

平成 26 年 2 月 18 日

自治医科大学附属病院から申請のあった遺伝子治療臨床研究実施計画に係る意見について

遺伝子治療臨床研究に関する審査委員会
委員長 山口 照英

自治医科大学附属病院から申請のあった下記の遺伝子治療臨床研究実施計画について、本審査委員会で検討を行い、その結果を別紙のとおりとりまとめたので報告いたします。

記

1. CD19 特異的キメラ抗原受容体発現 T リンパ球を用いた難治性 B 細胞性悪性リンパ腫に対する遺伝子治療臨床研究

申請者：自治医科大学附属病院 病院長 安田 是和

申請日：平成 25 年 7 月 3 日

1. 遺伝子治療臨床研究実施計画の概要

- (1) 研究課題名: CD19 特異的キメラ抗原受容体発現Tリンパ球を用いた難治性 B 細胞性悪性リンパ腫に対する遺伝子治療臨床研究
- (2) 申請年月日: 平成 25 年 7 月 3 日
- (3) 実施施設: 自治医科大学附属病院
代表者: 病院長 安田 是和
- (4) 総括責任者: 自治医科大学
内科学講座血液学部門
分子病態治療研究センター遺伝子治療研究部免疫遺伝子細胞治療学 (タカラバイオ) 講座
教授 小澤 敬也
- (5) 対象疾患: CD19 抗原陽性の難治性 B 細胞性悪性リンパ腫
導入遺伝子: CD19 抗原特異的キメラ抗原受容体 (CAR) 遺伝子
ベクターの種類: レトロウイルスベクター
用法・用量: 被験者から採取した末梢血を用いて CAR 遺伝子導入 T リンパ球を調製し、被験者の静脈内に 2 日に分けて (初日: 1/3 量、2 日目: 2/3 量) 投与する。CAR 遺伝子導入 T リンパ球の投与量は、低用量 (1×10^6 個/kg)、中用量 (3×10^6 個/kg)、高用量 (1×10^7 個/kg) の 3 群とする。また、症例に応じ、28 日目以降に再度投与を行う。
なお、前処置として、初回 CAR 遺伝子導入 T リンパ球投与の 2 日ないし 3 日前に、シクロホスファミド又はベンダムスチンを投与する。
- 研究実施期間: 厚生労働大臣より了承された日から 3 年間
目標症例数: 9 例 (低用量 3 例、中用量 3 例、高用量 3 例。重篤な有害事象の発現状況に応じて、安全性確認のため症例数の追加を行う。最大 18 例。)

(6) 研究の概略:

本研究は、標準的な治療法 (化学療法、放射線療法等) による効果が期待できない治療抵抗性の B 細胞性非ホジキンリンパ腫 (B-NHL) を対象とした養子免疫遺伝子療法の第 I/II 相臨床研究である。具体的には、CD19 抗原を特異的に認識するキメラ抗原受容体 (CAR: chimeric antigen receptor) の遺伝子を導入した自己 T リンパ球を輸注し、その安全性を検証することを目的とする。併せて、臨床効果と CAR 遺伝子導入 T リンパ球の体内動態を評価する。

(7) その他（外国での状況等）：

米国において、慢性リンパ性白血病、急性リンパ性白血病又は悪性リンパ腫の患者に対し、CD19 抗原特異的 CAR 遺伝子を導入した T リンパ球を投与する複数の臨床研究が実施されている（一部の研究では本研究と同一のベクターを用いている。）。

これらの臨床研究では、一部の症例において、高サイトカイン血症、正常 B リンパ球の減少による低グロブリン血症、インフルエンザ肺炎等の有害事象（死亡例 2 例を含む。）が報告されており、その後、投与細胞数の減量や分割投与などの安全性を高める対応がとられている（本研究でもその点を踏まえた対応がとられている。）。

2. 遺伝子治療臨床研究に関する審査委員会における審議概要

1) 事前の意見・照会事項及びその回答

審査委員会の開催に先立ち、各委員より申請者に対して、遺伝子治療臨床研究実施計画申請書等に係る意見・照会事項を送付し、平成 25 年 12 月 9 日に申請者よりそれに対する回答を得た。主な意見・照会事項及び回答の概要は以下の通りである。

（審査委員会からの主な意見・照会事項及びそれに対する回答）

ア．実施計画書の適格基準において「再発・難治性の CD19 陽性 B 細胞性非ホジキンリンパ腫（中略）患者」とされているが、対象となる治療法（薬剤等）が不明確であるため、「〇〇に対して再発・難治性の CD19 陽性 B 細胞性非ホジキンリンパ腫（中略）患者」などとすべきではないか。

【回答】実施計画書では、再発および難治性を「救援化学療法」後であると定義している。一方、「救援化学療法」については、組織系、病変部位、併存症などの患者背景、施設間の方針などにより様々であるため、「救援化学療法」を明確に定義することは困難である。

このため、実施計画書については、救援化学療法としてよく用いられる治療レジメン（DHAP 療法、DeVIC 療法、ICE 療法、ESHAP 療法、HyperCVAD/High dose MTX・Ara-C 療法、BR 療法など）を記載するよう修正した。

イ．実施計画書の適格基準において「生検が施行できないと担当医師により判断された場合は、病歴と画像診断により適格性を判断しても良い」とされているが、どのように CD19 陽性であることを判断するのか。

【回答】CD19 陽性か否かの直接的な診断には生検が不可欠である。一方で、再発・難治性患者においては、生検等の侵襲性が高い検査が困難である場合や、生検を行う時間的余裕がない場合が少なくない。また、抗体医薬の臨床研究や治験では多くの場合、過去のリンパ節生検検体の病理検査を適格基準に用いている。

このため、実施計画書を修正し、「被験者にとって再生検が非倫理的であると担当医師により判断された場合には、登録時より 3 年以内の生検検体で CD19 陽性を確認し、病歴と画像診断により適格性を判断しても良い」とした。

ウ. 患者からの採血量について、貧血等のある患者から一度にこれだけの量（T リンパ球を得るための採血量として最大 600cc）の採血が可能なのか。

【回答】Tリンパ球を得るための採血量は日本自己血輸血学会の実施基準を参考にしているところ、貧血のない患者(Hb $\geq$ 11.0 g/dL)についての採血量は400 ccあるいは循環血液量の10%以内（最大採取量600 cc）が推奨されており、この点は問題ないとする。

一方、貧血のある患者（Hb < 11.0 g/dL）については、返血を伴う採血法（単核球と血漿を分離し赤血球は返血する。）を用いることにより安全に採血が可能と考える。

エ. 二次登録で選択基準を満たさずに脱落する割合はどれくらいか。同意説明文書において、海外の実施施設での情報などを説明に加えるよう検討すること。

また、二次登録で選択基準を満たさない場合、一次基準適格者として再度採血して遺伝子導入細胞の調製を行うことは可能か。

【回答】二次登録で選択基準を満たさない場合として、①一次登録後に患者の状態に変化があった（原疾患の急速な進展、その他の理由による臓器機能の低下）場合と、②投与に必要な目標細胞数が得られなかった場合が考えられる。

①の場合は本研究を継続することで被験者に不利益をもたらす可能性が高いため脱落となるが、②の場合は再度の採血及び CAR 遺伝子導入 T リンパ球の調製を可能とする。

同意説明文書を修正し、米国の臨床研究において目標細胞数が得られなかったケースがあること、及び本研究ではその場合に再度 CAR 遺伝子導入 T リンパ球の調製を行うことを記載した。

オ. 前処置としてシクロホスファミド又はベンダムスチンを投与することになっているが、米国の臨床研究においては多くはシクロホスファミドを利用しているところ、なぜベンダムスチンを使用するのか。また、どのような条件でどちらの薬剤を使うかといった選択法を明確にすべき。

【回答】シクロホスファミドは悪性リンパ腫の治療における標準的治療薬であることから、被験者は同剤の投与歴があることが予想される。一方、ベンダムスチンはシクロホスファミドをはじめとする他のアルキル化剤と交差耐性を持たない薬剤であり、また副作用についてはシクロホスファミドと異なるプロファイルを持つことが報告されている。

本研究では、シクロホスファミドが投与困難と判断された症例にも前処置が可能となるよう、①ベンダムスチン耐性例であること、あるいは、②シクロホスファミドの予測される副作用が容認できないと担当医師が判断した場合にのみ、前処置としてベンダムスチンを選択可能とすることとし、その旨を実施計画書に記載した。

カ. 前処置として投与する化学療法剤は、残存するT細胞の除去に重要であり、遺伝子導入細胞の生体内維持に重大な影響を与えられ、予定症例が少ない中

で上記のような薬剤の使い分けを行うことは、試験結果の評価に影響を与えるのではない。

【回答】米国の臨床研究においても前処置に用いる薬剤や治療強度は様々であり、現在のところ、CAR 遺伝子導入 T 細胞療法における前処置の位置づけ、適切な前処置法については統一した見解がない。

一方、一般に難治性悪性腫瘍に対する新規治療の有効性を検討する臨床研究においては被験者の治療歴は様々であり、本研究の被験者においても登録前の免疫状態は様々である。そのため、仮に同一の前処置で T リンパ球除去を行ったとしても、CAR 遺伝子導入 T 細胞の生体内維持の評価に際し、被験者の本研究エントリー前の免疫能の影響を排除することは困難であると考え

本研究では、血漿サイトカイン、制御性 T 細胞の解析も併せて行い、CAR 遺伝子導入 T 細胞の生体内維持に与える影響については様々な角度から解析を行う予定である。

キ. CAR 遺伝子導入 T リンパ球の投与により、正常な B 細胞が減少し、低ガンマグロブリン血症が起こることが予想されるため、その可能性と当該有害事象に関する安全性面の検討について、実施計画書に詳細に記載すること。

【回答】実施計画書を修正し、①米国の臨床研究において正常 B リンパ球の低下が持続している症例が見られていること、②低ガンマグロブリン血症により感染の危険性が高まること、③本研究において、感染症のリスクを減らすことを目的に、血清 IgG トラフ値 500 mg/dL 以上を維持するように免疫グロブリン製剤の投与を行うこと、等を記載した。

ク. 正常 B リンパ球の減少の有無の確認及び被験者血清中の免疫グロブリン濃度の測定に関し、具体的にどのように検査を実施するかを実施計画書に記載すること。

【回答】実施計画書を修正し、①正常 B リンパ球の検査はフローサイトメトリーを用いて行い、そのマーカーとして CD19 を用いるほか、B リンパ球系腫瘍と区別するために各症例の腫瘍細胞が付加的に発現している他のマーカーを併せて用いること、②また、血清免疫グロブリン値(IgG, IgA, IgM)については、一次登録時、CAR 遺伝子導入 T リンパ球の輸注日、day28、day56、day84 に測定すること、等を記載した。

ケ. 米国の臨床研究において報告された重篤な高サイトカイン血症の有害事象について、同意説明文書における記載は簡潔すぎであり、死亡例が出ていることも踏まえ、海外の症例を参照しつつ、より詳細に記載すべき。

【回答】同意説明文書の高サイトカイン血症の項目を修正し、米国の臨床研究における死亡例と重篤な有害事象が出現した報告例について詳細を追記した。また、NCI のグループが報告した HER2 を標的とした CAR 遺伝子導入 T 細胞療法における高サイトカイン血症に関連した死亡例についても、記載した。

コ. 被験薬を分割投与（初日に 1/3 量、翌日に 2/3 量）にしたのは有害事象のリスクを

下げるためと理解するが、1/3と2/3という分け方にした理由、及び分割投与のうち2回目を翌日とした理由を説明すること。また、最高投与量では1/3量といえどもかなりの投与量になると考えられるが、安全性上の問題はないか。

【回答】米国組換えDNA諮問委員会は、CAR遺伝子導入T細胞を用いた遺伝子治療の臨床研究遂行にあたって、急性毒性のリスクを減らすためにTリンパ球を2日またはそれ以上にわたって分割投与することを提言している。

また、本研究の投与スケジュールは、共同研究者である米国メモリアル・スローン・ケタリングがんセンター（MSKCC）のプロトコルを参考に作成しているが、彼らは輸注レベル1として 1×10^7 個/kgを設定しているところ、本研究における輸注レベル1は 1×10^6 個/kgであり、最大輸注レベルでも 1×10^7 個/kgに設定している。そして、MSKCCの臨床研究が安全に遂行できていることから、本研究の投与量およびスケジュールに問題はないと考える。さらに、本研究は用量漸増試験であるため、1/3量は、1回投与量としては前の輸注レベルにて安全性が確認されている量に相当する。

サ. 本研究では、実施期間（3年間）に比べてフォローアップ及び記録保存が長期間（15年間）にわたるが、その間の実施は何らかの規定で担保されているのか。

【回答】実施計画書を修正し、長期追跡調査の具体的な検査・観察方法を記載するとともに、すべての長期追跡調査の結果は総括責任者が管理し、総括責任者が退職した場合には自治医科大学附属病院長が指名した責任者がその任にあたり、本研究との関連が否定できない有害事象が発生した場合は公表することを記載した。

シ. 被験者に投与する CAR 遺伝子導入 T リンパ球について、増殖性レトロウイルス（RCR）の測定として S+L assay を行わない理由は何か。

【回答】本研究で用いるレトロウイルスベクターは第3世代のパッケージング細胞である PG13 を用いており、RCR が出現する可能性は極めて低いと考える。また、本研究では、レトロウイルスベクター産生細胞のマスターセルバンク（MCB）、及びレトロウイルスベクターとその EPC(end of production cell)各ロットに対して、S+L assay を実施して陰性であることを確認している。また、S+L assay は試験結果を得るのに2ヶ月以上を要することから、CAR 遺伝子導入 T リンパ球の投与前に結果を得ることが出来ない。

以上の理由から、CAR 遺伝子導入 T リンパ球の RCR の測定については、迅速に結果が判明する RT-PCR 法を採用している。

2) 審査委員会における審議

① 開催日時： 平成 25 年 12 月 17 日(火) 14:00～16:00

② 議事概要：

平成 25 年 7 月 3 日付けで自治医科大学附属病院から申請のあった遺伝子治療臨床研究実施計画（対象疾患：難治性 B 細胞性非ホジキンリンパ腫）についての審議を行

った。

まず、実施計画について総括責任者等より説明を受けた後、委員間で実施計画の妥当性等について審議が行われた。その結果、申請のあった実施計画について、概ね妥当であるが、被験者に投与する遺伝子導入細胞における生存率及び増殖性ウイルスの検出方法、同意説明文書の記載内容等について確認した後、科学技術部会に報告することとされた。

なお、指摘事項は平成 25 年 12 月 25 日に発出され、申請者より平成 26 年 1 月 8 日に回答が提出された。

指摘事項の内容及び回答の概要は以下の通りである。

(審査委員会からの主な意見・照会事項及びそれに対する回答)

ア. 本研究において発生が予測される有害事象について、同意説明文書における説明内容が十分であるか(有用性の説明に比べてバランスを欠いていないか)を改めて見直すとともに、有害事象が生じた場合の対処方法についてもより具体的に記載すること。

【回答】同意説明文書を修正し、各有害事象が生じた場合の対処療法をより具体的に記載するとともに、免疫グロブリン製剤の投与基準と頻度、投与継続の必要性を追記した。

イ. レトロウイルスベクターによる挿入変異のリスクについて、本研究において被験者に投与する遺伝子導入細胞に未成熟な幹細胞が含まれていないことを確認しているか。

【回答】通常、末梢血中に存在する造血幹細胞数は極めて少なく(0.1%以下)、造血幹細胞の混入は非常に少ないと考えられる。

また、CAR 遺伝子導入 T リンパ球の細胞培養条件は T リンパ球が優先的に増殖する条件となっており、レトロウイルスベクターによる遺伝子導入には標的細胞が分裂している必要があることを加味すると、調製された細胞集団中に遺伝子導入された造血幹細胞が混入する可能性は極めて低いと考えられる。

実際、本研究での CAR 遺伝子導入 T リンパ球調製方法による健常人ドナーからの試験調製において、フローサイトメトリーによって CD34 陽性細胞の割合を測定した結果、2 回の試験調製においていずれも 0.1%未満であった。

ウ. 被験者に投与する遺伝子導入細胞における RCR の測定について、被験者への投与と並行して遺伝子導入細胞の S+L assay の実施するよう検討すること。

【回答】本研究において RCR が出現する可能性は極めて低いと考えられるが、念のため、本研究では、迅速に結果が判明する RT-PCR 法を行い、被験者に遺伝子導入 T リンパ球を投与する前に RCR の発生がないことを確認することになっている。そして、RT-PCR 検査で陽性あるいは判定困難な結果が出た場合にのみ、S+L assay を追加で実施し、データの解釈に役立てたいと考えている。

エ. 被験者に投与する段階(解凍後)の遺伝子導入細胞について、そのバイアビリティ

ィはどの程度か。

【回答】解凍後の CAR 遺伝子導入 T リンパ球のバイアビリティは、2 回の Dry Run において、それぞれ 91.0%と 87.7%であった。

オ. 同意説明文書について、本研究に要する費用の資金源やタカラバイオ社との関係を含め、本研究における利益相反関係を具体的に記載すること。

【回答】同意説明文書を修正し、本研究の経費の一部に共同研究先であるタカラバイオ株式会社から提供された資金が使用されていることを記載した。

3. 遺伝子治療臨床研究に関する審査委員会の検討結果

自治医科大学附属病院から申請のあった遺伝子治療臨床研究実施計画（対象疾患：難治性 B 細胞性非ホジキンリンパ腫）に関して、遺伝子治療臨床研究に関する審査委員会は、主として科学的観点から以上のとおり論点整理を進め、それらの結果を実施計画及び患者への同意説明文書に適切に反映させた。

その上で、本審査委員会は本実施計画の内容が科学的に妥当であると判断した。

遺伝子治療臨床研究実施計画申請書

平成25年 7月 3日

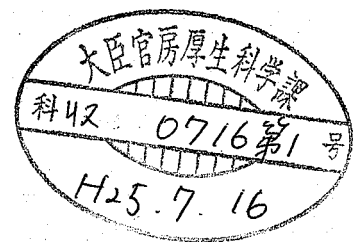
厚生労働大臣 殿

実 施 施 設	所在地	〒329-0498 栃木県下野市薬師寺3311-1
	名称	自治医科大学附属病院 (電話番号) 0285-44-2111 (FAX 番号) 0285-40-8303
	代表者 役職名・氏名	自治医科大学附属病院長 安 田 是 和 (職印)

下記の遺伝子治療臨床研究について、別添の実施計画に対する意見を求めます。

記

遺伝子治療臨床研究の課題名	総括責任者の所属・職・氏名
CD19特異的キメラ抗原受容体発現Tリンパ球を用いた難治性B細胞性悪性リンパ腫に対する遺伝子治療臨床研究	自治医科大学 内科学講座血液学部門 分子病態治療研究センター遺伝子治療研究部 免疫遺伝子細胞治療学（タカラバイオ）講座 教授 小 澤 敬 也 (印)



遺伝子治療臨床研究実施計画概要書

平成 25 年 7 月 3 日

(申請年月日)

研究の名称	CD19 特異的キメラ抗原受容体発現 T リンパ球を用いた難治性 B 細胞性悪性リンパ腫に対する遺伝子治療臨床研究
研究実施期間	承認日から 3 年間

総括責任者	所属部局の所在地	栃木県下野市薬師寺 3311-1 (郵便番号 329-0498)	
	所属機関・部局・職	自治医科大学 内科学講座血液学部門 分子病態治療研究センター遺伝子治療研究部 免疫遺伝子細胞治療学(タカラバイオ)講座 教授	
	氏 名	小澤 敬也 	
実施の場所	所 在 地	栃木県下野市薬師寺 3311-1 (郵便番号 329-0498)	
	名 称	自治医科大学附属病院	
	連 絡 先	栃木県下野市薬師寺 3311-1 (電話番号 0285-44-2111)	
総括責任者以外の研究者	氏 名	所属機関・部局・職	役 割
	大嶺 謙	自治医科大学 内科学講座血液学部門 免疫遺伝子細胞治療学(タカラバイオ)講座 講師	臨床分野からの研究計画の推進及び試験登録患者の診療
	塚原 智典	自治医科大学 内科学講座血液学部門 免疫遺伝子細胞治療学(タカラバイオ)講座 助教	CAR 遺伝子導入 T リンパ球製剤の製造管理責任者
	内堀 亮介	自治医科大学 遺伝子治療研究部 免疫遺伝子細胞治療学(タカラバイオ)講座 助教	基礎分野からの研究計画の推進
	室井 一男	自治医科大学 輸血・細胞移植部 教授	細胞プロセッシング室の管理責任者及び試験登録患者の診療
	岡塚 貴世志	自治医科大学 内科学講座血液学部門 助教	CAR 遺伝子導入 T リンパ球製剤の品質管理責任者、遺伝子治療プロトコールの作成及び試験登録患者の診療
	永井 正	自治医科大学 内科学講座血液学部門 准教授	試験登録患者の診療
	森 政樹	自治医科大学 内科学講座血液学部門 講師	試験登録患者の診療
	鈴木 隆浩	自治医科大学 内科学講座血液学部門 講師	試験登録患者の診療

	藤原 慎一郎	自治医科大学 内科学講座血液学部門 講師	試験登録患者の診療
	翁 家国	自治医科大学 内科学講座血液学部門 講師	CAR 遺伝子導入 T リンパ球製剤の 品質管理副責任者、遺伝子治療プ ロトコールの作成及び試験登録患 者の診療
	多々良 礼音	自治医科大学 内科学講座血液学部門 助教	遺伝子治療プロトコールの作成及 び試験登録患者の診療
	上原 英輔	自治医科大学 内科学講座血液学部門 助教	遺伝子治療プロトコールの作成及 び試験登録患者の診療
	久米 晃啓	自治医科大学 遺伝子治療研究部 准教授	ウイルスベクター及び遺伝子導入 T リンパ球調製に関する助言
	水上 浩明	自治医科大学 遺伝子治療研究部 准教授	ウイルスベクター及び遺伝子導入 T リンパ球調製に関する助言
	卜部 匡司	自治医科大学 遺伝子治療研究部 講師	ウイルスベクター及び遺伝子導入 T リンパ球調製に関する助言
	福島 敬宜	自治医科大学 病理診断部 教授	病理組織学的診断
	吉尾 卓	自治医科大学附属病院臨床試験センター センター長	試験実施の支援
	山崎 晶司	自治医科大学附属病院臨床試験センター 副センター長	試験実施の支援
外部協力者	峰野 純一	タカラバイオ株式会社 細胞・遺伝子治療センター センター長	レトロウイルスベクター製剤の製 造・品質管理者、遺伝子導入 T リ ンパ球調製技術の提供と助言、遺 伝子導入 T リンパ球製剤の体内動 態検査、RCR 検査及び LAM-PCR に 関する技術提供
	Renier J Brentjens	メモリアル・スローン・ケタリング癌センター Associate Member	マスターセルバンクの提供、遺伝 子治療プロトコールの作成の助言
	Isabelle Riviere	メモリアル・スローン・ケタリング癌センター Gene Transfer & Somatic Cell Engineering Facility Director	マスターセルバンクの提供、遺伝 子治療プロトコールの作成の助言
	Michel Sadelain	メモリアル・スローン・ケタリング癌センター Center for Cell Engineering Founding Director	マスターセルバンクの提供、遺伝 子治療プロトコールの作成の助言
	西川 博嘉	大阪大学 免疫学フロンティア研究センター 特任准教授	基礎分野からの研究計画の推進

審査委員会が研究計画の実施を適当と認める理由	審査委員会では、提出された遺伝子治療臨床研究実施計画書「CD19 特異的キメラ抗原受容体発現 T リンパ球を用いた難治性 B 細胞性悪性リンパ腫に対する遺伝子治療臨床研究」を慎重に審査した結果、本遺伝子治療臨床研究実施計画は、遺伝子治療臨床研究に関する指針（平成 14 年文部科学省・厚生労働省告示第 1 号、平成 16 年文部科学省・厚生労働省告示第 2 号により全部改正、平成 20 年文部科学省・厚生労働省告示第 2 号により一部改正以下「国の指針」という。）の必要条件を全て満たしていると認められたため、所轄官庁に遺伝子治療臨床研究実施計画を申請することを決定した。				
	<table border="1"> <tr> <th data-bbox="438 555 933 589">審査委員会の長の職名</th><th data-bbox="941 555 1372 589">氏名</th></tr> <tr> <td data-bbox="438 595 933 678"> 自治医科大学附属病院遺伝子治療臨床研究審査委員会委員長 自治医科大学地域医療センター センター長 </td><td data-bbox="941 595 1372 678"> 梶井英治  </td></tr> </table>	審査委員会の長の職名	氏名	自治医科大学附属病院遺伝子治療臨床研究審査委員会委員長 自治医科大学地域医療センター センター長	梶井英治 
審査委員会の長の職名	氏名				
自治医科大学附属病院遺伝子治療臨床研究審査委員会委員長 自治医科大学地域医療センター センター長	梶井英治 				

研究の区分	遺伝子治療臨床研究 遺伝子標識臨床研究
研究の目的	本臨床研究は、標準的な治療法（化学療法、放射線療法等）による効果が期待できない治療抵抗性の B 細胞性非ホジキンリンパ腫 (B-NHL) を対象とした養子免疫遺伝子療法の第 I / II 相臨床研究である。具体的には、CD19 抗原を特異的に認識するキメラ抗原受容体 (CAR: chimeric antigen receptor) の遺伝子を導入した自己 T リンパ球（以下、CAR 遺伝子導入 T リンパ球）を輸注し、その安全性を検証することを目的とする。併せて、臨床効果と CAR 遺伝子導入 T リンパ球の体内動態を評価する。 ① 主要評価項目 ● 本遺伝子治療の安全性 (1) CAR 遺伝子導入 T リンパ球の検定 (2) 有害事象 ● 一般臨床検査 ● 正常 B リンパ球（減少の有無） ● 血清免疫グロブリン濃度 ● 増殖性レトロウイルス (RCR) ● 挿入変異によるクローナルな細胞増殖及びがん化の監視 ● FACS 及び定量的 PCR による体内 CAR 遺伝子導入 T リンパ球の解析 ● linear amplification mediated-PCR (LAM-PCR) ② 主な副次的評価項目 ● 腫瘍縮小効果 ● CAR 遺伝子導入 T リンパ球のサブセット解析 ● human anti-mouse antibody (HAMA) テスト
対象疾患及びその選定理由	対象疾患：CD19 抗原陽性の難治性 B-NHL 対象疾患に関する現時点での知見： 初発 B-NHL に対しては、CHOP 療法に抗 CD20 抗体（リツキシマブ）を加えた R-CHOP 療法が現在スタンダードとなっている。しかし、R-CHOP 療法に不応あるいは再発するリンパ腫も多い。再発・難治性の中悪性度 B-NHL に対しては、サルベージ（救済）療法や自家造血幹細胞移植併用大量化学療法が行われるが、十分な治療成績は得られていない。低悪性度 B-NHL やマントル細胞リンパ腫などに関しては、治癒が期待できる標準的治療法は確立されていない。その他、同種造血幹細胞移植も治療選択肢の一つであるが、やはり対象症例は限定され、治療成績も必ずしも良好でない。 現在、リツキシマブ以外の新規抗体医薬を始めとする分子標的治療薬の開発が行われているが、その限界もあり、全く新しい観点からの治療法として遺伝子治療法の開発が期待される。

遺伝子の種類及びその導入方法	人に導入する遺伝子の構造と遺伝子導入方法： 本臨床研究において用いる遺伝子は、ヒト CD8α リーダーペプチド、ヒト CD19 抗原特異的マウス単鎖抗体 (scFv)、ヒト CD28 の一部、及びヒト CD3ζ 細胞内シグナル伝達領域のキメラ抗原受容体 (CAR) をコードしている。 患者の末梢血リンパ球 (peripheral blood lymphocyte : PBL) に CAR 遺伝子を導入するにあたっては、遺伝子導入効率の高いレトロウイルスベクター法を用いる。今回用いるレトロウイルスベクターの SFG-1928z のもとになる野生型ウイルスは MoMLV である。パッケージング細胞株 PG13 は、GaLV のエンベロープタンパク質を持つ。この細胞により産生されるレトロウイルスベクターは、ラット・サル・ヒト等を含む多くの種の哺乳類細胞に遺伝子導入できる。遺伝子導入する際は、組換えフィブロネクチンフラグメント (レトロネクチン CH-296 ; タカラバイオ) をコートした培養バッグ中にて、刺激した T リンパ球浮遊液とレトロウイルスベクターの SFG-1928z を混合培養する。
安全性についての評価	1. 遺伝子導入方法の安全性 1.1. 遺伝子導入に用いるウイルスベクターの純度 ワーキングセルバンク (WCB) は、米国 Memorial Sloan-Kettering Cancer Center (MSKCC) より入手したマスターセルバンク (MCB) を出発原材料として、タカラバイオの管理された製造エリアにて GMP 遵守下で製造する。組成と品質の確認された培地及び試薬を使用する。 1.2. 被験者に投与する物質の純度及びその安全性 被験者に投与されるのは CAR 遺伝子を導入した自己 T リンパ球である。この細胞は、RPMI1640 培地とヒト血清アルブミン (HSA) 含細胞凍害保護液 (CP-1) と 1:1 の割合で混合された溶液の懸濁液として投与される。 1.3. 増殖性ウイルス出現の可能性 ①レトロウイルスベクターの安全性 本臨床研究で使用する SFG-1928z は、MoMLV 由来の gag、pol、env をコードする遺伝子を完全に欠如しており、RCR の出現する可能性は極めて低いと考えられる。確認のために RCR 試験を行い、RCR 陰性の SFG-1928z を臨床研究に使用する。 ②パッケージング細胞株の安全性 SFG-1928z 作製用のパッケージング細胞 PG13 は、gag、pol をコードする DNA 断片と env をコードする DNA 断片を異なるプラスミドでトランスフェクションして作製された第 3 世代パッケージング細胞株で、予期せぬ遺伝子組換えにより RCR が出現する可能性は極めて低い。 1.4. 遺伝子導入に用いるウイルスベクターの細胞傷害性 SFG-1928z による遺伝子導入過程において、細胞を傷害することはないと考えられている。 1.5. 体内の標的細胞以外の細胞への遺伝子導入の可能性 本臨床研究では、被験者の T リンパ球に <i>ex vivo</i> (生体外) で CAR 遺伝子を導入し、拡大培養や細胞洗浄等の工程を経た後に投与する。SFG-1928z はこの過程でほぼ完全に除去され、また、レトロウイルスは比較的不安定なウイルスであるため、細胞培養中に大部分は不活化されると考えられる。さらに、マウス細胞由来のパッケージング細胞株を用いて生産されたレトロウイルスベクターは、ヒト血清中の補体により速やかに不活化されるため、たとえレトロウイルスベクター粒子が患者体内に侵入しても、それが原因で患者体内において遺伝子導入が起こる可能性は低い。したがって、RCR が出現しない限り標的細胞以外の細胞に遺伝子導入が起きることはないと考えられる。 1.6. 被験者以外の人に遺伝子が導入される可能性 本臨床研究の細胞調製は、当該操作に十分な知識と経験を有する研究者のみが行う。遺伝子導入操作は P2 レベルの臨床用細胞プロセッシング室において、可能な作業は閉鎖系で行い、開放系での作業は臨床用細胞プロセッシング室内に設置されたクラス II 安全キャビネット内で行う。レトロウイルスベクターを含む廃液の全てはオートクレーブ後に廃棄される。このような対策により、SFG-1928z の環境

中への拡散及び環境中における予期しない遺伝子導入を防止する。SFG-1928z は増殖能欠損型なので、患者を介して患者以外の人に遺伝子導入が起こる可能性は、大量の RCR が患者体内に存在しない限り極めて低い。

1.7. 染色体内へ遺伝子が組み込まれる場合の問題点

レトロウイルスベクターは染色体上のランダムな位置に組み込まれるので、その挿入位置によっては細胞の生存や増殖等の機能に影響を及ぼすことがある。特に、癌遺伝子の近傍に挿入され、LTR が有するエンハンサー・プロモーター活性によりその遺伝子の発現量が増加した場合、及び癌抑制遺伝子の近傍に挿入されその遺伝子の発現量が減少した場合には、その細胞ががん化する可能性がある。

1.8. がん原性の有無

レトロウイルスベクターの染色体への組み込みが細胞の増殖にとって正に働く場合には、上述のとおり異常増殖によるがん化の問題が出現する。実際に、CD34 陽性細胞を遺伝子導入の標的細胞とした X 連鎖重症複合免疫不全症 (X-SCID) の遺伝子治療において、白血病発症が報告されている。造血幹細胞を含む CD34 陽性細胞を遺伝子導入の標的細胞とした場合には、がん化のリスクは否定できないが、本臨床研究の場合のように、末梢リンパ球を標的としたレトロウイルスベクターによる遺伝子導入では、これまで白血病発症の報告はない。

なお、本臨床研究では、遺伝子導入細胞の被験者体内におけるクローン性増殖を LAM-PCR によってモニタリングし、遺伝子導入細胞のがん化の有無を評価する予定である。

2. 遺伝子産物の安全性

本研究で用いる CAR 遺伝子の産物は、細胞表面抗原 CD19 を特異的に認識する抗体の Fab 領域に由来する単鎖抗体 (scFv)、T リンパ球活性化の副刺激因子である CD28 ドメイン、及び TCR のシグナル伝達領域である CD3ζ のキメラタンパク質である。CD19 は正常 B リンパ球にも発現していることから、CAR 遺伝子導入 T リンパ球を投与することにより、正常 B リンパ球が減少する可能性がある。必要に応じ、免疫グロブリン製剤の予防投与を行うことで安全性を確保することができる。また、CAR 遺伝子導入 T リンパ球の投与細胞数を少量から漸増し、2 回に分割投与することにより、腫瘍崩壊症候群の危険性を回避する。

3. 細胞の安全性

3.1. 遺伝子導入細胞の調製方法

細胞分離・細胞培養・遺伝子導入の全ての操作は自治医科大学附属病院内に設置された清浄度クラス 10,000 かつ封じ込め対応 (P2 レベル) の臨床用細胞プロセッシング室内で行われる。また、細胞調製操作時には、品質が確認された試薬、培地類を使用し、クラス II 安全キャビネット内で、又は可能な工程については閉鎖系で細胞を取り扱うことにより、外来微生物の混入などを防止する。

3.2. 培養細胞の純度

健常人末梢血リンパ球を用いた遺伝子導入では、遺伝子導入 T リンパ球の比率は 15% 程度である。患者に投与される細胞中には、遺伝子導入されていない T リンパ球やその他の細胞が混在すると予測されるが、もともと患者末梢血中に存在したものであり問題ないと考えられる。

細胞培養の際に使用する抗 CD3 抗体、レトロネクチン CH-296、rhIL-2 等の洗浄後の残留濃度は極めて微量であり、これらの刺激性物質が生体に及ぼす影響は限りなく少ない。

3.3. 細胞の遺伝子型、表現型の安定性

本臨床研究で遺伝子導入する細胞は成人 PBL であり、挿入変異によって細胞のがん化が起きる可能性はほとんどないと考えられるが、完全には否定できないので、LAM-PCR によるモニタリングを行う。

ex vivo で培養したリンパ球や TCR 遺伝子を導入したリンパ球を用いた Rosenberg SA らの臨床研究では、輸注 T リンパ球の安全性に関する大きな問題は報告されていない。さらに、TCR 遺伝子を導入した臨床試験では、6 日から 9 日という比較的短期間の *ex vivo* 培養を行った T リンパ球が、被験者体内で長期間観察されたことが報告されている。本臨床研究でも、T リンパ球の培養は同程度の短期間にとどめている。

	3. 4. 被験者に投与する細胞の安全性 被験者に投与する細胞は、SFG-1928z により CD19-CAR 遺伝子を導入した被験者由来の T リンパ球である。細胞調製に用いられる培地成分、SFG-1928z、種々の試薬に関しては、遺伝子導入 T リンパ球を凍結保存する前に RPMI1640 で十分に洗浄される。そのため被験者に投与される量は極めて少なく、これらが直接影響を及ぼすことはないと考えられるが、細胞調製終了後、最終培養液又は凍結保存専用バッグに充填する前の細胞懸濁液を検体として採取し、以下の試験を行うことにより品質を担保する。 1. マイコプラズマ否定試験 (PCR 法) 2. RCR 試験 (RT-PCR 法) 3. 無菌試験 (日本薬局方) 4. エンドトキシン試験 (日本薬局方) 5. 細胞生存率試験 (セルカOUNTER) 6. 細胞数試験 7. 遺伝子導入効率試験 8. 導入遺伝子の機能試験
遺 伝 子 治 療 臨 床 研 究 の 実 施 が 可 能 で あ る と 判 断 す る 理 由	以下の理由により本臨床研究は実施可能と判断される。 1. 臨床ニーズ 本臨床研究は、予後不良かつ他に有効な治療法がない患者を対象としており、このような患者に対する有効な治療手段開発のニーズが存在する。 2. 本臨床研究の品質・安全性 本臨床研究は、CD19 抗原を認識し T リンパ球活性化能を持つ CAR の遺伝子をレトロウイルスベクターにより被験者の T リンパ球に導入した後、増幅する。この製造工程は十分に確立され、また、調製された輸注用の CAR 遺伝子導入 T リンパ球の品質は、調製時毎に確保される。 本臨床研究で遺伝子導入する標的細胞は、造血幹細胞ではなく、成人末梢血 T リンパ球である。T リンパ球への遺伝子導入の場合、レトロウイルスベクターによるがん化のリスクは極めて低く、対象疾患におけるリスク・ベネフィットを考慮すると、レトロウイルスベクターを使用した遺伝子治療の施行に問題はない。同一のレトロウイルスベクターによる遺伝子導入で調製された CAR 遺伝子導入 T リンパ球のヒトへの投与は、米国 MSKCC で既に実績がある。本臨床研究は CAR 遺伝子導入 T リンパ球の品質の管理方法および予測される副作用とその対処法に関する十分な情報の下に遂行される。これまで報告されている CD19-CAR 遺伝子を用いた臨床研究における主な有害事象はインフュージョン反応、高サイトカイン血症、腫瘍崩壊症候群、正常 B リンパ球の減少である。 本臨床研究では、以上の事例を踏まえ CAR 遺伝子導入 T リンパ球輸注量を慎重に漸増し、最大耐用量を決定する。また、初日に 1/3 量を投与し、問題なければ翌日に 2/3 量を投与するデザインにより安全性を図る。正常 B リンパ球の減少に伴う血清免疫グロブリン値の低下に対しては、適宜、免疫グロブリン製剤を投与し、感染症を予防する。 3. 本臨床研究の期待される有効性 CAR 遺伝子導入 T リンパ球は、CD19 陽性の腫瘍細胞株に対して特異的な細胞傷害活性を示すことが <i>in vitro</i> において確認されている。また、マウスに腫瘍細胞株を注射したモデル実験において、CAR 遺伝子導入ヒト T リンパ球投与により特異的な腫瘍増大抑制効果が認められた。 米国 MSKCC では、化学療法抵抗性の慢性リンパ性白血病 4 例にシクロホスファミドで前処置を行い、CAR 遺伝子導入 T リンパ球を投与する遺伝子治療臨床研究を行った結果、評価可能な 4 例中 3 例に治療効果を認めた。3 例のうち 1 例で 3 ヶ月目に明らかなリンパ節腫脹の退縮が観察され、リンパ節腫脹と血球減少が急速に進行している別の 2 例は治療後にそれぞれ 8 週間と 4 ヶ月間にわたり進行なく、病態が安定した。彼らは再発 ALL 患者 5 名に対しても 19-28zCAR 導入 T リンパ球による治療を行い、全例(うち 4 例は治療前に微小残存病変を認めた)で分子生物学的寛解が得られたと報告している。本臨床研究においても同様の抗腫瘍効果が見込まれる。 4. 当施設・研究者の能力 本臨床研究の研究者は、患者リンパ球採取、遺伝子ベクター調製、遺伝子導入、細胞培養、品質管理及び当施設における臨床試験の経験者により構成される。自治医科大学附属病院は、悪性リンパ腫に対する長年の豊富な診療経験と優れた診断技術を有し、豊富な経験をもつスタッフを擁している。

実施計画

さらに臨床研究の対象となる患者も北関東を中心に集まっており、系統立てた診療体制とデータ管理体制が整っている。院内に設置された臨床用細胞プロセッシング室は治験薬の製造管理、品質管理等に関する基準（治験薬 GMP）（薬食発第 0709002 号 平成 20 年 7 月 9 日）に基づき運営・管理される体制にあり、CAR 遺伝子導入 T リンパ球は同基準に準拠して調製される。カルタヘナ関連法、個人情報保護法を含め、本臨床研究実施に必要な学内・院内システムは全て整っている。

1. 本臨床研究の実施に際し自治医科大学医学部附属病院内に設置される委員会
遺伝子治療臨床研究審査委員会に安全・効果評価・適応判定部会を設置する。

2. 本臨床研究の実施手順

2.1 プロトコール治療の流れ

(1) CAR 遺伝子導入 T リンパ球の調製

一次登録時の選択基準・除外基準に適合する難治性 B-NHL 患者を選定し、本臨床研究への一次登録を行う。被験者末梢血単核球に SFG-1928z を用いて遺伝子導入を行い、10 日間拡大培養して凍結保存する。「2.2 用量漸増計画」の最小輸注量が得られなかった場合は、再度の調製を行う。CAR 遺伝子導入 T リンパ球の調製と一次品質試験を終了した後、二次登録時の選択基準・除外基準に適合する被験者を選定し、本臨床研究への二次登録を行う。

(2) 前処置薬の投与

Day -2 にシクロホスファミド (1.5 g/m²: ただし、年齢及び被験者の状態等によって減量を可とする)、または Day -3 および -2 にベンダムスチン (120 mg/m²: ただし、年齢及び被験者の状態等によって減量を可とする) を投与する。

(3) CAR 遺伝子導入 T リンパ球の輸注

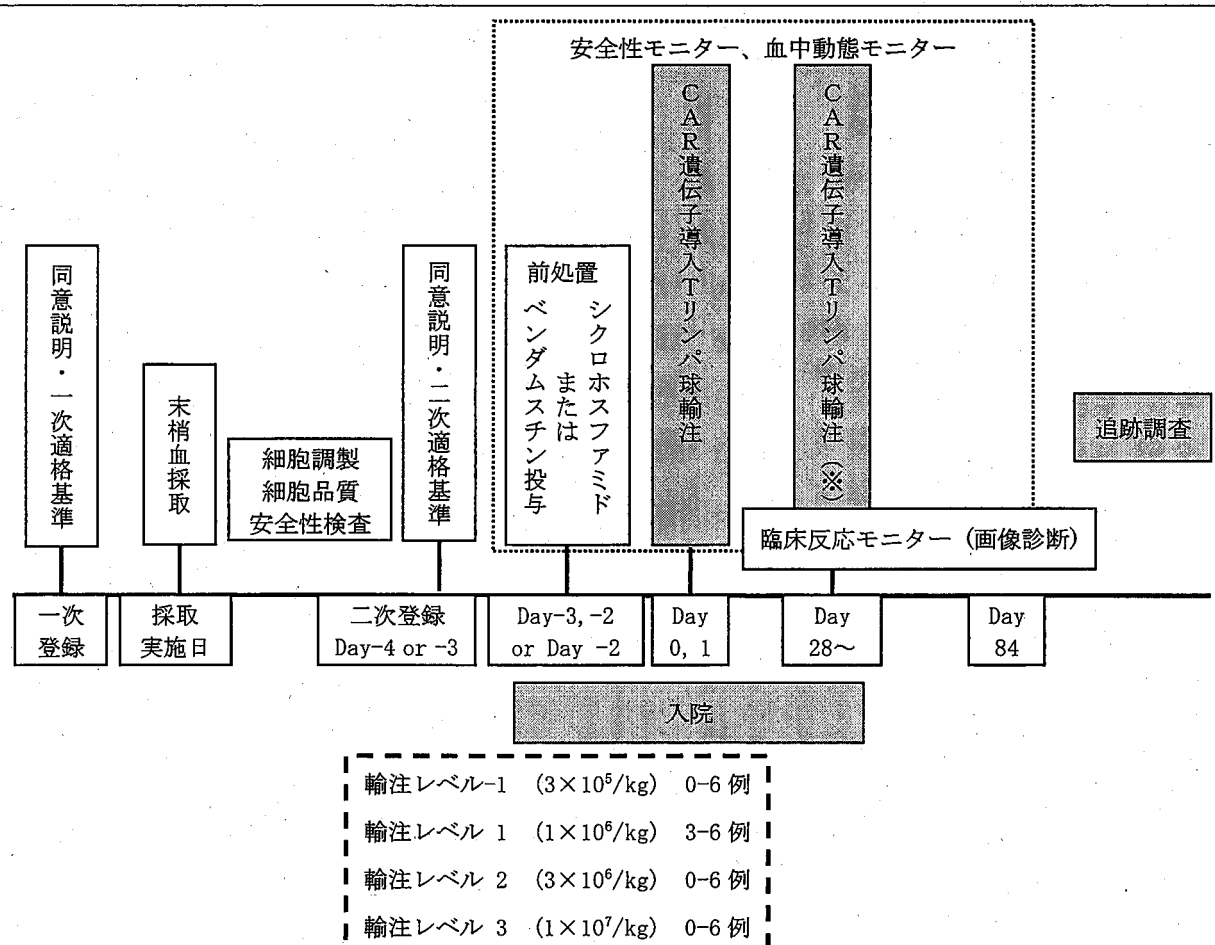
CAR 遺伝子導入 T リンパ球は、Day 0 及び Day 1 に経静脈的に分割投与する (Day 0: 1/3 量、Day 1: 2/3 量)。また、細胞調製において十分な CAR 遺伝子導入 T リンパ球が得られている場合、1 回目の CAR-T の輸注により DLT に該当せず、かつ一定の臨床的効果が認められたものの、効果不十分で追加治療が望ましいと判断された症例には、Day 28 以降に 2 回目投与の要否の判断を行う。2 回目投与が必要と判断した場合は、適切な時期に投与することができる。

2.2 用量漸増計画

各輸注レベルで投与する CAR 遺伝子導入 T リンパ球数及び被験者数を下の表に示す。なお、本臨床研究における CAR 遺伝子導入 T リンパ球の投与細胞数は CAR 陽性細胞数とし、各輸注レベルで定めている CAR 遺伝子導入 T リンパ球数の 50% 以上が得られた場合、その輸注レベルの DLT 解析対象として投与するものとする。ただし、得られた CAR 遺伝子導入 T リンパ球数が 50% 未満の場合も、DLT 解析対象外ではあるが、最小輸注量（輸注レベル -1）が得られている場合は、投与を行うものとする。

輸注レベル	CAR 遺伝子導入 T リンパ球数	被験者数
-1	3×10 ⁵ /kg	0-6
1 (開始レベル)	1×10 ⁶ /kg	3-6
2	3×10 ⁶ /kg	0-6
3	1×10 ⁷ /kg	0-6

- 輸注レベル 1 より開始する。
- 薬物有害事象以外の理由で DLT 観察期間中に臨床研究中止となった患者は、DLT 解析対象外とする。また DLT の解析対象外となった被験者を認めた場合は、該当するレベルに追加登録を行う。
- 各輸注レベル 3 例まで実施し、DLT 出現被験者数に応じて、必要な場合にはさらに 3 例を追加する。各輸注レベルの実施被験者数は 3 例もしくは 6 例となるが、登録一時中止のアナウンスが行われる前に複数の未登録被験者から試験参加への同意取得が得られていた場合、3 例もしくは 6 例を超えて臨床研究を実施することを許容する。



※十分な CAR 遺伝子導入 T リンパ球が得られている場合、Day 28 以降に 1 回目投与後の患者の病態変化をみて、2 回目投与が必要と判断した場合は、適切な時期に投与することができる。

図 本臨床研究の実施手順/遺伝子導入 T リンパ球調製及び輸注計画

2.3 用量制限毒性(dose limiting toxicity:DLT)の定義

DLT は以下の通りとする。有害事象の評価は CTCAE v4.0 を用いる。

- 治療前に白血球数が $1,000/\mu\text{L}$ 以上だった被験者において、CAR 遺伝子導入 T リンパ球輸注後 28 日の時点で、本治療との因果関係を否定できない Grade 4 以上の白血球減少 ($\text{WBC} < 1,000/\mu\text{L}$) が認められた場合。但し、原疾患に因る減少の場合は除く。
- 治療前に血小板数が $50,000/\mu\text{L}$ 以上だった被験者において、CAR 遺伝子導入 T リンパ球輸注後 28 日の時点で、本治療との因果関係を否定できない Grade 3 以上の血小板減少 ($\text{Plt} < 50,000/\mu\text{L}$) が認められた場合。但し、原疾患に因る減少の場合は除く。
- 本治療との因果関係を否定できない Grade 3 以上の非血液毒性が、CAR 遺伝子導入 T リンパ球輸注後 28 日以内に 14 日間以上にわたり続いたとき。ただし適切な処置により対処可能な悪心、嘔吐、食欲不振、疲労、下痢、便秘、電解質異常及び過敏反応は除く。また、免疫グロブリン値については、「免疫系障害」の項の「免疫系障害、その他」(code 10021428)の有害事象とするが、DLT としない。

2.4 最大耐用量(MTD)の推定及び推奨用量 (RD) の定義

MTD は、DLT が起こった患者が 33%未満である用量のうち、最大の用量とする。なお、RD は MTD と同用量とする。

用量移行は3+3デザインに従う。最初に輸注レベル1に3例を登録する。用量移行する場合は、次の輸注レベルに別の3例を登録する。輸注レベル移行の可否は、下記の基準に従う。

- ① 各輸注レベルの3例にDLTが認められなかった場合は、次の段階の輸注レベルへ移行する。
- ② 各輸注レベルの3例中1名にDLTが認められた場合は、同レベルに新たに3例の被験者を追加登録し、6例で検討する。DLT発現が6例中1例であった場合は、次の段階の輸注レベルへ移行する。
- ③ 輸注レベル1の3例中2例以上、または6例中2例以上にDLTが認められた場合は、輸注レベル-1へ移行する。
- ④ 各輸注レベルの2例以上にDLTが認められた場合は、増量検討は行わない。この輸注レベルはMTDを超えていると考え、一つ前の輸注レベルでMTDを検討する。
- ⑤ MTDを決定する輸注レベルのDLT評価対象が3例であった場合は、この輸注レベルへ新たに3例の被験者を追加登録し、6例でDLT評価を行う。6例中DLTが認められないか、1例のみに認められた場合、この輸注レベルをMTDとする。6例中2例以上にDLTが認められた場合は、一つ前の輸注レベルに戻り同様にMTDを検討する。
- ⑥ 上記③に従った後、輸注レベル-1の3例にDLTが認められないか、3例中1例にDLTが認められた場合は、輸注レベル-1に新たに3例の被験者を追加登録し、6例でDLT評価を行う。
- ⑦ 上記③に従った後、輸注レベル-1の2例以上にDLTが認められた場合は、輸注レベル-1はMTDを超えているとする。

3. 被験者の選択基準及び除外基準

3.1 一次登録

患者より文書にて同意を取得する。一次登録時の適格基準を全て満たし、かつ除外基準のいずれにも該当しない患者を登録適格例とする。

3.1.1 適格基準（一次登録）

以下の全ての基準を満たす患者を対象とする。

1. 再発・難治性の CD19 陽性 B-NHL 患者
2. 評価可能病変が CT 画像で確認でき、かつ FDG-PET 検査で陽性として検出できること
3. 本臨床研究登録時に 20 歳以上、かつ 70 歳以下であること
4. ECOG の全身状態の指標 (PS) が 0 から 2 であること
5. 主要臓器予備能が以下の基準を満たすこと
 - ① 好中球数 $\geq 1,500 /\text{mm}^3$ (リンパ腫の骨髄浸潤による好中球減少はこの限りではない)
 - ② 血小板数 $\geq 10 \times 10^4 /\text{mm}^3$
(リンパ腫の骨髄浸潤による血小板減少はこの限りではない)
 - ③ 総ビリルビン $\leq 2.0 \text{ mg/dL}$
 - ④ AST (GOT)、ALT (GPT) $\leq 150 \text{ IU/dL}$
(リンパ腫の肝浸潤による肝障害はこの限りではない)
 - ⑤ ALP 正常上限値の 1.5 倍以下
 - ⑥ 血清クレアチニン $\leq 2.0 \text{ mg/dL}$
 - ⑦ $\text{SpO}_2 \geq 92\%$ (酸素吸入なしの状態)
6. 同意取得後、3 ヶ月以上の生存が見込めること
7. 試験参加について患者本人から文書で同意が得られていること

