

1. はじめに
2. 小委員会の構成
3. 臨床研究の経過
4. 判定方法
 - a. 血管造影の判定方法
 - b. 安全性の判定方法
 - c. 有効性の判定方法
5. データの限界
 - a. 安全性データの限界
 - b. 有効性データの限界
6. 判定結果
 - a. 安全性の判定結果
 - b. 有効性の判定結果
7. まとめ
8. 追記

1. はじめに

遺伝子治療臨床研究適応・評価小委員会（以下、小委員会）は、「HGF 遺伝子プラスミドを用いた末梢血管疾患（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」における遺伝子治療臨床研究審査委員会（以下、親委員会）の諮問委員会であり、専門家集団として実施計画書に基づいて科学的・客観的に適応患者の選定および安全性と有効性の確認と判定を行い、その結果を親委員会に対して報告するとともに、申請者に対して適切な助言を行ってきた。小委員会は、本臨床研究の安全性ならびに有効性の最終評価判定結果を以下の通り報告する。

2. 小委員会の構成

小委員会は血管外科疾患の専門家および本臨床研究実施に伴う関連疾患の専門医から構成されている。学内は血管外科を専門とする医師1名、腎臓内科専門医師1名、糖尿病専門医師1名、心臓外科を専門とする医師1名、放射線科専門医師1名、形成外科専門医師1名の計6名であり、学外は血管外科を専門とする医師1名、血管内科を専門とする医師1名、血管外科・消化器外科を専門とする医師1名の3名、計9名であった。またこの後、学外委員として医師1名を加えて最終的に計10名で評価判定を行った（資料1）。親委員会委員の2名はオブザーバーとして小委員会に出席できることになっており、小委員会は小委員会委員の全員一致を原則として判定を行った。

3. 臨床研究の経過

- 平成11年 4月 遺伝子治療臨床研究審査委員会（親委員会）が発足。
- 平成11年 6月 遺伝子治療臨床研究適応・評価小委員会（小委員会）設置。
- 平成11年11月 実施計画概要等の総合審査が終了。
- 平成12年 5月 文部省と厚生省から実施許可。
- 平成13年 6月 第1ステージの遺伝子プラスミド投与開始。
- 平成13年12月 第2ステージへの移行承認。
- 平成14年 3月 第2ステージの遺伝子プラスミド投与開始。
- 平成16年 9月 第2ステージ最終症例投与後2年経過。
- 平成17年11月 小委員会最終報告書作成。

4. 判定方法

a. 血管造影の判定方法

本臨床研究では血管新生ならびに血管腫発生の有無を確認することが特に重要と考えられていた。小委員会は申請者に対して、造影剤の一回使用量と注入速度、造影時のカテーテルの種類とカテーテル先端の位置等について、同一症例では血管造影施行日によらず全て統一するように指導した。また、画像処理に関しては、経時的な造影画像の比較では

digital subtraction angiography (DSA)を使用して造影のタイミングが一致した画像のみで経過判定を行うこと、画像処理において経時的に正確な比較ができるように画像強調を行わないこと、画像の重ね合わせ（あるいは重ね焼き）処理を行わないこと等を申請者に指導した。また、直径200 μ m（0.2mm）の血管が血管造影で認識できる限界であることを確認した。その上で、小委員会では出席委員全員で画像判定を行った。

b. 安全性の判定方法

小委員会は、安全性の有無とは本臨床研究が各段階で継続可能か否かという意味であると理解しており、最終的な判断は安全か否か（つまり本遺伝子治療が続行可能か否か）の二者択一にて判定を行った。本臨床研究において発生した有害事象とプラスミド投与との因果関係については、直接的で明らかな因果関係、時間的な因果関係、発生頻度による因果関係が認められるか否かから判断した。また、検査等を含む本臨床計画全体の安全性と、プラスミドとその投与方法の安全性の両者を判定した。

