

レトロウイルスベクターMS-bPaを用いた遺伝子導入Tリンパ球調製は、以下に示す標準操作法に従い調製される。

第0日：患者投与に必要な遺伝子導入細胞数 (2×10^8 個、 1×10^9 個、又は 5×10^9 個) から、培養ユニットを決定し、培養ユニットに応じた以下の個数を満たす患者リンパ球を採取し、遺伝子導入細胞の調製に使用する。

培養ユニット数	1	4
患者投与に必要な遺伝子導入細胞数 (個)	2×10^8 個又は 1×10^9 個	5×10^9 個

患者からのリンパ球と血漿の採取は、三重大学医学部附属病院輸血部において、血液成分分離装置 COBE SPECTRA (GAMBRO BCT 社) を用いて実施する。

採取された患者リンパ球を細胞調製施設内に持ち込み、セルプロセッサを用いて患者リンパ球の濃縮と PBS/11.8% ACD-A 溶液による洗浄を行った後、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、600 IU/mL rhIL-2、1%非働化患者血漿、0.2% HSA 及び $2.5 \mu\text{g/mL}$ アムホテリシンB含有。] に患者リンパ球を $1(\pm 0.1) \times 10^6$ 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°C 、5% CO_2 インキュベーター内にて培養を開始する。

遺伝子導入用バッグにレトロネクチン CH-296 ($20 \mu\text{g/mL}$) を添加して薬用保冷庫にて保存する。

基本培地 GT-T503 の組成及びレトロネクチン CH-296 の試験成績書を参考資料 10-1 及び 10-2 に示す。

第2日：レトロネクチン CH-296 を添加した遺伝子導入用バッグを PBS で洗浄した後に、レトロウイルスベクターMS-bPa を添加 (30 mL/バッグ) する。 $2,000 \times g$ 、 32°C 、2 時間遠心した後に、MS-bPa を除き 1.5% HSA/PBS で洗浄した後に、同液を保存液として添加し薬用保冷庫にて保存する。

第3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、遠心分離機にて $500 \times g$ 、 $32 \pm 3^\circ\text{C}$ で 20 分間遠心し、細胞を濃縮・回収する。レトロウイルスベクターMS-bPa 結合バッグの保存液を捨てる。ここに活性化 T リンパ球懸濁液を添加し、 $1,000 \times g$ 、 $32 \pm 3^\circ\text{C}$ で 10 分間遠心する。遺伝子導入操作後、4 時間、5% CO_2 インキュベーターで培養した後、細胞を回収し、新鮮な培養用培地にて $1(\pm 0.1) \times 10^6$ 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°C 、5% CO_2 インキュベーター内にて培養を開始する。

第4日：第3日と同様の遺伝子導入操作を行う。遺伝子導入操作後の細胞濃度は $0.5(\pm 0.05)$

×10⁶個/mLにて培養する。

第7～9日：セルプロセッサを用いて細胞の洗浄と濃縮をRPMI1640で行い、1.6～10×10⁷細胞/mLとなるようにRPMI1640に懸濁する。その後、HSA含CP-1と1:1の割合で混合する。HSA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後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。また、同懸濁液の一部を凍結保存後の細胞生存率試験用に凍結保存用バイアルに分注し同様に凍結保存する。RPMI1640及びCP-1の組成を参考資料10-3及び10-4に示す。

投与前：凍結保存後の細胞生存率試験として、凍結保存バイアルをディープフリーザー（-80℃）より取り出し、37℃温浴にて急速に解凍した後、遺伝子導入Tリンパ球生存率を測定する。

投与日：凍結保存バッグにて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

遺伝子導入される細胞は、OKT3により活性化され増殖期にある患者自己由来のTリンパ球である。健常人末梢血リンパ球を用いた細胞調製では、遺伝子導入後の細胞中の遺伝子導入細胞の比率は20%程度であり（参考資料11「遺伝子導入細胞試験成績書」参照）、Tリンパ球が95%以上を占め、若干のBリンパ球が含まれていた（参考資料12「遺伝子導入調製細胞構成」参照）。患者に投与される細胞中にも、遺伝子導入されていないTリンパ球やその他の細胞が混在すると予測されるが、もともと患者末梢血中にあった細胞であり問題ないと考えられる。また、仮にTリンパ球以外に遺伝子導入された場合には、発現したTCR分子は受容体としての機能を発揮しないと考えられることから、生体への影響が発生する可能性は低いと考えられる。

