

<p>する。その他にも抗ウイルス薬など病態に適した治療が存在する場合は、それを併用する。そして、上記検査がすべて陰性化するまで患者を外界との接触を断った個室にて管理する（「遺伝子組み換え生物等の規制による生物の多様性の確保に関する法律」に基づく）。その過程でリンパ腫を含む異常細胞の増殖が確認された場合、種々の検査の基に最適な治療法を選択し、治療を開始する。患者細胞を用いた検査にて陰性と判明した場合でも定期的に野生型ウイルスの存在を確認する。</p>	<p>陰性と判明した場合でも定期的に野生型ウイルスの存在を確認する。</p>
<ol style="list-style-type: none"> 1. 無菌性（細菌、真菌、マイコプラズマ） 2. 細胞の RCR テスト（<u>逆転写酵素活性、env 遺伝子、Mus dunni 細胞との共培養後の PG-4 STL テスト</u>；治療開始時の RCR の存在は逆転写酵素活性、env 遺伝子の有無によって判定する。） 3. 上清中の RCR テスト（<u>逆転写酵素活性、env 遺伝子、Mus dunni 細胞との共培養後の PG-4 STL テスト</u>；治療開始時の RCR の存在は逆転写酵素活性、env 遺伝子の有無によって判定する。） 4. <u>Flow cytometry</u> によるドナー細胞の Δ LINGFR 発現 5. エンドトキシン (LAL、gelation test) 6. 細胞状態 7. GCV の感受性 	<ol style="list-style-type: none"> 1. 無菌性（細菌、真菌、マイコプラズマ） 2. 細胞の RCR テスト（<u>Mus dunni 細胞との共培養後の PG-4 STL テスト、逆転写酵素活性、env 遺伝子</u>。治療開始時の RCR の有無は逆転写酵素活性、env 遺伝子の有無によって行う。） 3. 上清中の RCR テスト（<u>Mus dunni 細胞への感染後の PG-4 STL テスト、逆転写酵素活性、env 遺伝子</u>。治療開始時の RCR の有無は逆転写酵素活性、env 遺伝子の有無によって行う。） 4. <u>FACS</u> によるドナー細胞の Δ LINGFR 発現 5. エンドトキシン (LAL、gelation test) 6. 細胞状態 7. GCV の感受性

○ 筑波大学附属病院検査部において施行可能な検査項目（無菌性試験、env 遺伝子 PCR）が増えたため。

(7) 7-1-3. 増殖性ウイルス出現の可能性

本研究で使用するレトロウイルスベクターDNA SFCMM-3 は野生型レトロウイルス由来の gag, pol, env をコードする遺伝子の全部、もしくは一部を欠除しており、また用いるパッケージング細胞株 GP+envAm12 においても gag, pol を発現する DNA 断片と env を発現する DNA 断片とが異なったベクターにより発現されることから RCR の出現は極めて少ないと考えられる。また、過去の症例においても細胞傷害性は報告されていない。実際の治療に使用される SFCMM-3 ウイルスベクター上清は使用前に Mo1Med 社により RCR が存在しないことが確認されたものを使用する。また、治療開始以後の患者体内での RCR の有無についても、患者の細胞や血清を用いて SRL 社もしくは筑波大学附属病院検査部において測定する（別添 12）。

○ ウイルス汚染の検査は、筑波大学附属病院検査部において可能なため修正。

(7) 7-1-3. 増殖性ウイルス出現の可能性

本研究で使用するレトロウイルスベクターDNA SFCMM-3 は野生型レトロウイルス由来の gag, pol, env をコードする遺伝子の全部、もしくは一部を欠除しており、また用いるパッケージング細胞株 GP+envAm12 においても gag, pol を発現する DNA 断片と env を発現する DNA 断片とが異なったベクターにより発現されることから RCR の出現は極めて少ないと考えられる。また、過去の症例においても細胞傷害性は報告されていない。実際の治療に使用される SFCMM-3 ウイルスベクター上清は使用前に Mo1Med 社により RCR が存在しないことが確認されたものを使用する。また、治療開始以後の患者体内での RCR の有無についても、患者の細胞や血清を用いて SRL 社に輸送して RCR の測定を依頼する（別添 11）。

