

## 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 (国立がんセンター)

### (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.....P31
- 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...P83

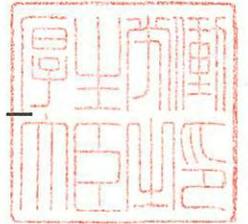
### (遺伝子治療臨床研究に係る生物多様性影響評価に関する申請)

- 諮問及び付議.....P84
- 第一種使用規程承認申請書.....P86
- 生物多様性影響評価書.....P89
- 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  
.....P112

厚生労働省発科第 0616003 号  
平成 20 年 6 月 16 日

厚生科学審議会会長  
久 道 茂 殿

厚生労働大臣 舩 添 要



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 20 年 6 月 9 日に国立がんセンター総長から提出された「ハプロタイプ一致ドナー由来 T 細胞除去造血幹細胞移植後の HSV-TK 遺伝子導入 T リンパ球 “Add-back” 療法」計画

厚 科 審 第 8 号  
平成 20 年 6 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 20 年 6 月 16 日付け厚生労働省発科第 0616003 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 20 年 6 月 9 日

厚生労働大臣 殿

実 施 設	所在地	(郵便番号) 104-0045 東京都中央区築地五丁目 1 番 1 号
	名称	国立がんセンター (電話番号) 03-3542-2511 (FAX 番号) 03-3545-3567
	代表者 役職名・氏名	国立がんセンター 総長 廣橋 説雄



下記の遺伝子治療臨床研究について、別添の実施計画に対する意見を求めます。

記

遺伝子治療臨床研究の課題名	総括責任者の所属・職・氏名
ハプロタイプ一致ドナー由来 T 細胞除去造血幹細胞移植後の HSV-TK 遺伝子導入 T リンパ球 “Add-back” 療法	国立がんセンター中央病院 薬物療法部・幹細胞移植療法室 医長 平家 勇司



## 遺伝子治療臨床研究実施計画概要書

平成 20 年 6 月 9 日 (申請年月日)

研 究 の 名 称	ハプロタイプ一致ドナー由来 T 細胞除去造血幹細胞移植後の HSV-TK 遺伝子導入 T リンパ球“Add-back”療法
研 究 実 施 期 間	年 月 日(承認日)から 3 年間

総括責任者	所属部局の所在地	(郵便番号) 104-0045 東京都中央区築地五丁目 1 番 1 号	
	所属機関・部局・職	国立がんセンター中央病院・薬物療法部・幹細胞移植療法室・医長	
	氏 名	平家 勇司	 (印)
実施の場所	所 在 地	(郵便番号) 104-0045 東京都中央区築地五丁目 1 番 1 号	
	名 称	国立がんセンター中央病院	
	連 絡 先	(電話番号) 03-3542-2511	
総括責任者以外の研究者	氏 名	所属機関・部局・職	役 割
	吉田輝彦	国立がんセンター研究所 ・腫瘍ゲノム解析・情報研究部・部長	遺伝子導入細胞製剤 の製造管理責任者
	青木一教	国立がんセンター研究所 ・がん宿主免疫研究室・室長	遺伝子導入細胞製剤 の品質管理責任者
	高上洋一	国立がんセンター中央病院 ・薬物療法部・薬物療法部長	臨床効果の評価
	飛内賢正	国立がんセンター中央病院 ・第一領域外来部・第一領域外来部長	臨床効果の評価
	森慎一郎	国立がんセンター中央病院 ・臨床検査部・細菌検査室医長	投与患者の診療
金 成元	国立がんセンター中央病院	投与患者の診療	

	福田隆浩	・特殊病棟部・13B 病棟医師 国立がんセンター中央病院	投与患者の診療
	田野崎隆二	・特殊病棟部・12B 病棟医長 国立がんセンター中央病院 ・臨床検査部・輸血管理室医長	投与患者の診療
外部共同研究者	峰野純一	タカラバイオ株式会社 ・細胞・遺伝子治療センター ・センター長	遺伝子導入用レトロウイルスベクター SFCMM-3 に関する基礎的助言及び遺伝子導入 T リンパ球調製技術の提供と助言
審査委員会が研究計画の実施を適当と認める理由		<p>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した。</p> <p>さらに先行する海外での臨床研究での成績から、従来の治療法では対処困難である HLA 適合ドナーを持たない高リスク造血器悪性腫瘍患者に対するハプロタイプ一致(HLA2~3 座不一致)血縁ドナーからの移植において有効な治療法となること、本研究で輸注する遺伝子導入 T リンパ球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、所轄官庁への臨床研究実施計画申請を承認することを差しつかえないものと判断した。</p> <p>国立がんセンター遺伝子治療臨床研究審査委員会・委員長 国立がんセンター中央病院・院長</p> <p style="text-align: right;">土屋 了介 (印)</p>	

研究の区分	遺伝子治療臨床研究	遺伝子標識臨床研究
研究の目的	<p>高リスク造血器悪性腫瘍患者に対して、ヒト白血球抗原(human leukocyte antigen: HLA)ハプロタイプ一致ドナー由来 T 細胞除去造血幹細胞の移植を施行した後、レトロウイルスベクター SFCMM-3 を用いて単純ヘルペスウイルス 1 型-チミジンキナーゼ(herpes simplex virus 1-thymidine kinase: HSV-TK)遺伝子を導入した同ドナー由来の T リンパ球を追加輸注(Add-back)する治療法の全体としての安全性及び有効性について検討する。</p> <p>&lt;主要エンドポイント&gt;</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>・「ハプロタイプ一致ドナー由来 T 細胞除去造血幹細胞移植後の HSV-TK 遺伝子導入 T リンパ球“Add-back”療法」の安全性</li> <li>・ HSV-TK 遺伝子導入 T リンパ球 Add-back 後の免疫系再構築並びに GVHD 発症頻度及び制御能</li> </ul> <p>&lt;副次的エンドポイント&gt;</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>・「ハプロタイプ一致ドナー由来 T 細胞除去造血幹細胞移植後の HSV-TK 遺伝子導入 T リンパ球“Add-back”療法」における感染症頻度、無病生存率、及び全般生存率</li> </ul>	

<p>対象疾患及びその選定理由</p>	<p><b>1. 対象疾患</b>        ヒト白血球抗原(HLA)適合又は1抗原不一致(血清型)の適切なドナーのいない、早期に移植治療を必要とする高リスク造血器悪性腫瘍患者。</p> <p><b>2. 対象疾患に対する現時点での知見</b>  <b>【造血器悪性腫瘍に対する造血幹細胞移植の現状】</b>        HLA 適合血縁者間での造血幹細胞移植は確立された治療手段であるが、約60%の患者はHLA 適合ドナーが存在しない。この場合、骨髄バンクを介して、非血縁者ドナーを探すこととなるが、ドナーが存在しない可能性及びコーディネートに時間を要するという問題がある。</p> <p><b>【本邦における成人に対する臍帯血移植の現状】</b>        本邦では、1994年に最初の同胞間臍帯血移植、1997年に非血縁者間臍帯血移植が行われて以来、緊急的移植にも迅速に対応可能であること、ドナーの負担がないこと、HLA 2座不一致まで移植可能であること等の利点があり、増加の一途を辿っている。2002年以降は成人における移植件数が小児のそれを上回るようになった。</p> <p><b>【当施設における臍帯血移植の経験】</b>        国立がんセンター中央病院では複数の臨床研究において症例登録を行い臍帯血移植を実施、着実に経験を蓄積している。</p> <p><b>【日米欧から報告された成人に対する臍帯血移植の成績】</b>        今までに報告された日米欧の多施設あるいは単施設からの成人に対する臍帯血移植の成績から、以下が明らかにされた。        ・ 成人に対する骨髄破壊的前処置を用いた臍帯血移植においても、造血の再構築が得られること。        ・ 発症する急性・慢性GVHDは許容できるものであること。        ・ ハイリスク患者を対象とした場合でも10～20数%の長期生存が得られること。        ・ 患者の年齢、移植されたCD34陽性細胞数が成績に相関すること。        ・ 移植後100日以内の早期死亡例では感染症や前処置関連毒性が多いこと。        また、日本国内では、学会を中心に継続して成績の集積が行われている。</p> <p><b>【日米欧から報告された成人における非血縁者骨髄移植と非血縁者臍帯血移植の成績の比較】</b>        2004年末に欧米及び本邦から成人に対する非血縁臍帯血移植と非血縁者骨髄移植の治療成績が報告された。        欧米からの2つの報告の結果は、いずれも、HLA一致ドナーが見つからない場合には臍帯血は許容できる幹細胞ソースであると結論されており、類似していた。        本邦からの報告(単一施設による)では、血縁者ドナーが存在しない場合には、臍帯血が第一の幹細胞ソースであると結論されていた。臍帯血移植の成績としては、極めて優れていると評価されており、欧米からの報告とは異なっている。</p> <p><b>【成人に対する臍帯血移植の課題】</b>        現時点では、成人に対する臍帯血移植は、造血幹細胞移植の中の一つの選択肢として捉えられているが、体重あたりの移植細胞数が少ない場合には、生着不全の頻度が高い、生着までに時間を要する、移植後の重症感染症による治療関連死が多いといった点が指摘されている。</p> <p><b>【ミスマッチ移植の現状と課題】</b>        ミスマッチ移植は100%に近い確率でドナーを見つけることが可能である。しかし、移植片が非自己を認識する作用が強いため、そのままでは生着しにくく、拒絶のリスク及び重篤な急性GVHD発症のリスクが問題となる。G-CSFにより動員した末梢血幹細胞(peripheral blood stem cell; PBSC)からT細胞を除去した大量の造血幹細胞を急性白血病患者に移植することで、造血幹細胞を高率に生着させ、かつ重篤なGVHDを回避する手法も確立されているが、非血液疾患死亡率及び白血病再発率は依然として高く、この</p>
---------------------	--

観点でのより有効な治療法の開発が必須となっている。

#### 【本邦におけるミスマッチ移植の現状と課題】

近年行われた調査によると、HLA 2 座以上の不一致を伴う移植においては、通常のGVHD 予防のみを行った場合には生存率が大きく低下した。HLA 2 座以上の不一致血縁者間移植を成功させるために、体外での T 細胞除去又は CD34 陽性細胞純化を行うミスマッチ移植、母子間免疫寛容の仮説に基づいたミスマッチ移植、強力なGVHD 予防法を用いたミスマッチ移植、及びアテムツズマブを用いた in vivo での T 細胞除去によるミスマッチ移植などの応用・研究が進んでいる。

#### 【T 細胞除去ミスマッチ移植における課題に対する対策】

ドナー由来の T 細胞は造血幹細胞の生着及び宿主免疫再構築を促進しており、移植患者から日和見感染を予防し、GVM 効果による再発防止に寄与している。したがって、T 細胞除去ミスマッチ移植では、移植後早期に免疫系を再構築する手立てが必須である。

イタリアのモルメド社は、自殺遺伝子である HSV-TK 遺伝子をレトロウイルスベクターにより導入したドナー T リンパ球を調製し、これを T 細胞除去ミスマッチ移植後に Add-back することで、早期に免疫系を再構築する臨床試験を実施している。HSV-TK 遺伝子導入 T リンパ球には重篤な GVHD 発症時に GCV 製剤投与により当該細胞を抹消して沈静化する安全装置としての機能が付与されており、大量に Add-back することにより早期の免疫系再構築、感染症を含む治療関連死の発生率低下、及び GVM 効果による疾患再発阻止が期待できる。

#### 【モルメド社の臨床試験概要】

現在、「ハプロタイプ一致ドナー由来 T 細胞除去造血幹細胞移植後の HSV-TK 遺伝子導入 T リンパ球 Add-back 療法」による第 I / II 相臨床試験 (TK007) を欧州 4 施設において実施している。第 47 回米国血液学会において発表された本試験の途中経過では、HSV-TK 遺伝子導入ドナー T リンパ球の Add-back が、早期免疫系再構築を促進し、移植後の感染死を含む治療関連死を予防し、全体としての生存率を上げることが確認された。

#### 【タカラバイオ株式会社の治験概要(予定)】

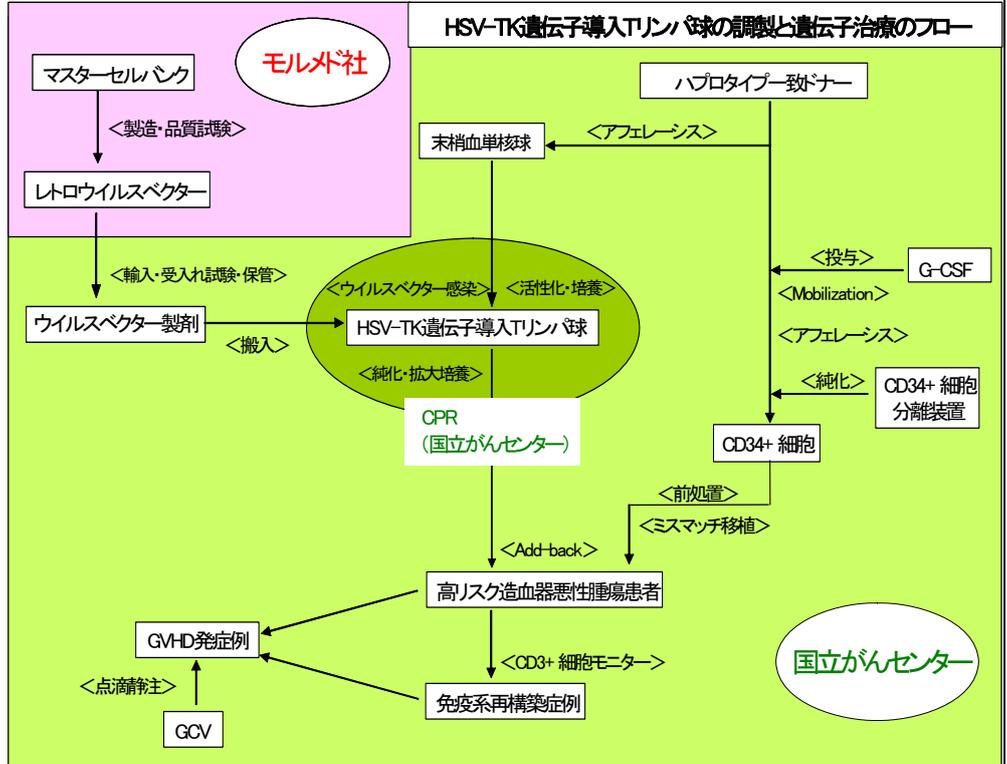
モルメド社から輸入した本臨床研究と同一のレトロウイルスベクターを用いた治験が、タカラバイオ(株)により計画されている。この治験では、同種造血幹細胞移植後に再発をきたした造血器悪性腫瘍患者を対象として、遺伝子導入 T リンパ球がドナーリンパ球輸注療法において投与される。タカラバイオ(株)は第 I 相試験を国立がんセンター中央病院で平成 20 年度に開始する予定である。

### 3. 本遺伝子治療臨床研究の概要

#### 【本遺伝子治療臨床研究の全体フロー】

以上の状況を踏まえ、モルメド社が実施した臨床試験と同様のプロトコールによる遺伝子治療臨床研究を実施計画することとした。

本遺伝子治療臨床研究を実施するにあたっては、病院内に設置された無菌細胞調整施設(CPR)にて、モルメド社から輸入したレトロウイルスベクターを用いてHSV-TK 遺伝子導入細胞を GMP 基準に準拠して調製し、品質試験を行う。



#### 【患者仮登録時選択基準の概要】

- 1) 予後不良の高リスク造血器悪性腫瘍患者(詳細は別途規定)
- 2) HLA 適合又は HLA 1 座不一致の適切なドナーがない
- 3) 末梢血幹細胞提供可能な HLA 2~3 座不一致の血縁ドナーがいる
- 4) 年齢が 20 歳以上 60 歳以下
- 5) ECOG の Performance Status が 0 又は 1
- 6) 主要臓器の機能が保たれている(詳細は別途規定)
- 7) ドナー及び患者の両者から文書での同意が得られている

#### 【HSV-TK 遺伝子導入 Tリンパ球の調製】

使用するレトロウイルスベクター-SFCMM-3 は、モルメド社で GMP 基準に則って作製され、品質規格に適合したものを輸入して受け入れる。なお、当該レトロウイルスベクターは、モルメド社が欧州で実施中の臨床試験(TK007)及び本邦における筑波大学付属病院での遺伝子治療臨床研究で使用されているものと同一である。

T細胞除去ミスマッチ移植ドナーと同一のドナーに由来するPBMCをアフエレーシスにより採取する。IL-2 存在下で抗 CD3 抗体により PBMC を刺激して活性化し、SFCMM-3 により HSV-TK 遺伝子及び細胞内領域欠損ヒト低親和性神経成長因子受容体( $\Delta$ LNGFR)遺伝子を ex vivo 遠心法により導入する。その後、抗 LNGFR 抗体と二次抗体結合磁気ビーズ及び細胞分離装置による純化、並びに IL-2 存在下での拡大培養を経て遺伝子導入 Tリンパ球を調製し、品質試験に合格した後に用いる。一部の品質試験項目については、Add-back 後に試験を実施することとし、万が一不合格となった項目があればその時点で臨床研究を中止して適切な措置を講ずることとする。つまり、化学療法や移植幹細胞ソースの再検索といった臨床現場において現時点で HLA 適合又は HLA 一座不一致の血縁ドナーが見当たらない高リスク造血器悪性腫瘍患者に行われている中で、患者の状態に応じ

総括責任者(又は治療にあたる分担研究者)が最も適切と考える治療法を行う。

#### 【T細胞除去ミスマッチ移植】

ドナーからの末梢血幹細胞は、G-CSF 製剤投与により動員し、アフエーシスにより採取する。その後、CD34 陽性細胞を分取し、 $4 \times 10^6$  個/kg を最少量として患者に移植する。

前処置は、モルメド社の臨床試験(TK007)と同様の内容で実施する計画である。アシクロビル(ACV)製剤及びGCV製剤は、後にAdd-backするHSV-TK遺伝子導入Tリンパ球の自殺機能を惹起することから、本臨床研究で感染予防・治療には使用しないこととする。サイトメガロウイルス(CMV)感染が問題となった場合には、ホスカルネットナトリウム製剤を使用する予定である。

#### 【HSV-TK 遺伝子導入 Tリンパ球 Add-back 及びフォローアップ】

T細胞除去ミスマッチ移植後、免疫系再構築の開始が確認されない場合には、造血幹細胞の生着が見込まれる移植後42日目の時点で、HSV-TK 遺伝子導入 Tリンパ球  $1 \times 10^6$  個/kgをAdd-backする。その後、免疫系再構築が認められず、かつGrade II以上の治療を必要とするGVHDを発症しない場合は、移植後72日目及び102日目の時点で、それぞれ  $1 \times 10^7$  個/kg の HSV-TK 遺伝子導入 Tリンパ球をAdd-backする。最終のAdd-back実施の6ヵ月後に本臨床研究のフォローアップを終了する。Grade II～IVのGVHDの発症が認められた場合には、通常のCMV感染症治療に用いられる用法・用量に従ってGCV製剤を投与する。この場合、患者の状態によっては、それまでのAdd-backの回数が1回または2回の場合、医師の判断により、GCV製剤投与後に1回のみHSV-TK遺伝子導入Tリンパ球( $1 \times 10^6$  個/kg)のAdd-backを許すものとする。

### 4. 他の治療法との比較及び遺伝子治療を選択した理由

#### ①ミスマッチ移植

ミスマッチ移植の課題の解決策を他の治療手段との比較をしながら段階的に示す。

#### 【ミスマッチ移植 vs T細胞除去ミスマッチ移植】

ミスマッチ移植におけるT細胞除去は重篤なGVHD予防に最も有効な手段であるが、移植後の免疫抑制状態が感染症を引き起こすリスクを高めており、また再発などの問題も指摘されているため、早期の免疫系再構築、及びGVM効果が課題となる。

#### 【T細胞除去ミスマッチ移植 vs T細胞除去ミスマッチ移植+Tリンパ球 Add-back】

T細胞除去ミスマッチ移植後の早期免疫系再構築においては、移植時と同じドナーに由来するTリンパ球のAdd-backは、理論的に有効な手段と考えられる。しかし、少量のTリンパ球のAdd-backでも致死的なGVHDを発症した例があり、改善が必須である。

#### 【Tリンパ球 Add-back vs HSV-TK 遺伝子導入 Tリンパ球 Add-back】

本遺伝子治療では、T細胞除去ミスマッチ移植後の早期に免疫系を再構築するために、同一ドナー由来のHSV-TK遺伝子導入Tリンパ球をAdd-backする計画である。これはAdd-backしたTリンパ球が直接要因となる致死性GVHD発症に対する対策として、安全装置としての自殺機能を当該Tリンパ球に付与するという考えに基づき、理論的には移植した造血幹細胞由来の免疫系には影響を与えずにGVHDを選択的に沈静化することが期待される。

#### ②臍帯血移植

臍帯血移植については、近年、その評価は定まりつつあるが、成人に適用する場合の細胞数不足及び移植後療法としてのドナーリンパ球輸注などの細胞療法が不可能であることなどが問題点として挙げられている。臍帯血移植の利点である「ドナーの負担がない」という点では、本遺伝子治療は通常の移植以上にドナーの負担が大きいことから、臍帯血移植の方が優れているが、代表的な問題点である移植細胞数の不足、造血回復の遅延、生着不全の頻度の高さについては、本遺伝子治療により解決策を見出せる可能性がある。

	<p>ドナーの負担という点では、本遺伝子治療の個々の症例への適応については、慎重かつしゅうぶんな検討が必要である。しかしながら、本遺伝子治療は、一連の治療法の課題に対する解決策を模索した上で計画されたものであり、これまでの海外での臨床実績からも安全性及び有効性が見込まれるものとして妥当な手法と考え選択した。</p>
<p>遺伝子の種類及びその導入方法</p>	<p><b>1. 人に導入する遺伝子の構造と性質</b>  本臨床研究において発現する遺伝子はΔLNGFR 遺伝子と HSV-TK 遺伝子である。</p> <p><b>①人に導入する遺伝子の構造</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>・細胞内領域欠損ヒト低親和性神経成長因子受容体遺伝子(ΔLNGFR 遺伝子)  使用するΔLNGFR 遺伝子は、LNGFR 遺伝子の細胞内領域をコードする塩基対を除去したもので、翻訳開始コドン ATG の上流に 113 塩基対の非翻訳領域を有し、ΔLNGFR をコードする 956 塩基対の遺伝子である。</li> <li>・単純ヘルペスウイルス 1 型-チミジンキナーゼ遺伝子(HSV-TK 遺伝子)  使用する HSV-TK 遺伝子は、CL101 株 DNA 由来の HSV-TK をコードする 1,131 塩基対及び翻訳開始コドン ATG の上流に位置する 14 塩基対の非翻訳領域からなる。</li> </ul> <p><b>②人に導入する遺伝子の性質</b>  レトロウイルスベクター-SFCMM-3 に含まれるΔLNGFR 遺伝子及び HSV-TK 遺伝子は細胞内に侵入した後、逆転写酵素によってウイルスゲノム RNA から 2 本鎖 DNA が合成され、核内に移行する。5'-LTR と 3'-LTR ではさまれた DNA はウイルスが持っているインテグラーゼによって細胞染色体に組み込まれ(プロウイルス)、細胞ゲノムの複製に伴って複製されて安定的に娘細胞へ受け継がれる。このために継続的な遺伝子発現が可能である。</p> <p><b>③導入遺伝子からの生成物の構造及びその生物活性</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>・ΔLNGFR の生物活性  ΔLNGFR は、細胞内領域のほとんどが除去されているため、シグナルを細胞内に伝達することはない。in vitro 及び in vivo において、ΔLNGFR の機能活性は観察されない。ΔLNGFR は細胞膜でたん白発現するため細胞表面マーカーとして利用され、特異的抗体を用いて in vitro で発現細胞を迅速に分離することができ、ex vivo での発現細胞の検出や生存状態、増殖状態等のキャラクタリゼーションを行うことができる。</li> <li>・HSV-TK の生物活性  HSV-TK は、遺伝子導入された細胞において自殺遺伝子産物として機能する。自殺遺伝子が導入された細胞では、その遺伝子産物により非毒性のプロドラッグである GCV が毒性型ドラッグに変換され、細胞が傷害を受ける。</li> </ul> <p><b>2. 本計画で使用するその他の組換え DNA の構造と性質</b>  本計画では使用しない。</p> <p><b>3. 標的細胞とした細胞の由来及び生物学的特徴並びに当該細胞を標的細胞とした理由</b>  GVM 効果を担う免疫担当細胞がドナー由来の T リンパ球であること、及び当該細胞が GVHD の原因となることが知られている。レトロウイルスベクターによる遺伝子導入は増殖中の細胞を標的としており、組換えヒトインターロイキン 2(rhIL-2) 存在下、抗 CD3 抗体で刺激することにより活性化された T リンパ球に対しても高い遺伝子導入効率が得られることが証明されている。レトロウイルスベクター-SFCMM-3 を用いた遺伝子治療においては、ドナーリンパ球から得られる活性化 T リンパ球が標的細胞として使用される。</p> <p><b>4. 遺伝子導入方法の概略及び当該遺伝子導入法を選択した理由</b></p> <p><b>①遺伝子導入方法の概略</b>  レトロウイルスベクター-SFCMM-3 を含むウイルス産生細胞の培養上清中にドナー末梢血リンパ球を加え、遠心することで行う。</p> <p><b>②当該遺伝子導入法を選択した理由</b></p>

当該遺伝子導入法としてレトロウイルスベクターを用いた遠心法を選択した理由は、レトロウイルスベクターは感染後細胞染色体に組み込まれて細胞ゲノムの複製に伴って複製されるために、長期にわたり導入遺伝子を安定して発現することができること、多くのモロニー Maus 白血病ウイルス (MoMLV) ベースのレトロウイルスベクターがヒト血液細胞への遺伝子導入に利用されていること、及び末梢血 T リンパ球がレトロウイルスベクターにより効率よく遺伝子導入されることである。

### ③レトロウイルスベクターの選択根拠

レトロウイルスベクターを用いて遺伝子導入を行うことにより、他のベクターに比べて効率よく遺伝子を細胞染色体に組み込むことが可能である。

レトロウイルスベクター-SFCMM-3 の基になる SFCMM-3 DNA は、野生型レトロウイルス由来の gag、pol、env をコードする遺伝子の全てもしくは一部を欠如しており、この DNA のみを通常の細胞に導入したのではウイルス粒子を産生することはない。また、ウイルスベクター製造に用いるパッケージング細胞株 GP+envAm12 (Am12、ATCC CRL-9641) は、gag、pol を発現する DNA 断片と env を発現する DNA 断片とが異なったベクターを用いて導入されているため、増殖性レトロウイルス (RCR) が出現する可能性は極めて低いと考えられており、すでに世界的に広く使用されている。

## 5. ウイルスベクターを用いた遺伝子導入

### ①野生型ウイルスの生物学的特徴及び人に対する影響

レトロウイルスベクター-SFCMM-3 のもとになる野生型ウイルスは MoMLV であり、形態的には直径約 100 nm の球形の C 型粒子に分類され、ウイルスコアをエンベロープが囲っている。ウイルスゲノムは分子量約  $3 \times 10^6$  の 1 本鎖 RNA で、相同の RNA 分子が 2 分子、ウイルスコア中に存在する。

MoMLV はマウス白血病ウイルス (MLV) を実験室で継代して高病原性株として単離された。MLV は AKR や C58 系マウスの自然発症白血病の病原ウイルスであり、オンコウイルス亜科のガンマレトロウイルス属に属する。オンコウイルスの病原性として、主体となるものは、肉腫、急性白血病、白血病、がんであり、野生マウスの後肢麻痺を招く神経好性ウイルスも知られているが、MoMLV は細胞由来の遺伝子を持たないウイルスであり、AKR や C58 系マウスでのみ白血病を誘発する。ヒトへの感染の報告はない。

### ②ウイルスベクターの作製方法

#### ・SFCMM-3 DNA ベクターの構築

pLXSN からネオマイシン耐性遺伝子 (NEO) の配列を取り除いて SV40 初期プロモーターの下流に  $\Delta$  LNGFR 遺伝子を、パッケージングシグナルの下流に HSV-TK 遺伝子を組み込んだものが SFCMM-3 DNA ベクターである。

#### ・パッケージング細胞株の構築

本臨床研究において使用するパッケージング細胞株は、Am12 である。本細胞株は、パッケージングに必要なウイルス遺伝子を 2 種類のプラスミド (ひとつは gag 遺伝子と pol 遺伝子で、もうひとつはマウスアンフォトロピックウイルス 4070A 由来の env 遺伝子) で別々にマウス繊維芽細胞株 NIH 3T3 に導入したアンフォトロピックパッケージング細胞株である。また、gag 遺伝子と pol 遺伝子を含むプラスミド及び MoMLV の env 遺伝子を含むプラスミドによりこれらの遺伝子を NIH 3T3 に導入して作製されたエコトロピックパッケージング細胞株 GP+E-86 (ATCC CRL-9642) をウイルス産生細胞の構築に用いた。

#### ・ウイルス産生細胞株の構築

パッケージング細胞 GP+E-86 に SFCMM-3 DNA ベクターをトランスフェクションし、レトロウイルスベクターエコトロピック SFCMM-3 を含む培養上清を回収した。この上清を Am12 に感染させることにより、安定なレトロウイルスベクター-SFCMM-3 産生細胞を構築した。

SFCMM-3 産生細胞から、良好な生育性と T リンパ球への高い遺伝子導入効率を示すクローンを得た。これをマスターセルバンク (MCB) 用シードセルとして樹立し、MCB を作製した。

#### ・レトロウイルスベクター-SFCMM-3 の製造

レトロウイルスベクター-SFCMM-3 は、バンキングされたウイルス産生細胞株の培養上

	<p>清中にウイルス粒子の状態が存在する。 製造は全てモルメド社の管理された製造エリアにて GMP 遵守下で行われる。</p> <p><b>③ウイルスベクターの構造</b> レトロウイルスベクター-SFCMM-3 はパッケージングシグナルとして<math>\Psi^+</math>を有し、gag、pol、env をコードする遺伝子は除かれている。</p> <p><b>④ウイルスベクターの生物学的特徴</b> レトロウイルスベクター-SFCMM-3 はアンフォトロピックパッケージング細胞株 Am12 により産生されるので、マウス、ラット、サル、ヒト等を含む多くの種の哺乳類細胞に感染しうる。また、レトロウイルスベクター-SFCMM-3 は増殖能を欠いているので、遺伝子導入した末梢血 T リンパ球内でウイルス粒子を形成することはない。したがって、RCR が出現しない限り周囲の細胞に感染することはない。</p>
安全性についての評価	<p><b>1. 遺伝子導入方法の安全性</b></p> <p><b>①遺伝子導入に用いるウイルスベクターの純度</b> レトロウイルスベクター-SFCMM-3 の製造は、モルメド社の管理された製造エリアにて GMP 遵守下で行われる。製剤は、ロットごとにウイルス安全性を含め品質試験を行う。</p> <p><b>②患者に投与する物質の純度及びその安全性</b> 患者に投与する物質は、HSV-TK 遺伝子導入ドナー T リンパ球及びその懸濁媒である RPMI 1640 及びヒト血清アルブミン含細胞凍害保護液 (CP-1) である。細胞調製の際に用いられる培地、試薬等に関しては、遺伝子導入細胞を患者に投与する前に生理食塩水でじゅうぶんに洗浄されるので、患者に影響を及ぼすことはないと考えられる。</p> <p><b>③増殖性レトロウイルス (RCR) 出現の可能性</b></p> <p><b>・レトロウイルスベクターの安全性</b> レトロウイルスベクター-SFCMM-3 のゲノムは gag、pol、env をコードする遺伝子の全部、若しくは一部を欠如しているため、パッケージング細胞内でしか増殖できない。レトロウイルスベクター-SFCMM-3 上清の試験項目に RCR 試験が含まれており、RCR 陰性の製剤だけを臨床使用する。</p> <p><b>・パッケージング細胞の安全性</b> Am12 は、パッケージングに必要なウイルス遺伝子を 2 種類のプラスミドで別々に導入した第 3 世代のパッケージング細胞株であり、RCR を産生する可能性は、第 1 世代及び第 2 世代パッケージング細胞株と比較して極めて低い。従って、SFCMM-3 DNA ベクターと Am12 の組み合わせにより作製されたウイルス産生細胞株を使用してレトロウイルスベクター-SFCMM-3 を製造する過程で RCR が出現する可能性は極めて低いと考えられる。 Am12 を用いて産生したレトロウイルスベクター中に RCR を検出したという報告があり、Am12 を用いても RCR 出現の可能性を完全には否定できないことを示唆している。一方、Am12 を用いて多種類のウイルスの RCR チェックを試みたが検出されなかったという報告がある。</p> <p><b>・HSV-TK 遺伝子導入ドナー T リンパ球の安全性</b> HSV-TK 遺伝子導入ドナー T リンパ球の調製完了後、RT-PCR 法及び Mus dunni 細胞との共培養後の PG-4 S+L-テスト (以下、増幅法) による RCR 試験を行う。RT-PCR 法による試験の結果、RCR 陰性であった細胞だけが患者に投与される。増幅法による試験は日数を要するために患者への投与後に結果が判明する場合も考えられるが、万一不合格となればその時点で臨床研究を中止して適切な措置を講ずる。</p> <p><b>④遺伝子導入に用いるウイルスベクターの細胞傷害性</b> レトロウイルスベクターによる遺伝子導入過程において、細胞を傷害することはないと考えられている。一方、細胞染色体上の遺伝子導入位置によっては細胞の生存・増殖に必須な遺伝子の発現が抑制され、細胞が死に至ることがありうるが、このような細胞の割合は少ないと考えられる。なお、レトロウイルスベクターを用いた遺伝子治療において細胞傷害性は報告されていない。</p> <p><b>⑤体内の標的細胞以外の細胞への遺伝子導入の可能性</b></p>

本遺伝子治療臨床研究では、ドナーTリンパ球に ex vivo で HSV-TK 遺伝子を導入し、拡大培養や細胞洗浄等の工程を経たあと患者に投与するので、感染性を持ったレトロウイルスベクター-SFCMM-3 が患者に投与される可能性は低い。また、レトロウイルスベクター-SFCMM-3 は増殖能を欠いているので、RCR が出現しない限り標的細胞以外の細胞に遺伝子が導入されることはない。

#### ⑥患者以外の人に遺伝子が導入される可能性

本臨床研究の細胞調製は、当該操作にじゅうぶんな知識と経験を有する研究者のみが行い、細胞調製作業員に遺伝子が導入される可能性は極めて低いと考えられる。遺伝子導入操作は P2 レベルの細胞調製施設において行い、レトロウイルスベクター-SFCMM-3 の環境中への拡散を防止する。レトロウイルスベクター-SFCMM-3 は、増殖能欠損型なので、患者を介して患者以外の人に遺伝子が導入される可能性は、大量の RCR が患者体内に存在しない限り非常に低い。

#### ⑦染色体内へ遺伝子が組み込まれる場合の問題点

細胞の生存や増殖に重要な遺伝子の近傍に挿入され、その遺伝子の発現が抑制された場合にはその細胞は死に至る可能性があるが、このような細胞は遺伝子導入細胞のごく一部であると考えられるので、患者への影響は極めて小さい。一方、がん遺伝子やがん抑制遺伝子の近傍に挿入され、これらの遺伝子の発現量が変化することにより当該細胞が無制限増殖する可能性がある。

#### ⑧がん原性の有無

レトロウイルスベクターの組み込みが細胞の増殖にとって正に働く場合には、がん原性の問題が出現するが、本遺伝子治療は、1) 対象が造血幹細胞移植を要する成人の白血病患者であること、2) 分化した成熟リンパ球への遺伝子導入であること、3) 導入遺伝子 (HSV-TK 及び  $\Delta$ LNGFR) は安全装置及びマーカーであること、から安全性が高い臨床計画と考えられている。遺伝子導入細胞の患者体内におけるクローン増殖性については linear amplification-mediated PCR (LAM-PCR) によってモニタリングすることにより、評価する予定である。

### 2. 遺伝子産物の安全性

#### ①HSV-TK 遺伝子の異常発現

HSV-TK は、GCV との組み合わせにより選択的自殺作用 (HSV-TK/GCV 自殺システム) を示す。一方、GCV 非存在下、HSV-TK が触媒する反応は通常の細胞内で行われている代謝反応であり、過剰発現による体細胞への影響は小さいものと思われる。ただし、HSV-TK 遺伝子発現細胞が免疫原となり、患者体内で当該細胞に対する細胞傷害性 T 細胞 (CTL) が誘導されることが過去の遺伝子治療臨床研究で示唆されている。このことは、GVM 効果の長期継続に対する障害となっている。HSV-TK/GCV 自殺システムを利用した遺伝子治療臨床試験において、本自殺システムに関連する有害事象は報告されていない。

#### ② $\Delta$ LNGFR 遺伝子の異常発現

$\Delta$ LNGFR は細胞内領域を欠損させており、細胞外領域及び細胞膜貫通領域を有するタンパク質であり、 $\Delta$ LNGFR 遺伝子を導入した Tリンパ球は NGF に対する反応を示さないことが報告されている。

### 3. 細胞の安全性

#### ①遺伝子導入細胞の調製方法

ドナーリンパ球を抗 CD3 抗体で刺激した後、レトロウイルスベクター-SFCMM-3 に懸濁し、遠心法により遺伝子導入を行う。抗 LNGFR 抗体及び磁気ビーズを用いて遺伝子導入細胞を選択し、拡大培養を行う。培養終了後の細胞を洗浄し、RPMI 1640 及びヒト血清アルブミン含細胞凍害保護液 (CP-1) に懸濁して一旦凍結し、輸注時に解凍後、そのまま患者に投与する。

