

# 第一種使用規程承認申請書における生物多様性影響評価書の 記載に当たっての留意事項に関する補足解説

令和3年2月版

本補足解説は、「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）（以下、「カルタヘナ法」）の対象となる遺伝子組換え生物等を含有し又は遺伝子組換え生物等から構成される医薬品、医療機器、医薬部外品、化粧品及び再生医療等製品（以下、「遺伝子組換え生物等含有医薬品等」）の第一種使用規程の承認申請に必要な生物多様性の評価に当たっての留意事項をまとめた「遺伝子組換え生物含有医薬品等の第一種使用規程の承認申請に必要な生物多様性影響の評価を実施する際の留意事項について」（平成19年9月13日、薬食発第0913005号）に、遺伝子組換えウイルスを遺伝子組換え生物等含有医薬品等として用いる場合の留意事項を補足した解説書です<sup>(※1)</sup>。

今後の運用状況等を勘案し、随時改訂していく予定です。

(※1) 本補足解説は、以下の文書を参考に作成しました。

- ・「遺伝子組換え生物等含有医薬品等の第一種使用規程の承認申請に必要な生物多様性影響の評価を実施する際の留意事項について」（平成19年9月13日付け薬食発第0913005号）
- ・「第一種使用規程承認申請書における生物多様性影響評価書の記載に当たっての留意事項に関する補足解説」（国立研究開発法人日本医療研究開発機構 医薬品等規制調和・評価研究事業 遺伝子治療におけるカルタヘナ法の第一種使用規程の考え方に関する研究 成果物）
- ・「生物多様性影響評価書作成ガイドンス（ウイルスベクター版）」（厚生労働省 革新的医薬品・医療機器・再生医療製品実用化促進事業）

# 生物多様性影響評価書

(全体的な留意事項)

遺伝子組換え生物等の使用等が適正に行われることを確保するため、生物多様性影響評価書は、原則として、第一種使用規程承認後に日本版バイオセーフティクリアリングハウス (J-BCH、<https://www.biodic.go.jp/bch/>) において公表されます (別紙は非公表)。したがって、生物多様性影響評価書に具体的な情報を一切記載せずに別紙を引用するのみ、という形式は認められないことに留意してください。

生物多様性影響評価書には、各項に対応する情報の要点を記載し、詳細な情報については引用する形で別紙に記載することが認められます。また、特許情報等、公表することにより知的財産権に支障が生じる情報等については、マスキングが認められます。

## I 宿主<sup>(※2)</sup> 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

- ・ 遺伝子組換え生物等<sup>(※3)</sup> である遺伝子組換えウイルスの宿主 (例えば、モロニーマウス白血病ウイルス、ヒト免疫不全ウイルス 1 型、アデノウイルス 5 型、アデノ随伴ウイルス 2 型、単純ヘルペスウイルス 1 型等) の分類学上の位置付け (科名、属名、種名) 及び自然環境における分布状況を記載する。
- ・ 宿主に血清型、遺伝型、株名等がある場合は、文献を引用して記載する。宿主の詳細な遺伝型や樹立方法が明らかになっている場合には、別紙に記載する。
- ・ 遺伝子組換えウイルスのゲノムの構成要素が複数の種に由来する場合は、複製様式等のウイルスの増殖に関わる機能に基づき宿主を選定する。
- ・ 遺伝子組換えウイルスの宿主を 1 つに選定できない場合は、複数の宿主を羅列してもよい。

(※2) 「宿主」とは、カルタヘナ法第 2 条第 2 項第 1 号に掲げる技術の利用により得られた核酸又はその複製物が移入されるカルタヘナ法上の生物をいい、遺伝子組換えウイルスの場合、当該遺伝子組換えウイルスの基となるウイルスをいう。

(※3) 「遺伝子組換え生物等」は法令用語で、遺伝子組換え微生物 (ウイルスを含む)、遺伝子組換え動物、又は遺伝子組換え植物等であり、異科間で細胞融合された生物を含むが、本補足解説書では「遺伝子組換え生物等」のうち、「遺伝子組換えウイルス」を対象としている。

### 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)

- ・ 同一宿主又は同種の生物を利用した遺伝子組換えウイルスについて、遺伝子治療等の目的で使用された実績又は産業利用実績について記載する。

### 3 生理学的及び生態学的特性<sup>(※4)</sup>

- (1) 基本特性
- (2) 生育又は生育可能な環境の条件
- (3) 捕食性又は寄生性
  - ・ ウイルスの場合、捕食性や寄生性は該当しないので、「該当なし」と記載する。
- (4) 繁殖又は増殖の様式

