

## 岡山大学医学部・歯学部附属病院の 遺伝子治療臨床研究に係る第一種使用規程について

- 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に基づき申請のあった第一種使用規程に係る意見について・・・・・・・・・・・・・・・・・・ P 1  
(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)
- 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委員名簿・・・・・・・・・・・・・・・・ P 3
- 第一種使用規程承認申請書・・・・・・・・・・・・・・・・ P 4
- 生物多様性影響評価書・・・・・・・・・・・・・・・・ P 7

平成 19 年 11 月 26 日

**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  
法律に基づき申請のあった第一種使用規程に係る意見について**

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 委員長 吉倉 廣

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）に基づき申請のあった下記の遺伝子組換え生物等の第一種使用規程について、本作業委員会で検討を行い、その結果を別紙のとおりとりまとめたので報告いたします。

記

1. ヒトインターロイキン-12 遺伝子を発現する非増殖性の遺伝子組換えヒトアデノウイルス 5 型（Adv/IL-12）  
申請者：岡山大学医学部・歯学部附属病院 病院長 森田 潔  
申請日：平成 18 年 7 月 18 日

## 【作業委員会の評価結果（岡山大学医学部・歯学部附属病院）】

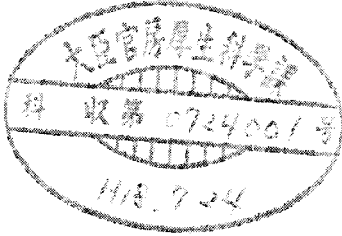
1. ヒトインターロイキン-12 遺伝子を発現する非増殖性の遺伝子組換えヒトアデノウイルス 5 型 (Adv/IL-12)
第一種使用等の内容：治療施設におけるヒト遺伝子治療を目的とした使用、保管、運搬及び廃棄並びにこれらに付随する行為
申請者：岡山大学医学部・歯学部附属病院 病院長 森田 潔
(1) 生物多様性影響評価の結果について
① 他の微生物を減少させる性質 申請されている第一種使用規程に従った使用を行うかぎり Adv/IL-12 の環境中への拡散は極力抑えられており、拡散したとしてもその量は検出レベル以下であると推定される。 さらに、Adv/IL-12 は増殖能を失っていることから、野生型アデノウイルス (Adv) との共感染がないかぎり環境中で増殖することはない。 したがって、第一種使用規程に従った使用を行うかぎり Adv/IL-12 は環境中に拡散したとしても比較的早期に消滅すると考えられる。 Adv/IL-12 及びそれに由来する増殖能を獲得したウイルス (RCA) が感染する動植物等の種類は野生型ヒトアデノウイルス 5 型 (Ad5) と同等で、これらのウイルスが微生物に感染するとの報告はない。ヒトインターロイキン-12 (IL-12) 遺伝子を発現すること及び非増殖性であること以外は、その他の特性についても Adv/IL-12 は野生型 Ad5 と同等と考えられ、Adv/IL-12 及び RCA が競合等で他の微生物を減少させる性質はないと考えられる。 これらのことから、第一種使用規程に従った使用を行うかぎり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が生じるおそれはないとした申請者の結論は妥当であると判断した。
② 病原性 Adv/IL-12 及び RCA が感染する動植物等の種類は野生型 Ad5 と同等で、ほ乳動物に感染するが、自然界ではヒト以外の動植物及び微生物に感染するとの報告はない。また、RCA が生じるためには野生型 Adv との共感染が必要であり、その起こり得る可能性は Adv/IL-12 を投与された被験者が野生型 Adv に感染した場合のみである。 一方、これまで Adv/IL-12 を含む非増殖性の遺伝子組換え Ad5 が国内外で使用されているが、環境への悪影響及び野生型 Ad5 を超える病原性を示したとする報告はない。また、Adv/IL-12 が感染したほ乳動物では一過性に感染細胞で IL-12 遺伝子を発現する可能性はあるが、これによるヒトへの病原性は知られていない。アデノウイルスの副作用で問題となる非特異的免疫反応を引き起こす IL-6 がヒト腎臓細胞で大腸菌感染存在下では IL-12 により上昇するとの報告があるが、Adv/IL-12 投与時は大腸菌感染に特別な注意を払い、大腸菌感染存在下という環境を極力避けることにより、IL-12 によるアデノウイルス副作用の増悪の事態は十分避けられると考えられる。 したがって、Adv/IL-12、RCA いずれも野生型 Ad5 を超える病原性は示さないと考えられる。 これらのことから、第一種使用規程に従った使用を行うかぎり病原性に起因する生物多様性影響が生ずるおそれはないとした申請者の結論は妥当であると判断した。
③ 有害物質の産生性 Adv/IL-12 の有害物質の産生性は知られておらず、第一種使用規程に従った使用を行うかぎり有害物質の産生性に起因する生物多様性影響が生ずるおそれはないとした申請者の結論は妥当であると判断した。
④ 核酸を水平伝達する性質 自然界では野生型 Ad5 がヒト以外の動植物及び微生物に感染するとの報告はない。したがって、Adv/IL-12 及び RCA の感染性は、野生型 Ad5 と同様、環境中ではヒト以外には感染しないと考えられる。Adv/IL-12 が感染したほ乳動物では一過性に感染細胞で Adv/IL-12 遺伝子を発現する可能性はあるが、これが他のほ乳動物個体へ水平伝達することは非常に考えにくい。 また、申請されている第一種使用規程に従った使用を行うかぎり Adv/IL-12 の環境中への拡散は極力抑えられており、拡散したとしてもその量は検出レベル以下であると推定される。さらに、Adv/IL-12 は増殖能を失っていることから、野生型 Adv との共感染がないかぎり環境中で増殖することはない。したがって、第一種使用規程に従った使用を行うかぎり Adv/IL-12 は環境中に拡散したとしても比較的早期に消滅すると考えられる。 これらのことから、第一種使用規程に従った使用を行うかぎり核酸を水平伝達する性質に起因する生物多様性影響が生ずるおそれはないとした申請者の結論は妥当であると判断した。
(2) 生物多様性影響評価書を踏まえた結論 以上を踏まえ、Adv/IL-12 を第一種使用規程に従って使用した場合に生物多様性影響が生ずるおそれはないとした生物多様性影響評価書の結論は妥当であると判断した。

