

北里大学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 5
- 生物多様性影響評価書 ……………P 9

(参考資料)

- 遺伝子治療臨床研究に係る第一種使用規程の承認状況一覧 ……P21
- 遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律の概要等 ……………P22
- 遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律等（参照条文） ……………P24
- 「遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律」の概要及び「遺伝子治療臨床研究に関する指針」との関係について ……P28

平成 19 年 3 月 9 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. 単純ヘルペスウイルスチミジンキナーゼ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.RSV-TK)
申請者：北里大学病院 病院長 藤井 清孝
申請日：平成 18 年 1 月 19 日

【作業委員会の評価結果（北里大学病院）】

| |
|---|
| 1. 単純ヘルペスウイルスチミジンキナーゼ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.RSV-TK) |
| 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：北里大学病院 病院長 藤井 清孝 |
| (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.RSV-TK の環境中への拡散は極力抑えられており、拡散したとしてもその量は検出レベル以下であると推定される。 さらに、Adv.RSV-TK 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.RSV-TK 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.RSV-TK 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。単純ヘルペスウイルスチミジンキナーゼ (HSV-TK) 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.RSV-TK は野生型 Ad5 と同等と考えられ、Adv.RSV-TK 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.RSV-TK 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.RSV-TK 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.RSV-TK 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.RSV-TK が感染したほ乳動物では一過性に感染細胞で HSV-TK 遺伝子を発現する可能性はあるが、生体のごく一部の細胞で発現される条件下での HSV-TK 遺伝子そのものの病原性への関与は知られていない。 したがって、Adv.RSV-TK、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.RSV-TK 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.RSV-TK 及び RCA の感染性は、野生型 Ad5 と同様、環境中ではヒト以外には感染しないと考えられる。Adv.RSV-TK が感染したほ乳動物では一過性に感染細胞で HSV-TK 遺伝子を発現する可能性はあるが、これが他のほ乳動物個体へ水平伝達することは非常に考えにくい。 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.RSV-TK の環境中への拡散は極力抑えられており、拡散したとしてもその量は検出レベル以下であると推定される。さらに、Adv.RSV-TK 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.RSV-TK 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.RSV-TK 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 た ただ ひと 神 田 忠 仁 | 国立感染症研究所遺伝子解析室長 |
| | ささ つき 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 遺伝子細胞医薬部部長 |
| ○ | 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 | 国立環境研究所生物圏環境研究領域領域長 |

○委員長 (五十音順 敬称略)

(平成17年4月1日現在)

第一種使用規程承認申請書

平成 18 年 1 月 19 日

厚生労働大臣 殿
環境大臣 殿

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

| | |
|-----------------------------|---|
| <p>遺伝子組換え生物等の種類 の名称</p> | <p>単純ヘルペスウイルスチミジンキナーゼ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.RSV-TK)</p> |
| <p>遺伝子組換え生物等の第一種使用等の内容</p> | <p>治療施設におけるヒト遺伝子治療を目的とした使用、保管、運搬及び廃棄並びにこれらに付随する行為</p> |
| <p>遺伝子組換え生物等の第一種使用等の方法</p> | <p>治療施設の所在地 神奈川県相模原市北里1丁目15番1号 治療施設の名称 北里大学病院</p> <p>(1) Adv.RSV-TK 溶液は、容器に密封後、凍結状態で治療施設に輸送し、施設内の P2 レベルの実験室（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.RSV-TK 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.RSV-TK 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.RSV-TK 希釈溶液又はその凍結品を開放系区域を通過して他の P2 レベル区域に運搬する場合には、二重に密閉した容器に入れて運搬する。</p> <p>(3) Adv.RSV-TK 溶液（希釈溶液を含む。）を廃棄する際には、ウイルス不活化（高圧蒸気滅菌処理又は 0.5%次亜塩素酸ナトリウム溶液への 2 時間以上の浸漬処理による。以下同じ。）を行った後、本施設で定められた医療廃棄物管理規程（以下「医療廃棄物管理規程」という。）に従い廃棄する。</p> <p>(4) Adv.RSV-TK 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。）に運搬し、専用の注入用穿刺針、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.RSV-TK の投与は、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、注入セット及び注入用ポンプを用いて、前立腺がんの前立腺病巣内に Adv.RSV-TK 希釈溶液を注入することで行う。</p> <p>(6) 被験者への Adv.RSV-TK 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者を無菌室から、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。</p> <p>(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</p> |

