

第14回 バイオロジックスフォーラム
平成29年1月12日 文京シビックホール

カルタヘナ法の現状について:カルタヘナ法に基づく遺伝子治療用製品等の第一種使用の適用と海外動向

▶金沢工業大学/日本薬科大学 山口照英

本日の内容

- ・ 遺伝子組換え実験に対する規制の流れ
- ・ カルタヘナ議定書と国内法
- ・ 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
カルタヘナ法
- ・ カルタヘナ第一種使用のより合理的な運用
- ・ 海外の環境影響評価との比較

遺伝子組換え体を第一種使用を目指した動き

大阪大学・みどりの適塾

サントリーの青いカーネーション カルタヘナ第一種使用の承認



遺伝子組み換え体を持つ様々な「社会的な誤解」とカルタヘナ法をどのように乗り越えることが可能か？



みどり(適塾)では、ホテルよりも100倍以上明るく発光化学発光タンパク質をはじめとした植物活用テクノロジーの知識を共に考える議論を2016年9月16日にスタートしました。第20日となる今回のデザイン思考では、前回のアイデアをベースに、新たな参加者とアイデアを巡え、遺伝子組み換え体である「完全植物」に立ち戻らざるを得ない状況で、遺伝子組み換え体を持つ様々な「社会的な誤解」やカルタヘナ法をどのようにクリアできるのかという課題解決を考える議論を行います。社会の様々な方々(企業やみどりテクノロジーに興味をもちたい方々)・自治体との連携によるオープン

発光植物を用いた街路樹作製

13:30 ~ 14:30 招請講演「カルタヘナ法にふれて：遺伝子組換え体の社会普及が迫る課題（仮）」
 14:30 ~ 14:50 招請講演「小池 啓（大阪立大学大学院 生命環境科学研究科 教授）
 14:50 ~ 15:00 休憩
 15:00 ~ 15:45 FGDFocus Group Discussion | グループ編成→ディスカッション |
 「第1回日に導き出されたアイデア（グループごと）を整理するため、
 どのようにカルタヘナ法に乗りこえる課題を共有したいか？」
 「一般の人々による誤解をどのように乗り越えることが可能か？」
 15:45 ~ 16:15 各グループから導き出された課題解決法の共通項を見出す共同検討作業
 16:15 ~ 16:45 各グループから導き出された課題解決法の共通項を見出す共同検討作業
 16:45 ~ 17:00 第2回目に向けた議論提示、議論整理
 17:00 ~ 付添のエリアで交流会
 <主催> みどり(適塾)会 (http://www.sanken.osaka-u.ac.jp/RAIS/foresight/b2/b2_2/midori.html)
 <協力> 大阪大学産業科学研究所・(一財)大阪大学産学科学研協会・(一社)テクノプロジェクト
 申し込み先：みどり(適塾)会事務局 加藤久明 (大阪大学産学科学研協会 事務局長 加藤久明)
 (E-mail : hisaaki@sanken.osaka-u.ac.jp FAX : 06-6879-8448)

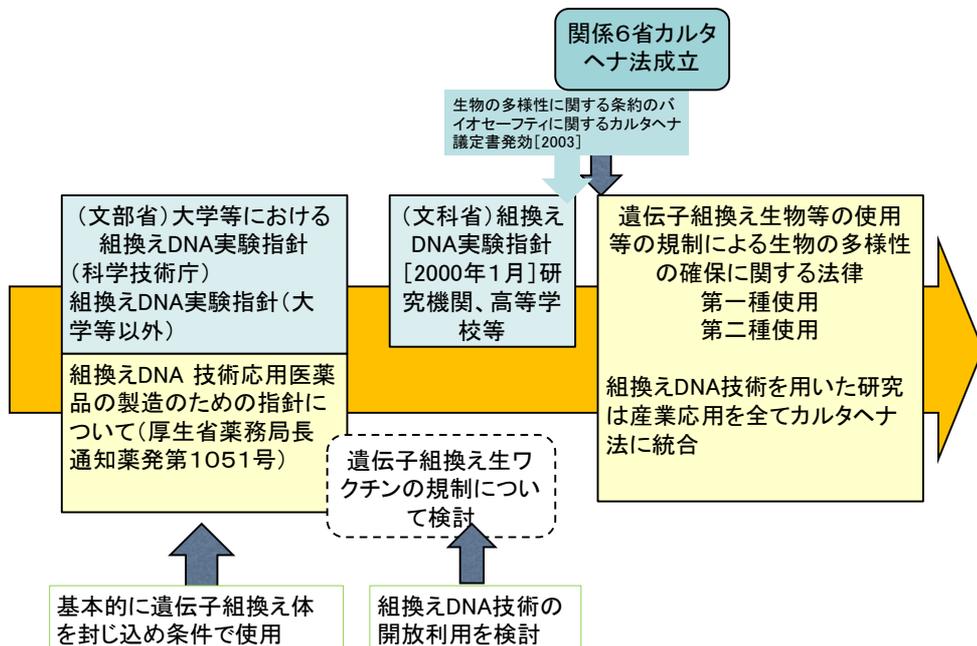
遺伝子組換え植物(農作物、樹木) 承認した遺伝子組換え農作物数(平成28年11月25日現在)

作物名	一般的な使用	うち栽培可	隔離ほ場試験のみ
	アルファルファ	5	5
イネ	0	0	21
カーネーション	8	8	1
シクラメン	0	0	2
セイヨウナタネ	15	13	1
ダイズ	24	19	4
テンサイ	1	1	0
トウモロコシ	75	73	12
パパイヤ	1	1	0
バラ	2	2	0
ベントグラス	0	0	1
ワタ	33	0	0
合計	164	122	42

カルタヘナ法に基づき第一種使用規程を承認した遺伝子組換え生ワクチン一覧(注1)(承認順)(平成28年9月23日現在)

