

## 生物多様性影響評価書作成ガイドンス

### はじめに

- 本ガイドンスは、遺伝子治療臨床研究または再生医療等製品に開発に関する治験において遺伝子組換えウイルスを使用する際の第一種使用規程承認申請における生物多様性評価書の作成に関して説明したものである。
- 申請書が要求する事項以外にも、ヒトへの健康被害に留意した事項も記載すること。
- 詳細な情報は別紙として提示し、枠内の記載はなるべく簡潔に記載すること。
- 参考文献は関連する枠下に記載し、引用ページを明記し、該当部分のコピーを添付すること。なお、英文の場合は必ずしも和訳する必要はない。
- 用語の定義

ベクター：細胞又はウイルス又は核酸を移入して当該核酸を移転させ、又は複製させるもの

遺伝子組換え生物：ベクターを内包するウイルス粒子。遺伝子組換えウイルスと同義

宿主：遺伝子組換えウイルスが分類上属する野生型ウイルス

# 生物多様性影響評価書（ウイルスベクター版）

## I 宿主又は宿主の属する分類学上の種に関する情報

- ・ ここでいう宿主とは、遺伝子組換えウイルスが分類上属する野生型ウイルスを指す。
- ・ 遺伝子組換えウイルスの性質は、そのゲノム骨格（供与核酸部位を除いた核酸配列）の基となるウイルスの性質に依存することから、I章には遺伝子組換えウイルスが分類上属するウイルス（宿主）の性質を記載する。ただし、同じ種であっても、ウイルスの型や株によってウイルス親和性や感染様式が異なる場合は注意して記載すること。
- ・ ヒト体内で発現する供与核酸を含む遺伝子組換えウイルスが属する野生型ウイルスを宿主として記載すること。なお、これらウイルスとウイルス構造タンパク等を発現する遺伝子を含む遺伝子組換えウイルスが異なる種の場合は、前者の遺伝子組換えウイルスが分類上属するウイルスを宿主として評価し、後者に関してはII章のパッケージングの項に記載すること。
- ・ 遺伝子組換えウイルスの調製過程で種々の中間体を経る場合も、最終的にヒト体内で発現する供与核酸を含む遺伝子組換えウイルスのゲノム骨格が由来するウイルスを「宿主」とする。
- ・ 遺伝子組換えウイルスのゲノム骨格が複数のウイルスに由来する核酸から構成される場合は、基となるウイルス全てを宿主として扱い、各ウイルスについて個別に記載すること。

### 1 分類学上の位置付け及び自然環境における分布状況

- ・ 宿主となる野生型ウイルスのウイルス学的分類（国際ウイルス分類委員会の分類体系を参照）と同属との関係
- ・ 同定の経緯
- ・ 自然界での宿主

### 2 使用等の歴史及び現状（人用若しくは動物用医薬品としての利用又は産業的な利用の歴史及び現状を含む）

- ・ 人用、動物用若しくは産業用の利用の歴史と現状
- ・ 遺伝子治療に関してはWiley社の資料が詳しい  
(<http://www.wiley.com/legacy/wileychi/genmed/clinical/>)

### 3 生理学的及び生態学的特性

- ・ ウイルスの特性を簡便に記載する。
- ・ 使用するウイルスFIHである場合は、その詳細を別紙にて記載する。

#### (1) 基本的特性

- ・ ウイルス粒子全体の構造（形状、径等）、キャプシドを含むコアタンパクの性状、ヌクレオカプシドの形状（対称性、正二十面体、らせん構造等）、エンベロープの有無と性状。
- ・ ウイルスゲノムの情報。DNA/RNA、ゲノム構造、一本鎖（プラス鎖・マイナス鎖）/二本鎖、環状/線状、その他
- ・ その他、生物多様性に関係があると考えられる情報

#### (2) 生育又は生育可能な環境の条件

- ・ 自然界で感染及び増殖する動植物等の種
- ・ 自然界での安定性（温度、湿度、空気中、水中、血液中）

- (3) 捕食性又は寄生性  
「該当せず」と記載
- (4) 繁殖又は増殖の様式
  - ・ 細胞への感染様式・機構
  - ・ 感染細胞内での増殖の有無
  - ・ 萌芽を含め周囲の細胞、生物への感染の有無
- (5) 病原性
  - ・ 感染個体での臓器別病原性とその機序及び起こり得る疾患名
  - ・ 感染個体での発病率及び不顕性感染の有無
  - ・ ヒトに関する病原性
- (6) 有害物質の産生性  
「該当せず」と記載
- (7) その他の情報（不活化条件等を含む。）
  - ・ 複数の滅菌方法とその条件、特に不活化する方法の記載は必須
  - ・ 第一種使用規程承認申請書で採用した滅菌法、その不活化の程度とその妥当性
  - ・ その他、ヒトへの健康被害に留意した事項

