

表 18 因果関係の分類

因果関係	判定基準
(1) 関連あり	<p>この分類は、高い確度で遺伝子導入 T リンパ球 Add-back に関連があると考えられる有害事象が該当する。次の項目に該当するものを「関連あり」と判定する。:</p> <ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> 遺伝子導入 T リンパ球 Add-back から合理的かつ一時的な推移が見られる <input type="checkbox"/> 被験者の臨床的状态、環境又は有害因子あるいは被験者に実施している別の治療法の既知の特性からは合理的に説明できない <input type="checkbox"/> 遺伝子導入 T リンパ球 Add-back を中止するか Add-back 量を減量すると有害事象が消失するか軽減される <input type="checkbox"/> 遺伝子導入 T リンパ球 Add-back に対して、既知の反応パターンを示す <input type="checkbox"/> 遺伝子導入 T リンパ球 Add-back を再開すると再び現れる
(2) 関連があるかもしれない	<p>この分類では、遺伝子導入 T リンパ球 Add-back とは関連性はないように見えるが、完全には排除できない有害事象が該当する。次の項目に該当するものを「関連があるかもしれない」と判定する。:</p> <ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> 遺伝子導入 T リンパ球 Add-back から合理的かつ一時的な推移が見られる <input type="checkbox"/> 被験者の臨床的状态、環境、有害因子あるいは被験者に実施している別の治療法が原因になっている可能性がある <input type="checkbox"/> 遺伝子導入 T リンパ球 Add-back に対して、既知の反応パターンを示す
(3) おそらく関連なし	<p>次の項目に該当するものを「おそらく関連なし」と判定する。:</p> <ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> 遺伝子導入 T リンパ球 Add-back から合理的かつ一時的な推移をたどらない <input type="checkbox"/> 被験者の臨床的状态、有害因子あるいは被験者に実施している別の治療法によって容易に起こっている可能性がある <input type="checkbox"/> 遺伝子導入 T リンパ球 Add-back に対して、既知の反応パターンを示さない <input type="checkbox"/> 遺伝子導入 T リンパ球 Add-back を再開したときに有害事象が再び現れるようなこと、又は症状が悪化するようなことは見られない
(4) 関連なし	<p>この分類は外部にのみ原因(疾患、環境等)があると明確かつ異論なく判定される有害事象が該当し、「おそらく関連なし」、「関連があるかもしれない」、「関連あり」の項に記載された判定基準を満たさない。</p>

- (3) RCR については、臨床研究期間中の出現を検討する。
- (4) LAM-PCR については、遺伝子導入 T リンパ球のクロナリティーを検討する。

IX. 6. 6. 2 免疫系再構築の判定方法、基準

IX. 6. 6. 2. 1 免疫系再構築の判定に必要な検査・観察項目

- (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
- (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

IX. 6. 6. 2. 2 免疫系再構築に関する判定基準・評価方法

- (1) XI. 3 「臨床研究実施スケジュール」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 $1\mu\text{l}$ 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。
- (2) 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を用いた FACS 解析により評価する。
- (3) 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。

IX. 6. 6. 3 GCV 製剤投与による GVHD 沈静化能の判定方法、基準

IX. 6. 6. 3. 1 GCV 製剤投与による GVHD 沈静化能の判定に必要な検査・観察項目

- (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）

IX. 6. 6. 3. 2 GCV 製剤投与による GVHD 沈静化能に関する判定基準・評価方法

- (1) XI. 6 「急性 GVHD の治療効果判定基準」により、GCV 製剤投与による GVHD 沈静化の評価を行う。
- (2) IX. 6. 2. 6 「GVHD 発症時の対応」に従い、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。
- (3) IX. 6. 2. 6 「GVHD 発症時の対応」に従い、GVHD に対し GCV 製剤を投与した場合には、GVHD 発症組織における遺伝子導入 T リンパ球の存在を確認する（実施可能な場合）。

IX. 6. 6. 4 臨床研究の中止判定基準

IX. 6. 6. 4. 1 個々の被験者での中止

IX. 6. 6. 4. 1. 1 同意取得から前処置の開始前

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

IX. 6. 6. 4. 1. 2 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。総括責任者（又は治療にあたる分担研究者）は必要に応じ、適切な処置を施し、中止日時、中止理由、中止後の処置及び転帰を確認する。総括責任者は必要に応じ、国立がんセンター総長に報告する。また、総括責任者（又は治療にあたる分担研究者）は、その時点での観察、検査、評価を行う。

- 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

IX. 6. 6. 4. 1. 3 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。総括責任者（又は治療にあたる分担研究者）は必要に応じ、適切な処置を施し、中止日時、中止理由、中止後の処置及び転帰を確認する。総括責任者は必要に応じ、国立がんセンター総長に報告する。また、総括責任者（又は治療にあたる分担研究者）は、その時点での観察、検査、評価を行う。

