

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 臨床研究実施体制

本臨床研究は、三重大学大学院医学系研究科の珠玖洋を多施設共同臨床研究代表者として、三重大学医学部附属病院、大阪大学医学部附属病院、及び田附興風会医学研究所北野病院が参加する多施設共同臨床研究として実施する予定である。安全性、有効性の評価を統一するため、全施設共通の安全・効果評価・適応判定部会を設置する。また、TCR 遺伝子導入リンパ球の調製は細胞調製施設を有する三重大学にて行う。(図 14 参照)

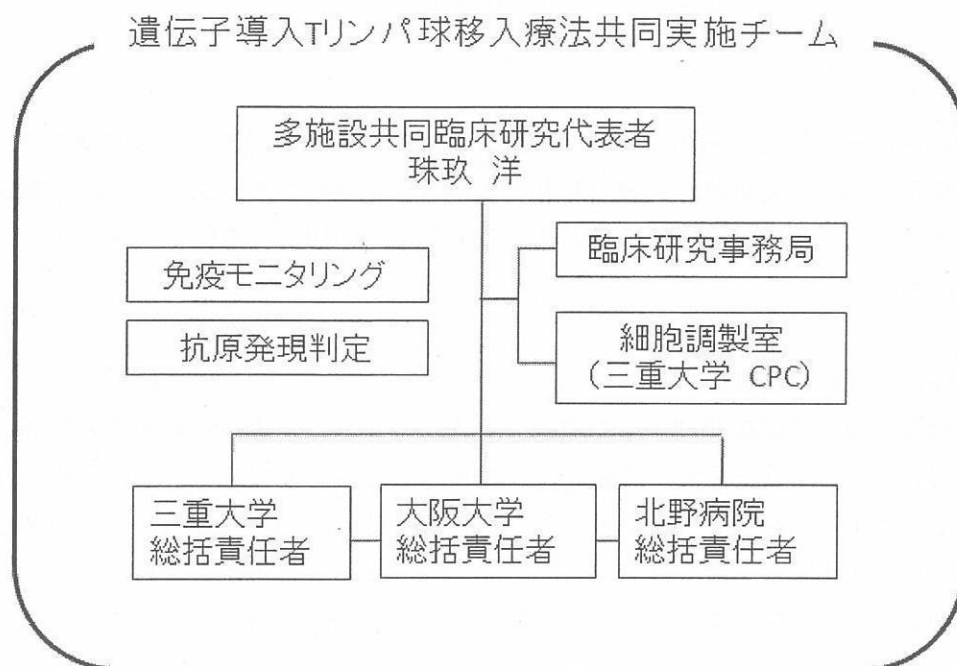


図. 14 本臨床研究における実施体制

IX.1.1.1 本臨床研究の実施に際し医療機関内に設置される委員会

本臨床研究実施の適否及びその他本臨床研究に関する調査審議を行うため、各医療機関に遺伝子治療臨床研究審査委員会を設置する。なお、遺伝子治療臨床研究審査委員会の運営に関しては、医療機関毎に作成した手順書に従うものとする。

IX.1.1.2 安全・効果評価・適応判定中央部会

有効性及安全性の評価基準を統一することを目的とし、本臨床研究では、各医療機関で共通の安全性・効果評価・適応判定を検証するため、安全・効果評価・適応判定中央部会を設置する。なお、安全・効果評価・適応判定中央部会の委員については各医療機関から選出し、本臨床研究の安全性、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各医療機関の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

被験者の本臨床研究への登録は、総括責任者から安全・効果評価・適応判定中央部会に被験者登録用紙を提出することで行われる。なお、本臨床研究に関する情報を共有することを目的として、安全・効果評価・適応判定中央部会への被験者登録用紙提出と同時に、本臨床研究参加医療機関の総括責任者に対して被験者情報の提供を行う。

安全・効果評価・適応判定中央部会は提出された被験者登録用紙をもとに、各被験者が全ての選択基準を満たし、除外基準のいずれにも抵触しないことを確認し、本臨床研究の対象被験者として適切かどうかを判定する。得られた判定結果については遺伝子治療臨床研究審査委員会を通じて総括責任者へ報告する。

2) 用量増加における評価

コホート毎に規定された症例数を満了した場合、安全・効果評価・適応判定中央部会はコホート毎の各被験者から得られた、臨床研究終了・中止時検査までのデータをもとにコホート毎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、全ての医療機関の遺伝子治療臨床研究審査委員会を通じて総括責任者へ報告したうえで、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

安全・効果評価・適応判定中央部会は、総括責任者より提出された重篤な有害事象に関する報告書（詳細報）をもとに、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。得られた判定結果については、各医療機関の遺伝子治療臨床研究審査委員会を通じて総括責任者へ報告する。なお、各医療機関の遺伝子治療臨床研究審査委員会は、安全・効果評価・適応判定中央部会からの判定結果をもとに臨床研究の継続に関する審査を行い、医療機関の長及び総括責任者へ審査結果を報告する。

4) 臨床研究の総合判定

臨床研究終了後、安全・効果評価・適応判定中央部会は全ての被験者から得られた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。得られた判定結果については、各医療機関の遺伝子治療臨床研究審査委員会及び総括責任者へ報告する。

IX. 1. 1. 3 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、その結果を各医療機関の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 15 のとおりである。

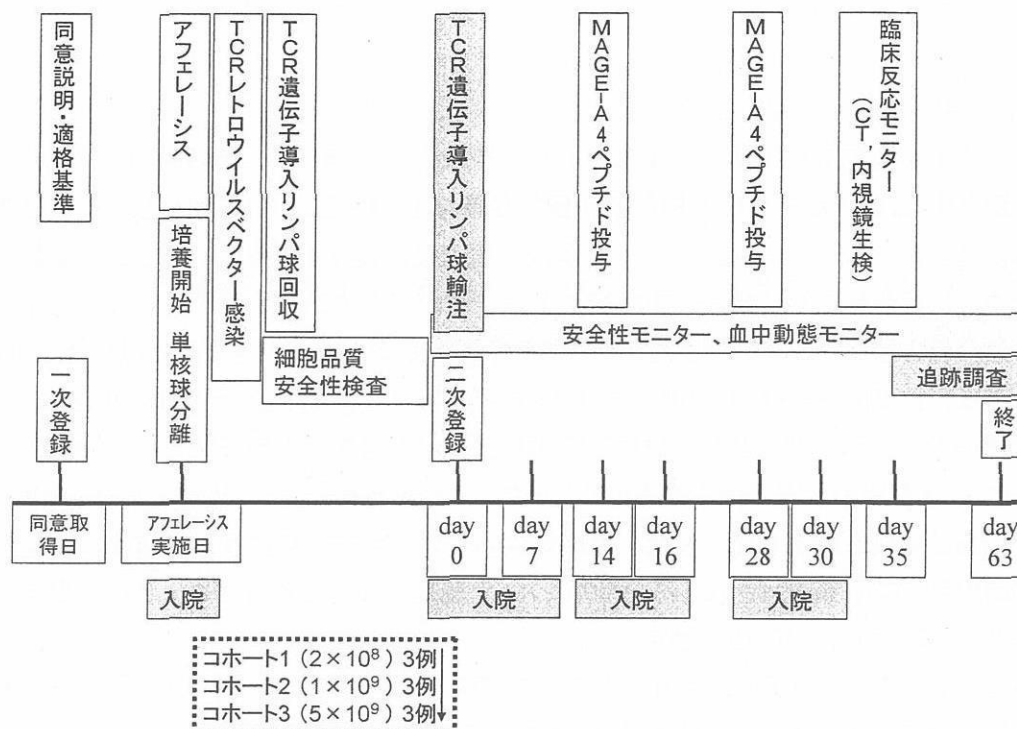


図 15 TCR 遺伝子導入リンパ球調製及び輸注計画

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。

大阪大学医学部附属病院においてアフェレーシスにて自己 PBL を採取し、三重大学細胞調製施設に搬送する。三重大学細胞調製施設で自己 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。

