事　務　連　絡
令和７年 11 月 25 日

各都道府県衛生主管部（局）薬務主管課　御中

厚生労働省医薬局医療機器審査管理課

ウイルス/ベクターを用いた遺伝子治療用製品の排出評価について

遺伝子治療用製品に用いられるウイルス/ベクターの生体からの排出の評価方法については、「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」について」（平成 27 年６月 23 日付厚生労働省医薬食品局審査管理課・医療機器・再生医療等製品担当参事官室事務連絡、以下「ICH 見解」という。）において、基本的な考え方を示してきたところです。

今般、令和４年度から令和６年度に実施された AMED 研究医薬品等規制調和・評価研究事業「in vivo 遺伝子治療における患者検体を用いた AAV ベクター由来遺伝子治療用製品の品質・有効性・安全性評価系の開発」（研究開発代表者：国立成育医療研究センター・遺伝子細胞治療推進センター・センター長　小野寺雅史）により、ウイルス/ベクターを用いた遺伝子治療用製品の排出評価にあたって考慮すべき点や考え方等について、最新の科学的知見に基づきより具体的に示すため別添のとおり取りまとめられました。そのため、当該製品の排出評価にあたって、本事務連絡を ICH 見解とともに参考とするよう、貴管内関係業者に対して周知方御配慮願います。当該評価方法は、現時点で考えられる評価法の一例として示したものであり、必ずしも当該方法による評価の実施が求められるものではなく、実際の評価方法の選択等については、必要に応じて独立行政法人医薬品医療機器総合機構に相談するようあわせて周知方御配慮願います。

別添

ウイルス/ベクターを用いた遺伝子治療用製品の排出評価

（AMED 小野寺班）

目次

1.0 本文書の目的 3
1.1 背景 3
1.2 対象範囲 4
1.3 一般原則 4
2.0 基本的事項 5
2.1 排出データを取得する際に考慮すべきウイルス/ベクターの品質特性 5
2.1.1 ウイルス/ベクターの品質特性 5
2.1.2 目的遺伝子の挿入又は遺伝子の欠失 6
2.2 分析法 7
2.2.1 方法論 8
2.2.2 得られたデータの解釈 9
2.3 非臨床試験 9
2.3.1 非臨床排出試験に用いる被験製品 10
2.3.2 動物種 10
2.3.3 投与量と投与経路 10
2.3.4 検体採取頻度と調査期間 11
2.3.5 採取検体 11
2.3.6 非臨床データの解釈 12
2.4 臨床試験 12
2.4.1 検体採取頻度と期間 13
2.4.2 検体採集 14
2.4.3 臨床排出試験結果の解釈 15
2.5 伝播するリスク及び第三者へのリスク評価 16
2.5.1 伝播するリスク 16
2.5.2 第三者へのリスク 17
2.5.3 伝播するリスク及び第三者へのリスク評価に基づく対応 17
付録 1　細菌ベクターの排出評価 18
1 細菌ベクターの特性における留意点 18
1）　複製能 18
2）　休眠状態と持続性 18
3）　抗菌薬に対する感受性/耐性 18
2 細菌ベクターの排出試験 18

1.0 本文書の目的

本文書の目的は、ウイルスに由来する遺伝子治療用製品を用いた非臨床試験及び臨床試験の排出試験のプロトコール作成において考慮すべき点や、排出試験で得られた結果から排出に係るリスクを評価する時の考え方について示すものである。また、本文書では排出試験に用いるための分析法を例示し、その製品の特徴に基づき考慮すべき事項も提示している。ここに示す遺伝子治療用製品の排出評価の考え方により第三者への伝播の危険性や公衆衛生に与える潜在的な影響を推定・評価することができ、さらには本文書に基づいて収集された製品の排出に関する情報を製造販売承認後の臨床使用におけるファーマコビジランス及び市販後の情報収集計画の構築等に活用できる。なお、提示した評価方法は、必ずしもそのすべてを開発者や製造販売業者が行うことを想定しておらず、研究者単独又は製造販売業者との共同による排出の挙動を評価する研究においても参考にすることができる。

1.1 背景

近年、遺伝子治療用製品の開発が盛んに行われ、本邦においても製造販売承認を取得した製品が複数存在している。また、開発中の遺伝子治療用製品の種類は多岐にわたり、遺伝子導入用遺伝子組換えウイルス以外にも腫瘍溶解性ウイルスとして野生型ウイルスや遺伝子組換えウイルスが患者に投与される臨床試験（治験）も数多く実施されている。これらの野生型ウイルス又は遺伝子組換えウイルス（以下「ウイルス/ベクター」という。）には、投与された患者から排出され、第三者に伝播するリスクが存在する。さらに、仮にヒトからヒトへの伝播が成立することによって患者周囲の第三者等の健康に悪影響を及ぼした場合には、公衆衛生上の重大な問題と捉える必要がある。本文書では、遺伝子治療用製品として用いられるウイルス/ベクターの排出に係るリスクを「伝播するリスク」と「第三者へのリスク」に分けて定義する。伝播するリスクとは、ウイルス/ベクターが患者の分泌物又は排泄物を介して周囲の第三者に伝播すること自体のリスクであり、基本原則としてウイルス/ベクターの第三者への意図しない伝播は避けるべきである。一方、第三者へのリスクとは、ウイルス/ベクターが患者より第三者に伝播した際に生ずる疾病を含む好ましくない影響を指す。伝播を受けた第三者や、その第三者からさらに社会に拡散することにより公衆衛生上のハザードを引き起こす危険性を考慮し、第三者へのリスクを定義する[1]。特に、第三者へのリスクは伝播することが想定される第三者の健康状態、例えば妊婦や免疫が低下した患者等によりその影響が大きく変化する。第三者へのリスクの防止は極めて重要と考えられるため、伝播するリスクを低減することで第三者への健康上の望ましくない影響や公衆衛生上のリスクを低減することが可能となる。

なお、第三者へのリスクはウイルス/ベクターの特性に依存するところが大きいため、製品として日本全国の医療機関に流通することを考えると、第三者へのリスクの低いウイルス/ベクターを用いることが望ましい。伝播に関するウイルス/ベクターの特性を改変できないのであれば、伝播するリスクを厳格に管理することによって、伝播に引き続いて起こる第三者へのリスクを低下させることが一般的と考えられる。

本文書で提示する排出試験方法は、排出されたウイルス/ベクターの伝播するリスクと第三者へのリスクの両方を評価するためのものである。

[1] 第三者へのリスクには、投与された患者から同居家族等への伝播後にさらに発生する垂直・水平感染の他に、曝露によって抗体が産生されることによる当該ウイルス/ベクターを用いた治療の機会損失等の不利益も含まれる。

1.2 対象範囲

本文書が対象とする遺伝子治療用製品は、ウイルス/ベクターを主成分とする製品であり、プラスミド DNA、mRNA 等の核酸を主成分とする遺伝子治療用製品及び感染症予防ワクチンは本文書の適用範囲に含めない。また、*ex vivo* 遺伝子治療に用いる細胞加工製品についても本文書の適用範囲に含めない。しかしながら、本文書に提示される内容は、これらの製品においても考え方を参考とできるものもある。

また、本文書は、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」という。）による環境影響評価としての排出試験プロトコールに対する要求事項を示したものではないが、本文書に基づいて実施された試験成績を利用して、カルタヘナ法に基づく生物多様性影響評価書を作成する際の資料として活用することは可能である。