3.1.2 除外基準（一次登録）

以下のいずれかの基準に抵触する患者は除外する。

1. 活動性の重複癌を併発している患者
2. リンパ腫の明らかな中枢神経浸潤を伴う患者
3. 同種造血幹細胞移植後の患者
4. 24 週間以内に CAR 遺伝子導入 T リンパ球を投与する臨床試験に既に参加している患者
5. ステロイドまたは免疫抑制剤の全身投与を行っている患者。
6. 重度の心疾患を併発する患者。
7. 重度の脳血管疾患の既往を有する、或はそれによる麻痺など後遺症を残す患者
8. 活動性、或は重篤な感染症を併発している患者
9. HIV 抗体陽性患者
10. HB-s 抗原陽性、或は HB-c 抗体陽性かつ HBV-DNA が陽性である患者
11. 活動性の HCV 感染患者
12. 本臨床研究参加への同意に影響を及ぼすような精神疾患、薬物依存症等の疾患を有する患者

13. 妊娠中、授乳中、妊娠している可能性のある女性または妊娠を希望している女性患者。又は育児希望のある男性患者（ただし、遺伝子治療前に精子を凍結保存し、その精子を用いて子供をもうける場合は該当しない）
14. その他、担当医師によって本臨床試験への参加が適当でないと判断される患者

3.2 二次登録

二次登録時の適格基準の全てを満たし、かつ除外基準のいずれにも該当しないことを確認し二次登録を行う。

3.2.1 適格基準（二次登録）

一次登録適格基準の全て、および次の基準を満たす患者を対象とする。

1. 本臨床研究における CAR 遺伝子導入 T リンパ球の一次品質試験に合格し、最小輸注量（輸注レベル -1）が得られた患者
2. 一次登録後に同意撤回がなく、治療内容を理解し、本人の自由意志による同意が文書にて得られた患者

3.2.2 除外基準（二次登録）

一次登録除外基準のいずれかの項目に抵触する患者は除外する。

4. 被験者の同意取得方法

登録に先立って、担当医師は医療機関及び厚生労働省の承認が得られた説明文書を患者本人に渡し、以下の内容を口頭で詳しく説明する。その後、自由意思による同意を文書にて取得する（文書による同意取得は一次登録時及び二次登録時の計2 回行う。また、二次登録時には施設コーディネーター等が説明補助を行うものとする。

5. 目標登録数・登録期間・追跡期間

実施期間は厚生労働大臣から実施が差し支えない旨の回答を得た時点から3 年間とする。

症例毎の実施期間はCAR遺伝子導入Tリンパ球輸注後84日であるが、本臨床研究終了後もCAR遺伝子導入Tリンパ球投与後3年間については、少なくとも2ヵ月に1回の頻度、5年間までは少なくとも6ヵ月に1回の頻度で検査・観察を行う。その後もFDA のガイドラインに従い、15年間にわたり、1 年に1回の頻度で転帰、遺伝子導入Tリンパ球の血中動態及び二次発がんやRCR の有無等について追跡調査を実施する。

目標症例数は6例から最大18例である。

6. 臨床検査項目及び観察項目

評価項目は、遺伝子治療の安全性、CAR 遺伝子導入 T リンパ球の体内動態及び臨床効果である。フォローアップ期間における臨床モニタリング項目は下記の表に示す通りである。

評価事項	モニタリング実施項目
治療全体の安全性	血液学的検査、血液生化学検査、免疫学的検査、感染症検査、フローサイトメトリー解析、有害事象
遺伝子治療安全性	フローサイトメトリー解析、RCR 検査、LAM-PCR
血中動態	フローサイトメトリー解析、PCR
抗腫瘍効果判定	PET-CT、全生存率、無増悪生存期間
CAR 遺伝子導入Tリンパ球免疫原性	human anti-mouse antibody (HAMA) テスト

検査・観察スケジュール(別紙)に定められたとおりに検査・観察を実施する。

7. 予測される副作用及びその対処方法

7.1 採血に伴う副作用

- 1) 迷走神経反射：重篤な場合は採取を中止し、必要な処置を行う。

7.2 CAR 遺伝子導入リンパ球輸注に伴う副作用

- 1) インフュージョン反応：解熱鎮痛剤や抗ヒスタミン剤等の適切な薬剤を投与する。重篤な場合は投与を中止する。
- 2) 高サイトカイン血症：高用量ステロイド療法やエタネルセプト（抗 TNF α 薬）、トシリツマブ（抗 IL-6 レセプター抗体）等の抗サイトカイン療法を行う。
- 3) 輸注後低ガンマグロブリン血症と易感染性：免疫グロブリン製剤を予防投与する。
- 4) 腫瘍崩壊症候群：自治医科大学血液科のマニュアルに基づき、治療を行う。

- 5) シクロホスファミド及びベンダムスチンの毒性：G-CSF投与や赤血球輸血・血小板輸血を行う。
- 6) 自己免疫疾患の発生：ステロイド等を用いた免疫抑制療法を行うことがある。
- 7) レトロウイルスベクターを用いる危険性：被験者体内におけるRCR出現をRT-PCR法によってモニタリングする。Tリンパ球のクローン性増殖が認められた場合には、当該クローンの遺伝子挿入部位の同定を行うとともに、化学療法等による最善の治療を行う。

8. 遺伝子治療臨床研究の評価方法、評価基準及び中止判定基準

8.1 主要評価項目

1. 被験者リンパ球から作製したCAR遺伝子導入Tリンパ球の検定：CAR遺伝子導入Tリンパ球における遺伝子導入効率、Tリンパ球生存率、無菌性、機能を評価する。
2. 本臨床試験に関連した有害事象の評価：有害事象のGradeは、2003年に米国National Cancer Institute (NCI) が発表した「Common Terminology Criteria for Adverse Events v4.0 (CTCAE v4.0) - May 28, 2009 (v4.03-Jun 14, 2010、JCOG/JSCO版：日本語表記MedDRA/J v13.1対応 - 2010年9月11日)」に従い、判定を行う。
3. 被験者末梢血中の正常Bリンパ球数を測定する。
4. 被験者血清中の免疫グロブリン濃度を測定する。
5. レトロウイルスベクターの安全性を確認するためにRCR検査を行う。
6. 被験者末梢血におけるCAR遺伝子導入Tリンパ球の動態を、FACS及び定量的PCR法を用いて検討し、挿入変異によるクローナルな細胞増殖及び発がんの監視を行う。

8.2 副次的評価項目

1. CAR遺伝子導入Tリンパ球の抗腫瘍効果
 - ・ 抗腫瘍効果を画像検査で判定する。
 - ・ 治療前、腫瘍細胞が末梢血または骨髄中で検出可能だった場合には、細胞表面マーカー、染色体分析、FISH法、RT-PCR法を用いて微小残存病変 (MRD) の有無を判定する。
 - ・ 全生存率 (OS) と無増悪生存期間 (PFS) を判定する。
2. CAR遺伝子導入Tリンパ球のサブセット解析
3. human anti-mouse antibody (HAMA) テスト
4. 治療後に、腫瘍組織またはリンパ節、骨髄の生検可能な病変を有し、侵襲的検査のリスクが少ないと判断される場合、生検を行う。

8.3 各被験者における臨床研究中止基準

以下のいずれかの場合、臨床研究中止する。なお、中止例については、出来るだけ早い時期に可能な限り中止時の検査をすべて行うとともに、中止日、中止理由を調査する。

- 1) 治療開始後に原病の増悪が認められた場合
- 2) 有害事象によりプロトコール治療が継続できない場合
- 3) 有害事象との関連が否定できない理由により、患者がプロトコール治療の中止を申し出た場合
- 4) 有害事象との関連が否定できる理由により、患者がプロトコール治療の中止を申し出た場合
- 5) プロトコール治療中の死亡
- 6) その他、登録後治療開始前の増悪 (急速な増悪によりプロトコール治療が開始できなかった)、プロトコール違反が判明、登録後の病理診断変更などにより不適格性が判明して治療を変更した場合など

9. 記録の保存及び成績の公表の方法

9.1 記録の保存

本臨床研究に関する記録の保存期間は、本臨床研究の特殊性に鑑み、15年間とする。

9.2 個人情報の保護の徹底

患者のプライバシー保護と秘密の保全に関しては、「自治医科大学附属病院の患者等の個人情報保護に関する取扱要領」ならびに「自治医科大学附属病院の患者等の個人情報保護に関する規定」に沿って適切な取扱いを行う。

9.3 成績の公表の方法

1. 遺伝子治療臨床研究に関する指針に基づき、自治医科大学附属病院長は、遺伝子治療臨床研究に関する情報の適切かつ正確な公開に努めるものとする。
2. 本研究の結果は、本研究に用いた技術の厚生労働省への製造 (輸入) 販売承認申請における参考資料として使用する。また、本臨床研究から得られたデータを学会などで発表、論文として医学

	雑誌などに発表する場合がある。なお、承認後、結果の一部を添付文書及びインタビューフォームに記載することがあるが、それ以外の目的には使用しない。また、前記の資料に公表する場合にあっても被験者のプライバシーは確保される。
備考	本遺伝子治療臨床研究は、以下の法令/省令等を遵守して実施される。 1. 「遺伝子治療臨床研究に関する指針」（平成 14 年文部科学省・厚生労働省告示第一号、平成 16 年 12 月 28 日全部改正、平成 20 年 12 月 1 日一部改正） 2. 「臨床研究に関する倫理指針」（厚生労働省告示第四百十五号、平成 20 年 7 月 31 日） 3. 「遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物多様性の確保に関する法律」（平成 15 年 6 月 18 日法律第 97 号）

(別紙) 検査・観察スケジュール

	スクリーニング 期間		前治療期間			輸注日		観察期間																																		
日数	一次 登録時	末梢血 採取時	2 次 登録時	前処 置時	-1	0	1	2~5	6	7	8	9	10	11	12	14	17	20	22	25	28	35	42	49	56	63	70	77	84 または 中止時 ⁴													
来院許容範囲	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	±1	±1	±1	±1	±1	±1	±3	±3	±3	±3	±3	±3	±3	±3													
入院※				○																																						
同意取得	○		○																																							
一次登録	○																																									
二次登録			○																																							
被験者背景	○																																									
末梢血採取		○																																								
CAR 遺伝子導入 T リンパ球投与						○	○																				(○) 該当する場合															
問診・バイタルサイン	○			○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○													
Performance status	○			○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○													
感染症検査	○																																									
血液検査	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○		○		○		○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○													
尿検査	○		○	○	○	○	○	○	○	○		○		○		○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○													
腫瘍マーカー検査	○																																									
胸部 X 線検査	○		○																																							
12 誘導心電図	○		○ ¹																																							
CT 検査	○		○																																							
PET-CT・脳 MRI	○ ¹		○ ¹																																							
心臓超音波検査	○ ¹		○ ¹																																							
呼吸機能検査	○ ¹		○ ¹																																							
上部消化管内視鏡検査	○																																									
血漿サイトカイン			○	○	○		○ ²																				○		○			○										
CAR 遺伝子導入 T リンパ球血中動態							○ ²																				○					○						○				
T リンパ球サブセッ ト解析				○				○ ³																				○					○								○	
正常 B リンパ球 機能及び数					○																												○									○
制御性 T 細胞解析			○																															○						○		
骨髓検査	○																																									
LAM-PCR																																										
RCR 検査・HAMA テスト				○				○ ³																									○								○	
有害事象				○																																						
予定末梢血採取量(mL)	12	8	46	28	18	48*	48*	18	8	8	—	8	—	8	—	18	—	—	—	28	28	—	—	—	21	—	—	28	28													

※ 個室管理に該当する期間は、その規定に従う。

* Day 0 および Day 1 はそれぞれ採血を 4 回施行する。採血量は各 18 mL, 10 mL, 10 mL, 10mL

1. 同意取得時はスクリーニング期間開始前 12 週間以内、2 次登録時は 4 週間以内の成績の利用を可とする。
2. 1 回目 CAR 遺伝子導入 T リンパ球輸注前及び輸注後：1、3、8 hr、2 回目 CAR 遺伝子導入 T リンパ球輸注前及び輸注後：1、3、8、24、48、72、96 hr
3. Day 2 のみ実施
4. 中止時は出来るだけ早い時期に可能な限りすべての中止時の検査を行う。

遺伝子治療臨床研究実施計画書

課題名

「CD19 特異的キメラ抗原受容体発現 T リンパ球を用いた
難治性 B 細胞性悪性リンパ腫に対する遺伝子治療臨床研究」

自治医科大学附属病院

第 3.1 版 : 2014 年 1 月 14 日作成

記号・略号一覧表

記号・略号	一般名等
AADC	aromatic amino acid decarboxylase (芳香族 L-アミノ酸脱炭酸酵素)
AAV	adeno-associated virus (アデノ随伴ウイルス)
ADA	adenosine deaminase (アデノシンデアミナーゼ)
ADCC	antibody-dependent cell cytotoxicity (抗体依存性細胞傷害)
ALB	albumin (アルブミン)
ALL	acute lymphoblastic leukemia (急性リンパ性白血病)
ALP	alkaline phosphatase (アルカリホスファターゼ)
ALT	alanine aminotransferase (GPT) (アラニンアミノトランスフェラーゼ)
APTT	activated partial thromboplastin time (活性化部分トロンボプラスチン時間)
AST	aspartate aminotransferase (GOT) (アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ)
ATCC	American Type Culture Collection
BMI	body mass index (体格指数)
BUN	blood urea nitrogen (尿素窒素)
CAR	chimeric antigen receptor (キメラ抗原受容体)
CDC	complement dependent cytotoxicity (補体依存性細胞傷害)
CIBMTR	Center for International Blood and Marrow Transplant Research (国際骨髓移植研究会)
CLL	chronic lymphocytic leukemia (慢性リンパ性白血病)
CML	chronic myelogenous leukemia (慢性骨髓性白血病)
cDNA	complementary DNA (相補的 DNA)
CGD	chronic granulomatous disease (慢性肉芽腫症)
COI	conflict of interest (利益相反)
Cr	creatinine (クレアチニン)
CR	complete response (完全奏効)
CRP	C reactive protein (C 反応性タンパク質)
CSF	cerebral spinal fluid (脳脊髄液)
CT	computed tomography (コンピュータ断層撮影)
CTCAE	common terminology criteria for adverse events
CTL	cytotoxic T lymphocyte (細胞傷害性 T リンパ球)
D-Bil	direct bilirubin (直接ビリルビン)
DLBCL	diffuse large B-cell lymphoma (びまん性大細胞型 B 細胞リンパ腫)

DLI	donor lymphocyte infusion (ドナーリンパ球輸注)
DLT	dose limiting toxicity (用量制限毒性)
DNA	deoxyribonucleic acid (デオキシリボ核酸)
EBMT	European Group for Blood and Marrow Transplantation (欧州血液骨髓移植学会)
ECOG	Eastern Cooperative Oncology Group
FACS	fluorescence-activated cell sorting
Fbg	fibrinogen (フィブリノゲン)
FCM	flow cytometry
FDA	Food and Drug Administration (《米》食品医薬品局)
FDP	fibrin degradation products (フィブリン分解産物)
FISH	fluorescence in situ hybridization (蛍光 in situ ハイブリダイゼーション)
FL	follicular lymphoma (濾胞性リンパ腫)
GaLV	Gibbon ape leukemia virus
GM-CSF	granulocyte macrophage colony-stimulating factor (顆粒球マクロファージコロニー刺激因子)
GMP	Good Manufacturing Practice (医薬品の製造管理及び品質管理に関する基準)
GTF	Gene Transfer and Somatic Cell Engineering Facility
GTP	glutamyl transpeptidase (グルタミルトランスペプチダーゼ)
GVHD	graft-versus-host disease (移植片対宿主病)
GVL	graft versus leukemia (移植片対白血病)
HAMA	human anti-mouse antibody
HBc	hepatitis B core
HBs	hepatitis B surface
HBV	hepatitis B virus (B型肝炎ウイルス)
HCV	hepatitis C virus (C型肝炎ウイルス)
HIV	human immunodeficiency virus (ヒト免疫不全ウイルス)
HLA	human leukocyte antigen (ヒト白血球抗原)
HSA	human serum albumin (ヒト血清アルブミン)
HTLV-1	human T-cell leukemia virus type 1 (ヒトT細胞白血病ウイルス1型)
ICH	International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use (日米EU医薬品規制調和国際会議)
IFN- γ	interferon gamma (インターフェロンガンマ)

IL	interleukin (インターロイキン)
IRB	Institutional Review Board (倫理審査委員会)
LDH	lactate dehydrogenase (乳酸脱水素酵素)
LAM-PCR	linear amplification mediated-PCR
LTR	long terminal repeat (末端反復配列)
MAP 試験	mouse antibody production test (マウス抗体産生試験)
MCB	master cell bank (マスターセルバンク)
MDS	myelodysplastic syndrome (骨髄異形成症候群)
MHC	major histocompatibility complex (主要組織適合抗原)
MLV	murine leukemia virus (マウス白血病ウイルス)
MoMLV	Moloney murine leukemia virus (モロニーマウス白血病ウイルス)
MRI	magnetic resonance imaging (核磁気共鳴画像法)
MRD	minimal residual disease (微小残存病変)
MTD	maximum tolerance dose (最大耐用量)
NHL	non-Hodgkin lymphoma (非ホジキンリンパ腫)
NRM	non-relapse mortality (非再発死亡率)
OS	overall survival (全生存率)
PBL	peripheral blood lymphocyte (末梢血リンパ球)
PBMC	peripheral blood mononuclear cell (末梢血単核球)
PCR	polymerase chain reaction (ポリメラーゼ連鎖反応)
PD	progressive disease (病期進展)
PET	positron emission tomography (陽電子放出断層撮影)
PFS	progression-free survival (無増悪生存期間)
PLT	platelet (血小板)
PR	partial response (部分奏効)
PS	Performance Status (全身状態)
PT	prothrombin time (プロトロンビン時間)
Q-PCR	quantitative polymerase chain reaction (定量ポリメラーゼ連鎖反応)
RAC	recombinant DNA advisory committee (組み換え DNA 諮問委員会)
RD	recommended dose (推奨用量)
RCR	replication competent retrovirus (増殖性レトロウイルス)
rhIL-2	recombinant human interleukin 2 (組換えヒトインターロイキン 2)
RIC	reduced intensity conditioning
RNA	ribonucleic acid (リボ核酸)
SA 配列	splice acceptor 配列

scFv	single chain variable fragment (単鎖可変領域)
SD	stable disease (病期安定)
SD 配列	splice donor 配列
SDF-1	stromal cell derived factor-1 (ストローマ細胞由来因子-1)
SIADH	syndrome of inappropriate secretion of antidiuretic hormone (抗利尿ホルモン不適合分泌症候群)
SpO ₂	percutaneous oxygen saturation (経皮的酸素飽和度)
T-Bil	total bilirubin (総ビリルビン)
TCR	T cell receptor (T 細胞受容体)
TIL	tumor infiltrating lymphocyte (腫瘍浸潤リンパ球)
TNF- α	tumor necrosis factor (腫瘍壊死因子)
TP	total protein (総タンパク質)
TRM	treatment-related mortality (治療関連死亡率)
UA	uric acid (尿酸)
WAS	Wiskott - Aldrich syndrome (ウィスコット・アルドリッチ症候群)
WBC	white blood cell (白血球)
WCB	working cell bank (ワーキングセルバンク)
WHO	World Health Organization (世界保健機関)
X-SCID	X-linked severe combined immunodeficiency (X連鎖重症複合免疫不全症)

海外医療機関名・略語一覧表

BCM	Baylor College of Medicine (ベイラー医科大学)
COH	City of Hope National Medical Center (シティー・オブ・ホープ国立医療センター)
MSKCC	Memorial Sloan-Kettering Cancer Center (メモリアル・スローン・ケタリング癌センター)
NIH	National Institutes of Health (米国国立衛生研究所)
U Penn	University of Pennsylvania (ペンシルベニア大学)

目 次

	頁
I. 遺伝子治療臨床研究の名称	10
II. 総括責任者及びその他の研究者の氏名並びに当該遺伝子治療臨床研究において果たす役割	11
II.1 総括責任者の氏名	11
II.2 総括責任者以外の研究者の氏名及びその担当する役割	11
III. 実施施設の名称及びその所在地	14
IV. 遺伝子治療臨床研究の目的	15
V. 遺伝子治療臨床研究の対象疾患及びその選定理由	16
V.1 研究の区分	16
V.2 対象疾患に関する現時点での知見	16
V.3 当該遺伝子治療臨床研究の概要	18
V.4 他の治療法との比較及び遺伝子治療を選択した理由	22
V.5 化学療法剤投与（シクロホスファミド及びベンダムスチン）を併用する理由	24
V.5.1 化学療法剤投与（シクロホスファミド及びベンダムスチン）の根拠	24
V.5.2 シクロホスファミド投与量の設定根拠	25
V.5.3 ベンダムスチン投与量の設定根拠	25
VI. 遺伝子の種類及びその導入方法	26
VI.1 人に導入する遺伝子の構造と性質	26
VI.1.1 人に導入する CD19 特異的キメラ遺伝子の構造	26
VI.1.2 人に導入する遺伝子の性質	29
VI.1.3 導入遺伝子からの生成物の構造及びその生物活性	29
VI.2 本計画で使用するその他の組換え DNA の構造と性質	29
VI.3 標的細胞とした細胞の由来及び生物学的特徴並びに当該細胞を標的細胞とした理由	30
VI.4 遺伝子導入方法の概略及び当該導入法を選択した理由	30
VI.4.1 遺伝子導入方法の概略	30
VI.4.2 当該導入法を選択した理由	30
VI.4.3 レトロウイルスベクターの選択根拠	30
VI.5 ウイルスベクターを用いた遺伝子導入	31
VI.5.1 野生型ウイルスの生物学的特徴及び人に対する影響	31
VI.5.2 ウイルスベクターの作製方法	32
VI.5.3 ウイルスベクターの構造	39
VI.5.4 ウイルスベクターの生物学的特徴	39

VII. 安全性についての評価（ウイルスベクター、遺伝子産物、細胞、シクロホスファミド及びベンダムスチン）	40
VII. 1 遺伝子導入方法の安全性	40
VII. 1. 1 遺伝子導入に用いるウイルスベクターの純度	40
VII. 1. 2 患者に投与する物質の純度及びその安全性	46
VII. 1. 3 増殖性ウイルス出現の可能性	46
VII. 1. 4 遺伝子導入に用いるウイルスベクターの細胞傷害性	50
VII. 1. 5 体内の標的細胞以外の細胞への遺伝子導入の可能性	50
VII. 1. 6 患者以外の人に遺伝子が導入される可能性	50
VII. 1. 7 染色体内へ遺伝子が組み込まれる場合の問題点	51
VII. 1. 8 がん原性の有無	51
VII. 2 遺伝子産物の安全性	52
VII. 3 細胞の安全性	53
VII. 3. 1 遺伝子導入Tリンパ球の調製方法	53
VII. 3. 2 培養細胞の純度	56
VII. 3. 3 細胞の遺伝子型、表現型の安定性	57
VII. 3. 4 被験者に投与する細胞の安全性	58
VII. 4 シクロホスファミドの安全性	59
VII. 5 ベンダムスチンの安全性	60
VIII. 遺伝子治療臨床研究の実施が可能であると判断した理由	61
IX. 遺伝子治療臨床研究の実施計画	63
IX. 1 遺伝子治療臨床研究を含む全体の治療計画	63
IX. 1. 1 本臨床研究の実施に際し自治医科大学医学部附属病院内に設置される委員会	63
IX. 1. 2 本臨床研究の実施手順	64
IX. 2 被験者の選択基準及び除外基準	67
IX. 2. 1 一次登録	67
IX. 2. 2 二次登録	69
IX. 3 倫理的事項	70
IX. 3. 1 被験者の保護	70
IX. 3. 2 被験者の同意取得方法	70
IX. 3. 3 補償について	72
IX. 4 実施期間及び目標症例数	73
IX. 4. 1 主たる解析と判断基準	73
IX. 4. 2 予定登録数・登録期間・追跡期間	73

IX. 4. 3 実施計画書の遵守	73
IX. 5 遺伝子治療臨床研究の実施方法	74
IX. 5. 1 対照群の設定方法	74
IX. 5. 2 遺伝子導入方法	74
IX. 5. 3 前処置の有無	75
IX. 5. 4 臨床検査項目及び観察項目	75
IX. 5. 5 予測される副作用及びその対処方法	96
IX. 5. 6 遺伝子治療臨床研究の評価方法、評価基準及び中止判定基準	98
IX. 5. 7 有害事象が発現した場合の措置	100
IX. 5. 8 症例記録に関する記録用紙等の様式	102
IX. 5. 9 記録の保存及び成績の公表の方法	102
IX. 5. 10 個人情報の保護の徹底	103
X. その他必要な事項	107
X. 1 遵守する法令/省令等	107
X. 2 引用文献	108
X. 3 検査・観察スケジュール	115
X. 4 Ann Arbor 病期分類	116
X. 5 Performance Status (Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG))	117
X. 6 悪性リンパ腫効果判定基準 (Revised response criteria for malignant lymphoma)	118
X. 7 同意・説明文書	119

<実施計画書に添付すべき資料>

遺伝子治療臨床計画実施計画書添付資料

- I 研究者の略歴及び研究業績
- II 実施施設の施設設備の状況
- III 実施施設における当該遺伝子治療臨床研究に関する培養細胞、実験動物を用いた研究成果
- IV 遺伝子治療臨床研究に関する実施施設以外の内外の研究状況
- V その他必要な資料

<参考資料>

- 参考資料1: レトロウイルスベクター PG13/1928z clone3 (SFG-1928z) の全塩基配列
- 参考資料2: マスターセルバンクの品質試験項目と規格
- 参考資料3: ワーキングセルバンクの作製方法
- 参考資料4: ワーキングセルバンクの品質試験および結果
- 参考資料5: ワーキングセルバンク試験成績書
- 参考資料6: レトロウイルスベクターSFG-1928z の製造方法
- 参考資料7: 製造施設 (位置・構造設備)
- 参考資料8: レトロウイルスベクターSFG-1928z 試験成績書
- 参考資料9: レトロウイルスベクターSFG-1928z の品質試験
- 参考資料10: CAR 遺伝子導入 T リンパ球調製に使用する培地等の資料
- 参考資料11: CAR 遺伝子導入 T リンパ球試験成績書
- 参考資料12: CAR 遺伝子導入 T リンパ球構成
- 参考資料13: CAR 遺伝子導入 T リンパ球の品質試験
- 参考資料14: Memorial Sloan-Kettering Cancer Center (メモリアル・スローン・ケタリング 癌センター) CD19 特異的キメラ抗原受容体発現 T リンパ球を用いた難治性慢性リンパ球性白血病に対する遺伝子治療の第 I 相臨床試験プロトコール
- 参考資料15: 臨床用細胞プロセッシング室

I. 遺伝子治療臨床研究の名称

CD19特異的キメラ抗原受容体発現Tリンパ球を用いた難治性B細胞性悪性リンパ腫に対する
遺伝子治療臨床研究

II. 総括責任者及びその他の研究者の氏名並びに当該遺伝子治療臨床研究において果たす役割

II.1 総括責任者の氏名

小澤 敬也

自治医科大学内科学講座血液学部門

分子病態治療研究センター遺伝子治療研究部

免疫遺伝子細胞治療学(タカラバイオ)講座

教授

遺伝子治療臨床研究の総括

II.2 総括責任者以外の研究者の氏名及びその担当する役割

氏名	所属	役職	役割分担
大嶺 謙	自治医科大学 内科学講座血液学部門 免疫遺伝子細胞治療学 (タカラバイオ)講座	講師	臨床分野からの研究計画の推進及び試験登録患者の診療
塚原 智典	自治医科大学 遺伝子治療研究部 免疫遺伝子細胞治療学 (タカラバイオ)講座	講師	CAR 遺伝子導入 T リンパ球製剤の製造管理責任者
内堀 亮介	自治医科大学 遺伝子治療研究部 免疫遺伝子細胞治療学 (タカラバイオ)講座	助教	基礎分野からの研究計画の推進
室井 一男	自治医科大学 輸血・細胞移植部	教授	細胞プロセッシング室の管理責任者及び試験登録患者の診療
岡塚 貴世志	自治医科大学 内科学講座血液学部門	助教	CAR 遺伝子導入 T リンパ球製剤の品質管理責任者、遺伝子治療プロトコルの作成及び試験登録患者の診療
永井 正	自治医科大学 内科学講座血液学部門	准教授	試験登録患者の診療
鈴木 隆浩	自治医科大学 内科学講座血液学部門	講師	試験登録患者の診療

佐藤 一也	自治医科大学 内科学講座血液学部門	講師	試験登録患者の診療
藤原 慎一郎	自治医科大学 内科学講座血液学部門	講師	試験登録患者の診療
翁 家国	自治医科大学 内科学講座血液学部門	講師	CAR 遺伝子導入 T リンパ球製剤の品質管理副責任者、遺伝子治療プロトコルの作成及び試験登録患者の診療
多々良 礼音	自治医科大学 内科学講座血液学部門	講師	遺伝子治療プロトコルの作成及び試験登録患者の診療
上原 英輔	自治医科大学 内科学講座血液学部門	助教	遺伝子治療プロトコルの作成及び試験登録患者の診療
水上 浩明	自治医科大学 遺伝子治療研究部	准教授	ウイルスベクター及び遺伝子導入 T リンパ球調製に関する助言
卜部 匡司	自治医科大学 遺伝子治療研究部	講師	ウイルスベクター及び遺伝子導入 T リンパ球調製に関する助言
福島 敬宜	自治医科大学 病理診断部	教授	病理組織学的診断
吉尾 卓	自治医科大学附属病院 臨床試験センター	センター長	試験実施の支援
山崎 晶司	自治医科大学附属病院 臨床試験センター	副センター長	試験実施の支援

外部協力者

峰野 純一	タカラバイオ株式会社 細胞・遺伝子治療センター	センター長	レトロウイルスベクター製剤の品質管理者、遺伝子導入 T リンパ球調製技術の提供と助言、遺伝子導入 T リンパ球製剤の体内動態検査、RCR 検査及び LAM-PCR に関する技術提供
Renier J Brentjens	メモリアル・スローン・ケタリング癌センター	Associate Member	マスターセルバンクの提供、遺伝子治療プロトコルの作成の助言

Isabelle Riviere	メモリアル・スローン・ケタ リング癌センター Gene Transfer & Somatic Cell Engineering	Director	マスターセルバンクの提供、遺 伝子治療プロトコールの作成 の助言
Michel Sadelain	メモリアル・スローン・ケタ リング癌センター Center for Cell Engineering	Founding Director	マスターセルバンクの提供、遺 伝子治療プロトコールの作成 の助言
西川 博嘉	大阪大学 免疫学フロンティア研究 センター	特任准教授	基礎分野からの研究計画の推進

Ⅲ. 実施施設の名称及びその所在地

名称：自治医科大学附属病院

所在地：栃木県下野市薬師寺3311-1

TEL：0285-44-2111、FAX：0285-44-5258

IV. 遺伝子治療臨床研究の目的

本臨床研究は、標準的な治療法（化学療法、放射線療法等）による効果が期待できない治療抵抗性のB細胞性非ホジキンリンパ腫を対象とした養子免疫遺伝子療法の第Ⅰ/Ⅱ相臨床研究である。具体的には、CD19抗原を特異的に認識するキメラ抗原受容体（CAR）の遺伝子を導入した自己Tリンパ球（以下、CAR遺伝子導入Tリンパ球）を輸注し、その安全性を検証することを目的とする。併せて、臨床効果とCAR遺伝子導入Tリンパ球の体内動態を評価する。

① 主要評価項目

➤ 本遺伝子治療の安全性

(1) CAR 遺伝子導入 T リンパ球の検定

(2) 有害事象

- ・ 一般臨床検査
 - 正常 B リンパ球（減少の有無）
 - 血清免疫グロブリン濃度
- ・ 増殖性レトロウイルス（RCR）
- ・ 挿入変異によるクローナルな細胞増殖及びがん化の監視
 - FACS 及び定量的 PCR による体内 CAR 遺伝子導入 T リンパ球の解析
 - linear amplification mediated-PCR (LAM-PCR)

② 副次的評価項目

- ・ 腫瘍縮小効果
- ・ CAR 遺伝子導入 T リンパ球のサブセット解析
- ・ human anti-mouse antibody (HAMA) テスト

V. 遺伝子治療臨床研究の対象疾患及びその選定理由

V.1 研究の区分

遺伝子治療臨床研究

V.2 対象疾患に関する現時点での知見

悪性リンパ腫は、リンパ系組織から発生する悪性腫瘍である。本邦の2007年における年間推定患者数は約18,776人で、2007年における死亡者数は10,222人と近年増加傾向にある(国立がん研究センターがん対策情報センターがん情報)。年齢別にみた悪性リンパ腫全体の罹患率は、60歳代から増加し、男女比では男性が女性の約1.5倍を占めている。

悪性リンパ腫はホジキンリンパ腫と非ホジキンリンパ腫(NHL)に大別される。WHO分類では悪性リンパ腫が病態的に独立した数多くの病型単位から成り立っていることが示されており、治療方針は各病型によって異なる。

1970年代に複数の化学療法剤を組み合わせたCHOP療法(シクロホスファミド、アドリアマイシン、ビンクリスチン、プレドニゾロン)が開発され、悪性リンパ腫の治療成績の飛躍的な改善をもたらされた(1)。1980年代には治療早期に交差耐性の少ない薬剤を組み合わせ、dose intensityを高めることが治療成績の向上に繋がるとの理論に基づき、第二、第三世代と呼ばれるm-BACOD、MACOP-B療法などが開発された。その後、中高悪性度NHLに対するCHOP療法と第二・第三世代化学療法を比較した多施設共同のランダム化試験が行われた(2)。その結果、両方で生存期間に差がなく、安全性と利便性でCHOP療法が優れているとの結果が得られた。更に同様の治療成績が報告されたことから、1990年代以降、CHOP療法が中悪性度NHLに対する標準的治療法として用いられている。

2000年代初頭に、B細胞性悪性リンパ腫の治療に抗体医薬であるリツキシマブが導入された。リツキシマブはB細胞表面に発現するCD20抗原に対するキメラ型モノクローナル抗体であり、主として、抗体依存性細胞傷害(ADCC)、補体依存性細胞傷害(CDC)、アポトーシス誘導により、抗腫瘍効果をもたらす。NHLの約30%を占めるびまん性大細胞型B細胞リンパ腫(DLBCL)においては、CHOP療法にリツキシマブ(R-CHOP療法)を加えることで、生存率の明らかな改善が得られた(3)。

一方、標準療法後の再発例・難治性の中悪性度NHLに対しては、R-DeVIC, R-DHAP, R-ICE療法などサルベージ(救援)療法が行われる。更に、感受性がある症例については、自家造血幹細胞移植を併用する大量化学療法が行われる。

低悪性度B細胞性リンパ腫の代表的な組織型である濾胞性リンパ腫(FL)はNHLの10~20%を占める。これまでに初発FLに対してアルキル化剤、プリンアナログ製剤、CHOP療法を中心とした多剤併用化学療法、抗体医薬療法などの様々な治療が検討されてきたが、一時的な寛解を得ても再発を免れ得ず、未だ治癒をもたらす治療法が確立されていない。近

年、FL の再発例に対しては、ベンダムスチンが用いられるようになり、良好な治療成績が報告されている。再発・難治性マン托ル細胞リンパ腫および低悪性度 B 細胞性リンパ腫に対する同剤とリツキシマブとの併用療法の全奏効率は 90%、完全奏効率が 60%で PFS 24 ヶ月あった (4, 5)。現在、FL の診断からの生存期間は 10~14 年である (6, 7)。

マン托ル細胞リンパ腫 (8) は発症年齢中央値が 60 歳以上で、発症時に既に節外病変を持ち、進行期であることが多い予後不良リンパ腫のひとつである。R-CHOP 療法により約 90% の治療反応性があるが、早期に再発し、再発後の生存期間は 1~2 年である (中央生存期間が約 3 年)。若年初発マン托ル細胞リンパ腫に対して、リツキシマブと大量キロサイド療法を組み入れた、より強力な多剤併用化学療法を行うことで、予後の改善することが示されたが、生存曲線は平坦化しない (9)。再発・難治例に対しては、新規薬剤であるベンダムスチンの有効性が報告されているが (4)、単剤では長期的な予後の改善は期待できず、新たな治療戦略の開発が求められている。

【非ホジキンリンパ腫に対する自家造血幹細胞移植】

自己の造血幹細胞移植を行うことで、大量化学療法後の造血をサポートし、化学療法の治療強度 (dose intensity) を高めることが可能になる。自家移植を併用した超大量化学療法は、通常化学療法以上に抗腫瘍効果が期待でき、抗がん剤に感受性のある症例を治療に導くことが可能である。自家移植のもっとも良い適応は、再発・難治性の中高悪性度 NHL でサルベージ療法に感受性のある症例である。リツキシマブ導入前の臨床研究ではあるが、化学療法に感受性のある再発症例に対し自家移植施行群と化学療法追加群を比較した臨床研究では、DFS 46% vs 12%、OS 53% vs 32% と自家移植群の治療成績が有意に優れていた (10)。しかし、未だに十分な治療成績とは言えず、合併症を持った症例や高齢者の場合、強力な化学療法を遂行することが困難である。

FL については、若年再発症例に自家移植を行うことで予後を改善する可能性が示された (11)。しかし、二次性発がんのリスクや新規の抗体医薬に対する優位性が検討されていないなど、標準的治療とするには今後明らかにすべき点が多い。

【非ホジキンリンパ腫に対する同種造血幹細胞移植】

上述のように、悪性リンパ腫に対する自家移植は、化学療法に感受性のある再発・難治例に対して行われ一定の成績を得ているが、化学療法に全く感受性がない症例や、濾胞性リンパ腫などの緩徐に進行するタイプのリンパ腫では適応とならない。また自家移植では、採取した造血幹細胞ソースの中に腫瘍細胞の混入のリスクがある。

一方、同種移植では腫瘍細胞の混入を回避することが可能であるだけでなく、「GVL 効果」と呼ばれるドナーリンパ球による抗腫瘍免疫効果が期待できる。

中高悪性度 NHL を対象にした同種移植の治療成績を自家移植と比較した EBMT の報告では、無増悪生存率 (PFS) に差はなかったが、同種移植群で再発率の低下と治療関連死亡率 (TRM) の増加を認めた (12)。自家移植後に再発した DLBCL に対するヒト白血球抗原 (HLA) 適合同胞間同種移植の後方視的研究では、1 年の TRM は 41% と高く、5 年 PFS は 22% にとどまる (13)。

近年、同種移植における高い TRM を克服するため、移植前処置の強度を弱めた (RIC)、所謂ミニ移植が行われるようになった。CIBMTR の後方視的研究では、ミニ移植と従来の前処置移植の比較では TRM がミニ移植で低く、5 年の再発・進行率は従来型の移植で高かったが、PFS と全生存率については両者で差がなかった (14)。

FL に関しては、現時点で同種移植が唯一治癒の望める治療法である。悪性リンパ腫の組織型とミニ移植の治療成績を後方視的に見た臨床研究や (15)、同種移植後の再発例に対し、免疫抑制療法の中止やドナーリンパ球輸注が奏効したとの報告があることから (16, 17, 18)、GVL 効果が FL のような緩徐に進行するタイプに最も有効であると考えられている。FL においても同種移植と自家移植を比較した CIBMTR と EBMT のレジストリー解析では (12, 19)、同種移植で再発率が低いが、TRM は 30~38% で高かった。全生存率は二群間で差がなく 50~62% であった。FL に対してもミニ移植が試みられている。HLA 一致同胞間同種移植で、ミニ移植と従来の前処置移植を比較した CIBMTR の後方視的研究では、PFS と全生存率については両者で差がなかった (20)。また HLA 一致非血縁者間同種移植を対象とした EBMT 解析ではミニ移植群で非再発死亡率 (NRM) が低く PFS と OS の改善を認めた。CIBMTR、EBMT の両研究とも performance status の低下および化学療法抵抗性であることが TRM、PFS、OS への増悪因子となっていた (21)。

【リツキシマブ以外の抗体医薬】

抗 CD20 抗体リツキシマブが B 細胞リンパ腫の治療成績の向上に大きく貢献したことから、新規抗体医薬の開発が積極的に行われている。

ゼヴァリン R は放射線同位元素 (RI) ^{90}Y を標識した抗 CD20 抗体であり、RI が放出する β 線による抗腫瘍効果が期待できる。リツキシマブの前治療歴があっても一定の効果を示す。本邦での難治性低悪性度リンパ腫およびマントル細胞リンパ腫に対する第 II 相臨床試験の全奏効率は 83%、完全奏効率が 68% で PFS 9.6 ヶ月であった。

オフアツムマブも抗 CD20 モノクローナル抗体であるが、リツキシマブとは異なるエピトープを認識して結合する為、リツキシマブ耐性例に対しても有効である。また完全ヒト化抗体であるため、中和抗体が産生される可能性が低い。エブラツズマブはヒト抗 CD22 抗体に抗腫瘍抗生物質カルキアマイシンを結合させた薬剤である。B 細胞リンパ腫細胞表面上の CD22 抗原との結合により細胞内へ取り込まれると、分離したカルキアマイシン誘導体が抗腫瘍効果を示す。その他、CD40 や CD19 などの抗原を標的とした抗体医薬の開発が行われている。

V.3 当該遺伝子治療臨床研究の概要

がん特異的免疫細胞を *ex vivo* で増幅して、再び輸注する免疫療法を養子免疫細胞療法という。養子免疫細胞療法はメラノーマや EB ウイルス関連疾患に対し以前から行われてきたが、煩雑な割に奏効率は高くなく、がんに対する治療法として確立していない。

そこで、抗腫瘍効果の改善を目的に、腫瘍特異的 T 細胞受容体 (TCR) 遺伝子あるいは単鎖抗体 (scFv) と CD3 ζ の細胞内ドメインを連結させたキメラ抗原受容体 (CAR) 遺伝子をウイルスベクターによって T リンパ球に導入し大量に増幅して用いる養子免疫遺伝子治療の開発が進められている。

TCR 遺伝子導入リンパ球を用いた治療はメラノーマや固形腫瘍を対象にした開発が先行している。腫瘍浸潤リンパ球から樹立した細胞傷害性 T リンパ球 (CTL) クローン、あるいは腫瘍ペプチドで免疫した HLA トランスジェニックマウスから HLA 拘束性-ヒト腫瘍抗原特異的 TCR 遺伝子をクローニングして、患者 T リンパ球に導入して用いる。本治療法では対象患者が HLA タイプで限定される。また、T リンパ球に導入した TCR α/β 遺伝子が内因性の TCR α/β 遺伝子とミスペアリングを起こすことで、腫瘍特異性が失われ、重篤な自己免疫疾患を発症するリスクがある。

一方、キメラ抗原受容体を用いた治療では、腫瘍細胞の膜表面抗原を認識する単鎖抗体 (scFv) に CD3 ζ の細胞内ドメインを連結させた人工キメラ抗原受容体 (CAR) を作製し用いる。CAR 遺伝子導入 T リンパ球が scFv を介して腫瘍細胞を認識し結合すると、CD3 ζ 細胞内シグナルドメインにより T 細胞が活性化され、主としてパーフォリン・グランザイム系細胞傷害及びサイトカイン産生により抗腫瘍効果をもたらす。CAR は T リンパ球に発現させた抗体 (antibody) の一部を組み合わせたタンパク質であるため、"T-body" と呼ばれることがある。HLA 非拘束性に抗原を認識することから、治療対象が特定の HLA のタイプの患者に限定されず、また HLA の表出が著しく減弱あるいは欠如した腫瘍に対しても有効である。基本骨格である scFv と CD3 ζ の細胞内ドメインから構築される第一世代 CAR に対し、CD28 や 4-1BB (CD137) などの副刺激シグナル発生ドメインを連結したのが第二世代 CAR である。CD28 は T 細胞の増殖と存続に関わる重要な分子で抗アポトーシス遺伝子である Bcl-xL の発現と IL-2 や IFN γ の産生を増加させる。

本臨床研究ではマウスの CD19 モノクローナル抗体から得た scFv に CD28 と CD3 ζ の細胞内ドメインを連結させた第二世代 CAR (19-28zCAR) を用いる。増殖能を欠失した MoMLV ベクターを用いて体外で CAR 遺伝子を患者 T リンパ球に導入した後、増幅する。この CAR 遺伝子導入 T リンパ球は輸注後に、患者の体内で B 細胞に特異的な抗原である CD19 を認識し攻撃する。

これまでに我々が行なった前臨床試験では、健常人及び B 細胞リンパ腫患者の末梢血を用いて作製した CAR 遺伝子導入 T リンパ球が *in vitro* で CD19 陽性 Burkitt リンパ腫細胞株を破壊することが確認されている。また、CD19 陽性リンパ腫細胞を移植した免疫不全マウスに 19-28zCAR 導入 T リンパ球を投与すると、腫瘍の増殖抑制効果が認められた。

CAR 遺伝子導入 T リンパ球を用いた養子免疫細胞療法では、輸注した T リンパ球の体内での存続を維持させることが重要である。前処置を用いて、あらかじめ患者体内のリンパ球を除去することにより、輸注した CAR 遺伝子導入 T リンパ球が体内で効率よく増幅・生存することが可能である。本臨床研究では、シクロホスファミドあるいはベンダムスチンを

前処置として併用する。

対象患者：再発・難治性 CD19 陽性 B 細胞性リンパ腫の患者とする。

(患者一次登録時選択基準の概要)

- ① 再発・難治性の CD19 陽性 B 細胞性リンパ腫患者
(詳細は IX. 2. 1. 1 適格基準 (一次登録) 参照)
- ② 年齢が 20 歳以上、かつ 70 歳以下
- ③ ECOG の全身状態の指標 (PS) が 0 から 2
- ④ 主要臓器の機能が保たれている (詳細は別途規定)
- ⑤ 試験参加について患者本人から文書で同意が得られている

研究デザイン：本臨床研究は CD19 特異的 CAR 療法の安全性の評価を行うことを目的とした第 I / II 相臨床研究である。用量漸増試験を行い CAR 遺伝子導入 T リンパ球の輸注細胞の用量制限毒性 (DLT: dose limiting toxicity) の評価、最大耐用量 (MTD: maximum tolerated dose) の推定、推奨用量 (RD: recommended dose) の決定を行う。また併せて探索的な有効性評価も行う。再発・難治性 CD19 陽性 B 細胞リンパ腫患者を登録し、前処置としてシクロホスファミド (22) またはベンダムスチン (23) を投与後、CAR 遺伝子導入 T リンパ球を輸注する。

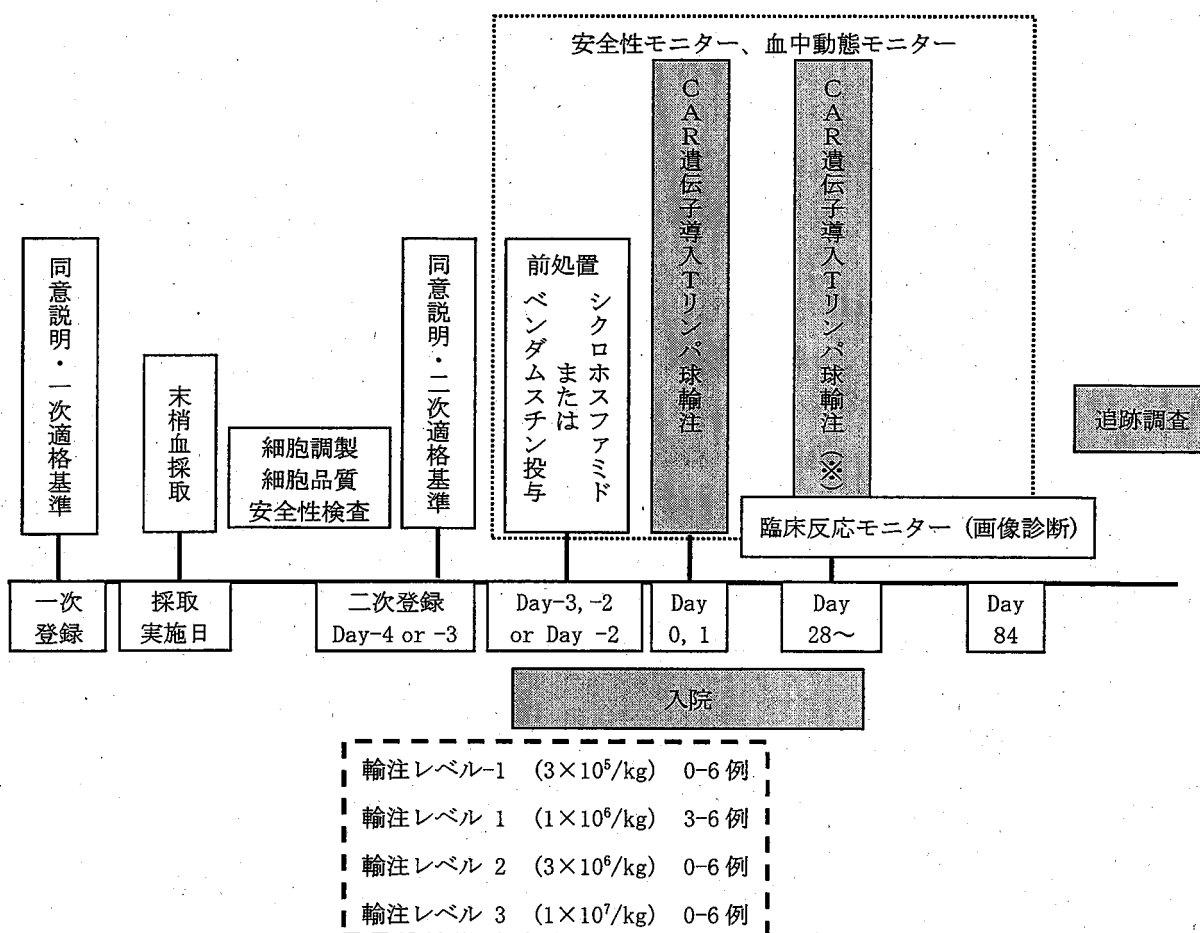
輸注レベル 1 では、 1×10^6 個/kg の CAR 遺伝子導入 T リンパ球を輸注する。33% 以上の患者に用量制限毒性 (DLT) が認められなければ、次の輸注レベルへ移行する。輸注レベル 2 では 3×10^6 個/kg、輸注レベル 3 では 1×10^7 個/kg の CAR 遺伝子導入 T リンパ球を輸注する。各輸注レベルにエントリーする患者数は 0~6 例とする。MTD は 33% 未満の患者に DLT が起こった最大用量とする。なお、本実施計画書における CAR 遺伝子導入 T リンパ球の投与細胞数は CAR 陽性細胞の細胞数とする。

治療スケジュールは図 1 に示した通りである。全ての行程は自治医科大学附属病院内において行われる。一次登録後に、患者から採取した末梢血から末梢血単核細胞 (PBMC) と血漿を分離し、レトロウイルスベクターにより PBMC に含まれている T リンパ球に CAR 遺伝子を導入する。CAR 遺伝子導入 T リンパ球は、10 日間程度の拡大培養を経て、輸注用 CAR 遺伝子導入 T リンパ球として調製され、凍結保存される。十分な細胞数が得られなかった場合は、再度の採血と調製を行う。CAR 遺伝子導入 T リンパ球が品質試験に仮合格した後に二次登録を行う。

患者は入院の上、前処置として Day -2 にシクロホスファミド ($1.5 \text{ g/m}^2 \times 1$ 日間) または、Day -3 及び Day -2 にベンダムスチン ($120 \text{ mg/m}^2 \times 2$ 日間) を投与する (いずれの場合も年齢及び患者の状態により減量することを可能とする)。その 2 日から 3 日後の、Day 0 と Day 1 に患者は 1 回目の CAR 遺伝子導入 T リンパ球輸注を分割投与 (Day 0: 1/3 量、Day 1: 2/3 量) される。CAR 遺伝子導入 T リンパ球が十分量得られた場合、1 回目の CAR-T の輸注により DLT

に該当せず、かつ一定の臨床的効果が認められたものの、効果不十分で追加治療が望ましいと判断された症例には Day28 以降にも CAR 遺伝子導入 T リンパ球を再投与することを許容する。その際の、前処置方法、CAR 遺伝子導入 T リンパ球投与方法及び評価方法は、可能な限り 1 回目と同じ方法で実施する。

評価項目は、遺伝子治療の安全性、CAR 遺伝子導入 T リンパ球の体内動態及び臨床効果である。フォローアップ期間における臨床モニタリング項目は表 1 に示す通りである。



※十分な CAR 遺伝子導入 T リンパ球が得られている場合、Day 28 以降に 1 回目投与後の患者の病態変化をみて、2 回目投与が必要と判断した場合は、適切な時期に投与することができる。

図 1 本臨床研究の実施手順/遺伝子導入 T リンパ球調製及び輸注計画

表1 モニタリング実施項目

評価事項	モニタリング実施項目
治療全体の安全性	血液学的検査、血液生化学検査、免疫学的検査、感染症検査、フローサイトメトリー解析、有害事象
遺伝子治療安全性	フローサイトメトリー解析、RCR 検査、LAM-PCR
血中動態	フローサイトメトリー解析、PCR
抗腫瘍効果判定	PET-CT、全生存率、無増悪生存期間
CAR遺伝子導入Tリンパ球免疫原性	human anti-mouse antibody (HAMA)テスト（サンプリングを行い、必要時に検査する）

