第 42 回科学技術部会	資料３－３
平成 19 年 12 月 27 日	

遺伝子治療臨床研究実施計画の申請及び遺伝子治療臨床研究に係る生物多様性影響評価に関する申請について（東京大学医学部附属病院）

（遺伝子治療臨床研究実施計画の申請）

○　諮問及び付議・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・P1

○　遺伝子治療臨床研究実施計画申請書及び概要書・・・・・・・・・・・・・・P3

○　同意説明文書・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・P24

○　厚生科学審議会科学技術部会
　　がん遺伝子治療臨床研究作業員会委員名簿・・・・・・・・・・・・・・・・P42

（遺伝子治療臨床研究に係る生物多様性影響評価に関する申請）

○　諮問及び付議・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・P43

○　第一種使用規程承認申請書・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・P45

○　生物多様性影響評価書・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・P48

○　厚生科学審議会科学技術部会遺伝子治療臨床研究作業委員会遺伝子治療
　　臨床研究に係る生物多様性影響評価に関する作業委員会・・・・・・・・・P63

厚生労働省発科第 1116001 号
平 成 19 年 11 月 16 日

厚生科学審議会会長
久 道 茂 殿

厚生労働大臣 舛 添 要 一

諮 問 書

下記の遺伝子治療臨床研究実施計画について、その医療上の有用性及び倫理性に関し、厚生労働省設置法（平成１１年法律第９７号）第８条第１項第１号イ及び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）の規定に基づき、貴会の意見を求めます。

記

平成 19 年 10 月 23 日に東京大学医学部附属病院病院長から提出された「進行性膠芽腫患者に対する増殖型遺伝子組換え単純ヘルペスウイルス G47Δ を用いた遺伝子治療（ウイルス療法）の臨床研究」計画

厚 科 審 第 1 1 号
平成 19 年 11 月 16 日

科学技術部会部会長
垣 添 忠 生 殿

厚生科学審議会会長
久 道 茂

遺伝子治療臨床研究実施計画について（付議）

標記について、平成 19 年 11 月 16 日付け厚生労働省発科第 1116001 号をもって厚生労働大臣より諮問があったので、厚生科学審議会運営規程第 3 条の規定に基づき、貴部会において審議方願いたい。

別紙様式第１

遺伝子治療臨床研究実施計画申請書

平成 19 年 10 月 23 日

厚生労働大臣　舛添　要一　殿

実施施設	所在地	東京都文京区本郷 7-3-1　（郵便番号 113-8655）
	名称	東京大学医学部附属病院　　03-3815-5411（電話番号）
	代表者 役職名・氏名	東京大学医学部附属病院　病院長　武谷　雄二

下記の遺伝子治療臨床研究について、別添の実施計画書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	総括責任者の所属・職・氏名
進行性膠芽腫患者に対する増殖型遺伝子組換え単純ヘルペスウイルス G47Δを用いた遺伝子治療（ウイルス療法）の臨床研究	東京大学医学部附属病院・脳神経外科・講師 藤堂　具紀

大臣官房厚生科学課
科　収第 1105002 号
H19. 11. 5

遺 伝 子 治 療 臨 床 研 究 実 施 計 画 概 要 書

平成 19 年 10 月 23 日	〈申請年月日〉

研究の名称	進行性膠芽腫患者に対する増殖型遺伝子組換え単純ヘルペスウイルス G47Δを用いた遺伝子治療（ウイルス療法）の臨床研究
研究実施期間	平成　　年　　月　　日　（承認日）から　　5 年間

総括責任者	所属部局の所在地	113-8655 東京都文京区本郷7-3-1	
	所属機関・部局・職	東京大学医学部附属病院・脳神経外科・講師	
	氏名	藤堂　具紀	
実施の場所	所在地	113-8655 東京都文京区本郷7-3-1	
	名称	東京大学医学部附属病院	
	連絡先	03-3815-5411	
総括責任者以外の研究者	氏名	所属機関・部局・職	役割
	稲生　靖	東京大学・大学院医学系研究科・脳腫瘍分子治療研究ユニット・特任講師	総括責任者補佐。ウイルス管理と準備。患者の手術、術前術後管理。データ管理。標本の管理と処理。
	田中　実	東京大学・医学部附属病院・輸血部・助教	患者の手術と術前術後管理。ウイルス準備補佐。標本の管理補佐と処理。

審査委員会が研究計画の実施を適当と認める理由	審査委員会では、提出された遺伝子治療臨床研究実施計画書を慎重に審査した結果、本遺伝子治療臨床研究実施計画は平成 14 年文部科学省・厚生労働省告示第 1 号「遺伝子治療臨床研究に関する指針」平成 14 年 3 月 27 日告示（平成 16 年 12 月 28 日全部改正）の必要条件を満たしていると認めた。 さらに非臨床試験成績から、従来の治療法では対処困難である進行性膠芽腫に対し治療効果が期待できること、さらに本研究で使用される組換えウイルスの品質および安全性は十分に保証されるものと認められたため、所轄官庁に臨床研究実施計画を申請することを決定した。なお、患者に発生する費用の説明について議論があった。（承認：平成 19 年 1 月 31 日）	
	審査委員会の長の職名	氏名
	東京大学医学部遺伝子治療臨床研究審査委員会　委員長 東京大学大学院医学系研究科医療倫理学分野　教授	赤林　朗

研究の区分	○遺伝子治療臨床研究（ウイルス療法）　　遺伝子標識臨床研究
研究の目的	本研究は、初期放射線治療にもかかわらず再増大または進行する膠芽腫の患者に対して遺伝子組換え単純ヘルペスウイルスⅠ型である G47Δの定位的腫瘍内投与を行う。オープンラベル方式によりコホート単位で 3 段階に用量を増加し、安全性の評価すなわち有害事象の種類と発生頻度の調査を主目的とする。副次目的として、画像上の腫瘍縮小効果や全生存期間、無増悪生存期間により G47Δの効果を評価する。
対象疾患及びその選定理由	（1） 対象疾患に関する現時点での知見 原発性脳腫瘍は人口 10 万人に年間 11～12 人発生するとされ、国内全体では年間 13,000～14,000 人程度となる。脳腫瘍全国統計によれば、原発性脳腫瘍の組織分類別の発生頻度は神経膠腫 26%、髄膜腫 27%、下垂体腺腫 18%、神経鞘腫 10%である。神経膠腫は神経細胞の支持組織であるグリア細胞から発生する原発性脳腫瘍であり、星細胞腫が神経膠腫の約 80%を占める。 星細胞腫はその病理学的悪性度により Grade 1～Grade 4 に細分類される。本試験の対象となる Grade 4 は膠芽腫とも呼ばれ予後が不良である。膠芽腫は、神経膠腫の 32%を占め 5 年生存割合は 6%である。神経膠腫は脳実質内に発生し浸潤性に発育するが、その中でも膠芽腫は特にその傾向が強く、境界が不鮮明で増殖速度も速く、各種治療を行っても再発は必至である。 膠芽腫の確定診断は組織学的診断によるため、画像診断にて膠芽腫が考えられる場合、手術による摘出術か生検が行われる。しかし、手術で腫瘍を全摘することは機能温存のため通常不可能であり、一般に術後には補助療法が行われる。術後補助療法は、現在はアルキル化剤である temozolomide と局所照射 60Gy を用いた放射線化学療法が欧米では標準治療として行われている。国内では、nitrosourea 系のアルキル化剤 ACNU と局所照射が従来最も一般的に行われてきたが、最近 ACNU に代わり temozolomide も使用されるようになった。他の化学療法薬が使用されたりインターフェロンβが併用されることもある。 膠芽腫は一般的に放射線抵抗性であり、化学療法への反応も低く、補助療法中にも治療に反応せず腫瘍が増大する症例もしばしば見られる。手術や診断技術の目覚ましい進歩にもかかわらず、膠芽腫の治療成績はこの 40 年間ほとんど改善が見られておらず、その生存期間中央値は、診断後約 12-14 ヶ月とされる。東京大学医学部附属病院におけるテント上膠芽腫の治療成績は、生存期間中央値では 60Gy の照射で 12.4 ヶ月、80-90Gy の照射で 16.2 ヶ月、2 年生存率は 60Gy の照射で 11.4%、80-90Gy の照射で 38.4%である。 現在再発時に有効な治療法として確立されたものはない。脳の耐容線量のため有効線量の追加照射は困難または無効な場合が多く、化学療法も種々の薬剤や投与方法が試みられてきた中で、再発に対して有効性が確立されたものはない。 このように、初期放射線治療後に進行した膠芽腫には有効な治療法が存在せず、予後は不良であり、従来とは異なるアプローチによる新たな治療法の開発が不可欠と考えられる。 （2） 当該臨床研究の概要 ウイルス療法（oncolytic virus therapy）は、腫瘍細胞内で選択的に複製する増殖型ウイルスを腫瘍細胞に感染させ、ウイルス複製に伴うウイルスそのものの直接的な殺細胞効果により腫瘍を治療する方法である。腫瘍内でのウイルスの複製能を最大限に保ちつつ、正常組織での病原性を最小限に押さえるため、ウイルスゲノムに人為的な遺伝子操作による改変を加えた遺伝子組換えウイルスを用いる。腫瘍細胞に感染した増殖型遺伝子組換えウイルスは腫瘍細胞内で複製し、その過程でウイルスに感染した細胞は死滅する。複製したウイルスはさらに周囲の腫瘍細胞に感染し、その後複製→細胞死→感染を繰り返して抗腫瘍効果を現す。ウイルス複製に伴い感染した腫瘍細胞は死滅するため、外来治療遺伝子を導入せずに腫瘍を治癒させることが可能であると期待される [1)]。脳腫瘍、特に神経膠腫は、定位的脳手術等により比較的容易かつ確実にウイルスの腫瘍内直接投与が行えることや、神経組織という高度に分化した非増殖細胞からなる組織に囲まれていること、腫瘍の他臓器への転移が稀であること、著効を示す治療法が存在していないことなどから、ウイルス療法の臨床試験対象に適している。 脳腫瘍の分野のウイルス療法では、単純ヘルペスウイルスⅠ型（HSV-1）の開発が進んでいる。HSV-1 が脳腫瘍治療に適しているとされるのは、次のような利点に基づいている。すなわち、HSV-1 は元来神経組織に親和性が高い上に、1）ヒトのほぼ全ての種類の細胞に感染可能である、2）比較的低い multiplicity of infection（MOI; 細胞数に対する感染性ウイルス投与量の比）で全ての細胞の死滅が可能である、3）脳における病原性を呈するのに必要なウイルス遺伝子が解明されており、遺伝子操作を加えることで病原性の除去が可能である、4）HSV-1 に感受

	性を示すマウスが存在するために、動物で安全性や効果の前臨床的評価を行える、5) 抗ウイルス薬が存在するために治療を中断することが可能である、6) ウイルス自体の免疫原性が比較的低く、血中抗 HSV-1 抗体が細胞間ウイルス伝搬に影響しない、7) ウイルス DNA が宿主細胞のゲノムに取り込まれない、という特徴を有する。 本臨床研究では、複製型遺伝子組換え HSV-1 である G47Δを、初期放射線治療後の進行性膠芽腫の患者の腫瘍内に定位手術的に注入する。G47Δは、米国で再発悪性グリオーマを対象として臨床試験（第I相）で用いられた第二世代複製型遺伝子組換え HSV-1 の G207 を改良した第三世代で、腫瘍細胞を破壊しつつ腫瘍内で複製するが、正常脳組織は傷害しないと考えられる[2)]。G207 および G47Δについての詳細は「遺伝子の種類及びその導入方法(8)」の欄に記載する。治療効果と複数回投与の安全性確認のため、投与は2回行う。3段階の用量増加にて安全性の評価すなわち有害事象の種類と発生頻度の調査を行うことを主目的とする。副次目的として、画像上の腫瘍縮小効果や全生存期間、無増悪生存期間により G47Δの効果を評価する。 （３） 他の治療法との比較及び当該治療法を選択した理由 初期放射線治療にもかかわらず進行または再発した膠芽腫に対して有効性が確認されている治療法は現在なく、治療手段は非常に限られている。手術で再度の摘出を行える場合は摘出術を試みるが、症状を悪化させずに再摘出を行える例は少ない。初期放射線治療では、脳の耐容線量の限界まで照射を行うため、追加放射線照射には線量、照射部位ともに限りがあり、有効性は期待できない。化学療法は、薬剤を変更して行われることがあるが、副作用もあり、有効性の確立されたものはない。総じて、化学療法および放射線治療に対する膠芽腫の感受性は低く、初期治療期間中の腫瘍増大もしばしば認められる。４０年来治療成績の向上がほとんど見られていないことから、膠芽腫の治療には全く新しいアプローチが必要であることは明白であり、ウイルス療法は有効性が期待される。上述のごとく、ウイルス療法の中でも HSV-1 は脳腫瘍治療に適している。「安全性についての評価 (5)ウイルスの細胞傷害性」に記載のとおり G207 は第Ⅰ相臨床試験において安全性が示され有効性を示唆する所見も得られている。「遺伝子の種類及びその導入方法 (9)G47Δウイルスの生物学的特徴」に記載のとおり動物実験において G47Δは G207 に比し優れた腫瘍縮小効果と同等以上の安全性を示す。G47Δは、安全性と効果を高めた最新世代の複製型遺伝子組換え HSV-1 で、進行が早く予後が極めて不良な進行性の膠芽腫の患者にも効果が期待できる。 (引用文献) 1. Todo T, Martuza, RL, Rabkin, SD, et al. Oncolytic herpes simplex virus vector with enhanced MHC class I presentation and tumor cell killing. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 98: 6396-6401.2001. 2. Hunter WD, Martuza, RL, Feigenbaum, F, et al. Attenuated, replication-competent herpes simplex virus type 1 mutant G207: safety evaluation of intracerebral injection in nonhuman primates. J. Virol. 73: 6319-6326.1999

遺伝子の種類及びその導入方法	（１） 人に導入する遺伝子の構造と性質 本臨床研究では、複製型遺伝子組換え HSV-1 である G47Δそのものが直接腫瘍細胞を破壊するものであり、治療目的で人に導入される外来治療遺伝子はない。なお、G47Δにはウイルス複製を検出するために大腸菌 LacZ 遺伝子 cDNA が挿入されており、G47Δが複製する腫瘍細胞に導入され一過性に発現される。 （２） 導入遺伝子からの生成物の構造および生物活性 LacZ 遺伝子からの生成物はβ-ガラクトシダーゼである。β-ガラクトシダーゼは分子量 116 kDa で四量体として機能し、ラクトースを分解してグルコースとガラクトースを生成する。β-ガラクトシダーゼは人体に対し毒性や病原性を有しない。「安全性についての評価 (5)ウイルスの細胞傷害性」に記載の如く、LacZ 遺伝子を発現する第二世代複製型遺伝子組換え HSV-1 である G207 が第Ⅰ相臨床試験において人の脳内（脳腫瘍内）に投与されており、LacZ 遺伝子生成物の安全性は示されている。 （３） 本研究で使用するその他の組換え DNA の構造と性質 本計画では他の組換え DNA は使用しない。 （４） 標的細胞とした細胞の由来及び当該細胞を標的細胞とした理由 本研究での標的細胞は膠芽腫の腫瘍細胞そのものであり、G47Δが感染した標的細胞でウ

イルス複製が行われる過程で腫瘍細胞が直接破壊される。

（５） 遺伝子導入方法の概略及び当該導入法を選択した理由

G47Δは定位的脳手術により腫瘍内へ直接投与する。定位的腫瘍内直接投与は、標的腫瘍細胞へ最も効率よく、また選択的にウイルスを感染させることができる方法の一つである。

（６） 野生型ウイルスの生物学的特徴及び人に対する影響

HSV-1 はエンベロープを持つ二重鎖 DNA ウイルスである。ゲノムの大きさが約 152kb であり、約 80 のウイルス遺伝子を持つ。ゲノムは両端に特徴的な繰り返し配列がある。ヒトを宿主とし、「口唇ヘルペス」として知られ、野生型ウイルスの初期感染は一般に軽症あるいは無症状である。まれに、角膜炎や脳炎を起こす。ヘルペス脳炎の発生は日本の調査では年間 100 万人に 2.9 人 11)、欧米では年間 20 万人に 1 人である。発癌性はない。免疫不全や新生児など特殊な条件下を除くと、HSV-1 はウイルス血症を生じることがなく、初期感染後全身に分布しない。成人の 60~70%は抗 HSV-1 抗体を保持している。抗ウイルス薬が存在し、重症の場合アシクロビル、バラシクロビルなどで治療される。

HSV-1 は、ヒトの粘膜表面（通常は口腔咽頭）への直接の接触により感染する。接触感染以外の感染形式はない。感染した局所で複製した後、神経末端から感覚神経節（しばしば三叉神経節）にウイルスは移送され、潜伏感染（latency）を確立する。潜伏感染においてはウイルスの複製は行われず、別の宿主への感染性を有しない。潜伏感染から再活性化（reactivation）が起きると、ウイルスは皮膚粘膜（通常は口唇）で顕在化し、水疱を形成する。

HSV-1 は、エンベロープが破壊・変性すると容易に感染性を失う。宿主から離れると常温では約 7 日で死滅する。Biosafety 上、消毒薬（chemical disinfectants）に対する感受性の点で lipid viruses に分類され、微生物の中で消毒薬に対する感受性が最も高い。物理的不活法（physical inactivation）として、HSV-1 は 56℃(30 分間)の加熱や紫外線照射(15 分間)、pH4 以下で速やかに感染性を失う。

（７） G47Δウイルスの作製方法

試験薬である複製型遺伝子組換え単純ヘルペスウイルス 1 型 G47Δは、院内製剤として cGMP 準拠施設である東京大学医科学研究所治療ベクター開発室にて製造される。製造は、東京大学医学部脳神経外科・講師・藤堂 具紀を責任者とし、東京大学医学部脳神経外科が行なう。マスターセルバンク、マスターウイルスストック制を採用し、使用する試薬も cGMP 準拠のものまたは医薬品規格のものを使用する。製造の４工程、すなわち、マスターセルバンク、精製前のウイルス回収液（バルクハーベスト）、精製後のウイルス、およびチューブに分注後の製剤において、英国 BioReliance 社に委託して品質試験を施行する。

（８） G47Δウイルスの構造

エンベロープおよびその内側のキャプシドは野生型 HSV-1 と同じである。G207 は二重の人為的変異を有し、二つの異なる機序で腫瘍特異的なウイルス複製を達成させ、臨床応用された第二世代複製型遺伝子組換え HSV-1 である。G47Δは G207 の改良型で、第三世代複製型遺伝子組換え HSV-1 に位置づけられる。正常組織では複製せず腫瘍細胞においてのみウイルス複製を可能にするため、ウイルスゲノムの遺伝子組換え操作により、３つの非必須遺伝子（合計４箇所）が人為的に除去或いは不活化されている。すなわち、２つコピーが存在するγ34.5 遺伝子の双方の欠失と、マーカーの LacZ 遺伝子の挿入による ICP6 遺伝子（ribonucleotide reductase (RR)の大サブユニットをコードする）の不活化、およびα47 遺伝子の欠失という三重変異を有する。

G47Δは、γ34.5 遺伝子欠失と ICP6 遺伝子不活化の二重変異を有する遺伝子組換え HSV-1 G207 のウイルスゲノムに、α47 遺伝子の欠失変異を加えることによって作製された。*γ34.5* は HSV-1 の病原性に関連した遺伝子で、これを欠失させた変異株は正常細胞でのウイルス複製能が著しく減弱する。正常細胞ではウイルス感染が起こると二本鎖 RNA 依存性プロテインキナーゼ(double stranded RNA-activated protein kinase: PKR)がリン酸化され、それが翻訳開始因子 eIF-2a をリン酸化し、その結果ウイルス蛋白を含む細胞内での蛋白合成が遮断される。*γ34.5* 遺伝子産物はこのリン酸化 PKR 機能に拮抗してウイルス蛋白の合成を可能にするが、*γ34.5* 遺伝子欠失 HSV-1 は正常細胞では複製できないことが判明している [1)]。しかし、正常細胞と異なり、腫瘍細胞では普遍的に感染に伴う PKR のリン酸化が低いため、*γ34.5* 遺伝子欠失の HSV-1 でも複製可能となると考えられている [2)]。RR はウイルス DNA 合成に必要な酵素であるが、この遺伝子を不活化すると、ウイルスは非分裂細胞では複製できず、分裂が盛んで RR 活性の上昇した細胞でのみウイルスの欠落酵素が補われてウイルス複製が可能となる。

