

**遺伝子治療臨床研究実施計画の申請及び
遺伝子治療臨床研究に係る生物多様性影響評価に関する申請について**

【 国立成育医療研究センター 】

課題名 : 慢性肉芽腫症に対する造血幹細胞を標的とした遺伝子治療臨床研究

遺伝子治療臨床研究実施計画の申請

- 諮問 及び付議 P. 1
- 遺伝子治療臨床研究実施計画申請書 及び概要書 . . . P. 3
- 同意説明文書 P. 17

遺伝子治療臨床研究に係る生物多様性影響評価に関する申請

- 諮問 及び付議 P. 37
- 第一種使用規程承認申請書 P. 41
- 生物多様性影響評価書 P. 43

厚科審第28号

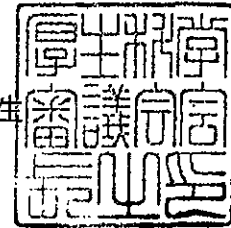
平成23年11月2日

科学技術部会部会長

永井 良三 殿

厚生科学審議会会長

垣添 忠生



遺伝子治療臨床研究実施計画について（付議）

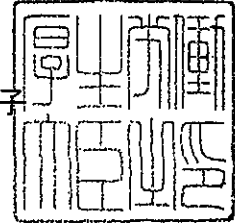
標記について、平成23年11月2日付厚生労働省発科1102第1号をもって厚生労働大臣より諮問があったので、厚生科学審議会運営規程第3条の規定に基づき、貴部会において審議方願いたい。

厚生労働省発科 1102 第 1 号
平成 23 年 11 月 2 日

厚生科学審議会会長

垣添 忠生 殿

厚生労働大臣 小宮山 洋子



諮 問 書

下記の遺伝子治療臨床研究実施計画について、その医療上の有用性及び倫理性に関し、厚生労働省設置法（平成 11 年法律第 97 号）第 8 条第 1 項第 1 号イ及び遺伝子治療臨床研究に関する指針（平成 14 年文部科学省・厚生労働省告示第 1 号）の規定に基づき、貴会の意見を求めます。

記

1. 申請日 平成 23 年 9 月 22 日

申請者 東京大学医学部附属病院 病院長 門脇 孝

遺伝子治療臨床研究の名称

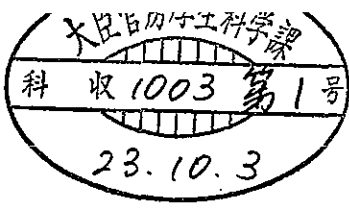
ホルモン療法抵抗性再燃前立腺癌に対する増殖型遺伝子組換え単純ヘルペスウイルス G47Δ を用いたウイルス療法の臨床研究

2. 申請日 平成 23 年 9 月 29 日

申請者 国立成育医療研究センター 総長 加藤 達夫

遺伝子治療臨床研究の名称

慢性肉芽腫症に対する造血幹細胞を標的とした遺伝子治療臨床研究

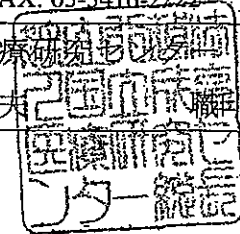


遺伝子治療臨床研究実施計画申請書

平成23年11月29日

厚生労働大臣 殿

実 施 施 設	所在地	〒157-8535 東京都世田谷区大蔵 2-10-1
	名 称	(独) 国立成育医療研究センター TEL: 03-3416-0181、FAX: 03-3416-2222
	代 表 者 役職名・氏名	(独) 国立成育医療研究センター 総長 加藤 達夫



下記の遺伝子治療臨床研究について、別添の実実施計画に対する意見を求めます。

記

遺 伝 子 治 療 臨 床 研 究 の 課 題 名	総括責任者の所属・職・氏名
慢性肉芽腫症に対する造血幹細胞を標的とした 遺伝子治療臨床研究	(独)国立成育医療研究センター研 究所成育遺伝研究部 部長 小野寺 雅史



遺伝子治療臨床研究実施計画概要書

平成23年7月29日

(申請年月日)

研究の名称	慢性肉芽腫症に対する造血幹細胞を標的とした遺伝子治療臨床研究		
研究実施期間	厚生労働大臣による承認の日より5年間		
総括責任者	所属部署の所在地	東京都世田谷区大蔵 2-10-1 〒157-8535	
	所属機関・部局・職	国立成育医療研究センター研究所・成育遺伝研究部・部長	
	氏名	小野寺 雅史	
実施の場所	所在地	東京都世田谷区大蔵 2-10-1 〒305-8576	
	名称	国立成育医療研究センター病院 8 西病棟及び無菌室 国立成育医療研究センター研究所 5 階 5-2 遺伝子細胞調製室	
	連絡先	TEL: 03-3416-0181、FAX: 03-3416-2222	
総括責任者以外の研究者	氏名	所属機関・部局・職	役割
	奥山 虎之	国立成育医療研究センター病院・部長	総括責任者の補佐、遺伝子治療臨床研究に関する資料・情報等の収集、遺伝子カウンセリング
	藤本 純一郎	国立成育医療研究センター臨床研究センター・センター長	遺伝子治療臨床研究環境整備
	河合 利尚	国立成育医療研究センター研究所・室長	患者管理
	熊谷 昌明	国立成育医療研究センター病院・医長	造血幹細胞採取・導入細胞の患者投与
	森 鉄也	国立成育医療研究センター病院・医長	造血幹細胞採取・導入細胞の患者投与
	清河 信敬	国立成育医療研究センター研究所・部長	治療遺伝子導入法の検討
	梨井 康	国立成育医療研究センター研究所・室長	遺伝子導入効率、挿入部位等の解析
	緒方 勤	国立成育医療研究センター研究所・部長	遺伝子導入効率、挿入部位等の解析
	瀧本 哲也	国立成育医療研究センター研究所・室長	臨床データの管理
	掛江 直子	国立成育医療研究センター研究所・室長	倫理性、個人情報保護
	土田 尚	国立成育医療研究センター病院・医師	遺伝子治療の文書作成と情報の収集
	加藤 俊一	東海大学医学部・教授	患者選定、幹細胞移植の指導
	有賀 正	北海道大学医学研究科・教授	患者選定、免疫学的検査の管理と指導
	布井 博幸	宮崎大学医学部・教授	患者選定、免疫学的検査の管理と指導
水上 智之	宮崎大学医学部・助教	患者管理	
久米 晃啓	自治医科大学・准教授	遺伝子治療の検査体制の構築	
大津 真	東京大学医科学研究所・助教	造血幹細胞への遺伝子導入と培養	
岡田 真由美	都立東大和療育センター・医師	臨床データの管理	

審査委員会が研究計画の 実施を適当と認める理由	別紙（遺伝子治療臨床研究に関する審査委員会の審査結果について） のとおり
----------------------------	---

審査委員会の長の職名	氏 名
東京慈恵会医科大学教授	木橋 正



研究の区分	遺伝子治療臨床研究	遺伝子標識臨床研究
研究の目的	<p>本遺伝子治療臨床研究は、造血幹細胞移植の実施が困難な重症の慢性肉芽腫症のうち、特に慢性肉芽腫症としては最も頻度の高い NADPH オキシダーゼ酵素複合体の構成タンパク質 gp91^{phox} に変異のある X 連鎖慢性肉芽腫症 (X-CGD) に対して有効な治療法を確立することにある。具体的には、レトロウイルスベクターを用いて gp91^{phox} をコードするヒトチトクローム b245 ベータポリペプチド (CYBB) 遺伝子 (NM_000397) を患者造血幹細胞に導入し、これら細胞を再び患者に投与する「造血幹細胞遺伝子治療」を行い、その安全性 (遺伝子導入操作及び遺伝子導入細胞の安全性) と有効性 (臨床検査的有効性と症状改善等の臨床的有効性) を別表に基づいて評価する臨床研究であり、第 I/II 相試験として行う。</p>	
対象疾患及びその選定理由	<p>慢性肉芽腫症は、乳幼児期より重篤な細菌性・真菌性感染症を反復罹患し、諸臓器に肉芽腫を形成する原発性免疫不全症である。原因として、食細胞が病原体を殺菌する際に利用する活性酸素 (O_2^-, H_2O_2, $HClO$ など) の産生に関わる NADPH オキシダーゼ酵素複合体に異常があり、その構成分子である gp91^{phox} をコードする CYBB 遺伝子に変異がある X 連鎖慢性肉芽腫症 (X-CGD) が全体の 8 割を占める。国内での発症頻度は 22.5 万出生に 1 名で、現在まで 200 家系以上、300 名程度の患者が登録されている。症状として、乳児期より繰り返す難治性感染症があげられ、複数の抗生剤・抗菌剤を用いても改善しない時には致死的な経過をとる。また、他の症状として、肺や消化管、肝臓に肉芽腫を形成し、臓器障害に陥ることがある。</p> <p>慢性肉芽腫症治療の基本的方針は、合併する感染症のコントロールであり、抗生物質や抗真菌剤などの抗菌療法がその主体をなす。特に、最近は効力のある抗真菌剤 (ミカファンギンやボリコナゾール) が開発され、従来では治療が困難であった感染症が軽快する症例も増えてきた。ただ、慢性肉芽腫症の場合、一旦、感染症に罹患すると完全な治癒が望めないことから、頻回に感染症が再発し、入院期間が長期化することが多い。一方、抗菌剤投与以外の治療法としては、感染症予防としてのインターフェロンガンマ (IFN-γ) や肉芽腫形成による臓器障害に対するステロイド投与が上げられるが、これら治療をもってしても完治することはなく、現時点での慢性肉芽腫症の根治療法は造血幹細胞移植のみと考えられている。</p> <p>慢性肉芽腫症に対する造血幹細胞移植は、2008 年までで 34 名の患者に 38 回行われてきており、その内訳は、骨髄由来の造血幹細胞移植が 27 例、臍帯血由来の移植が 7 例、末梢血由来の移植が 4 例で、HLA 完全一致例が 24 例、5/6 例で 8 例、4/6 以下で 6 例である。治療成績 (無イベント生存率) は、移植時の感染症の有無や前処置の違いにより大きく左右されるが、血縁、非血縁を問わず HLA が完全一致した骨髄幹細胞を用いた場合、20 例中 19 例で移植が成功している。一方、HLA が一遺伝子異なる場合 (5/6)、治療成績は 50~60% と低下し、この値は小児非腫瘍性疾患に対する臍帯血移植の成績 (51\pm8%) と大方一致する (日本さい帯血バンクネットワーク・移植データ管理小委員会 2007 年度解析結果)。このように、慢性肉芽腫症に対して造血幹細胞移植を考慮する場合、DNA typing (DNA 型、遺伝子型) で HLA が 5/6 以上のドナーがいることが望ましい。さらに、慢性肉芽腫症の場合、他の免疫不全症とは異なり、患者 T 細胞機能が正常であることから移植に際して強力な前処置が必要で、同時に、移植時に重症感染症を罹患していることも多いため、移植関連合併症を併発しやすく、移植成績は他の重症複合免疫不全症と比較して不良である。</p> <p>これらのことを鑑み、本研究では、遺伝子検査にて X-CGD を診断された男性患者で、重症の感染症などで造血幹細胞移植が望まれるものの DNA typing で 5/6 以上の HLA 一致ドナーが見つからず、同時に、本研究の実施目的を十分に理解し、自由意思に基づく文書同意を示した患者に対し、患者造血幹細胞を用いた遺伝子治療臨床研究を行うものである。</p> <p>上記症例を対象とした理由は以下の 4 点である。</p> <ol style="list-style-type: none"> 造血幹細胞移植が慢性肉芽腫症に対し根治療法とよべる程の治療成績を上げてはいるが、ドナー不在の患者あるいは移植に伴う副作用 (移植関連 	

	<p>合併症)に耐えられない患者がいること。</p> <ol style="list-style-type: none"> 2. 造血幹細胞遺伝子治療が慢性肉芽腫症を始めとする原発性免疫不全症に対し広く行われ、難治性感染症の治療等一定の治療成績を上げていること。同時にその手技に関する安全性は、過去の症例からも確認されていること。 3. 造血幹細胞遺伝子治療において造血系異常という重篤な有害事象の報告もされてはいるが、その有害事象の発症頻度を考えたとき、本遺伝子治療臨床研究がもたらす利益は患者不利益(造血系異常の発症)を十分に上回ると予想されること。 4. 本遺伝子治療臨床研究では、上記、造血系異常の有害事象に関する安全性を鑑み、過去の事例においてを一度も造血系異常発症していないウイルスベクターを使用すること。 																																
<p>遺伝子の種類及びその導入方法</p>	<p>本遺伝子治療臨床研究において導入を計画している遺伝子は、X-CGDの原因遺伝子であるヒトチトクローム b245 ベクターポリペプチド(CYBB)遺伝子のアミノ酸をコードする部分(open reading frame)であり、制限酵素 <i>NcoI/BamHI</i> にて消化した 1732bp の CYBB 遺伝子フラグメントを Moloney murine leukemia virus (MoMLV) 由来レトロウイルスベクター-MFGS に組み込み、gp91^{phox} を発現するレトロウイルスベクター-MFGSgp91 を作製した。CYBB 遺伝子はウイルス LTR よりその発現が誘導される。</p> <p>レトロウイルスベクター-MFGSgp91 はウイルス粒子形成に必須の遺伝子 gag、pol、env を有していないため、それ自体では完全なウイルス粒子を形成することはない。そのため、MFGSgp91 に相当する遺伝子組換え生物(遺伝子組換えレトロウイルス)を作製するためには、パッケージング細胞株が必要となる。本遺伝子治療臨床研究では、ヒト由来胎児腎細胞 293 細胞に MoMLV 由来の gag-pol 遺伝子とマウス両種性(amphotropic)ウイルス 4070A 由来の env 遺伝子を導入したパッケージング細胞株 293-SPA を用いる。この 293-SPA に上記 MFGSgp91 をリポフェクション法にて導入して、高力価のウイルスタイター(感染効率が低い)を示した細胞株 293-SPA-gp91-155 をウイルス産生細胞株とし、この細胞株から得られた培養上清を用いて、標的細胞(患者造血幹細胞)に CYBB 遺伝子を導入する。</p> <p>レトロウイルスベクター-MFGSgp91 を用いて CYBB 遺伝子を導入するのは、患者由来末梢血 CD34 陽性細胞である。5 日間、体重あたり 10μg の顆粒球刺激因子(G-CSF)を 1 日 1 回皮下注射し、投与終了日の翌日、血液分離装置(CS3000)を用いて末梢血単核球分画を採取する。そして、これら末梢血単核球分画から CliniMACS を用いて CD34 陽性細胞を分取し、stem cell factor(SCF, 100ng/ml)、thrombopoietin(TPO, 100ng/ml)、FLT3-L(100ng/ml)、IL-3(10ng/ml)添加 1% ヒトアルブミン/X-VIVO 10 にて 1.0~5.0\times10⁵/ml の濃度に調整した後、炭酸ガス透過性バッグを用いて 48 時間培養する (Day 0, 1)。CD34 陽性細胞への CYBB 遺伝子の導入は、これら細胞を 37$^{\circ}$C で迅速に融解した MFGSgp91 のウイルス上清中に浮遊させ、遺伝子組換えヒトフィブロネクチン CH-296(レトロネクチン)にて固着した培養バッグに移した後、2 時間の遠心操作にて行う。なお、同様の遺伝子導入操作を、感染効率を確認しながら 24 時間ごと 3 回程度行う (Day 2, 3, 4)。</p> <p>CYBB 遺伝子導入後、遺伝子導入細胞を生理食塩水にて十分に洗浄し、回収する (Day 5)。その際に検体の一部を用いて無菌性検査ならびに遺伝子導入効率を確認し、安全性が確認された段階で末梢静脈より患者に投与される。</p> <p>なお、患者は遺伝子導入細胞の骨髄生着を促すために、遺伝子導入細胞投与 4 日前から体重あたり 10mg のブスルファンを 1 日 4 回、2 時間以上かけ、3 日間にわたり投与される (Day 1, 2, 3)。</p> <table border="0" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 10%;">Day</td> <td style="width: 10%;">0</td> <td style="width: 10%;">1</td> <td style="width: 10%;">2</td> <td style="width: 10%;">3</td> <td style="width: 10%;">4</td> <td style="width: 10%;">5</td> <td></td> </tr> <tr> <td>培養</td> <td style="text-align: center;">○</td> <td style="text-align: center;">○</td> <td style="text-align: center;">●</td> <td style="text-align: center;">●</td> <td style="text-align: center;">●</td> <td style="text-align: center;">○</td> <td style="text-align: right;">(●遺伝子導入)</td> </tr> <tr> <td>ブスルファン</td> <td></td> <td style="text-align: center;">○</td> <td style="text-align: center;">○</td> <td style="text-align: center;">○</td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>細胞投与</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td style="text-align: center;">○</td> <td></td> </tr> </table>	Day	0	1	2	3	4	5		培養	○	○	●	●	●	○	(●遺伝子導入)	ブスルファン		○	○	○				細胞投与						○	
Day	0	1	2	3	4	5																											
培養	○	○	●	●	●	○	(●遺伝子導入)																										
ブスルファン		○	○	○																													
細胞投与						○																											