<p>(8) 7-1-5. 体内の標的細胞以外の細胞への遺伝子導入の可能性</p> <p>本遺伝子治療臨床研究では、標的細胞としてのドナー末梢血 T リンパ球に試験管内で HSV-TK 遺伝子および Δ LNFPR 遺伝子を導入し、導入細胞のみを患者に投与することから、標的細胞以外の細胞に遺伝子が導入される可能性は RCR が存在しない限りあり得ない。また、マウス細胞由来のパッケージング細胞株より産生されたレトロウイルスベクターの場合、ヒト血清（補体）により直ちに不活化されるため、たとえレトロウイルスベクター粒子が感染細胞の細胞膜表面に付着することで患者体内に混入されても、それが原因で新たな細胞に遺伝子導入が起こることは極めて少ない。</p>	<p>(8) 7-1-5. 体内の標的細胞以外の細胞への遺伝子導入の可能性</p> <p>本遺伝子治療臨床研究では、標的細胞としてのドナー末梢血単核球に試験管内で HSV-TK 遺伝子および Δ LNFPR 遺伝子を導入し、導入細胞のみを患者に投与することから、標的細胞以外の細胞に遺伝子が導入される可能性は RCR が存在しない限りあり得ない。また、マウス細胞由来のパッケージング細胞株より産生されたレトロウイルスベクターの場合、ヒト血清（補体）により直ちに不活化されるため、たとえレトロウイルスベクター粒子が感染細胞の細胞膜表面に付着することで患者体内に混入されても、それが原因で新たな細胞に遺伝子導入が起こることは極めて少ない。</p>
<p>[○ 遺伝子導入前に T リンパ球のみに純化するため。]</p> <p>(9) 7-1-7. 染色体内へ遺伝子が組み込まれる場合の問題点</p> <p>事実、フランスおよびイギリスの X 連鎖性重症複合免疫不全症 (X-SCID) に対する造血前駆細胞 (CD34 陽性細胞) を用いた遺伝子治療において発症した白血病 5 例のうち 4 例において、使用したレトロウイルスベクターが患者染色体上の癌原遺伝子 LM0-2 近傍に挿入されていたとの報告もある (56)。</p>	<p>(9) 7-1-7. 染色体内へ遺伝子が組み込まれる場合の問題点</p> <p>事実、フランス X 連鎖性重症複合免疫不全症 (X-SCID) に対する造血前駆細胞 (CD34 陽性細胞) を用いた遺伝子治療において、使用したレトロウイルスベクターが患者染色体の LM0-2 近傍に挿入され、2 例において白血病が発症したとの報告もある (56)。</p>

[○ イギリスでの報告を追記し、引用文献も更新。]

(10) 7-3-1. 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、各々の細胞は培養器の別個の棚を用いて培養される。また、微生物の汚染を防ぐために、全ての操作はP2レベルの実験室で行われる。細胞の取り扱いはクラス II の安全キャビネット内で行われ、細胞自体や未知の感染性微生物の相互混入を防ぐ。無菌性の検査は遺伝子導入前、及び導入後の凍結貯蔵直前に行われる。検査項目として好気性、嫌気性細菌、真菌ならびにマイコプラズマ、RCR を含むウイルス汚染の検査である。これらの検査は SRL 社ならびに筑波大学附属病院検査部 によって行われる。

[○ ウイルス汚染の検査は、筑波大学附属病院検査部においても可能なため追記。]

(11) 7-3-3. 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 を導入したドナー由来の末梢血 T 細胞である。現在、再発