α47 遺伝子のコードする蛋白質は、宿主細胞の抗原呈示関連トランスポーター(TAP)を阻害して細胞表面の MHC Class I の発現を抑えることによって、ウイルス蛋白の提示を抑制し、宿主の免疫サーベイランスから逃れる作用を有する。従ってα47 遺伝子欠失 HSV-1 では宿主細胞の MHC Class I 発現が維持され、抗腫瘍免疫細胞に対する刺激が強くなると期待される。また G47Δは、α47 遺伝子と重なる US11 遺伝子のプロモーターも欠失するため、US11 遺伝子の発現時期が早まり、これがγ34.5 変異の second site suppressor として機能してγ34.5 欠失 HSV-1 において減弱したウイルス複製能を腫瘍細胞に限って復元する。

これらの三重変異により、G47Δは、ウイルス複製に関して高い腫瘍特異性を示し、腫瘍細胞に限局した高い殺細胞効果を呈する一方、正常組織では毒性を呈さない。親ウイルス G207 に比較して、その安全性を維持しながら、抗腫瘍効果が格段に改善された。また G207 に比べ、高い力価のウイルス製剤が生産できることもあり、同じ容量でも高い治療効果が期待できる。G47Δは、ウイルスゲノム上、間隔の離れた 4 箇所の人為的変異を有することから、野生型 HSV-1 に戻る(revert)可能性がゼロに等しい点でも安全性の高いゲノム構造となっている。G47Δは HSV-1 strain F 由来であることから、37ºC では複製するが 39.5ºC では複製しないという温度感受性を有する。

（9） G47Δウイルスの生物学的特徴

① 培養細胞におけるウイルス複製能力：

G47Δは、臨床応用された第二世代複製型遺伝子組換え HSV-1 G207 の改良型であることから、G47Δの生物学的特徴については G207 との比較検討が主になされた。ヒト神経芽細胞腫株 SK-N-SH、ヒト膠芽腫細胞株 U87MG、ヒト膠芽腫細胞株 U373、ヒト頭頚部扁平上皮癌細胞株 SQ20B、およびアフリカミドリザル腎細胞株 Vero において、G47Δは G207 に比し優れた複製能力を示し、multiplicity of infection (MOI) = 0.01 にて感染後 24 時間後の産生ウイルスの回収量はG207 に比し 4 倍から 1000 倍高かった [3]。U87MG は MOI=2 でも検討を行い、感染後 24 時間後のウイルスの回収量は G207 に比し 12 倍高かった [3]。ヒト前立腺癌細胞株 LNCaP および Du145 においても、MOI=2 で感染させた 24 時間後の G47Δの産生ウイルス回収量は G207 に比し 22 倍高かった [4]。

② 培養細胞における殺細胞効果：

ヒト膠芽腫細胞株 U87MG、U373、U138、ヒト悪性黒色腫細胞株 624 および 888 においては MOI = 0.01 にて、またマウス神経芽細胞腫株 Neuro2a においては MOI=0.1 にて、感染後 3-4 日で G47Δは G207 に比しより速やかに細胞を死滅させた。U87MG 細胞株において G47Δ (MOI＝0.01, day3)が 80%の細胞を死滅させたのに対し、G207 は 10％の細胞を死滅させたのみであった [3]。ヒト前立腺細胞株 LNCap と DU145 において、MOI=0.1 で、G47Δは G207 に比べ有意に速やかな殺細胞効果を呈した [4]。

③ 感染宿主細胞の MHC Class I 発現に対する影響：

ヒト繊維芽細胞株 Detroit551 において、野生型 HSV-1（strain F）または G207 は、感染 24 時間以内に宿主細胞の MHC Class I の発現を 40％程度にまで低下させたのに対し、G47Δは MHC Class I の発現を 100%維持した [3]。ヒト悪性黒色腫細胞株を用いた検討では、MHC Class I の発現が元来比較的高い 938 株と 1102 株において、G47Δは G207 に比べ、感染後の MHC Class I の発現低下を有意に抑制した。MHC Class I の発現が元来低い 624 株、888 株、および 1383 株においては G207 との差は見られなかった。

④ 腫瘍反応性 T 細胞の活性化作用：

ヒト悪性黒色腫細胞株 938 および 1102 において、G47Δ感染腫瘍細胞は G207 感染腫瘍細胞に比べ、それぞれの細胞株に特異的に反応する腫瘍浸潤 T 細胞株の刺激によるインターフェロンγの分泌を 25-40％増加させた [3]。888 株においては、腫瘍浸潤 T 細胞刺激によるインターフェロンγの分泌は G47Δ、G207 いずれの感染腫瘍細胞でもほとんど見られなかった。

⑤ マウス皮下腫瘍に対する抗腫瘍効果

ヌードマウスの皮下に形成された U87MG ヒトグリオーマや A/J マウスの皮下に形成された Neuro2a マウス神経芽細胞腫に 1 x 10^6 plaque-forming units (pfu)を 2 回腫瘍内投与すると、G47Δは G207 に比し有意に優れた腫瘍増殖抑制効果を示した。U87MG 皮下腫瘍を有するマウスにおいて、G207 治療群では12匹中3匹に治癒が見られたのに対し、G47Δ治療群は12匹

中8匹に治癒が見られた。[3]。

アンドロジェン依存性前立腺癌細胞株であるヒト HONDA およびマウス TRAMP を用いたマウス皮下腫瘍モデルにおいて、G47Δを 2 回腫瘍内投与すると投与量依存性に腫瘍増殖が抑制された。また前モデルに対しては 2×10^5 pfu 2 回、後モデルに対しては 5×10^6 pfu2 回の腫瘍内投与を行い、ホルモン療法を併用するとさらに治療効果の増強が得られた[4]。またホルモン療法後にホルモン不応性となり再発したヒト前立腺癌 HONDA に対しても G47Δの腫瘍内投与は増殖抑制効果を示した[4]。

⑥マウス脳腫瘍に対する抗腫瘍効果：

マウス脳内に形成された U87MG ヒトグリオーマや Neuro2a マウス神経芽細胞腫に対し、それぞれ 1×10^6 pfu 単回および 2×10^5 pfu 2 回の腫瘍内投与を行うと、G47Δは G207 に比べ生存期間を延長した。 U87MG 対照群の生存期間中央値が 27 日であったのに対し、G207 治療群は 36 日,G47Δ治療群は 42 日と有意に生存期間を延長した。Neuro2a においては対照群の生存期間中央値が 11 日であったのに対し、G207 治療群は 14 日,G47Δ治療群は 15 日と生存期間を延長する傾向が見られた。

⑦マウス皮下腫瘍におけるウイルス複製能：

ヌードマウス皮下に形成された U87MG ヒトグリオーマ腫瘍内に 1×10^6 pfu のウイルスを投与し、48 時間後に複製したウイルス量を測定すると G47Δは G207 に比べ 5 倍高かった。

⑧マウス乳癌モデルにおける抗腫瘍効果：

マウス乳癌細胞株 M6c の皮下腫瘍および脳内移植腫瘍のモデルにおいて、それぞれ 2×10^7 pfu の 4 回腫瘍内投与および 2×10^6 pfu の単回腫瘍内投与を施行したところ、G47Δは G207 に比し有意に優れた抗腫瘍効果を示した[5, 6]。また、ヒト乳癌 MDA-MB-435 の脳内移植腫瘍に対して血液脳関門開放薬剤との併用で 1×10^7 pfu 単回の頚動脈内投与を行ったところ、対照群の生存期間中央値が12.9日であったのに対し、G47Δ治療群は17.4日と有意に生存期間を延長した[5, 6]。乳癌を自然発生する C3(1)/T-Ag マウスモデルにおいて、2×10^7 pfu の G47Δを毎週 1 回腫瘍内に投与したところ、対照群の生存期間中央値が 5.5 週であったのに対し、G47Δ治療群は 8.5 週と有意に優れた抗腫瘍効果を示した[5, 6]。

⑨ マウス神経線維腫モデルにおける抗腫瘍効果：

マウス神経線維腫症 2 型(NF2)の自然発生腫瘍モデル P0-SchΔ(39–121) line 27 において腫瘍の大きさを経時的に MRI にて観察したところ、1×10^7 pfu の 6 日おき 2 回の G47Δ腫瘍内投与にて腫瘍増殖が抑制される傾向が見られた。またヌードマウス皮下で継代した NF2 患者由来のヒト神経鞘腫おいて、1×10^7 pfu の 6 日おき 2 回の G47Δ腫瘍内投与を行なうと、腫瘍縮小効果が見られた[7]。

⑩ G207 を用いた調査

G207 は、ヒトグリオーマ及び悪性髄膜腫細胞株に対し高い殺細胞効果を示し、*in vitro* では MOI 0.1 で 3~6 日以内に腫瘍細胞を全滅させる。一方、同じ投与量でラットの初代培養の神経細胞や星状細胞には影響を及ぼさない。この効果は *in vivo* にも反映され、ヌードマウスの頭蓋内に形成された U87MG グリオーマや F5 悪性髄膜腫に G207（$2\sim5 \times 10^6$ pfu）を 1 回腫瘍内投与すると有意に生存期間が延長する。G207 は現在までに 60 種以上の細胞株で試され、脳腫瘍に限らず、多種のヒトの腫瘍に（血液腫瘍を除く)有効であることが確かめられている。

正常免疫下における G207 の抗腫瘍効果は、A/J マウス及び同系の N18（神経芽細胞腫）細胞や Neuro2a（神経芽細胞腫）細胞の脳腫瘍および皮下腫瘍モデル、および BALB/c マウスの CT26（大腸癌）皮下腫瘍モデルで調べられた。その結果、G207 は正常免疫下においても高い抗腫瘍効果を呈するのみならず、腫瘍内投与により特異的抗腫瘍免疫を惹起するため、抗腫瘍効果が増強されることが示された。この抗腫瘍免疫は腫瘍特異的な細胞傷害性 T 細胞活性（CTL）の上昇を伴い、脳内と皮下のいずれでも効果を示した。同じマウス腫瘍モデルでステロイド投与の影響を調べたところ、免疫抑制下においても腫瘍内のウイルス複製に変化はなく、基本的な抗腫瘍効果に影響は無かったが、ステロイド長期投与では CTL 活性の抑制に伴い、腫瘍の治癒率が減少した。 また、成人の 60ー70%は HSV-1 に対する抗体を保有するが、予め非致死量の HSV-1 を投与して抗体を形成させたマウスで調べた結果、G207 の抗腫瘍効果は血中の抗 HSV-1 抗体には全く影響されなかった。

	(引用文献) 1. Chou J, Kern, ER, Whitley, RJ, et al. Mapping of herpes simplex virus-1 neurovirulence to gamma 134.5, a gene nonessential for growth in culture. Science 250: 1262-1266.1990. 2. Farassati F, Yang, AD, Lee, PW. Oncogenes in Ras signalling pathway dictate host-cell permissiveness to herpes simplex virus 1. Nat Cell Biol 3: 745-750.2001. 3. Todo T, Martuza, RL, Rabkin, SD, et al. Oncolytic herpes simplex virus vector with enhanced MHC class I presentation and tumor cell killing. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 98: 6396-6401.2001. 4. Fukuhara H, Martuza, RL, Rabkin, SD, et al. Oncolytic herpes simplex virus vector g47delta in combination with androgen ablation for the treatment of human prostate adenocarcinoma. Clin Cancer Res 11: 7886-7890.2005. 5. Liu R, Martuza, RL, Rabkin, SD. Intracarotid delivery of oncolytic HSV vector G47Delta to metastatic breast cancer in the brain. Gene Ther 12: 647-654.2005. 6. Liu R, Varghese, S, Rabkin, SD. Oncolytic herpes simplex virus vector therapy of breast cancer in C3(1)/SV40 T-antigen transgenic mice. Cancer Res 65: 1532-1540.2005. 7. Messerli SM, Prabhakar, S, Tang, Y, et al. Treatment of schwannomas with an oncolytic recombinant herpes simplex virus in murine models of neurofibromatosis type 2. Hum Gene Ther 17: 20-30.2006.
安全性についての評価	（1） 遺伝子導入方法の安全性 G47Δの投与は脳腫瘍の生検などを目的に一般に用いられる、通常の定位脳手術の手法で行われる。遺伝子組換え HSV-1 の定位脳手術による脳腫瘍内投与法は、G207 の第 I 相臨床試験（米国）でも採用され、G207 に起因する grade 3 以上の有害事象は観察されず、安全性が確認されている。 （2） 遺伝子導入に用いるウイルスベクターの純度 臨床研究に使用される G47Δ製剤は、cGMP 準拠の管理施設である東京大学医科学研究所治療ベクター開発室において cGMP 生産される。サザンブロット法とゲノムシークエンシングにより正しい変異を有することが確認された G47Δを用い、WHO Vero 細胞のマスターセルバンクを用いて、ウイルスシードストックが作製される。臨床研究用製剤生産の 4 工程において、英国 BioReliance 社に委託して品質試験を施行する。 （3） 患者に投与する物質の純度及びその安全性 臨床研究用 G47Δ製剤は、cGMP 生産され、10% グリセリン/燐酸緩衝生理食塩水(phosphate buffered saline: PBS)の懸濁液として、滅菌状態で凍結用バイアルに分注され、-75℃以下で凍結保存される。患者に投与する製剤は、cGMP 生産の最終工程として英国 BioReliance 社に委託して品質試験を施行する。 （4） 増殖性ウイルス出現の可能性 G47Δ自体が複製可能型であるが、前述の通り、複数の機序を介して、そのウイルス複製は、高い特異性をもって腫瘍細胞に限られる。G47Δは、ウイルスゲノム上、間隔の離れた 4 箇所の人為的変異を有することから、野生型 HSV-1 に戻る(revert)可能性はゼロに等しい。野生型 HSV-1 が既に脳に潜伏している状態で脳内に複製型遺伝子組換え HSV-1 を投与した場合の、潜伏野生型 HSV-1 の活動を誘発する可能性 (reactivation) については、二重変異複製型遺伝子組換え HSV-1 G207 を用いてマウスで調査されており、潜伏野生型 HSV-1 の活動を誘発しないことが実証された。 （5） ウイルスの細胞傷害性 A/J マウスや BALB/c マウスは、HSV-1 に感受性の高いマウス系として知られる [8]。三重変異を有する第三世代複製型遺伝子組換え HSV-1 G47Δは、臨床応用を目的に安全性を主眼に開発された第二世代複製型遺伝子組換え HSV-1 G207 の二重変異ウイルスゲノムに更に遺伝子工学的に変異を加えて作製された、G207 の改良型である。A/J マウスを用いて、G47Δ（2 x 10^6 pfu）の脳内単回投与の安全性を、野生型 HSV-1 (strain F; 2 x 10^3 pfu) および G207 の可能最高投与量（2 x 10^6 pfu）を対照として盲検法で比較した [3]。 野生型 HSV-1 は 10 匹全て死亡したのに対し、G207 は 2/8 匹が一過性の軽度の外観異常、G47Δは 1/10 匹が一過性の軽度の外観異常を呈したに過ぎず、脳内投与において G47Δが G207 と同等以上の安全性を有していること、野生型 HSV-1 の少なくとも 1000 倍以上安全であることが示された（計画書添付

資料 5(2)12-1）。
更に A/J マウスを用い、G47Δの脳内投与、静脈内投与、腹腔内投与の安全性を、野生型 HSV-1（strain F）を対照に、繰り返し徹底的に調査した（計画書添付資料 5(2)12-2）。脳内単回投与では、野生型 HSV-1 (2×10^3 pfu)で 29/30 匹が死亡したのに対し、G47Δではその 1000倍量（2×10^6 pfu）で 30 匹全て、2500 倍量（5×10^6 pfu）で 29/30 匹が生存した。静脈内単回投与では、野生型 HSV-1 は 1×10^5 pfu で 11/15 匹、1×10^6 pfu で 22/25 匹、1×10^7 pfu で 6/10 匹が死亡したのに対し、G47Δは 1×10^7 pfu で 10 匹全て、4×10^7 pfu で 15 匹全て、2×10^8 pfu で 19/25 匹が生存した。腹腔内単回投与では、野生型 HSV-1 は、2×10^4 pfu で 2/25 匹、2×10^5 pfu で 2/25 匹、2×10^6 pfu で 3/10 匹が死亡したのに対し、G47Δは試験に用いた 60 匹全てが生存した（1×10^7 pfu が 5 匹、3×10^7 pfu が 25 匹、1×10^8 pfu が 20 匹、3×10^8 pfu が 10 匹）。以上より、脳内単回投与では、G47Δは野生型 HSV-1 に比べ 1000 倍以上の安全性を示すことが再確認された。また、静脈内単回投与や腹腔内単回投与では、野生型 HSV-1 でも全例死亡するほどの毒性を呈するに至らなかったが、死亡例が出始める最低投与量を比較すると、いずれの投与経路においても、G47Δは野生型 HSV-1 に比べ、少なくとも 1000 倍以上の安全性を呈することが示された。
G47Δは G207 の改良型ウイルスであり、G47Δは A/J マウスに対する脳内投与で G207 と同等以上の安全性を示すことが確認されている。G207 に関しても、動物を用いた徹底的な安全性評価が行われている。BALB/c マウスの脳内または脳室内単回投与では最高量 1×10^7 pfu で何の症状も認めず（計画書添付資料 5(2)12-3）、LD_{50} 量の野生型 HSV-1 の脳内単回投与を生き延びた BALB/c マウスの脳に再度 G207(1×10^7 pfu)を投与しても潜在 HSV-1 の再活動を誘発しなかった [9]。また、ヨザル（*Aotus nancymae* (owl monkey)）は HSV-1 に感受性が高い霊長類として知られており、合計 22 匹が G207 の安全性評価に用いられた [10, 11]。ヨザルの脳に野生型 HSV-1 (strain F)を 10^3 pfu を単回投与すると脳炎を生じて５日以内に死亡するが、G207 では 10^9 pfu までの単回投与或いは 10^7 pfu の反復投与でも症状を呈さず、MRI や病理学上も異常を示さなかった [10]（計画書添付資料 5(2)12-4）。カラムで精製した臨床用（clinical grade）の G207 の安全性は４匹のサルで詳細に検討され、3×10^7 pfu が脳内に単回投与された [11]。そのうち２匹は投与１ヶ月後に、２年前に laboratory grade G207 を 1×10^9 pfu 脳内投与された１匹とともに解剖され、全身組織の HSV-1 の分布を PCR 法とウイルス培養により検討し、また病理組織学的変化を検討した。観察期間中、サルは全く無症状の上、１ヶ月間採取した涙、唾液、膣分泌液からは PCR 法、ウイルス培養いずれでも HSV-1 が検出されなかった。１ヶ月後の剖検では G207 DNA が脳に限局し、感染性ウイルスは全く検出されず、病理学的には正常であった（計画書添付資料 5(2)12-5, 6）。また、全例で血清抗 HSV-1 抗体が G207 脳内投与約３週間後より上昇した。ヨザルを用いた安全性評価の結果は、マウスを用いた安全性評価の結果を再確認した。
G207 を用いた第 I 相臨床試験が、再発悪性グリオーマの患者 21 例を対象に、米国ジョージタウン大学とアラバマ大学バーミンガム校にて行われた。結果は論文で発表されている [12]。一投与量ごとに３例ずつ、1×10^6 pfu から３倍ずつ投与量を増やして 3×10^9 pfu まで、増強 CT の増強部位に定位脳手術により腫瘍内に単回投与された。その結果、G207 に起因する grade 3 以上の有害事象は認めず、軽度の adverse events として痙攣発作 2 例、脳浮腫 1 例を認めた。１例 (3×10^8 pfu)が投与後 24 時間以内に見当識障害と構語障害を呈したが、投与 14 日後の定位的生検は腫瘍所見のみで炎症を認めず、HSV 免疫染色も陰性であった。投与３ヶ月以上後の、腫瘍増大では説明できない神経症状悪化が２例あったが、いずれも生検で HSV 免疫染色が陰性であった。生検或いは再摘出術で得られた腫瘍組織７例中２例で PCR にて G207 DNA が検出された（投与後 56 日と 157 日）。G207 投与後、Karnofsky スコアの改善が６例（29%）に認められた。経時的 MRI 評価を行った 20 例中８例に腫瘍の縮小を認めたが、脳梗塞で死亡した１例を除いた全例にて再増大を認めた。ステロイド投与にも関わらず、術前抗 HSV-1 抗体が陰性であった５例中１例に陽転を認めた。剖検が５例で行われ、脳病理はいずれも脳炎や白質変性を認めず、HSV-1 免疫染色陰性であった。３例にて腫瘍が脳の１領域に限局し、膠芽腫に通常見られるような腫瘍細胞の周囲脳組織への著明な浸潤を認めなかった。脳梗塞で死亡した１例では残存腫瘍を認めなかった。この臨床試験で、G207 の 3×10^9 pfu までの脳内投与の安全性が確認された。

(引用文献)

8. Lopez C. Genetics of natural resistance to herpesvirus infections in mice. Nature 258: 152-153.1975.

9. Sundaresan P, Hunter, WD, Martuza, RL, et al. Attenuated, replication-competent herpes simplex virus type 1 mutant G207: safety evaluation in mice. J. Virol. 74: 3832-3841.2000.
10. Hunter WD, Martuza, RL, Feigenbaum, F, et al. Attenuated, replication-competent herpes simplex virus type 1 mutant G207: safety evaluation of intracerebral injection in nonhuman primates. J. Virol. 73: 6319-6326.1999.
11. Todo T, Feigenbaum, F, Rabkin, SD, et al. Viral shedding and biodistribution of G207, a multimutated, conditionally-replicating herpes simplex virus type 1, after intracerebral inoculation in *Aotus*. Mol. Ther. 2: 588-595.2000.
12. Markert JM, Medlock, MD, Rabkin, SD, et al. Conditionally replicating herpes simplex virus mutant, G207 for the treatment of malignant glioma: results of a phase I trial. Gene Ther. 7: 867-874.2000.

