



AAVベクター製品の遺伝子組込み評価並びに腫瘍形成及びがん化の可能性の評価

川崎 秀吉^{*1}, 三井田 宏明^{*2,*6}, 奈良岡 準^{*1,*6}, 太田 哲也^{*3,*6}, 木下 潔^{*4,*6},
後藤 浩一^{*2}, 高木 観^{*3}, 佐々木 正徳^{*5}, 直田 みさき^{*7,*8}, 櫻井 陽^{*7,*8},
小野寺 雅史^{*8}, 内田 安則^{*9}, 山下 拓真^{*9}, 吉田 徳幸^{*9}, 山本 武範^{*9}, 井上 貴雄^{*9}

Evaluation of Genome Integration and Tumorigenic/Oncogenic Potential of AAV Vector Products

Hideyoshi KAWASAKI^{*1}, Hiroaki MIIDA^{*2,*6}, Hitoshi NARAOKA^{*1,*6},
Tetsuya OHTA^{*3,*6}, Kiyoshi KINOSHITA^{*4,*6}, Koichi GOTO^{*2},
Kan TAKAGI^{*3}, Masanori SASAKI^{*5}, Misaki NAOTA^{*7,*8}, Akira SAKURAI^{*7,*8},
Masafumi ONODERA^{*8}, Yasunori UCHIDA^{*9}, Takuma YAMASHITA^{*9},
Tokuyuki YOSHIDA^{*9}, Takenori YAMAMOTO^{*9} and Takao INOUE^{*9}

1. はじめに

遺伝子治療用製品については、「遺伝子治療用製品等の品質及び安全性の確保について」¹⁾ 別添「遺伝子治療用製品等の品質及び安全性の確保に関する指

針」(指針)の中で、非臨床においてベクター配列の染色体への組込みの可能性と腫瘍形成及びがん化の可能性の評価が必要であることが明記されている。一方で、「遺伝子組込み評価」は遺伝子治療用製品に特徴的な評価項目であり、また、遺伝子治療用製品

- *1 アステラス製薬株式会社 つくば研究センター 茨城県つくば市御幸が丘21 (〒305-8585)
Astellas Pharma Inc., Tsukuba Research Center, 21 Miyukigaoka, Tsukuba-shi, Ibaraki 305-8585, Japan
- *2 第一三共株式会社 安全性研究所 東京都江戸川区北葛西1-16-13 (〒134-8630)
Daiichi Sankyo Co., Ltd., 1-16-13 Kitakasai, Edogawa-ku, Tokyo 134-8630, Japan
- *3 田辺三菱製薬株式会社 創業本部 安全性研究所 神奈川県藤沢市村岡東2-26-1 湘南ヘルスイノベーションパーク (〒251-8555)
Mitsubishi Tanabe Pharma Corporation, Shonan Health Innovation Park, 2-26-1 Muraoka-Higashi, Fujisawa-shi, Kanagawa 251-8555, Japan
- *4 MSD株式会社 東京都千代田区九段北1-13-12 北の丸スクエア (〒102-8667)
MSD K. K., Kitanomaru Square, 1-13-12 Kudankita, Chiyoda-ku, Tokyo 102-8667, Japan
- *5 中外製薬株式会社 安全性バイオサイエンス研究部 中外ライフサイエンスパーク横浜 神奈川県横浜市戸塚区戸塚町216 (〒244-8602)
Chugai Pharmaceutical Co., Ltd., Chugai Life Science Park Yokohama, 216 Totsukacho, Totsuka-ku, Yokohama City, Kanagawa 244-8602, Japan
- *6 日本製薬工業協会 東京都中央区日本橋本町2-3-11 日本橋ライフサイエンスビルディング (〒103-0023)
Japan Pharmaceutical Manufacturers Association, Nihonbashi Life Science Bldg., 2-3-11 Nihonbashi-honcho, Chuo-ku, Tokyo 103-0023, Japan
- *7 独立行政法人医薬品医療機器総合機構 東京都千代田区霞が関3-3-2 新霞が関ビル (〒100-0013)
Pharmaceuticals and Medical Devices Agency, Shin-Kasumigaseki Bldg., 3-3-2 Kasumigaseki, Chiyoda-ku, Tokyo 100-0013, Japan
- *8 国立大学法人大阪大学 大学院工学研究科 大阪府吹田市山田丘2-1 (〒565-0871)
Graduate School of Engineering, the University of Osaka, 2-1 Yamadaoka, Suita-shi, Osaka 565-0871, Japan
- *9 国立医薬品食品衛生研究所 神奈川県川崎市川崎区殿町3-25-26 (〒210-9501)
National Institute of Health Sciences, 3-25-26 Tonomachi, Kawasaki-ku, Kawasaki City, Kanagawa 210-9501, Japan
- ※ 本稿は、著者の個人的見解に基づくものであり、独立行政法人医薬品医療機器総合機構の公式見解を示すものではない。