三重大学細胞調製施設にて調製した TCR 遺伝子導入リンパ球の品質が確認された後、大阪大学医学部附属病院に TCR 遺伝子導入リンパ球が提供される。二次登録の前に再度文書にて同意を取得し、二次登録時の選択基準を満たし、除外基準に抵触しないことを確認したうえで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 μ 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, 75)。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、62 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適当と認めた患者

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) $> 60 \text{ sec}$ 、フィブリノゲン (Fbg) $< 100 \text{ mg/dL}$ 、フィブリン分解産物 (FDP) $> 20 \mu\text{g/mL}$)
 - ・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) $\text{MAGE-A4}_{143-151}$ ペプチド投与に適さない患者（例えば $\text{MAGE-A4}_{143-151}$ 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適当と認めた患者

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、大阪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、総括責任者又は分担研究者以外の臨床研究コーディネーター等が説明補助を行うことも可能とする。

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

IX.4 実施期間及び目標症例数

実施期間は共同実施機関である三重大学医学部附属病院が厚生労働大臣から本臨床研究実施の承認を得た時点（2009年7月17日）から3年間とする。症例毎の実施期間はTCR遺伝子導入リンパ球輸注後63日であるが、本臨床研究終了後も当該被験者の生存期間（FDAのガイドライン(76)に従い、最短15年間）にわたり、1年に1回の頻度で遺伝子導入Tリンパ球の血中動態及び二次発癌やRCRの有無について追跡調査を実施する。

目標症例数は以下のとおり、全施設の症例を合わせて9例とするが、有害事象が発現した場合には、「IX.1.2 本臨床研究の実施手順」の投与量増加基準に従って、安全性の評価を強化する。

1回当たりのTCR遺伝子導入リンパ球輸注量

コホート1	2×10^8 個	3 例
コホート2	1×10^9 個	3 例
コホート3	5×10^9 個	3 例

また、TCR遺伝子導入リンパ球の増殖率は培養ごとに予測することができないため、症例の取り扱いを以下のとおりとする。

- ・コホート1で定められたTCR遺伝子導入リンパ球輸注量（ 2×10^8 個）を本臨床研究における最小輸注量とする。最小輸注量に満たない場合にはTCR遺伝子導入リンパ球を投与せず、本臨床研究における脱落例とする。
- ・コホート2で定められたTCR遺伝子導入リンパ球輸注量（ 1×10^9 個）が得られなかった場合にはその被験者に輸注可能な全てのTCR遺伝子導入リンパ球を投与する。投与したTCR遺伝子導入リンパ球輸注量が 0.8×10^9 個以上の場合、コホート2の症例数として数えるが、それ未満の場合は投与量増加の評価例としない。
- ・コホート3で定められたTCR遺伝子導入リンパ球輸注量（ 5×10^9 個）が得られなかった場合にはその被験者に輸注可能な全てのTCR遺伝子導入リンパ球を投与する。投与したTCR遺伝子導入リンパ球輸注量が 4×10^9 個以上の場合、コホート3の症例数として数えるが、それ未満の場合は投与量増加の評価例としない。
- ・コホート2及び3の投与量増加のための評価対象としない症例における臨床観察項目データは、当臨床研究の安全性評価解析対象とする。
- ・投与量増加の評価対象としない症例数は、コホート2、3において最大3例までとし、その症例をもって当該コホートへの登録を終了し、本臨床研究におけるTCR遺伝子導入リンパ球の臨床至適用量を決定する。

IX. 5 遺伝子治療臨床研究の実施方法

IX. 5. 1 対照群の設定方法

本臨床研究では対照群を設定しない。

IX. 5. 2 遺伝子導入方法

IX. 5. 2. 1 PBMC の採取

大阪大学医学部附属病院輸血部において採取機種 COBE SPECTRA (GAMBRO BCT 社) を用いて、被験者より PBMC、及び T リンパ球培養に必要な血漿を採取する。被験者からの PBMC 採取条件及び被験者のアフエレーシス実施条件は以下のとおりとする。なお、アフエレーシスは日本造血細胞移植学会のガイドラインに準じて、手技に習熟した医師が被験者の状態を十分に観察しながら実施する。

被験者からの PBMC 採取条件

- ・ 血液処理量：約 5,000 mL (最大で 150 mL/kg)
- ・ 処理速度：0.8～1.5 mL/kg/min
- ・ 処理時間：通常 90 分以内 (最大 120 分まで)

被験者のアフエレーシス実施条件

- ・ 採取当日の身体的、精神的状態が良好であること
- ・ 採取当日に 37.0℃を超える発熱を有しないこと
- ・ 採取当日の収縮期血圧が 90 mmHg 以下又は 180 mmHg 以上でないこと
- ・ その他、アフエレーシス実施医師が不可能と判断した場合は実施を延期する。

IX. 5. 2. 2 TCR 遺伝子導入リンパ球の調製

採取された PBMC 画分を別途手順書 (参考資料 18) に定められた条件で三重大学細胞調製施設へ搬送する。そして、三重大学細胞調製施設にて「VII. 3. 1 遺伝子導入リンパ球の調製方法」に従い、細胞調製が行われる。細胞調製後、「VII. 3. 4 被験者に投与する細胞の安全性」に示した各種試験により、TCR 遺伝子導入リンパ球としての品質を確認したうえで別途手順書 (参考資料 18) に定められた条件で大阪大学医学部附属病院に搬送され、投与に用いられる。また、輸注用細胞と同時に搬送した凍結保存バイアルを用い実施施設にて凍結保存細胞の生存率を測定する。

IX. 5. 2. 3 TCR 遺伝子導入リンパ球の投与

各コホートにて設定された細胞数の TCR 遺伝子導入リンパ球 (単回投与) を静脈内投与する。凍結保存されたリンパ球浮遊液を含むバッグを 37℃恒温槽内で解凍、被験者静脈内へ投与し、投与直後より問診とバイタルサインを取りながら十分な観察を行い、有害事象が発現した場合には、「IX. 5. 5. 2 TCR 遺伝子導入リンパ球輸注に伴う副作用」に従い、適

切な処置を施す。

IX. 5. 3 前処置及び併用療法の有無

IX. 5. 3. 1 前処置

前処置は特に必要としない。

IX. 5. 3. 2 MAGE-A4₁₄₃₋₁₅₁ ペプチド投与

1 回量 300 μ g の MAGE-A4₁₄₃₋₁₅₁ ペプチドを、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、不完全フロイントアジュバント (商品名: MONTANIDE™ ISA 51、SEPPIC 社) との懸濁液として皮下投与する。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。

