

遺伝子治療臨床研究等研究変更概要書

| | |
|-------|-------------|
| 申請年月日 | 2018年 8月 6日 |
|-------|-------------|

1. 基本情報

| | |
|-----------|---|
| 研究の名称 | AADC欠損症に対する遺伝子治療の臨床研究 |
| 研究実施期間 | 本臨床研究が承認されてから2020年3月31日まで |
| 多施設共同臨床研究 | <input checked="" 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 | 栃木県下野市薬師寺3311-1 (郵便番号 329-0498) | |
| | 所属機関・部局・職 | 自治医科大学医学部・小児科学・教授 | |
| | 氏名 | 山形 崇倫 |  |
| 研究機関 | 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) | |
| 研究責任者以外の研究者 | 氏名 | 所属機関・部局・職 | 役割 |
| | 村松慎一 | 自治医科大学・神経内科学部門・教授 | 副責任者。適応患者の選択・評価およびウイルスベクターの管理、PET解析 |
| | 小澤敬也 | 自治医科大学・免疫遺伝子細胞治療学・客員教授 | ウイルスベクターに関する全般管理 |
| | 小坂 仁 | 自治医科大学・小児科学・教授 | 副責任者。患者の管理・評価 |
| | 川合謙介 | 自治医科大学・脳神経外科学・教授 | 脳内へのベクター注入の管理・助言 |
| | 中嶋 剛 | 自治医科大学・脳神経外科学・講師 | 遺伝子導入のための定位脳手術実施 |
| | 五味 玲 | 自治医科大学・脳神経外科・教授 | 遺伝子導入の定位脳手術術後管理 |
| | 水上浩明 | 自治医科大学・遺伝子治療研究部・教授 | ウイルスベクターの管理・検出 |
| | 竹内 護 | 自治医科大学・麻酔科学・集中治療医学・教授 | 麻酔・術後管理 |
| | 多賀直行 | 自治医科大学とちぎ子ども医療センター 小児手術・集中治療部・准教授 | 麻酔・術後管理 |
| | 門田行史 | 自治医科大学・小児科学・准教授 | 患者の管理・評価 |
| 村松一洋 | 自治医科大学・小児科学・准教授 | 患者の管理・評価 | |
| 小島華林 | 自治医科大学・小児科学・講師 | 患者の管理・評価 | |

| | | |
|-------|--|---------------------------|
| 松本 歩 | 自治医科大学・ <u>人類遺伝学</u> ・講師 | 患者の管理・評価 |
| 宮内彰彦 | 自治医科大学・小児科学・大学院生 | 患者の管理・評価 |
| 中村幸恵 | 自治医科大学・小児科学・助教 | ウイルスベクターの管理・検出 試験実施の支援 |
| 栗島真理 | 自治医科大学・小児科学・助教 | 患者の管理・評価 |
| 後藤昌英 | 自治医科大学・小児科学・助教 | 患者の管理・評価 |
| 池田尚広 | 自治医科大学・小児科学・助教 | 患者の管理・評価 |
| 黒川愛恵 | 自治医科大学・小児科学・大学院生 | 患者の管理・評価 |
| 嵯峨 泰 | 自治医科大学・遺伝子治療研究部・准教授 | 試験実施の支援 |
| 山崎晶司 | 自治医科大学・ <u>臨床研究センター</u> ・副センター長 | 患者ケア、試験実施の支援 |
| 高津戸文江 | 自治医科大学附属病院 <u>臨床研究センター</u> 臨床研究コーディネーター | 患者ケア、試験実施の支援 |
| 前田由利子 | 自治医科大学附属病院 <u>臨床研究センター</u> 臨床研究コーディネーター | 患者ケア、試験実施の支援 |
| 加藤光広 | 昭和大学医学部・小児科学・講師 | 対象患者の治療前および安定後の 診療 |
| 中村和幸 | 山形大学医学部・小児科学・特任助教 | 対象患者の治療前および安定後の 診療 |
| 久保田哲夫 | 安城更生病院・小児科・小児神経科部長 | 対象患者の治療前および安定後の 診療 |
| 井手秀平 | 東京都立北療育センター城南分園・園長 | 対象患者の治療前および安定後の 診療 |
| 益山龍雄 | 東京都立東部療育センター・小児科診療 部長 | 対象患者の治療前および安定後の 診療 |
| 一瀬宏 | 東京工業大学生命理工学研究科・教授 | ベクター品質評価・患者検体解析 |
| 佐藤俊彦 | 宇都宮セントラルクリニック・院長 | PET実施 |
| 峰野純一 | タカラバイオ株式会社 バイオ産業支援 事業部門・本部長 | ベクターに関する技術支援 |

