件の臨床実績がある(42,51,82-87)。これらでは、遺伝子導入に用いられたレトロウイルスベクターや遺伝子導入細胞の調製法が一部異なるものの、GCV 製剤との組合わせによる自殺機能は、いずれの臨床研究でも確認されている。

すなわち、計 52 例の HSV-TK 遺伝子導入細胞投与例のうち、急性 GVHD 発症に対して GCV 製剤が投与された症例が 8 例、慢性 GVHD 発症に対して GCV 製剤が投与された症例が 3 例、CMV 感染症で GCV 製剤が投与された症例が 8 例あるが、これら 19 例の症例では、GCV 製剤の投与により、慢性 GVHD で効果が部分的であった症例 1 例（イタリアの臨床研究）(51,83)と、急性 GVHD を発症したものの最初から遺伝子導入細胞の血中レベルが低かった 1 例（フランスの臨床研究）(87)を除き、残りの 17 例において、HSV-TK 遺伝子導入細胞数が検出限界以下に又は顕著に減少しており、自殺機能がヒトにおいて発揮されることが確認されている。いずれにおいても、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。

Ⅶ.2.3 ΔLNGFR 遺伝子の異常発現

LNGFRはNGFに対する膜貫通型の受容体である。LNGFRは主として神経系細胞で発現しているが、これ以外では筋肉、精巣で発現しており、殆どの造血系細胞には発現していない(45)。ΔLNGFR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たん白質であるため、内因性のNGFや抗体を含む外来性リガンドに反応して細胞内シグナル伝達を発揮することはなく、発現細胞に対して標識以外の影響を与える可能性は低い。実際、Bonini Cらの報告(51)により、今回の臨床研究で用いるレトロウイルスベクターSFCMM-3と同じΔLNGFR遺伝子を別のレトロウイルスベクターSFCMM-2により活性化ヒトTリンパ球に導入し、NGF濃度依存的な、ⅰ)細胞増殖、ⅱ）CD25発現、及びⅲ）腫瘍壊死因子（TNF）－α産生による細胞傷害活性を経時的に調査した結果、遺伝子導入ヒトリンパ球は、遺伝子非導入ヒトリンパ球と同様に、NGFに対する反応を示さないことが確認されている。また、SFCMM-3及び類似のベクターであるSFCMM-2を用いた遺伝子治療例においても細胞傷害性は報告されていない。ΔLNGFRマーカー遺伝子をレトロウイルスベクターにより導入したマウス骨髄細胞を別のマウスに移植し、更に、再移植を繰り返して長期観察した結果、レトロウイルスベクターがEvi1遺伝子内に挿入されたことによるプロトオンコジーン[*13]活性化が原因と考えられる白血病が高率に発症したとの報告(88)があるが、実際のメカニズムの詳細は明らかとされていない。

Ⅶ.3 細胞の安全性

Ⅶ.3.1 遺伝子導入細胞の調製方法

以下に示す遺伝子導入細胞の調製にかかわる全ての操作は国立がんセンター中央病院内に設置された P2 レベルの無菌細胞調整施設内にて、タカラバイオ(株)からの技術提供と助言を受け行われる。

本臨床研究に用いるレトロウイルスベクターSFCMM-3はイタリア・モルメド社により製造され、総括責任者が輸入して受入れ試験（参考資料 5 参照）を行い、国立がんセンター中央病院 11 階の施錠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。レトロウイルスベクターSFCMM-3 を用いた Add-back 用遺伝子導入 T リンパ球調製工程の概略を以下に、調製フローを参考資料 6 に示す。なお、本細胞調製工程は、第 10 日目の遺伝子導入細胞の濃縮・洗浄・懸濁液を RPMI 1640 に変更している点のみが参考資料 6 に記載の調製フローと異なる。

第 0 日：Add-back 3 回分に必要な遺伝子導入細胞数(2.1×10^7個/kg)及び患者の体重から、培養ユニット数を決定し、培養ユニットに応じた以下の個数を満たすドナーリンパ球を採取し、遺伝子導入細胞の調製に使用する。

培養ユニット数	1	2	3	4
培養に必要な生細胞数（個）	1.5×10^9以下	1.5×10^9超 3.0×10^9以下	3.0×10^9超 4.5×10^9以下	4.5×10^9超 6.0×10^9以下

セルプロセッサを用いてドナーリンパ球の濃縮と PBS/11.8% ACD-A 液による洗浄を行ったあと、生細胞数及び細胞生存率を測定する。抗 CD3 抗体(30 ng/mL)を添加した培養用培地（基本培地 GT-T503。620～720 IU/mL rhIL-2、1～3 % 非働化ドナー血漿、0.2 % ヒト血清アルブミン及び 2.5 μg/ml アムホテリシン B 含有。）にドナーリンパ球を 1(±0.1)×10^6個/mL となるように懸濁し、ガス透過性培養用バッグを使用し、37℃、5% CO_2インキュベーター内にて培養を開始する。
基本培地 GT-T503 の組成を参考資料 7 に示す。

第 2 日：第 0 日から培養した活性化 T リンパ球の生細胞数及び細胞生存率を測定し、セルプロセッサを用いて細胞を濃縮し回収する。細胞濃縮液の濃度を 1×10^7個/mL に調整した後、等量のレトロウイルスベクターSFCMM-3（感染タイター：0.72～2.16×10^6 Infectious units;IFU /mL）と混合し、硫酸プロタミンを添加する（4 μg/mL)。これを遠心感染用バッグに移して 1000×g、32±3℃で 2 時間遠心し、遺伝子導入を行う。次に、細胞を回収し、セルプロセッサで濃縮と PBS による洗浄を行った後、新鮮な培養用培地に懸濁し、培養する。

第 3 日：第 2 日と同様の遺伝子導入操作を行う。

第 6 日：遺伝子導入率の測定を行う。遺伝子導入率は、マウス抗 LNGFR 抗体を用いたフローサイトメトリーにより測定した細胞内領域欠損ヒト低親和性神経成長因子受容体（ΔLNGFR）陽性細胞の割合とする。セルプロセッサを用いて細胞の濃縮と SB〔PBS＋0.04 mL/mL ブミネート（アルブミン最終濃度 1.0%）＋0.01mL/mL 輸血用チトラミン「フソー」(クエン酸 Na 最終濃度 0.1%)〕による洗浄を行った後、ヒト IgG でブロッキング（最大使用量を 15 mL として、4×10^8個の細胞あたり 1 mL のガンマガードを使用）してから抗 LNGFR 抗体を添加(最大使用量を 2.5 mg として、