厚生科学審議会科学技術部会遺伝子治療臨床研究作業委員会  
遺伝子治療臨床研究に係る生物多様性影響評価に関する作業委員会委員名簿

氏名	所属・役職
いわさき かずひろ 岩崎 一弘	国立環境研究所生物多様性の減少機構の解明と保全プロジェクトグループ主任研究員
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	国立感染症研究所病原体ゲノム解析研究センター長
きづき たけひこ 笹月 健彦	国立国際医療センター総長
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	独立行政法人医薬品医療機器総合機構顧問
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長
○ よしくら ひろし 吉倉 廣	厚生労働省医薬品食品局食品安全部企画情報課参与
わたなべ まこと 渡邊 信	筑波大学生命環境科学研究科教授

○委員長（五十音順 敬称略）

（平成19年4月1日現在）

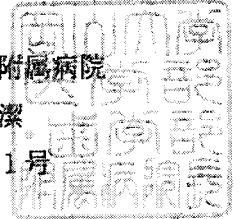


第一種使用規程承認申請書

平成18年7月18日

厚生労働大臣 殿  
環境大臣 殿

申請者 氏名 岡山大学医学部・歯学部附属病院  
病院長 森田 潔  
住所 岡山市鹿田町二丁目5番1号



第一種使用規程について承認を受けたいので、遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律第4条第2項の規定により、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	ヒトインターロイキン-12 遺伝子を発現する非増殖性の遺伝子組換えヒトアデノウイルス 5 型 (Adv/IL-12)
遺伝子組換え生物等の第一種使用等の内容	治療施設におけるヒト遺伝子治療を目的とした使用、保管、運搬及び廃棄並びにこれらに付随する行為
遺伝子組換え生物等の第一種使用等の方法	<p>治療施設の所在地 岡山県岡山市鹿田町 2 丁目 5 番 1 号 治療施設の名称 岡山大学医学部・歯学部附属病院</p> <p>(1) Adv/IL-12 溶液は、容器に密封後、凍結状態で治療施設に輸送し、施設内の P2 レベルの実験室（以下「P2 実験室」という。）内の冷凍庫に保管する。</p> <p>(2) 凍結状態の Adv/IL-12 溶液の融解、希釈及び分注操作は、P2 実験室内の安全キャビネット内で行う。Adv/IL-12 希釈溶液の保管は、P2 実験室内の冷凍庫において行う。なお、Adv/IL-12 希釈溶液又はその凍結品を開放系区域を通して他の P2 レベル区域に運搬する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。</p> <p>(3) Adv/IL-12 溶液（希釈溶液を含む。）を廃棄する際には、ウイルス不活化（0.5%次亜塩素酸ナトリウム溶液への 2 時間以上の浸漬による。）を行った後、本施設で定められている医療廃棄物管理規程（以下「医療廃棄物管理規程」という。）に従い廃棄する。