安全性についての評価

1. 遺伝子導入方法の安全性

1) ウイルスベクターの純度

本遺伝子治療臨床研究で使用されるレトロウイルスベクターMFGSgp91を産生するウイルス産生細胞株 293-SPA-gp91-155は、共同研究者である米国国立衛生研究所の Malech 博士らによって樹立され、米国 Magenta 社が臨床研究用として GMP 準拠にて製造したもので、その安全性は担保されている。今回、使用を予定しているレトロウイルスベクターMFGSgp91は、Magenta 社が作製した Working Cell Bank (WCB) により製造されたもので、すでに Malech 博士らによって使用されているものである。この一部を適切な拡散防止措置を講じた上で、ドライアイス詰めで日本まで空輸し、国立成育医療研究センター研究所にて受け入れ試験を行い、適切 (RCR が存在しないなど) と判断されたもののみを使用する。

2) 患者に投与される物質の純度

患者に投与される物質は、CYBB 遺伝子が導入された患者末梢血由来 CD34 陽性細胞であり、ウイルス上清においては無血清培地にて調製されたものを使用し、CD34 陽性細胞の培養に関しては 1% ヒト血清アルブミンを使用する。なお、細胞投与前に細胞を十分に洗浄し、無菌性・無毒性 (エンドトキシン) の検査を行い、安全性が確かめられた細胞を投与する。

3) 増殖性ウイルスの出現

MFGSgp91 はウイルス構造タンパク質の Gag、Pol、Env をコードする遺伝子を全てあるいは一部削除されているため、MFGSgp91 から新たな増殖性ウイルスが出現することはない、野生型ウイルス (RCR) が出現する可能性は極めて低い。また、過去 300 を越えるレトロウイルスベクターを用いた遺伝子治療においても RCR が出現したとの報告はない。なお、本遺伝子治療臨床研究では Magenta 社で RCR が存在しないことが確認され、また、当センターの受け入れ試験でも RCR が存在しないことを確認したウイルスベクターを使用し、治療開始後も患者細胞や血清を用いて RCR の存在を定期的に確認する。

4) 染色体挿入による危険性

レトロウイルスはその性質上、感染した細胞の染色体に挿入され、導入遺伝子の発現を誘導する。ただ、その挿入部位近傍に癌原遺伝子が存在した場合、時に白血病等の造血系腫瘍を発症することがある。事実、ドイツを中心に行われた慢性肉芽腫症に対する造血幹細胞遺伝子治療において、治療を受けた患者に骨髄異形成症候群が発症したとの報告がある。この臨床研究で使用されたベクター (SFV 由来) が今回使用を予定している MFGSgp91 (MoMVL 由来ベクター) とは異なり内在性の癌遺伝子を有し、転写活性も数十倍高いことから、宿主染色体に挿入された際に造血系異常を誘発したと考えられている。ただ、MFGSgp91 もにおいても CYBB 遺伝子発現の際に宿主染色体への挿入を必要とすることから、近傍の遺伝子の異常な発現を誘導することは否定できず、本遺伝子治療臨床においても造血系異常を発症する危険性は完全には否定できない。このため、早期にこれら造血系細胞の異常を検出するために、定期的に血液検査 (血算、生化学検査) と適宜の骨髄検査を行う。また、抗 gp91^{phox} 抗体 (7D5) を用いた FACS や定量 PCR 法にて、患者体内の遺伝子導入細胞の動態を追跡し、必要に応じて (増加傾向が確認された場合など)、遺伝子導入細胞のクローン数を確認できる LAM-PCR を行い、その挿入部位を pyrosequence 法にて同定する。

2. 遺伝子産物の安全性

レトロウイルスベクターMFGSgp91の遺伝子導入にて、感染細胞はCYBB遺伝子産物であるgp91^{phox}を獲得する。gp91^{phox}は前述のように細胞膜表面でp22^{phox}と会合し、菌体成分などの刺激にて細胞内構成タンパク質と結合することで活性酸素産生などの機能を発揮する。よって、gp91^{phox}を過剰発現させても過剰なp22^{phox}の発現がない限り活性酸素産生は起こらず、それ自体で細胞障害を起こすとは考えられない。事実、gp91^{phox}による細胞傷害性の報告はない。

3. 培養細胞の安全性

1) 培養細胞の純度

使用するレトロウイルスベクター上清はMagenta社において微細孔フィルター (0.22μm) を通しているため、ウイルス産生細胞株や細胞破砕物の混入はない。また、同一期間中は単一の患者細胞のみを扱い、遺伝子導入を含む全ての細胞操作はGMPに準拠した細胞調製室内 (P2レベル) に設置したクラスIIaの安全キャビネットか完全閉鎖系バッグ間 (bag to bag) で行われ、無菌性なら

	<p>びにウイルスの封じ込めは担保される。なお、細胞の安全性に関する検査は遺伝子導入前と患者投与前に SRL 社に依頼して行う。</p> <p>2) 細胞の安全性</p> <p>患者に投与する細胞はレトロウイルスベクター-MFGSgp91 にて CYBB 遺伝子を導入した自己末梢血 CD34 陽性細胞である。現在、リンパ腫や固形腫瘍に対し自家幹細胞移植が一般的に行われていることから自家 CD34 陽性細胞の投与が患者に対して重大な影響を及ぼすとは考えにくい。また、細胞培養に使用するサイトカインなどの細胞増殖因子の残存濃度も、患者投与前に細胞を十分に洗浄することから、生体への影響はほとんどないと考えられる。</p>
<p>遺伝子治療臨床研究の実施が可能であると判断される理由</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. 近年、適当なドナーのいる慢性肉芽腫症の症例では造血幹細胞移植が行われ、根治療法とよべる程の治療成績を上げている。ただ、ドナーの問題や合併症の点から全ての症例が移植医療の対象とはならないこと。 2. 造血幹細胞遺伝子治療が原発性免疫不全症を中心に広く行われ、その手技等に関しては安全性が確認され、さらに難治性感染症の治癒等一定の治療効果も確認されていること。 3. 本研究で使用を予定しているレトロウイルスベクター-MFGSgp91 は、すでに共同研究者の米国国立衛生研究所 Malech 博士が複数の患者に対して使用しており、その安全性と有効性が確認されていること。 4. 先行研究（平成 18 年度 厚生労働科学研究費補助金・子ども家庭総合研究事業）にて、現在、「安全性を鑑みたととき X-CGD に対する治療の第一選択は移植医療であるが、ドナー不在など何らかの理由により移植医療が行えない重症患者に対しては、治療の候補として遺伝子治療を考慮することをも十分に妥当である」と結論を得たこと。 5. 実施施設である国立成育医療研究センターが、成育医療に特化した高度専門医療センターであり、その使命が小児難治性疾患の機序解明とその論理を応用した診断・治療法の開発ならびに臨床研究の実践であること。
<p>実施計画</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. 患者数と実施期間 実施承認が得られた時点から 5 年間、目標症例数 5 症例 2. 本遺伝子治療臨床研究に関連する委員会 <ol style="list-style-type: none"> 1) 遺伝子治療臨床研究審査委員会 本委員会は、「(独) 国立成育医療研究センター遺伝子治療臨床研究審査委員会規定」(平成 22 年 4 月) に基づき国立成育医療研究センター内に設置され、センター内で行われる遺伝子治療臨床研究が、生命倫理及び医の倫理に基づき、また、「遺伝子治療臨床研究に関する指針」に基づき適正に行われるかを審査する。 2) 遺伝子治療臨床研究適応判定委員会 本委員会は、遺伝子治療臨床研究の実施が承認された時点で、国立成育医療研究センター内に設置され、遺伝子治療臨床研究実施に際し申請される症例が、実施可能かの適当判定を行う。 3) 遺伝子治療臨床研究評価判定委員会 本委員会は、遺伝子治療臨床研究が開始された時点で、国立成育医療研究センター内に設置され、遺伝子治療臨床研究において実際された症例の評価判定を行う。 3. 被験者の選定基準と除外基準 本遺伝子治療臨床研究の対象者は下記の示す選定基準を全て満たし、いずれの除外基準にも合致しない症例とする。 <ol style="list-style-type: none"> 1) 選定基準 <ul style="list-style-type: none"> ・ 遺伝子検査にて gp91^{phx} に異常のある X 連鎖慢性肉芽腫症と診断された男性 ・ 3 歳以上、体重 10kg 以上の症例 ・ 体重 1kg あたり 5x10⁶ 個の CD34 陽性細胞が採取可能な症例 ・ 2 ヶ月以上、一般的な治療を継続しても、臨床症状かつ検査結果が改善しない、あるいは悪化する症例で、今後も、その治療効果が確認できないと思われる症例 ・ 造血幹細胞移植に際し、DNA typing で 5/6 以上の HLA 一致で、有核細胞数として体重あたり 2 x 10⁷ 個 (CD34 陽性細胞として 1.5 x 10⁵ 個) 以上の移植ドナーが見つからない症例 ・ 治療期間中及び治療終了後 5 年間の避妊に同意した症例

- ・患者もしくはその代諾者から文書による同意が得られている症例
- ・治療に耐えうる心肺肝腎機能を有する症例
performance status (PS) 0-2、左室駆出率 $\geq 50\%$ 、
安静時の動脈酸素飽和度 (SpO₂) $\geq 95\%$ 、AST、ALT $\leq 100\text{IU/L}$
体表面積 (1.73m²) 補正クレアチニン・クリアランス (Ccr) $\geq 70\text{ml/min}$
随時または食後2時間後の血糖値 $\leq 200\text{mg/dl}$ 、HbA1c $\leq 9\%$

2) 除外基準

- ・ HIV 陽性例
- ・ 悪性腫瘍併発例
- ・ 同意に影響を及ぼす精神障害を有する症例
- ・ 原病と関連しない重篤な合併症を有する症例 (心疾患、肺疾患など)
- ・ 既往例にて重篤なアレルギー反応を起こす可能性のある症例
- ・ これまでにマウス血清を含む薬剤を受けた既往のある症例
- ・ 長期 (3ヶ月程度) の生命予後が見込まれない症例

4. 遺伝子治療臨床研究の実施手順

遺伝子治療が適当と考えられる被験者は、国立成育医療研究センター病院免疫科を受診し、そこで問診や必要な検査を受け、選定基準ならびに除外基準に照らし合わせ実施可能であるかが検討される。実施が適当と判断された被験者は、研究代表者より実施施設長 (総長) に必要書類を添えて審査を申請し、実施施設長 (総長) は遺伝子治療臨床研究適応判定委員会に当該患者が遺伝子治療臨床研究に適しているかの判断を諮問する。当適応判定委員会は実施可能であることを判定し、実施可能と判定された被験者は、再度、本遺伝子治療臨床研究について詳細な説明を受け、自由意思に基づき文書による同意書に署名する。

5. 遺伝子治療臨床研究の実施方法

1) 遺伝子導入方法および投与方法

- ・末梢血 CD34 陽性細胞の採取

患者体重 1kg あたり 10 μg の G-CSF を 5 日間皮下投与し、投与終了翌日に血液分離装置にて末梢血単核球を分離・採取する。回収後、これら細胞からヒト抗 CD34 抗体を用いた ClinMACS にて患者 CD34 陽性細胞を分離する。

- ・CYBB 遺伝子導入

得られた末梢血 CD34 陽性細胞を SCF、TPO、FLT3-L、IL-3 を添加した 1% ヒトアルブミン/ X-VIVO10 にて 48 時間培養し、次に、リコンビナントフィブロネクチン (レトロネクチン) 固層化培養バッグ内で MFGSgp91 のウイルス上清に浮遊されることで CYBB 遺伝子を導入する。これら操作を 24 時間ごと 3 回行う。

・無菌性・無毒性を確認した後、遺伝子導入細胞を 1% ヒト血清アルブミンを含む生理食塩水に浮遊し、末梢静脈より患者に投与される。なお、投与する細胞数の上限は定めないが、最低投与数は体重あたり 5×10^6 個とし、不足分はあらかじめ保存しておいた自己 CD34 陽性細胞を用いて補填する。

・遺伝子導入細胞の骨髄生着を促すため、患者は遺伝子導入細胞の投与前 5 日より、体重 1kg あたり 10mg のプスルファンを 1 日 4 回、2 時間以上かけて、3 日間に投与される。

2) 患者観察

治療中は患者体内での CYBB 遺伝子導入細胞の動態ならびに臨床症状 (感染症の改善) 等を経時的に注意深く観察する。また、遺伝子導入細胞に対する反応や副作用等を日本癌治療学会薬物有害反応判定基準に基づいて評価する。

なお、主な診察項目、検査項目は以下の通りである。

- ・ 診察項目 身体測定 (身長、体重)、バイタルサイン (体温、血圧、脈拍、呼吸数)、内科的診察 (頭頸部、口腔内、胸腹部、皮膚所見、四肢、リンパ節、外陰部)
- ・ 一般検査項目 血液一般検査、尿一般検査、生化学検査、免疫学的検査、血液凝固能検査、骨髄穿刺検査、感染症関連検査 (CRP、 β -D-グルカン、アスペルギルス抗原、カンジダ抗原)、画像検査 (CT、MRI、Echo、内視鏡、PET)
- ・ 遺伝子治療関連検査項目 gp91^{phox} の発現 (7D5 抗体における FACS)、好中球活性酸素産生能 (DHR、NBT、ケミルミネッセンス)、gp91^{phox} の定量 PCR、RCR 出現検査 (Env PCR)

6. 予想される有害事象

1) 薬剤や手技に関する有害事象

- ・ 遺伝子導入細胞：投与する細胞が体外で培養されているため、特に、試薬によるアレルギー反応（かゆみ、発疹、発熱）がある。
- ・ 造血幹細胞採取時：採血部位の出血や感染症。また、細胞採取時の全身倦怠感、手足のしびれ、めまい、吐き気、嘔吐
- ・ G-CSF：関節痛や筋肉痛などの全身の痛み、発疹、吐き気、嘔吐、頭痛、食思不振など。時に、重度の副作用としてアレルギー性ショック、間質性肺炎、血圧の低下、心筋梗塞、脳血管障害、脾臓の破裂など
- ・ プスルファン：けいれんと吐き気が起こるため、プスルファンを複数回にわけてゆっくりと点滴し、また、抗痙れん剤（クロナゼパム）や吐き気止め（グラニセトロン）を使用する。その他、重篤なものとして造血機能抑制があり、これらに対しては輸血、血小板輸注を含めて対処する。また、肝機能障害や生殖細胞への影響も報告されている。

2) 投与した造血幹細胞が生着しない場合

プスルファンの影響により骨髄抑制状態が継続し、さらに投与した遺伝子導入造血幹細胞が骨髄に生着しない場合には、予め保存しておいた自己造血幹細胞を輸注する。しかし、この治療によっても造血能が回復しない場合には、緊急処置として臍帯血移植（HLA 一致 4/6 以下のドナー）からの造血幹細胞移植も考慮する。

3) レトロウイルスベクターの危険性

今回使用したレトロウイルスベクターより野生型レトロウイルス（RCR）が出現する可能性は極めて低いが、定期的に PCR 等にて RCR の存在を確認し、もし、確認されたら詳細な検査の下、抗レトロウイルス剤を使用する。

今回使用したレトロウイルスベクターにより造血系異常が発症する危険性は否定できない。ただ、下記に示すように、造血系異常を起こしやすい状況は、SCID-X1 のように T 細胞が完全に欠損しており、さらに治療遺伝子が共通ガンマ鎖（ γ_c ）のような増殖に関わる遺伝子を使用した場合とドイツ・スイスでの慢性肉芽腫症で使われた SFFV のような強力な LTR を有するレトロウイルスベクターを使用した場合に限られる。

病名	実施国	患者数	造血系異常	頻度
SCID-X1	フランス	12	4 (白血病)	5/26 人
	イギリス	11	1 (白血病)	
	アメリカ	3	0	
CGD	ドイツ・スイス	4	3 (MDS)	3/13 人
	アメリカ	3	0	
	韓国	2	0	
ADA	イタリア	15	0	0/32 人
	アメリカ	6	0	
	イギリス	9	0	
	日本	2	0	
WAS	ドイツ	10	0	0/10

本研究で使用するレトロウイルスベクターは MoMLV 由来のベクターであり、同一のベクターを使用したアメリカ CGD の臨床研究で、4 年を越えた現時点でも一例の造血系異常を発症していない。このようなことから、本遺伝子治療臨床研究で、骨髄異形成症候群（MDS）のような造血系異常が発症する危険性は低いと思われるが、なんらかの造血系異常発症の際には、臍帯血を含めた造血幹細胞移植も考慮する。