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 | (郵便番号) |
| | 所属機関・部局・職 | |
| 研究機関 | 氏 名 | |
| | 所 在 地 | (郵便番号) |
| | 名 称 | |
| | 連 絡 先 | (電話番号) |

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 | 所属部局の所在地 | (郵便番号) |
|---|----------|--------|

| | | |
|-------|-----------|---------|
| 研究者① | 所属機関・部局・職 | |
| | 氏名 | |
| 研究機関① | 所在地 | (郵便番号) |
| | 名称 | |
| | 連絡先 | (電話番号) |

| | | |
|-------|-----------|---------|
| 研究者② | 所属部局の所在地 | (郵便番号) |
| | 所属機関・部局・職 | |
| 研究機関② | 氏名 | |
| | 所在地 | (郵便番号) |
| | 名称 | |
| 研究機関② | 連絡先 | (電話番号) |

| | | |
|-------|-----------|---------|
| 研究者③ | 所属部局の所在地 | (郵便番号) |
| | 所属機関・部局・職 | |
| 研究機関③ | 氏名 | |
| | 所在地 | (郵便番号) |
| | 名称 | |
| 研究機関③ | 連絡先 | (電話番号) |

5. 倫理審査委員会の見解

| | | |
|--------------------------------|---|----|
| 倫理審査委員会の開催状況及び研究計画の変更を適当と認める理由 | <p>平成30年6月21日に自治医科大学附属病院遺伝子治療等臨床研究倫理審査委員会が開催され、本研究の臨床研究計画の変更について、概要、計画の変更に至る経緯および変更点についての説明がなされた。</p> <p>審議において、新たに作成された「AADC欠損症遺伝子治療に伴う全身麻酔留意点の確認事項」のチェックリストについては、のちに検証可能な過不足のない記載内容の追加、および使い易さを考慮した書式等の変更が望ましいとの意見があったため、患者名、実施日、確認者等の記載項目を追加する、また確認事項の時系列が分かりやすいように体裁を整えることで修正することとし、その他の変更については今回の変更案のとおり委員全員の了承を得た。以上の審議経過をもって本研究の計画変更について承認された。</p> | |
| | 倫理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等臨床研 | |

| | | |
|--|-------------------------------------|-----------|
| | 究倫理審査委員会 委員長 自治医科大学医学部機能生化学部門 教授 | 遠藤 仁司 (印) |
|--|-------------------------------------|-----------|