(10) 7-3-1. 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、各々の細胞は培養器の別個の棚を用いて培養される。また、微生物の汚染を防ぐために、全ての操作はP2レベルの実験室で行われる。細胞の取り扱いはクラス II の安全キャビネット内で行われ、細胞自体や未知の感染性微生物の相互混入を防ぐ。無菌性の検査は遺伝子導入前、及び導入後の凍結貯蔵直前に行われる。検査項目として好気性、嫌気性細菌、真菌ならびにマイコプラズマ、RCR を含むウイルス汚染の検査である。これらの検査は SRL 社によって行われる。

(11) 7-3-3. 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 を導入したドナー由来の末梢血 T 細胞である。現在、再発

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 DLI は広く行われており、GVHD を除いてドナーT 細胞の投与自体では患者に重大な影響を及ぼさない。また、細胞培養の際に使用した抗 CD3/CD28 抗体結合ビーズ、rhIL-2 の洗浄後の残存濃度は極めて微量で、これらの抗体やサイトカインが生体に及ぼす影響は限りなく無に等しい。

細胞の安全性として、Δ LINGFR 発現細胞の分離度を 90%とすると 10%程度の細胞は非ウイルスベクター導入細胞であり、これらの細胞が導入細胞と一緒に患者に投与されることとなる。また、Δ LINGFR 発現細胞の 10%以下の割合で短縮した HSV-TK 発現細胞が混入している可能性がある(57)。これら非導入細胞と短縮 HSV-TK 発現細胞は GVHD 発症の際に GCV の投与によっても細胞死に至らず、GVHD が持続する可能性がある。しかし、1 細胞にウイルスベクターが 1 コピーのみ入っているという条件の元に、投与量から換算するとこれら GCV 不応細胞は多くても 1.9×10^7 cells/kg を超えず、この程度の量では重症 GVHD が起こりにくいことが報告されている(58)、GCV 投与に加え従来の免疫抑制療法を併用することで重篤な GVHD は沈静化するものと思われる。

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 DLI は広く行われており、GVHD を除いてドナーT 細胞の投与自体では患者に重大な影響を及ぼさない。また、細胞培養の際に使用した OKT3、rhIL-2 の洗浄後の残存濃度は極めて微量で、これらサイトカインが生体に及ぼす影響は限りなく無に等しい。細胞の安全性として、Δ LINGFR 発現細胞の分離度 90%とすると 10%程度の細胞は非ウイルスベクター導入細胞であり、これらの細胞が導入細胞と一緒に患者に投与されることとなる。これら非導入細胞は GVHD 発症の際に GCV の投与によっても細胞死に至らず、GVHD が持続する可能性がある。しかし、投与量から換算するとこれら非導入細胞は多くても 10×10^6 cells/kg を超えず、この程度の量では重症 GVHD が起こりにくいことが報告されているので、GCV 投与に加え従来の免疫抑制療法を併用することで重篤な GVHD は沈静化するものと思われる。

○ 抗 CD3 抗体 (OKT3) に替えて抗 CD3/CD28 抗体結合
 ビーズ (ClinExVivo) を用いる予定であるため。GCV 非
 感受性細胞の存在を計算に反映した。

(12) 8. 遺伝子治療臨床研究の実施が可能であると判断する
 根拠

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. 現在、白血病の治療や EBV-LPD に対して広く DLI
 が行われ、白血病治療における DLI の位置づけがある程
 度確立していること。また、遺伝子導入率を 90%とし
 た時、GCV の投与により患者体内に残存するドナーT 細
 胞は 1.9×10^7 cells/kg 以下と考えられ、GVHD を引き
 起こす可能性が比較的低下すること。

○ GCV 非感受性細胞の存在を計算に反映した。

3. 本研究で使用されるベクターはイタリアの Claudio
 Bordignon 博士との共同研究で MoIMed 社から供与また
 は購入されるものであり、同博士はイタリアで同ベク
 ターを用い51 名の白血病患者に遺伝子治療を行い、遺
 伝子導入細胞の安全性、GVL 効果と GVHD 発症の際の GCV
 による GVHD の沈静化を報告していること。(59)

