遺伝子治療臨床研究実施計画書

課題名

「AADC 欠損症に対する遺伝子治療の臨床研究」

自治医科大学附属病院

第１版：2013 年 11 月 13 日作成
第２版：2013 年 12 月 11 日作成
第３版：2014 年　1 月 10 日作成
第４版：2014 年　6 月 6 日作成
第５版：2014 年 10 月 8 日作成
第６版：2015 年 1 月 13 日作成
第７版：2016 年 4 月 25 日作成
第８版：2017 年 9 月 14 日作成
第９版：2018 年 6 月 21 日作成

略語一覧

略語	英語表記	日本語表記
AADC	Aromatic L-amino acid decarboxylase	ヒト芳香族アミノ酸脱炭酸酵素
AAV	Adeno-Associated Virus	アデノ随伴ウイルス
AIMS	Alberta Infant Motor Scale	
Al-P	Alkaline Phosphatase	アルカリホスファターゼ
ALT	Alanine aminotransferase	アラニン・アミノトランスフェラーゼ
AST	Aspartate aminotransferase	アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ
BCV	Bovine Corona Virus	牛コロナウイルス
BUN	Blood Urea Nitrogen	血中尿素窒素
CAP	Capsid	カプシド
CDIIT	Comprehensive Development Inventory for Infants and Toddlers	-
CT	Computerized Tomography	コンピュータ断層撮影
CMV	Cytomegalovirus	サイトメガロウイルス
DNA	Deoxyribonucleic acid	デオキシリボ核酸
EBV	Epstein Barr Virus	エプスタイン・バール・ウイルス
FBS	Fetal Bovine Serum	牛胎児血清
FDOPA	Fluorodopa	フルオロドーパ
FMT	Fluoro-L-m-tyrosine	フルオロメチルチロシン
GABA	γ-aminobutyric acid	ガンマアミノ酪酸
GAD	Glutamate Decarboxylase	グルタミン酸デカルボキシラーゼ
GH	Growth Hormone	成長ホルモン
GMP	Good Manufacturing Practice	医薬品の製造管理及び品質管理に関する基準
GGT	γ-Glutamyl Transpeptidase	ガンマグルタミルトランスペプチターゼ
GOT	Glutamic Oxaloacetic Transaminase	グルタミン酸オキザロ酢酸トランスアミナーゼ
G6PD	Glucose-6-Phosphate dehydrogenase	グルコース 6 リン酸脱水素酵素
GPT	Glutamic Pyruvic Transaminase	グルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ
HAV	Hepatitis A Virus	A 型肝炎ウイルス
HBV	Hepatitis B Virus	B 型肝炎ウイルス
HCV	Hepatitis C Virus	C 型肝炎ウイルス
hCMV	Human cytomegalovirus	ヒトサイトメガロウイルス
HHV	Human Herpesvirus	ヒトヘルペスウイルス
HIAA	Hydroxyindoleacetic acid	ハイドロキシインドール酢酸
HIV	Human Immunodeficiency Virus	ヒト免疫不全ウイルス
HPV	Human Parvovirus	ヒトパルボウイルス
HTLV	Human T-cell lymphotropic virus	ヒト T リンパ向姓ウイルス
HTP	Hydroxy tryptphan	ヒドロキシトリプトファン
HVA	Homovanillic Acid	ホモバニンリン酸
INR	International Normalized Ratio	国際標準化比
ITR	Inverted Terminal Repeat	-
IVS	Intervening sequence	イントロン

MAO	Monoamine oxidase	モノアミン酸化酵素
MCB	Master Cell Bank	マスターセルバンク
MCH	Mean Corpuscular Hemoglobin	平均赤血球血色素量
MCHC	Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration	平均赤血球血色素濃度
MCV	Mean Corpuscular Volume	平均赤血球容積
MD	Malate dehydrogenase	リンゴ酸脱水素酵素
MO	Magnet Optical Disk	光磁気ディスク
MRI	Magnetic Resonance Imaging	磁気共鳴画像法
MWCB	Master Working Cell Bank	マスターワーキングセルバンク
NP	Nucleoside phophorylase	ヌクレオシドホスホリラーゼ
PBMC	Peripheral Blood Mononuclear Cells	ヒト末梢血単核球
PBS	Phosphate-buffered Saline	リン酸緩衝生理食塩水
PCV	Porcine circovirus	豚サーコウイルス
PCR	Polymerase Chain Reaction	ポリメラーゼ連鎖反応
PDMS-II	Peabody Developmental Motor Scale, Second edition	-
PET	Positron Emission Tomography	陽電子放射線断層撮影法
PH	Potential Hydrogen	ピーエッチ
PICU	Pediatric Intensive Care Unit	小児集中治療室
PT	Prothrombin time	プロトロンビン時間
Rep	Replication	複写
RNA	Ribonucleic acid	リボ核酸
SDS	Sodium dodecyl sulfate	ドデシル硫酸ナトリウム
SV	Simian virus	シミアンウイルス
UCSF	University of California, San Francisco	米国カリフォルニア大学サンフランシスコ校
UPDRS	Unified Parkinson disease rating scale	パーキンソン病統一スケール
USB	Universal Serial Bus	ユーエスビー
VG	Vector genomes	ベクターゲノムズ
VLA	Vanillactic acid	バニル乳酸

目次

I 遺伝子治療臨床研究の名称 1
II 総括責任者およ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 1
II.1 総括責任者の氏名 1
II.2 総括責任者以外の研究者の氏名およびその担当する役割 1
III 実施施設の名称およびその所在地 4
IV 遺伝子治療臨床研究の目的 4
V 遺伝子治療臨床研究の対象疾患およびその選定理由 5
V.1 研究の区分 5
V.2 対象疾患に関する現時点での知見 5
V.3 当該遺伝子治療臨床研究の概要 9
V.4 他の治療法との比較および遺伝子治療を選択した理由 9
VI 遺伝子の種類およびその導入法 10
VI.1 人に導入する遺伝子の構造と性質 10
VI.1.2 人に導入する遺伝子の性質 11
VI.1.3 導入遺伝子からの生成物の構造およびその生物活性 12
VI.2 本計画で使用するその他の組換え DNA の構造と性質 12
VI.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 13
VI.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 13
VI.5 ウイルスベクターを用いた遺伝子導入 14
VI.5.1 野生型ウイルスの生物学的特徴および人に対する影響 14
VI.5.2 AAV-hAADC-2 の作製方法 15
VI.5.3 AAV-hAADC-2 の構造 17
VI.5.4 AAV-hAADC-2 の生物学的特徴 18
VII 安全性についての評価 20
VII.1 遺伝子導入方法の安全性 20
VII.1.1 遺伝子導入に用いる AAV ベクターの純度 20
VII.1.1.1 プラスミド MWCB の作製 20
VII.1.1.2 プラスミドベクターの製造 22
VII.1.1.3 293T/17 MCB の作製 24
VII.1.1.4 293T/17 WCB の作製法 26
VII.1.1.5 AAV-hAADC-2 の製造方法 28
VII.1.2 患者に投与する AADC 遺伝子の純度およびその安全性 30
VII.1.3 増殖性ウイルスの出現の可能性 30
VII.1.4 遺伝子導入に用いる AAV ベクターの細胞傷害性 31

VII.1.5 体内の標的細胞以外の細胞への遺伝子導入の可能性 31
VII.1.6 患者以外の人に遺伝子が導入される可能性..... 31
VII.1.7 染色体内へ遺伝子が組み込まれる場合の問題点 31
VII.1.8 がん原性の有無 32
VII.2 遺伝子産物の安全性 32
VII.3 細胞の安全性..... 32
VII.3.1 培養細胞の純度 32
VII.3.2 細胞の遺伝子型、表現型の安全性..... 32
VII.3.3 被験者に投与する細胞の安全性 33
VII.4 AAV 以外のウイルスベクターに起因する重篤な有害事象..... 33
VIII 遺伝子治療臨床研究の実施が可能であると判断した理由 34
VIII.1 臨床ニーズ..... 34
VIII.2 本臨床研究の品質、安全性..... 35
VIII.3 本臨床研究の期待される有効性..... 35
VIII.4 当施設・研究者の能力 35
IX 遺伝子治療臨床研究の実施計画 35
IX.1 遺伝子治療臨床研究を含む全体の治療計画 35
IX.1.1 本臨床研究の実施に際し自治医科大学附属病院内に設置される委員会 35
IX.1.2 本臨床計画の実施手順 36
IX.2 被験者の選択基準および除外基準 38
IX.2.1 選択基準..... 38
IX.2.2 除外基準..... 38
IX.2.3 対象者の参加取りやめ 39
IX.3 倫理的事項..... 39
IX.3.1 被験者の保護 39
IX.3.2 被験者の同意取得方法 39
IX.3.3 被験者の安全性確保および健康被害補償..... 41
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 42
IX.4 実施期間および目標症例数 42
IX.4.1 予定登録数・登録期間・追跡期間 42
IX.5 遺伝子治療臨床研究の実施方法..... 42
IX.5.1 対照群の設定方法 42
IX.5.2 遺伝子導入方法..... 42
IX.5.3 前処置および併用療法の有無 43
IX.5.4 臨床検査項目および観察項目 43

IX.5.4.1 検査・観察のスケジュール 43
IX.5.5 予測される副作用およびその対処方法 49
IX.5.5.1 ベクターによる合併症 49
IX.5.5.2 手術による合併症 50
IX.5.5.3 麻酔による副作用・合併症 50
IX.5.5.4 AADC 遺伝子導入に伴う副作用 51
IX.5.5.5 遺伝子治療臨床研究計画で実施される検査に伴う危険性 51
IX.5.6 遺伝子治療臨床研究の評価方法、評価基準および中止判定基準 51
IX.5.6.1 主要評価項目 51
IX.5.6.2 副次的評価項目 53
IX.5.6.3 臨床研究の中止基準 53
IX.5.6.4 臨床研究への参加取りやめおよび脱落基準 53
IX.5.7 有害事象が発生した場合の措置 54
IX.5.7.1 有害事象が発生した場合 54
IX.5.7.2 重篤な有害事象が発生した場合 55
IX.5.8 症例記録に関する記録用紙等の様式 56
IX.5.9 記録の保存および成績の公表の方法 56
IX.5.9.1 記録の保存および破棄 56
IX.5.9.2 成績の公表の方法 56
IX.5.10 個人情報保護の徹底 57
（1）実施施設での安全管理措置 57
（2）本研究における個人情報の保護 58
（3）第三者提供の制限 59
（4）個人情報の開示 59
X 被験者等およびその関係者からの相談等への対応 60
XI 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
XI.1 研究の資金源 60
XI.2 利益相反 60
XII.1 遵守する法令／省令等 60
XII.2 引用文献 61

臨床研究「AADC 欠損症に対する遺伝子治療」参加のしおり
遺伝子治療臨床研究実施計画書添付資料
I. 研究者の略歴及び研究業績
II. 実施施設の施設設備の状況
III. 実施施設における当該遺伝子治療臨床研究に関する培養細胞、実験動物を用いた研究成果

IV. 遺伝子治療臨床研究に関する実施施設以外の内外の研究状況
V. その他必要な資料
V1 類似の遺伝子治療臨床研究の成果
海外における実施症例に関する参考論文（台湾）
V2 自治医科大学附属病院内規約
V3 乳幼児神経学的検査チャート AIMS 新版 K 式発達検査
V4 注入用カニューレおよびポンプ
V5 評価スケジュール
V6 低年齢用定位脳手術装置
V7 遺伝子治療に伴う全身麻酔で使用する薬剤についての説明文
留意点の確認事項チェックリスト
V8 モニタリング・監査計画書
VI. 引用文献
参考資料 1：AAV ベクターAAV-hAADC-2 の全塩基配列
参考資料 2：プラスミド MWCB 作製方法
参考資料 3：pAAV-hAADC-2 プラスミド MWCB の品質試験及び結果
参考資料 4：pRC-Bl-khB342-2 プラスミド MWCB の品質試験及び結果
参考資料 5：pHelper プラスミド MWCB の品質試験及び結果
参考資料 6：プラスミドベクターの製造方法
参考資料 7：pAAV-hAADC-2 プラスミドベクターの品質試験及び結果
参考資料 8：pRC-Bl-khB342-2 プラスミドベクターの品質試験及び結果
参考資料 9：pHelper プラスミドベクターの品質試験及び結果
参考資料 10：293T/17 MCB の作製方法
参考資料 11：293T/17 MCB の品質試験及び結果
参考資料 12：293T/17 MCB 試験成績書
参考資料 13：293T/17 WCB の作製方法
参考資料 14：293T/17 WCB の品質試験及び結果
参考資料 15：293T/17 WCB 試験成績書
参考資料 16：製造施設（位置・構造設備）
参考資料 17：AAV-hAADC-2 の製造方法
参考資料 18：AAV-hAADC-2 の品質試験及び結果
参考資料 19：AAV-hAADC-2 試験成績書
参考資料 20：AAV-hAADC-2 の安定性試験及び結果
参考資料 21：受入れ試験の詳細

I 遺伝子治療臨床研究の名称

AADC 欠損症に対する遺伝子治療の臨床研究

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

II.1 総括責任者の氏名

山形崇倫

自治医科大学医学部小児科学・教授

遺伝子治療臨床研究の総括

II.2 総括責任者以外の研究者の氏名およびその担当する役割

氏名	所属	役職	役割分担
村松　慎一	自治医科大学 神経内科学	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	教授	遺伝子導入のための定位脳手術実施
中嶋　剛	自治医科大学 脳神経外科	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 人類遺伝学	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 患者の管理、評価
桒島　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	ウイルスベクターの管理、検出
山崎　晶司	自治医科大学附属病院 臨床研究センター	副センター長	試験実施の支援

研究協力者

高津戸　文江	自治医科大学附属病院 臨床研究センター	臨床研究コーディネーター	対象患者のケア、相談。インフォームドコンセント取得への協力等、研究の支援。
前田　由利子	自治医科大学附属病院 臨床研究センター	臨床研究コーディネーター	対象患者のケア、相談。インフォームドコンセント取得への協力等、研究の支援。

外部協力者

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

III 実施施設の名称およびその所在地

名称：自治医科大学附属病院・自治医科大学とちぎ子ども医療センター
所在地：〒329-0498 栃木県下野市薬師寺 3311-1
電話：0285-44-2111

IV 遺伝子治療臨床研究の目的

本臨床研究は、ヒト芳香族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（AAV-hAADC-2)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。

本臨床研究に用いる AAV ベクターは、自治医科大学が製造委託したタカラバイオ株式会社で作製され、同社より直接自治医科大学に供給される。

① 主要評価項目

- AADC 欠損症患者被殻内への AAV-hAADC-2 注入療法の安全性
  - 有害事象
  - 発作記録、一般身体所見、神経学的所見の臨床評価
  - 臨床検査、髄液検査、頭部 MRI、脳波

② 副次的評価項目

- AAV-hAADC-2 注入療法の有効性
  - 発作記録、一般身体所見、神経学的所見の臨床評価
  - 運動、認知機能を評価スケールで評価
  - 臨床検査
  - 髄液検査（L-dopa、5HTP、HVA、5HIAA を含む）
  - 頭部 MRI、脳波
- 被殻注入 AAV-hAADC-2 の発現量
  - FMT-PET

    AADC のトレーサ 6-[^{18}F]fluoro-L-m-tyrosine を使用した positron emission tomography

V 遺伝子治療臨床研究の対象疾患およびその選定理由

V.1 研究の区分

遺伝子治療臨床研究

V.2 対象疾患に関する現時点での知見

① アミノ酸脱炭酸酵素欠損症; Aromatic L-amino acid decarboxylase (AADC)欠損症について

芳香族 L アミノ酸脱炭酸酵素欠損症 Aromatic L-amino acid decarboxylase、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；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[1]。

Hyland and Clayton が 1990 年に、アラブ人の一卵性双胎児の患者を報告したのが最初である[2,3]。現在、世界中で報告例は 100 症例未満である [1,4]。台湾では、創始者効果から比較的発症率が高く、2012 年時点では生存例が 20 例、死亡例 10 例が確認されている [4]。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。

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-ハイドロキシトリプトファンをセロトニンに代謝する酵素である。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。

カテコールア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、眼球上転発作あるいは注視痙攣；oculogyric crisis 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きたす。

発症年齢は、典型例では生後 1 か月以内に発症する例が多く、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、oculogyric crisis、四肢のジストニア（異常な筋緊張亢進）、全身性アテトーゼ（くねるような動き）、随意運動の障害、ジストニア発作（突然筋緊張が高まり動きづらくなる）、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、突然の発汗上昇、唾液分泌増加や、情緒不安定、睡眠障害もみられる [1,5]。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、最重症例では乳幼児期に肺炎で死亡する例がある。予後としては、多くの例

が小児期に死亡する[1,6]。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[4]。また非典型的な軽症例として、ジストニア、易疲労性、睡眠障害等を伴い、運動発達は遅れるものの、歩行可能な例が少数報告されている[7]。

画像所見として、頭部 MRI 上、２割程度の患者では、大脳萎縮、白質変性の所見、脳梁のひ薄化等の異常が報告されているが、有意な所見を示さない例が大半である[1]。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[8]。また、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[8]。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。

