

レトロウイルスベクターの安全性についての遺伝子治療臨床研究に関する  
審査委員会の見解

平成 29 年 7 月 26 日

厚生科学審議会再生医療等評価部会  
遺伝子治療臨床研究に関する審査委員会  
委員長 山口 照英

国立研究開発法人国立成育医療研究センターより、「慢性肉芽腫症に対する造血幹細胞を標的とした遺伝子治療臨床研究」において、本研究との因果関係が疑われる骨髄異形成症候群(MDS)が発生した旨の遺伝子治療臨床研究重大事態等報告書が提出されたことを踏まえ、平成 29 年 7 月 26 日、遺伝子治療臨床研究に関する審査委員会を開催し、レトロウイルスベクターの安全性、今後の対応等について見解をまとめた。

1 「慢性肉芽腫症に対する造血幹細胞を標的とした遺伝子治療臨床研究」の研究実施計画承認の経緯

本研究については、平成 23 年 9 月 29 日付で遺伝子治療臨床研究実施計画の申請があり、遺伝子治療臨床研究作業委員会において次の見解をまとめ、厚生科学審議会科学技術部会における了承を経て、平成 24 年 6 月 14 日付で承認された。

(見解の要点)

- 世界において先天性免疫不全症で遺伝子治療を受けた患者 82 人中 9 人が白血病などの造血系異常を発症しており、その症例の検証結果から、次の点が明らかになっている。
  - ・ 白血病などの造血系異常は、レトロウイルスベクターが染色体に組み込まれたことによる近傍のがん原遺伝子の活性化が主な原因である。
  - ・ ベクター挿入による白血病化は造血幹細胞でのみで起きており、他の分化した細胞では起きていない。
  - ・ 白血病の発症は、対象疾患が T リンパ球の機能異常による免疫不全症 (X 連鎖重症複合免疫不全症 (X-SCID) や ウィスコット・アルドリッヂ症候群 (WAS)) か、遺伝子発現率の高い脾フォーカス形成ウイルス (SFFV) 由来レトロウイルスベクターを使った時に限られている。

- しかし、がん化の機構については、未だ不明な点も多く、がん化のリスクをあらかじめ予想することは困難とされている。レトロウイルスベクターを使った臨床研究では、遺伝子導入細胞のクローン性増殖の検出が重要であり、クローン性増殖の確認にはゲノム解析が必須となっている。X-SCID 等の遺伝子治療では、治療後 3~5 年という長い期間後に白血病が発症したことから、長期に渡るフォローアップが重要である。
- 骨髄移植が実施できない重篤な慢性肉芽腫症(CGD)に対しては、造血幹細胞遺伝子治療は重要な選択肢である。本臨床研究は、既に米国で行われ一定の治療効果と安全性が確認されたプロトコール(米国の臨床研究で造血系異常が起きていないベクターを使用)であり、Risk/Benefit の観点から CGD 患者にとって有益である。
- 理論的に安全性が高いと考えられている新型ベクターの開発について、現時点での安全性や優位性が確立したものではなく、これらの評価には数年を要すると考えられ、現時点での使用可能な最も安全なベクターを使った臨床研究を開始することは科学的及び倫理的に妥当である。

## 2 本研究中に発生した MDS についての評価

### (1) 本研究と MDS との因果関係について

- ウイルスベクター-LTR(プロモーター部分)を標的とした qPCR 法によれば、遺伝子導入細胞が導入 12 ヶ月目で急に増加し、32 ヶ月目まで持続している。
- ウイルスベクターが、がん原遺伝子の近傍(MECOM IVS II の 1 箇所のみ)に挿入されていることが確認されており、MECOM<sup>\*</sup>の活性化により、異常な細胞増殖が誘導されたものと推定される。

<sup>\*</sup>MECOM は MDS1-EVI1 複合タンパク質をコードするがん原遺伝子である。

- 以上から MDS は、本研究により発生した可能性が高いと考えられるが、単独原因ではなく、何らかの追加的な要因も重なり発症した可能性も考えられる。
- また、ウイルスベクター投与前に前処置として使用したブスルファンには、二次発がんが認められたとの文献報告があることから、ブスルファンの影響も完全には否定できず、引き続き原因の科学的解明が必要である。

### (2) 遺伝子導入細胞の検出法について

- 遺伝子導入細胞の検出にあたって、当初、治療に用いた X 連鎖性慢性肉芽腫症(X-CGD)の原因遺伝子である活性酸素産生酵素遺伝子(CYBB 遺伝子)プローブを用いて qPCR を行ったが、検出できていなかつことが明らかとなった。これは、その後の遺伝子解析により、挿入された CYBB 遺伝子に