	<p><b>②培養細胞の純度</b>        全ての操作は国立がんセンター中央病院内に設置したP2レベルの無菌細胞調整施設内にて行われる。培養細胞間の細胞汚染を防ぐために、異なるドナー細胞への遺伝子導入を同時には行わない。また、細胞の取扱いはクラスⅡの安全キャビネット内で行い、感染性微生物の混入を防ぐ。</p> <p><b>③細胞の遺伝子型、表現型の安全性</b>        抗LNGFR抗体及び磁気ビーズを用いた遺伝子導入細胞の選択により、ΔLNGFR陽性率が90%以上のTリンパ球が得られることが知られている。過去の実績から、レトロウイルスベクター-SFCMM-3により遺伝子導入したTリンパ球は非導入細胞と同様に、Tリンパ球としての機能を保持していることが確認されている。</p> <p><b>④被験者に投与する細胞の安全性</b>        投与する細胞はレトロウイルスベクター-SFCMM-3により遺伝子導入したドナーTリンパ球である。現在、白血病に対するドナーリンパ球輸注は広く行われており、ドナーTリンパ球の投与がGVHD以外に患者に重大な影響を及ぼすことはない。遺伝子導入細胞の品質は、品質試験によって担保される。</p>
<p>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</p>	<p>以下の理由により、本臨床研究は実施可能と判断される。</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 本臨床研究で使用されるレトロウイルスベクター-SFCMM-3はイタリアのモルメド社によりGMPに従って製造され、本邦では筑波大学附属病院における臨床研究に使用された実績がある。またモルメド社は、これを用いて調製したHSV-TK遺伝子導入Tリンパ球に対して、造血幹細胞移植における付加的治療として、2003年に欧州におけるオーファン医薬品の指定を受けており、現在、同ベクターを用いて本臨床研究と同様の治験を欧州4施設において実施している。2005年12月に開催された米国血液学会における発表では、途中経過として、その良好な経緯が報告された。          このことから、ハプロタイプ一致ドナー由来T細胞除去造血幹細胞移植後のHSV-TK遺伝子導入Tリンパ球“Add-back”療法は、非常に有望であり、T細胞除去ミスマッチ移植を安全かつ有効に行える可能性が示唆されている。</li> <li>2. 国立がんセンター中央病院は我が国の悪性腫瘍治療の基幹病院である。本臨床研究対象疾患の診療では、設立以来の豊富な経験を有し、経験豊富なスタッフを擁している。また、本臨床研究対象疾患に合致する患者が多く受診している。</li> <li>3. 総括責任者である平家勇司は、国立がんセンター研究所並びに中央病院において、細胞療法並びに遺伝子治療の開発研究を行ってきた。1997～1998年にかけて、米国アラバマ大学遺伝子治療センターにおいて、アデノウイルスベクター開発に携わると共に遺伝子治療臨床研究の研修を行った。前勤務地である国立病院四国がんセンター（現独立行政法人国立病院機構四国がんセンター）では、治験を含む複数の臨床研究に携わった。現在、国立がんセンター中央病院・薬物療法部遺伝子免疫療法室において細胞療法並びに遺伝子治療の開発研究及び固形腫瘍に対する骨髄非破壊的前処置による同種造血幹細胞移植療法の臨床開発に従事している。分担研究者である、吉田輝彦並びに青木一教はベクター開発を含む遺伝子治療開発研究を行っている。高上洋一、飛内賢正、森慎一郎、金成元、福田隆浩、田野崎隆二は、造血幹細胞移植の専門家で、多くの治験並びに医師主導の臨床試験の実績がある。</li> </ol>

実 施 計 画	<p><b>1. 遺伝子治療臨床研究を含む全体の治療計画</b></p> <p><b>①本臨床研究の実施に際し国立がんセンター中央病院内に設置される委員会・事務局</b>  本遺伝子治療臨床研究実施計画が了承された後に、遺伝子治療臨床研究効果安全性評価委員会及び遺伝子治療臨床研究実施事務局を国立がんセンター中央病院内に設置する。  遺伝子治療臨床研究効果安全性評価委員会及び遺伝子治療臨床研究実施事務局は遺伝子治療臨床研究審査委員会からは独立しており、それぞれ次に示す役割を担う。  遺伝子治療臨床研究効果安全性評価委員会は、被験者選定の適格性確認の妥当性の判定、臨床研究の安全性の客観的な判定、臨床効果の客観的な判定、プロトコルの変更の妥当性確認、5例終了時点での臨床研究の目的が評価できたかについての判定等を行う。  遺伝子治療臨床研究実施事務局は、遺伝子治療臨床研究効果安全性評価委員会との連絡等事務局業務、症例登録業務等の本遺伝子治療臨床研究を適切に実施するための支援業務を行う。</p> <p><b>②本臨床研究の実施手順</b></p> <p><b>被験者・ドナー選定、登録～遺伝子導入Tリンパ球調製・移植細胞の分離・移植前処置</b>  適応が予測される被験者及びそのドナーに対し、文書によるインフォームドコンセントを行い、文書による同意が得られた場合、適格性を確認する。適格性が確認できた被験者及びそのドナーについて、遺伝子治療臨床研究実施事務局に本臨床研究への仮登録及び登録をそれぞれ依頼する。ドナーより、血漿、末梢血単核球(PBMC)画分及び末梢血幹細胞(PBSC)の採取を行い、一連の細胞調製を行う。遺伝子導入Tリンパ球は、品質を確認した後に Add-back に用いる。PBSC については、専用の細胞分離装置を用いて CD34 陽性細胞の分離を行い、この分離細胞を移植細胞とする。  遺伝子導入 T リンパ球の調製及び移植細胞の採取後、被験者の適格性を確認し、遺伝子治療臨床研究実施事務局に本臨床研究への本登録を依頼する。被験者が本登録となったことを確認した後、Fludarabine 製剤、Thiotepa 製剤、Thymoglobin 製剤、及び放射線全身照射(TBI)による骨髄破壊の前処置を移植前処置として施行し、移植前処置の安全性及び原疾患の状態を確認する。</p> <p><b>造血幹細胞移植</b>  移植前処置後、CD34 陽性細胞の分離細胞 <math>4.0 \times 10^6</math> 個/kg 以上を移植細胞として造血幹細胞移植を行う。</p> <p><b>造血幹細胞移植後～遺伝子導入 T リンパ球 Add-back</b>  移植直後の転帰の確認及び自発的な免疫系再構築の開始の確認を目的に造血幹細胞移植 30 日後から 40 日後の間に被験者の検査・観察を行う。遺伝子導入 T リンパ球 Add-back は以下に従い、免疫再構築の確認が得られるまで最大3回、それぞれ定められた日から7日以内に行うものとする。  初回の遺伝子導入 T リンパ球 Add-back 以降、GVHD が発症した場合には「GVHD 発症時の対応」の項の記載に従い、治療を行う。  初回の Add-back: 自発的な免疫系再構築の開始が確認されない場合、かつ GVHD を発症しないあるいは Grade II 以上の治療を必要とする GVHD を発症しない場合には造血幹細胞移植日を0日として42日目に <math>1 \times 10^6</math> 個/kg の遺伝子導入 T リンパ球を Add-back する。  2 回目の Add-back: 初回の Add-back 以降、免疫系再構築が確認されない場合、かつ GVHD を発症しないあるいは Grade II 以上の治療を必要とする GVHD を発症しない場合には初回の Add-back から30日後に <math>1 \times 10^7</math> 個/kg の遺伝子導入 T リンパ球を Add-back する。  3 回目の Add-back: 2 回目の Add-back 以降、免疫系再構築が確認されない場合、かつ GVHD を発症しないあるいは Grade II 以上の治療を必要とする GVHD を発症しない場合には2回目の Add-back から30日後に <math>1 \times 10^7</math> 個/kg の遺伝子導入 T リンパ球を Add-back する。</p> <p><b>遺伝子導入 T リンパ球 Add-back 後のフォローアップ</b>  安全性の判定に関する検査・観察、免疫系再構築の判定に関する検査・観察、GCV 製剤投与による GVHD 沈静化能の判定に関する検査・観察等を行う。  遺伝子導入 T リンパ球の Add-back に伴い、重篤な GVHD が発症した場合には、GCV 製剤を投与する。その場合、GCV 製剤投与による GVHD の沈静化能に関する検査・観察</p>
---------	--

を行う。

本研究終了後も、被験者の生存期間中にわたり、追跡調査を行う。

## 2. ドナー・被験者の選択基準及び除外基準

### ①ドナーの選択基準及び除外基準

#### ・選択基準

- 1) 被験者の 4 親等以内の血縁者である者。4 親等以内には、父母、兄弟姉妹、祖父母、孫、叔父叔母、甥姪、従兄弟などが含まれる。
- 2) 患者との HLA が 2 抗原あるいは 3 抗原(血清型)不一致のドナーである者。なお、不一致の対象となる HLA 抗原は HLA-A、B、DR とする。
- 3) 登録時の年齢が 20 歳以上 65 歳以下である者。
- 4) ECOG Performance Status が 0 である者。
- 5) ドナーとしてじゅうぶんな心・肺・腎・肝機能を有する者。
  - ▷ 心電図上虚血性変化や治療を要する不整脈を認めない者。
  - ▷ 血清クレアチニン値が 1.5 mg/dL 未満及び血清総ビリルビン値が 2.0 mg/dL 以下の者。
  - ▷ 胸部 X 線写真で異常がなく、酸素非投与時の酸素飽和度が 93%以上の者。
  - ▷ AST が 56 IU/L 未満の者。
  - ▷ ALT が 66 IU/L 未満の者。
- 6) ドナーとしてじゅうぶんな造血能を有する者。
  - ▷ 白血球数が 3,000/ $\mu$ L 以上の者。
  - ▷ 血小板が 130,000/ $\mu$ L 以上の者。
  - ▷ ヘモグロビン濃度が 13.0 g/dL 以上の男性、又は 11.0 g/dL 以上(鉄剤服用後でも可)の女性。
- 7) 本臨床研究協力に対する自由意思による同意が本人から文書により得られている者。

#### ・除外基準

- 1) 自己免疫疾患(膠原病を含む)の現有及び既往のある者。
- 2) 静脈血栓、動脈硬化性疾患の現有及び既往のある者。
- 3) うっ血性心不全、虚血性心疾患、脳血管病変の現有及び既往のある者。
- 4) 間質性肺炎の現有及び既往のある者。
- 5) 悪性腫瘍の現有及び既往のある者。
- 6) 薬物治療を必要とする高血圧、糖尿病を現有する者。
- 7) 脾腫を認める者。
- 8) 臨床研究参加に対する同意に影響を及ぼす精神的疾患、薬物依存がある者。
- 9) 重篤な薬剤アレルギーの既往がある者。
- 10) G-CSF 製剤に対するアレルギーがある者。
- 11) 妊婦あるいは妊娠している可能性がある者及び授乳中である者。
- 12) HBs 抗原、HIV 抗体のいずれかが陽性の者。
- 13) 他の臨床試験・臨床研究に参加している者。
- 14) その他、総括責任者(又は、治療に当たる分担研究者)が不相当と認めた者。

### ②被験者の選択基準及び除外基準

#### ・仮登録時の選択基準及び除外基準

##### 仮登録時選択基準

造血器悪性腫瘍患者の診断及び分類は新 WHO 分類に従うものとし、本遺伝子治療臨床研究による治療効果が、現在可能な他の方法と比較して優れていることが予測され、かつ以下の 1)~8)の全てを満たす患者を対象とする。

なお、選定にあたっては、提供可能な HLA 適合または 1 抗原不一致(血清型)の適切な血縁ドナーの存在の確認及び骨髄バンクの検索サービスを用いての非血縁ドナーの存在の確認を行い、さらに日本さい帯血バンクネットワークの検索システムを用いての移植可能な臍帯血の存在を確認するものとする。なお、患者の疾患、病期、候補となる臍帯血ユニットの細胞数及び HLA 等を慎重に検討した上で、選定の時点で得られている日本さい帯血バンクネットワークの登録データで 2 年生存率が 50%以上期待できる場合には、臍

帯血移植を優先する。

- 1) 以下のいずれかを満たす患者
  - ▷ 高リスク急性骨髄性白血病の初回寛解期。高リスクとは、1回の寛解導入療法にて完全寛解が得られなかった、初発時白血球数が  $20,000/\mu\text{l}$  以上、二次性白血病、M0、M6、M7、又は予後不良染色体異常[複雑な異常、-7, -5, abn(3q), del(5q)]を有する、のうちいずれかの条件を満たす例とする。
  - ▷ 急性骨髄性白血病(二次性含む)の第二以上の寛解期。
  - ▷ 骨髄異形成症候群のうち、IPSS(International Prognosis Scoring System) Intermediate-2 以上の予後不良群。
  - ▷ 骨髄異形成症候群であり、週10単位以上の血小板輸血、もしくは2週に2単位以上の赤血球輸血を要する輸血依存例。
  - ▷ 慢性骨髄性白血病の第一慢性期以降の慢性期、又は移行期。メシル酸イマチニブによる治療歴を有する例に限る。
  - ▷ 高リスク急性リンパ性白血病初回寛解期。高リスクとは、初発時年齢が30歳以上、初発時白血球数  $30,000/\mu\text{l}$  以上、表面形質が mature B-cell 又は early T-cell である、予後不良の染色体異常[t(9;22), t(4;11), t(1;19), hypodiploid, -7, +8]を有する例、寛解導入に4週間以上要した、のうちいずれかの条件を満たす例とする。
  - ▷ 急性リンパ性白血病の第二以上の寛解期。
  - ▷ 3回目又はそれ以降の寛解期にある悪性リンパ腫の患者。
  - ▷ 自家移植後に再発、あるいは悪化した多発性骨髄腫の患者。
- 2) 提供可能な HLA 適合(1抗原不一致(血清型)含む)の適切な血縁ドナー及び非血縁ドナーがいない患者。
- 3) 選択基準に合致し、除外基準に抵触しないドナーを有している患者。
- 4) 造血幹細胞移植後9ヵ月以上の生存が可能であると思われる20歳以上60歳以下の患者。
- 5) ECOG Performance Status 0 又は 1 の患者。
- 6) 以下の全ての主要臓器機能が保たれている患者。
  - ▷ 酸素非投与下での動脈血中酸素飽和度が93%以上(経皮的測定でも可)
  - ▷ 血清クレアチニン値が施設基準値上限(男性:1.1 mg/dL、女性:0.7 mg/dL)の2倍以内
  - ▷ 血清ビリルビン値が2.0 mg/dL 以下
  - ▷ AST が施設基準値上限(33 IU/L)の3倍以内
  - ▷ ALT が施設基準値上限(男性:42 IU/L、女性:27 IU/L)の3倍以内
  - ▷ 心電図上、治療を要する異常を認めない
- 7) 臨床研究参加期間中に安全性や免疫系再構築等、必要な評価が可能であると考えられる患者。
- 8) 治療開始にあたり、自由意思により文書で同意が得られた患者。

#### **仮登録時除外基準**

- 1) CMV 感染症を発症、又は CMV 抗原血症を呈し、ガンシクロビル製剤にて治療中の患者。
- 2) ACV 製剤で治療中の患者。
- 3) 心エコーにて安静時の心駆出率が50%未満の患者。
- 4) インスリンの継続使用によってもコントロール不良の糖尿病を有する患者。
- 5) コントロール不良の高血圧症を合併する患者。
- 6) 本臨床研究の参加に対する同意に影響を及ぼすような精神疾患、薬物依存症などの疾患を有する患者。
- 7) 治療を要するアレルギー、又は本臨床研究で用いられる薬剤に対してアレルギーのある患者。
- 8) 活動性の感染症を有する患者。
- 9) 中枢神経系にコントロール不能な明らかな腫瘍細胞の浸潤を認める患者。
- 10) 活動性の重複癌がある患者。
- 11) 過去に TBI、全身リンパ節照射(TLI)を実施した患者。
- 12) HIV 抗体陽性、HBs 抗原陽性、又は HCV 抗体陽性の患者。
- 13) 妊婦、妊娠の可能性のある患者、授乳中の患者又は臨床研究終了後5年間の避

妊に協力できない患者。

14) 他の臨床試験・臨床研究に参加している患者。

15) その他、総括責任者(又は治療にあたる分担研究者)が不適当と認めた患者。

**・本登録時の選択基準及び除外基準**

**本登録時選択基準**

1) 本臨床研究への参加の同意の撤回がない患者。

2) 本臨床研究における Add-back に必要な量の遺伝子導入 T リンパ球が得られた患者

3) ドナーから採取された純化後の CD34 陽性細胞数が  $4.0 \times 10^6$  個/kg 以上の患者。

4) 造血幹細胞移植後 9 ヶ月以上の生存が可能であると思われる患者。

5) ECOG Performance Status 0 又は 1 の患者。

6) 以下の全ての主要臓器機能が保たれている患者。

▷酸素非投与下での動脈血中酸素飽和度が 93%以上(経皮的測定でも可)

▷血清クレアチニン値が施設基準値上限(男性:1.1 mg/dL、女性:0.7 mg/dL)の 2 倍以内

▷血清ビリルビン値が 2.0 mg/dL 以下

▷AST が施設基準値上限(33 IU/L)の 3 倍以内

▷ALT が施設基準値上限(男性:42 IU/L、女性:27 IU/L)の 3 倍以内

▷心電図上、治療を要する異常を認めない

7) 臨床研究参加期間中に安全性や免疫系再構築等、必要な評価が可能であると考えられる患者。

**本登録時除外基準**

1) CMV 感染症を発症、又は CMV 抗原血症を呈し、ガンシクロビル製剤にて治療中の患者。

2) 移植した末梢血幹細胞の生着が確認できない患者。

3) 治療を必要とする GVHD が発症した患者。

4) ACV 製剤で治療中の患者。

5) 心エコーにて安静時の心駆出率が 50%未満の患者。

6) インスリンの継続使用によってもコントロール不良の糖尿病を有する患者。

7) コントロール不良の高血圧症を合併する患者。

8) 本臨床研究の参加に対する同意に影響を及ぼすような精神疾患、薬物依存症などの疾患を有する患者。

9) 治療を要するアレルギー、又は本臨床研究で用いられる薬剤に対してアレルギーのある患者。

10) 体表面積当たりのクレアチニン・クリアランスが  $20 \text{ mL}/\text{分}/\text{m}^2$  未満[標準体表面積  $1.48\text{m}^2$  で算出した場合のクレアチニン・クリアランスが  $30 \text{ mL}/\text{分}$  未満]。

11) 活動性の感染症を有する患者。

12) 中枢神経系にコントロール不能な明らかな腫瘍細胞の浸潤を認める患者。

13) 活動性の重複癌がある患者。

14) 過去に TBI、TLI を実施した患者。

15) HIV 抗体陽性、HBs 抗原陽性、又は HCV 抗体陽性の患者。

16) 妊婦、妊娠の可能性のある患者、授乳中の患者又は臨床研究終了後 5 年間の避妊に協力できない患者。

17) 他の臨床試験・臨床研究に参加している患者。

18) その他、総括責任者(又は治療にあたる分担研究者)が不適当と認めた患者。

**3. 登録**

**①ドナーの登録**

自由意思による文書同意を得た後、適格性確認に必要な検査・観察を行う。適格性が確認できた場合、遺伝子治療臨床研究実施事務局にドナーの登録を依頼する。

**②被験者の仮登録**

自由意思による文書同意を得た後、適格性確認に必要な検査・観察を行う。適格性が確認できた場合、遺伝子治療臨床研究実施事務局に被験者の仮登録を依頼する。

### ③被験者の本登録

遺伝子導入 T リンパ球の調製及び移植細胞の採取後に、被験者の適格性を確認する。遺伝子導入 T リンパ球が調製後の品質試験に不合格となった場合、本臨床研究における Add-back に必要な細胞数の遺伝子導入 T リンパ球の確保ができなかった場合、及び純化後の CD34 陽性細胞数が移植に必要な数に満たなかった場合には、本登録には移行せず、臨床研究は中止とする。適格性が確認できた場合は、遺伝子治療臨床研究実施事務局に被験者の本登録を依頼する。

## 4. ドナー・被験者に対する説明及びその同意の取得方法

### ①被験者に対する説明及びその同意の取得方法

開始に先立ち、被験者の同意を得るに際し、遺伝子治療臨床研究審査委員会の承認が得られた同意説明文書を説明の前、又は説明するときに渡し、内容にそって口頭で詳しく説明する。その後、自由意思による同意を文書にて取得する。なお、同意を取得する前には、質問する機会と臨床研究に参加するか否かを判断するじゅうぶんな時間を被験者本人に与えることとし、質問についてはじゅうぶんに答える。

### ②ドナーに対する説明及びその同意の取得方法

ドナーより PBMC 及び血漿を採取するに先立ち、ドナーの同意を得るに際し、遺伝子治療臨床研究審査委員会の承認が得られた同意説明文書を説明の前、又は説明するときに渡し、内容にそって口頭で詳しく説明する。その後、自由意思による同意を文書にて取得する。なお、同意を取得する前には、質問する機会と臨床研究に参加するか否かを判断するじゅうぶんな時間をドナー本人に与えることとし、質問についてはじゅうぶんに答える。

### ③ドナー・被験者に対する説明の体制

▷被験者の同意を取得する前には、移植専門医に加えて血液科医師等が参加するカンファレンスにて当該被験者の症例を紹介し、客観的な判断に基づいた確認を得るものとする。被験者への説明の際には、総括責任者(又は治療にあたる分担研究者)からの説明に加え、がん専門看護師から異なる立場で説明補助を行う。さらに、必要に応じ院内外の移植専門医が中立的立場での説明を行うものとする。

▷ドナーに対する説明は、被験者と別に行うものとする。また、ドナーとなることに同意する以前に患者より有形・無形の圧力がかからないように配慮する。

## 5. 実施期間及び目標症例数

実施期間は厚生労働大臣から実施が差し支えない旨の回答を得た時点から最長3年間である。各症例毎の実施期間は、最終の遺伝子導入 T リンパ球 Add-back 後6ヵ月迄で、臨床研究終了後も当該被験者の生存期間にわたり長期追跡調査を実施する。

目標症例数は10例とする。なお5例終了時点で、遺伝子治療臨床研究効果安全性評価委員会にて、以降の研究の継続の可否について審議を行うものとする。審議により、当該遺伝子治療臨床研究の目的がじゅうぶんに評価されうると判断された場合には、その5例をもって当該遺伝子治療臨床研究は終了とする。

## 6. 遺伝子治療臨床研究の実施方法

### ①対照群の設定方法

特に設けない。

### ②遺伝子導入方法、遺伝子導入 T リンパ球の追加輸注(Add-back)等

「ドナーからの PBMC の採取」～「CD34 陽性細胞採取」については別表に定めた「①臨床研究実施スケジュール(ドナー)」で実施する。

#### ・ドナーからの PBMC の採取

ドナーの選択・除外基準に関する適否を確認した後、ドナーの健康診断を行い、異常がないことを確認する。同意取得日から採取当日までの使用薬剤についても確認する。血

球分離装置にてドナーより PBMC 画分を採取する。採取する細胞数は、輸注に必要な遺伝子導入 T リンパ球の必要量によって異なるが、 $1 \times 10^{10}$  個を採取目標量の最大とし、1 回のアフエーシスにつき最大 200 mL/kg の血液を処理する。

ドナーからの PBMC 画分採取は、国立がんセンター中央病院内に設置する遺伝子治療臨床研究実施事務局での本臨床研究へのドナーの登録、被験者の仮登録後に行う。

・**遺伝子導入 T リンパ球の調製**

採取されたドナー PBMC 画分を用いて、「安全性についての評価 3. 細胞の安全性 ① 遺伝子導入細胞の調製方法」の記載に従い、細胞調製を行う。細胞調製後、「安全性についての評価 3. 細胞の安全性 ④ 被験者に投与する細胞の安全性」の記載に従い、遺伝子導入 T リンパ球としての品質を確認したうえで、Add-back に用いる。

・**CD34 陽性細胞採取**

CD34 陽性細胞の動員・採取は「同種末梢血幹細胞移植のための健常人からの末梢血幹細胞動員・採取に関するガイドライン(日本造血細胞移植学会・日本輸血学会、2003 年 4 月 21 日 改訂第 3 版)」に準じて行う。なお、動員・採取中はもとより採取終了後もドナーを慎重に観察し、安全の確保に努める。

・**末梢血幹細胞移植**

移植治療前に末梢ラインあるいは中心静脈ラインを確保し、移植日に用意した移植細胞(CD34 陽性細胞の分離細胞  $4.0 \times 10^6$  個/kg 以上)を末梢ラインあるいは中心静脈ラインから患者に輸注する。

・**遺伝子導入 T リンパ球の Add-back**

「実施計画 1. 遺伝子治療臨床研究を含む全体の治療計画 ② 本臨床研究の実施手順 造血幹細胞移植後～遺伝子導入 T リンパ球 Add-back」の記載に従う。

**GVHD 発症時の対応**

GVHD に対する治療: 遺伝子導入 T リンパ球の Add-back 後、GVHD 発症時には免疫系再構築の有無にかかわらず、以下に従う。

Grade I の急性 GVHD が発症した場合には、そのまま経過観察を行う。

Grade II の急性 GVHD 又は慢性 GVHD が発症した場合には、総括責任者の判断のもと、治療を行ってもよい。

Grade III 以上の急性 GVHD を発症した場合、又は Grade II の急性 GVHD 又は慢性 GVHD を発症しかつ総括責任者により治療が必要であると判断された場合、GCV 製剤 5 mg/kg/回を 1 日 2 回 7～14 日間点滴静注する。GVHD が改善しない場合は、免疫抑制剤(例、タクロリムス製剤、メチルプレドニゾン製剤及びシクロスポリン A 製剤)を総括責任者の判断により投与する。GVHD の改善の判断は、日本造血細胞移植学会の「造血細胞移植ガイドライン-GVHD の診断と治療に関するガイドライン」に示された「標準的な secondary treatment の治療適応」に記載の基準に従う。

重篤な GVHD が発症し、GCV 製剤を投与しても GVHD が改善しない場合の secondary treatment は本実施計画では規定しない。

GVHD 治療後の遺伝子導入 T リンパ球の Add-back: 遺伝子導入 T リンパ球の Add-back 後に、Grade II 以上の GVHD が発症し、GCV 製剤投与により、じゅうぶんに沈静化できた場合には、GCV 製剤投与直前の遺伝子導入 T リンパ球の Add-back が初回あるいは 2 回目の場合に限り、GCV 製剤投与終了後、総括責任者の判断により  $1 \times 10^6$  個/kg の細胞数の遺伝子導入 T リンパ球を Add-back することができる。発症した GVHD が GCV 製剤投与に反応しない場合には、新たな遺伝子導入 T リンパ球の輸注は行わず、本臨床研究を中止するものとし、以降の治療は規定しない。

**CMV 感染症時の対応**

適宜ホスカルネットナトリウム製剤を投与する。

**細菌、真菌感染時の対応**

本実施計画では規定しない。症状に応じて、適切な抗生剤、抗真菌剤を投与する。

**再発時の対応**

研究を中止し、以降の治療については規定しない。

**③ 前処置及び併用療法の有無**

・**移植前処置**

骨髄破壊的前処置法として、TBI(7.5 Gy 単回照射 Day -9) + thiotepa 製剤(5 mg/kg/q12h Day -8) + fludarabine phosphate 製剤(40 mg/m<sup>2</sup>/日 Day -7～Day -3) +

methylprednisolone 製剤 (2 mg/kg/日) と併せて Thymoglobulin 製剤 [3 mg/kg/日 (Merieux) あるいは 5 mg/kg/日 (Fresenius) Day -6 ~ Day -2] + 安静 (Day -1) を用いる。

・許容される併用療法

**メシル酸イマチニブ**

慢性骨髄性白血病に対しては、前処置開始までに終了する。

**感染症予防薬**

細菌感染症予防: 前処置開始時から好中球の生着確認時までキノロン系経口薬を投与。

真菌感染症予防: フルコナゾール製剤 200 mg/日 を前処置開始時から免疫系再構築確認時まで投与。カリニ肺炎予防のため、Sulfamethoxazole/Trimethoprim 合剤を前処置開始前は連日少なくとも 2 週間、好中球の生着後から少なくとも免疫系再構築確認時まで週に 2 回、1 日 4 錠の 2 分割投与。

ウイルス感染症予防: 単純ヘルペス感染症及び帯状疱疹予防のため、ピダラビン製剤を Day -7 から Day 35 まで 1,500 mg/日、点滴静注で投与。CMV 感染予防として、CMV 抗原血症検査 (C7-HRP あるいは C10/C11) を生着後 Day 100 まで週に 1 回ずつ施行する。CMV 抗原血症検査の結果に基づいて適宜ホスカルネットナトリウム製剤を投与。

・併用禁止療法

▷ 移植前処置開始時以降、臨床研究参加期間中を通じ、移植前処置で用いる以外の抗がん剤治療は禁止。ただし、仮登録から移植前処置開始までの期間については、他の抗がん剤による治療を禁止しない。

▷ 末梢血幹細胞移植後のシクロスポリン A 製剤の使用は禁止。又、原則として G-CSF 製剤の投与も禁止。

▷ 初回の遺伝子導入 T リンパ球の輸注以降は、GCV 製剤・ACV 製剤の投与は禁止。

**④臨床検査項目及び観察項目**

被験者の適格性他の確認、本臨床研究における安全性の判定、免疫系再構築の判定、GCV 製剤投与による GVHD 沈静化の判定、治療反応性の判定 等のために以下の検査・観察を別表に定めた「②臨床研究実施スケジュール(患者)」で実施する。

・被験者の適格性他の確認に関する検査・観察

ドナー背景: HLA の型、現有、既往、自覚症状、他覚所見 (Performance Status 等)、心電図、血液学的検査、血液生化学検査、感染症検査、胸部 X 線検査、動脈血液中酸素飽和度 等

被験者仮登録時: HLA の型、臨床診断名・病歴、現有、既往、HLA 適合又は 1 抗原不一致の血縁ドナーの有無、妊娠の有無、自覚症状、他覚所見 (Performance Status 等)、心エコー、心電図、動脈血液中酸素飽和度、胸部 X 線検査 (感染症の検査として)、血液学的検査、血液生化学、感染症検査 等

被験者本登録時: 現有、既往、妊娠の有無、自覚症状、他覚所見 (Performance Status 等)、心エコー、心電図、動脈血液中酸素飽和度、胸部 X 線検査 (感染症の検査として)、血液学的検査、血液生化学検査、感染症検査、ドナーからの採取 CD34 陽性細胞数、遺伝子導入 T リンパ球数、クリアチニン・クリアランス、尿定性 等

・移植細胞数

移植された CD34 陽性細胞数、及びこれに含まれる CD3 陽性細胞数

・輸血状況

輸血日、血小板輸血量 (単位)、赤血球輸血量 (単位)

・併用薬剤使用状況

併用薬剤名、1 日用法用量、併用期間、使用目的

・遺伝子導入 T リンパ球数

輸注した遺伝子導入 T リンパ球数

・原疾患に関する検査・観察

臨床検査 [芽球の有無、ヘモグロビン量、好中球数、血小板数、LDH、CRP、血清電解質 (Ca)]、骨髄像 (有核細胞数、腫瘍細胞割合、骨髄球の成熟、形態学的異常、巨核球数、M/E 比)、細胞遺伝学的検査、分子学的検査、キメリズム解析、腫瘍関連症状 (発熱、盗汗、体重減少)、血清 M 蛋白・尿中 M 蛋白、画像診断

・安全性の判定に関する検査・観察

臨床検査 (血液学的検査、血液生化学検査、免疫学的検査、感染症検査、尿定性検査等)、有害事象 (感染事象、GVHD、臨床検査値異常変動含む)、RCR 発現の有無、

LAM-PCRによる遺伝子導入 Tリンパ球クローナリティー解析

・免疫系再構築の判定に関する検査・観察

末梢血中の CD3 陽性リンパ球数、末梢血中のリンパ球の免疫表現型、末梢血の免疫回復の細胞生物学的解析及び分子生物学的解析

・GCV 製剤投与による GVHD 沈静化能の判定に関する検査・観察

GVHD 症状評価、GCV 製剤投与無効時の免疫抑制剤使用頻度、GVHD 発症組織における遺伝子導入 Tリンパ球の存在確認(実施可能な場合)

・その他の検査・観察

無病生存率

腫瘍性疾患に関わる検査、転帰、最終確認日

全般生存率

転帰、最終確認日

感染症の頻度

治療を要した感染事象の頻度、事象確認日、転帰、最終確認日

輸注後血中動態

抗 LNGFR 抗体を用いた FACS 解析、又は PCR 法を用いて測定された血中遺伝子導入 Tリンパ球濃度の推移

研究終了後の追跡調査

本臨床研究終了後も生存期間中にわたり、以下の項目について追跡調査を行う。

- ▷RCR 出現の有無
- ▷LAM-PCRによる遺伝子導入 Tリンパ球クローナリティーの解析
- ▷転帰(原疾患評価、生死の別、最終転帰確認日)

**⑤予測される副作用及びその対処方法**

・ドナー末梢血リンパ球採取に伴うドナーへの危険性

ドナーからのリンパ球採取は基本的に安全性が確立した手技であるが、特に以下の 4 点には注意を払う。対処法については、下記の記載のほか、「日赤成分採血マニュアル」の記載に従うこととする。

▷低カルシウム血症

(対処法) 予防のため、カルシウムを補充。

▷中心静脈確保の必要性

(対処法) 習熟した医師が行う。合併症発生時には症状にあわせ薬剤投与・処置を行う。

▷リンパ球採取後の血球減少

(対処法) 原則的に経過観察する。血小板については、必要に応じて返血を行う。

▷一時的な血圧低下

(対処法) 生理食塩水の点滴により対処可能。

・ドナー末梢血幹細胞採取に伴うドナーへの危険性

「ドナー末梢血リンパ球採取に伴うドナーへの危険性」で示した以外に、以下の 2 点に注意を払う。

▷血管迷走神経反射を認めることがある。

(対処法) 必ず ECG モニターを用い、硫酸アトロピン、エチホール、エフェドリンなどを直ちに静注するための準備を行う。

▷採取後に血小板減少が高頻度(50%以上)に見られ、50,000/ $\mu$ L 未満の高度の血小板減少も少なからず見られる。

(対処法) 採取終了後 1 週間くらいは血小板数を確認し、採取前値への回復を確認する。PBSC 動員から採取終了までアスピリン製剤は使用しない。

・T 細胞除去造血幹細胞移植に伴う被験者への危険性

▷感染症を主要因とする移植関連死

(対処法) 本遺伝子治療実施計画では規定しないが、医師の判断による適切な予防投薬等の徹底した予防策を実施し、早期発見により早期治療を行う。

▷原疾患の再発

(対処法) 本遺伝子治療臨床研究を中止し、以降の治療については規定しない。

・遺伝子導入 Tリンパ球 Add-back に伴う被験者への危険性

▷投与時に被験者に発熱、悪寒、筋痛等を認めることがある。

(対処法) 鎮痛解熱剤等の適切な薬剤にて対処する。

- ▷重篤なアレルギー反応を認めることがある。  
(対処法) 輸注速度を遅くし、経過観察を行う。
- ▷重症の GVHD を発症することがある。  
(対処法) 「実施計画 6. 遺伝子治療臨床研究の実施方法 ②遺伝子導入方法、遺伝子導入 T リンパ球の追加輸注 (Add-back) 等 ・遺伝子導入 T リンパ球の Add-back GVHD 発症時の対応」の記載に従う。

**・ガンシクロビル(GCV)製剤投与に伴う被験者への危険性**

遺伝子導入 T リンパ球を輸注した被験者における GVHD 発症に対する治療に使用される用量 (10 mg/kg/日) は、CMV 感染に対する治療に使用される用量であり、腎機能に障害がある場合にはその程度に応じて適宜減量する。GCV 製剤の使用には、骨髄抑制、消化管障害、腎機能障害等の副作用を伴う可能性があるため、じゅうぶんな観察を行い、減量若しくは投与を中止する等の適切な処置を講じる。

**・RCR の危険性**

本臨床研究においては RCR が出現する可能性は極めて低いが、出現した場合、悪性リンパ腫を発症する可能性も否定できないので、被験者の経過を注意深く観察して対処するものとする。

**⑥遺伝子治療臨床研究の評価方法、評価基準及び中止判定基準**

安全性、免疫系再構築、GCV 製剤投与による GVHD 沈静化能等に関する検査・観察スケジュールは、別表に定めた「②臨床研究実施スケジュール(患者)」に記載の通りである。

本臨床研究の主たる評価は遺伝子導入 T リンパ球最終 Add-back 後 6 カ月までのデータによって行われるが、遺伝子導入 T リンパ球のクローナルな増殖、RCR 出現の可能性を完全には否定できないため、遺伝子治療を受けた被験者については臨床研究終了後も生存期間中にわたり、以下の項目について年 1 回のフォローアップを行う。

- ▷RCR 出現の有無
- ▷LAM-PCR による遺伝子導入 T リンパ球クローナリティーの解析
- ▷転帰(原疾患評価、生死の別、最終転帰確認日)

**・安全性の判定方法、基準**

**安全性に関する判定に必要な検査・観察項目**

- ▷臨床検査
- ▷有害事象
- ▷RCR
- ▷LAM-PCR

**安全性に関する判定基準・評価方法**

▷臨床検査については、検査値の異常及び異常変動を判定する。  
臨床検査値の異常の判定は、国立がんセンター中央病院の基準範囲を逸脱した場合とする。

異常変動「有」の判定は、正常値→異常値、もしくは異常値→異常値の増強がみられた場合に、その臨床的意義を考慮して判断する。これに該当しない場合においても、その変動の臨床的意義を考慮した結果、異常変動「有」と判断された場合も含まれる。

▷開始時より終了時までの臨床研究期間中を通して発生した有害事象について、その症状、発現時期、程度、臨床研究継続・中止の別、処置の有無及び内容、遺伝子導入 T リンパ球輸注との因果関係、転帰(回復した場合にはその回復日)を調査し、そのグレード及び遺伝子導入 T リンパ球 Add-back との因果関係を判定する。

有害事象のグレードは、2003 年米国 National Cancer Institute (NCI) が発表した「Common Terminology Criteria for Adverse Events v3.0 (CTCAE v3.0)～日本語訳 JCOG/JSCO 版-2004 年 10 月 27 日～」に従い、判定を行う。

因果関係は、被験者の状態、既往歴、合併症、併用薬、Add-back と有害事象発現の時間的關係及び Add-back 自体の影響等を考慮し、「関連あり・関連があるかもしれない・おそらく関連なし・関連なし」の 4 分類で判定する。