1.3 一般原則

一般的に遺伝子治療用製品の開発において、ウイルス/ベクターの排出等の挙動は、非臨床試験、臨床試験等において、製品投与後の実験動物又は被検者の体液（尿、糞便、唾液、涙液、精液、滲出液等）に含まれて排泄又は分泌されるウイルス/ベクターの量を測定することにより評価される。このため、投与部位から各臓器等への分布を確認するための生体内分布試験（ICH S12 を参照）とは目的が異なる試験であることに留意する必要がある。血液（血清、血漿等）は厳密には排出試験ではなく生体内分布試験で評価すべき検体であるが、医療従事者、家族、在宅介護者又は患者と接触する第三者が患者血液を介してウイルス/ベクターに曝露される可能性が否定できないため、排出試験の一環として血液中のウイルス/ベクター量が測定されることが多い。また、排出試験は必ずしも独立した試験が必要なわけではなく、生体内分布試験等、他の非臨床試験及び臨床試験の中に組み込むことが一般的である。

排出試験の結果、検体内にウイルス/ベクターが検出された場合でもそれが直ちに第三者へ伝播するリスクにつながるわけではない。すなわち、第三者へ伝播するリスクを評価するにあたっては、排出されたウイルス/ベクターの感染能や量、第三者への接触可能性を総合的に考慮する必要がある。さらに、第三者へのリスクの評価に際しては、接触する第三者に伝播した場合に想定される疾病等のハザード及び伝播した第三者から、さらに別の第三者へ伝播する可能性等を総合的に勘案する必要がある。特に、伝播が想定される第三者が妊婦、乳児又はがん患者等の免疫機能が低下している人である場合には伝播するリスクが増大する可能性があり、第三者へのリスクは慎重に検討する必要がある。これら伝播するリスク又は第三者へのリスクの評価によって得られた知見は、遺伝子治療用製品の取扱い方法の設定や医療従事者や患者への情報提供に用いられることになる。また、状況によっては市販後のリスク対策計画へと組み込まれる可能性もある。

リスク評価の結果、第三者への伝播の可能性があり、さらにその伝播により第三者に疾病等を生じさせる等の第三者へのリスクが想定される場合は、伝播するリスクを厳格に管理することにより第三者へのリスクを可能な限り低減化する措置を講じるべきである。また、その場合、実施中又は開始しようとする臨床試験においては、患者に対し濃厚な接触を必要とする者（医療従事者、同居家族等）においては、伝播の有無を評価する必要があるかもしれない。このような場合、伝播の有無を評価する試験の実施の必要性を含めて、規制当局に相談すること。

2.0 基本的事項

2.1 排出データを取得する際に考慮すべきウイルス/ベクターの品質特性

2.1.1 ウイルス/ベクターの品質特性

ウイルス/ベクターの由来となる野生型ウイルス等（以下「親ウイルス」という。）[2]の特性情報は、排出試験を設計する上で重要な情報である。また、親ウイルスから遺伝子操作によって付与されたウイルス/ベクターの複製能、持続性、特定細胞・組織への指向性、病原性等は特に考慮すべき重要な特性である。一方、野生型ウイルス由来の腫瘍溶解性ウイルスでは、その作製方法において主成分となるウイルスの選択履歴（スクリーニング等）に関する情報が特に重要となる。

ウイルス/ベクターの特性評価には、類似の遺伝子組換えウイルスの情報が参考になることもある。

1） 複製能とそれに関わるリスク評価

ウイルス/ベクターの複製能は、排出及び伝播を考慮する際の重要な特性である。増殖性ウイルス/ベクターは患者体内でウイルス/ベクターが増殖するため、これにより排出期間が長期化し、最終的な排出量が投与量より多量になる可能性があり、伝播するリスクも高くなる危険性がある。さらに、患者体内でウイルス/ベクターが増殖することでウイルス/ベクターに変異（復帰変異を含む）が出現する可能性が懸念され、その結果、より感染性の高いウイルス/ベクター由来ウイルスの排出に繋がる可能性もある。一方、非増殖性ウイルス/ベクターの場合、患者体内でウイルス/ベクターが増殖することはなく、排出量が投与量を超えることはないと想定される。しかし、非増殖性ウイルス/ベクターにおいても新たな伝播リスクが発生することがあり、例えば、非増殖性ウイルス/ベクターの中に、製造工程中に発生した増殖能を持つウイルス（Replication Competent Virus：RCV）が含まれる場合がそうである。このため、ウイルス/ベクターの品質管理によって可能な限り RCV の発生を低減すべきである。

2） 体内における持続性とそれに関わるリスク評価

ウイルス/ベクターの体内持続性は、排出の期間や量に影響するため考慮すべき重要な特性である。体内持続性が高いウイルス/ベクターは、より長い期間、排出する可能性がある。持続性は、1）で示したウイルス/ベクターの複製能に大きく影響されるが、親ウイルスの特性、特に免疫原性による影響も大きいため、増殖性ウイルス/ベクターよりも非増殖性ウイルス/ベクターの方が長期の持続性を示すこともある。例えば、アデノウイルス（Adenovirus：AdV）に由来する増殖性ウイルス/ベクターとアデノ随伴ウイルス（Adeno-associated virus：AAV）に由来する非増殖性ウイルス/ベクターでは、高い免疫原性を示す AdV に由来する増殖性ウイルス/ベクターの方が一般的には持続性が短い。しかし、これは AdV に由来する増殖性ウイルス/ベクターの方が伝播するリスクが低いことを意味するものではない。

一方、例えば単純ヘルペスウイルス（Herpes simplex virus：HSV）は潜伏感染を起こすことが知られており、このような再活性化の可能性があるウイルスに由来するウイルス/ベクターの場合はウイルスの再活性化を起点として排出が起こる可能性がある。

[2] ウイルス/ベクターの由来となる親ウイルスは、ウイルス/ベクターが由来となった野生型ウイルスとは限らない。例えば、遺伝子組換えウイルスをさらに改変させたウイルス/ベクターの場合、当該ウイルス/ベクターの由来となる親ウイルスには改変した遺伝子組換えウイルスも含まれる。また、自然界から得られた低病原性の野生型ウイルスを腫瘍溶解性ウイルス等として開発する場合は、排出試験をデザインする上で同種の一般的な野生型ウイルスを親ウイルスとみなすことも可能である。

このため、長期の排出又は再活性化後の排出を評価する際には、適切な長期試験計画が必要となる場合がある。

3） 指向性並びに投与経路及び感染経路とそれに関わるリスク評価

ウイルス/ベクターの細胞・組織指向性及び投与経路は、排出の挙動や感染経路に影響を与える可能性がある。

親ウイルスの細胞・組織指向性と感染経路の情報は重要である。ウイルス/ベクターの細胞・組織指向性が由来となる親ウイルスと同じであれば、親ウイルスの感染経路に関する情報は排出試験をデザインする上で有用な情報となるであろう。例えば、親ウイルスが血液、体液等の接触によって感染する場合には血液、体液等を介して伝播するリスクを考慮する必要がある。親ウイルスが非接触感染（空気感染、飛沫感染）する場合にはウイルス/ベクターも同様に非接触感染により伝播を引き起こす可能性がある。この場合、患者体液内に排出されるウイルス/ベクターの細胞・組織指向性及び感染経路が親ウイルスと類似していれば、想定される伝播リスクは非接触感染を可能にする唾液や鼻汁等の方が他の排出経路よりもリスクが高くなる。

遺伝子組換え操作により、細胞・組織指向性を改変したウイルス/ベクターは、生体内分布や排出の挙動が親ウイルスとは異なる可能性がある。また、親ウイルスの感染経路からは想定されない部位に投与される場合も、生体内分布や排出の挙動に影響を与える可能性があることに留意する必要がある。

4） 病原性とそれに関わるリスク評価

一般的にウイルス/ベクターの由来となる野生型ウイルスは、ヒトに感染能がありながらヒトに対して非病原性又は低病原性であるものが多い。非病原性ウイルスに由来するウイルス/ベクターは、病原性ウイルスに由来するウイルス/ベクターよりも、排出された場合の懸念は相対的に小さいかもしれない。しかし、複製能、目的遺伝子等のウイルス/ベクターの他の特性を踏まえた上で総合的に第三者へのリスクを評価する必要がある。