(12) 8. 遺伝子治療臨床研究の実施が可能であると判断する
 根拠

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. 現在、白血病の治療や EBV-LPD に対して広く DLI
 が行われ、CML に対する DLI の有効性は既に確立してい
 ること。また、遺伝子導入率を 90%とした時、GCV の投
 与により患者体内に残存するドナーT 細胞は 1×10^7
 cells/kg 程度と考えられ、この程度のドナーT 細胞では
 現行の DLI から考えて GVHD を引き起こす可能性が比較
 的に低いこと。

3. 本研究で使用されるベクターはイタリアの Claudio
 Bordignon 博士との共同研究で MoIMed 社から供与される
 ものであり、同博士はイタリアで同ベクターを用い 23
 名の白血病患者に遺伝子治療を行い、遺伝子導入細胞の
 安全性、GVL 効果と GVHD 発症の際の GCV による GVHD の
 沈静化を報告していること。

[○ 治療症例数が増えたため。]

4. 本臨床研究の研究者である金子はイタリア・サンラファエレ研究所の Bordignon 博士、Bonini 博士（再発白血病に対する TK 遺伝子治療の臨床研究の開発者）の元で3年にわたり、SFCMM-3 ベクターを用いた T 細胞遺伝子治療の基礎研究・臨床研究を行っており、本遺伝子治療に用いられる手法に関して熟知していること。

5. 本臨床研究の研究者である大津は平成7年ならびに平成16年に北海道大学で行われた日本初の ADA-SCID に対する遺伝子治療臨床研究において中心的な役割を果たしており、遺伝子治療臨床研究における遺伝子導入法について熟知していること。また、米国立衛生研究所のブレース博士（世界初の遺伝子治療での中心的人物）の元で3年半にわたり、遺伝子治療臨床研究に使用されるベクターの開発に携わっており、レトロウイルス一般に関することも熟知していること。

6. 本臨床研究の研究者である小野寺は平成7年に北海道大学で行われた日本初の ADA-SCID に対する遺伝

4. 本臨床研究の研究者である小野寺は平成7年に北海道大学で行われた日本初の ADA-SCID に対する遺伝

<p>子治療臨床研究において中心的な役割を果たしており、遺伝子治療臨床研究における遺伝子導入法について熟知していること。また、米国立衛生研究所のブレース博士（世界初の遺伝子治療での中心的人物）の元で3年半にわたり、遺伝子治療臨床研究に使用されるベクターの開発に携わっており、レトロウイルス一般に関することも熟知していること。</p> <p>以上のことから本研究の実施は理論的にも、実質的にも可能と思われる。</p>	<p>子治療臨床研究において中心的な役割を果たしており、遺伝子治療臨床研究における遺伝子導入法について熟知していること。また、米国立衛生研究所のブレース博士（世界初の遺伝子治療での中心的人物）の元で3年半にわたり、遺伝子治療臨床研究に使用されるベクターの開発に携わっており、レトロウイルス一般に関することも熟知していること。</p> <p>以上のことから本研究の実施は理論的にも、実質的にも可能と思われる。</p>
<p>○ 遺伝子治療臨床研究を行うにあたり、レトロウイルスの研究者である小野寺の他に、遺伝子導入法並びに遺伝子治療に精通している大津と金子について説明。</p> <p>(13) 9-1. 遺伝子治療臨床研究を含む全体の治療計画</p> <p>3. 上記遺伝子導入 T 細胞が重篤な GVHD 発症の際に、GCV の投与により患者体内で死滅し、重篤 GVHD が沈静化するかどうか。</p> <p>GVHD 発症時に GCV の投与を行った症例に対し、その GVHD 沈静化の程度を「急性 GVHD の Grade (別添 8)」を参考に判定する (例 皮膚 III → 0)。また、同時に抗</p>	<p>(13) 9-1. 遺伝子治療臨床研究を含む全体の治療計画</p> <p>3. 上記遺伝子導入 T 細胞が重篤な GVHD 発症の際に、GCV の投与により患者体内で死滅し、重篤 GVHD が沈静化するかどうか。</p> <p>GVHD 発症時に GCV の投与を行った症例に対し、その GVHD 沈静化の程度を「急性 GVHD の Grade (別添 8)」を参考に判定する (例 皮膚 III → 0)。また、同時に抗</p>