IX. 5. 3. 3 併用禁止療法及び併用禁止薬

以下の療法及び薬剤については、遺伝子を導入するための T リンパ球を採取する日より前 4 週間以内及び、二次登録 4 週間前から臨床研究終了時までの間、使用・実施を禁止する。

併用禁止療法

- 1) 化学療法
- 2) 放射線療法
- 3) 手術

併用禁止薬

- 1) 抗癌剤
- 2) 副腎皮質ステロイド剤 (全身投与)
- 3) 免疫抑制剤 (全身投与)

IX. 5. 4 臨床検査項目及び観察項目

以下のとおり検査・観察を実施する。検査・観察スケジュールについては「X. 3 検査・観察スケジュール」に記載する。なお、TCR 遺伝子導入リンパ球血中動態、免疫機能解析 (腫瘍特異的免疫反応)、遺伝子導入リンパ球の腫瘍組織浸潤度、RCR および LAM-PCR については、三重大学大学院医学系研究科遺伝子・免疫細胞治療学講座にて検査を行うものとし、当該検査のうち、PCR 法の工程はタカラバイオ (株) が担当する。

同意取得日 (スクリーニング期間)

- 1) 同意取得 (一次登録)
- 2) 被験者背景

- ・性別、生年月日（年齢）、診断名、身長、体重、既往歴、合併症、過敏症の有無、前治療、併用療法・併用薬、妊娠の有無、HLA 型、MAGE-A4 発現の有無（PCR）、他の臨床試験（臨床研究）への参加の有無

3) 問診、バイタルサイン

- ・血圧、体温、脈拍数、動脈血酸素分圧または動脈血酸素飽和度

4) Performance status

5) 感染症検査

- ・HBs 抗原、HCV 抗体、HIV 抗体、HTLV-1 抗体

6) 臨床検査

- ・血液学的検査：白血球数、白血球分画、赤血球数、ヘモグロビン、ヘマトクリット、血小板数
- ・血液生化学的検査：AST (GOT)、ALT (GPT)、ALP、LDH、ロイシンアミノペプチターゼ (LAP)、 γ -GTP、総ビリルビン (T-Bil)、直接ビリルビン (D-Bil)、総蛋白 (TP)、アルブミン (Alb)、尿素窒素 (BUN)、クレアチニン (Cr)、尿酸 (UA)、Na、K、Cl、Ca、血糖値
- ・血液凝固能検査：プロトロンビン時間 (PT)、活性化部分トロンボプラスチン時間 (APTT)、フィブリノゲン (Fgb)、フィブリン分解産物 (FDP)
- ・免疫血清：C 反応性蛋白 (CRP)
- ・尿検査：尿定性、尿沈査
- ・腫瘍マーカー検査 (SCC、CEA、CA19-9)

7) 画像診断

- ・胸部 X 線検査、12 誘導心電図、頸部・胸部・腹部・骨盤 CT※

8) 上部消化管内視鏡検査※

※：スクリーニング期間開始前 12 週間以内の成績の利用を可とする。

アフエレーシス実施日（スクリーニング期間）

1) 問診、バイタルサイン

- ・血圧、体温、脈拍数

2) Performance status

3) 臨床検査

- ・血液学的検査：白血球数、白血球分画、赤血球数、ヘモグロビン、ヘマトクリット、血小板数
- ・血液生化学的検査：AST (GOT)、ALT (GPT)、ALP、LDH、ロイシンアミノペプチターゼ (LAP)、 γ -GTP、総ビリルビン (T-Bil)、直接ビリルビン (D-Bil)、総蛋白 (TP)、アルブミン (Alb)、尿素窒素 (BUN)、クレアチニン (Cr)、尿酸 (UA)、Na、K、Cl、Ca、血糖値

day 0 (治療期間)

- 1) 同意取得 (二次登録)
- 2) 問診、バイタルサイン
 - ・ 血圧、体温、脈拍数、動脈血酸素分圧または動脈血酸素飽和度
- 3) Performance status
- 4) 臨床検査
 - ・ 血液学的検査^{※1)}: 白血球数、白血球分画、赤血球数、ヘモグロビン、ヘマトクリット、血小板数
 - ・ 血液生化学的検査^{※1)}: AST (GOT)、ALT (GPT)、ALP、LDH、ロイシンアミノペプチターゼ (LAP)、 γ -GTP、総ビリルビン (T-Bil)、直接ビリルビン (D-Bil)、総蛋白 (TP)、アルブミン (Alb)、尿素窒素 (BUN)、クレアチニン (Cr)、尿酸 (UA)、Na、K、Cl、Ca、血糖値
 - ・ 血液凝固能検査^{※1)}: プロトロンビン時間 (PT)、活性化部分トロンボプラスチン時間 (APTT)、フィブリノゲン (Fgb)、フィブリン分解産物 (FDP)
 - ・ 免疫血清^{※1)}: C 反応性蛋白 (CRP)
 - ・ 尿検査^{※1)}: 尿定性、尿沈査
 - ・ 腫瘍マーカー検査^{※1)} (SCC、CEA、CA19-9。ただし、スクリーニング期間時高値例のみ)
- 5) 画像診断
 - ・ 胸部 X 線検査^{※1)}、12 誘導心電図^{※1)}、頸部・胸部・腹部・骨盤 CT^{※2)}、PET-CT^{※2)}
- 6) 上部消化管内視鏡検査^{※2)}、腫瘍組織生検^{※2)}
- 7) TCR 遺伝子導入リンパ球血中動態 (投与前^{※1)}、投与 1 時間後、3 時間後、6 時間 (±2 時間) 後及び 12 時間 (±2 時間) 後)
 - ・ リアルタイム PCR、テトラマー解析
- 8) 免疫機能解析^{※1)}
 - ・ テトラマー解析、ELISPOT アッセイ、細胞内サイトカイン染色
- 9) TCR 遺伝子導入リンパ球の腫瘍組織浸潤度^{※2)}、MAGE-A4 抗原発現検査^{※2)}
 - ・ 浸潤リンパ球の検出
 - ・ PCR 法による MAGE-A4 発現
- 10) 有害事象 (臨床検査値の異常変動含む)
 - ・ 内容、発現日、グレード、本臨床研究の処置 (継続・中止の別等)、その他の処置、転帰、転帰日、本臨床研究との因果関係

※1): 治療期間開始前 3 日以内の成績の利用を可とする。

※2): 治療期間開始前 7 日以内の成績の利用を可とする。

day 1 (治療期間)

1) 問診、バイタルサイン

- ・血圧、体温、脈拍数

2) Performance status

3) 臨床検査

- ・血液学的検査：白血球数、白血球分画、赤血球数、ヘモグロビン、ヘマトクリット、血小板数
- ・血液生化学的検査：AST (GOT)、ALT (GPT)、ALP、LDH、ロイシンアミノペプチターゼ (LAP)、 γ -GTP、総ビリルビン (T-Bil)、直接ビリルビン (D-Bil)、総蛋白 (TP)、アルブミン (Alb)、尿素窒素 (BUN)、クレアチニン (Cr)、尿酸 (UA)、Na、K、Cl、Ca、血糖値
- ・免疫血清：C 反応性蛋白 (CRP)
- ・尿検査：尿定性、尿沈査