検査所見としては、脳脊髄液中のドパミンの代謝産物である homovanillic acid (HVA) とセロトニンの代謝産物である 5-hydroxyindoleacetic acid (5-HIAA)が非常に低値であり、ドパミンの前駆物質である L-dopa と、セロトニンの前駆物質である 5-hydroxy-tryptophan(5-HTP)が非常に高値である。また L-dopa がメチル化されて代謝された産物である 3-O-methyldopa も上昇する。髄液以外でも、血漿、尿中の L-dopa と 3-O-methyldopa、および 3-O-methyldopa の代謝産物である vanillactic acid (VLA)が上昇する。

診断は、上記の臨床症状などから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、HVA 低値の特徴的所見が得られた場合、AADC 欠損症と診断する。髄液検査前に、尿中の上記カテコールアミン代謝産物の測定によるスクリーニングも試みられている。確定診断には、血漿中あるいはリンパ球等での AADC 活性の低下、あるいは AADC 遺伝子変異同定が必要である。

病因遺伝子変異

AADC 遺伝子は、染色体 7 q12.1 に局在している。変異部位は多様で、BIOMDB データベースには 30 種類の変異が、JAKA データベースには 24 種類の変異が登録されている。また、Brun らは 49 人で 24 種類の異なった変異を報告している[1]。

一方、台湾の患者では、16 例中 13 例で、IVS6+4 A>T 変異が確認されている。変異の種類としては、スプライス部位の変異である (IVS6+4A>T)がもっとも多く、45%の患者で検出されているが、全て中国・台湾人である。次に多いのは基質結合部位の変異である S250F で、10%にみられる。また、軽症例になる G102S が 8%で検出されている。日本の患者では、兄弟症例で g.329C > A がヘテロ接合性に検出されている。他の患者での変異は多様である。

既存の治療法

AADC の補酵素であるビタミン B6 (Pridoxine)、ドパミン作動薬である Bromocriptine、ドパミンとセロトニンを代謝する Monoamine oxidase (MAO)の阻害薬である Tranylcypromide や Selegiline、抗コリン薬の Trihexyphenidyl、および L-dopa などが単独で、あるいは併用で試みられている[1,6,9]。軽症例では、これらの治療により、運動機能が改善し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、ほとんどの例で効果は認められていない。

② AADC 欠損症に対する遺伝子治療

2012 年に台湾から AADC 欠損症に対する遺伝子治療を実施した結果が報告された[4]。論文報告では、対象は 4 人の患者で、4 - 6 歳時に治療実施し、現在 5 - 6 歳の、男児 1 例、女児 3 例。全例、頸定なく、臥床状態であった。遺伝子変異は、3 例が IVS6+4 A>T のホモで、1 例が IVS6+4 A>T と c.1297_1298ins の複合ヘテロであった。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、運動機能に関して著明な改善を得た。治療開始前は、全員寝たきりの状態で、自発運動は少しのみだったが、遺伝子治療実施 1-2 週間後には眼瞼下垂が改善し、1 か月後からジスキネジアが改善し始め、それと共に運動機能が改善し始めた。1 例は、3 か月後から頸定が得られ、6 か月後に坐位保持可能となり、13 か月後には、臥位から自分で坐位が取れて、おもちゃを手に持って遊べるように、16 か月後には支えての立位が可能になった。1 例は、3 か月後に頸定が、9 か月後に支えての坐位が可能になった。他の 2 例でも、頸定が得られ、改善傾向になっている。また運動機能評価として、Alberta Infant Motor Scale (AIMS)、Peabody Developmental Motor Scale, Second edition (PDMS-II)を用いて評価し、全例スケールが改善した。また、認知機能と運動機能を評価する Comprehensive Developmental Inventory for Infants and Toddlers (CDIIT)でも、運動、認知両者とも改善した。oculogyric crisis の改善、感情的な安定性の向上、多汗や体温上昇の改善なども得られた。PET 検査では、治療 6 か月後に 6-[^{18}F]fluorodopa (FDOPA)の基底核への取り込みが改善した。髄液検査でも、ドパミンの代謝産物である HVA とセロトニンの代謝産物である 5-HIAA が増加した。しかし、L-dopa と 3-o-methyldopa は高値のままである。

治療に使われた AADC を発現する AAV ベクターは、自治医大でパーキンソン病に対する遺伝子治療の前臨床試験のために開発したものである。

その後の情報では、現在、実施例数は 8 例になっており、3 例で座位保持可能でうち 2 例は支えての立位可能に、4 例で支えての座位保持可能に改善している。

副作用に関しては、一番多かったのは一過性のジスキネジアであった。2 例で口部から顔面のジスキネジアで嚥下障害を来し、1 例では 3 か月間経管栄養を要した。1 例で、チアノーゼを伴う無呼吸発作が 10 か月間反復した。しかし、これらの副作用はいずれも軽快した。

1 例では、術前から全身状態が悪かった患者で、遺伝子治療実施後退院し自宅療養していたが、下痢と嘔吐からくる脱水、ショックにより心停止となり受診。蘇生したが、臥床状態が続いている。

日本では、本遺伝子治療臨床研究として、2015 年 6 月から、5 歳から 19 歳の患者 6 例に実施した。6 例とも、大きな有害事象はなく経過している。一部の患者で、治療後、PET で被殻に AADC の発現が確認されている。OGC、ジストニア発作の減少、運動機能の改善が得られている。有害事象としては、四肢の小さな舞踏病様運動が起きたのみである。

③ パーキンソン病に対する AADC 遺伝子治療

パーキンソン病の遺伝子治療には、 1)ドパミン合成系の酵素遺伝子を被殻に導入する、 2)神経栄養因子の遺伝子を被殻と黒質に導入する、 3)抑制性神経伝達物質であるγ-aminobutyric acid (GABA)の合成酵素を視床下核に導入する、という三種類の方法があり、それぞれ臨床試験が実施されている。1)の方法のうち、AADC を発現する AAV ベクターを両側の被殻に注入する第 1 相臨床試験が自治医科大学と米国 UCSF (400 Parnassus Ave. San Francisco)で実施された。両施設では同一ロットの AAV ベクターを使用している。自治医科大学では単群(3×10^{11} vector genome)の 6 人を対象とし、UCSF では低用量群(9×10^{10} vector genome)の 5 人と高用量群(3×10^{11} vector genome)の 5 人の合計 10 人を対象とした。両施設とも 6 か月後の評価で AAV ベクターに関連した副作用は認められなかった。自治医科大学の 6 人では、オフ時（L-dopa の効果が切れている状態）の unified Parkinson disease rating scale (UPDRS)運動スコアが 46%改善した。 AADC に結合する [^{18}F]fluoro-L-m-tyrosine (FMT)をトレーサーとして使用した PET 計測では、6 か月後に 56%の集積増加を認め 2 年後にも計測した 2 名では集積の増加が持続していた[10]。UCSF の 10 人では UPDRS の運動スコアはオフ時に 36%、オン時に 28%改善した。また、FMT-PET 計測では、遺伝子導入 6 か月後には低用量群で 30%、高用量群では 75%の被殻への集積の増加を認め、4 年後にも計測した 2 名では集積の増加が持続していた[11,12]。

また、2015 年に新たな計画で同じベクターでの治療が再開された。治療を受けたパーキンソン病患者 1 名が、治療後 6 週間の時点で突然死した。治療後の経過は順調で、パーキンソン病の他にとくに症状はなかった。病理解剖では脳のベクター注入部位に出血などの病変はなく、心臓や肝臓などの全身の臓器にも死因となる病変は認められなかった。これらの経緯や病理所見について自治医科大学附属病院遺伝子治療臨床研究審査

委員会において審議が行われた。この委員会では、上記の所見に加え、パーキンソン病では死因は不明であるものの突然死の頻度が 14%（6/44 例）あるという他施設の報告も考慮された結果、遺伝子治療と今回の１人目の方の突然死との間には因果関係は認められず、遺伝子治療を継続することに問題はないとされた。　自治医科大学で実施された臨床研究については、総括報告書(添付資料Ⅲ.3 関連する研究の成果)を参照。

V.3 当該遺伝子治療臨床研究の概要

本臨床研究では、AADC 欠損症患者の線条体（被殻）に、ヒト AADC 遺伝子を組み込んだ 2 型 AAV ベクター（AAV-hAADC-2）を定位脳手術的に注入する。

AADC（酵素番号 enzyme code:EC4.1.1.28）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る。したがって AADC によってドパミンとその代謝により産生されるノルアドレナリン、アドレナリン、およびセロトニンが生成される。よって、AADC 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。

V.4 他の治療法との比較および遺伝子治療を選択した理由

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、筋緊張低下および発語が改善し、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。

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。

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、前記(V.2)記載の様に、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。

VI 遺伝子の種類およびその導入法

VI.1 人に導入する遺伝子の構造と性質

本臨床研究において用いる遺伝子は、ヒト AADC 遺伝子（human AADC gene）で、AAV 由来の塩基配列は両端に存在する ITR 以外の部分が除かれ、サイトメガロウイルスのプロモーター/エンハンサー（CMV Promotor）、ヒトβグロビンイントロン、ヒト AADC 遺伝子（human AADC cDNA）、ヒト成長ホルモンのポリ A 配列（hGH poly(A)）によって置換されたベクターを用いる。

VI.1.1 人に導入する AADC 遺伝子の構造

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、メッセンジャー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 から 400 の塩基対、イントロンは 1,000 から 17,700 塩基対の長さである[13]。本臨床研究ではメッセンジャー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が、イントロンが除かれている点が、もとのゲノム DNA とは異なる。この相補的 DNA はヒト褐色細胞腫の相補的 DNA ライブラリーをもとに、480 個のアミノ酸をコードする 1,440 塩基対と終止コドンを含む 1,443 塩基対として単離されている。図 1 に AADC 遺伝子の塩基配列とコードするアミノ酸配列を示す。

```
  1 atgaacgcaa gtgaattccg aaggagaggg aaggagatgg tggattacgt ggccaactac
 61 atggaaggca ttgagggacg ccaggtctac cctgacgtgg agcccgggta cctgcggccg
121 ctgatccctg ccgctgcccc tcaggagcca gacacgtttg aggacatcat caacgacgtt
181 gagaagataa tcatgcctgg ggtgacgcac tggcacagcc cctacttctt cgcctacttc
241 cccactgcca gctcgtaccc ggccatgctt gcggacatgc tgtgcggggc cattggctgc
301 atcggcttct cctgggcggc aagcccagca tgcacagagc tggagactgt gatgatggac
361 tggctcggga agatgctgga actaccaaag gcatttttga atgagaaagc tggagaaggg
421 ggaggagtga tccagggaag tgccagtgaa gccaccctgg tggccctgct ggccgctcgg
481 accaaagtga tccatcggct gcaggcagcg tccccagagc tcacacaggc cgctatcatg
541 gagaagctgg tggcttactc atccgatcag gcacactcct cagtggaaag agctgggtta
601 attggtggag tgaaattaaa agccatcccc tcagatggca acttcgccat gcgtgcgtct
661 gccctgcagg aagccctgga gagagacaaa gcggctggcc tgattccttt ctttatggtt
721 gccaccctgg ggaccacaac atgctgctcc tttgacaatc tcttagaagt cggtcctatc
781 tgcaacaagg aagacatatg gctgcacgtt gatgcagcct acgcaggcag tgcattcatc
841 tgccctgagt tccggcacct tctgaatgga gtggagtttg cagattcatt caactttaat
901 ccccacaaat ggctattggt gaattttgac tgttctgcca tgtgggtgaa aaagagaaca
```

```
 961 gacttaacgg gagcctttag actggacccc acttacctga agcacagcca tcaggattca
1021 gggcttatca ctgactaccg gcattggcag ataccactgg gcagaagatt tcgctctttg
1081 aaaatgtggt ttgtatttag gatgtatgga gtcaaaggac tgcaggctta tatccgcaag
1141 catgtccagc tgtcccatga gtttgagtca ctggtgcgcc aggatccccg ctttgaaatc
1201 tgtgtggaag tcattctggg gcttgtctgc tttcggctaa agggttccaa caaagtgaat
1261 gaagctcttc tgcaaagaat aaacagtgcc aaaaaaatcc acttggttcc atgtcacctc
1321 agggacaagt ttgtcctgcg ctttgccatc tgttctcgca cggtggaatc tgcccatgtg
1381 cagcgggcct gggaacacat caaagagctg gcggccgacg tgctgcgagc agagagggag
1441 tag
```

MNASEFRRRGKEMVDYVANYMEGIEGRQVYPDVEPGYLRPLIPAAAPQEPDTFEDIINDVEKII
MPGVTHWHSPYFFAYFPTASSYPAMLADMLCGAIGCIGFSWAASPACTELETVMMDWLGKML
ELPKAFLNEKAGEGGGVIQGSASEATLVALLAARTKVIHRLQAASPELTQAAIMEKLVAYSSDQA
HSSVERAGLIGGVKLKAIPSDGNFAMRASALQEALERDKAAGLIPFFMVATLGTTTCCSFDNLL
E
VGPICNKEDIWLHVDAAYAGSAFICPEFRHLLNGVEFADSFNFNPHKWLLVNFDCSAMWVKKR
TDLTGAFRLDPTYLKHSHQDSGLITDYRHWQIPLGRRFRSLKMWFVFRMYGVKGLQAYIRKHV
QLSHEFESLVRQDPRFEICVEVILGLVCFRLKGSNKVNEALLQRINSAKKIHLVPCHLRDKFVLR
F AICSRTVESAHVQRAWEHIKELAADVLRAERE

図 1：AADC 遺伝子の塩基配列とコードするアミノ酸配列

VI.1.2 人に導入する遺伝子の性質

本臨床研究では、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（図 2）。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 ベクター内では導入遺伝子は 1 本鎖 DNA であるが、細胞内で 2 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おける剖検例では、4 年後にも Neurturin 遺伝子の発現が確認されている[14]。

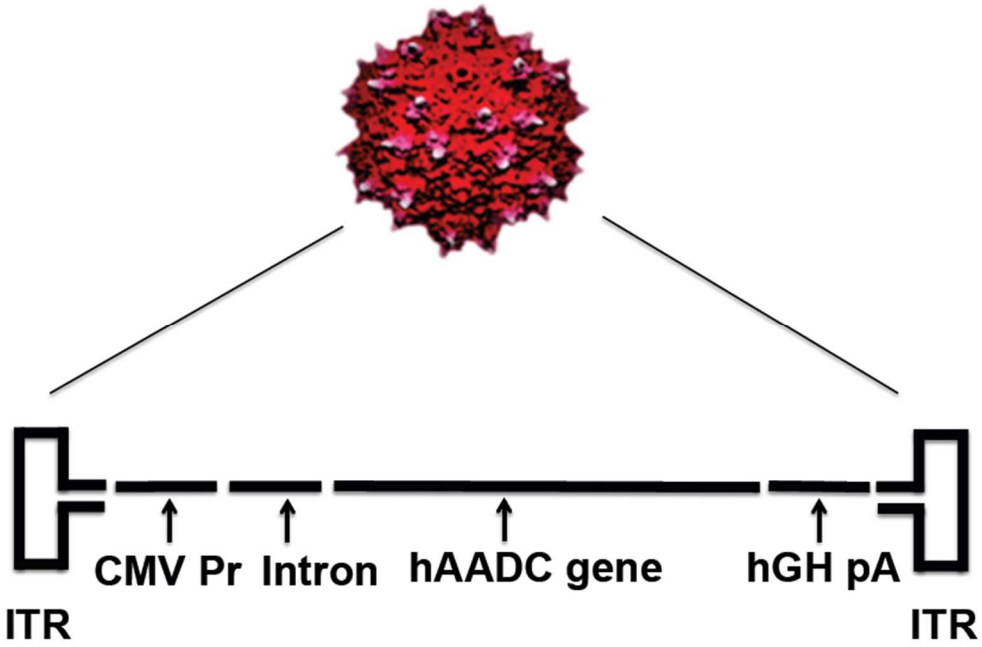

図 2：ウイルスベクターに搭載される遺伝子
AAV 由来の塩基配列は両端に存在する ITR 以外の部分が除かれ、サイトメガロウイルスのプロモーター/エンハンサー（CMV Pr）、ヒトβグロビンイントロン、ヒト AADC 遺伝子（hAADC gene）、ヒト成長ホルモンのポリ A 配列（hGH PA）によって置換されている。

VI.1.3 導入遺伝子からの生成物の構造およびその生物活性

AADC は 53.9kDa の 2 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生合成された 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。

VI.2 本計画で使用するその他の組換え DNA の構造と性質

本計画では他の組換え DNA は使用しない。

VI.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

本臨床研究における標的細胞は被殻の神経細胞である。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。

VI.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

遺伝子導入法に関しては、ウイルスベクターあるいは非ウイルスベクターが用いられるが、それぞれには一長一短があるため、標的細胞の種類や必要とされる発現期間などを考慮して目的に応じて使い分ける必要がある。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いる[15]。代表的な血清型について表 1 に示す。5 型では神経細胞以外にグリア細胞にも導入遺伝子の発現が多く認められるが、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[16]および肝臓への注射[17]、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[18,19]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[20,21]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。

