

**国内で実施が承認されている
レトロウイルスベクターを用いて血液細胞系列に
外来遺伝子を導入する遺伝子治療臨床研究の経過について
(報告)**

1. 経緯

フランスで実施されていた X 連鎖重症複合免疫不全症 (X-SCID) に対するレトロウイルスベクター (RV) 遺伝子治療において、全 11 例中、遺伝子治療に起因する白血病がこれまでに 3 例報告されている。

平成 17 年 1 月に報告された 3 例目の発生を受け、平成 17 年 3 月 8 日に厚生科学審議会科学技術部会第 14 回がん遺伝子治療臨床研究作業委員会・第 9 回小児免疫不全疾患遺伝子治療臨床研究作業委員会合同会議が開催され、国内で実施が承認されている、RV を用いて血液細胞系列に外来遺伝子を導入する遺伝子治療臨床研究 4 施設 4 件^{*1} の現状の確認及び取扱いについて審議が行われた。

その結果、遺伝子治療を受けた各症例の臨床経過の詳細の他、遺伝子導入細胞の異常増殖の有無及び染色体へのベクター組込み部位の検索等を実施し、作業委員会に報告するよう指導がなされた (平成 17 年 3 月 18 日開催の科学技術部会にて報告)。

今般、上記 4 施設から、前回合同会議以後の臨床経過、染色体へのベクター組込み部位の解析結果、海外における RV 遺伝子治療の実施状況等が提出されたことから、平成 18 年 11 月 10 日の合同会議において、再度審議が行われた。

^{*1} : 癌研究会有明病院、筑波大学附属病院、北海道大学病院及び東北大学病院の 4 施設 4 件 (詳細は P.4 「(別紙) 国内で実施が承認されている、レトロウイルスベクターを用いて血液細胞系列に外来遺伝子を導入する遺伝子治療臨床研究の概略」参照)。

2. 第 17 回がん遺伝子治療臨床研究作業委員会・第 10 回小児免疫不全疾患遺伝子治療臨床研究作業委員会合同会議（平成 18 年 11 月 10 日開催）の議事概要

平成 18 年 11 月 10 日に開催された厚生科学審議会科学技術部会第 17 回がん遺伝子治療臨床研究作業委員会・第 10 回小児免疫不全疾患遺伝子治療臨床研究作業委員会合同会議の概要は以下のとおり。

まず、RV 遺伝子治療に対する日米 EU 医薬品規制調和国際会議（ICH）遺伝子治療専門家会議の見解について参考人²から説明がなされた後、筑波大学附属病院及び東北大学病院の遺伝子治療臨床研究の担当医師から、当該施設の報告内容についてそれぞれ説明がなされた³。

*2：国立医薬品食品衛生研究所 山口 照英 生物薬品部長。

*3：癌研究会有明病院及び北海道大学病院からの各報告内容については、事務局から説明。

引き続き、委員間で、国内で実施が承認されている、RV を用いて血液細胞系列に外来遺伝子を導入する遺伝子治療臨床研究 4 件を含めた国内外の RV 遺伝子治療の現状の確認及び国内における今後の取扱いについて審議が行われた。

主な審議結果は、以下①～③のとおり。

- ① X-SCID に対する RV 遺伝子治療は、白血病の副作用が発生したフランス以外に、これまでに英国で 11 例、米国で 3 例に類似の治療が行われているが、英国及び米国では安全性上の問題はみられていない。さらに、RV 遺伝子治療は全世界で 280 件以上が実施されているが、フランス X-SCID 遺伝子治療以外に、白血病など重篤な副作用が報告されている例はない⁴。

*4：現時点までの科学的知見では、同一の目的たん白質（ヒトインターロイキン 2 受容体 γ 鎖）を発現する RV（モロニーマウス白血病ウイルス由来）を用いているにもかかわらず、フランスでのみ白血病発症がみられ、英米ではみられていない理由は不明。

- ② 国内の当該遺伝子治療臨床研究 4 件において、既に遺伝子治療が実施された症例の解析は適切になされており、現在までのところ遺伝子治療に起因する安全性上の問題は認められていないと判断された。

検査・観察内容も含めて、被験者の追跡調査体制は現時点では十分であると考えられるが、今後も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臨床研究のリスク／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実施するよう各施設を指導することとされた。

また、国内において、新規の安全な遺伝子治療用ベクターの開発研究が積極的に実施されることが重要であると指摘された。

- ③ フランス X-SCID 遺伝子治療と同一のベクター及び実施計画を採用している東北大学病院の X-SCID 遺伝子治療臨床研究に関しては、今後も開始保留を継続するとの施設からの報告について妥当であると判断した。

他の 3 施設の各遺伝子治療臨床研究に関しては、今後も継続して実施するとの報告についていずれも妥当であると判断した。

以上の審議結果は、次回の科学技術部会に報告することとされた。

(別紙) 国内で実施が承認されている、レトロウイルスベクターを用いて血液細胞系列に外来遺伝子を導入する遺伝子治療臨床研究の概略
 (第 17 回がん遺伝子治療臨床研究作業委員会・第 10 回小児免疫不全疾患遺伝子治療臨床研究作業委員会合同会議審議分)

①癌研究会有明病院

研究課題名	乳癌に対する癌化学療法の有効性と安全性を高めるための耐性遺伝子治療の臨床研究
実施施設	癌研究会有明病院
総括責任者	癌研究会有明病院化学療法科・癌研究会癌化学療法センター臨床研究部 高橋 俊二 化学療法科乳がん骨転移担当・原発不明癌担当部長
申請・回答年月日	平成 10 年 7 月 14 日 申請 平成 12 年 2 月 24 日 回答
対象疾患	乳がん
導入遺伝子	ヒト多剤耐性 (MDR1) 遺伝子 (P-糖たん白質を発現)
ベクター	レトロウイルスベクター (ハーバーマウス肉腫ウイルス由来)
予定症例数	3 例 (第 1 段階) + 10 例 (第 2 段階)
実施症例数	3 例 (第 1 段階)
研究計画の概略	乳がんの被験者の末梢血単核細胞を採取し、分離した CD34 抗原陽性細胞に生体外で MDR1 遺伝子を導入する。被験者に大量化学療法を施行した後、遺伝子導入 CD34 抗原陽性細胞を未処理の末梢血単核細胞とともに移植する。その後、さらに抗がん剤投与を行う。
臨床経過の概略	遺伝子治療を実施した 3 例において、遺伝子治療実施から約 2 年～ 5 年半が経過したが、いずれも生存中。被験者の新規登録は自主的に保留中。