5×10^6個の細胞あたり 1μg の抗体）し、反応させる。細胞を SB で洗浄した後、$MgSO_4$液（0.3 mL のマグネゾール)、組換えヒト DNase（5 mL の Pulmozyme）及びマウス IgG に対する二次抗体結合磁気ビーズ（最大使用量を 20 mL として、1×10^6個の細胞あたり 12.5 μL の磁気ビーズ）を加えて反応させ、磁気細胞分離装置を用いて磁気ビーズに結合したΔLNGFR 陽性細胞を選択する。得られた細胞はセルプロセッサにより培養用培地に懸濁し、培養する。

第 7 日：磁気細胞分離装置により細胞培養液中の磁気ビーズと遺伝子導入細胞を含む懸濁液を分離する。分離した遺伝子導入細胞は培養用培地に 0.5(±0.05)$\times10^6$ 個/mL となるように懸濁し、ガス透過性培養用バッグにて 37℃、5% CO_2インキュベーター内にて培養する。磁気ビーズ画分も培養用培地に懸濁し、ガス透過性培養用バッグにて 37℃、5% CO_2インキュベーター内にて培養する。

第 8 日：第 7 日に培養を開始した磁気ビーズ画分から、第 7 日と同様の操作により磁気ビーズを除去する。

第 10 日：セルプロセッサを用いて細胞の洗浄と濃縮を RPMI 1640 で行い、0.5x10^7細胞/mL から 10×10^7細胞/mL となるように RPMI 1640 に懸濁する。その後、ヒト血清アルブミン（ブミネート）含細胞凍害保護液（CP-1）と 1:1 の割合で混合する。ヒト血清アルブミン含 CP-1 と混合した遺伝子導入 T リンパ球は、投与に必要な細胞数に相当する液量を凍結保存専用バッグに充填したのちに温度管理されたディープフリーザー（-80℃）にて凍結し使用時まで保存する。

RPMI 1640 及び CP-1 の組成を参考資料 8 及び 9 に示す。

投与日：冷凍保存された遺伝子導入 T リンパ球を投与直前に 37℃温浴にて急速に解凍し、投与する。

Ⅶ.3.2 培養細胞の純度

培養細胞間の細胞汚染を防ぐために、各ドナー細胞への遺伝子導入は日時を変えて行う。また、微生物の汚染を防ぐために、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、タカラバイオ(株)からの技術提供と助言を受け行われる。細胞の取扱いはクラスⅡの安全キャビネット内で行われ、感染性微生物の混入を防ぐとともに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。

Ⅶ.3.3 細胞の遺伝子型、表現型の安全性

遺伝子導入細胞の分離にあたっては、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する。この選択により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。また、過去の症例においても、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おり、このことから遺伝子導入による末梢血 T 細胞の表現型の大きな変化はないものと考えられる。

なお本研究では、投与細胞の性質を同定するため、培養各段階において各種細胞表面マーカーに対する抗体を用いて投与細胞の特徴を解析する予定である。

Ⅶ.3.4 被験者に投与する細胞の安全性

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由来の末梢血 T 細胞である。現在、白血病に対する治療としてドナー由来の末梢血リンパ球を患者に投与するドナーリンパ球輸注は広く行われており、ドナーT 細胞の投与は、GVHD 以外に患者に重大な影響を及ぼすことはない。

遺伝子導入細胞は、冷凍保存前の細胞を試験検体として採取し、参考資料 10 に示す試験によって品質が担保される。品質試験は国立がんセンター中央病院、または外部委託機関にて実施する。細胞生存率（トリパンブルー）とΔLNGFR 発現試験については遺伝子導入細胞調製当日に、国立がんセンター中央病院において実施する。その他の試験については、採取した試験検体を凍結して外部委託機関に送付し、試験を実施する。

１．　細胞生存率（トリパンブルー）
２．　エンドトキシン試験（日本薬局方）
３．　ΔLNGFR 発現試験
４．　RCR 試験（RT-PCR 法）
５．　マイコプラズマ否定試験（PCR 法）
６．　無菌試験（日本薬局方）
７．　RCR 試験（増幅法）
８．　マイコプラズマ否定試験（日本薬局法、培養法）
９．　GCV 感受性試験
１０．　IL-2 依存的増殖試験

なお、品質試験項目のうち、細胞生存率（トリパンブルー）、エンドトキシン試験（日本薬局方）、ΔLNGFR 発現試験、RCR 試験（RT-PCR 法）及びマイコプラズマ否定試験（PCR 法）についていずれも適合の場合に、遺伝子導入細胞について仮合格として被験者に適切な時期に Add-back される。試験結果を得るまでに日数を要する試験項目である無菌試験（日本薬局方）、RCR 試験（増幅法）、マイコプラズマ否定試験（日本薬局方、培養法及び指標細胞を用いた DNA 染色法）、GCV 感受性試験及び IL-2 依存的増殖試験については、Add-back をする時点では結果が得られていない場合も考えられるが、万一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。

遺伝子導入した細胞は閉鎖系で凍結保存専用バッグに充填・密封し、ディープフリーザー（-80℃）にて凍結保存するため、保存の間に外部からの細菌やエンドトキシン等の混入はなく安全が担保される。また、唯一冷凍保存による劣化の可能性がある細胞生存率につ

いて、細胞調製 10 日目に専用バッグに充填する際に品質試験用としてバイアルに充填する最終産物を、投与の前日以前に 37℃温浴にて急速に解凍し細胞生存率の確認（70%以上の生存率）を行い、Add-back が行われる。

Ⅷ. 遺伝子治療臨床研究の実施が可能であると判断した理由

以下の理由により、本臨床研究は実施可能と判断される。

(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、登録患者 29 例のうち 17 例に遺伝子導入 T リンパ球が Add-back され、その 14 例（82%）に免疫系再構築を確認している。また 14 例中 6 例（43%）に Add-back 後の急性 GVHD が発症したが、うち 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ている。免疫系再構築に至った 14 例では、その後の感染症頻度及び治療関連死が減少しており、途中経過ではあるが 800 日時点での全般生存率は 46%に上り、EBMT が集計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みの場合に比し、有意に改善を示している。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。

(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、国立がんセンター中央病院が設立されて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。

(3) 本研究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。また、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・幹細胞移植療法室において細胞療法並びに遺伝子治療の開発研究を行うと共に、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、国立がんセンター研究所において、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あり、数多くの治験並びに医師主導の臨床試験の実績がある。

Ⅸ. 遺伝子治療臨床研究の実施計画

Ⅸ.1 遺伝子治療臨床研究を含む全体の治療計画

Ⅸ.1.1 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

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。それぞれの委員会・事務局の運営に関しては、別途作成する業務手順書に従うものとする。

