

平成 24 年 7 月 13 日

九州大学病院から申請のあった
遺伝子治療臨床研究実施計画に係る意見について

遺伝子治療臨床研究作業委員会

委員長 島田 隆

九州大学病院から申請のあった下記の遺伝子治療臨床研究実施計画について、本作業委員会で検討を行い、その結果を別紙のとおりとりまとめたので報告いたします。

記

1. 神経栄養因子（ヒト色素上皮由来因子：hPEDF）遺伝子搭載第 3 世代組換えアフリカミドリザル由来サル免疫不全ウイルスベクターの網膜下投与による網膜色素変性に対する視細胞保護遺伝子治療臨床研究
申請者：九州大学病院 病院長 久保 千春
申請日：平成 22 年 9 月 29 日

1. 遺伝子治療臨床研究実施計画の概要

(1) 研究課題名： 神経栄養因子（ヒト色素上皮由来因子：hPEDF）遺伝子搭載第3世代組換えアフリカミドリザル由来サル免疫不全ウイルスベクターの網膜下投与による網膜色素変性に対する視細胞保護遺伝子治療臨床研究

(2) 申請年月日： 平成22年9月29日

(3) 実施施設： 九州大学病院
代表者： 病院長 久保 千春

(4) 総括責任者： 九州大学病院 眼科・科長
九州大学大学院医学研究院 眼科学
教授 石橋 達朗

(5) 対象疾患： 網膜色素変性
導入遺伝子： 神経栄養因子（ヒト色素上皮由来因子：hPEDF）遺伝子
ベクターの種類： アフリカミドリザル由来サル免疫不全ウイルス（SIV）ベクター

用法・用量： 局所麻酔下に、硝子体手術により硝子体を切除後、ベクター液（SIV-hPEDF 液）を網膜下に注入する。注入部位は、原則、黄斑を回避した網膜に注入（原則4カ所、1カ所あたり50 μ l、合計液量200 μ l）する。ベクター液濃度は2段階（低用量： 2.5×10^7 TU/ml、高用量： 2.5×10^8 TU/ml）を設定する。

研究実施期間： 厚生労働大臣より了承された日から5年間

目標症例数： 20例（低用量5例、高用量15例）

(6) 研究の概略：

本研究は、未だ有効な治療法が確立されていない網膜色素変性患者の片眼を対象として、神経栄養因子であるヒト色素上皮由来因子（hPEDF）遺伝子を搭載した組換えアフリカミドリザル由来サル免疫不全ウイルスベクター（SIV-hPEDF）を網膜下投与することの安全性を明らかにすることを主たる目的とする。

(7) その他（外国での状況等）：

本研究に使用されるベクターは、九州大学独自で開発されたものであり、国内外で本ベクターによる臨床試験は実施されていない。

米国では、PEDF 遺伝子を導入したアデノウイルスベクターを用いて加齢黄斑変性を対象とした臨床試験が実施され、現在までに 28 名に施行されているが、重篤な合併症は報告されていない。

2. 遺伝子治療臨床研究作業委員会における審議概要

1) 事前の意見・照会事項及びその回答

作業委員会会合の開催に先立ち、各委員より申請者に対して、遺伝子治療臨床研究実施計画申請書等に係る意見・照会事項を送付し、申請者よりそれに対する回答を得た。意見・照会事項の送付とそれに対する回答のやり取りは、平成 23 年 2 月から 12 月にかけて計 4 回行われた。主な意見・照会事項及び回答の概要は以下の通りである。

(作業委員会委員からの主な意見・照会事項及びそれに対する回答)

ア. 本臨床研究は安全性を主要エンドポイントとしているが、副次的に治療効果を観察することは可能か。また、将来、どのような指標をもって治療効果を判定することを想定しているか。

【回答】視力検査、視野検査の結果より視機能を評価する予定である。また、対象眼における治療前後の進行度比較や治療後の進行度を対象眼と反対眼とで比較することによって治療効果を副次的に判定することが可能と考えている。

イ. 網膜色素変性は、原因遺伝子が違えば、臨床症状、PEDF への反応性等が異なり、すべての網膜色素変性患者を対象とした方法では有効性の評価が困難であると考えられる。遺伝子検査を行わない理由を説明すること。

【回答】これまでの研究結果（原因遺伝子の異なる疾患モデル動物に対する実験結果や、PEDF の視細胞アポトーシス抑制メカニズムに関する研究結果）から、hPEDF は網膜色素変性患者集団に対し一定の比率で効果を示す可能性があると考ええる。加えて、本研究は安全性の確認が主目的であることから、事前に原因遺伝子を同定することを適応基準に含めないこととした。

しかしながら、原因遺伝子と治療効果の因果関係を調査することは重要であるため、被験者から同意が得られた場合は遺伝子解析を行うための血清サンプルを採取し保存するよう、実施計画書及び説明同意文書を改訂する。

ウ. ベクターの品質管理試験について証明書を提出すること。また、ベクターの精製度を評価できる電気泳動のデータを示すこと。

【回答】品質管理試験は平成 23 年度中に実施する予定であり、終了次第、証明書等を提示する。

エ. 実施計画書や説明同意文書において「HIV ベクターと比較して安全性が高い」旨の記載があるが、既に臨床研究が数多く行われている HIV ベクターと比較して、ヒ

トでの安全性評価が行われていない SIV ベクターの方が安全であるという根拠は何か。

【回答】実施計画書や説明同意文書における「HIV ベクターと比較して安全性が高い」旨の記載を削除した。

オ. SIV ベクターと HIV ベクターとの性能の違い（細胞特異性、遺伝子導入効率等）を説明すること。

【回答】本研究で使用する SIV ベクターと HIV ベクターは、感染、遺伝子発現に関しては同じシステムであり、動物実験の結果からは網膜における遺伝子発現もほぼ同様である。なお、SIV ベクターは、HIV ベクターと比較して、HIV との組換えの可能性が低いと推測される。

カ. SIV を含めたレンチウイルスベクターについては、自己不活性（SIN）化された場合であっても遺伝子挿入変異誘発（insertional mutagenesis）による腫瘍発生の危険性があることを、実施計画書に明確にすべき。

【回答】実施計画書の「染色体内へ遺伝子が組み込まれる場合の問題点」を改訂した。（実施計画書 21 ページ（本資料 65 ページ））

キ. レポーター遺伝子を搭載した第2世代ベクターを用いたラット網膜下投与試験で細胞傷害が認められているが、ベクター投与そのものによる網膜変性の可能性について、今後何らかの検討を予定しているか。

【回答】第3世代 SIV ベクター（SIV-hPEDF）をカニクイザルに網膜下投与した長期安全性試験においては同様の細胞傷害は認められていないことから、ラットで認められた網膜傷害は第2世代ベクターあるいはレポーター遺伝子を使用した結果ではないかと推察する。しかしながら、SIV-hPEDF を用いた臨床研究において同様の異常が生じる可能性は否定できないため、本研究においても、眼底検査、網膜電図測定等による詳細な評価を行う。

ク. 本研究において PEDF 遺伝子を選択した理由を説明すること（PEDF を神経栄養因子として使用した遺伝子治療はこれまで行われていない。一方で、PEDF 以外の様々な神経栄養因子を使った神経変性疾患の遺伝子治療が行われている。）。

【回答】PEDF を選択した理由は、①PEDF は、元来眼内に生理的に存在する神経保護因子であり、安全域が広いと考えられ、また、②PEDF は、その作用メカニズムから、一定比率の網膜色素変性への効果が期待できるからである。

ケ. ベクターの網膜下注入方法の安全性について説明すること。

【回答】網膜下投与により生じうる合併症として主なものは、投与時の網膜下出血と術後の網膜剥離残存と考えられる。網膜下出血については、注入する針を細くすること等により危険性を下げることが可能であり、また、網膜剥離残存については、サルを用いた安全性試験や他の臨床試験の結果から、危険性は高くないと考

える。

コ. 侵襲性の少ない硝子体内投与で眼内の PEDF 濃度を上昇させる方法では効果が期待できないのか。

【回答】SIV ベクターを使用した場合、硝子体内投与では網膜の細胞に遺伝子を導入することが困難で、角膜内皮細胞などの前眼部の細胞に主に導入される。したがって、SIV ベクターの硝子体内投与で硝子体内の PEDF 濃度を上昇させることは困難と考える。

サ. カニクイザルを用いた長期安全性試験において、眼底所見では投与部位の網膜変性を認めたとされているが、この点について考察すること。

【回答】同様の所見は溶媒 (BSS) を投与した際にも認められることから、投与手技によるものであり、ベクターそのものによる影響ではないと判断している。

シ. 遺伝子治療の有効性が明らかになった場合の、反対側の眼に対する追加治療の可能性について、被験者に説明する必要があるのではないか。

【回答】本研究は安全性の確認を主目的とした第 I 相試験であるが、副次的なエンドポイントとして治療の有効性が明らかとなる可能性がある。その場合は第 II、III 相試験において反対側の眼に対する追加治療が可能であることを、説明同意文書に追記する。

ス. 説明同意文書で使用されている「失明」という用語について、眼科医の理解 (身体障害者 2 級以上の障害を代表とする社会的失明) と一般の方の印象 (医学的失明) との違いから誤解が生じるおそれがあるため、「高度の視覚障害」という用語の方が適切である。

【回答】説明同意文書における「失明」の用語を可能な限り「高度の視覚障害」と改訂する。

2) 作業委員会における審議

- ① 開催日時: 第 1 回 平成 24 年 1 月 13 日(金) 13:00~14:30
第 2 回 平成 24 年 3 月 27 日(火) 17:00~17:15

② 議事概要:

【第 1 回 (平成 24 年 1 月 13 日)】

平成 22 年 9 月 29 日付けで九州大学病院より申請のあった遺伝子治療臨床研究実施計画 (対象疾患: 網膜色素変性) についての審議を行った。

まず、実施計画について総括責任者等より説明を受けた後、委員間で実施計画の妥当性等について審議が行われた。

その結果、本計画は概ね了承されたが、未提出の品質管理試験の結果、増殖性レン

チウイルス（RCL）の検出に関する事項等を確認することとされた。

なお、指摘事項は平成 24 年 1 月 30 日に発出され、同 2 月 27 日に申請者より回答が提出された。指摘事項の内容及び回答の概要は以下の通りである。

（本作業委員会の主な指摘事項及びそれに対する回答）

ア. ヒトに初めて投与される SIV ベクターの安全性を確認するため、ベクターの製造方法と品質試験結果の詳細を示すこと。

【回答】ベクターの製造方法と、品質試験結果報告書の案（ただし、一部の試験については未完了。）が提出された。

イ. SIV ベクターの増殖性レンチウイルス（RCL）の検出方法を具体的に示すこと。また、これらの方法を選択した理由を説明すること。

【回答】RCL 試験は、最終製品に対する品質管理試験として、培養法と RT 法（レンチウイルス特異的な逆転写酵素活性（RT 活性）を測定する方法）を組み合わせで実施した。この方法は、米国及び欧州の規制当局にも認められた方法であり、本被験薬（SIV ベクター）の RCL を検出する最も有効な方法であると考えた。なお、PCR 法については、本被験薬（SIV ベクター）が RCL となり得る構造は種々想定され、すべての RCL の遺伝子型を検出する PCR 法の開発は難しいと考えられたため、用いなかった。

ウ. カニクイザル網膜下に SIV-hPEDF を投与した長期安定性試験において、試験終了時に採取された前房水から hPEDF が検出されていることから、血清中の hPEDF を測定したデータを提出すること。

【回答】長期安全性試験観察終了時に採取した血清を用いて hPEDF 濃度を測定した結果、全個体において検出感度（120 ng/ml）以下であった。また、同時に健常人 18 名の血清中 hPEDF 濃度を測定した結果、血清中には高濃度の hPEDF が含まれていることが確認できた。したがって、眼内で発現した hPEDF が血中に移行した場合でも血清中濃度に大きな影響は与えないと推測された。

エ. 本臨床研究は First in human 試験であるが、予期せぬ有害事象等が発生した場合の対処方法を説明すること。

【回答】予期せぬ有害事象等が発生した場合は、実施計画書の「重大事態発生時の流れ」に従い、関係機関にすみやかに報告した上で、被験薬との因果関係の判定を行い、臨床研究の継続の可否等を判断する。副作用への対応としては、眼内で悪性腫瘍が生じた場合は、レーザー照射による腫瘍の焼灼、または硝子体手術による腫瘍の切除等を実施する。

【第 2 回（平成 24 年 3 月 27 日）】

前回の審議時に未提出であった品質管理試験の実施状況、及び増殖性レンチウイルスに関する追加の照会事項に対する回答について検討された。その結果、両者に関す

る各委員の意見について、事務局で整理し、申請者に検討を依頼することとされ、その結果を確認した上で、科学技術部に報告することとされた

なお、指摘事項は平成 24 年 4 月 18 日に発出され、同 4 月 27 日に申請者より回答が提出されるとともに、品質試験の最終報告が同 6 月 11 日に提出された。これらを踏まえた実施計画書等の整備については、同 6 月 22 日に委員長により了承された。指摘事項の内容及び回答の概要は以下の通りである。

(本作業委員会の主な指摘事項及びそれに対する回答)

ア. 最終製品に対する品質試験において HIV 検出試験の結果が「再試験実施中」とされているが、再試験を実施した理由や試験の妥当性を説明すること。

【回答】negative control において HIV ゲノムが検出される結果となり、試験系に問題があったと考えられたため、再試験を実施した。再試験では、negative control 及び SIV-hPEDF とも、ゲノムコピー数は 0 copies/mL となり、陰性と判断した。再試験においては、最終製品そのもの、10 倍、100 倍、1000 倍希釈の 4 サンプルを測定し、いずれも 0 copies/mL であることが確認された。

3. 遺伝子治療臨床研究作業委員会の検討結果

九州大学病院から申請のあった遺伝子治療臨床研究実施計画（対象疾患：網膜色素変性）に関して、遺伝子治療臨床研究作業委員会は、主として科学的観点から以上のとおり論点整理を進め、それらの結果を実施計画及び患者への説明同意文書に適切に反映させた。その上で、本作業委員会は本実施計画の内容が科学的に妥当であると判断した。

厚生科学審議会科学技術部会 遺伝子治療臨床研究作業委員会 委員名簿

【九州大学病院】

「神経栄養因子（ヒト色素上皮因子：hPEDF）遺伝子搭載第3世代組換えアフリカミドリザル由来サル免疫不全ウイルスベクターの網膜下投与による網膜色素変性に対する視細胞保護遺伝子治療臨床研究」