②筑波大学附属病院

研究課題名	同種造血幹細胞移植後の再発白血病に対するヘルペスウイルス・チミジンキナーゼ導入ドナー T リンパ球輸注療法の臨床研究
実施施設	筑波大学附属病院
総括責任者	筑波大学臨床医学系血液内科・筑波大学附属病院血液内科 長澤 俊郎 教授
申請・回答年月日	平成 13 年 9 月 17 日 申請 平成 14 年 3 月 14 日 回答
対象疾患	再発白血病（同種造血幹細胞移植後）
導入遺伝子	単純ヘルペスウイルスチミジンキナーゼ（HSV-TK）遺伝子
ベクター	レトロウイルスベクター（モロニー Maus 白血病ウイルス由来）
予定症例数	10 例
実施症例数	5 例
研究計画の概略	ドナーの末梢血リンパ球を採取し、前刺激した末梢血リンパ球に生体外で HSV-TK 遺伝子を導入する。同種造血幹細胞移植後の再発白血病の被験者に遺伝子導入リンパ球を移植する。その後、重度移植片対宿主病（GVHD）が発症した際には、ガンシクロビルを投与することによって遺伝子導入リンパ球を死滅させ、GVHD の沈静化を図る。
臨床経過の概略	5 例に計 8 回の遺伝子治療を実施（3 例では 2 回移植）。このうち 1 例で急性 GVHD を発症し、ガンシクロビルを投与することによって末梢血中の遺伝子治療導入リンパ球は減少して GVHD は沈静化した。原疾患の進行によりガンシクロビル投与後 38 日に死亡。残り 4 例は、遺伝子治療実施から約 4 月～ 2 年が経過したが、いずれも生存中。

③北海道大学病院

研究課題名	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
実施施設	北海道大学病院
総括責任者	北海道大学大学院医学研究科小児科・北海道大学病院小児科 有賀 正 教授
申請・回答年月日	平成 14 年 2 月 18 日 申請 平成 14 年 6 月 17 日 回答
対象疾患	アデノシンデアミナーゼ (ADA) 欠損症
導入遺伝子	ヒト ADA 遺伝子
ベクター	レトロウイルスベクター (モロニー Maus 白血病ウイルス由来)
予定症例数	4 例
実施症例数	2 例
研究計画の概略	ADA 欠損症の被験者の造血幹細胞を骨髄から採取し、分離した CD34 抗原陽性細胞に生体外で ADA 遺伝子を導入する。ADA 酵素補充療法を中止した被験者に遺伝子導入 CD34 抗原陽性細胞を移植する。
臨床経過の概略	遺伝子治療を実施した 2 例において、遺伝子治療実施から約 2 年半が経過したが、いずれも生存中。定期的な γ -グロブリンの補充は継続しているものの、それ以外は、ADA 酵素補充療法も行わず、通常の日生活を営んでいる。

④東北大学病院

研究課題名	X連鎖重症複合免疫不全症（X-SCID）に対する遺伝子治療臨床研究
実施施設	東北大学病院
総括責任者	東北大学大学院医学系研究科小児病態学分野・東北大学病院小児腫瘍科 土屋 滋 教授
申請・回答年月日	平成14年2月18日 申請 平成14年6月17日 回答
対象疾患	X連鎖重症複合免疫不全症（X-SCID）
導入遺伝子	ヒトインターロイキン2受容体γ鎖（γc）遺伝子
ベクター	レトロウイルスベクター（モロニー Maus 白血病由来。フランス X-SCID 遺伝子治療で用いられたベクターと同一）
予定症例数	5例
実施症例数	0例
研究計画の概略	X-SCID の被験者の骨髄から造血幹細胞を採取し、分離・前刺激した CD34 抗原陽性細胞に生体外で γc 遺伝子を導入する。被験者に遺伝子導入 CD34 抗原陽性細胞を移植する。
臨床経過の概略	被験者の登録は自主的に保留しており、被験者に対する遺伝子治療は実施されていない。

参考資料

＜遺伝子治療臨床経過に関する各実施施設からの報告（抜粋）＞

- ① 癌研究会有明病院 P.1
- ② 筑波大学附属病院 P.3
- ③ 北海道大学病院 P.6

＜その他の資料＞

- ④ これまでの審議経過（詳細） P.10
- ⑤ がん遺伝子治療臨床研究作業委員会・小児免疫疾患遺伝子治療臨床研究作業委員会委員名簿 P.16
- ⑥ 我が国で実施されている遺伝子治療臨床研究の一覧 P.17