Ⅸ.1.1.1 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、プロトコー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。本委員会は国立がんセンター内外の専門家から構成される。本遺伝子治療臨床研究に関与する研究者は原則として本委員会への参加、審議への参加は行わない。但し、本委員会が特に必要と認めた場合には、総括責任者他の研究者の参加を要請することができるが、判定などの審議の際は退室する。また、必要に応じ、委員以外の専門家を招聘し、その意見を聴取し判定などの審議の参考とすることができる。本委員会で審議を行った場合には、その審議内容を記した議事録とともに審議結果を総括責任者に通知する。

委員：金沢大学大学院医学系研究科細胞移植学	教授	中尾眞二
自治医科大学医学部内科学講座血液学部門、 輸血・細胞移植部、 及び分子病態治療研究センター遺伝子治療研究部	教授	小澤敬也
国立がんセンター中央病院総合病棟 14A	医長	國頭英夫

Ⅸ.1.1.2 遺伝子治療臨床研究実施事務局

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。

Ⅸ.1.2 本臨床研究の実施手順

本臨床研究の実施手順は、個々の症例の該当する時期により、大きく以下の 4 期に分類される。全体の計画を図 21 に示す。

1. **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**

総括責任者（又は治療にあたる分担研究者）は、本遺伝子治療臨床研究への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、適格性確認に必要な検査を開始する。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。遺伝子治療臨床研究実施事務局は、被験者及びドナーの適格性を確認したうえで、総括責任者（又は治療にあたる分担研究者）に仮登録及び登録となった旨通知する。

総括責任者（又は治療にあたる分担研究者）は、被験者及びドナーが仮登録及び登録となったことを確認した後、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。なお CD34 陽性細胞の分離に際しては、分離前後の T リンパ球数（CD3 陽性細胞数）を測定し、T リンパ球除去率を算出する。

総括責任者（又は治療にあたる分担研究者）は、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。遺伝子治療臨床研究実施事務局は、仮登録時と同様に被験者の適格性を確認したうえで、総括責任者（又は治療にあたる分担研究者）に本登録となった旨通知する。

総括責任者（又は治療にあたる分担研究者）は、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（total body irradiation;TBI）を用いた骨髄破壊的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。

2. **造血幹細胞移植**

移植前処置後、CD34 陽性細胞の分離細胞 4.0×10^{6}個/kg 以上を移植細胞として造血幹細胞移植を行う。

3. **造血幹細胞移植後～遺伝子導入 T リンパ球 Add-back**

Ⅺ.3「臨床研究実施スケジュール」の項の記載に従い、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Ⅸ.6.2.6「GVHD 発症時の対応」の項の記載に従い、治療を行う。GCV 製剤を投与した場合には GCV 製剤投与による GVHD の沈静化能に関する検査・観察を行う。

初回の遺伝子導入 T リンパ球以前に治療を要する GVHD が発症した場合には、本遺伝子治療臨床研究を中止し、適切な治療を施す。治療の内容については本実施計画では規定しない。

<u>初回の Add-back</u>

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を受けた後、自発的な免疫系再構築の開始（移植後 30 日から 40 日の免疫表現型評価で循環血液中 CD3 陽性細胞＞100 個/μl となった場合）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 1×10^{6} 個/kg の細胞数の遺伝子導入 T リンパ球を Add-back する。

<u>2 回目の Add-back</u>

初回の Add-back 以降、免疫系再構築（初回の Add-back 後 14 日、21 日、28 日の免疫表現型評価で連続して循環血液中 CD3 陽性細胞が＞100 個/μl となった場合）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（造血幹細胞移植日を 0 日として 72 日目）に 1×10^{7} 個/kg の細胞数の遺伝子導入 T リンパ球を Add-back する。

<u>3 回目の Add-back</u>

2 回目の Add-back 以降、免疫系再構築（2 回目の Add-back 後 14 日、21 日、28 日の免疫表現型評価で連続して循環血液中 CD3 陽性細胞が＞100 個/μl となった場合）が確認されない場合、かつ GVHD を発症しないあるいは GradeⅡ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（造血幹細胞移植日を 0 日として 102 日目）に 1×10^{7} 個/kg の細胞数の遺伝子導入 T リンパ球を Add-back する。

4. 遺伝子導入 T リンパ球 Add-back 後のフォローアップ

XI.3「臨床研究実施スケジュール」の項の記載に従い、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 IX.6.2.6 「GVHD 発症時の対応」の項の記載に従って、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。

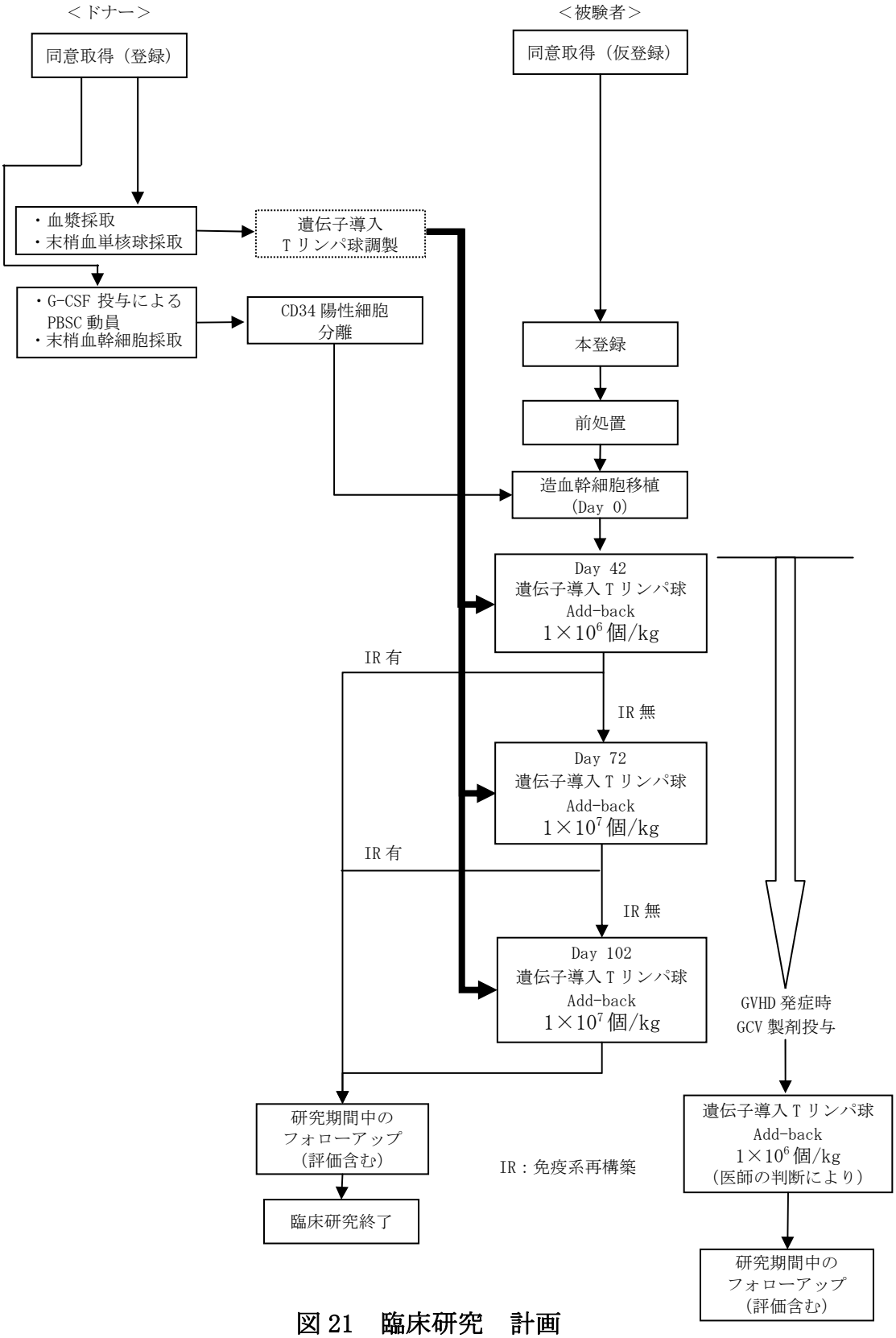
＜ドナー＞
＜被験者＞
同意取得（登録）
同意取得（仮登録）
・血漿採取
・末梢血単核球採取
遺伝子導入
T リンパ球調製
・G-CSF 投与による
PBSC 動員
・末梢血幹細胞採取
CD34 陽性細胞
分離
本登録
前処置
造血幹細胞移植
(Day 0)
Day 42
遺伝子導入 T リンパ球
Add-back
1×10⁶個/kg
IR 有
IR 無
Day 72
遺伝子導入 T リンパ球
Add-back
1×10⁷個/kg
IR 有
IR 無
Day 102
遺伝子導入 T リンパ球
Add-back
1×10⁷個/kg
GVHD 発症時
GCV 製剤投与
研究期間中の
フォローアップ
(評価含む)
IR：免疫系再構築
遺伝子導入 T リンパ球
Add-back
1×10⁶個/kg
(医師の判断により)
臨床研究終了
研究期間中の
フォローアップ
(評価含む)