V.4 他の治療法との比較及び遺伝子治療を選択した理由

上述のように、再発・難治性のB細胞性悪性リンパ腫の根治は困難で、新規の治療法の開発が待たれている。

抗CD20抗体リツキシマブがB細胞性悪性リンパ腫の治療成績の向上に大きく貢献したことから、次のブレイクスルーを求めて、分子標的薬を中心に新規薬剤の開発が積極的に行われている。次世代の抗CD20抗体として、リツキシマブと異なるエピトープを認識して結合する抗体や、ヒト化抗体、更にCD20以外のB細胞腫瘍の標的抗原として、CD22やCD19に対する抗体医薬の臨床試験が行われている。抗体医薬の主な作用機序はADCCとCDCであるが、ラジオアイソトープや抗がん剤を付加することで、抗腫瘍効果を増強させる試みもなされている。

一方、腫瘍特異的Tリンパ球を用いた免疫細胞療法は抗体医薬に比し、以下のような優位性を持つ。

- ①Tリンパ球自体が他の細胞非依存的に腫瘍認識能及び傷害能を有する。
- ②Tリンパ球が産生するサイトカインは他の免疫担当細胞を活性化して、更なる抗腫瘍効果を生み出す。
- ③腫瘍に反応したTリンパ球はメモリーT細胞として生体内で存続し、長期間にわたる抗腫瘍効果が期待できる。

同種造血幹細胞移植は、現時点で再発・難治性の造血器腫瘍に対する治療戦略の大きな柱と考えられている。同種造血幹細胞移植後に再発した慢性骨髄性白血病(CML)患者に、ドナーリンパ球を輸注(DLI)するだけで、長期寛解が得られたという症例報告があり、末梢血リンパ球が「GVL効果」と呼ばれる抗腫瘍免疫効果を担う細胞であることが分かった。しかし、CML以外の造血器腫瘍ではDLIによる治療効果が不十分であり、同時に起こりうるGVHDは制御が不能になると致死に至る合併症である。B細胞性非ホジキンリンパ腫に対する同種移植の臨床研究では、治療関連死亡率(TRM)が高く、満足のいく治療成績が得られていない。

自己の細胞を用いる養子免疫細胞療法はGVHDのリスクがなく、同種移植に比し、強力な

前処置を用いないことから、高齢者や合併症を有する患者に適応が広がる可能性がある。また、HLA 一致同胞ドナーの有無に依らず、施行が可能である。さらに、本臨床研究で用いられる CAR 遺伝子は TCR 遺伝子と異なり、HLA 非依存性に腫瘍抗原を認識するため、患者の HLA 型や腫瘍の HLA 発現の強弱に依らない遺伝子治療が可能である。

本遺伝子治療が標的とする CD19 抗原は、95kDa の糖蛋白で pro B 細胞から成熟 B 細胞にかけて細胞膜表面に発現する。B 細胞性悪性リンパ腫の多くの症例で CD19 が発現しているため、腫瘍表面抗原として有用な分化抗原である。なお、造血幹細胞及び造血系以外の組織には CD19 が発現していないため、CD19 を標的とした治療により、自己免疫疾患や造血不全が起こる危険性は比較的低いと考えられる。

表 2 にこれまでに報告された第二世代 CD19-CAR 遺伝子を導入した T リンパ球を使った臨床試験を示す。

表 2 第二世代 CD19-CAR 遺伝子を導入した T リンパ球を使った臨床試験

研究施設	対象疾患	前処置	IL-2 投与	ベクター	CAR 遺伝子配列	正常 B 細胞の消失
U Penn	CLL	様々 (ベンダムスチン、シクロホスファミド、ペントスタチン等)	なし	レンチウイルス	scFv-4-1BB - CD3ζ	あり
NCI	CLL, FL	シクロホスファミド、フルダラビン	あり	レトロウイルス	scFv-CD28 - CD3ζ	あり
MSKCC	CLL, B-ALL	シクロホスファミド	なし	レトロウイルス	scFv-CD28 - CD3ζ	あり
BCM	B-NHL, CLL	なし	なし	レトロウイルス	scFv-CD3ζ vs scFv-CD28 - CD3ζ	あり

メモリアル・スローン・ケタリング癌センター (MSKCC) のグループは CLL 患者 8 名に対して、本研究で用いられるベクターと同一のベクターを用いた臨床試験を行った。評価可能な CLL 患者 4 例中 3 例で治療反応が認められたが、別の 1 例は CAR 発現 T リンパ球輸注 2 日後にサイトカインストームを伴う敗血症様の反応により死亡した。その後のプロトコールでは輸注 T リンパ球量を減量し、かつ 2 回に分割投与することで、安全に治療が遂行されている。ALL 患者に関しては、骨髄、リンパ節、肝などの病変部に CAR 発現 T リンパ球が認められた(24)。また、彼らは再発 ALL 患者 5 名に対して 19-28zCAR 導入 T リンパ球による治療を行ったところ、全例で分子生物学的寛解が得られたと報告している。治療前に骨髄中の芽球が 63%存在した難治例は day11 までに血液学的寛解を得、day59 までに分子生物学的寛解を得た。また、別の 1 例は治療前の骨髄中の芽球が 70%であったにもかかわらず day8 までに分子生物学的寛解を得ている。このように絶対的に予後不良で、極めて病勢が

早い再発 ALL 症例に対しても CAR 遺伝子治療が有効であることが示された (25)。

ペンシルベニア大学 (U Penn) のグループは、3名のCLL患者に対するCD19を標的とした第二世代CARによる臨床研究を行った。輸注されたTリンパ球は体内で約1,000倍以上増加し、6ヵ月後も末梢血及び骨髄で検出された。2例がCR、1例がPRを得ている (26, 27)。また同グループは、小児ALL患者2例に対し、CAR遺伝子治療を行ったところ、両患者とも治療後約1ヵ月で血液学的寛解を得た。うち1例は9ヵ月間にわたって分子生物学的寛解を維持している。特筆すべきは脳脊髄液 (CSF) 中にもCAR発現Tリンパ球が多数認められたことで、1例では6ヵ月間にわたってCSF中にCAR発現Tリンパ球が維持されていた。両患者ともIFN- γ とIL-6をはじめとするサイトカインの上昇、正常B細胞の減少が認められた。重篤な高サイトカイン血症により呼吸循環動態が不安定となった症例は、エタネルセプトとトシリズマブの投与により改善を認めた (28)。

米国国立衛生研究所 (NIH) グループの臨床研究では、評価可能な CLL 患者 7 例全例で治療効果が見られた。一方、4 例で正常 B 細胞数の低下が認められた。更に 1 例は輸注 18 日後にインフルエンザ肺炎と心内膜炎、脳梗塞の合併で死亡した (29)。その他、シティー・オブ・ホープ国立医療センター、ベイラー医科大学において、CD19-CAR 遺伝子を導入した T リンパ球を使った臨床試験が実施されている (30)。

このように、B 細胞性悪性リンパ腫細胞に発現する CD19 を標的とした CAR 遺伝子治療は臨床においても一定の安全性と効果を認めており、開発の機運が高まっている。

V.5 化学療法剤投与 (シクロホスファミド及びベンダムスチン) 投与を併用する理由

V.5.1 化学療法剤投与 (シクロホスファミド及びベンダムスチン) 投与の根拠

シクロホスファミドは、アルキル化剤に分類される抗悪性腫瘍剤、免疫抑制剤である。肝臓で代謝され、活性型に変わるプロドラッグで、DNA 合成を阻害する。リンパ球の増殖を抑制することから、移植時の拒絶反応を抑える免疫抑制剤としても使用されている。

また、ベンダムスチンはアルキル化剤が有するナイトロジェンマスタード構造と、プリンアナログ様化学構造を併せ持つ抗腫瘍剤で、本邦では再発・難治性の低悪性度 B 細胞性非ホジキンリンパ腫とマントル細胞リンパ腫に対して認可され、有効性と安全性が証明されている (31)。近年 DLBCL、CLL などの B 細胞性腫瘍に対する効果が報告される一方、多発性骨髄腫や T 細胞性リンパ腫に対する効果も報告されており、リンパ球系腫瘍全般に対する抗腫瘍効果が認められる (32)。

2000 年代前半に行われた腫瘍浸潤リンパ球 (TIL) を用いた悪性黒色腫患者に対する養子免疫療法の臨床研究では、TIL 輸注前にシクロホスファミドとフルダラビンを投与することにより患者体内のリンパ球除去を行ったところ、輸注した TIL が効率よく体内で増幅、維持され、抗腫瘍効果が増強することが報告された。体内リンパ球除去を目的とした前処置

が、輸注 T 細胞の存続と増幅を促進するメカニズムとして、2 つの要因が考えられている。第一に患者の内因性リンパ球を除去すると、体内 IL-7、IL-15、IL-21 等の恒常性サイトカインが消費されずに多量に血中に残存する。これらのサイトカインが輸注 T 細胞に作用することで、輸注 T 細胞の増幅促進が起こる(33)。ワクチン療法においても、事前のリンパ球除去がエフェクター T 細胞の増幅促進や(34)、抗腫瘍効果が増強することが報告されている(35)。第二に、生体内の腫瘍反応性 T 細胞を抑制する制御性 T 細胞(36)が、前処置により除去されることが考えられる。

CD19-CAR 遺伝子治療における前処置の効果については、マウスによる検討が行われている。放射線照射(37)やシクロホスファミドによる前処置が、輸注リンパ球の維持の延長および抗腫瘍効果を増強し、シクロホスファミド投与時には内因性の制御性 T リンパ球が抑制され、IL-12 および IFN γ が誘導されることが報告されている(38)。MSKCC で行われた CLL に対する CD19-CAR 遺伝子治療の臨床研究では、シクロホスファミドによる前処置を行った症例と、行わなかった症例の比較が可能である。前処置を行った症例では行わなかった 3 例に比し、輸注 T リンパ球の維持と抗腫瘍効果が優れていた。

以上から、CAR 遺伝子導入 T リンパ球の輸注前に、予め前処置を行うことが重要であると考えられる。これまでに米国において行われた難治性 B 細胞性造血器腫瘍に対する CD19-CAR 遺伝子治療では、シクロホスファミドあるいはベンダムスチンを前処置として用いることの耐容性と安全性が確認されている(24, 26, 27)。

V. 5.2 シクロホスファミド投与量の設定根拠

米国における CAR 遺伝子導入 T リンパ球を用いた臨床試験でシクロホスファミド 1.5～3.0 g/m² の前処置が検討されたが、重篤な骨髄抑制は認められず、1.5～3.0 g/m² は前処置として有用な投与量であった(24)。

本臨床研究においても米国における臨床試験を参考にして、CAR 遺伝子導入 T リンパ球を輸注する 2 日前にシクロホスファミド 1.5 g/m² を投与する。ただし、年齢及び患者の状態により減量することを可能とする。

V. 5.3 ベンダムスチン投与量の設定根拠

本邦での非ホジキンリンパ腫に対するベンダムスチン単剤の第 II 相試験では 120 mg/m² の二日間投与が行われた。Grade 3 及び 4 の好中球減少症は 72%、白血球減少は 65%、血小板減少は 16%に認められたが、骨髄抑制は一過性であった。非血液学毒性として 88%に嘔気を認めたが、ほとんどは Grade 1 及び 2 であり、Grade 4 の感染症も認められず、120 mg/m² の安全性が示されている(31)。よって本臨床研究においても 120 mg/m² を CAR 遺伝子導入 T リンパ球輸注の 2 日前及び 3 日前の 2 日間投与する。ただし、年齢及び患者の状態により減量することを可能とする。

VI. 遺伝子の種類及びその導入方法

VI. 1 人に導入する遺伝子の構造と性質

本臨床研究において用いる遺伝子はヒト CD8 α リーダーペプチド、ヒト CD19 抗原特異的マウス単鎖抗体 (scFv)、ヒト CD28 の一部、及びヒト CD3 ζ 細胞内シグナル伝達領域のキメラ抗原受容体 (CAR) をコードしている (図 2)。ベクター DNA 等の構造と性質は、「VI. 5 ウイルスベクターを用いた遺伝子導入」の項で述べる。

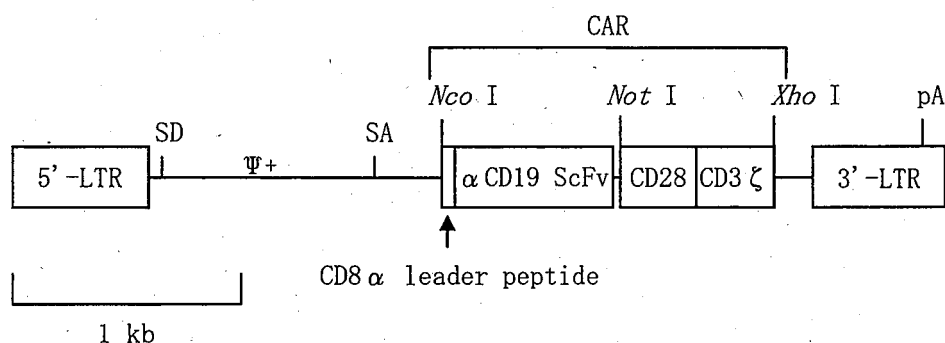


図 2 pSFG-1928z の遺伝子構造の概略

αCD19 scFv: ヒト CD19 特異的単鎖抗体

CD28: ヒト CD28 分子の細胞外領域の一部、膜貫通領域及び細胞質シグナル伝達領域

CD3 ζ : ヒト CD3 ζ 細胞内シグナル伝達領域

SD: スプライスドナー、SA: スプライスアクセプター

Ψ+: パッケージングシグナル

pA: polyA 付加シグナル

5'-LTR 及び 3'-LTR は MoMLV 由来である。

大腸菌プラスミドベクターに由来する部分は省略した。

VI. 1.1 人に導入する CD19 特異的 CAR 遺伝子の構造

CD19 特異的 CAR 遺伝子は、ヒト CD8 α リーダーペプチド、ヒト CD19 特異的マウス単鎖抗体 (scFv)、ヒト CD28 の一部、及びヒト CD3 ζ 細胞内シグナル伝達領域のキメラタンパク質をコードする cDNA で、485 アミノ酸からなるポリペプチドをコードする 1,455 塩基対と終止コドン TAA より成り立っている。ヒト CD28 の一部には、ヒト CD28 細胞外領域の一部、ヒト CD28 膜貫通領域、及びヒト CD28 細胞内シグナル伝達領域が含まれる。この遺伝子にコードされるタンパク質は、19 アミノ酸からなるヒト CD8 α リーダーペプチド、121 アミノ酸からなるヒト CD19 特異的マウス単鎖抗体 (scFv) の VH 領域、15 アミノ酸 (GGGSGGGSGGGGS) からなるリンカー領域 (以下、(Gly₄Ser)₃ リンカーと記載する)、108 アミノ酸からなるヒト CD19 特異的マウス単鎖抗体 (scFv) の VL 領域、39 アミノ酸からなるヒト CD28 細胞外領域、27 アミノ酸からなるヒト CD28 膜貫通領域、41 アミノ酸からなるヒト CD28 細胞内シグナル伝達領域、112 アミノ酸からなるヒト CD3 ζ 細胞内シグナル伝達領域という構造からなっている。図 3 に CD19 特異的 CAR 遺伝子の塩基配列とコードするアミノ酸配列を示す。

1	ATG GCT CTC CCA GTG ACT GCC CTA CTG CTT CCC CTA GCG CTT CTC	45	ヒト CD8 α リーダー ペプチド
1	M A L P V T A L L L P L A L L	15	
46	CTG CAT GCA GAG GTG AAG CTG CAG CAG TCT GGG GCT GAG CTG GTG	90	
16	L H A E V K L Q Q S G A E L V	30	
91	AGG CCT GGG TCC TCA GTG AAG ATT TCC TGC AAG GCT TCT GGC TAT	135	
31	R P G S S V K I S C K A S G Y	45	
136	GCA TTC AGT AGC TAC TGG ATG AAC TGG GTG AAG CAG AGG CCT GGA	180	
46	A F S S Y W M N W V K Q R P G	60	
181	CAG GGT CTT GAG TGG ATT GGA CAG ATT TAT CCT GGA GAT GGT GAT	225	
61	Q G L E W I G Q I Y P G D G D	75	ヒト CD19 特異 的マウス単鎖抗 体-VH 領域
226	ACT AAC TAC AAT GGA AAG TTC AAG GGT CAA GCC ACA CTG ACT GCA	270	
76	T N Y N G K F K G Q A T L T A	90	
271	GAC AAA TCC TCC AGC ACA GCC TAC ATG CAG CTC AGC GGC CTA ACA	315	
91	D K S S S T A Y M Q L S G L T	105	
316	TCT GAG GAC TCT GCG GTC TAT TTC TGT GCA AGA AAG ACC ATT AGT	360	
106	S E D S A V Y F C A R K T I S	120	
361	TCG GTA GTA GAT TTC TAC TTT GAC TAC TGG GGC CAA GGG ACC ACG	405	
121	S V V D F Y F D Y W G Q G T T	135	
406	GTC ACC GTC TCC TCA GGT GGA GGT GGA TCA GGT GGA GGT GGA TCT	450	リンカー領域
136	V T V S S G G G G S G G G G S	150	
451	GGT GGA GGT GGA TCT GAC ATT GAG CTC ACC CAG TCT CCA AAA TTC	495	
151	G G G G S D I E L T Q S P K F	165	
496	ATG TCC ACA TCA GTA GGA GAC AGG GTC AGC GTC ACC TGC AAG GCC	540	
166	M S T S V G D R V S V T C K A	180	
541	AGT CAG AAT GTG GGT ACT AAT GTA GCC TGG TAT CAA CAG AAA CCA	585	
181	S Q N V G T N V A W Y Q Q K P	195	ヒト CD19 特異 的マウス単鎖抗 体-VL 領域
586	GGA CAA TCT CCT AAA CCA CTG ATT TAC TCG GCA ACC TAC CGG AAC	630	
196	G Q S P K P L I Y S A T Y R N	210	
631	AGT GGA GTC CCT GAT CGC TTC ACA GGC AGT GGA TCT GGG ACA GAT	675	
211	S G V P D R F T G S G S G T D	225	
676	TTC ACT CTC ACC ATC ACT AAC GTG CAG TCT AAA GAC TTG GCA GAC	720	
226	F T L T I T N V Q S K D L A D	240	
721	TAT TTC TGT CAA CAA TAT AAC AGG TAT CCG TAC ACG TCC GGA GGG	765	
241	Y F C Q Q Y N R Y P Y T S G G	255	
766	GGG ACC AAG CTG GAG ATC AAA CGG GCG GCC GCA ATT GAA GTT ATG	810	
256	G T K L E I K R A A A I E V M	270	

811	TAT	CCT	CCT	CCT	TAC	CTA	GAC	AAT	GAG	AAG	AGC	AAT	GGA	ACC	ATT	855	ヒト CD28 細胞 外領域の一部		
271	Y	P	P	P	Y	L	D	N	E	K	S	N	G	T	I	285			
856	ATC	CAT	GTG	AAA	GGG	AAA	CAC	CTT	TGT	CCA	AGT	CCC	CTA	TTT	CCC	900			
286	I	H	V	K	G	K	H	L	C	P	S	P	L	F	P	300	ヒト CD28 膜貫 通領域		
901	GGA	CCT	TCT	AAG	CCC	TTT	TGG	GTG	CTG	GTG	GTG	GTT	GGT	GGA	GTC	945			
301	G	P	S	K	P	F	W	V	L	V	V	V	G	G	V	315			
946	CTG	GCT	TGC	TAT	AGC	TTG	CTA	GTA	ACA	GTG	GCC	TTT	ATT	ATT	TTC	990	ヒト CD28 細胞 内シグナル伝達 領域		
316	L	A	C	Y	S	L	L	V	T	V	A	F	I	I	F	330			
991	TGG	GTG	AGG	AGT	AAG	AGG	AGC	AGG	CTC	CTG	CAC	AGT	GAC	TAC	ATG	1035			
331	W	V	R	S	K	R	S	R	L	L	H	S	D	Y	M	345	ヒト CD3ζ細胞 内シグナル伝達 領域		
1036	AAC	ATG	ACT	CCC	CGC	CGC	CCC	GGG	CCC	ACC	CGC	AAG	CAT	TAC	CAG	1080			
346	N	M	T	P	R	R	P	G	P	T	R	K	H	Y	Q	360			
1081	CCC	TAT	GCC	CCA	CCA	CGC	GAC	TTC	GCA	GCC	TAT	CGC	TCC	AGA	GTG	1125	ヒト CD3ζ細胞 内シグナル伝達 領域		
361	P	Y	A	P	P	R	D	F	A	A	Y	R	S	R	V	375			
1126	AAG	TTC	AGC	AGG	AGC	GCA	GAC	GCC	CCC	GCG	TAC	CAG	CAG	GGC	CAG	1170			
376	K	F	S	R	S	A	D	A	P	A	Y	Q	Q	G	Q	390	ヒト CD3ζ細胞 内シグナル伝達 領域		
1171	AAC	CAG	CTC	TAT	AAC	GAG	CTC	AAT	CTA	GGA	CGA	AGA	GAG	GAG	TAC	1215			
391	N	Q	L	Y	N	E	L	N	L	G	R	R	E	E	Y	405			
1216	GAT	GTT	TTG	GAC	AAG	AGA	CGT	GGC	CGG	GAC	CCT	GAG	ATG	GGG	GGA	1260	ヒト CD3ζ細胞 内シグナル伝達 領域		
406	D	V	L	D	K	R	R	G	R	D	P	E	M	G	G	420			
1261	AAG	CCG	AGA	AGG	AAG	AAC	CCT	CAG	GAA	GGC	CTG	TAC	AAT	GAA	CTG	1305			
421	K	P	R	R	K	N	P	Q	E	G	L	Y	N	E	L	435	ヒト CD3ζ細胞 内シグナル伝達 領域		
1306	CAG	AAA	GAT	AAG	ATG	GCG	GAG	GCC	TAC	AGT	GAG	ATT	GGG	ATG	AAA	1350			
436	Q	K	D	K	M	A	E	A	Y	S	E	I	G	M	K	450			
1351	GGC	GAG	CGC	CGG	AGG	GGC	AAG	GGG	CAC	GAT	GGC	CTT	TAC	CAG	GGT	1395	ヒト CD3ζ細胞 内シグナル伝達 領域		
451	G	E	R	R	R	G	K	G	H	D	G	L	Y	Q	G	465			
1396	CTC	AGT	ACA	GCC	ACC	AAG	GAC	ACC	TAC	GAC	GCC	CTT	CAC	ATG	CAG	1440			
466	L	S	T	A	T	K	D	T	Y	D	A	L	H	M	Q	480	ヒト CD3ζ細胞 内シグナル伝達 領域		
1441	GCC	CTG	CCC	CCT	CGC	TAA	1458												
481	A	L	P	P	R	*	485												

図3 CD19 特異的 CAR 遺伝子の塩基配列とコードするアミノ酸配列

VI. 1.2 人に導入する遺伝子の性質

本臨床研究において使用するレトロウイルスベクターPG13/1928z clone3 Retroviral vector (以下、「SFG-1928z」と記載する。)で遺伝子導入を行うと、SFG-1928z のゲノム (図 2 参照) は逆転写を経て標的細胞の染色体に組み込まれ、プロウイルスとなる。プロウイルスは図 2 に示すウイルスプラスミドベクターpSFG-1928z の組換えウイルスゲノム部分と同様の構造を有する。

本臨床研究において導入する CD19 特異的 CAR 遺伝子は、ヒト CD8 α リーダーペプチド、ヒト CD19 特異的マウス単鎖抗体 (scFv)、ヒト CD28 の一部、及びヒト CD3 ζ 細胞内シグナル伝達領域のキメラタンパク質をコードする cDNA である。ヒト CD19 特異的マウス単鎖抗体は、ヒト CD19 抗原特異的な抗体を産生するマウスハイブリドーマ SJ25C1 由来で、抗体の可変領域の H 鎖と L 鎖をクローニングし、(Gly₄Ser)₃ リンカーで連結したものである。

レトロウイルスベクター-SFG-1928z により遺伝子導入された細胞において、CD19 特異的 CAR 遺伝子は LTR プロモーターによって転写される (図 2 参照)。レトロウイルスベクター SFG-1928z のゲノム RNA の 5' -LTR は R 領域と U5 領域、3' -LTR は U3 領域と R 領域からなり、U5 領域と R 領域、及び U3 領域は MoMLV 由来である。

VI. 1.3 導入遺伝子からの生成物の構造及びその生物活性

CD19 特異的 CAR 遺伝子からの生成物は、ヒト CD8 α リーダーペプチド、ヒト CD19 特異的マウス単鎖抗体 (scFv)、ヒト CD28 の一部、及びヒト CD3 ζ 細胞内シグナル伝達領域から成るキメラタンパク質分子である。

scFv はヒト CD19 抗原特異的な抗体を産生するマウスハイブリドーマ SJ25C1 由来で、抗体の可変領域の H 鎖と L 鎖を (Gly₄Ser)₃ リンカーで連結したもので、CD19 特異的 CAR は CD19 抗原分子を認識する。抗原認識の際の結合力の強弱や補助レセプターからのシグナルの有無により、T リンパ球の活性化、アナジーの誘導、分化、生存と細胞死等を司る。

CD19 特異的 CAR 遺伝子に用いられている CD28 はヒト CD28 分子の第 114 アミノ酸から C 末端 220 アミノ酸までを含み、細胞外領域の一部 (第 114 アミノ酸～第 153 アミノ酸)、膜貫通領域 (第 154 アミノ酸～第 179 アミノ酸) 及び細胞質シグナル伝達領域 (第 180 アミノ酸～第 220 アミノ酸) である。

CD19 特異的 CAR 遺伝子に搭載されているヒト CD3 ζ 細胞内シグナル伝達領域は CD3 ζ isoform2 分子の細胞内シグナル伝達領域で、第 52 アミノ酸から C 末端 163 アミノ酸までを含む。

VI. 2 本計画で使用するその他の組換え DNA の構造と性質

本計画では使用しない。

VI. 3 標的細胞とした細胞の由来及び生物学的特徴並びに当該細胞を標的細胞とした理由

本臨床研究における標的細胞は、難治性の CD19 陽性 B 細胞性非ホジキンリンパ腫患者自身の末梢血由来の T リンパ球である。その生物学的特徴として、重要なのは①がん細胞を認識して破壊する能力を有すること、②自己の T リンパ球は移植片対宿主病 (GVHD) を引き起こさないことである。T リンパ球は CD19 特異的 CAR 遺伝子導入により、腫瘍細胞表面上の CD19 抗原の特異的認識能を獲得し、腫瘍特異的免疫反応、更には腫瘍縮小効果をもたらすことが期待できる。

レトロウイルスベクターにより増殖中の細胞に効率よく遺伝子導入することが可能である。本臨床研究では、抗 CD3 抗体及びレトロネクチンによる活性化と T リンパ球増殖因子である IL-2 の存在下で増殖する患者由来 T リンパ球が標的細胞として使用される。

VI. 4 遺伝子導入方法の概略及び当該導入法を選択した理由

VI. 4. 1 遺伝子導入方法の概略

自己末梢血リンパ球 (peripheral blood lymphocyte : PBL) に CAR 遺伝子を導入するにあたっては、遺伝子導入効率を向上させる目的で、組換えフィブロネクチンフラグメント (レトロネクチン CH-296 ; タカラバイオ) を使用する。レトロネクチンをコートした遺伝子導入用バッグに、レトロウイルスベクター-SFG-1928z を添加してレトロネクチンと結合させた後に、T リンパ球浮遊液と培養する。

VI. 4. 2 当該導入法を選択した理由

レトロウイルスベクターは細胞内に入った後にウイルスゲノムが逆転写を経て染色体に組み込まれ、細胞ゲノムの複製に伴って複製されるために、導入遺伝子が長期にわたり維持される。また、レトロウイルスベクターによる末梢血 T リンパ球への遺伝子導入効率が高いことが知られている。さらに、MoMLV ベースのレトロウイルスベクターはヒト血液細胞への遺伝子導入に頻繁に利用されているが (39, 40, 41, 42, 43)、これまでに T リンパ球を標的とした遺伝子治療においては重篤な副作用は報告されていない (39, 40, 41, 42)。以上の理由により、自己 PBL へ CAR 遺伝子を導入する方法として、レトロウイルスベクターを選択した。

VI. 4. 3 レトロウイルスベクターの選択根拠

他の遺伝子導入ベクターとして、アデノウイルスベクターやウイルスを利用しない Naked DNA ベクターがある。これらのベクターは導入遺伝子が染色体に組み込まれて長期にわたり安定に発現する効率が低いことが知られている。例えば、電気穿孔法により Naked DNA が

細胞染色体に組み込まれる確率は $1 \sim 1.5 \times 10^{-4}$ (44, 45) 程度であり、アデノウイルスベクターがウイルス自身の DNA を標的細胞のゲノムに組み込む確率は $10^{-5} \sim 10^{-3}$ 程度であると報告されている (46)。一方、レトロウイルスベクターによる遺伝子導入では、遺伝子は全て染色体に組み込まれる。導入効率が 50% 以上であるとの報告もあり (47)、他のベクターに比べて効率よく遺伝子を染色体に組み込むことが可能である。

また、遺伝子治療におけるレトロウイルスベクターゲノムの染色体への組み込みにより引き起こされたがん化の問題以降、造血幹細胞を遺伝子導入の標的とする場合には、レンチウイルスベクターを用いることが多くなってきている。本臨床研究でレトロウイルスベクターを用いた理由としては、(ア) 造血幹細胞と異なり、成熟 T リンパ球を遺伝子導入の標的細胞とした遺伝子治療では、遺伝子導入細胞のがん化の報告がないこと、(イ) 本臨床研究の対象疾患が遺伝性疾患と異なり、致死的な腫瘍性疾患であることから、ある程度のリスクは許容されること、(ウ) レンチウイルスベクターに比べて製造が容易であり対象患者数が多い場合は製造コスト面で有利であること、(エ) 日本での使用実績も多いことが挙げられる。

レトロウイルスベクター SFG-1928z を選択したもうひとつの根拠は安全性である。SFG-1928z DNA は、野生型レトロウイルス由来の gag、pol、env をコードする遺伝子の全てを欠如しており、この DNA のみを通常の細胞に導入した場合、ウイルス粒子を産生することはできない。また、ウイルスベクター製造に用いるパッケージング細胞株 PG13 は、すでに世界的に広く使用されており、American Type Culture Collection (ATCC) から購入可能である (CRL-10686)。本パッケージング細胞株においては、gag、pol をコードする DNA 断片と env をコードする DNA 断片とが染色体上の異なった位置に導入されているため、RCR が出現する可能性は極めて低いと考えられる (48)。

レトロウイルスベクター SFG-1928z のもととなる Gibbon ape のシュードタイプレトロウイルスベクターはヒト T リンパ球への遺伝子導入効率に優れており (49)、また、PG13 パッケージング細胞 (第 3 世代) を用いて当該レトロウイルスベクターを作製する過程で RCR が出現したという報告はないため、安全性も高いと考えられる。当該レトロウイルスベクターはこれまでに多くの臨床研究で使用実績があり、外部協力者である米国メモリアル・スローン・ケタリング癌センターにおいても安全性が確認されているため (24, 25)、本臨床研究でもこれを選択した。

VI. 5 ウイルスベクターを用いた遺伝子導入

VI. 5. 1 野生型ウイルスの生物学的特徴及び人に対する影響

レトロウイルスベクター SFG-1928z のもとになる野生型ウイルスは MoMLV であり、以下のようなウイルス学的特徴を持つ (50, 51)。

形態的には直径約 100 nm の球形の C 型粒子に分類され、ウイルスコアをエンベロープが

困っている。ウイルスゲノムは分子量約 3×10^6 の 1 本鎖 RNA で、相同の RNA 分子が 2 分子、ウイルスコア中に存在する。

レトロウイルス科は、オルソレトロウイルス (orthoretrovirus) 及びスプーマレトロウイルス (spumaretrovirus) の 2 つの亜科に分類される。MoMLV はオルソレトロウイルス亜科のガンマレトロウイルス属に属する、マウスを宿主とする白血病ウイルスの一種である。

マウス白血病ウイルスは AKR や C58 系マウスの自然発症白血病の病原ウイルスであるが、MoMLV は実験室内での継代により病原性の高いウイルス株として単離されたものである。オルソレトロウイルスは、マウスの肉腫、白血病、癌の原因となり得る。また、野生マウスの後肢麻痺を招く神経向性ウイルスも知られている。肉腫ウイルスや急性白血病ウイルスはウイルスと細胞の間に遺伝子組換えにより形成されるが、MoMLV は細胞由来の遺伝子を持たないウイルスであり、AKR や C58 系マウスでのみ白血病を誘発する。病理学的には胸腺リンパ腫の所見を示し、脾臓への浸潤が顕著に認められる。AKR マウスの自然発症白血病に対しては抗 AKR MLV 血清が効果を示し、発症を遅延させることが報告されているが、MoMLV に対する血清の効果については不明である。ヒトへの感染の報告はない。

VI. 5. 2 ウイルスベクターの作製方法

VI. 5. 2. 1 ウイルスプラスミドベクター pSFG-1928z の構築

本臨床研究で用いられるレトロウイルスベクター SFG-1928z は、レトロウイルスベクター産生細胞 SFG-1928z clone3 から産生される。この産生細胞は、レトロウイルスベクター SFG-1928z のプロウイルス配列をパッケージング細胞 PG13 の染色体に挿入することにより作製された。

レトロウイルスベクター SFG-1928z はベースとなるウイルスプラスミドベクター pSFG の *Nco* I サイトに CD19 抗体 CAR 遺伝子を組み込んだものである。大腸菌プラスミドベクターに由来する部分を省略した遺伝子構造の概略を図 4 に示す。

レトロウイルスベクター SFG-1928z は MFG ベクターに残存する MoMLV の gag 配列が発現しないように塩基置換を行った SFG ベクターをベースにしている。CAR 遺伝子の転写は、5' LTR の U3 領域にあるエンハンサー及びプロモーター活性の制御下にある。ポリ A 付加シグナルは 3' LTR の R 領域に存在する。加えて、ベクターにはウイルス粒子化に必要な Ψ +パッケージングシグナル配列及びウイルス mRNA の生成に必要なレトロウイルススプライスドナー (SD) 配列及びスプライスアクセプター (SA) 配列を保持する。CAR 遺伝子の開始コドンは SFG ベクターの *Nco* I サイトに挿入されている。pSFG の大腸菌プラスミドベクターに由来する部分を省略した遺伝子概略を図 4 に示す。

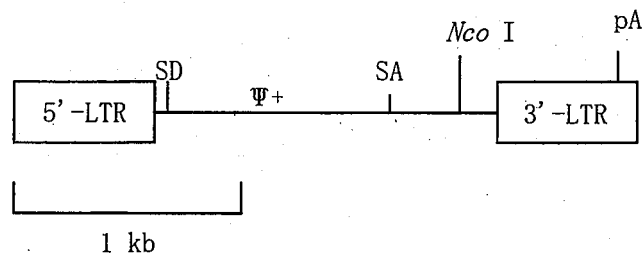


図4 pSFGの遺伝子概略

SD: スプライドナー、SA: スプライスアクセプター

Ψ+: パッケージングシグナル

pA: polyA 付加シグナル

5'-LTR 及び 3'-LTR は MoMLV 由来である。

大腸菌プラスミドベクターに由来する部分は省略した。

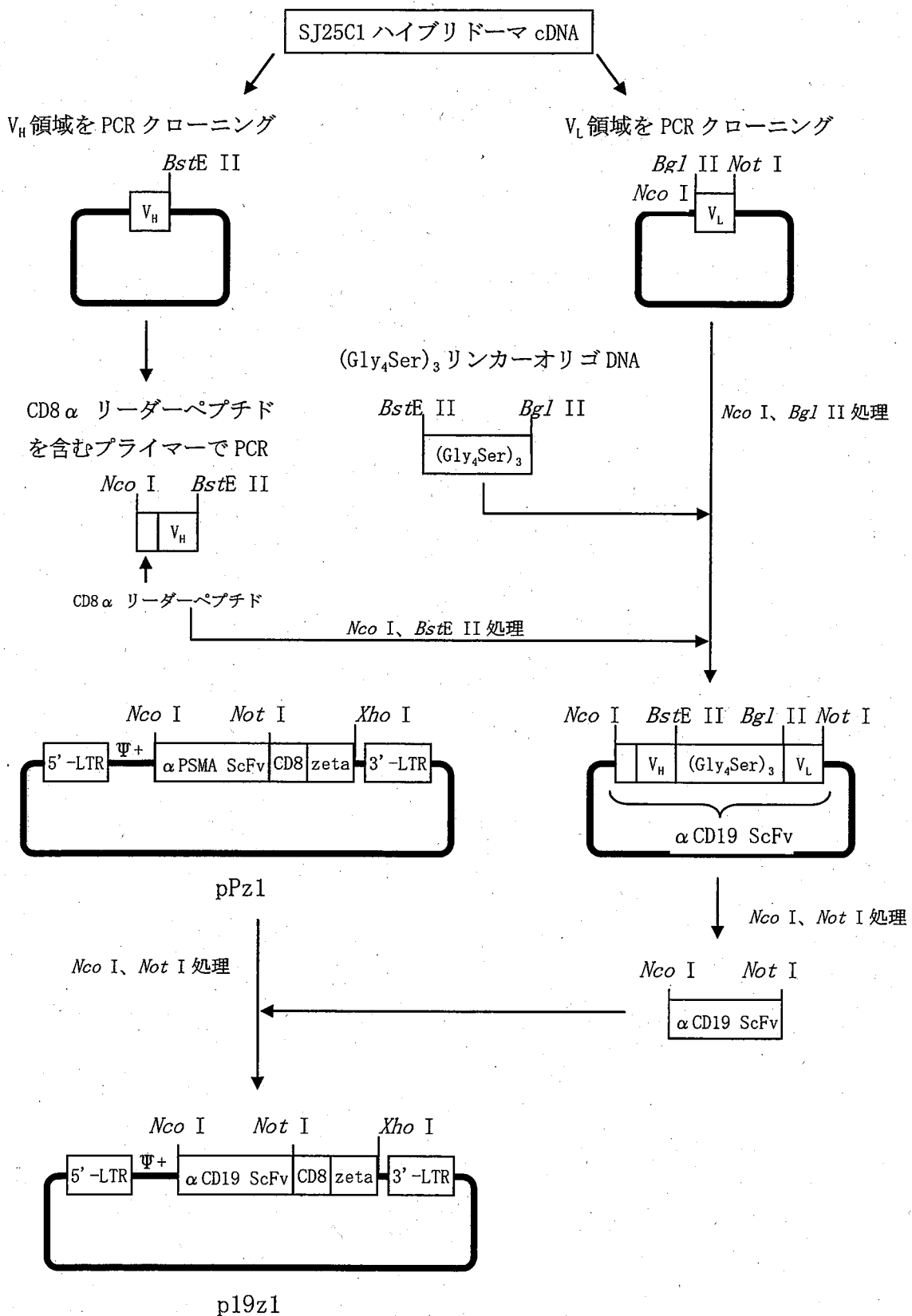
レトロウイルスベクターSFG-1928z 産生細胞株の構築に使用したウイルスプラスミドベクターpSFG-1928z は、MSKCC により標準的な遺伝子工学的手法を用いて構築された。以下に構築手順を述べる (図5)。

抗ヒト CD19 抗体を産生するマウスハイブリドーマ SJ25C1 の cDNA を鋳型に、VH 領域と VL 領域が PCR クローニングされた。その際、VH 領域のリバースプライマーには制限酵素 *Bst*E II サイトを、VL 領域のフォワードプライマーには制限酵素 *Bgl*I II サイトを、VL 領域のリバースプライマーには制限酵素 *Not*I サイトを付加した物が使用された。さらに、VH 領域がクローニングされたプラスミドを鋳型に、CD8 α リーダーペプチドを含むフォワードプライマー (5' 端に制限酵素 *Nco*I サイトを付加) と制限酵素 *Bst*E II サイトを付加したリバースプライマーで PCR が行われ、"CD8 α リーダーペプチド~VH 領域" フラグメントが得られた。また、(Gly₄Ser)₃ リンカーオリゴ DNA (5' 側に制限酵素 *Bst*E II サイトを、3' 側に制限酵素 *Bgl*I II サイトを付加) が合成された。VL 領域がクローニングされたプラスミドの *Nco*I サイトと *Bgl*I II サイトに、これら"CD8 α リーダーペプチド~VH 領域" フラグメントと (Gly₄Ser)₃ リンカーがクローニングされ、CD8 α リーダーペプチド~ヒト CD19 特異的単鎖抗体 (α CD19 scFv) が得られた。得られたプラスミドから制限酵素 *Nco*I と *Not*I で断片が切り出され、pPz1 の *Nco*I-*Not*I サイトにクローニングされ、p19z1 が得られた。

次に、ヒト cDNA を鋳型に、ヒト CD3 ζ 細胞内シグナル伝達領域が PCR にて取得された。その際、リバースプライマーに制限酵素 *Xho*I サイトを付加したものが使用された。また、ヒト CD28 分子の細胞外領域の一部から膜貫通領域及び細胞質シグナル伝達領域を含む領域が PCR にて取得され、この際、フォワードプライマーには制限酵素 *Not*I サイト、リバースプライマーには CD3 ζ 細胞内シグナル伝達領域の PCR に使用したフォワードプライマー配列が付加された。得られたヒト CD28 と CD3 ζ フラグメントを混合してオーバーラップ PCR が行われ、ヒト CD28 分子の細胞外領域の一部から膜貫通領域及び細胞質シグナル伝達領域

と CD3 と 細胞内シグナル伝達領域が結合されたフラグメントが pPz1 の *Not* I-*Xho* I サイトにクローニングされ、p28z が得られた。

最後に、p28z を制限酵素 *Not* I と *Xho* I で処理して切り出されたフラグメントが p19z1 の *Not* I-*Xho* I サイトにクローニングされ、pSFG-1928z を得られた。



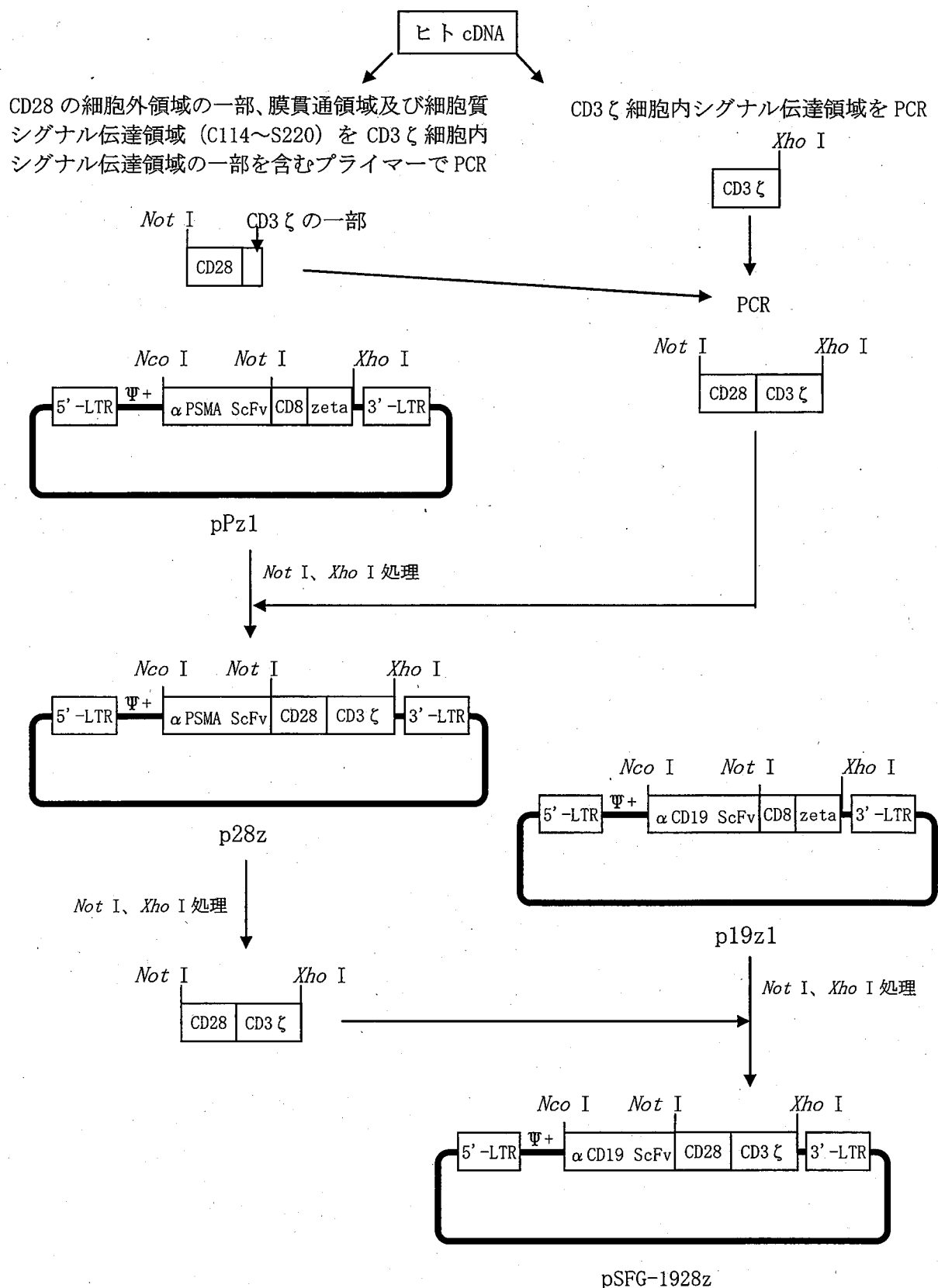


図 5 pSFG-1928z の構築手順

VI. 5. 2. 2 パッケージング細胞株の構築

レトロウイルスベクター-SFG-1928z は、ウイルス粒子形成に必要な遺伝子である gag、pol、env を欠いているため、この DNA のみを通常の細胞に導入してもウイルス粒子が産生されることはない。したがって、ウイルス粒子の産生にはパッケージング細胞が必要となる。本臨床研究において使用するパッケージング細胞株は、PG13 (ATCC CRL-10686) (48) で、パッケージングに必要なウイルス遺伝子を 2 種類のプラスミド (1 つは gag と pol、もう 1 つは env 遺伝子) で別々に導入した細胞株である。古い世代のパッケージング細胞株と比較して、このアプローチは RCR 出現のリスクは極めて小さいことが知られている。

以下に、文献 (48, 52) をもとにパッケージング細胞株 PG13 の構築手順を示す。

- 1) MoMLV の gag 遺伝子、pol 遺伝子及び選択マーカーの gpt 遺伝子配列を持ち、かつ Ψ パッケージングシグナル及び 3' -LTR を欠失しており、truncated 5' -LTR プロモーターを持つプラスミド pLGPS、及び単純ヘルペスウイルス 1 型-チミジンキナーゼ遺伝子がクローニングされた pBR322 プラスミドを、マウス線維芽細胞株 NIH 3T3 TK に共にトランスフェクションし、HAT 培地 (Hypoxanthine、Amethopterin、Thymidine) で遺伝子導入細胞を選択した。
- 2) 選択した細胞株に、Gibbon ape leukemia virus (GaLV) 由来の env 遺伝子を持ち、かつ Ψ パッケージングシグナルと 3' -LTR を持たないプラスミド pMOV-GaLV.Seato env 及び変異型 Dihydrofolate reductase 遺伝子を持つプラスミド pFR400 を共にトランスフェクションし、Methotrexate で env 遺伝子導入細胞を選択した。使用した全てのプラスミドは、 Ψ パッケージングシグナルと 3' -LTR を持たないため、この方法により、ウイルス由来の gag、pol、env は発現するが RCR を産生しないパッケージング細胞株 PG13 を樹立した。

VI. 5. 2. 3 ウイルス産生細胞株の構築

パッケージング細胞株 Phoenix-eco に pSFG-1928z をトランスフェクションし、一過性に培養上清が回収された。この培養上清には、効率よくパッケージング細胞 PG13 に感染するレトロウイルスベクター-Ecotropic Phoenix-eco/1928z が含まれる。回収した上清をパッケージング細胞株 PG13 に感染させることにより、安定な SFG-1928z clone3 レトロウイルスベクター産生細胞が構築され、ヒトを含む多くの哺乳類に感染可能なレトロウイルスベクターが産生された。レトロウイルスベクター-ecotropic Phoenix-eco/1928z が感染した PG13 細胞を限界希釈培養によりサブクローニングを行った。得られたクローンについてウイルスタイター測定 (宿主細胞に HeLa 細胞を用いた遺伝子導入による) を行い、抗 1928z CAR 抗体を用いた FCM 解析によりもっとも力価の高いクローン PG13/1928z clone34 を得た。SFG-1928z clone34 はさらに限界希釈培養によるサブクローニングを行い PG13/1928z

clone3 を選択した。これを MCB（マスターセルバンク）用シードセルとして品質試験（マイコプラズマ試験、無菌試験及び RCR 試験）を実施した。

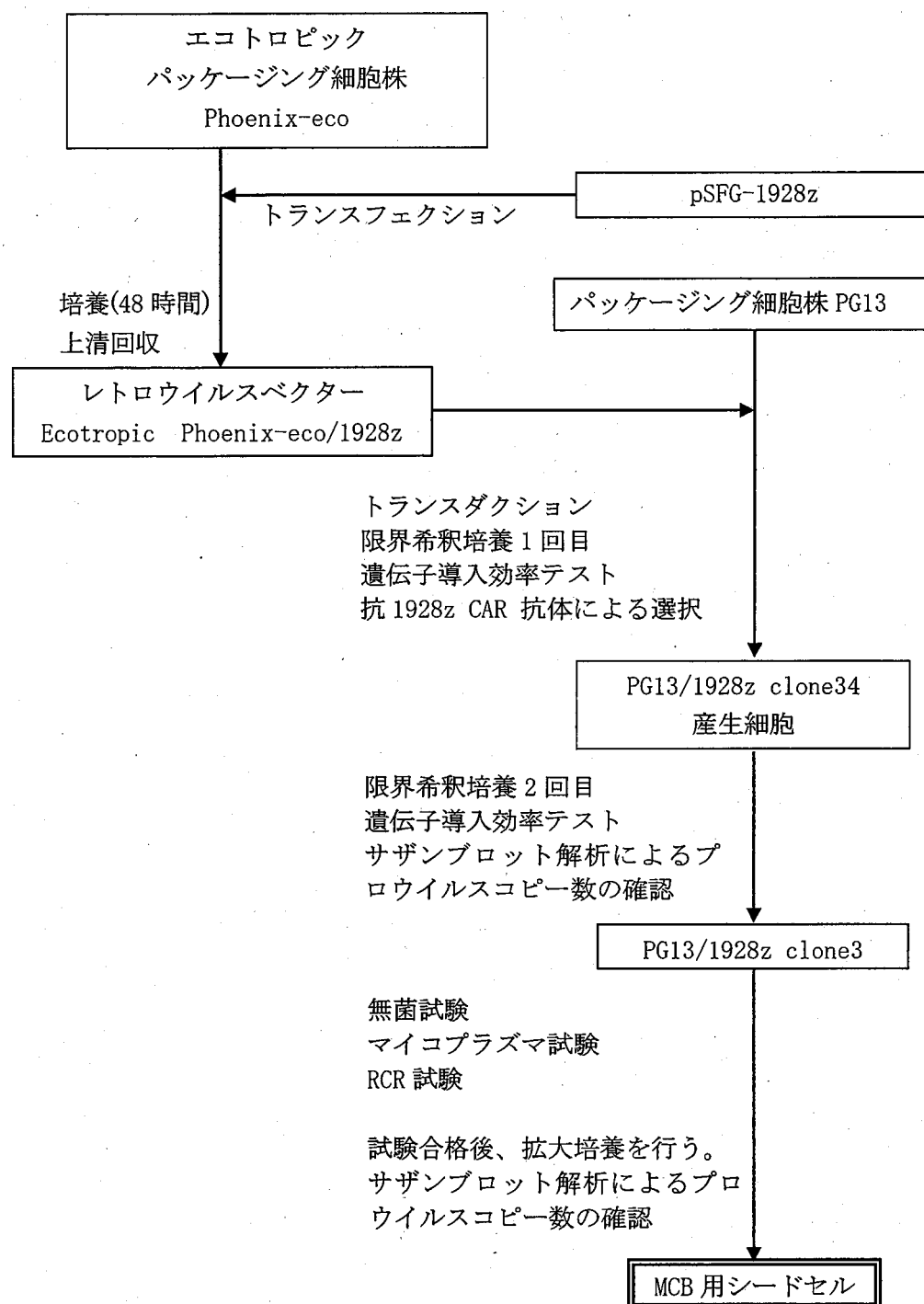


図 6 レトロウイルスベクター-SFG-1928z 産生細胞
及び MCB 用シードセル構築手順

VI. 5.3 ウイルスベクターの構造

レトロウイルスベクター-SFG-1928z の全塩基配列を参考資料 1「レトロウイルスベクター PG13/1928z clone3 (SFG-1928z) の全塩基配列」に示す。レトロウイルスベクター-SFG-1928z はパッケージングシグナルとして Ψ^+ を有し、gag、pol、env をコードする配列を持たない。