病原性を有するウイルスは、ベクター化するにあたり、病原性を欠失又は低下するよう遺伝子操作することが一般的である。病原性を欠失又は低下するよう遺伝子改変を行ったウイルス/ベクターについては、当該改変部位が復帰変異していないことを製造工程において確認すべきである。また、増殖能の欠失によって病原性を失わせたウイルス/ベクターの場合は、RCVの発生に細心の注意を払う必要がある。さらに、病原性を欠失又は低下させた増殖性ウイルス/ベクターを用いる場合、伝播するリスク及び第三者へのリスクを評価する際には、患者又は伝播した第三者の体内で病原性が復帰していないことを確認する必要がある。

5） 野生型ウイルスとの組換え体の発生とそれに関わるリスク評価

ウイルス/ベクターが同種の野生型ウイルスと患者体内で共感染した場合、理論上、野生型ウイルスとの組換え体が出現する可能性がある。一方、野生型ウイルスとウイルス/ベクターの生体内分布が重ならず、ウイルス/ベクターが速やかに体内から消失する場合には組換え体の出現可能性は低いと考えられる。しかし、親ウイルスと同様の生体内分布を示し、体内での持続性が長いウイルス/ベクターを感染させる場合には、組換え体の出現を考慮する必要がある。このような組換え体の出現についても、親ウイルスの生活環、ウイルス/ベクターの投与経路、生体内分布試験結果、生体内での持続性等を踏まえて、伝播するリスク及び第三者へのリスクを評価する必要がある。

2.1.2 目的遺伝子の挿入又は遺伝子の欠失

ウイルス/ベクターが目的遺伝子を含むように遺伝子改変されている場合は、目的遺

伝子の発現がウイルス/ベクターの排出に影響を与える可能性がある。また、ウイルス/ベクターの由来となる親ウイルスにおいて免疫反応の標的となる遺伝子がウイルス/ベクターにて削除されている場合等においても、排出に影響を与える可能性がある。例えば、免疫系を回避するような改変を加えている場合は、排出期間が延長する可能性があり、逆に、免疫系を刺激する目的遺伝子が挿入されている場合はウイルス/ベクターの排除が促進されるかもしれない。

目的遺伝子の発現は患者周囲の第三者に疾病、遺伝子の過剰発現、免疫の過剰反応等のハザードを引き起こす可能性がある。したがって、開発者は目的遺伝子の機能を慎重に評価し、ウイルス/ベクターが伝播した際に第三者へのリスクを引き起こす可能性について検討する必要がある。

2.2 分析法

排出試験の実施には、適切な分析法を選択することが重要である。定量的分析法は、伝播するリスクの定量的評価のために最も有用である。排出されたウイルス/ベクターの検出では、分子生物学的手法として定量的ポリメラーゼ連鎖反応（quantitative Polymerase Chain Reaction：qPCR）のような核酸増幅検査（Nucleic acid Amplification Test：NAT）と生物学的手法として感染性試験が一般的に用いられる。NATに基づく試験は高感度であるが、検出されたウイルス/ベクターが感染性を保持しているかを区別することはできない。一方、感染性試験は感染性を保持したウイルス/ベクターの存在を検出することができるが、検出感度は相対的に低い。したがって、適切な検査法を選択することが重要であるが、一般的には、分子生物学的手法と生物学的手法を組み合わせることで各検査法の限界を克服することができる。なお、近年の科学技術の発展を踏まえると、ウイルス/ベクターの検出において新たな技術を用いた適切な試験法を選択することを妨げるものではない。

どのような検査法を選択するにしてもその検査法の妥当性を評価する必要がある。これは、排出試験の検体には完全なウイルス/ベクターのみならず、断片化されたウイルス/ベクターや粒子が不完全なウイルス/ベクター等が含まれるためで、採用するウイルス/ベクターの検出法がどのような状態のウイルス/ベクターを検出しているかを明確にした上で、十分な特異性、感度、精度、再現性を有することを示す必要がある。定量的分析法の感度を考慮する場合、その方法に基づいた検出限界及び定量下限を設定することが重要となる。このため、qPCR では適切な NAT 標準品が必要となり、感染性試験では適切なウイルス/ベクターの標準品及びそのウイルス/ベクターに高い感染感受性を示す適切な細胞株が必要となる。

検査法の手順は対象とする検体の特性を踏まえて確立すべきである。各検体に含まれる生体由来物質が検査法に対し干渉する可能性を評価し、状況によっては干渉を回避するための対策を検討する必要がある。例えば、生体由来物質による広範な干渉を回避するために分析前に検体を希釈する場合がある。さらに、この検体希釈においても生体由来物質の干渉作用を回避できない場合には阻害因子を除去するための手段が必要となる場合もある。

一般的に生体内分布試験における NAT の結果は各組織のゲノム DNA 1 マイクログラム当たりで表されるが、体液中の排出物量は単位容量当たりで表すことが推奨され、糞便中では単位重量当たりで表されることが多い。

ICH Q2 及び Q14 ガイドラインに概説されている原則は、分析法の適格性を適切に評価するための参考となる。

2.2.1 方法論

1）NAT による分析法

NAT は、特定のゲノム領域を増幅することでウイルス/ベクターのゲノムを検出する。この方法は感染性試験よりも簡便であり、また、迅速であること、多量の検体を同時に測定できることから、検体分析の第一段階として採用されることが多い。一方、ウイルス/ベクターの排出を十分に理解するためには、ウイルス/ベクター内の複数のゲノム配列を標的とした NAT を実施することが推奨される。例えば、単一標的部位のゲノム配列を増幅する NAT だけでは、標的部位を含む感染性のないゲノム断片も検出してしまうため、ウイルス/ベクター排出を過大評価してしまう可能性がある。このため、ゲノム全長を有するウイルス/ベクターの排出を評価するため、可能であれば、複数の標的部位を同時に増幅するマルチプレックス NAT やドロップレットデジタル PCR（ddPCR）を用いることを検討し、より正確な情報の取得に努めるべきある。

NAT の技術は常に改良されているが、NAT による検出法を確立するためには対象とするウイルス/ベクターに対し、高い特異性、適切な感度、再現性、定量性を有する必要がある。これらを示すにあたって現時点での主な推奨事項は以下のとおりである：

- 核酸の検出方法において、既知量のウイルス/ベクターの配列を含む NAT 標準品をスパイクしたコントロール検体を用いて増幅による検出の妥当性を示すこと。
- 各組織の検体における NAT の感度においては、それぞれの検体に既知量のウイルス/ベクターの配列を含む NAT 標準品をスパイクして各検体における NAT の感度を示すこと。
- NAT における増幅領域、プライマー、プローブの選択の根拠と妥当性を示すこと。
- NAT の実施に当たっては 1 種類の解析検体に対し、複数のサンプルを用意して分析を行うこと。
- NAT に供するサンプル量の根拠を示すこと。

2） 感染性試験

感染性試験では、*in vitro* で感染感受性の高い細胞株に患者又は動物より排出された検体を添加し、感染操作後のウイルス/ベクターのゲノムの存在を細胞株において検出する。非増殖性ウイルス/ベクターの場合は、増殖性の欠失に係る遺伝子を有する細胞株や感染によりマーカー遺伝子が発現するレポーター細胞のようなウイルス/ベクターの特性に応じた適切な細胞株を用いる。感染性試験としてはプラーク法、細胞変性効果（Cytopathic Effect：CPE）を示すウイルス/ベクターの場合は、50%組織培養感染用量（50% Tissue Culture Infectious Dose：$TCID_{50}$）法等が行われることが多い。プラーク分析は、検体を指標細胞に添加し、感染した細胞の細胞変性により生じるプラークを検出する方法であり、検体中のウイルス/ベクターの感染能力を測定するために広く用いられている方法である。$TCID_{50}$ 分析は、プラークを形成しないウイルス/ベクターの場合に一般的に用いられ、ウイルス/ベクターによる CPE 等を指標とする。

