葉大学医学部附属病院
診療科名	:	呼吸器内科
電話番号	:	043-222-7171（内線 5471）
総括責任者	:	巽 浩一郎
臨床研究担当医師	:	多田 裕司

—ご質問事項ならびにご説明—

(同意者保存用)

臨床研究への参加に関する同意書

私は、切除不能悪性胸膜中皮腫を対象とした NK4 遺伝子発現型アデノウイルスベクターによる臨床研究の目的、方法及び期間、予想される利点及び不都合について説明を受け、この臨床研究に参加することに同意します。また、この臨床研究に必要な検査・処置・麻酔を受けること、採取された検体の保存についても同意します。

私はこれら情報の説明書を受け、その内容について質問することができました。私は本臨床研究への参加を拒否すること、いつでも同意を取り消すことができ、また、それにより不利益を受けることがないことを知っています。同意を取り消す場合、私は_____医師にその旨通知し、他の治療法について助言してもらいます。

私は、他の臨床研究に参加しないことに同意します。また私は、遺伝子治療の内容を確認するため、もしくは適切に実施されていることを確認するために、学内の臨床研究審査委員会の人や厚生労働省や文部科学省の人のほか、千葉大学が確認依頼した医療に携わる資格(医師や薬剤師など)をもつ学外の人が私の医療記録を閲覧する可能性があることに同意しますが、その場合私のプライバシーは保護されるものと理解します。さらに、このアデノウイルスベクター (Ad5CMV-NK4) を一般の治療薬として私と同じ病気で悩む患者さんに使用する目的で開発を希望する企業(製薬会社)がある場合には、その企業の人でも私の医療記録を閲覧する可能性があることに同意しますが、その場合も私のプライバシーは保護されるものと理解します。いずれの時点であれ、本臨床研究に基づいて作成されたいかなる発表文献または報告書においても、私個人が識別できるような記載がなされることはないと理解しました。

また本臨床研究中に疑問が生じた場合、私は_____医師に質問することができます。私は本同意書のコピーを受領し、これを保管します。

患者署名 :	_____	平成 年 月 日
家族署名(患者との関係 :	_____)	平成 年 月 日
立会人(職名 :	_____)	平成 年 月 日
臨床研究担当医師署名 :	_____	平成 年 月 日

(カルテ保存用)

臨床研究への参加に関する同意書

私は、切除不能悪性胸膜中皮腫を対象とした NK4 遺伝子発現型アデノウイルスベクターによる臨床研究の目的、方法及び期間、予想される利点及び不都合について説明を受け、この臨床研究に参加することに同意します。また、この臨床研究に必要な検査・処置・麻酔を受けること、採取された検体の保存についても同意します。

私はこれら情報の説明書を受け、その内容について質問することができました。私は本臨床研究への参加を拒否すること、いつでも同意を取り消すことができ、また、それにより不利益を受けることがないことを知っています。同意を取り消す場合、私は_____医師にその旨通知し、他の治療法について助言してもらいます。

私は、他の臨床研究に参加しないことに同意します。また私は、遺伝子治療の内容を確認するため、もしくは適切に実施されていることを確認するために、学内の臨床研究審査委員会の人や厚生労働省や文部科学省の人のほか、千葉大学が確認依頼した医療に携わる資格(医師や薬剤師など)をもつ学外の人が私の医療記録を閲覧する可能性があることに同意しますが、その場合私のプライバシーは保護されるものと理解します。さらに、このアデノウイルスベクター (Ad5CMV-NK4) を一般の治療薬として私と同じ病気で悩む患者さんに使用する目的で開発を希望する企業(製薬会社)がある場合には、その企業の人でも私の医療記録を閲覧する可能性があることに同意しますが、その場合も私のプライバシーは保護されるものと理解します。いずれの時点であれ、本臨床研究に基づいて作成されたいかなる発表文献または報告書においても、私個人が識別できるような記載がなされることはないことを理解しました。

また本臨床研究中に疑問が生じた場合、私は_____医師に質問することができます。私は本同意書のコピーを受領し、これを保管します。

患者署名 : _____ 平成 年 月 日
 家族署名(患者との関係: _____) : _____ 平成 年 月 日
 立会人(職名 _____) : _____ 平成 年 月 日
 臨床研究担当医師署名 : _____ 平成 年 月 日

(医師保存用)

臨床研究への参加に関する同意書

私は、切除不能悪性胸膜中皮腫を対象とした NK4 遺伝子発現型アデノウイルスベクターによる臨床研究の目的、方法及び期間、予想される利点及び不都合について説明を受け、この臨床研究に参加することに同意します。また、この臨床研究に必要な検査・処置・麻酔を受けること、採取された検体の保存についても同意します。

私はこれら情報の説明書を受け、その内容について質問することができました。私は本臨床研究への参加を拒否すること、いつでも同意を取り消すことができ、また、それにより不利益を受けることがないことを知っています。同意を取り消す場合、私は_____医師にその旨通知し、他の治療法について助言してもらいます。

私は、他の臨床研究に参加しないことに同意します。また私は、遺伝子治療の内容を確認するため、もしくは適切に実施されていることを確認するために、学内の臨床研究審査委員会の人や厚生労働省や文部科学省の人のほか、千葉大学が確認依頼した医療に携わる資格(医師や薬剤師など)をもつ学外の人が私の医療記録を閲覧する可能性があることに同意しますが、その場合私のプライバシーは保護されるものと理解します。さらに、このアデノウイルスベクター (Ad5CMV-NK4) を一般の治療薬として私と同じ病気で悩む患者さんに使用する目的で開発を希望する企業(製薬会社)がある場合には、その企業の人でも私の医療記録を閲覧する可能性があることに同意しますが、その場合も私のプライバシーは保護されるものと理解します。いずれの時点であれ、本臨床研究に基づいて作成されたいかなる発表文献または報告書においても、私個人が識別できるような記載がなされることはないことを理解しました。

また本臨床研究中に疑問が生じた場合、私は_____医師に質問することができます。私は本同意書のコピーを受領し、これを保管します。

患者署名 : _____ 平成 年 月 日

家族署名(患者との関係:) : _____ 平成 年 月 日

立会人(職名) : _____ 平成 年 月 日

臨床研究担当医師署名 : _____ 平成 年 月 日

参考資料

国立大学法人千葉大学個人情報開示請求等取扱規程

制 定 平成17年 4月 1日
 改 正 平成17年10月 1日
 平成17年10月26日

(趣旨)

第1条 国立大学法人千葉大学（以下「本学」という。）における保有個人情報の開示請求、訂正請求及び利用停止請求（以下「開示請求等」という。）の取扱いについては、独立行政法人等の保有する個人情報の保護に関する法律（平成15年法律第59号。以下「法」という。）、独立行政法人等の保有する個人情報の保護に関する法律施行令（平成15年政令第549号。以下「施行令」という。）その他の法令等に定めるもののほか、この規程の定めるところによる。

(定義)

第2条 この規程において「個人情報」、「保有個人情報」、「個人情報ファイル」及び「本人」とは、法第2条に規定する個人情報、保有個人情報、個人情報ファイル及び本人をいう。

2 この規程において「部局等」とは、各学部、各大学院研究科、各大学院研究院、大学院医学薬学府、附属図書館、医学部附属病院、各全国共同利用施設、各学内共同教育研究施設、事務局、知的財産本部、総合安全衛生管理機構、キャンパス整備企画室、防災危機対策室及び情報・広報室をいう。

(個人情報ファイル簿)

第3条 法第11条の規定により作成し、公表しなければならない帳簿は、別表のとおりとする。

(請求書等の様式)

第4条 法及び施行令に基づく保有個人情報の開示請求等に係る請求書等の様式は、別紙第1号から第3号までのとおりとする。

(開示請求等の受付)

第5条 本学の保有個人情報に係る開示請求等は、企画総務部総務課において受け付けるものとする。

2 開示請求等の請求書を受理したときは、開示請求等をした者及び開示請求等のあった個人情報を保有する部局等の長に対し、当該請求書の写しを送付するものとする。

(手数料)

第6条 法第26条第1項の規定により納付しなければならない手数料の額は、開示請求に係る保有個人情報が記録されている法人文書1件につき300円とする。

2 前項の手数料は開示請求書を提出するときに、前項の手数料は開示を実施するときに、次の各号のいずれかの方法により納めなければならない。

- 一 銀行振込
- 二 郵便小為替
- 三 現金

3 保有個人情報の開示を受ける者は、手数料のほか郵送料を納付して、法人文書の写しの送付を求める

ことができる。この場合においては、当該郵送料は、郵便切手で納付しなければならない。

（開示等の審査）

第7条 開示請求等に係る保有個人情報の開示又は不開示、訂正又は不訂正及び利用停止又は不停止の審査は、国立大学法人千葉大学情報公開・個人情報保護委員会（以下「委員会」という。）が、当該個人情報を保有する部局等の長の意見を聴いて行う。

（開示の実施方法）

第8条 保有個人情報の開示の実施方法については、国立大学法人千葉大学情報公開実施規程第5条の規定を準用する。この場合において、同条第3項中「法第15条第2項」とあるのは「独立行政法人等の保有する個人情報の保護に関する法律第24条第2項」と読み替えるものとする。

（開示請求及び開示の特例）

第9条 第4条及び第5条第1項の規定にかかわらず、本学が行う入学試験のうち一般選抜に係る個人情報は、本学が別に定めるところにより、開示請求を行うことができる。

2 前項の規定により開示請求があったときは、第7条の規定にかかわらず、当該開示請求に係る個人情報の開示又は不開示の決定をしないで、直ちに開示するものとする。

3 前項の開示は、前条の規定にかかわらず、本学が別に定める方法により行うものとし、この場合において、第6条第1項の手数料は徴収しないものとする。

（異議申立て）

第10条 開示等の決定、訂正等の決定、利用停止等の決定又は開示請求等に係る不作為について、行政不服審査法（昭和37年法律第160号）による異議申立てがあったときの審査は、委員会が行う。

（個人情報相談窓口）

第11条 企画総務部総務課に個人情報相談窓口を置く。

2 個人情報相談窓口では、開示請求等をしようとする者に対し、個人情報ファイル管理簿その他関連資料等を用いて、保有個人情報の特定に資する情報の提供その他開示請求等をしようとする者の利便を考慮した適切な措置を講ずるとともに、本学における個人情報の取扱いに関する苦情の処理を行うものとする。

（補則）

第12条 この規程に定めるもののほか、保有個人情報の開示請求等の取扱いに関し必要な事項は、委員会が別に定める。

附 則

この規程は、平成17年4月1日から施行する。

附 則

この規程は、平成17年10月1日から施行する。

附 則

この規程は、平成17年10月26日から施行する。

厚 科 審 第 2 号

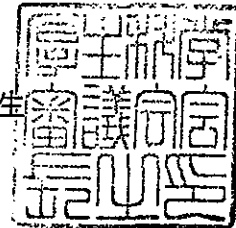
平成 24 年 1 月 4 日

科学技術部会部会長

永井 良三 殿

厚生科学審議会会長

垣添 忠生



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）

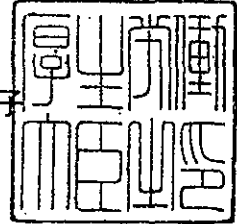
標記について、平成 24 年 1 月 4 日付厚生労働省発科 0104 第 2 号をもって厚生労働大臣より諮問があったので、厚生科学審議会運営規程第 3 条の規定に基づき、貴部会において審議方願いたい。

厚生労働省発科 0104 第 2 号
平成 24 年 1 月 4 日

厚生科学審議会会長

垣添 忠生 殿

厚生労働大臣 小宮山 洋子



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. 申請日 平成 23 年 10 月 27 日

申請者 千葉大学医学部附属病院 病院長 宮崎 勝

遺伝子治療臨床研究の名称

切除不能悪性胸膜中皮腫を対象とした NK4 遺伝子発現型アデノウイルスベクターによる臨床研究

遺伝子組換え生物等の名称

HGF の競合的アンタゴニストである NK4 を発現する非増殖性の遺伝子組換えアデノウイルス 5 型ベクター (Ad5CMV-NK4)

2. 申請日 平成 23 年 11 月 14 日

申請者 岡山大学病院 病院長 槇野 博史

遺伝子治療臨床研究の名称

頭頸部・胸部悪性腫瘍に対する腫瘍選択的融解ウイルス Telomelysin
を用いた放射線併用ウイルス療法の臨床研究

遺伝子組換え生物等の名称

ヒトアデノウイルス5型を基本骨格としてテロメラーゼ活性依存性に
制限増殖する腫瘍融解ウイルス (Telomelysin)

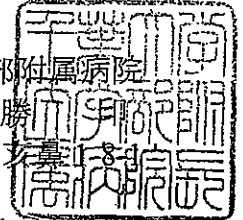


第一種使用規程承認申請書

2011年10月27日

主務大臣 殿

氏名 千葉大学医学部附属病院
 申請者 病院長 宮崎 勝
 住所 千葉市中央区



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	HGF の競合的アンタゴニストである NK4 を発現する非増殖性の遺伝子組換えアデノウイルス 5 型ベクター (Ad5CMV-NK4)
遺伝子組換え生物等の第一種使用等の内	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
遺伝子組換え生物等の第一種使用等の方法	所在地：千葉市中央区亥鼻 1-8-1 名称：千葉大学医学部附属病院 (1) Ad5CMV-NK4 溶液は、ガラスバイアルに密封後、凍結状態で治療施設に輸送し、凍結状態のまま施設内のベクター調製室内の冷凍庫に保管する。 (2) 凍結状態の Ad5CMV-NK4 溶液の融解、バイアルの開封並びに Ad5CMV-NK4 溶液の希釈は、上記ベクター調製室内の P2 レベル設備内の安全キャビネット内で行う。なお、この希釈溶液を、解放系区域を通過して他の P2 レベル相当区域に運搬する必要がある場合には、二重に密閉した容器に入れて運搬する。 (3) Ad5CMV-NK4 溶液（希釈液も含む）を廃棄する際には、本施設で定められた感染性廃棄物処理規程により行う。 (4) 被験者に対する Ad5CMV-NK4 の投与は、環境中への拡散防止措置を適切に執った室内において Ad5CMV-NK4 希釈溶液を胸腔内に局所投与することにより行う。投与後 4 8 時間まで、被験者に心電図モニターを装着して管理する。 (5) 個室管理期間中の被験者の排泄物（唾液、血液、及び尿）は、臨床検体として使用する物を除き、投与後 7 日間あるいはウイルスの排泄がなくなるまで、バイオハザードとして取り扱う。なお、臨床検体として使用する被験者の排泄物の取扱いは、上記 Ad5CMV-NK4 溶液の取扱いに準じる。 (6) 個室管理期間中、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に接触した器具等は、環境中への拡散防止措置を適切に執った室内で高圧蒸気滅菌処理または次亜塩素酸処理を実施した後、本施設で定められた感染性廃棄物処理規程に従い廃棄するか、もしくは環境中への拡散防止措置を適切に執った室内で十分洗浄する。

(別紙様式)

生物多様性影響評価書

(区分：遺伝子治療臨床研究)

HGF の競合的アンタゴニストである NK4 を発現する非増殖性の
遺伝子組換えアデノウイルス 5 型ベクター (Ad5CMV-NK4)

目次

I	宿主又は宿主の属する分類学上の種に関する情報	3
1	分類学上の位置付け及び自然環境における分布状況	3
2	使用等の歴史及び現状	3
3	生理・生態学的特性	4
II	遺伝子組換え生物等の調製等に関する情報	7
1	供与核酸に関する情報	7
2	ベクターに関する情報	11
3	遺伝子組換え生物等の調製方法	13
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	16
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	17
6	宿主又は宿主の属する分類学上の種との相違	18
III	遺伝子組換え生物等の使用等に関する情報	20
1	使用等の内容	20
2	使用等の方法	20
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	21
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	21
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	22
6	国外における使用等により得られた情報	23
IV	生物多様性影響評価	24
1	他の微生物を減少させる性質	24
2	病原性	24
3	有害物質の産生性	25
4	核酸を水平伝達する性質	26
5	その他の性質	26
V	総合的評価	27
	別紙 NK4 遺伝子発現アデノウイルスベクターの全塩基配列	28

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）、ヒトNK分子を発現する非増殖性の遺伝子組換えアデノウイルスベクター-Ad5CMV-NK4はヒトアデノウイルス5型を宿主として作製された。

アデノウイルス5型は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）。子供の40-60%が中和抗体をもつ（文献2）。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.