氏 名	所 属
あらと てるよ 荒戸 照世	(独)医薬品医療機器総合機構 レギュラトリーサイエンス推進部研修課 研修課長
おおはし とうや 大橋 十也	東京慈恵会医科大学 DNA医学研究所教授
おさわ けいや 小澤 敬也	自治医科大学 医学部教授
おのであら まさみ 小野寺 雅史	(独)国立成育医療研究センター研究所 成育遺伝研究部長
さいとう いずみ 斎藤 泉	東京大学医科学研究所 遺伝子解析施設教授
しまだ たかし 島田 隆	日本医科大学 医学部教授
なす やすとも 那須 保友	岡山大学病院 新医療研究開発センター教授
みずぐち ひろゆき 水口 裕之	大阪大学大学院 薬学研究科分子生物学分野教授
やまぐち てるひで 山口 照英	国立医薬品食品衛生研究所 生物薬品部研究員

疾患専門

なかざわ みつる 中澤 満	弘前大学医学部附属病院 眼科診療科長
------------------	--------------------

○：委員長（五十音順 敬称略）

遺伝子治療臨床研究実施計画申請書

平成 22 年 9 月 29 日

厚生労働大臣 殿

実施施設	所在地	郵便番号 812-8582 福岡市東区馬出 3 丁目 1-1
	名称	九州大学病院 電話番号 092-642-5047 (戦略企画課研究支援係) FAX 番号 092-642-5064 (戦略企画課研究支援係)
	代表者 役職名・氏名	九州大学病院 病院長 久保 千春 (職印)

下記の遺伝子治療臨床研究について、別添の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
神経栄養因子（ヒト色素上皮因子：hPEDF）遺伝子搭載第3世代組換えアフリカミドリザル由来サル免疫不全ウイルスベクターの網膜下投与による網膜色素変性に対する視細胞保護遺伝子治療臨床研究	九州大学病院 眼科・科長 九州大学大学院医学研究院 眼科学 教授 石橋 達朗

遺伝子治療臨床研究実施計画概要書

平成 年 月 日 (申請年月日)

研究の名称	神経栄養因子（ヒト色素上皮由来因子：hPEDF）遺伝子搭載第3世代組換えアフリカミドリザル由来サル免疫不全ウイルスベクターの網膜下投与による網膜色素変性に対する視細胞保護遺伝子治療臨床研究
研究実施期間	平成 年 月 日（承認日）から 5年間

総括責任者	所属部局の所在地	福岡県福岡市東区馬出3丁目-1-1	
	所属機関・部局・職	九州大学病院・眼科・科長 九州大学大学院医学研究院・眼科学・教授	
	氏 名	石橋 達朗（いしばし たつろう） 	
実施の場所	所 在 地	福岡県福岡市東区馬出3丁目-1-1	
	名 称	九州大学病院 眼科病棟（南棟11階）	
	連 絡 先	Tel: 092-642-5648, Fax: 092-642-5663	
総括責任者以外の研究者	氏 名	所属機関・部局・職	役 割
	池田 康博	九州大学病院・眼科・助教	副総括責任者：臨床研究の実施、臨床分野からの研究計画の推進
	米満 吉和	九州大学大学院薬学研究院・客員教授	ベクターの設計、構築、管理、基礎分野からの研究計画の推進
	久富 智朗	九州大学大学院医学研究院・眼科学・助教	臨床研究の実施、臨床分野からの研究計画の推進
	宮崎 勝徳	九州大学病院・眼科・助教	臨床研究の実施、臨床分野からの研究計画の推進
	望月 泰敬	九州大学病院・眼科・助教	研究実施協力
	園田 康平	九州大学大学院医学研究院・眼科学・准教授	研究実施協力
	吉田 久美	九州大学大学院薬学研究院・客員助教	研究実施協力

外部協力者	飛松 省三	九州大学大学院医学研究院・臨床神経生理学・教授	網膜機能評価と外部評価
	長谷川 護	ディナベック株式会社・代表取締役社長	ベクター学に関する基礎的助言
	上田 泰次	ディナベック株式会社・取締役	ベクター学に関する基礎的助言
	村田 敏規	信州大学医学部・眼科学・教授	研究協力および外部評価
	後藤 純信	国際医療福祉大学・リハビリテーション学部・准教授	研究協力および外部評価
	矢部 武士	北里大学・北里生命科学研究所・専任講師	研究協力および外部評価

審査委員会が研究計画の実施を 適当と認める理由	九州大学病院遺伝子治療臨床研究倫理審査委員会では、提出された遺伝子治療臨床研究実施計画書 第2版案および遺伝子治療臨床研究 説明・同意書 第2版案を慎重に審査した。 その結果、平成20年10月3日に医学研究院等倫理委員会で承認された「遺伝子治療臨床研究 実施計画書」第1版（平成20年7月15日）から、第2版への改訂が、組織体制の変更、臨床研究薬製造に関する情報の更新、安全性に関する新規の情報などが適切に反映されていると判断した。 以上から、九州大学病院遺伝子治療臨床研究倫理審査委員会は、提出された遺伝子治療臨床研究実施計画書は適切であると判断し、改訂した遺伝子治療臨床研究実施計画変更報告書を所轄官庁へ提出することを平成22年8月17日付で承認した。	
	審査委員会の長の職名	氏名
	九州大学病院遺伝子治療臨床研究倫理審査委員会・委員長 九州大学大学院医学研究院腫瘍制御学分野・教授	片野 光男 

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	遺伝性疾患である網膜色素変性 (Retinitis Pigmentosa: RP) は、難治性かつ成人の失明の原因となる主要な疾患であり、進行すると視機能を高度に障害し、患者の生活の質 (Quality of Life: QOL) を著しく低下させる。視覚障害が及ぼす日常生活障害を数量化すると、最大の障害である死を 1.0 と仮定した場合、失明の障害度の相対値は 0.624 で日常生活に大きな影響を与えるとされている。現在までに種々の治療法が試みられているものの、未だに有効な治療法は確立されていない。従って、RP 患者に対する日常診療において、生活指導など患者の現有視力を有効に利用するための情報提供などといった care が中心となっているのが現状である。 本臨床研究は、未だに有効な治療法が確立されていない RP 患者の片眼を対象として、神経栄養因子であるヒト色素上皮由来因子 (hPEDF) 遺伝子を搭載した組換えアフリカミドリザル由来サル免疫不全ウイルスベクター (SIV-hPEDF) を網膜下投与することに対する、安全性 (主要エンドポイント) を明らかにすることを目的とする。 SIV-hPEDF ベクターは、局所麻酔 (球後麻酔またはテノン囊下麻酔) 下に、硝子体手術により硝子体を切除した後、網膜下注射針を用いて網膜下に注入する。	
対象疾患及び その選定理由	(1) 対象疾患に対する現時点での知見 ① 網膜色素変性の臨床的特徴 網膜色素変性は、“視細胞と網膜色素上皮細胞の機能を原発性、びまん性に傷害する遺伝性かつ進行性の疾患群”と定義されている。すなわち、視細胞や網膜色素上皮細胞に特異的に発現している遺伝子の異常により、若年期に発症して緩徐に進行し、中年ないし老年で高度な視力障害に至る疾患の総称である。頻度としては、我が国では 3,400～8,000 人に 1 人、世界で約 150 万人が罹患しているとされており、遺伝性疾患としては比較的頻度が高い。我が国における成人の失明原因の上位に位置しており、当科において定期受診している患者 (約 200 名) のうち、社会的失明率は約 40% である。 本疾患における遺伝子異常の候補遺伝子はロドプシンをはじめとして 40 種類以上報告されているが、これらの遺伝子異常が認められる頻度は 20% 以下に止まっており、大部分が未知の遺伝子異常であるとされている。遺伝形式は、常染色体優性遺伝、常染色体劣性遺伝、伴性劣性遺伝、ふたつの遺伝子異常によって発症する二遺伝子性遺伝など様々で、遺伝形式がはっきりしないもの (孤発) も約 50% 存在するとされている。 自覚症状としては、夜盲が初発症状であることが多く、視機能の低下は一般に緩徐であり数十年という長い経過をたどるが、進行すると周辺部視野障害・視力低下へとつながり、最終的に失明に至ることもまれではない。眼の異常に初めて気付いた時期は平均 26 歳前後であり、全体の 60% が 30 歳未満であるとの報告がある。 臨床検査所見は以下に示すとおりである。 1) 中心視力に関しては、症例の病型・進行度により影響を受けるが末期まで比較的保たれることが多い 2) 地図状暗点、輪状暗点、徐々に拡大して最終的には中心のみ残存する (求心性視野狭窄) という経過が多い 3) 眼底所見としては、骨小体状の色素沈着と網膜動脈の狭小化が典型的所見 4) 網膜電図 (ERG) は診断に際して最も鋭敏な情報を提供する。網膜色素変性ではその眼底所見に比較して ERG 所見が高度に障害されているのを特	

徴とし、a波、b波の振幅が低下ないし消失している

② 網膜色素変性に対する現行の治療法

現在、この網膜色素変性に対する有効性が明確にされた治療法はないが、次のような治療法が試みられている。

1) Helenien (アダプチノール)：アダプチノールは、我が国では以前から頻用されている内服薬で、暗順応改善カルテノイドとして網膜でエステル分解を受け、キサントフィルに変換して作用するとされているが、効能に関する臨床上の直接的エビデンスはない。

2) ビタミン A 大量療法：科学的な統計処理により唯一治療効果が報告されているビタミン A 大量療法 (15,000 単位/日) は、長期投与によりフリッカー-ERG の低下を防ぐとされている。一方で、この結果を否定する報告も多数あり、その副作用 (肝障害、骨折の増加など) からすべての患者に適応となる治療法ではない。

3) カルシウム拮抗剤：疾患モデルマウス (retinal degeneration mouse) において、カルシウム拮抗剤 (D-シス-ジルチアゼム) が視細胞変性を防止し、網膜電図の改善に役立ったとの報告があるが、その臨床的な効果についてはこれまでに報告がなく、今後の報告が待たれるところである。

その他にも臨床的に試みられている薬物治療はあるが、現在までのところ、いずれの治療法においても明らかな臨床的治療効果の報告はない。

従って、生活指導など患者の現有視力を有効に利用するための情報提供が重要である。医師の立場からは QOL の維持を目的として、患者への障害の告知と受容から始まり、視力の維持・合併症の早期発見、必要により補装具の紹介・処方、特定疾患の認定とそれによるサービスの情報提供、診断書 (身体障害者手帳・障害年金) の交付、リハビリテーションの紹介などがあり、患者の QOL を高めるための総合的な支援が求められている。すなわち、日常診療においては care が中心となっているのが現状である。

③ 現在開発中の新しい治療法

1) 遺伝子治療

RP は難治性の遺伝性疾患であることから、RP 疾患モデルを用いた遺伝子治療の有効性は我々の研究を含め、数多く報告されている。特に、レーバー先天盲のモデルと考えられる RPE65 遺伝子の異常で網膜変性を示す大が、アデノ随伴ウイルス (AAV) ベクターを用いた遺伝子治療により、障害物を避けるように歩けるようになったとする報告は、将来の網膜色素変性に対する遺伝子治療の可能性を示した研究であり、その成果を基に 2007 年より英国において同様の遺伝子治療臨床研究が開始されている。また、PEDF 遺伝子を搭載した組換えアデノウイルスベクターの硝子体内投与による加齢黄斑変性に対する遺伝子治療の臨床研究は既に米国において施行されており、眼科領域の難治性疾患に対する遺伝子治療は臨床的評価を受ける段階となっている。

2) 他家細胞移植

眼内は免疫学的に寛容であることから、拒絶反応が起こりにくいとされている。そこで胎児網膜やアイバンクの眼球から得られた視細胞をはじめとする網膜細胞の他家細胞移植が注目されるようになった。これまでに胎児網膜細胞移植は、RP に対し 20 例以上に施行されているが、1 例を除いて明らかな治療効果は認められていない。治療効果が認められたとされる 1 例においても、詳細なメカニズムが明らかとなっておらず、今後の動向が注目されている。

3) 人工視覚

RP では視細胞が消失するが、この光信号を電気信号に変換するという役割をもつ視細胞に代わる工学的な装置を用いた視覚を人工視覚といい、1990

年頃より精力的に研究が進められるようになった。一般的には、シート状の多点電極を網膜上もしくは網膜下に設置し、電極ごとに直接網膜内の残存神経細胞を電気刺激することによって文字や形を患者に認識させようとするものである。これまでに、米国において試験的に数人の患者に使用されている。我が国でも 2001 年より、新しい網膜刺激方式を用いた人工視覚システムの研究開発を行うプロジェクト（独立行政法人 新エネルギー・産業技術総合開発機構）が進行中である。現時点で開発が始まったばかりの方法であり、症例数も少ないことから、今後の研究の進展が待たれる。

4) 網膜再生

幹細胞 (stem cell) より、網膜を構成する神経細胞、特に視細胞を作り出すという研究は、10 数年前より盛んに行われている。眼球に存在する内在性の幹細胞もしくは、網膜外に存在する幹細胞（胚性幹細胞、神経幹細胞など）から視細胞を再生させ、患者の網膜内へ移植するという治療法は、ドナー細胞の生着効率の問題やドナー細胞と宿主の残存神経細胞とのシナプス形成など、現時点ではクリアーしなくてはならない問題点が多く、臨床応用までには時間を要するであろうと予想されている。

我々は以上の背景をもとに、「より効果が高く、より安全な視細胞保護遺伝子治療法の開発」を目指し、種々の治療遺伝子（神経栄養因子）を検討した結果、病態モデル動物を用いた動物実験では PEDF の治療効果が高いことを見出した。さらに、PEDF は網膜色素上皮細胞より産生される神経栄養因子であり眼内に比較的豊富に存在するため、生理的かつ安全である可能性が高いことが予想された。

また慢性疾患である網膜色素変性に対応し、長期間安定した治療効果を引き出すために、独自に開発した組換えアフリカミドリザル由来サル免疫不全ウイルス (SIVagm) ベクターを使用する。既に本ベクターはマウス、ラット、サル網膜において高い遺伝子導入・発現効率を得ることが可能であることを明らかにしている。また、本臨床研究で用いるヒト PEDF 遺伝子を搭載した SIV ベクター (SIV-hPEDF) の安全性については非ヒト型霊長類 (サル) において急性毒性試験を実施、終了しており、少なくともこれらの動物においては急性期の重篤な有害事象・副作用が検出されないことを確認した。