表 1. 主な霊長類 AAV の血清型

血清型	2 型との相同性	由来	レセプター	標的組織
1	中	サル	シアル酸	骨格筋
2	-	ヒト	ヘパラン硫酸プ	神経

			ロテオグリカン	
3	高	ヒト	不明	神経
4	低	サル	シアル酸	脳室上皮
5	低	ヒト	シアル酸	気道・網膜・神経
6	中	1＋2 型	シアル酸	骨格筋
7	中	サル	不明	骨格筋
8	中	サル	ラミニン受容体	肝臓
9	中	ヒト	βガラクトース	気道・肝臓・骨格筋

VI.5 ウイルスベクターを用いた遺伝子導入

VI.5.1 野生型ウイルスの生物学的特徴および人に対する影響

2 型 AAV はパルボウイルス科デペ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 1 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 ヌクレオチオドは 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（図 3）。 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℃1 時間の処理でも不活化されない。

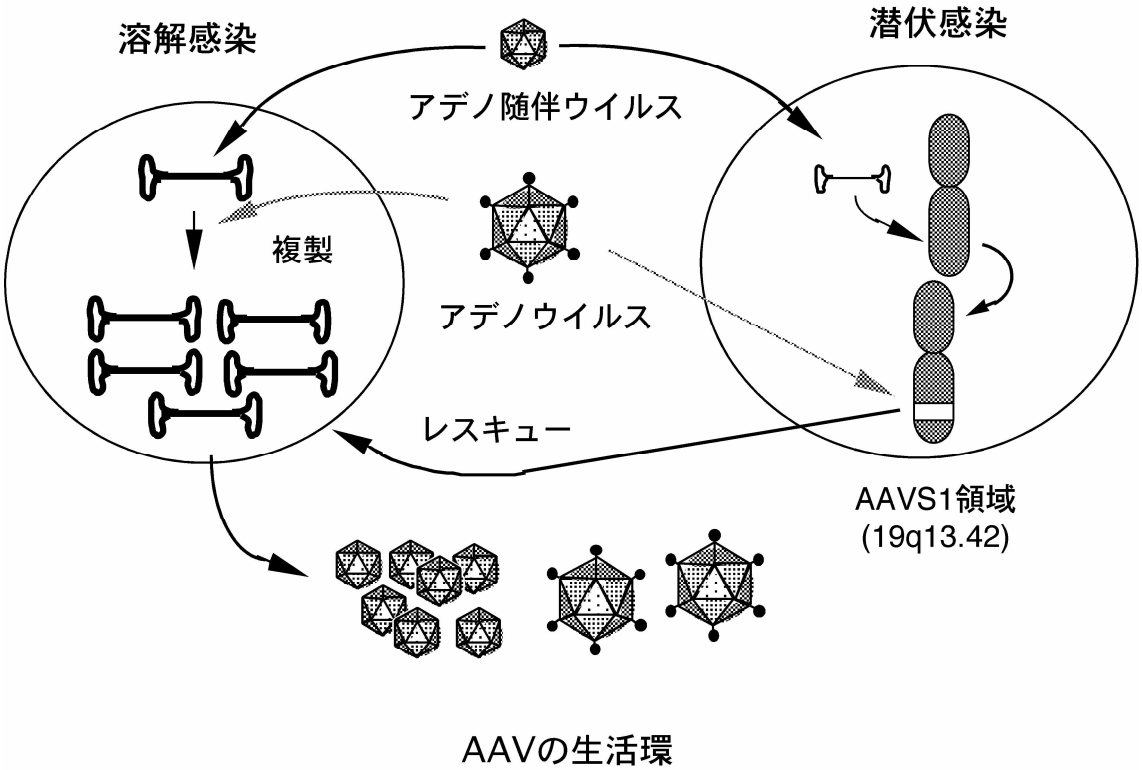

図 3：AAV の生活環

VI.5.2 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。

①pAAV-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。

②pRC-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。

③pHelper：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。

各プラスミドのマップを図 4～6 に示す。

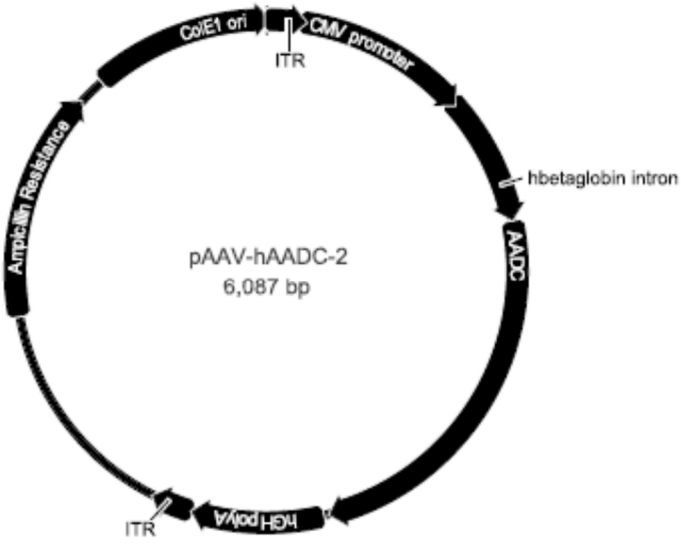

図 4　pAAV-hAADC-2

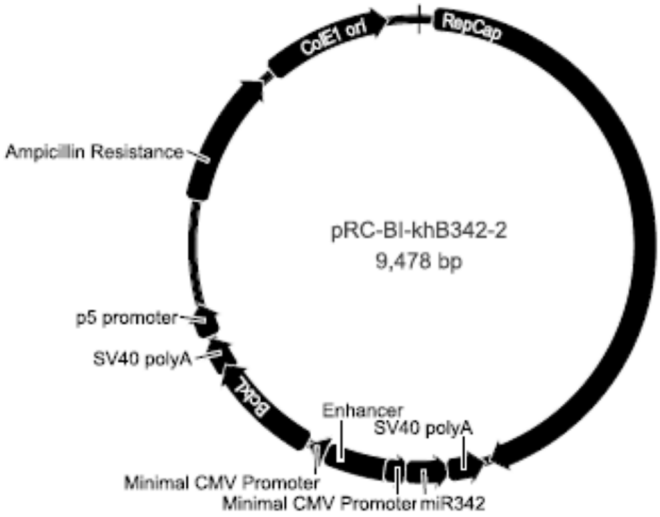

図 5　pRC-BI-khB342-2

図 6　pHelper

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[22]。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、0.22μm 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。

ITR は AAV キャプシドへのパッケージングシグナルであるが、rep、cap 遺伝子を持つ AAV ヘルパープラスミド pRC-BI-khB342-2 は ITR 配列を持たないため、replication-competent AAV の出現は極力抑えられている。また rep 遺伝子の p5 プロモーター配列は AAV ヘルパープラスミドと AAV ベクタープラスミドの間で組換えを促進し、偽野生型 AAV の産生を起こすことが知られているが p5 プロモーターの TATA box を破壊し rep、cap 遺伝子のポリ A 配列の下流に移動させることにより偽野生型 AAV が生じなくなることが分かっている。 pRC-BI-khB342-2 では偽野生型 AAV の産生を抑えるため p5 プロモーター配列を移動してある[23]。

VI.5.3 AAV-hAADC-2 の構造

AAV-hAADC-2 の全塩基配列を参考資料 1「AAV ベクターAAV-hAADC-2 の全塩基配列」に示す。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。

VI.5.4 AAV-hAADC-2 の生物学的特徴

2 型 AAV はヘ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 か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（図 7）。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[24]、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[25]。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[26]、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。

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、血中に入れば肝蔵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明らかではない。

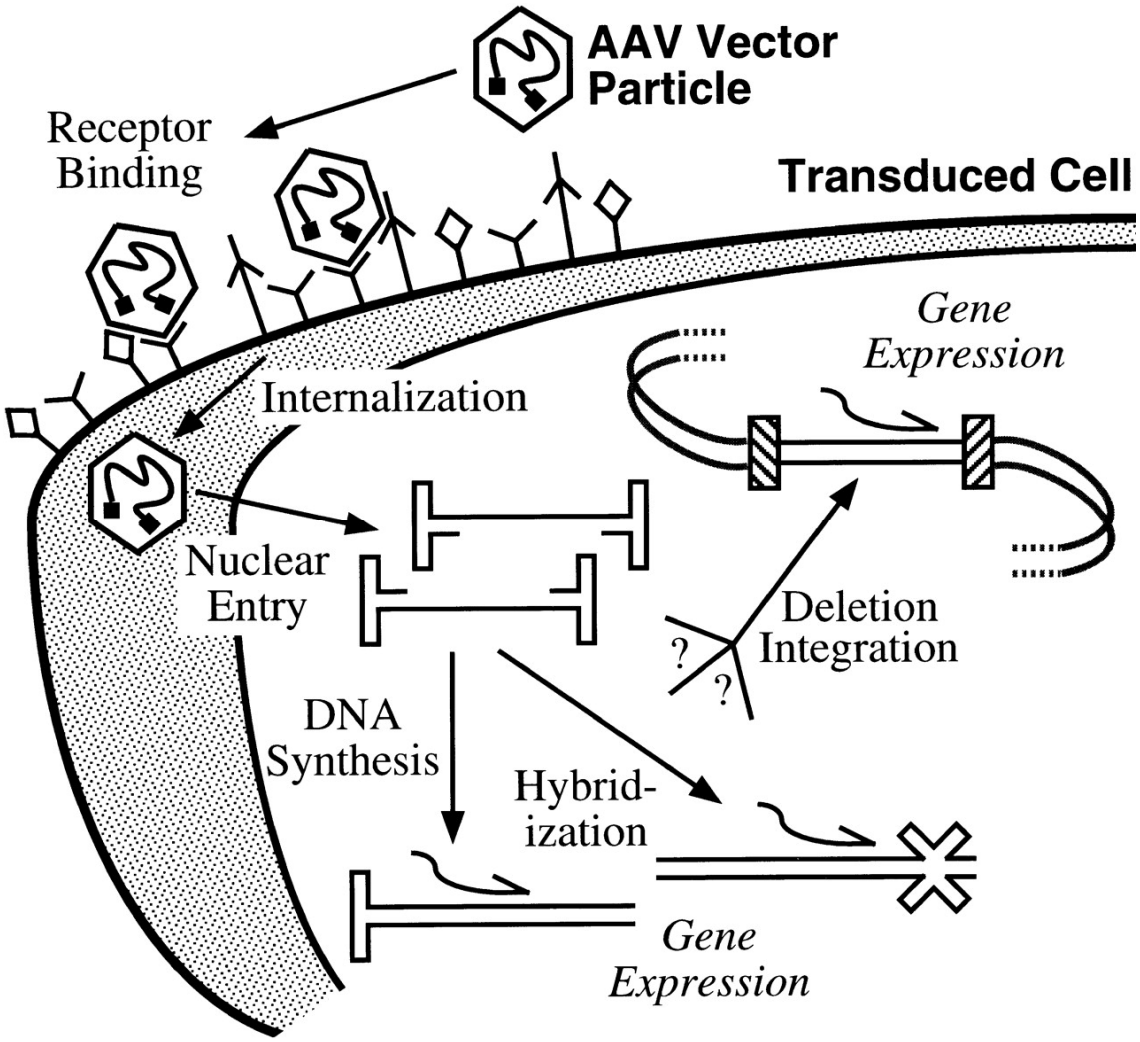

図 7．AAV の感染と発現様式[27]

VII　安全性についての評価

VII.1 遺伝子導入方法の安全性

VII.1.1 遺伝子導入に用いる AAV ベクターの純度

本臨床研究に用いる AAV ベクターAAV-hAADC-2 は、パッケージング細胞 293T/17 に 3 種類のプラスミドを導入し産生する。AAV ベクターAAV-hAADC-2 を安定かつ安全に供給するために、細胞ならびにプラスミドにはセルバンクシステムを使用する。293T/17 のマスターセルバンク（MCB）は、シードセル（ATCC CRL-11268）より、ワーキングセルバンク（WCB）は 293T/17 の MCB より、タカラバイオ株式会社（滋賀県大津市瀬田 3-4-1）の GMP 製造施設の管理区域で製造する。また、プラスミドのマスターワーキングセルバンク（MWCB）は、株式会社 AMBiS（沖縄県南城市大里字大里 2013）の GMP 製造施設の管理区域で製造する。組成と品質の確認された培地及び試薬を使用し、特にウシ胎児血清はウシ海綿状脳症非発生国産のものを使用する。

VII.1.1.1 プラスミド MWCB の作製

プラスミド MWCB の作製フローを図 8 に示す。株式会社 AMBiS の GMP 製造施設の管理区域にてプラスミドを用いて大腸菌 DH5α を形質転換した。形質転換体を液体培養し、グリセロールストックを作製した。グリセロールストックを大量培養し、150 バイアルの MWCB が GMP 遵守下で作製された。プラスミド MWCB の作製においては組成と品質が確認された培地及び試薬が使用された。なお、作製に使用する培地及び試薬等を含めた詳細な製造工程、培養条件及び保存条件等を参考資料 2「プラスミド MWCB 作製方法」に記載する。

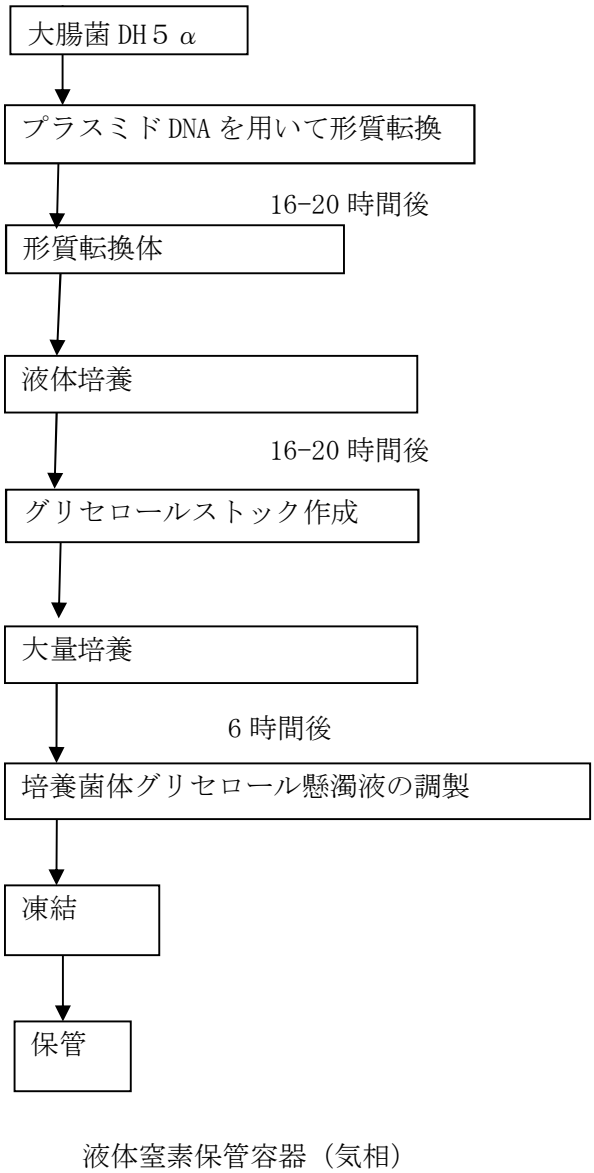

図８　プラスミド Master Working Cell Bank (MWCB)作製フローチャート

作製された MWCB に関しては、以下の品質試験が行われた（参考資料 3-5「pAAV-hAADC-2 プラスミド MWCB の品質試験及び結果」「pRC-BI-khB342-2 プラスミド MWCB の品質試験及び結果」「pHelper プラスミド MWCB の品質試験及び結果」参照)。

1. 生菌数試験
2. コロニー形態試験（単一性試験）
3. プラスミド DNA 保持率試験
4. プラスミド DNA 制限酵素地図試験

5.　　プラスミド DNA 塩基配列試験

VII.1.1.2 プラスミドベクターの製造

プラスミドベクターの製造フローを図 9 に示す。作製したマスターワーキングセルバンク（MWCB）を株式会社 AMBiS の GMP 製造施設の管理区域にて拡大培養する。培養後、回収した菌体はアルカリ SDS 処理し、遠心後上清液を回収する。さらにゲル濾過クロマトグラフィー、イオン交換クロマトグラフィーを行い、膜濃縮処理にて最終組成バッファーに置換する。バッファー置換後、濃度調整を行い無菌濾過処理後、2 mL クライオバイアルに目標 250μg/バイアルとなるように充填する。充填後、－80℃にて凍結保存する。

プラスミドベクターの製造においては組成と品質が確認された培地及び試薬が使用された。なお、作製に使用する培地及び試薬等を含めた詳細な製造工程、培養条件を参考資料 6「プラスミドベクターの製造方法」に記載する。