における「腫瘍形成及びがん化の可能性の評価」は、「化学合成医薬品の評価に用いられる標準的ながん原性試験を実施することは適切ではないと考えられる」とされている¹⁾。そのため、「遺伝子組込み評価」並びに「腫瘍形成及びがん化の可能性の評価」のいずれについても、評価方法や評価すべき項目は標準化されていない。更に、一口に遺伝子治療用製品と言っても、使用される遺伝子治療用ベクターには様々な種類があり、使用するベクターの特徴を踏まえて評価を行う必要がある。

以上の背景から、アデノ随伴ウイルス (AAV) ベクター製品の「遺伝子組込み評価」並びに「腫瘍形成及びがん化の可能性の評価」を行う上での考え方について、産官学関係者の目線を合わせるため、第20回核酸・遺伝子医薬レギュラトリーサイエンスシンポジウム (2024年12月6日開催)²⁾において実施したパネルディスカッションの中で、「AAVベクター製品の安全性評価の考え方」に関する議論を行った。

本稿では、AAVベクター製品の「遺伝子組込み評価」並びに「腫瘍形成及びがん化の可能性の評価」について議論された内容を、論点を整理して紹介する。なお、指針¹⁾の中で、遺伝子組込み評価内の一項目として記載されている「生殖細胞への意図しない遺伝子組込みリスクの評価」については、本特集の佐々木正徳ら³⁾の稿を参照されたい。

2. AAVベクター製品の遺伝子組込み評価

2.1 AAVベクター製品の遺伝子組込み能

野生型 AAV は、ゲノム複製に関与する Rep タンパク質に依存した染色体への組込み能を有していることが知られている^{4,5)}。一方、医療製品として使用される組換え AAV ベクターは、一般的に *rep* 遺伝子及びカプシド産生に関与する *cap* 遺伝子を導入遺伝子に置換しているため、Rep タンパク質に依存したゲノム組込み機構を喪失しており、ほとんどのベクター DNA は宿主細胞の核内でエピソードとして存在していると考えられている^{4,5)}。

しかし、AAV ベクターにおいても、低頻度ながらもランダムな染色体への組込みが起こることが報告されており、例えば 5×10^{12} vg/kg (vector

genomes per kilogram) の AAV ベクターを非ヒト霊長類 (NHP) に静脈内もしくは筋肉内投与した場合には、肝臓及び筋肉で細胞にベクター DNA が組み込まれる頻度はおよそ $10^{-4} \sim 10^{-5}$ であるとの報告がある⁴⁻⁶⁾。

2.2 遺伝子組込み評価とは

遺伝子組込み評価は、ウイルスベクター製品のような遺伝子治療用製品に特徴的な評価項目であり、その目的は、ベクター配列の染色体への組込みによる腫瘍形成及びがん化や、次世代への影響に関するリスクを評価することである。指針¹⁾では、「染色体へ挿入されるレトロウイルスベクター及びレンチウイルスベクターでは、細胞1個あたりに組み込まれるコピー数及び特定の部位に組み込まれる可能性に関して評価しておくこと」、「アデノウイルスベクター及びプラスミド DNA のように染色体への組込み能を持たないベクターの場合には、低い頻度の挿入を検出する感度の高い試験の実施を考慮すること」などの記載があり、使用するベクターの特徴に応じた評価が必要である。