変異が起きていたためであることが判明した。その後、LTR を標的とした qPCR 法による検出にて遺伝子導入細胞の増殖が確認された。

- 一方で、CYBB 遺伝子に多くの変異がみられており、必ずしも、造血幹細胞にベクターが挿入された後に変異が起きたとはいはず、ベクター製造の段階で様々な要因で変異が導入された可能性もあり、その要因については今後の解析を待たざるを得ない。もし、導入前のベクターの一部に変異が起きていた場合には、ベクターの品質管理についてより注意を喚起する必要がある。
- いずれにしても、今回の解析で当初 CYBB 遺伝子を標的とした解析で十分な検出ができなかったことから、遺伝子導入細胞を検査する際には、ウイルスベクター上の適切な部位を複数選択するような qPCR を行う等の考慮が必要である。

### (3) 本研究の今後について

- 抗生物質研究の進歩により CGD 患者の細菌感染制御は比較的改善しているが、真菌感染症等の制御は未だ困難であり重篤な感染症が繰り返される状況にある。本遺伝子治療を実施したことで、CGD の急性期重症感染症を制御し、造血幹細胞移植の実施に至ったことは、本遺伝子治療の有効性を示していると考えられること、また、現時点より安全性や有効性の高い他の新型ベクターは開発されていないことから、本遺伝子治療の中止を求めるべきではないと考えられる。ただし、本研究を継続する場合は、研究を一旦留保し、次のことを実施する必要がある。
  - CYBB 遺伝子において検出された変異がウイルスベクターの細胞への導入前、又は導入後のどちらで起きていたのか明らかにし、必要な対応を研究計画に記載すること
  - 本研究で MDS が発症したこと、及び遺伝子治療は CGD 患者の造血幹細胞移植の実施まで、重篤な急性期感染症を制御する Bridging としての治療法であることを研究計画書と患者説明同意書に反映させること
  - 本研究はあくまでも造血幹細胞移植が適用不能の場合に実施を考慮する位置づけにあると考えられる。ハプロ移植 (HLA 半合致ドナーからの移植) の技術の進歩は目覚しいものがあり、その点も考慮して、HLA の適合率等についての被験者の選定基準の見直しを検討し、研究計画書と患者説明同意文書に反映させること。
  - 患者にとって遺伝子治療の Risk/Benefit を慎重に評価すること。

- 本研究によるMDSの発生の機序に関する科学的解明を継続して行うこと。

### 3 レトロウイルスベクターの安全性について

- レトロウイルスベクターは1990年に米国で世界初の遺伝子治療として行われたADA欠損症の治療以来、多数の治療プロトコールで使われている。これまでレトロウイルスベクターを用いた造血幹細胞遺伝子治療の有害事象としては、フランスおよびイギリスのX-SCID遺伝子治療において、20例中5例で白血病発症が報告<sup>1)</sup>され、WAS遺伝子治療では10例中7例で白血病発症<sup>1)</sup>、CGD遺伝子治療において12例中3例で骨髄異形成症候群(MDS)の発症<sup>2)</sup>が認められている。一方、造血幹細胞にレトロウイルスベクターで遺伝子導入したADA欠損症遺伝子治療ではこれまでイタリアで18症例、イギリスで8症例、米国で14症例、日本で2症例の投与が行われているが白血病発症の報告はない<sup>3)</sup>。また、有効性に関して、先天性免疫不全症に対して行われた造血幹細胞を標的とした治療プロトコールでは遺伝子治療の有効性が確認されており、X-SCIDの遺伝子治療において、感染防止のための隔離が不要になるなど顕著な有効性が認められている。さらにADA欠損症に対する造血幹細胞遺伝子治療製品は欧州で承認されている。
- これらの検証結果から以下の点が明らかとなっている。
  - ① 白血病などの造血系異常は、レトロウイルスベクターが染色体のがん原遺伝子近傍に組み込まれたことによるがん原遺伝子の活性化が主な原因である。
  - ② レトロウイルスベクターによるがん化の頻度は対象疾患、標的細胞、ベクターの種類により大きく異なっており、これらの組み合わせにより安全性が変わってくるものと考えられる。
    - 対象疾患特異性  
先天性免疫不全症、しかもその一部の疾患(X-SCID、WAS、X連鎖CGD)の治療のみで起きている。
    - 細胞特異性  
造血幹細胞でのみで起きており、他の分化した細胞では報告されていない。

