

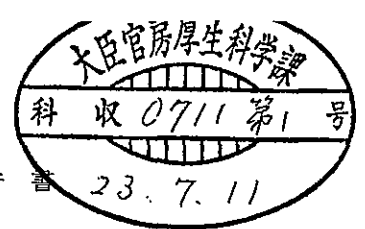
遺伝子治療臨床研究実施計画変更報告及び
遺伝子治療臨床研究に係る生物多様性影響評価に関する申請について
(三重大学医学部附属病院)

(遺伝子治療臨床研究実施計画変更報告)

- 遺伝子治療臨床研究実施計画変更報告書 P 1

(遺伝子治療臨床研究に係る生物多様性影響評価に関する申請)

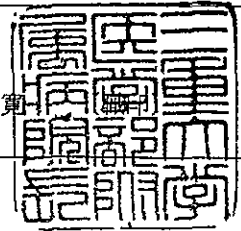
- 諮問 及び付議 P 19
- 第一種使用規程承認申請書 P 23
- 生物多様性影響評価書 P 27



平成23年 7月 6日

厚生労働大臣 殿
(文部科学大臣)

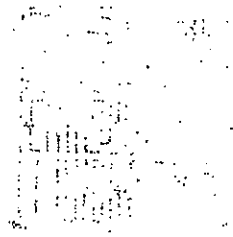
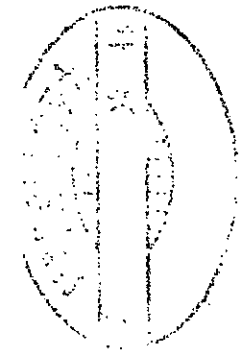
実 施 設	所在地	三重県津市江戸橋二丁目174番地 (郵便番号 514-8507)
	名称	国立大学法人三重大学医学部附属病院 (電話番号 059-232-1111) (FAX番号 059-321-5276)
	代表者 役職名・氏名	国立大学法人三重大学医学部附属病院 病院長・竹田 寛



下記の遺伝子治療臨床研究について、別添のとおり実施計画を変更したことを報告します。

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
MAGE-A4抗原特異的TCR遺伝子導入リンパ球輸注による治療抵抗性食道癌に対する遺伝子治療臨床研究	国立大学法人三重大学大学院医学系研究科 遺伝子・免疫細胞治療学講座・ 大学教員・珠玖 洋




遺伝子治療臨床研究実施計画変更報告書


(受付番号)

初回申請年月日：平成20年6月9日

研究の名称	MAGE-A4抗原特異的TCR遺伝子導入リンパ球輸注による治療抵抗性食道癌に対する遺伝子治療臨床研究
研究実施期間	平成21年7月17日(承認日)から3年間

総括責任者	所属部局の所在地	三重県津市江戸橋二丁目174番地 (郵便番号 514-8507)	
	所属機関・部局・職	三重大学大学院医学系研究科 遺伝子・免疫細胞治療学講座・大学教員	
	氏名	珠玖 洋 	
実施の場所	所在地	三重県津市江戸橋二丁目174番地 (郵便番号 514-8507)	
	名称	三重大学医学部附属病院	
	連絡先	三重県津市江戸橋二丁目174番地 (電話番号 059-232-1111)	
総括責任者以外の研究者	氏名	所属機関・部局・職	役割
	影山 慎一	三重大学大学院医学系研究科・ 遺伝子・免疫細胞治療学講座・准教授	レトロウイルスベクター製剤の品質 管理責任者、遺伝子導入細胞製剤の 品質管理責任者、試験登録患者の診療
	池田 裕明	三重大学大学院医学系研究科・ 遺伝子・免疫細胞治療学講座・准教授	レトロウイルスベクター製剤の製造 管理責任者、遺伝子導入細胞製剤の 製造管理責任者 遺伝子導入細胞製剤の体内動態及び 免疫反応の評価
	宮原 慶裕	三重大学大学院医学系研究科・ がんワクチン講座・講師	遺伝子導入細胞製剤の体内動態及び 免疫反応の評価、試験登録患者の診療
	今井 奈緒子	三重大学大学院医学系研究科・ 遺伝子・免疫細胞治療学講座・助教	遺伝子導入細胞製剤の体内動態及び 免疫反応の評価、試験登録患者の診療
	片山 直之	三重大学大学院医学系研究科・ 病態制御医学講座・ 血液・腫瘍内科学・教授 三重大学医学部附属病院・ 血液内科、腫瘍内科・科長	試験登録患者の診療
	中瀬 一則	三重大学医学部附属病院・ がんセンター・准教授、センター長	試験登録患者の診療
	梶屋 正浩	三重大学大学院医学系研究科・ 病態制御医学講座・ 血液・腫瘍内科学・准教授	試験登録患者の診療
	水野 聡朗	三重大学医学部附属病院・ 腫瘍内科・講師、副科長	試験登録患者の診療
	齋藤 佳菜子	三重大学医学部附属病院 腫瘍内科・助教	試験登録患者の診療

大石 晃嗣	三重大学医学部附属病院・ 輸血部・部長、講師	アフエレーシスの管理
田中 匡介	三重大学医学部附属病院・ 光学医療診療部・助教	試験登録患者の診療
白石 泰三	三重大学大学院医学系研究科・ 病態解明医学講座・ 腫瘍病理学・教授	病理組織学的診断
佐藤 永一	東京医科大学・ 人体病理学講座・助教	病理組織学的診断
大谷 明夫	独立行政法人国立病院機構 水戸医療センター・ 病理診断科・臨床研究部長	病理組織学的診断
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	ウイルスベクターに関する基礎的助言 及び遺伝子導入Tリンパ球調製技術の 提供と助言、遺伝子導入細胞製剤の体内 動態検査、RCR 検査及びLAM-PCR に関する 技術提供

審査委員会の開催状況及び実施計画の変更を適当と認める理由	平成22年11月2日に総括責任者から遺伝子治療臨床研究実施計画書の変更についての審査依頼書が提出され、平成22年11月30日、平成23年2月1日及び平成23年6月28日に三重大学医学部附属病院遺伝子治療臨床研究審査委員会で審議を行った。その結果、変更について特に問題はないと判断した。	
	審査委員会の長の職名	氏名
	三重大学医学部附属病院遺伝子治療臨床研究審査委員会・委員長 三重大学大学院医学系研究科・病態解明医学講座・検査医学分野・教授	登 勉 

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食道癌患者を対象として、腫瘍抗原MAGE-A4をHLA-A2402存在下で特異的に認識するT細胞受容体（TCR）α鎖及びβ鎖の遺伝子をレトロウイルスベクターにより遺伝子導入した自己リンパ球（TCR遺伝子導入リンパ球）輸注について、その安全性、体内動態及び臨床効果を以下のエンドポイントにより評価することを目的とする。 ①主要エンドポイント ・本遺伝子治療の安全性〔有害事象、臨床検査、増殖性レトロウイルス（RCR）、linear amplification mediated-PCR（LAM-PCR）〕 ②副次エンドポイント ・TCR遺伝子導入リンパ球の血中動態及び腫瘍組織への浸潤 ・腫瘍特異的免疫反応 ・腫瘍縮小効果	
対象疾患	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食道癌	
変更時期	「共同研究機関である大阪大学及び北野病院に関する実施承認日」以降。 大阪大学：平成23年7月5日 遺伝子治療臨床研究実施計画申請 北野病院：平成23年7月6日 遺伝子治療臨床研究実施計画申請	

変更内容	実施計画書における事項	変更前	変更後
	1 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 2 実施施設の名称及びその所在地 3 遺伝子治療臨床研究の対象疾患及びその選定理由 4 安全性についての評価（ウイルスベクター、遺伝子産物、細胞及びペプチド） 5 遺伝子治療臨床研究の実施計画 6 同意・説明文書 7 添付資料 8 記載整備	別紙1のとおり	別紙1のとおり
変更理由	1. 人事異動に伴い、研究者の追加・削除及び所属職名等を変更した。 2. 多施設共同臨床研究とするため、大阪大学医学部附属病院、北野病院の2施設を共同実施施設として記載追加した。 3. 新たな文献情報を記載追加した。 4. 新たな文献情報を記載追加した。 5. 多施設共同臨床研究における実施体制や実施手順に関して記載追加・修正した。 6. 多施設共同臨床研究への移行に伴う変更点に関して記載修正した。 7. 1) 人事異動に伴い、研究者の追加・削除及び所属職名等を変更した。2) TCR遺伝子導入リンパ球輸注を実施する病室が追加されたために病室情報を記載追加した。3) 新たな文献情報を記載追加した。4) 院内規程が改正されたため、記載修正した。 8. 誤記訂正、記載事項更新等を行った。 (各変更箇所の変更理由は別紙1のとおり)		
今後の研究計画	変更後の実施計画書に従い、多施設共同臨床研究として実施する。		
これまでの研究結果及び研究結果の公表状況	登録1例目：2010年5月に登録したが、アフエレーシス後に脳内転移が見つかり、遺伝子導入細胞投与前に試験を中止した。 登録2例目：2010年7月に登録し、2010年8月に遺伝子導入細胞の投与を実施した。 登録3例目：2010年8月に登録したが、原病悪化のために遺伝子導入細胞投与前に試験を中止した。 登録4例目：2011年1月に登録し、2011年4月に遺伝子導入細胞の投与を実施した。 登録5例目：2011年2月に登録したが、原病悪化のために遺伝子導入細胞投与前に試験を中止した。 登録6例目：2011年5月に登録し、2011年6月に遺伝子導入細胞の投与を実施した。 遺伝子導入細胞を投与された3例については、いずれも2011年6月28日時点で遺伝子導入細胞に起因する有害事象は認められていない。		

(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. 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. 大学等にあつては、この報告書を、厚生労働大臣のほか文部科学大臣にも提出すること。

別紙1: 新旧対照表(三重大学遺伝子治療臨床研究実施計画書)

2011年7月6日

<実施計画書>

頁・箇所 (行数は空白行・図表はカウントしない) 上段: 変更前 下段: 変更後	第1.4版(2010年8月3日作成)	第1.5版(2011年5月18日作成)	変更理由
表紙 表紙	第1.4版:平成22年8月3日作成	第1.5版:平成23年5月18日作成	版数の更新
P8、参考資料リスト P8、参考資料リスト	(前略) 参考資料16: ラット単回皮下投与急性毒性試験 参考資料17: MAGE-A4 抗原発現検査プロトコール	(前略) 参考資料16: ラット単回皮下投与急性毒性試験 参考資料17: MAGE-A4 抗原発現検査プロトコール 参考資料18: 血液・遺伝子導入細胞の搬送手順書	参考資料追加のため
P10、研究者リスト P10、研究者リスト	珠玖 洋 三重大学大学院医学系研究科 遺伝子・免疫細胞治療学講座 教員	珠玖 洋 三重大学大学院医学系研究科 遺伝子・免疫細胞治療学講座 大学教授	記載整備
P10、研究者リスト P10、研究者リスト	-	宮原 慶裕 三重大学大学院医学系研究科 講師 遺伝子導入細胞製剤の体内がんワクチン講座 動態及び免疫反応の評価、試験登録患者の診察	新規追加のため
P11、研究者リスト P11、研究者リスト	佐藤 永 - 東京医科大学 病理学講座 助教 病理組織学的診断	佐藤 永 - 東京医科大学 人体病理学講座 助教 病理組織学的診断	記載整備
P11、研究者リスト P11、研究者リスト	蜂野 純 - タカラバイオ株式会社 センター一長 ウイルスベクターに関する基礎的助言及び遺伝子導入Tリンパ球調製技術の提供と助言	蜂野 純 - タカラバイオ株式会社 センター一長 ウイルスベクターに関する基礎的助言及び遺伝子導入Tリンパ球調製技術の提供と助言 細胞・遺伝子治療センター	担当する役割の記載整備
P12、1:2行 P12、1:2行	名称: 三重大学医学部附属病院 所在地: 三重県津市江戸橋二丁目174番地 TEL: 059-232-1111 FAX: 059-321-5276	Ⅲ.1 当該実施施設の名称及び所在地 名称: 三重大学医学部附属病院 所在地: 三重県津市江戸橋二丁目174番地 TEL: 059-232-1111 FAX: 059-321-5276 Ⅲ.2 細胞を調製する施設の名称及び所在地 名称: 三重大学医学部附属病院	共同実施施設の追加のため