一方で、現状では標準化された遺伝子組込み評価法はなく、AAV ベクター製品の遺伝子組込みに関する考え方も統一されていないため、製品ごとにケースバイケースで評価・考察されている。そこで、AAV ベクター製品の遺伝子組込みに関する疑問点についてパネルディスカッションを行い、以下の通り考え方の整理を行った。

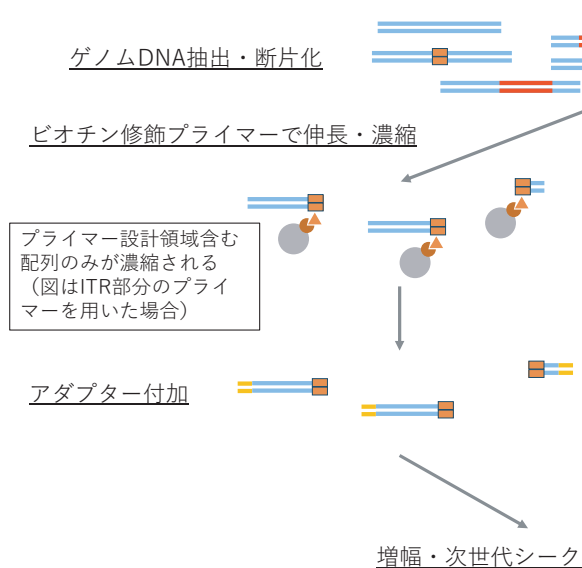
2.3 遺伝子組込み評価に関するパネルディスカッション

2.3.1 遺伝子組込み評価の方法について

遺伝子組込み評価の方法として、上市品では AAV ベクターを投与した動物の組織サンプルを用いて、Glybera^{®7)}や Hemgenix^{®8)}では Linear Amplification-Mediated PCR (LAM-PCR) 法や Non-restrictive (nr) LAM-PCR 法が、Roctavian^{®9)}では Target Enrichment Sequencing (TES) 法が、Beqvez[™] (Durveqtix^{®10)}では shearing extension primer tag selection ligation-mediated polymerase chain reaction (S-EPTS/LM-PCR) 法及び TES 法が、それぞれ用いられている。

LAM-PCR 法や S-EPTS/LM-PCR 法はベクター

ベクター配列に特異的なプライマーを利用する方法 (以下はS-EPTS/LM-PCRの概要図)



Target Enrichment Sequencing (TES)法

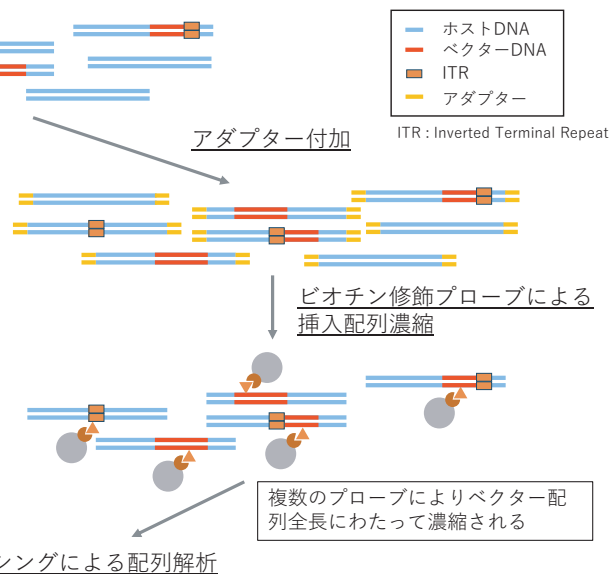


Fig. 1 遺伝子組込み評価方法の比較
(文献11を元に作成)

