

1. 最終報告にあたって

大阪大学医学部附属病院遺伝子治療臨床研究審査委員会（平成 11 年 4 月設置）は、これまで「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」に対し、プロトコールの検討・承認、研究実施体制の評価、適応患者選定・評価、検査結果の検討、評価法の検討・策定、各症例の有効性・安全性評価、公表内容の妥当性評価、研究実施上の問題点の検討など倫理的側面、科学的側面から検討、評価、助言を行ってきた。その実施にあたっては、本治療対象疾患である末梢性血管疾患や検査法・合併症の領域における学内外の専門家からなる適応・評価小委員会（平成 11 年 6 月設置、委員長：川崎富夫）を設置し、検討・審議結果を本審査委員会に答申し、その内容を本審査委員会で審議して承認する審査体制を構築し、本最終報告に至るまで、審査委員会を 29 回、適応・評価小委員会を 33 回開催した。本報告は、平成 13 年 6 月から平成 16 年 9 月に実施された「HGF 遺伝子プラスミドを用いた末梢性血管疾患のための遺伝子治療臨床研究（総括責任者：荻原俊男）」の安全性・有効性に関する最終報告である。

2. 安全性の評価

安全性の評価はプロトコールに従って、HGF プラスミド投与開始から、最終投与後 2 年まで実施された。一般的な診察および検査の実施は、概ねプロトコールに準じて行われたが、通院後他院で治療を受けたり、来診を中断した患者については、詳細な安全性データが十分に把握できていない可能性は否定できない。しかし、重篤な有害事象の把握は実施できたと考えられる。

本臨床試験の対象となった 22 例の有害事象は 1228 件報告されたが、プラスミド投与との因果関係が否定できなかったものは 221 件であった（添付資料 1）。このうち、重篤な有害事象は 17 件に認められた（添付資料 1）。Fontaine IIb 群では 2 件が 1 例（2 肢）に、Fontaine III 群では、6 件が 2 例（2 肢）に、Fontaine IV 群では、9 件が 4 例（6 肢）にみられた。但し、両足肢ともプラスミドが投与された 3 例では、重篤な有害事象が重複して算定されている。死亡例は、同意番号 4 と同意番号 11 の重症下肢虚血患者 2 例で、ともに片足肢のみに HGF 遺伝子が投与され最終投与後 8 ヶ月での死亡であった。1 例はプラスミド投与による改善がみられず悪化した Fontaine III 群症例であり、2 回目のプラスミド投与後 226 日目の死亡である。本例は、転院先の病院で左下肢バイパス術をうけ、術後約 4 時間後に心停止に至った。患者は慢性腎不全により透析を行っており、術後の高カリウム血症により致死性不整脈が誘発されたものと考えられ、遺伝子治療と死亡との因果関係は否定的であると判断した。他の死亡例は Fontaine IV 群であり、遠隔地の病院に入院後の死亡である。死亡の直接的原因は肺

炎および喀痰の気道閉塞による無気肺に起因する呼吸不全と考えられ、本例も HGF 遺伝子プラスミド投与との直接的因果関係は否定的であると判断した（添付資料 1、2、3）。プロトコルでは死亡例については病理解剖を行うことになっているが、これらの 2 例については実施されなかった。他の重篤な有害事象も、いずれも FontaineⅢ群とⅣ群に認められた（添付資料 1、2、3）が、これらの重篤有害事象と HGF プラスミド投与との間に、明かな因果関係は認められないと判断した。同意番号 3（FontaineⅢ群）は HGF プラスミド最終投与後 3 ヶ月までの安全性データは得られているが、その後、患者が来院と検査を拒否したため、3 ヶ月以降 24 ヶ月までのデータは取得されていない。しかし、24 ヶ月までの生存とその間に足趾切断等の重篤な有害事象がなかったことは申請者が確認しており、これらの報告に基づき、本治療法は、情報が得られた範囲内で安全であると判断した。