(2) 他の治療法との比較及び遺伝子治療を選択した理由

① 他の治療法との比較

前述のごとく、本臨床研究の対象疾患は従来の薬物療法などにより明らかな治療効果が示されておらず、他に有効性が証明されている治療手段が存在しない。

② SIV および神経栄養因子を用いた遺伝子治療を選択した理由

1) SIV ベクターを選択した理由

本研究において対象とする RP は前述のように様々な遺伝子異常により生じる疾患群であり、視細胞の変性を抑制することが治療の主眼となる。本疾患における視細胞変性は数年から数十年の経過で緩徐に進行するため、長期の治療効果、即ち長期にわたる遺伝子発現を成し得るベクターが必須である。一方、眼球は高度に機能分化した臓器であり、遺伝子導入した細胞を移植する方法（いわゆる ex vivo 法）では、現在の技術では必ずしも確実な細胞の生着は得られない。従ってベクターを直接注入して安定な遺伝子発現を得る（いわゆる in vivo 法）ことが可能なベクターの選択が必須となる。

長期遺伝子発現が可能なことが証明されているベクターにはレトロウイルスベクター、AAV ベクター、レンチウイルスベクターがあるが、レトロウイルスベクターは in vivo 法での遺伝子導入効率は極めて低く、本疾患の治療を目的とした場合には適さない。AAV は網膜に対する遺伝子治療用として有望なベクターと考えられているが、血中での安定性が高いため、骨格

筋へ局所投与されたベクターが精液に検出されたとする報告もあり、長期の安全性については確立していない。現在開発が進んでいるレンチウイルスベクターの多くはヒト免疫不全ウイルス (HIV) を基本骨格にしたものである。現行で最も進んでいる HIV ベクターは、long terminal repeat (LTR) 配列の持つプロモータ活性を完全に除去し (self inactivating: SIN 化)、さらに第3世代化されているため複製可能なウイルスの出現 (RCL) の危険性は理論的に極めて低いと考えられている。しかしながら、基本骨格となる HIV そのものの病原性と野生型 HIV との相同組換えを起こし自己増殖能を獲得する危険性が懸念されている。

本臨床研究で使用する SIV ベクターは、その構造と製造過程は最も進んだ第3世代 HIV ベクターと同等のものである上、野生型 HIV と相同性を有する配列が削除されており、HIV ベクターと比較しても安全性が高いと考えられる。また我々の前臨床試験において、SIV ベクターはラット、マウス、サルにおいて、in vivo 法により長期の安定した遺伝子発現が可能であることを証明していることから、この SIV ベクターを選択した。

2) 神経栄養因子:色素上皮由来因子 (pigment epithelium-derived factor: PEDF) を治療用遺伝子に選択した理由

遺伝子治療では、A) 正常な遺伝子を導入することにより変異または欠損した遺伝子を置換または補充すること、B) 機能的な遺伝子を導入することにより機能を付加または転換すること、が可能である。眼組織への遺伝子導入の特性として、レンチウイルスベクターを用いた場合、主として網膜色素上皮細胞への遺伝子導入は確実に実施可能であるが、視細胞への安定した遺伝子導入は一般的に困難であることが、我々を含め複数のグループから確認されている。

本研究において対象とする RP は前述のように様々な遺伝子異常により生じる疾患群であり、また視細胞の変性を抑制することが治療の主眼となる。この疾患に対して遺伝子治療を選択した場合、正常な遺伝子を置換・補充するという方法は、被験者ごとにゲノム解析を要するだけでなく、各遺伝子異常に応じて多種類のベクターを用意する必要がある。またこれらを実施しても既知の遺伝子異常は全患者中の20%以下しかカバーできていないため、未知の遺伝子異常により発症する RP に対しては、対応出来ない。従って、我々は神経細胞のアポトーシス死を抑制する効果のある神経栄養因子を用いた遺伝子治療を選択した。

視細胞に対するアポトーシス死の抑制効果を示す神経栄養因子はこれまでに複数報告されているが、その中で PEDF は眼内に豊富に存在する内因性因子であり、さらに血管新生を抑制する効果を併せ持つことから、眼組織内で過剰に産生させても比較的安全である可能性が高いと考えられる。我々の施行したカニクイザルを用いた安全性試験においても、その過剰発現によりサル網膜をはじめとする局所への影響は観察されなかった。また、本臨床研究に使用される遺伝子はヒト由来のものであり、欧米において加齢黄斑変性の遺伝子治療のために眼内への投与 (硝子体内投与) 実績のあるものである。本遺伝子のヒト生体内投与に関わる重大な副作用はこれまで報告されていない。

hPEDF に関して、組換えタンパクの大量投与による臨床研究は現在までに報告はないが、一般に、組換えタンパクは生体内での半減期は短く、構造的に不安定であることが知られている。本研究にて対象とする網膜色素変性は前述のように慢性の経過をたどるため、hPEDF のような神経栄養因子を用いた場合に有効な治療効果を得るためには、長期間の安定した局所濃度を維持することが必要であると考えられる。従って、高濃度の組換えタンパクを頻回に直接投与 (硝子体内投与や網膜下投与) するよりも、組換えタンパクを少なくとも年単位で持続的に発現させることができる SIV ベクターを用いた遺伝子治療の方が望ましいと予想される。

	以上のように、まだヒトでは検証されていないが、導入遺伝子の局所での持続的な hPEDF 産生は、安全性および効果の両面から大量の組換え蛋白投与より望ましいと考えられる。 以上の背景から神経栄養因子 hPEDF を用いた遺伝子治療を選択した。
遺伝子の種類及びその導入方法	(1) ヒトに導入する遺伝子の構造と性質 ① ヒトに導入する遺伝子の構造と性質 実際にヒトに投与するベクター (SIV-hPEDF) を再構成する際に使用されるテンプレートベクターに組み込まれているヒト PEDF 蛋白コード領域の塩基配列を示す。この配列は、GeneBank に登録されているヒト PEDF cDNA の塩基配列 (No. AF400442) と 100%一致することが、塩基配列解析で確認されている。 <pre> atgcaggccctgggtactactctctgcattggagccctcctcgggcacagcagctgccagaacctgccagccc cccgaggagggtctcccagaccccgacagcacagggcgctggaggaggaggatcctttctcaaa gtcccggtgaacaagctggcagcggctgtctcaacttcggctatgacctgtaccgggtgcgacccagcatgagc ccacgaccaaacgtgctcctgtctctctcagtggtggccacggccctctcggccctctcgtgggagcggag cagcgaacagaatccatcattcaccgggctctctactatgacttgatcagcagcccagacatccatggtacctata aggagctccttgacacggctactgccccccagaagaacctcaagagtgctcccgatcgtctttgagaagaagc trcgataaaatccagctttgtggcacctctgaaaagtcatatgggaccaggcccagagtcctgacgggcaacc ctcgttgacacctgaagagatcaacaactgggtgcaggcgcagatgaaaggaagctgccagggtccacaaa ggaaattcccgatgagatcagcattctcctctcgggtgtggcgcactcaaggggcagtgaggtaacaaagttga ctccgaaagactccctcgaggattctacttgatgaagagaggaccgtgagggtcccatgatgtcggacc ctaaggctgttttacgctatggcttgattcagatctcagctgcaagattgccagctgcccttgaccggaagcatg agtatcatcttctcctgccccctgaaagtgaccagaatttgaccttgatagaggagagccaccccgagttcattc atgacatagaccgagaactgaagaccgtgcaggcggctcctcactgtcccaagctgaagctgagttacgaaggc gaagtcaccaagtcctgcaggagatgaagctgcaatcctgtttgattcaccagactttagcaagatcacaggcaa acccatcaagctgactcaggtggaacaccgggtggctttgagtggaacgaggatggggcgggaaccaccccc agcccagggtgcagcctgccacctcaccttcccgctggactatcaccttaaccagcccttcatctctgtactgag ggacacagacacaggggccctctctcattggcaagattcggacccagggggccctaa </pre> 本塩基配列はレンチウイルスゲノムコード蛋白の一部として発現されるため、実際に投与される場合は相補的な RNA 配列として投与されることになる。 ② 導入遺伝子からの生成物の構造及びその生物活性 上記遺伝子により発現されたヒト PEDF タンパクのアミノ酸配列を以下に示す。 <pre> MQALVLLLCIGALLGHSSCQNPASPPEEGSPDPDSTGALVEEEDPFFKVP VNKLAAAVSNFGYDLYRVRSSMSPTTNVLLSPLSVATALSALS LGAEQR TESIIHRALYYDLISSPDIHGTYKELLDTVTAPQKNLKSASRIVFEKKLRK SSFVAPLEKSYGTRPRVLTGNPRLDLQEINNWWVQAQMKGKLARSTKEI PDEISILLGVAFHKGQWVTKFDSRKTSLED FYLDEERTVVRVPMMSDP KAVLRYGLSDLSCKIAQLPLTGSMISIFFLPLKVTQNLTLIESLTSEFIH DIDRELKTVQAVLTVPKLKLSYEGEVTKSLQEMKLQSLFDSPDFSKITGK </pre>

PIKLTQVEHRAGFEWNEDGAGTTPSPGLQPAHLTFPLDYHLNQPFIFVLR
DTDTGALLFIGKILDPRGP

ヒト PEDF タンパクは 418 個のアミノ酸からなる、糖鎖修飾を受けた分子量 46,342Da の一本鎖ポリペプチドである。構造上 serin protease inhibitor (serpin) super family に属し、プロテアーゼ感受性ループ構造を有するが、プロテアーゼ阻害活性はないことが報告されている。

PEDF の代表的な生物活性は、神経親和性である。これまで種々の神経細胞に対して、分化誘導、及び傷害による神経アポトーシスを抑制する作用を持つことが培養細胞のみならず、動物個体においても報告されている。その機序に関しては培養未熟小脳顆粒細胞を用いた検討があり、転写因子 NF- κ B の活性化が関与し、また抗アポトーシス遺伝子である Bcl-2、Bcl-x や、神経栄養因子である NGF、BDNF の発現を誘導することが報告されている。一方、同じく培養未熟小脳顆粒細胞を対象としたマイクロアレイによる検討では、PEDF 添加により種々の神経栄養因子 (NGF, Neurotrophin-3, GDNF) の発現を誘導するが、中和抗体を用いた解析で誘導された神経栄養因子は PEDF の神経保護効果に影響しないことが報告され、保護効果は PEDF の直接の作用であることが示唆されている。さらに近年 PEDF は強力な血管新生抑制効果を有することが報告された。種々の血管新生モデル、腫瘍血管新生を抑制する現象が多数報告されており、その機序はレセプターが未だ明らかでないことから詳細に解明されていないが、(1)PEDF が血管内皮細胞における FasL の発現を誘導し、さらに新生過程にある血管内皮細胞では Fas が高発現していることから、Fas/FasL を介した内皮細胞のアポトーシスが血管新生を抑制する可能性、(2)細胞外でのリン酸化が関与する可能性、また(3)細胞外基質との結合が関与する可能性、などが考えられている。眼内血管新生は、視覚に必須である眼組織の透明性を損なうことから、神経保護及び血管新生抑制効果の両面を併せ持つこの因子は、眼局所で発現させるのに最適な因子と考えられる。

また PEDF はヒト胎児網膜色素上皮細胞の培養上清から分離・精製された因子であり、眼内局所において比較的豊富に存在する。PEDF の高発現時における生体への毒性は明らかではないが、眼内での過剰発現による毒性は理論的に低いと考えられ、事実実験動物を用いた前臨床試験 (マウス、ラット、サル) においても、PEDF に起因すると考えられる明らかな毒性は確認されていない。

(2) 本研究計画で使用するその他の DNA の構造と性質

本臨床研究計画では、組換えアフリカミドリザル由来サル免疫不全ウイルス (SIV) ベクター以外の核酸 (DNA、RNA 共に) は使用しない。

(3) 標的細胞とした細胞の由来ならびに当該細胞を標的とした理由

本臨床研究計画では、SIV ベクターの網膜下投与の際に主に遺伝子が導入されることがマウス、ラット、サルによる実験で明らかになっている網膜色素上皮細胞を標的とする。以下 (4) で示す遺伝子導入法で導入操作を行った場合、その他の細胞へ遺伝子が導入されることはまれであることを、マウス、ラット、サルによる実験で明らかになっている。また本臨床研究計画では、治療遺伝子として分泌タンパクである hPEDF を発現する遺伝子を使用する。hPEDF は遺伝子導入細胞より分泌後、細胞外マトリックスに沈着することにより、その生理作用を発揮すると考えられること、また元来眼内に豊富に存在するタンパクであるため、仮に他の細胞への導入や過剰発現に至っても毒性を示さないため、この遺伝子導入法と当該細胞を標的とした。

(4) 遺伝子導入方法の概略及び当導入法を選択した理由

① 遺伝子導入方法の理論的根拠ならびに導入標的細胞

1) SIV ベクターの基本的性質

本臨床研究で用いるレンチウイルスベクターは「アフリカミドリサル由来サル免疫不全ウイルス SIVagmTYO1 株」を基本骨格として開発されたベクターである。

本ベクターが従来のベクターと比較して有利な点は、1) 基本骨格である SIVagm は、自然宿主であるアフリカミドリサルにも免疫不全症状を起こさず、汎用されている HIV ベクターと比較してより臨床的安全性が高いと予想されること、2) 非分裂細胞に導入可能であり、長期安定した遺伝子発現が可能であること、である。

前者のヒトへの安全性については、①ウイルス構築過程には不要であるが、ウイルス増殖に必要な数種類の遺伝子をベクター再構成系から排除することで、相同組換えの危険性を現行の技術レベルで最小にすることにも成功している（第3世代レンチウイルスベクター）こと、②万一相同組み換えによる自己複製能を獲得する replication competent lentivirus が混入した場合を仮定しても、元来野生型ウイルスに自然宿主への病原性がないこと、さらに③野生型 HIV と相同性の高い配列が削除されていることで、病原性を持つ replication competent な HIV とのキメラウイルス出現の可能性が低いことから、従来の HIV を骨格としたレンチウイルスベクターより理論的な安全性が高いと判断される。また後者の遺伝子導入特性については、本導入法では通常は非分裂細胞である網膜色素上皮細胞を標的としていること、さらに数十年という非常に長い経過を示す慢性疾患を対象としていることから、この遺伝子治療に適した特性と捉えることができる。

2) 遺伝子導入方法の理論的根拠

眼内への遺伝子導入法としては、主に硝子体内投与、及び網膜下投与の2つが報告されている。

我々の用いている SIV ベクターを用いた場合、硝子体内投与では高用量を用いても一部の神経節細胞に導入できるが、その効率は比較的低く、治療効果を示すには不十分と考えられた（未発表データ）。

一方網膜下投与では、網膜色素上皮細胞（RPE）に比較的特異的かつ高効率に導入が可能であり、小動物（ラット）において少なくとも1年間、大動物（サル）においても少なくとも3年間の安定した遺伝子発現を確認している。また網膜色素上皮細胞は視細胞に隣接して存在するため、変性・アポトーシス死を起こす視細胞を保護するために、網膜色素上皮細胞に遺伝子を導入し分泌型蛋白を発現させることで、広範な視細胞を標的にすることが理論上可能であり、実際にこれまでの小動物における効能試験で有効な治療効果を認めている。