配列に特異的なプライマーを用いる方法、TES法はベクター配列に特異的なプローブを用いる方法である。LAM-PCR法やS-EPTS/LM-PCR法では、プライマーを設計した領域を含む配列のみが濃縮される一方、TES法では複数のプローブを用いることで、ベクター配列全長にわたる配列が濃縮される(Fig. 1)¹¹⁻¹³⁾。AAVベクターは、必ずしも完全長で染色体に挿入されるとは限らず、部分的な配列や欠失・逆位などの様々な組換えが生じた配列が組み込まれることが報告されており^{14, 15)}、TES法であればこれらの様々な挿入配列を検出できると考えられる。実際に、TES法であればAAVベクターの様々な挿入配列を検出できること、また、S-EPTS/LM-PCR法よりも多数の挿入配列を検出できることが報告されている¹¹⁾。

疑問： AAVベクター製品の遺伝子組込み評価について、TES法であれば様々なベクター挿入配列が感度良く検出できるとの報告も考慮し、TES法が遺伝子組込み評価方法として推奨されるか、という疑問が生じた。

議論： TES法は有力な方法の一つと考えられる。今後、技術が進歩し新たな手法も開発されることが考えられるため、その時々の実施可能な方法で適切に評価、説明することが望ましい。また、遺伝子組込みの解析方法については、現状標準化された評価系は

なく、今後も最新の技術を用いた評価法が利用される可能性があるため、評価には妥当性が適切に確認された手法を用いることが重要である。

なお、現時点で医薬品医療機器総合機構(PMDA)として推奨している特定の手法はない。

結論： 現時点でTES法は有力な方法の一つと考えられる。技術の発展に伴って、その時点で実施可能な方法で適切に評価・説明することが重要である。

2.3.2 遺伝子組込み評価における種差について

げっ歯類ではAAVベクター投与に関連した肝細胞癌が発生し得るが、その大部分はマウスの*Rian* (RNA imprinted and accumulated in nucleus) 遺伝子座へのAAVベクター遺伝子組込みによることが報告されている⁴⁾。一方、マウスの*Rian* 遺伝子座のヒトオソログである*MEG8* (maternally expressed 8) へのAAVベクター遺伝子の優先的な組込みは示されていない。また、ヒト及びNHPにおいては優先的な遺伝子組込み領域は認められず、大部分がランダムな組込みであると考えられており、AAVベクター投与に関連する腫瘍形成の症例も報告されていない^{4, 16)}。このことから、ヒトにおけるAAVベクター投与による腫瘍形成リスクは理論上あるが、現時点ではそのリスクは限定的であると考えられる。

以上のことから、開発品のヒトにおける遺伝子組

込み評価並びに腫瘍形成及びがん化の可能性の評価を考える上では、前提として「ヒト及びNHPにおけるAAVベクターの組込みは低頻度かつランダムであり、腫瘍形成リスクに繋がる染色体領域に組み込まれる可能性は低い」という情報が重要であると考えられた。そこで、この点について、非臨床データを臨床に外挿する上で重要な種差の観点から、以下の通り議論した。

疑問：前述の通り、AAVベクターの遺伝子組込みには一部種差があることが知られているが、非臨床においてAAVベクターの組込みは低頻度かつランダムであり、腫瘍形成リスクに繋がる染色体領域に組み込まれる可能性は低いことが確認できれば、ヒトにおいても同様に考えられるか、という疑問が生じた。

議論：種差に関する十分な情報がないと判断できないため、今後データを蓄積していく必要があると考えられる。一方、いくつかの上市品ではNHPの組織で遺伝子組込みを確認しているケースが多いことから、AAVベクター製品を投与したNHPの生体試料を保管し、必要性が生じた際に遺伝子組込み評価を実施できるようにしておくともよいかもしれない。

なお、PMDAでは、現時点では特段の懸念がない限り、AAVベクター製品が投与された動物の生体試料を用いた遺伝子組込み評価を求めている。

結論：AAVベクターの遺伝子組込みについて、今後、種差に関するデータが蓄積されることで、非臨床情報をより正確に臨床へ反映できるようになることが期待される。現状では、一般的なAAVベクターであれば遺伝子組込みは低頻度かつランダムであり、遺伝子組込みが腫瘍形成に繋がるリスクは低いと考えられるが、遺伝子組込み評価が必要になるケースを想定して、NHPの生体試料を保管しておくことも有用である。