2 使用等の歴史及び現状

アデノウイルス5型そのもの人為的な利用は知られていない。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で30年以上にわたり、延べ約100万人の兵士に対し風邪ワクチンとして投与されてきた実績があり、重篤な副作用の報告もない。

なお、アデノウイルス5型の遺伝子治療用ベクターとしての利用は、1990年以後ウイルス複製に必須のE1領域を遺伝子組換え技術により欠失させた非増殖性のものが、国内外で汎用されている。1999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蛋白質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事が明らかにされた。

3 生理・生態学的特性

(1) 基本的特性

ヒトアデノウイルスはエンベロープをもたない2本鎖DNAウイルスであり、アデノウイルス科マストアデノウイルス属に分類される。ウイルスキャプシドは直径80 nmの正二十面体である。51の血清型が知られており、ハムスターへの腫瘍原性により3つの群に分けられている。ウイルス粒子はDNAと蛋白質より成る。DNAの分子量は $20-25 \times 10^6$ ダルトン、長さ約12 μm の線状2本鎖(ゲノムサイズ:約36 kb)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

自然界において、宿主域はヒトを始めとして、サル、ネコ、イヌ、ウサギ、ラット、マウス、ハムスター、等の哺乳類及び鳥類の細胞に幅広く感染し取り込まれる。しかし、生活環を完結しウイルス粒子を産生するためには、ヒトアデノウイルスは種特異的であり、ヒト以外では、ハムスター、コットンラット等ごくわずかな種でしかウイルスの増殖は認められない。ヒトに最も近いサルですら宿主としては適当でなく、シミアンウイルス40(SV40)の共感染下にはじめてウイルス粒子が産生される。

また、ヒトアデノウイルスは広範な組織に感染可能であり、高度に分化した神経系、筋系、肝細胞から上皮細胞、線維芽細胞に至る付着系の細胞に感染することが知られている。しかしながら、細胞内での増殖の程度は組織により異なる。

(4) 繁殖又は増殖の様式

ヒトアデノウイルスの生活環は次のように考えられている。ウイルス粒子は、ファイバーを介して標的細胞の受容体と結合し、次いでペントンベースがインテグリンに結合する。ペントンベースとインテグリンの相互作用により、ウイルス粒子はエンドサイトーシスにより細胞質に取り込まれる。細胞表面に吸着したウイルス粒子の80-85%がエンドソーム中に取り込まれ、エンドソーム中のウイルス粒子の約90%がエンドソームを破壊して細胞質へ移動する。その過程で、まずペントンベースが外れ、続いて粒子構造が壊れコアが核膜内に放出される。核内でウイルスゲノムは染色体外遺伝子として存在する(epichromosomal localization)。ウイルスゲノムから細胞由来の転写因子を利用してE1A遺伝子産物がまず産生され、他の初期遺伝子群の発現を制御する。次いでE2遺伝子産物の蓄積に伴い、DNA複製反応が開始される。同時に後期遺伝子群の発現が起こり、ウイルス粒子構成蛋白質が産生される。その際、E1B遺伝子産物及びE4遺伝子産物により、感染細胞由来mRNAの細胞質

への移行が阻害されるとともに、細胞由来の 5'末端に存在するキャップ構造に結合する蛋白質 (CBP) が脱リン酸化され、細胞由来 mRNA の翻訳は著しく制御される。その結果、キャップ非依存的に翻訳されるウイルス由来 mRNA が効率的に細胞質に蓄積し、ウイルス粒子構成蛋白質の産生が促進される。過剰に産生されたウイルス粒子構成蛋白質は、ウイルスゲノムとともに核内でウイルス粒子として組み立てられる。さらに、ウイルス粒子の蓄積により、その凝集塊から成る核内封入体と呼ばれる構造体が形成される。ウイルス粒子は、感染細胞の崩壊により、細胞外に放出される。

ヒトアデノウイルスはヒトに経口感染し、急性の呼吸器疾患、角膜炎、乳幼児下痢症等を引き起こす。感染経路としては飛沫感染がある。

(5) 病原性

ヒトアデノウイルスは、急性の呼吸器疾患、角結膜炎、乳幼児下痢症などの原因ウイルスとして知られている。各疾患の発症はアデノウイルスの血清型と関連しており、Ad5CMV-NK4 の由来であるアデノウイルス 5 型は、不顕性に終わることが多いが、乳幼児における急性発熱性咽頭炎の起因ウイルスとして知られている。最近、百日咳様症候群との関連が報告されているが、アデノウイルス 5 型の単独感染が百日咳様症候群の原因であるよりむしろ、百日咳菌の感染下に潜在ウイルスの活性化が起きている可能性が指摘されている。また、肝移植患者において、免疫抑制剤服用下にアデノウイルス C 亜群由来のアデノウイルス肝炎が報告されている。アデノウイルス 5 型感染症に対する治療薬は存在しないが、免疫力の低下した患者に重症の感染症を来した場合には免疫グロブリンの投与を行う。一般的には予後良好なので、安静を保ち二次感染を防ぐことが肝要である。アデノウイルス感染に関連した疾患について表 1 に示した。

疾患名	対象患者	関連血清型
急性発熱性咽頭炎	乳幼児	1-3, 5-7
咽頭結膜性発熱	小児	3, 7, 1
急性呼吸疾患	新兵 (軍人)	3, 4, 7, 14, 21
肺炎	乳幼児	1-3, 7
肺炎	新兵 (軍人)	4, 7
流行性角結膜炎	全世代	8, 11, 19, 37
百日咳様症候群	乳幼児	5
急性出血性膀胱炎	乳幼児	11, 21
胃腸炎	乳幼児	40, 41
肝炎	肝移植レシピエント (乳幼児)	1, 2, 5
尿管内ウイルス存続	AIDS 患者他免疫抑制状態の患者	34, 35

(6) 有害物質の産生性

野生型ヒトアデノウイルスの細胞障害性の発現は、感染細胞内での蛋白質合成阻害及びウイルス構成蛋白の貯留によると考えられている。現在まで、野生型ヒトアデノウイルスにおける有害物質の産生性は同定されていない。

(7) その他の情報

野生型ヒトアデノウイルスは、他の DNA ウィルスと同様、高圧蒸気滅菌、ガス滅菌、焼灼、紫外線殺菌灯、次亜塩素酸ナトリウム (1-20 ppm) 等により不活化される。また、Ad5CMV-NK4 は、E1 領域を欠いているために非増殖性である。

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

ウイルスベクターに導入した核酸である NK4 発現カセットは、①ヒトサイトメガロウイルス (CMV) プロモーター配列、②コザック配列、③NK4cDNA、④SV40 ポリアデニレーション配列から成る。各領域は、Ad5CMV-NK4 ウイルスベクター5'末端の塩基を 1 とした時の塩基番号で示した。

① 505-1332 (CMV プロモーター)

GenBank Database の CMV プロモーターの塩基配列 828bp (下記) と一致する。ヒトサイトメガロウイルスに由来するプロモーター配列。

```
TCAATATTGGCCATTAGCCATATTATTCATTGGTTATATAGCATAAATCAATATTGGCTATTGGCCATT
GCATACGTTGTATCCATATCATAATATGTACATTTATATTGGCTCATGTCCAACATTACCGCCATGTTG
ACATTGATTATTGACTAGTTATTAATAGTAATCAATTACGGGGTCATTAGTTCATAGCCCATATATGGA
GTTCCGCGTTACATAACTTACGGTAAATGGCCCGCTGGCTGACCGCCCAACGACCCCGCCATTGAC
GTCAATAATGACGTATGTTCCCATAGTAACGCCAATAGGGACTTTCCATTGACGTCAATGGGTGGAGTA
TTTACGGTAAACTGCCCACTTGGCAGTACATCAAGTGTATCATATGCCAAGTACGCCCCCTATTGACGT
CAATGACGGTAAATGGCCCGCTGGCATTATGCCAGTACATGACCTTATGGGACTTTCCTACTTGGCA
GTACATCTACGTATTAGTCATCGCTATTACCATGGTGTATGCGGTTTTGGCAGTACATCAATGGGCGTGG
ATAGCGGTTTTGACTCACGGGGATTTCCAAGTCTCCACCCCATTTGACGTCAATGGGAGTTTTGTTTTGGCA
CCAAAATCAACGGGACTTTCCAAAATGTCGTAACAACCTCCGCCCATTTGACGCAAATGGGCGGTAGGCG
TGTACGGTGGGAGGTCTATATAAGCAGAGCTCGTTTTAGTGAACCGTCAGATCGCCTGGAGACGCCATCC
ACGCTGTTTTGACCTCCATAGAAGACACCGGGACCGATCCAGCCTCCGCGGCCGGGAACGGTGCATTGG
```

② 1339-1344 (Kozak 配列)

コザック配列は (6 bp: GCCACC)、細菌由来のグアニン-シトシンを多く含む DNA 配列で、遺伝子の ATG 開始コドンの周辺で見つかったもの。

③ 1345-2769 (NK4cDNA)

ヒト NK4 遺伝子はヒト HGF 遺伝子的一部分として定義される。ヒト HGF の遺伝子座は第 7 染色体長腕 (7q11.2-21) 上に位置し、18 個のエクソンから成り、728 アミノ酸残基の HGF 蛋白質をコードする。NK4cDNA は NK4 遺伝子のエクソン部分 1419 bp (下記) から成り、473 アミノ酸残基をコードする。

```
ATGTGGGTGACCAAACCTCTGCCAGCCCTGCTGCTGCAGCATGTCCTCCTGCATCTCCTCCTGCTCCCC
ATCGCCATCCCCTATGCAGAGGGACAAAGGAAAAGAAGAAATACAATTCATGAATTCAAAAAATCAGCA
AAGACTACCCTAATCAAAAATAGATCCAGCACTGAAGATAAAAACCAAAAAAGTGAATACTGCAGACCAA
```

TGTGCTAATAGATGTACTAGGAATAAAGGACTTCCATTCACTTGCAAGGCTTTTGTTTTTGATAAAGCA
 AGAAAACAATGCCTCTGGTTCCCCTTCAATAGCATGTCAAGTGGAGTGAAAAAGAATTTGGCCATGAA
 TTTGACCTCTATGAAAACAAAGACTACATTAGAACTGCATCATTGGTAAAGGACGCAGCTACAAGGGA
 ACAGTATCTATCACTAAGAGTGGCATCAAATGTCAGCCCTGGAGTTCATGATACCACACGAACACAGC
 TATCGGGGTAAAGACCTACAGGAAACTACTGTGCAATCCTCGAGGGGAAGAAGGGGGACCCTGGTGT
 TTCACAAGCAATCCAGAGGTACGCTACGAAGTCTGTGACATTCTCAGTGTTCAGAAGTTGAATGCATG
 ACCTGCAATGGGGAGAGTTATCGAGGTCTCATGGATCATA CAGAATCAGGCAAGATTTGTCAGCGCTGG
 GATCATCAGACACCACACCCGGCACAAATTCTTGCCTGAAAGATATCCCGACAAGGGCTTTGATGATAAT
 TATTGCCGCAATCCCGATGGCCAGCCGAGGCCATGGTGCTATACTCTTGACCCTCACACCCGCTGGGAG
 TACTGTGCAATTTAAAACATGCGCTGACAATACTATGAATGACACTGATGTTCTTTGGAAACAAC TGAA
 TGCATCCAAGGTCAAGGAGAAGGCTACAGGGGCACTGTCAATACCATTTGGAATGGAATTCATGTCAG
 CGTTGGGATTCTCAGTATCCTCACGAGCATGACATGACTCCTGAAAATTTCAAGTGCAAGGACCTACGA
 GAAAATTACTGCCGAAATCCAGATGGGTCTGAATCACCTGGTGTTTTACC ACTGATCCAAACATCCGA
 GTTGGCTACTGCTCCCAAATTCCAAACGTGATATGTCACATGGACAAGATTGTTATCGTGGGAATGGC
 AAAAATTATATGGGCAACTTATCCCAAACAAGATCTGGACTAACATGTTCAATGTGGGACAAGAACATG
 GAAGACTTACATCGTCATATCTTCTGGGAACCAGATGCAAGTAAGCTGAATGAGAATTA CTGCCGAAAT
 CCAGATGATGATGCTCATGGACCCTGGTGCTACACGGGAAATCCACTCATTCTTGGGATTATTGCCCT
 ATTTCTCGTTGTGAAGGTGATACCACACCTACAATAGTC

④ 2776-2920 (SV40 ポリアデニレーション配列)

GenBank Database の SV40pA の塩基配列 146 bp (下記) と一致する。SV40 ポリアデニレシ
 ョン配列は、SV40 に由来するポリ A 付加シグナル配列。

CGAGATCCGAACCTGTTTATTGCAGCTTATAATGGTTACAAATAAAGCAATAGCATCACAAATTTACA
 AATAAAGCATTTTTTTTCACTGCATTCTAGTTGTGGTTTGTCCAAACTCATCAATGTATCTTATCATGTC
 TAGATCT

(2) 構成要素の機能

a) NK4 蛋白質の構造

ヒト NK4cDNA より予想されるヒト NK4 蛋白質の全アミノ酸配列を下に示した (473 アミ
 ノ酸残基、下線部は分泌シグナル配列)。

MWVTKLLPALLLQHVLHLLLLPIAIPYAEGQRKRRNTIHEFKKSAKTTLIKIDPALKIKTKKVNTA
 DQCANRCTRNKGLPFTCKAFVFDKARKQCLWFPFNSMSSGVKKEFGHEFDLYENKDYIRNCIIGKGR
 SYKGTVSITKSGIKCQPWSSMI PHEHSYRGKDLQENYCRNPRGEEGGPWCFTSNPEVRYEVCDI PQC
 SEVECMTNGESYRGLMDHTESGKICQRWDHQTPHRHKFLPERYPDKGFDDNYCRNPDGQPRPWCYT
 LDPHTRWEYCAIKTCADNTMNDTDVPLETTECIQGGEGYRGTVNTIWNIGIPCQRWDSQYPHEHDMT
 PENFKCKDLRENYCRNPDGSESPWCFTTDPNIRVGYCSQIPNCDMSHGQDCYRGNNGKNYMGNLSQTR
 SGLTCSMWDKNMEDLHRHIFWEPDASKLNYCRNPDDAHGPWCYTG NPLIPWDYCPISRCEGDTT

PTIV

ヒト NK4 蛋白質 (5 残基欠損型) は N 末端の分泌シグナル配列 (31 アミノ酸残基) を除く 442 アミノ酸残基から構成され、下記のような特徴的ドメインを有する。

細胞外分泌シグナル配列 :	aa1-31
N 末端ヘアピン構造 :	aa39-122
第 1 クリングル構造 :	aa126-202
第 2 クリングル構造 :	aa203-284
第 3 クリングル構造 :	aa297-379
第 4 クリングル構造 :	aa383-465

HGF 蛋白質は不活性型 1 本鎖 preproHGF として翻訳された後、細胞外分泌シグナル配列によって細胞外に分泌されプロセッシングを受けて 2 本鎖の活性型成熟分子となる。N 末端ヘアピン構造とそれに続く第 1 クリングル構造は、c-Met レセプターとの結合に関与する。クリングル構造は、デンマークの菓子パン Kringle の構造と似ていることから名付けられた蛋白質の構造上の特徴であり、プラスミノーゲンなどの造血因子蛋白質に多く見られ蛋白質間相互作用に関与すると考えられている。各クリングル構造内には 3 箇所のジスルフィド結合があり立体構造を保持している。プラスミノーゲンの分子内断片でクリングル構造を持つアンジオスタチンにも血管新生阻害作用が認められており、クリングル構造と血管新生阻害作用との関連が示唆されているが、詳細なメカニズムは不明である。

NK4 蛋白質には下記のように 3 箇所の糖鎖付加部位が存在するが、グリコシダーゼ処理によって糖鎖を除去しても HGF アンタゴニスト活性及び血管新生阻害活性に影響は見られなかった。

アスパラギン (aa289) :	N-結合型糖鎖
アスパラギン (aa397) :	N-結合型糖鎖
スレオニン (aa471) :	O-結合型糖鎖

b) NK4 蛋白質の生物活性

HGF は、細胞膜を貫通する c-Met レセプターに結合することにより、増殖促進、血管新生、遊走促進、形態形成など多面的な生物活性を発揮する。c-Met レセプターには、細胞内ドメインにチロシンキナーゼと呼ばれる蛋白質のチロシン残基をリン酸化する酵素活性を持つ部分が存在する。HGF が c-Met に結合すると細胞質のチロシンキナーゼ活性が活性化され、これにより細胞内に様々なシグナルが伝達される。癌細胞の多くはこの c-Met を過剰発現しており、HGF の結合によって活性化されると、癌細胞の浸潤・転移に至る複数の事象が同時に進行する。すなわち、HGF はカドヘリンなどの細胞接着分子を介した細胞間接着をルーズにし、癌細胞が原発巣から離脱するのを促す。また、HGF は基底膜やコラーゲンなど細胞外基質を分

解する様々な蛋白質分解酵素の産生を促すとともに、癌細胞の活発な遊走を促す。同時に、癌細胞と血管内皮細胞の接着を促進するなど、これら一連の反応の同時進行により HGF は癌細胞の浸潤・転移を強力に促進する。

NK4 蛋白質は、c-Met レセプターへの結合に関与する N 末端ヘアピン構造と第 1 クリングル構造を持っているため、c-Met に結合するものの c-Met を活性化しない (図 1)。つまり、NK4 はそれ自身生物活性を発揮することなく、HGF が c-Met 受容体に結合するのを競合的に阻害するアンタゴニストとして作用することにより、HGF の関与する癌細胞の浸潤・転移を強力に抑制する。一方、NK4 は、HGF アンタゴニスト活性とは独立したメカニズムによって、HGF だけではなく VEGF や bFGF による血管新生をも抑制する。従って、NK4 は HGF アンタゴニスト活性と血管新生阻害活性を同時に有する 2 機能性分子であり、癌細胞を“凍結”、あるいは“休眠”の状態に至らしめる新規な抗癌剤の分子標的としての利用が期待される (図 2)。

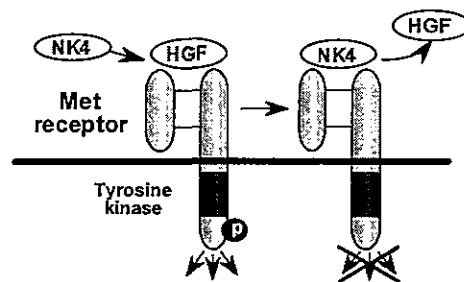


図 1. NK4 による HGF アンタゴニスト作用

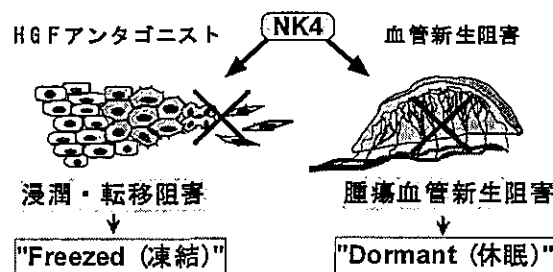


図 2. NK4 の 2 つの機能と癌の“凍結・休眠”療法

2 ベクターに関する情報

(1) 名称及び由来

Ad5CMV-NK4は、NK4遺伝子発現カセットを含む pAdApt.NK4 (図3) と、アデノウイルス5型ゲノムを含むpWE.AdAflII-rITRsp (図4) の相同組換えによって作成された(次項目)。pAdApt.NK4の由来はシャトルベクターpAdApt (Crucell社) で、一方、pWE.AdAflII-rITRsp (Crucell社) はコスミドベクターpWE25に由来する。