以上の背景から、本臨床研究において用いるベクターは安全性に優れていること、さらに網膜下投与による網膜色素上皮細胞を標的細胞とする遺伝子導入法により優れた遺伝子発現特性を示すことから、本ベクターと本導入方法を選定した。

② 遺伝子導入方法の概略

1) 術前日より抗生物質を点滴静注する。術後3日まで点滴を継続する。抗生剤の点眼は術前日より開始し、術後も継続して行う。また手術操作等による眼内非特異炎症予防の目的で、術翌日よりステロイド剤の点眼を行う。

2) 術当日、九州大学病院北棟3階分子・細胞調製センター内細胞保存ユニットに -80℃にて凍結保管してある SIV-hPEDF 溶液を封入しているバイアルを同施設内安全キャビネット内へ移動、溶液を溶解する。希釈液として、アルコン社より医療用として市販されているオキシグルタチオン灌流液（ビーエスエスプラス®、以下 BSS）を用い最適に希釈する（治療低用量： 2.5×10^7 TU/ml、治療高用量： 2.5×10^8 TU/ml）。

3) 希釈した SIV-hPEDF 溶液を専用のキャリアバック内に厳重に封入して、

保冷下で九州大学病院南棟3階手術部へ搬入する。

4) 手術部にて局所麻酔(球後麻酔またはテノン嚢下麻酔)下に、硝子体手術により硝子体を切除後、SIV-hPEDF液を37Gもしくは41Gの網膜下注射針(ドルク社)を用いて網膜下に注入する。注入部位は眼底所見に基づき、原則、黄斑を回避した網膜に注入(原則4カ所、1カ所あたり50 μ l、合計液量200 μ l)する。但し強い網膜癒着のためベクター液注入が困難な場合は、必要に応じて適宜減ずる。注入部裂孔は眼内レーザー等により確実に閉鎖し、硝子体腔へのベクター散布ならびに術後の網膜剥離を予防する。白内障を合併する患者には、同時に超音波乳化吸引術+眼内レンズ挿入術を併用して施行する。なお、ベクター液濃度はベクター力価漸増式に2段階(治療低用量5例、治療高用量15例)に設定している。

5) ベクター投与後、第一種使用規程に基づいたベクターの拡散防止措置を取りつつ、被験者を速やかに遺伝子治療室(北棟11階遺伝子治療室:1181号室および1182号室)へ搬送・隔離する。原則として同室における7日間の管理を行い、血液中および尿中にベクターゲノムが検出されないことを確認の上隔離を解除、一般病棟(南棟11階眼科病棟)へ転棟する。7日目のサンプルにてベクターゲノムが検出された場合、陰性化するまで適宜隔離期間を延長する。

③ 使用するベクター(担体)の作製方法

SIV-hPEDFの作成には複数のプラスミドをセルバンク化した培養ヒト腎臓線維芽細胞由来株293T細胞に同時に導入し、細胞上清に放出されるベクター粒子を回収し濃縮する。マスターセルバンクの品質管理試験項目は、1) 無菌試験、2) マイコプラズマ否定試験(PCR法)、3) マイコプラズマ否定試験(培養法)、4) 細胞の同定試験、5) ウイルス存在否定in vitro試験、6) ウイルス存在否定in vivo試験、7) レトロウイルス否定試験、8) 腫瘍原性試験、9) HBV否定試験、10) HCV否定試験、11) HIV否定試験、12) SIV否定試験、13) アデノウイルス否定試験。

具体的には、1) ベクター粒子に取り込まれるベクターゲノムRNAを合成する遺伝子導入プラスミド、2) *gag*、*pol*のウイルス構成タンパク質を発現させるパッケージングプラスミド、3) 制御タンパク質であるRevを発現するRev発現プラスミド、さらに4) ウイルス外被タンパク質を発現させるVSV-Gプラスミドの4種のプラスミドを用いる。遺伝子導入プラスミドは5'LTRのU3領域をCMVのプロモーター配列と置換しており、*tar*非依存的なゲノムRNAの転写を可能にしている。パッケージングプラスミドはプロモーター活性の高いCAGプロモーターを用い*gag*、*pol*の発現を誘導する。また、後述するRev応答領域(RRE)の挿入により発現を高めている。Rev発現プラスミド、VSV-Gプラスミドは共にCMVプロモーターを用い、それぞれRevとVSV-Gを発現する。これらのプラスミドを一定の比率でヒト腎臓線維芽細胞由来株293Tに遺伝子導入を行う。プラスミド導入後ウイルスベクターを含む培養上清を回収・濾過し、濃縮を行う。濃縮後のベクター力価は遺伝子導入プラスミド中の遺伝子配列を標的にしたリアルタイムRT-PCRにより粒子力価(viral particle: Vp)を測定する。抗ヒトPEDF抗体を用いて免疫組織化学的検出によるfunctional titerの算出(transduction unit: TU)も併せて行う。

④ 使用するベクター(担体)の構造

本臨床研究で使用するSIVベクター(SIV-hPEDF)はエンベロープ型のウイルスベクターであり、ヒト水疱性口内炎ウイルス(Vesicular Stomatitis Virus: VSV)エンベロープタンパク質VSV-Gによるシュードタイプ化を施すことにより、多種の細胞への感染を可能としている。構造タンパク質としてSIVagm由来のGag(group-specific antigen)タンパク質および逆転写酵素、

	Pol を含み、さらにベクターゲノム RNA を包含している。ベクターゲノム RNA は、5'端と3'端にそれぞれLTR(Long Terminal Repeat)を持つ単鎖 RNA である。前述のように遺伝子導入プラスミドの5'LTRは、LTR内のU3領域をCMVプロモーター配列と置換しており、この部分によりtat非依存的に転写が開始されるため、プロモーター直下のRおよびU5領域のみを持つLTRとなる。また、3'LTRは、U3領域を欠失させているためにやはりU3領域を欠失したRおよびU5領域のLTRとなっている。5'LTR下流にはSIVのパッケージングシグナルψ、Revとの作用により転写産物の核外移行を亢進するRev応答領域(Rev-response element: RRE)、遺伝子の導入効率を上昇させるcentral polypurine tract (cPPT)配列(130塩基長)を有し、CMVプロモーターとその直下に搭載遺伝子PEDFが挿入されている。その下流にはPEDF mRNAの安定性を高めることにより導入遺伝子の発現効率を高める約600塩基長ウッドチャック肝炎ウイルスのpost-transcriptional regulatory element (WPRE)配列が挿入されている。 本ベクターによって導入される遺伝子はヒトPEDFのみであり、ウイルス由来の他の配列から翻訳される産物はない。本ベクターは自己不活性(Self inactivated: SIN)化しているため標的細胞に感染、遺伝子導入が起こる際にはU3領域を欠失させることにより不活化した3'LTRが複製して5'LTRと置換されて宿主細胞のゲノムに挿入されるため、このLTRからの転写は理論上ないと考えられ、また同時に内部のCMVプロモーターの活性が亢進されているため、安定した強い遺伝子発現が可能であるが、3'LTRのR配列中にあるpoly A配列(AATAAA)によりCMVプロモーターからの転写は理論上停止する。 ⑤ 使用するベクター(担体)の生物学的特徴 本ベクターはアフリカミドリザルを宿主とするサル免疫不全ウイルス(SIVagm)の株であるTYO-1に由来する。分類学上、本ウイルスはレトロウイルス科レンチウイルス属に属し、HIV-1、HIV-2等とともに霊長類レンチウイルスグループを形成する。HIV類と異なり、自然宿主に対し病原性を有さず、遺伝学的にも、宿主に病原性を持つHIVやSIVcmpと大きく隔絶されていることが明らかになっている。したがって、本ベクターとHIV間において相同組み換えが起こる可能性も理論的に低いことが予想される。このSIVagmTYO1ゲノムcDNAのサイズは9kbpであり、ベクター化に際し、不要な遺伝子を除去した。即ち、vif、vpr、tat、env、nefを欠失し、パッケージングに必要なgag、pol、revは分離したプラスミド上に搭載している。従って実際にベクター(担体)のゲノムRNAに相補的なテンプレートDNA配列は、80%以上が取り除かれている。 本ベクターは前述したようにSIN化しており、標的細胞ゲノムに挿入後の5'LTRは不活化されるため、LTRによるプロモーター活性は消失しており、挿入部位の遺伝子を非特異的に活性化する危険性は原理的にない。また、遺伝子導入プラスミド、パッケージングプラスミド、Rev発現プラスミド、VSVGプラスミドにそれぞれ分離してあるいわゆる第3世代ベクターであるため相同組み換え等により、自立複製ウイルスの出現の確率は理論的に極めて低いと考えられている。 SIVベクター自体は他ウイルスを基本骨格としたレンチウイルスベクターと同様、静止期にある細胞に遺伝子導入が可能であることが複数の細胞を用いて示されている。造血幹細胞や、霊長類胚性幹細胞(ES)細胞に対して遺伝子導入し、安定した長期の外来遺伝子発現が確認されている。
安全性についての評価	(1) 遺伝子導入方法の安全性 ① 遺伝子導入に用いるウイルスベクター(担体)の純度 GMPベクターの生産、精製、供給はVector Gene Technology社(中華人民共和国・北京市)により行われる。同社で生産したウイルスベクター(レトロウイルス、アデノウイルスを含む)は、これまで多数の遺伝子治療臨床研

究に使われており、十分な実績を有する。GMP 生産ラインによる SIV-hPEDF 生産のテストランを実施後、実生産を行い、最終生産物が GMP 基準に合致することを確認する。SIV-hPEDF の品質管理試験の項目は、1) 粒子力価測定 (Vp)、2) 機能力価測定 (TU)、3) PCR 法による hPEDF 遺伝子の確認、4) SDS-PAGE によるタンパク質分析、5) タンパク質濃度測定、6) 微生物限度試験、7) 無菌試験、8) マイコプラズマ否定試験 (PCR 法)、9) マイコプラズマ否定試験 (培養法)、10) ウイルス混入否定試験、11) 異常毒性試験、12) 電子顕微鏡検査、13) エンドトキシン濃度測定、14) 細胞由来 DNA 濃度測定、15) BSA 濃度測定、16) Benzonase 濃度測定、17) 増殖性レンチウイルス (RCL) 否定試験、18) in vitro 遺伝子発現、19) hPEDF タンパク質濃度測定、20) E1A, E1B, SV40 確認、21) 充填量確認、22) pH 測定、23) 目視による外観検査。

② 患者に投与する物質の純度及びその安全性

患者に投与する物質は、GMP 基準に合致したベクターを希釈液で希釈したものを使用する。希釈液としては、BSS を使用する。凍結状態の SIV-hPEDF 溶液の融解、バイアルの開封並びに SIV-hPEDF 溶液の希釈及び分注操作は、P2 レベルの実験室内の安全キャビネット内で行う。

③ 増殖性ウイルス出現の可能性

本臨床研究に使用する組換えアフリカミドリザル由来サル免疫不全ウイルスベクターは、ウイルス固有のゲノムシーケンスをほとんど排除した第 3 世代と呼ばれるもので (ウイルスのゲノム RNA から 80.6% を欠失している)、作製されたベクター内には導入遺伝子のみ取り込まれるようになっており、エンベロープタンパク質や *gag*、*pol* 等の遺伝子を持ち込まないようになっている。従って、相同組換えにより自己複製能をもつウイルス (RCLs: replication competent lentiviruses) が生じる可能性は理論的に低く、生産されたベクター溶液中に混入する可能性はほとんどないと考えられる。

また、外界に存在するレトロウイルスとの相同組換えによる、RCLs の発生についても、HIV と相同性の高い配列が削除されていることから HIV との相同組換えの確率は HIV ベクターよりも低いと予想され、HIV ベクターよりも安全面での優位性があると考えられる。

④ 遺伝子導入に用いるウイルスベクター(担体)の細胞傷害性

当初、第 2 世代 (本臨床研究で使用するベクターは第 3 世代、制御タンパク質である Rev を発現する遺伝子が搭載されている) 組換えアフリカミドリザル由来サル免疫不全ウイルス (SIV) ベクターを使用した研究では、レポーター遺伝子 (核移行シグナル付加大腸菌 *lacZ* 遺伝子、及び EGFP 遺伝子) を搭載した高濃度 (2.5×10^8 TU/ml, 約 5 μ l) のベクター (SIV-nls-lacZ、SIV-EGFP) をラット網膜下へ投与することで、術後 3 ヶ月前後に一部の個体でベクター投与部位において網膜構造の破壊 (網膜変性) が生じるという組織学的所見を得た。

原因を特定するために詳細な検討を加え以下の結果を得ている。1) 培養ヒト網膜色素上皮由来細胞を含めた複数の細胞において、第 2 世代ならびに第 3 世代の SIV ベクターの感染実験においても明確な細胞傷害性を認められなかった (未発表データ)、2) 第 2 世代のヒト PEDF、ヒト FGF-2 を搭載したベクターにおいては、同量の高濃度ベクターの網膜下投与により同様の組織学的所見は得られなかった (未公表データ)、3) 第 3 世代の SIV ベ

クターを用いたラット 51 眼の検討では、BSS 群、外来遺伝子を発現しない SIV ベクター (empty-SIV) 群ならびに SIV-hPEDF 群では、低濃度ならびに高濃度ともに、明らかな網膜構造の破壊の所見を認めなかった。一方、レポーター遺伝子群 (SIV-nls-lacZ もしくは SIV-EGFP) では、低濃度で 10 眼中 2 眼、高濃度で 10 眼中 3 眼で網膜変性の所見が観察された (未公表データ)、4) カニクイザルを用いた SIV-hPEDF (第 3 世代) に関する安全性試験 (添付資料 1 参照) において、最大濃度投与群 (1.0×10^9 TU/ml, 20-50 μ l) で投与後 90 日の時点で網膜組織の変性など重篤な副作用は認められなかった、5) カニクイザルを用いた SIV-hPEDF (第 3 世代) に関する長期安全性試験において、高濃度投与群 (2.5×10^8 TU/ml, 20-50 μ l) において、投与後 2 年の時点で検眼鏡的に網膜変性の所見は認められなかった。

以上の結果から、明らかな原因は同定できないものの、第 2 世代に比べ頻度は低い、レポーター遺伝子を発現させた眼球において網膜変性が生じることが示された。レポーター遺伝子産物自身の免疫原性と炎症惹起作用が他施設から報告されており、今回観察された所見もレポーター遺伝子産物に対する炎症反応が関与している可能性が考えられるが、今後はカニクイザルを用いた長期安全性試験の個体を注意深く経過観察し、ベクター投与そのものによる網膜変性の可能性の有無を検討していく必要がある。