- 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

IX. 6. 6. 4. 2 臨床研究全体の中止

総括責任者は、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。

中止を決定した場合には、中止をした旨及びその理由の詳細を速やかに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厚生労働省に報告する。

「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」とは以下に該当する場合を指す。

- 最初の 5 例の遺伝子治療実施例に、免疫系再構築の確認が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 製剤投与にても沈静化できない 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

IX.6.7 重篤な有害事象が発現した場合の措置

重篤な有害事象には重大な危険、禁忌となる副作用あるいは警戒の必要を示唆するようなあらゆる所見が該当する。当該所見に関する具体的な症状は次の通りである。

- 死に至るもの
- 生命を脅かすもの
- 治療のために入院又は入院期間の延長が必要なもの
- 永続的又は顕著な障害/機能不全に至るもの
- 先天異常/先天奇形をきたすもの
- その他、被験者にとって著しく有害なことが示唆されるもの

なお、「その他、被験者にとって著しく有害なことが示唆されるもの」については、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~」の Grade 4 を参考にする。

臨床研究との因果関係の有無に関わらず、上記に示す重篤な有害事象が発現した場合は、総括責任者（又は治療にあたる分担研究者）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。

IX.6.8 症例記録に関する記録用紙等の様式

一般入院患者同様に、カルテに被験者の容態、治療内容、検査内容と結果及び同意に関する記録を記載する。

また、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こととする。専用の症例報告書様式に記載された内容の原資料は原則カルテとし、コメント、有害事象に関する判定等については症例報告書様式に記載された内容を原資料として取り扱う。

IX.6.9 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。

IX. 6. 10 個人情報の保護の徹底

IX. 6. 10. 1 個人情報保護に関する責務

国立がんセンターは、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 年法律第 58 号）第 6 条、厚生労働省保有個人情報管理規程（平成 17 年厚生労働省訓令第 3 号）及び国立がんセンター個人情報保護関係組織規程の規定に基づき、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、適正な管理を図っている。

国立がんセンターでは保有する個人情報管理業務の適正な企画、管理及び運用を図ることを目的として個人情報保護委員会を設置しており、組織毎に 5 つの部会が置かれている。国立がんセンター中央病院には中央病院部会が置かれ、部会長は中央病院長が務める。国立がんセンター中央病院では、中央病院部会のもと、各規程に従い、組織的に個人情報の保護に対する措置を図っている。

IX. 6. 10. 2 個人情報の取得と利用に関する制限

(1) 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、診療、研究、研修、情報収集・発信を続け、我が国のがん施策において中心的な役割を果たすという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以下に掲げる目的に限り、患者の個人情報を使用する。この使用に関しては、個人情報の保護の法律に基づいた国立がんセンター保有個人情報管理規程や研究活動の実施に関する法令や倫理指針等を遵守した上で取り扱われる。また、国立がんセンター中央病院を受診する患者には「国立がんセンター中央病院における個人情報の利用目的について」を用いて国立がんセンター中央病院で使用する個人情報の使用目的について理解と協力を求めている。

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

(当病院内部での利用)

- ・ 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
- ・ 医学生などの実習、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）

(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

(他の事業者等への情報提供を行う利用)

- ・ 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

(2) 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利用・取扱い

上記の診療・研究機関としての国立がんセンター中央病院における個人情報の一般的な取扱いに加え、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。

本臨床研究で扱う被験者の診療記録をはじめとする個人情報は、主として病状経過観察、本臨床研究の緊急事態発生のための連絡など、被験者の生命を守るために用いる。その他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、本臨床研究の成果検討時や医療向上のためなどを目的に試験成績などを公表・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。これらのことは、被験者への同意説明文書中に記載し、被験者へ個人情報の保護及び使用目的について通知し同意を得る計画とした。

被験者の同意取得は、自由意思によるものであり、臨床研究に参加しない場合であっても被験者の不利益はない。このことは医学研究を行ううえで大切な倫理であるため、本臨床研究では、これらのことを同意説明文書に記載し、被験者へ通知している。

総括責任者は利用目的の達成に必要な範囲において、個人情報を正確かつ最新の内容に保つよう努めなければならない。

(3) 個人情報保護に関する安全管理措置

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。一方で個人情報の漏洩等に関わる新しい犯罪手法などが急速な勢いで多様化していることを鑑み、本臨床研究では規程等の柔軟な意運用を以て、個別に適切な対応を行う。

さらに本臨床研究では、死者に関する個人情報が死者の人としての尊厳や遺族の感情及び遺伝情報が血縁者と共通していることを鑑み、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。