		<p>所在地：三重県津市江戸橋二丁目1174番地 TEL：059-232-1111 FAX：059-321-5276</p> <p>Ⅲ.3 当該実施施設以外に本臨床研究の実施を予定する施設の名称及びその所在地 名称：大阪大学医学部附属病院 所在地：大阪府吹田市山田丘2番15号 TEL：06-6879-5111 FAX：06-6879-3259</p> <p>名称：財団法人 田附興風会医学研究所 北野病院 所在地：大阪府北区扇町2丁目4番20号 TEL：06-6312-8831 FAX：06-6312-8867</p>	
P14、上4行 P14、上4行	V.2 対象疾患に関する現時点での知見 食道癌は60歳代男性に多くみられる疾患であり、本邦での年間罹患数（1999年、年齢調整）は男性12,402人、女性2,428人、死亡数（2003年、年齢調整）は男性9,397人、女性1,651人である（文献1：以下(1)と略す）。	V.2 対象疾患に関する現時点での知見 食道癌は60歳代男性に多くみられる疾患であり、本邦での年間罹患数（2003年、年齢調整）は男性13,658人、女性2,742人、死亡数（2007年、年齢調整）は男性9,900人、女性1,769人である（文献1：以下(1)と略す）。	文献情報更新のため
P16、上10行 P16、上10行	これら養子免疫療法における従来の細胞調製法と比較して、本遺伝子治療では、（中略） なお、上記のNIH Rosenberg SAらのグループは、腫瘍抗原MART-1特異的TCR遺伝子を導入したTリンパ球を投与した臨床試験において、悪性黒色腫患者17名中2名について転移腫瘍の明らかな退縮を観察しており、この戦略が有望な新規癌治療法となる可能性を示唆している(13)。	これら養子免疫療法における従来の細胞調製法と比較して、本遺伝子治療では、（中略） なお、上記のNIH Rosenberg SAらのグループは、腫瘍抗原MART-1特異的TCR遺伝子を導入したTリンパ球を投与した臨床試験において、悪性黒色腫患者17名中2名について転移腫瘍の明らかな退縮を観察しており、この戦略が有望な新規癌治療法となる可能性を示唆している(13)。更に、同グループは、より親和性の高いTCR遺伝子を導入したTリンパ球を使用することにより、悪性黒色腫患者36名中9名について腫瘍退縮を観察している(14)。	新規文献情報の追加のため
P36、下5行 P36、下6行	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5「レトロウイルスベクターMS-bPaの製造方法」に記載する。製造は、本遺伝子治療臨床研究の研究者が製造管理責任者となり、	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5「レトロウイルスベクターMS-bPaの製造方法」に記載する。製造は、三重大学医学部の研究者が製造管理責任者となり、（以下略）	多施設実施に伴う記載整備
P52、下13行 P52、下13行	レトロウイルスベクターによる遺伝子導入で同様にして調製された、他の腫瘍抗原を認識するTCR遺伝子導入リンパ球のヒトへの投与は、NIHのRosenberg SAらのグループで既に実績があり(13)、調製されたTCR遺伝子導入リンパ球の品質に起因する有害事象の報告はない（添付資料、54ページ）。	レトロウイルスベクターによる遺伝子導入で同様にして調製された、他の腫瘍抗原を認識するTCR遺伝子導入リンパ球のヒトへの投与は、NIHのRosenberg SAらのグループで既に実績がある（添付資料、60～62ページ）。	新規文献情報の追加のため
P52、下3行 P52、下4行	NIHのRosenberg SAらは、転移性悪性黒色腫患者17例に腫瘍抗原MART-1のTCR遺伝子導入リンパ球を投与する遺伝子治療臨床研究を行った結果、2例(12%)にPR (partial response: 部分奏効)を認めており(13)（添付資料、54ページ）、本臨床研究においても同様の抗腫瘍効果が見込まれる可能性がある。	NIHのRosenberg SAらは、転移性悪性黒色腫患者17例に腫瘍抗原MART-1のTCR遺伝子導入リンパ球を投与する遺伝子治療臨床研究を行った結果、2例(12%)にPR (partial response: 部分奏効)を認めており(13)（添付資料、60ページ）、さらに、同グループは、より親和性の高いTCR遺伝子を導入したTリンパ球を使用することにより、悪性黒色腫患者36名中9名について腫瘍退縮を観察している(14)（添付資料、62ページ）。 したがって、本臨床研究においても同様の抗腫瘍効果が見込まれる可能性がある。	新規文献情報の追加のため

<p>P54、1:2行 P54、1:2行</p>	<p>IX.1 遺伝子治療臨床研究を含む全体の治療計画</p>	<p>IX.1 遺伝子治療臨床研究を含む全体の治療計画 IX.1.1 臨床研究実施体制 本臨床研究は、三重大学大学院医学系研究科の珠玖洋を多施設共同臨床研究代表者として、三重大学医学部附属病院、大阪大学医学部附属病院、及び田附興風会医学研究所北野病院が参加する多施設共同臨床研究として実施する予定である。安全性、有効性の評価を統一するため、全施設共通の安全・効果評価・適応判定部会を設置する。また、TCR遺伝子導入リンパ球の調製は細胞調製施設を有する三重大学にて行う。(図14参照)</p> <div data-bbox="1240 384 1787 762" data-label="Diagram"> <pre> graph TD A[多施設共同臨床研究代表者 珠玖 洋] --- B[免疫モニタリング] A --- C[抗原発現判定] A --- D[臨床研究事務局] A --- E[細胞調製室 (三重大学 CPC)] A --- F[三重大学 総括責任者] A --- G[大阪大学 総括責任者] A --- H[北野病院 総括責任者] </pre> </div> <p>図14 本臨床研究における実施体制</p>	<p>多施設実施体制の説明追加のため</p>
<p>P54、1:3行 P54、1:8行</p>	<p>IX.1.1 本臨床研究の実施に際し三重大学医学部附属病院内に設置される委員会 <u>遺伝子治療臨床研究審査委員会に安全・効果評価・適応判定部会及び遺伝子製剤検証部会を設置する。</u> 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。</p> <p>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な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。</p> <p>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。</p> <p>2) 用量増加における評価 各コホートの全被験者における day35 までのデータをもとにコホートごとの安全性</p>	<p>IX.1.1.1 本臨床研究の実施に際し医療機関内に設置される委員会 本臨床研究実施の適否及びその他本臨床研究に関する調査審議を行うため、各医療機関に遺伝子治療臨床研究審査委員会を設置する。なお、遺伝子治療臨床研究審査委員会の運営に関しては、医療機関毎に作成した手順書に従うものとする。</p> <p>IX.1.1.2 安全・効果評価・適応判定中央部会 有効性及び安全性の評価基準を統一することを目的とし、本臨床研究では、各医療機関で共通の安全性・効果評価・適応判定を検証するため、安全・効果評価・適応判定中央部会を設置する。なお、安全・効果評価・適応判定中央部会の委員については各医療機関から選出し、本臨床研究の安全性、効果並びに被験者の適応性に関する具体的な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各医療機関の遺伝子治療臨床研究審査委員会に意見を提出する。</p> <p>1) 適格性評価 被験者の本臨床研究への登録は、総括責任者から安全・効果評価・適応判定中央部会に被験者登録用紙を提出することで行われる。なお、本臨床研究に関する情報を共有することを目的として、安全・効果評価・適応判定中央部会への被験者登録用紙提出と同時に、本臨床研究参加医療機関の総括責任者に対して被験者情報の提供を行う。 安全・効果評価・適応判定中央部会は提出された被験者登録用紙をもとに、各被験者が全ての選択基準を満たし、除外基準のいずれにも抵触しないことを確認し、本臨床研究の対象被験者として適当かどうかを判定する。得られた判定結果については遺伝子治療臨床研究審査委員会を通じて総括責任者へ報告する。</p> <p>2) 用量増加における評価 コホート毎に規定された症例数を満たした場合、安全・効果評価・適応判定中央部会は</p>	<p>多施設実施に伴う変更のため</p>

	<p>を判定する。安全性に問題がないと判定された場合、次のコホートに移行する。</p> <p>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。</p> <p>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。</p>	<p>コホート毎の各被験者から得られた、臨床研究終了・中止時検査までのデータをもとにコホート毎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、全ての医療機関の遺伝子治療臨床研究審査委員会を通じて総括責任者へ報告したうえで、次のコホートに移行する。</p> <p>3) 重篤な有害事象発現時の対応 安全・効果評価・適応判定中央部会は、総括責任者より提出された重篤な有害事象に関する報告書（詳細報）をもとに、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。得られた判定結果については、各医療機関の遺伝子治療臨床研究審査委員会を通じて総括責任者へ報告する。なお、各医療機関の遺伝子治療臨床研究審査委員会は、安全・効果評価・適応判定中央部会からの判定結果をもとに臨床研究の継続に関する審査を行い、医療機関の長及び総括責任者へ審査結果を報告する。</p> <p>4) 臨床研究の総合判定 臨床研究終了後、安全・効果評価・適応判定中央部会は全ての被験者から得られた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。得られた判定結果については、各医療機関の遺伝子治療臨床研究審査委員会及び総括責任者へ報告する。</p>	
P59、F8行 P61、E1行	<p>IX.3 被験者の同意の取得方法 本臨床研究の開始に先立ち、総括責任者又は分担研究者は被験者の同意を得るに際し、三重大学医学部附属病院内に設置された遺伝子治療臨床研究審査委員会の承認が（中略） また、二次登録時の説明の際は、総括責任者又は分担研究者と利害関係のない三重大学医学部附属病院の治験コーディネーター等が説明補助を行うものとする。</p>	<p>IX.3 被験者の同意の取得方法 本臨床研究の開始に先立ち、総括責任者又は分担研究者は被験者の同意を得るに際し、三重大学医学部附属病院内に設置された遺伝子治療臨床研究審査委員会の承認が（中略） また、総括責任者又は分担研究者以外の臨床研究コーディネーター等が説明補助を行うことも可能とする。</p>	記載整備
P61、E7行 P62、E7行	<p>目標症例数は以下のとおり9例とするが、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。</p>	<p>目標症例数は以下のとおり、全施設の症例を合わせて9例とするが、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。</p>	多施設実施に伴う変更のため
— P63、F12行	—	<p>IX.5.2.2 遺伝子導入Tリンパ球のながれ 被験者より採血したPBMC画分と血漿は、三重大学に設置している細胞調製施設へ搬送する。また、三重大学にて細胞調製完了後、凍結保存したTCR遺伝子導入用Tリンパ球は各医療機関へ搬送される。なお、細胞調製施設と各医療機関の搬送方法、条件については別途手順書にて定める（参考資料18）。</p>	他の実施施設への血液及び遺伝子導入細胞の搬送手順の明記のため
P63、F15行 P64、F7行	<p>IX.5.4 臨床検査項目及び観察項目 以下のとおり検査・観察を実施する。なお、検査・観察スケジュールについては「IX.3 検査・観察スケジュール」に記載する。</p>	<p>IX.5.4 臨床検査項目及び観察項目 以下のとおり検査・観察を実施する。検査・観察スケジュールについては「IX.3 検査・観察スケジュール」に記載する。なお、共同実施施設にて本臨床研究が実施される場合においても、TCR遺伝子導入リンパ球血中動態、免疫機能解析（腫瘍特異的免疫反応）、遺伝子導入リンパ球の腫瘍組織浸潤度、RCR およびLAM-PCRについては、三重大学大学院医学系研究科遺伝子・免疫細胞治療学講座にて検査を行うものとし、当該検査のうち、PCR法の工程はタカラバイオ（株）が担当する。</p>	多施設実施体制の説明追加のため
P76、F7行 P78、E1行	<p>IX.5.6.3 中止基準 ・被験者ごとの中止基準 本臨床研究期間中に以下のような事例が発生した場合、総括責任者又は分担研究者は当該被験者における本臨床研究を中止する。また、必要な検査・観察を行うとともに、必要に応じて三重大学医学部附属病院長に本臨床研究を中止した旨を連絡する。なお、有害事象の発現や対象疾患の悪化等、安全性に問題が生じ中止した場合、総括責任者又は分担研究者は速やかに適切な処置を行い、被験者の安全性が確</p>	<p>IX.5.6.3 中止基準 ・被験者ごとの中止基準 本臨床研究期間中に以下のような事例が発生した場合、総括責任者又は分担研究者は当該被験者における本臨床研究を中止する。また、必要な検査・観察を行うとともに、共同実施医療機関の総括責任者、及び三重大学医学部附属病院長に本臨床研究を中止した旨を連絡する。なお、有害事象の発現や対象疾患の悪化等、安全性に問題が生じ中止した場合、総括責任者又は分担研究者は速やかに適切な処置を行い、被験者の安全</p>	多施設実施に伴う変更のため

	認められるまで追跡調査を実施する。	性が確認されるまで追跡調査を実施する。																																					
P77、E6行 P78、E14行	研究全体の中止 総括責任者又は分担研究者は以下の情報が得られ、臨床研究全体の続行が困難であると考えられる場合、安全・効果評価・適応判定部会と本臨床研究全体の中止について協議のうえ決定する。また、必要な検査・観察を行うとともに三重大学医学部附属病院長に中止した旨を報告する。	研究全体の中止 総括責任者又は分担研究者は以下の情報が得られ、臨床研究全体の続行が困難であると考えられる場合、安全・効果評価・適応判定中央部会に本臨床研究全体の中止について審査を依頼する。審査の結果、中止が決定した場合には、三重大学医学部附属病院長及び共同実施医療機関の総括責任者に中止した旨を報告する。研究担当者は被験者に対し、可能な限り必要な検査・観察を行う。	多施設実施に伴う変更のため																																				
P77、D11行 P78、D4行	IX. 5. 7. 2 重篤な有害事象が発現した場合 重篤な有害事象が発生した場合、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」の対応を行う。 総括責任者又は分担研究者は、本臨床研究との因果関係の有無に係わらず、重篤な有害事象の発現を知った時点から72時間以内に三重大学医学部附属病院長に「重篤な有害事象に関する報告書(速報)」をもって報告を行う。さらに、重篤な有害事象の発現を知った時点から7日以内に「重篤な有害事象に関する報告書(詳細報)」をもって、三重大学医学部附属病院長及び安全・効果評価・適応判定部会へ報告を行う。報告を受けた三重大学医学部附属病院長は、被験者が死亡した場合、及び因果関係の否定できない重篤な有害事象が生じた場合は、速やかにその概況及び対処の方針を第一報として厚生労働省大臣官房厚生科学課に報告し、15日以内を口安に文書をもって厚生労働大臣に報告する。 表4 有害事象報告の必要性の有無について	IX. 5. 7. 2 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重篤な有害事象の発生を察知した場合は、「IX. 5. 7. 1 有害事象が発現した場合」の対応を行う。また、総括責任者は、本臨床研究との因果関係の有無に係わらず、重篤な有害事象の発現を知った時点から72時間以内に三重大学医学部附属病院長及び本臨床研究を実施している全ての総括責任者へ「重篤な有害事象に関する報告書(速報)」をもって報告を行う。なお、三重大学医学部附属病院長への報告については分担研究者が行うことも可能とする。 総括責任者は、重篤な有害事象の発現を察知した時点から7日以内に三重大学医学部附属病院長、本臨床研究を実施している全ての総括責任者及び安全・効果評価・適応判定中央部会へ「重篤な有害事象に関する報告書(詳細報)」をもって報告を行う。 なお、三重大学医学部附属病院長は、被験者が死亡もしくは因果関係の否定できない重篤な有害事象(因果関係:「関連なし」以外)に関する報告を受けた場合には、速やかにその概況及び対処の方針を第一報として厚生労働省大臣官房厚生科学課に報告し、15日以内を口安に文書をもって厚生労働大臣に報告する。 表4 有害事象報告の必要性の有無について	多施設実施に伴う変更のため																																				
	<table border="1"> <thead> <tr> <th rowspan="2"></th> <th colspan="3">重篤な有害事象</th> <th rowspan="2">非重篤な有害事象</th> </tr> <tr> <th>死亡 (因果関係 問わず)</th> <th>因果関係 否定 できない</th> <th>なし</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>厚生科学課及び大臣への報告</td> <td>必要</td> <td>必要</td> <td>不要</td> <td>不要</td> </tr> <tr> <td>安全・効果評価・適応判定部会 医療機関の長への報告</td> <td>必要</td> <td>必要</td> <td>必要</td> <td>不要</td> </tr> </tbody> </table>		重篤な有害事象			非重篤な有害事象	死亡 (因果関係 問わず)	因果関係 否定 できない	なし	厚生科学課及び大臣への報告	必要	必要	不要	不要	安全・効果評価・適応判定部会 医療機関の長への報告	必要	必要	必要	不要	<table border="1"> <thead> <tr> <th rowspan="2"></th> <th colspan="3">重篤な有害事象</th> <th rowspan="2">非重篤な有害事象</th> </tr> <tr> <th>死亡 (因果関係 問わず)</th> <th>因果関係 否定 できない</th> <th>なし</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>厚生科学課及び大臣への報告</td> <td>必要</td> <td>必要</td> <td>不要</td> <td>不要</td> </tr> <tr> <td>安全・効果評価・適応判定中央部会と医療機関の長への報告</td> <td>必要</td> <td>必要</td> <td>必要</td> <td>不要</td> </tr> </tbody> </table>		重篤な有害事象			非重篤な有害事象	死亡 (因果関係 問わず)	因果関係 否定 できない	なし	厚生科学課及び大臣への報告	必要	必要	不要	不要	安全・効果評価・適応判定中央部会と医療機関の長への報告	必要	必要	必要	不要	
	重篤な有害事象			非重篤な有害事象																																			
	死亡 (因果関係 問わず)	因果関係 否定 できない	なし																																				
厚生科学課及び大臣への報告	必要	必要	不要	不要																																			
安全・効果評価・適応判定部会 医療機関の長への報告	必要	必要	必要	不要																																			
	重篤な有害事象			非重篤な有害事象																																			
	死亡 (因果関係 問わず)	因果関係 否定 できない	なし																																				
厚生科学課及び大臣への報告	必要	必要	不要	不要																																			
安全・効果評価・適応判定中央部会と医療機関の長への報告	必要	必要	必要	不要																																			
P78、D8行 P80、E11行	三重大学における保有個人情報に関する事務を総括するものとして理事(総務・企画・評価担当)を総括保護管理者に置き、総括保護管理者の下に保護管理者、保護担当者を置くことにより、個人情報保護管理の徹底を行っている。	三重大学における保有個人情報の管理に関する事務を総括するものとして理事(情報公開・個人情報担当)を総括保護管理者に置き、総括保護管理者の下に保護管理者、保護担当者を置くことにより、個人情報保護管理の徹底を行っている。	記載整備																																				
P80、D2行 P82、E9行	IX. 5. 10. 4 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、タカラバイオ(株)が外部協力者として「ウイルスベクターに関する基礎的助言及び遺伝子導入Tリンパ球調製技術の提供と助言」に限定し、間接的に関与する。	IX. 5. 10. 4 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、タカラバイオ(株)が外部協力者として「ウイルスベクターに関する基礎的助言及び遺伝子導入Tリンパ球調製技術の提供と助言、遺伝子導入細胞製剤の体内動態検査、RCR検査及びLAM-PCRに関する技術提供」に限定し、間接的に関与する。	外部協力者の役割の記載整備																																				
P82、E4行 P84、E4行	1. 「遺伝子治療臨床研究に関する指針」 (平成16年文部科学省・厚生労働省告示第12号、平成16年12月28日)	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12号、平成16年12月28日)全部改正。	記載整備																																				

