

た容器に入れて運搬する。

(7) 投与後3日まで、被験者を個室内で管理し、検査等の理由で被験者が一時的に個室外の開放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。

(8) 個室における管理期間中の被験者の排泄物は、投与翌日以降に行われる患者の血液を用いたポリメラーゼ連鎖反応（PCR）にて自己増殖能を獲得したレトロウイルス（以下「RCR」という）の存在が否定されるまで、ウイルスの不活性化を行った後、医療廃棄物管理規程に従い廃棄する。なお、臨床検体として使用する患者の血液及び尿の取扱いは、本遺伝子組換え生物溶液及び本遺伝子組換え生物導入細胞の取扱いに準じる。

(9) 個室における管理期間中、患者に対して侵襲的に使用した器具及び患者の血液、体液、排泄物に接触した器具等は、ウイルスの不活性化を行った後、医療廃棄物管理規程に従い廃棄又は十分に洗浄する。これらのウイルスの不活性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。

(10) 個室における被験者の管理を解除する前に、被験者の血清においてRCRが陰性であることを確認する。RCRが確認されたときは、個室における管理を継続する。

(11) 個室における管理解除後に被験者の血清からRCRが検出された場合は、直ちに被験者を上記個室における管理下に移し、上記(7)から(10)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

被験者への本遺伝子組換え生物導入細胞の投与後、別途規程のスケジュール（※別紙9）に従い被験者の血清を試料として、4070A *env* 遺伝子に対するPCR法又は血清の培養法による検査を実施する。また、RCR発現の有無につき被験者の臨床症状を観察する。

### 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

本遺伝子組換え生物を用いた遺伝子導入細胞は、細胞調製室において、第一種使用規程に従い調製される。本遺伝子組換え生物が細胞調製室の床等に漏出した場合には、直ちにペーパータオル、布等で拭き取る。拭き取った後は、消毒用エタノールを当該箇所が完全に覆われるまで噴霧して1分以上放置し、ペーパータオル、布等で拭き取ることにより本遺伝子組換え生物を不活性化する。当該ペーパータオル、布等は121℃、20分間以上で高圧蒸気滅菌処理した後、廃棄する。以上により、本遺伝子組換え生物が環境中に漏出して生物多様性影響が生じることはないと考えられる。

個室における管理解除後の被験者の血清のPCR法又は血清の培養法においてRCRが検出された場合には、第一種使用規程に従い被験者を直ちに個室における管理下に移すとともに、排泄物のウイルス不活性化等、第一種使用規程に定められた措置を執る。

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

マスターセルバンクMCB (CGT\_hLMC Lot. CM06-1) 及びそれらから作製された本遺伝子組換え生物 (Lot. CRV07-1及びCRV07-2) についてMus dunni 細胞を用いた増幅法によるRCR 試験を実施した。その結果、すべてRCR 陰性であった (※別紙5)。本遺伝子組換え生物導入細胞を用いた以下の非臨床試験ではがん化は認められず、また毒性は極めて低いことが示唆された。

カニクイザルに、hLCAT (human Lecithin cholesterol acyltransferase) 遺伝子導入サル前脂肪細胞を自家移植した非臨床試験において、全症例で自家移植 2ヵ月後の一般状態、体重、摂餌量、また行動観察、心電図、呼吸数等の薬理的異常所見、また剖検後の各臓器重量、血液学的変化、各臓器、組織の肉眼所見においても、異常は観察されなかった。

C57BL6Jマウスに、hLCAT遺伝子導入マウス前脂肪細胞を同系マウス皮下に移植しそのがん化を検討したところ、一般状態、体重、摂餌量、移植部位の触診、また移植後約 7ヵ月及び1年後の剖検における臓器重量、血液学的検査、各臓器、組織の肉眼所見のいずれにも異常はなくがん化は認められなかった。また、遺伝子導入していないマウス前脂肪細胞投与マウスでもがん化は認められなかった。

健康成人から得たヒト前脂肪細胞にhLCAT遺伝子を導入し、6ヵ月間の継代培養後、軟寒天培地におけるコロニー形成能を検討した。遺伝子非導入ヒト前脂肪細胞を対照群、またHeLa細胞を陽性対照群とした。HeLa細胞ではコロニー形成を検出したが、hLCAT遺伝子導入ならびに非導入ヒト前脂肪細胞のいずれも、コロニー形成能を獲得した細胞は観察されなかった。

hLCAT遺伝子導入ヒト前脂肪細胞をNudeマウス皮下に移植しがん化を検討した。マウスの一般状態、体重、摂餌量、移植部位の触診に異常は確認されなかった。移植後約3ヵ月の剖検では、臓器重量、各臓器、組織の肉眼所見について、異常は認められなかった。