(4) 外部共同研究者が閲覧可能なデータ

本臨床研究は国立がんセンター中央病院が主体的に実施するものであるが、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を行うため、タカラバイオ（株）は外部共同研究者として本研究に関与する。したがって、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タカラバイオ（株）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。

本臨床研究は国立がんセンター中央病院内で実施され、被験者・ドナーから取得したデータは治験と同様、個人を容易に特定できないよう個人情報保護が図られている。共同研究のために、タカラバイオ（株）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。

なお、被験者識別コードから被験者・ドナーを特定する情報については、総括責任者が厳重に管理を行うものとする。

(5) 第三者提供の制限

総括責任者は、「遺伝子治療臨床研究に関する指針」第六章第九で掲げる内容に従い、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、タカラバイオ（株）が個人情報を保護した上で一部データを共同研究のために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。個人情報としては第三者への提供は予定しておらず、第三者へ個人情報の提供を行う場合は、適切な目的であることを確認し、「遺伝子治療臨床研究に関する指針」第六章第九に従い、その旨被験者等へ通知する。

(6) 個人情報の開示、訂正、利用停止等

総括責任者は、保有する個人情報に関し、次に掲げる事項について、被験者等の知りうる状態にしなければならない。

- ・ 臨床研究実施機関の名称
- ・ 個人情報の利用目的
- ・ 個人情報の開示、訂正、利用停止等に関する手続き
- ・ 苦情の申出先

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。

総括責任者は被験者から当該被験者が識別される保有する個人情報についての開示、訂正、利用停止等について国立がんセンター個人情報開示等取扱規程に従い求めがあった場合は、遅滞なく必要な対応を行うほか、対応結果について被験者に通知しなければならない。

さらに、国立がんセンター中央病院では個人情報に関する苦情等の窓口を設置し、被験者からの苦情や問い合わせに対して迅速に対応できるように体制を整備している。

[個人情報に関する苦情等の窓口]

国立がんセンター中央病院医事課（初診窓口）

電話：03-3542-2511

X. 用語説明

本遺伝子治療に関して、重要と思われる用語につき、以下に簡単に説明する。説明の対象とした用語は、本実施計画書の本文中（「IV. 遺伝子治療臨床研究の目的」以降の記載。但し、図表は除く）の初出の箇所に*と番号を付している。

*1 HLA (human leukocyte antigen; ヒト白血球抗原) 及びハプロタイプ :

HLA は、自己と非自己を区別して認識する最も重要な抗原で、ヒトの 6 番染色体に存在し、一塊 (ハプロタイプ) として遺伝する。ここには多数の遺伝子が存在するが、HLA 適合性を検査されているのは、A、B、DR の 3 種類の遺伝子座であり、ヒト細胞は A 抗原、B 抗原、DR 抗原の遺伝子を各 2 個、計 6 個有しており、これらの抗原は細胞表面に発現している。親子間では、父母から必ずハプロタイプを一つずつ共有していることから、骨髄移植を受ける患者の親又は子供はハプロタイプ一致 (ただし、通常 2~3 座 HLA 不一致) のドナーとなることを意味する。このメリットは、血縁者をドナーとすることができるため、ほぼ 100%に近い確率でドナーを見出すことができることである。

*2 Add-back :

追加輸注療法は、化学療法又は放射線療法後の白血病患者に対して、HLA 不一致 (ハプロタイプ一致) 移植での T 細胞除去造血幹細胞移植後に、同一ドナー由来のリンパ球を輸注することをいう。すなわち、移植時には急性 GVHD を回避する目的で T リンパ球を除去するが、そのままでは、重篤な感染症に陥る場合が多く、また白血病が再発する場合もあり、これらを予防する目的で、先の造血幹細胞の生着が確認できた時点でドナーリンパ球を追加輸注して、患者の免疫系を再構築する治療法である。

*3 レトロウイルスベクター :

レトロウイルスとは、一本鎖 RNA をゲノムとする約 0.1 μm のウイルスで、このウイルスが感染した細胞では、RNA ゲノムから合成された DNA が染色体に組み込まれる。遺伝子治療用ベクターとして、レトロウイルスの一種であるモロニーマウス白血病ウイルス (Moloney murine leukemia virus; MoMLV) を特別な細胞 (パッケージング細胞) の中でのみ増殖できるように改変し、自己増殖能を奪ったものが広く用いられている。このベクターを使用すれば種々の細胞に遺伝子導入を行うことができ、安定した形質発現が期待できる。

*4 ドナーリンパ球輸注 :

ドナーリンパ球には、白血病細胞を免疫的に攻撃し、死滅させる能力 (GVL 効果)

があることがわかっている。微少残存病変 (minimal residual disease; MRD) の根絶を図る等の目的でドナーリンパ球を輸注することをいう。通常のドナーリンパ球輸注は、同種造血幹細胞移植後の再発及びウイルス関連リンパ腫に対して実施される。