① 癌研究会有明病院

今回、最初の3症例に対する半年間（以上）のフォローアップが完了したのでご報告いたします。

- 1) **MDR1 遺伝子導入細胞の異常増殖について**：これまでの3症例では、患者末梢血に最大数%の P-糖タンパク陽性細胞が認められましたが、これらの P-糖タンパク陽性細胞が異常に増殖するという事は末梢血液所見、末梢血白血球の FACS（蛍光励起細胞分取装置）検査、末梢血白血球の DNA-PCR（ポリメラーゼ連鎖反応）検査のいずれにおいても認められませんでした。ほとんどの MDR1 遺伝子導入細胞は、移植後数ヶ月から3年程度で患者体内から消えていきました。
- 2) **MDR1 遺伝子導入細胞における挿入部位の検討**：フランスの X-SCID 遺伝子治療では、レトロウイルスが癌遺伝子 LMO-2 遺伝子に挿入されこの遺伝子を活性化したために白血病化が生じたと考えられております。このため本研究においても、長期間にわたって高率に MDR1 遺伝子陽性細胞のみられる症例 1 について、末梢血白血球における遺伝子挿入部位の LAM-PCR（片方向増幅を介するポリメラーゼ連鎖反応）法を用いた詳細な解析を行いました。その結果、マウスにおける白血病発症の原因となる MDS1/EVI1 遺伝子の近傍にベクター-HaMDR が挿入されたクローンが2年以上患者体内に存在したことが示されましたが、この MDS1/EVI1 クローンも移植後3年を経て消失したと推定されます。また、この MDS1/EVI1 クローン以外にも症例 1 で長期生存のみられるクローンが7個以上いることが確認されましたが、いずれのクローンでもレトロウイルスベクターの組み込みに起因する患者遺伝子導入細胞クローンの異常増殖を示唆する所見は末梢血白血球の DNA-PCR 検査において観察されませんでした。現在、引き続いて症例 2 の末梢血白血球における遺伝子挿入部位の検討を開始しております。症例 3 以降も同様に解析を行う予定であります。
- 3) **その他の有害事象の検討**：大量化学療法＋末梢血幹細胞移植および遺伝子治療に基づく化学療法、さらにその後の経過観察において3症例の有害事象を詳細に検討しましたが、それぞれの治療に一般的に伴う有害事象（大量化学療法における汎血球減少・嘔気・発熱、化学療法に伴う白血球減少）、倦怠感等の他には問題になる有害事象は認められませんでした。最初の2症例は通常の生活を送っており、第3症例も最近では胸膜転移による労作時息切れはありますが PS は 1 です。
- 4) **治療効果**：本研究による治療効果については今後の研究を重ねることにより明らかにされるところですが、大量化学療法後のドセタキセル療法における骨髄保護作用については第1、第2症例の比較により、好中球減少に対する保護作用の有効性を示唆する所見が得られたと考えております。なお、赤血球、血小板減少についてはドセタキセルが元々強い抑制をおこさないため、明らかではありません。第1症例は、2001年4月に遺

伝子治療を実施してから約 6 ヶ月後より CR（完全寛解）を維持しております。第 2 症例は 2001 年 10 月に遺伝子治療を実施してから約 1 ヶ月後より約 3 年半 CR の状態にありましたが、約 3 年 8 ヶ月後に再発し、現在治療中であります。2004 年 8 月に遺伝子治療を実施した第 3 症例は大量化学療法にて good PR（部分寛解）に入りましたが、その後の化学療法中に再発しました。

5) **諸外国における結果**：現在までの情報では、海外での本研究と類似の MDR1 遺伝子治療（30 例以上に実施）において白血病の発症は報告されておりません。また、遺伝子導入部位の解析結果については公表されておりません。

6) **本臨床研究成果の公表状況**（2005 年以降）：

Sugimoto Y, Mitsunashi J, Suzuki R, Tsukahara S, Minowa S, Shibata J, Ito Y, Tsuruo T, Hatake K, Takahashi S: A clinical study of MDR1 gene therapy: oligoclonal expansion of the MDR1-transduced cells *in vivo* by docetaxel. 第 11 回日本遺伝子治療学会総会. 東京（2005 年 7 月）

杉本芳一, 塚原里美, 伊藤良則, 鶴尾隆, 畠清彦, 高橋俊二: MDR1 遺伝子治療を受けた乳癌患者の末梢血で長期に維持されていた遺伝子導入細胞クローンの解析. 第 64 回日本癌学会学術総会. 札幌（2005 年 9 月）

Takahashi S, Ito Y, Hatake K, Sugimoto Y: Gene therapy for breast cancer—Review of clinical gene therapy trials for breast cancer and MDR1 gene therapy trial in Cancer Institute Hospital. *Breast Cancer* 13: 8–15（2006）

[2006 年 10 月 23 日現在]

② 筑波大学附属病院

筑波大学附属病院では 2004 年より同種造血幹細胞後に再発した白血病に対し、自殺遺伝子であるヘルペスウイルス・チミジンキナーゼ（HSV-TK）遺伝子をレトロウイルスベクターにて導入したドナーリンパ球を患者様に投与するドナーリンパ球輸注療法の臨床研究を行ってきたが、この度 5 症例に対し当該治療を行ったので、その臨床経過等に関して報告する。

対象症例

現在まで、筑波大学附属病院内に設置された遺伝子治療培養室で以下の 9 例の症例に対し遺伝子導入操作が行われ、5 症例（症例 3、6、7、8、9）に対し 8 回の遺伝子導入細胞の投与が行われた（症例 7、8、9 に対しては 2 回投与）。尚、症例 1、2、4、5 に関しては、ドナー細胞に対し遺伝子導入操作は行われたが、患者状態の悪化にて投与は見合わされた。

患者一覧

症例#	疾患名*	性別・年齢	登録時の疾患の状態	ドナー	投与年月
1	MDS (RAEB-2)	男・42	再発	兄	-
2	ALL (フィラデルフィア染色体陽性)	女・15	高リスク	母	-
3	MDS → AML	男・60	再発	弟	2004/11
4	ALL	男・20	高リスク	母	-
5**	ALL	男・20	再発	母	-
6	MDS (RAEB-1)	男・58	再発	妹	2005/10
7	ALL	男・14	再発	父	2005/11 + 2006/3
8	AML	男・46	再発	兄	2006/1 + 2006/3
9	ALL	男・50	再発	弟	2006/4 + 2006/6

*: MDS: 骨髄異形成症候群。ALL: 急性リンパ性白血病。AML: 急性骨髄性白血病。RAEB: 芽球過剰性不応性貧血。

** : 症例 4 と症例 5 は同一症例。集計上は別症例として計上され、のべ 9 例となっている。

症例のまとめ

症例	診断名	実施回数	GVL 効果*	効果期間	GVHD*	GCV*投与	予後
3	AML	1	+ (病状軽減)	21 日	急性 (Grade III)	+	死亡 (38 日後)
6	MDS →AML	1	+ (寛解中)	351 日	慢性 (extensive)	-	生存
7	ALL	1	-	-	-		生存
		2	-	-	-		
8	AML	1	+/- (WT1 の減少)	51 日	-		生存
		2	-	-	-		
9	ALL	1	+ (リンパ節腫脹減)	44 日	-		生存
		2	-	-	-		