(2) 特性

pAdAptは、大腸菌複製開始点ori、アンピシリン耐性遺伝子Amp、アデノウイルス5型ゲノムDNA相同部位2箇所(1-454、3511-6095)、CMVプロモーター、SV40ポリアデニレーション配列を構成要素とする。一方、pWE.AdAflII-rITRspはコスミドベクターpWE25に由来し、アデノウイルス5型ゲノムDNA全長を含む。

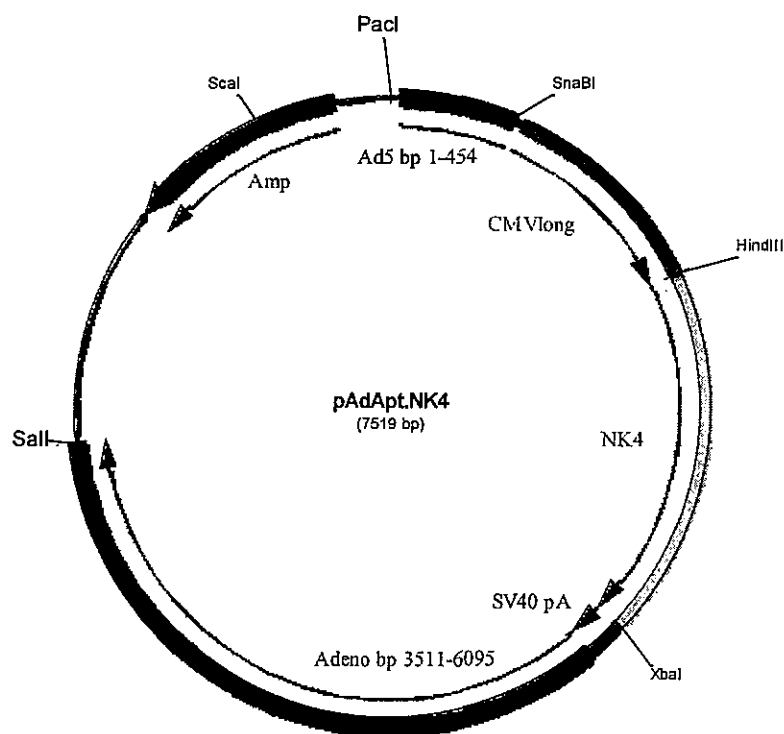


図3. プラスミドベクターpAdApt.NK4

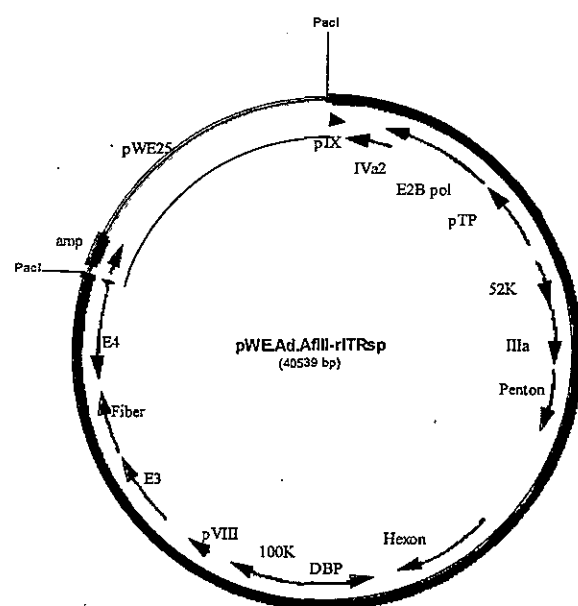


図 4. コスミドベクター pWEAd.AfIII-rITRsp

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

アデノウイルスは全質量の13%を占めるDNAと87%を占める蛋白質を含む、直径65-80 nmの正二十面体の構造を有する。ウイルスのDNAは約36 kbの長さである。アデノウイルス蛋白質の発現は、一般的に早期と後期とに分類される。6つの蛋白質が早期(E1A、E1B、E2A、E2B、E3、E4)に、他の蛋白質(L1、IVa2、IX)は後期に発現する。E1AとE1BはウイルスDNAの複製に重要な役割を果たす。E2AはDNA結合タンパクをコードし、E2BはDNA polymerase及びウイルスゲノムの5'末端に見られるタンパクをコードする。E3はウイルスDNAの複製に関連しないが、ウイルスの感染に対する宿主免疫反応を引き起こすと考えられる。E4蛋白質はウイルスの構築と関連すると考えられている。本研究に用いられるAd5CMV-NK4ベクターは、E1A及びE1B部分が欠損しておりその欠損部にCMVプロモーターで転写制御されるNK4cDNAが挿入されている(図5)。

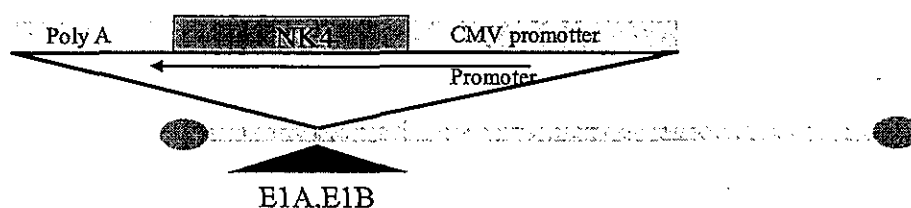


図5. Ad5CMV-NK4の模式図

(2) 宿主内に移入された核酸の移入方法

プラスミドベクターpAdAptのHindIII及びXbaI制限酵素サイトにコザック配列(GCCACC)を付加したNK4cDNAを挿入し、プラスミドベクターpAdApt.NK4(図3)を作成した。pAdApt.NK4をPacI及びSaII制限酵素で、Ad5CMV-NK4ゲノムDNAを含むコスミドベクターpWE.AdAfl II-rITRsp(図4)をPacI制限酵素にて直鎖状にし、各DNA断片を精製した。上述の2種のDNA断片をPER.C6TMヘルパー細胞(Crucell社)にLipofectamine200CD(Invitrogen社)を用いたリポソーム法によって同時に組み込んだ。2種のDNA断片の相同組換えにより、アデノウイルス5型のE1領域がNK4発現カセットに組換えられたAd5CMV-NK4のDNA全長が形成される(Ad5CMV-NK4の全塩基配列は別紙)。PER.C6TMヘルパー細胞はアデノウイルス5型のE1領域、約4kbを内在しておりE1由来転写活性因子を産生する細胞株である。この転写活性因子がE1領域を除去したAd5CMV-NK4にトランスに働き、Ad5CMV-NK4ウイルスベクターが産生される。尚、PER.C6TM細胞は従来の293細胞と異なり、Ad5CMV-NK4の発現カセット前後との相同部位をE1遺伝子の前後に持たないので、PER.C6TM由来のE1遺伝子とAd5CMV-NK4の発現カセットとの相同組換えが理論上起こらず、Replication Competent Adenovirus(RCA)の発生も起こらないと

考えられる。なお、Ad5CMV-NK4の全シーケンスはALF ExpressTM自動DNA解析装置（Pharmacia Biotech社）により確認済みである。

(3) 遺伝子組換え生物等の育成の経過

本研究に用いられるAd5CMV-NK4は、現行のGMP基準に従って、神戸バイオメディカル創造センターのBiologics Laboratoryで製造された。Biologics Laboratoryは神戸大学発ベンチャーの株式会社GMJ（旧株式会社ジーンメディスンジャパン）社によって運営管理されており、千葉大学の臨床研究実施研究者が共同研究者である神戸大学の臨床研究実施研究者と共に実施した。マスターセルバンク、マスターウイルスシードストック（マスターウイルスバンク）など原材料から製造工程、最終製品に至るまで一貫した品質管理のもとに製造され、保管されている。最終製品については、各種ウイルスやマイコプラズマの混入がなく、無菌試験、エンドトキシン試験にて下記項目が陰性であることが確認された（表2）（添付資料1-3）。

試験項目	内容
力価測定	吸光度によるvirus particle、TCID ₅₀ 法
ウイルス検出試験	PCRによるHBV, HCV, HIV-1, HTLV-1, Parvovirus B19の検出
マイコプラズマ検出試験	PCRによるマイコプラズマ遺伝子検査
無菌試験	ソイビーンカゼインダイジェスト培地、液状チオグリコール酸培地にて生育可能な細菌・真菌の検討
エンドトキシン検出試験	第十五改正日本薬局方におけるエンドトキシン試験法
RCA 検出試験	A549細胞を用いたCPE検出法

また、アデノウイルスベクターの調製に使用する PER.C6TM細胞のマスターセルバンク、ワーキングセルバンク及び Ad5CMV-NK4 マスターウイルスシードストックに対しても品質管理試験が施行され、各項目における安全性が確認されている。マスターセルバンク等及びマスターウイルスシードストックの試験項目は下記のとおりである。

<マスターセル・ワーキングセルバンク>

- ・チオグリコレートブイヨン・トリプケースイブイヨンによる無菌試験
- ・エンドトキシン否定試験
- ・マイコプラズマ否定試験
- ・HTLV-I 否定試験（PCR 法）
- ・HCV, HBV 否定試験（PCR 法）

- ・ HIV-1 否定試験 (PCR 法)
- ・ サイトメガロウイルス否定試験 (PCR 法)
- ・ EB ウイルス否定試験 (PCR 法)
- ・ Parvovirus B19 DNA 否定試験 (PCR 法)
- ・ アデノウイルス検出試験 (抗アデノウイルス抗体による蛍光染色)
- ・ ウイルス分離試験 (HEL ヒト胎児肺由来細胞、HeLa, Vero, RD ヒト横紋筋由来細胞、MDCK イヌ腎臓由来細胞, A549 細胞を用いた CPE 検出試験)

<マスターウイルスシードストック>

- ・ チオグリコレートブイヨン・トリプケースイブイヨンによる無菌試験
- ・ エンドトキシン否定試験
- ・ マイコプラズマ否定試験
- ・ HTLV-I 否定試験 (PCR 法)
- ・ HCV, HBV 否定試験 (PCR 法)
- ・ HIV-1 否定試験 (PCR 法)
- ・ サイトメガロウイルス否定試験 (PCR 法)
- ・ EB ウイルス否定試験 (PCR 法)
- ・ Parvovirus B19 DNA 否定試験 (PCR 法)

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、Ad5CMV-NK4のゲノムは核内の染色体外に存在し、NK4遺伝子が転写されるが、その発現は一過性である。Ad5CMV-NK4はPER.C6™細胞を使用して増殖させているため、相同組換えを起こしてRCAが産生されるとは極めて考えにくい、万一そのような場合は供与核酸のほぼ大半は消失していると考えられる。

またAd5CMV-NK4投与によるNK4蛋白質の生体内発現については以下のとおりである。当該実験には6-7週齢のC57BL/6マウス(雄)を用いた。Ad5CMV-NK4 (1×10^9 pfu)を生理食塩水で希釈し、マウスの尾静脈から投与した。投与後、経時的に解剖し、採取した臓器及び血漿中のNK4蛋白質濃度をELISAにて分析した。

NK4の血漿中濃度はAd5CMV-NK4投与後1週間をピークとしており、ピーク時における血中濃度は約150 ng/mlで、その後血漿中濃度は低下したが1箇月後でも約10 ng/mlと、血中HGFを阻害するのにじゅうぶんな濃度のNK4蛋白質レベルが維持された(図6)。また肝臓・肺・腎臓においても投与後1-2週間をピークに持続的なNK4蛋白質の産生が認められた。Ad5CMV-NK4は各種臓器において発現されるが、とりわけ、肝臓におけるNK4のレベルは最も高い発現が認められた。したがって、1回のAd5CMV-NK4投与によって1箇月間のNK4蛋白質の発現・産生が維持できることが明らかになった。さらに、この期間中、マウスにおいて外見的な異常はなく、大きな副作用はほとんど認められなかった。

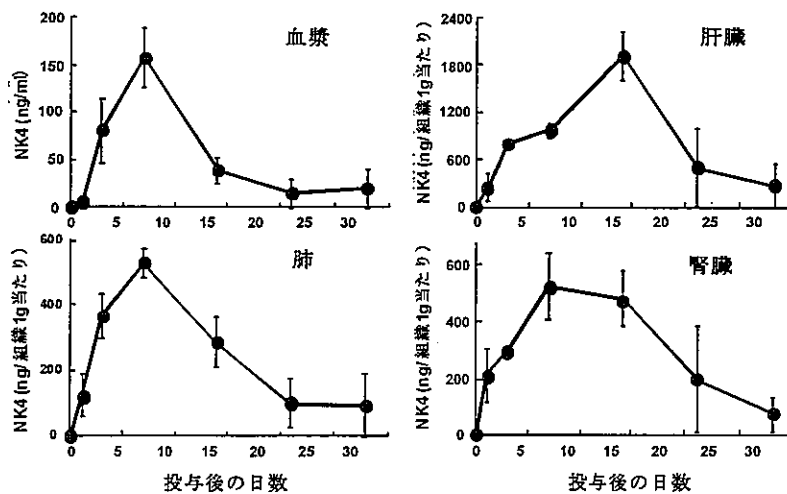


図6. Ad5CMV-NK4を投与したマウス血漿中並びに臓器中のNK4蛋白質の発現変化

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

PCR 法にて Ad5CMV-NK4 を検出することができる。PCR 法では、野生型アデノウイルスの遺伝子には存在しない Ad5CMV-NK4 特有の遺伝子配列(イントロンを挟む NK4cDNA 配列)をプライマーとして使用することで、Ad5CMV-NK4 の存在を特異的に検出できる。検体中の 1 コピーを検出することが可能であり、本検出法の信頼性については、同様の定量的 PCR 法を用いたウイルス検出法が既に臨床検査等でされていることから、十分に確立しているものと考えられる。

6 宿主又は宿主の属する分類学上の種との相違

(1) Ad5CMV-NK4 ウイルスベクターの生物学的特徴

Ad5CMV-NK4 ウイルスベクターは、アデノウイルスの増殖に必須の蛋白質(E1A および E1B) がコードされている E1 領域が欠損しているために、恒常的に当該蛋白質が発現している細胞(例えば 293 細胞) 以外では増殖性を有しない。しかし、CMV プロモーターから転写される NK4 蛋白質を産生する。ウイルスの基本構造がタイプ 5 型由来であり、感染性については同野生型ウイルスと同様である。野生型アデノウイルスと同様、染色体に組み込まれることはなく、染色体外遺伝子として存在し、感染細胞の細胞分裂によって NK4 遺伝子の発現は減少していく。したがって NK 蛋白質の発現も一過性のものとなる。

(2) 増殖性ウイルス出現の可能性

①増殖性アデノウイルス (RCA) 出現の機序

Ad5CMV-NK4 ウイルスベクターはウイルス複製に必要な E1 領域が除かれ、当該部分が NK 遺伝子に置き換えられている。したがって、293 細胞のように E1 領域遺伝子が発現する細胞が、当該遺伝子をトランスに発現しなければ、複製増殖することができない。この胎児性腎細胞由来の 293 細胞は、ヒト 5 型アデノウイルスの E1A 及び E1B 遺伝子を包括する nt 1-4137 の領域を含んでおり、この領域はアデノウイルスゲノムの左腕の 12%に相当する。一方非増殖性の Ad5CMV-NK4 のような組換え型アデノウイルスは通常 nt 400-3500 領域を欠失しているが、293 細胞中の E1 領域とは相同部位が存在しており、その結果、組換え型アデノウイルスの作製にあたって相同組換えが生じ、RCA が発生する可能性がある。一般的に、293 細胞への 1 粒子の組換え型アデノウイルスの感染は 10,000 粒子以上の子孫アデノウイルスを生じうる。同時に、組換え型アデノウイルスと 293 細胞間の一回の相同組換えが起こる頻度は最低で 10^6 回の組換えに対して 1 回程度であると予想されている。

②PER.C6TM細胞使用による RCA 出現リスクの低減

RCA 出現の原因となる相同部位の除去のため、PER.C6TM細胞がオランダ Crucell 社によって開発された。PER.C6TM細胞はヒト胎児性網膜芽細胞に、E1A 及び E1B 領域 (Ad5 nt 459-3510) を導入したものである。この配列には E1 プロモーター及びポリ A シグナルは含まれておらず、ヒトホスホグリセリン酸キナーゼ PGK プロモーター及び B 型肝炎ウイルスのポリ A シークエンスが組み込まれている。また同時に Ad5 の E1 領域 (Ad5 nt 455-3510) を欠失させた組換え型アデノウイルスを作製するための pAdApt シャトルベクターも同時に開発された。これらの PER.C6TM細胞により作製された組換え型アデノウイルスでは、RCA の出現は極めて低いと考えられる。

③RCA の検出方法

Ad5CMV-NK4 と RCA との違いは E1 領域にあるため、E1A あるいは E1B 遺伝子に関する PCR

を行うことによって両者を区別することが可能である。ウイルスが含まれた検査すべき検体を、E1 領域を含まない A549 細胞あるいは HeLa 細胞の培養液に入れてウイルスを感染させ、RCA を増殖させた後に、当該細胞より DNA を抽出し、E1A あるいは E1B のウイルス遺伝子内に設定したプライマーを使用した RCR を行うことによって、Ad5CMV-NK4 と RCA の区別をつけることが可能で、RCA 有無の検出ができる。本手法により検体中 1 コピーの RCA を検出することが可能である。

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臨床研究を目的とした投与、保管、運搬、廃棄及び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：千葉県千葉市中央区亥鼻1丁目8番1号