| | |
|--|--|
| | <p>活化を行い、再利用する。これらのウイルス不活化を他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。</p> <p>(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及び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。</p> <p>(9) 個室における管理期間中の被験者の排泄物等（血液、体液、尿及び糞便等。以下同じ。）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する。これらのウイルス不活化を他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.RSV-TK 溶液の取扱いに準ずる。</p> <p>(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。これらのウイルス不活化を他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。</p> <p>(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.RSV-TK が陰性であることを確認する。Adv.RSV-TK が確認されたときは、個室における管理を継続する。</p> <p>(12) 個室における管理解除後であっても、観察期間内に被験者の血液又は尿中から Adv.RSV-TK が検出された場合には、直ちに被験者を個室における管理下に移し、上記(8)から(11)までと同様の措置を執る。</p> |
|--|--|

生物多様性影響評価書

(区分：遺伝子治療臨床研究)

I 宿主又は宿主の属する分類学上の種に関する情報

1 分類学上の位置付け及び自然環境における分布状況

ヒトアデノウイルスはアデノウイルス科マストアデノウイルス属に分類されている(文献1、2)。これまでに分離されたウイルスは、中和抗体を誘導する抗原性の違いで51の血清型に分けられており(文献1、2)、単純ヘルペスウイルスチミジンキナーゼ(HSV-tk)遺伝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Adv.RSV-TKはヒトアデノウイルス5型(Ad5)を宿主として作製された。

Ad5は4歳以下の乳幼児の多くに感染しており、咽頭及び糞便からウイルスが分離される(文献2)。Ad1、2、5、6に対する中和抗体保有率は1~2歳齢では46.7~93.3%で、20歳齢までに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

ラウスサルコーマウイルス (RSV) プロモーター (285 bp)、HSV-tk をコードする DNA (HSV-tk 遺伝子 ; 1131 bp) 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)。

(2) 構成要素の機能

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

これらの供与核酸の導入によって、Adv.RSV-TK の感染性が Ad5 から変わることはないと考えられる。

2 ベクターに関する情報

(1) 名称及び由来

Adv.RSV-TK は pADL.1/RSV-tk 及び pJM17 の 2 つのプラスミドより作製される。pADL.1/RSV-tk は RSV-LTR プロモーターの転写制御下にある HSV-tk 遺伝子を含むプラスミドである。pADL.1/RSV-tk は、Ad5 (dl309 株、文献 5) の全ゲノムを搭載した pJM17 プラスミド (文献 6) とヒト胎児腎由来 293 細胞中に共感染され、最終的な遺伝子組換えアデノウイルスベクター Adv.RSV-TK (文献 7) が生成される (ベクターの構造は別紙 2)。

(2) 特性

pADL.1/RSV-tk はアンピシリン耐性遺伝子を有し、pJM17 はアンピシリン及びテトラサイクリン耐性遺伝子を有する。

文献 5 : Bett, A. J., et al.: *Virus Res.* 39: 75-82 (1995)

文献 6 : McGrory, W. J., et al.: *Virology* 163: 614-617 (1988)

文献 7 : Gingras, M. C., et al.: *Cancer Gene Ther.* 3: 151-154 (1996)

3 遺伝子組換え生物等の調製方法

(1) 宿主内に移入された核酸全体の構成

Ad5 の E1 領域を供与核酸と置換した (Adv.RSV-TK のゲノム構造概略図は別紙 3)。

(2) 宿主内に移入された核酸の移入方法

pADL.1/RSV は pXCJL.1 (McMaster 大学 Frank Graham 氏より提供された) の Xba I と Cla I サイトの間に、RSV-LTR プロモーターを組み込んで作製する。この BamH I サイトに、HSV-tk 遺伝子及び SV40 ポリ A 付加シグナルを含む 2.8 kb の Bgl II/BamH I フラグメントをインサートして、pADL.1/RSV-tk を得る。この pADL.1/RSV-tk を pJM17 と共に、リン酸カルシウム法によって 293 細胞に導入し、細胞内での相同組換えにより生じる遺伝子組換えアデノウイルス Adv.RSV-TK を得る (作製概略図は別紙 3)。