4) TCR 遺伝子導入リンパ球血中動態 (TCR 遺伝子導入リンパ球投与 24 時間 (± 4 時間) 後)

- ・リアルタイム PCR、テトラマー解析

5) 有害事象 (臨床検査値の異常変動含む)

- ・内容、発現日、グレード、本臨床研究の処置 (継続・中止の別等)、その他の処置、転帰、転帰日、本臨床研究との因果関係

6) RCR

day 2 (治療期間)

1) 問診、バイタルサイン

- ・血圧、体温、脈拍数

2) Performance status

3) TCR 遺伝子導入リンパ球血中動態 (TCR 遺伝子導入リンパ球投与 48 時間 (± 4 時間) 後)

- ・リアルタイム PCR、テトラマー解析

4) 有害事象 (臨床検査値の異常変動含む)

- ・内容、発現日、グレード、本臨床研究の処置 (継続・中止の別等)、その他の処置、転帰、転帰日、本臨床研究との因果関係

day 3 (治療期間)

1) 問診、バイタルサイン

- ・血圧、体温、脈拍数

2) Performance status

3) TCR 遺伝子導入リンパ球血中動態 (TCR 遺伝子導入リンパ球投与 72 時間 (± 4 時間) 後)

- ・リアルタイム PCR、テトラマー解析

4) 有害事象 (臨床検査値の異常変動含む)

- ・内容、発現日、グレード、本臨床研究の処置（継続・中止の別等）、その他の処置、転帰、転帰日、本臨床研究との因果関係

day 7（治療期間）

- 1) 問診、バイタルサイン
 - ・血圧、体温、脈拍数
- 2) Performance status
- 3) 臨床検査
 - ・血液学的検査：白血球数、白血球分画、赤血球数、ヘモグロビン、ヘマトクリット、血小板数
 - ・血液生化学的検査：AST（GOT）、ALT（GPT）、ALP、LDH、ロイシンアミノペプチターゼ（LAP）、 γ -GTP、総ビリルビン（T-Bil）、直接ビリルビン（D-Bil）、総蛋白（TP）、アルブミン（Alb）、尿素窒素（BUN）、クレアチニン（Cr）、尿酸（UA）、Na、K、Cl、Ca、血糖値
 - ・免疫血清：C反応性蛋白（CRP）
 - ・尿検査：尿定性、尿沈査
- 4) TCR 遺伝子導入リンパ球血中動態
 - ・リアルタイム PCR、テトラマー解析
- 5) 有害事象（臨床検査値の異常変動含む）
 - ・内容、発現日、グレード、本臨床研究の処置（継続・中止の別等）、その他の処置、転帰、転帰日、本臨床研究との因果関係

day 14 $\pm$ 3（治療期間）

- 1) 問診、バイタルサイン
 - ・血圧、体温、脈拍数
- 2) Performance status
- 3) 臨床検査
 - ・血液学的検査：白血球数、白血球分画、赤血球数、ヘモグロビン、ヘマトクリット、血小板数
 - ・血液生化学的検査：AST（GOT）、ALT（GPT）、ALP、LDH、ロイシンアミノペプチターゼ（LAP）、 γ -GTP、総ビリルビン（T-Bil）、直接ビリルビン（D-Bil）、総蛋白（TP）、アルブミン（Alb）、尿素窒素（BUN）、クレアチニン（Cr）、尿酸（UA）、Na、K、Cl、Ca、血糖値
 - ・免疫血清：C反応性蛋白（CRP）
 - ・尿検査：尿定性、尿沈査
- 4) TCR 遺伝子導入リンパ球血中動態

- ・リアルタイム PCR、テトラマー解析

5) 免疫機能解析

- ・テトラマー解析、ELISPOT アッセイ、細胞内サイトカイン染色

6) 有害事象（臨床検査値の異常変動含む）

- ・内容、発現日、グレード、本臨床研究の処置（継続・中止の別等）、その他の処置、転帰、転帰日、本臨床研究との因果関係

day 16±3（治療期間）

1) 問診、バイタルサイン

- ・血圧、体温、脈拍数

2) Performance status

3) TCR 遺伝子導入リンパ球血中動態

- ・リアルタイム PCR、テトラマー解析

4) 有害事象（臨床検査値の異常変動含む）

- ・内容、発現日、グレード、本臨床研究の処置（継続・中止の別等）、その他の処置、転帰、転帰日、本臨床研究との因果関係

day 28±3（治療期間）

1) 問診、バイタルサイン

- ・血圧、体温、脈拍数

2) Performance status

3) 臨床検査

- ・血液学的検査：白血球数、白血球分画、赤血球数、ヘモグロビン、ヘマトクリット、血小板数
- ・血液生化学的検査：AST (GOT)、ALT (GPT)、ALP、LDH、ロイシンアミノペプチターゼ (LAP)、 γ -GTP、総ビリルビン (T-Bil)、直接ビリルビン (D-Bil)、総蛋白 (TP)、アルブミン (Alb)、尿素窒素 (BUN)、クレアチニン (Cr)、尿酸 (UA)、Na、K、Cl、Ca、血糖値
- ・免疫血清：C 反応性蛋白 (CRP)
- ・尿検査：尿定性、尿沈査

4) TCR 遺伝子導入リンパ球血中動態

- ・リアルタイム PCR、テトラマー解析

5) 免疫機能解析

- ・テトラマー解析、ELISPOT アッセイ、細胞内サイトカイン染色

6) 有害事象（臨床検査値の異常変動含む）

- ・内容、発現日、グレード、本臨床研究の処置（継続・中止の別等）、その他の処置、

転帰、転帰日、本臨床研究との因果関係

day 30±3 (治療期間)

- 1) 問診、バイタルサイン
 - ・血圧、体温、脈拍数
- 2) Performance status
- 3) TCR 遺伝子導入リンパ球血中動態
 - ・リアルタイム PCR、テトラマー解析
- 4) 有害事象（臨床検査値の異常変動含む）
 - ・内容、発現日、グレード、本臨床研究の処置（継続・中止の別等）、その他の処置、転帰、転帰日、本臨床研究との因果関係

day 35±3 (治療期間)

- 1) 問診、バイタルサイン
 - ・血圧、体温、脈拍数
- 2) Performance status
- 3) 臨床検査
 - ・血液学的検査：白血球数、白血球分画、赤血球数、ヘモグロビン、ヘマトクリット、血小板数
 - ・血液生化学的検査：AST (GOT)、ALT (GPT)、ALP、LDH、ロイシンアミノペプチターゼ (LAP)、 γ -GTP、総ビリルビン (T-Bil)、直接ビリルビン (D-Bil)、総蛋白 (TP)、アルブミン (Alb)、尿素窒素 (BUN)、クレアチニン (Cr)、尿酸 (UA)、Na、K、Cl、Ca、血糖値
 - ・血液凝固能検査：プロトロンビン時間 (PT)、活性化部分トロンボプラスチン時間 (APTT)、フィブリノゲン (Fgb)、フィブリン分解産物 (FDP)
 - ・免疫血清：C 反応性蛋白 (CRP)
 - ・尿検査：尿定性、尿沈査
 - ・腫瘍マーカー検査 (SCC、CEA、CA19-9。ただし、スクリーニング期間時高値例のみ)
- 4) 画像診断
 - ・胸部 X 線検査、12 誘導心電図、頸部・胸部・腹部・骨盤 CT、PET-CT
- 5) 上部消化管内視鏡検査、腫瘍組織生検
- 6) TCR 遺伝子導入リンパ球血中動態
 - ・リアルタイム PCR、テトラマー解析
- 7) 免疫機能解析
 - ・テトラマー解析、ELISPOT アッセイ、細胞内サイトカイン染色
- 8) TCR 遺伝子導入リンパ球の腫瘍組織浸潤度、MAGE-A4 抗原発現検査