VI. 5.4 ウイルスベクターの生物学的特徴

パッケージング細胞株 PG13 は、GaLV のエンベロープタンパク質を持つレトロウイルスベクターを製造するためのパッケージング細胞株で、この細胞により産生されるレトロウイルスベクターはラット、サル、ヒト等を含む多くの種の哺乳類細胞に遺伝子を導入することが可能である。レトロウイルスは増殖中の細胞にのみ遺伝子を導入することが可能であり、組換えヒト IL-2 と抗 CD3 抗体による標的 T リンパ球の刺激で遺伝子導入効率の向上が期待できる。また、レトロウイルスベクター-SFG-1928z は自律性増殖能を欠いているので、遺伝子導入した末梢血 T リンパ球内でウイルス粒子を形成することはない。したがって、RCR が出現しない限り周囲の細胞に感染することはない。

「VI. 4.3 レトロウイルスベクターの選択根拠」の項で述べたように、レトロウイルスベクターを用いた場合、他のベクターに比べてより効率よく遺伝子を導入し、染色体に組み込むことが可能である。

VII. 安全性についての評価（ウイルスベクター、遺伝子産物、細胞、シクロホスファミド及びベンダムスチン）

VII.1 遺伝子導入方法の安全性

VII.1.1 遺伝子導入に用いるウイルスベクターの純度

本臨床研究に用いるレトロウイルスベクターSFG-1928z は、パッケージング細胞 PG13 を用いて樹立したウイルス産生細胞 PG13/1928z clone3 から産生される。レトロウイルスベクターSFG-1928z を安定かつ安全に供給するために、ウイルス産生細胞にはセルバンクシステムを使用する。マスターセルバンク（PG13/1928z clone3 MCB）は Memorial Sloan-Kettering Cancer Center (MSKCC) の Gene Transfer and Somatic Cell Engineering Facility (GTF) の管理された製造エリアにて GMP 遵守下で製造され、品質管理試験が実施されたものを輸入した。ワーキングセルバンク（WCB）は、MSKCC より入手した MCB を出発原材料として、タカラバイオの管理された製造エリアにて GMP 遵守下で製造する。組成と品質の確認された培地及び試薬を使用し、特にウシ胎児血清はウシ海綿状脳症非発生国産のものを使用する。

VII.1.1.1 MCB の作製

MCB の作製フローを図 7 に示す。ウイルス産生細胞 PG13/1928z clone3 の初代細胞ストックより、MCB 用シードセルが作製された。MSKCC の GTF の GMP 製造施設の管理区域にて 1 バイアルの MCB 用シードセルより拡大培養され、最終的に 114 バイアルのウイルス産生細胞 MCB が GMP 遵守下で作製された。MCB の作製においては組成と品質が確認された培地及び試薬が使用された。

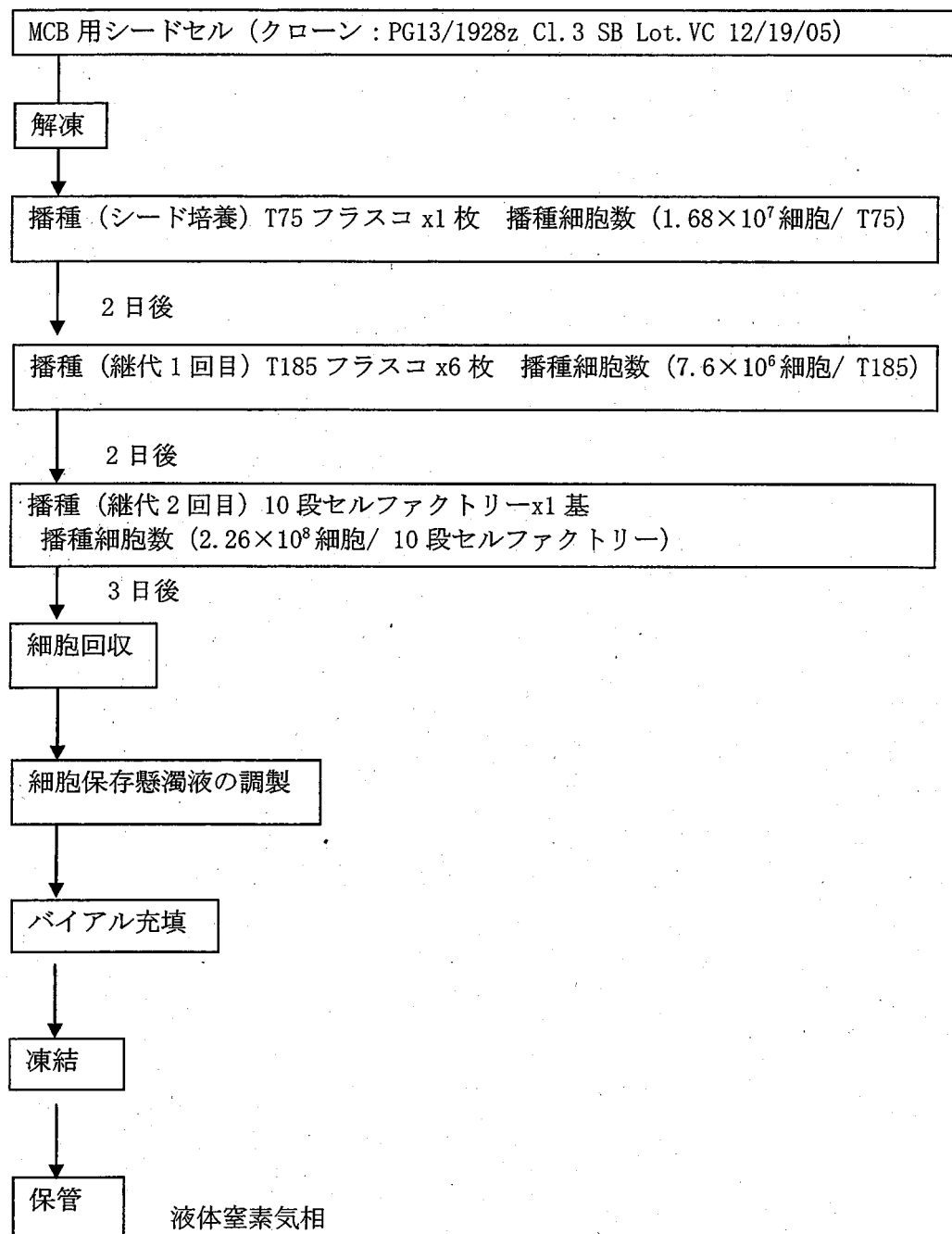


図 7 MCB 作製フローチャート

作製された MCB に関しては、以下の品質試験が行われた（参考資料 2「マスターセルバンクの品質試験項目と規格」参照）。

1. サザンブロット（完全性試験/組込み数試験）
2. GaLV envelope 遺伝子確認試験（Q-PCR）
3. アイソザイム分析による細胞の由来動物種同定
4. ウイルスベクター産生能試験（Viral Titer）（HeLa、T リンパ球）
5. 細胞生存率試験
6. 無菌試験（米国薬局方）
7. マイコプラズマ否定試験（米国 FDA PTC 準拠）
8. マウス抗体産生試験（MAP 試験）
9. *in vitro* ウイルス試験
10. *in vivo* ウイルス試験
11. Ecotropic RCR 試験（細胞）（Marker-Rescue アッセイ）
12. RCR 試験（上清）（293 細胞で増幅後、PG-4 S+L-アッセイ）
13. RCR 試験（細胞）（293 細胞で増幅後、PG-4 S+L-アッセイ）
14. 電子顕微鏡観察試験

VII. 1. 1. 2 WCB の作製法

WCB の作製フローを図 8 に示す。タカラバイオの GMP 製造施設の管理区域にて 1 バイアルのマスターセルバンク（PG13/1928z clone3 MCB）より拡大培養され、最終的に 160 バイアルのウイルス産生細胞 WCB が GMP 遵守下で作製された。WCB の作製においては組成と品質が確認された培地及び試薬が使用された。なお、作製に使用する培地及び試薬等を含めた詳細な製造工程、培養条件及び保存条件等を参考資料 3「ワーキングセルバンクの作製方法」に記載する。

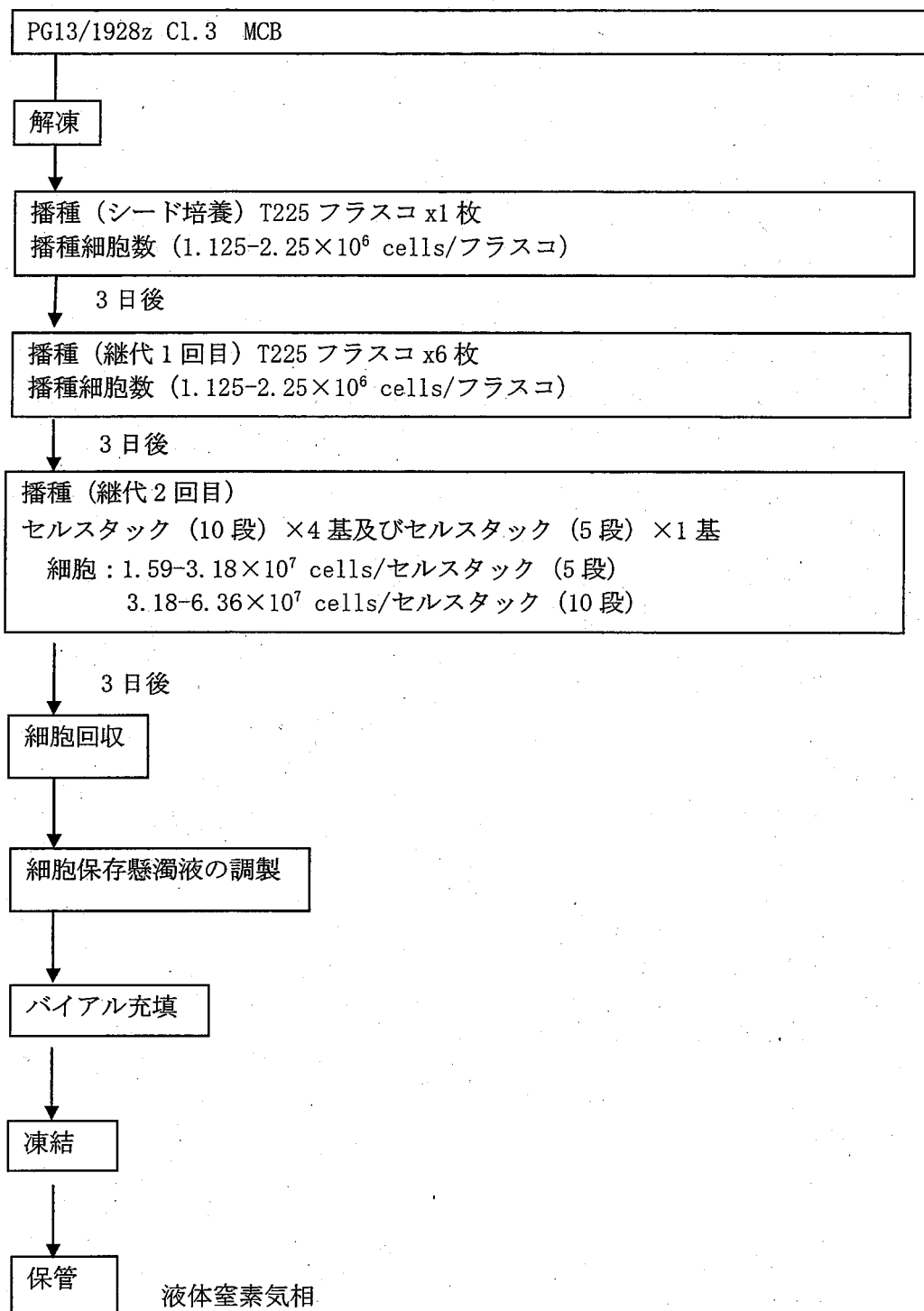


図8 WCB 作製フローチャート

作製された WCB に関しては、以下の品質試験が行われた（参考資料 5「ワーキングセルバンク試験成績書」参照）。なお、品質試験方法の概要は、参考資料 4「ワーキングセルバンクの品質試験および結果」に示す。

1. マイコプラズマ否定試験（培養法、DNA 染色法）
2. 無菌試験（欧州薬局方）
3. アイソザイム分析による細胞の由来動物種同定
4. 細胞生存率試験（トリパンブルー）

VII. 1. 1. 3 レトロウイルスベクター SFG-1928z の製造方法

レトロウイルスベクター SFG-1928z の製造フローを図 9 に示す。レトロウイルスベクター SFG-1928z の製造は、1 バイアルの WCB を用いて行う。WCB の細胞を解凍後、培養を開始し、拡大培養により 5 個の大量静置培養用容器まで増殖させる。大量静置培養用容器において培養細胞が接着面いっぱいに広がった状態に達した後、培地を交換し生産培養を経て培養上清液を回収する。回収した培養上清は、保管、精製することなく引き続きレトロウイルスベクター製造工程に用いる。0.22 μm の濾過フィルターによる無菌濾過を経て培養上清液を回収した後、ウイルスベクターとして凍結保存バッグに小分け分注を行い、使用時まで凍結保存する。

製造に使用する培地及び試薬等を含めた詳細な製造工程、培養条件及び保存条件等を参考資料 6「レトロウイルスベクター SFG-1928 z の製造方法」に記載する。製造は全てタカラバイオの管理された製造エリア（参考資料 7「製造施設（位置・構造設備）」）にて GMP 遵守下で行われる。また、タカラバイオの製造施設から自治医科大学附属病院内臨床用細胞プロセッシング室へのウイルスベクターの輸送は、凍結・ドライアイス詰で、輸送中の温度変化をモニター・記録して行う。

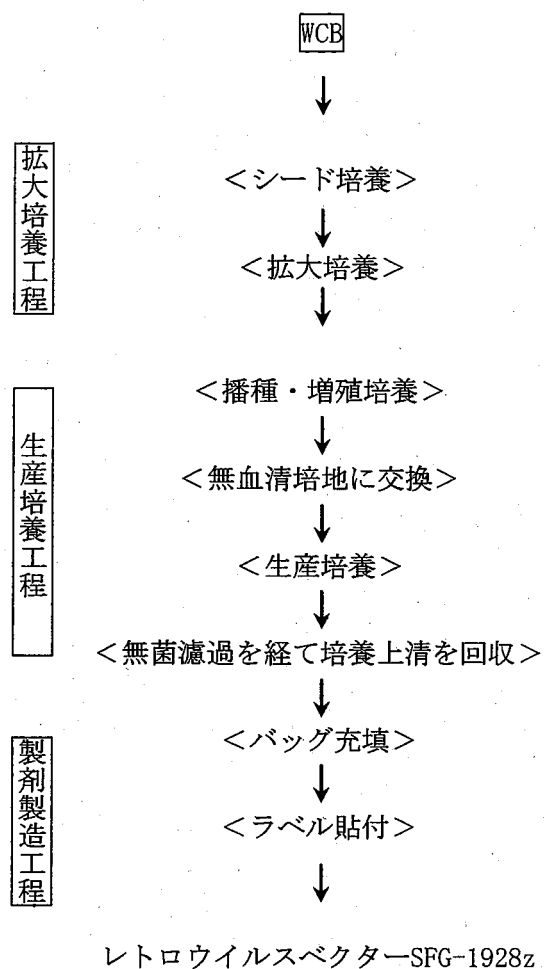


図9 レトロウイルスベクターSFG-1928zの製造フロー

レトロウイルスベクターSFG-1928z に関しては、以下の品質試験を行う（1 ロットの結果を参考資料8「レトロウイルスベクターSFG-1928z 試験成績書」に示す）。なお、品質試験方法の概略は、参考資料9「レトロウイルスベクターの品質試験」に示す。

Virus supernatant

1. マイコプラズマ否定試験（欧州薬局方）
2. *in vitro* ウイルス試験
3. RCR 試験（293 細胞で増幅後、PG-4 S+L-アッセイ）
4. 無菌試験（欧州薬局方）
5. エンドトキシン試験（日本薬局方）
6. 導入遺伝子配列解析
7. ウイルス RNA コピー数（real-time PCR 法）
8. 遺伝子導入効率試験（Sup-T1 感染/FCM）

End of production cells

9. RCR 試験 (293 細胞で増幅、PG-4 S+L-アッセイ)

VII. 1.2 患者に投与する物質の純度及びその安全性

患者に投与されるのはレトロウイルスベクターSFG-1928z により (T 細胞受容体 (TCR) のシグナル伝達領域である CD3 ζ 、T リンパ球活性化の副刺激因子 CD28 ドメイン、及び CD19 抗原を特異的に認識する抗体のリガンド結合ドメインを結合させた) キメラ抗原受容体遺伝子を導入した患者由来 T リンパ球であり、その安全性については「VII. 3.4 被験者に投与する細胞の安全性」に記載する。なお、この細胞は、RPMI1640 培地とヒト血清アルブミン (HSA) 含細胞凍害保護液 (CP-1) と 1:1 の割合で混合された溶液の懸濁液として投与される (「VII. 3.1 遺伝子導入 T リンパ球の調製方法」参照)。HSA は承認された医薬品製剤を使用する。RPMI1640 及び CP-1 は研究用試薬である。本邦では 15 年間にわたり末梢血幹細胞採取・保存・解凍投与の臨床例において、CP-1 と RPMI1640 による凍結保存法が用いられ、人に投与されている。また、内外の骨髄移植の実地臨床では、ヘパリン剤希釈液として RPMI1640 を採取骨髄に添加後に投与する方法が広く行われてきたが、何れの使用においても CP-1 又は RPMI1640 に起因する重篤な有害事象の報告はみられない。

VII. 1.3 増殖性ウイルス出現の可能性

VII. 1.3.1 レトロウイルスベクターの安全性

本臨床研究で使用するレトロウイルスベクターSFG-1928z は MoMLV 由来の gag、pol、env をコードする遺伝子を完全に欠如している。また、一過性にエコトロピックウイルスベクターSFG-1928z を産生させた Phoenix-eco 細胞、及びパッケージング細胞株 PG13 において、gag、pol をコードする DNA 断片と env をコードする DNA 断片とが異なったプラスミド上あるいは染色体上の異なった位置に挿入されているので、RCR の出現する可能性は極めて低いと考えられる。レトロウイルスベクターSFG-1928z の試験項目に RCR 試験が含まれており、RCR 陰性のレトロウイルスベクターのみを臨床使用する。

VII. 1.3.2 パッケージング細胞の安全性

パッケージング細胞は一般に、ウイルス粒子を構成するタンパク質の遺伝子を有さない増殖能欠損型レトロウイルスベクターを産生するために使用される。組換えレトロウイルスベクターを作製するために、パッケージングプラスミド (ウイルスタンパク質をコードする gag、pol、env 遺伝子を含む) をあらかじめ組み込んだパッケージング細胞が作られている。この細胞に遺伝子治療用レトロウイルスベクターのゲノム配列を含む DNA を導入したプロデューサー細胞を樹立することにより、高力価のレトロウイルスベクターを大量に調製することが可能になった (53)。図 10 に本臨床研究におけるレトロウイルスベクター産生に関する概念図を示す。

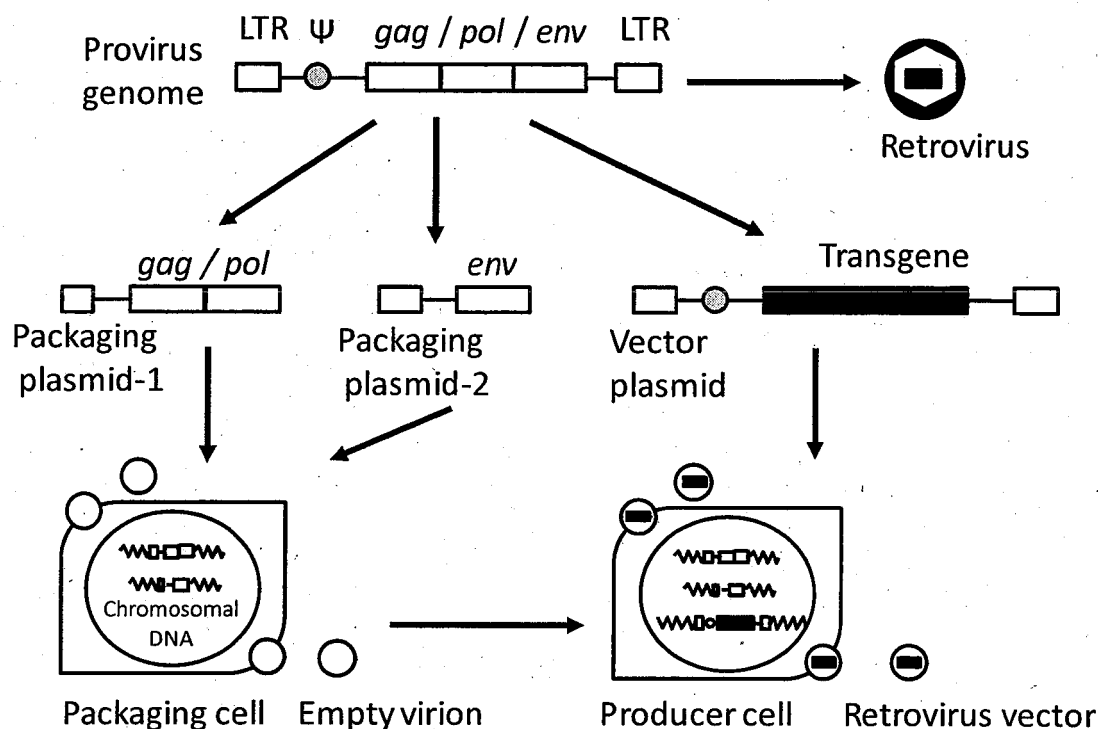


図 10 レトロウイルスベクターの産生

ウイルスプラスミドベクターSFG-1928z は、ウイルス粒子形成に必要な遺伝子である gag、pol、env を欠いているため、このプラスミドを通常の細胞に導入しただけではウイルス粒子を産生することはない。さらに、レトロウイルスベクターSFG-1928z を作製する際に使用されるパッケージング細胞 PG13 は、gag、pol をコードする DNA 断片と env をコードする DNA 断片を異なるプラスミドに導入された第 3 世代のパッケージング細胞株なので、予期せぬ遺伝子組換えにより増殖可能な野生型レトロウイルスを産生する可能性は、第 1 世代及び第 2 世代パッケージング細胞株と比較して極めて低い。したがって、ウイルスプラスミドベクターpSFG-1928z とパッケージング細胞株PG13 の組み合わせにより作製されたウイルス産生細胞株を使用したレトロウイルスベクターSFG-1928z を製造する過程において、RCR が出現する可能性は極めて低いと考えられる。

表 3 に各世代のパッケージング細胞の特徴を、図 11 に各世代のパッケージング細胞と対応するレトロウイルスベクターの構造を記載する(53)。

表3 各世代のパッケージング細胞の特徴

	パッケージングプラスミドの構造	RCR 出現の機構
第1世代パッケージング細胞 (パッケージング細胞に使われているパッケージングプラスミドとレトロウイルスベクターの構造 : 図 11A)	パッケージングシグナルだけを除いたもの。効率よくベクターを作るために、ベクタープラスミド側に gag 遺伝子の一部を残しておく必要がある。	パッケージング配列とベクター配列に共通する gag 部分で相同組換えが起こると RCR が出現する。
第2世代パッケージング細胞 (パッケージング細胞に使われているパッケージングプラスミドとレトロウイルスベクターの構造 : 図 11B)	パッケージングシグナルを除去し、さらに 3' -LTR を polyA 付加シグナルで置換したもの。	RCR が出現するためには、gag 部分と 3' -LTR 部分の 2 ヶ所で同時に相同組換えがおこなう必要があり、その可能性は非常に低いと考えられている。
第3世代パッケージング細胞 (パッケージング細胞に使われているパッケージングプラスミドとレトロウイルスベクターの構造 : 図 11C)	パッケージングシグナルを除去して 3' -LTR を polyA 付加シグナルで置換し、さらにウイルスタンパク質のコーディング領域を gag-pol と env の 2 種類に分割して発現させるようにしたもの。	RCR が出現するためには、gag 部分と pol 部分と 3' -LTR 部分の 3 回の相同組換えが同時に起こる必要があり、その可能性は極めて低いと考えられている。

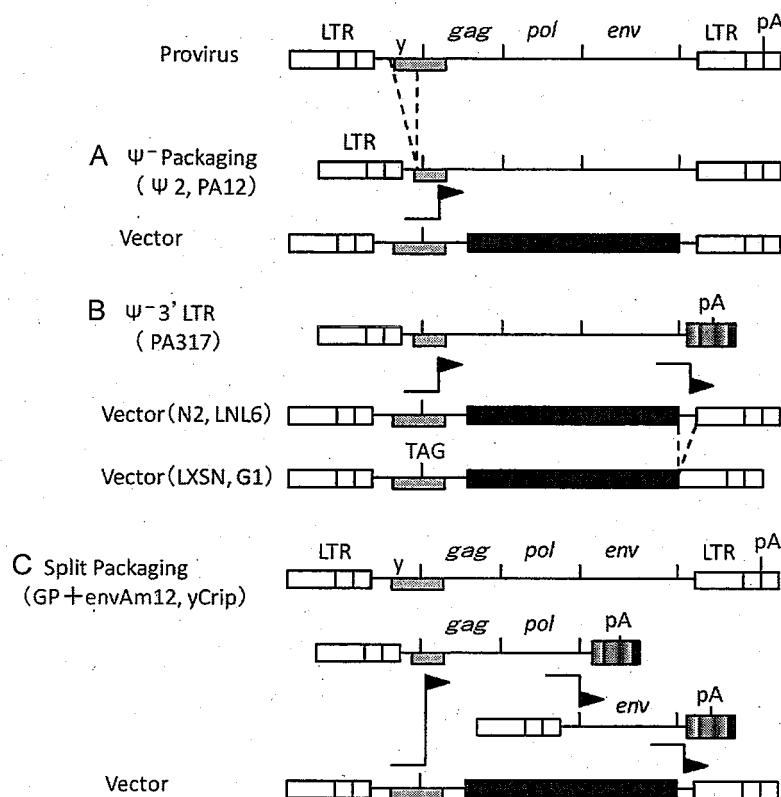


図 11 パッケージング細胞に使われているパッケージングプラスミドとレトロウイルスベクターの構造 (引用文献 51 より転載)

続いて図 12 に、パッケージング細胞株 PG13 を作製するために用いた 2 種のプラスミド、pLGPS と pMOV-GaLV Seato env の構造を示す。

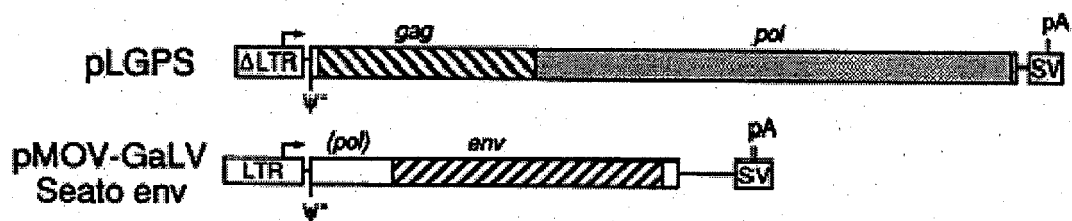


図 12 パッケージング細胞構築用プラスミド pLGPS 及び pMOV-GaLV Seato env の構造 (引用文献 51 より転載)

pLGPS と pMOV-GaLV Seato env は、どちらも Ψ パッケージングシグナルと 3'-LTR を欠失しているため、PG13 細胞が内在性のパッケージングシグナルと 3'-LTR を持つことはなく、gag-pol 遺伝子や env 遺伝子はウイルス粒子内にパッケージングされて細胞外に出ることはない。

以上のことから、パッケージング細胞株 PG13 を用いて作製したレトロウイルスベクターが RCR を含む可能性は極めて低く安全であると考えられる。

1996 年、Chong ら (54) は PG13 と同じ第 3 世代のアンフォトロピック系パッケージング細胞株 GP+envAm12 を用いて産生したレトロウイルスベクター中に RCR を検出したことを初めて報告した。RCR 出現の頻度を測定することは困難であるが、彼らは 4 年間にわたり、GP+envAm12 細胞を用いてウイルス産生細胞株を樹立し、60 以上のウイルスについて RCR チェックを試みたが検出されなかったため、極めて低い頻度と考察している (45)。なお、PG13 を用いてレトロウイルスベクターを作製する過程で RCR が出現したという報告はない。

VII. 1.4 遺伝子導入に用いるウイルスベクターの細胞傷害性

レトロウイルスベクターによる遺伝子導入過程において、細胞を傷害することはないと考えられている。一方、染色体上の遺伝子挿入位置によっては細胞の生存・増殖に必須な遺伝子の発現が抑制され、細胞が死に至ることがありうる。しかしながら、このような細胞の割合は少ないと考えられる。なお、レトロウイルスベクターを用いた遺伝子治療において細胞傷害性は報告されていない。

VII. 1.5 体内の標的細胞以外の細胞への遺伝子導入の可能性

本臨床研究では、標的細胞としての患者 T リンパ球に *ex vivo* (生体外) でキメラ抗原受容体 (CAR) 遺伝子を導入し、拡大培養や細胞洗浄等の工程を経た後に患者に投与する。使用したレトロウイルスベクター SFG-1928z はこの過程でほぼ完全に除去される。レトロウイルスは比較的不安定なウイルスであるため、細胞培養中に大部分は不活化されると考えられる。また、マウス細胞由来のパッケージング細胞株により生産されたレトロウイルスベクターはヒト血清中の補体により速やかに不活化される (55) ため、たとえレトロウイルスベクター粒子が患者体内に侵入しても、それが原因で患者体内において遺伝子導入が起こる可能性は低いと考えられる。

また、レトロウイルスベクター SFG-1928z は増殖能を欠いているため、遺伝子導入した患者 T リンパ球内でウイルス粒子を形成することはない、RCR が出現しない限り標的細胞以外の細胞に遺伝子導入が起きることはない。

VII. 1.6 患者以外の人に遺伝子が導入される可能性

本臨床研究の細胞調製は、当該操作に十分な知識と経験を有する研究者のみが行う。一連の細胞調製操作時には、マスク、手袋、実験用衣服を着用し、レトロウイルスベクター

の皮膚等への付着を防止する。このような配慮により、細胞調製作業者がウイルスベクターに暴露される可能性は極めて低いと考えられる。

遺伝子導入操作は P2 レベルの臨床用細胞プロセッシング室において、可能な作業は閉鎖系で行い、開放系での作業は臨床用細胞プロセッシング室内に設置されたクラス II 安全キャビネット内で行う。また、レトロウイルスベクターを含む廃液の全てはオートクレーブ後に廃棄される。以上のようにしてレトロウイルスベクター-SFG-1928z の環境中への拡散及び環境中における予期しない遺伝子導入を防止する。

レトロウイルスベクター-SFG-1928z は増殖能欠損型なので、患者を介して患者以外の人に遺伝子導入が起こる可能性は、大量の RCR が患者体内に存在しない限り非常に低い。

VII. 1.7 染色体内へ遺伝子が組み込まれる場合の問題点

レトロウイルスベクターは染色体上のランダムな位置に組み込まれるので、その挿入位置によっては細胞の生存や増殖等の機能に影響を及ぼすことがある。細胞の生存や増殖に重要な遺伝子の近傍に挿入され、その遺伝子の発現が抑制された場合には細胞は死に至る可能性がある。ただし、このような細胞は遺伝子導入細胞のごく一部であると考えられるので、患者への影響は極めて小さい。一方、がん遺伝子の近傍に挿入され、レトロウイルスベクターの LTR が有するエンハンサー・プロモーター活性によりその遺伝子の発現量が増加した場合、及びがん抑制遺伝子の近傍に挿入されてその遺伝子の発現量が減少した場合には、その細胞が異常増殖する可能性がある。

VII. 1.8 がん原性の有無

レトロウイルスベクターゲノムの染色体への組み込みが細胞の増殖にとって正に働く場合には、上述のとおり異常増殖によるがん化の問題が出現する。実際に、CD34 陽性細胞を遺伝子導入の標的細胞とした X 連鎖重症複合免疫不全症 (X-SCID) のフランスでの遺伝子治療において、9 例中 4 例で白血病発症が報告されている (56, 57, 58)。この白血病発症については、①免疫系が成熟していない幼少の患者が対象であること、②遺伝子導入の標的細胞が分化・増殖能が旺盛な造血幹細胞であること、③導入された治療遺伝子 (IL-2 受容体 γc 鎖) が細胞増殖に直接関与する機能を有すること等、この遺伝子治療に特殊な事情が重なることにより遺伝子導入細胞のがん化が発生したことが示唆されている (59)。なお、同様に X-SCID に対し、レトロウイルスベクターにより IL-2 受容体 γc 鎖遺伝子を CD34 陽性細胞に導入するイギリスでの遺伝子治療においても、10 例中 1 例に白血病が発症したことが 2007 年 12 月に報告された (60, 61)。また、CD34 陽性細胞を遺伝子導入の標的細胞とした慢性肉芽腫症 (CGD) での遺伝子治療においては、15 例中 3 例の骨髄異形成症候群 (MDS) の発症が報告されており (62, 63, 64, 65)、ウィスコット・アルドリッチ症候群 (WAS) での遺伝子治療においても 18 例中 4 例の白血病の発症が報告されている (65, 66)。

一方、CD34 陽性細胞を遺伝子導入の標的細胞としたアデノシンデアミナーゼ (ADA) 欠損

症のイタリアでの遺伝子治療においては、10 例中 8 例で酵素補充療法の必要がなくなり、遺伝子治療の有効性が確認されるとともに、長期フォローアップにおいてがん化が見られなかったと報告されている(67)。さらに最近の報告では、イタリアでは 18 症例中 15 例、イギリスでは 8 症例中 4 例、アメリカでは 14 症例中 10 例で酵素補充療法の必要がなくなり、白血病の発症の報告はないとされている(65)。また、白血病発症の報告のあった X-SCID を対象とした臨床試験においても約半数の症例で免疫グロブリン補充療法の必要がなくなり、白血病を発症した 5 例のうち 4 例においても、現在まで部分的な免疫回復を維持して長期間寛解の状態を保っていると報告されている(65)。その他、CGD 及び WAS を対象とした臨床試験においても、それぞれ臨床効果が認められたことが報告されている(65)。このように造血幹細胞を含む CD34 陽性細胞を遺伝子導入の標的細胞とした場合には、がん化のリスクは否定できないが、一方で顕著な臨床効果も認められており、特に ADA 欠損症を対象とした遺伝子治療においてはレトロウイルスベクターゲノムのもつリスクを鑑みても有効な治療法として選択しうると考えられている。

CD34 陽性細胞を遺伝子導入の標的細胞とした場合のレトロウイルスベクターによるがん化の頻度は対象疾患、導入遺伝子、ベクターの種類等により大きく異なっているが、本臨床研究で使用する分化した末梢血リンパ球に対するレトロウイルスベクターによる遺伝子導入ではこれまで白血病化の報告はない(68, 69, 70)。

本臨床研究では、遺伝子導入の標的細胞は分化を終えた成熟 T リンパ球であり、そのがん化のリスクは造血幹細胞に比べて小さいとの見解が、日米 EU 医薬品規制調和国際会議 (ICH) の遺伝子治療専門家グループから出されている(71)。実際に、過去に実施された T リンパ球を遺伝子導入の標的細胞とした遺伝子治療において、遺伝子導入細胞のがん化は報告されていない(72)。また、イタリアのグループは、レトロウイルスベクターで遺伝子導入した T リンパ球を投与した 46 例のフォローアップ (最長 9 年間) において、遺伝子導入 T リンパ球のクローン増殖は認められなかったことを報告している(73)。

本臨床研究では、遺伝子導入細胞の輸注後のがん関連遺伝子等の特定の部位にレトロウイルスベクターゲノムが組み込まれたクローンが優位に増殖してがん化を引き起こすリスクは小さいと考えられるが完全には否定できないため、遺伝子導入細胞の被験者体内におけるクローン増殖を LAM-PCR によってモニタリングする。優位に増殖したクローンが確認された場合、LAM-PCR 産物の塩基配列を確認してゲノム上の挿入部位を同定し、その挿入部位ががん化に関与する可能性を検討する。

VII. 2 遺伝子産物の安全性

CAR には、細胞内領域が CD3 ζ 鎖のみの第 1 世代、CD3 ζ と T リンパ球活性化の副刺激因子 1 種類を結合させた第 2 世代、CD3 ζ と T リンパ球活性化の副刺激因子 2 種類を結合させた第 3 世代があり、造血器腫瘍以外に、複数のグループが Melanoma、colorectal carcinoma、

Sarcoma を対象とした CAR 遺伝子治療を実施している。

本臨床研究において、遺伝子導入の標的細胞は、PBMC を OKT3 により刺激増殖させた T リンパ球である。導入遺伝子である CAR は、TCR のシグナル伝達領域である CD3ζ、T リンパ球活性化の副刺激因子 CD28 ドメイン、及び表面抗原 CD19 を特異的に認識する抗体のリガンド結合部分を結合させた第 2 世代の CAR 遺伝子であり、導入遺伝子が発現することにより標的細胞は、下記の性質を獲得する。

1. T リンパ球によるがん細胞の認識は、通常 T リンパ球表面にある TCR が HLA とがん抗原ペプチドの複合体に結合することで行われるが、CAR の場合この HLA 分子による抗原提示を必要とせず、がん細胞表面にある CD19 のみでがん細胞を認識する。
2. CAR は CD28 ドメインを有することから、表面抗原 CD19 の認識のみで、CD28 分子を介したシグナル伝達が起こり、標的細胞の増殖が活性化されることが予想される。
3. CD19 は ALL や CLL の他に正常 B 細胞にも発現していることから、CAR 遺伝子導入 T リンパ球を投与することにより、正常 B 細胞消失が起きる可能性がある。

本臨床研究で用いるレトロウイルスベクター-SFG-1928z の MCB は、米国 MSKCC より提供されたものである。MSKCC では、非臨床及び臨床でこのレトロウイルスベクター-SFG-1928z が使用されており、遺伝子産物の安全性は確認されている。

Ⅶ.3 細胞の安全性

Ⅶ.3.1 遺伝子導入 T リンパ球の調製方法

以下に示す細胞培養にかかわる全ての操作は自治医科大学附属病院内に設置された清浄度クラス 10,000 かつレトロウイルスベクターの封じ込め対応 (P2 レベル) の臨床用細胞プロセッシング室内で行われる。細胞プロセッシング室は、事前に決められた者のみが入室できるシステムを構築し、入退室、清掃、環境モニタリングなどの細胞プロセッシング室に関する管理は、事前に規定した手順書に従い実施され、その内容は記録書に残される。また、細胞調製操作時には、品質が確認された試薬、培地類を使用し、クラスⅡ安全キャビネット内で、又は可能な工程については閉鎖系で細胞を取り扱うことにより、他の患者由来の細胞や外来微生物の混入を防止する。また、他のプロジェクト等とのサンプルの取り違いやコンタミネーションを防止するため、他の患者検体を用いる別の業務は平行して行わない。CAR 遺伝子導入 T リンパ球は、施錠管理された専用のディープフリーザーに保管する。

レトロウイルスベクター-SFG-1928z を用いた CAR 遺伝子導入 T リンパ球調製工程について、細胞培養における操作概要を表 4 に、操作手順の概略図を図 13 にそれぞれ示す。

表 4 細胞培養における操作概要

日	操作内容
第 0 日	リンパ球刺激工程
第 3 日	ウイルス結合バッグ調製工程(1 回目)
第 4 日	遺伝子導入工程 (1 回目)、 ウイルス結合バッグ調製工程(2 回目)
第 5 日	遺伝子導入工程 (2 回目)
第 7 日	拡大培養工程
第 10 日	最終産物調製工程

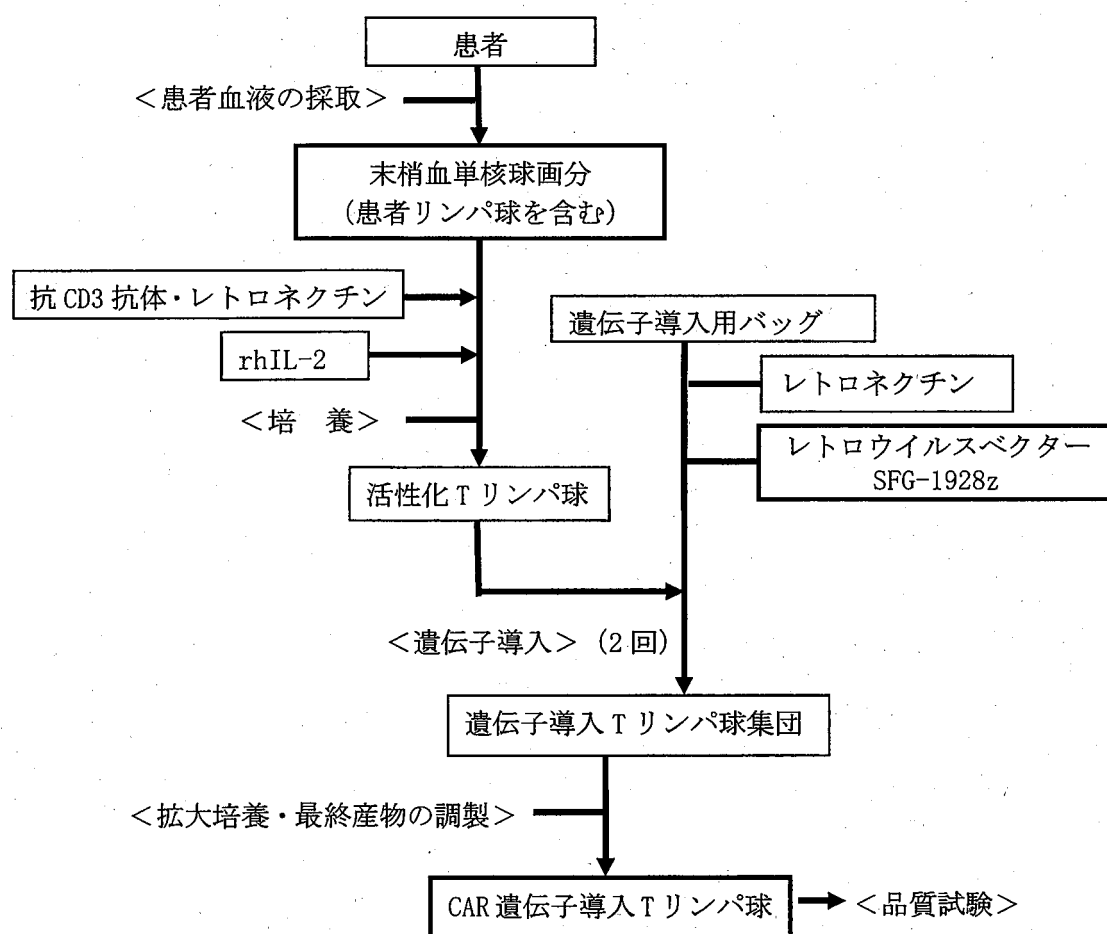


図 13 遺伝子導入 T リンパ球調製工程の概略

レトロウイルスベクターSFG-1928zを用いたCAR遺伝子導入Tリンパ球調製は、以下に示す標準操作法に従い調製される。

第0日：患者投与に必要な CAR 遺伝子導入 T リンパ球数 (3×10^5 個/kg、 1×10^6 個/kg、 3×10^6 個/kg、又は 1×10^7 個/kg) に応じた患者リンパ球を採取し、遺伝子導入 T リンパ球調製に使用する。

患者からの末梢血採取(採取量最大 600 mL まで)は、自治医科大学附属病院において実施する。末梢血採取は、①一般的な採血法または、②返血を伴う採血法(74)にて行う。①及び②の採血に当たり、「日本自己血輸血学会 貯血式自己血輸血実施基準(2011)」を参考とし、原則として被験者の Hb 値が 11.0 g/dL 以上または Ht 値 33%以上を原則とする。採取量の上限は、400 mL あるいは循環血液量 ($70 \text{ mL} \times \text{体重 kg}$) の 10%以内 (採取量最大 600 mL) の何れかとする。体重 50 kg 以下の患者は、 $400 \text{ mL} \times \text{患者体重}/50\text{kg}$ を原則とする。

① 一般的な採血法について

無菌の採血管または血液バッグに採血する。これらを遠心し、血漿、buffy coat、赤血球に分離する。赤血球は破棄し、buffy coat を Ficoll-Paque に重層し、MNC を分離する。血漿は細胞調製を行うために用いる。

② 返血を伴う採血法について

自己血貯血用血液バッグに採血する。バッグを遠心し、血漿、buffy coat、赤血球に分離する。赤血球は、直ちに患者に返血する。buffy coat を Ficoll-Paque に重層し、MNC を分離する。血漿は細胞調製を行うために用いる。目標とする採血量によっては、午前 1 回と午後 1 回の計 2 回行う。

①と②の採血後の一連の細胞処理は、自治医科大学の臨床用細胞プロセッシング室内で行う。専用のラベルを発行し、採血した血液バッグに貼付する。ラベルには、患者氏名、生年月日、カルテ ID 番号を記載する。採血バッグは臨床用細胞プロセッシング室の保冷库内の専用ボックスで患者ごとに保管する。

上記いずれかの方法で得られた PBMC は 1% HSA 含生理食塩水及び GT-T Retro III 培地による洗浄を行った後、生細胞数及び細胞生存率を測定する。リンパ球の刺激には抗 CD3 抗体及びレトロネクチン CH-296 を結合させたリンパ球刺激用バッグを使用する。すなわち、抗 CD3 抗体 ($5 \mu\text{g/mL}$)、レトロネクチン CH-296 ($25 \mu\text{g/mL}$) となるように ACD-A 液に希釈した溶液 25 mL をリンパ球刺激用バッグに添加し、 CO_2 インキュベーター中で 5~10 時間静置して準備する。培養用培地 [基本培地 GT-T-Retro III、600 IU/mL rhIL-2、0.6% 非働化患者血漿、 $60 \mu\text{g/mL}$ 硫酸ストレプトマイシン及び $2.5 \mu\text{g/mL}$ アムホテリシン B 含有。] に患者リンパ球を 2×10^5 個/mL となるように、抗 CD3 抗体及び CH-296 を結合させたリンパ球刺激用バッグに加えて、 37°C 、5% CO_2 インキュベーター内にて培養を開始する。

遺伝子導入用バッグにレトロネクチン CH-296 ($20 \mu\text{g/mL}$) を添加して薬用保冷库

にて保存する。

基本培地 GT-T-Retro III の組成及びレトロネクチン CH-296 の試験成績書を参考資料 10-1 及び 10-2 に示す。

第 3 日：SFG-1928z 結合遺伝子導入用バッグ（1 回目遺伝子導入工程用）は以下のように用意する。レトロネクチン CH-296 を添加した遺伝子導入用バッグを 100 mL の ACD-A 液で洗浄した後に、生理食塩水で希釈したレトロウイルスベクター SFG-1928z を添加（180 mL/バッグ）する。4℃で 12～18 時間振盪（50 rpm）する。

第 4 日：第 0 日から培養した活性化 T リンパ球の生細胞数から 0.4×10^6 個/mL 以下になるように培養用培地で希釈し、レトロウイルスベクター SFG-1928z 結合遺伝子導入用バッグあたり 160 mL の細胞懸濁液を加える。1 時間 CO₂ インキュベーターで培養後にバッグを上下反転させ第 5 日まで培養する。SFG-1928z 結合遺伝子導入用バッグ（1 回目遺伝子導入工程用）は以下のように用意する。12～18 時間振盪した SFG-1928z 添加バッグから上清を除き、遺伝子導入用バッグを 75 mL の 1.5% HSA/生理食塩水液で 2 回洗浄し使用する。SFG-1928z 結合遺伝子導入用バッグ（2 回目遺伝子導入工程用）を第 3 日目と同じ方法で作成する。

第 5 日：第 4 日から培養した活性化 T リンパ球を第 4 日と同じ方法で準備した SFG-1928z 結合遺伝子導入用バッグに移し、4 時間以上 CO₂ インキュベーターで培養する。培養後細胞回収し、遠心操作にて上清を除き、遺伝子導入用バッグ 1 バッグあたり 800 mL の培地に懸濁し、第 7 日まで 5% CO₂ インキュベーター中で培養する。

第 7 日：第 4 日から培養しているガス透過性培養用バッグに、等量の培養用培地（自己血漿 0～0.6% 含）を加えて、37℃、5% CO₂ インキュベーター中にて培養をする。

第 10 日：細胞処理装置を用いて細胞の洗浄と濃縮を行い、HSA 含 RPMI1640 に懸濁する。輸注レベルに応じて、 $0.6 \sim 2.0 \times 10^7$ 細胞/mL となるように細胞濃度を調整する。その後、HSA 含 CP-1 と 1:1 の割合で混合し細胞凍結保存液とする。HSA 含 CP-1 と混合した CAR 遺伝子導入 T リンパ球（DMSO 終濃度 5%）は、投与に必要な陽性細胞数に相当する液量を凍結保存専用バッグに充填した後に -70℃ 以下の条件下にて使用時まで専用の容器に保管し、フリーザーで凍結保存する。

RPMI1640 及び CP-1 の組成を参考資料 10-3 及び 10-4 に示す。

投与日：凍結保存バッグにて保存された CAR 遺伝子導入 T リンパ球を投与直前に 37℃ 温浴にて急速に解凍し、インフュージョンポンプを用いて静脈内に投与する。Day28 以降に予定されている数の CAR 遺伝子導入 T リンパ球の投与を行っても、なお細胞が残った場合には、残余検体として取り扱う。残余検体の取り扱いは、実施計画書 94 ページ「IX. 5. 4. 2 検体等の取り扱い」に準じる。

VII. 3. 2 培養細胞の純度

遺伝子導入される細胞は、抗 CD3 抗体及びレトロネクチン CH-296 により活性化され増殖

期にある患者自己由来のTリンパ球である。健常人末梢血リンパ球を用いた細胞調製では、遺伝子導入後の細胞中の遺伝子導入Tリンパ球の比率は15%程度であり（参考資料11「CAR遺伝子導入Tリンパ球試験成績書」参照）、Tリンパ球が95%以上を占めていた（参考資料12「CAR遺伝子導入Tリンパ球構成」参照）。患者に投与される細胞中にも、遺伝子導入されていないTリンパ球やその他の細胞が混在すると予測される。腫瘍細胞が対象となる患者血液中に少量存在する可能性があるが、抗CD3抗体及びレトロネクチンCH-296による刺激にはTリンパ球上のCD3分子が必要であり、採取時を超える腫瘍細胞が投与される可能性は低いと考えられる。腫瘍細胞以外の細胞は、もともと患者末梢血中に存在したものであり問題ないと考えられる。

培養細胞間の相互汚染及び取違えを防ぐために、臨床用細胞プロセッシング室内で同時に複数バッチの細胞調製は行わない。また、全ての操作は臨床用細胞プロセッシング室内で行う。さらに、細胞やレトロウイルスベクター等が作業エリア内の空気に直接暴露される操作は清浄度クラス100、クラスIIの安全キャビネット内で行い、感染性微生物の混入を防ぐとともにレトロウイルスベクターSFG-1928zの環境中への拡散を防止する。

また、細胞培養の際に使用する抗CD3抗体、レトロネクチンCH-296、rhIL-2等の洗浄後の残留濃度は極めて微量であり、これらの刺激性物質が生体に及ぼす影響は限りなく小さい。

CAR遺伝子導入Tリンパ球は、自治医科大学附属病院内の臨床用細胞プロセッシング室において調製され、以下「VII.3.4 被験者に投与する細胞の安全性」に記載の試験によって品質が担保される。

VII.3.3 細胞の遺伝子型、表現型の安定性

遺伝子導入Tリンパ球調製にあたっては、患者リンパ球を抗CD3抗体及びレトロネクチンCH-296により刺激した後にレトロウイルスベクターを用いた遺伝子導入を行うとともに、*ex vivo*での培養を行う。

抗CD3抗体及びレトロネクチンCH-296で刺激することによってCD3陽性細胞が活発に増殖し、その結果としてCD3陽性細胞の割合が増加する。また、一般にリンパ球を*ex vivo*で培養するとCD4陽性細胞の割合が減少し、CD8陽性細胞の割合が増加する。しかし、培養後の細胞集団を構成する個々の細胞のサブセットは末梢血中に存在するものであり、これを患者に投与しても安全性に問題はないと考えられる。