***5 モルメド社：**

1997年に設立されたイタリア・ミラノにあるベンチャー企業。聖ラファエル病院を拠点として、HSV-TK 遺伝子治療の臨床開発のほか、癌ワクチンやエイズワクチンの遺伝子治療研究を推進。社長の Claudio Bordignon は、この領域における著名な研究者。モルメド社は、HSV-TK 遺伝子治療に関し、これまでの臨床研究を踏まえ、現在イタリア 2 施設、英国 1 施設、イスラエル 1 施設の計 4 施設での臨床第 I - II 相試験 (TK007) を実施中。当該遺伝子治療の基本特許を保有している。

***6 アフェレーシス：**

専用の装置に供血者の血液を通して体外循環させ、必要に応じて血小板・赤血球・白血球・血漿の各成分を取り出し、残りを供血者に戻す処理。

***7 ベクター：**

目的遺伝子を宿主細胞に導入するときに使われる運搬体をいう。ただし、組換えウイルスを使用する場合には導入遺伝子を含めてウイルスベクターという。目的遺伝子を含むプラスミドを直接細胞に導入する場合にはプラスミド DNA をベクターという。

***8 RCR (replication competent retrovirus; 増殖性レトロウイルス)：**

遺伝子治療に使用されるレトロウイルスベクターは、増殖能を欠損しているが、ウイルス粒子を構成するたん白質の遺伝子 (gag, pol, env 遺伝子) を獲得して増殖能を持つようになったレトロウイルスを RCR と呼ぶ。

RCR が出現する原因は、レトロウイルスベクターが、相同組換えによりパッケージング細胞のこれら遺伝子を獲得してしまうことによる。ちなみに、第 3 世代のパッケージング細胞は、3 回の相同組換えが起こらなければ RCR が出現しないようになっており、その出現確率は極めて低い。

***9 ウイルスベクター：**

ベクターとして用いられる組換えウイルスであって、野生型ウイルスゲノムの代わりに目的遺伝子を組み込んだ組換えウイルスゲノムがウイルス粒子内にパッケージされているものをいう。

***10 パッケージング細胞：**

ヘルパー機能を持った遺伝子を導入した細胞をいう。

遺伝子治療に使用されるレトロウイルスベクターは、増殖能を欠損させるために、ウイルス粒子を構成するたん白質の遺伝子 (gag, pol, env 遺伝子) を除去してある。従って、ウイルス粒子を形成するためには、欠損している遺伝子が導入された細胞を使用する必要があり、そのような細胞をパッケージング細胞という。

***11 アンフォトロピックウイルス：**

両種指向性ウイルスともいい、自然宿主のみならず、他種動物にも感染し増殖するウイルス。おもにレトロウイルス、中でもマウス白血病ウイルスにおいて用いられる分類。アンフォトロピックウイルスはヒト細胞にも感染できることから、このウイルス由来の遺伝子導入用のベクターが開発されている。

***12 LAM-PCR 法 (linear amplification mediated-PCR 法)：**

レトロウイルスベクターを用いた遺伝子導入において、in vivo における幹細胞からの分化細胞の挿入部位の解析やクローンの存在状態をモニタリングする手法である。

この方法では、まずレトロウイルス特有の配列である LTR 配列に相補的なビオチン化プライマーを使用し、染色体 DNA を鋳型に linear PCR (1 本鎖 DNA の合成) を行なう。この linear PCR 産物をストレプトアビジン固定化磁性ビーズにより回収し、相補鎖を合成して二本鎖とした後、制限酵素で切断し、その末端にリンカーカセットとよばれる二本鎖 DNA を連結する。こうして得られた連結産物を鋳型として、LTR とリンカーカセットにそれぞれ相補的なプライマーで nested PCR (内部プライマーによる増幅) を行い、LTR とそれに隣接する宿主染色体由来の領域を含む DNA 断片を増幅する。

***13 プロトオンコジーン：**

RNA 型腫瘍ウイルスのゲノム上に見出されるオンコジーン (ウイルス性がん遺伝子) に相同な、細胞由来の遺伝子。細胞性のオンコジーンという意味で、c-onc と表記される。染色体上の遺伝子に突然変異が起こり、細胞ががん化能を有するようになる場合、この変化する前の遺伝子をプロトオンコジーンとよぶ。プロトオンコジーン産物は、細胞内の種々のオルガネラに存在し、細胞の増殖や分化に基本的な役割をになっていることが知られている。増殖因子として働くもの、チロシンキナーゼ活性をもつもの、GTP 結合たん白質、転写因子として働くものなどに分類される。このように細胞の生命活動に基本的な機能に変異が起こることによって、増殖の制御機構に異常が起こり、細胞のがん化が引き起こされると考えられる。