- ・浸潤リンパ球の検出
- ・PCR 法による MAGE-A4 発現

9) RCR

10) LAM-PCR

11) 有害事象（臨床検査値の異常変動含む）

- ・内容、発現日、グレード、本臨床研究の処置（継続・中止の別等）、その他の処置、転帰、転帰日、本臨床研究との因果関係

day 63±3（追跡調査期間）

1) 問診、バイタルサイン

- ・血圧、体温、脈拍数

2) Performance status

3) 臨床検査

- ・血液学的検査：白血球数、白血球分画、赤血球数、ヘモグロビン、ヘマトクリット、血小板数
- ・血液生化学的検査：AST（GOT）、ALT（GPT）、ALP、LDH、ロイシンアミノペプチターゼ（LAP）、γ-GTP、総ビリルビン（T-Bil）、直接ビリルビン（D-Bil）、総蛋白（TP）、アルブミン（Alb）、尿素窒素（BUN）、クレアチニン（Cr）、尿酸（UA）、Na、K、Cl、Ca、血糖値
- ・血液凝固能検査：プロトロンビン時間（PT）、活性化部分トロンボプラスチン時間（APTT）、フィブリノゲン（Fgb）、フィブリン分解産物（FDP）
- ・免疫血清：C 反応性蛋白（CRP）
- ・尿検査：尿定性、尿沈査
- ・腫瘍マーカー検査（SCC、CEA、CA19-9。ただし、スクリーニング期間時高値例のみ）

4) 画像診断^{※1)}

- ・胸部 X 線検査、12 誘導心電図、頸部・胸部・腹部・骨盤 CT、PET-CT

5) 上部消化管内視鏡検査^{※1)}、腫瘍組織生検^{※1)}

6) TCR 遺伝子導入リンパ球血中動態

- ・リアルタイム PCR、テトラマー解析

7) 免疫機能解析

- ・テトラマー解析、ELISPOT アッセイ、細胞内サイトカイン染色

8) TCR 遺伝子導入リンパ球の腫瘍組織浸潤度^{※1)}、MAGE-A4 抗原発現検査^{※1)}

- ・浸潤リンパ球の検出
- ・PCR 法による MAGE-A4 発現

9) RCR

10) LAM-PCR

11) 有害事象（臨床検査値の異常変動含む）

- ・ 内容、発現日、グレード、本臨床研究の処置（継続・中止の別等）、その他の処置、転帰、転帰日、本臨床研究との因果関係

※1)：必要に応じて実施する。

研究終了後の追跡調査

- 1) RCR※1)
- 2) LAM-PCR※1)
- 3) TCR 遺伝子導入リンパ球血中動態※1)

※1)：生存期間（FDA のガイドライン(76)に従い、最短 15 年間）にわたり、1 年に 1 回の頻度でサンプリングを実施する。

IX. 5. 5 予測される副作用及びその対処方法

IX. 5. 5. 1 アフェレーシスに伴う副作用

1) 血管ルート確保に関すること

両側前肘部に十分な太さの血管がなく、鎖骨下静脈又は鼠径静脈に穿刺する場合、まれに出血、感染、気胸の合併の危険がある。穿刺皮膚部位を十分に消毒し、手技に習熟した医師が行う。また、常に救急カート等の設備を整え、出血、気胸の対処に備える。

2) 迷走神経反射

精神的緊張、不安、体調不良等の原因により血管迷走神経反射が起こり、約 10%のドナーでめまい、吐き気、嘔吐（グレード 1）が出現し、重篤な場合、意識障害、嘔吐、血圧低下、徐脈（グレード 2）、さらに高度では痙攣、失禁（グレード 3）がみられることもある。対処法は、グレード 1 の副作用が出現した場合、採取を一時休止して頭位を下げ、生理食塩水の点滴を行い、経過観察する。症状が容易に改善した場合は、厳重な観察の下、採取速度を低下させて採取を再開する。再度、症状が出現した場合は採取を中止とする。グレード 2 以上の副作用が出現した場合は、直ちに採取を中止し、補液、昇圧剤、硫酸アトロピン投与等、必要な処置を行う。

3) クエン酸反応

抗凝固剤に含まれるクエン酸による低カルシウム血症をきたすことがある。軽症では口唇、手指のしびれ感が出現する。また、進行により症状が悪化する他、手指の突っ張り感が出現する。対処法は、軽症の症状が出現した場合、採取速度を低下させて観察するが、それでも改善しない場合、グルコン酸カルシウムを緩徐に静注する。

4) 血小板減少

アフェレーシスの際に血小板も除去されるため、アフェレーシス後に血小板減少が高頻度（50%以上）にみられ、また、 $50,000/\text{mm}^3$ 未満の高度の減少も 5%前後みられており、注意を要する。対処法は、アフェレーシス終了後 1 週間位は必ず血小板をチェックし、採取

前値への回復を確認する。また、アフエレーシス開始から終了までアスピリン製剤は使用しない。

IX. 5. 5. 2 TCR 遺伝子導入リンパ球輸注に伴う副作用

1) 発熱、発疹、アレルギー類似反応等

TCR 遺伝子を導入し、一旦凍結後に解凍したリンパ球を投与した際に、解凍に伴い一部崩壊した細胞内のサイトカイン等による発熱、悪寒、皮疹、関節痛、嘔気等をきたす可能性がある。対処法は、経過観察、あるいは解熱鎮痛剤や抗ヒスタミン剤等の適切な薬剤を投与する。また、グレード3 以上の場合には副腎皮質ステロイド剤の投与を行う。

2) 肺障害

重篤な輸血副作用として輸血関連急性肺障害 (TRALI: Transfusion-Related Acute Lung Injury) が知られている。抗白血球抗体 (抗 HLA 抗体、抗顆粒球抗体) による抗原抗体反応が原因と推測されているが、詳細は不明である。本臨床研究は自己血液細胞輸注によるものであり、TRALI 類似病態発症の可能性は考えにくい。TCR 遺伝子導入リンパ球投与後の肺障害に留意すべきと考えられる。対処法として、発症時は副腎皮質ステロイド剤の大量投与等、適切な処置を行う。

3) 免疫反応に伴う事象

本臨床研究の標的抗原であるMAGE-A4は、Cancer-Testis抗原 (癌精巣抗原) の一つであり、腫瘍特異性が極めて高い。精巣組織ではHLA分子の発現が欠失しているため、正常組織への細胞傷害の可能性は極めて低い。自己免疫疾患様症状 (発熱、皮疹、関節痛、筋肉痛等) には常に留意する必要がある。対処法は、グレード1では無処置で経過観察するが、グレード2以上では対症療法を行い、さらに重篤な場合には副腎皮質ステロイド剤を投与する。