（６） 体内の標的細胞以外の細胞へ、また患者以外の人への遺伝子導入の可能性

本臨床研究はウイルス（G47Δ）のみの腫瘍内投与を行い、治療遺伝子の導入はない。G47Δは、ウイルス複製に関して腫瘍細胞に高い特異性を有し、腫瘍細胞以外では複製不能である。また、そのため自然界で増殖拡散し得ない。G207 の第 I 相臨床試験では、G207 の脳内投与後、尿中へのウイルス排出を検出しなかった。またヨザルを用いた非臨床試験では、G207 の脳内投与後、１ヶ月間採取した涙、唾液、膣分泌液からは PCR 法、ウイルス培養いずれでもウイルス排出が検出されなかった。

（７） 染色体内へ遺伝子が組み込まれる場合の問題点

HSV-1 のウイルスゲノムまたは遺伝子は宿主の染色体には組み込まれない。

（８） がん原性の有無

HSV-1 のウイルスゲノムまたは遺伝子は宿主の染色体には組み込まれず、HSV-1 にがん原性はない。遺伝子組換え HSV-1 を原因とするがんの発生は、臨床試験、非臨床試験いずれでも報告されていない。

（９） 遺伝子産物の安全性

G47Δは直接的な殺細胞作用により腫瘍細胞を破壊する。大腸菌 LacZ 遺伝子が G47Δから腫瘍細胞に導入され一過性に発現されるが、その遺伝子産物β-ガラクトシダーゼは人体に対し毒性や病原性を有しない。「安全性についての評価 (5)ウイルスの細胞傷害性」に記載の如く、LacZ 遺伝子を発現する第二世代複製型遺伝子組換え HSV-1 である G207 が第Ⅰ相臨床試験において人の脳内（脳腫瘍内）に投与されており、LacZ 遺伝子生成物の安全性は示されている。

（１０）細胞の安全性

G47Δウイルスはマスターウイルスストックを Vero 細胞(アフリカミドリザル由来腎細胞株)に感染させて作製する。

① 培養細胞の純度

Vero 細胞のマスターセルバンクは、ワクチン製造用に WHO で唯一認定されている Vero 細胞の Seed lot 10-87（WHO Vero）をもとに構築され、英国 BioReliance 社において無菌性、病原性ウイルス混入の否定、他種細胞の混入の否定などに関して品質試験を行う。

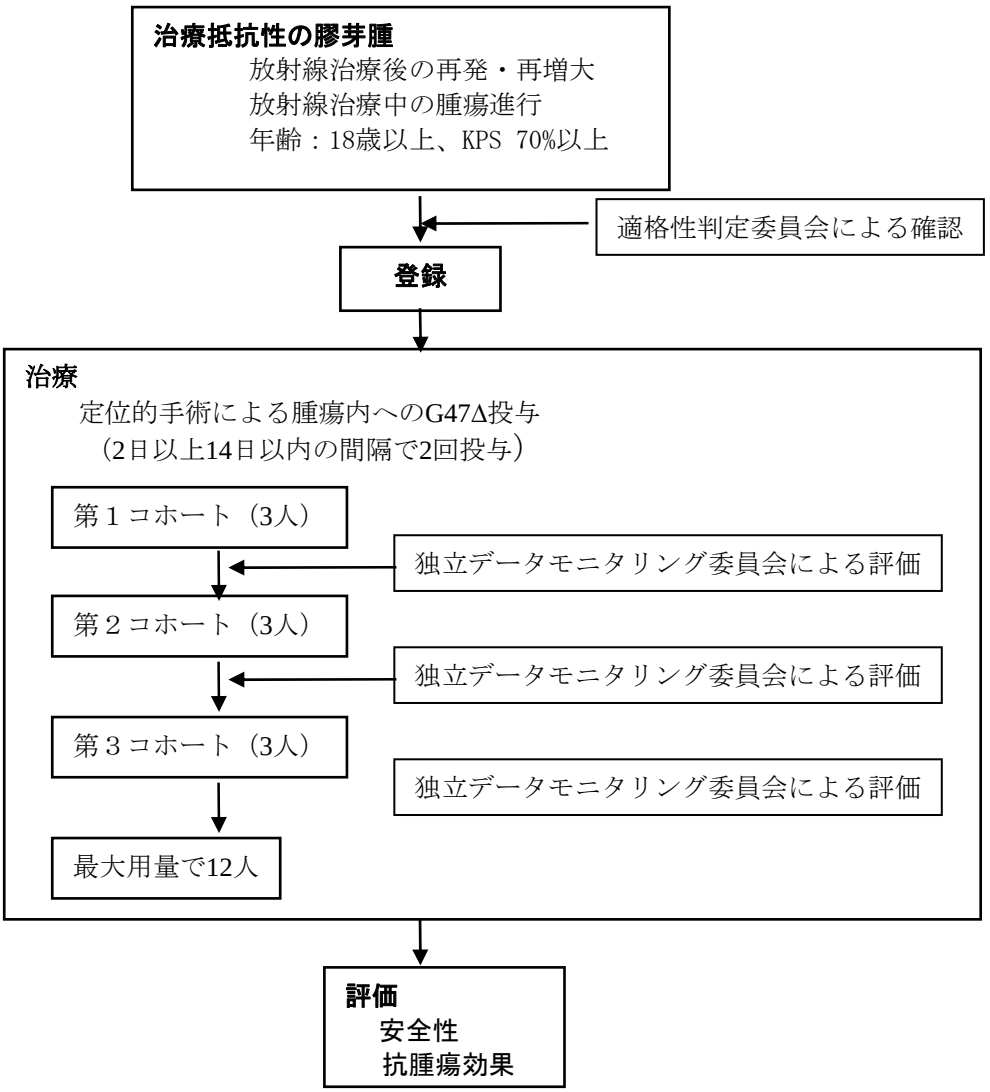
② 細胞の遺伝子型、表現型の安定性

マスターセルバンクの Vero 細胞については英国 BioReliance 社において品質試験を行う。G47Δウイルス作製にはマスターセルバンクからの継代数が低い Vero 細胞を用い、表現型は安定している。

③ 被験者に投与する細胞の安全性

本臨床研究では被験者に細胞成分の投与を行わない。

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	初期放射線治療後に進行または再発した膠芽腫に対して、確立された有効な治療法はなく、新しい治療法が必要とされる。培養細胞およびマウスを用いた前臨床研究では、G47Δの抗腫瘍効果と、安全性が示されている。増殖型遺伝子組換え単純ヘルペスウイルスである G207 を用いた膠芽腫を対象とした臨床試験が海外で行なわれており、その安全性が示されている。本臨床研究の遂行には、遺伝子組換え単純ヘルペスウイルスの取り扱いや、悪性脳腫瘍診療、定位脳手術に精通した者による実施が必要である。当施設はこの条件を満たす研究チームが存在し、かつ実施に必要な設備を有している。以上から本遺伝子治療臨床研究の実施は理論的にも、実質的にも可能であると判断される。

実施計画	（1） ウイルス療法臨床研究を含む全体の治療計画 本研究はオープンラベルによる用量増加　第 I-II 相試験である。 ① シェーマ  ② 対象疾患と病期 初期放射線治療にもかかわらず再増大または進行する膠芽腫の患者。東京大学医学部附属病院の受診患者（紹介患者を含む）の中で本試験を希望し、④I. 選択基準の項に記載ならびに臨床研究プロトコルに詳述の選択基準を全て満たし、かつ除外基準のいずれにも該当しない者を対象とする。 ③ 試験のデザイン 本試験は無作為化を行わないオープンラベルによる G47Δの段階的用量増加試験である。再発または進行性膠芽腫の患者を対象とし、定位的に腫瘍内に G47Δを投与する。2 日以上 14 日以内に同じ部位に同量の G47Δの 2 回目の投与を行う。 3 段階 3 例ずつの用量増加を行い、安全性が確認されたら、最大用量で更に 12 例に投与する。安全性の評価すなわち有害事象の種類と発生頻度の調査を主目的とし、副次目的として、画像上の腫瘍縮小効果や全生存期間、無増悪生存期間により G47Δの効果を評価する。 ④ 被験者の選択基準および除外基準 1. 選択基準 1) 病理学的に膠芽腫との診断が確定していること。かつ ①放射線治療に不反応となったもの。すなわち、放射線治療後に再発あるいは進

	行したもの、あるいは放射線治療中に腫瘍が増大しつつあるもの。 ②腫瘍の存在部位が除外基準に記されたものでないこと。 ③G47Δ投与前 14 日以内の MRI にて増影される病変が 1.0cm 以上あること。 ④化学療法の施行歴の有無は問わない。 2) Karnofsky Performance Scale (KPS) ≧ 70%。 3) 年齢 18 歳以上。 4) ステロイド投与は支障ないが、投与量が G47Δ投与前の 1 週間以内は一定であること。 5) G47Δ投与後少なくとも 6 ヶ月間はバリア型避妊を実行する意志があること。 6) 3 か月以上の生存が見込まれること。 7) 主要臓器の機能が正常であること（除外基準参照）。 8) 文書でインフォームドコンセントを行う能力と意志があること。 2. 除外基準 1) 既往歴 ①治癒可能な子宮頚部の *in situ* 癌および皮膚の基底細胞癌または扁平上皮癌を除く、他の癌の既往または併存。 ②脳炎、多発性硬化症、または他の中枢神経感染症の既往。 ③HIV 陽性またはその既往。 ④アルコールまたは他の薬物中毒の既往または併存。 ⑤MRI 検査(造影剤使用)が禁忌の場合。例えば、ペースメーカー、持続注入ポンプの体内留置、MRI 造影剤アレルギー。 ⑥その他、医学的あるいは精神的異常のため、プロトコル治療を遵守することが困難であると思われる場合。 2) 腫瘍の存在部位 ①脳外転移の存在。 ②頭蓋内に複数の（2 か所以上の）悪性グリオーマ病変の存在。 ③脳室・脳幹・あるいは後頭蓋窩に投与しなければならない場合、あるいは脳室経由で到達しなくてはならない場合。 ④上衣下・くも膜下播種。 3) 臨床検査値 ①白血球 ≦ 2.0 x 10^3/mm^3、好中球 ≦1.0 x 10^3/mm^3、血小板 ≦ 100,000/mm^3、 Hb ≦9.0 g/dl、INR or PTT>正常値の 1.3 倍。 ②血清クレアチニン≧ 1.7mg/dl。 ③肝トランスアミナーゼ （AST または ALT） > 正常値の 4 倍。 ④総ビリルビンまたは直接ビリルビン > 1.5mg/dl。 4) 併存疾患 ①活動性のヘルペスウイルス感染の存在。 ②臨床研究開始時に、HSV 対する抗ウイルス薬（アシクロビル、バラシクロビル）治療を必要とする場合。 ③手術の適応外となるような、活動性でコントロールされていない感染症の存在。 ④コントロール不良または重度の心不全・糖尿病・高血圧・間質性肺炎・腎不全・自己免疫疾患など。 5) アレルギー歴 ①抗 HSV 薬（アシクロビル）に対するアレルギーの存在。 6) 併用薬、併用療法 ①G47Δの投与に先立ち 30 日以内の他の臨床試験薬の投与。 ②G47Δ投与前 6 週間以内に免疫療法（インターフェロンなど）を行っていること。 ③G47Δ投与前 30 日以内の何らかのワクチン投与。 ④G47Δ投与前 30 日以内の脳腫瘍切除術。 ⑤遺伝子治療または G47Δ以外のウイルス療法の既往。 ⑥G47Δウイルス療法の既往または既登録者。 7) 妊娠に関する事項

①妊娠中または授乳中の女性。

8) その他

①その他、担当医師が不適切と判断する場合。

⑤ 被験者の同意の取得方法

1) 患者への説明

登録に先立って、担当医は患者本人に施設の遺伝子治療臨床研究審査委員会の承認を得た説明文書（計画書添付資料４）を患者本人に渡し、臨床試験コーディネーター（Clinical Research Coordinator: CRC）同席のもとで以下の内容を口頭で詳しく説明する。

i) 病名と病状に関する説明。

ii) 本試験が臨床研究であること。

iii) 臨床研究と一般診療との違い。

iv) 本試験のデザインおよび意義。

v) プロトコル治療の内容。

vi) 治療法、プロトコル治療全体の期間など。

vii) プロトコル治療により期待される効果

延命効果、腫瘍縮小効果など。

viii) 予想される有害事象、合併症、後遺症とその対処法について

合併症、後遺症、治療関連死を含む予期される有害事象の程度と頻度、及びそれらが生じた際の対処法について。

ix) 費用負担と補償

健康被害が生じた場合担当医師が適切な治療を行うが、健康被害に対する補償はないことなどの説明。

x) 代替治療法

現在の一般的治療法（緩和医療も含む）や標準治療法の内容、効果、副作用など。代替治療を選択した場合の利益と不利益。

xi) 試験に参加することで患者に予想される利益と可能性のある不利益

試験に参加することによって享受できると思われる利益と被る可能性のある不利益。

xii) 病歴の直接閲覧について

必要に応じて独立データモニタリング委員などの関係者が医療機関の施設長の許可を得て病歴などを直接閲覧する可能性に関する説明。

xiii) 同意拒否と同意撤回

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

xiv) 人権保護

氏名や個人情報は守秘されるための最大限の努力が払われること。

xv) 質問の自由

担当医の連絡先および研究代表者の連絡先を文書で知らせ、試験や治療内容について自由に質問できること。

2) 同意

i) 同意の方法

試験についての説明を行った翌日以降に、被験者が試験の内容をよく理解したことを確認した上で、試験への参加について依頼する。被験者本人が試験参加に同意した場合、付表の同意書を用い、説明をした医師名、説明を受け同意した被験者名、同意を得た日付を記載し、医師、被験者各々が署名する。

ii) 代筆者の署名に関する規定

神経症状（麻痺、振戦など）によって被験者本人の署名が困難である場合は、被験者名を代筆者が署名しても良い（ただし、同意そのものは本人の意思に限る）。代筆者は以下の者から被験者本人が指名する：被験者の配偶者、成人の子、父母、成人の兄弟姉妹若しくは孫、祖父母、同居の親族又はそれらの近親者に準ずると考えられる者。

iii) 同意文書の部数

同意書は 3 部作成し、1 部は被験者本人に手渡し、1 部はデータセンターが保管する。1 部はカルテに保管する。

iv) 同意書の改訂と再同意

被験者の同意に影響を及ぼすと考えられる有効性や安全性等の情報が得られたときや、被験者の同意に影響を及ぼすような実施計画等の変更が行われるときは、速やかに被験者に情報提供し、試験等に参加するか否かについて被験者の意思を改めて確認するとともに、遺伝子治療臨床研究審査委員会の承認を得て同意説明文書等の改訂を行い、被験者の再同意を得る。同意承諾を得て臨床研究が開始された後に、病状の増悪などにより本人に同意承諾能力がなくなったと判断される場合には、代諾者による再同意の判断を可能とする。

v) 同意の撤回

被験者はどの時点においても、またいかなる理由でも同意を撤回することができる。同意の撤回は付表の同意撤回書に被験者が署名して試験担当医師に提出することによってなされる。病状の増悪などにより被験者本人に同意撤回能力がなくなったと判断される場合には、代諾者による同意撤回の判断を可能とする。

3) 登録

i) 試験担当医師は、候補となる患者に説明を行い同意取得の後、所定の検査を実施して適格性の判断に必要な情報を収集する。

ii) 試験担当医師は、各選択基準および除外基準に関する情報を症例登録用紙に記載した後、施設内の適格性判定委員会に症例を提示し、対象患者が選択基準を全て満たし、除外基準のいずれにも該当しないことを確認する。その後に、独立データモニタリング委員会により適格性判定委員会の判定の確認を受ける。

iii) 記載した症例登録用紙をデータセンターに送付する。

iv) データセンターは、受領した内容を確認した上で登録番号を付与し、試験の進行段階に応じて G47Δ投与量の指定を行なう。その後、登録確認書を作成し、試験担当医師に送付する。受領した登録用紙の内容に不備が認められた場合、データセンターは試験担当医師に問い合わせ、不備を解決する。

4) プライバシーの保護と患者識別

被験者の個人情報を実施施設以外に提供する場合には、研究代表者／試験担当医師が匿名化を行う。匿名化は、被験者識別番号を付すことによって行う。

5) プロトコルの遵守

本試験に参加する研究者は、被験者の安全と人権を損なわない限りにおいて本研究実施計画書を遵守する。

⑥ 実施期間および目標症例数

i)実施期間

目標登録期間を約 1 年とする。観察期間を G47Δ投与完了後 90 日間とする。G47Δ治療後 2 年間、全生存期間と無増悪生存期間について追跡する。

ii)目標症例数

21 人（最大 30 人）。Grade 3 以上の G47Δに起因する有害事象が見られない場合、用量増加段階で 9 人、最大用量でさらに 12 人、合計 21 人の治療を行う。G47Δに起因する grade 3 以上の有害事象が出現し症例数の追加を行う場合の最大症例数は 30 人である。

⑦ ウイルス療法臨床研究の実施方法

i) 対照群の設定方法

この I-II 相試験はオープンラベルであり、盲検化は行わず、対照群も設けない。

ii)用量増加の方法

本試験ではコホート単位で用量を増加する。

1)1 群 3 例ずつ、3 群にわたって用量を増加する。1 回あたり $3.0x10^8$pfu、$1.0x10^9$pfu、または $3.0x10^9$pfu を 2 回投与、すなわち一人あたり合計 $6.0x10^8$pfu、$2.0x10^9$pfu、または $6.0x10^9$pfu を投与する。各群のそれぞれ 1 例目については、第 1 回の投与後 6 日間の観察期間をおいた後に、第 2 回の投与を行う。また、同群の次の患者の治療を開始するまでには、直前の被験者への第 2 回投与後、最低 6 日間の観察期間をおく。次のコホートに移るまえには、直前のコホートの最後の被験者への第 2 回投与後、投与日を含めて最低 14 日間の観察期間をおく。

2) 1 つのコホートで G47Δに起因する grade 3 以上の有害事象が 1 例もみられない場合は、次のコホートに進む。第 3 コホートで G47Δに起因する grade 3 以上の有害

事象が全く見られない場合には $6.0x10^9$pfu を最大用量とする。

3) ある用量で 1 人に G47Δに起因する grade 3 以上の有害事象が見られた場合には、そのコホートに被験者を 3 例追加する。追加 3 例に G47Δに起因する grade 3 以上の有害事象が見られない場合は、次のコホートに進む。第 3 コホートで被験者を追加した結果、G47Δに起因する grade 3 以上の有害事象が 6 例中 1 例以下の場合、$6.0x10^9$pfu を最大用量とする。

4) ある用量で 2 人以上に G47Δに起因する grade 3 以上の有害事象が見られた場合には、その時点でそれより 1 段階低い用量を仮の最大耐用量とする。

5) 仮の最大耐用量が設定された場合、そのコホートでの被験者を追加し、合計 6 例とする。その用量で G47Δに起因する grade 3 以上の有害事象の見られる被験者が 1 例以下の場合、その用量を最大耐用量と決定する。2 人以上に G47Δに起因する grade 3 以上の有害事象が見られた場合には、その時点で更に 1 段階低い用量を仮の最大耐用量とし、その用量で合計 6 例となるまで被験者を追加する。