- ▷末梢血中の RCR を RT-PCR 法により測定する。
- ▷LAM-PCR については、遺伝子導入 T リンパ球のクローナリティーを検討する。

**・免疫系再構築の判定方法、基準**

**免疫系再構築の判定に必要な検査・観察項目**

▷末梢血中の CD3 陽性リンパ球数  
▷末梢血中のリンパ球の免疫表現型  
▷末梢血の免疫回復の細胞生物学的解析及び分子生物学的解析

**免疫系再構築に関する判定基準・評価方法**

▷別表に定めた「②臨床研究実施スケジュール(患者)」に従い、免疫表現型に関する検査を行い、「GVHD 発症の有無に関係なく、2 回の連続した検査で CD3 陽性細胞数が 1 μl あたり 100 を超えるとき免疫再構築が達成されたと判定する。」という基準に従い、免疫系再構築の達成を評価する。

▷末梢血中のリンパ球の免疫表現型をヒトリンパ球マーカーに対する各種抗体 (CD3、CD4、CD8、CD11c、CD56、CD123 等)を用いた FACS 解析により評価する。

▷細胞内サイトカインの測定、Pentamer 解析、T 細胞受容体レパトア解析、TREC 法を用いた解析等により評価する。

**・GCV 製剤投与による GVHD 沈静化能の判定方法、基準**

**GCV 製剤による GVHD 沈静化能の判定に必要な検査・観察項目**

▷GVHD 症状評価  
▷GCV 製剤投与無効時の免疫抑制剤使用頻度  
▷GVHD 発症組織における遺伝子導入 T リンパ球の存在確認 (実施可能な場合)

**GCV 製剤による GVHD 沈静化能に関する判定基準・評価項目**

▷GCV 製剤投与による GVHD 沈静化の評価を行う。

▷GVHD に対し GCV 製剤を投与したが、GVHD が改善せず免疫抑制剤を投与した場合を集計し、その頻度を検討する。

▷組織診断用の検体採取が可能な場合、組織切片を作製し、抗 LNGFR 抗体を用いた免疫染色により遺伝子導入 T リンパ球の存在を確認する。もしくは、検体から DNA を抽出してリアルタイム PCR を用いてレトロウイルスベクター-SFCMM-3 に特異的な領域を測定することにより遺伝子導入 T リンパ球の存在を確認する。

**・臨床研究の中止判定基準**

**個々の被験者での中止**

同意取得から前処置までの開始前: 以下の場合には、遺伝子導入ドナー T リンパ球の Add-back を行わず、臨床研究を中止し、以降の治療については規定しない。

- ▷被験者あるいはドナーの同意が撤回された場合
- ▷被験者あるいはドナーが選択基準に合致していないことが判明した場合
- ▷被験者あるいはドナーが除外基準に抵触していることが判明した場合
- ▷症状が悪化し、臨床研究の実施が困難と総括責任者 (又は治療にあたる分担研究者) が判断した場合
- ▷有害事象発生のため、臨床研究の実施が困難と総括責任者 (又は治療にあたる分担研究者) が判断した場合
- ▷その他、臨床研究の実施が適当でないと総括責任者 (又は治療にあたる分担研究者) が判断した場合

前処置開始後から遺伝子導入 T リンパ球 Add-back 前: 以下の場合には、臨床研究を中止し、以降の治療については規定しない。

- ▷被験者の同意が撤回された場合
- ▷重篤な CMV 感染症が発症し、GCV 製剤を投与するに至った時
- ▷移植した末梢血幹細胞の生着が確認できない場合
- ▷初回の遺伝子導入 T リンパ球 Add-back より前に、治療を必要とする GVHD が発症した場合
- ▷有害事象発生のため、臨床研究の実施が困難と総括責任者 (又は治療にあたる分担研究者) が判断した場合
- ▷症状が悪化し、臨床研究の実施が困難と総括責任者 (又は治療にあたる分担研究者) が判断した場合
- ▷その他、臨床研究の実施が適当でないと総括責任者 (又は治療にあたる分担研究者) が判断した場合

遺伝子導入 T リンパ球 Add-back 後: 以下の場合には、臨床研究を中止し、以降の治療については規定しない。

- ▷被験者の同意が撤回された場合
- ▷重篤な GVHD が発症し、免疫抑制剤を投与するに至った時

- ▷重篤な CMV 感染症が発症し、GCV 製剤を投与するに至った時
- ▷RCR の出現が認められた時
- ▷有害事象発生のため、臨床研究の実施が困難と総括責任者（又は治療にあたる分担研究者）が判断した場合
- ▷症状が悪化し、臨床研究の実施が困難と総括責任者（又は治療にあたる分担研究者）が判断した場合
- ▷その他、臨床研究の実施が適当でないと総括責任者（又は治療にあたる分担研究者）が判断した場合

#### **臨床研究全体の中止**

以下に該当する被験者の安全性に重大な影響を及ぼし、臨床研究の実施に影響を与え、又は臨床研究継続に関する遺伝子治療臨床研究審査委員会の承認を変更する可能性がある情報を得た場合は、遺伝子治療臨床研究効果安全性評価委員会に意見を求め、その提言を参考にして分担研究者と協議し、本臨床研究の中止を決定することができる。

- ▷最初の 5 例の遺伝子治療実施例に、免疫系再構築を確認できた症例がなかった旨の情報
- ▷最終 Add-back 後 6 ヶ月以内の被験者の死亡に関する情報
- ▷重篤な有害事象に関する情報
- ▷遺伝子導入 T リンパ球 Add-back との因果関係を否定できない grade IV 以上の有害事象（副作用）に関する情報
- ▷遺伝子導入 T リンパ球 Add-back 後の GCV 製剤投与により沈静化できない GVHD 発症例に関する情報
- ▷その他、総括責任者並びに分担研究者が中止すべきと判断する情報

#### **⑦重篤な有害事象が発現した場合の措置**

臨床研究との因果関係の有無に関わらず、重篤な有害事象が発現した場合は、適切な処置を行うとともに、国立がんセンター中央病院の規定に従い、国立がんセンター総長に報告する。国立がんセンター総長はその旨を速やかに厚生労働省に報告する。

#### **⑧症例記録に関する記録用紙等の様式**

カルテとは別に本臨床研究専用の症例報告書を作成する。

#### **⑨記録の保存及び成績の公表の方法**

記録の保存は、国立がんセンター総長が指名した保管責任者が適切に行う。

成績の公表は、ドナー・被験者本人の同意のもと、研究者全員の合意を得て行う。公表の際には、被験者のプライバシーにじゅうぶんに配慮し、個人情報が入り込まないよう必要な措置を行う。

#### **⑩個人情報の保護の徹底**

##### **・個人情報保護に関する責務**

国立がんセンターの保有する個人情報の適切な管理のために必要な措置について定めた国立がんセンター保有個人情報管理規程に従い、保有する個人情報の漏洩、毀損などを防止し、適正な管理を図る。

##### **・個人情報の取得と利用に関する制限**

▷診療・研究機関としての国立がんセンター中央病院における一般的な取扱

国立がんセンター中央病院は、社会的な使命の実現に向けて、一般的な診療行為等に関する限定された目的に限り、患者の個人情報を使用する。

▷その他本遺伝子治療臨床研究の遂行に必要な被験者の個人情報の利用・取扱い

本臨床研究の遂行における個人情報の利用・取り扱いについては、総括責任者はあらかじめ被験者の個人情報の利用を公開している場合を除き、速やかに、その利用目的を被験者等に通知し、又は公表しなければならない。

特別の目的で使用する場合は、事前に被験者に再度説明し了解を得てから使用する。

また、本臨床研究の成績などを公表・公開する場合は、個人を特定できない形すなわち個人情報を保護して公開する。

▷個人情報保護に関する安全管理措置

	<p>国立がんセンター総長は国立がんセンター保有個人情報管理規程に従い、個人情報保護に関して、組織的に安全管理措置を実施し、個人情報の漏洩、滅失又は棄損の防止に関する措置を講じている。さらに本臨床研究では、死者に関する個人情報をも生存する個人と同様に死者に関する個人情報についても同様の管理下で取り扱う。</p> <p>▷外部共同研究者が閲覧可能なデータ  遺伝子導入 T リンパ球の安全性や機能に関する客観的な記録を外部共同研究者が閲覧することを可能とするが、遺伝子導入用レトロウイルスベクター-SFCMM-3 及び遺伝子導入 T リンパ球の調製に限定されたものであり、本臨床研究のデータの客観的かつ公正な記録はその意向に影響を受けることはない。  閲覧目的を限定した上で外部共同研究者がデータを閲覧する場合でも、治験と同様に被験者識別コードを用いることにより、個人を特定できない措置を講じて個人情報を保護する。</p> <p>▷第三者提供の制限  総括責任者は、あらかじめ被験者等の同意を得ないで個人情報を第三者に提供してはならない。本臨床研究では、外部共同研究者が個人情報を保護した上で一部データの閲覧を行う予定であるが、あらかじめ、その旨を被験者等に通知し同意を得る。</p> <p>▷個人情報の開示、訂正、利用停止等  本臨床研究においては、「臨床研究実施機関の名称」、「個人情報の利用目的」、「苦情の申出先」について同意説明文書に明記した。また、「個人情報の開示、訂正、利用停止等に関する手続き」については、それらの手続きができることを同意説明文書に明記し、その申し出に応じて、手続きの詳細を国立がんセンター個人情報開示等取扱規程に従い、被験者に説明する。</p>
<p>備 考</p>	<p>1. 本遺伝子治療臨床研究実施計画については、平成 18 年 8 月 15 日から国立がんセンター遺伝子治療臨床研究審査委員会で慎重な審議がなされ、その科学的および倫理的妥当性について平成 19 年 3 月 30 日付けで承認されている。</p> <p>2. 実施施設における当該遺伝子治療臨床研究に関する培養細胞、実験動物を用いた研究成果  国立がんセンター中央病院 11 階に設置された P2 レベル、クラス 10,000 の無菌細胞調整施設において、3 バッチの HSV-TK 遺伝子導入 T リンパ球の試験調製を行った。閉鎖系での作業が可能な工程については閉鎖系で行い、それ以外の作業は無菌細胞調整施設内に設置したクラス II 安全キャビネット内で行った。  品質試験結果は、3 バッチとも、あらかじめ定めた規格に合格するものであった。</p> <p>3. 当該遺伝子治療臨床研究に関連する実施施設以外の内外の研究状況  HSV-TK 遺伝子及び ΔLNGFR 遺伝子を含むレトロウイルスベクターで遺伝子導入されたヒト T リンパ球を用いた、造血器悪性腫瘍に対する臨床研究・治験としては、イタリアで 2 件の臨床研究、イタリアで 1 件の治験、日本で 1 件の臨床研究、及びイタリアで 1 件の治験(モルメド社の臨床第 I / II 相試験)が実施されている。  イタリアの DLI としての臨床研究では、遺伝子治療を受けた患者 23 例中、解析可能な患者が 17 例あり、その内 3 例に Grade II 以上の急性 GVHD が発症し、1 例に慢性 GVHD が発症した。これら 4 例に GCV が投与され、急性 GVHD の 3 例では完全な沈静化が認められ、慢性 GVHD の 1 例では部分的な沈静化が認められた。造血器悪性腫瘍に対する治療効果としては、解析可能であった 17 例中、完全寛解は 6 例、部分寛解は 5 例であった。  イタリアの add-back としての臨床研究では、8 例の患者に造血幹細胞移植後、Add-back にて漸増用量で遺伝子導入リンパ球が輸注された。1 × 10<sup>7</sup> 個/kg の HSV-TK 遺伝子導入ドナーリンパ球を投与された 1 例に急性 GVHD が発症し、GCV の投与により GVHD の症状は完全に沈静化された。Add-back による免疫系再構築に有効な遺伝子導入リンパ球の用量としては、1 × 10<sup>7</sup> 個/kg が有望であることが示された。  日本での臨床研究としては、筑波大学附属病院での DLI としての臨床研究が実施されており、9 例の症例に対して遺伝子導入細胞が調製され、5 例に計 8 回の遺伝子導入細胞の投与が行われた(3 例では 2 回投与)。このうち 1 例で急性 GVHD を発症し、GCV を投</p>

与することによって末梢血中の遺伝子導入リンパ球は減少して GVHD は沈静化した、原疾患の進行により GCV 投与後 38 日に死亡した。残り 4 例は、遺伝子治療実施から約 4 か月～2 年の時点でいずれも生存中である。

モルメド社の臨床第 I / II 相試験では、登録患者 29 例の内 17 例に遺伝子導入 T リンパ球が Add-back され、その 14 例に免疫系再構築が確認された。また、14 例中 6 例に Add-back 後の急性 GVHD が発症したが、その内の 5 例に GCV 製剤が投与されいずれも GVHD 症状が完全に沈静化した。登録された患者は高リスク造血器悪性腫瘍患者にもかかわらず、Add-back を受けた 17 例中 7 例に再発を認めたに過ぎなかった。免疫系再構築に至った 14 例では、その後の感染症エピソード及び治療関連死が極端に少なくなっており、特に CMV 感染による死亡例は、評価対象 16 例中わずか 1 例であった。以上より、HSV-TK 遺伝子導入ドナー T リンパ球の Add-back により、早期免疫系再構築を促進し、移植後の感染死を含む治療関連死を予防し、全体としての生存率を上げることが確認された。

これらの臨床研究・治験の結果から、HSV-TK 遺伝子及び ΔLNGFR 遺伝子をレトロウイルスベクターで導入したヒト T リンパ球について、ヒト体内において遺伝子治療に関連する重篤な副作用報告はなく、その免疫機能により発症した GVHD 症状は、HSV-TK の自殺機能により期待通り沈静化している状況である。

モルメド社の臨床第 I / II 相試験実施計画と本臨床研究実施計画は類似するものである。主要評価項目及び副次的評価項目に含まれる項目はほぼ同様であるが、安全性については本臨床研究では主要評価項目であるのに対し、モルメド社の臨床第 I / II 相試験では副次的評価項目である。これに関連して、本臨床研究では治療効果を期待しつつ安全性の評価を行うことを目的とするために、IL-2 を併用することなく、短期間により多くの遺伝子導入リンパ球を Add-back する用法・用量とした。その他、適格性確認の時点、再発時の対応等に相違があるが、評価に大きな影響を及ぼすものではなく計画全体としてはほぼ同様であると考えられる。一方で、筑波大学附属病院の臨床研究とは同一の遺伝子ベクターを用いるという点を除いて対象・治療法が大きく異なり、計画全体としては類似するものではない。

#### モルメド社の臨床第 I / II 相試験実施計画との主な異同

	モルメド社の 臨床第 I / II 相試験	本遺伝子治療
遺伝子ベクター	● モルメド社由来 SFCMM-3	● モルメド社由来 SFCMM-3
細胞調製法	● 遠心法による遺伝子導入 ● 培養期間が 10 日間	● 遠心法による遺伝子導入 ● 培養期間が 10 日間
対象疾患	● 移植が適応となる高リスク 白血病	● 移植が適応となる高リスク 白血病
実施期間	● 当初計画では 2 年間	● 3 年間
目標症例数	● 18 症例	● 10 症例
治療概要	● ハプロタイプ一致ドナー由来 T 細胞除去移植 42 日後に遺伝子導入リンパ球を Add-back する療法	● ハプロタイプ一致ドナー由来 T 細胞除去移植 42 日後に遺伝子導入リンパ球を Add-back する療法
用法・用量	● $1 \times 10^6$ /kg (Day 42) → $1 \times 10^7$ /kg (Day 72) → $1 \times 10^6$ /kg + IL-2 (Day 102) → $1 \times 10^7$ /kg + IL-2 (Day 132) の 4 回の Add-back	● $1 \times 10^6$ /kg (Day 42) → $1 \times 10^7$ /kg (Day 72) → $1 \times 10^7$ /kg (Day 102) の 3 回の Add-back
主要評価項目	● 免疫系再構築 ● GCV 製剤投与による GVHD 沈	● 安全性 ● 免疫系再構築

	静化 ● GVL 効果 ● (安全性は副次的評価項目)	● GCV 製剤投与による GVHD 沈静化
GVHD 対応	● GCV を 14 日間点滴静注	● GCV を 7～14 日間点滴静注

4. 類似の遺伝子治療臨床研究の成果  
 HSV-TK 遺伝子を含むレトロウイルスベクター(ΔLNGFR を含まず)により遺伝子導入された T リンパ球を用いた造血器悪性腫瘍に対する臨床研究・治験としては、フランスで 1 件の臨床研究、ドイツで 1 件の臨床研究、アメリカで 2 件の臨床研究について、学術論文が発表されている。  
 これらの結果から、HSV-TK の自殺機能による遺伝子導入リンパ球の消失及び GVHD の沈静化が確認されている。

5. 本遺伝子治療臨床研究は、以下の法令/省令等を遵守して実施される。

①「遺伝子治療臨床研究に関する指針」  
 (平成 16 年文部科学省・厚生労働省告示第二号、平成 16 年 12 月 28 日)

②「臨床研究に関する倫理指針」  
 (厚生労働省告示第四百五十九号、平成 16 年 12 月 28 日)

③「遺伝子組換え微生物の使用等による医薬品等の製造における拡散防止措置等について」  
 (薬食発第 0219011 号、各都道府県知事あて厚生労働省医薬食品局長通知、平成 16 年 2 月 19 日)

④「遺伝子治療用医薬品の品質及び安全性の確保に関する指針について」  
 (薬発第 1062 号、各都道府県知事あて厚生省薬務局長通知、平成 7 年 11 月 15 日)

⑤「遺伝子治療用医薬品の品質及び安全性の確保に関する指針の改正について」  
 (医薬発第 329004 号、各都道府県知事あて厚生労働省医薬局長通知、平成 14 年 3 月 29 日)

⑥「遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物多様性の確保に関する法律」  
 (平成 15 年 6 月 18 日法律第 97 号)

⑦行政機関の保有する個人情報の保護に関する法律  
 (平成 15 年 5 月 30 日法律第 58 号)

⑧厚生労働省保有個人情報管理規程  
 (平成 17 年 3 月 23 日厚生労働省訓令第 3 号)

**(注意)**

1. 用紙の大きさは、日本工業規格A列4番とすること。
2. この申請書は、正本1通及び副本2通を提出すること。
3. 字は黒・インクを用い、楷書ではっきり書くこと。
4. 記載欄に記載事項のすべてを記載できない時は、その欄に「別紙( )のとおり」と記載し、別紙を添付すること。
5. 備考欄には、「第4その他」に掲げる各種指針への適合状況等、特記すべき事項について記載すること。
6. 大学等にあつては、この申請書の写しを文部科学大臣にも送付すること。



## ②臨床研究実施スケジュール(患者)

	幹細胞移植前			幹細胞移植日	幹細胞移植後 (移植日を0として)				最終 Add-back <sup>1</sup> 後 (最終 Add-back <sup>1</sup> 日を0として)								患者生存期間中 1年毎	
	仮登録時以前	本登録時以前	本登録後		0	42日以前	42日	72日	102日	1週	2週	3週	4週	6週	10週	14週		18週
同意取得	○																	
仮登録	○																	
本登録		○																
患者背景	○																	
自覚症状 ・他覚所見 (PS 等)	○	○		○	○ <sup>2</sup>				○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
血液学的検査	○	○		○	○ <sup>2</sup>				○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
血液生化学的検査	○	○		○	○ <sup>3</sup>				○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
免疫学的検査	○	○							○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
感染症検査	○	○			○ <sup>4</sup>				○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
尿定性		○			○ <sup>4</sup>							○	○	○	○	○	○	○
クレアチニン・グリブス		○																
動脈血液中 酸素飽和度	○	○																
心電図	○	○																
心エコー	○	○																
胸部 X 線検査	○	○																
原疾患に関する 検査・観察	○	○							4週に1回、中止あるいは終了時他、 治療上で必要な時期									
移植前処置			○															
造血幹細胞移植				○														
遺伝子導入 Tリンパ球 Add-back					○	○	○	○										
輸血・併用療法 状況確認									実施期間を通して確認									
RCR									○ <sup>7</sup>			○		○			○	○
LAM-PCR <sup>5</sup>												○	○	○	○	○	○	○
免疫系再構築の判定 に関する検査・観察					○ <sup>4</sup>	○			○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
GVHD 評価 <sup>6</sup>					○ <sup>4</sup>	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
GVHD 発症組織の遺伝 子導入 Tリンパ球の 存在確認									GVHD 発症時、GCV 製剤投与前、4日後、終了あるいは中止の翌日									
血中遺伝子導入 Tリンパ球濃度測定					○ <sup>4</sup>				○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
有害事象									実施期間を通して確認									

1: 診察日時点から見て最終(直近)の遺伝子導入 Tリンパ球の Add-back をさし、初回あるいは2回目の Add-back が最終(直近)の場合にも上記スケジュールに従う

2: 造血の確認(生着)が確認されるまでの毎日と造血幹細胞移植後30日から40日の間に1回

3: 造血の確認(生着)が確認されるまでは週3回と造血幹細胞移植後30日から40日の間に1回

4: 造血幹細胞移植後30日から40日の間に1回

5: 検査検体採取を行う。検査実施は必要時

6: GVHD 発症時等、必要時にはスケジュールに定められた以外でも実施する

7: 最終 Add-back 後、1~3日の間に1回

- ・ 造血幹細胞移植は臨床研究実施スケジュールに定められた日から7日以内に実施する。
- ・ 最終 Add-back 後の検査・観察は定められた週のいずれかの日に実施する。

## XI.7 同意説明文書及び同意文書（被験者用）

### 同意取得の際に用いられる説明文書及び同意書

「ハプロタイプ一致ドナー由来 T 細胞除去造血幹細胞移植後の単純ヘルペスウイルス 1 型・チミジンキナーゼ（HSV-TK）遺伝子導入 T リンパ球 <sup>アド バック</sup> “Add-back” 療法」

<被験者用>

遺伝子治療臨床研究

ハプロタイプ一致ドナー由来 T 細胞除去造血幹細胞移植後の単純ヘルペスウイルス 1 型・  
チミジンキナーゼ（HSV-TK）遺伝子導入 T リンパ球 “Add-back” 療法

（説明文書及び同意書）

1. はじめに

これから、あなたに今回参加していただきたい遺伝子治療臨床研究の目的、内容について説明させていただきます。

わからないことがあれば何でも遠慮なく担当医師にお尋ねください。あなたの質問に対して、納得していただけるようじゅうぶんに説明させていただきます。

説明いたしました内容をじゅうぶんに把握していただいた上で、この遺伝子治療臨床研究に参加するかどうか、あなた自身の意思で決めてください。参加しても良いと決めた場合には、同意書に署名をお願いいたします。

あなたの病気（造血器悪性腫瘍）に対しては、最初に行われるのが化学療法です（場合によっては放射線療法を行うこともあります）。しかし、現在の化学療法によって完全治癒が得られる例はまれであり、それらの疾患に対して同種造血幹細胞移植療法が行われています。同種造血幹細胞移植とは、大量の抗がん剤や全身への放射線療法で腫瘍細胞を減少させると共に患者さんの造血能を破壊し、その後提供（ドナー\*）から採取した「造血幹細胞」と呼ばれる血液のもとになる細胞を移植するというもので、造血器悪性腫瘍の治療を目指した治療法のひとつです。この治療には、白血球の型が完全に一致あるいは一致度の高いドナーが適しています。中でも血縁者、特に兄弟・姉妹であることが好ましいのですが、そういったドナーが見つかる確率は高くありません。白血球の型が完全に一致あるいは一致度の高い血縁ドナーが見つからない患者さんのために骨髄バンクが準備されており、非血縁者（他人）の中で適したドナーからの移植が行われています。ここまでの治療が標準的治療と考えられていますが、骨髄バンクを用いても適切なドナーが見つからず移植できない患者さんが多数いらっしゃいます。この問題の解決法として、さい帯血移植とハプロタイプ一致移植が試みられています（後ほど詳しくご説明申し上げます）。わが国では、このうちさい帯血移植の研究が盛んですが、欧米ではハプロタイプ一致移植の研究が盛んに行われています。わが国のさい帯血移植の実施症例は急速に拡大しており、その治療成績も徐々に明らかになってきています。本研究は、それらの最新の情報に基づき、

（ 1/31 ）

さい<sup>たいけつ</sup>帯血移植を受けられない、あるいは現時点では満足できる治療成績が得られていない疾患の患者さんを対象として、ハプロタイプ一致移植を有効・安全な治療法として確立することを目的として計画されています。

- \* 「提供者」、「ドナーさん」、「ドナー」などの表現がありますが、この説明文書においては、以後、「ドナー」という表現に統一させていただきますことをご了解ください。

### 1.1 遺伝子治療臨床研究とは

臨床研究により新しい治療法を確立することは、国立病院の役割の一つであり、患者さんのご協力により成し遂げることができるものです。今回参加をお願いする臨床研究は、厚生労働省の指針の中で「疾病の治療を目的として遺伝子または遺伝子を導入した細胞を人の体内に投与すること」と定義されている遺伝子治療に相当するもので実際の診療に携わる医師が医学的必要性・重要性に鑑<sup>かんが</sup>みて、立案・計画して行うものです。製薬会社等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。この遺伝子治療臨床研究は、当院の審査委員会の審議にもとづき国立がんセンター総長の許可を得て、更にその後、厚生労働大臣に意見を求めたうえで実施されています。

### 1.2 遺伝子治療臨床研究への参加について

この遺伝子治療臨床研究への参加については、ご協力いただけるあなた自身の意思が最も尊重されますので、あなたの自由な判断に委ねられます。また、ご家族の方と相談していただいても結構です。ご自身の判断で決めていただくために、医師もしくは医療スタッフから「あなたの病気に関すること、遺伝子治療臨床研究の目的や方法、その他の治療法」等について説明を受けていただきます。その結果、ご参加していただかなくてもあなたが不利益を受けることは一切ありません。通常の治療法の中で、あなたにとって最も良いと考えられる治療法が受けられます。

### 1.3 遺伝子治療臨床研究への参加の取り消しについて

あなたが「遺伝子治療臨床研究への参加をやめたい」と思われたときには、いつでも同意を取り消して遺伝子治療臨床研究への参加をやめることができます。遺伝子治療臨床研究に参加することに同意した後でも、参加の取り消しを希望する場合は遠慮なくおっしゃってください。たとえそれが遺伝子治療臨床研究中であっても、あなたはいつでもこの遺伝子治療臨床研究への参加を取りやめることができます。その場合にも、あなたが不利益を受けることは一切ありません。通常の治療法の中で、あなたにとって最も良いと考えられる治療法が受けられます。

( 2/31 )

## 2. 遺伝子治療臨床研究の名称と実施施設、担当者

- 名称：ハプロタイプ一致ドナー由来 T 細胞除去造血幹細胞移植後の  
HSV-TK 遺伝子導入 T リンパ球 “Add-back” 療法<sup>アドバック</sup>
- 実施施設：国立がんセンター中央病院
- 総括責任者：平家勇司（国立がんセンター中央病院・薬物療法部・幹細胞移植療法室  
医長）
- 分担研究者：吉田輝彦（国立がんセンター研究所・腫瘍ゲノム解析・情報研究部・  
部長）
- 青木一教（国立がんセンター研究所・がん宿主免疫研究室・室長）
- 高上洋一（国立がんセンター中央病院・薬物療法部・薬物療法部長）
- 飛内賢正（国立がんセンター中央病院・第一領域外来部・第一領域  
外来部長）
- 森慎一郎（国立がんセンター中央病院・臨床検査部・細菌検査室・  
医長）
- 金 成元（国立がんセンター中央病院・特殊病棟部・13B 病棟医師）
- 福田隆浩（国立がんセンター中央病院・特殊病棟部・12B 病棟医長）
- 田野崎隆二（国立がんセンター中央病院・臨床検査部・輸血管理室医長）

## 3. 遺伝子治療臨床研究の概要

### 3.1 造血幹細胞移植療法について

#### 3.1.1 同種造血幹細胞移植療法とは

同種造血幹細胞移植療法とは、病気におかされた患者さんの血液細胞を健康な他人のものを入れ替える治療法のことをいいます。造血幹細胞移植を受ける前には、患者さんに大量の抗がん剤の投与や全身への放射線照射を行います。これは移植前に病気のもととなっている病的な細胞を可能な限り減らすことや、移植した造血幹細胞が患者さんの免疫細胞に攻撃されて拒絶されてしまうことを防ぐことを目的としています。この移植前の抗がん剤投与や放射線照射による治療のことを「移植前治療」あるいは「移植前処置」と呼びます。「移植前治療」により、病的な細胞は壊滅的なダメージを受けますが、同時に患者さんの骨髄も破壊されてしまい正常な血液細胞を作る造血幹細胞が著しく減少し、患者さんは自らの骨髄で血液細胞を作ることができなくなります。しかし、そこに健康なドナーから提供を受けた造血幹細胞を入れると、その造血幹細胞が患者さんの骨髄に根付いて（生着して）、新しい血液細胞を造るようになります。このように、患者さんが自分以外の人（患者さんと同じ生物種である人間：同種といいます）から造血幹細胞をもらうことを同種造血幹細胞移植といいます。

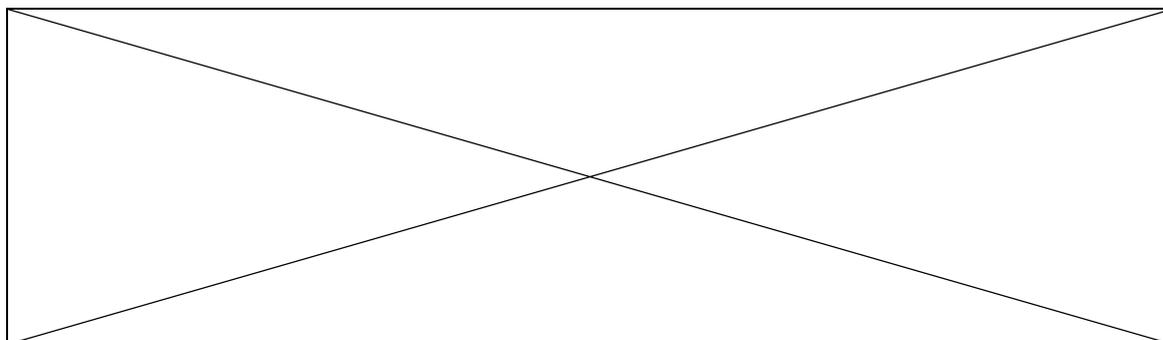
### 3.1.2 白血球の型 (HLA) が一致していないドナーからの造血幹細胞移植

同種造血幹細胞移植は白血病などの血液のがん（造血系腫瘍）に対する有効な治療として、広く行われていますが、通常白血球の型 (HLA) が一致するドナーが見つかることが条件となります。白血球の型 (HLA) が一致するドナーが見つかる確率は血縁者間で約 3 割、骨髄バンクを通して約 8 割であり、実際に移植を受けられるのはその半分ぐらいとあまり高くありません。この問題の解決法のひとつとして、白血球の型 (HLA) が半分程度しか一致していないドナー（親・子）からの造血幹細胞の中に含まれる T リンパ球を除去したうえで移植する方法として、ハプロタイプ一致 (HLA 2 座、3 座不一致) T 細胞除去同種造血幹細胞移植が世界中で試みられています。

ハプロタイプとは両親から受け継いだ二組の遺伝子のセットの片方のことで、理論的には、両親と本人、本人と子供であれば一組のハプロタイプは必ず一致し、兄弟姉妹と本人のハプロタイプは 75% の確率で一致することになります。（図 1 をご参照下さい。）ただし、もう一組のハプロタイプが一致していないため、この移植では、特にドナー由来のリンパ球が患者さんの臓器を攻撃する移植片対宿主病 (GVHD) が強く起こることが問題であるといわれています。そのため、移植するドナー造血幹細胞から、あらかじめ移植片対宿主病 (GVHD) を引き起こすと考えられている T リンパ球をできる限り除去する操作を加えます。

ここ数年、血液細胞の研究が進み、各血液細胞の表面に発現している抗原（マーカー）によって各細胞の役割を区別することができ、細胞表面の抗原（マーカー）に番号付けがなされるようになりました。造血幹細胞はマーカーとして CD34 抗原を発現していることがわかっており、CD34 陽性細胞とよばれています。

この CD34 陽性細胞を選択的に分離・濃縮する装置を用いて、ドナーより採取した造血幹細胞から、安全な移植の妨げともなる T リンパ球の大部分を取り除きます。このように選択的に純化した CD34 陽性細胞を移植することで、先に述べた移植片対宿主病 (GVHD) の発症を回避しつつ、白血球の型 (HLA) が一致していないハプロタイプ一致血縁者間でも造血幹細胞移植が可能であることが海外の臨床試験の結果で明らかになってきています。しかしながら、T リンパ球は免疫機能の重要な役割を担っているため、T リンパ球を完全に除去した造血幹細胞移植では、移植後の重篤な感染症、疾患再発・増悪といった課題は残されています。



( 4/31 )

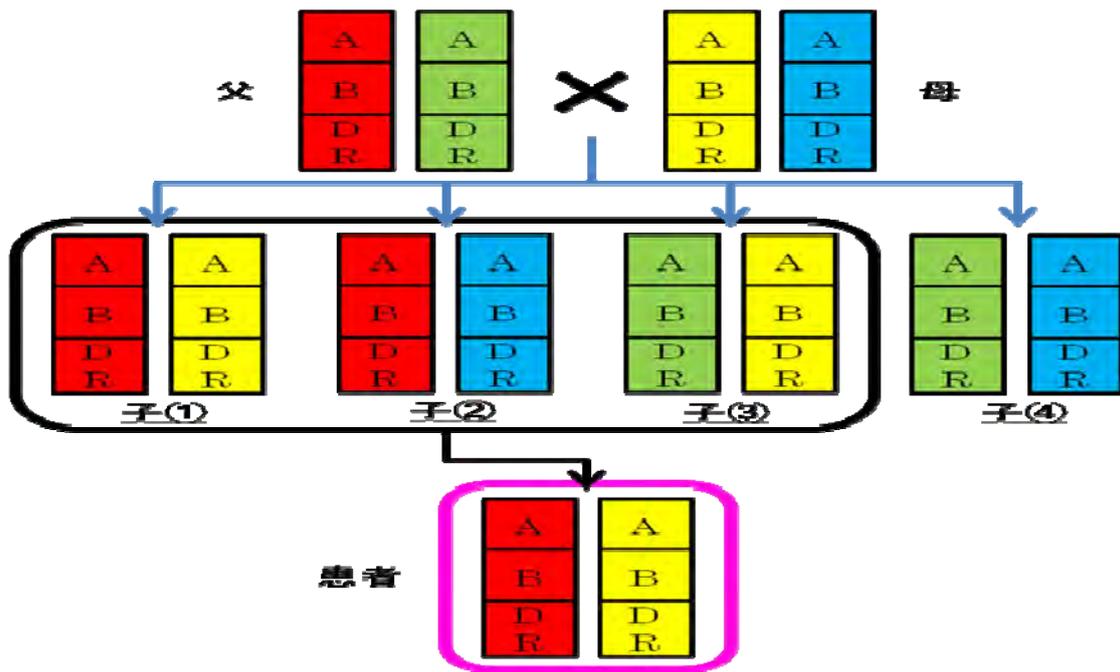


図1 ハプロタイプ一致 (HLA 2 座、3 座不一致) 移植

### 3.2 HSV-TK 遺伝子導入 T リンパ球 “Add-back” 療法について

#### 3.2.1 HSV-TK 遺伝子導入 T リンパ球 “Add-back” 療法とは

上記の 3.1.2 「白血球の型 (HLA) が一致していないドナーからの造血幹細胞移植」でお話したハプロタイプ一致ドナー由来 T 細胞除去造血幹細胞移植の課題を解決するために、移植した造血幹細胞が患者さんの骨髄に根付いた (生着した) ことが確認されてから、ドナーの T リンパ球を追加輸注 (Add-back) するという試みが行われています。ドナーの T リンパ球を追加輸注 (Add-back) することで、免疫系再構築 (感染症の防御) の促進およびドナーの T リンパ球が有している移植片対悪性腫瘍 [GVM: 追加輸注 (Add-back) されたドナー T リンパ球が悪性腫瘍細胞を攻撃する作用のこと] 効果が発揮され、悪性腫瘍の治療効果が期待されます。しかしながら、ドナーの T リンパ球を追加輸注 (Add-back) した場合には、移植片対宿主病 (GVHD) を引き起こす場合があります。この関係を図 2 に示します。移植後 100 日以内位に見られる皮膚・肝臓・消化管の障害を特徴とする急性 GVHD が発症した場合、致命的となることもあるため、ドナー T リンパ球の量を少なくすることでその発症の危険を避けざるを得ず、その場合じゅうぶんな抗腫瘍効果が得られない場合があります。