2.3.3 遺伝子組込み評価実施の必要性について

疑問：2.1に記載した通り、AAVベクターは染色体への組込み能を持たないベクターであり、挿入の頻度は低いことが知られているが、全ての開発品で一律に実験的な遺伝子組込み評価を行う必要性はあるか、という疑問が生じた。

議論：開発品に用いられているベクターや発現遺伝子など構成要素に特段の懸念がある場合は、遺伝

子組込み評価が必要であると考えられる。一般的に用いられるAAVベクターであれば挿入頻度が非常に低いことが知られていることから、開発品に特段の懸念がなければ、開発品自体を用いた実験的な遺伝子組込み評価を実施する必要はないと考えられる。毒性試験で前がん病変が認められる等、特段の懸念があれば追加情報を得るために遺伝子組込み評価を実施することは妥当である。

結論：使用するAAVベクターに特段の懸念がなく、既知の情報でリスク評価が可能である場合は、開発品自体を用いた実験的な遺伝子組込み評価は不要と考えられる。一方で、開発品によっては実験的な遺伝子組込み評価が必要となるケースも想定されるため、その場合には、本稿で議論した評価方法や考慮事項を参考にされたい。

3. 腫瘍形成及びがん化の可能性の評価

3.1 腫瘍形成及びがん化の可能性の評価とは

指針¹⁾では、「遺伝子治療用製品等による腫瘍形成及びがん化のリスクは、ベクターのがん原性（例えば発現産物によるプロモーター作用、染色体への挿入変異等）について評価する必要がある」とされている。「化学合成医薬品の評価に用いられる標準的ながん原性試験を実施することは適切ではないと考えられるが、がん原性の評価は必要」であり、「臨床使用期間、適用患者集団、遺伝子導入の標的細胞・組織の特性、ベクター及び構成成分の特性（例えば遺伝子組込み及び目的遺伝子由来の発現産物の特性等）、使用したキャリア等を踏まえて、「医薬品のがん原性試験に関するガイドラインの改正について」¹⁷⁾を参考にがん原性の評価法を検討する必要がある」としている。

なお、指針¹⁾にはがん原性と造腫瘍性が分けて記載されているが、造腫瘍性とは*ex vivo*で使用されるような遺伝子導入細胞自体の腫瘍化を指すものであり、本稿においては*in vivo*で使用するAAVベクター製品について記載していることから、ベクターのがん原性に絞った記載としている。

3.2 腫瘍形成及びがん化の可能性の評価に関するパネルディスカッション

3.2.1 腫瘍形成及びがん化のリスクについて

前述した通り AAV ベクターについては、遺伝子挿入の頻度が低く、組み込まれる場合でもヒトにおける組み込みパターンはランダムであると考えられている。更に AAV ベクター投与に関連する腫瘍形成の症例も報告されていないことから、ヒトにおける AAV ベクター投与による腫瘍形成リスクは現時点では限定的と考えられる。

上市品においても、Zolgensma^{®18)}では、「一般に、AAV9ベクターのゲノムは宿主遺伝子には組み込まれないため、挿入突然変異原性リスクはないこと」、「本品投与により発現する SMN タンパク質の過剰発現による腫瘍形成は報告されておらず、SMN 遺伝子は発がんとの関連が報告されていないこと」、「効力を裏付ける試験及び毒性試験において、本品投与に関連した増殖性変化及び腫瘍形成は認められないこと」から、腫瘍形成及びがん化のリスクは低いと考えている旨の説明がなされている。また、Hemgenix[®]の EMA assessment report⁸⁾では、「マウスでは肝臓に AAV ベクター組み込み部位のクラスターが認められ、NHP では宿主ゲノム全体にランダムに分布すること、組み込みプロファイルはクローン性増殖や悪性形質転換に関わる遺伝子との関連がなく、肝臓の病理組織学的評価で AAV ベクター投与6か月後の肥大や過形成等、がん原性を示唆する所見はない」ことが記されている。