遺伝子導入により、導入遺伝子の本来の機能とは関係なく移入細胞の腫瘍化を誘導する確率が一定程度に存在すると考えられる。ただし造血幹細胞以外の細胞に遺伝子導入された場合には、血液系細胞はいずれもその生理的寿命が限られていることから腫瘍が発生する確率は極めて低いと考えられる。なお、造血幹細胞の混入については、①培養開始時点の患者末梢血リンパ球中の造血幹細胞の比率は極めて低いこと（通常0.1%以下）、②Tリンパ球を活性化させる今回の培養条件ではレトロウイルス感染時に造血幹細胞が分裂増殖している可能性が極めて低いこと、③造血幹細胞の増殖に必要なサイトカイン等を含まない条件で増殖培養されることを総合すると、遺伝子導入された造血幹細胞が混入する可能性は極めて低いと考えられる。実際に、健常人末梢血リンパ球を用いた細胞調製では、遺伝子導入後の細胞中のCD34陽性細胞の比率は0.1%未満（検出限界以下）であった（参考資料12「遺伝子導入調製細胞構成」参照）。一方、レトロウイルスベクターでの遺伝子導入に

より白血病発症が認められた、CD34 陽性細胞を遺伝子導入の標的細胞としたフランス及びイギリスの X-SCID 遺伝子治療では、抗 CD34 抗体を用いて純化した CD34 陽性細胞を用いて、FLT3 リガンド、IL-3 及び幹細胞因子等のサイトカインを加えた条件で培養されており（参考資料 13「FDA CBER CTGTAC, March 4, 2005. Table 1」参照）、今回の遺伝子導入細胞の培養条件とは大きく異なっている。ただし、万が一、造血幹細胞に遺伝子導入された場合には腫瘍発生のリスクを否定できないことから、投与後の遺伝子導入細胞のクローン増殖をモニタリングする予定である。

培養細胞間の相互汚染及び取違えを防ぐために、細胞調製施設内の同一の部屋で同時に複数バッチの細胞調製は行わない。また、微生物の汚染を防ぐために、全ての操作は P2 レベルの細胞調製施設内で行う。細胞やレトロウイルスベクター等が作業エリア内の空気に直接暴露される操作は清浄度クラス 100、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とともにレトロウイルスベクター MS-bPa の環境中への拡散を防止する。

また、細胞培養の際に使用する OKT3 の洗浄後の残留濃度は極めて微量であり、これらの刺激性物質が生体に及ぼす影響は限りなく少ない。

TCR 遺伝子導入リンパ球は、三重大学医学部内に設置した P2 レベルの細胞調製施設において調製され、以下「VII. 3. 4 被験者に投与する細胞の安全性」に記載の試験によって品質が担保される。

VII. 3. 3 細胞の遺伝子型、表現型の安定性

遺伝子導入細胞調製にあたっては、患者リンパ球を OKT3 により刺激した後にレトロウイルスベクターを用いた遺伝子導入を行うとともに、*ex vivo* での培養を行う。

リンパ球と遺伝子導入細胞の遺伝子型の違いは、後者には TCR α 鎖及び β 鎖の遺伝子が導入されていること、及び、レトロウイルスベクター MS-bPa のプロウイルス配列が染色体内のランダムな位置に挿入されていることである。本臨床研究で遺伝子導入する細胞は成人 PBL であり、挿入変異によって細胞の癌化が起きる可能性は大変低いと考えられるが完全には否定できないので、LAM-PCR によるモニタリングを行う予定である（「VII. 1. 8 癌原性の有無」参照）。

OKT3 で刺激することによって CD3 陽性細胞が活発に増殖し、その結果として CD3 陽性細胞の割合が増加する。また、一般にリンパ球を *ex vivo* で培養すると CD4 陽性細胞の割合が減少し、CD8 陽性細胞の割合が増加する。しかし、培養後の細胞集団を構成する個々の細胞のサブタイプは末梢血中に存在するものであり、これを患者に投与しても安全性に問題はないと考えられる。

2002 年のフランスの Sauce らによる報告では、リンパ球を含む PBMC を OKT3 や IL-2 を含む培地で *ex vivo* にて培養するとリンパ球表面の CD4/CD8 の比率は減少し、CD62L、CCR7、CD45RA、CD27、CD28 の発現も徐々に低下する。代わりに、CD45RO、CD25、CD154、CD40、CD80、CD86、CD95、HLA-DR 等の発現は増大する。ただし、レトロウイルスベクターの感染による