2002年のフランスのSauceらによる報告では、リンパ球を含むPBMCを抗CD3抗体やIL-2を含む培地で*ex vivo*にて培養するとリンパ球表面のCD4/CD8の比率は減少し、CD62L、CCR7、CD45RA、CD27、CD28の発現も徐々に低下する。代わりに、CD45RO、CD25、CD154、CD40、CD80、CD86、CD95、HLA-DR等の発現は増大する。ただし、レトロウイルスベクターの感染によるリンパ球の表現型の変化は特に認められないことを報告している(75)。

*ex vivo*で培養したリンパ球やTCR遺伝子を導入したリンパ球を用いたRosenberg SAら

の臨床研究では、移入 T リンパ球の安全性に対する問題は報告されていない(68, 76, 77, 78)。さらに、レトロウイルスベクターにより TCR 遺伝子を導入した臨床試験では、6 日から 9 日という比較的短期間の *ex vivo* 培養 T リンパ球が、移入した患者生体内で長期間観察されたことが報告されている(68)。本計画においても T リンパ球の培養期間はこれと同程度に抑えている。

VII. 3. 4 被験者に投与する細胞の安全性

被験者に投与する細胞は、レトロウイルスベクター-SFG-1928z により CD19-CAR 遺伝子を導入した被験者個人由来の T リンパ球である。細胞調製の際に用いられる培地の成分、レトロウイルスベクター-SFG-1928z の成分、種々の試薬、抗体等に関しては、遺伝子導入 T リンパ球を凍結保存する前に RPMI1640 で十分に洗浄される。そのため被験者に投与される量は極めて少なく、これらが直接影響を及ぼすことはないと考えられるが、細胞調製終了後、最終培養液又は凍結保存専用バッグに充填する前の細胞懸濁液を検体として採取し、以下の試験を行うことにより品質を担保する（品質試験方法の概要を参考資料 13「CAR 遺伝子導入 T リンパ球の品質試験」に、健常人リンパ球での試験調製での結果を参考資料 11「CAR 遺伝子導入 T リンパ球試験成績書」に示す）。

なお、品質試験のうち、マイコプラズマ否定試験（PCR 法）、RCR 試験（RT-PCR 法）、エンドトキシン試験（日本薬局方）、細胞生存率試験（セルカウンター）、細胞数試験、遺伝子導入効率試験の 6 試験を一次品質試験とする。一次品質試験の項目がいずれも適合の場合に、CAR 遺伝子導入 T リンパ球について仮合格として被験者に適切な時期に投与される。無菌試験（日本薬局方）及び導入遺伝子の機能試験については、試験結果を得るまでに日数を要する試験項目であるため、二次品質試験とする。CAR 遺伝子導入 T リンパ球投与時点で全ての結果が得られていない場合も考えられるが、万一不合格となった項目があれば、その時点で臨床研究を中止して適切な処置を講ずることとする。

また「IX. 5. 6. 1 主要評価項目」および「IX. 5. 6. 2 副次的評価項目」で行う検査のコントロールとして細胞の一部を保存する。検体は「IX. 5. 4. 2 検体等の取り扱い」で示した手順により保管・管理する。

1. マイコプラズマ否定試験（PCR 法）
2. RCR 試験（RT-PCR 法）
3. 無菌試験（日本薬局方）
4. エンドトキシン試験（日本薬局方）
5. 細胞生存率試験（セルカウンター）
6. 細胞数試験
7. 遺伝子導入効率試験
8. 導入遺伝子の機能試験

被験者への投与の際は、凍結保存専用バッグ中に凍結された細胞懸濁液を投与直前に37℃温浴にて急速に解凍し、RPMI1640 と HSA 含 CP-1 とが 1:1 の割合で混合された細胞懸濁液として静脈内投与される（生理食塩水の追加により投与液量を調整する場合がある）。

なお、品質試験の検体を採取した後の工程としては、閉鎖系操作による凍結保存専用バッグへの充填、凍結、解凍、及び閉鎖系操作による輸注用バッグ又は注射器への移し替えであり、不純物混入のリスクは極めて低いと考えられる。また、凍結・解凍による細胞生存率の低下については、凍結保存専用バッグに充填する前の細胞懸濁液を別途バイアルに凍結保存し、投与日以前に細胞生存率を測定することにより確認する。

Ⅶ.4 シクロホスファミドの安全性

食欲不振、吐気、嘔吐、下痢、腹痛、脱毛、発疹、皮膚炎、色素沈着、口内炎、味覚異常はシクロホスファミド投与により比較的認められる副作用であるが、重篤な副作用として以下の項目が挙げられる。

1. ショック、アナフィラキシー様症状（頻度不明）：血圧低下、呼吸困難、喘鳴
2. アレルギー反応：蕁麻疹、不快感等
3. 骨髄抑制（頻度不明）：汎血球減少、貧血、白血球減少、血小板減少、出血
4. 出血性膀胱炎、排尿障害（頻度不明）
5. イレウス、胃腸出血（5%未満）
6. 間質性肺炎、肺線維症（頻度不明）
7. 心筋障害、心不全（5%未満）
8. 抗利尿ホルモン不適合分泌症候群（SIADH）（頻度不明）：低ナトリウム血症、低浸透圧血症、尿中ナトリウム排泄量の増加、高張尿、痙攣、意識障害等
9. 皮膚粘膜眼症候群（Stevens-Johnson 症候群）、中毒性表皮壊死症（Lyell 症候群）（頻度不明）

以上の項目に注意し、慎重に投与する。具体的な投与方法を次に示す。

シクロホスファミドは 3 時間で点滴し、十分な水分負荷と尿アルカリ化を行う。出血性膀胱炎を予防するため、ウロテミキサン(シクロホスファミドの 40%量)を 1 日 3 回(シクロホスファミド投与直後、4 時間後、8 時間後)30 分かけて投与する。

VII.5 ベンダムスチンの安全性

ベンダムスチン治療で最も留意すべき副作用は骨髄抑制と免疫抑制に伴う感染症である。

1. 骨髄抑制：白血球減少（97.4%）、リンパ球減少（92.3%）、好中球減少（87.2%）、血小板減少（76.9%）、ヘモグロビン減少（69.2%）、赤血球減少（69.2%）、CD4リンパ球減少（69.2%）
2. 感染症：敗血症（頻度不明）、肺炎（1.3%）等の重度の感染症、B型肝炎ウイルスの再活性化による肝炎
3. 間質性肺疾患（1.3%）
4. 腫瘍崩壊症候群（頻度不明）：腫瘍崩壊症候群による急性腎不全のおそれ
5. 重篤な皮膚症状（頻度不明）：中毒性表皮壊死融解症（Toxic Epidermal Necrolysis：TEN）、皮膚粘膜眼症候群（Stevens-Johnson 症候群）
6. ショック、アナフィラキシー様症状（頻度不明）

本剤 1 バイアル（100 mg）あたり 40 mL の注射用水で溶解する。患者の体表面積から換算した投与量を生理食塩液で希釈し、最終投与液を 250 mL に調製し、1 時間で点滴する。

Ⅷ. 遺伝子治療臨床研究の実施が可能であると判断した理由

以下の理由により本臨床研究は実施可能と判断される。

① 臨床ニーズ

近年、化学療法に抵抗の再発難治性 B 細胞性リンパ腫に対する治療法の選択肢は増えて
いるが、何れも治療成績は不十分であり、標準的治療法は未だ確立されていない。本臨床
研究は、予後不良の患者を対象としており、このような患者に対する有効な治療手段開発
の治療ニーズが存在する。

② 本臨床研究の品質・安全性

本臨床研究は、腫瘍細胞の表面抗原 CD19 を認識し T リンパ球活性化能を持つキメラ抗原
受容体 (CAR) の遺伝子をレトロウイルスベクターにより導入した自己 T リンパ球を患者に
投与する。この製造工程は十分に確立され、また、調製された輸注用の CAR 遺伝子導入 T
リンパ球の品質は、調製時毎に確保される。

本臨床研究で遺伝子導入する細胞は、造血幹細胞ではなく、末梢血由来の T リンパ球で
ある。T リンパ球への遺伝子導入の場合、レトロウイルスベクターによるがん化のリスクは
極めて低く、対象疾患とのリスク・ベネフィットを考慮すると、レトロウイルスベクター
を使用した遺伝子治療の施行に問題はない。本臨床研究で用いるものと同一のレトロウイ
ルスベクターによる遺伝子導入で調製された CAR 遺伝子導入 T リンパ球のヒトへの投与は、
MSKCC の Brentjens らのグループですでに実績がある。本臨床研究は CAR 遺伝子導入 T リン
パ球の品質の管理方法および予測される副作用とその対処法に関する十分な情報の下に遂
行される。

これまでに CD19-CAR 遺伝子を用いた造血器腫瘍に対する遺伝子治療の臨床研究で、2 例
の死亡例が報告されている (V.4 「他の治療法との比較及び遺伝子治療を選択した理由」を
参照)。また、米国国立がん研究所 (NCI) の Morgan らは HER2 を標的とした CAR 遺伝子導入 T
リンパ球を転移性大腸癌の患者に輸注したところ、15 分後に ARDS 様の呼吸不全を発症し、
死亡した症例を報告した。剖検の結果、輸注 T 細胞が正常肺内皮細胞に発現している HER2
を認識し、肺組織を障害することで、過剰なサイトカイン産生が起これ、致命的な急性呼
吸不全が引き起こされたと考察している。

これらの事例を踏まえ、NIH の一組織である recombinant DNA advisory committee (RAC)
は非公式ながら、CAR 導入 T リンパ球を用いた遺伝子治療の臨床研究遂行時に考慮すべき、
次の点を示した (79)。

1) 輸注 CAR 遺伝子導入 T リンパ球の細胞数は、慎重に段階的に増量する

2) 輸注 CAR 遺伝子導入 T リンパ球を分割投与する

本臨床研究で用いる初回輸注 CAR 遺伝子導入 T リンパ球数は、MSKCC で行われた臨床研究に
おいて、安全性が確認された輸注細胞数を更に減量した細胞数である。更に初日に 1/3 量

を輸注し、問題がなければ翌日に 2/3 量を投与することで安全を図った。

また CD19-CAR 遺伝子導入 T リンパ球輸注に伴い、正常な B リンパ球が抑制され、低グロブリン血症が起こることが予想される。本臨床研究では適宜、免疫グロブリン製剤を投与し、感染症の合併を予防する。

③ 本臨床研究の期待される有効性

当施設で調製された CAR 遺伝子導入 T リンパ球は、CD19 陽性の腫瘍細胞株に対して特異的な細胞傷害活性を示すことが *in vitro* において確認されている（添付資料 III.1.3.2 参照）。また、マウスに腫瘍細胞株を静脈注射したモデル実験において、CAR 遺伝子導入ヒト T リンパ球投与により特異的な腫瘍増大抑制効果が認められた。（添付資料 III.2 参照）。

MSKCC の Brentjens らは、化学療法抵抗性の慢性リンパ性白血病 4 例にシクロホスファミドで前処置を行い、CAR 遺伝子導入 T リンパ球を投与する遺伝子治療臨床研究を行った結果、評価可能な 4 例中 3 例に治療効果を認めた。3 例のうち 1 例は 3 ヶ月目に明らかなリンパ節腫脹の退縮が観察され、リンパ節腫脹と血球減少が急速に進行している別の 2 例は治療後にそれぞれ 8 週間と 4 ヶ月間にわたり進行なく、病態が安定した（添付資料 IV.4.2）。彼らは再発 ALL 患者 5 名に対しても 19-28zCAR 導入 T リンパ球による治療を行い、全例（うち 4 例は治療前に微小残存病変陽性）で分子生物学的寛解が得られたと報告している（添付資料 IV.4.2）。本臨床研究においても同様の抗腫瘍効果が見込まれる。

④ 当施設・研究者の能力

本臨床研究の研究者は、患者末梢血採取、遺伝子ベクター調製、遺伝子導入、細胞培養、品質管理及び当施設における臨床試験の経験者により構成される。自治医科大学附属病院は、悪性リンパ腫に関する長年の豊富な診療経験と優れた診断技術を有し、遺伝子治療に際して必要な化学療法に精通した豊富な経験をもつスタッフを擁している。また、臨床試験センターによる臨床研究のサポート体制が整っている。さらに臨床研究の対象となる患者も北関東を中心に集まっており、系統立てた診療体制とデータ管理体制が整っている。院内に設置された臨床用細胞プロセッシング室は治験薬の製造管理、品質管理等に関する基準（治験薬 GMP）（薬食発第 0709002 号 平成 20 年 7 月 9 日）に基づき運営・管理される体制にあり、CAR 遺伝子導入 T リンパ球は同基準に準拠して調製される。自治医科大学附属病院では過去に厚生労働大臣に意見を求め、自治医科大学附属病院長に実施承諾を得て遺伝子治療臨床研究「AADC 発現 AAV ベクター線条体内投与による進行期パーキンソン病遺伝子治療の臨床研究」を実施し、平成 21 年 10 月 6 日に終了報告書を提出し、完了している。そのため、カルタヘナ関連法、個人情報保護法を含め、本臨床研究実施に必要な学内・院内システムは全て整っている。

IX. 遺伝子治療臨床研究の実施計画

IX. 1 遺伝子治療臨床研究を含む全体の治療計画

IX. 1. 1 本臨床研究の実施に際し自治医科大学医学部附属病院内に設置される委員会

本臨床研究について、遺伝子治療臨床研究に関する指針(平成 14 年文部科学省・厚生労働省告示第 1 号、平成 16 年 12 月 28 日全部改正、平成 20 年 12 月 1 日一部改正)に基づき審査を行うため、病院に自治医科大学附属病院遺伝子治療臨床研究審査委員会を設置する。上記の委員会の設置に関しては、自治医科大学附属病院遺伝子治療臨床研究審査委員会設置規程に従うものとする。

また、遺伝子治療臨床研究審査委員会に安全・効果評価・適応判定部会を設置する。上記の委員会・部会の運営に関しては、別途作成の業務手順書に従うものとする。

IX. 1. 1. 1 遺伝子治療臨床研究審査委員会安全・効果評価・適応判定部会

安全・効果評価・適応判定部会は、本臨床研究の安全性及び効果並びに被験者の適応性に関する具体的事項について評価及び判定を行い、その適否及び留意事項、改善事項等について遺伝子治療臨床研究審査委員会に意見を提出する。

1) 適格性評価

一次登録後に各患者が選択基準を全て満たし、かつ除外基準のいずれにも抵触しないことを確認し、本臨床研究の対象患者として適当かどうかを判定する。

2) 用量増加における評価

各輸注レベルの全被験者における Day28 までのデータをもとに輸注レベルごとの安全性を判定する。安全性に問題がないと判定された場合、次の輸注レベルに移行する。

3) 重篤な有害事象発現時の対応

重篤な有害事象が発現した場合、本臨床研究との因果関係並びに本臨床研究継続の可否について判定する。

4) 臨床研究の総合判定

全被験者における臨床研究が終了した後、全被験者のデータをもとに本臨床研究の安全性並びに効果について総合的に判定する。

IX. 1.2 本臨床研究の実施手順

本臨床研究の治療計画は以下のとおりである。

- ・ 本治療は自治医科大学附属病院4階西病棟にて行う。
- ・ 二次登録後前処置を開始し、Day 0に初回CAR遺伝子導入Tリンパ球輸注する。

臨床検査値などの悪化にて治療を開始できないと判断した場合は「臨床研究中止」として「治療終了報告」に詳細を記載する。

1. 各被験者における臨床研究スケジュール

(1) CAR 遺伝子導入 T リンパ球の調製

一次登録時の選択基準・除外基準に適合する難治性 B 細胞非ホジキンリンパ腫患者を選定し、本臨床研究への一次登録を行う。末梢血から分離した患者由来の末梢血単核球はレトロウイルスベクターSFG-1928z による遺伝子導入を行い、10日間程度培養して凍結保存する。「2. 用量漸増計画」の最小輸注量(輸注レベル-1)が得られなかった場合は、再度の採血と調製を行う。CAR 遺伝子導入 T リンパ球の調製と一次品質試験を終了した後、二次登録時の選択基準・除外基準に適合する患者を選定し、本臨床研究への二次登録を行う。

(2) 治療開始前の手続き

腫瘍崩壊症候群予防として、経口のアロプリノールを輸液(150 mL/時)と共に投与する。予防投与はCAR 遺伝子導入 T リンパ球輸注後、最短で3日間行う。

(3) 前処置の実施

Day -2 にシクロホスファミド(1.5 g/m²:ただし、年齢及び被験者の状態等によって減量を可とする)を3時間以上かけて点滴投与する。このとき、出血性膀胱炎を予防するため、ウロテミキサン(シクロホスファミドの40%量)を3回(シクロホスファミド投与直後、4時間後、8時間後)30分以上かけて投与する。

シクロホスファミド投与 12 時間前から、少なくとも投与後 24 時間は、2.6 mL/kg/hr で補液を行う。

尚、シクロホスファミドの投与量はBMI>35 の時、理想体重を用いて計算する。

投与日の血清クレアチニンが2.0 mg/dL 以上の場合、同剤の投与は延期し、1,500 mL/日以上以上の補液を行う。3日間以上、血清クレアチニンが2.0 mg/dL 以上持続した場合、被験者は脱落症例とする。自治医科大学血液科のマニュアルに基づき、制吐剤を併用する。

他のレジメンとして、ベンダムスチンを使用できる。ベンダムスチンは①過去にベンダムスチンの投与歴がある症例、即ちベンダムスチン耐性例であること、あるいは②シクロホスファミドの予測される副作用が容認できないと担当医師が判断した場合にのみ前処置として選択可能とする。ベンダムスチン(120 mg/m²:ただし、年齢及び被験者の状態等によって減量を可とする)は、Day -3 および-

に1時間以上かけて静注される。

(4) CAR 遺伝子導入 T リンパ球の輸注

被験者は、腫瘍崩壊症候群の合併がないことを確認した後(血清クレアチニン ≤ 2.0 mg/dL、カリウム ≤ 5.3 mEq/L、リン ≤ 4.5 mg/dL)、予定総輸注量の 1/3 量の CAR 遺伝子導入 T リンパ球輸注を行う。腫瘍崩壊症候群が合併した場合には、輸注を延期し、自治医科大学血液科のマニュアルに基づき、治療を行う。

CAR 遺伝子導入 T リンパ球は、Day 0 及び Day 1 に分割投与する (Day 0: 1/3 量、Day 1: 2/3 量)。Day 0 の CAR 遺伝子導入 T リンパ球輸注前 30 分から 60 分にアセトアミノフェン 400 mg とジフェンヒドラミン 30 mg を経口投与する。その後、CAR 遺伝子導入 T リンパ球を輸注する。輸注終了後、24 時間以内に発熱、悪寒、皮疹、関節痛、嘔吐等以外の重篤なインフュージョン反応が出現しなかった場合、Day 1 に残りの CAR 遺伝子導入 T リンパ球の輸注を行う。その際に、初回輸注と同様にアセトアミノフェンとジフェンヒドラミンの投与を行う。

また、細胞調製において十分な CAR 遺伝子導入 T リンパ球が得られている場合、1 回目の CAR-T の輸注により DLT に該当せず、かつ一定の臨床的効果が認められたものの、効果不十分で追加治療が望ましいと判断された症例には、Day 28 以降に 2 回目投与の可否の判断を行う。2 回目投与が必要と判断した場合は、適切な時期に投与することが出来る。その際、1 回目投与時と同様の投与手順で処置及びモニタリングを行うものとする。2 回目の投与も 1 回目と同様に分割投与とする。

2. 用量漸増計画

各輸注レベルで投与する CAR 遺伝子導入 T リンパ球数及び被験者数を表 5 に示す。なお、本臨床研究における CAR 遺伝子導入 T リンパ球の投与細胞数は CAR 陽性細胞数とし、各輸注レベルで定めている CAR 遺伝子導入 T リンパ球数の 50% 以上が得られた場合、その輸注レベルの DLT 解析対象として投与するものとする。ただし、得られた CAR 遺伝子導入 T リンパ球数が 50% 未満の場合も、DLT 解析対象外ではあるが、最小輸注量 (輸注レベル -1) が得られている場合は、投与を行うものとする。

表5 投与する CAR 遺伝子導入 T リンパ球数及び被験者数

輸注レベル	CAR 遺伝子導入 T リンパ球数	被験者数
-1	$3 \times 10^5/\text{kg}$	0-6
1 (開始レベル)	$1 \times 10^6/\text{kg}$	3-6
2	$3 \times 10^6/\text{kg}$	0-6
3	$1 \times 10^7/\text{kg}$	0-6

- 輸注レベル 1 より開始する。
- 薬物有害事象以外の理由で DLT 観察期間中に臨床研究中止となった被験者は、DLT 解析対象外とする。また DLT の解析対象外となった被験者を認めた場合は、該当するレベルに追加登録を行う。
- 各輸注レベル 3 例まで実施し、DLT 出現被験者数に応じて、必要な場合にはさらに 3 例を追加する。各輸注レベルの実施被験者数は 3 例もしくは 6 例となるが、登録一時中止のアナウンスが行われる前に複数の未登録被験者から試験参加への同意取得が得られていた場合、3 例もしくは 6 例を超えて臨床研究を実施することを許容する。

3. 用量制限毒性(dose limiting toxicity:DLT)の定義

DLT は以下の通りとする。有害事象の評価は CTCAE v4.0 を用いる。

- 治療前に白血球数が $1,000/\mu\text{L}$ 以上だった被験者において、CAR 遺伝子導入 T リンパ球輸注後 28 日の時点で、本治療との因果関係を否定できない Grade 4 以上の白血球減少 ($\text{WBC} < 1,000/\mu\text{L}$) が認められた場合。但し、原疾患に因る減少の場合は除く。
- 治療前に血小板数が $50,000/\mu\text{L}$ 以上だった被験者において、CAR 遺伝子導入 T リンパ球輸注後 28 日の時点で、本治療との因果関係を否定できない Grade 3 以上の血小板減少 ($\text{Plt} < 50,000/\mu\text{L}$) が認められた場合。但し、原疾患に因る減少の場合は除く。
- 本治療との因果関係を否定できない Grade 3 以上の非血液毒性が、CAR 遺伝子導入 T リンパ球輸注後 28 日以内に 14 日間以上にわたり続いたとき。ただし適切な処置により対処可能な悪心、嘔吐、食欲不振、疲労、下痢、便秘、電解質異常及び過敏反応は除く。また、免疫グロブリン値については、「免疫系障害」の項の「免疫系障害、その他」(code 10021428)の有害事象とするが、DLT としない。

4. 最大耐用量(MTD)の推定及び推奨用量 (RD) の定義

MTD は、DLT が起こった被験者が 33%未満である用量のうち、最大の用量とする。なお、RD は MTD と同用量とする。

用量移行は3+3デザインに従う。最初に輸注レベル1に3例を登録する。用量移行する場合は、次の輸注レベルに別の3例を登録する。輸注レベル移行の可否は、DLT評価期間にDLTを発現した登録者数に基づく下記の基準に従う。

- ① 各輸注レベルの3例にDLTが認められなかった場合は、次の段階の輸注レベルへ移行する。
- ② 各輸注レベルの3例中1名にDLTが認められた場合は、同レベルに新たに3例の被験者を追加登録し、6例で検討する。DLT発現が6例中1例であった場合は、次の段階の輸注レベルへ移行する。
- ③ 輸注レベル1の3例中2例以上、または6例中2例以上にDLTが認められた場合は、輸注レベル-1へ移行する。
- ④ 各輸注レベルの2例以上にDLTが認められた場合は、増量検討は行わない。この輸注レベルはMTDを超えていると考え、一つ前の輸注レベルでMTDを検討する。
- ⑤ MTDを決定する輸注レベルのDLT評価対象が3例であった場合は、この輸注レベルへ新たに3例の被験者を追加登録し、6例でDLT評価を行う。6例中DLTが認められないか、1例のみに認められた場合、この輸注レベルをMTDとする。6例中2例以上にDLTが認められた場合は、一つ前の輸注レベルに戻り同様にMTDを検討する。
- ⑥ 上記③に従った後、輸注レベル-1の3例にDLTが認められないか、3例中1例にDLTが認められた場合は、輸注レベル-1に新たに3例の被験者を追加登録し、6例でDLT評価を行う。
- ⑦ 上記③に従った後、輸注レベル-1の2例以上にDLTが認められた場合は、輸注レベル-1はMTDを超えているとする。

IX. 2 被験者の選択基準及び除外基準

IX. 2.1 一次登録

患者より文書にて同意を取得する。一次登録時の選択基準を全て満たし、かつ除外基準のいずれにも該当しない患者を登録適格例とする。

IX. 2.1.1 適格基準（一次登録）

以下の全ての基準を満たす患者を対象とする。

1. 再発・難治性の CD19 陽性 B 細胞性非ホジキンリンパ腫（DLBCL、FL、MCL 等）患者
 - 再発の定義：以下の2点を満たすこととする。
 - (1) 寛解後、再発の際に生検によって CD19 陽性 B 細胞性非ホジキンリンパ腫であることが組織学的に証明されていること

(ただし、被験者にとって再生検が非倫理的であると担当医師により判断された場合には、登録時より3年以内の生検検体でCD19陽性を確認し、病歴と画像診断により適格性を判断しても良い)

(2) 2サイクル以上の救援化学療法が行われていること

- 難治性の定義：以下の項目のうち少なくとも1つを満足する。

(1) 救援化学療法後、部分奏効(PR)が持続している場合

CD19陽性B細胞性リンパ腫であることが組織生検にて確定していること、及び2サイクル以上の救援化学療法が既に施行されていること

(ただし、被験者にとって再生検が非倫理的であると担当医師により判断された場合には、登録時より3年以内の生検検体でCD19陽性を確認し、病歴と画像診断により適格性を判断しても良い)

(2) 救援化学療法後、病期安定(SD)が持続している場合

CD19陽性B細胞性リンパ腫であることが組織生検にて確定していること、及び2サイクル以上の救援化学療法が既に施行されていること。(ただし、被験者にとって再生検が非倫理的であると担当医師により判断された場合には、登録時より3年以内の生検検体でCD19陽性を確認し、病歴と画像診断により適格性を判断しても良い)

(3) 救援化学療法後、病期進展(PD)である場合

CD19陽性B細胞性リンパ腫であることが組織生検にて確定している事、及び2サイクル以上の救援化学療法が既に施行されていること。(ただし、被験者にとって再生検が非倫理的であると担当医師により判断された場合には、登録時より3年以内の生検検体でCD19陽性を確認し、病歴と画像診断により適格性を判断しても良い)

- ・ CD19陽性：フローサイトメトリー、或はパラフィン切片による免疫染色により50%以上の腫瘍細胞がCD19陽性である

- ・ 救援化学療法：DHAP療法、DeVIC療法、ICE療法、ESHAP療法、HyperCVAD/High dose MTX・Ara-C療法、BR療法など

2. 評価可能病変がCT画像で確認でき、かつFDG-PET検査で陽性として検出できること

3. 本臨床研究登録時に20歳以上、かつ70歳以下であること

4. ECOGの全身状態の指標(PS)が0から2であること

5. 主要臓器予備能が以下の基準を満たす事

① 好中球数 $\geq 1,500/\text{mm}^3$ (リンパ腫の骨髄浸潤による好中球減少はこの限りではない)

② 血小板数 $\geq 10 \times 10^4/\text{mm}^3$

(リンパ腫の骨髄浸潤による好中球減少はこの限りではない)

③ 総ビリルビン $\leq 2.0 \text{ mg/mL}$

④ AST(GOT)、ALT(GPT) $\leq 150 \text{ IU/dL}$

(リンパ腫の肝浸潤による肝障害はこの限りではない)

- ⑤ ALP 正常上限値の 1.5 倍以下
 - ⑥ 血清クレアチニン ≤ 2.0 mg/dL
 - ⑦ SpO₂ ≥ 92 % (酸素吸入なしの状態)
- 6. 同意取得後、3 ヶ月以上の生存が見込めること
 - 7. 試験参加について患者本人から文書で同意が得られていること

IX. 2. 1. 2 除外基準 (一次登録)

以下のいずれかの基準に抵触する患者は除外する。

- 1. 活動性の重複癌を併発している患者
- 2. リンパ腫の明らかな中枢神経浸潤を伴う患者
- 3. 同種造血幹細胞移植後の患者
- 4. 24 週間以内に CAR 遺伝子導入 T リンパ球を投与する臨床試験に既に参加している患者
- 5. ステロイドまたは免疫抑制剤の全身投与を行っている患者。但し、ステロイド吸入は含まない。
- 6. 重度の心疾患を併発する患者
- 7. 重度の脳血管疾患の既往を有する、或はそれによる麻痺など後遺症を残す患者
- 8. 活動性、或は重篤な感染症を併発している患者
- 9. HIV 抗体陽性患者
- 10. HB-s 抗原陽性、或は HB-c 抗体陽性かつ HBV-DNA が陽性である患者
- 11. 活動性の HCV 感染患者
- 12. 本臨床研究参加への同意に影響を及ぼすような精神疾患、薬物依存症等の疾患を有する患者
- 13. 妊娠中、授乳中、妊娠している可能性のある女性または妊娠を希望している女性患者。又は挙児希望のある男性患者 (ただし、遺伝子治療前に精子を凍結保存し、その精子を用いて子供をもうける場合は該当しない)
- 14. その他、担当医師によって本臨床試験への参加が適当でないと判断される患者

IX. 2. 2 二次登録

一次登録した患者における CAR 遺伝子導入 T リンパ球の調製が終了した時点で再度患者より文書にて同意を取得する。二次登録時の選択基準の全てを満たし、かつ除外基準のいずれにも該当しないことを確認し二次登録を行う。

IX. 2. 2. 1 適格基準 (二次登録)

一次登録適格基準の全て、および次の基準を満たす患者を対象とする。

- 1. 本臨床研究における CAR 遺伝子導入 T リンパ球の一次品質試験に合格し、最小輸注量

(輸注レベル -1) が得られた患者

2. 一次登録後に同意撤回がなく、治療内容を理解し、本人の自由意思による同意が文書にて得られた患者

IX. 2. 2. 2 除外基準 (二次登録)

一次登録除外基準のいずれかの項目に抵触する患者は除外する。

IX. 3 倫理的事項

IX. 3. 1 被験者の保護

本試験に関係するすべての研究者は「臨床研究に関する倫理指針」(平成20年厚生労働省告示第415号 <http://www.mhlw.go.jp/general/seido/kousei/i-kenkyu/index.html>) 及びヘルシンキ宣言(2009年韓国ソウル)に従って本試験を実施する。

本プロトコールでの「医療機関」は、上記指針における「臨床研究機関」に対応する。

IX. 3. 2 被験者の同意取得方法

登録に先立って、担当医師は医療機関及び厚生労働省の承認が得られた説明文書を患者本人に渡し、以下の内容を口頭で詳しく説明する。

なお、本実施計画書で「医療機関の承認」とは、以下のいずれかに該当する場合を指す。

1. 医療機関の長が諮問する遺伝子治療臨床研究審査委員会(IRB)で審査された結果を基に、当該医療機関の長が、申請した研究者宛に発行した承認文書が得られた場合
2. 医療機関の長が諮問する遺伝子治療臨床研究審査委員会で審査された結果を基に、当該委員会が、申請した研究者宛に発行した承認文書が得られた場合

【患者への説明事項】

- 1) 病名、病期、推測される予後に関する説明
- 2) 本研究が臨床研究であること
- 3) 本臨床研究のデザイン及び根拠 (rationale: 意義、登録数、必要性、目的)
- 4) 臨床研究治療の内容
薬品名、投与法、投与量、臨床研究全体の期間など
- 5) 臨床研究治療により期待される効果
- 6) 予期される有害事象、合併症、後遺症とその対処法について
合併症、後遺症、治療関連死を含む予期される有害事象の程度と頻度、及びそれらが生じた際の対処法に関する説明
- 7) 費用負担と補償

通常の治療にかかる費用は保険制度でまかなわれること、健康被害が生じた場合の補償は一般診療での対処に準ずることなど、一般診療と同様であることの説明

8) 代替治療法

現在の一般的治療（緩和医療も含む）や標準治療法の内容、効果、毒性など代替治療を選択した場合の利益と不利益

9) 予想される利益と可能性のある不利益について

臨床研究に参加することによって享受できると思われる利益と被る可能性のある不利益に関する説明

10) 病歴の直接閲覧について

「精度管理のため他の医療機関の医療関係者が医療機関の長の許可を得て病歴などを直接閲覧すること」など監査の受け入れに関する説明

11) 同意拒否と同意撤回

試験参加に先立っての同意拒否が自由であることや、いったん同意した後の撤回も自由であり、それにより不当な診療上の不利益を受けないこと

※ 同意撤回とは、研究参加への同意の撤回（下記①、②）を意味し、同意の撤回が表明された場合には、下記①か②のいずれであるかを明確にし、速やかに病院長に報告すること。

① 同意撤回：研究参加への同意を撤回し、以後のプロトコールに従った治療、フォローアップのすべてを不可とすること

② （すべてのデータの研究利用を含む）同意撤回：研究参加への同意を撤回し、参加時点からのすべてのデータの研究利用を不可とすること

12) 人権保護

氏名や個人情報守秘されるための最大限の努力が払われること

13) 臨床研究に関わる利益相反

各々の研究者が本研究に関する利益相反の有無の申告書を提出していること
利益相反があっても、それにより研究の倫理性及び科学性がゆるがないこと

14) 研究に関わる費用

本研究、またはその一部が研究費によって行われる場合には、その内容

15) 研究成果の公表

本臨床試験で得られた結果は学術論文、学会にて公表すること。その際にも公表内容には個人情報に関することは含まないこと

16) データの二次利用

委員会が承認した場合に限り、個人識別情報とリンクしない形でデータを二次利用する可能性があること

17) 知的財産権の帰属

本研究から生じる知的財産権は研究者に帰属すること

18) 研究組織

本臨床研究が研究助成金などの資金提供を受けている場合には、それらを記載する。

19) 質問の自由

担当医師の連絡先のみでなく、医療機関の研究責任者、試験の研究代表者（または研究事務局）の連絡先を文書で知らせ、試験や治療内容について自由に質問できることの説明

20) 病理中央診断や研究用の検体採取について（薬物動態、遺伝子解析など）

患者の同意

本臨床研究の開始に先立ち、総括責任者、又は分担研究者が患者より文書による同意を得る。患者本人が臨床研究参加に同意した場合、本臨床研究の同意書を用い、説明をした医師名、説明を受け同意した患者名、同意を得た日付の記載があることを確認する。文書による同意取得は一次登録時と二次登録時の合計2回行われる。同意の取得に際しては質問の機会と、本臨床研究に参加するか否かを決断するのに十分な時間を与え、全ての疑問点に関して被験者が満足する様に説明する事とする。また、二次登録時には別途定めた自治医大附属病院・臨床試験センターに所属し、薬剤師、看護師または臨床検査技師の資格を有する施設コーディネーターが説明補助を行うものとする。同意文書は2部写しを作成し、1部は患者本人に手渡し、1部は施設コーディネーターが保管する。原本はカルテに保管する。

IX. 3.3 補償について

本臨床研究に参加することで生じた健康被害については、通常の診療と同様に病状に応じた適切な治療を保険診療として行う。その際、因果関係が否定できない有害事象に対する症状が固定するまで（最長1年まで）、医療費（検査費用及び治療費）の被験者の自己負担分については本臨床研究グループの負担とする。ただし、健康被害が生じた場合の医療費以外の実費や、症状が固定した後の治療費や療養費については補償しない。上記の補償の条件は、他科で検査・治療した場合も同様に適用する。また、見舞金や各種手当てなどの経済的な補償は行わない。

IX.4 実施期間及び目標症例数

IX.4.1 主たる解析と判断規準

本試験の主たる目的は、CD19を標的としたCAR遺伝子を用いた難治性悪性リンパ腫に対する遺伝子治療におけるCAR遺伝子導入Tリンパ球数のMTDとRDを決定すること及び用量制限毒性を推定することである。これらの決定は、「IX.1.2 本臨床研究の実施手順」の中の「4. 最大耐用量（MTD）の推定及び推奨用量（RD）の定義」で示した方法に基づいて行う。

IX.4.2 予定登録数・登録期間・追跡期間

実施期間は厚生労働大臣から実施が差し支えない旨の回答を得た時点から3年間とする。症例毎の実施期間はCAR遺伝子導入Tリンパ球輸注後84日であるが、本臨床研究終了後もCAR遺伝子導入Tリンパ球投与後3年間については、少なくとも2ヵ月に1回の頻度、5年間までは少なくとも6ヵ月に1回の頻度で検査・観察を行う。その後もFDAのガイドライン(80)に従い、15年間にわたり、1年に1回の頻度で転帰、遺伝子導入Tリンパ球の血中動態及び二次発がんやRCRの有無等について追跡調査を実施（特殊検査については、サンプリングを行い、必要時に測定を行う）する。

目標症例数は、6例から最大18例である。本研究は用量漸増試験であり、各輸注レベル(用量レベル)は以下のとおりとする。有害事象が発現した場合には、「IX.1.2 本臨床研究の実施手順」の投与量増加基準に従って、安全性の評価を強化する。

輸注レベル -1	3×10^5 個/kg	0-6 例
輸注レベル 1	1×10^6 個/kg	3-6 例
輸注レベル 2	3×10^6 個/kg	0-6 例
輸注レベル 3	1×10^7 個/kg	0-6 例

また、CAR遺伝子導入Tリンパ球の増殖率は培養ごとに予測することができないため、症例の取り扱いを以下のとおりとする。

- ・ 各輸注レベル内で定められたCAR遺伝子導入Tリンパ球輸注量（下限を50%以上とする）が得られなかった場合であっても、最小輸注量（輸注レベル -1）で定められたCAR遺伝子導入Tリンパ球輸注量を確保できている場合には、その被験者に輸注可能な全てのCAR遺伝子導入Tリンパ球を投与する。この場合は投与量増加の評価例としない。
- ・ 輸注レベル2及び3への投与量増加のための評価対象としない症例における臨床観察項目データは、当臨床研究の安全性評価解析対象とする。

IX.4.3 実施計画書の遵守

本試験に参加する研究者は、被験者の安全と人権を損なわない限り、本実施計画書を遵守する。

IX. 5 遺伝子治療臨床研究の実施方法

IX. 5. 1 対照群の設定方法

本臨床研究では対照群を設定しない。

IX. 5. 2 遺伝子導入方法

IX. 5. 2. 1 PBMC 及び血漿の採取

患者からの末梢血採取(採取量最大 600 mL まで)は、自治医科大学附属病院において実施する。末梢血採取は、①一般的な採血法または、②返血を伴う採血法にて行う。①及び②の採血に当たり、「日本自己血輸血学会 貯血式自己血輸血実施基準(2011)」を参考とし、被験者の Hb 値が 11.0 g/dL 以上または Ht 値 33%以上を原則とする。採取量の上限は、400 mL あるいは循環血液量 (70 mL×体重 kg) の 10% 以内 (採取量最大 600 mL) の何れかとする。体重 50 kg 以下の患者は、400 mL×患者体重/50kg を原則とする。

① 一般的な採血法について

無菌の採血管または血液バッグに採血する。これらを遠心し、血漿、buffy coat、赤血球に分離する。赤血球は破棄し、buffy coat を Ficoll-Paque に重層し、MNC を分離する。血漿は細胞調製を行うために用いる。

② 返血を伴う採血法について

自己血貯血用血液バッグに採血する。バッグを遠心し、血漿、buffy coat、赤血球に分離する。赤血球は、直ちに患者に返血する。buffy coat を Ficoll-Paque に重層し、MNC を分離する。血漿は細胞調製を行うために用いる。目標とする採血量によっては、午前 1 回と午後 1 回の計 2 回行う。

①と②の採血後の一連の細胞処理は、自治医科大学の臨床用細胞プロセッシング室内で行う。専用のラベルを発行し、採血した血液バッグに貼付する。ラベルには、患者氏名、生年月日、カルテ ID 番号を記載する。採血バッグに貼布する。採血バッグは臨床用細胞プロセッシング室の保冷库内の専用ボックスで患者ごとに保管する。

IX. 5. 2. 2 CAR 遺伝子導入 T リンパ球の調製

採取された PBMC 画分を用いて、「VII. 3. 1 遺伝子導入 T リンパ球の調製方法」に従い、細胞調製を行う。細胞調製後、「VII. 3. 4 被験者に投与する細胞の安全性」に示した各種試験により、遺伝子導入 T リンパ球としての品質を確認したうえで投与に用いる。

IX. 5. 2. 3 CAR 遺伝子導入 T リンパ球の投与

各輸注レベルにて設定された細胞数の遺伝子導入 T リンパ球を Day 0 と Day 1 に分割(1:2)

して静脈内投与する。CAR 遺伝子導入 T リンパ球が十分量得られた場合、1 回目の CAR-T の輸注により DLT に該当せず、かつ一定の臨床的効果が認められたものの、効果不十分で追加治療が望ましいと判断された症例には、Day 28 以降にも CAR 遺伝子導入 T リンパ球を再投与することを許容する。

凍結保存されたリンパ球浮遊液を含むバッグを 37℃恒温槽内で解凍、被験者静脈内へ投与し、投与直後より問診とバイタルサインを取りながら十分な観察を行い、有害事象が発現した場合には、「IX. 5. 5. 2 遺伝子導入リンパ球輸注に伴う副作用」に従い、適切な処置を施す。

IX. 5. 3 前処置の有無

前処置として、シクロホスファミド(1.5 g/m²/日 Day -2)または、ベンダムスチン(120 mg/m²/日 Day -3及びDay -2)を投与する。なお、ベンダムスチンは①過去にベンダムスチンの投与歴がある症例、即ちベンダムスチン耐性例であること、あるいは②シクロホスファミドの予測される副作用が容認できないと担当医師が判断した場合にのみ前処置として選択可能とする。いずれの前処置の場合も年齢及び被験者の状態により減量することを可能とする。

投与量は、二次登録時の身長、体重及び身長・体重から算出される体表面積に従って以下のように算出し、投与期間中変更しない。

標準体重を以下の計算式により求める。

$$[\text{標準体重}] = (\text{身長} - 100) \times 0.9$$

実体重が標準体重を下回る場合は、計算に用いる体重は実体重とする。

実体重が標準体重を上回る場合は、計算に用いる体重は以下のように求める。

$$[\text{計算に用いる体重}] = (\text{標準体重}) + (\text{実体重} - \text{標準体重}) / 3$$

体表面積は、以下の式により算出し、投与期間中は変更しない。

$$[\text{体表面積}] = \text{計算に用いる体重}[\text{kg}]^{0.444} \times \text{身長}[\text{cm}]^{0.663} \times 88.83 / 100$$

それぞれの算出にあたり、身長及び実体重は小数点以下第1位を四捨五入した整数値を使用する。体表面積を算出した場合は小数点以下第4位を四捨五入し、第3位までの値を用いる。

投与法はIX. 1. 2. に記す。

IX. 5. 4 臨床検査項目及び観察項目

IX. 5. 4. 1 検査・観察のスケジュール

以下のスケジュールのとおり検査・観察を実施する。

同意取得日 (スクリーニング期間)

1) 同意取得 (一次登録)

2) 被験者背景

- ・性別、生年月日（年齢）、診断名、身長、体重、既往歴、合併症、過敏症の有無、前治療、併用療法・併用薬、妊娠の有無、リンパ腫細胞のCD19発現の有無（病理組織免疫染色、またはフローサイトメトリー）、他の臨床試験（臨床研究）への参加の有無

3) 問診、身体所見

- ・バイタルサイン、診察

4) Performance status (P.114参照)

5) 骨髄検査

6) 感染症検査

- ・HBs 抗原、HCV 抗体、HIV 抗体、HTLV-1 抗体

7) 臨床検査

- ・血液学的検査：白血球数、血液像、赤血球数、ヘモグロビン、ヘマトクリット、血小板数、網赤血球数
- ・血液生化学的検査：AST (GOT)、ALT (GPT)、ALP、LDH、 γ -GTP、総ビリルビン (T-Bil)、直接ビリルビン (D-Bil)、総タンパク質 (TP)、アルブミン (Alb)、尿素窒素 (BUN)、クレアチニン (Cr)、尿酸 (UA)、Na、K、Cl、Ca、P、血糖値
- ・血液凝固能検査：プロトロンビン時間 (PT)、活性化部分トロンボプラスチン時間 (APTT)、フィブリノゲン (Fbg)、フィブリン分解産物 (FDP)
- ・免疫血清：C 反応性タンパク質 (CRP)
- ・尿検査：尿定性、尿沈査
- ・腫瘍マーカー検査（抗IL-2レセプター抗体）

8) 正常Bリンパ球機能及び数

- ・血清免疫グロブリン (IgG, IgA, IgM)
- ・フローサイトメトリー

9) 画像診断

- ・胸部X線検査、12誘導心電図、脳MRI※、頸部・胸部・腹部・骨盤CT、PET-CT※

10) 心臓超音波検査※、呼吸機能検査※

11) 上部消化管内視鏡検査

※ スクリーニング期間開始前12週間以内の成績の利用を可とする。

末梢血採取実施日（スクリーニング期間）

1) 臨床検査

- ・血液学的検査：白血球数、血液像、赤血球数、ヘモグロビン、ヘマトクリット、血小板数、網赤血球数

- ・ 血液生化学的検査: AST (GOT)、ALT (GPT)、ALP、LDH、 γ -GTP、総ビリルビン (T-Bil)、直接ビリルビン (D-Bil)、総タンパク質 (TP)、アルブミン (Alb)、尿素窒素 (BUN)、クレアチニン (Cr)、尿酸 (UA)、Na、K、Cl、Ca、P、血糖値
- ・ 血液凝固能検査: プロトロンビン時間 (PT)、活性化部分トロンボプラスチン時間 (APTT)、フィブリノゲン (Fbg)、フィブリン分解産物 (FDP)
- ・ 免疫血清: C 反応性タンパク質 (CRP)

day -3または、day -4^{※1} (二次登録時)

CAR遺伝子導入Tリンパ球調製完了後、一次品質試験に合格した必要なCAR遺伝子導入Tリンパ球数が得られたことを二次登録前に確認する。なお、本臨床研究におけるCAR遺伝子導入Tリンパ球数はCAR陽性細胞数とする。

1) 同意取得(二次登録)

2) 臨床検査

- ・ 血液学的検査: 白血球数、血液像、赤血球数、ヘモグロビン、ヘマトクリット、血小板数、網赤血球数
- ・ 血液生化学的検査: AST (GOT)、ALT (GPT)、ALP、LDH、 γ -GTP、総ビリルビン (T-Bil)、直接ビリルビン (D-Bil)、総タンパク質 (TP)、アルブミン (Alb)、尿素窒素 (BUN)、クレアチニン (Cr)、尿酸 (UA)、Na、K、Cl、Ca、P、血糖値
- ・ 血液凝固能検査: プロトロンビン時間 (PT)、活性化部分トロンボプラスチン時間 (APTT)、フィブリノゲン (Fbg)、フィブリン分解産物 (FDP)
- ・ 免疫血清: C 反応性タンパク質 (CRP)
- ・ 尿検査: 尿定性、尿沈査

3) 画像診断

- ・ 胸部X線検査、12 誘導心電図^{※2}、脳MRI^{※2}、頸部・胸部・腹部・骨盤CT、PET-CT^{※2}

4) 血漿サイトカイン

- ・ IFN- γ 、TNF- α 、GM-CSF、IL-6、IL-8、IL-10等

5) 心臓超音波検査^{※2}、呼吸機能検査^{※2}

6) 制御性T細胞の解析

※1 前処置にシクロホスファミドを投与する場合はDay -3、ベンダムスチンを投与する場合は、Day -4に実施する。

※2 4週間以内の成績の利用を可とする。

day -2または day -3及びday -2[※] (前治療期間)

1) 問診、身体所見

- ・バイタルサイン、診察

2) Performance status

3) 臨床検査

- ・血液学的検査：白血球数、血液像、赤血球数、ヘモグロビン、ヘマトクリット、血小板数、網赤血球数
- ・血液生化学的検査：AST (GOT)、ALT (GPT)、ALP、LDH、 γ -GTP、総ビリルビン (T-Bil)、直接ビリルビン (D-Bil)、総タンパク質 (TP)、アルブミン (Alb)、尿素窒素 (BUN)、クレアチニン (Cr)、尿酸 (UA)、Na、K、Cl、Ca、P、血糖値
- ・血液凝固能検査：プロトロンビン時間 (PT)、活性化部分トロンボプラスチン時間 (APTT)、フィブリノゲン (Fbg)、フィブリン分解産物 (FDP)
- ・免疫血清：C 反応性タンパク質 (CRP)
- ・尿検査：尿定性

4) 血漿サイトカイン

- ・ IFN- γ 、TNF- α 、GM-CSF、IL-6、IL-8、IL-10等

5) Tリンパ球サブセット解析

6) 有害事象（臨床検査値の異常変動含む）

- ・ 内容、発現日、Grade、本臨床研究の処置（継続・中止の別等）、その他の処置、転帰、転帰日、本臨床研究との因果関係

※ 前処置にシクロホスファミドを投与する場合はDay -2、ベンダムスチンを投与する場合は、Day -3及び-2に実施する。

day -1（前治療期間）

1) 問診、身体所見

- ・ バイタルサイン、診察

2) Performance status

3) 臨床検査

- ・血液学的検査：白血球数、血液像、赤血球数、ヘモグロビン、ヘマトクリット、血小板数、網赤血球数
- ・血液生化学的検査：AST (GOT)、ALT (GPT)、ALP、LDH、 γ -GTP、総ビリルビン (T-Bil)、直接ビリルビン (D-Bil)、総タンパク質 (TP)、アルブミン (Alb)、尿素窒素 (BUN)、クレアチニン (Cr)、尿酸 (UA)、Na、K、Cl、Ca、P、血糖値
- ・血液凝固能検査：プロトロンビン時間 (PT)、活性化部分トロンボプラスチン時間 (APTT)、フィブリノゲン (Fbg)、フィブリン分解産物 (FDP)
- ・免疫血清：C 反応性タンパク質 (CRP)
- ・尿検査：尿定性

4) 血漿サイトカイン

- ・ IFN- γ 、TNF- α 、GM-CSF、IL-6、IL-8、IL-10等

5) HAMAテスト (サンプリングを行い、必要時に検査を実施する)

6) 有害事象 (臨床検査値の異常変動含む)

- ・ 内容、発現日、Grade、本臨床研究の処置 (継続・中止の別等)、その他の処置、転帰、転帰日、本臨床研究との因果関係

day 0 (輸注日①)

1) 問診、身体所見

- ・ バイタルサイン、診察

2) Performance status

3) 臨床検査

- ・ 血液学的検査：白血球数、血液像、赤血球数、ヘモグロビン、ヘマトクリット、血小板数、網赤血球数
- ・ 血液生化学的検査：AST (GOT)、ALT (GPT)、ALP、LDH、 γ -GTP、総ビリルビン (T-Bil)、直接ビリルビン (D-Bil)、総タンパク質 (TP)、アルブミン (Alb)、尿素窒素 (BUN)、クレアチニン (Cr)、尿酸 (UA)、Na、K、Cl、Ca、P、血糖値
- ・ 血液凝固能検査：プロトロンビン時間 (PT)、活性化部分トロンボプラスチン時間 (APTT)、フィブリノゲン (Fbg)、フィブリン分解産物 (FDP)
- ・ 免疫血清：C 反応性タンパク質 (CRP)
- ・ 尿検査：尿定性

7) 血漿サイトカイン (CAR遺伝子導入Tリンパ球輸注前及び輸注後1、3、8時間)

- ・ IFN- γ 、TNF- α 、GM-CSF、IL-6、IL-8、IL-10等

8) CAR遺伝子導入Tリンパ球血中動態 (CAR遺伝子導入Tリンパ球輸注前及び輸注後1、3、8時間)

- ・ リアルタイムPCR
- ・ フローサイトメトリー

9) 正常Bリンパ球機能及び数

- ・ 血清免疫グロブリン (IgG, IgA, IgM)
- ・ フローサイトメトリー

10) 有害事象 (臨床検査値の異常変動含む)

- ・ 内容、発現日、Grade、本臨床研究の処置 (継続・中止の別等)、その他の処置、転帰、転帰日、本臨床研究との因果関係

day 1 (輸注日②)

1) 問診、身体所見

- ・ バイタルサイン、診察
- 2) Performance status
- 3) 臨床検査
 - ・ 血液学的検査：白血球数、血液像、赤血球数、ヘモグロビン、ヘマトクリット、血小板数、網赤血球数
 - ・ 血液生化学的検査：AST (GOT)、ALT (GPT)、ALP、LDH、 γ -GTP、総ビリルビン (T-Bil)、直接ビリルビン (D-Bil)、総タンパク質 (TP)、アルブミン (Alb)、尿素窒素 (BUN)、クレアチニン (Cr)、尿酸 (UA)、Na、K、Cl、Ca、P、血糖値
 - ・ 血液凝固能検査：プロトロンビン時間 (PT)、活性化部分トロンボプラスチン時間 (APTT)、フィブリノゲン (Fbg)、フィブリン分解産物 (FDP)
 - ・ 免疫血清：C 反応性タンパク質 (CRP)
 - ・ 尿検査：尿定性
- 4) 血漿サイトカイン (CAR遺伝子導入Tリンパ球2回目輸注前及び輸注後1、3、8時間)
 - ・ IFN- γ 、TNF- α 、GM-CSF、IL-6、IL-8、IL-10等
- 5) CAR遺伝子導入Tリンパ球血中動態 (CAR遺伝子導入Tリンパ球2回目輸注前及び輸注後1、3、8時間)
 - ・ リアルタイムPCR
 - ・ フローサイトメトリー
- 6) 有害事象 (臨床検査値の異常変動含む)
 - ・ 内容、発現日、Grade、本臨床研究の処置 (継続・中止の別等)、その他の処置、転帰、転帰日、本臨床研究との因果関係

day 2 (観察期間)