疑問：以上のことから、AAV ベクター製品については低頻度のゲノム組み込みは起こり得るが、ヒトや NHP ではゲノム組み込み部位はランダムであり、がん遺伝子の活性化やがん抑制遺伝子の不活性化等につながる特定の部位へ組み込みが発生する可能性は低く、これまでに腫瘍形成を示唆する情報もないため、ベクター DNA の挿入変異に伴う腫瘍形成及びがん化のリスクは低いという判断ができるのではないか、という疑問が生じた。

議論：AAV ベクター製品についてゲノム組み込みのリスクが低いとはいえ、投与量が多くなるほど遺伝子組み込み量も多くなり、腫瘍形成リスクは上がってくると考えられる。そのため、投与量と生体内分布の関連や組織中のベクター量、算出される挿入頻度、毒性試験の投与量と臨床用量とのマージン、一

般毒性試験における前がん病変等の病理所見の有無、適応疾患の重篤性などから、総合的に許容可能なリスクを考察することが必要である。ヒトへの適用を考えると、患者の病態によりゲノム組み込みのリスクは異なり、例えば肝障害があるとゲノムの組み込みが起こりやすいと考えられるため注意すべきである^{4, 16)}。

また、腫瘍形成リスクが低いと考えられる場合においても、臨床で腫瘍形成リスクを管理する方法や、がん病変が認められた時に AAV ベクター製品との関連性を評価する方法などを事前に検討しておくといえよう。加えて、ベクター DNA の挿入変異に伴う腫瘍形成及びがん化のリスクだけでなく、発現産物による腫瘍形成リスクについても評価・考察する必要がある。

結論：投与量と生体内分布の関連や組織中のベクター量、算出される挿入頻度、毒性試験の投与量と臨床用量とのマージン、一般毒性試験における前がん病変等の病理所見の有無、適応疾患の重篤性などから総合的に許容可能なリスクを考察することが重要である。また、腫瘍形成リスクが低いと考えられる場合でも、臨床における管理方法やがん病変が認められた時に AAV ベクター製品との関連性を評価する方法などを事前に検討しておくことが望ましい。

3.2.2 遺伝子組み込み並びに腫瘍形成及びがん化のリスク評価を行う組織について

疑問：遺伝子組み込みはベクターが分布する多くの組織で生じ得ると考えられるが、非臨床試験の中で挿入評価や腫瘍形成及びがん化のリスク評価に用いる試料として、静脈内投与の場合は肝臓、局所投与の場合は局所組織、などベクターが高分布する組織を代表として選択できるか、という疑問が生じた。

議論：肝臓や局所組織など、ベクターが高分布する組織での評価は妥当と考えられる。特に肝臓は分裂活性が高く、炎症も起こしやすいことから、挿入リスクや腫瘍形成及びがん化のリスクを評価する組織として妥当であると考えられる。一般毒性試験において病理組織学的検査によって前がん病変が認められた場合は、当該組織も評価対象として考えるべきかもしれない。

一方で、病理組織学的検査を行うタイミングでは既に剖検も終了していることから、同じ動物の組織

を追加で採材することは不可能であり、採材組織は事前に考慮しておくことが重要である。例えば、組織特異的プロモーターを使用している場合は、当該標的組織を採材しておくことが一案として挙げられる。また、一般毒性試験の中では同時に生体内分布を評価するケースが多いため、生体内分布評価のために採材したサンプルを用いるのも一案である。

結論：肝臓や局所組織など、ベクターが高分布する組織での遺伝子組み込み並びに腫瘍形成及びがん化のリスクの評価を行うことは妥当と考えられる。遺伝子組み込みリスクや腫瘍形成及びがん化のリスクに特段の懸念がある組織については、当該組織を用いた評価の必要性も検討する必要がある。