リンパ球の表現型の変化は特に認められないことを報告している(70)。

ex vivo で培養したリンパ球や TCR 遺伝子を導入したリンパ球を用いた Rosenberg SA らの臨床研究では、移入 T 細胞の安全性に対する問題は報告されていない(9, 13, 71, 72)。さらに、レトロウイルスベクターにより TCR 遺伝子を導入した臨床試験では、6 日から 9 日という比較的短期間の ex vivo 培養 T リンパ球の群において移入 T リンパ球が患者生体内で長期間観察されたことが報告されている(13)。本計画においても T リンパ球の培養期間はこれと同程度に抑えている。

VII. 3.4 被験者に投与する細胞の安全性

被験者に投与する細胞は、レトロウイルスベクターMS-bPa により TCR α 鎖及び β 鎖遺伝子を導入した被験者個人由来の T リンパ球である。細胞調製の際に用いられる培地の成分、レトロウイルスベクターMS-bPa の成分、種々の試薬、抗体等に関しては、遺伝子導入細胞を凍結保存する前に RPMI1640 で十分に洗浄される。そのため被験者に投与される量は極めて少なく、これらが直接影響を及ぼすことはないと考えられるが、細胞調製終了後、培養上清又は凍結保存専用バッグに充填する前の細胞懸濁液を検体として採取し、以下の試験を行うことにより品質を担保する（品質試験方法の概要を参考資料 14「遺伝子導入リンパ球の品質試験」に、健常人リンパ球での試験調製での結果を参考資料 11「遺伝子導入細胞試験成績書」に示す）。全ての品質試験結果が得られて安全性が確認されるまで遺伝子導入細胞は凍結保存され、安全性が確認された後に使用される。

1. マイコプラズマ否定試験（PCR 法）
2. RCR 試験（RT-PCR 法）
3. 無菌試験（日本薬局方）
4. エンドトキシン試験（日本薬局方）
5. 細胞生存率試験（トリパンブルー）
6. 細胞数試験
7. 遺伝子導入効率試験
8. 導入遺伝子の機能試験

被験者への投与の際は、凍結保存専用バッグ中に凍結された細胞懸濁液を投与直前に 37°C 温浴にて急速に解凍し、RPMI1640 培地と HSA 含 CP-1 とが 1:1 の割合で混合された細胞懸濁液として静脈内投与される（生理食塩水の追加により投与液量を調整する場合がある）。

なお、品質試験の検体を採取した後の工程としては、閉鎖系操作による凍結保存専用バッグへの充填、凍結、解凍、及び閉鎖系操作による輸注用バッグ又は注射器への移し替えであり、不純物混入のリスクは極めて低いと考えられる。また、凍結・解凍による細胞生存率の低下については、凍結保存専用バッグに充填する前の細胞懸濁液を別途バイアルに

凍結保存し、投与日以前に細胞生存率を測定することにより確認する。

Ⅶ. 4 ペプチドの安全性

Ⅶ. 4. 1 MAGE-A4₁₄₃₋₁₅₁ ペプチドの純度

本臨床研究に用いられる MAGE-A4₁₄₃₋₁₅₁ ペプチドは米国 NeoMPS 社において GMP 準拠で製造された。その製造工程の概略と品質試験の結果を参考資料 15「ペプチド製造工程・品質試験報告書」に示す。その純度は逆相 HPLC による解析により 98.3%であった。またエンドトキシンは 0.100 EU/mg 未満であり、無菌試験により無菌性が確認されている。