同意番号 4（HGF プラスミド 2mg 投与）、同意番号 11（同 4mg 投与）、同意番号 27・34（両側下肢へ各々 4mg、計 8mg 投与）、同意番号 29・32（両側下肢へ各々 2mg と 4mg、計 6mg 投与）の 4 例（6 肢）において HGF プラスミド投与により「炎症あるいはアレルギーを惹起した可能性」を否定できなかった（添付資料 1、2、3）。とくに、頻回に熱発の認められた同意番号 11 の症例については、本委員会も小委員会の見解（添付資料 2 の資料 7）を承認し、HGF プラスミド投与が「炎症あるいはアレルギーを惹起する可能性」は否定しえず、今後、引き継ぎ安全性が確認される必要があると判断した。

同意番号 4、8、15（26、同一患者）、16、17（28、同一患者）、29（32、同一患者）において、糖尿病による増殖網膜症が認められたため、いずれも病状安定後に HGF プラスミドの投与が行われた。24 ヶ月までの観察期間中に網膜症の悪化は認められなかったため、HGF 遺伝子治療が安定した増殖網膜症を悪化させる可能性は否定的であると判断した。

トレッドミル運動負荷検査時の心電図検査にて、虚血性変化を認めた症例はなく、本臨床研究の範囲内において HGF 遺伝子投与による冠動脈病変進行の証左は得られなかった。

同意番号 2（9、同一患者）において肺野 BOOP（bronchiolitis obliterance organizing pneumonia）所見がみられたが、HGF プラスミド投与前後に変化は認められなかった。同意番号 22 は、サルコイドーシスの合併が認められていたが、HGF プラスミド投与前後で変化はみられなかった。

HGF は血管新生作用のため悪性腫瘍の成長を促進させる可能性が指摘されているが、本臨床研究期間中に、皮下脂肪腫（同意番号 15、26）と膵管内乳頭粘液腫（同意番号 20）が各 1 例認められた。いずれも悪性所見はなく、後者は、プラスミド投与前の画像にてもその存在が確認されており、HGF プラスミド投与による悪性腫瘍の発生はみられなかった。

本臨床研究の実施に起因する重篤有害事象として、血管造影時に発生した脳梗塞が 1 例（同意番号 8）が存在した。本例は、血管造影手技に伴う脳梗塞と判断され、その原因として（1）左前腕動脈アプローチによるカテーテル操作に伴う大動脈弓部壁在血栓の遊離による脳塞栓、

あるいは(2)造影後の血圧変動や血管収縮などに起因する血行力学的機序による脳梗塞が考えられた。本例の重篤有害事象の発生をうけて、侵襲的検査に伴うリスクを軽減させるため、第二ステージでは、血管造影の実施回数が1回減らされることになった。

以上より、有害事象とHGF遺伝子治療との因果関係の検討から、本遺伝子治療、臨床研究を中止すべき有害事象はなく、その意味でHGFプラスミド投与は安全であると判断した。ただし、HGFプラスミド投与が「炎症あるいはアレルギーを惹起する可能性」については否定できないため、今後の臨床研究において特に慎重に検討される必要があると判断した。