6) 最小用量のコホートにおいて 2 人以上の被験者に G47Δに起因する grade 3 以上の有害事象が見られた場合には、この臨床研究は終了となる。

7) 最大用量または最大耐用量が定められたのちは、その量においてさらに 12 例の治療を行う。なお、この 12 例の治療中にこの用量での 3 分の 1 以上の被験者に G47Δに起因する grade 3 以上の有害事象が見られた場合には、試験を中断し、独立データモニタリング委員会で試験の中止・継続を検討する。

iii) 遺伝子導入方法

G47Δの脳腫瘍内投与は入院の上、手術室にて行う。投与に際しては、レクセル型の定位手術装置を使用し、局所麻酔または全身麻酔下に穿頭手術のうえ、MRI 画像のガイド下に腫瘍の造影部位に定位的に投与する。10%グリセリン/ 燐酸緩衝生理食塩水（PBS）で総量 1ml となるよう希釈した G47Δを、2-5 箇所の標的部位へ、生検の後に緩徐に注入する。第 1 回投与後 2 日以上 14 日以内に、再度同じ穿頭部位から第 2 回の投与を同様に行う。

iv) 臨床検査項目及び観察項目とそのスケジュールの概要

1) 同意説明後の適格性評価時
   - ① 現病歴、既往歴・手術歴
   - ② 理学所見、身長・体重
   - ③ 神経学的所見
   - ④ バイタルサイン
   - ⑤ KPS
   - ⑥ 薬剤服用歴
   - ⑦ 血算(白血球分画および血小板数を含む)
   - ⑧ 血液生化学検査
     - i) 肝機能（総ビリルビン、Al-P、LDH、γGTP、AST、ALT）
     - ii) 腎機能（クレアチニン）
     - iii) 電解質（Na、K）
   - ⑨ 凝固系（PT INR および PTT）
   - ⑩ 心電図
   - ⑪ 胸部 X 線
   - ⑫ 頭部造影 MRI

2) 登録後第 1 回 G47Δ投与前日まで
   - ① リンパ球 CD4/CD8 数および比
   - ② HSV 抗体価(ELISA)を含む血清学的検査。
   - ③ 遅延型皮膚過敏反応

3) 第 1 回 G47Δ投与前日
   - ① 神経学的所見
   - ② バイタルサイン
   - ③ KPS
   - ④ 血算(白血球分画および血小板数を含む)
   - ⑤ 血液生化学検査
     - i)肝機能（総ビリルビン、Al-P、LDH、γGTP、AST、ALT）
     - ii) 腎機能（クレアチニン）
     - iii) 電解質（Na、K）
   - ⑥ 凝固系（PT INR および PTT）

	⑦ 併用薬剤 ⑧ 有害事象評価 4) 第 1 回 G47Δ投与当日の投与前 ① 頭部造影 MRI 5) 第 1 回 G47Δ投与当日の投与中 ① 腫瘍組織採取 6) 第 1 回 G47Δ投与当日の投与後 ① 頭部単純 CT ② 神経学的所見 ③ バイタルサイン ④ KPS ⑤ 併用薬剤 ⑥ 有害事象の評価 7) 第 1 回 G47Δ投与翌日 ① 頭部単純 CT ② 神経学的所見 ③ バイタルサイン ④ KPS ⑤ 併用薬剤 ⑥ 血液生化学検査 i)肝機能（総ビリルビン、Al-P、LDH、γGTP、AST、ALT） ii) 腎機能（クレアチニン） iii) 電解質（Na、K） ⑦ HSV の尿中排出（尿の PCR。陽性の場合は定量的 PCR も） ⑧ 血清の PCR およびウイルス培養 ⑨ 有害事象の評価 8) 第 2 回 G47Δ投与前日 ① 神経学的所見 ② バイタルサイン ③ KPS ④ 血算(白血球分画および血小板数を含む) ⑤ 血液生化学検査 i)肝機能（総ビリルビン、Al-P、LDH、γGTP、AST、ALT） ii) 腎機能（クレアチニン） iii) 電解質（Na、K） ⑥ 凝固系（PT INR および PTT） ⑦ 併用薬剤 ⑧ 有害事象の評価 9) 第 2 回 G47Δ投与当日の投与前 ① 頭部造影 MRI 10) 第 2 回 G47Δ投与当日の投与中 ① 腫瘍組織採取 11) 第 2 回 G47Δ投与当日の投与後 ① 頭部単純 CT ② 神経学的所見 ③ バイタルサイン ④ KPS ⑤ 併用薬剤 ⑥ 有害事象の評価 12) 第 2 回 G47Δ投与翌日 ① 頭部単純 CT ② 神経学的所見 ③ バイタルサイン ④ KPS ⑤ 併用薬剤 ⑥ 血算(白血球分画および血小板数を含む) ⑦ 血液生化学検査 i)肝機能（総ビリルビン、Al-P、LDH、 GTP、AST、ALT） ii) 腎機能（クレアチニン） iii) 電解質（Na 、K） ⑧ HSV の尿中排出（尿の PCR。陽性の場合は定量的 PCR も） ⑨ 血清の PCR およびウイルス培養

	⑩ 有害事象の評価 13) 第 2 回 G47Δ投与 7 日後±2 日 ① 神経学的所見 ② バイタルサイン ③ KPS ④ 血算(白血球分画および血小板数を含む) ⑤ 血液生化学検査 i)肝機能（総ビリルビン、Al-P、LDH、γGTP、AST 、ALT） ii) 腎機能（クレアチニン） iii) 電解質（Na、K） ⑥ 凝固系（PT INR および PTT） ⑦ HSV の尿中排出（尿の PCR。陽性の場合は定量的 PCR も） ⑧ 血清の PCR およびウイルス培養 ⑨ 頭部造影 MRI ⑩ 併用薬剤 ⑪ 有害事象の評価 14) 第 2 回 G47Δ投与 28 日後±4 日 ① 理学所見。体重。 ② 神経学的所見 ③ バイタルサイン ④ KPS ⑤ 血算(白血球分画および血小板数を含む) ⑥ 血液生化学検査 i) 肝機能（総ビリルビン、Al-P、LDH、γGTP、AST、ALT） ii) 腎機能（クレアチニン） iii) 電解質（Na、K） ⑦ 凝固系（PT INR および PTT） ⑧ リンパ球 CD4/CD8 数および比 ⑨ HSV 抗体価(ELISA)を含む血清学的検査。 ⑩ 遅延型皮膚過敏反応 ⑪ 頭部造影 MRI ⑫ 併用薬剤 ⑬ 有害事象の評価 15) 第 2 回 G47Δ投与 2 ヵ月後±7 日 ① 理学所見。体重。 ② 神経学的所見 ③ バイタルサイン ④ KPS ⑤ 血算(白血球分画および血小板数を含む) ⑥ 頭部造影 MRI ⑦ 併用薬剤 ⑧ 有害事象の評価 16) 第 2 回 G47Δ投与 3 ヵ月後±7 日 ① 理学所見。体重。 ② 神経学的所見 ③ バイタルサイン ④ KPS ⑤ 血算(白血球分画および血小板数を含む) ⑥ リンパ球 CD4/CD8 数および比 ⑦ 遅延型皮膚過敏反応 ⑧ HSV 抗体価(ELISA)を含む血清学的検査。 ⑨ 頭部造影 MRI ⑩ 併用薬剤 ⑪ 有害事象の評価 v) 前処置および併用療法の有無 前処置はない。併用療法に関しては ① ステロイドは併用可である。ただし、適格性判定の 7 日前から第 2 回 G47Δ投与後 7 日後までの投与量は一定とする。臨床上の必要から投与量を変更する場合は、理由を患者経過記録用紙（CRF）に記載する。 ② 浸透圧利尿剤および抗痙攣剤に関しては制限を設けない。

③ 手術中および術後は原則として抗生物質の投与を行う。その内容には制限を設けない。
④ アシクロビル、バラシクロビルなどの抗 HSV 薬（ただし、G47Δ投与後の HSV-1 感染症-疑い例を含む-に対する投与を除く）、ステロイド以外の免疫抑制薬、あるいはインターフェロンなどの免疫療法薬は併用することはできない。
⑤ 併用薬剤は、市販薬やワクチン、および併用禁止薬剤も含めて、薬剤名、量、回数、投薬経路、日付、および投与理由を患者経過記録用紙（CRF）に記載する。

vi) 予想される有害事象およびその対処方法

G47Δの脳腫瘍内投与に伴う有害事象としては次のものが考えられる。

1) 試験薬 G47Δの投与によるもの
① 悪寒戦慄、筋肉痛、関節痛、リンパ節腫脹などの全身性ウイルス感染の症状
② かゆみ、じんま疹、血圧の変動、呼吸困難などのアレルギー反応
③ 発熱、痙攣、筋力低下、失語、意識障害などの HSV-1 脳炎の症状
④ 頭痛

2) 原病に関連するもの
① 意識障害、神経症状の出現や悪化
② 痙攣
② 頭痛、嘔気、嘔吐など頭蓋内圧亢進症状

3) 手術手技に関連するもの
① 意識障害、神経症状の出現や悪化
② 脳外出血や腫瘍内出血
③ 髄膜炎や創感染などの術後感染
④ 痙攣
⑤ 肺炎や肝機能障害など全身術後合併症
⑥ 髄液漏

G47Δ投与後に、発熱の持続や、痙攣、筋力低下、失語、意識障害、その他原病で説明困難な神経症状悪化の出現、および画像診断にて出血を伴う炎症や腫瘍周囲の浮腫の増大が見られた場合には HSV-1 感染に伴う脳炎を疑い、髄液（脳圧亢進がない場合）や血液の PCR 検査やウイルス培養の検査、さらに必要な場合には脳生検を行なう。HSV-1 感染に伴う脳炎である場合には、通常のヘルペス脳炎治療に準じて、アシクロビルなどの抗 HSV 薬を用いた治療を速やかに開始する。

vii) ウイルス療法臨床研究の評価方法、評価基準、および中止判定基準

1) 評価方法および評価基準

ア) 有害事象発生割合

適格・不適格を問わず、プロトコル治療の一部以上が施行された患者数（全治療例）を分母とし、第２回 G47Δ投与後 90 日までの下記の有害事象についてそれぞれ NCI-CTCAE ver3.0 日本語訳 JCOG/JSCO 版による最悪の Grade の頻度を（群別に）求める。

① 血液/骨髄：ヘモグロビン、白血球、血小板
② 代謝/臨床検査値：総ビリルビン、Al-P、LDH、γGTP、AST、ALT、Na、K、クレアチニン
③ 全身症状：発熱、倦怠感、筋肉痛、頭痛、食欲不振、悪心、嘔吐
④ 神経：意識障害、神経症状、痙攣
⑤ 感染：好中球減少に伴わない感染
⑥ 中枢神経合併症：脳炎、髄膜炎、脳内出血、腫瘍内出血、水頭症

イ) 重篤有害事象発生割合

プロトコル治療の一部以上が開始された患者数（全治療例）を分母として、以下のいずれかの重篤な有害事象がひとつ以上観察された患者数を分子とする割合を重篤有害事象発生割合とする。

①第１回 G47Δ投与から第２回 G47Δ投与後 30 日以内までの全ての死亡。（死因は治療との因果関係を問わない）

②第２回 G47Δ投与後から 31 日以降であるが、治療との因果関係が否定できな

い死亡。
③Grade 4 の有害事象。

ウ) 全生存期間 Overall survival
初回手術日を起算日とし、あらゆる原因による死亡日までの期間。生存例では最終生存確認日をもって打ち切りとする。追跡不能例では追跡不能となる以前で生存が確認されていた最終日をもって打ち切りとする。

エ) 無増悪生存期間 Progression-free survival（PFS）
第２回 G47Δ投与日を起算日とし、増悪と判断された日またはあらゆる原因による死亡日のうち早い方までの期間。「増悪 progression」は、画像上の PD（進行）、画像診断検査で確認できない原病の増悪（臨床的増悪）の両者を含む。増悪と判断されていない生存例では臨床的に増悪がないことが確認された最終日（最終無増悪生存確認日）をもって打ち切りとする。

オ) 奏効割合（奏効率）Response proportion（Response rate）
測定可能病変を有する適格例のうち、「効果」が CR または PR のいずれかである患者の割合を奏効割合とする。

2) 中止基準
早期中止とは、独立データモニタリング委員会の次のいずれかの判定により、臨床研究を予定より早く中止することをさす。

i) 重篤な有害事象または当該臨床研究以外の情報に基づき、本臨床研究の安全性に問題があると判定した。

ii) その他、症例登録の遅れ、プロトコル逸脱の頻発などの理由により、臨床研究の完遂が困難と判断した。

iii) 有害事象観察数に基づいての早期中止に関しては用量増加の項に記述する。

3) 委員会

i) 独立データモニタリング委員会
遺伝子治療臨床研究審査委員会のもとに独立データモニタリング委員会をおく。研究実施主体以外から 3 名以上の委員を遺伝子治療臨床研究審査委員会委員長が選出する。悪性脳腫瘍治療に精通する臨床医、統計の専門家、有害事象の評価を行う専門知識を有する者などから構成される。独立データモニタリング委員会は、以下の役割を有する。

① 適格性判定委員会の判定の確認
② 安全性･有効性の判定の確認と用量増加の可否の判断（コホート間）
③ 安全性･有効性の判定の確認と最大用量または最大耐用量の設定の適切性の判断（用量増加段階終了時）
④ 「重篤な有害事象」に関する報告書の受け取り、および本臨床研究との因果関係の判定

独立データモニタリング委員会は、下記の項目に関してプロトコル改訂の必要性を検討し、その結果必要な場合は総括責任者にプロトコルの改訂や試験の中止を勧告できる権限を持つ。

①. 登録期間の変更
②. 適格基準の変更
③. 目標症例数の再設定
④. プロトコル治療計画の変更
⑤. その他の必要な変更

ii) 適格性判定委員会
遺伝子治療臨床研究審査委員会のもとに適格性判定委員会をおく。適格性判定委員会は、対象患者が選択基準を全て満たし除外基準のいずれにも該当しないことの判定・確認を行なう。毎週月・水・金の朝 8 時から東京大学医学部附属病院脳神経外科で行なわれる定例カンファレンスにおいて適格性判定委員会を開催する。総括責任者または試験担当医師が症例提示を行うが、適格性判定には関与しない。適格性判定委員会での承認の記録は症例登録票に記載する。

iii) 遺伝子治療臨床研究審査委員会での審査

	登録に先立ち、実施施設における遺伝子治療臨床研究審査委員会においてプロトコルの審査を受け、承認を受ける。 viii) 到達目標と研究完了期間 目標症例数の達成をもって新規登録の終了とし、すべての登録症例について観察期間が満了し、症例報告書の提出が完了して時点で、本臨床研究は終了とする。 ix) 症例記録に関する記録用紙等の様式 症例記録報告書（CRF)は被験者毎に準備する。訂正の場合は、訂正事項が判読できるように一重線で抹消し、訂正者の署名と訂正の日付を添え書きする。記入は試験担当医師または CRC が行なうこととする。評価に関わる内容は担当医師が記入を行なう。 x) 記録の保存及び成績の公表の方法 研究代表者は、試験等の実施に関係する全ての文書（申請書類、各種通達文書、各種申請書・報告書、被験者識別コードリスト、同意書、症例報告書、その他データの信頼性を保証するのに必要な書類または記録など、またはその写し）を保存し、試験終了後最低 5 年間は保管する。 研究代表者はこの臨床研究の結果を学術雑誌・学術集会などで発表する。結果の公表を行なう場合には、個人情報保護に配慮する。研究結果は研究代表者に帰属する。この臨床研究から得られた情報は G47Δの医薬品としての開発に使用される可能性があり、その内容は様々な国の政府機関に公開される可能性がある。以上は、試験が途中で中止あるいは中断になった場合も同様である。 上記に記載された手続きを経た公表以外には、臨床研究で得られた結果は第三者に公開されることはない。 これは、文部科学省・厚生労働省の「遺伝子治療臨床研究に関する指針」（平成 14 年 3 月 27 日（平成 16 年 12 月 28 日全部改正)）に則って行う。
備考	

別表１

臨床試験日程	前 適格性評価	前 投与前日まで	1週 第1回投与前日	1週 第1回当日	1週 第1回翌日	2週 第2回投与前日	2週 第2回当日	2週 第2回翌日	3週 第2回投与7日後	5週 第2回投与1か月	9週 第2回投与2か月	13週 第2回投与3か月
身体所見												
説明と同意	O											
病歴・理学所見	O									O	O	O
バイタルサインと神経所見	O		O	O	O	O	O	O	O	O	O	O
KPS	O		O	O	O	O	O	O	O	O	O	O
有害事象評価			O	O	O	O	O	O	O	O	O	O
併用薬剤記録	O		O	O	O	O	O	O	O	O	O	O
検査所見												
血算と白血球分画	O		O		O	O		O	O	O	O	O
生化学および凝固系	O		O		O	O		O	O	O		
心電図	O											
胸部単純撮影	O											
リンパ球分画		O								O		O
遅延型皮膚反応		O								O		O
HSV抗体価		O								O		O
HSV排泄(尿)					O			O	O			
血清内HSV					O			O	O			
画像検査												
頭部CT				O	O		O	O				
頭部MRI(Gd造影)	O			O			O		O	O	O	O
治療・手術												
G47Δ投与				O			O					
腫瘍組織採取				O			O					

投与当日のMRIは術前に、CTは術後に施行する。

P23

平成19年10月23日第１版

同意説明文書

進行性膠芽腫患者に対する増殖型遺伝子組換え単純ヘルペスウイルスG47Δを用いた遺伝子治療(ウイルス療法)の臨床研究

【研究機関名および研究代表者氏名】

この研究が行われる研究機関と責任者は下に示すとおりです。

研究機関　　東京大学医学部附属病院

研究代表者　東京大学医学部附属病院脳神経外科　講師　藤堂 具紀

１．はじめに

東京大学医学部附属病院脳神経外科では、膠芽腫の新たな治療法としてウイルス療法の臨床研究を行っています。本文書は、あなたにこの臨床研究への協力をお願いするため、その内容などについて説明したものです。この臨床研究は厚生労働省の承認および本学の遺伝子治療臨床研究審査委員会の承認を得ています。今回参加をお願いする試験は、研究の成果が臨床に役立つか否かを調査するための臨床研究です。製薬会社などが行う、新薬の安全性･有用性を調べ厚生労働省の承認を得るための臨床試験、いわゆる治験ではありません。新しい治療薬の開発は、一般に、安全性を確かめるための臨床試験を行ったのち、少数の患者を対象に治療効果を調べる臨床試験を行い、その上で大勢の患者を対象に臨床試験を行います。この臨床研究は、その最初の段階です。本試験に参加されてもあなたの病気が良くならないかもしれません。しかし、あなたが試験に参加されることは、新しい治療法を開発する上で、今後同じ病気を持つ他の人々の役に立ちます。試験に参加されるかどうかはあなたの自由意思で決めて下さい。参加されなくてもそれを理由にあなたが不利益を被ることはありません。

あなたの病気は膠芽腫と呼ばれるものです。これまでに手術、放射線治療および化学療法などを組み合わせて総合的な治療を行って来ましたが、病気は進行しつつあります。

この臨床試験はG47Δという研究開発段階の薬を使います。研究開発段階の薬ということは、まだG47Δは膠芽腫の治療薬として厚生労働省の承認を受けていないということです。G47Δは遺伝子組換え型の単純ヘルペスウイルス(HSV-1)です。通常の単純ヘルペスウイルスは、口唇ヘルペスとも呼ばれ、口唇に水疱を生じさせる原因となるウイルスですが、ごくまれに角膜炎や重症の脳炎を起こすことがあります。ウイルスに腫瘍細胞を殺す作用があることは以前から知られていましたが、腫瘍細胞だけを選んで増殖し、正常組織を傷害しないような単純ヘルペスウイルスを遺伝子組換え技術を用いて作製したのがG47Δです。この臨床試験薬（G47Δ）は東京大学内で調製され、無償で提供されます。

G47Δは、遺伝子組換え単純ヘルペスウイルスであるG207の改良型です。G47Δが臨床で使用されるのはこの臨床試験が世界で初めてですが、G207についてはアメリカ合衆国で悪性神経膠腫の患者を対象に投与量を段階的に増やして安全性を確認するための第I相臨床試験が行われ、脳腫瘍内投与での安全性が確認されています。今回は、投与法を少し変更して、主にG47Δの安全性を確認し、同時に抗腫瘍効果を調べるものです。詳細は、後で述べます。

ウイルス療法は、最近開発された全く新しい腫瘍治療の方法です。国内外で、単純ヘルペスウイルスを始めいろいろなウイルスを用いて、脳腫瘍や癌に対してウイルス療法の臨床試験が行われています。近況についてお知りになりたい場合は、担当医師にお聞き下さい。