c. 有効性の判定方法

本HGF遺伝子治療臨床研究の目的は、プラスミド投与によって望ましい効果が得られるかどうかの「瀬踏み」を行うことにあると考えられた。本臨床研究はコントロールをしておらず、また様々なバイアスが存在することから、厳密な意味での「有効性」を判定することはできなかった。親委員会の助言を参考に小委員会は、一定の基準に基づいた「改善度」を評価判定した。判定基準は以下の通りである。「改善度」を「改善」「保留」「不変」「悪化」「判定不能」の5段階に分けた。Fontaine IIb群、Fontaine III群、Fontaine IV群では、それぞれトレッドミル運動負荷検査、VAS (Visual Analog Scale)、および最大潰瘍の直径を必須項目とした。トレッドミル運動負荷検査の最大歩行距離は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以上減少した場合を「VASの改善」、潰瘍は最大潰瘍の直径が25%以上減少した場合を「潰瘍の改善」と判断した。また、ABIは0.10以上上昇した場合を「ABIの改善」と判断した。次に、Fontaine IIb群、Fontaine III群、Fontaine IV群において、各群における必須項目とABIを組み合わせて評価判定を行った。具体的には、必須項目とABIの両方とも改善を認める場合を「改善」、必須項目のみが改善しABIが不変またはデータ欠測の場合を「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方とも不変の場合を「不変」、どちらか一方が悪化した場合を「悪化」、中止等により患者が来院せず検査そのものが不可能であるか検査が終了できなかった場合を「判定不能」とした。Rutherfordの虚血肢取扱い基準に示されている臨床状態の変化についての段階表では「慢性虚血肢の臨床分類」の少なくともI群改善あるいはABIが0.10以上上昇した場合は改善と判断されている。しかし、ここではより正確を期す目的で、臨床状態の変化についての段階表では「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」、その他は必須項目とABIの両方で改善が認められた場合に「改善」と判断した。

5. データの限界

a. 安全性データ

本臨床研究の観察期間は2年間であった。一般的な診察および検査項目の実施日は、プラスミド2回目投与後1ヶ月までは毎週、その後投与後3ヶ月までは隔週、その後投与後6ヶ月までは毎月、その後投与後24ヶ月までは3ヶ月毎であった。プラスミド投与後の初期は患者が入院期間中であり経過を追ってデータを得ることが可能であった。その後外来通院となった後は詳細なデータを得ることは困難であった。そのため、外来通院期間においては、「重篤な有害事象」をとらえることは可能であったが、その重篤な有害事象が発生するまでの間の「有害事象」ならびに詳細なデータの多くは捉えきれていなかったと考えられる。そのため、プラスミド2回目投与後6ヶ月以降の安全性の評価は「重篤な有害事象」と定期的諸検査の結果が中心となった。小委員会は、これらの限界は経過観察が2年にわたる長期間であることに由来するものと判断した。

b. 有効性データの限界

本HGF遺伝子治療臨床研究は症例数が少なく、コントロールを置いた二重盲検法ではないので、厳密な意味で有効性を正確に判断することは困難であった。小委員会では以下に述べる様々なバイアスを否定できないことを認識している。つまり、1ヶ月間の観察期間を置いていることから限られた患者群が対象となっていること、そのため一般的な自然経過と単純に比較することができないこと、プラスミド投与群が明らかであるため申請者および患者あるいは申請者と患者相互間のバイアスを否定できないこと等がその理由である。このため、評価においては本遺伝子治療の有効性を判断するのではなく、本遺伝子治療による改善度を評価判定した。

また、Fontaine IV群において、潰瘍の治療にプロスタンディン軟膏およびフィブラストスプレーが使用されていた。この潰瘍処置が、潰瘍の治癒に影響した可能性について親委員会から諮問があったが、小委員会はその影響を無視しえると判断し報告した（資料2）。

6. 判定結果

a. 安全性の判定結果

対象となった22例の有害事象は1228件発生しており、因果関係が否定できなかったものは221件であった。プラスミド投与による急性アレルギー反応は認められず、投与部位の局所反応も許容範囲内であると判断した。また、HGFプラスミド注入によって血管腫の発生が懸念されたが、臨床研究期間を通じて注入部位の造影血管に血管腫を認めなかった。