生物名	名称及び承認取得者	接種対象動物	承認日
ポックス ウイルス	猫白血病ウイルス由来防御抗原蛋白発現遺伝子導入カナリア痘ウイルスALVAC(vCP97株)(FeLV-env,gag,pol,Canarypox virus)【メリアル・ジャパン株式会社】	猫	2008年 1月18日
ヘルペス ウイルス	ニューカッスル病ウイルス由来F蛋白遺伝子導入マレック病ウイルス1型207株(NDV-F、Herpesviridae Alphaherpesvirinae Mardivirus Gallid herpesvirus2 (Marek's disease virus serotype 1))(セルミュンN)【財団法人化学及血清療法研究所】	鶏	2009年 6月9日
大腸菌	aroA 遺伝子欠損鶏大腸菌 EC34195 株(ポールバック E.coli) (Escherichia coli)【ゾエティス・ジャパン株式会社】	鶏	2015年 2月4日
ヘルペス ウイルス	ニューカッスル病ウイルス由来 F 蛋白質遺伝子導入七面鳥ヘルペスウイルス HVT-NDV/F 株(NDV-F,Meleagrid herpesvirus 1 (Herpesvirus of turkey, Turkey Herpesvirus, Marek's disease virus serotype 3))【株式会社インターベット】	鶏	2016年 1月26日
ヘルペス ウイルス	伝染性ファブリキウス嚢病ウイルス由来 VP2 蛋白発現遺伝子導入七面鳥ヘルペスウイルス vHVT013-69 株 (IBDVVP2,Meleagrid herpesvirus 1)【メリアル・ジャパン株式会社】	鶏	2016年 9月23日

遺伝子組換え応用技術の規制からカルタヘナ法へ



本日の内容

- 遺伝子組換え実験に対する規制の流れ
- カルタヘナ議定書と国内法
- 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
カルタヘナ法
- カルタヘナ第一種使用のより合理的な運用
- 海外の環境影響評価との比較

生物の多様性に関するバイオセーフティに関するカルタヘナ議定書

- 第1条 目的
- この議定書は、環境及び開発に関するリオ宣言の原則15に規定する予防的な取組方法に従い、特に**国境を越える移動に焦点**を合わせて、現代の**バイオテクノロジーにより改変された生物**であって生物の多様性の保全及び持続可能な利用に**悪影響**(人の健康に対する危険も考慮したもの)を及ぼす可能性のあるものの**安全な移送、取扱い及び利用の分野において十分な水準の保護**を確保することに寄与することを目的とする。

生物の多様性に関するバイオセーフティに関するカルタヘナ議定書

- 第2条 一般規定
 1. 締結国は、この議定書に基づく義務を履行するため、必要かつ適当な法律上の措置、行政上の措置その他の措置をとる。
 2. 締結国は、人の健康に対する危険も考慮して、改変された生物の作成、取扱い、輸送、利用、移送及び放出が生物の多様性に対する危険を防止し又は減少させる方法で行われることを確保する。
 3. 以下略

生物の多様性に関するバイオセーフティに関するカルタヘナ議定書

- 第2条 一般規定
 1. 締結国は、この議定書に基づく義務を履行するため、必要かつ適当な法律上の措置、行政上の措置その他の措置をとる。
 2. 締結国は、**人の健康に対する危険も考慮して**、改変された生物の作成、取扱い、輸送、利用、移送及び放出が生物の多様性に対する危険を防止し又は減少させる方法で行われることを確保する。
 3. 以下略

生物の多様性に関するバイオセーフティに関するカルタヘナ議定書

適用範囲

- 改変された生物の国境を越える移動、通過、取扱い及び利用について適用
- 医薬品である改変された生物の国境を越える移動については、適用しない

カルタヘナ議定書の概要

- 主な措置：LMOを、
 - ① 環境への意図的な導入を目的とするもの（種子など）
 - ② 拡散防止措置の下での利用を目的とするもの
 - ③ 食用、飼料用、加工用を目的とするもの**3つのカテゴリー**に分け、それぞれに対応した安全な取扱い、包装および輸送、必要な情報の提供を義務付ける
- 議定書締約国：170の国および地域
(USAは批准していない)

欧米における環境影響評価とカルタヘナ法の運用

- 米国はカルタヘナ議定書を批准していないが
 - FDAは連邦法の環境影響評価とICHガイドライン等により組換えウイルス等の排出リスク及び環境影響評価を求めている
 - Determining the Need for and Content of Environmental Assessments for Gene Therapies, Vectored Vaccines, and Related Recombinant Viral or Microbial Products
 - CFR – Code of Federal Regulations Title 21 FOOD AND DRUGS CHAPTER I—FOOD AND DRUG ADMINISTRATION DEPARTMENT OF HEALTH AND HUMAN SERVICES SUBCHAPTER A—GENERAL PART 25 ENVIRONMENTAL IMPACT CONSIDERATIONS⁹
- EUはカルタヘナ議定書を批准している
 - 組換えウイルス等の承認に際しては、環境評価を求めている
 - Guideline on scientific requirement for the environmental risk assessment of gene therapy medicinal products London, 30 May 2008 Doc. Ref. EMEA/CHMP/GTWP/125491/2006 (EU指令Directive 2001/83/EC.)
 - 4遺伝子治療薬が承認—審査報告書で環境影響評価
 - リスク評価に基づくウイルス排出管理
 - 細部は各国の事情に合わせて



環境影響評価とカルタヘナ法に基づく生物多様性影響評価は同じか？

環境影響評価とカルタヘナ条約 各国の運用

欧米は組換え生物を用いたIND申請、医薬品としての承認時にカルタヘナに基づいて環境への影響を評価しているわけではない。

全ての環境影響評価は法的規制力をもって運用されている

米国：連邦法、EU:EU指令

クアラルンプール-名古屋補足議定書

目的(第1条)

遺伝子組換え生物(LMO: Living Modified Organisms)に関連する責任及び救済の分野における国際的な規則及び手続きを規定することにより、生物多様性の保全及び持続可能な利用に寄与すること。

適用範囲(第3条)

「損害」や「管理者」、「対応措置」等、本補足議定書において用いられる語句を定義。

- ・「損害」…生物多様性の保全及び持続可能な利用に対する悪影響であって、測定又は観察可能な、著しいもの
- ・「管理者」…国内法で定める、直接的又は間接的にLMOを管理する者(開発者、生産者、上市者、輸出者、輸入者、運送者、供給者等)
- ・「対応措置」…損害の防止、最小化、限定、緩和、回避又は復元のための合法的な措置

対応措置(第5条)

損害が生ずる場合に、締約国が管理者に要求する事項(損害の報告、対応措置の実施等)、及び締約国の権限のある当局が行う事項(損害を引き起こした管理者の特定、損害の評価及び対応措置内容の決定)等について規定。