4) 遺伝子治療の効果がなく、免疫系が回復しない場合

抗生剤、抗真菌剤、インターフェロン・ガンマ等の現行の治療を継続する。ただ、感染症が悪化するなどの場合は、臍帯血を含めた造血幹細胞移植も考慮する。なお、このような場合でも、再度、遺伝子治療を繰り返す行おうことはない。

5) 子孫への影響

今回使用するレトロウイルスベクターが生殖細胞に感染（垂直感染）することはないと思われるが、一定期間（5 年間）の避妊をお願いする。

7. 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

1) 評価方法と評価基準

本遺伝子治療臨床研究は第 I/II 相試験として実施し、その安全性（遺伝子導入操作及び遺伝子導入細胞の安全性）と有効性（臨床検査的有効性と症状改善等の臨床的有効性）を別紙に示す基準を基に評価する。

2) 中止判定基準

(1) 症例の中止判定基準

- ・ 被験者又は代諾者から離脱の申し出があった場合
- ・ 観察期間中に被験者との接触が困難となり、経過観察が不可能となった場合
- ・ 観察期間中に造血幹細胞移植を施行した場合
- ・ その他、総括責任者が継続を困難と判断した場合

なお、上記の場合であっても、有害事象の発症により被験者の安全が損なわれると考えられる場合は、積極的に経過観察のみなどの追跡調査を患者に依頼する。

(2) 遺伝子治療臨床研究の中止判定基準

- ・ 予測できない有害事象が発症した場合
- ・ 予想可能な有害事象であっても、その有害事象が重大と考えられる場合
- ・ 外部評価委員会からの中止要請があった場合

なお、上記理由にて本遺伝子治療臨床研究の継続が困難となったと考えられる場合は、総括責任者は速やかに実施施設長にその旨を報告し、本遺伝子治療臨床研究の新規登録中止を申し出る。

8. 有害事象への対応

有害事象とは、本遺伝子治療臨床研究との因果関係の有無に関わらず、治療中止及びその後の観察期間中に被験者に生ずるあらゆる好ましくない医療上の症状、徴候、疾患を指す。

被験者に有害事象が発生した場合、総括責任者は速やかに実施施設長に報告し、実施施設長は「評価委員会」に報告する。「評価委員会」は、報告を受けた有害事象の詳細な内容（症状、発症日、程度、処置の有無、経過）を十分に審議し、有害事象と本遺伝子治療臨床研究との関連性、総括責任者より提案された有害事象に対する医療処置ならびに研究継続の可否を含めた意見書を実施施設長に速やかに提出する。なお、被験者の状態により、「評価委員会」の開催が待てない場合は、総括責任者の判断のもと有害事象に対する処置を開始することとする。ただし、全ての医療処置は、総括責任者あるいはその代理人となる医師が、被験者に対してその旨を十分に説明し、同意を得た後に開始するものとする。同時に原因の究明に努める。

実施施設長は、「評価委員会」の意見書を基に「審査委員会」の開催を審査委員長に要求する。「審査委員会」では「評価委員会」の意見書を基に本遺伝子治療臨床研究の安全性・有効性を評価し、継続の可否を含めて最終的な意見を実施施設長に報告する。実施施設長は、これら意見書を速やかに厚生労働省などの関係各省に文書をもって報告する。なお、重篤な有害事象の場合には、たとえ本遺伝子治療臨床研究が終了後であっても、発生時から 48 時間以内に厚生労働大臣に報告する。また、本遺伝子治療臨床研究に関連する国内外の事象に関しても、速やかに厚生労働大臣に報告する。

9. 個人情報に関して

本遺伝子治療臨床研究における個人情報は、国立成育医療研究センターが定める保有個人情報管理規定に基づき保護される。

備 考	<p>慢性肉芽腫症に対する造血幹細胞遺伝子治療の国外での状況</p> <p>現在まで、慢性肉芽腫症に対する造血幹細胞を標的としたレトロウイルスベクターによる造血幹細胞遺伝子治療は、米国、ドイツ、スイス、英国、韓国において行われ、その臨床経過を学会等にて報告されている。使用されたベクターや前処置、治療効果、有害事象は各々の症例で異なるが、下記の表で示すように現在までに 23 症例が行われている。</p> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th></th> <th>実施国</th> <th>病型</th> <th>ベクター</th> <th>症例数</th> <th>前処置</th> <th>治療効果</th> <th>造血異常</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>1995</td> <td>米国</td> <td>p47(-)</td> <td>MFGS-p47</td> <td>5</td> <td>なし</td> <td>なし</td> <td>なし</td> </tr> <tr> <td>1998</td> <td>米国</td> <td>X-CGD</td> <td>MFGS-p91</td> <td>5</td> <td>なし</td> <td>なし</td> <td>なし</td> </tr> <tr> <td rowspan="2">2001</td> <td>英国</td> <td>X-CGD</td> <td>MFGS-p91</td> <td>1</td> <td>メルファラン</td> <td>あり</td> <td>なし</td> </tr> <tr> <td>ドイツ</td> <td>X-CGD</td> <td>SF71gp91</td> <td>2</td> <td>ブスルファン</td> <td>あり</td> <td>あり</td> </tr> <tr> <td rowspan="2">2004</td> <td>スイス</td> <td>X-CGD</td> <td>SF71gp91</td> <td>1</td> <td>ブスルファン</td> <td>あり</td> <td>なし</td> </tr> <tr> <td>英国</td> <td>X-CGD</td> <td>SF71gp91</td> <td>3</td> <td>ブスルファン</td> <td>一部あり</td> <td>なし</td> </tr> <tr> <td>2006</td> <td>米国</td> <td>X-CGD</td> <td>MFGS-p47</td> <td>3</td> <td>ブスルファン</td> <td>あり</td> <td>なし</td> </tr> <tr> <td>2007</td> <td>韓国</td> <td>X-CGD</td> <td>MT-gp91</td> <td>2</td> <td>ブスルファン フルダラビン</td> <td>-</td> <td>なし</td> </tr> <tr> <td>2008</td> <td>スイス</td> <td>X-CGD</td> <td>SF71gp91</td> <td>1</td> <td>ブスルファン</td> <td>あり</td> <td>あり</td> </tr> </tbody> </table> <p>欧州で使用されている SF71gp91 は、プロモーターに工夫がなされており、骨髄系細胞において効率良く導入遺伝子を発現させる特性がある。ただ、この特性により白血病などの造血系腫瘍を発症しやすいことも報告されている。ドイツでの患者で見られた造血異常は、SF71gp91 ベクターが癌原遺伝子の MDS1 近傍に挿入されたことにより誘発されたと考えられている。</p> <p>本遺伝子治療臨床研究で使用される MFGS-gp91 は、MoMLV 由来のレトロウイルスベクターで、SFFV に比べて導入遺伝子の発現効率は悪いが、白血病等の造血異常は発症しにくい。ただ、レトロウイルスベクターである以上、宿主染色体挿入による白血病発症の危険性は避けることは困難である。したがって、被験者の利益と危険性について十分な検討がなされた上で遺伝子治療臨床研究がなされるべきものと考えられる。</p>								実施国	病型	ベクター	症例数	前処置	治療効果	造血異常	1995	米国	p47(-)	MFGS-p47	5	なし	なし	なし	1998	米国	X-CGD	MFGS-p91	5	なし	なし	なし	2001	英国	X-CGD	MFGS-p91	1	メルファラン	あり	なし	ドイツ	X-CGD	SF71gp91	2	ブスルファン	あり	あり	2004	スイス	X-CGD	SF71gp91	1	ブスルファン	あり	なし	英国	X-CGD	SF71gp91	3	ブスルファン	一部あり	なし	2006	米国	X-CGD	MFGS-p47	3	ブスルファン	あり	なし	2007	韓国	X-CGD	MT-gp91	2	ブスルファン フルダラビン	-	なし	2008	スイス	X-CGD	SF71gp91	1	ブスルファン	あり	あり
	実施国	病型	ベクター	症例数	前処置	治療効果	造血異常																																																																														
1995	米国	p47(-)	MFGS-p47	5	なし	なし	なし																																																																														
1998	米国	X-CGD	MFGS-p91	5	なし	なし	なし																																																																														
2001	英国	X-CGD	MFGS-p91	1	メルファラン	あり	なし																																																																														
	ドイツ	X-CGD	SF71gp91	2	ブスルファン	あり	あり																																																																														
2004	スイス	X-CGD	SF71gp91	1	ブスルファン	あり	なし																																																																														
	英国	X-CGD	SF71gp91	3	ブスルファン	一部あり	なし																																																																														
2006	米国	X-CGD	MFGS-p47	3	ブスルファン	あり	なし																																																																														
2007	韓国	X-CGD	MT-gp91	2	ブスルファン フルダラビン	-	なし																																																																														
2008	スイス	X-CGD	SF71gp91	1	ブスルファン	あり	あり																																																																														

(別紙) 遺伝子治療臨床研究の安全性、有効性判定基準

1. 安全性評価

1) 遺伝子導入細胞: 無菌性検査、マイコプラズマ検査、エンドトキシン検査、RCR
上記、全ての検査項目の陰性を持って安全性を評価

2) 被験者

細胞投与後～12ヶ月: 4週ごと、12ヶ月～60ヶ月: 3ヶ月ごと

60ヶ月～ 最低でも1年ごとの臨床症状、検査による観察

薬物有害反応判定基準で grade II を越えないことで安全性を評価

2. 有効性評価

1) 遺伝子導入細胞

PCR、抗 gp91^{phox} 抗体 (7D5) 染色による遺伝子導入効率の解析

投与前、5%以上の遺伝子導入細胞の存在、

投与後、末梢中遺伝子導入細胞の確認あるいは好中球活性酸素産生能の上昇、にて評価

2) 被験者

2-1) 感染症に関する短期的評価

治療前に存在していた感染症の遺伝子治療1ヶ月後の変化

1	治療前の感染症が治癒
2	治療前より感染症が改善し、治療強度を減弱できている
3	治療前よりも感染症が明らかに改善している (同じ治療を継続)
4	治療前の感染症が不変
5	治療前よりも感染症が悪化

2-2) 感染症に関する長期的評価

短期的評価後、1年ごとに、治療前12ヶ月間のCGD特有の感染症 (皮膚化膿症、膿瘍、細菌・真菌性肺炎、化膿性リンパ節炎、肝膿瘍、肛門周囲膿瘍など) の罹患程度と比較する。具体的には、治療前後の発熱日数、外来受診回数、入院回数、入院日数、感染症に対する使用薬剤の種類 (抗菌剤、抗真菌剤)、用量、治療日数、学校・職場などへの欠勤数の比較を基に、下記のような治療後の感染頻度を決定する。

1	全くない (予防なし)
2	全くない (予防あり)
3	治療前より少ない
4	治療前と同じ
5	治療前より多い

2-3) 被験者に対する本遺伝子治療の有効性に関する総合判断基準

短期的有効性及び長期的有効性を基に、治療前後の患者の病状を下記の項目から選び、レベルの減少をもって有効であると判断する。

1	何ら症状/検査異常がなく治療/予防ともに不要である (検査のみ実施)
2	感染予防が必要で定期的に外来通院しているが臨床症状はない
3	軽度の臨床症状/検査異常が時折あり、時に外来で治療を要す
4	外来通院が主体であるが、時に臨床症状/検査異常のため入院治療を要す
5	主に入院治療が主体であるが、治療によって症状/検査が改善する
6	入院して濃厚な治療をするも反応が悪く、退院のめどがたたない
7	あらゆる治療にも拘らず死期がせまっている (死)

《スケジュール》

	登録前		造血幹細胞採取						入院	前処置				投与 0日	投与直後観察							短期的観察		長期的観察 5年目以降	
	登録前	8週前	0日目	1日目	2日目	3日目	4日目	5日目		6日目	4日前	3日前	2日前		1日前	1日目	2日目	3日目	4日目	5日目	6日目	7日目	2週目		3-8週目
外来	○	○	△*	—————							治療のために、中心静脈のカテーテルを挿入します。								△*1	△*1	○				
入院									○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○			
臨床研究の説明	○																								
同意の確認	○																								
患者適性調査 (病歴等)	○																								
診察		○								○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
登録時検査*2		○																							
骨髄検査*3		○*2																					●5ヵ月と 12ヵ月後	●1年毎	●1年毎
血液検査	血液一般検査	○*2								○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
	生化学検査(免疫学的検査含む)	○*2								○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
	感染症の検査*4	○*2																			○	○	○	○	○
	特殊検査*5	○*2																			●8週目	●3ヵ月毎	●6ヵ月毎	●1年毎	●1年毎
尿検査	○*2								○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
CT画像検査	○*2	○							○														●3ヵ月毎	●1年毎	●1年毎
G-CSF投与			○	○	○	○	○																		
造血幹細胞採取								○	○																
ブスルファンの点滴									○	○	○														
造血幹細胞の投与										○															

△: 外来と入院の場合があるとき ○: 必須です ●: スケジュールに沿って実施します

*1: 必要な場合は入院

*2: 登録時の検査(血液検査、尿検査、感染症の検査(HIV、HBs、HCV、梅毒)、CT検査、心電図検査、心エコー検査、肺機能検査、骨髄検査)

*3: 骨髄検査(入院することがあります。)

*4: 感染症の検査(β-Dガラクトシ、プラズミアアスペルギルス抗原、カンジダ抗原)

*5: 特殊検査(末梢好中球CD15検査、好中球活性化酸素産生能検査)・・・移植した血液のよたつきをみる検査

※遺伝子治療の6ヵ月後からは、骨髄検査と特殊検査があるときは、国立成育医療研究センターに受診して頂きます。その以外は、かかりつけの病院で検査をすることもできます。

患者さんまたは保護者の方へ

「慢性肉芽腫症に対する遺伝子治療臨床研究」

説明文書及び同意書(本人用及び保護者用)

これから「臨床研究」についてご説明します。この「臨床研究」への参加に同意していただけるかどうかは、あなたとあなたのお子さまの自由な意思によるもので、誰からも強要されるものではありません。あなたとあなたのお子さまの参加に同意できない場合には、遠慮なく申し出てください。また、保護者の方が参加に同意した場合でも、あなたのお子さまが拒否した場合は、臨床研究に参加することはできません。ただ、この「臨床研究」への参加に同意していただけない場合でも、今後の診療や治療になんら不利益が生じることはありませんので、ご安心ください。

この説明文書は、研究に参加される16歳以上の方を対象としていますので、保護者の方が読まれる場合は、あなたを「あなたのお子さま」と読み替えてください。

目次

1. はじめに	3
2. この臨床研究で行う遺伝子治療について	4
3. 目的	4
4. この研究に参加できる方とできない方	4
5. この臨床研究の方法	5
6. この研究の参加により期待される効果と、予想される不利益	8
7. この臨床研究に参加されない場合の治療法	12
8. 臨床研究参加に伴う費用について	12
9. 健康被害に対する治療と補償について	13
10. 新たな情報の提供について	13
11. プライバシーの保護について	13
12. 知的財産権の帰属について	13
13. 保存サンプルに関して	14
14. データの二次利用について	14
15. お願いしたいこと	14
16. 臨床研究参加に対する拒否および撤回について	14
17. 相談窓口	15
《スケジュール》	16
《付録 用語集》	17
同意書	19

1. はじめに

あなたは、医師から今の病状が現在行っている治療だけでは良ならず、また、慢性肉芽腫症に対して有効と考えられる HLA 一致造血幹細胞移植もドナー不在などの理由により実施することが難しいとお聞きしていると思います。同時に、医師から新しい治療法としての遺伝子治療について、簡単な説明を受けていると思います。

遺伝子治療は、研究段階の治療法のため、その有効性、安全性について調べています。

そこで、国立成育医療研究センターの免疫科で慢性肉芽腫症の方を対象とした遺伝子治療の臨床研究を行うこととしました。これから、この説明文書を用いて、その内容をご説明します。心配なこと、わからないことがありましたら、遠慮なく、この遺伝子治療を担当する医師にお尋ねください。

なお、この説明文書は、「慢性肉芽腫症に対する遺伝子治療臨床研究」（以下、「臨床研究」とします。）の説明資料であり、慢性肉芽腫症の病気の特徴や一般的な治療方法ならびに遺伝子治療に関しては、別冊「慢性肉芽腫症についてのパンフレット」をご覧ください。

この説明文書と同意書の控えは、大切に保管してください。

《臨床研究とは》

現在、日常的に行われている診療では、いろいろな予防法、診断法、治療法の中から安全性や有効性などの点で最善と認められた方法が選択されます。このように標準的な医療が生み出されるためには、前もってその安全性や有効性を、ヒト（患者さんや健康な方）を対象とした科学的検証によって確認する必要があります。そこで、患者さんの生活の質の向上を目的として、医療の標準化を目指した医学研究を「臨床研究」とよびます。