		平成20年12月1日(部改正)	
P94 P96	承認日:2010年 8月 9日	承認日:2011年 7月 6日	承認日変更
P94 P96	第1.4版 作成年月日:2010年 8月 3日	第1.5版 作成年月日:2011年 5月 18日	版数の更新
P98、E11行 P100、E11行	4. 遺伝子治療臨床研究の概要について 私たちの計画している遺伝子治療は、以下のとおりです。この臨床研究は、三重大学大学院医学系研究科 遺伝子・免疫細胞治療学(タカラバイオ株式会社との産学連携講座)とタカラバイオ株式会社(本社:滋賀県大津市瀬田)との共同研究に基づいて、三重大学医学部附属病院で実施します。	4. 遺伝子治療臨床研究の概要について 私たちの計画している遺伝子治療は、以下のとおりです。この臨床研究は、三重大学大学院医学系研究科 遺伝子・免疫細胞治療学(タカラバイオ株式会社との産学連携講座)を含む複数の医療機関とタカラバイオ株式会社(本社:滋賀県大津市瀬田)との共同研究に基づいて、三重大学医学部附属病院で実施します。	多施設実施に伴う記載整備
P111、F11行 P113、F10行	15. 健康被害の補償について 本臨床研究に関連する健康被害が生じた場合には、最も適切な治療を行います。健康被害がこの臨床研究と関係があるかどうかの判定は、私達とは利害関係のない、この遺伝子治療臨床研究のために当院が独立して設置する「安全・効果評価・適応判定部会」で検討し、この臨床研究との関連が否定できないと判断された副作用の検査や治療に対する医療費は当院が負担いたします。一方、この臨床研究との関連が認められない健康被害に関する医療費の支払いには、あなたの加入している健康保険が適用されます。また、当院に過失がない限り、補償金は支払われないことをご了承ください。	15. 健康被害の補償について 本臨床研究に関連する健康被害が生じた場合には、最も適切な治療を行います。健康被害がこの臨床研究と関係があるかどうかの判定は、本遺伝子治療臨床研究を行っている医療機関が共同で設置する「安全・効果評価・適応判定中央部会」で検討します。なお、「安全・効果評価・適応判定中央部会」は私達と利害関係はありません。この臨床研究との関連が否定できないと判断された副作用の検査や治療に対する医療費は当院が負担いたします。一方、この臨床研究との関連が認められない健康被害に関する医療費の支払いには、あなたの加入している健康保険が適用されます。また、当院に過失がない限り、補償金は支払われないことをご了承ください。	多施設実施に伴う変更のため
P113、E17行 P115、E6行	21. 個人情報の第三者への提供の制限について 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 (中略) 本臨床研究では、タカラバイオという会社が外部協力者としてレトロウイルスベクターに関する基礎的助言や TCR 遺伝子導入リンパ球の調製技術の提供・助言に限定し、間接的に関与しています。	21. 個人情報の第三者への提供の制限について 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 (中略) 本臨床研究では、タカラバイオという会社が外部協力者としてレトロウイルスベクターに関する基礎的助言や TCR 遺伝子導入リンパ球の調製技術の提供・助言と遺伝子導入細胞製剤の体内動態検査、RCR 検査及びLAM-PCRに関する技術提供に限定し、間接的に関与しています。	外部協力者の役割の記載整備
P114、F9行 P116、F8行	珠玖 洋 : 三重大学名誉教授 三重大学大学院医学系研究科 遺伝子・免疫細胞治療学講座 座 教員	珠玖 洋 : 三重大学名誉教授 三重大学大学院医学系研究科 遺伝子・免疫細胞治療学講座 大学教員	記載整備
- P117、E11行	-	宮原 慶裕:三重大学大学院医学系研究科 <u>がんワクチン講座</u> 講師	新規追加のため
P115、F3行 P117、F3行	佐藤 永一:東京医科大学 病理学講座 助教	佐藤 永一:東京医科大学 人体病理学講座 助教	記載整備

<実施計画書添付資料>

頁・箇所 (行数は、空 行・図表は はカウント しない) 上段：変更 前 下段：変更 後	第1.0版(2008年6月6日作成) (厚生労働大臣の回答も受領した版)	第1.2版(2011年5月18日作成) (変更あり)	変更理由
表紙 表紙	第1.0版：平成20年6月6日作成	第1.2版：平成23年5月18日作成	版数の更新
P7、1行 P7、1行	影山 慎 (中略) 平成17年4月 三重大学大学院医学系研究科遺伝子・免疫細胞治療学・准教授	影山 慎 (中略) 平成17年4月 三重大学大学院医学系研究科遺伝子・免疫細胞治療学・准教授 平成22年6月 (兼) 三重大学医学部附属病院外来化学療法部・部長	異動のため
P9 —	川浅 厚則 (以下略)		退職のため
P11、1行 P9、1行	池田 裕明 (中略) 平成18年9月 三重大学大学院がんワクチン学・准教授	池田 裕明 (中略) 平成18年9月 三重大学大学院がんワクチン学・准教授 平成21年5月 三重大学大学院医学系研究科遺伝子・免疫細胞治療学講座・准教授	異動のため
P13、1行 —	西川 博彦 (以下略)		退職のため
— P11、1行		宮原 慶裕 (以下略)	新たな加入のため
— P13、1行		今井 奈緒子 (以下略)	新たな加入のため
P14、1行 P15、1行	片山 直之 (中略) 平成18年8月 三重大学大学院医学系研究科病態制御医学講座 造血病態内科学分野・教授	片山 直之 (中略) 平成18年8月 三重大学大学院医学系研究科病態制御医学講座 造血病態内科学分野・教授 平成21年7月 三重大学大学院医学系研究科病態制御医学講座 血液・腫瘍内科学・教授	異動のため
P16、1行 P17、1行	榎屋 正浩 (中略) 平成19年10月 三重大学大学院造血病態内科学・准教授	榎屋 正浩 (中略) 平成19年10月 三重大学大学院造血病態内科学・准教授 平成21年7月 三重大学大学院医学系研究科病態制御医学講座 血液・腫瘍内科学・准教授	異動のため
P17、1行 P18、1行	水野 聡樹 (中略) 平成19年4月 三重大学大学院腫瘍・免疫内科学・助教	水野 聡樹 (中略) 平成19年4月 三重大学大学院腫瘍・免疫内科学・助教 平成21年4月 三重大学医学部附属病院腫瘍内科・講師・副科長	異動のため
P18、1行	北野 滋久		退職のため