本遺伝子組換え生物導入細胞及び本遺伝子組換え生物を用いた臨床使用経験は現在までのところない。

6 国外における使用等により得られた情報

本遺伝子組換え生物導入細胞及び本遺伝子組換え生物を用いた使用経験は現在までのところない。

## 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

本遺伝子組換え生物及びRCRはアンフォトロピックenv蛋白質を持つので、広範囲の動物に感染しうるが、微生物への感染性は知られていない。したがって、影響を受ける可能性のある微生物は特定されなかった。

#### (2) 影響の具体的内容の評価

(該当せず)

#### (3) 影響の生じやすさの評価

(該当せず)

#### (4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断

よって、他の微生物を減少させる性質について、第一種使用規程承認申請書に記載した遺伝子組換え生物等の第一種使用等の方法によるかぎり、生物多様性影響が生ずるおそれはないと判断される。

### 2 病原性

#### (1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定

本遺伝子組換え生物及びRCRはアンフォトロピックenv蛋白質を持つので、患者体外に排出された場合には野生型アンフォトロピックMoMLV (Moloney Murine Leukemia Virus) 4070Aと同様に、マウス、ラットのみならずヒト、サル等を含む広範囲の動物に感染しうる。したがってこれらの生物種は本遺伝子組換え生物の核酸を伝達されることにより影響を受ける可能性がある。

#### (2) 影響の具体的内容の評価

本遺伝子組換え生物はヒト、サル等の細胞への挿入変異によってがん化を誘発する可能性がある。マウス、ラットに対する病原性は宿主と同等であると考えられる。

本遺伝子組換え生物からの発現産物であるLCATは、遊離型コレステロールをコレステロールエステルに変換する酵素として機能する。本反応は、末梢組織から肝臓へコレステロールを転送・異化排泄するコレステロール逆転送系の最初の段階を支配する。ヒトでのLCAT過剰症にともなう有害な臨床症状はなく、本遺伝子が発現することにより、本遺伝子組換え生物

がヒトに病原性を示す可能性は非常に低い。

(3) 影響の生じやすさの評価

第一種使用規程承認申請書に記載した遺伝子組換え生物等の第一種使用等の方法によるかぎり、本遺伝子組換え生物が前脂肪細胞とともに被験者に投与されることによって、当該施設外に出る可能性は極めて低く、出たとしてもごく微量である。また、マウス由来のウイルス産生細胞により産生されたレトロウイルスベクターが仮にヒト体内に侵入したとしても、ヒト血清（補体）により速やかに不活性化される（文献15）。さらに、*gag*、*pol*、*env* 遺伝子を完全に欠如した本遺伝子組換え生物は増殖能を欠損しているため、通常の細胞に感染してもウイルス粒子を産生することはなく、たとえ感染が成立しても生殖細胞に感染しない限り、その影響は感染した個体からさらに広がることはない。

一方、本遺伝子組換え生物の製造工程中に出現したRCRが前脂肪細胞に混入して被験者に移植された場合には被験者体内でRCRが産生される可能性がある。しかし、本遺伝子組換え生物はRCR出現の可能性が極めて低い第3世代のパッケージング細胞（GP+envAM-12細胞）を使用して製造されているうえに、本遺伝子組換え生物及び遺伝子導入細胞のRCR陰性を確認してから使用するため、被験者体内にRCRが侵入する可能性は極めて低い。また、RCR試験で検出されなかったRCRが万一被験者体内に侵入したとしても、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、RCRが環境中に放出される可能性は極めて低い。

(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断

よって、病原性について、第一種使用規程承認申請書に記載した遺伝子組換え生物等の第一種使用等の方法によるかぎり、生物多様性影響が生ずるおそれはないと判断される。

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

本遺伝子組換え生物及びRCRの有害物質の産生性は知られていない。したがって、影響を受ける可能性のある野生動植物等は特定されなかった。

(2) 影響の具体的内容の評価

（該当せず）

(3) 影響の生じやすさの評価

（該当せず）

(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断

よって、有害物質の産生性について、第一種使用規程承認申請書に記載した遺伝子組換え生物等の第一種使用等の方法によるかぎり、生物多様性影響が生ずるおそれはないと判断される。