3. 有効性の評価と評価項目

本遺伝子治療は当初の規約から対照群(コントロール)を設定しないプロトコールのため、限られた症例で本遺伝子治療の有効性を判定することは極めて困難と考えられた。また、本遺伝子治療の効果がどの程度のものか予測することもできなかったため、あらかじめ評価項目及びその評価判定基準を設定することも困難であることが議論され、評価項目の設定については、治療開始後3ヶ月の成績をみた上で行うことにした。その結果、本臨床研究では、厳密な意味での有効性は判定せず、一定の基準に基づいた「改善度」の評価判定を行うことにした。判定基準については、これまでも専門家の一定した基準が存在しないため、本試験において独自の基準を設定した。即ち、「改善度」を「改善」「保留」「不変」「悪化」「判定不能」の5段階に分類し、ABI (ankle-brachial index) は基本評価項目とし、Fontaine II b 群、Fontaine III 群、Fontaine IV 群では、それぞれトレッドミル運動負荷試験、VAS (Visual Analog Scale) および最大潰瘍の直径(最大径)を必須項目とした。ABIは0.1以上の改善を「ABIの改善」と判断し、トレッドミル運動負荷試験は最大歩行距離が25%以上延長した場合を「最大歩行距離の改善」、安静時疼痛におけるVASは10cmスケールにおいて2cm以上軽減した場合を「VASの改善」、潰瘍は最大潰瘍の直径が25%以上縮小した場合を「潰瘍の改善」と判断した。これらの必須項目と、ABI(基本評価項目)の2項目の結果の組み合わせで評価判定を行うことにした。すなわち、ABIと必須項目の両者とも改善を認める場合を「改善」、ABIまたは必須項目のいずれかが改善し、他方が不変ないし欠測の場合を「保留」、必須項目のみが不変でABIのデータ欠測の場合あるいは両者とも不変の場合を「不変」、どちらか一方が悪化した場合を「悪化」、患者が来院せず検査が施行しえなかった場合を「判定不能」とした。さらに、Rutherfordの虚血肢取り扱い基準に示されている「慢性虚血肢の臨床分類」の少なくともI群改善の場合は「改善」とし、その他の場合は、必須項目とABIの両方で改善が認められた場合に「改善」と判定した。本遺伝子治療は、動物実験の成績よりHGF遺伝子投与により血管新生を促し、血流改善を得ることを目的としているため、血管造影は、本臨床研究において、重要な評価項目と考えられたが、プラスミド投

与後2ヵ月の血管造影で、新たな造影血管または造影の増強が確認された4例はいずれもBurger病であり、新たな造影血管が新生血管とは考えられず、既存の血管が血行の改善により造影されるようになったものと考えられたため、血管造影検査は必須評価項目から除外し、小委員会で個々に詳細に検討した。小委員会の見解は、新たに造影された血管は、それまで血栓塞栓のため血行が乏しく造影されなかった血管が血栓溶解または血栓の位置変化により血行が再建され造影されるようになったものか、末梢の血管新生（造影限界以下の微小血管）あるいは血管拡張のため血管抵抗が減少し、新たに造影されるようになったものいずれかによるものであり、新たに造影された血管そのものが新生された血管とは考えにくいとするものであり、Burger病では、頻々、血管内血栓がみられ、血栓の変化に伴う血管造影の変化が生じやすいと考えるのが妥当であるとの見解であった。本臨床研究審査委員会も小委員会の見解に同意した。また、これらの評価項目以外にレーザードップラ血流計測、経皮酸素分圧(TcPO₂)、QOL(SF-36)なども測定したが、いずれもばらつきが大きく主要評価項目からは除外し、参考データとして扱うことにした。(添付資料2の資料5)

4. 有効性の判定結果

Fontaine IIb群(高度跛行、7肢)は、閉塞性動脈硬化症6肢とピュルガー病1肢であったが24ヵ月の研究期間において、Fontaine III群またはIV群に重症化した症例、あるいは足肢の切断に至った症例および中止例はみられなかった。プラスミド投与後2ヵ月において、「改善」が2例、「保留」が4例、「不変」が1例に認められたが、「悪化」および「判定不能」はなかった。3ヵ月後は、「保留」の2例が「改善」になり、「不変」の1例が「保留」に移行したため、3ヵ月後の判定は7例中4例が「改善」、3例が「保留」となった。6ヵ月後、12ヵ月後は、プロトコール上トレッドミル運動負荷試験が施行されておらず、データ欠測のため「判定不能」となった。24ヵ月後は、データ欠測のため4例が「判定不能」、1例が「改善」、1例が「保留」、1例が「不変」であった(添付資料2)。これらの結果から、Fontaine IIb群では、プラスミド投与後3ヵ月で改善傾向がみられるが、小委員会は様々なバイアスを考慮すると、これらの改善が遺伝子プラスミド投与による効果である根拠に乏しいこと、また6ヶ月以降については欠測データが多く判定不能と判断しており、本委員会もこれを承認した。