- 1) 問診、身体所見
 - ・ バイタルサイン、診察
- 2) Performance status
- 3) 臨床検査
 - ・ 血液学的検査：白血球数、血液像、赤血球数、ヘモグロビン、ヘマトクリット、血小板数、網赤血球数
 - ・ 血液生化学的検査：AST (GOT)、ALT (GPT)、ALP、LDH、 γ -GTP、総ビリルビン (T-Bil)、直接ビリルビン (D-Bil)、総タンパク質 (TP)、アルブミン (Alb)、尿素窒素 (BUN)、クレアチニン (Cr)、尿酸 (UA)、Na、K、Cl、Ca、P、血糖値
 - ・ 血液凝固能検査：プロトロンビン時間 (PT)、活性化部分トロンボプラスチン時間 (APTT)、フィブリノゲン (Fbg)、フィブリン分解産物 (FDP)
 - ・ 免疫血清：C 反応性タンパク質 (CRP)
 - ・ 尿検査：尿定性

- 4) 血漿サイトカイン (CAR遺伝子導入Tリンパ球2回目輸注後24時間)
 - ・ IFN- γ 、TNF- α 、GM-CSF、IL-6、IL-8、IL-10等
- 5) CAR遺伝子導入Tリンパ球血中動態 (CAR遺伝子導入Tリンパ球2回目輸注後24時間)
 - ・ リアルタイムPCR
 - ・ フローサイトメトリー
- 6) RCR検査
- 7) HAMAテスト (サンプリングを行い、必要時に検査を実施する)
- 8) Tリンパ球サブセット解析
- 9) 有害事象 (臨床検査値の異常変動含む)
 - ・ 内容、発現日、Grade、本臨床研究の処置 (継続・中止の別等)、その他の処置、転帰、転帰日、本臨床研究との因果関係

day 3 (観察期間)

- 1) 問診、身体所見
 - ・ バイタルサイン、診察
- 2) Performance status
- 3) 臨床検査
 - ・ 血液学的検査：白血球数、血液像、赤血球数、ヘモグロビン、ヘマトクリット、血小板数、網赤血球数
 - ・ 血液生化学的検査：AST (GOT)、ALT (GPT)、ALP、LDH、 γ -GTP、総ビリルビン (T-Bil)、直接ビリルビン (D-Bil)、総タンパク質 (TP)、アルブミン (Alb)、尿素窒素 (BUN)、クレアチニン (Cr)、尿酸 (UA)、Na、K、Cl、Ca、P、血糖値
 - ・ 血液凝固能検査：プロトロンビン時間 (PT)、活性化部分トロンボプラスチン時間 (APTT)、フィブリノゲン (Fbg)、フィブリン分解産物 (FDP)
 - ・ 免疫血清：C 反応性タンパク質 (CRP)
 - ・ 尿検査：尿定性
- 4) 血漿サイトカイン (CAR遺伝子導入Tリンパ球2回目輸注後48時間)
 - ・ IFN- γ 、TNF- α 、GM-CSF、IL-6、IL-8、IL-10等
- 5) CAR遺伝子導入Tリンパ球血中動態 (CAR遺伝子導入Tリンパ球2回目輸注後48時間)
 - ・ リアルタイムPCR
 - ・ フローサイトメトリー
- 6) 有害事象 (臨床検査値の異常変動含む)
 - ・ 内容、発現日、Grade、本臨床研究の処置 (継続・中止の別等)、その他の処置、転帰、転帰日、本臨床研究との因果関係

day 4 (観察期間)

1) 問診、身体所見

- ・バイタルサイン、診察

2) Performance status

3) 臨床検査

- ・血液学的検査：白血球数、血液像、赤血球数、ヘモグロビン、ヘマトクリット、血小板数、網赤血球数
- ・血液生化学的検査：AST (GOT)、ALT (GPT)、ALP、LDH、 γ -GTP、総ビリルビン (T-Bil)、直接ビリルビン (D-Bil)、総タンパク質 (TP)、アルブミン (Alb)、尿素窒素 (BUN)、クレアチニン (Cr)、尿酸 (UA)、Na、K、Cl、Ca、P、血糖値
- ・血液凝固能検査：プロトロンビン時間 (PT)、活性化部分トロンボプラスチン時間 (APTT)、フィブリノゲン (Fbg)、フィブリン分解産物 (FDP)
- ・免疫血清：C 反応性タンパク質 (CRP)
- ・尿検査：尿定性

4) 血漿サイトカイン (CAR遺伝子導入Tリンパ球2回目輸注後72時間)

- ・IFN- γ 、TNF- α 、GM-CSF、IL-6、IL-8、IL-10等

5) CAR遺伝子導入Tリンパ球血中動態 (CAR遺伝子導入Tリンパ球2回目輸注後72時間)

- ・リアルタイムPCR
- ・フローサイトメトリー

6) 有害事象 (臨床検査値の異常変動含む)

- ・内容、発現日、Grade、本臨床研究の処置 (継続・中止の別等)、その他の処置、転帰、転帰日、本臨床研究との因果関係

day 5 (観察期間)

1) 問診、身体所見

- ・バイタルサイン、診察

2) Performance status

3) 臨床検査

- ・血液学的検査：白血球数、血液像、赤血球数、ヘモグロビン、ヘマトクリット、血小板数、網赤血球数
- ・血液生化学的検査：AST (GOT)、ALT (GPT)、ALP、LDH、 γ -GTP、総ビリルビン (T-Bil)、直接ビリルビン (D-Bil)、総タンパク質 (TP)、アルブミン (Alb)、尿素窒素 (BUN)、クレアチニン (Cr)、尿酸 (UA)、Na、K、Cl、Ca、P、血糖値
- ・血液凝固能検査：プロトロンビン時間 (PT)、活性化部分トロンボプラスチン時間 (APTT)、フィブリノゲン (Fbg)、フィブリン分解産物 (FDP)
- ・免疫血清：C 反応性タンパク質 (CRP)
- ・尿検査：尿定性

- 4) 血漿サイトカイン (CAR遺伝子導入Tリンパ球2回目輸注後96時間)
 - ・ IFN- γ 、TNF- α 、GM-CSF、IL-6、IL-8、IL-10等
- 5) CAR遺伝子導入Tリンパ球血中動態 (CAR遺伝子導入Tリンパ球2回目輸注後96時間)
 - ・ リアルタイムPCR
 - ・ フローサイトメトリー
- 6) 有害事象 (臨床検査値の異常変動含む)
 - ・ 内容、発現日、Grade、本臨床研究の処置 (継続・中止の別等)、その他の処置、転帰、転帰日、本臨床研究との因果関係

day 6 (観察期間)

- 1) 問診、身体所見
 - ・ バイタルサイン、診察
- 2) Performance status
- 3) 臨床検査
 - ・ 血液学的検査：白血球数、血液像、赤血球数、ヘモグロビン、ヘマトクリット、血小板数、網赤血球数
 - ・ 血液生化学的検査：AST (GOT)、ALT (GPT)、ALP、LDH、 γ -GTP、総ビリルビン (T-Bil)、直接ビリルビン (D-Bil)、総タンパク質 (TP)、アルブミン (Alb)、尿素窒素 (BUN)、クレアチニン (Cr)、尿酸 (UA)、Na、K、Cl、Ca、P、血糖値
 - ・ 血液凝固能検査：プロトロンビン時間 (PT)、活性化部分トロンボプラスチン時間 (APTT)、フィブリノゲン (Fbg)、フィブリン分解産物 (FDP)
 - ・ 免疫血清：C 反応性タンパク質 (CRP)
 - ・ 尿検査：尿定性
- 4) 有害事象 (臨床検査値の異常変動含む)
 - ・ 内容、発現日、Grade、本臨床研究の処置 (継続・中止の別等)、その他の処置、転帰、転帰日、本臨床研究との因果関係

day 7 (観察期間)

- 1) 問診、身体所見
 - ・ バイタルサイン、診察
- 2) Performance status
- 3) 臨床検査
 - ・ 血液学的検査：白血球数、血液像、赤血球数、ヘモグロビン、ヘマトクリット、血小板数、網赤血球数

- ・ 血液生化学的検査: AST (GOT)、ALT (GPT)、ALP、LDH、 γ -GTP、総ビリルビン (T-Bil)、直接ビリルビン (D-Bil)、総タンパク質 (TP)、アルブミン (Alb)、尿素窒素 (BUN)、クレアチニン (Cr)、尿酸 (UA)、Na、K、Cl、Ca、P、血糖値
 - ・ 血液凝固能検査: プロトロンビン時間 (PT)、活性化部分トロンボプラスチン時間 (APTT)、フィブリノゲン (Fbg)、フィブリン分解産物 (FDP)
 - ・ 免疫血清: C 反応性タンパク質 (CRP)
 - ・ 尿検査: 尿定性
- 4) 有害事象 (臨床検査値の異常変動含む)
- ・ 内容、発現日、Grade、本臨床研究の処置 (継続・中止の別等)、その他の処置、転帰、転帰日、本臨床研究との因果関係

day 8 (観察期間)

- 1) 問診、身体所見
- ・ バイタルサイン、診察
- 2) Performance status
- 3) 有害事象 (臨床検査値の異常変動含む)
- ・ 内容、発現日、Grade、本臨床研究の処置 (継続・中止の別等)、その他の処置、転帰、転帰日、本臨床研究との因果関係

day 9 (観察期間)

- 1) 問診、身体所見
- ・ バイタルサイン、診察
- 2) Performance status
- 3) 臨床検査
- ・ 血液学的検査: 白血球数、血液像、赤血球数、ヘモグロビン、ヘマトクリット、血小板数、網赤血球数
 - ・ 血液生化学的検査: AST (GOT)、ALT (GPT)、ALP、LDH、 γ -GTP、総ビリルビン (T-Bil)、直接ビリルビン (D-Bil)、総タンパク質 (TP)、アルブミン (Alb)、尿素窒素 (BUN)、クレアチニン (Cr)、尿酸 (UA)、Na、K、Cl、Ca、P、血糖値
 - ・ 血液凝固能検査: プロトロンビン時間 (PT)、活性化部分トロンボプラスチン時間 (APTT)、フィブリノゲン (Fbg)、フィブリン分解産物 (FDP)
 - ・ 免疫血清: C 反応性タンパク質 (CRP)
 - ・ 尿検査: 尿定性
- 4) 有害事象 (臨床検査値の異常変動含む)
- ・ 内容、発現日、Grade、本臨床研究の処置 (継続・中止の別等)、その他の処置、転帰、転帰日、本臨床研究との因果関係

day 10 (観察期間)

1) 問診、身体所見

- ・ バイタルサイン、診察

2) Performance status

3) 有害事象（臨床検査値の異常変動含む）

- ・ 内容、発現日、Grade、本臨床研究の処置（継続・中止の別等）、その他の処置、転帰、転帰日、本臨床研究との因果関係

day 11 (観察期間)

1) 問診、身体所見

- ・ バイタルサイン、診察

2) Performance status

3) 臨床検査

- ・ 血液学的検査：白血球数、血液像、赤血球数、ヘモグロビン、ヘマトクリット、血小板数、網赤血球数
- ・ 血液生化学的検査：AST (GOT)、ALT (GPT)、ALP、LDH、 γ -GTP、総ビリルビン (T-Bil)、直接ビリルビン (D-Bil)、総タンパク質 (TP)、アルブミン (Alb)、尿素窒素 (BUN)、クレアチニン (Cr)、尿酸 (UA)、Na、K、Cl、Ca、P、血糖値
- ・ 血液凝固能検査：プロトロンビン時間 (PT)、活性化部分トロンボプラスチン時間 (APTT)、フィブリノゲン (Fbg)、フィブリン分解産物 (FDP)
- ・ 免疫血清：C 反応性タンパク質 (CRP)
- ・ 尿検査：尿定性

4) 有害事象（臨床検査値の異常変動含む）

- ・ 内容、発現日、Grade、本臨床研究の処置（継続・中止の別等）、その他の処置、転帰、転帰日、本臨床研究との因果関係

day 12 (観察期間)

1) 問診、身体所見

- ・ バイタルサイン、診察

2) Performance status

3) 有害事象（臨床検査値の異常変動含む）

- ・ 内容、発現日、Grade、本臨床研究の処置（継続・中止の別等）、その他の処置、転帰、転帰日、本臨床研究との因果関係

day 14 $\pm$ 1 (観察期間)

1) 問診、身体所見

- ・ バイタルサイン、診察

2) Performance status

3) 臨床検査

- ・ 血液学的検査：白血球数、血液像、赤血球数、ヘモグロビン、ヘマトクリット、血小板数、網状赤血球数
- ・ 血液生化学的検査：AST (GOT)、ALT (GPT)、ALP、LDH、 γ -GTP、総ビリルビン (T-Bil)、直接ビリルビン (D-Bil)、総タンパク質 (TP)、アルブミン (Alb)、尿素窒素 (BUN)、クレアチニン (Cr)、尿酸 (UA)、Na、K、Cl、Ca、P、血糖値
- ・ 血液凝固能検査：プロトロンビン時間 (PT)、活性化部分トロンボプラスチン時間 (APTT)、フィブリノゲン (Fbg)、フィブリン分解産物 (FDP)
- ・ 免疫血清：C 反応性タンパク質 (CRP)
- ・ 尿検査：尿定性

4) 血漿サイトカイン

- ・ IFN- γ 、TNF- α 、GM-CSF、IL-6、IL-8、IL-10等

5) CAR遺伝子導入Tリンパ球血中動態

- ・ リアルタイムPCR
- ・ フローサイトメトリー

6) Tリンパ球サブセット解析

7) 有害事象（臨床検査値の異常変動含む）

- ・ 内容、発現日、Grade、本臨床研究の処置（継続・中止の別等）、その他の処置、転帰、転帰日、本臨床研究との因果関係

day 17 $\pm$ 1（観察期間）

1) 問診、身体所見

- ・ バイタルサイン、診察

2) Performance status

3) 臨床検査

- ・ 血液学的検査：白血球数、血液像、赤血球数、ヘモグロビン、ヘマトクリット、血小板数、網赤血球数
- ・ 血液生化学的検査：AST (GOT)、ALT (GPT)、ALP、LDH、 γ -GTP、総ビリルビン (T-Bil)、直接ビリルビン (D-Bil)、総タンパク質 (TP)、アルブミン (Alb)、尿素窒素 (BUN)、クレアチニン (Cr)、尿酸 (UA)、Na、K、Cl、Ca、P、血糖値
- ・ 血液凝固能検査：プロトロンビン時間 (PT)、活性化部分トロンボプラスチン時間 (APTT)、フィブリノゲン (Fbg)、フィブリン分解産物 (FDP)
- ・ 免疫血清：C 反応性タンパク質 (CRP)

- ・尿検査：尿定性
- 4) 有害事象（臨床検査値の異常変動含む）
- ・内容、発現日、Grade、本臨床研究の処置（継続・中止の別等）、その他の処置、転帰、転帰日、本臨床研究との因果関係

day 20±1（観察期間）

- 1) 問診、身体所見
 - ・バイタルサイン、診察
- 2) Performance status
- 3) 臨床検査
 - ・血液学的検査：白血球数、血液像、赤血球数、ヘモグロビン、ヘマトクリット、血小板数、網赤血球数
 - ・血液生化学的検査：AST (GOT)、ALT (GPT)、ALP、LDH、 γ -GTP、総ビリルビン (T-Bil)、直接ビリルビン (D-Bil)、総タンパク質 (TP)、アルブミン (Alb)、尿素窒素 (BUN)、クレアチニン (Cr)、尿酸 (UA)、Na、K、Cl、Ca、P、血糖値
 - ・血液凝固能検査：プロトロンビン時間 (PT)、活性化部分トロンボプラスチン時間 (APTT)、フィブリノゲン (Fbg)、フィブリン分解産物 (FDP)
 - ・免疫血清：C 反応性タンパク質 (CRP)
 - ・尿検査：尿定性
- 4) 有害事象（臨床検査値の異常変動含む）
 - ・内容、発現日、Grade、本臨床研究の処置（継続・中止の別等）、その他の処置、転帰、転帰日、本臨床研究との因果関係

day 22±1（観察期間）

- 1) 問診、身体所見
 - ・バイタルサイン、診察
- 2) Performance status
- 3) 臨床検査
 - ・血液学的検査：白血球数、血液像、赤血球数、ヘモグロビン、ヘマトクリット、血小板数、網赤血球数
 - ・血液生化学的検査：AST (GOT)、ALT (GPT)、ALP、LDH、 γ -GTP、総ビリルビン (T-Bil)、直接ビリルビン (D-Bil)、総タンパク質 (TP)、アルブミン (Alb)、尿素窒素 (BUN)、クレアチニン (Cr)、尿酸 (UA)、Na、K、Cl、Ca、P、血糖値
 - ・血液凝固能検査：プロトロンビン時間 (PT)、活性化部分トロンボプラスチン時間 (APTT)、フィブリノゲン (Fbg)、フィブリン分解産物 (FDP)
 - ・免疫血清：C 反応性タンパク質 (CRP)

- ・尿検査：尿定性
- 4) 有害事象（臨床検査値の異常変動含む）
 - ・内容、発現日、Grade、本臨床研究の処置（継続・中止の別等）、その他の処置、転帰、転帰日、本臨床研究との因果関係

day 25±1（観察期間）

- 1) 問診、身体所見
 - ・バイタルサイン、診察
- 2) Performance status
- 3) 臨床検査
 - ・血液学的検査：白血球数、血液像、赤血球数、ヘモグロビン、ヘマトクリット、血小板数、網赤血球数
 - ・血液生化学的検査：AST (GOT)、ALT (GPT)、ALP、LDH、 γ -GTP、総ビリルビン (T-Bil)、直接ビリルビン (D-Bil)、総タンパク質 (TP)、アルブミン (Alb)、尿素窒素 (BUN)、クレアチニン (Cr)、尿酸 (UA)、Na、K、Cl、Ca、P、血糖値
 - ・血液凝固能検査：プロトロンビン時間 (PT)、活性化部分トロンボプラスチン時間 (APTT)、フィブリノゲン (Fbg)、フィブリン分解産物 (FDP)
 - ・免疫血清：C 反応性タンパク質 (CRP)
 - ・尿検査：尿定性
- 4) 制御性T細胞の解析
- 5) 有害事象（臨床検査値の異常変動含む）
 - ・内容、発現日、Grade、本臨床研究の処置（継続・中止の別等）、その他の処置、転帰、転帰日、本臨床研究との因果関係

day 28±1（観察期間）

- 1) 問診、身体所見
 - ・バイタルサイン、診察
- 2) Performance status
- 3) 臨床検査
 - ・血液学的検査：白血球数、血液像、赤血球数、ヘモグロビン、ヘマトクリット、血小板数、網赤血球数
 - ・血液生化学的検査：AST (GOT)、ALT (GPT)、ALP、LDH、 γ -GTP、総ビリルビン (T-Bil)、直接ビリルビン (D-Bil)、総タンパク質 (TP)、アルブミン (Alb)、尿素窒素 (BUN)、クレアチニン (Cr)、尿酸 (UA)、Na、K、Cl、Ca、P、血糖値
 - ・血液凝固能検査：プロトロンビン時間 (PT)、活性化部分トロンボプラスチン時間 (APTT)、フィブリノゲン (Fbg)、フィブリン分解産物 (FDP)

- ・ 免疫血清：C 反応性タンパク質（CRP）、免疫グロブリン
- ・ 尿検査：尿定性
- 4) 血漿サイトカイン
 - ・ IFN- γ 、TNF- α 、GM-CSF、IL-6、IL-8、IL-10等
- 5) 骨髓検査
- 6) CAR遺伝子導入Tリンパ球血中動態
 - ・ リアルタイムPCR
 - ・ フローサイトメトリー
- 7) LAM-PCR
- 8) RCR検査
- 9) HAMAテスト（サンプリングを行い、必要時に検査を実施する）
- 10) Tリンパ球サブセット解析
- 11) 正常Bリンパ球機能及び数
 - ・ 血清免疫グロブリン（IgG, IgA, IgM）
 - ・ フローサイトメトリー
- 12) 有害事象（臨床検査値の異常変動含む）
 - ・ 内容、発現日、Grade、本臨床研究の処置（継続・中止の別等）、その他の処置、転帰、転帰日、本臨床研究との因果関係

day 35 $\pm$ 3（観察期間）

- 1) 問診、身体所見
 - ・ バイタルサイン、診察
- 2) Performance status
- 3) 臨床検査
 - ・ 血液学的検査：白血球数、血液像、赤血球数、ヘモグロビン、ヘマトクリット、血小板数、網赤血球数
 - ・ 血液生化学的検査：AST (GOT)、ALT (GPT)、ALP、LDH、 γ -GTP、総ビリルビン (T-Bil)、直接ビリルビン (D-Bil)、総タンパク質 (TP)、アルブミン (Alb)、尿素窒素 (BUN)、クレアチニン (Cr)、尿酸 (UA)、Na、K、Cl、Ca、P、血糖値
 - ・ 血液凝固能検査：プロトロンビン時間 (PT)、活性化部分トロンボプラスチン時間 (APTT)、フィブリノゲン (Fbg)、フィブリン分解産物 (FDP)
 - ・ 免疫血清：C 反応性タンパク質 (CRP)
 - ・ 尿検査：尿定性
- 4) 有害事象（臨床検査値の異常変動含む）
 - ・ 内容、発現日、Grade、本臨床研究の処置（継続・中止の別等）、その他の処置、転帰、転帰日、本臨床研究との因果関係

day 42±3 (観察期間)

1) 問診、身体所見

- ・ バイタルサイン、診察

2) Performance status

3) 臨床検査

- ・ 血液学的検査：白血球数、血液像、赤血球数、ヘモグロビン、ヘマトクリット、血小板数、網赤血球数
- ・ 血液生化学的検査：AST (GOT)、ALT (GPT)、ALP、LDH、 γ -GTP、総ビリルビン (T-Bil)、直接ビリルビン (D-Bil)、総タンパク質 (TP)、アルブミン (Alb)、尿素窒素 (BUN)、クレアチニン (Cr)、尿酸 (UA)、Na、K、Cl、Ca、P、血糖値
- ・ 血液凝固能検査：プロトロンビン時間 (PT)、活性化部分トロンボプラスチン時間 (APTT)、フィブリノゲン (Fbg)、フィブリン分解産物 (FDP)
- ・ 免疫血清：C 反応性タンパク質 (CRP)
- ・ 尿検査：尿定性

4) 有害事象 (臨床検査値の異常変動含む)

- ・ 内容、発現日、Grade、本臨床研究の処置 (継続・中止の別等)、その他の処置、転帰、転帰日、本臨床研究との因果関係

day 49±3 (観察期間)

1) 問診、身体所見

- ・ バイタルサイン、診察

2) Performance status

3) 臨床検査

- ・ 血液学的検査：白血球数、血液像、赤血球数、ヘモグロビン、ヘマトクリット、血小板数、網赤血球数
- ・ 血液生化学的検査：AST (GOT)、ALT (GPT)、ALP、LDH、 γ -GTP、総ビリルビン (T-Bil)、直接ビリルビン (D-Bil)、総タンパク質 (TP)、アルブミン (Alb)、尿素窒素 (BUN)、クレアチニン (Cr)、尿酸 (UA)、Na、K、Cl、Ca、P、血糖値
- ・ 血液凝固能検査：プロトロンビン時間 (PT)、活性化部分トロンボプラスチン時間 (APTT)、フィブリノゲン (Fbg)、フィブリン分解産物 (FDP)
- ・ 免疫血清：C 反応性タンパク質 (CRP)
- ・ 尿検査：尿定性

4) 有害事象 (臨床検査値の異常変動含む)

- ・ 内容、発現日、Grade、本臨床研究の処置 (継続・中止の別等)、その他の処置、転帰、転帰日、本臨床研究との因果関係

day 56±3 (観察期間)

1) 問診、身体所見

- ・ バイタルサイン、診察

2) Performance status

3) 臨床検査

- ・ 血液学的検査：白血球数、血液像、赤血球数、ヘモグロビン、ヘマトクリット、血小板数、網赤血球数
- ・ 血液生化学的検査：AST (GOT)、ALT (GPT)、ALP、LDH、 γ -GTP、総ビリルビン (T-Bil)、直接ビリルビン (D-Bil)、総タンパク質 (TP)、アルブミン (Alb)、尿素窒素 (BUN)、クレアチニン (Cr)、尿酸 (UA)、Na、K、Cl、Ca、P、血糖値
- ・ 血液凝固能検査：プロトロンビン時間 (PT)、活性化部分トロンボプラスチン時間 (APTT)、フィブリノゲン (Fbg)、フィブリン分解産物 (FDP)
- ・ 免疫血清：C 反応性タンパク質 (CRP)、免疫グロブリン
- ・ 尿検査：尿定性
- ・ 腫瘍マーカー検査：抗IL-2レセプター抗体

4) 血漿サイトカイン

- ・ IFN- γ 、TNF- α 、GM-CSF、IL-6、IL-8、IL-10等

5) CAR遺伝子導入Tリンパ球血中動態

- ・ リアルタイムPCR
- ・ フローサイトメトリー

6) Tリンパ球サブセット解析

7) 正常Bリンパ球機能及び数

- ・ 血清免疫グロブリン (IgG, IgA, IgM)
- ・ フローサイトメトリー

8) 有害事象 (臨床検査値の異常変動含む)

- ・ 内容、発現日、Grade、本臨床研究の処置 (継続・中止の別等)、その他の処置、転帰、転帰日、本臨床研究との因果関係

day 63±3 (観察期間)

1) 問診、身体所見

- ・ バイタルサイン、診察

2) Performance status

3) 臨床検査

- ・ 血液学的検査：白血球数、血液像、赤血球数、ヘモグロビン、ヘマトクリット、血小板数、網赤血球数

- ・血液生化学的検査: AST (GOT)、ALT (GPT)、ALP、LDH、 γ -GTP、総ビリルビン (T-Bil)、直接ビリルビン (D-Bil)、総タンパク質 (TP)、アルブミン (Alb)、尿素窒素 (BUN)、クレアチニン (Cr)、尿酸 (UA)、Na、K、Cl、Ca、P、血糖値
 - ・血液凝固能検査: プロトロンビン時間 (PT)、活性化部分トロンボプラスチン時間 (APTT)、フィブリノゲン (Fbg)、フィブリン分解産物 (FDP)
 - ・免疫血清: C 反応性タンパク質 (CRP)
 - ・尿検査: 尿定性
- 4) 有害事象 (臨床検査値の異常変動含む)
- ・内容、発現日、Grade、本臨床研究の処置 (継続・中止の別等)、その他の処置、転帰、転帰日、本臨床研究との因果関係

day 70 $\pm$ 3 (観察期間)

- 1) 問診、身体所見
 - ・バイタルサイン、診察
- 2) Performance status
- 3) 臨床検査
 - ・血液学的検査: 白血球数、血液像、赤血球数、ヘモグロビン、ヘマトクリット、血小板数、網赤血球数
 - ・血液生化学的検査: AST (GOT)、ALT (GPT)、ALP、LDH、 γ -GTP、総ビリルビン (T-Bil)、直接ビリルビン (D-Bil)、総タンパク質 (TP)、アルブミン (Alb)、尿素窒素 (BUN)、クレアチニン (Cr)、尿酸 (UA)、Na、K、Cl、Ca、P、血糖値
 - ・血液凝固能検査: プロトロンビン時間 (PT)、活性化部分トロンボプラスチン時間 (APTT)、フィブリノゲン (Fbg)、フィブリン分解産物 (FDP)
 - ・免疫血清: C 反応性タンパク質 (CRP)
 - ・尿検査: 尿定性
- 4) 有害事象 (臨床検査値の異常変動含む)
 - ・内容、発現日、Grade、本臨床研究の処置 (継続・中止の別等)、その他の処置、転帰、転帰日、本臨床研究との因果関係

day 77 $\pm$ 3 (観察期間)

- 1) 問診、身体所見
 - ・バイタルサイン、診察
- 2) Performance status
- 3) 臨床検査
 - ・血液学的検査: 白血球数、血液像、赤血球数、ヘモグロビン、ヘマトクリット、血小板数、網赤血球数

- ・ 血液生化学的検査: AST (GOT)、ALT (GPT)、ALP、LDH、 γ -GTP、総ビリルビン (T-Bil)、直接ビリルビン (D-Bil)、総タンパク質 (TP)、アルブミン (Alb)、尿素窒素 (BUN)、クレアチニン (Cr)、尿酸 (UA)、Na、K、Cl、Ca、P、血糖値
 - ・ 血液凝固能検査: プロトロンビン時間 (PT)、活性化部分トロンボプラスチン時間 (APTT)、フィブリノゲン (Fbg)、フィブリン分解産物 (FDP)
 - ・ 免疫血清: C 反応性タンパク質 (CRP)
 - ・ 尿検査: 尿定性
- 4) 制御性T細胞の解析
- 5) 有害事象 (臨床検査値の異常変動含む)
- ・ 内容、発現日、Grade、本臨床研究の処置 (継続・中止の別等)、その他の処置、転帰、転帰日、本臨床研究との因果関係

day 84 $\pm$ 3 または中止時 (観察期間)

- 1) 問診、身体所見
 - ・ バイタルサイン、診察
- 2) Performance status
- 3) 臨床検査
 - ・ 血液学的検査: 白血球数、血液像、赤血球数、ヘモグロビン、ヘマトクリット、血小板数、網赤血球数
 - ・ 血液生化学的検査: AST (GOT)、ALT (GPT)、ALP、LDH、 γ -GTP、総ビリルビン (T-Bil)、直接ビリルビン (D-Bil)、総タンパク質 (TP)、アルブミン (Alb)、尿素窒素 (BUN)、クレアチニン (Cr)、尿酸 (UA)、Na、K、Cl、Ca、P、血糖値
 - ・ 血液凝固能検査: プロトロンビン時間 (PT)、活性化部分トロンボプラスチン時間 (APTT)、フィブリノゲン (Fbg)、フィブリン分解産物 (FDP)
 - ・ 免疫血清: C 反応性タンパク質 (CRP)、免疫グロブリン
 - ・ 尿検査: 尿定性
- 4) 血漿サイトカイン
 - ・ IFN- γ 、TNF- α 、GM-CSF、IL-6、IL-8、IL-10等
- 5) 骨髄検査
- 6) CAR遺伝子導入Tリンパ球血中動態
 - ・ リアルタイムPCR
 - ・ フローサイトメトリー
- 7) LAM-PCR
- 8) RCR検査
- 9) HAMAテスト (サンプリングを行い、必要時に検査を実施する)
- 10) Tリンパ球サブセット解析

11) 正常Bリンパ球機能及び数

- ・ 血清免疫グロブリン (IgG, IgA, IgM)
- ・ フローサイトメトリー

12) 画像診断

- ・ 胸部X線検査、12誘導心電図、脳MRI、頸部・胸部・腹部・骨盤CT、PET-CT

13) 心臓超音波検査、呼吸機能検査

14) 有害事象（臨床検査値の異常変動含む）

- ・ 内容、発現日、Grade、本臨床研究の処置（継続・中止の別等）、その他の処置、転帰、転帰日、本臨床研究との因果関係

研究終了後の長期追跡調査

- 1) FDAのガイドライン(80)に従い、CAR遺伝子導入Tリンパ球投与後15年間にわたり、1年に1回の頻度で以下の項目についてサンプリングを行い、必要時に検査を実施する。特に妊娠が判明した場合には、② RCR検査等を速やかに行う。
 - ① 転帰
 - ② RCR検査
 - ③ LAM-PCR
 - ④ CAR遺伝子導入Tリンパ球血中動態
 - ⑤ HAMAテスト
- 2) day 84 以後の検査・観察についてはCAR 遺伝子導入 T リンパ球投与後 3 年間については、少なくとも2ヵ月に1回の頻度、5年間までは少なくとも6ヵ月に1回の頻度で行う。その後の検査・観察の頻度については、各担当医師の判断で行われるが、15年間は少なくとも年1回の頻度で行う。
- 3) 悪性腫瘍、血液疾患、自己免疫疾患、神経疾患の発症の有無についても観察する。
- 4) 検査項目は、1)で行う検査項目の他に血液学的検査、生化学的検査、免疫血清検査を行う。
- 5) 全ての長期追跡調査の結果は研究総括責任者が管理する。(IX. 5. 9. 1「記録の保存」を参照)
- 6) 研究総括責任者が病院を退職した場合には、自治医科大学附属病院長が指名した責任者が長期追跡調査の任にあたり、本遺伝子治療臨床研究との関連が否定できない有害事象が発生した場合は公表する。

IX. 5. 4. 2 検体等の取り扱い

「IX. 5. 4. 1」の検査で、臨床検査、骨髄検査等の通常診療で行われている検査及び血漿サイトカイン測定を目的とした検体に関しては匿名化を行わずに取り扱う。これらの検査データは、被験者の診療に用いる。CAR遺伝子導入Tリンパ球血中動態、LAM-PCR、

RCR検査、HAMAテスト（サンプリングを行い、必要時に検査を実施する）、Tリンパ球サブセット解析、制御性T細胞の解析の項目については免疫遺伝子細胞治療学講座研究室において検査を行う。患者検体は下記の方策により、個人情報の漏洩、混交、盗難、紛失が起らないように適切かつ整然と保管・管理する。

- (1) 研究用検体は連結匿名化を行う。一次登録を行う際に、個人情報管理室に匿名化の登録を行う。個人情報管理室は登録と同時に症例番号を割り振る。以後、検体等を保存する際には匿名化記号としてこれを用いる。

自治医科大学個人情報室室長：浜本 敏郎

匿名化登録時に収集するデータ

- (ア) 患者名、患者診療録ID
- (イ) 患者年齢、性別
- (ウ) 登録時診断
- (エ) 残余検体を用いた保存の可否

- ① 個人を識別する情報は、本研究の結果発表の際に一切使用されない。
 - ② 施錠されたフリーザー、液体窒素タンクにて細胞、DNA、RNAを保存する。
 - ③ 保管・管理・廃棄など検体保存に関する全ての業務は総括責任者の監督の下に行う。
 - ④ 検体の一部は以下に送付し、解析を行う。
 - ・ CAR遺伝子導入Tリンパ球血中動態、LAM-PCR、RCR検査等の解析：タカラバイオ
 - ・ 制御性T細胞の解析：大阪大学
- (2) 本研究実施中、または終了後に本臨床研究に関連する遺伝子異常が見いだされた場合には、本研究の残余検体を用いて付随研究(以下付随研究という)として解析を行う。
 - (3) 残余検体を用いた付随研究の実施に際しては、臨床研究に関する倫理指針(平成20年厚生労働省告示第415号)に従い、自治医科大学遺伝子解析倫理委員会での審査・承認と病院長への報告を必要とする。
 - (4) 付随研究の実施に関係する全ての研究者はヘルシンキ宣言、臨床研究に関する倫理指針およびヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針に従って研究を実施するとともに、本研究計画書に記載された残余検体を持ちいた付随研究に関する全ての事項を遵守することが求められる。
 - (5) 残余検体の保存に関する同意の撤回の申し出があった場合には、保存検体はオートクレーブ処理後廃棄される。
 - (6) 本研究終了後も残余検体は継続して保存されるため、臨床研究に関する指針に従い、

本研究総括責任者は本研究終了後に、下記の事項を自治医科大学附属病院長に報告する。下記の事項に変更が生じた場合も同様に報告を行う。

- ① 保存検体の名称：「CD19 特異的キメラ抗原受容体発現 T リンパ球を用いた難治性 B 細胞性悪性リンパ腫に対する遺伝子治療臨床研究」の被験者から採取した検体
- ② 検体の保管場所：自治医科大学免疫遺伝子細胞治療学(タカラバイオ)講座
- ③ 検体の管理責任者：大嶺 謙
- ④ 被験者から得た同意の内容：自治医科大学の倫理委員会で承認を得た説明・同意文書に記載された事項

IX. 5. 5 予測される副作用及びその対処方法

IX. 5. 5. 1 採血に伴う副作用

1) 血管迷走神経反射

精神的緊張、不安、体調不良等の要因により血管迷走神経反射が起こり約 10%の患者にめまいや吐気、嘔吐が出現する。重篤な場合は失神や血圧低下、徐脈、更に重篤な場合は失禁や痙攣、心停止を生じる。軽度の場合は採取を一時休止し下肢を挙上し点滴を行い経過観察する。症状が改善すれば採取速度を遅くし採取を再開する。症状が再燃する場合は採取を中止する。失神や痙攣、心停止など症状が重篤な場合は直ちに採取を中止する。補液、硫酸アトロピン、昇圧剤投与など必要な処置を行う。

IX. 5. 5. 2 CAR 遺伝子導入リンパ球輸注に伴う副作用

1) インフュージョン反応：輸注反応出現時の対処方法

T リンパ球の輸注中に Grade 1 のインフュージョン反応が発現した場合は、同じ速度で投与を継続する。発熱、悪寒に対してはアセトアミノフェン(カロナール)400 mg を経口投与及びジフェンヒドラミン(ベナ) 30 mg の経口投与または同相当量の抗ヒスタミン剤を静脈投与する。原則として、生命を脅かすほどの緊急時以外には、ステロイドの投与は行わない。Grade 2 のインフュージョン反応が発現した場合は、投与速度を 50%に減速して継続する。症状に対しては上記に順に対応する。Grade 3 のインフュージョン反応が発現した場合は、一時投与を中止する。症状に対して上記の対応を行い、症状が消失したら、50%の速度で投与を再開する。再開後、再び Grade 3 のインフュージョン反応が発現した場合は、以後の投与を中止する。Grade 4 のインフュージョン反応が発現した場合は、症状に対応すると共に、以後の投与は中止する。

2) 高サイトカイン血症

CAR 遺伝子導入 T リンパ球の輸注後、1 週間以内に高サイトカイン血症とそれに伴う発熱等の症状が出現する可能性がある。重篤化し、低血圧、呼吸不全、けいれん、意識障害等

が出現した症例も報告されている。この場合、高用量ステロイド療法やエタネルセプト(抗TNF α 薬)、トシリズマブ(抗IL-6レセプター抗体)等の抗サイトカイン療法を行う。

3) 輸注後低ガンマグロブリン血症と易感染性

CAR遺伝子導入Tリンパ球が有効に作用した場合、リンパ腫細胞ばかりでなく正常のBリンパ球もCD19を発現しているため、Bリンパ球数が極端に低下することが予想される。その結果、低ガンマグロブリン血症に原因する易感染性が惹起されることが考えられる。米国における臨床研究では、CAR遺伝子導入Tリンパ球の輸注後半年以上にわたり、正常Bリンパ球の低下が持続している症例が報告されている。

原発性免疫不全症候群患者における低ガンマグロブリン血症と感染症発症頻度の検討では、血清IgG値500mg/dL以下で、感染の危険性が高いことが報告されている。また、原発性免疫不全症候群に関する調査研究班による治療指針(難病情報センター; <http://www.nambyou.or.jp>)では、「血清IgGトラフ値を500mg/dL程度に維持することが望ましい」とされている。造血器腫瘍の治療においては、抗がん剤やリツキシマブの投与後、あるいは造血幹細胞移植後に低ガンマグロブリン血症がしばしば見られる。その際、感染症のリスクを減らすことを目的に免疫グロブリン製剤が投与されている。以上から、本臨床研究においても血清IgGトラフ値500mg/dL以上を維持するように免疫グロブリン製剤の投与を行う。

4) 腫瘍崩壊症候群

CAR遺伝子導入Tリンパ球の輸注により腫瘍崩壊症候群が発症し、電解質異常や高カリウム血症、及び急性腎不全、発熱や血圧低下が生じる可能性が報告されている。腫瘍崩壊症候群を発症した場合、自治医科大学血液科のマニュアルに基づき、治療を行う。

5) シクロホスファミド及びベンダムスチンの毒性

シクロホスファミド及びベンダムスチンによる骨髄抑制が高頻度で起こりうる。好中球数が1,000/ μ L未満に減少した場合、あるいは減少が予想される場合は、G-CSF(フィルグラスチム、レノグラスムまたはナルトグラスチム)を投与する。G-CSFは好中球数が1,500/ μ L以上に3日間連続するか、若しくは好中球数が5,000/ μ L以上に回復するまで投与する。血小板減少が生じた場合、厚生労働省の「血液製剤の使用指針」に基づき、血小板数2万/ μ L以上を保つことを目途に濃厚血小板を輸血する。

シクロホスファミドによる心毒性と出血性膀胱炎、SIADHや2次発がんの頻度は低いと言われているが、本臨床研究参加中は慎重に経過を観察する。

6) 自己免疫疾患の発生

CAR遺伝子導入Tリンパ球は被験者由来の細胞であり、またCD19は造血細胞以外の細胞での発現がないため、自己免疫反応が発症する危険性は極めて低いと考えられる。しかし遺伝子導入後、自己の抗原に対してanergyであったTリンパ球が活性化され、自己免疫反応が惹起される可能性がある。この場合、ステロイド等を用いた免疫抑制療法を行うことがある。

7) レトロウイルスベクターを用いる危険性

「VII. 1. 3 増殖性ウイルス出現の可能性」に記載のとおり、本臨床研究においてはRCRが出現する可能性は極めて低いと考えられるが、完全には否定できない。よって、本臨床研究では被験者体内におけるRCR出現をRT-PCR法によってモニタリングすることにより、評価を行う予定である。

「VII. 1. 8 がん原性の有無」に記載のとおり、レトロウイルスベクターで遺伝子導入したTリンパ球を投与することによるがん化の危険性は極めて低いと考えられるが、完全には否定できない。よって、本臨床研究では遺伝子導入細胞の被験者体内におけるクローン増殖をLAM-PCRによってモニタリングすることにより、評価を行う予定である。万が一、異常増殖が認められた場合には、当該クローンの遺伝子組込み位置の同定や染色体検査等を行うとともに化学療法等の最善の治療を行う。

IX. 5. 6 遺伝子治療臨床研究の評価方法、評価基準及び中止判定基準

CAR遺伝子導入Tリンパ球を輸注された全被験者は、主要評価項目、副次的評価項目について解析する。

本臨床研究に一次登録を行ったが、以下の理由によりCAR遺伝子導入Tリンパ球を輸注されなかった被験者群についても別に解析する。

1. 遺伝子導入及び増幅過程で、CAR遺伝子導入Tリンパ球が十分に得られなかった場合
2. 一次登録と輸注の間に、原疾患の病状進行が急速に悪化し、臨床的にCAR遺伝子導入Tリンパ球の輸注が不適格であると判断された場合、または死亡した場合
3. 被験者が同意を撤回した場合

IX. 5. 6. 1 主要評価項目

1. 被験者リンパ球から作製したCAR遺伝子導入Tリンパ球の検定。CAR遺伝子導入Tリンパ球における遺伝子導入効率、Tリンパ球生存率、無菌性、機能进行评估する。
2. 本臨床試験に関連した有害事象の評価(有害事象の定義については「IX. 5. 7. 1 有害事象が発現した場合」を参照)として次のことを行う。
 - (1) 正常Bリンパ球の減少の有無の確認及び被験者血清中の免疫グロブリン(IgG, IgA, IgM)濃度の測定を行う。正常Bリンパ球の検査はフローサイトメトリーを用いる。正常Bリンパ球マーカーとしてはCD19を用いるが、末梢血に腫瘍細胞が存在する症例については各症例の腫瘍細胞が付加的に発現しているCD5やCD10等のマーカーを併せて用い、正常Bリンパ球と腫瘍細胞とを区別する。本臨床研究で対象となる非ホジキンリンパ腫は、腫瘍細胞に発現するマーカーが組織系によって異なるため、用いるマーカーは症例毎に担当医師が決定する。
 - (2) レトロウイルスベクターの安全性を確認するためにRCR検査を行う。

- (3) 挿入変異によるクローナルな細胞増殖及び発がんを監視するためにFACS解析や定量的PCR及びLAM-PCR検査を行う。

IX. 5. 6. 2 副次的評価項目

1. CAR遺伝子導入Tリンパ球の抗腫瘍効果
 - (1) 抗腫瘍効果の判定を判定する。判定は、悪性リンパ腫効果判定基準を用いる。
(「X. 6 悪性リンパ腫効果判定基準 (Revised response criteria for malignant lymphoma)」参照)
 - (2) 治療前、腫瘍細胞が末梢血または骨髄中で検出可能だった場合には、細胞表面マーカー、染色体分析、FISH法、PCR法を用いてMRDの有無を判定する。
 - (3) 全生存率 (OS) と無増悪生存期間 (PFS) を判定する。
2. CAR遺伝子導入Tリンパ球のサブセット解析
3. HAMAテスト: CAR遺伝子導入Tリンパ球の免疫原性を検討するため、被験者血清中のHAMAを検索する。

なお、治療後に腫瘍組織またはリンパ節、骨髄の生検可能な病変を有し、侵襲的検査のリスクが少ないと判断される場合、生検を行う。生検検体については一部を用いて、病理組織学的に腫瘍細胞へのCAR遺伝子導入Tリンパ球の集積を評価する。病理組織学的に腫瘍細胞へのCAR遺伝子導入Tリンパ球の集積を評価する。検査は免疫遺伝子細胞治療学講座研究室及び共同研究機関にて行う。患者検体は「IX. 5. 4. 2 検体等の取り扱い」で示した手順により保管・管理する。

IX. 5. 6. 3 各被験者における臨床研究の中止基準

以下のいずれかの場合、臨床研究を中止する。なお、中止例については、出来るだけ早い時期に可能な限り中止時の検査をすべて行うとともに、中止日、中止理由を調査する。

- 1) 以下によりプロトコール治療無効と判断された場合
 - ・ 治療開始後に原病の増悪が認められた場合
- 2) 有害事象によりプロトコール治療が継続できない場合
- 3) 有害事象との関連が否定できない理由により、被験者がプロトコール治療の中止を申し出た場合
 - ・ 有害事象との関連が否定できない場合はこの分類を用いる。
- 4) 有害事象との関連が否定できる理由により、被験者がプロトコール治療の中止を申し出た場合
 - ・ 本人や家人の転居など、有害事象との関連がまず否定できる場合のみこの分類を用いる。
- 5) プロトコール治療中の死亡

- ・ 他の理由によりプロトコール治療中止と判断する以前の死亡
- 6) その他、総括責任者または分担研究者が本臨床研究の中止が必要と判断した場合
- ・ 登録後治療開始前の増悪（急速な増悪によりプロトコール治療が開始できなかった）、プロトコール違反が判明、登録後の病理診断変更などにより不適格性が判明して治療を変更した場合など

IX. 5.7 有害事象が発現した場合の措置

IX. 5.7.1 有害事象が発現した場合

有害事象とは、治療や処置に際して被験者に生じたあらゆる好ましくない意図しない徴候（臨床検査値の異常も含む）、症状、疾患であり、治療や処置との因果関係は問わない。すなわち因果関係があると判断されるものと、因果関係ありと判断されないものの両者を含む。

安全性データをもれなく収集するために、臨床試験参加への文書による同意取得後に生じた有害事象や好ましくない出来事は、臨床研究の手順の一部が実施されていれば、全て報告しなければならない。なお、本臨床研究においては、個々の被験者の前処置開始時から研究期間の終了までを安全性データ収集の対象期間とする。

本臨床試験の適応となる疾患の徴候や症状については、その性質が著しく変化したとき、あるいは担当医師が被験者の既往歴や観察期間から取得した臨床経過と比較してその頻度や重症度が臨床的に著明に増加したと判断した場合にのみ、有害事象として記録する。また、本臨床試験開始前より存在した他の慢性的または断続的な疾患についても同様に扱う。

本臨床研究で行われた治療や処置に対するあらゆる好ましくないあるいは意図しない反応（臨床検査値の異常変動を含む）のうち、因果関係が否定できない反応を副作用と定義する。

総括責任者又は分担研究者は、有害事象に対する処置が必要になったことを知った場合、被験者にその旨を伝える。また、総括責任者又は分担研究者は、有害事象の発現に際して適切な処置を施し、被験者の安全確保に留意し、その原因究明に努める。

また、以下の分類を用いて、症例報告書に記入する。

1) 有害事象名と有害事象の程度

有害事象名：総括責任者または担当医師は、個々の症状または徴候ではなく、Common Terminology Criteria for Adverse Events (CTCAE) v4.0 - May 28, 2009 (v4.03-Jun 14, 2010、JCOG/JSCO版：日本語表記MedDRA/J v13.1対応 - 2010年9月11日)に従い可能な限り診断名あるいは症候群名を用いて有害事象の報告を行う。また、症例報告書に記入する事象名は診療録等の原資料と一致させる。

発現日（時）：有害事象が発現した日時を記入する。

程度（Grade）：有害事象の重症度。CTCAE v4.0 による。

2) 因果関係

臨床研究との因果関係は被験者の状態、既往歴、併用薬剤及び発症の時間的關係などを考慮し、以下の4段階で判定する。因果関係が否定できないもの、すなわち①～③と判定されたものを「副作用」として取り扱う。また、いずれの場合も、判定した根拠を症例報告書のコメント欄に記入する。

因果関係判定基準（参考）

- ① 明らかに関連あり：本研究における治療と時間的に明白な関係があり、その治療に既知（基礎実験及び今までの臨床試験）の反応を示す場合
- ② 多分関連あり：本研究における治療と時間的に明白な関係があり、その治療の作用から予想される反応を示し、かつ被験者の既往などの要因が否定され、治療との関連性が否定できない場合
- ③ 関連ないともいえない：本研究における治療と時間的に明白な関係があり、被験者の既往などの本治療以外の要因も推定されるが、本治療による可能性も除外できない場合
- ④ 関連なし：本研究における治療と時間的に関係がないと判断される場合、または本治療に関連ないとする情報がある場合

3) 経過

有害事象（症状及び臨床検査値異常変動）の経過は、以下の5段階で判定する。

経過判定基準（参考）

- 消失：症状の消失、検査値の正常化あるいは投与前値への回復が認められたもの
- 軽快：程度が軽減したもの、あるいは症状に改善傾向が認められたもの
- 不変：症状や検査値に変化がないもの
- 悪化：症状や検査値の増悪があるもの
- 追跡不能：消失または軽快することなく追跡不能となった場合

IX. 5. 7. 2 重篤な有害事象が発現した場合

重篤な有害事象の定義は下記の6分類に従う。

【重篤な有害事象の定義】

1. 死に至るもの
2. 生命を脅かすもの
3. 治療のための入院または入院期間の延長が必要となるもの

4. 永続的または顕著な障害・機能不全に陥るもの
5. 先天異常を来すもの
6. その他の医学的に重要な状態と判断される事象または反応

この場合において、直ちに生命を脅かしたり死や入院に至らなくとも、被験者を危機にさらすおそれがあったり、または上記の定義に挙げられているような結果に至らないように処置や治療が必要となるような重要な医学的事象は重篤であると判断すべきであり、そのような状態か否かについては医学的及び科学的根拠に基づいて判断する必要がある。

重篤な有害事象が発現した場合、総括責任者又は分担研究者は、「IX. 5. 7. 1 有害事象が発現した場合」の対応に加え、本臨床研究との因果関係に係らず、自治医科大学附属病院の規定に従い、速やかに自治医科大学附属病院長に報告する。報告を受けた病院長はその有害事象が重篤で予測できない場合には、治療研究の継続の可否について施設内遺伝子治療臨床研究審査委員会の意見を求める。また、総括責任者またはその他の研究者は本臨床研究との因果関係の否定できない重篤な有害事象発現から速やかに、病院長を介して厚生労働省に連絡することとする。遺伝子治療臨床研究の実施に影響をおよぼすおそれがある情報を得た場合にも、速やかに厚生労働省に報告を行う。

なお、臨床研究期間中あるいは終了後に対象被験者が死亡したときには、死亡原因の特定及び治療の病理学的評価を行うため、死亡原因の如何を問わず剖検を行うよう努力する。また、臨床研究終了後も総括責任者またはその他の研究者は本臨床研究との因果関係の否定できない重篤な有害事象発現から速やかに、病院長を介して厚生労働省に連絡することとする。遺伝子治療臨床研究の実施に影響をおよぼすおそれがある情報を得た場合にも、速やかに厚生労働省に報告を行う。被験者に対しても、本治療の開始前にその可能性について説明を行っておく。

IX. 5. 8 症例記録に関する記録用紙等の様式

本臨床研究で扱う被験者の診療記録をはじめとする個人情報、主として病状経過観察、本臨床研究の緊急事態発生のための連絡など、被験者の生命を守るために用いる。その診療記録は、自治医科大学附属病院における医療情報記録として指定された様式で記録され、研究の中止若しくは終了の後、15年間保存される。