4. 終わりに

AAVベクター製品の非臨床安全性評価のうち、本稿では「遺伝子組み込み評価」並びに「腫瘍形成及びがん化の可能性の評価」を扱った。これらは遺伝子治療用製品に特徴的な評価項目であり、AAVベクター製品の特性を考慮した評価方法が必要となるため、既知情報の多寡に応じた追加検討の要否やリスクベネフィットの観点も含めた総合的な考察など、現時点で妥当と考えられる安全性評価に関する議論が展開された。AAVベクターは染色体への組み込み能を持たないことから、一般的に遺伝子組み込みリスクは低く、ヒトにおける腫瘍形成の症例も報告されていないが、投与量やベクターの分布量、適応疾患の合併症の有無を含めた状況によりリスクは変化しうる。

また、FDAから発出されている遺伝子治療製品投与後の長期フォローアップに関するガイダンスの中では、AAVベクター製品については投与後5年間のフォローアップが推奨されており¹⁹⁾、AAVベクターによる腫瘍形成リスクも投与後長期のフォローアップをしながら評価する必要がある。

以上のように、近年上市品が増えているとはいえ、現状では必ずしもAAVベクター製品の遺伝子組み込み及び腫瘍形成リスクについての情報が十分とは言えないため、引き続き慎重な議論が必要である。なお、パネルディスカッションで得られた結論はシンポジウムで議論した時点のものであり、今後得られる知見や科学の進歩によって変わり得ること

に留意した上で、その時々で最新の知見を基にした適切な評価が必要である。

文 献

- 1) 厚生労働省医薬・生活衛生局医療機器審査管理課長。遺伝子治療用製品等の品質及び安全性の確保について。薬生機審発0709第2号（一部改正、医薬機審発1023第2号、令和5年10月23日）。
- 2) 第20回核酸・遺伝子医薬レギュラトリーサイエンスシンポジウム。国立医薬品食品衛生研究所遺伝子医薬部ホームページ。 <http://www.nihs.go.jp/mtgt/section2/kakusanRSsymp20.pdf> (accessed 2025-06-23)。
- 3) 佐々木正徳、三井田宏明、太田哲也、木下潔、奈良岡準、後藤浩一、高木観、川崎秀吉、直田みさき、櫻井、小野寺 雅史、内田安則、山下拓真、吉田徳幸、山本武範、井上貴雄。AAVベクター製品の生殖細胞を介した次世代移行リスク及び生殖発生毒性評価。医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス。2025, 56(5), p.377-383。
- 4) Sabatino, D. E.; Bushman, F. D.; Chandler, R. J.; Crystal, R. G.; Davidson, B. L.; Dolmetsch, R.; Eggan, K. C.; Gao, G.; Gil-Farina, I.; Kay, M. A.; McCarty, D. M.; Montini, E.; Ndu, A.; Yuan, Jing. American Society of Gene and Cell Therapy (ASGCT) Working Group on AAV Integration. Evaluating the state of the science for adeno-associated virus integration: An integrated perspective. *Mol Ther.* 2022, 30(8), p.2646-2663. doi: 10.1016/j.ymthe.2022.06.004.
- 5) McCarty, D. M.; Young, S. M., Jr.; and Samulski, R. J. Integration of adeno-associated virus (AAV) and recombinant AAV vectors. *Annu. Rev. Genet.* 2004, 38, p.819-845. doi: 10.1146/annurev.genet.37.110801.143717.
- 6) Nowrouzi, A.; Penaud-Budloo, M.; Kaeppl, C.; Appelt, U.; Guiner, C. L.; Moullier, P.; von Kalle, C.; Snyder, R. O.; Schmidt, M. Integration Frequency and Intermolecular Recombination of rAAV Vectors in Non-human Primate Skeletal Muscle and Liver. *Mol Ther.* 2012, 20(6), p.1177-1186. doi: 10.1038/mt.2012.47.
- 7) Glybera®: EMA assessment report. https://www.ema.europa.eu/en/documents/assessment-report/glybera-epar-public-assessment-report_en.pdf (accessed 2025-07-07)。
- 8) Hemgenix®: EMA assessment report. https://www.ema.europa.eu/en/documents/assessment-report/hemgenix-epar-public-assessment-report_en.pdf (accessed 2025-07-07)。
- 9) Roctavian®: EMA assessment report. <https://www.ema.europa.eu/en/documents/assessment-report/>