Ⅶ. 4. 2 MAGE-A4₁₄₃₋₁₅₁ ペプチドの安全性

腫瘍ワクチンの臨床試験はこれまでに国内外ですでに主要なものだけでも 1,300 名以上の対象者につき報告されている(73)。その中でも CTL 認識腫瘍抗原ペプチドを用いた臨床研究は最も多数行われており、米国の Rosenberg らのグループだけでも 2004 年の時点で総数 381 名の患者に腫瘍抗原ペプチドワクチンを投与している(73)。しかしながらこれら CTL 認識腫瘍抗原ペプチドについて、現在までに重篤な副作用の報告はない(29)。軽微な副作用として、皮膚反応(注射部位の発赤、腫脹)、微熱、倦怠感等が報告されている。本臨床研究に用いられる MAGE-A4₁₄₃₋₁₅₁ ペプチドはラットにおける単回皮下投与毒性試験を実施した(株式会社三菱化学安全科学研究所 熊本研究所、熊本県宇土市栗崎町 1285 番地)。ヒトへの投与量として予定している 300 $\mu\text{g}/\text{body}$ を投与した結果、一般状態の変化及びペプチド投与に関連する体重の変化は認められず、また病理学的検査においても異常は認められなかった。(参考資料 16「ラット単回皮下投与急性毒性試験」参照。MAGE-A4₁₄₃₋₁₅₁ ペプチドは資料中「MAGE-A4-A24」に該当)。以上より MAGE-A4₁₄₃₋₁₅₁ ペプチドの投与において重篤な副作用が出現する可能性は極めて小さいと考えられる。なお、有害事象が発現した場合には、「IX. 5. 5. 3 ペプチド投与に伴う副作用」に従い、適切な処置を施す。

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臨床ニーズ

再発食道癌の患者の50%生存期間は約6ヶ月である。さらに、化学療法等の治療に抵抗性となれば、もっぱら栄養管理等の緩和医療以外の手立てがないのが現状である。本臨床研究は、絶対予後不良かつ他に有効な治療法がない患者を対象としており、このような患者に対する有効な治療手段開発の臨床ニーズが存在する。

②本臨床研究の品質・安全性

本臨床研究は、腫瘍抗原 MAGE-A4 を認識する CTL クローン由来の TCR 遺伝子をレトロウイルスベクターにより遺伝子導入した自己リンパ球を患者に投与する。この製造過程は十分に確立され、また、調製された輸注用の TCR 遺伝子導入リンパ球の品質は、調製時毎に確保される。

本臨床研究で遺伝子導入する細胞は、小児由来の造血幹細胞ではなく、成人末梢血由来の T リンパ球であり、T リンパ球への遺伝子導入の場合、レトロウイルスベクターによる癌化のリスクは極めて低く、対象疾患（治療抵抗性食道癌）とのリスク・ベネフィットを総括すると、レトロウイルスベクターを使用した遺伝子治療の施行に問題はない。

免疫不全マウスに TCR 遺伝子導入ヒトリンパ球を投与した安全性比較試験において、対照とした非遺伝子導入ヒトリンパ球投与群と比較して、TCR 遺伝子導入ヒトリンパ球投与群に特異的な毒性所見は観察されなかった（添付資料、47 ページ）。

レトロウイルスベクターによる遺伝子導入で同様にして調製された、他の腫瘍抗原を認識する TCR 遺伝子導入リンパ球のヒトへの投与は、NIH の Rosenberg SA らのグループで既の実績があり(13)、調製された TCR 遺伝子導入リンパ球の品質に起因する有害事象の報告はない（添付資料、54 ページ）。

③本臨床研究の期待される有効性

当施設で調製された MAGE-A4 TCR 遺伝子導入リンパ球は、MAGE-A4 陽性・HLA-A2402 陽性のヒト腫瘍細胞株に対して特異的な細胞傷害活性を示すことが *in vitro* において確認されている（添付資料、38 ページ）。また、免疫不全マウスに MAGE-A4 陽性・HLA-A2402 陽性のヒト腫瘍細胞株を接種したモデル実験において、TCR 遺伝子導入ヒトリンパ球投与群に特異的な腫瘍径増大の抑制効果が認められた（添付資料、42 ページ）。

NIH の Rosenberg SA らは、転移性悪性黒色腫患者 17 例に腫瘍抗原 MART-1 の TCR 遺伝子導入リンパ球を投与する遺伝子治療臨床研究を行った結果、2 例（12%）に PR (partial response : 部分奏効) を認めており(13)（添付資料、54 ページ）、本臨床研究においても同

様の抗腫瘍効果が見込まれる可能性がある。

④当施設・研究者の能力

当施設内に設置された細胞調製施設は GMP 準拠で運営・管理される体制にあり、TCR 遺伝子導入リンパ球は同基準に準拠して調製される。

本臨床研究の研究者は、遺伝子ベクター調製、リンパ球アフェレーシス、遺伝子導入、細胞培養、品質管理及び当施設における腫瘍抗原由来ペプチドワクチン臨床試験の経験者により構成される。