治療施設の名称：千葉大学医学部附属病院

- (1) Ad5CMV-NK4 溶液は、ガラスバイアルに密封後、凍結状態で治療施設に輸送し、凍結状態のまま施設内のベクター調製室内の冷凍庫に保管する。
- (2) 凍結状態の Ad5CMV-NK4 溶液の融解、バイアルの開封並びに Ad5CMV-NK4 溶液の希釈及び分注は、上記ベクター調製室内の P2 レベル設備内の安全キャビネット内で行う。なお、この希釈溶液を、解放系区域を通過して他の P2 レベル相当区域に運搬する必要がある場合には、二重に密閉した容器に入れて運搬する。
- (3) Ad5CMV-NK4 溶液（希釈液も含む）を廃棄する際には、本施設で定められた感染性廃棄物処理規程により行う。
- (4) 被験者に対する Ad5CMV-NK4 の投与は、環境中への拡散防止措置を適切に執った室内において Ad5CMV-NK4 希釈溶液を胸腔内投与することにより行う。投与後 48 時間まで、被験者に心電図モニターを装着して管理する。
- (5) 個室管理期間中の被験者の排泄物（唾液、血液、及び尿）は、臨床検体として使用する物を除き、投与後 7 日間、あるいはウイルスが陰性化するまでバイオハザードマークを明示して感染性廃棄物として取り扱う。なお、臨床検体として使用する被験者の排泄物の取扱いは、上記 Ad5CMV-NK4 溶液の取扱いに準じる。
- (6) 個室管理期間中、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に接触した器具等は、環境中への拡散防止措置を適切に執った室内で高圧蒸気滅菌処理ないしは次亜塩素酸処理を実施した後、本施設で定められた感染性廃棄物処理規程に従い廃棄するか、もしくは環境中への拡散防止措置を適切に執った室内で十分洗浄する。

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

※ 主務大臣が必要と認める場合にのみ記載し、それ以外の場合は空欄とすること。

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

※ 主務大臣が必要と認める場合にのみ記載し、それ以外の場合は空欄とすること。

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) Ad5CMV-p53を用いた臨床研究の結果

岡山大学付属病院を中心に米国と同様のプロトコールにより1999年3月から非小細胞肺癌に対する Ad5CMV-p53 を用いた第 I 相臨床試験が行われ、被験者からの血液、尿、便、リンパ節などでの Ad5CMV-p53 の検出検査 (PCR 法) では、血液中には 3 日目まで検出され、咽頭うがい液からは 13 日後にも検出されたが、尿中には投与後ずっと検出されず、環境への拡散の危険についての報告は無い。また、本施設 (千葉大学医学部附属病院) で実施中の食道癌に対する Ad5CMV-p53 を用いた第 I - II 相臨床研究 (文献 3) では、食道癌患者 10 名に対し Ad5CMV-p53 投与から一週間後に被験者の血液、尿、糞便中の Ad5CMV-p53 検出試験を計 46 回行い、45 回は陰性、1 回のみ糞便に陽性で、この被験者は隔離解除を延期し 12 日目に陰性となった。なお、医療従事者への感染は、当該従事者の健康状態からみてないと考えられ、環境中への拡散の可能性はない。

(2) マウスを用いた Ad5CMV-NK4 の安全性試験

Cj:CD-1 (ICR) 系雄性マウスを用いて Ad5CMV-NK4 の単回静脈内投与による安全性試験を実施した。Ad5CMV-NK4 の投与量は、高用量 (1.25×10^8 pfu /animal) 及び低用量 (1.25×10^6 pfu /animal) の 2 用量 (n=6) とし、対照群のマウスにはリン酸緩衝液 (-) を静脈内投与した (n=6)。投与後 1、3 及び 14 日後に採血し血清を採取した。また、採血終了後、脳、肺、肝臓、腎臓及び精巣を摘出し重量測定後、肺、腎臓及び精巣については左側を、脳については正中線で 2 分割した左側を、肝臓については最も大きい葉 (左葉) を液体窒素で凍結し保存した。他方はホルマリン固定後に、常法に従って病理組織検査を実施した。投与 1 日後に低用量群の 1 例が死亡した。投与 2 及び 3 日後に高用量群の 2 例に、自発運動減少、脱毛、後肢浮腫及び痂皮形成がみられ、低用量群の 2 例に脱毛及び自発運動減少がみられた。投与 3 日後に低用量群の 1 例に自発運動減少、失調歩行、脱毛及び体温低下がみられた。各臓器の病理組織検査では、高用量群、低用量群とも対照群と同様の組織像を呈しており、Ad5CMV-NK4 の正常組織への病理組織学的影響は認められなかった。

組織より抽出した DNA を用いてウイルスベクター投与後の各臓器中に存在するアデノウイルス量を検討した結果では、高用量投与群において、投与 14 日後でも肝組織中にアデノウイルス DNA の存在が確認され、肺には投与 1 日後のみアデノウイルス DNA の存在が確認されたが、低用量投与群においては、いずれの臓器においても、アデノウイルス DNA の存在は確認されなかった。一方、組織より抽出した RNA を用いて各臓器中での NK4 mRNA 発現を確認した結果においては、高用量投与群の投与 1 日後の肺・肝・精巣組織、また、投与 3 日後の肝組織に対照群と比して高いレベルで NK4 の発現を認めたが、それ以外では対照群と同程度のレベルの NK4 mRNA の発現状況であった。

6 国外における使用等により得られた情報

Ad5CMV-NK4を用いた臨床試験は、実施例がないためこれまでに得られた情報はない。搭載cDNAが異なるAd5CMVベクターの使用経験は2つの臨床研究で報告されているので、その結果を記載する。

①本臨床研究の対象と同じ悪性胸膜中皮腫を対象とした、単純ヘルペスウイルスチミジンキナーゼ遺伝子発現型アデノウイルスベクターの第I相臨床試験（胸腔内投与）が米国のペンシルベニア大学において実施された（文献4）。投与量は 5×10^{10} viral particles (vp)から 5×10^{13} vpまで胸腔内投与が行われた。その結果、最高投与量まで増量されたが、最大耐量は確認できず 5×10^{13} vp以上と判断された。主な副作用は注入部位疼痛、発熱などで、腎毒性等の化学療法に良く見られる重篤な毒性は報告されておらず忍容性は良好であった。なお、環境中への拡散について報告はない。

②悪性胸膜中皮腫を対象とした、インターフェロンβ遺伝子発現型アデノウイルスベクターの第I相臨床試験（胸腔内投与）が米国のペンシルベニア大学において実施された（文献5）。投与量は 9×10^{11} vpと 3×10^{12} vpの2用量で胸腔内投与が行われた。その結果、 3×10^{12} vp投与4症例において一過性の低酸素症が1例（原疾患に心不全を有していた症例で、利尿剤にて改善）と肝機能障害が1例（生化学的検査によるもので臨床的症状は認められず）が認められた。一方 9×10^{11} vp投与の場合、6例中6例でグレード1ないし2の有害事象が観察され、当該研究における最大耐量は 9×10^{11} vpと判断された。主な副作用は注入部位疼痛、発熱などで、腎毒性等の化学療法に良く見られる重篤な毒性は報告されておらず忍容性は良好であった。また、上記10症例のなかで4例の患者から、アデノウイルス投与4日後まで血清中よりPCRによって当該アデノウイルスが検出された。

文献3： Shimada H, Matsubara H, Shiratori T, et al. Phase I/II adenoviral p53 gene therapy for chemoradiation resistant advanced esophageal squamous cell carcinoma. *Cancer Sci.* 2006; 97: 554-561.

文献4： Sterman DH, Recio A, Vachani A, et al. Long-term follow-up of patients with malignant pleural mesothelioma receiving high-dose adenovirus herpes simplex thymidine kinase/ganciclovir suicide gene therapy. *Clin. Cancer Res.* 2005; 11: 7444-7453.

文献5： Sterman DH, Recio A, Carroll RG, et al. A phase I clinical trial of single-dose intrapleural IFN- β gene transfer for malignant pleural mesothelioma and metastatic pleural effusions: high rate of antitumor immune responses. *Clin. Cancer Res.* 2007; 13: 4456-4466.

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

Ad5CMV-NK4の感染性は、感染の種特異性を司る遺伝子に改変を加えていないことから野生型のタイプ5型Adと同一であり、微生物に感染することはなく、また有害物質等の産生により他の微生物を減少させることないと考えられる。したがって、このために影響を受ける可能性のある野生動植物はない。これは野生型アデノウイルスとなっても同じである。

(2) 影響の具体的内容の評価

他の微生物を減少させることはないため、当該ウイルスに関して該当事項はない。

(3) 影響の生じやすさの評価

他の微生物を減少させることはないため、当該ウイルスに関して該当事項はない。

(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かぎり、他の微生物を減少させる性質について生物多様性影響が生ずるおそれはないと考えられる。

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

Ad5CMV-NK4の感染性はアデノウイルス5型と同じであり、当該遺伝子組換えウイルスが感染しうる対象はヒトを含む一部のほ乳類及び鳥類である。しかし、自己増殖能を失っていることから、他の野生動植物に対して病原性を呈するおそれはないと考えられる。また、欠損しているE1領域について、Ad5CMV-NK4がこれを取り込み、野生型アデノウイルスとなることを、現実問題として自然界で起こることは想定し難いが、万一野生型となったとしても、結局はアデノウイルス5型と同一の感染性と病原性を有するにすぎず、すでに自然界に広く分布しているアデノウイルス5型以上の感染性と病原性を獲得するものではない。

(2) 影響の具体的内容の評価

Ad5CMV-NK4がヒトに感染した場合、一過性にNK4蛋白質の発現が見られるが、これによるヒトへの病原性は知られていない。また Ad5CMV-NK4由来のRCAおよび、万一野生型アデノウイルスとなった場合においても、その感染性と病原性はすでに自然界に分布するアデノウイルスと同等であり、その病原性については、I「宿主又は宿主の属する分類学上の種に関する情報」の3「生理・生態学的特性」(5)病原性に記載されているものと同一である。Ad5を用いた遺伝子治療用ベクターについては1990年以降、米国・欧州・中国あるい

は本邦においても使用されているが、環境中への悪影響に関する報告はない。またAd5による遺伝子治療ベクターによる死亡例は、I「宿主又は宿主の属する分類学上の種に関する情報」の2「使用等の歴史及び現状」に記載されたとおりである。

(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、Ad5CMV-NK4および、万一生じると仮定した野生型アデノウイルスの環境中への拡散は極めて微量である。実際問題としてAd5CMV-NK4が感染しうるのはヒトのみあり、当該ウイルスは自己増殖能を失っていることから環境中で増殖することはない。Ad5CMV-NK4由来の野生型アデノウイルスが、環境中に大量に放出されることは考えられず、万一そのようなことが生じても、その病原性は広く自然界に分布するアデノウイルスと同等である。したがって、Ad5CMV-NK4の投与によって、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

当該第一種使用規程に従って使用等を行うかぎり、生物多様性影響が生ずるおそれはないと考えられる。

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

Ad5CMV-NK4の有害物質の産生性は知られておらず、また安全性試験の結果等において、当該遺伝子組換えウイルスの野生動物に対する有害物質の産生性は認められていない。また植物に対して有害物質産生もないことから、他の野生動植物等に対する有害物質を産生するおそれはないと考えられる。

(2) 影響の具体的内容の評価

有害物質の産生はないことから特記すべきことはない。

(3) 影響の生じやすさの評価

有害物質の産生はないことから特記すべきことはない。

(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、当該第一種使用規程に従って使用等を行うかぎり、生物多様性影響が生ずるおそれはないと考えられる。

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

Ad5CMV-NK4の感染性はアデノウイルス5型と同じであり、実際問題として感染しうるのは自然宿主のヒトであり、また当該遺伝子組換えウイルスは自己増殖能を失っていることから、他の野生動植物に対して核酸を水平伝達するおそれはないと考えられる。万一野生型のアデノウイルスが生じて、その感染性はアデノウイルス5型を越えるものではない点から、核酸の水平伝達によって影響を受ける可能性のある野生動植物等はない。

(2) 影響の具体的内容の評価

Ad5CMV-NK4が感染したヒトにおいて一過性にNK4遺伝子が発現しうるが、これによってヒトを含む他の哺乳類等への水平伝達は知られていない。また野生型アデノウイルスが万一生じて、核酸水平伝達の性質は自然界に広く分布するアデノウイルス5型と同様である。

(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、Ad5CMV-NK4より派生するRCAの環境中への拡散は極めて微量である。Ad5CMV-NK4は自己増殖能を失っており、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。アデノウイルスが自然界において感染し増殖するのはヒトにほぼ限られており、野生型アデノウイルスが同一個体の同一細胞に共感染する可能性は、ヒトのアデノウイルスに対する免疫応答を考えれば極めて低い。Ad5CMV-NK4より派生するRCAの核酸水平伝達の性質は自然界に広く分布するアデノウイルス5型と同様である。

(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断

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考えられる。

5 その他の性質

なし。

V 総合的評価

Ad5CMV-NK4 の感染性は、感染の種特異性を司る遺伝子に改変を加えていないことから野生型のタイプ 5 型 Ad と同一であり、自然界では微生物、植物に感染することなく、また有害物質等の産生により他の微生物等を減少させることないと考えられる。また Ad5CMV-NK4 の動物への感染性はヒトを含む一部のほ乳類及び鳥類であるが、自己増殖能を失っていることから、他の野生動物に対して病原性を呈するおそれはないと考えられる。また、欠損している E1 領域について、Ad5CMV-NK4 がこの遺伝子を取り込み、野生型アデノウイルスとなることは現実には自然界で起こることは想定し難いが、万一野生型となったとしても、結局はアデノウイルス 5 型と同一の感染性と病原性を有するにすぎず、すでに自然界に広く分布しているアデノウイルス 5 型以上の感染性と病原性を獲得するものではない。さらに、Ad5CMV-NK4 による有害物質の産生性は認められていないことから、他の野生動植物等に対する有害物質を産生するおそれはないと考えられる。したがって、他の微生物を減少させる性質に起因する生物多様性影響、病原性に関して生物多様性影響、水平伝達によるヒトや他の哺乳類に対し生物多様性影響を生じるおそれはないと考えられる。

また、使用等を行う場所としては主として P2 レベル相当の個室に限っており、被験者の排泄物等については不活化する等の措置を講じることとしている。

以上のことから、当該第一種使用規程に従って使用等を行うかぎり、Ad5CMV-NK4 の第一種使用等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。

別紙 NK4 遺伝子発現アデノウイルスベクターの全塩基配列

- CMV プロモータ : 482-1309
- コザック配列 : 1316-1321
- NK4 遺伝子 : 1322-2740
TGATAA : 終止コドン
- SV40 polyA : 2753-2897