4) レトロウイルスベクターを用いる危険性

「VII. 1. 3 増殖性ウイルス出現の可能性」に記載のとおり、本臨床研究においてはRCRが出現する可能性は極めて低いと考えられるが、完全には否定できない。よって、本臨床研究では被験者体内におけるRCR出現をRT-PCR法によってモニタリングすることにより、評価を行う予定である。万が一、RCRが出現した場合には、抗ウイルス剤によるウイルス感染症治療等の最善の治療を行う。

「VII. 1. 8 癌原性の有無」に記載のとおり、レトロウイルスベクターで遺伝子導入したTリンパ球を投与することによる癌化の危険性は極めて低いと考えられるが、完全には否定できない。よって、本臨床研究では遺伝子導入細胞の被験者体内におけるクローン増殖をLAM-PCRによってモニタリングすることにより、評価を行う予定である。万が一、異常増殖が認められた場合には、当該クローンの遺伝子導入位置の同定や染色体検査等を行うとともに化学療法等の最善の治療を行う。

IX. 5. 5. 3 ペプチド投与に伴う副作用

MAGE-A4₁₄₃₋₁₅₁ ペプチドは不完全フロイントアジュバント（商品名：MONTANIDE™ ISA 51、SEPPIC 社）とともに 2 回皮下投与される。CTL 認識腫瘍抗原ペプチドを用いた臨床研究は種々行われており、現在までに重篤な副作用の報告はない。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。本臨床研究ではペプチド反応性 T 細胞の頻度を上昇させた状態においてペプチドを投与する。ペプチド反応性 T 細胞の活性化に伴う微熱、倦怠感等の症状、あるいは予測できない症状が出現する可能性は否定できないが、これまでの異なるペプチド等の抗原と T 細胞を用いた同様な臨床試験ではそのような機序によると考えられる副作用の出現は報告されていない。副作用発生時の対処法は、グレード 1 の場合、無処置にて経過観察とするが、グレード 2 以上では対症療法を行い、さらに重篤な場合には副腎皮質ステロイド剤を投与する。

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

IX. 5. 6. 1 主要評価項目

・安全性の評価

1) 有害事象

有害事象とは、遺伝子導入 T リンパ球投与以降に被験者に生じるあらゆる好ましくないあるいは意図しない症状、徴候（臨床検査値の異常も含む）又は病気のことであり、当該治療との因果関係の有無は問わない。

重篤な有害事象とは、以下のものをいう。

1. 死亡に至るもの
2. 死亡につながるおそれのあるもの
3. 治療のため入院又は入院期間の延長が必要なもの
4. 障害（永続的又は顕著な障害もしくは機能不全に陥るもの）
5. 障害につながるおそれのあるもの
6. 上記 1 から 5 に準じて重篤であるもの
7. 後世代における先天性の疾病又は異常をきたすもの

総括責任者又は分担研究者は、本臨床研究実施期間中に発現した有害事象について、その内容、発現日、グレード、本臨床研究の処置（継続・中止の別等）、その他の処置、転帰、転帰日、本臨床研究との因果関係（明らかに関連あり、多分関連あり、関連あるかもしれない、関連なし）を調査する。なお、本臨床研究との因果関係を否定できない有害事象については、原則として消失又は軽快するまで追跡調査を行う。

発現した有害事象のグレードは、2003 年に米国 National Cancer Institute (NCI) が発表した「Common Terminology Criteria for Adverse Events v3.0 (CTCAE v3.0)」有害事

象共通用語規準 v3.0 日本語訳 JCOG/JSCO 版-2007 年 3 月 8 日」に従い、判定を行う（表 3）。また、CTCAE v3.0 に記載のないもので、発現が予想される有害事象についても CTCAE v3.0 に準じて判定を行うものとする。

表 3 有害事象のグレード

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

2) 臨床検査

総括責任者又は分担研究者は、臨床検査値の正常・異常について判定する（大阪大学医学部附属病院の基準範囲を逸脱した場合、「異常」と判定する）。

また、総括責任者又は分担研究者は、臨床検査値の異常変動の有無について判定する。異常変動「有」とは、正常値→異常値もしくは異常値→異常値の増強がみられた場合、その臨床的意義を考慮して判定する（これに該当しない場合においても、その変動の臨床的意義を考慮した結果、異常変動「有」と判断した場合も含まれる）。なお、異常変動の有無の判定について、正常値→異常値もしくは異常値の増強が見られ、かつ異常変動「無」と判断した場合には、その理由について、臨床経過を踏まえて考察を行う。

3) RCR

本臨床研究期間中の RCR の出現の有無を検討する。検体から total RNA を調製してランダムプライマーで逆転写反応を行い、GaLV のエンベロープ遺伝子領域に設定した検出用プライマーを用いて PCR を行う。PCR 生成物をアガロース電気泳動し、エチジウムブロマイド染色を行って特異的増幅バンドの有無を確認する。

4) LAM-PCR

TCR 遺伝子導入リンパ球のクローナリティーを検討する。検体から調製したゲノム DNA を鋳型として LAM-PCR 反応を行い、反応産物をアガロース電気泳動し、エチジウムブロマイド染色による泳動パターンによりクローナリティーを確認する。

IX. 5. 6. 2 副次的評価項目

・ TCR 遺伝子導入リンパ球の血中動態

被験者から末梢血採取し、Ficoll 等を用いた比重遠心法により分離した PBMC について、以下の試験を行う。

1) TCR 遺伝子導入細胞の定量

分離した PBMC より QIAamp DNA Blood Midi Kit (QIAGEN 社) や PUREGENE Genomic DNA Purification Kit (Gentra Systems 社) 等のキットを用いてゲノム DNA を調製する。調製したゲノム DNA をテンプレートとして、Cycleave 法を用いたベクター及び IFN- γ の定量的 PCR を行う。ベクターの定量的 PCR の結果をそれぞれ IFN- γ に対する定量的 PCR の結果で割ることによりノーマライズし、末梢血リンパ球における導入 TCR の定量化を行う。

2) テトラマー解析による TCR 発現細胞の血中頻度測定

分離した PBMC と PE 標識化 HLA-A2402/ MAGE-A4₁₄₃₋₁₅₁ テトラマーとを 37°C、10 分～30 分間反応させ、その後、細胞表面マーカーに対する抗体を用いた染色を加えた後洗浄し、フローサイトメトリー解析を行い、末梢血 T 細胞中の導入 TCR 発現細胞の比率を測定する。

・ TCR 遺伝子導入リンパ球の腫瘍組織への浸潤度

治療期間中、腫瘍組織又はリンパ節の生検の可能な病変を有し、侵襲的検査のリスクが少ないと判断される場合、生検を行う。

生検試料について、以下の試験を行う。

1) 腫瘍における抗原の発現の評価*

腫瘍塊の一部を採取後速やかに RNAlater (Ambion 社) を用いて保存する。保存した腫瘍塊を Trizol (Invitrogen 社) 中でホモジナイズし RNA を抽出する。抽出した RNA は RNeasy カラム (Qiagen 社) 等を用いて精製する。精製した RNA から逆転写酵素を用いて cDNA を作製する。作製した cDNA をテンプレートとして MAGE-A4 の発現を定量的 PCR にて定量する。MAGE-A4 の発現はハウスキーピング遺伝子 GAPDH 発現でノーマライズし、GAPDH 発現 10,000 コピー当たりの MAGE-A4 発現コピー数により評価する。MAGE-A4 発現陽性の判断基準は、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。