また、管理者が対応措置をとることができない場合等に、権限のある当局は、自ら適当な対応措置をとることができることを規定。

クアラルンプール-名古屋補足議定書

金銭上の保障(第10条)

締約国は、自国の国内法において金銭上の保障を定める権利を有し、その権利は国際法と整合を取って行使されなければならないことを規定。

民事責任との関係(第12条)

締約国は、民事責任に関する自国の国内法において、損害に関連する物的又は人的損害について適当な規則及び手続きを定めることを規定(既存の法律の適用を含む)。

国境を越えてLMO(GMO)を移動させたことにより、相手国の生物多様性に大きな損害を与えた場合(人的被害を含める)に、相手国が輸出企業に対する損害賠償(原状復帰)を求める権利を有すること

この場合の生物多様性は全ての生物に適用されるのか? ⇒ 例示的には「国立公園などの貴重な動植物を指している」

クアラルンプール-名古屋補足議定書

- 「バイオセーフティに関するカルタヘナ議定書の責任及び救済に関する名古屋・クアラルンプール補足議定書に対応した国内措置のあり方について(答申案)」に関する**意見募集(パブリックコメント)**について(平成28年10月27日 環境省)

- 「中央環境審議会自然環境部会遺伝子組換え生物等専門委員会は、「バイオセーフティに関するカルタヘナ議定書の責任及び救済に関する名古屋・クアラルンプール補足議定書に対応した国内措置のあり方について(答申案)」を取りまとめた。

2000年1月に採択された生物の多様性に関する条約のバイオセーフティに関するカルタヘナ議定書(以下「カルタヘナ議定書」という。)は、現代のバイオテクノロジーにより改変された生物(Living Modified Organism。以下「LMO」という。)が、生物の多様性の保全及び持続可能な利用に及ぼし得る悪影響を防止するための措置を規定している。

カルタヘナ議定書第27条では、カルタヘナ議定書第1回締約国会合(COP-MOP1)後4年以内に、カルタヘナ議定書採択時に合意に至らなかった「責任と救済」に関する制度、すなわち**LMOが国境を越えて移動することによって生物多様性の保全及び持続可能な利用に損害が生じた際の責任と救済に関する国際的な規則と手続を作成する**作業を完了するよう努めることとされた。

氏名	区分	所属・職名
明石 博臣	専門委員	国立大学法人東京大学名誉教授
穴澤 秀治	専門委員	一般財団法人バイオインダストリー協会先端技術開発部長
○ 磯崎 博司	専門委員	上智大学客員教授
伊藤 元己	専門委員	国立大学法人東京大学大学院総合文化研究科教授
大澤 良	専門委員	国立大学法人筑波大学生命環境系教授
大塚 直	臨時委員	早稲田大学大学院法務研究科教授
鎌形 洋一	専門委員	国立研究開発法人産業技術総合研究所生命工学領域研究戦略部長
五箇 公一	専門委員	国立研究開発法人国立環境研究所生物・生態系環境研究センター主席研究員
佐藤 忍	専門委員	国立大学法人筑波大学生命環境系教授
柴田 明穂	臨時委員	国立大学法人神戸大学大学院国際協力研究科教授
山口 照英	専門委員	日本薬科大学客員教授

(意見1)

農作物等を含むすべての生物を対象とするようカルタヘナ国内法を改正すべきです。また、補足議定書への対応についても、予防原則に基づき、復元の対象となる「損害」の範囲に農作物を含むべきです。(14件)

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」といいます。)は、国際的に協力して生物の多様性の確保を図るため、遺伝子組換え生物等の使用等の規制に関する措置を講ずることにより生物の多様性に関する条約のバイオセーフティに関するカルタヘナ議定書(以下「カルタヘナ議定書」といいます。)の的確かつ円滑な実施を確保すること等を目的としており、我が国で遺伝子組換え生物を使用等するに当たって、あらかじめカルタヘナ法に基づき、申請ごとに評価を行うこと等により、遺伝子組換え生物等による生物多様性への影響の未然防止を図っています。

カルタヘナ議定書では、**生物の多様性の保全及び持続可能な利用への悪影響を防止することを目的としており、農作物への影響は、その適用対象ではないと解釈**されています。したがって、同議定書の国内担保法たるカルタヘナ法でも、生物多様性への影響について、具体的には、**野生動植物の種又は個体群の維持に支障を及ぼす影響**が生ずるおそれがないか等について評価しています。ご指摘の**農作物は、人が野生植物から改良を重ねて作り出した植物であり、人が作り出す環境に適応した植物であることから、生物多様性の構成要素である野生動植物とは異なるものとして、生物多様性影響評価の対象とはしていません。**

ヒトが作り出した栽培動植物は対象外

事例 「Rubisco 過剰生産イネ (RBCS2-sense, Oryza sativa L.) (Sr26-8)」の第一種使用規定

隔離ほ場の施設

- (1) 隔離ほ場施設(東西約56m×南北約95m)内の砂質水田(東西25m×南北20m)を使用する。本隔離ほ場の排水は、施設内周辺の排水パイプに回収され、ため池に入り、循環する設備となっている。なお、排水路を通して循環される水の一部は、この隔離ほ場の土質は火山灰土壌であるため排水性が良く、結果として浸透する。しかし、浸透であるため、種子の隔離ほ場外への流出はない。また、二重の安全のために、隔離ほ場の周囲(フェンスの内側)に、深さ30cmの堀を築き、時間雨量300mm程度でも、**種子が隔離ほ場外に流れることはない設計**となっている。
- (2) 部外者の立入りを防止するために、隔離ほ場全体の外側に、メッシュフェンス(高さ185cmの5cmメッシュのフェンスを50cm四方のブロック塊支柱に埋め込む)を設置している。
- (3) 隔離ほ場であること、部外者は立入禁止であること及び管理責任者の氏名を記載した標識を見やすい所に掲げている。
- (4) **花粉の飛散を防止するために、隔離ほ場から東側の一般農家ほ場と西側の研究ほ場側は高さ20m以上の樹木(防風林)で覆われている。また花粉の飛散や小動物による種子の隔離ほ場外への流出を防ぐために、イネの最終葉である止葉の出現した時から収穫時まで、防雀網(2cmメッシュ)を、栽培しているイネを覆うように設置する。**
- (5) 本隔離ほ場には、使用した機械、器具、靴等に付着した土を洗浄するための洗場を設置している。
- (6) **本隔離ほ場は、直近の一般農家水田からおよそ400m、また直近の東北大学大学院農学研究科附属複合生態フィールド教育研究センターの実験ほ場(水田)からおよそ200m離れた場所に位置する。**