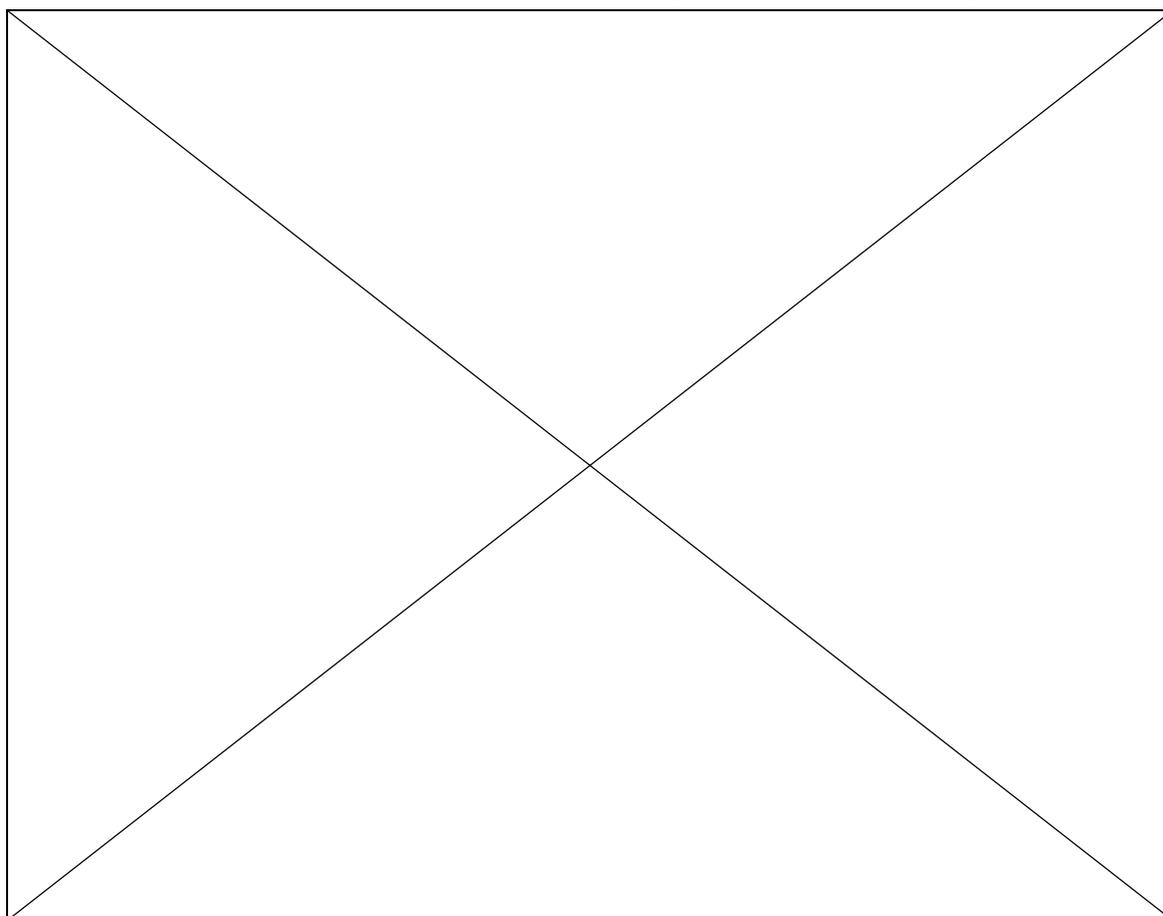
そこで、今回の遺伝子治療臨床研究では、ハプロタイプ一致ドナー由来 T 細胞除去造血幹細胞移植の補助的治療としてドナー T リンパ球の追加輸注 (Add-back) 療法で懸念される移植片対宿主病 (GVHD) の問題を回避する目的で、自滅装置としての単純ヘルペスウイルス

( 5/31 )

ス1型・チミジキナーゼ（HSV-TK）遺伝子が導入されたドナーTリンパ球を使います。ドナーのTリンパ球を追加輸注（Add-back）による免疫系再構築の促進およびドナーのTリンパ球が有している移植片対悪性腫瘍（GVM）効果発揮を強化する、すなわち悪性腫瘍の治療効果の増強が直接的な目的ではありません。

このHSV-TK遺伝子が導入されたドナーTリンパ球は、自滅装置のスイッチとなる薬（ガンシクロビル:GCV、医薬品として承認されている抗ウイルス薬）を点滴により静脈に注射することで減少・消失します。図3は、ガンシクロビルにより自滅装置のスイッチが入り、活性型のガンシクロビルの作用で、移植片対宿主病（GVHD）の原因として作用しているHSV-TK遺伝子が導入されたドナーTリンパ球が自滅することを示した図です。

すなわち、もし、重症の移植片対宿主病（GVHD）が発症してもこの自滅装置を作動させれば、移植片対宿主病（GVHD）発症の原因として作用しているドナー由来のリンパ球を自滅させることで移植片対宿主病（GVHD）症状を沈静化することができ、この自滅装置を備えたドナーTリンパ球の移植片対宿主病（GVHD）についての安全性は高いといえます。したがって、重症の移植片対宿主病（GVHD）の発症の危険を避けるための調節をすることなく、必要な量を補助的に追加輸注（Add-back）することが可能となり、移植後の重篤な感染症、疾患再発・増悪といった課題の克服が期待できます。（図4をご参照下さい。）



( 6/31 )

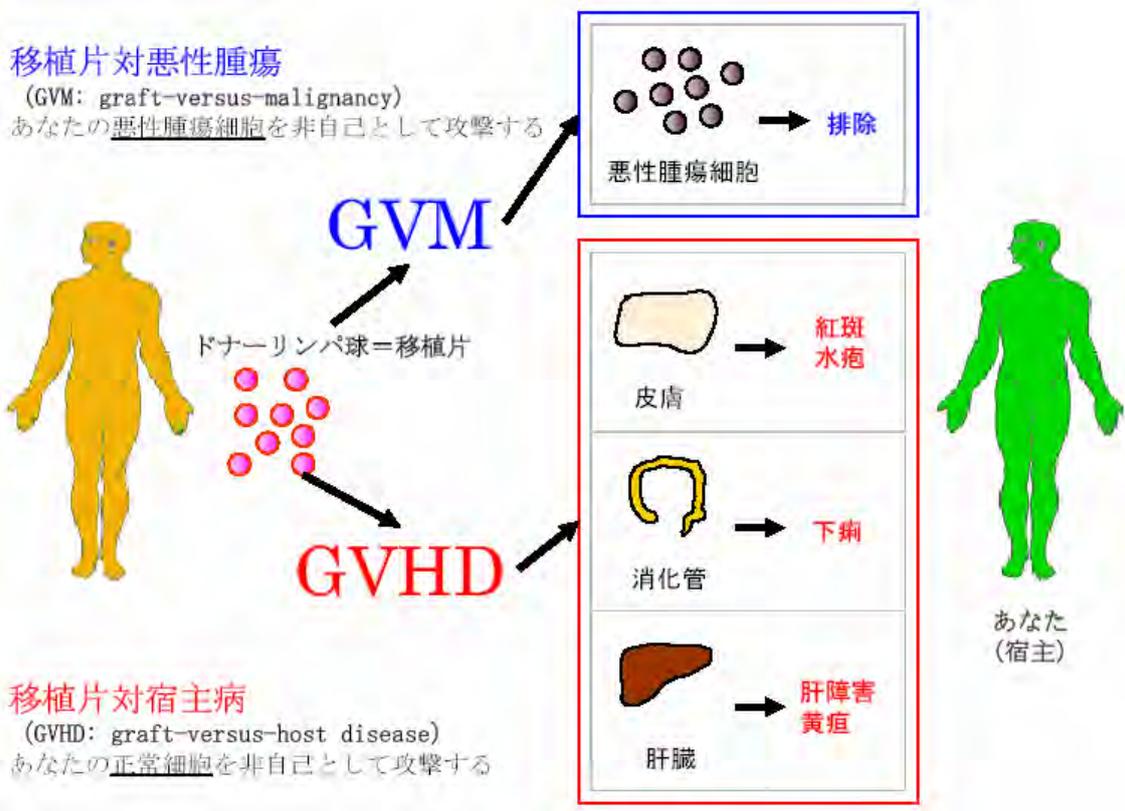


図2 ドナーリンパ球による移植片対悪性腫瘍 (GVM) 効果と移植片対宿主病 (GVHD)

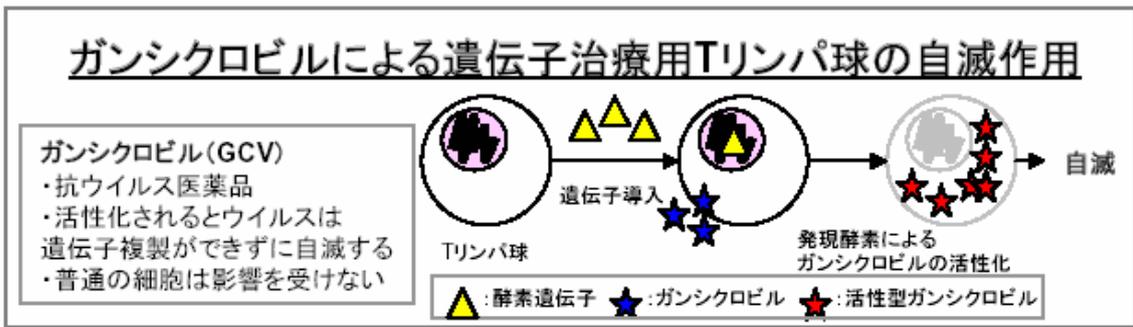
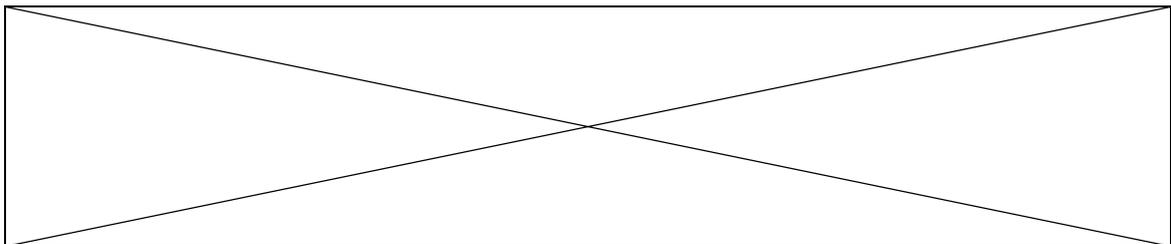


図3 遺伝子導入細胞のガンシクロビル (GCV) による自滅作用



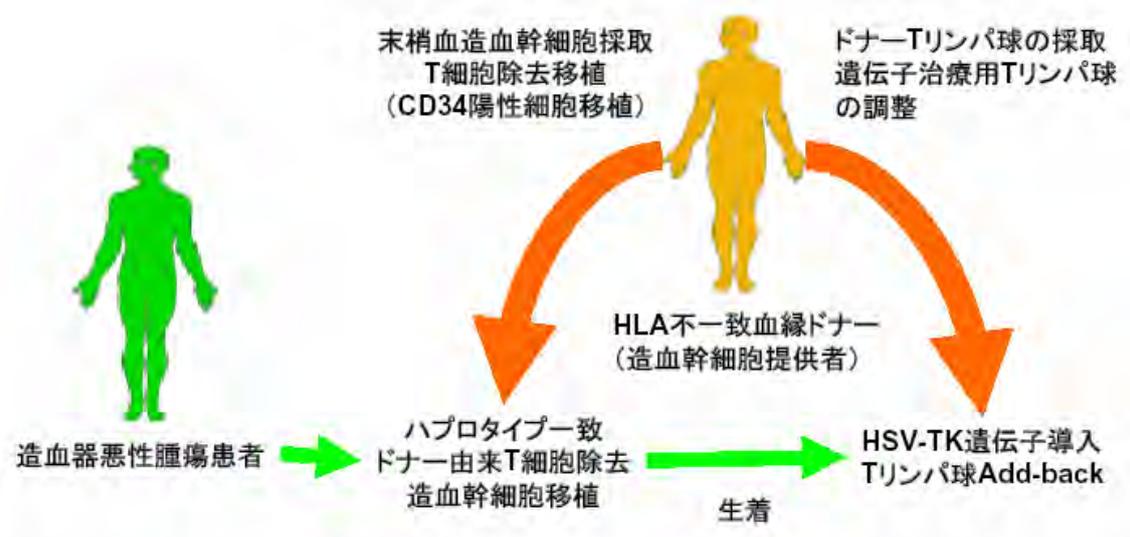
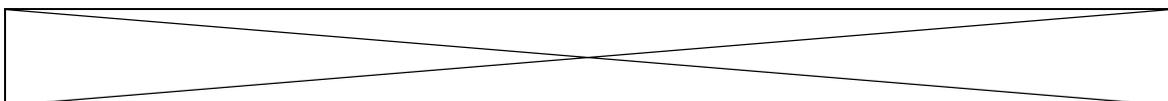


図4 ハプロタイプ一致ドナー由来 T 細胞除去造血幹細胞移植後の HSV-TK 遺伝子導入 T リンパ球 “Add-back” 療法

### 3.2.2 遺伝子導入 T リンパ球の調製

ドナーリンパ球に遺伝子が組み込まれるためには、遺伝子を細胞の中に運ぶ遺伝子の運び屋つまりベクターが必要となります。このベクターにはいろいろな種類があり、今回使用するベクターは、レトロウイルス（自分の遺伝子である RNA を DNA に写し変えて、宿主の DNA の中に入り込み、宿主の中で自分のウイルスを増殖させる仲間のこと）と呼ばれるウイルスの一種で、マウスに感染する種類のレトロウイルスをもとに、遺伝子組換え技術で治療用に改良されたレトロウイルスベクターです。このマウスに感染する種類のレトロウイルスはヒトの細胞には通常感染しませんが、このレトロウイルスベクターはヒト細胞にも感染するように工夫がなされています。同時に、安全性を高めるために、あらかじめ人工的に不完全なウイルスをつくり、感染しても細胞内でウイルスが増殖することが出来ず、周りの細胞に次々に感染しないように改良されています。

このレトロウイルスベクターにより、2つの遺伝子がドナーリンパ球に組み込まれることとなります。一つは単純ヘルペスウイルス 1 型・チミジンキナーゼ (HSV-TK) 遺伝子です。これはガンシクロビル (GCV) との組み合わせで自滅装置として働く遺伝子です。もう一つは不活性型ヒト神経成長因子受容体遺伝子 ( $\Delta$ LNGFR) です。ヒト神経成長因子受容体遺伝子はもともと神経細胞の増殖に必要なものですが、不活性型ヒト神経成長因子受容体遺伝子 ( $\Delta$ LNGFR) は神経細胞の増殖機能を人工的に失わせてあり、ここではあくまでも遺伝子を組み込んだ細胞に印をつける（マーキングのこと）ために使用します。

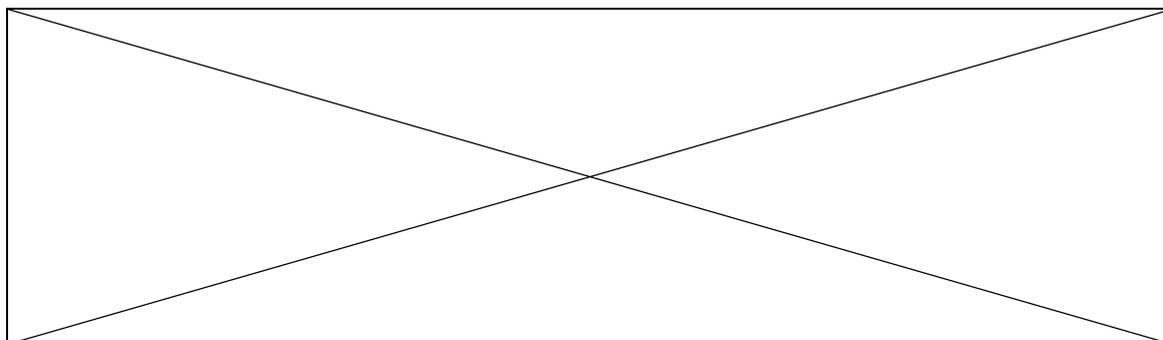


試験管内でドナーリンパ球にウイルスベクターを感染させても全部のリンパ球に遺伝子が組み込まれるのではなく、遺伝子が組み込まれるのは全体の10～20%程度です。つまり、80～90%のリンパ球は、単純ヘルペスウイルス1型・チミジンキナーゼ（HSV-TK）遺伝子を持たないこととなります。もし、この状態でドナーTリンパ球を補助的に追加輸注（Add-back）した場合、移植片対宿主病（GVHD）発症の際にガンシクロビル（GCV）を投与しても自滅するリンパ球は一部で、残り80%以上のリンパ球は死滅せず、移植片対宿主病（GVHD）の状態は続くこととなります。

このことを避けるためには、補助的に追加輸注（Add-back）するドナーTリンパ球をできる限り単純ヘルペスウイルス1型・チミジンキナーゼ（HSV-TK）遺伝子が入ったリンパ球だけにしなければなりません。単純ヘルペスウイルス1型・チミジンキナーゼ（HSV-TK）遺伝子が入ったリンパ球のみを取り出すために、遺伝子が組み込まれた細胞にマーキングの必要があるのです。前述のヒト神経成長因子受容体遺伝子（ $\Delta$ LNGFR）でマーキングされたリンパ球は、神経成長因子受容体と反応する抗体を用いて他のリンパ球（遺伝子が組み込まれていないリンパ球）から分離することができます。このような方法で、追加輸注（Add-back）するドナーTリンパ球をできるだけ遺伝子が組み込まれたリンパ球〔単純ヘルペスウイルス1型・チミジンキナーゼ（HSV-TK）遺伝子が入ったリンパ球〕のみにすることが可能となります（図5をご参照下さい）。

なお、今回の遺伝子治療臨床研究に用いる単純ヘルペスウイルス1型・チミジンキナーゼ（HSV-TK）遺伝子そのものをあなたが直接服用したり、あなたが直接注射されたりすることはありません。この単純ヘルペスウイルス1型・チミジンキナーゼ（HSV-TK）遺伝子は、病院内のじゅうぶんに管理された無菌細胞調整施設でドナーのリンパ球に遺伝子として組み込まれ（遺伝子導入のこと）、いくつかの操作を経て、HLA 2、3座不一致血縁者間のT細胞除去同種造血幹細胞移植後のドナーTリンパ球の補助的追加輸注（Add-back）に用いられます。

この遺伝子治療臨床研究で用いられる単純ヘルペスウイルス1型・チミジンキナーゼ（HSV-TK）遺伝子をドナーTリンパ球に組み込むための製剤の製造や運搬は、すべて、遺伝子治療を安全に実施するための国の法律や取り決めに従って、細心の注意のもとに行われることとなります。ドナーTリンパ球に遺伝子導入する操作なども同様です。



( 9/31 )

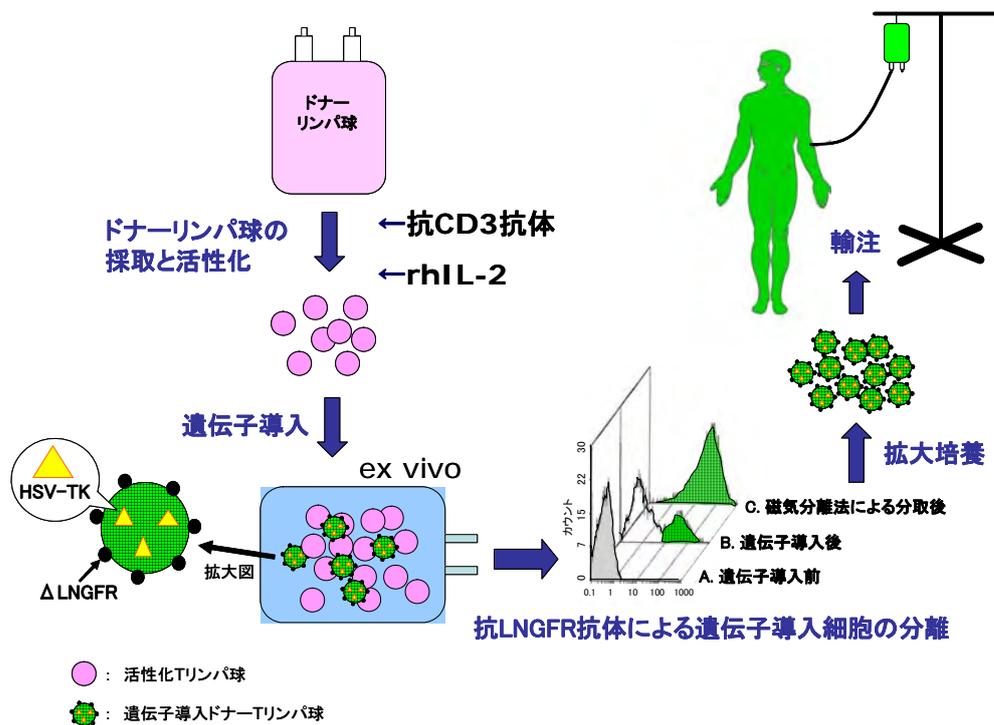


図5 遺伝子を組み込んでマーキングされたドナーTリンパ球の分離とあなたへの追加輸注

#### 4. 遺伝子治療臨床研究により予期される効果

今回の遺伝子治療臨床研究は、造血幹細胞移植の補助的な治療法です。本遺伝子治療臨床研究では、レトロウイルスベクターそのものを投与するわけではなく、レトロウイルスベクターによって単純ヘルペスウイルス1型・チミジンキナーゼ (HSV-TK) 遺伝子が導入されたドナーTリンパ球を投与します。したがって、単純ヘルペスウイルス1型・チミジンキナーゼ (HSV-TK) 遺伝子導入ドナーTリンパ球を投与したときに予期される効果目についてお話しします。

これまでもお話ししましたが、単純ヘルペスウイルス1型・チミジンキナーゼ (HSV-TK) 遺伝子導入ドナーTリンパ球とは、自滅装置をもったドナーTリンパ球です。この自滅装置をもったドナーTリンパ球は、理論上、ガンシクロビル (GCV) の投与によって減少・消失して (図3)、生体内から排除されます。これまでの多くの事例からも、この理論は実証されています。この自滅装置のおかげで、HLA 2、3座不一致血縁者間のハプロタイプ一致ドナー由来T細胞除去同種造血幹細胞移植を受けられた患者さんにも、移植片対宿主病 (GVHD) を心配せずにじゅうぶん量のドナーTリンパ球を補助的に追加輸注 (Add-back) することができます。したがって、HLA 2、3座不一致血縁者間のハプロタイプ一致ドナー由来T細胞除去同種造血幹細胞移植後の免疫系の再構築を促進し、感染症の予防及び移植片対悪性腫瘍 (GVM) 効果による造血器悪性腫瘍の再発・増悪に対する高い治療効果が発揮されること

( 10/31 )

が期待できます。

## 5. 予期される危険（副作用）

### 5.1 造血幹細胞移植に伴い予期される危険（副作用）

ドナーから採取した末梢血単核球から CD34 陽性細胞を純化して、安全な移植の妨げともなる T リンパ球（免疫細胞）の大部分を取り除いて移植します（T 細胞除去造血幹細胞移植）。このため、特に移植直後は、ウイルス等に対する抵抗力が低下した状態になり、サイトメガロウイルス感染症（日本人の成人では約 90%が感染しています。健康なときには問題ありませんが、極端に免疫が抑制された状態の時に肺、胃、網膜の炎症を起こします。）などにかかりやすくなるという危険性があります。

また、CD34 陽性細胞を純化することで移植される T リンパ球を少なくしているとはいえ、移植片対宿主病（GVHD）が発生することもあります。

移植の前には、移植前治療として大量の抗がん剤投与や放射線治療が行われます。その影響によると考えられる副作用[悪心、嘔吐、脱力感、発熱、血液毒性（好中球および血小板減少）、疲労、呼吸困難、不整脈、肝・腎機能障害、色素沈着、脱毛、消化管出血、出血性膀胱炎、皮膚障害など]が起こることがありますが、抗がん剤投与や放射線照射が終われば徐々に回復してきます。また、副作用が現れている時には適切な治療が行われます。

CD34 陽性細胞を純化するときには、鉄分を含むビーズにマウスの抗体のついたものを用います。これは CD34 陽性細胞のみに選択的に付着する物質で、この物質についている鉄の磁力を利用して CD34 陽性細胞を純化します。あなたの体に輸注するときには、この物質が CD34 陽性細胞についた状態が入ることになりますが、3～4 時間で CD34 陽性細胞から離れていきます。輸注された CD34 陽性細胞の働きは、あなた自身の CD34 陽性細胞の働きと変わらず、白血球や血小板などの回復を促進しています。ビーズに含まれる鉄分は造影剤の検査薬としても使われているもので、あなたの体に悪影響を与えることはないと考えられます。また、用いたマウスの抗体はあなたの体の中に入ると異物として認識されて、あなたの体の中に抗体ができる可能性があります。しかしながら、あなたの体に入る量は少ないため、抗体ができる可能性は低いと考えられます。

### 5.2 単純ヘルペスウイルス 1 型・チミジンキナーゼ（HSV-TK）遺伝子導入ドナー T リンパ球 “<sup>アド</sup>バック” 療法に伴い予測される危険（副作用）

#### 5.2.1 レトロウイルスベクターを用いる遺伝子治療に伴い予測される危険（副作用）

レトロウイルスベクターを用いた遺伝子治療は、現在までアメリカを中心とした世界各国で数百例をこえる患者に行われており、多くの実績があります。しかし、何らかの理由で患者の体内でこのウイルスベクターが増殖をはじめめる可能性や遺伝子を導入した細胞ががん化する可能性は完全には否定できません。

（ 11/31 ）

最悪の場合として、この増殖型のウイルスが患者の身体に新たなウイルス性疾患を引き起こす可能性は否定されていません。この可能性を最小限にするため、法律や取り決めに従ってウイルスベクターの安全性と品質の管理が行われています。

また、3.2.2「遺伝子導入Tリンパ球の調製」の項でも説明しましたが、用いられるのは人工的に改良した安全性の高いレトロウイルスベクターです。しかしながら、レトロウイルスベクターがドナーTリンパ球の中に導入され、その後染色体内に組み込まれたときに悪影響を及ぼす可能性は完全には否定できません。そこで、レトロウイルスベクターによる副作用、危険性について説明します。

第1点目は、レトロウイルスベクターで遺伝子を細胞の染色体に組み込む際におこる可能性のある「挿入変異」という問題です。染色体には、たん白質の設計図である多数の遺伝子があり、レトロウイルスベクターは治療用の遺伝子をこの染色体のいずれかの部分に組み込むのですが、その場所については予測できません。治療のための遺伝子が染色体に組み込まれるということは、長期にわたり期待する効果が持続するという利点がありますが、裏を返せば一度組み込まれると長期にわたり取り除くことができないという欠点もあります。この組み込まれる部位によっては、他の遺伝子を壊したり、他の遺伝子に悪影響を及ぼしたりして、細胞をがんにしてしまう危険性があります。通常、染色体の中には、がん遺伝子やがんの発生を抑制する遺伝子が含まれていますが、遺伝子導入によりこれらの遺伝子に何らかの影響を及ぼし、がん化へと進む可能性もあります。一般的には、一つの遺伝子に影響を及ぼしたからといってがんになる可能性は高くはないと考えられていますが、少なくとも危険性は増えることとなります。

特にがんになる可能性については、極めて大切なことなので詳しく説明をいたします。ある遺伝子の欠損により正常に免疫細胞をつくれぬ X 連鎖重症複合性免疫不全症（遺伝的に身体の抵抗力が弱く、重症の細菌やウイルス感染症を起こしやすい病気）という先天性の病気があります。近年、フランスでこの病気に対してレトロウイルスベクターを用いて欠けている遺伝子を血液のもとである造血幹細胞へ導入する遺伝子治療が行われました。この遺伝子治療により、患者の免疫細胞の機能が正常化し、感染症の防御機能を得ました。この遺伝子治療は、これまでに11例に実施されて9例で治療が成功し、遺伝子治療の最大の成功例として注目を集めました。しかしながら、この遺伝子治療で「挿入変異」が実際におこり、その後2002年に2例の遺伝子治療を受けた患者が白血病を発症しました。この白血病発症の原因としては、LMO-2 というがん遺伝子の近くにレトロウイルスベクターの遺伝子が組み込まれ、その結果、このがん遺伝子が活性化されてしまったという可能性が考えられています。さらに、レトロウイルスベクターで導入した治療用遺伝子が細胞増殖を制御する遺伝子だったことも、白血病の発症リスクを高めたと考えられています。この報告の後に、アメリカでは、先天性免疫不全症に対する遺伝子治療を一時中断し、公聴会での議論がなされ、この症例に関する内容を患者さんやその家族に正しく伝えたいと再開

( 12/31 )

することとなりました。しかし、フランスで3例目（2005年1月）及び4例目（2007年3月）の白血病発症の報告がなされ、白血病発症第1例目の患者さんが白血病によってお亡くなりになりました。フランスのグループは安全なベクターが開発されるまでこの遺伝子治療を中断しています。さらに、フランスのグループと異なるレトロウイルスベクターを用いて同様の遺伝子治療を行ったイギリスのグループでも、10例中1例で白血病発症の報告がなされました（2007年12月）。

先天性免疫不全症以外に対する遺伝子治療では、白血病の発症の頻度は低いと考えられ、その危険性についてじゅうぶんに説明をした上で、継続しても良いとの決定が実施国の所轄官庁からなされております。日本においても、同様の状況で先天性免疫不全症に対する遺伝子治療は中断されていますが、それ以外の遺伝子治療についてはその危険性をじゅうぶんに説明し、インフォームドコンセントを徹底すること、フォローアップをじゅうぶんに実施することを条件に継続されています。

第2点目は、何らかの理由でレトロウイルスベクターが無秩序に増殖をはじめるとの可能性があること、これを完全に否定できないという問題です。今回の遺伝子治療に使うレトロウイルスベクターは、一度感染すると二度は感染しないように作成され、安全性を高める種々の工夫が施されています。しかし、このレトロウイルスベクター自身が増殖を始め、患者の体に白血病あるいはリンパ腫を引き起こす危険性を完全に否定できません。この危険性を可能な限り排除するために、あらかじめ定められた規格に合致する遺伝子導入ドナーTリンパ球のみを追加輸注（Add-back）に用い、その後も繰り返し検査が行われます。

その他、今回目印として用いるヒト神経成長因子受容体遺伝子（ $\Delta$ LNGFR）をレトロウイルスベクターで導入したマウス骨髄細胞で白血病が高率に発症したとの報告もありますが、そのメカニズムの詳細は明らかとはなっておりません。

単純ヘルペスウイルス1型・チミジンキナーゼ（HSV-TK）遺伝子導入ドナーTリンパ球“Add-back”療法では、先に述べた先天性免疫不全症に対する遺伝子治療臨床研究のような造血幹細胞に遺伝子を導入するものではありませんが、類似のレトロウイルスベクターを用いますので、新たながん（白血病やリンパ腫）を発症させる可能性を完全に否定できませんが、遺伝子を挿入する細胞はドナーTリンパ球であり、造血幹細胞との性質の違いから、新たながんが発症する可能性は先天性免疫不全症に対する遺伝子治療のそれと比較し、低いものと考えています。造血幹細胞（CD34陽性細胞）は未熟な細胞で、極めて増殖力が高く、何らかの原因でがん化しやすい細胞ですが、ドナーTリンパ球は、造血幹細胞から分化した細胞で、増殖力も弱く、がん化しにくい細胞です。

単純ヘルペスウイルス1型・チミジンキナーゼ（HSV-TK）遺伝子導入ドナーTリンパ球“Add-back”療法では、末梢血造血幹細胞移植も行われますが、移植する造血幹細胞に遺伝子を導入することはありませんので、この造血幹細胞からのがん化の危険はありません。また、ドナーTリンパ球を採取する際に、末梢血中に存在する造血幹細胞が混入し、それに

（ 13/31 ）

遺伝子を導入してしまう可能性も考えておかねばなりません。通常末梢血中には造血幹細胞はほとんど存在しません。造血幹細胞移植用の細胞を採取する時は、顆粒球コロニー刺激因子 (G-CSF) というお薬を用いて造血幹細胞を骨髄から末梢血へ動員し採取します。遺伝子治療用のリンパ球を採取する際は、そのお薬を使いません。遺伝子治療用のリンパ球に造血幹細胞が混入したとしても、そのほとんどは遺伝子を導入する際には増殖力を失っており、これらの造血幹細胞が原因となってがん化する可能性はほとんどないと考えられています。

これまでに私たちが繰り返してきた研究の結果からは、補助的に追加輸注 (Add-back) する細胞の 98%以上がドナーTリンパ球であると考えられます。さらには、万が一、がん化したとしても、追加輸注 (Add-back) するドナーT細胞には自滅遺伝子が導入されていますので、自滅機能を作動させて、がん化した細胞を排除することも考えられます。ただ、遺伝子治療自体が未だ研究であり確立されたものではないので、もし、がん化してしまった場合には、自滅機能を作動させるとともに化学療法を併用し、最善の治療を行うこととなります。

今回の遺伝子治療臨床研究で用いられるレトロウイルスベクターは、その作製にあたっては安全性を高めるための種々の工夫がなされています。

これまで、今回の遺伝子治療臨床研究と全く同じベクターを用いて単純ヘルペスウイルス 1 型・チミジンキナーゼ (HSV-TK) 遺伝子を導入したドナーTリンパ球が、海外の患者を対象とした臨床試験で用いられていますが、1例で発熱・悪寒が認められた以外には、今のところ副作用の報告はありません。

### 5.2.2 ガンシクロビル (Ganciclovir: GCV) の使用に伴い予期される危険 (副作用)

ガンシクロビル (GCV) は、抗サイトメガロウイルス化学療法剤として、後天性免疫不全症候群、臓器移植、悪性腫瘍に伴う重篤なサイトメガロウイルス感染症 (通常誰もが持っているウイルスですが、体の免疫力が低下したときに発症します。症状としては、肺炎、網膜炎、胃腸炎がよくみられます。) に対して使用されます。ガンシクロビル (GCV) は、感染症の治療薬として国の承認を受けて医薬品として市販されています。

単純ヘルペスウイルス 1 型・チミジンキナーゼ (HSV-TK) 遺伝子導入ドナーTリンパ球 “Add-back” 療法では、遺伝子導入したドナーTリンパ球が重症の移植片対宿主病 (GVHD) を引き起こした場合に、遺伝子導入細胞の自滅装置を働かせる薬として使用します。つまり、遺伝子導入ドナーTリンパ球追加輸注 (Add-back) 後に重症の移植片対宿主病 (GVHD) が発症した際、ガンシクロビル (GCV) を投与することによって、その原因として作用している追加輸注 (Add-back) されたドナーTリンパ球を自滅させて、移植片対宿主病 (GVHD) を沈静化させます (7 頁の図 3 をご参照下さい)。

なお、サイトメガロウイルス感染症の治療薬としてのガンシクロビル (GCV) の重大な副  
( 14/31 )

作用として、汎血球減少（血液中の赤血球、白血球、血小板、全ての血球が減少した状態）、重篤な白血球減少、重篤な血小板減少、腎不全（腎臓の働きが低下して、不要な老廃物や水分の排泄がじゅうぶんにできなくなった状態）、脾炎（すい臓の炎症で腹部・背部の痛みがある）、深在性血栓性静脈炎（主に足の静脈に血液の塊ができ、その部分の血流が悪くなり、炎症をおこした状態。その塊が血流に乗って他臓器に運ばれ障害を起こすこともある）、昏睡、錯乱、けいれん発作、敗血症（細菌が血液中に入って、全身が感染した状態）および消化管出血が知られています。初期投与症例の場合、白血球減少、血小板減少がそれぞれ20.7%、15.1%に認められたことが報告されています。ガンシクロビル（GCV）投与に伴い血球減少が出現した場合には、輸血や顆粒球コロニー刺激因子（G-CSF）（好中球を増やす薬）などの投与により適切に治療することとしています。

### 5.2.3 サイトメガロウイルス感染時に予期される危険（副作用）

ガンシクロビル（GCV）は、本来、サイトメガロウイルス感染症の治療薬です。重症のサイトメガロウイルス感染症は、放置すれば致命的となりますので治療をしなければなりません。ガンシクロビル（GCV）を投与してしまうと遺伝子導入ドナーTリンパ球の自滅機能が作動してしまい、遺伝子導入ドナーTリンパ球は死滅します。したがって、この時点で遺伝子治療は断念しなければなりません。単純ヘルペスウイルス1型・チミジンキナーゼ（HSV-TK）遺伝子導入ドナーTリンパ球“Add-back”療法では、サイトメガロウイルス感染症にかかって薬剤の投与が必要な場合には、フォスカルネットナトリウムというガンシクロビル（GCV）の代替薬剤で対処します。このフォスカルネットナトリウムという薬剤は、諸外国ではサイトメガロウイルス感染症の薬として使われていますが、日本国内ではサイトメガロウイルス感染症の効能・効果での承認は取得されておらず、後天性免疫不全症候群（エイズ）患者におけるサイトメガロウイルス網膜炎の効能・効果で承認されて、既に医療現場で用いられています。

なお、後天性免疫不全症候群（エイズ）患者におけるサイトメガロウイルス網膜炎の治療薬としてのフォスカルネットナトリウムの重大な副作用としては、ショック（発熱・悪寒、発疹等を初発症状に、ふるえ、顔面蒼白、呼吸困難等の症状）、腎不全（腎臓の働きが低下して、不要な老廃物や水分の排泄がじゅうぶんにできなくなった状態）、心不全（心臓が血液のポンプとしての役割を果たせなくなることで起こる疲れやすさ、息切れ、呼吸困難、むくみ等の症状）、けいれん発作（自らの意思とは関係なく起こる筋肉の収縮による発作）、テタニー（血清中のカルシウム濃度が低下し、筋肉が収縮すること）、呼吸抑制、麻痺性イレウス（腸管の神経・筋肉が影響をうけて腸管運動が麻痺した状態）、失語症（うまくしゃべれない、言っていることが理解できないといった状態）、痴呆、横紋筋融解症（筋肉を作っている骨格筋細胞というものが融解したり壊死したりして、筋肉の成分が血液中に流れ出すこと）、敗血症（細菌が血液中に入って、全身が感染した状態）が報告されてい

（15/31）

ます。このような場合には投与を中止するなどの適切な処置が施されます。

## 6. 他の治療法（特にさい帯血移植について）

白血球の型（HLA）が一致するドナーが見つからない場合は、わが国では主としてさい帯血を用いた同種造血幹細胞移植（さい帯血移植）が行われています。さい帯血とは、母親と胎児を結ぶさい帯（へその緒）と、胎盤の中に含まれる血液のことをいいます。出産のときに胎児とともに出てくる胎盤からとった血液ですが、便宜的に「さい帯血」と呼ばれています。さい帯血の中には骨髄と同様の、血液細胞を作り出すもとである「造血幹細胞」がたくさん含まれています。ですから、骨髄移植と同様の病気に対して、移植して治療に役立てることができます。さい帯血は胎児のものであり、含まれる造血幹細胞は骨髄由来のものより未熟な細胞であるために、患者さんと HLA が一致しない場合でも移植することができます。また、さい帯血はすでに凍結保存されているため、ドナーを探す必要もなく、早期の移植が可能です。さい帯血移植は保険診療が承認されたこともあり、ここ数年で急速に移植症例数が増加し、その評価が定まりつつあります。事実、国立がんセンター中央病院においても、2006 年度には計 8 例のさい帯血移植を行っています。一方で、さい帯血に含まれる造血幹細胞の数には限りがあり、特に体の大きな大人への移植には細胞数が不十分な場合があります、生着が遅れたり、うまく生着しなかったりする（報告毎に異なりますが、約 15%前後の頻度で発生します。）例が見られ、その結果、感染症の危険性が高まるという問題点が明らかになってきました。大人への移植時の細胞数不足の問題に対しては、欧米や日本で複数のさい帯血を同時に移植するという試みが始められていますが、未だ研究段階にあり最終的な評価は定まっていません。さらに、先にも述べましたが、さい帯血に含まれる造血幹細胞はより未熟な細胞であるため、移植後の免疫力の回復が遅れ、生着後もウイルスなどの感染に弱いとも考えられています。急性 GVHD に関しては、わが国のさい帯血バンクネットワークのデータでは通常治療を要する重症度（II 度以上）の急性 GVHD は全体で約 40%程度にみられており、その発症率は HLA 一致血縁者間の末梢血幹細胞移植とほぼ同等と報告されています。重症例が少ない傾向があるとはされていますが、最終的にさい帯血移植を受けた患者さん全体のうち約 6%の方が急性 GVHD を直接の原因として死亡されています。一方、さい帯血移植後に急性 GVHD を発症した患者さんにおいて原病の再発率が低下する現象は確認されておらず、どの程度の GVM 効果が得られるかは、現時点では、はっきりしていません。この点に関しても、さい帯血バンクネットワークが行っている詳細な追跡調査の結果を待たねばなりません。