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三重大学医学部附属病院内に設置される委員会

遺伝子治療臨床研究審査委員会に安全・効果評価・適応判定部会及び遺伝子製剤検証部会を設置する。

上記の委員会・部会の運営に関しては、別途作成の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審査委員会安全・効果評価・適応判定部会

安全・効果評価・適応判定部会は、本臨床研究の安全性及び効果並びに被験者の適応性に関する具体的事項について評価及び判定を行い、その適否及び留意事項、改善事項等について遺伝子治療臨床研究審査委員会に意見を提出する。

1) 適格性評価

一次登録後に各患者が選択基準を全て満たし、かつ除外基準のいずれにも抵触しないことを確認し、本臨床研究の対象患者として適当かどうかを判定する。

2) 用量増加における評価

各コホートの全被験者における day35 までのデータをもとにコホートごとの安全性を判定する。安全性に問題がないと判定された場合、次のコホートに移行する。

3) 重篤な有害事象発現時の対応

重篤な有害事象が発現した場合、本臨床研究との因果関係並びに本臨床研究継続の可否について判定する。

4) 臨床研究の総合判定

全被験者における臨床研究が終了した後、全被験者のデータをもとに本臨床研究の安全性並びに効果について総合的に判定する。

IX. 1. 1. 2 遺伝子治療臨床研究審査委員会遺伝子製剤検証部会

遺伝子製剤検証部会は、本臨床研究に用いる遺伝子導入細胞製剤の検証及びその品質の評価を行い、その結果を遺伝子治療臨床研究審査委員会に提出する。

IX. 1.2 本臨床研究の実施手順

本臨床研究の治療計画は以下の図 14 のとおりである。

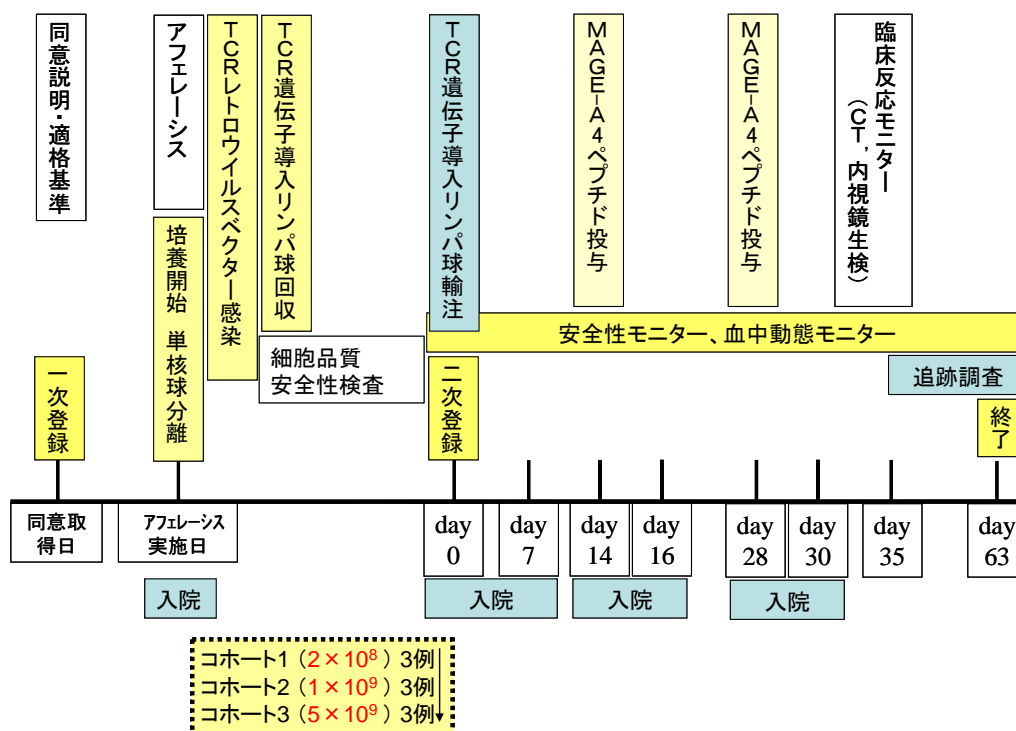


図 14 TCR 遺伝子導入リンパ球調製及び輸注計画

治療抵抗性食道癌患者より一次登録時の選択基準・除外基準に適合する患者を選定し、本臨床研究への一次登録を行う。

アフェレーシスにて採取した自己 PBL に MAGE-A4₁₄₃₋₁₅₁ ペプチドを認識する TCR α 鎖及び β 鎖遺伝子をレトロウイルスベクターにて導入し、得られた TCR 遺伝子導入リンパ球を ex vivo 培養し、一旦凍結保存する。