6. 遺伝子治療臨床研究計画変更の概要

| 研究の区分 | 治療に係る臨床研究 |
|--------------|---|
| 研究の目的及び意義 | <p>本臨床研究は、ヒト芳香族Lアミノ酸脱炭酸酵素(AADC)欠損症患者の線条体(被殻)に、ヒト芳香族Lアミノ酸脱炭酸酵素 (aromatic L-amino acid decarboxylase: AADC) 遺伝子を組み込んだ2型アデノ随伴ウイルス (adeno-associated virus: AAV) ベクターを定位脳手術的に注入し、その安全性を検証するとともに、運動症状を改善することを目的とする。</p> |
| 対象疾患及びその選定理由 | <p>(1) AADC 欠損症の現状と遺伝子治療臨床研究を選定する理由</p> <p>① AADC 欠損症に関する現時点での知見</p> <p>AADC 欠損症 (OMIM608643)は、カテコールアミンとセロトニンを合成する酵素である</p> <p>AADC をコードする遺伝子の変異により発症する常染色体劣性遺伝性疾患である。</p> <p>現在、世界中で報告例は 100 症例未満である。日本では、本遺伝子治療臨床研究の申請時 (2014 年 7 月) には 4 例診断されていたが、新たに 2 例診断された。脳性麻痺との鑑別が困難な場合もあり、正しく診断を受けていない症例も多いと考えられ、さらに症例は増えると考えられる。</p> <p>AADC は、チロシンからチロシン水酸化酵素により生成された L-dopa をドパミンに、また、トリプトファンからトリプトファン水酸化酵素により生成された 5-OH-tryptophan をセロトニンに代謝する酵素で、ドパミンからは、ノルエピネフリン、エピネフリンが合成されるため、これらのカテコールアミン全体が低下する。また、セロトニンからメラトニンが合成されるために、メラトニンも低下する。</p> <p>AADC 欠損症は、カテコラミンとセロトニンの合成が障害されることにより、乳幼児期に重度の運動障害で発症する。筋緊張低下、眼球上転発作を主症状とし、知的障害、発達の遅れ、運動異常、体温異常、摂食困難などを伴う。また、メラトニン低下による睡眠障害も来す。</p> <p>発症年齢は、典型例では生後 1 か月以内に、過半数が 6 か月以下で発症する。新生児期には、筋緊張低下、哺乳困難、易刺激性、眼瞼下垂、低血圧、低血糖などを呈し、その後、運動障害を主体とした症状が出現してくる。主症状は、眼球上転発作あるいは注視痙攣、四肢ジストニア、全身性アテトーゼ、随意運動の障害、ジストニア発作、重度精神運動発達遅滞などである。てんかんの合併例も報告されている。また、自律神経機能障害による、心拍・血圧の調整障害、発作性発汗、唾液分泌増加や、情緒不安定、睡眠障害もみられる。生下時から動きが少なく、頸定が得られず、生涯臥床状態である患者がほとんどである。重症例では、症状の進行とともに嚥下困難や呼吸障害が出現し、多くの例が小児期に死亡する。台湾での死亡例 10 例の平均死亡年齢は 4.6 ± 2.0 歳 (1.0-7.0 歳) と報告されている。画像所見として、頭部 MRI 上、24%で大脳萎縮、白質変性様の所見、脳梁ひ薄化等の異常が報告されているが、大半の例では有意な所見を示していない。PET (2-deoxy-2-[^{18}F] fluoro-D-glucose 使用)で、前頭前野皮質と両側基底核の糖代謝の低下が示されている。また、PET で判る活性評価として、AADC の基質である fluorodopa (FDOPA) をラベルした 6-[^{18}F]fluorodopa (FDOPA)—PET で FDOPA の基底核への取り込みが低下している。</p> <p>線条体の機能不全はAADC欠損症の主な運動症状であるジストニアと随意運動の障害の原因となり、前頭前野の機能不全が精神遅滞症状をひきおこす原因の一つとなっていると考えられる。</p> <p>診断は、上記の臨床症状などから疑われた例に対し、髄液中のカテコールアミン代謝産物を測定する。L-dopa 高値、homovanillic acid 低値の特徴的所見が得られた場合、AADC 欠損症と診断する。確定診断は、血漿中あるいはリンパ球</p> |