感染性試験は、十分な感度と再現性を有していることが求められ、十分な検体数を用いて実施すべきである。また、感度を保証するために、対象となるウイルス/ベクターの適切な陽性対照を含める必要がある。加えて、検出に用いる指標細胞の選択根拠を説明する必要がある。なお、非増殖性ウイルス/ベクターの検出に用いる指標細胞は、非増殖性ウイルス/ベクターの増殖を補完可能な遺伝子を発現している細胞が用いられる。

感染性試験にはいくつかの限界がある。例えば、ヒトは多種多様なウイルスに感染している可能性があることから、検出されたゲノムが目的とするウイルス/ベクター由来か患者に既に感染していた野生型ウイルス由来かを検証する必要がある。このため、培養により陽性のシグナルが認められた場合は目的とするウイルス/ベクターに由来す

るかを確認するため、ウイルス/ベクターの特異的配列を含む NAT 等の検査を行うことになる。また、標的細胞の不均一性による感染性試験のばらつきも検討すべき課題となる。

感染性試験は、RCV を検出する一般的な検査法でもある。すなわち、感染性試験は非増殖性ウイルス/ベクターの NAT において検出されたシグナルがウイルス/ベクター由来か RCV の発生を示唆するものかを決定することが可能である。例えば、非増殖性ウイルス/ベクターの AdV ベクターの場合、E1a 領域を持つ相補的な HEK293 細胞と E1a 領域を持たない非相補的な A549 細胞を用いることで、HEK293 細胞のみで増殖した場合はウイルス/ベクター由来であり、HEK293 細胞と A549 細胞の両方で増殖が見られた場合は RCV の発生が示唆される。

2.2.2 得られたデータの解釈

NAT によってゲノムが検出されたものの、そこから推定されるウイルス/ベクターの量が感染性試験の検出限界未満であり、分析感度の限界から、感染性試験による排出ウイルス/ベクターの感染性を判断することが困難な場合がある。その場合でも、排出量が極めて低いが排出されたウイルス/ベクターには感染性を有する可能性があると判断し、伝播するリスクを評価する必要がある。

感染性試験を実施せず NAT のみを実施し、NAT 検査結果が陽性の場合には感染の可能性のあるウイルス/ベクターが排出されたと判断すべきである。また、NAT で連続した複数の測定時点で陰性結果が確認されるまでは、伝播するリスクがあると考えるべきである。

開発者は、親ウイルスの既知の特性（例えば、感染経路、生体内分布、排出経路、潜伏期間、再活性化）を踏まえた上で、NAT 及び感染性試験の結果を評価し、適切な伝播するリスクの軽減化を図るべきである。また、第三者に疾病等のハザードを引き起こす第三者へのリスクの可能性があると推定された場合は、ウイルス/ベクターの構造を含め積極的に製造工程を見直し、伝播するリスクの最小化に努めるべきである。

2.3 非臨床試験

本節は、非臨床試験におけるウイルス/ベクターの排出試験の計画及び実施のための指針を示している。この指針には、動物種/モデルの選択、非臨床排出試験のデザイン、データ解析と解釈等が含まれる。

非臨床排出試験の目的は、ウイルス/ベクターの排出の挙動を明らかにすることより、ヒトにおいてどのような排出が起きる可能性があるのかを推定し、臨床排出試験のデザインに活用することである。非臨床の排出試験は製品ごとに実施することが望ましいが、開発中のウイルス/ベクターに類似する特性を有する他のウイルス/ベクター（例えば、同じウイルスに由来するウイルス/ベクターで、目的遺伝子の違いが排出に影響を及ぼすことが想定されないもの）において既に十分な知見が蓄積されている場合には、同様の排出試験を実施しても得られるデータの新規性に限度があることは留意すべきである。なお、非臨床の排出試験から得られた情報は臨床排出試験を代替できるものではないことにも留意する必要がある。

非臨床試験におけるウイルス/ベクターの排出は、他の非臨床試験の中で評価することが一般的である。類似する特性を有する他のウイルス/ベクターを用いて実施された過去の試験結果も、目的ウイルス/ベクターの排出の挙動を推定するために利用でき、臨床試験における排出試験計画の根拠情報の一つとして活用できる。

ただし、非臨床排出試験を実施せず、類似する特性を有する他のウイルス/ベクターの過去の情報のみで臨床試験における排出試験を立案する場合は、類似する特性を有する他のウイルス/ベクターと使用するウイルス/ベクターの排出等の挙動が類似する

ことを示す根拠を説明する必要がある。説明にあたっては、類似する特性を有する複数種類のウイルス/ベクターの生体内分布及び排出試験の結果を示すことが望ましい。

2.3.1 非臨床排出試験に用いる被験製品

非臨床排出試験に使用する被験製品は、ゲノムの同一性、ウイルスの力価/活性、製品処方に関して、治験製品と品質の一貫性を保つ必要がある。また、被験製品は治験製品と可能な限り同一の製法で製造されることが望ましいが、一般的に被験製品の製造規模は治験製品に比べて小規模になることが多く、特性解析試験も治験製品ほど包括的でない可能性がある。このような場合、非臨床排出試験の結果を臨床試験の排出試験計画の根拠情報として用いるのであれば、被験製品と治験製品の品質特性を比較し、品質の一貫性を説明できる必要がある。

2.3.2 動物種

非臨床排出試験では、他の非臨床の概念実証（Proof-of-Concept：PoC）試験や安全性試験と同様に、ウイルス/ベクターに対してヒトと類似した反応を引き起こす動物種を選択することが望ましい。

遺伝子治療用製品の臨床開発に用いられるウイルス/ベクターの多くは、ヒト以外の動物種に感染しにくく、親ウイルス自体の複製能が高くない場合もある。このような背景から、非臨床排出試験を開始する前に、選択した動物種へのウイルス/ベクターの感染能を評価しておくことが重要である。ウイルス/ベクターが感染する細胞・組織分布は、動物種によって異なる可能性がある。特に、ヒトと試験に用いる動物間でのウイルス受容体の発現量と組織分布の違いは、各組織への感染効率、ひいてはウイルス/ベクターの排出の挙動に影響を与える可能性がある。また、動物種/モデルを適切に選択するために、特定のウイルス/ベクターの排出に及ぼす健康な動物と疾患モデルの影響についての情報もあることが望ましい。このため、選択した動物種/モデルの妥当性に関するデータを含め、既に得られている非臨床 PoC、安全性及び生体内分布試験で得られた知見に基づき、非臨床排出試験を計画すべきである。対象疾患が排出の挙動に影響を及ぼすと予測される場合、排出の挙動の最適な評価として、モデル動物の使用を排出試験に含める必要があるかもしれない。例えば、腫瘍溶解性ウイルスの場合、免疫能が低下する担癌モデル動物を用いることになり、ウイルスの複製の観点から同モデル動物は最もウイルス/ベクターが増殖しうる条件として評価することが可能である。しかし、その一方で、免疫機能が低下することでウイルス/ベクターの生体内分布や排除の速度、ひいては排出に関する評価に影響を与える可能性がある。

疾患モデル動物を用いた排出試験は GLP（Good Laboratory Practice、優良試験所基準）に準拠して実施することが困難である場合が想定される。このような場合、可能な限り GLP に準拠し、やむを得ず非 GLP となる試験においても可能な限りデータの信頼性を担保する必要がある。