図 21　臨床研究　計画

Ⅸ.2 ドナー・被験者の選択基準及び除外基準

Ⅸ.2.1 ドナーの選択基準及び除外基準

Ⅸ.2.1.1 選択基準

以下の基準を満たす健常人を対象とする。

なお、ドナーの選択基準・除外基準は、同種末梢血幹移植のための健常人ドナーからの、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）をもとに設定した。また、各臓器機能及び造血機能の具体的な基準に関しては、日本骨髄バンク コーディネートマニュアル「ドナー適格性判定基準」(2005 年 1 月 1 日: 第 4 版）を参考に設定した。

(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（Ⅺ.4「Performance Status の Grade と判定基準」）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。
   1) 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。
   2) 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。
   3) 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。
   4) AST が 56 IU/L 未満の者。
   5) 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。
   1) 白血球数が 3,000/μL 以上の者。
   2) 血小板が 130,000/μL 以上の者。
   3) 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。

Ⅸ.2.1.2 除外基準

以下のいずれかに該当するドナーは除外する。

(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）が不適当と認めた者。

Ⅸ.2.2 被験者の選択基準及び除外基準

Ⅸ.2.2.1 仮登録時の選択基準及び除外基準

Ⅸ.2.2.1.1 仮登録時選択基準

造血器悪性腫瘍患者の診断および分類は新 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〔海外骨髄バンク（全米、台湾、韓国、中国）を含む〕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が公式に公開している最新の治療成績で、95%信頼下限が 50%を超えている疾患、病期の組み合わせについては、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/μl 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/μl 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。

(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。

Ⅸ.2.2.1.2 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（Ejection Fraction）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（total lymphoid irradiation;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。

Ⅸ.2.2.2 本登録時の選択基準及び除外基準

Ⅸ.2.2.2.1 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 4.0×10^6個/kg 以上の患者。＊
(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。

＊：(3)の設定根拠

HLA ハプロタイプ一致ドナー由来造血幹細胞移植における必要最低 CD34 陽性細胞数についてはじゅうぶんな検討はなされていない。すでに報告されている論文(22,89,90)では平均 1×10^7個/kg 以上であり、ある程度大量の CD34 陽性細胞数を必要とすることが示されている。また、Aversa F らの報告(22)では合計の CD34 陽性細胞数として $3.8\sim33.7\times10^6$個/kg の範囲で移植され、Handgretinger R らの報告(90)では合計の CD34 陽性細胞数として

5.4～39×10^6個/kg の範囲で移植され、ほとんどの症例で生着が確認されている。このことから、純化後の CD34 陽性細胞数としては 4.0×10^6個/kg 以上が必要であるとした。

Ⅸ.2.2.2.2 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 mL/分/m^2未満[標準体表面積 1.48m^2で算出した場合のクレアチニン・クリアランスが 30 mL/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) 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。

Ⅸ.3 登録

Ⅸ.3.1 ドナーの登録

総括責任者（又は治療にあたる分担研究者）は、適格であると予測されるドナー候補者に対し、本臨床研究のための末梢血単核球採取及び末梢血幹細胞採取についてじゅうぶんな説明を行い、自由意思による文書同意を得る。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、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にドナーの登録を依頼する。

Ⅸ.3.2 被験者の仮登録

総括責任者（又は治療にあたる分担研究者）は、適格であると予測される被験者候補者

に対し、本臨床研究参加について十分な説明を行い、自由意思による文書同意を得る。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、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に被験者の仮登録を依頼する。

IX.3.3 被験者の本登録

総括責任者（又は治療にあたる分担研究者）は、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、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、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に被験者の本登録を依頼する。

IX.4 ドナー・被験者に対する説明及びその同意の取得方法

IX.4.1 被験者に対する説明及びその同意の取得方法

本遺伝子治療臨床研究の開始に先立ち、総括責任者（又は治療にあたる分担研究者）は被験者の同意を得るに際し、施設の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（XI.7）を説明の前、又は説明するときに渡し、以下の内容を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。

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

Ⅸ.4.2 ドナーに対する説明及びその同意の取得方法

ドナーより末梢血単核球（PBMC）及び血漿を採取するに先立ち、総括責任者（又は治療にあたる分担研究者）はドナーの同意を得るに際し、施設の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（Ⅺ.8）を説明の前、又は説明するときに渡し、以下の内容を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。

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

Ⅸ.4.3 ドナー･被験者に対する説明の体制

(1) 総括責任者（又は治療にあたる分担研究者）が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並びに移植科レジデント・移植を主業務とするがん専門看護師・移植病棟専門薬剤師・移植病棟専門栄養士・移植コーディネーター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、上記のカンファレンス並びにがん専門看護師からの説明にて、総括責任者（又は治療にあたる分担研究者）以外の移植専門医が被験者に説明を行う必要があると判断された場合には、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。