2 隔離ほ場の作業要領

- (1) 本遺伝子組換えイネ及び比較対象のイネ品種以外の交配可能な植物が隔離ほ場内の栽培実験区画で生育することを最小限に抑える。

「Rubisco 過剰生産イネ (RBCS2-sense, Oryza sativa L.) (Sr26-8)」の第一種使用規定

隔離ほ場の施設

- (1) 隔離ほ場施設(東西約56m×南北約95m)内の砂質水田(東西25m×南北20m)を使用する。本隔離ほ場の排水は、施設内周辺の排水パイプに回収され、ため池に入り、循環する設備となっている。なお、排水路を通して循環される水の一部は、この隔離ほ場の土質は火山灰土壌であるため排水性が良く、結果として浸透する。しかし、浸透であるため、種子の隔離ほ場外への流出はない。また、二重の安全のために、隔離ほ場の周囲(フェンスの内側)に、深さ30cmの堀を築き、時間雨量300mm程度でも、**種子が隔離ほ場外に流れることはない設計**となっている。
- (2) 部外者の立入りを防止するために、隔離ほ場全体の外側に、メッシュフェンス(高さ185cmの5cmメッシュのフェンスを50cm四方のブロック塊支柱に埋め込む)を設置している。
- (3) 隔離ほ場であること、部外者は立入禁止であること及び管理責任者の氏名を記載した標識を見やすい所に掲げている。
- (4) **花粉の飛散を防止するために、隔離ほ場から東側の一般農家ほ場と西側の研究ほ場側は高さ20m以上の樹木(防風林)で覆われている。また花粉の飛散や小動物による種子の隔離ほ場外への流出を防ぐために、イネの最終葉である止葉の出現した時から収穫時まで、防雀網(2cmメッシュ)を、栽培しているイネを覆うように設置する。**
- (5) 本隔離ほ場には、使用した機械、器具、靴等に付着した土を洗浄するための洗場を設置している。
- (6) **本隔離ほ場は、直近の一般農家水田からおよそ400m、また直近の東北大学大学院農学研究科附属複合生態フィールド教育研究センターの実験ほ場(水田)からおよそ200m離れた場所に位置する。**