TCR 遺伝子導入リンパ球の調製を終了し、安全性を確認した時点で、二次登録時の選択基準・除外基準に適合する患者を選定し、本臨床研究への二次登録を行う。

TCR 遺伝子導入リンパ球（単回投与）を経静脈的に投与する。

1 日投与量 $300 \mu\text{g}$ の MAGE-A4₁₄₃₋₁₅₁ ペプチドと不完全フロイントアジュバントとの懸濁液を、TCR 遺伝子導入リンパ球投与日を 0 日として 14 日目及び 28 日目の 2 日間の計 2 回、皮下投与する。

追跡調査を行った後、本遺伝子治療の安全性（有害事象、臨床検査、RCR、LAM-PCR）、TCR 遺伝子導入リンパ球の血中動態及び腫瘍組織への浸潤、腫瘍特異的免疫反応及び腫瘍縮小効果を評価する。

TCR 遺伝子導入リンパ球投与後 63 日目に本臨床研究を終了とする。

TCR 遺伝子導入リンパ球数の設定

投与する TCR 遺伝子導入リンパ球数は 1 回投与量 2×10^8 個、 1×10^9 個、 5×10^9 個の各コホート別とする。各コホートは 3 例とし、1 回投与量を 1×10^9 個、 5×10^9 個へと増加させる。

腫瘍浸潤リンパ球や T 細胞クローンを体外で増殖後に投与する自家培養リンパ球輸注が米国を中心に行われ、 $3 \times 10^9 \sim 4 \times 10^{11}$ 個のリンパ球が投与され細胞輸注に起因する重篤な有害事象の報告はない(9, 74)。また、TCR 遺伝子導入リンパ球を投与する類似研究 (NIH、米国) では、17 例において 1×10^9 以上 ($1 \times 10^9 \sim 8.6 \times 10^{10}$; 中央値 7×10^9) のリンパ球が 1 回に静脈内投与され、投与リンパ球に起因する重篤な有害事象の報告はない (添付資料、54 ページ)。本計画では安全性を評価するために、その投与数より少ない 2×10^8 個のリンパ球数を初期投与数と設定した。また、臨床試験のプロトコールに従うと、体外にて遺伝子導入細胞調製時に培養増殖される細胞数が 1×10^{10} 程度と予想されるため、調製し投与可能な最大リンパ球数を 5×10^9 個と設定した。

投与量増加基準は、以下のとおりとする (有害事象のグレードについては「IX. 5. 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」参照)。

- 1) 3 例のうち 1 例も「本治療との因果関係を否定できないグレード 3 以上の有害事象」が発現しなかった場合、次のコホートに 3 例が登録される。
- 2) 3 例のうち 1 例に「本治療との因果関係を否定できないグレード 3 以上の有害事象」が発現した場合、同じコホートに 3 例が登録される。
- 3) 3 例のうち 2 例又は 3 例に「本治療との因果関係を否定できないグレード 3 以上の有害事象」が発現した場合、投与量の増加はそこで中止される。
- 4) 上記 2) に従った後、6 例のうち 1 例に「本治療との因果関係を否定できないグレード 3 以上の有害事象」が発現した場合、投与量の増加は続けられる。
- 5) 上記 2) に従った後、6 例のうち 2 例以上に「本治療との因果関係を否定できないグレード 3 以上の有害事象」が発現した場合、投与量の増加はそこで中止される。