参考として、以下に日本さい帯血ネットワークが発行する広報誌“さい帯血バンク NOW 第 27 号”（2006 年 1 月 15 日発行）に発表された 1,860 例の成績のうち、1,197 例の成人さい帯血移植のまとめを紹介します。骨髄破壊的前処置による急性白血病初回移植の移植後 3 年の無イベント生存率（「移植したさい帯血が生着し、もとの病気の再発がなく生存している」（16/31）

患者さん」の率)は初回寛解期、第2寛解期移植でそれぞれ40%、56%、非寛解期移植で18%です(図6A)。また、骨髓異形成症候群に対する成績は良好であり、長期生存率が約50%、そのうち標準危険群(不応性貧血での移植例および白血病化後の初回寛解期移植例が相当します)では79%、高度危険群(標準危険群以外の病期の移植例、移行期や白血病化後の初回寛解期以外の移植例が相当します)でも43%の無イベント生存率が得られています(図6B)。日本さい帯血バンクネットワークより公表されている最新の治療成績は「説明補足資料:さい帯血移植の治療成績」を用いて、別途、説明いたします。これ以降も引き続き治療成績の集積・解析は行われますので、随時最新の成績を入手しお知らせいたします。

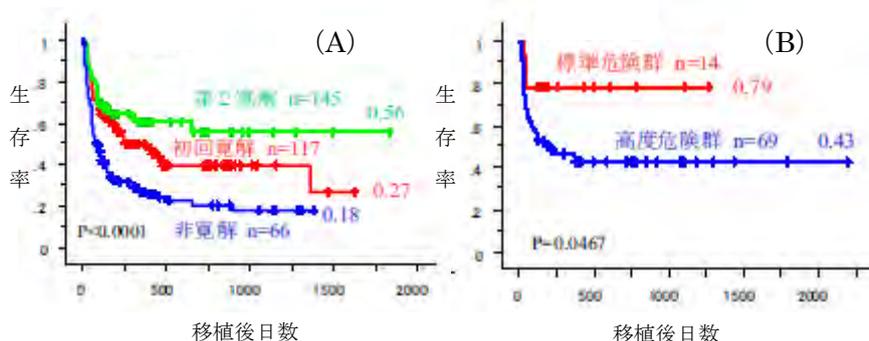
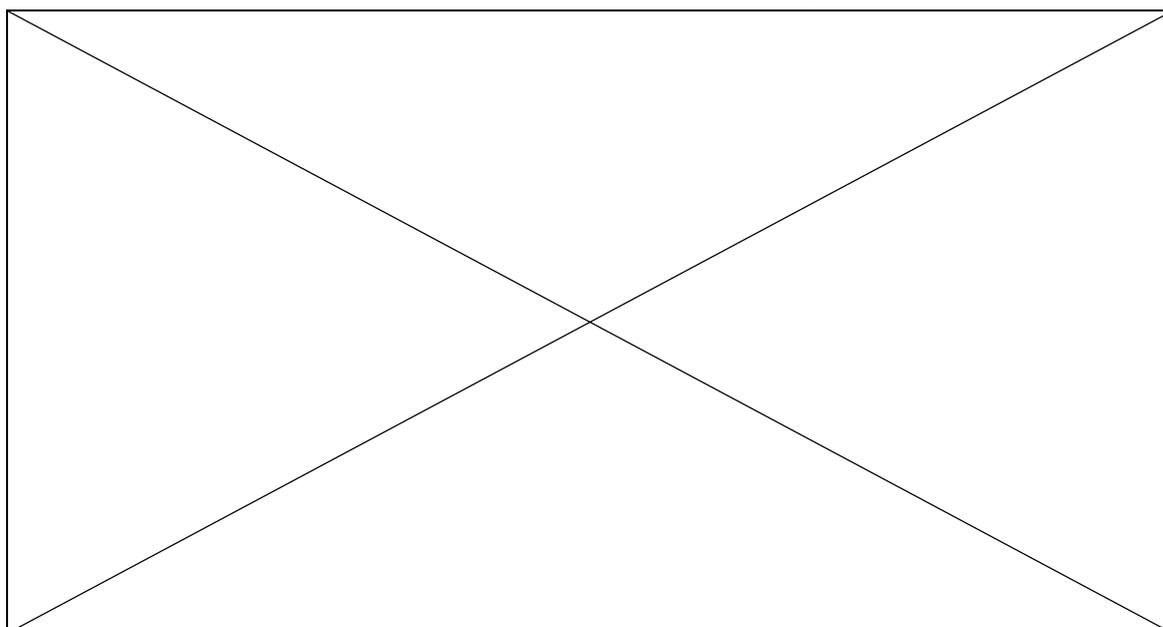


図6 骨髓破壊的前処置による成人さい帯血移植の成績  
急性白血病 (A)、および骨髓異形成症候群 (B) における移植病期と無イベント生存率

主な説明は以上のとおりですが、次頁にさい帯血移植と今回の遺伝子治療と比較した表を示します。さい帯血移植による治療も含め、今回遺伝子治療臨床研究の内容をじゅうぶんに把握いただいた上で、参加するかどうかを決めてください。



	さい帯血移植 <sup>さいけつ</sup>	今回の遺伝子治療
<ul style="list-style-type: none"> <li>●HLA 一致度</li> <li>●急性 GVHD の危険性</li> <li>●移植までの時間</li> <li>●ドナーの負担</li> <li>●スケジュール調整</li> <li>●ドナーからの感染症</li> <li>●GVM 効果</li> <li>●拒絶・生着不全</li> <li>●治療関連毒性</li> <li>●再発時の対応</li> <li>●遺伝性疾患が引き継がれる可能性</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>●2 座不一致まで移植可能。</li> <li>●発症しても、重症化しにくい。</li> <li>●バンクに適合するものがあれば、検索の開始から最短 7～10 日間で移植することが可能。</li> <li>●なし。</li> <li>●患者の都合だけで決められる。</li> <li>●危険性は低い。</li> <li>●期待できる。</li> <li>●15%前後の頻度で発生するとする報告もあり。移植する幹細胞数の不足に関連して生着不全の頻度が高くなる。生着しても時間のかかる場合が多い。</li> <li>●移植する幹細胞数の不足の問題に対しては、複数の臍帯血を同時に移植する試みが開始されている。</li> <li>●生着不全・造血回復の遅延に伴う治療関連毒性が多い。</li> <li>●同一ドナーから GVM 効果を期待してのリンパ球輸注ができない。</li> <li>●可能性は否定できない。</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>●3 座不一致まで移植可能。</li> <li>●発症しても、自滅機能で対応可能。</li> <li>●血縁ドナーが原則であるため、遺伝子導入 T リンパ球の調製期間も含め、最短 2～3 週間で施行することが可能。</li> <li>●通常の移植*と同等の負担に加え、遺伝子導入 T リンパ球調製のためのリンパ球等の採取が必要。遺伝子導入 T リンパ球の調製後に、それらが規格を満たさないことが判明した場合には、遺伝子治療を行えない可能性がある。</li> <li>●ドナー、患者双方のスケジュールを調整する必要あり。</li> <li>●通常の移植*と同等で、事前にチェックできれば避けられる。</li> <li>●期待できる。</li> <li>●通常の移植*と同等。</li> <li>●移植後、免疫系が元通りになるまでの期間は感染症の危険性が高まる。</li> <li>●同一ドナーからの GVM 効果を期待してのリンパ球輸注**が可能。</li> <li>●可能性は否定できないが、血縁ドナーが原則ゆえに有無を把握しやすく、排除しやすい。</li> </ul>

\*さい帯血移植を除く。

\*\*遺伝子治療臨床研究の対象外になりますので、輸注されるリンパ球には遺伝子は組み込まれていません。

その他に、あなたの病気に対しては、化学療法、放射線療法といった従来から行われている治療法も考えられます。これらの治療法では、通常認められる副作用が起こる可能性があります。

( 18/31 )

慢性骨髄性白血病の場合、飲み薬であるグリベック（一般名：メシル酸イマチニブ）は治療効果があります。また、急性骨髄性白血病の場合、昨年、マイロターグ（一般名：ゲムツズマブオゾガマイシン）という新しいお薬が発売され、効果が期待されています。

それぞれの治療法の詳細については、担当医師にお尋ね下さい。

あなたが今回の遺伝子治療臨床研究に参加することを望まれないということであれば、遠慮なく申し出て下さい。現在、この病院で使用している他の治療薬や実施可能な他の治療法のうち、あなたに最もよいと考えられる薬・方法で治療を行います。

## 7. 今回用いるものと同じレトロウイルスベクターを使用したその他の遺伝子治療臨床研究・治験の状況

〈国内の治験・遺伝子治療臨床研究〉

現在、単純ヘルペスウイルス 1 型・チミジンキナーゼ（HSV-TK）遺伝子導入ドナーT リンパ球 “Add-back” 療法と同じレトロウイルスベクターを用いた遺伝子治療臨床研究が 2003 年 10 月に文部科学省および厚生労働省の承認を受け、筑波大学附属病院において同種造血幹細胞移植後の、再発白血病の方と骨髄異形成症候群の方を対象に『同種造血幹細胞移植後の再発白血病に対するヘルペスウイルス・チミジンキナーゼ導入ドナーT リンパ球輸注療法の臨床研究』という課題名で行われています（総括責任者：長澤俊郎 筑波大学臨床医学系血液内科教授）。

筑波大学でのこの遺伝子治療臨床研究においては、今回単純ヘルペスウイルス 1 型・チミジンキナーゼ（HSV-TK）遺伝子導入ドナーT リンパ球 “Add-back” 療法で用いるものと同じレトロウイルスベクターが使われており、対象の患者数は 5～10 名が予定されています。2005 年 11 月 10 日の時点で 2 名に遺伝子を導入したドナーT リンパ球が輸注されていますが、その安全性・有効性に関する最終的な報告書は作成されていません。

〈海外の治験〉

イタリアのモルメド社は、2003 年 10 月に欧州医薬品審査庁から<sup>きしょうしつべい</sup>希少疾病用医薬品の指定（患者数が限定されているが医療上の必要性が高いと考えられる疾患の治療薬開発を支援する制度。いわゆるオーファン指定のこと）を受けて、今回の単純ヘルペスウイルス 1 型・チミジンキナーゼ（HSV-TK）遺伝子導入ドナーT リンパ球 “Add-back” 療法と同様の治療方法について、同じレトロウイルスベクターを有効成分とする遺伝子治療医薬品の承認申請を目的とした治験を行っています。

現在、『造血器悪性腫瘍患者に対するハプロタイプ一致ドナー由来 T 細胞除去同種造血幹細胞移植後の単純ヘルペスウイルス 1 型・チミジンキナーゼ（HSV-TK）遺伝子導入ドナーT リンパ球輸注療法』という第 I / II 相臨床試験（目標 18 症例）を実施しています。2006 年 11 月 15 日現在で、21 名の方の症例登録が完了していますが、安全性・有効性に関する最

（ 19/31 ）

最終的な報告書は作成されていません。

なお、途中経過ですが、免疫能の回復についての評価では、50%以上の確率で初期の有効性が確認されています。

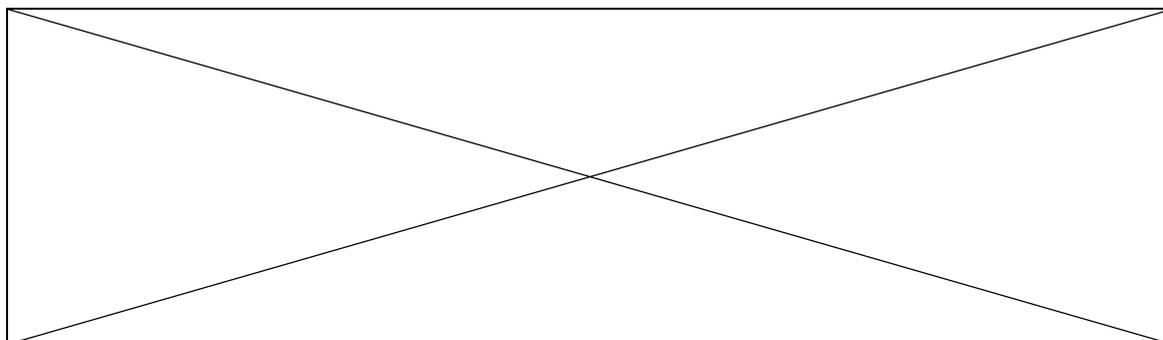
一方、有害事象（治験との関連にかかわらず、参加期間中に、それぞれの方に認められた医学的に好ましくないできごと）は、症例登録された21名の方に合計180件が報告されています。発熱、サイトメガロウイルス再活性化、感染事象、エプスタイン・バーウイルス陽性（単純ヘルペスウイルス1型の仲間、世界中で見られます。一生のうちに多くの人が感染しますが、通常は症状はありません。抵抗力が低下しているときに感染細胞が増殖している状態を指し、症状としては発熱、のどの痛み、リンパ節の腫れ等が見られます。）が多く報告されました。これらは、いずれも「遺伝子導入されたドナーTリンパ球との関連なし」と判断されています。「関連あり」と判断された有害事象は、移植片対宿主病（GVHD）で、4件の発症が報告されています。4件のうちの1件は軽症で投薬等の治療を施すことなく、その症状は消失しました。残りの3件については、ガンシクロビル（GCV）の投与による治療で、その症状は消失しました。

## 8. 遺伝子治療臨床研究の目的・意義

今回の遺伝子治療臨床研究では、HLA 2、3抗原不一致血縁者間のT細胞除去同種造血幹細胞移植〔今回の場合は、白血球の型（HLA）が一致していない血縁ドナーからのT細胞除去同種造血幹細胞移植のこと〕を受けられた方に、単純ヘルペスウイルス1型・チミジンキナーゼ（HSV-TK）遺伝子導入ドナーTリンパ球の補助的“Add-back”療法を受けていただきます。

この遺伝子治療臨床研究では、この治療法の安全性および有効性について詳しく検討したいと考えています。

この治療法が確立すれば、重症の移植片対宿主病（GVHD）が発症する可能性を恐れずにドナー由来のTリンパ球の補助的な追加輸注（Add-back）を行うことができ、HLAが一致したドナーが見つからない造血器悪性腫瘍患者さんに、安全かつ有効にHLA 2、3抗原不一致血縁者間のT細胞除去同種造血幹細胞移植後のドナー由来Tリンパ球の補助的な追加輸注（Add-back）を行うことが可能となり、有効な治療手段となることが期待されています。



( 20/31 )

## 9. 遺伝子治療臨床研究の方法

### 9.1 今回の遺伝子治療の対象となる患者さん

今回の遺伝子治療臨床研究では以下のいずれかと診断され、HLA 適合または1座不一致の適切なドナーがない患者さん、言い換えると、血縁者間 HLA ハプロタイプ不一致以外に適切なドナーが見つからない方が対象です。

- ・ 高リスク急性骨髄性白血病の初回寛解期
- ・ 急性骨髄性白血病の第二以上の寛解期
- ・ 骨髄異形成症候群の予後不良群
- ・ 骨髄異形成症候群の輸血依存例
- ・ 慢性骨髄性白血病の第一慢性期以降の慢性期、または移行期  
(グリベック (メシル酸イマチニブ) による治療歴のある患者さんに限られます。)
- ・ 高リスク急性リンパ性白血病初回寛解期

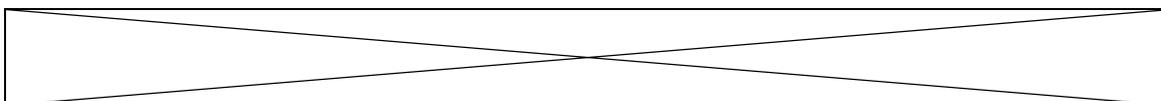
なお、あなたが本研究に参加いただくことが医学的に見て妥当であるか否かは、本研究にかかわる移植医だけでなく、血液専門医、移植科レジデント、移植を担当する専門看護師、移植病棟薬剤師、移植病棟栄養士、移植コーディネーターが一同に介するカンファレンスにて検討いたします。この場で、医学的に見てあなたが本研究によって得られる不利益が利益を上回る可能性が高いと客観的に判断された場合には、本研究に参加いただけない可能性があることをご承知おきください。また、同意いただき、上記カンファレンスにて本研究への参加が妥当であると判断された後、入院前に先立って移植病棟看護師によるオリエンテーションを受けていただくこととなります。オリエンテーションには医師は同席せず、看護師により移植治療を受ける際の注意事項、特に衣食住の注意事項の説明をさせていただくと共に、看護師の視点からあなたが本研究についてじゅうぶんにご理解いただいているかどうか、並びに参加の意思の再確認をさせていただきます。何度も似たような説明を受けるかもしれませんが、とても大切なことですのでご理解くださいますようお願い申し上げます。なお、よく理解できなかったことに関してはその都度説明者にご質問下さい。あなたにご理解いただけるよう、できる限りの説明をさせていただきます。

### 9.2 参加予定被験者数

この遺伝子治療臨床研究には 10 名の方に被験者として参加していただく予定です。

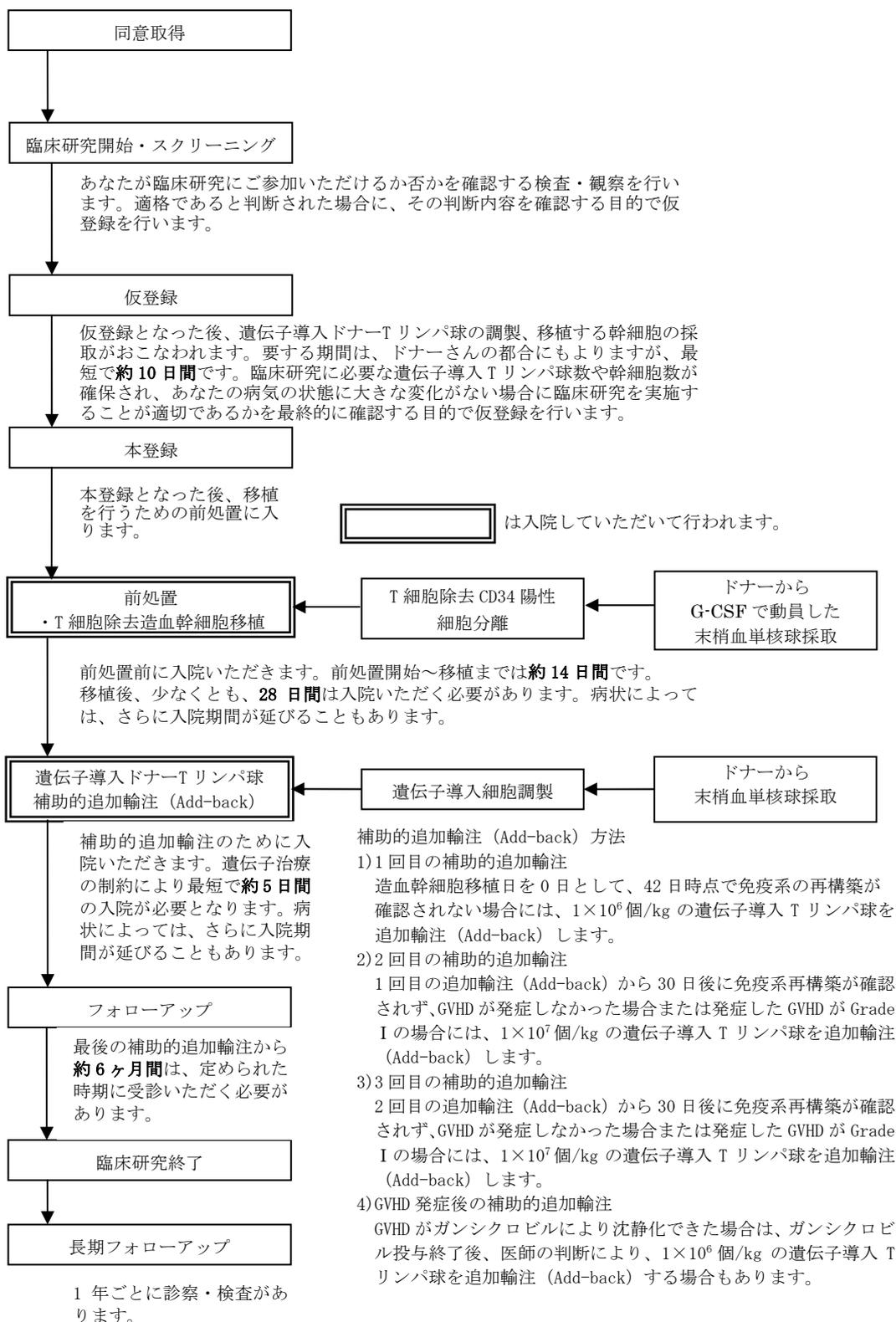
### 9.3 参加予定期間

この遺伝子治療臨床研究の参加予定期間は、最長で約 360 日間（入院期間を含む）です。



( 21/31 )

## 9.4 治療スケジュールと検査項目



( 22/31 )

### 【遺伝子治療臨床研究のおおよそのスケジュール】

今回の遺伝子治療臨床研究は前ページにお示したフローにより実施されます。

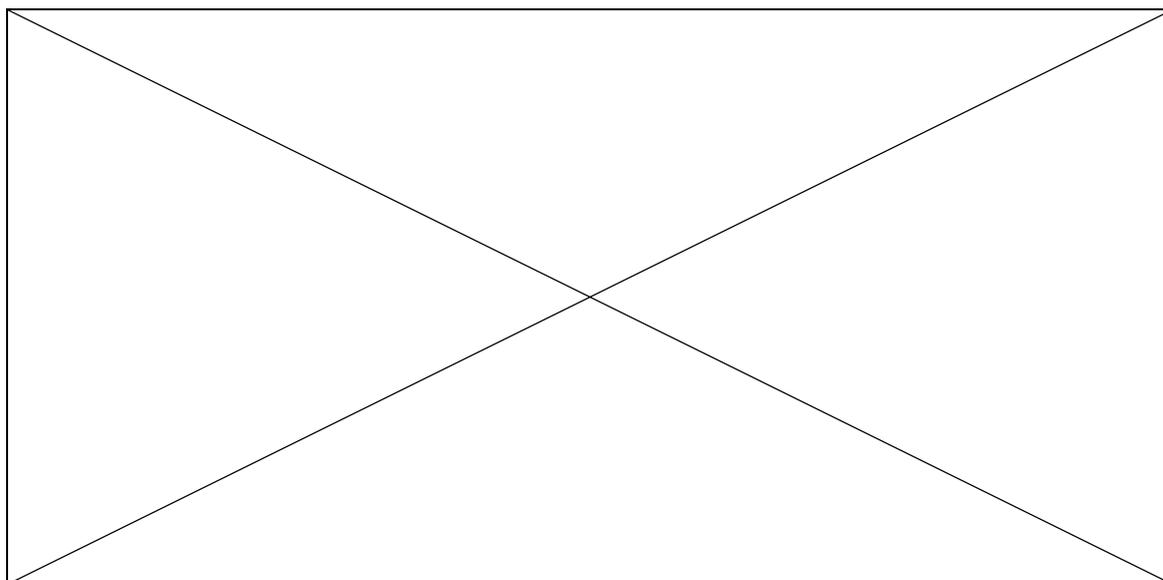
入院は、前処置・T細胞除去造血幹細胞移植（移植直後の観察期間含む）時、遺伝子導入ドナーTリンパ球の補助的追加輸注（Add-back）時を予定しています。追加輸注（Add-back）のための入院回数は、あなたの免疫系再構築の状況により最大で3回です。それぞれの入院期間は、前処置・T細胞除去造血幹細胞移植時の入院が最短で約42日間、追加輸注（Add-back）時の入院が1回あたり最短で約5日間です。ただし、移植関連合併症が出現した場合には、その治療のために新たな入院が必要となることや入院期間が長期間となることをご承知おきください。

検査・観察や処置の内容やおおよそのスケジュールは次頁に示した表のとおりです。

仮登録、本登録前にあなたが臨床研究にご参加いただくのに適格かどうかの検査・観察を行います。最終的に適格であると判断された場合、前処置を経て移植が行われます。移植後の免疫系の再構築の状況によって、42日、72日、102日に追加輸注（Add-back）が必要となる場合も想定されます。移植後の検査・観察は初回の追加輸注（Add-back）前に1回、その後はその時点での最終の遺伝子導入ドナーTリンパ球補助的追加輸注（Add-back）から1, 2, 3, 4, 6, 10, 14, 18, 24週の時点で行います。それ以降は毎年1回、長期フォローアップのための診察・検査となります。

### 【検査に必要な採血量】

検査項目によって異なりますが、1日あたり約50mLの採血が必要になる場合があります。当日のあなたの体調を診て、担当医師がその可否を判断いたします。体調がすぐれない場合には、担当医師に申し出てください。



( 23/31 )

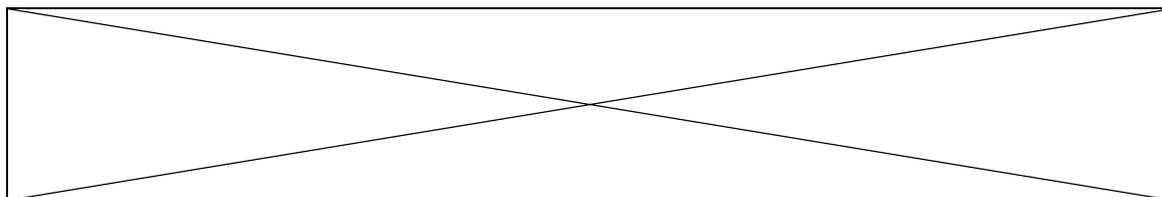
### 臨床研究のスケジュール

	移植前			移植日	移植後 (移植日を0として)				遺伝子導入Tリンパ球の 補助的追加輸注 (Add-back) 後 (直近の Add-back 日を0として)								研究終了後	
	仮登録時以前	本登録時以前	本登録後	0	42日以前	42日	72日	102日	1週	2週	3週	4週	6週	10週	14週	18週	24週	1年毎
診察	○	○		○	○				○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
臨床検査のための採血	○	○		○	○ <sup>1</sup>				○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
尿検査		○			○							○	○	○	○	○	○	
腎臓の機能検査		○																
呼吸器の機能検査	○	○																
心電図	○	○																
心エコー	○	○																
胸部 X 線検査	○	○																
病気に 関する 検査・観察	○	○							4週に1回、中止あるいは終了時他、 治療上で必要な時期									
移植前処置			○															
移植				○														
補助的追加輸注 (Add-back)						○	○	○										
レトロウイルスベクターの増殖の検査									○			○		○			○	○
挿入変異の検査のための採血												○	○	○	○	○	○	○
免疫系再構築の判定に関する検査・観察					○	○			○	○	○	○	○	○	○	○	○	
GVHDの観察					○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	
GVHD発症した場合、障害部位の遺伝子導入Tリンパ球の存在確認					GVHD発症時、GCV製剤投与前、4日後、終了あるいは中止の翌日													
遺伝子導入Tリンパ球の血中の濃度測定					○				○	○	○	○	○	○	○	○	○	
副作用等の確認					実施期間を通して確認													

<sup>1</sup> : 造血の確認（生着）が確認されるまでの毎日と造血幹細胞移植後30日から40日の間に1回

#### 【遺伝子治療臨床研究への参加予定期間】

あなたの免疫系の再構築にもよりますが、最短で約30週間、最長で約45週間です。それ以降は毎年1回、長期フォローアップとして診察・検査が必要となります。この長期フォローアップとしての診察・検査は原則外来で受診いただき、1年間に1回となります。



( 24/31 )

## 9.5 情報の提供について

この遺伝子治療臨床研究に参加中、あなたの参加継続の意思に影響を与えられようような新しい情報については、速やかに担当医師からお知らせいたします。その説明を聞いて遺伝子治療臨床研究への参加を取り消したい場合は、いつでも参加を取りやめることができますので、担当医師に遠慮なくおっしゃってください。

## 9.6 守っていただきたいこと

この遺伝子治療臨床研究への参加に同意いただいた場合、以下の(1)～(3)の事項を守ってください。また、他の病気などで担当医師以外の医師の治療を受けている場合や他の薬を服用している場合には、そのことを必ず担当医師に伝えてください。

- (1) 担当医師の指示に従い、定められた来院日は守るようにしてください
- (2) この遺伝子治療臨床研究期間中、今までと比べて身体の調子がおかしいと感じた場合には、いつでも、必ず、担当医師などに相談してください
- (3) この遺伝子治療臨床研究期間中には、他の臨床研究・治験には参加しないでください
- (4) この遺伝子治療臨床研究期間中及び終了後5年間は避妊をするようにしてください

## 9.7 遺伝子治療臨床研究の中止について

あなたの遺伝子治療臨床研究への参加の同意が得られましたら、参加可能かどうかを確認するために血液検査や十分な臓器機能が保たれているかといった適格性の検査をします。その結果、あなたの健康状態が思わしくない場合には、遺伝子治療臨床研究への参加をお断りすることになりますので、あらかじめご承知おきください。

より安全にCD34陽性細胞を移植するためには、患者さんの体重1kg当たり、 $4 \times 10^6$ 個以上のCD34陽性細胞が必要とされています。本遺伝子治療臨床研究では、ドナーの方より必要な細胞数のCD34陽性細胞が採取できなかった場合は、安全に造血幹細胞移植を実施することが困難なため、本研究を中止させていただくことになります。

また、白血球の型(HLA)が一致していないドナーの方からCD34陽性細胞を移植する場合には、混在するTリンパ球をじゅうぶんに除去し、純化する必要があります。Tリンパ球をじゅうぶんに除去できなかった場合には、重症の移植片対宿主病(GVHD)の発症が懸念されるため、移植を行うことができません。この場合も、本研究を中止させていただくことになります。

その他、追加輸注(Add-back)に必要なHSV-TK遺伝子導入ドナーTリンパ球が得られなかった場合や移植したCD34陽性細胞が生着しなかった場合、及び以下の(1)～(5)のいずれかに該当する場合は、あなたに遺伝子治療臨床研究への参加継続の意思があったとしても、本研究を中止させていただくことになります。

- (1) 担当医師が遺伝子治療臨床研究を中止することが適切と判断した場合

( 25/31 )

- (2) 遺伝子治療臨床研究との関係にかかわらず、あなたに好ましくない症状などが現れ、遺伝子治療臨床研究の継続が困難と判断された場合
- (3) あなたがこの遺伝子治療臨床研究の参加基準に合わないことが判明した場合
- (4) あなたの病気の症状が悪化し、遺伝子治療臨床研究の継続が困難と判断された場合
- (5) その他、あなたが担当医師の指示を守らない等、遺伝子治療臨床研究の継続が困難と担当医師が判断した場合

この遺伝子治療臨床研究への参加継続を中止させていただく場合には、中止した時点のあなたの状態を確認するため、遺伝子治療臨床研究終了時に予定されている検査を受けていただきますので、その点ご了解ください。

なお、遺伝子治療臨床研究が中止となった場合でも、その時点であなたに最善と考えられる治療が行われます。

#### 9.8 遺伝子治療臨床研究中の治療費について

今回の遺伝子治療臨床研究には、健康保険等の公的な医療保険は適応されません。今回の遺伝子治療臨床研究にかかる費用、たとえば CD34 陽性細胞純化にかかわる費用、ウイルスベクターや遺伝子導入にかかわる費用、ならびに本臨床研究にかかわる一切の治療・検査経費に関しては研究グループが負担します。

ただし、この臨床研究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、これまでどお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はあなたの負担となります。

#### 10. 研究の公正性について

本遺伝子治療臨床研究は国立がんセンター中央病院が自主的に実施しますが、外部共同研究者としてタカラバイオ（株）という会社が限定的な役割に関わります。診療行為においてタカラバイオ（株）が関与することは一切ありません。調製された細胞をあなたに投与した場合の安全性や機能に関する記録は、個人が特定できないように個人情報保護が図られたうえでタカラバイオ（株）が閲覧することもあります。

タカラバイオ（株）の本遺伝子治療臨床研究における役割は、ウイルスベクターに関する基礎的助言や遺伝子導入 T リンパ球調製技術の提供・助言に限定されています。本遺伝子治療臨床研究における治療行為の実施、国立がんセンター中央病院遺伝子治療臨床研究審査委員会、遺伝子治療臨床研究効果安全性評価委員会、遺伝子治療臨床研究実施事務局等、あなたの診療に直接関わり、かつ臨床的評価を行う議決組織等の全てにおいて、タカラバイオ（株）の関係者は一切除外されており、本遺伝子治療臨床研究のデータの客観性および公正性はその意向になんら影響を受けることなく厳正に保たれます。

## 11. 遺伝子治療臨床研究に関する健康被害が発生した場合の治療及び補償

今回は遺伝子治療臨床研究であり、他の治療法では治癒が難しいと判断される病態の患者さんに対して行うもので危険性を完全には否定することはできません。本遺伝子治療臨床研究との関連が否定できない有害事象が発生した場合には、最も適切な治療を行い、その医療費は研究グループが負担します。なお、補償金は支払われません。

## 12. 個人情報の保護について

### 12.1 あなたの個人情報の取扱いにおける国立がんセンター中央病院の責務

国立がんセンター中央病院で扱っているあなたの診療記録などをはじめとするあなたの情報は個人情報に当たります。あなたの診療記録は法律（刑法）で定められた「医師の守秘義務」に則り、国立がんセンター中央病院にて厳重に管理し、秘密保持を厳守します。その他、国立がんセンター中央病院で働いている者も守秘義務を守ることが定められています。さらに、国立がんセンター中央病院では、個人情報を保護することを徹底するために個人情報保護の法律に基づいた規則を定め、適切な管理者等を配置し、個人情報の保護につとめています。

### 12.2 国立がんセンター中央病院における個人情報の一般的な取扱い

国立がんセンター中央病院は、がん対策の中核の責を担い総合的な診療・研究機関として、最先端の医療、質の高い医療を提供してまいりました。さらには、我が国のがん施策における中心的な役割を果たすという社会的な使命を担っております。

つきましては、国立がんセンター中央病院におけるあなたの貴重な個人情報を含む記録を医療機関として利用させていただきたいと思っております。あなたの個人情報は、各種法令や各種法令に基づいた院内規程を遵守した上で以下の目的のために利用されますので、あなたのご理解とご協力を頂きますようお願い申し上げます。

#### (1) 医療の提供に必要な利用目的

- ・ 医療サービス（診療）を適切に行うため
- ・ 提供した医療サービスに関する医療保険事務を行うため
- ・ 医療サービスの品質管理のため（治療成績や有害事象評価も含む）
- ・ 医療に関する外部監査機関への情報提供のため（日本医療機能評価機構等）
- ・ 法律等に基づく情報提供義務遂行のため
- ・ 国立がんセンター東病院での情報利用
- ・ 診療上必要な場合で、他の医療機関医師の意見・助言を求めるため
- ・ 外部委託検査（検体検査など）の実施のため
- ・ 院内感染予防対策のため
- ・ 院外調剤薬局から処方に関する問い合わせがあった場合

（ 27/31 ）

(2) 上記以外の利用目的（当院内部での利用）

- ・ 国立がんセンターがん予防・検診研究センターでの情報利用
- ・ 院内がん登録への情報の登録及び利用〔個人を特定できる情報を削除した上で診療情報等を全国がん（成人病）センター協議会等に提出〕
- ・ アンケート調査やサービスに関する情報収集時に活用
- ・ 医学生等の実習、研修等での利用のため
- ・ 病歴内に既に存在する情報を集計して行う臨床研究のため（治療品質管理の一環との判断）

(3) 院外への情報提供

- ・ 疾患別がん登録への情報提供
- ・ 地域がん登録を行う都道府県への情報提供
- ・ がん検診事業者への情報提供

(4) 他の事業者等への情報提供

- ・ 医学知識普及を目的とした講演、著述等での利用や、当院ホームページ等への掲載のため（個人を識別できる情報を削除した上で診療画像等を利用）
- ・ 医療スタッフの専門認定等の資格申請での提出のため

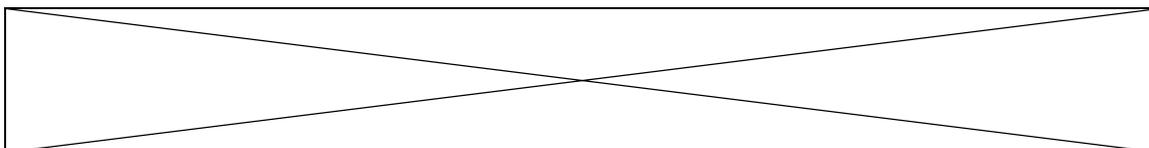
### 12.3 本遺伝子治療の遂行に必要なあなたの個人情報の使用について

12.2 に掲げました国立がんセンター中央病院における個人情報の一般的な取扱いに加え、さらに本遺伝子治療臨床研究を遂行するために必要な利用目的のためにも利用されます。これは原則的に、本遺伝子治療臨床研究の実施に関する緊急事態発生のためのご連絡やお手続き、検査のご連絡、あなたの生命を守るために必要な場合です。

