

別紙様式第5

## 遺 伝 子 治 療 等 臨 床 研 究 終 了 報 告 書

平成29年 8月15日

厚生労働大臣 殿

研 究 機 関	所 在 地	札幌市北区北14条西5丁目 (郵便番号 064-8648)
	名 称	北海道大学病院 (電話番号 011-716-1161) (FAX番号 011-747-1622)
	代 表 者 役職名・氏名	北海道大学病院長 寶金 清博 (職印)

下記の遺伝子治療等臨床研究について、別添の総括報告書を提出します。

記

遺 伝 子 治 療 等 臨 床 研 究 の 課 題 名	研 究 責 任 者 の 所 属 ・ 職 ・ 氏 名
アデノシンデアミナーゼ欠損症における血液幹細胞を標的とする遺伝子治療臨床研究	北海道大学大学院医学研究院 小児科学教室 特任教授 有賀 正 

遺 伝 子 治 療 等 臨 床 研 究 総 括 報 告 書

申 請 年 月 日	17年 4月 1日
-----------	-----------

1. 基本情報

研 究 の 名 称	アデノシンデアミナーゼ欠損症における血液幹細胞を標的とする遺伝子治療臨床研究
研 究 実 施 期 間	平成14年 6月 17日から 平成17年 3月31日まで
多施設共同臨床研究	<input type="radio"/> 該当 <input type="radio"/> 非該当

2. 研究責任者及び研究機関に関する情報

研 究 責 任 者	所属部局の所在地	札幌市北区北15条西7丁目 (郵便番号060-8638)	
	所属機関・部局・職	北海道大学・大学院医学研究院・特任教授	
	氏 名	有賀 正 	
研 究 機 関	所 在 地	札幌市北区北15条西7丁目 (郵便番号060-8638)	
	名 称	北海道大学・大学院医学研究院・小児科学教室	
	連 絡 先	札幌市北区北15条西7丁目 (電話番号011-706-5954)	
研 究 責 任 者 以 外 の 研 究 者	氏 名	所 属 機 関 ・ 部 局 ・ 職	役 割
	山田 雅文	北海道大学・大学院医学研究院・講師	患者の免疫機能解析、治療効果の評価
	小野寺 雅史	国立成育医療研究センター・成育遺伝研究部・部長	遺伝子挿入部の解析、安全性の総合評価
	大津 真	東京大学・医科学研究所・准教授	遺伝子挿入部の解析、遺伝子発現細胞の解析

3. 総括責任者及び総括責任者が所属する研究機関に関する情報（多施設共同臨床研究に該当する場合は、以下の項目を記載すること。）

総括責任者	所属部局の所在地	札幌市北区北15条西7丁目（郵便番号060-8638）
	所属機関・部局・職	北海道大学・大学院医学研究院・特任教授
	氏名	有賀 正
研究機関	所在地	札幌市北区北15条西7丁目（郵便番号060-8638）
	名称	北海道大学大学院医学研究院小児科学教室
	連絡先	札幌市北区北15条西7丁目（郵便番号060-8638）（電話番号011-706-5954）

4. 総括責任者以外の研究責任者及び当該研究責任者が所属する研究機関に関する情報（多施設共同臨床研究に該当する場合は、以下の項目を記載すること。）

研究責任者①	所属部局の所在地	札幌市北区北15条西7丁目（郵便番号060-8638）
	所属機関・部局・職	北海道大学・大学院医学研究院・講師
	氏名	山田 雅文
研究機関①	所在地	札幌市北区北15条西7丁目（郵便番号060-8638）
	名称	北海道大学大学院医学研究院小児科学教室
	連絡先	札幌市北区北15条西7丁目（郵便番号060-8638）（電話番号011-706-5954）

研究責任者②	所属部局の所在地	東京都世田谷区大蔵2-10-1（郵便番号 157-8535）
	所属機関・部局・職	国立成育医療研究センター・成育遺伝研究部・部長
	氏名	小野寺 雅史
研究機関②	所在地	東京都世田谷区大蔵2-10-1（郵便番号 157-8535）
	名称	国立成育医療研究センター・成育遺伝研究部
	連絡先	東京都世田谷区大蔵2-10-1（郵便番号 157-8535）（電話番号03-3416-0181）

研究責任者③	所属部局の所在地	東京都港区白金台4-6-1（郵便番号108-8639）
	所属機関・部局・職	東京大学・医科学研究所・准教授
	氏名	大津 真
研究機関	所在地	東京都港区白金台4-6-1（郵便番号108-8639）
	名称	東京大学医科学研究所幹細胞治療研究センター幹細胞プロセッシング分野
	連絡先	東京都港区白金台4-6-1（郵便番号108-8639）（電話03-6409-2342）

5. 倫理審査委員会の見解

倫理審査委員会の 意 見	研究が終了した	
	倫理審査委員会の長の職名	氏 名
	北海道大学病院長	室金清博 (印)