Fontaine III群(安静時疼痛、4肢)は閉塞性動脈硬化症2肢及びピュルガー病2肢であり、Fontaine IV群(足趾潰瘍又は壊死、11肢)は、閉塞性動脈硬化症6肢及びピュルガー病5肢であった。Fontaine III群及びIV群の重症虚血肢(15肢)におけるプラスミド投与2ヵ月後の成績は「改善」6例、「保留」6例、「不変」3例であり「悪化」症例はなかった。3ヵ月後の成績は、患者不来院のため検査データがなく判定不能の1例を除いた14肢のうち、「改善」は9例、「保留」1例、「不変」3例、「悪化」1例であった。14肢のうち、2ヵ月後の評

価と変わらなかったのは9肢であり、3肢で「保留」から「改善」になったが、1肢で「不変」から「悪化」に移行したと判断された。6ヵ月後は「悪化」例（同意番号4）が足趾の切断に至った他は、3ヵ月後の評価と変りがなく、「改善」の認められた症例では、6ヵ月後も「改善」が維持されていることを示した。治療3ヵ月後に「改善」と判定された9肢のうち、24ヵ月後も改善を維持したのは7肢あり、残り2肢のうち1肢で「改善」から「保留」になり、他の1肢では、人工血管感染により再バイパス術を施行した。この成績から Fontaine III群、IV群の重症虚血肢では治療後3ヵ月で「改善」を示す症例が15例中9例に認められ、3ヵ月後に「改善」を示す症例は、その多く（9例中7例）が24ヵ月後も「改善」を維持したと判断した（添付資料2）。一方、治療2～3ヵ月後に「改善」の認められない場合（「不変」または「悪化」）は予後が不良と考えられた。また、プラスミド投与量と有効性については、症例数が少なく、プラスミド2mgと4mg投与の間で用量依存性を確認することはできなかった。

以上の有効性に関する成績から小委員会は、本遺伝子治療臨床研究の対象となった Fontaine III群及び Fontaine IV群において、HGF プラスミド投与が明らかな改善傾向があると結論したが（添付資料2の資料2）、本審査委員会は、個々の評価については、小委員会の判断を承認するが、本遺伝子治療臨床研究には、対照群がなく様々なバイアスが存在すること、十分な症例数における検討でないことから、有効性については、多くの症例で改善が認められるものの、総合判断はより慎重でなければならないとの意見が多数を占めた。したがって、本審査委員会は、有効性について次のように判断した。

Fontaine II b 群（高度跛行）における有効性については、本臨床研究では、HGF プラスミド投与後3ヵ月において、改善傾向を認めるが、無視し得ない様々なバイアスが存在している可能性が高いこと、6ヵ月以降の有効性の判断ができないこと、および一般的な治療患者群と比較してもその差が明らかとは言えないことから、Fontaine II b 群（高度跛行）においては臨床症状およびトレッドミル運動負荷検査上の改善傾向は認められるが、HGF プラスミド投与と因果関係があるとの明確な結論は得られないと判断した。Fontaine III群（安静時疼痛）および Fontaine IV群（足趾潰瘍または壊死）において、HGF プラスミド投与後3ヵ月までに15例中9例に臨床症状または潰瘍の改善が認められ、そのうち7例で24ヵ月後も「改善」が維持されたが、本臨床研究にはコントロールがなく様々なバイアスが存在することから、HGF プラスミド投与が改善をもたらしたとの結論に達するには、その科学的根拠が十分でないと考えられた。有効性を科学的に検証するためには、プラセボ対照2重盲検試験が必要であり、前述の安全性に関する評価も考慮して本遺伝子治療は第III相試験を実施するのに価値ある治療法であると判断した。

5. 本遺伝子治療臨床研究の実施及び評価にあたっての問題点

本遺伝子治療臨床研究の実施にあたって幾つかの問題点が認識された。それらは、本臨床

研究の限界を示すものでもあるが、今後の改善に資するものと考え以下にまとめる。

- (1) 遺伝子治療については文部科学省の「大学等における遺伝子治療臨床研究のガイドラインの規程について」および厚生労働省の「遺伝子治療臨床研究に関する指針」に従って本遺伝子治療臨床研究審査委員会が設置され、遺伝子治療臨床研究実施の倫理性・科学性の検討のみならず、評価まで含めて実施するよう規定された。