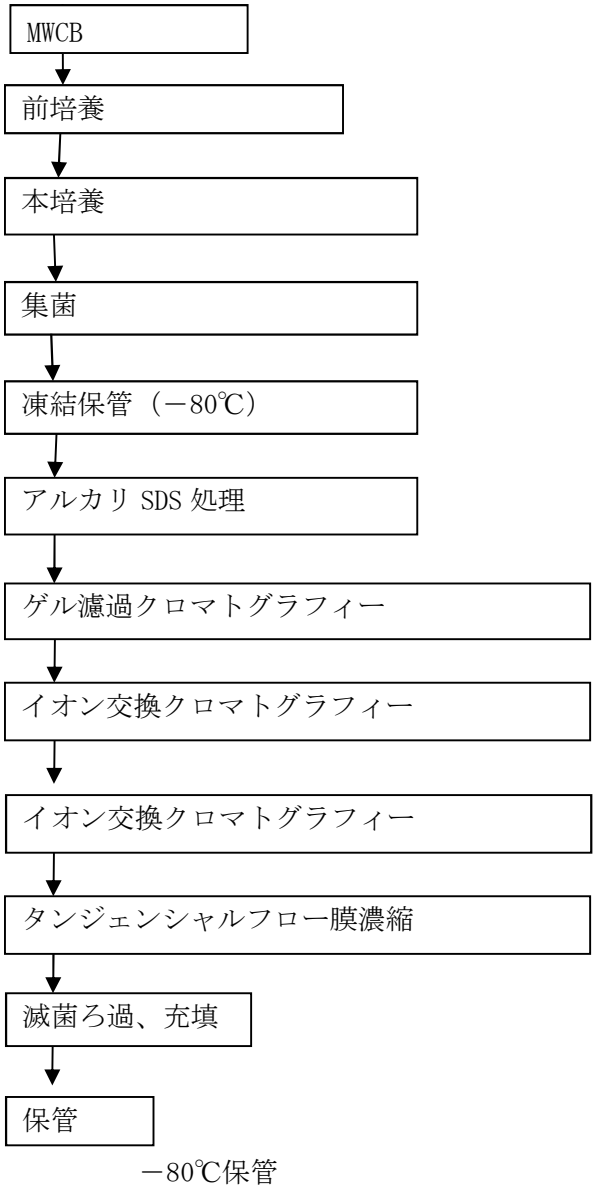

図 9　プラスミドベクター 製造フローチャート

製造されたプラスミドベクターに関しては、以下の品質試験が行われた（参考資料 7-9「pAAV-hAADC-2 プラスミドベクターの品質試験及び結果」「pRC-BI-khB342-2 プラスミドベクターの品質試験及び結果」「pHelper プラスミドベクターの品質試験及び結果」参照）。

1. 性状試験
2. DNA 濃度及び純度試験
3. pH 測定試験

4. エンドトキシン試験
5. 制限酵素地図試験
6. 塩基配列試験
7. 純度試験（電気泳動法）

VII.1.1.3 293T/17 MCB の作製

293T/17 MCB の作製フローを図 10 に示す。タカラバイオ株式会社の GMP 製造施設の管理区域にて 1 バイアルの 293T/17 MCB 用シードセル（ATCC CRL-11268）より拡大培養され、最終的に 56 バイアルの 293T/17 MCB が Good Manufacturing Practice (GMP)遵守下で作製された。293T/17 MCB の作製においては組成と品質が確認された培地及び試薬が使用された。なお、作製に使用する培地及び試薬等を含めた詳細な製造工程、培養条件を参考資料 10「293T/17 MCB の作製方法」に記載する。

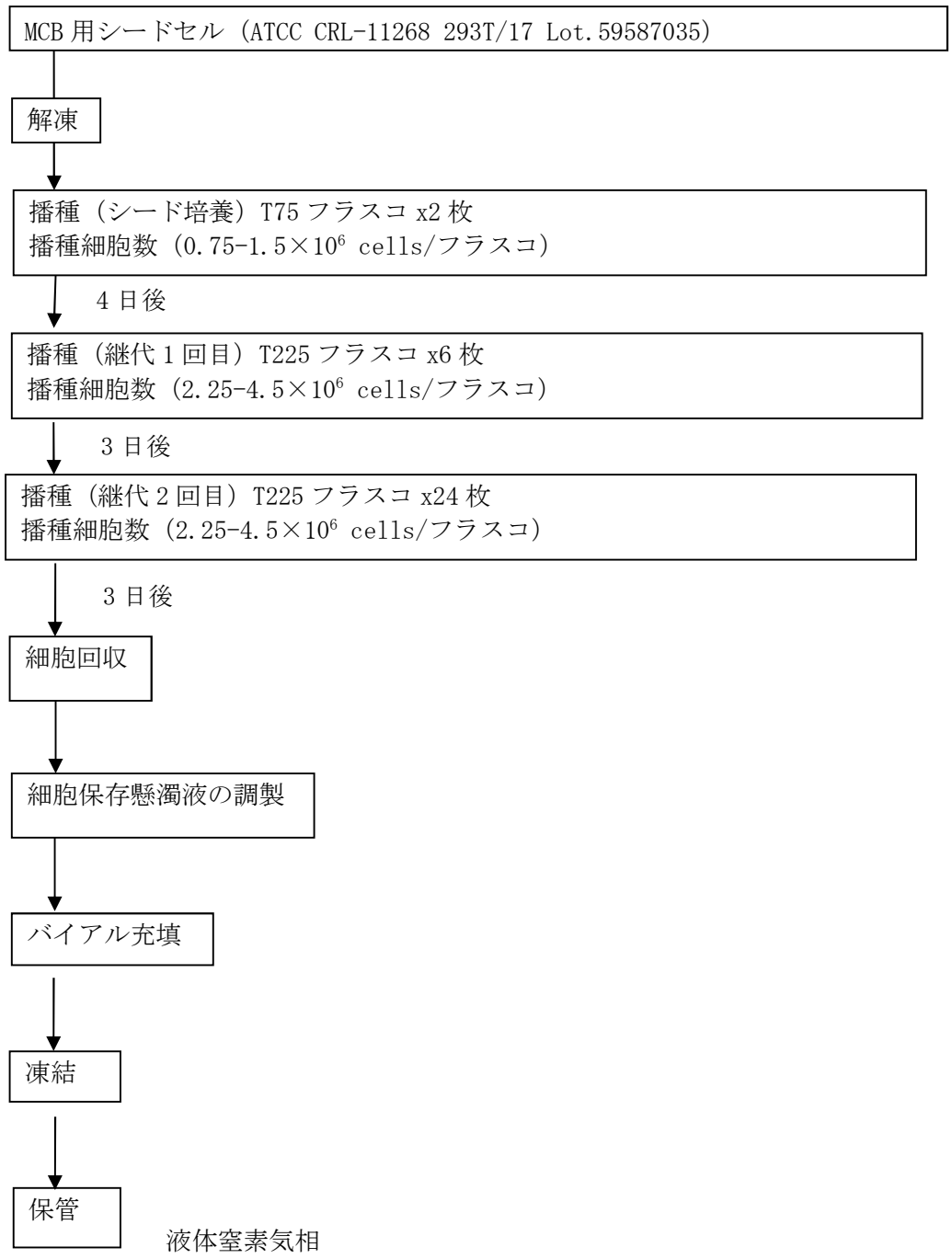

図 10　293T/17 MCB 作製フローチャート

作製されたMCBに関しては、以下の品質試験が行われた（参考資料12「293T/17 MCB試験成績書」参照）。なお、品質試験の概要は、参考資料11「293T/17 MCBの品質試験および結果」に示す。

1. 細胞生存率試験（トリパンブルー法）
2. アイソザイム分析による細胞の由来動物種同定
3. マイコプラズマ否定試験（欧州薬局方）
4. 無菌試験
5. *in vitro* ウイルス試験
6. *in vivo* ウイルス試験
7. *in vitro* ウシウイルス／ブタウイルス試験
8. 形質転換試験
9. レトロウイルス粒子試験
10. *in vitro* レトロウイルス試験（培養法）
11. *in vitro* レトロウイルス試験
12. PCV/BCV ウイルス否定試験
13. HIV-1/2 ウイルス否定試験
14. HTLV-1/2 ウイルス否定試験
15. HAV ウイルス否定試験
16. HBV ウイルス否定試験
17. HCV ウイルス否定試験
18. HHV-6/7/8 ウイルス否定試験
19. hCMV ウイルス否定試験
20. EBV ウイルス否定試験
21. HPV B-19 ウイルス否定試験
22. SV40 ウイルス否定試験
23. AAV ウイルス否定試験

VII.1.1.4 293T/17 WCBの作製法

293T/17 WCBの作製フローを図11に示す。タカラバイオ株式会社のGMP製造施設の管理区域にて1バイアルのマスターセルバンク（293T/17 MCB）より拡大培養され、最終的に183バイアルの293T/17 WCBがGMP遵守下で作製された。293T/17 WCBの作製においては組成と品質が確認された培地及び試薬が使用された。なお、作製に使用する培地及び試薬等を含めた詳細な製造工程、培養条件及び保存条件等を参考資料13「293T/17 WCBの作製方法」に記載する。

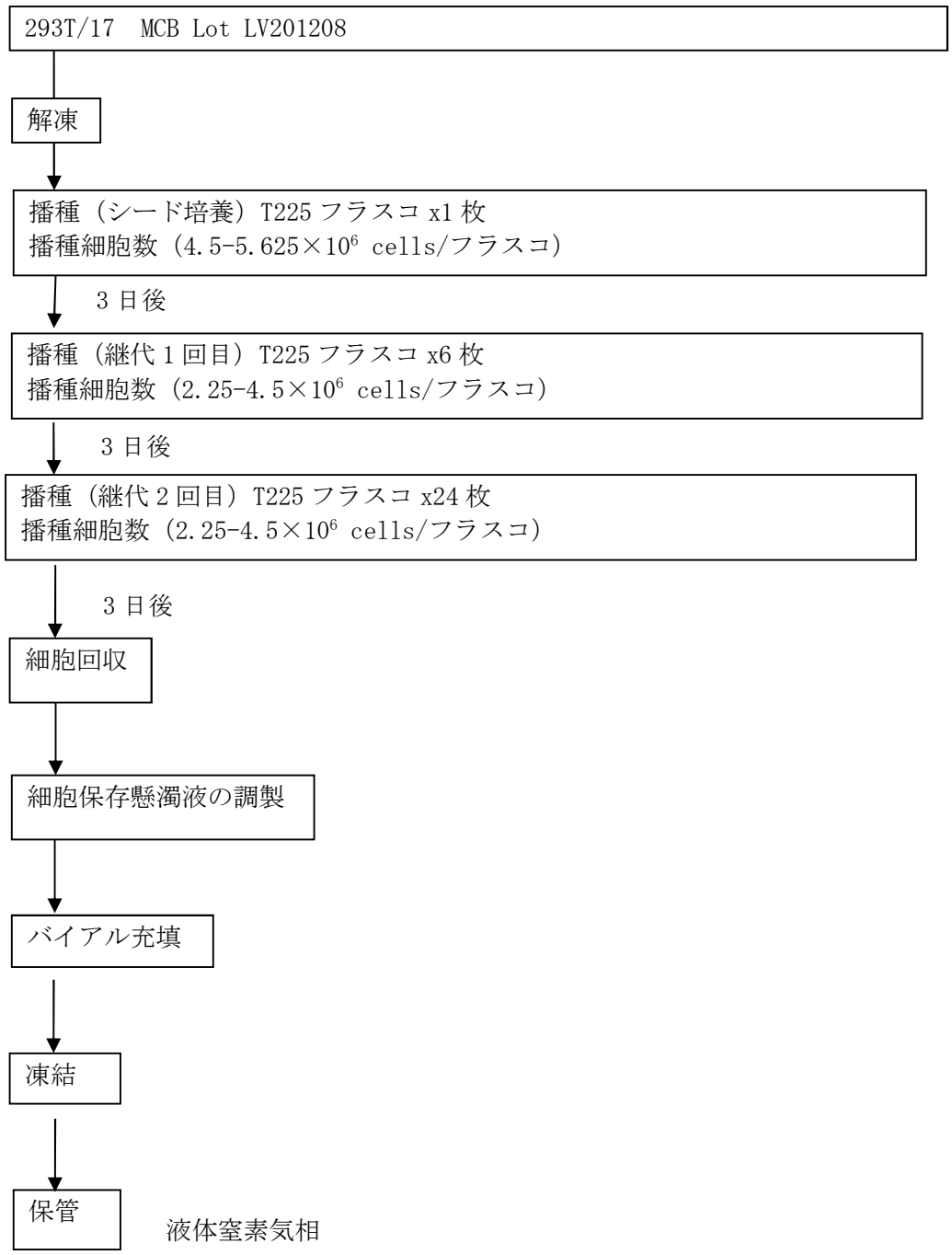

図 11　293T/17 WCB 作製フローチャート

作製された 293T/17 WCB に関しては、以下の品質試験が行われた（参考資料 15「293T/17 WCB 試験成績書」参照）。なお、試験方法の概要は、参考資料 14「293T/17 WCB の品質試験および結果」に示す。

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

VII.1.1.5 AAV-hAADC-2 の製造方法

AAV-hAADC-2 の製造フローを図 12 に示す。AAV-hAADC-2 の製造は、1 バイアルの 293T/17 WCB を用いて行う。WCB の細胞を解凍後、培養を開始し、製造に必要なスケールまで増殖させる。培養用容器において培養細胞が接着面のおよそ 50～80%に広がった状態に達した後、リン酸カルシウム法により 3 種のプラスミドを導入する。導入翌日、培地を交換し生産培養を経て生産細胞を回収する。回収した細胞は、-80℃で保存して抽出・精製工程に用いる。ウォーターバスにて生産細胞を解凍・ベクター抽出後、粗精製処理を行い、セシウム密度勾配超遠心によって精製し、-80℃で保存する。精製品は解凍後タンジェンシャルフローフィルトレーション（TFF）によってバッファー交換を行い、これをバルク製品として-80℃で凍結する。バルク製品は解凍後濃度調製を行い 0.22μm のフィルターにより最終濾過滅菌を行ってクライオバイアルに充てんし-80℃で保存したものを最終製品とする。

製造に使用する培地及び試薬等を含めた詳細な製造工程、培養・精製条件及び保存条件等を参考資料 17「AAV-hAADC-2 の製造方法」に記載する。製造は全てタカラバイオ株式会社の GMP 製造施設の管理区域（参考資料 16「製造施設（位置・構造設備）」）にて GMP 遵守下で行われる。また、タカラバイオ社の製造施設から自治医科大学附属病院へのウイルスベクターの輸送は、凍結・ドライアイス詰で、輸送中の温度変化をモニター・記録して行う。

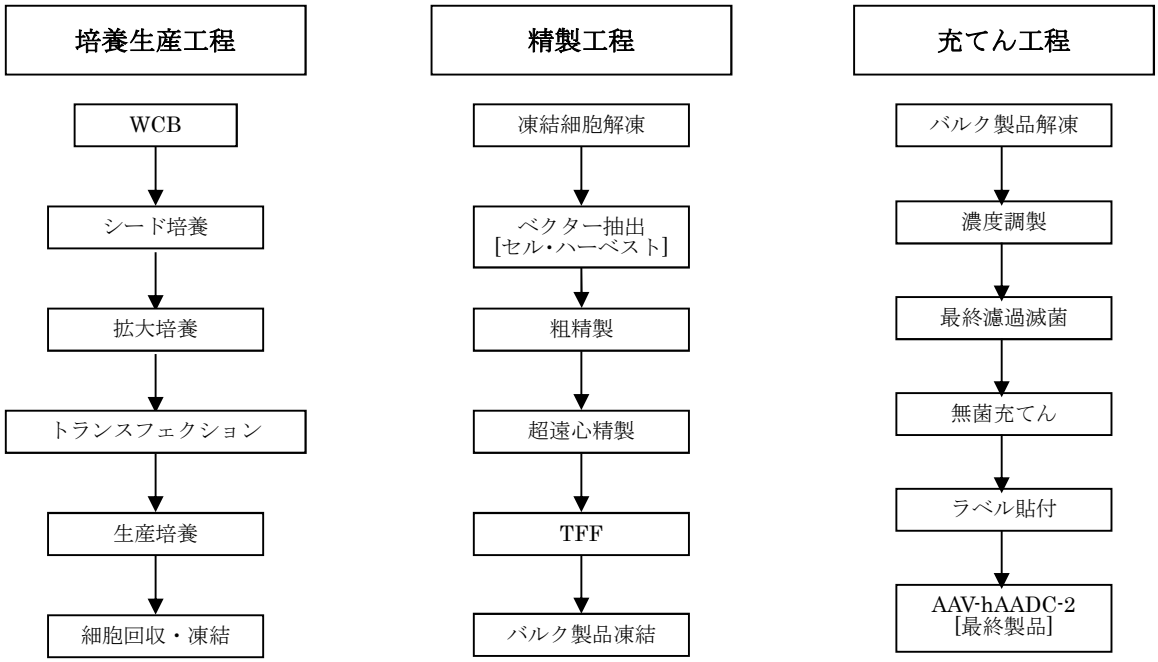

図 12　AAV-hAADC-2 の製造フロー

AAV-hAADC-2 に関しては、以下の品質試験を行う（1 ロットの結果を参考資料 19「AAV-hAADC-2 試験成績書」に示す）。なお、品質試験方法の概略は、参考資料 18「AAV-hAADC-2 の品質試験及び結果」に示す。