研究の区分	○治療に係る臨床研究	手術に係る臨床研究
研究の目的及び意義	<p>ADA欠損症による重症複合免疫不全症に対する根治療法としては組織適合抗原の一致した血縁者からの血液幹細胞移植があるが、必ずしも適切なドナーは存在しない。1990年にADA酵素補充をしながら末梢血T細胞を標的としたレトロウイルスベクターによる遺伝子治療が実施され、その有効性が示された。我々も1995年から1997年に同様の遺伝子治療臨床研究を実施し、その有効性を示した。しかし、末梢血T細胞が標的の治療では、その効果に制約が予想され、標的細胞を血液幹細胞とする遺伝子治療が望まれていた。今回、ADA酵素補充で治療を受けていたADA欠損症患者に対し、酵素補充を中断した上で血液幹細胞を標的とし、レトロウイルスベクターによる遺伝子治療臨床研究を実施して、免疫機構の再建への効果、その安全性を解析、評価することを目的とする。</p>	
対象疾患及びその選定理由	<p>酵素補充で治療を受けている2名のADA欠損症に対して酵素補充を中断して実施する。適合するドナーが検出困難な患者に対して血液幹細胞移植に準じた治療効果が期待できるため。これまで、酵素補充を継続しながらの血液幹細胞標的遺伝子治療は、効果が見られず、酵素補充が遺伝子導入細胞の増殖優位性を損なう影響があると考えているため、酵素補充を中断して実施する。</p>	
実施方法	<p>ベクターはレトロウイルスベクター：GCsapM-ADAを使用。患者骨髄からCD34陽性細胞を採取、分離してこれを標的とする。体外でこれまで血液幹細胞への遺伝子導入効率が最適と思われるサイトカインのカクテル、フィブロネクチン存在下でベクターと培養して遺伝子を導入し、細胞のコンディションを整えた後、患者の静脈内へ点滴静注して遺伝子導入血液幹細胞を投与した。投与前からADA酵素補充を中断して実施した。イタリアで実施した遺伝子治療の前処置としてのブスルファンの投与は、そのリスクを考慮し、承認の条件として認められなかった。</p>	
研究結果の概要及び考察	<p>2例ともに酵素補充の中断によって、肝酵素の上昇、食欲不振、体重減少などの症状が一過性に出現したが、遺伝子導入細胞投与後には改善した。症例1ではCD34+細胞 <math>1.38 \times 10^6 / \text{kg}</math> 体重 (遺伝子導入効率約40%) を2003年12月に投与、症例2ではCD34+細胞 <math>0.92 \times 10^6 / \text{kg}</math> 体重 (遺伝子導入効率約50%) を2004年1月に投与した。その結果、抹消リンパ球数の増加、リンパ球中のADA酵素活性の上昇を認めている。その後、ADA酵素補充を中断した状況で経過を見ていたが、重大な感染症の既往がなく、概ね経過良好で日常生活に大きな支障はなかった。特に、他の疾患の血液幹細胞遺伝子治療で問題になっている重大な副作用 (血液増殖性悪性疾患) の兆しは全くない。ベクターの挿入部位の検査も定期的時実施し、問題のある挿入部位を持つクローンの増加は認めない。しかし、2例共に治療効果は十分とは言えず、長期的な観察では末梢血リンパ球数が正常下限、定期的なガンマグロブリン補充も必要な状況である。症例1は主に成育医療研究センターで経過観察中であるが、食欲不振のため成長、体重の増加などに問題を呈している。症例2は北大で経過観察中である。両手掌の疣贅は存続し、重症ではなかったがニューモチスシス肺炎を繰り返し、その都度ST合剤の治療で改善して</p>	