(2) 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、ドナーの適格性が確認できるまでは、被験者にドナーに関する情報を伝えないことで、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。

Ⅸ.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。

Ⅸ.6 遺伝子治療臨床研究の実施方法

Ⅸ.6.1 対照群の設定方法

特に設けない。

Ⅸ.6.2 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

Ⅸ.6.2.1「ドナーからの末梢血単核球（PBMC）の採取」～Ⅸ.6.2.3.3「CD34 陽性細胞分離」のドナーに関するスケジュールの概略については、Ⅺ.3「臨床研究実施スケジュール」に記載する。

Ⅸ.6.2.1 ドナーからの末梢血単核球（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、ドナーの特定に必要な情報を確認し、ドナーの健康診断〔身長、体重、血液型、患者との関係（HLA など）、血算、生化学、感染症（B 型肝炎ウイルス、C 型肝炎ウイルス、成人 T 細胞白血病ウイルス、梅毒血清反応、HIV、CMV、EBV、HSV）、過去の造血幹細胞採取の有無、尿、胸部単純写真、心電図〕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、1×10^{10} 個を採取目標量の最大とし、1 回のアフェレーシスにつき最大 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。

Ⅸ.6.2.2 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、Ⅶ.3.1「遺伝子導入細胞の調製方法」に従い、細胞調製を行う。細胞調製後、Ⅶ.3.4「被験者に投与する細胞の安全性」に示した各種試験により、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。

Ⅸ.6.2.3 CD34 陽性細胞採取

末梢血幹細胞の動員・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こととする。

Ⅸ.6.2.3.1 造血幹細胞の末梢血への動員

G-CSF 製剤を用法・用量に従って投与する。

Ⅸ.6.2.3.2 アフェレーシス

CD34 陽性細胞が多量に採取可能と考えられる適当な時期〔目安：動員開始から 4 日後より 3 回（200～250 mL/kg/日処理)〕に、アフェレーシスにより末梢血幹細胞（PBSC）を採取する。

Ⅸ.6.2.3.3 CD34 陽性細胞分離

アフェレーシス後は、直ちに CD34 陽性細胞分離装置を用い CD34 陽性細胞を分離し、この分離細胞を移植細胞とする。CD34 陽性細胞純化確認のため、アフェレーシス毎に CD34 陽性細胞数を測定し、分離前後の CD34 陽性細胞の純度、及び回収率を算出する。

Ⅸ.6.2.4 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する。移植日に用意した移植細胞（CD34 陽性細胞の分離細胞 4.0×10^6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。

Ⅸ.6.2.5 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 は以下に従い、それぞれ定められた日から 7 日以内に行う。

Ⅸ.6.2.5.1　初回の Add-back

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を受けた後、自発的な免疫系再構築の開始（造血幹細胞移植後 30 日から 40 日の間の免疫表現型評価で循環血液中 CD3 陽性細胞＞100 個/μl となった場合）が確認されない場合、かつ GVHD を発症しないあるいは GradeⅡ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 日目に細胞数 1×10^6個/kg の遺伝子導入 T リンパ球を Add-back する。

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を受けた後、自発的な免疫系再構築の開始が確認された場合には、遺伝子導入 T リンパ球の追加の Add-back は行わず、造血幹細胞移植後 42 日を 0 日として、Ⅺ.3「臨床研究実施スケジュール」に従い、検査・観

察を行う。但し、免疫表現型評価で免疫系再構築が解除されたと判断される場合には、総括責任者の判断により 1×10⁶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。この遺伝子導入 T リンパ球の Add-back を初回の Add-back として、Ⅸ.6.2.5.2 「2 回目の Add-back」以降の実施手順に従うものとする。

初回の遺伝子導入 T リンパ球の Add-back より前に治療を要する GVHD が発症した場合には、本遺伝子治療臨床研究を中止し、適切な処置を施す。治療の内容については本遺伝子治療実施計画では規定しない。

Ⅸ.6.2.5.2　2 回目の Add-back

初回の Add-back 以降、免疫系再構築（初回の Add-back 後 14 日、21 日、28 日の免疫表現型評価で連続して循環血液中 CD3 陽性細胞＞100 個/μl となった場合）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（造血幹細胞移植日を 0 日として 72 日目）に細胞数 1×10⁷個/kg の遺伝子導入 T リンパ球を Add-back（2 回目）する。

初回の Add-back 以降、免疫系再構築が確認された場合には、遺伝子導入 T リンパ球の追加の Add-back は行わず、初回の Add-back を行った日を 0 日として、Ⅺ.3「臨床研究実施スケジュール」に従って、検査・観察を行う。但し、免疫表現型評価で免疫系再構築が解除されたと判断される場合には、総括責任者の判断により 1×10⁷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。この遺伝子導入 T リンパ球の Add-back を 2 回目の Add-back として、Ⅸ.6.2.5.3 「3 回目の Add-back」以降の実施手順に従うものとする。

Ⅸ.6.2.5.3　3 回目の Add-back

2 回目の Add-back 以降、免疫系再構築（2 回目の Add-back 後 14 日、21 日、28 日の免疫表現型評価で連続して循環血液中 CD3 陽性細胞＞100 個/μl となった場合）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（造血幹細胞移植日を 0 日として 102 日目）に 1×10⁷個/kg の細胞数の遺伝子導入 T リンパ球を Add-back（3 回目）する。

2 回目の Add-back 以降、免疫系再構築が確認された場合には、遺伝子導入 T リンパ球の Add-back は行わず、2 回目の Add-back を行った日を 0 日として、Ⅺ.3「臨床研究実施スケジュール」に従って、検査・観察を行う。但し、免疫表現型評価で免疫系再構築が解除されたと判断される場合には、総括責任者の判断により 1×10⁷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。この遺伝子導入 T リンパ球の Add-back を 3 回目の Add-back として、Ⅸ.6.2.5.4「3 回目の Add-back 以降」の実施手順に従うものとする。

Ⅸ.6.2.5.4　3 回目の Add-back 以降

3回目のAdd-back以降、免疫系再構築（3回目のAdd-back後14日、21日、28日の免疫表現型評価で連続して循環血液中CD3陽性細胞＞100個/μl となった場合）が確認されない場合は、以降は遺伝子導入Tリンパ球のAdd-backは行わず、3回目のAdd-backを行った日を0日として、XI.3「臨床研究実施スケジュール」に従って、検査・観察を行う。

3回目のAdd-back以降、免疫系再構築が確認された場合には、遺伝子導入Tリンパ球のAdd-backは行わず、3回目のAdd-backを行った日を0日として、XI.3「臨床研究実施スケジュール」に従って、検査・観察を行う。