<p>LNGFR 抗体を用いた <u>Flow cytometry</u> 解析ならびに HSV-TK 遺伝子に対する PCR 法にて遺伝子導入細胞の推移を測定する。CMV 発症の際に GCV を投与した症例に関しては、上記 <u>Flow cytometry</u>、PCR にて遺伝子導入細胞の推移を検討し、GCV 投与による遺伝子導入細胞の排除率を測定する。</p> <p>[○ 正式な表記に変更]</p>	<p>LNGFR 抗体を用いた <u>FACS</u> 解析ならびに HSV-TK 遺伝子に対する PCR 法にて遺伝子導入細胞の推移を測定する。CMV 発症の際に GCV を投与した症例に関しては、上記 <u>FACS</u>、PCR にて遺伝子導入細胞の推移を検討し、GCV 投与による遺伝子導入細胞の排除率を測定する。</p>
<p>(14) 9-3 被験者の同意の取得方法</p> <p>本遺伝子治療臨床研究を開始するにあたっては、主治医は患者の同意を得るに際して先ず説明用資料（別添 1-1 後半の「本研究の詳細な説明」）を用いて当該遺伝子治療の概略を患者に説明し、その後「同種造血幹細胞移植後の再発白血病に対するヘルペスウイルス・チミジンキナーゼ導入ドナーTリンパ球輸注療法」を考慮しておられる方、あるいは親族の方へ」を参考に、下記の 1～7 に関して再度患者に説明し、自由意志による本治療参加の同意を得る（別添 1-1）。患者の同意を得ることが困難な場合には、その代理人等（家族、配偶者、保護者、親権者を含む）の同意を文書にて得るものとする。</p> <p>(15) 9-5-2 遺伝子導入方法（安全性および有効性に関する</p>	<p>(14) 9-3 被験者の同意の取得方法</p> <p>本遺伝子治療臨床研究を開始するにあたっては、主治医は患者の同意を得るに際して先ず説明用資料（別添 1-1 の「本研究の詳細な説明」）を用いて当該遺伝子治療の概略を患者に説明し、その後「同種造血幹細胞移植後の再発白血病に対するヘルペスウイルス・チミジンキナーゼ導入ドナーTリンパ球輸注療法」を考慮しておられる方へ）を参考に、下記の 1～7 に関して再度患者に説明し、自由意志による本治療参加の同意を得る（別添 1-1）。患者の同意を得ることが困難な場合には、その代理人等（家族、配偶者、保護者、親権者を含む）の同意を文書にて得るものとする。</p> <p>(15) 9-5-2 遺伝子導入方法（安全性および有効性に関する事</p>