* : GVL 効果 : 造血幹細胞移植による抗白血病効果。GVHD : 移植片対宿主病。GCV : ガンシクロビル (抗ウイルス剤)。

なお、遺伝子治療に関わる有害事象は確認されていない。

LAM-PCR を用いた遺伝子導入細胞のクロナリティーの確認

1. 投与前

遺伝子導入後の細胞を LAM-PCR にてクロナリティーを解析した。多数のプロウイルスの挿入を疑わせるスメアの図が確認された。

2. 投与後

多くの症例で投与後から急速な遺伝子導入細胞の排除を認め、LAM-PCR にてクロナリティーを解析できた症例は症例 3 と症例 6 のみである。両症例ともクローナルな増殖を疑わせるものはなく、最終的には消失した。また、挿入部位の同定を試みたが、ベクター DNA が少ないためか挿入部位の同定には至らなかった。

結語

1. 筑波大学附属病院内に設置された遺伝子治療培養室にて、合計 9 回の遺伝子導入操作が安全に、効果的に行われた。
2. 上記、遺伝子導入細胞を 5 名の患者様にのべ 8 回投与され、現在のところ遺伝子治療に関わる有害事象は認められていない。

3. 上記 5 名中、4 名になんらかの GVL 効果が確認され、1 名の患者にいたっては治療後 1 年を越え完全寛解を保っている。
4. ただ、小児例 1 名ならびに 2 度目に投与に関しては有効な GVL 効果は確認されなかった。TaqMan PCR を用いた末梢血遺伝子導入細胞の推移から、患者体内に HSV-TK に対する細胞傷害性 T 細胞 (CTL) が出現した可能性が示唆された (Berger C, Flowers ME, Warren EH, Riddell SR: Blood 107, 2294-2302, 2006)。現在、HSV-TK に対するテトラマーを合成し、患者体内の CTL の存在を確認する予定である。
5. 2 名の症例に GVHD (急性 1、慢性 1) が発症し、急性 GVHD に関しては GCV の投与により沈静化した。
6. 現在、これら症例の長期的 follow を行うと共に、CTL の出現を阻止するため、難治性白血病に対する移植医療との組み合わせによる HSV-TK 遺伝子導入ドナーリンパ球輸注療法 (TK-DLI) を計画している。

[2006 年 10 月 23 日現在]

③ 北海道大学病院

当施設でおこなった「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」(主任研究者：有賀 正)への小児免疫不全疾患遺伝子治療臨床研究作業部会からの要請に対する報告をさせていただきます。

2名の患者さんは治療を実施してから現在(平成18年7月)までに、患者さん1では約31ヶ月、患者さん2では約29.5ヶ月経っています。2名の患者さんとも週に1回のPEG-ADA(ポリエチレングリコールADA)酵素補充は遺伝子治療前に中止し、中断を続けています。また、両者ともにみられた、PEG-ADAを中断した当初の肝機能の異常、食欲不振の症状は、急上昇していたADA関連毒性代謝産物(%dAXP)の低下とともに改善し、その後の身長、体重等の発育及び肝機能は問題なく、その状態が現在(平成18年7月)まで継続しております。既に両者ともに治療後約7ヶ月後に退院し、患者さん1は昨年(平成17年)の春から幼稚園に通園を始め、本年の4月から小学校に入学し、通常の学校生活を過ごしています。昨年は、発熱のエピソードが3~4回あり、炎症反応も強いことがあったため大事をとって近郊の病院での入院加療を受けたことも有りましたが、入院当日には病状が改善するなど何れも回復は順調で入院は数日で済んでいます。しかしながら、まだ治療効果は十分とは言えません。リンパ球数の増加はまだ十分ではなく、それに関連して血清の γ -グロブリンの低値が続いており、3~4週毎の補充を要しています。定期的に血液検査をしていますが、肝機能等全く異常はなく、ADAの酵素補充無しでも全身の代謝異常という病態は正常化できていると判断しています。患者さん2は全道大会などのスポーツ大会に出場したり、修学旅行や、家族での海外旅行を楽しんだりして元気に経過しております。この4月から高校に進学し、勉強に、クラブ活動に活躍しています。感染症等の発熱のエピソードは全くありません。この患者さんもリンパ球数がまだ十分ではなく、8~10週毎の定期的な γ -グロブリンの補充をしていますが、補充の間隔を少しずつ延ばすことができている。

治療効果は上でも述べましたが、末梢血リンパ球数の増加が両者ともに緩徐であり、特にB細胞の増加が不十分で免疫グロブリンの定期的な補充がまだ必要な状況です。しかし、末梢血単核球の細胞内ADA活性は保因者のレベルに達しており、細胞の数的な問題が解決すれば治療効果もより明確になると考えております。また、末梢血中での遺伝子導入細胞の割合を経時的に検索しておりますがその割合は増加してきているのを確認しております。

以上をまとめると、本施設でおこなった「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」によって、両者ともADAの毒性代謝産物蓄積の解消に必要なADAが体内で産生されており、ヨーロッパで行われた骨髓前処置を実施する方法よりも効果発現の時期が遅い事は否めませんが、リンパ球の増加等の臨床効果もゆっくりではあるものの現れ始めていると考えております。顆粒球系統にもベクターの遺伝子が検出されており、血液幹細胞/多分化能を持った細胞に遺伝子が導入され、生着していることが示唆されます。しかし、まだリンパ球数が不十分のため免疫学的な詳細な検索は、安全性の評価の検査とともにリンパ球数の動向を見て行っていく予定であります。ヨ一ロ

