

遺伝子治療臨床研究実施計画について

〔 神戸大学医学部附属病院
佐賀大学医学部附属病院 〕

課題名： 慢性動脈閉塞症（閉塞性動脈硬化症及びビュルガー病）を
対象とした AMG0001 の筋肉内投与による遺伝子治療

遺伝子治療臨床研究実施計画に係る意見について

- 厚生労働大臣の意見 P. 1
- 遺伝子治療臨床研究に関する審査委員会名簿 P. 5

【 神戸大学医学部附属病院 】

- 遺伝子治療臨床研究実施計画申請書及び概要書 P. 7
- 遺伝子治療臨床研究実施計画書 P. 21
- 同意説明文書 P. 127

【 佐賀大学医学部附属病院 】

- 遺伝子治療臨床研究実施計画申請書及び概要書 P. 161
- 遺伝子治療臨床研究実施計画書 P. 175
- 同意説明文書 P. 279

**神戸大学医学部附属病院及び佐賀大学医学部附属病院から
申請のあった遺伝子治療臨床研究実施計画に係る
厚生労働大臣の意見について**

神戸大学医学部附属病院及び佐賀大学医学部附属病院から申請のあった下記の2件の遺伝子治療臨床研究実施計画については、遺伝子治療臨床研究に関する指針（以下「指針」という。）第五章の第一の三の規定に基づき、複数の有識者に意見を伺った結果、新規性はなく、指針第五章の第一の三のいずれの項目にも該当しないものと判断された。

上記の意見を踏まえ、当該実施計画に係る厚生労働大臣の意見としては実施して差し支えないものと判断したので、別紙のとおり報告する。

記

1. 慢性動脈閉塞症（閉塞性動脈硬化症及びビュルガー病）を対象とした AMG0001 の筋肉内投与による遺伝子治療
申請者：神戸大学医学部附属病院 病院長 藤澤 正人
申請日：平成 27 年 2 月 26 日
2. 慢性動脈閉塞症（閉塞性動脈硬化症及びビュルガー病）を対象とした AMG0001 の筋肉内投与による遺伝子治療
申請者：佐賀大学医学部附属病院 病院長 森田 茂樹
申請日：平成 27 年 2 月 26 日

※両遺伝子治療臨床研究は、平成 26 年 5 月 14 日に承認された以下の遺伝子治療臨床研究との多施設共同臨床研究である。

両実施施設は、計画当初より実施予定施設とされていたが、今般、実施の準備が整ったこと、また、被験者候補が現れたことから、予定どおり研究実施の申請を行ったもの。

○慢性動脈閉塞症（閉塞性動脈硬化症及びビュルガー病）を対象とした AMG0001 の筋肉内投与による遺伝子治療
申請者：大阪大学医学部附属病院
承認日：平成 26 年 5 月 14 日

1. 遺伝子治療臨床研究実施計画の概要

(1) 研究課題名：慢性動脈閉塞症（閉塞性動脈硬化症及びビュルガー病）を対象とした AMG0001 の筋肉内投与による遺伝子治療

(2) 申請年月日：平成 27 年 2 月 26 日

(3) 実施施設：1. 神戸大学医学部附属病院
代 表 者： 病院長 藤澤 正人
2. 佐賀大学医学部附属病院
病院長 森田 茂樹

(4) 総括責任者：1. 神戸大学医学部附属病院
循環器内科 教授 平田 健一
2. 佐賀大学医学部附属病院
循環器内科 教授 野出 孝一

(5) 対象疾患：慢性動脈閉塞症（閉塞性動脈硬化症及びビュルガー病）
導入遺伝子：肝細胞増殖因子（hepatocyte growth factor：HGF）
ベクターの種類：プラスミド DNA ベクター
用法・用量：本剤を日局生理食塩水で希釈し、対象肢の虚血部位に対して 1 部位あたり 0.5 mg ずつ 8 部位（合計 4.0 mg）に筋肉内投与する。
投与は 4 週間の間隔をあけて 2 回行う。治療期 8 週後において改善傾向が認められない場合には、更に 3 回目の投与を実施する。

研究実施期間：先進医療 B 申請^注 が承認された日から 1 年間
注）本臨床研究の実施が承認された場合、その後先進医療 B の申請を行う予定とされている。なお、先行して実施が承認された大阪大学医学部附属病院については、既に先進医療 B での実施が了承されている。

目標症例数：実施予定医療機関全体で 6 例

(6) 研究の概略：

本研究は、代替治療が困難な慢性動脈閉塞症（閉塞性動脈硬化症及びビュルガー病）患者を対象に、本剤を虚血肢の筋肉内に局所投与し、安静時疼痛（Fontaine 分類 III 度の被験者）及び潰瘍（Fontaine 分類 IV 度の被験者）の治療効果及び安全性を探索的に検討することを目的とする。

(7) その他（国内外の研究の状況）：

本研究は、大阪大学医学部附属病院等との多施設共同臨床研究であり、今般、実施予定施設であった両医療機関より研究実施の申請が行われたもの。残る実施予定医療機関についても、今後実施の準備等が整い次第、研究実施の申請が行われる予定。

2. 有識者の意見

1) 意見を伺った有識者

荒戸 照世 北海道大学大学院医学研究科教授
大橋 十也 東京慈恵会医科大学総合医科学研究センター長
小野寺 雅史 国立成育医療研究センター研究所成育遺伝研究部長
神田 忠仁 理化学研究所新興・再興感染症研究ネットワーク推進センター
業務展開チームチームリーダー
久米 晃啓 医薬品医療機器総合機構再生医療製品等審査部
斎藤 泉 東京大学医科学研究所遺伝子解析施設教授
竹内 隆正 国立感染症研究所病原体ゲノム解析研究センター主任研究員
谷 憲三朗 九州大学生体防御医学研究所所長
中西 真人 産業技術総合研究所幹細胞工学研究センター副研究センター長
那須 保友 岡山大学病院新医療研究開発センター教授
水口 裕之 大阪大学大学院薬学研究科分子生物学分野教授
三宅 弘一 日本医科大学医学部准教授
山口 照英 国立医薬品食品衛生研究所生物薬品部研究員

2) 有識者の意見

いずれの有識者からも、本臨床研究実施計画については、新規性はなく、指針第五章の第一の三のいずれの項目にも該当しないものと判断された。

【有識者からの主な意見】

- 両臨床研究は、既に承認された大阪大学医学部附属病院における遺伝子治療臨床研究との多施設共同臨床研究という位置付けであり、投与されるプラスミドベクター、投与方法、対象疾患、治療方法等は同一であることから、両臨床研究の新規性はないと判断する。

なお、新規性以外の点について、有識者から以下の意見が出された。

- 新規性なしとの判断で問題はないが、本剤は既に一度承認申請がなされており、その後、承認申請が取り下げられた経緯がある。これまでの開発経緯や承認申請と承認申請取下げの経緯について被験者への同意・説明文書に十分な情報を記載し、正確に伝えるべきである。

3. 厚生労働大臣の意見

上記2の有識者の意見を踏まえ、本臨床研究実施計画については、新規性はなく、指針第五章の第一の三のいずれの項目にも該当しないことから、厚生労働大臣の意見としては実施して差し支えないものと判断した。

【参照】遺伝子治療臨床研究に関する指針

第五章 厚生労働大臣の意見等

第一 厚生労働大臣の意見

三 厚生労働大臣は、二に基づき意見を求められた場合において、複数の有識者の意見を踏まえ、当該遺伝子治療臨床研究が次に掲げる事項のいずれかに該当すると判断するときは、当該遺伝子治療臨床研究の医療上の有用性及び倫理性について厚生科学審議会の意見を聴くものとする。

1 疾病の治療のための遺伝子が組み込まれたDNA又はこれを含むウイルスその他の粒子であって、当該遺伝子を細胞内に導入する際に用いられる新規のもの又は新規の遺伝子投与方法を用いていること。

2 新規の疾病を対象としていること。

3 新規の遺伝子治療方法を用いていること（1又は2に該当するものを除く。）。

4 その他個別の審査を必要とするような事項を含んでいること。

四 厚生労働大臣は、三の規定による厚生科学審議会からの意見の聴取が必要ないと判断する場合には、意見を求められた日から三十日以内に、当該遺伝子治療臨床研究の実施に関し意見を述べるものとする。

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 委員名簿

氏 名	所 属
荒戸 照世	北海道大学大学院 医学研究科教授
大橋 十也	東京慈恵会医科大学 DNA医学研究所教授
小野寺 雅史	国立成育医療研究センター研究所 成育遺伝研究部長
神田 忠仁	理化学研究所 新興・再興感染症研究ネットワーク推進センター 業務展開チーム チームリーダー
久米 晃啓	独立行政法人医薬品医療機器総合機構 再生医療製品等審査部
斎藤 泉	東京大学医科学研究所 遺伝子解析施設教授
竹内 隆正	国立感染症研究所 病原体ゲノム解析研究センター 主任研究員
谷 憲三朗	九州大学生体防御医学研究所 所長
中西 真人	産業技術総合研究所 幹細胞工学研究センター 副研究センター長
那須 保友	岡山大学病院 新医療研究開発センター教授
水口 裕之	大阪大学大学院 薬学研究科分子生物学分野教授
三宅 弘一	日本医科大学 医学部准教授
○ 山口 照英	国立医薬品食品衛生研究所 生物薬品部研究員

○：委員長（五十音順 敬称略）

遺伝子治療臨床研究実施計画申請書

平成 27 年 2 月 26 日

厚生労働大臣 殿

実施施設	所在地	兵庫県神戸市中央区楠町 7 丁目 5-2 (郵便番号: 650-0017)
	名称	神戸大学医学部附属病院 (電話番号: 078-382-5111) (FAX 番号: 078-382-5050)
	代表者 役職名・氏名	神戸大学医学部附属病院 病院長 藤澤 正人 (職印)

下記の遺伝子治療臨床研究について、別添の実施計画に対する意見を求めます。

記

遺伝子治療臨床研究の課題名	統括責任者の所属・職・氏名
慢性動脈閉塞症（閉塞性動脈硬化症及びビュルガー病）を 対象とした AMG0001 の筋肉内投与による遺伝子治療	神戸大学医学部附属病院 循環器内科 教授 平田 健一

遺伝子治療臨床研究実施計画概要書

平成27年 2月26日

(申請年月日)

研 究 の 名 称	慢性動脈閉塞症(閉塞性動脈硬化症又はピュルガー病)を対象とした AMG0001 の筋肉内投与による遺伝子治療
研 究 実 施 期 間	先進医療Bの承認取得日から1年間

総括責任者	所属部局の所在地	神戸市中央区楠町7丁目5-2	
	所属機関・部局・職	神戸大学医学部附属病院 循環器内科 教授	
	氏 名	平田 健一 	
実施の場所	所 在 地	神戸市中央区楠町7丁目5-2	
	名 称	神戸大学医学部附属病院	
	連 絡 先	神戸大学医学部附属病院 循環器内科 兵庫県神戸市中央区楠町7丁目5-2 (郵便番号 650-0017) 電話番号 078-382-5846	
統括責任者以外の研究者	氏 名	所属機関・部局・職	役 割
	新家 俊郎	神戸大学医学部附属病院 循環器内科 准教授	患者の選定、患者への説明及び 同意の取得、臨床観察、効果判定
	大竹 寛雅	神戸大学医学部附属病院 循環器内科 助教	患者の選定、患者への説明及び 同意の取得、臨床観察、効果判定
	高谷 具史	神戸大学医学部附属病院 循環器内科 特定助教	患者の選定、患者への説明及び 同意の取得、臨床観察、効果判定
	小西 明英	神戸大学医学部附属病院 循環器内科 レジデント	患者の選定、患者への説明及び 同意の取得、臨床観察、効果判定
	黒田 優	神戸大学医学部附属病院 循環器内科 レジデント	患者の選定、患者への説明及び 同意の取得、臨床観察、効果判定
	高橋 八大	神戸大学医学部附属病院 循環器内科 レジデント	患者の選定、患者への説明及び 同意の取得、臨床観察、効果判定
	寺下 大輔	神戸大学医学部附属病院 循環器内科 レジデント	患者の選定、患者への説明及び 同意の取得、臨床観察、効果判定
	黒田 浩史	神戸大学医学部附属病院 循環器内科 レジデント	患者の選定、患者への説明及び 同意の取得、臨床観察、効果判定

統括責任者以外の研究者	南野 徹	新潟大学医歯学総合病院・循環器内科・教授	多施設共同臨床研究における協力実施医療機関の総括
	古森 公浩	名古屋大学医学部附属病院・血管外科・教授	多施設共同臨床研究における協力実施医療機関の総括
	樂木 宏実	大阪大学医学部附属病院・老年・高血圧内科 教授	多施設共同臨床研究における全体の総括
	種本 和雄	川崎医科大学附属病院・心臓血管外科・教授	多施設共同臨床研究における協力実施医療機関の総括
	佐田 政隆	徳島大学病院・循環器内科・教授	多施設共同臨床研究における協力実施医療機関の総括
	檜垣 實男	愛媛大学医学部附属病院・腎臓・高血圧内科・教授	多施設共同臨床研究における協力実施医療機関の総括
	野出 孝一	佐賀大学医学部附属病院・循環器内科・教授	多施設共同臨床研究における協力実施医療機関の総括
外部協力者	山田 英	アンジェス MG 株式会社・代表取締役社長	AMG0001 の提供、品質試験の実施、AMG0001 の品質、非臨床、臨床データなどの情報提供

審査委員会が研究計画の実施を適当と認める理由	当該遺伝子治療臨床研究は、「遺伝子治療臨床研究に関する指針 [平成 14 年 3 月 27 日文科科学省・厚生労働省告示 1 号（平成 16 年 12 月 28 日全部改正、平成 20 年 12 月 1 日一部改正）]」の必要な条件を満たしていると認める。 当該遺伝子治療臨床研究の対象、遺伝子治療用医薬品である AMG0001、試験デザイン、及び評価項目等は、大阪大学医学部附属病院で過去に実施した「HGF 遺伝子プラスミドを用いた末梢性血管疾患（慢性閉塞性動脈硬化症・ビュルガー病）の治療のための遺伝子治療臨床研究」、並びに当該成果を活用してアンジェス MG 株式会社が国内で実施した「AMG0001 の閉塞性動脈硬化症を対象としたプラセボ対照無作為化二重盲検比較試験」及び「AMG0001 のビュルガー病を対象とした一般臨床試験」を踏襲している。また、これらの遺伝子治療臨床研究は、事前に AMG0001 の品質及び安全性についての厚生労働大臣の確認・了承を得たうえで実施され、既存療法抵抗性患者の症状を改善する効果が示唆され、その安全性については問題ない結果が得られている。 当該遺伝子治療臨床研究については、これまでに実施された遺伝子治療用医薬品 AMG0001 と同一薬を用い、上記の遺伝子治療臨床研究の内容から特段新規性を認めるものではなく、今後の開発の参考となるデータ取得を目的として実施されるものである。 以上より、当該遺伝子治療臨床研究の実施は妥当であると認める。
------------------------	--

	審査委員会の長の職名	氏名
	神戸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 神戸大学大学院医学研究科 iPS 細胞応用医学分野特命教授	青井 貴之 (印)

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	当該遺伝子治療臨床研究では、代替治療が困難な慢性動脈閉塞症（閉塞性動脈硬化症又はビュルガー病）患者を対象に、AMG0001 を虚血肢の筋肉内に局所投与し、安静時疼痛（Fontaine 分類 III 度）及び潰瘍（Fontaine 分類 IV 度）の治療効果及び安全性を探索的に検討することを目的とする。 AMG0001 は、大阪大学により創成された血管新生促進作用を有する難治性の虚血性疾患治療薬である。大阪大学医学部附属病院において、AMG0001 を用いた末梢性血管疾患（慢性閉塞性動脈硬化症・ビュルガー病）を対象とした遺伝子治療臨床研究が 22 例で実施された。その結果、当該疾患に対する有効性が示唆され、安全性に関しても臨床問題となる副作用は認められなかった。その後の開発は、アンジェス MG 株式会社（本社：大阪府茨木市、以下「アンジェス社」）により実施されている。 アンジェス社では、2008 年 3 月 27 日に「重症虚血肢（安静時疼痛、潰瘍）を有する閉塞性動脈硬化症・ビュルガー病」を効能及び効果として製造販売承認申請した。当該承認申請における有効性を示す主たる臨床試験として、「閉塞性動脈硬化症を対象としたプラセボ対照無作為化二重盲検比較試験」が実施され、安静時疼痛及び潰瘍症状の改善効果が認められた。[REDACTED] [REDACTED] [REDACTED]臨床試験のデータ不足ということでアンジェス社は 2010 年 9 月 17 日に当該製造販売承認申請を取下げた。 以上の経緯から AMG0001 はいまだ薬事承認に至っていないが、これまでの臨床試験の結果からは、安静時疼痛及び潰瘍の改善効果が得られることは十分に期待できると考えられる。しかし現在、アンジェス社では、海外での追加第 III 相臨床試験の準備中であり、国内で臨床試験を企業として実施する方針は当面ないという状況である。よって、今回、医師が主導する形で当該遺伝子臨床研究を実施し、AMG0001 の末梢性血管疾患に対する安静時疼痛及び潰瘍改善効果を再検討することで、今後の開発の参考となるデータを得ることを目指すこととなった。	
対象疾患及びその選定理由	当該遺伝子治療臨床研究では、薬物治療抵抗性で、外科的治療の適用が困難な慢性動脈閉塞症（閉塞性動脈硬化症又はビュルガー病）患者のうち、安静時疼痛（Fontaine 分類 III 度）又は潰瘍（Fontaine 分類 IV 度）を有する CLI 患者が対象となる。当該 CLI 患者においては、QOL が著しく損なわれ、生命予後も不良であることが報告されている。 特に、薬物治療抵抗性で、外科的治療の適用が困難な CLI 患者では、標準治療が確立しておらず、新規治療法の開発が期待されている。 以上のことから、安静時疼痛（Fontaine 分類 III 度）又は潰瘍（Fontaine 分類 IV 度）を有する薬物治療抵抗性で、外科的治療の適用が困難な慢性動脈閉塞症（閉塞性動脈硬化症又はビュルガー病）患者を当該遺伝子治療臨床研究の対象疾患として選定することは妥当であると考えている。	

遺伝子の種類及びその導入方法	AMG0001 は [REDACTED] を基本骨格としている。[REDACTED] の主な用途は DNA ワクチンであり、高い遺伝子導入効率及び遺伝子発現効率を意図しているのみならず、不要の配列を極力排除することで、プラスミドが宿主染色体に取り込まれることや、他の細胞内エレメントとの作用がないよう考慮されている [REDACTED] はサイトメガロウイルス由来のプロモーター及びエンハンサー領域を有しており、その下流に組み込まれたヒトの HGF 遺伝子 (cDNA) は、導入された細胞において強力に発現し、HGF たん白質が安定して産生される。また、HGF 遺伝子の下流にはウシ成長ホルモン遺伝子由来のポリ A 付加シグナルが存在し、HGF mRNA の安定性、ひいては HGF たん白質の発現を向上させる働きがある。ヒト HGF cDNA 以外に新たに挿入された連結部分の塩基配列についても、有害塩基配列やヒト遺伝子との相同性の高い配列は含まれていない。 遺伝子導入方法は、以前アンジェス MG 社により実施されたバージャー病を対象とした一般臨床試験に準拠し、AMG0001 を日局生理食塩液で希釈し、対象肢の虚血部位に対して 1 部位あたり 0.5 mg ずつ 8 部位 (合計 4.0 mg) に筋肉内投与する。投与は 4 週間の間隔をあけて 2 回行う。治療期 8 週間において改善傾向が認められない場合には、更に 3 回目の投与を実施する。有効性及び安全性の評価は、AMG0001 の 1 回目投与 12 週間後に行う。
安全性についての評価	様々な動物種を用いて実施した AMG0001 の毒性試験 (単回投与毒性試験、反復投与毒性試験、遺伝毒性試験、局所刺激性試験及び抗原性試験)、担がんマウスを用いた AMG0001 の腫瘍増殖への影響確認試験、並びに中枢神経系及び呼吸・循環器系に対する安全性薬理試験の結果を記載する。 現在までに得られている全ての毒性試験結果の概要を表 1 に示す。

表 1 毒性試験結果一覧						
試験番号	試験項目	動物種/系統	投与経路	投与期間 (回復期間)	AMG0001 投与量 (mg/kg)	試験結果
A001-TC-101-G	単回投与毒性	ラット/SD	i.m.	単回投与	0, 10.0	概略の致死量 > 10.0 mg/kg
A001-TC-107-G					0, 10.0	
A001-TC-159-G			i.v.		0, 10.0 (B-H 製剤), 10.0 (S-F 製剤)	
A001-TC-102-G		カニクイザル	i.m.		2.5	概略の致死量 > 2.5 mg/kg
A001-TC-104-G	反復投与毒性	ラット/SD	i.m.	1 箇月間隔 4 回投与(1 箇月)	0, 0.5, 1.5, 5.0 mg/kg/月	無毒性量 5.0 mg/kg/月
A001-TC-111-G				1 週間間隔 5 回投与(4 週間)	0, 5.0 mg/kg/週	無毒性量 5.0 mg/kg/週
A001-TC-108-G,-G1			i.v.	14 日間 (14 日間)	0, 0.6, 2.5, 10.0 mg/kg/日	無毒性量 10.0 mg/kg/日
A001-TC-108-G,-G1,-G2,-G3		カニクイザル	i.m.	1 箇月間隔 4 回投与(1 箇月)	0, 0.25, 0.8, 2.5 mg/kg/月	無毒性量 2.5 mg/kg/月
A001-TC-183-G1	遺伝毒性 多臓器コメット アッセイ	ラット/SD	i.v.	24 時間間隔 2 回投与	0, 10.0	肺及び腎臓に おいて DNA 初期損傷誘発 作用なし
A001-TC-035-N	がん原性 担がんマウスを 用いた腫瘍増殖に 対する影響	マウス/ BALB/cA Jcl-nu	i.m.	単回投与 (腫瘍細胞株: Mewo, HT-29)	0.05, 0.25 mg/匹	いずれの腫瘍 細胞株においても 腫瘍増殖促進作用 及び腫瘍転移なし
A001-TC-118-G A001-TC-164-G	局所刺激性 (筋肉)	ウサギ/NZW	i.m.	単回投与	0.17 mg/mL (B-H / S-P 製剤)	生理食塩液と ほぼ同程度の 筋肉障害性
A001-TC-115-G A001-TC-132-N A001-TC-147-G	抗原性	マウス/ BALB/c マウス/ C3H/He	s.c. i.p.	2 週間間隔 で 3 回投与	感作: 25 (B-H / S-P 製剤) 誘発: 2.5	ASA 及び PCA 反応共に陰性
		モルモット/ Hartley	s.c.	2 週間間隔 で 3 回投与	感作: 2.5 (B-H / S-P 製剤) 誘発: 2.5	
A101-TC-175-G	中枢神経系	ラット/SD	i.m.	単回投与	0, 0.5, 5.0	中枢神経系への 影響なし
A001-TC-176-G, A001-TI-176-N1	中枢神経系 呼吸・循環器系	カニクイザル	i.m.	単回投与	0, 0.25, 2.5	行動への影響なし
						呼吸・循環器系 への影響なし

	AMG0001 のラット単回筋肉内及び静脈内投与における概略の致死量は、いずれの投与経路においても 10.0 mg/kg を超える量であった。AMG0001 のサル単回筋肉内投与における概略の致死量は 2.5 mg/kg を超える量であった。 ラット筋肉内 1 週間間隔 5 回投与毒性試験及びラット静脈内 14 日間反復投与毒性試験では、AMG0001 投与群の投与部位において AMG0001 の刺激性に起因すると考えられる炎症性変化が認められたが、いずれもごく軽度な変化であり、また明らかな回復性が認められたことから、毒性学的に重大な意義はないと考えられた。その他に AMG0001 投与に関連した変化は認められなかった。ラット筋肉内 1 箇月間隔 4 回投与毒性試験では、血清中の抗ヒト HGF 抗体価の上昇が 1.5 mg/kg 及び 5.0 mg/kg 投与群の少数例で認められた。無毒性量は、ラット筋肉内 1 箇月間隔 4 回投与毒性試験では 5.0 mg/kg/月、1 週間間隔 5 回投与毒性試験では 5.0 mg/kg/週、ラット静脈内 14 日間反復投与毒性試験では 10.0 mg/kg/日、サル筋肉内 1 箇月間隔 4 回投与毒性試験では 2.5 mg/kg/月であった。 AMG0001 の発がんイニシエーション作用を検討するため、肺及び腎臓における DNA 初期損傷誘発性についてラット多臓器コメットアッセイを用いて評価した。その結果、いずれの臓器においても AMG0001 による DNA 初期損傷誘発作用は認められなかった。また、AMG0001 の発現産物である HGF には腫瘍細胞増殖促進作用があることが知られていることから、担がんマウスを用いた腫瘍増殖への影響確認試験を実施した。その結果、担がんマウスでは AMG0001 による腫瘍増殖及び腫瘍転移への影響は認められなかった。 AMG0001 製剤の臨床使用濃度（0.17 mg/mL）における局所忍容性は、生理食塩液とほぼ同程度と考えられた。AMG0001 の抗原性は認められなかった（ASA 及び PCA 試験で共に陰性）。 安全性薬理試験の結果から、AMG0001 について中枢神経系、呼吸・循環器系への影響はないものと推察された。 これまでに実施された AMG0001 の国内外の末梢動脈疾患患者を対象とした臨床研究及び臨床試験の概要を以下の表 2 に示す。
--	---

表 2 AMG0001 の臨床試験の概要

試験名	治験の相 (実施国)	対象疾患	デザイン	症例数	投与量	結果
AMG0001-JN-100	第 I/II 相 (日本)	間欠性跛行 あるいは重症 虚血肢を 有する閉塞性 動脈硬化症又は ピュルガー病	非盲検	AMG0001 22 例	20mgx2/日 Q,28 日後* 40mgx2/日 Q,28 日後 * 最初の 6 例は -14 日後に 0.4mg を投与	- 安全性上の問題はなかった。 64%の症例で潰瘍の改善が認められ、62%の症例で安静時疼痛の改善が認められた。
AG-CLI-0202 (HGF-STAT)	第 II 相 (米国)	重症虚血肢を 有する閉塞性 動脈硬化症	二重 盲検	AMG0001 78 例 プラセボ* 26 例	0.4mgx3/日 Q,14,28 日後 40mgx2/日 Q,28 日後 40mgx3/日 Q,14,28 日後	- TcPO₂ で有意な増加が認められた。 - 潰瘍サイズに変化がみられなかった。 - 安静時疼痛は変化がみられなかったが SF36 (体の痛み) で減少がみられた。 - 安全性上の問題はなかった。
AG-CLI-0205	第 II 相 (米国)	重症虚血肢を 有する閉塞性 動脈硬化症	二重 盲検	AMG0001 21 例 プラセボ 6 例	40mgx3/日 Q, 14, 28 日後	- 潰瘍治癒、安静時疼痛、血行動態値 (TP,TBI) では AMG0001 群で好ましい結果であった。 - 安全性上の問題はなかった。
AMG0001-JN-101	第 III 相 (日本)	重症虚血肢を 有する閉塞性 動脈硬化症	二重 盲検	AMG0001 29 例 プラセボ 15 例	40mgx2/日 Q,28 日後	12 週後において AMG0001 群で有意な潰瘍の改善がみられ、複合した改善率でも有意差を認めた。 - 安全性上の問題はなかった。
AMG0001-JN-102	第 III 相 (日本)	重症虚血肢を 有する バージャー病	非盲検	AMG0001 10 例	40 mgx2/日 Q, 28 日後 56 日目に 追加投与可能	12 週後において 9 例中 6 例で潰瘍の改善を認めた。 - 安全性上の問題はなかった。

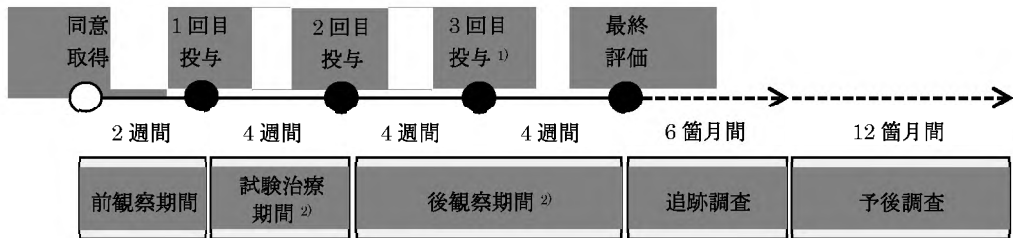
また、各試験における安全性及び有効性については、以下のとおりである。

(1) AMG0001-JN-100 試験 (国内試験)

血行再建術の適応がなく、かつ既存の内科的治療が無効な閉塞性動脈硬化症及びピュルガー病患者を対象として、研究者主導の臨床研究として実施された。第一ステージでは、AMG0001 0.4 mg の予備投与で安全性に問題が認められないことが確認された後、AMG0001 2.0 mg を 4 週間隔で 2 回投与した際の安全性が検討された。その後第二ステージでは、AMG0001 2.0 mg と 4.0 mg の 4 週間隔 2 回投与で用量反応性の検討 (第二ステージ) が行われた。

	その結果、AMG0001 の 4.0 mg までの忍容性が確認された。また、第二ステージでは 2.0 mg と 4.0 mg で有効性に差は認められなかった。 (2) AMG0001-JN-101 試験（国内試験） 血行再建術の施行が困難でかつ既存の内科的治療が無効な重症虚血肢を有する閉塞性動脈硬化症患者を対象に、AMG0001 の有効性を検討した。その結果、中間解析において AMG0001 群のプラセボ群に対する優越性が検証された。また、安全性について、AMG0001 の忍容性に問題は認められなかった。 (3) AMG0001-JN-102 試験（国内試験） 血行再建術の施行が困難でかつ既存の内科的治療が無効な潰瘍を有するビュルガー病患者を対象に、AMG0001 の有効性と安全性を検討した。その結果、潰瘍の改善において良好な有効性が示された。また、安全性について、AMG0001 の忍容性に問題はみられなかった。 (4) AG-CLI-0202 試験（海外試験） 血行再建術の適応がない重症虚血肢を有する閉塞性動脈硬化症を対象に、AMG0001 0.4 mg の 2 週間毎 3 回投与、AMG0001 4.0 mg の 4 週間毎 2 回投与、AMG0001 4.0 mg の 2 週間毎 3 回投与及びプラセボ投与の安全性及び有効性の検討を米国にて行った。 その結果、有効性については評価項目のひとつである TcPO₂ の変化量では各群間に統計学的に有意な差は認められなかったが、観察期間中に TcPO₂ の改善が認められた症例を除いた層別解析では、プラセボ群と 4.0 mg×3 群とで統計学的有意差が認められた。また、安全性については、AMG0001 4.0 mg の 2 週間隔 3 回投与までの忍容性に問題はみられなかった。 (5) AG-CLI-0205 試験（海外試験） 国内の AMG0001 の臨床試験では投与方法を虚血部位と定めていたが、米国第 II 相試験では膝上 4 箇所、膝下 4 箇所と治験実施計画書で定めており、日本の試験とは大きく投与方法が異なっていた。そこで、当該試験は日本の試験と同様に下肢の虚血部位に投与方法で実施された。血行再建術の適応がない重症虚血肢を有する閉塞性動脈硬化症を対象に、AMG0001 4.0 mg の 2 週間毎 3 回投与及びプラセボ投与の安全性及び有効性の検討を米国にて行った。しかし、骨や腱の露出を伴う潰瘍や壊死を伴うような重症の症例が多く登録され、有効性の評価が困難と判断されたことより、目標の 48 例に対し 27 例が登録された時点で新規症例登録を中止した。 以上、AMG0001 の安全性プロファイルを検討した結果、AMG0001 に特有の注視すべき有害事象は認められていない。
--	---

遺伝子治療臨床研究の実施が可能であると判断する理由	AMG0001 は、血管新生作用を有するプラスミド DNA であることから、一般的な理論的リスクとして、投与部位近傍における異常な血管新生、投与部位以外の遠隔臓器における血管新生に伴う有害反応の発生、及び AMG0001 に対する過剰な免疫応答の可能性がある。 しかしながら、各試験を通じて比較的高い頻度で認められた有害事象は、投与手技に関連する事象であり、投与部位での血管腫発生等異常な血管新生は認められなかった。 遠隔臓器への影響については、各臨床試験において AMG0001 投与に起因する血中 HGF 濃度の上昇はみられていないこと、血管新生に起因することが疑われる増殖糖尿病網膜症等の有害事象の発生は認められていないこと、及び <i>in vitro</i> 試験において AMG0001 がヒト血清中で速やかに代謝されることが示されていること等から、投与部位以外の遠隔臓器へ影響を及ぼすリスクは低いと考える。 なお、AMG0001 との因果関係が完全には否定されなかった有害事象として悪性腫瘍が 6 例 7 件認められたが、個々の事象を詳細に検討した結果、いずれも AMG0001 との関連性は低いと判断している。 また、免疫応答反応の誘引因子となり得るような各種抗体の産生は認められず、AMG0001 が免疫応答を惹起させる可能性は低いことが示唆される。 これまで実施されてきた臨床試験の結果、既存療法で改善の認められない間歇性跛行、安静時疼痛及び潰瘍を有する閉塞性動脈硬化症又はビュルガー病患者における最大歩行距離、安静時疼痛、潰瘍症状の改善が認められている。 これまでに実施された AMG0001 の非臨床試験、臨床研究及び臨床試験の結果を総合的に判断し、AMG0001 の臨床研究を実施することは妥当であると判断する。 今般、大阪大学医学部附属病院では、投与対象肢の血行再建術（血管内治療を含む）の適用が困難な患者、又は当該適応が不可能ではないが、手術によるリスクがあると判断される患者で、既存の内科的治療に抵抗性の慢性動脈閉塞症（閉塞性動脈硬化症又はビュルガー病）に対する新規治療薬の早期開発を目指し、当該遺伝子治療臨床研究を実施することになった。 神戸大学医学部附属病院（以下、当院）は、大阪大学医学部附属病院の主旨に賛同し、当該遺伝子治療臨床研究（多施設試験）の実施施設として参加することになった。当院では、アンジェス社が行った AMG0001 の閉塞動脈硬化症を対象とした第 III 相試験への参加経験を有しており、当該遺伝子治療臨床研究を実施するための保冷库、安全キャビネット等のプロトコル治療可能な設備を備えており、ハード面での実施体制も完備されている。 また、万が一、重篤な有害事象や不測の事態が発生したとしても、当院では第三次救急医療の体制が整備されており、十分に高度な医療設備や医療従事者を有することから、迅速で適切な対処が可能である。 当院では、数多くの臨床研究や治験の実施経験もあることから、臨床試験の支援体制も充実しており、当該遺伝子治療臨床研究に対する実施体制が整備されている。
----------------------------------	---

実施計画	当該遺伝子治療臨床研究では、薬物治療抵抗性で、外科的治療の適用が困難な慢性動脈閉塞症（閉塞性動脈硬化症又はビュルガー病）患者のうち、以下の臨床症状を有する患者を対象とする。 ・安静時疼痛（Fontaine 分類 III 度） ・潰瘍（Fontaine 分類 IV 度） 遺伝子導入方法は、以前アンジェス MG 社により実施されたバージャー病を対象とした一般臨床試験に準拠し、AMG0001 を日局生理食塩液で希釈し、対象肢の虚血部位に対して 1 部位あたり 0.5 mg ずつ 8 部位（合計 4.0 mg）に筋肉内投与する。投与は 4 週間の間隔をあけて 2 回行う。治療期 8 週間において改善傾向が認められない場合には、更に 3 回目の投与を実施する。有効性及び安全性の評価は、AMG0001 の 1 回目投与 12 週間後に行う。 希釈後の AMG0001 の 1 部位あたりの投与液量は 3.0 mL とし、投与対象筋が小さい場合には 2.0 mL まで減じてよい。注射部位は虚血の状態により被験者ごとに決定する。入院、外来の別は問わない。 後観察期間終了後、初回投与 6 箇月後及び 12 箇月後に追跡調査（来院）及び予後調査を行い、初回投与 24 箇月後に、来院を義務としない安全性確認のための聞き取り調査を行う。当該遺伝子治療臨床研究の概略を図 1 に以下に示す。  図 1 遺伝子治療臨床研究の概略 1) 3 回目投与は、2 回目投与後の評価結果により実施の可否を判断する。 2) 3 回投与の場合は、試験治療期間は 8 週間となり、後観察期間は 4 週間となる。 当該遺伝子治療臨床研究は、早期・探索的臨床試験拠点である大阪大学医学部附属病院を中心として実施される多施設共同臨床研究である。実施医療機関は、以下の 8 施設を予定している。 《実施予定施設》 ・大阪大学医学部附属病院 ・新潟大学医歯学総合病院 ・名古屋大学医学部附属病院 ・神戸大学医学部附属病院 ・川崎医科大学附属病院 ・徳島大学病院 ・愛媛大学医学部附属病院 ・佐賀大学医学部附属病院
------	--

	目標登録被験者数は、予定される実施医療機関全体で6例を予定している。当該遺伝子治療臨床研究の対象疾患は限られているうえ、適格性基準を満たす被験者6例を研究実施期間に1施設で集積する実行可能性は極めて低いことから、多施設共同臨床研究とした。 当該遺伝子治療臨床研究と同様の対象、用法・用量及び試験デザインによる AMG0001 遺伝子治療臨床研究が、大阪大学医学部附属病院（医師主導の臨床研究）及びアンジェス MG 社（第 III 相臨床試験）により実施されているが、AMG0001 の安全性に特段問題となる所見は認められていない。また、アンジェス MG 社の第 III 相臨床試験において、AMG0001 の調製方法、投与方法及び評価方法等の試験方法が標準化されており、当該遺伝子治療臨床研究においてもその標準的な対応方法を取り入れることにより、多施設共同臨床研究においても均一化された試験実施が可能である。 当該遺伝子治療臨床研究は、先進医療 B 制度に準拠して行う臨床研究であり、安全性情報をはじめとする各種情報共有については、当該制度に従い対応するものとする。 研究実施期間は、先進医療 B 申請を行い、当該申請が承認された日を研究開始とし最終被験者の投与開始 12 週間までを研究実施期間とする。
備考	(1) 被験者の同意について： 当該遺伝子治療臨床研究への参加候補となる患者本人に対して、同意説明文書を提供し、十分な説明を行った後、当該遺伝子治療臨床研究への参加の同意を文書で取得する。また、当該遺伝子治療臨床研究においては、単独で同意を取得できない者は被験者とししない。 なお、被験者は、その申し出により同意を撤回し、当該遺伝子治療臨床研究への参加をいつでも中止することができる。 (2) 当該遺伝子治療臨床研究については、神戸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い、その化学的及び倫理的妥当性について了承されている。 (3) 当該遺伝子治療臨床研究は、8施設の参加が予定される多施設共同臨床研究であり、先進医療B制度に準拠して実施される。

(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. この申請書は、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. 備考欄には、「第 4 その他」に掲げる各種指針への適合状況等、特記すべき事項について記載すること。
6. 大学等にあつては、この申請書の写しを文部科学大臣にも送付すること。

遺伝子治療臨床研究実施計画書

Ver2.3, 14January2015

[課題名]

慢性動脈閉塞症（閉塞性動脈硬化症及びビュルガー病）を対象とした
AMG0001 の筋肉内投与による遺伝子治療

目次

1	遺伝子治療臨床研究の名称	1
2	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研究に果たす役割	1
2.1	総括責任者の氏名及び担当する役割	1
2.2	総括責任者以外の共同研究者の氏名及び担当する役割	1
2.2.1	臨床研究分担医師	1
2.2.2	その他の臨床研究協力者（外部）	2
3	実施施設の名称及びその所在地	2
4	遺伝子治療臨床研究の背景と目的	2
4.1	当該遺伝子治療臨床研究の背景	2
4.2	当該遺伝子治療臨床研究の目的	3
5	遺伝子治療臨床研究の対象疾患及びその選定理由	3
5.1	研究の区分	4
5.2	対象疾患に対する現時点での知見	4
5.2.1	概念・定義・病因・病態	4
5.2.2	疫学	4
5.2.3	標準治療と予後	4
5.2.4	併存疾患及び合併症	5
5.2.5	対象疾患の選定理由	6
5.3	当該遺伝子治療臨床研究の概要	6
5.4	他の治療法との比較及び遺伝子治療を選択した理由	7
6	遺伝子の種類及びその導入方法	8
6.1	ヒトに導入する遺伝子の構造と性質	8
6.1.1	ヒトに導入する遺伝子の構造	8
6.1.2	ヒトに導入する遺伝子の性質	8
6.2	本研究計画で使用するその他の組換え DNA の構造と性質	11
6.3	標的細胞とした細胞の由来及び生物学的特徴並びに当該細胞を標的細胞とした理由	11
6.4	遺伝子導入方法の概略及び当該導入方法を選択した理由	11
6.4.1	遺伝子導入方法の理論的根拠	11
6.4.2	遺伝子導入方法の概略	12
6.4.3	使用するベクター（担体）の作製方法	13
6.4.4	使用するベクター（担体）の構造	15
6.4.5	使用するベクター（担体）の生物学的特徴	18
6.4.6	製造方法	19
7	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	22

7.1	培養細胞を用いた研究成果.....	22
7.2	実験動物を用いた研究成果.....	23
7.2.1	ウサギを用いた投与量及び投与間隔の検討	23
7.2.2	血管新生作用の検討	25
7.2.3	主要代謝物 Open Circular 体に関する検討.....	26
8	安全性についての評価.....	26
8.1	遺伝子導入方法の安全性.....	26
8.1.1	遺伝子導入に用いるプラスミドベクター（担体）の純度.....	26
8.1.2	患者に投与する物質（製剤）の純度	27
8.1.3	増殖性ウイルス出現の可能性	27
8.1.4	遺伝子導入に用いるプラスミドベクター（担体）の細胞傷害性.....	27
8.1.5	体内の標的細胞以外の細胞への遺伝子導入の可能性.....	27
8.1.6	患者以外の人に遺伝子が導入される可能性	28
8.1.7	染色体へ遺伝子が組み込まれる場合の問題点	28
8.1.8	がん原性の有無	28
8.2	遺伝子産物の安全性.....	29
8.2.1	導入遺伝子の発現産物のがん原性	29
8.2.2	導入遺伝子の発現産物の免疫原性	29
8.3	非臨床安全性試験.....	30
8.3.1	単回投与毒性試験	30
8.3.2	反復投与毒性試験	31
8.3.3	遺伝毒性試験	32
8.3.4	がん原性試験	32
8.3.5	生殖発生毒性試験	32
8.3.6	局所刺激性試験	33
8.3.7	抗原性試験	33
8.3.8	安全性薬理試験	33
8.3.9	毒性結果のまとめ	33
8.4	薬物動態試験	34
8.4.1	分析法	34
8.4.2	分布	34
8.5	代謝	39
8.5.1	<i>In vitro</i> 代謝 [100].....	39
8.5.2	<i>In vivo</i> 代謝 [88, 89, 93, 94].....	39
8.6	排泄	39
8.6.1	ラット静脈内単回投与時の尿中排泄 [93, 94]	39
9	AMG0001 遺伝子治療臨床研究及び臨床試験の実施状況	40
9.1	AMG0001-JN-100 試験（国内試験） [59,60]	41

9.2	AMG0001-JN-101 試験（国内試験） [61].....	41
9.3	AMG0001-JN-102 試験（国内試験） [62].....	41
9.4	AG-CLI-0202 試験（海外試験） [63]	41
9.5	AG-CLI-0205 試験（海外試験） [64]	41
10	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	42
11	遺伝子治療臨床研究の実実施計画	42
11.1	研究目的.....	42
11.2	対象疾患.....	42
11.3	登録被験者の予想される利益と不利益.....	42
11.3.1	予想される利益	42
11.3.2	予想される不利益	43
11.4	適格基準.....	43
11.4.1	被験者登録時の選択基準	43
11.5	同意取得.....	45
11.5.1	同意説明文書及び同意書の作成.....	45
11.5.2	同意説明文書及び同意書の改定.....	45
11.5.3	同意説明及び同意取得の時期の方法.....	46
11.6	登録.....	46
11.7	AMG0001	48
11.7.1	AMG0001（原薬）	48
11.7.2	AMG0001（製剤）	48
11.8	臨床研究実施計画.....	49
11.8.1	デザインの型	49
11.8.2	デザインの設定根拠	49
11.8.3	目標登録被験者数・被験者登録期間・研究実施期間.....	49
11.8.4	目標登録被験者数の集積の可能性.....	50
11.8.5	プロトコル治療計画	50
11.8.6	登録被験者の研究参加期間	53
11.9	主要評価項目及び副次的評価項目	53
11.9.1	主要評価項目	53
11.9.2	主要評価項目の設定根拠	54
11.9.3	副次的評価項目	56
11.9.4	副次的評価項目の設定根拠	57
11.10	観察・検査スケジュール.....	58
11.10.1	観察・検査スケジュール	58
11.10.2	観察・検査項目	59
11.11	被験者の安全性の確保.....	61
11.11.1	基本的事項	61

11.11.2	有害事象の定義	61
11.11.3	有害事象の評価	62
11.11.4	有害事象発現時の対応	62
11.11.5	予想される有害事象とその対応	62
11.11.6	有害事象への対処	72
11.12	被験者ごとの臨床研究中止の基準及び手順	73
11.12.1	被験者ごとの中止基準	73
11.12.2	被験者ごとの中止の手順	73
11.13	臨床研究実施計画書の遵守、逸脱又は変更	74
11.13.1	臨床研究実施計画書の遵守	74
11.13.2	実施計画書からの逸脱又は変更	74
11.14	臨床研究の終了又は中止及び中断	74
11.14.1	研究の終了	74
11.14.2	研究全体の中断・中止の基準及び手順	75
11.15	症例報告書	75
11.15.1	症例報告書の記録項目	75
11.15.2	症例報告書の作成	76
11.15.3	症例報告書の記載上の注意	76
11.15.4	症例報告書の変更又は修正	76
11.15.5	症例報告書の確認	76
11.15.6	症例報告書の提出	76
11.16	統計解析	77
11.16.1	目標登録被験者数の設定根拠	77
11.16.2	解析対象集団の定義	78
11.16.3	解析項目・方法	79
11.17	当該遺伝子治療臨床研究の品質管理	81
11.17.1	モニタリング	81
11.17.2	データ管理	81
11.18	当該遺伝子治療臨床研究の倫理的実施	81
11.18.1	遺伝子治療臨床研究審査委員会	81
11.18.2	臨床研究の進捗報告	81
11.19	記録等の保存	82
11.20	当該遺伝子治療臨床研究の総括報告書の作成	82
11.21	当該遺伝子治療臨床研究終了後の追跡調査の方法	82
11.22	臨床研究費用並びに健康被害の補償	82
11.22.1	研究の資金源と費用負担	82
11.22.2	健康被害の補償等	83
11.23	臨床研究成果の帰属及び研究結果の公表に関するとり決め	83

12	当該遺伝子治療臨床研究の実施施設の状況	83
13	当該遺伝子治療臨床研究に関連する国内外の研究状況	84
14	当該遺伝子治療臨床研究における個人情報保護に関する対処	85
14.1	個人情報の定義	85
14.2	当該遺伝子治療臨床研究を行う機関の長の最終的な責務	86
14.3	診療・教育機関としての神戸大学医学部附属病院における個人情報の一般的な取り扱い	86
14.4	当該遺伝子治療臨床研究の遂行に必要な被験者の個人情報の利用・取扱い	86
14.5	利用目的による制限	87
14.6	適正な取得及び取得に際しての利用目的の通知等	87
14.7	内容の正確性確保	87
14.8	安全管理措置	87
14.9	委託者の監督	87
14.10	第三者提供の制限	88
14.11	保有する個人情報に関する事項に公表等	88
14.12	個人情報の開示	88
14.13	個人情報の訂正及び利用停止等	88
14.14	理由の説明	88
14.15	個人情報の開示、訂正、利用停止等の求めに応じる手続き	89
14.16	苦情の対応	89
15	利益相反	89
16	遵守すべき基準	89
17	参考文献等	90

表目次

表 1	AMG 原薬の純度試験及び規格	26
表 2	AMG 製剤の純度試験及び規格	27
表 3	AMG0001 の臨床試験の概要	40
表 4	AMG0001 を用いた臨床試験における安全性評価例数	63
表 5	AMG0001-JN-100 試験における副作用（対象 22 例）（初回投与～投与 27 箇月後）	64
表 6	AMG0001-JN-101 試験ステージ 1 における副作用（対象 41 例）	65
表 7	AMG0001-JN-102 試験における副作用（対象 10 例）	68
表 8	AG-CLI-0202 試験における副作用：初回投与～投与 12 箇月後（対象 104 例） ...	70
表 9	AG-CLI-0205 試験における副作用：初回投与～投与 12 箇月後（対象 27 例）	71
表 10	末梢血管疾患に対する遺伝子治療	84

図目次

図 1	当該遺伝子治療臨床研究の概略	6
図 2	AMG0001 の構造.....	8
図 3	HGF による血管新生の分子機構	10
図 4	AMG0001 の作製方法	13
図 5	遺伝子構成要素の機能とその由来.....	18
図 6	HGF のプロセッシング	19
図 7	製造工程流れ図（概観）	21
図 8	AMG0001 導入ヒト骨格筋細胞における HGF の発現	22
図 9	AMG0001 導入細胞の培養上清から得られたヒト HGF の血管内皮細胞の増殖活性	23
図 10	AMG0001 投与後 7 日目のウサギ筋肉内におけるヒト HGF の発現 (n=20 下肢) : 部位あたり 0.01 mg/2.0 mL vs. 0.5 mg/2.0 mL	24
図 11	AMG0001 (0.5mg) の投与後 7 日目のウサギ筋肉内におけるヒト HGF の発現 (n=20 下肢) : 投与量 0.5 mL vs. 2.0 mL/site	24
図 12	AMG0001 をウサギ下肢に筋肉内単回投与した後 (0.5 mg/2 mL/site) の筋肉中ヒ ト HGF 発現の経時変化 (n=20 下肢)	25
図 13	ラット下肢虚血モデルにおける AMG0001 の血流量増加作用	26
図 14	雌雄ラットに 1.5 mg/kg の用量で筋肉内単回投与した時の筋肉中濃度推移	35
図 15	雌雄ラットに 0.06、0.3 及び 1.5 mg/kg の用量で筋肉内単回投与した時の血液中濃 度推移	36
図 16	雄性ラットに 1.5 mg/kg の用量で筋肉内単回及び 1 箇月間隔 2 回投与した時の筋 肉中濃度推移	37
図 17	雄性カニクイザルに 0.5 及び 2.5 mg/kg の用量で筋肉内単回投与した時の血液中 濃度推移	38
図 18	AMG0001 及びその代謝物 (OC 体及び LN 体) の模式図	39
図 19	試験の概略図.....	51

添付資料 1: 研究者の略歴及び研究業績

添付資料 2: 患者さんへ（同意説明文書）、同意書、同意撤回書

添付資料 3: 「医薬品等の副作用の重篤度分類基準について」（平成 4 年 6 月 29 日）

添付資料 4: 神戸大学医学部附属病院遺伝子治療臨床研究審査委員会の資料一式

添付資料 5: 参考文献等（アンジェス社の社内資料を除く）

1 遺伝子治療臨床研究の名称

慢性動脈閉塞症（閉塞性動脈硬化症及びビュルガー病）を対象とした AMG0001 の筋肉内投与による遺伝子治療

2 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研究に果たす役割

2.1 総括責任者の氏名及び担当する役割

平田 健一 神戸大学医学部附属病院
循環器内科 教授
遺伝子治療臨床研究実施の総合判断及び研究全体の総括

2.2 総括責任者以外の共同研究者の氏名及び担当する役割

2.2.1 臨床研究分担医師

新家 俊郎	神戸大学医学部附属病院 循環器内科 准教授 患者の選定、患者への説明及び同意の取得、臨床観察、効果判定
大竹 寛雅	神戸大学医学部附属病院 循環器内科 助教 患者の選定、患者への説明及び同意の取得、臨床観察、効果判定
高谷 具史	神戸大学医学部附属病院 循環器内科 特定助教 患者の選定、患者への説明及び同意の取得、臨床観察、効果判定
小西 明英	神戸大学医学部附属病院 循環器内科 レジデント 患者の選定、患者への説明及び同意の取得、臨床観察、効果判定
黒田 優	神戸大学医学部附属病院 循環器内科 レジデント 患者の選定、患者への説明及び同意の取得、臨床観察、効果判定
高橋 八大	神戸大学医学部附属病院 循環器内科 レジデント 患者の選定、患者への説明及び同意の取得、臨床観察、効果判定
寺下 大輔	神戸大学医学部附属病院 循環器内科 レジデント 患者の選定、患者への説明及び同意の取得、臨床観察、効果判定
黒田 浩史	神戸大学医学部附属病院 循環器内科 レジデント 患者の選定、患者への説明及び同意の取得、臨床観察、効果判定

2.2.2 その他の臨床研究協力者（外部）

樂木 宏実	大阪大学医学部附属病院 老年・高血圧内科 教授 多施設共同臨床研究における全体の総括
南野 徹	新潟大学医歯学総合病院 循環器内科 教授 多施設共同臨床研究における協力実施医療機関の総括
古森 公浩	名古屋大学医学部附属病院 血管外科 教授 多施設共同臨床研究における協力実施医療機関の総括
種本 和雄	川崎医科大学附属病院 心臓血管外科 教授 多施設共同臨床研究における協力実施医療機関の総括
佐田 政隆	徳島大学病院 循環器内科 教授 多施設共同臨床研究における協力実施医療機関の総括
檜垣 実男	愛媛大学医学部附属病院 腎臓・高血圧内科 教授 多施設共同臨床研究における協力実施医療機関の総括
野出 孝一	佐賀大学医学部附属病院 循環器内科 教授 多施設共同臨床研究における協力実施医療機関の総括
山田 英	アンジェス MG 株式会社 代表取締役社長 AMG0001 の提供、品質試験の実施、AMG0001 の品質、非臨床、臨床データなどの情報提供

3 実施施設の名称及びその所在地

名 称： 神戸大学医学部附属病院
所在地： 〒650-0017 兵庫県神戸市中央区楠町 7 丁目 5-2
(TEL) 078-382-5111 (代表)、078-382-5846 (循環器内科)
(FAX) 078-382-5050 (代表)、078-382-5859 (循環器内科)

4 遺伝子治療臨床研究の背景と目的

4.1 当該遺伝子治療臨床研究の背景

AMG0001 は、大阪大学により創成された血管新生促進作用を有する難治性の虚血性疾患治療薬である。大阪大学医学部附属病院において、AMG0001 を用いた末梢性血管疾患（慢性閉塞性動脈硬化症・ビュルガー病）を対象とした遺伝子治療臨床研究が 22 例で実施された。その結果、本疾患に対する有効性が示唆され、安全性に関しても臨床上問題となる副作用は認められなかった。その後の開発は、アンジェス MG 株式会社（本社：大阪府茨木市、以下「アンジェス社」）により実施されている。

アンジェス社では、2008年3月27日に「重症虚血肢（安静時疼痛、潰瘍）を有する閉塞性動脈硬化症・ビュルガー病」を効能及び効果として製造販売承認申請した。当該承認申請における有効性を示す主たる臨床試験として、「閉塞性動脈硬化症を対象としたプラセボ対照無作為化二重盲検比較試験」が実施され、安静時疼痛及び潰瘍症状の改善効果が認められた。

臨床試験のデータ不足ということでアンジェス社は2010年9月17日に当該製造販売承認申請を取下げた。

以上の経緯から AMG0001 はいまだ薬事承認に至っていないが、これまでの臨床試験の結果からは、安静時疼痛及び潰瘍の改善効果が得られることは十分に期待できると考えられる。しかし現在、アンジェス社では、海外での追加第Ⅲ相臨床試験の準備中であり、国内で臨床試験を企業として実施する方針は当面ないという状況である。よって、今回、医師が主導する形で本遺伝子臨床研究を実施し、AMG0001 の末梢性血管疾患に対する安静時疼痛及び潰瘍改善効果を再検討することで、今後の開発の参考となるデータを得ることを目指すこととなった。

4.2 当該遺伝子治療臨床研究の目的

肝細胞増殖因子（hepatocyte growth factor :HGF）は、肝細胞を増殖する因子として1984年にたん白質が発見され[1]、1989年にcDNAがクローニングされた[2]。HGFたん白質は、肝障害や腎障害に伴って障害臓器及び肺などの間葉系細胞によって産生され、障害臓器の上皮細胞系に働きかけて再生を促すことが知られており[3]、組織器官の恒常性維持に重要な役割を果たしている。これらの作用に加えてHGFたん白質は、血管内皮細胞の強力な増殖作用を有しており、血管新生にも重要な役割を果たしていることが明らかにされている[4-6]。

AMG0001 は米国インビトロジェン社が製造しているプラスミド DNA ベクターであるpVAX1 を基本骨格とし、ヒト HGF 遺伝子（cDNA）を組み込んだプラスミド DNA である。AMG0001 は導入された細胞内にて HGF 遺伝子を発現し、HGFたん白が産生される。AMG0001 を用いた遺伝子治療では、産生した HGFたん白質が血管新生と血流増加をもたらす、虚血症状を改善することにより、慢性動脈閉塞症（閉塞性動脈硬化症及びビュルガー病）の治療薬としての効果が期待される。

当該遺伝子治療臨床研究では、代替治療が困難な慢性動脈閉塞症（閉塞性動脈硬化症又はビュルガー病）患者を対象に、AMG0001 を虚血肢の筋肉内に局所投与し、安静時疼痛（Fontaine 分類Ⅲ度）及び潰瘍（Fontaine 分類Ⅳ度）の治療効果及び安全性を探索的に検討することを目的とする。

5 遺伝子治療臨床研究の対象疾患及びその選定理由

当該遺伝子治療臨床研究では、薬物治療抵抗性で、外科的治療の適用が困難な慢性動脈閉塞症（閉塞性動脈硬化症又はビュルガー病）患者のうち、以下の臨床症状を有する患者を対象とする。

- ・安静時疼痛（Fontaine 分類Ⅲ度）
- ・潰瘍（Fontaine 分類Ⅳ度）

以下に、慢性動脈閉塞症（閉塞性動脈硬化症又はビュルガー病）を当該遺伝子治療臨床研究の対象疾患とした選定理由を概説する。

5.1 研究の区分

遺伝子治療臨床研究

5.2 対象疾患に対する現時点での知見

5.2.1 概念・定義・病因・病態

閉塞性動脈硬化症（arteriosclerosis obliterans: ASO）とは、四肢の動脈が狭窄又は閉塞をきたし、下肢が虚血症状を示す疾患である。その臨床症状の重症度分類には、一般的に Fontaine 分類が用いられ、I 度：無症状、IIa 度：間歇性跛行（軽度）、IIb 度：間歇性跛行（中等度～高度）、III 度：安静時疼痛、IV 度：潰瘍、壊疽と症状が進行する。特に、III 度及び IV 度は重症下肢虚血（Critical Limb Ischemia: CLI）と呼ばれ、切断を余儀なくされることもある最も重篤な病態である。

ビュルガー病（バージャー病）（thromboangiitis obliterans: TAO）とは、閉塞性血栓性血管炎とも呼ばれ、四肢の主幹動脈に閉塞性の血管全層炎をきたす疾患である。特に、下肢動脈に好発して、虚血症状として間欠性跛行や安静時疼痛、潰瘍、壊疽をきたす疾患である。

5.2.2 疫学

我が国での ASO の発生頻度を人口比から検討したものは見られないが、仙台市のある地域で平均年齢 74 歳の住民 971 名中 2 %に ASO が発見されたと報告されている[7]。2010 年の日本の総人口は 1 億 2735 万人で 70 歳以上の人口が約 2121 万人であることから、2 %の頻度をあてはめると 42 万人程度となる。大阪で重症虚血肢（critical limb ischemia: CLI）を調査した報告[8]では、人口 10 万人あたり年間 1.3 肢が切断されている。CLI の ASO に占める頻度は 15～20 %程度であり、肢切断となるものは 25 %とされていることから[9]、CLI は 10 万人あたり 5 例程度、CLI の ASO に占める頻度を 15 %とすると ASO は 10 万人あたり 33 例、人口 1.3 億として 43 万人程度となる。一方、糖尿病に見られる ASO から見てみると、糖尿病の 0.5～3 %程度に糖尿病性足病変が見られるとされている[10]。我が国の糖尿病患者を 900 万人と仮定し、足病変のある頻度を 1.5 %とすると 14 万人となり、更に、糖尿病を併存する ASO は ASO の 30～40 %であるため、当該頻度を 35 %とすると、ASO 患者数は 40 万人程度と推測される。当該数値 40 万人は、上述した 42～43 万人程度とほぼ一致する。したがって、我が国の ASO 患者数は、40 万人前後と考えられる。当該数値には、無症候性の ASO は含まれておらず、ASO に占める無症候性のものが 20～50 %とされているため、無症候性のものを含めると 50～80 万人前後の患者群と推計される。

ビュルガー病の患者数は、年間の全国推計患者数が約 10000 人（95 %信頼区間 8,400～12,000 人）であり、男女比は 9.7 対 1 と圧倒的に男性が多い。推定発症年齢は男女とも 30 代から 40 代がもっとも多いが、現在の患者の中心は 45 歳から 55 歳であり、患者の高齢化が示唆されている[11]。

5.2.3 標準治療と予後

ASO に対する治療法としては、通常、以下の治療法が選択されている。

- (1) 運動療法及びフットケアや禁煙を含む生活指導、下肢閉塞性動脈硬化症患者の場合は動脈硬化のリスクファクター（糖尿病、脂質異常症や高血圧症など）の除去（軽度若しくは中等度の間歇性跛行を有する患者に適応される）

- (2) 自家静脈や人工血管をグラフトとして用い外科的に血行を再建する方法
(高度の間歇性跛行、安静時疼痛及び潰瘍を示す重症患者に適応される)
- (3) 血小板凝集抑制剤及びプロスタグランジン E1 製剤などによる薬物療法
(軽症患者から重症下肢虚血患者まで幅広く使用されているが、確実な効果が期待できる薬剤は存在しない。)

カテーテルによる血管拡張術やバイパス術などの血行再建術は非常に有効であり、血行再建術の成功は、劇的な臨床症状の寛解をもたらす。しかしながら、カテーテルによる血管拡張術は特に下腿～足部動脈の閉塞性病変に対する治療成績は不良で、狭窄部位が広範囲にわたる場合や完全閉塞では適応となるものは少ない。また、動脈の高度石灰化による血管状態の悪化、run-off 不良及び合併症による全身状態の悪化などの所見を有する患者においては、血行再建術が困難な場合もあり、リスクファクター除去や薬物療法による保存療法*により経過観察せざるを得ず、趾肢切断となる患者が後を絶たない。

*: 保存療法は、動脈の狭窄や閉塞を直接的に改善する治療法ではなく、症状が軽度の場合や外科的手術が困難な場合に行われ、病変血管の収縮予防や血栓形成予防などを中心とした薬剤療法、計画的に運動することにより側副血行路を発育させる運動療法及び原疾患（糖尿病、高血圧、高脂血症など）のコントロールや禁煙などの生活指導がある。

事実、欧米では年間 100 万人あたり約 120～500 例の患者が大切断を余儀なくされている[12]。また、ASO は、心血管系疾患を合併することが多く、生命予後は極めて不良であり、その死因の半数以上が虚血性心疾患や脳血管障害で占められる。間歇性跛行患者の 5 年後の生存率は 70 %前後、10 年後では 40～50 %であり、CLI 患者では 1 年後に約 20 %が死亡し、5 年後の生存率は半数以下である[13]。さらに、重症の ASO の生命予後は、乳癌や大腸癌患者の生命予後と比較しても不良といわれている[14]。

また日本においても、日本血管外科学会誌に 1992 年に報告された集計[15]によれば CLI 患者の約 25 %が趾肢切断に至っている。さらに、下肢切断後の生命予後も悪いことが知られており、下肢切断術 5 年後には 30 %が対側大切断、50 %が死亡するという報告もある[16]。

ビュルガー病に対しては、間接喫煙を含めた禁煙指導、また患肢の保温、保護に努めて靴ずれなどの外傷の回避、歩行訓練や運動療法が基本的な治療として行われている。積極的治療は局所治療、薬物療法、交感神経節ブロック・切除術及び血行再建術の 4 つに大きく分けられ、指趾に潰瘍形成や壊死を認める場合には、嚴重な創の保護を主体とする局所療法が行われている。薬物療法は抗血小板製剤とプロスタグランジン製剤の投与が主体である。潰瘍形成と安静時疼痛を訴える症例で、かつ薬物治療に抵抗性の症例については、外科的血行再建術の適応も考慮する必要があるが、本症は動脈硬化による血管閉塞とは異なり末梢側ほど病変が強くなるため、血行再建の適応外とされる症例も多い。本疾患は、心、脳、大血管病変を合併することはないため生命予後に関しては良好であるが、13-23 %の患者では四肢の切断を必要とするとの報告もあり[17]、就労年代の成年男性の QOL (quality of life) を著しく脅かすことも少なくない。

5.2.4 併存疾患及び合併症

ASO 患者の動脈硬化は全身に及んでいると考えられることから、ASO の併存疾患も多岐にわたり、糖尿病は 28.7 %の頻度で併存し、脳血管障害、虚血性心疾患及び高血圧は、それぞれ 23.7 %、22.8 % 及び 49.6 %の頻度で併存していると報告されている[16]。

また、ASO 患者の冠状動脈撮影により 60～70 %になんらかの閉塞性病変が認められ、超音波血流検査による頸動脈の観察では、頸動脈の 50 %以上に及ぶ狭窄性病変が 26 %に認められる[18]。

厚生労働省研究班における全国調査の結果では、糖尿病を 13.7 %，高血圧を 29.6 %，高脂血症を 15.2 %に認め、脳血管障害を 8 %，虚血性心疾患を 6 %，閉塞性動脈硬化症を 5 %に認める[19]。

5.2.5 対象疾患の選定理由

当該遺伝子治療臨床研究では、薬物治療抵抗性で、外科的治療の適用が困難な慢性動脈閉塞症（閉塞性動脈硬化症又はビュルガー病）患者のうち、安静時疼痛（Fontaine 分類 III 度）又は潰瘍（Fontaine 分類 IV 度）を有する CLI 患者が対象となる。当該 CLI 患者においては、QOL が著しく損なわれ、生命予後も不良であることが報告されている。

特に、薬物治療抵抗性で、外科的治療の適用が困難な CLI 患者では、標準治療が確立しておらず、新規治療法の開発が期待されている。

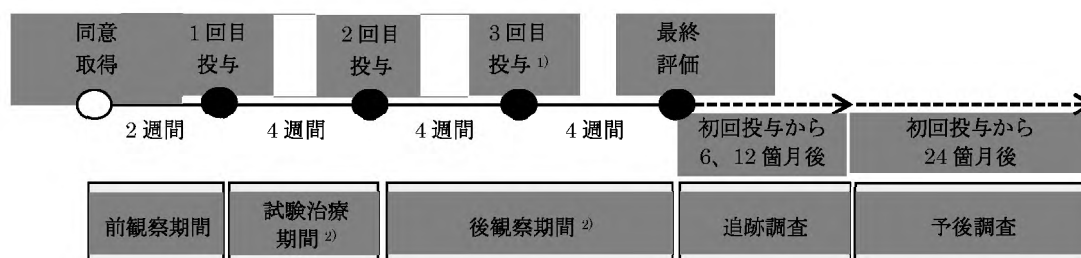
以上のことから、安静時疼痛（Fontaine 分類 III 度）又は潰瘍（Fontaine 分類 IV 度）を有する薬物治療抵抗性で、外科的治療の適用が困難な慢性動脈閉塞症（閉塞性動脈硬化症又はビュルガー病）患者を当該遺伝子治療臨床研究の対象疾患として選定することは妥当であると考えている。

5.3 当該遺伝子治療臨床研究の概要

AMG0001 を日局生理食塩液で希釈し、対象肢の虚血部位に対して 1 部位あたり 0.5 mg ずつ 8 部位（合計 4.0 mg）に筋肉内投与する。投与は 4 週間の間隔をあけて 2 回行う。治療期 8 週間後において改善傾向が認められない場合には、更に 3 回目の投与を実施する。有効性及び安全性の評価は、AMG0001 の 1 回目投与 12 週間後に行う。

希釈後の AMG0001 の 1 部位あたりの投与液量は 3.0 mL とし、投与対象筋が小さい場合には 2.0 mL まで減じてよい。注射部位は虚血の状態により被験者ごとに決定する。入院、外来の別は問わない。

後観察期間終了後、初回投与 6 箇月後及び 12 箇月後に追跡調査（来院）を行い、初回投与 24 箇月後に、来院を義務としない安全性確認のための聞き取り調査を行う。当該遺伝子治療臨床研究の概略を図 1 に以下に示す。



- 1) 3 回目投与は、2 回目投与後の評価結果により実施の可否を判断する。
- 2) 3 回目投与の場合は、試験治療期間は 8 週間となり、後観察期間は 4 週間となる。

図 1 当該遺伝子治療臨床研究の概略

5.4 他の治療法との比較及び遺伝子治療を選択した理由

慢性に末梢動脈の狭窄や閉塞病変が進行すると、末梢組織での血行動態が悪くなり、栄養分が不足し、冷感、しびれ、間歇性跛行などの症状が現れ、日常生活に支障をきたすようになる。更に症状が進行すると安静時疼痛や下肢の組織障害（潰瘍及び壊死）へと症状が重症化する。このような症状が重症化した患者では、末梢側血液流出（run-off）不良を伴う場合が多く、このうち血行再建術が適応とならない患者では、肢趾切断が余儀なくされているのが現状である。

このような慢性動脈閉塞症（下肢閉塞性動脈硬化症及びビュルガー病）患者に対しては、通常、以下の治療法が選択されている。

- (1) 運動療法及びフットケアや禁煙を含む生活指導、下肢閉塞性動脈硬化症患者の場合は動脈硬化のリスクファクター（糖尿病、脂質異常症や高血圧症など）の除去（軽度若しくは中等度の間歇性跛行を有する患者に適応される。）
- (2) 自家静脈や人工血管をグラフトとして用い外科的に血行を再建する方法（高度の間歇性跛行、安静時疼痛及び潰瘍を示す重症患者に適応される。）
- (3) 血小板凝集抑制剤及びプロスタグランジン E1 製剤などによる薬物療法（軽症患者から重症下肢虚血患者まで幅広く使用されているが、確実な効果が期待できる薬剤は存在しない。）

カテーテルによる血管拡張術やバイパス術などの血行再建術は非常に有効であり、血行再建術の成功は、劇的な臨床症状の寛解をもたらす。しかしながら、カテーテルによる血管拡張術は特に下腿～足部動脈の閉塞性病変に対する治療成績は不良で、狭窄部位が広範囲にわたる場合や完全閉塞では適応となるものは少ない。また、動脈の高度石灰化による血管状態の悪化、run-off 不良及び合併症による全身状態の悪化などの所見を有する患者においては、血行再建術が困難な場合もあり、リスクファクター除去や薬物療法による保存療法により経過観察せざるを得ず、趾肢切断となる患者が後を絶たない。

このようなリスクファクター除去や薬物療法による保存療法により経過観察せざるを得ないような患者に対する新規治療法の開発の医療上の意義は極めて高いと考える。

肝細胞増殖因子（hepatocyte growth factor :HGF）は、肝細胞を増殖する因子として 1984 年にたん白質が発見され[1]、1989 年に cDNA がクローニングされた[2]。HGF たん白質は、肝障害や腎障害に伴って障害臓器及び肺などの間葉系細胞によって産生され、障害臓器の上皮細胞系に働きかけて再生を促すことが知られており[3]、組織器官の恒常性維持に重要な役割を果たしている。これらの作用に加えて HGF たん白質は、血管内皮細胞の強力な増殖作用を有しており、血管新生にも重要な役割を果たしていることが明らかにされている[4-6]。

AMG0001 は米国インビトロジェン社が製造しているプラスミド DNA ベクターである pVAX1 を基本骨格とし、ヒト HGF 遺伝子（cDNA）を組み込んだプラスミド DNA である。AMG0001 は導入された細胞内にて HGF 遺伝子を発現し、HGF たん白が産生される。AMG0001 を用いた遺伝子治療では、産生した HGF たん白質が血管新生と血流増加をもたらす、虚血症状を改善することにより、慢性動脈閉塞症（閉塞性動脈硬化症及びビュルガー病）の治療薬としての効果が期待される。

標的細胞への HGF 遺伝子導入による局所での継続的な HGF 産生を実現する AMG0001 による遺伝子治療は、局所での虚血状態が慢性的な症状を呈する患者に適した治療であると考えられる。

6.1.2.1 導入遺伝子からの生成物の構造及びその生物活性

HGF は、各種の細胞において増殖や移動性、形態形成に関わっていることが知られており、上皮-中胚葉系の相互作用を介して発生や形態形成に関与していると考えられている[3,21,22]。また、HGF は血管平滑筋細胞増殖に影響を与えず、内皮細胞のみを増殖させることが明らかにされており[23, 24]、典型的なシグナル配列をもち細胞から分泌される[2]。更に、HGF の特異的受容体である c-met も内皮細胞に存在している[25]。一方、bFGF はシグナル配列を持たず、より高い遺伝子導入効率が必要になる。HGF の性質は VEGF と類似しており、aFGF や bFGF が平滑筋細胞や線維芽細胞に増殖作用をもつこととは異なっている[26-28]。

HGF による培養血管内皮細胞の増殖作用を他の代表的な血管内皮の増殖因子である VEGF や bFGF と比較すると、HGF はヒト臍帯静脈由来の血管内皮細胞に対して VEGF と同等の、またヒト大動脈由来の血管内皮細胞に対しては VEGF や bFGF より強力な増殖促進作用を示す[29,30]。このとき、大動脈由来血管内皮細胞に HGF と bFGF を同時投与すると増殖促進効果は相加効果を示す[29]。一方、HGF と VEGF を同時投与すると臍帯動脈由来血管内皮細胞では増殖促進効果は相加的であるが[29]、大動脈由来の血管内皮細胞では相加効果は認めない[30]。

また HGF はヒト臍帯静脈由来の血管内皮細胞に対し VEGF よりも強い遊走促進作用を認め、その効果は VEGF と相乗的である[29]。さらに、以前より HGF はウシ脳微小血管由来の血管内皮細胞による uPA の産生を促すことが知られていたが[31]、最近、血管内皮細胞が血管新生の初期段階で血管より漏出したフィブリン層を分解し通過するのに必須な MT1-MMP の産生及び、MMP-2 の活性を、HGF がヒト皮膚微小血管内皮細胞及びヒト冠動脈内皮細胞において増強することが示された[6]。また、HGF はヒト臍帯静脈血管内皮細胞による Flk-1 (VEGF レセプター-2) の発現を増強することも示されている[32]。

一方で c-met/HGF レセプターは血管平滑筋細胞にも存在するが[33]、HGF は bFGF と異なりその増殖には影響を及ぼさず、血管内皮細胞に特異的な増殖因子である。血管平滑筋細胞に対して HGF は細胞遊走の促進、血管平滑筋細胞による HGF 自身や VEGF の産生誘導[29]、また MMP-1 の発現亢進などの生物活性を示す。

このように HGF は血管内皮細胞の増殖を特異的に促進しつつ、内皮細胞による細胞外マトリックス分解、遊走、管腔形成を促進するなど強い血管新生作用を示す。更に HGF は血管内皮細胞に対する直接作用ばかりでなく、血管平滑筋細胞を介した作用、また血管壁での VEGF-レセプター系の発現増強などの間接作用にも機能し、HGF はまさに複雑な血管形成過程の総合プロデューサー的な役割を發揮しているといえる。

また、血管内皮細胞に対する増殖促進作用、遊走促進作用、管腔形成作用など血管新生因子としての HGF と VEGF には共通点も多い。実際に両者による血管新生には Ets-1 という共通の転写因子が働いていることがわかっている。Ets-1 は Ets ファミリーに含まれる転写因子で 85 個のアミノ酸からなる Ets ドメインによって標的遺伝子のシス領域に存在する Ets 結合モチーフに結合し、遺伝子を発現する。Ets-1 は間葉系由来の細胞で広く発現が認められるが、血管新生時の血管内皮細胞で発現が増強し血管形成の終了とともに減弱する。HGF も VEGF も内皮細胞における Ets-1 の発現を増強することが知られており[34]、uPA や MMP-1、3、9 など血管新生に必要な遺伝子の発現を誘導している。更に最近 Ets-1 は c-met や Flk-1 の発現を増強することが明らかとなった。HGF が血管平滑筋細胞や皮膚のケラチノサイトにおいて VEGF の発現を誘導することとあわせ[29, 32]、HGF と VEGF のオートインダクション系、若しくはクロストーク系の存在が示唆される。

一方、当然ながら HGF と VEGF の血管新生因子としての性質の違いも明らかになっている。第一に血管内皮細胞が虚血や高血糖などのストレスにさらされると、VEGF の発現は上昇するが HGF の発現は逆に減少し、両者が異なる発現制御を受けていることを示している。また血管発生 (vasculogenesis) 過程における両者の役割も異なっているようである。血管発生において HGF の果たす役割は未だ不明な点が多いが、少なくとも遺伝子ノックアウト動物を用いた解析の結果からは、VEGF 若しくはそのレセプターの遺伝子欠失マウスは大小血管系の発生異常又はその後の血管系の発達不全により胎性致死に至り、VEGF-レセプター系が血管構成細胞の分化及び発達に必須の因子であると考えられるのに対し、HGF や c-met の遺伝子欠失マウスでは血管系の異常は顕著ではなかった (これらのマウスでは胎盤の形成異常が認められ、これが胎盤性血管の形成不全によるものである可能性はある) [35]。また生体における血管透過性に関して VEGF は当初腫瘍が産生する血管透過性亢進因子 (vascular permeability factor) として同定されたことからわかるように血管の透過性を強力に亢進する。生体における血管透過性作用は Miles アッセイで解析することができるが、VEGF はその発見の由来どおり血管透過性を強力に亢進するのに対し、HGF には血管透過性亢進作用は認められない[36]。以下に HGF による血管新生の分子機構を図 3 に示す。

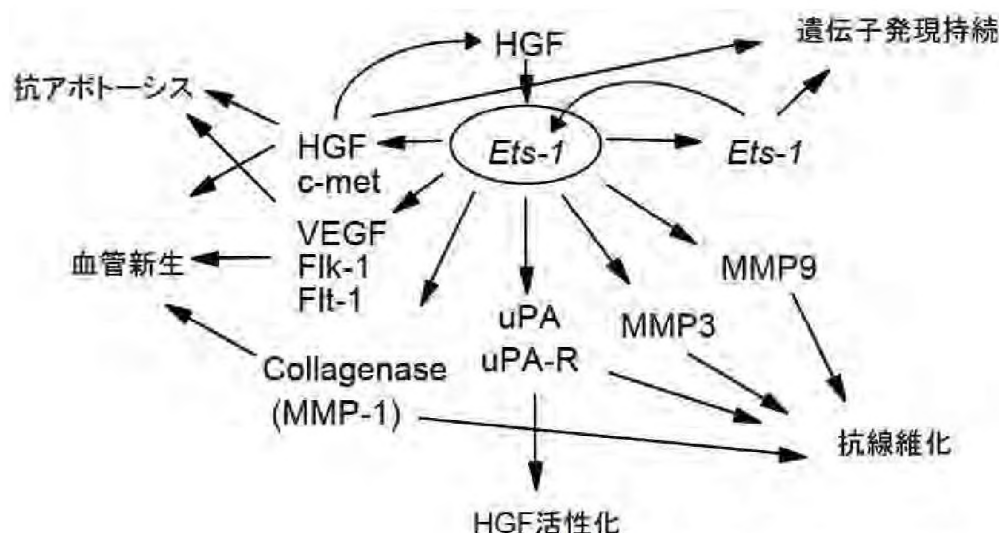


図 3 HGF による血管新生の分子機構

HGF は正常ヒト組織では、ほとんどの組織で発現していることが明らかになっている。まず、主要な産生部位として、腎臓、肝臓及び肺があげられ、循環血液中の HGF はこれら組織からの分泌であると考えられている。Nakamura らは、血清 HGF は健常者で 0.381 ± 0.020 ng/mL であったと報告している[24,29]。一方、局所における HGF 産生は、多くの臓器で確認されており[25]、心臓及び血管においても HGF が産生されることが報告されている[30,31]。血管における HGF 濃度は、ヒト血管において 30~40 ng/mg protein であり[6]、血清 HGF 濃度に比べ、極めて高値である。

AMG0001 に起因する HGF たん白質は、ウエスタンブロットでの確認では挿入した HGF cDNA から予想されるサイズと同じであり、培養内皮細胞及び肝細胞などの各種培養細胞において組換え型 HGF を投与した場合と同じ細胞増殖活性などの生物活性を有することが確認されている。詳細に述べると、AMG0001 は HGF たん白質の前駆体であるプレプロ HGF を産生し、この活性化には、uPA に加え多くのプロテアーゼが HGF の活性化に関与することが知

られている。実際、培養内皮細胞及び成熟個体への導入によりパイオアッセイ及びウエスタンブロット法で活性化が認められている[32, 33, 35, 37-39]。

事実、発現した HGF たん白質は、*in vitro* 及び *in vivo* の系で組換え型 HGF と同様の生物活性を示している。ラット下肢虚血モデル[35, 38]、ウサギ下肢虚血モデル[38]、ラット心筋梗塞モデル[33]、ラット肝硬変モデル[39]及びラット脳梗塞モデル[36]などでその効果が示されている。

6.2 本研究計画で使用するその他の組換え DNA の構造と性質

当該遺伝子治療臨床研究では、標的細胞への AMG0001 の導入にベクターを使用しない。また、HGF cDNA が挿入されたプラスミド DNA である AMG0001 以外の DNA は使用しない。

6.3 標的細胞とした細胞の由来及び生物学的特徴並びに当該細胞を標的細胞とした理由

当該遺伝子治療臨床研究は、遺伝子導入細胞を投与する *ex vivo* 遺伝子治療ではなく、直接、プラスミド DNA を生体筋肉内に投与する *in vivo* 遺伝子治療である。当該遺伝子治療臨床研究の対象である慢性動脈閉塞症（閉塞性動脈硬化症及びビュルガー病）は、下肢虚血が原因で発症することから、全身での HGF 濃度を増加させずに、虚血部位のみで HGF 濃度を増加させる投与方法が理想的である。当該理想的な投与方法は、虚血下肢局所への直接投与となる。プラスミド DNA の筋肉内投与については、当該筋肉細胞のみで導入遺伝子が発現することが Wolff らにより報告されており[40]、発現した遺伝子がゲノムに挿入される確率は極めて低いか、全くないと報告されている[41, 42]。

このような背景から、筋肉細胞を当該遺伝子治療臨床研究における標的細胞に選定した。

6.4 遺伝子導入方法の概略及び当該導入方法を選択した理由

6.4.1 遺伝子導入方法の理論的根拠

筋肉内への遺伝子導入に関しては、ウイルスベクター及び非ウイルスベクターが用いられている。筋肉細胞が非分裂細胞であるため、レトロウイルスベクターは一般的には使用されていない。アデノウイルスベクターは、筋肉においても効率の高い遺伝子導入が明らかにされ、血管新生の領域においてこれまで GenVec 社による VEGF121 遺伝子、Berlex 社による FGF-4 遺伝子、Genzyme 社による HIF-1 遺伝子等の臨床試験が実施されてきた。しかし、細胞毒性や免疫的傷害性の観点からアデノウイルスベクターの使用には安全性上の懸念が残る。また、近年では AAV ベクターやレンチウイルスベクターが用いられることがあるが、長期の発現が期待できる反面、ゲノムへの組込みによるリスクは高まる。

非ウイルスベクターを用いた遺伝子導入法としてカチオニックリポソーム、HVJ-リポソーム及びプラスミド DNA による方法が知られている。HVJ-リポソーム法は、高い遺伝子導入効率を特長とするが、まだ安全性の検討が十分に行われていない。1990年に Wolff らは、プラスミド DNA の直接筋肉内投与により、外来遺伝子が筋肉細胞内に導入されることを報告した[40]。また、Acsadi らは、*in vivo* でプラスミド DNA が発現するのは横紋筋に限局し、脳、肝臓、脾臓、子宮、胃、肺及び腎臓等では、プラスミド DNA を直接投与しても有意なレベルでの遺伝子発現は認められていないことを報告している[43]。さらに、メカニズムとして膜破壊及びレセプ

ターによる取り込みが示唆されている[44]。プラスミドDNAは筋肉細胞内のみで発現し[40]、ゲノムに挿入される率は極めて低いか全くないと報告されており、臨床上も問題にならないと考える[41, 42]。実際、重症虚血肢あるいは間歇性跛行を対象としてHGF遺伝子、VEGF遺伝子、FGF-1遺伝子（Sanofi-Aventis社）等を用いた遺伝子治療が実施され、最近その長期安全性成績も報告され始めているが、重大な副作用は報告されていない。当初、レポーター遺伝子では、低レベルで2箇月に及ぶ長期間の発現が報告されたが[40]、メチレーションや他の未知の機構により、実際のたん白質発現は1箇月未満と報告されており[45]、AMG0001に関してもアンジェス社の社内試験において同様の結果が得られている。

これらの点から、プラスミドDNAの筋肉内投与が安全性において最も優れていると考えた。

一方、HGFのような分泌たん白質をコードする遺伝子の局所導入においては遺伝子導入効率が低くても、実際の生物学的な効果を発揮し得ると考えている。非分泌たん白質による遺伝子導入の場合は、その作用が導入された細胞に局限されるが、パラクライン作用を有する分泌たん白質による遺伝子治療は、作用がその産生細胞の周辺に及び導入効率の低さにも拘らず効果を発揮する可能性がある。実際に重症虚血肢を対象としたHGF遺伝子治療の臨床試験では、虚血部位周辺に筋肉内投与することで良好な有効性が示されている。

6.4.2 遺伝子導入方法の概略

(1) 投与前後の疼痛対策

必要に応じて、投与前に穿刺予定部位にキシロカインゼリーなどで表面麻酔を行う。注射時の疼痛の程度により痛みが遷延すると判断される場合は、鎮痛剤（ボルタレンやロキソニンなどのNSAIDs）と共に、必要に応じて健胃散を使用する（注射部位の局所反応が遷延する場合は、有害事象として報告する）。

(2) AMG0001 の調剤

AMG0001 の調剤は、クリーンベンチ内で無菌的に行う。解凍したAMG0001 は、6時間以内に使用し、1 調剤を 1 被験者用として使い切る。また、調剤した AMG0001 はできる限り速やかに使用することが望ましい。すぐに使用しない場合は、使用するまで凍結を避けて遮光下で、冷蔵庫で保管し、72 時間以内に使用する。調剤後、やむを得ず AMG0001 を使用しないことになった場合は、院内の感染性医療用廃棄物に関する取り決めに従って廃棄する。

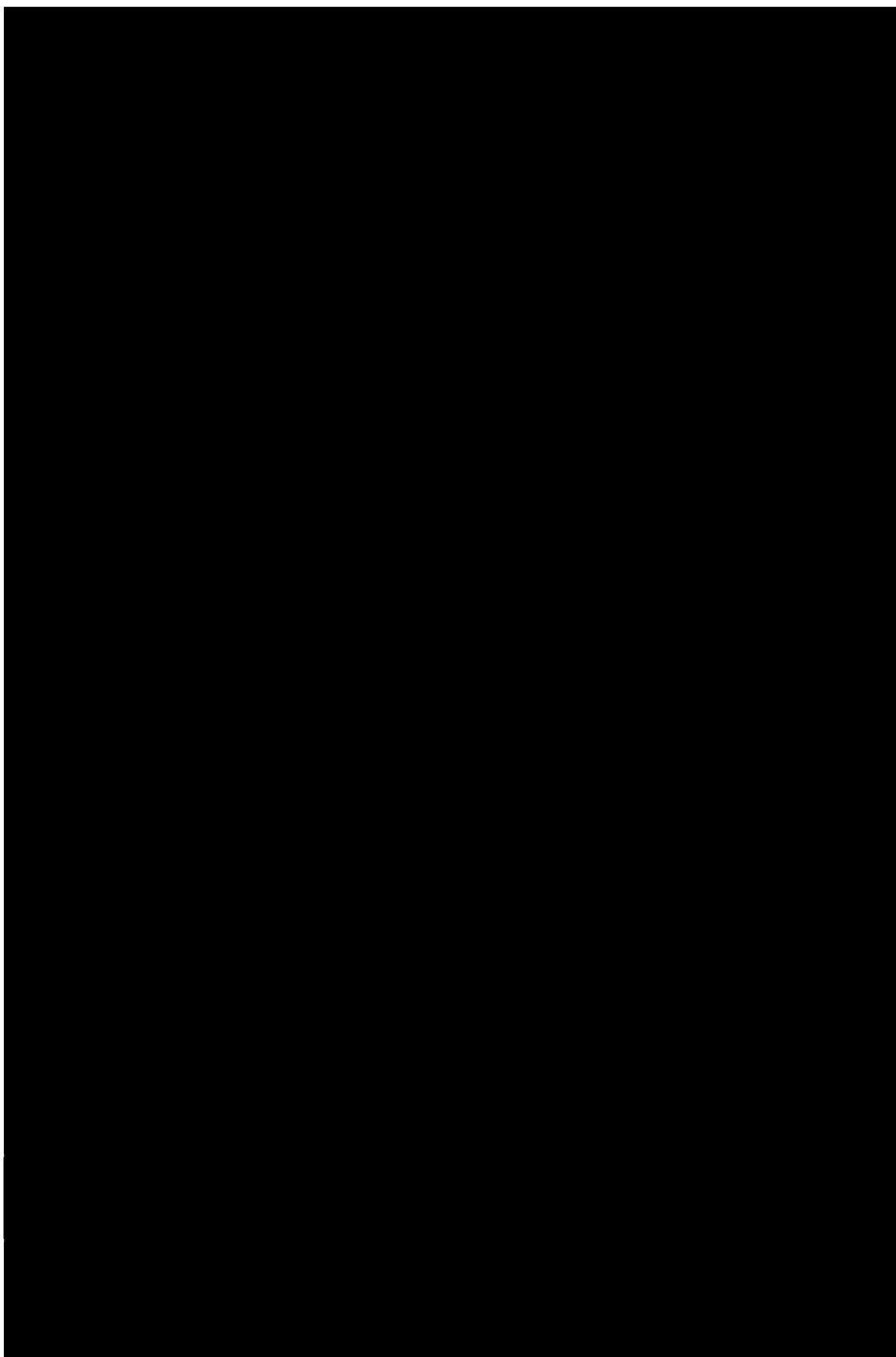
(3) 投与方法

AMG0001 を日局生理食塩液で希釈し、対象肢の虚血部位に対して 1 部位あたり 0.5 mg ずつ 8 部位（合計 4 mg）に筋肉内投与する。投与は 4 週間の間隔をあけて 2 回行う。治療期 8 週後において改善傾向が認められない場合には、更に 3 回目の投与を実施する。