- ・細胞への感染様式・機構、感染細胞内でのゲノム増幅の様式、ウイルス粒子形成の様式、周囲の細胞への伝播の様式（細胞-細胞感染、細胞から出て遠隔感染する場合を含む）、組織・臓器指向性及びヒト以外の生物への感染の有無について記載する。

(5) 病原性

- ・感染個体での臓器別病原性、起こり得る疾患名、感染個体での発病率、不顕性感染の有無について記載する。特に人又は動物に対して著しい病原性が知られている場合は、その詳細を記載する。

(6) 有害物質の産生性

- ・ウイルスの場合、①感染細胞内で産生される宿主のウイルスゲノム由来タンパク質の有害性の有無、②有害性があるタンパク質については細胞外への分泌性の有無について説明する。有害物質の分泌性が認められない場合、「感染細胞内で宿主のウイルスゲノム由来のタンパク質が産生されるが、細胞外に分泌される有害物質は知られていない。」等のように記載する。

(7) その他の情報（不活化条件等を含む。）

- ・遺伝子組換えウイルスに対して実際に臨床適用時に使用される可能性がある不活化方法及びその使用条件を想定し、不活化条件とその根拠となる情報（文献等を含む）を記載する。使用等として実際に用いる不活化方法についても記載する。
- ・宿主の環境中（環境水<sup>(※5)</sup>や環境接触面<sup>(※6)</sup>）での生存性に関する情報があれば記載する。

その他留意点

- ・宿主の属する属の性質について記載する。
- ・宿主の属する種の一般的な性質に加えて、宿主に特有の性質も記載する。

(※4) 「生態」とは「生物が自然環境のもとで生活している様」を示す用語であり、「生態学的」とは動物や植物を念頭に記載されたものである。ウイルスの場合には感染性等の生理学的特性に関して記載する。

(※5) 「環境水」とは「水道水を含む淡水、下水汚泥、海水等」をいう。

(※6) 「環境接触面」とは「プラスチック、綿布、金属等」をいう。

## 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<sup>(※7)</sup>に関する情報

#### (1) 構成及び構成要素の由来

- ・ 供与核酸の構成要素にはタンパク質等（siRNAを含む）のコード領域（シグナルペプチドやリンカーのコード領域を含む）、転写調節エレメント（プロモーター、エンハンサー、ポリA付加シグナル等）、転写後調節エレメント（WPRE領域等）、複数の遺伝子を発現させるための配列（IRES領域、P2Aペプチド領域等）、供与核酸作製や挿入の際の制限酵素切断部位に由来する人工配列等があり、上記供与核酸が由来する生物（核酸供与体）を記載する。ただし、制限酵素切断部位に由来する人工配列の核酸供与体についての記載は不要とし、「プラスミド構築時に移入された人工配列である。」等の説明とすることでよい。宿主由来の配列であっても、その配置を変えている場合は記載する。
- ・ 別紙に、各構成要素の塩基配列を示す。塩基配列については塩基サイズ、当該塩基配列データを提供しているGenBank等のデータベース等の情報について記載する。タンパク質コード領域については、別紙にアミノ酸配列を記載する。

#### (2) 構成要素の機能

- ・ 供与核酸の各構成要素が持つ機能や特性を記載する。
- ・ 使用する転写調節エレメント（プロモーター、エンハンサー、ポリA付加シグナル等）に組織・細胞選択（指向）性があれば記載する。
- ・ 供与核酸について、データベースを用いて相同性検索を行い、その結果のまとめを記載する。（例：毒素、がん原性等の有害性を有する可能性のある塩基配列の有無。組換えにより目的外のオープンリーディングフレーム（ORF）が生じることで産生されるタンパク質が有害な機能や生理活性を有さないことの評価等）・汎用されるプラスミドの構成要素に由来する配列又は機能が明確であり、かつ、当該遺伝子配列の改変や当該遺伝子配列の前後への機能配列の付加等がなされていない場合については、相同性検索を省略することが可能であるが、その場合は相同性検索を実施しない理由を記載する。
- ・ 相同性検索の方法については、第二種使用等確認申請書（遺伝子組換え微生物）のチェックリスト（平成28年7月1日版）のC8～C11を参考にすること。