IX. 5. 9 記録の保存及び成績の公表の方法

IX. 5. 9. 1 記録の保存

本臨床研究に関する記載のすべては、治療中においては、総括責任者が病院内にて管理し、終了後は症例毎に、総括責任者が保存する。保存期間に関しては、本臨床研究の特殊

性に鑑み、15 年間とする。各輸注レベル終了の 4～8 週間後に、病院長及び遺伝子治療臨床研究審査委員会審査委員長にその結果を報告し、遺伝子治療臨床研究審査委員会審査委員長が必要性を認めた場合には、随時遺伝子治療臨床研究審査委員会にて審議する。また、本臨床研究実施期間中は本臨床研究に対する遺伝子治療臨床研究審査委員会を 6 ヶ月毎に実施し、その継続の可否についても検討する。3 年間の遺伝子治療実施期間終了後あるいは、期間中であっても審査委員会にて本臨床研究の中止が決定された場合には、速やかに病院長より、厚生労働省及び文部科学省に報告する。なお、その間の被験者やその家族のプライバシーに関してはこれを厳守する。

IX. 5. 9. 2 成績の公表の方法

- (1) 遺伝子治療臨床研究に関する指針に基づき、自治医科大学附属病院長は、遺伝子治療臨床研究に関する情報の適切かつ正確な公開に努めるものとする。
- (2) 本研究の結果は、本研究に用いた技術の厚生労働省への製造（輸入）販売承認申請における参考資料として使用する。また、本臨床研究から得られたデータを学会などで発表、論文として医学雑誌などに発表する場合がある。なお、承認後、結果の一部を添付文書及びインタビューフォームに記載することがあるが、それ以外の目的には使用しない。また、前記の資料に公表する場合にあっても被験者のプライバシーは確保される。

IX. 5. 10 個人情報の保護の徹底

被験者のプライバシー保護と秘密の保全に関しては、「自治医科大学附属病院の患者等の個人情報保護に関する取扱要領」ならびに「自治医科大学附属病院の患者等の個人情報保護に関する規定」を遵守することとする。以下、これらの文書から要点となる事項を転記する。

(1) 実施施設での安全管理措置

- ① 自治医科大学附属病院は、個人情報の適切な管理を図るため、次の各号に掲げる管理者等を置く。
 - A 個人情報保護管理者：病院長
 - B 個人情報保護管理補助者：病院事務部長
 - C 個人情報保護取扱責任者：各科診療科長
- ② 自治医科大学附属病院は、個人情報の適切な取扱に関する事項を審議するため、附属病院個人情報保護検討委員会を置く。
- ③ 個人情報の安全管理措置として、物理的・人的・技術的な安全管理措置を講じることとする。

A 物理的安全管理措置：個人情報を保管している部屋には必ず施錠する。ファイル・台帳・USB 等は鍵のついた棚や書庫、机の引き出し、金庫などに保管し施錠する。

B 人的安全管理措置：個人の所有するパソコン、USB、ノートなどの記録媒体には個人情報を登録しない。やむを得ない事情により個人のパソコン等に個人情報を登録するときは、「個人のパソコン等への個人情報登録許可申請書」に必要事項を記載し、管理者に申請し許可を得ることとする。

個人のパソコン等に個人情報を登録するときはできるだけ匿名化を図る。

C 技術的安全管理措置：個人情報保管したパソコン、システム等については、ウイルス対策ソフト等の安全管理措置を講じる。

④ 自治医科大学附属病院は、患者等から得た個人情報をあらかじめ本人の同意を得ないで第三者に提供してはならない。ただし、次のいずれかに該当するときはこの限りではない。

A 法令に基づくとき。

B 人の生命、身体または財産の保護のために必要がある場合であって本人の同意を得ることが困難であるとき。

C 公衆衛生の向上または児童の健全な育成の推進のために特に必要がある場合であって、本人の同意を得ることが困難であるとき。

D 国の機関若しくは地方公共団体またはその委託を受けた者が法令の定める事務を遂行することに対して協力する必要がある場合であって本人の同意を得ることにより当該事務の遂行に支障をおよぼすおそれがあるとき。

E 患者への医療の提供に必要であり、かつ、個人情報の利用目的として院内掲示等により患者等に明示してあるとき。

⑤ 自治医科大学附属病院は、個人情報または個人情報が記録されている媒体を廃棄する場合には、復元または判読が不可能な方法により、当該情報の消去または当該媒体の廃棄を行わなければならない。

A 紙ファイル、台帳等の廃棄についてはシュレッダーによる廃棄または専用業者による廃棄とする。専用業者による廃棄を行うときは必ず病院職員立ち会いのもと行う。

B フロッピーディスク、USB 等の電子記録媒体については、保存されているデータを全て消去した上で粉砕などの物理的な廃棄を行う。

⑥ 自治医科大学附属病院の職員及び学校法人自治医科大学と雇用関係にある者で病院に勤務する職員は、個人情報を適切に取り扱い、業務上知り得た個人情報を漏洩し、または不当な目的に使用してはならない。また、その職を退いた後も同様とする。

⑦ 自治医科大学附属病院の職員等は、誤り、犯罪行為、システムエラー等による個人情報の漏洩等の事故を発見したときは直ちに取扱責任者に報告すること。取扱責任者が不在のときは、管理者または管理補助者に報告すること。

⑧ 自治医科大学附属病院の患者及び患者の家族等の個人情報に関する取扱に関する庶務は、経営管理課が行う。

(2) 本研究における個人情報の保護

本臨床研究の遂行における個人情報の利用・取り扱いについては、総括責任者は予め被験者の個人情報の利用を公開している場合を除き、速やかに、その利用目的を被験者等に通知し、又は公表しなければならない。本臨床研究で扱う被験者の診療記録をはじめとする個人情報は、主として年齢、病状経過観察、検査データ、本臨床研究の緊急事態発生のための連絡など、被験者の生命を守るために用いる。その他特別の目的で使用する場合は、事前に被験者に再度説明し了解を得てから使用する。また、本臨床研究の成果検討時や医療向上のためなどを目的に試験成績などを公表・公開する場合は、個人を特定できない形すなわち個人情報を保護して公開する。これらのことは、被験者への同意説明文書中に記載し、被験者へ個人情報の保護および使用目的について通知し同意を得る計画とした。被験者の同意取得は、自由意思によるものであり、臨床研究に参加しない場合であっても被験者の不利益はない。このことは医学研究を行う上で大切な倫理であるため、本臨床研究では、これらのことを同意説明文書に記載し、被験者へ通知している。総括責任者は利用目的の達成に必要な範囲において、個人情報を正確かつ最新の内容に保つよう努めなければならない。

自治医科大学においては、個人情報は、「個人情報の保護に関する法律」（平成15年5月30日法律第57号）にしたがって厳重に取り扱い、外部に漏れることのないようにする。

(3) 第三者提供の制限

総括責任者は、「遺伝子治療臨床研究に関する指針」第六章第九で掲げる内容に従い、あらかじめ被験者の同意を得ずに個人情報を第三者に提供してはならない。

本臨床研究では、外部協力者としてタカラバイオが「レトロウイルスベクターの製造や品質管理、CAR 遺伝子導入 T リンパ球の調製技術の提供・助言と遺伝子導入 T リンパ球製剤の体内動態検査、RCR 検査及び LAM-PCR に関する技術提供」、大阪大学が「制御性 T 細胞の解析」に限定し、間接的に関与する。したがって、タカラバイオ及び大阪大学の担当者が研究協力のために一部データを閲覧する予定であるが、個人を特定できない措置を講じて個人情報を保護する。なお、被験者を特定する情報については、総括責任者が厳重に管理するものとする。また、事前にその旨を被験者に通知し、文書にて同意を取得する（一部データとは、ウイルスベクター及び遺伝子導入 T リンパ球の調製に限定されたものであり、本臨床研究のデータの客観的かつ公正な記録はその意向に影響を受けることはない）。その他第三者への個人情報の提供は予定していないが、第三者への個人情報の提供を行う場合には、適切な目的であることを確認し、「遺伝子治療臨床研究に関する指針」第六章第九に従い、その旨を被験者へ通知する。

(4) 個人情報の開示

総括責任者は、保有する個人情報に関し、次に掲げる事項について、被験者等の知り得る状態にしなければならない。

- 1) 臨床研究実施機関の名称
- 2) 個人情報の利用目的
- 3) 個人情報の開示に関する手続き
- 4) 苦情の申し出先

本臨床研究においては、上記事項についての手続きが出来ること、手続きの方法を同意・説明文書に明記した。また、手続きの詳細は自治医科大学の保有する個人情報管理規程に従い、被験者に説明する。

総括責任者は被験者から当該被験者が識別される保有する個人情報についての開示について、自治医科大学の保有する個人情報管理規程に従い求めがあった場合は、遅滞なく必要な対応を行う他、対応結果について被験者に通知しなければならない。

さらに、自治医科大学では個人情報に関する問い合わせ・相談・苦情の窓口を設置し、被験者からの苦情や問い合わせ等に適切かつ迅速に対応できる体制を整えている。

【個人情報に関する問い合わせ・相談・苦情の窓口】

個人情報の保護に関する事項：自治医科大学附属病院経営管理課

(電話 0285-58-7103)

診療情報の開示に関する事項：自治医科大学附属病院医事課

(電話 0285-58-7115)

X. その他必要な事項

X.1 遵守する法令/省令等

本遺伝子治療臨床研究は、以下の法令/省令等を遵守して実施される。

1. 「遺伝子治療臨床研究に関する指針」
(平成 14 年文部科学省・厚生労働省告示第一号、平成 16 年 12 月 28 日全部改正、平成 20 年 12 月 1 日一部改正)
2. 「臨床研究に関する倫理指針」
(厚生労働省告示第四百十五号、平成 20 年 7 月 31 日)
3. 「遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物多様性の確保に関する法律」
(平成 15 年 6 月 18 日法律第 97 号)

X.2 参考文献

1. McKelvey EM, Gottlieb JA, Wilson HE, et al. Hydroxyldaunomycin (Adriamycin) combination chemotherapy in malignant lymphoma. *Cancer* 38(4):1484-1493, 1976.
2. Fisher RI, Gaynor ER, Dahlborg S, et al. Comparison of a standard regimen (CHOP) with three intensive chemotherapy regimens for advanced non-Hodgkin's lymphoma. *N Engl J Med* 328(14):1002-1006, 1993.
3. Pfreundschuh M, Trümper L, Osterborg A, et al. CHOP-like chemotherapy plus rituximab versus CHOP-like chemotherapy alone in young patients with good-prognosis diffuse large-B-cell lymphoma: a randomised controlled trial by the MabThera International Trial (MINT) Group. *Lancet Oncol* 7(5): 379-391, 2006.
4. Rummel MJ, Al-Batran SE, et al. Bendamustine plus rituximab is effective and has a favorable toxicity profile in the treatment of mantle cell and low-grade non-Hodgkin's lymphoma. *J Clin Oncol* 23(15):3383-3389, 2005
5. Tobinai K, Watanabe T, et al. Japanese phase II study of 90Y-ibritumomab tiuxetan in patients with relapsed or refractory indolent B-cell lymphoma. *Cancer Sci* 100(1):158-164, 2009.
6. Rohatiner AZ, Lister TA, et al. The clinical course of follicular lymphoma. *Best Pract Res Clin Haematol.* : 18(1):1-10, 2005.
7. Fisher RI, LeBlanc M, Press OW, et al. New treatment options have changed the survival of patients with follicular lymphoma. *J Clin Oncol* 23: 8447-8452, 2005.
8. Chang JE, Kahl BS. Current status of targeted therapies for mantle cell lymphoma. *Drugs* 71(17):2307-2326, 2011.
9. Romaguera JE, Fayad LE, Feng L, et al. Ten-year follow-up after intense chemoimmunotherapy with Rituximab-HyperCVAD alternating with Rituximab-high dose methotrexate/cytarabine (R-MA) and without stem cell transplantation in patients with untreated aggressive mantle cell lymphoma. *Br J Haematol* 150(2):200-208, 2010.
10. Philip T, Guglielmi C, Hagenbeek A, et al. Autologous bone marrow transplantation as compared with salvage chemotherapy in relapses of chemotherapy-sensitive non-Hodgkin's lymphoma. *N Engl J Med* 333(23):1540-1545, 1995.
11. Schouten HC, Qian W, et al. High-dose therapy improves progression-free survival and survival in relapsed follicular non-Hodgkin's lymphoma: results from the randomized European CUP trial. *J Clin Oncol* 21(21):3918-3927, 2003.
12. Peniket AJ, Ruiz de Elvira MC, et al. An EBMT registry matched study of allogeneic stem cell transplants for lymphoma: allogeneic transplantation is associated with

- a lower relapse rate but a higher procedure-related mortality rate than autologous transplantation. *Bone Marrow Transplant* 31(8):667-678, 2003.
13. Lazarus HM, Zhang MJ, et al. A comparison of HLA-identical sibling allogeneic versus autologous transplantation for diffuse large B cell lymphoma: a report from the CIBMTR. *Biol Blood Marrow Transplant* 16(1):35-45, 2010.
 14. Bacher U, Klyuchnikov E, et al. Conditioning regimens for allotransplants for diffuse large B-cell lymphoma: myeloablative or reduced intensity? *Blood* 120(20):4256-4262, 2012.
 15. Armand P, Kim HT, et al. Allogeneic transplantation with reduced-intensity conditioning for Hodgkin and non-Hodgkin lymphoma: importance of histology for outcome. *Biol Blood Marrow Transplant* 14(4):418-425, 2008.
 16. Mandigers CM, Verdonck LF, et al. Graft-versus-lymphoma effect of donor lymphocyte infusion in indolent lymphomas relapsed after allogeneic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 32:1159-1163, 2003.
 17. van Besien KW, de Lima M, Giralt SA, et al. Management of lymphoma recurrence after allogeneic transplantation: the relevance of graft-versus-lymphoma effect. *Bone Marrow Transplant* 19:977-982, 1997.
 18. Bloor AJ, Thomson K, Chowdhry N, et al. High response rate to donor lymphocyte infusion after allogeneic stem cell transplantation for indolent non-Hodgkin lymphoma. *Biol Blood Marrow Transplant* 14:50-58, 2008.
 19. van Besien K, Loberiza FR, Jr., Bajorunaite R, et al. Comparison of autologous and allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for follicular lymphoma. *Blood* 102:3521-3529, 2003.
 20. Hari P, Carreras J, Zhang M J, et al. Allogeneic transplants in follicular lymphoma: higher risk of disease progression after reduced-intensity compared to myeloablative conditioning. *Biol Blood Marrow Transplant* 14:236-245, 2008.
 21. Avivi I, Montoto S, Canals C, et al. Matched unrelated donor stem cell transplant in 131 patients with follicular lymphoma: an analysis from the Lymphoma Working Party of the European Group for Blood and Marrow Transplantation. *Br J Haematol* 147:719-728, 2009.
 22. 注射用シクロホスファミド 2010 年 6 月(改訂第 5 版), 医薬品インタビューフォーム
 23. トレアキシシン点滴静注用 100mg 2012 年 5 月改訂(第 3 版), 医薬品インタビューフォーム
 24. Brentjens RJ, et al. Safety and persistence of adoptively transferred autologous CD19-targeted T cells in patients with relapsed or chemotherapy refractory B-cell

- leukemias. *Blood* 118: 4817- 4828, 2011.
25. Brentjens RJ, Davila ML, Riviere I, et al. CD19-Targeted T Cells Rapidly Induce Molecular Remissions in Adults with Chemotherapy-Refractory Acute Lymphoblastic Leukemia. *Sci Transl Med.* :5(177):177ra38, 2013.
 26. Porter D L, et al. Chimeric antigen receptor-modified T cells in chronic lymphoid leukemia. *N Engl J Med* 365: 725-733, 2011.
 27. Kalos M, et al. T cells with chimeric antigen receptors have potent antitumor effects and can establish memory in patients with advanced leukemia. *Sci Transl Med* 3: 95ra73, 2011.
 28. Grupp SA, Kalos M, et al. Chimeric Antigen Receptor-Modified T Cells for Acute Lymphoid Leukemia. *N Engl J Med.* 2013. on line.
 29. Kochenderfer J N, et al. B-cell depletion and remissions of malignancy along with cytokine-associated toxicity in a clinical trial of anti-CD19 chimeric-antigen-receptor-transduced T cells. *Blood* 119:2709-2720, 2012.
 30. Savoldo B, et al. CD28 costimulation improves expansion and persistence of chimeric antigen receptor-modified T cells in lymphoma patients. *J Clin Invest* 121: 1822-1826, 2011.
 31. Ohmachi K, Ando K, Ogura M, et al. Multicenter phase II study of bendamustine for relapsed or refractory indolent B-cell non-Hodgkin lymphoma and mantle cell lymphoma. *Cancer Sci* 101(9):2059-2064, 2010.
 32. Damaj G, Gressin R, Bouabdallah K, et al. Results from a prospective, open-label, phase II trial of Bendamustine in refractory or relapsed T-cell lymphomas: The BENTLY trial. *J Clin Oncol/* 2012 Oct 29
 33. Klebanoff CA, Khong HT, Antony PA, et al. Sinks, suppressors and antigen presenters: how lymphodepletion enhances T cell-mediated tumor immunotherapy. *Trends Immunol* 26(2): 111-117, 2005.
 34. Ma J, Urba WJ, Si L, Wang Y, et al. Anti-tumor T cell response and protective immunity in mice that received sublethal irradiation and immune reconstitution. *Eur J Immunol* 33(8):2123-2132, 2003.
 35. Wang LX, Shu E, et al. Host lymphodepletion augments T cell adoptive immunotherapy through enhanced intratumoral proliferation of effector cells. *Cancer Res* 65(20):9547-9554, 2005.
 36. Baba J, Watanabe S, et al. Depletion of radio-resistant regulatory T cells enhances antitumor immunity during recovery from lymphopenia. *Blood* 120:2417-2427, 2012.

37. Kochenderfer JN, Yu Z, et al. Adoptive transfer of syngeneic T cells transduced with a chimeric antigen receptor that recognizes murine CD19 can eradicate lymphoma and normal B cells. *Blood* 116, 3875-3886, 2010.
38. Pegram HJ. et al. Tumor-targeted T cells modified to secrete IL-12 eradicate systemic tumors without need for prior conditioning. *Blood* 119, 4133-4141, 2012.
39. Blaese RM, Culver KW, Miller AD, et al. T lymphocyte-directed gene therapy for ADA-SCID: initial trial results after 4 years. *Science* 270:475-480, 1995.
40. Onodera M, Ariga T, Kawamura N, et al. Successful peripheral T-lymphocyte-directed gene transfer for a patient with severe combined immune deficiency caused by adenosine deaminase deficiency. *Blood* 91:30-36, 1998.
41. Riddell SR, Elliott M, Lewinsohn DA, et al. T-cell mediated rejection of gene-modified HIV-specific cytotoxic T lymphocytes in HIV-infected patients. *Nat Med* 2:216-23, 1996.
42. Heslop HE, Ng CY, Li C, et al. Long-term restoration of immunity against Epstein-Barr virus infection by adoptive transfer of gene-modified virus-specific T lymphocytes. *Nat Med* 2:551-555, 1996.
43. Dunbar C, Kohn D. Retroviral mediated transfer of the cDNA for human glucocerebrosidase into hematopoietic stem cells of patients with Gaucher disease. A phase I study. *Hum Gene Ther* 7:231-253, 1996.
44. Toneguzzo F, Hayday AC, Keating A. Electric field-mediated DNA transfer: transient and stable gene expression in human and mouse lymphoid cells. *Mol Cell Biol* 6:703-706, 1986.
45. Ohtani K, Nakamura M, Saito S, et al. Electroporation: application to human lymphoid cell lines for stable introduction of a transactivator gene of human T-cell leukemia virus type I. *Nucleic Acids Res* 17:1589-1604, 1989.
46. Harui A, Suzuki S, Kochanek S, et al. Frequency and stability of chromosomal integration of adenovirus vectors. *J Virol* 73:6141-6146, 1999.
47. Hanazono Y, Brown KE, Dunbar CE. Primary T Lymphocytes as Targets for Gene Therapy. *J Hematother Stem Cell Res* 9:611-622, 2000.
48. Miller AD, Garcia JV, von Suhr, et al. Construction and properties of retrovirus packaging cells based on gibbon ape leukemia virus. *J Virol* 65:2220-2224, 1991.
49. Bunnell BA, Muul LM, Donahue RE, et al. High-efficiency retroviral-mediated gene transfer into human and nonhuman primate peripheral blood lymphocytes. *PNAS* 92(17):7739-7743, 1995.
50. 渡辺 格、福見秀雄 編集. ウイルスの研究 181, 1984.

51. Weiss R, et al. RNA TUMOR VIRUSES, 901-911, 1982.
52. Kim S, Lee K, Kim MD, et al. Factors affecting the performance of different long terminal repeats in the retroviral vector. *Biochem Biophys Res Commun* 343(4):1017-1022, 2006.
53. 改訂版 早川堯夫 監修、バイオ医薬品の開発と品質・安全性確保. 第2部、第2章、第2節 レトロウイルスベクター, 578-598, 2007.
54. Chong H, Vile RG. Replication-competent retrovirus produced by a 'split-function' third generation amphotropic packaging cell line. *Gene Therapy* 3:624-629, 1996.
55. Takeuchi Y, Cosset FL, Lachmann PJ, et al. Type C retrovirus inactivation by human complement is determined by both the viral genome and the producer cell. *J Virol* 68:8001-8007, 1994.
56. Hacein-Bey-Abina S, Von Kalle C, Schmidt M, et al. LMO2-associated clonal T cell proliferation in two patients after gene therapy for SCID-X1. *Science* 302:415-419, 2003.
57. Check E. Gene therapy put on hold as third child develops cancer. *Nature* 433:561, 2005.
58. Commentary from the Board of the European Society of Gene and Cell Therapy (ESGCT) Fourth case of leukaemia in the first SCID-X1 gene therapy trial, and the diversity of gene therapy.
59. Recommendations of the Gene Therapy Advisory Committee/Committee on Safety of Medicines Working Party on Retroviruses. *Hum Gene Ther* 16:1237-1239, 2005.
60. Thrasher A and Gaspar B. Severe Adverse Event in Clinical Trial of Gene Therapy for X-SCID. (http://www.esgct.org/upload/X-SCID_statement_AT.pdf) December 18, 2007.
61. Board of the European Society of Gene and Cell Therapy, Executive Committee of the Clinigene Network of Excellence, Executive of the Consort Integrated Project. Case of Leukaemia Associated with X-Linked Severe Combined Immunodeficiency Gene Therapy Trial in London. *Hum Gene Ther* 19(1):3-4, 2008.
62. Williams DA. An international conversation on Stem Cell Gene Therapy. 4th Stem Cell Conference on Stem Cell Gene Therapy, Thessaloniki, Greece, 13-17 *Mol Ther* 15(12):2058-2059, 2007.
63. Fischer A and Cavazzana-Calvo M. Gene therapy of inherited diseases. *Lancet* 371:2044-2047, 2008.
64. Grez M, Reichenbach J, Schwäble J, et al. Gene Therapy of Chronic Granulomatous Disease: The Engraftment Dilemma 19(1):28-35, 2011.

65. Rivat C, Santilli G, Gaspar HB, et al. Gene Therapy for primary immunodeficiencies(PIDs). *Hum Gene Ther* 23(7):668-675, 2012.
66. Avedillo DI, Zychlinski D, Coci EG, et al. Development of novel efficient SIN vectors with improved safety feature for Wiskott-Aldrich Syndrome stem cell based gene therapy. *Mol Pharm* 8: 1525-1537, 2011.
67. Aiuti A, Cattaneo F, Galimberti S, et al. Gene therapy for immunodeficiency due to adenosine deaminase deficiency. *N Engl J Med* 360(5):447-458, 2009.
68. Morgan RA, Dudley ME, Wunderlich JR, et al. Cancer regression in patients after transfer of genetically engineered lymphocytes. *Science* 314(5796):126-129, 2006.
69. Johnson LA, Morgan RA, Dudley ME, et al. Gene therapy with human and mouse T-cell receptors mediates cancer regression and targets normal tissues expressing cognate antigen. *Blood* 114(3):535-546, 2009.
70. Robbins PF, Morgan RA, Feldman SA, et al. Tumor regression in patients with metastatic synovial cell sarcoma and melanoma using genetically engineered lymphocytes reactive with NY-ESO-1. *J Clin Oncol* 29(7):917-924, 2011.
71. Considerations from the Gene Therapy Discussion Group meeting June 10, 2004 (Revised in February 2005)
72. Baum C, Kustikova O, Modlich U, et al. Mutagenesis and oncogenesis by chromosomal insertion of gene transfer vectors. *Hum Gene Ther* 17:253-263, 2006.
73. Recchia A, Bonini C, Magnani Z, et al. Retroviral vector integration deregulates gene expression but has no consequence on the biology and function of transplanted T cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 103:1457-1462, 2006.
74. Kamata Y, Takahashi Y, et al. Local implantation of autologous mononuclear cells from bone marrow and peripheral blood for treatment of ischaemic digits in patients with connective tissue diseases. *Rheumatology (Oxford)*. 2007 May: 46(5):882-4.
75. Sauce D, Tonnelier N, Duperrier A, et al. Influence of ex vivo expansion and retrovirus-mediated gene transfer on primary T lymphocyte phenotype and functions. *J Hematother Stem Cell Res* 11:929-40, 2002.
76. Dudley ME, Rosenberg SA. Adoptive-cell-transfer therapy for the treatment of patients with cancer. *Nature Rev Cancer* 3:666-675, 2003.
77. Bollard CM, Aguilar L, Straathof KC, et al. Cytotoxic T lymphocyte therapy for Epstein-Barr virus+ Hodgkin's disease. *J Exp Med* 200:1623-1633, 2004.
78. Yee C, Thompson JA, Byrd D, et al. Adoptive T cell therapy using antigen-specific CD8+ T cell clones for the treatment of patients with metastatic melanoma: In

- vivo persistence, migration, and antitumor effect of transferred T cells. Proc Natl Acad Sci USA 99:16168-16173, 2002.
79. Ertl HC, Zaia J, Rosenberg SA, et al. Considerations for the clinical application of chimeric antigen receptor T cells: observations from a recombinant DNA Advisory Committee Symposium held June 15, 2010. : Cancer Res 71(9):3175-81, 2011.
 80. Guidance for Industry: Gene Therapy Clinical Trials - Observing Subjects for Delayed Adverse Events. 2006.

X.3 検査・観察スケジュール

スクリーニング 期間	前治療期間		輸注日		観察期間														84 または 中止時 ⁴ ±3										
	一次 登録時	末梢血 採取時	2次 登録時	前処 置時	-1	0	1	2~5	6	7	8	9	10	11	12	14	17	20		22	25	28	35	42	49	56	63	70	77
日数	来院許可範囲	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±1	±1	±1	±1	±1	±1	±1	±3	±3	±3	±3	±3	±3	±3
入院※				○																									
同意取得		○	○																										
一次登録		○																											
二次登録			○																										
被験者背景		○																											
末梢血採取			○																										
CAR 遺伝子導入																													
Tリンパ球投与						○	○																						
問診・バイタルサイン		○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
Performance status		○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
感染症検査		○																											
血液検査		○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
尿検査		○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
腫瘍マーカー検査		○																											
胸部 X 線検査		○	○																										
12 誘導心電図		○	○ ¹																										
CT 検査		○	○																										
PET-CT・脳 MRI		○ ¹	○ ¹																										
心臓超音波検査		○ ¹	○ ¹																										
呼吸機能検査		○ ¹	○ ¹																										
上部消化管内視鏡検査		○																											
血漿サイトカイン			○	○	○	○ ²	○ ²									○					○			○	○				
CAR 遺伝子導入						○ ²	○ ²									○					○			○	○				
Tリンパ球血中動態																○													
Tリンパ球サブセツト解析				○				○ ³								○					○								
正常 B リンパ球機能及び数		○			○																○								
制御性 T 細胞解析																													
骨髓検査		○																			○							○	
LAM-PCR																					○								
RCR 検査・HAMA テスト					○			○ ³													○								
有害事象				○																									
予定末梢血採取量 (ml)	12	8	46	28	18	48*	48*	18	8	8	8	8	8	8	8	18	8	8	8	28	28	—	—	—	21	—	—	28	28

※ 個室管理に該当する期間は、その規定に従う。
* Day 0 および Day 1 はそれぞれ採血を 4 回施行する。採血量は各 18 mL, 10 mL, 10 mL, 10 mL。
1. 同意取得時はスクリーニング期間開始前 12 週間以内、2 次登録時は 4 週間以内の成績の利用を可とする。
2. 1 回目 CAR 遺伝子導入 T リンパ球輸注前及び輸注後：1、3、8 hr、2 回目 CAR 遺伝子導入 T リンパ球輸注前及び輸注後：1、3、8、24、48、72、96 hr
3. Day 2 のみ実施
4. 中止時は出来るだけ早い時期に可能な限りすべての中止時の検査を行う。

X.4 Ann Arbor 病期分類

表 6 Ann Arbor 病期分類

I 期	1 つのリンパ節領域または 1 つのリンパ組織（脾臓、胸腺、扁桃腺）の病変（I 期）、又は 1 つの非リンパ性臓器の限局性病変（IE 期）。
II 期	横隔膜を境にした同側、2 つ以上のリンパ節領域にわたる病変（II 期）、又は 1 つの非リンパ性臓器への限局性病変を伴う同側の 1 つ以上のリンパ節領域の病変（IIE 期）。
III 期	横隔膜の両側にわたる複数のリンパ節領域の病変（III 期）、又はこれにリンパ節以外の臓器又は部位の限局的侵襲を伴うもの（IIIE 期）、又は脾臓の侵襲を伴うもの（IIIS 期）、あるいはその両者を合併しているもの（IIIES 期）。
IV 期	リンパ節病変の有無にかかわらず、1 つ以上のリンパ節以外の臓器又は組織へのびまん性の浸潤があるもの。

<付加事項>

全身症状：各病期に下記の全身症状がなければ A、あれば B を付記

初診時までの 6 ヶ月間に①10%以上の体重減少、②38℃以上の原因不明の発熱、③盗汗(寝汗)

節外病変：節外病変があれば E (extranodal) を付記

巨大腫瘍：10 cm以上の病変、又は胸椎 5、6 レベルの胸郭の横径 1/3 以上の胸郭内病変があれば X を付記

臓器表示：肝臓 (H)、脾臓 (S)、肺 (L)、骨髓 (M)、胸膜 (P)、骨 (O)、皮膚 (D)

[出典：J Clin Oncol. 7: 1630-1636 (1989)]

X.5 Performance Status (Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG))

表7 Performance Status

Grade	Performance Status (PS)
0	無症状で社会活動ができ、制限を受けることなく、発病前と同等にふるまえる。
1	軽度の症状があり、肉体労働は制限を受けるが、歩行、軽労働や坐業はできる。例えば軽い家事、事務等。
2	歩行や身の廻りのことはできるが、時に少し介助が要することもある。軽労働はできないが、日中の50%以上は起居している。
3	身の廻りのある程度のことはできるが、しばしば介助が要り、日中の50%以上は就床している。
4	身の廻りのこともできず、常に介助が要り、終日就床を必要としている。

ECOG: Eastern Cooperative Oncology Group

この基準は全身状態の指標であり、局所症状で活動性が制限されている場合は、臨床的に判断する。

〔出典先: Am J Clin Oncol 5:649-655, 1982〕

X.6 悪性リンパ腫効果判定基準 (Revised response criteria for malignant lymphoma)

表8 悪性リンパ腫効果判定基準 (J Clin Oncol. 25: 579-586 (2007))

完全奏効 (CR) 右のすべてを満たす。	- 腫瘍によるすべての自覚症状、臨床所見の消失 - FDG-PET 所見 - DLBCL: 治療後の腫瘍の残存があったとしても PET が陰性であればよい。 - DLBCL 以外: PET が陰性、かつ全てのリンパ節病変が正常化(>1.5 cmのものが1.5 cm以下に縮小、1.0<長径<1.5 cmのものは1.0 cm以下に縮小)する。 - 肝脾腫が存在した場合は肝脾のサイズの正常化と結節の消失 - 骨髄浸潤の消失 (形態で判断が難しい場合は免疫染色が必要)
部分奏効 (PR) 右のすべてを満たす。	- 評価可能病変(大きいものから6個)の sum of the product of the diameters: SPD が50%以上縮小 - 評価可能病変以外の病変の増大がない。 - 肝脾の結節の SPD が50%以上縮小 - 肝脾以外の臓器浸潤の消失 - 骨髄浸潤の有無は問わない。他の CR の基準を満たすが骨髄浸潤のみがある場合は PR とする。 - 新たな病変の出現がない。 - FDG-PET 所見 - DLBCL: 治療開始前の PET 陽性であった病変が1カ所以上陽性。 - FL またはマントル細胞リンパ腫: 残存病変が2個以内でかつ CT で50%以上の縮小がみられた場合に PET を行う。3個以上の病変が残存している場合は PET 陰性である可能性は低いので PR と判断する。
安定(SD) 右のすべてを満たす。	- CR, PR, RD, PD のいずれにも該当しない。 - FDG-PET 所見 - DLBCL: 既存の病変が PET 陽性であり、かつ新たな PET 陽性病変の出現がない。 - DLBCL 以外: CT で腫瘍の大きさに変化がない。
CR 後の再発 (RD)/PR あるいは SD 後の進行 (PD) 右のいずれかを満たす場合	- 長径>1.5 cmのリンパ節、または長径が1.0<長径<1.5 cmの場合、短径>1.0 cmのリンパ節を異常と扱う。 - 長径、短径ともに1cm以下のものは RD, PD の判定において異常とは扱わない。 - 治療中又は治療後に径1.5cm以上の新病変の出現(他の病変が縮小したとしても)。以前に病変がない部位に PET 陽性所見だけが新たに出現した場合は他の方法(生検)などによる確認が必要である。特に初発時に肺病変がない患者における治療後の CT での新たな肺結節の出現は多くの場合良性である。 - いずれかの病変の SPD が最小 SPD から50%以上増大。但し、短径1.0 cm未満の病変については径1.5cmあるいは長径>1.5 cmとなった場合。 - 短径1.0cm以上の病変の最大長径が50%以上増大 - DLBCL あるいは治療前に PET 陽性であった症例で病変が陽性となった場合。(ただし長径1.5 cm未満の病変については PET 感度以下なので陰性でもよい。) - 骨髄浸潤の新たな出現あるいは再発

SPD の評価

SPD の縮小率 = (治療前の SPD - 評価時の SPD) ÷ 治療前の SPD x 100%

SPD の増大率 = (評価時の SPD - 治療期間中の最小 SPD) ÷ 治療期間中の最小 SPD x 100%

臨床研究ご参加についての説明文書

CD19 特異的キメラ抗原受容体発現 T リンパ球を用いた
難治性 B 細胞性悪性リンパ腫に対する遺伝子治療臨床研究

この臨床研究の内容は人権と安全性に最大限の配慮をして、当
院に設置されている倫理委員会において、患者さんの人権が保
護され、科学的・倫理的に妥当であることが確認されておしま
す。

(遺伝子治療臨床研究審査委員会 承認日： 年 月 日)

第3.1版

作成年月日：2014 年 1 月 14 日

＜目次＞

1. はじめに	3
2. 臨床研究について	3
3. あなたの病気と治療について	4
4. この臨床研究の概要について	5
5. CD19 を標的とした CAR 遺伝子治療臨床研究の海外での状況	7
6. 臨床研究の具体的な方法	8
7. この臨床研究に参加できる人、できない人	12
8. 臨床研究のスケジュール	14
9. 期待される効果	17
10. 予想される副作用及び不利益	17
11. この臨床研究の予定期間と参加予定患者数	21
12. 臨床研究に参加しない場合や臨床研究後の他の治療法について	22
13. 臨床研究への参加の自由と、参加の取りやめについて	22
14. 健康被害補償について	22
15. 新たな情報のお知らせについて	23
16. 臨床研究の中止について	23
17. あなたに守っていただきたいこと	24
18. 検体の保存と臨床研究が終了した後の保存検体について	24
19. <u>本臨床研究の資金源と起こり得る利害の衝突及び他の組織との関わり</u>	<u>25</u>
20. 臨床研究参加中の費用負担について	25
21. 個人情報の保護について	25
22. 臨床研究の成績の使用と公表について	26
23. 個人情報の保護と診療情報の開示の問い合わせや苦情の窓口	26
24. 緊急連絡先およびお問い合わせ先について	27
25. 遺伝子治療臨床研究の名称と実施組織体制	28
26. その他	29

1. はじめに

臨床研究参加のお願い

この臨床研究への参加は

- ☐ 標準的な治療法（化学療法、放射線治療など）に抵抗性となった CD19 陽性 B 細胞性非ホジキンリンパ腫
- ☐ 化学療法、あるいは放射線治療後に再発をきたした CD19 陽性 B 細胞性非ホジキンリンパ腫

の患者さんをお願いしています。

以下に、この研究の内容について説明させていただきます。

この説明文書は、担当医師による説明を補い、あなたに研究内容、この研究に参加することによる利益と危険性について、理解を深めていただくためのものです。よく読まれて、研究にご協力いただけるかどうかご検討ください。説明の中でわかりにくいことや疑問、心配なことがありましたらどんなことでも、いつでも遠慮なく担当医師にお尋ねください。

2. 臨床研究について

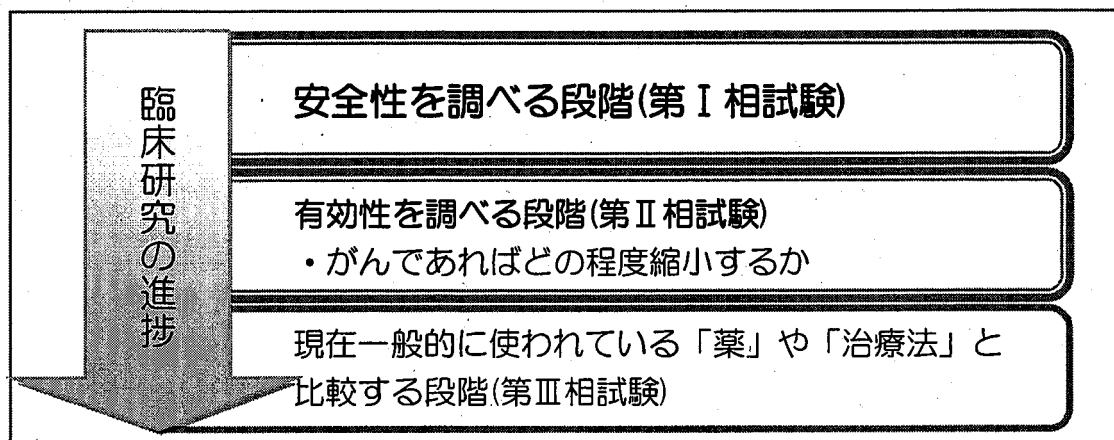
臨床研究とは、ある病気の患者さんに新しい治療法を試みて、それが「安全であるか」、「効果があるか」などを判定するために医師が行う研究です。

その治療法は、患者さんで行う前に動物実験をはじめとして様々な実験を行って、少なくとも動物実験レベルでは安全であることと効果があることが確認されています。ただし、動物で得られた研究結果が人でも同じように得られるとはいいきれません。したがって、患者さんに広く応用する前に、少ない患者さんで治療を行ってみて、安全性と効果を確かめる必要があります。このように臨床研究には、研究的な一面があることを十分ご理解ください。

臨床研究は、国が定めた指針に基づいて計画され、当院の倫理委員会（臨床研究を実施する者から独立した委員会）と国の審議会において倫理的、科学的に厳しく審議したうえで、承認されたもののみが実施可能となります。

この臨床研究も国と当院の委員会等の承認を得て実施しています。

一般的に臨床研究には、次のような段階があり、今回の臨床研究は、「第Ⅰ/Ⅱ相試験であり、治療の安全性を調べることを主な目的とし、併せて治療の有効性についても調べる試験」に相当するものです。



3. あなたの病気と治療について

3.1 悪性リンパ腫とは

リンパ系の組織から発生する腫瘍（いわゆる“がん”）です。腫瘍の組織的な違いから、大きく以下の2つに分けられます。

- ・ ホジキンリンパ腫
- ・ 非ホジキンリンパ腫

さらに腫瘍細胞の種類、増殖の仕方やがん細胞の形などから、数十種類以上のタイプがあります。あなたの病気はその中の” CD19 陽性 B 細胞性非ホジキンリンパ腫 ” に分類されるものです。

3.2 悪性リンパ腫の治療法

化学療法（抗がん剤）、生物学的製剤（抗 CD20 抗体）、放射線療法、造血幹細胞移植（自家移植、同種移植）などがあります。

ほとんどのタイプの悪性リンパ腫の場合、初回の標準的治療が確立されています。“CD19 陽性 B 細胞性非ホジキンリンパ腫 “ の場合は、初回治療に化学療法とリツキサンが用いられます。

リツキサンはマウスとヒト由来のタンパクを遺伝子工学的手法を用いて改変したマウス-ヒトキメラ抗体で、ヒト B 細胞の表面抗原である CD20 に結合し、B 細胞を特異的に傷害する抗 CD20 抗体医薬です。この標準的治療が効かない場合や、再発した場合には、薬剤の種類や量を変えた化学療法や造血幹細胞移植を行うことがあります。しかし、これら従来の治療法で治療効果がみられなくなった際には、適当な治療法が確立されていないのが実情です。また、高齢であること、合併症がある場合には、強力な治療が適さないこともあります。

4. この臨床研究の概要について

この臨床研究は、米国のメモリアル・スローン・ケタリング癌センターの協力を得て、自治医科大学免疫遺伝子細胞治療学講座（タカラバイオとの産学連携講座）および分子病態治療研究センター・遺伝子治療研究部とタカラバイオ（本社：滋賀県大津市瀬田）との共同研究に基づいて、自治医科大学附属病院血液科で実施します。また、一部の解析については、大阪大学免疫学フロンティア研究センターとの共同研究に基づいて実施します。

4.1 この臨床研究の目的

この臨床研究の目的は、従来の治療法では治療が困難な CD19 陽性 B 細胞性非ホジキンリンパ腫の患者に対する新たな治療法の確立を目指すことです。

4.2 悪性リンパ腫に対する遺伝子治療臨床研究

私たちの計画している遺伝子治療は、以下のとおりです。

- (1) CD19 陽性 B 細胞性非ホジキンリンパ腫の患者さんから血液を採取します。
- (2) 採取した血液中のリンパ球に、CD19を認識するCAR遺伝子を、レトロウイルスベクターを使って導入します。
- (3) CAR遺伝子を導入したリンパ球を体外で培養して数を増やした後に、再び患者さん自身に投与します。
- (4) その際に投与したリンパ球が体内から排除されにくくするため、患者さんに予め、抗がん剤を投与します。
- (5) 腫瘍細胞を認識するCARを発現したリンパ球が、患者さんの体内で活性化され、腫瘍細胞を攻撃・破壊することが期待されます。

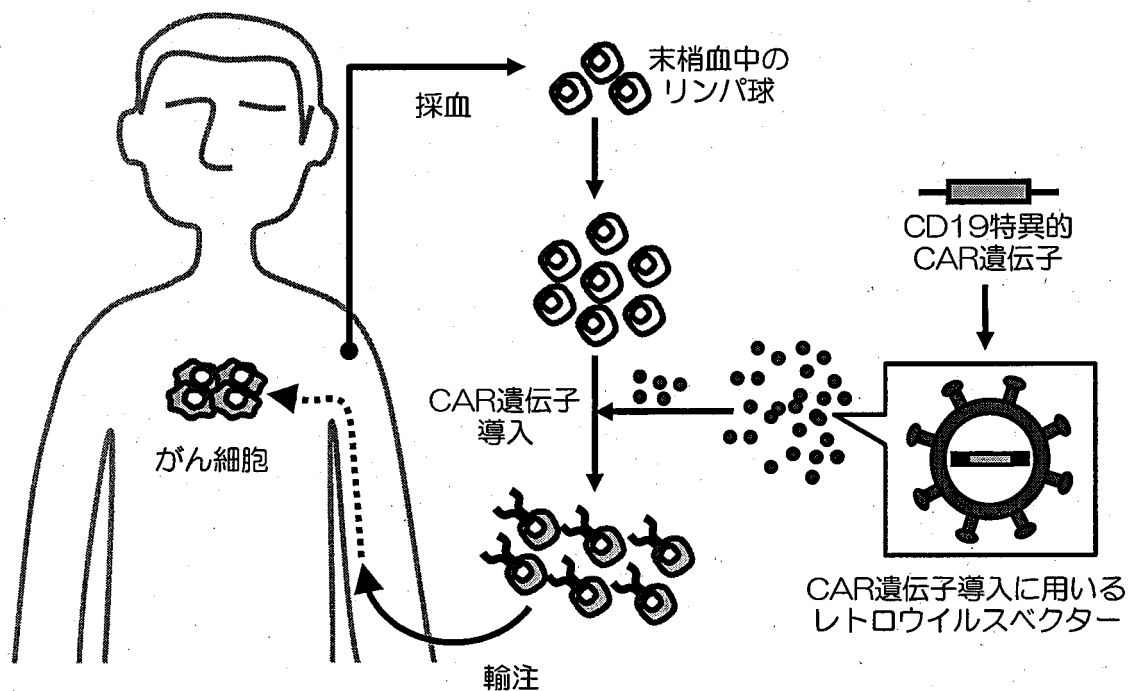
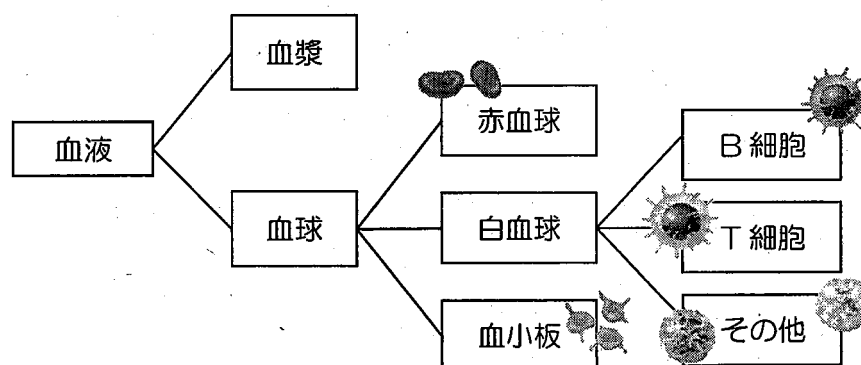


図 1 遺伝子治療臨床研究の概要

【リンパ球について】

血液は、血漿という液体成分と血球という細胞成分からできていて、血球には赤血球、白血球、血小板の3種類の細胞があります。

リンパ球は、白血球のうち約25%を占める細胞のことで、免疫系にかかわるB細胞（Bリンパ球）、T細胞（Tリンパ球）等から構成されています。



【CD19について】

近年、がん細胞の表面に発現する“目印”（この目印を「抗原」といいます）が存在することが科学的に解明されました。CD19はBリンパ球に発現する抗原のひとつです。多くのB細胞性リンパ腫は細胞表面にCD19を発現しています。

【キメラ抗原受容体 (CAR) について】

ヒトの体の中には抗原を認識して、がんを攻撃・破壊することができる細胞（この細胞を「細胞傷害性Tリンパ球」といいます）が存在します。この細胞傷害性T細胞をいったん体の外に取り出し、そこにがん抗原を認識するために必要な「アンテナ」の遺伝子を導入した後、再びその細胞を体内に戻すことによって、効率よく腫瘍細胞を攻撃・破壊することができます。

キメラ抗原受容体 (CAR: Chimeric Antigen Receptor) とは、この「アンテナ」である抗体遺伝子と細胞傷害性T細胞を活性化する遺伝子 (T細胞受容体の一部) を遺伝子工学的に結合させて作製された分子です。この抗体遺伝子はリツキサンと同様にマウス由来の抗体産生細胞から作られます。

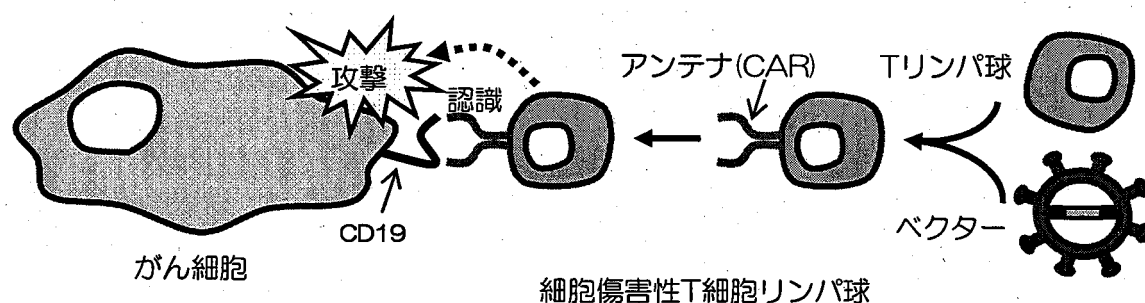


図2 細胞傷害性Tリンパ球によるがん抗原の認識

【レトロウイルスベクターについて】

遺伝子治療では、目的の遺伝子(本研究の場合、CAR遺伝子)を患者さんの細胞の中に入れるための「運び屋」として、自然界に存在するウイルスを、病原性が無くなるように人工的に作り替えて利用することがあります(これを「治療用ウイルスベクター」といいます)。レトロウイルスとは遺伝子を導入するベクターとして最も応用が早く進んだウイルスであり、これを用いて遺伝子を導入することで、導入した遺伝子が標的細胞の染色体に組み込まれるため、長期間安定に遺伝子を発現させることが可能です。

遺伝子導入の方法にはウイルスを利用しない方法もありますが、患者さんのからだの中に遺伝子を入れてその効果を長期間維持するための方法としては、現時点ではウイルスを利用する方法が最も優れていると考えています。

5. CD19を標的としたCAR遺伝子治療臨床研究の海外での状況

約10年前、米国において、神経芽細胞腫や腎癌、卵巣癌などの固形腫瘍、濾胞性リンパ腫に対するCAR遺伝子治療臨床研究が始まりました。当初は、

十分な治療効果が認められませんでしたでしたが、様々な改良が加えられ、臨床研究も盛んに行われています。特に CD19 を標的とした B 細胞性腫瘍（非ホジキンリンパ腫を含む）に対する遺伝子治療は、一定の治療効果が得られ、注目されています。

以下に代表的な 3 つのグループの臨床研究の結果を説明します。

- (1) メモリアル・スローン・ケタリング癌センター(ニューヨーク)のグループ
私たちの共同研究者です。

慢性リンパ球性白血病(CLL)患者と再発急性リンパ球性白血病(ALL)患者に対し、臨床試験を行っています。

これまで評価可能な CLL 患者 4 例中 3 例で治療効果が認められました。治療効果のあった 3 例のうち 1 例は、3 ヶ月目に明らかなリンパ節腫脹の退縮が認められ、2 例は 8 週間と 4 ヶ月間の安定状態を維持しました。ただし、最初の 1 例は遺伝子治療の 2 日後に死亡しました（詳細は「10. 予想される副作用及び不利益」を参照）。その後プロトコルが変更され、安全に治療が遂行されています。また 5 例の ALL 患者に CAR 遺伝子治療が行われ、治療前に残存病変が認められた 4 例全例で治療効果が認められました。私たちは、彼らの研究結果を基にプロトコルを作成し、彼らと同じ CAR 遺伝子ベクターを用いています。

- (2) ペンシルバニア大学のグループ

3 例の CLL 患者に対する治療を行った結果、腫瘍崩壊症候群を経て 2 例に完全奏効、1 例に部分奏効を得たと報告しています。また、2 例の小児の再発 ALL 患者に治療を行い、両者とも治療後約 1 ヶ月で完全寛解を得ています。

- (3) 米国の国立癌研究所のグループ

CLL 患者 7 例全例に治療効果が見られましたが、4 例で長期にわたって正常 B 細胞数の低下が認められました。1 例は遺伝子治療の 18 日後にインフルエンザ肺炎と心内膜炎、脳梗塞の合併で死亡しています。

6. 臨床研究の具体的な方法

本臨床研究は以下のステップで行います。これらの適格基準を満たすことが確認されたら、以下の処置・治療に進みます。

- (1) 本研究に参加が可能か否かを調べるために別表に示した採血、骨髄検査、PET、または CT 等の画像診断検査の項目を確認します。
- (2) あなたのこれまでの病歴と検査データがカルテで確認されます。また改めてあなたの病歴聴取と診察を行います。

第Ⅰ段階：Tリンパ球へのCAR遺伝子の導入

(1) Tリンパ球及び血漿の採取

あらかじめ、あなたの末梢血中にリンパ球が何個存在するか調べます。十分なリンパ球数が存在する場合には、あなたの全身状態に問題がないことを確認し、通常の採血法、または返血を伴う自己末梢血採取法で血液を最大600 mLまで採取します。