—	(以下略)										
— P19、1行		齋藤 佳菜子 (以下略)	新たな加入のため								
P21、1行 P23、1行	白石 泰三 (中略) 平成 17 年 4 月 三重大学大学院医学系研究科病態解明医学講座 腫瘍病態解明学分野・教授	白石 泰三 (中略) 平成 17 年 4 月 三重大学大学院医学系研究科病態解明医学講座 腫瘍病態解明学分野・教授 <u>平成 21 年 7 月</u> 三重大学大学院医学系研究科病態解明医学講座 腫瘍病理学分野・教授	名称変更のため								
P25、1行 P27、1行	峰野 純一 (中略) 平成 16 年 4 月 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	峰野 純一 (中略) 平成 16 年 4 月 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 <u>平成 21 年 6 月</u> タカラバイオ株式会社 遺伝子医療事業部門副本部長 細胞・遺伝子治療センター・センター長	異動のため								
P26、表 1 P28、表 1	HLA-A2402 拘束性 MAGE-A4 を特異的に認識する T 細胞受容体 α 鎖及び β 鎖を発現し、Gibbon ape 白血病ウイルスの env 蛋白をエンベロップを持つ非増殖性の遺伝子組換えモロニー白血病ウイルス (MS-bPa)	HLA-A2402 拘束性 MAGE-A4 を特異的に認識する T 細胞受容体 α 鎖及び β 鎖を発現し、Gibbon ape 白血病ウイルスの env 蛋白をエンベロップを持つ非増殖性の遺伝子組換えモロニー白血病ウイルス (MS-bPa)	記載整備								
P26、表 1 P28、表 1	<table border="1"> <tr> <td>遺伝子組換え生物等の第一種使用等の内容</td> <td>治療施設におけるヒト遺伝子治療を目的とした使用、保管、運搬及び廃棄並びにこれらに付随する行為</td> </tr> <tr> <td>遺伝子組換え生物等の第一種使用等の方法</td> <td>所在地：三重県津市江戸橋 2 丁目 174 番地 名称：三重大学医学部附属病院 (1) MS-bPa 溶液は、容器に密閉され、凍結状態で治療施設に輸送し、施設内の P2 レベルの実験室内の冷凍庫に保管する。 (2) 凍結状態の MS-bPa 溶液の融解、希釈及び分注操作は、P2 レベルの実験室内の安全キャビネット内又は P2 レベルの実験室内で閉鎖系にて行う。患者リンパ球への MS-bPa 導入操作、MS-bPa 導入細胞の培養その他の MS-bPa 希釈溶液及び MS-bPa 導入細胞の取扱いも同様に P2 レベルの実験室内の安全キャビネット内又は P2 レベルの実験室内で閉鎖系にて行う。MS-bPa 希釈溶液及び MS-bPa 導入細胞の保管は、P2 レベルの実験室内の冷蔵庫、冷凍庫又は培養器にて行う。なお、MS-bPa 希釈溶液若しくはその冷凍品又は MS-bPa 導入細胞を、開放系区域を通過して他の P2 レベル区域に運</td> </tr> </table>	遺伝子組換え生物等の第一種使用等の内容	治療施設におけるヒト遺伝子治療を目的とした使用、保管、運搬及び廃棄並びにこれらに付随する行為	遺伝子組換え生物等の第一種使用等の方法	所在地：三重県津市江戸橋 2 丁目 174 番地 名称：三重大学医学部附属病院 (1) MS-bPa 溶液は、容器に密閉され、凍結状態で治療施設に輸送し、施設内の P2 レベルの実験室内の冷凍庫に保管する。 (2) 凍結状態の MS-bPa 溶液の融解、希釈及び分注操作は、P2 レベルの実験室内の安全キャビネット内又は P2 レベルの実験室内で閉鎖系にて行う。患者リンパ球への MS-bPa 導入操作、MS-bPa 導入細胞の培養その他の MS-bPa 希釈溶液及び MS-bPa 導入細胞の取扱いも同様に P2 レベルの実験室内の安全キャビネット内又は P2 レベルの実験室内で閉鎖系にて行う。MS-bPa 希釈溶液及び MS-bPa 導入細胞の保管は、P2 レベルの実験室内の冷蔵庫、冷凍庫又は培養器にて行う。なお、MS-bPa 希釈溶液若しくはその冷凍品又は MS-bPa 導入細胞を、開放系区域を通過して他の P2 レベル区域に運	<table border="1"> <tr> <td>遺伝子組換え生物等の第一種使用等の内容</td> <td>1. 治療施設におけるヒト遺伝子治療を目的とした使用、保管、運搬及び廃棄 2. 共同実施施設への運搬 3. 1及び2に付随する行為</td> </tr> <tr> <td>遺伝子組換え生物等の第一種使用等の方法</td> <td>治療施設の所在地：三重県津市江戸橋 2 丁目 174 番地 治療施設の名称：三重大学医学部附属病院 (1) MS-bPa 溶液は、容器に密閉され、凍結状態で治療施設に輸送し、施設内の P2 レベルの実験室(以下「P2 実験室」という。)内の冷凍庫に保管する。 (2) 凍結状態の MS-bPa 溶液の融解、希釈及び分注操作は、P2 実験室内の安全キャビネット内又は P2 実験室内で閉鎖系にて行う。患者リンパ球への MS-bPa 導入操作、MS-bPa 導入細胞の培養その他の MS-bPa 希釈溶液及び MS-bPa 導入細胞の取扱いも同様に P2 実験室内の安全キャビネット内又は P2 実験室内で閉鎖系にて行う。MS-bPa 希釈溶液及び MS-bPa 導入細胞の保管は、P2 実験室内の冷蔵庫、冷凍庫又は培養器にて行う。なお、MS-bPa 希釈溶液若しくは</td> </tr> </table>	遺伝子組換え生物等の第一種使用等の内容	1. 治療施設におけるヒト遺伝子治療を目的とした使用、保管、運搬及び廃棄 2. 共同実施施設への運搬 3. 1及び2に付随する行為	遺伝子組換え生物等の第一種使用等の方法	治療施設の所在地：三重県津市江戸橋 2 丁目 174 番地 治療施設の名称：三重大学医学部附属病院 (1) MS-bPa 溶液は、容器に密閉され、凍結状態で治療施設に輸送し、施設内の P2 レベルの実験室(以下「P2 実験室」という。)内の冷凍庫に保管する。 (2) 凍結状態の MS-bPa 溶液の融解、希釈及び分注操作は、P2 実験室内の安全キャビネット内又は P2 実験室内で閉鎖系にて行う。患者リンパ球への MS-bPa 導入操作、MS-bPa 導入細胞の培養その他の MS-bPa 希釈溶液及び MS-bPa 導入細胞の取扱いも同様に P2 実験室内の安全キャビネット内又は P2 実験室内で閉鎖系にて行う。MS-bPa 希釈溶液及び MS-bPa 導入細胞の保管は、P2 実験室内の冷蔵庫、冷凍庫又は培養器にて行う。なお、MS-bPa 希釈溶液若しくは	多施設実施に伴う変更
遺伝子組換え生物等の第一種使用等の内容	治療施設におけるヒト遺伝子治療を目的とした使用、保管、運搬及び廃棄並びにこれらに付随する行為										
遺伝子組換え生物等の第一種使用等の方法	所在地：三重県津市江戸橋 2 丁目 174 番地 名称：三重大学医学部附属病院 (1) MS-bPa 溶液は、容器に密閉され、凍結状態で治療施設に輸送し、施設内の P2 レベルの実験室内の冷凍庫に保管する。 (2) 凍結状態の MS-bPa 溶液の融解、希釈及び分注操作は、P2 レベルの実験室内の安全キャビネット内又は P2 レベルの実験室内で閉鎖系にて行う。患者リンパ球への MS-bPa 導入操作、MS-bPa 導入細胞の培養その他の MS-bPa 希釈溶液及び MS-bPa 導入細胞の取扱いも同様に P2 レベルの実験室内の安全キャビネット内又は P2 レベルの実験室内で閉鎖系にて行う。MS-bPa 希釈溶液及び MS-bPa 導入細胞の保管は、P2 レベルの実験室内の冷蔵庫、冷凍庫又は培養器にて行う。なお、MS-bPa 希釈溶液若しくはその冷凍品又は MS-bPa 導入細胞を、開放系区域を通過して他の P2 レベル区域に運										
遺伝子組換え生物等の第一種使用等の内容	1. 治療施設におけるヒト遺伝子治療を目的とした使用、保管、運搬及び廃棄 2. 共同実施施設への運搬 3. 1及び2に付随する行為										
遺伝子組換え生物等の第一種使用等の方法	治療施設の所在地：三重県津市江戸橋 2 丁目 174 番地 治療施設の名称：三重大学医学部附属病院 (1) MS-bPa 溶液は、容器に密閉され、凍結状態で治療施設に輸送し、施設内の P2 レベルの実験室(以下「P2 実験室」という。)内の冷凍庫に保管する。 (2) 凍結状態の MS-bPa 溶液の融解、希釈及び分注操作は、P2 実験室内の安全キャビネット内又は P2 実験室内で閉鎖系にて行う。患者リンパ球への MS-bPa 導入操作、MS-bPa 導入細胞の培養その他の MS-bPa 希釈溶液及び MS-bPa 導入細胞の取扱いも同様に P2 実験室内の安全キャビネット内又は P2 実験室内で閉鎖系にて行う。MS-bPa 希釈溶液及び MS-bPa 導入細胞の保管は、P2 実験室内の冷蔵庫、冷凍庫又は培養器にて行う。なお、MS-bPa 希釈溶液若しくは										

搬する場合には、密閉した容器に入れ、容器の落下や破損を防止するために当該容器を箱等に入れ運搬する。

(3) MS-bPa 溶液（希釈液を含む）又は MS-bPa 導入細胞を廃棄する際には、滅菌処理（高圧蒸気滅菌処理又は 0.5% 次亜塩素酸ナトリウム溶液への 2 時間以上の浸漬処理による。以下同じ。）を行った後、三重大学医学部附属病院医療廃棄物管理規程（以下「医療廃棄物管理規程」という）に従い廃棄する。

(4) 被験者に対する MS-bPa 導入細胞の投与は、環境中への拡散防止措置を適切に執った陽圧でない個室（以下「個室」という）内において輸注により行う。なお、投与時に MS-bPa 導入細胞に直接接触する注射針、注射器、チューブ等の器具は使い捨てとし、適切に滅菌処理を実施した後、医療廃棄物管理規程に従い廃棄する。なお、これらの滅菌処理を個室内以外の区域で行う場合には、二重に密閉した容器に入れて運搬する。

(5) 投与後 3 日まで、被験者を個室内で管理し、検査等の目的で被験者が一時的に個室外の開放区域に出る場合には、マスク及びガウン着用等のウイルス漏出予防措置を義務付ける。個室における管理期間中の被験者の血液及び体液は、その都度適切に滅菌処理を行い、医療廃棄物管理規程に従い廃棄する。また、被験者の尿及び糞便等の排泄物は、投与翌日以降に行われる被験者の血液を用いたポリメラーゼ連鎖反応（PCR）法試験にて自己増殖能を獲得したレトロウイルス（以下「RCR」という）の存在が否定されるまで、適切に滅菌処理を行い、医療廃棄物管理規程に従い廃棄する。なお、これらの滅菌処理を個室内以外の区域で行う場合には、二重に密閉した容器に入れて運搬する。また、臨床検体として使用する被験者の排泄物等の取扱いは、MS-bPa 溶液及び MS-bPa 導入細胞の取扱

その凍結品又は MS-bPa 導入細胞を、開放系区域を通過して他の P2 レベル区域に運搬する場合には、密閉した容器に入れ、容器の落下や破損を防止するために当該容器を箱等に入れ運搬する。

(3) MS-bPa 導入細胞を、開放系区域を通過して他の共同実施施設に運搬する場合には、密閉した容器に入れ、容器の落下や破損を防止するために当該容器を箱等に入れ、凍結状態で輸送する。

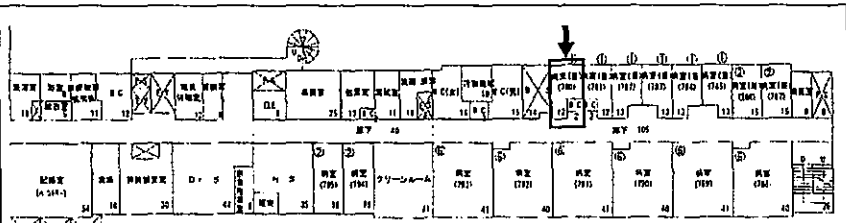
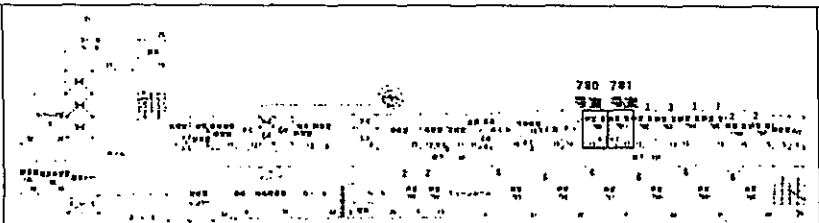
(4) MS-bPa 溶液（希釈液を含む）又は MS-bPa 導入細胞を廃棄する際には、ウイルス不活化（高圧蒸気滅菌処理、0.5% 以上の次亜塩素酸ナトリウム溶液への浸漬処理又は消毒用アルコール処理による。以下同じ。）を行った後、三重大学医学部附属病院で定められた医療廃棄物管理規程（以下「医療廃棄物管理規程」という）に従い廃棄する。

(5) 被験者に対する MS-bPa 導入細胞の投与は、環境中への拡散防止措置を適切に執った陽圧でない個室（以下「個室」という）内において輸注により行う。なお、投与時に MS-bPa 導入細胞に直接接触する注射針、注射器、チューブ等の器具は使い捨てとし、適切にウイルス不活化を実施した後、医療廃棄物管理規程に従い廃棄する。なお、これらのウイルス不活化を個室外の区域で行う場合には、二重に密閉した容器に入れて運搬する。

(6) 投与後 3 日まで、被験者を個室内で管理する。検査等の理由で被験者が一時的に個室外の開放区域に出る場合には、マスク及びガウン着用等のウイルス漏出予防措置を義務付ける。

(7) 個室内における管理期間中の被験者の血液及び体液は、その都度適切にウイルス不活化を行い、医療廃棄物管理規程に従い廃棄する。また、被験者

	<p>いに準じる。</p> <p>(6) 個室における管理期間中、被験者に対して侵襲的に使用した器具等及び被験者の排泄物等に接触した器具等は、適切に滅菌処理を実施した後、医療廃棄物管理規程に従い廃棄するか、又は十分に洗浄する。なお、これらの滅菌処理又は洗浄を個室以外の区域で行う場合には、二重に密閉した容器に入れて運搬する。</p> <p>(7) 個室における被験者の管理を解除する前に、RCRが被験者の末梢血単核球（<u>peripheral blood mononuclear cell</u>：PBMC）及び血漿において陰性であることを確認する。RCRが確認されたときは、個室における管理を継続する。</p> <p>(8) 個室における管理解除後に被験者の PBMC 又は血漿から RCR が検出された場合は、直ちに被験者を個室における管理下に移し、上記(5)から(7)までと同様の措置を執る。</p>		<p>の尿及び糞便等の排泄物は、投与翌日以降に行われる被験者の血液を用いたポリメラーゼ連鎖反応法試験にて自己増殖能を獲得したレトロウイルス（以下「RCR」という。）の存在が否定されるまで、適切にウイルス不活化を行い、医療廃棄物管理規程に従い廃棄する。なお、これらのウイルス不活化を個室外の区域で行う場合には、二重に密閉した容器に入れて運搬する。また、臨床検体として使用する被験者の排泄物等の取扱いは、MS-bPa 溶液及び MS-bPa 導人細胞の取扱いに準ずる。</p> <p>(8) 個室における管理期間中、被験者に対して侵襲的に使用した器具等及び被験者の排泄物等に接触した器具等は、適切にウイルス不活化を実施した後、医療廃棄物管理規程に従い廃棄又は十分に洗浄する。なお、これらのウイルス不活化又は洗浄を個室外の区域で行う場合には、二重に密閉した容器に入れて運搬する。</p> <p>(9) 個室内における被験者の管理を解除する前に、RCRが被験者の末梢血単核球（以下「PBMC」という。）及び血漿において陰性であることを確認する。RCRが検出されたときは、個室内における管理を継続する。</p> <p>(10) 個室内における管理解除後に被験者の PBMC 又は血漿から RCR が検出された場合は、直ちに被験者を個室内における管理下に移し、上記(6)から(9)までと同様の措置を執る。</p>	
P29、E1行 P31、E1行	<p>II.2 遺伝子治療を行う施設の見取り図</p> <p>TCR 遺伝子導入リンパ球輸注は、三重大学医学部附属病院 7 階東病棟の病室内で実施される。</p>	<p>II.2 遺伝子治療を行う施設の見取り図</p> <p>TCR 遺伝子導入リンパ球輸注は、三重大学医学部附属病院 7 階東病棟の病室内(780 号室、781 号室)で実施される。780 号室、781 号室は同じ居住規格である。</p>		<p>TCR 遺伝子導入リンパ球輸注を実施する病室の追加のため</p>