| | |
|---------|---|
| | <p>等での AADC 活性の低下、あるいは AADC 遺伝子変異同定が必要である。</p> <p>② 当該遺伝子治療臨床研究の概要</p> <p>AADC 遺伝子を搭載した AAV ベクター (AAV-hAADC-2) を AADC 欠損症患者の線条体 (被殻) に定位脳手術的に注入する。AADC はそれぞれドパミンおよびセロトニンの前駆体である L-dopa および 5-HTP を特異的基質とする酵素であり、AAADC を注入することにより、ドパミンやセロトニンの欠乏状態が改善される。本臨床研究では、黒質-線条体路の投射先である被殻の背外側部に選択的に AAV-hAADC-2 を注入するので、主に黒質-線条体路のドパミン活性が上昇することにより、運動機能を中心に症状の改善が期待される。</p> <p>③ 他の治療法との比較および遺伝子治療を選択した理由</p> <p>AADC 欠損症の軽症例に対しては、薬物療法により運動機能が改善した報告がある。また、基質結合部位に変異を持つ例で L-dopa 内服によりジストニア、筋緊張低下と発語が改善し、歩行が可能になった例が報告されている。しかし、典型例では、ジストニアや筋緊張低下がやや改善した例はあるが、運動発達が得られた例はなく、全く反応がない例がほとんどであり現状では、AADC 欠損症に対する有効な治療法はない。</p> <p>AADC 欠損症に対する新しい治療戦略として画像上、構造的な異常が検出されず、機能的な異常が主体でありドパミン、セロトニン系の機能を改善することにより、脳機能の回復する可能性が考えられ、遺伝子治療による機能回復が期待されている。</p> <p>2012年に、台湾から、遺伝子治療成功例が報告された。方法は、ヒト AADC 遺伝子を組み込んだ 2 型 AAV ベクター (AAV-hAADC-2) を AADC 欠損症患者の線条体 (被殻) に、定位脳手術的に注入した。治療効果として、臥床状態から立位可能になった患者もあるなど、運動機能に関して著明な改善を得た。副作用は、一過性のジスキネジアとチアノーゼを伴う無呼吸発作の反復があったが、これらの副作用はいずれも軽快した。これらの点から、また、患者家族からの強い希望もあり、遺伝子治療研究実施を計画した。</p> |
| 実 施 方 法 | <p>(1) 人に導入する遺伝子の構造と性質</p> <p>① 人に導入する遺伝子の構造</p> <p>ヒト AADC 遺伝子は第 7 染色体上に位置する 85,000 塩基対以上におよぶ大きな DNA で、メッセージ RNA に対応する 15 のエキソンからなり、各々のエキソンは 20 ないし 400 の塩基対、イントロンは 1,000 ないし 17,700 塩基対の長さである。本臨床研究ではメッセージ RNA から逆転写で合成されたヒト AADC の相補的 DNA を治療遺伝子として用いる。</p> <p>② 人に導入する遺伝子の性質</p> <p>2 型 AAV 由来のベクターに神経細胞で安定に遺伝子を発現するサイトメガロウイルス由来のプロモーター配列を組み込み、その下流に配置した AADC 遺伝子を発現させる。導入遺伝子が AAV ベクターにより染色体に組み込まれる可能性は極めて低く、導入遺伝子は基本的に染色体外に存在すると考えられている。AAV ベクターは、非分裂細胞では染色体へ組み込まれることはほとんどないが、分裂細胞では active site に入る可能性がある。小児では、脳内にも分裂細胞が少数ながらもあり、また、血中に入れば肝臓で分裂細胞に組み込まれる可能性は否定出来ない。しかし、小児でこれらを確認した報告はなく、実際に起こるかどうかが明らかではない。</p> <p>AAV ベクター内では導入遺伝子は一本鎖 DNA であるが、細胞内で二本鎖 DNA に変換され導入遺伝子が発現する。ラットでは、この AAV ベクターによる発現は 1 年以上持続することが示唆され、サルにおいても遺伝子導入の効果が 3 年以上持続することが示されている。さらに米国で実施された Neurturin 遺伝子治療の臨床試験に剖検例では、4 年後にも Neurturin 遺伝子の発現が確認されている。</p> <p>③ 導入遺伝子からの生成物の構造およびその生物活性</p> <p>AADC は 53.9kDa の二量体として存在し、ドパミンやセロトニンなどの神経伝達物質の合成に関わっている。この酵素は、チロシン水酸化酵素により生合成された L-dopa の脱炭酸によりドパミンを合成する。本臨床研究では、経口投与</p> |

する L-dopa の投与量を調節することにより、AADC によるドパミンの合成量を制御することが可能である。また、AADC はトリプトファン水酸化酵素により合成された 5-HTP の脱炭酸によりセロトニンを合成するが、AADC により内因性の 5-HTP から生成されるセロトニンの量は生理的範囲内である。

(2) 本計画で使用するその他の組換え DNA の構造と性質

本計画では他の組換え DNA は使用しない。

(3) 標的細胞とした細胞の由来および生物学的特徴ならびに当該細胞を標的細胞とした理由

AADC 欠損症では、ドパミン、セロトニンを合成する AADC 自体が欠損しているために、脳内のドパミン、セロトニンが減少している。特に、ドパミンの作用として最も主要である黒質-線条体路が運動機能の調節に重要である。よって、黒質-線条体路の投射先である被殻の神経細胞を標的として遺伝子導入を行うことが、治療効果を得るために効果的であると期待される。本計画では安全性を考慮し、被殻に存在する自己の神経細胞を標的として遺伝子導入を行い、ドパミンを産生させる。