研究期間中に皮下脂肪腫と膵管内乳頭粘液腫が各1例認められた。脂肪腫は両下肢に計6mgのプラスミドが投与された症例（同意番号15と26）であり、最終投与後24ヶ月に確認されたが、その後の再検査では確認されていない。直径が13mmと小さいため、CTスライス幅の中に入って描出できなかったことが原因と考えられた。小委員会としては、現時点でこの脂肪腫を一般の良性腫瘍と考えて矛盾はないと判断した。膵管内乳頭粘液腫は片足肢に2mgのプラスミドが投与された症例（同意番号20）の最終投与後24ヶ月に確認された。見直したところ同意取得前の画像にも存在していたが、その時点では指摘されていなかった。経過中に軽度の拡大傾向を認めたが、侵襲的な検査の適応は無く現時点では悪性の所見は認められなかった。小委員会として、膵管内乳頭粘液腫はHGFプラスミドの投与前から存在していたことから、HGFプラスミドが膵管内乳頭粘液腫の発生を引き起こしたものではないと判断した。薬物動態に関して、血中プラスミドは投与後2週間以内に消失しており、血中HGF濃度の上昇も認められないことから、投与されたプラスミドが遠隔臓器に影響を及ぼした可能性は低いと判断した。

このHGF遺伝子治療臨床研究では、研究期間中に17件の「重篤な有害事象」があった。（表1）。両下肢とも遺伝子治療の対象となった症例があるため、3症例において「重篤な有害事象」が重複して積算されている。Fontaine IV群では9件が4症例6肢に、Fontaine III群では6件が2症例2肢に、Fontaine IIb群では2件が1症例2肢に認められた。一方、本遺伝子治療の対象は総数で17名22肢であり、Fontaine IV群1肢、Fontaine III群4肢、Fontaine IIb群7肢であった。両下肢がHGF遺伝子治療の対象となったのは、Fontaine IV群2症例、Fontaine III群0症例、Fontaine IIb群2症例、Fontaine IVとFontaine IIb群1症例であった。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遺伝子投与が行われ最終投与後8ヶ月での死亡であった。死亡した中の一例はプラスミド投与による改善が見られず悪化した症例で高カリウム血症にて死亡した。もう一例は遠隔地の病院に入院後の死亡であったため詳細なデータが得られなかった。小委員会は、2例とも死亡とプラスミド投与との間に因果関係は認められないと判断した（資料3）。

間歇性跛行を主訴とするFontaine IIb群では特記すべき重篤な有害事象は無いが、重症虚血肢であるFontaine IV群とFontaine III群を有する患者においては、重篤な有害事象が高頻度にそして同一症例で重複して生じていた（表1、表2）。重症虚血肢を有する患者は全身状態が悪いことが多く生命予後も悪いことが知られている。これらの重篤な有害事象は重症虚血肢を有する患者の健康的特徴を表現していると理解された。小委員会は、表1および表2のデータに関して、発生した重篤な有害事象とHGFプラスミド投与と間に明らかな因果関係は認められないと判断した。また、HGFプラスミド投与が遠隔臓器に作用した可能性、あるいは対側肢に影響を与えたと考えられる有害事象は認められなかった。同意番号3（Fontaine III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あるが、その後患者が来院と検査を拒否したため、最終投与後24ヶ月までの検

査データはない。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無かったことは申請者が確認しており、小委員会は情報が得られた範囲内で安全と判断した。

ただし、以下の4例6肢においてHGF遺伝子治療が「炎症あるいはアレルギーを惹起する可能性」を完全には否定できなかつたため、付帯事項として指摘した(表2)。その後研究期間終了までの間に同様の症状は認められなかつた。付帯事項とプラスミド投与量の関係は、同意番号4(2mg)、同意番号11(4mg)、同意番号27・34(両側下肢へのプラスミド投与でそれぞれ各4mg計8mg)、同意番号29・32(両側下肢へのプラスミド投与でそれぞれ2mgと4mg計6mg)であった。これらの症例は全て重症虚血肢を有する症例であり、重篤な有害事象はこの群における患者の健康的特徴を表現していると理解された。症例数が少なく、個々の症例の病態も一様でないので、「重篤な有害事象」の発生におけるプラスミド投与量の用量依存性は確認できなかつた。小委員会は、「炎症あるいはアレルギーを惹起する可能性」について今後のHGF遺伝子治療臨床研究において引き続き安全性が確認される必要があると判断した。