事項を除く)	項を除く)
<p>9-5-2-2. ドナーリンパ球への遺伝子導入</p> <p>採取された末梢血単核球分画を用いて遺伝子操作を行う (添付資料 3 参照)。培養時に使用される血漿としては 56°C、30 分で非働化されたドナー血漿を用い、培養液は 3% ドナー血漿、2.5µg/ml アンフォテリシン B (フアンギゾン、ブリストル)、100U/ml penicillin、100µg/ml streptomycin、600U/ml rhIL-2 (イムネース塩野義、セロイク 武田薬品、またはプロロイキン カイロン)、<u>3x10⁶beads/ml 抗 CD3/CD28 抗体結合磁気ビーズ (ClinExVivo CD3/CD28 Beads インビトロジェン)</u> を添加した X-vivo10 培地 (BioWhittaker, Cambrex) あるいは RPMI1640 (シグマ) を用いる。この培養液を用いて細胞濃度を 1x10⁶/ml に調整し、CO₂ 透過性バッグ (CultiLife、タカラバイオ) を用いて、37°C、5%CO₂ インキュベーター内で 48 時間培養する。48 時間後、バックを遠心して細胞を集め、10µg/ml 硫酸プロタミンを含むレトロウイルス清液で 1x10⁶/ml の濃度になるように調整し、ファイブロネクチンコートバック、またはフラスコを用いて 1000xg、2 時間の遠心後、ウイルス上清を培養液に置換し、37°C、5%CO₂ インキュベーター内で 24 時間培養する。翌日、再度同様の遺伝子導入操作を行う (59)、(60)。</p>	<p>9-5-2-2. ドナーリンパ球への遺伝子導入</p> <p>採取された末梢血単核球分画を用いて遺伝子操作を行う (添付資料 3 参照)。培養時に使用される血漿としては 56°C、30 分で非働化されたドナー血漿を用い、培養液は 3% ドナー血漿、2.5µg/ml アンフォテリシン B (フアンギゾン、ブリストル)、100U/ml penicillin、100µg/ml streptomycin、600U/ml rhIL-2 (イムネース塩野義、セロイク 武田薬品、またはプロロイキン カイロン)、<u>3x10⁶beads/ml 抗 CD3/CD28 抗体結合磁気ビーズ (ClinExVivo CD3/CD28 Beads インビトロジェン)</u> を添加した X-vivo10 培地 (BioWhittaker, Cambrex) あるいは RPMI1640 を用いる。この培養液を用いて細胞濃度を 1x10⁶/ml に調整し、CO₂ 透過性バッグ (オプテイスイト、Nexelle) を用いて、37°C、5%CO₂ インキュベーター内で 72 時間培養する (58)。72 時間後、バックを遠心して細胞を集め、4µg/ml 硫酸プロタミンを含むレトロウイルスベクター-SFCMM-3 産生細胞培養上清液で 1x10⁶/ml の濃度になるように調整し、ファイブロネクチンコートバック、またはフラスコを用いて 1000xg、2 時間の遠心後、ウイルス上清を培養液に置換し、37°C、5%CO₂ インキュベーター内で 24 時間培養する。翌日、再度同様の遺伝子導入操作を行う。ファイブロネクチンの使用により遺伝子導入率が飛躍的に向上することが確かめられてお</p>

<p>○ 現在、本邦においてはセロイク（武田薬品）、イムネース（塩野義製薬）に加えてプロロイキン（カイロン/ニプロ）が GMP グレードの rhIL-2 として入手可能であるため、追記した。</p> <p>(16) 9-5-2-3. 遺伝子導入細胞の選択</p> <p>48 時間にわたるウイルスベクター導入操作終了後、細胞をマウス抗ヒト LNGFR 抗体 (20.4, MoIMed 社より供与) と 22°Cにて 20 分間反応させ、さらにヤギ抗マウス IgG 抗体磁気ビーズ (Dynabeads M-450 goat anti-mouse IgG) を結合させて、磁気細胞分離装置により遺伝子導入細胞 (ヒト ΔLNGFR 発現細胞) を分離する。分離された細胞をさらに 24 時間培養し、磁気ビーズを磁石により取り除く。細胞の増殖を観察しながら、さらに 3~5 日程度培養を続け、最終的に 3% ドナー血漿 PBS にて 3 回洗浄した後、-80°C 冷凍庫にて使用時まで保存する。遺伝子導入率、ならびにその純度は <u>Flow cytometry</u> にて解析され、ヒト ΔLNGFR 発現細胞の陽性率が 90% 以上を超えたドナー T 細胞のみ本遺伝子治療臨床研究で使用される。</p> <p>○ 正式な表記に変更</p>	<p>り (59)、当該遺伝子治療においては宝酒造より供与される。</p> <p>(16) 9-5-2-3. 遺伝子導入細胞の選択</p> <p>48 時間にわたるウイルスベクター導入操作終了後、細胞をマウス抗ヒト LNGFR 抗体 (20.4, MoIMed 社より供与) と 22°Cにて 20 分間反応させ、さらにヤギ抗マウス IgG 抗体磁気ビーズ (Dynabeads M-450 goat anti-mouse IgG) を結合させて、磁気細胞分離装置により遺伝子導入細胞 (ヒト ΔLNGFR 発現細胞) を分離する。分離された細胞をさらに 24 時間培養し、磁気ビーズを磁石により取り除く。細胞の増殖を観察しながら、さらに 3~5 日程度培養を続け、最終的に 3% ドナー血漿にて 3 回洗浄した後、-80°C 冷凍庫にて使用時まで保存する。遺伝子導入率、ならびにその純度は <u>FACS</u> にて解析され、ヒト ΔLNGFR 発現細胞の陽性率が 90% 以上を超えたドナー T 細胞のみ本遺伝子治療臨床研究で使用される。</p>
---	--