	 <p style="text-align: center;">内科病棟 (50床)</p> <p style="text-align: center;">図1 遺伝子治療を行う施設の見取り図</p>	 <p style="text-align: center;">第2内科病棟 (50床)</p> <p style="text-align: center;">図1 遺伝子治療を行う施設の見取り図</p>	
<p>P56, 1行</p>		<p>IV.3 TCR 遺伝子導入リンパ球の自己組織への反応に関する研究 TCR 遺伝子導入リンパ球が自己組織に反応する可能性に関する公表論文として、Bendle GM らは、様々な抗原特異的マウス TCR 遺伝子をレトロウイルスベクター (中略) (a) SV40_{LT}-Cys-TCR-P2A 遺伝子発現カセットを用いることによる致死性 GVHD の完全阻止を示す Kaplan-Meier 生存図。SV40_{LT}-TCR-IRES Id versus SV40_{LT}-Cys-TCR-P2A Id: P<0.0001. (Bendle GM et al. Nature Med 16: 565-570, 2010 より)</p>	<p>新規文献情報追加のため</p>
<p>P54, 1行 P59, 1行</p>	<p>IV.3 TCR 遺伝子導入ヒトリンパ球を用いた臨床研究の成果</p> <p>米国立衛生研究所の Rosenberg らのグループは、悪性黒色腫患者 17 名に対して腫瘍抗原 MART-1 特異的 TCR 遺伝子をレトロウイルスベクターを用いて遺伝子導入した患者自己リンパ球を輸注する臨床試験の結果を 2006 年に報告した (以下文献参照)。 (中略)</p>	<p>IV.4 TCR 遺伝子導入ヒト T リンパ球を用いた臨床研究の成果 IV.4.1 ex vivo 拡大培養 T リンパ球輸注の安全性に関する報告 1998 年から 2008 年までに米国 FDA (食品医薬品局) に申請され、ベイラー医科大学 (Baylor College of Medicine) で実施された T リンパ球輸注臨床試験の安全性情報が報告された (以下文献 1 参照)。 (中略) 以上より、T リンパ球輸注は安全であり輸注後 1 時間の観察で充分で、前投薬の抗ヒスタミン剤は低用量が望ましいと報告された。</p> <p>IV.4.2 MART-1 特異的 TCR 遺伝子導入 T リンパ球輸注の臨床試験 米国立衛生研究所の Rosenberg らのグループは、悪性黒色腫患者 17 名に対して腫瘍抗原 MART-1 特異的 TCR 遺伝子をレトロウイルスベクターを用いて遺伝子導入した患者自己リンパ球を輸注する臨床試験の結果を 2006 年に報告した (以下文献 2 参照)。 (中略)</p> <p>IV.4.3 MART-1 又は gp100 特異的 TCR 遺伝子導入 T リンパ球輸注の臨床試験 同じく Rosenberg らのグループから、高親和性ヒト TCR 由来の MART-1 特異的 TCR 遺伝子 (DMF5)、又はマウス由来の gp100 特異的 TCR 遺伝子 (gp100 (I54)) をそれぞれ組込んだ 2</p>	<p>新規文献情報追加のため</p>

		<p>種類のレトロウイルスベクターを用いて (中略)</p> <p>(B) DMF5、gp100 (154) 導入リンパ輸注1ヶ月後のデトラーマ解析 (上)、抗原特異的 IFN-γ遊離能 (ELISPOT) (中)、IL-2遊離能 (ELISPOT) (下) (Johnson, et al. Blood 114:535-546, 2009より)</p> <p>文献: 1) Cruz CR, Hanley PJ, Liu H, et al. Adverse events following infusion of T cells for adoptive immunotherapy: a 10-year experience. <i>Cytotherapy</i> 12:743-749, 2010. 2) Morgan RA, Dudley ME, Wunderlich JR, et al. Cancer regression in patients after transfer of genetically engineered lymphocytes. <i>Science</i> 314:126-129, 2006. 3) 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. <i>Blood</i> 114:535-546, 2009.</p>	
P56、上3行 P64、上3行	「IV. 3 TCR 遺伝子導入ヒトリンパ球を用いた臨床研究の成果」参照。	「IV. 4 TCR 遺伝子導入ヒトリンパ球を用いた臨床研究の成果」参照。	記載整備
P63、上2行 P65、上2行	V. 2. 1 三重大学医学部附属病院遺伝子治療臨床研究審査委員会規程 (以下略)	V. 2. 1 三重大学医学部附属病院遺伝子治療臨床研究審査委員会規程 (以下略)	規程の改正のため
P66、上1行 P68、上1行	V. 2. 2 三重大学医学部附属病院遺伝子治療臨床研究審査委員会安全・効果評価・適応判定 部会内規 (以下略)	V. 2. 2 三重大学医学部附属病院遺伝子治療臨床研究審査委員会安全・効果評価・適応判定 部会内規 (以下略)	内規の改正のため
P68、上1行 P70、上1行	V. 2. 3 三重大学医学部附属病院遺伝子治療臨床研究審査委員会遺伝子製剤検証部会内規 (以下略)	V. 2. 3 三重大学医学部附属病院遺伝子治療臨床研究審査委員会遺伝子製剤検証部会内規 (以下略)	内規の改正のため
P70、上1行 P72、上1行	V. 2. 4 国立大学法人三重大学個人情報保護規程 (以下略)	V. 2. 4 国立大学法人三重大学個人情報保護規程 (以下略)	規程の改正のため



厚科審第17号
平成23年7月20日

科学技術部会部会長

永井良三 殿

厚生科学審議会会長

垣添 忠 生

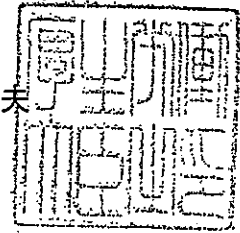


遺伝子治療臨床研究に係る生物多様性影響評価について（付議）

標記について、平成23年7月20日厚生労働省発科0720第2号をもって厚生労働大臣より諮問があったので、厚生科学審議会運営規程第3条の規定に基づき、貴部会において審議方願いたい。

厚生科学審議会会長
垣添 忠生 殿

厚生労働大臣 細川 律夫



諮 問 書

遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律
(平成 15 年法律第 97 号) 第 4 条第 1 項に基づく第一種使用規程等の主務大臣承認に関し、下記の遺伝子治療臨床研究について、厚生労働省設置法(平成 11 年法律第 97 号) 第 8 条第 1 項第 1 号イの規定に基づき、貴会の意見を求めます。

記

MAGE-A4 抗原特異的 TCR 遺伝子導入リンパ球輸注による治療抵抗性食道癌に対する遺伝子治療臨床研究

1. 申請者 三重大学医学部附属病院 病院長 竹田 寛

遺伝子組換え生物等の名称

HLA-A2402 拘束性 MAGE-A4 を特異的に認識する T 細胞受容体 α 鎖及び β 鎖を発現し、Gibbon ape 白血病ウイルスの env 蛋白をエンベロープに持つ非増殖性の組換えモロニーマウス白血病ウイルス (MS-bPa)

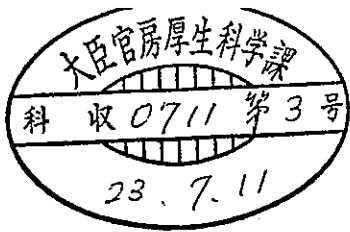
2. 申請者 大阪大学医学部附属病院 病院長 福澤 正洋

遺伝子組換え生物等の名称

HLA-A2402 拘束性 MAGE-A4 を特異的に認識する T 細胞受容体 α 鎖及び β 鎖を発現し、Gibbon ape 白血病ウイルスの env 蛋白をエンベロープに持つ非増殖性の組換えモロニーマウス白血病ウイルス (MS-bPa)

3. 申請者 財団法人 田附興風会医学研究所北野病院 病院長 藤井 信吾
遺伝子組換え生物等の名称

HLA-A2402 拘束性 MAGE-A4 を特異的に認識する T 細胞受容体 α 鎖及び β 鎖を発現し、Gibbon ape 白血病ウイルスの env 蛋白をエンベロープに持つ非増殖性の組換えモロニーマウス白血病ウイルス (MS-bPa)

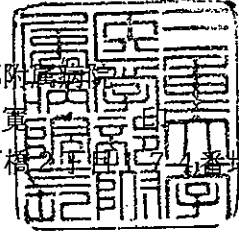


第一種使用規程承認申請書

平成 23 年 7 月 6 日

厚生労働大臣 細川 律夫 殿
環境大臣 江田 五月 殿

氏名 三重大学医学部附属病院
申請者 病院長 竹田 真
住所 三重県津市江戸橋 2 丁目 7 番地



第一種使用規程について承認を受けたいので、遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律第 4 条第 2 項（同法第 9 条第 4 項において準用する場合を含む。）の規定により、次のとおり申請します。

<p>遺伝子組換え生物等の種類 の名称</p>	<p>HLA-A2402 拘束性 MAGE-A4 を特異的に認識する T 細胞受容体 α 鎖及び β 鎖を発現し、Gibbon ape 白血病ウイルスの env 蛋白をエンベロープに持つ非増殖性の遺伝子組換えモロニーマウス白血病ウイルス (MS-bPa)</p>
<p>遺伝子組換え生物等の第一種使用等の内容</p>	<p>1. 治療施設におけるヒト遺伝子治療を目的とした使用、保管、運搬及び廃棄 2. 共同実施施設への運搬 3. 1 及び 2 に付随する行為</p>
<p>遺伝子組換え生物等の第一種使用等の方法</p>	<p>治療施設の所在地 三重県津市江戸橋二丁目 174 番地 治療施設の名称 三重大学医学部附属病院</p> <p>(1) MS-bPa 溶液は、容器に密閉され、凍結状態で治療施設に輸送し、施設内の P2 レベルの実験室 (以下「P2 実験室」という。) 内の冷凍庫に保管する。</p> <p>(2) 凍結状態の MS-bPa 溶液の融解、希釈及び分注操作は、P2 実験室内の安全キャビネット内又は P2 実験室内で閉鎖系にて行う。患者リンパ球への MS-bPa 導入操作、MS-bPa 導入細胞の培養その他の MS-bPa 希釈溶液及び MS-bPa 導入細胞の取扱いも同様に P2 実験室内の安全キャビネット内又は P2 実験室内で閉鎖系にて行う。MS-bPa 希釈溶液及び MS-bPa 導入細胞の保管は、P2 実験室内の冷蔵庫、冷凍庫又は培養器にて行う。なお、MS-bPa 希釈溶液若しくはその凍結品又は MS-bPa 導入細胞を、開放系区域を通過して他の P2 レベル区域に運搬する場合には、密閉した容器に入れ、容器の落下や破損を防止するために当該容器を箱等に入れ運搬する。</p> <p>(3) MS-bPa 導入細胞を、開放系区域を通過して他の共同実施施設に運搬する場合には、密閉した容器に入れ、容器の落下や破損を防止するために当該容器を箱等に入れ、凍結状態で輸送する。</p> <p>(4) MS-bPa 溶液 (希釈溶液を含む。) 又は MS-bPa 導入細胞を廃棄する際には、ウイルス不活化 (高圧蒸気滅菌処理、0.5% 以上の次亜塩素酸ナトリウム溶液への浸漬処理又は消毒用アルコール処理による。以下同じ。) を行った後、三重大学医学部附属病院で定められた医療廃棄物管理規程 (以下「医療廃棄物管理規程」という。) に従い廃棄する。</p> <p>(5) 被験者に対する MS-bPa 導入細胞の投与は、環境中への拡散防止措置を適切に執った陽圧でない個室 (以下「個室」という。) 内において輸注により行う。なお、投与時に MS-bPa 導入細胞に直接接触する注射針、注射器、チューブ等の器具等は使い捨てとし、適切にウイルス不活化を実施した後、医療廃棄物管理規程に従い廃棄する。なお、これらのウイルス不活化を個室外の区域で行う場合には、二重に密閉した容器に入れて運搬する。</p> <p>(6) 投与後 3 日まで、被験者を個室で管理する。検査等の理由で被験者が一時的に個室外の開放区域に出る場合には、マスク及びガウン着用等のウイルス漏出予防措置を義務付ける。</p> <p>(7) 個室における管理期間中の被験者の血液及び体液は、その都度適切にウイルス不活化を行い、医療廃棄物管理規程に従</p>

い廃棄する。また、被験者の尿及び糞便等の排泄物は、投与翌日以降に行われる被験者の血液を用いたポリメラーゼ連鎖反応法試験にて自己増殖能を獲得したレトロウイルス（以下「RCR」という。）の存在が否定されるまで、適切にウイルス不活化を行い、医療廃棄物管理規程に従い廃棄する。なお、これらのウイルス不活化を個室外の区域で行う場合には、二重に密閉した容器に入れて運搬する。また、臨床検体として使用する被験者の排泄物等の取扱いは、MS-bPa 溶液及び MS-bPa 導入細胞の取扱いに準ずる。

(8) 個室内における管理期間中、被験者に対して侵襲的に使用した器具等及び被験者の排泄物等に接触した器具等は、適切にウイルス不活化を実施した後、医療廃棄物管理規程に従い廃棄又は十分に洗浄する。なお、これらのウイルス不活化又は洗浄を個室外の区域で行う場合には、二重に密閉した容器に入れて運搬する。

(9) 個室内における被験者の管理を解除する前に、RCR が被験者の末梢血単核球（以下「PBMC」という。）及び血漿において陰性であることを確認する。RCR が検出されたときは、個室内における管理を継続する。

(10) 個室内における管理解除後に被験者の PBMC 又は血漿から RCR が検出された場合は、直ちに被験者を個室内における管理下に移し、上記(6)から(9)までと同様の措置を執る。

「HLA-A2402 拘束性 MAGE-A4 を特異的に認識する T 細胞受容体 α 鎖及び β 鎖を発現し、Gibbon ape 白血病ウイルスの env 蛋白をエンベロープに持つ非増殖性の遺伝子組換えモロニー白血病ウイルス (MS-bPa)」

生物多様性影響評価書

三重大学医学部附属病院

生物多様性影響評価書

(区分：遺伝子治療臨床研究)

I 宿主又は宿主の属する分類学上の種に関する情報

1 分類学上の位置づけ及び自然環境における分布状況

HLA-A2402 拘束性 MAGE-A4 を特異的に認識する T 細胞受容体 α 鎖及び β 鎖を発現し、Gibbon ape 白血病ウイルスの env 蛋白をエンベロープに持つ非増殖性の遺伝子組換えモロニー Maus 白血病ウイルス MS-bPa (以下、本遺伝子組換え生物という) は増殖能欠損型レトロウイルスベクターである。本遺伝子組換え生物の宿主はモロニー Maus 白血病ウイルス (Moloney murine leukemia virus: MoMLV) である。

レトロウイルス科はアルファ〜イプシロンレトロウイルス及びレンチウイルス (以上はオルソレトロウイルス亜科) 並びにスプーマウイルス (スプーマレトロウイルス亜科) の 7 つの属に分類される。Maus 白血病ウイルス (Murine leukemia virus: MLV) はガンマレトロウイルス属に属する種である (文献1)。MLV は AKR や C58 系 Maus の自然発症白血病の病原ウイルスとして発見された。MoMLV は、実験室内で MLV を継代することにより、病原性の高いウイルス株として Sarcoma 37 細胞から単離されたエコトロピック (同種指向性) レトロウイルスである。MoMLV は発がん遺伝子を持たず、Maus の年齢及び系統にかかわらず感染し、長期間感染した Maus のほぼすべてがリンパ性白血病を発症することが報告されている (文献2)。MoMLV は Maus やラット等のげっ歯類にのみ感染し、ヒトを含む他の動物に対する感染性や病原性の報告はない。

文献1: ICTVdB - The Universal Virus Database, version 4.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/ICTVdb/ICTVdB/>

文献2: Moloney JB. Biological studies on a lymphoid-leukemia virus extracted from sarcoma 37. I. Origin and introductory investigations. J Natl Cancer Inst 24:933-951 (1960).