希釈後の AMG0001 の 1 部位あたりの投与液量は 3 mL とし、投与対象筋が小さい場合には 2 mL まで減じてよい。注射部位は虚血の状態により被験者ごとに決定する。

（余白）

6.4.3 使用するベクター（担体）の作製方法

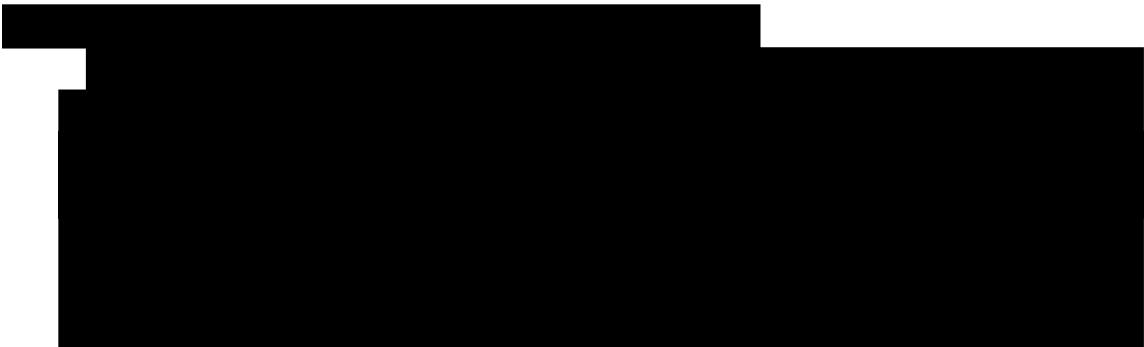
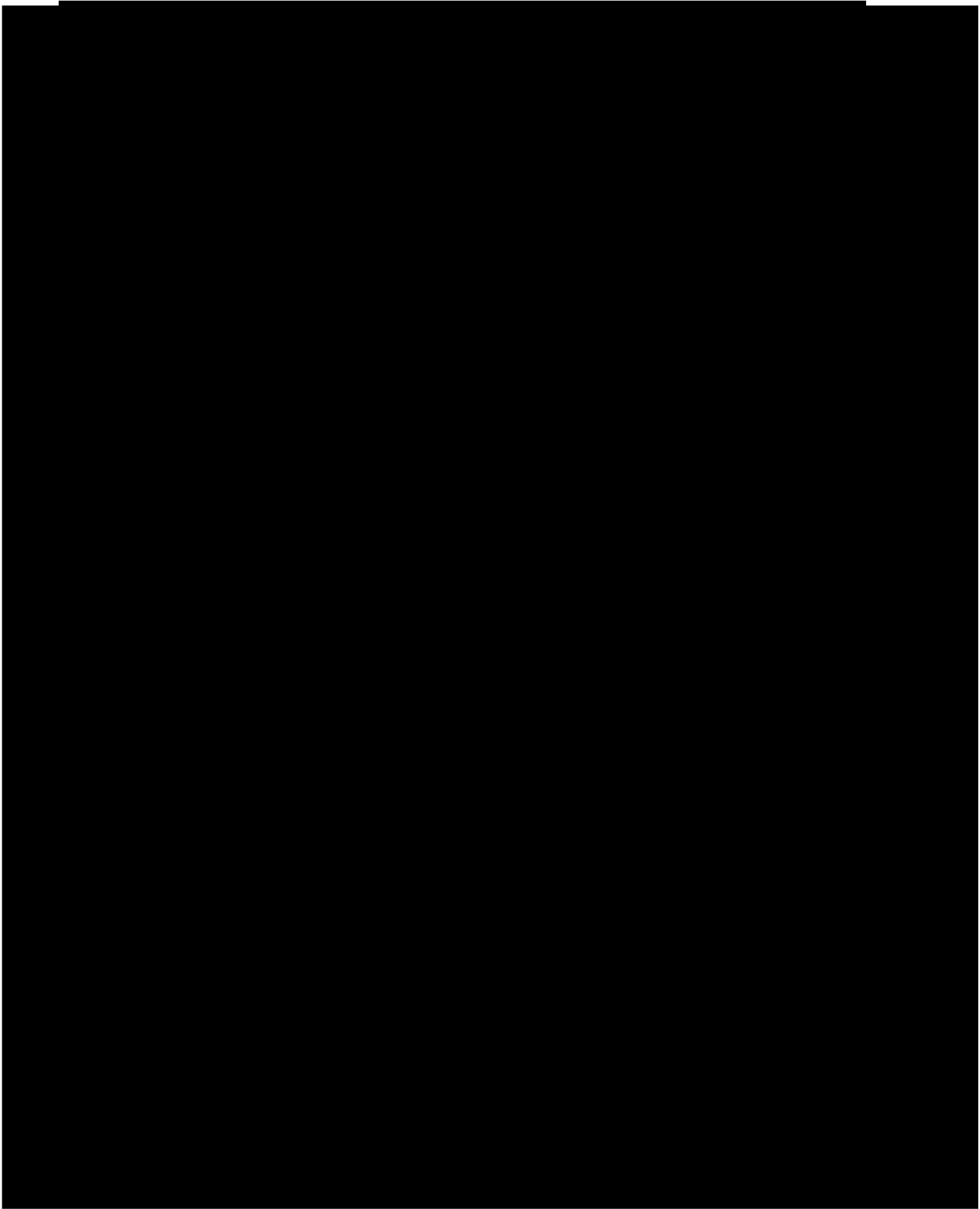




[illegible]

[illegible]

[REDACTED]







(余白)

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

7 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

7.1 培養細胞を用いた研究成果

AMG0001 を導入した細胞内から細胞培養上清に分泌されたたん白質をウェスタンブロット法により解析した[47]。その結果、陽性対照であるヒト組換え HGF (rhHGF) の α 鎖及び β 鎖と同一位置に陽性のバンドが検出されたことから、AMG0001 は成熟型ヒト HGF を産生、分泌する活性を有していることが示された。

AMG0001 を標的細胞である正常ヒト骨格筋培養細胞に導入し、24 時間培養した後、培養上清中のヒト HGF 濃度を ELISA 法により測定した[48]。その結果、24 時間後の培養上清中にヒト HGF が分泌されることが確認された (図 8)。

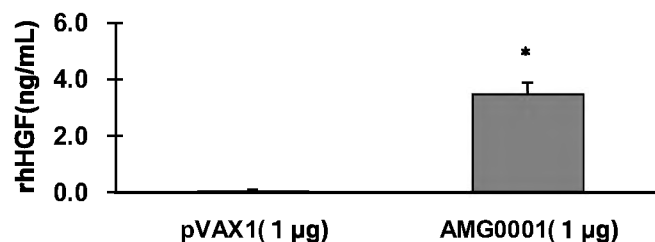


図 8 AMG0001 導入ヒト骨格筋細胞における HGF の発現

平均値±標準偏差 (n=3) *p<0.05 (vs. pVAX1, Bonferroni/Dunn 検定)

AMG0001 により発現するヒト HGF の生物活性について正常ヒト血管内皮細胞に対する増殖活性を指標に検討した[49]。AMG0001 を導入した細胞の培養上清をヒト HGF 濃度が 1、3 及び 10 ng/mL となるように希釈後、ヒト血管内皮細胞に添加し、48 時間後の細胞増殖能を評価した。AMG0001 導入細胞により産生されたヒト HGF は 3~10 ng/mL で濃度依存的にヒト血管内皮細胞を増殖させた (図 9)。本作用は陽性対照である rhHGF と同程度であった。

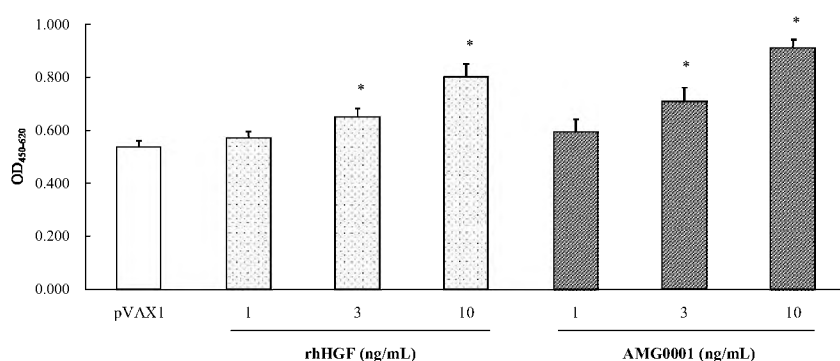


図 9 AMG0001 導入細胞の培養上清から得られたヒト HGF の血管内皮細胞の増殖活性
 平均値±標準偏差 (n=6) *p<0.001 (vs. pVAX1, Dunnett 検定)

7.2 実験動物を用いた研究成果

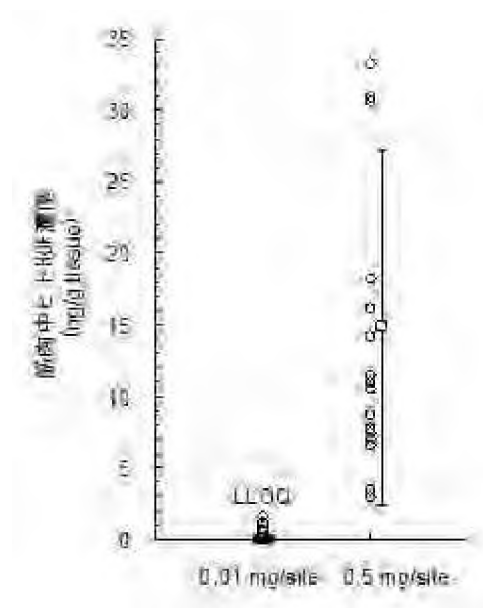
7.2.1 ウサギを用いた投与量及び投与間隔の検討

AMG0001 投与液の濃度及び液量がヒト HGF 発現に及ぼす影響について検討した[50-53]。さらに、投与間隔を検討する目的で、ヒト HGF 発現の経時変化を観察した[54-55]。

投与液濃度の検討においては、投与液量を 1 部位あたり 2.0 mL で固定して、0.01 mg 又は 0.5 mg の AMG0001 をウサギの筋肉内に投与し、投与後 7 日の投与部位におけるヒト HGF 濃度を ELISA 法により測定した。その結果、AMG0001 を 0.5 mg/2.0 mL で投与した場合は、全例でヒト HGF 発現が認められたが、0.01 mg/2.0 mL で投与した場合は、ヒト HGF 発現が確認できた個体は半分以下となり、AMG0001 によるヒト HGF 発現は投与液濃度に依存することが示された (図 10)。

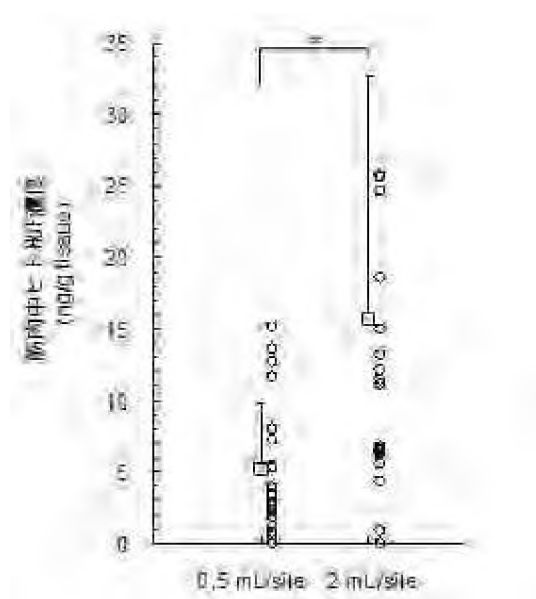
投与液量の検討においては、AMG0001 の投与量を 1 部位あたり 0.5 mg に固定し、投与液量を 0.5 mL (1 mg/mL) あるいは 2.0 mL (0.25 mg/mL) になるように調製して、ウサギの筋肉内に投与し、投与後 7 日の投与部位におけるヒト HGF 発現量を比較検討した。その結果、筋肉中ヒト HGF 濃度は AMG0001 の 0.5 mg/2.0 mL 投与群において有意に高値を示した (図 11)。

ヒト HGF 発現量の経時変化の検討においては、AMG0001 をウサギ骨格筋に 0.5 mg/2.0 mL の用量で投与し、投与後 1、7、14 及び 28 日の投与部位筋肉におけるヒト HGF 濃度を測定した。その結果、ヒト HGF 発現は投与後 1 日より観察され、投与後 7 日に最大となり、その後減少し、投与後 28 日で定量下限値未満となった (図 12)。以上の結果から、初回投与による効果が減弱する 4 週間後に補充的に再投与することは妥当であると考えられた。



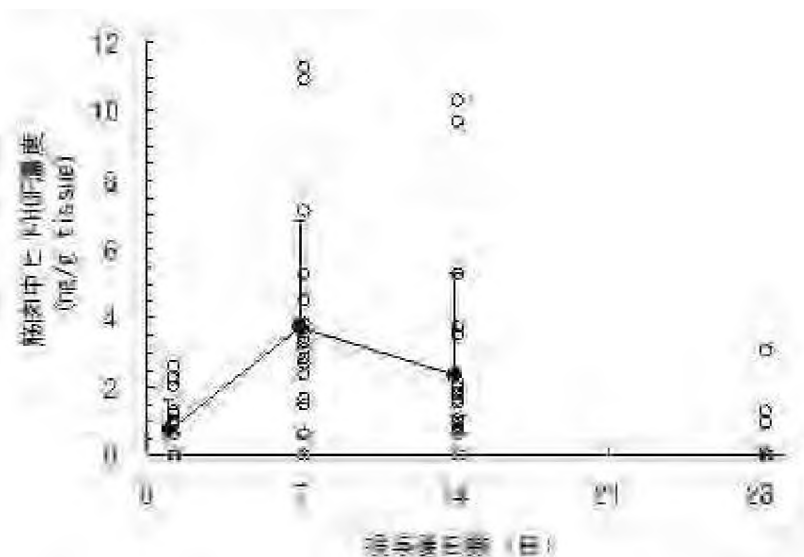
(□ : 平均値±SD)

図 10 AMG0001 投与後 7 日目のウサギ筋肉内におけるヒト HGF の発現
(n=20 下肢) : 部位あたり 0.01 mg/2.0 mL vs. 0.5 mg/2.0 mL



(□ : 平均値±SD *p <0.05 : t-test)

図 11 AMG0001 (0.5mg) の投与後 7 日目のウサギ筋肉内におけるヒト HGF の発現
(n=20 下肢) : 投与量 0.5 mL vs. 2.0 mL/site



(●: 平均値+標準偏差)

図 12 AMG0001 をウサギ下肢に筋肉内単回投与した後 (0.5 mg/2 mL/site) の筋肉中ヒト HGF 発現の経時変化 (n=20 下肢)

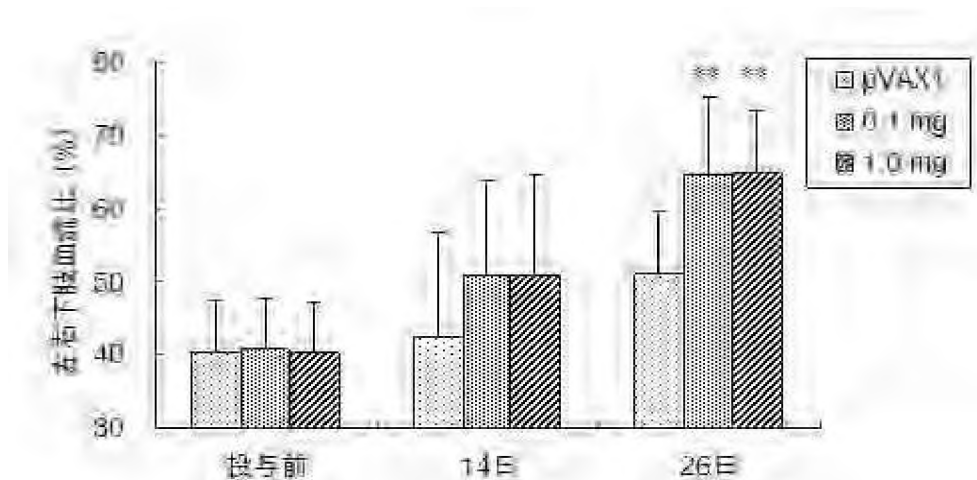
7.2.2 血管新生作用の検討

ラット閉塞性動脈硬化症病態モデルを用いて、AMG0001 の血管新生作用を検討した。

ラットの左大腿動静脈及びその分枝血管を結紮、切除して作製した下肢虚血病態モデルに、AMG0001 を 0.1 又は 1 mg/body の用量で虚血部位筋肉内に投与し、投与後 14 及び 26 日の下肢血流量を測定した。その結果、AMG0001 投与群では対照群と比較して有意な血流増加が認められた (図 13)。さらに、虚血下肢の AMG0001 投与部位の組織を採取して血管内皮細胞マーカーとしてアルカリフォスファターゼ (ALP) 染色を行い、毛細血管数を測定した。その結果、AMG0001 の 1 mg/body 投与群で有意な血管数の増加が認められた。

以上の結果から、AMG0001 は投与部位筋肉で血管新生を誘導し、虚血下肢の血流量を増加させることが明らかとなった。

(余白)



平均値±標準偏差、n=15-16、** $P < 0.01$ (pVAX1 投与群との比較) 検定: Dunnett 検定 (両側)

大腿動脈結紮後 10 日 (投与前) 並びに pVAX1、AMG0001 の 0.1 mg 及び 1.0 mg 投与後 14 及び 26 日に LDPI を用いて左右の下肢血流量を測定し、左右の下肢血流量比で示した。

図 13 ラット下肢虚血モデルにおける AMG0001 の血流量増加作用

7.2.3 主要代謝物 Open Circular 体に関する検討

AMG0001 の主要代謝物である Open Circular 体 (OC 体) の生物活性について、*in vitro* 及び *in vivo* におけるヒト HGF 産生能を指標に、未変化体である AMG0001 との比較検討を行った[56-58]。代謝物 OC 体は *in vitro* においては AMG0001 (未変化体) の 86.4 % の HGF 発現活性を示したが、*in vivo* 筋肉内投与における HGF 発現活性は未変化体と比較して著しく低かったことから、代謝物 OC 体は生体内ではほとんど活性を示さないと考えられた。

8 安全性についての評価

8.1 遺伝子導入方法の安全性

8.1.1 遺伝子導入に用いるプラスミドベクター (担体) の純度

AMG0001 原薬の純度試験の純度に係る試験項目、試験方法及び規格を表 1 に示す。

表 1 AMG 原薬の純度試験及び規格

試験項目	試験方法	規格
宿主由来 DNA	定量 PCR 法	50 ng/μg 以下
宿主由来 RNA	アガロースゲル電気泳動法	20 ng/μg (2 %) 以下
残留たん白質	ビシンコニン酸法	2 μg/mg (0.2 %) 以下
宿主由来たん白質	HCP ELISA 法	6 ng/mg 以下
ラウリル硫酸ナトリウム	アクリジンオレンジ法	0.5 μg/mL 以下

8.1.2 患者に投与する物質（製剤）の純度

AMG0001 製剤の純度試験の純度に係る試験項目、試験方法及び規格を表 2 に示す。

表 2 AMG 製剤の純度試験及び規格

試験項目	試験方法	規格
残留たん白質	ビシンコニン酸法	2 µg/mg (0.2 %) 以下

8.1.3 増殖性ウイルス出現の可能性

AMG0001 は、非ウイルスベクターである大腸菌由来のプラスミド DNA の pVAX1™（インビトロジェン社）を基本骨格としているため[46]、増殖性ウイルスが出現する可能性はない。

8.1.4 遺伝子導入に用いるプラスミドベクター（担体）の細胞傷害性

pVAX1™ は、DNA ワクチンの開発用途を目的として、米国食品医薬品局（Food and Drug Administration:FDA）の「Points to Consider on Plasmid DNA Vaccines for Preventive Infectious Disease Indications」（1996 年 12 月 22 日発行）に準拠して設計されたプラスミド DNA ベクターである[46]。そのため、大腸菌における複製及びほ乳類細胞における目的たん白質の発現に必要なヒトゲノムと相同性のあるような DNA 配列はできる限り排除されており、ヒト染色体への組込みの可能性が最小限に抑えられている。また、ヒト HGF cDNA 以外に新たに挿入された連結部分の塩基配列についても、有害な DNA 配列やヒト遺伝子との相同性の高い配列は含まれていない。

AMG0001 の DNA 初期損傷誘発性の検討を目的として実施したラットを用いた多臓器コメットアッセイでは、対象とした肺及び腎臓のいずれの臓器においても DNA 初期損傷誘発作用は認められていない。

以上のことから、本剤の筋肉内投与によって、細胞又は組織に対して傷害を与える可能性は極めて低いと考える。

8.1.5 体内の標的細胞以外の細胞への遺伝子導入の可能性

当該遺伝子治療臨床研究では、筋肉内にプラスミド DNA（AMG0001）を直接投与する。他臓器における HGF 濃度を増加させることなく、病変部位のみで HGF 濃度を増加させる投与方法が望ましいことから筋肉内投与を選択した。

1990 年に Wolff らは、プラスミド DNA の筋肉内投与により、外来遺伝子が筋肉細胞内に導入されることを報告した[40]。Acsadi は、in vivo でのプラスミド DNA の発現が横紋筋に限局し、脳、肝臓、脾臓、子宮、胃、肺及び腎臓等では、プラスミド DNA を直接投与しても有意なレベルでの遺伝子発現は認められていないことを報告している[44]。細胞内への導入メカニズムとして、細胞膜破壊及び細胞表面レセプターによる取込みが示唆されている[45]。

また、プラスミド DNA は筋肉細胞内のみで発現し[40]、ゲノムに挿入される確率は極めて低いか、まったくないと報告されており、臨床使用における当該リスクは極めて低いと考える[41,42]。

8.1.6 患者以外の人に遺伝子が導入される可能性

プラスミド DNA は感染性を有さず、「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確保に関する法律」で規制される物質にも該当しない。プラスミド DNA が投与された患者から、患者以外の第三者への水平伝播の可能性はない。

8.1.7 染色体へ遺伝子が組み込まれる場合の問題点

pVAX1™ は、ヒトゲノムと相同性のあるような DNA 配列はできる限り排除されており、ヒト染色体への組み込みの可能性が最小限に抑えられている[46]。また、ヒト HGF cDNA 以外に新たに挿入された連結部分の塩基配列についても、有害な DNA 配列やヒト遺伝子との相同性の高い配列は含まれていない。

FDA の見解としては (http://www.fda.gov/ohrms/dockets/ac/00/slides/3664s1_04/index.htm)、プラスミド DNA の局所投与において染色体への遺伝子組み込みが起こるリスクは低いとの考えが示されている。プラスミド DNA をマウスに筋肉内投与した場合、筋肉細胞に導入されたプラスミド DNA は染色体の外に留まり、組み込まれることはないことが報告されている[40]。また、本剤の基本骨格である pVAX1™ と同様に、DNA ワクチン用として開発されているプラスミド DNA ベクターを用いたマラリアワクチンに関して、プラスミド DNA を筋肉内投与した後に染色体への組み込みが発生する頻度は、自然突然変異率と比較しても非常にまれであることを示す結果が報告されている[41]。

本剤をラットに 1.5 mg/kg の用量で静脈内単回投与した時、241 bp を増幅領域とする測定法では、投与後 1 日で脾臓、筋肉、心臓、肺、肝臓、骨髄、膵臓、腎臓、副腎及び大脳で検出された。投与後 4 日では、雄の脾臓のみで検出され、投与後 7 日ではすべての組織で定量下限値未満であった。この時、サザンブロット法を用いた検討により、投与された本剤は血中に移行すると、速やかに代謝されて遺伝子発現能を持たない不活性な核酸断片になることが示されている。

以上の結果から、本剤の筋肉内局所投与による遺伝子治療では、投与部位及び遠隔臓器において、染色体への遺伝子組み込みが生じるリスクは非常に低いと考える。

8.1.8 がん原性の有無

AMG0001 は分子量約 3200 kDa (5181 bp) のプラスミド DNA であり、AMG0001 の分子量及び性質から、AMG0001 が細胞膜を通過して DNA や染色体に直接影響を及ぼす可能性は低いと考えられること、通常の *in vitro* 条件下では本剤は細胞内に入らないことから、*in vitro* 遺伝毒性試験は実施しなかった。

ラットを用いた静脈内投与による薬物動態試験結果より、血液中に移行した AMG0001 は速やかに不活性体に代謝され、投与部位以外の主要臓器では不活性な核酸断片として存在していることが示された。しかしながら、ラットに AMG0001 を静脈内投与した際、投与後 1 日目において肺及び腎臓では本剤が比較的多く認められたことから、これらの臓器に対する本剤の発がんイニシエーション作用を検討するため、ラットを用いた多臓器コメットアッセイを実施した。その結果、いずれの臓器においても AMG0001 による DNA 初期損傷誘発作用は認められず、AMG0001 には発がんイニシエーション作用はないことが確認された。本検討は本剤の全身への高暴露を目的として静脈内投与で実施しており、臨床投与経路である筋肉内投与においては、さらなる安全性の担保が可能であると考えられた。

なお、AMG0001 の基本骨格である pVAX1™ は 1996 年 12 月 22 日に米国 FDA から公布された“Point to Consider on Plasmid DNA Vaccines for Preventive Infectious Disease Indications”に準拠して設計され、ヒトゲノムと相溶性のあるような DNA 配列ができる限り排除されており、染色体への組込みの可能性が最小限に抑えられている[46]。

8.2 遺伝子産物の安全性

8.2.1 導入遺伝子の発現産物のがん原性

AMG0001 の発現産物である HGF はヒトの内因性たん白質であり、細胞膜を通過して DNA や染色体成分に直接影響を及ぼし、発がんイニシエーション作用を有するとは考えられないことから、医薬審第 326 号通知「バイオテクノロジー応用医薬品の非臨床における安全性評価」に基づいて、ヒト HGF たん白質を考慮した遺伝毒性試験は実施しなかった。さらに、これまでに実施した反復投与毒性試験においてがん原性を示唆するような病理所見が認められていないことから、HGF が正常組織をがん化する可能性は低いと考える。

HGF は腫瘍細胞の増殖促進作用を有することが知られており、その受容体がん原遺伝子である c-Met であることから、腫瘍細胞に対する直接的な増殖促進作用あるいは血管新生作用を介した間接的な作用を及ぼす可能性は否定できない。しかしながら、ラットを用いた静脈内投与による薬物動態試験結果より、血液中に移行した AMG0001 は速やかに不活性体に代謝され、投与部位以外の主要臓器では不活性な核酸断片として存在していることが示されていることから、投与部位以外の遠隔臓器においてヒト HGF たん白質が産生される可能性は極めて低いと考える。また、アンジェス社が実施した慢性動脈閉塞症（閉塞性動脈硬化症又はバージャー病）患者を対象とした臨床試験及び重症安定狭心症患者を対象とした臨床試験において、AMG0001 の投与により血清中ヒト HGF 濃度が AMG0001 に起因する生理的濃度範囲を超えるような上昇を示した症例は認められていないことから[59-65]、投与部位において発現したヒト HGF たん白質が全身性に影響を及ぼす可能性は低いと考える。ラットを用いた静脈内反復投与毒性試験においては、AMG0001 の刺激性に起因する炎症性変化が投与部位で観察された以外に毒性所見は認められていない。

しかしながら、AMG0001 投与部位近傍に腫瘍が存在した場合に、ヒト HGF たん白質がこれらの腫瘍に対して増殖作用を及ぼす可能性について検討する必要があると考え、ヒト腫瘍細胞株を大腿部皮下に移植したヌードマウスを用いて、AMG0001 を腫瘍近傍の大腿部筋肉内に投与し、腫瘍増殖に及ぼす影響を確認する試験を実施した。その結果、腫瘍増殖及び腫瘍転移への影響は認められなかった。

以上のことから、AMG0001 の筋肉内投与による遺伝子治療の場合、がん原性のリスクは極めて低いと考える。

8.2.2 導入遺伝子の発現産物の免疫原性

動物試験においては、血清中に抗ヒト HGF 抗体の存在が散見されたが、これは異種たん白に対する免疫反応と考えられた。

また、アンジェス社が実施した重症虚血肢（閉塞性動脈硬化症又はバージャー病）患者を対象とした臨床試験及び重症安定狭心症患者を対象とした臨床試験において、血清中抗 HGF 抗体の産生は認められず、アナフィラキシー反応は認められなかった[59-65]。

以上のことから、AMG0001 の筋肉投与による遺伝子治療の場合、本剤が免疫応答を惹起させる可能性は非常に低いと考えられた。

8.3 非臨床安全性試験

8.3.1 単回投与毒性試験

8.3.1.1 ラット単回筋肉内投与毒性試験 [66]

SD 系雌雄ラットの大腿筋肉内に 10.0 mg/kg (投与液量: 4 mL/kg) の AMG0001 (S-F 製剤) を単回投与した。その結果、死亡例はなく、AMG0001 投与に関連した変化も認められなかった。病理組織学的には、投与部位における単核細胞の浸潤が AMG0001 投与群のみに認められたが (雄: 2/5 例, 雌: 1/5 例)、いずれもごく軽度から軽度な変化であり、AMG0001 投与に関連した変化とは考えられなかった。

概略の致死量は雌雄ともに 10.0 mg/kg を超える量であった。

8.3.1.2 ラット静脈内単回投与毒性試験 [67]

SD 系雌雄ラットの尾静脈内に 10.0 mg/kg (投与液量: 4 mL/kg) の AMG0001 (S-F 製剤) を単回投与した。その結果、死亡例はなく、AMG0001 投与に関連した変化も認められなかった。病理組織学的検査では、ごく軽度の静脈内皮の肥厚が AMG0001 投与群の雌 1 例の投与部位で認められたが、AMG0001 投与に関連した変化とは考えられなかった。

概略の致死量は雌雄ともに 10.0 mg/kg を超える量であった。

8.3.1.3 製造施設の異なる AMG0001 製剤のラット静脈内単回投与毒性試験 [68]

製造施設の異なる 2 種類の AMG0001 製剤 (B-H 製剤及び S-F 製剤) を 10.0 mg/kg (投与液量: 4 mL/kg) の用量で SD 系雌雄ラットの尾静脈内に単回投与した。その結果、いずれの製剤においても死亡例はなく、AMG0001 投与に関連した変化は認められなかった。病理組織学的検査では、単核細胞の浸潤が肝臓 (B-H 製剤群: 雄 1/5 例、S-F 製剤群: 雄 2/5 例、対照群: 雄 1/5 例) 及び腎臓 (B-H 製剤群: 雌 1/5 例) で認められたが、ごく軽度から軽度な変化であった。

概略の致死量はいずれの製剤においても雌雄ともに 10.0 mg/kg を超える量であった。

8.3.1.4 サル筋肉内単回投与毒性試験 [69]

雄性カニクイザルの大腿筋肉内に 2.5 mg/kg (投与液量: 1 mL/kg) の AMG0001 を単回投与した。その結果、死亡例はなく、AMG0001 投与に関連した変化は認められなかった。血液学的検査において、好塩基球数及び比率の高値 (1/3 例) が認められたが、正常範囲値をわずかに超える程度の一過性の変化であることから、偶発的な変化であると考えられた。

概略の致死量は雄で 2.5 mg/kg を超える量であった。

8.3.2 反復投与毒性試験

8.3.2.1 ラット筋肉内 1 箇月間隔 4 回投与毒性試験 [70]

雌雄ラットの大腿筋肉内に 0、0.5、1.5 及び 5.0 mg/kg（投与液量：2 mL/kg）の AMG0001 を 1 箇月間隔で 4 回投与した。さらに、対照群と 5.0 mg/kg 投与群では、1 箇月の回復性試験を行った。病理組織学的検査では、投与部位における単核細胞浸潤が対照群（雄：1/10 例）及び 5.0 mg/kg 投与群（雄：2/10 例）でみられたが、いずれもごく軽度な変化であった。血清中の抗ヒト HGF 抗体価の上昇が 1.5 mg/kg 投与群（雄：1/10 例，雌：3/10 例）及び 5.0 mg/kg 投与群（投与群：雄 0/10 例，雌 1/10 例，回復群：雄 0/5 例，雌 0/4 例）で認められた。

無毒性量は雌雄ともに 5.0 mg/kg/月であった。

8.3.2.2 ラット筋肉内 1 週間間隔 5 回投与毒性試験 [71]

雌雄ラットの大腿筋肉内に 5.0 mg/kg（投与液量：2 mL/kg）の AMG0001 を 1 週間間隔で 5 回投与した。さらに、最終投与後 4 週間（28 日間）の回復性試験を行った。剖検は最終投与後 4 日に実施した。病理組織学的検査では、AMG0001 投与群の大腿筋（投与部位）において、筋線維の変性・壊死・再生、間質の出血、単核細胞浸潤及び線維化が対照群と比較して高頻度に見られた。これらの変化は AMG0001 の刺激性に起因するものと考えられたが、ごく軽度な変化であり、また明らかな回復性が認められたことから、毒性学的に重大な意義はないと考えられた。血清中に抗ヒト HGF 抗体はみられなかった。

無毒性量は雌雄ともに 5.0 mg/kg/週であった。

8.3.2.3 ラット静脈内 14 日間反復投与毒性試験 [72, 73]

雌雄ラットの尾静脈内に 0.6、2.5 及び 10.0 mg/kg（投与液量：4 mL/kg）の AMG0001 を 14 日間反復投与し、最終投与の翌日に剖検した。更に、対照群と 10.0 mg/kg 投与群では、最終投与後 14 日間の回復性試験を行った。病理組織学的検査では、AMG0001 投与群の投与部位（尾）において、単核細胞浸潤が認められた。この変化は AMG0001 の刺激性に起因するものと考えられたが、ごく軽度な変化であり、また明らかな回復性が認められたことから、毒性学的に重大な意義はないと考えられた。血清中に抗ヒト HGF 抗体はみられなかった。

無毒性量は雌雄ともに 10.0 mg/kg/日であった。

8.3.2.4 サル筋肉内 1 箇月間隔 4 回投与毒性試験 [74-77]

サルの大腿筋肉内に 0.25、0.8 及び 2.5 mg/kg（投与液量：1 mL/kg）の AMG0001 を 1 箇月間隔で 4 回投与し、最終投与後 1 箇月に剖検した。更に、対照群と 2.5 mg/kg 投与群では、剖検日より 1 箇月の回復性試験を行った。臨床所見では、投与期間及び回復期間を通じて、2.5 mg/kg 投与群の雌 1 例で下痢が認められたが、AMG0001 投与との関連性は不明であった。病理組織学的検査では、投与部位における単核細胞浸潤が対照群を含めた全群で認められたが、これらの変化はごく軽度であった。血清中に抗ヒト HGF 抗体はみられなかった。

無毒性量は雌雄ともに 2.5 mg/kg/月であった。

8.3.3 遺伝毒性試験

AMG0001 はプラスミド DNA であり、通常の *in vitro* 条件下では細胞内に入らないことから、*in vitro* 遺伝毒性試験は実施しなかった。一方、AMG0001 をラット静脈内に単回投与した際、投与後 1 日において肺及び腎臓では AMG0001 が比較的多く認められたことから、これらの臓器に対する AMG0001 の発がんイニシエーション作用を検討するため、多臓器コメットアッセイを実施した[78]。

ラットの尾静脈内に 10.0 mg/kg（投与液量：4 mL/kg）の AMG0001 を 24 時間間隔で 2 回投与し、肺及び腎臓における DNA 初期損傷誘発性を検討した。その結果、いずれの臓器においても DNA 初期損傷誘発作用は認められなかった。

8.3.4 がん原性試験

薬物動態試験の結果から、投与部位以外の遠隔臓器において、ヒト HGF が産生される可能性は極めて低く、腫瘍増殖に影響する可能性は低いと考えられた。しかしながら、投与部位の近傍に腫瘍が存在した場合に AMG0001 投与が腫瘍増殖に影響を及ぼす可能性は否定できない。本試験では、AMG0001 の腫瘍増殖に及ぼす影響を検討するため、ヒト腫瘍細胞株を投与部位近傍に移植したヌードマウスの大腿部筋肉内に AMG0001 を投与した[79]。ヒト腫瘍細胞株は、*in vitro* 試験において HGF 受容体である c-Met の発現及びヒト HGF による増殖促進作用が確認された Mewo（ヒト悪性黒色腫由来）及び HT-29（ヒト結腸癌由来）細胞株を用いた。その結果、いずれの腫瘍細胞株においても腫瘍増殖促進作用及び腫瘍転移は認められなかった。

8.3.5 生殖発生毒性試験

ラット及びウサギを用いた薬物動態試験結果より、AMG0001 を筋肉内投与した場合、投与局所においては約 1 ヶ月にわたってヒト HGF を発現させるが、血液中に移行した AMG0001 は速やかに不活性体に代謝され、投与部位以外の臓器では不活性な核酸断片として存在していることが示されたことから、AMG0001 が全身性に影響を及ぼす可能性は低いと考えられた。AMG0001 より発現するヒト HGF に関しては、ラット筋肉内投与による薬物動態試験結果から、投与部位以外の遠隔臓器においてヒト HGF が産生される可能性は極めて低いと考えられた。また、ウサギ筋肉内投与後の血清中ヒト HGF 濃度はいずれの測定時点においても定量下限値未満であったこと、臨床試験において本剤の投与により血清中ヒト HGF 濃度が AMG0001 に起因する生理的濃度範囲を超えるような上昇を示した症例は認められていないことから、投与部位において発現したヒト HGF が全身性に影響を及ぼす可能性は低いと考えられた。実施した筋肉内投与及び静脈内投与による反復投与毒性試験においては、本剤の刺激性に起因する炎症性変化が投与部位で観察された以外に毒性所見は認められていない。

AMG0001 の生殖発生毒性試験は実施していないが、妊娠ラットを用いた筋肉内投与による薬物動態試験では、AMG0001 は胎盤をほとんど通過しないことが示されており、AMG0001 が胚・胎児に直接作用する可能性も低いと考えられた。（詳細は 8.4.2.5 を参照）

AMG0001 に乳汁移行があるかどうかは薬物動態試験において確認されていないが、実施した薬物動態試験及び毒性試験の結果から、AMG0001 及び発現したヒト HGF が乳汁移行により次世代に影響を及ぼす可能性は低いと考えられた。

8.3.6 局所刺激性試験

ウサギを用いて製造施設の異なる 2 種類の AMG0001 製剤（B-H 製剤及び S-P 製剤）の筋肉局所刺激性を検討した[80, 81]。AMG0001 の 0.17 mg/mL 溶液（臨床使用濃度）1 mL をウサギの大腿外側広筋に単回投与し、投与後 2、7 及び 14 日に筋肉障害性について検討した。投与後 2 及び 7 日では、筋線維の変性及び壊死、組織球及び偽好酸球の浸潤、並びに出血が認められたが、投与後 14 日には、これらの所見は消失又は軽減した。投与後 2 日にみられた変化は、陰性対照の生理食塩液でも同程度認められた。

8.3.7 抗原性試験

製造施設の異なる 2 種類の AMG0001 製剤（B-H 製剤及び S-P 製剤）の抗原性を確認するため、マウスを用いた異種受身皮膚アナフィラキシー反応試験（Hetero-PCA 試験）、モルモットを用いた全身性アナフィラキシー反応試験（ASA 試験）及び同種受身皮膚アナフィラキシー反応試験（Homo-PCA 試験）を実施した[82-84]。感作したマウス及びモルモットの血清中抗 AMG0001 抗体を ELISA 法で測定した。すべての試験結果は陰性であり、いずれの AMG0001 製剤にも抗原性はないと考えられた。

8.3.8 安全性薬理試験

ラット及びサルの中樞神経系並びにサルの呼吸・循環器系に対する安全性薬理試験を GLP 遵守で実施した。その結果、AMG0001 による毒性は認められなかった。

8.3.8.1 中樞神経系に及ぼす影響 [85]

SD 系雄性ラットに 0.5 及び 5.0 mg/kg（投与液量：2 mL/kg）の AMG0001 を単回筋肉内投与し、Functional Observational Battery（FOB）法を用いて投与後 168 時間までの中樞神経系に及ぼす作用を観察した。その結果、一般症状、行動及び体温に影響を及ぼさなかった。また、サルに 0.25 及び 2.5 mg/kg（投与液量：1 mL/kg）の AMG0001 を無麻酔下で単回筋肉内投与しても、行動への影響は認められなかった。

8.3.8.2 呼吸・循環器系に及ぼす影響 [86, 87]

雄性カニクイザルに 0.25 及び 2.5 mg/kg（投与液量：1 mL/kg）の AMG0001 を無麻酔下で単回筋肉内投与し、投与後 24 時間まで及び投与後 168 時間にテレメトリー及びホルター心電図測定法を用いて呼吸・循環器系に及ぼす影響を観察した。その結果、血圧、心拍数及び心電図に影響は認められなかった。また、呼吸数並びに動脈血 pH、CO₂ 分圧、O₂ 分圧及び O₂ 飽和度に影響はみられなかった。

8.3.9 毒性結果のまとめ

AMG0001 のラット単回筋肉内及び静脈内投与における概略の致死量は、いずれの投与経路においても 10.0 mg/kg を超える量であった。AMG0001 のサル単回筋肉内投与における概略の致死量は 2.5 mg/kg を超える量であった。

ラット筋肉内 1 週間間隔 5 回投与毒性試験及びラット静脈内 14 日間反復投与毒性試験では、AMG0001 投与群の投与部位において AMG0001 の刺激性に起因すると考えられる炎症性変化が認められたが、いずれもごく軽度な変化であり、また明らかな回復性が認められた。

ことから、毒性学的に重大な意義はないと考えられた。その他に AMG0001 投与に関連した変化は認められなかった。ラット筋肉内 1 箇月間隔 4 回投与毒性試験では、血清中の抗ヒト HGF 抗体価の上昇が 1.5 mg/kg 及び 5.0 mg/kg 投与群の少数例で認められた。無毒性量は、ラット筋肉内 1 箇月間隔 4 回投与毒性試験では 5.0 mg/kg/月、1 週間間隔 5 回投与毒性試験では 5.0 mg/kg/週、ラット静脈内 14 日間反復投与毒性試験では 10.0 mg/kg/日、サル筋肉内 1 箇月間隔 4 回投与毒性試験では 2.5 mg/kg/月であった。

AMG0001 の発がんイニシエーション作用を検討するため、肺及び腎臓における DNA 初期損傷誘発性についてラット多臓器コメットアッセイを用いて評価した。その結果、いずれの臓器においても AMG0001 による DNA 初期損傷誘発作用は認められなかった。また、AMG0001 の発現産物である HGF には腫瘍細胞増殖促進作用があることが知られていることから、担がんマウスを用いた腫瘍増殖への影響確認試験を実施した。その結果、担がんマウスでは AMG0001 による腫瘍増殖及び腫瘍転移への影響は認められなかった。

AMG0001 製剤の臨床使用濃度（0.17 mg/mL）における局所忍容性は、生理食塩液とほぼ同程度と考えられた。AMG0001 の抗原性は認められなかった（ASA 及び PCA 試験で共に陰性）。

安全性薬理試験の結果から、AMG0001 について中枢神経系、呼吸・循環器系への影響はないものと推察された。

8.4 薬物動態試験

8.4.1 分析法

非虚血ラット筋肉内単回及び複数回投与、静脈内単回投与時の AMG0001 分布試験を実施した。AMG0001 濃度測定には TaqMan[®]ベースの Quantitative polymerase chain reaction 法（以下、Q-PCR 法）を用いた。AMG0001 濃度の定量下限値（LLOQ）は、血液で 10 コピー/μL、尿で 50 コピー/μL、組織で 50 コピー/μg DNA であった。AMG0001 の代謝物組成分析にはサザンブロット法を用いた。

8.4.2 分布

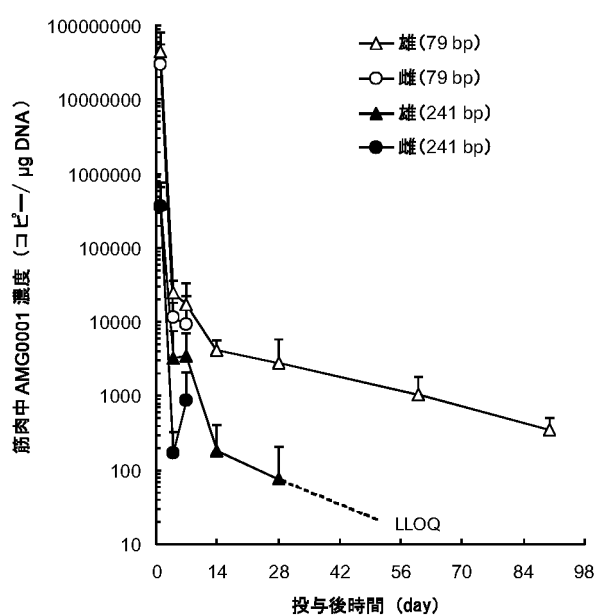
8.4.2.1 ラット筋肉内単回投与時の組織分布、血中濃度推移 [88-90]

AMG0001 を雌雄ラットに 1.5 mg/kg の用量で筋肉内単回投与した時、投与後 1 日、4 日及び 7 日の組織中濃度を 79 bp 及び 241 bp を増幅領域とする 2 種類のプライマーセットを用いた Q-PCR 法で測定した。また、雄性ラットに筋肉内単回投与した時、投与後 14 日、28 日、60 日及び 90 日の投与部位中 AMG0001 濃度を 2 種類のプライマーセットを用いて測定した。

AMG0001 を雄性ラットに 1.5 mg/kg の用量で筋肉内単回投与した時の投与部位筋肉中 AMG0001 濃度を 79 bp を増幅領域とする測定法で測定した。筋肉中 AMG0001 濃度の投与後 14 日以降の $t_{1/2}$ は、21 日であった。また、241 bp を増幅領域とする測定法では、筋肉中 AMG0001 濃度は、投与後 60 日で定量下限値未満となった（図 14）。AMG0001 を雌雄ラットに 1.5 mg/kg の用量で筋肉内単回投与した時、79 bp を増幅領域とする測定法により組織中 AMG0001 濃度を測定した。投与後 1 日、雄で血液中 AMG0001 濃度より高濃度を示した臓器・組織は、投与部位筋肉、肺、非投与部位筋肉、脾臓、心臓、膵臓、腎臓及び副腎であった。雌では血液中 AMG0001 濃度が定量下限値未満であり、AMG0001 が検出された臓器・

組織は、投与部位筋肉、肺、心臓、腎臓、小腸、非投与部位筋肉及び大脳であった。投与後4日以降では投与部位筋肉を除く組織においては定量下限値未満であった。一方、241 bpを増幅領域とする測定法では投与部位以外の中枢及び生殖器を含む全ての組織でAMG0001は定量下限値未満であった。

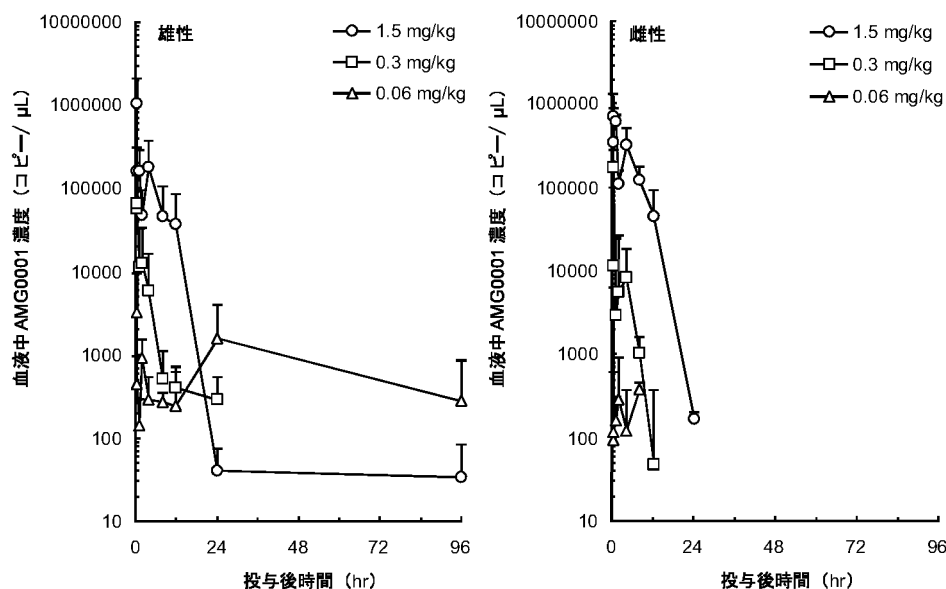
AMG0001を雌雄ラットに0.06、0.3及び1.5 mg/kgの用量で筋肉内単回投与した時、血液中AMG0001濃度は、雄性ラットで投与後2.1時間、1.3時間及び0.31時間、雌性ラットで6.5時間、0.44時間及び4.3時間にそれぞれ最大であった(図15)。雄性ラットでの $t_{1/2}$ は、0.06 mg/kgで4.5時間、1.5 mg/kgで4.0時間であり、0.3 mg/kgでは算出できなかった。雌性ラットでの $t_{1/2}$ は、0.3 mg/kgで0.99時間、1.5 mg/kgで3.7時間であり、0.06 mg/kgでは算出できなかった。AMG0001を1.5 mg/kgの用量で筋肉内単回投与した際のAUCから算出したみかけ上の吸収率は、雌ラットで0.2%、雄ラットで0.7%であった。



(n=4、平均値±標準偏差)

図 14 雌雄ラットに1.5 mg/kgの用量で筋肉内単回投与した時の筋肉中濃度推移

(余白)



(n=4、平均値+標準偏差)

図 15 雌雄ラットに 0.06、0.3 及び 1.5 mg/kg の用量で筋肉内単回投与した時の血液中濃度推移

8.4.2.2 ラット筋肉内単回投与及び 1 箇月間隔 2 回投与時の筋肉及び血中濃度推移 [90-92]

AMG0001 を雄性ラットに 1.5 mg/kg の用量で筋肉内 1 ヶ月間隔 2 回投与した時、2 回目投与後 7 日、14 日、28 日及び 60 日での投与部位筋肉中 AMG0001 濃度を 79 bp 及び 241 bp を増幅領域とする 2 種類のプライマーセットを用いた Q-PCR 法で測定した。筋肉中 AMG0001 濃度は筋肉内単回投与時と同様に推移し、投与後 14 日以降の $t_{1/2}$ は 48 日であった (図 16)。投与後 60 日の 79 bp 及び 241 bp を増幅領域とする Q-PCR 法での筋肉中濃度の比較より、筋肉中 AMG0001 は、大部分がヒト HGF 産生能を持たない不活性な核酸断片になったと考えられた。

(余白)

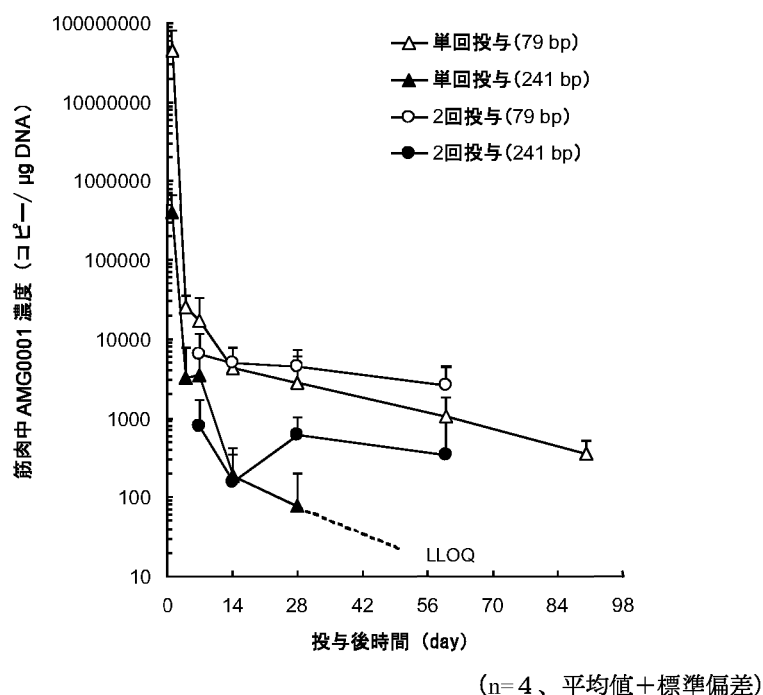


図 16 雄性ラットに 1.5 mg/kg の用量で筋肉内単回及び 1 箇月間隔 2 回投与した時の筋肉中濃度推移

8.4.2.3 ラット静脈内単回投与時の組織分布、血中濃度推移 [90, 93-96]

79 bp を増幅領域とする測定法により、投与後 1 日及び 4 日では AMG0001 は広範な組織で検出された。投与後 7 日では骨髄、肺、心臓、腎臓、精巣、卵巣、脾臓及び筋肉で検出された。

241 bp を増幅領域とする測定法では、投与後 1 日で脾臓、心臓、肺、筋肉、骨髄、肝臓、脾臓、腎臓、副腎及び大脳で検出された。投与後 4 日では、雄の脾臓のみで検出され、40 コピー/μg DNA を示し、投与後 7 日では検討した全ての組織で定量下限値未満であった。

AMG0001 を雌雄ラットに 1.5 mg/kg の用量で静脈内単回投与した時、血液中 AMG0001 濃度の $t_{1/2}$ は、雌雄それぞれ投与後 1 分～2 時間で 6.8 分及び 6.2 分、投与後 4 時間以降で 7.0 時間及び 12 時間であった。雌雄ラットの投与後 4 時間以降の $t_{1/2}$ に有意な差が認められたが、他の PK パラメーターは、雌雄ラットで違いはなく AMG0001 の経時変化に性差はないと考えられた。

8.4.2.4 サル筋肉内単回投与時の血中濃度推移 [90,97,98]

AMG0001 を雄性カニクイザルに 0.5 及び 2.5 mg/kg の用量で筋肉内単回投与した時、血液中 AMG0001 濃度を 79 bp を増幅領域とする Q-PCR 法で測定した。0.5 及び 2.5 mg/kg での血液中 AMG0001 濃度の t_{max} はそれぞれ投与後 3.0 時間及び 0.50 時間であった (図 17)。血液中 AMG0001 濃度は 2 峰性のピークを示し、0.5 及び 2.5 mg/kg 投与時の $t_{1/2}$ はそれぞれ 6.2 時間及び 11 時間であった。

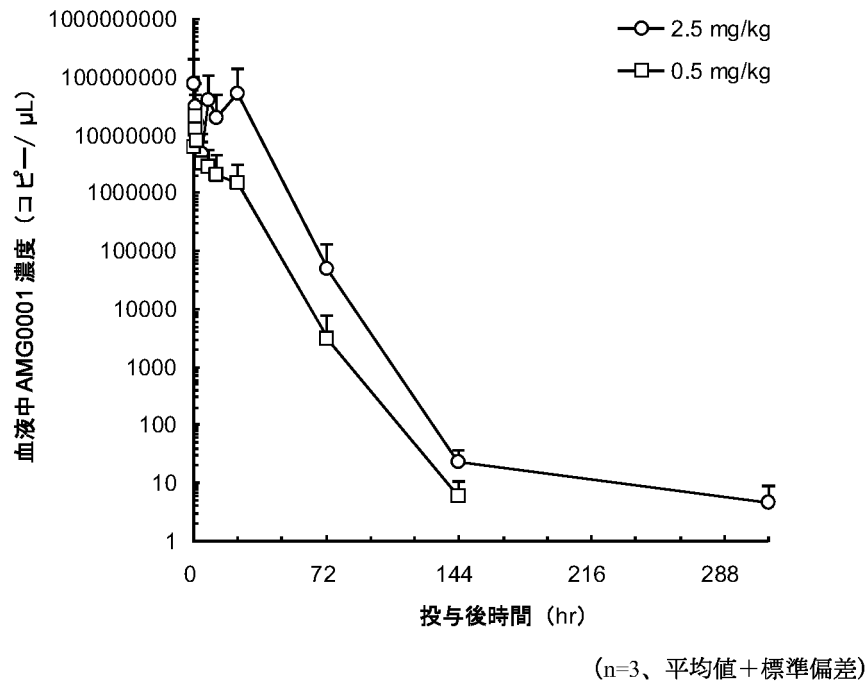


図 17 雄性カニクイザルに 0.5 及び 2.5 mg/kg の用量で筋肉内単回投与した時の血液中濃度推移

8.4.2.5 胎盤移行性 [99]

1 群各 3 匹の妊娠 13 日齢のラットの大腿部骨格筋に生理食塩水又は AMG0001 を単回筋肉内投与し、胚・胎児への AMG0001 の分布を検討した。AMG0001 投与群は 0.15 mg/kg、1.5 mg/kg、投与液量は 0.6 mL/kg とし、投与終了後 1、2、4 日後に血液及び羊水、子宮、胚・胎児、胎盤、投与部位（大内転筋）を採取した。AMG0001 はリアルタイム PCR 法で測定した（定量限界値：50 コピー/μg DNA、検出限界値：10 コピー/μg DNA）。

その結果、0.15 mg/kg 投与群では投与部位筋肉において、投与 1 日後を最大（140,127～1,693,900 コピー/μg DNA）に 4 日後までの全例で AMG0001 が検出された（2 日後：5,205～35,004、4 日後：1,250～1,523 コピー/μg DNA）。一方、血液、胎盤及び子宮では 4 日後の 2/3 例の子宮で、羊水及び胚・胎児では 1 日後の 1/3 例の胚・胎児において定量限界値未満で検出されたのみであった。

1.5 mg/kg 投与群（臨床推定用量の約 20 倍）では投与部位筋肉において、投与 1 日後を最大（251,253～10,479,400 コピー/μg DNA）に 4 日後までの全例で AMG0001 が検出された（2 日後：18,296～45,521、4 日後：4,651～14,258 コピー/μg DNA）。血液では 1 日後の 1/3 例で 355 コピー/μg DNA、2 日後の 1/3 例で 89 コピー/μg DNA の AMG0001 が検出された以外はすべて定量あるいは検出限界値未満であった。胎盤及び子宮では、1 日後の 1/3 例の胎盤で 70 コピー/μg DNA、1 日後の 1/3 例の子宮で 124 コピー/μg DNA の AMG0001 が検出された以外はすべて定量あるいは検出限界値未満であった。また、羊水及び胚・胎児では、2 日後の 2/3 例の胚・胎児において定量限界値未満で検出されたのみであった。

以上の結果から、AMG0001 の胚・胎児への移行は極めて少ないことが確認された。

8.5 代謝

8.5.1 *In vitro* 代謝 [100]

一般にプラスミド DNA は、Covalently Closed Circular 体 (CCC 体)、Open Circular 体 (OC 体)、Linear 体 (LN 体) の高次構造の異なる 3 種の形態のいずれかで存在する (図 18)。製剤中の AMG0001 は大部分が CCC 体として存在していることが品質試験から確認されている。AMG0001 をヒト及びラット血清中でインキュベーションし、AMG0001 の未変化体である CCC 体の *in vitro* での代謝速度を比較した。AMG0001 は血清中に添加すると速やかに OC 体、LN 体に代謝され、CCC 体の $t_{1/2}$ を概算すると、ヒト血清では 37 秒、ラット血清では 28 秒であった。CCC 体の代謝速度にヒト及びラット血清間で差は認められず、いずれの血清中においても速やかに代謝された。

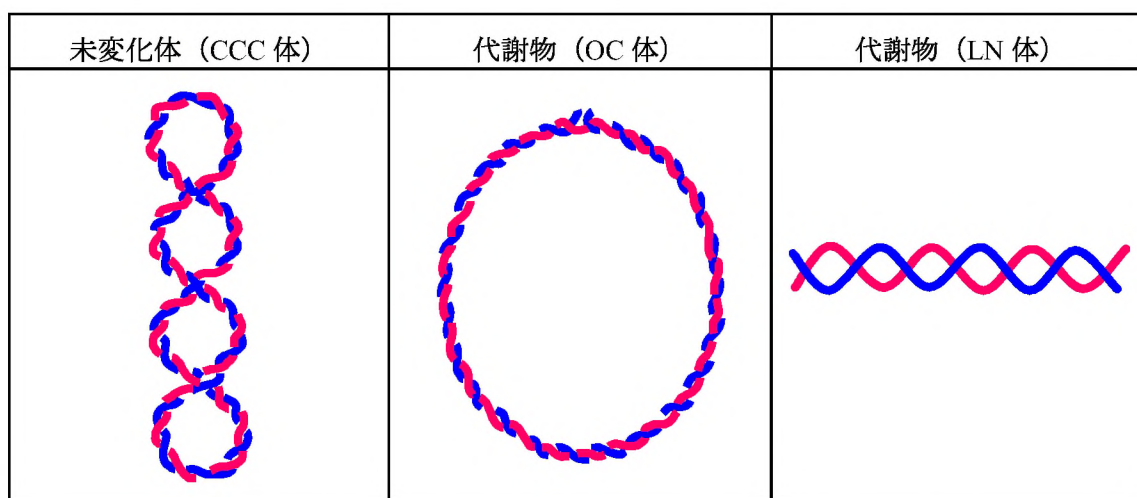


図 18 AMG0001 及びその代謝物 (OC 体及び LN 体) の模式図

8.5.2 *In vivo* 代謝 [88, 89, 93, 94]

AMG0001 をラットに筋肉内投与し、サザンブロット法にて代謝物を分析した。数例では血液中に OC 体及び LN 体が検出されたが、未変化体である CCC 体は認められなかった。さらに低分子化された核酸断片と考えられるスメアが検出された。AMG0001 を静脈内投与し、同様の方法で血液中代謝物を分析した結果、投与後 1~5 分で CCC 体は検出されず、主として OC 体及び LN 体が検出された。さらに、投与後 15 分では OC 体及び LN 体も検出されず、さらに低分子化された核酸断片と考えられるスメアのみが検出された。以上より、AMG0001 は生体内にて、CCC 体から OC 体あるいは LN 体へ変化し、最終的には DNase により活性を持たない核酸断片へと代謝されると考えられた。

8.6 排泄

8.6.1 ラット静脈内単回投与時の尿中排泄 [93, 94]

AMG0001 を雌雄ラットに 1.5 mg/kg の用量で静脈内単回投与した時、尿中 AMG0001 濃度を 79 bp を増幅領域とする Q-PCR 法で測定した結果、投与後 168 時間までの尿中 AMG0001

濃度は全て定量下限値未満であった。採尿時間は、投与前、0～8、8～24、24～48、48～72、72～96、96～120、120～144 及び 144～168 時間とした。

9 AMG0001 遺伝子治療臨床研究及び臨床試験の実施状況

これまで実施された AMG0001 の国内外の末梢動脈疾患患者を対象とした臨床研究及び臨床試験の概要を表 3 に示す。

表 3 AMG0001 の臨床試験の概要

試験番号（実施国）	対症疾患	試験デザイン	症例数	投与量	結果
AMG0001-JN-100 大阪大学臨床研究 （日本） [59, 60]	間歇性跛行/重症 虚血肢を有する ASO又はTAO	非盲検	22例	2.0 mg x 2回(0,28日後*) 4.0 mg x 2回(0,28日後) *: 最初の6例は-14日目 に0.4 mgを投与	・安全性上の問題はなかった。 ・64 %の症例で潰瘍の改善が認められ、62 %の症例で安静時疼痛の改善が認められた。
AMG0001-JN-101 第III相試験 （日本） [61]	重症虚血肢を有 するASO	二重 盲検	44例 実薬:29例 プラセボ: 15例	4.0 mg x 2回(0,28日後)	・12週後において AMG0001群で有意な潰瘍の改善がみられ、複合した改善率でも有意差を認めた。 ・安全性上の問題はなかった。
AMG0001-JN-102 一般臨床試験 （日本） [62]	重症虚血肢を有 するTAO	非盲検	10例	4.0 mg x 2回(0,28日後) (56日目に追加投与可能)	・12週後において9例中6例で潰瘍の改善を認めた。 ・安全性上の問題はなかった。
AG-CLI-0202 第II相試験 （米国） [63]	重症虚血肢を有 するASO	二重 盲検	104例 実薬: 78例 プラセボ: 26例	0.4 mg x 3回(0,14,28日後) 4.0 mg x 2回(0,28日後) 4.0 mg x 3回(0,14,28日後)	・TcPO2で有意な増加が認められた。 ・潰瘍サイズに変化がみられなかった。 ・安静時疼痛は変化がみられなかったが、SF36（体の痛み）で減少がみられた。 ・安全性上の問題はなかった。
AG-CLI-0205 追加第II相試験 （米国） [64]	重症虚血肢を有 するASO	二重 盲検	27例 実薬:21例 プラセボ: 6例	4.0 mg x 3回(0,14,28日後)	・潰瘍治癒、安静時疼痛、血行動態値（TP,TBI）ではAMG0001群で良好な結果が得られた。 ・安全性上の問題はなかった。

ASO:閉塞性動脈硬化症、TAO:バージャー病、TP:足趾血圧、TBI:足趾/上腕血圧比

9.1 AMG0001-JN-100 試験（国内試験） [59,60]

血行再建術の適応がなく、かつ既存の内科的治療が無効な閉塞性動脈硬化症及びビュルガー病患者を対象として、研究者主導の臨床研究として実施された。第一ステージでは、AMG0001 0.4 mg の予備投与で安全性に問題が認められないことが確認された後、AMG0001 2.0 mg を 4 週間隔で 2 回投与した際の安全性が検討された。その後第二ステージでは、AMG0001 2.0 mg と 4.0 mg の 4 週間隔 2 回投与で用量反応性の検討（第二ステージ）が行われた。

その結果、AMG0001 の 4.0 mg までの忍容性が確認された。また、第二ステージでは 2.0 mg と 4.0 mg で有効性に差は認められなかった。

9.2 AMG0001-JN-101 試験（国内試験） [61]

血行再建術の施行が困難でかつ既存の内科的治療が無効な重症虚血肢を有する閉塞性動脈硬化症患者を対象に、AMG0001 の有効性を検討した。その結果、中間解析において AMG0001 群のプラセボ群に対する優越性が検証された。また、安全性について、AMG0001 の忍容性に問題は認められなかった。

9.3 AMG0001-JN-102 試験（国内試験） [62]

血行再建術の施行が困難でかつ既存の内科的治療が無効な潰瘍を有するビュルガー病患者を対象に、AMG0001 の有効性と安全性を検討した。その結果、潰瘍の改善において良好な有効性が示された。また、安全性について、AMG0001 の忍容性に問題はみられなかった。

9.4 AG-CLI-0202 試験（海外試験） [63]

血行再建術の適応がない重症虚血肢を有する閉塞性動脈硬化症を対象に、AMG0001 0.4 mg の 2 週間毎 3 回投与、AMG0001 4.0 mg の 4 週間毎 2 回投与、AMG0001 4.0 mg の 2 週間毎 3 回投与及びプラセボ投与の安全性及び有効性の検討を米国にて行った。

その結果、有効性については評価項目のひとつである TcPO₂ の変化量では各群間に統計学的に有意な差は認められなかったが、観察期間中に TcPO₂ の改善が認められた症例を除いた層別解析では、プラセボ群と 4.0 mg×3 群とで統計学的有意差が認められた。また、安全性については、AMG0001 4.0 mg の 2 週間隔 3 回投与までの忍容性に問題はみられなかった。

9.5 AG-CLI-0205 試験（海外試験） [64]

国内の AMG0001 の臨床試験では投与方法を虚血部位と定めていたが、米国第 II 相試験では膝上 4 箇所、膝下 4 箇所と治験実施計画書で定めており、日本の試験とは大きく投与方法が異なっていた。そこで、本試験は日本の試験と同様に下肢の虚血部位に投与する方法で実施された。血行再建術の適応がない重症虚血肢を有する閉塞性動脈硬化症を対象に、AMG0001 4.0 mg の 2 週間毎 3 回投与及びプラセボ投与の安全性及び有効性の検討を米国にて行った。しかし、骨や腱の露出を伴う潰瘍や壊死を伴うような重症の症例が多く登録され、有効性の評価が困難と判断されたことより、目標の 48 例に対し 27 例が登録された時点で新規症例登録を中止した。

10 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

AMG0001 を用いた国内外の臨床研究及び臨床試験から得られた情報に基づき、AMG0001 の安全性プロファイルを検討した結果、AMG0001 に特有の注視すべき有害事象は認められていない。

AMG0001 は、血管新生作用を有するプラスミド DNA であることから、一般的な理論的リスクとして、投与部位近傍における異常な血管新生、投与部位以外の遠隔臓器における血管新生に伴う有害反応の発生、及び AMG0001 に対する過剰な免疫応答の可能性がある。

しかしながら、各試験を通じて比較的高い頻度で認められた有害事象は、投与手技に関連する事象であり、投与部位での血管腫発生等異常な血管新生は認められなかった。

遠隔臓器への影響については、各臨床試験において AMG0001 投与に起因する血中 HGF 濃度の上昇はみられていないこと、血管新生に起因することが疑われる増殖糖尿病網膜症等の有害事象の発生は認められていないこと、及び *in vitro* 試験において AMG0001 がヒト血清中で速やかに代謝されることが示されていること等から、投与部位以外の遠隔臓器へ影響を及ぼすリスクは低いと考える。

なお、AMG0001 との因果関係が完全には否定されなかった有害事象として悪性腫瘍が 6 例 7 件認められたが、個々の事象を詳細に検討した結果、いずれも AMG0001 との関連性は低いと判断している。

また、免疫応答反応の誘引因子となり得るような各種抗体の産生は認められず、AMG0001 が免疫応答を惹起させる可能性は低いことが示唆される。

これまで実施されてきた臨床試験の結果、既存療法で改善の認められない間歇性跛行、安静時疼痛及び潰瘍を有する閉塞性動脈硬化症又はビュルガー病患者における最大歩行距離、安静時疼痛、潰瘍症状の改善が認められている。

これまでに実施された AMG0001 の非臨床試験、臨床研究及び臨床試験の結果を総合的に判断し、AMG0001 の臨床研究を実施することは妥当であると判断する。

11 遺伝子治療臨床研究の実施計画

11.1 研究目的

代替治療が困難な慢性動脈閉塞症（閉塞性動脈硬化症又はビュルガー病）患者に対する AMG0001 の筋肉内投与の有効性及び安全性を探索的に検討する。

11.2 対象疾患

慢性動脈閉塞症（閉塞性動脈硬化症又はビュルガー病）

11.3 登録被験者の予想される利益と不利益

11.3.1 予想される利益

これまでに実施された臨床研究及び臨床試験において、薬物治療抵抗性で、外科的治療の適用が困難な慢性動脈閉塞症（閉塞性動脈硬化症又はビュルガー病）患者の安静時疼痛及び

潰瘍症状の改善傾向が認められている。AMG0001は、既存療法が無効な当該患者に対する症状を改善することが期待される。

なお、当該遺伝子治療臨床研究に参加することにより被験者が報酬などの利益を受けることは一切無い。また、当該遺伝子治療臨床研究により生じる知的財産権は研究者に帰属するものとし、それにより被験者が治療効果以外に利益を受けることはない。以上、当該遺伝子治療臨床研究によって得られる治療効果以外に被験者が利益を受けることはない。

11.3.2 予想される不利益

当該遺伝子治療臨床研究における試験治療は、被験者の症状により、外来・入院いずれの対応も可能となる。入院する場合は、その期間は医師の判断により、その間の生活が制限されることとなる。また、「11.11.5.1.予想される有害事象」に挙げる有害事象が生じる可能性があり、その場合には、通院、入院などによる処置が必要となる場合がある。また、AMG0001はヒトでの使用経験はあるものの開発段階にあり、予期せぬ有害事象により障害が残ることや、死亡の可能性も完全には否定できない。

また、本研究における試験治療が原因での有害事象が生じた場合の補償に関しては「11.22.2 健康被害の補償等」に定める。

11.4 適格基準

11.4.1 被験者登録時の選択基準

被験者登録時に以下の選択基準の全ての項目を満たし、除外基準のいずれの項目にも抵触しない被験者を適格とする。

11.4.1.1 選択基準

- (1) 本人の自由意思による文書同意が得られた者。
- (2) 同意取得時の年齢が満 20 歳以上 85 歳未満の者。
- (3) 投与対象肢の浅大腿動脈、膝窩動脈又は膝窩下の動脈に、CTA 又は MRA により確認される閉塞又は狭窄部位がある者。
- (4) 投与対象肢の観察期間の足関節血圧の平均値が 70 mmHg 又は ABI が 0.6 以下の者（ただし、ビュルガー病に関してはこの限りではない）。
- (5) 閉塞又は狭窄部位に起因する以下の臨床症状を有する者。
 - ・ 安静時疼痛（Fontaine 分類 III 度）
観察期間の VAS 値が 20 mm 以上
 - ・ 潰瘍（Fontaine 分類 IV 度）
- (6) 投与対象肢の血行再建術（血管内治療を含む）の適用が困難な者、又は当該適応が不可能ではないが、手術によるリスクがあると判断される者。
- (7) 既存の内科的治療や処置が同意取得 2 週間以上前から施行され、同意取得後、当該治療や処置を 2 週間以上（前観察期間）継続しても、投与対象肢の症状改善が認められない者。
<「改善が認められない」と判断する基準>
 - ・ 安静時疼痛を有する者

「VAS 変化量（減少）が 20 mm 未満」

・潰瘍を有する者

「主要評価対象となる潰瘍の大きさ（ $\sqrt{\text{長径} \times \text{短径}}$ ）の変化量（縮小）が 25 %未満」

- (8) 同意取得日から治療期 12 週後まで精子通過阻止による避妊法（コンドームを使用）で避妊を行うことに同意した者。
- (9) 入院、外来の別は問わない。

11.4.1.2 選択基準の設定根拠

- (1) 患者本人が臨床研究の内容を十分理解し、自由意思にもとづき臨床研究への参加に同意することが必須であると考え、設定した。
- (2) 対象疾患の年齢層を考慮し、下限は鑑別診断において困難を避けるために設定し、上限は対象疾患の年齢層を考慮し設定した。
- (3)、(4)、(5)
投与対象肢の動脈に閉塞又は狭窄部位が観察され、AMG0001 の評価が可能な安静時疼痛又は潰瘍を有する患者を対象とするため設定した。
- (6)、(7)
「遺伝子治療臨床研究に関する指針 第一章総則 第三 対象疾患等」に定める要件を満たす患者を対象とするため設定した。
- (8) AMG0001 の生殖系に対する安全性は、十分に確立している状況ではないことから、安全性確保のために設定した。
- (9) 被験者の治療環境を明確に規定するために設定した。

11.4.1.3 除外基準

- (1) 投与対象肢又は非対象肢に壊死化している潰瘍、腱又は骨が露出している潰瘍を有する者。
- (2) 同意取得前 90 日以内にアルコール依存症又は薬物依存症と診断された者。
- (3) 悪性腫瘍の合併、既往のある者。ただし、完治した皮膚の基底細胞癌は除外する。また、乳癌については同意取得 10 年以上前に完治し再発がない場合、その他の悪性腫瘍については 5 年以上前に完治し再発がない場合は登録可とする。プロトコールで規定した癌のスクリーニング検査を完了していなくてはならない。
- (4) 重篤な心疾患、腎疾患、血液疾患 [「医薬品等の副作用の重篤度分類基準について」（平成 4 年 6 月 29 日）のグレード 3] を有する者。ただし、安定期慢性維持透析患者を除く。
- (5) HIV 抗原・抗体が陽性の者。
- (6) 同意取得前 90 日以内に投与対象肢又は非対象肢の血行再建術、切断術を受けた者（ただし、小切開、Necrotomy、抜爪などの局所処置は除く）。
- (7) 同意取得前 90 日以内に交感神経切除術又は交感神経ブロックを受けた者。
- (8) 抗菌剤で制御が困難な侵襲性の感染症（骨髄炎、蜂窩織炎、リンパ管炎など）を有している者。

- (9) 未治療又は治療抵抗性の増殖性糖尿病性網膜症、若しくは新生血管型の加齢黄斑変性症を有する者。
- (10) 糖尿病性神経障害（広汎性左右対称性神経障害）を有している者。
- (11) 同意取得前 30 日以内に他の治験に参加していた患者（治験薬、治験機器が使用されなかった場合を除く）。
- (12) 過去に遺伝子治療を受けた者（ただし、AMG0001 の投与を受けた者は除く）。
- (13) 妊婦、授乳期の女性、妊娠している可能性のある女性、又は臨床研究中に妊娠を希望する女性。
- (14) その他、臨床研究担当医師が当該遺伝子治療臨床研究の対象として不適当と判断した者。

11.4.1.4 除外基準の設定根拠

- (1)、(10)
AMG0001 による有効性が期待しにくいために設定した。
- (2) 当該遺伝子治療臨床研究の評価に影響を及ぼす可能性があるために設定した。
- (3)、(4)、(5)、(11)、(12)、(13)
被験者の安全性確保のために設定した。
- (6)、(7)
当該遺伝子治療臨床研究の評価に影響を及ぼす可能性があるために設定した。
- (8) AMG0001 による有効性が期待しにくいこと、また、急性増悪する可能性があることから設定した。
- (9) AMG0001 の投与により症状が悪化する可能性があるため設定した。
AMG0001 による有効性が期待しにくいこと、被験者の安全性確保のため設定した。
- (14) 被験者として対象とすべきではないことより設定した。

11.5 同意取得

11.5.1 同意説明文書及び同意書の作成

同意説明文書は全ての被験者及び被験者の家族などが理解できるよう、可能な限り専門的な用語を避け、平易な表現を用いて作成する。

また、同意書及び同意撤回書の様式も作成されている。（「同意書」「同意撤回書」参照）

11.5.2 同意説明文書及び同意書の改定

同意説明文書及び同意書が改定された場合は、既に臨床研究に参加している被験者においても改定された同意説明文書により再び説明を行い、再同意を文書により取得する。なお、既に研究が終了している被験者にはその限りではない。

11.5.3 同意説明及び同意取得の時期の方法

研究責任者又は研究分担者は、当該遺伝子治療臨床研究への参加候補となる患者本人に対して、同意説明文書を提供し、十分な説明を行った後、当該遺伝子治療臨床研究への参加の同意を文書で取得する。（当該遺伝子治療臨床研究における「インフォームド・コンセントに関する手順書」を参照）

なお、当該遺伝子治療臨床研究においては、単独で同意を取得できない者は被験者としていない。

11.6 登録

以下の手順に従い被験者を登録する。被験者の登録については、当該遺伝子治療臨床研究における「被験者の登録に関する手順書」に定める。

(1) 同意の取得

実施施設の研究責任者又は研究分担者は、当該遺伝子治療臨床研究への参加候補となる患者本人に対して、同意説明文書を提供し十分な説明を行った後、当該遺伝子治療臨床研究への参加の同意を文書で取得する。

（「11.5 同意取得」を参照）

(2) 被験者名簿の作成

実施施設の研究責任者、研究分担者又は研究協力者は、研究参加に文書で同意を得た被験者に対して、被験者識別コードを付与し、「被験者名簿」に記載する。研究責任者は被験者名簿を保管する。

被験者識別コードは、大阪大学医学部附属病院におけるプロジェクト承認番号を特定する6桁の英数字、施設を特定する2桁の数字、被験者を特定する3桁の数字から構成される。後者の3桁は同意を取得した被験者に001番から順に番号を付与する。

(3) 前観察期間検査の実施

実施施設の研究責任者又は研究分担者は、研究参加に文書で同意を得た被験者に対して、「11.10 観察・検査スケジュール」に従ってスクリーニングを実施する。

(4) 症例登録票の作成

実施施設の研究責任者又は研究分担者は、患者背景及びスクリーニング結果に基づいて、「11.4 適格基準」で規定する登録時の選択基準のすべての項目を満たし、除外基準のいずれの項目にも該当しないことを確認し、「仮症例登録票」に必要事項をすべて記載する。

(5) 仮症例登録票の送付

実施施設の研究責任者、研究分担者又は研究協力者は、「仮症例登録票」の原本を診療録とともに保管し、多施設共同臨床研究事務局にその写しをFAXする。

(6) 適格性の判定

多施設共同臨床研究事務局は、FAXで受領した「仮症例登録票（写）」の記載内容に基づいて適格性を確認する。多施設共同臨床研究事務局は、この記入済みの「仮症例登録票（写）」を保管する。

(7) 仮登録

多施設共同臨床研究事務局は、適格と判定した場合には、適格と判定された被験者に「仮登録番号」を付与し、仮登録番号を記載した「仮症例登録確認票」を、仮

症例登録票を送付した施設の研究責任者及び研究総括責任者にFAXする。この「仮症例登録確認票」を送付した時点で、適格と判定した患者を被験者として「仮登録」したものとする。不適格と判定した場合には、「仮登録における不適格連絡票」を当該研究責任者及び研究総括責任者にFAXする。

(8) 仮登録後の検査・観察の開始

実施施設の研究責任者又は研究分担者は、受領した「仮症例登録確認票」に仮登録完了の旨が記載されていることを確認して、仮登録後の必要な検査・観察を開始する。

実施施設の研究責任者、研究分担者又は研究協力者は、「仮症例登録確認票」又は「仮登録における不適格連絡票」を保管し、「仮症例登録確認票」に記載された仮登録番号を被験者名簿に記載する。

(9) 本登録

実施施設の研究責任者又は研究分担者は、前観察期間に実施すべき検査・観察がすべて終了し、全てのデータが揃った時点で、全ての適格基準を確認の上、「本症例登録票」を多施設共同臨床研究事務局に FAX する。多施設共同臨床研究事務局は、本症例登録票の内容から登録の可否を判断し、「登録結果のお知らせ」を当該研究責任者及び研究総括責任者に FAX する。

この「登録結果のお知らせ」を送付した時点で、適格と判定した患者を被験者として「本登録」したものとする。

(10) 本登録後の試験治療の開始

実施施設の研究責任者又は研究分担者は、受領した「登録結果のお知らせ」に本登録完了の旨が記載されていることを確認して、本登録後の必要な検査・観察及び試験治療を開始する。

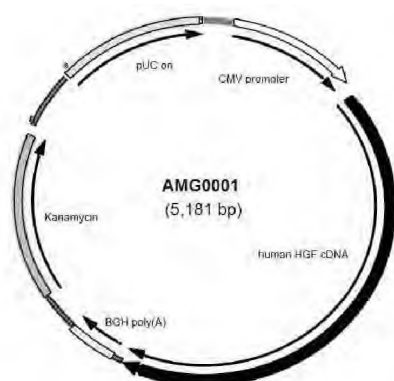
実施施設の研究責任者、研究分担者又は研究協力者は、「登録結果のお知らせ」を保管し、「登録結果のお知らせ」に記載された本登録番号を被験者名簿に記載する。

(余白)

11.7 AMG0001

11.7.1 AMG0001（原薬）

- (1) AMG0001 名（原薬）： AMG0001
- (2) 一般名： ベペルミノゲン ペルプラスミド
(INN： beperminogene perplasmid)
- (3) 化学名： ヒト肝細胞増殖因子をコードする cDNA を真核細胞で発現させる転写単位を含むプラスミド DNA。大腸菌 DH5 α を用いて製造され、5,181 塩基対(C₁₀₁₀₈₃H₁₂₆₉₈₈N₃₈₈₀₄O₆₂₁₇₂P₁₀₃₆₂; 分子量: 3,201,254.7)からなる。
- (4) 分子式・分子量: C₁₀₁₀₈₃H₁₂₆₉₈₈N₃₈₈₀₄O₆₂₁₇₂P₁₀₃₆₂
- (5) 構造:



11.7.2 AMG0001（製剤）

11.7.2.1 含量及び剤型

AMG0001 を生理食塩水に溶解した注射剤であり、1 バイアル中に 2.5 mg/mL を 2.1 mL 含有する。

11.7.2.2 AMG0001 の包装形態及び表示

- (1) 容器: 13 mm/3.0mL Type I ホウケイ酸ガラスバイアル
- (2) AMG0001（製剤）のラベル表示及び包装形態等:
AMG0001（製剤）のラベル、包装形態等については、当該遺伝子治療臨床研究の「AMG0001（製剤）の管理手順書」を参照のこと。

11.7.2.3 AMG0001（製剤）の使用期限及び保存条件

AMG0001（製剤）は、-20℃の保存条件で5年間安定であり、室温（25℃、遮光）で48時間安定である。

AMG0001（製剤）は、施錠可能なフリーザーにおいて－20℃（許容範囲：－50℃～－15℃）で保管する。当該遺伝子治療臨床研究の「AMG0001（製剤）の管理手順書」に従い、最低・最高保存温度を測定し、その結果を実施施設のAMG0001（製剤）の管理担当者が記録する。保存条件が規定範囲外であることが判明した場合は、実施施設の管理担当者は、当該施設の研究責任者及び研究総括責任者に直ちに連絡する。

使用期限は、当該遺伝子治療臨床研究の「AMG0001（製剤）の管理手順書」に定める。

11.7.2.4 AMG0001（製剤）の管理

AMG0001（製剤）の管理・回収は、当該遺伝子治療臨床研究の「AMG0001（製剤）の管理手順書」に従う。

11.7.2.5 AMG0001（製剤）の調製

AMG0001（製剤）の調剤は、クリーンベンチ内で無菌的に行う。当該調剤手順の詳細は、当該遺伝子治療臨床研究の「AMG0001（製剤）の管理手順書」を参照のこと。

なお、調剤した試験薬（製剤）は、できるだけ速やかに使用することが望ましい。調剤後、すぐに使用しない場合には、調製済みのシリンジは、使用するまで凍結を避けて冷蔵庫（2～8℃）に保管し、72時間以内に使用すること。

11.8 臨床研究実施計画

11.8.1 デザインの型

- (1) 単施設・多施設: 多施設
- (2) 試験の相: 一般臨床試験
- (3) デザインの型: 多施設共同オープンラベル試験
- (4) 対照: 無
- (5) ランダム化: 無
- (6) 遮蔽（盲検）化: 無

11.8.2 デザインの設定根拠

当該遺伝子治療臨床研究の対象である慢性動脈閉塞症（閉塞性動脈硬化症又はビュルガー病）のうち、Fontaine III度（安静時疼痛）又はIV度（潰瘍）を呈する薬物治療抵抗性で、外科的治療の適用が困難な患者は、限られている。したがって、当該遺伝子治療臨床研究の目標としている被験者登録期間である1年間に、目標登録症例数である6例を集積するためには単施設試験での症例集積の実行可能性が極めて低いことから、多施設共同臨床研究とした。

また、当該遺伝子治療臨床研究の主要評価項目は、探索的な有効性評価である。したがって、ランダム化、遮蔽化（盲検化）、対照試験などは行わない。

11.8.3 目標登録被験者数・被験者登録期間・研究実施期間

- (1) 目標登録被験者数: 6例
- (2) 被験者登録期間: 1年

当該遺伝子治療臨床研究実施計画が遺伝子治療臨床研究審査委員会に承認され、厚生労働大臣の実施の了承を得た後、病院長の実施許可が通知される。その後、先進医療B申請を行い、当該申請が承認された日を研究開始日とし、それから1年間、被験者登録を受理する。

(3) 研究実施期間: 1年

当該遺伝子治療臨床研究実施計画が遺伝子治療臨床研究審査委員会に承認され、厚生労働大臣の実施の了承を得た後、病院長の実施許可が通知される。その後、先進医療B申請を行い、当該申請が承認された日を研究開始とし、それから1年以内に最終被験者の研究参加を終了する。

11.8.4 目標登録被験者数の集積の可能性

アンジェス社が、国内で実施したAMG0001-JN-101試験（対象: ASO）及びAMG0001-JN-102試験（対象: TAO）の症例集積頻度を分析した。その結果、当該遺伝子治療臨床研究への適格基準を満たし、同意取得が可能な被験者を想定したところ、1年間に6例を集積するために必要な施設数を8施設と算定した。

したがって、当該遺伝子治療臨床研究では、目標登録被験者6例を被験者登録期間である1年間に集積する8施設での多施設共同臨床研究を設定していることから、目標登録被験者数の集積は可能と考える。