IX. 2 被験者の選択基準及び除外基準

IX. 2. 1 一次登録

患者より文書にて同意を取得する。一次登録時の選択基準を全て満たし、かつ除外基準のいずれにも抵触しないことを確認し、登録を行う。

IX. 2. 1. 1 選択基準 (一次登録)

以下の全ての基準を満たす患者を対象とする。

- 1) 組織診で確定診断の得られた食道癌の患者
- 2) 根治切除不能かつ標準的な治療法 (化学療法、放射線療法等) 抵抗性となった臨床病

期Ⅲ期あるいはⅣ期（TNM分類）の食道癌患者、又は術後あるいは初回放射線化学療法後に再発転移をきたし治療抵抗性となった食道癌患者

- 3) HLA-A2402 陽性の患者
- 4) PCR 法にて腫瘍組織に MAGE-A4 発現が確認* されている患者
- 5) 画像診断等による臨床効果判定に必要とされる測定可能な腫瘍病変を有する患者
- 6) ECOG Performance Status 0~1 の患者
- 7) 本臨床研究参加時点の年齢が 20 歳以上 75 歳以下の患者
- 8) 細胞採取時に前治療（手術、化学療法、放射線療法）終了から 4 週間以上の経過が見込める患者
- 9) 同意取得後 4 ヶ月以上の生命予後が見込める患者
- 10) 主要臓器（骨髄、心、肺、肝、腎等）に高度な障害がなく、臨床検査が以下の基準を満たす患者
 - ・白血球数 $\geq 3,000/\text{mm}^3$
 - ・好中球数 $\geq 1,500/\text{mm}^3$
 - ・ヘモグロビン $\geq 8.0 \text{ g/dL}$
 - ・血小板数 $\geq 100,000/\text{mm}^3$
 - ・総ビリルビン (T-Bil) $\leq 2.0 \text{ mg/dL}$
 - ・AST (GOT)、ALT (GPT) $\leq 150 \text{ IU/dL}$
 - ・クレアチニン (Cr) $\leq 2.0 \text{ mg/dL}$
 - ・動脈血酸素分圧 70torr 以上、または動脈血酸素飽和度 94%以上
- 11) 免疫組織染色法にて腫瘍組織に HLA クラス I 分子発現が確認されている患者
- 12) 治療内容を理解し、本人の自由意思による同意を文書で得られた患者

*: 試験方法は参考資料 17 「MAGE-A4 抗原発現検査プロトコール」参照。MAGE-A4 発現陽性の判断基準は、定量的 RT-PCR 法により GAPDH 発現 10,000 コピー当たり MAGE-A4 発現が 50 コピー以上とする。

IX. 2. 1. 2 除外基準（一次登録）

以下のいずれかの基準に抵触する患者は除外する。

- 1) 以下の重篤な合併症を有する患者
 - ・不安定狭心症、心筋梗塞又は心不全
 - ・コントロール不良な糖尿病又は高血圧症
 - ・活動性の感染症
 - ・胸部 X 線検査による明らかな間質性肺炎又は肺線維症
 - ・自己免疫疾患
 - ・出血傾向（プロトロンビン時間 (PT) < 50%、活性化トロンボプラスチン時間 (APTT)

>60 sec、フィブリノゲン (Fbg) <100 mg/dL、フィブリン分解産物 (FDP) >20 μ g/mL)

・血栓形成傾向

- 2) 重篤な過敏症の既往歴を有する患者
- 3) HBs 抗原、HCV 抗体、HIV 抗体、HTLV-1 抗体のいずれかが陽性である患者
- 4) コントロール不能な胸水・腹水・心嚢水を有する患者
- 5) 制御困難な脳内転移を有する患者
- 6) 副腎皮質ステロイド剤又は免疫抑制剤を全身投与中の患者
- 7) MAGE-A4₁₄₃₋₁₅₁ ペプチド投与に適さない患者 (例えば MAGE-A4₁₄₃₋₁₅₁ ペプチドの成分、アジュバントに対して過敏症の既往を有する患者)
- 8) 本臨床研究参加への同意に影響を及ぼすような精神疾患、薬物依存症等の疾患を有する患者
- 9) 妊娠中、授乳中、妊娠している可能性のある女性又は妊娠を希望している女性患者。又は挙子希望の男性患者 (ただし、遺伝子治療前に精子を凍結保存し、その精子を用いて子供をもうける場合は該当しない)
- 10) 一次登録前 4 ヶ月以内に他の臨床試験 (臨床研究) に参加している患者
- 11) その他、総括責任者又は分担研究者が不相当と認めた患者

IX. 2. 2 二次登録

一次登録した患者における TCR 遺伝子導入リンパ球の調製が終了した後、再度患者より文書にて同意を取得する。二次登録時の選択基準を全て満たし、かつ除外基準のいずれにも抵触しないことを確認し、登録を行う。

IX. 2. 2. 1 選択基準 (二次登録)

以下の全ての基準を満たす患者を対象とする。

- 1) 本臨床研究における最小輸注量 (2×10^8 個) の TCR 遺伝子導入リンパ球が得られた患者
- 2) 画像診断等による臨床効果判定に必要なとされる測定可能な腫瘍病変を有する患者
- 3) ECOG Performance Status 0~1 の患者
- 4) 主要臓器 (骨髄、心、肺、肝、腎等) に高度な障害がなく、臨床検査が以下の基準を満たす患者