XI. その他の必要な事項

XI.1 遵守する法令／省令など

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)

XI.2 引用文献

1. Gluckman E, Broxmeyer HA, Auerback AD, et al. Hematopoietic reconstitution in a patient with Fanconi's anemia by means of umbilical cord blood from HLA-identical sibling. *N Engl J Med* 321:1174-1178, 1989.
2. 服部欽哉、矢部普正、矢部みはる他. 臍帯血幹細胞移植を施行した急性骨髄性白血病 (M1) . *臨床血液* 37:1371-1376, 1996.
3. Kato S, Nishihira H, Sako M, et al. Cord Blood transplantation from sibling donors in Japan. A report of the national survey. *Int J Hematol* 67:389, 1998.
4. Laughlin MJ, Baker J, Bambach B, et al. Hematopoietic engraftment and survival in adult recipients of umbilical-cord blood from unrelated donors. *N Engl J Med* 344:1815-1822, 2001.
5. Sanz GF, Saavedra S, Planelles D, et al. Standardized, unrelated donor cord blood transplantation in adults with hematologic malignancies. *Blood* 98:2332-2338, 2001.
6. Long GD, Laughlin M, Madan B, et al. Unrelated cord blood transplantation in adult patients. *Biol. Blood Marrow Transplantation* 9:772-780, 2003.
7. Takahashi S, Iseki T, Ooi J, et al. Single-institute comparative analysis of unrelated bone marrow transplantation and cord blood transplantation for adults patients with hematological malignancies. *Blood* 104:3813-3820, 2004.
8. 甲斐ら口頭発表. 第27回日本造血細胞移植学会総会(岡山)シンポジウム4, 2004.
9. 日本さい帯血バンクネットワーク. さい帯血バンク NOW. 第27号:2-3 ページ, 2006年1月15日発行.
10. Rocha V, Labopin M, Sanz G, et al. Transplants of umbilical-cord blood or bone marrow from unrelated donors in adults with acute leukemia. *N Engl J Med* 351:2276-2285, 2004.
11. Laughlin MJ, Eapen M, Rubinstein P, et al. Outcomes after transplantation of cord blood or bone marrow from unrelated donors in adults with leukemia. *N Engl J Med* 351:2265-2275, 2004.
12. 日本さい帯血バンクネットワークホームページ わが国における非血縁者間さい帯血移植の成績 (1997年2月~2005年3月集計)
13. Baker JN, Weisdorf DJ, DeFor TE, et al. Transplantation of two partially HLA-matched umbilical cord blood units to enhance engraftment in adults with hematologic malignancy. *Blood* 105(3):1343-1347, 2005.
14. 原宏 編著. 臍帯血移植. 新興医学出版社 107 ページ, 2006.

15. Kernan NA, Flomenberg N, Dupont B, et al. Graft rejection in recipients of T-cell-depleted HLA-nonidentical marrow transplants for leukemia. Identification of host-derived antidonor alloctotoxic T lymphocytes. *Transplantation*. 43(6):842-847, 1987.
16. Beatty PG, Clift RA, Mickelson EM, et al. Marrow transplantation from related donors other than HLA-identical siblings. *N Engl J Med* 313(13):765-771, 1985.
17. Cunningham I, Aversa F, Martelli MF. Making successful haplotype-mismatched transplants possible. *Forum* 72:203, 1997.
18. Besinger WI, Weaver CH, Appelbaum FR, et al. Transplantation of allogeneic blood stem cells mobilized by recombinant human granulocyte colony-stimulating factor. *Blood* 85(6):1655-1658, 1995.
19. Schmitz N, Dreger P, Suttorp M, et al. Primary transplantation of allogeneic peripheral blood progenitor cells mobilized by filgrastim (granulocyte colony-stimulating factor). *Blood* 86(2):1666-1672, 1995.
20. Korbling M, Huh YO, Durett A, et al. Allogeneic blood stem cell transplantation: peripheralization and yield of donor-derived primitive hematopoietic progenitor cells (CD34+Thy-1dim) and lymphoid subsets, and possible predictors of engraftment and graft-versus-host disease. *Blood* 86(7):2842-2848, 1995.
21. Aversa F, Tabilio A, Terenzi A, et al. Successful engraftment of T-cell-depleted haploidentical "three-loci" incompatible transplants in leukemia patients by addition of recombinant human granulocyte colony-stimulating factor-mobilized peripheral blood progenitor cells to bone marrow inoculum. *Blood* 84(11):3948-3955, 1994.
22. Aversa F, Antonio T, Velardi A, et al. Treatment of high-risk acute leukemia with T-cell-depleted stem cells from related donors with one fully mismatched HLA haplotype. *N Engl J Med* 339:1186-1193, 1998.
23. Aversa F, Massimo F, Martelli MF. Transplantation of haploidentically mismatched cells for the treatment of malignant diseases. *Springer Semin Immun* 26:155-168, 2004.
24. Aversa F. Hematopoietic stem cell transplantation from full-haplotype mismatched donors. *Transfus Apheresis Sci* 27:175-181, 2002.
25. Reisner Y, Kapoor N, Kirkpatrick D, et al. Transplantation for severe combined immunodeficiency with HLA-A, B, D, DR incompatible parental marrow cells fractionated by soybean agglutinin and sheep red blood cells. *Blood* 61(2):341-348,