2.3.3 投与量と投与経路

非臨床排出試験で使用される投与量及び投与経路は、臨床での使用を反映すべきである。非臨床排出試験の計画では、1）臨床で想定している投与経路、2）臨床試験における最大用量又はそれを反映した量、3）投与回数を含め、臨床で計画する投与スケジュールを考慮すべきである。さらに、ウイルス/ベクターの排出に対する用量依存性を評価するために、予想される臨床用量範囲に相当する複数の用量を設定することも想定される。また、投与後にウイルス/ベクターが全身に分布した場合の排出の挙動も評価するため、臨床投与経路に加えて静脈内投与を試験デザインに含めることも検討される。多くの場合、静脈内投与は曝露の「ワーストシナリオ」を反映すると考えら

れているが、ウイルス/ベクターの特性や投与経路によっては必ずしもそうとは限らないことも留意する必要がある。例えば、ウイルス/ベクターの感染・増殖が局所的に起こる頭蓋内投与の場合、静脈内投与の非臨床排出試験では排出の挙動を適切に評価できないことがある。したがって、臨床試験における投与経路の代替として静脈内投与を行う場合は、投与量の適切性を含めて、その妥当性を示す必要がある。

2.3.4 検体採取頻度と調査期間

親ウイルスの生物学的特性は、ウイルス/ベクター投与後の検体採取スケジュールを立案するための指標として用いることができる。一般的に、投与直後の一過性の排出の挙動を検出するために、投与後より数日間は頻繁に検体を採取することが多い。排泄物や分泌物の採取が制限される場合があるため、検体の数や頻度については実現可能性を踏まえた検討が必要である。複数回投与試験の検体採取スケジュールを検討する際、まず単回投与試験を行い、その排出結果を元に複数回投与試験での検体採取頻度を決定することが現実的である。

生体内分布試験の結果は、特定の組織におけるウイルス/ベクターの持続性を評価する上で有用である。ウイルス/ベクターが腎臓、肺、腸管、血液等特定の臓器や組織で長期間持続する場合、排出試験の期間は、これらの臓器における持続期間を反映することが推奨される。ウイルス/ベクターの排出が生体内分布試験の期間よりも長く続く場合には、排出を検出するのに十分な期間を有する別の試験を検討すべきである。ウイルス/ベクターが複製能を有している場合は、生体内でのウイルス/ベクターの増殖を示唆する二次ピーク（secondary peak）を検出するのに十分な期間としなければならない。なお、複数の測定時点において陰性結果が連続して観察された場合は、それ以降、測定時点が計画されていたとしても排出試験を終了することが可能な場合もある。

HSV のように細胞への潜在性を有し、再活性化の可能性があるウイルスに由来するウイルス/ベクターの場合は動物での潜伏期や再活性化の結果がヒトの状況を再現しない可能性もある。また、実験動物の免疫反応によってウイルス/ベクターが生体内から排除され、排出期間が短縮されることが予想されるが、ヒトでの免疫反応が必ずしも動物での免疫反応と相同とは限らないことから、排出データを解釈する際には非臨床試験における動物での免疫学的反応を十分に考慮すべきであり、また、非臨床試験で得られた目的とするウイルス/ベクターの排出データが臨床試験において完全に外挿できないことを理解しておく必要がある。

2.3.5 採取検体

排出試験のための採取検体を決定するにあたっては、ウイルス/ベクターの特性、投与経路、動物種等を考慮する必要があり、その選択根拠を説明する必要がある。採取検体の例としては、尿や糞便が最も一般的であるが、頬スワブ、鼻スワブ、唾液、涙液、滲出液等も含まれる。

検体は投与群ごと及び投与間隔ごとに採取する必要がある。また、採取する検体は、分析の一貫性と信頼性を担保するため必要十分な数を確保する必要がある。また、定量性があり、適切な分析を実施するためには、採取すべき検体の種類及びその採取量を検討する必要がある。例えば、マウス等の小型動物では特定の分泌物や排泄物等の検体を十分量採取することが困難な場合があり、このような場合は同じ用量を投与された同じ時点の複数の動物から採取した検体をプールすることも可能な場合がある。

検体の取り扱いと保管法は、含まれている可能性のあるウイルス/ベクターを適切に保存できる必要がある。

2.3.6 非臨床データの解釈

2.3.4「検体採取頻度と調査期間」と 2.3.5「採取検体」に記述されているように、非臨床の排出試験における検体の種類、検体採取の頻度及び期間は、試験結果を解釈するうえで特に重要な情報であり、臨床試験での排出試験プロトコールの立案における確固たる根拠となる。例えば、理論上排出の可能性が低く、非臨床試験においても排出が認められなかったウイルス/ベクターに関しては、臨床試験において検体を採取する意義は低いと考えられる。また、増殖性ウイルス/ベクターの二次ピークが出現する体液やその時期が特定できた場合は、臨床排出プロトコールの立案のみならず臨床試験中の医療従事者等への指導においても有用な情報となり得る。

非臨床排出試験の結果をヒトに外挿する際には、選択した動物種/モデルがヒトとは異なる反応を示す可能性を考慮し、得られたデータの解釈は慎重に行わなければならない。

非臨床排出試験でウイルス/ベクターの排出が検出され、適切な感染性試験において感染性が確認された場合には、ヒトにおいても同時期の同一の検体においてウイルス/ベクターが排出され、第三者に対し感染の可能性があることを考慮し、開発を進める必要がある。なお、伝播するリスクを評価する方法として、非臨床試験の動物を用いた同居伝達試験の実施が考えられるが、排出されたウイルス/ベクターの感染経路についてはヒトと動物では違いがあることを十分に留意すべきである。このため、伝播するリスクの評価は、非臨床排出試験で排出が検出された時点と相当する時期に臨床試験で伝播の可能性を注意深く観察することで行う必要がある。また、ウイルス/ベクターの排出が見込まれる体液については第三者が容易に接触しないような措置を講じることも有用である。これに関しては、2.4.3「臨床排出試験結果の解釈」2.4.3 臨床排出試験結果の解釈も参照のこと。ただし、ウイルス/ベクターが排出されたとしても、それが必ずしも第三者への感染につながるとは限らないことを念頭に置く必要がある。

2.4 臨床試験

臨床排出試験を立案するにあたっては排出試験をどの開発段階で実施するか、また、その試験内容をどのようにデザインするか、さらにはウイルス/ベクターの生物学的特性に基づく患者体内での持続性や第三者への伝播をどのように評価するか等、多くの点を検討する必要がある。ただし、排出試験は必ずしも独立した試験を実施することを求められているわけではなく、本来の臨床試験プロトコールの一部として含めることができる。

現在、開発されているウイルス/ベクターの多くは、非増殖性又は特定の条件下のみで増殖能を持つ制限増殖型ウイルス由来のウイルス/ベクターである。このような場合、親ウイルスの自然感染と比較して排出期間は短くなり、また、投与経路によっては野生型株の感染後の排出経路とは異なる排出挙動を採ることが考えられる。しかし、親ウイルスの既知の感染に関する情報は、排出試験から得られたデータの解釈や伝播の可能性の推定に有用である。

2.3「非臨床試験」で検討した観察する排出期間、採取する検体の種類、採取頻度等は臨床試験の排出試験立案においても重要な情報となり得る。親ウイルスの既知の生物学的特性、ウイルス/ベクターの複製能、投与量、投与経路、患者集団の健康状態についても、臨床における排出試験のデザインにおいて考慮すべき重要な要素である。

排出の挙動は、ウイルス/ベクターの投与量及び投与経路の影響を受ける。例えば、静脈内投与は、同様のウイルス/ベクターの局所投与と比較してより広範囲に分布し、排出の可能性がある体液の種類は多くなる。また、高用量のウイルス/ベクター投与は、低用量の投与と比べてウイルス/ベクターの排出期間だけでなく、組織や臓器における