今回の臨床研究は、当センター内に設置された「遺伝子治療臨床研究審査委員会」（倫理委員会）及び国の遺伝子治療審査委員会において、この臨床研究に参加される患者さんの人権保護や安全性確保ならびに科学的に問題がないか等について審査され、上記の点に関して「特段、問題はなく、実施して良い」と承認を受けております。

（独）国立成育医療研究センター遺伝子治療臨床研究審査委員会：平成 X 年 Y 月 Z 日承認
厚生労働大臣（国の遺伝子治療審査委員会）：平成 X 年 Y 月 Z 日 承認

なお、あなたは、当センター内に設置された「遺伝子治療臨床研究適応判定委員会（以下：「適応判定委員会」）」において、臨床研究へ参加することが適切であるか審査されます。また、臨床研究に参加している間、今回の遺伝子治療の安全性、有効性に関して「遺伝子治療臨床研究評価判定委員会」において評価されます。

2. この臨床研究で行う遺伝子治療について

慢性肉芽腫症は、活性酸素を作るための必要な酵素（この酵素を“NADPH オキシダーゼ”^{☆i}といいます）が働かないために発症する病気です。

慢性肉芽腫症の方は、この“NADPH オキシダーゼ”を構成するタンパク質をつくる遺伝子に異常があるため、病原体を殺菌する正常な好中球をもちません。

そこで、好中球など血液細胞の源（みなもと）となる細胞（造血幹細胞といいます）に正しく機能する“遺伝子”を入れ、そこから生み出される好中球に病原体を殺菌してもらいます。このように“遺伝子”を用いて病気を治す治療法を「遺伝子治療」といい、今回、遺伝子を入れる細胞が造血幹細胞であることから「造血幹細胞遺伝子治療」といいます。

☆i NADPH オキシダーゼについては、付録用語集をご覧ください。

3. 目的

今回の遺伝子治療臨床研究では、慢性肉芽腫症に対する造血幹細胞遺伝子治療の安全性と有効性を評価します。

4. この研究に参加できる方とできない方

1) この遺伝子治療臨床研究に参加できる方

以下の選定項目を全て満たす場合は、参加できます。

- ① 遺伝子検査でX連鎖慢性肉芽腫症^{☆ii}の診断が確定している方
- ② 3歳以上の患者さんで、体重が10kg以上の方
- ③ 遺伝子治療に必要な自分の造血幹細胞を体重あたり 5×10^6 個以上が採取可能な方
- ④ 2ヶ月以上の治療を行っても臨床症状や検査所見に改善が見られず、今後、治療を継続しても病状の改善が期待できない方
- ⑤ 同種造血幹細胞移植のためのHLAアレル検査で5/6以上一致ドナーの見つからない方
- ⑥ 文書による今回の遺伝子治療臨床研究への参加の意思を示す方
- ⑦ 腎臓、肝臓、心臓、肺などの機能が、検査によりこの臨床研究に参加できると担当医師が判断した方
- ⑧ 遺伝子治療期間中及び終了後5年間、避妊をすることに同意された方

☆ii X連鎖慢性肉芽腫症については、付録用語集をご覧ください。

2) この遺伝子治療臨床研究に参加できない方

以下の除外項目にひとつでも当てはまる場合は、参加できません。

- ① HIV（エイズ）に感染している方
- ② 悪性腫瘍（がん）にかかっている方
- ③ 慢性肉芽腫症と関連しない重い合併症がある方
- ④ 過去の病歴から薬物などに対し重いアレルギー反応（意識障害や血圧低下な

- どの循環障害)を発症する可能性がある方
- ⑤ 長期(3ヶ月程度)の生命予後が見込まれない方
- ⑥ 成人の方で本人からの同意の取得が困難な精神障害を有している方

また、診察や検査などの結果により、この臨床研究の参加条件に合わないと思われれば、担当医師が判断した場合は、この臨床研究には参加できませんので、あらかじめご了承ください。

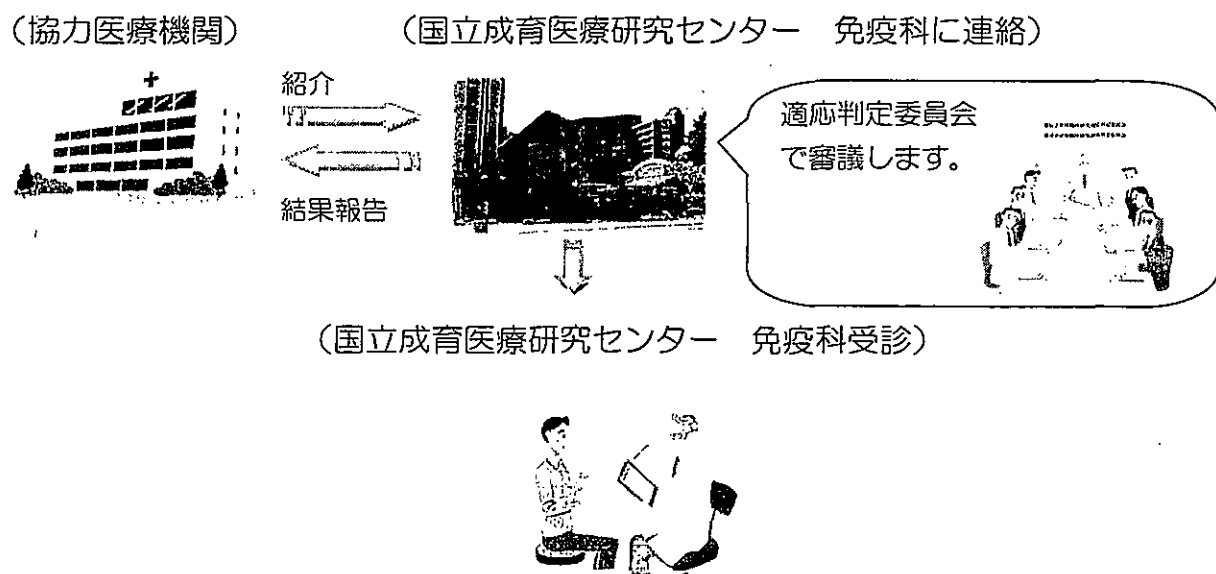
5. この臨床研究の方法

1) この臨床研究に参加する人数と期間

この臨床研究に参加される方は、5名を予定しており、治療を受けてから少なくとも5年間は健康状態を確認するため、当センター病院「免疫科」を受診していただきます。

2) この臨床研究の流れ

遺伝子治療に関する簡単な説明を受け、この臨床研究に参加して治療を希望される方は、当センター病院「免疫科」を受診してください。なお、他院で治療を受けている方は、一度、その病院から当免疫科に紹介していただくことになります。当免疫科では、あなたの病状を協力医療機関の医師と共に検討し、今回の臨床研究に適していると判断した場合は、当センターの「適応判定委員会」に実施に関する審査を申請します。そこで「実施可能」と判断された場合は、当免疫科の医師があなたに今回の臨床研究に関する詳細な説明を行い、同意の有無を確認いたします。



3) 当センターで行う遺伝子治療の流れ

この遺伝子治療臨床研究のスケジュールは別紙「スケジュール」をご参照ください。

① 遺伝子治療臨床研究の説明

免疫科の医師から、臨床研究について詳しい説明があります。臨床研究の説明を受け、参加して良いと思われましたら、同意書に署名します。

あなたを診察し、病状が安定している事を確認した上で、遺伝子治療の日程と入院日を決めます。

② 当センターへ入院

遺伝子治療のために入院をします。

③ 登録時の検査

遺伝子治療を受けることができるか確認するため血液検査、骨髄検査、画像検査、心電図などの生理学的検査を行います。この検査結果によっては、この臨床研究に参加できない場合もありますので、ご了承ください。

*ただし、2カ月以内に同様の検査を行っている場合は、これら検査を省略できる場合もあります。

*外来受診時に検査する事もあります。

④ 造血幹細胞の採取

今回の臨床研究（遺伝子治療）では、少なくとも体重1kgあたり500万個の造血幹細胞が必要です。ただ、何らかの原因で治療後にあなたの血液を造る能力（造血能）が回復しない可能性もあります。そのような場合に備えて、同時に造血能を回復するための予備の造血幹細胞も保存したいと考えております。そのため、一回の採取で十分な造血幹細胞が取れない場合は、1～2カ月程度期間を空け、再度、造血幹細胞を採取することもあります。

方法は、毎日、造血幹細胞を増やす薬（顆粒球コロニー刺激因子 G-CSF^{*iii}）を皮下に注射し、5日後（少ない場合は6日後も）に静脈より造血幹細胞を含む血液細胞を採取します。一回の採取には、おおよそ3～4時間かかります。

☆ iii 顆粒球コロニー刺激因子：G-CSFについては、付録用語集をご覧ください。

⑤ クリーンルーム（個室）入室

今回の臨床研究（遺伝子治療）では、遺伝子をいれた造血幹細胞が、あなたの骨髄へ効率よく戻れるようにするために、造血能を低下させる薬を使用します（下記の「前処置」参照）。このため、一定期間、免疫の機能が低下しますので、感染症を予防するためにクリーンルーム（個室）に入室します。

⑥ 前処置

正常な遺伝子が入った造血幹細胞が、あなたの体内で長期間定着するためには、骨髄の中にあらかじめ十分な居場所を用意する必要があります。造血機能を抑える薬（プスルファン）を一定期間点滴することで、あなたの骨髄にその場所を作ることができます。体重にあった量を1日4回、2時間くらいかけて、3日間、静脈から点滴（点滴静注）します。体重による投与方法は以下の通りです。

【ブスルファンの投与量の目安】		
体重 (kg)	体重あたりの1回量	体重あたりの総投与量 (回数)
10 ≤ 体重 ≤ 23	1.00mg	10.0mg (10回)
23 < 体重 ≤ 34	0.95mg	9.5mg (10回)
34 < 体重	0.80mg	9.6mg (12回)

⑦ 遺伝子を入れた造血幹細胞の点滴

最後にブスルファンを点滴してから24～36時間後に、遺伝子を入れた細胞をゆっくりと（10分以上かけて）静脈から点滴します。遺伝子を入れた細胞を点滴する前後で、安全確認のため、体温、呼吸、血圧などの全身状態を注意深く観察します。また、この段階ではあなたの免疫は著しく低下しているため、生活面で一定の制限があります。

なお、具体的な内容については、入院時に医師や看護師より説明があります。

⑧ 一般病室への移動

この臨床研究で使用するレトロウイルスベクター^{☆iv}の安全性は確立されたものですが、あなたの身体の中に感染能力のあるウイルスがでていないかを確認するために、造血幹細胞を戻した後、あなたの血液や尿を調べます。このような感染能力があるウイルスが検出させず、造血能も回復したら、クリーンルームから一般病室に移ります。一般病室に移るまでの期間は、個人差があり明確には示せませんが、およそ2～4週間を予定しています。一般病室に移り、検査でも問題がないと判断されたら、退院することができます。遺伝子治療の全入院期間は、約3ヵ月程度の予定です。

☆ivレトロウイルスベクターについては付録用語集をご覧ください。

⑨ 退院後

退院後も定期的に免疫科を受診していただき、治療の効果や副作用などを確認します。感染症にかかった回数や、抗生剤を使用の有無、学校や仕事を休んだ回数なども確認します。

退院後1年目まで1ヵ月毎に診察と検査が必要となります。免疫科には、3ヵ月毎に受診してください。それ以外は、かかりつけの病院を受診することもできます。1年目以降5年間は、3ヵ月毎に診察と検査を行います。当免疫科は、6ヵ月毎に受診してください。骨髄検査があるときは、入院することがあります。詳しくは、別紙「スケジュール表」をご確認ください。

⑩ 退院後5年以降のフォローアップ

長期にわたり、この遺伝子治療の安全性と有効性を評価するために、あなたの病状や血液検査を確認する必要があります。できるだけ1年毎に、免疫科を受診していただきますが、困難な場合は、かかりつけの医療機関を受診することも可能です。その医療機関からあなたの情報を提供して頂く必要がありますので、かかりつけの医療機関名、所在地、連絡先等をお知らせください。

6. この研究の参加により期待される効果と、予想される不利益

1) 期待される効果について

この臨床研究で行われる遺伝子治療が治療効果を示すと、現在、発症している重い感染症がおさまり、その後も慢性肉芽腫症による重い病状が発症しにくくなることが予想されます。これは、2006年に同一プロトコールで行われたアメリカの遺伝子治療で、遺伝子治療を受けた3名のうち2名の方で肝膿瘍や肺膿瘍などの感染症が治り、その後も重い感染症を発症していないことから推測されます。ただ、残念ながら残り1名の方は全く治療効果を確認できず、感染症は治癒しませんでした。具体的な内容を下記の表に示します。

	症例 1	症例 2	症例 3
年齢	28 歳	28 歳	19 歳
遺伝子導入効率	73%	41%	25%
移植直後の遺伝子導入細胞の比率	26%	5%	4%
最終的な遺伝子導入細胞の比率（期間）	0.7~1%（3 年）	0%	0.03%（2 年）
遺伝子治療前の感染症	ブドウ球菌の巨大肝膿瘍。3~6 ヶ月ごとに感染症に罹患	真菌肺感染症 (Paecilomyces)。胸部から肋骨にわたり膿瘍を形成し、2 年間のドレナージ施行	アスペルギルス肺炎。1 年間の抗真菌剤にて改善せず。
遺伝子治療後の感染症	新たな肝膿瘍	真菌感染症のため 6 ヶ月後に死亡。移植準備中	肝膿瘍を 1 回発症
遺伝子治療後の治療	抗生剤のみで軽快	ICU 管理	外科的切除と抗菌剤にて現在は軽快
遺伝子治療の感染予防効果	あり	なし	あり

このような遺伝子治療の効果は患者さんごとで大きく異なり、また、症状の回復程度や治療効果が続く期間も患者さんによって異なることが予想されます。慢性肉芽腫症により発症する腸炎に関しては造血幹細胞移植により治ることから、今回の遺伝子治療により良くなることは期待されますが、現在まで腸炎に対しての遺伝子治療は行われておらず、その治療効果に関しては断定できません。

遺伝子治療に使われる造血幹細胞は、もともとあなたの細胞ですから、これまで行われてきた輸血や顆粒球輸注あるいは同種造血幹細胞移植とは異なり、重度のアレルギー反応や移植片対宿主病を合併することはありません。

2) 予想される不利益

(1) 薬の副作用や手技に関する危険性

・ 遺伝子導入細胞は体外で培養されているため、時にアレルギー反応（かゆみ、発疹、発熱）が起こることがあります。

・ 造血幹細胞を採取することによって、採血部位に出血や感染症が起こることがあります。また、細胞採取中に全身の倦怠感、手足のしびれ、めまい、吐き気、嘔吐などが発症する場合があります。

・ G-CSF は血液中の造血幹細胞を増やす薬ですが、時に関節痛や筋肉痛などの全身の痛み、発疹、吐き気、嘔吐、頭痛、発熱、食欲不振などが起こります。また、重度の副作用としてアレルギー性ショック、間質性肺炎、血圧の低下、心筋梗塞、脳血管障害、脾臓の破裂などがあります。

・ ブスルファンには以下のような副作用があります。

【吐き気とけいれん】

吐き気や嘔吐は 70%以上の患者さんで認められます。このため、吐き気が強いときは、点滴で吐き気止めを使用します。また、けいれんはブスルファンが脳脊髄液中に流れ込むことで起こるといわれ、重大な副作用です。その発症頻度は、けいれん予防薬を使用しない場合は、10%以上で起こると報告されています。このため、今回の臨床研究では、ブスルファンを点滴する前には抗けいれん薬を使用し、また、ブスルファンを複数回に分け、ゆっくりと点滴することでけいれんを予防します。

【造血機能抑制】

ブスルファンを使用することで、造血能が低下します。そのため、使用後に複数回血液検査を行い、必要であれば輸血等を含めて迅速に対処いたします。

なお、ブスルファンの影響で、免疫の機能も一定期間低下します。免疫の機能が回復するまでは、感染症を予防するためにクリーンルームに入室していただきます。

【肝障害】

重大な副作用として、肝中心静脈閉塞症があります。これは肝臓の細い静脈が急速につまり、肝臓が急激に腫れ、腹水（おなかに水が貯まる）や黄疸をきたす病気です。その発症はブスルファンの使用例の 7.5%でおこり、肝中心静脈閉塞症により急激に肝不全が進行すると、死亡することもあります。

【生殖細胞への影響】

マウスなどの動物実験から、ブスルファンにより生殖細胞（精子）が障害されると報告されています。今回使用する用量は、通常造血幹細胞移植で使用される量と比べて少なく、あなたの生殖細胞がどの程度、障害を受けるかはわかりませんが、将来、子どもを持つ際に何からの影響がある可能性があります。