- 1983.
26. Muller SM, Schulz AS, Reiss UM, et al. Definition of a critical T cell threshold for prevention of GVHD after HLA non-identical PBPC transplantation in children. *Bone Marrow Transplant* 24:575-581, 1999.
 27. Aversa F, Terenzi A, Tabilio A, et al. Full haplotype-mismatched hematopoietic stem-cell transplantation: A phase II study in patients with acute leukemia at high risk of relapse. *J Clin Oncol* 23:3447-3454, 2005.
 28. Kanda Y, Chiba S, Hirai H, et al. Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation from family members other than HLA-identical siblings over the last decade (1991-2000). *Blood* 102(4):1541-1547, 2003.
 29. Yamasaki S, Ohno Y, Taniguchi S, et al. Allogeneic peripheral blood stem cell transplantation from two- or three- loci-mismatched related donors in adult Japanese patients with high-risk hematologic malignancies. *Bone Marrow Transplant* 33:279-289, 2004.
 30. Claas FH, Gijbels Y, van der Velden-de Munck J, et al. Induction of B cell unresponsiveness to noninherited maternal HLA antigens during fetal life. *Science* 241:1815-1817, 1988.
 31. Shimazaki C, Ochiai N, Uchida R, et al. Non-T-cell-depleted HLA haploidentical stem cell transplantation in advanced hematologic malignancies based on the feto-maternal microchimerism. *Blood* 101(8):3334-3336, 2003.
 32. Ichinohe T, Uchiyama T, Shimazaki C, et al. Feasibility of HLA-haploidentical hematopoietic stem cell transplantation between noninherited maternal antigen (NIMA)-mismatched family members linked with long-term fetomaternal microchimerism. *Blood* 104(12):3821-3828, 2004.
 33. Ikegame K, Tanji Y, Kitai N, et al. Successful treatment of refractory T-cell acute lymphoblastic leukemia by unmanipulated stem cell transplantation from an HLA 3-loci mismatched (haploidentical) sibling. *Bone Marrow Transplant* 31(6):507-510, 2003.
 34. Ikegame K, Mukouchi C, Kunitomi A, et al. Successful treatment of bcr/abl-positive acute mixed lineage leukemia by unmanipulated bone marrow transplantation from an HLA-haploidentical (3-antigen-mismatched) cousin. *Bone Marrow Transplant* 31(12):1165-1168, 2003.
 35. Kanda Y, Oshima K, Asano-Mori Y, et al. In vivo alemtuzumab enables haploidentical human leukocyte antigen-mismatched hematopoietic stem-cell transplantation

- without ex vivo graft manipulation. *Transplantation* 79(10):1351-1357, 2005.
36. Oshima K, Sakata-Yanagimoto M, Asano-Mori Y, et al. Cardiac complications after haploidentical HLA-mismatched hematopoietic stem cell transplantation using in vivo alemtuzumab. *Bone Marrow Transplant* 36(9):821-824, 2005.
 37. Perruccio K, Tosti A, Burchielli E, et al. Transferring functional immune responses to pathogens after haploidentical hematopoietic transplantation. *Blood* 106(13):4397-4406, 2005.
 38. Hings IM, Severson R, Filipovich AH, et al. Treatment of moderate and severe acute GVHD after allogeneic bone marrow transplantation. *Transplantation* 58(4):437-442, 1994.
 39. Aschan J. Treatment of moderate to severe acute graft-versus-host disease: a retrospective analysis. *Bone Marrow Transplant* 14(4):601-607, 1994.
 40. Bonini C, Ferrari G, Verzeletti S, et al. HSV-TK gene transfer into donor lymphocytes for control of allogeneic graft-versus-leukemia. *Science* 276:1719-1724, 1997.
 41. Tiberghien P, Ferrand C, Lioure B, et al. Administration of herpes simplex-thymidine kinase-expressing donor T cells with a T-cell-depleted allogeneic marrow graft. *Blood* 97(1):63-72, 2001.
 42. Burt RK, Drobyski WR, Seregina T, et al. Herpes simplex thymidine kinase gene-transduced donor lymphocyte infusions. *Exp Hematol* 31:903-910, 2003.
 43. Johnson D, Lanahan A, Buck CR, et al. Expression and structure of the human NGF receptor. *Cell* 47:545-554, 1986.
 44. Hempstead BL, Patil N, Thiel B, 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.
 45. Mavilio F, Ferrari G, Rossini S, et al. Peripheral blood lymphocytes as target cells of retroviral vector-mediated gene transfer. *Blood* 83:1988-1997, 1994.
 46. Wagner MJ, Sharp JA, Summers WC. Nucleotide sequence of the thymidine kinase gene of herpes simplex virus type 1. *Proc Natl Acad Sci USA* 78:1441-1445, 1981.
 47. Casaccia-Bonnel P, Gu C, Chao MV. Neurotrophins in cell survival/death decisions. *Adv Exp Med Biol* 468:275-282, 1999.
 48. Klein R, Jing SQ, Nanduri V, et al. The trk proto-oncogene encodes a receptor for nerve growth factor. *Cell* 65:189-197, 1991.
 49. Moolten FL, Wells JM. Tumor chemosensitivity conferred by inserted herpes