11.8.5 プロトコル治療計画

11.8.5.1 プロトコル治療の定義

当該遺伝子治療臨床研究におけるプロトコル治療とは、AMG0001の投与開始から、最終被験者の1回目投与開始12週後までとする。

11.8.5.2 方法

(1) 診療区分

入院又は外来のいずれも可とする。

(2) AMG0001 の調剤

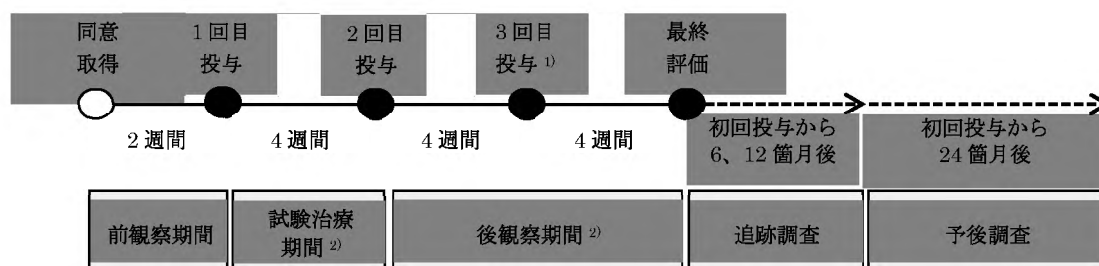
AMG0001 の調剤は、クリーンベンチ内で無菌的に行う。解凍した AMG0001 は、6 時間以内に使用し、1 調剤を 1 被験者用として使い切る。また、調剤した AMG0001 はできる限り速やかに使用することが望ましい。すぐに使用しない場合は、使用するまで凍結を避けて遮光下で、冷蔵庫で保管し、72 時間以内に使用する。調剤後、やむを得ず AMG0001 を使用しないことになった場合は、院内の感染性医療用廃棄物に関する取り決めに従って廃棄する。

(3) 投与方法

AMG0001 を日局生理食塩液で希釈し、対象肢の虚血部位に対して 1 部位あたり 0.5 mg ずつ 8 部位（合計 4 mg）に筋肉内投与する。投与は 4 週間の間隔をあけて 2 回行う。治療期 8 週後において改善傾向が認められない場合には、更に 3 回目の投与を実施する。

希釈後の AMG0001 の 1 部位あたりの投与液量は 3 mL とし、投与対象筋が小さい場合には 2 mL まで減じてよい。注射部位は虚血の状態により被験者ごとに決定する。

後観察期間終了後、初回投与 6 箇月後及び 12 箇月後に追跡調査（来院）を行い、初回投与 24 箇月後に、来院を義務としない安全性確認のための聞き取り調査を行う。試験の概略図を以下に示す（図 19）。



1) 3 回目投与は、2 回目投与後の評価結果により実施の可否を判断する。

2) 3 回投与の場合は、試験治療期間は 8 週間となり、後観察期間は 4 週間となる。

図 19 試験の概略図

11.8.5.3 併用治療

当該遺伝子治療臨床研究の対象の治療に係る併用禁止及び併用可能な治療法を以下に示す。なお、前観察期間開始前までに禁煙指導が行われていること。前観察期間から後観察期間終了まで、経時的に喫煙状況を観察する。

(1) 慢性動脈閉塞症（閉塞性動脈硬化症及びビュルガー病）に対する治療

1) 併用禁止

- ・ 交感神経ブロック

2) 併用可能

- ・ 本疾患に対するすべての治療薬

前観察期間開始から後観察期間終了まで、薬剤の変更及び増量（1 日平均使用量が 1.5 倍を超える増加）は行わない。

(2) 慢性動脈閉塞症（閉塞性動脈硬化症及びビュルガー病）に伴う潰瘍に対する治療

1) 併用禁止

- ・ フィブラスト

2) 併用可能

- ・ 肉芽形成促進、組織修復、組織賦活作用のある外用剤
- ・ 潰瘍部位の鎮痛を目的とした外用剤

前観察期間開始時から後観察期間終了まで、薬剤の変更及び増量（1 日平均使用量が 1.5 倍をこえる増加）は行わない。

3) 制限なし

- ・ 上記(2)以外の潰瘍に対する薬剤、消毒液、ワセリン等の局所処置
- ・ 潰瘍部位の感染制御及び感染予防のための抗菌剤
- ・ 潰瘍部位に痂皮が形成されている場合の外科的・化学的デブリドマン

- (3) 慢性動脈閉塞症（閉塞性動脈硬化症及びビュルガー病）に伴う安静時疼痛に対する治療
- 1) 併用禁止
 - ・ 硬膜外麻酔
 - 2) 併用可能
 - ・ 全ての鎮痛剤（頓用を含む）
前観察期間開始から後観察期間終了まで、薬剤の変更及び増量は、治療上の必要性を認めない限り行わない。
- (4) 外科的治療等
- 1) 併用禁止
 - ・ 投与対象肢又は非対象肢の血行再建術（血管内治療も含む）
 - ・ 切断術または交感神経切断術
- (5) その他の治療
- 1) 併用禁止
 - ・ 他の治験薬及び開発中の治療含む未承認治療（細胞移植等）

【併用治療の設定根拠】

- (1) 既存の内科的治療を最低 2 週間以上（前観察期間）行っても改善が認められない患者を対象としていることから、治療期において前観察期から継続して内科的治療を併用することは可とした。ただし、交感神経ブロックは有効性の評価が不可能となるため禁止した。
- (2) フィブラストは血管新生因子の製剤であり、AMG0001 との相互作用が不明であるため禁止とした。他の潰瘍に適応を有する薬剤の使用や感染の制御や痂皮の除去等は、重症下肢虚血を対象としていることから、併用を可とした。
- (3) 鎮痛剤の使用は主要評価項目である安静時疼痛の評価へ直接影響するものの、「薬剤の変更及び増量をしない」という条件で評価は可能と考え、使用を可とした。ただし、硬膜下麻酔は評価が不可能となるため禁止とした。
- (4) 血行再建術、切断術又は交感神経切除術が投与対象肢の血行動態及び遺伝子発現に与える影響が不明なため、禁止とした。
- (5) 有効性及び安全性の評価に影響を及ぼす可能性があり、被験者の安全性確保も考え設定した。

11.8.5.4 支持治療

- (1) 投与前後の疼痛対策

必要に応じて、投与前に穿刺予定部位にキシロカインゼリーなどで表面麻酔を行う。注射時の疼痛の程度により痛みが遷延すると判断される場合は、鎮痛剤（ボルタレンやロキソニンなどの NSAIDs）と共に、必要に応じて健胃散を使用する（注射部位の局所反応が遷延する場合は、有害事象として報告する）。

11.8.5.5 後治療

プロトコル治療終了後又はプロトコル治療中止後の治療については、「11.8.5.3 併用治療」及び「11.8.5.4 支持療法」と同様に適切な治療を行う。

11.8.5.6 プロトコル治療計画の設定根拠

当該遺伝子治療臨床研究の用法・用量は、アンジェス社の実施した「AMG0001 の閉塞性動脈硬化症を対象とした二重盲検比較試験（AMG0001-JN-101 試験）」及び「AMG0001 のビュルガー病を対象とした一般臨床試験（AMG0001-JN-102 試験）」の用量と同一であり、用法は AMG0001-JN-102 試験の 2 回目投与で効果が認められない場合は 3 回目投与を可能とする AMG0001-JN-102 試験と同一である。

したがって、既にヒトでの臨床試験において、有効性が示唆され、安全性が確認された用法・用量を採用していることから、当該遺伝子治療臨床研究のプロトコル治療計画は妥当であると考えられる。当該遺伝子治療臨床研究では、AMG0001-JN-102 試験での 3 回投与例が 10 例中 2 例と少なかったことから、更に症例を追加し、探索的に有効性検討を行う。

11.8.6 登録被験者の研究参加期間

被験者の研究参加期間は、仮登録日から予後調査までとする。

- (1) 前観察期間（投与開始前）： 21日以内
- (2) 試験治療期間（投与期間）： 4週間～8週間
- (3) 後観察期間（投与終了後）：
 - ・ 試験治療期間が4週間の場合は、8週間（2回投与）。
 - ・ 試験治療期間が8週間の場合は、4週間（3回投与）。
- (4) 追跡調査：
 - ・ AMG0001 初回投与から6箇月後
 - ・ AMG0001 初回投与から12箇月後
- (5) 予後調査：
 - ・ AMG0001 初回投与から24箇月後

11.9 主要評価項目及び副次的評価項目

11.9.1 主要評価項目

「後観察期間 12 週後（又は中止時）の安静時疼痛 VAS（visual analog scale）又は潰瘍の大きさ」について、以下の改善基準を定め、その改善率を求める。

- (1) Fontaine 分類 III 度の患者の改善基準：

安静時疼痛（VAS）が、投与前値から 20 mm 以上減少した場合を「改善」と定義する。ただし、以下の場合は、「非改善」とする。

 - ・ 投与前と比較し、鎮痛剤の使用量が 1.3 倍を超えた場合
- (2) Fontaine 分類 IV 度（潰瘍）の患者の改善基準：

主要評価対象とした潰瘍の大きさ（ $\sqrt{\text{長径} \times \text{短径}}$ ）が、投与前値から 75 % 以下に縮小した場合を「改善」と定義する。ただし、以下の場合は、「非改善」とする。

 - ・ 試験治療期間又は後観察期間中に、投与同側肢に新たな虚血性潰瘍が生じた場合

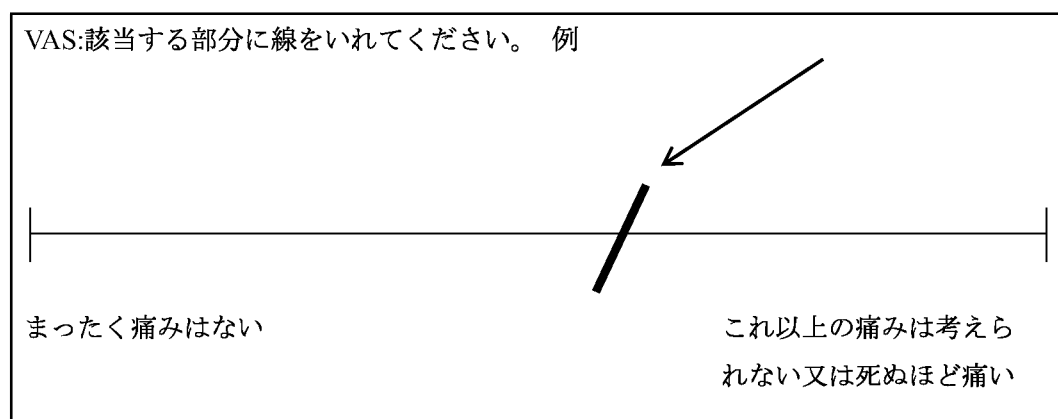
11.9.1.1 主要評価項目の評価方法

(1) 安静時疼痛の評価

安静時疼痛の評価には VAS を用いる。

説明者（研究責任（分担）者又は研究協力者）は、規定の 100 mm の VAS 記録用紙を被験者に手渡し、直近 2 週間における安静時疼痛の程度を以下の図例のように線で記入させる（前回のデータは被験者に提示しない）。

計測者（研究責任（分担）者又は研究協力者）はスケールを用いて「まったく痛みはない」からの距離（単位: mm）を計測する。線以外で記入した場合は、その印の中心と VAS が交わる部分までの距離を計測する。VAS 記録用紙は実施施設で保管する。説明者は臨床研究試験期間を通して同一者とする。



(2) 潰瘍の評価

潰瘍の長径と短径を計測する（評価は $\sqrt{\text{長径} \times \text{短径}}$ で実施する）。

潰瘍部位と上皮化した部位を明確に見極めた後、皮膚欠損部分の長径と、直交する短径の実測値（単位: mm）を記録する。臨床研究期間中に潰瘍の形状が変化しても、前観察期開始時に測定した長径と短径に相当する箇所を測定する。短径が測定不能の場合には、長径のみ測定することによりよい。

潰瘍が多発性の場合、全ての潰瘍を評価する。投与対象肢の潰瘍の部位を記録し、通し番号で「潰瘍 No」を付番する。ただし、主要評価対象は観察期 2 週後において計測可能な最大潰瘍とする。

潰瘍は、前観察期開始時、前観察期 2 週後、1 回目投与 8 週後、及び 1 回目投与 12 週後（又は中止時）に写真撮影する。写真撮影の際は、スケールを添え、常に同一方向、同一角度から撮影する。撮影した写真は、被験者識別コードと撮影日を記載し、実施施設で保管する。その他、観察日においても、可能な限り写真撮影を実施する。

潰瘍の計測及び写真撮影の詳細は「潰瘍の計測及び写真撮影の手順書」に従う。

11.9.2 主要評価項目の設定根拠

(1) Fontaine分類III度の患者の改善率基準の設定根拠

当該遺伝子治療臨床研究の対象である慢性動脈閉塞症（閉塞性動脈硬化症及びビュルガー病）の Fontaine 分類 III 度「安静時疼痛」は、局所的な虚血により引き起こされる深部痛である。

局所の代謝産物は、血流が正常であれば毛細管に取りこまれ、すみやかに運びさられるが、局所的に虚血又は血流障害が生じると、その部位に代謝産物が停滞し、これらの一部が発痛物質として侵害受容器を興奮させ深部痛を引き起こす。当該深部痛が慢性化している病態が、慢性動脈閉塞症の「安静時疼痛」である。「標準的神経治療：慢性疼痛（日本神経治療学会監修、2010年7月）（以下、慢性疼痛治療指針）」では、慢性疼痛は、6箇月以上続く非がん性の疼痛とされ、当該疼痛は侵害受容体疼痛、神経障害性疼痛及び心因性疼痛の3要因に分類される。

したがって、当該遺伝子治療臨床研究の対象の慢性動脈閉塞症の安静時疼痛も慢性疼痛の一つであると考えられる。慢性疼痛の疼痛強度は、一般的に visual analogue scale（VAS）、numeral rating scale（NRS）、face scale などの評価スケールを用いることが慢性疼痛治療指針に記載されている。

このようなことから当該遺伝子治療臨床研究では、疼痛強度の評価で一般的に用いられている VAS を使用する。

また、臨床上意義があると考えられる VAS の最小変化量の報告は、以下のとおりいくつか存在する。

- 1) 13 mm（95 %信頼区間 10～17 mm）[1]
- 2) 18 mm（95 %信頼区間 16～20 mm）[2]
- 3) 12 mm（95 %信頼区間 9～15 mm）[3]

- 1 Todd KH, Funk KG, Funk JP, et al. Clinical significance of reported changes in pain severity. Ann Emerg Med. 1996;27:485-9
- 2 Todd KH, Funk JP. The minimum clinically important difference in physician-assigned visual analog pain scores. Acad Emerg Med. 1996;3:142-6
- 3 Kelly AM. The minimum clinically significant difference in visual analogue scale pain score does not differ with severity of pain. Emerg Med J. 2001;18:205-7.

このような報告を参考に、当該遺伝子治療臨床研究では AMG0001-JN-101 試験と同様に、投与前値から 20 mm 以上の減少を「改善」と定義することとした。AMG0001-JN-101 試験では、当時の医学専門家と協議した結果、鎮痛剤の使用量が投与前から 1.3 倍を超えた場合は、VAS 評価に影響を与える可能性が否定できないことから、「非改善」として取り扱うこととしていた。当該遺伝子治療臨床研究でも当該鎮痛剤の増量に係る基準を採用することとする。

(2) Fontaine分類IV度の患者の改善率基準の設定根拠

当該遺伝子治療臨床研究の対象である慢性動脈閉塞症（閉塞性動脈硬化症及びビュルガー病）の Fontaine 分類 IV 度では、「潰瘍」のみを対象とする。ただし、投与対象肢又は非対象肢に、壊死化している潰瘍、腱又は骨が露出している潰瘍を有する患者は、AMG0001 の薬効を期待できる可能性が低いことから対象としない。

当該遺伝子治療臨床研究では、「潰瘍」の改善指標として、AMG0001-JN-101、102 試験と同様に潰瘍の縮小率を採用することとした。潰瘍の大きさも AMG0001-JN-101、102 試験と同様に、既承認の慢性動脈閉塞症治療薬のプロスタグランジン E₁ やアルガトロバンで用いた「長径と短径の相乗平均（ $\sqrt{\text{長径mm} \times \text{短径mm}}$ ）」を用い、投与前値から 75 %以下への縮小を「改善」と定義することとした。ただし、試験治療期

間又は後観察期間中に、投与同側肢に新たな虚血性潰瘍が生じた場合は、「非改善」として取り扱う。

AMG0001-JN-101、102試験の潰瘍の縮小率については、当時の医学専門家と協議した結果、75 %以下の縮小が認められれば測定誤差を排除した臨床上意義のある最小の改善効果と判断することとなった。潰瘍治療薬の改善指標は、一般的に50 %縮小を指標にしているようであるが、AMG0001の場合、外科的治療が困難で、既存薬に抵抗性（アンメット・メディカル・ニーズ）の被験者であることから、当該医学専門家は75 %縮小という指標を選択した。

11.9.3 副次的評価項目

(1) 有効性

1) 安静時疼痛

投与開始前のVAS値から、2回目投与4週後（又は中止時）のVAS値の変化量を評価する。評価方法は、「11.9.1.1 主要評価項目の評価方法」を参照のこと。

2) 潰瘍

投与開始前の潰瘍の大きさから、2回目投与4週後（又は中止時）の潰瘍の大きさの縮小率を評価する。評価方法は、「11.9.1.1 主要評価項目の評価方法」を参照のこと。

3) ABI（ankle-brachial systolic pressure index: 足関節/上腕血圧比）

投与開始前のABIの測定値から、1回目投与12週後（又は中止時）の測定値の変化を評価する。

a) 評価方法

ABIは10分間以上安静時臥床の後に、仰臥位で1回測定する。

ABIはドップラー血流計を用い、対象肢の肢背側動脈又は後脛骨動脈の収縮期血圧の高い方を評価値とし、同様の方法で測定した上腕動脈の収縮期血圧（左右のうち高い方を採用）に対する比から求める。

血圧が検出できない場合には、0 mm Hgと記載し、また、測定不能な場合には理由を記載する。

4) Fontaine分類

投与開始前のFontaine分類の病期から、1回目投与12週後（又は中止時）の病期の変化を評価する。

a) 評価方法

被験者の症状から、Fontaine分類に相当する病期を評価する。

Fontaine分類

病期	臨床症状
I	無症状
IIa	間歇性跛行（軽度）
IIb	間歇性跛行（中等度～高度）
III	安静時疼痛
IV	潰瘍、壊疽

5) 鎮痛剤不要患者の頻度

投与開始時の鎮痛剤使用患者が、1回目投与12週後（又は中止時）に鎮痛剤が不要になる頻度を評価する。

a) 評価方法

投与開始時の鎮痛剤の薬剤名、投与経路、1日（頓服）用量、1週間あたりの使用頻度を評価する。

(2) 安全性

バイタルサイン、理学的検査、一般臨床検査、尿検査、心電図検査などから、有害事象、副作用、重篤な有害事象を評価する。

11.9.4 副次的評価項目の設定根拠

(1) 有効性

1) 安静時疼痛

AMG0001が血管新生作用を有することから、血流が改善することにより、Fontaine III度患者の安静時疼痛を改善することが期待されるため設定した。

2) 潰瘍

AMG0001が血管新生作用を有することから、血流が改善することにより、Fontaine IV度患者の潰瘍の縮小効果が期待されるため設定した。

3) ABI（ankle-brachial systolic pressure index: 足関節/上腕血圧比）

AMG0001が血管新生作用を有することから、血流が改善することにより、血行動態を改善することが期待されるため設定した。

4) Fontaine分類

AMG0001が血管新生作用を有することから、血流が改善することにより、安静時疼痛又は潰瘍の症状が改善し、Fontaine分類の病期グレードが改善することが期待されるため設定した。

5) 鎮痛剤不要患者の頻度

AMG0001が血管新生作用を有することから、血流が改善することにより、安静時疼痛又は潰瘍の症状が改善し、鎮痛剤の使用量や使用頻度が低下することが期待されるため設定した。

(2) 安全性

AMG0001 は、国内外で未承認であることから、安全性情報が限定的であることを鑑み設定した。

11.10 観察・検査スケジュール

11.10.1 観察・検査スケジュール

	前観察期間開始前	前観察期間			AMG0001 2 回投与					追跡調査		予後調査	
					試験治療期間		後観察期間						
					AMG0001 3 回投与								
					試験治療期間			後観察期間					
					Week / Month	1 週	2 週	投与前	1 週				4 週
Day	-21 ~ -15	-14 ~ -1		0	21~35	49~63	77~91		168~196	350~378	700~756		
文書同意取得	◎												
被験者背景		◎	○ ^{7,8}										
症例登録		○ ¹		◎									
AMG0001 投与					◎	◎	(◎ ²)						
バイタルサイン ³		◎			◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎		
理学的検査 ³		◎			◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎		
CTA/MRA 検査 ⁴		◎						◎	◎				
ABI 測定		◎	◎					◎	◎	◎	◎		
Fontaine 分類		◎						◎	◎				
VAS 測定 ⁵		◎	◎				◎	◎	◎	◎	◎		
潰瘍測定 ⁶		◎	◎				◎	◎	◎	◎	◎		
臨床検査		◎						◎	◎				
尿検査		◎						◎	◎				
腫瘍マーカー検査		◎						◎	◎				
便中ヘモグロビン		◎						◎	◎				
胸部エックス線検査		◎											
腹部超音波検査		◎											
眼底検査		◎											
心電図検査		◎						◎	◎				
血清 HGF 濃度測定		◎						◎	◎				
併用治療		← ◎ →											
有害事象					← ◎ →								

1 仮症例登録; 2 治療期 8 週後において改善傾向が認められない場合には、更に 3 回目の投与を実施する。; 3 治療期 1、4、(8)週の検査は、AMG0001 投与前に実施する。; 4 同意取得 4 週間以内のデータがある場合、そのデータを使用しても良い。血管造影 (DSA) の使用も可とする。; 5 Fontaine 分類 III 度及び本登録時の VAS 値が 20 mm 以上の Fontaine IV 度の患者で実施する。; 6 Fontaine 分類 IV 度の患者のみ実施する。; 7 前観察期間 1 週目より変更のあった項目のみ記録する。; 8 身長及び体重に関しては、新たに測定した場合にのみ記録する。

11.10.2 観察・検査項目

(1) 被験者背景

1) 観察項目

- a) 被験者背景: 生年月日、身長、体重、喫煙歴、診療区分（入院・外来）
身長及び体重については、Day -14 ~ -1（前観察期間・第2週）に新たに確認する必要はない。
 - b) 原疾患: 原疾患名、発症時期、罹病期間、原疾患に対する手術歴、ABI測定実施の可否と不可能な場合はその理由、AMG0001の投与対象肢（右足・左足）、閉塞又は狭窄部位
 - c) 既往歴: AMG0001 投与までに治癒している事象の有・無、有の場合はその疾患名
 - d) 合併症: AMG0001 投与時点で未回復の事象の有・無、有の場合はその疾患名
 - e) AMG0001 投与歴:
AMG0001 投与の有・無、有の場合は、疾患名（ASO・TAO）、投与対象肢（右足・左足）、閉塞又は狭窄部位、1箇所投与量（0.5 mg・その他）、1箇所投与液量（2 mL・3 mL・その他）、投与箇所数（4箇所・8箇所・その他）、1回総投与量（2 mg・4 mg・その他）、投与回数（2回・3回・その他）、Fontaine 分類、安静時疼痛に対する効果（改善・非改善・評価対象外）、潰瘍に対する効果（改善・非改善・評価対象外）、安全性に対する特記事項
- 2) 観察時期: Day -21 ~ -15（前観察期間・第1週）、Day -14 ~ -1（前観察期間・第2週）
Day -14 ~ -1（前観察期間・第2週）では、Day -21 ~ -15（前観察期間・第1週）より変更のあった項目について確認する。
診療区分については、1回目投与 12 週後又は中止時に変更の有無を確認する。

(2) 臨床症状の観察

1) 観察項目

- a) バイタルサイン: 安静時 体温、血圧、脈拍
- b) 理学的検査: 視診、触診、聴打診

- 2) 観察時期: Day -21 ~ -15（前観察期間・第1週）、Day 0（1回目投与日）、Day 21~35（2回目投与日）、Day 49~63（2回目投与評価日・3回目投与日）、Day 77~91（最終評価日）・中止日、Day 168~196（追跡調査/6 箇月）、Day 350~378（追跡調査/12 箇月）

(3) 疾患状態の観察

- 1) 観察項目: CTA/MRA 検査、ABI 測定、Fontaine 分類
- 2) 観察時期: Day -21 ~ -15（前観察期間・第1週）、Day 77~91（最終評価日）・中止日

ABI 測定は、Day -14 ~ -1（前観察期間・第 2 週）、Day 168~196（追跡調査/6 箇月）、Day 350~378（追跡調査/12 箇月）でも実施する。

(4) 疾患病変の観察

- 1) 観察項目: VAS（安静時疼痛）、病変計測（潰瘍）
- 2) 観察時期: Day -21 ~ -15（前観察期間・第 1 週）、Day -14 ~ -1（前観察期間・第 2 週）、Day 49~63（2 回目投与評価日・3 回目投与日）、Day 77~91（最終評価日）・中止日、Day 168~196（追跡調査/6 箇月）、Day 350~378（追跡調査/12 箇月）

(5) 臨床検査、尿検査、便検査

- 1) 測定項目
 - a) 血液学的検査: 白血球数、赤血球数、ヘモグロビン値、ヘマトクリット値、血小板数、好中球、リンパ球、単球、好酸球、好塩基球
 - b) 血液生化学検査: Na、K、Cl、Ca、P、BUN、尿酸、クレアチニン、AST (GOT)、ALT (GPT)、 γ -GTP、ALP、LDH、CK (CPK)、総コレステロール、中性脂肪、総ビリルビン、総蛋白、アルブミン、グロブリン、CRP、HbA1c、随時血糖
 - c) 腫瘍マーカー検査: PSA-ACT、CEA、AFP、CA19-9
 - d) 尿検査: 蛋白（定性）、糖（定性）、潜血（定性）、pH
 - e) 便検査: 便中ヘモグロビン
 - f) HIV 抗原・抗体検査（血清）
 - g) β -HCG 検査（血清）
- 2) 観察時期: Day -21 ~ -15（前観察期間・第 1 週）、Day 77~91（最終評価日）・中止日
HIV 抗原・抗体検査、 β -HCG 検査は、Day -21 ~ -15（前観察期間・第 1 週）のみ実施する。

(6) 一般検査

- 1) 測定項目: 胸部エックス線検査、腹部超音波検査、眼底検査、12 誘導心電図
- 2) 観察時期: Day -21 ~ -15（前観察期間・第 1 週）
12 誘導心電図検査は、Day 77~91（最終評価日）・中止日でも実施する。

(7) 血清 HGF 濃度測定

- 1) 測定項目: 血清 HGF 濃度
- 2) 観察時期: Day -21 ~ -15（前観察期間・第 1 週）、Day 77~91（最終評価日）・中止日

(8) 有害事象

AMG0001 初回投与以後に生じたあらゆる有害事象を観察し、症例報告書に記載又は電子症例報告書（eCRF）に入力する。

記録項目: 有害事象名、発現日（年/月/日）、程度、重篤度、処置、因果関係、転帰/転帰確認日（年/月/日）、コメント

(9) 併用治療

仮登録後の全研究期間にわたって併用治療を症例報告書に記載又は電子症例報告書（eCRF）に入力する。

記録項目: 1) 鎮痛剤（原疾患に伴う安静時疼痛に対して使用）の場合

薬剤名（販売名）、1日投与量、投与経路、使用時期、使用回数

2) その他の併用治療の場合

治療名・薬剤名（販売名）、1日投与量、投与経路、併用理由、投与開始日、投与終了日

3) 喫煙状況（仮登録後から後観察期終了まで）

11.11 被験者の安全性の確保

11.11.1 基本的事項

被験者の安全性を確保するために、研究責任者及び研究分担者は、以下の基本的事項を遵守する。

- (1) 研究責任者又は研究分担者は、被験者の選択基準及び除外基準を遵守する。
- (2) 被験者が当該遺伝子治療臨床研究の研究責任者と研究分担者以外の医師の治療を受ける場合には、当該遺伝子治療臨床研究に参加していること及び当該遺伝子治療臨床研究の内容を当該医師に通知するように被験者に説明する。また、研究責任者又は研究分担者は、必要時には当該医師に臨床研究に関する情報を提供する。
- (3) 当該遺伝子治療臨床研究終了後も出来る限り長期にわたって診察を行い、有害事象の発現の有無について注意を払い、必要に応じて適切な処置を行う。
- (4) 被験者が健康状態の異常を感じた場合には直ちに研究責任者又は研究分担者に連絡するよう指導する。
- (5) 研究責任者又は研究分担者は、被験者に有害事象が生じ、治療が必要であると認めるときは、その旨を当該被験者に伝え、適切な医療を提供する。

11.11.2 有害事象の定義

「有害事象」とは、被験者に対して AMG0001 投与以後に起きる、あらゆる好ましくない又は意図しない徴候（一般臨床検査値の異常変動を含む）、症状、又は病気のことであり、本治療との因果関係の有無は問わない。

「重篤な有害事象」とは症状の程度に関わらず、以下の基準に従って、重篤か否かを判定する。

- (1) 死亡
- (2) 死亡につながる恐れのあるもの
- (3) 治療のために入院又は入院期間の延長が必要とされるもの
- (4) 障害
- (5) 障害につながるおそれのあるもの
- (6) (1)～(5)に準じて重篤なもの

(7) 後世代における先天性の疾病又は異常

11.11.3 有害事象の評価

臨床研究の実施中に観察された有害事象の重症度は以下の定義に従って評価する。

＜有害事象の程度＞

- (1) 軽度: 通常、一過性で、被験者の日常生活を損なわず、治療を要しない程度（正常な活動が可能である）
- (2) 中等度: 被験者の日常生活に多少の支障をきたし、十分な不快感を与え、治療を要する程度（活動に不快感を伴う）
- (3) 高度: 被験者の日常生活の遂行に大きな支障があり、治療を要する程度（正常な活動が困難である）

なお、個別の検査値異常などの有害事象のグレーディングについては「医薬品等の副作用の重症度分類基準について」（平成4年6月29日 薬安第80号）を参照する。

11.11.4 有害事象発現時の対応

有害事象の発現に際しては、実施施設の研究責任者は、適切な救急処置を施し、被験者の安全の確保に留意し、必要に応じて専門医師による診断を受けることにより原因究明に努める。被験者の臨床研究参加中及びその後を通じて、臨床上問題となる臨床研究に関連した重大な有害事象に対して十分な医療措置を講じる。

実施施設の研究責任者は、症例報告書又は電子症例報告書（eCRF）に有害事象名など必要事項を記載する。また、発生した有害事象、特に当該遺伝子治療臨床研究との因果関係が否定できない事象については、可能な限り追跡調査を行う。

重篤な有害事象が認められた場合は、当該遺伝子治療臨床研究における「有害事象への対応に関する手順書」（以下「有害事象手順書」と記す。）に従い病院長及び研究総括責任者に報告し、当該臨床研究との因果関係や臨床研究継続の可否などの審議を受け、必要と認めた場合は臨床研究を中止する。

さらに、「有害事象への対応に関する手順書」に従い、病院長は、臨床研究に関連する予期しない重篤な有害事象及び不具合等が発生した場合には、「遺伝子治療臨床研究に関する指針」に従い、速やかに厚生労働大臣に報告する。研究期間のみならず研究終了後の追跡調査において重篤な有害事象や不具合が明らかになった場合も厚生労働大臣への報告を行う。研究期間のみならず研究終了後の追跡調査において「重大な出来事」が明らかになった場合も厚生労働大臣への報告を行う。

11.11.5 予想される有害事象とその対応

11.11.5.1 予想される有害事象

これまでに慢性動脈閉塞症（閉塞性動脈硬化症又はビュルガー病）を対象とした臨床研究又は臨床試験が国内で3試験行われ、海外で2試験が行われている。これらの臨床試験にこれまで国内外で実施された AMG0001 の安全性評価例数を表4に示す。

表 4 AMG0001 を用いた臨床試験における安全性評価例数

試験概要		実施国	投与例数	安全性評価例数	
試験番号	試験内容			AMG0001	プラセボ
AMG0001-JN-100 大阪大学臨床研究	第 1 ステージ	日本	6	6	-
	第 2 ステージ		16	16	-
AMG0001-JN- 101 ASO第III相試験	ステージ 1 中間解析対象 ¹⁾		41	28	13
	ステージ 1 中間解析対象外 ¹⁾		3	1	2
	ステージ 2		10	10 ²⁾	-
AMG0001-JN-102 TAO 一般臨床試験	-		10	10	-
AG-CLI-0202 CLI第II相試験	-	米国	104	78	26
AG-CLI-0205 CLI追加第II相試験	-		27	21 ³⁾	6 ⁴⁾

- 1) 実施計画書に従い、41 例目までの成績に対して中間解析を実施し、当該結果に基づき治験の早期終了を決定した。所定の手順に則り、早期終了時点においてステージ 1 実施中であった 3 例についてはデータ固定前に個別キーコードを開封した。治療期の統計解析は、当該 3 例を除き、二重盲検下において評価が完了した 41 例を対象とした。
- 2) うち 1 例は、重篤な有害事象の発現により治療期中止されたため、追跡調査が実施された症例数は 9 例であった。
- 3) プラセボ群に割り当てられたが、誤って AMG0001 が投与された 2 症例を含む。
- 4) 実薬群に割り付けられたが、誤ってプラセボが投与された 1 症例を含む。
- 注) ASO: 閉塞性動脈硬化症、TAO: ピュルガー病

各試験における AMG0001 又は投与手技との関連性が否定できない有害事象（副作用）について以下に概説する。

(1) AMG0001-JN-100 試験（大阪大学臨床研究）

AMG0001-JN-100 試験（大阪大学臨床研究）における副作用一覧を表 5 に示した。安全性評価対象 22 例中、22 例 1219 件の有害事象が認められ、このうち副作用は 21 例 220 件であった。重篤な有害事象は、9 例 17 件に認められたが、AMG0001 との因果関係は否定された。死亡転帰は、不整脈 1 例及び肺炎 1 例に認められた。

(余白)

表 5 AMG0001-JN-100 試験における副作用（対象 22 例）（初回投与～投与 27 箇月後）

副作用	発現例数	副作用	発現例数
注射部位疼痛	13例 (59.1 %)	投与部位反応	2例 (9.1 %)
C-反応性蛋白増加	7例 (31.8 %)	胸部圧迫感	1例 (4.5 %)
白血球数増加	3例 (13.6 %)	注射部位紅斑	1例 (4.5 %)
注射部位出血	3例 (13.6 %)	注射部位知覚異常	1例 (4.5 %)
好酸球数増加	5例 (22.7 %)	注射部位そう痒感	1例 (4.5 %)
尿中ブドウ糖陽性	4例 (18.2 %)	四肢不快感	1例 (4.5 %)
発熱	4例 (18.2 %)	毛包炎	1例 (4.5 %)
血中乳酸脱水素酵素増加	6例 (27.3 %)	皮膚せつ（性器を除く）	1例 (4.5 %)
血中乳酸脱水素酵素減少	1例 (4.5 %)	発汗熱	1例 (4.5 %)
尿中蛋白陽性	4例 (18.2 %)	α1フェトプロテイン増加	1例 (4.5 %)
嘔気	2例 (9.1 %)	血中アルカリホスファターゼ増加	2例 (9.1 %)
リンパ球数減少	4例 (18.2 %)	癌胎児性抗原増加	3例 (13.6 %)
筋痛	1例 (4.5 %)	血小板数減少	2例 (9.1 %)
そう痒症	2例 (9.1 %)	尿中血陽性	3例 (13.6 %)
不整脈	1例 (4.5 %)	末梢腫脹	1例 (4.5 %)
心筋虚血	3例 (13.6 %)	接触性皮膚炎	1例 (4.5 %)
視力低下	1例 (4.5 %)	湿疹	1例 (4.5 %)
歯髄炎	1例 (4.5 %)	ほてり	2例 (9.1 %)
悪寒	1例 (4.5 %)	振戦	1例 (4.5 %)
血中リン酸塩減少	2例 (9.1 %)	潜血陽性	3例 (13.6 %)
胃炎	2例 (9.1 %)	好中球数増加	1例 (4.5 %)
単球数増加	3例 (13.6 %)	十二指腸潰瘍	2例 (9.1 %)
網膜出血	2例 (9.1 %)	萎縮性胃炎	2例 (9.1 %)
胃粘膜びらん	2例 (9.1 %)	胸痛	2例 (9.1 %)
逆流性食道炎	2例 (9.1 %)	胃の良性新生物	2例 (9.1 %)
四肢痛	2例 (9.1 %)	頻尿	2例 (9.1 %)
脂肪腫	2例 (9.1 %)	脳梗塞	2例 (9.1 %)
大脳動脈閉塞	2例 (9.1 %)	下腹部痛	1例 (4.5 %)
四肢動脈狭窄	2例 (9.1 %)	熱感	1例 (4.5 %)
裂孔ヘルニア	1例 (4.5 %)	アラニン・アミノトランスフェラーゼ増加	1例 (4.5 %)
倦怠感	1例 (4.5 %)	糖鎖抗原19-9増加	1例 (4.5 %)
前立腺特異性抗原増加	1例 (4.5 %)	膵臓の良性新生物	1例 (4.5 %)
背部痛	1例 (4.5 %)	大腿動脈狭窄	2例 (9.1 %)
痙攣	1例 (4.5 %)		

(2) AMG0001-JN-101 試験（ASO 第 III 相試験ステージ 1）

AMG0001-JN-101 試験（ASO 第 III 相試験ステージ 1）における副作用一覧を表 6 に示した。安全性評価対象 41 例中 39 例 196 件（AMG0001 群 28 例中 27 例 139 件、プラセボ投与群 13 例中 12 例 57 件）に有害事象が認められ、このうち副作用は 25 例 43 件（AMG0001 投与群 28 例中 18 例 28 件、プラセボ群 13 例中 7 例 15 件）であった。重篤な有害事象は、9 例 12 件（AMG0001 投与群 6 例 8 件、プラセボ投与群 3

例 4 件) に認められた。このうち 2 例 2 件は AMG0001 との関連性が否定できなかった。関連性が否定できない重篤な有害事象は「前立腺癌」と「膀胱穿孔」であり、いずれも AMG0001 投与群で認められた事象であるが、安全性評価委員会において詳細に検討された結果、AMG0001 との関連性は低いものと判断された。AMG0001 投与群における死亡例は認められなかった。

表 6 AMG0001-JN-101 試験ステージ 1 における副作用 (対象 41 例)

事象名	AMG0001投与群 28例		プラセボ投与群 13例	
	発現例数	発現率	発現例数	発現率
全身障害及び投与局所様態	5	17.9 %	1	7.7 %
注射部位疼痛	2	7.1 %	1	7.7 %
注射部位紅斑	1	3.6 %	0	0.0 %
注射部位浮腫	1	3.6 %	0	0.0 %
注射部位知覚異常	1	3.6 %	0	0.0 %
注射部位熱感	1	3.6 %	0	0.0 %
注射部位湿疹	1	3.6 %	0	0.0 %
注射部位出血	0	0.0 %	1	7.7 %
臨床検査	5	17.9 %	4	30.8 %
C-反応性蛋白増加	3	10.7 %	2	15.4 %
血圧上昇	1	3.6 %	1	7.7 %
好酸球数増加	1	3.6 %	1	7.7 %
アラニン・アミノトランスフェラーゼ増加	0	0.0 %	1	7.7 %
アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ増加	0	0.0 %	1	7.7 %
血小板数増加	0	0.0 %	1	7.7 %
胃腸障害	4	14.3 %	0	0.0 %
結腸ポリープ	3	10.7 %	0	0.0 %
逆流性食道炎	1	3.6 %	0	0.0 %
心臓障害	1	3.6 %	0	0.0 %
心室性期外収縮	1	3.6 %	0	0.0 %
感染症及び寄生虫症	1	3.6 %	0	0.0 %
副鼻腔炎	1	3.6 %	0	0.0 %
筋骨格系及び結合組織障害	1	3.6 %	1	7.7 %
四肢痛	1	3.6 %	0	0.0 %
筋痛	0	0.0 %	1	7.7 %
良性、悪性及び詳細不明の新生物 (嚢胞及びポリープを含む)	1	3.6 %	0	0.0 %
前立腺癌	1	3.6 %	0	0.0 %

表 6 AMG0001-JN-101 試験ステージ1における副作用（対象41例）（つづき）

事象名	AMG0001投与群 28例		プラセボ投与群 13例	
	発現例数	発現率	発現例数	発現率
神経系障害	1	3.6 %	0	0.0 %
神経痛	1	3.6 %	0	0.0 %
腎及び尿路障害	1	3.6 %	0	0.0 %
膀胱穿孔	1	3.6 %	0	0.0 %
皮膚及び皮下組織障害	1	3.6 %	1	7.7 %
皮膚嚢腫	1	3.6 %	0	0.0 %
そう痒症	0	0.0 %	1	7.7 %
血液及びリンパ系障害	0	0.0 %	1	7.7 %
貧血	0	0.0 %	1	7.7 %
肝胆道系障害	0	0.0 %	1	7.7 %
肝機能異常	0	0.0 %	1	7.7 %
血管障害	0	0.0 %	1	7.7 %
ほてり	0	0.0 %	1	7.7 %

(3) AMG0001-JN-101 試験（ASO 第Ⅲ相試験ステージ1）の中間解析対象外3例

AMG0001-JN-101 試験（ASO 第Ⅲ相試験ステージ1）の中間解析対象外3例における副作用はプラセボ群の1件に認められた。当該3例中2例11件（AMG0001投与群1例3件、プラセボ群1例8件）に有害事象が認められたが、重篤な有害事象は認められなかった。AMG0001投与群における死亡例は認められなかった。

(4) AMG0001-JN-101 試験（ASO 第Ⅲ相試験ステージ2）

AMG0001-JN-101 試験（ASO 第Ⅲ相試験ステージ2）では、安全性評価対象10例中8例30件に有害事象が認められ、このうち副作用は4例8件に認められた。AMG0001との関連性が否定できない重篤な副作用は2例2件（結腸ポリープ、胃癌）に認められたが、詳細に検討された結果、AMG0001との関連性は低いものと判断された。

治療期中の死亡例は認められなかったが、AMG0001投与10日後に発現した有害事象（「うっ血性心不全」、AMG0001との関連性「関連なし」）により、AMG0001投与24日後に治験を中止した1例が、中止後も症状の改善がみられず、1回目のAMG0001投与から121日後に転帰が「死亡」となった。

(5) AMG0001-JN-101試験（ASO第Ⅲ相試験追跡調査）

AMG0001-JN-101試験（ASO第Ⅲ相試験追跡調査）では、ステージ1とステージ2を併合すると、治療期12週後まで（～91日後まで）の39例中36例173件（92.3%）に対し、治療期12週後から追跡調査24週後まで（92～182日後まで）の12週間で38例中25例56件（65.8%）、追跡調査24週後から9箇月後まで（183～305日後まで）の3箇月間で38例中21例42件（55.3%）、追跡調査9箇月後から追跡調査15箇月後までの6箇月間

で38例中27例58件（71.1 %）に認められた。本治験全体（～488日後まで）では39例中39例329件（100.0 %）に有害事象が認められた。

追跡調査（92～488日後まで）において認められた副作用は、ステージ2実施例の「腓癌」（1例1件）のみであった。当該副作用については、社外専門家から構成された安全性評価委員会により悪性腫瘍発現に至るまでの経過と患者背景が詳細に検討され、「自然経過によって発現した可能性が高い」と判断された。

重篤な有害事象の発現状況は、治療期 12 週後（～91 日）における 39 例中 10 例 12 件（25.6 %）に対し、治療期 12 週後から追跡調査 24 週後まで（92～182 日後まで）の 12 週間で 38 例中 2 例 4 件（5.3 %）、追跡調査 24 週後から 9 箇月後まで（183～305 日後まで）の 3 箇月間で 38 例中 5 例 7 件（13.2 %）、追跡調査 9 箇月後から 15 箇月後まで（306～488 日後まで）の 6 箇月間で 38 例中 9 例 15 件（23.7 %）に認められた。本治験全体（～488 日）では 39 例中 22 例 38 件（56.4 %）に認められた。

当該追跡調査中に 2 例の死亡が認められた。その死因は、急性心筋梗塞及び多臓器不全であった。

(6) AMG0001-JN-101 試験（ASO 第 III 相試験予後調査）

AMG0001-JN-101 試験（ASO 第 III 相試験予後調査）では、ステージ 1 とステージ 2 を併合すると、追跡調査 15 箇月後から長期予後調査 24 箇月後まで（489～792 日後まで）の 9 箇月間で 35 例中 7 例 10 件（20.0 %）、長期予後調査 24 箇月後から 36 箇月後まで（793～1157 日後まで）の 12 箇月間で 31 例中 8 例 10 件（25.8 %）に認められた。治験開始時からの累積（～1157 日後まで）では 39 例中 39 例 349 件（100.0 %）に有害事象が認められた。

長期予後調査期間（489～1157 日後まで）において、前立腺癌（1 例 1 件）が副作用と判定されたが、当該副作用は、社外専門家から構成された安全性評価委員会により悪性腫瘍発現に至るまでの経過と患者背景が詳細に検討され、「自然経過によって発生した可能性も高い」と判断された。

重篤な有害事象は、追跡調査 15 箇月後から長期予後調査 24 箇月後まで（489～792 日後まで）の 9 箇月間で 35 例中 6 例 7 件（17.1 %）、長期予後調査 24 箇月後から 36 箇月後まで（793～1157 日後まで）の 1 年間で 31 例中 8 例 10 件（25.8 %）に認められた。治験開始時からの累積（～1157 日）では 39 例中 31 例 55 件（79.5 %）に認められた。

(7) AMG0001-JN-102 試験（TAO 一般臨床試験:治療期）

AMG0001-JN-102 試験（TAO 一般臨床試験）における副作用一覧を表 7 に示した。安全性評価対象 10 例中、10 例 53 件の有害事象が認められ、このうち副作用は 5 例 7 件であった。重篤な有害事象は、3 例 3 件に認められ、AMG0001 との因果関係は否定できないものは 1 例 1 件（食道扁平上皮癌）であった。当該重篤な副作用は、詳細に検討された結果、AMG0001 との関連性は低いものと判断された。死亡は認められなかった。

表 7 AMG0001-JN-102 試験における副作用（対象 10 例）

事象名	発現例数	発現率
注射部位疼痛	1	10.0 %
末梢性浮腫	1	10.0 %
アラニン・アミノトランスフェラーゼ増加	1	10.0 %
血中クレアチンホスホキナーゼ増加	1	10.0 %
血中カリウム増加	1	10.0 %
白血球数減少	1	10.0 %
食道扁平上皮癌	1	10.0 %

(8) AMG0001-JN-102 試験（TAO 一般臨床試験:追跡調査）

AMG0001-JN-102 試験（TAO 一般臨床試験:追跡調査）で認められた有害事象は、治療期 12 週後から追跡調査 24 週後までの間では 8 例中 5 例（62.5 %）9 件、追跡調査 24 週後から追跡調査 9 箇月後までの間では 9 例中 3 例（33.3 %）4 件、追跡調査 9 箇月後から追跡調査 15 箇月後までの間では 9 例中 5 例（55.6 %）11 件認められた（参考：治療期 12 週後までは、10 例中 10 例に 53 件、発現率 100.0 %）。

副作用は、治療期では 5 例 7 件（50.0 %）、治療期 12 週後から追跡調査 24 週後では 1 例 2 件（発現率 12.5 %）に認められ、追跡調査 24 週後から追跡調査 15 箇月後までの間に副作用は認められなかった。

重篤な有害事象は、治療期 12 週後から追跡調査 24 週後までの間には認められず、追跡調査 24 週後から追跡 9 箇月後までの間で 9 例中 1 例（11.1 %）に 1 件（末梢性虚血）、追跡調査 9 箇月後から追跡調査 15 箇月後までの間で 9 例中 1 例（11.1 %）に 1 件（末梢性虚血）認められた（参考：治療期 12 週後までは 10 例中 3 例（30.0 %）に 3 件）。AMG0001 との関連性が否定されなかった重篤な有害事象（副作用）はなかった。

死亡例は、認められなかった。

(9) AMG0001-JN-102 試験（TAO 一般臨床試験:長期予後調査）

AMG0001-JN-102 試験（TAO 一般臨床試験: 長期予後調査）で認められた有害事象は、追跡調査 15 箇月後から長期予後調査 24 箇月後まで（489～792 日後まで）の 9 箇月間で 8 例中 5 例 7 件（62.5 %）、長期予後調査 24 箇月後から 36 箇月後まで（793～1157 日後まで）の 12 箇月間で 8 例中 3 例 4 件（37.5 %）に認められた。治験開始時からの累積（～1157 日後まで）では 10 例中 10 例 88 件（100.0 %）に有害事象が認められた。

副作用は、長期予後調査期間（489～1157 日後まで）において、喉頭癌（1 例 1 件）が認められたが、社外専門家から構成された安全性評価委員会により悪性腫瘍発現に至るまでの経過と患者背景が詳細に検討され、「自然経過によって発現した可能性が高い」と判断された。

重篤な有害事象は、追跡調査 15 箇月後から長期予後調査 24 箇月後まで（489～792 日後まで）の 9 箇月間で 8 例中 2 例 2 件（25.0 %）、長期予後調査 24 箇月後から 36

箇月後まで（793～1157 日後まで）の 1 年間で 8 例中 2 例 2 件（25.0 %）に認められた。

死亡は、認められなかった。

(10) AG-CLI-0202（CLI 第 II 相試験:初回投与～投与 12 箇月後）

AG-CLI-202 試験（CLI 第 II 相試験）における副作用一覧を表 8 に示した。安全性評価対象 104 例中、97 例 779 件の有害事象が認められ、このうち副作用は 25 例 35 件であった。重篤な有害事象は、62 例 130 件（プラセボ群 15 例 32 件、0.4 mg×3 群 16 例 33 件、4.0 mg×2 群 12 例 26 件、4.0 mg×3 群 19 例 39 件）に認められた。そのうち、関連性が否定できないものは「結腸癌」2 例 2 件（プラセボ群 1 例 1 件、4.0 mg×2 群 1 例 1 件）であった。

AMG0001 投与群において死亡に至った有害事象が 6 例にみられたが（「敗血症」、「小腸閉塞」、「呼吸不全」、「心筋梗塞」、「銃創」及び「脳血管発作」）、いずれも AMG0001 との関連性は否定された。

（余白）

表 8 AG-CLI-0202 試験における副作用: 初回投与～投与 12 箇月後 (対象 104 例)

事象名 (器官別大分類/基本語)	プラセボ 26 例 (%)	AMG0001 0.4 mg×3 26 例(%)	AMG0001 4.0 mg×2 25 例(%)	AMG0001 4.0 mg×3 27 例(%)
目障害				
視神経萎縮	0	1 (3.8 %)	0	0
霧視	0	1 (3.8 %)	0	0
網膜静脈血栓症	1 (3.8 %)	0	0	0
胃腸障害				
悪心	0	0	1 (4.0 %)	0
直腸ポリープ	0	1 (3.8 %)	0	0
全身障害及び投与局所様態				
注射部位内出血	0	0	1 (4.0 %)	0
注射部位紅斑	1 (3.8 %)	0	0	0
注射部位出血	0	0	0	1 (3.7 %)
注射部位疼痛	1 (3.8 %)	1 (3.8 %)	1 (4.0 %)	1 (3.7 %)
注射部位腫脹	1 (3.8 %)	0	0	0
末梢性浮腫	0	1 (3.8 %)	0	3 (11.1 %)
代謝及び栄養障害				
食欲不振	0	0	0	1 (3.7 %)
筋骨格系及び結合組織障害				
関節痛	0	1 (3.8 %)	0	0
筋痙攣	0	0	1 (4.0 %)	0
四肢痛	0	1 (3.8 %)	2 (8.0 %)	0
顎関節症候群	0	1 (3.8 %)	0	0
神経障害				
錯感覚	0	1 (3.8 %)	0	1 (3.7 %)
腎及び尿路障害				
蛋白尿	0	1 (3.8 %)	0	0
傷害、中毒及び処置合併症				
挫傷	0	0	1 (4.0 %)	0
良性、悪性及び詳細不明の新生物 (嚢胞及びポリープを含む)				
結腸癌	1 (3.8 %)	0	1 (4.0 %)	0

(11) AG-CLI-0202 (CLI 第 II 相試験:長期予後調査)

長期予後調査の参加に同意した被験者を対象に実施し、調査形式は質問表を送付することによって実施した。長期予後調査期間は、12 箇月後 (追跡調査完了後) から 2 年間とした。

追跡調査完了後の死亡は 5 例に認められ、うち 1 例は手術の悪性腫瘍発現例、1 例は疾患による死亡、その他は詳細不明であった。

調査が可能であった 28 例中、悪性腫瘍は 3 例に認められた。1 例は 15 箇月後にがんと診断されその後死亡、1 例は約 3 年後に認められた黒色腫、他の 1 例は AMG0001 最終投与後 2.5 年後に認められた婦人科系癌であった。

(12) AG-CLI-0205 試験 (CLI 追加第 II 相試験:初回投与～投与 12 箇月後)

AG-CLI-205 試験 (CLI 追加第 II 相試験) における副作用一覧を表 9 に示した。安全性評価対象 27 例中、25 例 312 件 (プラセボ投与群 5 例 63 件、AMG0001 投与群 20 例 249 件) の有害事象が認められ、このうち副作用は 7 例 9 件 (プラセボ投与群 2 例 2 件、AMG0001 投与群 5 例 7 件) であった。重篤な有害事象は、20 例 50 件 (プラセボ投与群 3 例 13 件、AMG0001 投与群 17 例 37 件) に認められたが、すべて AMG0001 との関連性は否定された。

AMG0001 投与群において死亡に至った有害事象が 4 例にみられたが (「死亡 自然原因」、「多臓器不全」、「敗血症」及び「大動脈血栓塞栓症」)、いずれも AMG0001 との関連性は否定された。

表 9 AG-CLI-0205 試験における副作用: 初回投与～投与 12 箇月後 (対象 27 例)

事象名	プラセボ 6 例	AMG0001 4.0 mg×2 21 例
全身障害及び投与局所様態		
注射部位内出血	1 (17 %)	1 (5 %)
注射部位不快感	0	2 (10 %)
注射部位血腫	0	1 (5 %)
注射部位疼痛	0	1 (5 %)
浮腫	0	1 (5 %)
臨床検査		
LDH 増加	1 (17 %)	0

(13) AG-CLI-0205 試験 (CLI 追加第 II 相試験: 長期予後調査)

長期予後調査の参加に同意した被験者を対象に実施し、調査形式は質問票を送付することによって実施した。長期予後調査期間は、追跡調査終了 12 箇月後から 2 年間とした。

追跡調査完了後の死亡は 3 例に認められ、(いずれも医療機関からの報告)、1 例は 21 箇月後に心不全による死亡であり、18 箇月後に前立腺癌も発症していた症例であり、他の 2 例は、1 例が 14 箇月後に死亡した以外詳細は不明であった。

(14) 投与手技による有害事象 (上記以外)

これまでの臨床研究及び臨床試験では認められていないが、投与手技 (筋肉内への注射) により以下の事象が発現する可能性は否定できない。

- ・注射に伴う細菌などによる感染
- ・注射の刺激による一時的な安静時疼痛の結果
- ・注射により感染が発生し潰瘍が悪化した場合、それに伴う痛みの発生

(15) がんの発生

正常細胞が AMG0001 取り込むことによって、がんになる可能性は否定されていない。また、AMG0001 により発現した HGF たん白質が、検査で見つけることができない微小ながんを発育させる可能性は否定されていない。

(16) 安全性のまとめ

AMG0001 を用いた臨床研究・臨床試験から得られた情報に基づき、AMG0001 の安全性プロファイルを検討した結果、AMG0001 に特有の注視すべき有害事象は認め

られていない。

AMG0001 は、血管新生作用を有するプラスミド DNA であることから、一般的な理論的リスクとして、投与部位近傍における異常な血管新生、投与部位以外の遠隔臓器における血管新生に伴う有害反応の発生、及び AMG0001 に対する過剰な免疫応答の可能性がある。

しかしながら、各試験を通じて比較的高い頻度で認められた有害事象は、投与手技に関連する事象であり、投与部位での血管腫発生等異常な血管新生は認められなかった。

遠隔臓器への影響については、各臨床試験において AMG0001 投与に起因する血中 HGF 濃度の上昇はみられていないこと、血管新生に起因することが疑われる増殖糖尿病網膜症等の有害事象の発生は認められていないこと、及び in vitro 試験において AMG0001 がヒト血清中で速やかに代謝されることが示されていること等から、投与部位以外の遠隔臓器へ影響を及ぼすリスクは低いと考える。

なお、AMG0001 との因果関係が完全には否定されなかった有害事象として悪性腫瘍が 6 例 7 件認められたが、個々の事象を詳細に検討した結果、いずれも AMG0001 との関連性は低いと判断している。

また、免疫応答反応の誘引因子となり得るような各種抗体の産生は認められず、AMG0001 が免疫応答を惹起させる可能性は低いことが示唆される。

11.11.6 有害事象への対処

(1) 注射部位疼痛

注射手技に対する疼痛が、AMG0001-JN-100 試験で高頻度に認められたことから、投与前後の疼痛対策として、必要に応じて、投与前に穿刺予定部位にキシロカインゼリーなどで表面麻酔を行う。注射時の疼痛の程度により痛みが遷延すると判断される場合は、鎮痛剤（ボルタレンやロキソニンなどの NSAIDs）と共に、必要に応じて健胃散を使用する。

(2) 注射手技に伴う感染症

注射手技に伴う感染症に対しては、経過観察しながら、必要に応じて抗生剤、抗ウイルス剤、抗真菌剤で治療する。

(3) その他の注射部位反応（紅斑、浮腫、知覚異常、熱感、湿疹、出血など）

注射手技に対し、紅斑、浮腫、知覚異常、熱感、湿疹、出血などの局所反応に対しては、経過を観察しながら、刺激感・疼痛に対しては、必要に応じて除痛措置を行い、出血に対しては止血処置を行う。また、局所の皮膚症状については、必要に応じて、皮膚科専門医の診察を受けさせる。

(4) 末梢血検査における CRP 及び LDH の上昇

これまで一過性で、その後回復している CRP 及び LDH の上昇が発現している。当該事象が発生した場合は、経過観察しながら、必要に応じて、これらの異常変動を惹起している原因に対する治療措置を行う。

(5) その他の有害事象

対処疾患の合併症も少なくなく、これまで多くの軽度な事象が低頻度で認められているが、多くの事象が一過性で回復していることから、経過観察しながら、必要に応じて薬物治療を行う。

11.12 被験者ごとの臨床研究中止の基準及び手順

11.12.1 被験者ごとの中止基準

実施施設の研究責任者又は研究分担者は、以下の場合には、当該被験者の研究を中止・中断する。状況に応じて可能な限り中止時の観察・検査を実施した上で臨床研究を中止する。

- (1) 被験者が臨床研究の中止を希望（同意撤回）した場合、当該被験者の研究を中止する。
「中止時」の観察・検査を実施した上で臨床研究を中止する。（観察期中で中止する場合、検査・観察は不要）
- (2) 被験者が無断で来院しなくなった場合、当該被験者の研究を中止する。
臨床研究を中止し、電話、手紙などにより被験者の転帰を確認し、結果を症例報告書又は電子症例報告書（eCRF）に記載する。
- (3) 原疾患の悪化又は有害事象（合併症の悪化を含む）の軽快・回復が認められないことにより、被験者の安全性確保の面から臨床研究の継続が困難と判断された場合、当該被験者の研究を中止する。
上記原疾患の悪化及び有害事象については、以下の場合が想定される。
 - ・ 原疾患の悪化： 投与対象肢の大切断
 - ・ 有害事象（合併症の悪化を含む）： 重篤な心疾患、肝疾患、腎疾患、血液疾患等速やかに適切な処置を行うとともに、必要に応じて追加検査を実施し、被験者の安全性が確認できるまで処置を継続する。
- (4) 前観察期間において、禁止されている併用薬・併用療法を受けた場合、当該被験者の研究を中止する。
- (5) 登録後、被験者が適格基準を満たしていなかったことが判明した場合、当該被験者の研究を中止する。
- (6) 「11.14.2.1 研究全体の中断・中止の基準」により当該遺伝子治療臨床研究全体が中止又は中断された場合、実施中の被験者の臨床研究は可能な時点で中止又は中断する。
- (7) その他、実施施設の研究責任者又は研究分担者が、研究の中止を適切と判断した場合、当該被験者の研究を中止する。

11.12.2 被験者ごとの中止の手順

実施施設の研究責任者が当該被験者の臨床研究の継続が可能かどうかを判断し、不可能な場合は中止の手続きを行う。

同意撤回以外で、すでに1回目のAMG0001投与が終了しており、2回目以降のAMG0001投与に際し下記事項に該当する場合は、研究を中止する旨を当該被験者に速やかに説明し、適切な医療の提供その他必要な措置を講じるとともに、2回目以降のAMG0001投与を中止する。ただし、検査・観察は臨床研究終了時まで継続し、症例報告書に記録又は電子症例報告書（eCRF）に入力する。

- (1) 除外基準（(2)～(5)、(9)～(13)）に抵触していることがAMG0001投与後に判明した場合

- (2) 原疾患の悪化または有害事象（合併症の悪化を含む）等により、被験者の安全性確保の面から2回目以降のAMG0001が適切でないと判断された場合
- (3) 被検者の妊娠が判明した場合
- (4) 被験者が来院できなくなった場合、規定の観察・検査が2回連続で欠落した場合
- (5) 2回目のAMG0001をDay 63までに実施できない場合: 2回目及び3回目の投与を中止する。
- (6) 2回目のAMG0001がDay 21～35よりもあとになる場合: 3回目の投与を中止する。
- (7) 3回目のAMG0001投与がDay 63までに実施できない場合
- (8) その他、実施施設の研究責任者の判断により、当該遺伝子治療臨床研究の中止の必要性が認められた場合

11.13 臨床研究実施計画書の遵守、逸脱又は変更

11.13.1 臨床研究実施計画書の遵守

当該遺伝子治療臨床研究は、被験者の緊急の危険を回避するためのものである等医療上やむを得ない場合を除き、本実施計画書を遵守して実施する。

11.13.2 実施計画書からの逸脱又は変更

実施施設の研究責任者又は研究分担者は、被験者の緊急の危険を回避するためのものである等医療上やむを得ない事情があれば、本実施計画書からの逸脱を行うことができる。その際には、研究責任者は、内容及び理由を、可能な限り早急に病院長及び研究総括責任者を経て、実施施設の遺伝子治療臨床研究審査委員会に報告する。また、研究責任者又は研究分担者は、本実施計画書から逸脱した場合は理由のいかんによらず、全てこれを記録する。

また、本実施計画書の変更・改定が適切な場合には、その案を、研究総括責任者に提出し、実施施設の病院長を経て、実施施設の遺伝子治療臨床研究新審査委員会に提出してその承認を得る。変更の際には変更することの倫理的、科学的、及び医学的妥当性について十分検討する。逸脱・変更の際しての手続きは、当該遺伝子治療臨床研究の「臨床研究実施規程」に従う。

11.14 臨床研究の終了又は中止及び中断

11.14.1 研究の終了

目標症例の登録が予定期間内に終了した場合、登録症例の最終研究期間終了日を研究の終了とし、以下の手順をふむ。

11.14.1.1 手順

当該遺伝子治療臨床研究の「臨床研究実施規定」、及び「臨床研究の中止、中断又は終了に関する手順書」に従う。

11.14.2 研究全体の中断・中止の基準及び手順

11.14.2.1 研究全体の中断・中止基準

研究総括責任者は、以下の場合に、臨床研究全体を中止又は中断する。

- (1) 大阪大学医学部附属病院「未来医療臨床研究規程」第5条に基づき、大阪大学医学部附属病院病院長が遺伝子治療臨床研究審査委員会の答申を受け、臨床研究を継続すべきでないと決定し、研究総括責任者に通知した場合、当該遺伝子治療臨床研究を中止する。
- (2) 重篤な有害事象等の重大な事態が発生した場合、当該遺伝子治療臨床研究を中断し、「11.14.2.2 研究全体の中断・中止の手順」に従う。
- (3) 新たな被験者の安全又は当該遺伝子治療臨床研究の実施に悪影響を及ぼす可能性のある重大な情報を入手した場合、当該遺伝子治療臨床研究を中断し、「11.14.2.2 研究全体の中断・中止の手順」に従う。
- (4) その他の理由により、研究総括責任者が当該遺伝子治療臨床研究を中止又すべきである、又は継続が不可能であると判断した場合、当該遺伝子治療臨床研究を中止する。

11.14.2.2 研究全体の中断・中止の手順

「11.14.2.1 研究全体の中断・中止基準」の(1)による中止の場合、研究総括責任者は新たな被験者の登録中止を決定し、実施施設の研究責任者に伝達する。実施中の被験者の臨床研究は、可能な時点で中止する。

(2)、(3)による中断の場合は、速やかに実施施設の研究責任者は病院長及び研究総括責任者に報告するとともに、実施中の被験者の臨床研究を可能な時点で中断し、必要に応じて適切な処置及び原因究明を行う。また、研究総括責任者は、新たな被験者の登録中断を実施施設の研究責任者に伝達する。なお、大阪大学医学部附属病院病院長が遺伝子治療臨床研究審査委員会の答申を受け、継続可能であるとの決定を下した場合は再開することができるが、継続すべきでないと決定を下した場合には、当該遺伝子治療臨床研究を中止する。

臨床研究の中止の場合はいずれの場合にも、研究総括責任者は速やかに実施施設の研究責任者に伝達し、実施施設の研究責任者は病院長に中止の報告を行い、実施施設の病院長は遺伝子治療臨床研究審査委員会に速やかに報告する。

研究総括責任者は、できる限り速やかに臨床研究総括報告書を作成し、実施施設の研究責任者に提出し、実施施設の研究責任者は病院長に提出する。実施施設の病院長は、当該臨床研究総括報告書について、遺伝子治療臨床研究審査委員会の意見を求めるとともに、「遺伝子治療臨床研究に関する指針」に従い、当該臨床研究総括報告書を厚生労働大臣に提出する。

なお、臨床研究の中止及び中断に関わる手続きは、当該遺伝子治療臨床研究の「臨床研究の中止、中断又は終了に関する手順書」に従う。

11.15 症例報告書

11.15.1 症例報告書の記録項目

「11.10 観察・検査スケジュール」に記載されている観察・検査項目を記載又は入力する。

11.15.2 症例報告書の作成

- (1) 研究責任者又は研究分担者は、登録した被験者について症例報告書を作成し、記名捺印又は署名の上、データセンターに提出し、その写しを保存する。
- (2) 研究協力者が症例報告書の作成又は入力補助を行う場合には、研究責任者又は研究分担者の監督のもと、医学的判断を伴わない範囲での原資料からの転記又は入力にとどめる。

11.15.3 症例報告書の記載上の注意

- (1) 紙の症例報告書の場合は、黒色のボールペン又は黒インクのペンで記載する。電子症例報告書の場合は、当該入力マニュアルに従い、データ入力する。
- (2) □は該当するものにレ印又は×印を記載又は入力する。
- (3) 観察・検査未実施でデータがない場合には、記載欄に斜線 (/) を入れる。電子症例報告書の場合は、当該入力マニュアルに従い、データ入力する。
- (4) 原資料との整合性を確認する。

11.15.4 症例報告書の変更又は修正

- (1) 紙の症例報告書の変更又は修正の際には、変更又は修正箇所を二重線 (=) で消し、変更又は修正箇所の近隣に正しい内容を記載し、変更又は修正日を併記の上、捺印又は署名する。当初の記載内容を不明瞭にしないよう修正液、砂消しゴム等は使用しない。電子症例報告書の場合は、当該入力マニュアルに従い、データ変更又は修正する。
- (2) 紙の症例報告書において、重要事項〔同意、エンドポイントの評価（有害事象名、重症度、重篤性、転帰、治療との因果関係、コメント、異常変動の判定）〕に関する変更又は修正では、変更又は修正日に加えて変更又は修正の理由を記載し、捺印又は署名する。電子症例報告書の場合は、当該入力マニュアルに従い、データ変更又は修正する。
- (3) データセンターへ提出後の症例報告書の変更又は修正は、データセンターが指定する DCF（Data Clarification Form）を介して行う。

11.15.5 症例報告書の確認

- (1) 研究分担者が症例報告書を作成した場合には、研究責任者は、症例報告書をデータセンターに提出する前に、その記載内容を点検し、問題がないことを確認した上で記名捺印又は署名し、データセンターに提出する。
- (2) 研究責任者は、データセンターに提出する症例報告書の記載内容が正確かつ完全で読みやすく、提出時期が適切であること、及び被験者の識別に被験者識別コード及び登録番号を用いていることを保証する。

11.15.6 症例報告書の提出

研究責任者、研究分担者又は研究協力者は、当該症例における最終観察終了後又は臨床研究中止後4週以内に症例報告書を作成し、記名捺印又は署名した上でモニターへ提出する。モニタリングが終了し、データセンターへ提出する際には、写しを保存する。

11.16 統計解析

11.16.1 目標登録被験者数の設定根拠

11.16.1.1 目標登録被験者数の設定の背景

当該遺伝子治療臨床研究と同様の対象、用法・用量、評価基準で実施されたAMG0001-JN-100、101、102試験における安静時疼痛及び潰瘍の改善率は、以下のとおりであった。

- (1) AMG0001-JN-100試験
 - ・ Fontaine III度の改善率: 63.6 % (7/11例)
 - ・ Fontaine IV度の改善率: 61.5 % (8/13例)
- (2) AMG0001-JN-101試験
 - ・ Fontaine III度の改善率: 50.0 % (8/16例)
 - ・ Fontaine IV度の改善率: 100.0 % (11/11例)
 - ・ Fontaine III度及びIV度の複合改善率: 70.4 % (19/27例)
- (3) AMG0001-JN-102試験
 - ・ Fontaine IV度の改善率: 66.7 % (6/9例)

「4.1 当該遺伝子治療臨床研究の背景」で述べたように、当該遺伝子治療臨床研究は、アンジェス社が一旦取下げた製造販売承認申請の臨床試験成績を活用することにより、慢性動脈閉塞症患者により早くAMG0001を提供できる環境を整えるために実施する。

被験者登録期間を 1 年間に設定し、この 1 年間に集積可能な症例数を検討した。AMG0001-JN-100、101、102 試験の 1 施設当たりの年間症例集積数は、それぞれ 9 例、0.2 例、0.4 例であった。アンジェス社は、AMG0001-JN-100 試験の症例集積頻度も考慮し、AMG0001-JN-101 試験の実行可能性を評価し、120 例規模の試験を開始したが、適格性基準を満たす症例が極めて少なく、実際は 44 例/57 施設/47 箇月間で中間解析を行い、独立データモニタリング委員会での評価を経て、AMG0001 投与群のプラセボ群に対する優位性が検証されたとして試験を早期終了している。

大阪大学医学部附属病院で実施した AMG0001-JN-100 試験は、当時の当該遺伝子治療臨床研究の社会的・学術的注目度の高さもあり、担当医の極めて活発な症例集積活動の結果、実現した数字であった。一般的な臨床試験では、関連病院の協力のもと候補被験者を待って試験に組み入れるという、どちらかというと受動的な被験者募集とは状況が異なっていたことから、AMG0001-JN-100 試験の症例集積頻度を当該遺伝子治療臨床研究の参考にすることは困難であると判断した。

当該遺伝子治療臨床研究では、AMG0001-JN-101、102 試験の安全性データを鑑み、選択・除外基準を再設定しているものの、その設定方針に大きく変わりはなく、Fontaine III 度又は IV 度（潰瘍）の閉塞性動脈硬化症又はビュルガー病患者を対象とした当該遺伝子治療臨床研究の症例集積頻度は、AMG0001-JN-101、102 試験の症例集積頻度を参考に推計することとした。

11.16.1.2 Fontaine III 度又は IV 度（潰瘍）の閉塞性動脈硬化症患者の当該遺伝子治療臨床研究における症例集積頻度推計

当該遺伝子治療臨床研究の予定施設数（8 施設）に、AMG0001-JN-101 試験の 1 施設当たりの年間集積症例数（約 0.2 例/年）を乗ずると、「8 施設×約 0.2 症例 = 約 1.6 例（約 2 例）」が算出される。

当該遺伝子治療臨床研究は、オープンラベル試験であることから、AMG0001-JN-101 試験よりも症例集積の難易度が低いと考え、2 倍の速度で症例集積したと仮定すると 8 施設での年間症例集積数は約 3.2 例となる。

Fontaine III 度又は IV 度（潰瘍）の閉塞性動脈硬化症患者の当該遺伝子治療臨床研究における症例集積頻度は、約 3.2 例/年と推計する。

11.16.1.3 Fontaine III 度又は IV 度（潰瘍）のビュルガー病患者の当該遺伝子治療臨床研究における症例集積頻度推計

当該遺伝子治療臨床研究の予定施設数（8 施設）に、AMG0001-JN-102 試験の 1 施設当たりの年間集積症例数（約 0.4 例/年）を乗ずると、「8 施設×約 0.4 症例 = 約 3.2 例（約 4 例）」が算出される。

Fontaine III 度又は IV 度（潰瘍）のビュルガー病患者の当該遺伝子治療臨床研究における症例集積頻度は、3.2 例/年と推計する。

11.16.1.4 目標登録被験者数の設定根拠

当該遺伝子治療臨床研究の対象は、Fontaine III 度又は IV 度（潰瘍）の慢性動脈閉塞症（閉塞性動脈硬化症及びビュルガー病）患者であることから、11.16.1.2 で推計した当該遺伝子治療臨床研究における 8 施設での閉塞性動脈硬化症患者の症例集積頻度（約 3.2 例/年）、及び 11.16.1.3 で推計した当該遺伝子治療臨床研究における 8 施設でのビュルガー病患者の症例集積頻度（約 3.2 例/年）を加えた症例数（約 6.4 例/年）が、8 施設で 1 年間に当該遺伝子治療臨床研究で集積可能な症例数であると推計した。

したがって、当該遺伝子治療臨床研究の症例数を 6 症例と設定した。

11.16.2 解析対象集団の定義

- (1) 有効性解析対象集団：登録例のうち、以下の被験者を除いた集団とする。
 - ・ 未投与例
 - ・ 試験薬投与後の VAS 又は潰瘍の大きさに関する観測値が全くない被験者ただし、除外した症例については除外理由とともに一覧で示す。
- (2) 安全性解析対象集団：登録例のうち、以下の被験者を除いた集団とする。
 - ・ 未投与例
 - ・ 試験薬投与後の安全性に関する情報が全くない被験者ただし、除外した症例については除外理由とともに一覧で示す。

11.16.3 解析項目・方法

11.16.3.1 被験者背景及びベースラインの特性

被験者特性を一覧し、記述統計量を用いて要約する。連続変数については要約統計量を算出する。カテゴリー変数については、頻度を記述する。ベースラインとして用いるデータは試験薬投与前のデータとする。

11.16.3.2 主要評価項目

「後観察期間 12 週後(又は中止時)の安静時疼痛(VAS)又は潰瘍の大きさ($\sqrt{\text{長径} \times \text{短径}}$)」の改善率

本登録時「Fontaine III 度の被験者は安静時疼痛」で、本登録時「Fontaine IV 度の被験者は潰瘍の大きさ($\sqrt{\text{長径} \times \text{短径}}$)」で改善率を以下のように定義し、改善率を求める。当該改善率は、「改善例数/解析対象例数」とする。

【改善の定義】

- (1) Fontaine III 度の患者:
安静時疼痛 (VAS) が、投与前値から 20 mm 以上減少した場合を「改善」と定義する。ただし、投与前と比較し、鎮痛剤の使用量が 1.3 倍を超えた場合は「非改善」とする。
- (2) Fontaine IV 度の患者:
主要評価対象とした潰瘍の大きさ($\sqrt{\text{長径} \times \text{短径}}$) が、投与前値から 75 %以下に縮小した場合を「改善」と定義する。
ただし、試験治療期間又は後観察期間中に、投与同側肢に新たな虚血性潰瘍が生じた場合は「非改善」とする。

11.16.3.3 副次的評価項目

- (1) 有効性の副次的評価項目
 - 1) 安静時疼痛 (VAS) 又は潰瘍の大きさ ($\sqrt{\text{長径} \times \text{短径}}$) の改善率の推移
 - ・ 2 回投与の場合
後観察期間 8、12 週後の改善率の経時的な推移を被験者別に一覧に示す。また、被験者別に経時変化をグラフに示す。
 - ・ 3 回投与の場合
試験治療期間 8 週後、後観察期間 12 週後の改善率の経時的な推移を被験者別に一覧に示す。また、被験者別に経時変化をグラフに示す。
 - 2) 安静時疼痛 (VAS)
本登録時Fontaine III度のみの結果と、本登録時のVAS値が20 mm以上のFontaine IV度とを合わせた結果を示す。
 - ・ 後観察期間 12 週後 (又は中止時) の測定値、変化量 (ベースラインとの差)、改善率
 - ・ 2 回投与の場合

後観察期間 8、12 週後の測定値、変化量（ベースラインとの差; 以下同様）、改善率の経時的な推移を被験者別に一覧に示す。また、被験者別に経時変化をグラフに示す。

- ・ 3 回投与の場合

試験治療期間 8 週後、後観察期間 12 週後の測定値、変化量、改善率の経時的な推移を被験者別に一覧に示す。また、被験者別に経時変化をグラフに示す。

3) 潰瘍の大きさ ($\sqrt{\text{長径} \times \text{短径}}$)

本登録時に主要評価対象とした潰瘍について、本登録時Fontaine IV度のみの結果を示す。

- ・ 後観察期間 12 週後（又は中止時）の測定値、変化率{[(測定値 - ベースライン値) / ベースライン値] × 100; 以下同様}と、改善率

- ・ 2 回投与の場合

後観察期間 8、12 週後の測定値、変化率、改善率の経時的な推移を被験者別に一覧に示す。また、被験者別に経時変化をグラフに示す。

- ・ 3 回投与の場合

試験治療期間 8 週後、後観察期間 12 週後の測定値、変化率、改善率の経時的な推移を被験者別に一覧に示す。また、被験者別に経時変化をグラフに示す。

4) ABI

後観察期間12週後（又は中止時）の測定値、変化量、改善率（0.1以上の上昇を「改善」とする）を被験者別に一覧に示す。また、被験者別に経時変化をグラフに示す。

5) Fontaine分類

後観察期間12週後（又は中止時）の病期分類を被験者別に一覧に示す。

6) 鎮痛剤不要患者の頻度

後観察期間12週後（又は中止時）に鎮痛剤を使用しなくなった被験者の頻度

(2) 安全性の副次的評価項目

1) 有害事象

試験治療期間及び後観察期間における事象別及び重症度別に発現例数、発現件数を集計する。試験治療期間、後観察期間に分けた集計も行う。

2) 副作用

試験治療期間及び後観察期間における事象別及び重症度別に発現例数、発現件数を集計する。試験治療期間、後観察期間に分けた集計も行う。

3) 重篤な有害事象

試験治療期間及び後観察期間における事象別及び重症度別に発現例数、発現件数を集計する。試験治療期間、後観察期間に分けた集計も行う。

4) バイタルサイン、理学的検査

時期別の測定値の経時的な推移を被験者別に一覧に示す。また、被験者別に経時変化をグラフに示す。

5) 臨床検査

時期別の測定値の経時的な推移を被験者別に一覧に示す。また、被験者別に経時変化をグラフに示す。

- 6) 心電図検査
時期別の測定結果の経時的な推移を被験者別に一覧に示す。
- 7) 血清中HGF濃度
時期別の測定値の経時的な推移を被験者別に一覧に示す。また、被験者別に経時変化をグラフに示す。

11.17 当該遺伝子治療臨床研究の品質管理

研究責任者、研究分担者及び研究協力者は、本実施計画書を遵守して研究を行う。また、研究責任者、研究分担者及び研究協力者は、臨床研究の実施に関わるそれぞれの手順書に従って研究を行う。

11.17.1 モニタリング

モニターは、被験者の人権、安全性及び福祉が保護されていること、臨床研究が最新の実施計画書、「遺伝子治療臨床研究に関する指針」及び「臨床研究に関する倫理指針」を遵守して実施されていること、研究責任者又は研究分担者から報告されたデータなどが正確かつ完全であることを、原資料などの臨床研究関連記録に照らして確認するために、当該遺伝子治療臨床研究の「モニタリングに関する手順書」に従ってモニタリングを実施する。なお、モニタリングは、臨床研究開始前、実施中及び終了時に、実施施設の研究責任者、研究分担者、臨床研究実施部門、臨床研究事務局等を訪問して行う。

11.17.2 データ管理

データの品質管理は、当該遺伝子治療臨床研究の「データマネジメントに関する手順書」に従って行う。

11.18 当該遺伝子治療臨床研究の倫理的実施

当該遺伝子治療臨床研究は、ヘルシンキ宣言に基づく倫理的原則に留意し、「遺伝子治療臨床研究に関する指針」、「臨床研究に関する倫理指針」及び本実施計画書を遵守して実施する。

11.18.1 遺伝子治療臨床研究審査委員会

遺伝子治療臨床研究審査委員会は、病院長の諮問を受け、臨床研究実施計画書、説明文書（患者さんへ）及び症例報告書又は電子症例報告書の様式の記載内容にもとづき、倫理的、科学的及び医学的妥当性の観点から臨床研究の実施及び継続について審議を行う。

11.18.2 臨床研究の進捗報告

当該遺伝子治療臨床研究の実施期間中少なくとも1年に1回以上、及び終了時には進捗状況を実施医療機関の遺伝子治療臨床研究審査委員会に報告する。

11.18.2.1 被験者の人権

研究責任者及び研究分担者は、被験者の人権の保護の観点から被験者の健康状態、症状、年齢、性別、同意能力等を十分考慮し、当該遺伝子治療臨床研究への参加を求めることの適否については慎重に検討する。また、社会的に弱い立場にある者を被験者とする場合には、特に慎重な配慮を払うこととする。

11.18.2.2 個人情報の保護

被験者の同意取得後はデータ管理、AMG0001 の調製管理など、症例の取り扱いにおいては全て連結可能匿名化された被験者識別コード又は登録番号により管理され、匿名化コードと氏名の対照表及び氏名記載同意書は施錠可能な書類保管庫に厳重に保管する。また、公表に際しては被験者の名前が直接公表されることがない等、被験者の個人情報の保護については十分に配慮する。

その他、「遺伝子治療臨床研究に関する指針」の個人情報保護の対応に従う。

11.19 記録等の保存

病院長は、遺伝子治療臨床研究に係る文書及び記録等に関し、保管責任者を定める。臨床研究を中止又は終了し、総括報告書を提出した日から少なくとも5年間保存する。本実施計画書及び症例報告書は変更・修正があった場合はその履歴を適切に保存する。

11.20 当該遺伝子治療臨床研究の総括報告書の作成

研究責任者は、臨床研究の中止又は終了後、速やかに臨床研究総括報告書を作成し、病院長に提出する。

また、先進医療通知に基づき、先進医療の書式を用いた総括報告書を厚生労働省研究開発振興課に提出する。

11.21 当該遺伝子治療臨床研究終了後の追跡調査の方法

研究責任者は、研究終了後も有効性及び安全性の確保の観点から、定期的外来診療により適当な期間の追跡調査その他の必要な措置を打つよう努める。また、重大な追跡結果が得られた場合には、その結果について病院長に報告する。

なお、臨床研究終了後の定期的外来診療で得られた追跡調査のデータは、解析には含まない。

11.22 臨床研究費用並びに健康被害の補償

11.22.1 研究の資金源と費用負担

当該遺伝子治療臨床研究に関連する経費の内、臨床研究薬及び臨床試験業務委託費用の実費は、AMG0001の提供企業であるアンジェスMG株式会社が負担する。その他研究に係る費用は、神戸大学大学院医学系研究科内科学講座・循環器内科学分野への公費及び奨学寄付金の資金を使用する。

11.22.2 健康被害の補償等

補償とは、被験者の被った損失を填補することであり、AMG0001 の欠陥、試験計画の不備、インフォームド・コンセントの不備、医療者の過失等に起因する損失に対する賠償とは区別する。

当該遺伝子治療臨床研究は、補償保険に加入しており、当該遺伝子治療臨床研究の実施に起因して、補償の必要性が生じた時には、その被害が被験者の責に帰すべき事由により引き起こされた場合を除いて、補償保険の契約に準じて対応する。

11.23 臨床研究成果の帰属及び研究結果の公表に関するとり決め

当該遺伝子治療臨床研究により生じる知的財産権は研究者に帰属するものとする。当該遺伝子治療臨床研究の結果は、総括報告書としてまとめることとする。また当該遺伝子治療臨床研究による結果は、研究終了後に必要に応じて論文又は学会発表として公表する。

公表に際しては被験者の名前が直接公表されることがない等、被験者の個人情報の保護については十分に配慮する。

12 当該遺伝子治療臨床研究の実施施設の状況

遺伝子組換えタンパク、ペプチド、分子標的療法、抗体医薬、核酸医薬、遺伝子治療など、分子生物学がもたらした新たな創薬スキームにより、製薬企業による創薬研究に加え、大学などのアカデミア発の優れた基礎研究を創薬に結びつけることの重要性が高まっている。さらに、近年、再生医療、細胞治療、遺伝子治療などの新しい先端医療技術の開発が進み、今後も iPS 細胞などの万能細胞の臨床応用やロボット技術の医療、福祉面への応用など、医療産業界ではきわめて多様な展開が進むと予想され、アカデミアにおける基礎研究成果を臨床応用、産業化に結びつける橋渡し研究がますます重要になってきている。

AMG0001 は、大阪大学により創成された血管新生促進作用を有する難治性の虚血性疾患治療薬である。「7. 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」に示すとおり、これまで大阪大学及びアンジェス社において、培養細胞や実験動物を用いた AMG0001 の非臨床試験が実施されている。当該遺伝子治療の対象疾患である慢性動脈閉塞症（閉塞性動脈硬化症又はビュルガー病）に対しては、「9. AMG0001 遺伝子治療臨床研究及び臨床試験の実施状況」で示すとおり、大阪大学及びアンジェス社が実施した国内における臨床試験から、その症状を改善する効果が示唆されている。

今般、大阪大学医学部附属病院では、投与対象肢の血行再建術（血管内治療を含む）の適用が困難な患者、又は当該適応が不可能ではないが、手術によるリスクがあると判断される患者で、既存の内科的治療に抵抗性の慢性動脈閉塞症（閉塞性動脈硬化症又はビュルガー病）に対する新規治療薬の早期開発を目指し、当該遺伝子治療臨床研究を実施することになった。

神戸大学医学部附属病院（以下、当院）は、大阪大学医学部附属病院の主旨に賛同し、当該遺伝子治療臨床研究（多施設試験）の実施施設として参加することになった。当院では、アンジェス社が行った AMG0001 の閉塞動脈硬化症を対象とした第 III 相試験への参加経験を有しており、当該遺伝子治療臨床研究を実施するための保冷库、安全キャビネット等のプロトコル治療可能な設備を備えており、ハード面での実施体制も完備されている。

また、万が一、重篤な有害事象や不測の事態が発生したとしても、当院では第三次救急医療の体制が整備されており、十分に高度な医療設備や医療従事者を有することから、迅速で適切な対処が可能である。

当院では、数多くの臨床研究や治験の実施経験もあることから、臨床試験の支援体制も充実しており、当該遺伝子治療臨床研究に対する実施体制が整備されている。

13 当該遺伝子治療臨床研究に関連する国内外の研究状況

これまでに、VEGF165、VEGF121、HGF、FGF-1、FGF-2、FGF-4、HIF-1 α 、等の血管新生因子 cDNA をウイルスベクター又はプラスミドベクターに組み込んだ遺伝子治療用医薬品による末梢動脈疾患（peripheral arterial disease : PAD）に対する遺伝子治療が世界的に行われている

表 10 末梢血管疾患に対する遺伝子治療

Author	Year	Study Level	N	Vector	Product	Delivery	Clinical Outcome*
Isner	1996	open label trial	1	Plasmid	VEGF 165	catheter mediated	-
Baumgartner	1998	open label trial	9	Plasmid	VEGF 165	IM	Positive
Isner	1998	open label trial	6	Plasmid	VEGF 165	IM	Positive
Baumgartner	2000	open label trial	62	Plasmid	VEGF 165	IM	Equivocal
Rajagopalan	2001	open label trial	5	Adenovirus	VEGF 121	IM	Equivocal
Comerota	2002	open label trial	51	Plasmid	FGF-1	IM	Positive
Makinen	2002	controlled trial	36	Adenovirus	VEGF	catheter mediated	Positive
Mohler	2003	open label trial	21	Adenovirus	VEGF 121	IM	Equivocal
Shyu	2003	open label trial	21	Adenovirus	VEGF165	IM	Positive
Morishita	2004	open label trial	6	Plasmid	HGF	IM	Positive
Kim	2004	open label trial	9	Plasmid	VEGF165	IM	Equivocal
Matyas	2005	controlled trial	13	Adenovirus	FGF-4	IM	Equivocal
Kusumanto	2006	controlled trial	54	Plasmid	VEGF165	IM	Equivocal
Marui	2007	open label trial	7	Plasmid	FGF-1	IM	Positive
Rajagopalan	2007	controlled trial	34	Adenovirus	HIF-1 α	IM	Equivocal
Powell	2008	controlled trial	104	Plasmid	HGF	IM	Equivocal
nikol	2008	controlled trial	125	Plasmid	FGF-1	IM	Positive
Baumgartner	2009	open label trial	6	Plasmid	FGF-1	IM	Equivocal
Shigematsu	2010	controlled trial	44	Plasmid	HGF	IM	Positive
Powell	2010	controlled trial	27	Plasmid	HGF	IM	Equivocal
Gu	2011	open label trial	21	Plasmid	HGF	IM	Positive
Henry	2011	open label trial	12	Plasmid	HGF	IM	Positive
Morishita	2011	open label trial	22	Plasmid	HGF	IM	Positive
Shigematsu	2011	open label trial	10	Plasmid	HGF	IM	Positive
Belch	2011	controlled trial	525	Plasmid	FGF-1	IM	Negative
Niebuhr	2012	controlled trial	72	Plasmid	FGF-1	IM	Negative
Makino	2012	open label trial	22	Plasmid	HGF	IM	Positive

*Positive clinical outcome defined as improved perfusion, reduced pain, or decreased amputation.