⑤ 体内の標的細胞以外への遺伝子導入の可能性

本臨床研究に使用する組換えアフリカミドリザル由来サル免疫不全ウイルスベクターは、そのエンベロープとしてヒト水疱性口内炎ウイルス (VSV) の G 蛋白をもつ。VSV-G は脂質への結合と細胞膜への融合により細胞内へと侵入するため、VSV-G をエンベロープにもつ組換えアフリカミドリザル由来サル免疫不全ウイルスベクターは幅広い哺乳動物細胞へ感染可能である。そのため、網膜下へ投与された場合においても、血行や周辺組織への漏出により、網膜色素上皮細胞以外の細胞への遺伝子導入される可能性は否定出来ない。

これを明らかにするため、カニクイザルを用いた安全性試験にて、RT-PCR 法による生体内分布 (biodistribution) を検討した。最大濃度 (1.0×10^9 TU/ml, 20-50 μ l) までの網膜下投与 (SIV-hPEDF) において、少なくとも血液、尿中には、全経過 (術後 1, 8, 30, 90 日) を通じてベクターの遺伝子配列は確認されておらず、全身散布の可能性は低いと考えられる。

⑥ 患者以外のヒトに遺伝子が導入される可能性

上述のごとく、本ベクターは VSV-G 蛋白によりシュードパッケージングされているため、多種の細胞へ感染可能である。従って一定量の漏出が生じれば、患者以外のヒトへの遺伝子導入の可能性は否定出来ない。

本臨床研究においては安全性を確保するため、また生物学的多様性への影響を最小限にするため、ベクター投与後少なくとも 1 週間は、第一種使用規程に則り、厳重に管理され陰圧で制御される遺伝子治療室にて被験者を管理する (サルを用いた安全性試験成績では、投与直後から投与後 3 カ月の経過全てにおいて、血液ならびに尿中にベクターの遺伝子配列は検出されていないため、1 週間の管理期間で十分であると考えられる)。

実際の治療においては、投与当日、1 日目、3 日目、7 日目に血液・尿よりベクター由来の核酸配列が検出されないことを確認 (RT-PCR 法) した後、陰性の場合にのみ一般病棟へ移送する。

⑦ 染色体内へ遺伝子が組み込まれる場合の問題点

フランスで施行されたレトロウイルスベクターを用いた X 連鎖重症複合免疫不全症 (XSCID) に対する臨床研究において、治療を施した患者 10 名のうち 4 名に T 細胞性白血病が発症し、その後の英国における同疾患に対する臨床研究において、1 名に T 細胞性白血病が発症したと最近報告された。フランスの 3 例と英国の 1 例では、白血病の原因は造血幹細胞の増殖に関与する LMO2 遺伝子の近傍へのプロウイルス挿入が確認されており、フランスの 1 例では、リンパ球の癌遺伝子 (CCND2) の近傍への挿入が確認されている。一方、ドイツで施行されたレトロウイルスベクターを用いた慢性肉芽腫症に対する臨床研究においても、治療を施した患者 2 名にベクターが組み込まれた顆粒球の異常増殖 (骨髄異形成症候群: MDS) が確認された。このように、レトロウイルスベクターを用いて造血幹細胞への遺伝子導入を必要とする臨床研究では、細胞の増殖活性を制御する遺伝子近傍へのプロウイルスの挿入により、細胞増殖が活性化されることによる合併症が報告されている。レトロウイルスベクターと同様に、レンチウイルスベクターは宿主ゲノムに組み込まれるため、ウイルスゲノムの LTR (long terminal repeat) 挿入による宿主染色体の過剰発現やプロウイルスゲノム挿入による insertional mutagenesis が生じる可能性がある。本臨床研究で使用する組換えレンチウイルスベクターは、5' LTR ならびに 3' LTR の U3、U5 領域を一部欠失させることによりその転写活性を排除できている、SIN (self-inactivation) 化されたベクターである。従って、プロウイルス組み込みに起因する宿主染色体由来遺伝子の非特異的発現の可能性は理論的に低いと予想される。また、insertional mutagenesis により必要な遺伝子発現を抑制する可能性が考えられるが、理論上可能性は低く、小動物 (マウス、ラット) およびサルを用いた実験でもがんの発生など、明らかな異常を認めなかった。

本ベクターによりヒト網膜色素上皮細胞株へ遺伝子導入し、プロウイルスの宿主染色体挿入部位を 747 クローンについて検討したところ、特定のホットスポットは検出されなかった。さらに、これまでの他の細胞で検討された HIV と同様、蛋白質をコードする遺伝子内部へ組み込まれる傾向 (488 クローン: 約 65%) があった。また、がんに関与する遺伝子中、蛋白コード領域遺伝子内への組み込みは 31 クローン (約 4.1%) に認められたが、蛋白の構造に影響を与えるエクソン部位への遺伝子挿入は 2 クローンのみに見られ (約 0.27%)、この傾向はその他の遺伝子に対する組み込み (イントロン 94%、エクソン 6%) と同様であった。

⑧ がん原性の有無

発現させるヒト PEDF は内在性のタンパク質であり、元来眼球に一定量存在すること、また欧米においてアデノウイルスベクターによる遺伝子治療臨床研究に使用された経験のある治療遺伝子であり、この試験でも悪性腫瘍の発生は報告されていない。

上記のごとく、染色体への SVV プロウイルスの組み込みに伴う宿主がん遺伝子の過剰発現や宿主がん抑制遺伝子の発現抑制による発がんの危険性については、HIV と同等程度の可能性は否定出来ない。これまでのマウス、ラットを用いた実験において、全経過を通じて悪性新生物の発生を認めず、カニクザルを用いた長期安全性試験においても、少なくとも遺伝子導入 2 年後までの悪性新生物の発生は確認されていない。また対象臓器は異なるが、これまで欧米で使用されている AAV や HIV による臨床研究においてもがん原性は確認されていない。

以上から、本臨床研究に伴う発がんの可能性は比較的低いと推察される。

(2) 遺伝子産物の安全性

PEDF はヒト胎児網膜色素上皮細胞の培養上清から分離・精製された因子

	であり、眼内局所において比較的豊富に存在する。PEDF の高発現時における生体への毒性は明らかではないが、眼内での過剰発現による毒性は非常に低いと考えられ、動物実験においても明らかな毒性は全症例で確認されていない。 さらに、米国において施行されている AdPEDF の硝子体内投与の臨床研究においても、ヒト PEDF の過剰発現による毒性は示されていない。
遺伝子治療臨床研究の実施が可能であると判断する理由	これまでに、網膜色素変性 (RP) に対し臨床的に明らかに有効な治療法の報告はなく、日常診療においては、生活指導など患者の現有視力を有効に利用するための情報提供などといった care が中心となっているのが現状である。 前臨床効能試験成績より考察すると、本臨床研究計画は RP における視細胞変性の進行 (視機能の低下) を有意に遅延させることが期待でき、cure を目指した治療法となる可能性がある。 また、ヒトに対し非病原性ウイルスをベクターの基本骨格として用いていること、ベクターの相同組換えによる RCLs 発生の可能性が理論的に極めて低いこと、安全性試験により全身へのウイルス散布が検出されていないことから、発癌の可能性や子孫への影響に関する理論的危険性も低いと判断される。さらに各種安全性試験成績より、本研究計画で使用を想定している投与量であれば、免疫反応を含む生体への影響は比較的低いであろうと予測される。 九州大学病院眼科は、RP に関する永年の豊富な診療経験と優れた診断技術を有し、ベクター投与に際して必要となる硝子体手術に関しても豊富な経験をもつスタッフを擁している。さらに、本臨床研究の対象となる患者も九州を中心に全国から集まっており、系統立てた診療とデータ管理体制が整っている。既に九州大学病院眼科における網膜色素変性専門外来では、200 名以上の患者をフォローしており、そのほとんどの患者において 1 年以上の継続した視機能および全身状態に関する綿密なデータを集積している。 遺伝子治療臨床研究においては、既に厚生科学審議会より実施承認を得た臨床研究が進められており、カルタヘナ関連法、個人情報保護法を含め、本臨床研究の実施に必要な学内・院内のシステムは全て整っている。九州大学病院北棟 11 階には遺伝子治療専用病室 (無菌病棟内遺伝子治療室) を既に設置している。 以上から、本遺伝子治療臨床研究は実施可能であると判断する。
実施計画	(1) 遺伝子治療臨床研究を含む全体の治療計画 【本臨床研究の実施に際し設置される委員会】 本遺伝子治療臨床研究においては、選定患者の適応、臨床研究の安全性を客観的に判定するため、九州大学病院内に九州大学病院先進医療適応評価委員会を設置する。 この委員会は両性よりなる学内外の専門家より構成され、本臨床研究に関与する医師他は含まれない。本委員会においては、本臨床研究に関与する研究者は症例の提示以外の委員会会議への参加は行わないが、有害事象発現時の状況の説明など、委員会が必要と認めた場合には、総括責任者を含め本臨床研究に関与する医師の参加を要請することができる。いずれの場合も、症例の適応評価判定やステージアップ判定など決定事項の合議の際には、臨床研究に関係する研究者は退席させる。また以下の委員会の委員は、必要に応じて患者の容態の診察や診療録などの直接閲覧する権限を有する。また委員会は必要に応じて、疾患専門委員など、委員以外の外部の専門家を招聘し、その意見を聴くことにより判定の参考にすることができる。 委員会の運営については、別途作成した手順書に従って行う。 各種判定結果については、会議ごとに結果報告書ならびに参加委員全員の

署名または記名捺印を受けた議事録を作成し、九州大学病院長へ提出する。九州大学病院長は委員会の結果を受けて通知書を作成し、委員会の記録の写しとともに、総括責任者に提出する。特にステージアップ判定、有害事象・重大事態等発生時の因果関係判定、ならびに臨床研究全般の安全性評価総合判定については、会議ごとに結果報告書ならびに参加委員全員の署名または記名捺印を受けた議事録を作成し、九州大学病院長へ提出した後、その写しを九州大学病院遺伝子治療臨床研究倫理審査委員会、総括責任者および所轄官庁へ提出する。

・ 九州大学病院先進医療適応評価委員会：

〔役割 1〕 治療前適応評価

本臨床研究の候補として登録された患者の治療前検査が問題なく実施されたか検討する。治療前検査の実施に問題が無い場合、そのデータを参考に、患者の病状が選定基準に合致するか、そして除外項目に抵触しないかを検討することにより、本臨床研究の対象患者として適当か否かを判定する。

〔役割 2〕 ステージアップ適応評価

各ステージの安全性を注入後少なくとも 28 日目までのデータを基に九州大学病院先進医療適応評価委員会にて急性期の安全性が確認された後、次ステージを開始する。九州大学病院先進医療適応評価委員会での判定結果については、会議ごとに結果報告書ならびに参加委員全員の署名または記名捺印を受けた議事録を作成し、九州大学病院長へ提出する。またその写しを九州大学病院遺伝子治療臨床研究倫理審査委員会、総括責任者および所轄官庁へ提出する。

〔役割 3〕 有害事象・重大事態等発生時の対応

有害事象・重大事態等の発現に際し、総括責任者ならびに分担研究者・その他の協力者より状況の報告と臨床データの提示を求め、本臨床研究薬との因果関係、臨床研究の続行の可否について判定する。

〔役割 4〕 臨床研究全般の安全性評価総合判定

最後の被験者投与後 2 年間実施し、全症例の 2 年目のデータをもって九州大学病院先進医療適応評価委員会にて遠隔期の安全性を判定する。本委員会は最終報告書を九州大学病院長へ提出し、またその写しを九州大学病院遺伝子治療臨床研究倫理審査委員会、総括責任者および所轄官庁へ提出する。以上をもって本臨床研究の終了とする。

(注) 本臨床研究終了後、染色体組込型ウイルスベクターに関する米国 FDA の推奨 (2006 年 11 月発行：Guidance for Industry; Gene Therapy Clinical Trials- observing participants for delayed adverse events) に則り、九州大学病院眼科網膜色素変性再来において被験者のフォローアップを最低年 1 回、終生行う。フォローアップ期間中に生じた被験者に関する新たな知見 (有害事象を含む) については、九州大学病院眼科科長が速やかに報告書を作成し、九州大学病院遺伝子治療臨床研究倫理審査委員会および所轄官庁へ報告する。また本臨床研究の被験者が死亡した場合、原則的に投与眼球を含めた剖検を依頼するものとするが、被験者あるいはその家族が同意しない場合は、これを理由として臨床研究への被験者登録の条件としない。

【本臨床研究の実施手順】

【患者選定、登録から治療前検査】

本遺伝子治療臨床研究の適応が予測される患者については、九州大学病院にて患者ならびに家族 (あるいは親族) に対し文書によるインフォームド・コンセント (第 1 回目) を行い、同意が得られた場合に限り、本臨床研究へエンロール (患者登録) し治療前検査を開始する。

【患者適応評価から治療実施】

治療前検査にて後述する選択基準に合致、さらに除外基準に抵触しないことが明らかになった場合、九州大学病院内に設置されている九州大学病院先進医療適応評価委員会にて適応を評価する。

2度わたる十分なインフォームド・コンセントにより、被験者ならびに家族（あるいは親族）の文書による同意を得た後、以下の方法によって臨床研究を実施する。なお第1回目の同意取得の後に登録された被験者の適応は、治療前検査の結果を踏まえ、九州大学病院先進医療適応評価委員会により判定され、その結果を踏まえ第2回目の同意取得が成される。

1) 術前日より抗生物質を点滴静注する。術後3日まで点滴を継続する。抗生剤の点眼は術前日より開始し、術後も継続して行う。また手術操作等による眼内非特異炎症予防の目的で、術翌日よりステロイド剤の点眼を行う。

2) 術当日、九州大学病院北棟3階分子・細胞調製センター内細胞保存ユニットに -80°C にて凍結保管してあるSIV-hPEDF溶液を封入しているバイアルを同施設内安全キャビネット内へ移動、溶液を溶解する。希釈溶媒であるBSSにて最適に希釈する（治療低用量： 2.5×10^7 TU/ml、治療高用量： 2.5×10^8 TU/ml）。