ツパで行われた骨髄前処置を実施する方法よりも治療自体に伴う危険性は理論上少なく、この遺伝子治療が今後 ADA 欠損症に対する血液幹細胞遺伝子治療のスタンダードプロトコールとなる可能性を示唆する経過であると考えております。

遺伝子挿入部位の検索に関しては、タカラバイオとの共同研究という形で、従来の方法である LAM-PCR を改良した方法を確認し、その信憑性を慎重に検証した後、2 人の患者さんにおいて末梢血リンパ球を用いて遺伝子挿入部位の検討を経時的に行いました。両者とも初期には、導入箇所を示すバンドが多数あり、優位な挿入部位を示すバンドは確認されず、限られた細胞のクローンが優位である状況は否定的と考えられました。患者さん 1 ではそれから約半年後（治療後 21 ヶ月）幾つかの再現性のあるバンドが検出され、主な 3 つのバンドを切り出してその挿入部位を検索しました。その結果、それぞれ、染色体の 16 番、3 番、3 番に挿入されていることが判明し、近傍の遺伝子を検索しました。特に転写開始部位から 10kb 以内には 2 つの遺伝子（16 番染色体の TRAP1、3 番染色体の USP4）があげられます。何らかの機序でこれら限られたクローンが優位になったと考えられますが、詳細は検討中です。治療後に幾つかの遺伝子挿入部位のクローンが優位となる同様の現象は、以前の臍帯血由来の血液幹細胞遺伝子治療（臨床効果は酵素補充と併用であったこともあり無効）でも観察されています（Schmidt M, Carbonaro DA, Speckmann C, Wissler M, Bohnsack J, Elder M, Aronow BJ, Nolte JA, Kohn DB, von Kalle C: Nat. Med. 2003, 9: 463-468）。挿入部位として限られたクローンになることと、X-SCID の遺伝子治療の時に認めた白血病様になることとは、必ずしも同じ意味ではないことを注意すべきで、この事は T 細胞受容体のクロナリティーを検索した結果、突出したクローンがないことから確認しております。一方、患者さん 2 では検査の都度バンドが確認されますが、再現性のあるものは確認されていません。尚、この検索では今回のベクター GCsapM-ADA と前回のベクター LASN を区別することが不可能なので、前回の遺伝子治療も受けた患者さん 2 においては、前回と今回のベクター導入部位を併せた結果であることを理解しておく必要があります。今後も経過を診ながら本検索を細胞表面抗原などのクロナリティー検査と併せて繰り返し実施し、評価していく予定です。

前項でも記述しましたが、本研究で治療された 2 例の治療経過を要約すると以下のようになります。

- ・ 治療後 2 年半近く経過したが、重篤な感染症のエピソードはなく、患者 2 名は同年齢の子供と何ら変わらない通常の生活を過ごしている。
- ・ 酵素補充も中断を続けており、ADA 欠損症による毒性代謝産物の処理は一定レベルまで行われている。
- ・ リンパ球の数がゆっくと改善はしているが、まだ正常のレベルには達していず、 γ -グロブリンの定期的補充は行われている。
- ・ 現在まで、重大な副作用の兆候はない。

今後も、本遺伝子治療臨床研究の 2 例での臨床効果の推移、国内外で実施中の他施設における同様な治療による治療効果・安全性等の新たな報告などを判断しながら、本研究のリスク／ベネフィットの再検討及び実施計画の再点検を引き続き行っていきたく思っています。

おります。(本邦ではこれまで9例のADA欠損症が報告されています。現在、酵素補充が行われている症例はなく、また、根治治療が実施されていない症例も報告されていません。)

本臨床研究成果の公表状況 (2005年以降):

＜学会・講演発表＞

1. 有賀 正: 原発性免疫不全症に対する遺伝子治療の現状と問題点: 自験例のADA欠損症に対する治療を中心に. 第1回九州小児免疫療法フォーラム 特別講演 (2005年1月15日、博多)
2. 有賀 正: 原発性免疫不全症に対する遺伝子治療の現状と問題点: 自験例のADA欠損症に対する治療を中心に. 第10回香川・岡山小児感染懇話会 特別講演 (2005年1月16日、岡山)
3. 有賀 正: 原発性免疫不全症に対する遺伝子治療の現状と問題点: 自験例のADA欠損症に対する治療を中心に. 第6回金沢遺伝子医療研究会 特別講演 (2005年3月26日、金沢)
4. 有賀 正: 遺伝子治療. 第16回日本小児科医会セミナー 教育講演 (2005年6月11~12日、札幌)
5. 有賀 正: 遺伝子治療の現状と将来. 第85回北海道医学大会総会 各科トピックス (2005年9月24日、札幌)
6. Otsu M, Nakajima S, Kida M, Maeyama Y, Toita N, Hatano N, Kawamura N, Okano M, Kobayashi R, Tatsuzawa O, Onodera M, Candotti F, Hershfield MS, Sakiyama Y, Ariga T: Engraftment of gene-corrected repopulating cells in ADA-SCID patients achieved by stem cell gene therapy without myeloablative pre-conditioning. The 8th American Society of Gene Therapy (2005年6月1~5日、St. Louis, MO, USA)
7. Hatano N, Otsu M, Sakiyama Y, Ariga T: Gene therapy for adenosine deaminase deficiency targeting autologous bone marrow CD34+ cells. 第11回日本遺伝子治療学会学術集会 シンポジウム [学会賞受賞] (2005年7月28~30日、東京)
8. Ariga T, Otsu M, Hatano N, Sakiyama Y: Clinical status of two patients with ADA-SCID who received hematopoietic stem cell gene therapy without myeloablative conditioning. 第11回日本遺伝子治療学会学術集会 特別シンポジウム (2005年7月28~30日、東京)
9. Otsu M, Nakajima S, Kida M, Maeyama Y, Toita N, Hatano N, Kawamura N, Okano M, Kobayashi R, Tatsuzawa O, Onodera M, Hershfield MS, Candotti F, Sakiyama S, Ariga T: Successful gene therapy for ADA deficiency in Japan. 第109回日本小児科学会総会 国際シンポジウム「遺伝子治療」 (2006年4月21~23日、金沢)
10. Ariga T: Introduction: Gene therapy for childhood illnesses. 第109回日本小児科学会総会 国際シンポジウム「遺伝子治療」 (2006年4月21~23日、金沢)
11. Otsu M, Nakajima S, Kida M, Maeyama Y, Toita N, Hatano N, Kawamura N, Kobayashi R, Tatsuzawa O, Onodera M, Candotti F, Bali P, Hershfield MS, Sakiyama Y, Ariga T: Stem Cell Gene Therapy with No Pre-conditioning for the ADA-Deficiency Patients Leads to Generalized Detoxification and Delayed, but Steady Hematological