２．この試験の目的

この臨床試験の主な目的は、定位的脳手術を用いて脳腫瘍内にG47Δを投与することの安全性を確認することです。そのために、ある量のG47Δを3人以上の患者に投与させていただき、その量が安全であることを確認した後、次の段階の量を次の3人以上の患者に投与する、というように段階的に使用する量を増やしていきます。あなたに投与されるG47Δの量は、あなたが臨床試験に参加される時期によって定められた量になります。試験担当医師があなたにその量をお知らせします。

また、G47Δの膠芽腫に対する治療効果を画像などで評価します。

３．この試験の方法

この臨床試験の対象となる患者は、東京大学医学部附属病院脳神経外科外来を受診された、進行性膠芽腫の患者の中で、次のような条件に合う方です。この説明書には主な条件のみ記載してありますので、詳しくは担当医師におうかがい下さい。

<u>対象となる方</u>

(1) 以前の手術で腫瘍が膠芽腫であることが確定しており、放射線治療が行われた後に再発した方、あるいは現在放射線治療中であるにもかかわらず病気が進行している方。

(2) MRI検査で1cm以上の大きさの、造影剤で増強効果を受ける腫瘍が認められる方。

(3) ある程度自立した生活ができる程度の病状の方。

(4) 18歳以上である方、など。

<u>対象とならない方</u>

(1) 腫瘍が2か所以上に存在する方。

(2) MRI検査が行えない方。

(3) 手術を行うのが困難あるいは危険な状態の方。

(4) 血液生化学検査などで大きな異常がみられる方。

(5) 現在、抗ヘルペスウイルス薬による治療中である方。

(6) 妊娠中または授乳中の女性、など。

4．投与の実際

この臨床試験に参加される場合には、以下を含むいろいろな診察や検査が行われます。

-病状の経過についての問診、診察（血圧、脈拍、体温、呼吸数など）、および神経症状の診察
-心電図
-脳のMRIあるいはCT検査
-胸部レントゲン
-血液検査

診察と検査の結果、臨床試験に参加する条件を満たしており、あなた自身が参加すると決めた場合には、G47Δの投与を受けるために入院して頂きます。入院しながら2回手術を受け、2回ともG47Δの投与を受けることになります。1回目と2回目の手術の間隔は2日から14日間です。ただし、1回目の投与後に何らかの有害事象があった場合には、2回目の投与が行われないことがあります。

患者によって受けるG47Δの量が異なります。あなたが受けるG47Δの量は、あなたが臨床試験のどの時期と段階で参加されたかによって決まります。一般的には、ある試験薬の投与量が少なければ安全性上の懸念は減少するが効果への期待も少なく、逆に投与量が多ければ効果への期待は高まるが安全性上の懸念も増大するということが想定されます。G47Δの量によって安全性や効果に差があるか否かは判っていません。試験担当医師が、あなたが受けるG47Δの量と、いままで何人の患者がその量や異なる量で治療されてきたかを説明します。本臨床試験で予定されているG47Δの投与量は、1回あたり 3×10^8 pfu (感染単位)、1×10^9 pfu、3×10^9 pfuの3段階で、各投与量あたり3名から6名を予定しています。1回あたり 3×10^9 pfuで重篤な有害事象が見られない場合には、この投与量でさらに12名を予定しています。次の投与量群に移る前および最高投与量群で12名を追加する前には、研究チームから独立した院内の委員会によってそれまでの投与量群の被験者全例について有効性・安全性の暫定的な確認が行われます。

G47Δは手術をして、脳腫瘍の中に直接投与します。受ける手術は、定位的脳手術というものです。手術当日病棟にて、局所麻酔をしてから、頭に定位手術用の金属製の枠（フレーム）を頭蓋骨に固定して取り付けます。これは、腫瘍に正確に到達する経路を決めるためのものです。フレームを固定した状態でMRI検査を行います。その後、手術室に移動します。手術は通常局所麻酔で行いますが、全身麻酔で行うこともできます。頭部の皮膚を切開し、頭蓋骨に小さな穴を開け、その穴から先に決めた経路に沿って生検針を挿入し、腫瘍片を採取したのち、同じ針からG47Δを腫瘍内にゆっくりと注入します。腫瘍の大きさと形状に応じて、同じ頭蓋骨の穴から、2回から5回生検針を腫瘍内に挿入し、同じ操作を繰り返します。G47Δの投与が終了したら、針を抜き、皮膚を縫って手術を終了します。手術室でフレームをはずして、病棟に戻ります。術後CT検査を行います。

G47Δの投与後は、血液や排泄物中にG47Δが存在しないことが確認されるまで、個室に入院する必要があります。その期間は3日から1週間程度と予想されますが、個室入院期間中には個室外に出る自由が制限されます。また、排泄物等には消毒薬などを使用して特別なウイルス不活化処理を行います。これらは、遺伝子組換えウイルスであるG47Δが環境中に散らばって自然界の生物および微生物に影響を与える可能性を最小限に抑えるためのものですので、ご協力をお願いいたします。

1回目の手術のあと2～14日後に、同じ方法で2回目の手術を行い、同じ頭蓋骨の穴と投与経路を用いて2回目のG47Δ投与を行います。

2回目の手術後、7日間程度の入院が必要です。試験担当医師が、病状が安定したと判断するまで入院が延びることもあります。もし、腫瘍の増大や他の脳病変を疑わせるような画像診断結果や症状の悪化などがあれば、その原因を探るためにもう一度生検手術が必要となる場合があります。その際には、試験担当医師がその必要性をあなたに詳しく説明します。臨床試験中に行う画像検査による放射線被爆は、病状に悪影響を与えることはありません。術前から術後3ヶ月間は、比較的頻回に血液や尿の検査および画像検査を行いますので、協力をお願いいたします。表1のスケジュール表に予定をまとめて示しますので、ご覧になってください。

生検で採取された腫瘍片の一部は通常の病理学的診断のために、一部は検査と評価のために使用させて頂きます。

万一、将来あなたがお亡くなりになった場合には、G47Δの安全性と効果についてさらに情報を得るために、ご家族の方に病理解剖のご許可のお願いをすることになります。解剖の諾否によりこの臨床試験への参加の可否が左右されることはありません。

この臨床試験に参加するかどうかは、完全にあなたの自由意思に基づくもので、参加しないと決めることもでき、また、いつでも自由に参加を取りやめることができます。それにより不利益をこうむることはありません。本臨床試験への参加に同意されなかったり、同意後に参加をとりやめた場合には、一般に行われている進行性膠芽腫の治療の中から現時点で最善と考えられるものを実施いたします。詳しくは、「9．この臨床試験に参加されない場合の、他の治療法」の項で後述します。

もし、G47Δの治療により効果が見られても、臨床試験参加の最初にお伝えする量を超えた、追加のG47Δ投与を受けることは出来ませんので、ご了解ください。また、本臨床試験に再度登録して追加のG47Δ投与を受けることも出来ません。

現在、他の病院にて治療中の方でこの臨床試験に参加される場合には、その病院の担当医にその旨をお伝え下さい。他の治験または臨床試験に参加された、または現在参加されている場合には、その試験薬投与後30日間は本臨床試験には参加できません。この臨床試験への参加が決定しても、実際の治療が開始するまでには日数がかかります。治療開始日の具体的な目途は、試験担当医師に個別にお尋ね下さい。

５．併用療法

G47Δ以外の抗腫瘍治療、他の臨床試験薬、抗ヘルペスウイルス薬、ステロイド以外の免疫抑制薬、および免疫賦活剤は、本臨床試験の観察期間中（G47Δ投与後およそ３ヶ月間）併用できません。ただし、腫瘍の増大や病状の悪化が見られた場合は、その時点で臨床試験を終了し、他の治療に切り替えることができます。また、医学的理由のために必要と判断される場合には、他の治療を受けることができます。

現在、あなたが他の病院に通院されている場合は、その病院名と病名、使用しているお薬をお知らせ下さい。また、薬局等で購入して使用しているお薬がある場合もお知らせ下さい。これらの情報は、臨床試験を安全に行うために重要です。また、あなたが他の病院に通院されている場合は、この試験に参加していることをその病院にお知らせすることがありますので、ご了解下さい。

表１　観察・検査・報告スケジュール

臨床試験日程	前 適格性評価	前 投与前日まで	1週 第1回投与前日	1週 第1回当日	1週 第1回翌日	2週 第2回投与前日	2週 第2回当日	2週 第2回翌日	3週 第2回投与7日後	5週 第2回投与1か月	9週 第2回投与2か月	13週 第2回投与3か月
身体所見												
説明と同意	O											
病歴・理学所見	O									O	O	O
バイタルサインと神経所見	O		O	O	O	O	O	O	O	O	O	O
KPS	O		O	O	O	O	O	O	O	O	O	O
有害事象評価			O	O	O	O	O	O	O	O	O	O
併用薬剤記録	O		O	O	O	O	O	O	O	O	O	O
検査所見												
血算と白血球分画	O		O		O	O		O	O	O	O	O
生化学および凝固系	O		O		O	O		O	O	O		
心電図	O											
胸部単純撮影	O											
リンパ球分画		O								O		O
遅延型皮膚反応		O								O		O
HSV抗体価		O								O		O
HSV排泄(尿)					O			O	O			
血清内HSV					O			O	O			
画像検査												
頭部CT				O	O		O	O				
頭部MRI(Gd造影)	O			O			O		O	O	O	O
治療・手術												
G47Δ投与				O			O					
腫瘍組織採取				O			O					

投与当日のMRIは術前に、CTは術後に施行する。

KPS: Karnofsky Performance Scale, 日常生活の活動レベル。　　HSV: 単純ヘルペスウイルス。

血算、白血球分画、生化学、凝固系、リンパ球分画、HSV抗体価、血清内HSVの各検査は血液を採取して行う。

６．この試験の予定参加期間

あなたにこの試験に参加していただくのは約３ヶ月間です。手術後、１ヶ月後、２ヶ月後、３ヶ月後に診察と血液や尿の検査があります。診療の内容や検査の結果は、臨床試験経過記録用紙に記載されます。腫瘍の増大や病状の悪化が見られた場合は、その時点で臨床試験参加を終了し、他の適切な治療に切り替えます。

その後もG47Δ投与後２年間は病状などの経過を追跡しますので、ご協力下さい。

７．この試験への予定参加人数について

この臨床試験を行うのは東京大学医学部附属病院脳神経外科においてのみです。参加人数は、重度の有害事象が見られない場合、21 人を予定しています。

８．この臨床試験の予想される効果と、起こるかもしれない有害事象および不利益

あなたは、これまでに手術や放射線治療などを受けてきましたが、病気は現在進行しています。この臨床試験に参加した場合、医学的な治療効果はあるかも知れませんし、ないかも知れません。本臨床試験のように新しい治療法の開発初期においては、試験薬の投与を受けた個人への治療効果は一般に期待できません。しかし、この臨床試験の結果が同様の病気を持つ他の人々のために役に立ちます。

更に、この臨床試験で治療を受けることにより、後述のような有害事象や予期しない有害事象を生じる危険があります。有害事象が生じた場合は、最も適切と考えられる治療や処置を行います。しかし、有害事象の種類や程度によって、治療が長期にわたったり、治らないものであったり、重篤であったり、命にかかわったりする場合があります。

試験薬G47Δが臨床に使用されるのは、この臨床試験が世界で初めてです。本臨床試験は研究であり、予期しない種類や程度の有害事象が起こる可能性があります。有害事象のために入院が必要になることもあります。

以下、本臨床試験で受ける手術および試験薬G47Δの脳腫瘍内投与によって起こるかもしれない有害事象をそれぞれ列挙します。

・定位的脳手術に関連する有害事象

手術の前に、手術の方法と手術に伴うリスクを担当医師が詳しく説明します。手術を行うには、その都度、手術用の承諾書に署名していただく必要があります。

可能性がある有害事象

-出血：脳内や腫瘍内に出血を生じることがあります。症状を伴う出血の頻度は2-3 %と報告されています。出血の結果、神経症状の悪化や意識障害、後遺障害を生じることがあり、死に至る場合もあります。出血量が多かったり、血が止まらなかったりした場合は、開頭手術を行って止血や血腫除去を行うこともあります。

-神経脱落症状の出現：生検針を挿入することによって脳組織が傷つき、新たな神経脱落症状を生じることがあります。神経脱落症状には以下のものを含みます。症状が持続する場合も一過性の場合もあります。その頻度は腫瘍の存在する場所により異なりますので、個別に試験担当医師が説明します。

意識障害

顔や手足の麻痺

顔や手足の感覚障害

視野の欠損

失語（言葉がしゃべれなくなったり、理解できなくなったりすること）

性格の変化や記憶力の障害

目の動きやまぶたを開けることの障害

-症状の悪化：腫瘍内に生検針を挿入することによって、すでにある症状が更に悪化することがあります。

-脳内転移：腫瘍組織を生検針で採取することによって、脳内の別の部位に転移を来たすことがありえます。頻度はごくわずかと考えられます。

-感染：細菌の感染によって、髄膜炎を起こしたり、脳の中や外、硬膜の外、頭皮の下に膿がたまったり、創部が化膿したりすることがあります。頻度はわずかと考えられます。

なお、本臨床試験では、一回の手術で、２ー５つの異なる経路に生検針を挿入しますので、その分、出血、神経脱落症状、症状の悪化、脳内転移、および感染を来す危険性が 、１つの経路に生検針を挿入する場合に比べて高くなります。

-てんかん発作：手術のあと、てんかんによる痙攣発作を起こすことがあります。鎮静薬や抗てんかん薬の投与で対応しますが、てんかん発作が持続する場合には気管内に管を入れて静脈麻酔をすることがあります。てんかん発作が誘因となって脳内出血を来すこともあります。頻度はごくわずかと考えられます。

-髄液漏：切開した硬膜（脳の外を覆う膜）から脳脊髄液が漏れだして、頭皮の下にたまったり、創から漏れだしたりすることがあります。頻度はごくわずかと考えられます。

-手術に起因する死亡：発生する有害事象の程度、種類および経過によっては、手術を原因として死亡することがあります。頻度はまれと考えられます。

・試験薬G47Δに関連する有害事象

試験薬のG47Δ は遺伝子組換え型の単純ヘルペスウイルスです。通常の単純ヘルペスウイルスは、口唇ヘルペスとも呼ばれ、口唇に水疱を生じさせる原因となるウイルスで、ごくまれに重症の脳炎を起こすことがあります。皮膚、口腔粘膜、眼、そして尿路系に感染することもあります。G47Δは腫瘍細胞だけを選んで増殖し、正常組織を傷害しないように、遺伝子組換え技術を用いて単純ヘルペスウイルスを改変したものです。動物実験では、G47Δを脳内に投与しても高い安全性を示しました。しかし、G47Δを臨床に用いるのはこの臨床試験が世界で初めてですので、起こりうる有害事象はまだ判っていません。

G47Δは、遺伝子組換え単純ヘルペスウイルスであるG207 の改良型です。G207 はアメリカ合衆国で悪性神経膠腫の患者を対象に第I相臨床試験が行われ、21 人の患者の脳腫瘍内に投与されました。一投与量ごとに３人ずつ、1×10^6 pfuから３倍ずつ投与量を増やして3×10^9 pfuまで、定位脳手術によって腫瘍内に１回だけ投与されました。6 人で神経症状の改善があり、8 人でMRI上の腫瘍縮小が見られましたが、その後腫瘍は再増大しています。G207 の投与に起因する重度の有害事象はありませんでした。中等度以下の有害事象として痙攣が２人、術後早期の神経症状の悪化が１人に観察されました。また手術操作による出血を来した患者が１人、術後早期に腫瘍が増大した患者が１人いましたが、いずれもステロイドの投与で改善しています。頻度が高かった有害事象は頭痛で、次に筋力低下と嘔気でした。G207 の第I相臨床試験の結果から類推して、予想されるG47Δの有害事象は以下の通りです。

起こる可能性が比較的高い有害事象

眠気
頭痛
筋力低下
嘔気
思考および会話の障害
意識混濁
カゼ様の症状

可能性は低いが、重篤となりうる有害事象

脳炎
抗ヘルペスウイルス薬で治療すべきような広範囲のヘルペスウイルス感染
アレルギー反応
痙攣発作

脳炎が起こった場合には、高熱、意識混濁、意識消失、痙攣などが起こり、死亡することもありえます。慎重に観察を行い、このような感染があった場合には、抗ヘルペスウイルス薬の投与を行います。この場合、入院が必要になります。抗ヘルペスウイルス薬を投与しても有効でない場合がありま

す。感染の有無を調べるため、脳の生検や脳脊髄液の採取などの検査が必要なことがあります。

G47Δ投与の結果、腫瘍やその周囲に炎症や腫れが起きると、頭痛、眠気、疲労感、嘔気、嘔吐、痙攣、神経脱落症状などが生じ、死亡することもあります。

わが国の大半の成人はすでに単純ヘルペスウイルスに感染したことがあり、抗体を持っています。抗体を持っていない場合には、G47Δの投与後に抗体を生じることがあります。抗体が生じても害はありません。

胎児に対するG47Δの影響は判っていません。そのため、妊婦と授乳中の方、および妊娠を計画している方はこの臨床試験に参加できません。

・海外で行われた類似の臨床試験

G207： 先に一部記述しましたが、G207を用いた第I相臨床試験が、再発悪性グリオーマの患者21例を対象に、米国ジョージタウン大学とアラバマ大学バーミンガム校で行われました。投与量3×10^8 pfuの1例で投与後24時間以内に見当識障害と構語障害が見られましたが、投与14日後に脳組織を採取して検討したところ、脳炎の所見はなくHSVウイルスの免疫染色も陰性でした。投与3ヶ月以上後に、腫瘍増大では説明できない神経症状悪化が2例に見られましたが、脳組織を採取して検討したところいずれもHSV免疫染色は陰性でした。検査のための脳組織の採取あるいは再摘出手術で得られた腫瘍組織を検査したところ、感染性のウイルスは検出されませんでしたが、7例中2例でPCRという方法でG207のDNAが検出されました。G207投与後、神経症状の改善が6例（29%）に認められました。MRIにて腫瘍の大きさの評価を行った20例中8例で腫瘍の縮小が認められましたが、脳梗塞で死亡した1例を除いた全例で腫瘍は再び増大しました。術前抗HSV-1抗体が陰性であった5例中1例で陽転を認めました。病理解剖の結果は、脳炎などの異常は認めず、HSV-1免疫染色も陰性でした。病理解剖では3例で腫瘍が脳の1領域に限局しているのが見られ、また、脳梗塞で死亡した1例では残存腫瘍を認めませんでした。

9．この臨床試験に参加されない場合の、他の治療法

この臨床試験に参加しない場合は、次のような治療の方法が考えられます。

-開頭による摘出術（可能な場合）： 腫瘍の部位や進展の様式によって開頭による腫瘍摘出術が可能である場合があります。その場合、摘出術が腫瘍の量を減らす最も確実な方法です。但し、腫瘍が存在する脳を切り取ることになりますので、その部位の機能を失うことになります。また開頭手術と全身麻酔に伴うリスクが生じます。

-化学療法： これまでに化学療法（抗がん剤を用いた治療）を受けていない場合は、化学療法が有効である場合があります。テモダールというお薬は、悪性神経膠腫の治療に我が国で承認されており、現在もっとも一般的に使用されるお薬です。再発膠芽腫に対してもテモダールが有効である場合があります。初回再発膠芽腫患者を対象に欧米で行われた臨床試験では、テモダールはプロカルバジンというお薬に比べ、無増悪生存期間（病気が再び進行し始めるまでの期間）を約1ヶ月延長しましたが、全生存期間には差がありませんでした。すでに化学療法を受けた場合でも、他の化学療法薬に切り替

えると効果が見られることがあります。化学療法はいずれのお薬でも副作用が見られます。効果の増強を期待して複数のお薬を組み合わせて化学療法を行うことがありますが、一般に複数のお薬を用いた化学療法は単剤を用いる場合よりも副作用が強くなります。

-追加の放射線治療（可能な場合）： 脳が耐えられる放射線の総量には限度があり、あなたはすでに放射線治療を受けていますので、同じ部位に追加して有効な放射線照射を行うことは通常できません。但し、進行した腫瘍の部位が最初に放射線を照射した部位と異なる場合や進展の様式によっては、何らかの放射線治療を行うことができることがあります。追加の放射線治療を行うと、脳の放射線壊死などの副作用を来すリスクが生じます。

-インターフェロン治療： インターフェロンを静脈内に投与する治療で、膠芽腫の治療として20年ほど前から使われています。免疫を強めたり、直接腫瘍に働いたりして、腫瘍の増大を抑えることがあります。週に1ー5回の点滴を通常8週間続けます。発熱や倦怠感などの副作用があり、治療効果がないこともあります。