2 使用等の歴史及び現状

レトロウイルスは、医学生物学領域において遺伝子導入ベクターとしての応用が最も早く進んだウイルスであり、米国で行われた遺伝子治療の最初の臨床例もレトロウイルスベクターを用いたものであった (文献3)。遺伝子治療/遺伝子マーキングの臨床プロトコールでは、レトロウイルスベクター法を用いたものが 22.6% を占める (文献4)。レトロウイルスの中でも MoMLV は遺伝子導入用ベクターとして広く使われている。

文献3: Blaese RM, et al. T Lymphocyte-directed Gene Therapy for ADA-SCID: Initial

3 生理・生態学的特性

(1) 基本的特性 (文献5)

MoMLV 粒子は直径約 100 nm の球形の C 型粒子であり、ウイルスゲノムを内包するコアとそれを取り囲むエンベロープ (外被) からなる。コアは主としてカプシド蛋白質 (CA) により構築されており、その中に 2 分子の RNA ゲノムを有する。そのほか、逆転写酵素 (RT)、インテグラーゼ (IN)、プロテアーゼ (PR)、核酸結合蛋白質 (NC) もコア内部に存在する。コアの周囲にはウイルス産生細胞の細胞膜に由来する脂質二重膜のエンベロープが存在する。エンベロープとコアの間にはマトリックス蛋白質 (MA) が存在する。エンベロープには膜貫通蛋白質 (TM) が突き刺さっており、それに表面蛋白質 (SU) が弱く結合している。SU と TM の複合体はウイルス粒子のエンベロープ上で多量体 (おそらくは三量体) を形成する。

(2) 生息又は生育可能な環境の条件

他のウイルスと同様に、MoMLV は宿主細胞に感染した場合にのみ増殖が可能である (I-3-(4)「繁殖又は増殖の様式」参照)。レトロウイルスは比較的不安定なウイルスであり、体液中、培地中等の限られた環境中でしか感染性を保持できない。なお、ショ糖とゼラチンを添加して凍結乾燥を行うと安定に保存できるとの報告がある (文献6)。

(3) 捕食性又は寄生性

MoMLV はマウス及びラットの細胞に感染し、ウイルスゲノムは逆転写により DNA に変換された後、細胞の染色体に組み込まれる (プロウイルス)。他の生物を捕食することはない。

(4) 繁殖又は増殖の様式

レトロウイルスはキャリアーである動物の血液中や体液中に存在し、他の個体がそれに接触することにより感染する。レトロウイルスが細胞に感染し増殖するときは、1) 吸着、2) 侵入、3) 逆転写、4) 宿主染色体への組み込み、5) RNA 合成、6) 蛋白質合成、7) アセンブリー・放出、8) 成熟といった各段階を経る。一方、レトロウイルスのゲノム配列が生殖系細胞の染色体中にプロウイルスとして組み込まれている場合には、動物の繁殖によって子孫に受け継がれる。

野生型 MoMLV がヒト細胞に感染することはない。ヒト細胞に感染可能なエンベロープ蛋白質 (env 蛋白質) [例えば、4070A アンフトロピック env 蛋白質、gibbon ape leukemia virus (GaLV) env 蛋白質] を持つ MoMLV を人為的に作製した場合にはヒトへの感染が可能である。

(5) 病原性

MoMLV の病原性に関して、下記のことが報告されている。

- 1) MoMLV は、マウスに悪性腫瘍を含む多様な疾患を発生させる。
マウスで起こる疾病・病態としては、白血病、リンパ腫、貧血、免疫不全、腫瘍及び神経変性が知られている。
- 2) レトロウイルスはランダムに宿主染色体に挿入されるため、細胞機能に重要な遺伝子を活性化又は不活化し、がん性の変化をもたらす危険性がある。
- 3) 内在性ウイルスとの組換えにより増殖性レトロウイルス (replication competent retrovirus: RCR) が出現する可能性がある。
- 4) MoMLV はマウスやラットにのみ感染するので、ヒトに対する感染性及び病原性はない。
- 5) 感染により宿主細胞が破壊されることはない。

(6) 有害物質の産生性

MoMLV が有害物質を産生することはない。また、MoMLV に感染したことにより細胞が有害物質の産生能を獲得するとの情報はない。

(7) その他の情報

1) MoMLV の不活化条件

MoMLV と同じレトロウイルス科に属するヒト免疫不全ウイルス (HIV) の滅菌、消毒法として、①121°C、20 分間の高圧蒸気滅菌、②170°C、2 時間の乾熱滅菌、③20~30 分間の煮沸消毒、④有効塩素濃度 0.1~1.0%の次亜塩素酸ナトリウム、⑤70%エタノール又は70%イソプロピルアルコール、⑥3.5~4%ホルマリン、⑦2%グルタラル、が有効である (文献7)。また、10%及び 1%ポピドンヨード液 (文献8)、0.3%過酸化水素水 (文献9) で不活化が可能との報告がある。

紫外線及び熱による液体中の MoMLV 及び HIV の不活化を比較した研究によると (文献10)、MoMLV を 1/10 まで不活化するのに必要な紫外線照射量 (D_{10}) は 2,800 erg/mm² であり、熱処理時間 (T_{10}) は 50°Cでは 50 秒、55°Cでは 20 秒、70°Cでは 8 秒である。したがって、55°C、2 分間又は 70°C、50 秒間の熱処理により、MoMLV の感染価を 1/10⁶ に低下させることができると考えられる。また、50°Cにおける T_{10} が 80~90 秒であるとの報告もある (文献11)。

マウス由来のウイルス産生細胞により産生されたレトロウイルスベクターが仮にヒト体内に侵入したとしても、ヒト血清 (補体) により速やかに不活化される (文献12)。抗 α -galactosyl 自然抗体を有する旧世界ザル (文献13) の体内に侵入したときにも同様のメカニズムにより不活化される (文献14) と考えられる。

2) MoMLV からの、増殖能欠損型レトロウイルスベクターの構築

本遺伝子組換え生物は増殖能欠損型レトロウイルスベクターである。野生型 MoMLV のゲノムから gag-pol 遺伝子及び env 遺伝子の蛋白質コード領域のすべてを除去した増殖能欠損型レトロウイルスベクター-MT (文献15, 16) が構築された。MT のプロウイルス配列 (MT

DNA) 中の 3'-long terminal repeat (LTR) を murine stem cell virus (MSCV) 由来の配列で置換したものが MS DNA であり、gag-pol 遺伝子及び env 遺伝子を発現する細胞に MS DNA を導入することによりレトロウイルスベクター-MS が産生される。本遺伝子組換え生物のゲノムは、HLA-A2402 拘束性 MAGE-A4 を特異的に認識する T 細胞受容体 (TCR) β 鎖遺伝子、マウスホスホグリセリン酸キナーゼ遺伝子プロモーター (P_{PGK}) 及び TCR α 鎖遺伝子が MS のゲノムに挿入された構造を有する。

- 文献5 : 遺伝子治療開発研究ハンドブック 第3章、第2節、1.1 レトロウイルスの増殖サイクル (p. 322)
- 文献6 : Levy JA, et al. Freeze-drying is an effective method for preserving infectious type C retroviruses. *J Virol Methods* 5:165-171 (1982).
- 文献7 : 日本ウイルス学会. ウイルス研究におけるバイオセーフティ指針. *ウイルス* 43:199-232 (1993).
- 文献8 : 加藤真吾, 他. プラーク法を用いた各種消毒剤による HIV-1 不活化の検討. *基礎と臨床* 30:3615-3620 (1996).
- 文献9 : Martin LS, et al. Disinfection and inactivation of the human T lymphotropic virus type III/lymphadenopathy-associated virus. *J Infect Dis* 152:400-403 (1985).
- 文献10 : Yoshikura H. Thermostability of human immunodeficiency virus-1 (HIV-1) in a liquid matrix is far higher than of an ecotropic murine leukemia virus. *Jpn J Cancer Res* 80:1-5 (1989).
- 文献11 : Yoshikura H. Ultraviolet sensitivity of helper function of murine leukemia virus. *Arch Biochem Biophys* 154:76-83 (1973).
- 文献12 : Takeuchi Y, 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).
- 文献13 : Galili Uri, et al. Significance of α -Gal (Gal α 1-3Gal β 1-4GlcNAc-R) Epitopes and α 1,3 Galactosyltransferase in Xenotransplantation. *Trends Glycosci Glycotechnol* 11:317-327 (1999).
- 文献14 : Rother RP, et al. A novel mechanism of retrovirus inactivation in human serum mediated by anti- α -galactosyl natural antibody. *J Exp Med* 182:1345-1355 (1995).
- 文献15 : Yu SS, et al. High efficiency retroviral vectors that contain no viral coding sequences. *Gene Therapy* 7:797-804 (2000).
- 文献16 : Lee J-T, et al. Engineering the splice acceptor for improved gene expression

and viral titer in an MLV-based retroviral vector. Gene Therapy 11:94-99 (2004).

II 遺伝子組換え生物等の調製等に関する情報

1 供与核酸に関する情報

(1) 構成及び構成要素の由来

本遺伝子組換え生物のゲノムを構成する供与核酸はTCR β 鎖遺伝子、P_{PCK}、TCR α 鎖遺伝子、3'-LTRのU3領域及び制限酵素認識部位等の人工配列である。本遺伝子組換え生物のゲノムの構成と、その配列をDNA配列に変換したものの制限酵素地図を別紙1に示す。また、供与核酸の塩基配列及び蛋白質をコードするものについてはそのアミノ酸配列を別紙2に示す。

1) TCR β 鎖遺伝子

本遺伝子は、HLA-A2402 拘束性 MAGE-A4₁₄₃₋₁₅₁ ペプチド特異的なヒト由来細胞傷害性Tリンパ球 (cytotoxic T lymphocyte : CTL) クローン #2-28 (文献17) から、TCR β 鎖遺伝子に特異的なプライマーを用いた RT-PCR 法により単離された cDNA である。本遺伝子は 313 アミノ酸からなるポリペプチドをコードする 939 塩基対と終止コドン TAG より成り立っており、コードされる蛋白質は 116 アミノ酸からなる V7-9 領域、15 アミノ酸からなる J2-5 領域及び 179 アミノ酸からなる C2 領域からなっている。TCR β 鎖遺伝子は 7 番染色体に存在し、多数の亜型から構成される。

2) P_{PCK}

P_{PCK} は 513 bp からなるマウスゲノム由来の DNA 断片に含まれる。

3) TCR α 鎖遺伝子

本遺伝子は、クローン #2-28 (文献 17) から TCR β 鎖遺伝子と同様の方法により単離された cDNA である。本遺伝子は 272 アミノ酸からなるポリペプチドをコードする 816 塩基対と終止コドン TGA より成り立っており、コードされる蛋白は 111 アミノ酸からなる V8-1 領域、20 アミノ酸からなる J10 領域及び 141 アミノ酸からなる C 領域からなっている。TCR α 鎖遺伝子は 14 番染色体上に存在し、多数の亜型から構成される。

4) 3'-LTR の U3 領域

本遺伝子組換え生物の 5'-LTR の全域及び 3'-LTR の R 領域は MoMLV 由来であり、3'-LTR の U3 領域は MSCV 由来である。本遺伝子組換え生物を作製するために用いた MS-bPa DNA (II-3-(2)「宿主内に移入された核酸の移入方法」参照) の 5'-LTR は MoMLV 由来、3'-LTR は MSCV 由来であるが、I-3-(7)-2「MoMLV からの、増殖能欠損型レトロウイルスベクターの構築」に記載したとおり、産生細胞から産生される本遺伝子組換え生物の 3'-LTR の U3 領域は MSCV 由来、LTR のそれ以外の領域は MoMLV 由来となる。

MSCV は人工的に作製されたレトロウイルスベクターであり、その LTR は

PCC4-cell-passaged myeloproliferative sarcoma virus (PCMV) 由来である。Myeloproliferative sarcoma virus (MPSV) は、MoMLV に由来するモロニーマウス肉腫ウイルス (Moloney murine sarcoma virus: MoMSV) を実験室で継代することにより得られた変異株であり、マウス胚性がん細胞株である PCC4 細胞で MPSV を継代することにより、PCMV が得られた。

5) 制限酵素認識部位等の人工配列

MS-bPa DNA 構築の過程で挿入された制限酵素認識部位等の人工配列は別紙 2-5 に示すとおりである。

(2) 構成要素の機能

1) TCR α 鎖及び β 鎖遺伝子

TCR は T 細胞及び NKT 細胞に特異的に発現する抗原認識レセプターであり、免疫系における T 細胞、NKT 細胞の抗原特異性を決定している。機能的 TCR 分子は抗原認識を行う TCR α β 鎖又は γ δ 鎖のヘテロダイマーからなり、細胞内へのシグナル伝達を担う CD3 分子群と会合し、TCR-CD3 複合体を形成している。

TCR 分子は主要組織適合抗原 (MHC) 拘束性に、標的細胞の MHC 分子と抗原ペプチドの複合体を認識する。このことにより、T 細胞や NKT 細胞は抗原特異性を示す。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 細胞や NKT 細胞の活性化、アナジの誘導、分化、生存、細胞死等を司る。

TCR 鎖は免疫グロブリンスーパーファミリー分子に属し、2つの Ig ドメインからなる細胞外領域、20 アミノ酸からなる膜貫通領域、数個のアミノ酸からなる細胞内領域で構成される。2つの Ig ドメインのうち、N 末端側が可変領域、C 末端側が定常領域に相当する。 α 鎖が 45-60 kDa、 β 鎖が 40-50 kDa で α 鎖と β 鎖は S-S 結合でヘテロ 2 量体を形成し、2つの Ig ドメインをもって MHC・ペプチド複合体との接合面を構成している。細胞外領域に存在する CDR1、CDR2 領域は MHC との結合に貢献し、CDR3 領域は主としてペプチドを認識するのに必要とされる。

TCR の発現とシグナル伝達には TCR と複合体を形成する 4 種類の CD3 鎖が重要である。抗原認識の際に TCR-CD3 複合体と CD4 又は CD8 が会合することにより Lck や Fyn 分子が複合体に近づき、CD3 の活性化モチーフ ITAM のチロシンをリン酸化することにより TCR のシグナルが伝達され、T 細胞や NKT 細胞の抗原特異的な生理活性が発現される。

2) P_{PGK}

ホスホグリセリン酸キナーゼ (PGK) は解糖系の酵素であり、ほとんどの組織において構成的に発現している。マウス P_{PGK} はヒトを含む広範囲の哺乳類細胞において、細胞が増殖中であるか否かを問わずに機能するプロモーターである。本遺伝子組換え生物により遺伝子導入された細胞において、TCR α 鎖遺伝子の転写を行う。

3) 3'-LTR の U3 領域

LTR 中の MoMLV 由来の他の部分とともにプロウイルスの 5'-LTR 及び 3'-LTR を形成し、これらは細胞染色体への組込みに必須である。また、MoMLV 由来の相同配列と同様に、強いプロモーター活性とエンハンサー活性を有する。MSCV LTR は MoMLV LTR に比べて、胚性幹細胞、胎児がん細胞及びその他の哺乳動物細胞において高い発現レベルを持続的に保持することが可能である。本遺伝子組換え生物により遺伝子導入された細胞において、TCR β 鎖遺伝子の転写を行う。

4) 制限酵素認識部位等の人工配列

本遺伝子組換え生物の生物学的機能には影響を及ぼさないと考えられる。

5) MS-bPa DNA 中の有害配列の有無

MS-bPa DNA の全塩基配列中の有害配列（がん遺伝子、有害物質、トキシン）の有無について相同性の検索を行ったところ、有害配列は見当たらなかった。

文献17 : Miyahara Y, et al. Determination of cellularly processed HLA-A2402-restricted novel CTL epitopes derived from two cancer germ line genes, MAGE-A4 and SAGE. Clin Cancer Res 11(15):5581-5589 (2005).