(4) 遺伝子導入方法の概略および当該導入法を選択した理由

神経細胞に遺伝子導入する場合には、①非分裂細胞である神経細胞に目的遺伝子を効率よく導入できること、②導入遺伝子が長期間にわたり発現すること、③生体に対して安全であること、が求められる。アデノウイルスベクターは細胞障害性が強く、導入遺伝子の発現が一過性である。レンチウイルスベクターは非分裂細胞に遺伝子を導入可能であるが、ヒト免疫不全ウイルス (HIV) を基本骨格としており、前臨床試験において十分に研究されておらず安全性の面で劣る。AAV ベクターは神経細胞に効率よく遺伝子を導入できること、細胞毒性が少なく、静止期細胞で長期間発現が望めること、非病原性のウイルスを基本骨格としていることから上記 3 条件を満たす。霊長類の AAV には 2 型をはじめとして 100 以上の血清型が報告されており、2 型 AAV は比較的特異的に神経細胞で導入遺伝子が発現する。2 型 AAV ベクターは臨床研究に最も広く使用されており、血友病に対して第 IX 凝固遺伝子発現 AAV ベクターの骨格筋および肝臓への注射、パーキンソン病に対してグルタミン酸デカルボキシラーゼ (GAD) 発現 AAV ベクターを視床下核に注入する臨床研究および神経栄養因子である neurturin 発現 AAV ベクターを被殻に注入する臨床研究が既に行われている。以上のことから今回の臨床研究では 2 型 AAV ベクターを利用するのが最適と考えられる。

(5) ウイルスベクターを用いて遺伝子導入を行う場合

① AAV-hAADC-2 の野生型ウイルスの生物学的特徴および人に対する影響

2 型 AAV はパルボウイルス科デベンドウイルス属に分類される直径約 26 nm のエンベロープを持たない球形ウイルスである。VP1 (82 kDa)、VP2 (65 kDa)、VP3 (60 kDa) が 1:1:10 の比率で合計 60 分子が集まって約 3,600 kDa のキャプシドを構成している。ゲノムは 4,679 ヌクレオチドからなる一本鎖 DNA (約 1,500 kDa) であり、プラスとマイナス鎖がほぼ同じ比率で混在する。ゲノム両末端 145 ヌクレオチドは T 字型ヘアピン構造を形成しており inverted terminal repeat (ITR) と呼ばれる。AAV ゲノムには rep と cap 遺伝子がありそれぞれ非構造蛋白質とキャプシド蛋白質をコードしている。AAV はアデノウイルス、ヘルペスウイルスなどのヘルパーウイルスの存在下でのみ増殖でき、単独では増殖できない。単独で細胞に感染した場合、第 19 番染色体の AAVS1 領域 (19q13.42) に特異的にそのゲノムを組み込み、潜伏感染の状態となる。ヘルパーウイルスと同時に感染したり、潜伏感染状態でヘルパーウイルスが感染したときに AAV の増殖が起こる。2 型 AAV は呼吸器を主たる感染経路として人から人へ感染するとされている。大部分は不顕性感染で AAV の感染に伴う特有の疾患は報告されておらず、非病原性と考えられている。米国での調査によると出生直後は AAV に対する抗体は検出できないが、学童期で人口の 50 % 以上で抗体が陽性となる。rep 遺伝子より合成される Rep 蛋白質は過剰発現すると細胞増殖を抑制したり、ヘルパーウイルスを含めた他のウイルスの複製も抑制する。ウイルス粒子は物理化学的に極めて安定で、pH 3 から 9 の間で不活化されず、また 56°C 1 時間の処理でも不活化されない。

② AAV-hAADC-2 の作製方法

AAV-hAADC-2 の作製には、以下の3種類のプラスミドを使用した。

1) pAAV-hAADC-2 : サイトメガロウイルスのプロモーター、 β グロビンイントロン、ヒト AADC cDNA、ヒト成長ホルモン遺伝子ポリ A シグナルからなる AADC 発現カセットを AAV2 の ITR 間に挿入した AAV ベクタープラスミド。