(2) あなたに戻した造血幹細胞が骨髄に定着しない危険性

今回使用する細胞はあなたの造血幹細胞ですから、あなたの骨髄に定着しない可能性は低いと思われます。ただ、何らかの原因により投与した細胞が定着せず、ブスルファンによる造血能の抑制が遷延する危険性が考えられます。そのような状態が長引くと、造血能が低下して貧血、感染症の悪化、出血などを合併することがあります。その場合

には、予備として保存しておいたあなたの造血幹細胞を点滴します。しかし、この治療を行っても造血能が回復しない場合は、緊急処置として臍帯血を含めた HLA 不完全一致の造血幹細胞移植が必要な場合もあります。

(3) レトロウイルスベクターの危険性

一般にウイルスは、次から次に周囲の細胞に感染することで増えていきますが、今回使用するレトロウイルスベクターは遺伝子治療用に開発されたもので、安全性の面から、周りの細胞に感染しないよう工夫されています。そのため、あなたの身体で新しいウイルスが出現する可能性は極めて少ないと考えられます。ただ、何らかの原因でこのような感染性ウイルスが発生する危険性もあります。万が一、そのようなウイルスが出現した際は抗ウイルス薬等を用いて早急に対処します。

(4) 重大な危険性 遺伝子を入れた細胞のがん化

今回の遺伝子治療では、正しく機能する遺伝子をあなたの造血幹細胞に入れるためレトロウイルスを使用します。このレトロウイルスは染色体に入るとき、特定の場所だけに入るのではなく、いろいろな場所に入ることが分かっています。特に、最近の研究からレトロウイルスは私たちがもともと染色体のなかに持っている「がん遺伝子」（「がん」の原因となる遺伝子）や「がん抑制遺伝子」（「がん」の発生を抑える遺伝子）の近くに入りやすいことが明らかになりました。このように、もし、あなたの染色体に入ったレトロウイルスが「がん遺伝子」を活性化（遺伝子を動かすこと）したり、「がん抑制遺伝子」を不活性化（遺伝子の働きを止めること）したりすると、がん（白血病）を発生する危険性があります。

実際、2002 年 10 月に次のような有害事象がフランスより報告されました。それは、X 連鎖重症複合免疫不全症に対して行われた造血幹細胞遺伝子治療において白血病が発症したというものでした。X 連鎖重症複合免疫不全症は重い免疫不全症の一つで、共通ガンマ鎖という遺伝子に異常があることが知られており、造血幹細胞遺伝子治療では患者さんの造血幹細胞にレトロウイルスベクターにてこの共通ガンマ鎖遺伝子を入れ、再び、患者さんに戻しました。現在まで 11 名の方がこの遺伝子治療を受け、9 名の方で治療が成功し、患者さんは通常の日常生活を送れるようになりました。しかし、4 番目に遺伝子治療を受けた方が、急性リンパ性白血病（血液のがん）を発症しました。ただ、この方はすぐに化学療法を受けられ、白血病は寛解になり（治まった状態）、再び、通常の日常生活を送れるようになっています。白血病が起こった原因は、治療に使用したレトロウイルスベクターが染色体に入ったとき、近くにあった「がん遺伝子」を活性化したためと考えられていますが、このようにフランスでは遺伝子治療を受けられ、白血病を発症した患者さんは現在まで 4 名おられ、うち 1 名は治療の効果なく亡くなられています。また、同様の遺伝子治療を行ったイギリスでも 10 名中 1 名で白血病を発症しています。

一方、慢性肉芽腫症に対する遺伝子治療では、使用したレトロウイルスベクターの種類がドイツ・スイスとアメリカでは異なり、ドイツ・スイスでのベクターの方が強力なものが使用されています。その結果、他の国と比べ長期にわたる治療効果が得られましたが、逆にウイルスベクターの強さが原因と思われる副作用が出現し、治療を受けた患者さん 4 名中 3 名で重い血液の病気（骨髄異形成）を発症しました。ただ、アメリカでは比較的弱いレトロウイルスベクターを使用したため、ドイツ・スイスのような治療効果を確認できた症例は一例のみでしたが、現時点（2010 年）で重い血液の病気を発

症した患者さんは一名もおられません。なお、イギリスでの遺伝子治療のうち 1 名がアメリカで使用されたベクターを使用し、残り 3 名がドイツ・スイスで使用したベクターを使用しましたが、いずれの患者さんにおいても白血病を発症しておりません。また、韓国で行われた遺伝子治療ではアメリカで使用されたベクターに近いベクターを使用しましたが、白血病等の有害事象は発症していません。

以下の表に、遺伝子治療に伴って発症した白血病など重い血液の病気の頻度をまとめました。

病名	実施国	遺伝子治療患者(人)	重い血液の病気	病気別の頻度
X連鎖重症複合免疫不全症	フランス	12	4人(白血病)	5/26人
	イギリス	11	1人(白血病)	
	アメリカ	3	0	
慢性肉芽腫症	ドイツ・スイス	4	3人(骨髄異形成)	3/13人
	イギリス	4	0	
	アメリカ	3	0	
	韓国	2	0	
ADA欠損症	イタリア	15	0	0/32人
	アメリカ	6	0	
	イギリス	9	0	
	日本	2	0	
WAS	ドイツ	10	1	1/10人
合 計				9/81人

今回の臨床研究は、レトロウイルスベクターを含め、アメリカで行われた遺伝子治療とほぼ同一の方法で行われますので、この臨床研究で白血病などのがんが発症する危険性は高くないと思われます。ただ、遺伝子治療によって白血病が発症するメカニズムは、いまだ十分には解明されておらず、また、疾患は異なるとは言え、今回使用するベクターはX連鎖重症複合免疫不全症において白血病を起こしたベクターとほぼ同一のものでありますから、あなたに白血病が発症する危険性は否定できません。

白血病などを発症した際には、抗がん剤治療を含め、適切な治療を行います。必要に応じて、臍帯血を含めた造血幹細胞移植を実施することも考慮します。

なお、今回の臨床研究ではこれら白血病の発症を予測し、また、早期に発見するために欧米で採用されている最新の検査技術を導入し、危険性を最小限に抑えるように努めています。

(5) 免疫の機能が回復しない危険性

たとえ、あなたの身体にもどした造血幹細胞が骨髄に定着し造血能が回復しても、遺伝子を入れた細胞が十分に働かない場合、あなたの免疫の機能(病原体を殺菌する能力)は回復しません。この場合、現在行っている抗生剤、抗真菌剤、インターフェロン・ガンマ等の治療を継続することになります。しかし、それでも慢性肉芽腫症による症状が悪化する時には、非血縁者骨髄あるいは臍帯血を用いた造血幹細胞移植も考慮します。その場合には、再度、その内容を詳細に説明します。ただし、今回の臨床研究ではこのような場合でも、同様の遺伝子治療を繰り返し行うことはありません。

（6）子どもを持つ際の問題点

今回、使用するレトロウイルスベクターがあなたの生殖細胞（精子）に影響を与える可能性は極めて低いと思われませんが、その危険性を完全に否定することは出来ません。そのため、一定期間（5年程度）の避妊にご協力ください。

7. この臨床研究に参加されない場合の治療法

今回の臨床研究に参加されない場合は、下記のような治療法を継続あるいは提案いたします。

（1）薬物療法

重い感染症にかかっている方は、いままで通り抗生剤や抗真菌剤による治療を継続します。また、インターフェロン・ガンマ治療は、慢性肉芽腫症の3割の方に有効であると考えられ、国内では慢性肉芽腫症の方のうち約40%の方が週1～3回程度受けています。

感染症以外に、肉芽腫によって様々な臓器障害をきたしている方には、必要に応じてステロイド治療を行います。

（2）外科的治療法

上記の薬物治療を行っても、症状が改善しない場合、手術によって病気の部位を取り除くこともあります。しかし、病気の部位や程度によっては摘出できないこともあります。

（3）臍帯血あるいは非血縁者からの造血幹細胞移植

慢性肉芽腫症に対する根本的な治療は、HLAが一致したご家族（血縁）からの造血幹細胞移植（同種造血幹細胞移植）です。しかし、一致する方がいない時は、骨髄バンクや臍帯血バンクからHLAが一致する方を探すことになります。ただ、このような条件で幹細胞移植を行う場合、最低でもドナーと患者の方のHLAが5/6以上一致することが望めます。それ以下の条件で移植を行っても、重い副作用（移植片対宿主病など）や移植した細胞が拒絶される可能性も高いため、積極的には勧めていません。ただ、病状によっては慎重な判断が求められるため、移植の詳細については血液専門の医師から説明させていただきます。

8. 臨床研究参加に伴う費用について

この臨床研究に係わる費用は、健康保険等の公的な医療保険は適応されません。そのため、臨床研究に参加するために必要な費用、たとえば治療用レトロウイルスベクターの費用や遺伝子導入細胞の調製費、また、その際に使用する薬剤の費用、ならびに今回の遺伝子治療臨床研究の安全性を確認するための必要な検査や個室使用料等は、この臨床研究費用にて負担します。ただし、今回の遺伝子治療臨床研究期間中であっても、遺伝子治療に直接関係しない、病状に対する治療費などはこれまでどおり公的医療保険が適応され、あなたの負担となります。

なお、この遺伝子治療に参加することでの協力費などは支払われません。

9. 健康被害に対する治療と補償について

この臨床研究に参加したことにより、あなたに好ましくない症状があった場合には、適切な治療及び処置を行います。この医療の提供をもって補償といたします。その際、診察や治療にかかる費用は臨床研究費用にて負担します。金銭的な補償はありませんので、ご了承ください。また、補償の対象となるのは、その健康被害がこの臨床研究に起因するものに限られ、遺伝子治療に直接関係しない、病状に対する治療費などはこれまでどおり公的医療保険が適応され、あなたの負担となります。あなたやご家族の方の故意や重大な過失による健康被害に関しては補償の対象とはなりませんので、ご了承ください。

10. 新たな情報の提供について

今回の臨床研究に関連する新たな情報等を、担当医師が入手した際は速やかにお伝えしますので、この臨床研究に参加するかどうかの意思決定にお役立てください。また、治療を受けられた後も、欧米で先行して行われている遺伝子治療の情報も速やかにお伝えいたします。

11. プライバシーの保護について

この臨床研究がきちんと行われているかどうか調べるために、厚生労働省などの人たちが、あなたのカルテなど資料を見る場合があります。あなたのカルテなど、個人を特定する情報（お名前、生年月日、カルテ番号、住所、電話番号など）は、個人情報の保護に関する法律に従って取り扱われます。この遺伝子治療臨床研究を共同で行う他の施設の研究者もこれに従います。よって、あなたの個人情報は守られます。

今回の遺伝子治療臨床研究については、その安全性や有効性を公の場で正式に評価するために、治療成績、副作用の発生につきましては公開が原則となっております。ただし、そのような場合でも、公開される内容については、あなたと特定できないように配慮いたします。最終的な研究の結果は、学術誌や学会等で公表されることもありますが、その際にあなたのお名前や個人を特定できるような情報を使用することはありません。

なお、この臨床研究の参加に同意され、同意書に署名することは、あなたのカルテの閲覧をご了承いただいたこととなります。

12. 知的財産権の帰属について

この臨床研究の結果により、新たな知見が得られることがあります。その際に生じる特許、その他知的財産に関する権利は、あなたにではなく、(独)国立成育医療研究センターに帰属します。

13. 保存サンプルに関して

あなたの血液が予定された検査に使用された後、血液検体につきましては保存したいと考えております。この保存サンプルは、将来、予期せぬ副作用などが発生した際、必要な検査を行うために使用されます。

保存期間は 10 年間で予定しています。保存サンプルは、症例番号によって匿名化されますので、個人が特定されることはありません。また、保存期間を越えた保存サンプルは自動的に破棄されます。ただし、副作用が発生し検査をさらに追加する必要がある場合、あなたが同意された場合のみ、保存期間は延長されます。

なお、これら保存サンプルの所有権は国立成育医療研究センターに帰属し、保存サンプルの返還請求は応じかねます。

14. データの二次利用について

この研究のために集められたデータを、この研究とは別の目的の研究で利用することがあります。現時点では計画・予測されていないものの、将来非常に重要な検討が必要となる場合です。こうしたデータの二次利用に関しては、再同意取得を含め国立成育医療研究センターに設置された倫理委員会の判断に従って行われます。ただし、この際も「二次利用」データに個人の特定できる情報を含むことはありません。

15. お願いしたいこと

- 1) この臨床研究期間中は、医師の指示に従ってください。
- 2) 別の病気にかかり他の医師の診療を受ける場合は、担当医師にお知らせ下さい。
- 3) 遺伝子治療後のあなたの健康状態や治療効果を確認する必要があります。
また、遺伝子治療は、急速に発展する治療であり、新しい情報が得られた時にはすぐにお伝えしますので、住所や電話番号など連絡先が変わった際には速やかにご連絡ください。
- 4) この遺伝子治療は、あなたの生殖細胞（精子）に影響を与える可能性は極めて低いと思われませんが、その危険性はいまだ不明なため、一定期間（5 年程度）の避妊をお願いします。

16. 臨床研究参加に対する拒否および撤回について

この臨床研究への参加に同意するかどうかは、あなたの自由意思によるもので、誰からも強要されるものではありません。もちろん、必要な場合には誰かに相談していただいてもかまいません。またこの臨床研究に参加することに一旦同意した場合でも、いつでもこの臨床研究への参加を取りやめることができます。

ただし、ブスルファンの点滴により長期間白血球数を減少させ、重症な感染症を引き起こす危険性があります。一旦、ブスルファンを点滴した後は、遺伝子が入った細胞をあなたの身体に戻すことをお勧めします。

また、造血幹細胞を点滴した後に参加を取り止めた際でも、あなたの健康状態を確認するための検査だけは継続したいと考えておりますのでご協力ねがいます。

17. 相談窓口

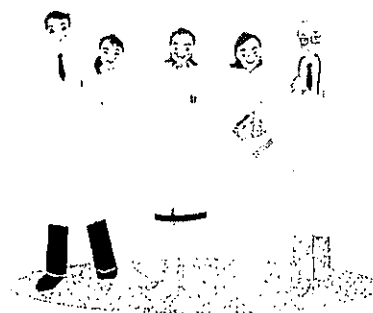
この臨床研究に関する薬剤や検査のことでわからないことや、心配なことなどがありましたら、いつでも遠慮なく担当医師にお尋ねください。あなたが理解できるまで十分に説明をいたします。

《担当医師の連絡先》

担当医師名	河合 利尚
所属	国立成育医療研究センター病院 免疫科
連絡先	(03) 3416-0181 (代)

《研究代表者 研究事務局》

臨床研究責任者	小野寺 雅史
所属	国立成育医療研究センター病院 免疫科
所在地	〒157-8535 東京都世田谷区大蔵 2-10-1 <u>TEL:03-5494-7295</u>



《スケジュール》

【スケジュール】

	登録前		造血幹細胞採取						退院	入院	前処置				投与							投与直後観察		短期的観察		長期的観察	
	登録前	8週間前	0日目	1日目	2日目	3日目	4日目	5日目			6日目	4日前	3日前	2日前	1日前	U日	1日目	2日目	3日目	4日目	5日目	6日目	7日目	2週間	3-8週間	3-12カ月目 (1カ月毎)	13-60カ月 (3カ月毎)
外来	○	○	△*	→								治療のために、中心静脈のカテーテルを挿入します。									△*1	△*1	○				
入院									○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○				
臨床研究の説明	○																										
同意の確認	○																										
患者適性調査 (病歴等)	○																										
診察		○								○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	
登録時検査*2		○																									
骨髄検査*3		○*2																					★5/ 2ヵ月後	●1年毎	●1年毎		
血液一般検査		○*2								○		○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	
生化学検査(免疫学的検査含む)		○*2								○		○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	
感染症の検査*4		○*2																				○	○	○	○	○	
特殊検査*5		○*2																			○	○	★4/0 週目	★3ヵ月毎	★6ヵ月毎	★1年毎	
尿検査		○*2								○		○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	
CT画像検査			○																				★ 4週目	★3/6/ 2ヵ月	★1年毎	★1年毎	
G-CSF投与			○	○	○	○	○																				
造血幹細胞採取								○	○																		
ブスルファンの点滴									○	○	○																
造血幹細胞の投与													○														

△：外来と入院の場合があるとき ○：必須です ★スケジュールに沿って実施します

*1必要な場合は入院

*2登録時の検査(血液検査、尿検査、感染症の検査(HIV、Hbs、HCV、梅毒)、CT検査、心電図検査、心エコー検査、肝機能検査、骨髄検査)

*3骨髄検査(入院することがあります。)

*4感染症の検査(β-Dグルガン、プラチミアスペルギルス抗原、カンジダ抗原)

*5特殊検査(末梢好中球gp91phox検査、好中球活性化酸素産生能検査)・・・移植した血液のはたらきをみる検査

※遺伝子治療の6ヵ月後からは、骨髄検査と特殊検査があるときは、国立成育医療研究センターに受診して頂きます。その以外は、かかりつけの病院で検査をすることもできます。