IX.6.2.6 GVHD発症時の対応

IX.6.2.6.1 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。急性GVHDのGradeはXI.5「急性GVHDのGrade」に従い、総括責任者（又は治療にあたる分担研究者）が判断する。急性GVHDか慢性GVHDかはその病態から総括責任者（又は治療にあたる分担研究者）が判断する。

GVHDが改善しない場合は、免疫抑制剤（例、タクロリムス製剤、メチルプレドニゾロ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」である以下の基準に従う。

- 治療開始3日目以降の病状の悪化
- 治療開始7日目の時点で、不変（特に肝と腸管のstage 3以上の臓器障害）
- 治療開始14日目の時点で、効果不十分（特に肝と腸管のstage 2以上の臓器障害）

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。

遺伝子導入Tリンパ球のAdd-backより前に治療を要するGVHDが発症した場合には、本遺伝子治療臨床研究を中止し、適切な処置を施す。治療の内容については本遺伝子治療実施計画では規定しない。

Ⅸ.6.2.6.2 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 1×10^6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。

Ⅸ.6.2.7 CMV 感染症時の対応

Ⅸ.6.3.2.2 「感染症予防薬」に従う。

Ⅸ.6.2.8 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。

Ⅸ.6.2.9 再発時の対応

原疾患の増悪又は再発が認められた場合には、研究を中止し、以降の治療については規定しない。

Ⅸ.6.3 前処置及び併用療法の有無

Ⅸ.6.3.1 移植前処置

Ⅸ.6.3.1.1 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^2/日 Day -7～Day -3) + methylpredonisolone 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。

移植前処置は、適格の判定を受け、本登録となった後、可及的速やかに開始することとする。

表 15　移植前処置

	Day −9	−8	−7	−6	−5	−4	−3	−2	−1	0
TBI 7.5 Gy	↓									
thiotepa 5 mg/kg/q12h		↓								
fludarabine phosphate 40 mg/m^2/日			↓	↓	↓	↓	↓			
Thymoglobulin 3 mg/kg/日 (Merieux) 5 mg/kg/日 (Fresenius) ＋methylpredonisolone 2 mg/kg/日				↓	↓	↓	↓	↓		
末梢血幹細胞移植										↓

Ⅸ.6.3.1.2. 前処置薬剤投与法

前処置薬剤の投与量は、本登録時の身長、体重及び身長・体重から算出される体表面積に従って以下のように算出し、投与期間中変更しない。

標準体重を以下の計算式により求める。

［標準体重］＝（身長 － 100）× 0.9

実体重が標準体重を下回る場合は、計算に用いる体重は実体重とする。

実体重が標準体重を上回る場合は、計算に用いる体重は以下のように求める。

［計算に用いる体重］＝（標準体重）＋（実体重 － 標準体重）/3

体表面積は、以下の式により算出し、投与期間中は変更しない。

［体表面積］＝計算に用いる体重[kg]$^{0.444}$×身長[cm]$^{0.663}$×88.83/100

それぞれの算出にあたり、身長及び実体重は小数点以下第 1 位を四捨五入した整数値を使用する。体表面積を算出した場合は小数点以下第 4 位を四捨五入し、第 3 位までの値を用いる。

(1)　チオテパ（thiotepa）

チオテパ製剤 5 mg/kg を 1 日 2 回、4 時間かけて経静脈的に投与する。

(2)　リン酸フルダラビン（fludarabine phosphate）

リン酸フルダラビン製剤は 40 mg/m^2/日を Day −7 から Day −3 までの 5 日間投与する。ただし、腎機能が低下している患者（体表面積当たりのクレアチニンクリアランスが 20～47 mL/min/m^2）では、腎機能の低下に応じて、下記に示す式により投与量を減量して、安全性を確認しながら慎重に投与すること。

（投与量の算出方法）

上記に記載した方法で得られた体表面積を用い、下記の計算式にて体表面積あたりの

クレアチニンクリアランス[mL/min/m^2]を算出する。

CLcr[mL/min/m^2]= (Ucr×Uv) ／ {(Scr×Bsa) ×1440}

CLcr[mL/min/m^2]：体表面積あたりのクレアチニンクリアランス

Ucr[mg/dL]：尿中クレアチニン濃度

Uv[mL]：尿量

Scr[mg/dL]：血清クレアチニン濃度

Bsa[m^2]：体表面積

体表面積あたりのクレアチニンクリアランス(CLcr:小数点以下第1位を四捨五入し、整数値を使用）により表16の通り投与量を算出、又は投与不適格と判定する。

表16　リン酸フルダラビン製剤投与

体表面積あたりのクレアチニンクリアランス	投与量算出式
48≦CLcr	投与量[mg/day]=30×体表面積
20≦CLcr≦47	投与量[mg/day]＝30×（0.4＋0.01×体表面積あたりのCLcr）×体表面積
CLcr＜20	投与不適格

(3)　抗胸腺グロブリン（Thymoglobulin）

抗胸腺グロブリン製剤は、メチルプレドニゾロン製剤 2 mg/kg/日と併せ、3 mg/kg/日（Merieux）あるいは5 mg/kg/日（Fresenius）をDay -6からDay -2の5日間投与する。

(4)　安静

Day -1は化学療法等は行わず、安静を保つ。

Ⅸ.6.3.2 許容される併用療法

Ⅸ.6.3.2.1 メシル酸イマチニブ

慢性骨髄性白血病に対するメシル酸イマニチブ製剤は、前処置開始までに終了することを条件に使用可能である。

Ⅸ.6.3.2.2 感染症予防薬

細菌・真菌・ウイルス感染の予防の投薬について規定はしないが、以下の方法を推奨する。

(1)　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する。

(2) 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する。

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は週に 2 回、1 日 4 錠の 2 分割投与を行う。

(3) 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、ビダラビン製剤を Day -7 から Day 35 まで 1,500 mg/日、点滴静注の投与を行う。

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※を投与する。

（※ホスカルネットナトリウム製剤の投与開始基準）

陽性細胞が 1 個以上存在する場合にはホスカルネットナトリウム製剤 90 mg/kg 1 日 1 回投与を開始する。次週、陽性細胞数が 50%以上上昇していた場合には 90 mg/kg 1 日 2 回に増量する。1 日 2 回投与を行っている期間に抗原血症の減少が認められたら 1 日 1 回投与に減量する。抗原血症が陰性化したら中止する。

Ⅸ.6.3.3 併用禁止療法

(1) 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とする。抗がん剤治療とは、一般的な化学療法薬を用いた治療の他、抗体療法、インターフェロン製剤やインターロイキン 2 製剤等を含む非特異的免疫賦活薬療法を含むものとする。ただし、本臨床研究が対象としている疾患には、進行期も含まれることを考慮し、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。