工程内（セル・ハーベスト）

1. *In vitro* ウイルス試験
2. マイコプラズマ否定試験（欧州薬局方）

バルク製品

1. ベクターゲノム濃度試験

最終製品

1. ベクターゲノム濃度試験
2. エンドトキシン試験
3. 純度試験

4. 導入効率試験
5. 感染力価試験
6. 性状試験
7. pH 試験
8. 浸透圧試験
9. 無菌試験
10. ウイルスベクター純度試験（電子顕微鏡）
11. 塩基配列試験
12. oriDNA 配列定量試験（Q-PCR 法）
13. rcAAV 否定試験
14. セシウム残留試験
15. キャプシド率試験
16. ヒトゲノム DNA 残留試験
17. ベンゾナーゼ残留試験

VII.1.2　患者に投与する AADC 遺伝子の純度およびその安全性

ベクターは最終濃度 0.05 %未満の Poloxamer 188 を含む pH 7.4 の PBS 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内に浮遊しており、患者に投与する際には必要に応じて生理食塩水でベクター溶液を希釈する。PBS はリン酸水素二ナトリウム-リン酸二水素カリウム緩衝生理食塩水である。これらの物質はいずれも国内で医薬品添加物としての使用実績があり、国内承認注射用医薬品、欧州薬局方もしくは米国医薬品集の生物学的製剤の製造に適合する製品、又は cGMP 下で製造された製品を使用する。いずれも同一投与経路での承認前例は無いが、静脈内投与、筋肉内投与あるいは皮下注射等での最大使用量を超えない投与量にて使用する。

VII.1.3 増殖性ウイルスの出現の可能性

元来野生型の AAV は単独では複製できず、複製するためにはアデノウイルスや単純ヘルペスウイルスなどのヘルパーウイルスの存在を必要とする。さらに AAV ベクターは構築の段階でウイルス由来の遺伝子の大部分が除去されているため、ヘルパーウイルスが存在しても複製することはできない。唯一の可能性としてベクター作製時に非相同組換えにより増殖性ウイルスが出現することが考えられるが、ITR をコードする DNA 断片と Rep、Cap をコードする DNA 断片は異なったプラスミド上にあり、その可能性は極めて低いと考えられる。AAV ベクターAAV-hAADC-2 の試験項目に rcAAV 否定試験が含まれており、増殖性ウイルス陰性の AAV ベクターのみ臨床使用する。

VII.1.4 遺伝子導入に用いる AAV ベクターの細胞傷害性

AAV ベクターを用いた場合の細胞傷害性は一般的に低い。本臨床研究に用いる濃度以上の AAV ベクターをサルの脳内に注入した前臨床研究では、細胞傷害性は認められなかった。これまで血友病 B に対して行われた臨床研究においては、AAV ベクターの肝臓への遺伝子導入を行った 2 例で軽度の肝逸脱酵素の一過性上昇が認められたが[28]、骨格筋内への注入では悪影響は認められていない。パーキンソン病に対する AAV ベクターによる遺伝子治療については、これまでにベクターに関連する副作用は報告されていない。今回の治療により細胞傷害が起こる可能性は極めて低いものと考えられる。

VII.1.5 体内の標的細胞以外の細胞への遺伝子導入の可能性

AAV ベクターを用いた血友病 B の臨床研究において、肝動脈経由でベクターを投与した際に、数週間精液中へのベクターの排出が認められた。しかしながら、その後の検討で、生殖細胞に対して高力価のベクターを作用させた場合にも、遺伝子導入が起こる可能性は極めて低いことが示された[29]。本臨床研究では血友病の臨床研究に用いられた量のおおよそ 1/100 程度の量のベクターを頭蓋内に局所投与するものであり、標的とした神経細胞以外に顕著な遺伝子導入が起こる可能性は低い。サルの脳へのベクター投与実験（最大投与量：4.35×10^{10} vg）では脾臓、心臓、肝臓、卵巣へのベクターゲノムの取込みは認められなかった。

VII.1.6 患者以外の人に遺伝子が導入される可能性

本臨床研究では血友病の臨床研究に比べて極めて少ない量のベクターを局所に投与することから、ベクターを投与した患者から有意な量のベクター排出がみられる可能性は低いと考えられる。しかしながらベクターが排出された場合には、本臨床研究の対象となる患者以外に感染する可能性を否定することはできない。ベクター拡散の可能性を最小限にするために、本臨床研究の対象患者はベクター投与後、一定の方法で隔離する。また、患者の血液は PCR 法でベクターDNA が陰性になるまで検査する（「IX.5.4. 臨床検査および観察項目」を参照のこと）。 なお、当施設で施行されたパーキンソン病遺伝子治療臨床研究においては、被験者 6 人全員 3 日間体外へのベクターの排出が認められないことを確認した後、一般病棟へ移動した。

VII.1.7 染色体内へ遺伝子が組み込まれる場合の問題点

AAV ベクターは遺伝子が導入された細胞の染色体に組み込まれる可能性があるが、その確率や程度は著しく低いものと推定される。宿主細胞の DNA に組みこまれた結果として最も懸念されるのは、外来遺伝子の挿入によりがん遺伝子が活性化したり、がん抑制遺伝子が不活化されたりすることで発がんの危険性が高まることである。遺伝子導入の結果として染色体内へ遺伝子が組み込まれる可能性は完全には否定できないが、極

めて低いものと思われる。また、今回遺伝子導入の標的とするのは非分裂細胞と考えられるニューロンであることから、遺伝子を導入した細胞が腫瘍化する危険性は低いものと考えられる。

VII.1.8 がん原性の有無

元来、非常に高率（～80%）に肝細胞癌を生じるマウスに AAV ベクターを投与した際に、肝細胞癌の発生率が上昇したという報告[30]があるが、通常の動物では癌原性はほとんどないと考えられる[31]。

VII.2 遺伝子産物の安全性

AADC は、正常でも線条体内のドパミンニューロン終末に存在する酵素である。本臨床研究では、遺伝子変異により本酵素が先天的に合成できずに欠損している患者において、酵素を発現するものであり、遺伝子発現における安全性は高いと考えられる。また、AADC は、L-dopa をドパミンに変換すると共に、5-HTP を基質としてセロトニンを生成する。よって、ドパミン、セロトニンの合成は内因性の L-dopa と 5-HTP に規定され、AADC の過剰発現が起こっても生成されるドパミンとセロトニンの量は生理的範囲内であると予想されるため、これによる副反応は生じないと考えられる。

VII.3 細胞の安全性

VII.3.1 培養細胞の純度

293T/17 細胞は VII.1.1.3 及び VII.1.1.4 に示すようにタカラバイオ社の GMP 製造施設における管理区域内でマスターセルバンク並びにワーキングセルバンクが作製されて使用される。各セルバンクの品質試験において、細菌、真菌、マイコプラズマ、ウイルス等による汚染の有無についてテストされ、安全性が確認されている。細菌および真菌については直接培地に接種する培養法により、細菌、真菌の増殖を認めず、安全であることが確認された。マイコプラズマに関しては寒天培地及び液体培地を用いた培養法および Vero 細胞を用いた DNA 染色法のいずれでも検出されず安全であることが確認された。ウイルスについては MCB を検体として *in vitro*、*in vivo* でウイルスの増殖試験を行ったがウイルスの感染を示す徴候は検出されず 293T/17 細胞の安全性が確認された。

VII.3.2 細胞の遺伝子型、表現型の安全性

複数の細胞内酵素（Nucleoside phophorylase（NP）、Glucose-6-phosphate dehydrogenase（G6PD）、Malate dehydrogenase（MD）、Aspartate aminotransferase（AST））の発現パターンを電気泳動法によって比較し、他種の細胞の混入の有無をテ

ストし、混入を認めないことを確認している。また実際のベクター作製には 293T/17 ワーキングセルバンクを用いており、表現型が安定している細胞をベクター作製に使用している。

VII.3.3 被験者に投与する細胞の安全性

本計画では被験者に細胞を投与することはない。

VII.4 AAV 以外のウイルスベクターに起因する重篤な有害事象

これまで臨床遺伝子治療における重篤な有害事象の例は二つ報告されている。一つはアデノウイルスベクター全身投与を受けた患者が死亡した例、もう一つはレトロウイルスベクターによる治療を受けた免疫不全症患者に白血病が発症した事例である。

① アデノウイルスベクターによる全身性炎症反応症候群（1999 年、 米国）

1997 年米国ペンシルベニア大学にて、 アデノウイルスベクター肝動脈内投与によるオルニチントランスカルバミラーゼ（OTC）欠損症の遺伝子治療が始まった。ベクター量を漸増しつつ臨床試験を継続していたところ、 第 18 例目の患者（18 才、男性）が血液凝固異常と多臓器不全を起こし 4 日後に死亡した[32]。この症例では、 多量のアデノウイルス全身投与により患者の自然免疫系が強く活性化され、全身性炎症反応症候群（SIRS）と呼ばれる重篤な状態に陥った。一方、より低いベクター量を投与した先行 16 例および本患者と同用量を用いた第 17 例目でもこのような副作用は起こらなかったことから、SIRS の発症には宿主側の要因も寄与していると考えられる[33]。動物実験においても、ウイルス投与量の増加に伴う免疫反応の増大は直線的ではなく、SIRS 発症の予測は難しいことが示されている[34,35]。

② レトロウイルスベクターによる白血病（2002-2005 年、 フランス）

X 連鎖重症複合免疫不全症（X-SCID）は、サイトカイン受容体コモンガンマ鎖（gc）遺伝子の変異により細胞性および液性免疫が高度に障害される疾患である。1999 年からフランスでレトロウイルスベクターを用いた X-SCID の遺伝子治療が始まり、大半の患者が免疫能を獲得して通常の生活を送れるようになった。ところが、同国で治療を受けた患者 15 名のうち、約 3 年後に 3 名が T リンパ性白血病を発症し、1 名が死亡した。2002 年に発症した 2 例では、患者染色体中の LMO2 原癌遺伝子の近傍にレトロウイルスが組み込まれ、その異常活性化が癌化の引き金となった[36]。最近報道された白血病第 3 例についての詳細は不明だが、LMO2 とは異なる部位へのベクター組み込みによるらしい[37]。レトロウイルスベクターによる挿入発癌の危険性は従来から指摘されてきたが、これまで世界中でレトロウイルスが投与された数千名の患者のうち実際に発癌に至ったのは X-SCID の事例だけである。

細胞の癌化には複数の遺伝子異常が蓄積する必要があり、1 個の原癌遺伝子活性化だけでは不十分である。X-SCID の場合、治療用の gc 遺伝子自体が強力な T リンパ球増殖作用を持つという特殊事情が重なって白血病を発症したと考えられる[38]。

本臨床研究が上記と異なる点

上記有害事象①を引き起こしたアデノウイルスは、現在臨床で用いられている遺伝子治療ベクターの中では最も免疫原性・炎症惹起性が強く、全身投与については特に慎重を期すべきであるが、死亡した患者の術前の状態は必ずしも良好ではなかったようである。一方、アデノ随伴ウイルス（AAV）は野生型にも病原性がなく、免疫原性もアデノウイルスに比べて格段に弱い。しかも、AADC 欠損症に対する本遺伝子治療では脳内の線条体に限局してベクターを注入するので、血管内にベクターを注射するのに比べて、全身の反応はさらに出にくいと考えられる（注 1）。

一方、本臨床研究では以下に掲げるいくつかの理由から、上記有害事象②のようなベクター挿入発癌の危険性はきわめて小さいと考えられる。第一に、ベクター化した AAV には、 染色体に遺伝子を組み込む力は殆どない。第二に、ベクターを投与する脳内の大部分の細胞、特に標的となる神経細胞は既に増殖能力を失っている。一部の造血系由来の細胞（ミクログリアなど）は分裂能力を有しているが、2 型 AAV はこれらの細胞に殆ど感染できない。第三に、本ベクターで発現させる AADC には、細胞増殖促進やアポトーシス抑制などのシグナル伝達機能がなく、X-SCID 遺伝子治療における gc 遺伝子の作用とは根本的に異なる。以上の点から、AADC 発現 AAV ベクターが患者の同一細胞染色体の複数箇所に組み込まれて発癌に至る可能性は非常に小さいと予想される。

注 1:　ただし、大動物における AAV の急性毒性の閾値は今のところ不明である。サルへの AAV8 門脈内投与自験例では、少なくとも 1×10^{12} vg/kg までは明らかな副作用は観察されなかった。
一方サルへのアデノウイルス投与については、5×10^{12} vg/kg を越えると急性毒性を示す[39]が、Jessie Gelsinger はこれよりも少ない投与量（6×10^{11} vg/kg）で死亡した。

VIII 遺伝子治療臨床研究の実施が可能であると判断した理由

VIII.1 臨床ニーズ

AADC 欠損症は、進行により、発語がなく、臥床状態のままで、ジストニアやミオクロニーなどの不随意運動や睡眠障害も強く、苦痛が大きい疾患である。典型的患者に

おける治療法はなかった。台湾での遺伝子治療の成功例が報告されたことから、日本人患者に対してもAADC欠損症に対する遺伝子治療実施が求められている。

日本では4人の患者が確認されており、患者家族の強い要望もあり、本臨床研究を計画したが、その後さらに2例の患者が確認された。

VIII.2 本臨床研究の品質、安全性

台湾において、本臨床研究と同じベクターを用いたAADC欠損症に対する遺伝子治療が4例に実施され、効果が得られている。また、重篤な副作用は出現していない。自治医科大学で、本臨床研究と同じベクターを用いたパーキンソン病に対する遺伝子治療が6例に対して実施され、効果が得られている。うち1名に手術後、静脈性脳出血が認められたが、総括責任者はカニューレの挿入に伴う外科的手技が原因と判断し、AAVベクターとの関連性は否定された。

本臨床研究で実施した6例においても、軽度の舞踏病様運動以外に問題となる有害事象は起きていない。

世界的に、AAVベクターを使用した血友病、嚢胞性線維症、その他多くの疾患に対する臨床試験が行われており、これまで2型AAVベクターに関連した副作用は報告されていない。

VIII.3 本臨床研究の期待される有効性

AADC欠損症患者の運動機能が改善することが期待される。

VIII.4 当施設・研究者の能力

申請者らは、AAVベクターを使用した多くの研究を行っており、ベクターの扱いに習熟している。また、パーキンソン病患者に対して視床下核の深部電気刺激を施行しており、定位脳手術の手技を確立していると共に機能的定位脳手術認定施設として日本定位・機能神経外科学会より認定されている。小児に対する経験もある術者が実施する。

術後管理に関しても、治療後は状態が安定するまで自治医科大学とちぎ子ども医療センターPICUで管理する。小児の全身管理に習熟しており、無呼吸等の合併症があっても対応可能である。

以上のことから、本臨床研究の実施は理論的にも、実質的にも可能と思われる。

IX 遺伝子治療臨床研究の実施計画

IX.1 遺伝子治療臨床研究を含む全体の治療計画

IX.1.1 本臨床研究の実施に際し自治医科大学附属病院内に設置される委員会

本臨床研究について、遺伝子治療臨床研究に関する指針（平成27年厚生労働省告示第344号）に基づき審査を行うため、附属病院内に自治医科大学附属病院遺伝子治療臨

床研究審査委員会（以下、「委員会」）を設置する。委員会の設置に関しては、自治医科大学における遺伝子治療等臨床研究に関する規程に従うものとする。

IX.1.2 本臨床計画の実施手順

本臨床研究は抽出を行わない単一用量非対照オープン試験である。遺伝子導入手術は自治医科大学附属病院手術室で、術前・術後管理は自治医科大学とちぎ子ども医療センターで行う。親権者からのインフォームドコンセントが得られた患者に対し、治療を実施する。

(1) 本臨床研究の目的

臨床研究の主要評価項目は、AADC 欠損症患者被殻内への AAV-hAADC-2 注入療法の安全性である。副次的評価項目は、① AAV-hAADC-2 注入療法の有効性であり、その判定は発作記録と臨床的評価に基づいて行う。かつ、②被殻注入 AAV-hAADC-2 の発現量も副次的評価項目とし、FMT-PET によって判定する。

(2) AAV-hAADC-2 の投与方法

AADC 欠損症患者の線条体（被殻）に、定位脳手術の手法によって AAV-hAADC-2 を注入する。対象患者は 8 例を予定し、新たに診断された患者は随時追加実施を検討する。AAV-hAADC-2 の注入量は $1x10^{12}$vg/mL の濃度で、1 箇所あたり最大 50μL を被殻内の 4 箇所に分けて注入する。具体的には片側の被殻あたり 2 箇所、両側で計 4 箇所に各々最大 50μL を注入する。注入量（vector genomes：vg）は 1 症例あたり 200μL で 2×10^{11} vg である。

(3) 前治療薬および併用薬

臨床研究治療実施日の 4 週間以前より服用している薬を前治療薬、Base line から終了または中止時の観察及び検査日までに使用した全ての薬を併用薬とする。

ドパミン受容体遮断作用を有する薬剤、免疫抑制剤、抗凝固薬、抗血小板薬、他の治験薬は Base line の 4 週間前より本臨床研究が終了するまで原則として使用してはならない。筋緊張緩和薬、抗てんかん薬は Base line の 4 週間前から評価 6（Month 3）まで変更してはならない。ただし遺伝子治療後に薬剤の効果が過剰になった場合には減量する。