(参考)

- ・ 平成28年7月1日版 第二種使用等拡散防止措置確認申請書（遺伝子組換え微生物）チェックリスト：<https://www.pmda.go.jp/files/000212997.pdf>

(※7) 「供与核酸」とは、宿主に移入される核酸又はその複製物のうち、細胞外において核酸を加工する技術を用いて作製されたもの（ベクターを除く）をいう。

### 2 ベクター<sup>(※8)</sup>に関する情報

#### (1) 名称及び由来

- ・ 「該当なし」と記載する。

#### (2) 特性

- ・ 「該当なし」と記載する。

(※8) カルタヘナ法ではベクターを、宿主内に供与核酸を導入し複製させる核酸（大腸菌に対するプラスミドを想定）と定義している。そのため遺伝子治療で使うベクター（遺伝子組換えウイルス）はカルタヘナ法ではベクターと呼ばないことに留意。

### 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のゲノムの全体における供与核酸を含め、全ての構成要素の位置を示す。
- ・ 塩基配列上、各構成要素がどこからどこまで分かるよう示す。
- ・ ゲノムサイズが非常に大きなウイルスの場合や、反復配列が多い場合等で全塩基配列の決定が困難なウイルスの場合には、部分的に宿主の文献情報を利用して説明することも可能である。

#### (2) 宿主内に移入された核酸の移入方法

- ・ 遺伝子組換えウイルスの調製にプラスミドを使用する場合は、その概要を示し、別紙にプラスミドの構築過程及び最終的に遺伝子組換えウイルスに組み込まれる塩基配列を有するプラスミドの構造並びに構成要素の特性を示す。
- ・ 遺伝子組換えウイルスの調製にパッケージング細胞等が必要であれば、その細胞の由来と特性を示す。
- ・ パッケージング細胞が株化されている場合は、その樹立法を別紙に記載する。
- ・ 上記プラスミド、細胞株等を用いて遺伝子組換えウイルスを調製する方法を記載する。

#### (3) 遺伝子組換え生物等の育成の経過

- ・ 実施される製造方法の概要を記載する。詳細な製造方法は、概略図（フローチャート）等を用いて別紙に記載する。
- ・ 各種バンク（マスター／ワーキングウイルスバンク、ウイルス産生細胞のマスター／ワーキングセルバンク等）を作製する場合は、その概要についても記載する。
- ・ 製造場所（国内であれば県、海外であれば国名）を記載する。
- ・ 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）が検出されないこと並びに検出方法及び検出限界を記載する。詳細な品質管理方法は別紙に記載する。

### 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

- ・ 宿主に移入された核酸の存在状態を記載する。特別な性質が認められないのであれば、「移入された核酸は、遺伝子組換えウイルスのゲノムの一部として存在する。」等のように記載する。
- ・ 遺伝子組換えウイルス又は遺伝子組換えウイルスのゲノムが標的細胞内に留まる場合には、その存在位置と形態（染色体に挿入されたプロウイルス、エピソーム等）、安定性（持続性）及び供与核酸の発現の持続性について記載する<sup>(※9)</sup>。
- ・ 体外遺伝子導入に用いる場合は、標的細胞への感染方法を記載する。

(※9) VSV レンチウイルスの場合は細胞外、AAV の場合は細胞内で長期生存している例が報告されている。

### 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

#### < 非臨床試験 >

- ・ 動態及び生体内分布試験で実施した遺伝子組換えウイルスの検出方法及び感度（検出限界、定量下限等）を記載し、詳細な試験方法は別紙に記載する。

#### < 臨床試験 >

- ・野生型及び遺伝子組換えウイルスを識別する方法を記載する。
- ・採取検体、検出方法、検出方法の妥当性について概略を記載する。詳細は別紙に記載する。

## **6 宿主又は宿主の属する分類学上の種との相違**

- ・宿主又は宿主の属する分類学上の種と遺伝子組換えウイルスの構成要素や特性の相違点、生存能、増殖能、感染能、感染宿主等に関して記載する。
- ・宿主から除去された構成要素がある場合には、当該構成要素の機能及び当該構成要素を除去することによる遺伝子組換えウイルスの特性の変化についても記載する（別紙引用も可）。