糖尿病網膜症について：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、HGF遺伝子投与に基づく糖尿病網膜症の悪化の可能性が考えられ、プロトコール上、増殖網膜症症例においては網膜症安定後に投与が行われた。24ヶ月までの観察期間中に悪化した症例は認められなかつた。したがって、HGF投与が安定した増殖網膜症を悪化させる可能性は、本臨床研究の範囲内で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ついて：観察期間中の検査において心電図変化が認められた症例は無かつた。トレッドミル運動負荷検査において最後まで運動負荷が出来ず検査を途中で中止した症例とその理由は以下の通りである。HGF遺伝子最終投与後2ヶ月、同意番号28(対側肢の疼痛出現のため)、最終投与3ヶ月、同意番号34(胸痛のため、心電図変化はなし)、最終投与24ヶ月、同意番号15(ふらつき)、同意番号26(ふらつき)、同意番号34(息切れ)であった。申請者はいずれの症例も心電図上の変化は無かつたことを報告している。小委員会は、本臨床研究の範囲内でHGF遺伝子治療による冠動脈病変の進行の可能性は低いと判断した。

治療開始前から存在するBOOP (bronchiolitis obliterans organizing pneumonia) およびサルコイドーシスについて：同意番号2(9, 同一症例)における肺野BOOP所見は遺伝子治療前後において変化は認められなかつた。また、同意番号22は同意取得前にサルコイドーシスが指摘されていたが、同意取得前から臨床試験終了後の経過において変化は認められなかつた。BOOPおよびサルコイドーシスがHGF遺伝子治療の影響を受ける可能性について、小委員会は本臨床研究の範囲内で可能性は低いと判断した。

本臨床研究と関係する重篤有害事象等について：第1ステージにおいて血管造影時に脳梗塞症が1例に発生したが、第1ステージにおいて血管造影にて血管腫あるいは新生血

管を確認しえた症例は1例も無かった。そのため第2ステージでは血管造影の実施回数が5回から4回に変更された。第2ステージでは、安全性および有効性の判断において、血管造影上の変化は観察されなかった。血管造影は侵襲的検査であるため、安全性と有効性を確認する検査自体が合併症を引き起こす可能性を含んでいるが、本HGF臨床研究開始前にVEGF遺伝子治療の効果が血管造影で確認できたとの論文報告が存在すること、また血管腫発生の可能性が指摘されているため、血管造影を省略することは困難であった。小委員会は、血管造影時の脳梗塞症をプラスミド投与によるものではないが、本臨床研究自体と直接関係する重篤な有害事象と判断した。

以上より、小委員会は、遺伝子治療臨床研究を中止すべき明らかな事象がないとの判断から、本HGF遺伝子治療におけるプラスミド投与は安全と考えた。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」については完全には否定できないので、今後の臨床研究においてこの点は特に慎重に検討される必要があると判断した。

b. 有効性の判定結果

先行するVEGF遺伝子治療において血管造影により血管新生が確認されたとの報告があった。また、その後も血管造影により血管新生が確認されたとの報告が続いていた。そのため、本臨床研究においても当初は血管造影の結果に高い期待があった。しかし、小委員会にて検討した結果、血管新生の証拠となる画像所見は認められないという結論に達した。血管造影所見において遺伝子投与後の3例に「末梢血管抵抗の低下を認める（同意番号2）」、「新生血管とは考えられないが比較的太い血管の描出を認める（同意番号5）」、「血管増生と微細血管描出能の向上を認める（同意番号24）」という結果が得られたが（資料4）、その後はさらなる明らかな変化を認めなかった。これら3例は全てビュルガー病であり、その本態は特発性閉塞性血栓血管炎であるため血栓が溶解した時に再疎通が起こることが知られている。頻回の血管造影により動脈内の血栓が溶解した結果が捉えられた、あるいは血栓溶解による血行改善が観察された可能性が高い。閉塞性動脈硬化症患者の血管造影では同様の所見は1例も得られなかったのもこの結論と矛盾するものではない。従って小委員会は、これら3例の血管造影所見はビュルガー病の自然経過を観察しているに過ぎないと理解できるので「血管新生を示す画像所見ではない」と判断した。