-他の臨床試験や臨床研究

-膠芽腫に対する治療は行なわず経過観察または緩和治療

これら、またはそれ以外の治療方法について、得られる利益および危険性についての詳細は担当医師にご相談下さい。

１０．この試験中にあなたの健康に被害が生じた場合について

この臨床試験は、これまでの報告や基礎データに基づいて科学的に計画され、慎重に行われます。もし臨床試験の参加期間中あるいは終了後にあなたに有害事象などの健康被害が生じた場合には、担当医師が適切な診察と治療を行います。この臨床試験との関連が否定できない有害事象が生じた場合、その有害事象に対する検査や治療にかかる医療費については当院が負担いたします。ただし、あなたの健康被害がこの臨床試験と関係があるかどうかの判定は、私たちとは利害関係のない、この遺伝子治療臨床試験のために設置された当院の独立審査委員会で検討し、判断させていただきます。医療費以外の実費(通院のための交通費、宿泊費、食費など)や、休業補償、後遺障害に対する補償、差額ベッド料金の補填、医療手当て等その他の補償は受けられません。

１１．この試験への参加は、あなたの自由意思によるものです

この臨床試験への参加の同意はあなたの自由意思で決めてください。同意しなくても、あなたの不利益になるようなことはありません。また、いったん同意した場合でも、あなたが不利益を受けるこ

となく、いつでも同意を取り消すことができます。その場合は病状に応じ、最も適した治療を行います。

１２．この臨床試験に関する情報は随時ご連絡いたします

あなたの健康およびこの臨床試験参加の意思決定に影響を与えるような情報が、この臨床試験またはその他の臨床試験の結果から得られた場合には、速やかにあなたにお伝えします。

１３．この臨床試験を中止させていただく場合があります

研究代表者は、以下の場合にはあなたの承諾なしに臨床試験を打ち切ることがあります。

-医療上、臨床試験を中止することがあなたにとって最善であると考えられる場合
-病状が悪化した場合
-許容範囲をこえる、または危険な有害事象のあった場合
- G47Δの供給が十分に得られなくなった場合：予想されない資金的、技術的問題や、輸送・保管・品質上の問題などにより、G47Δの在庫が不足した場合など
-女性の方で妊娠された場合
-この臨床試験の実施方法に従っていただけない場合

１４．この試験に参加された場合、あなたのカルテなどが試験中あるいは試験終了後に調査されることがあります

患者の人権が守られながら、きちんとこの試験が行われているかを確認するために、この臨床試験の関係者（独立データモニタリング委員会など）、および厚生労働省など公的機関の担当官や国の審議会委員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。これらの人には守秘義務が課せられています。また、あなたから得られたデータが、報告書などであなたのデータであると特定されることはありません。

１５．この試験結果が公表される場合でも、あなたの身元が明らかになることはありません

この試験で得られた成績やデータは、学術集会発表や学術雑誌などに公表されることがありますが、あなたの名前などの個人情報は一切わからないようにしますので、プライバシーは守られます。また、この試験で得られたデータが、本試験の目的以外に使用されることはありません。

この臨床試験から得られたデータは、診療録に記載され病院に残される一方、臨床試験経過記録用

紙に記録されるものもあります。その場合は、名前ではなく符号で記載されます。名前と符号を一致させるための情報は、別な場所で安全に保管されます。関係者以外には個人名を同定できる状態で公開されることはありません。

１６．個人情報の保護と診療情報の開示についての問い合わせや苦情の窓口

東京大学では、個人情報の保護や診療情報の開示に関する問い合わせや苦情の窓口を設けております。この研究に関係した個人情報の保護や診療情報の開示についてのご質問や苦情の窓口は以下のとおりです。

個人情報の保護に関すること：東京大学情報公開室　(電話 03-5841-2049)

診療情報の開示に関すること：東京大学附属病院医事課外来担当　(電話 03-5800-8628)

診療情報の開示は次のような手続きで申請できます。

1）診療情報の開示を申請できる方

・原則としてあなた自身の請求に基づき、あなた自身に対して開示いたします。ただし、あなたが未成年である場合、又は成年後見人である場合は、法定代理人の方の申請に基づいて法定代理人の方に対して開示いたします。

・万一あなたがお亡くなりになった場合の、ご遺族の方からの開示手続きにつきましては、個別に窓口にご相談下さい。

2）診療情報の開示申請に必要な書類

・あなた自身が申請する場合は、運転免許証、旅券(パスポート)、健康保険等の被保険者証、国民年金手帳・厚生年金手帳等などの申請者の身分を証明する書類をお持ちください。

・法定代理人の方が申請する場合は、申請する人の身分を証明する書類（運転免許証、旅券(パスポート)、健康保険等の被保険者証、国民年金手帳・厚生年金手帳等など）と、あなたとの関係を証明する書類をお持ち下さい。

3）申請の仕方

・東京大学附属病院医事課外来担当窓口にお越し下さい。「診療情報開示を申請される方へ(お知らせ)」をお渡ししますので、申請書類にご記入し提出してください。

4）診療情報の開示

・「診療情報開示に係る協議」により開示を行なうかどうかが決定されます。開示は閲覧及び診療諸記録の複写により行ないます。複写の場合、東京大学医学部附属病院諸料金規程に定められた料金が必要となります。

１７．この臨床試験に参加に同意された場合は、次の点を守ってください

投与されたG47Δが体液に排出されるか否かは判っていません。G47Δの投与を受けてから2週間は、妊婦や小児、新生児、および免疫力の低下した人と密接な接触をしないで下さい。また、臨床試験参加中は、献血、精子や卵子の提供をしないで下さい。6ヶ月間はバリア型の避妊を行って下さい。

万一、臨床試験の参加期間中に妊娠した場合には、担当医師に必ず連絡してください。妊娠および出産の経過は記録として残されます。

使用してはいけないお薬や治療法など、「6．併用療法」の項に記載の事項を守って下さい。また、G47Δの投与を受けた後、他の診療科や他の病院を受診したり、他の治療や投薬を受ける場合、又は薬局で薬を購入した場合には、本臨床試験の試験担当医師に速やかに連絡してください。

１８．あなたの費用負担について

臨床試験には、健康保険等の公的な医療保険は適用されません。その代わり、この臨床試験にかかわる費用は当院が負担します。この臨床試験に参加することによって、余分な費用を負担していただくことはありません。ただし、交通費、宿泊費、謝礼金などその他の費用の給付はありません。また、この臨床試験の期間内であっても、この研究と関係のない病気に要する医療費には通常通り公的医療保険が適用され、その医療費にかかる一部負担金等を負担していただきます

この臨床試験のために脳神経外科研究室で行なわれる特殊な検査は、文部科学省「がんトランスレーショナル・リサーチ事業」の支援を得て実施されます。

あなたの経済的負担について質問があれば、担当医師にお聞き下さい。

なお研究代表者は、試験薬G47Δの日本における特許を申請中です。

１９．この担当医師があなたを担当いたします。

東京大学医学部附属病院　脳神経外科

（代表：03-3815-5411、脳神経外科内線：33345、脳神経外科直通：03-5800-8853）

講師	藤堂　具紀（研究代表者）
特任講師	稲生　靖（担当医師）
助教	田中　実（担当医師）

２０．いつでも相談窓口にご相談ください。

この臨床試験について知りたいことや、ご心配なことがありましたら、遠慮なく担当医師または臨床試験部にご相談下さい。

東京大学医学部附属病院　(代表：03-3815-5411)

脳神経外科　(内線:33345、脳神経外科直通：03-5800-8853、月～金　9：00 ～17：00)

講師　藤堂　具紀（研究代表者）

特任講師　稲生　靖（担当医師）

助教　田中　実（担当医師）

救急外来　(内線：34100、夜間休日を含み、脳神経外科当直医が 24 時間対応。)

臨床試験部：　(内線:34290、月～金　8：30 ～17：00)

臨床試験コーディネーター：＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿

休日・夜間緊急連絡窓口

東京大学医学部附属病院　救急外来　(担当：脳神経外科当直医)

代表：03-3815-5411　(「救急外来」または　内線　34100)

医師用

臨床研究への協力の同意文書

東京大学医学部附属病院病院長　殿

臨床研究名：
進行性膠芽腫患者に対する増殖型遺伝子組換え単純ヘルペスウイルスG47Δを用いた遺伝子治療（ウイルス療法）の臨床研究

説明事項

1. 臨床研究について
2. この臨床研究の目的
3. この臨床研究の方法
4. この臨床研究への予定参加期間について
5. この臨床研究への予定参加人数について
6. 試験薬の予想される効果と、起こるかもしれない有害事象よび不利益について
7. この臨床研究に参加されない場合の、他の治療方法について
8. この臨床研究中に、あなたの健康に被害が生じた場合について
9. この臨床研究への参加は、患者の自由意思によること
10. この臨床研究に関する情報は、随時ご連絡すること
11. この臨床研究を中止させていただく場合があること
12. この臨床研究に参加の場合、あなたのカルテなどが臨床研究中および後に調査される可能性があること
13. この臨床研究の結果が公表される場合も、あなたの身元が明らかになることはないこと
14. この臨床研究に同意された場合に守っていただきたいこと
15. この臨床研究に参加された場合の費用負担について
16. 担当医師について
17. 相談窓口について
18. その他（　　）

【患者の署名欄】

私はこの臨床研究に参加するにあたり、上記の事項について十分な説明を受け、同意説明文書を受け取り、内容等を十分理解いたしましたので、本試験に参加することに同意します。

同意日　　平成　年　月　日　　患者ID:＿＿＿＿＿＿＿＿

患者氏名:＿＿＿＿＿＿＿＿（自署）

【代諾者の署名欄】（必要な場合のみ）

私は＿＿＿＿＿＿＿＿さんが、この臨床研究に参加するにあたり、上記の事項について十分な説明を受け、同意説明文書を受け取り、内容等を十分理解いたしましたので、本試験に参加することに同意します。

同意日　　平成　年　月　日　代諾者氏名:＿＿＿＿＿＿＿＿（自署）

本人との続柄:＿＿＿＿＿＿＿＿

【医師・臨床試験コーディネーターの署名欄】

私は上記患者に、この臨床研究について十分に説明いたしました。

説明日　　平成　年　月　日　　所属:＿＿＿＿＿＿＿＿

氏名:＿＿＿＿＿＿＿＿（自署）

説明日　　平成　年　月　日　　所属:＿＿＿＿＿＿＿＿

氏名:＿＿＿＿＿＿＿＿（自署）

データセンター用　　**臨床研究への協力の同意文書**

東京大学医学部附属病院病院長　殿

臨床研究名:
進行性膠芽腫患者に対する増殖型遺伝子組換え単純ヘルペスウイルスG47Δを用いた遺伝子治療(ウイルス療法)の臨床研究

説明事項

1. 臨床研究について
2. この臨床研究の目的
3. この臨床研究の方法
4. この臨床研究への予定参加期間について
5. この臨床研究への予定参加人数について
6. 試験薬の予想される効果と、起こるかもしれない有害事象よび不利益について
7. この臨床研究に参加されない場合の、他の治療方法について
8. この臨床研究中に、あなたの健康に被害が生じた場合について
9. この臨床研究への参加は、患者の自由意思によること
10. この臨床研究に関する情報は、随時ご連絡すること
11. この臨床研究を中止させていただく場合があること
12. この臨床研究に参加の場合、あなたのカルテなどが臨床研究中および後に調査される可能性があること
13. この臨床研究の結果が公表される場合も、あなたの身元が明らかになることはないこと
14. この臨床研究に同意された場合に守っていただきたいこと
15. この臨床研究に参加された場合の費用負担について
16. 担当医師について
17. 相談窓口について
18. その他(　　)

【患者の署名欄】

私はこの臨床研究に参加するにあたり、上記の事項について十分な説明を受け、同意説明文書を受け取り、内容等を十分理解いたしましたので、本試験に参加することに同意します。

同意日　平成　年　月　日　　患者ID:＿＿＿＿＿＿＿＿

患者氏名:＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿(自署)

【代諾者の署名欄】(必要な場合のみ)

私は＿＿＿＿＿＿＿＿さんが、この臨床研究に参加するにあたり、上記の事項について十分な説明を受け、同意説明文書を受け取り、内容等を十分理解いたしましたので、本試験に参加することに同意します。

同意日　平成　年　月　日　代諾者氏名:＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿(自署)

本人との続柄:＿＿＿＿＿＿＿＿

【医師・臨床試験コーディネーターの署名欄】

私は上記患者に、この臨床研究について十分に説明いたしました。

説明日　平成　年　月　日　　所属:＿＿＿＿＿＿＿＿

氏名:＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿(自署)

説明日　平成　年　月　日　　所属:＿＿＿＿＿＿＿＿

氏名:＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿(自署)

患者用

臨床研究への協力の同意文書

東京大学医学部附属病院病院長 殿

臨床研究名:
進行性膠芽腫患者に対する増殖型遺伝子組換え単純ヘルペスウイルスG47Δを用いた遺伝子治療(ウイルス療法)の臨床研究

説明事項

1. 臨床研究について
2. この臨床研究の目的
3. この臨床研究の方法
4. この臨床研究への予定参加期間について
5. この臨床研究への予定参加人数について
6. 試験薬の予想される効果と、起こるかもしれない有害事象よび不利益について
7. この臨床研究に参加されない場合の、他の治療方法について
8. この臨床研究中に、あなたの健康に被害が生じた場合について
9. この臨床研究への参加は、患者の自由意思によること
10. この臨床研究に関する情報は、随時ご連絡すること
11. この臨床研究を中止させていただく場合があること
12. この臨床研究に参加の場合、あなたのカルテなどが臨床研究中および後に調査される可能性があること
13. この臨床研究の結果が公表される場合も、あなたの身元が明らかになることはないこと
14. この臨床研究に同意された場合に守っていただきたいこと
15. この臨床研究に参加された場合の費用負担について
16. 担当医師について
17. 相談窓口について
18. その他( )

【患者の署名欄】

私はこの臨床研究に参加するにあたり、上記の事項について十分な説明を受け、同意説明文書を受け取り、内容等を十分理解いたしましたので、本試験に参加することに同意します。

同意日 平成 年 月 日 患者ID:_____

患者氏名: (自署)

【代諾者の署名欄】(必要な場合のみ)

私は_____さんが、この臨床研究に参加するにあたり、上記の事項について十分な説明を受け、同意説明文書を受け取り、内容等を十分理解いたしましたので、本試験に参加することに同意します。

同意日 平成 年 月 日 代諾者氏名: (自署)

本人との続柄:

【医師・臨床試験コーディネーターの署名欄】

私は上記患者に、この臨床研究について十分に説明いたしました。

説明日 平成 年 月 日 所属:

氏名: (自署)

説明日 平成 年 月 日 所属:

氏名: (自署)

厚生科学審議会科学技術部会
がん遺伝子治療臨床研究作業委員会委員名簿

	氏　名	所　属
	浅野（あさの）　茂隆（しげたか）	早稲田大学理工学術院特任教授
	荒戸（あらと）　照世（てるよ）	独立行政法人医薬品医療機器総合機構生物系審査部審査役
	上田（うえだ）　龍三（りゅうぞう）	名古屋市立大学大学院医学系研究科教授
	小澤（おざわ）　敬也（けいや）	自治医科大学医学部教授
	垣添（かきぞえ）　忠生（ただお）	国立がんセンター名誉総長
	金子（かねこ）　周一（しゅういち）	金沢大学医学部長
	金田（かねだ）　安史（やすふみ）	大阪大学大学院医学系研究科教授
○	笹月（ささづき）　健彦（たけひこ）	国立国際医療センター総長
	島田（しまだ）　隆（たかし）	日本医科大学医学部教授
	濱田（はまだ）　洋文（ひろふみ）	札幌医科大学教授（教育研究機器センター）
	早川（はやかわ）　堯夫（たかお）	独立行政法人医薬品医療機器総合機構顧問
	吉倉（よしくら）　廣（ひろし）	厚生労働省医薬食品局食品安全部企画情報課参与
（神経芽腫）		
	牧本（まきもと）　敦（あつし）	国立がんセンター中央病院小児科医長

○委員長　（五十音順　敬称略）

（平成19年4月12日現在）

厚生労働省発科第 1116002 号
平 成 19 年 11 月 16 日

厚生科学審議会会長
久 道 茂 殿

厚生労働大臣 舛 添 要 一

諮 問 書

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の確保に関する法律（平成 15 年法律第 97 号）第 4 条第 1 項に基づく第一種使用規程等の主務大臣承認に関し、下記の遺伝子治療臨床研究について、厚生労働省設置法（平成 11 年法律第 97 号）第 8 条第 1 項第 1 号イの規定に基づき、貴会の意見を求めます。

記

1 進行性膠芽腫患者に対する増殖型遺伝子組換え単純ヘルペスウイルス G47 Δを用いた遺伝子治療（ウイルス療法）の臨床研究

・申請者
東京大学医学部附属病院 武谷 雄二
・遺伝子組換え生物等の種類の名称
大腸菌 LacZ 遺伝子を発現し、γ34.5 遺伝子・ICP6 遺伝子・α47 遺伝子を不活化された制限増殖型遺伝子組換えヒト単純ヘルペスウイルス 1 型（G47 Δ）

厚科審第１２号
平成19年11月16日

科学技術部会部会長
垣添　忠生　殿

厚生科学審議会会長
久道　茂

遺伝子治療臨床研究に係る生物多様性影響評価について（付議）

標記について、平成19年11月16日付け厚生労働省発科第1116002号をもって厚生労働大臣より諮問があったので、厚生科学審議会運営規程第3条の規定に基づき、貴部会において審議方願いたい。

第一種使用規程承認申請書

平成19年10月23日

厚生労働大臣　　舛添　要一　殿
環境大臣　　鴨下　一郎　殿

申請者　氏名　東京大学医学部附属病院
病院長　武谷　雄二
住所　東京都文京区本郷7丁目3番1号

第一種使用規程について承認を受けたいので、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の確保に関する法律第4条第2項の規定により、次のとおり申請します。

大臣官房厚生科学課
科　収第1105001号
H19.11.5

遺伝子組換え生物等の種類の名称	大腸菌 LacZ 遺伝子を発現し、γ34.5 遺伝子・ICP6 遺伝子・α47 遺伝子を不活化された制限増殖型遺伝子組換えヒト単純ヘルペスウイルス 1 型 (G47Δ)
遺伝子組換え生物等の第一種使用等の内容	治療施設におけるヒトの治療を目的とした使用、保管、運搬及び廃棄並びにこれらに付随する行為。
遺伝子組換え生物等の第一種使用等の方法	治療施設の所在地　東京都文京区本郷7-3-1 治療施設の名称　東京大学医学部附属病院 (1) G47Δ溶液は、容器に密封後、凍結状態で治療施設に輸送し、施設内の実験室内の冷凍庫に保管する。 (2)凍結状態のG47Δ溶液の融解、希釈及び分注操作は、P2レベルの実験室（以下「P2実験室」という。）内の安全キャビネット内で行う。G47Δ希釈溶液の保管は、P2実験室内の保冷庫または冷凍庫において行う。なお、G47Δ希釈溶液又はその凍結品を開放系区域を通って他の区域に運搬する場合には、二重に密閉した容器に入れて運搬する。 (3) G47Δ溶液（希釈溶液を含む。）を廃棄する際には、ウイルス不活化（高圧蒸気滅菌処理または70%イソプロパノール、70-90%エタノール、0.2%次亜塩素酸ナトリウム、10%ポビドンヨード、0.5～0.1%グルコン酸クロルヘキシジン及び0.2～0.05%塩化ベンザルコニウムなどの消毒薬（以下「消毒薬」という。）処理による。以下同じ。）を行った後、東京大学医学部附属病院で定められた医療廃棄物管理規程に従い廃棄する。 (4) P2実験室内の安全キャビネット内でG47Δ希釈溶液を専用のシリンジに充填し、それを二重に密閉し、環境中への拡散防止措置を適切に執った陽圧でない手術室（以下「手術室」という。）に運搬する。 (5) 被験者に対するG47Δの投与は、手術室内において、被験者の腫瘍内にG47Δの入った緩衝液（以下「G47Δ液」という。）を定位脳手術により注入することによって行う。被験者の頭蓋骨に開けた直径約12mmの骨穴から、定位手術装置に装着した専用の注入針を刺入し、用手的に遅い速度でG47Δ液を注入する。注入後は注入針をそのままの位置で数分間保持した後、遅い速度で抜去する。特に脳表からの抜去は慎重に行ない、G47Δ液の漏出およびエアロゾル化を防止する。G47Δ液を予定量全て投与し注入針を抜去した後は速やかに閉創する。なお、頭部の周辺には布を二重に敷き詰める。 (6) 被験者へのG47Δの投与終了後、被験者の創部を消毒薬にて消毒してガーゼで覆い、さらに頭部をキャップで覆う。ウイルス漏出予防のためにマスクお