2 ベクターに関する情報

(空欄)

3 遺伝子組換え生物等の調製方法

(1) 宿主内に移入された核酸全体の構成

本遺伝子組換え生物のゲノムの構成と制限酵素地図を別紙 1 に示す。本遺伝子組換え生物のゲノムは 1 本鎖 RNA であるが、別紙 1 の制限酵素認識部位は DNA 配列に変換したときのものである。本遺伝子組換え生物のゲノムの構成成分は、5' 末端側から順に、5'-LTR、 Ψ 、TCR β 鎖遺伝子、 P_{PCR} 、TCR α 鎖遺伝子及び 3'-LTR である（詳細は II-1-(1)「構成及び構成要素の由来」及び II-1-(2)「構成要素の機能」を参照）。

(2) 宿主内に移入された核酸の移入方法

本遺伝子組換え生物は、MS-bPa 産生細胞から産生される。この産生細胞は、本遺伝子組換え生物のプロウイルス配列をパッケージング細胞の染色体に挿入することにより作製された。本遺伝子組換え生物のプロウイルス DNA（但し、5'-LTR は MoMLV 由来、3'-LTR は MSCV 由来；MS-bPa DNA と呼ぶ）を挿入したプラスミドである pMS-bPa は、標準的な遺伝子工学的手法を用いて構築された。以下にその概要を、別紙 3 に詳細及びフローチャートを示す。

MT ベクターは MoMLV プロウイルスの 5'-LTR 及び 3'-LTR を含み、ウイルス蛋白質をコードする配列を全く含まないレトロウイルスベクターである（文献 15, 16）。pMT は MT ベク

ターのプロウイルス配列を含むプラスミドであり、pMTの3'-LTRをMSCVプロウイルスの3'-LTRで置換したものがpMSである。pMSの3'-LTRの上流に、TCR β 鎖cDNAのコード域、マウスP_{pgk}及びTCR α 鎖cDNAのコード域を組み込んだものがpMS-bPaである。

(3) 遺伝子組換え生物等の育成の経過

1) パッケージング細胞株

pMS-bPaは、ウイルス粒子形成に必要なgag-pol遺伝子及びenv遺伝子を欠いているため、このDNAを通常の細胞に導入してもウイルス粒子を産生することはない。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。本遺伝子組換え生物の産生に使用するパッケージング細胞株は、PG13(ATCC CRL-10686)(文献18)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-pol遺伝子、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、この第3世代のパッケージング細胞を使用した場合にはRCR出現のリスクが極めて少ないことが知られている。

2) ウイルス産生細胞株の作製

gag-pol遺伝子発現プラスミドであるpGP、エコトロピックenv遺伝子発現プラスミドであるpE-eco及びMS-bPa DNAベクターを293T細胞にコトランスフェクトした。培養上清中には、マウス由来のパッケージング細胞であるPG13に効率よく感染するエコトロピックレトロウイルスベクターMS-bPaが一過性に産生される。この培養上清をPG13細胞に感染させ、限界希釈法により細胞をクローニングした。こうして得られたクローンから産生されるレトロウイルスベクターMS-bPaの力価をリアルタイムRT-PCRにより測定し、高力価なウイルスを産生するクローンMS-bPa #20を得た。これをマスターセルバンク(MCB)用シードセルとして樹立し、これを培養してMCBを作製した。MCBの作製のフローチャートを別紙4に、MCBの品質試験項目と結果を別紙5に示す。

3) 本遺伝子組換え生物の最終製品の製造

本遺伝子組換え生物の製造は、本遺伝子治療臨床研究の研究者が製造管理責任者となり、タカラバイオ株式会社草津センター(滋賀県草津市野路町2257番地)の細胞・遺伝子治療センターの全て管理された製造エリアにてGMP遵守下で行われる。

MCBを解凍後、拡大培養及び生産培養を行うことにより本遺伝子組換え生物を含む培養上清を得る。これを無菌ろ過した後、小分け分注を行い、使用時まで凍結保存する。本遺伝子組換え生物の製造方法のフローチャートを別紙6に示す。こうして製造された本遺伝子組換え生物の最終製品の各ロットについて品質試験を行う(別紙7)。

文献18: Miller AD, et al. Construction and properties of retrovirus packaging cells based on gibbon ape leukemia virus. J Virol 65:2220-2224 (1991).

4 移入した核酸の存在状態及び当該核酸による形質発現の安定性

移入した核酸は本遺伝子組換え生物のゲノム RNA の一部として存在する。凍結保管中は安定である。感染する動植物の種類及び感染様式が保管中に変化することはない。

本遺伝子組換え生物が細胞に感染すると、移入した核酸を含むウイルスゲノム RNA は逆転写され、プロウイルスとして細胞染色体に組み込まれる。プロウイルスは細胞染色体の複製に伴って複製されるので、移入された核酸は細胞が生きているかぎり安定に保持される。

TCR β 鎖遺伝子は MSCV 由来 LTR の U3 領域により、TCR α 鎖遺伝子は P_{PGK} により転写される。これらのプロモーターは持続的に機能するので、両遺伝子の発現は構成的である。

本遺伝子組換え生物を製造する際に、ウイルス産生細胞の細胞内で本遺伝子組換え生物のゲノム、gag-pol 遺伝子断片及び env 遺伝子断片が相同組換えを起こし、RCR が出現する可能性がある。RCR の出現機構から、その大部分は gag-pol 遺伝子及び env 遺伝子を持ち、TCR α 鎖遺伝子及び β 鎖遺伝子を持たないものである。しかし、TCR α 鎖遺伝子又は β 鎖遺伝子を持つ RCR の出現する可能性は否定できない。なお、これらの RCR は遺伝子組換え生物等に該当する。

5 遺伝子組換え生物等の検出及び識別の方法並びにそれらの感度及び信頼性

1) MS-bPa の検出方法

本遺伝子組換え生物は、宿主である MoMLV にはない TCR α 鎖遺伝子及び β 鎖遺伝子を持つので、これらの遺伝子のいずれかを RT-PCR 法で増幅することにより本遺伝子組換え生物の検出が可能である。

2) MS-bPa により遺伝子導入された細胞の検出方法

細胞から調製したゲノム DNA を鋳型に、パッケージングシグナルに相当する配列をリアルタイム PCR で定量することにより検出可能である。

3) RCR の検出方法

・293 細胞増幅法

293 細胞に検体を添加し、5 回の継代培養を行う。この培養上清を PG-4 細胞に接種し、S+L-アッセイを行う。この方法は増殖能を持つレトロウイルスを検出する方法であり、本遺伝子組換え生物に由来する RCR を特異的に検出するものではない。検出感度は 1 RCR/接種物であることを確認している。100 mL あたり 1 RCR が含まれる検体から 300 mL の被検試料をサンプリングして接種した場合、95% の確率で被検試料中に RCR が含まれ、検出される。

・RT-PCR 法

被検試料から RNA を調製し、GaLV env 遺伝子に特異的なプライマーを用いて RT-PCR を行った後、アガロースゲル電気泳動を行って増幅産物を検出する。本試験の感度は、パッケージング細胞の末梢血リンパ球中の希釈率として 10^{-4} ~ 10^{-5} であることを確認してい

る。

6 宿主又は宿主の属する分類学上の種との相違

宿主である MoMLV と本遺伝子組換え生物の間には以下の相違点がある。

・本遺伝子組換え生物は gag-pol 遺伝子及び env 遺伝子を欠損しているため、本遺伝子組換え生物が感染した通常の細胞はウイルス粒子形成に必要な蛋白質を合成できない。したがって、本遺伝子組換え生物は gag-pol 遺伝子及び env 遺伝子を発現する細胞においてのみ増殖できる。

・本遺伝子組換え生物は TCR α 鎖遺伝子及び β 鎖遺伝子を持つ。したがって、本遺伝子組換え生物が感染した細胞は TCR α 鎖及び β 鎖を発現する。

・MoMLV がマウス、ラット等のげっ歯類にだけ感染しうるのに対して、GaLV はラット、ハムスター、ウサギ、ミンク、ウシ、ネコ、イヌ、サル、ヒト及びニワトリの細胞に感染するとの報告がある（文献19）。本遺伝子組換え生物はウイルス粒子表面に GaLV env 蛋白質を持つ。したがって、本遺伝子組換え生物はヒト、サル、イヌ等、幅広い動物種の細胞に本遺伝子組換え生物の核酸を伝達しうる。

本遺伝子組換え生物が自立的増殖能を欠損している点を除いて、I-3「生理・生態学的特性」に記載した性質は同等である。

本遺伝子組換え生物由来の RCR が感染可能な生物種は宿主である MoMLV のそれと異なっているものの、感染様式、病原性及び挿入変異の可能性などの、生物多様性に影響を及ぼす程度に大きな違いはないと考えられる。

文献19 : Miller AD. Cell-surface receptors for retroviruses and implications for gene transfer. Proc Natl Acad Sci USA 93:11407-11413 (1996).

III 遺伝子組換え生物等の使用等に関する情報

1 使用等の内容

1. 治療施設におけるヒト遺伝子治療を目的とした使用、保管、運搬及び廃棄 2. 共同実施施設への運搬 3. 1及び2に付随する行為

2 使用等の方法

治療施設の所在地 三重県津市江戸橋二丁目174番地

治療施設の名称 三重大学医学部附属病院

(1) MS-bPa 溶液は、容器に密閉され、凍結状態で治療施設に輸送し、施設内の P2 レベルの実験室（以下「P2 実験室」という。）内の冷凍庫に保管する。

- (2) 凍結状態の MS-bPa 溶液の融解、希釈及び分注操作は、P2 実験室内の安全キャビネット内又は P2 実験室内で閉鎖系にて行う。患者リンパ球への MS-bPa 導入操作、MS-bPa 導入細胞の培養その他の MS-bPa 希釈溶液及び MS-bPa 導入細胞の取扱いも同様に P2 実験室内の安全キャビネット内又は P2 実験室内で閉鎖系にて行う。MS-bPa 希釈溶液及び MS-bPa 導入細胞の保管は、P2 実験室内の冷蔵庫、冷凍庫又は培養器にて行う。なお、MS-bPa 希釈溶液若しくはその凍結品又は MS-bPa 導入細胞を、開放系区域を通過して他の P2 レベル区域に運搬する場合には、密閉した容器に入れ、容器の落下や破損を防止するために当該容器を箱等に入れ運搬する。
- (3) MS-bPa 導入細胞を、開放系区域を通過して他の共同実施施設に運搬する場合には、密閉した容器に入れ、容器の落下や破損を防止するために当該容器を箱等に入れ、凍結状態で輸送する。
- (4) MS-bPa 溶液（希釈溶液を含む。）又は MS-bPa 導入細胞を廃棄する際には、ウイルス不活化（高圧蒸気滅菌処理、0.5%以上の次亜塩素酸ナトリウム溶液への浸漬処理又は消毒用アルコール処理による。以下同じ。）を行った後、三重大学医学部附属病院で定められた医療廃棄物管理規程（以下「医療廃棄物管理規程」という。）に従い廃棄する。
- (5) 被験者に対する MS-bPa 導入細胞の投与は、環境中への拡散防止措置を適切に執った陽圧でない個室（以下「個室」という。）内において輸注により行う。なお、投与時に MS-bPa 導入細胞に直接接触する注射針、注射器、チューブ等の器具等は使い捨てとし、適切にウイルス不活化を実施した後、医療廃棄物管理規程に従い廃棄する。なお、これらのウイルス不活化を個室外の区域で行う場合には、二重に密閉した容器に入れて運搬する。
- (6) 投与後 3 日まで、被験者を個室で管理する。検査等の理由で被験者が一時的に個室外の開放区域に出る場合には、マスク及びガウン着用等のウイルス漏出予防措置を義務付ける。
- (7) 個室における管理期間中の被験者の血液及び体液は、その都度適切にウイルス不活化を行い、医療廃棄物管理規程に従い廃棄する。また、被験者の尿及び糞便等の排泄物は、投与翌日以降に行われる被験者の血液を用いたポリメラーゼ連鎖反応法試験にて自己増殖能を獲得したレトロウイルス（以下「RCR」という。）の存在が否定されるまで、適切にウイルス不活化を行い、医療廃棄物管理規程に従い廃棄する。なお、これらのウイルス不活化を個室外の区域で行う場合には、二重に密閉した容器に入れて運搬する。また、臨床検体として使用する被験者の排泄物等の取扱いは、MS-bPa 溶液及び MS-bPa 導入細胞の取扱いに準ずる。
- (8) 個室における管理期間中、被験者に対して侵襲的に使用した器具等及び被験者の排泄物等に接触した器具等は、適切にウイルス不活化を実施した後、医療廃棄物管理規程に従い廃棄又は十分に洗浄する。なお、これらのウイルス不活化又は洗