本審査委員会では、構成メンバーに、本遺伝子治療の対象領域の専門家が2名しか含まれていないことから、遺伝子治療臨床研究適応・評価小委員会(学内委員6名、学外委員3-4名)を設置し、専門家の立場から適応患者の選定、臨床研究実施上の指導、成績の評価を行い、本審査委員会に答申する体制を構築した。適応・評価小委員会は、本審査委員会の諮問委員会として個々の症例の具体的検討を行ったが、検討・審議に費やされる時間と労力は予想以上に莫大であり、新GCP基準に準拠したモニタリング(SDV(Source Data Verification)機能)の実施は組織体制上不可能であった。申請者らが要請したNPO法人 日本臨床研究支援ユニットによる外部監査が実施されたが、プラスミド投与後3ヵ月までの臨床研究に対する監査であり、以後の研究に関する監査は実施されていない。本遺伝子臨床研究は、あくまでも自主研究であり、本審査委員会はデータの正確性・信頼性の責任は研究申請者にあることを確認したが、結果の解釈・評価について申請者と委員会見解に齟齬が生じた場合の取り扱いについては規程を設けておらず、委員会見解の規制力について議論がなされた。具体的には、申請者の公共への発表(学会発表、講演、論文発表)については、本審査委員会の判定がなされる前に申請者より研究結果の発表がなされたり、審査委員会の判断を超えた解釈や誇張された発表がなされたことは問題であった。Hypertension 誌(Hypertension, 44:203-209, 2004)への公表については、新たに造影された血管を“血管の新生”と記述したり、 $TcPO_2$ を主要評価項目と誤解されるような記述があったため申請者へ修正を申し入れた。申請者らは本審査委員会の見解を受け入れてHypertension 誌の編集長に修正を要望し、次号に修正記事が掲載されることになった。

- (2) 本遺伝子臨床研究では、申請者は可及的にプロトコールを遵守するよう努めたが、2年間の経過観察中、他院への転入院や、追跡期間中に他院で細胞治療をうける等、適正な評価に支障を生じる症例が認められた。とくに死亡例における病理解剖が遺族の拒否で実施できなかったことは本臨床研究の質を担保するために重大な弱点であると考えられる。本遺伝子治療臨床研究の有効性・安全性の評価のためにも死亡例の病理解剖は必須であり、2例ともそれがなされなかったことは、申請者と患者・家族との信頼関係が十分に確立されていなかった可能性も否定できない。また、遺伝子治療の規定上、対照群を設定できなかったことは、評価に大きな限界となったが、遺伝子治療

の特殊性のためやむを得ない規定であったと考える。

- (3) 本臨床研究は、トランスレーショナル・リサーチとして、申請者らは大学発のベンチャー企業（アンジェス MG）を設立し、本研究成果を第Ⅲ相治験に移行させる計画をすすめたが、このことは、申請者から本審査委員会にあらかじめ開示されなかった。その結果、本審査委員会は、当初の意図と異なり、結果的に利益相反に係わることになり、本審査委員の間で申請者に対する不信感を引き起こすことになった。その後、利益相反に関する対応が議論となり、本審査委員会の要請をうけて大阪大学の利益相反に関するガイドラインが策定された。今後、大学における臨床研究の成果をトランスレーショナル・リサーチとして産業界に移行させるプロセスの明確化が必要であると考えられた。

以上、大阪大学医学部附属病院で実施された 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に対する遺伝子治療臨床研究審査委員会の最終報告とする。本審査委員会、適応・評価小委員会の各委員及び本審査に支援頂いた関係各位に謝意を表す。