#### 4 核酸を水平伝達する性質

##### (1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定

本遺伝子組換え生物及びRCRはアンフォトロピックenv蛋白質を持つので、患者体外に排出された場合には野生型アンフォトロピックMoMLV4070Aと同様に、マウス、ラットのみならずヒト、サル等を含む広範囲の動物に感染しうる。したがってこれらの生物種は本遺伝子組換え生物の核酸を伝達されることにより影響を受ける可能性がある。

##### (2) 影響の具体的内容の評価

本遺伝子組換え生物又は遺伝子組換え生物等に該当するRCRによってこれらの遺伝子組換え生物の核酸が野生生物のゲノム中に組込まれる可能性がある。

##### (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、本遺伝子組換え生物が前脂肪細胞とともに被験者に投与されることによって当該施設外に出たとしてもごく微量である。ごく微量の本遺伝子組換え生物によって野生動物に核酸が伝達される可能性は非常に低い。さらに、増殖能を持たないことから、たとえ感染が成立しても生殖細胞に感染しない限り、その影響は感染した個体からさらに広がることはない。

本遺伝子組換え生物等に該当するRCRが多量に出現した場合には、血液、体液等を通じて他の個体にRCRが感染し、その核酸が伝達される可能性は否定できないが、RCR出現の可能性は極めて低い。

##### (4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断

よって、核酸を水平伝達する性質について、第一種使用規程承認申請書に記載した遺伝子組換え生物等の第一種使用等の方法によるかぎり、生物多様性影響が生ずるおそれはないと判断される。

#### 5 その他の性質

##### 核酸を垂直伝達する性質

本遺伝子組換え生物が感染可能な野生動物等の生殖系細胞のゲノム中に組込まれて、核酸を垂直伝達する可能性は完全には否定できない。しかし、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、本遺伝子組換え生物によりその核酸が野生動物に伝達される可能性は非常に低い。RCRが出現しないかぎり、本遺伝子組換え生物の核酸が伝達される細胞は本遺伝子組換え生物が最初に感染した細胞とその娘細胞に限られ、その細胞が生殖系細胞である確率は低い。また、RCRが出現する可能性は極めて低い。以上から、本遺伝子組換え生物又はRCRの核酸が生殖細胞に伝達される可能性は極めて低い。よって、核酸を垂直伝達する性質について、第一種使用規程承認申請書に記載した遺伝子組換え生物等の第一種使用等の方法によるかぎり、生物多様性影響が生ずるおそれはないと判断される。

## V 総合的評価

本遺伝子組換え生物が感染する動物種は4070Aアンフォトロピックenv蛋白質によって規定されるため、げっ歯類及びヒトを含む広範囲の動物であり、野生型アンフォトロピックMoMLV4070Aと同じである。自然界で植物及び微生物に感染することはないと考えられる。

第一種使用規程承認申請書に記載した遺伝子組換え生物等の第一種使用等の方法によるかぎり、本遺伝子組換え生物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。本遺伝子組換え生物により導入されたhLCAT遺伝子が発現することにより、ヒトに病原性を示す可能性は非常に小さい。さらに、本遺伝子組換え生物は増殖能を欠如しているため、MoMLVの感染等により*gag*、*pol* 及び*env* 遺伝子を発現している細胞に感染した場合を除いて増殖することはない。MoMLVに感染しているマウスに本遺伝子組換え生物が感染すれば、MoMLVがヘルパーとなって増殖する可能性がある。しかしその場合でも、MoMLVは血液や体液を介してのみ感染するので、本遺伝子組換え生物の感染が他個体に広がる可能性はほとんどない。ヘルパーを必要とする本遺伝子組換え生物が野生型 MoMLV と同等に増殖することはないので、やがて環境中から消滅すると考えられる。

環境中でマウスに感染し、MoMLVゲノムとの相同組換えによってRCRが出現する可能性や、当該第一種使用によって極めて微量の本遺伝子組換え生物由来RCRが環境中に放出される可能性は完全には否定できないが、RCRの感染性、増殖性、病原性及び核酸を水平伝達する性質はMoMLVと同等である。ヒトにMoMLVが感染しても病原性は報告されておらず、RCRがヒト体内に侵入しても、血清中の補体により急速に失活することを考慮すると、ヒト及び他の哺乳動物、植物並びに微生物に新たな影響を与えることはないと考えられる。

したがって、第一種使用規程承認申請書に記載した遺伝子組換え生物等の第一種使用等の方法によるかぎり、本遺伝子組換え生物による生物多様性影響が生ずるおそれはないと判断される。

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
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	(独)医薬品医療機器総合機構生物系審査第1部テクニカルエキスパート
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22年4月1日現在)