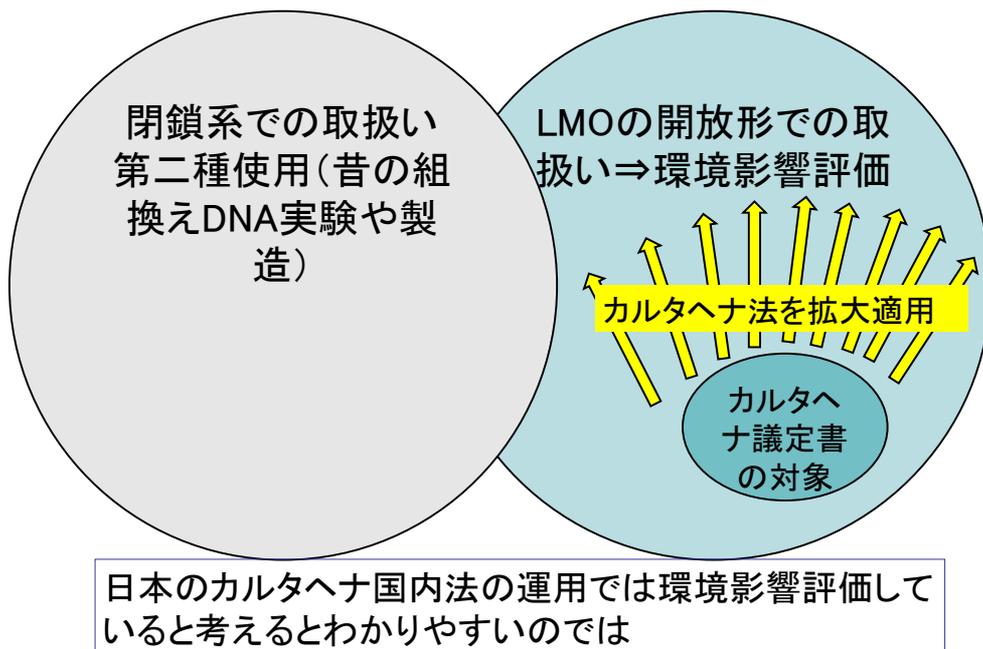
2 隔離ほ場の作業要領

- (1) 本遺伝子組換えイネ及び比較対象のイネ品種以外の交配可能な植物が隔離ほ場内の栽培実験区画で生育することを最小限に抑える。

● 我が国のカルタヘナ法による第一種使用では栽培品種に対してもリスクアセスメント行っており、影響を与えないような栽培方法を求めている

● 海外でもカルタヘナ議定書を批准しているが、その対象は極めて限定されている

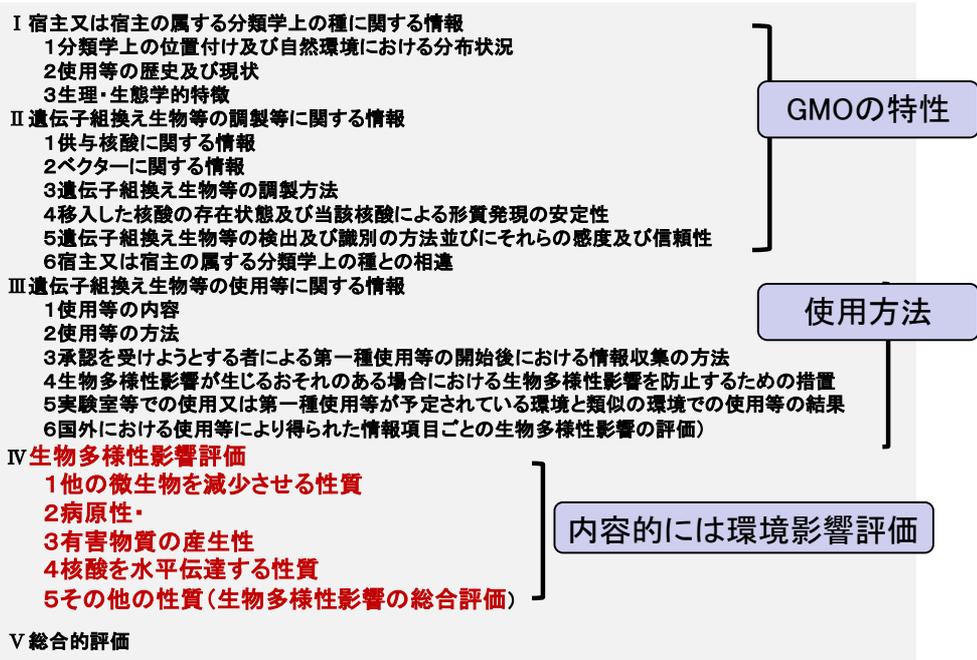
環境影響評価
としての対象
に相当



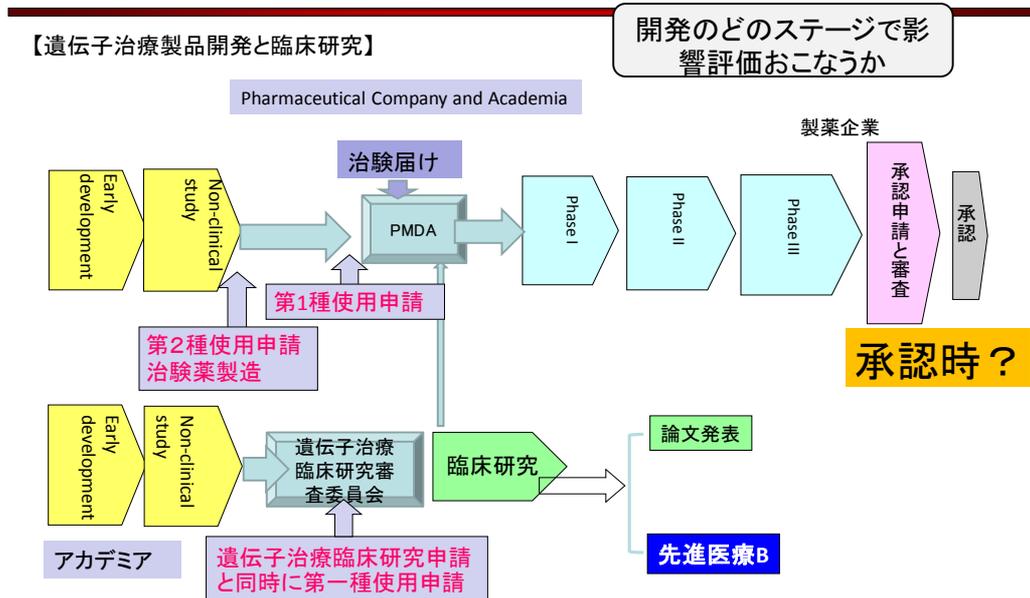
本日の内容

- 遺伝子組換え実験に対する規制の流れ
- カルタヘナ議定書と国内法
- 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
カルタヘナ法 (運用のされかた)
- カルタヘナ第一種使用のより合理的な運用
- 海外の環境影響評価との比較

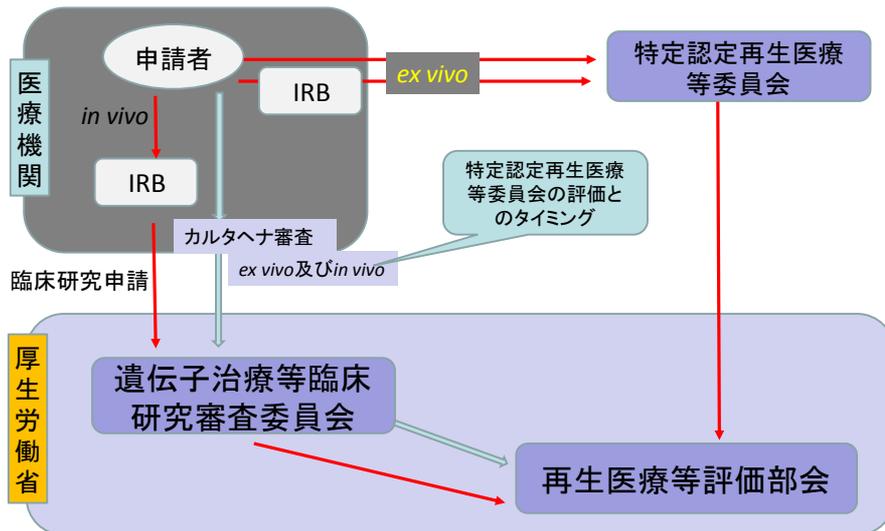
生物多様性影響評価書(遺伝子治療臨床研究)



遺伝子治療開発と生物多様性評価

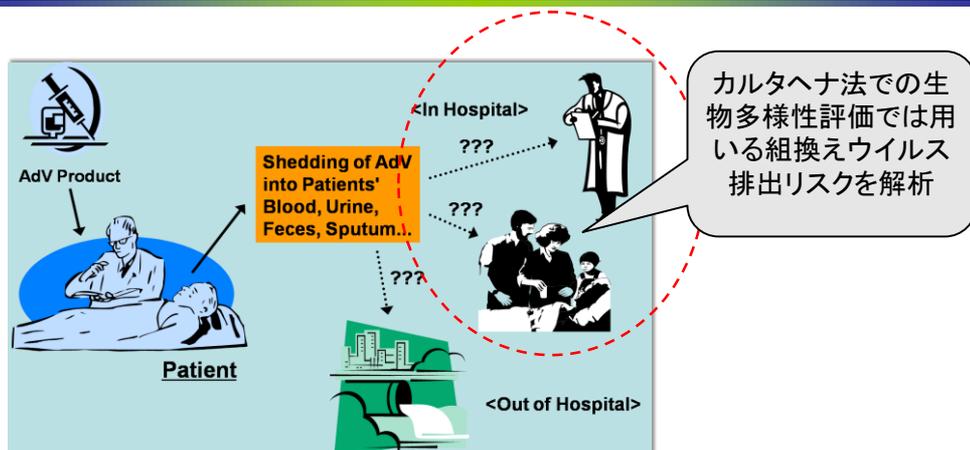


遺伝子治療臨床研究とカルタヘナ第一種使用審査



- 1) Ex vivo遺伝子治療臨床研究についても審査が可能な特定認定再生医療等委員会が設置されている
- 2) in vivo遺伝子治療等臨床研究審査委員会ではカルタヘナの第一種使用審査が臨床研究の審査と同時に実施されるが、ex vivo遺伝子治療は特定認定委員会の審査と別に第1種審査が実施される