### 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

- ・「第一種使用規程承認申請書」と同一の内容を記載する。

#### 2 使用等の方法

- ・「第一種使用規程承認申請書」と同一の内容を記載する。

#### 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

- ・ 以下の場合に記載する。
  - ① 遺伝子組換えウイルスの動態、生体内分布、排出に関し、評価、試験が必要な場合。
  - ② 遺伝子組換えウイルスの水平伝播（第三者への感染）又は垂直伝播（生殖細胞や子孫への感染）に関し、評価、試験が必要な場合。
  - ③ 遺伝子組換えウイルスの環境への放出及び環境中での生存能力に関し、評価、試験が必要な場合。
- ・ ①に該当する場合、排出試験計画（採取検体、採取時期、検出方法）の概略について記載する。詳細は別紙に記載する。
- ・ 情報収集をしない場合にはその理由を記載する。

#### 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置

- ・ 生物多様性に影響が生ずるおそれがない場合には、「該当なし」と記載する。
- ・ 農林水産省における緊急措置計画書に類する措置を予め定める必要があるとされた場合には、その旨記載する。
- ・ 事故等緊急時の対応について記載する。

#### 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

##### < 非臨床試験 >

- ・ 国内外で行われた非臨床安全性試験（安全性、生体内分布、排出等）の結果を記載する。
- ・ 排出の結果に関しては、特に、遺伝子組換えウイルスの投与量及び投与方法、ヒトへの想定投与量との比較、排出経路、排出期間が明確になるように記載する。
- ・ 分布の結果に関しては、特に、生殖器官への分布の有無が明確になるように記載し、分布が認められる場合には、生殖細胞の染色体への組み込みリスクについて評価すること。

##### < 臨床試験 >

- ・ 遺伝子組換えウイルスを用いた国内の臨床データ（安全性、分布、排出等）があれば記載する。また、遺伝子組換えウイルスの類縁株を用いた国内の臨床データがあれば記載する（「6 国外における使用等により得られた情報」にまとめて記載してもよい。）。詳細は別紙に記載する。
- ・ 先行する臨床試験の患者管理法があれば併せて記載する（「6 国外における使用等によ

り得られた情報」にまとめて記載してもよい。)。詳細は別紙に記載する。

## 6 国外における使用等により得られた情報

- ・ 遺伝子組換えウイルスを用いた国外の臨床データ（安全性、分布、排出等）があれば記載する。詳細は別紙に記載する。
- ・ 国際共同治験等の臨床データを、「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」の項に記載した場合は、「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」の項を引用してもよい。



## 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) ~ (4) の順を追った説明を記載する（以下、「2 病原性」、「3 有害物質の産生性」、「4 核酸を水平伝達する性質」についても同様に対応する）。
  - ・ 競合における優位性、感染細胞で発現又は分泌される供与核酸由来のタンパク質等により他の微生物（ウイルスを含む）を減少させる性質について記載する。ウイルスの場合には、(1) で特定されない場合が多い。

### 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
  - ・ 第三者が水平感染を受ける可能性があるため、第三者たるヒトも対象にし、特定された野生動植物等について記載する。
- (2) 影響の具体的内容の評価
  - ・ 宿主がもつ病原性についての記載は不要であるが、宿主の病原性に関する遺伝子を改変した場合は、具体的に説明をした上で、その病原性の変化について記載する。
  - ・ 感染細胞で発現又は分泌される供与核酸由来のタンパク質の病原性について記載する。IV章 3 有害物質の産生性 (2) に記載した場合は、IV章 「3 有害物質の産生性」 (2) を引用してもよい。
- (3) 影響の生じやすさの評価
  - ・ 当該第一種使用規程に従って第一種使用等を行う場合に、(1) で特定した野生動植物等に対する (2) の影響に関して、それらが起こる可能性（確率や頻度）を記載する。可能性がないと判断する場合には、その判断の結果を根拠とともに記載する。
- (4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無の判断
  - ・ 上記、(1) ~ (3) の内容を踏まえ、特段の問題がない場合、「当該第一種使用規程に従って使用等を行うかぎり、病原性に起因した生物多様性影響が生ずるおそれはない。」等と記載する。

#### (参考)

- ・ 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。
- ・ 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、野生型ウイルスと共感染すれば増殖し得ることに留意する。
- ・ 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、エンベロープタンパク質の性質により宿主域が変わり得ることに留意する。
- ・ 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評価する。

### 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

(2) 影響の具体的内容の評価

- ・感染細胞で発現又は分泌される供与核酸由来のタンパク質の有害性、当該タンパク質が過剰にヒト生体内で発現した場合のハザードを記載する。IV章「2 病原性」(2)に記載した場合には、IV章「2 病原性」(2)を引用してもよい。