分布にも影響を与える可能性がある。さらに、ウイルス/ベクターの排出期間を評価する際には、臨床試験に登録された患者の疾患や免疫状態も考慮する必要がある。

ウイルス/ベクターの臨床排出試験を実施する適切な開発時期は、治験製品の特性及び患者集団によって異なるが、通常、排出試験は製品の有効性を検証する臨床試験の開始前に行われる。排出試験の実施時期に関する指定は製造販売承認申請において、特に定められていないが、患者数が少なく、また、その管理が容易であること、さらにはそれ以降の開発においてより適切な措置を講ずることが可能であることを踏まえると、開発初期（第Ⅰ相又は第Ⅰ/Ⅱ相）に排出試験を実施することが最も合理性が高い。特に、ウイルス/ベクターの伝播するリスクが高く、第三者へのリスクが存在する可能性がある場合は、初回の臨床試験中に排出試験を実施すべきである。一方、第三者へのリスクがほぼ想定されない場合には、開発後期に排出試験を開始することも可能である。海外の臨床試験において既に排出試験が実施されており、当該ウイルス/ベクターの排出における人種差が想定されない場合には、改めて国内での排出試験を行う必要性は低い。国内外での一連の開発を通して臨床試験で排出試験を一度も行わないことは推奨されないが、既知の類似ウイルス/ベクター等から治験製品の伝播するリスクが十分に評価でき、また、製造販売承認審査時に製品の取扱いの適切性が十分に説明可能であり、製造販売承認後の臨床現場（医師、患者等）に対し適切な取扱い方法を提供することが可能であれば臨床試験で排出試験を実施しないことも認められる可能性はある。

開発者は、臨床試験の排出試験立案時に、得られたデータが製造販売後の臨床使用時に想定される一般的な排出の挙動を代表するように適切な数の患者を組み入れることを検討すべきである。排出試験を実施する際には、患者検体の収集と検査に関して、適切に管理された条件下で実施することが重要である。例えば、患者検体は汚染を防ぐ方法で採取し、検体の劣化を抑えるために決められた期間内に測定することが必要である。また、期間を超えて後日に測定を行う場合は、採取後、直ちに検体を凍結等の適切な処置を施し、検体中のウイルス/ベクターの感染性及びゲノムコピー数の低下がない条件で保管することが必要である。なお、検査の実施に関しては同一検査施設内で一括して実施することが望ましく、地域的に広い範囲で排出試験を行っている場合は検体の劣化を最小限に抑える輸送手段についても検討しておく必要がある。

2.4.1 検体採取頻度と期間

非臨床排出試験及び既に実施済みの臨床試験における排出試験から得られたデータは、これから予定する臨床試験での検体採取時期とその期間及び頻度を決定するための根拠資料となり得る。2.3.4「検体採取頻度と調査期間」の項で述べたように、検体採取は投与直後の数日は頻繁に行い、投与後、時間が経つにつれてその頻度を下げていくことが一般的である。また、調査対象が増殖性ウイルス/ベクターの場合、検体採取の期間は、投与後に生体内で増殖することによって起こりうるウイルス/ベクターの二次ピークの検出を考慮する必要がある。

検体採取の頻度と期間は、患者集団、臨床適用、併用療法、患者の免疫状態に影響される可能性があるため、これらの因子を考慮して検体採取計画を設定する必要がある。また、ウイルス/ベクターに対する免疫反応は、排出の挙動を変化させる可能性があり、免疫反応が強いとウイルス/ベクターの排除が早まることによって、ウイルス/ベクターの排出期間が短くなり、排出量も少なくなる可能性がある。なお、ウイルス/ベクターに対する免疫応答は、ウイルス/ベクター上に挿入されている目的遺伝子によって、野生型ウイルスに対する免疫応答とは異なる可能性があることに留意すべきである。

腫瘍溶解性ウイルス等ウイルス/ベクターが複製能を有している場合、がん等で免疫機能が低下している患者では、免疫機能が正常な患者とは異なるウイルス/ベクター排

除の挙動を示すだけでなく、ウイルス/ベクターが体内で通常よりも増殖する可能性があり、結果として第三者への伝播を起こす可能性が高まるため、検体採取頻度や採取期間の設定はより慎重に検討すべきである。また、腫瘍溶解性ウイルスは、時に免疫機能に影響を与える薬剤と一緒に使用されることがあるため、その排出の挙動に変化が生じることがあることは留意すべきである。

臨床排出試験については、その終了条件を検討しておく必要がある。排出試験における検体採取とウイルス/ベクター検出試験は、通常、連続して複数の測定時点で陰性となるまで継続する必要があるが、複数回連続して陰性となった場合、排出試験を終了するかについては、ウイルス/ベクターの増殖性、検体採取の間隔、ウイルス/ベクターの検出方法等を考慮する必要がある。例えば、増殖能があるウイルス/ベクターが、短い間隔での感染性試験において 2 回陰性であったとしても二次ピークを見落としている可能性があるかもしれない。そのような場合は、一定の間隔を置いて、再度、陰性であることを確認する必要があるかもしれない。長期的に潜在化する可能性があるウイルス/ベクターでは、再活性化の徴候を疑わせる臨床的症状が観察された段階で追加的な排出試験の必要性を検討すべきであり、この場合、速やかに規制当局と協議することを勧める。

一方、AAV 由来のウイルス/ベクターのように感染自体は長期にわたるが体内での増殖の可能性が想定されない場合は、ウイルス/ベクターの排出量が試験法の検出下限に達しない場合であっても、継続的な減少傾向又は安定したプラトー値を示すことをもって検体の採取と分析を終了することが可能である。

ウイルス/ベクターを複数回投与する場合、検体採取は単回投与の場合よりも長い期間実施する必要があり、通常、各投与後の一定期間の検体採取計画を立案する。なお、同一又は類似のウイルス/ベクターについて単回投与後に収集された排出データが得られている場合は、複数回投与後の検体収集の分析に参考になる可能性がある。また、2 回目投与以降、患者の免疫等によってウイルス/ベクターが 1 回目より速やかに排除されることが確認された場合は、2 回目以降の投与後の検体採取は不要になるかもしれない。

2.4.2 検体採集

非臨床排出試験の結果は、臨床試験での排出試験でどのような検体を採取すべきかの選択に役立てることができる。臨床試験での排出試験で一般的に収集される検体は尿、唾液、糞便であるが、ウイルス/ベクターの特性や臨床試験で使用される投与経路によっては、その他の検体が適切である場合もある。例えば、眼疾患において硝子体内又は網膜下にウイルス/ベクターが投与される場合は、涙液の採取が考えられる。頭頸部癌における腫瘍内投与では、鼻咽頭洗浄液やスワブの採取も考えられる。ウイルス/ベクターが皮内又は皮下に投与される場合、投与部位での浸潤を確認するために、注射部位を綿棒等で採取することも考えられる。親ウイルスの既知の感染経路が鼻腔エアロゾルである場合、鼻腔スワブも採取検体に含めることができる。食道、胃等の消化器系の癌にウイルス/ベクターを投与するような場合は糞便の評価は必要と考えられる。また、静脈内投与の場合、消化器系にウイルス/ベクターが排出することが多いため、糞便への排出を評価する必要性がある。ただし、いずれの場合でも、非臨床排出試験の結果及び投与経路から検討した結果、糞便への排出が想定されない場合は、糞便の採取が必ずしも必要でない場合も想定される。

多くの腫瘍溶解性ウイルスの主な投与経路は腫瘍内投与である。腫瘍溶解性ウイルスの場合、対象とする腫瘍によっては適切な検体採取を検討する必要がある。また、ウイルス/ベクター投与後に腫瘍の摘出手術を行う場合、ウイルス/ベクターが増殖して周辺組織に広がっている可能性を評価するため組織生検を行うことが有用な場合がある。生検の結果から、さらなるウイルス/ベクターの伝播するリスク及び第三者への