ICH 見解「ウイルスとベクターの排出に関する基本的な考え方」



- 遺伝子治療を受けた患者からウイルス/ベクターが排出（体外放出）される可能性と、これに伴う第3者への伝搬リスクを評価
- 排出の検出手法、非臨床試験の考慮事項（動物種の選択他）、臨床試験での考慮事項などを提案

ICH 見解「ウイルスとベクターの排出に関する基本的な考え方」

- ウイルス/ベクターの生物学的性質
 - 増殖型
 - 制限増殖型
 - Molecular variant
 - 感染の持続期間
 - 細胞親和性
 - 患者の免疫機能
- 分析検査方法
 - 規格: 特異性, 感度, 再現性, 定量性
 - 検査方法: PCR/感染価測定
- 非臨床試験
 - 感受性のある動物種を選択
 - 投与量, 投与経路
 - 試験期間
 - 排出されたウイルスの検査方法
 - 非臨床試験データの解釈
- 臨床試験
 - サンプル採取の頻度と期間
 - 臨床試験の初期から
 - 排出されたウイルスの検査方法
 - 伝搬の可能性評価
 - 第三者への伝搬の防止

ICH見解は環境影響やカルタヘナ法を目的としたものではないが、技術的な要件や動物での試験方法、臨床試験でのモニタリング法など考え方を提示している

動物での排出試験、ヒトでのモニタリング

- 試験法
 - qPCR (高感度であるが、感染性の無いものまで測定)
 - 感染性試験(感度が低い、検体によっては適用が困難)
 - ELISAなどによるウイルス抗原検出(感度は低い)
- 血中のウイルスの測定(排出を示すわけではないが血中でウイルスが検出されれば排出リスクが存在)
- Biodistribution (生体内分布):
- 増殖性ウイルス: 非増殖性ウイルスベクターでの相同組換えによる出現リスク

生体内分布試験

- 遺伝子治療用製品に求められる試験
 - qPCR等(或は発現タンパク質の検出)の手法を用いて解析
 - 検出感度の妥当性
 - 発現の確認とその持続性の確認
- 有効性の評価(ターゲット細胞・組織への分布の確認)
- 安全性評価(生殖細胞への分布、目的外細胞・組織への分布)
 - 発現タンパク質の生体への影響
 - コアバッテリー組織への影響
 - 生体内分布がない組織でも安全性上のターゲットとしなくてよいわけではない

排出部位の
推定など

第一種使用評価のポイント

- 適用範囲
 - 組換えウイルス、組換え細菌、遺伝子改変細胞*
- ウイルスベクターの特性
 - 体外での安定性、バイレミアを起こさないウイルスの評価、飛まつ感染の有無
- 投与方法、投与量
 - in vivo投与かex vivo投与(遺伝子改変細胞)
 - 投与部位(脳内接種ではバイレミアを起こしにくい可能性)
- 増殖性ウイルス
 - ベクター設計の重要性(増殖ウイルス出現の起こりにくいベクター設計: 不要な遺伝子の削除、野生型ウイルスとのホモロジーが無いような配列設計)
 - 腫瘍溶解ウイルスなど増殖性を持つウイルスベクター ⇒ 2nd ピークの出現、より長期にわたる排出のリスク

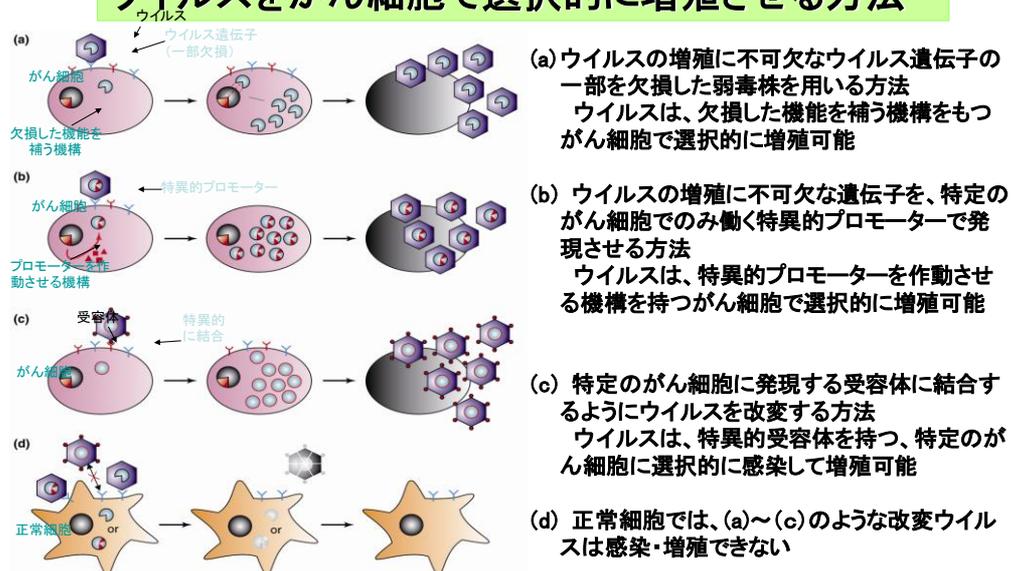
遺伝子組換え細菌を用いたがん治療薬

- 組換えListeriamonocytogenesを用いたがん免疫療法
- 組換えClostridium novyi-NTを用いた腫瘍溶解療法
- 組換えビフィズス菌製剤を用いた癌治療

	<i>Viral vectors</i>	<i>Nonviral vectors</i>	<i>Bacterial vectors</i>
安全性	+	+++	+
効率	+++	+	+
生産コスト	+	++	+++
生産性	+	++	+++
デリバリー	++	+	+++
導入DNA	++	+	+++

腫瘍溶解性ウイルス (Oncolytic Virus; OV) ICH見解

ウイルスをがん細胞で選択的に増殖させる方法



Ries and Brandts, DDT 9, 759 (2004) Fig.1より改変

排出されたウイルスベクターのリスク低減化策

- 高濃度ウイルスベクターが排出されるリスク
 - 投与部位からの排出、宿主ウイルスの伝播様式
 - 対策: 個室管理 ⇒ 密閉ドレッシング材による被覆
 - 排出のモニタリング
 - 患者への接触の制限
- 患者からの排出物
 - GMO (LMO) を不活化してからの廃棄 (患者の教育)
 - 物理的な避妊
- 治療に用いた器具
 - 感染性廃棄物としての取り扱い
 - 不活化処理