CATCATCAATAATATACCTTATTTTGGATTGAAGCCAATATGATAATGAGGGGGTGGAGTTTGTGACGTGGCGCGGGCGTGGGAAC
 GGGGCGGGTGCAGTAGTAGTGTGGCGGAAGTGTGATGTTGCAAGTGTGGCGGAACACATGTAAGCGACGGATGTGGCAAAAGTGCAG
 TTTTGGTGTGCGCCGGTGTACACAGGAAGTGACAATTTTCGCGCGGTTTAGGCGGATGTTGTAGTAAATTTGGCGTAACCGAGT
 AAGATTTGGCCATTTTCGCGGGAAACTGAATAAGAGGAAGTGAATCTGAATAATTTTGTGTACTCATAGCCGTAATATTTGTC
 TAGGGCGCGGGGACTTTGACCGTTCAGTGGAGACTCGCCAGGTGTTTTCTCAGGTGTTTTCCGCGTCCGGGTCAAAGTTGGC
 GTTTTATTATAGTACGTACCAGTGCACCTGGCTAGGTGGTCAATATTTGGCCATTATTTAGCCATTTATTTGGTTATATAG
 CATAAATCAATATTGGCTATTGGCCATTGCATACGTTGTATCCATATCATAATATGTACATTTATATTGGCTCATGTCCAACATTAC
 CGCCATGTTGACATTGATATTGACTAGTTATTAATAGTAATCAATTACGGGGTCAATTAGTTCATAGCCCATATATGGAGTTCGCG
 TTACATAACTTACGGTAAATGGCCCGCTGGCTGACCGCCCAACGCCCGCCCATTTGACGTCATAATGACGTATGTTCCCATAG
 TAACGCCAATAGGGACTTTCCATTGACGTCATGGGTGGAGTATTTACGGTAACTGCCACTTGGCAGTACATCAAGTGTATCATA
 TGCCAAGTACGCCCCCTATTGACGTCAATGACGGTAAATGGCCCGCTGGCATTATGCCAGTACATGACCTTATGGGACTTTCCTA
 CTTGGCAGTACATCTACGTATTAGTCACTCGCTATTACCATGGTGATGCGGTTTTGGCAGTACATCAATGGGCGTGGATAGCGGTTG
 ACTCACGGGATTTCCAAGTCTCCACCCATTGACGTCATGGGAGTTTGTGGTGGCACCAAAATCAACGGGACTTTCCAAAATGTC
 GTAACAATCCGCCCCATTGACGCAATGGGCGGTAGGCGTGTACGGTGGGAGGTCTATATAAGCAGAGCTCGTTAGTGAACCGTC
 AGATCGCTGGAGCGCCATCCAGCTGTTTTGACCTCCATAGAAGACACCGGGACCGATCCAGCTCCGCGCGCGGGAACCGTGC
 TTGGAAGCTTGCCACCATTGGGGTACCACAACTCCTGGGAGCCCTGCTGGTGGAGCATGTCCTCGTGCATCTCCTCTGCTGCCCAT
 CGCCATCCCTATGCAGAGGGACAAAGGAAAAGAAATACAAATTCATGATTTCAAAAAATCAGCAAGAC TACCCTAATCAAAAAT
 AGATCCAGCACTGAGATAAAAACCAAAAAGTGAATCTGCAGACCAATGTGCTAATAGATGTAAGTGGAAATAAGGAGTTCCATT
 CACTTGCAGGCTTTTGTGTTTTGATAAAGCAAGAAAACAATGCCCTCGGTTCCCTTCAATAGCATGTCAAGTGGAGTGA AAAAGA
 ATTTGGCCATGAATTTGACCTCATGAAAACAAGACTACATTTAGAAGTGCATGATTTGGTAAAGGAGCGCTCAAGGGAAACAGT
 ATCTATCACTAAGAGTGGCATCAAAATGTCAGCCCTGGAGTTCCTATACACACAGCAACACAGCTATCGGGGTAAGAACCTACAGGA
 AACTACTGTCGAAATCTCGAGGGGAAGAAGGGGGACCC TGGTGTTCACAAGCAATCCAGAGGTACGCTACGAAGTCTGTGACAT
 TCCCTCAGTGTTCAGAAGTTGAATGCATGACCTGCAATGGGAGAGTTATCGAGGTCTCATGGAATCATAACAGAAATCAGGCAAGATTG
 TCAGCGCTGGGATCATGACACACCACACCGGCACAAATCTTGGCTGAAAGATATCCCGCAAGGGCTTTGATGATAATTAATTTGCC
 CAATCCCGATGGCCAGCGGAGGCCATGGTCTATAC TCTTGACCTCACACCCGTTGGGAGTACTGTGGAAATAAACATGCGCTGA
 CAATACTATGAATGACACTGATGTTCCCTTTGGAAACCACTGAATGCATCCAAGTCAAGGAGAAGGCTACAGGGCACTGCTCAATAC
 CATTGGAATGGAATTCATGCTCAGCGTTGGGATCTCAGTATCTCAGGAGCATGACATGACTCTGAAAATTTCCAGTGC AAGGA
 CCTACGAGAAAATTAATGCGGAAATCCAGATGGGCTGGAATCACCC TGGTGTTTTACCAGTATCCAAACATCCGAGTTGGCTACTG
 CTCCAAAATCCAAACTGTCATATGTCACATGGACAGATGTTATCGTGGGAATGGCAAAAATTTATATGGGCAACTTATCCAAAAC
 AAGATCTGGACTAACATGTTCAATGTGGGACAAGAACATGGAAGACTTACATGTCATATCTTCTGGGAACAGATGCAAGTAAAGT
 GAATGAGAAATTAATGCGGAAATCCAGATGATGCTCATGGACCCTGGTGTCTACACGGGAAATCCACTCATTCCTTGGGATTTATG
 CCTATTTCTCGTGTGGAGGTTGATACCACACTACAATAGTCTGATAATCTAGACGAGATCCGAACTTGTATTATGCAGCTTATAA
 TGTTTACAATAAAGCAATAGCATCACAAATTTACAATAAAGCATTTTTTTCACTGCATTTAGTTGTGGTTTTGTCCAAACTCAT
 CAATGTAFTCTATCATGTCTAGATCTGTACTGAAATGTGTGGCGTGGCTTAAGGGTGGGAAGAATATATAAGGTGGGGGTCTTAT
 GTAGTTTTGTATCTGTTTTGCAGCAGCCGCGCCGCATGAGCACCACACTCGTTGATGGAAGCATTGTGAGCTCATATTTGACAAC
 GCGCATGCCCCCATGGGCCGGGGTGGCTCAGAATGTGATGGGCTCCAGCATTGATGCTCGCCCGTCTGCCCCGAAACTCTACTAC
 CTTGACCTACGAGACCGTGTCTGGAACGCCGTTGGAGACTGCAGCTCCGCGCGCGCTTACGCGCTGCAGCCACCGCCGCGGGAT
 TGTGACTGACTTTGCTTTCTGAGCCCGCTTGAAGCAGTGCAGCTTCCCGTTCATCCGCCCGCATGACAAGTTGACGGCTCTTTT
 GGCACAATTTGATTCTTTGACCCGGGAAC TTAATGTCGTTTCTCAGCAGCTGTTGGATCTGCGCCAGCAGGTTTCTGCCCTGAAGGC
 TTCCTCCCTCCCAATGCGGTTTTAAAACATAAATAAAAAACAGACTGTTTGGATTGGATCAAGCAAGTGTCTGTGCTCTTTA
 TTTAGGGTTTTTGCGCCGCGGTAGGCCGGGACCAGCGGTCTCGTCTGGTGGGGTCTGTGTATTTTTTCCAGGACGTGGTAAAG
 GTGACTCTGGATGTTTCAATACATGGGCAFAAGCCGCTCTCTGGGGTGGAGGTAGCACCACGTCAGAGCTTCATGCTGCGGGGTGGT
 GTTGTAGATGATCCAGTCTAGCAGGAGCGCTGGGCGTGGTGCCTAAAATGCTTTTCACTAGCAAGCTGATGCCAGGGGACAGGCC
 CTTGGTGTAAAGTTTTACAAGCGGTTAAGCTGGGATGGGTGCATACGTGGGGATATGAGATGCATCTTGGACTGTATTTTTAGGTT
 GGCTATGTTCCAGCCATATCCCTCCGGGATTCATGTTGTGCAGAACCACAGCAGTGTATCCGGTGCATTTGGAAATTTGTC
 ATGTAGCTTGAAGGAATGCGTGGGAAGAACTGGAGACGCCCTTGTGACCTCCAAGATTTCCATGCAATTCGCTCCATAATGATGGC
 AATGGGCCACGGGCGCGGCTGGGCGAAGATATTTCTGGGATCACTAACGTCATAGTTGTGTTCCAGGATGAGATGTCATAGGC
 CATTTTTACAAGCGCGGGGAGGGTGCAGACTGCGGTATAATGGTTCATCCGGCCAGGGGCGTAGTTACCCTCACAGATTTG
 CATTTCCACGCTTTGAGTTGAGATGGGGGATCATGTCTACCTGCGGGGCGATGAAGAAAACGGTTTTCCGGGGTAGGGAGATCAG
 CTGGGAAGAAAGCAGGTTCTGAGCAGCTGCGACTTACCGAGCCGGTGGGCCGTAATCACACCTATTACCGGCTGCAACTGGTA
 GTTAAGAGAGCTGCAGCTGCGGTACCTGAGCAGGGGGCCACTTCGTTAAGCATGTCCCTGACTCGCATGTTTTCCCTGACCAA
 ATCGCCAGAAGCGCTGCGCGCCAGCGATAGCAGTTCTTGAAGGAAGCAAGTTTTTCAACGGTTTTGAGACCGTCCGCCGTAGG
 CATGCTTTTGGAGCTTTGACCAAGCAGTTCAGGCGGTCACAGCTCGGTACCTGCTCTACGGCATCTCGATCCAGCATATCTCC

TCGTTTCGCGGGTTGGGGCGGCTTTCGCTGTACGGCAGTAGTCGGTGCTCGTCCAGACGGGCCAGGGTCATGTCTTTCCACGGGGCG
AGGGTCTCGTCAGCGTAGTCTGGGTACGGTGAAGGGGTGCGCTCCGGGCTGCGCGCTGGCCAGGGTGCCTTGAGGCTGGTCTGT
CTGGTGTGAAGCGCTGCCGGTCTTCCCGCTGCGCGTCCGGCCAGGTAGCATTGACCATGGTGTCTAGTCCAGCCCTCCGCGGCG
TGGCCCTTGGCGCGCAGCTTCCCGTTGGAGGAGGCGCCGACAGGGGCGAGTGCAGACTTTTGGGGCGTAGAGCTTGGGCGCGAGA
AATACCGATTCCGGGGAGTAGGCATCCGCGCCGAGGCCCCGAGACGGTCTCGCATCCACGAGCCAGGTGAGCTCTGGCCGTTCG
GGTCAAAAACAGGTTTCCCGCATGCTTTPGATGCGTTTCTTACCCTTGTTCCATGAGCCGGTCCACGCTGGTGACGAAA
AGGCTGTCCGTGCCCGTATACAGACTTGAGAGCCGTCTCCGAGCGGTGTTCCGCGCTCTCCGTCATAGAACTCGGACCAC
TCTGAGACAAAGGCTCCGCTCCAGGCCAGCACGAAGGAGGCTAAGTGGGAGGGTAGCGGTGGTGTCCACTAGGGGGTCCACTCGC
TCCAGGGTGTGAAGACACATGTCCCGCTCTCGGCATCAAGGAAGGTGATTGGTTTGTAGGTGTAGGCCACGTGACCGGGTGTCTCT
GAAGGGGGGCTATAAAGGGGGTGGGGGCGGCTTCCGCTCACTCTCTCCGCATCGCTGTCTGGGAGGGCCAGCTGTGGGGTGG
TACTCCCTCGAAAAGCGGCATGACTTCTGCGTAAGATTGTTCAGTTTCCAAAAAGAGGAGATTGATATTCACTGGCCCGCG
GTGATGCCTTTGAAGGTGGCGCATCCATCTGGTCAGAAAAGACAATCTTTTGTGTCAAGCTTGGTGGCAACGACCCGTAGAGG
GCGTTGGACAGCAACTTGGCGATGGAGCGCAGGGTTTGGTTTGTGCGCATCGGCGCGCTCTTGGCCGCGATGTTAGCTGCACG
TATTGCGCGCAACGACCCGCTTCCGGAAAGACGGTGGTGCCTCGTCCGGCCAGGTCACGCGCCAACCGCGGTTGTGCAGG
GTGACAAGGTCAACGCTGGTGGCTACCTTCCGCGTAGGGCTCGTTGGTCCAGCAGAGGGCGGCGCCCTTGGCGGAGCAGAAATGGC
GGTAGGGGCTAGCTGCGTCTCGTCCGGGGGTCTGCGTCCACGGTAAGACCCCGGGCAGCAGGGCGCGCTCGAAGTAGTCTATC
TTGCATCCTTGCAAGTCTAGCGCTGCTGCCATGCGCGGCGGCAAGCGCGCTCGTATGGGTGAGTGGGGGACCCCATGGCATG
GGGTGGGTGAGCGGAGGGCTACATGCCCAAATGTCGTAACGTAAGGGGCTCTCGAGTATTCCAAGATATGATAGGGTAGCAT
CTTCCACCGCGGATGCTGGCGCGCACGTAACTCGTATAGTTCGTGCGAGGGAGCGAGGAGGTCCGGACCGAGGTTGCTACGGGCGGGC
TGCTCTGCTCGGAAGACTATCTGCTGAAGATGGCATGTGAGTTGGATGATATGGTTGGACGCTGGAAGACGTTGAAGCTGGCGTCT
GTGAGACTACCGGCTACGACGAAGGAGGGCTAGGAGTGGCGAGCTTGTGACCAAGTTCGCGGGTGCACCTGCAGCTGACCGGCG
CAGTAGTCCAGGTTTTCTTGATGATGTCACTTATCTGCTTCTTTTCCACAGCTCGCGGTGAGGACAAACTCTTCCGCG
TCTTCCAGTACTCTGGATCGAAAACCGTCCGGCTCCGAACGGTAAGAGCCTAGCATGTAGAAGTGGTTGACGGCTGGTAGGGC
CAGCATCCCTTTCTACGGGTAGCGGCTATGCTTGGCGGGCTTCCGGAGCGAGGTGTGGGTGAGCGCAAAGGTGCCCTGACCATG
ACTTTGAGGTACTGGTATTGAAGTCACTGCTCGTCCGCTCCAGAGCAAAAAGTCCGTGCGCTTTTGAAGCGCGGA
TTGGCAGGGGCAAGGTGACATCGTGAAGAGTACTTTCCCGCGGAGGCAAAAGTTCGCTGATGCGGAAGGGTCCCGCACCC
TCGGAACGGTTGTTAATACCTGGGGCGGAGCAGCATCTCGTCAAAGCGTGTGATGTTGTGGCCACAATGTAAGTTCCAAGAA
CGGGGATGCCCTTATGGAAGGCAATTTTTAAGTCTCGTAGGTGAGCTCTTCCAGGGAGCTGAGCCGCTGCTGTAAGGGCC
CAGTCTGCAGATGAGGTTGGAAGCGACGAATGAGTCCACAGGTACCGGCCATTAGCATTTGAGGTTGGTCCGAAAGGTCTTA
AAGTGGGACCTATGGCCATTTTTCTGGGGTGATGCGATAGAAGTAAAGGGGCTTGTTCACGCGGTCCCATCCAAGTTCCGCG
GCTAGTCTGCGGCGGCTACTAGAGGCTCATCTCCCGCAACTATGACAGCATGAAGGGCAGGCTGCTTCCCAAAGGGC
CCCATCCAAGTATAGGCTCTACATCGTAGGTGACAAAGAGACGCTCGGTGCGAGGATGCGAGCCGATCGGGAAGAACTCC
CGCCACCAATTGGAGGAGTGCTATTGATGTGGTGAAGTAGAAGTCCCTGCGACGGGCGAACACTCGTCTGGCTTTTGTAAAAA
CGTGGCGACTACTGGCAGCGGTGACGGGCTGTACATCTTGCACGAGTTGACTGACGACCGCGCACAAAGGAGCAGAGTGGGAAT
TTGAGCCCTCGCTGGCGGGTGGCTGGTGGTCTTCTACTTCCGGCTGCTTGTCTTTCACCTGCTGGGTGCTGAGGGAGTTCG
GTGGATCGGACACCACCGCGCGAGCCAAAGTCCAGATGTCGCGCGCGGCGGCGGTGCGAGCTTGTGATGACAACACTCGCGCAGATGG
GAGCTGTCCATGGTCTGGAGCTCCCGCGCGCTCAGGTGAGGCGGGAGCTCCTGCAGGTTTACCTCGCATAGACGGGTGAGGGCGCGG
GCTAGATCCAGGTGATACCTAATTTCCAGGGGCTGGTGGTGGCGGCTCGATGGCTTGCAGAGGGCCGCATCCCGCGGCGCGACT
ACGGTACCCGCGGGCGGGGCGGTGGGCCGCGGGGGTGTCTGGATGATGCATCTAAAAGCGGTGACGCGGGCGAGCCCCGGAGGTA
GGGGGGCTCCGGACCCCGGAGAGGGGCGAGGGCACGTCGCGCGCGCGCGGGCAGGAGCTGGTCTGCGCGCTAGGTTGTC
TGGCGAACGCGCAGCAGCGCGCTTGAATCTTCTGAATCTGGCGCTCTGCGTGAAGACGACGGGCGGCTGAGCTTGAACCTGAAAG
AGAGTTCGACAGAATCAATTTCCGTGCTGTTGACGGCGGCTTGGCGCAAATCTCTGCACGCTCTCTGAGTTGCTTGTAGGGCA
TCTCGGCCATGAACTGCTGATCTTCTCTTCTGGAGATCTCCGCTCCGGCTCGTCCACGGTGGCGGCGAGGTCGTGGAAATGC
GGGCCATGAGCTGCGAGAAGGCGTTGAGGCTCCCTCGTTCCAGACGCGGCTGTAGACACGCCCCCTTCCGGCATCGCGGGCGCGCA
TGACCACCTGCGCGAGATTGAGCTCCACGTCGCGGGCGAAGACGGCGTAGTTTTCGAGGCGCTGAAAGAGGTTAGTTGAGGGTGGTGG
CGGTGTCTTGCACGAAGAAGTACATAACCCAGCGTCGCAACGTTGATCTGATATCCCCCAAGGGCTCAAGGGCGTCCATGG
CCTCGTAGAAGTCCACGGCAAGTGA AAAACTGGGAGTTGCGCGCGACACGGTTAACTCTCTCCAGAAGACGGATGAGCTCGG
CGACAGTGTGCGCACCTCGCGCTCAAAGGCTACAGGGCTCTTCTTCTTCTTCAATCTCTCTTCCATAAGGGCTCCCTTCTT
CTTCTCTGCGGGCGTGGGGGAGGGGGACACGGCGGCGACGCGGCGACCGGGAGGCGGTGACAAAAGCGCTCGATCATCTCC
CGCGGCGACGGCGCATGGTCTCGGTGACGGCGGCGGCTTCTCGGGGGGCGGAGTTGGAAGACGCGCGCGTATGTCGGGTAT
GGTTGGCGGGGGGCTGCCATGCGGCAAGGATACGGGCTAACGATGCATCAACAATTGTTGTGATAGGTAAGCTCCGCGCGGAGGG
ACCTGAGCGAGTCCGCATCGACCGGATCGGAAAACCTCTCGAGAAAGGCGTCAACAGTCAAGTCCGAAAGGTAGGCTGAGCACC
TGGCGGGCGGCGAGCGGGCGGCTCGGGTGTCTTGGCGGAGGTGCTGCTGATGTAATTAAGTAGGCGGCTTTGAGACGGC
GGATGGTCCGACAGAAGCACCATGCTCTGGGTCCGGCTGCTGAATGCGAGGCGGTGCGCCATGCCAGGCTTGGTTTTGACATC
GGCGAGGCTTTTGTAGTAGTCTTGATGAGCTTCTACCGGCATCTTCT
TCGTCGCGCGCGCGGAGTTTGGCGTAGGTGGCGCCT
GGGCTAGGTGCGCGACAACGCGCTCGGTAATATGGCTGCTGCACCTGCGTAGGGTAGACTGGAAGTCAATCCATGTCCACAAAGC
GGTGGTATGCGCCGTGTGATGGTGAAGTGCAGTTGGCCATAACGGACCAGTTAACGGTCTGGTGACCGGCTGCGAGAGCTCGG
TGTACTGAGACCGAGTAAGCCCTCGAGTCAAATACGTAGTCGTTGCAAGTCCGACCCAGGTAAGTATCCACCAAAAAGTGCG
GCGGCGGCTGCGGTTAGAGGGGCCAGCGTAGGGTGGCCGGGGCTCCGGGGGGAGATCTTCCAACATAAGGCGATGATATCCGTAGA
TGTACTGACACTCAGGTTAGTCCGCGCGGCTGGTGGAGGCGCGGAAAGTCCGCGGACCGGGTTCCAGATGTTGCGCAGCGCA
AAAAGTGTCCATGCTGCGGATGCTTGGCCGCTGGCGCGCGCAATCGTTGACGCTCTAGACCGTCAAAGGAGAGGCTGTAAG
CGGGCACTCTTCCGTGGTCTGGTGGATAAATTCGCAAGGATCATGCGGGACGACGGGGTTCGAGCCCGTATCCGGCGCTCCG
CGTATCCATGCGGTTACC GCCCGGTGTGCAACCCAGGTGTGCGACGTGACACAACGGGGAGGTGCTCTTTTGGCTTCTCTCCAG
GCGGCGGCTGCTGCGTAGCTTTTGGCCACTGGCCGCGCGACGCTAACGCGTTAGGCTGGAAAGCGAAAGCATTAAAGTGGCT
CGTCCCTGTAGCCGAGGTTATTTCCAAGGTTGAGTCCGGGACCCCGGTTGAGTCTCGGACCGGGCGGACTGCGGCGAAC
GGGGTGTGCTCCCGCTGATGCAAGACCCCGTTCGCAAATCTCCGGAACAGGGACGAGCCCTTTTGTCTTTTCCAGATGC
ATCCGGTGTGCGGAGATGCGCCCCCTCTCAGCAGCGGCAAGAGCAAGAGCAGCGGAGACATGAGGGCACCTCCCTCTCT