リスクの発生の可能性について有用な情報が得られる可能性がある。

適切なウイルス/ベクター検出試験を実施するためには、十分量の検体を採取すべきであり、可能な限り、必要に応じて検出試験を繰り返し実施できるように十分量の検体を保管しておくべきである。また、検体の質の担保には、交差汚染がなく、検査期間中の安定性が維持できるよう保管しなければならない。

投与後の血液中のウイルス/ベクターの挙動を把握することは有用であり、排出試験と同時に、又は別途、血液中のウイルス/ベクターの量を経時的に測定することが一般的に行われている。血液中のウイルス/ベクターの有無は、ウイルス/ベクターが投与部位から全身にどれだけ拡散するかを推測するのに役立ち、また、医師、看護師等が患者検体を適切に取り扱うためのマニュアル作成に際して重要な情報となり得る。

2.4.3 臨床排出試験結果の解釈

排出されたウイルス/ベクターの伝播するリスクを推定するためには、どのような感染性又は遺伝子配列を持つウイルス/ベクターが排出されたかを確認し、ウイルス/ベクターが検出された場合であっても、検体の量、検体の保管状況等によっては、感染性試験が実施できず、体液に残存するウイルス/ベクターの感染能を評価することは難しいかもしれない。しかし、NAT では感染性ウイルス/ベクターと感染性を喪失したウイルス/ベクター又はウイルス/ベクターの分解物を区別することができないため、NAT によりウイルス/ベクターのゲノムを検出した場合は、量的に極めて微量ではあっても感染性を維持したウイルス/ベクターが体液に存在することを前提として伝播するリスクを評価すべきである。

ウイルス/ベクターが排出経路を含めてどのように排出されるかを確認することは、伝播するリスクを評価する上で重要な要素である。親ウイルスの自然感染経路は評価において非常に重要な情報である。例えば、ウイルスの中にはエアロゾルを介して感染するものがあり、そのようなウイルスに由来するウイルス/ベクターが唾液を介して排出されたり、鼻咽頭スワブから検出された場合には、尿等の排出経路と比較して、伝播するリスクが高くなる可能性がある。

排出量と排出期間も考慮すべきである。増殖性ウイルス/ベクターは、患者体内で長期間持続し、その量も増加する可能性があり、その結果、伝播するリスクが高くなる可能性がある。

病原性を持たないウイルス由来のウイルス/ベクターが排出された場合、第三者へのリスクは病原性を有するウイルス由来のウイルス/ベクターより小さいかもしれないが、最終的な第三者へのリスクはウイルス/ベクターの他の生物学的特性、すなわち増殖能や病原性の低下の程度にも依存する。また、ウイルス/ベクターが目的遺伝子を含む場合、発現した目的遺伝子産物が第三者の安全性に与える影響を考慮しなければならない。さらに、目的遺伝子がウイルス/ベクターの表現型や特性に及ぼす潜在的影響も第三者へのリスクを検討するにあたって考慮しなければならない。第三者へのリスクはウイルス/ベクターの特性に依存するところが多いため、製品として国内の医療機関に流通することを考えると、第三者へのリスクの低いウイルス/ベクターを用いることが望ましい。このため、第三者へのリスクの低いウイルス/ベクターへの変更が困難な場合には、伝播するリスクを厳密に管理することによって第三者へのリスクの軽減を最大限に図る必要がある。

直接的な第三者へのリスクが発生しない場合であっても、望まない第三者への伝播は原則として避けるべきであり、特に、感染伝播によりウイルス抗体価が上昇し、伝播した第三者又はその子どもが同一又は類似の遺伝子治療を受ける機会を喪失する可能性があることから、第三者への伝播するリスクについては可能な限り軽減する必要がある。

2.5 伝播するリスク及び第三者へのリスク評価

投与後に患者からウイルス/ベクターの排出が確認されたからといって、必ずしも第三者への伝播を意味するものではないが、引き続き伝播するリスク及び第三者へのリスクの評価を行う必要がある。開発者は、得られた臨床試験での排出試験の結果とこれまでの知見から伝播するリスク及び第三者へのリスクを評価可能と考える場合には、必ずしも追加の臨床排出試験等を行う必要はないが、その判断の妥当性については規制当局と相談することが望ましい。例えば、非増殖性のウイルス/ベクターであって、排出が認められた検体が通常の感染経路とは異なるため野生型ウイルスとの共感染が想定されず、さらにはその検出量がごく微量である場合等には、追加の臨床排出試験を行わず、伝播するリスク及び第三者へのリスクの評価が可能であるかもしれない。しかし、臨床排出試験のデータ及びこれまでの知見から伝播するリスク及び第三者へのリスクを十分説明できない場合には、次期の臨床試験計画において伝播の有無を評価する追加の排出試験の実施が必要となるかもしれない。

2.5.1 伝播するリスク

伝播するリスクを評価する際は、感染能が維持されているウイルス/ベクターの排出量とその期間を評価すべきである。この情報は、排出による伝播において、1）第三者への伝播が成立するだけのウイルス/ベクターの量が排出されているのか、2）伝播が最も起こりやすい時期はいつか、すなわち投与後の短期間に伝播する可能性はあるか（医療従事者への感染）、又は投与後一定時間が経過した後にも伝播する可能性はあるか（家族、入院中の他の患者、公衆への感染）に分けて評価する。

ウイルス/ベクターの生物学的特性は評価における重要な基礎情報である。生物学的特性のうち最も重要なのは、排出されたウイルス/ベクターが増殖能を持つかである。ただし、排出されたウイルス/ベクターに増殖能があったとしても、必ずしも第三者の体内で増殖するとは限らない。一方、排出されたウイルス/ベクターに増殖能がない場合でも、一過性に第三者へ伝播する可能性はあり、その結果、目的遺伝子が第三者において発現され、ウイルス/ベクターに対する抗体が誘導される可能性はある。伝播するリスクを評価する際には、一般集団における親ウイルスに対する既存の免疫に関する情報が有用となる場合がある。例えば、広範に親ウイルスに対するワクチンが接種されている場合では、ウイルス/ベクターに対する免疫を有する人が大半であり、ウイルス/ベクターの伝播するリスクが減少する可能性はある。一方、患者と親ウイルスに対するワクチン未接種の集団や免疫不全患者との接触には常に注意を払うべきである。なお、目的遺伝子に関する特性として公衆衛生上等の懸念がない場合、ウイルス/ベクターの排出量が過剰でない限りは、健康な第三者への製品の伝播による第三者へのリスクの可能性は低いと考えられる。

ウイルス/ベクターの伝播に対し有効な防止策を講じることができるかという観点も伝播するリスクを評価するには重要な要素である。ウイルス/ベクターで汚染された可能性があるおむつやティシュペーパー、吐物を拭いた紙やタオル等については、これらの廃棄物から第三者に伝播しないよう適切な処理及び廃棄方法を設定する必要がある。また、唾液に微量なウイルス/ベクターの排出が認められた場合は、適切な期間、患者がマスクを着用することで伝播するリスクを軽減することができる。ウイルス/ベクターの物理的・化学的不活化法を設定しておくことは、第三者への伝播の防止策を講じるにあたって有用な方策となる。例えば、尿中にウイルス/ベクターが排出され、ウイルス/ベクターの不活化が行われないことで伝播するリスクがある場合は、使用後の便器に適切なウイルス不活化剤を注入することで第三者への伝播を防ぐことが可能かもしれない。また、寝具等は患者の体液による汚染が広がらないよう分けて置き、個別に洗濯する等、汚染された寝具等について予めその対処方法の手順をウイルス/ベ