《付録 用語集》

☆ i 【NADPHオキシダーゼ】

NADPH酸化酵素と呼ばれ、好中球はこの酵素の働きで病原体を殺菌するために必要な活性酸素をつくり出します。この酵素は6種類のタンパク質から成り、主に顆粒球に存在します。

X連鎖慢性肉芽腫症の方では、この酵素の一つであるgp91^{phox}シーピー91フォックスと呼ばれるタンパク質が機能しないため、活性酸素をつくることができません。

☆ ii 【X連鎖慢性肉芽腫症】

形質の遺伝パターンを遺伝形式と呼び、常染色体優性、常染色体劣性、X連鎖性に分類されます。2本一組で存在する染色体は父親と母親のそれぞれに由来し、染色体には常染色体と性別で異なる性染色体があります。性染色体が2本ともX染色体であれば女性、X染色体とY染色体であれば男性となります。

常染色体の2本のうち、どちらかに異常があっても発症しない遺伝形式を「常染色体劣性遺伝」といいます。また、X連鎖遺伝では、性染色体のうち1本のX染色体に病気の原因になる遺伝子がありますが、女性は他方に正常なX染色体をもつため発症しません。しかし、男性はX染色体を1本しかもたないため、X染色体に病気の遺伝子があると病気は発症します。X連鎖慢性肉芽腫症の方は、X連鎖遺伝の遺伝形式をとります。

☆ iii 【顆粒球コロニー刺激因子 G-CSF】

主にマクロファージからつくられるサイトカインで、骨髄を刺激して好中球などの白血球を多くつくりだせる作用をもちます。医薬品として、この遺伝子組み換え製剤が好中球の減少した方に使用されています。また、骨髄の造血幹細胞を血液中へ放出する作用ももっており、血液から造血幹細胞を採取する際に使用されます。

☆ iv 【レトロウイルスベクター】

細胞に遺伝子を導入する目的で使用する、遺伝子の「運び屋」です。もともと自然界にいるウイルスは、ヒトなどの細胞に感染する能力を持っています。なかでも、レトロウイルスは感染した細胞の染色体に自らの遺伝子を入れる特徴をもちます。さらに、病原性を限りなく除去するとともに、ヒトの造血幹細胞に効率よく感染するように人為的に改良したレトロウイルスをレトロウイルスベクターといいます。

【前処置】

骨髄には血液の細胞をつくる造血幹細胞で隙間なく占められています。そのため造血幹細胞移植や遺伝子治療の際に、移植された造血幹細胞が骨髄に入り込む「場所」をつくる必要があります。前処置は、移植をする直前に、薬剤を使ってあなたの骨髄にある造血幹細胞を減らし、「場所」をつくるために行われます。

【造血能】

造血幹細胞は、白血球、赤血球、血小板など血液の細胞をつくったり、自分自身を複製したりする能力を持っています。この能力を造血能と呼びます。

【脳脊髄液】

頭蓋骨の中で、脳の周りは脳脊髄液で満たされています。脳脊髄液は脳や脊髄を取り囲むように循環しており、脳や脊髄神経が安定して機能するように緩衝する役割を担っています。

【間質性肺炎】

「呼吸」によって取り込まれた酸素は、気道から肺の奥にある「肺胞」と呼ばれる部屋に運ばれ、そこで血液中の二酸化炭素とガス交換されます。間質性肺炎は、細菌やウイルスの感染症によっておこる一般的な肺炎とは異なり、肺胞の壁に炎症がおこり肺胞壁が厚く硬くなるため、呼吸をしてもガス交換ができにくくなる病気です。特殊な感染症やリウマチ性疾患、薬剤など原因は様々ですが、重症になることも多く治療が難しいため、予防することが大切です。

【X連鎖重症複合免疫不全症】

リンパ球が正常につくられないためにおこる免疫不全症です。生後まもなくから重症な感染症を繰り返すため、造血幹細胞移植などの根本的な治療がすみやかに行われなければ、救命されない重篤な病気です。

【ADA欠損症】

ADA欠損症は重症複合免疫不全症の亜型で、アデノシン・デアミナーゼ(ADA)という酵素の働きが著しく低下しているためにおこる免疫不全症です。このため、リンパ球が減り免疫の機能が低下するため、感染症を繰り返し、重い感染症にもかかります。

【WAS：Wiskott-Aldrich（ウイスコット・アルドリッチ）症候群】

Wiskott-Aldrich 症候群(以下 WAS)は、WASP 遺伝子の異常によっておこる免疫不全症です。感染症を繰り返すだけでなく、血小板が減少するため出血し易くなったり、アトピー性皮膚炎に類似した難治性の湿疹がみられたりします。

同意書

カルテ ID: _____

氏名: _____

独立行政法人国立成育医療研究センター 総長 殿

臨床研究名：慢性肉芽腫症に対する造血幹細胞を標的とした遺伝子治療臨床研究

説明内容：下記の項目について理解できたものに☑チェックしてください。

- 治療は臨床研究であること
- 臨床研究の参加は自由であり、参加しない場合でも不利益を受けないこと
- 臨床研究で行う遺伝子治療について
- この臨床研究の対象者
- 臨床研究の方法について
- 臨床研究による期待される効果と不利益
- この臨床研究に参加しない場合の別な治療法
- 臨床研究の参加に伴う費用について
- 健康被害に対する治療と補償について
- プライバシーの保護について
- 知的財産権について
- 保存サンプルの取り扱いについて
- データの二次利用について
- 臨床研究参加に対する拒否及び撤回について
- 相談窓口と連絡先

上記の臨床研究について、わたしが説明しました。

説明年月日：西暦 _____ 年 _____ 月 _____ 日

説明担当医師署名： _____

上記の臨床研究について、わたしが説明補助を行いました。

説明年月日：西暦 _____ 年 _____ 月 _____ 日

説明担当者： _____

上記の臨床研究について担当医師から説明を受け、よく理解しましたので、臨床研究に参加します。

同意年月日：西暦 _____ 年 _____ 月 _____ 日

患者さんのご署名： _____ (年齢 _____ 歳)

代諾者のご署名： _____ (続柄 _____)

*口頭によるアセントを取得(6歳以上)： した しない

同意撤回書

国立成育医療研究センター総長
加藤 達夫 殿

私は、「慢性肉芽腫に対する遺伝子治療臨床研究」への参加に同意したことを撤回いたします。

平成 年 月 日

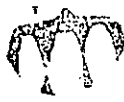
被験者 住所
氏名 印

代諾者 住所
氏名 印

「慢性肉芽腫に対する遺伝子治療臨床研究」の臨床研究について、同意の撤回を確認いたしました。

説明医師 所属
氏名 印

同席医師 所属
氏名 印



厚 科 審 第 29 号

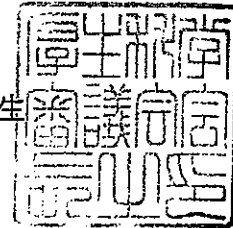
平成 23 年 11 月 2 日

科学技術部会部会長

永井 良三 殿

厚生科学審議会会長

垣添 忠生



遺伝子治療臨床研究に係る生物多様性影響評価について（付議）

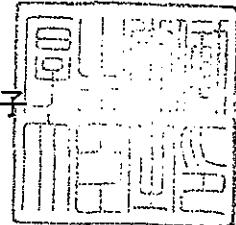
標記について、平成 23 年 11 月 2 日付厚生労働省発科 1102 第 2 号をもって厚生労働大臣より諮問があったので、厚生科学審議会運営規程第 3 条の規定に基づき、貴部会において審議方願いたい。

厚生労働省発科 1102 第 2 号
平成 23 年 11 月 2 日

厚生科学審議会会長

垣添 忠生 殿

厚生労働大臣 小宮山 洋子



諮 問 書

遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律（平成 15 年法律第 97 号）第 4 条第 1 項に基づく第一種使用規程等の主務大臣承認に関し、下記の遺伝子治療臨床研究について、厚生労働省設置法（平成 11 年法律第 97 号）第 8 条第 1 項第 1 号イの規定に基づき、貴会の意見を求めます。

記

1. 申請日 平成 23 年 9 月 22 日

申請者 東京大学医学部附属病院 病院長 門脇 孝

遺伝子治療臨床研究の名称

ホルモン療法抵抗性再燃前立腺癌に対する増殖型遺伝子組換え単純ヘルペスウイルス G47Δ を用いたウイルス療法の臨床研究

遺伝子組換え生物等の名称

大腸菌 LacZ 遺伝子を発現し、 γ 34.5 遺伝子・ICP6 遺伝子・ α 47 遺伝子を不活化された制限増殖型遺伝子組換えヒト単純ヘルペスウイルス 1 型 (G47Δ)

2. 申請日 平成 23 年 9 月 29 日

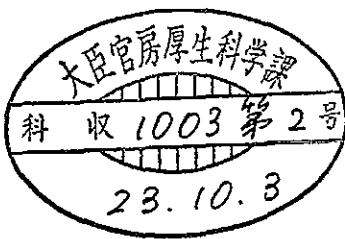
申請者 国立成育医療研究センター 総長 加藤 達夫

遺伝子治療臨床研究の名称

慢性肉芽腫症に対する造血幹細胞を標的とした遺伝子治療臨床研究

遺伝子組換え生物等の名称

ヒト cytochrome b-245, beta polypeptide (CYBB) 遺伝子を含み、マウスアンフォトロピックウイルス 4070A のエンベロープタンパク質を有する増殖能欠損型モロニーマウス白血病ウイルスベクター-MFGSgp91

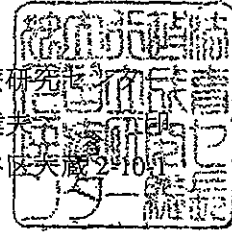


第一種使用規程承認申請書

平成23年10月27日

厚生労働大臣 殿
環境大臣 殿

所 属 国立成育医療研究センター
申請者 加藤 達夫
住 所 東京都世田谷区大蔵 2-10-1



第一種使用規程について承認を受けたいので、遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性に確保に関する法律第4条第2項(同法第9条第4項において準用する場合を含む)の規定により、次の通り申請します。

<p>遺伝子組換え生物等の種類 の名称</p>	<p>ヒト cytochrome b-245,beta polypeptide (CYBB)遺伝子を含み、マウスアノトロピックウイルス 4070A のエンベロープタンパク質を有する増殖能欠損型モロニーマウス白血病ウイルスベクター MFGSgp91</p>
<p>遺伝子組換え生物等の第一種使用等の内容</p>	<p>治療施設におけるヒト遺伝子治療を目的とした使用、保管、運搬及び廃棄ならびにこれらに付随する行為</p> <p>遺伝子治療臨床研究実施施設の名称及びその所在地 国立成育医療研究センター病院及び研究所 〒157-8535 東京都世田谷区大蔵 2-10-1</p>
<p>遺伝子組換え生物等の第一種使用等の方法</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. 本遺伝子組換え生物 MFGSgp91 (以下、「本遺伝子組換え生物」と記す)は、容器に密封後、凍結状態で治療施設に輸送され、施設内の施設可能な保存室内の冷凍庫にて保管する。 2. 凍結状態の本遺伝子組換え生物の融解、希釈及び分注操作は P2 レベルの拡散防止措置を執ることができる細胞調製室 (以下、「細胞調製室」と記す) の安全キャビネット内または細胞調製室内での閉鎖系バッグにて行う。患者由来末梢血 CD34 陽性細胞 (以下、「造血幹細胞」と記す) への本遺伝子組換え生物の導入操作、それら細胞の培養、その他、本遺伝子組換え生物の希釈溶液及び本遺伝子組換え生物導入細胞の取り扱いもすべて同様に細胞調製室の安全キャビネット内または細胞調製室内での閉鎖系バッグにて行う。本遺伝子組換え生物の希釈液及び遺伝子導入細胞の保管は、細胞調製室内の冷凍庫及び冷蔵庫または培養器にて行う。なお、本遺伝子組換え生物希釈液もしくはその冷凍品または本遺伝子組換え生物を、開放系区間を通して他の P2 レベル区域に運搬する場合には、二重に密封した容器に入れて運搬する。 3. 本遺伝子組換え生物液 (希釈液を含む) または本遺伝子組換え生物導入細胞を廃棄する際には、滅菌操作を行った後、本施設で定められた感染性廃棄物処理規程 (以下、「感染性廃棄物処理規程」と記す) に

従い、廃棄する。

4. 被験者に対する本遺伝子組換え生物導入細胞の投与は、環境中への拡散防止措置を適切に執った個室（以下「クリーンルーム」と記す）内で輸注により行う。なお、投与時に本遺伝子組換え生物導入細胞に直接接触した注射針、注射器、チューブ等の器具類は使い捨てとし、クリーンルーム内で適切に滅菌操作を実施した後、感染性廃棄物処理規程に従い廃棄する。
5. 投与後3日まで、被験者をクリーンルーム内の個室で管理し、検査等の理由で被験者が一時的にクリーンルーム外の開放区内に出る場合には、マウス及びガウン着用等のウイルス漏出予防措置を義務付ける。また、投与後3日目の被験者クリーンルーム管理解除は、被験者血液細胞ならびに血漿中の RCR が陰性であることを確認してから行う。なお、RCR が確認されたときはクリーンルームにおける管理を継続する。
6. クリーンルームにおける管理期間中の被験者の血液及び体液は、その都度適切に滅菌操作し、感染性廃棄物処理規程に従い廃棄する。また、被験者の尿及び糞便等の排泄物は、投与翌日以降に行われる被験者の血液を用いた PCR にて自己増殖能を獲得した野性型レトロウイルス（以下、「RCR」と記す）の存在が否定されるまで、クリーンルーム内で適切に滅菌操作を行い、感染性廃棄物処理規程に従い廃棄する。なお、臨床検体として使用する被験者の排泄物取り扱い、本遺伝子組換え生物溶液及び本遺伝子組換え生物導入細胞の取り扱いに準ずる。
7. クリーンルームにおける管理期間中、被験者に対して侵襲的に使用した器具及び被験者の排泄物等に接触した器具は、クリーンルーム内で適切に滅菌操作を実施した後、感染性廃棄物処理規程に従い廃棄するかまたはクリーンルーム内で十分に洗浄する。
8. クリーンルームにおける管理解除後に被験者の血液細胞または血漿から RCR が検出された場合は、直ちに被験者をクリーンルームにおける管理下に移し、上記、(5)から(7)までと同様の措置を執る。

生物多様性影響評価書

I 宿主または宿主の属する分類上の種に関する情報

1 分類学上の位置付け及び自然環境における分布状況

レトロウイルスは逆転写酵素を内包する RNA ウイルスの総称で、現在、7種に分類され、そのうち5種類は腫瘍形成能を有するオンコウイルス (oncovirus) で、他はレンチウイルス (lentivirus) とスプーマウイルス (spumavirus) に分けられる (文献1)。遺伝子治療用ベクターとして広く使用されているレトロウイルスはガンマレトロウイルス属に分類するマウス白血病ウイルス (murine leukemia virus; MLV) で、AKR や C58 系マウスなどでの自然発症白血病因ウイルスとして同定された。MLV のうち、実験室内で sarcoma 37 細胞の継代培養により分離されたウイルスが Moloney murine leukemia virus (MoMLV) で、この MoMLV は発がん遺伝子を持たず、マウスの年齢や系統にかかわらず感染し、長期間感染したマウスにリンパ性白血病を発症することが報告されている (文献2)。MoMLV はマウスやラット等の齧歯類のみに感染し、ヒトに対して感染性、病原性は有しない (文献3)。

文献 1. Buchen-Osmond C ed, ICTVdB - The Universal Virus Database, version 3. ICTVdB Management, Columbia University, New York, USA (2004).

文献 2: Moloney JB. Biological studies on a lymphoid leukemia virus extracted from sarcoma 37. I. Origin and introductory investigations. J Natl. Cancer Inst 24: 933-947, 1960.

文献 3: Coffin JM, Hughes S, Varmus HE ed., Retroviruses, pp14, 478-502, Cold Spring Harbor Laboratory Press (1977).

2 使用等の歴史及び現状

レトロウイルスは、医学生物領域において遺伝子導入用ベクターとしての応用が最も進んだウイルスで、米国で行われた最初の遺伝子治療臨床研究においても MoMLV を宿主とした遺伝子組換え生物が用いられた (文献4)。現在、遺伝子治療/ 遺伝子マーキングの臨床プロトコルで、このレトロウイルスを基とした遺伝子組換え生物を用いたものが全体の約 21% を占めている (文献5)。

文献 4. Blaese RM, et al. T lymphocyte-directed gene therapy for ADA-SCID: Initial trial results after 4 years. Science 270: 475-480, 1995.