CTACCCGTCAGGAGGGGCGACATCCGCGGTTGACGCGGCAGCAGATGGTGATTACGAACCCCGCGCGCCGGGCGCCGGACTACC
TGGACTTGGAGGAGGGCAGGGCTGGCGGGTAGGAGCGCCCTCCTTGAGCGGCACCAAGGGTGCAGCTGAAGCGTGATACGC
GTGAGCGCTACGTGCCGCGCAGAACCTGTTTCGCGACCCGAGGGAGAGCCCGAGGAGATGCGGGATCGAAAGTCCACGCAG
GGCGCGAGCTGCGGCATGGCCTGAATCGCGAGCGGTGCTGCGCGAGGAGGACTTTGAGCCGACCGCGAACC GGATTAGTCCCG
CGCGCGCACAGTGGCGGC CGCGACCTGGTAACCCGATACGAGCAGCGGTGAACCAGGAGATTAACTTTCAAAAAGCTTTAAACA
ACCACGTGGCTAGCCTTGTGGCGCGCAGGAGGTGGCTATAGGACTGATGCATCTGTGGGACTTTGTAAGCGCGCTGGAGCAAACC
CAAATAGCAAAGCGCTCATGGCGCAGCTGTTCCTTATAGTGAGCAGCAGCAGGGACAACGAGGCATTGAGGGATGCGCTGCTAAACA
TAGTAGAGCCCGAGGCTGGCTGCTGATTTGATAAACATCCTGCAGAGATAGTGGTGCAGGAGCCAGCTGGAGCCTGGCTG
ACAAGGTGGCCGCATCAACTATTCCATGCTTAGCCTGGGCAAGTTTACGCCCGCAAGATATACCATACCCCTTACGTTCCCATAG
ACAAGGAGGTAAAGATCGAGGGGTTCTACATGCGCATGGCGCTGAAGGTGCTTACCTTGAAGCGCAGCTGGGGCTTTATCGCAACG
AGCGCATCCACAAGGCCCTGAGCGTGCAGCGCGCCGAGCTCAGCGACCCGAGCTGATGCACAGCCTGCAAAGGGCCCTGCGTGC
GCAGGGGACGCGCGATAGAGAGGCCGAGTCTACTTTGACGCGGCGCTGACCTGCGCTGGGCCCCAAGCCGACGCGCCCTGGAGG
CAGCTGGGGCCGACCTGGGCTGGCGGTGGCACCCGCGCGCTGGCAACGTGCGCGGGGTTGGAGGAAATATGACGAGGACGATGAGT
ACGAGCCAGAGGACGCGGAGTACTAAGCGGTGATGTTCTGATCAGATGATGCAAGACGCAACCGACC CGGGTGCAGGGCGGCGCT
GCAGAGCCAGCGTCCGGCTTAACTCCACGGCAGCTGGCGCCAGTGCATGGACCGCATCATGTGCTGACTGCGCGCAATCCTGA
CGGCTTCCGGCAGCAGCCGAGGCCAACCGCTCTCCGCAATTCTGGAAGCGGTGGTCCCGCGCCGCGCAAACCCACGCAGAGAA
GGTGTGGCGATCGTAAACGCGCTGGCCGAAAACAGGGCCATCCGGCCGACGAGGGCCGCGCTGGTCTACGACGCGCTGCTTACGCG
CGTGGCTCGTTACAACAGCGCAACGTCAGACCAACCTGGACCGGCTGGTGGGGGATGTGCGCGAGGCGTGGCGCAGCCTGAGCG
CGCGCAGCAGCGGCAACCTGGGCTCCAAGGTTGCTTAAACGCTTCTGAGTACACAGCCCGCAACGTCGCGCGGGGACAGGA
GGACTACCAACTTTGTGAGCGCACTGCGGCTAATGGTGACTGAGACCCGCAAGTGAGGTGTACCAGTCTGGGCCAGACTATTT
TTTCCAGACCAGTAGAC AAGGCTGCAGACCGTAAACCTGAGCCAGCTTTCAAAACCTTGCAGGGGCTGTGGGGGTGCGGGCTCC
CACAGGCACCGCGGACCGGTGCTAGCTGTGACGCCAACCTCGCGCTGTGTGCTGCTAAATAGCGCCCTTACGGCAGTGG
CAGCGTGTCCCGACACATAGCTAGGTCATGCTGACACTGTACCGAGGCATAGGTCAGGCGCATAGGTCAGGCGATACCTTT
CCAGGAGATTACAAGTGCAGCGCGGCTGGGGCAGGAGGACACGGGACGCTGGAGGCAACCTAAAACCTACCTGCTGACC AACC
GCGGCAGAAGATCCCCTGCTGCACAGTTTAAACAGCGAGGAGGAGCGCATTTTGCGCTACGTGCAGCAGAGCGTGAGCCTTAACT
GATGCGCGACGGGGTAAAGCCAGCCTGCGCTGGACATGACCGCGCGCAACATGGACCGGCAATGTATGCCTCAAACCGGCGT
TATCAAACCGCTAATGGACTACTTGCAATCGCGCGCCGCGTGAACCCGAGTATTTCAACATGCCATCTTGAACCCGACCTGGCT
ACCGCCCTCGGTTTCTACACCGGGGATTCGAGGTCGCGGCGCCAGGGTTAACAGTGGATTTCCTCTGGGACGACATGCGCGGCTGT
TTCCCGCAACCCGAGACCTGCTAGAGTTGCAACAGCGCGAGCAGGAGGGCGGCTGCGAAAGGAAAGCTTCGCGAGGCAAG
CAGCTTGTCCGATCTAGGCGCTGCGGGCCCGGGTTCAGATGCTAGTAGCCATTTCCAAGCTTGATAGGGTCTCTTACCAGCAGCTCG
CACCACCCGCGCGCTGCTGGCGGAGGAGGAGTACCTAAACAACCTCGCTGCTGCAGCCGACGCGGAAAAAACCTGCCTCCGGC
ATTTCCCAACAACCGGATAGAGGCTTAGTGGAACAAGTGAAGTGAAGACGTCACGCGCAGGACACAGGGACGCTGCCAGGCC
GCGCCCGCAACCCGCTCAAAGGCACGACCGTGCGGGGCTGGTGTGGGAGGACGATGACTCGCGGACGACATGACAGCGCTTCT
GGATTTGGGAGGAGTGGCAACCCGTTTGCGCACCTTCGCGCCAGGCTGGGGAGAATGTTTTAAAAAAGCATGATGCAAAA
ATAAAAACTCAACAAGCCATGGCACCGAGCGTTGGTTTTCTGTATTTCCCTTAGTATGCGGGCGCGGGGATGTATGAGGAAGG
TCTTCTCCCTCTACAGAGAGTGTGGTGAAGCGCGCGCAGTGGCGCGCGCGCTGGGTTCCTCTCGATGCTCCCTGGACCAGCC
GTTTGTGCTCCGCGTACCTCGGGCTTACCGGGGGAGAACAAGCATCCGTTACTCTGAGTTGGCACCCCTATTCGACACCACCCG
TGTGATCTGGTGGACACAAGTCAACGGATGTGGCATTCCCTGAACACGCAAGCACAGCAACTTCTGACCAGGTCATPTCA
AAACAATGACTACAGCCCGGGGAGGCAAGCACACAGACCATCAATCTTGCAGACCGGTCGCACTGGGGGCGGCACCTGAAAACCAT
CCTGCATACCAACATGCCAAATGTGAACGAGTTGATGTTTACCAATTAAGTTAAGGCGCGGGTGTGGTGTGCGGCTTGCCTACTAA
GGACAATCAGGTGGAGCTGAAATACGAGTGGGTGGAGTTACAGCTGCCCGAGGGCAACTACTCGAGACCATGACCATAGACTTAT
GAACAACCGGATCGTGGAGCAGTACTGAAAGTGGGCAGAGCAAGCGGGTCTGAAAGCGACATCGGGGTAAAGTTTGGACCCG
CAACTTCAGACTGGGTTTGGACCCGCTACTGGTCTTGTGCATGCCCTGGGGTATATACAAACGAAGCCCTTCCATCAGACATCATTTT
GCTGCCAGGATGCGGGGTGGACTTCAACCCACAGCCGCTGAGCAACTTGTTGGGCATCCGCAAGCGGCAACCCCTCCAGGAGGGCTT
TAGGATCACTACGATGATCTGGAGGTTGGTAACATTCCCGCACTGTGGATGTGGACGCTACCAGCGAGCTGAAAGATGACAC
CGAACAGGGCGGGGTGGCGAGGCGGAGCAACAGCAGTGCCAGCGGCGGGAAGAGAATCCAACCGGCGAGCCGCGGCAATGCA
GCCGTGGAGGACATGAACGCTATGCCATTCCGCGCGCACCTTTGCCACAGGGCTGAGGAGAAGCGCCCTGAGCGGAAGCAGC
GGCCGAGCTGCGCGCCGCGCAACCGAGGTGCGGAGGCTTTCAGAAAGGCTGATCAAACCGGGTATCAAACCGAGCAGGACGCAA
GAAACGAGTTACAACCTAATAAGCAATGACAGCACCTTCAACAGTACCGCAGCTGGTACTTGCAACAACCTGCGGACCCCTCA
GACCAGAAATCGCTCATGGACCCTGCTTTCGACTCCTGACGTAACTTGCAGGCTCGGAGCAGGCTACTGGTCTGTCAGACATGAT
GCAAGACCCGCTGACTTCCGCTCCACGCGCCAGATCAGCAACTTCCGGTGGTGGGCGCGGAGCTGTGCGCCTGCACTCCAAGAG
CTTCTACAACGACAGGCGCTACTTCCAACCTCCTCCGCGAGTTTACCTCTCTGACCCAGCTTCAATCGCTTTCGAGAACCA
GATTTTGGCGGCGCCGCCAGCCGCTACACCCAGTCACTGAGTCCTGAGCGGAGTCTCTGCTCTCACAGATCACGGGACGCTACCCTGCG
CAACAGCATCGGAGGAGTCCAGCGAGTGACCATTACTGACGCCAGCAGCGGCACTTGCCTACGTTTACAAGGCCCTGGGCATAGT
CTCGCCGCGGCTCTATCGAGCGCACTTTTGGAGCAAGCATGTCCATCTTATAATCGCCAGCAATAACACAGGCTGGGGCTGCG
CTTCCCAGCAAGATGTTGGCGGGGCAAGAAGCGCTCCGACCAACACCAGTGCAGGCTGCGCGGGGCACTACCGCGCGCCCTGGGG
CGCGCACAAACGCGCGCAGTGGGCGCACCACCGTCGATGACGCCATCGACCGGCTGGTGGAGGAGGCGGCAACTACACGCCAC
GCCGCAACCTGCTCCAGTGGACGTCGCGGCCATTCAGACCGTGGTGCAGGAGCCCGGCTATGCTAAAATGAAGAGACGGGCGGAG
GCGCGTAGCACGTGCCACCGCGCGGACCGGCACTGCGGCCAACGCGCGGCGGCGCCCTGCTTAAACGCGCACGTCGACCGG
CCGACGGGCGGCATGCGGGCGCTCGAAGGCTGGCGCGGGTATTGTCACTGTGCCCCAGGTCCAGGCGACGAGCGGGCGCGC
AGCAGCCCGGCCATTAGTGCTATGACTCAGGGTGCAGGCGGCAAGCTGATTTGGTGCAGGACTCGGTTAGCGGCTGCGGCTGCC
CGTGGCGCACTTCCGCGCAACTGATTTGAAGAAGAACTACTTAGACTCGTACTGTTGATGATCCAGCGGGGCGGCGC
CAACGAGCTATGTCCAGCAAATAAAGCAAAAGAGAGAACTTCCAGTACTCGCGGAGATCTATGCGGAGATCTAGCGAAAGAA
GCAGGATTACAAGCCGAAAGCTAAGCGGGTCAAAGAAAGAAAGATGATGATGATGAACTTGCAGCAGGAGGTGGAAGTACT
GCAGGCTACCAGCCAGGCGAGGGTACAGTGGAAAGGTCAGCGCTAAAACGTTGTTTGGACCCGGCCACCAGTACTTTCAC
GCCGGTGGAGGCTCACCAGCCTACAAGCGCTGATGATGAGGTGTCAGCGGACGAGGAGGCTTGGAGCAGGCCAACGAGCG
CCTCGGGGAGTTTGGCTACGAAAGCGGCATAAGGACATGCTGGCGTGGCGCTGGACGAGGGCAACCAACCACTAGCCTAAGCC
CGTAACTGACGAGGCTGCTGCCCGGCTTGCACCGTCCGAAGAAAAGCGCGGCTAAAGCGGAGTCTGGTACTTGGCACCAC