3) 希釈したSIV-hPEDF溶液を専用のキャリアバック内に厳重に封入して、保冷下で九州大学病院南棟3階手術部へ搬入する。

4) 手術部にて局所麻酔（球後麻酔またはテノン囊下麻酔）下に、硝子体手術により硝子体を切除後、SIV-hPEDF液を37Gもしくは41Gの網膜下注射針（ドルク社）を用いて網膜下に注入する。注入部位は眼底所見に基づき、原則、黄斑を回避した網膜に注入（原則4カ所、1カ所あたり50 μl 、合計液量200 μl ）する。但し強い網膜癒着のためベクター液注入が困難な場合は、必要に応じて適宜減ずる。注入部裂孔は眼内レーザー等により確実に閉鎖し、硝子体腔へのベクター散布ならびに術後の網膜剥離を予防する。白内障を合併する患者には、同時に超音波乳化吸引術＋眼内レンズ挿入術を併用して施行する。なお、ベクター液濃度はベクター力価漸増式に2段階（治療低用量5例、治療高用量15例）設定し、第1ステージの安全性を注入後少なくとも28日目までのデータを基に九州大学病院先進医療適応評価委員会にて急性期の安全性が確認された後、第2ステージを開始する。九州大学病院先進医療適応評価委員会での判定結果については、会議ごとに結果報告書ならびに参加委員全員の署名または記名捺印を受けた議事録を作成し、九州大学病院長へ提出する。またその写しを九州大学病院遺伝子治療臨床研究倫理審査委員会、総括責任者および所轄官庁へ提出する。

5) ベクター投与後、第一種使用規程に基づいたベクターの拡散防止措置を取りつつ、被験者を速やかに遺伝子治療室（北棟11階遺伝子治療室：1181号室および1182号室）へ搬送・隔離する。原則として同室における7日間の管理を行い、血液中および尿中にベクターゲノムが検出されないことを確認の上隔離を解除、一般病棟（南棟11階眼科病棟）へ転棟する。7日目のサンプルにてベクターゲノムが検出された場合、陰性化するまで適宜隔離期間を延長する。

6) 別紙1に掲げるタイムスケジュールで安全性の評価に関する検査（視力、眼圧、前眼部細隙灯検査、および眼底検査などの眼科的検査、バイタルサイン、呼吸機能検査、心機能検査、腎機能検査、肝機能検査、一般血液・血清検査、尿検査、ベクターゲノムコピー数測定、ヒト水疱性口内炎ウイルス抗体価など）を行う。

(2) 被験者の選定基準及び除外基準

選定基準：以下のすべての条件を満たす患者の片眼を対象とする。対象眼は、視力・視野により総合的に判定し、視機能の低い非優位眼とする。

1) 厚生労働省特定疾患治療研究事業、網膜脈絡膜・視神経萎縮に関する調査研究班の定める診断基準に従い、2名以上の眼科専門医によって網膜

色素変性と診断された患者（ゲノム診断は原則として行わない）

2) 成人（満40歳以上）

3) 九州大学病院眼科において、視野検査、および網膜電図が定期的に施行されており、それらのデータが被験者登録予定日より逆算して1年以上記録・保管されている患者

候補対象患者は治療前検査データを基に九州大学病院内に設置する九州大学病院先進医療適応評価委員会にて適応を評価する。

除外基準:

以下に適合する患者は今回の臨床研究の対象としない。

1) HIV 抗体陽性の患者（注）

（既感染の有無について事前に治療前検査として本検査を実施することを説明）

2) 対側眼が失明している患者

3) 網膜色素変性による黄斑部疾患を合併する患者

4) 緑内障を合併している患者

5) 眼底検査（蛍光眼底造影検査、スキャニングレーザー眼底撮影なども含む）にて、網膜もしくは網膜下に網膜色素変性によらない病変

6) 重篤なアレルギーを有する、あるいは既往のある患者

7) 慢性人工透析を受けている患者

8) 重症の心機能障害、心不全を有する患者

9) 重篤な肝機能障害、肝硬変を有する患者

10) 活動性の炎症性疾患を有する患者

11) 最近6ヶ月以内に脳出血、脳梗塞などの既往のある患者

12) 血液疾患を有する患者

13) アルコール依存症、薬物依存症患者

14) 妊娠中の女性、妊娠が疑われる女性、あるいは授乳中の女性患者（避妊指導を行う）

15) その他、本臨床研究により不利益を受けると予測される患者、および本人ならびに家族（あるいは親族）の文書による同意が得られない患者など、九州大学病院先進医療適応評価委員会が不適当と見なした患者

（注）HIV 既感染者は、本臨床研究で使用する SIV ベクターとの相同組換えにより自己増殖能を有するウイルス（replication competent lentivirus: RCL）が出現する可能性が、低頻度ながら否定出来ないため、その既感染の有無に関するチェックを必須とする。

(3) 被験者の同意の取得方法

網膜色素変性に対して現時点で有効な治療法がないこと、本臨床研究の実施に同意しない場合であっても何ら不利益は受けないこと、本臨床研究の理論的背景と動物実験成績、安全性に関する成績、本臨床研究により起こりうる副作用、他の開発中の治療法、個人情報の保護、等に関して十分な説明を被験者本人及び家族（あるいは親族）に対して行い、その十分な理解を得た上で自由な意思に基づいて本臨床研究の被験者となることについて文書により同意を得る。

同意の取得は患者登録時、および全身検索が終了し、九州大学病院先進医療適応評価委員会が適応有と判定した後の、計2度行う。

また、同意に関連し得る新たな重要な情報を入手した場合は、その情報を被験者及び家族（あるいは親族）に伝え、継続して参加するか否かについて被験者の意思を確認する。

(4) 実施期間及び目標症例数

研究実施期間：承認時より 60 ヶ月

各症例の研究実施期間：遺伝子導入後 24 ヶ月

(本臨床研究の安全性は全症例への投与終了後、24 ヶ月の観察を以て判定される)

追跡調査期間：臨床研究終了後、最低年 1 回の外来受診を終生実施する

本臨床研究終了後、染色体組込型ウイルスベクターに関する米国 FDA の推奨 (2006 年 11 月発行：Guidance for Industry; Gene Therapy Clinical Trials- observing participants for delayed adverse events) に則り、九州大学病院眼科において被験者のフォローアップを最低年 1 回、終生行う。フォローアップ期間中に生じた被験者に関する新たな知見 (有害事象を含む) については、九州大学病院眼科科長が速やかに報告書を作成し、九州大学病院遺伝子治療臨床研究倫理審査委員会、および所轄官庁へ報告する。また本臨床研究の被験者が死亡した場合、原則的に投与眼球を含めた剖検を依頼するものとするが、被験者あるいはその家族が同意しない場合は、これを理由として臨床研究への被験者登録の条件としない。

目標症例数：20 例 (2 段階：治療低用量 5 例、治療高用量 15 例)

(5) 遺伝子治療臨床研究の実施方法

① 対照群の設定方法

本研究計画に用いるベクターは世界的に使用例がないことを鑑み、安全性の評価を主眼とした最大使用量までの 2 段階の用量漸増式とし、対照群は置かない。但し本臨床研究は片眼のみを対象としているため、非投与眼の所見を便宜上の対照とする。

治療低用量群において 5 名の投与が終了し、5 例目の投与が終了して 28 日間までの時点で、九州大学病院内に設置され、院内外の委員からなる九州大学病院先進医療適応評価委員会を開催、治療低用量群 5 名の患者の 28 日までの全ての臨床データをもとに安全性 (急性期) を評価する。本委員会が安全性に問題がないと判断された場合、総括責任者は、委員会結果報告書及び参加委員全員の署名又は記名捺印を受けた議事録の送付を受けて、治療高用量群の症例エントリーを開始する。

② 遺伝子導入方法

局所麻酔 (球後麻酔またはテノン囊下麻酔) 下に、硝子体手術により硝子体を切除後、SIV-hPEDF 液を 37G もしくは 41G の網膜下注射針 (ドルク社) を用いて網膜下に注入する。注入部位は眼底所見に基づき、原則、黄斑を回避した網膜に注入 (原則 4 カ所、1 カ所あたり 50 μ l、合計液量 200 μ l) する。但し強い網膜癒着のためベクター液注入が困難な場合は、適宜減ずる。注入部裂孔は眼内レーザー等により確実に閉鎖し、硝子体腔へのベクター散布ならびに術後の網膜剥離を予防する。白内障を合併する患者には、同時に超音波乳化吸引術+眼内レンズ挿入術を併用して施行する。なお、ベクター液濃度はベクター力価漸増式に 2 段階 (治療低用量 5 例、治療高用量 15 例) 設定する。

③ 前処置及び併用療法の有無

本臨床研究の対象は既存の外科手術を含めた治療法が無効であること

が自明である患者のみとする。

被験者の不利益を最小限にすること、本臨床研究が安全性評価を主眼にすることを考慮し、併用薬剤に関しては抗ウイルス剤を除き、特に制限しない。

抗ウイルス剤は患者登録から投与後 28 日後の検査終了後まで有害事象の処置を除き使用しない。

併用薬剤には以下のものが挙げられるが、これに限るものではない。

- 1) 亜硝酸剤
- 2) 降圧剤
- 3) 血小板機能抑制剤
- 4) 抗凝固剤、血栓溶解剤
- 5) 血管拡張剤
- 6) 消炎鎮痛剤、消炎酵素剤
- 7) ステロイド
- 8) 抗生物質
- 9) 抗高脂血症剤
- 10) 蛋白分解酵素阻害剤
- 11) 抗アレルギー剤、抗ヒスタミン剤
- 12) その他

被験者には、ベクター投与後最低 12 ヶ月の避妊をするよう指導する。

④ 臨床検査項目及び観察項目

本臨床研究における安全性の判定、有害事象の予見のために、以下の各種検査を実施する。なお検査実施時期については、別紙に記載する。

但し、病状によっては設定した時期以外にも実施されることがある。

1) 眼科的検査所見：

(1) 視力・視野検査

視力は、万国式試視力表（ランドルト環）を用いて測定し、log MAR 視力にて表す。視野は、Goldmann 視野計、ハンフリー自動視野計もしくはそれに準ずる視野計を用いた視野を測定する。また、厚生労働省特定疾患治療研究事業、網膜脈絡膜・視神経萎縮に関する調査研究班の定める重症度分類を行う。

(2) 眼底検査

散瞳剤を用いて散瞳した後極部ならびに周辺部網膜を詳細に観察し、網膜変性部を記録する。また、視神経ならびに黄斑部を含む後極部の眼底写真を記録・保存する。

2) 病状に対する検査

以下の検査を、効果判定の参考のために、予め設定した時期に実施する。

但し、病状によっては設定した時期以外にも実施されることがある。

(1) 眼圧検査

Goldmann 眼圧計、もしくはそれに準ずる眼圧計を用いて測定する。

(2) 細隙灯検査

(3) 蛍光眼底造影検査（FA、IA）

(4) 網膜電図（ERG）、ならびに多局所網膜電図（multifocal ERG）

(5) 光学的干渉断層計（OCT）

(6) 暗順応曲線

<安全性評価のための検査>

(1) 症状に関する問診：アレルギーの有無など

(2) バイタルサイン：体重、体温、血圧（収縮期／拡張期）、脈拍

(3) 呼吸機能検査：胸部 X 線（正、横）

(4) 腎機能検査：BUN、クレアチニン、尿蛋白、尿潜血

(5) 肝機能検査：アルブミン、免疫グロブリン（IgG、IgA、IgM、IgE）、

総ビリルビン、直接ビリルビン、AST、ALT、アルカリフォスファターゼ、LDH、 γ -GTP

(6) 血液・凝固系：赤血球数、ヘモグロビン、ヘマトクリット、白血球数、白血球分画、血小板数、PT、APTT、フィブリノーゲン

(7) 炎症マーカー：CRP

(8) 血液電解質：Na、K、Cl、Ca

(9) 悪性腫瘍スクリーニング検査

a) 頭部・胸部・腹部-CT

b) 血清PSA-ACT (男性のみ)

c) 便潜血

d) 直腸診

e) 上部消化管内視鏡

f) 子宮頸部細胞診 (女性のみ)

(10) 妊娠検査 (女性のみ、必要な場合)：尿中HCG

(11) 血清サイトカイン定量 (ELISA 法)：

IL-1 β 、IL-4、IL-6、IL-8、TNF- α 、INF- γ

(12) 全血中ならびに尿中 SIV-hPEDF 由来核酸配列の検出 (RT-PCR 法)
血液および尿より採取した RNA を鋳型に逆転写を行い、生成された cDNA に対して以下のプライマーを用いて PCR を行い、SIV-hPEDF のパッケージングシグナル (Ψ) 領域を検出する。

(フォワードプライマー: CGGAGGGCTTAAAAAGTCTGTTC,

リバースプライマー: ATAGGGCTTGAAACATGGGTACT)

(13) 血清中抗ヒト水疱性口内炎ウイルス抗体価 (ELISA 法)

(14) 前房水採取 (27G 針による前房水穿刺：同意が取れた被験者のみ)：
ヒト PEDF 蛋白測定 (ELISA 法)

(15) 病理解剖

遺伝子導入後の死亡例で、家族あるいは親族の承諾が取れた症例全てにおいて病理解剖 (剖検) を行う。通常の全身解剖に加え、遺伝子導入眼を摘出し、PCR 法による SIV-hPEDF 由来核酸の検出 (全身分布)、眼内におけるヒト PEDF 濃度の測定、ならびに病理組織学的検討を行う。

⑤ 予想される副作用及びその対処方法

1) 網膜下投与の操作に伴う、可能性がある副作用

(1) 一般的事項 (投与眼周囲の痛み・腫脹)

→ (対処法) 非ステロイド系消炎・鎮痛剤の投与等、適切な対処を行う。

(2) 細菌性眼内炎

→ (対処法) 抗生物質の投与等、適切な対処を行う。炎症が高度の場合は硝子体手術を施行する場合もある。

(3) 網膜・脈絡膜出血、硝子体出血

→ (対処法) 止血剤、血管強化剤の投与。硝子体出血が遷延する場合は硝子体手術による洗浄を施行する。

(4) 網膜裂孔および網膜剥離

→ (対処法) 網膜剥離の原因となる裂孔周囲にレーザー光凝固を施行する。光凝固により網膜剥離の進行が防止できない場合は手術 (硝子体手術、もしくは強膜内陥術) を施行する。

(5) 増殖硝子体網膜症

→ (対処法) 硝子体手術を施行する。

2) ベクター (組換えアフリカミドリザル由来サル免疫不全ウイルスベクター) に関して起こりえる副作用

(1) 発がんの可能性

本ベクターは細胞へ遺伝子を導入した後、核内で逆転写酵素により DNA へ変換される。変換された DNA は LTR (long terminal repeat) の働きにより宿主細胞のゲノム DNA に組み込まれる。この組み込みにより、遺伝子挿入変異誘発 (insertional mutagenesis) を生じる可能性がある。少なくとも動物実験では確認されていないが、この機序による発がんを惹起する危険性は否定できない。

→ (対処法) 遺伝子治療後、臨床研究期間内だけでなく臨床研究終了後も、外来にて定期的に悪性腫瘍に関するスクリーニングを行う。

(2) SIRS (systemic inflammatory response syndrome)