Reconstitution. The 9th American Society of Gene Therapy (2006年5月31日～6月4日、Baltimore, MD, USA)

12. Otsu M, Nakajima S, Kida M, Maeyama Y, Toita N, Hatano N, Kawamura N, Kobayashi R, Tatsuzawa O, Onodera M, Candotti F, Bali P, Hershfield MS, Sakiyama Y, Ariga T: Steady ongoing hematological and immunological reconstitution achieved in ADA-deficiency patients treated by stem cell gene therapy with no myelopreparative conditioning. 第12回日本遺伝子治療学会学術集会 (2006年8月24～26日、東京)
13. Ariga T: Hematopoietic stem cell gene therapy for two patients with adenosine deaminase deficiency without myelopreparative conditioning; a suggestion for the optimal protocol of HSC gene therapy for ADA—Symposium in The Japan Society of Gene Therapy. 第12回日本遺伝子治療学会学術集会 (2006年8月24～26日、東京)
14. Ariga T: Gene therapy for primary immunodeficiency diseases. 2nd International Symposium on Declining Birthrate and Aging Society (2006年9月23～24日、札幌)

<総説など>

1. 有賀 正：原発性免疫不全症に対する新しい治療の流れ—血液幹細胞移植と遺伝子治療の現状と問題点。「先端医療シリーズ34 小児科の新しい流れ」、柳澤正義・衛藤義勝・五十嵐隆 編集、先端医療技術研究所 (東京)、349-353 (2005)
2. 有賀 正：遺伝子治療の現況と展望. 腎と透析 59、480-484 (2005)
3. 有賀 正：遺伝子治療：現状の問題点と自験例のADA欠損症に対する治療を中心に. 日本小児科医会会報 30、35-40 (2005)
4. 有賀 正：原発性免疫不全症。「遺伝子診療学、遺伝子治療—現状と展望」各論 血液疾患に対する遺伝子治療、日本臨床 63 Suppl 12、641-645 (2005)
5. Ariga T: Adenosine deaminase (ADA) deficiency. Genetic errors associated with purine and pyrimidine metabolism in humans: diagnosis and treatment, Moriwaki Y ed, Research Signpost (India), 29-41 (2006)
6. Ariga T: Gene therapy for primary immunodeficiency diseases; Recent progress and misgivings. Curr Pharm Design 12, 557-563 (2006)

[2006年10月23日現在]

④ これまでの審議経過（詳細）

平成 7 年 2 月 北海道大学医学部附属病院（現：北海道大学病院）の遺伝子治療臨床研究実施計画 [アデノシンデアミナーゼ（ADA）欠損症に対してレトロウイルスベクター（RV）を用いて患者の T リンパ球にヒト ADA 遺伝子を導入] に対して、実施して差し支えない旨、大臣回答。

→ 平成 14 年 2 月 終了報告書提出。なお、当該遺伝子治療を受けた 1 例は、その後、同施設にて新たな ADA 欠損症遺伝子治療（平成 14 年 6 月大臣回答；以下参照）を改めて実施。

平成 12 年 2 月 癌研究会附属病院（現：癌研究会有明病院）の遺伝子治療臨床研究実施計画 [乳がんに対して RV を用いて患者の造血幹細胞にヒト多剤耐性（MDR）遺伝子を導入]

平成 14 年 3 月 筑波大学附属病院の遺伝子治療臨床研究実施計画 [再発白血病に対して RV を用いてドナーの T リンパ球にヘルペスウイルスチミジンキナーゼ（HSV-TK）遺伝子を導入]

平成 14 年 6 月 北海道大学医学部附属病院（現：北海道大学病院）の遺伝子治療臨床研究実施計画 [ADA 欠損症に対して RV を用いて患者の造血幹細胞に ADA 遺伝子を導入]

平成 14 年 6 月 東北大学医学部附属病院（現：東北大学病院）の遺伝子治療臨床研究実施計画 [X 連鎖重症複合免疫不全症（X-SCID）に対して RV を用いて患者の造血幹細胞にヒトインターロイキン 2 受容体 γ 鎖（ γc ）遺伝子を導入]

に対して、それぞれ実施して差し支えない旨、大臣回答。

平成 14 年 9 月 東北大学病院と同一の RV を用い、かつほぼ同じ実施計画によってフランスで既に開始されていた X-SCID 遺伝子治療（非典型例 1 例を含めて全 11 例に実施）において、遺伝子治療そのものに起因すると判断される白血病の第 1 例目発症の報告（フランス研究チームから国内遺伝子治療実施施設への私信による第一報）。フランス研究チームからの公表は翌 10 月。

遺伝子治療による初の死亡例は、米国ペンシルバニア大学において 1999 年に

アデノウイルスベクターを用いたオルニチンカルバミル転移酵素欠乏症に対する遺伝子治療で発生しているが、これは本来の実施計画を逸脱して大量のベクターを肝動脈に急速投与したこと等が原因と考えられており、遺伝子治療実施計画そのものに起因すると判断される重篤な副作用の発生は今回が初。

→ 平成 14 年 9 月 小児免疫不全遺伝子治療臨床研究作業委員会にて審議。

東北大学医学部附属病院の遺伝子治療臨床研究実施計画について、フランスでの白血病発症を踏まえて、研究の開始を自主的に保留するとの当該施設からの報告を妥当と判断。また、国内で実施中の関連する遺伝子治療臨床研究についても検討を行い、既に実施したものについては今後も経過観察を続けることとし、今後実施するものについては慎重に取り扱うと結論。