(3) 遺伝子組換え生物等の育成の経過

Adv.RSV-TK は Ad5 の E1 領域を欠失している。E1A 及び E1B 遺伝子産物はウイルス DNA の複製に必要なので、これらの遺伝子を継続的に発現している 293 細胞を使って増殖させた。Adv.RSV-TK の最終製品は米国 Baylor 医科大学細胞・遺伝子治療センターで製造した。製造工程には現行の米国 GMP 基準に従ってセルバンクシステム及びウイルスバンクシステムを用い、各バンクの品質管理は FDA 基準に従った (各バンク及び最終製品の品質管理試験の詳細は別紙 4)。凍結した状態で日本へ輸送した最終製品は、北里大学病院で受領後、岡山大学医学部・歯学部附属病院遺伝子・細胞治療センター (P2 レベル) において受入れ試験を実施する (受入れ試験の詳細は別紙 5)。

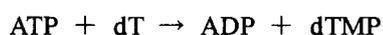
最終製品は北里大学医学部 M1 号館 7 階病態診療系 No. 15 (P2 レベル) 内のディーブ

フリーザーに施錠の上、保管する（当該治療施設の地図及び保管場所の概略図は別紙6）。また、マスターウイルスバンク、マスターセルバンク及びワーキングセルバンクは、すべて米国 Baylor 医科大学細胞遺伝子治療センターに保管されている。

4 移入した核酸の存在状態及び当該核酸による形質発現の安定性

移入した核酸は Adv.RSV-TK の 2 本鎖 DNA ゲノムの一部として存在し、保管中は極めて安定で、感染する動植物等の種類及び感染様式が保管中に変化することはない。細胞に感染すると、Adv.RSV-TK のゲノムは核内の染色体外に存在し、HSV-tk 遺伝子が転写される。HSV-tk の発現は一過性である（文献 8、9）。

HSV-tk は単純ヘルペスウイルスのもつチミジンキナーゼで、チミジン（正確にはデオキシチミジン；dT）の代謝に関与する 376 アミノ酸からなる酵素であり、以下の反応を触媒する。



Adv.RSV-TK を 293 細胞で増殖させる過程で、293 細胞染色体に組み込まれている E1 遺伝子と Adv.RSV-TK ゲノムの間で相同組換えが起こり、増殖能を獲得したウイルス（RCA）が生じる可能性がある。しかしその RCA のほとんどは、パッケージできるサイズも考慮すれば、すべての供与核酸を失っていると考えられる。

文献 8：Eastham, J. A., et al.: *Hum. Gene Ther.* 7: 515-523 (1996)

文献 9：Hall, S. J., et al.: *Int. J. Cancer* 70: 183-187 (1997)

5 遺伝子組換え生物等の検出及び識別の方法並びにそれらの感度及び信頼性

Adv.RSV-TK は宿主の Ad5 に存在しない HSV-tk 遺伝子を含むので、HSV-tk 遺伝子 DNA の一部を PCR で増幅、定量する方法で Adv.RSV-TK を検出できる。細胞から抽出した DNA 1 µg 中に 1 コピーの Adv.RSV-TK があれば検出することができる（文献 10）。

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

文献 10：Stermann, D. H., et al.: *Hum. Gene Ther.* 9: 1083-1092 (1998)

6 宿主又は宿主の属する分類学上の種との相違

Adv.RSV-TK は Ad5 の E1 領域の遺伝子を欠失しているため、これらの領域にコードされているウイルスたん白質群を発現できない。E1A 及び E1B 遺伝子から作られるたん白質はウイルス DNA の複製に必要なため（文献 1、2）、E1A 及び E1B 遺伝子を持続的に発現している細胞（例えば 293 細胞）や Ad5 と共感染した細胞でなければ Adv.RSV-TK の増殖は起こらない。また、Adv.RSV-TK では外来 RSV プロモーターから転写される HSV-tk 遺伝子が発現する（文献 4、8）。これらの点を除くと、Adv.RSV-TK の感染する動植物等