</p> <p>(4) Adv/IL-12 希釈溶液を二重に密閉し、環境中への拡散防止措置を適切に執った陽圧でない手術部無菌室（以下「無菌室」という。）又は放射線部コンピュータ断層撮影装置室（以下「CT 室」という。）に運搬し、専用の CT ガイド下注入用穿刺針、注射器及びチューブからなるデバイス（以下「注入セット」という。）に充填し、注入用ポンプに装着する。</p> <p>(5) 被験者に対する Adv/IL-12 の投与は、内分泌療法中に再燃した前立腺がんの前立腺腫瘍内又は前立腺摘除術後の局所再発巣内については、無菌室内において超音波検査装置に装着された穿刺用ガイド装置を用いて、また、遠隔転移病巣内については、CT 室内において CT ガイド下注入用穿刺針を用いて、それぞれ Adv/IL-12 希釈溶液を注入することにより行う。</p> <p>(6) 被験者への Adv/IL-12 投与終了後、被験者の創部を消毒する。ウイルス漏出予防のためにマスク及びガウンを着用した被験</p>

- 者を、無菌室又は CT 室から、環境中への拡散防止措置を適切に執った陽圧でない個室（以下「個室」という。）に移送する。
- (7) 上記(5)及び(6)で用いた注入セット等の器具並びに布及びガーゼ類は、ウイルス不活化（高圧蒸気滅菌処理又は焼却による。）を行い、医療廃棄物管理規程に従い廃棄する。また、穿刺用ガイド装置等は、ウイルス不活化（20w/v%グルタラル溶液による洗浄による。）を行い、再利用する。これらのウイルス不活化を無菌室又は CT 室以外の区域で行う場合には、二重に密閉した容器に入れて運搬する。
- (8) 投与後 24 時間まで、被験者を個室内で管理する。検査等の理由で被験者が一時的に無菌室、CT 室又は個室から外の開放系区域に出る場合には、マスク及びガウン着用等のウイルス漏出予防措置を義務付ける。
- (9) 個室における管理期間中の被験者の排泄物（血液、体液、尿及び糞便等）は、ウイルス不活化（0.5%次亜塩素酸ナトリウムへの 2 時間以上の浸漬、高圧蒸気滅菌処理又は焼却による。以下同じ。）を行った後、医療廃棄物管理規程に従い廃棄する。ウイルス不活化を個室以外の区域で行う場合には、二重に密閉した容器に入れて運搬する。なお、臨床検体として使用する被験者の排泄物等の取扱いは、Adv/IL-12 溶液の取扱いに準ずる。
- (10) 個室における管理期間中、被験者に対して侵襲的に使用した器具等及び被験者の排泄物等に接触した器具等は、ウイルス不活化を行った後、医療廃棄物管理規程に従い廃棄又は十分洗浄する。ウイルス不活化を個室以外の区域で行う場合には、二重に密閉した容器に入れて運搬する。
- (11) 個室における被験者の管理を解除する前に、被験者の血液及び尿中の Adv/IL-12 が陰性であることを確認する。Adv/IL-12 が確認されたときは、個室における被験者の管理を継続する。
- (12) 個室における被験者の管理の解除後に、遺伝子治療臨床研究実施計画書（前立腺癌に対する Interleukin-12 遺伝子発現アデノウイルスベクターを用いた遺伝子治療臨床研究）に示す観察期間内に被験者の血液又は尿中から Adv/IL-12 が検出された場合には、直ちに被験者を個室における管理下に移し、上記(8)から(11)までと同様の措置を執る。