VEGF: vascular endothelial cell growth factor; FGF: fibroblast growth factor; HGF: hepatocyte growth factor;

HIF: hypoxia-inducible factor; IM = intramuscular

その他、国内では、九州大学病院で、FGF-2 遺伝子をセンダイウイルスベクターに組み込んだ遺伝子治療用医薬品による末梢血管疾患に対する臨床研究も実施された。

また、ロシアでは、2011 年 12 月に VEGF 遺伝子をプラスミドベクターに組み込んだ遺伝子治療用医薬品（Neovasculgen®、Human Stem Cells Institute）の筋肉内投与が、「アテローム性動脈硬化症に起因する末梢動脈疾患を含む重症虚血肢」を適応症として承認されている。

AMG0001 は、大阪大学により創成された血管新生促進作用を有する難治性の虚血性疾患治療薬であり、大阪大学医学部附属病院において、AMG0001 を用いた末梢性血管疾患（慢性閉塞性動脈硬化症・ビュルガー病）を対象とした遺伝子治療臨床研究が 22 例で実施された。その結果、本疾患に対する有効性が示唆され、安全性に関しても臨床上問題となる副作用は認められなかった。その後の開発は、アンジェス社により実施されている。

アンジェス社では、2008 年 3 月 27 日に「重症虚血肢（安静時疼痛、潰瘍）を有する閉塞性動脈硬化症・ビュルガー病」を効能及び効果として製造販売承認申請した。当該承認申請における有効性を示す主たる臨床試験として、「閉塞性動脈硬化症を対象としたプラセボ対照無作為化二重盲検比較試験」が実施され、安静時疼痛及び潰瘍症状の改善効果が認められたが、XXXXXXXXXX アンジェス社は 2010 年 9 月 17 日に当該製造販売承認申請を取下げた。現在、アンジェス社では、海外での追加第 III 相臨床試験の準備中である。

大阪大学医学部附属病院では、薬物治療抵抗性で、外科的治療の適用が困難な閉塞性動脈硬化症又はビュルガー病患者に対する新規治療オプションを提供する AMG0001 の開発の医療上の意義は高いと考えている。

なお、日本、米国、欧州において、末梢血管疾患を対象とした遺伝子治療用医薬品は、現時点で、承認されていない

14 当該遺伝子治療臨床研究における個人情報保護に関する対処

当該遺伝子治療臨床研究は、「個人情報の保護に関する法律」（平成 15 年法律第 57 号）の円滑な実施に資するために全部改正された「遺伝子治療臨床研究に関する指針」（平成 16 年 12 月 28 日、文部科学省・厚生労働告示第 2 号）、「第六章 個人情報の保護に関する措置」に準拠し実施される。

14.1 個人情報の定義

「個人情報」とは、「個人情報の保護に関する法律」（平成 21 年法律第 49 号）（以下、個人情報保護法）、「医療・介護関係事業者における個人情報の適切な取り扱いのためのガイドライン」（平成 16 年 12 月 24 日、医政発第 1224001 号・薬食発第 1224002 号・老発第 1224002 号）（以下、ガイドライン）及び「遺伝子治療臨床研究に関する指針」（以下、指針）に基づく症例に関する情報を示し、「生存する個人に関する情報であって、当該情報に含まれる氏名、生年月日その他の記述等により特定の個人を識別することができるもの（他の情報と容

易に照合することができ、それにより特定の個人を識別することができることとなるものを含む)をいう」と定義する。また、当該遺伝子治療臨床研究は、遺伝情報を明らかにする研究ではなく、研究において個人の遺伝情報が明らかになるものではない。

14.2 当該遺伝子治療臨床研究を行う機関の長の最終的な責務

当該遺伝子治療臨床研究を行う機関の長である神戸大学医学部附属病院長は、当該遺伝子治療臨床研究の実施に際し、個人情報保護が図られるように努める。個人情報保護に関する措置に関し、適正な実施を確保するため必要があると認めるときは、総括責任者に対して、監督上、必要な命令を行う。

14.3 診療・教育機関としての神戸大学医学部附属病院における個人情報の一般的な取り扱い

神戸大学医学部附属病院（以下、本院）は、特定機能病院であり、同時に教育・研究機関として、高度先進医療の提供、地域医療への貢献とともに、各種医療従事者の育成、臨床研究を行う機関として、患者の個人情報をこれらの目的に活用することもあり、患者の個人情報保護には細心の注意を払っている。

本院は、患者が医療に主体的に参加できるパートナーシップの強化に向けた活動に積極的に取り組むとともに、本院の理念、基本方針、患者の権利について個人情報保護の精神に則り、個人情報保護に関する方針を以下のとおり定め、職員及び関係者に周知徹底を図り個人情報保護に努めている。

(1) 個人情報の収集・利用・提供

個人情報を保護・管理する体制を確立し、適切な個人情報収集、利用及び提供に関する内部規則を定め、これらを遵守する。

(2) 個人情報の安全対策

個人情報への不正アクセス、個人情報の紛失、破壊、改ざん及び遺漏などに関する万全の予防措置を講ずることにより、個人情報の安全性・正確性の確保を図り、万一の問題発生時には速やかな是正対策を実施する。

(3) 個人情報に関する法令・規範の遵守

個人情報に関する法令及びその他の規範を遵守する。

(4) 教育及び継続的改善

個人情報保護体制を適切に維持するため、職員の教育・研修を徹底し、内部規則を継続的に見直し、改善する。

(5) 診療情報の開示

診療情報については適切なルールのもとに提供・開示することを原則とする。

14.4 当該遺伝子治療臨床研究の遂行に必要な被験者の個人情報の利用・取扱い

当該遺伝子治療臨床研究で扱う被験者の診療録をはじめとする個人情報は、主として病状の経過観察、当該遺伝子治療臨床研究の緊急事態発生のための連絡など、被験者の生命を守

るために用いる。その他、別の目的で使用する場合は、事前に被験者及び家族（又は親族）（以下、親族等）に再度説明し、了承を得てから使用する。また、当該遺伝子治療臨床研究の成果検討時や医療向上のためなどを目的に、研究成績などを公表・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、被験者等への同意説明文書中に記載し、被験者への個人情報及び使用目的について通知し、同意を得る。

14.5 利用目的による制限

総括責任者は、あらかじめ被験者等の同意を得ないで、あらかじめ特定された利用目的の達成に必要な範囲を超えて個人情報を取り扱うことはしない。ただし、以下の場合で、遺伝子治療臨床研究審査委員会が承認した場合は、この限りではない。

- (1) 法令に基づく場合。
- (2) 人の生命、身体又は財産の保護のために必要な場合であって、被験者等の同意を得ることが困難であるとき。
- (3) 公衆衛生の向上のために、特に必要な場合であって、被験者等の同意を得ることが困難であるとき。
- (4) 国の機関、若しくは途方公共団体又はその委託を受けたものが法令の定める事務を遂行することに対して狭路良くする必要がある場合であって、被験者等の同意を得ることにより、当該事務の遂行に支障を及ぼすおそれがあるとき。

14.6 適正な取得及び取得に際しての利用目的の通知等

総括責任者は、当該遺伝子治療臨床研究において、偽り、その他不正な手段により個人情報を取得しない。個人情報を取得した場合は、あらかじめその利用目的を公表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、及び公表するとともに、利用目的を変更した場合は、変更された利用目的について被験者等に文書で通知し、及び公表するものとする。

14.7 内容の正確性確保

総括責任者は、利用目的の達成に必要な範囲内において、個人情報を正確、かつ最新の内容に保つように努める。

14.8 安全管理措置

組織的、人的、物理的及び技術的な安全管理措置は、「個人情報保護法」、「ガイドライン」、「指針」、「神戸大学病原体等安全管理規則」（平成 21 年 2 月 24 日制定）に基づいた措置を講ずる。

14.9 委託者の監督

総括責任者は、当該遺伝子治療臨床研究の実施に関し、委託を行う場合は、委託された業務に関して取り扱われる個人情報の安全管理及び個人情報の適切な取り扱いが図られるよう、委託を受けたものに対する必要かつ適切な監督を行う。

当該遺伝子治療臨床研究では、一部の臨床検査の外部委託、臨床研究の品質確保の観点から、外部機関にモニタリングや監査業務等を委託する可能性がある。このような場合は、あらかじめ同意説明文書に当該内容を記載するとともに、被験者からの同意を得るものとする。

14.10 第三者提供の制限

当該遺伝子治療臨床研究は、試験物や各種開発情報の提供企業であるアンジェス MG 株式会社とデータを共有する可能性があることから、当該データ共有の可能性について、あらかじめ同意説明文書に記載するとともに、被験者からの同意を得るものとする。

やむを得ず研究や解析の目的での個人情報が必要となる場合は、適切な目的であることを確認し、「指針」の第六章第九に従い、その旨被験者に文書で通知する。

14.11 保有する個人情報に関する事項に公表等

総括責任者は、保有する個人情報に関し、以下の事項について、被験者の知り得る状態（被験者等の求めに応じて遅滞なく回答する場合を含む）におく。

- (1) 当該遺伝子治療臨床研究を行う機関の名称
- (2) すべての保有する個人情報の利用目的
- (3) 利用目的の通知、個人情報の開示、訂正、利用停止に応じる手続き
- (4) 保有する個人情報の取扱いに関する苦情の申出先

14.12 個人情報の開示

総括責任者は、被験者等から、当該被験者が識別される保有する個人情報の開示（当該被験者が識別される保有する個人情報が存在しないときに、その旨を知らせる場合を含む）を求められた場合は、被験者等に対して書面の交付による方法（被験者等が同意した方法がある場合は、当該方法）で開示する。ただし、以下の事項に該当する場合は、その全部又は一部を開示しない。

- (1) 被験者又は第三者の生命、身体、財産、その他の権利利益を害するおそれがある場合。
- (2) 研究を行う機関の業務の適正な実施に、著しい支障を及ぼすおそれがある場合。
- (3) 他の法令に違反する場合

14.13 個人情報の訂正及び利用停止等

被験者又は代諾者から、神戸大学医学部附属病院が保有する被験者が識別される個人情報の内容が事実でないという理由によって当該情報に対して訂正、追加又は削除を求められた場合、総括責任者が調査を行い、その結果に基づき総括責任者は必要な是正措置を講ずる。なお、法定代理人等を含めた代諾者からの申し出も受け付けるが、その事実性や提供者の判断及び理解力について、総括責任者は慎重に判断する。

14.14 理由の説明

総括責任者は、「14.12 個人情報の開示」及び「14.13 個人情報の訂正及び利用停止等」に係る個人情報の開示、訂正、利用停止等において、被験者等から求められた措置の全部又は

一部について、その措置を取らない旨を通知する場合、又はその措置と異なる措置をとる旨を通知する場合は、被験者等に対し、その理由を説明するよう努める。

14.15 個人情報の開示、訂正、利用停止等の求めに応じる手続き

個人情報の開示、訂正、利用停止等に関する手続きは、「神戸大学の保有する個人情報の管理に関する指針」（平成 17 年 3 月 17 日制定）及び「神戸大学の保有する個人情報の開示等に関する規則」（平成 17 年 3 月 17 日制定）に基づき対応する。

14.16 苦情の対応

苦情対応の窓口を、以下のとおり設置する。

神戸大学医学部附属病院 循環器内科

兵庫県神戸市中央区楠町 7 丁目 5-2（郵便番号 650-0017）

電話番号 078-382-5846

15 利益相反

総括責任者、本臨床研究に係る臨床研究分担医師及びアンジェス MG 社の当該遺伝子治療臨床研究の利害関係については、神戸大学大学院医学研究科等臨床研究利益相反マネジメント委員会の承認を得て、当該遺伝子治療臨床研究の利害関係についての公平性を維持する。

アンジェス MG 社の本臨床研究の役割は、試験物 AMG0001、AMG0001 の開発情報及び本臨床研究の業務委託費用の提供であり、本臨床研究に係るモニタリング、データマネジメント、統計解析、総括報告書作成、品質管理、監査業務等のデータを取扱う業務及び品質管理・品質保証業務には関与しない。

16 遵守すべき基準

当該遺伝子治療臨床研究は、「遺伝子治療臨床研究に関する指針（文部科学省、厚生労働省告示第 1 号、平成 14 年 3 月 27 日付）」を遵守し、実施する。

（余白）

17 参考文献等

1. Nakamura T, Nawa K, Ichihara A. Partial purification and characterization of hepatocyte growth factor from serum of hepatectomized rats. *Biochem. Biophys. Res. Commun* 1984;122. :1450-9.
2. Nakamura T, Nishizawa T, Hagiya M, et al. Molecular cloning and expression of human hepatocyte growth factor. *Nature* 1989;342:440-3.
3. Matsumoto K, Nakamura T. Hepatocyte growth factor (HGF) as tissue organizer for organogenesis and regeneration. *Biochem Biophys Res Commun* 1997;239:639-44.
4. Bussolino F, Di Renzo MF, Ziche M, et al. Hepatocyte growth factor is a potent angiogenic factor which stimulates endothelial cell motility and growth. *J Cell Biol* 1992;119:629-41
5. Grant DS, Kleinman HK, Goldberg ID, et al. Scatter factor induces blood vessel formation *in vivo*. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1993;90:1937-41.
6. Morishita R, Nakamura S, Hayashi S, et al. Therapeutic angiogenesis induced by human recombinant hepatocyte growth factor in rabbit hind limb ischemia model as cytokine supplement therapy. *Hypertension* 1999;33:1379-84
7. 市来正隆. 閉塞性動脈硬化症 (ASO) 疫学と病態, 動脈硬化の Window としての ASO. 血栓と循環 2004;12:248-52.
8. 松尾汎, 林富貴雄. リム・サルベージ一般 大阪府における重症虚血肢の発生頻度. 血管外科 2000; 19: 154.
9. TASC - Management of peripheral arterial disease (PAD) - TransAtlantic Inter-Society Consensus (TASC) - Introduction. *J Vasc Surg* 2000; 31: S1-S296.
10. 重松宏. 臨床糖尿病学, 合併症の成因と病態 糖尿病における動脈硬化症の成因 糖尿病を併存する末梢動脈閉塞症の成因と病態. 内分泌・糖尿病科 2005;20 (特別増刊) : 211-5.
11. 佐久間まこと, 安田慶秀, 佐々木重幸. バージャー病治療の現況: 平成 6 年度全国疫学調査の分析結果から, 1997 年度, 難治性血管炎に関する調査研究班報告書
12. 日本脈管学会編, 下肢閉塞性動脈硬化症の診断・治療指針 2000
13. Norgren L, Hiatt WR, Drmady JA, et al. Inter-society consensus for management of peripheral arterial disease (TASC II). *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 2007;33 Supple 1;S1-75.
14. Reduction of Atherothrombosis for Continued Health, Newsletter, 第 6 号, 2006 年 3 月発行
15. 多田祐輔. 閉塞性動脈硬化症の疫学. 治療学. 1997; 31; 289-92
16. 重松宏, 安田慶彦, 田辺達三. 重症虚血肢をめぐる諸問題, 日本の現状と診断基準. *Therapeutic Research* 1992;13: 4099-4109.
17. 松尾汎, 本間覚, 林富貴夫ら. バージャー病患者の長期予後と Quality of Life に関する検討, 脈管学 1997;37 : 883-6.
18. 北川剛, 兼高武仁, 齋藤健人ら. 閉塞性動脈硬化症ならびに腹部大動脈瘤患者における頸動脈狭窄病変に関する検討. 脈管学 2002;10:791-5.

19. 重松邦広, 重松宏, 安田慶秀. Buerger 病の長期予後について (全国アンケート調査結果) に関する研究. 難治性血管炎に関する調査研究.平成 15 年度総括・分担研究報告書 2004:115-9.
20. Miyazawa K, Tsubouchi H, Naka D, et al. Molecular cloning and sequence analysis of cDNA for human hepatocyte growth factor. *Biochem Biophys Res Commun*. 1989; 163: 967-73
21. Eppler SM, Combs DL, Henry TD, et al. A target-mediated model to describe the pharmacokinetics and hemodynamic effects of recombinant human vascular endothelial growth factor in humans. *Clin Pharmacol Ther* 2002; 72: 20-32.
22. Matsumoto K., Nakamura T. Emerging multipotent aspects of hepatocyte growth factor. *J Biochem* 1996; 119: 591-600
23. Nakamura Y, Morishita R, Higaki J, et al. Hepatocyte growth factor is a novel member of the endothelium-specific growth factors: additive stimulatory effect of hepatocyte growth factor with basic fibroblast growth factor but not with vascular endothelial growth factor. *J Hypertens* 1996; 14: 1067-72
24. Nakamura Y, Morishita R, Nakamura S, et al. A vascular modulator, hepatocyte growth factor, is associated with systolic pressure. *Hypertension*. 1996; 28: 409-13
25. Nakamura Y, Morishita R, Higaki J, et al. Expression of local hepatocyte growth factor system in vascular tissues. *Biochem Biophys Res Commun* 1995; 215: 483-8
26. Klagsbrun M, D'Amore PA: Regulators of angiogenesis. *Annu Rev Physiol* 1991; 53: 217-39
27. Gospodarowicz D, Massoglia S, Cheng J, et al. Effect of fibroblast growth factor and lipoproteins on the proliferation of endothelial cells derived from bovine adrenal cortex, brain cortex, and corpus luteum capillaries. *J Cell Physiol* 1986; 127: 121-36
28. Conn G, Soderman D, Schaeffer MT, et al. Purification of glycoprotein vascular endothelial cell mitogen from a rat glioma-derived cell line. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990; 87: 1323-7
29. Nakamura S, Morishita R, Moriguchi A, et al. Hepatocyte growth factor as a potential index of complication in diabetes mellitus. *Journal of Hypertension* 1998; 16: 2019-26
30. Nakano N, Moriguchi A, Morishita R, et al. Role of angiotensin II in the regulation of a novel vascular modulator, hepatocyte growth factor (HGF), in experimental hypertensive rats. *Hypertension* 1997; 30: 1448-54
31. Nakano N, Morishita R, Moriguchi A, et al. Negative regulation of local hepatocyte growth factor (HGF) expression by angiotensin II and transforming growth factor- β in blood vessels: potential role of HGF in cardiovascular disease. *Hypertension* 1998; 32: 444-51
32. Hayashi S, Morishita R, Higaki J, et al. Autocrine-paracrine effects of overexpression of hepatocyte growth factor gene on growth of endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun* 1996; 220: 539-45

33. Hayashi K, Nakamura S, Morishita R, et al. In vivo transfer of human hepatocyte growth factor gene accelerates re-endothelialization and inhibits neointimal formation after balloon injury in rat model. *Gene Therapy* 2000; 7: 1664-71
34. Aoki M, Morishita R, Taniyama Y, et al. Angiogenesis induced by hepatocyte growth factor in non-infarcted myocardium and infarcted myocardium: up-regulation of essential transcription factor for angiogenesis, ets. *Gene Therapy* 2000; 7: 417-27
35. Taniyama Y, Morishita R, Hiraoka K, et al. Therapeutic Angiogenesis Induced by Human Hepatocyte Growth Factor Gene in Rat Diabetic Hind Limb Ischemia Model: Molecular Mechanisms of Delayed Angiogenesis in Diabetes. *Circulation* 2001; 104(19): 2344-50
36. Ishida A, Kawakami H, Morishita R, et al. Gene Therapy for Cerebral Infraction (Cerebral Ischemia). *Brain and Nerve* 2002; 3: 213-9
37. Kitsis RN, Buttrick PM, McNally EM, et al. Hormonal Modulation of a Gene Injected into Rat Heart In Vivo. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1991;88:4138-42.
38. Taniyama Y, Morishita R, Aoki M, et al. Therapeutic Angiogenesis Induced by Human Hepatocyte Growth Factor Gene in Rat and Rabbit Hind Limb Ischemia Models: Preclinical Study for Treatment of Peripheral Arterial Disease. *Gene Therapy* 2001; 8: 181-9
39. Ueki T, Kaneda Y, Tsutsui H, et al. Hepatocyte growth factor gene therapy of liver cirrhosis in rats. *Nature Medicine* 1999; 5: 226-30
40. Wolff JA, Malone RW, Williams P, et al. Direct gene transfer into mouse muscle in vivo. *Science* 1990;247:1465-8
41. Martin T, Parker SE, Hedstrom R, et al. Plasmid DNA malaria vaccine: the potential for genomic integration after intramuscular injection. *Hum Gene Ther* 1999;10:759-68
42. Wolff JA, Ludtke JJ, Acsadi G, et al. Long-term persistence of plasmid DNA and foreign gene expression in mouse muscle. *Hum Mol Genet* 1992;1:363-9
43. Acsadi G, Jiao SS, Jani A, et al. Direct gene transfer and expression into rat heart in vivo. *New Biol* 1991;3:71-81
44. Budker V, Budker T, Zhang G, et al. Hypothesis: naked plasmid DNA is taken up by cells in vivo by a receptor-mediated process. *J Gene Med* 2000;2:76-88
45. Levy MY, Barron LG, Meyer KB, Szoka FC Jr. Characterization of plasmid DNA transfer into mouse skeletal muscle: evaluation of uptake mechanism, expression and secretion of gene products into blood. *Gene Ther* 1996;3:201-11
46. Invitrogen pVAX1™ Catalog no. V260-20 Version C 11111025-0256
47. 「培養細胞系を用いた AMG0001 導入及び発現たん白質の解析 (A001-EI-018-N)」(アンジェス社、社内資料)
48. 「ヒト骨格筋細胞への pVAX1HGF/MGBI 導入及び発現たん白質の解析 (A001-EI-019-N)」(アンジェス社、社内資料)

49. 「pVAX1HGF/MGBI 由来 HGF たん白質のヒト血管内皮細胞における増殖活性試験 (A001-EI-020N1)」(アンジェス社、社内資料)
50. 「AMG0001 をウサギに単回筋肉内投与した時の筋肉中ヒト HGF 蛋白質濃度 -投与液濃度が及ぼすヒト HGF 蛋白質発現への影響- (試料採取) (A001-EC-172-N)」(アンジェス社、社内資料)
51. 「AMG0001 をウサギに単回筋肉内投与した時の筋肉中ヒト HGF 蛋白質濃度 -投与液濃度が及ぼすヒト HGF 蛋白質発現への影響- (測定) (A001-EI-172-N1)」(アンジェス社、社内資料)
52. 「AMG0001 をウサギに単回筋肉内投与した時の筋肉中ヒト HGF 蛋白質濃度 -投与液量が及ぼすヒト HGF 蛋白質発現への影響- (試料採取) (A001-EC-173-N)」(アンジェス社、社内資料)
53. 「AMG0001 をウサギに単回筋肉内投与した時の筋肉中ヒト HGF 蛋白質濃度 -投与液量が及ぼすヒト HGF 蛋白質発現への影響- (測定) (A001-EI-173-N1)」(アンジェス社、社内資料)
54. 「AMG0001 をウサギに単回筋肉内投与した時の筋肉及び血清中ヒト HGF 蛋白質濃度推移 (試料採取) (A001-EC-171-N)」(アンジェス社、社内資料)
55. 「AMG0001 をウサギに単回筋肉内投与した時の筋肉及び血清中ヒト HGF 蛋白質濃度推移 (測定) (A001-EI-171-N1)」(アンジェス社、社内資料)
56. 「AMG0001 代謝物 (OC 体) の精製と培養細胞における AMG0001 及び OC 体のヒト HGF 発現量の比較 (A001-EI-036-N1)」(アンジェス社、社内資料)
57. 「AMG0001 及びその代謝物 (OC 体) をマウスに筋肉内投与した時のヒト HGF 発現量の比較 (試料採取) (A001-EC-036-N2)」(アンジェス社、社内資料)
58. 「AMG0001 及びその代謝物 (OC 体) をマウスに筋肉内投与した時のヒト HGF 発現量の比較 (測定) (A001-EI-036-N3)」(アンジェス社、社内資料)
59. Morishita R, Makino H, Aoki M, et al. Phase I/IIa Clinical Trial of Therapeutic Angiogenesis Using hepatocyte Growth Factor Gene Transfer to Treat Critical Limb Ischemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2011;31:713-20.
60. Makino H, Aoki M, Hashiya N, et al. Long-term follow-up evaluation of results from clinical trial using hepatocyte growth factor gene to treat severe peripheral arterial disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2012 Oct;32(10):2503-9.
61. Shigematsu H, Yasuda K, Iwai T, et al. Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Clinical Trial of Hepatocyte Growth Factor Plasmid for Critical Limb Ischemia. *Gene Ther* 2010;17:1152-61.
62. Shigematsu H, Yasuda K, Sasajima T, et al. Transfection of Human HGF Plasmid DNA Improves Limb Salvage in Burger's Disease Patients With Critical Limb Ischemia. *Int Angiol* 2011;30:140-9.
63. Powell RJ, Simons M, Mendelsohn FO, et al. Results of a Double-Blind, Placebo-Controlled Study to Assess the Safety of Intramuscular Injection of Hepatocyte Growth Factor Plasmid to Improve Limb Perfusion in Patients With Critical Limb Ischemia. *Circulation* 2008;118:58-65.

64. Powell RJ, Goodney P, Mendelsohn FO, et al. Safety and Efficacy of Patient Specific Intramuscular Injection of HGF Plasmid Gene Therapy on Limb Perfusion and Wound Healing in Patients with Ischemic Lower Extremity Ulceration: Results of the HGF-205 trial. J Vasc Surg 2010;52:1525-30.
65. 「狭心症患者に対する AMG0001 の第 I 相臨床試験総括報告書 (AG-IHD-0101)」(アンジェス社、社内資料) ..
66. 「HGF gene plasmid injection: Single intramuscular toxicity in rats (A001-TC-101-G)」(アンジェス社、社内資料)
67. 「HGF Gene Plasmid: Single Intravenous Toxicity in Rats (A001-TC-107-G)」(アンジェス社、社内資料)
68. 「AMG0001 (BI-Lot) のラットにおける単回静脈内投与毒性試験 (A001-TC-159-G)」(アンジェス社、社内資料)
69. 「HGF gene plasmid injection: Single intramuscular toxicity in cynomolgus monkeys (A001-TC-102-G)」(社内資料)
70. 「Sixteen-Week Toxicity Study of HGF plasmid Administrated Intramuscularly Once Every Four Weeks Followed by a Four-Week Recovery in Rats (A001-TC-104-G)」(アンジェス社、社内資料)
71. 「HGF 遺伝子プラスミドのラットにおける 5 週間間歇筋肉内投与毒性試験 (A001-TC-111-G)」(アンジェス社、社内資料)
72. 「HGF Gene Plasmid: 14-Day Intravenous Toxicity Study in Rats Followed by A 14-Day Recovery (A001-TC-108-G)」(アンジェス社、社内資料)
73. 「Anti-HGF Protein Antibody Response in Rat Serum in the Study Titled "HGF Gene Plasmid: 14-Day Intravenous Toxicity Study in Rats Followed by A 14-Day Recovery, study number SNBL.247.03" (A001-TC-108-G1)」(アンジェス社、社内資料)
74. 「A 16-week Toxicity Study of HGF Gene Plasmid Administered Intramuscularly Once Every Four Weeks Followed by a Four-week Recovery in Cynomolgus Monkeys (A001-TC-105-G)」(アンジェス社、社内資料)
75. 「Anti-HGF Protein Antibody Formation in Serum Obtained in the Study Titled "A 16-week Toxicity Study of HGF Gene Plasmid Administered Intramuscularly Once Every Four Weeks Followed by a Four Week Recovery in Cynomolgus Monkeys, Study Number SNBL.247.01" (A001-TC-105-G1)」(アンジェス社、社内資料)
76. 「BIODISTRIBUTION OF THE PLASMID VECTOR pVAX1HGF IN MONKEY TISSUES AND BLOOD BY REAL-TIME POLYMERASE CHAIN REACTION ANALYSIS (A001-TC-105-G2)」(アンジェス社、社内資料)
77. 「TK Parameter Analysis in “A 16-week Toxicity Study of HGF Gene Plasmid Administered Intramuscularly Once Every Four Weeks Followed by a Four-week Recovery in Cynomolgus Monkeys (Study Number: SNBL.247.01)” (A001-TC-105-G3)」(アンジェス社、社内資料)
78. 「AMG0001 のラットを用いた多臓器コメットアッセイ (A001-TC-183-G1)」(アンジェス社、社内資料)

79. 「Effect of AMG0001 on Tumor Growth in Nude Mice bearing Human Cancer Cell Lines (A001-TC-035-N)」(アンジェス社、社内資料)
80. 「HGF プラスミドのウサギにおける局所刺激性試験 (筋肉障害性試験) (A001-TC-118-G)」(アンジェス社、社内資料)
81. 「AMG0001 (BI-Lot) のウサギにおける局所刺激性試験 (筋肉障害性試験) (A001-TC-164-G)」(アンジェス社、社内資料)
82. 「HGF プラスミドの抗原性試験 (A001-TC-115-G)」(アンジェス社、社内資料)
83. 「AMG0001(BI-Lot)の抗原性試験 (A001-TC-147-G)」(アンジェス社、社内資料)
84. 「モルモット及びマウス血清中抗 HGF プラスミド抗体測定試験 (A001-TC-132-N)」(アンジェス社、社内資料)
85. 「AMG0001 のラットを用いた中枢神経系に及ぼす影響 (A001-TC-175-G)」(アンジェス社、社内資料)
86. 「AMG0001 の無麻酔・無拘束サルを用いた心血管系及び呼吸に及ぼす影響 (A001-TC-176-G)」(アンジェス社、社内資料)
87. 「血液中 AMG0001 濃度測定試験 -AMG0001 の無麻酔・無拘束サルを用いた心血管系及び呼吸に及ぼす影響- (A001-TC-176-N1)」(アンジェス社、社内資料)
88. 「AMG0001 の薬物動態試験 -AMG0001 をラットに単回筋肉内投与した時の血液中 AMG0001 濃度推移及び分布試験 (試料採取) - (A001-AC-168-N)」(アンジェス社、社内資料)
89. 「AMG0001 の薬物動態試験 -AMG0001 をラットに単回筋肉内投与した時の血液中 AMG0001 濃度推移及び分布試験 (AMG0001 の分析) - (A001-AI-168-N1)」(アンジェス社、社内資料)
90. 「AMG0001 の薬物動態試験 -薬物動態パラメータの算出- (A001-AC-182-N)」(アンジェス社、社内資料)
91. 「AMG0001 の薬物動態試験 -AMG0001 をラットに1ヵ月間隔2回筋肉内投与した時の血液及び筋肉中 AMG0001 濃度推移 (試料採取) - (A001-AC-181-N)」(アンジェス社、社内資料)
92. 「AMG0001 の薬物動態試験 -AMG0001 をラットに1ヵ月間隔2回筋肉内投与した時の血液及び筋肉中 AMG0001 濃度推移 (測定) - (A001-AI-181-N1)」(アンジェス社、社内資料)
93. 「AMG0001 の薬物動態試験 -AMG0001 をラットに静脈内投与した時の血液中 AMG0001 濃度推移及び尿中排泄試験 (試料採取) - (A001-AC-169-N)」(アンジェス社、社内資料)
94. 「AMG0001 の薬物動態試験 -AMG0001 をラットに静脈内投与した時の血液中 AMG0001 濃度推移及び尿中排泄試験 (AMG0001 の分析) - (アンジェス社、A001-AI-169-N1)」(社内資料)
95. 「AMG0001 の薬物動態試験 -AMG0001 をラットに静脈内投与した時の組織中 AMG0001 濃度推移 (試料採取) - (A001-AC-180-N1)」(アンジェス社、社内資料)
96. 「AMG0001 の薬物動態試験 -AMG0001 をラットに静脈内投与した時の組織中 AMG0001 濃度推移 (測定) - (A001-AI-180-N2)」(アンジェス社、社内資料)

97. 「HGF 遺伝子プラスミドの雄カニクイザルにおける体内動態試験 (A001-AC-112-N)」
(アンジェス社、社内資料)
98. 「HGF 遺伝子プラスミドの単回筋肉内投与によるカニクイザルにおける血中 HGF 遺伝子プラスミドの測定 (A001-AI-112-N1)」(アンジェス社、社内資料)
99. 「HGF 遺伝子プラスミドの単回筋肉内投与によるラット次世代組織中の HGF プラスミド測定のための試料採取 (A001-AC-119-N)」(アンジェス社、社内資料)
100. 「AMG0001 の薬物動態試験 - ヒト及びラット血清中における AMG0001 の *in vitro* 代謝の比較 - (A001-CI-189-N)」(アンジェス社、社内資料)

患者さんへ

臨床研究課題名:「慢性動脈閉塞症まんせいどうみゃくへいそくしょう（閉塞性動脈硬化症へいそくせいどうみゃくこうかしょう及びビュルガー病いぶんしちりょう）
を対象としたAMG0001の筋肉内投与による遺伝子治療」

研究責任者： 神戸大学医学部附属病院 循環器内科 平田 健一

1. はじめに

この文書は、神戸大学医学部附属病院で実施している「慢性動脈閉塞症まんせいどうみゃくへいそくしょう（閉塞性動脈硬化症へいそくせいどうみゃくこうかしょう及びビュルガー病）を対象とした AMG0001 の筋肉内投与による遺伝子治療いぶんしちりょう」について説明したものです。

- 1) この臨床研究に参加されることは、あくまでもあなたの自由意思によるものです。したがって、いつでも（たとえ臨床研究の途中でであっても）この臨床研究への参加を断ることができます。
- 2) この臨床研究に参加することによって、必ずしも個人的な利益が得られないかもしれませんが、しかし、あなたのご理解とご協力により、同じ疾患を抱えている人々やこれからの新しい医療に役立つ技術や情報が得られることが期待できます。
- 3) たとえこの臨床研究への参加を断っても、あなた自身がその後の治療で不利益をこうむることはありません。

この臨床研究は、神戸大学医学部附属病院の遺伝子治療臨床研究審査委員会（注 1）で計画が科学的に正しくなされているか、患者さんの人権を正しく守っているか、倫理的に正しく行われているかについて検討後、国の意見等を踏まえて承認されています。

この文書では、この臨床研究の目的、意義、方法、期待される効果、安全性と危険性、その他の関連した事項が説明されています。説明の内容を十分

理解していただいた上で、あなたがこの臨床研究へ参加するかどうかをお決めください。なお、あなたが抱かれている疑問については、どんなささいなことでも結構ですので、ご遠慮なくお尋ねください。

(注1) 神戸大学医学部附属病院の遺伝子治療臨床研究審査委員会は「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1号)に基づいて、基礎医学の専門家、医師、法律や倫理の専門家などが委員として構成されているものです。手順書(審査の手順を定めた文書)・審査委員名簿および会議の議事録の概要は、神戸大学医学部附属病院総務課で公表しております。

2 慢性動脈閉塞症(閉塞性動脈硬化症とビュルガー病)とは



慢性動脈閉塞症では、歩くと足が痛くなり、一度休まないと歩けない(間歇性跛行)、じっとしていても足が痛い(安静時疼痛)、手や足の皮膚が欠損する(潰瘍)・四肢の組織が壊死するといった症状が現れます。これらの症状は、からだの動脈が狭くなったり(狭窄)、閉塞したりする(つまる)ことによる循環障害が原因とされています。

慢性動脈閉塞症は、その多くが動脈硬化を主な原因とする閉塞性動脈硬化症ですが、なかには原因不明とされているビュルガー病(閉塞性血栓性血管炎)という厚生労働省に難病指定されている病気もあります。

慢性動脈閉塞症の症状



歩くと足が痛くなる



じっとしていても足が痛い



潰瘍や壊死

あんせい し とうつう かいよう え し へいそくせいどうみゃくこう か しょう
安静時疼痛や潰瘍・壊死をともなうような重症度の高い閉塞性動脈硬化症の患者さんの中でも薬物療法による効果が思わしくなく、手術療法が困難な患者さんに対しては、現状では標準的な治療法が確立されておらず、足を切断することになる場合も少なくない状況です。

3 現在行われている閉塞性動脈硬化症及びビュルガー病の治療法について

慢性動脈閉塞症の治療は、薬物療法と外科的治療があります。一般的に、長く歩くことができる間歇性跛行までの軽度症状に対しては、薬物療法での経過観察が選択されます。その後、症状が改善しない患者さん、または悪くなる患者さんでは、外科的治療が検討されます。特に、長く歩行することができない間歇性跛行、安静時疼痛または潰瘍・壊死の症状をもつ患者さんでは、血流を調べる画像検査や全身状態の精密検査を行ったうえで、外科治療が考慮されます。この外科的治療は、血行再建術といわれています。特に、大きな血管に対するバイパス手術が適用される場合は、血流回復の成功確率が高く、患者さんの満足度も高い治療法になっています。

一方、間歇性跛行、安静時疼痛または潰瘍・壊死の症状をもつ患者さんでは、放置すると肢切断に至る可能性が高く、血行再建術が必要ですが、下肢の動脈が広い範囲で狭くなったり、つまったりしていることがあります。このような患者さんでは、患者さんご自身の静脈を移植する積極的な血行再建術を行っており、足の関節領域の小さな動脈に対する移植も可能になっています。

また、血管が狭くなっていたり、つまっていたりしても、その距離が短い場合には、ステント（金属でできた網目状の筒状の医療機器）治療を行っています。複数部位の血流再開が必要とされる場合には、血行再建術とステント治療を併用することもあります。血行再建術が困難な患者さんに対しては、からだの末端の血管を拡張させる目的で胸やお腹の中の神経節をとる手術があり（胸部交感神経節切除術、腹部交感神経節切除術）、歩ける距離が長くなったり、痛みや潰瘍が治癒したり、症状の改善が期待できることがあります。

薬物治療で思うような効果を得ることができず、外科的治療も困難とされる患者さん、又は外科的治療が可能であっても、治療効果よりも手術リスクが高いと判断される慢性動脈閉塞症^{まんせいどうみゃくへいそくしやう}患者さんに対する治療法は、確立されていない状況です。

4 この臨床研究の目的

この臨床研究の目的は、AMG0001 による副作用があるかないか、多いか少ないか、重いか軽いかなどの安全性を調べることと、慢性動脈閉塞症^{まんせいどうみゃくへいそくしやう}患者さんの安静時に感じる痛みがなくなったり、足にできた潰瘍^{かいよう}が治ったりするかどうかを検討することです。

したがって、私たちは、もしあなたの同意が得られるならば、あなたの足の筋肉にAMG0001を注射することによるAMG0001の安全性を調べるとともに、AMG0001の効果により、足の痛みや潰瘍^{かいよう}を治すことができないか検討したいと考えています。

5 この臨床研究の意義

あなたの症状に対して、現在の症状を悪化させないために、血管を広げたり、血液を固まりにくくしたりする治療薬はありますが、十分な効果が得られませんでした。また、外科的治療も困難であるか、外科的治療が可能であっても、治療効果よりも手術リスクが高いと判断されています。

現在、慢性動脈閉塞症^{まんせいどうみゃくへいそくしやう}の安静時に感じる痛みをなくしたり、足にできた潰瘍^{かいよう}を治したりする治療薬がないことから、あなたの症状は更に悪化する可能性があります。あなたの足の切断を余儀なくされる事態も想定されます。

わたしたちは、慢性動脈閉塞症^{まんせいどうみゃくへいそくしやう}患者さんの安静時の痛みや潰瘍^{かいよう}症状を改善するこの新しい治療法を、広く医療現場に届けるために、この臨床研究を行います。

6 AMG0001 について

6.1 AMG0001 とは

AMG0001 は、日本で発見された肝細胞増殖因子^{かんさいぼうそうしょくいん し}(HGF と呼ばれています)

を用いた遺伝子治療薬です。AMG0001 には、血管を新しく作る作用があるため、慢性動脈閉塞症（まんせいどうみやくへいそくしょう 閉塞性動脈硬化症 へいそくせいどうみやくこうかしょう やビュルガー病）に対する新しい治療薬として開発されています。また、その他、心不全やリンパ浮腫（ふしゅ）を改善させる治療薬としても開発されています。

6.2 遺伝子治療とは

遺伝子治療とは、遺伝子から発現するたんぱく質の働きにより、病気を治す治療法です。この遺伝子は、ベクターという遺伝子を体内の細胞に導入する運び屋に組み込まれ、病気の原因となる部分に直接投与されます。また、患者さんから細胞を採取し、体の外で遺伝子を細胞内に導入し、患者さんの体内に戻すという方法もあります。

遺伝子治療は、せんてんてき 先天的な遺伝子疾患をはじめ、がんやエイズなどのさまざまな難病への治療法の一つとして期待されています。

なお、遺伝子治療とは、遺伝を担う精子や卵子などの生殖細胞（せいしよくさいぼう）を操作して遺伝に影響を与えるものではありません。

6.3 あなたに投与しようと考えている HGF について

この臨床研究は、HGF という遺伝子による遺伝子治療です。この臨床研究は、HGF 遺伝子が組み込まれたプラスミドというベクター（AMG0001）を、足の筋肉内に 8 カ所注射するものです。AMG0001 は、投与された筋肉の中で、HGF たんぱく質を作ります。HGF たんぱく質は、もともと肝臓の細胞を増やす力があることで注目され、発見されたものですが、その後の研究により、新しい血管を作ることが明らかになりました。ウサギやラットの実験では、新しい血管を生み出す作用が確認されています。

からだの外から導入された遺伝子が、からだの中で期待するたんぱく質を発現するためには、遺伝子が目的とする細胞の中に入らなければなりません。しかし、遺伝子だけは、細胞の中に入ることができないことから、細胞の中に遺伝子を送り届けるベクター（遺伝子の運び屋）が必要となります。この「遺伝子の運び屋」として、遺伝子を細胞内に運ぶ能力の高いウイルスベクターも選択できますが、

この臨床研究では、プラスミドと呼ばれる遺伝子^{かんじょう}を環状にしたベクターを使います。プラスミドベクターは、ウイルスベクターに比べ、遺伝子を細胞内に運ぶ能力は高くありませんが、筋肉細胞でのみ遺伝子が導入され、目的とするたんぱく質が発現できることが明らかにされています。一般的に、プラスミドベクターによる遺伝子治療は、ウイルスベクターを用いたものより、その安全性は高いことが知られています。

AMG0001 は、大阪大学医学部附属病院で実施された臨床研究の成果がアンジェス MG 社に移転され、開発が進められています。アンジェス MG 社は、その後の臨床試験で閉塞性動脈硬化症^{へいそくせいどうみゃくこう か しょう}とピュルガー病の安静時に感じる痛みや潰瘍^{かいよう}症状の改善を認めたと考えたことから、2008 年 3 月 27 日に規制当局への承認申請を行いました。しかし、この臨床試験でのデータが不足しているとの審査見解を受け、2010 年 9 月 17 日にこの承認申請を取り下げています。この臨床研究は、この不足データを補うための予備的なものとして位置づけられています。

このように、HGF による遺伝子治療は、現在、開発段階であり、その安全性が確実に証明されている段階ではありません。また、その効果も確実に証明されている段階にもありません。したがって、効果が出ることなく、また、効果が出たとしても症状が少しずつ悪くなる可能性もあります。この臨床研究の実施中に、あなたに発生したいかなる症状や徴候も担当医師に報告してください。また、担当医師の了解なしに、薬局で購入できる薬を含むいかなる薬も勝手に使用しないでください。また、遺伝子治療が予期できない長期的な影響^{しそん}を子孫に与えることが否定されていないことから、この臨床研究に参加している間は、避妊を行う必要があります。この臨床研究に参加する期間は、AMG0001 が投与されてから 24 か月であり、続けて現在の医師の診察を受けることはできますが、説明された各種の検査などを受ける期間は 24 か月に限定されています。また、不幸にして死に至った場合、遺伝子治療の性質に鑑み解剖^{かいぼう}の許可が求められることもあります。従って、近親者^{きんしんしゃ}に本試験に参加する際に解剖^{かいぼう}の許可につき相談されることをお勧めします。

6.4 ^{まんせいどうみゃくへいそくしょう}慢性動脈閉塞症に対する臨床試験の進捗状況

^{まんせいどうみゃくへいそくしょう}慢性動脈閉塞症（^{へいそくせいどうみゃくこう かしょう}閉塞性動脈硬化症やピュルガー病）の患者さんに対して、AMG0001 はこれまでに日本で3つ、米国で2つの臨床試験が行われ、日米であわせて160名以上の患者さんに投与された実績があります。その結果、足の潰瘍^{かいよう}や痛みなどに改善傾向がみられ、また、副作用についても、問題となる重大なものは認められませんでした。

AMG0001 は、まだ世界中どの国でも承認、販売には至っておりません。最近、同じような血管を新生する遺伝子治療である VEGF（血管内皮細胞増殖因子）遺伝子治療薬が下肢の^{まんせいどうみゃくへいそくしょう}慢性動脈閉塞症に対する治療薬として、ロシアで承認されました。

7 この臨床研究の方法

この臨床研究の詳しい内容についてご説明します。

この臨床研究について、十分にご理解をいただいたうえで、この臨床研究に参加することに同意いただけましたら、次に説明するスケジュール（表1）に従って、臨床研究が行われます。

7.1 AMG0001 の投与について

AMG0001の注射は開始日、およびその4週後に行います。2回目の注射から4週後に症状の変化を確認し、改善が認められない方には3回目の注射を行います。治療する患者さんの足の筋肉を超音波（エコー）で確認しながら、AMG0001を筋肉内に注入します。症状のある足に、1回あたり、AMG0001を 4.0 mg（0.5 mg/3 mL×8か所）の投与量で注射を行います。また、投与する筋肉が小さい場合には、AMG0001の投与量を2 mLに減じることもあります。

注射後しばらく（2時間程度）は安静を保ってください。この臨床研究期間中は、表1のスケジュールに従って、定期的に観察や検査を行いますので、指定の来院日には必ず来院し、所定の観察や検査を受けてください。





なお、この臨床研究期間中の血液検査では、1回あたり 20 mL～30 mL の採血を行い、全体の採血量は約 40 mL～60 mL になります。ただし、この採血以外に安全性を確保するために予定外の血液検査（採血）が行われることもあります。

（余白）

7.2 臨床研究のスケジュールについて

表 1 臨床研究の観察・検査項目

	前 観 察 期 間 開 始 前	前観察期間			AMG0001 2 回投与					追跡調査		予後調査
					試験治療期間		後観察期間					
					AMG0001 3 回投与							
					試験治療期間 (2)			後観察期間				
		週 / 月	1 週	2 週	投与前	1 週	4 週	8 週	12 週	中止時	6 箇月	12 箇月
日	-21 ～ -15	-14 ～ -1		0	21 ～ 35	49 ～ 63	77 ～ 91			168 ～ 196	350 ～ 378	700 ～ 756
文書同意取得	◎											
被験者背景		◎	◎									
症例登録 (1)		○		◎								
AMG0001 投与					◎	◎	◎					
バイタルサイン (3)		◎			◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	
理学的検査 (3)		◎			◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	
CTA/MRA 検査		◎						◎	◎			
ABI 測定		◎	◎					◎	◎	◎	◎	
Fontaine 分類		◎						◎	◎			
VAS 測定 (4)		◎	◎				◎	◎	◎	◎	◎	
かいよう 潰瘍測定 (5)		◎	◎				◎	◎	◎	◎	◎	

1: 同意取得後、仮症例登録を実施し、投与前に本登録を実施します。2: 治療期8週後において改善傾向が認められない場合には、更に3回目の投与を行います。3: 治療期1、4、8週の検査は、AMG0001投与前に実施します。4: 安静時に疼痛の症状がある方に実施します。5: 潰瘍が認められる方に実施します。

表 1 臨床研究の観察・検査項目（つづき）

	前 観 察 期 間 開 始 前	前観察期間			AMG0001 2 回投与					追跡調査		予後調査	
					試験治療期間		後観察期間						
					AMG0001 3 回投与								
					試験治療期間 (2)		後観察期間						
		週 / 月	1 週	2 週	投与前	1 週	4 週	8 週	12 週	中止時	6 箇月	12 箇月	24 箇月
日	-21 ～ -15	-14 ～ -1		0	21 ～ 35	49 ～ 63	77 ～ 91			168 ～ 196	350 ～ 378	700 ～ 756	
臨床検査		◎						◎	◎				
尿検査		◎						◎	◎				
腫瘍マーカー検査		◎						◎	◎				
便中ヘモグロビン		◎						◎	◎				
HIV 抗原・抗体検査		◎											
妊娠検査		◎											
胸部エックス線検査		◎											
腹部超音波検査		◎											
がんてい 眼底検査		◎											
心電図検査		◎						◎	◎				
血清 HGF 濃度測定		◎						◎	◎				
併用治療		← ◎ →											
有害事象					← ◎ →								

(1) 前観察期間の検査について

あなたに同意をいただいた後、この臨床研究を安全に行える状態かどうかなどを確認するために、あなたはこの臨床研究に仮登録されます。この仮登録後、2週間の前観察期間が開始され、所定の観察・検査を実施し、この臨床研究への適格性が判断されます。これによってこの臨床研究に参加できるかどうかを確認します（後述の「8. あなたがこの臨床研究の対象者として選ばれる条件」に書かれている条件に対する適格性について確認します）。

この適格性確認の結果、参加の基準に合わない場合には、この臨床研究に参加できないこともあります。

1) 問診内容

生年月日、過去にがんにかかったかどうかについて、喫煙歴、AMG0001の投与歴、他に^{かか}っている病気について、内服・点滴による治療薬の有無など

2) 検査項目

- a) バイタルサイン：体温、血圧、脈拍
- b) 理学的検査：視診、触診、聴打診
- c) 疾患状態の観察：CTA/MRA検査、ABI測定、Fontaine分類
- d) 疾患病変の観察：安静時^{とうつう}疼痛、病変計測（^{かいよう}潰瘍）
- e) 臨床検査：
 - 【血液学的検査】：白血球数、赤血球数、ヘモグロビン値、
ヘマトクリット値、血小板数、好中球、リンパ球、
単球、好酸球、好塩基球
 - 【血液生化学検査】：Na、K、Cl、Ca、P、BUN、尿酸、クレアチニン、
AST（GOT）、ALT（GPT）、 γ -GTP、ALP、LDH、
CK（CPK）、総コレステロール、中性脂肪、
総ビリルビン、総蛋白、アルブミン、グロブリン、CRP、
HbA1c、随時血糖

- 【その他検査】： HIV抗原・抗体検査、妊娠検査、血清HGF濃度、
腫瘍^{しゅよう}マーカー（PSA-ACT、CEA、AFP、CA19-9）
- f) 尿検査： 蛋白（定性）、糖（定性）、潜血（定性）、pH
- g) 便検査： 便中ヘモグロビン
- h) 一般検査： 胸部エックス線検査、腹部超音波検査、眼底検査、
心電図（12誘導）

以上の項目について、観察・検査を行いこの臨床研究への参加に問題がなければ、この臨床研究への本登録を行います。

（2） AMG0001投与期間中（臨床研究期間）の検査について

1) AMG0001の投与

AMG0001の投与は、「7.1 AMG0001投与について」でご説明したとおり、4週ごとに1日1回、合計2回、2回投与で改善が認められない場合には3回投与を行います。

2) バイタルサイン

AMG0001投与前に、体温、血圧、脈拍を測定します。3回目を投与されない方についても初回投与から8週目も確認します。

3) 理学的検査

AMG0001投与前に、視診、触診、聴打診により確認します。3回目を投与されない方についても初回投与から8週目も確認します。

4) 疾患病変の観察

投与開始から8週後に確認します。

（3） 投与終了後の検査について（後観察期間）

AMG0001の投与終了後は、投与開始から12週後又は臨床研究中止時に、以下の検査を実施します。

1) バイタルサイン

体温、血圧、脈拍

2) 理学的検査

視診、触診、聴打診

3) 疾患状態の観察

CTA/MRA検査、ABI測定、Fontaine分類

4) 疾患病変の観察

安静時疼痛^{とうつう}、病変計測^{かいよう}（潰瘍）

5) 臨床検査

血液学的検査、血液生化学検査、腫瘍^{しゅよう}マーカー（PSA-ACT、CEA、AFP、CA19-9）、血清HGF濃度

6) 尿検査

7) 便検査

8) 一般検査

心電図（12誘導）

(4) 投与終了後の検査について（追跡調査及び予後調査）

AMG0001の初回投与から6箇月後と12箇月後に、患者さんに来院いただき追跡調査を行います。

1) バイタルサイン

体温、血圧、脈拍

2) 理学的検査

視診、触診、聴打診

3) 疾患状態の観察

ABI測定

4) 疾患部位の観察

安静時疼痛^{とうつう}、病変計測^{かいよう}（潰瘍）

また、AMG0001の初回投与から24箇月後には、電話や手紙で、患者さんの

足の状態や、体の状態をお聞きする予後調査を行います。この予後調査では、必ずしも患者さんの来院は必要ありません。

8 あなたがこの臨床研究の対象者として選ばれる条件

あなたの症状に対して、現在の症状を悪化させないために、血管を広げたり、血液を固まりにくくしたりする治療薬はありますが、十分な効果が得られませんでした。また、外科的治療も困難であるか、外科的治療が可能であっても、治療効果よりも手術リスクが高いと判断されています。

現在、慢性動脈閉塞症^{まんせいどうみゃくへいそくしやう}の安静時に感じる痛みをなくしたり、足にできた潰瘍^{かいよう}を治したりする治療薬がないことから、あなたの症状は更に悪化する可能性があります。あなたの足の切断が余儀なくされる事態も想定されます。

あなたは、以下に示す基準を満たすことにより、この臨床研究の対象者として選ばれます。

8.1 この臨床研究に参加いただける基準

この臨床研究では、以下の条件の全てを満たす方を対象とします。

- (1) 臨床研究の参加について、本人の自由意思による文書同意が得られた方。
- (2) 同意された時の年齢が満20歳以上85歳未満の方。
- (3) AMG0001を投与する下肢の動脈^{せんだいたいどうみゃく}（浅大腿動脈^{しつかどうみゃく}、膝窩動脈^{しつか}又は膝窩下の動脈）に閉塞又は狭窄部位がある方。
- (4) AMG0001を投与する下肢の前観察期間の足関節血圧の平均値が70 mmHg又は上腕・足関節血圧比が0.6以下の方（ただし、ピュルガー病に関してはこの限りではありません）。
- (5) 血管の閉塞^{へいそく}や狭窄^{きやうさく}が原因と考えられる安静時疼痛^{とうつう}又は潰瘍^{かいよう}の症状がある方。
- (6) AMG0001を投与する下肢の血行再建術^{けっこうさいけんじゅつ}（血管内治療を含む）の適用が困難な方、又は血行再建術^{けっこうさいけんじゅつ}（血管内治療を含む）の適応が不可能ではないが、手術による危険が効果を上回ると判断される方。
- (7) 承認された内科的治療や処置が同意取得2週間以上前から行われ、同意取得後、同様の治療や処置を2週間以上継続しても、症状改善が認められな

い方。

- (8) 同意取得日からAMG0001の初回投与12週後まで精子通過阻止による避妊法（コンドームを使用）で避妊を行うことに同意された方。
- (9) 入院、外来の別は問いません。

ただし、上記の基準を満たしていても、以下の基準のいずれかにあてはまる方は、この臨床研究にご参加いただけません。

- (1) AMG0001を投与する足又は逆の足に壊死化している潰瘍^{えし}や腱^{かいよう}、又は骨が露出している潰瘍^{かいよう}のある方。
- (2) 同意する前90日以内にアルコール依存症又は薬物依存症と診断された方。
- (3) 今、がんにかかっている方、または過去にがんにかかったことのある方。
ただし、完治した皮膚の基底細胞癌^{きていさいぼうがん}は除きます。また、乳癌については同意する10年以上前に完治し、再発がない方、その他の悪性腫瘍^{あくせいしゅよう}については5年以上前に完治し、再発がない方は、この臨床研究に参加できます。
- (4) 重症の心疾患、腎疾患、血液疾患（「医薬品等の副作用の重篤度分類基準について」（平成4年6月29日）のグレード3）を合併している方。ただし、安定期慢性維持透析^{あんていき まんせいいいちもちとうせき}を行っている方は除く。
- (5) HIV抗原・抗体が陽性の方。
- (6) 同意する前90日以内に、AMG0001を投与する足又は逆の足の血行^{けっこう}再建術^{さいけんじゅつ}、切断術を受けた方（ただし、小切開、Necrotomy^{ねくろとみ}、抜爪^{ばつそう}などの局所処置は除く）。
- (7) 同意する前90日以内に、交感神経切除術又は交感神経ブロックを受けた方。
- (8) 抗菌剤^{こうきんざい}で制御が困難な侵襲性の感染症（骨髓炎^{こつすいえん}、蜂窩織炎^{ほうかしきえん}、リンパ管炎など）にかかっている方。
- (9) 未治療又は治療抵抗性の増殖性糖尿病性網膜症^{そうしよくせいとうにようびようせいもうまくしゅう}にかかっている方。または、新生血管型の加齢黄斑変性症^{か れいおうはんへんせいしゅう}にかかっている方。
- (10) 糖尿病性神経障害（広汎性左右対称性神経障害）にかかっている方。
- (11) 同意する前30日以内に他の未承認治療の臨床試験に参加していた方。ただし、未承認治療（薬剤又は機器）が実施されなかった場合を除く。

- (12) 過去に遺伝子治療を受けた方（ただし、AMG0001の投与を受けた方は除く）。
- (13) 妊婦、授乳期の女性、妊娠している可能性のある女性、又はこの臨床研究中に妊娠を希望する女性。
- (14) その他、この臨床研究担当医師がこの臨床研究の対象として不適当と判断した方。

9 この臨床研究の参加予定期間について

この臨床研究は、先進医療^{*1}の承認取得後、1年間の実施を予定しています。また、この臨床研究は以下の期間や調査から成り立っています。

前観察期間 : AMG0001投与開始前2週間

試験治療期間 : AMG0001投与開始後4週間（2回投与）又は8週間（3回投与）

後観察期間 : AMG0001最終投与後8週間（2回投与）又は4週間（3回投与）

後観察期間の終了（評価）：

AMG0001投与開始12週間後

追跡調査 : AMG0001投与開始6か月後及び12か月後

予後調査 : AMG0001投与開始24か月後

なお、AMG0001初回投与後24か月間は、あなたの病状の経過について調査を行います。また、その後も、病状などをお聞きすることがあります。

*1: 先進医療・・・厚生労働大臣が定める高度な医療技術などを用いた療養であって、保険給付の対象とすべきものであるか否かについて、適正な医療を効率的に評価することが必要な療養のこと。

10 この臨床研究への参加予定人数

この臨床研究は、神戸大学医学部附属病院を含め、複数の医療機関で実施され、合計6人の方に参加いただく予定です。

11 併用薬・併用療法または併用禁止薬・併用禁止療法について

この臨床研究に係る併用禁止および併用可能な治療法は以下のとおりです。治療の効果を判定するために影響があると考えられる治療を制限することもあります。また、この臨床研究の参加に同意するときに、禁煙指導が行われていることを確認するとともに、前観察期間から後観察期間終了までの約4か月間、喫煙状況を確認します。

- (1) ^{まんせいどうみゃくへいそくしょう}慢性動脈閉塞症（^{へいそくせいどうみゃくこう かしょう}閉塞性動脈硬化症及びビュルガー病）に対する治療

この臨床研究では、内科的治療を最低2週間以上（前観察期間）行っても症状の改善が認められない方を対象とすることから、前観察期間から継続する同一の内科的治療をAMG0001投与後も併用することが可能です。ただし、交感神経ブロックは、有効性の評価に影響を及ぼすことから、禁止としました。

- 1) 併用禁止
^{こうかんしんけい}交感神経ブロック

- 2) 併用可能
本疾患に対するすべての治療薬

前観察期間開始から、後観察期間が終了するAMG0001投与開始12週後まで、使用する併用薬剤の変更及び増量（1日平均使用量が1.5倍を超える増加）は行えません。

- (2) ^{まんせいどうみゃくへいそくしょう}慢性動脈閉塞症（^{へいそくせいどうみゃくこう かしょう}閉塞性動脈硬化症及びビュルガー病）に伴う^{かいよう}潰瘍に対する治療

フィブラストは、^{けっかんしんせいいんし}血管新生因子の製剤であり、AMG0001との相互作用が不明であるため併用禁止としました。^{かいよう}潰瘍に適応を有する他の薬剤の使用、感染の^{かひ}制御や痂皮（かさぶた）の除去等は併用を可能としました。

- 1) 併用禁止
フィブラスト

2) 併用可能

- 肉芽形成促進、組織修復、組織賦活作用のある外用剤
- 潰瘍部位の鎮痛を目的とした外用剤

前観察期間開始から、後観察期間が終了する AMG0001 投与開始 12 週後まで、使用する併用薬剤の変更及び増量（1 日平均使用量が 1.5 倍を超える増加）は行えません。

3) 制限なし

- 上記 2) 以外の潰瘍に対する薬剤、消毒液、ワセリン等の局所処置
- 潰瘍部位の感染制御及び感染予防のための抗菌剤
- 潰瘍部位に痂皮が形成されている場合の外科的・化学的デブリドマン

(3) 慢性動脈閉塞症（閉塞性動脈硬化症及びビュルガー病）に伴う安静時疼痛に対する治療

鎮痛剤の使用は、主要評価項目である安静時疼痛の評価へ直接影響しますが、「薬剤の変更及び増量をしない」という条件であれば評価は可能と考え、使用可能としました。ただし、硬膜外麻酔は評価に影響を及ぼすことから、併用を禁止しました。

1) 併用禁止

硬膜外麻酔

2) 併用可能

全ての鎮痛剤（頓用を含む）

前観察期間開始から、後観察期間が終了する AMG0001 投与開始 12 週後まで、使用する併用薬剤の変更及び増量は、治療上の必要性を認めない限り行えません。

(4) 外科的治療

血行再建術、切断術又は交感神経切除術が AMG0001 を投与する足の血行動態及び遺伝子発現に与える影響が不明なため、禁止としました。

1) 併用禁止

- AMG0001 を投与する足又は逆の足の^{けっこうさいげんじゅつ}血行再建術（血管内治療も含む）
- 切断術または^{こうかんしんけいせつだんじゅつ}交感神経切断術

(5) 併用注意薬または治療

有効性および安全性の評価に影響を及ぼす可能性があり、あなたの安全性確保も考え設定しました。

1) 併用禁止

開発中の未承認薬による治療および細胞移植などの未承認治療

12 AMG0001 投与の考えられる効果と危険性・不都合

12.1 考えられる AMG0001 投与の効果

HGF は医薬品として認可されていない開発中の遺伝子治療用医薬品です。

あなたの場合、下肢の切断が必要になるかもしれませんが、AMG0001 により足の切断が避けられるかどうかは、まだ明らかされていません。したがって、この臨床研究に参加することで、足の切断を避けられる保証はなく、この点の利益を得ることはないかもしれません。しかし、AMG0001 による遺伝子治療は、あなたの足の^{かいよう}潰瘍を治し、痛みをなくすかもしれません。

AMG0001 の開発企業であるアンジェス MG 社や大阪大学が国内で実施した AMG0001 の臨床試験において、^{あんせいじ どうつう}安静時疼痛や^{かいよう}潰瘍を有する^{へいそくせい どうみゃくこう か}閉塞性動脈硬化^{しょう}症やピュルガー病患者さんの症状を改善する効果が明らかにされてきています。

12.2 考えられる危険性と不都合

これまでに、足の^{まんせい どうみゃく へいそくしょう}慢性動脈閉塞症に対し、日本で 3 つ、米国で 2 つの AMG0001 の臨床試験が実施され、合計 160 名以上の患者さんに投与されています。これらの臨床試験で最も多く認められた副作用は、投与(注射)部位の^{とうつう}疼痛、CRP（体内に炎症が起きているときに血中に現れるたんぱく質）の上昇ですが、いずれも^{いっかせい}一過性で、その後回復しています。

また、AMG0001 投与後の長期間経過後に悪性腫瘍^{あくせいしゅよう}が数件みられましたが、専門医より AMG0001 との関連性は低いと判断されています。その他、重大な副作用は認められませんでした。AMG0001 臨床試験の副作用について、試験ごとに、表2～6に示します。

表2 大阪大学で実施された臨床試験における副作用一覧（対象 22 例）

副作用	発現例数	副作用	発現例数
注射部位疼痛 ^{とうつう}	13 例 (59.1 %)	投与部位反応	2 例 (9.1 %)
C－反応性蛋白増加	7 例 (31.8 %)	胸部圧迫感	1 例 (4.5 %)
白血球数増加	3 例 (13.6 %)	注射部位紅斑	1 例 (4.5 %)
注射部位出血	3 例 (13.6 %)	注射部位知覚異常	1 例 (4.5 %)
好酸球数増加	5 例 (22.7 %)	注射部位そう痒感	1 例 (4.5 %)
尿中ブドウ糖陽性	4 例 (18.2 %)	四肢不快感	1 例 (4.5 %)
発熱	4 例 (18.2 %)	毛包炎 ^{もうほうえん}	1 例 (4.5 %)
血中乳酸脱水素酵素増加	6 例 (27.3 %)	皮膚せつ（性器を除く）	1 例 (4.5 %)
血中乳酸脱水素酵素減少	1 例 (4.5 %)	発汗熱	1 例 (4.5 %)
尿中蛋白陽性	4 例 (18.2 %)	アルファ1フェトプロテイン増加	1 例 (4.5 %)
嘔気	2 例 (9.1 %)	血中アルカリホスファターゼ増加	2 例 (9.1 %)
リンパ球数減少	4 例 (18.2 %)	癌胎児性抗原増加	3 例 (13.6 %)
筋痛	1 例 (4.5 %)	血小板数減少	2 例 (9.1 %)
そう痒症	2 例 (9.1 %)	尿中血陽性	3 例 (13.6 %)
不整脈	1 例 (4.5 %)	末梢腫脹 ^{まつしやしゅちよう}	1 例 (4.5 %)
心筋虚血	3 例 (13.6 %)	接触性皮膚炎	1 例 (4.5 %)
視力低下	1 例 (4.5 %)	湿疹	1 例 (4.5 %)
歯髄炎	1 例 (4.5 %)	ほてり	2 例 (9.1 %)
悪寒	1 例 (4.5 %)	振戦 ^{しんせん}	1 例 (4.5 %)
血中リン酸塩減少	2 例 (9.1 %)	潜血陽性	3 例 (13.6 %)
胃炎	2 例 (9.1 %)	好中球数増加	1 例 (4.5 %)
単球数増加	3 例 (13.6 %)	十二指腸潰瘍 ^{かいよう}	2 例 (9.1 %)
網膜出血	2 例 (9.1 %)	萎縮性胃炎	2 例 (9.1 %)
胃粘膜びらん	2 例 (9.1 %)	胸痛	2 例 (9.1 %)
逆流性食道炎	2 例 (9.1 %)	胃の良性新生物	2 例 (9.1 %)
四肢痛	2 例 (9.1 %)	頻尿	2 例 (9.1 %)
脂肪腫	2 例 (9.1 %)	脳梗塞 ^{のうこうそく}	2 例 (9.1 %)
大脳動脈閉塞	2 例 (9.1 %)	下腹部痛	1 例 (4.5 %)
四肢動脈狭窄	2 例 (9.1 %)	熱感	1 例 (4.5 %)

表2 大阪大学で実施された臨床試験における副作用一覧（対象 22 例）つづき

副作用	発現例数	副作用	発現例数
裂孔ヘルニア	1 例（4.5 %）	アラニン・アミノトランスフェラーゼ増加	1 例（4.5 %）
倦怠感	1 例（4.5 %）	糖鎖抗原 19-9 増加	1 例（4.5 %）
前立腺特異性抗原増加	1 例（4.5 %）	脾臓の良性新生物	1 例（4.5 %）
背部痛	1 例（4.5 %）	大腿動脈狭窄	2 例（9.1 %）
けいれん 痙攣	1 例（4.5 %）		

表3 日本で実施された閉塞性動脈硬化症を対象とした第Ⅲ相臨床試験における副作用一覧（対象 41 例）

	AMG0001 群 (28 例)		プラセボ群 (13 例)	
	発現例数	発現率 (%)	発現例 数	発現率 (%)
全身障害および投与局所様態	5	17.9 %	1	7.7 %
注射部位疼痛	2	7.1 %	1	7.7 %
注射部位紅斑	1	3.6 %	0	0.0 %
注射部位浮腫	1	3.6 %	0	0.0 %
注射部位知覚異常	1	3.6 %	0	0.0 %
注射部位熱感	1	3.6 %	0	0.0 %
注射部位湿疹	1	3.6 %	0	0.0 %
注射部位出血	0	0.0 %	1	7.7 %
臨床検査	5	17.9 %	4	30.8 %
C-反応性蛋白増加	3	10.7 %	2	15.4 %
血圧上昇	1	3.6 %	1	7.7 %
好酸球数増加	1	3.6 %	1	7.7 %
アラニン・アミノトランスフェラーゼ増加	0	0.0 %	1	7.7 %
アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ増加	0	0.0 %	1	7.7 %
血小板数増加	0	0.0 %	1	7.7 %
胃腸障害	4	14.3 %	0	0.0 %
結腸ポリープ	3	10.7 %	0	0.0 %
逆流性食道炎	1	3.6 %	0	0.0 %
心臓障害	1	3.6 %	0	0.0 %
心室性期外収縮	1	3.6 %	0	0.0 %

表3 日本で実施された閉塞性動脈硬化症を対象とした第Ⅲ相臨床試験における
副作用一覧（対象41例）つづき

	AMG0001 群 (28 例)		プラセボ*群 (13 例)	
	発現例数	発現率 (%)	発現例数	発現率 (%)
感染症および寄生虫症	1	3.6 %	0	0.0 %
副鼻腔炎	1	3.6 %	0	0.0 %
筋骨格系および結合組織障害	1	3.6 %	1	7.7 %
四肢痛	1	3.6 %	0	0.0 %
筋痛	0	0.0 %	1	7.7 %
良性、悪性および詳細不明の新生物 (嚢胞 ^{のうほう} およびポリープを含む)	1	3.6 %	0	0.0 %
前立腺癌	1	3.6 %	0	0.0 %
神経系障害	1	3.6 %	0	0.0 %
神経痛	1	3.6 %	0	0.0 %
腎および尿路障害	1	3.6 %	0	0.0 %
膀胱穿孔	1	3.6 %	0	0.0 %
皮膚および皮下組織障害	1	3.6 %	1	7.7 %
皮膚嚢腫 ^{のうしゅ}	1	3.6 %	0	0.0 %
そう痒症	0	0.0 %	1	7.7 %
血液およびリンパ系障害	0	0.0 %	1	7.7 %
貧血	0	0.0 %	1	7.7 %
肝胆道系障害	0	0.0 %	1	7.7 %
肝機能異常	0	0.0 %	1	7.7 %
血管障害	0	0.0 %	1	7.7 %
ほてり	0	0.0 %	1	7.7 %

* プラセボ： 見た目が AMG0001 と同じですが、効果のない偽薬^{ぎやく}のことを言います。
患者さんも医師も AMG0001 とプラセボのどちらを投与したかわかりませ
るので薬の評価をより客観的なものにします。

（余白）

表4 米国で実施された閉塞性動脈硬化症を対象とした第Ⅱ相臨床試験における副作用一覧（対象 104 例）

事象名 (器官別大分類／基本語)	プラセボ 26 例 (%)	AMG0001 0.4 mg × 3 26 例 (%)	AMG0001 4.0 mg × 2 25 例 (%)	AMG0001 4.0 mg × 3 27 例 (%)
目障害				
視神経萎縮 ^{いしゆく}	0	1 (3.8 %)	0	0
霧視 ^{きし}	0	1 (3.8 %)	0	0
網膜静脈血栓症	1 (3.8 %)	0	0	0
胃腸障害				
悪心	0	0	1 (4.0 %)	0
直腸ポリープ	0	1 (3.8 %)	0	0
全身障害および投与局所様態				
注射部位内出血	0	0	1 (4.0 %)	0
注射部位紅斑 ^{こうはん}	1 (3.8 %)	0	0	0
注射部位出血	0	0	0	1 (3.7 %)
注射部位疼痛 ^{とうつう}	1 (3.8 %)	1 (3.8 %)	1 (4.0 %)	1 (3.7 %)
注射部位腫脹 ^{しゅちやう}	1 (3.8 %)	0	0	0
末梢性浮腫 ^{しゆしゆ}	0	1 (3.8 %)	0	3 (11.1 %)
代謝および栄養障害				
食欲不振	0	0	0	1 (3.7 %)
筋骨格系および結合組織障害				
関節痛	0	1 (3.8 %)	0	0
筋痙縮 ^{きんけいしゆく}	0	0	1 (4.0 %)	0
四肢痛	0	1 (3.8 %)	2 (8.0 %)	0
顎関節症候群	0	1 (3.8 %)	0	0
神経系障害				
錯感覚	0	1 (3.8 %)	0	1 (3.7 %)
腎および尿路障害				
蛋白尿	0	1 (3.8 %)	0	0
傷害、中毒および処置合併症				
挫傷	0	0	1 (4.0 %)	0
良性、悪性および詳細不明の新生物（嚢胞 ^{のうほう} およびポリープを含む）				
結腸癌	1 (3.8 %)	0	1 (4.0 %)	0

表5 米国で実施された閉塞性動脈硬化症を対象とした追加第Ⅱ相臨床試験における副作用一覧（対象 27 例）

事象名 (器官別大分類)	発現例数および発現率		
	安全性評価対象		
	プラセボ群 6 例	AMG0001 群 21 例	合計 27 例
全身障害および投与局所様態			
注射部位内出血	1 (17 %)	1 (5 %)	2 (7 %)
注射部位不快感	0	2 (10 %)	2 (7 %)
注射部位血腫	0	1 (5 %)	1 (4 %)
注射部位疼痛	0	1 (5 %)	1 (4 %)
浮腫	0	1 (5 %)	1 (4 %)
臨床検査			
LDH 増加	1 (17 %)	0	1 (4 %)

表6 日本で実施されたバージャー病を対象とした一般臨床試験における副作用一覧（対象 10 例）

事象名	発現例数	発現率(%)
注射部位疼痛	1	10.0 %
末梢性浮腫	1	10.0 %
アラニン・アミノトランスフェラーゼ増加	1	10.0 %
血中クレアチンホスホキナーゼ増加	1	10.0 %
血中カリウム増加	1	10.0 %
白血球数減少	1	10.0 %
食道扁平上皮癌	1	10.0 %

これらの副作用に加え、AMG0001 の作用から次の事象があらわれる可能性は否定されていません。

(1) がんの発生

正常な細胞が AMG0001 を取り込むことによりがんになる可能性は否定されていません。また、AMG0001 によって作られた HGF たん白質が、検査でも見

つからないような微小ながんを発育させる可能性も否定はできないことをご理解ください。

(2) その他

AMG0001 の投与とは直接関係ありませんが、検査の際、注射に伴う細菌などによる感染、注射部位の痛み、出血、造影剤によるアレルギー反応（嘔吐、熱、発疹）などがおこる可能性は否定できません。

なお、これまでに記載した副作用や有害事象以外の副作用が発生する可能性があります。この臨床研究の担当医師は、これらの好ましくない事象に迅速に対応するため、あなたの身体に起こることを注意深く観察します。もし、あなたのお身体に何らかの異常を感じたときは、いつでもご遠慮なくお知らせください。

12.3 有害事象への主な対処法

(1) 投与したところの疼痛^{とうつう}

痛み・かゆみ、または紅斑^{こうはん}、浮腫^{ふしゅ}などの炎症症状に対しては必要に応じて内服薬や外用薬による治療を行います。局所感染症状が生じたときには、必要に応じて感染拡大を防止するために抗生剤を使用して治療します。

注射手技に対する疼痛^{とうつう}が、高頻度に認められたことから、投与前後の疼痛対策^{とうつう}として、必要に応じて、投与前に穿刺予定部位にキシロカインゼリーなどで表面麻酔を行います。注射時の疼痛^{とうつう}の程度により痛みが長引くと判断される場合は、鎮痛剤（ボルタレンやロキソニンなど）とともに、必要に応じて健胃散を使用します。

(2) 投与に伴う感染症

注射に伴う感染症に対しては、経過観察しながら、必要に応じて抗生剤、抗ウイルス剤、抗真菌剤で治療します。

(3) その他の注射部位反応（紅斑^{こうはん}、浮腫^{ふしゅ}、知覚異常、熱感、湿疹、出血など）

注射による、紅斑^{こうはん}、浮腫^{ふしゅ}、知覚異常、熱感、湿疹、出血などの局所反応に対し

では、経過を観察しながら、対症療法^{たいししょうりょうほう}を行います。

刺激感・疼痛^{とうつう}に対しては、必要に応じて除痛措置を行い、出血に対しては止血処置を行います。また、局所の皮膚症状については、必要に応じて、皮膚科専門医の診察を受けていただきます。

(4) 血液検査におけるCRP及びLDHの上昇

これまで一過性で、その後回復しているCRP及びLDHの上昇が認められています。これらの事象が発生した場合は、経過観察しながら、必要に応じて、これらの異常変動を起こしている原因に対する治療を行います。

(5) その他の有害事象

これまで多くの軽度な事象が低頻度で認められていますが、多くの事象が一過性で回復していることから、経過を観察しながら、必要に応じて薬物治療を行います。

13 この臨床研究の中止について

以下に示す事態が生じたときは、あなたのこの臨床研究への参加を中止します。

- (1) この臨床研究の実施方法を守ることが不可能となった場合。
- (2) この臨床研究を開始した後でも、あなたから、この臨床研究への参加同意を撤回する申し出があった場合。その意向を尊重し、以後の臨床研究を中止します。
- (3) 症状の悪化又は有害事象（合併症の悪化を含む）の軽快・回復が認められないことにより、あなたの安全性確保の面からこの臨床研究の継続が困難と判断される場合。

症状の悪化及び有害事象については、以下の場合が想定されます。

- ・ 症状の悪化： 投与対象肢の大切断
- ・ 有害事象（合併症の悪化を含む）：

重篤な心疾患、肝疾患、腎疾患、血液疾患等

このような状態の場合は、速やかに適切な処置を行うとともに、必要に応

じて追加検査を実施し、あなたの安全が確認できるまで処置を継続します。

- (4) 前観察期間において、禁止されている併用薬・併用療法を受けた場合。
- (5) この臨床研究に登録された後、あなたがこの臨床研究に参加する条件を満たしていなかったことが判明した場合。
- (6) この臨床研究に関連する重大な安全性に関する問題の発生などにより、この臨床研究全体を中止する場合。

このような場合は、出来る限り早く、あなたにお知らせし、この臨床研究への参加を中止します。

その他、この臨床研究責任者が、この臨床研究参加を中止することが適切だと判断した場合、あなたの臨床研究への参加を中止します。

14 臨床研究に参加された場合のカルテなどの調査について

あなたの人権が守られながら、この臨床研究が適正に行われているかどうかを確認するために、この臨床研究の関係者^{*1}があなたのカルテなどの医療記録を見ることがあります。ただし、その場合でもあなたの個人情報に関係者以外の人に漏れることはありません。厚生労働省などの当局関係者以外の外部の関係者とは、個人情報を保護するために適切な契約を締結し、あなたの個人情報の保全に努めます。厚生労働省などの当局関係者は、職務上、守秘義務を負っていますので、あなたの個人情報は保全されます。

この臨床研究に参加することに同意された場合は、あなたの医療記録をこの臨床研究の関係者が見ることについて、承諾していただいたことになりますのでご了承ください。

また、この臨床研究で、期待される効果と安全性が認められた場合は、AMG0001の開発企業であるアンジェス MG 社または他の企業がこの治療法を広く普及させるために、この臨床研究の成果を活用し、引き続き開発を進めることになることが予想されます。このような場合でも、この臨床研究の成果は、個人情報保護された形で、開発企業に引き継がれ、あなたの個人情報は保護されますので、ご安心ください。

なお、あなたが他院を受診された場合、当院よりこの臨床研究に参加していることを他院の主治医にお知らせすることがあります。また、他院におけるあなたの診療情報をご提供いただくことがありますので、ご了承下さい。その際には、あらためてあなたに連絡させていただきます。

＊1: 臨床研究の関係者・・・病院の職員、遺伝子治療臨床研究審査委員会の委員、厚生労働省などの当局関係者、AMG0001 開発企業のアンジェス MG 株式会社の担当者、及びこの臨床研究業務を行う CRO^{*2} の担当者

＊2: CRO・・・かいはつぎょう むしゅたく きかん 開発業務受託機関（Contract Research Organization の略）。医薬品の開発段階での臨床試験などに係る業務の一部又は全部を委託され、実施する機関のこと。

15 この臨床研究への参加同意の任意性と同意撤回の自由について

この臨床研究の説明を担当医師から聞いた上で、臨床研究に参加するかどうかをあなたの自由な意思で決めてください。たとえ参加されなくても今後の治療や診療に不利益になることはありません。あなたの自由意思により、同意書にご記名・捺印またはご署名いただいた場合にのみ、この臨床研究を行います。



また、この臨床研究の実施中に新しい情報が得られたときには、必ずあなたにお知らせします。

そして、この臨床研究に参加することに同意していただいた後でも、この臨床研究が開始されてからでも、あなたが同意の撤回をしたいときは、いつでも自由に撤回することができます。同意の撤回の時は、お渡ししている同意撤回書にご記名・捺印、又はご署名のうえ、この臨床研究の担当医師にご提出ください。また、同意を撤回されても、それにより不利益を受けることはなく、現在行われている標準的な最善の治療を行います。なお、同意を撤回される場合も、できる限

り、この臨床研究の担当医師と面談のうえ、その後の治療法などについて説明を受けてください。

16 他の治療方法について

一般的に、血管を拡張する方法（血管拡張^{けっかんかくちようじゅつ}術）、静脈移植や人工血管を使った手術により血流を増やし、安静時に感じる痛みをなくしたり、足にできた潰瘍^{かいよう}を治しますが、あなたの足はこのような方法を受けることができないか、できるとしても治療の治療効果よりも手術リスクが高いと判断される状況です。

また、血管を拡張したり、血小板の凝集^{ぎようしゅう}を防いだりする薬はありますが、あなたの症状は改善されませんでした。

したがって、あなたの症状を安全に改善する標準的な治療法は存在しない状況です。

この臨床研究では、一部の併用禁止薬剤を除いて、これらの薬の投与を中止することなく、これまでの最善の治療法を継続した状態で、AMG0001 による遺伝子治療を行います。

17 個人情報の保護

この臨床研究の成果は、今後、一般的な新しい治療法として国などの認可を得るために使用されたり、医学雑誌などに発表されたりすることがありますが、その際に、あなたのお名前や身元などが明らかになったり、あなたやあなたのご家族の個人情報が外部に漏れることがないようにしています。あなたもしくは代諾者の方が希望されれば、他に試験に参加される方の個人情報やこの臨床研究の成果に支障がでない範囲で、この臨床研究の計画や方法についての資料を見ることができます。



また、あなたがこの治療に参加されることを承諾されますと、あなたの人権が守られながら、この臨床研究が適正に行われているかどうかを確認するために、この臨床研究の関係者があなたのカルテなどの医療記録を見ることがありますが、これらの人達は、法律上の守秘義務があり、あなたやあなたのご家族の個人情報が外部に漏れることがないようにしています。

この臨床研究に参加することに同意された場合は、あなたの医療記録をこの臨床研究の関係者が見ることについて、承諾していただいたこととなりますのでご了承ください。

詳しくは、「15 この臨床研究への参加同意の任意性と同意撤回の自由について（28～29 ページ）」の項で述べていますので、ご参照ください。

18 臨床研究結果の開示・公表

この臨床研究では、その性格上、研究成果（効果と危険性や不都合）が直接患者さんの利益・不利益と関わっています。したがって、あなたの臨床研究の結果から得られた種々の情報に関しては、あなた本人に対し説明いたしますが、第三者からの要求に対して、患者さんから得られた情報を開示することはありません。ただし、臨床研究の結果、得られた成果は医学上、貴重な知見ですので、この臨床研究に参加された方々の個人情報が明らかにならないようにしたうえで、学会、学術雑誌、データベース上で公開されたり、他の機関に結果を提供したりする場合があります。

その際に、あなたのお名前や身元などが明らかになるようなことはありませんし、あなたやあなたのご家族の個人情報が外部に漏れる心配は一切ありません。

19 この臨床研究の資金源と費用負担

この臨床研究に関連する費用の内、AMG0001 及び臨床試験業務委託費用は、AMG0001 の提供企業であるアンジェス MG 株式会社が負担します。その他この臨床研究に係る費用は、神戸大学大学院医学系研究科内科学講座・循環器内科学分野への公費及び奨学寄附金の資金を使用します。この臨床研究に関する部分の費用で、あなたご自身にご負担いただくことはありません。

もし、費用のことで、ご心配やわからないことがあれば、いつでもこの臨床研究の担当医師に相談してください。

20 この臨床研究の利益相反について

この臨床研究に係る統括責任者、臨床研究分担医師及びアンジェスMG株式会

社とこの臨床研究との利害関係については、神戸大学内において確認され、公平性を維持しています。

アンジェス MG 株式会社の本臨床研究に係る役割は、試験物 AMG0001、AMG0001 の開発情報及び本臨床研究の業務委託費用の提供であり、本臨床研究のデータを取扱う業務及び品質管理・品質保証業務には関与いたしません。

21 臨床研究から生じる知的財産権について

この臨床研究の結果として生じる知的財産権や著作権は、臨床研究に参加された患者さんではなく、大阪大学と研究チームに属します。

22 臨床研究組織と研究期間について

この臨床研究は、神戸大学医学部附属病院循環器内科 教授 平田健一を中心とするこの研究のチームメンバーが、神戸大学医学部附属病院において、研究開始日から 1 年間行います。チームメンバーは必要に応じ増減することがあります。

また、この臨床研究は、多施設共同研究として実施され、大阪大学はその中心となり、この臨床研究全体を統括します。この臨床研究全体の統括責任者も大阪大学医学部附属病院老年・高血圧内科 教授 楽木宏実です。

23 健康被害が発生した場合の補償について

この臨床研究が原因で、あなたが何か異常を感じた場合は、速やかに担当医師にご連絡ください。最善の処置を提供します。

「補償」とは、この臨床研究の実施計画どおりに行われ、神戸大学医学部附属病院の過失がなくとも、この臨床研究で起こった健康被害や不具合などの被害に対して、神戸大学医学部附属病院が患者さんに無償で治療提供したり、その他の費用などを負担したりすることです。

研究グループのスタッフや、神戸大学医学部附属病院の過失による健康被害や不具合などの被害に対する「賠償」とは異なります。

この臨床研究では、保険会社が提供する補償保険に加入しており、この臨床研究で起こった健康被害や不具合などの被害に対応しています。補償の受け方や、

条件については「臨床研究における健康被害補償の概要」をご覧ください。

24 臨床研究期間終了後の対応

臨床研究期間が終了した後も、可能な限り、通院を続けていただくことにより、副作用などが起こっていないか、あなたの健康状態について観察を続けます。また、体調の不良などが起こった場合は、いつでもこの臨床研究の担当医師にご連絡下さい。

他の医療機関を受診した場合、この臨床研究とは関係のない病気で受診したとしても、この臨床研究を神戸大学医学部附属病院で受けたことを、受診先の病院の主治医にお伝えしてください。

25 参加に伴い守っていただきたい事項

あなたが、この臨床研究に参加している間は、次のことをお守りください。



- (1) 検査・診察日には、必ず受診してください。万が一、受診できない場合は、必ず担当医師にご連絡ください。
- (2) AMG0001 は、胎児に対する安全性が十分に確認されていません。したがって、この臨床研究に同意いただいた日から、必ず^{ひにん}避妊（コンドームなど有効な方法）してください。このことに同意いただけない場合は、この臨床研究に参加できません。また、万が一、この臨床研究中に避妊しなかった場合は、担当医師にご連絡ください。
- (3) AMG0001 の注射を受けた後しばらく（2時間程度）は、安静を保ってください。また、注射部位のマッサージは行わないでください。何か体に異常を感じましたら、ご遠慮なく、すぐに担当医師にお知らせください。
- (4) 他院（当院の他の診療科も含む）を受診されている場合には、この臨床研究の担当医師にお伝えください。また、他院を受診される場合には、この臨床研究に参加していることを、他院の医師にもお伝えください。
- (5) 他の病院（他の診療科）からもらった薬、薬局・売店などで購入した薬を