(2) 免疫系再構築及び免疫学的多様性に対して悪影響を及ぼす末梢血幹細胞移植後のシクロスポリン A 製剤の使用は禁止する。又、やむを得ず感染症合併時に使用する G-CSF 製剤投与などの場合を除き、原則として G-CSF 製剤の投与は禁止する。

(3) 初回の遺伝子導入 T リンパ球の輸注以降は、GCV 製剤・ACV 製剤の投与は禁止する。CMV の再活性化の場合には、GCV 製剤の投与は避け、抗ウイルス薬であるホスカルネットナトリウム製剤の投与で代替する。

ホスカルネットナトリウム製剤投与に不応性で CMV 感染症が改善しない場合には、GCV 製剤による治療を行い、遺伝子導入 T リンパ球の輸注は GCV 製剤の投与中止後、24 時間経過以降であれば行うことができる。

Ⅸ.6.4 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・観察を実施する。なお、検査時期については、Ⅺ.3「臨床研究実施スケジュール」に記載する。

但し、病状により、以下の項目以外についても検査・観察を実施することがある。検査・観察スケジュールについても定めた時期以外にも実施されることがある。

Ⅸ.6.4.1 被験者の適格性他の確認に関する検査・観察

(1) ドナー背景：

文書同意取得日、被験者との続柄、HLA の型、性別、生年月日、体重、血圧、脈拍、体温呼吸数、現有、既往、Performance Status、心電図、血液学的検査（白血球数、白血球分画、赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値、血小板、網状赤血球数)、血液生化学検査〔総たん白、アルブミン、AST（GOT)、ALT（GPT)、γ-GTP、LDH、Al-P、総ビリルビン、BUN、クレアチニン、尿酸、血清電解質（Na、K、Cl、Ca)、CRP、血糖〕、感染症検査（HIV 抗体、HBs 抗原、HCV 抗体等)、胸部 X 線検査、動脈血液中酸素飽和度、腹部エコーなどによる脾腫のチェック、過去の末梢血幹細胞採取の有無・時期

(2) 被験者仮登録時：

文書同意取得日、HLA の型、性別、生年月日、身長、体重、血圧、脈拍、体温呼吸数、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、
Performance Status、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（白血球数、赤血球数、ヘモグロビン濃度、血小板)、血液生化学検査〔総たん白、アルブミン、AST（GOT)、ALT（GPT)、γ-GTP、LDH、Al-P、総ビリルビン、BUN、クレアチニン、尿酸、血清電解質（Na、K、Cl、Ca)、CRP、血糖〕、感染症検査（HIV 抗体、HBs 抗原、HCV 抗体等)、血液型

(3) 被験者本登録時：

血圧、脈拍、体温呼吸数、現有、既往、妊娠の有無、
Performance Status、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（白血球数、白血球分画、赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値、血小板)、血液生化学検査〔総たん白、アルブミン、AST（GOT)、ALT（GPT)、γ-GTP、LDH、Al-P、総ビリルビン、BUN、クレアチニン、尿酸、血清電解質（Na、K、Cl、Ca)、CRP、血糖〕、感染症検査（TPHA、HBs 抗原、HCV 抗体)、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、クレアチニン・クリアランス

Ⅸ.6.4.2 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

Ⅸ.6.4.3 輸血状況

輸血日、血小板輸血量（単位)、赤血球輸血量（単位）

Ⅸ.6.4.4 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

Ⅸ.6.4.5 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

Ⅸ.6.4.6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

Ⅸ.6.4.7 安全性の判定に関する検査・観察

(1) 臨床検査

血液学的検査（白血球数、白血球分画、赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値、血小板、網状赤血球数)

血液生化学検査〔総たん白、アルブミン、AST（GOT)、ALT（GPT)、γ-GTP、LDH、Al-P、総ビリルビン、BUN、クレアチニン、尿酸、血清電解質（Na、K、Cl、Ca)、CRP、血糖〕

免疫学的検査（IgG量、IgA量、IgM量)

感染症検査（CMV抗体価、CMV Antigenemia あるいは血清中のCMV-DNA定量測定等)

尿定性検査（たん白、糖、潜血、ウロビリノーゲン、沈渣)

その他（体重、脈拍、血圧)

(2) 有害事象（感染事象、GVHD、臨床検査値異常変動含む)

有害事象とは、本治療が実施された際に起こるあらゆる好ましくない、あるいは意図しない徴候（臨床検査値の異常を含む)、症状、又は病気のことであり、本治療との因果関係の有無は問わない。

総括責任者（又は治療にあたる分担研究者）は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、グレード、研究継続・中止の別、処置の有無及び内容、本治療との因果関係、転帰を調査する。

(3) RCR 発現の有無

末梢血中の RCR を RT-PCR 法により測定する。

(4) 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

Ⅸ.6.4.8 免疫系再構築の判定に関する検査・観察

(1) 末梢血中の CD3 陽性リンパ球数

(2) 末梢血中のリンパ球の免疫表現型

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。

(3) 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

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。

細胞内サイトカインとしては、サイトメガロウイルス抗原並びに PMA 抗原刺激後の、リンパ球内のインターフェロンγ（IFN-γ）及び IL-4 を定量解析する。IFN-γは TH-1 反応（細胞性免疫）の指標として、IL-4 は TH-2 反応（液性免疫）の指標であり、ドナーリンパ球追加輸注療法後に、ドナー由来リンパ球（ドナーリンパ球輸注に使用した遺伝子導入リンパ球並びにドナー幹細胞より分化したリンパ球の双方を含む)の再活性化が起こるか否かの指標となる。

Pentamer 解析とは、蛍光標識した合成 HLA 蛋白分子に抗原ペプチドを結合させ、それを用いて抗原特異的リンパ球の定量解析を行うものである。本研究ではサイトメガロウイルス抗原ペプチドを有する HLA-A2402 並びに HLA-A0201 ペンタマーを用いて、遺伝子導入ドナーリンパ球輸注による抗原特異的免疫に与える影響を検証する。

T 細胞レパトア解析とは､PCR 法を用いて T 細胞レセプターの可変領域の多様性を PCR 法を用いて解析する方法である。TREC 解析とは、Naïve T 細胞が抗原特異的 T 細胞に成熟する際に切り出される遺伝子断片の量を､PCR 法を用いて解析する方法である。

両者とも､T 細胞の多様性を示す指標と考えられており、遺伝子導入リンパ球ならびに投与後患者におけるリンパ球の多様性を評価すると共に、感染症や GVHD 発症時に多様性の変化が起こるか否かを検証する。

