

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、細胞調製作業者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増加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 Δ 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 Δ LNGFR 遺伝子の異常発現

Δ 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、 Δ 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。