あなたの個人情報に直接接することが可能なのは、国立がんセンター中央病院に所属する本遺伝子治療臨床研究実施関係者に加え、第三者となる当院の審査委員会・効果安全性評価委員会の人や、厚生労働省の審査委員会の人及び同省の担当者のみです。これらの第三者におけるあなたの個人情報の取扱いならびにその監督については、後述いたします。

これらの目的と異なる目的のためにあなたの個人情報を使用する場合は、事前にあなたに説明し、ご了解を得たうえで使用いたします。本遺伝子治療臨床研究は、国立がんセンター中央病院内で実施するため、あなたを特定し得る情報を上記以外の第三者に提供することは原則としてありません。

第三者へ情報を提供する必要が生じた場合には、その目的が適切であることを確認し、あなたに説明のうえ、ご了解を頂いた場合に限り提供することとしています。



( 28/31 )

#### 12.4 あなたの個人情報を閲覧可能な第三者と国立がんセンター中央病院の個人情報管理と監督

前述のように、本遺伝子治療臨床研究においては、主に当院の医師などからなる審査委員会・効果安全性評価委員会の人や、厚生労働省の審査委員会の人および同省の担当者があなたの診療記録を閲覧することがありますが、このような人たちには守秘義務が課せられており、あなたの個人情報は全て秘密として取り扱われます。

一方、この病院の審査委員会並びに効果安全性評価委員会には、審査等の客観性を確保するため、あるいはあなたの病状や診療に関わるより専門的な医学的・科学的知識の提供を受けるために、国立がんセンター中央病院以外の外部の委員が参加することがあります。外部の委員は第三者に相当しますので、このような場合については国立がんセンター中央病院と第三者の秘密保持契約のもとで行われます。したがって、あなたの個人情報は全て秘密として取り扱われます。

また、本遺伝子治療臨床研究は、国立がんセンター中央病院が主体となって実施していますが、タカラバイオ（株）が外部共同研究者として間接的に関与しています。すでに申し上げたとおり、本遺伝子治療臨床研究においては、あなたの診察・治療そのものに直接関与することはありませんが、ウイルスベクターに関する基礎的助言や遺伝子導入 T リンパ球調製技術の提供・助言に限定し、間接的に関与しています。この場合、調製された細胞をあなたに投与した場合の安全性や機能に関する記録は、個人が特定できないように個人情報を完全に匿名化してから、タカラバイオ（株）が閲覧する場合があります。

#### 12.5 あなたの病状情報の公開による社会への還元と、その際のあなたの個人情報の管理措置

これまでに述べた個人情報保護の体制のもと、あなたの情報は医療の向上のため、本遺伝子治療臨床研究の成果を検討するときや、病状経過、研究成績などを公表・公開する場合は、あなたであることを特定できない形、すなわち個人情報を保護して取り扱います。遺伝子治療臨床研究は社会的に広く関心を集めておりますので、病状経過などにつきましては、個人を特定できない状態での公開（学術雑誌、学会、マスコミ含む）を行う場合があります。その際はあなたの個人情報保護を厳守して実施することをお約束しますのでご了承ください。

前述いたしましたが、タカラバイオ（株）はあなたの診察・治療そのものに直接関与することはありませんが、ウイルスベクターに関する基礎的助言や遺伝子導入 T リンパ球調製技術の提供・助言に限定したうえで間接的に関与します。同社に対しては、個人が特定できないように個人情報は完全に匿名化してから、調製された細胞をあなたに投与した場合の安全性や機能に関する記録が一般公開に先立ち、閲覧に供されますが、国立がんセンターでの一般公開に先行して同社から公になることはありません。

（ 29/31 ）

## 12.6 あなたの個人情報の管理におけるあなたの権利

本遺伝子治療臨床研究で取り扱っている個人情報について、あなたが開示、訂正、利用停止を求めることができます。あなたが個人情報について疑問などがある場合は、担当医師にお問い合わせください。お申し出に応じて、その手続きに関する詳細を説明いたします。

また、担当医師とは別に個人情報に関する苦情等の窓口もございますので、疑問等がございましたらお問い合わせください。

### 【個人情報に関する苦情等の窓口】

以下の個人情報に関する苦情等の窓口では、個人情報に関する疑問やご相談に対応いたします。

国立がんセンター中央病院 医事課（初診窓口）

電話：03-3542-2511（病院代表）

## 13. 遺伝子治療臨床研究を担当する医師

遺伝子治療臨床研究に参加していただく場合の心配事や遺伝子治療臨床研究についての説明、安全性、補償などのご質問についても、お気軽にお尋ねください。あなたに納得していただけるまでじゅうぶんに説明させていただきます。

国立がんセンター中央病院 薬物療法部	TEL：03-3542-2511
幹細胞移植療法室医長 平家勇司	薬物療法部 (職名・医師名・診療科)
薬物療法部長 高上洋一	薬物療法部 (職名・医師名・診療科)
第一領域外来部長 飛内賢正	第一領域外来部 (職名・医師名・診療科)
細菌検査室医長 森慎一郎	臨床検査部 (職名・医師名・診療科)
13B 病棟医師 金 成元	特殊病棟部 (職名・医師名・診療科)
12B 病棟医長 福田隆弘	特殊病棟部 (職名・医師名・診療科)
輸血管理室医長 田野崎隆二	臨床検査部 (職名・医師名・診療科)

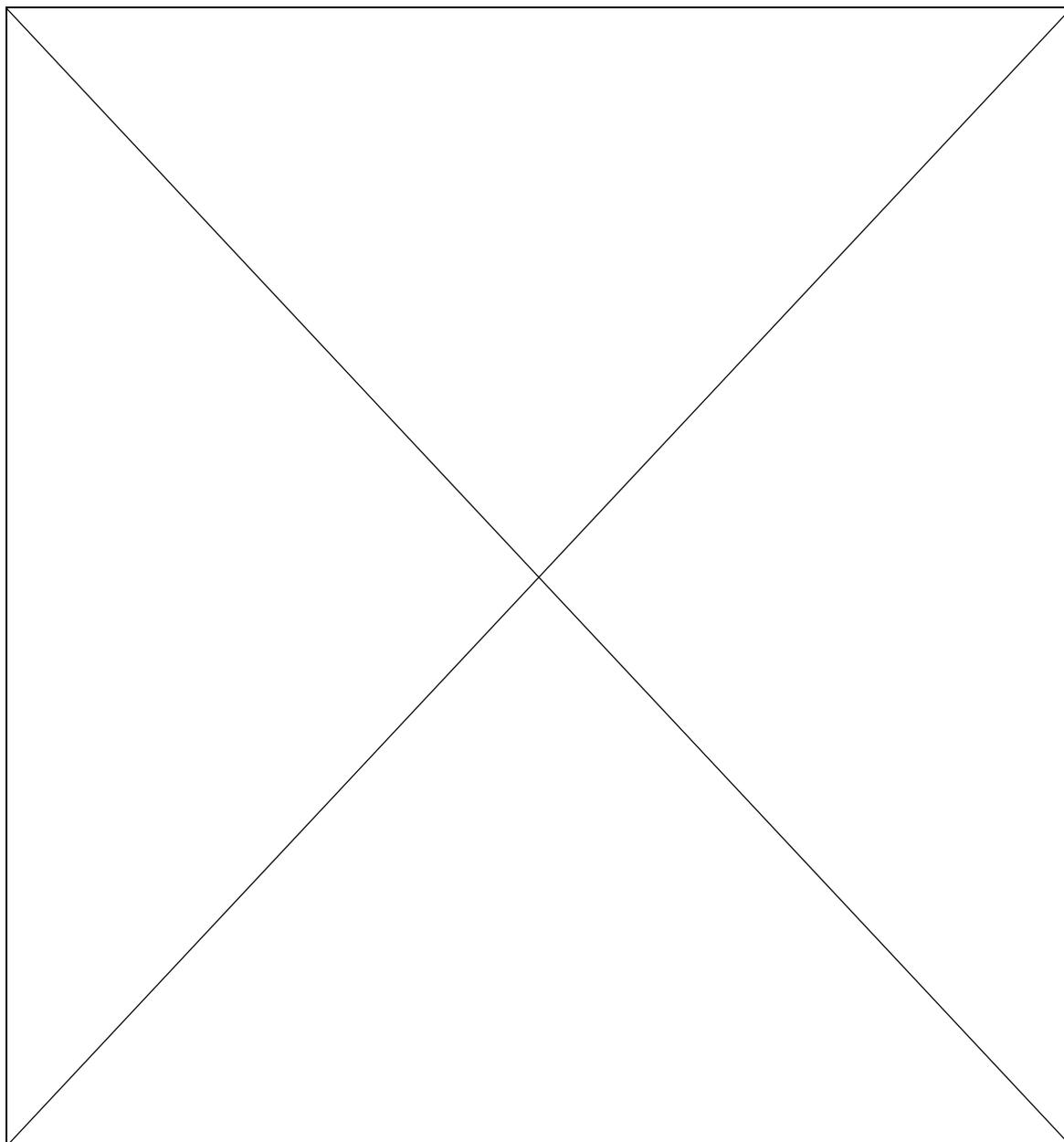
なお、この遺伝子治療臨床研究は、当病院に設置された遺伝子治療臨床研究審査委員会  
で、参加される方のプライバシーと安全性に最大限に配慮して科学性及び倫理性について  
審議され、承認を受けたうえで、「遺伝子治療臨床研究に関する指針」等を守って行われま  
す。また、国からの通達に従い、この遺伝子治療臨床研究の計画は総長から厚生労働大臣  
に意見を求めています。

以上、遺伝子治療臨床研究『ハプロタイプ一致ドナー由来 T 細胞除去造血幹細胞移植後の単純ヘルペスウイルス 1 型・チミジンキナーゼ (HSV-TK) 遺伝子導入 T リンパ球“<sup>アド</sup>バック”療法』についてお話をさせていただきました。

この内容をじゅうぶんに把握していただき、この遺伝子治療臨床研究に参加しても良いと決めた場合は、次の同意書に署名をお願いいたします。

なお、この説明文書と署名した同意書の写しをお渡しいたします。

作成年月日：○年○月○日



( 31/31 )

(カルテ貼付用)

同意書

国立がんセンター中央病院

病院長：\_\_\_\_\_殿

私は臨床研究『ハプロタイプ一致ドナー由来 T 細胞除去造血幹細胞移植後の単純ヘルペスウイルス 1 型・チミジンキナーゼ (HSV-TK) 遺伝子導入 T リンパ球 “Add-back” 療法』について、すべての説明を受け、内容を理解し、納得した上で臨床研究に参加することに同意いたします。

また、説明文書と署名した同意書の写しを受け取りました。

[同意内容]

- 1. はじめに
- 2. 遺伝子治療臨床研究の名称と実施施設、担当者
- 3. 遺伝子治療臨床研究の概要
- 4. 遺伝子治療臨床研究により予期される効果
- 5. 予期される危険（副作用）
- 6. 他の治療法（特にさい帯血移植について）
- 7. 今回用いるものと同じレトロウイルスベクターを使用したその他の遺伝子治療臨床研究・治験の状況
- 8. 遺伝子治療臨床研究の目的・意義
- 9. 遺伝子治療臨床研究の方法
- 10. 研究の公正性について
- 11. 遺伝子治療臨床研究に関する健康被害が発生した場合の治療及び補償
- 12. 個人情報の保護について
- 13. 遺伝子治療臨床研究を担当する医師

同意年月日：平成 年 月 日

ご署名：\_\_\_\_\_

(説明した医師の記入欄)

説明年月日：平成 年 月 日

総括責任者（又は分担研究者）所属・氏名：\_\_\_\_\_

(その他の説明者がいた場合)

説明年月日：平成 年 月 日

説明者 所属・氏名：\_\_\_\_\_

( 1/3 )

(事務局保管用)

同意書

国立がんセンター中央病院

病院長：\_\_\_\_\_殿

私は臨床研究『ハプロタイプ一致ドナー由来 T 細胞除去造血幹細胞移植後の単純ヘルペスウイルス 1 型・チミジンキナーゼ (HSV-TK) 遺伝子導入 T リンパ球 “Add-back” 療法』について、すべての説明を受け、内容を理解し、納得した上で臨床研究に参加することに同意いたします。

また、説明文書と署名した同意書の写しを受け取りました。

[同意内容]

- 1. はじめに
- 2. 遺伝子治療臨床研究の名称と実施施設、担当者
- 3. 遺伝子治療臨床研究の概要
- 4. 遺伝子治療臨床研究により予期される効果
- 5. 予期される危険（副作用）
- 6. 他の治療法（特にさい帯血移植について）
- 7. 今回用いるものと同じレトロウイルスベクターを使用したその他の遺伝子治療臨床研究・治験の状況
- 8. 遺伝子治療臨床研究の目的・意義
- 9. 遺伝子治療臨床研究の方法
- 10. 研究の公正性について
- 11. 遺伝子治療臨床研究に関する健康被害が発生した場合の治療及び補償
- 12. 個人情報の保護について
- 13. 遺伝子治療臨床研究を担当する医師

同意年月日：平成 年 月 日

ご署名：\_\_\_\_\_

(説明した医師の記入欄)

説明年月日：平成 年 月 日

総括責任者（又は分担研究者）所属・氏名：\_\_\_\_\_

(その他の説明者がいた場合)

説明年月日：平成 年 月 日

説明者 所属・氏名：\_\_\_\_\_

( 2/3 )

(患者用)

同意書

国立がんセンター中央病院

病院長：\_\_\_\_\_殿

私は臨床研究『ハプロタイプ一致ドナー由来 T 細胞除去造血幹細胞移植後の単純ヘルペスウイルス 1 型・チミジンキナーゼ (HSV-TK) 遺伝子導入 T リンパ球 “Add-back” 療法』について、すべての説明を受け、内容を理解し、納得した上で臨床研究に参加することに同意いたします。

また、説明文書と署名した同意書の写しを受け取りました。

[同意内容]

- 1. はじめに
- 2. 遺伝子治療臨床研究の名称と実施施設、担当者
- 3. 遺伝子治療臨床研究の概要
- 4. 遺伝子治療臨床研究により予期される効果
- 5. 予期される危険（副作用）
- 6. 他の治療法（特にさい帯血移植について）
- 7. 今回用いるものと同じレトロウイルスベクターを使用したその他の遺伝子治療臨床研究・治験の状況
- 8. 遺伝子治療臨床研究の目的・意義
- 9. 遺伝子治療臨床研究の方法
- 10. 研究の公正性について
- 11. 遺伝子治療臨床研究に関する健康被害が発生した場合の治療及び補償
- 12. 個人情報の保護について
- 13. 遺伝子治療臨床研究を担当する医師

同意年月日：平成 年 月 日

ご署名：\_\_\_\_\_

(説明した医師の記入欄)

説明年月日：平成 年 月 日

総括責任者（又は分担研究者）所属・氏名：\_\_\_\_\_

(その他の説明者がいた場合)

説明年月日：平成 年 月 日

説明者 所属・氏名：\_\_\_\_\_

( 3/3 )

## XI.8 同意説明文書及び同意文書（ドナー用）

### 同意取得の際に用いられる説明文書及び同意書

「ハプロタイプ一致ドナー由来 T 細胞除去造血幹細胞移植後の単純ヘルペスウイルス 1 型・チミジンキナーゼ（HSV-TK）遺伝子導入 T リンパ球 “<sup>アド</sup> <sup>バック</sup> Add-back” 療法」

<ドナー用>

遺伝子治療臨床研究「ハプロタイプ一致ドナー由来 T 細胞除去造血幹細胞移植後の単純ヘルペスウイルス 1 型・チミジンキナーゼ (HSV-TK) 遺伝子導入 T リンパ球 “Add-back” 療法」における造血幹細胞、リンパ球、及び血漿の提供を考えておられるドナーへのご説明

(説明文書及び同意書)

今回、標記遺伝子治療臨床研究において、あなたの造血幹細胞、血液中のリンパ球、及び血漿（血液中の血球以外の成分）を使わせていただきたいと考えています。これから今回の臨床研究の内容、造血幹細胞、リンパ球及び血漿採取の方法、採取にともなう副作用、採取前後の検査の必要性・内容についてご説明します。よくお読みいただき、ご理解の上、ドナーとして本遺伝子治療臨床研究にご協力いただけるかどうかご判断ください。

## 1. はじめに

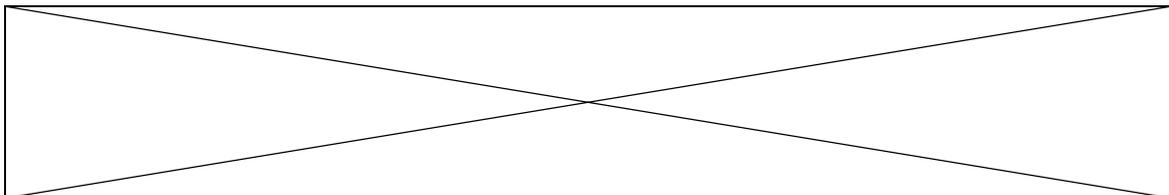
### 1.1 遺伝子治療臨床研究とは

臨床研究により新しい治療法を確立することは先端医療を手掛ける国立病院の使命であり、患者さん及びドナーのご協力により成し遂げることができるものです。今回協力をお願いする臨床研究は、遺伝子治療に関するもので、実際の診療に携わる医師が医学的必要性・重要性に鑑みて、立案・計画して行うものです。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。この遺伝子治療臨床研究を実施するにあたっては、当院の審査委員会の審議にもとづく総長の許可を得て、更にその後、厚生労働大臣に意見を求めています。臨床研究にご協力いただくかどうかはあなたの自由意思で決めてください。たとえご協力いただかなくとも、あなた並びに移植療法を必要とする患者さんが不利益を被ることはありません。

### 1.2 遺伝子治療臨床研究へのご協力について

この遺伝子治療臨床研究へのご協力については、あなた自身の意思が最も尊重されますので、あなたの自由な判断で決めてください。また、ご家族の方と相談していただいても結構です。ご自身の判断で決めていただくために、医師若しくは医療スタッフから臨床研究の目的や方法、及びご協力をお願いしたい内容などについて説明を受けていただきます。その結果、ご協力ただかなくともあなた並びに移植療法を必要とする患者さんが不利益を受けることは一切ありません。

あなたには、この遺伝子治療臨床研究ではドナーとしてご協力をお願いいたしますので、医学的に見た直接的なメリットはありません。



( 1/13 )

### 1.3 遺伝子治療臨床研究へのご協力の取消しについて

あなたが「遺伝子治療臨床研究への協力をやめたい」と思われたときには患者さんへの治療が開始される前であれば、同意を取り消して臨床研究への協力をいつでもやめることができます。しかし、患者さんの治療が開始された後は、あなたから採取したリンパ球から作製した遺伝子導入 T リンパ球や採取した末梢血幹細胞の患者さんへの追加輸注や移植を中止することはできません。今回の臨床研究においては、あなたから末梢血幹細胞を採取し、必要な数の CD34 陽性細胞が確保できた段階で、患者さんがあなたの造血幹細胞を受け入れるために「移植前処置」と呼ばれる患者さんの骨髄を完全に破壊する治療に入ります。患者さんが「移植前処置」に入った後に、あなたの造血幹細胞の移植や遺伝子導入 T リンパ球の輸注を受けられないということになりますと、患者さんは致命的状況に陥ることになり、これを防ぐためです。遺伝子治療臨床研究へのご協力については、今ご説明申し上げたことをご理解の上、じゅうぶんにお考えの上、お決めください。

## 2. 遺伝子治療臨床研究の内容

### 2.1 骨髄移植と末梢血幹細胞移植について

血液のがんである白血病や血液を造る力そのものが弱くなる再生不良性貧血といった血液難病の治癒的治療法として、これまで骨髄移植という治療が広く行われており、その治療効果が確認されています。

さらに最近、全身麻酔や手術を必要とすることなく、末梢血から種々の血液細胞（白血球、赤血球、血小板など）の源になる造血幹細胞を採取して移植する、あるいは採取後一時凍結保存して移植する末梢血幹細胞移植という方法が、骨髄移植の代替法として実施されています。この方法は、ドナー（提供者）の末梢血中に循環している造血幹細胞を血球分離装置で大量に採取し、これを骨髄細胞と同様の方法で移植する治療法です。なお、通常は末梢血にはこの造血幹細胞はわずしか循環していませんが、顆粒球コロニー刺激因子（G-CSF）という薬をドナーに投与すると、より多くの造血幹細胞が骨髄から動員されてくることが判っています。この方法を用いた移植は、世界で 20,000 例以上、我が国でも 2,000 例以上に行われていますが、移植されたドナーの末梢血幹細胞は順調に生着し、患者さんの造血回復が確認されています。

### 2.2 白血球の型（HLA）が一致していないドナーからの造血幹細胞移植 （血縁者間のハプロタイプ一致造血幹細胞移植）

このように、他人からの造血幹細胞移植は白血病などの血液のがん（造血系腫瘍）に対する有効な治療として、広く行われていますが、白血球の型（HLA）が一致するドナーが見つかる確率はあまり高くありません。自身以外に 2 人の兄弟姉妹がいたとしても、約 60% の患者さんは白血球の型（HLA）が一致した兄弟姉妹を見出すことができません。そういった場合には、骨髄バンクあるいは臍帯血バンクで非血縁者のドナーあるいは移植細胞を探すこととなります。しかしながら、実際には、骨髄バンクではドナーが見つからないある

( 2/13 )

いは見つかったとしても移植までに時間がかかってしまう、臍帯血バンクで体の大きい大人では移植細胞数が不足するといったような問題があります。そのため、白血球の型（HLA）が一致していない血縁者のドナーからの造血幹細胞移植をより安全に行えるように、移植細胞に含まれる T リンパ球を除去したうえで造血幹細胞だけを移植する方法の確立が望まれており、血縁者間のハプロタイプ一致（HLA 2 座、3 座不一致）造血幹細胞移植という方法が海外を中心に試みられています。

ハプロタイプとは両親から受け継いだ二組の遺伝子のセットの片方のことで、理論的には、両親と本人、本人と子供であれば一組のハプロタイプは必ず一致し、兄弟姉妹と本人のハプロタイプは 75%の確率で一致することになります。ただし、白血球の型（HLA）が一致していないため、ドナー由来の T リンパ球が患者さんの臓器を攻撃する移植片対宿主病（GVHD）が問題になります。試みられている方法では、この問題を解決するため、ドナーから採取された造血幹細胞から、あらかじめ移植片対宿主病（GVHD）を引き起こすと考えられている T リンパ球をできる限り除去する操作を加えたものを移植します。

### 2.3 T リンパ球を取り除く方法

ここ数年、血液細胞等の研究が進み、各血液細胞の細胞表面に発現している抗原（マーカー）によって各細胞の役割を区別することができ、細胞表面の抗原（マーカー）に番号付けがなされるようになりました。造血幹細胞はマーカーとして CD34 抗原を発現していることが確認されており、CD34 陽性細胞とよばれています。

この CD34 陽性細胞を選択的に分離・濃縮する装置を用いて、ドナーから採取した末梢血から CD34 陽性細胞を分離して、安全な移植の妨げともなる T リンパ球の大部分を取り除きます。このように選択的に純化した CD34 陽性細胞を移植することで、先に述べた移植片対宿主病（GVHD）の発症を回避しつつ、白血球の型（HLA）が一致していないハプロタイプ一致血縁者間でも造血幹細胞移植が可能であることが海外の臨床試験の結果で明らかになってきています。

### 2.4 血縁者間のハプロタイプ一致造血幹細胞移植の問題点と遺伝子治療臨床研究

しかしながら、T リンパ球は免疫反応では重要な役割を担っているため、T リンパ球を除去した造血幹細胞移植では、移植後の感染症による死亡、疾患再発・増悪といった課題は残されています。これらの課題を解決するために、移植した造血幹細胞が患者さんの骨髄に根付いた（生着した）ことが確認されてから、ドナーの T リンパ球を追加輸注（Add-back）するという試みが行われています。ドナーの T リンパ球をそのまま追加輸注した場合には致死的な急性 GVHD が発症する可能性があるため、ドナーの T リンパ球の量を少なくすることでその発症の危険を避けざるを得ず、結果としてじゅうぶんな治療効果を得られないことがあります。

そこで、今回の遺伝子治療臨床研究では、ドナーの T リンパ球の追加輸注療法で懸念さ

（ 3/13 ）

れる移植片対宿主病（GVHD）の問題を回避する目的で、自滅装置を備えた HSV-TK 遺伝子導入 T リンパ球を使います。すなわち、もし、重症の GVHD が発症しても、この自滅装置を作動させれば、GVHD 発症の原因として作用しているドナー由来のリンパ球を自滅させることができ、GVHD 症状が沈静化され、この安全装置を備えたドナーの T リンパ球の GVHD についての安全性は高いといえます。したがって、必要な量のドナー T リンパ球を追加輸注することが可能となり、移植後の感染症による死亡、疾患再発・増悪といった課題の克服が期待できます。

本臨床研究では、下図に示すフローで T リンパ球・血漿、末梢血幹細胞をご提供いただきます。T リンパ球・血漿の採取は遺伝子導入 T リンパ球調製のために行うもので、本臨床研究特有のもので、余分に T リンパ球・血漿採取のご負担をお願いすることになり、デメリットとなります。また、遺伝子導入 T リンパ球調製後に、それらが規格を満たさないことが判明した場合には、遺伝子治療が行えない可能性があります。

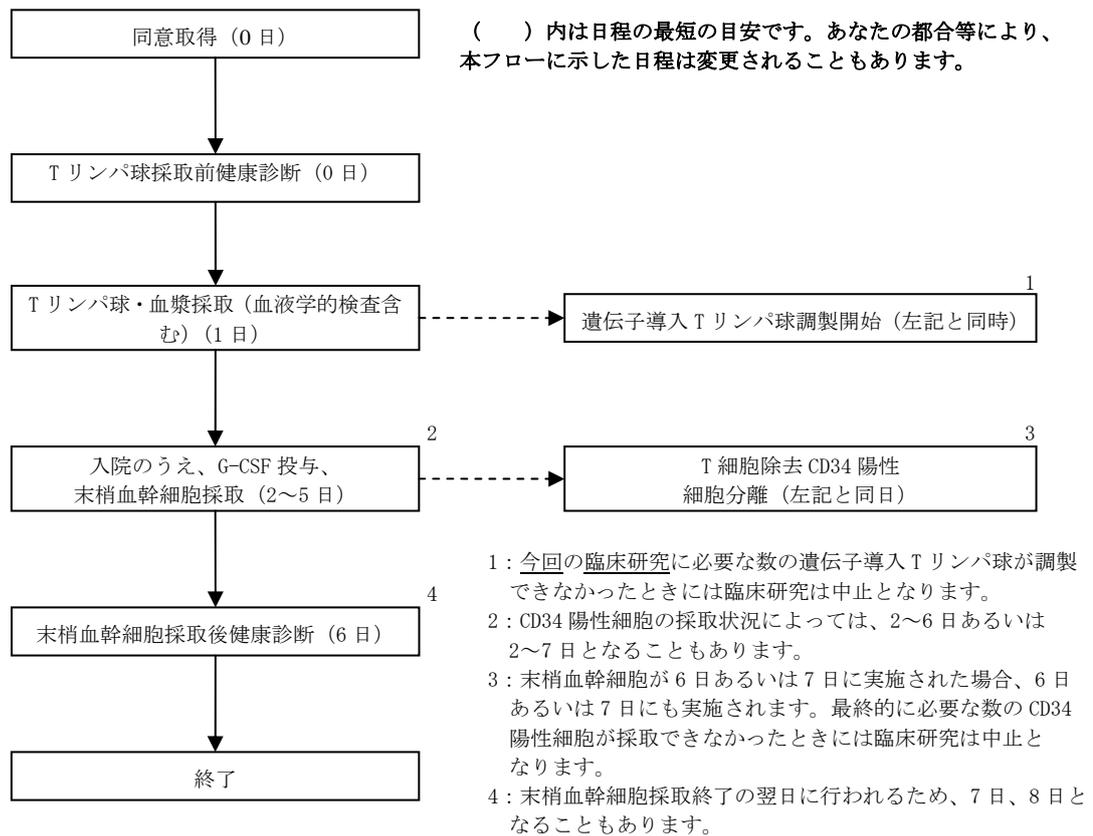


図 1 T リンパ球・血漿、末梢血幹細胞採取のフロー

あなたから提供いただいた末梢血幹細胞から T 細胞を除去した CD34 陽性細胞を患者さんに移植し、その後、自滅遺伝子 [単純ヘルペスウイルス 1 型・チミジンキナーゼ (HSV-TK)

( 4/13 )

遺伝子]を組み込んだTリンパ球を患者さんに追加輸注いたします。

また自滅遺伝子を組み込んだ必要な数のTリンパ球を調製するために、Tリンパ球とともにあなたから提供いただいた血漿（血液の血球以外の液体成分）がリンパ球の数を増やすための栄養分として必要になります。

### 3. Tリンパ球採取について

#### 3.1 採取方法

リンパ球の採取には連続血球分離装置を使用します。

連続血球分離装置を用いた採取では、左（右）腕の静脈から血液を体外循環させ、血球分離装置によって末梢血単核細胞を選択的に採取し、残りの血液成分は右（左）の静脈へ返血します。もし両腕に十分な太さの血管がない場合には、あらかじめカテーテルと呼ばれるやわらかいチューブを、体の太い血管に入れておくことが検討されます。カテーテルは局所麻酔を使用して首、肩（鎖骨の下の部分）、そけい部（足の付け根の部分）などから入れることが可能であり、担当医が最も適切な方法を選択します。それぞれ長所と短所、入れることによって生じる合併症もあるため、カテーテルをいれる場合には担当医が詳しく説明いたします。採取に必要な処理時間は、このような両腕法で約3時間、片腕の血管を用いておこなう片腕法で約4時間となります。採取に際しては、医療機器が備えられた専用のスペースが確保され、楽な姿勢が維持できるベットやテレビ、空調設備等が用意されています。また、採取中は定期的に問診、血圧測定など体調のチェックが行われます。採血の直前及び直後には、血液検査が行われ、血小板数などのチェックが行われます。

以上のように、末梢血幹細胞の採取では、あなたの安全確保を最優先して、熟練した専門医師が採取を担当するとともに、副作用が見られた場合はそれに対応できる専門領域の医師が待機し適切な処置を行います。また採取中は、常にあなたの側に医師、看護師あるいは臨床工学士等の医療スタッフが待機し、安心して採取が受けられるように配慮します。

#### 3.2 危険性

##### ①血球分離装置による採取に関連すること

##### 1) 採取のための血管確保に関すること

採血用と返血用のために左右の腕のなるべく太い静脈に、やや太めの注射針が入れられます。もし、両腕に十分な太さの血管がない場合で、首、肩（鎖骨の下の部分）、そけい部（足の付け根の部分）などから太い静脈にカテーテルを入れる場合には、稀に出血、感染などの危険性があることが報告されています。肩からカテーテルを入れる場合には、合併症として気胸が稀にみられます。

##### 2) 採取中に関すること

採取中の副作用として全身倦怠感、手足のしびれ、及び血管迷走神経反射に伴うめまい、吐き気、嘔吐などがみられることがあります。全身倦怠感は約30%と多く見られ、また手足のしびれは、採取中に分離装置内を循環する血液が固まらないよう

( 5/13 )

にするために用いる薬剤（抗凝固剤：クエン酸ナトリウム）によります。また、きわめて稀なことですが、血管迷走神経反射によると考えられる一過性の心停止が発生した方が我が国で 1 件報告されています。幸い迅速な処置により回復し、後遺症無く社会復帰されています。

### 3) 採取後に関すること

末梢血幹細胞の採取では血小板も大量に採取されます。このため血小板減少が約 50% の方に見られます。採取終了後は血小板数をチェックしますが、規定以下に減少した場合は、採取した末梢血幹細胞の中から、あなたの血小板成分を分離して、点滴注射で返血する処置を行います。

### ②その他

上記以外に、採取中に迷走神経反射（血圧低下、冷や汗、気分不快）、動悸、不整脈、採取中及び採取後の白血球減少、血小板減少、採取後穿刺部位からの出血などを合併することがあります。万が一これらの合併症を来たしたときには、当院で適切に治療及び処置をさせていただきます。

## 4. 血漿採取について

### 4.1 採取方法

今回あなたから頂くリンパ球の培養に際して、あなたの血液成分（血漿）が必要になります。血漿は血液中の血球以外の液体成分であり、リンパ球を培養する時には栄養分として働きます。採取量は 200～400 mL 程度で、リンパ球採取時に併せて行わせていただきます。

### 4.2 危険性

血漿採取に伴う危険は殆どありませんが、血液量の減少による一時的な血圧の低下が起こる可能性がまれにあります。そのような場合には、生理食塩水の点滴などで対処可能です。

## 5. 末梢血幹細胞採取について

### 5.1 採取方法

今回の遺伝子治療臨床研究への協力をいただき、末梢血幹細胞をご提供いただく場合には、末梢血から十分量の造血幹細胞を採取するために顆粒球コロニー刺激因子（G-CSF）という薬を  $400 \mu\text{g}/\text{m}^2$ （又は  $10 \mu\text{g}/\text{kg}$ ）を 1 日 1 回、又は 2 回に分割し、5 日間又は採取終了時まで連日皮下注射します。

そして投与開始 4 日目から 6 日目までの期間に 1～3 回、T リンパ球採取時と同様の方法で末梢血（静脈）から血球分離装置を用いて造血幹細胞を採取します。採取した細胞から T 細胞を除去した CD34 陽性細胞を分離・濃縮し、十分量あることを確認してから患者さんに移植します。今回の遺伝子治療臨床研究では、採取後すぐに移植せずに冷凍保存して、後

( 6/13 )

日移植を行います。

末梢血幹細胞の採取は、あなたの安全性を十分に配慮して行われます。

具体的には、

- 1) 安全性確保のため、顆粒球コロニー刺激因子（G-CSF）の使用前日から細胞採取の最終日までの約一週間は担当医が責任をもってあなたの安全管理を行います。必要な場合は入院していただくこともあります。
- 2) G-CSF の投与に先立ち血液、尿の検査、及び胸部 X 線検査を行うとともに、採取中、採取終了時及び終了後にも安全性を確認するためにこれらの検査が適宜繰り返し行われます。また、G-CSF 投与中に脾臓が大きくなることが報告されており、このチェックのために腹部超音波検査が行われます。腹部超音波検査は身体に負担は全くありません。
- 3) G-CSF は少量の薬液が皮下注射で投与されます。次のような身体状況をお持ちの方は、G-CSF の投与を避ける、又は慎重に行うなどの措置が取られます。また、年齢については原則として 20 歳～54 歳とし、55 歳～65 歳の方については本院の遺伝子治療臨床研究効果安全性評価委員会での審議を経て、慎重に適格性を判定させていただきます。
  - ・ G-CSF に対する薬剤アレルギーのある方
  - ・ 妊娠あるいは妊娠している可能性のある方及び授乳中の方
  - ・ 血栓症の既往あるいはリスク：高血圧、冠動脈疾患、脳血管障害、糖尿病、高脂血症などを有する方
  - ・ 脾腫を認める方
  - ・ 白血球増多、血小板増多など骨髄増殖性疾患が疑われる方
  - ・ これまでにがんの診断や治療を受けられたことのある方
  - ・ 現在治療中の、心臓、肺、腎臓の病気を有する方
  - ・ 自己免疫性疾患や炎症性疾患といわれる病気を有する方
  - ・ 肝機能障害を有する方
  - ・ 神経障害を有する方
- 4) G-CSF 投与中、血液検査において規定以上の白血球増多や血小板減少が見られた場合は G-CSF の投与量を減量するか、又は G-CSF 投与を中止します。
- 5) 末梢血幹細胞採取は、T リンパ球と同様の方法で連続血球分離装置を用いて行います。

## 5.2 危険性

顆粒球コロニー刺激因子（G-CSF）投与に関連することと、血球分離装置による採取に関連することに分けて説明します。

### ①血球分離装置による採取に関連すること

T リンパ球採取の危険性と同様です。

## ②G-CSF 投与に関連すること

G-CSF を使用することにより造血幹細胞が骨髄から末梢血に動員され、移植に必要な造血幹細胞の採取が期待されます。この方法は、ドナーに全身麻酔や骨髄採取の手術を施すことなく、造血幹細胞を採取でき、患者さんへの移植治療が可能になると考えられています。G-CSF は、がんの患者さんにおいて化学療法後の白血球減少に対する有効な薬剤としてこれまできわめて多くの患者さんに投与されてきています。

したがって安全性の高い薬剤といえますが、健常人ドナーに対して使用した場合、これまで以下のような副作用が報告されています。

### 1) 投与中又は投与後間もない時期の副作用

軽度なものとしては腰痛、胸痛、骨痛、背部痛、関節痛、筋肉痛、発疹、紅斑、悪心、嘔吐、発熱、倦怠感、頭痛、食思不振、動悸などの症状が認められています。特に腰部や胸部などの骨痛は約 70%以上と高頻度にみられていますが、いずれも一過性であり通常の鎮痛剤で軽減します。血液検査では白血球増加、血小板減少、肝機能異常、尿酸値上昇、腎機能異常（血清クレアチニン値上昇）などが知られていますが、いずれも一過性であり、G-CSF 投与終了後 2～3 日で正常値に回復します。白血球増加、血小板減少に関しては、前述のように注意深く経過をみさせていただき、必要に応じ G-CSF の減量や中止を考慮します。

重大なものとしては、G-CSF に対するアレルギーによると思われるショック、間質性肺炎、血圧低下などが報告されています。また、きわめて稀な副作用として、心筋梗塞、脳血管障害、脾臓破裂などの他、急性虹彩炎、痛風の増悪、さらには基礎疾患を有するドナーにおける死亡例も外国で報告されています。