→ 平成 14 年 9 月 科学技術部会に作業委員会での審議結果を報告。

→ 平成 14 年 10 月 遺伝子治療臨床研究作業委員会にて審議。

国内で実施が承認されている、RV を用いて血液細胞系列に外来遺伝子を導入する遺伝子治療臨床研究 4 件については、各施設から自主的に保留するとの報告を受けているが、その安全性について意見交換がなされ、①遺伝子導入細胞の異常増殖の解析など被験者に対する検査・観察内容を充実すること、②フランスでの白血病発症事例について被験者に対する同意説明文書に反映すること、③国内外での RV を用いた遺伝子治療における有害事象に関してさらなる情報収集を行うこと等を各施設に指示し、今後も必要に応じて各作業委員会で検討を行うと結論。

平成 14 年 12 月 フランス X-SCID 遺伝子治療において、遺伝子治療そのものに起因すると判断される白血病の第 2 例目発症の報告（フランス研究チームから国内実施施設への私信による第一報）。フランス研究チームからの公表は翌年 1 月。

→ 平成 14 年 12 月 小児免疫不全遺伝子治療臨床研究作業委員会にて審議。

国内で実施が承認されている北海道大学医学部附属病院及び東北大学医学部附属病院における各遺伝子治療臨床研究の今後の取扱いについて審議。その結果、各施設においては自主的な開始保留を継続しながら引き続き施設内で慎重に検討するとともに、本作業委員会においても継続して審議する必要があると結論。

→ 平成 15 年 1 月 がん遺伝子治療臨床研究作業委員会・小児免疫不全遺伝子治療臨床研究作業委員会合同会議にて審議。

北海道大学医学部附属病院及び東北大学医学部附属病院における各遺伝子治療臨床研究（この時点では実施例はいずれもなし）と同様に患者の造血幹細胞に外来遺伝子を導入するという癌研究会附属病院における遺伝子治療臨床研究（この時点では 2 例に実施）についても、当該施設から、被験者の新規登録を当面自主的に控えること、及び既に実施したものについては経過観察を続けており、遺伝子導入細胞の異常増殖等の異常は認められていないとの報告があり、妥当と判断。また、既に実施した被験者に対して当該遺伝子治療臨床研究と関

連する海外の遺伝子治療での有害事象の発生状況について知らせるとともに、引き続き慎重に経過観察するよう当該施設に指示。一方、ドナーの末梢Tリンパ球に外来遺伝子を導入して患者に投与するという筑波大学附属病院における遺伝子治療臨床研究（この時点では未実施）については、遺伝子導入細胞が末梢血液細胞であることから造血幹細胞に比べてリスクは低いと考えられるものの、被験者に対する同意説明文書内で適切な情報提供を行うよう当該施設に指示するとともに、有用性と有害事象との関係において慎重に取り扱う必要があると結論。

- 平成 15 年 1 月 科学技術部会に作業委員会での審議結果を報告。
- 平成 15 年 8 月 小児免疫不全遺伝子治療臨床研究作業委員会にて審議。
フランスでの白血病発症を受けた、北海道大学医学部附属病院における遺伝子治療臨床研究実施計画の変更（被験者に対する検査・観察内容の充実、フランスでの白血病発症事例について被験者に対する同意説明文書への反映等）について審議。その結果、被験者の選択基準をより明確にする必要があること、被験者に対する同意説明文書における情報提供が不十分であること、検査・観察方法をさらに改善すること等の指摘がなされ、これらに対する当該施設からの回答を踏まえて再度審議すると結論。
- 平成 15 年 9 月 がん遺伝子治療臨床研究作業委員会・小児免疫不全遺伝子治療臨床研究作業委員会合同会議にて審議。
フランスでの白血病発症を受けた、筑波大学附属病院及び北海道大学医学部附属病院における各遺伝子治療臨床研究実施計画の変更（被験者に対する検査・観察内容の充実、フランスでの白血病発症事例について被験者に対する同意説明文書への反映等）について審議。その結果、筑波大学附属病院については、変更内容を妥当と判断。北海道大学医学部附属病院（再審議）については、ADA 酵素補充療法の再開基準を記載すること等を条件に変更内容を妥当と判断。
- 平成 15 年 10 月 科学技術部会に作業委員会での審議結果を報告。
部会後、筑波大学附属病院及び北海道大学医学部附属病院は各遺伝子治療臨床研究実施計画の自主的な開始保留を解除。
- 平成 15 年 11 月 がん遺伝子治療臨床研究作業委員会にて審議。
フランスでの白血病発症を受けた、癌研究会附属病院における遺伝子治療臨床研究実施計画の変更（被験者に対する検査・観察内容の充実、フランスでの白血病発症事例について被験者に対する同意説明文書への反映等）について審議。その結果、検査・観察計画の一部の表現を明確にする等の修正を指示した上で、妥当と判断。
- 平成 16 年 1 月 科学技術部会に作業委員会での審議結果を報告。
- 平成 16 年 2 月 がん遺伝子治療臨床研究作業委員会にて審議。
癌研究会附属病院から被験者における RV の染色体挿入部位についての検査結果（当該結果については平成 16 年 7 月に当該施設から学会発表）の報告がなされ、意見交換を実施。その結果、当該施設に対して、既に遺伝子治療が実施

された症例の経過観察を引き続き行うこと、今回報告された検査結果や他の治療法に関する最新の情報についても被験者への同意説明文書の内容に含めること、被験者の選択は最新の知見も踏まえながら引き続き慎重に行うこと等を指摘し、これらに対する当該施設からの回答を確認すると結論。