(17) 9-5-2-4. 遺伝子導入ドナーリンパ球の輸注

全対象疾患に対し遺伝子導入ドナーリンパ球の目標投与数を $1 \times 10^8 / \text{kg}$ と設定するが、最終的に回収できる遺伝子導入ドナーリンパ球数はドナーリンパ球の状態によりかなりのばらつきが見られることが、過去のイタリアの遺伝子治療臨床研究において報告されている。このため、最終的に投与する遺伝子導入ドナーリンパ球数を $1 \times 10^7 / \text{kg}$ 以上で $1 \times 10^8 / \text{kg}$ を越えない範囲の全細胞とす。イタリアの症例から平均投与数は概ね $2 \sim 5 \times 10^7 / \text{kg}$ 程度と予想される。遺伝子導入ドナーリンパ球を以下のスケジュールで投与する。ドナーリンパ球輸注にともない、Grade I の急性 GVHD が出現した場合には、そのまま経過観察する。Grade II の急性 GVHD が認められた場合には、主治医は総括責任者と協議し、総括責任者の判断のもとで GVHD に対する治療を開始してもよい。Grade III 以上の GVHD に GVHD の治療を開始する。ドナーリンパ球輸注前に chlorpheniramine (成人 10mg、学童 4-6mg、幼児 2-3mg) または hydroxyzine (1mg/kg) およびハプトグロビン製剤を静注投与してもよい。各リンパ球輸注後 4 週間は入院にて経過観察するが、Grade II 以上の GVHD を認めな

(17) 9-5-2-4. 遺伝子導入ドナーリンパ球の輸注

全対象疾患に対し遺伝子導入ドナーリンパ球の目標投与数を $1 \times 10^8 / \text{kg}$ と設定するが、最終的に回収できる遺伝子導入ドナーリンパ球数はドナーリンパ球の状態によりかなりのばらつきが見られることが、過去のイタリアの遺伝子治療臨床研究において報告されている。このため、最終的に投与する遺伝子導入ドナーリンパ球数を $1 \times 10^7 / \text{kg}$ 以上で $1 \times 10^8 / \text{kg}$ を越えない範囲の全細胞とす。イタリアの症例から平均投与数は概ね $2 \sim 5 \times 10^7 / \text{kg}$ 程度と予想される。遺伝子導入ドナーリンパ球を以下のスケジュールで投与する。ドナーリンパ球輸注にともない、Grade I の急性 GVHD が出現した場合には、そのまま経過観察する。Grade II の急性 GVHD が認められた場合には、主治医は総括責任者(不在の際には、副総括責任者)と協議し、総括責任者の判断のもとで GVHD に対する治療を開始してもよい。Grade III 以上の GVHD が出現した場合には、直ちに GVHD の治療を開始する。ドナーリンパ球輸注前に chlorpheniramine (成人 10mg、学童 4-6mg、幼児 2-3mg) または hydroxyzine (1mg/kg) およびハプトグロビン製剤を静注投与してもよい。抗癌剤、インターフェロンなどによる併用治療は