2) pRC-BI-khB342-2 : AAV ゲノムの ITR を除き AAV2 の rep、cap 遺伝子をクローニングした pRC2 の SnaBI サイトに、ヒト Bcl-XL 遺伝子及び hsa-miR342 を発現するカセットを挿入した AAV2 ヘルパープラスミド。なお、ヒト Bcl-XL 遺伝子及び hsa-miR342 を発現するカセットは、バイディレクショナルに2種の遺伝子を発現可能な pBI-CMV1 のマルチクローニングサイト2か所にそれぞれ、ヒト BclXL cDNA 及び hsa-miR342 をクローニング後、発現カセットごと PCR で増幅したものである。

3) pHelper : 2型アデノウイルスの E2A、E4、VARNA 遺伝子をクローニングしたアデノウイルスヘルパープラスミド。

これら3種類のプラスミドをリン酸カルシウム法にて 293T/17 細胞にトランスフェクションする。トランスフェクション3日後、細胞を回収し凍結融解酸抽出による操作によって細胞内の AAV ベクターを遊離させ、ベンゾナーゼ処理、PEG 処理による粗精製後、塩化セシウム密度勾配超遠心によって精製する。最終濃度 0.05%未満の Poloxamer 188 ポリオキシエチレン(160)ポリオキシプロピレン(30)グリコール)を含む pH7.4 の PBS (Phosphate-buffered Saline) にさらに最終濃度 200mM となるように塩化ナトリウムを加えた溶液により、タンジェンシャルフロー・フィルトレーションによりろ過濃縮し、0.22 μ m のフィルターで滅菌処理を行いウイルスベクター液とする。

③ AAV-hAADC-2 の構造

AAV ベクター AAV-hAADC-2 は両末端の ITR は野生型と同じであるがその間にはヒト AADC を発現させるための、サイトメガロウイルスのプロモーター/エンハンサー、ヒト β グロビンイントロン、ヒト AADC 遺伝子、ヒト成長ホルモン遺伝子ポリ A シグナルに置換されており、Rep、Cap をコードする配列は持たない。

④ AAV-hAADC-2 の生物学的特徴

AAVはへパラン硫酸プロテオグリカンを受容体として感染する。この分子は色々な細胞表面に存在すると考えられるためAAVの組織特異性は低い。人以外の動物でも感染が成立すると考えられている。AAVベクターは神経細胞、肝臓、骨格筋、心筋などで効率の良い遺伝子発現が起こる。一本鎖ベクターゲノムは核内でその相補鎖とアニールしたり、宿主のDNA合成酵素の働きで二本鎖となり導入遺伝子を発現できるようになる。また、二本鎖となったベクターDNAは複数が連なり環状DNAを形成したり、コンカタマーを形成し、その一部が染色体に組み込まれると考えられる。AAVベクターにより分裂細胞、静止期の細胞双方に遺伝子導入が可能であるが、発現様式に違いがある。分裂細胞では宿主DNA合成酵素の働きで発現型二本鎖に変換され感染直後より良好な導入遺伝子の発現が認められる。染色体に組み込まれていない導入遺伝子は細胞分裂に伴い希釈され失われてゆき、染色体に組み込まれた導入遺伝子を持つ細胞が最終的に長期発現を維持する。一方静止期細胞では相補鎖同士のアニールリングが二本鎖ゲノムの主たる合成経路と考えられ、約1ヶ月程かかって徐々に導入遺伝子の発現が上昇してゆき、染色体外でコンカタマーの形態で長期間にわたって安定に保持される。動物実験では年余にわたる導入遺伝子の発現も報告されている。AAVベクターゲノムの染色体での組込み部位は、rep遺伝子を欠いているためAAVS1領域へは組み込まれず、ランダムに組み込まれるが、その組込み効率は極めて低いと考えられている。マウスでの肝臓での組込み部位の解析では組込みは遺伝子存在領域に組み込まれていることが多く、組込み部位近傍のゲノムが約2 kb程まで欠失していることもある。ITRは弱いながらプロモーター活性を持つが、内向きにプロモーター活性を持ち、また染色体への組込みに伴い欠失することが多く、組込み部位近傍の遺伝子の発現を誘導する可能性は少ない。