### 2) 投与後、長期的な副作用

健常人に対する長期的（数年以上）な影響に関しては、じゅうぶんなデータは得られていません。しかし、我が国では G-CSF の投与を受けた血縁ドナー 2 例における骨髄増殖性疾患（G-CSF 投与後 1 年目のフォローアップ時に診断）と急性骨髄性白血病（G-CSF 投与後 14 ヶ月目に診断）の発症が報告されました。日本造血細胞移植学会の見解は、「健常者に短期間 G-CSF を投与しただけで白血病が発症する可能性は科学的には考えられないが、完全に否定することはできない」とされています。G-CSF に対する副作用は、多くの場合一過性であり、あなたへの負担は少ないものと思われませんが、担当医師は、稀な副作用に対しても、常に注意しながら G-CSF の投与を行います。その他、製剤としての G-CSF に含まれる添加物に問題となる成分は入っていません。G-CSF を使用することによって、副作用と思われる症状がありましたら担当の医師に申し出てください、直ちに適切な処置を行います。

### ③その他

T リンパ球採取の危険性と同様です。

## 6. 採取前後の健康診断

今回、ドナーとしてTリンパ球及び血漿、末梢血幹細胞を提供していただくにあたり、Tリンパ球及び血漿採取前に以下の1～8、採取後に1～3、末梢血幹細胞採取前に1～9、採取後に1～3の項目の健康診断を受けていただきます。これ以外にも、担当の医師の判断により、以下のいずれかを適切に組み合わせて検査・観察をさせていただきます。

1. 身体所見、血圧
2. 一般血液検査
3. 血液生化学検査
4. 血液凝固能検査
5. 尿一般検査
6. 感染症検査
7. 心電図検査
8. 胸部 X 線単純撮影
9. 腹部超音波検査

## 7. 臨床研究に関する健康被害が発生した場合の治療及び補償

今回の臨床研究への協力については、その危険性を完全には否定することはできません。本臨床研究への協力に関連する健康被害が発生した場合には、最も適切な治療を行います。その場合の医療費はあなたの加入している健康保険が適用されます。また、補償金は支払われません。

## 8. 個人情報の保護について

### 8.1 あなたの個人情報の取扱いにおける国立がんセンター中央病院の責務

国立がんセンター中央病院で扱っているあなたの診療記録などをはじめとするあなたの情報は個人情報に当たります。あなたの診療記録は法律（刑法）で定められた「医師の守秘義務」に則り、国立がんセンター中央病院にて厳重に管理し、秘密保持を厳守します。その他、国立がんセンター中央病院で働いている者も守秘義務を守ることが定められています。さらに、国立がんセンター中央病院では、個人情報を保護することを徹底するために個人情報保護の法律に基づいた規則を定め、適切な管理者等を配置し、個人情報の保護につとめています。

### 8.2 国立がんセンター中央病院における個人情報の一般的な取扱い

国立がんセンター中央病院は、がん対策の中核として総合的な診療・研究機関として、最先端の医療、質の高い医療を提供してまいりました。さらには、我が国のがん施策における中心的な役割を果たすという社会的な使命を担っております。

つきましては、国立がんセンター中央病院におけるあなたの貴重な個人情報を含む記録

( 9/13 )

を医療機関として利用させていただきたいと思います。通常は、各種法令や各種法令に基づいた院内規程を遵守した上で、以下の一般的な目的のために利用されますので、あなたのご理解とご協力を頂きますようお願い申し上げます。

(1) 医療の提供に必要な利用目的

- ・ 医療サービス（診療）を適切に行うため
- ・ 提供した医療サービスに関する医療保険事務を行うため
- ・ 医療サービスの品質管理のため（治療成績や有害事象評価も含む）
- ・ 医療に関する外部監査機関への情報提供のため（日本医療機能評価機構等）
- ・ 法律等に基づく情報提供義務遂行のため
- ・ 国立がんセンター東病院での情報利用
- ・ 診療上必要な場合で、他の医療機関医師の意見・助言を求めるため
- ・ 外部委託検査（検体検査など）の実施のため
- ・ 院内感染予防対策のため
- ・ 院外調剤薬局から処方に関する問い合わせがあった場合

(2) 上記以外の利用目的（当院内部での利用）

- ・ 国立がんセンターがん予防・検診研究センターでの情報利用
- ・ 院内がん登録への情報の登録及び利用〔個人を特定できる情報を削除した上で診療情報等を全国がん（成人病）センター協議会等に提出〕
- ・ アンケート調査やサービスに関する情報収集時に活用
- ・ 医学生等の実習、研修等での利用のため
- ・ 病歴内に既に存在する情報を集計して行う臨床研究のため（治療品質管理の一環との判断）

(3) 院外への情報提供

- ・ 疾患別がん登録への情報提供
- ・ 地域がん登録を行う都道府県への情報提供
- ・ がん検診事業者への状提供

(4) 他の事業者等への情報提供

- ・ 医学知識普及を目的とした講演、著述等での利用や、当院ホームページ等への掲載のため（個人を識別できる情報を削除した上で診療画像等を利用）
- ・ 医療スタッフの専門認定等の資格申請での提出のため

### 8.3 本遺伝子治療の遂行に必要なあなたの個人情報の使用について

8.2 に掲げました国立がんセンター中央病院における個人情報の一般的な取扱いに加え、本遺伝子治療臨床研究の実施にあたっては、さらに本遺伝子治療臨床研究を遂行するために必要な利用目的のためにも利用されます。これは原則的に、本遺伝子治療臨床研究の実施に関する緊急事態発生のためのご連絡や手続き、検査のご連絡、あなたの生命を守るために必要な場合です。

( 10/13 )

あなたの個人情報に直接接することが可能なのは、国立がんセンター中央病院に所属する本遺伝子治療臨床研究実施関係者に加え、第三者となる本院の審査委員会・効果安全性評価委員会の人や、厚生労働省の審査委員会の人及び同省の担当者のみです。これらの第三者におけるあなたの個人情報の取扱い並びにその監督については、後述いたします。

これらの目的と異なる目的のためにあなたの個人情報を使用する場合は、事前にあなたに説明し、ご了解を得たうえで使用いたします。本臨床研究は、国立がんセンター中央病院内で実施するため、あなたを特定し得る情報を上記以外の第三者に提供することは原則としてありません。

第三者へ情報を提供する必要が生じた場合には、その目的が適切であることを確認し、あなたに説明のうえ、ご了解を頂いた場合に限り提供することとしています。

#### **8.4 あなたの個人情報を閲覧可能な第三者と国立がんセンター中央病院の個人情報管理と監督**

前述のように、本遺伝子治療臨床研究においては、主に本院の医師などからなる審査委員会・効果安全性評価委員会の人や、厚生労働省の審査委員会の人及び同省の担当者があなたの診療記録を閲覧することがありますが、このような人たちには守秘義務が課せられており、あなたの個人情報は全て秘密として取り扱われます。

一方、この病院の審査委員会や効果安全性評価委員会には、審査等の客観性を確保するため、あるいはあなたの本遺伝子治療臨床研究における経過に関わるより専門的な医学的・科学的知識の提供を受けるために、国立がんセンター中央病院以外の外部の委員が参加することがあります。外部の委員は第三者に相当しますので、このような場合については国立がんセンター中央病院と第三者の秘密保持契約のもとで行われます。従って、あなたの個人情報は全て秘密として取り扱われます。

また、本遺伝子治療臨床研究は、国立がんセンター中央病院が主体となって実施していますが、タカラバイオ（株）という会社が外部共同研究者として間接的に関与しています。本遺伝子治療臨床研究においては、タカラバイオ（株）はあなたからの T リンパ球等の採取や健康診断そのものに直接関与することはありませんが、遺伝子導入 T リンパ球の調製技術の提供・助言等に限定したうえで、間接的に関与しています。この場合、調製された細胞の安全性や機能に関する記録は、個人が特定できないように個人情報を完全に匿名化してから、タカラバイオ（株）が閲覧する場合があります。

#### **8.5 あなたの病状情報の公開による社会への還元と、その際のあなたの個人情報の管理措置**

これまでに述べた個人情報保護の体制のもと、あなたの情報は医療の向上のため、本遺伝子治療臨床研究の成果を検討するときや、患者さんの病状経過、研究成績などを公表・公開する場合は、ドナーがあなたであることを特定できない形、すなわち個人情報を保護して取り扱います。遺伝子治療臨床研究は社会的に広く関心を集めておりますので、病状

( 11/13 )

経過などにつきましては、個人を特定できない状態での公開（学術雑誌、学会、マスコミ含む）を行う場合があります。その際はあなたの個人情報保護を厳守して実施することをお約束しますのでご了承下さい。

前述いたしました、タカラバイオ（株）はあなたからの T リンパ球等の採取や健康診断そのものに直接関与することはありませんが、遺伝子導入 T リンパ球の調製技術の提供・助言等に限定したうえで間接的に関与します。同社に対しては、個人が特定できないように個人情報を完全に匿名化したうえで、調製された細胞の安全性や機能に関する記録が一般公開に先立ち、閲覧に供されますが、国立がんセンターの一般公開に先行して同社から公になることはありません。

## 8.6 あなたの個人情報の管理におけるあなたの権利

本遺伝子治療臨床研究で取り扱っている個人情報について、あなたが開示、訂正、利用停止を求めることができます。あなたが個人情報について疑問などがある場合は、担当医師にお問い合わせください。お申し出に応じて、その手続きに関する詳細を説明いたします。

また、担当医師とは別に個人情報に関する苦情等の窓口もございますので、疑問等がございましたらお問い合わせください。

### 【個人情報に関する苦情等の窓口】

以下の個人情報に関する苦情等の窓口では、個人情報に関する疑問やご相談に対応いたします。

国立がんセンター中央病院 医事課（初診窓口）  
電話：03-3542-2511（病院代表）

## 9. 臨床研究を担当する医師

臨床研究に協力していただく場合の心配事や臨床研究についての説明、安全性、補償などのご質問についても、お気軽にお尋ねください。あなたに納得していただけるまでじゅうぶんにお話をさせていただきます。

国立がんセンター中央病院		TEL：03-3542-2511	
幹細胞移植療法室医長	平家勇司	薬物療法部	（職名・医師名・診療科）
薬物療法部長	高上洋一	薬物療法部	（職名・医師名・診療科）
第一領域外来部長	飛内賢正	第一領域外来部	（職名・医師名・診療科）
細菌検査室医長	森慎一郎	臨床検査部	（職名・医師名・診療科）
13B 病棟医師	金 成元	特殊病棟部	（職名・医師名・診療科）
12B 病棟医長	福田隆弘	特殊病棟部	（職名・医師名・診療科）
輸血管理室医長	田野崎隆二	臨床検査部	（職名・医師名・診療科）

（ 12/13 ）

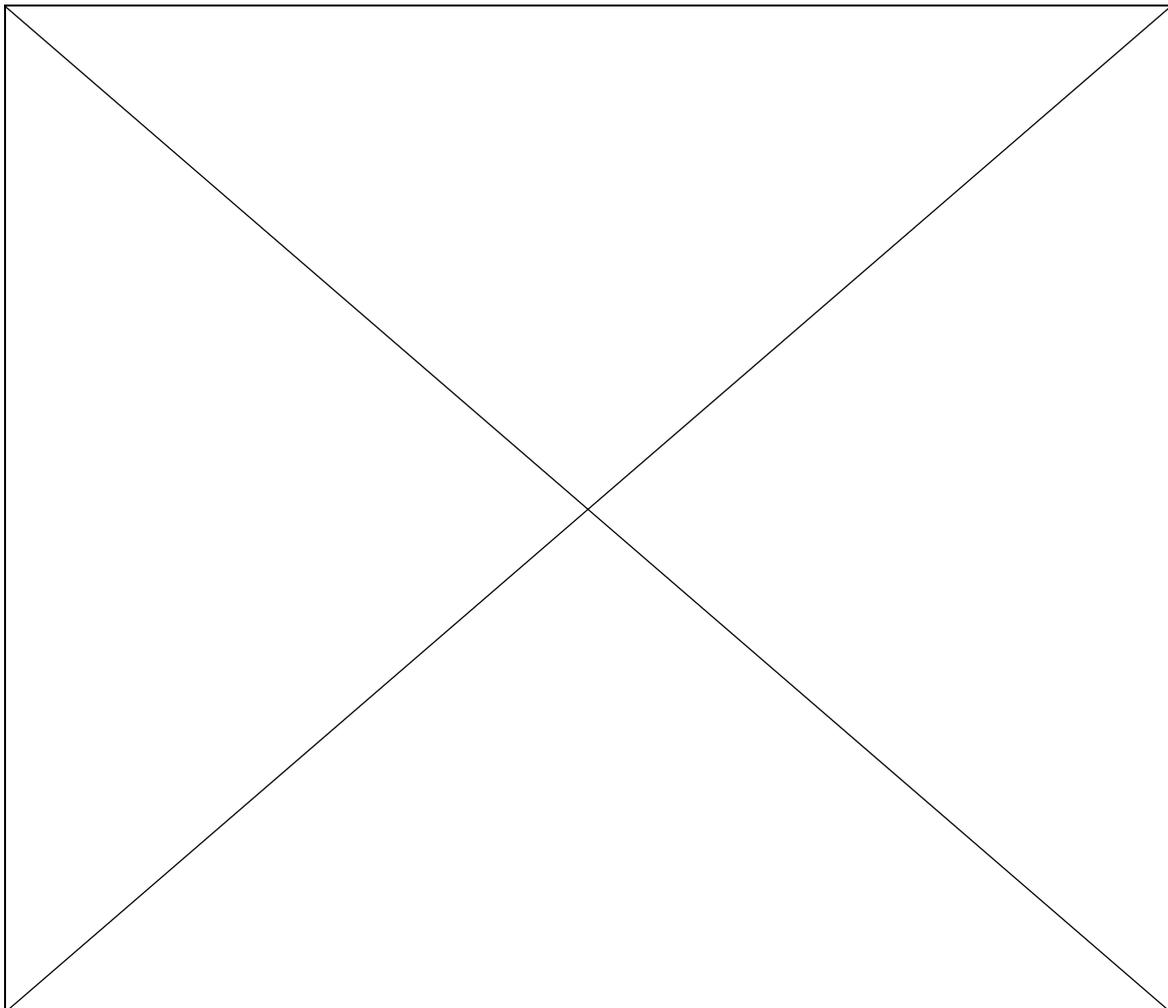
なお、この遺伝子治療臨床研究は、当病院に設置された遺伝子治療臨床研究審査委員会で、臨床研究に参加・協力される方のプライバシーと安全性に最大限に配慮して科学性及び倫理性について審議され、承認を受けたうえで、国が定めた「遺伝子治療臨床研究に関する指針」等を守って行われます。また、国からの通達に従い、この臨床研究の計画は総長から厚生労働大臣に意見を求めています。

以上、遺伝子治療臨床研究「ハプロタイプ一致ドナー由来 T 細胞除去造血幹細胞移植後の単純ヘルペスウイルス 1 型・チミジンキナーゼ (HSV-TK) 遺伝子導入 T リンパ球<sup>アドバック</sup>“Add-back”療法」へのご協力についてお話をさせていただきました。

この内容をじゅうぶんに把握していただき、この遺伝子治療臨床研究に協力しても良いと決めた場合は、次の同意書に署名をお願いいたします。

なお、この説明文書と署名した同意書の写しをお渡しいたします。

作成年月日：○年○月○日



( 13/13 )

(カルテ貼付用)

同意書

国立がんセンター中央病院長

病院長： \_\_\_\_\_ 殿

私は臨床研究「ハプロタイプ一致ドナー由来 T 細胞除去造血幹細胞移植後の単純ヘルペスウイルス 1 型・チミジンキナーゼ (HSV-TK) 遺伝子導入 T リンパ球 “Add-back” 療法<sup>アドバック</sup>」について、すべての説明を受け、内容を理解し、納得した上で臨床研究に協力することに同意いたします。

また、説明文書と署名した同意書の写しを受け取りました。

[同意内容]

- 1. はじめに
- 2. 遺伝子治療臨床研究の内容
- 3. T リンパ球採取について
- 4. 血漿採取について
- 5. 末梢血幹細胞採取について
- 6. 採取前後の健康診断
- 7. 臨床研究に関する健康被害が発生した場合の治療及び補償
- 8. 個人情報の保護について
- 9. 臨床研究を担当する医師

同意年月日：平成 年 月 日

ご署名： \_\_\_\_\_

(説明した医師の記入欄)

説明年月日：平成 年 月 日

総括責任者（又は分担研究者）所属・氏名： \_\_\_\_\_

(その他の説明者がいた場合)

説明年月日：平成 年 月 日

説明者 所属・氏名： \_\_\_\_\_

( 1/3 )

同意書

国立がんセンター中央病院長

病院長： \_\_\_\_\_ 殿

私は臨床研究「ハプロタイプ一致ドナー由来 T 細胞除去造血幹細胞移植後の単純ヘルペスウイルス 1 型・チミジンキナーゼ (HSV-TK) 遺伝子導入 T リンパ球 “Add-back” 療法<sup>アドバック</sup>」について、すべての説明を受け、内容を理解し、納得した上で臨床研究に協力することに同意いたします。

また、説明文書と署名した同意書の写しを受け取りました。

[同意内容]

- 1. はじめに
- 2. 遺伝子治療臨床研究の内容
- 3. T リンパ球採取について
- 4. 血漿採取について
- 5. 末梢血幹細胞採取について
- 6. 採取前後の健康診断
- 7. 臨床研究に関する健康被害が発生した場合の治療及び補償
- 8. 個人情報の保護について
- 9. 臨床研究を担当する医師

同意年月日：平成 年 月 日

ご署名： \_\_\_\_\_

(説明した医師の記入欄)

説明年月日：平成 年 月 日

総括責任者（又は分担研究者）所属・氏名： \_\_\_\_\_

(その他の説明者がいた場合)

説明年月日：平成 年 月 日

説明者 所属・氏名： \_\_\_\_\_

( 2/3 )

(ドナー用)

同意書

国立がんセンター中央病院長

病院長： \_\_\_\_\_ 殿

私は臨床研究「ハプロタイプ一致ドナー由来 T 細胞除去造血幹細胞移植後の単純ヘルペスウイルス 1 型・チミジンキナーゼ (HSV-TK) 遺伝子導入 T リンパ球 “Add-back” 療法<sup>アドバック</sup>」について、すべての説明を受け、内容を理解し、納得した上で臨床研究に協力することに同意いたします。

また、説明文書と署名した同意書の写しを受け取りました。

[同意内容]

- 1. はじめに
- 2. 遺伝子治療臨床研究の内容
- 3. T リンパ球採取について
- 4. 血漿採取について
- 5. 末梢血幹細胞採取について
- 6. 採取前後の健康診断
- 7. 臨床研究に関する健康被害が発生した場合の治療及び補償
- 8. 個人情報の保護について
- 9. 臨床研究を担当する医師

同意年月日：平成 年 月 日

ご署名： \_\_\_\_\_

(説明した医師の記入欄)

説明年月日：平成 年 月 日

総括責任者（又は分担研究者）所属・氏名： \_\_\_\_\_

(その他の説明者がいた場合)

説明年月日：平成 年 月 日

説明者 所属・氏名： \_\_\_\_\_

( 3/3 )

**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
あさの 浅野 しばたか 茂隆	早稲田大学理工学術院特任教授
あらと 荒戸 てるよ 照世	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
うえだ 上田 りゅうぞう 龍三	名古屋市立大学大学院医学研究科臨床分子内科学教授
おざわ 小澤 けいや 敬也	自治医科大学医学部教授
※ かきぞえ 垣添 ただお 忠生	国立がんセンター一名誉総長
かねこ 金子 しゅういち 周一	金沢大学医学部長
かねだ 金田 やすふみ 安史	大阪大学大学院医学系研究科教授
○ ささづき 笹月 たけひこ 健彦	国立国際医療センター一名誉総長
しまだ 島田 たかし 隆	日本医科大学医学部教授
はまだ 濱田 ひろふみ 洋文	札幌医科大学教授
はやかわ 早川 たかお 堯夫	独立行政法人医薬品医療機器総合機構顧問
よしくら 吉倉 ひろし 廣	厚生労働省医薬食品局食品安全部企画情報課参与

**(がん化学療法、造血器)**

うえだ 上田 りゅうぞう 龍三 名古屋市立大学大学院医学研究科臨床分子内科学教授

※ 垣添委員については、国立がんセンターからの申請のため審議には、不参加

○委員長 (五十音順 敬称略)

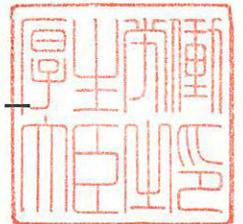
(平成20年4月18日現在)



厚生労働省発科第 0616002 号  
平成 20 年 6 月 16 日

厚生科学審議会会長  
久 道 茂 殿

厚生労働大臣 舩 添 要



### 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 ハプロタイプ一致ドナー由来 T 細胞除去造血幹細胞移植後の HSV-TK 遺伝子導入 T リンパ球 “Add-back” 療法

・ 申請者

国立がんセンター総長 廣橋 説雄

・ 遺伝子組換え生物等の種類の名称

単純ヘルペスウイルス 1 型—チミジンキナーゼ及び細胞内領域欠損ヒト低親和性神経成長因子受容体を発現し、マウスアンフォトロピックウイルス 4070A の env 蛋白質をエンベロープに持つ非増殖性の遺伝子組換えモロニーマウス白血病ウイルス (SFCMM-3)



厚 科 審 第 9 号  
平成 20 年 6 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 20 年 6 月 16 日付け厚生労働省発科第 0616002 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 20 年 6 月 9 日

厚生労働大臣 舩添 要一 殿  
環境大臣 鴨下 一郎 殿

氏名 国立がんセンター  
申請者 総長 廣橋 説雄  
住所 東京都中央区築地五丁目



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（同法第9条第4項において準用する場合を含む。）の規定により、次のとおり申請します。



<p>遺伝子組換え生物等の種類の名称</p>	<p>単純ヘルペスウイルス 1 型ーチミジンキナーゼ及び細胞内領域欠損ヒト低親和性神経成長因子受容体を発現し、マウスアンフォトロピックウイルス 4070A の env 蛋白質をエンベロープに持つ非増殖性の遺伝子組換えモロニーマウス白血病ウイルス (SFCMM-3)</p>
<p>遺伝子組換え生物等の第一種使用等の内容</p>	<p>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</p>
<p>遺伝子組換え生物等の第一種使用等の方法</p>	<p>治療施設の所在地 東京都中央区築地五丁目 1 番 1 号  治療施設の名称 国立がんセンター中央病院</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>(1) SFCMM-3 溶液は、容器に密封され、凍結状態で治療施設に輸送し、施設内の P2 レベルの実験室内の冷凍庫に保管する。</li> <li>(2) 凍結状態の SFCMM-3 溶液の融解、希釈及び分注操作は、P2 レベルの実験室内の安全キャビネット内又は P2 レベルの実験室内で閉鎖系にて行う。ドナーリンパ球への SFCMM-3 導入操作、SFCMM-3 導入細胞の培養その他の SFCMM-3 希釈溶液及び SFCMM-3 導入細胞の取扱いも同様に P2 レベルの実験室内の安全キャビネット内又は P2 レベルの実験室内で閉鎖系にて行う。SFCMM-3 希釈溶液及び SFCMM-3 導入細胞の保管は、P2 レベルの実験室内の冷蔵庫、冷凍庫又は培養器にて行う。なお、SFCMM-3 希釈溶液若しくはその凍結品又は SFCMM-3 導入細胞を開放系区域を通過して他の P2 レベル区域に運搬する場合には、密閉した容器に入れ、容器の落下や破損を防止するために当該容器を箱等に入れ運搬する。</li> <li>(3) SFCMM-3 溶液（希釈溶液も含む）又は SFCMM-3 導入細胞を廃棄する際には、滅菌処理（121℃、20 分間以上の高圧蒸気滅菌処理又は 0.5%次亜塩素酸ナトリウム溶液への 2 時間以上の浸漬処理による。以下同じ。）を行った後、国立がんセンター中央病院医療廃棄物管理規程（以下「医療廃棄物管理規程」という。）に従い廃棄する。</li> <li>(4) 被験者に対する遺伝子導入細胞の投与は、環境中への拡散防止措置を適切に執った個室（以下「クリーンルーム」という。）内において、輸注により行う。なお、投与時に SFCMM-3 導入細胞に直接接触する注射針、注射器、チューブ等の器具類は使い捨てとし、適切に滅菌処理を実施した後、医療廃棄物管理規程に従い廃棄する。なお、これらの滅菌処理をクリーンルーム内以外の区域で行う場合には、二重に密閉した容器に入れて運搬する。</li> <li>(5) 投与後 3 日まで、被験者をクリーンルーム内で管理し、検査等の理由で被験者が一時的にクリーンルーム外の開放区域に出る場合には、マスク及びガウン着用等のウイルス漏出予防措置を義務付ける。クリーンルームにおける管理期間中の被験者の血液及び体液は、その都度適切に滅菌処理を行い、医療廃棄物管理規程に従い廃棄する。また被験者の尿及び糞便等の排泄物は、投与翌日以降に行われる被験者の血液を用いたポリメラーゼ連鎖反応法試験にて自己増殖能を獲得したレトロウイルス（以下「RCR」という。）の存在が否定されるまで、適切に滅菌処理を行い、医療廃棄物管理規程に従い廃棄する。なお、これらの滅菌処理をクリーンルーム内以外の区域で行う場合には、</li> </ol>

	<p>二重に密閉した容器に入れて運搬する。また、臨床検体として使用する被験者の排泄物等の取扱いは、SFCMM-3 溶液及び SFCMM-3 導入細胞の取扱いに準ずる。</p> <p>(6) クリーンルーム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及び被験者の排泄物等に接触した器具等は、適切に滅菌処理を実施した後、医療廃棄物管理規程に従い廃棄するか、又は十分に洗浄する。なお、これらの滅菌処理をクリーンルーム内以外の区域で行う場合には、二重に密閉した容器に入れて運搬する。</p> <p>(7) クリーンルームにおける被験者の管理を解除する前に、RCR が被験者の末梢血単核球（以下「PBMC」という。）及び血漿において陰性であることを確認する。RCR が検出されたときは、クリーンルームにおける管理を継続する。</p> <p>(8) クリーンルームにおける管理解除後に被験者の PBMC 又は血漿から RCR が検出された場合は、直ちに被験者をクリーンルームにおける管理下に移し、上記(5)から(7)までと同様の措置を執る。</p>
--	---

# 生物多様性影響評価書

(区分：遺伝子治療臨床研究)

## 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 1 型—チミジンキナーゼ (HSV-TK) 遺伝子及び細胞内領域欠損ヒト低親和性神経成長因子受容体 ( $\Delta$ LNGFR) 遺伝子を含むレトロウイルスベクター-SFCMM-3 (以下、本遺伝子組換え生物という) は増殖能欠損型レトロウイルスベクターである。本遺伝子組換え生物の宿主はモロニーマウス白血病ウイルス (Moloney murine leukemia virus: MoMLV) である。

レトロウイルス科はアルファ～イプシロンレトロウイルス及びレンチウイルス (以上はオルソレトロウイルス亜科) 並びにスプーマウイルス (スプーマレトロウイルス亜科) の 7 つの属に分類される。マウス白血病ウイルス (Murine leukemia virus: MLV) はガンマレトロウイルス属に属する種である (文献1)。MLV は AKR や C58 系マウスの自然発症白血病の病原ウイルスとして発見された。MoMLV は、実験室内で MLV を継代することにより、病原性の高いウイルス株として Sarcoma 37 細胞から単離されたエコトロピック (同種指向性) レトロウイルスである。MoMLV は発がん遺伝子を持たず、マウスの年齢及び系統にかかわらず感染し、長期間感染したマウスのほぼすべてがリンパ性白血病を発症することが報告されている (文献2)。MoMLV はマウスやラット等のげっ歯類にのみ感染し、ヒトを含む他の動物に対する感染性や病原性の報告はない (文献3)。

文献1 : Büchen-Osmond C ed., ICTVdB - The Universal Virus Database, version 3. ICTVdB Management, Columbia University, New York, USA (2004)

文献2 : Moloney JB. Biological studies on a lymphoid-leukemia virus extracted from sarcoma 37. I. Origin and introductory investigations. J Natl Cancer Inst 24:933-951 (1960)

文献3 : Coffin JM, Hughes S, Varmus HE ed., Retroviruses, pp14, 478-502, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor (1997)

### 2 使用等の歴史及び現状

レトロウイルスは、医学生物学領域において遺伝子導入ベクターとしての応用が最も早く進んだウイルスであり、米国で行われた遺伝子治療の最初の臨床例もレトロウイルスベクターを用いたものであった (文献4)。遺伝子治療/遺伝子マーキングの臨床プロトコールでは、レトロウイルスベクター法を用いたものが 23.2% を占める (文献5)。レトロウイルスの中でも MoMLV は遺伝子導入用ベクターとして広く使われている。

文献4 : Blaese RM, et al. T Lymphocyte-directed Gene Therapy for ADA-SCID: Initial Trial Results after 4 Years. Science 270:475-480 (1995)

文献5 : <http://www.wiley.co.uk/genetherapy/clinical>

### 3 生理・生態学的特性

#### (1) 基本的特性 (文献6)

MoMLV 粒子は直径約 100 nm の球形の C 型粒子であり、ウイルスゲノムを内包するコアとそれを取り囲むエンベロープ (外被) からなる。コアは主としてカプシド蛋白質 (CA) により構築されており、その中に 2 分子の RNA ゲノムを有する。そのほか、逆転写酵素 (RT)、インテグラーゼ (IN)、プロテアーゼ (PR)、核酸結合蛋白質 (NC) もコア内部に存在する。コアの周囲にはウイルス産生細胞の細胞膜に由来する脂質二重膜のエンベロープが存在する。エンベロープとコアの間にはマトリックス蛋白質 (MA) が存在する。エンベロープには膜貫通蛋白質 (TM) が突き刺さっており、それに表面蛋白質 (SU) が弱く結合している。SU と TM の複合体はウイルス粒子のエンベロープ上で多量体 (おそらくは三量体) を形成する。

#### (2) 生息又は生育可能な環境の条件

他のウイルスと同様に、MoMLV は宿主細胞に感染した場合にのみ増殖が可能である (I-3-(4)「繁殖又は増殖の様式」参照)。レトロウイルスは比較的不安定なウイルスであり、体液中、培地中等の限られた環境中でしか感染性を保持できない。なお、ショ糖とゼラチンを添加して凍結乾燥を行うと安定に保存できるとの報告がある (文献7)。

#### (3) 捕食性又は寄生性

MoMLV はマウス及びラットの細胞に感染し、ウイルスゲノムは逆転写により DNA に変換された後、細胞の染色体に組み込まれる (プロウイルス)。他の生物を捕食することはない。

#### (4) 繁殖又は増殖の様式

レトロウイルスはキャリアーである動物の血液中や体液中に存在し、他の個体がそれに接触することにより感染する。レトロウイルスが細胞に感染し増殖するときは、1) 吸着、2) 侵入、3) 逆転写、4) 宿主染色体への組込み、5) RNA 合成、6) 蛋白質合成、7) アセンブリー・放出、8) 成熟といった各段階を経る。一方、レトロウイルスのゲノム配列が生殖系細胞の染色体中にプロウイルスとして組み込まれている場合には、動物の繁殖によって子孫に受け継がれる。

野生型 MoMLV がヒト細胞に感染することはない。ヒト細胞に感染可能なエンベロープ蛋白質 (env 蛋白質) [例えば、4070A アンフォトロピック env 蛋白質、gibbon ape leukemia

virus (GaLV) env 蛋白質] を持つ MoMLV を人為的に作製した場合にはヒトへの感染が可能である。

#### (5) 病原性 (文献8)

MoMLV の病原性に関して、下記のことが報告されている。

- 1) MoMLV は、マウスに悪性腫瘍を含む多様な疾患を発生させる。  
マウスで起こる疾病・病態としては、白血病、リンパ腫、貧血、免疫不全、腫瘍及び神経変性が知られている。
- 2) レトロウイルスはランダムに宿主染色体に挿入されるため、細胞機能に重要な遺伝子を活性化又は不活化し、がん性の変化をもたらす危険性がある。
- 3) 内在性ウイルスとの組換えにより増殖性レトロウイルス (replication competent retrovirus: RCR) が出現する可能性がある。
- 4) MoMLV はマウスやラットにのみ感染するので、ヒトに対する感染性及び病原性はない。
- 5) 感染により宿主細胞が破壊されることはない。

#### (6) 有害物質の産生性

MoMLV が有害物質を産生することはない。また、MoMLV に感染したことにより細胞が有害物質の産生能を獲得するとの情報はない。

#### (7) その他の情報

##### 1) MoMLV の不活化条件

MoMLV と同じレトロウイルス科に属するヒト免疫不全ウイルス (HIV) の滅菌、消毒法として、①121°C、20 分間の蒸気滅菌、②170°C、2 時間の乾熱滅菌、③20~30 分間の煮沸消毒、④有効塩素濃度 0.1~1.0%の次亜塩素酸ナトリウム、⑤70%エタノール又は 70%イソプロピルアルコール、⑥3.5~4%ホルマリン、⑦2%グルタラル、が有効である (文献9)。また、10%及び 1%ポピドンヨード液 (文献10)、0.3%過酸化水素水 (文献11) で不活化が可能との報告がある。

紫外線及び熱による液体中の MoMLV 及び HIV の不活化を比較した研究によると (文献12)、MoMLV を 1/10 まで不活化するのに必要な紫外線照射量 ( $D_{10}$ ) は 2,800 erg/mm<sup>2</sup> であり、熱処理時間 ( $T_{10}$ ) は 50°Cでは 50 秒、55°Cでは 20 秒、70°Cでは 8 秒である。したがって、55°C、2 分間又は 70°C、50 秒間の熱処理により、MoMLV の感染価を 1/10<sup>6</sup> に低下させることができると考えられる。また、50°Cにおける  $T_{10}$  が 80~90 秒であるとの報告もある (文献13)。

マウス由来のウイルス産生細胞により産生されたレトロウイルスベクターが仮にヒト体内に侵入したとしても、ヒト血清 (補体) により速やかに不活化される (文献14)。抗

$\alpha$ -galactosyl 自然抗体を有する旧世界ザル（文献15）の体内に侵入したときにも同様のメカニズムにより不活化される（文献16）と考えられる。

## 2) MoMLV からの、増殖能欠損型レトロウイルスベクターの構築（別紙1）

本遺伝子組換え生物は増殖能欠損型レトロウイルスベクターである。野生型 MoMLV のゲノムから gag、pol 及び env 遺伝子を除去するとともにネオマイシンホスホトランスフェラーゼ遺伝子 (neo) が挿入されたゲノムを持つ増殖能欠損型レトロウイルスベクター-N2 が作製された。N2 のプロウイルス DNA をもとに、パッケージングシグナル ( $\Psi$ ) とオーバーラップする gag 構造たん白質 (Pr65 gag) 遺伝子の発現を防止するために開始コドンを終止コドン (TAG) に改変するとともに、グリコシル化 gag (gPr85 gag) の発現を防止するために 5'-long terminal repeat (LTR) と  $\Psi$  の前半を含む 5' 側の非翻訳領域をモロニーマウス肉腫ウイルス (MoMSV) の相同配列で置き換えることにより、LNL6 DNA が作製された。LNL6 DNA に含まれる env 遺伝子の断片と neo の 3' 非コード領域の一部を除去することにより、LN DNA が作製された。これにマルチプルクロニングサイト (MCS) 及び Simian virus 40 (SV40) 初期プロモーター配列を挿入することにより LXSN DNA が構築された。増殖能欠損型レトロウイルスベクター-LXSN（文献17）は、LXSN DNA をパッケージング細胞に導入することにより作成可能である。LXSN DNA を含むプラスミドである pLXSN の塩基配列は、NCBI Nucleotide M28248 に登録されている。本遺伝子組換え生物は、LXSN のゲノムから neo の大半が除去され、HSV-TK 遺伝子及び  $\Delta$ LNGFR 遺伝子が挿入されたゲノムを持つ。

文献6：遺伝子治療開発研究ハンドブック 第3章、第2節、1.1 レトロウイルスの増殖サイクル (p. 322)

文献7：Levy JA, et al. Freeze-drying is an effective method for preserving infectious type C retroviruses. J Virol Methods 5:165-171 (1982)

文献8：遺伝子治療開発研究ハンドブック 第6章、第2節、1. ウイルスベクターの安全性 (p. 627)

文献9：日本ウイルス学会．ウイルス研究におけるバイオセーフティ指針．ウイルス 43:199-232 (1993)

文献10：加藤真吾、他．プラーク法を用いた各種消毒剤による HIV-1 不活化の検討．基礎と臨床 30:3615-3620 (1996)

文献11：Martin LS, et al. Disinfection and inactivation of the human T lymphotropic virus type III/lymphadenopathy-associated virus. J Infect Dis 152:400-403 (1985)

文献12：Yoshikura H. Thermostability of human immunodeficiency virus-1 (HIV-1) in a liquid matrix is far higher than of an ecotropic murine leukemia virus. Jpn J Cancer Res 80:1-5 (1989)

文献13：Yoshikura H. Ultraviolet sensitivity of helper function of murine leukemia virus. Arch Biochem Biophys 154:76-83 (1973)

文献14：Takeuchi Y, et al. Type C retrovirus inactivation by human complement is determined by both the viral genome and the producer cell. J Virol 68:8001-8007

(1994)

- 文献15 : Galili Uri, et al. Significance of a-Gal (Gal  $\alpha$  1-3Gal  $\beta$  1-4GlcNAc-R) Epitopes and  $\alpha$  1,3 Galactosyltransferase in Xenotransplantation. Trends Glycosci Glycotechnol 11:317-327 (1999)
- 文献16 : Rother RP, et al. A novel mechanism of retrovirus inactivation in human serum mediated by anti- $\alpha$ -galactosyl natural antibody. J Exp Med 182:1345-1355 (1995)
- 文献17 : Miller AD, et al. Improved retroviral vectors for gene transfer and expression. Biotechniques 7:980-991 (1989)

## 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

本遺伝子組換え生物のゲノムを構成する供与核酸は HSV-TK 遺伝子、SV40 初期プロモーター、 $\Delta$ LNGFR 遺伝子、5'-LTR、 $\Psi$  の前半、3'-LTR の R 領域、neo の断片及び制限酵素認識部位等の人工配列である。本遺伝子組換え生物のゲノムの構成と、その配列を DNA 配列に変換したものの制限酵素地図を別紙 2 に示す。また、供与核酸の塩基配列及び蛋白質をコードするものについてはそのアミノ酸配列を別紙 3 に示す。