CGTGCAGCTGATGGTACCCAAGCGCCAGCGACTGGAAGATGTCTTGAAAAAATGACCGTGAACCTGGGCTGGAGCCGAGGTCCG
 CGTGCAGCAATCAAGCAGGTGGCGCCGGGACTGGGCGTGCAGACCGTGGACGTTTCCAGATACCCACTACCAGTAGCACCAGTATTGC
 CACCGCCACAGAGGGCATGGAGACACAAACGTCCTCCCGGTTGCCTCAGCGGTGGCGGATGCCGCGGTGCAGGCGGTGCTGCGGCCG
 GTCCAAGACCTTACGGAGGTGCAAAACGGACCCGTTGGATGTTTCGCGTTTACAGCCCCCGCGCCCGCCGCTTCCAGGAAGTACGG
 CGCCGCCAGCGCGCTACTGCCGAATATGCCCTACATCCTTCCATTTGCCCTACCCCCGGCTATCGTGGCTACACCTACCGCCCCAG
 AAGACGAGCAACTACCCGACGCGGACCCACTGGAACCCGCGCGCGGTGCGCGTGCAGCCGCGTGGCCCGGATTTCCGCT
 GCGCAGGGTGGCTCGCGAAGGAGGAGGACCCCTGGTGTGCCAACAGCGCGCTACCACCCAGCATCGTTTAAAGCCGGTCTTTGT
 GGTCTTGCAGATATGGCCCTACCTGCCGCTCCGTTTCCCGGTGCCGGGATTCCGAGGAAGAATGCACCGTAGGAGGGGCATGGC
 CGGCCACGGCTGACGGGCGCATGCGTGTGCGCACCACCGCGCGCGCGCGTGCACCGTGCATGCGCGCGGTATCCTGCC
 CCTCCTTATCCACTGATCGCCGCGCGATTGGCGCGGTGCCCGAATTGCATCCGTGGCCTTGCAGGCGCAGAGCACTGATTTAA
 AACAAAGTGCATGTGAAAAAATAAAATAAAAGTCTGGACTCTACGCTCGCTGGTCTGTACTATTTGTAGAAATGGAAGACA
 TCAACTTTGCGTCTCTGGCCCGCGACACCGCTCGCGCCGTTTTCATGGGAACTGGCAAGATATCGGCACCAGCATATGAGCGGTG
 GCGCCTTACGTGGGGTCTGTGGAGCGGCATTTAAATTTCCGTTCCACCGTTAAGAACTATGGCAGCAAGGCTGGAACAGCA
 GCACAGGCCAGATGCTGAGGGATAAGTTGAAAGAGCAAAATTTCCAACAAAAGGTGGTAGATGGCTTGGCCTTGGCATTAGCGGG
 TGGTGGACCTGGCAACCAGGCAGTGCAAAATAAGATTAACAGTAAGCTTGATCCCGCCCTCCCGTAGAGGAGCCTCCACCGGCCG
 TGGAGACAGTGTCTCCAGAGGGCGTGGCGAAAAGCTCCGCGCCCGCAGGGGAGAACTCTGGTGCACAAATAGACGAGCCTC
 CCTCGTACGAGGAGGCACTAAAGCAAGGCTGCCACACCCGCTCCGATCGCGCCCATGGCTACCAGGATGGCTGGCCAGCACAC
 CGGTAACGCTGGACCTGCCCTCCCCCGCCGACCCAGCAGAAACCTGTGTGCCAGGCCCGACCGCGTGTGTAAACCCGTCCTA
 GCCGCGCGTCCCTGCCGCGCGCCGCGCAGCGGTCCGCGATCGTTGCCGCGCCGTAGCCAGTGGCAACTGGCAAGCAGCACTGAACAGCA
 TCGTGGGTCTGGGGTGCATCCCTGAAGCGCCGACGATGCTTCTGATAGTAACTGTGCTGATGTGTGTCATGTATGCGTCCATGT
 CGCCGCGAGAGGAGCTGTGAGCGCCGCGCGCCCGCTTCCAAGATGGCTACCCCTTCGATGATGCCGAGTGGTCTTACATGCAC
 ATCTCGGCCAGGACCGCTCGGAGTACCTGAGCCCGGCTGGTGCAGTTTCCCGCGCCACCCGAGCACTTTCAGCCTGAATTAAC
 AAGTTTAGAAACCCACGGTGGCGCTACGCACGACGTGACCACAGACCGGTCCACGCGTTTACGCTGCGGTTTACCTGTGGAC
 CGTGAGGATACTGCGTACTCGTACAAGGCGCGGTTACCCCTAGCTGTGGGTGATAACCGTGTGCTGGACATGGCTTCCACGTACTTT
 GACATCCGCGCGTGTGGACAGGGGCCCTACTTTTAAAGCCCTACTCTGGCACTGCCTACAACGCCCTGGCTCCCAAGGGTGGCCCA
 AATCCTTGCAGTGGGATGAAGTGTACTGCTCTTGAATAAACCTAGAAGAAGAGGACGATGACACAGCAAGCAAGTAGACGAG
 CAAGCTGAGCAGCAAAAACTCACGTATTTGGGCGAGCGCCTTATCTGGTATAAATATTACAAGGAGGGTATTCAAATAGGTGTC
 GAAGGTCAAACACCTAAATATGCCGATAAAACATTTCAACCTGAACCTCAAATAGGAGAATCTCAGTGGTACGAAACAGAAATTAAT
 CATGCAGCTGGGAGAGTCTAAAAAAGACTACCCCAATGAAACCATGTTACGGTTCATATGCAAAACCCACAAATGAAAATGGAGGG
 CAAGGCATCTTGTAAAGCAACAAATGGAAAGCTAGAAAGTCAAGTGGAAATGCAATTTTCTCAACTCATGAGGCGCCGACGGC
 AATGGTGATAACTGACTCCTAAAGTGGTATTGTACAGTGAAGATGTAGATAGAACCAGACACTCATATTTCTTACATGACGCCC
 ACTATTAAGGAAGGTAACTACAGAACTAATGGGCAACAACTATGCCCCAACAGGCCCTAATACATGCTTTTAGGACAAATTTT
 ATTGGTCTAATGTATTACAACAGCAGGGTAATATGGGTGTTCTGGCGGGCCAGCATCGCAGTTGAATGCTGTTGTAGATTTGCAA
 GACAGAAACACAGAGCTTTCATACCAGCTTTTGCTTGAATCCATTTGGTATAGAACCAGGTACTTTTCTATGTGGAATCAGGCTGTT
 GACAGCTATGATCCAGATGTTAGAAATTTGAAAATCATGGAACCTGAAGTGAACCTCCAAATTACTGCTTTCCACTGGGAGGTGTG
 ATTAATACAGAGACTTACCAAGGTAAAACCTAAAACAGGTGAGGAAATGGAATGGGAAAAAGATGTTGAGAAATTTTCAGATAAA
 AATGAAATAAGAGTTGGAATAATTTTCCATGGAATCAATCTAAATGCCAACCTGTGGAGAAATTTCTGTATCCAACTAGCG
 CTGTATTTGCCGACAAGCTAAAGTACAGTCTTCCAACGTAAAAATTTCTGATAACCCAAACACCTACGACTACATGAACAAGCGA
 GTGGTGGCTCCCGGGCTAGTGGACTGCTACATTAACCTGGAGCAGCTGGTCCCTGACTATATGGACAACGTCACCCATTTAAC
 CACCACCGCAATGCTGGCCTGCGCTACCGCTCAATGTTGCTGGCAATGGTGCCTATGTGCCCTTCCACATCCAGGTGCTCAGAA
 TTCTTTGCCATTAAAAACCTCCTTCTCCGCGGCTACATACCTACGAGTGGAACTTACAGGAGGATGTTACATGTTTTCAGATAAA
 AGCTCCCTAGGAAATGACCTAAGGGTTGACGGAGCCAGCATTAAAGTTTATAGCATTTGCTTTACGCCACCTTCTTCCCATGGCC
 CACAACACCGCCTCCACGCTTGGGCCATGCTTAGAAGCAGACCAACGACCAGTCTTTTACGACTATCTTCCGCGCCCAACATG
 CTCTACCTTATACCCGCCAACGCTACCAACGTGCCATATCCATCCCTCCCGCAACTGGGCGGCTTTCCGCGGCTGGGCTTCCAG
 CGCCTTAAGACTAAGGAAACCCCATCACTGGGCTCGGGCTACGACCCCTTATTACACTACTCTGGCTTATACCTACCTAGATGGA
 ACCTTTTACCTCAACCACACCTTTAAGAAAGTGGCCTTACCTTTGACTCTTCTGTGAGTGGCCTGGCAATGACCCCTGCTTACC
 CCAACGAGTTTGAATTAAGCGCTCAGTTGACGGGGAGGGTTACAACGTTGCCAGTGTAACTGACCAAAGACTGGTCTCTGGTA
 CAAATGTAGCTAACTATAACATTTGGTACCAGGGCTTCTATATCCAGAGAGCTACAAGGACCGCATGTACTCCTTCTTTAGAAAC
 TTCCAGCCCATGAGCCGTGAGGTGGTGGATGATACTAAATACAAGGACTACCAACAGGTGGGCATCTACCAACACAACACTCT
 GGATTTGTTGGCTACCTTGCCCCACCATGCGCGAAGGACAGGCCCTACCTGCTAACTTCCCTATCCGCTTATAGGCAAGACCGCA
 GTTGACAGCATTACCCAGAAAAGTTTCTTTGGCATCGCACCCCTTTGGCGCATCCATTTCTCCAGTAACTTTATGTTCCATGGGCGCA
 CTCACAGACTTGGCCAAAACCTTCTCTACGCCAACCCTCGCCACGCGCTAGACATGACTTTTGGAGTGGATCCCATGGACGAGCCC
 ACCCTTCTTTATGTTTGTGTTGAAAGTCTTTGACGTGGTCCGTGTGCACCAGCCGACCGCGGCGTGCATGAAACCGTGTACTTGGC
 ACGCCCTTCTCGGCCGCAACGCCACAACATAAAGAAAGCAAGCAACATCAACAACAGCTGCCGCCATGGGCTCCAGTGAGCAGGAAC
 TGAAGCCATTTGCAAGATCTTGGTTGTGGGCCATATTTTGGGCACTATGACAAGCGCTTTCAGGCTTTGTTTCTCCACACA
 AGCTCGCCTGCGCCATAGTCAATACGCGCGTCCGAGACTGGGGCGTACACTGGATGGCCTTTGCTTGGAAACCCGCTCAAAAA
 CATGCTACCTCTTTGAGCCCTTTGGCTTTTCTGACCGGACTCAAGCAGGTTTACCAGTTTGTAGTACGAGTCACTCTGCCCGTA
 GCGCCATTTGCTTCTTCCCGCAGCGCTGTATAACGCTGGAAGTCCACCCAAAGCGTACAGGGGCCAACCTCGGCCGCTGTGGAC
 TATTTGCTGCATGTTTCTCCACGCTTTGCCAATGGCCCAACTCCCATGGATCACAACCCACCATGAACTTATTACCAGGGG
 TACCAACTCCATGCTCAACAGTCCCAGGTACAGCCACCTTGCCTGCAACCCAGGAACAGCTCTACAGCTTCTGGAGCGCCACT
 CGCCCTACTTCCGAGCCAGTTCGCGCAGATTAGGAGCGCCACTTCTTTTGTCACTTGA AAAACATGTA AAAAATATGTACTAGAG
 ACATTTCAATAAAGGCAATGCTTTTATTTGTACTCTCGGTGATTATTTACCCCCACCCCTTGGCCTTGGCCCGTTTAAAAAT
 CAAAGGGGTTCTGCCGCGCATCGCTATGCGCCACTGGCAGGGACAGTTGCGATACTGGTGTTTAGTGTCCACTTAAACTCAGGCA
 CAACCATCCGCGGAGCTCGGTGAAGTTTCACTCCACAGGCTGGCACCATACCAACCGGTTTAGCAGGTGGGGCGCGATATCT
 TGAAGTGCAGTTGGGGCTCCGCCCTGCGCGCGCGAGTTGCGATAACAGGTTGACGACTGGAACACTATCAGCGCCGGGTGGT
 GCACGCTGGCCAGCAGCTCTTGTGCGAGATCAGATCCGCTCCAGCTCTCCGCTTGTCTAGGGCGAACGGAGTCAACTTTGGTA
 GCTGCTTCCCAAAAAGGGCGCTGCCAGGCTTTGAGTTGCCTCGCACCGTGTGGCATCAAAAAGGTGACCGTCCCGCGTCTGGG
 CGTTAGGATACAGCGCTGCATAAAAAGCCTTGATCTGCTTAAAAGCCACCTGAGCCTTTGCGCCTTACAGAGAAGACATGCCGCAAG

ACTTGCCGGAAAACTGATTGGCCGGACAGGCCGCGTCGTGCACCGCAGCACCTTGGCGTCGGTGTGGAGATCTGCACCACATTTCCGGC
CCCACCGGTTCTTACGATCTTGGCTTGTAGACTGCTCCTTCAGCGCGCGTGCCCGTTTTTCGCTCGTCACATCCATTTCAATCA
CGTGCTCCTTATTTATCATAAATGCTTCCGTGTAGACACTTAAGCTCGCCTTCGATCTCAGCGCAGCGGTGCAGCCACAACCGCGAGC
CCGTGGGCTCGTGATGCTTGTAGGTACCTCTGCAAACGACTGCAGGTACGCTGCAGGAATCGCCCCATCATCGTCAAAAGGTCT
TGTTGCTGGTGAAGGTCAGTGCACCCGCGGTGCTCCTCGTTCAGCCAGGCTTGCATACGGCCGCCAGAGCTTCCACTTGGTTCAG
GCAGTAGTTGAAGTTCCGCTTTAGATCGTTATCCACCTGGTACTTGTCCATCAGCGCGCGCGCAGCCTCCATGCCCTTCTCCACG
CAGACACGATCGGCACACTCAGCGGTTTCCATCCCGTAATTTCACTTTCCGCTTCGCTGGGCTCTTCTTCTCTTGGCTCCGCA
TACCACGCGCCTGGGCTGCTTTCATTTCAGCCCGCGCTTGGCGCTTACCTCCTTGGCATGCTTGATTAGCACCGGTGGGTTGC
TGAAACCCACCATTTGTAGCGCCACATCTTCTTTTCTTCTCGCTGCCACGATTACCTCTGGTGTGGCGGGCGCTCGGGCTTGG
GAGAAGGGCGCTTCTTTTTTCTTCTTGGGCGCAATGGCCAAATCCGCCGCGAGGTCGATGGCCGCGGGCTGGGTGTGGCGGCCACCA
GCGCGCTTGTGTAGAGTCTTCCCTCGTCCGACTCGATACGCCGCTCATCCGCTTTTTTGGGGCGCGCCGGGGAGGCGCGGGCG
ACGGGGACGGGGACGACAGTCTCCTATGGTGGGGGACGTCCGCGCGCACCGGCTCCGCGCTCGGGGGTGGTTTCGCGCTGCTCCT
CTTCCCAGTGGCCATTTCCCTTCTCCTATAGGCAGAAAAGATCATGGATGGAGTGCAGTCGAGAAGAAGGACAGCCTAACCGCCCTCG
AGTTCCGCCACCACCGCTCCACCGATGCCGCAACGCGCTTACCCTTCCCGTCCGAGGACCCCGCTTGGAGGAGGAAGTGA
TTATCGAGCAGGACCCAGGTTTGTAGCGAAGACGACGAGGACCGCTCAGTACCAACAGAGGATAAAAAGCAAGACCAGGACAACG
CAGAGGCAACGAGGAACAAGTCGGGGCGGGGACGAAAGGCATGGCGACTACCTAGATGTGGGAGACGACGTCTGTTGAAGCATC
TGCAGCGCCAGTGCGCCATTATCTGCGACGCGTTCAGAGCGCAGCGATGTGCCCTCGCCATAGCGGATGTGAGCCTTGCCTACG
AACGCCACTTACTCACCGCGGTACCCCCAAACGCCAAGAAAACGACAGCAGCTGCAGCCAAACCGCGCTCAACTTACCCTCG
TATTTGCCGTGCCAGAGGCTTGGCCACTATCACATCTTTTTCCAAAAGTGAAGATACCCCTATCCTGCCGTGCCAACCAGCC
GAGCGGACAAGCAGCTGGCTTGGCGAGGGCGCTGTACACTGATATCGCTCGCTCAACGAAGTGCAAAAATCTTGGAGGTC
TTGGACGCGAGAGAAGCGCGGCAACGCTGTGCACAGGAAAACAGCGAAAATGAAAGTCACTCTGGAGTGTGGTGGAACTCG
AGGGTGACAACGCGCTTACCGGTACTAAAACGACGATCGAGGTCAACCTTGGCTACCGGCATTAACCTACCCGCAAGG
TCATGAGCACAGTCACTGAGTGCATGCTGCGCTGCGCGCTTGGCAGCCTGGAGAGGATGCAAATTTGCAAGAACAAACAGGAGG
GCCTACCGCAGTTGGCGACGAGCAGCTAGCGCGCTGGCTTCAAACGCGGAGCCTGCCGACTTGGAGGAGCGACGAACTAATGA
TGGCCGCACTGCTCGTTACCGTGGAGCTTGTGATGATGCAGCGGTTCTTTGCTGACCCGGAGATGCAGCGCAAGCTAGAGGAAACAT
TGCACTACACCTTTGCACAGGGCTACGTACGCCAGGCTGCAAGATCTCAACGTTGGAGCTTGCACACTGGTCTCCTACCTTGGAA
TTTTGCACGAAAACCGCTTGGGCAAAACGTTCAATCCACGCTCAAGGGCGAGGGCGCGCGGACTACGTTCCGCGACTGCGTT
ACTTATTTCTATGCTACCTGGCAGCGCCATCCCGGCTTGGCGAGTGGCTTGGCAGTGCCTTAACGAAAGTCAAACTACCGGCA
TGCTAAAGCAAAAATGAAAGCCTATGGACGGCTTCAAACGAGCGCTCCGTGGCCGCGCACCTGGCGGACATCATTTCGCCGAAC
GCCTGCTTAAAACCTGCAACAGGGTCTGCCAGACTTACCAGTCAAAGCATGTTGCAGAACTTTAGAACTTTATCTAGAGCGCT
CAGGAATCTTGCCTGCCACTGCTGTGCACTTCTTAGCGACTTGTGCCATTAAGTACCGCGAATGCCCTCCGCGCTTGGGGCC
ACTGCTACTTCTGCAGCTAGCCAACCTTCCCTACCCTGACATATGGAAGACGTTAGCGGTTGACGGTCTACTGGAGTGT
ACTGCTGCAACCTTGCACCCGACCGCTCCTCGCTTGGCAAGTTCGCAAGTTCGCGAGTGCCTTAACGAAAGTCAAACTACCGGCA
AGCTGCAGGGTCCCTCGCTGCAGAAAAGTCCGCGGCTCCGGGGTGGAACTCACTCCGGGGTGTGGACGTCGGCTTACCTTCGCA
AATTTGTACCTGAGGACTACCACGCCCAGAGATTAGGTTCTACGAAAGCAATCCCGCCGCTAATGCGGAGCTTACCGCTGGC
TCATTACCCAGGGCCACTTCTTGGCAATTGCAAGCCATCAACAAGCCCGCCAGAGTTTCTGCTACGAAAGGGACGGGGGTT
ACTTGGACCCCCAGTCCGGGAGGAGCTCAACCCAAATCCCGCCCGCCGAGCCCTATCAGCAGCAGCCGCGGGCCCTGCTTCC
AGGATGGCAACCAAAAAGAACTGCAGCTGCCCGCCGCTGCGGCGCTGGGCTTCCCGGTAACATCCTGCATTACTACCGCTCATCTC
GACGAGGAGGAGGAGGACATGATGGAAGACTGGGAGAGCTAGACGAGGAAGCTTCCGAGGTGGAAGAGGTGTCAGACGAAACACCG
TCACCTCGGTTCGCTATCCCTCGCCGCGGCCCCAGAAATCGGCAACCGGTTCCAGCATGGCTACAACCTCCGCTCCTCAGGCGCG
CCGGCACTGCCCCTTCCGCGACCCAACCGTAGATGGGACACCCTGGAACCAGGGCCGGAAGTCAAGCAGCCGCCGCGCTTAGCC
CAAGAGCAACACAGCGCCAAGGCTACCGCTCATGGCGGGGCAAGAACGCCATAGTTGCTTGCTTGAAGACTGTGGGGCAAC
ATCTCCTTTCGCCCCGCGCTTCTTCTTACCATCACGGCGTGGCTTCCCGGTAACATCCTGCATTACTACCGCTCATCTC
CCATACTGCACCGGGGCGAGCGGACAGCAACAGCAGCGGCCACACAGAAGCAAAGGGCAGCCGATAGCAAGACTCTGACAAAGCCAA
GAAATCCACAGCGGGGCGAGCAGCAGGAGGAGGAGCTGCGTCTGGCGCCCAACGAACCCGATTCGACCCGCGAGCTTAGAAACAG
GATTTTTCCCACTCTGTATGCTATATTTCAACAGAGCAGGGGCAAGAACAAGAGCTGAAATAAAAAACAGGTCTCTGCATCCCT
CACCCGACGCTGCCTGATCAAAAAGCGAAGTACGCTTCCGGCGACGCTGGAAGACGCGGAGGCTCTCTTCAATAACTGCGC
GCTGACTCTAAGGACTAGTTTCCGCGCTTTCTCAAATTTAAGCGGAAAACACTGCTCATCTCCAGCCACACCCGCGGCGAGC
ACCTGTTGTGACGCGCCATTATGAGCAAGGAAATCCACGCGCTTACATGTTGAGTTACCAGCCACAAATGGGACTTGGCGCTGGAGC
TGCCCAAGACTACTCAACCCGAATAAACTACATGAGCGCGGACCCACATGATATCCCGGTCAACGGAATACGCGCCACCGAAA
CCGAATCTCTGGAACAGCGCGCTATACCACCACACTCGTAATAACCTTAATCCCGTAGTTGGCCCGCTGCCCTGGTGTACCA
GGAAAGTCCCGCTCCACCACTGTGGTACTTCCAGAGACGCCAGGCGGAAGTTAGATGACTAACTCAGGGGGCGAGCTTGGGG
CGGCTTTCGTCACAGGTGCGGTCCGCGGGCAGGGTATAAATCACTGACAAATCAGAGGGCGAGGATTAACGCTCAACGACGAGT
GGTGAGCTCCTCGCTTGGTCTCCGTCGCGGACGGACATTTAGATCGCGGCGCGCGGCGCTTTCATTACGCCTCGTACGGCAAT
CCTAATCTGCAGACCTCGTCTCTGAGCCGCTCTGGAGGCATTGGAATCTGCAATTTATTGAGGAGTTTGTGCCATCGGTCTA
CTTTAACCCCTTCTCGGGACTCCCGGCACTATCCGGATCAATTTATTCTAATTTGACCGGTAAAGGACTCGGGGACGGCTA
CGACTGAATGTTAAGTGGAGAGGACAGCAACTGCCTGAAACACTGGTCCACTGTCCCGCCACAAGTCTTTGCCCGGACTC
CGGTGAGTTTTGCTACTTTGAATTTGCCGAGGATCATATGAGGGCCGCGGACGCGGCTCCGGCTTACCGCCAAGGAGAGCTTGC
CCGTAGCCTGATTCCGGAGTTTACCAGCGCCCTTCTAGTTGAGCGGACAGGGACCTGTGTTCTCACTGTGATTGCAACTG
TCCTAACCTGGATTACATCAAGATCTTTGTTGCCATCTCTGTGCTGAGTATAAATAACAGAAATAAAAATACTGGGGCTCCT
ATCGCCATCCTGTAACGCCACCCTTTCACCCGCCAAGCAAACCAAGGCGAACCCTACCTGGTACTTTTAACTATCTCCTCCTCG
TGATTTACAACAGTTTCAACCCAGACGGAGTGTCTACGAGAGACTCTCCGAGCTCAGCTACTCCATCAGAAAAACACCACCC
TCCTTACTGCCGGGAAGTACGAGTACGCTACCGGCTGACACACACTACCAGCTACCGTAAACAGACTTTTCCGGACGAG
ACCTCAATAACTCTGTTTACCAGAACAGGAGGTGAGCTTAGAAAACCTTAGGGTATTAGGCCAAAAGCGCAGTACTGTGGGTTT
ATGAACAATTAAGCAACTTACGGGCTATTCTAATTCAGGTTTCTCTAGAATCGGGGTTGGGGTTATTCTCTGTCTTGTATTCTC
TTTTATCTTATACTAACGCTTCTCTGCTAAGGCTCGCCGCTGCTGTGTGCACATTTGCAATTTATTGTACGCTTTTTAAACGCTGG
GGTCCGACCCAAGATGATTAGGTACATAATCTAGGTTTACTCACCTTGGCTCAGCCCAGGTAACCACAAAAGGTGGATTTTA
AGGAGCCAGCCTGTAATGTTACATTCGAGCTGAAGCTAATGAGTGCACCACCTTATAAAAATGCACCACAGAACATGAAAAGCTGC