*: 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。

2) 生検組織内へのリンパ球浸潤度の評価

腫瘍塊の一部をホルマリン固定し、パラフィン組織切片を作製する。作製したパラフィン組織切片と抗ヒト CD3 抗体及び抗ヒト CD8 抗体を用いて、生検組織内へのリンパ球の浸潤を評価する。

また、腫瘍塊の一部からゲノム DNA を調製し、TCR 遺伝子導入リンパ球の血中動態の解析における「TCR 遺伝子導入細胞の定量」で用いた手法と同様の手法により、生検組織内のリンパ球中の導入 TCR の定量化を行う。

・ 腫瘍特異的免疫反応

被験者から末梢血を採取し、Ficoll 等を用いた比重遠心法により分離した PBMC について、以下の試験を行う。

1) ELISPOT アッセイによる MAGE-A4 反応性 T リンパ球の定量

分離した PBMC を MACS ビーズ (Miltenyi 社) を用いて、CD8 陽性細胞と CD8 非陽性細胞に分離する。CD8 非陽性細胞を 40 Gray にて放射線照射し、MAGE-A4 ペプチドをパルスし刺激細胞とする。CD8 陽性細胞と作製した刺激細胞を IL-2 (20 IU/ml) と IL-7 (40 ng/ml) 存在下に 37°C で 7 日から 10 日間培養する。その後、被験者由来 PBMC に EB ウイルスを感染させて樹立した B 細胞株 (EBV 細胞株) 又は被験者由来 PBMC を Con-A を用いて刺激し樹立した活性化 T 細胞株 (T-APC) に MAGE-A4 ペプチドをパルスした細胞を標的細胞とし ELISPOT アッセイを行う。ELISPOT アッセイは抗 IFN- γ 抗体をコーティングした ELISPOT プレート (Millipore 社) に培養 CD8 陽性細胞と標的細胞を入れ、1 日間培養し、細胞を洗浄後 2 次抗体 (ビオチン化抗 IFN- γ 抗体) とアルカリホスファターゼ標識化ストレプトアビジンを反応後、基質を加え発色させ、CD8 陽性 T 細胞から産生された IFN- γ をスポットとして可視化し、MAGE-A4 特異的 T 細胞の存在を確認する。陰性コントロールとして、ペプチド非パルス標的細胞およびコントロールペプチド (HER2 由来 HLA-A2402 結合性ペプチド HER2₆₃₋₇₁:TYLPTNASL) パルス標的細胞を用いる。

2) テトラマーによる MAGE-A4 反応性 T リンパ球の定量

分離した PBMC をそのまま、又は上記 ELISPOT アッセイと同様に MAGE-A4 ペプチドにより 7 日から 10 日間刺激培養した CD8 陽性 T 細胞を用いて、PE 標識化 HLA-A2402/ MAGE-A4₁₄₃₋₁₅₁ テトラマーと 37°C、10~30 分間反応させ、その後、細胞表面マーカーに対する抗体を用いた染色を加えた後洗浄し、フローサイトメトリー解析を行い、末梢血 T 細胞中の導入 TCR 発現細胞の比率を測定する。

3) 細胞内サイトカイン染色による MAGE-A4 反応性 T リンパ球の反応特性の解析

採取 PBMC 量が十分である場合は、上記テトラマー解析の際に細胞内サイトカイン染色を加えることにより MAGE-A4 反応性 T リンパ球の反応特性の解析を行う。PBMC をそのまま、又は刺激培養した CD8 陽性 T 細胞を、ELISPOT アッセイに使用する標的細胞と同様の手法により調製した標的細胞と GolgiStop (BD Bioscience 社) の存在下で数時間培養し、Cytofix/Cytoperm (BD Bioscience 社) を用いて固定・穿孔化後に、抗サイトカイン抗体を用いて細胞内サイトカイン染色を行い、サイトカインの産生特性を解析する。

・腫瘍縮小効果

「RECIST ガイドライン (Response Evaluation Criteria In Solid Tumors)」(77)にしたがって、腫瘍縮小効果を判定する (X.6)。

IX: 5.6.3 中止基準

・被験者ごとの中止基準

本臨床研究期間中に以下のような事例が発生した場合、総括責任者又は分担研究者は当該被験者における本臨床研究を中止する。また、必要な検査・観察を行うとともに、共同

実施医療機関の総括責任者、及び大阪大学医学部附属病院長に本臨床研究を中止した旨を連絡する。なお、有害事象の発現や対象疾患の悪化等、安全性に問題が生じ中止した場合、総括責任者又は分担研究者は速やかに適切な処置を行い、被験者の安全性が確認されるまで追跡調査を実施する。

- 1) 被験者が同意を撤回した場合
- 2) 本臨床研究開始後に対象として不適格であることが判明した場合
- 3) 本臨床研究継続困難な有害事象が発現した場合
- 4) 本臨床研究継続困難な対象疾患の悪化が生じた場合
- 5) その他、総括責任者又は分担研究者が本臨床研究の中止が必要と判断した場合

・研究全体の中止

総括責任者又は分担研究者は以下の情報が得られ、臨床研究全体の続行が困難であると考えられる場合、安全・効果評価・適応判定中央部会に本臨床研究全体の中止について審査を依頼する。審査の結果、中止が決定した場合には、大阪大学医学部附属病院長及び共同実施医療機関の総括責任者に中止した旨を報告する。研究担当者は被験者に対し、可能な限り必要な検査・観察を行う。

- 1) 本臨床研究との因果関係を否定できない重篤な有害事象が発生した場合
- 2) 総括責任者又は分担研究者が本臨床研究の継続が不適切であると判断する情報を入手した場合

IX. 5. 7 有害事象が発現した場合の措置

IX. 5. 7. 1 有害事象が発現した場合

総括責任者又は分担研究者は、有害事象に対する医療が必要になったことを知った場合、被験者にその旨を伝える。また、総括責任者又は分担研究者は、有害事象の発現に際して適切な処置を施し、被験者の安全確保に留意し、その原因究明に努める。

IX. 5. 7. 2 重篤な有害事象が発現した場合

総括責任者又は分担研究者は重篤な有害事象の発生を察知した場合は、「IX. 5. 7. 1 有害事象が発現した場合」の対応を行う。また、総括責任者は、本臨床研究薬との因果関係の有無に係わらず、重篤な有害事象の発現を察知した時点から 72 時間以内に大阪大学医学部附属病院長及び本臨床研究を実施している全ての総括責任者へ「重篤な有害事象に関する報告書（速報）」をもって報告を行う。なお、大阪大学医学部附属病院長への報告については分担研究者が行うことも可能とする。

総括責任者は、重篤な有害事象の発現を察知した時点から 7 日以内に大阪大学医学部附属

病院長、本臨床研究を実施している全ての総括責任者及び安全・効果評価・適応判定中央部会へ「重篤な有害事象に関する報告書（詳細報）」をもって報告を行う。

なお、大阪大学医学部附属病院長は、被験者が死亡もしくは因果関係の否定できない重篤な有害事象（因果関係：「関連なし」以外）に関する報告を受けた場合には、速やかにその概況及び対処の方針を第一報として厚生労働省大臣官房厚生科学課に報告し、15 日以内を目安に文書をにて厚生労働大臣に報告する。