- thymidine kinase genes: paradigm for a prospective cancer control strategy. *Cancer Res* 46:5276-5281, 1986.
50. 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.
 51. Bonini C, Grez M, Traversari C, et al. Safety of retroviral gene marking with a truncated NGF receptor. *Nat Med* 9:367-369, 2003.
 52. Moolten FL. Drug sensitivity ("suicide") genes for selective cancer chemotherapy. *Cancer Gene Ther* 1:279-287, 1994.
 53. St Clair MH, Lambe CU, and Furman PA. Inhibition by ganciclovir of cell growth and DNA synthesis of cells biochemically transformed with herpesvirus genetic information. *Antimicrob Agents Chemother* 31:844-849, 1987.
 54. Lyons RM, Forry-Schaudies S, Otto E, et al. An improved retroviral vector encoding the herpes simplex virus thymidine kinase gene increases antitumor efficacy in vivo. *Cancer Gene Therapy* 2:273-280, 1995.
 55. Blaese RM, Culver KW, Miller AD, et al. T lymphocyte-directed gene therapy for ADA-SCID: initial trial results after 4 years. *Science* 270:475-480, 1995.
 56. Onodera M, Ariga T, Kawamura N, et al. Successful peripheral T-lymphocyte-directed gene transfer for a patient with severe combined immune deficiency caused by adenosine deaminase deficiency. *Blood* 91:30-36, 1998.
 57. Riddell SR, Elliott M, Lewinsohn DA, et al. T-cell mediated rejection of gene-modified HIV-specific cytotoxic T lymphocytes in HIV-infected patients. *Nat Med* 2:216-223, 1996.
 58. Heslop HE, Ng CY, Li C, et al. Long-term restoration of immunity against Epstein-Barr virus infection by adoptive transfer of gene-modified virus-specific T lymphocytes. *Nat Med* 2:551-555, 1996.
 59. Dunbar C, Kohn D. Retroviral mediated transfer of the cDNA for human glucocerebrosidase into hematopoietic stem cells of patients with Gaucher disease. A phase I study. *Hum Gene Ther* 7:231-253, 1996.
 60. Woffendin C, Ranga U, Yang Z, et al. Expression of a protective gene-prolongs survival of T cells in human immunodeficiency virus-infected patients. *Proc Natl Acad Sci U S A* 93:2889-2894, 1996.
 61. Toneguzzo F, Hayday AC, Keating A. Electric field-mediated DNA transfer: transient and stable gene expression in human and mouse lymphoid cells. *Mol Cell*