→ 平成 16 年 6 月 がん遺伝子治療臨床研究作業委員会にて審議。

被験者における RV の染色体挿入部位についての検査結果に関する癌研究会附属病院からの回答に基づいて意見交換を実施。その結果、当該施設に対して、①被験者の同意取得に際しては当該遺伝子治療によって予期される効果及び危険並びに他の治療法の内容、予期される効果及び危険について公正に説明するよう特に留意すること、②遺伝子導入細胞の染色体 DNA におけるベクター挿入部位や各クローンの細胞数等に関する解析を今後も継続し、その結果を本作業委員会に適宜報告することを指導。作業委員会後、癌研究会附属病院は遺伝子治療臨床研究実施計画の自主的な新規登録保留を解除。

平成 17 年 1 月 フランス X-SCID 遺伝子治療において、遺伝子治療そのものに起因すると判断される白血病の第 3 例目発症及び白血病発症第 1 例目が白血病によって死亡したとの報告（フランス政府からの報告）。

→ 平成 17 年 3 月 がん遺伝子治療臨床研究作業委員会・小児免疫不全遺伝子治療臨床研究作業委員会合同会議にて審議。

国内で実施が承認されている、RV を用いて血液細胞系列に外来遺伝子を導入する遺伝子治療臨床研究 4 件について現状を確認し、取扱いについて審議。その結果、①癌研究会附属病院の遺伝子治療臨床研究に関して、現在までに行われた 3 例の臨床状況等の報告を行った後に第 4 例目以降の取扱いについて検討する予定との施設からの報告を受け、本作業委員会としては、今後当該施設から提出される報告内容を検討した上で、さらに議論すべきと意見。②筑波大学附属病院の遺伝子治療臨床研究（この時点では 1 例に実施）に関して、遺伝子治療を実施した被験者でのベクター組込み部位検索を行っているとの施設からの報告を受けて、本作業委員会としては、今後その状況を本作業委員会に報告するとともに、将来、第 2 例目以降の症例についても、被験者への遺伝子導入細胞の投与前に遺伝子導入部位の検索を行うべきと意見。さらに、第 1 例目の臨床経過や今回のフランスでの副作用を踏まえて、リスク／ベネフィットを十分考慮して取扱うべきと意見。③北海道大学病院の遺伝子治療臨床研究に関して、本作業委員会としては、現在までに行われた 2 例の臨床経過等を調査分析して報告を行うとともに、それを踏まえて今後の実施計画を検討すべきと意見。④東北大学病院における遺伝子治療臨床研究は現在も開始保留中としており、フランス X-SCID 遺伝子治療で白血病を発症した第 3 例目のベクター組込み部位の解析結果等が明らかになり次第、今後の対応を検討するとの施設からの報告について、本作業委員会としては妥当と判断するが、今回のフランスでの副作用を踏まえ、実施計画のさらなる再点検を行うべきと意見。⑤この他、フランス X-SCID 遺伝子治療における白血病発症例等について、引き続き情報収集を行うべきと意見。

- 平成 17 年 3 月 科学技術部会に作業委員会での審議結果を報告。
- 平成 18 年 10 月 がん遺伝子治療臨床研究作業委員会・小児免疫不全遺伝子治療臨床研究作業委員会合同会議にて審議（今回報告分）。

国内で実施が承認されている、RV を用いて血液細胞系列に外来遺伝子を導入する遺伝子治療臨床研究 4 件について引き続き審議。その結果、①RV を用いて血液細胞系列に外来遺伝子を導入する国内の遺伝子治療臨床研究において、既に遺伝子治療が実施された 3 件 10 例（癌研究会有明病院 3 例、筑波大学附属病院 5 例及び北海道大学病院 2 例）に対する症例解析は適切になされており、現在までのところ遺伝子治療に起因する安全性上の問題は認められていないと判断。また、検査・観察内容も含めて、被験者の追跡調査体制は現時点では十分であると考え、今後も長期間にわたって研究実施体制を存続させ、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臨床研究のリスク／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よう各施設を指導。さらに、国内において、新規の安全な遺伝子治療用ベクターの開発研究が積極的に実施されることが重要であると指摘。②癌研究会有明病院で実施中の乳がん遺伝子治療臨床研究に関して、現時点では遺伝子治療を実施した被験者 3 例において安全性上の問題はみられておらず、今後も実施を継続するが、これら 3 例での長期追跡調査結果が明らかになるまで念のため当面は新規の被験者の登録を自主的に見合わせるとの施設からの報告について、妥当であると判断した。③筑波大学附属病院で実施中の再発白血病遺伝子治療臨床研究に関して、今後も臨床研究を継続するとの施設からの報告について、妥当であると判断した。しかしながら、被験者への同意説明文書に国内外の RV 遺伝子治療に関する最新の情報をより詳細に盛り込むよう指導することとした。④北海道大学病院で実施中のアデノシンデアミナーゼ（ADA）欠損症遺伝子治療臨床研究に関して、今後も臨床研究を継続するとの施設からの報告について、妥当であると判断した。但し、現時点では当該遺伝子治療の対象となる新たな患者の存在は国内で把握されていないとのこと。⑤X 連鎖重症複合免疫不全症（X-SCID）に対する RV 遺伝子治療は、白血病の副作用が発生したフランス以外に、これまでに英国で 11 例、米国で 3 例に類似の治療が行われているが、英国及び米国では安全性上の問題はみられていない。さらに、RV 遺伝子治療は全世界で 280 件以上が実施されているが、フランス X-SCID 遺伝子治療以外に、白血病など重篤な副作用が報告されている例はない。フランス X-SCID 遺伝子治療と同一のベクター及びほぼ同じ実施計画を採用している東北大学病院の X-SCID 遺伝子治療臨床研究に関して、今後も保留を継続するとの施設からの報告について、妥当であると判断した。なお、現時点までの科学的知見では、同一の目的たん白質（ヒトインターロイキン 2 受容体 γ 鎖）を発現する RV（モロニーマウス白血病ウイルス由来）を用いているにもかかわらず、フランスの遺伝子治療でのみ白血病発症がみられ、英米では一切みられていない理由は明らかでない。

- 平成 18 年 12 月 科学技術部会に作業委員会での審議結果を報告（今回）。