#### 1) HSV-TK 遺伝子

HSV-TK 遺伝子は、単純ヘルペスウイルス 1 型—チミジンキナーゼの遺伝子であり、1981 年、Wagner らによりヒト単純ヘルペスウイルス 1 型の CL101 株由来の遺伝子配列が明らかにされている（文献18）。本遺伝子組換え生物のプロウイルス（但し、3'-LTR の R 領域は MoMLV 由来）である SFCMM-3 DNA 中の HSV-TK 遺伝子は単一エクソンからなり、376 アミノ酸からなるポリペプチドをコードする 1,128 塩基対と TAG を終止コドンとする 1,131 塩基対で構成されている。

本遺伝子組換え生物により遺伝子導入された細胞において、HSV-TK 遺伝子は 5'-LTR から転写される。レトロウイルスが細胞に感染して染色体に組み込まれると、3'-LTR 由来の U3 領域と 5'-LTR 由来の R 及び U5 領域からなる LTR がプロウイルス DNA の両端に配置される。したがって、本遺伝子組換え生物により遺伝子導入された細胞において、MoMLV LTR 由来の U3 領域が HSV-TK 遺伝子のプロモーターとして機能する。このプロモーターは多くの種類の細胞において構成的に機能する。

#### 2) SV40 初期プロモーター

SV40 はパポーバウイルス科のポリオーマウイルス属に属するウイルスであり、ゲノムは環状 2 本鎖 DNA である。SFCMM-3 DNA 中の SV40 由来 DNA は 328 塩基対であり、上流側から順に、72 塩基対のエンハンサー配列（2 回繰り返す）、21 塩基対の 3 回繰り返す構造（6 箇所の Sp1 結合配列を含む）及び TATA ボックスからなる SV40 初期プロモーターを含んでいる。

#### 3) $\Delta$ LNGFR 遺伝子

$\Delta$ LNGFR 遺伝子は、細胞内領域欠損ヒト低親和性神経成長因子受容体をコードする遺伝子である（文献19、20、21）。ヒト低親和性神経成長因子受容体（LNGFR）遺伝子は、1986 年 Johnson らによってヒトメラノーマ細胞株 A875 から単離された（文献 19）。LNGFR 遺伝子は 427 アミノ酸からなるポリペプチドをコードする 1,281 塩基対と終止コドン TAG より

成り立っており、LNGFR 前駆体は、N 末端から順に、28 アミノ酸からなるシグナルペプチド、細胞外ドメインとして 6 個のシステイン残基を有する 40 アミノ酸からなるポリペプチドの 4 回繰り返し配列、セリン/スレオニンリッチ領域、1 回膜貫通領域、及び 155 アミノ酸からなる細胞内領域を有している。SFCMM-3 DNA に含まれる  $\Delta$  LNGFR 遺伝子は、LNGFR 遺伝子を制限酵素 Sst I 及び Pvu II で処理して細胞内領域をコードする塩基対を除去した 940 塩基対のフラグメントを pUC19 の Sma I サイトにサブクローニングして終止コドンを導入したもので、開始コドン ATG の上流に 113 塩基対の非翻訳領域 (UTR) を有し、細胞外ドメイン及び細胞膜貫通領域の 280 アミノ酸からなるポリペプチドをコードする 956 塩基対の遺伝子である。

#### 4) 5'-LTR、 $\Psi$ の前半及び 3'-LTR の R 領域

これらは MoMSV 由来である。I-3-(7)-2 「MoMLV からの、増殖能欠損型レトロウイルスベクターの構築」に記載したとおり、SFCMM-3 DNA では 5'-LTR から  $\Psi$  の前半にかけての部分が MoMSV 由来の配列で置換されており、その結果、産生細胞により産生される本遺伝子組換え生物のゲノムの 5'-LTR、 $\Psi$  の前半及び 3'-LTR の R 領域が MoMSV 由来となる。5'-LTR 及び 3'-LTR はプロウイルスの細胞染色体への組み込みに必須である。プロウイルスの 5'-LTR は、本遺伝子組換え生物の産生細胞においてウイルスゲノムの転写を行うとともに、本遺伝子組換え生物により遺伝子導入された細胞において HSV-TK 遺伝子の転写を行う。 $\Psi$  は、産生細胞において本遺伝子組換え生物のゲノムがウイルス粒子にパッケージングされる際に必須である。なお、これらの部分を MoMSV 由来の配列で置換してもウイルスタイターやパッケージング効率は影響を受けないことが報告されている (文献22)。

#### 5) neo の断片

大腸菌 Tn5 由来の neo は 264 アミノ酸からなる蛋白質をコードし、ネオマイシン耐性遺伝子として機能する。本遺伝子組換え生物のゲノムには neo のうち C 末端部分の 53 アミノ酸をコードする 161 塩基の配列、終止コドン及び 17 塩基からなる 3'-UTR が含まれる。

#### 6) 制限酵素認識部位等の人工配列

SFCMM-3 DNA 構築の過程で挿入された制限酵素認識部位等の人工配列は別紙 3-6 に示すとおりであり、本遺伝子組換え生物のゲノム中での位置を別紙 2 に示す。

### (2) 構成要素の機能

#### 1) HSV-TK 遺伝子

HSV-TK 遺伝子は、ウイルス特有のチミジンキナーゼであり、376 アミノ酸からなる HSV-TK をコードしている。HSV-TK の基質特異性はヒト細胞が有するチミジンキナーゼとは異なっており、グアノシンの類似物質であるアシクロビル (ACV) やガンシクロビル (GCV)

をリン酸化する活性を有する（文献23、24）。ACV や GCV は生物活性が低いプロドラッグ（prodrug）と呼ばれ、これらを基質とするキナーゼを発現していない細胞に対しては毒性を示さないが、ウイルス感染や HSV-TK 遺伝子導入等により HSV-TK が発現している細胞では ACV や GCV がリン酸化され（一リン酸化物）、さらには内在性のグアニル酸キナーゼとチミジンキナーゼにより二、三リン酸化物へと変換される。この最終産物である三リン酸化物が DNA ポリメラーゼ阻害や DNA 伸長障害を引き起こすことで細胞に強い障害を与え、最終的に細胞を死に至らせる。このように HSV-TK は ACV や GCV との組み合わせにより生物活性を示す特異的な酵素であり、HSV-TK 遺伝子は自殺遺伝子と呼ばれる。尚、Ebeling らによって、T 細胞に導入された HSV-TK 遺伝子の 4.2+/-1.2%に splicing variant が見られることが報告されている。MolMed 社の欧州における治験並びに筑波における臨床研究症例においても splicing variant の出現の可能性は十分想定されるものの、両研究の中で遺伝子導入細胞投与後に引き起こされた移植片対宿主病がガンシクロビル投与によって鎮静化されていること、また、仮に splicing variant に起因する HSV-TK 不応性の移植片対宿主病が出現したとしても、ステロイドの使用によって鎮静化させることが可能であることから、本試験の遂行上重大な問題とならないと考えられる（文献25）。その他、プロモーターのメチル化により HSV-TK 遺伝子発現が抑制される可能性も考えられるが、splicing variant と同様の理由にて、本研究の遂行上重大な問題とならないと考えられる。

HSV-TK はウイルス由来の蛋白質であるためヒトに対して免疫原性を有しており、本遺伝子組換え生物又はこれと類似のレトロウイルスベクター-SFCMM-2 (HSV-TK/neo 融合蛋白質の遺伝子を持つ) による遺伝子導入 T リンパ球が白血病患者に輸注された結果、8 例中 3 例 (SFCMM-2) 又は 15 例中 4 例 (本遺伝子組換え生物) において、HSV-TK に特異的な細胞傷害性 T 細胞 (CTL) の誘導が確認されている (文献26)。

## 2) SV40 初期プロモーター

多くの細胞において構成的に機能するプロモーターであり、本遺伝子組換え生物により遺伝子導入した細胞においては  $\Delta$ LNGFR 遺伝子の転写を行う。

SV40 初期プロモーター配列中には、23 アミノ酸から成る early leader protein (SELP) をコードするオープンリーディングフレーム (ORF) が含まれる。SV40 を感染させた培養細胞において SELP と同等の分子量を有する蛋白質の発現が確認されており (文献27)、類縁のウイルスにも保存されていることから重要な機能を有することが示唆されるが、その機能についてはほとんど知られていない (文献28)。なお、本遺伝子組換え生物により遺伝子導入した細胞における SELP の発現の有無に関しては不明である。

## 3) $\Delta$ LNGFR 遺伝子

LNGFR は神経成長因子 (nerve growth factor: NGF) に対する受容体であり、膜貫通型

の蛋白質である。LNGFR は主に神経系細胞において発現しており、このほかに筋肉、精巣で発現しているが、ほとんどの造血系細胞では発現していない（文献29）。Tropomyosin related kinase (Trk) と結合することで高親和性の神経成長因子受容体を形成すると報告されており、LNGFR 単独では NGF の刺激を細胞内に伝達することはない（文献30）。SFCMM-3 DNA がコードする  $\Delta$ LNGFR は LNGFR の細胞内領域を欠損させたものであり、 $\Delta$ LNGFR を発現する細胞に抗 LNGFR 抗体を加えても細胞内に刺激が伝達されることはない。

#### 4) 5'-LTR、 $\Psi$ の前半及び 3'-LTR の R 領域

これらの供与核酸は MoMSV 由来であるが、MoMLV の相同配列と同等の機能を有していると考えられる。5'-LTR 及び 3'-LTR はウイルスゲノムの細胞染色体への組込みに必須である。また、本遺伝子組換え生物により遺伝子導入された細胞において、プロウイルスの 5'-LTR は HSV-TK 遺伝子の転写を行う。 $\Psi$  は、産生細胞において本遺伝子組換え生物のゲノム RNA がウイルス粒子にパッケージングされる際に必須である。

#### 5) neo の断片

本遺伝子組換え生物のゲノムにおいて、neo の断片の上流には同じ読み枠に終止コドンが存在するので、翻訳されることはないと考えられる。また、仮に翻訳されたとしても、野生型 neo が 264 アミノ酸からなる蛋白質をコードしているのに対して、本断片は 53 アミノ酸をコードするだけなので、機能を有する蛋白質を発現する可能性は非常に低いと考えられる。

#### 6) 制限酵素認識部位等の人工配列

本遺伝子組換え生物の生物学的機能には影響を及ぼさないと考えられる。

#### 7) SFCMM-3 DNA 中の有害配列の有無

SFCMM-3 DNA の全塩基配列中の有害配列（がん遺伝子、有害物質、トキシン）の有無について相同性の検索を行ったところ、有害配列は見当たらなかった。

文献18 : Wagner MJ, et al. Nucleotide sequence of the thymidine kinase gene of herpes simplex virus type 1. Proc Natl Acad Sci USA 78:1441-1445 (1981)

文献19 : Johnson D, et al. Expression and structure of the human NGF receptor. Cell 47:545-554 (1986)

文献20 : Hempstead BL, et al. Deletion of cytoplasmic sequences of the nerve growth factor receptor leads to loss of high affinity ligand binding. J Biol Chem 265:9595-9598 (1990)

文献21 : Mavilio F, et al. Peripheral blood lymphocytes as target cells of retroviral

- vector-mediated gene transfer. Blood 83:1988-1997 (1994)
- 文献22 : Bender MA, et al. Evidence that the packaging signal of Moloney Murine Leukemia Virus extends into the gag region. J Virol 61:1639-1646 (1987)
- 文献23 : Moolten FW, et al. Tumor chemosensitivity conferred by inserted herpes thymidine kinase genes: paradigm for a prospective cancer control strategy. Cancer Res 46:5276-5281 (1986)
- 文献24 : Reardon JE. Herpes simplex virus type 1 and human DNA polymerase interactions with 2'-deoxyguanosine 5'-triphosphate analogues: kinetics of incorporation into DNA and induction of inhibition. J Biol Chem 264:19039-19044 (1989)
- 文献25 : Ebeling SB, et al. Development and application of quantitative real time PCR and RT-PCR assays that discriminate between the full-length and truncated herpes simplex virus thymidine kinase gene. J Virol Methods 109(2):177-186 (2003)
- 文献26 : Bonini C, et al. Safety of retroviral gene marking with a truncated NGF receptor. Nat Med 9:367-369 (2003)
- 文献27 : Khalili K, et al. Translational regulation of SV40 early mRNA defines a new viral protein. Cell 48:639-645 (1987)
- 文献28 : Khalili K, et al. The agnoprotein of polyomaviruses: a multifunctional auxiliary protein. J Cell Physiol 204:1-7 (2005)
- 文献29 : Casaccia-Bonofil P, et al. Neurotrophins in cell survival/death decisions. Adv Exp Med Biol 468:275-282 (1999)
- 文献30 : Klein R, et al. The trk protooncogene encodes a receptor for nerve growth factor. Cell 65:189-197 (1991)

## 2 ベクターに関する情報

(空欄)

## 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

本遺伝子組換え生物のゲノムの構成と制限酵素地図を別紙2に示す。本遺伝子組換え生物のゲノムは1本鎖RNAであるが、別紙2の制限酵素認識部位はDNA配列に変換したときのものである。本遺伝子組換え生物のゲノムの構成成分は、5'末端側から順に、5'-LTR、 $\Psi$ 、HSV-TK 遺伝子、SV40 初期プロモーター、 $\Delta$ LNGFR 遺伝子、neo の断片及び3'-LTRである(詳細はII-1-(1)「構成及び構成要素の由来」及びII-1-(2)「構成要素の機能」を参照)。

### (2) 宿主内に移入された核酸の移入方法

SFCMM-3 DNA はサンラファエル研究所(イタリア、ミラノ)において構築された。SFCMM-3

DNA 構築にあたっては、pLXSN [I-3-(7)-2] 「MoMLV からの、増殖能欠損型レトロウイルスベクターの構築」参照] (文献 17) の Hpa I 部位 (MCS 内) に HSV-TK 遺伝子が、Hind III (SV40 初期プロモーターの下流) -Nae I (neo の内部) 部位に ΔLNGFR 遺伝子が組み込まれた。

### (3) 遺伝子組換え生物等の育成の経過

#### 1) パッケージング細胞株

SFCMM-3 DNA は、ウイルス粒子形成に必須な遺伝子である gag、pol、env を欠いているため、この DNA を通常の細胞に導入してもウイルス粒子を産生することはない。したがって、ウイルス粒子の産生にはパッケージング細胞が必要となる。本遺伝子組換え生物の産生細胞株の作製に使用したパッケージング細胞株は GP+envAm12 (文献31) で、パッケージングに必要なウイルス遺伝子を 2 種類のプラスミド (一方は gag と pol、他方は env 遺伝子) により別々に導入した細胞株である。古い世代のパッケージング細胞株と比較して、このパッケージング細胞を使用した場合には RCR 出現のリスクが極めて少ないことが知られている。

#### 2) ウイルス産生細胞株の作製

エコトロピックパッケージング細胞 GP+E-86 (文献32) に SFCMM-3 DNA をトランスフェクションし、培養上清を回収した。この培養上清をアンフォピックパッケージング細胞 GP+envAm12 に感染させることにより、レトロウイルスベクターSFCMM-3 産生細胞を作製した。本遺伝子組換え生物の産生性が高いクローンを選択し、シードセルとした。パッケージング細胞株である GP+envAm12 及び GP+E-86 の作製に用いられたパッケージングプラスミド中の、gag、pol、env 遺伝子の塩基配列及びコードする蛋白質のアミノ酸配列並びにこれらの遺伝子産物からプロセッシングにより生ずるウイルス構成蛋白質を別紙 3 に示す。

シードセルからマスターセルバンク (MCB) を作製し、MCB からワーキングセルバンク (WCB) を作製した。MCB 及び WCB はモルメド社 (イタリア、ミラノ) において作製され、同社内の液体窒素保存容器において保管されている (品質試験の詳細を別紙 4 に、MCB 及び WCB の監視計画を別紙 5 に記載)。

#### 3) 本遺伝子組換え生物の最終製品の製造・輸送

すべての製造はモルメド社の管理された製造エリアにて、GMP 遵守下で行われた (別紙 6)。MCB 又は WCB を融解し、拡大培養及び生産培養を行うことにより本遺伝子組換え生物を含む培養上清を得、これを無菌ろ過して小分け分注することにより、本遺伝子組換え生物を有効成分とする本臨床研究に用いる製剤 (以下、本製剤) を製造した。本製剤の各ロットについて、品質試験を実施する (別紙 7)。

モルメド社において製造された本製剤は国立がんセンター中央病院 (以下、中央病院)

が輸入する。運搬にあたっては適切な拡散防止措置を執り、ドライアイス詰めで日本まで空輸し、中央病院が受入れ試験を実施する（別紙7）。合格した本製剤は中央病院12階の施設可能な製剤保管室に設置した超低温フリーザー（-80℃）に保管する（当該治療施設の地図、保管場所の概略図及び本遺伝子治療を行う病室を別紙8に示す）。

文献31：Markowitz D, et al. Construction and use of a safe and efficient amphotropic packaging cell line. *Virology* 167:400-406 (1988)

文献32：Markowitz D, et al. A safe packaging line for gene transfer: separating viral genes on two different plasmids. *J Virol* 62:1120-1124 (1988)

#### 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

移入した核酸は本遺伝子組換え生物のゲノム RNA の一部として存在する。凍結保管中は安定である。感染する動植物の種類及び感染様式が保管中に変化することはない。

本遺伝子組換え生物が細胞に感染すると、移入した核酸を含むウイルスゲノム RNA は逆転写され、プロウイルスとして細胞染色体に組み込まれる。プロウイルスは細胞染色体の複製に伴って複製されるので、移入された核酸は細胞が活着しているかぎり安定に保持される。

HSV-TK 遺伝子は MoMLV の LTR により、 $\Delta$ LNGFR 遺伝子は SV40 初期プロモーターにより転写される。これらのプロモーターは持続的に機能するので、両遺伝子の発現は構成的である。

本遺伝子組換え生物を製造する際に、ウイルス産生細胞の細胞内で本遺伝子組換え生物のゲノム、gag-pol 遺伝子断片及び env 遺伝子断片が相同組換えを起こし、RCR が出現する可能性がある。RCR の出現機構から、その大部分は gag、pol 及び env 遺伝子を持ち、HSV-TK 遺伝子及び  $\Delta$ LNGFR 遺伝子を持たないものである（env 遺伝子は MLV 4070A 由来、LTR の一部は MoMSV 由来であり、これらは MLV の変異体と考えられるので遺伝子組換え生物等に該当しない）。しかし、HSV-TK 遺伝子又は  $\Delta$ LNGFR 遺伝子を持つ RCR（遺伝子組換え生物等に該当）の出現する可能性は否定できない。実際、本研究で用いているマウス NIH3T3 細胞由来のパッケージング細胞・Am12 は、RCR を生成しうるということが文献的に知られている（文献33）。また、RCR 産生への関与が指摘されている内因性レトロウイルス（Endogenous Retrovirus：ERV）の存在も指摘されている（文献34）。本遺伝子組換え生物を用いた臨床試験において RCR 出現の報告はないが、上に述べたリスクが存在するため、感度の高い RCR 検出系を用い、感染用レトロウイルスベクター溶液並びに遺伝子導入細胞中の RCR の検出検査を行い、陰性を確認した上で使用する。本遺伝子組換え生物を用いて遺伝子導入したリンパ球の投与は、イタリア MolMed 社並びに筑波大学において既に

行われているが、RCR が出現したとの報告はない。RCR が出現する可能性は理論的にゼロではないものの、きわめて低く、かつそれが原因で長期間にわたり個室管理が必要になる可能性はきわめて低いと考えられる。万が一 RCR が出現した場合は、AZT 等の抗ウイルス剤を用いたウイルス感染症治療を含めて専門家と協議することとする。

文献 33 : Chong H, et al. Replication-competent retrovirus produced by a 'split-function' third generation amphotropic packaging cell line. *Gene Ther* 3(7):624-629 (1996)

文献34 : Patience C, et al. Packaging of endogenous retroviral sequences in retroviral vectors produced by murine and human packaging cells. *J Virol* 72(4):2671-2676 (1998)

## 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

### 1) 本遺伝子組換え生物の検出方法

本遺伝子組換え生物は宿主である MoMLV にはない HSV-TK 遺伝子を持つので、HSV-TK 遺伝子をリアルタイム RT-PCR 法で定量することにより本遺伝子組換え生物の検出が可能である。

### 2) 本遺伝子組換え生物により遺伝子導入された細胞の検出方法

細胞から調製したゲノム DNA を鋳型に、HSV-TK 遺伝子をリアルタイム PCR で定量することにより検出可能である。この方法による定量の下限は、遺伝子導入細胞の非導入細胞中の希釈率として  $10^{-3}$  であることを確認している。

### 3) RCR の検出方法

#### ・ Mus dunni を用いた増幅法

Mus dunni 細胞に検体を添加し、5回の継代培養を行う。この培養上清を PG-4 細胞に接種し、S+L-アッセイを行う。この方法は増殖能を持つレトロウイルスを検出する方法であり、本遺伝子組換え生物に由来する RCR を特異的に検出するものではない。検出感度は 1 RCR/接種物であることを確認している。100 mL あたり 1 RCR が含まれる検体から 300 mL の被検試料をサンプリングして接種した場合、95%の確率で被検試料中に RCR が含まれ、検出される。

#### ・ RT-PCR 法

被検試料から RNA を調製し、4070A env 遺伝子に特異的なプライマーを用いて RT-PCR を行った後、アガロースゲル電気泳動を行って増幅産物を検出する。本試験の感度は、パッケージング細胞の末梢血リンパ球中の希釈率として  $10^{-4} \sim 10^{-5}$  であることを確認している。

## 6 宿主又は宿主の属する分類学上の種との相違

宿主である MoMLV と本遺伝子組換え生物の間には以下の相違点がある。

- 本遺伝子組換え生物は gag、pol 及び env 遺伝子を欠損しているため、本遺伝子組換え生物が感染した通常の細胞はウイルス粒子形成に必要な蛋白質を合成できない。したがって、本遺伝子組換え生物は gag、pol 及び env 遺伝子を発現する細胞においてのみ増殖できる。
- 本遺伝子組換え生物は HSV-TK 遺伝子及び SV40 初期プロモーターの支配下にある  $\Delta$ LNGFR 遺伝子を持つ。したがって、本遺伝子組換え生物が感染した細胞は HSV-TK と  $\Delta$ LNGFR を発現する。
- MoMLV がマウス、ラット等のげっ歯類にだけ感染しうるのに対して、アンフォトロピック MLV 4070A はこれらのほか、ヒト、サル、イヌ、ネコ、ミンク、ウサギ、ニワトリ、ウシ及びハムスターの細胞にも感染するとの報告がある（文献35）。本遺伝子組換え生物はウイルス粒子表面に 4070A アンフォトロピック env 蛋白質を持つ。したがって、本遺伝子組換え生物はマウス、ラット等に加えてヒト、サル、イヌ等、幅広い動物種の細胞に本遺伝子組換え生物の核酸を伝達しうる。

本遺伝子組換え生物が自立的増殖能を欠損している点を除いて、I-3「生理・生態学的特性」に記載した性質は同等であると考えられる。

遺伝子組換え生物等に該当するものを含めて、本遺伝子組換え生物由来の RCR が感染可能な生物種は宿主である MoMLV のそれと異なっているものの、感染様式、病原性及び挿入変異の可能性などの、生物多様性に影響を及ぼす程度に大きな違いはないと考えられる。

文献35 : Miller AD. Cell-surface receptors for retroviruses and implications for gene transfer. Proc Natl Acad Sci USA 93:11407-11413 (1996)

### 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

- (1) SFCMM-3 溶液は、容器に密閉され、凍結状態で治療施設に輸送し、施設内の P2 レベルの実験室内の冷凍庫に保管する。
- (2) 凍結状態の SFCMM-3 溶液の融解、希釈及び分注操作は、P2 レベルの実験室内の安全キャビネット内又は P2 レベル実験室内で閉鎖系にて行う。ドナーリンパ球への SFCMM-3 導入操作、SFCMM-3 導入細胞の培養その他の SFCMM-3 希釈溶液及び SFCMM-3 導入細胞の取扱いも同様に P2 レベルの実験室内の安全キャビネット内又は P2 レベルの実験室内で閉鎖系にて行う。SFCMM-3 希釈溶液及び SFCMM-3 導入細胞の保管は、P2 レベルの実験室内の冷蔵庫、冷凍庫又は培養器にて行う。なお、SFCMM-3 希釈溶液若しくはその冷凍品又は SFCMM-3 導入細胞を開放系区域を通して他の P2 レベル区域に運搬する場合には、密閉した容器に入れ、容器の落下や破損を防止するために当該容器を箱等に入れ運搬する。
- (3) SFCMM-3 溶液（希釈液を含む）又は SFCMM-3 導入細胞を廃棄する際には、滅菌処理（121℃、20 分間以上の高圧蒸気滅菌処理又は 0.5%次亜塩素酸ナトリウム溶液への 2 時間以上の浸漬処理による。以下同じ）を行った後、国立がんセンター中央病院医療廃棄物管理規程（以下「医療廃棄物管理規程」という）に従い廃棄する。
- (4) 被験者に対する SFCMM-3 導入細胞の投与は、環境中への拡散防止措置を適切に執った個室（以下「クリーンルーム」という）内において輸注により行う。なお、投与時に SFCMM-3 導入細胞に直接接触する注射針、注射器、チューブ等の器具は使い捨てとし、適切に滅菌処理を実施した後、医療廃棄物管理規定に従い廃棄する。なお、これらの滅菌処理をクリーンルーム内以外の区域で行う場合には、二重に密閉した容器に入れて運搬する。
- (5) 投与後 3 日まで、被験者をクリーンルーム内で管理し、検査等の目的で被験者が一時的にクリーンルーム外の開放区域に出る場合には、マスク及びガウン着用等のウイルス漏出予防措置を義務付ける。クリーンルームにおける管理期間中の被験者の血液及び体液は、その都度適切に滅菌処理を行い、医療廃棄物管理規程に従い廃棄する。また被験者の尿及び糞便等の排泄物は、投与翌日以降に行われる被験者の血液を用いたポリメラーゼ連鎖反応（PCR）法試験にて自己増殖能を獲得したレトロウイルス（以

下「RCR」という)の存在が否定されるまで、で適切に滅菌処理を行い、医療廃棄物管理規程に従い廃棄する。なお、これらの滅菌処理をクリーンルーム内以外の区域で行う場合には、二重に密閉した容器に入れて運搬する。また、臨床検体として使用する被験者の排泄物等の取扱いは、SFCMM-3 溶液及び SFCMM-3 導入細胞の取扱いに準じる。

- (6) クリーンルーム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等及び被験者の排泄物等に接触した器具等は、適切に滅菌処理を実施した後、医療廃棄物管理規程に従い廃棄するか、又はじゅうぶんに洗浄する。なお、これらの滅菌処理をクリーンルーム内以外の区域で行う場合には、二重に密閉した容器に入れて運搬する。
- (7) クリーンルームにおける被験者の管理を解除する前に、RCR が被験者の末梢血単核球 (PBMC) 及び血漿において陰性であることを確認する。RCR が確認されたときは、クリーンルームにおける管理を継続する。
- (8) クリーンルームにおける管理解除後に被験者の PBMC 又は血漿から RCR が検出された場合は、直ちに被験者をクリーンルームにおける管理下に移し、上記(5)から(7)までと同様の措置を執る。

別紙 9：国立がんセンター中央病院医療廃棄物管理規程

別紙 10：医療廃棄物適正管理処理マニュアル

### 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

遺伝子導入細胞を患者に投与した後、患者の末梢血単核球 (PBMC) 及び血漿を試料として、4070A env 遺伝子に対する RT-PCR 法により RCR のモニタリングを実施する。RCR のモニタリングは、クリーンルームにおける管理解除前、投与 14 日後、28 日後、56 日後及び 84 日後並びに生存中にわたり 1 年ごとに実施する。

### 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

本遺伝子組換え生物を用いた遺伝子導入細胞は、P2 レベルの拡散防止措置を執ることが出来る細胞調製室において、第一種使用規程に従い調製される。本遺伝子組換え生物が細胞調製室の床等に漏出した場合には、ただちにペーパータオル、布等で拭き取る。拭き取った後は、消毒用エタノールを当該箇所が完全に覆われるまで噴霧して 1 分以上放置し、ペーパータオル、布等で拭き取ることにより本遺伝子組換え生物を不活化する。当該ペーパータオル、布等は 121℃、20 分間以上オートクレーブにより滅菌した後、廃棄する。以上により、本遺伝子組換え生物が環境中に漏出して生物多様性影響が生じることはないと考えられる。

クリーンルームにおける管理解除後の患者の PBMC 又は血漿において RCR が検出された場合には、第一種使用規程に従い患者を直ちにクリーンルームにおける管理下に移すとともに、血液及び体液の消毒等、第一種使用規程に定められた措置を執る。

## 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

本製剤を用いて、国立がんセンター中央病院において前臨床研究として 5 回の遺伝子導入を行った。RT-PCR 法による RCR 試験を 5 回すべての遺伝子導入細胞最終産物について、また、Mus dunni 細胞を用いた増幅法による RCR 試験をそのうち 2 回の遺伝子導入細胞最終産物及びその培養上清について行った。その結果、すべて RCR 陰性であった。このようにして調製した遺伝子導入細胞を免疫不全マウス (NOG マウス) に投与したところ、毒性は極めて少ないことが示唆された。

筑波大学附属病院において、本遺伝子組換え生物を用いた同様の遺伝子治療臨床研究が実施されている。5 例の患者に遺伝子導入細胞が投与されたが、RCR の発生は報告されていない。また、当該臨床研究においては、挿入変異によるがん化等、本遺伝子組換え生物による核酸の伝達が原因と考えられる有害事象は報告されていない。

## 6 国外における使用等により得られた情報

モルメド社において、現在本製剤の製造に使用されている MCB の 1%細胞及び 5%上清について、Mus dunni 細胞を用いた増幅法による RCR 試験を含む品質試験が行われた。この結果、いずれも品質規格を満たし、RCR 陰性であった。

モルメド社において、本製剤と同様の方法により、治験薬としての生産スケールで独立に製造された 3 ロットの本遺伝子組換え生物製剤及びそれらの生産培養終了時点の細胞 (EPC) について、Mus dunni 細胞を用いた増幅法による RCR 試験を含む品質試験が行われた。この結果、すべてのロットは品質規格を満たし、RCR 陰性であった。

モルメド社において、本製剤と同様の方法で製造された本遺伝子組換え生物製剤による遺伝子導入細胞調製のバリデーションの目的で、4 バッチの遺伝子導入細胞が試験製造され、RT-PCR 法による RCR 試験を含む品質試験が行われた。その結果、すべてのバッチは品質規格を満たし、RCR 陰性であった。また、遺伝子治療臨床試験のために 3 バッチの遺伝子導入細胞が調製され、RT-PCR 法による RCR 試験を含む品質試験が行われた。その結果、すべてのバッチは品質規格を満たし、RCR 陰性であった。

本遺伝子組換え生物を用いた遺伝子治療の臨床研究及び治験がイタリア、イギリス及びイスラエルで実施され、合計 40 例の患者に遺伝子導入細胞が投与されたが、RCR の発生は報告されていない。また、挿入変異によるがん化等、本遺伝子組換え生物による核酸の

伝達が原因と考えられる有害事象は報告されていない。

## 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

本遺伝子組換え生物及びRCRはアンフォトロピック env 蛋白質を持つので、広範囲の動物に感染しうるが、微生物への感染性は知られていない。したがって、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

本遺伝子組換え生物及びRCRはアンフォトロピック env 蛋白質を持つので、患者体外に排出された場合には野生型アンフォトロピック MLV 4070A と同様、ヒト、サル、イヌ、ネコ、ミンク、ウサギ、ニワトリ、ウシ及びハムスターを含む広範囲の動物に感染しうる。したがって、これらの生物種は本遺伝子組換え生物の核酸を伝達されることにより影響を受ける可能性がある。

#### (2) 影響の具体的内容の評価

本遺伝子組換え生物はヒト、イヌ、サル等の細胞への挿入変異によってがん化を引き起こす可能性がある。マウス、ラットに対する病原性は宿主と同等であると考えられる。

本遺伝子組換え生物からの発現産物である HSV-TK は、GCV や ACV 等のプロドラッグが存在するときのみ感染した細胞で自殺装置として機能する。これらのプロドラッグは自然界に存在しないので、HSV-TK 遺伝子が自然界で自殺機能を示すことはない。また、発現産物である ΔLNGFR は細胞内領域を欠損しているため NGF のシグナルを細胞内に伝達することはなく、ΔLNGFR 遺伝子を導入したリンパ球の増殖に NGF は影響を及ぼさなかった。

との報告がある(文献 26)。したがって、これらの導入遺伝子が発現することにより、本遺伝子組換え生物がヒトに病原性を示す可能性は非常に低い。

本遺伝子組換え生物が有害物質を産生することはなく、本遺伝子組換え生物により遺伝子導入された細胞が有害物質の産生能を獲得するとの情報もない。したがって、有害物質の産生により病原性を示すことはないと考えられる。

### (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、本遺伝子組換え生物がドナーリンパ球とともに患者に投与されることによって当該施設外に出る可能性は極めて低く、出たとしてもごく微量である。また、I-3-(7)「その他の情報」に記載したように、マウス由来の産生細胞により産生された本遺伝子組換え生物はヒト血清により速やかに不活化される(文献 14)。さらに、本遺伝子組換え生物は増殖能を欠損しているため、通常の細胞に感染してもウイルス粒子を産生することはない。

一方、本遺伝子組換え生物の製造工程中に出現した RCR がドナーリンパ球に混入して患者に輸注された場合には患者体内で RCR が産生される可能性がある。しかし、本遺伝子組換え生物は RCR 出現の可能性が極めて低い第 3 世代のパッケージング細胞を使用して製造されているうえに、本製剤及び遺伝子導入細胞の RCR 陰性を確認してから使用するため、患者体内に RCR が侵入する可能性は極めて低い。また、RCR 試験で検出されなかった RCR が万一患者体内に侵入したとしても、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、RCR が環境中に放出される可能性は極めて低い。

### (4) 生物多様性影響が生ずる可能性の有無等の判断

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

本遺伝子組換え生物及び RCR の有害物質の産生性は知られていない。したがって、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。

#### 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

本遺伝子組換え生物及びRCRはアンフォトロピック env 蛋白質を持つので、患者体外に排出された場合には野生型アンフォトロピック MLV 4070A と同様、ヒト、サル、イヌ、ネコ、ミンク、ウサギ、ニワトリ、ウシ及びハムスターを含む広範囲の動物に感染しうる。したがって、これらの生物種は本遺伝子組換え生物の核酸を伝達されることにより影響を受ける可能性がある。

(2) 影響の具体的内容の評価

本遺伝子組換え生物又は遺伝子組換え生物等に該当する RCR によってこれらの遺伝子組換え生物の核酸が野生動物のゲノム中に組み込まれる可能性がある。

(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、本遺伝子組換え生物がドナーリンパ球とともに患者に投与されることによって当該施設外に出たとしてもごく微量である。ごく微量の本遺伝子組換え生物によって野生動物に核酸が伝達される可能性は非常に低い。

遺伝子組換え生物等に該当する RCR が多量に出現した場合には、血液、体液等を通じて他の個体に RCR が感染し、その核酸が伝達される可能性が否定できないが、RCR 出現の可能性は極めて低い。

(4) 生物多様性影響が生ずる可能性の有無等の判断

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

### 核酸を垂直伝達する性質

本遺伝子組換え生物が感染可能な野生動物等の生殖系細胞のゲノム中に組み込まれて、核酸を垂直伝達する可能性は完全には否定できない。しかし、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、本遺伝子組換え生物によりその核酸が野生動物に伝達される可能性は非常に低い。RCR が出現しないかぎり、本遺伝子組換え生物の核酸が伝達される細胞は本遺伝子組換え生物が最初に感染した細胞に限られ、その細胞が生殖系細胞である確率は低い。また、RCR が出現する可能性は極めて低い。以上から、本遺伝子組換え生物又は RCR の核酸が生殖系細胞に伝達される可能性は極めて低い。よって、核酸を垂直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。

## V 総合的評価

本遺伝子組換え生物が感染する動物種は4070Aアンフォトロピック env 蛋白質によって規定されるため、げっ歯類及びヒトを含む広範囲の動物であり、野生型アンフォトロピック MLV 4070A と同じである。自然界で植物及び微生物に感染することはないと考えられる。

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、本遺伝子組換え生物の環境中への拡散は極力抑えられており、拡散したとしても、その量は検出レベル以下であると推定される。導入された HSV-TK 遺伝子及び  $\Delta$ LNGFR 遺伝子が発現することにより、本遺伝子組換え生物がヒトに病原性を示す可能性は非常に低い。さらに、本遺伝子組換え生物は増殖能を欠損しているため、MLV の感染等により gag、pol 及び env 遺伝子を発現している細胞に感染した場合を除いて増殖することはない。MLV に感染しているマウスに本遺伝子組換え生物が感染すれば、MLV がヘルパーとなって増殖する可能性がある。しかしその場合でも、MoMLV は血液を介してのみ感染するので、本遺伝子組換え生物の感染が他個体に広がる可能性はほとんどない。ヘルパーを必要とする本遺伝子組換え生物が野生型 MoMLV と同等に増殖することはないので、やがて環境中から消滅すると考えられる。

環境中でマウスに感染し、MLV ゲノムとの相同組換えによって RCR が出現する可能性や、当該第一種使用によって極めて微量の本遺伝子組換え生物由来 RCR が環境中に放出される可能性は完全には否定できないが、RCR の感染性、増殖性、病原性及び核酸を水平伝達する性質は MLV と同等である。ヒトに MLV が感染しても病原性は報告されておらず、RCR がヒト体内に侵入しても、血清中の補体により急速に失活することを考慮すると、ヒト及び他の哺乳動物、植物並びに微生物に新たな影響を与えることはないと考えられる。

したがって、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、本遺伝子組換え生物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。

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	独立行政法人国立環境研究所主任研究員
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名誉総長
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	厚生労働省医薬食品局食品安全部企画情報課参与
わたなべ まこと 渡邊 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20年4月18日現在)