いときは、以後の経過を外来で観察しても良い。

- 副総括責任者を置かなくなったため、関連する記載を削除した。抗癌剤、インターフェロンなどによる併用治療の取り扱いは、別項目として9-5-3に記載した。

(18) 9-5-2-5. GVHD 発症時の対応

遺伝子導入ドナーリンパ球輸注後に、①Grade III 以上の急性 GVHD を認めた場合、②Grade II であっても GVHD の治療が優先すると主治医が判断する場合、③治療が必要と判断される慢性 GVHD を認めた場合には、5 mg/kg の GCV を 1 日 2 回 7 日間点滴静注する。これらの GCV の投与法はイタリアの遺伝子治療臨床研究のプロトコールに準じて行われる。7 日間の GCV 投与によって GVHD が改善しない場合には、ステロイド、サイクロスポリンなどの免疫抑制剤を投与する。止むを得ぬと考えられる場合には、主治医は総括責任者と協議し、総括責任者の判断のもとで 7 日間の GCV 投与終了前であっても、これらの免疫抑制療法を併用してもよい。一方、充分ではないうもの GCV による改善傾向が明らかでない場合は、総括責任者の判断のもとで 7 日目以降も他の免疫抑制療法と GCV を併用してもよい。

行わない。各リンパ球輸注後 4 週間は入院にて経過観察するが、Grade II 以上の GVHD を認めないときは、以後の経過を外来で観察しても良い。

(18) 9-5-2-5. GVHD 発症時の対応

遺伝子導入ドナーリンパ球輸注後に、①Grade III 以上の急性 GVHD を認めた場合、②Grade II であっても GVHD の治療が優先すると主治医が判断する場合、③治療が必要と判断される慢性 GVHD を認めた場合には、5 mg/kg の GCV を 1 日 2 回 7 日間点滴静注する。これらの GCV の投与法はイタリアの遺伝子治療臨床研究のプロトコールに準じて行われる。7 日間の GCV 投与によって GVHD が改善しない場合には、ステロイド、サイクロスポリンなどの免疫抑制剤を投与する。止むを得ぬと考えられる場合には、主治医は総括責任者と協議し、総括責任者(不在の際には、副総括責任者)の判断のもとで 7 日間の GCV 投与終了前であっても、これらの免疫抑制療法を併用してもよい。

○ 基礎実験において、7 日間の投与では十分な効果が得られないものの、14 日間の投与で有効であった事例を認めたため。

<p>(19) 9-5-2-7. 細菌、真菌感染症 症状に応じて、適当な抗生剤、抗真菌剤を投与する。</p> <p>(20) 9-5-3. 遺伝子導入ドナーリンパ球の繰り返し投与、ならびに他の抗白血病療法の併用 以下の場合には総括責任者の判断の元に遺伝子導入ドナーリンパ球の繰り返し投与ならびに他の抗白血病療法を併用、または追加してもよい。</p> <p>1. 初回の遺伝子導入ドナーリンパ球投与で、初回投与日から12週経過し、別添9の血液学的評価でCHRかつ細胞遺伝学的評価が施行可能であった場合はMCR以上であり、GVHD以外の有害事象が認められないか、またはGVHDが認められても既に沈静化し、かつ9-2-3の選択基準、9-2-4の除外基準を満たす症例では、繰り返し投与を行っても良い。繰り返し投与に際しては、遺伝子治療実行委員会において当該症例のこれまでの臨床</p>	<p>(19) 9-5-2-7. 細菌、真菌感染症 症状に応じて、適当な抗生剤、抗真菌剤が投与される。</p> <p>(20) 9-5-3. 遺伝子導入ドナーリンパ球の繰り返し投与、ならびに他の抗白血病療法の併用 以下の場合には遺伝子導入ドナーリンパ球の繰り返し投与ならびに他の抗白血病療法を併用、または追加してもよい。</p> <p>1. 初回の遺伝子導入ドナーリンパ球投与で、初回投与日から12週経過し、別添9の血液学的評価でCHRかつ細胞遺伝学的評価が施行可能であった場合はMCR以上であり、GVHD以外の有害事象が認められないか、またはGVHDが認められても既に沈静化し、かつ9-2-3の選択基準、9-2-4の除外基準を満たす症例では、繰り返し投与を行っても良い。繰り返し投与に際しては、遺伝子治療実行委員会において当該症例のこれまでの臨床</p>
--	--