

	<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>1. 人に導入する遺伝子の構造と性質 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>①人に導入する遺伝子の構造 ・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。 ・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。</p> <p>②人に導入する遺伝子の性質 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>③導入遺伝子からの生成物の構造及びその生物活性 ・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。 ・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。</p> <p>2. 本計画で使用するその他の組換え DNA の構造と性質 本計画では使用しない。</p> <p>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 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>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 ①遺伝子導入方法の概略 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。 ②当該遺伝子導入法を選択した理由</p>