カルタヘナ第一種使用の規制の変遷

2003-2012 / 2013ごろまで

多くの臨床研究で、遺伝子治療を受けた患者はウイルス排出が認められなくなるまで個室管理を求められた (最長7日間)。排出が認められなくなるまでという規定もあった。

2012/2013-

個室管理の期間は短くなる傾向 (1日から3日)。ベクターへの環境暴露を最小限にするための方策とモニタリングの必要性。

2014-2016

レトロウイルスベクターを用いた細胞外にウイルスやウイルスベクターが存在しないことを科学的に説明可能であれば第一種使用には該当しないとする考え方が示さる (薬事開発でも臨床研究でも)。

ウイルスsheddingのモニタリング計画: 臨床試験初期に十分な評価ができており、一定の排出パターンが確認されれば、以降のモニタリングは不要にすることも可能となった。

海外で既に環境影響強化を受けていたウイルスベクターを、同一の被験者、同一の用法 / 用量で用いる場合、第1種使用申請は不要か? 必要との回答

本日の内容

- 遺伝子組換え実験に対する規制の流れ
- カルタヘナ議定書と国内法
- 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
カルタヘナ法
- カルタヘナ第一種使用のより合理的な運用
- 海外の環境影響評価との比較

カルタヘナ法の柔軟な適用

- 個室管理日数の縮小 ⇒ 密閉ドレッシング材などの排出防止策の適用
- ex vivo遺伝子治療 ⇒ 細胞外にウイルス(ウイルスベクター)が残存していなければ適用外とする
- 手続きの簡略化

手続の簡素化のために

- ウイルスが残存していなければ第一種使用申請不要
- 第一種使用取り扱い規程に汎用性を持たせる
- 患者の個室管理期間を変更できるような第一種使用取り扱い規程も認める

遺伝子導入細胞の製造に用いられた非増殖性遺伝子組換えウイルスの残存に関する考え方について（平成25年12月16日 薬事・食品衛生審議会生物由来技術部会）

以下に掲げるいずれの要件も満たす場合は、ex vivo遺伝子治療における遺伝子導入細胞に遺伝子組換えウイルスは残存していないものとした

- 1 遺伝子組換えウイルスについて
 - ① レトロウイルス科ウイルス(ガンマレトロウイルス属、レンチウイルス属など)であること
 - ② 非増殖性のコンストラクトになっており、製造において増殖性ウイルス(以下「RCV」という。)が容易に出現しないようにデザインされた遺伝子改変がなされていること
 - ③ 製造された遺伝子組換えウイルスについて、RCV が検出限界以下であること
- 2 遺伝子導入細胞の製造方法について

以下のような方法により、細胞外液中の遺伝子組換えウイルスが適切に失活／希釈除去されていることが見込まれること。

 - ・遺伝子導入以降に、当該ウイルスの感染能の半減期に比して十分に長く培養されること
 - ・遺伝子導入工程以降で複数回の洗浄操作がなされていること
- 3 遺伝子導入細胞について

適切にバリデートされ、又は試験法の妥当性が広く支持されている検出系により、用いた遺伝子組換えウイルス及びRCV が検出限界以下であることを確認していること。なお、遺伝子導入細胞の複数ロット(ロットを形成しないものにおいては、個別に調製した由来の異なる複数の検体)において確認することが望ましい。
- 4 同一製品又は類似製品での知見について

同一製品又は同種のウイルスを用いて製造された類似製品について、海外臨床試験や国内遺伝子治療臨床研究等で臨床使用実績がある場合には、それらの試験等において遺伝子組換えウイルスの残存や顕在化を疑わせるような知見が得られていないこと。

- 問12 既に遺伝子治療臨床研究として第一種使用規程の承認を受けた遺伝子治療用製品について治験を実施しようとする場合には、改めて、当該承認を受ける必要があるか。

- (答)
臨床研究において定めた第一種使用規程を遵守しながら、治験を実施することができるのであれば、改めて第一種使用規程を定めるために承認を受ける必要はない。

本日の内容

- 遺伝子組換え実験に対する規制の流れ
- カルタヘナ議定書と国内法
- 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
カルタヘナ法
- カルタヘナ第一種使用のより合理的な運用
- 海外の環境影響評価との比較

EMA 審査報告書 Strimvelis (ADA導入自己CD34細胞)

環境毒性 & 環境リスク評価

- 対象は第三者、動物、植物を含む環境全般
- 評価結果は非臨床の毒性の項に記載
- 遺伝子導入された細胞 (Strimvelis) と ADA lentivirus の特性を考慮
- 医療従事者への影響を避ける治療場所を限定した使用
- 投与部位からの漏れ出しを防ぐ非開放系での使用をとることにより環境への伝播を防止
- 20年近くにわたる使用経験から環境へのリスクが少ないことを確認
- 増殖性ウイルスの出現リスクについても考察し、臨床試験でRCRの検出が無いこと、患者のなかで野生型のレトロウイルスと組換えがおきにくい設計となっている (ホモロジーをできる限り低減化)

EMA 審査報告書 Zalmoxis (HSV-Tk同種T細胞)

環境毒性 & 環境リスク評価

- 対象は第三者、動物、植物を含む環境全般
- 評価結果は非臨床の毒性の項に記載
- 遺伝子導入された細胞 (Strimvelis) と γ -retrovirus の特性を考慮したリスク評価
- 医療従事者への影響を避ける治療場所を限定した使用
- Phase I/II と Phase III で2つのベクターを使用
- ベクターの伝播リスクはベクターそのものないしはプロウイルスが生殖細胞に入ったときのみ起こりうると推定
- Viral-shedding に関する解析は実施されていない (遺伝子組換えT細胞にはフリーのウイルスベクターは含まれていない)
- 生殖細胞へのベクター分布のリスクは無いと判断 (3箇所の変異を導入したベクターであるためRCRのリスクはほぼ無い、T細胞系のみ増幅する条件 etc.)