文献 5. <http://www.wiley.co.uk/genetherapy/clinical/>

3 生理学的及び生態学的特性

1) 基本特性 (文献6)

MoMLV の径はおよそ 80~100 μ m で、ゲノムを内包するコアとそれを取り囲む外被 (エンベロープ) よりなる。コアは主としてカプシドタンパク (CA) により構成され、その中に 2 分子の 10kb 程度のプラス鎖 RNA ゲノムを有する。その他、逆転写酵素 (RT)、インテグラーゼ (IN)、プロテアーゼ (PR)、核酸結合タンパク質 (NC) もコア内部に存在する。外被はウイルス産生細胞由来の脂質二重膜に由来し、外被とコアの間にはマトリックスタンパク質 (MA)、外被には細胞表面において表面タンパク質 (SU) と結合する膜貫通タンパク質 (TM) が貫通している。

2) 生育または生育可能な環境の条件

MoMLV はマウス、ラットなどの齧歯類の細胞しか感染せず、また、その宿主細胞に感染した場合のみ増殖が可能である。MoMLV は比較的不安定なウイルスで、体液や培養液中などの限られた環境でしか感染性を保持しない。なお、常温においてウイルスの感染力は 2 時間程度で失活する

3) 捕食性または寄宿性

自然界では、マウス、ラットなどの齧歯類のみに感染が成立し、ウイルスゲノムは自らが持つ逆転写酵素により DNA に変換され、宿主染色体に挿入される。他の生物を捕食することはない。

4) 繁殖または増殖様式

レトロウイルスは感染した動物の血液、体液（唾液、精子、母乳）に存在し、それらに触れることで新たな感染が生ずる（水平感染）。また、ほぼ 100% のマウスが内在性レトロウイルスゲノムを染色体に有し、生殖行為により子孫へと伝播していく（垂直感染）。

増殖様式は、(1) 吸着、(2) 侵入、(3) 逆転写、(4) 宿主染色体への組み込み、(5) RNA 合成、(6) タンパク質合成、(7) 集合・放出、(8) 成熟といった各段階を経る。

5) 病原性（文献 7）

MoMLV の病原性に関しては、以下のことが知られている。

- (1) MoMLV は、マウスに悪性腫瘍を含む多様な疾患を発症させる。マウスに起こる疾患・病態としては、白血病、リンパ腫、貧血、免疫不全、腫瘍及び神経変性等がある。
- (2) レトロウイルスはランダムに宿主染色体に挿入するため、細胞機能に重要な遺伝子を活性化したり、不活性化したりし、がん化の変化をもたらす危険性がある
- (3) 内在性レトロウイルスとの遺伝子組換えにより増殖性レトロウイルス（replication competent retrovirus; RCR）が出現する可能性がある。
- (4) MoMLV はマウスやラットにのみ感染するので、ヒトに対する感染性及び病原性はない。
- (5) 感染により宿主細胞が破壊されることはない。

6) 有害物質の産生性

MoMLV が有害物質を産生することはない。また、MoMLV に感染したことで細胞が有害物質を産生することもない。

7) その他の情報

MoMLV の不活化の条件としては、MoMLV と同じレトロウイルス科に属するヒト免疫不全ウイルス（HIV）の滅菌、滅菌操作法として、(1) 121°C、20 分間の蒸気滅菌、(2) 170°C、2 時間の乾熱滅菌、(3) 20～30 分間の煮沸消毒、(4) 有効塩素濃度 0.1～1.0% の次亜塩素酸ナトリウム、(5) 70% エタノールまたは 70% イソプロピルアルコール、(6) 3.5～4.0% ホルマリン、(7) 2% グルタラル、が上げられている（文献 8）。また、10% 及び 1% ポピドンヨード液（文献 9）、0.3% 過酸化水素水（文献 10）で不活化が可能との報告もある。

マウス由来のウイルス産生細胞により産生されたレトロウイルスベクターが仮にヒト体内に侵入したとしても、ヒト血清（補体）により速やかに不活化される（文献 12）。抗 α -galactosyl 自然抗体を有する旧世界サル（文献 13）の体内に侵入したときにも同様の機構にて不活化される（文献 14）。

- 文献 6: 遺伝子治療開発研究ハンドブック 第3章、第2節、1.1 レトロウイルスの増殖サイクル (p322)
- 文献 7: *J. Virological methods* 5: 165-171, 1982.
- 文献 8: 日本ウイルス学会 ウイルス研究におけるバイオセーフティ指針 ウイルス 43: 199-232, 1993
- 文献 9: 加藤真吾、平石佳之、富永恵子、他 プラーク法を用いた各種消毒剤による HIV-1 不活化の検討 基礎と臨床 30: 3615-3620, 1996.
- 文献 10: Martin LS, MaDougal JS, and Loskoski SL. Disinfection and inactivation of the human T lymphocyte virus type III/ Lymphadenopathy-associated virus. *J Infect Dis* 152: 400-403, 1985.
- 文献 11: Yoshikura H. Thermostability of human immunodeficiency virus (HIV-1) in a liquid matrix is far higher than that of an ectropic murine leukemia virus. *Jpn J Cancer Res* 80: 1-5, 1989.
- 文献 12: Takeuchi Y, Cosset FL, Lachmann PJ, Okada H, Weiss RA, Collins MK. Type C retrovirus inactivation by human complement is determined by both the viral genome and the producer clone. *J Virol* 68: 8001-8007, 1994.
- 文献 13: Galili Uri, Tanemura M. Significance of a-Gal (Gal a1-3Gal b1-4GlcNAc-R) Epitopes and a 1, 3 Galactosyltransferase of Xenotransplantation. *Trend Glycosci Gylcotechnol* 11: 317-327, 1999.
- 文献 14: Rother RP, Fedor Wl, Springhorn JP, et al. A novel mechanism of retrovirus inactivation in human serum mediated by anti-a-galactosyl natural antibody. *J Exp Med* 182: 1345-1355, 1995.

II 遺伝子組換え生物等の調整等に関する情報

1 供与核酸に関する情報

1) 構成及び構成要素の由来

本遺伝子組換え生物を構成するゲノムのうち供与核酸は、ヒト由来 cytochrome b-245, beta polypeptide (CYBB)と制限酵素認識部位等の人工配列である。

(1) CYBB は、1986年、Orkin 博士らによってヒト白血病細胞株より単離された 4353 塩基対の糖タンパク質 gp91^{phox}をコードする遺伝子で、X染色体短腕 (Xp21.1) 上にある全長 33.5kb の遺伝子である (GenBank NM_000397 文献 15)。転写産物は、翻訳開始コドン (ATG) の上流に 61bp の非翻訳領域を有し、570 アミノ酸をコードする 1710bp と終止コドン (TTA) よりなる 1713bp である。CYBB の塩基配列及びタンパク質をコードするものはそのアミノ酸配列を別紙 1 に示す。

(2) MFGSgp91 DNA 構築過程で挿入された制限酵素認識配列部位等の人工配列を別紙 2 に示す。

2) 構成要素の機能

(1) ヒト CYBB 遺伝子により発現される gp91^{phox} は、363 個のアミノ酸からなる分子量約 40kDa の細胞質内タンパク質で、p22^{phox} と会合することで膜タンパク質のシトクロム b558 を構成する。このシトクロム b558 は菌体成分等の刺激により細胞質内タンパク質の p47^{phox}、p67^{phox}、p40^{phox}、rac と会合し、superoxide anion の産生に関わる酵素 NADPH oxidase を生成する。一般に休止状態では、シトクロム b558 は細胞質因子と乖離しているため NADPH の活性は起こらないが、刺激により細胞質因子が細胞膜に移行し、シトクロム b558 と会合することで活性型 NADPH oxidase が生成される。本酵素は分子酸素を直接還元することで superoxide anion (O₂⁻) を生成し、食細胞へと放出して、さらに強力な活性酸素種 (H₂O₂, HClO) を生成し、強力な殺菌作用を発揮する。

(2) 制限酵素認識部位等は人工的な配列であり、生物学的には影響を及ぼさないと考えられる。

文献 15: Royer-Pokora B, Kunkel LM, Monaco AP, et al. Cloning the gene for an inherited human disorder – chronic granulomatous disease – on the basis of its chromosomal location. *Nature* 322: 32-38, 1986.

2 ベクターに関する情報

1) 名称及び由来

本遺伝子組換え生物 (レトロウイルスベクター) は MFGSgp91 であり、米国立衛生研究所 (NIH) の Harry L. Malech 博士らにより作製されたが (文献 16)、以下にその作製法について記載する。

(1) MFG の DNA 配列

MFGSgp91 の基となるベクターは MFG であり (文献 17)、この MFG は、MoMLV ゲノムの 5'LTR から 1038 塩基対 (bp) 番目の *NarI* 部位までの DNA 配列 (ただし、*NarI* 配列は MFG では *NdeI* 配列に変換されている)、5401bp 番目の *NdeI* 配列番目から 5674bp 番目の *XbaI* 配列の DNA 配列、合成 DNA 配列 CTAGACTTGCCATGGCGCGATC (二重鎖) 及び 7672bp 番目の *ClaI* (*BamHI* 配列に変換) から 3'LTR までの DNA 配列まで含んでいる。

(2) MFG の転写単位

MFG が宿主染色体に挿入された後、プロウイルス (宿主染色体に挿入された MFG) は 5'LTR から 396bp 番目の転写開始点より転写が開始され、3'LTR から 696bp 番目まで転写される。MFG

では、gag、pol、env のウイルスゲノムはほぼ全て欠失しているが、gag の一部 (5'側) の約 400bp、env 5'側のスプライスアクセプター領域の約 400bp、env の一部 (3'側) の約 90bp は残されている。

(3) MFG の特徴

MFG のパッケージングシグナル Ψ は gag の一部まで及んでおり、この gag 配列の一部を含むパッケージングシグナルを拡張パッケージングシグナル (Ψ^+) とよび、ウイルスゲノムのパッケージング効率を著しく向上させている。また、MFG は MoMLV 由来の splice donor/ acceptor 配列を有し、さらに導入遺伝子の開始コドンをも MoMLV の env 開始コドンに合わせることで、導入遺伝子の転写効率を高めている。MFG は薬剤選択マーカー遺伝子を有してはいない。

(4) MFSGS の特徴

3)で述べたように、MFG の Ψ^+ は gag の一部を有している。この部分はウイルス粒子膜表面や粒子内にある 2つの重複した Gag-Pol ポリペプチドのアミノ酸末端側をコードするもので、これがパッケージング細胞株が持つ gag-pol と遺伝子相同組換えを起こし、複製可能なレトロウイルス (replication competent virus; RCR) を産生する危険性がある。同時に、このポリペプチドがウイルス由来のタンパク質であるため、宿主の免疫反応を惹起する可能性もあり、MFG の gag 配列に以下のような変異を挿入し、遺伝子組換え率の低下と免疫原性の軽減を図ったものが MFSGS である。

(1) 5'LTR より 1256bp 番目の A を T に、1478bp 番目の C を T に変換することで、Gag-Pol の重複翻訳フレームを 84bp と 15bp に短縮させた。

(2) 5'LTR より 1273bp 番目の T を A に変換することで、重複翻訳フレームには影響を与えず、パッケージング機能のためのステムループの形成能力を保持させた。

以上の変異により、導入遺伝子の発現は低下させず、p15Gag の発現は消失した。

尚、pMFSGS の全配列を、別紙 3 に示す。

2) 特性

MFSGS はアンピシリン (Amp) 耐性の pBR322 系プラスミドベクターに組込まれている。MFSGS は、複製に必要な gag、pol、env を欠いているため、パッケージング細胞株以外で複製・増殖することはない。

文献 16: Brenner S, Whiting-Theobald NL, Linton GF, et al. Concentrated RD114-pseudotyped MFSGS-gp91phox vector achieves high levels of functional correction of the chronic granulomatous disease oxidase defect in NOD/SCID/beta-microglobulin-/- repopulating mobilized human peripheral blood CD34+ cells. Blood 102: 2789-2797, 2003.

文献 17: Ohashi T, Bomst S, Robinson P, et al. Efficient transfer and sustained high expression of the human glucocerebrosidase gene in mice and their functional macrophage following transplantation of bone marrow transduced by a retroviral vector. Proc Nat Acad Sci USA 89: 11332-11336, 1992.

3 遺伝子組換え生物等の調製方法

1) 宿主内に移入された核酸全体の構造

本遺伝子組換え生物のゲノム構造と制限地図を別紙 2 にて示す。ただし、本遺伝子組換え生物のゲノムは一本鎖 RNA であるため、別表に示す制限地図は DNA 配列に変換されたときのものである。ゲノム配列は、5'末端側より、5'LTR、拡張パッケージングシグナル (Ψ^+)、ヒト由来 CYBB 遺伝子及び 3'LTR である。

2) 宿主内に移入された核酸の移入方法

MFGSgp91 は、MFGS 内の *NcoI-BamHI* の配列とその両端に相当する配列を有するヒト由来 CYBB 遺伝子を挿入して作製された。

3) 遺伝子組換え生物等の育成の経過

(1) パッケージング細胞株

MFGSgp91 はウイルス粒子形成に必須の遺伝子 gag、pol、env を有していないため、これ自体では完全なウイルス粒子を形成することはない。このため、MFGSgp91 に相当する遺伝子組換え生物を作製するためには、パッケージング細胞株が必要となる。

本遺伝子組換え生物の作製に使用されるパッケージング細胞株は 293-SPA であるが、これは、a) ヒト由来胎児腎細胞 293 細胞 (ATCC CRL 1573) に MoMLV ゲノム DNA よりパッケージングシグナル、env 及び 3'LTR のゲノム配列を取り除いた 5'LTR と gag-pol 配列を含む pCRIPenv-ベクターと SV40 early promoter より大腸菌由来 gpt 遺伝子を発現する pSV2gpt ベクターをリポフェクション法にて導入し、薬剤 (mycophenolic acid) にて Gag-Pol 発現する細胞を選択する。次に、b) これら Gag-Pol 発現細胞に、マウスアンプオトロピックウイルス由来 4070A env を発現する pCRIPAmgag-と大腸菌由来 hyg 遺伝子を発現する PSV2hyg を導入し、薬剤 (hygromycin) にて Env 発現細胞を選択する。最終的に、c) Gag-Pol 及び Env を高発現し、レトロウイルスベクターを導入することで高力価のウイルスを産生する細胞株をパッケージング細胞株 293-SPA として樹立した。この 293-SPA はパッケージングシグナルを有していないため、パッケージングシグナルを有するレトロウイルスベクターを導入しない限り、遺伝子組換え生物 (レトロウイルス) は生じない。

(2) ウイルス産生細胞株

MFGSgp91 ウイルス産生細胞株は、上記、293-SPA に pMFGgp91 をリポフェクション法にて導入し、そのうちで最もウイルス力価の高いものをウイルス産生細胞株として樹立した。

(3) 遺伝子治療臨床研究に使用されるウイルス産生細胞株の Master Cell Bank (MCB)

遺伝子治療臨床研究で使用される MFGgp91 産生細胞株 293-SPA-gp91-155 は、NIH の Harry L. Malech 博士らによって樹立され、同博士が所属する National Institute of Allergy and Infectious Diseases との契約に基づき、米国 Magenta 社 (Rockville, MD) が臨床用ベクター (GMP) として管理・保管されている。今回の遺伝子治療臨床研究において、Magenta 社が製造した 293-SPA-gp91-155 のマスターセルバンク (Master Cell Bank) より作製した MFGSgp91 のウイルス上清が使用される (別紙 4)。

(4) 本遺伝子組換え生物の最終製品の製造・輸送

全ての製造は Magenta 社の管理された製造エリアにて、GMP 準拠の下、行われる。MCB または Working Cell Bank (WCB) を融解し、拡大培養及び生産培養を行うことで本遺伝子組換え生物を含む培養上清を得、これを無菌濾過して小分けに分注し、凍結することで本遺伝子組換え生物を有効成分とする製材を得る (別紙 5)。

Magenta 社において製造された製材は適切な拡散防止措置を執り、ドライアイス詰めで日本まで空輸し、国立成育医療センターにて受け入れ試験を実施する (別紙 6)。適切と判断された製材は同センター管理区域内の超低温フリーザーにて凍結保管する。

なお、BioReliance 社が行った今回の遺伝子組換え生物の品質検査結果を別紙 7 に示す。

4 移入した核酸の存在状態及び当該核酸による形質発現の安定性

移入した核酸は本遺伝子組換え生物のゲノム RNA の一部として存在し、凍結保管中は極めて安定で、感染する動植物等の種類及び感染様式が保管中に変化することはない。

本遺伝子組換え生物が細胞に感染すると、移入された核酸を含むウイルスゲノム RNA は逆転写酵素により DNA に変換され、プロウイルスとして宿主染色体に組込まれる。プロウイルスは宿主染色体の複製に伴って複製されるので、移入された核酸は細胞が活着している限り安定して保存される。