TTATTGCCACAAAAACAAATGGCAAGTATGCTGTTTTATGCTATTTGGCAGCCAGGTGACACTACAGAGTATAATGTTACAGTTT
 TCCAGGGTAAAAGTCATAAACTTTTATGTATACTTTTCCATTTTATGAAATGTGCGACATTACCATGTACATGAGCAAACAGTATA
 AGTTGTGGCCCCACAAATTTGTGGAAAACACTGGCACTTTCTGCTGCACTGCTATGCTAATTACAGTGTCTCGCTTTGGTCTGT
 CCTACTCTATATTAATACAAAAGCAGACGCGAGCTTTATTGAGGAAAAGAAAATGCCTTAATTTACTAAGTTACAAAAGCTAATGTC
 ACCACTAAGTCTTTACTCGCTGCTTGCAAAACAAATTCAAAAGTTAGCATTATAATAGAAATAGGATTTAAACCCCCGGTCAAT
 TCCTGTCAATACCATTCCCTGAAACAAATTGACTCTATGTGGATATGCTCCAGCGCTACAACCTTGAAGTCAGGCTTCCCTGGATGT
 CAGCATCTGACTTTGGCCAGCACCTGTCCCGGGATTTGTTCCAGTCCAACACAGCGACCCACCCTAACAGAGATGACCAACACAA
 CCAACGCGGCCGCGCTACCGGACTTACATCTACCACAAATACACCCCAAGTTTCTGCCTTTGTCAATAACTGGGATAACTTTGGGCA
 TGTGGTGGTTCTCCATAGCGCTTATGTTTGTATGCCTTATATTATGTGGCTCATCTGCTGCCTAAAGCGCAAACGCGCCGACCAC
 CCATCTATAGTCCCATTTGTGCTACACCAACAAATGATGGAATCCATAGATTGGACGGACTGAAACACATGTTCTTTTCTCTTA
 CAGTATGATTAATGAGACATGATTCCCTCGAGTTTTTATATTACTGACCCTTGTTCGCTTTTTTTTGTGCTGCCACATTTGGCTG
 CGGTTTTCTCACATCGAAGTAGACTGCATTCCAGCCTTCACAGTCTATTTGCTTTACGGATTTGTCCACCTCACGCTCATCTGCAGCC
 TCATCACTGTGGTTCATCGCTTTATCCAGTGCATTGACTGGGTCTGTGTGGCTTTGCATATCTCAGACACCATCCCAGTACAGGG
 ACAGGACTATAGCTGAGCTTCTTAGAATCTTTAATTATGAAATTTACTGTGACTTTTCTGCTGATTTATTTGCACCTATCTGCGTT
 TTGTTCCCCGACCTCAAGCCTCAAGACATATATCATGCAGATTCACTCGTATATGGAATATTTCAAGTTGCTACAAATGAAAAAG
 CGATCTTTCCGAAGCCTGGTTATATGCAATCATCTCTGTTTATGGTGTTCGACGTACCATCTTAGCCCTAGCTATATATCCCTACCT
 TGACATTGGCTGGAACGCAATAGATGCCATGAACCACCCAACTTTCCCCGCGCCGCTATGCTTCCACTGCAACAAGTTGTTGCCGG
 CGGCTTTGTCCAGCCAATCAGCCTCGCCACCTTCTCCACCCCACTGAAATCAGTACTTTAATCTAACAGGAGGAGATGACTG
 ACACCCTAGATCTAGAAATGGACGGAATTTACAGAGCAGCGCCTGCTAGAAAGACGAGGGCAGCGGCCGAGCAACAGCGCATGA
 ATCAAGAGCTCCAAGACATGGTTAACTTGCAACAGTGCAAAAGGGGTATCTTTGCTGGTAAAGCAGGGCAAAGTCACCTACGACA
 GATAATACCACCGGACCGCTTAGCTACAAGTTGCCAACCAAGCTCAGAAATGGTGGTCATGGTGGGAGAAAAGCCCATTTACCA
 TAACTCAGCACTCGGTAGAAACCGAAGGCTGCATTCACTCACCTTGTCAGGACCTGAGGATCTCTGCACCCTTATTAAGACCCTGT
 GCGGTCTCAAAGATCTTATTCCTTTAACTAATAAAAAAATAATAAAGCATCACTTACTTAAATCAGTTAGCAAATTTCTGTCC
 AGTTTATTCAGCAGCACCCTCTGCCCCCTCCAGCTTGGTATTGCACTTCTCTGCTGCAAACTTTCTCCACAATCTAAT
 GGAATGTCAGTTTCTCTGTTCTGTCCATCCGACCCCACTTCTCATGTTGTTGTCAGATGAAGCGCGCAAGACCCTGTAAGAT
 ACCTTCAACCCCGTGTATGACATGACACGGAACCGGCTCTCAACTGTGCTTCTTACTCCCTTTGTTATCCCTCAATGGG
 TTTCAAGAGAGTCCCCCTGGGGTACTCTCTTTGCGCTATCCGAACCTCTAGTTACCTCCAATGGCATGCTTGGCTCAAATGGGC
 AACGGCCTCTCTGAGCAGGCGCGCAACCTTACCCTCCAAAATGTAACCCTGTGAGCCACCTCTCAAAAAACCAAGTCAAAC
 ATAAACCTGGAATATCTGCACCCCTCAGTACCTCAGAAGCCCTAACTGTGGCTGCCGCCGACCTCTAATGGTCCGCGGCAAC
 ACACCTCACCATGCAATCACAGGCCGCTAACCGTGCAAGCTCAAACCTTAGCATTTGCCACCCAAAGGACCCCTCACAGTGTAGAA
 GAAAGCTAGCCCTGCAACATCAGGCCCTCACACCACCCGACCTGACAGTACCCCTTACTATCACTGCTCACCCCTCAACTACT
 GCCACTGGTAGCTTGGGCATTGACTTGAAAGAGCCATTTATACACAAAATGGAAGACTAGGACTAAAGTACGGGGCTCCTTTGCAT
 GTAACAGAGCCTAAACACTTTGACCGTAGCACTGGTCCAGGTGTGACTATTAATAACTTCCCTTGCAAACTAAAGTTACTTGA
 GCCTTGGGTTTTGATTCACAAGGCAATATGCAACTTAAATGTAGCAGGAGGACTAAGGATTTGATTTCAAAACAGACGCCTTACTT
 GATGTTAGTTATCCGTTGATGCTCAAACCACTAATCTAAGCTAGGACAGGGCCCTCTTTTATAAACTCAGCCCAACTTG
 GATATTAACATAACAAGGCTTTACTTGTTTACAGCTTCAAACAATTTCAAAGGCTTGAAGTTAGGTTAAAGCAATTTCCCTGGG
 TTGATGTTTGACGCTACAGCCATAGCCATTAATGCAGGAGATGGGCTTGAATTTGGTTTACCTAATGCACCAACACAAATCCCTC
 AAAACAAAATTTGGCCATGGCCTAGAAATTTGATTCAAACAAGGCTATGGTTCCAACTAGGAATGGCCTTAGTTTGGACAGACA
 GGTGCCATTACAGTAGGAAACAAAATAATGATAAGCTAACTTTGTGGACACACCAGCTCCATCTCCTAACTGTAGACTAAATGCA
 GAGAAGATGCTAAACTCACTTTGGTCTTAAACAAAATGTGGCAGTCAAATACTTGTACAGTTTCAAGTTTGGCTGTAAAGGCACT
 TTGGCTCCAAATATCTGGAACAGTTTCAAGTCTCATCTTATTAAAGATTTGACGAAAATGGAGTCTACTAAACAATTTCCCTGTG
 GACCCAGAATATTGGAACCTTAGAAATGGAGATCTTACTGAAGGCACAGCCTATACAAACGCTGTTGGATTTATGCCTAACCTATCA
 GCTTATCCAAAATCTCAGGTAACGTCGCAAAAGTAAACATTTGTCAGTCAAGTTTACTTAAACGGAGACAAAACCTAAACCTGTAAACA
 CTAACCTTACATAAACGGTACACAGGAAACAGGAGACACAACCTCAAAGTGCATACTCTATGTCAATTTTATGGGACTGGTCTGGC
 CACAATACATTAATGAATATTTGCCACATCTCTTACACTTTTTCATACATTTGCCAAGAATAAAGAATCGTTGTGTTATGTTT
 CAACGTGTTTTTTTTCAATTTGCAAAATTTGCAAAATTTCAAGTCAATTTTTTCAATTTTCAAGTATAGCCCAACACATAGCTTATCAGATC
 ACCGTACCTTAACTCAACTCACAGAACCCTAGTATTCAACCTGCCACCTCCCTCCCAACACACAGAGTACACAGTCTTTCTCCCCG
 GCTGGCTTAAAAAGCATATATCATGGGTAACAGACATATCTTAGGTGTTATATCCACACGGTTTCTGTGCGAGCCAAACGCTC
 ATCAGTGATATTAATAAACTCCCGGGCAGCTCACTTAAAGTTCATGTGCTGTCCAGCTGTGAGCCACAGGCTGTGTCCAACCTG
 CGGTTGCTTAAACGGCGGCAAGGAGAAGTCCACGCCTACATGGGGTAGAGTATAATCGTGCATCAGGATAGGGCGGTGGTGTGCTG
 CAGCAGCGCGCAATAAATGCTGCGCGCCGCTCCCTGCTGCAAGAAACAACATGGCAGTGGTCTCCTCAGCGATGATTCCGAC
 CGCCCGCAGCATAAGGCGCTTGTCTCCGGGCACAGCAGCGCACCTGATCTCACTTAAATCAGCACAGTAACTGCAGCACAGCAC
 CACAATATTGTTCAAATCCACAGTGAAGGCGCTGATCCAAAGCTCATGGCGGGACACAGAACCACGTTGGCCATCATACCA
 CAAGCGCAGGTAGATTAAGTGGCGACCCCTCATAAACACGCTGGACATAAACATTAACCTTTTGGCATGTTGTAATTCACCACCTC
 CCGGTACCATAAACCCTGTGATTAACATGGCGCCATCCACCACCTCCTAAACCAGTGGCCAAAACCTGCCCGGGCTATACA
 CTGACAGGAACTCGGGACTGGAACAATGACAGTGGAGAGCCACAGGACTCGTAACCATGGATCATGCTCATGATATCAATGTT
 GGCACACACAGGCACACGTCATACACTTCTCAGGATTACAGCTCCTCCCGCTTAGAACATATCCCAGGAAACACCCATTC
 CTGAATCAGCGTAAATCCACACTGCAGGGAAGACCTCGCACGTAACCTCACGTTGTGCATTGTCAAAGTGTACATTGGGCGAGCAG
 CGGATGATCCTCAGTATGGTAGCGCGGGTTTTCTGTCTCAAAGGAGGTAGACGATCCCTACTGTACGGAGTGCGCCGAGACAACCG
 AGATCGTGTGGTCTGATGCTGCAAAATGGAACGCGGACGTAGTCAATTTTCTGAAGCAAAACAGGTGCGGGGCTGACAAA
 CAGATCTGCGTCTCCGCTCTCGCGCTTAGATCGCTGTGTAGTGTGATGATATCCACTCTCTCAAAGCATCCAGGCGCCCC
 TGGCTTCCGGTTCTATGTAACCTCCTTATGCGCGCTGCCCTGATAACATCCACCACCGCAGAATAAGCCACACCCAGCCAACTTA
 CACATTCGTTCTGCGACTCACACACGGGAGGAGCGGGAAGAGCTGGAAGAACCATGTTTTTTTTTTTATTTCCAAAAGATTTATCCAAA
 ACCTCAAATGAAGATCTATTAAGTGAACGCGCTCCCTCCGGTGGCGTGGTCAAACCTCTACAGCCAAAGAACAGATAATGGCATT
 GTAAGATGTTGCACATGGCTTCCAAAAGGCAACCGCCCTCAGTCCAAGTGGACGTAAGGCTAAACCTTCCAGGTTGAATTCACATA
 TCTAFAAACCTCCAGCCTTCAACCATGCCAAATTTCACTCTCGCCACCTTCTCAATATATCTTAAGCAAAATCCGAAATTA
 TTAAGTCCGCCATTTGTAATAATCTGCTCCAGAGCGCCCTCCACCTTACGCTCAAGCAGCGAATCATGTTAAGCAAAATCCAGGTT
 CCTCACAGACCTGTATAAGATTTCAAAGCGGAACATTAACAAAATACCAGGATCCCGTAGGTCCTTCCGAGGGCCAGCTGAACAT

AATCGTGCAGGTCTGCACGGACCAGCGGGCCACTTCCCCGCCAGGAACCATGACAAAAGAACCCACACTGATTATGACACGCATAC
TCGGAGCTATGCTAACCAGCGTAGCCCCGATGTAAGCTTGTTCATGGGCGGGCGATATAAAATGCAAGGTGCTGCTCAAAAAATCAG
GCAAAGCCTCGCGCAAAAAAGAAAGCACATCGTAGTCATGCTCATGCAGATAAAGGCAGGTAAGCTCCGGAACCACCACAGAAAAAG
ACACCATTTTTCTCTCAACATGTCTGCGGGTTTCTGCATAAACACAAAATAAAATAACAAAAAACATTTAAACATTAGAAGCCTG
TCTTACAACAGGAAAAACAACCCTTATAAGCATAAGACGGACTACGGCCATGCCGGCGTGACCGTAAAAAAACTGGTCACCGTGATT
AAAAAGCACCACCGACAGCTCCTCGGTTCATGTCCGGAGTCATAATGTAAGACTCGGTAAACACATCAGGTTGATTCATCGGTTCAGTG
CTAAAAAGCGACCGAAATAGCCCGGGGAATACATACCCGCGAGGCGTAGAGACAACATTACAGCCCCATAGGAGGTATAACAAAAT
TAATAGGAGAGAAAAACATAAACACCTGAAAAACCTCCTGCCTAGGCATAATAGCACCCCTCCCGCTCCAGAACAACATACAGCG
CTTCCCACAGCGGCAGCCATAACAGTCAGCCTTACCAGTAAAAAAGAAAACCTATTAAAAAAACCCACTCGACACGGCACCAGCTC
AATCAGTCACAGTGTAATAAAGGGCCAAGTGCAGAGCGAGTATATATAGGACTAAAAAATGACGTAACGGTTAAAGTCCACAAAAAA
CACCCAGAAAACCGCACGCGAACCTACGCCAGAAACGAAAGCCAAAAAACCCACAACCTTCCCTCAAATCGTCACTTCCGTTTTCCCA
CGTTACGTCACTTCCCATTTTAAGAAAACATAATTCACAACACATAACAAGTTACTCCGCCCTAAAACCTACGTACCCGCCCCGTT
CCCACGCCCCGCGCCAGTCACAAACCTCACCCCTCATTATCATATTGGCTTCAATCCAAAATAAGGTATATTATTGATGATG

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に係る
 生物多様性影響評価に関する作業委員会 委員名簿

【 千葉大学医学部附属病院 】

「切除不能悪性胸膜中皮腫を対象としたNK4遺伝子発現型アデノウイルスベクターによる臨床研究」

○

氏名	所属
いわさき かずひろ 岩崎 一弘	(独)国立環境研究所 主任研究員
おざわ けいや 小澤 敬也	自治医科大学 医学部教授
かんだ ただひと 神田 忠仁	(独)理化学研究所 新興・再興感染症研究ネットワーク推進センター 業務展開チーム チームリーダー
さいとう いずむ 斎藤 泉	東京大学医科学研究所 遺伝子解析施設教授
しまだ たかし 島田 隆	日本医科大学 医学部教授
はやかわ たかお 早川 堯夫	近畿大学 薬学総合研究所所長
やまぐち てるひで 山口 照英	国立医薬品食品衛生研究所 生物薬品部研究員

○：委員長（五十音順 敬称略）