(4) 対象患者

対象は当院および研究協力機関に通院中で、髄液検査、酵素活性測定、あるいは遺伝子診断で診断が確定されている AADC 欠損症患者 8 例とする。新たに診断が確定した患者が出た場合には、追加実施する。

(5) 評価項目（資料 1）

① 患者情報調査　（家族に記載依頼）

発作記録 － oculogyric crisis およびてんかん発作の頻度、持続時間

自律神経症状　発汗、体温、脈、血圧、下痢の記録

② 一般身体所見（バイタルサインを含む）

③ 神経学的所見（乳幼児神経学的検査チャートを使用）

④ 運動機能評価スケール　Alberta Infant Motor Scale(AIMS)

ビデオ撮影

⑤ 認知機能・発達検査　　新版 K 式発達検査

⑥ 有害事象

⑦ 併用薬

⑧ 臨床検査（血液検査、凝固検査、生化学検査、免疫検査、PCR 分析）

血液検査	赤血球数、ヘモグロビン、ヘマトクリット、MCV、MCH、MCHC、白血球数、好中球数、リンパ球数、単球数、好酸球数、好塩基球数、血小板数
凝固検査	PT、aPTT、INR
生化学検査	BUN、クレアチニン、Na、K、Cl、血糖、総蛋白、アルブミン、総ビリルビン、GOT（AST）、GPT（ALT）、Al-P、GGT（γGTP）
免疫検査	AAV 抗体、AADC 抗体
PCR 分析	患者の血液に対し、連続 2 検体が陰性になるまで、採取と分析を継続する。

⑨ 心電図

⑩ AADC のトレーサーである FMT を使用した脳の PET スキャン

⑪ 脳の MRI、CT

⑫ 脳波

⑬ 髄液検査

髄液圧、細胞数、蛋白、糖

L-Dopa、Dopamine、HVA、5HIAA

(6) 評価スケジュール（資料 4）

IX.2 被験者の選択基準および除外基準

総括責任者あるいは総括責任者が指名した研究者は、本臨床研究を開始するに先立ち、被験者が選択基準に合致し除外基準に抵触しないこと、インフォームドコンセントが得られていることを確認しなくてはならない。対象者は、本臨床研究にエントリーする前に、以下に示す選択基準の全ての項目を満たし、かつ除外基準のいずれにも該当しないものとする。

IX.2.1 選択基準

① 運動機能障害、ジストニア等の症状を持つ、AADC 欠損症患者で、髄液検査所見、酵素活性測定あるいは遺伝子診断のいずれかにより診断が確定している者。
② 治療実施時年齢 2 歳以上。年齢の上限は設定しない。
③ 他の神経変性疾患を示唆する所見を認めない患者
④ 治療後の頻回の診察を含め、臨床研究に必要な条件を遵守することが可能なこと
⑤ 臨床研究治療を実施する前の少なくとも 1 か月間、内服薬を変更しないこと
⑥ 患者の親権者から、インフォームドコンセントが得られること

IX.2.2 除外基準

① 脳血管障害をはじめ、明らかな心血管系疾患を有する患者
② 脳内の悪性新生物、臨床的に明らかな他の神経疾患の合併
③ 5 年以内の、治療済みの皮膚がんを除くその他の悪性腫瘍の病歴
④ コントロールされていない高血圧、具体的には収縮期血圧 160 mmHg 以上
⑤ 血液凝固異常症、あるいは抗凝固療法が必要な患者
⑥ 臨床的に明らかな免疫異常症（例えば免疫抑制薬が必要な症例）
⑦ MRI が撮影できない患者
⑧ FMT-PET で異常所見を認めない症例
⑨ 重篤な薬物アレルギーの既往のある患者
⑩ 過去 6 か月以内に、本臨床研究、他の臨床研究、治験のいずれかに参加したことのある患者
⑪ 以下のコントロールが困難な疾患を合併する患者
  a) 高度な腎障害患者（血清クレアチニン＞2.0 mg/dl かつ BUN＞25 mg/dl）
  b) 高度な肝障害（AST/GOT あるいは ALT/GPT が正常域上限の 2.5 倍以上）
  c) コントロールが困難な糖尿病患者（随時あるいは食後血糖値＞200 mg/dl かつヘモグロビン A1c＞9 %）

⑫　全身状態が重篤な状態である患者
⑬　その他、総括責任者が本臨床研究の対象として不適当と判断した患者

IX.2.3 対象者の参加取りやめ

全ての対象者は本臨床研究のいかなる時点においても、不利益を被ることなく、本臨床研究への参加を取りやめることができる。この場合であっても、安全性に関する経過観察は、対象者に受け入れ可能な方法で実施すべきものとする。

IX.3 倫理的事項

IX.3.1 被験者の保護

本臨床研究に関係するすべての研究者は「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」（平成 26 年文部科学省・厚生労働省告示第 3 号、平成 29 年 2 月 28 日一部改正）（及びヘルシンキ宣言（2009 年韓国ソウル）に従って本臨床研究を実施する。

本プロトコールでの「医療機関」は、上記指針における「研究機関」に対応する。

IX.3.2 被験者の同意取得方法

本臨床研究の対象者は、未成年で、あるいは未成年でなくても、発語がないかわずかであり、書字も不可能で、意思表示が困難であるため、同意を得ることは不可能である。よって、親権者を代諾者として承諾を得る。被験者の親権者に対して、臨床治療研究実施医師より、臨床研究「AADC 欠損症に対する遺伝子治療」参加のしおり（資料 2）を基にして十分な説明を行う。さらに、研究実施医師と利害関係のない自治医科大学附属病院臨床研究センターのコーディネーターが、研究実施医師とは独立してわかりやすく説明を行い、自由意思による同意を文書にて得ることとする。

【患者（代諾者）への説明事項】
1）病名、病期、推測される予後に関する説明
2）本研究が臨床研究であること
3）本臨床研究のデザイン及び根拠（rationale：意義、登録数、必要性、目的）
4）臨床研究治療の内容
　治療用ベクター、投与法、投与量、臨床研究全体の期間など
5）臨床研究治療により期待される効果
6）遺伝子治療及び侵襲を伴う検査（PET スキャン、CT、MRI、髄液検査など）並びにこれらを実施する際の麻酔に伴う有害事象、合併症、後遺症とその対処法について
　合併症、後遺症、治療関連死を含む有害事象の程度と頻度、及びそれらが生じた際の対処法に関する説明

7）費用負担と補償

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

8）代替治療法

現在の一般的治療や標準治療法の内容、効果、毒性など代替治療を選択した場合の利益と不利益

9）予想される利益と可能性のある不利益について

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

10）病歴の直接閲覧について

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

11）同意拒否と同意撤回

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

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

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

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

12）人権保護

氏名や個人情報は守秘されるための最大限の努力が払われること

13）臨床研究に関わる利益相反

各々の研究者が本研究に関する利益相反の有無の申告書を提出していること

利益相反があっても、それにより研究の倫理性及び科学性がゆるがないこと

14）研究に関わる費用

本研究、またはその一部が研究費によって行われること。すなわち、臨床研究治療の実施に関わる急性期の治療費、検査費、入院費は本研究グループが負担すること

15）研究成果の公表

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

16）データの二次利用

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

17）知的財産権の帰属

本臨床研究から生じる知的財産権は研究者に帰属すること

18）研究組織

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

19）質問の自由

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

代諾者の同意

本臨床研究の開始に先立ち、総括責任者、又は分担研究者が代諾者より文書による同意を得る。代諾者が臨床研究参加に同意した場合、本臨床研究の同意書を用い、説明をした医師名、説明を受け同意した患者と代諾者名、同意を得た日付の記載があることを確認する。同意の取得に際しては質問の機会と、本臨床研究に参加するか否かを決断するのに充分な時間を与え、全ての疑問点に関して被験者が満足する様に説明する事とする。また、別途定めた自治医大附属病院臨床研究センターに属する看護師の資格を有する施設コーディネーターが説明補助を行うものとする。同意文書は 2 部写しを作成し、1 部は患者・代諾者に手渡し、1 部は施設コーディネーターが保管する。原本はカルテに保管する。

IX.3.3 被験者の安全性確保および健康被害補償

A. 安全性確保

a. 安全性を確保するために、遺伝子導入は入院して実施し経過観察を密に行う計画である。

b. さらに、本実施計画書の IX.5.5「予測される副作用およびその対処方法」に則って適切に対応する。

B. 健康被害補償

本臨床研究に関連して副作用等、本臨床研究と因果関係を有する健康被害が生じた場合の補償に関しては以下のように対応する。

a. 急性期および症状が固定または治癒するまでの治療費、検査費、入院費は本研究グループが負担する。これは他の医療機関で治療された場合にも適用する。

b. 但し、医療費以外の実費や、副作用等による症状が固定した後の治療費を含む費用については補償しない。

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

遺伝子治療実施後は、後述する各種検査を実施するが、通常の医療も継続して実施する。

IX.4 実施期間および目標症例数

IX.4.1 予定登録数・登録期間・追跡期間

目標症例数は 8 例とし、必要に応じて追加可能とする。研究実施期間は本臨床研究が承認されてから 2020 年 3 月 31 日まで、被験者登録期間は 2019 年 4 月 1 日までとする。臨床研究としての安全性及び効果判定の期間はベクター投与時から 9 か月間とするが、ベクター投与後 5 年間は年に 1 回以上の臨床的評価を、さらに 15 年後までは年 1 回以上の頻度で安全性に関する情報収集を行う。

IX.5 遺伝子治療臨床研究の実施方法

IX.5.1 対照群の設定方法

本臨床研究は無作為抽出を行わないオープン試験であり、対照群の設定は行わない。

IX.5.2 遺伝子導入方法

被験者は治療開始 10 日前（Day −10）までに自治医科大学附属病院に入院する。遺伝子の導入は定位的脳手術法によって被殻へ直接注入投与する。全ての外科的手技は、不随意運動疾患を対象とした定位的機能神経外科手術の標準的手法に準ずる。原則として、 手術は全身麻酔下に実施することとし、麻酔の実際は同附属病院麻酔科による管理下で実施する。AAV-hAADC-2 の注入目標である被殻は手術に先だって撮影する MRI 画像に基づき解剖学的・空間的位置を同定する。具体的には、同附属病院における通常臨床で使用している定位的脳手術装置並びに定位的脳手術支援ソフトウェア（FrameLink, Medtronic 社）を用いて被殻に AAV-hAADC-2 の注入点 2 ヶ所を設定する。注入点は被殻の中心に近い背外側よりで充分に離れている事を条件として症例ごとの脳画像に基づいて決定する。

頭蓋骨への穿孔は頭蓋骨円蓋部に左右各々1 ヶ所とし、そこを刺入点とし 4 つの目標部位に AAV-hAADC-2 を注入投与する。穿孔位置は通常の定位的脳手術で穿頭する位置に準じて冠状縫合の前方、 正中より約 4 cm の位置を目安とし MRI 画像で脳表から AAV-hAADC-2 注入部位までの経路にて脳血管を回避すべく適宜調整する。注入部位までの穿刺には定位的脳手術装置に取り付けた micromanipulator を用いて AAV-hAADC-2 注入用カニューレを目標点まで刺入する。通常の定位的脳手術手技に則り、X 線透視装置でカニューレ先端位置を確認しながら実施する。

AAV-hAADC-2 を含む溶液は、専用のシリンジポンプを用いて 3 μl/min の速度で注入する。2 ヶ所目の注入が終了したらカニューレを抜去し、2 番目の注入部位にカニューレを刺入する。一つの刺入経路で十分離れた 2 カ所の注入目標を確保することが困難

な場合には、1 カ所目の注入後にカニューレを抜去し、別の経路から刺入し直す。先と同様に AAV-hAADC-2 を含む溶液を標的部位に注入する。対側も同様に、1 つの穿孔部から被殻内 2 ヶ所の目標部位に AAV-hAADC-2 を含む溶液を注入する。4 ヶ所への注入が終了したら、カニューレを抜去した通常の穿頭手術に準じて閉創を行う。頭蓋から定位的脳手術用フレームを取り外して、全身麻酔から覚醒後に頭部 CT 検査を実施し穿刺部位の確認および頭蓋内出血などの合併症の有無を確認する。定位的脳手術装置を含め、手術に用いた全ての医療器具はウイルスの核酸に対する不可逆的アルキル化作用を有するエチレンオキサイドガスを用いた滅菌処理を施す。

IX.5.3 前処置および併用療法の有無

通常の全身麻酔時に行う処置の他には特に前処置を行わない。内服薬の投与量は臨床研究治療を実施する前の 4 週間前から、評価 6（Month 3）までは変更しない。なお適切なリハビリテーションは随時行って良いこととする。

IX.5.4 臨床検査項目および観察項目

IX.5.4.1 検査・観察のスケジュール

遺伝子導入手術後 2 週間（Day 14）までは入院することとする。患者は資料 4 に表示したスケジュールにしたがって評価と臨床検査を受ける。ベクター投与直後 2 日間は個室に隔離し、外出・外泊は認めない。なお投与後 2 日目の時点で PCR 法による検査でベクターDNA を認める場合には、ベクターDNA が陰性になるまで個室への隔離期間を延長する。陰性になれば、スケジュールにしたがって外来における観察を受けることとする。隔離解除後も、投与後 7 日以内の患者に咳嗽・気道分泌物増加等の呼吸器症状、嘔吐・下痢等の消化器症状、頻尿・発熱等の尿路感染症状等が出現した場合は、個室に再隔離し、血液及び分泌物のウイルス検査を行う。個室隔離は、これらの症状が軽快するまで又は検査にて本遺伝子組換え生物の陰性が確認されるまで、医師の判断により必要とされる期間継続する。

PET スキャンは治療前、評価 9（Month 6）、評価 19（Month24）、評価 31（Month60）に実施する。その結果によって、それぞれの用量ごとにどれだけの AADC が発現したかを予測することが可能である。

尚、Base line に関しては、血液、凝固検査、生化学検査以外は、状態に変化がなければ 3 か月前までの検査結果の使用を可能とする。また、治療前の PET スキャンは期限を設けない。頭部 MRI 検査に関しては、原則 3 か月前までに実施とするが、必要に応じて、3 か月より前の検査結果を Base line として使用することも可能とする。

AAV カプシド蛋白質に対する抗体は、Base line、評価 9（Month 6）に患者の血清を採取して測定する。

Baseline

手術直前の評価（Day －30～Day －1）

対象者は Day -10 までには自治医科大学とちぎ子ども医療センターに入院する。

インフォームドコンセント、病歴の聴取、発作記録

一般身体所見（バイタルサインを含む）、神経学的所見

Alberta Infant Motor Scale (AIMS)

ビデオ撮影、新版 K 式発達検査

併用薬、有害事象

PET scan（Day －1 までに実施）、頭部 MRI 検査（Day －90～Day －1）、脳波

臨床検査（血液、凝固検査、生化学、AAV 抗体、AADC 抗体）

PCR 検査

心電図

手術　　（Day 0）

一般身体所見（バイタルサインを含む）、神経学的所見

併用薬、有害事象

頭部 CT 検査：手術直後に実施

（Day 1）

有害事象、PCR 検査、臨床検査（血液、凝固検査、生化学）

（Day 2）

有害事象、PCR 検査

（Day 3）

有害事象、頭部 CT 検査

（Day 7）

有害事象、PCR 検査

評価 1　（Day 7 ± 3 days）　入院中の評価

発作記録、一般身体所見（バイタルサインを含む）、神経学的所見

併用薬、有害事象、頭部 MRI 検査

臨床検査（血液、生化学）

評価 2　（Day 14 ± 3 days）入院中の評価

発作記録、一般身体所見（バイタルサインを含む）、神経学的所見
併用薬、有害事象
臨床検査（血液、生化学）

＜1 年目の経過観察開始＞
評価 3　（Day 28 ± 7 days）Month 1
発作記録、一般身体所見（バイタルサインを含む）、神経学的所見
AIMS
ビデオ撮影、新版 K 式発達検査
併用薬、有害事象
頭部 MRI 検査、脳波
臨床検査（血液、生化学）、髄液検査

評価 4　（Day 42 ± 7 days）
発作記録、一般身体所見（バイタルサインを含む）、神経学的所見
併用薬、有害事象

評価 5　（Day 56 ± 7 days）Month 2
発作記録、一般身体所見（バイタルサインを含む）、神経学的所見
併用薬、有害事象

評価 6　（Month 3 ±14days）
発作記録、一般身体所見（バイタルサインを含む）、神経学的所見
AIMS
ビデオ撮影、新版 K 式発達検査
併用薬、有害事象
臨床検査（血液、生化学）

評価 7　（Month 4 ± 7 days）
発作記録、一般身体所見（バイタルサインを含む）
併用薬、有害事象

評価 8　（Month 5 ± 7 days）
発作記録、一般身体所見（バイタルサインを含む）
併用薬、有害事象

評価 9　（Month 6 ± 14 days）
発作記録、一般身体所見（バイタルサインを含む）、神経学的所見
AIMS
ビデオ撮影 、新版 K 式発達検査
併用薬、有害事象
PET scan、頭部 MRI 検査、脳波
臨床検査（血液、生化学、AAV 抗体、AADC 抗体）