| 変 更 時 期 | 変更承認取得後 | |
|---|---|--|
| 変 更 内 容 | 研究計画書における 該 当 箇 所 | 変更の概要及びその理由 |
| ※詳細は別紙「新旧対照表」を参照のこと | 1. 検査および麻酔に伴う有害事象の追記。 | 旧版では「予期される有害事象」とだけ記載していたが、脳定位手術及び AAV ベクターの注入に伴う有害事象とそれ以外 (MRI 検査等) に伴う有害事象に分けて説明文を明記する必要があると判断したため。 |
| | 2. 検査・観察のスケジュールの変更 ① PET スキャンは治療前として期限を設けない。 ② 頭部 MRI 検査の実施期限の緩和。 | ① 治療前の PET 検査については、AADC の発現を確認するのみなので、必ず治療直前に実施する必要はないため。 ② 症例によって、3 か月より前の頭部 MRI 検査結果を使用することも可能なため。 |
| | 3. 麻酔による副作用・合併症の説明の追記 | 麻酔を使用するのは手術のみでなく、検査においても麻酔を使用するケースがあるため、詳細に明記した。 |
| | 4. 侵襲性のある検査についての説明の追記。 | 侵襲性のある検査に伴う危険性について明記する必要があると判断したため。 |
| | 5. 重篤な有害事象が発生した場合の対応について、発現時ではなく知った時から 4 8 時間に修正。 | 遠隔地で発生した有害事象等は、研究者への連絡に時間がかかり、発現から 4 8 時間以内の対応が不可能な場合があるため。 |
| | 6. IX. 3. 4 被験者への遺伝子治療等臨床研究の実施後における医療の提供に関する対応の追記。 | 遺伝子治療等臨床研究に関する指針 第 18 条 研究計画書の記載事項 第 1 項に基づき「②被験者への遺伝子治療等臨床研究の実施後における医療の提供に関する対応」についての記載がなかったため。 |
| | 7. 実施期間および目標症例数 予定登録数・登録期間・追跡期間の追記修正。 | 遺伝子治療等臨床研究に関する指針 第 18 条 研究計画書の記載事項 第 1 項に基づき「⑤遺伝子治療等臨床研究の実施方法及び期間」について記載内容が不十分であったため、より明確に修正した。 |
| | 8. 記録の保存および破棄に関する追記。 | 遺伝子治療等臨床研究に関する指針 第 18 条 研究計画書の記載事項 第 1 項に基づき「⑧試料・情報 (研究に用いられる情報に係る資料を含む。) の保管及び破棄の方法」について、破棄に関して記載がなかったため。 |
| | 9. 被験者等およびその関係者からの相談等への対応の追記。 | 遺伝子治療等臨床研究に関する指針 第 18 条 研究計画書の記載事項 第 1 項に基づき「⑩被験者等及びその関係者からの相談等への対応」についての記載がなかったため。 |
| | 10. 研究の資金源等、研究機関の利益相反および研究者の利益相反に関する状況に関する追記。 | 遺伝子治療等臨床研究に関する指針 第 18 条 研究計画書の記載事項 第 1 項に基づき「⑬研究の資金源等、研究機関の遺伝子治療等臨床研究に係る利益相反及び個人の収益等、研究者の遺伝子治療等臨床研究に係る利益相反に関する状況」についての記載がなかったため。 |
| 11. 実験動物を用いた研究の成果に関する追記修正。 (※実施計画書の添付資料) | 遺伝子治療等臨床研究に関する指針 第 18 条 研究計画書の記載事項 第 1 項に基づき「⑭非臨床試験における安全性及び有効性の評価」について、記 | |

| | | |
|----------------------|--|--------------------------|
| | | 載内容が不十分であったため、より明確に修正した。 |
| 今後の研究計画 | 現在、診断されていて遺伝子治療未実施の国内在住AACDC欠損症患者1名（4歳男児）および海外からの遺伝子治療希望患者に対し、同意が得られた場合、順次遺伝子治療実施する。また、新たな患者が診断されたら実施する。 | |
| これまでの研究結果及び研究結果の公表状況 | 2015年6月から2017年7月にかけて、6例に治療実施した。6例とも運動機能の改善、ジストニアの消失、眼球上転発作の減少などの効果が得られた。有害事象として、動作時の舞踏病様運動が軽度から中等度見られたが、一時的で軽快傾向になっている。これらの結果は、学会等で発表し、また、市民にも公開したシンポジウムも実施した。現在、論文作成中である。 | |
| 備考 (共同研究機関の実施状況等) | | |

(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における同様の変更の実施状況（実施の有無、変更時期）を記載すること。