・白血球数	$\geq 3,000/\text{mm}^3$
・好中球数	$\geq 1,500/\text{mm}^3$
・ヘモグロビン	$\geq 8.0 \text{ g/dL}$
・血小板数	$\geq 100,000/\text{mm}^3$
・総ビリルビン (T-Bil)	$\leq 2.0 \text{ mg/dL}$
・AST (GOT)、ALT (GPT)	$\leq 150 \text{ IU/dL}$
・クレアチニン (Cr)	$\leq 2.0 \text{ mg/dL}$

- ・動脈血酸素分圧 70torr 以上、または動脈血酸素飽和度 94%以上
- 5) 一次登録後に同意撤回がなく、治療内容を理解し、本人の自由意思による同意を文書で得られた患者

IX. 2. 2. 2 除外基準（二次登録）

以下のいずれかの基準に抵触する患者は除外する。

- 1) 以下の重篤な合併症を有する患者
 - ・不安定狭心症、心筋梗塞又は心不全
 - ・コントロール不良な糖尿病又は高血圧症
 - ・活動性の感染症
 - ・胸部 X 線検査による明らかな間質性肺炎又は肺線維症
 - ・自己免疫疾患
 - ・出血傾向（プロトロンビン時間 (PT) <50%、活性化トロンボプラスチン時間 (APTT) >60 sec、フィブリノゲン (Fbg) <100 mg/dL、フィブリン分解産物 (FDP) >20 μ g/mL)
 - ・血栓形成傾向
- 2) 重篤な過敏症の既往歴を有する患者
- 3) コントロール不能な胸水・腹水・心嚢水を有する患者
- 4) 制御困難な脳内転移を有する患者
- 5) 副腎皮質ステロイド剤又は免疫抑制剤を全身投与中の患者
- 6) MAGE-A4₁₄₃₋₁₅₁ ペプチド投与に適さない患者（例えば MAGE-A4₁₄₃₋₁₅₁ ペプチドの成分、アジュバントに対して過敏症の既往を有する患者）
- 7) 本臨床研究参加への同意に影響を及ぼすような精神疾患、薬物依存症等の疾患を有する患者
- 8) 妊娠中、授乳中、妊娠している可能性のある女性又は妊娠を希望している女性患者。又は挙子希望の男性患者（ただし、遺伝子治療前に精子を凍結保存し、その精子を用いて子供をもうける場合は該当しない）
- 9) その他、総括責任者又は分担研究者が不相当と認めた患者

IX. 3 被験者の同意の取得方法

本臨床研究の開始に先立ち、総括責任者又は分担研究者は被験者の同意を得るに際し、三重大学医学部附属病院内に設置された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（X. 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（文書による同意取得は一次登録時及び二次登録時の計 2 回行う）。なお、同意を取得する前には、質問する機会と本臨床研究に参加するか否かを判断するのに十分な時間を被験者本人に与え、全ての質問に対して被験者が満足するように答えるものとする。また、二次登録時の説明の際は、総括責

任者又は分担研究者と利害関係のない三重大学医学部附属病院の治験コーディネーター等が説明補助を行うものとする。

1. はじめに
2. 臨床研究について
3. あなたの食道癌について
4. 遺伝子治療臨床研究の概要について
5. TCR 遺伝子治療臨床研究の海外での状況について
6. 臨床研究の方法
7. 参加できる方、参加できない方
8. 臨床研究のスケジュール
9. 期待される効果
10. 予想される危険性および副作用
11. 臨床研究への参加予定期間
12. 臨床研究への参加患者数
13. 他の治療法について
14. 臨床研究への参加の自由と、参加の取りやめについて
15. 健康被害の補償について
16. 新たな情報のお知らせについて
17. 遺伝子治療臨床研究の中止について
18. あなたに守っていただきたいこと
19. あなたの費用負担について
20. 個人情報の保護について
21. 個人情報の第三者への提供の制限について
22. 個人情報の開示、訂正、利用停止や問い合わせ・相談・苦情の窓口について
23. 緊急連絡先およびお問い合わせ先について
24. 遺伝子治療臨床研究の名称と実施組織体制