使用する場合には、この臨床研究の担当医師または相談窓口にご相談ください。

- (6) あなたがこの臨床研究に参加する前に行っている治療法は、やめる必要はありませんが、新たな治療は行わないでください。治療に関しては担当医師の指示に従ってください。

26 担当医師への連絡

この臨床研究について、心配なことや、わからないこと、何か異常を感じられた時は、いつでも遠慮なく担当医師に申し出てください。

研究機関	名 称：	神戸大学医学部附属病院
	所在地：	神戸市中央区楠町7丁目5-2
実施診療科（部）	循環器内科	
臨床研究責任者 職名・氏名	教授（科長）	平田 健一
担当医師 職名・氏名	准教授	新家 俊郎
連絡先電話番号	078-382-5846（循環器内科）	
時間外*3 緊急連絡先	078-382-5111 または 078-382-6510	
	対応する事務担当者に「循環器内科の当直医師」	
	へ連絡したい旨をお伝えください。	

*3: 時間外・・・平日 11:00～17:15 は、078-328-511 に、
平日 17:15～翌 8:30 及び土日祝日は、078-382-6510
におかけください。

苦情の受付先	名 称：	神戸大学医学部附属病院
	所在地：	神戸市中央区楠町7丁目5-2

連絡先電話番号：078-382-5111（代表）

同意を撤回される場合も、上記の担当医師に、ご連絡ください。

27 この臨床研究の開示

この臨床研究の詳細については、以下のホームページ内に公表しており、いつでも自由に見ることができます。

大学病院医療情報ネットワーク（UMIN）内の UMIN 臨床試験登録システム
（<http://www.umin.ac.jp/ctr/index-j.htm>）

別紙様式第 1

遺伝子治療臨床研究実施計画申請書

平成 27 年 2 月 26 日

厚生労働大臣 殿

実施施設	所在地	佐賀市鍋島五丁目 1 番 1 号 (郵便番号: 849-8501)
	名称	佐賀大学医学部附属病院 (電話番号: 0952-31-6511)
	代表者 役職名・氏名	佐賀大学医学部附属病院 病院長 森田 茂樹 (職印)



下記の遺伝子治療臨床研究について、別添の実施計画に対する意見を求めます。

記

遺伝子治療臨床研究の課題名	統括責任者の所属・職・氏名
慢性動脈閉塞症（閉塞性動脈硬化症及びびュルガー病）を 対象とした AMG0001 の筋肉内投与による遺伝子治療	佐賀大学医学部附属病院 循環器内科 教授 野出 孝一

遺伝子治療臨床研究実施計画概要書

平成27年 2 月 26 日

(申請年月日)

研 究 の 名 称	慢性動脈閉塞症(閉塞性動脈硬化症及びビュルガー病)を対象とした AMG0001 の筋肉内投与による遺伝子治療
研 究 実 施 期 間	先進医療Bの承認取得日から1年間

総括責任者	所属部局の所在地	佐賀市鍋島五丁目1番1号	
	所属機関・部局・職	佐賀大学医学部附属病院 循環器内科 教授	
	氏 名	野出 孝一	(印)
実施の場所	所 在 地	佐賀市鍋島五丁目1番1号	
	名 称	佐賀大学医学部附属病院	
	連 絡 先	佐賀大学医学部附属病院 循環器内科 佐賀市鍋島五丁目1番1号 (郵便番号 849-8501) 電話番号 0952-31-6511	
統括責任者以外 の研究	氏 名	所属機関・部局・職	役 割
	尾山 純一	佐賀大学医学部先端心臓病学講座 教授	患者の選定、患者への説明及び 同意の取得、臨床観察、効果判定
	下村 光洋	佐賀大学医学部附属病院 循環器内科 助教	患者の選定、患者への説明及び 同意の取得、臨床観察、効果判定
外 の 研 究 者	樋渡 敦	佐賀大学医学部附属病院 循環器内科 助教	患者の選定、患者への説明及び 同意の取得、臨床観察、効果判定
	南野 徹	新潟大学医歯学総合病院・ 循環器内科・教授	多施設共同臨床研究における 協力実施医療機関の総括
	古森 公浩	名古屋大学医学部附属病院・ 血管外科・教授	多施設共同臨床研究における 協力実施医療機関の総括
	樂木 宏実	大阪大学医学部附属病院・ 老年・高血圧内科 教授	多施設共同臨床研究における全体の 総括
	平田 健一	神戸大学医学部附属病院・ 循環器内科・教授	多施設共同臨床研究における 協力実施医療機関の総括
	種本 和雄	川崎医科大学附属病院・ 心臓血管外科・教授	多施設共同臨床研究における 協力実施医療機関の総括

外部 協力 者	佐田 政隆	徳島大学病院・ 循環器内科・教授	多施設共同臨床研究における 協力実施医療機関の総括
	檜垣 實男	愛媛大学医学部附属病院・ 腎臓・高血圧内科・教授	多施設共同臨床研究における 協力実施医療機関の総括
	山田 英	アンジェス MG 株式会社・ 代表取締役社長	AMG0001 の提供、品質試験の実施、 AMG0001 の品質、非臨床、 臨床データなどの情報提供

審 査 委 員 会 が 研究計画の実施を 適 当 と 認 め る 理 由	当該遺伝子治療臨床研究は、「遺伝子治療臨床研究に関する指針 [平成 14 年 3 月 27 日文科科学省・厚生労働省告示 1 号（平成 16 年 12 月 28 日全部改正、平成 20 年 12 月 1 日一部改正）]」の必要な条件を満たしていると認める。 当該遺伝子治療臨床研究の対象、遺伝子治療用医薬品である AMG0001、試験デザイン、及び評価項目等は、大阪大学医学部附属病院で過去に実施した「HGF 遺伝子プラスミドを用いた末梢性血管疾患（慢性閉塞性動脈硬化症・ピュルガー病）の治療のための遺伝子治療臨床研究」、並びに当該成果を活用してアンジェス MG 株式会社が国内で実施した「AMG0001 の閉塞性動脈硬化症を対象としたプラセボ対照無作為化二重盲検比較試験」及び「AMG0001 のピュルガー病を対象とした一般臨床試験」を踏襲している。また、これらの遺伝子治療臨床研究は、事前に AMG0001 の品質及び安全性についての厚生労働大臣の確認・了承を得たうえで実施され、既存療法抵抗性患者の症状を改善する効果が示唆され、その安全性については問題ない結果が得られている。 当該遺伝子治療臨床研究については、これまでに実施された遺伝子治療用医薬品 AMG0001 と同一薬を用い、上記の遺伝子治療臨床研究の内容から特段新規性を認めるものではなく、今後の開発の参考となるデータ取得を目的として実施されるものである。 以上より、当該遺伝子治療臨床研究の実施は妥当であると認める。		
	審査委員会の長の職名		氏名
	佐賀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 血液・呼吸器・腫瘍内科 教授		木村 晋也 

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	当該遺伝子治療臨床研究では、代替治療が困難な慢性動脈閉塞症（閉塞性動脈硬化症又はビュルガー病）患者を対象に、AMG0001 を虚血肢の筋肉内に局所投与し、安静時疼痛（Fontaine 分類 III 度）及び潰瘍（Fontaine 分類 IV 度）の治療効果及び安全性を探索的に検討することを目的とする。 AMG0001 は、大阪大学により創成された血管新生促進作用を有する難治性の虚血性疾患治療薬である。大阪大学医学部附属病院において、AMG0001 を用いた末梢性血管疾患（慢性閉塞性動脈硬化症・ビュルガー病）を対象とした遺伝子治療臨床研究が 22 例で実施された。その結果、当該疾患に対する有効性が示唆され、安全性に関しても臨床問題となる副作用は認められなかった。その後の開発は、アンジェス MG 株式会社（本社：大阪府茨木市、以下「アンジェス社」）により実施されている。 アンジェス社では、2008 年 3 月 27 日に「重症虚血肢（安静時疼痛、潰瘍）を有する閉塞性動脈硬化症・ビュルガー病」を効能及び効果として製造販売承認申請した。当該承認申請における有効性を示す主たる臨床試験として、「閉塞性動脈硬化症を対象としたプラセボ対照無作為化二重盲検比較試験」が実施され、安静時疼痛及び潰瘍症状の改善効果が認められた。 臨床試験のデータ不足ということでアンジェス社は 2010 年 9 月 17 日に当該製造販売承認申請を取下げた。 以上の経緯から AMG0001 はいまだ薬事承認に至っていないが、これまでの臨床試験の結果からは、安静時疼痛及び潰瘍の改善効果が得られることは十分に期待できると考えられる。しかし現在、アンジェス社では、海外での追加第 III 相臨床試験の準備中であり、国内で臨床試験を企業として実施する方針は当面ないという状況である。よって、今回、医師が主導する形で当該遺伝子臨床研究を実施し、AMG0001 の末梢性血管疾患に対する安静時疼痛及び潰瘍改善効果を再検討することで、今後の開発の参考となるデータを得ることを目指すこととなった。	
対象疾患及びその選定理由	当該遺伝子治療臨床研究では、薬物治療抵抗性で、外科的治療の適用が困難な慢性動脈閉塞症（閉塞性動脈硬化症又はビュルガー病）患者のうち、安静時疼痛（Fontaine 分類 III 度）又は潰瘍（Fontaine 分類 IV 度）を有する CLI 患者が対象となる。当該 CLI 患者においては、QOL が著しく損なわれ、生命予後も不良であることが報告されている。 特に、薬物治療抵抗性で、外科的治療の適用が困難な CLI 患者では、標準治療が確立しておらず、新規治療法の開発が期待されている。 以上のことから、安静時疼痛（Fontaine 分類 III 度）又は潰瘍（Fontaine 分類 IV 度）を有する薬物治療抵抗性で、外科的治療の適用が困難な慢性動脈閉塞症（閉塞性動脈硬化症又はビュルガー病）患者を当該遺伝子治療臨床研究の対象疾患として選定することは妥当であると考えている。	

遺伝子の種類及びその導入方法	AMG0001 は、Invitrogen (米国インビトロジェン) が製造しているプラスミド DNA ベクターである pVAX1™ を基本骨格としている。pVAX1™ の主な用途は DNA ワクチンであり、高い遺伝子導入効率及び遺伝子発現効率を意図しているのみならず、不要の配列を極力排除することで、プラスミドが宿主染色体に取り込まれることや、他の細胞内エレメントとの作用がないよう考慮されている。pVAX1™ はサイトメガロウイルス由来のプロモーター及びエンハンサー領域を有しており、その下流に組み込まれたヒトの HGF 遺伝子 (cDNA) は、導入された細胞において強力に発現し、HGF たん白質が安定して産生される。また、HGF 遺伝子の下流にはウシ成長ホルモン遺伝子由来のポリ A 付加シグナルが存在し、HGF mRNA の安定性、ひいては HGF たん白質の発現を向上させる働きがある。ヒト HGF cDNA 以外に新たに挿入された連結部分の塩基配列についても、有害塩基配列やヒト遺伝子との相同性の高い配列は含まれていない。 遺伝子導入方法は、以前アンジェス MG 社により実施されたパージャーマ病を対象とした一般臨床試験に準拠し、AMG0001 を日局生理食塩液で希釈し、対象肢の虚血部位に対して 1 部位あたり 0.5 mg ずつ 8 部位 (合計 4.0 mg) に筋肉内投与する。投与は 4 週間の間隔をあけて 2 回行う。治療期 8 週間において改善傾向が認められない場合には、更に 3 回目の投与を実施する。有効性及び安全性の評価は、AMG0001 の 1 回目投与 12 週間後に行う。
安全性についての評価	様々な動物種を用いて実施した AMG0001 の毒性試験 (単回投与毒性試験、反復投与毒性試験、遺伝毒性試験、局所刺激性試験及び抗原性試験)、担がんマウスを用いた AMG0001 の腫瘍増殖への影響確認試験、並びに中枢神経系及び呼吸・循環器系に対する安全性薬理試験の結果を記載する。 現在までに得られている全ての毒性試験結果の概要を表 1 に示す。

表 1 毒性試験結果一覧

試験番号	試験項目	動物種/系統	投与経路	投与期間 (回復期間)	AMG0001 投与量 (mg/kg)	試験結果
A001-TC-101-G	単回投与毒性	ラット/SD	i.m.	単回投与	0, 10.0	概略の致死量 > 10.0 mg/kg
A001-TC-107-G					0, 10.0	
A001-TC-159-G			i.v.		0, 10.0 (B-H 製剤), 10.0 (S-F 製剤)	
A001-TC-102-G		カニクイザル	i.m.		2.5	概略の致死量 > 2.5 mg/kg
A001-TC-104-G	反復投与毒性	ラット/SD	i.m.	1 箇月間隔 4 回投与(1 箇月)	0, 0.5, 1.5, 5.0 mg/kg/月	無毒性量 5.0 mg/kg/月
A001-TC-111-G				1 週間間隔 5 回投与(4 週間)	0, 5.0 mg/kg/週	無毒性量 5.0 mg/kg/週
A001-TC-108-G, G1			i.v.	14 日間 (14 日間)	0, 0.6, 2.5, 10.0 mg/kg/日	無毒性量 10.0 mg/kg/日
A001-TC-108-G, G1, G2, G8		カニクイザル	i.m.	1 箇月間隔 4 回投与(1 箇月)	0, 0.25, 0.8, 2.5 mg/kg/月	無毒性量 2.5 mg/kg/月
A001-TC-183-G1	遺伝毒性 多臓器コメット アッセイ	ラット/SD	i.v.	24 時間間隔 2 回投与	0, 10.0	肺及び腎臓に おいて DNA 初期損傷誘発 作用なし
A001-TC-035-N	がん原性 拒がんマウスを 用いた腫瘍増殖に 対する影響	マウス/ BALB/c Jcl-mu	i.m.	単回投与 (腫瘍細胞株: Mewo, HT-29)	0.05, 0.25 mg/匹	いずれの腫瘍 細胞株においても 腫瘍増殖促進作用 及び腫瘍転移なし
A001-TC-118-G A001-TC-164-G	局所刺激性 (筋肉)	ウサギ/NZW	i.m.	単回投与	0.17 mg/mL (B-H / S-P 製剤)	生理食塩液と ほぼ同程度の 筋肉障害性
A001-TC-115-G A001-TC-132-N A001-TC-147-G	抗原性	マウス/ BALB/c マウス/ C3H/He	s.c. i.p.	2 週間間隔 で 3 回投与	感作: 25 (B-H / S-P 製剤) 誘発: 2.5	ASA 及び PCA 反応共に陰性
		モルモット/ Hartley	s.c.	2 週間間隔 で 3 回投与	感作: 2.5 (B-H / S-P 製剤) 誘発: 2.5	
A101-TC-175-G	中枢神経系	ラット/SD	i.m.	単回投与	0, 0.5, 5.0	中枢神経系への 影響なし
A001-TC-176-G, A001-T1-176-N1	中枢神経系 呼吸・循環器系	カニクイザル	i.m.	単回投与	0, 0.25, 2.5	行動への影響なし 呼吸・循環器系 への影響なし

AMG0001 のラット単回筋肉内及び静脈内投与における概略の致死量は、いずれの投

与経路においても 10.0 mg/kg を超える量であった。AMG0001 のサル単回筋肉内投与における概略の致死量は 2.5 mg/kg を超える量であった。

ラット筋肉内 1 週間間隔 5 回投与毒性試験及びラット静脈内 14 日間反復投与毒性試験では、AMG0001 投与群の投与部位において AMG0001 の刺激性に起因すると考えられる炎症性変化が認められたが、いずれもごく軽度な変化であり、また明らかな回復性が認められたことから、毒性学的に重大な意義はないと考えられた。その他に AMG0001 投与に関連した変化は認められなかった。ラット筋肉内 1 箇月間隔 4 回投与毒性試験では、血清中の抗ヒト HGF 抗体価の上昇が 1.5 mg/kg 及び 5.0 mg/kg 投与群の少数例で認められた。無毒性量は、ラット筋肉内 1 箇月間隔 4 回投与毒性試験では 5.0 mg/kg/月、1 週間間隔 5 回投与毒性試験では 5.0 mg/kg/週、ラット静脈内 14 日間反復投与毒性試験では 10.0 mg/kg/日、サル筋肉内 1 箇月間隔 4 回投与毒性試験では 2.5 mg/kg/月であった。

AMG0001 の発がんイニシエーション作用を検討するため、肺及び腎臓における DNA 初期損傷誘発性についてラット多臓器コメットアッセイを用いて評価した。その結果、いずれの臓器においても AMG0001 による DNA 初期損傷誘発作用は認められなかった。また、AMG0001 の発現産物である HGF には腫瘍細胞増殖促進作用があることが知られていることから、担がんマウスを用いた腫瘍増殖への影響確認試験を実施した。その結果、担がんマウスでは AMG0001 による腫瘍増殖及び腫瘍転移への影響は認められなかった。

AMG0001 製剤の臨床使用濃度 (0.17 mg/mL) における局所忍容性は、生理食塩液とほぼ同程度と考えられた。AMG0001 の抗原性は認められなかった (ASA 及び PCA 試験で共に陰性)。

安全性薬理試験の結果から、AMG0001 について中枢神経系、呼吸・循環器系への影響はないものと推察された。

これまでに実施された AMG0001 の国内外の末梢動脈疾患患者を対象とした臨床研究及び臨床試験の概要を以下の表 2 に示す。

表2 AMG0001 の臨床試験の概要

試験名	治験の相 (実施国)	対象疾患	デザイン	症例数	投与量	結果
AMG0001- JN-100	第 I/II 相 (日本)	間欠性跛行 あるいは重症 虚血肢を 有する閉塞性 動脈硬化症又は ピュルガー病	非盲検	AMG0001 22 例	20mgx2/日 Q,28日後* 40mgx2/日 Q,28日後 * 最初の 6例は -14日後に Q,4mg を投与	- 安全性上の問題はなかった。 64%の症例で潰瘍の改善が認められ、62%の症例で安静時疼痛の改善が認められた。
AG-CLI- 0202 (HGF- STAT)	第 II 相 (米国)	重症虚血肢を 有する閉塞性 動脈硬化症	二重 盲検	AMG0001 78 例 プラセボ 26 例	04mgx3/日 Q,14,28日後 40mgx2/日 Q,28日後 40mgx3/日 Q,14,28日後	- TePO₂で有意な増加が認められた。 - 潰瘍サイズに変化がみられなかった。 - 安静時疼痛は変化がみられなかったが SF36 (体の痛み) で減少がみられた。 - 安全性上の問題はなかった。
AG-CLI- 0205	第 II 相 (米国)	重症虚血肢を 有する閉塞性 動脈硬化症	二重 盲検	AMG0001 21 例 プラセボ 6 例	40mgx3/日 Q,14,28日後	- 潰瘍治癒、安静時疼痛、血行動態値 (TP,TBI) では AMG0001 群で好ましい結果であった。 - 安全性上の問題はなかった。
AMG0001- JN-101	第 III 相 (日本)	重症虚血肢を 有する閉塞性 動脈硬化症	二重 盲検	AMG0001 29 例 プラセボ 15 例	40mgx2/日 Q,28日後	12 週後において AMG0001 群で有意な潰瘍の改善がみられ、複合した改善率でも有意差を認めた。 - 安全性上の問題はなかった。
AMG0001- JN-102	第 III 相 (日本)	重症虚血肢を 有する バージャー病	非盲検	AMG0001 10 例	40 mgx2/日 Q,28日後 56 日目に 追加投与可能	12 週後において 9 例中 6 例で潰瘍の改善を認めた。 - 安全性上の問題はなかった。

また、各試験における安全性及び有効性については、以下のとおりである。

(1) AMG0001-JN-100 試験 (国内試験)

血行再建術の適応がなく、かつ既存の内科的治療が無効な閉塞性動脈硬化症及びピュルガー病患者を対象として、研究者主導の臨床研究として実施された。第一ステージでは、AMG0001 0.4 mg の予備投与で安全性に問題が認められないことが確認された後、AMG0001 2.0 mg を 4 週間隔で 2 回投与した際の安全性が検討された。その後第二ステージでは、AMG0001 2.0 mg と 4.0 mg の 4 週間隔 2 回投与で用量反応性の検討 (第二ステージ) が行われた。

その結果、AMG0001 の 4.0 mg までの忍容性が確認された。また、第二ステージでは 2.0 mg と 4.0 mg で有効性に差は認められなかった。

(2) AMG0001-JN-101 試験 (国内試験)

血行再建術の施行が困難でかつ既存の内科的治療が無効な重症虚血肢を有する閉塞性動脈硬化症患者を対象に、AMG0001 の有効性を検討した。その結果、中間解析において AMG0001 群のプラセボ群に対する優越性が検証された。また、安全性について、AMG0001 の忍容性に問題は認められなかった。

(3) AMG0001-JN-102 試験 (国内試験)

血行再建術の施行が困難でかつ既存の内科的治療が無効な潰瘍を有するピュルガー病患者を対象に、AMG0001 の有効性と安全性を検討した。その結果、潰瘍の改善において良好な有効性が示された。また、安全性について、AMG0001 の忍容性に問題はみられなかった。

(4) AG-CLI-0202 試験 (海外試験)

血行再建術の適応がない重症虚血肢を有する閉塞性動脈硬化症を対象に、AMG0001 0.4 mg の 2 週間毎 3 回投与、AMG0001 4.0 mg の 4 週間毎 2 回投与、AMG0001 4.0 mg の 2 週間毎 3 回投与及びプラセボ投与の安全性及び有効性の検討を米国にて行った。

その結果、有効性については評価項目のひとつである $TcPO_2$ の変化量では各群間に統計学的に有意な差は認められなかったが、観察期間中に $TcPO_2$ の改善が認められた症例を除いた層別解析では、プラセボ群と 4.0 mg×3 群とで統計学的有意差が認められた。また、安全性については、AMG0001 4.0 mg の 2 週間隔 3 回投与までの忍容性に問題はみられなかった。

(5) AG-CLI-0205 試験 (海外試験)

国内の AMG0001 の臨床試験では投与方法を虚血部位と定めていたが、米国第 II 相試験では膝上 4 箇所、膝下 4 箇所と治験実施計画書で定めており、日本の試験とは大きく投与方法が異なっていた。そこで、当該試験は日本の試験と同様に下肢の虚血部位に投与方法で実施された。血行再建術の適応がない重症虚血肢を有する閉塞性動脈硬化症を対象に、AMG0001 4.0 mg の 2 週間毎 3 回投与及びプラセボ投与の安全性及び有効性の検討を米国にて行った。しかし、骨や腱の露出を伴う潰瘍や壊死を伴うような重症の症例が多く登録され、有効性の評価が困難と判断されたことより、目標の 48 例に対し 27 例が登録された時点で新規症例登録を中止した。

以上、AMG0001 の安全性プロファイルを検討した結果、AMG0001 に特有の注視すべき有害事象は認められていない。

遺伝子治療臨床研究の実施が可能であると判断する理由	AMG0001 は、血管新生作用を有するプラスミド DNA であることから、一般的な理論的リスクとして、投与部位近傍における異常な血管新生、投与部位以外の遠隔臓器における血管新生に伴う有害反応の発生、及び AMG0001 に対する過剰な免疫応答の可能性がある。 しかしながら、各試験を通じて比較的高い頻度で認められた有害事象は、投与手技に関連する事象であり、投与部位での血管腫発生等異常な血管新生は認められなかった。 遠隔臓器への影響については、各臨床試験において AMG0001 投与に起因する血中 HGF 濃度の上昇はみられていないこと、血管新生に起因することが疑われる増殖糖尿病網膜症等の有害事象の発生は認められていないこと、及び <i>in vitro</i> 試験において AMG0001 がヒト血清中で速やかに代謝されることが示されていること等から、投与部位以外の遠隔臓器へ影響を及ぼすリスクは低いと考える。 なお、AMG0001 との因果関係が完全には否定されなかった有害事象として悪性腫瘍が 6 例 7 件認められたが、個々の事象を詳細に検討した結果、いずれも AMG0001 との関連性は低いと判断している。 また、免疫応答反応の誘引因子となり得るような各種抗体の産生は認められず、AMG0001 が免疫応答を惹起させる可能性は低いことが示唆される。 これまで実施されてきた臨床試験の結果、既存療法で改善の認められない間歇性跛行、安静時疼痛及び潰瘍を有する閉塞性動脈硬化症又はピュルガー病患者における最大歩行距離、安静時疼痛、潰瘍症状の改善が認められている。 これまでに実施された AMG0001 の非臨床試験、臨床研究及び臨床試験の結果を総合的に判断し、AMG0001 の臨床研究を実施することは妥当であると判断する。 今般、大阪大学医学部附属病院では、投与対象肢の血行再建術（血管内治療を含む）の適用が困難な患者、又は当該適応が不可能ではないが、手術によるリスクがあると判断される患者で、既存の内科的治療に抵抗性の慢性動脈閉塞症（閉塞性動脈硬化症又はピュルガー病）に対する新規治療薬の早期開発を目指し、当該遺伝子治療臨床研究を実施することになった。 佐賀大学医学部附属病院（以下、当院）は、大阪大学医学部附属病院の主旨に賛同し、当該遺伝子治療臨床研究（多施設試験）の実施施設として参加することになった。当院では、プロトコル治療可能な設備を備えており、ハード面での実施体制も完備されている。 また、万が一、重篤な有害事象や不測の事態が発生したとしても、当院では第三次救急医療の体制が整備されており、十分に高度な医療設備や医療従事者を有することから、迅速で適切な対処が可能である。 当院では、数多くの臨床研究や治験の実施経験もあることから、臨床試験の支援体制も充実しており、当該遺伝子治療臨床研究に対する実施体制が整備されている。
実施計画	当該遺伝子治療臨床研究では、薬物治療抵抗性で、外科的治療の適用が困難な慢性動脈閉塞症（閉塞性動脈硬化症又はピュルガー病）患者のうち、以下の臨床症状を有する患者を対象とする。

- ・安静時疼痛 (Fontaine 分類 III 度)
- ・潰瘍 (Fontaine 分類 IV 度)

遺伝子導入方法は、以前アンジェス MG 社により実施されたバージャー病を対象とした一般臨床試験に準拠し、AMG0001 を日局生理食塩液で希釈し、対象肢の虚血部位に対して 1 部位あたり 0.5 mg ずつ 8 部位 (合計 4.0 mg) に筋肉内投与する。投与は 4 週間の間隔をあけて 2 回行う。治療期 8 週後において改善傾向が認められない場合には、更に 3 回目の投与を実施する。有効性及び安全性の評価は、AMG0001 の 1 回目投与 12 週後に行う。

希釈後の AMG0001 の 1 部位あたりの投与液量は 3.0 mL とし、投与対象筋が小さい場合には 2.0 mL まで減じてよい。注射部位は虚血の状態により被験者ごとに決定する。入院、外来の別は問わない。

後観察期間終了後、初回投与 6 箇月後及び 12 箇月後に追跡調査 (来院) 及び予後調査を行い、初回投与 24 箇月後に、来院を義務としない安全性確認のための聞き取り調査を行う。当該遺伝子治療臨床研究の概略を図 1 に以下に示す。

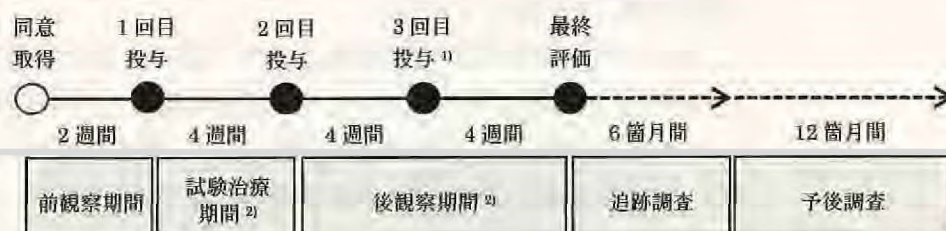


図 1 遺伝子治療臨床研究の概略

1) 3 回目投与は、2 回目投与後の評価結果により実施の可否を判断する。

2) 3 回投与の場合は、試験治療期間は 8 週間となり、後観察期間は 4 週間となる。

当該遺伝子治療臨床研究は、早期・探索的臨床試験拠点である大阪大学医学部附属病院を中心として実施される多施設共同臨床研究である。実施医療機関は、以下の 8 施設を予定している。

《実施予定施設》

- ・大阪大学医学部附属病院
- ・新潟大学医学部総合病院
- ・名古屋大学医学部附属病院
- ・神戸大学医学部附属病院
- ・川崎医科大学附属病院
- ・徳島大学病院
- ・愛媛大学医学部附属病院
- ・佐賀大学医学部附属病院

目標登録被験者数は、予定される実施医療機関全体で 6 例を予定している。当該遺伝子治療臨床研究の対象疾患は限られているうえ、適格性基準を満たす被験者 6 例を研究実施期間に 1 施設で集積する実行可能性は極めて低いことから、多施設共同臨床研究と

	した。 当該遺伝子治療臨床研究と同様の対象、用法・用量及び試験デザインによる AMG0001 遺伝子治療臨床研究が、大阪大学医学部附属病院（医師主導の臨床研究）及びアンジェス MG 社（第 III 相臨床試験）により実施されているが、AMG0001 の安全性に特段問題となる所見は認められていない。また、アンジェス MG 社の第 III 相臨床試験において、AMG0001 の調製方法、投与方法及び評価方法等の試験方法が標準化されており、当該遺伝子治療臨床研究においてもその標準的な対応方法を取り入れることにより、多施設共同臨床研究においても均一化された試験実施が可能である。 当該遺伝子治療臨床研究は、先進医療 B 制度に準拠して行う臨床研究であり、安全性情報をはじめとする各種情報共有については、当該制度に従い対応するものとする。 研究実施期間は、先進医療 B 申請を行い、当該申請が承認された日を研究開始とし最終被験者の投与開始 12 週後までを研究実施期間とする。
備考	(1) 被験者の同意について： 当該遺伝子治療臨床研究への参加候補となる患者本人に対して、同意説明文書を提供し、十分な説明を行った後、当該遺伝子治療臨床研究への参加の同意を文書で取得する。また、当該遺伝子治療臨床研究においては、単独で同意を取得できない者は被験者とししない。 なお、被験者は、その申し出により同意を撤回し、当該遺伝子治療臨床研究への参加をいつでも中止することができる。 (2) 当該遺伝子治療臨床研究については、佐賀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い、その化学的及び倫理的妥当性について了承されている。 (3) 当該遺伝子治療臨床研究は、8施設の参加が予定される多施設共同臨床研究であり、先進医療B制度に準拠して実施される。

(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. この申請書は、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. 備考欄には、「第 4 その他」に掲げる各種指針への適合状況等、特記すべき事項について記載すること。
6. 大学等にあつては、この申請書の写しを文部科学大臣にも送付すること。

遺伝子治療臨床研究実施計画書

Ver2.3, 14January2015

[課題名]

慢性動脈閉塞症（閉塞性動脈硬化症及びビュルガー病）を対象とした
AMG0001 の筋肉内投与による遺伝子治療

目次

1	遺伝子治療臨床研究の名称	1
2	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研究に果たす役割	1
2.1	総括責任者の氏名及び担当する役割	1
2.2	総括責任者以外の共同研究者の氏名及び担当する役割	1
2.2.1	臨床研究分担医師	1
2.2.2	その他の臨床研究協力者（外部）	1
3	実施施設の名称及びその所在地	2
4	遺伝子治療臨床研究の背景と目的	2
4.1	当該遺伝子治療臨床研究の背景	2
4.2	当該遺伝子治療臨床研究の目的	3
5	遺伝子治療臨床研究の対象疾患及びその選定理由	3
5.1	研究の区分	3
5.2	対象疾患に対する現時点での知見	3
5.2.1	概念・定義・病因・病態	3
5.2.2	疫学	4
5.2.3	標準治療と予後	4
5.2.4	併存疾患及び合併症	5
5.2.5	対象疾患の選定理由	5
5.3	当該遺伝子治療臨床研究の概要	6
5.4	他の治療法との比較及び遺伝子治療を選択した理由	6
6	遺伝子の種類及びその導入方法	7
6.1	ヒトに導入する遺伝子の構造と性質	7
6.1.1	ヒトに導入する遺伝子の構造	7
6.1.2	ヒトに導入する遺伝子の性質	8
6.2	本研究計画で使用するその他の組換え DNA の構造と性質	10
6.3	標的細胞とした細胞の由来及び生物学的特徴並びに当該細胞を標的細胞とした理由	10
6.4	遺伝子導入方法の概略及び当該導入方法を選択した理由	11
6.4.1	遺伝子導入方法の理論的根拠	11
6.4.2	遺伝子導入方法の概略	12
6.4.3	使用するベクター（担体）の作製方法	13
6.4.4	使用するベクター（担体）の構造	15
6.4.5	使用するベクター（担体）の生物学的特徴	18
6.4.6	製造方法	19
7	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	22

7.1	培養細胞を用いた研究成果.....	22
7.2	実験動物を用いた研究成果.....	23
7.2.1	ウサギを用いた投与量及び投与間隔の検討	23
7.2.2	血管新生作用の検討	25
7.2.3	主要代謝物 Open Circular 体に関する検討.....	26
8	安全性についての評価.....	26
8.1	遺伝子導入方法の安全性.....	26
8.1.1	遺伝子導入に用いるプラスミドベクター（担体）の純度.....	26
8.1.2	患者に投与する物質（製剤）の純度	27
8.1.3	増殖性ウイルス出現の可能性	27
8.1.4	遺伝子導入に用いるプラスミドベクター（担体）の細胞傷害性.....	27
8.1.5	体内の標的細胞以外の細胞への遺伝子導入の可能性.....	27
8.1.6	患者以外の人に遺伝子が導入される可能性	28
8.1.7	染色体へ遺伝子が組み込まれる場合の問題点	28
8.1.8	がん原性の有無	28
8.2	遺伝子産物の安全性.....	29
8.2.1	導入遺伝子の発現産物のがん原性	29
8.2.2	導入遺伝子の発現産物の免疫原性	29
8.3	非臨床安全性試験.....	30
8.3.1	単回投与毒性試験	30
8.3.2	反復投与毒性試験	31
8.3.3	遺伝毒性試験	32
8.3.4	がん原性試験	32
8.3.5	生殖発生毒性試験	32
8.3.6	局所刺激性試験	33
8.3.7	抗原性試験	33
8.3.8	安全性薬理試験	33
8.3.9	毒性結果のまとめ	33
8.4	薬物動態試験	34
8.4.1	分析法	34
8.4.2	分布	34
8.5	代謝	39
8.5.1	<i>In vitro</i> 代謝 [100].....	39
8.5.2	<i>In vivo</i> 代謝 [88, 89, 93, 94].....	39
8.6	排泄	39
8.6.1	ラット静脈内単回投与時の尿中排泄 [93, 94]	39
9	AMG0001 遺伝子治療臨床研究及び臨床試験の実施状況	40
9.1	AMG0001-JN-100 試験（国内試験） [59,60]	41

9.2	AMG0001-JN-101 試験（国内試験） [61].....	41
9.3	AMG0001-JN-102 試験（国内試験） [62].....	41
9.4	AG-CLI-0202 試験（海外試験） [63]	41
9.5	AG-CLI-0205 試験（海外試験） [64]	41
10	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	42
11	遺伝子治療臨床研究の実施計画	42
11.1	研究目的.....	42
11.2	対象疾患.....	42
11.3	登録被験者の予想される利益と不利益.....	42
11.3.1	予想される利益	42
11.3.2	予想される不利益	43
11.4	適格基準.....	43
11.4.1	被験者登録時の選択基準	43
11.5	同意取得.....	45
11.5.1	同意説明文書及び同意書の作成.....	45
11.5.2	同意説明文書及び同意書の改定.....	45
11.5.3	同意説明及び同意取得の時期の方法.....	46
11.6	登録.....	46
11.7	AMG0001	48
11.7.1	AMG0001（原薬）	48
11.7.2	AMG0001（製剤）	48
11.8	臨床研究実施計画.....	49
11.8.1	デザインの型	49
11.8.2	デザインの設定根拠	49
11.8.3	目標登録被験者数・被験者登録期間・研究実施期間.....	49
11.8.4	目標登録被験者数の集積の可能性.....	50
11.8.5	プロトコル治療計画	50
11.8.6	登録被験者の研究参加期間	53
11.9	主要評価項目及び副次的評価項目	53
11.9.1	主要評価項目	53
11.9.2	主要評価項目の設定根拠	54
11.9.3	副次的評価項目	56
11.9.4	副次的評価項目の設定根拠	57
11.10	観察・検査スケジュール.....	58
11.10.1	観察・検査スケジュール	58
11.10.2	観察・検査項目	59
11.11	被験者の安全性の確保.....	61
11.11.1	基本的事項	61

11.11.2	有害事象の定義	61
11.11.3	有害事象の評価	62
11.11.4	有害事象発現時の対応	62
11.11.5	予想される有害事象とその対応	62
11.11.6	有害事象への対処	72
11.12	被験者ごとの臨床研究中止の基準及び手順	73
11.12.1	被験者ごとの中止基準	73
11.12.2	被験者ごとの中止の手順	73
11.13	臨床研究実施計画書の遵守、逸脱又は変更	74
11.13.1	臨床研究実施計画書の遵守	74
11.13.2	実施計画書からの逸脱又は変更	74
11.14	臨床研究の終了又は中止及び中断	74
11.14.1	研究の終了	74
11.14.2	研究全体の中断・中止の基準及び手順	75
11.15	症例報告書	75
11.15.1	症例報告書の記録項目	75
11.15.2	症例報告書の作成	76
11.15.3	症例報告書の記載上の注意	76
11.15.4	症例報告書の変更又は修正	76
11.15.5	症例報告書の確認	76
11.15.6	症例報告書の提出	76
11.16	統計解析	77
11.16.1	目標登録被験者数の設定根拠	77
11.16.2	解析対象集団の定義	78
11.16.3	解析項目・方法	79
11.17	当該遺伝子治療臨床研究の品質管理	81
11.17.1	モニタリング	81
11.17.2	データ管理	81
11.18	当該遺伝子治療臨床研究の倫理的実施	81
11.18.1	遺伝子治療臨床研究審査委員会	81
11.18.2	臨床研究の進捗報告	81
11.19	記録等の保存	82
11.20	当該遺伝子治療臨床研究の総括報告書の作成	82
11.21	当該遺伝子治療臨床研究終了後の追跡調査の方法	82
11.22	臨床研究費用並びに健康被害の補償	82
11.22.1	研究の資金源と費用負担	82
11.22.2	健康被害の補償等	83
11.23	臨床研究成果の帰属及び研究結果の公表に関するとり決め	83

12	当該遺伝子治療臨床研究の実施施設の状況	83
13	当該遺伝子治療臨床研究に関連する国内外の研究状況	84
14	当該遺伝子治療臨床研究における個人情報保護に関する対処	85
14.1	個人情報の定義	85
14.2	当該遺伝子治療臨床研究を行う機関の長の最終的な責務	86
14.3	診療・教育機関としての佐賀大学医学部附属病院における個人情報の一般的な取り扱い	86
14.4	当該遺伝子治療臨床研究の遂行に必要な被験者の個人情報の利用・取扱い	86
14.5	利用目的による制限	87
14.6	適正な取得及び取得に際しての利用目的の通知等	87
14.7	内容の正確性確保	87
14.8	安全管理措置	87
14.9	委託者の監督	88
14.10	第三者提供の制限	88
14.11	保有する個人情報に関する事項に公表等	88
14.12	個人情報の開示	88
14.13	個人情報の訂正及び利用停止等	88
14.14	理由の説明	89
14.15	個人情報の開示、訂正、利用停止等の求めに応じる手続き	89
14.16	苦情の対応	89
15	利益相反	89
16	遵守すべき基準	89
17	参考文献等	90

表目次

表 1	AMG 原薬の純度試験及び規格	26
表 2	AMG 製剤の純度試験及び規格	27
表 3	AMG0001 の臨床試験の概要	40
表 4	AMG0001 を用いた臨床試験における安全性評価例数	63
表 5	AMG0001-JN-100 試験における副作用（対象 22 例）（初回投与～投与 27 箇月後）	64
表 6	AMG0001-JN-101 試験ステージ 1 における副作用（対象 41 例）	65
表 7	AMG0001-JN-102 試験における副作用（対象 10 例）	68
表 8	AG-CLI-0202 試験における副作用：初回投与～投与 12 箇月後（対象 104 例） ...	70
表 9	AG-CLI-0205 試験における副作用：初回投与～投与 12 箇月後（対象 27 例）	71
表 10	末梢血管疾患に対する遺伝子治療	84

図目次

図 1	当該遺伝子治療臨床研究の概略	6
図 2	AMG0001 の構造.....	8
図 3	HGF による血管新生の分子機構	10
図 4	AMG0001 の作製方法	13
図 5	遺伝子構成要素の機能とその由来.....	18
図 6	HGF のプロセッシング	19
図 7	製造工程流れ図（概観）	21
図 8	AMG0001 導入ヒト骨格筋細胞における HGF の発現	22
図 9	AMG0001 導入細胞の培養上清から得られたヒト HGF の血管内皮細胞の増殖活性	23
図 10	AMG0001 投与後 7 日目のウサギ筋肉内におけるヒト HGF の発現 (n=20 下肢) : 部位あたり 0.01 mg/2.0 mL vs. 0.5 mg/2.0 mL	24
図 11	AMG0001 (0.5mg) の投与後 7 日目のウサギ筋肉内におけるヒト HGF の発現 (n=20 下肢) : 投与量 0.5 mL vs. 2.0 mL/site	24
図 12	AMG0001 をウサギ下肢に筋肉内単回投与した後 (0.5 mg/2 mL/site) の筋肉中ヒ ト HGF 発現の経時変化 (n=20 下肢)	25
図 13	ラット下肢虚血モデルにおける AMG0001 の血流量増加作用	26
図 14	雌雄ラットに 1.5 mg/kg の用量で筋肉内単回投与した時の筋肉中濃度推移	35
図 15	雌雄ラットに 0.06、0.3 及び 1.5 mg/kg の用量で筋肉内単回投与した時の血液中濃 度推移	36
図 16	雄性ラットに 1.5 mg/kg の用量で筋肉内単回及び 1 箇月間隔 2 回投与した時の筋 肉中濃度推移	37
図 17	雄性カニクイザルに 0.5 及び 2.5 mg/kg の用量で筋肉内単回投与した時の血液中 濃度推移	38
図 18	AMG0001 及びその代謝物 (OC 体及び LN 体) の模式図	39
図 19	試験の概略図.....	51

添付資料 1: 研究者の略歴及び研究業績

添付資料 2: 患者さんへ（同意説明文書）、同意書、同意撤回書

添付資料 3: 「医薬品等の副作用の重篤度分類基準について」（平成 4 年 6 月 29 日）

添付資料 4: 佐賀大学医学部附属病院遺伝子治療臨床研究審査委員会の資料一式

添付資料 5: 参考文献等（アンジェス社の社内資料を除く）

1 遺伝子治療臨床研究の名称

慢性動脈閉塞症（閉塞性動脈硬化症及びビュルガー病）を対象とした AMG0001 の筋肉内投与による遺伝子治療

2 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研究に果たす役割

2.1 総括責任者の氏名及び担当する役割

野出 孝一 佐賀大学医学部附属病院
循環器内科 教授
遺伝子治療臨床研究実施の総合判断及び研究全体の総括

2.2 総括責任者以外の共同研究者の氏名及び担当する役割

2.2.1 臨床研究分担医師

尾山 純一 佐賀大学医学部先端心臓病学講座
循環器内科 教授
患者の選定、患者への説明及び同意の取得、臨床観察、効果判定

下村 光洋 佐賀大学医学部附属病院
循環器内科 助教
患者の選定、患者への説明及び同意の取得、臨床観察、効果判定

樋渡 敦 佐賀大学医学部附属病院
循環器内科 助教
患者の選定、患者への説明及び同意の取得、臨床観察、効果判定

2.2.2 その他の臨床研究協力者（外部）

樂木 宏実 大阪大学医学部附属病院
老年・高血圧内科 教授
多施設共同臨床研究における全体の総括

南野 徹 新潟大学医歯学総合病院
循環器内科 教授
多施設共同臨床研究における協力実施医療機関の総括

古森 公浩 名古屋大学医学部附属病院
血管外科 教授
多施設共同臨床研究における協力実施医療機関の総括

平田 健一 神戸大学医学部附属病院
循環器内科 教授
多施設共同臨床研究における協力実施医療機関の総括

種本 和雄 川崎医科大学附属病院
心臓血管外科 教授

佐田 政隆	多施設共同臨床研究における協力実施医療機関の総括
	徳島大学病院
	循環器内科 教授
檜垣 実男	多施設共同臨床研究における協力実施医療機関の総括
	愛媛大学医学部附属病院
	腎臓・高血圧内科 教授
山田 英	多施設共同臨床研究における協力実施医療機関の総括
	アンジェス MG 株式会社
	代表取締役社長
	AMG0001 の提供、品質試験の実施、AMG0001 の品質、非臨床、臨床データなどの情報提供

3 実施施設の名称及びその所在地

名 称： 佐賀大学医学部附属病院
所在地： 〒849-8501 佐賀市鍋島五丁目1番1号
(TEL) 0952-34-2364 (循環器内科)

4 遺伝子治療臨床研究の背景と目的

4.1 当該遺伝子治療臨床研究の背景

AMG0001 は、大阪大学により創成された血管新生促進作用を有する難治性の虚血性疾患治療薬である。大阪大学医学部附属病院において、AMG0001 を用いた末梢性血管疾患（慢性閉塞性動脈硬化症・ビュルガー病）を対象とした遺伝子治療臨床研究が 22 例で実施された。その結果、本疾患に対する有効性が示唆され、安全性に関しても臨床上問題となる副作用は認められなかった。その後の開発は、アンジェス MG 株式会社（本社：大阪府茨木市、以下「アンジェス社」）により実施されている。

アンジェス社では、2008 年 3 月 27 日に「重症虚血肢（安静時疼痛、潰瘍）を有する閉塞性動脈硬化症・ビュルガー病」を効能及び効果として製造販売承認申請した。当該承認申請における有効性を示す主たる臨床試験として、「閉塞性動脈硬化症を対象としたプラセボ対照無作為化二重盲検比較試験」が実施され、安静時疼痛及び潰瘍症状の改善効果が認められた。

臨床試験のデータ不足ということでアンジェス社は 2010 年 9 月 17 日に当該製造販売承認申請を取下げた。

以上の経緯から AMG0001 はいまだ薬事承認に至っていないが、これまでの臨床試験の結果からは、安静時疼痛及び潰瘍の改善効果が得られることは十分に期待できると考えられる。しかし現在、アンジェス社では、海外での追加第 III 相臨床試験の準備中であり、国内で臨床試験を企業として実施する方針は当面ないという状況である。よって、今回、医師が主導する形で本遺伝子臨床研究を実施し、AMG0001 の末梢性血管疾患に対する安静時疼痛及び潰瘍改善効果を再検討することで、今後の開発の参考となるデータを得ることを目指すこととなった。

4.2 当該遺伝子治療臨床研究の目的

肝細胞増殖因子（hepatocyte growth factor :HGF）は、肝細胞を増殖する因子として 1984 年にたん白質が発見され[1]、1989 年に cDNA がクローニングされた[2]。HGF たん白質は、肝障害や腎障害に伴って障害臓器及び肺などの間葉系細胞によって産生され、障害臓器の上皮細胞系に働きかけて再生を促すことが知られており[3]、組織器官の恒常性維持に重要な役割を果たしている。これらの作用に加えて HGF たん白質は、血管内皮細胞の強力な増殖作用を有しており、血管新生にも重要な役割を果たしていることが明らかにされている[4-6]。

AMG0001 は米国インビトロジェン社が製造しているプラスミド DNA ベクターである pVAX1 を基本骨格とし、ヒト HGF 遺伝子（cDNA）を組み込んだプラスミド DNA である。AMG0001 は導入された細胞内にて HGF 遺伝子を発現し、HGF たん白が産生される。AMG0001 を用いた遺伝子治療では、産生した HGF たん白質が血管新生と血流増加をもたらす、虚血症状を改善することにより、慢性動脈閉塞症（閉塞性動脈硬化症及びビュルガー病）の治療薬としての効果が期待される。

当該遺伝子治療臨床研究では、代替治療が困難な慢性動脈閉塞症（閉塞性動脈硬化症又はビュルガー病）患者を対象に、AMG0001 を虚血肢の筋肉内に局所投与し、安静時疼痛（Fontaine 分類 III 度）及び潰瘍（Fontaine 分類 IV 度）の治療効果及び安全性を探索的に検討することを目的とする。

5 遺伝子治療臨床研究の対象疾患及びその選定理由

当該遺伝子治療臨床研究では、薬物治療抵抗性で、外科的治療の適用が困難な慢性動脈閉塞症（閉塞性動脈硬化症又はビュルガー病）患者のうち、以下の臨床症状を有する患者を対象とする。

- ・安静時疼痛（Fontaine 分類 III 度）
- ・潰瘍（Fontaine 分類 IV 度）

以下に、慢性動脈閉塞症（閉塞性動脈硬化症又はビュルガー病）を当該遺伝子治療臨床研究の対象疾患とした選定理由を概説する。

5.1 研究の区分

遺伝子治療臨床研究

5.2 対象疾患に対する現時点での知見

5.2.1 概念・定義・病因・病態

閉塞性動脈硬化症（arteriosclerosis obliterans: ASO）とは、四肢の動脈が狭窄又は閉塞をきたし、下肢が虚血症状を示す疾患である。その臨床症状の重症度分類には、一般的に Fontaine 分類が用いられ、I 度：無症状、IIa 度：間歇性跛行（軽度）、IIb 度：間歇性跛行（中等度～高度）、III 度：安静時疼痛、IV 度：潰瘍、壊疽と症状が進行する。特に、III 度及び IV 度は重症下肢虚血（Critical Limb Ischemia : CLI）と呼ばれ、切断を余儀なくされることもある最も重篤な病態である。

ビュルガー病（バージャー病）（thromboangiitis obliterans: TAO）とは、閉塞性血栓血管炎とも呼ばれ、四肢の主幹動脈に閉塞性の血管全層炎をきたす疾患である。特に、下肢動脈に好発して、虚血症状として間欠性跛行や安静時疼痛、潰瘍、壊疽をきたす疾患である。

5.2.2 疫学

我が国での ASO の発生頻度を人口比から検討したものは見られないが、仙台市のある地域で平均年齢 74 歳の住民 971 名中 2 %に ASO が発見されたと報告されている[7]。2010 年の日本の総人口は 1 億 2735 万人で 70 歳以上の人口が約 2121 万人であることから、2 %の頻度をあてはめると 42 万人程度となる。大阪で重症虚血肢（critical limb ischemia: CLI）を調査した報告[8]では、人口 10 万人あたり年間 1.3 肢が切断されている。CLI の ASO に占める頻度は 15～20 %程度であり、肢切断となるものは 25 %とされていることから[9]、CLI は 10 万人あたり 5 例程度、CLI の ASO に占める頻度を 15 %とすると ASO は 10 万人あたり 33 例、人口 1.3 億として 43 万人程度となる。一方、糖尿病に見られる ASO から見てみると、糖尿病の 0.5～3 %程度に糖尿病性足病変が見られるとされている[10]。我が国の糖尿病患者を 900 万人と仮定し、足病変のある頻度を 1.5 %とすると 14 万人となり、更に、糖尿病を併存する ASO は ASO の 30～40 %であるため、当該頻度を 35 %とすると、ASO 患者数は 40 万人程度と推測される。当該数値 40 万人は、上述した 42～43 万人程度とほぼ一致する。したがって、我が国の ASO 患者数は、40 万人前後と考えられる。当該数値には、無症候性の ASO は含まれておらず、ASO に占める無症候性のものが 20～50 %とされているため、無症候性のものを含めると 50～80 万人前後の患者群と推計される。

ビュルガー病の患者数は、年間の全国推計患者数が約 10000 人（95 %信頼区間 8,400～12,000 人）であり、男女比は 9.7 対 1 と圧倒的に男性が多い。推定発症年齢は男女とも 30 代から 40 代がもっとも多いが、現在の患者の中心は 45 歳から 55 歳であり、患者の高齢化が示唆されている[11]。

5.2.3 標準治療と予後

ASO に対する治療法としては、通常、以下の治療法が選択されている。

- (1) 運動療法及びフットケアや禁煙を含む生活指導、下肢閉塞性動脈硬化症患者の場合は動脈硬化のリスクファクター（糖尿病、脂質異常症や高血圧症など）の除去（軽度若しくは中等度の間欠性跛行を有する患者に適応される）
- (2) 自家静脈や人工血管をグラフトとして用い外科的に血行を再建する方法（高度の間欠性跛行、安静時疼痛及び潰瘍を示す重症患者に適応される）
- (3) 血小板凝集抑制剤及びプロスタグランジン E1 製剤などによる薬物療法（軽症患者から重症下肢虚血患者まで幅広く使用されているが、確実な効果が期待できる薬剤は存在しない。）

カテーテルによる血管拡張術やバイパス術などの血行再建術は非常に有効であり、血行再建術の成功は、劇的な臨床症状の寛解をもたらす。しかしながら、カテーテルによる血管拡張術は特に下腿～足部動脈の閉塞性病変に対する治療成績は不良で、狭窄部位が広範囲にわたる場合や完全閉塞では適応となるものは少ない。また、動脈の高度石灰化による血管状態の悪化、run-off 不良及び合併症による全身状態の悪化などの所見を有する患者においては、血行再建術が困難な場合もあり、リスクファクター除去や薬物療法による保存療法*により経過観察せざるを得ず、趾肢切断となる患者が後を絶たない。

*: 保存療法は、動脈の狭窄や閉塞を直接的に改善する治療法ではなく、症状が軽度の場合や外科的手術が困難な場合に行われ、病変血管の収縮予防や血栓形成予防などを中心とした薬剤療法、計画的に運動することにより側副血行路を發育させる運動療法及び原疾患（糖尿病、高血圧、高脂血症など）のコントロールや禁煙などの生活指導がある。

事実、欧米では年間 100 万人あたり約 120～500 例の患者が大切断を余儀なくされている[12]。また、ASO は、心血管系疾患を合併することが多く、生命予後は極めて不良であり、その死因の半数以上が虚血性心疾患や脳血管障害で占められる。間歇性跛行患者の 5 年後の生存率は 70 %前後、10 年後では 40～50 %であり、CLI 患者では 1 年後に約 20 %が死亡し、5 年後の生存率は半数以下である[13]。さらに、重症の ASO の生命予後は、乳癌や大腸癌患者の生命予後と比較しても不良といわれている[14]。

また日本においても、日本血管外科学会誌に 1992 年に報告された集計[15]によれば CLI 患者の約 25 %が趾肢切断に至っている。さらに、下肢切断後の生命予後も悪いことが知られており、下肢切断術 5 年後には 30 %が対側大切断、50 %が死亡するという報告もある[16]。

ビュルガー病に対しては、間接喫煙を含めた禁煙指導、また患肢の保温、保護に努めて靴ずれなどの外傷の回避、歩行訓練や運動療法が基本的な治療として行われている。積極的治療は局所治療、薬物療法、交感神経節ブロック・切除術及び血行再建術の 4 つに大きく分けられ、指趾に潰瘍形成や壊死を認める場合には、嚴重な創の保護を主体とする局所療法が行われている。薬物療法は抗血小板製剤とプロスタグランジン製剤の投与が主体である。潰瘍形成と安静時疼痛を訴える症例で、かつ薬物治療に抵抗性の症例については、外科的血行再建術の適応も考慮する必要があるが、本症は動脈硬化による血管閉塞とは異なり末梢側ほど病変が強くなるため、血行再建の適応外とされる症例も多い。本疾患は、心、脳、大血管病変を合併することはないため生命予後に関しては良好であるが、13-23 %の患者では四肢の切断を必要とするとの報告もあり[17]、就労年代の成年男性の QOL（quality of life）を著しく脅かすことも少なくない。

5.2.4 併存疾患及び合併症

ASO 患者の動脈硬化は全身に及んでいると考えられることから、ASO の併存疾患も多岐にわたり、糖尿病は 28.7 %の頻度で併存し、脳血管障害、虚血性心疾患及び高血圧は、それぞれ 23.7 %、22.8 % 及び 49.6 %の頻度で併存していると報告されている[16]。

また、ASO 患者の冠状動脈撮影により 60～70 %になんらかの閉塞性病変が認められ、超音波血流検査による頸動脈の観察では、頸動脈の 50 %以上に及ぶ狭窄性病変が 26 %に認められる[18]。

厚生労働省研究班における全国調査の結果では、糖尿病を 13.7 %、高血圧を 29.6 %、高脂血症を 15.2 %に認め、脳血管障害を 8 %、虚血性心疾患を 6 %、閉塞性動脈硬化症を 5 %に認める[19]。

5.2.5 対象疾患の選定理由

当該遺伝子治療臨床研究では、薬物治療抵抗性で、外科的治療の適用が困難な慢性動脈閉塞症（閉塞性動脈硬化症又はビュルガー病）患者のうち、安静時疼痛（Fontaine 分類 III 度）又は潰瘍（Fontaine 分類 IV 度）を有する CLI 患者が対象となる。当該 CLI 患者においては、QOL が著しく損なわれ、生命予後も不良であることが報告されている。

特に、薬物治療抵抗性で、外科的治療の適用が困難な CLI 患者では、標準治療が確立しておらず、新規治療法の開発が期待されている。

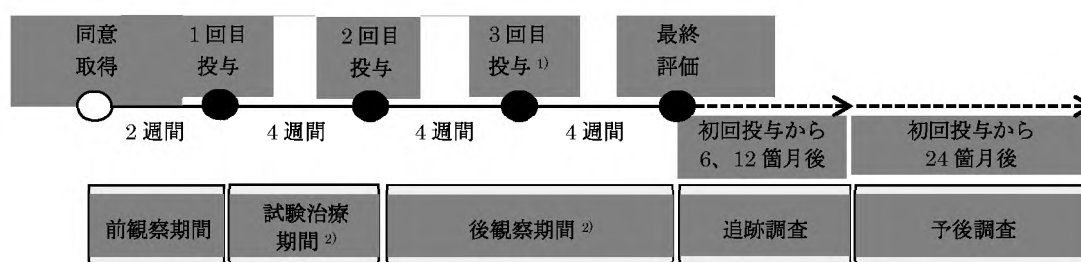
以上のことから、安静時疼痛（Fontaine 分類 III 度）又は潰瘍（Fontaine 分類 IV 度）を有する薬物治療抵抗性で、外科的治療の適用が困難な慢性動脈閉塞症（閉塞性動脈硬化症又はビュルガー病）患者を当該遺伝子治療臨床研究の対象疾患として選定することは妥当であると考えている。

5.3 当該遺伝子治療臨床研究の概要

AMG0001 を日局生理食塩液で希釈し、対象肢の虚血部位に対して 1 部位あたり 0.5 mg ずつ 8 部位（合計 4.0 mg）に筋肉内投与する。投与は 4 週間の間隔をあけて 2 回行う。治療期 8 週間において改善傾向が認められない場合には、更に 3 回目の投与を実施する。有効性及び安全性の評価は、AMG0001 の 1 回目投与 12 週後に行う。

希釈後の AMG0001 の 1 部位あたりの投与液量は 3.0 mL とし、投与対象筋が小さい場合には 2.0 mL まで減じてよい。注射部位は虚血の状態により被験者ごとに決定する。入院、外来の別は問わない。

後観察期間終了後、初回投与 6 箇月後及び 12 箇月後に追跡調査（来院）を行い、初回投与 24 箇月後に、来院を義務としない安全性確認のための聞き取り調査を行う。当該遺伝子治療臨床研究の概略を図 1 に以下に示す。



- 1) 3 回目投与は、2 回目投与後の評価結果により実施の可否を判断する。
- 2) 3 回投与の場合は、試験治療期間は 8 週間となり、後観察期間は 4 週間となる。

図 1 当該遺伝子治療臨床研究の概略

5.4 他の治療法との比較及び遺伝子治療を選択した理由

慢性に末梢動脈の狭窄や閉塞病変が進行すると、末梢組織での血行動態が悪くなり、栄養分が不足し、冷感、しびれ、間歇性跛行などの症状が現れ、日常生活に支障をきたすようになる。更に症状が進行すると安静時疼痛や下肢の組織障害（潰瘍及び壊死）へと症状が重症化する。このような症状が重症化した患者では、末梢側血液流出（run-off）不良を伴う場合が多く、このうち血行再建術が適応とならない患者では、肢趾切断が余儀なくされているのが現状である。

このような慢性動脈閉塞症（下肢閉塞性動脈硬化症及びビュルガー病）患者に対しては、通常、以下の治療法が選択されている。

- (1) 運動療法及びフットケアや禁煙を含む生活指導、下肢閉塞性動脈硬化症患者の場合は動脈硬化のリスクファクター（糖尿病、脂質異常症や高血圧症など）の除去（軽度若しくは中等度の間歇性跛行を有する患者に適応される。）
- (2) 自家静脈や人工血管をグラフトとして用い外科的に血行を再建する方法（高度の間歇性跛行、安静時疼痛及び潰瘍を示す重症患者に適応される。）

(3) 血小板凝集抑制剤及びプロスタグランジン E1 製剤などによる薬物療法

(軽症患者から重症下肢虚血患者まで幅広く使用されているが、確実な効果が期待できる薬剤は存在しない。)

カテーテルによる血管拡張術やバイパス術などの血行再建術は非常に有効であり、血行再建術の成功は、劇的な臨床症状の寛解をもたらす。しかしながら、カテーテルによる血管拡張術は特に下腿～足部動脈の閉塞性病変に対する治療成績は不良で、狭窄部位が広範囲にわたる場合や完全閉塞では適応となるものは少ない。また、動脈の高度石灰化による血管状態の悪化、run-off 不良及び合併症による全身状態の悪化などの所見を有する患者においては、血行再建術が困難な場合もあり、リスクファクター除去や薬物療法による保存療法により経過観察せざるを得ず、趾肢切断となる患者が後を絶たない。

このようなリスクファクター除去や薬物療法による保存療法により経過観察せざるを得ないような患者に対する新規治療法の開発の医療上の意義は極めて高いと考える。

肝細胞増殖因子 (hepatocyte growth factor :HGF) は、肝細胞を増殖する因子として 1984 年にたん白質が発見され[1]、1989 年に cDNA がクローニングされた[2]。HGF たん白質は、肝障害や腎障害に伴って障害臓器及び肺などの間葉系細胞によって産生され、障害臓器の上皮細胞系に働きかけて再生を促すことが知られており[3]、組織器官の恒常性維持に重要な役割を果たしている。これらの作用に加えて HGF たん白質は、血管内皮細胞の強力な増殖作用を有しており、血管新生にも重要な役割を果たしていることが明らかにされている[4-6]。

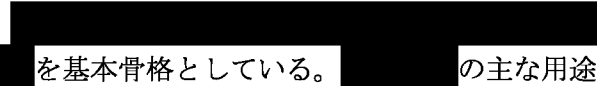
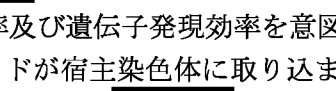
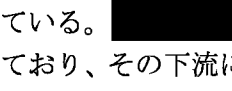
AMG0001 は米国インビトロジェン社が製造しているプラスミド DNA ベクターである pVAX1 を基本骨格とし、ヒト HGF 遺伝子 (cDNA) を組み込んだプラスミド DNA である。AMG0001 は導入された細胞内にて HGF 遺伝子を発現し、HGF たん白が産生される。AMG0001 を用いた遺伝子治療では、産生した HGF たん白質が血管新生と血流増加をもたらす、虚血症状を改善することにより、慢性動脈閉塞症 (閉塞性動脈硬化症及びビュルガー病) の治療薬としての効果が期待される。

標的細胞への HGF 遺伝子導入による局所での継続的な HGF 産生を実現する AMG0001 による遺伝子治療は、局所での虚血状態が慢性的な症状を呈する患者に適した治療であると考える。

6 遺伝子の種類及びその導入方法

6.1 ヒトに導入する遺伝子の構造と性質

6.1.1 ヒトに導入する遺伝子の構造

AMG0001 の構造を図 2 に示した。本剤は、を基本骨格としている。の主な用途は DNA ワクチンであり、高い遺伝子導入効率及び遺伝子発現効率を意図しているのみならず、不要の配列を極力排除することで、プラスミドが宿主染色体に取り込まれることや、他の細胞内エレメントとの作用がないよう考慮されている。はサイトメガロウイルス由来のプロモーター及びエンハンサー領域を有しており、その下流に組み込まれたヒトの HGF 遺伝子 (cDNA) は、導入された細胞において強力的に発現し、HGF たん白質が安定して産生される。また、HGF 遺伝子の下流にはウシ成長ホルモン遺伝子由来のポリ A 付加シグナルが存在し、HGF mRNA の安定性、ひいては HGF たん白質の発現を向上させる働きがある。ヒト

HGF cDNA 以外に新たに挿入された連結部分の塩基配列についても、有害塩基配列やヒト遺伝子との相同性の高い配列は含まれていない。

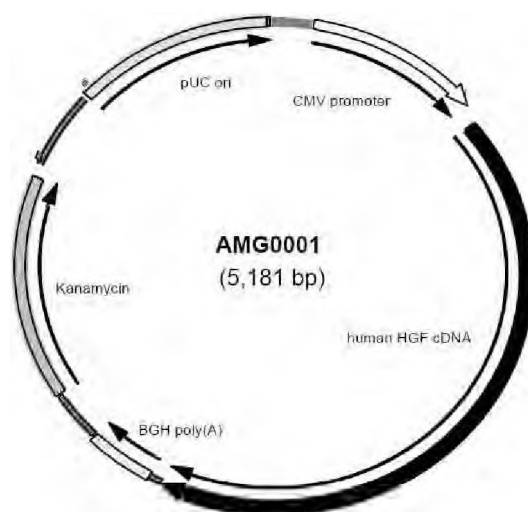


図 2 AMG0001 の構造

6.1.2 ヒトに導入する遺伝子の性質

ヒト HGF は、ヒト染色体 7q21 に位置しており、Miyazawa らによってクローニングされた[20]。HGF たん白質は、728 アミノ酸からなる一本鎖の前駆体のプレプロ HGF として合成され、31 アミノ酸からなるシグナルペプチドが除去された後、細胞外へ分泌される。更に、2 本鎖にプロセッシングを受けて、分子量約 69 kD の α 鎖と約 34 kD の β 鎖のヘテロダイマーとなる。分子量は 82~85 kD である。AMG0001 に含まれる HGF 遺伝子 (cDNA) は、報告されているヒト HGF 配列[20]と同一である。

6.1.2.1 導入遺伝子からの生成物の構造及びその生物活性

HGF は、各種の細胞において増殖や移動性、形態形成に関わっていることが知られており、上皮-中胚葉系の相互作用を介して発生や形態形成に関与していると考えられている[3,21,22]。また、HGF は血管平滑筋細胞増殖に影響を与えず、内皮細胞のみを増殖させることが明らかにされており[23, 24]、典型的なシグナル配列をもち細胞から分泌される[2]。更に、HGF の特異的受容体である c-met も内皮細胞に存在している[25]。一方、bFGF はシグナル配列を持たず、より高い遺伝子導入効率が必要になる。HGF の性質は VEGF と類似しており、aFGF や bFGF が平滑筋細胞や線維芽細胞に増殖作用をもつこととは異なっている[26-28]。

HGF による培養血管内皮細胞の増殖作用を他の代表的な血管内皮の増殖因子である VEGF や bFGF と比較すると、HGF はヒト臍帯静脈由来の血管内皮細胞に対して VEGF と同等の、またヒト大動脈由来の血管内皮細胞に対しては VEGF や bFGF より強力な増殖促進作用を示す[29,30]。このとき、大動脈由来血管内皮細胞に HGF と bFGF を同時投与すると増殖促進効果は相加効果を示す[29]。一方、HGF と VEGF を同時投与すると臍帯動脈由来血管内皮細胞では増殖促進効果は相加的であるが[29]、大動脈由来の血管内皮細胞では相加効果は認めない[30]。

また HGF はヒト臍帯静脈由来の血管内皮細胞に対し VEGF よりも強い遊走促進作用を認め、その効果は VEGF と相乗的である[29]。さらに、以前より HGF はウシ脳微小血管由来の血管

内皮細胞による uPA の産生を促すことが知られていたが[31]、最近、血管内皮細胞が血管新生の初期段階で血管より漏出したフィブリン層を分解し通過するのに必須な MT1-MMP の産生及び、MMP-2 の活性を、HGF がヒト皮膚微小血管内皮細胞及びヒト冠動脈内皮細胞において増強することが示された[6]。また、HGF はヒト臍帯静脈血管内皮細胞による Flk-1 (VEGF レセプター-2) の発現を増強することも示されている[32]。

一方で c-met/HGF レセプターは血管平滑筋細胞にも存在するが[33]、HGF は bFGF と異なりその増殖には影響を及ぼさず、血管内皮細胞に特異的な増殖因子である。血管平滑筋細胞に対して HGF は細胞遊走の促進、血管平滑筋細胞による HGF 自身や VEGF の産生誘導[29]、また MMP-1 の発現亢進などの生物活性を示す。

このように HGF は血管内皮細胞の増殖を特異的に促進しつつ、内皮細胞による細胞外マトリックス分解、遊走、管腔形成を促進するなど強い血管新生作用を示す。更に HGF は血管内皮細胞に対する直接作用ばかりでなく、血管平滑筋細胞を介した作用、また血管壁での VEGF-レセプター系の発現増強などの間接作用にも機能し、HGF はまさに複雑な血管形成過程の総合プロデューサー的な役割を發揮しているといえる。

また、血管内皮細胞に対する増殖促進作用、遊走促進作用、管腔形成作用など血管新生因子としての HGF と VEGF には共通点も多い。実際に両者による血管新生には Ets-1 という共通の転写因子が働いていることがわかっている。Ets-1 は Ets ファミリーに含まれる転写因子で 85 個のアミノ酸からなる Ets ドメインによって標的遺伝子のシス領域に存在する Ets 結合モチーフに結合し、遺伝子を発現する。Ets-1 は間葉系由来の細胞で広く発現が認められるが、血管新生時の血管内皮細胞で発現が増強し血管形成の終了とともに減弱する。HGF も VEGF も内皮細胞における Ets-1 の発現を増強することが知られており[34]、uPA や MMP-1、3、9 など血管新生に必要な遺伝子の発現を誘導している。更に最近 Ets-1 は c-met や Flk-1 の発現を増強することが明らかとなった。HGF が血管平滑筋細胞や皮膚のケラチノサイトにおいて VEGF の発現を誘導することとあわせ[29, 32]、HGF と VEGF のオートインダクション系、若しくはクロストーク系の存在が示唆される。

一方、当然ながら HGF と VEGF の血管新生因子としての性質の違いも明らかになっている。第一に血管内皮細胞が虚血や高血糖などのストレスにさらされると、VEGF の発現は上昇するが HGF の発現は逆に減少し、両者が異なる発現制御を受けていることを示している。また血管発生 (vasculogenesis) 過程における両者の役割も異なっているようである。血管発生において HGF の果たす役割は未だ不明な点が多いが、少なくとも遺伝子ノックアウト動物を用いた解析の結果からは、VEGF 若しくはそのレセプターの遺伝子欠失マウスは大小血管系の発生異常又はその後の血管系の発達不全により胎性致死に至り、VEGF-レセプター系が血管構成細胞の分化及び発達に必須の因子であると考えられるのに対し、HGF や c-met の遺伝子欠失マウスでは血管系の異常は顕著ではなかった (これらのマウスでは胎盤の形成異常が認められ、これが胎盤性血管の形成不全によるものである可能性はある) [35]。また生体における血管透過性に関して VEGF は当初腫瘍が産生する血管透過性亢進因子 (vascular permeability factor) として同定されたことからわかるように血管の透過性を強力に亢進する。生体における血管透過性作用は Miles アッセイで解析することができるが、VEGF はその発見の由来どおり血管透過性を強力に亢進するのに対し、HGF には血管透過性亢進作用は認められない[36]。以下に HGF による血管新生の分子機構を図 3 に示す。

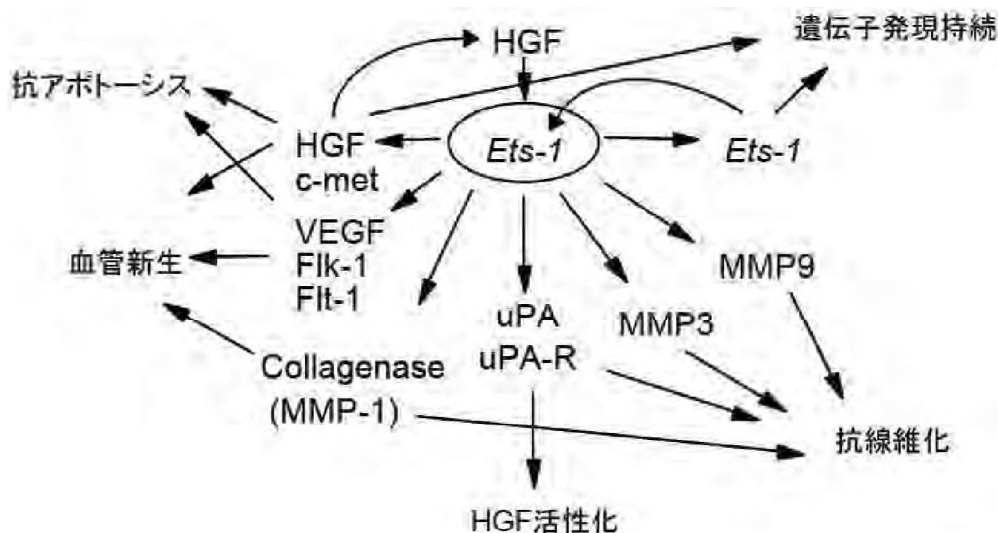


図 3 HGF による血管新生の分子機構

HGF は正常ヒト組織では、ほとんどの組織で発現していることが明らかになっている。まず、主要な産生部位として、腎臓、肝臓及び肺があげられ、循環血液中の HGF はこれら組織からの分泌であると考えられている。Nakamura らは、血清 HGF は健常者で 0.381 ± 0.020 ng/mL であったと報告している[24,29]。一方、局所における HGF 産生は、多くの臓器で確認されており[25]、心臓及び血管においても HGF が産生されることが報告されている[30,31]。血管における HGF 濃度は、ヒト血管において 30~40 ng/mg protein であり[6]、血清 HGF 濃度に比べ、極めて高値である。

AMG0001 に起因する HGF たん白質は、ウエスタンブロットでの確認では挿入した HGF cDNA から予想されるサイズと同じであり、培養内皮細胞及び肝細胞などの各種培養細胞において組換え型 HGF を投与した場合と同じ細胞増殖活性などの生物活性を有することが確認されている。詳細に述べると、AMG0001 は HGF たん白質の前駆体であるプレプロ HGF を産生し、この活性化には、uPA に加え多くのプロテアーゼが HGF の活性化に関与することが知られている。実際、培養内皮細胞及び成熟個体への導入によりバイオアッセイ及びウエスタンブロット法で活性化が認められている[32, 33, 35, 37-39]。

事実、発現した HGF たん白質は、in vitro 及び in vivo の系で組換え型 HGF と同様の生物活性を示している。ラット下肢虚血モデル[35, 38]、ウサギ下肢虚血モデル[38]、ラット心筋梗塞モデル[33]、ラット肝硬変モデル[39]及びラット脳梗塞モデル[36]などでその効果が示されている。

6.2 本研究計画で使用するその他の組換え DNA の構造と性質

当該遺伝子治療臨床研究では、標的細胞への AMG0001 の導入にベクターを使用しない。また、HGF cDNA が挿入されたプラスミド DNA である AMG0001 以外の DNA は使用しない。

6.3 標的細胞とした細胞の由来及び生物学的特徴並びに当該細胞を標的細胞とした理由

当該遺伝子治療臨床研究は、遺伝子導入細胞を投与する ex vivo 遺伝子治療ではなく、直接、プラスミド DNA を生体筋肉内に投与する in vivo 遺伝子治療である。当該遺伝子治療臨床研

究の対象である慢性動脈閉塞症（閉塞性動脈硬化症及びビュルガー病）は、下肢虚血が原因で発症することから、全身での HGF 濃度を増加させずに、虚血部位のみで HGF 濃度を増加させる投与方法が理想的である。当該理想的な投与方法は、虚血下肢局所への直接投与となる。プラスミド DNA の筋肉内投与については、当該筋肉細胞のみで導入遺伝子が発現することが Wolff らにより報告されており[40]、発現した遺伝子がゲノムに挿入される確率は極めて低いか、全くないと報告されている[41, 42]。

このような背景から、筋肉細胞を当該遺伝子治療臨床研究における標的細胞に選定した。

6.4 遺伝子導入方法の概略及び当該導入方法を選択した理由

6.4.1 遺伝子導入方法の理論的根拠

筋肉内への遺伝子導入に関しては、ウイルスベクター及び非ウイルスベクターが用いられている。筋肉細胞が非分裂細胞であるため、レトロウイルスベクターは一般的には使用されていない。アデノウイルスベクターは、筋肉においても効率の高い遺伝子導入が明らかにされ、血管新生の領域においてこれまで GenVec 社による VEGF121 遺伝子、Berlex 社による FGF-4 遺伝子、Genzyme 社による HIF-1 遺伝子等の臨床試験が実施されてきた。しかし、細胞毒性や免疫的傷害性の観点からアデノウイルスベクターの使用には安全性上の懸念が残る。また、近年では AAV ベクターやレンチウイルスベクターが用いられることがあるが、長期の発現が期待できる反面、ゲノムへの組込みによるリスクは高まる。

非ウイルスベクターを用いた遺伝子導入法としてカチオニックリポソーム、HVI-リポソーム及びプラスミド DNA による方法が知られている。HVI-リポソーム法は、高い遺伝子導入効率を特長とするが、まだ安全性の検討が十分に行われていない。1990年に Wolff らは、プラスミド DNA の直接筋肉内投与により、外来遺伝子が筋肉細胞内に導入されることを報告した[40]。また、Acsadi らは、*in vivo* でプラスミド DNA が発現するのは横紋筋に局限し、脳、肝臓、脾臓、子宮、胃、肺及び腎臓等では、プラスミド DNA を直接投与しても有意なレベルでの遺伝子発現は認められていないことを報告している[43]。さらに、メカニズムとして膜破壊及びレセプターによる取り込みが示唆されている[44]。プラスミド DNA は筋肉細胞内のみで発現し[40]、ゲノムに挿入される率は極めて低いか全くないと報告されており、臨床上も問題にならないと考える[41, 42]。実際、重症虚血肢あるいは間歇性跛行を対象として HGF 遺伝子、VEGF 遺伝子、FGF-1 遺伝子（Sanofi-Aventis 社）等を用いた遺伝子治療が実施され、最近その長期安全性成績も報告され始めているが、重大な副作用は報告されていない。当初、レポーター遺伝子では、低レベルで2箇月に及ぶ長期間の発現が報告されたが[40]、メチレーションや他の未知の機構により、実際のたん白質発現は1箇月未満と報告されており[45]、AMG0001 に関してもアンジェス社の社内試験において同様の結果が得られている。

これらの点から、プラスミド DNA の筋肉内投与が安全性において最も優れていると考えた。

一方、HGF のような分泌たん白質をコードする遺伝子の局所導入においては遺伝子導入効率が低くても、実際の生物学的な効果を発揮し得ると考えている。非分泌たん白質による遺伝子導入の場合は、その作用が導入された細胞に局限されるが、パラクライン作用を有する分泌たん白質による遺伝子治療は、作用がその産生細胞の周辺に及び導入効率の低さにも拘らず効果を発揮する可能性がある。実際に重症虚血肢を対象とした HGF 遺伝子治療の臨床試験では、虚血部位周辺に筋肉内投与することで良好な有効性が示されている。

6.4.2 遺伝子導入方法の概略

(1) 投与前後の疼痛対策

必要に応じて、投与前に穿刺予定部位にキシロカインゼリーなどで表面麻酔を行う。注射時の疼痛の程度により痛みが遷延すると判断される場合は、鎮痛剤（ボルタレンやロキソニンなどの NSAIDs）と共に、必要に応じて健胃散を使用する（注射部位の局所反応が遷延する場合は、有害事象として報告する）。

(2) AMG0001 の調剤

AMG0001 の調剤は、クリーンベンチ内で無菌的に行う。解凍した AMG0001 は、6 時間以内に使用し、1 調剤を 1 被験者用として使い切る。また、調剤した AMG0001 はできる限り速やかに使用することが望ましい。すぐに使用しない場合は、使用するまで凍結を避けて遮光下で、冷蔵庫で保管し、72 時間以内に使用する。調剤後、やむを得ず AMG0001 を使用しないことになった場合は、院内の感染性医療用廃棄物に関する取り決めに従って廃棄する。

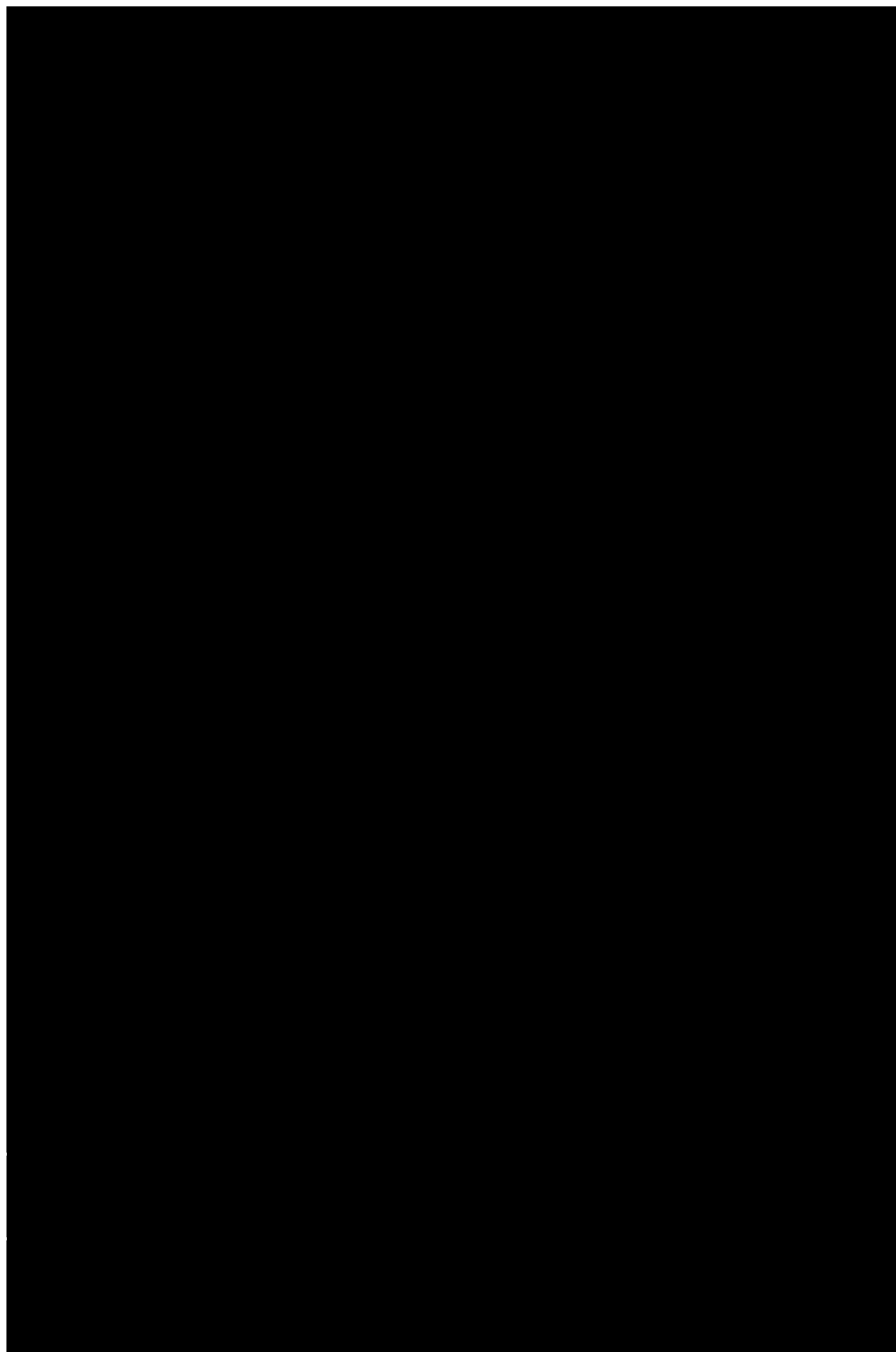
(3) 投与方法

AMG0001 を日局生理食塩液で希釈し、対象肢の虚血部位に対して 1 部位あたり 0.5 mg ずつ 8 部位（合計 4 mg）に筋肉内投与する。投与は 4 週間の間隔をあけて 2 回行う。治療期 8 週間において改善傾向が認められない場合には、更に 3 回目の投与を実施する。

希釈後の AMG0001 の 1 部位あたりの投与液量は 3 mL とし、投与対象筋が小さい場合には 2 mL まで減じてよい。注射部位は虚血の状態により被験者ごとに決定する。

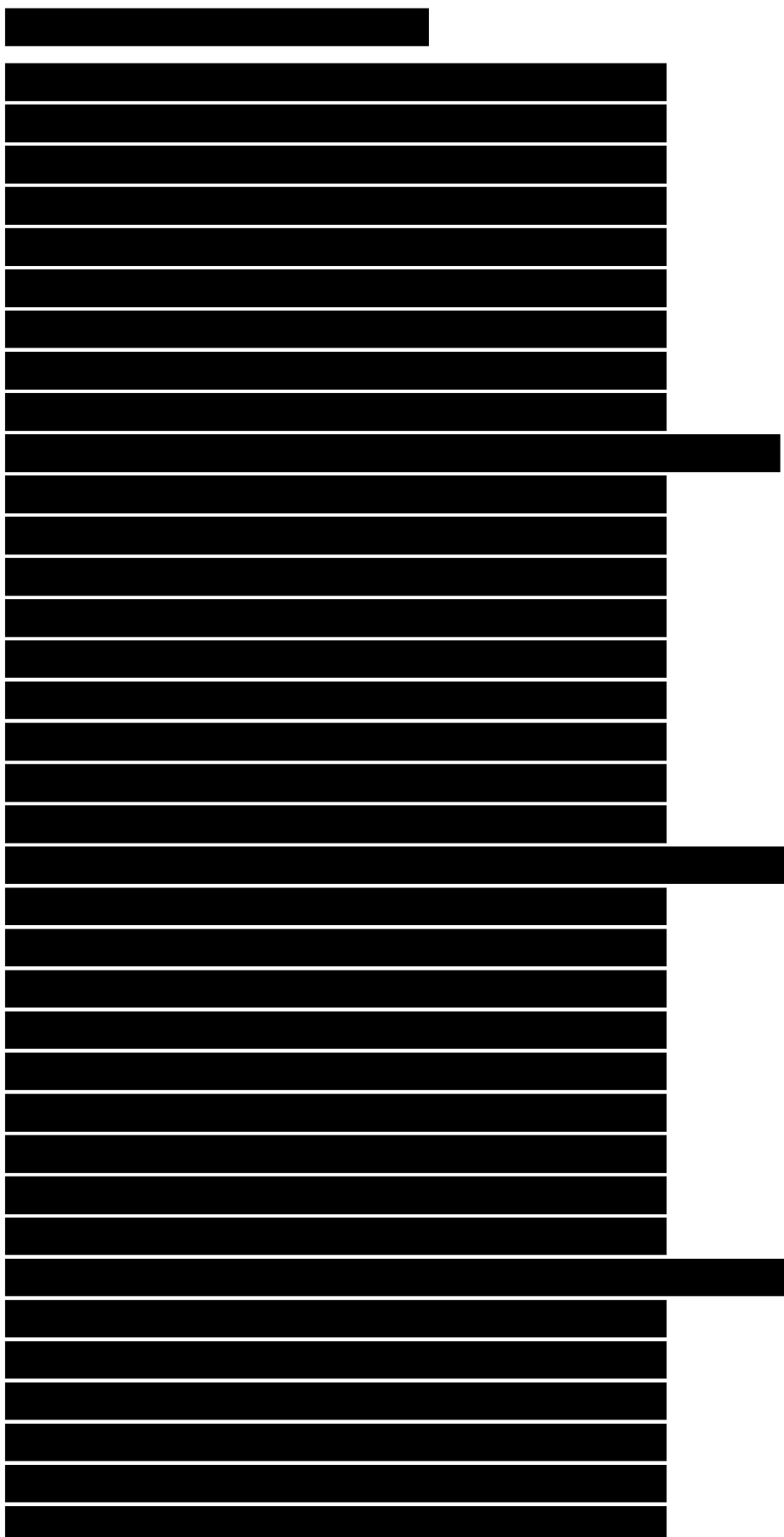
(余白)