他のウイルスベクターで報告されているのと同様、生体へ投与された後、軽度ではあるが、自然免疫系の賦活化による眼内炎症性サイトカインの誘導、獲得免疫の誘導による抗体産生と細胞傷害性 T 細胞の誘導がマウス、サルなどで確認されており、これらが患者の病状へ悪影響を及ぼす可能性は否定できない。

→ (対処法) 血清中サイトカイン、血中抗ヒト水疱性口内炎ウイルス抗体価、血中・尿中アフリカミドリザル由来サル免疫不全ウイルスゲノムコピー数、を予め設定した時期 (別紙 1) に測定し、被験者へ悪影響を及ぼす危険性の予見を行う。

(3) 眼圧上昇

サルにおける安全性試験 (急性毒性試験) の 1 個体において、術後 3 ヶ月での持続した眼圧上昇が観察されている。ベクター投与との因果関係は明らかではないが、眼圧上昇により、患者の視機能へ悪影響を及ぼす可能性は否定できない。

→ (対処法) 眼圧測定、隅角鏡検査を定期的に施行し、患者への悪影響を及ぼす危険性の予見を行う。眼圧上昇に対しては、緑内障治療薬点眼など適切な処置を行う。

3) ヒト色素上皮由来因子 (PEDF) の過剰発現に伴い、予想される副作用

本来、PEDF は網膜色素上皮細胞より恒常的に分泌されているタンパクであり、眼内には比較的多量に存在するため、眼局所においては過剰発現に対する安全域は広いことが予想される。また、その生理活性は神経保護効果と病的血管新生に対する抑制効果であるため比較的安全なタンパクであると考えられ、眼内の環境を悪化させる可能性は低いと考えられる。さらに、安全性試験における SIV-hPEDF 投与眼に肉眼的ならびに光学顕微鏡的に病的な変化を認めなかったことから、眼局所への影響は少ないと考えられる。全身への影響は現時点では予測不能であるが、安全性試験では重篤な副作用は観察されていない。

さらに、米国において施行されている AdPEDF の硝子体内投与の臨床研究においても、ヒト PEDF の過剰発現による毒性は示されていない。

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

以下の各項目について集計し、本臨床研究の安全性については九州大学病院先進医療評価委員会が総合的判定を行う。

判定時期は全症例の投与が終了し、全症例の観察期間が 24 ヶ月を終了、24 ヶ月目までの観察データ全ての仮固定が終了した時点で、総括責任者が九州大学病院長ならびに九州大学病院先進医療評価委員会へ判定依頼を行う。依頼を受けた九州大学病院先進医療評価委員会は判定作業を行う。判定作業終了後、委員会は判定結果について、結果報告書ならびに参加委員全員の署名または記名捺印を受けた議事録を作成し、九州大学病院長へ提出する。また、その写しを九州大学病院遺伝子治療臨床研究倫理審査委員会、総括責任者および所轄官庁へ提出する。

安全性に関する観察・検査項目・日程の詳細は別紙の通りである。

なお、本臨床研究の安全性判定は投与後 24 ヶ月までのものを使用するが、本研究で用いるウイルスベクターが世界で初めてのヒトへの投与となることを鑑み、臨床研究終了後も終生、九州大学病院眼科外来にてフォローアップを行う。

1) 安全性に関する判定に必要な検査項目

<1>有害事象

<2>臨床症状：アレルギー（発疹、呼吸困難など）の発現の有無など。

<3>バイタルサイン：体重、体温、血圧、脈拍

<4>眼科的検査

(1) 視力・視野検査

(2) 眼底検査

(3) 眼圧検査

(4) 細隙灯検査

(5) 蛍光眼底造影検査 (FA、IA)

(6) 網膜電図 (ERG)、ならびに多局所網膜電図 (multifocal ERG)

(7) 光学的干渉断層計 (OCT)

(8) 暗順応曲線

<5>各種検査

(1) 呼吸機能検査

(2) 腎機能検査

(3) 肝機能検査

(4) 血液・凝固系

(5) 炎症マーカー

(6) 血液電解質

(7) 悪性腫瘍検査

(8) 妊娠検査（女性のみ、必要な場合）

(9) 血清サイトカイン定量 (ELISA 法)

(10) 全血中ならびに尿中 SIV-hPEDF 由来核酸配列の検出 (RT-PCR 法)

(11) 血清中抗ヒト水疱性口内炎ウイルス抗体価 (ELISA 法)

(12) 前房水採取 (27G 針による前房水穿刺：同意が取れた患者のみ)

(13) 病理解剖

2) 臨床研究の中止判定基準

以下の条件のいずれかを満たす事象が生じた時、総括責任者は分担研究者と合議の上、本臨床研究の中止を決定することができる。その場合は中止の理由を九州大学病院長ならびに九州大学病院先進医療評価委員会へ書面により 7 労働日以内に報告しなければならない。

<1>臨床研究の開始の後に、被験者が除外項目に抵触する虚偽の申告をしていたことが明らかになった場合。

<2>被験者の症状が変化し、本臨床研究の継続が困難であると判断された場合、以下に検査項目あるいは臨床症状において中止の基準になる代表的な項目を挙げるが、中止判定の基準はこれに限るものではない。また数値はあくまで参考値であり、病状を判定する基準値ではない。

1. 高度の貧血 (Hb<7 g/dl)

2. 高度の白血球減少 (WBC <2,000/ μ l)

3. 高度の血小板減少 (Plt<30,000/ μ l)

4. DIC を示唆する所見 (Fbn の減少など)

5. 高度の肝機能傷害 (ALT, AST>100U/L)

6. 高度の腎機能傷害 (Cr>3.0 mg/dl)

7. 高度の肺機能低下 (PaO₂<50 mmHg など)

8. 心不全の徴候

9. その他、生命維持に関わる危険性があると考えられる副作用
<3>重篤^註な有害事象や副作用が確認された時

1) 重大事態等：下記のいずれかに該当する場合は、「重大事態等」として取り扱う。

i) 被験者が死亡した場合

ii) 重篤^註な副作用が発生した場合

iii) 本臨床研究の実施に影響を及ぼす可能性のある知見（国内外を問わない）

を入手した場合

注) 重篤の定義

1) 死亡

2) 死亡につながる恐れのある事象

3) 入院または入院期間の延長が必要とされる事象

4) 永続的もしくは重大な機能障害・機能不全を呈した事象

5) 先天異常・出生異常

6) その他医学的に重要な事象

「死亡」、「死亡につながる恐れ」または「入院」には至らなくとも、被験者を危険にさらしたり、上記のような結果に至らぬように内科的または外科的処置を必要とした場合には、適切な医学的判断に基づいて、重篤な事象と判断する。

<4>その他、総括責任者ならびに分担研究者が中止すべきと判断した時。

⑦ 重篤な有害事象が発現した場合の措置

臨床研究との因果関係の有無に関わらず、重篤な有害事象が発現した場合は、適切な処置を行うとともに、九州大学病院先進医療適応評価委員会の規程、内規及び、重大事態発生時の流れに従い九州大学病院長、九州大学病院先進医療評価委員会、九州大学病院遺伝子治療臨床研究倫理審査委員会、九州大学病院高度先端医療センターならびに所轄官庁へ速やかな報告を行う。

⑧ 症例記録に関する記録用紙等の様式

専用の記録用紙を2部用意し、1部はカルテと一緒に保管、1部は九州大学病院高度先端医療センターに研究終了後少なくとも5年間は厳重に保管する。

症例記録記載内容については、カルテと照合しデータの品質管理を行う。

コメント、有害事象に関する判断事項については、症例記録に記載された事項を原データとして取り扱う。

⑨ 記録の保存及び成績公表の方法

本人および家族（あるいは親族）の同意のもとに学術集会、学術雑誌、およびマスコミへの公表を行う。その際はプライバシーには十分に配慮し、本人の氏名を含め個人情報が特定できない形での公表を行う。

記録の保管は、九州大学病院長が指名した保管責任者が行い、少なくとも臨床研究終了後5年間保存する。

保管責任者：所属 九州大学病院高度先端医療センター

職種 センター長・教授 氏名 中西洋一

(6) 本臨床研究における個人情報保護

① 個人情報保護に関する責務

国立大学法人九州大学（以下、本学という）は、独立法人等の保有する個人情報の保護に関する法律、独立法人等の保有する個人情報の適切な管理のための措置に関する指針に基づき、国立大学法人九州大学が保有する個人情報

報の管理について九州大学個人情報管理規程に必要な事項を定めている。本学の総長は文部科学大臣により任命され、本学の個人情報保護体制の最高責任者である。総長は本学の個人情報保護の管理体制として個人情報総括保護管理者を置き、個人情報総括保護管理者の下に個人情報保護管理者、個人情報保護担当者を置き、個人情報保護管理の徹底を行っている。個人情報総括保護管理者は、総長により指名され、総務担当理事が任命を受けている。九州大学病院においては、九州大学病院長、病院事務部管理課長はそれぞれが個人情報総括保護管理者により個人情報保護管理者として指名を受けており、九州大学病院長、病院事務部管理課長は九州大学個人情報管理規程、九州大学病院個人情報保護規程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。保護管理者である九州大学病院長、病院事務部管理課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、適宜必要な措置をとることができる。

② 個人情報の取得と利用に関する制限

1) 診療・教育機関としての九州大学病院における個人情報の一般的な取扱い

九州大学病院は診療・教育機関として、臨床医学の発展と次世代を担う医療人の育成という社会的な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、患者様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九州大学個人情報管理規程、九州大学病院個人情報保護規程や研究活動の実施に関する法令や倫理指針等を遵守した上で取り扱われる。また、九州大学病院を受診する患者様には「患者様の個人情報の保護に関するお知らせ」を用いて九州大学病院で使用する個人情報の使用目的について理解と協力を求めている。

(1) 九州大学病院での利用

- ・被験者が受ける医療サービス
- ・医療保険事務
- ・被験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) 九州大学病院および九州大学での医学教育における利用

- ・医学・歯学・薬学・保健学系の教育（ベッドサイドティーチングなど病院内での診療等に関わる医学教育に限る）
- ・教職員の研修（研修医や新任看護師等への病院内研修、及び医療サービス等、前項（1）に関わる病院事務系職員の研修等に限る）
- ・研究活動（遺伝子治療臨床研究を含め、実施に関する法令や倫理指針、関係団体等のガイドライン等が定められている場合は、それを遵守する）

(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関する連携
- ・他の医療機関等からの医療サービス等に関する照会への回答
- ・被験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業務委託
- ・被験者の家族等への診療に関わる説明
- ・医療保険事務（保険事務の委託、審査支払機関への提出）
- ・審査支払機関または保険者からの照会への回答
- ・関係法令等に基づく届出および報告書
- ・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の事業者等へのその結果の通知
- ・医師賠償責任保険等に関わ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 ・医療上の安全に関わる行政機関又は医療に関する専門の団体等への届出等 ・医学・歯学・薬学・保健学系の教育研究機関への提出 ・他の医療機関等との医学の発展を目的とした共同研究活動 ・外部監査機関への情報提供 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・教育機関としての九州大学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等に通知し、又は公表しなければならない。 本臨床研究で扱う被験者の診療記録をはじめとする個人情報は、主として病状経過観察、本臨床研究の緊急事態発生のための連絡など、被験者の生命を守るために用いる。その他特別の目的で使用する場合は、事前に被験者および家族（あるいは親族）に再度説明し了解を得てから使用する。 また、本臨床研究の成果検討時や医療向上のためなどを目的に試験成績などを公表・公開する場合は、個人を特定できない形すなわち個人情報を保護して公開する。これらのことは、被験者及び家族（あるいは親族）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。 被験者及び家族（あるいは親族）の同意取得は、自由意思によるものであり、臨床研究に参加しない場合であっても被験者に不利益はない。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、被験者及び家族（あるいは親族）へ通知している。 総括責任者は利用目的の達成に必要な範囲内において、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。 ③ 個人情報保護に関する安全管理措置 九州大学病院長は九州大学個人情報管理規程、九州大学病院個人情報保護規程に従い、個人情報保護に関して、組織的に安全管理措置を実施し、個人情報の漏洩、滅失又は棄損の防止に対する措置を講じている。一方で個人情報の漏洩等に関わる新しい犯罪手法などが急速な勢いで多様化していることを鑑み、本臨床研究では規程等の柔軟な運用を以て、個別に適切な対応を行う。 さらに本臨床研究では、死者に関する個人情報が死者の人としての尊厳や遺族の感情及び遺伝情報が血縁者と共通していることに鑑み、生存する個人と同様に死者に関する個人情報についても同様の管理下で取り扱う。 ④ 第三者提供の制限 総括責任者は、遺伝子治療臨床研究の指針第六章第九で掲げる内容に従い、あらかじめ被験者等の同意を得ないで個人情報を第三者に提供してはならない。本臨床研究では、第三者への個人情報の提供は予定していない。また、第三者への個人情報の提供を行う場合は、適切な目的であることを確認し、遺伝子治療臨床研究の指針第六章第九に従い、その旨被験者等へ通知する。 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、被験者等の知りう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、手続きの詳細を九州大学個人情報開示等取扱規程に従い被験者及び家族（あるいは親族）に説明する。 総括責任者は被験者等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、九州大学個人情報開示など取扱規程に従い求めがあった場合は、遅滞なく必要な対応を行うほか、対応結果について被験者等に通知しなければならない。 さらに、九州大学病院では個人情報に関する苦情等の窓口を設置し、被験者からの苦情や問い合わせに対して迅速に対応できるような体制を整えている。 【個人情報に関する苦情等の窓口】 九州大学病院地域医療連携室 患者様相談窓口 電話：092-642-5165 FAX：092-642-5155
備考	

遺伝子治療臨床研究 実施計画書

(第2.1版:平成 23年 12月8日)

(学内申請:平成 18年 7月19日)

研究の名称

神経栄養因子(ヒト色素上皮由来因子:hPEDF)遺伝子搭載
第3世代組換えアフリカミドリザル由来サル免疫不全ウイルスベクターの
網膜下投与による網膜色素変性に対する視細胞保護遺伝子治療
臨床研究