## II 遺伝子組換え生物等の調整等に関する情報

- ・ ここでいう遺伝子組換え生物等とは遺伝子組換えウイルスを指す。

### 1 供与核酸に関する情報

- ・ 供与核酸とは供与された核酸のうち遺伝子組換えウイルスが分類上属するウイルスが有しない核酸を意味し、外部プロモーター・エンハンサー、構造蛋白質、ターミネーター、発現調節因子等をコードする遺伝子や制限酵素認識部位ならびにウイルスゲノムへの挿入人工配列を指す。
- ・ 宿主由来のゲノムに関しては次項の「ベクターに関する情報」に記載する。

#### (1) 構造及び構成要素の由来

- ・ 外部プロモーター・エンハンサー、構造蛋白質、ターミネーター、発現調節因子等をコードする遺伝子や制限酵素認識部位ならびにウイルスゲノムへの挿入人工配列などの供与核酸を個々に記載する。
- ・ 各供与核酸に対しその構造、構成要素と情報を入手するための情報（Accession number 等）を記載する。
- ・ 供与核酸の核酸供与体（由来生物）と提供を受けた場合は研究者情報

#### (2) 構成要素の機能

- ・ 供与核酸の発現がもたらす機能及び発現条件（細胞特異性等）
- ・ 供与核酸の過剰発現、異所性発現が宿主に与える影響
- ・ 供与核酸の生物多様性影響への影響（感染宿主あるいは感染様式の変化）

### 2 ベクターに関する情報

- ・ 遺伝子組換えウイルスの製造に使用した発現プラスミド等を全て記載する。
- ・ 宿主由来ウイルスゲノムをコードする transfer vector プラスミド等に遺伝子改変（核酸の挿入、削除等）を加えた場合はここに記載する。
- ・ ウイルス粒子の構造タンパク（Gag-Pol、Env 等）を発現するプラスミドを記載する

#### (1) 名称及び由来

- ・ 各プラスミド等の名称及び構造図（制限酵素地図）、プラスミド等の構築法
- ・ 核酸の挿入、削除等にて transfer vector プラスミド等に遺伝子改変を加えた場合はその詳細を記載
- ・ 構造タンパク（Gag-Pol、Env 等）をコードする遺伝子の構造、構成要素と情報を入手するための情報（Accession number 等）を記載する。
- ・ 構造タンパク（Gag-Pol、Env 等）をコードする遺伝子の生物と提供を受けた場合は研究者情報

#### (2) 特性

- ・ 組換えウイルスと宿主との遺伝子構造上の違い
- ・ 遺伝子構造上の違いが生物多様性に与える影響

### 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造

- ・ 遺伝子組換えウイルス粒子内にある核酸の情報
  - ・ ヒト細胞に感染した際、移入される核酸の情報（ウイルスゲノムと供与核酸の位置関係とその制限酵素地図、全ゲノム配列）
- (2) 宿主内に移入された核酸の移入方法
- ・ ウイルス産生のためのパッケージング細胞株の情報
- (3) 遺伝子組換え生物等の育成の経過
- ・ 遺伝子組換えウイルスの産生方法
  - ・ 概略図（フォローチャート）
  - ・ 実際のウイルス製造工程に関する事項を記載
  - ・ 製造施設、保管場所の説明
  - ・ 各種バンク（マスターウイルスバンク、マスターセルバンク、ワーキングセルバンク等）の作製、保管の有無
  - ・ 非増殖性の遺伝子組換えウイルスの場合、増殖可能な（replication competent）ウイルス（野生型、遺伝子組換え型）の検出方法と検出限界、臨床研究に用いる際の許容限度を記載

**4. 細胞内に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**

- ・ 遺伝子組換えウイルス内のゲノムの存在状態と安定性と形質発現の安定性
- ・ 遺伝子組換えウイルスが感染した細胞におけるゲノムの安定性と形質発現の安定性
- ・ 遺伝子組換えウイルスがヒト以外の動植物への感染あるいは感染様式が異なる場合のゲノムの安定性と形質発現の安定性
- ・ 野生型ウイルスの出現の有無

**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**

- ・ 複数の検出及び識別方法と感受性及び信頼性
- ・ 第一種使用規程承認申請書で採用した検出及び識別とその妥当性
- ・ 根拠となる文献又はデータの提示

**6 宿主又は宿主の属する分類学上の種との相違**

- ・ 遺伝子組換えウイルスに対する供与核酸が与える影響を下記の事項で説明  
感染する動植物等の種、感染経路、増殖能、伝播様式等、生物多様性への影響
- ・ 非増殖性の遺伝子組換えウイルスの場合、感染した細胞内で増殖能を獲得する可能性を低減化するためのベクター設計上の工夫を記載
- ・ 細胞内でゲノム複製の性質を標的細胞の種類や状態で記載

### 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、運搬及び廃棄ならびにこれらに付随する行為

#### 2 使用等の方法

- ・基本的に第一種使用規程承認申請書中の「使用等の内容」と同一の記載
- 1) 輸送方法・保管方法
- 2) 投与用試料の調製方法及び投与方法
- 3) 滅菌処理・廃棄方法
- 4) 投与時及び管理期間における被験者からの環境中への拡散防止措置方法、患者管理、侵襲的に使用した器具等や排泄物等の滅菌処理・廃棄法
- 5) 被験者管理を解除する前の被験者体内で増殖能を獲得した遺伝子組換えウイルス (replication competent virus: RCV) が陰性であることを確認する方法
- 6) 個室管理解除後に遺伝子組換えウイルスが環境中に放出される可能性を管理するための方法
- ・必要に応じて施設の平面図を添付