Fontaine IIb群（7肢）は閉塞性動脈硬化症6肢とビュルガー病1肢であった。24ヶ月の研究期間に増悪して重症虚血肢（Fontaine III群またはIV群）になった症例、大または小切断に至った症例、および中止例は無かった（表3）（資料5）。小委員会は、Fontaine IIb群はプラスミド投与後3ヶ月まで有効性の判定が可能であるが、それ以降は判定不能と判断した。

高度跛行（Fontaine IIb群）7例の改善度を小委員会でまとめた結果を表3および資料5に示す。

(1) プラスミド投与後2ヶ月において2例が「改善」であった。2例とも投与後3ヶ月においても「改善」であった。

(2) プラスミド投与後2ヶ月において4例が「保留」であった。2例は投与後3ヶ月で「改善」、2例は投与後3ヶ月で「保留」のままであった。

(3) プラスミド投与後2ヶ月において1例が「不変」であった。この症例は、投与後3ヶ月で「保留」となった。

(4) プラスミド投与後24ヶ月まで、悪化症例は認められなかった。

Fontaine IIb 群では、1ヶ月間の観察期間をおいていること、歩行可能な患者が対象であり本人の意欲に依存する歩行運動が影響した可能性があること、本臨床研究はコントロールがない等、バイアスが存在する可能性があった。また、改善例が多いことと悪化症例が無かったことについて、適切な治療計画下に置かれた Fontaine IIb 群では必ずしも珍しい結果では無いと考えられた。

小委員会は、本遺伝子治療臨床研究の Fontaine IIb 群の対象肢において3ヶ月までに改善傾向が認められることを確認した。しかし、様々なバイアスを考慮すると、本遺伝子治療臨床研究のプラスミド投与が3ヶ月までの改善傾向をもたらしたとの直接的な因果関係は乏しいと判断した。つまり、小委員会は、本遺伝子治療臨床研究の Fontaine IIb 群において臨床的および検査上の改善を認めるが、厳密な意味においてその改善が遺伝子プラスミドによる効果であったと言える根拠がないと判断した。また、6ヶ月以降については有効性（および改善度）の判定を行える検査結果がそろっておらず、判定不能と判断した。

Fontaine III 群（4肢）は閉塞性動脈硬化症2肢およびビュルガー病2肢であり、24ヶ月間に増悪して Fontaine IV 群になった症例、あるいは大切断に至った症例は無かった。最終投与後8ヶ月で死亡した症例（同意番号11）が1例あった。

Fontaine IV 群（11肢）は、閉塞性動脈硬化症6肢およびビュルガー病5肢であり、観察期間に悪化した症例（同意番号4）が1例あった。この症例は最終投与後8ヶ月で死亡した。その他、Fontaine IV 群において不変のまま潰瘍疼痛のため足趾の小切断となった症例が1例あった。

重症虚血肢（Fontaine III 群および Fontaine IV 群、15肢）における判定不能は計6例であり、対象肢の関節拘縮に対してイリザロフ手術施行（同意番号1、Fontaine III 群、最終投与後4ヶ月後）、足趾潰瘍部位の小切断（同意番号23、Fontaine IV 群、最終投与後9ヶ月後）、以前にバイパスされた人工血管の感染に対して再バイパス術施行（同意番号25、Fontaine III 群、最終投与後5ヶ月後）、及び中止3例であった。中止3例は、死亡2例（同意番号11、Fontaine III 群、最終投与後8ヶ月にて死亡）（同意番号4、Fontaine IV 群、最終投与後8ヶ月にて死亡）、および患者の来院と検査の拒否（同意番号3、Fontaine III 群、最終投与後3ヶ月以降）であった。

重症虚血肢全体（Fontaine III 群および Fontaine IV 群）15例の改善度を小委員会がまとめた結果を表4および資料5に示す。