	<p>いる。このような状況を鑑み、症例1ではリンパ球数の増加、全身状態の改善などを期待し、2009年からADA酵素補充を再開し、その後合成ADA酵素の臨床治験へと変更治療を実施している。症例2では免疫機構の強化（リンパ球数の増加、手掌の疣贅の改善など）を期待して2016年から合成ADA酵素の臨床治験に参加した。酵素補充の追加により、症例1では大きな変化はなかったが、症例2では手掌の疣贅が劇的に改善し、リンパ球数も微増している。直近の遺伝子導入細胞の比率は症例1ではT細胞では97.1%、B細胞では約15%、NK細胞ではおよそ10%以下であるが、そもそもリンパ球数の絶対数の低下（500/<math>\mu</math>L以下）に問題がある。症例2では約80%のT細胞、B細胞の12%程度、NK細胞では7%程度であった。症例2ではリンパ球数が正常下限（1000/<math>\mu</math>L程度）である。両者ともに遺伝子治療後から13年以上を経過し、外来フォロー中である。</p> <p>我々の遺伝子治療は、イタリアなど欧米で実施された遺伝子治療の成績に比べると、リンパ球数、ガンマグロブリン製剤の治療の要否に違いがあり、治療効果は不十分と言える。主な理由として遺伝子治療実施の前処置として欧米で実施したブスルファンを使用しなかった（承認の条件であった）ことがその理由の一つとしてあげられる。</p>
今後の研究計画	<p>引き続き、免疫状態を中心に経過観察を続ける。2名ともに治療実施数年ごから不十分な免疫機能改善を目的として、合成したADA酵素補充の治験を開始している。この影響下で、遺伝子導入細胞の推移を解析し、長期的な治療効果、安全性の評価をしていく予定である。</p>
研究成果の公表状況	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Onodera M, <u>Ariga T</u>, Kawamura N, Kobayashi I, Ohtsu M, Yamada M, Tame A, Furuta H, Okano M, Matsumoto S, Kotani H, McGarrity G J, Blaese R M, and Sakiyama Y: Successful Peripheral T-Lymphocyte-Directed Gene Transfer for a Patient with Severe Combined Immune Deficiency Caused by Adenosine Deaminase Deficiency. Blood 91, 30-36, 1997</li> <li>2. Egashira M, <u>Ariga T</u>, Kawamura N, Miyoshi O, Niikawa N, and Sakiyama Y: Visible Integration of the Adenosine Deaminase (ADA) Gene into the recipient Gene Therapy. Am J Med Genet 75, 314-317, 1998</li> <li>3. Kawamura N, <u>Ariga T</u>, Ohtsu M, Kobayashi I, Yamada M, Tame A, Furuta M, Okano M, Egashira M, Niikawa N, Kobayashi K, Sakiyama Y.: In vivo kinetics of transduced cells in peripheral T cell-directed gene therapy: role of CD8+ cells in improved immunological function in an adenosine deaminase (ADA)-SCID patient. J Immunol 163: 2256-2261, 1999.</li> <li>4. <u>Ariga T</u>, Oda N, Yamaguchi K, Kawamura N, Kikuta H, Taniuchi S, Kobayashi Y, Terada K, Ikeda H, Hershfield MS, Kobayashi K, Sakiyama Y: T cell lines from two patients with adenosine deaminase (ADA) deficiency showed the restoration of ADA activity resulted from the reversion of an inherited mutation. Blood 97, 2896-2899, 2001</li> <li>5. <u>Ariga T</u>, Oda N, Sanstisteban I, Arredondo-Vega FX, Shioda M, Ueno H, Terada K, Kobayashi K, Hershfield MS, Sakiyama Y. Molecular basis for paradoxical carriers of adenosine deaminase (ADA) deficiency who show extremely low level of ADA activity in peripheral blood cells without immunodeficiency. J Immunol 166, 1698-1702, 2001.</li> <li>6. Otsu M, Hershfield, MS, Tuschang LM, Muul LM, Onodera M, <u>Ariga T</u>, Sakiyama Y, Fabio C. Flow Cytometry Analysis of Adenosine Deaminase (ADA) Expression: A Simple and Reliable Tool for the Assessment of ADA-Deficient Patients Before and After Gene Therapy. Hum Gene Ther 13, 425-432, 2002</li> <li>7. <u>Ariga T</u>. Adenosine deaminase (ADA) deficiency. Chapter 4, 29-41; Genetic errors associated with purine and pyrimidine metabolism in humans: diagnosis and treatment. Yuji Moriwaki (ed) Research Signpost India, 2006</li> </ol>

	<p>8. Otsu M, Yamada M, Nakajima S, Kida M, Maeyama Y, Hatano N, Toita N, Takezaki S, Okura Y, Kobayashi R, Matsumoto Y, Tatsuzawa O, Tsuchida F, Kato S, Kitagawa M, Mineno J, Hershfield MS, Bali P, Candotti F, Onodera M, Kawamura N, Sakiyama Y, Ariga T. Long-term Outcomes in Two Japanese Adenosine Deaminase-Deficiency Patients Treated by Stem Cell Gene Therapy with No Cytoreductive Conditioning. J Clin Immunol 35, 384-398, 2015</p> <p>9. Igarashi Y, Uchiyama T, Minegishi T, Takahashi S, Watanabe N, Kawai T, Yamada M, Ariga T, Onodera M. Single cell-based vector tracing in ADA-SCID patients treated with stem cell gene therapy. Molecular Therapy - Methods &amp; Clinical Development 6, 8-16, 2017</p>
--	---

<p>備考 (共同研究機関の実施 状況等)</p>	<p>国立成育医療研究センターにて1名の患者の経過をフォロー中である。</p>
-----------------------------------	---

(注意)

1. 用紙の大きさは、日本工業規格A列4番とすること。
2. この報告書は、正本1通及び副本2通を提出すること。
3. 字は墨・インク等を用い、楷書ではっきり書くこと。
4. 各項目数行程度で簡潔に記載すること。記載欄に記載事項のすべてを記載できない時は、その欄に「別紙( )のとおり」と記載し、別紙を添付すること。
5. 多施設共同臨床研究に該当する場合は、備考欄に共同研究機関の進捗状況を記載すること。