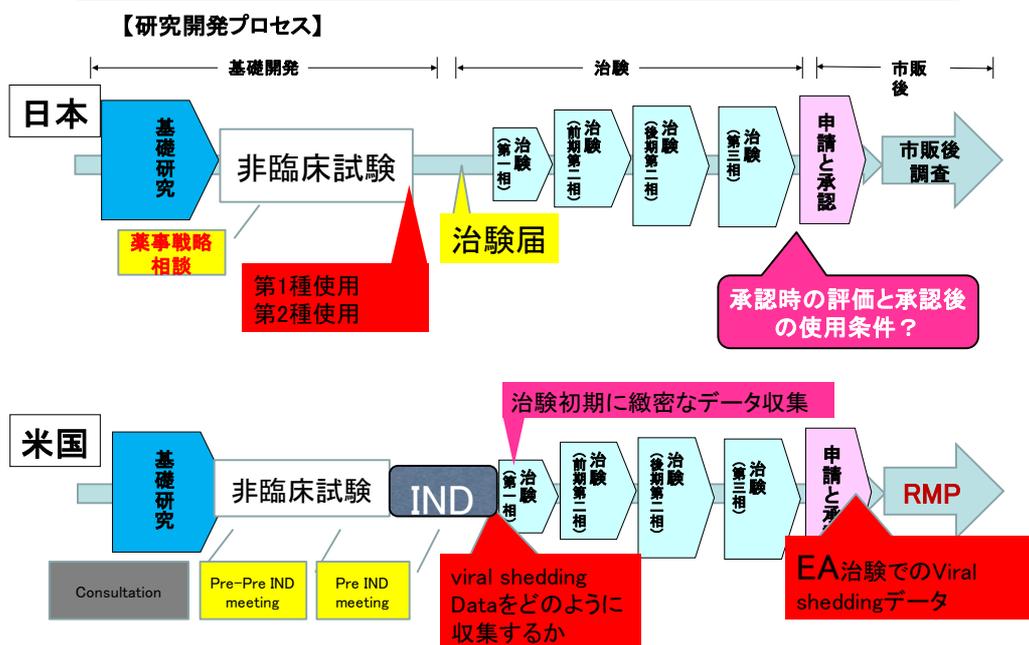
EMA 審査報告書

Tamilogene (腫瘍溶解ウイルス)

環境毒性 & 環境リスク評価

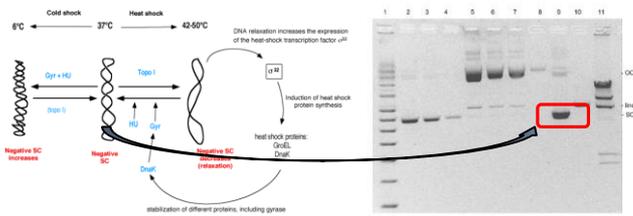
- 遺伝子組換え制限増殖ウイルス(HSV-1由来)を用いた開放系での使用
- 神経毒性や病原性については1/100から1/1000減弱されており、かつがん細胞でのみ増幅し正常細胞では増幅しない設計となっている
- 最も伝播の起こりやすい第3者は医療従事者と想定
- 投与部位からの排出が最もハイリスク
- 対象疾患を成人のメラノーマに限定することにより環境への排出を制限する
- Tamilogeneは投与された患者から輩出されると急速に感染性を失うことから、環境影響リスクは少ないと考えられる
- 免疫抑制状態にある患者や妊婦へ暴露された場合のリスクは健康人に比べて高いと考えられる

遺伝子治療薬開発ステージとカルタヘナ申請



FDAのGMO医薬品の環境影響評価

- 遺伝子治療のINDでは環境影響を評価するためのviral-sheddingデータ
- Viral-sheddingの評価はPCRや感染性を指標として評価
- Viral-sheddingの評価では増殖性ウイルスの出現リスクを評価 ⇒ そのためにex-vivo遺伝子治療においてもリスクを評価
- 遺伝子治療を受けた患者の中での相同組換えリスクについても評価
- 組換え生ワクチンについてもviral-sheddingや環境影響評価が必要(審査部門が異なる)
- ウイルスのみならずplasmid(supercoiled-circular構造)により第三者等への遺伝子導入のリスク



Levy et al: Quantitation of supercoiled circular content in plasmid DNA solution using fluorescence based method. NAR 28, e57, 2000

カルタヘナ法に基づく第一種使用の評価と海外のViral Shedding+環境影響評価

Viral Shedding

ウイルスの第三者への伝播防止
CBER: ウイルス、バクテリア、OVを含むガイドライン案
EU: ICH 見解 (ウイルス+ウイルスベクターのShedding)

海外規制当局

カルタヘナ法

最初の頃は検査によって排出がないと判断されてから外部環境に、第二種使用に近い取り扱い使用規程を途中から変えることが困難

国内

カルタヘナ法第一種使用規程は欧米のViral Shedding及び環境影響に関する規制に対応する
Viral Sheddingは安全性のみならず、ウイルスベクターを第三者に伝播することを避けることが基本

排出の測定法

- qPCR/qRT-PCR
- 感染性アッセイ

qPCR/qRT-PCRは感度よくウイルスゲノムの排出を評価できるが感染性のないゲノム断片も検出してしまふ。
qPCR/qRT-PCRで検出されても感染性がないことを確認できればSheddingはないとの判断も可能では？

海外(Swiss-medical)では次図のようなDecision-treeを用いて排出の確認と環境影響評価を行っている

環境影響評価

ヒトのみならず多様な生物を含めて影響リスクを評価

Viral Shedding

「ICH見解」は日本も作成に関与(あまり参考にされていない)。
ICH見解では、臨床開発初期に排出等のデータを得ることにより、臨床開発が進んだ段階ではモニタリング等も不要にするなどの対応が書かれている

Environmental-Risk:

FDA: Draft Guidance for Industry: Determining the Need for and Content of Environmental Assessments for Gene Therapies, Vectored Vaccines, and Related Recombinant Viral or Microbial Products 2014

EMA: Scientific Requirements for the Environmental Risk Assessment of Gene Therapy Medicinal Products 2008

Virus shedding:

FDA: DRAFT GUIDANCE: Guidance for Industry, Design and Analysis of Shedding Studies for Virus or Bacteria-Based Gene Therapy and Oncolytic Products

EMA: ICH Consideration: General Principles to Address Virus and Vector Shedding

ご清聴ありがとうございました。