平成18年6月

大阪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 堀 正二

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

第一ステージ

第二ステージ

治療成績のまとめ

□ (最終投与 24 ヶ月後までの成績) □

2006 年 6 月 6 日改訂

- 抜粋 -

1. 試験全体の成績

1. 患者背景

ステージ	同意 取得番号	患者番号 ¹⁾	患者 イニシャル	年齢 ²⁾ (歳)	性別	投与量 (mg)	対象疾患名	Fontaine 分類 ³⁾
第 1	1	10101	TY	56	男	2	ASO	Ⅲ
	2	10105	IF	66	男	2	TAO	Ⅳ
	3	10104	FM	64	女	2	TAO	Ⅲ
	4	10102	NT	42	男	2	ASO	Ⅳ
	5	10103	KN	47	男	2	TAO	Ⅳ
	8	10106	SS	69	男	2	ASO	Ⅳ
第 2	9	10107	IF	67	男	4	TAO	Ⅳ
	11	10108	YY	61	男	4	TAO	Ⅲ
	15	10109	IS	67	男	2	ASO	Ⅱb
	16	10110	OH	60	男	4	ASO	Ⅱb
	17	10111	OM	66	男	4	ASO	Ⅱb
	20	10112	YS	70	女	2	ASO	Ⅳ
	22	10113	KK	59	男	2	TAO	Ⅱb
	23	10117	MM	27	女	2	TAO	Ⅳ
	24	10115	MN	53	男	2	TAO	Ⅳ
	25	10114	KK	78	女	2	ASO	Ⅲ
	26	10116	IS	66	男	4	ASO	Ⅱb
	27	10119	HJ	66	男	4	ASO	Ⅳ
	28	10118	OM	66	男	2	ASO	Ⅱb
	29	10120	SK	63	男	4	ASO	Ⅳ
	32	10121	SK	63	男	2	ASO	Ⅳ
	34	10122	HJ	66	男	4	ASO	Ⅱb

1): 遺伝子投与を実施した順番 2): 観察期開始前の同意取得時の満年齢 3): 観察期開始前の同意取得時の Fontaine 分類

2. 治療の経過

同意取得番号	患者番号 ¹⁾	対象疾患名	投与量 (mg)	予備投与	治療投与 1回目	治療投与 2回目	遺伝子治療対象肢
1	10101	ASO	2	2001年 6月25日	2001年 7月9日	2001年 8月7日	右下肢
2	10105	TAO	2	2001年 7月20日	2001年 8月3日	2001年 9月1日	右下肢
3	10104	TAO	2	2001年 7月4日	2001年 7月20日	2001年 8月16日	左下肢
4	10102	ASO	2	2001年 6月27日	2001年 7月11日	2001年 8月9日	左下肢
5	10103	TAO	2	2001年 6月29日	2001年 7月13日	2001年 8月11日	左下肢
8	10106	ASO	2	2001年 9月4日	2001年 9月18日	2001年 10月17日	右下肢
9	10107	TAO	4		2002年 3月5日	2002年 4月2日	左下肢
11	10108	TAO	4		2002年 4月2日	2002年 4月30日	左下肢
15	10109	ASO	2		2002年 4月3日	2002年 5月1日	左下肢
16	10110	ASO	4		2002年 4月11日	2002年 5月9日	右下肢
17	10111	ASO	4		2002年 5月9日	2002年 6月6日	左下肢
20	10112	ASO	2		2002年 6月20日	2002年 7月18日	左下肢
22	10113	TAO	2		2002年 6月27日	2002年 7月25日	左下肢
23	10117	TAO	2		2002年 8月6日	2002年 9月3日	右下肢
24	10115	TAO	2		2002年 7月24日	2002年 8月21日	左下肢
25	10114	ASO	2		2002年 7月9日	2002年 8月6日	左下肢
26	10116	ASO	4		2002年 8月1日	2002年 8月29日	右下肢
27	10119	ASO	4		2002年 8月16日	2002年 9月13日	右下肢
28	10118	ASO	2		2002年 8月8日	2002年 9月5日	右下肢
29	10120	ASO	4		2002年 8月22日	2002年 9月19日	左下肢
32	10121	ASO	2		2002年 8月22日	2002年 9月19日	右下肢
34	10122	ASO	4		2002年 10月4日	2002年 11月18日	左下肢

1): 遺伝子投与を実施した順番