の種類、感染経路、伝搬様式等は野生型 Ad5 とまったく同等である。

Adv.RSV-TK 由来の RCA は、ヒトや動植物等への感染性、感染様式、病原性など、生物多様性に影響を与える性質は野生型 Ad5 と同等であると考えられる。

III 遺伝子組換え生物等の使用等に関する情報

1 使用等の内容

治療施設におけるヒト遺伝子治療を目的とした使用、保管、運搬及び廃棄並びにこれらに付随する行為。

2 使用等の方法

治療施設の所在地 神奈川県相模原市北里 1 丁目 15 番 1 号

治療施設の名称 北里大学病院

- (1) Adv.RSV-TK 溶液は、容器に密封後、凍結状態で治療施設に輸送し、施設内の P2 レベルの実験室（以下「P2 実験室」という。）内の冷凍庫に保管する。
- (2) 凍結状態の Adv.RSV-TK 溶液の融解、希釈及び分注操作は、P2 実験室内の安全キャビネット内で行う。Adv.RSV-TK 希釈溶液の保管は、P2 実験室内の冷凍庫において行う。なお、Adv.RSV-TK 希釈溶液又はその凍結品を開放系区域を通して他の P2 レベル区域に運搬する場合には、二重に密閉した容器に入れて運搬する。
- (3) Adv.RSV-TK 溶液（希釈溶液を含む。）を廃棄する際には、ウイルス不活化（高圧蒸気滅菌処理又は 0.5% 次亜塩素酸ナトリウム溶液への 2 時間以上の浸漬処理による。以下同じ。）を行った後、本施設で定められた医療廃棄物管理規程（別紙 7）（以下「医療廃棄物管理規程」という。）に従い廃棄する。
- (4) Adv.RSV-TK 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。）に運搬し、専用の注入用穿刺針、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。
- (5) 被験者に対する Adv.RSV-TK の投与は、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、注入セット及び注入用ポンプを用いて、前立腺がんの前立腺病巣内に Adv.RSV-TK 希釈溶液を注入することで行う。
- (6) 被験者への Adv.RSV-TK 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者を無菌室から、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、ウイルス不活化を行い、再利用する。これらのウイルス不活化を他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及び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等（血液、体液、尿及び糞便等。以下同じ。）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する。これらのウイルス不活化を他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.RSV-TK 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。これらのウイルス不活化を他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.RSV-TK が陰性であることを確認する。Adv.RSV-TK が確認されたときは、個室における管理を継続する。
- (12) 個室における管理解除後であっても、観察期間内に被験者の血液又は尿中から Adv.RSV-TK が検出された場合には、直ちに被験者を個室における管理下に移し、上記(8)から(11)までと同様の措置を執る。

3 承認を受けようとする者による第一種使用等の開始後における情報収集の方法

被験者への Adv.RSV-TK 投与後、被験者体内で増殖能を獲得した遺伝子組換えウイルス (Adv.RSV-TK 由来 RCA) の有無については、血液、尿を用いて PCR 法にて検査し、検出された場合は消失するまで、被験者を個室管理下に移して追跡する。

4 生物多様性影響が生じるおそれのある場合における生物多様性影響を防止するための措置

Adv.RSV-TK 投与後の被験者については、個室管理下、PCR 法にて血液及び尿中の遺伝子組換えウイルス (Adv.RSV-TK) を消失するまで追跡する。なお、PCR に用いるプライマーとして、プライマー1: 5'-ACG CCA TTT GAC CAT TCA CC、プライマー2: 3'-CAG TTG CGT GGT GGT GGT TTT C を用い、プライマーはそれぞれ RSV プロモーター領域と HSV-tk 遺伝子領域に結合し、その間の 319 bp を増幅する。この際の尿中検出感度は 1 ml あたり Adv.RSV-TK 10~100 ウイルス粒子である (文献 11)。

文献 11 : Timme, T. L., et al.: Cancer Gene Ther. 5: 74-82 (1998)

5 実験室等での使用又は第一種使用等が予定されている環境と類似の環境での使用等の結果

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

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

6 国外における使用等により得られた情報

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

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