#### 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

- ・ 被被験者への投与後、RCV を含む遺伝子組換えウイルスの検出を含めた管理方法
- ・ RCV を含む遺伝子組換えウイルスが検出された場合の対応

#### 4 生物多様性影響が生ずるおそれがある場合における生物多様性影響を防止するための措

- ・ 2 項 3) の具体的な検査法等
- ・ 排出が認められる場合はウイルスベクター投与後の被験者の管理方法。
- ・ 何らかの原因で漏出した場合のウイルス不活化の方法
- ・ 生物多様性影響が生じるおそれがない場合（患者の隔離が不要の場合）は記載不要

#### 5 実験室等での使用または第一種使用が予定されている環境と類似の環境での使用等の結果

- ・ これまでの生物多様性影響評価に関する実験の結果を記載
- ・ 希釈実験や安定性等 in vitro 実験の結果、マウス等を用いた in vivo 実験の結果

#### 6 国外における使用等により得られた情報

- ・ 同様のベクターを用いた遺伝子治療が行われていれば、その臨床結果と生物多様性影響に関する結果（野生型ウイルスの出現や患者管理について等）

## 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微生物の特定
  - (2) 影響の具体的内容の評価
  - (3) 影響の生じやすさの評価
  - (4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無の判断
- 
- (1) 「ヒト細胞を含む広範囲の動物種の細胞に感染するが、微生物には感染せず、影響を受ける可能性のある微生物は特定されていない。」と記載
  - (2) 該当せず
  - (3) 該当せず
  - (4) 「他の微生物を減少される性質について、第一種使用規程承認申請書に記載された遺伝子組換え生物等の第一種使用等の方法による限り、他の微生物を減少させる性質に基づいて、生物多様性の影響が生ずるおそれはないと判断される。」と記載

### 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
  - (2) 影響の具体的内容の評価
  - (3) 影響の生じやすさの評価
  - (4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無の判断
- 
- ・ アデノウイルス、パラインフルエンザウイルス等を宿主とし、被感染生物のゲノム内に組み込まれない非増殖性の遺伝子組換えウイルスであっても、野生型ウイルス（宿主）と共感染すれば増殖し得ることに注意。
  - ・ 遺伝子組換えマウスレトロウイルスの場合、内在性の増殖性レトロウイルスをもつマウス系統が多く知られており、ウイルス構造遺伝子を大幅に欠いた遺伝子組換えマウスレトロウイルスでも、マウスに感染すると増殖する可能性があるので注意。
  - ・ パッケージング細胞を使用して作製された遺伝子組換えレトロウイルスについては、遺伝子治療に使用中又は使用后、どのような構造蛋白質にパッケージされるかによって宿主域が変わり得ることに注意。
  - ・ 類似の遺伝子組換えウイルスを用いた他の遺伝子治療における重篤な副作用発現例についても、本項で評価すること。
  - ・ (3) には、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を用いた場合における「影響の生じやすさの評価」を記載すること。
  - ・ 非増殖性の遺伝子組換えウイルスであっても、被験者体内で増殖能を獲得した（Replication competent）遺伝子組換え生物に該当するウイルスが生じるおそれが完全に否定できない場合には、その増殖性ウイルスについても評価すること。
  - ・ パッケージング細胞を使用して作製された遺伝子組換えウイルスについては、遺伝子治療に使用中又は使用后、どのような構造蛋白質にパッケージされるかによって宿主域が変わり得ることに注意。

### 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の特定

- (2) 影響の具体的内容の評価
- (3) 影響の生じやすさの評価
- (4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無の判断

原則的に、供与核酸から発現する蛋白質が有害作用を持つ場合を対象とする

- (1) 「ヒト細胞を含む広範囲の動物種の細胞に感染する。」と記載
- (2) 該当せず
- (3) 該当せず
- (4) 「他の微生物を減少される性質について、第一種使用規程承認申請書に記載された遺伝子組換え生物等の第一種使用等の方法による限り、有害事象の産生性に基づいて、生物多様性の影響が生ずるおそれはないと判断される。」と記載する。

#### 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の特定
- (2) 影響の具体的内容の評価
- (3) 影響の生じやすさの評価
- (4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無の判断

・ 2項参照

#### 5 その他の性質

- ・ 核酸を垂直伝播する性質、特に染色体挿入型ウイルスの場合は垂直伝播の性質及びその可能性について記載。



## V 総合評価

- ・ IV 章各項目の評価結果の概要及びこれらの評価結果を踏まえた総合的な判断の結果を記載する。
- ・ 生物多様性影響に係るリスクの基になり得る事項の同定結果及びそれぞれについて行われたリスク評価結果を記載し、承認を受けようとしている第一種使用等の方法（リスク管理の方法）の妥当性について、リスク評価結果に基づき論理的に記載した上で、これらについての総合評価を記載する。