6.4.3 使用するベクター（担体）の作製方法



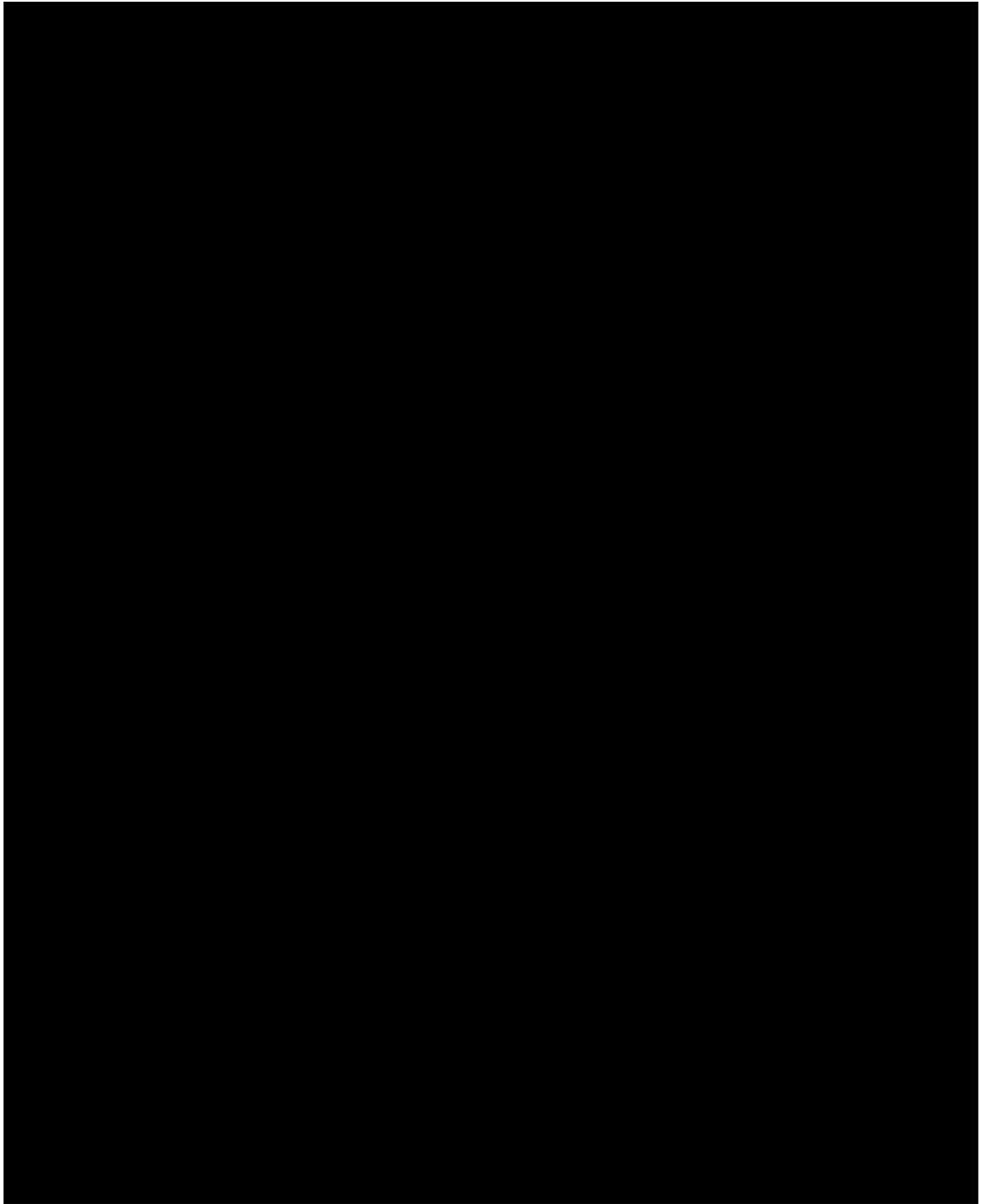


6.4.4 使用するベクター（担体）の構造



[illegible]

[REDACTED]



[Redacted text line]

[Redacted text block]

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]



(余白)

[Redacted]

[Redacted]

[Redacted]

[Redacted]

7 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

7.1 培養細胞を用いた研究成果

AMG0001 を導入した細胞内から細胞培養上清に分泌されたたん白質をウェスタンブロット法により解析した[47]。その結果、陽性対照であるヒト組換え HGF (rhHGF) の α 鎖及び β 鎖と同一位置に陽性のバンドが検出されたことから、AMG0001 は成熟型ヒト HGF を産生、分泌する活性を有していることが示された。

AMG0001 を標的細胞である正常ヒト骨格筋培養細胞に導入し、24 時間培養した後、培養上清中のヒト HGF 濃度を ELISA 法により測定した[48]。その結果、24 時間後の培養上清中にヒト HGF が分泌されることが確認された (図 8)。

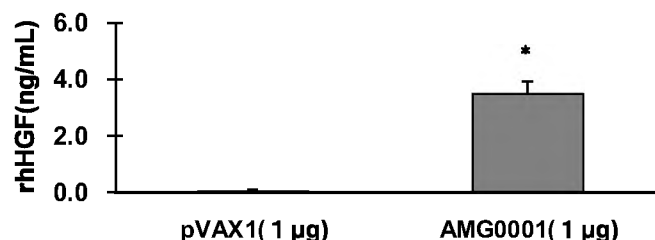


図 8 AMG0001 導入ヒト骨格筋細胞における HGF の発現

平均値±標準偏差 (n=3) *p<0.05 (vs. pVAX1, Bonferroni/Dunn 検定)

AMG0001 により発現するヒト HGF の生物活性について正常ヒト血管内皮細胞に対する増殖活性を指標に検討した[49]。AMG0001 を導入した細胞の培養上清をヒト HGF 濃度が 1、3 及び 10 ng/mL となるように希釈後、ヒト血管内皮細胞に添加し、48 時間後の細胞増殖能を評価した。AMG0001 導入細胞により産生されたヒト HGF は 3~10 ng/mL で濃度依存的にヒト血管内皮細胞を増殖させた (図 9)。本作用は陽性対照である rhHGF と同程度であった。

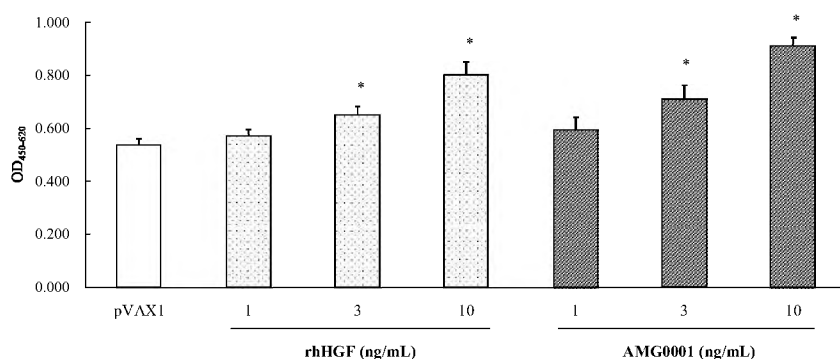


図 9 AMG0001 導入細胞の培養上清から得られたヒト HGF の血管内皮細胞の増殖活性
 平均値±標準偏差 (n=6) *p<0.001 (vs. pVAX1, Dunnett 検定)

7.2 実験動物を用いた研究成果

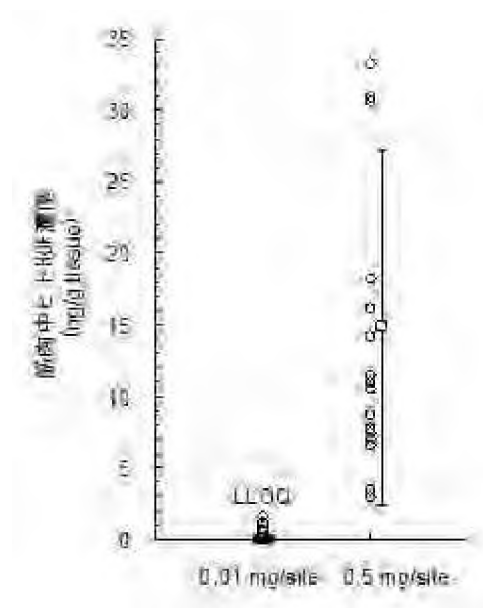
7.2.1 ウサギを用いた投与量及び投与間隔の検討

AMG0001 投与液の濃度及び液量がヒト HGF 発現に及ぼす影響について検討した[50-53]。さらに、投与間隔を検討する目的で、ヒト HGF 発現の経時変化を観察した[54-55]。

投与液濃度の検討においては、投与液量を 1 部位あたり 2.0 mL で固定して、0.01 mg 又は 0.5 mg の AMG0001 をウサギの筋肉内に投与し、投与後 7 日の投与部位におけるヒト HGF 濃度を ELISA 法により測定した。その結果、AMG0001 を 0.5 mg/2.0 mL で投与した場合は、全例でヒト HGF 発現が認められたが、0.01 mg/2.0 mL で投与した場合は、ヒト HGF 発現が確認できた個体は半分以下となり、AMG0001 によるヒト HGF 発現は投与液濃度に依存することが示された (図 10)。

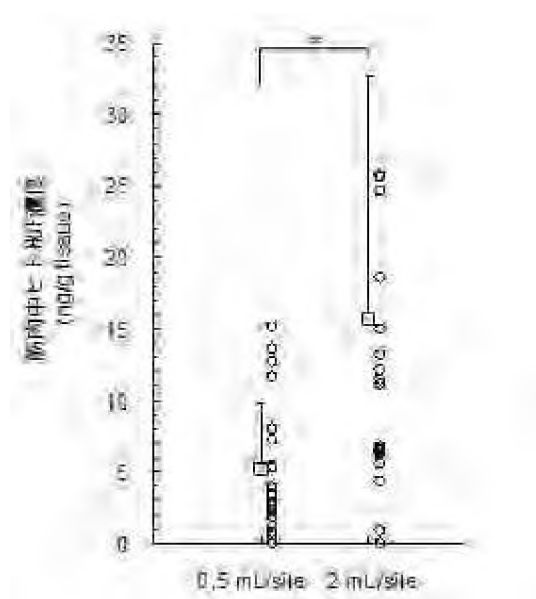
投与液量の検討においては、AMG0001 の投与量を 1 部位あたり 0.5 mg に固定し、投与液量を 0.5 mL (1 mg/mL) あるいは 2.0 mL (0.25 mg/mL) になるように調製して、ウサギの筋肉内に投与し、投与後 7 日の投与部位におけるヒト HGF 発現量を比較検討した。その結果、筋肉中ヒト HGF 濃度は AMG0001 の 0.5 mg/2.0 mL 投与群において有意に高値を示した (図 11)。

ヒト HGF 発現量の経時変化の検討においては、AMG0001 をウサギ骨格筋に 0.5 mg/2.0 mL の用量で投与し、投与後 1、7、14 及び 28 日の投与部位筋肉におけるヒト HGF 濃度を測定した。その結果、ヒト HGF 発現は投与後 1 日より観察され、投与後 7 日に最大となり、その後減少し、投与後 28 日で定量下限値未満となった (図 12)。以上の結果から、初回投与による効果が減弱する 4 週間後に補充的に再投与することは妥当であると考えられた。



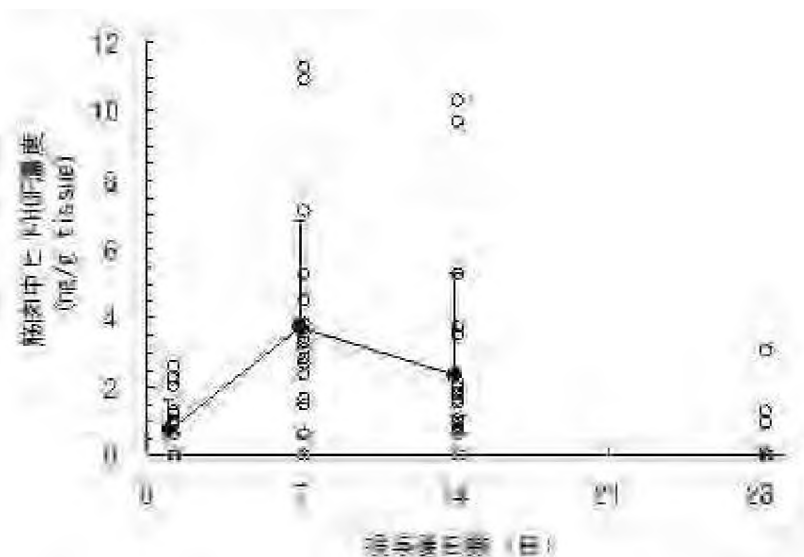
(□ : 平均値±SD)

図 10 AMG0001 投与後 7 日目のウサギ筋肉内におけるヒト HGF の発現
(n=20 下肢) : 部位あたり 0.01 mg/2.0 mL vs. 0.5 mg/2.0 mL



(□ : 平均値±SD *p <0.05 : t-test)

図 11 AMG0001 (0.5mg) の投与後 7 日目のウサギ筋肉内におけるヒト HGF の発現
(n=20 下肢) : 投与量 0.5 mL vs. 2.0 mL/site



(●: 平均値+標準偏差)

図 12 AMG0001 をウサギ下肢に筋肉内単回投与した後 (0.5 mg/2 mL/site) の筋肉中ヒト HGF 発現の経時変化 (n=20 下肢)

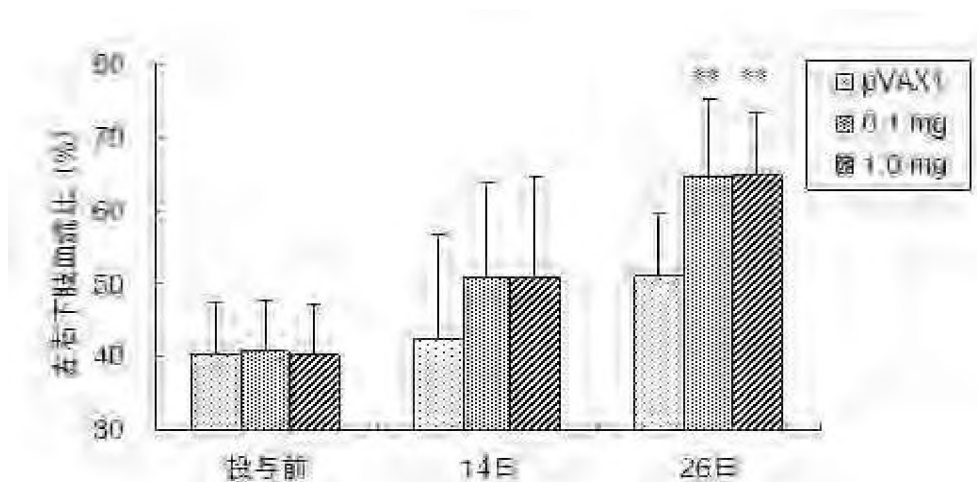
7.2.2 血管新生作用の検討

ラット閉塞性動脈硬化症病態モデルを用いて、AMG0001 の血管新生作用を検討した。

ラットの左大腿動静脈及びその分枝血管を結紮、切除して作製した下肢虚血病態モデルに、AMG0001 を 0.1 又は 1 mg/body の用量で虚血部位筋肉内に投与し、投与後 14 及び 26 日の下肢血流量を測定した。その結果、AMG0001 投与群では対照群と比較して有意な血流増加が認められた (図 13)。さらに、虚血下肢の AMG0001 投与部位の組織を採取して血管内皮細胞マーカーとしてアルカリフォスファターゼ (ALP) 染色を行い、毛細血管数を測定した。その結果、AMG0001 の 1 mg/body 投与群で有意な血管数の増加が認められた。

以上の結果から、AMG0001 は投与部位筋肉で血管新生を誘導し、虚血下肢の血流量を増加させることが明らかとなった。

(余白)



平均値±標準偏差、n=15-16、** $P < 0.01$ (pVAX1 投与群との比較) 検定: Dunnett 検定 (両側)

大腿動脈結紮後 10 日 (投与前) 並びに pVAX1、AMG0001 の 0.1 mg 及び 1.0 mg 投与後 14 及び 26 日に LDPI を用いて左右の下肢血流量を測定し、左右の下肢血流量比で示した。

図 13 ラット下肢虚血モデルにおける AMG0001 の血流量増加作用

7.2.3 主要代謝物 Open Circular 体に関する検討

AMG0001 の主要代謝物である Open Circular 体 (OC 体) の生物活性について、*in vitro* 及び *in vivo* におけるヒト HGF 産生能を指標に、未変化体である AMG0001 との比較検討を行った[56-58]。代謝物 OC 体は *in vitro* においては AMG0001 (未変化体) の 86.4 % の HGF 発現活性を示したが、*in vivo* 筋肉内投与における HGF 発現活性は未変化体と比較して著しく低かったことから、代謝物 OC 体は生体内ではほとんど活性を示さないと考えられた。

8 安全性についての評価

8.1 遺伝子導入方法の安全性

8.1.1 遺伝子導入に用いるプラスミドベクター (担体) の純度

AMG0001 原薬の純度試験の純度に係る試験項目、試験方法及び規格を表 1 に示す。

表 1 AMG 原薬の純度試験及び規格

試験項目	試験方法	規格
宿主由来 DNA	定量 PCR 法	50 ng/μg 以下
宿主由来 RNA	アガロースゲル電気泳動法	20 ng/μg (2 %) 以下
残留たん白質	ビシンコニン酸法	2 μg/mg (0.2 %) 以下
宿主由来たん白質	HCP ELISA 法	6 ng/mg 以下
ラウリル硫酸ナトリウム	アクリジンオレンジ法	0.5 μg/mL 以下

8.1.2 患者に投与する物質（製剤）の純度

AMG0001 製剤の純度試験の純度に係る試験項目、試験方法及び規格を表 2 に示す。

表 2 AMG 製剤の純度試験及び規格

試験項目	試験方法	規格
残留たん白質	ビシンコニン酸法	2 µg/mg (0.2 %) 以下

8.1.3 増殖性ウイルス出現の可能性

AMG0001 は、非ウイルスベクターである大腸菌由来のプラスミド DNA の pVAX1™（インビトロジェン社）を基本骨格としているため[46]、増殖性ウイルスが出現する可能性はない。

8.1.4 遺伝子導入に用いるプラスミドベクター（担体）の細胞傷害性

pVAX1™ は、DNA ワクチンの開発用途を目的として、米国食品医薬品局（Food and Drug Administration:FDA）の「Points to Consider on Plasmid DNA Vaccines for Preventive Infectious Disease Indications」（1996 年 12 月 22 日発行）に準拠して設計されたプラスミド DNA ベクターである[46]。そのため、大腸菌における複製及びほ乳類細胞における目的たん白質の発現に必要なヒトゲノムと相同性のあるような DNA 配列はできる限り排除されており、ヒト染色体への組込みの可能性が最小限に抑えられている。また、ヒト HGF cDNA 以外に新たに挿入された連結部分の塩基配列についても、有害な DNA 配列やヒト遺伝子との相同性の高い配列は含まれていない。

AMG0001 の DNA 初期損傷誘発性の検討を目的として実施したラットを用いた多臓器コメットアッセイでは、対象とした肺及び腎臓のいずれの臓器においても DNA 初期損傷誘発作用は認められていない。

以上のことから、本剤の筋肉内投与によって、細胞又は組織に対して傷害を与える可能性は極めて低いと考える。

8.1.5 体内の標的細胞以外の細胞への遺伝子導入の可能性

当該遺伝子治療臨床研究では、筋肉内にプラスミド DNA（AMG0001）を直接投与する。他臓器における HGF 濃度を増加させることなく、病変部位のみで HGF 濃度を増加させる投与方法が望ましいことから筋肉内投与を選択した。

1990 年に Wolff らは、プラスミド DNA の筋肉内投与により、外来遺伝子が筋肉細胞内に導入されることを報告した[40]。Acsadi は、in vivo でのプラスミド DNA の発現が横紋筋に限局し、脳、肝臓、脾臓、子宮、胃、肺及び腎臓等では、プラスミド DNA を直接投与しても有意なレベルでの遺伝子発現は認められていないことを報告している[44]。細胞内への導入メカニズムとして、細胞膜破壊及び細胞表面レセプターによる取込みが示唆されている[45]。

また、プラスミド DNA は筋肉細胞内のみで発現し[40]、ゲノムに挿入される確率は極めて低いか、まったくないと報告されており、臨床使用における当該リスクは極めて低いと考える[41,42]。

8.1.6 患者以外の人に遺伝子が導入される可能性

プラスミド DNA は感染性を有さず、「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確保に関する法律」で規制される物質にも該当しない。プラスミド DNA が投与された患者から、患者以外の第三者への水平伝播の可能性はない。

8.1.7 染色体へ遺伝子が組み込まれる場合の問題点

pVAX1™ は、ヒトゲノムと相同性のあるような DNA 配列はできる限り排除されており、ヒト染色体への組込みの可能性が最小限に抑えられている[46]。また、ヒト HGF cDNA 以外に新たに挿入された連結部分の塩基配列についても、有害な DNA 配列やヒト遺伝子との相同性の高い配列は含まれていない。

FDA の見解としては (http://www.fda.gov/ohrms/dockets/ac/00/slides/3664s1_04/index.htm)、プラスミド DNA の局所投与において染色体への遺伝子組込みが起こるリスクは低いとの考えが示されている。プラスミド DNA をマウスに筋肉内投与した場合、筋肉細胞に導入されたプラスミド DNA は染色体の外に留まり、組み込まれることはないことが報告されている[40]。また、本剤の基本骨格である pVAX1™ と同様に、DNA ワクチン用として開発されているプラスミド DNA ベクターを用いたマラリアワクチンに関して、プラスミド DNA を筋肉内投与した後に染色体への組込みが発生する頻度は、自然突然変異率と比較しても非常にまれであることを示す結果が報告されている[41]。

本剤をラットに 1.5 mg/kg の用量で静脈内単回投与した時、241 bp を増幅領域とする測定法では、投与後 1 日で脾臓、筋肉、心臓、肺、肝臓、骨髄、膵臓、腎臓、副腎及び大脳で検出された。投与後 4 日では、雄の脾臓のみで検出され、投与後 7 日ではすべての組織で定量下限値未満であった。この時、サザンブロット法を用いた検討により、投与された本剤は血中に移行すると、速やかに代謝されて遺伝子発現能を持たない不活性な核酸断片になることが示されている。

以上の結果から、本剤の筋肉内局所投与による遺伝子治療では、投与部位及び遠隔臓器において、染色体への遺伝子組込みが生じるリスクは非常に低いと考える。

8.1.8 がん原性の有無

AMG0001 は分子量約 3200 kDa (5181 bp) のプラスミド DNA であり、AMG0001 の分子量及び性質から、AMG0001 が細胞膜を通過して DNA や染色体に直接影響を及ぼす可能性は低いと考えられること、通常の *in vitro* 条件下では本剤は細胞内に入らないことから、*in vitro* 遺伝毒性試験は実施しなかった。

ラットを用いた静脈内投与による薬物動態試験結果より、血液中に移行した AMG0001 は速やかに不活性体に代謝され、投与部位以外の主要臓器では不活性な核酸断片として存在していることが示された。しかしながら、ラットに AMG0001 を静脈内投与した際、投与後 1 日目において肺及び腎臓では本剤が比較的多く認められたことから、これらの臓器に対する本剤の発がんイニシエーション作用を検討するため、ラットを用いた多臓器コメットアッセイを実施した。その結果、いずれの臓器においても AMG0001 による DNA 初期損傷誘発作用は認められず、AMG0001 には発がんイニシエーション作用はないことが確認された。本検討は本剤の全身への高暴露を目的として静脈内投与で実施しており、臨床投与経路である筋肉内投与においては、さらなる安全性の担保が可能であると考えられた。

なお、AMG0001 の基本骨格である pVAX1™ は 1996 年 12 月 22 日に米国 FDA から公布された“Point to Consider on Plasmid DNA Vaccines for Preventive Infectious Disease Indications”に準拠して設計され、ヒトゲノムと相溶性のあるような DNA 配列ができる限り排除されており、染色体への組込みの可能性が最小限に抑えられている[46]。

8.2 遺伝子産物の安全性

8.2.1 導入遺伝子の発現産物のがん原性

AMG0001 の発現産物である HGF はヒトの内因性たん白質であり、細胞膜を通過して DNA や染色体成分に直接影響を及ぼし、発がんイニシエーション作用を有するとは考えられないことから、医薬審第 326 号通知「バイオテクノロジー応用医薬品の非臨床における安全性評価」に基づいて、ヒト HGF たん白質を考慮した遺伝毒性試験は実施しなかった。さらに、これまでに実施した反復投与毒性試験においてがん原性を示唆するような病理所見が認められていないことから、HGF が正常組織をがん化する可能性は低いと考える。

HGF は腫瘍細胞の増殖促進作用を有することが知られており、その受容体が発がん原遺伝子である c-Met であることから、腫瘍細胞に対する直接的な増殖促進作用あるいは血管新生作用を介した間接的な作用を及ぼす可能性は否定できない。しかしながら、ラットを用いた静脈内投与による薬物動態試験結果より、血液中に移行した AMG0001 は速やかに不活性体に代謝され、投与部位以外の主要臓器では不活性な核酸断片として存在していることが示されていることから、投与部位以外の遠隔臓器においてヒト HGF たん白質が産生される可能性は極めて低いと考える。また、アンジェス社が実施した慢性動脈閉塞症（閉塞性動脈硬化症又はバージャー病）患者を対象とした臨床試験及び重症安定狭心症患者を対象とした臨床試験において、AMG0001 の投与により血清中ヒト HGF 濃度が AMG0001 に起因する生理的濃度範囲を超えるような上昇を示した症例は認められていないことから[59-65]、投与部位において発現したヒト HGF たん白質が全身性に影響を及ぼす可能性は低いと考える。ラットを用いた静脈内反復投与毒性試験においては、AMG0001 の刺激性に起因する炎症性変化が投与部位で観察された以外に毒性所見は認められていない。

しかしながら、AMG0001 投与部位近傍に腫瘍が存在した場合に、ヒト HGF たん白質がこれらの腫瘍に対して増殖作用を及ぼす可能性について検討する必要があると考え、ヒト腫瘍細胞株を大腿部皮下に移植したヌードマウスを用いて、AMG0001 を腫瘍近傍の大腿部筋肉内に投与し、腫瘍増殖に及ぼす影響を確認する試験を実施した。その結果、腫瘍増殖及び腫瘍転移への影響は認められなかった。

以上のことから、AMG0001 の筋肉内投与による遺伝子治療の場合、がん原性のリスクは極めて低いと考える。

8.2.2 導入遺伝子の発現産物の免疫原性

動物試験においては、血清中に抗ヒト HGF 抗体の存在が散見されたが、これは異種たん白に対する免疫反応と考えられた。

また、アンジェス社が実施した重症虚血肢（閉塞性動脈硬化症又はバージャー病）患者を対象とした臨床試験及び重症安定狭心症患者を対象とした臨床試験において、血清中抗 HGF 抗体の産生は認められず、アナフィラキシー反応は認められなかった[59-65]。

以上のことから、AMG0001 の筋肉投与による遺伝子治療の場合、本剤が免疫応答を惹起させる可能性は非常に低いと考えられた。

8.3 非臨床安全性試験

8.3.1 単回投与毒性試験

8.3.1.1 ラット単回筋肉内投与毒性試験 [66]

SD 系雌雄ラットの大腿筋肉内に 10.0 mg/kg (投与液量: 4 mL/kg) の AMG0001 (S-F 製剤) を単回投与した。その結果、死亡例はなく、AMG0001 投与に関連した変化も認められなかった。病理組織学的には、投与部位における単核細胞の浸潤が AMG0001 投与群のみに認められたが (雄: 2/5 例, 雌: 1/5 例)、いずれもごく軽度から軽度な変化であり、AMG0001 投与に関連した変化とは考えられなかった。

概略の致死量は雌雄ともに 10.0 mg/kg を超える量であった。

8.3.1.2 ラット静脈内単回投与毒性試験 [67]

SD 系雌雄ラットの尾静脈内に 10.0 mg/kg (投与液量: 4 mL/kg) の AMG0001 (S-F 製剤) を単回投与した。その結果、死亡例はなく、AMG0001 投与に関連した変化も認められなかった。病理組織学的検査では、ごく軽度の静脈内皮の肥厚が AMG0001 投与群の雌 1 例の投与部位で認められたが、AMG0001 投与に関連した変化とは考えられなかった。

概略の致死量は雌雄ともに 10.0 mg/kg を超える量であった。

8.3.1.3 製造施設の異なる AMG0001 製剤のラット静脈内単回投与毒性試験 [68]

製造施設の異なる 2 種類の AMG0001 製剤 (B-H 製剤及び S-F 製剤) を 10.0 mg/kg (投与液量: 4 mL/kg) の用量で SD 系雌雄ラットの尾静脈内に単回投与した。その結果、いずれの製剤においても死亡例はなく、AMG0001 投与に関連した変化は認められなかった。病理組織学的検査では、単核細胞の浸潤が肝臓 (B-H 製剤群: 雄 1/5 例、S-F 製剤群: 雄 2/5 例、対照群: 雄 1/5 例) 及び腎臓 (B-H 製剤群: 雌 1/5 例) で認められたが、ごく軽度から軽度な変化であった。

概略の致死量はいずれの製剤においても雌雄ともに 10.0 mg/kg を超える量であった。

8.3.1.4 サル筋肉内単回投与毒性試験 [69]

雄性カニクイザルの大腿筋肉内に 2.5 mg/kg (投与液量: 1 mL/kg) の AMG0001 を単回投与した。その結果、死亡例はなく、AMG0001 投与に関連した変化は認められなかった。血液学的検査において、好塩基球数及び比率の高値 (1/3 例) が認められたが、正常範囲値をわずかに超える程度の一過性の変化であることから、偶発的な変化であると考えられた。

概略の致死量は雄で 2.5 mg/kg を超える量であった。

8.3.2 反復投与毒性試験

8.3.2.1 ラット筋肉内 1 箇月間隔 4 回投与毒性試験 [70]

雌雄ラットの大腿筋肉内に 0、0.5、1.5 及び 5.0 mg/kg（投与液量：2 mL/kg）の AMG0001 を 1 箇月間隔で 4 回投与した。さらに、対照群と 5.0 mg/kg 投与群では、1 箇月の回復性試験を行った。病理組織学的検査では、投与部位における単核細胞浸潤が対照群（雄：1/10 例）及び 5.0 mg/kg 投与群（雄：2/10 例）でみられたが、いずれもごく軽度な変化であった。血清中の抗ヒト HGF 抗体価の上昇が 1.5 mg/kg 投与群（雄：1/10 例，雌：3/10 例）及び 5.0 mg/kg 投与群（投与群：雄 0/10 例，雌 1/10 例，回復群：雄 0/5 例，雌 0/4 例）で認められた。

無毒性量は雌雄ともに 5.0 mg/kg/月であった。

8.3.2.2 ラット筋肉内 1 週間間隔 5 回投与毒性試験 [71]

雌雄ラットの大腿筋肉内に 5.0 mg/kg（投与液量：2 mL/kg）の AMG0001 を 1 週間間隔で 5 回投与した。さらに、最終投与後 4 週間（28 日間）の回復性試験を行った。剖検は最終投与後 4 日に実施した。病理組織学的検査では、AMG0001 投与群の大腿筋（投与部位）において、筋線維の変性・壊死・再生、間質の出血、単核細胞浸潤及び線維化が対照群と比較して高頻度に見られた。これらの変化は AMG0001 の刺激性に起因するものと考えられたが、ごく軽度な変化であり、また明らかな回復性が認められたことから、毒性学的に重大な意義はないと考えられた。血清中に抗ヒト HGF 抗体はみられなかった。

無毒性量は雌雄ともに 5.0 mg/kg/週であった。

8.3.2.3 ラット静脈内 14 日間反復投与毒性試験 [72, 73]

雌雄ラットの尾静脈内に 0.6、2.5 及び 10.0 mg/kg（投与液量：4 mL/kg）の AMG0001 を 14 日間反復投与し、最終投与の翌日に剖検した。更に、対照群と 10.0 mg/kg 投与群では、最終投与後 14 日間の回復性試験を行った。病理組織学的検査では、AMG0001 投与群の投与部位（尾）において、単核細胞浸潤が認められた。この変化は AMG0001 の刺激性に起因するものと考えられたが、ごく軽度な変化であり、また明らかな回復性が認められたことから、毒性学的に重大な意義はないと考えられた。血清中に抗ヒト HGF 抗体はみられなかった。

無毒性量は雌雄ともに 10.0 mg/kg/日であった。

8.3.2.4 サル筋肉内 1 箇月間隔 4 回投与毒性試験 [74-77]

サルの大腿筋肉内に 0.25、0.8 及び 2.5 mg/kg（投与液量：1 mL/kg）の AMG0001 を 1 箇月間隔で 4 回投与し、最終投与後 1 箇月に剖検した。更に、対照群と 2.5 mg/kg 投与群では、剖検日より 1 箇月の回復性試験を行った。臨床所見では、投与期間及び回復期間を通じて、2.5 mg/kg 投与群の雌 1 例で下痢が認められたが、AMG0001 投与との関連性は不明であった。病理組織学的検査では、投与部位における単核細胞浸潤が対照群を含めた全群で認められたが、これらの変化はごく軽度であった。血清中に抗ヒト HGF 抗体はみられなかった。

無毒性量は雌雄ともに 2.5 mg/kg/月であった。

8.3.3 遺伝毒性試験

AMG0001 はプラスミド DNA であり、通常の *in vitro* 条件下では細胞内に入らないことから、*in vitro* 遺伝毒性試験は実施しなかった。一方、AMG0001 をラット静脈内に単回投与した際、投与後 1 日において肺及び腎臓では AMG0001 が比較的多く認められたことから、これらの臓器に対する AMG0001 の発がんイニシエーション作用を検討するため、多臓器コメットアッセイを実施した[78]。

ラットの尾静脈内に 10.0 mg/kg（投与液量：4 mL/kg）の AMG0001 を 24 時間間隔で 2 回投与し、肺及び腎臓における DNA 初期損傷誘発性を検討した。その結果、いずれの臓器においても DNA 初期損傷誘発作用は認められなかった。

8.3.4 がん原性試験

薬物動態試験の結果から、投与部位以外の遠隔臓器において、ヒト HGF が産生される可能性は極めて低く、腫瘍増殖に影響する可能性は低いと考えられた。しかしながら、投与部位の近傍に腫瘍が存在した場合に AMG0001 投与が腫瘍増殖に影響を及ぼす可能性は否定できない。本試験では、AMG0001 の腫瘍増殖に及ぼす影響を検討するため、ヒト腫瘍細胞株を投与部位近傍に移植したヌードマウスの大腿部筋肉内に AMG0001 を投与した[79]。ヒト腫瘍細胞株は、*in vitro* 試験において HGF 受容体である c-Met の発現及びヒト HGF による増殖促進作用が確認された Mewo（ヒト悪性黒色腫由来）及び HT-29（ヒト結腸癌由来）細胞株を用いた。その結果、いずれの腫瘍細胞株においても腫瘍増殖促進作用及び腫瘍転移は認められなかった。

8.3.5 生殖発生毒性試験

ラット及びウサギを用いた薬物動態試験結果より、AMG0001 を筋肉内投与した場合、投与局所においては約 1 ヶ月にわたってヒト HGF を発現させるが、血液中に移行した AMG0001 は速やかに不活性体に代謝され、投与部位以外の臓器では不活性な核酸断片として存在していることが示されたことから、AMG0001 が全身性に影響を及ぼす可能性は低いと考えられた。AMG0001 より発現するヒト HGF に関しては、ラット筋肉内投与による薬物動態試験結果から、投与部位以外の遠隔臓器においてヒト HGF が産生される可能性は極めて低いと考えられた。また、ウサギ筋肉内投与後の血清中ヒト HGF 濃度はいずれの測定時点においても定量下限値未満であったこと、臨床試験において本剤の投与により血清中ヒト HGF 濃度が AMG0001 に起因する生理的濃度範囲を超えるような上昇を示した症例は認められていないことから、投与部位において発現したヒト HGF が全身性に影響を及ぼす可能性は低いと考えられた。実施した筋肉内投与及び静脈内投与による反復投与毒性試験においては、本剤の刺激性に起因する炎症性変化が投与部位で観察された以外に毒性所見は認められていない。

AMG0001 の生殖発生毒性試験は実施していないが、妊娠ラットを用いた筋肉内投与による薬物動態試験では、AMG0001 は胎盤をほとんど通過しないことが示されており、AMG0001 が胚・胎児に直接作用する可能性も低いと考えられた。（詳細は 8.4.2.5 を参照）

AMG0001 に乳汁移行があるかどうかは薬物動態試験において確認されていないが、実施した薬物動態試験及び毒性試験の結果から、AMG0001 及び発現したヒト HGF が乳汁移行により次世代に影響を及ぼす可能性は低いと考えられた。

8.3.6 局所刺激性試験

ウサギを用いて製造施設の異なる 2 種類の AMG0001 製剤（B-H 製剤及び S-P 製剤）の筋肉局所刺激性を検討した[80, 81]。AMG0001 の 0.17 mg/mL 溶液（臨床使用濃度）1 mL をウサギの大腿外側広筋に単回投与し、投与後 2、7 及び 14 日に筋肉障害性について検討した。投与後 2 及び 7 日では、筋線維の変性及び壊死、組織球及び偽好酸球の浸潤、並びに出血が認められたが、投与後 14 日には、これらの所見は消失又は軽減した。投与後 2 日にみられた変化は、陰性対照の生理食塩液でも同程度認められた。

8.3.7 抗原性試験

製造施設の異なる 2 種類の AMG0001 製剤（B-H 製剤及び S-P 製剤）の抗原性を確認するため、マウスを用いた異種受身皮膚アナフィラキシー反応試験（Hetero-PCA 試験）、モルモットを用いた全身性アナフィラキシー反応試験（ASA 試験）及び同種受身皮膚アナフィラキシー反応試験（Homo-PCA 試験）を実施した[82-84]。感作したマウス及びモルモットの血清中抗 AMG0001 抗体を ELISA 法で測定した。すべての試験結果は陰性であり、いずれの AMG0001 製剤にも抗原性はないと考えられた。

8.3.8 安全性薬理試験

ラット及びサルの中樞神経系並びにサルの呼吸・循環器系に対する安全性薬理試験を GLP 遵守で実施した。その結果、AMG0001 による毒性は認められなかった。

8.3.8.1 中樞神経系に及ぼす影響 [85]

SD 系雄性ラットに 0.5 及び 5.0 mg/kg（投与液量：2 mL/kg）の AMG0001 を単回筋肉内投与し、Functional Observational Battery（FOB）法を用いて投与後 168 時間までの中樞神経系に及ぼす作用を観察した。その結果、一般症状、行動及び体温に影響を及ぼさなかった。また、サルに 0.25 及び 2.5 mg/kg（投与液量：1 mL/kg）の AMG0001 を無麻酔下で単回筋肉内投与しても、行動への影響は認められなかった。

8.3.8.2 呼吸・循環器系に及ぼす影響 [86, 87]

雄性カニクイザルに 0.25 及び 2.5 mg/kg（投与液量：1 mL/kg）の AMG0001 を無麻酔下で単回筋肉内投与し、投与後 24 時間まで及び投与後 168 時間にテレメトリー及びホルター心電図測定法を用いて呼吸・循環器系に及ぼす影響を観察した。その結果、血圧、心拍数及び心電図に影響は認められなかった。また、呼吸数並びに動脈血 pH、CO₂ 分圧、O₂ 分圧及び O₂ 飽和度に影響はみられなかった。

8.3.9 毒性結果のまとめ

AMG0001 のラット単回筋肉内及び静脈内投与における概略の致死量は、いずれの投与経路においても 10.0 mg/kg を超える量であった。AMG0001 のサル単回筋肉内投与における概略の致死量は 2.5 mg/kg を超える量であった。

ラット筋肉内 1 週間間隔 5 回投与毒性試験及びラット静脈内 14 日間反復投与毒性試験では、AMG0001 投与群の投与部位において AMG0001 の刺激性に起因すると考えられる炎症性変化が認められたが、いずれもごく軽度な変化であり、また明らかな回復性が認められた。

ことから、毒性学的に重大な意義はないと考えられた。その他に AMG0001 投与に関連した変化は認められなかった。ラット筋肉内 1 箇月間隔 4 回投与毒性試験では、血清中の抗ヒト HGF 抗体価の上昇が 1.5 mg/kg 及び 5.0 mg/kg 投与群の少数例で認められた。無毒性量は、ラット筋肉内 1 箇月間隔 4 回投与毒性試験では 5.0 mg/kg/月、1 週間間隔 5 回投与毒性試験では 5.0 mg/kg/週、ラット静脈内 14 日間反復投与毒性試験では 10.0 mg/kg/日、サル筋肉内 1 箇月間隔 4 回投与毒性試験では 2.5 mg/kg/月であった。

AMG0001 の発がんイニシエーション作用を検討するため、肺及び腎臓における DNA 初期損傷誘発性についてラット多臓器コメットアッセイを用いて評価した。その結果、いずれの臓器においても AMG0001 による DNA 初期損傷誘発作用は認められなかった。また、AMG0001 の発現産物である HGF には腫瘍細胞増殖促進作用があることが知られていることから、担がんマウスを用いた腫瘍増殖への影響確認試験を実施した。その結果、担がんマウスでは AMG0001 による腫瘍増殖及び腫瘍転移への影響は認められなかった。

AMG0001 製剤の臨床使用濃度（0.17 mg/mL）における局所忍容性は、生理食塩液とほぼ同程度と考えられた。AMG0001 の抗原性は認められなかった（ASA 及び PCA 試験で共に陰性）。

安全性薬理試験の結果から、AMG0001 について中枢神経系、呼吸・循環器系への影響はないものと推察された。

8.4 薬物動態試験

8.4.1 分析法

非虚血ラット筋肉内単回及び複数回投与、静脈内単回投与時の AMG0001 分布試験を実施した。AMG0001 濃度測定には TaqMan[®]ベースの Quantitative polymerase chain reaction 法（以下、Q-PCR 法）を用いた。AMG0001 濃度の定量下限値（LLOQ）は、血液で 10 コピー/μL、尿で 50 コピー/μL、組織で 50 コピー/μg DNA であった。AMG0001 の代謝物組成分析にはサザンブロット法を用いた。

8.4.2 分布

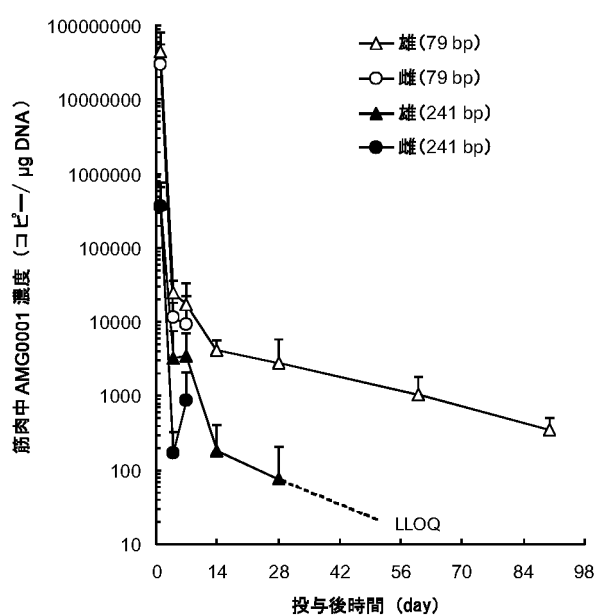
8.4.2.1 ラット筋肉内単回投与時の組織分布、血中濃度推移 [88-90]

AMG0001 を雌雄ラットに 1.5 mg/kg の用量で筋肉内単回投与した時、投与後 1 日、4 日及び 7 日の組織中濃度を 79 bp 及び 241 bp を増幅領域とする 2 種類のプライマーセットを用いた Q-PCR 法で測定した。また、雄性ラットに筋肉内単回投与した時、投与後 14 日、28 日、60 日及び 90 日の投与部位中 AMG0001 濃度を 2 種類のプライマーセットを用いて測定した。

AMG0001 を雄性ラットに 1.5 mg/kg の用量で筋肉内単回投与した時の投与部位筋肉中 AMG0001 濃度を 79 bp を増幅領域とする測定法で測定した。筋肉中 AMG0001 濃度の投与後 14 日以降の $t_{1/2}$ は、21 日であった。また、241 bp を増幅領域とする測定法では、筋肉中 AMG0001 濃度は、投与後 60 日で定量下限値未満となった（図 14）。AMG0001 を雌雄ラットに 1.5 mg/kg の用量で筋肉内単回投与した時、79 bp を増幅領域とする測定法により組織中 AMG0001 濃度を測定した。投与後 1 日、雄で血液中 AMG0001 濃度より高濃度を示した臓器・組織は、投与部位筋肉、肺、非投与部位筋肉、脾臓、心臓、膵臓、腎臓及び副腎であった。雌では血液中 AMG0001 濃度が定量下限値未満であり、AMG0001 が検出された臓器・

組織は、投与部位筋肉、肺、心臓、腎臓、小腸、非投与部位筋肉及び大脳であった。投与後4日以降では投与部位筋肉を除く組織においては定量下限値未満であった。一方、241 bpを増幅領域とする測定法では投与部位以外の中枢及び生殖器を含む全ての組織でAMG0001は定量下限値未満であった。

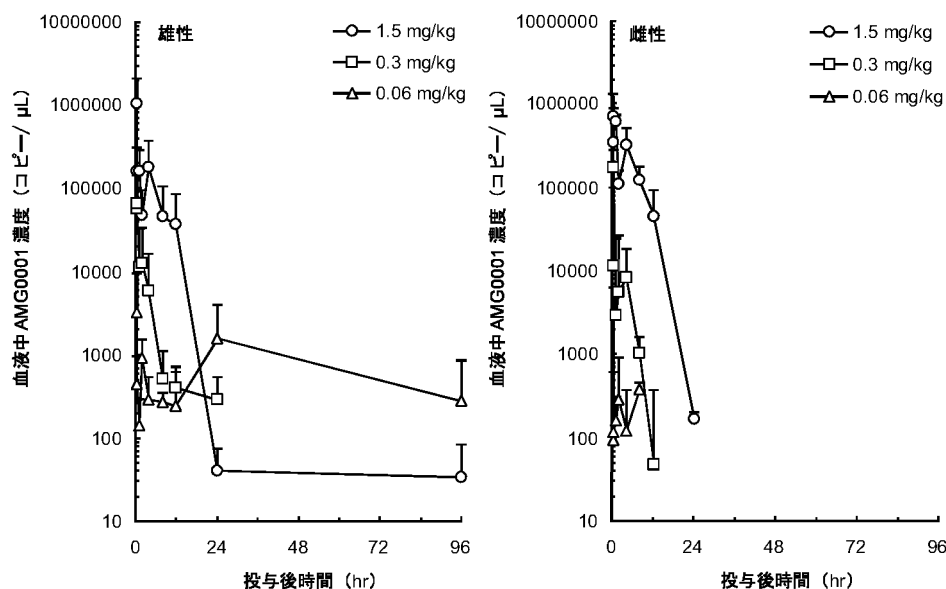
AMG0001を雌雄ラットに0.06、0.3及び1.5 mg/kgの用量で筋肉内単回投与した時、血液中AMG0001濃度は、雄性ラットで投与後2.1時間、1.3時間及び0.31時間、雌性ラットで6.5時間、0.44時間及び4.3時間にそれぞれ最大であった(図15)。雄性ラットでの $t_{1/2}$ は、0.06 mg/kgで4.5時間、1.5 mg/kgで4.0時間であり、0.3 mg/kgでは算出できなかった。雌性ラットでの $t_{1/2}$ は、0.3 mg/kgで0.99時間、1.5 mg/kgで3.7時間であり、0.06 mg/kgでは算出できなかった。AMG0001を1.5 mg/kgの用量で筋肉内単回投与した際のAUCから算出したみかけ上の吸収率は、雌ラットで0.2%、雄ラットで0.7%であった。



(n=4、平均値±標準偏差)

図 14 雌雄ラットに1.5 mg/kgの用量で筋肉内単回投与した時の筋肉中濃度推移

(余白)



(n=4、平均値+標準偏差)

図 15 雌雄ラットに 0.06、0.3 及び 1.5 mg/kg の用量で筋肉内単回投与した時の血液中濃度推移

8.4.2.2 ラット筋肉内単回投与及び 1 箇月間隔 2 回投与時の筋肉及び血中濃度推移 [90-92]

AMG0001 を雄性ラットに 1.5 mg/kg の用量で筋肉内 1 ヶ月間隔 2 回投与した時、2 回目投与後 7 日、14 日、28 日及び 60 日での投与部位筋肉中 AMG0001 濃度を 79 bp 及び 241 bp を増幅領域とする 2 種類のプライマーセットを用いた Q-PCR 法で測定した。筋肉中 AMG0001 濃度は筋肉内単回投与時と同様に推移し、投与後 14 日以降の $t_{1/2}$ は 48 日であった (図 16)。投与後 60 日の 79 bp 及び 241 bp を増幅領域とする Q-PCR 法での筋肉中濃度の比較より、筋肉中 AMG0001 は、大部分がヒト HGF 産生能を持たない不活性な核酸断片になったと考えられた。

(余白)

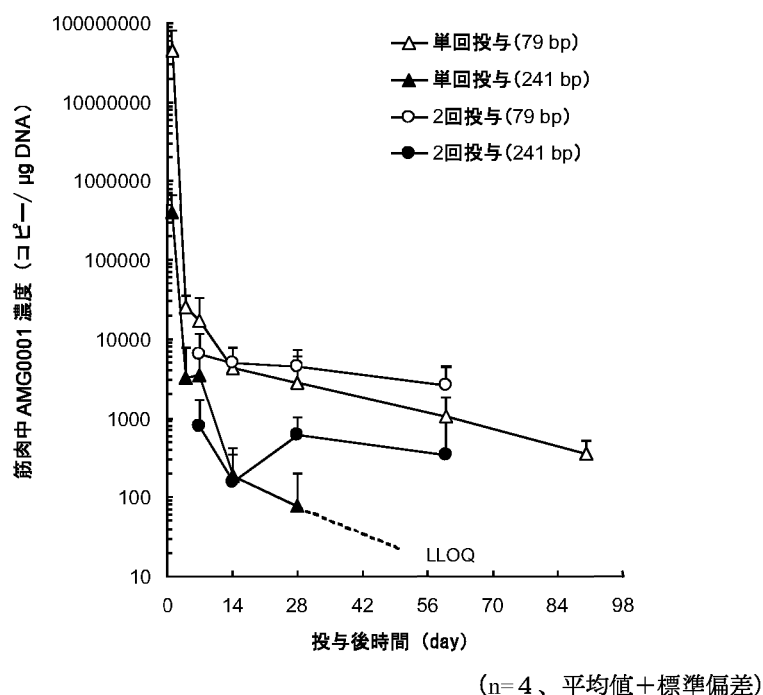


図 16 雄性ラットに 1.5 mg/kg の用量で筋肉内単回及び 1 箇月間隔 2 回投与した時の筋肉中濃度推移

8.4.2.3 ラット静脈内単回投与時の組織分布、血中濃度推移 [90, 93-96]

79 bp を増幅領域とする測定法により、投与後 1 日及び 4 日では AMG0001 は広範な組織で検出された。投与後 7 日では骨髄、肺、心臓、腎臓、精巣、卵巣、脾臓及び筋肉で検出された。

241 bp を増幅領域とする測定法では、投与後 1 日で脾臓、心臓、肺、筋肉、骨髄、肝臓、脾臓、腎臓、副腎及び大脳で検出された。投与後 4 日では、雄の脾臓のみで検出され、40 コピー/μg DNA を示し、投与後 7 日では検討した全ての組織で定量下限値未満であった。

AMG0001 を雌雄ラットに 1.5 mg/kg の用量で静脈内単回投与した時、血液中 AMG0001 濃度の $t_{1/2}$ は、雌雄それぞれ投与後 1 分～2 時間で 6.8 分及び 6.2 分、投与後 4 時間以降で 7.0 時間及び 12 時間であった。雌雄ラットの投与後 4 時間以降の $t_{1/2}$ に有意な差が認められたが、他の PK パラメーターは、雌雄ラットで違いはなく AMG0001 の経時変化に性差はないと考えられた。

8.4.2.4 サル筋肉内単回投与時の血中濃度推移 [90,97,98]

AMG0001 を雄性カニクイザルに 0.5 及び 2.5 mg/kg の用量で筋肉内単回投与した時、血液中 AMG0001 濃度を 79 bp を増幅領域とする Q-PCR 法で測定した。0.5 及び 2.5 mg/kg での血液中 AMG0001 濃度の t_{max} はそれぞれ投与後 3.0 時間及び 0.50 時間であった (図 17)。血液中 AMG0001 濃度は 2 峰性のピークを示し、0.5 及び 2.5 mg/kg 投与時の $t_{1/2}$ はそれぞれ 6.2 時間及び 11 時間であった。

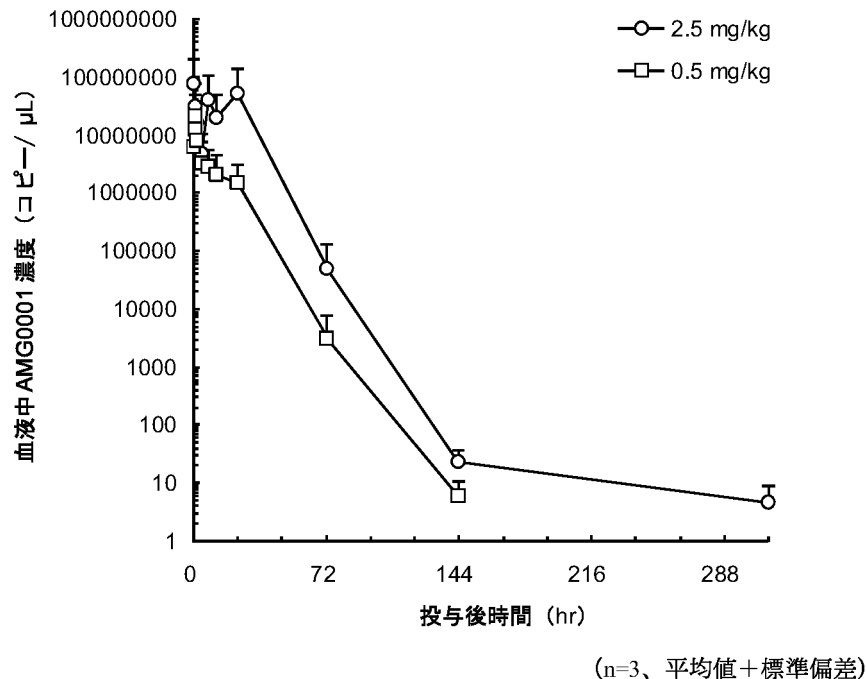


図 17 雄性カニクイザルに 0.5 及び 2.5 mg/kg の用量で筋肉内単回投与した時の血液中濃度推移

8.4.2.5 胎盤移行性 [99]

1 群各 3 匹の妊娠 13 日齢のラットの大腿部骨格筋に生理食塩水又は AMG0001 を単回筋肉内投与し、胚・胎児への AMG0001 の分布を検討した。AMG0001 投与群は 0.15 mg/kg、1.5 mg/kg、投与液量は 0.6 mL/kg とし、投与終了後 1、2、4 日後に血液及び羊水、子宮、胚・胎児、胎盤、投与部位（大内転筋）を採取した。AMG0001 はリアルタイム PCR 法で測定した（定量限界値：50 コピー/μg DNA、検出限界値：10 コピー/μg DNA）。

その結果、0.15 mg/kg 投与群では投与部位筋肉において、投与 1 日後を最大（140,127～1,693,900 コピー/μg DNA）に 4 日後までの全例で AMG0001 が検出された（2 日後：5,205～35,004、4 日後：1,250～1,523 コピー/μg DNA）。一方、血液、胎盤及び子宮では 4 日後の 2/3 例の子宮で、羊水及び胚・胎児では 1 日後の 1/3 例の胚・胎児において定量限界値未満で検出されたのみであった。

1.5 mg/kg 投与群（臨床推定用量の約 20 倍）では投与部位筋肉において、投与 1 日後を最大（251,253～10,479,400 コピー/μg DNA）に 4 日後までの全例で AMG0001 が検出された（2 日後：18,296～45,521、4 日後：4,651～14,258 コピー/μg DNA）。血液では 1 日後の 1/3 例で 355 コピー/μg DNA、2 日後の 1/3 例で 89 コピー/μg DNA の AMG0001 が検出された以外はすべて定量あるいは検出限界値未満であった。胎盤及び子宮では、1 日後の 1/3 例の胎盤で 70 コピー/μg DNA、1 日後の 1/3 例の子宮で 124 コピー/μg DNA の AMG0001 が検出された以外はすべて定量あるいは検出限界値未満であった。また、羊水及び胚・胎児では、2 日後の 2/3 例の胚・胎児において定量限界値未満で検出されたのみであった。

以上の結果から、AMG0001 の胚・胎児への移行は極めて少ないことが確認された。

8.5 代謝

8.5.1 *In vitro* 代謝 [100]

一般にプラスミド DNA は、Covalently Closed Circular 体 (CCC 体)、Open Circular 体 (OC 体)、Linear 体 (LN 体) の高次構造の異なる 3 種の形態のいずれかで存在する (図 18)。製剤中の AMG0001 は大部分が CCC 体として存在していることが品質試験から確認されている。AMG0001 をヒト及びラット血清中でインキュベーションし、AMG0001 の未変化体である CCC 体の *in vitro* での代謝速度を比較した。AMG0001 は血清中に添加すると速やかに OC 体、LN 体に代謝され、CCC 体の $t_{1/2}$ を概算すると、ヒト血清では 37 秒、ラット血清では 28 秒であった。CCC 体の代謝速度にヒト及びラット血清間で差は認められず、いずれの血清中においても速やかに代謝された。

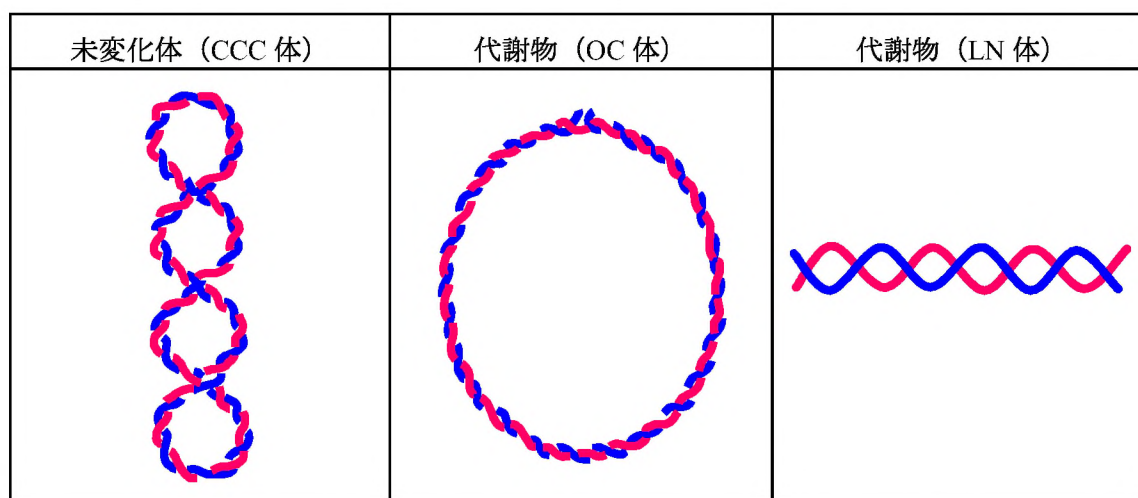


図 18 AMG0001 及びその代謝物 (OC 体及び LN 体) の模式図

8.5.2 *In vivo* 代謝 [88, 89, 93, 94]

AMG0001 をラットに筋肉内投与し、サザンブロット法にて代謝物を分析した。数例では血液中に OC 体及び LN 体が検出されたが、未変化体である CCC 体は認められなかった。さらに低分子化された核酸断片と考えられるスメアが検出された。AMG0001 を静脈内投与し、同様の方法で血液中代謝物を分析した結果、投与後 1~5 分で CCC 体は検出されず、主として OC 体及び LN 体が検出された。さらに、投与後 15 分では OC 体及び LN 体も検出されず、さらに低分子化された核酸断片と考えられるスメアのみが検出された。以上より、AMG0001 は生体内にて、CCC 体から OC 体あるいは LN 体へ変化し、最終的には DNase により活性を持たない核酸断片へと代謝されると考えられた。

8.6 排泄

8.6.1 ラット静脈内単回投与時の尿中排泄 [93, 94]

AMG0001 を雌雄ラットに 1.5 mg/kg の用量で静脈内単回投与した時、尿中 AMG0001 濃度を 79 bp を増幅領域とする Q-PCR 法で測定した結果、投与後 168 時間までの尿中 AMG0001

濃度は全て定量下限値未満であった。採尿時間は、投与前、0～8、8～24、24～48、48～72、72～96、96～120、120～144 及び 144～168 時間とした。

9 AMG0001 遺伝子治療臨床研究及び臨床試験の実施状況

これまで実施された AMG0001 の国内外の末梢動脈疾患患者を対象とした臨床研究及び臨床試験の概要を表 3 に示す。

表 3 AMG0001 の臨床試験の概要

試験番号（実施国）	対症疾患	試験デザイン	症例数	投与量	結果
AMG0001-JN-100 大阪大学臨床研究 （日本） [59, 60]	間歇性跛行/重症 虚血肢を有する ASO又はTAO	非盲検	22例	2.0 mg x 2回(0,28日後*) 4.0 mg x 2回(0,28日後) *: 最初の6例は-14日目 に0.4 mgを投与	・安全性上の問題はなかった。 ・64 %の症例で潰瘍の改善が認められ、62 %の症例で安静時疼痛の改善が認められた。
AMG0001-JN-101 第III相試験 （日本） [61]	重症虚血肢を有 するASO	二重 盲検	44例 実薬:29例 プラセボ: 15例	4.0 mg x 2回(0,28日後)	・12週後において AMG0001群で有意な潰瘍の改善がみられ、複合した改善率でも有意差を認めた。 ・安全性上の問題はなかった。
AMG0001-JN-102 一般臨床試験 （日本） [62]	重症虚血肢を有 するTAO	非盲検	10例	4.0 mg x 2回(0,28日後) (56日目に追加投与可能)	・12週後において9例中6例で潰瘍の改善を認めた。 ・安全性上の問題はなかった。
AG-CLI-0202 第II相試験 （米国） [63]	重症虚血肢を有 するASO	二重 盲検	104例 実薬: 78例 プラセボ: 26例	0.4 mg x 3回(0,14,28日後) 4.0 mg x 2回(0,28日後) 4.0 mg x 3回(0,14,28日後)	・TcPO2で有意な増加が認められた。 ・潰瘍サイズに変化がみられなかった。 ・安静時疼痛は変化がみられなかったが、SF36（体の痛み）で減少がみられた。 ・安全性上の問題はなかった。
AG-CLI-0205 追加第II相試験 （米国） [64]	重症虚血肢を有 するASO	二重 盲検	27例 実薬:21例 プラセボ: 6例	4.0 mg x 3回(0,14,28日後)	・潰瘍治癒、安静時疼痛、血行動態値（TP,TBI）ではAMG0001群で良好な結果が得られた。 ・安全性上の問題はなかった。

ASO:閉塞性動脈硬化症、TAO:バージャー病、TP:足趾血圧、TBI:足趾/上腕血圧比

9.1 AMG0001-JN-100 試験（国内試験） [59,60]

血行再建術の適応がなく、かつ既存の内科的治療が無効な閉塞性動脈硬化症及びビュルガー病患者を対象として、研究者主導の臨床研究として実施された。第一ステージでは、AMG0001 0.4 mg の予備投与で安全性に問題が認められないことが確認された後、AMG0001 2.0 mg を 4 週間隔で 2 回投与した際の安全性が検討された。その後第二ステージでは、AMG0001 2.0 mg と 4.0 mg の 4 週間隔 2 回投与で用量反応性の検討（第二ステージ）が行われた。

その結果、AMG0001 の 4.0 mg までの忍容性が確認された。また、第二ステージでは 2.0 mg と 4.0 mg で有効性に差は認められなかった。

9.2 AMG0001-JN-101 試験（国内試験） [61]

血行再建術の施行が困難でかつ既存の内科的治療が無効な重症虚血肢を有する閉塞性動脈硬化症患者を対象に、AMG0001 の有効性を検討した。その結果、中間解析において AMG0001 群のプラセボ群に対する優越性が検証された。また、安全性について、AMG0001 の忍容性に問題は認められなかった。

9.3 AMG0001-JN-102 試験（国内試験） [62]

血行再建術の施行が困難でかつ既存の内科的治療が無効な潰瘍を有するビュルガー病患者を対象に、AMG0001 の有効性と安全性を検討した。その結果、潰瘍の改善において良好な有効性が示された。また、安全性について、AMG0001 の忍容性に問題はみられなかった。

9.4 AG-CLI-0202 試験（海外試験） [63]

血行再建術の適応がない重症虚血肢を有する閉塞性動脈硬化症を対象に、AMG0001 0.4 mg の 2 週間毎 3 回投与、AMG0001 4.0 mg の 4 週間毎 2 回投与、AMG0001 4.0 mg の 2 週間毎 3 回投与及びプラセボ投与の安全性及び有効性の検討を米国にて行った。

その結果、有効性については評価項目のひとつである TcPO₂ の変化量では各群間に統計学的に有意な差は認められなかったが、観察期間中に TcPO₂ の改善が認められた症例を除いた層別解析では、プラセボ群と 4.0 mg×3 群とで統計学的有意差が認められた。また、安全性については、AMG0001 4.0 mg の 2 週間隔 3 回投与までの忍容性に問題はみられなかった。

9.5 AG-CLI-0205 試験（海外試験） [64]

国内の AMG0001 の臨床試験では投与方法を虚血部位と定めていたが、米国第 II 相試験では膝上 4 箇所、膝下 4 箇所と治験実施計画書で定めており、日本の試験とは大きく投与方法が異なっていた。そこで、本試験は日本の試験と同様に下肢の虚血部位に投与する方法で実施された。血行再建術の適応がない重症虚血肢を有する閉塞性動脈硬化症を対象に、AMG0001 4.0 mg の 2 週間毎 3 回投与及びプラセボ投与の安全性及び有効性の検討を米国にて行った。しかし、骨や腱の露出を伴う潰瘍や壊死を伴うような重症の症例が多く登録され、有効性の評価が困難と判断されたことより、目標の 48 例に対し 27 例が登録された時点で新規症例登録を中止した。

10 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

AMG0001 を用いた国内外の臨床研究及び臨床試験から得られた情報に基づき、AMG0001 の安全性プロファイルを検討した結果、AMG0001 に特有の注視すべき有害事象は認められていない。

AMG0001 は、血管新生作用を有するプラスミド DNA であることから、一般的な理論的リスクとして、投与部位近傍における異常な血管新生、投与部位以外の遠隔臓器における血管新生に伴う有害反応の発生、及び AMG0001 に対する過剰な免疫応答の可能性がある。

しかしながら、各試験を通じて比較的高い頻度で認められた有害事象は、投与手技に関連する事象であり、投与部位での血管腫発生等異常な血管新生は認められなかった。

遠隔臓器への影響については、各臨床試験において AMG0001 投与に起因する血中 HGF 濃度の上昇はみられていないこと、血管新生に起因することが疑われる増殖糖尿病網膜症等の有害事象の発生は認められていないこと、及び *in vitro* 試験において AMG0001 がヒト血清中で速やかに代謝されることが示されていること等から、投与部位以外の遠隔臓器へ影響を及ぼすリスクは低いと考える。

なお、AMG0001 との因果関係が完全には否定されなかった有害事象として悪性腫瘍が 6 例 7 件認められたが、個々の事象を詳細に検討した結果、いずれも AMG0001 との関連性は低いと判断している。

また、免疫応答反応の誘引因子となり得るような各種抗体の産生は認められず、AMG0001 が免疫応答を惹起させる可能性は低いことが示唆される。

これまで実施されてきた臨床試験の結果、既存療法で改善の認められない間歇性跛行、安静時疼痛及び潰瘍を有する閉塞性動脈硬化症又はビュルガー病患者における最大歩行距離、安静時疼痛、潰瘍症状の改善が認められている。

これまでに実施された AMG0001 の非臨床試験、臨床研究及び臨床試験の結果を総合的に判断し、AMG0001 の臨床研究を実施することは妥当であると判断する。

11 遺伝子治療臨床研究の実施計画

11.1 研究目的

代替治療が困難な慢性動脈閉塞症（閉塞性動脈硬化症又はビュルガー病）患者に対する AMG0001 の筋肉内投与の有効性及び安全性を探索的に検討する。

11.2 対象疾患

慢性動脈閉塞症（閉塞性動脈硬化症又はビュルガー病）

11.3 登録被験者の予想される利益と不利益

11.3.1 予想される利益

これまでに実施された臨床研究及び臨床試験において、薬物治療抵抗性で、外科的治療の適用が困難な慢性動脈閉塞症（閉塞性動脈硬化症又はビュルガー病）患者の安静時疼痛及び

潰瘍症状の改善傾向が認められている。AMG0001は、既存療法が無効な当該患者に対する症状を改善することが期待される。

なお、当該遺伝子治療臨床研究に参加することにより被験者が報酬などの利益を受けることは一切無い。また、当該遺伝子治療臨床研究により生じる知的財産権は研究者に帰属するものとし、それにより被験者が治療効果以外に利益を受けることはない。以上、当該遺伝子治療臨床研究によって得られる治療効果以外に被験者が利益を受けることはない。

11.3.2 予想される不利益

当該遺伝子治療臨床研究における試験治療は、被験者の症状により、外来・入院いずれの対応も可能となる。入院する場合は、その期間は医師の判断により、その間の生活が制限されることとなる。また、「11.11.5.1.予想される有害事象」に挙げる有害事象が生じる可能性があり、その場合には、通院、入院などによる処置が必要となる場合がある。また、AMG0001はヒトでの使用経験はあるものの開発段階にあり、予期せぬ有害事象により障害が残ることや、死亡の可能性も完全には否定できない。

また、本研究における試験治療が原因での有害事象が生じた場合の補償に関しては「11.22.2 健康被害の補償等」に定める。

11.4 適格基準

11.4.1 被験者登録時の選択基準

被験者登録時に以下の選択基準の全ての項目を満たし、除外基準のいずれの項目にも抵触しない被験者を適格とする。

11.4.1.1 選択基準

- (1) 本人の自由意思による文書同意が得られた者。
- (2) 同意取得時の年齢が満 20 歳以上 85 歳未満の者。
- (3) 投与対象肢の浅大腿動脈、膝窩動脈又は膝窩下の動脈に、CTA 又は MRA により確認される閉塞又は狭窄部位がある者。
- (4) 投与対象肢の観察期間の足関節血圧の平均値が 70 mmHg 又は ABI が 0.6 以下の者（ただし、ビュルガー病に関してはこの限りではない）。
- (5) 閉塞又は狭窄部位に起因する以下の臨床症状を有する者。
 - ・ 安静時疼痛（Fontaine 分類 III 度）
観察期間の VAS 値が 20 mm 以上
 - ・ 潰瘍（Fontaine 分類 IV 度）
- (6) 投与対象肢の血行再建術（血管内治療を含む）の適用が困難な者、又は当該適応が不可能ではないが、手術によるリスクがあると判断される者。
- (7) 既存の内科的治療や処置が同意取得 2 週間以上前から施行され、同意取得後、当該治療や処置を 2 週間以上（前観察期間）継続しても、投与対象肢の症状改善が認められない者。
<「改善が認められない」と判断する基準>
 - ・ 安静時疼痛を有する者

「VAS 変化量（減少）が 20 mm 未満」

・潰瘍を有する者

「主要評価対象となる潰瘍の大きさ（ $\sqrt{\text{長径} \times \text{短径}}$ ）の変化量（縮小）が 25 %未満」

- (8) 同意取得日から治療期 12 週後まで精子通過阻止による避妊法（コンドームを使用）で避妊を行うことに同意した者。
- (9) 入院、外来の別は問わない。

11.4.1.2 選択基準の設定根拠

- (1) 患者本人が臨床研究の内容を十分理解し、自由意思にもとづき臨床研究への参加に同意することが必須であると考え、設定した。
- (2) 対象疾患の年齢層を考慮し、下限は鑑別診断において困難を避けるために設定し、上限は対象疾患の年齢層を考慮し設定した。
- (3)、(4)、(5)
投与対象肢の動脈に閉塞又は狭窄部位が観察され、AMG0001 の評価が可能な安静時疼痛又は潰瘍を有する患者を対象とするため設定した。
- (6)、(7)
「遺伝子治療臨床研究に関する指針 第一章総則 第三 対象疾患等」に定める要件を満たす患者を対象とするため設定した。
- (8) AMG0001 の生殖系に対する安全性は、十分に確立している状況ではないことから、安全性確保のために設定した。
- (9) 被験者の治療環境を明確に規定するために設定した。

11.4.1.3 除外基準

- (1) 投与対象肢又は非対象肢に壊死化している潰瘍、腱又は骨が露出している潰瘍を有する者。
- (2) 同意取得前 90 日以内にアルコール依存症又は薬物依存症と診断された者。
- (3) 悪性腫瘍の合併、既往のある者。ただし、完治した皮膚の基底細胞癌は除外する。また、乳癌については同意取得 10 年以上前に完治し再発がない場合、その他の悪性腫瘍については 5 年以上前に完治し再発がない場合は登録可とする。プロトコールで規定した癌のスクリーニング検査を完了していなくてはならない。
- (4) 重篤な心疾患、腎疾患、血液疾患 [「医薬品等の副作用の重篤度分類基準について」（平成 4 年 6 月 29 日）のグレード 3] を有する者。ただし、安定期慢性維持透析患者を除く。
- (5) HIV 抗原・抗体が陽性の者。
- (6) 同意取得前 90 日以内に投与対象肢又は非対象肢の血行再建術、切断術を受けた者（ただし、小切開、Necrotomy、抜爪などの局所処置は除く）。
- (7) 同意取得前 90 日以内に交感神経切除術又は交感神経ブロックを受けた者。
- (8) 抗菌剤で制御が困難な侵襲性の感染症（骨髄炎、蜂窩織炎、リンパ管炎など）を有している者。

- (9) 未治療又は治療抵抗性の増殖性糖尿病性網膜症、若しくは新生血管型の加齢黄斑変性症を有する者。
- (10) 糖尿病性神経障害（広汎性左右対称性神経障害）を有している者。
- (11) 同意取得前 30 日以内に他の治験に参加していた患者（治験薬、治験機器が使用されなかった場合を除く）。
- (12) 過去に遺伝子治療を受けた者（ただし、AMG0001 の投与を受けた者は除く）。
- (13) 妊婦、授乳期の女性、妊娠している可能性のある女性、又は臨床研究中に妊娠を希望する女性。
- (14) その他、臨床研究担当医師が当該遺伝子治療臨床研究の対象として不適当と判断した者。

11.4.1.4 除外基準の設定根拠

- (1)、(10)
AMG0001 による有効性が期待しにくいために設定した。
- (2) 当該遺伝子治療臨床研究の評価に影響を及ぼす可能性があるために設定した。
- (3)、(4)、(5)、(11)、(12)、(13)
被験者の安全性確保のために設定した。
- (6)、(7)
当該遺伝子治療臨床研究の評価に影響を及ぼす可能性があるために設定した。
- (8) AMG0001 による有効性が期待しにくいこと、また、急性増悪する可能性があることから設定した。
- (9) AMG0001 の投与により症状が悪化する可能性があるため設定した。
AMG0001 による有効性が期待しにくいこと、被験者の安全性確保のため設定した。
- (14) 被験者として対象とすべきではないことより設定した。

11.5 同意取得

11.5.1 同意説明文書及び同意書の作成

同意説明文書は全ての被験者及び被験者の家族などが理解できるよう、可能な限り専門的な用語を避け、平易な表現を用いて作成する。

また、同意書及び同意撤回書の様式も作成されている。（「同意書」「同意撤回書」参照）

11.5.2 同意説明文書及び同意書の改定

同意説明文書及び同意書が改定された場合は、既に臨床研究に参加している被験者においても改定された同意説明文書により再び説明を行い、再同意を文書により取得する。なお、既に研究が終了している被験者にはその限りではない。

11.5.3 同意説明及び同意取得の時期の方法

研究責任者又は研究分担者は、当該遺伝子治療臨床研究への参加候補となる患者本人に対して、同意説明文書を提供し、十分な説明を行った後、当該遺伝子治療臨床研究への参加の同意を文書で取得する。（当該遺伝子治療臨床研究における「インフォームド・コンセントに関する手順書」を参照）

なお、当該遺伝子治療臨床研究においては、単独で同意を取得できない者は被験者としていない。

11.6 登録

以下の手順に従い被験者を登録する。被験者の登録については、当該遺伝子治療臨床研究における「被験者の登録に関する手順書」に定める。

(1) 同意の取得

実施施設の研究責任者又は研究分担者は、当該遺伝子治療臨床研究への参加候補となる患者本人に対して、同意説明文書を提供し十分な説明を行った後、当該遺伝子治療臨床研究への参加の同意を文書で取得する。

（「11.5 同意取得」を参照）

(2) 被験者名簿の作成

実施施設の研究責任者、研究分担者又は研究協力者は、研究参加に文書で同意を得た被験者に対して、被験者識別コードを付与し、「被験者名簿」に記載する。研究責任者は被験者名簿を保管する。

被験者識別コードは、大阪大学医学部附属病院におけるプロジェクト承認番号を特定する6桁の英数字、施設を特定する2桁の数字、被験者を特定する3桁の数字から構成される。後者の3桁は同意を取得した被験者に001番から順に番号を付与する。

(3) 前観察期間検査の実施

実施施設の研究責任者又は研究分担者は、研究参加に文書で同意を得た被験者に対して、「11.10 観察・検査スケジュール」に従ってスクリーニングを実施する。

(4) 症例登録票の作成

実施施設の研究責任者又は研究分担者は、患者背景及びスクリーニング結果に基づいて、「11.4 適格基準」で規定する登録時の選択基準のすべての項目を満たし、除外基準のいずれの項目にも該当しないことを確認し、「仮症例登録票」に必要事項をすべて記載する。

(5) 仮症例登録票の送付

実施施設の研究責任者、研究分担者又は研究協力者は、「仮症例登録票」の原本を診療録とともに保管し、多施設共同臨床研究事務局にその写しをFAXする。

(6) 適格性の判定

多施設共同臨床研究事務局は、FAXで受領した「仮症例登録票（写）」の記載内容に基づいて適格性を確認する。多施設共同臨床研究事務局は、この記入済みの「仮症例登録票（写）」を保管する。

(7) 仮登録

多施設共同臨床研究事務局は、適格と判定した場合には、適格と判定された被験者に「仮登録番号」を付与し、仮登録番号を記載した「仮症例登録確認票」を、仮

症例登録票を送付した施設の研究責任者及び研究総括責任者にFAXする。この「仮症例登録確認票」を送付した時点で、適格と判定した患者を被験者として「仮登録」したものとする。不適格と判定した場合には、「仮登録における不適格連絡票」を当該研究責任者及び研究総括責任者にFAXする。

(8) 仮登録後の検査・観察の開始

実施施設の研究責任者又は研究分担者は、受領した「仮症例登録確認票」に仮登録完了の旨が記載されていることを確認して、仮登録後の必要な検査・観察を開始する。

実施施設の研究責任者、研究分担者又は研究協力者は、「仮症例登録確認票」又は「仮登録における不適格連絡票」を保管し、「仮症例登録確認票」に記載された仮登録番号を被験者名簿に記載する。

(9) 本登録

実施施設の研究責任者又は研究分担者は、前観察期間に実施すべき検査・観察がすべて終了し、全てのデータが揃った時点で、全ての適格基準を確認の上、「本症例登録票」を多施設共同臨床研究事務局に FAX する。多施設共同臨床研究事務局は、本症例登録票の内容から登録の可否を判断し、「登録結果のお知らせ」を当該研究責任者及び研究総括責任者に FAX する。

この「登録結果のお知らせ」を送付した時点で、適格と判定した患者を被験者として「本登録」したものとする。

(10) 本登録後の試験治療の開始

実施施設の研究責任者又は研究分担者は、受領した「登録結果のお知らせ」に本登録完了の旨が記載されていることを確認して、本登録後の必要な検査・観察及び試験治療を開始する。

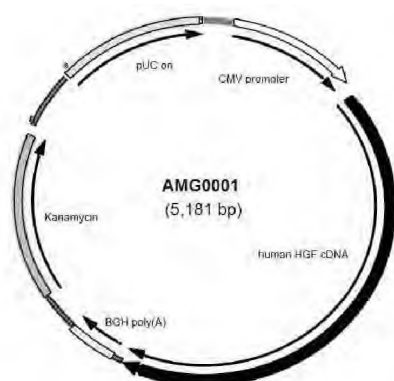
実施施設の研究責任者、研究分担者又は研究協力者は、「登録結果のお知らせ」を保管し、「登録結果のお知らせ」に記載された本登録番号を被験者名簿に記載する。

(余白)

11.7 AMG0001

11.7.1 AMG0001（原薬）

- (1) AMG0001 名（原薬）： AMG0001
- (2) 一般名： ベペルミノゲン ペルプラスミド
(INN： beperminogene perplasmid)
- (3) 化学名： ヒト肝細胞増殖因子をコードする cDNA を真核細胞で発現させる転写単位を含むプラスミド DNA。大腸菌 DH5 α を用いて製造され、5,181 塩基対(C₁₀₁₀₈₃H₁₂₆₉₈₈N₃₈₈₀₄O₆₂₁₇₂P₁₀₃₆₂; 分子量: 3,201,254.7)からなる。
- (4) 分子式・分子量: C₁₀₁₀₈₃H₁₂₆₉₈₈N₃₈₈₀₄O₆₂₁₇₂P₁₀₃₆₂
- (5) 構造:



11.7.2 AMG0001（製剤）

11.7.2.1 含量及び剤型

AMG0001 を生理食塩水に溶解した注射剤であり、1 バイアル中に 2.5 mg/mL を 2.1 mL 含有する。

11.7.2.2 AMG0001 の包装形態及び表示

- (1) 容器: 13 mm/3.0mL Type I ホウケイ酸ガラスバイアル
- (2) AMG0001（製剤）のラベル表示及び包装形態等:
AMG0001（製剤）のラベル、包装形態等については、当該遺伝子治療臨床研究の「AMG0001（製剤）の管理手順書」を参照のこと。

11.7.2.3 AMG0001（製剤）の使用期限及び保存条件

AMG0001（製剤）は、-20℃の保存条件で5年間安定であり、室温（25℃、遮光）で48時間安定である。

AMG0001（製剤）は、施錠可能なフリーザーにおいて－20℃（許容範囲：－50℃～－15℃）で保管する。当該遺伝子治療臨床研究の「AMG0001（製剤）の管理手順書」に従い、最低・最高保存温度を測定し、その結果を実施施設のAMG0001（製剤）の管理担当者が記録する。保存条件が規定範囲外であることが判明した場合は、実施施設の管理担当者は、当該施設の研究責任者及び研究総括責任者に直ちに連絡する。

使用期限は、当該遺伝子治療臨床研究の「AMG0001（製剤）の管理手順書」に定める。

11.7.2.4 AMG0001（製剤）の管理

AMG0001（製剤）の管理・回収は、当該遺伝子治療臨床研究の「AMG0001（製剤）の管理手順書」に従う。

11.7.2.5 AMG0001（製剤）の調製

AMG0001（製剤）の調剤は、クリーンベンチ内で無菌的に行う。当該調剤手順の詳細は、当該遺伝子治療臨床研究の「AMG0001（製剤）の管理手順書」を参照のこと。

なお、調剤した試験薬（製剤）は、できるだけ速やかに使用することが望ましい。調剤後、すぐに使用しない場合には、調製済みのシリンジは、使用するまで凍結を避けて冷蔵庫（2～8℃）に保管し、72時間以内に使用すること。

11.8 臨床研究実施計画

11.8.1 デザインの型

- (1) 単施設・多施設: 多施設
- (2) 試験の相: 一般臨床試験
- (3) デザインの型: 多施設共同オープンラベル試験
- (4) 対照: 無
- (5) ランダム化: 無
- (6) 遮蔽（盲検）化: 無

11.8.2 デザインの設定根拠

当該遺伝子治療臨床研究の対象である慢性動脈閉塞症（閉塞性動脈硬化症又はビュルガー病）のうち、Fontaine III度（安静時疼痛）又はIV度（潰瘍）を呈する薬物治療抵抗性で、外科的治療の適用が困難な患者は、限られている。したがって、当該遺伝子治療臨床研究の目標としている被験者登録期間である1年間に、目標登録症例数である6例を集積するためには単施設試験での症例集積の実行可能性が極めて低いことから、多施設共同臨床研究とした。

また、当該遺伝子治療臨床研究の主要評価項目は、探索的な有効性評価である。したがって、ランダム化、遮蔽化（盲検化）、対照試験などは行わない。

11.8.3 目標登録被験者数・被験者登録期間・研究実施期間

- (1) 目標登録被験者数: 6例
- (2) 被験者登録期間: 1年

当該遺伝子治療臨床研究実施計画が遺伝子治療臨床研究審査委員会に承認され、厚生労働大臣の実施の了承を得た後、病院長の実施許可が通知される。その後、先進医療B申請を行い、当該申請が承認された日を研究開始日とし、それから1年間、被験者登録を受理する。

(3) 研究実施期間: 1年

当該遺伝子治療臨床研究実施計画が遺伝子治療臨床研究審査委員会に承認され、厚生労働大臣の実施の了承を得た後、病院長の実施許可が通知される。その後、先進医療B申請を行い、当該申請が承認された日を研究開始とし、それから1年以内に最終被験者の研究参加を終了する。

11.8.4 目標登録被験者数の集積の可能性

アンジェス社が、国内で実施したAMG0001-JN-101試験（対象: ASO）及びAMG0001-JN-102試験（対象: TAO）の症例集積頻度を分析した。その結果、当該遺伝子治療臨床研究への適格基準を満たし、同意取得が可能な被験者を想定したところ、1年間に6例を集積するために必要な施設数を8施設と算定した。

したがって、当該遺伝子治療臨床研究では、目標登録被験者6例を被験者登録期間である1年間に集積する8施設での多施設共同臨床研究を設定していることから、目標登録被験者数の集積は可能と考える。

11.8.5 プロトコル治療計画

11.8.5.1 プロトコル治療の定義

当該遺伝子治療臨床研究におけるプロトコル治療とは、AMG0001の投与開始から、最終被験者の1回目投与開始12週後までとする。

11.8.5.2 方法

(1) 診療区分

入院又は外来のいずれも可とする。

(2) AMG0001 の調剤

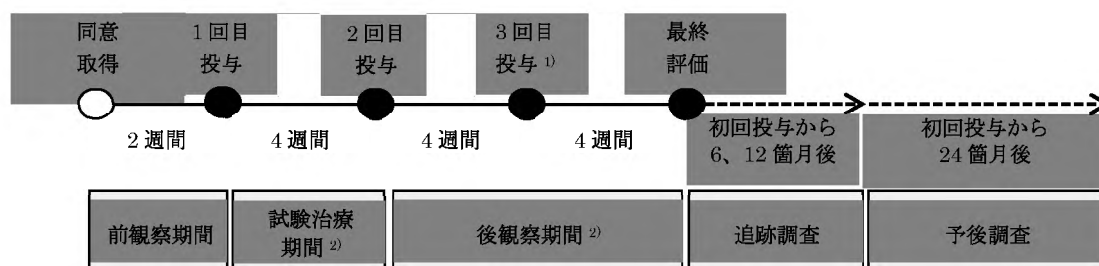
AMG0001 の調剤は、クリーンベンチ内で無菌的に行う。解凍した AMG0001 は、6 時間以内に使用し、1 調剤を 1 被験者用として使い切る。また、調剤した AMG0001 はできる限り速やかに使用することが望ましい。すぐに使用しない場合は、使用するまで凍結を避けて遮光下で、冷蔵庫で保管し、72 時間以内に使用する。調剤後、やむを得ず AMG0001 を使用しないことになった場合は、院内の感染性医療用廃棄物に関する取り決めに従って廃棄する。

(3) 投与方法

AMG0001 を日局生理食塩液で希釈し、対象肢の虚血部位に対して 1 部位あたり 0.5 mg ずつ 8 部位（合計 4 mg）に筋肉内投与する。投与は 4 週間の間隔をあけて 2 回行う。治療期 8 週後において改善傾向が認められない場合には、更に 3 回目の投与を実施する。

希釈後の AMG0001 の 1 部位あたりの投与液量は 3 mL とし、投与対象筋が小さい場合には 2 mL まで減じてよい。注射部位は虚血の状態により被験者ごとに決定する。

後観察期間終了後、初回投与 6 箇月後及び 12 箇月後に追跡調査（来院）を行い、初回投与 24 箇月後に、来院を義務としない安全性確認のための聞き取り調査を行う。試験の概略図を以下に示す（図 19）。



1) 3 回目投与は、2 回目投与後の評価結果により実施の可否を判断する。

2) 3 回投与の場合は、試験治療期間は 8 週間となり、後観察期間は 4 週間となる。

図 19 試験の概略図

11.8.5.3 併用治療

当該遺伝子治療臨床研究の対象の治療に係る併用禁止及び併用可能な治療法を以下に示す。なお、前観察期間開始前までに禁煙指導が行われていること。前観察期間から後観察期間終了まで、経時的に喫煙状況を観察する。

(1) 慢性動脈閉塞症（閉塞性動脈硬化症及びビュルガー病）に対する治療

1) 併用禁止

- ・ 交感神経ブロック

2) 併用可能

- ・ 本疾患に対するすべての治療薬

前観察期間開始から後観察期間終了まで、薬剤の変更及び増量（1 日平均使用量が 1.5 倍を超える増加）は行わない。

(2) 慢性動脈閉塞症（閉塞性動脈硬化症及びビュルガー病）に伴う潰瘍に対する治療

1) 併用禁止

- ・ フィブラスト

2) 併用可能

- ・ 肉芽形成促進、組織修復、組織賦活作用のある外用剤
- ・ 潰瘍部位の鎮痛を目的とした外用剤

前観察期間開始時から後観察期間終了まで、薬剤の変更及び増量（1 日平均使用量が 1.5 倍をこえる増加）は行わない。

3) 制限なし

- ・ 上記(2)以外の潰瘍に対する薬剤、消毒液、ワセリン等の局所処置
- ・ 潰瘍部位の感染制御及び感染予防のための抗菌剤
- ・ 潰瘍部位に痂皮が形成されている場合の外科的・化学的デブリドマン

- (3) 慢性動脈閉塞症（閉塞性動脈硬化症及びビュルガー病）に伴う安静時疼痛に対する治療
- 1) 併用禁止
 - ・ 硬膜外麻酔
 - 2) 併用可能
 - ・ 全ての鎮痛剤（頓用を含む）
前観察期間開始から後観察期間終了まで、薬剤の変更及び増量は、治療上の必要性を認めない限り行わない。
- (4) 外科的治療等
- 1) 併用禁止
 - ・ 投与対象肢又は非対象肢の血行再建術（血管内治療も含む）
 - ・ 切断術または交感神経切断術
- (5) その他の治療
- 1) 併用禁止
 - ・ 他の治験薬及び開発中の治療含む未承認治療（細胞移植等）

【併用治療の設定根拠】

- (1) 既存の内科的治療を最低 2 週間以上（前観察期間）行っても改善が認められない患者を対象としていることから、治療期において前観察期から継続して内科的治療を併用することは可とした。ただし、交感神経ブロックは有効性の評価が不可能となるため禁止した。
- (2) フィブラストは血管新生因子の製剤であり、AMG0001 との相互作用が不明であるため禁止とした。他の潰瘍に適応を有する薬剤の使用や感染の制御や痂皮の除去等は、重症下肢虚血を対象としていることから、併用を可とした。
- (3) 鎮痛剤の使用は主要評価項目である安静時疼痛の評価へ直接影響するものの、「薬剤の変更及び増量をしない」という条件で評価は可能と考え、使用を可とした。ただし、硬膜下麻酔は評価が不可能となるため禁止とした。
- (4) 血行再建術、切断術又は交感神経切除術が投与対象肢の血行動態及び遺伝子発現に与える影響が不明なため、禁止とした。
- (5) 有効性及び安全性の評価に影響を及ぼす可能性があり、被験者の安全性確保も考え設定した。

11.8.5.4 支持治療

- (1) 投与前後の疼痛対策

必要に応じて、投与前に穿刺予定部位にキシロカインゼリーなどで表面麻酔を行う。注射時の疼痛の程度により痛みが遷延すると判断される場合は、鎮痛剤（ボルタレンやロキソニンなどの NSAIDs）と共に、必要に応じて健胃散を使用する（注射部位の局所反応が遷延する場合は、有害事象として報告する）。

11.8.5.5 後治療

プロトコル治療終了後又はプロトコル治療中止後の治療については、「11.8.5.3 併用治療」及び「11.8.5.4 支持療法」と同様に適切な治療を行う。

11.8.5.6 プロトコル治療計画の設定根拠

当該遺伝子治療臨床研究の用法・用量は、アンジェス社の実施した「AMG0001 の閉塞性動脈硬化症を対象とした二重盲検比較試験（AMG0001-JN-101 試験）」及び「AMG0001 のビュルガー病を対象とした一般臨床試験（AMG0001-JN-102 試験）」の用量と同一であり、用法は AMG0001-JN-102 試験の 2 回目投与で効果が認められない場合は 3 回目投与を可能とする AMG0001-JN-102 試験と同一である。

したがって、既にヒトでの臨床試験において、有効性が示唆され、安全性が確認された用法・用量を採用していることから、当該遺伝子治療臨床研究のプロトコル治療計画は妥当であると考えられる。当該遺伝子治療臨床研究では、AMG0001-JN-102 試験での 3 回投与例が 10 例中 2 例と少なかったことから、更に症例を追加し、探索的に有効性検討を行う。

11.8.6 登録被験者の研究参加期間

被験者の研究参加期間は、仮登録日から予後調査までとする。

- (1) 前観察期間（投与開始前）： 21日以内
- (2) 試験治療期間（投与期間）： 4週間～8週間
- (3) 後観察期間（投与終了後）：
 - ・ 試験治療期間が4週間の場合は、8週間（2回投与）。
 - ・ 試験治療期間が8週間の場合は、4週間（3回投与）。
- (4) 追跡調査：
 - ・ AMG0001 初回投与から6箇月後
 - ・ AMG0001 初回投与から12箇月後
- (5) 予後調査：
 - ・ AMG0001 初回投与から24箇月後

11.9 主要評価項目及び副次的評価項目

11.9.1 主要評価項目

「後観察期間 12 週後（又は中止時）の安静時疼痛 VAS（visual analog scale）又は潰瘍の大きさ」について、以下の改善基準を定め、その改善率を求める。

- (1) Fontaine 分類 III 度の患者の改善基準：

安静時疼痛（VAS）が、投与前値から 20 mm 以上減少した場合を「改善」と定義する。ただし、以下の場合は、「非改善」とする。

 - ・ 投与前と比較し、鎮痛剤の使用量が 1.3 倍を超えた場合
- (2) Fontaine 分類 IV 度（潰瘍）の患者の改善基準：

主要評価対象とした潰瘍の大きさ（ $\sqrt{\text{長径} \times \text{短径}}$ ）が、投与前値から 75 % 以下に縮小した場合を「改善」と定義する。ただし、以下の場合は、「非改善」とする。

 - ・ 試験治療期間又は後観察期間中に、投与同側肢に新たな虚血性潰瘍が生じた場合

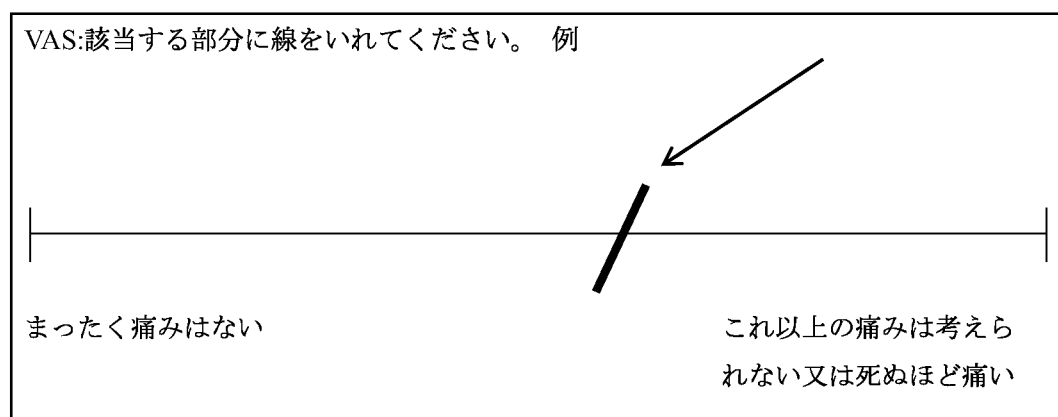
11.9.1.1 主要評価項目の評価方法

(1) 安静時疼痛の評価

安静時疼痛の評価には VAS を用いる。

説明者（研究責任（分担）者又は研究協力者）は、規定の 100 mm の VAS 記録用紙を被験者に手渡し、直近 2 週間における安静時疼痛の程度を以下の図例のように線で記入させる（前回のデータは被験者に提示しない）。

計測者（研究責任（分担）者又は研究協力者）はスケールを用いて「まったく痛みはない」からの距離（単位: mm）を計測する。線以外で記入した場合は、その印の中心と VAS が交わる部分までの距離を計測する。VAS 記録用紙は実施施設で保管する。説明者は臨床研究試験期間を通して同一者とする。



(2) 潰瘍の評価

潰瘍の長径と短径を計測する（評価は $\sqrt{\text{長径} \times \text{短径}}$ で実施する）。

潰瘍部位と上皮化した部位を明確に見極めた後、皮膚欠損部分の長径と、直交する短径の実測値（単位: mm）を記録する。臨床研究期間中に潰瘍の形状が変化しても、前観察期開始時に測定した長径と短径に相当する箇所を測定する。短径が測定不能の場合には、長径のみ測定することによりよい。

潰瘍が多発性の場合、全ての潰瘍を評価する。投与対象肢の潰瘍の部位を記録し、通し番号で「潰瘍 No」を付番する。ただし、主要評価対象は観察期 2 週後において計測可能な最大潰瘍とする。

潰瘍は、前観察期開始時、前観察期 2 週後、1 回目投与 8 週後、及び 1 回目投与 12 週後（又は中止時）に写真撮影する。写真撮影の際は、スケールを添え、常に同一方向、同一角度から撮影する。撮影した写真は、被験者識別コードと撮影日を記載し、実施施設で保管する。その他、観察日においても、可能な限り写真撮影を実施する。

潰瘍の計測及び写真撮影の詳細は「潰瘍の計測及び写真撮影の手順書」に従う。

11.9.2 主要評価項目の設定根拠

(1) Fontaine分類III度の患者の改善率基準の設定根拠

当該遺伝子治療臨床研究の対象である慢性動脈閉塞症（閉塞性動脈硬化症及びビュルガー病）の Fontaine 分類 III 度「安静時疼痛」は、局所的な虚血により引き起こされる深部痛である。

局所の代謝産物は、血流が正常であれば毛細管に取りこまれ、すみやかに運びさられるが、局所的に虚血又は血流障害が生じると、その部位に代謝産物が停滞し、これらの一部が発痛物質として侵害受容器を興奮させ深部痛を引き起こす。当該深部痛が慢性化している病態が、慢性動脈閉塞症の「安静時疼痛」である。「標準的神経治療：慢性疼痛（日本神経治療学会監修、2010年7月）（以下、慢性疼痛治療指針）」では、慢性疼痛は、6箇月以上続く非がん性の疼痛とされ、当該疼痛は侵害受容体疼痛、神経障害性疼痛及び心因性疼痛の3要因に分類される。

したがって、当該遺伝子治療臨床研究の対象の慢性動脈閉塞症の安静時疼痛も慢性疼痛の一つであると考えられる。慢性疼痛の疼痛強度は、一般的に visual analogue scale（VAS）、numeral rating scale（NRS）、face scale などの評価スケールを用いることが慢性疼痛治療指針に記載されている。

このようなことから当該遺伝子治療臨床研究では、疼痛強度の評価で一般的に用いられている VAS を使用する。

また、臨床上意義があると考えられる VAS の最小変化量の報告は、以下のとおりいくつか存在する。

- 1) 13 mm（95 %信頼区間 10～17 mm）[1]
- 2) 18 mm（95 %信頼区間 16～20 mm）[2]
- 3) 12 mm（95 %信頼区間 9～15 mm）[3]

- 1 Todd KH, Funk KG, Funk JP, et al. Clinical significance of reported changes in pain severity. Ann Emerg Med. 1996;27:485-9
- 2 Todd KH, Funk JP. The minimum clinically important difference in physician-assigned visual analog pain scores. Acad Emerg Med. 1996;3:142-6
- 3 Kelly AM. The minimum clinically significant difference in visual analogue scale pain score does not differ with severity of pain. Emerg Med J. 2001;18:205-7.