(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

- ・上記、(1)～(3)の内容を踏まえ、特段の問題がない場合、「当該第一種使用規程に従って使用等を行うかぎり、有害物質の産生性に起因した生物多様性影響が生ずるおそれはない。」等と記載する。

### 4 核酸を水平伝達<sup>(※10)</sup>する性質

(1) 影響を受ける可能性のある野生動植物又は他の微生物の特定

(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

- ・核酸の水平伝達(伝播)が起こる前提として、遺伝子組換えウイルスの投与を受けたヒトから感染性を持った組換えウイルスが排出され、第三者のヒト等に伝播することがあるので、その確率も考慮して第三者、野生動植物、他の微生物(宿主を含む)に供与核酸を伝達する性質について以下の点を考慮し評価を記載する。

① 遺伝子組換えウイルスが投与された患者からの排出経路や排出量

② 遺伝子組換えウイルスの核酸が、感染細胞の染色体に組み込まれる可能性

③ 自然環境中に遺伝子組換えウイルスが拡散した場合のヒトを含む野生動植物等又は微生物への影響

④ 宿主又は宿主の類縁株等との相同組換え等により、宿主と同等以上の増殖性を獲得する可能性

(※10) 「水平伝達」とは、遺伝子組換え生物等から遺伝子又は遺伝子の一部が他の生物に伝達することをいう。

### 5 その他の性質

- ・上記以外の性質であって、評価を行うことが適切であると考えられるものがあれば、記載する。
- ・垂直感染が生じうる場合には、そのリスクを評価。必要に応じて対応策をIII章「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置」の項に記載する。

(参考)「遺伝子組換え生物含有医薬品等の第一種使用規程の承認申請に必要な生物多様性影響の評価を実施する際の留意事項について」(平成19年9月13日、薬食発第0913005号)(抜粋)

#### 生物多様性影響の評価の手順

##### (1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定

- ・生物多様性に関して悪影響を受ける可能性のある野生動植物等の種類を、想定される組換え生物含有医薬品等の使用条件下で、非改変生物等を使用した場合と比較するなどして、分類学上の種その他の属性により特定すること。この場合、潜在的悪影響を、蓋然性が低いという理由で無視することがないようにすること。
- ・遺伝子組換え生物等の潜在影響として以下のようなものが考えられる。
  - －毒性及びアレルギー性影響を含む野生動植物の病気
  - －受入れ環境中の種又は各生物集団の遺伝的多様性への影響
  - －感染性疾患の伝播又は新たな宿主又は媒介者の発生を促す病原体への感受性の変化
  - －人用又は動物用医薬品に用いられる抗生物質に対する耐性を付与する遺伝子を伝達することにより、治療薬等を無効にすること
  - －土壌における有機物質の分解の変化を通じた炭素及び窒素の再循環等の生物地球科学的影響
  - －遺伝子組換え生物等の環境への伝播
  - －挿入遺伝子の他の生物への伝達
  - －他の生物との相互作用

##### (2) 影響の具体的内容の評価

(1)で特定又は選定された野生動植物等が組換え生物等含有医薬品等から受ける潜在的悪影響の具体的内容とその重篤度について評価すること。本評価は、影響の重篤度は組換え生物等含有医薬品等が放出される環境及び放出の方法に影響を受けるものであることに留意し、そのような悪影響が起きるものと仮定して行うこと。

##### (3) 影響の生じやすさの評価

第一種使用規程に従って第一種使用等した場合に、(1)で特定又は選定された野生動植物等が遺伝子組換え生物等から受ける悪影響の生じやすさの程度について評価すること。悪影響の生じやすさを評価する際の主たる要素は、遺伝子組換え生物等の放出が意図されている環境の特性と放出の方法であること。

##### (4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断

悪影響を引き起こす可能性のある遺伝子組換え生物等により引き起こされる生物多様性へのリスク(当該野生動植物の種又は個体群の維持に支障が生じるおそれ)の推定は、最新の方法を用い、悪影響が生じる可能性とそれが起こった場合の帰結の重篤度とを組み合わせることにより、可能な限り行わなければならないこと。

## V 総合評価

IV章の全項目の評価結果の概要を説明した上で、総合的判断を記載する。最後は、「したがって、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を行う限り、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がないと判断される。」等で締める。