➤ ベクター特異性

野生型 LTR を持つレトロウイルスベクターでのみ起きている。LTR 内のプロモーター部分を削除して安全性を高めた自己不活化型ベクターでは起きていない。

- 今回の報告を受け、レトロウイルスベクターの中でも、脾フォーカス形成ウイルス（SFFV）由来レトロウイルスベクターのように遺伝子発現率の高いベクターだけでなく、遺伝子発現率の低いベクターにおいてもMDSが発生することが明らかとなった。対象疾患特異性、細胞特異性、ベクター特異性、さらにその組み合わせによって安全性に差があることが想定されるが、いずれの疾患、細胞、ベクターを用いるにしても長期にわたる慎重な経過観察が必要と考える。経過観察においてはベクター特性や対象疾患等でのリスクに応じたデザインとすることが望ましい。

- 1) Sandeep RP Kumar et al, Clinical development of gene therapy: results and lessons from recent successes. Mol Ther Methods Clin Dev. 25; 3, 2016.
- 2) 河合利尚, 「原発性免疫不全」. 小児内科, Vol49;7, 2017.
- 3) 金田安史, 遺伝子医学 MOOK 「今着実に実り始めた遺伝子治療-最新研究と今後の展開-」. メディカルドウ, 2016.

#### 4 その他のウイルスベクターの安全性について

- 遺伝子治療に使用されるベクターには、レトロウイルスベクター以外に、アデノウイルスベクター、アデノ随伴ウイルス（AAV）ベクター、レンチウイルスベクター、センダイウイルスベクター、プラスミド DNA 等があるが、レトロウイルスベクター以外のウイルスベクターやプラスミド DNA で、白血病等のがんが発生したという報告はない。
- 遺伝子治療ベクターの特徴から
  - ベクターの細胞内の動態
    - ・染色体への挿入機構を持つウイルスベクター  
(レトロウイルス、レンチウイルス等)
    - ・核内での遺伝子発現機構を持つベクター  
(アデノウイルス、AAV、プラスミド DNA)
    - ・細胞質での遺伝子発現機構を持つベクター  
(センダイウイルス)
  - 遺伝子導入が可能な細胞
    - ・増殖性細胞のみに遺伝子導入可能(レトロウイルス、プラスミド DNA)

- ・非増殖性細胞にも遺伝子導入可能(レンチウイルス、アデノウイルス、AAV、センダイウイルス)

に分けられる。これらのベクターのうち、アデノウイルスベクター、AAV ベクター、プラスミドDNA、センダイウイルスベクターについては、宿主細胞の染色体には積極的に組み込まれないが、レンチウイルスベクターについては、レトロウイルスベクターと同様に、宿主細胞の染色体に組み込まれることから、注意が必要である。しかしながら、レトロウイルスベクター、レンチウイルスベクター以外のベクターに関しても、慎重な取扱いが必要と考える。

## 5 今後の必要な対応

- 従来から、白血病等の造血系異常は、レトロウイルスベクターを用いた X-SCID、WAS、CGD の造血幹細胞遺伝子治療のみで発生している。今回の CGD での MDS 発症の報告によって、これまで造血系異常が発生したことのない ADA 欠損症などの他の疾病的遺伝子治療や、造血幹細胞以外の細胞を用いた遺伝子治療に対する、レトロウイルスベクターのリスクが高まるることは考えにくい。
- 今回の重大事態等報告があった CGD を対象とした研究を除き、現在、日本において、造血幹細胞を用いたレトロウイルスベクターによる遺伝子治療で、X-SCID、WAS、CGD に対して行われているものはないが、遺伝子治療等臨床研究の一層の安全性を確保する観点から、下記の対応を行うことが適切である。
  - ① 現在実施されている研究への対応  
レトロウイルスベクターあるいはレンチウイルスベクターを用いた遺伝子治療等臨床研究を実施している機関を対象に、本重大事態等報告の内容について情報提供し、それぞれの研究計画書および患者説明同意書に、導入細胞や疾患でのリスクも踏まえた上で今回の事例を追記する等、本重大事態等報告の内容を踏まえた必要な対応の検討を求める。
  - ② 既に終了した研究への対応  
レトロウイルスベクターを用いた遺伝子治療等臨床研究を終了した研究機関に対し、患者のフォローアップに資するよう本重大事態等報告の内容について情報提供を行う。

### ③海外への情報提供

今回の重大事態等報告の内容は、遺伝子治療の安全性評価として極めて重要なデータであり、米国 FDA、欧州 EMA、IPRF(国際薬事規制当局者フォーラム)<sup>※</sup>への情報提供を行う。

※ IPRF (International Pharmaceutical Regulators Forum:国際薬事規制当局者フォーラム)

ヒト用の医薬品について、メンバーが相互に関心を持つ問題や規制協力に関する情報を交換するための環境を作り出すことを目的としてつくられた。IPRF は、ICH や他の国際的に調和した人用の医薬品の技術ガイドラインの実施を促進するものである。メンバーは、EU、米国、オーストラリア、韓国、シンガポールなどの規制当局やWHOなど。