このような報告を参考に、当該遺伝子治療臨床研究では AMG0001-JN-101 試験と同様に、投与前値から 20 mm 以上の減少を「改善」と定義することとした。AMG0001-JN-101 試験では、当時の医学専門家と協議した結果、鎮痛剤の使用量が投与前から 1.3 倍を超えた場合は、VAS 評価に影響を与える可能性が否定できないことから、「非改善」として取り扱うこととしていた。当該遺伝子治療臨床研究でも当該鎮痛剤の増量に係る基準を採用することとする。

(2) Fontaine分類IV度の患者の改善率基準の設定根拠

当該遺伝子治療臨床研究の対象である慢性動脈閉塞症（閉塞性動脈硬化症及びビュルガー病）の Fontaine 分類 IV 度では、「潰瘍」のみを対象とする。ただし、投与対象肢又は非対象肢に、壊死化している潰瘍、腱又は骨が露出している潰瘍を有する患者は、AMG0001 の薬効を期待できる可能性が低いことから対象としない。

当該遺伝子治療臨床研究では、「潰瘍」の改善指標として、AMG0001-JN-101、102 試験と同様に潰瘍の縮小率を採用することとした。潰瘍の大きさも AMG0001-JN-101、102 試験と同様に、既承認の慢性動脈閉塞症治療薬のプロスタグランジン E₁ やアルガトロバンで用いた「長径と短径の相乗平均（ $\sqrt{\text{長径mm} \times \text{短径mm}}$ ）」を用い、投与前値から 75 %以下への縮小を「改善」と定義することとした。ただし、試験治療期

間又は後観察期間中に、投与同側肢に新たな虚血性潰瘍が生じた場合は、「非改善」として取り扱う。

AMG0001-JN-101、102試験の潰瘍の縮小率については、当時の医学専門家と協議した結果、75 %以下の縮小が認められれば測定誤差を排除した臨床上意義のある最小の改善効果と判断することとなった。潰瘍治療薬の改善指標は、一般的に50 %縮小を指標にしているようであるが、AMG0001の場合、外科的治療が困難で、既存薬に抵抗性（アンメット・メディカル・ニーズ）の被験者であることから、当該医学専門家は75 %縮小という指標を選択した。

11.9.3 副次的評価項目

(1) 有効性

1) 安静時疼痛

投与開始前のVAS値から、2回目投与4週後（又は中止時）のVAS値の変化量を評価する。評価方法は、「11.9.1.1 主要評価項目の評価方法」を参照のこと。

2) 潰瘍

投与開始前の潰瘍の大きさから、2回目投与4週後（又は中止時）の潰瘍の大きさの縮小率を評価する。評価方法は、「11.9.1.1 主要評価項目の評価方法」を参照のこと。

3) ABI（ankle-brachial systolic pressure index: 足関節/上腕血圧比）

投与開始前のABIの測定値から、1回目投与12週後（又は中止時）の測定値の変化を評価する。

a) 評価方法

ABIは10分間以上安静時臥床の後に、仰臥位で1回測定する。

ABIはドップラー血流計を用い、対象肢の肢背側動脈又は後脛骨動脈の収縮期血圧の高い方を評価値とし、同様の方法で測定した上腕動脈の収縮期血圧（左右のうち高い方を採用）に対する比から求める。

血圧が検出できない場合には、0 mm Hgと記載し、また、測定不能な場合には理由を記載する。

4) Fontaine分類

投与開始前のFontaine分類の病期から、1回目投与12週後（又は中止時）の病期の変化を評価する。

a) 評価方法

被験者の症状から、Fontaine分類に相当する病期を評価する。

Fontaine分類

病期	臨床症状
I	無症状
IIa	間歇性跛行（軽度）
IIb	間歇性跛行（中等度～高度）
III	安静時疼痛
IV	潰瘍、壊疽

5) 鎮痛剤不要患者の頻度

投与開始時の鎮痛剤使用患者が、1回目投与12週後（又は中止時）に鎮痛剤が不要になる頻度を評価する。

a) 評価方法

投与開始時の鎮痛剤の薬剤名、投与経路、1日（頓服）用量、1週間あたりの使用頻度を評価する。

(2) 安全性

バイタルサイン、理学的検査、一般臨床検査、尿検査、心電図検査などから、有害事象、副作用、重篤な有害事象を評価する。

11.9.4 副次的評価項目の設定根拠

(1) 有効性

1) 安静時疼痛

AMG0001が血管新生作用を有することから、血流が改善することにより、Fontaine III度患者の安静時疼痛を改善することが期待されるため設定した。

2) 潰瘍

AMG0001が血管新生作用を有することから、血流が改善することにより、Fontaine IV度患者の潰瘍の縮小効果が期待されるため設定した。

3) ABI（ankle-brachial systolic pressure index: 足関節/上腕血圧比）

AMG0001が血管新生作用を有することから、血流が改善することにより、血行動態を改善することが期待されるため設定した。

4) Fontaine分類

AMG0001が血管新生作用を有することから、血流が改善することにより、安静時疼痛又は潰瘍の症状が改善し、Fontaine分類の病期グレードが改善することが期待されるため設定した。

5) 鎮痛剤不要患者の頻度

AMG0001が血管新生作用を有することから、血流が改善することにより、安静時疼痛又は潰瘍の症状が改善し、鎮痛剤の使用量や使用頻度が低下することが期待されるため設定した。

(2) 安全性

AMG0001 は、国内外で未承認であることから、安全性情報が限定的であることを鑑み設定した。

11.10 観察・検査スケジュール

11.10.1 観察・検査スケジュール

	前観察期間開始前	前観察期間			AMG0001 2 回投与					追跡調査		予後調査	
					試験治療期間		後観察期間						
					AMG0001 3 回投与								
					試験治療期間			後観察期間					
					Week / Month	1 週	2 週	投与前	1 週				4 週
Day	-21 ~ -15	-14 ~ -1		0	21~35	49~63	77~91		168~196	350~378	700~756		
文書同意取得	◎												
被験者背景		◎	○ ^{7,8}										
症例登録		○ ¹		◎									
AMG0001 投与					◎	◎	(◎ ²)						
バイタルサイン ³		◎			◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎		
理学的検査 ³		◎			◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎		
CTA/MRA 検査 ⁴		◎						◎	◎				
ABI 測定		◎	◎					◎	◎	◎	◎		
Fontaine 分類		◎						◎	◎				
VAS 測定 ⁵		◎	◎				◎	◎	◎	◎	◎		
潰瘍測定 ⁶		◎	◎				◎	◎	◎	◎	◎		
臨床検査		◎						◎	◎				
尿検査		◎						◎	◎				
腫瘍マーカー検査		◎						◎	◎				
便中ヘモグロビン		◎						◎	◎				
胸部エックス線検査		◎											
腹部超音波検査		◎											
眼底検査		◎											
心電図検査		◎						◎	◎				
血清 HGF 濃度測定		◎						◎	◎				
併用治療		← ◎ →											
有害事象					← ◎ →								

1 仮症例登録; 2 治療期 8 週後において改善傾向が認められない場合には、更に 3 回目の投与を実施する。; 3 治療期 1、4、(8)週の検査は、AMG0001 投与前に実施する。; 4 同意取得 4 週間以内のデータがある場合、そのデータを使用しても良い。血管造影 (DSA) の使用も可とする。; 5 Fontaine 分類 III 度及び本登録時の VAS 値が 20 mm 以上の Fontaine IV 度の患者で実施する。; 6 Fontaine 分類 IV 度の患者のみ実施する。; 7 前観察期間 1 週目より変更のあった項目のみ記録する。; 8 身長及び体重に関しては、新たに測定した場合にのみ記録する。

11.10.2 観察・検査項目

(1) 被験者背景

1) 観察項目

- a) 被験者背景: 生年月日、身長、体重、喫煙歴、診療区分（入院・外来）
身長及び体重については、Day -14 ~ -1（前観察期間・第2週）に新たに確認する必要はない。
 - b) 原疾患: 原疾患名、発症時期、罹病期間、原疾患に対する手術歴、ABI測定実施の可否と不可能な場合はその理由、AMG0001の投与対象肢（右足・左足）、閉塞又は狭窄部位
 - c) 既往歴: AMG0001 投与までに治癒している事象の有・無、有の場合はその疾患名
 - d) 合併症: AMG0001 投与時点で未回復の事象の有・無、有の場合はその疾患名
 - e) AMG0001 投与歴:
AMG0001 投与の有・無、有の場合は、疾患名（ASO・TAO）、投与対象肢（右足・左足）、閉塞又は狭窄部位、1箇所投与量（0.5 mg・その他）、1箇所投与液量（2 mL・3 mL・その他）、投与箇所数（4箇所・8箇所・その他）、1回総投与量（2 mg・4 mg・その他）、投与回数（2回・3回・その他）、Fontain 分類、安静時疼痛に対する効果（改善・非改善・評価対象外）、潰瘍に対する効果（改善・非改善・評価対象外）、安全性に対する特記事項
- 2) 観察時期: Day -21 ~ -15（前観察期間・第1週）、Day -14 ~ -1（前観察期間・第2週）
Day -14 ~ -1（前観察期間・第2週）では、Day -21 ~ -15（前観察期間・第1週）より変更のあった項目について確認する。
診療区分については、1回目投与 12 週後又は中止時に変更の有無を確認する。

(2) 臨床症状の観察

1) 観察項目

- a) バイタルサイン: 安静時 体温、血圧、脈拍
- b) 理学的検査: 視診、触診、聴打診

- 2) 観察時期: Day -21 ~ -15（前観察期間・第1週）、Day 0（1回目投与日）、Day 21~35（2回目投与日）、Day 49~63（2回目投与評価日・3回目投与日）、Day 77~91（最終評価日）・中止日、Day 168~196（追跡調査/6 箇月）、Day 350~378（追跡調査/12 箇月）

(3) 疾患状態の観察

- 1) 観察項目: CTA/MRA 検査、ABI 測定、Fontaine 分類
- 2) 観察時期: Day -21 ~ -15（前観察期間・第1週）、Day 77~91（最終評価日）・中止日

ABI 測定は、Day -14 ~ -1（前観察期間・第 2 週）、Day 168~196（追跡調査/6 箇月）、Day 350~378（追跡調査/12 箇月）でも実施する。

(4) 疾患病変の観察

- 1) 観察項目: VAS（安静時疼痛）、病変計測（潰瘍）
- 2) 観察時期: Day -21 ~ -15（前観察期間・第 1 週）、Day -14 ~ -1（前観察期間・第 2 週）、Day 49~63（2 回目投与評価日・3 回目投与日）、Day 77~91（最終評価日）・中止日、Day 168~196（追跡調査/6 箇月）、Day 350~378（追跡調査/12 箇月）

(5) 臨床検査、尿検査、便検査

- 1) 測定項目
 - a) 血液学的検査: 白血球数、赤血球数、ヘモグロビン値、ヘマトクリット値、血小板数、好中球、リンパ球、単球、好酸球、好塩基球
 - b) 血液生化学検査: Na、K、Cl、Ca、P、BUN、尿酸、クレアチニン、AST (GOT)、ALT (GPT)、 γ -GTP、ALP、LDH、CK (CPK)、総コレステロール、中性脂肪、総ビリルビン、総蛋白、アルブミン、グロブリン、CRP、HbA1c、随時血糖
 - c) 腫瘍マーカー検査: PSA-ACT、CEA、AFP、CA19-9
 - d) 尿検査: 蛋白（定性）、糖（定性）、潜血（定性）、pH
 - e) 便検査: 便中ヘモグロビン
 - f) HIV 抗原・抗体検査（血清）
 - g) β -HCG 検査（血清）
- 2) 観察時期: Day -21 ~ -15（前観察期間・第 1 週）、Day 77~91（最終評価日）・中止日
HIV 抗原・抗体検査、 β -HCG 検査は、Day -21 ~ -15（前観察期間・第 1 週）のみ実施する。

(6) 一般検査

- 1) 測定項目: 胸部エックス線検査、腹部超音波検査、眼底検査、12 誘導心電図
- 2) 観察時期: Day -21 ~ -15（前観察期間・第 1 週）
12 誘導心電図検査は、Day 77~91（最終評価日）・中止日でも実施する。

(7) 血清 HGF 濃度測定

- 1) 測定項目: 血清 HGF 濃度
- 2) 観察時期: Day -21 ~ -15（前観察期間・第 1 週）、Day 77~91（最終評価日）・中止日

(8) 有害事象

AMG0001 初回投与以後に生じたあらゆる有害事象を観察し、症例報告書に記載又は電子症例報告書（eCRF）に入力する。

記録項目: 有害事象名、発現日（年/月/日）、程度、重篤度、処置、因果関係、転帰/転帰確認日（年/月/日）、コメント

(9) 併用治療

仮登録後の全研究期間にわたって併用治療を症例報告書に記載又は電子症例報告書（eCRF）に入力する。

記録項目: 1) 鎮痛剤（原疾患に伴う安静時疼痛に対して使用）の場合

薬剤名（販売名）、1日投与量、投与経路、使用時期、使用回数

2) その他の併用治療の場合

治療名・薬剤名（販売名）、1日投与量、投与経路、併用理由、投与開始日、投与終了日

3) 喫煙状況（仮登録後から後観察期終了まで）

11.11 被験者の安全性の確保

11.11.1 基本的事項

被験者の安全性を確保するために、研究責任者及び研究分担者は、以下の基本的事項を遵守する。

- (1) 研究責任者又は研究分担者は、被験者の選択基準及び除外基準を遵守する。
- (2) 被験者が当該遺伝子治療臨床研究の研究責任者と研究分担者以外の医師の治療を受ける場合には、当該遺伝子治療臨床研究に参加していること及び当該遺伝子治療臨床研究の内容を当該医師に通知するように被験者に説明する。また、研究責任者又は研究分担者は、必要時には当該医師に臨床研究に関する情報を提供する。
- (3) 当該遺伝子治療臨床研究終了後も出来る限り長期にわたって診察を行い、有害事象の発現の有無について注意を払い、必要に応じて適切な処置を行う。
- (4) 被験者が健康状態の異常を感じた場合には直ちに研究責任者又は研究分担者に連絡するよう指導する。
- (5) 研究責任者又は研究分担者は、被験者に有害事象が生じ、治療が必要であると認めるときは、その旨を当該被験者に伝え、適切な医療を提供する。

11.11.2 有害事象の定義

「有害事象」とは、被験者に対して AMG0001 投与以後に起きる、あらゆる好ましくない又は意図しない徴候（一般臨床検査値の異常変動を含む）、症状、又は病気のことであり、本治療との因果関係の有無は問わない。

「重篤な有害事象」とは症状の程度に関わらず、以下の基準に従って、重篤か否かを判定する。

- (1) 死亡
- (2) 死亡につながる恐れのあるもの
- (3) 治療のために入院又は入院期間の延長が必要とされるもの
- (4) 障害
- (5) 障害につながるおそれのあるもの
- (6) (1)～(5)に準じて重篤なもの

- (7) 後世代における先天性の疾病又は異常

11.11.3 有害事象の評価

臨床研究の実施中に観察された有害事象の重症度は以下の定義に従って評価する。

＜有害事象の程度＞

- (1) 軽度: 通常、一過性で、被験者の日常生活を損なわず、治療を要しない程度（正常な活動が可能である）
- (2) 中等度: 被験者の日常生活に多少の支障をきたし、十分な不快感を与え、治療を要する程度（活動に不快感を伴う）
- (3) 高度: 被験者の日常生活の遂行に大きな支障があり、治療を要する程度（正常な活動が困難である）

なお、個別の検査値異常などの有害事象のグレーディングについては「医薬品等の副作用の重症度分類基準について」（平成4年6月29日 薬安第80号）を参照する。

11.11.4 有害事象発現時の対応

有害事象の発現に際しては、実施施設の研究責任者は、適切な救急処置を施し、被験者の安全の確保に留意し、必要に応じて専門医師による診断を受けることにより原因究明に努める。被験者の臨床研究参加中及びその後を通じて、臨床上問題となる臨床研究に関連した重大な有害事象に対して十分な医療措置を講じる。

実施施設の研究責任者は、症例報告書又は電子症例報告書（eCRF）に有害事象名など必要事項を記載する。また、発生した有害事象、特に当該遺伝子治療臨床研究との因果関係が否定できない事象については、可能な限り追跡調査を行う。

重篤な有害事象が認められた場合は、当該遺伝子治療臨床研究における「有害事象への対応に関する手順書」（以下「有害事象手順書」と記す。）に従い病院長及び研究総括責任者に報告し、当該臨床研究との因果関係や臨床研究継続の可否などの審議を受け、必要と認めた場合は臨床研究を中止する。

さらに、「有害事象への対応に関する手順書」に従い、病院長は、臨床研究に関連する予期しない重篤な有害事象及び不具合等が発生した場合には、「遺伝子治療臨床研究に関する指針」に従い、速やかに厚生労働大臣に報告する。研究期間のみならず研究終了後の追跡調査において重篤な有害事象や不具合が明らかになった場合も厚生労働大臣への報告を行う。研究期間のみならず研究終了後の追跡調査において「重大な出来事」が明らかになった場合も厚生労働大臣への報告を行う。

11.11.5 予想される有害事象とその対応

11.11.5.1 予想される有害事象

これまでに慢性動脈閉塞症（閉塞性動脈硬化症又はビュルガー病）を対象とした臨床研究又は臨床試験が国内で3試験行われ、海外で2試験が行われている。これらの臨床試験にこれまで国内外で実施された AMG0001 の安全性評価例数を表4に示す。

表 4 AMG0001 を用いた臨床試験における安全性評価例数

試験概要		実施国	投与例数	安全性評価例数	
試験番号	試験内容			AMG0001	プラセボ
AMG0001-JN-100 大阪大学臨床研究	第 1 ステージ	日本	6	6	-
	第 2 ステージ		16	16	-
AMG0001-JN- 101 ASO第III相試験	ステージ 1 中間解析対象 ¹⁾		41	28	13
	ステージ 1 中間解析対象外 ¹⁾		3	1	2
	ステージ 2		10	10 ²⁾	-
AMG0001-JN-102 TAO 一般臨床試験	-		10	10	-
AG-CLI-0202 CLI第II相試験	-	米国	104	78	26
AG-CLI-0205 CLI追加第II相試験	-		27	21 ³⁾	6 ⁴⁾

- 1) 実施計画書に従い、41 例目までの成績に対して中間解析を実施し、当該結果に基づき治験の早期終了を決定した。所定の手順に則り、早期終了時点においてステージ 1 実施中であった 3 例についてはデータ固定前に個別キーコードを開封した。治療期の統計解析は、当該 3 例を除き、二重盲検下において評価が完了した 41 例を対象とした。
- 2) うち 1 例は、重篤な有害事象の発現により治療期中止されたため、追跡調査が実施された症例数は 9 例であった。
- 3) プラセボ群に割り当てられたが、誤って AMG0001 が投与された 2 症例を含む。
- 4) 実薬群に割り付けられたが、誤ってプラセボが投与された 1 症例を含む。
- 注) ASO: 閉塞性動脈硬化症、TAO: ピュルガー病

各試験における AMG0001 又は投与手技との関連性が否定できない有害事象（副作用）について以下に概説する。

(1) AMG0001-JN-100 試験（大阪大学臨床研究）

AMG0001-JN-100 試験（大阪大学臨床研究）における副作用一覧を表 5 に示した。安全性評価対象 22 例中、22 例 1219 件の有害事象が認められ、このうち副作用は 21 例 220 件であった。重篤な有害事象は、9 例 17 件に認められたが、AMG0001 との因果関係は否定された。死亡転帰は、不整脈 1 例及び肺炎 1 例に認められた。

(余白)

表 5 AMG0001-JN-100 試験における副作用（対象 22 例）（初回投与～投与 27 箇月後）

副作用	発現例数	副作用	発現例数
注射部位疼痛	13例 (59.1 %)	投与部位反応	2例 (9.1 %)
C-反応性蛋白増加	7例 (31.8 %)	胸部圧迫感	1例 (4.5 %)
白血球数増加	3例 (13.6 %)	注射部位紅斑	1例 (4.5 %)
注射部位出血	3例 (13.6 %)	注射部位知覚異常	1例 (4.5 %)
好酸球数増加	5例 (22.7 %)	注射部位そう痒感	1例 (4.5 %)
尿中ブドウ糖陽性	4例 (18.2 %)	四肢不快感	1例 (4.5 %)
発熱	4例 (18.2 %)	毛包炎	1例 (4.5 %)
血中乳酸脱水素酵素増加	6例 (27.3 %)	皮膚せつ（性器を除く）	1例 (4.5 %)
血中乳酸脱水素酵素減少	1例 (4.5 %)	発汗熱	1例 (4.5 %)
尿中蛋白陽性	4例 (18.2 %)	α1フェトプロテイン増加	1例 (4.5 %)
嘔気	2例 (9.1 %)	血中アルカリホスファターゼ増加	2例 (9.1 %)
リンパ球数減少	4例 (18.2 %)	癌胎児性抗原増加	3例 (13.6 %)
筋痛	1例 (4.5 %)	血小板数減少	2例 (9.1 %)
そう痒症	2例 (9.1 %)	尿中血陽性	3例 (13.6 %)
不整脈	1例 (4.5 %)	末梢腫脹	1例 (4.5 %)
心筋虚血	3例 (13.6 %)	接触性皮膚炎	1例 (4.5 %)
視力低下	1例 (4.5 %)	湿疹	1例 (4.5 %)
歯髄炎	1例 (4.5 %)	ほてり	2例 (9.1 %)
悪寒	1例 (4.5 %)	振戦	1例 (4.5 %)
血中リン酸塩減少	2例 (9.1 %)	潜血陽性	3例 (13.6 %)
胃炎	2例 (9.1 %)	好中球数増加	1例 (4.5 %)
単球数増加	3例 (13.6 %)	十二指腸潰瘍	2例 (9.1 %)
網膜出血	2例 (9.1 %)	萎縮性胃炎	2例 (9.1 %)
胃粘膜びらん	2例 (9.1 %)	胸痛	2例 (9.1 %)
逆流性食道炎	2例 (9.1 %)	胃の良性新生物	2例 (9.1 %)
四肢痛	2例 (9.1 %)	頻尿	2例 (9.1 %)
脂肪腫	2例 (9.1 %)	脳梗塞	2例 (9.1 %)
大脳動脈閉塞	2例 (9.1 %)	下腹部痛	1例 (4.5 %)
四肢動脈狭窄	2例 (9.1 %)	熱感	1例 (4.5 %)
裂孔ヘルニア	1例 (4.5 %)	アラニン・アミノトランスフェラーゼ増加	1例 (4.5 %)
倦怠感	1例 (4.5 %)	糖鎖抗原19-9増加	1例 (4.5 %)
前立腺特異性抗原増加	1例 (4.5 %)	膵臓の良性新生物	1例 (4.5 %)
背部痛	1例 (4.5 %)	大腿動脈狭窄	2例 (9.1 %)
痙攣	1例 (4.5 %)		

(2) AMG0001-JN-101 試験（ASO 第 III 相試験ステージ 1）

AMG0001-JN-101 試験（ASO 第 III 相試験ステージ 1）における副作用一覧を表 6 に示した。安全性評価対象 41 例中 39 例 196 件（AMG0001 群 28 例中 27 例 139 件、プラセボ投与群 13 例中 12 例 57 件）に有害事象が認められ、このうち副作用は 25 例 43 件（AMG0001 投与群 28 例中 18 例 28 件、プラセボ群 13 例中 7 例 15 件）であった。重篤な有害事象は、9 例 12 件（AMG0001 投与群 6 例 8 件、プラセボ投与群 3

例 4 件) に認められた。このうち 2 例 2 件は AMG0001 との関連性が否定できなかった。関連性が否定できない重篤な有害事象は「前立腺癌」と「膀胱穿孔」であり、いずれも AMG0001 投与群で認められた事象であるが、安全性評価委員会において詳細に検討された結果、AMG0001 との関連性は低いものと判断された。AMG0001 投与群における死亡例は認められなかった。

表 6 AMG0001-JN-101 試験ステージ 1 における副作用 (対象 41 例)

事象名	AMG0001投与群 28例		プラセボ投与群 13例	
	発現例数	発現率	発現例数	発現率
全身障害及び投与局所様態	5	17.9 %	1	7.7 %
注射部位疼痛	2	7.1 %	1	7.7 %
注射部位紅斑	1	3.6 %	0	0.0 %
注射部位浮腫	1	3.6 %	0	0.0 %
注射部位知覚異常	1	3.6 %	0	0.0 %
注射部位熱感	1	3.6 %	0	0.0 %
注射部位湿疹	1	3.6 %	0	0.0 %
注射部位出血	0	0.0 %	1	7.7 %
臨床検査	5	17.9 %	4	30.8 %
C-反応性蛋白増加	3	10.7 %	2	15.4 %
血圧上昇	1	3.6 %	1	7.7 %
好酸球数増加	1	3.6 %	1	7.7 %
アラニン・アミノトランスフェラーゼ増加	0	0.0 %	1	7.7 %
アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ増加	0	0.0 %	1	7.7 %
血小板数増加	0	0.0 %	1	7.7 %
胃腸障害	4	14.3 %	0	0.0 %
結腸ポリープ	3	10.7 %	0	0.0 %
逆流性食道炎	1	3.6 %	0	0.0 %
心臓障害	1	3.6 %	0	0.0 %
心室性期外収縮	1	3.6 %	0	0.0 %
感染症及び寄生虫症	1	3.6 %	0	0.0 %
副鼻腔炎	1	3.6 %	0	0.0 %
筋骨格系及び結合組織障害	1	3.6 %	1	7.7 %
四肢痛	1	3.6 %	0	0.0 %
筋痛	0	0.0 %	1	7.7 %
良性、悪性及び詳細不明の新生物 (嚢胞及びポリープを含む)	1	3.6 %	0	0.0 %
前立腺癌	1	3.6 %	0	0.0 %

表 6 AMG0001-JN-101 試験ステージ1における副作用（対象41例）（つづき）

事象名	AMG0001投与群 28例		プラセボ投与群 13例	
	発現例数	発現率	発現例数	発現率
神経系障害	1	3.6 %	0	0.0 %
神経痛	1	3.6 %	0	0.0 %
腎及び尿路障害	1	3.6 %	0	0.0 %
膀胱穿孔	1	3.6 %	0	0.0 %
皮膚及び皮下組織障害	1	3.6 %	1	7.7 %
皮膚嚢腫	1	3.6 %	0	0.0 %
そう痒症	0	0.0 %	1	7.7 %
血液及びリンパ系障害	0	0.0 %	1	7.7 %
貧血	0	0.0 %	1	7.7 %
肝胆道系障害	0	0.0 %	1	7.7 %
肝機能異常	0	0.0 %	1	7.7 %
血管障害	0	0.0 %	1	7.7 %
ほてり	0	0.0 %	1	7.7 %

(3) AMG0001-JN-101 試験（ASO 第Ⅲ相試験ステージ1）の中間解析対象外3例

AMG0001-JN-101 試験（ASO 第Ⅲ相試験ステージ1）の中間解析対象外3例における副作用はプラセボ群の1件に認められた。当該3例中2例11件（AMG0001投与群1例3件、プラセボ群1例8件）に有害事象が認められたが、重篤な有害事象は認められなかった。AMG0001投与群における死亡例は認められなかった。

(4) AMG0001-JN-101 試験（ASO 第Ⅲ相試験ステージ2）

AMG0001-JN-101 試験（ASO 第Ⅲ相試験ステージ2）では、安全性評価対象10例中8例30件に有害事象が認められ、このうち副作用は4例8件に認められた。AMG0001との関連性が否定できない重篤な副作用は2例2件（結腸ポリープ、胃癌）に認められたが、詳細に検討された結果、AMG0001との関連性は低いものと判断された。

治療期中の死亡例は認められなかったが、AMG0001投与10日後に発現した有害事象（「うっ血性心不全」、AMG0001との関連性「関連なし」）により、AMG0001投与24日後に治験を中止した1例が、中止後も症状の改善がみられず、1回目のAMG0001投与から121日後に転帰が「死亡」となった。

(5) AMG0001-JN-101試験（ASO第Ⅲ相試験追跡調査）

AMG0001-JN-101試験（ASO第Ⅲ相試験追跡調査）では、ステージ1とステージ2を併合すると、治療期12週後まで（～91日後まで）の39例中36例173件（92.3%）に対し、治療期12週後から追跡調査24週後まで（92～182日後まで）の12週間で38例中25例56件（65.8%）、追跡調査24週後から9箇月後まで（183～305日後まで）の3箇月間で38例中21例42件（55.3%）、追跡調査9箇月後から追跡調査15箇月後までの6箇月間

で38例中27例58件（71.1 %）に認められた。本治験全体（～488日後まで）では39例中39例329件（100.0 %）に有害事象が認められた。

追跡調査（92～488日後まで）において認められた副作用は、ステージ2実施例の「腓癌」（1例1件）のみであった。当該副作用については、社外専門家から構成された安全性評価委員会により悪性腫瘍発現に至るまでの経過と患者背景が詳細に検討され、「自然経過によって発現した可能性が高い」と判断された。

重篤な有害事象の発現状況は、治療期 12 週後（～91 日）における 39 例中 10 例 12 件（25.6 %）に対し、治療期 12 週後から追跡調査 24 週後まで（92～182 日後まで）の 12 週間で 38 例中 2 例 4 件（5.3 %）、追跡調査 24 週後から 9 箇月後まで（183～305 日後まで）の 3 箇月間で 38 例中 5 例 7 件（13.2 %）、追跡調査 9 箇月後から 15 箇月後まで（306～488 日後まで）の 6 箇月間で 38 例中 9 例 15 件（23.7 %）に認められた。本治験全体（～488 日）では 39 例中 22 例 38 件（56.4 %）に認められた。

当該追跡調査中に 2 例の死亡が認められた。その死因は、急性心筋梗塞及び多臓器不全であった。

(6) AMG0001-JN-101 試験（ASO 第 III 相試験予後調査）

AMG0001-JN-101 試験（ASO 第 III 相試験予後調査）では、ステージ 1 とステージ 2 を併合すると、追跡調査 15 箇月後から長期予後調査 24 箇月後まで（489～792 日後まで）の 9 箇月間で 35 例中 7 例 10 件（20.0 %）、長期予後調査 24 箇月後から 36 箇月後まで（793～1157 日後まで）の 12 箇月間で 31 例中 8 例 10 件（25.8 %）に認められた。治験開始時からの累積（～1157 日後まで）では 39 例中 39 例 349 件（100.0 %）に有害事象が認められた。

長期予後調査期間（489～1157 日後まで）において、前立腺癌（1 例 1 件）が副作用と判定されたが、当該副作用は、社外専門家から構成された安全性評価委員会により悪性腫瘍発現に至るまでの経過と患者背景が詳細に検討され、「自然経過によって発生した可能性も高い」と判断された。

重篤な有害事象は、追跡調査 15 箇月後から長期予後調査 24 箇月後まで（489～792 日後まで）の 9 箇月間で 35 例中 6 例 7 件（17.1 %）、長期予後調査 24 箇月後から 36 箇月後まで（793～1157 日後まで）の 1 年間で 31 例中 8 例 10 件（25.8 %）に認められた。治験開始時からの累積（～1157 日）では 39 例中 31 例 55 件（79.5 %）に認められた。

(7) AMG0001-JN-102 試験（TAO 一般臨床試験:治療期）

AMG0001-JN-102 試験（TAO 一般臨床試験）における副作用一覧を表 7 に示した。安全性評価対象 10 例中、10 例 53 件の有害事象が認められ、このうち副作用は 5 例 7 件であった。重篤な有害事象は、3 例 3 件に認められ、AMG0001 との因果関係は否定できないものは 1 例 1 件（食道扁平上皮癌）であった。当該重篤な副作用は、詳細に検討された結果、AMG0001 との関連性は低いものと判断された。死亡は認められなかった。

表 7 AMG0001-JN-102 試験における副作用（対象 10 例）

事象名	発現例数	発現率
注射部位疼痛	1	10.0 %
末梢性浮腫	1	10.0 %
アラニン・アミノトランスフェラーゼ増加	1	10.0 %
血中クレアチンホスホキナーゼ増加	1	10.0 %
血中カリウム増加	1	10.0 %
白血球数減少	1	10.0 %
食道扁平上皮癌	1	10.0 %

(8) AMG0001-JN-102 試験（TAO 一般臨床試験:追跡調査）

AMG0001-JN-102 試験（TAO 一般臨床試験:追跡調査）で認められた有害事象は、治療期 12 週後から追跡調査 24 週後までの間では 8 例中 5 例（62.5 %）9 件、追跡調査 24 週後から追跡調査 9 箇月後までの間では 9 例中 3 例（33.3 %）4 件、追跡調査 9 箇月後から追跡調査 15 箇月後までの間では 9 例中 5 例（55.6 %）11 件認められた（参考：治療期 12 週後までは、10 例中 10 例に 53 件、発現率 100.0 %）。

副作用は、治療期では 5 例 7 件（50.0 %）、治療期 12 週後から追跡調査 24 週後では 1 例 2 件（発現率 12.5 %）に認められ、追跡調査 24 週後から追跡調査 15 箇月後までの間に副作用は認められなかった。

重篤な有害事象は、治療期 12 週後から追跡調査 24 週後までの間には認められず、追跡調査 24 週後から追跡 9 箇月後までの間で 9 例中 1 例（11.1 %）に 1 件（末梢性虚血）、追跡調査 9 箇月後から追跡調査 15 箇月後までの間で 9 例中 1 例（11.1 %）に 1 件（末梢性虚血）認められた（参考：治療期 12 週後までは 10 例中 3 例（30.0 %）に 3 件）。AMG0001 との関連性が否定されなかった重篤な有害事象（副作用）はなかった。

死亡例は、認められなかった。

(9) AMG0001-JN-102 試験（TAO 一般臨床試験:長期予後調査）

AMG0001-JN-102 試験（TAO 一般臨床試験: 長期予後調査）で認められた有害事象は、追跡調査 15 箇月後から長期予後調査 24 箇月後まで（489～792 日後まで）の 9 箇月間で 8 例中 5 例 7 件（62.5 %）、長期予後調査 24 箇月後から 36 箇月後まで（793～1157 日後まで）の 12 箇月間で 8 例中 3 例 4 件（37.5 %）に認められた。治験開始時からの累積（～1157 日後まで）では 10 例中 10 例 88 件（100.0 %）に有害事象が認められた。

副作用は、長期予後調査期間（489～1157 日後まで）において、喉頭癌（1 例 1 件）が認められたが、社外専門家から構成された安全性評価委員会により悪性腫瘍発現に至るまでの経過と患者背景が詳細に検討され、「自然経過によって発現した可能性が高い」と判断された。

重篤な有害事象は、追跡調査 15 箇月後から長期予後調査 24 箇月後まで（489～792 日後まで）の 9 箇月間で 8 例中 2 例 2 件（25.0 %）、長期予後調査 24 箇月後から 36

箇月後まで（793～1157 日後まで）の 1 年間で 8 例中 2 例 2 件（25.0 %）に認められた。

死亡は、認められなかった。

(10) AG-CLI-0202（CLI 第 II 相試験:初回投与～投与 12 箇月後）

AG-CLI-202 試験（CLI 第 II 相試験）における副作用一覧を表 8 に示した。安全性評価対象 104 例中、97 例 779 件の有害事象が認められ、このうち副作用は 25 例 35 件であった。重篤な有害事象は、62 例 130 件（プラセボ群 15 例 32 件、0.4 mg×3 群 16 例 33 件、4.0 mg×2 群 12 例 26 件、4.0 mg×3 群 19 例 39 件）に認められた。そのうち、関連性が否定できないものは「結腸癌」2 例 2 件（プラセボ群 1 例 1 件、4.0 mg×2 群 1 例 1 件）であった。

AMG0001 投与群において死亡に至った有害事象が 6 例にみられたが（「敗血症」、「小腸閉塞」、「呼吸不全」、「心筋梗塞」、「銃創」及び「脳血管発作」）、いずれも AMG0001 との関連性は否定された。

（余白）

表 8 AG-CLI-0202 試験における副作用: 初回投与～投与 12 箇月後 (対象 104 例)

事象名 (器官別大分類/基本語)	プラセボ 26 例 (%)	AMG0001 0.4 mg×3 26 例(%)	AMG0001 4.0 mg×2 25 例(%)	AMG0001 4.0 mg×3 27 例(%)
目障害				
視神経萎縮	0	1 (3.8 %)	0	0
霧視	0	1 (3.8 %)	0	0
網膜静脈血栓症	1 (3.8 %)	0	0	0
胃腸障害				
悪心	0	0	1 (4.0 %)	0
直腸ポリープ	0	1 (3.8 %)	0	0
全身障害及び投与局所様態				
注射部位内出血	0	0	1 (4.0 %)	0
注射部位紅斑	1 (3.8 %)	0	0	0
注射部位出血	0	0	0	1 (3.7 %)
注射部位疼痛	1 (3.8 %)	1 (3.8 %)	1 (4.0 %)	1 (3.7 %)
注射部位腫脹	1 (3.8 %)	0	0	0
末梢性浮腫	0	1 (3.8 %)	0	3 (11.1 %)
代謝及び栄養障害				
食欲不振	0	0	0	1 (3.7 %)
筋骨格系及び結合組織障害				
関節痛	0	1 (3.8 %)	0	0
筋痙縮	0	0	1 (4.0 %)	0
四肢痛	0	1 (3.8 %)	2 (8.0 %)	0
顎関節症候群	0	1 (3.8 %)	0	0
神経障害				
錯感覚	0	1 (3.8 %)	0	1 (3.7 %)
腎及び尿路障害				
蛋白尿	0	1 (3.8 %)	0	0
傷害、中毒及び処置合併症				
挫傷	0	0	1 (4.0 %)	0
良性、悪性及び詳細不明の新生物 (嚢胞及びポリープを含む)				
結腸癌	1 (3.8 %)	0	1 (4.0 %)	0

(11) AG-CLI-0202 (CLI 第 II 相試験:長期予後調査)

長期予後調査の参加に同意した被験者を対象に実施し、調査形式は質問表を送付することによって実施した。長期予後調査期間は、12 箇月後 (追跡調査完了後) から 2 年間とした。

追跡調査完了後の死亡は 5 例に認められ、うち 1 例は手術の悪性腫瘍発現例、1 例は疾患による死亡、その他は詳細不明であった。

調査が可能であった 28 例中、悪性腫瘍は 3 例に認められた。1 例は 15 箇月後にがんと診断されその後死亡、1 例は約 3 年後に認められた黒色腫、他の 1 例は AMG0001 最終投与後 2.5 年後に認められた婦人科系癌であった。

(12) AG-CLI-0205 試験 (CLI 追加第 II 相試験:初回投与～投与 12 箇月後)

AG-CLI-205 試験（CLI 追加第Ⅱ相試験）における副作用一覧を表 9 に示した。安全性評価対象 27 例中、25 例 312 件（プラセボ投与群 5 例 63 件、AMG0001 投与群 20 例 249 件）の有害事象が認められ、このうち副作用は 7 例 9 件（プラセボ投与群 2 例 2 件、AMG0001 投与群 5 例 7 件）であった。重篤な有害事象は、20 例 50 件（プラセボ投与群 3 例 13 件、AMG0001 投与群 17 例 37 件）に認められたが、すべて AMG0001 との関連性は否定された。

AMG0001 投与群において死亡に至った有害事象が 4 例にみられたが（「死亡 自然原因」、「多臓器不全」、「敗血症」及び「大動脈血栓塞栓症」）、いずれも AMG0001 との関連性は否定された。

表 9 AG-CLI-0205 試験における副作用：初回投与～投与 12 箇月後（対象 27 例）

事象名	プラセボ 6 例	AMG0001 4.0 mg×2 21 例
全身障害及び投与局所様態		
注射部位内出血	1 (17 %)	1 (5 %)
注射部位不快感	0	2 (10 %)
注射部位血腫	0	1 (5 %)
注射部位疼痛	0	1 (5 %)
浮腫	0	1 (5 %)
臨床検査		
LDH 増加	1 (17 %)	0

(13) AG-CLI-0205 試験（CLI 追加第Ⅱ相試験：長期予後調査）

長期予後調査の参加に同意した被験者を対象に実施し、調査形式は質問票を送付することによって実施した。長期予後調査期間は、追跡調査終了 12 箇月後から 2 年間とした。

追跡調査完了後の死亡は 3 例に認められ、（いずれも医療機関からの報告）、1 例は 21 箇月後に心不全による死亡であり、18 箇月後に前立腺癌も発症していた症例であり、他の 2 例は、1 例が 14 箇月後に死亡した以外詳細は不明であった。

(14) 投与手技による有害事象（上記以外）

これまでの臨床研究及び臨床試験では認められていないが、投与手技（筋肉内への注射）により以下の事象が発現する可能性は否定できない。

- ・注射に伴う細菌などによる感染
- ・注射の刺激による一時的な安静時疼痛の結果
- ・注射により感染が発生し潰瘍が悪化した場合、それに伴う痛みの発生

(15) がんの発生

正常細胞が AMG0001 取り込むことによって、がんになる可能性は否定されていない。また、AMG0001 により発現した HGF たん白質が、検査で見つけることができない微小ながんを発育させる可能性は否定されていない。

(16) 安全性のまとめ

AMG0001 を用いた臨床研究・臨床試験から得られた情報に基づき、AMG0001 の安全性プロファイルを検討した結果、AMG0001 に特有の注視すべき有害事象は認め

られていない。

AMG0001 は、血管新生作用を有するプラスミド DNA であることから、一般的な理論的リスクとして、投与部位近傍における異常な血管新生、投与部位以外の遠隔臓器における血管新生に伴う有害反応の発生、及び AMG0001 に対する過剰な免疫応答の可能性がある。

しかしながら、各試験を通じて比較的高い頻度で認められた有害事象は、投与手技に関連する事象であり、投与部位での血管腫発生等異常な血管新生は認められなかった。

遠隔臓器への影響については、各臨床試験において AMG0001 投与に起因する血中 HGF 濃度の上昇はみられていないこと、血管新生に起因することが疑われる増殖糖尿病網膜症等の有害事象の発生は認められていないこと、及び in vitro 試験において AMG0001 がヒト血清中で速やかに代謝されることが示されていること等から、投与部位以外の遠隔臓器へ影響を及ぼすリスクは低いと考える。

なお、AMG0001 との因果関係が完全には否定されなかった有害事象として悪性腫瘍が 6 例 7 件認められたが、個々の事象を詳細に検討した結果、いずれも AMG0001 との関連性は低いと判断している。

また、免疫応答反応の誘引因子となり得るような各種抗体の産生は認められず、AMG0001 が免疫応答を惹起させる可能性は低いことが示唆される。

11.11.6 有害事象への対処

(1) 注射部位疼痛

注射手技に対する疼痛が、AMG0001-JN-100 試験で高頻度に認められたことから、投与前後の疼痛対策として、必要に応じて、投与前に穿刺予定部位にキシロカインゼリーなどで表面麻酔を行う。注射時の疼痛の程度により痛みが遷延すると判断される場合は、鎮痛剤（ボルタレンやロキソニンなどの NSAIDs）と共に、必要に応じて健胃散を使用する。

(2) 注射手技に伴う感染症

注射手技に伴う感染症に対しては、経過観察しながら、必要に応じて抗生剤、抗ウイルス剤、抗真菌剤で治療する。

(3) その他の注射部位反応（紅斑、浮腫、知覚異常、熱感、湿疹、出血など）

注射手技に対し、紅斑、浮腫、知覚異常、熱感、湿疹、出血などの局所反応に対しては、経過を観察しながら、刺激感・疼痛に対しては、必要に応じて除痛措置を行い、出血に対しては止血処置を行う。また、局所の皮膚症状については、必要に応じて、皮膚科専門医の診察を受けさせる。

(4) 末梢血検査における CRP 及び LDH の上昇

これまで一過性で、その後回復している CRP 及び LDH の上昇が発現している。当該事象が発生した場合は、経過観察しながら、必要に応じて、これらの異常変動を惹起している原因に対する治療措置を行う。

(5) その他の有害事象

対処疾患の合併症も少なくなく、これまで多くの軽度な事象が低頻度で認められているが、多くの事象が一過性で回復していることから、経過観察しながら、必要に応じて薬物治療を行う。

11.12 被験者ごとの臨床研究中止の基準及び手順

11.12.1 被験者ごとの中止基準

実施施設の研究責任者又は研究分担者は、以下の場合には、当該被験者の研究を中止・中断する。状況に応じて可能な限り中止時の観察・検査を実施した上で臨床研究を中止する。

- (1) 被験者が臨床研究の中止を希望（同意撤回）した場合、当該被験者の研究を中止する。
「中止時」の観察・検査を実施した上で臨床研究を中止する。（観察期中で中止する場合、検査・観察は不要）
- (2) 被験者が無断で来院しなくなった場合、当該被験者の研究を中止する。
臨床研究を中止し、電話、手紙などにより被験者の転帰を確認し、結果を症例報告書又は電子症例報告書（eCRF）に記載する。
- (3) 原疾患の悪化又は有害事象（合併症の悪化を含む）の軽快・回復が認められないことにより、被験者の安全性確保の面から臨床研究の継続が困難と判断された場合、当該被験者の研究を中止する。
上記原疾患の悪化及び有害事象については、以下の場合が想定される。
 - ・ 原疾患の悪化： 投与対象肢の大切断
 - ・ 有害事象（合併症の悪化を含む）： 重篤な心疾患、肝疾患、腎疾患、血液疾患等速やかに適切な処置を行うとともに、必要に応じて追加検査を実施し、被験者の安全性が確認できるまで処置を継続する。
- (4) 前観察期間において、禁止されている併用薬・併用療法を受けた場合、当該被験者の研究を中止する。
- (5) 登録後、被験者が適格基準を満たしていなかったことが判明した場合、当該被験者の研究を中止する。
- (6) 「11.14.2.1 研究全体の中断・中止の基準」により当該遺伝子治療臨床研究全体が中止又は中断された場合、実施中の被験者の臨床研究は可能な時点で中止又は中断する。
- (7) その他、実施施設の研究責任者又は研究分担者が、研究の中止を適切と判断した場合、当該被験者の研究を中止する。

11.12.2 被験者ごとの中止の手順

実施施設の研究責任者が当該被験者の臨床研究の継続が可能かどうかを判断し、不可能な場合は中止の手続きを行う。

同意撤回以外で、すでに1回目のAMG0001投与が終了しており、2回目以降のAMG0001投与に際し下記事項に該当する場合は、研究を中止する旨を当該被験者に速やかに説明し、適切な医療の提供その他必要な措置を講じるとともに、2回目以降のAMG0001投与を中止する。ただし、検査・観察は臨床研究終了時まで継続し、症例報告書に記録又は電子症例報告書（eCRF）に入力する。

- (1) 除外基準（(2)～(5)、(9)～(13)）に抵触していることがAMG0001投与後に判明した場合

- (2) 原疾患の悪化または有害事象（合併症の悪化を含む）等により、被験者の安全性確保の面から2回目以降のAMG0001が適切でないと判断された場合
- (3) 被検者の妊娠が判明した場合
- (4) 被験者が来院できなくなった場合、規定の観察・検査が2回連続で欠落した場合
- (5) 2回目のAMG0001をDay 63までに実施できない場合: 2回目及び3回目の投与を中止する。
- (6) 2回目のAMG0001がDay 21～35よりもあとになる場合: 3回目の投与を中止する。
- (7) 3回目のAMG0001投与がDay 63までに実施できない場合
- (8) その他、実施施設の研究責任者の判断により、当該遺伝子治療臨床研究の中止の必要性が認められた場合

11.13 臨床研究実施計画書の遵守、逸脱又は変更

11.13.1 臨床研究実施計画書の遵守

当該遺伝子治療臨床研究は、被験者の緊急の危険を回避するためのものである等医療上やむを得ない場合を除き、本実施計画書を遵守して実施する。

11.13.2 実施計画書からの逸脱又は変更

実施施設の研究責任者又は研究分担者は、被験者の緊急の危険を回避するためのものである等医療上やむを得ない事情があれば、本実施計画書からの逸脱を行うことができる。その際には、研究責任者は、内容及び理由を、可能な限り早急に病院長及び研究総括責任者を経て、実施施設の遺伝子治療臨床研究審査委員会に報告する。また、研究責任者又は研究分担者は、本実施計画書から逸脱した場合は理由のいかんによらず、全てこれを記録する。

また、本実施計画書の変更・改定が適切な場合には、その案を、研究総括責任者に提出し、実施施設の病院長を経て、実施施設の遺伝子治療臨床研究新審査委員会に提出してその承認を得る。変更の際には変更することの倫理的、科学的、及び医学的妥当性について十分検討する。逸脱・変更の際しての手続きは、当該遺伝子治療臨床研究の「臨床研究実施規程」に従う。

11.14 臨床研究の終了又は中止及び中断

11.14.1 研究の終了

目標症例の登録が予定期間内に終了した場合、登録症例の最終研究期間終了日を研究の終了とし、以下の手順をふむ。

11.14.1.1 手順

当該遺伝子治療臨床研究の「臨床研究実施規定」、及び「臨床研究の中止、中断又は終了に関する手順書」に従う。

11.14.2 研究全体の中断・中止の基準及び手順

11.14.2.1 研究全体の中断・中止基準

研究総括責任者は、以下の場合に、臨床研究全体を中止又は中断する。

- (1) 大阪大学医学部附属病院「未来医療臨床研究規程」第5条に基づき、大阪大学医学部附属病院病院長が遺伝子治療臨床研究審査委員会の答申を受け、臨床研究を継続すべきでないと決定し、研究総括責任者に通知した場合、当該遺伝子治療臨床研究を中止する。
- (2) 重篤な有害事象等の重大な事態が発生した場合、当該遺伝子治療臨床研究を中断し、「11.14.2.2 研究全体の中断・中止の手順」に従う。
- (3) 新たな被験者の安全又は当該遺伝子治療臨床研究の実施に悪影響を及ぼす可能性のある重大な情報を入手した場合、当該遺伝子治療臨床研究を中断し、「11.14.2.2 研究全体の中断・中止の手順」に従う。
- (4) その他の理由により、研究総括責任者が当該遺伝子治療臨床研究を中止又すべきである、又は継続が不可能であると判断した場合、当該遺伝子治療臨床研究を中止する。

11.14.2.2 研究全体の中断・中止の手順

「11.14.2.1 研究全体の中断・中止基準」の(1)による中止の場合、研究総括責任者は新たな被験者の登録中止を決定し、実施施設の研究責任者に伝達する。実施中の被験者の臨床研究は、可能な時点で中止する。

(2)、(3)による中断の場合は、速やかに実施施設の研究責任者は病院長及び研究総括責任者に報告するとともに、実施中の被験者の臨床研究を可能な時点で中断し、必要に応じて適切な処置及び原因究明を行う。また、研究総括責任者は、新たな被験者の登録中断を実施施設の研究責任者に伝達する。なお、大阪大学医学部附属病院病院長が遺伝子治療臨床研究審査委員会の答申を受け、継続可能であるとの決定を下した場合は再開することができるが、継続すべきでないと決定を下した場合には、当該遺伝子治療臨床研究を中止する。

臨床研究の中止の場合はいずれの場合にも、研究総括責任者は速やかに実施施設の研究責任者に伝達し、実施施設の研究責任者は病院長に中止の報告を行い、実施施設の病院長は遺伝子治療臨床研究審査委員会に速やかに報告する。

研究総括責任者は、できる限り速やかに臨床研究総括報告書を作成し、実施施設の研究責任者に提出し、実施施設の研究責任者は病院長に提出する。実施施設の病院長は、当該臨床研究総括報告書について、遺伝子治療臨床研究審査委員会の意見を求めるとともに、「遺伝子治療臨床研究に関する指針」に従い、当該臨床研究総括報告書を厚生労働大臣に提出する。

なお、臨床研究の中止及び中断に関わる手続きは、当該遺伝子治療臨床研究の「臨床研究の中止、中断又は終了に関する手順書」に従う。

11.15 症例報告書

11.15.1 症例報告書の記録項目

「11.10 観察・検査スケジュール」に記載されている観察・検査項目を記載又は入力する。

11.15.2 症例報告書の作成

- (1) 研究責任者又は研究分担者は、登録した被験者について症例報告書を作成し、記名捺印又は署名の上、データセンターに提出し、その写しを保存する。
- (2) 研究協力者が症例報告書の作成又は入力補助を行う場合には、研究責任者又は研究分担者の監督のもと、医学的判断を伴わない範囲での原資料からの転記又は入力にとどめる。

11.15.3 症例報告書の記載上の注意

- (1) 紙の症例報告書の場合は、黒色のボールペン又は黒インクのペンで記載する。電子症例報告書の場合は、当該入力マニュアルに従い、データ入力する。
- (2) □は該当するものにレ印又は×印を記載又は入力する。
- (3) 観察・検査未実施でデータがない場合には、記載欄に斜線 (/) を入れる。電子症例報告書の場合は、当該入力マニュアルに従い、データ入力する。
- (4) 原資料との整合性を確認する。

11.15.4 症例報告書の変更又は修正

- (1) 紙の症例報告書の変更又は修正の際には、変更又は修正箇所を二重線 (=) で消し、変更又は修正箇所の近隣に正しい内容を記載し、変更又は修正日を併記の上、捺印又は署名する。当初の記載内容を不明瞭にしないよう修正液、砂消しゴム等は使用しない。電子症例報告書の場合は、当該入力マニュアルに従い、データ変更又は修正する。
- (2) 紙の症例報告書において、重要事項〔同意、エンドポイントの評価（有害事象名、重症度、重篤性、転帰、治療との因果関係、コメント、異常変動の判定）〕に関する変更又は修正では、変更又は修正日に加えて変更又は修正の理由を記載し、捺印又は署名する。電子症例報告書の場合は、当該入力マニュアルに従い、データ変更又は修正する。
- (3) データセンターへ提出後の症例報告書の変更又は修正は、データセンターが指定する DCF（Data Clarification Form）を介して行う。

11.15.5 症例報告書の確認

- (1) 研究分担者が症例報告書を作成した場合には、研究責任者は、症例報告書をデータセンターに提出する前に、その記載内容を点検し、問題がないことを確認した上で記名捺印又は署名し、データセンターに提出する。
- (2) 研究責任者は、データセンターに提出する症例報告書の記載内容が正確かつ完全で読みやすく、提出時期が適切であること、及び被験者の識別に被験者識別コード及び登録番号を用いていることを保証する。

11.15.6 症例報告書の提出

研究責任者、研究分担者又は研究協力者は、当該症例における最終観察終了後又は臨床研究中止後4週以内に症例報告書を作成し、記名捺印又は署名した上でモニターへ提出する。モニタリングが終了し、データセンターへ提出する際には、写しを保存する。

11.16 統計解析

11.16.1 目標登録被験者数の設定根拠

11.16.1.1 目標登録被験者数の設定の背景

当該遺伝子治療臨床研究と同様の対象、用法・用量、評価基準で実施されたAMG0001-JN-100、101、102試験における安静時疼痛及び潰瘍の改善率は、以下のとおりであった。

- (1) AMG0001-JN-100試験
 - ・ Fontaine III度の改善率: 63.6 % (7/11例)
 - ・ Fontaine IV度の改善率: 61.5 % (8/13例)
- (2) AMG0001-JN-101試験
 - ・ Fontaine III度の改善率: 50.0 % (8/16例)
 - ・ Fontaine IV度の改善率: 100.0 % (11/11例)
 - ・ Fontaine III度及びIV度の複合改善率: 70.4 % (19/27例)
- (3) AMG0001-JN-102試験
 - ・ Fontaine IV度の改善率: 66.7 % (6/9例)

「4.1 当該遺伝子治療臨床研究の背景」で述べたように、当該遺伝子治療臨床研究は、アンジェス社が一旦取下げた製造販売承認申請の臨床試験成績を活用することにより、慢性動脈閉塞症患者により早くAMG0001を提供できる環境を整えるために実施する。

被験者登録期間を1年間に設定し、この1年間に集積可能な症例数を検討した。AMG0001-JN-100、101、102試験の1施設当たりの年間症例集積数は、それぞれ9例、0.2例、0.4例であった。アンジェス社は、AMG0001-JN-100試験の症例集積頻度も考慮し、AMG0001-JN-101試験の実行可能性を評価し、120例規模の試験を開始したが、適格性基準を満たす症例が極めて少なく、実際は44例/57施設/47箇月間で中間解析を行い、独立データモニタリング委員会での評価を経て、AMG0001投与群のプラセボ群に対する優位性が検証されたとして試験を早期終了している。

大阪大学医学部附属病院で実施したAMG0001-JN-100試験は、当時の当該遺伝子治療臨床研究の社会的・学術的注目度の高さもあり、担当医の極めて活発な症例集積活動の結果、実現した数字であった。一般的な臨床試験では、関連病院の協力のもと候補被験者を待って試験に組み入れるという、どちらかという受動的な被験者募集とは状況が異なっていたことから、AMG0001-JN-100試験の症例集積頻度を当該遺伝子治療臨床研究の参考にすることは困難であると判断した。

当該遺伝子治療臨床研究では、AMG0001-JN-101、102試験の安全性データを鑑み、選択・除外基準を再設定しているものの、その設定方針に大きく変わりはなく、Fontaine III度又はIV度（潰瘍）の閉塞性動脈硬化症又はビュルガー病患者を対象とした当該遺伝子治療臨床研究の症例集積頻度は、AMG0001-JN-101、102試験の症例集積頻度を参考に推計することとした。

11.16.1.2 Fontaine III 度又は IV 度（潰瘍）の閉塞性動脈硬化症患者の当該遺伝子治療臨床研究における症例集積頻度推計

当該遺伝子治療臨床研究の予定施設数（8 施設）に、AMG0001-JN-101 試験の 1 施設当たりの年間集積症例数（約 0.2 例/年）を乗ずると、「8 施設×約 0.2 症例 = 約 1.6 例（約 2 例）」が算出される。

当該遺伝子治療臨床研究は、オープンラベル試験であることから、AMG0001-JN-101 試験よりも症例集積の難易度が低いと考え、2 倍の速度で症例集積したと仮定すると 8 施設での年間症例集積数は約 3.2 例となる。

Fontaine III 度又は IV 度（潰瘍）の閉塞性動脈硬化症患者の当該遺伝子治療臨床研究における症例集積頻度は、約 3.2 例/年と推計する。

11.16.1.3 Fontaine III 度又は IV 度（潰瘍）のビュルガー病患者の当該遺伝子治療臨床研究における症例集積頻度推計

当該遺伝子治療臨床研究の予定施設数（8 施設）に、AMG0001-JN-102 試験の 1 施設当たりの年間集積症例数（約 0.4 例/年）を乗ずると、「8 施設×約 0.4 症例 = 約 3.2 例（約 4 例）」が算出される。

Fontaine III 度又は IV 度（潰瘍）のビュルガー病患者の当該遺伝子治療臨床研究における症例集積頻度は、3.2 例/年と推計する。

11.16.1.4 目標登録被験者数の設定根拠

当該遺伝子治療臨床研究の対象は、Fontaine III 度又は IV 度（潰瘍）の慢性動脈閉塞症（閉塞性動脈硬化症及びビュルガー病）患者であることから、11.16.1.2 で推計した当該遺伝子治療臨床研究における 8 施設での閉塞性動脈硬化症患者の症例集積頻度（約 3.2 例/年）、及び 11.16.1.3 で推計した当該遺伝子治療臨床研究における 8 施設でのビュルガー病患者の症例集積頻度（約 3.2 例/年）を加えた症例数（約 6.4 例/年）が、8 施設で 1 年間に当該遺伝子治療臨床研究で集積可能な症例数であると推計した。

したがって、当該遺伝子治療臨床研究の症例数を 6 症例と設定した。

11.16.2 解析対象集団の定義

- (1) 有効性解析対象集団：登録例のうち、以下の被験者を除いた集団とする。
 - ・ 未投与例
 - ・ 試験薬投与後の VAS 又は潰瘍の大きさに関する観測値が全くない被験者ただし、除外した症例については除外理由とともに一覧で示す。
- (2) 安全性解析対象集団：登録例のうち、以下の被験者を除いた集団とする。
 - ・ 未投与例
 - ・ 試験薬投与後の安全性に関する情報が全くない被験者ただし、除外した症例については除外理由とともに一覧で示す。

11.16.3 解析項目・方法

11.16.3.1 被験者背景及びベースラインの特性

被験者特性を一覧し、記述統計量を用いて要約する。連続変数については要約統計量を算出する。カテゴリー変数については、頻度を記述する。ベースラインとして用いるデータは試験薬投与前のデータとする。

11.16.3.2 主要評価項目

「後観察期間 12 週後(又は中止時)の安静時疼痛(VAS)又は潰瘍の大きさ($\sqrt{\text{長径} \times \text{短径}}$)」の改善率

本登録時「Fontaine III 度の被験者は安静時疼痛」で、本登録時「Fontaine IV 度の被験者は潰瘍の大きさ($\sqrt{\text{長径} \times \text{短径}}$)」で改善率を以下のように定義し、改善率を求める。当該改善率は、「改善例数/解析対象例数」とする。

【改善の定義】

- (1) Fontaine III 度の患者:
安静時疼痛 (VAS) が、投与前値から 20 mm 以上減少した場合を「改善」と定義する。ただし、投与前と比較し、鎮痛剤の使用量が 1.3 倍を超えた場合は「非改善」とする。
- (2) Fontaine IV 度の患者:
主要評価対象とした潰瘍の大きさ($\sqrt{\text{長径} \times \text{短径}}$) が、投与前値から 75 %以下に縮小した場合を「改善」と定義する。
ただし、試験治療期間又は後観察期間中に、投与同側肢に新たな虚血性潰瘍が生じた場合は「非改善」とする。

11.16.3.3 副次的評価項目

- (1) 有効性の副次的評価項目
 - 1) 安静時疼痛 (VAS) 又は潰瘍の大きさ($\sqrt{\text{長径} \times \text{短径}}$) の改善率の推移
 - ・ 2 回投与の場合
後観察期間 8、12 週後の改善率の経時的な推移を被験者別に一覧に示す。また、被験者別に経時変化をグラフに示す。
 - ・ 3 回投与の場合
試験治療期間 8 週後、後観察期間 12 週後の改善率の経時的な推移を被験者別に一覧に示す。また、被験者別に経時変化をグラフに示す。
 - 2) 安静時疼痛 (VAS)
本登録時Fontaine III度のみの結果と、本登録時のVAS値が20 mm以上のFontaine IV度とを合わせた結果を示す。
 - ・ 後観察期間 12 週後 (又は中止時) の測定値、変化量 (ベースラインとの差)、改善率
 - ・ 2 回投与の場合

後観察期間 8、12 週後の測定値、変化量（ベースラインとの差; 以下同様）、改善率の経時的な推移を被験者別に一覧に示す。また、被験者別に経時変化をグラフに示す。

- ・ 3 回投与の場合

試験治療期間 8 週後、後観察期間 12 週後の測定値、変化量、改善率の経時的な推移を被験者別に一覧に示す。また、被験者別に経時変化をグラフに示す。

3) 潰瘍の大きさ ($\sqrt{\text{長径} \times \text{短径}}$)

本登録時に主要評価対象とした潰瘍について、本登録時Fontaine IV度のみの結果を示す。

- ・ 後観察期間 12 週後（又は中止時）の測定値、変化率{[(測定値 - ベースライン値) / ベースライン値] × 100; 以下同様}と、改善率

- ・ 2 回投与の場合

後観察期間 8、12 週後の測定値、変化率、改善率の経時的な推移を被験者別に一覧に示す。また、被験者別に経時変化をグラフに示す。

- ・ 3 回投与の場合

試験治療期間 8 週後、後観察期間 12 週後の測定値、変化率、改善率の経時的な推移を被験者別に一覧に示す。また、被験者別に経時変化をグラフに示す。

4) ABI

後観察期間12週後（又は中止時）の測定値、変化量、改善率（0.1以上の上昇を「改善」とする）を被験者別に一覧に示す。また、被験者別に経時変化をグラフに示す。

5) Fontaine分類

後観察期間12週後（又は中止時）の病期分類を被験者別に一覧に示す。

6) 鎮痛剤不要患者の頻度

後観察期間12週後（又は中止時）に鎮痛剤を使用しなくなった被験者の頻度

(2) 安全性の副次的評価項目

1) 有害事象

試験治療期間及び後観察期間における事象別及び重症度別に発現例数、発現件数を集計する。試験治療期間、後観察期間に分けた集計も行う。

2) 副作用

試験治療期間及び後観察期間における事象別及び重症度別に発現例数、発現件数を集計する。試験治療期間、後観察期間に分けた集計も行う。

3) 重篤な有害事象

試験治療期間及び後観察期間における事象別及び重症度別に発現例数、発現件数を集計する。試験治療期間、後観察期間に分けた集計も行う。

4) バイタルサイン、理学的検査

時期別の測定値の経時的な推移を被験者別に一覧に示す。また、被験者別に経時変化をグラフに示す。

5) 臨床検査

時期別の測定値の経時的な推移を被験者別に一覧に示す。また、被験者別に経時変化をグラフに示す。

- 6) 心電図検査
時期別の測定結果の経時的な推移を被験者別に一覧に示す。
- 7) 血清中HGF濃度
時期別の測定値の経時的な推移を被験者別に一覧に示す。また、被験者別に経時変化をグラフに示す。

11.17 当該遺伝子治療臨床研究の品質管理

研究責任者、研究分担者及び研究協力者は、本実施計画書を遵守して研究を行う。また、研究責任者、研究分担者及び研究協力者は、臨床研究の実施に関わるそれぞれの手順書に従って研究を行う。

11.17.1 モニタリング

モニターは、被験者の人権、安全性及び福祉が保護されていること、臨床研究が最新の実施計画書、「遺伝子治療臨床研究に関する指針」及び「臨床研究に関する倫理指針」を遵守して実施されていること、研究責任者又は研究分担者から報告されたデータなどが正確かつ完全であることを、原資料などの臨床研究関連記録に照らして確認するために、当該遺伝子治療臨床研究の「モニタリングに関する手順書」に従ってモニタリングを実施する。なお、モニタリングは、臨床研究開始前、実施中及び終了時に、実施施設の研究責任者、研究分担者、臨床研究実施部門、臨床研究事務局等を訪問して行う。

11.17.2 データ管理

データの品質管理は、当該遺伝子治療臨床研究の「データマネジメントに関する手順書」に従って行う。

11.18 当該遺伝子治療臨床研究の倫理的実施

当該遺伝子治療臨床研究は、ヘルシンキ宣言に基づく倫理的原則に留意し、「遺伝子治療臨床研究に関する指針」、「臨床研究に関する倫理指針」及び本実施計画書を遵守して実施する。

11.18.1 遺伝子治療臨床研究審査委員会

遺伝子治療臨床研究審査委員会は、病院長の諮問を受け、臨床研究実施計画書、説明文書（患者さんへ）及び症例報告書又は電子症例報告書の様式の記載内容にもとづき、倫理的、科学的及び医学的妥当性の観点から臨床研究の実施及び継続について審議を行う。

11.18.2 臨床研究の進捗報告

当該遺伝子治療臨床研究の実施期間中少なくとも1年に1回以上、及び終了時には進捗状況を実施医療機関の遺伝子治療臨床研究審査委員会に報告する。

11.18.2.1 被験者の人権

研究責任者及び研究分担者は、被験者の人権の保護の観点から被験者の健康状態、症状、年齢、性別、同意能力等を十分考慮し、当該遺伝子治療臨床研究への参加を求めることの適否については慎重に検討する。また、社会的に弱い立場にある者を被験者とする場合には、特に慎重な配慮を払うこととする。

11.18.2.2 個人情報の保護

被験者の同意取得後はデータ管理、AMG0001 の調製管理など、症例の取り扱いにおいては全て連結可能匿名化された被験者識別コード又は登録番号により管理され、匿名化コードと氏名の対照表及び氏名記載同意書は施錠可能な書類保管庫に厳重に保管する。また、公表に際しては被験者の名前が直接公表されることがない等、被験者の個人情報の保護については十分に配慮する。

その他、「遺伝子治療臨床研究に関する指針」の個人情報保護の対応に従う。

11.19 記録等の保存

病院長は、遺伝子治療臨床研究に係る文書及び記録等に関し、保管責任者を定める。臨床研究を中止又は終了し、総括報告書を提出した日から少なくとも5年間保存する。本実施計画書及び症例報告書は変更・修正があった場合はその履歴を適切に保存する。

11.20 当該遺伝子治療臨床研究の総括報告書の作成

研究責任者は、臨床研究の中止又は終了後、速やかに臨床研究総括報告書を作成し、病院長に提出する。

また、先進医療通知に基づき、先進医療の書式を用いた総括報告書を厚生労働省研究開発振興課に提出する。

11.21 当該遺伝子治療臨床研究終了後の追跡調査の方法

研究責任者は、研究終了後も有効性及び安全性の確保の観点から、定期的外来診療により適当な期間の追跡調査その他の必要な措置を打つよう努める。また、重大な追跡結果が得られた場合には、その結果について病院長に報告する。

なお、臨床研究終了後の定期的外来診療で得られた追跡調査のデータは、解析には含めない。

11.22 臨床研究費用並びに健康被害の補償

11.22.1 研究の資金源と費用負担

当該遺伝子治療臨床研究に関連する経費の内、臨床研究薬及び臨床試験業務委託費用の実費は、AMG0001の提供企業であるアンジェスMG株式会社が負担する。その他研究に係る費用は、佐賀大学医学部附属病院 循環器内科の資金を使用する。

11.22.2 健康被害の補償等

補償とは、被験者の被った損失を填補することであり、AMG0001 の欠陥、試験計画の不備、インフォームド・コンセントの不備、医療者の過失等に起因する損失に対する賠償とは区別する。

当該遺伝子治療臨床研究は、補償保険に加入しており、当該遺伝子治療臨床研究の実施に起因して、補償の必要性が生じた時には、その被害が被験者の責に帰すべき事由により引き起こされた場合を除いて、補償保険の契約に準じて対応する。

11.23 臨床研究成果の帰属及び研究結果の公表に関するとり決め

当該遺伝子治療臨床研究により生じる知的財産権は研究者に帰属するものとする。当該遺伝子治療臨床研究の結果は、総括報告書としてまとめることとする。また当該遺伝子治療臨床研究による結果は、研究終了後に必要に応じて論文又は学会発表として公表する。

公表に際しては被験者の名前が直接公表されることがない等、被験者の個人情報の保護については十分に配慮する。

12 当該遺伝子治療臨床研究の実施設の状況

遺伝子組換えタンパク、ペプチド、分子標的療法、抗体医薬、核酸医薬、遺伝子治療など、分子生物学がもたらした新たな創薬スキームにより、製薬企業による創薬研究に加え、大学などのアカデミア発の優れた基礎研究を創薬に結びつけることの重要性が高まっている。さらに、近年、再生医療、細胞治療、遺伝子治療などの新しい先端医療技術の開発が進み、今後も iPS 細胞などの万能細胞の臨床応用やロボット技術の医療、福祉面への応用など、医療産業界ではきわめて多様な展開が進むと予想され、アカデミアにおける基礎研究成果を臨床応用、産業化に結びつける橋渡し研究がますます重要になってきている。

AMG0001 は、大阪大学により創成された血管新生促進作用を有する難治性の虚血性疾患治療薬である。「7. 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」に示すとおり、これまで大阪大学及びアンジェス社において、培養細胞や実験動物を用いた AMG0001 の非臨床試験が実施されている。当該遺伝子治療の対象疾患である慢性動脈閉塞症（閉塞性動脈硬化症又はビュルガー病）に対しては、「9. AMG0001 遺伝子治療臨床研究及び臨床試験の実施状況」で示すとおり、大阪大学及びアンジェス社が実施した国内における臨床試験から、その症状を改善する効果が示唆されている。

今般、大阪大学医学部附属病院では、投与対象肢の血行再建術（血管内治療を含む）の適用が困難な患者、又は当該適応が不可能ではないが、手術によるリスクがあると判断される患者で、既存の内科的治療に抵抗性の慢性動脈閉塞症（閉塞性動脈硬化症又はビュルガー病）に対する新規治療薬の早期開発を目指し、当該遺伝子治療臨床研究を実施することになった。

佐賀大学医学部附属病院（以下、当院）は、大阪大学医学部附属病院の主旨に賛同し、当該遺伝子治療臨床研究（多施設試験）の実施設として参加することになった。当院では、プロトコル治療可能な設備を備えており、ハード面での実施体制も完備されている。

また、万が一、重篤な有害事象や不測の事態が発生したとしても、当院では第三次救急医療の体制が整備されており、十分に高度な医療設備や医療従事者を有することから、迅速で適切な対処が可能である。

当院では、数多くの臨床研究や治験の実施経験もあることから、臨床試験の支援体制も充実しており、当該遺伝子治療臨床研究に対する実施体制が整備されている。

13 当該遺伝子治療臨床研究に関連する国内外の研究状況

これまでに、VEGF165、VEGF121、HGF、FGF-1、FGF-2、FGF-4、HIF-1 α 、等の血管新生因子 cDNA をウイルスベクター又はプラスミドベクターに組み込んだ遺伝子治療用医薬品による末梢動脈疾患（peripheral arterial disease : PAD）に対する遺伝子治療が世界的に行われている

表 10 末梢血管疾患に対する遺伝子治療

Author	Year	Study Level	N	Vector	Product	Delivery	Clinical Outcome*
Isner	1996	open label trial	1	Plasmid	VEGF 165	catheter mediated	-
Baumgartner	1998	open label trial	9	Plasmid	VEGF 165	IM	Positive
Isner	1998	open label trial	6	Plasmid	VEGF 165	IM	Positive
Baumgartner	2000	open label trial	62	Plasmid	VEGF 165	IM	Equivocal
Rajagopalan	2001	open label trial	5	Adenovirus	VEGF 121	IM	Equivocal
Comerota	2002	open label trial	51	Plasmid	FGF-1	IM	Positive
Makinen	2002	controlled trial	36	Adenovirus	VEGF	catheter mediated	Positive
Mohler	2003	open label trial	21	Adenovirus	VEGF 121	IM	Equivocal
Shyu	2003	open label trial	21	Adenovirus	VEGF165	IM	Positive
Morishita	2004	open label trial	6	Plasmid	HGF	IM	Positive
Kim	2004	open label trial	9	Plasmid	VEGF165	IM	Equivocal
Matyas	2005	controlled trial	13	Adenovirus	FGF-4	IM	Equivocal
Kusumanto	2006	controlled trial	54	Plasmid	VEGF165	IM	Equivocal
Marui	2007	open label trial	7	Plasmid	FGF-1	IM	Positive
Rajagopalan	2007	controlled trial	34	Adenovirus	HIF-1 α	IM	Equivocal
Powell	2008	controlled trial	104	Plasmid	HGF	IM	Equivocal
nikol	2008	controlled trial	125	Plasmid	FGF-1	IM	Positive
Baumgartner	2009	open label trial	6	Plasmid	FGF-1	IM	Equivocal
Shigematsu	2010	controlled trial	44	Plasmid	HGF	IM	Positive
Powell	2010	controlled trial	27	Plasmid	HGF	IM	Equivocal
Gu	2011	open label trial	21	Plasmid	HGF	IM	Positive
Henry	2011	open label trial	12	Plasmid	HGF	IM	Positive
Morishita	2011	open label trial	22	Plasmid	HGF	IM	Positive
Shigematsu	2011	open label trial	10	Plasmid	HGF	IM	Positive
Belch	2011	controlled trial	525	Plasmid	FGF-1	IM	Negative
Niebuhr	2012	controlled trial	72	Plasmid	FGF-1	IM	Negative
Makino	2012	open label trial	22	Plasmid	HGF	IM	Positive

*Positive clinical outcome defined as improved perfusion, reduced pain, or decreased amputation.