通常の採血法では、所定量の血液を採血します。採血量によっては、採血後スポーツ飲料等を飲んで頂きます。場合によっては、点滴することもあります。返血を伴う自己末梢血採取法では、所定量を採血した後、採血針は抜去せず、そのままとし、点滴液に繋がります。採血した血液からTリンパ球と血漿を分離し、残った赤血球を採血針から返血します。採血から返血終了まで、約2-3時間かかります。目標とする採血量が多い場合には、この操作を午前と午後の2回行うことがあります。

どちらの採血でも、医師と看護師が立ち会います。採取中や採取後、血圧低下や気分不快等の症状が表れた場合には、採取量を減量するなど直ちに適切な対応をとります。また、採取により貧血が生じた場合には輸血を行うこともあります。

(2) CAR遺伝子導入Tリンパ球の調製

自治医科大学附属病院内の細胞処理室において、採取されたリンパ球に前述したレトロウイルスベクターを使ってCAR 遺伝子が導入されます。この過程での細胞の処理はすべて無菌操作で行います。遺伝子導入を含めて試験管内で10日間程度培養し、いったん凍結させて保存します。目標とするCAR遺伝子導入Tリンパ球数が十分に得られなかった場合は、再度「(1)Tリンパ球の採取」の手順に従い採血し、CAR遺伝子導入Tリンパ球の調製を行います。米国における臨床研究ではほとんどの場合、目標とする細胞数を得ることができていますが、2度の細胞調製でも細胞数が得られなかった例が報告されています。その後、CAR遺伝子導入Tリンパ球の品質の確認がされて、投与することが可能になるまで、1週間程度かかります。その間は無治療で経過をみせていただきます。さらに、投与前に選択基準を満たすかどうかを確認して投与することになります。基準を満たさない際は、投与することができなくなる場合があることをご了解下さい。

以降の段階は入院にて実施します。少なくとも投与後28日までは入院を継続します。

第Ⅱ段階：抗がん剤投与

CAR遺伝子導入Tリンパ球投与前に、エンドキサンという抗がん剤を投与します。エンドキサンの副作用に認容性がないと担当医師が判断し、過去にトリアキシンの投与歴がある場合は、エンドキサンに代えてトリアキシンを投与することがあります。これらの薬剤の投与により、CAR遺伝子導入Tリンパ球があなたの体内から排除されにくくなる効果が期待できます。

第Ⅲ段階：CAR 遺伝子導入Tリンパ球の投与

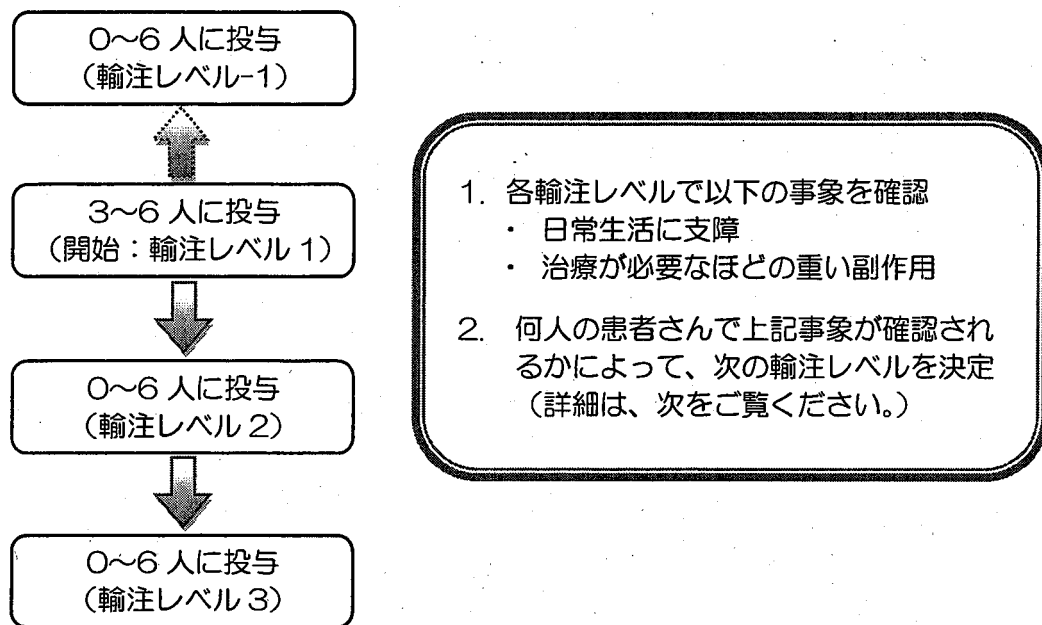
(1) CAR 遺伝子導入Tリンパ球を投与します。

治療効果が最も期待でき、かつ、安全なCAR 遺伝子導入Tリンパ球の量は、現時点でははっきりしていません。

投与するCAR 遺伝子導入Tリンパ球の量は、次の3段階を予定しています。

輸注レベル	細胞数
-1	$3 \times 10^5/\text{kg}$
1	$1 \times 10^6/\text{kg}$
2	$3 \times 10^6/\text{kg}$
3	$1 \times 10^7/\text{kg}$

この臨床研究は以下の説明に従い、投与細胞数の漸増・決定をします。



最初の3人には 1×10^6 個/kg (レベル1) の細胞を投与します。

各輸注レベルで治療した方が3人とも、日常生活に支障をきたしたり、また治療が必要なほどの重い副作用(高度な有害事象と言われます)を起こさなければ、次の段階に進みます。

最初の3人のうち、1人に高度の有害事象が発現した場合には、増量せずと同じ細胞数でさらに3人の患者さんに対して投与を続け、高度の有害事象が起こらなかった場合は、次の段階に進みます。

各輸注レベルで治療された合計6人の患者さんのうち、2人以上に重い副作用が発現した場合には、更に細胞数を 3×10^5 個に減らして、3人の患者さんに投与します。

各輸注レベルの細胞数で、高度の有害事象が2人以上の患者さんに起こらなければ、更に3人の患者さんに同じの細胞数を投与します。

(2) スケジュールに従って十分な観察を行い、副作用が発現した場合には、適切な処置を行います。

(3) 本臨床研究終了後、自治医科大学附属病院では患者さんの生存期間 (アメリカ食品医薬品局(FDA)のガイドラインに従い15 年間)にわたり、二次発がんや増殖能を持つレトロウイルスの有無についてフォローアップを行う予定であることをご了解ください。これは遺伝子治療の長期にわたる安全性がまだ確立していないことから、臨床研究後に問題が生じることがないかを追跡するために行います。

7. この臨床研究に参加できる人、できない人

7.1 参加できる条件は以下の通りです

- (1) 3 年以内の検体による病理組織診断で CD19 陽性 B 細胞性非ホジキンリンパ腫であることが確認されていること
- (2) 再発後、2 サイクル以上の救済化学療法が行われている、又は、標準的化学療法で完全奏効を得られなかった後、2 サイクル以上の救済化学療法が行われていること
- (3) CT 検査、PET 検査などで非ホジキンリンパ腫の病変が確認できること
- (4) 本臨床研究に参加時点の年齢が 20 歳以上かつ 70 歳以下であること
- (5) Performance Status (全身一般状態の指標) が 0 から 2 であること
「発病前と同じ社会活動ができる方～時に介助が必要な方」程度に相当します。
- (6) 心臓、肺、肝臓、腎臓などのはたらきに大きな問題がなく、臨床検査が以下の基準を満たすこと
 - (ア) クレアチニン(Cr) ≤ 2.0 mg/dl
 - (イ) AST(GOT), ALT(GPT) ≤ 150 IU/dl (リンパ腫の肝浸潤による肝障害はこの限りではない)
 - (ウ) T-bil ≤ 2 mg/ml
 - (エ) ALP 正常上限値の 1.5 倍以下
- (7) 好中球数 $\geq 1,500/\mu\text{l}$ (リンパ腫の骨髄浸潤による好中球減少はこの限りではない)
- (8) 血小板数 ≥ 10 万/ μl (リンパ腫の骨髄浸潤による血小板減少はこの限りではない)
- (9) 血中酸素飽和度 $\geq 92\%$
- (10) 同意取得後、3 ヶ月以上の生存が見込めること
- (11) 患者さん本人に十分な説明が行われた上で同意が得られ、同意書に署名がなされること
- (12) 治療内容を理解し、本人の自由意志による同意を文章で得られること
- (13) 本臨床研究における 1 次品質試験に合格した最小輸注量 (3×10^5 個/kg) の CAR 遺伝子導入 T リンパ球が得られること

7.2 以下の場合には参加できません

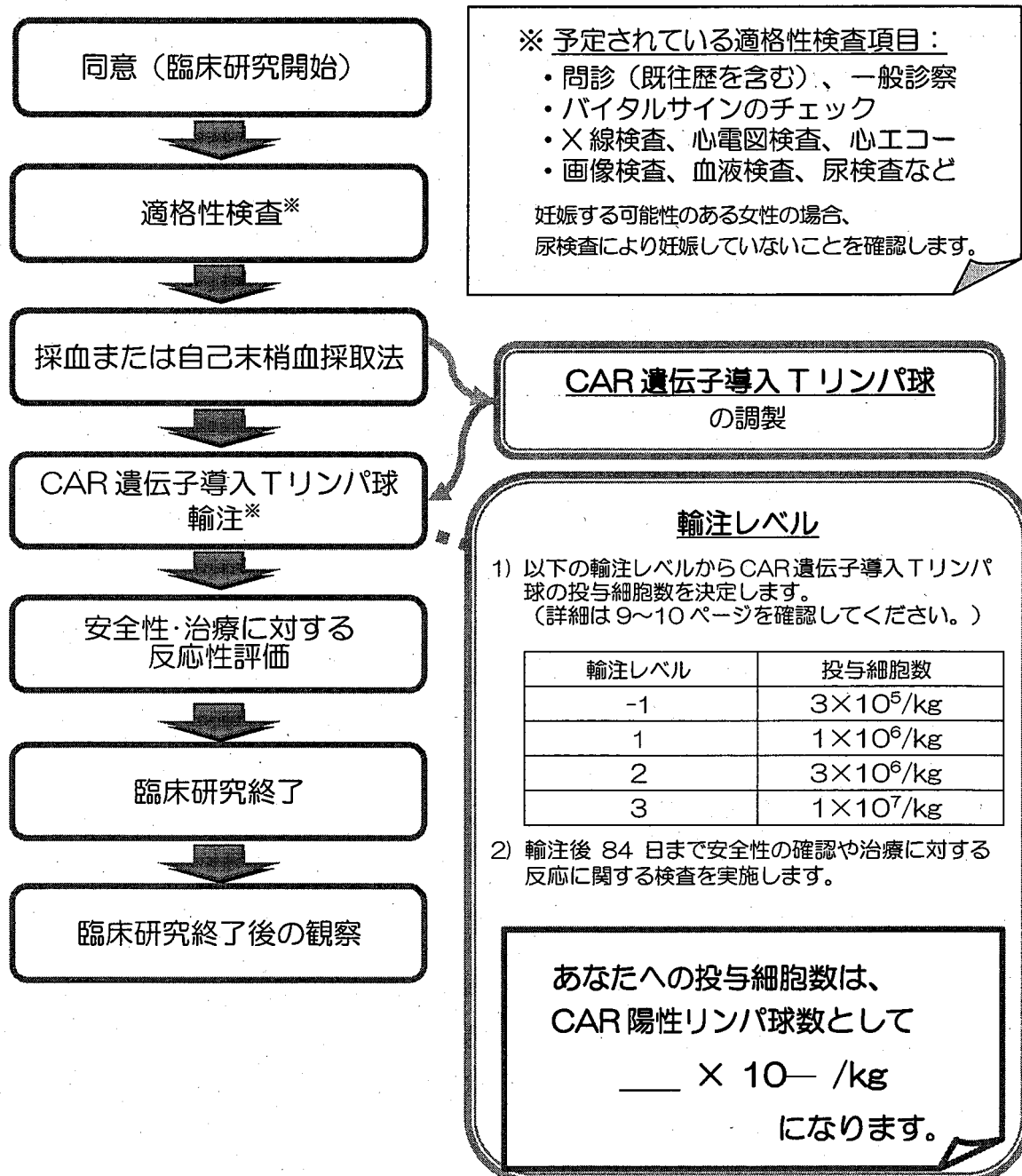
- (1) 活動性の重複癌を併発している
- (2) リンパ腫の明らかな中枢神経浸潤を伴う
- (3) 同種造血幹細胞移植後である

- (4) 24 週間以内に抗 CD19 遺伝子導入 T リンパ球を投与する臨床試験に既に参加している
- (5) ステロイドまたは免疫抑制剤の全身投与を行っている
- (6) 重度の心疾患を有する
- (7) 重度の脳血管疾患の既往を有する、或はそれによる麻痺など後遺症を残している
- (8) 全身的な治療が必要な活動性、或は重篤な感染症を併発している
- (9) HIV 抗体陽性である
- (10) HB-s 抗原陽性、或は HB-c 抗体陽性かつ HBV-DNA が陽性である
- (11) 活動性の HCV 感染症がある
- (12) 本臨床研究参加への同意に影響を及ぼすような精神疾患、薬物依存症等の疾患を有する
- (13) 妊娠中、授乳中、妊娠の可能性のある女性または妊娠を希望している女性。又は育児希望のある男性（ただし、遺伝子治療前に精子を凍結保存し、その精子を用いて子供をもうける場合は該当しない）
- (14) その他、担当医師によって本臨床試験への参加が適当でないと判断される場合

8. 臨床研究のスケジュール

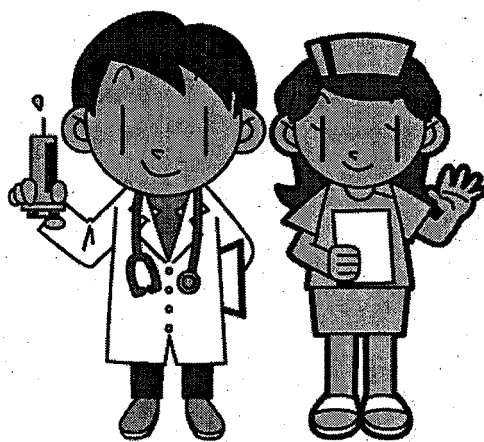
あなたが先に説明した「参加できる条件」に当てはまる場合、次の「検査・観察スケジュール」に従って本臨床研究を実施します。

<臨床研究の流れ>



※ 2 回目の投与に十分な CAR 遺伝子導入 T リンパ球が得られていて、1 回目の投与で重篤な副作用がなく、一定の治療効果が認められ担当医師が追加投与した方が良いと判断した場合、28 日目以降にもう一度投与する可能性があります。

はじめに、あなたから遺伝子を導入するTリンパ球を採取させていただきます。
あなたから採取した細胞にCAR遺伝子を導入する一連の作業を自治医科大学附属病院内にある臨床用細胞プロセッシング室にて行い、その細胞の安全性を確認します。この間に診察や画像診断、各種の検査を実施します。本臨床研究は、最後のCAR遺伝子導入Tリンパ球投与から84日後に終了となります。それ以降も、11ページに記載したようにCAR遺伝子導入Tリンパ球投与後15年間にわたり、フォローアップとして1年に1回の頻度で、CAR 遺伝子導入Tリンパ球の血中動態、および二次発がんや増殖能を持つレトロウイルスの有無について注意深く経過を観察します。



検査・観察スケジュール

項目	日		1 次登録時	末梢血採取時	2 次登録時	-3 -2 -1	0	1	2-5	6 7	8	9	10	11	12	14	17 20 22 25	28	35 42 49	56	63 70 77	84 または 中止時	
	入院期間				投与後 3 日間の個室管理 ² （該当する場合）																		
診察	●		●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	
末梢血採取		●																					
投与					●	●												(●) 該当する場合					
副作用等の確認				前処置開始時から実施期間を通して確認																			
臨床検査	●	●	●	●	●	●	●	●		●		●		●	●	●	●	●	●	●	●	●	
尿検査	●	●	●	●	●	●	●	●		●		●		●	●	●	●	●	●	●	●	●	
心電図・心エコー	●																					●	
呼吸器の機能検査	●																					●	
胸部 X 線検査	●		●																			●	
CT 検査	●	●																				●	
その他画像診断	●																					●	
上部消化管造影検査	●																						
骨髄検査	●																	●				●	
血液サイトカイン ¹			●	●	●	●	●									●		●		●		●	
正常 B リンパ球 機能及び数	●				●													●		●		●	
CAR 遺伝子導入 T リンパ球動態 ¹			●		●	●	●									●		●		●		●	
レトロウイルスベ クターの増殖検査 ・ T 細胞の解析			● [#]	● [#]				● 2のみ									● [#]	●			● [#]	●	
予定採血量 (mL)	12	8	46	28	48*	48*	18	8	-	8	-	8	-	18	28 [#]	28	28	-	21	28 [#]	28		

※ 同意時の検査は過去のデータが利用できる場合、一部利用することがあります。

* Day 0 および Day 1 はそれぞれ採血を4回施行する。採血量は各 18 mL, 10 mL, 10 mL, 10mL

2 次登録時、前処置時、25 日と 77 日は制御性 T 細胞の解析のみ実施

1: 1 回目 CAR 遺伝子導入 T リンパ球輸注前及び輸注後: 1、3、8hr

2 回目 CAR 遺伝子導入 T リンパ球輸注前及び輸注後: 1、3、8、24、48、72、96 hr

2: 個室管理について (該当する場合、以下の対応を取らせていただきます)

- ① 輸注直前～輸注 3 日後まで、指定された個室に入院
 - ② 個室入院中、個室外に出る場合は、マスクとガウンを着用
 - ③ 輸注翌日～輸注 3 日後までの採血で、レトロウイルスベクターの増殖検査を行い、増殖がみられた場合は、引き続き個室に入院
 - ④ ③の検査で増殖なしと判明するまでの間、排泄物は個室内で消毒してから処分
 - ⑤ 病院スタッフによる個室内部の器具類の消毒、洗浄
- 治験終了後年 1 回の長期追跡調査で、レトロウイルスベクターの増殖を検査で確認、万が一増殖が見られた場合、ただちに個室に入院

9. 期待される効果

この治療によって、次の効果が期待されます。

- ・ からだの中に投与した遺伝子導入リンパ球が非ホジキンリンパ腫の細胞を攻撃し、リンパ腫の病変が小さくなったり無くなったりすること。
- ・ リンパ腫の病変によっておきている様々な症状を改善すること。

10. 予想される副作用及び不利益

(1) 通常のリンパ球投与に伴う副作用

以下の反応がみられることがあります。

- ・ 悪寒、戦慄
- ・ 頭痛
- ・ 息切れ
- ・ 血圧上昇
- ・ 徐脈
- ・ アレルギー反応（皮膚のかゆみ、舌が腫れるなど）
- ・ けいれん
- ・ 吐き気、嘔吐
- ・ 貧血

(2) インフュージョン反応（輸注関連反応）

CAR遺伝子はリツキサンと同様にマウス由来の抗体部分を含んでおり、そのためCAR遺伝子導入Tリンパ球を輸注すると開始後30分から2時間でインフュージョン反応という特徴的な副作用が出る可能性があります。この発症頻度は同様にマウス由来の抗体部分を有するリツキサンと同程度と予想されます。本反応の出現を予防するために、輸注前に解熱鎮痛薬と抗ヒスタミン薬を内服します。また、万が一インフュージョン反応が現れた場合には、一時的な輸注の中止や解熱鎮痛薬と抗ヒスタミン薬の追加投与を行います。血圧低下や呼吸障害等の重篤な反応が出現した際には、副腎皮質ステロイド剤の投与と昇圧剤や酸素投与などの処置を行います。

リツキサン投与時のインフュージョン反応の頻度：発熱(64%)、悪寒(34%)、頭痛(21%)、発疹(14%)、血圧低下(12%)、呼吸障害(1%)

(3) 高サイトカイン血症

CAR 遺伝子導入 T リンパ球がリンパ腫細胞を攻撃する際にはサイトカインと呼ばれるタンパクを放出します。サイトカインが血中に多量に放出

されると発熱、悪寒等の症状があらわれることがあります。時に重症化し、血圧低下、呼吸障害、けいれんや意識障害が出現することがあります。「5. CD19 を標的とした CAR 遺伝子治療臨床研究の海外での状況」に示した米国の臨床研究においても、高サイトカイン血症に関連する死亡例や重篤な有害事象が報告されています。メモリアル・スローン・ケタリング癌センターの症例は、CAR 遺伝子導入 T リンパ球投与 20 時間後に発熱、血圧低下、呼吸障害が出現し、集中治療室管理となりました。その後、多臓器不全となり投与 2 日後に死亡しています。この症例は、直接の死亡原因が感染症だったと推測されていますが、高サイトカイン血症の影響も否定できません。一方、ペンシルバニア大学のグループの症例は、CAR 遺伝子導入 T リンパ球投与後 5 日目に高サイトカイン血症に伴う低血圧と呼吸障害が出現したため、集中治療室において昇圧剤投与と人工呼吸器管理が必要になりました。この症例の高サイトカイン血症は治療により速やかに改善しています。また、HER2 という分子を標的とした CAR 遺伝子導入 T リンパ球を用いた大腸癌に対する遺伝子治療においても、高サイトカイン血症に関連する死亡例が報告されています。高サイトカイン血症の発症時には、副腎皮質ステロイド剤やサイトカインを抑制する薬剤の投与を行います。前述のペンシルバニア大学の重症化した症例では、高サイトカイン血症に対して、エタナルセプトおよびトシリツマブという薬剤の投与したところ、有効であったことが報告されています。重症化した場合には、集中治療室での管理が必要になることもあります。

(4) B 細胞の減少

本臨床研究で行う治療では、正常な B リンパ球にも存在する抗原を標的とするため、遺伝子導入 T リンパ球投与後には、あなたの末梢血中の正常 B リンパ球が減少し、血清免疫グロブリン値が低下することが予想されます。この状態は CAR 遺伝子導入 T リンパ球があなたの体内に存在する限り続き、正常 B リンパ球が長期間回復しない可能性もあります。 これまでには治療 1 年半後も正常 B リンパ球の減少が持続している症例の報告があります。B 細胞が減少し、免疫グロブリンが低下した状態では、一般に細菌やウイルス感染症への危険性が増すため、定期的な血液検査を行い、血清 IgG 値が 500mg/dL 以上を上回るように免疫グロブリン製剤を投与します。 この投与は通常、月 1 回の頻度で行われ、血清免疫グロブリン値が回復するまで続けられます。

(5) 腫瘍崩壊症候群

抗がん剤や遺伝子導入 T リンパ球投与後に、腫瘍崩壊症候群が起こるこ

とがあります。治療により腫瘍細胞が急速に破壊されることで、血液中に細胞内の分解産物が急激に大量放出され、高尿酸血症、高リン血症、低カルシウム血症、高カリウム血症、尿毒症、腎不全等の重篤な病態を引き起こすことを腫瘍崩壊症候群といいます。この場合、輸液や利尿剤等を投与し、腎機能と血液中の電解質を厳重に管理します。時に人工透析を含めた処置が必要になることがあります。

(6) 抗がん剤(エンドキサン及びトレアキシン)投与に伴う副作用

エンドキサン及びトレアキシンによる骨髄抑制が高頻度で起こります。骨髄抑制に伴う好中球減少時には、肺炎や敗血症などの重篤な感染症を合併する危険性があるため、好中球刺激因子(ノイトロジン、グランまたはノイアップ)を投与します。また、血小板減少が生じた場合、厚生労働省の「血液製剤の使用指針」に基づき濃厚血小板を輸血します。エンドキサンによる頻度の低い副作用として、心毒性と出血性膀胱炎、抗利尿ホルモン不適合分泌症候群や二次発がんの危険性があります。

(7) レトロウイルスベクターによる発がんのリスク

今回の臨床研究では前述のように(7 ページ参照)他人へ感染性がなく、病原性のないレトロウイルスベクターを使います。レトロウイルスベクターは CAR 遺伝子をヒトの染色体のいずれかの場所に組み込みます。ただし、この組み込まれる場所はあらかじめ予測することができないため、組み込まれる場所によっては、大切な遺伝子に悪い影響を与えてしまう危険性があります。通常、染色体には、がん遺伝子やがんの発生を抑える働きをする遺伝子が含まれていますが、遺伝子導入によってこれらの遺伝子に「挿入変異」とよばれる影響がおきて、がん化へと進む可能性があります。一般的には、1 つの遺伝子に影響が生じただけでは、がん化する可能性は極めて低いと考えられていますが、その危険性は完全には否定できません。

このことは極めて大切なことですので具体例についてさらに詳しく説明します。1999 年から欧州で X 連鎖重症複合性免疫不全症(遺伝的に身体の抵抗力が弱く、重症の細菌やウイルス感染症を起こしやすい疾患)や慢性肉芽腫症(好中球などの食細胞が機能しないため重症な細菌・真菌性感染症を反復して発症する免疫不全症)という先天性の病気の乳幼児に対して、レトロウイルスベクターを用いて、欠けている遺伝子を血液のもとになる造血幹細胞に導入する遺伝子治療の臨床研究が行われました。当初、これらの遺伝子治療では有効性が確認され、注目を集めました。しかしながら、2002 年にフランスのグループから遺伝子治療を受けた 2 例の患者が白血病を発症(治療後 30 又は 34 ヶ月後)したという報告がな

されました。この患者について解析した結果、遺伝子治療による「挿入変異」が白血病の原因と考えられました。具体的には、この白血病発症の原因として、特定のがん遺伝子の近くにレトロウイルスベクターの遺伝子が挿入され、その結果、このがん遺伝子が活性化されて、細胞が腫瘍性に増殖してしまったという可能性が考えられています。さらに、レトロウイルスベクターで導入した治療用遺伝子が、細胞の増殖をコントロールする遺伝子だったことが、白血病の発症リスクをさらに高くしたと考えられています。この報告の後に、アメリカでは、同様の先天性免疫不全症に対するレトロウイルスベクター遺伝子治療臨床研究を一時中断し、公聴会での議論がなされ、この症例に関する内容を患者さんやそのご家族に正しく伝えたいと再開することとなりました。しかし、その後も数例の白血病や骨髄異形成症候群という造血器疾患の発症が報告されています。

一方、アデノシンデアミナーゼ欠損症（アデノシンデアミナーゼという酵素が先天的に欠けているために血液中の正常に働くリンパ球が減少し、感染症が発症しやすくなる病気）に対して、レトロウイルスベクターを用いて欠けている遺伝子を血液のもとになる造血幹細胞に導入するイタリアの遺伝子治療では、10 例中 8 例で酵素補充療法の必要がなくなり、遺伝子治療の有効性が確認されるとともに、がん化は見られなかったと報告されています。

このように、レトロウイルスベクターによるがん化の可能性は、対象となる病気、遺伝子を挿入する細胞、ベクターの種類等によって大きく異なっています。今回の CAR 遺伝子導入 T リンパ球輸注療法では、遺伝子を導入する細胞は T リンパ球であり、先に述べた先天性免疫不全症に対する遺伝子治療のような造血幹細胞に遺伝子を導入するものではありません。T リンパ球は造血幹細胞のように分化・増殖能が旺盛な細胞でないことからがん化しにくい細胞と考えられています。このことから、治療用遺伝子が染色体に組み込まれることによる挿入変異のリスクは T リンパ球と造血幹細胞の間で同程度ではあるものの、今回の治療法でがん化がおきる危険性は、先天性免疫不全症に対する遺伝子治療と比較して低いものと考えています。これまでに T リンパ球にレトロウイルスベクターで遺伝子を導入する臨床研究においては、遺伝子治療によるがん化は 1 件も報告されていません。

長期間にわたって被験者の追跡調査を行うとともに、それぞれの遺伝子治療のリスクとベネフィットに関する評価を最新の知見に基づき定期的に実施することが重要と考えています。万一、がん化が認められた場合には、化学療法等の最善の治療を行います。

(8) レトロウイルスの自己複製のリスクについて

今回の遺伝子治療で使われるレトロウイルスベクターは、一度細胞に感染すると二度は感染しないように、安全性を高める工夫が施されています。しかし、何らかの理由によってこのレトロウイルスベクター自身が増殖を始め、患者さんにウイルス性の疾患を引き起こす可能性は皆無とはいえません。この危険性を可能な限り取り除くために、あらかじめ定められた品質規格に合格した遺伝子導入Tリンパ球のみが投与され、投与後も体内で増殖性ウイルスが発生していないことを確認する検査が念のために繰り返される計画になっています。

(9) 生殖細胞へ影響する可能性について（子孫への影響の可能性）

ベクターの遺伝子が卵子や精子などの生殖細胞に組み込まれる可能性は極めて低いものと思われますが、否定はできません。そのため、臨床研究に参加中はコンドームを使って避妊してください。なお、あなたが男性で将来子供をつくることを希望する場合は、手術前に精子を凍結保存するようおすすめします。

注：体外受精では妊娠効率を上げるために受精卵を複数個子宮に戻しますので、多胎（双子、三つ子等）に伴う危険性が高まります。

また、授乳による子供への影響が完全には否定できないため、妊娠中の方や臨床研究期間中に妊娠の可能性のある患者さんはこの臨床研究に参加することが出来ません。

(10) 生検による合併症（骨髄穿刺、リンパ節生検）

骨髄穿刺、リンパ節生検により採取部位の痛み、出血、感染などが起こることがあります。検査を行う前に、検査のやり方について詳しく説明いたします。

(11) その他、予想できない副作用

上記以外にも予想できない重い副作用が現れる可能性があります。その一部は個人差によるものと考えられます。予想できない副作用の中には回復不可能なものが含まれる可能性があります。このような場合、できるだけ適切な処置をとらせていただきます。

11. この臨床研究の予定期間と参加予定患者数

2010年〇月〇日から3年間を目途に、少なくとも6名（「6.臨床研究の具

体的な方法」を参照)の患者さんにご参加いただき、CAR 遺伝子導入 T リンパ球を投与します。

12. 臨床研究に参加しない場合や臨床研究後の他の治療法について

考えられる他の治療法の選択肢としては、これまで投与歴のない抗がん剤による治療、造血幹細胞移植、新たな薬剤の臨床試験を受ける、放射線療法などが考えられます。どの治療がもっとも適当かについては、悪性リンパ腫の組織型、過去の治療歴、年齢、合併症の有無などにより様々ですが、一般に標準的化学療法で難治性の悪性リンパ腫の予後は不良で、従来、行われている治療法では治癒が困難です。最良支持療法という症状緩和を目指す治療(栄養管理や生活の質を向上させるための緩和医療)を受けることもできます。

また、臨床研究後に残存病変を認めた場合は、別の化学療法を行い病状をコントロールすることも検討します。

いずれの場合も、あなたの病状や全身状態にあわせ、担当医師があなたにとって最善と思われる治療を、あなたとご相談のうえ決めていきますので、ご安心ください。

13. 臨床研究への参加の自由と、参加の取りやめについて

この臨床研究に参加されるかどうかはあなたの自由な意思が尊重されます。強制はいたしません。一旦同意した場合でも、参加を取りやめたい場合、いつでも同意を取り消し、臨床研究への参加を取りやめることができます。

いずれの場合も、あなたのこれからの治療に差し支えることは全くありません。今まで通りに何ら不利益を受けることなく、あなたの病状に最適と考えられる治療を受けることができます。

ただし、CAR 遺伝子導入 T リンパ球投与を受けた後は、体内に入れた遺伝子導入リンパ球を取り除くことはできません。あなたが CAR 遺伝子導入 T リンパ球投与後に臨床研究の参加の中止を申し出られた場合でも、あなたの安全のために、定期的な診察や血液や尿の検査などは実施します。

14. 健康被害補償について

この臨床研究に関してあなたが副作用などによる何らかの健康被害を受けた場合は適切な治療が受けられますので、すぐに担当医師に連絡してください。

あなたに起こった健康被害がこの臨床研究と関係があるかどうかの判断は、

研究者とは利害関係のない独立した審査委員会が行います。その結果、この臨床研究との関連が否定できないと判断された場合は、その治療に対する検査や医療費は、本臨床研究グループが支払いますので、患者さんの医療費負担はありません。また、臨床研究に参加することで生じた健康被害は、症状が安定するまで（最長 1 年まで）のあなたが自己負担する分の医療費を本臨床研究グループが支払います。ただし、健康被害が生じた場合の医療費以外の実費や、症状が固定した後の治療費や療養費については補償されません。上記の補償の条件は他科で検査・治療した場合も同様に適用します。

この臨床研究では、CAR 遺伝子導入 T リンパ球を体内に投与するという新規の治療を実施します。これまで動物実験を実施し、安全性には十分配慮してきましたが、予測できない副作用が起こる可能性はゼロではありません。もしあなたに健康被害が何か生じたら、どのような場合であっても、研究グループができるだけのことをいたします。

15. 新たな情報のお知らせについて

本臨床研究に参加中、新しい情報（例えば本臨床研究と同様の試験が海外で行われた場合の成績等）が得られることがあります。このような新しい情報を知ることによって、あなたが本臨床研究への参加をやめるという判断をされるかもしれません。よって、本臨床研究に関連する全ての情報はできるだけ速やかにお知らせし、本臨床研究に継続して参加されるかどうかについて、担当医師があらためてお尋ねします。

16. 臨床研究の中止について

あなたに本臨床研究参加の意思があったとしても、以下の場合には本臨床研究を中止させていただきます。なお、必要な検査・観察を行うとともに、有害事象の発現や対象疾患の悪化など、安全性に問題が生じて中止した場合には、速やかに適切な処置を行い、安全性が確認されるまで追跡調査を行います。

- (1) 本臨床研究開始後に対象として不適格であることが判明した場合
- (2) 本臨床研究の継続が困難な有害事象が発現した場合
- (3) 本臨床研究の継続が困難な対象疾患の悪化が生じた場合
- (4) 担当医師が本臨床研究の中止が必要と判断した場合
- (5) 本臨床研究自体が中止となった場合
- (6) あなたが同意を撤回された場合

なお、中止の後は採取した検体や遺伝子を調べた結果などは廃棄され、診療記録などもそれ以降は研究目的に用いられることはありません。ただし、同意を取り消した時すでに研究結果が論文などで公表されていた場合などのように、遺伝子を調べた結果などを廃棄することができない場合があります。

17. あなたに守っていただきたいこと

本臨床研究に参加される場合は、次のことを守ってください。

- (1) 他の診療科や病院を受診していたり、他の治療を受けている場合、またそこでもらった薬や薬局で買われているお薬がありましたら本臨床研究の担当医師（総括責任者または分担研究者）にお知らせください。
- (2) 臨床研究中は、使用するのを制限されているお薬があります。他の診療科や病院を受診されるときは、本臨床研究の担当医師（総括責任者または分担研究者）にお知らせください。
- (3) 担当医師の指示にしたがって、定期的に来院してください（通院中）。
ご都合が悪くなった場合には、なるべく早めにご連絡をお願いします。日程調整をいたします。
- (4) 住所や電話など連絡先が変更になる場合は、必ず担当医師までお知らせください。
- (5) いつもと体調が違ふと感じられた場合は、いつでも担当医師までご連絡ください。
- (6) あなた又はあなたのパートナーが妊娠していることが判明した場合には、速やかに担当医師に連絡してください。仮に妊娠が判明した場合には、適切な検査とカウンセリングを行います。

18. 検体の保存と臨床研究が終了した後の保存検体について

「9. 臨床研究のスケジュール」で説明しましたように、臨床研究中は様々な検査を実施します。あなたの血液の一部は、あなたの名前などの個人を識別できないように、割り振られた番号（被験者識別コード）がつけられ、自治医科大学・免疫遺伝子細胞治療学(タカラバイオ)講座に、匿名化されたまま厳重に保存され、必要に応じ解析します（解析の一部は共同研究者のタカラバイオまたは大阪大学が行います）。

もし同意していただければ、解析を終了した後に残った血液細胞や DNA、RNA、また調製された CAR 遺伝子導入 T リンパ球は本臨床研究終了後も同様に匿名化されたまま厳重に保存され、将来の医学研究のための貴重な資源と

して、保管させていただきます。また、「6. 臨床研究の具体的な方法」で説明しましたように調製された CAR 遺伝子導入 T リンパ球は各輸注レベルで予定量を輸注します。その際に CAR 遺伝子導入 T リンパ球が残った場合には同様に扱わせて頂きます。将来、検体を医学研究に用いる場合には、改めてその研究について自治医科大学の倫理委員会に申請し、承認を受けた上で使用します。

将来の医学研究のための保管について同意いただけない場合は、この研究が終了後、検体を廃棄いたします。

19. 本臨床研究の資金源と起こり得る利害の衝突及び他の組織との関わり

この臨床研究の経費の一部には、共同研究先であるタカラバイオ株式会社から提供された資金が使用されています。

20. 臨床研究参加中の費用負担について

臨床研究には、健康保険等の公的な医療保険は適用されません。その代わりに、臨床研究に参加するために必要な経費、たとえば遺伝子導入リンパ球投与にかかわる費用、この臨床研究にかかわる検査の費用（遺伝子導入リンパ球を投与してから2年後まで）などは本臨床研究グループがすべてを負担します。この臨床研究に参加することで、あなたに今まで以上に余分なお金を負担していただくことはありません。

ただし、この臨床研究の期間内であっても、この遺伝子治療と関係のない病状に要する医療費には、これまでどおり公的医療保険が適用され、その医療費にかかる一部負担金等はあなたの負担となります。

21. 個人情報の保護について

自治医科大学においては、あなたの個人情報（お名前、住所、電話番号などの個人を特定できる情報）は、「個人情報の保護に関する法律」（平成15年5月30日法律第57号）にしたがって取り扱われます。

本臨床研究で扱うあなたの個人情報は、主としてあなたの年齢、病状の経過観察、検査データ、緊急事態発生のための連絡等、あなたの生命を守るために使用します。その他、特別な目的で使用する場合には、事前にあなたに説明し、ご了解を頂いてから使用します。また、本臨床研究の成果を検討する時や、医

療向上等を目的に本臨床研究の成績を公表・公開する場合には、個人を特定できない形すなわち個人情報保護を保護して公開します。

22. 臨床研究の成績の使用と公表について

個人情報は適切に管理し、あらかじめあなたの同意を得ることなく第三者に提供することは絶対にありません。

当院の倫理委員会における審査や国の審議会における審査の過程において、厚生労働省の担当官および審議会の委員が、あなたの個人情報を取り扱うことがあります。また、本臨床研究の客観性を保証するために当院以外の外部の監査担当者があなたの診療記録を閲覧することがあります。いずれの場合も、あなたの個人情報はすべて秘密として取り扱われます。

本臨床研究では、タカラバイオが共同研究者として遺伝子治療に関する技術提供に限定し、間接的に関与しています。調製された CAR 遺伝子導入 T リンパ球をあなたに投与した場合の安全性や機能に関する記録は、個人が特定できないように個人情報を匿名化してから、タカラバイオの担当者が閲覧する可能性があります（患者さんを特定する情報については、担当医師が厳重に管理します）。

また、本臨床研究から得られたデータを学会などで発表、論文として医学雑誌などに発表する場合があります。本臨床研究で採取された血液やその他の検体は、臨床検査や遺伝子導入細胞の生存状態等の検査に使用されます。測定で残った検体は再測定の必要がなくなるまで保存されますが、この臨床研究以外の目的には絶対に使用されません。

23. 個人情報の保護と診療情報の開示の問い合わせや苦情の窓口

自治医科大学では、個人情報の保護や診療情報の開示に関する問い合わせや苦情の窓口を設けております。この研究に関係した個人情報の保護や診療情報の開示についてのご質問や苦情の窓口は次のとおりです。

個人情報の保護に関する事項：自治医科大学附属病院経営管理課
(電話 0285-58-7103)

診療情報の開示に関する事項：自治医科大学附属病院医事課
(電話 0285-58-7115)

診療情報の開示は次のような手続きで申請できます。

(1) 診療情報の開示を申請できる方

- ・ あなた自身
- ・ あなたが何らかの身体的あるいは精神的な理由で申請できない場合は、法律で決められた代理人あるいはあなたの世話を実際に行っている二親等以内の親族です。

(2) 診療情報の開示申請に必要な書類

- ・ あなた自身が申請する場合は、運転免許証、パスポート、健康保険証、国民年金手帳などの申請者の身分を証明する書類をお持ちください。
- ・ 法廷代理人や上に述べた親族が申請する場合は、申請する人の身分を証明する書類（運転免許証、パスポート、健康保険証、国民年金手帳など）と、あなたとの関係を証明する書類（戸籍謄本、健康保険者証など）をお持ちください。

(3) 申請の仕方：上の書類をお持ちいただき、自治医科大学附属病院医事課で所定の書類に記入頂きます。

(4) あなたの申請書は、自治医科大学附属病院内に設置されております診療情報提供委員会で審議され、診療情報の開示を行うかどうか決定されます。

24. 緊急連絡先およびお問い合わせ先について

緊急時、またはこの臨床研究について何かご心配やご質問がありましたら、下記にご連絡ください。

お問い合わせ先：自治医科大学附属病院 血液科

電話番号：0285-58-7353（血液科）

総括責任者：小澤 敬也

分担研究者：大嶺 謙

あなたの担当医師：

夜間・休日連絡先：

自治医科大学附属病院 救急受付（電話：0285-44-2111）経由で血液科宅直当番医師をご指名ください。宅直当番医師経由で、上記の総括責任者または分担研究者に連絡します。

25. 遺伝子治療臨床研究の名称と実施組織体制

(1) 臨床研究の正式名称

CD19 特異的キメラ抗原受容体発現Tリンパ球を用いた難治性B細胞性悪性リンパ腫に対する遺伝子治療臨床研究

(2) 実施施設

自治医科大学附属病院

(3) 総括責任者

小澤 敬也：自治医科大学 教授
内科学講座 血液学部門
分子病態治療研究センター 遺伝子治療研究部
免疫遺伝子細胞治療学（タカラバイオ）講座

(4) 分担研究者

氏名	役職	所属
大嶺 謙	講師	内科学講座血液学部門 免疫遺伝子細胞治療学（タカラバイオ）講座
塚原 智典	講師	遺伝子治療研究部 免疫遺伝子細胞治療学（タカラバイオ）講座
内堀 亮介	助教	免疫遺伝子細胞治療学（タカラバイオ）講座
室井 一男	教授	輸血・細胞移植部
永井 正	准教授	内科学講座血液学部門
鈴木 隆浩	講師	内科学講座血液学部門
藤原 慎一郎	講師	内科学講座血液学部門
翁 家国	講師	内科学講座血液学部門
佐藤 一也	講師	内科学講座血液学部門
多々良 礼音	講師	内科学講座血液学部門
岡塚 貴世志	助教	内科学講座血液学部門
上原 英輔	助教	内科学講座血液学部門
水上 浩明	准教授	遺伝子治療研究部
卜部 匡司	講師	遺伝子治療研究部

福嶋 敬宜	教授	病理診断部
吉尾 卓	センター長	臨床試験センター
山崎 晶司	副センター長	臨床試験センター

26. その他

この臨床研究では、CAR 遺伝子導入 T リンパ球投与 2 年後までを評価期間としていますので、その間には他の臨床研究または治験に参加できません（この臨床研究の中止を希望される場合はこの限りではありません）。

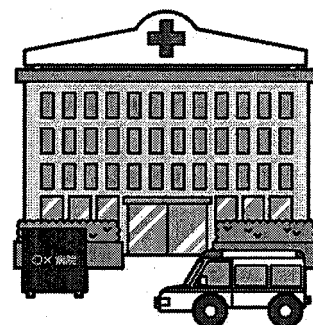
この研究に参加された方がお亡くなりになられた場合は、ご遺族に対して解剖をお願いすることがあります。

この臨床研究について
十分に理解していただけただけでしょうか？

もし、この臨床研究に参加してもよいとお考えでしたら、次のページにある「臨床研究への参加に関する同意書（一次登録）」、「臨床研究における輸注に関する同意書（二次登録）」という用紙にご記入いただきたいと思います。

また、同意した後に、参加を取りやめたくなれましたら、「同意撤回書」という用紙にご記入いただきたいと思います。

心配なこと、わからないことがありましたら、いつでも遠慮なく総括責任者、担当医師にお問い合わせください。



臨床研究への参加に関する同意書(一次登録)

自治医科大学附属病院
病院長 殿

私は「CD19 特異的キメラ抗原受容体発現 T リンパ球を用いた難治性 B 細胞性悪性リンパ腫に対する遺伝子治療臨床研究」の臨床研究に参加するに当たり、担当医師から「臨床研究ご参加についての説明文書」を用いて説明を受け、その内容について十分理解しました。

説明を受けた項目

各項目について、ご自分で ☒ の印を付けてください。

(CAR 遺伝子導入 T リンパ球数については、担当医師が記入いたします。)

- ・ 説明を受け理解できた場合は「☐はい」
- ・ 説明を受け理解できていない場合には「☐いいえ」
- ・ 全ての項目で「☒はい」になることが同意の条件です。

1. はじめに	☐ はい ☐ いいえ
2. 臨床研究について	☐ はい ☐ いいえ
3. あなたの病気と治療について	☐ はい ☐ いいえ
4. この臨床研究の概要について	☐ はい ☐ いいえ
5. CD19 を標的とした CAR 遺伝子治療臨床研究の 海外での状況	☐ はい ☐ いいえ
6. この臨床研究の具体的な方法	☐ はい ☐ いいえ
7. この臨床研究に参加できる人、できない人	☐ はい ☐ いいえ
8. 臨床研究のスケジュール	☐ はい ☐ いいえ
調製予定の CAR 遺伝子導入 T リンパ球数	___ ×10 [—] /kg
9. 期待される効果	☐ はい ☐ いいえ
10. 予想される副作用及び不利益	☐ はい ☐ いいえ
11. 臨床研究への参加予定期間と参加予定患者数	☐ はい ☐ いいえ

12. 臨床研究に参加しない場合や臨床研究後の他の治療法について ☐ はい ☐ いいえ
13. 臨床研究への参加の自由と、参加の取りやめについて ☐ はい ☐ いいえ
14. 健康被害補償について ☐ はい ☐ いいえ
15. 新たな情報のお知らせについて ☐ はい ☐ いいえ
16. 臨床研究の中止について ☐ はい ☐ いいえ
17. あなたに守っていただきたいこと ☐ はい ☐ いいえ
18. 検体の保存と臨床研究終了後の保存検体について ☐ はい ☐ いいえ
19. 本臨床研究の資金源と起こり得る利害の衝突及び他の組織との関わり ☐ はい ☐ いいえ
20. 臨床研究に参加するために必要な費用について ☐ はい ☐ いいえ
21. 個人情報の保護について ☐ はい ☐ いいえ
22. 臨床研究の成績の使用と公表について ☐ はい ☐ いいえ
23. 個人情報の保護と診療情報の開示についての問い合わせや苦情の窓口 ☐ はい ☐ いいえ
24. 緊急連絡先およびお問い合わせ先について ☐ はい ☐ いいえ
25. 遺伝子治療臨床研究の名称と実施組織体制 ☐ はい ☐ いいえ

26. 上記 1.～25.以外に説明を受けたい事項がある場合は、下の空欄に記載して下さい。

26. の空欄に記載した場合、その内容について、適切な説明を受け、理解できましたか？ ☐ はい ☐ いいえ

説明を受け、1～25の項目について理解し、さらに26の空欄に記載をした場合はそれに対する説明についても理解しましたので、自らの自由意思により、本臨床研究に参加することに同意いたします。

患者さん 同意日：_____年 月 日

氏名（署名）：_____

説明者 説明日：_____年 月 日

所属・職名：_____

説明者署名：_____

臨床研究における輸注に関する同意書(二次登録)

自治医科大学附属病院
病院長 殿

私は以前「CD19 特異的キメラ抗原受容体発現 T リンパ球を用いた難治性 B 細胞性悪性リンパ腫に対する遺伝子治療臨床研究」の臨床研究に参加するに当たり、担当医師から「臨床研究ご参加についての説明文書」を用いて説明を受け、その内容について十分理解し、この臨床研究への参加に同意しました。

この度、この臨床研究における CAR 遺伝子導入 T リンパ球の輸注を受けるに当たり、もう一度担当医師からこの臨床研究に関する説明を受け、その内容について十分に理解しました。

説明を受けた項目

各項目について、ご自分で ☒ の印を付けてください。

(CAR 遺伝子導入 T リンパ球数については、担当医師が記入いたします。)

- ・ 説明を受け理解できた場合は「☐はい」
- ・ 説明を受け理解できていない場合には「☐いいえ」
- ・ 全ての項目で「☒はい」になることが同意の条件です。

1. はじめに	☐ はい ☐ いいえ
2. 臨床研究について	☐ はい ☐ いいえ
3. あなたの病気と治療について	☐ はい ☐ いいえ
4. この臨床研究の概要について	☐ はい ☐ いいえ
5. CD19 を標的とした CAR 遺伝子治療臨床研究の 海外での状況	☐ はい ☐ いいえ
6. この臨床研究の具体的な方法	☐ はい ☐ いいえ
7. この臨床研究に参加できる人、できない人	☐ はい ☐ いいえ
8. 臨床研究のスケジュール	☐ はい ☐ いいえ
輸注予定の CAR 遺伝子導入 T リンパ球数	____×10 [—] /kg
9. 期待される効果	☐ はい ☐ いいえ

10. 予想される副作用及び不利益	☐ はい ☐ いいえ
11. 臨床研究への参加予定期間と参加予定患者数	☐ はい ☐ いいえ
12. 臨床研究に参加しない場合や臨床研究後の他の治療法について	☐ はい ☐ いいえ
13. 臨床研究への参加の自由と、参加の取りやめについて	☐ はい ☐ いいえ
14. 健康被害補償について	☐ はい ☐ いいえ
15. 新たな情報のお知らせについて	☐ はい ☐ いいえ
16. 臨床研究の中止について	☐ はい ☐ いいえ
17. あなたに守っていただきたいこと	☐ はい ☐ いいえ
18. 検体の保存と臨床研究終了後の保存検体について	☐ はい ☐ いいえ
19. <u>本臨床研究の資金源と起こり得る利害の衝突及び他の組織との関わり</u>	☐ はい ☐ いいえ
20. 臨床研究に参加するために必要な費用について	☐ はい ☐ いいえ
21. 個人情報の保護について	☐ はい ☐ いいえ
22. 臨床研究の成績の使用と公表について	☐ はい ☐ いいえ
23. 個人情報の保護と診療情報の開示についての問い合わせや苦情の窓口	☐ はい ☐ いいえ
24. 緊急連絡先およびお問い合わせ先について	☐ はい ☐ いいえ
25. 遺伝子治療臨床研究の名称と実施組織体制	☐ はい ☐ いいえ

26. 上記 1.～25.以外に説明を受けたい事項がある場合は、下の空欄に記載して下さい。

26 の空欄に記載した場合、その内容について、適切な説明を受け、理解できましたか？	☐ はい ☐ いいえ
---	--

説明を受け、1～25の項目について理解し、さらに26の空欄に記載をした場合はそれに対する説明についても理解しましたので、自らの自由意思により、本臨床研究においてCAR遺伝子導入Tリンパ球の輸注を受けることに同意いたします。

患者さん

同意日：____年____月____日

氏名（署名）：_____

担当医師

説明日：____年____月____日

医師署名：_____

コーディネーター
(補足説明を行った場合)

説明日：____年____月____日

コーディネーター署名：_____

また、私が本研究のために提供する検体の研究終了後の取扱いについては、

1. 本研究終了時に速やかに破棄してください。
2. 自治医科大学免疫遺伝子細胞治療学(タカラバイオ)講座に本研究終了後も保存され、将来新たに計画・実施される医学研究(付随研究)に使用されることに同意します。

(1. 又は 2. のどちらかを丸で囲んでください。どちらなのか不明確な場合は、1. を選択したものとします。)

患者さん

同意日：____年____月____日

氏名（署名）：_____

遺伝子治療臨床研究に関する同意撤回書

自治医科大学附属病院

病院長 殿

私は、「CD19 特異的キメラ抗原受容体発現 T リンパ球を用いた難治性 B 細胞性悪性リンパ腫に対する遺伝子治療臨床研究」への参加するにあたり、担当医師から説明を受け、十分理解し同意し同意書に署名しましたが、私の自由意思により、この臨床研究への参加の同意を撤回したく、担当医師に口頭で伝え、確認のため、ここに同意撤回書を提出します。

私は、同意撤回後、以下の通り希望します(いずれかに☑をいれてください)。

- ☐ 以降の臨床研究の参加はしませんが、今までのデータ利用は認めます
☐ この臨床研究で私が提供したすべてのデータの研究利用を認めません

提出日： _____ 年 _____ 月 _____ 日

本人氏名（自署）： _____

連絡先： _____

代諾者（該当する場合）

提出日： _____ 年 _____ 月 _____ 日

代諾者氏名（自署）： _____

連絡先： _____

患者との関係： _____

私は、上記被験者が本臨床研究に関する同意を撤回したことを確認しました。
担当医師または総括責任者

受領日： _____ 年 _____ 月 _____ 日

所属・職名： _____

受領者署名： _____