	よびガウンを着用した被験者を手術室から、環境中の拡散防止措置を適切に執った陽圧でない個室の病室（以後、「個室」という。）に移送する。 (7) 上記(5)及び(6)で用いたシリンジなどの器具、布、ガーゼ類は、ウイルスの不活化を行い、医療廃棄物管理規程に従い廃棄する。これらのウイルス不活化を他の区域で行なう場合には、二重に密閉した容器に入れて運搬する。術後の当該手術室は床を消毒薬で拭き清掃する。なお、手術室内の空気は換気により約5分間に一回（1時間に約12回）入れ替わる。 (8) 投与後72時間まで、被験者を個室内で管理する。検査等の理由で被験者が一時的に手術室および個室から外の開放系区域に出る場合には、マスクおよびガウン着用などのウイルス漏出予防措置を義務づける。 (9) 個室における管理期間中の被験者の排泄物は、ウイルス不活化を行なった後、一般の医療廃棄物管理規程に従い廃棄する。研究用検体として使用する被験者の血液および尿の取り扱いは、G47Δ液の取り扱いに準じる。 (10) 個室における管理期間中、被験者に対して侵襲的に使用した器具および被験者の排泄物に接触した器具等は、ウイルスの不活化を行なった後、医療廃棄物管理規程に従い廃棄または十分洗浄する。これらのウイルス不活化を他の区域で行なう場合には、二重に密閉した容器に入れて運搬する。 (11) 個室における被験者の管理を解除する前に、被験者の血液および尿中のG47Δが陰性であることを確認する。G47Δが確認されたときは、それが消失するまでの期間個室での管理を継続する。 (12)個室における管理解除後に被験者の血液または尿中からG47Δが検出された場合には、直ちに被験者を個室における管理下に移し、上記(8)～(10)までと同様の措置を執る。 (13) G47Δ脳内投与後G47Δが脳病巣内に存在していると推定される期間内に、病状の悪化等により、G47Δ投与目的以外の開頭手術等を行う場合には、(5)～(12)と同様の措置を執る。

生物多様性影響評価書

I　宿主又は宿主の属する分類学上の種に関する情報

1　分類学上の位置付け及び自然環境における分布状況

単純ヘルペスウイルスはヘルペスウイルス科アルファヘルペスウイルス亜科に分類されている。これまでに分離されたウイルスは、I型(HSV-1)とII型(HSV-2)の二つであり（文献１）、G47Δは単純ヘルペスウイルスI型(HSV-1)から作製された（文献２）。

ヒトにおいてのHSV-1の初感染は通常小児期に起こり、無症候性であることが多い。HSV-1に対する中和抗体の保有率は成人で7-8割程度である（文献１）。HSV-1の感染は種特異的であり、自然環境においては本来の宿主であるヒト以外での複製は報告されていない。実験室内では、一部の系統のマウス、ラット、ハムスター、ウサギ、またはサルには感受性があり、それらを用いてワクチンや遺伝子組換えHSV-1の安全性評価などの感染実験が報告されている（文献３-５）。

文献１：Whitley, R. Herpes simplex viruses. In *Fields' Virology,* 4th edn, ed. Kaipe, D. M., Howley, P. M. ed. pp2461-2509, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia (2001).

文献２：Todo, T. *et al.* Oncolytic herpes simplex virus vector with enhanced MHC class I presentation and tumor cell killing. Proc Natl Acad Sci USA 98: 6396-6401 (2001).

文献３：Lopez, C. Genetics of natural resistance to herpesvirus infections in mice. Nature 258: 152-153(1975)

文献４：Barahona, H. *et al.*,The owl monkey (Aotus trivirgatus) as an animal model for viral diseases and oncologic studies. Lab Anim Sci. 6: 1104-1112 (1976).

文献５：Deisboeck, T. S. *et al.* Development of a novel non-human primate model for preclinical gene vector safety studies. Determining the effects of intracerebral HSV-1 inoculation in the common marmoset: a comparative study. Gene Ther. 15: 1225-1233 (2003).

2　使用等の歴史及び現状

HSV-1を生ワクチンとして臨床に試みた報告としては、複製可能型遺伝子組換えHSV-1であるR7020が存在する（文献１、６、７）。また近年、米国および英国においてHSV-1に由来する種々の遺伝子組換えウイルスが、また国内において自然変異型の弱毒ウイルスが、悪性腫瘍に対するウイルス療法としてヒトに対し使用されている（文献８-１３）。

文献６：Cadoz, M. *et al.*,Phase 1 trial of R7020: A live attenuated recombinant herpes simplex (HSV) candidate vaccine. Presented at the 32nd Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy, Anaheim, CA, October 11-14, 1992

文献７：Whitley, R. *et al.* Herpes simplex viruses: is a vaccine tenable? J Clin Invest 110: 145-151.2002.

文献８：Markert, J. *et al.* Conditionally replicating herpes simplex virus mutant, G207 for the treatment of *malignant glioma: results of a phase I trial. Gene Ther 7: 867-874 (2000).*

文献９：Rampling, R. *et al.*　Toxicity evaluation of replication-competent herpes simplex virus (ICP 34.5

null mutant 1716) in patients with recurrent malignant glioma. Gene Ther 7: 859-866 (2000).
文献１０：Papanastassiou,V. *et al.* The potential for efficacy of the modified (ICP 34.5(-)) herpes simplex virus HSV1716 following intratumoural injection into human malignant glioma: a proof of principle study. Gene Ther 9: 398-406 (2002).
文献１１：Harrow, S. *et al.* HSV1716 injection into the brain adjacent to tumour following surgical resection of high-grade glioma: safety data and long-term survival. Gene Ther 11: 1648-1658 (2004).
文献１２：Fujimoto, Y. *et al.* Intratumoral injection of herpes simplex virus HF10 in recurrent head and neck squamous cell carcinoma.Acta Otolaryngol. 126: 1115-1117 (2006).
文献１３：Kimata, H. *et al.* Pilot study of oncolytic viral therapy using mutant herpes simplex virus (HF10) against recurrent metastatic breast cancer. Ann Surg Oncol. 13: 1078-1084 (2006).

３　生理・生態学的特性　（文献１）

（1）基本的特性

単純ヘルペスウイルスはエンベロープを有し、成熟粒子は100-150nmの大きさである。エンベロープの内側にテグメント、更にその内側にカプシドがあり、カプシド内にウイルスDNAが存在する。ゲノムは約152kbの2本鎖DNAである。

（2）生育又は生育可能な環境の条件

ヒトに感染し、増殖する。培養細胞では、ヒトの細胞およびVero細胞などの哺乳動物由来の一部の細胞で効率よく増殖する。粘膜表面の直接の接触による感染を主な感染経路とし、外界および室温では不安定である。飛沫感染は起こらない。

（3）捕食性又は寄生性

自然界では、ヒトでのみ増殖を伴う感染が起こる。

（4）繁殖又は増殖の様式

HSV-1は、ヒトの粘膜表面（通常は口腔咽頭）への直接の接触により感染する。接触感染以外の感染形式はない。感染した局所で複製した後、神経末端から感覚神経節（しばしば三叉神経節）にウイルスは移送され、潜伏感染（latency）を確立する。潜伏感染においてはウイルスの複製は行われず、別の宿主への感染性を有しない。潜伏感染から再活性化（reactivation）が起きると、ウイルスは皮膚粘膜（通常は口唇）で顕在化し、水疱を形成する(文献１４）。潜伏感染の再燃などに際してウイルスはまれに脳炎を発症する。そのウイルス侵入経路については三叉神経説と嗅神経説がある（文献１５）。

（5）病原性

HSV-1は口唇ヘルペスの原因ウイルスで、初期感染は一般に軽症あるいは無症状である。再活性化時に口唇に水疱を形成する。まれに、角膜炎や脳炎を起こす。ヘルペス脳炎の発生は日本の調査では年間100万人に2.9人（文献１６）、欧米では年間20万人に1人（文献１７、１８）である。発癌性はない。免疫不全や新生児など特殊な条件下を除くと、HSV-1はウイ

ルス血症を生じることがなく、初期感染後全身に分布しない。

(6) 有害物質の産生性

HSV-1の感染で細胞内に産生される蛋白質等の毒性は報告されていない。

(7) その他の情報

HSV-1はエンベロープを有するウイルスで、エンベロープが破壊・変性すると容易に感染性を失う。宿主から離れると環境中では2時間で死滅する（文献１９）。Biosafety上、消毒薬（chemical disinfectants）に対する感受性の点でlipid virusesに分類され、微生物の中で消毒薬に対する感受性が最も高い（文献１４）。HSV-1を速やかに不活化する消毒薬（chemical dis-infectants）は以下のものを含む：70%イソプロパノール、70-90%エタノール、塩素系漂白剤（例えば0.2%次亜塩素酸ナトリウムなど）、ヨード溶液、グルタールアルデヒド、ホルマリン、10%ポビドンヨード、0.5~0.1% グルコン酸クロルヘキシジン、0.2~0.05% 塩化ベンザルコニウム、など（文献１４、２０－２３）。物理的不活法（physical inactivation）として、HSV-1は56℃(30分間)の加熱や紫外線照射(15分間)、pH4以下で速やかに感染性を失う。

文献１４：Biosafety Manual: Lawrence Berkeley National Laboratory (http://www.lbl.gov/ehs/biosafety/Biosafety_Manual/html/decontamination.shtml).

文献１５：Mori, I. *et al.* Olfactory transmission of neurotropic viruses. J Neurovirol 11: 129-137 (2005).

文献１６：Kamei, S. *et al.* Nationwide survey of the annual prevalence of viral and other neurological infections in Japanese inpatients. Intern Med 39: 894-900 (2000).

文献１７：Whitley, R. *et al.* Herpes simplex virus infections of the central nervous system: therapeutic and diagnostic considerations. Clin Infect Dis 20: 414-420 (1995)

文献１８：Wald, A. *et al.* Persistence in the population: epidemiology, transmission. In *Human Herpesviruses.* Arvin A. *et al.* eds., pp659-671, Cambridge University Press, Cambridge (2007)

文献１９：Assar, S. *et al.* Survival of Microorganisms in the Environment. In *Disinfection, Sterilization, and Preservation.* 5th edn Block S. ed., pp1221-1242, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia (2001)

文献２０：Croughan, W. *et al.* Comparative study of inactivation of herpes simplex virus types 1 and 2 by commonly used antiseptic agents. J Clin Microbiol 26: 213-215 (1988)

文献２１：Material safety data sheet- infectious substances: Public health agency of Canada (http://www.phac-aspc.gc.ca/msds-ftss/msds80e.html.)

文献２２：Centers for Disease Control and Prevention ed., Guideline for hand hygiene in health-care settings: Morbidity and mortality weekly report (MMWR) 51 (2002)

文献２３：大久保 憲 監修、消毒薬テキスト 新版：協和企画 (2005)

Ⅱ　遺伝子組換え生物等の調製等に関する情報

1　供与核酸に関する情報

(1) 構成及び構成要素の由来

大腸菌(略称 E.Coli) LacZ (3kb) cDNAを宿主に導入した(Gene bank Accession Number:V00296)。（供与核酸の全塩基配列及び対応するアミノ酸配列は別紙１、２参照）

(2) 構成要素の機能

導入されたLacZ遺伝子は宿主のICP6プロモーターにより発現される。LacZ遺伝子にコードされる大腸菌beta galactosidaseは基質X-galを加水分解し青色の沈殿物とする。形質転換した大腸菌や、ベクター感染細胞のマーカーとして用いられ、それらにX-galを加えて識別する方法は一般に広く用いられている。病原性や毒素産生性には関与していない。この供与核酸の導入によって、G47Δの感染性が野生型HSV-1から変わることはないと考えられる。なお、LacZ遺伝子の挿入により宿主のICP6遺伝子は不活化され、G47Δの複製を腫瘍細胞選択的とする機序の一つを担っている。

2　ベクターに関する情報

(1) 名称及び由来

G47Δは、HSV-1 F株由来の二重変異遺伝子組換えHSV-1 G207（文献２４）から、pIE12Δプラズミドを用いて相同遺伝子組換えで作製された。pIE12Δは、HSV-1のα47遺伝子を含有するBamHI x フラグメントのうちBamHI-EcoRI の1818 bpを有するpIE12プラズミド（文献２５）から、α47遺伝子領域の312 bp（BstEII-EcoNI）を欠失させたプラズミドである（文献２）。G47Δの構造の模式図は別紙３参照。

(2) 特性

pIE12ΔはAmpicillin 耐性遺伝子を有している。宿主にはpIE12Δの挿入外来遺伝子配列のみが移入され、薬剤耐性遺伝子などのベクター配列は移されない。

文献２４：Mineta, T. *et al.* Attenuated multi-mutated herpes simplex virus-1 for the treatment of malignant gliomas. Nat Med 1: 938-943 (1995).

文献２５：Johnson, P. *et al.* Improved cell survival by the reduction of immediate-early gene expression in replication-defective mutants of herpes simplex virus type 1 but not by mutation of the virion host shutoff function. J Virol 68：6347-6362 (1994).

3　遺伝子組換え生物等の調製方法

(1) 宿主内に移入された核酸全体の構成

HSV-1のICP6領域にLacZ cDNAが挿入されている。これにより、ICP6プロモーターは供

与核酸を発現し、本来のICP6遺伝子は発現されない。また、宿主HSV-1のγ34.5遺伝子(1kb)の双方のコピーは欠失しており、また、α47遺伝子(312bp)も欠失している（別紙４参照）。

（2）宿主内に移入された核酸の移入方法

G47Δの親ウイルスであるG207は野生型HSV-1であるF株から2箇所のγ34.5遺伝子の双方(1kb)を削除し、ICP6遺伝子領域に大腸菌のLacZ遺伝子を挿入して作製された。G47Δは、G207からさらにα47領域内の312bpを削除して作製された。pIE12Δは、pBluescript KSを基本骨格とし、BstEII-EcoNIの312 bpを欠失したHSV-1のα47遺伝子を含有するフラグメントをインサートとして含むプラズミドである。G207のウイルスDNAとpIE12ΔプラズミドDNAの共移入に伴うVero細胞内での相同組換えにより、遺伝子組換えHSV-1であるG47Δを得た（文献２４、２５　および別紙４）。

（3）遺伝子組換え生物等の育成の経過

G47Δはウイルス製造に頻用されるVero細胞を使って増殖させた。G47Δの臨床製剤は東京大学医科学研究所治療ベクター開発室で生産される。生産工程はセルバンクシステム及びウイルスバンクシステムを用い、米国cGMPに準じた標準作業手順(SOP)に基づき行う。製造は、東京大学医学部脳神経外科・講師・藤堂 具紀を責任者とし、東京大学医学部脳神経外科が行なう。WHO Veroマスターセルバンクからワーキングセルバンクを構築し、ウイルス製造には継代数の低い細胞を使用する。正しい変異を有することが確認されたG47Δから作製したマスターウイルスストックをVero細胞に感染させる。2日後、細胞を回収し、凍結融解操作で細胞内のG47Δを遊離させる。フィルターろ過により細胞成分を除去したのち、細胞由来のDNAおよびRNAを酵素処理する。高速遠心にてウイルスを沈殿させ、混入する核酸および蛋白を除去する。これを10% グリセリン加燐酸緩衝液(PBS)に再浮遊し、さらにフィルターろ過を行い精製する（別紙５参照)。生産の４工程、すなわち、マスターセルバンク、精製前のウイルス回収液（バルクハーベスト）、精製後のウイルス、およびチューブに分注後の製剤において、英国BioReliance社に委託して品質試験を行う（品質試験項目に関しては別紙６参照)。東京大学医科学研究所治療ベクター開発室からは凍結した状態で東京大学医学部付属病院へ搬送する。上述の品質試験の合格が確認された製剤の機関内での移動であり、受入れ試験は予定しない。

G47Δ製剤中に増殖型・非増殖型の各種ウイルスの混入がないことの品質試験を英国BioReliance社に委託して行なう。また、最終製剤中のG47Δ以外の組換えHSV-1の混入の有無については、LacZ挿入部位の外側に設計したプライマーを用いたPCRを行い、野生型に由来する長さのDNA断片が増幅されないことを検証する。

臨床製剤は東京大学医学部附属病院内(管理研究棟2階脳神経外科研究室223号室)の専用の冷凍庫に保管し、施錠のうえ管理する。（当該治療施設の地図及び保管場所の概略図は別紙７参照）。

ウイルスの調製に使用する細胞はWHO-Vero細胞を用いる。マスターセルバンク、ワーキングセルバンク、およびマスターウイルスシードストックは、東京大学医科学研究所治療ベクター開発室に保管されている。

4　移入した核酸の存在状態及び当該核酸による形質発現の安定性

移入した核酸はHSV-1の2本鎖DNAゲノムの一部として存在し、保管中は安定である。感染する動植物等の種類及び感染様式が保管中に変化することはない。

G47Δが細胞に感染すると、G47Δのゲノムは核内の染色体外に存在し、感受性を有する培養増殖細胞（例：ヒト神経芽細胞腫株SK-N-SH、ヒト膠芽腫細胞株U87MG、ヒト膠芽腫細胞株U373、ヒト頭頸部扁平上皮癌細胞株SQ20B、およびアフリカミドリザル腎細胞株Vero)もしくはヒト体内では腫瘍細胞に限ってウイルス複製が起こる（「６　宿主又は宿主の属する分類学上の種との相違」の項に詳述）。また、ウイルス複製の際に感染細胞内で一過性にLacZ蛋白質が発現される。

G47ΔはHSV-1ゲノムの互いに離れた４箇所（３つの遺伝子）に操作が加えられているため、組換えにより自然に野生型のHSV-1に復する可能性は無に等しい。万一３つの遺伝子のうち２箇所または１箇所のみの変異に復元したものが生じたとしても、ICP６またはγ34.5の少なくとも一方が不活化されていれば腫瘍選択的な複製は維持される。α47のみが不活化されたウイルスは宿主の免疫系に認識されやすく、宿主における複製能が低下する（II章６　「宿主又は宿主の属する分類学上の種との相違」参照）。いずれも、野生型に比し毒性や病原性の増加はない。

臨床製剤の生産は、１つのウイルスから得られたG47Δのロットを、十分量に増やしたVero細胞に一回感染させて回収することによって行われるため、ウイルスが継代されることはなく、従って重なるウイルス継代によってゲノムに変化が起こることはない。

5　遺伝子組換え生物等の検出及び識別の方法並びにそれらの感度及び信頼性

G47Δは野生型のHSV-1に存在しないLacZ遺伝子を含むので、挿入されたLacZ遺伝子と隣接するHSV-1のICP6遺伝子との境界部をPCRで増幅、定量する方法でG47Δを検出できる（文献２６）。このときに用いるPCR反応では、試料1μl中に1-10 コピーのG47Δ DNAがあれば検出することができる。また、感染細胞のX-gal染色を行なうことによっても、G47Δ（青色に染色）と野生型HSV-1（染色されない）を区別することができる。X-gal染色の感度は鋭敏であり、理論上は、細胞内に1 pfuのG47Δが存在すれば検出できる（文献２７）。

PCR法による検出の信頼性については、同様の定量的PCR法を用いたウイルス検出法がすでにG207(二重変異遺伝子組換えHSV-1)の臨床試験で用いられており、信頼性が確立している（文献８、２８）。

文献２６：Todo, T. *et al.* Viral shedding and biodistribution of G207, a multimutated, conditionally replicating herpes simplex virus type 1, after intracerebral inoculation in aotus. Mol Ther 2: 588-595 (2000).