評価 10　（Month 7± 7 days）
発作記録、一般身体所見（バイタルサインを含む）
併用薬、有害事象

評価 11　（Month 8 ± 7 days）
発作記録、一般身体所見（バイタルサインを含む）
併用薬、有害事象

評価 12　（Month 9 ± 14days）
発作記録、一般身体所見（バイタルサインを含む）、神経学的所見
ビデオ撮影 、新版 K 式発達検査
併用薬、有害事象

評価 13　（Month 10 ± 7 days）
発作記録、一般身体所見（バイタルサインを含む）
併用薬、有害事象

評価 14　（Month 11 ± 7 days）
発作記録、一般身体所見（バイタルサインを含む）併用薬、有害事象

評価 15　（Month 12 ± 14 days）
発作記録、一般身体所見（バイタルサインを含む）、神経学的所見
AIMS
ビデオ撮影 、新版 K 式発達検査、脳波
併用薬、有害事象
臨床検査（血液、生化学）

＜2 年目の経過観察開始＞

評価 16　（Month 15 ± 14 days）
発作記録、一般身体所見（バイタルサインを含む）、神経学的所見
併用薬、有害事象

評価 17　（Month 18 ± 14 days）
発作記録、一般身体所見（バイタルサインを含む）、神経学的所見
AIMS
ビデオ撮影 、新版 K 式発達検査
併用薬、有害事象

評価 18　（Month 21 ± 14 days）
発作記録、一般身体所見（バイタルサインを含む）、神経学的所見
併用薬、有害事象

評価 19　（Month 24 ± 14 days）
発作記録、一般身体所見（バイタルサインを含む）、神経学的所見
AIMS
ビデオ撮影 、新版 K 式発達検査
併用薬、有害事象
PET scan、脳波
臨床検査（血液、生化学）

＜3 年目の経過観察開始＞
評価 20　（Month 27 ± 14 days）
発作記録、一般身体所見（バイタルサインを含む）
併用薬、有害事象

評価 21　（Month 30 ± 14 days）
発作記録、一般身体所見（バイタルサインを含む）、神経学的所見
併用薬、有害事象

評価 22　（Month 33 ± 14 days）
発作記録、一般身体所見（バイタルサインを含む）
併用薬、有害事象

評価 23　（Month 36 ± 14 days）

発作記録、一般身体所見（バイタルサインを含む）、神経学的所見
AIMS
ビデオ撮影 、新版 K 式発達検査、脳波
併用薬、有害事象
髄液検査
臨床検査（血液、生化学）

＜4 年目の経過観察開始＞
評価 24　（Month 39 ± 14 days）
発作記録、一般身体所見（バイタルサインを含む）
併用薬、有害事象

評価 25　（Month 42 ± 14 days）
発作記録、一般身体所見（バイタルサインを含む）、神経学的所見
併用薬、有害事象

評価 26　（Month 45 ± 14 days）
発作記録、一般身体所見（バイタルサインを含む）
併用薬、有害事象

評価 27　（Month 48 ± 14 days）
発作記録、一般身体所見（バイタルサインを含む）、神経学的所見
AIMS
ビデオ撮影 、新版 K 式発達検査、脳波
併用薬、有害事象
臨床検査（血液、生化学）

＜5 年目の経過観察開始＞
評価 28　（Month 51 ± 14 days）
発作記録、一般身体所見（バイタルサインを含む）
併用薬、有害事象

評価 29　（Month 54 ± 14 days）
発作記録、一般身体所見（バイタルサインを含む）、神経学的所見
併用薬、有害事象

評価 30　（Month 57 ± 14 days）
発作記録、一般身体所見（バイタルサインを含む）
併用薬、有害事象

評価 31　（Month 60 ± 14 days）
発作記録、一般身体所見（バイタルサインを含む）、神経学的所見
AIMS
ビデオ撮影 、新版 K 式発達検査
PET scan、脳波
併用薬、有害事象
臨床検査（血液、生化学）

研究終了後の長期追跡調査
AADC 遺伝子治療実施後 15 年間にわたり、1 年に 1 回の頻度で以下の項目についてサンプリングを行い、必要時に検査を実施する。
1）転帰
2）一般身体所見、神経学的所見、ビデオ撮影
3) AIMS
4）臨床検査（血液、生化学）

IX.5.5 予測される副作用およびその対処方法
IX.5.5.1　ベクターによる合併症
ベクターの投与が炎症反応を惹起し、発熱などの全身症状や脳浮腫による痙攣や意識障害を招来する可能性は低いと考えられるが完全には否定することはできない。患者を注意深く観察することによって合併症の発生をいち早く察知し、発熱に対しては解熱剤を、痙攣に対しては抗痙攣薬を、意識障害に対してはグリセオール等の脳浮腫治療薬を適切に使用して重篤な続発症に陥るのを予防する。
AAV-hAADC-2 ベクターの投与により、ウィルスカプシドに対する免疫反応が生じる可能性がある。その場合には、ベクター再投与の際に治療遺伝子の発現に影響が生じるおそれがあり、以降の AAV を使った治療の対象から除外されることも考えられる。
AAV ベクターが患者細胞の染色体に組み込まれる可能性は否定できないが、その確率は著しく低いものと推定される。万一、このような事態が生じた場合に最も懸念されるのは、発がんの危険性が高まることである。身体所見および画像診断などを通じて、早期発見に努める。またベクターDNA が生殖細胞に組み込まれることは考えにくいが、その可能性を完全に否定することはできない。将来、生殖が可能になった場合には、妊娠・出産について相談する。

IX.5.5.2　手術による合併症

定位脳手術は侵襲の少ない手技であるが、予期しない合併症を起こす危険は避けられない。全ての定位脳手術における手術合併症の報告は、大人では5％以下で、出血、感染および麻酔の合併症が主である[40]。小児では実施例が少なく、合併症の頻度は明瞭ではないが、4歳0ヶ月以上の児については当該研究機関での使用経験もあり、安全に実施可能である。一方台湾では、さらに若年（2～3歳）の患者について、金属フレームに比べ接触は柔軟でありながら安定した固定が可能な樹脂フレームを用いた脳定位手術機器を使用してAAV-AADC遺伝子治療の実績を積み重ねている。そこで当該研究機関でも、患者の年齢・頭蓋骨の厚さ・体格・全身状態等を総合的に判断して従来用いられてきた機器と新規導入機器を使い分けることにより、これまでと同等以上の安全性が確保できると判断した。

頭蓋内出血：cannulaの刺入経路に血管があれば、それを傷つけて出血する危険がある。その可能性は2～3％と報告[41]されているが、その大半は無症候性の小さい出血である。しかし稀に麻痺などの重篤な神経脱落症状を残す危険もゼロではない。液体の遺伝子溶液を注入する操作は、通常の定位脳手術で行われる熱凝固や生検などに比して出血を来す可能性は低いと思われる。被殻で出血が起こり、中等度以上の血腫を形成した場合、対側の運動麻痺を起こす可能性がある。また被殻に到達するまでの経路は主に前頭葉であるが、この領域では出血が起こっても神経症状や後遺症を出すことは少ない。前頭葉内で中等度以上の出血が起こったときにみられる可能性のある症状は、注意力の障害、感情の障害、意欲の障害、記憶障害、運動性失語、構音障害、運動麻痺などである。出血の部位にかかわらず、万一、後遺症を残す可能性があるほどの出血を来した場合は、この遺伝子治療を中断して、開頭による血腫除去手術を含む脳出血に対する治療を優先する。

感染：治療用ベクターを溶かした液は完全に無菌であり、感染の危険は極めて低いと考えられる。ただし皮膚を切開し、頭蓋骨に穴をあける操作自体が、術後に髄膜炎などの感染症を引き起こす危険性は低いが、完全に否定できない。そこで定位脳手術の際に、通常の脳神経外科手術時に行われている抗生物質の予防投与を行う。

上記以外にも手術に関係して、予想し得ない重篤な副作用が現れる可能性がある。有害事象の一部は個体差によるものが考えられるが、予想し得ない副作用の中には回復不可能なものも含まれる可能性がある。副作用が生命に影響をおよぼしたり、重篤な後遺症を残す可能性がある場合は本臨床研究を中断し、外科的治療を含む適切な処置を優先する。

IX.5.5.3　麻酔による副作用・合併症

手術およびPETやMRIなどの一部の検査は、全身麻酔下で実施する。

全身麻酔の副作用と合併症については、麻酔科医より文書（添付資料 V.その他必要な資料：V7）を用いて説明を行い、別途麻酔についての承諾を得る。

麻酔実施時には、チェックリスト（添付資料 V.その他必要な資料：V7）を用いて実施手順を確認する。

IX.5.5.4 AADC 遺伝子導入に伴う副作用

治療前は、脳内でドパミン、ノルアドレナリン、アドレナリンおよびセロトニンが欠乏している状態で、その前駆体である L-dopa や 5-HTP が過剰になっている状態である。そこに、代謝酵素を導入するために、カテコールアミン、セロトニンが急激に増加し、一過性にドパミン、セロトニン過剰による症状が出現する可能性がある。台湾での治療で一番多かったのは一過性のジスキネジアで、口部から顔面のジスキネジアで嚥下障害を来し、3 か月間経管栄養を要した例もあった。また、チアノーゼを伴う無呼吸発作が 10 か月間反復した例もあった。

術直後は PICU で管理し、副作用に留意して、出現時には対応する。

IX.5.5.5 遺伝子治療臨床研究計画で実施される検査に伴う危険性

本臨床研究では、侵襲性のある検査を実施する。

PET や MRI 検査では、前述の様に全身麻酔下で実施するため、麻酔に伴う危険性がある。また、PET では、微量であるが被曝し、頭部 MRI では造影剤を使用する場合には、造影剤によるアレルギー反応や腎臓への負担が出る可能性がある。これらの検査の時には、再度説明し、承諾を得る。

髄液検査では、稀であるが髄液ろうによる頭痛、穿刺部周囲の出血、髄膜炎の誘発などの危険性がある。

IX.5.6　遺伝子治療臨床研究の評価方法、評価基準および中止判定基準

IX.5.6.1　主要評価項目

AADC 欠損症患者被殻内への AAV-hAADC-2 注入療法の安全性

有害事象に関し、発作記録、一般身体所見、神経学的所見の臨床評価、臨床検査、髄液検査、頭部 MRI、脳波で判定。

A. 安全性の評価

有害事象とは、研究開始から観察終了時（5 年後）あるいは観察中止時までの間に、被験者に生じたあらゆる好ましくない医療上の出来事を指す。治療用ベクターとの因果関係の有無は問わない。有害事象の症状、発現日、程度、処置の有無、治療用ベクターとの因果関係、経過（回復した場合はその回復日）を調査し、症例報告書に記入する。

総括責任者またはその他の研究者は、有害事象に対する医療が必要になった場合には、速やかに被験者にその旨を伝える。同時に、適切な処置を施し、被験者の安全確保に留意し、その原因究明に努める。

重篤な有害事象が発現した場合、総括責任者またはその他の研究者は直ちに適切な処置をとるとともに、治療用ベクターとの因果関係の有無にかかわらず速やかに病院長に報告する。すべての重篤な有害事象および治療用ベクターとの因果関係が否定できない有害事象（副作用）が最終観察日までに消失または軽快しなかった場合には、観察終了時または観察中止時までの症状の経過を症例報告書または追跡調査用紙に記載するとともに、有害事象（副作用）消失、あるいはその原因が明らかになり症状が安定するまで経過観察を継続する。経過観察の結果については別途追跡調査用紙に記載する。なお、何らかの理由により追跡調査が不可能であった場合はその理由を症例報告書または追跡調査用紙に記入する。

また、本臨床研究期間中あるいは終了後に対象患者が死亡したときには、死亡原因の特定および治療の病理学的評価を行うため、死亡原因の如何を問わず剖検を行うよう努力する。被験者に対しても、本治療の開始前にその可能性について説明を行っておく。

B. 有効性および安全性の安全・効果評価・適応判定部会

有効性および安全性の判定を客観的に行うため、第三者が入る有効性および安全性の判定検討委員会を設置する。同委員会の名称、構成員は下記のとおりとする。

名称：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　安全・効果評価・適応判定部会（以下、「部会」）

委員の構成：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、同委員会安全･効果評価･適応判定部会設置細則第3条第1項第2号で規定される委員2名、第3条第1項第3号で規定されるその他委員会委員長が必要と認めた者若干名をもって構成する。部会員のうち、少なくとも1名は外部の者とする。

事務局：部会の事務局は自治医科大学大学事務部研究支援課が行うこととする。

部会では、被験者の一次登録後の適格性評価の判定や重篤な有害事象の報告を受けた場合における対応等について審議を行う。

また、治療開始から1か月、3か月、12か月時点での安全性及び効果の報告を研究総括責任者より受け付ける。

全被験者の臨床研究が終了し、研究総括責任者又は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必要と判断した場合には臨床研究の総合判定を行う。

C. モニタリング・監査

本臨床研究におけるモニタリング及び監査については、自治医科大学が定める「人を対象とした医学系研究に関するモニタリング及び監査の標準手順書」に基づき「研究毎のモニタリングに関する計画（手順書）」と「研究毎の監査に関する計画書（手順書）」を作成して実施する。

IX.5.6.2　副次的評価項目

AAV-hAADC-2 注入療法の有効性

発作記録、一般身体所見、神経学的所見の臨床評価

運動、認知機能を評価スケールで評価

臨床検査

髄液検査（L-dopa、HVA、5HIAA を含む）

頭部 MRI、脳波

被殻注入 AAV-hAADC-2 の発現量

FMT-PET：AADC のトレーサ 6-[^{18}F]fluoro-m-tyrosine を使用した positron emission tomography

IX.5.6.3　臨床研究の中止基準

下記の情報が得られ、本臨床研究の続行が困難であると考えられる場合には、総括責任者またはその他の研究者は速やかに自治医科大学附属病院長ならびに施設内遺伝子治療臨床研究審査委員会に報告し、本臨床研究を中止する。

a.　「予測できない」重篤な副作用の発生

b.　「予測できる」重篤な副作用の発生数、発生頻度、発生条件等の発生傾向が、予測できないことを示す情報が得られたとき

c.　副作用の発生数、発生頻度、発生条件等が著しく変化したことを示す研究報告があったとき

d.　がん、その他の重大な疾患、障害若しくは死亡が発生するおそれがあることを示す研究報告があったとき

e.　タカラバイオ株式会社が AAV-hAADC-2 の開発、評価、あるいは研究の中止を決めたとき

IX.5.6.4　臨床研究への参加取りやめおよび脱落基準

本臨床研究では、治療は 1 回の定位脳手術による脳内注入であるため、治療行為自体の中止はできない。治療後の観察期間に①被験者から参加取りやめの申し出があった場合、②再三の連絡にもかかわらず被験者が来院しなくなったときなど、治療用ベクター注入後の調査・観察および検査が実施不能となった場合や、③他の治療への変更を必要とした場合、④有害事象（治療用ベクター注入との因果関係がないものを含む）が発現

し、総括責任者またはその他の研究者が観察を中止すべきと判断した場合には、観察中止日およびその理由を症例報告書に記入する。なお、有害事象の発現など安全性に問題が生じ中止した場合には、総括責任者またはその他の研究者は速やかに適切な処置を行い、被験者の安全が確認されるまで追跡調査を行う。

IX.5.7　有害事象が発生した場合の措置

IX.5.7.1　有害事象が発生した場合

有害事象とは、研究開始から観察終了時（5 年後）あるいは観察中止時までの間に、被験者に生じたあらゆる好ましくない意図しない徴候(臨床検査値の異常も含む)、症状、疾患であり、治療用ベクターとの因果関係は問わない。

本臨床研究で治療用ベクターが注入された被験者に生じるあらゆる好ましくないあるいは意図しない反応（臨床検査値の異常変動を含む）のうち、治療用ベクターとの因果関係が否定できない反応を副作用と定義する。

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

また、以下の分類を用いて、症例報告書に記入する。

1）有害事象名と有害事象の程度

有害事象名：総括責任者またはその他の研究者は、可能な限り個々の症状または徴候ではなく、特定の疾患や症候群を確認して症例報告書に記載する。しかし、報告された症状や徴候が特定の疾患や症候群の構成要素とは考えられない場合、別の有害事象として症例報告書に記載する。また、症例報告書に記入する事象名は診療録等の原資料と一致させる。

発現日（時）：有害事象が発現した日時を記入する。

程度（Grade）：有害事象の重症度。「医薬品等の副作用の重篤度分類基準（平成 4 年 6 月 29 日 薬発第 80 号）および以下の基準を参考とし軽度、中等度、高度の 3 段階で判定する。

程度	判定基準（参考）
軽度	一過性で容易に耐えられる、あるいは日常生活に支障とならない程度のもの
中等度	日常生活に支障を来す程度のもの
高度	日常生活を不可能にする程度のもの

2）因果関係

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

因果関係判定基準（参考）

① 明らかに関連あり：治療用ベクターと時間的に明白な関係があり、その治療に既知（基礎実験及び今までの臨床試験）の反応を示す場合

② 多分関連あり：治療用ベクター注入と時間的に明白な関係があり、その治療の作用から予想される反応を示し、かつ被験者の既往などの要因が否定され、治療用ベクターとの関連性が否定できない場合