本遺伝子組換え生物を製造する過程で、ウイルス産生細胞株内で本遺伝子組換え生物のゲノムの gag-pol 断片及び env 断片が相同組換えを起こし、増殖能を獲得したウイルス (RCR) が生じる可能性がある。生ずる可能性のある RCR の大部分は、供与核酸を失った MFGSgp91 あるいは MoMLV そのもの (これらは遺伝子組換え生物には該当しない) と考えられるが、供与核酸の一部を保持した RCR (遺伝子組換え生物に該当) が生ずる可能性は否定できない。

5 遺伝子組換え生物等の検出及び識別の方法並びにそれらの感度及び信頼性

1) 本遺伝子組換え生物の検出方法

本遺伝子組換え生物は宿主である MoMLV に存在しないヒト由来 CYBB 遺伝子を含むので、CYBB 遺伝子をリアルタイム PCR 法にて定量することで本遺伝子組換え生物を検出することが可能である。

2) 本遺伝子組換え生物により遺伝子導入された細胞の検出方法

細胞から調製されたゲノム DNA を鋳型に、CYBB 遺伝子をリアルタイム PCR 法にて定量することで検出可能である。この方法により定量下限は、遺伝子導入細胞を非導入細胞中の希釈率として 10^{-3} であることを確認している。同様に、遺伝子導入細胞膜表面上に発現される CYBB 遺伝子の遺伝子産物 gp91^{phox} を抗ヒト gp91^{phox} 抗体 (7AD) にて染色し、flow-cytometry (FACS) にて検出できる。この検出感度は、 10^{-4} から 10^{-5} ($1/10^4 \sim 10^5$) と考えられる。

3) RCR の検出法

(1) S+L-アッセイ

Mus dunni 細胞に検体を添加し、5回の継代培養を行う。この培養上清を PG-4 細胞に接種し、S+L-アッセイを行う。この方法は増殖能を持つレトロウイルスを検出する方法であり、本遺伝子組換え生物に由来する RCR を特異的に検出するものではない。検出感度は1 RCR/接種物であることを確認している。100mlあたり1 RCRが含まれている検体から300mlの被検試材をサンプリングして接種した場合、95%の確率で被検試材中にRCRが含まれ、検出される。

(2) PCR 法

被検試材からDNAを調製し、4070A 特異的プライマーを用いてPCRを行い、envの増幅を図る。本試験の感度は、パッケージング細胞株を用いた系で希釈率として $10^{-4} \sim 10^{-5}$ であることが確認されている。

6 宿主または宿主の属する分類学上の種との相違

宿主である MoMLV と本遺伝子組換え生物との相違は以下の点である。

- ・ 本遺伝子組換え生物は gag、pol 及び env を欠失しているため、これら領域にコードされているウイルス粒子形成に必須なウイルスタンパク質は発現しない。したがって、Gag-Pol 及び Env を持続的に発現している細胞株においてのみ、増殖が可能である。
- ・ 本遺伝子組換え生物はヒト由来 CYBB 遺伝子を発現する。
- ・ MoMLV がマウス、ラット等の齧歯類の細胞にのみ感染するのに対し、アンフォトロピック 4070A を Env として有するウイルスはヒト、サルなどの細胞にも感染する。したがって、本遺伝子組換え生物は MoMLV とは異なり、ヒト、サルなどの細胞にも核酸を伝播する。

上記、3点を除き、本遺伝子組換え生物の性質は宿主である MoMLV と同等である。また、本遺伝子組換え生物由来の RCR に関しても、感染可能な生物種は異なるものの、感染様式、病原性など生物多様性に影響を与える性質に関しては野性型 MoMLV と大差がないものと考えられる。

III 遺伝子組換え生物等の使用等に関する情報

1 使用等の内容

治療施設におけるヒト遺伝子治療を目的とした使用、保管、運搬及び廃棄並びにこれらに付随する行為。

2 使用等の方法

所在地: 東京都世田谷区大蔵 2-10-1

名称: 国立成育医療センター (治療実施場所・保管場所は別紙 8)

- 1) 本遺伝子組換え生物 MFGSgp91 (以下、「本遺伝子組換え生物」と記す) は、容器に密封後、凍結状態で治療施設に輸送され、施設内の施設可能な保存室内の冷凍庫にて保管する。
- 2) 凍結状態の本遺伝子組換え生物の融解、希釈及び分注操作は P2 レベルの拡散防止措置を執ることができる細胞調製室 (以下、「細胞調製室」と記す) の安全キャビネット内または細胞調製室内での閉鎖系バッグにて行う。患者由来末梢血 CD34 陽性細胞 (以下、「造血幹細胞」と記す) への本遺伝子組換え生物の導入操作、それら細胞の培養、その他、本遺伝子組換え生物の希釈溶液及び本遺伝子組換え生物導入細胞の取り扱いもすべて同様に細胞調製室の安全キャビネット内または細胞調製室内での閉鎖系バッグにて行う。本遺伝子組換え生物の希釈液及び遺伝子導入細胞の保管は、細胞調製室内の冷凍庫及び冷蔵庫または培養器にて行う。なお、本遺伝子組換え生物希釈液もしくはその冷凍品または本遺伝子組換え生物を開放系区間を通して他の P2 レベル区域に運搬する場合には、二重に密封した容器に入れて運搬する。
- 3) 本遺伝子組換え生物液 (希釈液を含む) または本遺伝子組換え生物導入細胞を廃棄する際には、滅菌操作を行った後、本施設で定められた感染性廃棄物処理規程 (以下、「感染性廃棄物処理規程」と記す) に従い、廃棄する。
- 4) 被験者に対する本遺伝子組換え生物導入細胞の投与は、環境中への拡散防止措置を適切に執った個室 (以下「クリーンルーム」と記す) 内にて輸注により行う。なお、投与時に本遺伝子組換え生物導入細胞に直接接触した注射針、注射器、チューブ等の器具類は使い捨てとし、クリーンルーム内で適切に滅菌操作を実施した後、感染性廃棄物処理規程に従い廃棄する。
- 5) 投与後 3 日まで、被験者をクリーンルーム内の個室で管理し、検査等の理由で被験者が一時的にクリーンルーム外の開放区内に出る場合には、マウス及びガウン着用等のウイルス漏出予防措置を義務付ける。また、投与後 3 日目の被験者クリーンルーム管理解除は、被験者血液細胞ならびに血漿中の RCR が陰性であることを確認してから行う。なお、RCR が確認されたときはクリーンルームにおける管理を継続する。
- 6) クリーンルームにおける管理期間中の被験者の血液及び体液は、その都度適切に滅菌操作し、感染性廃棄物処理規程に従い廃棄する。また、被験者の尿及び糞便等の排泄物は、投与翌日以降に行われる被験者の血液を用いた PCR にて自己増殖能を獲得した野性型レトロウイルス (以下、「RCR」と記す) の存在が否定されるまで、クリーンルーム内で適切に滅菌操作を行い、感

染性廃棄物処理規程に従い廃棄する。なお、臨床検体として使用する被験者の排泄物取り扱い、本遺伝子組換え生物溶液及び本遺伝子組換え生物導入細胞の取り扱いに準ずる。

7) クリーンルームにおける管理期間中、被験者に対して侵襲的に使用した器具等及び被験者の排泄物等に接触した器具は、クリーンルーム内で適切に滅菌操作を実施した後、感染性廃棄物処理規程に従い廃棄するかまたはクリーンルーム内で十分に洗浄する。

8) クリーンルームにおける管理解除後に被験者の血液細胞または血漿から RCR が検出された場合は、直ちに被験者をクリーンルームにおける管理下に移し、上記、(5)から(7)までと同様の措置を執る。

3 承認をうけようとする者による第一種使用等の開始後における情報収集の方法

被験者への投与後、被験者体内で増殖能を獲得した遺伝子組換えウイルス (RCR) の有無は、投与後 3 日間及び 1、3 週目、それ以降は半年までは月に 1 回、それ以降は年に 1 回の 4070A env を標的とした PCR にて確認する。RCR 出現の際には、患者を入院管理とし、リンパ腫等の発症を注意深く観察する。

4 生物多様性影響が生ずるおそれがある場合における生物多様性影響を防止するための措置

本遺伝子組換え生物を用いた遺伝子導入細胞は、P2 レベルの拡散防止措置を執ることができない細胞調製室において、第一種使用規程に従い調製される。本遺伝子組換え生物が細胞調製室の床等に漏出した場合は、ただちにペーパータオル、布等で拭き取る。拭き取った後は、消毒用エタノールを該当箇所が完全に覆われるまで噴霧し、1 分以上放置する。使用したペーパータオルや布等は 121°C、20 分間以上のオートクレーブにより滅菌した後に廃棄する。

クリーンルームにおける管理解除後の被験者血液に RCR が検出された場合には、第一種使用規程に従い、被験者を直ちにクリーンルームにおける管理下に移すとともに、次亜塩素酸を用いて血液及び体液の滅菌操作等、第一種使用規程に定められた措置を執る。

5 実験室等での使用または第一種使用が予定されている環境と類似の環境での使用等の結果

当センターでは、前臨床研究として実際に臨床研究で使用する遺伝子組換え生物を用いて、複数回の Dry Run を行う予定であり、その過程で複数回 RCR の有無を確認する予定である。なお、基礎研究で使用した同ウイルスでの RCR は陰性であり、また、当該遺伝子治療臨床研究では、患者からの造血幹細胞の採取から投与までを全ての細胞操作を閉鎖系システムで行うため、外部へウイルスが漏出することはないと思われる。

6 国外における使用等により得られた情報

今回の遺伝子治療臨床研究は、現在までの米国国立衛生研究所の Malech 博士らが使用していた同一の遺伝子組換え生物 (レトロウイルスベクター) を使用する予定であり、現時点で本遺

伝子組換え体に RCR の検出はない。また、治療を受けた 3 名に患者においても MFGSgp91 の活性を認めた症例はない。

IV 生物多様性影響評価

1 他の微生物を減少される性質

1) 影響を受ける可能性のある野生動植物の特定

本遺伝子組換え生物及びRCRの感染性は、ウイルスがアンフォトロピック Envを持つので、ヒト細胞を含む広範囲の動物種の細胞に感染するが、微生物には感染しない。したがって、影響を受ける可能性のある微生物は特定されていない。

2) 影響の具体的内容の評価

該当せず

3) 影響の生じやすさの評価

該当せず

4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無の判断

よって、他の微生物を減少される性質について、第一種使用規程承認申請書に記載された遺伝子組換え生物等の第一種使用等の方法による限り、生物多様性の影響が生ずるおそれはないと判断される。

2 病原性

1) 影響を受ける可能性のある野生動植物の特定

本遺伝子組換え生物及びRCRの感染性は、ウイルスがアンフォトロピック Envを持つので、ヒト、サル、イヌ、ネコ等の広範囲の動物種の細胞に感染する。したがって、これら生物種は本遺伝子組換え生物の核酸を伝播されることにより影響を受ける可能性はある。

2) 影響の具体的内容の評価

本遺伝子組換え生物はヒト、サル、イヌ、ネコ等の細胞に感染し、染色体への挿入変異によりがん化を引き起こす可能性がある。マウス、ラットに対する病原性は宿主と同等と考えられる。本遺伝子組換え生物からの発現産物であるヒト由来CYBBは、NADPH oxidaseの構成タンパク質であり、この遺伝子が発現することでの病原性は極めて低いと考えられる。

3) 影響の生じやすさの評価

第一種使用規程承認申請書に記載された遺伝子組換え生物等の第一種使用等にしがって用いられる限り、本遺伝子組換え生物が施設外に放出される可能性は極めて低い。たとえ、放出されたとしてもその量はごく微量である。また、本遺伝子組換え生物は増殖能を欠いているので、通常の細胞に感染してもウイルス粒子を産生することはない。一方、本遺伝子組換え生物の製造過程で出現したRCRが被験者細胞に混入して、被験者に投与された場合、被験者体内でRCRが産生される可能性がある。しかし、本遺伝子組換え生物はRCRの出現の可能性が極めて低いパッケージング細胞株を使用して製造されており、さらに使用に関しては、事前検査にてRCRが検出されないウイルス上清を使用するので、被験者体内にRCRが侵入する可能性は極めて低い。

4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無の判断

よって、病原性について、第一種使用規程承認申請書に記載された遺伝子組換え生物等の第一種使用等の方法による限り、生物多様性の影響が生ずるおそれはないと判断される。

3 有害物質の産生性

1) 影響を受ける可能性のある野生動植物の特定

本遺伝子組換え生物及びRCRの有害物質の産生性は知られていない。したがって、影響を受ける可能性のある野生動植物は特定されていない。

2) 影響の具体的内容の評価

該当せず

3) 影響の生じやすさの評価

該当せず

4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無の判断

よって、有害物質の産生性について、第一種使用規程承認申請書に記載された遺伝子組換え生物等の第一種使用等の方法による限り、生物多様性の影響が生ずるおそれはないと判断される。

4 核酸を水平伝達する性質

1) 影響を受ける可能性のある野生動植物の特定

本遺伝子組換え生物及びRCRの感染性は、ウイルスがアンフォトロピック Env を持つので、ヒト、サル、イヌ、ネコ等の広範囲の動物種の細胞に感染する。したがって、これら生物種は本遺伝子組換え生物の核酸を伝播されることにより影響を受ける可能性がある。

2) 影響の具体的内容の評価

本遺伝子組換え生物または本遺伝子組換え生物に該当するRCRによって、これら遺伝子組換え生物の核酸が野生生物のゲノム中に組込まれる可能性ある。

3) 影響の生じやすさの評価

第一種使用規程承認申請書に記載された遺伝子組換え生物等の第一種使用等にしがって用いられる限り、本遺伝子組換え生物が施設外に放出される可能性は極めて低い。たとえ、放出されたとしてもその量はごく微量である。このため、ごく微量の本遺伝子組換え生物によって野生生物に核酸が伝播する可能性は極めて低い。

遺伝子組換え生物に該当するRCRが多量に出現した場合には、血液、体液等を通じて他の個体にRCRが感染し、その核酸が伝播される可能性は否定できないが、RCRの出現の可能性が極めて小さいので、その可能性も極めて小さい。

4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無の判断

よって、核酸の水平伝播する性質について、第一種使用規程承認申請書に記載した遺伝子組換え生物等の第一種使用等の方法による限り、生物多様性の影響が生ずるおそれはないと判断される。

5 その他の性質

核酸を垂直伝播する性質

本遺伝子組換え生物が感染可能な野生生物の生殖系細胞のゲノム中に組み込まれて、核酸垂直伝播する可能性は完全に否定できない。しかし、第一種使用規程承認申請書に記載された遺伝子組換え生物等の第一種使用等の方法による限り、本遺伝子組換え生物によりその核酸が野生生物に伝播される可能性は極めて低く、さらに RCR が出現しない限り、本遺伝子組換え生物の核酸が伝播される細胞は本遺伝子組換え生物が最初に感染した細胞のみに限られているため、その細胞が生殖細胞である確率は極めて低い。また、RCR が出現する可能性は極めて低いため、本遺伝子組換え生物または RCR の核酸が生殖細胞に伝播される可能性は極めて低い。よって、核酸を垂直伝播する性質について、第一種使用規程承認申請書に記載した遺伝子組換え生物等の第一種使用等の方法による限り、生物多様性の影響が生ずるおそれはないと判断される。

V 生物多様性の総合的評価

本遺伝子組換え生物が感染する動植物の種類は 4070A アンフトロピック Env によつて規定されるため、齧歯類及びヒトを含む霊長類に感染するが、自然界で植物及び微生物には感染しない。

第一種使用規程承認申請書に記載された遺伝子組換え生物等の第一種使用等の方法による限り、本遺伝子組換え生物の環境中への拡散は極力抑えられており、たとえ拡散したとしても、その量は検出レベル以下であると推定される。本遺伝子組換え生物によるヒト由来 CYBB 遺伝子の発現はヒトには病原性はなく、ヒトに対する影響もない。さらに、本遺伝子組換え生物は増殖能を欠いているため、MLV が増殖しているマウスに感染させれば、MLV が助けとなって増殖する可能性がある。しかし、その場合でも、MLV は血液を介してのみ感染し、同居等による水平感染はないので、さらなる感染が広がる可能性はほとんどない。本遺伝子組換え生物が MLV と同等に増殖するとは考えられず、やがて環境から消滅すると思われる。

環境中でマウスに感染し、MLV ゲノムとの相同組換えによつて RCR が出現する可能性や当該第一種使用によつて極めて微量の本遺伝子組換え生物由来 RCR の環境中への放出も完全に否定できないが、RCR の感染性、増殖性、病原性及び核酸を水平伝播する性質は野生型アンフトロピック・マウス白血病ウイルスと同等である。ヒトに MLV が感染しても病原性は報告されておらず、たとえ、ウイルスがヒト体内に侵入しても、血清補体により急速に失活すると考えられ、ヒト及び他の哺乳類、植物並びに微生物に新たな影響を与えることはないと考えられる。

したがって、第一種使用規程承認申請書に記載された遺伝子組換え生物等の第一種使用等による限り、本遺伝子組換え生物による生物多様性影響が生ずるおそれがないと判断される。