- roctavian-epar-public-assessment-report_en.pdf (accessed 2025-07-07).
- 10) BeqvezTM: EMA assessment report. https://www.ema.europa.eu/en/documents/assessment-report/durveqtix-epar-public-assessment-report_en.pdf (accessed 2025-07-07).
- 11) Oziolor, E. M.; Kumpf, S. W.; Qian, J.; Gosink, M.; Sheehan, M.; Rubitski, D. M.; Newman, L.; Whiteley, L. O.; Lanz, T. A. Comparing molecular and computational approaches for detecting viral integration of AAV gene therapy constructs. *Mol Ther Methods Clin Dev.* 2023, **29**, p.395-405. doi: 10.1016/j.omtm.2023.04.009.
- 12) Paruzynski, A.; Arens, A.; Gabriel, R.; Bartholomae, C. C.; Scholz, S.; Wang, W.; Wolf, S.; Glimm, H.; Schmidt, M.; von Kalle, C. Genome-wide high-throughput integrome analyses by nrLAM-PCR and next-generation sequencing. *Nat Protoc.* 2010, **5**(8), p.1379-1395. doi: 10.1038/nprot.2010.87.
- 13) Schmidt, M.; Schwarzwaelder, K.; Bartholomae, C.; Zaoui, K.; Ball, C.; Pilz, I.; Braun, S.; Glimm, H.; von Kalle, C. High-resolution insertion-site analysis by linear amplification-mediated PCR (LAM-PCR). *Nat. Methods.* 2007, **4**(12), p.1051-1057. doi: 10.1038/nmeth.1103.
- 14) Nguyen, G. N.; Everett, J. K.; Kafle, S.; Roche, A. M.; Raymond, H. E.; Leiby, J.; Wood, C.; Assenmacher, C-A.; Merricks, E. P.; Long, C. T.; Kazazian, H. H.; Nichols, T. C.; Bushman, F. D.; Sabatino, D. E. A long-term study of AAV gene therapy in dogs with hemophilia A identifies clonal expansions of transduced liver cells. *Nat Biotechnol.* 2021, **39**(1), p.47-55. doi: 10.1038/s41587-020-0741-7.
- 15) Dalwadi, D. A.; Calabria, A.; Tiyafoonchai, A.; Posey, J.; Naugler, W. E.; Montini, E.; Grompe, M. AAV integration in human hepatocytes. *Mol Ther.* 2021, **29**(10), p.2898-2909. doi: 10.1016/j.ymthe.2021.08.031.
- 16) Klapwijk, J. C.; Del Rio Espinola, A.; Libertini, S.; Collin, P.; Fellows, M. D.; Jobling, S.; Lynch, A. M.; Martus, H.; Vickers, C.; Zeller, A.; Biasco, L.; Brugman, M. H.; Bushmann, F. D.; Cathomen, T.; Ertl, H. C. J.; Gabriel, R.; Gao, G.; Jadowsky, J. K.; Kimber, I.; Lanz, T. A.; Levine, B. L.; Mickelthwaite, K. P.; Onodera, M.; Pizzurro, D. M.; Reed, S.; Rothe, M.; Sabatino, D. E.; Salk, J. J.; Schambach, A.; Themis, M.; Yuan, J. Improving the Assessment of Risk Factors Relevant to Potential Carcinogenicity of Gene Therapies: A Consensus Article. *Hum Gene Ther.* 2024, **35**(15-16), p.527-542. doi: 10.1089/hum.2024.033.
- 17) 厚生労働省医薬・生活衛生局医薬品審査管理課長. 医薬品のがん原性試験に関するガイドラインの改正について. 薬生薬審発0310第1号, 令和5年3月10日.
- 18) ゴルゲンスマ[®]点滴静注: 審査報告書. https://www.pmda.go.jp/regenerative_medicines/2020/R20200407001/300242000_30200FZX00001_A100_2.pdf (accessed 2025-07-07).
- 19) FDA Guidance for Industry: Long Term Follow-Up After Administration of Human Gene Therapy Products. <https://www.fda.gov/media/113768/download> (accessed 2025-07-07).