③ 関連ないともいえない：治療用ベクター注入と時間的に明白な関係があり、被験者の既往などの本治療以外の要因も推定されるが、治療用ベクターによる可能性も除外できない場合

④ 関連なし：治療用ベクター注入と時間的に関係がないと判断される場合、または本治療に関連ないとする情報がある場合

3) 経過

有害事象（症状及び臨床検査値異常変動）の経過は、以下の 5 段階で判定する。

経過判定基準（参考）

消失　：症状の消失、検査値の正常化あるいは投与前値への回復が認められたもの

軽快　：程度が軽減したもの、あるいは症状に改善傾向が認められたもの

不変　：症状や検査値に変化がないもの

悪化　：症状や検査値の増悪があるもの

追跡不能　：消失または軽快することなく追跡不能となった場合

IX.5.7.2　重篤な有害事象が発生した場合

上記 IX.5.7.1 にて定義した有害事象のうち、下記の 5 分類のいずれかに該当するものを重篤な有害事象と定義する。

【重篤な有害事象の定義】

1. 死に至るもの
2. 生命を脅かすもの
3. 治療のための入院または入院期間の延長が必要となるもの。ただし、臨床研究治療前に計画された入院や被験者の負担を軽減する目的で計画された入院、検査目的のための入院は除く
4. 永続的または顕著な障害・機能不全に陥るもの
5. その他、被験者にとって著しく有害なことが示唆されるもの

重篤な有害事象が発現した場合、総括責任者またはその他の研究者は直ちに適切な処置をとるとともに、治療用ベクターとの因果関係の有無に関わらず速やかに病院長に報告する。病院長はその有害事象が重篤で予測できない場合には、本臨床研究の継続の可否について自治医科大学附属病院遺伝子治療臨床研究審査委員会の意見を求める。また、総括責任者またはその他の研究者は重篤な有害事象発現を知った時から 48 時間以内に、臨床研究終了後の期間も含めて、実施施設の長を介して厚生労働省に連絡することとする。遺伝子治療臨床研究の実施に影響をおよぼすおそれがある情報を得た場合にも、速やかに厚生労働省に報告を行う。

なお、本臨床研究期間中あるいは終了後に対象患者が死亡したときには、死亡原因の特定および治療の病理学的評価を行うため、死亡原因の如何を問わず剖検を行うよう努力する。被験者に対しても、本治療の開始前にその可能性について説明を行っておく。

治療用ベクターとの因果関係が否定できない有害事象（副作用）が最終観察日までに消失または軽快しなかった場合には、観察終了時または観察中止時までの症状の経過を症例報告書または追跡調査用紙に記載するとともに、有害事象（副作用）消失、あるいはその原因が明らかになり症状が安定するまで経過観察を継続する。経過観察の結果については別途追跡調査用紙に記載する。なお、何らかの理由により追跡調査が不可能であった場合はその理由を症例報告書または追跡調査用紙に記入する。

IX.5.8　症例記録に関する記録用紙等の様式

本臨床研究の記録に関する様式（症例報告書）は、別に定める。

IX.5.9　記録の保存および成績の公表の方法

IX.5.9.1　記録の保存および破棄

本臨床研究に関する記載のすべては、治療中においては、総括責任者が病院内にて管理し、終了後は症例毎に、総括責任者が保存する。保存期間に関しては、本臨床研究の特殊性に鑑み、15 年間とする。全患者が 15 年経過した時点で、総括責任者が規程に従い資料およびデータの破棄を行う。

IX.5.9.2　成績の公表の方法

（1）遺伝子治療臨床研究に関する指針に基づき、自治医科大学附属病院長は、遺伝子治療臨床研究に関する情報の適切かつ正確な公開に努めるものとする。

（2）本研究の結果は、本研究に用いた薬剤・技術の厚生労働省への製造（輸入）販売承認申請における参考資料として使用する。また、本臨床研究から得られたデータを学会などで発表、論文として医学雑誌などに発表する場合がある。なお、承認後、結果の一部を添付文書及びインタビューフォームに記載することがあるが、それ以外の目的に

は使用しない。また、前記の資料に公表する場合にあっても被験者のプライバシーは確保される。

IX.5.10　個人情報保護の徹底

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

（1）実施施設での安全管理措置

①　自治医科大学附属病院は、個人情報の適切な管理を図るため、次の各号に掲げる管理者等を置く。

A　個人情報保護管理者

B　個人情報保護管理補助者

C　個人情報保護取扱責任者

②　自治医科大学附属病院は、個人情報の適切な取扱に関する事項を審議するため、附属病院個人情報保護検討委員会を置く。

③　個人情報の安全管理措置として、物理的・人的・技術的な安全管理措置を講じることとする。

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

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

個人のパソコン等に個人情報を登録するときはできるだけ匿名化を図る。

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

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

A 法令に基づくとき。

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

(2) 本研究における個人情報の保護

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

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

（3）第三者提供の制限

総括責任者は、「遺伝子治療臨床研究に関する指針」第六章第九に掲げる内容に従い、あらかじめ被験者等の同意を得ないで個人情報を第三者に提供してはならない。
本臨床研究では、外部協力者としてタカラバイオ株式会社が「AAV ベクターの製造、品質管理および技術支援」に限定し関与する。 タカラバイオ株式会社の担当者が AAV ベクターに限定した副作用、および効果発現に関する一部データを閲覧するが、本臨床研究の客観的かつ公正な記録が影響を受けることはない。閲覧に際しては、個人を特定できない措置を講じて個人情報を保護する。被験者を特定する情報については総括責任者が厳重に管理する。

第三者への個人情報の提供は予定しておらず、第三者へ個人情報の提供を行う場合は、適切な目的であることを確認し、「遺伝子治療臨床研究に関する指針」第六章第九に従い、その旨被験者等へ通知する。

（4）個人情報の開示

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

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

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

総括責任者は被験者から当該被験者が識別される保有する個人情報についての開示について、自治医科大学の保有する個人情報管理規程に従い求めがあった場合は、遅滞なく必要な対応を行う他、対応結果について被験者に通知しなければならない。
さらに、自治医科大学では個人情報に関する問い合わせ・相談・苦情の窓口を設置し、被験者からの苦情や問い合わせ等に適切かつ迅速に対応できる体制を整えている。
【個人情報に関する問い合わせ・相談・苦情の窓口】
個人情報の保護に関する事項：自治医科大学附属病院経営管理課
（電話 0285-58-7103）
診療情報の開示に関する事項：自治医科大学附属病院医事課

（電話 0285-58-7115）
その他必要な事項

X．被験者等およびその関係者からの相談等への対応

被験者等およびその関係者からの相談等へは、総括責任者、総括責任者以外の研究者、あるいは臨床研究コーディネーターが対応する。

XI.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

XI.1 研究の資金源

本研究は、日本医療研究開発機構からの「難治性疾患実用化研究事業」委託研究費で実施する。

XI.2 利益相反

研究機関の利益相反はない。

研究分担者の村松慎一および佐藤俊彦は、アデノ随伴ウイルスベクターを製造、販売する遺伝子治療研究所を運営している。

XII.1　遵守する法令／省令等

本遺伝子治療臨床研究は、以下の法令／省令を遵守して実施される。

１．「遺伝子治療臨床研究に関する指針」
（平成 27 年厚生労働省告示第 344 号、平成２９年４月７日一部改正）
２．人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」
（平成 26 年文部科学省・厚生労働省告示第３号、平成 29 年 2 月 28 日一部改正）
（厚生労働省告示第四百十五号、平成 20 年 7 月 31 日）
３．「遺伝子組み換え生物等の使用等の規制による生物多様性の確保に関する法律」
（平成 15 年 6 月 18 日法律第 97 号）
４．「遺伝子組換え微生物の使用等による医薬品等の製造における拡散防止措置等について」
（薬食発第 0219011 号、 各都道府県知事あて厚生労働省医薬食品局長通知、 平成 16 年 2 月 19 日）
５．「遺伝子治療用医薬品の品質及び安全性の確保に関する指針について」
（薬食発第 1062 号、 各都道府県知事あて厚生労働省医薬食品局長通知、 平成 7 年 11 月 15 日）
６．「遺伝子治療用医薬品の品質及び安全性の確保に関する指針の改正について」
(薬食発第 329004 号、各各都道府県知事あて厚生労働省医薬食品局長通知、平成 14 年 3 月 29 日）

XII. 2 引用文献

1 Brun L, Ngu LH, Keng WT, Ch'ng GS, Choy YS, Hwu WL, et al. Clinical and biochemical features of aromatic L-amino acid decarboxylase deficiency. *Neurology*. **75**:64-71,2010.

2 Hyland K, Clayton PT. Aromatic amino acid decarboxylase deficiency in twins. *J Inherit Metab Dis*. **13**:301-4,1990.

3 Hyland K, Clayton PT. Aromatic L-amino acid decarboxylase deficiency: diagnostic methodology. *Clin Chem*. **38**:2405-10,1992.

4 Hwu WL, Muramatsu S, Tseng SH, Tzen KY, Lee NC, Chien YH, et al. Gene therapy for aromatic L-amino acid decarboxylase deficiency. *Sci Transl Med*. **4**:134ra61,2012.

5 Swoboda KJ, Saul JP, McKenna CE, Speller NB, Hyland K. Aromatic L-amino acid decarboxylase deficiency: overview of clinical features and outcomes. *Ann Neurol*. **54 Suppl 6**:S49-55,2003.

6 Manegold C, Hoffmann GF, Degen I, Ikonomidou H, Knust A, Laass MW, et al. Aromatic L-amino acid decarboxylase deficiency: clinical features, drug therapy and follow-up. *J Inherit Metab Dis*. **32**:371-80,2009.

7 Tay SK, Poh KS, Hyland K, Pang YW, Ong HT, Low PS, et al. Unusually mild phenotype of AADC deficiency in 2 siblings. *Mol Genet Metab*. **91**:374-8,2007.

8 Hsieh HJ, Lin SH, Liu HM. Visualisation of impaired dopamine biosynthesis in a case of aromatic L-amino acid decarboxylase deficiency by co-registered ^{18}F-FDOPA PET and magnetic resonance imaging. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. **32**:517,2005.

9 Allen GF, Land JM, Heales SJ. A new perspective on the treatment of aromatic L-amino acid decarboxylase deficiency. *Mol Genet Metab*. 2**97**:6-14,2009.

10 Muramatsu S, Fujimoto K, Katou S,et al.:A Phase I Study of Aromatic L-Amino Acid Decarboxylase Gene Therapy for Parkinson's Disease. *Mol Ther* 18: 1731-1735, 2010.

11 Christine CW, Starr PA, Larson PS, et al. Safety and tolerability of putaminal AADC gene therapy for Parkinson disease. Neurology 73,1662-1669, 2009.

12 Gabriele Mittermeyer, Chadwick W. Christine, Kathryn H. Rosenbluth, et al. Long-Trerm Evaluation of Phase 1 of AADC Gene Therapy for Parkinson's Disease. Hum Gene Ther 23:377-381, 2012.

13 Sumi-Ichinose C, Ichinose H, Takahashi E, Hori T, Nagatsu T. Molecular cloning of genomic DNA and chromosomal assignment of the gene for human

aromatic L-amino acid decarboxylase, the enzyme for catecholamine and serotonin biosynthesis. Biochemistry 31: 2229-2238, 1992.

14 Bartus RT, Baumann TL, Siffert J et al. Safety/feasibility of targeting the substantia nigra with AAV2-neurturin in Parkinson patients. Neurology 80, 1698-701, 2013.

15 Gao G, Vandenberghe LH, Alvira MR, et al. Clades of Adeno-associated virus are widely disseminated in human tissues. J Virol. 78,6381-6388, 2004.

16 Kay MA, Manno CS, Ragni MV, Larson PJ, Couto LB, McClelland A, Glader B, Chew AJ, Tai SJ,Herzog RW, Arruda V, Johnson F, Scallan C, Skarsgard E, Flake AW, High KA. Evidence for gene transfer and expression of factor IX in haemophilia B patients treated with an AAV vector. Nat Genet 24: 257-261,2000.

17 Manno CS, Piere GF, Arruda VR, et al. Successful transduction of liver in hemophilia by AAV-Factor IXand limitations imposed by the host immune response. Nat Med 12: 342-347, 2006.

18 Kaplitt MG, Feigin A, Tang C. et al. Safety and tolerability of gene therapy with an adeno-associated virus (AAV) borne GAD gene for Parkinson's disease:an open label, phase 1 trial. Lancet 369,2097-105, 2007.

19 Lewitt PA, Rezai AR, Leehey MA et al. AAV2-GAD gene therapy for advanced Parkinson's disease:a double-blind, sham-surgery controlled, randomised trial. Lancet Neurol 10, 309-19, 2011.

20 Marks WJ, Ostrem JL, Verhagen L, et al. Safety and tolerability of intraputaminal delivery of CERE-120 (adeno-associated virus serotype 2-neurturin) to patients with idiopathic Parkinson's disease: an open-label, phase I trial. Lancet Neurol 7, 400-08, 2008.

21 Marks WJ, Bartus RT, Siffert J, et al. Gene delivery of AAV2-neurturin for Parkinson's disease: a double-blind, randomised, controlled trial. Lancet Neurol 9, 1164-1172, 2010.

22 Matsushita T, Elliger S, Elliger C, Podsakoff G, Villarreal L, Kurtzman G J, Iwaki Y, Colosi P. Adeno-associated virus vectors can be efficiently produced without helper virus. Gene Ther 5:938-45, 1998.

23 Natsoulis G, Kurtzman GJ, Colosi P. High-efficiency AAV helper functions. USA patent 6,365,403,November 29, 1999, 2002.

24 Kearns WG, Afione SA, Fulmer SB, Pang MC, Erikson D, Egan M, Landrum MJ, Flotte TR, Cutting GR: Recombinant adeno-associated virus (AAV-CFTR) vectors

do not integrate in a site-specific fashion in an immortalized epithelial cell line. Gene Ther 3: 748-755, 1996.

25 Nakai H, Montini E, Fuess S, Storm T-A, Grompe M, Kay M-A: AAV serotype 2 vectors preferentially integrate into active genes in mice. Nat Genet 34: 297-302, 2003.

26 Flotte TR, Afione SA, Solow R, Drumm ML, Markakis D, Guggino WB, Zeitlin PL, Carter BJ. Expression of the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator from a novel adeno-associated virus promoter. J Biol Chem 268: 3781-3790, 1993.

27 Dass B, Olanow W, Kordower J-H. Gene transfer of trophic factors and stem cell grafting as treatments for Parkinson's disease. Neurology 66 (Suppl 4): S89-S103, 2006.

28 Russell D-W, Kay M-A: Adeno-associated virus vectors and hematology. Blood 94: 864-874, 1999.

29 Couto L, Parker A, Gordon JW. Direct expsure of mouse spermatozoa to very high concentrations of a serotype-2 adeno-associated virus gene therapy vector fails to lead t berm cell transduction. Hum Gene Ther 15: 287-291, 2004

30 Rosas LE, Grieves JL, Zaraspe K, La Perle KMD, Fu H, McCarty DM. Patterns of scAAV vector insertion associated with oncogenic events in a mouse model for genotoxicity. Mol Ther **20**: 2098–2110,2012.

31 Valdmanis PN, Lisowski L, Kay MA. rAAV-mediated tumorigenesis: still unresolved after an AAV assault. Mol Ther. 20: 2014-2017, 2012.

32 Raper SE, et al. Fatal sysyemic inflammatory response syndrome in a ornithine transcarbamylase deficient patient following adenoviral gene transfer. Mol Genet Metab 80: 148-158, 2003.

33 Raper SE, et al. A pilot study of in vitro liver-directed gene transfer with an adenoviral vector in partial ornithine transcarbamylase deficiency. Hum Gene Ther 13:163-175, 2002.

34 Schnell MA, et al. Activation of innate immunity in nonhuman primates following intraportal administration of adenoviral vectors. Mol Ther 3:708-722, 2001.

35 Zhang Y, et al: Acute cytokine response to systemic adenoviral vectors in mice is mediated by dendritic cells and macrophages. Mol Ther 3:697-707, 2001.

36 Hacein-Bey-Abina S, et al. LMO2-associated clonal T cell proliferation in two patients after gene therapy for SCID-X1. Science 302:415-419, 2003.

37 Check E. Gene therapy put on hold as third child develops cancer. Nature 433:561, 2005.

38 Williams DA, Baum C. Gene therapy - new challenges ahead. Science 302:400-401, 2003.

39 Nunes FA, et al. Gene transfer into the liver of nonhuman primates with E1-deleted recombinant adenoviral vectors: safety of readministration. Hum Gene Ther 10:2515-2526,1999.

40 寺尾 亨，沖山亮一，高橋 宏，横地房子，谷口 真，浜田生馬，長谷川有美：不随運動に対する定位的温熱凝固術，脳深部電極留置術の合併症についての比較，検討. 脳神経外科31: 629-636, 2003.

41 Anderson WS, Lenz FA. Surgery insight: deep brain stimulation for movement disorders. Nat Clin Pract Neurol 2: 310-320, 2006.