浄を個室外の区域で行う場合には、二重に密閉した容器に入れて運搬する。

(9) 個室内における被験者の管理を解除する前に、RCR が被験者の末梢血単核球（以下「PBMC」という。）及び血漿において陰性であることを確認する。RCR が検出されたときは、個室内における管理を継続する。

(10) 個室内における管理解除後に被験者の PBMC 又は血漿から RCR が検出された場合は、直ちに被験者を個室内における管理下に移し、上記（6）から（9）までと同様の措置を執る。

別紙 8：治療施設の地図及び見取り図

別紙 9：三重大学医学部附属病院医療廃棄物管理規程

3 承認を受けようとする者による第一種使用等の開始後における情報収集の方法

遺伝子導入細胞を患者に投与した後、患者の PBMC 及び血漿を試料として、GaLV env 遺伝子に対する RT-PCR 法により RCR のモニタリングを実施する。RCR のモニタリングは、個室における管理解除前、投与 35±3 日後及び 63±3 日後並びに生存中にわたり実施する。

4 生物多様性影響が生じるおそれのある場合における生物多様性影響を防止するための措置

本遺伝子組換え生物を用いた遺伝子導入細胞は、P2 レベルの実験室において、第一種使用規程に従い調製される。本遺伝子組換え生物が細胞調製室の床等に漏出した場合には、ただちにペーパータオル、布等で拭き取る。拭き取った後は、消毒用エタノールを当該箇所が完全に覆われるまで噴霧して 1 分以上放置し、ペーパータオル、布等で拭き取ることにより本遺伝子組換え生物を不活化する。当該ペーパータオル、布等は 121℃、20 分間以上オートクレーブにより滅菌した後、廃棄する。以上により、本遺伝子組換え生物が環境中に漏出して生物多様性影響が生じることはないと考えられる。

個室における管理解除後の患者の PBMC 又は血漿において RCR が検出された場合には、第一種使用規程に従い患者を直ちに個室における管理下に移すとともに、血液及び体液の消毒等、第一種使用規程に定められた措置を執る。

5 実験室等での使用又は第一種使用等が予定されている環境と類似の環境での使用等の結果

(1) 本遺伝子組換え生物の産生細胞及び最終製品の RCR 試験

本遺伝子組換え生物産生細胞の MCB、本遺伝子組換え生物最終製品及び end of production cell (EPC) について品質試験を実施した。その結果、いずれも RCR 陰性であった（別紙 5、別紙 7）。

(2) 遺伝子導入リンパ球の RCR 試験

本遺伝子組換え生物を用いて健康人由来 PBMC に遺伝子導入を行い、7 日間培養後の遺

伝子導入細胞について品質試験を実施した。その結果、RCR 陰性であった (別紙 10)。

(3) 遺伝子導入リンパ球の毒性

本遺伝子組換え生物及び健康人由来 PBMC を用いて調製した遺伝子導入リンパ球 (GMC) 又は遺伝子導入を行わずに GMC と同様に培養したリンパ球 (NGMC) を免疫不全マウスである NOD/SCID/ γc^{null} (NOG) マウスに静脈内投与した。GMC 群と NGMC 群の間で、投与後 7 日目及び 14 日目における生存率、体重及び一般症状、剖検時の臓器重量並びに肝臓、腎臓、脾臓及び肺の病理組織学的所見に差は認められなかった (別紙 11)。

(4) 本遺伝子組換え生物がヒトに投与され、感染する可能性

遺伝子治療用の遺伝子導入細胞を調製する際には、本遺伝子組換え生物を固相化したバッグ内で PBMC に遺伝子導入を行い、培養後に細胞を濃縮・洗浄する。このため、細胞調製に使用される本遺伝子組換え生物のほとんどは患者に投与される細胞懸濁液から除去されるが、最大 0.7 個程度の本遺伝子組換え生物が患者に投与されると推定できる。しかし、マウス由来の産生細胞により製造された本遺伝子組換え生物は、ヒト血清 (補体) により速やかに不活化され、患者体内で遺伝子導入が起きる可能性は低いと考えられる。

6 国外における使用等により得られた情報

米国国立衛生研究所の Rosenberg らのグループは、レトロウイルスベクターを用いて腫瘍抗原 MART-1 特異的 TCR 遺伝子を患者自己リンパ球に導入し、悪性黒色腫患者に輸注する臨床試験を実施した (文献20)。この試験では、17 名の患者に対して遺伝子導入細胞が輸注され、いずれの患者にも遺伝子導入細胞輸注による毒性はみられなかった。しかし、その後行われた MART-1 抗原に対する反応性がより強い TCR 遺伝子を使用した臨床試験では、正常色素細胞への傷害性が報告された (文献21)。なお、この正常色素細胞への傷害性は、MART-1 特異的 TCR 遺伝子の発現産物が患者生体内の MART-1 抗原を発現する正常色素細胞と反応することに起因しており、本遺伝子組換え生物の発現産物である MAGE-A4 特異的 TCR の場合には、MAGE-A4 抗原を発現する正常組織である精巣において HLA は発現していないので、本遺伝子組換え生物により遺伝子導入された細胞がヒト正常細胞を傷害する可能性は非常に低いと考えられる。

国外において、ヒトに対する本遺伝子組換え生物の使用経験はない。

文献20 : Morgan RA, et al. Cancer regression in patients after transfer of genetically engineered lymphocytes. *Science* 314:126-129 (2006).

文献21 : Johnson LA, 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).

IV 生物多様性影響評価

1 他の微生物を減少させる性質

(1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定

本遺伝子組換え生物及び RCR は GaLV env 蛋白質を持つので、広範囲の動物に感染しうるが、微生物への感染性は知られていない。したがって、影響を受ける可能性のある微生物は特定されなかった。

(2) 影響の具体的内容の評価

該当せず。

(3) 影響の生じやすさの評価

該当せず。

(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断

よって、他の微生物を減少させる性質について、第一種使用規程承認申請書に記載した遺伝子組換え生物等の第一種使用等の方法によるかぎり、生物多様性影響が生ずるおそれはないと判断される。

2 病原性

(1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定

本遺伝子組換え生物及び RCR は GaLV env 蛋白質を持つので、患者体外に排出された場合には野生型 GaLV と同様、ラット、ハムスター、ウサギ、ミンク、ウシ、ネコ、イヌ、サル、ヒト及びニワトリを含む広範囲の動物に感染しうる。したがって、これらの生物種は本遺伝子組換え生物の核酸を伝達されることにより影響を受ける可能性がある。

(2) 影響の具体的内容の評価

本遺伝子組換え生物はヒト、イヌ、サル等の細胞への挿入変異によってがん化を引き起こす可能性がある。マウス、ラットに対する病原性は宿主と同等であると考えられる。

本遺伝子組換え生物からの発現産物である TCR α 鎖及び β 鎖が T リンパ球において発現した場合、この T リンパ球は HLA-A2402 拘束性に MAGE-A4 発現細胞特異的な細胞傷害活性を獲得する。この T リンパ球の影響を受ける可能性のある生物は HLA-A2402 陽性のヒトに限られ、MAGE-A4 を発現する正常組織である精巣において HLA は発現していないので、導入遺伝子が発現することにより、本遺伝子組換え生物がヒトに病原性を示す可能性は非常に低いと考えられる。

本遺伝子組換え生物が有害物質を産生することはなく、本遺伝子組換え生物により遺伝

子導入された細胞が有害物質の産生能を獲得するとの情報もない。したがって、有害物質の産生により病原性を示すことはないと考えられる。

(3) 影響の生じやすさの評価

第一種使用規程承認申請書に記載した遺伝子組換え生物等の第一種使用等の方法によるかぎり、本遺伝子組換え生物が患者Tリンパ球とともに患者に投与されることによって当該施設外に出る可能性は極めて低く、出たとしてもごく微量である。また、I-3-(7)「その他の情報」に記載したように、マウス由来の産生細胞により産生された本遺伝子組換え生物はヒト血清により速やかに不活化される（文献12）。さらに、本遺伝子組換え生物は増殖能を欠損しているため、通常の細胞に感染してもウイルス粒子を産生することはない。

一方、本遺伝子組換え生物の製造工程中に出現したRCRが患者Tリンパ球に混入して患者に輸注された場合には患者体内でRCRが産生される可能性がある。しかし、本遺伝子組換え生物はRCR出現の可能性が極めて低い第3世代のパッケージング細胞を使用して製造されているうえに、本遺伝子組換え生物の最終製品及び遺伝子導入細胞のRCR陰性を確認してから使用するので、患者体内にRCRが侵入する可能性は極めて低い。また、RCR試験で検出されなかったRCRが万一患者体内に侵入したとしても、第一種使用規程承認申請書に記載した遺伝子組換え生物等の第一種使用等の方法によるかぎり、RCRが環境中に放出される可能性は極めて低い。

(4) 生物多様性影響が生ずる可能性の有無等の判断

よって、病原性について、第一種使用規程承認申請書に記載した遺伝子組換え生物等の第一種使用等の方法によるかぎり、生物多様性影響が生ずるおそれはないと判断される。

3 有害物質の産生性

(1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定

本遺伝子組換え生物及びRCRの有害物質の産生性は知られていない。したがって、影響を受ける可能性のある野生動植物等は特定されなかった。

(2) 影響の具体的内容の評価

該当せず。

(3) 影響の生じやすさの評価

該当せず。

(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断

よって、有害物質の産生性について、第一種使用規程承認申請書に記載した遺伝子組換え生物等の第一種使用等の方法によるかぎり、生物多様性影響が生ずるおそれはないと判断される。

4 核酸を水平伝達する性質

(1) 影響を受ける可能性のある野生動植物の特定

本遺伝子組換え生物及び RCR は GaLV env 蛋白質を持つので、患者体外に排出された場合には野生型 GaLV と同様、ラット、ハムスター、ウサギ、ミンク、ウシ、ネコ、イヌ、サル、ヒト及びニワトリを含む広範囲の動物に感染しうる。したがって、これらの生物種は本遺伝子組換え生物の核酸を伝達されることにより影響を受ける可能性がある。

(2) 影響の具体的内容の評価

本遺伝子組換え生物又は RCR によってこれらの遺伝子組換え生物の核酸が野生動物のゲノム中に組み込まれる可能性がある。

(3) 影響の生じやすさの評価

第一種使用規程承認申請書に記載した遺伝子組換え生物等の第一種使用等の方法によるかぎり、本遺伝子組換え生物が患者 T リンパ球とともに患者に投与されることによって当該施設外に出たとしてもごく微量である。ごく微量の本遺伝子組換え生物によって野生動物に核酸が伝達される可能性は非常に低い。

遺伝子組換え生物等に該当する RCR が多量に出現した場合には、血液、体液等を通じて他の個体に RCR が感染し、その核酸が伝達される可能性が否定できないが、RCR 出現の可能性は極めて低い。

(4) 生物多様性影響が生ずる可能性の有無

よって、核酸を水平伝達する性質について、第一種使用規程承認申請書に記載した遺伝子組換え生物等の第一種使用等の方法によるかぎり、生物多様性影響が生ずるおそれはないと判断される。

5 その他の性質

核酸を垂直伝達する性質

本遺伝子組換え生物が感染可能な野生動物等の生殖系細胞のゲノム中に組み込まれて、核酸を垂直伝達する可能性は完全には否定できない。しかし、第一種使用規程承認申請書に記載した遺伝子組換え生物等の第一種使用等の方法によるかぎり、本遺伝子組換え生物によりその核酸が野生動物に伝達される可能性は非常に低い。RCR が出現しないかぎり、本遺伝子組換え生物の核酸が伝達される細胞は本遺伝子組換え生物が最初に感染した細

胞に限られ、その細胞が生殖系細胞である確率は低いと考えられる。また、RCR が出現する可能性は極めて低い。以上から、本遺伝子組換え生物又は RCR の核酸が生殖系細胞に伝達される可能性は極めて低い。よって、核酸を垂直伝達する性質について、第一種使用規程承認申請書に記載した遺伝子組換え生物等の第一種使用等の方法によるかぎり、生物多様性影響が生ずるおそれはないと判断される。

V 総合的評価

本遺伝子組換え生物が感染する動物種は GalV env 蛋白質によって規定されるため、げっ歯類及びヒトを含む広範囲の動物であり、野生型 GalV と同じである。自然界で植物及び微生物に感染することはないと考えられる。

第一種使用規程承認申請書に記載した遺伝子組換え生物等の第一種使用等の方法によるかぎり、本遺伝子組換え生物の環境中への拡散は極力抑えられており、拡散したとしても、その量は検出レベル以下であると推定される。導入された TCR α 鎖遺伝子及び β 鎖遺伝子が発現することにより、本遺伝子組換え生物がヒトに病原性を示す可能性は非常に低い。さらに、本遺伝子組換え生物は増殖能を欠損しているため、MLV の感染等により gag、pol 及び env 遺伝子を発現している細胞に感染した場合を除いて増殖することはない。MLV に感染しているマウスに本遺伝子組換え生物が感染すれば、MLV がヘルパーとなって増殖する可能性がある。しかしその場合でも、MoMLV は血液を介してのみ感染するので、本遺伝子組換え生物の感染が他個体に広がる可能性はほとんどない。ヘルパーを必要とする本遺伝子組換え生物が野生型 MoMLV と同等に増殖することはないので、やがて環境中から消滅すると考えられる。

環境中でマウスに感染し、MLV ゲノムとの相同組換えによって RCR が出現する可能性や、当該第一種使用によって極めて微量の本遺伝子組換え生物由来 RCR が環境中に放出される可能性は完全には否定できないが、RCR の感染性、増殖性、病原性及び核酸を水平伝達する性質は MLV と同等である。ヒトに MLV が感染しても病原性は報告されておらず、RCR がヒト体内に侵入しても、血清中の補体により急速に失活することを考慮すると、ヒト及び他の哺乳動物、植物並びに微生物に新たな影響を与えることはないと考えられる。

したがって、第一種使用規程承認申請書に記載した遺伝子組換え生物等の第一種使用等の方法によるかぎり、本遺伝子組換え生物による生物多様性影響が生ずるおそれはないと判断される。