なお、上記の解析方法は、申請機関内の研究室にて既に確立された作業手順書に基づいて行なうこととする。

Ⅸ.6.4.9 GCV 製剤投与による GVHD 沈静化能の判定に関する検査・観察

(1) GVHD 症状評価

(2) GCV 製剤投与無効時の免疫抑制剤使用頻度

(3) 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）

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。

Ⅸ.6.4.10 その他の検査・観察

Ⅸ.6.4.10.1 無病生存率

腫瘍性疾患に関わる検査、転帰、最終確認日

Ⅸ.6.4.10.2 全般生存率

転帰、最終確認日

Ⅸ.6.4.10.3 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

Ⅸ.6.4.10.4 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 リンパ球比率の推移

Ⅸ.6.4.10.5 研究終了後の追跡調査

遺伝子治療を受けた患者については、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。

(1) RCR 出現の有無
(2) 血中遺伝子導入 T リンパ球比率測定
(3) 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
(4) 転帰（原疾患評価、生死の別、最終転帰確認日）

Ⅸ.6.5 予測される副作用及びその対処方法

Ⅸ.6.5.1 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」の記載に従うことする。

(1) ドナー末梢血リンパ球採取は、血球分離装置を用いて行われ、リンパ球採取中はクエン酸ナトリウム（ACD-A 液）が抗凝固剤として用いられるため、低カルシウム血症をきたすことがある。

⇒（対処法）予防するためにカルシウムを補充しながら行う。

(2) リンパ球の採取は通常は末梢静脈ラインを確保することによって可能であるが、ドナーの体格、血管の状態などによりじゅうぶんな血流が確保できない時には、中心静脈ラインを確保する必要がある。ごく稀に静脈血栓症、動静脈ろう等を合併することがある。

⇒（対処法）中心静脈穿刺に関しては、習熟した医師が行う。合併症にはじゅうぶんな注意を払い、発生時には症状にあわせた薬剤投与・処置を行う。

(3) リンパ球採取後の血球減少に関しても幾つかの報告がある。白血球に関しては一過性の好中球減少を合併したとの報告があるが、易感染性をきたすまでには至らない。ヘモグロビン値が 2 g/dL 以上低下する症例が 23.5%に、血小板数が 50,000/μL 以下に低下する症例が 10.8%に認められるという報告もあり、注意を要する。

⇒（対処法）原則的に経過観察する。血小板については、採取終了後に検査を行い、必要に応じて返血を行う。

(4) 採取スピードが速い場合には、急激な循環血漿量の減少により、一時的な血圧低下をまねく可能性がある。

⇒生理食塩水の点滴により対処可能である。

Ⅸ.6.5.2 ドナー末梢血幹細胞採取に伴うドナーへの危険性

Ⅸ.6.5.1「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。

(1) めまい、吐き気、嘔吐など血管迷走神経反射（vaso-vagal reflex: VVR）を認めることがある。

⇒（対処法）VVR は重篤な場合は高度の「徐脈（脈拍数 29/分以下）」が出現し、意識喪失、失禁がみられることがあり、さらに「心停止」にいたる可能性があることから、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。

(2) 血小板も大量に採取されるので、採取後に血小板減少が高頻度（50%以上）に見られ、50,000/μL 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。

Ⅸ.6.5.3 T 細胞除去造血幹細胞移植に伴う被験者への危険性

(1) 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。

(2)　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。

Ⅸ.6.5.4 遺伝子導入 T リンパ球 Add-back に伴う被験者への危険性

特に以下の 3 点については注意を払う。

(1)　遺伝子導入ドナーT リンパ球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。

(2)　アナフィラキシー等の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。

(3)　重症の GVHD を発症することがある。

⇒（対処法）Ⅸ.6.2.6.1「GVHD に対する治療」に従い、治療を行う。

遺伝子導入ドナーT リンパ球 Add-back 後に発症した GVHD は、理論上は GCV 製剤投与によって沈静化に向うが、遺伝子導入 T リンパ球を完全に死滅させることができず沈静化できない可能性も否定できない。その場合には、総括責任者の判断のもと、免疫抑制剤を投与することとする。

Ⅸ.6.5.5 ガンシクロビル（GCV）製剤投与に伴う被験者への危険性

GCV 製剤は、免疫能低下を引き起こす先天性及び後天性の病状の分野で、CMV の再活性化の予防と治療のために広く使用されている。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ので、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。

Ⅸ.6.5.6 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。また、たとえ RCR が PCR 等で検出されても、マウス由来のパッケージ細胞株より生産されるレトロウイルスはヒト補体により破壊されるので、ウイルス血症は一過性に終わる可能性が高い。しかしながらヒト細胞から RCR 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。

Ⅸ.6.6 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、Ⅺ.3「臨床研究実施スケジュール」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 ヵ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、国立がんセンター中央病院にて以下の項目について年 1 回のフォローアップを行う。

(1) RCR 出現の有無
(2) 血中遺伝子導入 T リンパ球比率測定
(3) 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
(4) 転帰（原疾患評価、生死の別、最終転帰確認日）

Ⅸ.6.6.1 安全性の判定方法、基準

Ⅸ.6.6.1.1 安全性に関する判定に必要な検査・観察項目

(1) 臨床検査
(2) 有害事象
(3) RCR
(4) LAM-PCR

Ⅸ.6.6.1.2 安全性に関する判定基準・評価方法

(1) 臨床検査値の異常及び異常変動の判定法

・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総括責任者（又は治療にあたる分担研究者）が判断する。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、総括責任者（又は治療にあたる分担研究者）が異常変動「有」と判断した場合も含まれる。

なお、異常変動の判定について、正常値→異常値、もしくは異常値の増強が見られ、かつ異常変動を「無」と判断した場合にはその理由について、臨床経過を踏まえて考察を行う。

(2) 有害事象（感染事象、GVHD、臨床検査値異常変動を含む）

総括責任者（又は治療にあたる分担研究者）は、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）を調査する。遺伝子導入 T リンパ球輸注との因果関

係を否定できない有害事象（副作用）は、原則として、消失又は軽快するまで追跡調査を行う。

総括責任者（又は治療にあたる分担研究者）は、有害事象に対する治療が必要となった場合には、速やかに被験者にその旨を伝える。同時に適切な処置を施し、被験者の安全を確保し、その原因究明に努める。

また、重篤な有害事象については、Ⅸ.6.7「重篤な有害事象が発現した場合の措置」に従う。

・グレード

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（表 17)。

表 17　有害事象のグレード

Grade 1	軽度の有害事象
Grade 2	中等度の有害事象
Grade 3	高度の有害事象
Grade 4	生命を脅かすまたは活動不能とする有害事象
Grade 5	有害事象による死亡

・因果関係

レトロウイルスベクターSFCMM-3 により遺伝子導入された T リンパ球 Add-back との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関係及び Add-back 自体の影響等を考慮し、以下の 4 分類で判定する（表 18)。