- Biol 6:703-706, 1986.
62. Ohtani K, Nakamura M, Saito S, et al. Electroporation: application to human lymphoid cell lines for stable introduction of a transactivator gene of human T-cell leukemia virus type I. *Nucleic Acids Res* 17:1589-1604, 1989.
 63. Harui A, Suzuki S, Kochanek S, et al. Frequency and stability of chromosomal integration of adenovirus vectors. *J Virol* 73:6141-6146, 1999.
 64. Hanazono Y, Brown KE, Dunbar CE. Primary T Lymphocytes as Targets for Gene Therapy. *J Hematother Stem Cell Res* 9:611-622, 2000.
 65. Markowitz D, Goff S, Bank A. Construction and use of a safe and efficient amphotropic packaging cell line. *Virology* 167 : 400-406, 1988.
 66. 渡辺 格、福見秀雄 編集. ウイルスの研究 181、1984.
 67. Weiss R, et al. RNA TUMOR VIRUSES, 901-911, 1982.
 68. Miller AD, Rosman GJ. Improved retroviral vectors for gene transfer and expression. *Biotechniques* 7:980-990, 1989.
 69. Markowitz D, Goff S, Bank A. A safe packaging line for gene transfer: separating viral genes on two different plasmids. *J Virol* 62:1120-1124, 1988.
 70. Garin MI, Garrett E, Tiberghien P, et al. Molecular mechanism for ganciclovir resistance in human T lymphocytes transduced with retroviral vectors carrying the herpes simplex virus thymidine kinase gene. *Blood* 97:122-9, 2001.
 71. 早川堯夫、山崎修道、延原正弘 編集、バイオ医薬品の品質・安全性評価 第2部、第1章、第1節 レトロウイルスベクター, 351-363.
 72. Chong H, Vile RG. Replication-competent retrovirus produced by a 'split-function' third generation amphotropic packaging cell line. *Gene Therapy* 3:624-629, 1996.
 73. Garrett E, Miller AR, Goldman JM, et al. Characterization of recombination events leading to the production of an ecotropic replication-competent retrovirus in a GP+env12-derived producer cell line. *Virology* 266:170-179, 2000.
 74. Hacein-Bey-Abina S, Von Kalle C, Schmidt M, et al. LM02-associated clonal T cell proliferation in two patients after gene therapy for SCID-X1. *Science* 302:415-419, 2003.
 75. Check E. Gene therapy put on hold as third child develops cancer. *Nature* 433:561, 2005.
 76. Commentary from the Board of the European Society of Gene and Cell Therapy (ESGCT) Fourth case of leukaemia in the first SCID-X1 gene therapy trial, and the diversity of gene therapy.

77. Thrasher A and Gaspar B. Severe Adverse Event in Clinical Trial of Gene Therapy for X-SCID. (http://www.esgct.org/upload/X-SCID_statement_AT.pdf) December 18, 2007.
78. Board of the European Society of Gene and Cell Therapy, Executive Committee of the Clinigene Network of Excellence, Executive of the Consort Integrated Project. Case of Leukaemia Associated with X-Linked Severe Combined Immunodeficiency Gene Therapy Trial in London. *Hum Gene Ther* 19(1):3-4, 2008.
79. Williams DA. An international conversation on Stem Cell Gene Therapy. 4th Stem Cell Conference on Stem Cell Gene Therapy, Thessaloniki, Greece, 13-17 September 2007. *Mol Ther* 15(12):2058-2059, 2007.
80. Fischer A, and Cavazzana-Calvo M. Gene therapy of inherited diseases. *Lancet* 371:2044-2047, 2008.
81. Aiuti A, Cattaneo F, Galimberti S, et al. Gene therapy for immunodeficiency due to adenosine deaminase deficiency. *N Engl J Med* 360(5):447-458, 2009.
82. Bonini C, Ferrari G, Verzeletti S, et al. HSV-TK gene transfer into donor lymphocytes for control of allogeneic graft-versus-leukemia. *Science* 276:1719-1724, 1997.
83. Ciceri F, Bonini C, Markt S, et al. Anti-tumor effect of HSV-TK engineered donor lymphocytes after allogeneic stem cell transplantation. *Blood* 109(11):4698-4704, 2007.
84. Ciceri F, Bonini C, Markt S, et al. HSV-TK engineered donor lymphocytes provide early immune reconstitution after haplo-identical hemopoietic stem cell transplantation. Paper presented at presidential symposium from European Group for Blood and Marrow Transplantation (EBMT) Annual Meeting (Istanbul, EBMT), 2003.
85. Bonini C, Ciceri F, Apperley J, et al. HSV-TK engineered donor lymphocytes provide early immune reconstitution and control of GVHD after haplo-identical hemopoietic stem cell transplantation. *Blood* 102(11): Abstract #534, 2003.
86. Ciceri F, Bonini C, Bondanza Z, et al. Early immune reconstitution and abrogation of GVHD after infusion of HSV-TK engineered donor lymphocytes after haplo-identical hemopoietic stem cell transplantation. American Society of Clinical Oncology Annual Meeting, Abstract #6515, 2004.
87. Tiberghien P, Ferrand C, Lioure B, et al. Administration of herpes simplex-thymidine kinase-expressing donor T cells with a T-cell-depleted

- allogeneic marrow graft. *Blood* 97:63-72, 2001.
88. Li Z, Dullmann J, Schiedlmeier, et al. Murine leukemia induced by retroviral gene marking. *Science* 296:497, 2002.
 89. Reisner Y, Bachar-Lustig E, Li HW, et al. The role of megadose CD34+ progenitor cells in the treatment of leukemia patients without a matched donor and in tolerance induction for organ transplantation. *Ann N Y Acad Sci* 872:336-348; discussion 348-350, 1999.
 90. Handgretinger R, Schumm M, Lang P. Transplantation with megadoses of haploidentical mobilized stem cells highly purified by magnetic-activated cell sorting. *Blood* 92:688a, 1998.