# 生物多様性影響評価書

(区分：遺伝子治療臨床研究)

## I 宿主又は宿主の属する分類学上の種に関する情報

### 1 分類学上の位置付け及び自然環境における分布状況

ヒトアデノウイルスはアデノウイルス科マストアデノウイルス属に分類されている(文献 1、2)。これまでに分離されたウイルスは、中和抗体を誘導する抗原性の違いで 51 の血清型に分けられており(文献 1、2)、ヒトインターロイキン-12 (IL-12) 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 (Adv/IL-12) はヒトアデノウイルス 5 型 (Ad5) を宿主として作製された。

Ad5 は 4 歳以下の乳幼児の多くに感染しており、咽頭及び糞便からウイルスが分離される(文献 2)。Ad1、2、5、6 に対する中和抗体保有率は 1~2 歳齢では 46.7~93.3%で、20 歳齢までに 100%に達している。(文献 3)。自然環境において、ヒト以外の動物での増殖は報告されていない。実験室内では、コットンラット及びニュージーランドウサギへの経鼻接種でウイルス増殖が報告されている(文献 1)。

文献 1 : Kaipe, D. M., Howley, P. M. ed.: *Fields VIROLOGY fourth edition*, pp.2265-2326, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia (2001)

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

文献 3 : 水田克巳など: 山形県衛生研究所報, 32: 5-7 (1999)

### 2 使用等の歴史及び現状

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

### 3 生理・生態学的特性 (文献 1、2)

#### (1) 基本的特性

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

#### (2) 生育又は生育可能な環境の条件

ヒトに感染し、増殖する。培養細胞でも、ヒト由来の細胞でのみ効率よく増殖する。サル由来培養細胞で低レベルの増殖が起こる。経口感染することから推定されるように、室温で比較的安定である。



(3) 捕食性又は寄生性

自然界では、ヒトでのみ増殖を伴う感染が起こる。

(4) 繁殖又は増殖の様式

Ad5 は、ヒトに経口感染し、増殖したウイルスは便と共に排泄される。

(5) 病原性

Ad5 の感染は不顕性に終わることが多いが、4 歳以下の乳幼児では急性熱性咽頭炎となる場合もある。いずれの場合も感染後に産生される中和抗体で再感染は阻止される。リンパ節に潜伏する例や小児の腸重積症に関わる可能性も指摘されている。

(6) 有害物質の産生性

Ad5 の感染で細胞内に産生されるたん白質等の毒性は報告されていない。

(7) その他の情報

Ad5 は 56℃、30 分の加熱で感染性を失う (文献 4)。

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

## II 遺伝子組換え生物等の調製等に関する情報

### 1 供与核酸に関する情報

(1) 構成及び構成要素の由来

ヒトサイトメガロウイルス (CMV) プロモーター (750bp)、IL-12 をコードする DNA (IL-12 遺伝子; p40 1080bp、p35 795bp、IRES 配列 : encephalomyocarditis virus 由来) 及び SV40 ポリ A 付加シグナルを宿主に導入した (供与核酸の全塩基配列及び対応するアミノ酸配列などは別紙 1)。

(2) 構成要素の機能

CMV プロモーターは IL-12 遺伝子のみを転写させることになるため、IL-12 遺伝子が発現される。発現する IL-12 タンパク質は分子量約 70kDa (p70) の糖蛋白質で、1 個の分子内ジスルフィド結合により結ばれた分子量各 40kDa (p40) と 35kDa (p35) の互いに相同性のない 2 つのサブユニットより構成された異型二量体である。生物活性としては種々の免疫賦活能を有しており以下の活性が明らかにされている。①Natural killer (NK) 細胞、Lymphokine-activated killer (LAK) 細胞の誘導および細胞障害性の増強 (細胞障害性細胞への効果)、②CD4+および CD8+ T 細胞 (リンパ系細胞) の増殖促進、③マクロファージ、NK/LAK 細胞、T 細胞からのサイトカイン (IFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$  など) 産生の促進、