クターの不活化方法に基づいて決定しておくことが望ましい。

親ウイルスに感染した患者の治療法に関する情報は、伝播を起こした際の対応方法を設定するための手段として広く収集すべきであり、適切な治療法が存在するのであれば、ウイルス/ベクター感染時の第三者へのリスク対応に応用できる可能性がある。

2.5.2 第三者へのリスク

臨床試験において排出が観察され、排出量及び排出期間から評価した結果として伝播するリスクがあり、ウイルス/ベクターの特性から第三者へのリスクが想定される場合には、慎重に伝播するリスク及び第三者へのリスクの評価を実施し、必要に応じて第三者へのリスクを評価するための試験等を実施すべきである。なお、これら試験は臨床試験の中で実施することも可能と思われるが、リスクの発症頻度を勘案すると、臨床試験の中で完全に治験製品の伝播の可能性を把握することはできないと考えられ、その場合には市販後の情報収集計画の一環として製造販売承認後に継続的なモニタリングが必要になることもある。

第三者へのリスクについて重大な懸念を示唆する評価となった場合であって、開発を継続する価値があると考える場合は、その対応に関して規制当局に相談することを強く勧める。少なくとも開発中は、患者の行動を可能な限り制限するとともに、最も感染のリスクが高い者、すなわち、医療従事者、在宅介護者、家族、その他の濃厚接触者について注意深く監視を継続する必要がある。監視に当たっては、ウイルス/ベクターの感染と考えられる兆候と目的遺伝子の発現による影響を推定できる兆候をそれぞれ定義し、情報収集する体制を構築する必要がある。

第三者からの情報収集は基本的には非侵襲的（健康状態に関するアンケート等）に行うことが想定されるが、伝播が起こったことが示唆される兆候があれば、より詳細な検査を行うべきである。この種の情報収集は、例えばワクシニアウイルス由来のウイルス/ベクターの伝播の結果として第三者に皮膚病変が生じる等、感染による明らかな臨床症状が予想される場合に最も有用である。

多くの場合、より詳細な検査を行う場合には採血を行い、関連するウイルス血症の証拠となるウイルス/ベクターのゲノムの検出や抗体値の測定及びウイルス/ベクターや目的遺伝子から発現したタンパク質に対する抗体反応等が想定される。また、ウイルス/ベクターが排出されているかを評価するための体液採取も考慮すべきである。この場合に選択される体液検体は、当初の臨床試験における排出観察データに基づくべきであり、ウイルス/ベクターの検出に関しては適切な検査法を採用すべきである。

2.5.3 伝播するリスク及び第三者へのリスク評価に基づく対応

利用可能な臨床データの評価結果をもって第三者に伝播するリスクがどの程度存在するかを評価し、また、伝播するリスクによって第三者へのリスクが生ずるかの観点も含めて解釈することが重要である。伝播するリスクが認められた場合は、第三者への伝播を防止する適切な措置を講じる必要があるが、その措置は、第三者へのリスクが大きいほど厳格かつ広範に行うべきである。第三者への伝播を防止する適切な措置には医療従事者や患者又は患者家族に対する資材等による教育も含まれる。

臨床試験においては、患者は一定の管理下にあり、患者と接触する人数も限定されるため、ウイルス/ベクターの特性上、伝播するリスクがある場合でも、臨床試験中は広範な第三者への伝播を確認することは困難と想定され、伝播に関する評価を製品のファーマコビジランス及び市販後の情報収集の一部に含めることを検討すべきである。一方、臨床試験中に第三者への伝播が確認されたが健康への影響は最小限であった場合でも、上記と同じく市販後の情報収集の中に伝播に関する評価を含めることを検討することが望ましい。

付録１　細菌ベクターの排出評価

現在開発されているベクターの多くはウイルス由来のベクターであるが、細菌由来のベクターも開発されている。本付録では、細菌ベクター特有の留意事項を記載する。

1 細菌ベクターの特性における留意点

ウイルス/ベクターの挙動を把握するために考慮すべき論点の多くは、細菌ベクターにも当てはまる。細菌ベクターは一般的に複製能を持つ、又は特定の条件下で複製可能であるため、複製能の評価は重要な要素である。生体内における持続能力、抗菌剤耐性能等、細菌ベクター特有の特徴についても考慮する必要がある。

1） 複製能

細菌ベクターは通常は増殖性であるため、2.1.1「ウイルス/ベクターの品質特性」で示された増殖性ウイルス/ベクターの考え方が適用できる。生体内及び排出後に増殖ができない特殊な細菌ベクターについては、非増殖性ウイルス/ベクターの考え方が適用できる。

2） 休眠状態と持続性

ある種の細菌（サルモネラ菌、リステリア菌、結核菌等）は細胞内で複製するため（細胞内感染)、細胞外で複製・増殖する細菌ベクターより排出が長い期間続く可能性がある。したがって、排出経路と排出期間を推定するためには、対象の細菌ベクターの複製が可能となる細胞の種類と、細菌が休眠状態で持続性又は生存する組織や臓器の特性を考慮することが重要である。

3） 抗菌薬に対する感受性/耐性

抗菌薬への感受性は、投与後の患者体内からの細菌ベクターの除去及び伝播した第三者に対する治療法を考慮する上で重要な要素であり、細菌ベクターの伝播するリスク及び第三者へのリスクの評価に当たっては考慮することが重要である。なお、薬剤耐性遺伝子は、細菌ベクターの伝播に対し使用可能な抗菌剤を制限してしまう可能性があり、また、自然界で薬剤耐性因子を他の細菌に受け渡す可能性もあるため、遺伝子改変による抗菌剤耐性因子を導入した細菌ベクターは可能な限り使用すべきではない。細菌ベクターの特性解析には、製品の抗菌剤感受性/耐性の情報を含めるべきである。

2 細菌ベクターの排出試験

ヒトの分泌物及び排泄物には細菌ベクターに類似した細菌類が混在している可能性が高い。したがって、細菌ベクターと類似の細菌類を区別するには、細菌ベクター特有の配列を標的とした NAT の利用が考えられる。また、細菌ベクターの検出においては、類似したグラム陽性菌又はグラム陰性菌を区別するために、細菌ベクターの増殖に係る特異性を利用した細菌培養が必要となる。培養後には指標細胞への感染性試験や NAT、遺伝子シークエンス解析等による細菌ベクターの同定も必要となるだろう。

細菌ベクターの使用例として、投与後に十分な治療効果が発揮された後に、抗菌剤にて細菌ベクターを除去することがある。このような抗菌剤による細菌ベクターの除去能力や除去効率は非臨床試験で評価すべきであり、短期的な効果（数カ月まで）は動物/モデルで評価できる可能性がある。抗菌剤を繰り返して使用することは、投与された細菌ベクターに薬剤耐性遺伝子の獲得を誘発し、排出の挙動に変化が起こる可能性があることを留意する必要がある。また細菌ベクターの薬剤耐性の獲得は伝播する

リスク及び第三者へのリスクに影響を与える可能性がある。

以上

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「in vivo 遺伝子治療における患者検体を用いた AAV ベクター由来遺伝子治療用製品の品質・有効性・安全性評価系の開発」

研究開発代表者：
国立成育医療研究センター 遺伝子細胞治療推進センター センター長
小野寺　雅史

研究開発分担者：
国立成育医療研究センター研究所 成育遺伝研究部 疾患遺伝子構造研究室 室長
内山　徹

国立成育医療研究センター研究所 周産期病態研究部 周産期ゲノミクス研究室 室長
中林　一彦

金沢工業大学 加齢医工学先端技術研究所 特任教授/所長
山口　照英

独立行政法人医薬品医療機器総合機構 スペシャリスト（バイオ品質担当）
櫻井　陽