VEGF: vascular endothelial cell growth factor; FGF: fibroblast growth factor; HGF: hepatocyte growth factor;

HIF: hypoxia-inducible factor; IM = intramuscular

その他、国内では、九州大学病院で、FGF-2 遺伝子をセンダイウイルスベクターに組み込んだ遺伝子治療用医薬品による末梢血管疾患に対する臨床研究も実施された。

また、ロシアでは、2011 年 12 月に VEGF 遺伝子をプラスミドベクターに組み込んだ遺伝子治療用医薬品（Neovasculgen®、Human Stem Cells Institute）の筋肉内投与が、「アテローム性動脈硬化症に起因する末梢動脈疾患を含む重症虚血肢」を適応症として承認されている。

AMG0001 は、大阪大学により創成された血管新生促進作用を有する難治性の虚血性疾患治療薬であり、大阪大学医学部附属病院において、AMG0001 を用いた末梢性血管疾患（慢性閉塞性動脈硬化症・ビュルガー病）を対象とした遺伝子治療臨床研究が 22 例で実施された。その結果、本疾患に対する有効性が示唆され、安全性に関しても臨床上問題となる副作用は認められなかった。その後の開発は、アンジェス社により実施されている。

アンジェス社では、2008 年 3 月 27 日に「重症虚血肢（安静時疼痛、潰瘍）を有する閉塞性動脈硬化症・ビュルガー病」を効能及び効果として製造販売承認申請した。当該承認申請における有効性を示す主たる臨床試験として、「閉塞性動脈硬化症を対象としたプラセボ対照無作為化二重盲検比較試験」が実施され、安静時疼痛及び潰瘍症状の改善効果が認められたが、XXXXXXXXXX アンジェス社は 2010 年 9 月 17 日に当該製造販売承認申請を取下げた。現在、アンジェス社では、海外での追加第 III 相臨床試験の準備中である。

大阪大学医学部附属病院では、薬物治療抵抗性で、外科的治療の適用が困難な閉塞性動脈硬化症又はビュルガー病患者に対する新規治療オプションを提供する AMG0001 の開発の医療上の意義は高いと考えている。

なお、日本、米国、欧州において、末梢血管疾患を対象とした遺伝子治療用医薬品は、現時点で、承認されていない

14 当該遺伝子治療臨床研究における個人情報保護に関する対処

当該遺伝子治療臨床研究は、「個人情報の保護に関する法律」（平成 15 年法律第 57 号）の円滑な実施に資するために全部改正された「遺伝子治療臨床研究に関する指針」（平成 16 年 12 月 28 日、文部科学省・厚生労働告示第 2 号）、「第六章 個人情報の保護に関する措置」に準拠し実施される。

14.1 個人情報の定義

「個人情報」とは、「個人情報の保護に関する法律」（平成 21 年法律第 49 号）（以下、個人情報保護法）、「医療・介護関係事業者における個人情報の適切な取り扱いのためのガイドライン」（平成 16 年 12 月 24 日、医政発第 1224001 号・薬食発第 1224002 号・老発第 1224002 号）（以下、ガイドライン）及び「遺伝子治療臨床研究に関する指針」（以下、指針）に基づく症例に関する情報を示し、「生存する個人に関する情報であって、当該情報に含まれる氏名、生年月日その他の記述等により特定の個人を識別することができるもの（他の情報と容

易に照合することができ、それにより特定の個人を識別することができることとなるものを含む)をいう」と定義する。また、当該遺伝子治療臨床研究は、遺伝情報を明らかにする研究ではなく、研究において個人の遺伝情報が明らかになるものではない。

14.2 当該遺伝子治療臨床研究を行う機関の長の最終的な責務

当該遺伝子治療臨床研究を行う機関の長である佐賀大学医学部附属病院長は、当該遺伝子治療臨床研究の実施に際し、個人情報保護が図られるように努める。個人情報保護に関する措置に関し、適正な実施を確保するため必要があると認めるときは、総括責任者に対して、監督上、必要な命令を行う。

14.3 診療・教育機関としての佐賀大学医学部附属病院における個人情報の一般的な取り扱い

佐賀大学医学部附属病院（以下、本院）は、特定機能病院であり、同時に教育・研究機関として、高度先進医療の提供、地域医療への貢献とともに、各種医療従事者の育成、臨床研究を行う機関として、患者の個人情報をこれらの目的に活用することもあり、患者の個人情報保護には細心の注意を払っている。

本院は、患者が医療に主体的に参加できるパートナーシップの強化に向けた活動に積極的に取り組むとともに、本院の理念、基本方針、患者の権利について個人情報保護の精神に則り、個人情報保護に関する方針を以下のとおり定め、職員及び関係者に周知徹底を図り個人情報保護に努めている。

(1) 個人情報の収集・利用・提供

個人情報を保護・管理する体制を確立し、適切な個人情報収集、利用及び提供に関する内部規則を定め、これらを遵守する。

(2) 個人情報の安全対策

個人情報への不正アクセス、個人情報の紛失、破壊、改ざん及び遺漏などに関する万全の予防措置を講ずることにより、個人情報の安全性・正確性の確保を図り、万一の問題発生時には速やかな是正対策を実施する。

(3) 個人情報に関する法令・規範の遵守

個人情報に関する法令及びその他の規範を遵守する。

(4) 教育及び継続的改善

個人情報保護体制を適切に維持するため、職員の教育・研修を徹底し、内部規則を継続的に見直し、改善する。

(5) 診療情報の開示

診療情報については適切なルールのもとに提供・開示することを原則とする。

14.4 当該遺伝子治療臨床研究の遂行に必要な被験者の個人情報の利用・取扱い

当該遺伝子治療臨床研究で扱う被験者の診療録をはじめとする個人情報は、主として病状の経過観察、当該遺伝子治療臨床研究の緊急事態発生のための連絡など、被験者の生命を守

るために用いる。その他、別の目的で使用する場合は、事前に被験者及び家族（又は親族）（以下、親族等）に再度説明し、了承を得てから使用する。また、当該遺伝子治療臨床研究の成果検討時や医療向上のためなどを目的に、研究成績などを公表・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、被験者等への同意説明文書中に記載し、被験者への個人情報及び使用目的について通知し、同意を得る。

14.5 利用目的による制限

総括責任者は、あらかじめ被験者等の同意を得ないで、あらかじめ特定された利用目的の達成に必要な範囲を超えて個人情報を取り扱うことはしない。ただし、以下の場合で、遺伝子治療臨床研究審査委員会が承認した場合は、この限りではない。

- (1) 法令に基づく場合。
- (2) 人の生命、身体又は財産の保護のために必要な場合であって、被験者等の同意を得ることが困難であるとき。
- (3) 公衆衛生の向上のために、特に必要な場合であって、被験者等の同意を得ることが困難であるとき。
- (4) 国の機関、若しくは途方公共団体又はその委託を受けたものが法令の定める事務を遂行することに対して狭路良くする必要がある場合であって、被験者等の同意を得ることにより、当該事務の遂行に支障を及ぼすおそれがあるとき。

14.6 適正な取得及び取得に際しての利用目的の通知等

総括責任者は、当該遺伝子治療臨床研究において、偽り、その他不正な手段により個人情報を取得しない。個人情報を取得した場合は、あらかじめその利用目的を公表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、及び公表するとともに、利用目的を変更した場合は、変更された利用目的について被験者等に文書で通知し、及び公表するものとする。

14.7 内容の正確性確保

総括責任者は、利用目的の達成に必要な範囲内において、個人情報を正確、かつ最新の内容に保つように努める。

14.8 安全管理措置

組織的、人的、物理的及び技術的な安全管理措置は、「個人情報保護法」、「ガイドライン」、「指針」、「国立大学法人佐賀大学個人情報保護規則」（平成 17 年 3 月 15 日）、及び「佐賀大学医学部附属病院の保有する個人情報の管理に関する規程」（平成 17 年 3 月 30 日制定、平成 25 年 3 月 19 日改正）に基づいた措置を講ずる。

14.9 委託者の監督

総括責任者は、当該遺伝子治療臨床研究の実施に関し、委託を行う場合は、委託された業務に関して取り扱われる個人情報の安全管理及び個人情報の適切な取り扱いが図られるよう、委託を受けたものに対する必要かつ適切な監督を行う。

当該遺伝子治療臨床研究では、一部の臨床検査の外部委託、臨床研究の品質確保の観点から、外部機関にモニタリングや監査業務等を委託する可能性がある。このような場合は、あらかじめ同意説明文書に当該内容を記載するとともに、被験者からの同意を得るものとする。

14.10 第三者提供の制限

当該遺伝子治療臨床研究は、試験物や各種開発情報の提供企業であるアンジェス MG 株式会社とデータを共有する可能性があることから、当該データ共有の可能性について、あらかじめ同意説明文書に記載するとともに、被験者からの同意を得るものとする。

やむを得ず研究や解析の目的での個人情報が必要となる場合は、適切な目的であることを確認し、「指針」の第六章第九に従い、その旨被験者に文書で通知する。

14.11 保有する個人情報に関する事項に公表等

総括責任者は、保有する個人情報に関し、以下の事項について、被験者の知り得る状態（被験者等の求めに応じて遅滞なく回答する場合を含む）におく。

- (1) 当該遺伝子治療臨床研究を行う機関の名称
- (2) すべての保有する個人情報の利用目的
- (3) 利用目的の通知、個人情報の開示、訂正、利用停止に応じる手続き
- (4) 保有する個人情報の取扱いに関する苦情の申出先

14.12 個人情報の開示

総括責任者は、被験者等から、当該被験者が識別される保有する個人情報の開示（当該被験者が識別される保有する個人情報が存在しないときに、その旨を知らせる場合を含む）を求められた場合は、被験者等に対して書面の交付による方法（被験者等が同意した方法がある場合は、当該方法）で開示する。ただし、以下の事項に該当する場合は、その全部又は一部を開示しない。

- (1) 被験者又は第三者の生命、身体、財産、その他の権利利益を害するおそれがある場合。
- (2) 研究を行う機関の業務の適正な実施に、著しい支障を及ぼすおそれがある場合。
- (3) 他の法令に違反する場合

14.13 個人情報の訂正及び利用停止等

被験者又は代諾者から、佐賀大学医学部附属病院が保有する被験者が識別される個人情報の内容が事実でないという理由によって当該情報に対して訂正、追加又は削除を求められた場合、総括責任者が調査を行い、その結果に基づき総括責任者は必要な是正措置を講ずる。なお、法定代理人等を含めた代諾者からの申し出も受け付けるが、その事実性や提供者の判断及び理解力について、総括責任者は慎重に判断する。

14.14 理由の説明

総括責任者は、「14.12 個人情報の開示」及び「14.13 個人情報の訂正及び利用停止等」に係る個人情報の開示、訂正、利用停止等において、被験者等から求められた措置の全部又は一部について、その措置を取らない旨を通知する場合、又はその措置と異なる措置をとる旨を通知する場合は、被験者等に対し、その理由を説明するよう努める。

14.15 個人情報の開示、訂正、利用停止等の求めに応じる手続き

個人情報の開示、訂正、利用停止等に関する手続きは、「国立大学法人佐賀大学個人情報保護規則」（平成 17 年 3 月 15 日制定）、及び「佐賀大学医学部附属病院の保有する個人情報の管理に関する規程」（平成 17 年 3 月 30 日制定、平成 25 年 3 月 19 日改正）に基づき対応する。

14.16 苦情の対応

苦情対応の窓口を、以下のとおり設置する。

佐賀大学医学部附属病院 循環器内科医局 野出孝一

佐賀市鍋島 5-1-1（郵便番号 849-8501）電話番号 0952-34-2364

15 利益相反

総括責任者、本臨床研究に係る臨床研究分担医師及びアンジェス MG 社の当該遺伝子治療臨床研究の利害関係については、国立大学法人佐賀大学利益相反委員会の承認を得て、当該遺伝子治療臨床研究の利害関係についての公平性を維持する。

アンジェス MG 社の本臨床研究の役割は、試験物 AMG0001、AMG0001 の開発情報及び本臨床研究の業務委託費用の提供であり、本臨床研究に係るモニタリング、データマネジメント、統計解析、総括報告書作成、品質管理、監査業務等のデータを取扱う業務及び品質管理・品質保証業務には関与しない。

16 遵守すべき基準

当該遺伝子治療臨床研究は、「遺伝子治療臨床研究に関する指針（文部科学省、厚生労働省告示第 1 号、平成 14 年 3 月 27 日付）」を遵守し、実施する。

（余白）

17 参考文献等

1. Nakamura T, Nawa K, Ichihara A. Partial purification and characterization of hepatocyte growth factor from serum of hepatectomized rats. *Biochem. Biophys. Res. Commun* 1984;122. :1450-9.
2. Nakamura T, Nishizawa T, Hagiya M, et al. Molecular cloning and expression of human hepatocyte growth factor. *Nature* 1989;342:440-3.
3. Matsumoto K, Nakamura T. Hepatocyte growth factor (HGF) as tissue organizer for organogenesis and regeneration. *Biochem Biophys Res Commun* 1997;239:639-44.
4. Bussolino F, Di Renzo MF, Ziche M, et al. Hepatocyte growth factor is a potent angiogenic factor which stimulates endothelial cell motility and growth. *J Cell Biol* 1992;119:629-41
5. Grant DS, Kleinman HK, Goldberg ID, et al. Scatter factor induces blood vessel formation *in vivo*. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1993;90:1937-41.
6. Morishita R, Nakamura S, Hayashi S, et al. Therapeutic angiogenesis induced by human recombinant hepatocyte growth factor in rabbit hind limb ischemia model as cytokine supplement therapy. *Hypertension* 1999;33:1379-84
7. 市来正隆. 閉塞性動脈硬化症 (ASO) 疫学と病態, 動脈硬化の Window としての ASO. 血栓と循環 2004;12:248-52.
8. 松尾汎, 林富貴雄. リム・サルベージ一般 大阪府における重症虚血肢の発生頻度. 血管外科 2000; 19: 154.
9. TASC - Management of peripheral arterial disease (PAD) - TransAtlantic Inter-Society Consensus (TASC) - Introduction. *J Vasc Surg* 2000; 31: S1-S296.
10. 重松宏. 臨床糖尿病学, 合併症の成因と病態 糖尿病における動脈硬化症の成因 糖尿病を併存する末梢動脈閉塞症の成因と病態. 内分泌・糖尿病科 2005;20 (特別増刊) : 211-5.
11. 佐久間まこと, 安田慶秀, 佐々木重幸. バージャー病治療の現況: 平成 6 年度全国疫学調査の分析結果から, 1997 年度, 難治性血管炎に関する調査研究班報告書
12. 日本脈管学会編, 下肢閉塞性動脈硬化症の診断・治療指針 2000
13. Norgren L, Hiatt WR, Drmady JA, et al. Inter-society consensus for management of peripheral arterial disease (TASC II). *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 2007;33 Supple 1;S1-75.
14. Reduction of Atherothrombosis for Continued Health, Newsletter, 第 6 号, 2006 年 3 月発行
15. 多田祐輔. 閉塞性動脈硬化症の疫学. 治療学. 1997; 31; 289-92
16. 重松宏, 安田慶彦, 田辺達三. 重症虚血肢をめぐる諸問題, 日本の現状と診断基準. *Therapeutic Research* 1992;13: 4099-4109.
17. 松尾汎, 本間覚, 林富貴夫ら. バージャー病患者の長期予後と Quality of Life に関する検討, 脈管学 1997;37 : 883-6.
18. 北川剛, 兼高武仁, 齋藤健人ら. 閉塞性動脈硬化症ならびに腹部大動脈瘤患者における頸動脈狭窄病変に関する検討. 脈管学 2002;10:791-5.

19. 重松邦広, 重松宏, 安田慶秀. Buerger 病の長期予後について (全国アンケート調査結果) に関する研究. 難治性血管炎に関する調査研究.平成 15 年度総括・分担研究報告書 2004:115-9.
20. Miyazawa K, Tsubouchi H, Naka D, et al. Molecular cloning and sequence analysis of cDNA for human hepatocyte growth factor. *Biochem Biophys Res Commun*. 1989; 163: 967-73
21. Eppler SM, Combs DL, Henry TD, et al. A target-mediated model to describe the pharmacokinetics and hemodynamic effects of recombinant human vascular endothelial growth factor in humans. *Clin Pharmacol Ther* 2002; 72: 20-32.
22. Matsumoto K., Nakamura T. Emerging multipotent aspects of hepatocyte growth factor. *J Biochem* 1996; 119: 591-600
23. Nakamura Y, Morishita R, Higaki J, et al. Hepatocyte growth factor is a novel member of the endothelium-specific growth factors: additive stimulatory effect of hepatocyte growth factor with basic fibroblast growth factor but not with vascular endothelial growth factor. *J Hypertens* 1996; 14: 1067-72
24. Nakamura Y, Morishita R, Nakamura S,et al. A vascular modulator, hepatocyte growth factor, is associated with systolic pressure. *Hypertension*. 1996; 28: 409-13
25. Nakamura Y, Morishita R, Higaki J,et al. Expression of local hepatocyte growth factor system in vascular tissues. *Biochem Biophys Res Commun* 1995; 215: 483-8
26. Klagsbrun M, D'Amore PA: Regulators of angiogenesis. *Annu Rev Physiol* 199 1; 53: 217-39
27. Gospodarowicz D, Massoglia S, Cheng J, et al. Effect of fibroblast growth factor and lipoproteins on the proliferation of endothelial cells derived from bovine adrenal cortex, brain cortex, and corpus luteum capillaries. *J Cell Physiol* 1986; 127: 121-36
28. Conn G, Soderman D, Schaeffer MT, at al. Purification of glycoprotein vascular endothelial cell mitogen from a rat glioma-derived cell line. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990; 87: 1323-7
29. Nakamura S, Morishita R, Moriguchi A,et al. Hepatocyte growth factor as a potential index of complication in diabetes mellitus. *Journal of Hypertension* 1998; 16: 2019-26
30. Nakano N, Moriguchi A, Morishita R, et al. Role of angiotensin II in the regulation of a novel vascular modulator, hepatocyte growth factor (HGF), in experimental hypertensive rats. *Hypertension* 1997; 30: 1448-54
31. Nakano N, Morishita R, Moriguchi A, et al. Negative regulation of local hepatocyte growth factor (HGF) expression by angiotensin II and transforming growth factor- β **in blood vessels**: potential role of HGF in cardiovascular disease. *Hypertension* 1998; 32: 444-51
32. Hayashi S, Morishita R, Higaki J, et al. Autocrine-paracrine effects of overexpression of hepatocyte growth factor gene on growth of endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun* 1996; 220: 539-45

33. Hayashi K, Nakamura S, Morishita R, et al. In vivo transfer of human hepatocyte growth factor gene accelerates re-endothelialization and inhibits neointimal formation after balloon injury in rat model. *Gene Therapy* 2000; 7: 1664-71
34. Aoki M, Morishita R, Taniyama Y, et al. Angiogenesis induced by hepatocyte growth factor in non-infarcted myocardium and infarcted myocardium: up-regulation of essential transcription factor for angiogenesis, ets. *Gene Therapy* 2000; 7: 417-27
35. Taniyama Y, Morishita R, Hiraoka K, et al. Therapeutic Angiogenesis Induced by Human Hepatocyte Growth Factor Gene in Rat Diabetic Hind Limb Ischemia Model: Molecular Mechanisms of Delayed Angiogenesis in Diabetes. *Circulation* 2001; 104(19): 2344-50
36. Ishida A, Kawakami H, Morishita R, et al. Gene Therapy for Cerebral Infraction (Cerebral Ischemia). *Brain and Nerve* 2002; 3: 213-9
37. Kitsis RN, Buttrick PM, McNally EM, et al. Hormonal Modulation of a Gene Injected into Rat Heart In Vivo. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1991;88:4138-42.
38. Taniyama Y, Morishita R, Aoki M, et al. Therapeutic Angiogenesis Induced by Human Hepatocyte Growth Factor Gene in Rat and Rabbit Hind Limb Ischemia Models: Preclinical Study for Treatment of Peripheral Arterial Disease. *Gene Therapy* 2001; 8: 181-9
39. Ueki T, Kaneda Y, Tsutsui H, et al. Hepatocyte growth factor gene therapy of liver cirrhosis in rats. *Nature Medicine* 1999; 5: 226-30
40. Wolff JA, Malone RW, Williams P, et al. Direct gene transfer into mouse muscle in vivo. *Science* 1990;247:1465-8
41. Martin T, Parker SE, Hedstrom R, et al. Plasmid DNA malaria vaccine: the potential for genomic integration after intramuscular injection. *Hum Gene Ther* 1999;10:759-68
42. Wolff JA, Ludtke JJ, Acsadi G, et al. Long-term persistence of plasmid DNA and foreign gene expression in mouse muscle. *Hum Mol Genet* 1992;1:363-9
43. Acsadi G, Jiao SS, Jani A, et al. Direct gene transfer and expression into rat heart in vivo. *New Biol* 1991;3:71-81
44. Budker V, Budker T, Zhang G, et al. Hypothesis: naked plasmid DNA is taken up by cells in vivo by a receptor-mediated process. *J Gene Med* 2000;2:76-88
45. Levy MY, Barron LG, Meyer KB, Szoka FC Jr. Characterization of plasmid DNA transfer into mouse skeletal muscle: evaluation of uptake mechanism, expression and secretion of gene products into blood. *Gene Ther* 1996;3:201-11
46. Invitrogen pVAX1™ Catalog no. V260-20 Version C 11111025-0256
47. 「培養細胞系を用いた AMG0001 導入及び発現たん白質の解析 (A001-EI-018-N)」(アンジェス社、社内資料)
48. 「ヒト骨格筋細胞への pVAX1HGF/MGBI 導入及び発現たん白質の解析 (A001-EI-019-N)」(アンジェス社、社内資料)

49. 「pVAX1HGF/MGBI 由来 HGF たん白質のヒト血管内皮細胞における増殖活性試験 (A001-EI-020N1)」(アンジェス社、社内資料)
50. 「AMG0001 をウサギに単回筋肉内投与した時の筋肉中ヒト HGF 蛋白質濃度 -投与液濃度が及ぼすヒト HGF 蛋白質発現への影響- (試料採取) (A001-EC-172-N)」(アンジェス社、社内資料)
51. 「AMG0001 をウサギに単回筋肉内投与した時の筋肉中ヒト HGF 蛋白質濃度 -投与液濃度が及ぼすヒト HGF 蛋白質発現への影響- (測定) (A001-EI-172-N1)」(アンジェス社、社内資料)
52. 「AMG0001 をウサギに単回筋肉内投与した時の筋肉中ヒト HGF 蛋白質濃度 -投与液量が及ぼすヒト HGF 蛋白質発現への影響- (試料採取) (A001-EC-173-N)」(アンジェス社、社内資料)
53. 「AMG0001 をウサギに単回筋肉内投与した時の筋肉中ヒト HGF 蛋白質濃度 -投与液量が及ぼすヒト HGF 蛋白質発現への影響- (測定) (A001-EI-173-N1)」(アンジェス社、社内資料)
54. 「AMG0001 をウサギに単回筋肉内投与した時の筋肉及び血清中ヒト HGF 蛋白質濃度推移 (試料採取) (A001-EC-171-N)」(アンジェス社、社内資料)
55. 「AMG0001 をウサギに単回筋肉内投与した時の筋肉及び血清中ヒト HGF 蛋白質濃度推移 (測定) (A001-EI-171-N1)」(アンジェス社、社内資料)
56. 「AMG0001 代謝物 (OC 体) の精製と培養細胞における AMG0001 及び OC 体のヒト HGF 発現量の比較 (A001-EI-036-N1)」(アンジェス社、社内資料)
57. 「AMG0001 及びその代謝物 (OC 体) をマウスに筋肉内投与した時のヒト HGF 発現量の比較 (試料採取) (A001-EC-036-N2)」(アンジェス社、社内資料)
58. 「AMG0001 及びその代謝物 (OC 体) をマウスに筋肉内投与した時のヒト HGF 発現量の比較 (測定) (A001-EI-036-N3)」(アンジェス社、社内資料)
59. Morishita R, Makino H, Aoki M, et al. Phase I/IIa Clinical Trial of Therapeutic Angiogenesis Using hepatocyte Growth Factor Gene Transfer to Treat Critical Limb Ischemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2011;31:713-20.
60. Makino H, Aoki M, Hashiya N, et al. Long-term follow-up evaluation of results from clinical trial using hepatocyte growth factor gene to treat severe peripheral arterial disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2012 Oct;32(10):2503-9.
61. Shigematsu H, Yasuda K, Iwai T, et al. Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Clinical Trial of Hepatocyte Growth Factor Plasmid for Critical Limb Ischemia. *Gene Ther* 2010;17:1152-61.
62. Shigematsu H, Yasuda K, Sasajima T, et al. Transfection of Human HGF Plasmid DNA Improves Limb Salvage in Burger's Disease Patients With Critical Limb Ischemia. *Int Angiol* 2011;30:140-9.
63. Powell RJ, Simons M, Mendelsohn FO, et al. Results of a Double-Blind, Placebo-Controlled Study to Assess the Safety of Intramuscular Injection of Hepatocyte Growth Factor Plasmid to Improve Limb Perfusion in Patients With Critical Limb Ischemia. *Circulation* 2008;118:58-65.

64. Powell RJ, Goodney P, Mendelsohn FO, et al. Safety and Efficacy of Patient Specific Intramuscular Injection of HGF Plasmid Gene Therapy on Limb Perfusion and Wound Healing in Patients with Ischemic Lower Extremity Ulceration: Results of the HGF-205 trial. J Vasc Surg 2010;52:1525-30.
65. 「狭心症患者に対する AMG0001 の第 I 相臨床試験総括報告書 (AG-IHD-0101)」(アンジェス社、社内資料) ..
66. 「HGF gene plasmid injection: Single intramuscular toxicity in rats (A001-TC-101-G)」(アンジェス社、社内資料)
67. 「HGF Gene Plasmid: Single Intravenous Toxicity in Rats (A001-TC-107-G)」(アンジェス社、社内資料)
68. 「AMG0001 (BI-Lot) のラットにおける単回静脈内投与毒性試験 (A001-TC-159-G)」(アンジェス社、社内資料)
69. 「HGF gene plasmid injection: Single intramuscular toxicity in cynomolgus monkeys (A001-TC-102-G)」(社内資料)
70. 「Sixteen-Week Toxicity Study of HGF plasmid Administrated Intramuscularly Once Every Four Weeks Followed by a Four-Week Recovery in Rats (A001-TC-104-G)」(アンジェス社、社内資料)
71. 「HGF 遺伝子プラスミドのラットにおける 5 週間間歇筋肉内投与毒性試験 (A001-TC-111-G)」(アンジェス社、社内資料)
72. 「HGF Gene Plasmid: 14-Day Intravenous Toxicity Study in Rats Followed by A 14-Day Recovery (A001-TC-108-G)」(アンジェス社、社内資料)
73. 「Anti-HGF Protein Antibody Response in Rat Serum in the Study Titled "HGF Gene Plasmid: 14-Day Intravenous Toxicity Study in Rats Followed by A 14-Day Recovery, study number SNBL.247.03" (A001-TC-108-G1)」(アンジェス社、社内資料)
74. 「A 16-week Toxicity Study of HGF Gene Plasmid Administered Intramuscularly Once Every Four Weeks Followed by a Four-week Recovery in Cynomolgus Monkeys (A001-TC-105-G)」(アンジェス社、社内資料)
75. 「Anti-HGF Protein Antibody Formation in Serum Obtained in the Study Titled "A 16-week Toxicity Study of HGF Gene Plasmid Administered Intramuscularly Once Every Four Weeks Followed by a Four Week Recovery in Cynomolgus Monkeys, Study Number SNBL.247.01" (A001-TC-105-G1)」(アンジェス社、社内資料)
76. 「BIODISTRIBUTION OF THE PLASMID VECTOR pVAX1HGF IN MONKEY TISSUES AND BLOOD BY REAL-TIME POLYMERASE CHAIN REACTION ANALYSIS (A001-TC-105-G2)」(アンジェス社、社内資料)
77. 「TK Parameter Analysis in “A 16-week Toxicity Study of HGF Gene Plasmid Administered Intramuscularly Once Every Four Weeks Followed by a Four-week Recovery in Cynomolgus Monkeys (Study Number: SNBL.247.01)” (A001-TC-105-G3)」(アンジェス社、社内資料)
78. 「AMG0001 のラットを用いた多臓器コメットアッセイ (A001-TC-183-G1)」(アンジェス社、社内資料)

79. 「Effect of AMG0001 on Tumor Growth in Nude Mice bearing Human Cancer Cell Lines (A001-TC-035-N)」(アンジェス社、社内資料)
80. 「HGF プラスミドのウサギにおける局所刺激性試験 (筋肉障害性試験) (A001-TC-118-G)」(アンジェス社、社内資料)
81. 「AMG0001 (BI-Lot) のウサギにおける局所刺激性試験 (筋肉障害性試験) (A001-TC-164-G)」(アンジェス社、社内資料)
82. 「HGF プラスミドの抗原性試験 (A001-TC-115-G)」(アンジェス社、社内資料)
83. 「AMG0001(BI-Lot)の抗原性試験 (A001-TC-147-G)」(アンジェス社、社内資料)
84. 「モルモット及びマウス血清中抗 HGF プラスミド抗体測定試験 (A001-TC-132-N)」(アンジェス社、社内資料)
85. 「AMG0001 のラットを用いた中枢神経系に及ぼす影響 (A001-TC-175-G)」(アンジェス社、社内資料)
86. 「AMG0001 の無麻酔・無拘束サルを用いた心血管系及び呼吸に及ぼす影響 (A001-TC-176-G)」(アンジェス社、社内資料)
87. 「血液中 AMG0001 濃度測定試験 -AMG0001 の無麻酔・無拘束サルを用いた心血管系及び呼吸に及ぼす影響- (A001-TC-176-N1)」(アンジェス社、社内資料)
88. 「AMG0001 の薬物動態試験 -AMG0001 をラットに単回筋肉内投与した時の血液中 AMG0001 濃度推移及び分布試験 (試料採取) - (A001-AC-168-N)」(アンジェス社、社内資料)
89. 「AMG0001 の薬物動態試験 -AMG0001 をラットに単回筋肉内投与した時の血液中 AMG0001 濃度推移及び分布試験 (AMG0001 の分析) - (A001-AI-168-N1)」(アンジェス社、社内資料)
90. 「AMG0001 の薬物動態試験 -薬物動態パラメータの算出- (A001-AC-182-N)」(アンジェス社、社内資料)
91. 「AMG0001 の薬物動態試験 -AMG0001 をラットに1ヵ月間隔2回筋肉内投与した時の血液及び筋肉中 AMG0001 濃度推移 (試料採取) - (A001-AC-181-N)」(アンジェス社、社内資料)
92. 「AMG0001 の薬物動態試験 -AMG0001 をラットに1ヵ月間隔2回筋肉内投与した時の血液及び筋肉中 AMG0001 濃度推移 (測定) - (A001-AI-181-N1)」(アンジェス社、社内資料)
93. 「AMG0001 の薬物動態試験 -AMG0001 をラットに静脈内投与した時の血液中 AMG0001 濃度推移及び尿中排泄試験 (試料採取) - (A001-AC-169-N)」(アンジェス社、社内資料)
94. 「AMG0001 の薬物動態試験 -AMG0001 をラットに静脈内投与した時の血液中 AMG0001 濃度推移及び尿中排泄試験 (AMG0001 の分析) - (アンジェス社、A001-AI-169-N1)」(社内資料)
95. 「AMG0001 の薬物動態試験 -AMG0001 をラットに静脈内投与した時の組織中 AMG0001 濃度推移 (試料採取) - (A001-AC-180-N1)」(アンジェス社、社内資料)
96. 「AMG0001 の薬物動態試験 -AMG0001 をラットに静脈内投与した時の組織中 AMG0001 濃度推移 (測定) - (A001-AI-180-N2)」(アンジェス社、社内資料)

97. 「HGF 遺伝子プラスミドの雄カニクイザルにおける体内動態試験 (A001-AC-112-N)」
(アンジェス社、社内資料)
98. 「HGF 遺伝子プラスミドの単回筋肉内投与によるカニクイザルにおける血中 HGF 遺伝子プラスミドの測定 (A001-AI-112-N1)」(アンジェス社、社内資料)
99. 「HGF 遺伝子プラスミドの単回筋肉内投与によるラット次世代組織中の HGF プラスミド測定のための試料採取 (A001-AC-119-N)」(アンジェス社、社内資料)
100. 「AMG0001 の薬物動態試験 - ヒト及びラット血清中における AMG0001 の *in vitro* 代謝の比較 - (A001-CI-189-N)」(アンジェス社、社内資料)

患者さんへ

臨床研究課題名:「慢性動脈閉塞症まんせいどうみゃくへいそくしょう（閉塞性動脈硬化症へいそくせいどうみゃくこうかしょう 及びビュルガー病いぶんしちりょう）
を対象としたAMG0001の筋肉内投与による遺伝子治療」

研究責任者： 佐賀大学医学部附属病院 循環器内科 野出孝一

1. はじめに

この文書は、佐賀大学医学部附属病院で実施している「慢性動脈閉塞症まんせいどうみゃくへいそくしょう（閉塞性動脈硬化症へいそくせいどうみゃくこうかしょう 及びビュルガー病）を対象とした AMG0001 の筋肉内投与による遺伝子治療いぶんしちりょう」について説明したものです。

- 1) この臨床研究に参加されることは、あくまでもあなたの自由意思によるものです。したがって、いつでも（たとえ臨床研究の途中でであっても）この臨床研究への参加を断ることができます。
- 2) この臨床研究に参加することによって、必ずしも個人的な利益が得られないかもしれませんが、しかし、あなたのご理解とご協力により、同じ疾患を抱えている人々やこれからの新しい医療に役立つ技術や情報が得られることが期待できます。
- 3) たとえこの臨床研究への参加を断っても、あなた自身がその後の治療で不利益をこうむることはありません。

この臨床研究は、佐賀大学医学部附属病院の遺伝子治療臨床研究審査委員会（注 1）で計画が科学的に正しくなされているか、患者さんの人権を正しく守っているか、倫理的に正しく行われているかについて検討後、国の意見等を踏まえて承認されています。

この文書では、この臨床研究の目的、意義、方法、期待される効果、安全性と危険性、その他の関連した事項が説明されています。説明の内容を十分

理解していただいた上で、あなたがこの臨床研究へ参加するかどうかをお決めください。なお、あなたが抱かれている疑問については、どんなささいなことでも結構ですので、ご遠慮なくお尋ねください。

(注1) 佐賀大学医学部附属病院の遺伝子治療臨床研究審査委員会は「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1号)に基づいて、基礎医学の専門家、医師、法律や倫理の専門家などが委員として構成されているものです。手順書(審査の手順を定めた文書)・審査委員名簿および会議の議事録の概要は、佐賀大学医学部附属病院で公表しております。

2 慢性動脈閉塞症(閉塞性動脈硬化症とビュルガー病)とは



慢性動脈閉塞症では、歩くと足が痛くなり、一度休まないと歩けない(間歇性跛行)、じっとしていても足が痛い(安静時疼痛)、手や足の皮膚が欠損する(潰瘍)・四肢の組織が壊死するといった症状が現れます。これらの症状は、からだの動脈が狭くなったり(狭窄)、閉塞したりする(つまる)ことによる循環障害が原因とされています。

慢性動脈閉塞症は、その多くが動脈硬化を主な原因とする閉塞性動脈硬化症ですが、なかには原因不明とされているビュルガー病(閉塞性血栓性血管炎)という厚生労働省に難病指定されている病気もあります。

慢性動脈閉塞症の症状



歩くと足が痛くなる



じっとしていても足が痛い



潰瘍や壊死

あんせい し とうつう かいよう え し へいそくせいどうみゃくこう か しょう
安静時疼痛や潰瘍・壊死をとまなうような重症度の高い閉塞性動脈硬化症の患者さんの中でも薬物療法による効果が思わしくなく、手術療法が困難な患者さんに対しては、現状では標準的な治療法が確立されておらず、足を切断することになる場合も少なくない状況です。

3 現在行われている閉塞性動脈硬化症及びビュルガー病の治療法について

慢性動脈閉塞症の治療は、薬物療法と外科的治療があります。一般的に、長く歩くことができる間歇性跛行までの軽度症状に対しては、薬物療法での経過観察が選択されます。その後、症状が改善しない患者さん、または悪くなる患者さんでは、外科的治療が検討されます。特に、長く歩行することができない間歇性跛行、安静時疼痛または潰瘍・壊死の症状をもつ患者さんでは、血流を調べる画像検査や全身状態の精密検査を行ったうえで、外科治療が考慮されます。この外科的治療は、血行再建術といわれています。特に、大きな血管に対するバイパス手術が適用される場合は、血流回復の成功確率が高く、患者さんの満足度も高い治療法になっています。

一方、間歇性跛行、安静時疼痛または潰瘍・壊死の症状をもつ患者さんでは、放置すると肢切断に至る可能性が高く、血行再建術が必要ですが、下肢の動脈が広い範囲で狭くなったり、つまったりしていることがあります。このような患者さんでは、患者さんご自身の静脈を移植する積極的な血行再建術を行っており、足の関節領域の小さな動脈に対する移植も可能になっています。

また、血管が狭くなっていたり、つまっていたりしても、その距離が短い場合には、ステント（金属でできた網目状の筒状の医療機器）治療を行っています。複数部位の血流再開が必要とされる場合には、血行再建術とステント治療を併用することもあります。血行再建術が困難な患者さんに対しては、からだの末端の血管を拡張させる目的で胸やお腹の中の神経節をとる手術があり（胸部交感神経節切除術、腹部交感神経節切除術）、歩ける距離が長くなったり、痛みや潰瘍が治癒したり、症状の改善が期待できることがあります。

薬物治療で思うような効果を得ることができず、外科的治療も困難とされる患者さん、又は外科的治療が可能であっても、治療効果よりも手術リスクが高いと判断される慢性動脈閉塞症^{まんせいどうみゃくへいそくしやう}患者さんに対する治療法は、確立されていない状況です。

4 この臨床研究の目的

この臨床研究の目的は、AMG0001 による副作用があるかないか、多いか少ないか、重いか軽いかなどの安全性を調べることと、慢性動脈閉塞症^{まんせいどうみゃくへいそくしやう}患者さんの安静時に感じる痛みがなくなったり、足にできた潰瘍^{かいよう}が治ったりするかどうかを検討することです。

したがって、私たちは、もしあなたの同意が得られるならば、あなたの足の筋肉にAMG0001を注射することによるAMG0001の安全性を調べるとともに、AMG0001の効果により、足の痛みや潰瘍^{かいよう}を治すことができないか検討したいと考えています。

5 この臨床研究の意義

あなたの症状に対して、現在の症状を悪化させないために、血管を広げたり、血液を固まりにくくしたりする治療薬はありますが、十分な効果が得られませんでした。また、外科的治療も困難であるか、外科的治療が可能であっても、治療効果よりも手術リスクが高いと判断されています。

現在、慢性動脈閉塞症^{まんせいどうみゃくへいそくしやう}の安静時に感じる痛みをなくしたり、足にできた潰瘍^{かいよう}を治したりする治療薬がないことから、あなたの症状は更に悪化する可能性があります。あなたの足の切断を余儀なくされる事態も想定されます。

わたしたちは、慢性動脈閉塞症^{まんせいどうみゃくへいそくしやう}患者さんの安静時の痛みや潰瘍^{かいよう}症状を改善するこの新しい治療法を、広く医療現場に届けるために、この臨床研究を行います。

6 AMG0001 について

6.1 AMG0001 とは

AMG0001 は、日本で発見された肝細胞増殖因子^{かんさいぼうそうしょくいん し}(HGF と呼ばれています)

を用いた遺伝子治療薬です。AMG0001 には、血管を新しく作る作用があるため、慢性動脈閉塞症（まんせいどうみやくへいそくしょう 閉塞性動脈硬化症 へいそくせいどうみやくこうかしょう やピュルガー病）に対する新しい治療薬として開発されています。また、その他、心不全やリンパ浮腫（りんぱふしゅ）を改善させる治療薬としても開発されています。

6.2 遺伝子治療とは

遺伝子治療とは、遺伝子から発現するたんぱく質の働きにより、病気を治す治療法です。この遺伝子は、ベクターという遺伝子を体内の細胞に導入する運び屋に組み込まれ、病気の原因となる部分に直接投与されます。また、患者さんから細胞を採取し、体の外で遺伝子を細胞内に導入し、患者さんの体内に戻すという方法もあります。

遺伝子治療は、せんてんてき 先天的な遺伝子疾患をはじめ、がんやエイズなどのさまざまな難病への治療法の一つとして期待されています。

なお、遺伝子治療とは、遺伝を担う精子や卵子などの生殖細胞（せいしよくさいぼう）を操作して遺伝に影響を与えるものではありません。

6.3 あなたに投与しようと考えている HGF について

この臨床研究は、HGF という遺伝子による遺伝子治療です。この臨床研究は、HGF 遺伝子が組み込まれたプラスミドというベクター（AMG0001）を、足の筋肉内に 8 カ所注射するものです。AMG0001 は、投与された筋肉の中で、HGF たんぱく質を作ります。HGF たんぱく質は、もともと肝臓の細胞を増やす力があることで注目され、発見されたものですが、その後の研究により、新しい血管を作ることが明らかになりました。ウサギやラットの実験では、新しい血管を生み出す作用が確認されています。

からだの外から導入された遺伝子が、からだの中で期待するたんぱく質を発現するためには、遺伝子が目的とする細胞の中に入らなければなりません。しかし、遺伝子だけは、細胞の中に入ることができないことから、細胞の中に遺伝子を送り届けるベクター（遺伝子の運び屋）が必要となります。この「遺伝子の運び屋」として、遺伝子を細胞内に運ぶ能力の高いウイルスベクターも選択できますが、

この臨床研究では、プラスミドと呼ばれる遺伝子^{かんじょう}を環状にしたベクターを使います。プラスミドベクターは、ウイルスベクターに比べ、遺伝子を細胞内に運ぶ能力は高くありませんが、筋肉細胞でのみ遺伝子が導入され、目的とするたんぱく質が発現できることが明らかにされています。一般的に、プラスミドベクターによる遺伝子治療は、ウイルスベクターを用いたものより、その安全性は高いことが知られています。

AMG0001 は、大阪大学医学部附属病院で実施された臨床研究の成果がアンジェス MG 社に移転され、開発が進められています。アンジェス MG 社は、その後の臨床試験^{へいそくせいどうみやくこう}で閉塞性動脈硬化症^{かしょう}とピュルガー病の安静時に感じる痛みや潰瘍^{かいよう}症状の改善を認めたと考えたことから、2008 年 3 月 27 日に規制当局への承認申請を行いました。しかし、この臨床試験でのデータが不足しているとの審査見解を受け、2010 年 9 月 17 日にこの承認申請を取り下げています。この臨床研究は、この不足データを補うための予備的なものとして位置づけられています。

このように、HGF による遺伝子治療は、現在、開発段階であり、その安全性が確実に証明されている段階ではありません。また、その効果も確実に証明されている段階にもありません。したがって、効果が出ることなく、また、効果が出たとしても症状が少しずつ悪くなる可能性もあります。この臨床研究の実施中に、あなたに発生したいかなる症状や徴候も担当医師に報告してください。また、担当医師の了解なしに、薬局で購入できる薬を含むいかなる薬も勝手に使用しないでください。また、遺伝子治療が予期できない長期的な影響^{しそん}を子孫に与えることが否定されていないことから、この臨床研究に参加している間は、避妊を行う必要があります。この臨床研究に参加する期間は、AMG0001 が投与されてから 24 か月であり、続けて現在の医師の診察を受けることはできますが、説明された各種の検査などを受ける期間は 24 か月に限定されています。また、不幸にして死に至った場合、遺伝子治療の性質に鑑み^{かいぼう}解剖の許可が求められることもあります。従って、近親者^{きんしんしゃ}に本試験に参加する際に^{かいぼう}解剖の許可につき相談されることをお勧めします。

6.4 ^{まんせいどうみゃくへいそくしょう}慢性動脈閉塞症に対する臨床試験の進捗状況

^{まんせいどうみゃくへいそくしょう}慢性動脈閉塞症（^{へいそくせいどうみゃくこう かしょう}閉塞性動脈硬化症やピュルガー病）の患者さんに対して、AMG0001 はこれまでに日本で3つ、米国で2つの臨床試験が行われ、日米であわせて160名以上の患者さんに投与された実績があります。その結果、足の潰瘍^{かいよう}や痛みなどに改善傾向がみられ、また、副作用についても、問題となる重大なものは認められませんでした。

AMG0001 は、まだ世界中どの国でも承認、販売には至っておりません。最近、同じような血管を新生する遺伝子治療である VEGF（血管内皮細胞増殖因子）遺伝子治療薬が下肢の^{まんせいどうみゃくへいそくしょう}慢性動脈閉塞症に対する治療薬として、ロシアで承認されました。

7 この臨床研究の方法

この臨床研究の詳しい内容についてご説明します。

この臨床研究について、十分にご理解をいただいたうえで、この臨床研究に参加することに同意いただけましたら、次に説明するスケジュール（表1）に従って、臨床研究が行われます。

7.1 AMG0001 の投与について

AMG0001の注射は開始日、およびその4週後に行います。2回目の注射から4週後に症状の変化を確認し、改善が認められない方には3回目の注射を行います。治療する患者さんの足の筋肉を超音波（エコー）で確認しながら、AMG0001を筋肉内に注入します。症状のある足に、1回あたり、AMG0001を 4.0 mg（0.5 mg/3 mL×8か所）の投与量で注射を行います。また、投与する筋肉が小さい場合には、AMG0001の投与量を2 mLに減じることもあります。

注射後しばらく（2時間程度）は安静を保ってください。この臨床研究期間中は、表1のスケジュールに従って、定期的に観察や検査を行いますので、指定の来院日には必ず来院し、所定の観察や検査を受けてください。





なお、この臨床研究期間中の血液検査では、1 回あたり 20 mL～30 mL の採血を行い、全体の採血量は約 40 mL～60 mL になります。ただし、この採血以外に安全性を確保するために予定外の血液検査（採血）が行われることもあります。

（余白）

7.2 臨床研究のスケジュールについて

表 1 臨床研究の観察・検査項目

	前 観 察 期 間 開 始 前	前観察期間			AMG0001 2 回投与					追跡調査		予後調査
					試験治療期間		後観察期間					
					AMG0001 3 回投与							
					試験治療期間 (2)			後観察期間				
		週 /月	1 週	2 週	投与前	1 週	4 週	8 週	12 週	中止時	6 箇月	12 箇月
日	-21 ~ -15	-14 ~ -1		0	21 ~ 35	49 ~ 63	77 ~ 91		168 ~ 196	350 ~ 378	700 ~ 756	
文書同意取得	◎											
被験者背景		◎	◎									
症例登録 (1)		○		◎								
AMG0001 投与					◎	◎	◎					
バイタルサイン (3)		◎			◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	
理学的検査 (3)		◎			◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	
CTA/MRA 検査		◎						◎	◎			
ABI 測定		◎	◎					◎	◎	◎	◎	
Fontaine 分類		◎						◎	◎			
VAS 測定 (4)		◎	◎				◎	◎	◎	◎	◎	
かいよう 潰瘍測定 (5)		◎	◎				◎	◎	◎	◎	◎	

1: 同意取得後、仮症例登録を実施し、投与前に本登録を実施します。2: 治療期8週後において改善傾向が認められない場合には、更に3回目の投与を行います。3: 治療期1、4、8週の検査は、AMG0001投与前に実施します。4: 安静時に疼痛の症状がある方に実施します。5: 潰瘍が認められる方に実施します。

表 1 臨床研究の観察・検査項目（つづき）

	前 観 察 期 間 開 始 前	前観察期間			AMG0001 2 回投与					追跡調査		予後調査	
					試験治療期間		後観察期間						
					AMG0001 3 回投与								
					試験治療期間 (2)		後観察期間						
		週 / 月	1 週	2 週	投与前	1 週	4 週	8 週	12 週	中止時	6 箇月	12 箇月	24 箇月
日	-21 ～ -15	-14 ～ -1		0	21 ～ 35	49 ～ 63	77 ～ 91			168 ～ 196	350 ～ 378	700 ～ 756	
臨床検査		◎						◎	◎				
尿検査		◎						◎	◎				
腫瘍マーカー検査		◎						◎	◎				
便中ヘモグロビン		◎						◎	◎				
HIV 抗原・抗体検査		◎											
妊娠検査		◎											
胸部エックス線検査		◎											
腹部超音波検査		◎											
がんてい 眼底検査		◎											
心電図検査		◎						◎	◎				
血清 HGF 濃度測定		◎						◎	◎				
併用治療		← ◎ →											
有害事象					← ◎ →								

(1) 前観察期間の検査について

あなたに同意をいただいた後、この臨床研究を安全に行える状態かどうかなどを確認するために、あなたはこの臨床研究に仮登録されます。この仮登録後、2週間の前観察期間が開始され、所定の観察・検査を実施し、この臨床研究への適格性が判断されます。これによってこの臨床研究に参加できるかどうかを確認します（後述の「8. あなたがこの臨床研究の対象者として選ばれる条件」に書かれている条件に対する適格性について確認します）。

この適格性確認の結果、参加の基準に合わない場合には、この臨床研究に参加できないこともあります。

1) 問診内容

生年月日、過去にがんにかかったかどうかについて、喫煙歴、AMG0001の投与歴、他に^{かか}っている病気について、内服・点滴による治療薬の有無など

2) 検査項目

a) バイタルサイン：体温、血圧、脈拍

b) 理学的検査：視診、触診、聴打診

c) 疾患状態の観察：CTA/MRA検査、ABI測定、Fontaine分類

d) 疾患病変の観察：安静時^{とうつう}疼痛、病変計測（^{かいよう}潰瘍）

e) 臨床検査：

【血液学的検査】：白血球数、赤血球数、ヘモグロビン値、
ヘマトクリット値、血小板数、好中球、リンパ球、
単球、好酸球、好塩基球

【血液生化学検査】：Na、K、Cl、Ca、P、BUN、尿酸、クレアチニン、
AST（GOT）、ALT（GPT）、 γ -GTP、ALP、LDH、
CK（CPK）、総コレステロール、中性脂肪、
総ビリルビン、総蛋白、アルブミン、グロブリン、CRP、
HbA1c、随時血糖

- 【その他検査】： HIV抗原・抗体検査、妊娠検査、血清HGF濃度、
腫瘍^{しゅよう}マーカー（PSA-ACT、CEA、AFP、CA19-9）
- f) 尿検査： 蛋白（定性）、糖（定性）、潜血（定性）、pH
- g) 便検査： 便中ヘモグロビン
- h) 一般検査： 胸部エックス線検査、腹部超音波検査、眼底検査、
心電図（12誘導）

以上の項目について、観察・検査を行いこの臨床研究への参加に問題がなければ、この臨床研究への本登録を行います。

（2） AMG0001投与期間中（臨床研究期間）の検査について

1) AMG0001の投与

AMG0001の投与は、「7.1 AMG0001投与について」でご説明したとおり、4週ごとに1日1回、合計2回、2回投与で改善が認められない場合には3回投与を行います。

2) バイタルサイン

AMG0001投与前に、体温、血圧、脈拍を測定します。3回目を投与されない方についても初回投与から8週目も確認します。

3) 理学的検査

AMG0001投与前に、視診、触診、聴打診により確認します。3回目を投与されない方についても初回投与から8週目も確認します。

4) 疾患病変の観察

投与開始から8週後に確認します。

（3） 投与終了後の検査について（後観察期間）

AMG0001の投与終了後は、投与開始から12週後又は臨床研究中止時に、以下の検査を実施します。

1) バイタルサイン

体温、血圧、脈拍

2) 理学的検査

視診、触診、聴打診

3) 疾患状態の観察

CTA/MRA検査、ABI測定、Fontaine分類

4) 疾患病変の観察

安静時疼痛^{とうつう}、病変計測^{かいよう}（潰瘍）

5) 臨床検査

血液学的検査、血液生化学検査、腫瘍^{しゅよう}マーカー（PSA-ACT、CEA、AFP、CA19-9）、血清HGF濃度

6) 尿検査

7) 便検査

8) 一般検査

心電図（12誘導）

(4) 投与終了後の検査について（追跡調査及び予後調査）

AMG0001の初回投与から6箇月後と12箇月後に、患者さんに来院いただき追跡調査を行います。

1) バイタルサイン

体温、血圧、脈拍

2) 理学的検査

視診、触診、聴打診

3) 疾患状態の観察

ABI測定

4) 疾患部位の観察

安静時疼痛^{とうつう}、病変計測^{かいよう}（潰瘍）

また、AMG0001の初回投与から24箇月後には、電話や手紙で、患者さんの

足の状態や、体の状態をお聞きする予後調査を行います。この予後調査では、必ずしも患者さんの来院は必要ありません。

8 あなたがこの臨床研究の対象者として選ばれる条件

あなたの症状に対して、現在の症状を悪化させないために、血管を広げたり、血液を固まりにくくしたりする治療薬はありますが、十分な効果が得られませんでした。また、外科的治療も困難であるか、外科的治療が可能であっても、治療効果よりも手術リスクが高いと判断されています。

現在、慢性動脈閉塞症^{まんせいどうみゃくへいそくしやう}の安静時に感じる痛みをなくしたり、足にできた潰瘍^{かいよう}を治したりする治療薬がないことから、あなたの症状は更に悪化する可能性があります。あなたの足の切断が余儀なくされる事態も想定されます。

あなたは、以下に示す基準を満たすことにより、この臨床研究の対象者として選ばれます。

8.1 この臨床研究に参加いただける基準

この臨床研究では、以下の条件の全てを満たす方を対象とします。

- (1) 臨床研究の参加について、本人の自由意思による文書同意が得られた方。
- (2) 同意された時の年齢が満20歳以上85歳未満の方。
- (3) AMG0001を投与する下肢の動脈^{せんだいたいどうみゃく}（浅大腿動脈^{しつかどうみゃく}、膝窩動脈^{しつか}又は膝窩下の動脈）に閉塞又は狭窄部位がある方。
- (4) AMG0001を投与する下肢の前観察期間の足関節血圧の平均値が70 mmHg又は上腕・足関節血圧比が0.6以下の方（ただし、ピュルガー病に関してはこの限りではありません）。
- (5) 血管の閉塞^{へいそく}や狭窄^{きやうさく}が原因と考えられる安静時疼痛^{とうつう}又は潰瘍^{かいよう}の症状がある方。
- (6) AMG0001を投与する下肢の血行再建術^{けっこうさいけんじゅつ}（血管内治療を含む）の適用が困難な方、又は血行再建術^{けっこうさいけんじゅつ}（血管内治療を含む）の適応が不可能ではないが、手術による危険が効果を上回ると判断される方。
- (7) 承認された内科的治療や処置が同意取得2週間以上前から行われ、同意取得後、同様の治療や処置を2週間以上継続しても、症状改善が認められな

い方。

- (8) 同意取得日からAMG0001の初回投与12週後まで精子通過阻止による避妊法（コンドームを使用）で避妊を行うことに同意された方。
- (9) 入院、外来の別は問いません。

ただし、上記の基準を満たしていても、以下の基準のいずれかにあてはまる方は、この臨床研究にご参加いただけません。

- (1) AMG0001を投与する足又は逆の足に壊死化している潰瘍^{えし}や腱^{かいよう}、又は骨が露出している潰瘍^{かいよう}のある方。
- (2) 同意する前90日以内にアルコール依存症又は薬物依存症と診断された方。
- (3) 今、がんにかかっている方、または過去にがんにかかったことのある方。
ただし、完治した皮膚の基底細胞癌^{きていさいぼうがん}は除きます。また、乳癌については同意する10年以上前に完治し、再発がない方、その他の悪性腫瘍^{あくせいしゅよう}については5年以上前に完治し、再発がない方は、この臨床研究に参加できます。
- (4) 重症の心疾患、腎疾患、血液疾患（「医薬品等の副作用の重篤度分類基準について」（平成4年6月29日）のグレード3）を合併している方。ただし、安定期慢性維持透析^{あんていき まんせいいいちもちとうせき}を行っている方は除く。
- (5) HIV抗原・抗体が陽性の方。
- (6) 同意する前90日以内に、AMG0001を投与する足又は逆の足の血行^{けっこう}再建術^{さいけんじゅつ}、切断術を受けた方（ただし、小切開、Necrotomy^{ねくろとみ}、抜爪^{ばつそう}などの局所処置は除く）。
- (7) 同意する前90日以内に、交感神経切除術又は交感神経ブロックを受けた方。
- (8) 抗菌剤^{こうきんざい}で制御が困難な侵襲性の感染症（骨髓炎^{こつすいえん}、蜂窩織炎^{ほうかしきえん}、リンパ管炎など）にかかっている方。
- (9) 未治療又は治療抵抗性の増殖性糖尿病性網膜症^{そうしよくせいとうようびょうせいもうまくしゅう}にかかっている方。または、新生血管型の加齢黄斑変性症^{かれいおうはんへんせいしゅう}にかかっている方。
- (10) 糖尿病性神経障害（広汎性左右対称性神経障害）にかかっている方。
- (11) 同意する前30日以内に他の未承認治療の臨床試験に参加していた方。ただし、未承認治療（薬剤又は機器）が実施されなかった場合を除く。

(12) 過去に遺伝子治療を受けた方（ただし、AMG0001の投与を受けた方は除く）。

(13) 妊婦、授乳期の女性、妊娠している可能性のある女性、又はこの臨床研究中に妊娠を希望する女性。

(14) その他、この臨床研究担当医師がこの臨床研究の対象として不適当と判断した方。

9 この臨床研究の参加予定期間について

この臨床研究は、先進医療^{*1}の承認取得後、1年間の実施を予定しています。また、この臨床研究は以下の期間や調査から成り立っています。

前観察期間 : AMG0001投与開始前2週間

試験治療期間 : AMG0001投与開始後4週間（2回投与）又は8週間（3回投与）

後観察期間 : AMG0001最終投与後8週間（2回投与）又は4週間（3回投与）

後観察期間の終了（評価）：

AMG0001投与開始12週間後

追跡調査 : AMG0001投与開始6か月後及び12か月後

予後調査 : AMG0001投与開始24か月後

なお、AMG0001初回投与後24か月間は、あなたの病状の経過について調査を行います。また、その後も、病状などをお聞きすることがあります。

*1: 先進医療・・・厚生労働大臣が定める高度な医療技術などを用いた療養であって、保険給付の対象とすべきものであるか否かについて、適正な医療を効率的に評価することが必要な療養のこと。

10 この臨床研究への参加予定人数

この臨床研究は、佐賀大学医学部附属病院を含め、複数の医療機関で実施され、合計6人の方に参加いただく予定です。

11 併用薬・併用療法または併用禁止薬・併用禁止療法について

この臨床研究に係る併用禁止および併用可能な治療法は以下のとおりです。治療の効果を判定するために影響があると考えられる治療を制限することもあります。また、この臨床研究の参加に同意するときに、禁煙指導が行われていることを確認するとともに、前観察期間から後観察期間終了までの約4か月間、喫煙状況を確認します。

- (1) ^{まんせいどうみやくへいそくしょう}慢性動脈閉塞症（^{へいそくせいどうみやくこう かしょう}閉塞性動脈硬化症及びビュルガー病）に対する治療

この臨床研究では、内科的治療を最低2週間以上（前観察期間）行っても症状の改善が認められない方を対象とすることから、前観察期間から継続する同一の内科的治療をAMG0001投与後も併用することが可能です。ただし、交感神経ブロックは、有効性の評価に影響を及ぼすことから、禁止としました。

- 1) 併用禁止
^{こうかんしんけい}交感神経ブロック

- 2) 併用可能
本疾患に対するすべての治療薬

前観察期間開始から、後観察期間が終了するAMG0001投与開始12週後まで、使用する併用薬剤の変更及び増量（1日平均使用量が1.5倍を超える増加）は行えません。

- (2) ^{まんせいどうみやくへいそくしょう}慢性動脈閉塞症（^{へいそくせいどうみやくこう かしょう}閉塞性動脈硬化症及びビュルガー病）に伴う^{かいよう}潰瘍に対する治療

フィブラストは、^{けっかんしんせいいんし}血管新生因子の製剤であり、AMG0001との相互作用が不明であるため併用禁止としました。^{かいよう}潰瘍に適応を有する他の薬剤の使用、感染の^{かひ}制御や痂皮（かさぶた）の除去等は併用を可能としました。

- 1) 併用禁止
フィブラスト

2) 併用可能

- 肉芽形成促進、組織修復、組織賦活作用のある外用剤
- 潰瘍部位の鎮痛を目的とした外用剤

前観察期間開始から、後観察期間が終了する AMG0001 投与開始 12 週後まで、使用する併用薬剤の変更及び増量（1 日平均使用量が 1.5 倍を超える増加）は行えません。

3) 制限なし

- 上記 2) 以外の潰瘍に対する薬剤、消毒液、ワセリン等の局所処置
- 潰瘍部位の感染制御及び感染予防のための抗菌剤
- 潰瘍部位に痂皮が形成されている場合の外科的・化学的デブリドマン

(3) 慢性動脈閉塞症（閉塞性動脈硬化症及びビュルガー病）に伴う安静時疼痛に対する治療

鎮痛剤の使用は、主要評価項目である安静時疼痛の評価へ直接影響しますが、「薬剤の変更及び増量をしない」という条件であれば評価は可能と考え、使用可能としました。ただし、硬膜外麻酔は評価に影響を及ぼすことから、併用を禁止しました。

1) 併用禁止

硬膜外麻酔

2) 併用可能

全ての鎮痛剤（頓用を含む）

前観察期間開始から、後観察期間が終了する AMG0001 投与開始 12 週後まで、使用する併用薬剤の変更及び増量は、治療上の必要性を認めない限り行えません。

(4) 外科的治療

血行再建術、切断術又は交感神経切除術が AMG0001 を投与する足の血行動態及び遺伝子発現に与える影響が不明なため、禁止としました。

1) 併用禁止

- AMG0001 を投与する足又は逆の足の^{けっこうさいげんじゅつ}血行再建術（血管内治療も含む）
- 切断術または^{こうかんしんけいせつだんじゅつ}交感神経切断術

(5) 併用注意薬または治療

有効性および安全性の評価に影響を及ぼす可能性があり、あなたの安全性確保も考え設定しました。

1) 併用禁止

開発中の未承認薬による治療および細胞移植などの未承認治療

12 AMG0001 投与の考えられる効果と危険性・不都合

12.1 考えられる AMG0001 投与の効果

HGF は医薬品として認可されていない開発中の遺伝子治療用医薬品です。

あなたの場合、下肢の切断が必要になるかもしれませんが、AMG0001 により足の切断が避けられるかどうかは、まだ明らかされていません。したがって、この臨床研究に参加することで、足の切断を避けられる保証はなく、この点の利益を得ることはないかもしれません。しかし、AMG0001 による遺伝子治療は、あなたの足の^{かいよう}潰瘍を治し、痛みをなくすかもしれません。

AMG0001 の開発企業であるアンジェス MG 社や大阪大学が国内で実施した AMG0001 の臨床試験において、^{あんせい じ どうつう}安静時疼痛や^{かいよう}潰瘍を有する^{へいそくせい どうみゃくこう か}閉塞性動脈硬化^{しょう}症やピュルガー病患者さんの症状を改善する効果が明らかにされてきています。

12.2 考えられる危険性と不都合

これまでに、足の^{まんせい どうみゃく へいそくしょう}慢性動脈閉塞症に対し、日本で 3 つ、米国で 2 つの AMG0001 の臨床試験が実施され、合計 160 名以上の患者さんに投与されています。これらの臨床試験で最も多く認められた副作用は、投与(注射)部位の^{とうつう}疼痛、CRP（体内に炎症が起きているときに血中に現れるたんぱく質）の上昇ですが、いずれも^{いっかせい}一過性で、その後回復しています。

また、AMG0001 投与後の長期間経過後に悪性腫瘍^{あくせいしゅよう}が数件みられましたが、専門医より AMG0001 との関連性は低いと判断されています。その他、重大な副作用は認められませんでした。AMG0001 臨床試験の副作用について、試験ごとに、表2～6に示します。

表2 大阪大学で実施された臨床試験における副作用一覧（対象 22 例）

副作用	発現例数	副作用	発現例数
注射部位疼痛 ^{とうつう}	13 例 (59.1 %)	投与部位反応	2 例 (9.1 %)
C－反応性蛋白増加	7 例 (31.8 %)	胸部圧迫感	1 例 (4.5 %)
白血球数増加	3 例 (13.6 %)	注射部位紅斑	1 例 (4.5 %)
注射部位出血	3 例 (13.6 %)	注射部位知覚異常	1 例 (4.5 %)
好酸球数増加	5 例 (22.7 %)	注射部位そう痒感	1 例 (4.5 %)
尿中ブドウ糖陽性	4 例 (18.2 %)	四肢不快感	1 例 (4.5 %)
発熱	4 例 (18.2 %)	毛包炎 ^{もうほうえん}	1 例 (4.5 %)
血中乳酸脱水素酵素増加	6 例 (27.3 %)	皮膚せつ（性器を除く）	1 例 (4.5 %)
血中乳酸脱水素酵素減少	1 例 (4.5 %)	発汗熱	1 例 (4.5 %)
尿中蛋白陽性	4 例 (18.2 %)	アルファ1フェトプロテイン増加	1 例 (4.5 %)
嘔気	2 例 (9.1 %)	血中アルカリホスファターゼ増加	2 例 (9.1 %)
リンパ球数減少	4 例 (18.2 %)	癌胎児性抗原増加	3 例 (13.6 %)
筋痛	1 例 (4.5 %)	血小板数減少	2 例 (9.1 %)
そう痒症	2 例 (9.1 %)	尿中血陽性	3 例 (13.6 %)
不整脈	1 例 (4.5 %)	末梢腫脹 ^{まつしやうしゅちやう}	1 例 (4.5 %)
心筋虚血	3 例 (13.6 %)	接触性皮膚炎	1 例 (4.5 %)
視力低下	1 例 (4.5 %)	湿疹	1 例 (4.5 %)
歯髄炎	1 例 (4.5 %)	ほてり	2 例 (9.1 %)
悪寒	1 例 (4.5 %)	振戦 ^{しんせん}	1 例 (4.5 %)
血中リン酸塩減少	2 例 (9.1 %)	潜血陽性	3 例 (13.6 %)
胃炎	2 例 (9.1 %)	好中球数増加	1 例 (4.5 %)
単球数増加	3 例 (13.6 %)	十二指腸潰瘍 ^{かいよう}	2 例 (9.1 %)
網膜出血	2 例 (9.1 %)	萎縮性胃炎	2 例 (9.1 %)
胃粘膜びらん	2 例 (9.1 %)	胸痛	2 例 (9.1 %)
逆流性食道炎	2 例 (9.1 %)	胃の良性新生物	2 例 (9.1 %)
四肢痛	2 例 (9.1 %)	頻尿	2 例 (9.1 %)
脂肪腫	2 例 (9.1 %)	脳梗塞 ^{のうこうそく}	2 例 (9.1 %)
大脳動脈閉塞	2 例 (9.1 %)	下腹部痛	1 例 (4.5 %)
四肢動脈狭窄	2 例 (9.1 %)	熱感	1 例 (4.5 %)

表2 大阪大学で実施された臨床試験における副作用一覧（対象 22 例）つづき

副作用	発現例数	副作用	発現例数
裂孔ヘルニア	1 例（4.5 %）	アラニン・アミノトランスフェラーゼ増加	1 例（4.5 %）
倦怠感	1 例（4.5 %）	糖鎖抗原 19-9 増加	1 例（4.5 %）
前立腺特異性抗原増加	1 例（4.5 %）	脾臓の良性新生物	1 例（4.5 %）
背部痛	1 例（4.5 %）	大腿動脈狭窄	2 例（9.1 %）
けいれん 痙攣	1 例（4.5 %）		

表3 日本で実施された閉塞性動脈硬化症を対象とした第Ⅲ相臨床試験における副作用一覧（対象 41 例）

	AMG0001 群 (28 例)		プラセボ群 (13 例)	
	発現例数	発現率 (%)	発現例 数	発現率 (%)
全身障害および投与局所様態	5	17.9 %	1	7.7 %
注射部位疼痛	2	7.1 %	1	7.7 %
注射部位紅斑	1	3.6 %	0	0.0 %
注射部位浮腫	1	3.6 %	0	0.0 %
注射部位知覚異常	1	3.6 %	0	0.0 %
注射部位熱感	1	3.6 %	0	0.0 %
注射部位湿疹	1	3.6 %	0	0.0 %
注射部位出血	0	0.0 %	1	7.7 %
臨床検査	5	17.9 %	4	30.8 %
C-反応性蛋白増加	3	10.7 %	2	15.4 %
血圧上昇	1	3.6 %	1	7.7 %
好酸球数増加	1	3.6 %	1	7.7 %
アラニン・アミノトランスフェラーゼ増加	0	0.0 %	1	7.7 %
アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ増加	0	0.0 %	1	7.7 %
血小板数増加	0	0.0 %	1	7.7 %
胃腸障害	4	14.3 %	0	0.0 %
結腸ポリープ	3	10.7 %	0	0.0 %
逆流性食道炎	1	3.6 %	0	0.0 %
心臓障害	1	3.6 %	0	0.0 %
心室性期外収縮	1	3.6 %	0	0.0 %

表3 日本で実施された閉塞性動脈硬化症を対象とした第Ⅲ相臨床試験における
副作用一覧（対象41例）につき

	AMG0001 群 (28 例)		プラセボ*群 (13 例)	
	発現例数	発現率 (%)	発現例数	発現率 (%)
感染症および寄生虫症	1	3.6 %	0	0.0 %
副鼻腔炎	1	3.6 %	0	0.0 %
筋骨格系および結合組織障害	1	3.6 %	1	7.7 %
四肢痛	1	3.6 %	0	0.0 %
筋痛	0	0.0 %	1	7.7 %
良性、悪性および詳細不明の新生物 (嚢胞 ^{のうほう} およびポリープを含む)	1	3.6 %	0	0.0 %
前立腺癌	1	3.6 %	0	0.0 %
神経系障害	1	3.6 %	0	0.0 %
神経痛	1	3.6 %	0	0.0 %
腎および尿路障害	1	3.6 %	0	0.0 %
膀胱穿孔	1	3.6 %	0	0.0 %
皮膚および皮下組織障害	1	3.6 %	1	7.7 %
皮膚 ^{のうしゅ} 嚢腫	1	3.6 %	0	0.0 %
そう痒症	0	0.0 %	1	7.7 %
血液およびリンパ系障害	0	0.0 %	1	7.7 %
貧血	0	0.0 %	1	7.7 %
肝胆道系障害	0	0.0 %	1	7.7 %
肝機能異常	0	0.0 %	1	7.7 %
血管障害	0	0.0 %	1	7.7 %
ほてり	0	0.0 %	1	7.7 %

* プラセボ： 見た目が AMG0001 と同じですが、効果のない偽薬^{ぎやく}のことを言います。
患者さんも医師も AMG0001 とプラセボのどちらを投与したかわかりませ
るので薬の評価をより客観的なものにします。

（余白）

表4 米国で実施された閉塞性動脈硬化症を対象とした第Ⅱ相臨床試験における副作用一覧（対象 104 例）

事象名 (器官別大分類／基本語)	プラセボ 26 例 (%)	AMG0001 0.4 mg × 3 26 例 (%)	AMG0001 4.0 mg × 2 25 例 (%)	AMG0001 4.0 mg × 3 27 例 (%)
目障害				
視神経萎縮 ^{いしゆく}	0	1 (3.8 %)	0	0
霧視 ^{きし}	0	1 (3.8 %)	0	0
網膜静脈血栓症	1 (3.8 %)	0	0	0
胃腸障害				
悪心	0	0	1 (4.0 %)	0
直腸ポリープ	0	1 (3.8 %)	0	0
全身障害および投与局所様態				
注射部位内出血	0	0	1 (4.0 %)	0
注射部位紅斑 ^{こうはん}	1 (3.8 %)	0	0	0
注射部位出血	0	0	0	1 (3.7 %)
注射部位疼痛 ^{とうつう}	1 (3.8 %)	1 (3.8 %)	1 (4.0 %)	1 (3.7 %)
注射部位腫脹 ^{しゅちやう}	1 (3.8 %)	0	0	0
末梢性浮腫 ^{むしやう}	0	1 (3.8 %)	0	3 (11.1 %)
代謝および栄養障害				
食欲不振	0	0	0	1 (3.7 %)
筋骨格系および結合組織障害				
関節痛	0	1 (3.8 %)	0	0
筋痙縮 ^{きんけいしゆく}	0	0	1 (4.0 %)	0
四肢痛	0	1 (3.8 %)	2 (8.0 %)	0
顎関節症候群	0	1 (3.8 %)	0	0
神経系障害				
錯感覚	0	1 (3.8 %)	0	1 (3.7 %)
腎および尿路障害				
蛋白尿	0	1 (3.8 %)	0	0
傷害、中毒および処置合併症				
挫傷	0	0	1 (4.0 %)	0
良性、悪性および詳細不明の新生物（嚢胞 ^{のうほう} およびポリープを含む）				
結腸癌	1 (3.8 %)	0	1 (4.0 %)	0

表5 米国で実施された閉塞性動脈硬化症を対象とした追加第Ⅱ相臨床試験における副作用一覧（対象 27 例）

事象名 (器官別大分類)	発現例数および発現率		
	安全性評価対象		
	プラセボ群 6 例	AMG0001 群 21 例	合計 27 例
全身障害および投与局所様態			
注射部位内出血	1 (17 %)	1 (5 %)	2 (7 %)
注射部位不快感	0	2 (10 %)	2 (7 %)
注射部位血腫	0	1 (5 %)	1 (4 %)
注射部位疼痛	0	1 (5 %)	1 (4 %)
浮腫	0	1 (5 %)	1 (4 %)
臨床検査			
LDH 増加	1 (17 %)	0	1 (4 %)

表6 日本で実施されたバージャー病を対象とした一般臨床試験における副作用一覧（対象 10 例）

事象名	発現例数	発現率(%)
注射部位疼痛	1	10.0 %
末梢性浮腫	1	10.0 %
アラニン・アミノトランスフェラーゼ増加	1	10.0 %
血中クレアチンホスホキナーゼ増加	1	10.0 %
血中カリウム増加	1	10.0 %
白血球数減少	1	10.0 %
食道扁平上皮癌	1	10.0 %

これらの副作用に加え、AMG0001 の作用から次の事象があらわれる可能性は否定されていません。

(1) がんの発生

正常な細胞が AMG0001 を取り込むことによりがんになる可能性は否定されていません。また、AMG0001 によって作られた HGF たん白質が、検査でも見

つかからないような微小ながんを発育させる可能性も否定はできないことをご理解ください。

(2) その他

AMG0001 の投与とは直接関係ありませんが、検査の際、注射に伴う細菌などによる感染、注射部位の痛み、出血、造影剤によるアレルギー反応（嘔吐、熱、発疹）などがおこる可能性は否定できません。

なお、これまでに記載した副作用や有害事象以外の副作用が発生する可能性があります。この臨床研究の担当医師は、これらの好ましくない事象に迅速に対応するため、あなたの身体に起こることを注意深く観察します。もし、あなたのお身体に何らかの異常を感じたときは、いつでもご遠慮なくお知らせください。

12.3 有害事象への主な対処法

(1) 投与したところの疼痛^{とうつう}

痛み・かゆみ、または紅斑^{こうはん}、浮腫^{ふしゅ}などの炎症症状に対しては必要に応じて内服薬や外用薬による治療を行います。局所感染症状が生じたときには、必要に応じて感染拡大を防止するために抗生剤を使用して治療します。

注射手技に対する疼痛^{とうつう}が、高頻度に認められたことから、投与前後の疼痛対策^{とうつう}として、必要に応じて、投与前に穿刺予定部位にキシロカインゼリーなどで表面麻酔を行います。注射時の疼痛^{とうつう}の程度により痛みが長引くと判断される場合は、鎮痛剤（ボルタレンやロキソニンなど）とともに、必要に応じて健胃散を使用します。

(2) 投与に伴う感染症

注射に伴う感染症に対しては、経過観察しながら、必要に応じて抗生剤、抗ウイルス剤、抗真菌剤で治療します。

(3) その他の注射部位反応（紅斑^{こうはん}、浮腫^{ふしゅ}、知覚異常、熱感、湿疹、出血など）

注射による、紅斑^{こうはん}、浮腫^{ふしゅ}、知覚異常、熱感、湿疹、出血などの局所反応に対し

ては、経過を観察しながら、対症療法^{たいししょうりょうほう}を行います。

刺激感・疼痛^{とうつう}に対しては、必要に応じて除痛措置を行い、出血に対しては止血処置を行います。また、局所の皮膚症状については、必要に応じて、皮膚科専門医の診察を受けていただきます。

(4) 血液検査におけるCRP及びLDHの上昇

これまで一過性で、その後回復しているCRP及びLDHの上昇が認められています。これらの事象が発生した場合は、経過観察しながら、必要に応じて、これらの異常変動を起こしている原因に対する治療を行います。

(5) その他の有害事象

これまで多くの軽度な事象が低頻度で認められていますが、多くの事象が一過性で回復していることから、経過を観察しながら、必要に応じて薬物治療を行います。

13 この臨床研究の中止について

以下に示す事態が生じたときは、あなたのこの臨床研究への参加を中止します。

- (1) この臨床研究の実施方法を守ることが不可能となった場合。
- (2) この臨床研究を開始した後でも、あなたから、この臨床研究への参加同意を撤回する申し出があった場合。その意向を尊重し、以後の臨床研究を中止します。
- (3) 症状の悪化又は有害事象（合併症の悪化を含む）の軽快・回復が認められないことにより、あなたの安全性確保の面からこの臨床研究の継続が困難と判断される場合。

症状の悪化及び有害事象については、以下の場合が想定されます。

- ・ 症状の悪化： 投与対象肢の大切断
- ・ 有害事象（合併症の悪化を含む）：

重篤な心疾患、肝疾患、腎疾患、血液疾患等

このような状態の場合は、速やかに適切な処置を行うとともに、必要に応

じて追加検査を実施し、あなたの安全が確認できるまで処置を継続します。

- (4) 前観察期間において、禁止されている併用薬・併用療法を受けた場合。
- (5) この臨床研究に登録された後、あなたがこの臨床研究に参加する条件を満たしていなかったことが判明した場合。
- (6) この臨床研究に関連する重大な安全性に関する問題の発生などにより、この臨床研究全体を中止する場合。

このような場合は、出来る限り早く、あなたにお知らせし、この臨床研究への参加を中止します。

その他、この臨床研究責任者が、この臨床研究参加を中止することが適切だと判断した場合、あなたの臨床研究への参加を中止します。

14 臨床研究に参加された場合のカルテなどの調査について

あなたの人権が守られながら、この臨床研究が適正に行われているかどうかを確認するために、この臨床研究の関係者^{*1}があなたのカルテなどの医療記録を見ることがあります。ただし、その場合でもあなたの個人情報に関係者以外の人に漏れることはありません。厚生労働省などの当局関係者以外の外部の関係者とは、個人情報を保護するために適切な契約を締結し、あなたの個人情報の保全に努めます。厚生労働省などの当局関係者は、職務上、守秘義務を負っていますので、あなたの個人情報は保全されます。

この臨床研究に参加することに同意された場合は、あなたの医療記録をこの臨床研究の関係者が見ることについて、承諾していただいたこととなりますのでご了承ください。

また、この臨床研究で、期待される効果と安全性が認められた場合は、AMG0001の開発企業であるアンジェス MG 社または他の企業がこの治療法を広く普及させるために、この臨床研究の成果を活用し、引き続き開発を進めることになることが予想されます。このような場合でも、この臨床研究の成果は、個人情報保護された形で、開発企業に引き継がれ、あなたの個人情報は保護されますので、ご安心ください。

なお、あなたが他院を受診された場合、当院よりこの臨床研究に参加していることを他院の主治医にお知らせすることがあります。また、他院におけるあなたの診療情報をご提供いただくことがありますので、ご了承下さい。その際には、あらためてあなたに連絡させていただきます。

＊1: 臨床研究の関係者・・・病院の職員、遺伝子治療臨床研究審査委員会の委員、厚生労働省などの当局関係者、AMG0001 開発企業のアンジェス MG 株式会社の担当者、及びこの臨床研究業務を行う CRO^{*2} の担当者

＊2: CRO・・・かい は つぎょう む じ ゅ た く き かん 開発業務受託機関（Contract Research Organization の略）。医薬品の開発段階での臨床試験などに係る業務の一部又は全部を委託され、実施する機関のこと。

15 この臨床研究への参加同意の任意性と同意撤回の自由について

この臨床研究の説明を担当医師から聞いた上で、臨床研究に参加するかどうかをあなたの自由な意思で決めてください。たとえ参加されなくても今後の治療や診療に不利益になることはありません。あなたの自由意思により、同意書にご記名・捺印またはご署名いただいた場合にのみ、この臨床研究を行います。



また、この臨床研究の実施中に新しい情報が得られたときには、必ずあなたにお知らせします。

そして、この臨床研究に参加することに同意していただいた後でも、この臨床研究が開始されてからでも、あなたが同意の撤回をしたいときは、いつでも自由に撤回することができます。同意の撤回の時は、お渡ししている同意撤回書にご記名・捺印、又はご署名のうえ、この臨床研究の担当医師にご提出ください。また、同意を撤回されても、それにより不利益を受けることはなく、現在行われている標準的な最善の治療を行います。なお、同意を撤回される場合も、できる限

り、この臨床研究の担当医師と面談のうえ、その後の治療法などについて説明を受けてください。

16 他の治療方法について

一般的に、血管を拡張する方法（血管拡張^{けっかんかくちようじゅつ}術）、静脈移植や人工血管を使った手術により血流を増やし、安静時に感じる痛みをなくしたり、足にできた潰瘍^{かいよう}を治しますが、あなたの足はこのような方法を受けることができないか、できるとしても治療の治療効果よりも手術リスクが高いと判断される状況です。

また、血管を拡張したり、血小板の凝集^{ぎようしゅう}を防いだりする薬はありますが、あなたの症状は改善されませんでした。

したがって、あなたの症状を安全に改善する標準的な治療法は存在しない状況です。

この臨床研究では、一部の併用禁止薬剤を除いて、これらの薬の投与を中止することなく、これまでの最善の治療法を継続した状態で、AMG0001 による遺伝子治療を行います。

17 個人情報の保護

この臨床研究の成果は、今後、一般的な新しい治療法として国などの認可を得るために使用されたり、医学雑誌などに発表されたりすることがありますが、その際に、あなたのお名前や身元などが明らかになったり、あなたやあなたのご家族の個人情報が外部に漏れることがないようにしています。あなたもしくは代諾者の方が希望されれば、他に試験に参加される方の個人情報やこの臨床研究の成果に支障がでない範囲で、この臨床研究の計画や方法についての資料を見ることができます。



また、あなたがこの治療に参加されることを承諾されますと、あなたの人権が守られながら、この臨床研究が適正に行われているかどうかを確認するために、この臨床研究の関係者があなたのカルテなどの医療記録を見ることがありますが、これらの人達は、法律上の守秘義務があり、あなたやあなたのご家族の個人情報が外部に漏れることがないようにしています。

この臨床研究に参加することに同意された場合は、あなたの医療記録をこの臨床研究の関係者が見ることについて、承諾していただいたこととなりますのでご了承ください。

詳しくは、「15 この臨床研究への参加同意の任意性と同意撤回の自由について（28～29 ページ）」の項で述べていますので、ご参照ください。

18 臨床研究結果の開示・公表

この臨床研究では、その性格上、研究成果（効果と危険性や不都合）が直接患者さんの利益・不利益と関わっています。したがって、あなたの臨床研究の結果から得られた種々の情報に関しては、あなた本人に対し説明いたしますが、第三者からの要求に対して、患者さんから得られた情報を開示することはありません。ただし、臨床研究の結果、得られた成果は医学上、貴重な知見ですので、この臨床研究に参加された方々の個人情報明らかにしないようにしたうえで、学会、学術雑誌、データベース上で公開されたり、他の機関に結果を提供したりする場合があります。

その際に、あなたのお名前や身元などが明らかになるようなことはありませんし、あなたやあなたのご家族の個人情報が外部に漏れる心配は一切ありません。

19 この臨床研究の資金源と費用負担

この臨床研究に関連する費用の内、AMG0001 及び臨床試験業務委託費用は、AMG0001 の提供企業であるアンジェス MG 株式会社が負担します。その他この臨床研究に係る費用は、佐賀大学医学部附属病院 循環器内科への公費及び奨学寄附金の資金を使用します。この臨床研究に関する部分の費用で、あなたご自身にご負担いただくことはありません。

もし、費用のことで、ご心配やわからないことがあれば、いつでもこの臨床研究の担当医師に相談してください。

20 この臨床研究の利益相反について

この臨床研究に係る統括責任者、臨床研究分担医師及びアンジェスMG株式会

社とこの臨床研究との利害関係については、佐賀大学内において確認され、公平性を維持しています。

アンジェス MG 株式会社の本臨床研究に係る役割は、試験物 AMG0001、AMG0001 の開発情報及び本臨床研究の業務委託費用の提供であり、本臨床研究のデータを取扱う業務及び品質管理・品質保証業務には関与いたしません。

21 臨床研究から生じる知的財産権について

この臨床研究の結果として生じる知的財産権や著作権は、臨床研究に参加された患者さんではなく、大阪大学と研究チームに属します。

22 臨床研究組織と研究期間について

この臨床研究は、佐賀大学医学部附属病院 循環器内科 教授 野出孝一を中心とするこの研究のチームメンバーが、佐賀大学医学部附属病院において、研究開始日から1年間行います。チームメンバーは必要に応じ増減することがあります。

また、この臨床研究は、多施設共同研究として実施され、大阪大学はその中心となり、この臨床研究全体を統括します。この臨床研究全体の統括責任者も大阪大学医学部附属病院老年・高血圧内科 教授 楽木宏実です。

23 健康被害が発生した場合の補償について

この臨床研究が原因で、あなたが何か異常を感じた場合は、速やかに担当医師にご連絡ください。最善の処置を提供します。

「補償」とは、この臨床研究の実施計画どおりに行われ、佐賀大学医学部附属病院の過失がなくとも、この臨床研究で起こった健康被害や不具合などの被害に対して、佐賀大学医学部附属病院が患者さんに無償で治療提供したり、その他の費用などを負担したりすることです。

研究グループのスタッフや、佐賀大学医学部附属病院の過失による健康被害や不具合などの被害に対する「賠償」とは異なります。

この臨床研究では、保険会社が提供する補償保険に加入しており、この臨床研究で起こった健康被害や不具合などの被害に対応しています。補償の受け方や、

条件については「臨床研究における健康被害補償の概要」をご覧ください。

24 臨床研究期間終了後の対応

臨床研究期間が終了した後も、可能な限り、通院を続けていただくことにより、副作用などが起こっていないか、あなたの健康状態について観察を続けます。また、体調の不良などが起こった場合は、いつでもこの臨床研究の担当医師にご連絡下さい。

他の医療機関を受診した場合、この臨床研究とは関係のない病気で受診したとしても、この臨床研究を佐賀大学医学部附属病院で受けたことを、受診先の病院の主治医にお伝えしてください。

25 参加に伴い守っていただきたい事項

あなたが、この臨床研究に参加している間は、次のことをお守りください。



- (1) 検査・診察日には、必ず受診してください。万が一、受診できない場合は、必ず担当医師にご連絡ください。
- (2) AMG0001 は、胎児に対する安全性が十分に確認されていません。したがって、この臨床研究に同意いただいた日から、必ず^{ひにん}避妊（コンドームなど有効な方法）してください。このことに同意いただけない場合は、この臨床研究に参加できません。また、万が一、この臨床研究中に避妊しなかった場合は、担当医師にご連絡ください。
- (3) AMG0001 の注射を受けた後しばらく（2時間程度）は、安静を保ってください。また、注射部位のマッサージは行わないでください。何か体に異常を感じましたら、ご遠慮なく、すぐに担当医師にお知らせください。
- (4) 他院（当院の他の診療科も含む）を受診されている場合には、この臨床研究の担当医師にお伝えください。また、他院を受診される場合には、この臨床研究に参加していることを、他院の医師にもお伝えください。
- (5) 他の病院（他の診療科）からもらった薬、薬局・売店などで購入した薬を

使用する場合には、この臨床研究の担当医師または相談窓口にご相談ください。

- (6) あなたがこの臨床研究に参加する前に行っている治療法は、やめる必要はありませんが、新たな治療は行わないでください。治療に関しては担当医師の指示に従ってください。

26 担当医師への連絡

この臨床研究について、心配なことや、わからないこと、何か異常を感じられた時は、いつでも遠慮なく担当医師に申し出てください。

研究機関	名 称：	佐賀大学医学部附属病院
	所在地：	佐賀市鍋島五丁目1番1号
実施診療科（部）	循環器内科	
臨床研究責任者 職名・氏名	教授 野出 孝一	
担当医師 職名・氏名	助教 樋渡 敦	
連絡先電話番号	0952-34-2364（循環器内科、医局）	
時間外 ^{*3} 緊急連絡先	0952-34-3475（7階東病棟）	
	対応する事務担当者に「循環器内科の当直医師」 へ連絡したい旨をお伝えください。	

^{*3}：時間外・・・平日9：00～16：00を除く時間帯

同意を撤回される場合も、上記の担当医師に、ご連絡ください。

27 この臨床研究の開示

この臨床研究の詳細については、以下のホームページ内に公表しており、いつでも自由に見ることができます。

大学病院医療情報ネットワーク（UMIN）内のUMIN臨床試験登録システム
（<http://www.umin.ac.jp/ctr/index-j.htm>）

同意書

佐賀大学医学部附属病院長 殿

研究題目：「慢性動脈閉塞症（閉塞性動脈硬化症及びビュルガー病）を対象としたAMG0001の筋肉内投与による遺伝子治療」

私は、上記研究題目における研究に参加するにあたり、担当医から以下の項目について、説明文書および口頭にて説明を受け、私の自由意思による参加の中止が可能であることを含め理解しましたので、この研究に参加することに同意します。

私は、本研究の説明を受け理解した項目について、□の中にレを記入しました。

- ☐ 参加した後でも、撤回がいつでも可能であり、その場合も不利益を受けないこと
- ☐ 同意が任意のものであり、同意しない場合も不利益をうけないこと
- ☐ 研究の目的、意義及び期間
- ☐ 試料(資料)の保存及び使用方法並びに保存期間(研究終了後の(試料)資料の取扱い)
- ☐ 方法（研究対象者として選定された理由 等）
- ☐ 期待される結果及び起こりうる危険性・不便
- ☐ 他の治療法 ☐ 個人情報の取扱い
- ☐ 研究終了後の対応・研究成果の公表
- ☐ 研究の開示 ☐ 研究結果の提供
- ☐ 費用負担に関すること ☐ 研究の資金源
- ☐ 関連組織との関わり ☐ 知的財産権等の帰属
- ☐ 共同研究の場合のその内容 ☐ 補償の有無
- ☐ 問い合わせ先（研究機関名・研究者等の氏名・職名・連絡先 等）

署名年月日： 西暦 年 月 日

住 所： _____

本人署名： _____ (印)

私は担当医として、今回の研究について上記の項目を説明し、インフォームドコンセントが得られたことを認めます。

署名年月日： 西暦 年 月 日

診療科： _____

担当医署名： _____ (印)

*説明文書とともに診療記録に保管すること。

同意撤回書

佐賀大学医学部附属病院長 殿

研究題目 : 「慢性動脈閉塞症（閉塞性動脈硬化症及びビュルガー病）を対象
とした AMG0001 の筋肉内投与による遺伝子治療」

私は、上記研究題目における研究に参加するにあたり、担当医から説明を受け、十分理解し同意しましたが、私の自由意思による参加の中止も自由であることから、この研究参加への同意を撤回したく、ここに同意撤回書を提出します。

署名年月日 : 西暦 年 月 日

住 所 : _____

本人署名 : _____ 印

代諾者署名（続柄） : _____ () 印

私は担当医として、今回の研究について、同意が撤回されたことを認めます。

署名年月日 : 西暦 年 月 日

診療科 : _____

担当医署名 : _____ 印