表 4 有害事象報告の必要性の有無について

	重篤な有害事象			非重篤な有害事象
	死亡 (因果関係問わず)	因果関係		
		否定 できない	なし	
厚生科学課及び大臣への報告	必要	必要	不要	不要
安全・効果評価・適応判定部会 医療機関の長への報告	必要	必要	必要	不要

IX. 5. 8 症例記録に関する記録用紙等の様式

総括責任者又は分担研究者は、本臨床研究専用の症例報告書を作成する。症例報告書に記載されたデータのうち、総括責任者又は分担研究者のコメント及び有害事象の重篤性、本臨床研究との因果関係等、判定に関する事項については症例報告書の記載をもって原データとする。

IX. 5. 9 記録の保存及び成績の公表の方法

記録の保存は大阪大学医学部附属病院長が指名した保管責任者が行う。保管責任者は適切な状態の下で、本臨床研究終了後少なくとも5年間保存するものとする。

成績の公表は、被験者の同意のもと、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十分配慮し、個人情報 that 特定できないよう必要な措置を講じる。

IX. 5. 10 個人情報の保護の徹底

IX. 5. 10. 1 個人情報保護に関する責務

大阪大学における個人情報の取扱いに関しては、独立行政法人等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 59 号）その他関係法令に定めるものの他、国立大学法人大阪大学の保有する個人情報の管理に関する規程（平成 17 年 4 月 1 日施行）に必要な事項を定めている。

大阪大学における保有個人情報の管理に関する事務を総括するものとして理事（総務・企画・評価担当）を総括保護管理者に置き、総括保護管理者の下に保護管理者、保護担当者を置くことにより、個人情報保護管理の徹底を行っている。

大阪大学医学部附属病院においては、大阪大学医学部附属病院長が総括保護管理者から保護管理者として指名を受けており、大阪大学医学部附属病院長は国立大学法人大阪大学の保有する個人情報の管理に関する規程、大阪大学医学部附属病院の保有する個人情報の適切な管理に関する規程（平成17年4月1日施行）に従い、組織的に個人情報保護に対する措置を図っている。保護管理者である大阪大学医学部附属病院長はこれらの規程に従い、本臨床研究に関する個人情報保護に関する措置に関し、適正な実施を確保するために必要があると認めるときは、本臨床研究の総括責任者に対して、適宜必要な措置を講ずることができる。

IX. 5. 10. 2 個人情報の取得と利用に関する制限

1) 診療・教育機関としての大阪大学医学部附属病院における個人情報の一般的な取扱い

大阪大学医学部附属病院は診療・教育機関として、良質な医療を提供すると共に、医療人の育成と医療の発展に貢献するという社会的使命の実現に向けて、一般的な診療行為・教育に関する以下に挙げる目的に限り、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大学法人大阪大学の保有する個人情報の管理に関する規程、大阪大学医学部附属病院の保有する個人情報の適切な管理に関する規程、研究活動の実施に関する法令や倫理指針等を遵守したうえで取り扱われる。また、大阪大学医学部附属病院を受診する患者には、大阪大学医学部附属病院で使用する個人情報の目的についての理解と協力を求めている。

(1) 大阪大学医学部附属病院での利用

- ・患者に提供する医療サービス
- ・医療保険事務
- ・患者に関係する管理運営業務（入退院等の病棟管理、会計・経理、医療事故の報告、医療サービスの向上）
- ・医療サービスや業務の維持・改善のための基礎資料

(2) 大阪大学医学部附属病院及び大阪大学での利用

- ・医学系教育
- ・症例に基づく研究
- ・外部監査機関への情報提供（本利用に当たっては、可能な限り匿名化する）

(3) 他の事業者等への情報提供

- ・他の病院、診療所、助産所、薬局、訪問看護ステーション、介護サービス事業者等との医療サービス等についての連携
- ・他の医療機関等からの医療サービス等についての照会への回答
- ・患者の診療等にあたり外部の医師等の意見・助言を求める場合
- ・検体検査業務の委託その他の業務委託
- ・家族等への病状説明

- ・医療保険事務（保険事務の委託、審査支払機関へのレセプトの提出）
- ・審査支払機関又は保険者からの照会への回答
- ・関係法令等に基づく行政機関及び司法機関等への提出等
- ・関係法令に基づいて事業者等からの委託を受けて健康診断を行った場合における、事業者等へのその結果通知
- ・医師賠償責任保険等に係る医療に関する専門の団体、保険会社等への相談又は届出等

2) その他本臨床研究の遂行に必要な被験者の個人情報の利用・取扱い

上記の診療・教育機関としての大阪大学医学部附属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目的を公表している場合を除き、速やかに、その利用目的を被験者に通知し、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等、被験者の生命を守るために使用する。その他、特別な目的で使用する場合は、事前に被験者に説明し、了承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等を目的に本臨床研究成績等を公表・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、本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、被験者へ通知する。

総括責任者は利用目的の達成に必要な範囲内において、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。

IX. 5. 10. 3 個人情報保護に関する安全管理措置

大阪大学医学部附属病院長は国立大学法人大阪大学の保有する個人情報の管理に関する規程及び大阪大学医学部附属病院の保有する個人情報の適切な管理に関する規程に従い、個人情報保護に関して、組織的、人的、物理的及び技術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対する措置を講じている。一方で個人情報の漏洩等に係わる新しい犯罪手法等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運用をもって、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に鑑み、生存する個人に関する情報と同様に死者に関する個人情報についても同様の措置を講じている。

IX. 5. 10. 4 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、あらかじめ被験者の同意を得ずに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）が外部協力者として「ウイルスベクター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、遺伝子導入細胞製剤の体内動態検査、RCR 検査及び LAM-PCR に関する技術提供」に限定し、間接的に関与する。したがって、タカラバイオ（株）の担当者が研究協力のために一部データを閲覧する予定であるが、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を特定する情報については、総括責任者が厳重に管理するものとする。また、事前にその旨を被験者に通知し、文書にて同意を取得する（一部データとは、ウイルスベクター及び遺伝子導入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）。その他第三者への個人情報の提供は予定していないが、第三者への個人情報の提供を行う場合には、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、その旨を被験者へ通知する。

IX. 5. 10. 5 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、被験者等の知り得る状態にしなければならない。

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

本臨床研究においては、1)、2)、4)について同意・説明文書に明記した。また、3)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、手続きの詳細を大阪大学医学部附属病院の保有する個人情報の適切な管理に関する規程に従い、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、大阪大学医学部附属病院の保有する個人情報の適切な管理に関する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他、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、大阪大学医学部附属病院では個人情報に関する問い合わせ・相談・苦情の窓口を設置し、被験者からの苦情や問い合わせ等に適切かつ迅速に対応できる体制を整えている。

【個人情報に関する問い合わせ・相談・苦情の窓口】

大阪大学医学部附属病院 個人情報相談窓口

個人情報に関する内容と開示請求について：総務課広報評価係（TEL：06-6879-5020）

診療記録開示の手続き：医療課医事係（TEL：06-6879-5206）

X. その他必要な事項

X.1 遵守する法令/省令等

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、
平成 20 年 12 月 1 日一部改正)
2. 「臨床研究に関する倫理指針」
(厚生労働省告示第四百十五号、平成 20 年 7 月 31 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)