文献２７：Carew, J. *et al* .Selective infection and cytolysis of human head and neck squamous cell carcinoma with sparing of normal mucosa by a cytotoxic herpes simplex virus type 1 (G207). Hum Gene Ther. 10: 1599-1606, 1999

文献２８：DeBiasi, R. *et al.* Use of PCR for the diagnosis of herpes virus infections of the central nervous system. J Clin Virol. 25: S5-11 (2002)

6　宿主又は宿主の属する分類学上の種との相違

G47Δはウイルスゲノムに遺伝子操作が加えられた遺伝子組み換えHSV-1であり、ICP6、γ34.5、α47の領域にコードされているウイルス蛋白質を発現できない。ICP6遺伝子（ribonucleotide reductase (RR)の大サブユニットをコードする）およびγ34.5遺伝子はともに正常細胞でのウイルス複製に必要な遺伝子であり、これらを欠失したウイルスは腫瘍細胞でのみ複製が可能となる。

γ34.5はHSV-1の病原性に関連した遺伝子で、これを欠失させた変異株は正常細胞でのウイルス複製能が著しく減弱することが判明している（文献２９）。正常細胞ではウイルス感染が起こると二本鎖RNA依存性プロテインキナーゼ(double stranded RNA-activated protein kinase: PKR)がリン酸化され、それが翻訳開始因子eIF-2aをリン酸化し、その結果ウイルス蛋白を含む細胞内での蛋白合成が遮断される。γ34.5遺伝子産物はリン酸化PKRに拮抗してウイルス蛋白の合成を可能にするが、γ34.5遺伝子欠失HSV-1は正常細胞では複製を行えない。しかし、正常細胞とは異なり、腫瘍細胞では普遍的にPKRのリン酸化が低いため、γ34.5遺伝子欠失のHSV-1でも複製可能となると考えられている（文献３０）。

RRはウイルスDNA合成に必要な酵素であるが、この遺伝子を不活化すると、ウイルスは非分裂細胞では複製できず、分裂が盛んでRR活性の上昇した細胞でのみウイルスの欠落酵素が補われてウイルス複製が可能となる。

一方、α47遺伝子を欠失したウイルスは感染細胞でのtransporter associated with antigen presentation (TAP)に拮抗する機能を失うため、感染細胞のMHCクラスIの発現が維持され、免疫系による認識を促進する。同時にゲノム上で重複して位置するUL11遺伝子の発現を早めることで、γ34.5欠失ウイルスの減弱した複製能力を腫瘍細胞において選択的に回復させる（文献２、２４、３１）。

ICP6領域には大腸菌LacZ cDNAが挿入されており、G47Δの感染した細胞内で一過性に発現される。

G47Δの感染性は野生型HSV-1と同じであり、ヒトを宿主とする。ヒトや動植物等への感染性、感染様式など、生物多様性に影響を与える性質は野生型HSV-1と同等であると考えられる。腫瘍細胞でのみウイルス複製が可能であることから、自然界では伝搬・複製し得ない。

文献２９：Chou, J. *et al.* Mapping of herpes simplex virus-1 neurovirulence to $\gamma_1$34.5, a gene nonessential for growth in culture. Science 250: 1262-1266 (1990)

文献３０：Farassati, F. *et al.* Oncogenes in Ras signalling pathway dictate host-cell permissiveness to herpes simplex virus 1. Nat Cell Biol 3: 745-750 (2001)

文献３１：Cassady, K. *et al.* The second-site mutation in the herpes simplex virus recombinants lacking the γ_1 34.5 genes precludes shutoff of protein synthesis by blocking the phosphorylation of eIF-2alpha. J Virol. 72: 7005-7011 (1998).

Ⅲ　遺伝子組換え生物等の使用等に関する情報

1　使用等の内容

治療施設におけるヒト遺伝子治療を目的とした使用、保管、運搬及び廃棄並びにこれらに付随する行為。

2　使用等の方法

治療施設の所在地：　東京都文京区本郷 7-3-1
治療施設の名称：　東京大学医学部附属病院

(1) G47Δ溶液は、容器に密封後、凍結状態で治療施設に輸送し、施設内の実験室内の冷凍庫に保管する。
(2)凍結状態のG47Δ溶液の融解、希釈及び分注操作は、P2レベルの実験室（以下「P2実験室」という。）内の安全キャビネット内で行う。G47Δ希釈溶液の保管は、P2実験室内の保冷庫または冷凍庫において行う。なお、G47Δ希釈溶液又はその凍結品を開放系区域を通って他の区域に運搬する場合には、二重に密閉した容器に入れて運搬する。
(3) G47Δ溶液（希釈溶液を含む。）を廃棄する際には、ウイルス不活化（高圧蒸気滅菌処理または70%イソプロパノール、70-90%エタノール、0.2%次亜塩素酸ナトリウム、10%ポビドンヨード、0.5～0.1%グルコン酸クロルヘキシジン及び0.2～0.05%塩化ベンザルコニウムなどの消毒薬（以下「消毒薬」という。）処理による。以下同じ。）を行った後、東京大学医学部附属病院で定められた医療廃棄物管理規程に従い廃棄する。
(4) P2実験室内の安全キャビネット内でG47Δ希釈溶液を専用のシリンジに充填し、それを二重に密閉し、環境中への拡散防止措置を適切に執った陽圧でない手術室（以下「手術室」という。）に運搬する。
(5) 被験者に対するG47Δの投与は、手術室内において、被験者の腫瘍内にG47Δの入った緩衝液（以下「G47Δ液」という。）を定位脳手術により注入することによって行う。被験者の頭蓋骨に開けた直径約12mmの骨穴から、定位手術装置に装着した専用の注入針を刺入し、用手的に遅い速度でG47Δ液を注入する。注入後は注入針をそのままの位置で数分間保持した後、遅い速度で抜去する。特に脳表からの抜去は慎重に行ない、G47Δ液の漏出およびエアロゾル化を防止する。G47Δ液を予定量全て投与し注入針を抜去した後は速やかに閉創する。なお、頭部の周辺には布を二重に敷き詰める。
(6) 被験者へのG47Δの投与終了後、被験者の創部を消毒薬にて消毒してガーゼで覆い、さらに頭部をキャップで覆う。ウイルス漏出予防のためにマスクおよびガウンを着用した被

験者を手術室から、環境中の拡散防止措置を適切に執った陽圧でない個室の病室（以後、「個室」という。）に移送する。
(7) 上記(5)及び(6)で用いたシリンジなどの器具、布、ガーゼ類は、ウイルスの不活化を行い、医療廃棄物管理規程に従い廃棄する。これらのウイルス不活化を他の区域で行なう場合には、二重に密閉した容器に入れて運搬する。術後の当該手術室は床を消毒薬で拭き清掃する。なお、手術室内の空気は換気により約5分間に一回（1時間に約12回）入れ替わる。
(8) 投与後72時間まで、被験者を個室内で管理する。検査等の理由で被験者が一時的に手術室および個室から外の開放系区域に出る場合には、マスクおよびガウン着用などのウイルス漏出予防措置を義務づける。
(9) 個室における管理期間中の被験者の排泄物は、ウイルス不活化を行なった後、一般の医療廃棄物管理規程に従い廃棄する。研究用検体として使用する被験者の血液および尿の取り扱いは、G47Δ液の取り扱いに準じる。
(10) 個室における管理期間中、被験者に対して侵襲的に使用した器具および被験者の排泄物に接触した器具等は、ウイルスの不活化を行なった後、医療廃棄物管理規程に従い廃棄または十分洗浄する。これらのウイルス不活化を他の区域で行なう場合には、二重に密閉した容器に入れて運搬する。
(11) 個室における被験者の管理を解除する前に、被験者の血液および尿中のG47Δが陰性であることを確認する。G47Δが確認されたときは、それが消失するまでの期間個室での管理を継続する。
(12)個室における管理解除後に被験者の血液または尿中からG47Δが検出された場合には、直ちに被験者を個室における管理下に移し、上記(8)～(10)までと同様の措置を執る。
(13) G47Δ脳内投与後G47Δが脳病巣内に存在していると推定される期間内に、病状の悪化等により、G47Δ投与目的以外の開頭手術等を行う場合には、(5)～(12)と同様の措置を執る。

3　承認を受けようとする者による第一種使用等の開始後における情報収集の方法

被験者への投与後、別途規定のスケジュールに従い被験者の血液および尿のPCR法による検査を実施する。また、HSV-1感染症の発症の有無につき被験者の臨床症状を観察する。PCR法による検査結果が陽性の場合には、検出されたウイルスのゲノム構造を確認しG47Δ以外の組換えHSV-1の混在の有無を、また、感染性ウイルスの存在の有無を確認する。

4　生物多様性影響が生じるおそれのある場合における生物多様性影響を防止するための措置

遺伝子組換えウイルス投与後の被験者については、PCR法にて血液および尿中の遺伝子組換えウイルスの存在の有無を確認し、陽性の場合はそれが消失するまで追跡する。

5　実験室等での使用又は第一種使用等が予定されている環境と類似の環境での使用等の結果

HSV-1に感受性のあるサル（*Aotus nancymae*）に、G47Δを作製する基となったG207(二重変異を有する遺伝子組換えHSV-1)を脳内に定位的に投与した非臨床試験において、野生型HSV-1（strain F）は1 x 10^3 pfuで脳炎を生じ投与後5日で死亡させたが、G207は10^9 pfuでも毒性を示さなかった（文献２６、３２）。G207の脳内投与後（3 x 10^7 pfu）、1, 3, 7, 10, 14, 21, 31日めに唾液、涙、膣分泌液を採取し、ウイルス排出の有無が検証されたが、いずれの検体からも感染性ウイルスおよびG207のDNAは検出されなかった（文献２６）。G207の脳内投与1ヶ月後（3 x 10^7 pfu）もしくは2年後（10^9 pfu）の解剖で採取した全身の組織検体からのPCRによるDNA残存の検索では、G207のDNAが中枢神経系(注入部位、同側の前頭葉、側頭葉、頭頂葉、脳幹、および対側の前頭葉)に限局して検出された（安全性試験の詳細は計画書添付資料５(2)12に記載）。BALB/cマウスにLD_{50}量の野生型HSV-1の脳内投与を行い、生き延びてHSV-1の潜伏感染を確立したマウスに、G207 (1 x 10^7 pfu)を脳内投与しても潜在HSV-1の再活性化を誘発しなかった（文献３３）。

文献３２：Hunter, W.D. *et al.* Attenuated, replication-competent herpes simplex virus type 1 mutant G207: *safety evaluation of intracerebral injection in nonhuman primates. J Virol 73: 6319-6326* (1999).

文献３３：Sundaresan, P *et al.* Attenuated, replication-competent herpes simplex virus type 1 mutant G207: safety evaluation in mice. J. Virol. 74: 3832-3841 (2000).

6　国外における使用等により得られた情報

米国アラバマ大学バーミンガム校とジョージタウン大学医療センターにおいて、再発神経膠腫を対象とし、腫瘍治療用に開発された第二世代遺伝子組換えHSV-1のG207を用いて再発悪性グリオーマ患者21例を対象に米国で第I相臨床試験が行われた（1998年ー2000年）（文献８）。G207は定位脳手術により脳腫瘍内に単回投与され、1 x 10^6pfuから3 x 10^9pfuまで3例ずつ用量を増加した。ジョージタウン大学では通常の手術室を用いて他の患者と同様の扱いで手術が施行され、患者は通常の病室で管理された。G207投与後4日、1ヶ月、3ヶ月、6ヶ月、1年の各時点で患者の唾液と血液が採取され、ウイルス排出の有無が検証されたが、いずれの検体からも感染性ウイルスおよびG207のDNAは検出されなかった。

*γ34.5*遺伝子のみを欠失した第一世代遺伝子組換えHSV-1の1716を用い、再発悪性グリオーマ患者9例を対象に英国で第I相臨床試験が行われた(文献９)。*1716*は定位脳手術により脳腫瘍内に単回投与され、10^3pfuから10^5pfuまで3例ずつ用量を増加した。投与後2日目、6日目、その後4週後まで週1回、血清と口腔粘膜を採取しウイルス排出検査を行ったところ、感染性のHSV-1はいずれの患者からも検出されなかった。またヘルペスウイルス感染症の皮膚症状も見られなかった。次に行われたproof of principle (POP)試験では、再発悪性グリオーマ12例に対して定位脳手術により10^5pfuを脳腫瘍内に単回投与し、その4-9日後に腫瘍摘出を行ってウイルス複製の有無について解析した（文献１０）。2例で、摘出腫瘍組織から感染性ウイルスが検出された。PCRでは10例の投与部位から1716のDNAが検出された。1例において、

投与5日後（腫瘍摘出の翌日）の血清からHSV-1のDNAがPCRで検出され、その後速やかに陰性化した。他の11例では一度も血清中からHSV-1のDNAは検出されなかった。

Ⅳ　生物多様性影響評価

1　他の微生物を減少させる性質

(1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定

G47Δの感染性は野生型HSV-1と同一と考えられ、微生物に感染するとの報告はない。また、G47Δは腫瘍細胞でのみウイルス複製が可能であることから、自然界では伝搬・複製し得ない。有害物質の産生もなく、競合や有害物質の産生により他の微生物を減少させることはないと考えられる。よって、影響を受ける可能性のある微生物は特定されなかった。

(2) 影響の具体的内容の評価

(該当せず。)

(3) 影響の生じやすさの評価

(該当せず。)

(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断

よって、他の微生物を減少させる性質について、第一種使用規程承認申請書に記載した遺伝子組換え生物等の第一種使用等の方法によるかぎり、生物多様性影響が生ずるおそれはないと判断される。

2　病原性

(1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定

G47Δの感染性は野生型HSV-1と同一と考えられるので、自然宿主はヒトのみである。さらに、腫瘍細胞でのみウイルス複製が可能であることから、自然界では伝搬・複製し得ない。なお、実験室内で用いられる一部の系統のマウス、ラット、ハムスター、ウサギ、またはサルは感受性があり、G47Δの感染が起こる。

(2) 影響の具体的内容の評価

G47Δは投与されたヒトの腫瘍細胞に限局してウイルス複製を行い、ヒト正常組織に対しては病原性がない。欧米において遺伝子組換えHSV-1を用いたウイルス療法の臨床試験が複数完了しまた進行中であるが、重大な有害事象や死亡の報告はなく、環境への悪影響に関する報告もない（文献８－１３）。G47Δにはウイルス複製を検出するために大腸菌LacZ遺伝子cDNAが挿入されており、G47Δが複製する腫瘍細胞に導入され、一過性に発現される。LacZ遺伝子からの生成物であるβ-ガラクトシダーゼは人体に対し毒性や病原性を有しない。LacZ遺伝子を発現する第二世代複製型遺伝子組換えHSV-1であるG207が第Ⅰ相臨床試

験において人の脳内（脳腫瘍内）に投与されており、LacZ遺伝子生成物の安全性は示されている。G47Δに加えられた遺伝子変異はHSV-1ゲノム上の離れた４箇所（３つの遺伝子）に位置しているため、G47Δ由来の遺伝子組換え生物に該当する野生型復元HSV-1が自然に生じる可能性も無に等しい。

(3) 影響の生じやすさの評価

第一種使用規程承認申請書に記載した遺伝子組換え生物等の第一種使用等の方法による限り、G47Δの環境中への拡散は防止され、また自然界においてG47Δが伝搬・複製し得ないことから、G47Δが被験者以外に病原性を示す可能性は極めて低いと考えられる。

(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断

よって、病原性について、第一種使用規程承認申請書に記載した遺伝子組換え生物等の第一種使用等の方法によるかぎり、生物多様性影響が生ずるおそれはないと判断される。

3　有害物質の産生性

(1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定

G47Δの有害物質の産生性は知られておらず、影響を受ける可能性のある野生動植物等は特定されなかった。

(2) 影響の具体的内容の評価

（該当せず。）

(3) 影響の生じやすさの評価

（該当せず。）

(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断

よって、有害物質の産生性について、第一種使用規模承認申請書に記載した遺伝子組換え生物等の第一種使用等の方法によるかぎり、生物多様性影響が生ずるおそれはないと判断される。

4 核酸を水平伝達する性質

(1)影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定

G47Δの感染性は野生型HSV-1と同一と考えられるので、自然界で感染する対象はヒトのみである。実験室内では、感受性のある一部のマウス、ラット、ハムスター、ウサギ、またはサルを用いた感染実験が報告されており、ワクチンや遺伝子組換えHSV-1の安全性評価に試用されている。

(2)影響の具体的内容の評価

G47Δの投与を受けたヒトでは、腫瘍内に限局して複製したG47Δが生じるが、これは体外へ排泄される可能性は極めて低く、また腫瘍細胞以外でのウイルス複製能を有さず、これによる他の哺乳類への核酸の水平伝達は知られていない。

(3)影響の生じやすさの評価

第一種使用規程承認申請書に記載した遺伝子組換え生物等の第一種使用等の方法によるかぎり、G47Δの環境中への拡散は防止される。G47Δは正常細胞でのウイルス複製能を失っているので、自然界では繁殖し得ない。さらに、G47Δの自然界での感染対象は野生型HSV-1と同様にヒトに限られること、及びヒトからヒトへ腫瘍細胞を介して直接水平伝達して複製することはほぼ不可能であることを考慮すると、影響の生じやすさは極めて低いと考えられる。G47ΔはHSV-1ゲノム上の離れた４箇所（３つの遺伝子）に変異が加えられているため、G47Δ由来の遺伝子組換え生物に該当する野生型復元HSV-1が自然に生じる可能性も無に等しい。

(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断

よって、核酸を水平伝達する性質について、第一種使用規程承認申請書に記載した遺伝子組換え生物等の第一種使用等の方法によるかぎり、生物多様性影響が生ずるおそれはないと判断される。

5　その他の性質

なし。

V　総合的評価

G47Δが感染する動植物等の種類は野生型HSV-1と同等で、ヒトを自然宿主とし、自然界で他のほ乳動物、植物及び微生物には感染したり拡散したりするという報告はない。

第一種使用規程承認申請書に記載した遺伝子組換え生物等の第一種使用等の方法によるかぎり、G47Δの環境中への拡散は防止される。G47ΔによるLacZ遺伝子の一過性発現はヒトに病原性をもたないので、ヒトに対する影響はないと考えられる。

さらに、G47Δは腫瘍細胞に限って複製することが可能で、正常細胞でのウイルス複製能を失っているので、自然界で伝搬し増えることができない。環境中の別個体のヒトの腫瘍細胞にG47Δが直接水平感染する可能性は極めて低く、G47Δが環境中に拡散する可能性は無に等しい。

G47ΔはHSV-1ゲノム上の離れた４箇所（３つの遺伝子）に変異が加えられているため、G47Δ由来の遺伝子組換え生物に該当する野生型復元HSV-1が自然に生じる可能性も無に等しい。

従って、第一種使用規程承認申請書に記載した遺伝子組換え生物等の第一種使用等の方法によるかぎり、G47Δによる生物多様性影響が生ずるおそれはないと判断される。

遺伝子治療臨床研究に係る生物多様性影響評価に関する作業委員会の設置について

（平成16年1月14日開催　第18回厚生科学審議会科学技術部会において了承）

１．設置目的

「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の確保に関する法律」に基づき、遺伝子治療臨床研究に係る遺伝子組換え生物等の第一種使用等に関し、専門の学識経験者による生物多様性影響の評価等を行うため、「遺伝子治療臨床研究に係る生物多様性影響評価に関する作業委員会」（以下「作業委員会」という。）を設置する。

２．検討事項

（１）遺伝子治療臨床研究に係る遺伝子組換え生物等の第一種使用等に関する生物多様性影響の評価について
（２）その他

３．作業委員会の位置づけ

厚生科学審議会科学技術部会遺伝子治療臨床研究作業委員会の下に置く。

４．作業委員会の構成

作業委員会の委員は別紙のとおりとする。なお、必要に応じて参考人を招致することができる。

５．作業委員会の守秘義務

作業委員会の委員は、議事に関して知り得た秘密を外部に漏らしてはならない。委員を退いた後も同様とする。

６．会議及び議事録の取扱い

作業委員会の会議及び議事録は非公開とする。なお、議事要旨を作成し、公開する。

７．作業委員会の庶務

作業委員会の事務局は、厚生労働省大臣官房厚生科学課において処理する。

厚生科学審議会科学技術部会遺伝子治療臨床研究作業委員会
遺伝子治療臨床研究に係る生物多様性影響評価に関する作業委員会委員名簿

	氏　　名	所　　属・役　　職
	いわさき　かずひろ 岩崎　一弘	国立環境研究所生物多様性の減少機構の解明と保全プロジェクトグループ主任研究員
	おざわ　けいや 小澤　敬也	自治医科大学医学部教授
	かんだ　ただひと 神田　忠仁	国立感染症研究所病原体ゲノム解析研究センター長
	ささづき　たけひこ 笹月　健彦	国立国際医療センター総長
	しまだ　たかし 島田　隆	日本医科大学医学部教授
	はやかわ　たかお 早川　堯夫	独立行政法人医薬品医療機器総合機構顧問
	やまぐち　てるひで 山口　照英	国立医薬品食品衛生研究所生物薬品部長
○	よしくら　ひろし 吉倉　廣	厚生労働省医薬品食品局食品安全部企画情報課参与
	わたなべ　まこと 渡邉　信	筑波大学生命環境科学研究科教授

○委員長　（五十音順　敬称略）

（平成19年4月1日現在）