九州大学病院

目次

1. 遺伝子治療臨床研究の名称	1
2. 総括責任者及びその他の研究者の氏名並びに当該遺伝子治療臨床研究において果たす役割	
(1) 総括責任者の氏名及び担当する役割（分担事項）	1
(2) 総括責任者以外の研究者の氏名及び担当する役割（分担事項）	1
① 分担研究者	1
② その他の協力研究者	1
3. 実施施設の名称及びその所在地	2
4. 遺伝子治療臨床研究の背景と目的	3
5. 遺伝子治療臨床研究の対象疾患及びその選定理由	4
(1) 研究区分	4
(2) 対象疾患に対する現時点での知見	5
① 網膜色素変性の臨床的特徴	5
② 網膜色素変性に対する現行の治療法	5
③ 現在開発中の新しい治療法	6
(3) 当該遺伝子治療臨床研究の概要	6
① ヒト PEDF 遺伝子搭載第 3 世代組換えアフリカミドリザル由来サル免疫不全ウイルスベクターの作製	7
② 遺伝子導入法	7
③ 対象患者	8
④ 除外基準	8
(4) 他の治療法との比較及び遺伝子治療を選択した理由	8
① 他の治療法との比較	8
② 遺伝子治療を選択した理由	8
(5) 研究等における倫理的配慮について	10
① 利益相反について	10
② 研究等の対象とする個人の権利擁護	10
③ 研究等の対象となる者に理解を求め同意を得る方法	10
④ 研究等によって生ずる個人への不利益並びに危険性、及び医学上の貢献の予測方法	10
6. 遺伝子の種類及びその導入方法	12
(1) ヒトに導入する遺伝子の構造と性質	12
① ヒトに導入する遺伝子の構造と性質	12
② 導入遺伝子からの生成物の構造及びその生物活性	12
(2) 本臨床研究計画で使用するその他の DNA の構造と性質	12
(3) 標的細胞とした細胞の由来並びに当該細胞を標的細胞とした理由	12
(4) 遺伝子導入方法の概略及び当導入法を選択した理由	13
① 遺伝子導入方法の理論的根拠ならびに導入標的細胞	13
② 遺伝子導入方法の概略	13
③ 使用するベクター（担体）の作製方法	14
④ 使用するベクター（担体）の構造	15
⑤ 使用するベクター（担体）の生物学的特徴	15
⑥ 実施施設における当該遺伝子治療臨床研究に関する研究成果	16

7.安全性についての評価	19
(1) 遺伝子導入方法の安全性	19
①遺伝子導入に用いるウイルスベクター（担体）の純度	19
②患者に投与する物質の純度及びその安全性	20
③増殖性ウイルス出現の可能性	20
④遺伝子導入に用いるウイルスベクター（担体）の細胞傷害性	20
⑤体内の標的細胞以外への遺伝子導入の可能性	20
⑥患者以外のヒトに遺伝子が導入される可能性	21
⑦染色体内へ遺伝子が組み込まれる場合の問題点	21
⑧がん原性の有無	21
⑨ベクターの網膜下投与の安全性	22*
(2) 遺伝子産物の安全性	22
(3) 安全性に関連する研究の成果	22
カニクイザルを用いたヒト PEDF 遺伝子搭載 SIV ベクター（SIV-hPEDF）	
の安全性に関する検討（添付資料）	22
8.遺伝子治療臨床研究が実施可能であると判断した理由	25
9.遺伝子治療臨床研究の実施計画	26
(1) 遺伝子治療臨床研究を含む全体の治療計画	26
(2) 被験者の選定基準及び除外基準	27
(3) 被験者の同意の取得方法	31
(4) 実施期間及び目標症例数	31
(5) 遺伝子治療臨床研究の実施方法	32
①対照群の設定方法	32
②遺伝子導入方法	32
③前処置及び併用療法の有無	32
④臨床検査項目及び観察項目	33
⑤予想される副作用及びその対処方法	35
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	37
⑦症例記録に関する記録用紙等の様式	39
⑧記録の保存及び成績公表の方法	40
(6) 本臨床研究における個人情報保護	40
①個人情報保護に関する責務	40
②個人情報の取得と利用に関する制限	41
③個人情報保護に関する安全管理措置	41
④第三者提供の制限	41
⑤個人情報の開示、訂正、利用停止等	41
10.当該遺伝子治療臨床研究に関連する国内外の研究状況	43
(1) 国内外におけるアフリカミドリザル由来サル免疫不全ウイルスベクターを用いた	
遺伝子治療臨床研究	43
(2) 国内外における PEDF を用いた遺伝子治療臨床研究	43
(3) 国内外における網膜色素変性に対する遺伝子治療臨床研究	43
11.当該遺伝子治療臨床研究に関連する実施施設の状況	43
12.その他必要な事項	44
(1) 総括責任者及び主な分担研究者の経歴	46
(2) 参考文献リスト	53
(3) 別紙	

- 別紙 1 : 検査項目一覧表
- 別紙 2 : 網膜色素変性診断基準
- 別紙 3 : 九州大学利益相反マネジメント要項
- 別紙 4 : 医学系部局における臨床研究に係る利益相反マネジメント要項
- 別紙 5 : 九州大学個人情報管理規程
- 別紙 6 : 九州大学病院先進医療適応評価委員会規程、内規
- 別紙 7 : 重大事態発生時の流れ（フローチャート）
- 別紙 8 : 九州大学病院個人情報保護規程
- 別紙 9 : 九州大学個人情報開示等取扱規程
- 別紙 10 : アメリカ FDA 発行 細胞・遺伝子治療ガイドライン（英文）
- 別紙 11 : アメリカ FDA 発行 遺伝子治療臨床研究遠隔期副作用モニタリングに関するガイドライン（英文）

(4) 添付資料

- 添付資料 1 : 急性毒性試験 試験報告書
- 添付資料 2 : 長期安全性試験 試験報告書
- 添付資料 3 : ビーエスエスプラス添付文書
- 添付資料 4 : ヒト色素上皮由来因子 (hPEDF) アミノ酸および DNA 塩基配列
- 添付資料 5 : 各プラスミドの塩基配列
- 添付資料 6 : 各プラスミドの構築手順
- 添付資料 7 : マスターセルバンクからベクター製造・精製工程のフローチャート
- 添付資料 8 : マスターセルバンクからベクター製造・精製工程の詳細
- 添付資料 9 : SIV-hPEDF の全塩基配列
- 添付資料 10 : ベクター生産施設の施設概要
- 添付資料 1.1 : SIV ベクタープロウイルスの宿主染色体挿入部位一覧

(5) 図表

遺伝子治療臨床研究 実施計画書

1. 遺伝子治療臨床研究の名称

神経栄養因子（ヒト色素上皮由来因子：hPEDF）遺伝子搭載第3世代組換えアフリカミドリザル由来サル免疫不全ウイルスベクターの網膜下投与による網膜色素変性に対する視細胞保護遺伝子治療臨床研究

（英文標記）The Clinical Study for Neuroprotective Gene Therapy to Treat Patients with Retinitis Pigmentosa via Subretinal Injection of The 3rd Generation of Recombinant Simian Immunodeficiency Virus (SIVagm) Vector Expressing Human Pigment Epithelium-Derived Factor Gene

2. 総括責任者及びその他の研究者の氏名並びに当該遺伝子治療臨床研究において果たす役割

（1）総括責任者の氏名及び担当する役割（分担事項）

石橋 達朗 九州大学病院・眼科・科長
九州大学大学院医学研究院・眼科学・教授
（臨床研究実施及び全体の総括）

（2）総括責任者以外の研究者の氏名及び担当する役割（分担事項）

①分担研究者

池田 康博 九州大学病院・眼科・助教
（副総括責任者：臨床研究の実施、臨床分野からの研究計画の推進）

米満 吉和 九州大学大学院薬学研究院・教授
（ベクターの設計、構築、管理、基礎分野からの研究計画の推進）

久富 智朗 九州大学大学院医学研究院・眼科学・助教
（臨床研究の実施、臨床分野からの研究計画の推進）

宮崎 勝徳 九州大学病院・眼科・助教
（臨床研究の実施、臨床分野からの研究計画の推進）

②その他の協力研究者

九州大学大学院医学研究院・臨床神経生理学
教授 飛松 省三（網膜機能評価と外部評価）

ディナベック株式会社
代表取締役社長 長谷川 護
（ベクター学に関する基礎的助言）

ディナベック株式会社
取締役 上田 泰次
（ベクター学に関する基礎的助言）

信州大学医学部・眼科学
教授 村田 敏規（研究協力および外部評価）

国際医療福祉大学・リハビリテーション学部
准教授 後藤純信（研究協力および外部評価）

北里大学 北里生命科学研究所
専任講師 矢部武士 (研究協力および外部評価)

九州大学病院
助教 (眼科) 望月泰敬 (研究実施協力)

九州大学大学院医学研究院
准教授 (眼科学) 園田康平 (研究実施協力)

九州大学大学院薬学研究院
客員助教 吉田久美 (研究実施協力)

3. 実施施設の名称及びその所在地

名称 九州大学病院
眼科病棟 (南棟 11 階 : 治療前、隔離解除後における一般的管理)
手術部 (南棟 3 階 : 硝子体手術およびベクター投与)
遺伝子治療室 (北棟 11 階 1181 号室および 1182 号室)
(ベクター投与後隔離期間における管理)

所在地 〒812-8582 福岡市東区馬出 3-1-1

4. 遺伝子治療臨床研究の背景と目的

遺伝性疾患である網膜色素変性 (Retinitis Pigmentosa: RP) は、難治性かつ成人の失明の原因となる主要な疾患であり、進行すると視機能を高度に障害し、患者の生活の質 (Quality of Life: QOL) を著しく低下させる。視覚障害が及ぼす日常生活障害を数量化すると、最大の障害である死を 1.0 と仮定した場合、失明の障害度の相対値は 0.624 で日常生活に大きな影響を与えるとされている (1)。現在までに種々の治療法が試みられているものの、未だに有効な治療法は確立されていない。従って、RP 患者に対する日常診察において、生活指導など患者の現有視力を有効に利用するための情報提供などといった care が中心となっているのが現状である。

近年、この疾患に対する治療の選択肢として注目されているのが、遺伝子治療である。

遺伝性疾患であるヒト RP と同様、複数同定されている RP 動物モデルも遺伝性であり、ヒトと同様の症候 (網膜の電気生理学的機能障害など) を来す。このような RP 動物モデルに対し、これまで様々な遺伝子導入ベクターにて治療実験がなされてきた。当初最も汎用されたのはアデノウイルスベクターであり、短期的な治療効果は報告されているものの (2-4)、本ベクターは宿主免疫反応により排除されるため、長期に渡り緩徐に進行する本疾患への治療法としては不向きである。そのため長期の外來遺伝子発現が可能であるアデノ随伴ウイルスベクター (adeno-associated virus vector: AAV) やヒト免疫不全ウイルスベクター (human immunodeficiency virus: HIV) が動物を用いた前臨床試験において試みられているのが現状である (5-7)。一方で、HIV ベクターと同様に宿主染色体へのプロウイルスゲノムの組み込みを起こすマウス白血病ウイルスを基本骨格としたレトロウイルスベクターが、造血幹細胞において特定のがん遺伝子領域 (LMO2) を活性化したごとく (8, 9)、宿主遺伝情報の攪乱、がん関連遺伝子の活性化による悪性腫瘍などの発生に関する危険性は払拭できない。これらのベクターは宿主染色体へのプロウイルスゲノムの組み込みを起こすために長期の治療遺伝子発現が期待され、遺伝性疾患の治療に適すると考えられている。しかしながら、マウス白血病ウイルスを基本骨格としたレトロウイルスベクターが、造血幹細胞において特定のがん遺伝子領域 (LMO2) を活性化したごとく (8, 9)、宿主遺伝情報の攪乱、がん関連遺伝子の活性化による悪性腫瘍などの発生に関する危険性は払拭できない。また特に後者の場合、野生型 HIV との相同組換えや製造過程での増幅型ウイルス (replication competent lentivirus: RCL) の出現が懸念されており、HIV 由来レンチウイルスベクターを用いた遺伝子治療臨床研究は、Journal of Gene Medicine 誌の 2010 年度の集計で、1644 プロトコール中、29 プロトコール (1.7%) と少数である (<http://www.abedia.com/wiley/index.html>)。しかしながら、後天性免疫不全症候群 (AIDS)、 β -サラセミア、X 連鎖副腎白質ジストロフィー (X-ALD) などを対象とした臨床研究において、HIV ベクターを用いた遺伝子治療の有効性が報告されており、今後の発展が期待される (Ref A-C)。一方で、AAV ベクターは非病原性ウイルスを基本骨格としていることから比較的安全性が高いと考えられており、上記の集計では、75 プロトコール (4.5%) において AAV が使用されている (<http://www.wiley.co.uk/genetherapy/clinical/>)。このような背景のもと、2007 年より英国および米国において RP と類似の網膜変性を来すレーバー先天黒内障 (RPE65 遺伝子の先天異常による) に対する遺伝子治療臨床研究が開始された。これまでに 15 例以上の患者に AAV ベクターの網膜下投与が行われており、半数以上の症例で 1 年以上の経過にわたって視機能が改善したと報告されている (10, 55, 56, D, E)。この臨床研究はその成果が期待されるが、まだ始まったばかりのものであるため、その安全性と有効性の評価には今後の症例の集積を待つ必要がある。

またその他の治療の選択肢として、再生治療が注目されている。RP では光受容器である網膜視細胞が障害されるため、視細胞またはその前駆細胞を網膜に移植する方法が研究されている。米国のグループでは、20 例以上の RP 患者に胎児網膜を移植しているが、1 例を除いて明らかな治療効果は認められていない (Ref 26-29, F)。また胎児網膜を使用することに関しては倫理上の問題が大きい。胚性幹細胞 (ES 細胞) から分化誘導した視細胞を移植する方法も研究されているが、ES 細胞を採取する際に受精卵を扱うため倫理上の問題を払拭できない。ES 細胞を用いた臨床研究は皆無であったが、2010 年 10 月より脊髄損傷患者を対象とした臨床研究が米国で開始された (<http://www.geron.com/>)。また最近、網膜疾患であるスタルガルト病や加齢黄斑変性患者を対象に、ES 細胞由来の網膜色素上皮細胞を移植する臨床研究が、米国 FDA に認可されたと報告されている (<http://www.advancedcell.com/>)。一方、近年注目されている人工多能性幹細胞 (iPS 細胞) は、皮膚の細胞などから採取できるため上記の倫理上の問題が回避でき、また自己由来の細胞を使用できることから拒絶反応がない点で利点がある。しかし、RP 患者由来の iPS 細胞には RP の原因となる遺伝子異常が存在するため、視細胞に誘導すると変性をきたす可能性がある。また網膜細胞移植全体の問題として、ドナー細胞が宿主網膜神経細胞とシナプスを形成する効率が低いた

めに、移植細胞が十分に生着しない可能性が考えられる。

このような現状のもと、我々はこれまで、従来技術と比較してより安全性が高く遺伝性疾患へ対応可能な長期発現用レンチウイルスベクターの開発研究に取り組み、遺伝学的に HIV から相同性が低く、さらに自然宿主であるサルに感染しても病原性を発揮しない、アフリカミドリザル由来サル免疫不全ウイルス (simian immunodeficiency virus from African green monkey: SIVagm) を基本骨格としたレンチウイルスベクターを開発した (以下 SIV ベクター: 11)。

本ベクターを用いた各種前臨床試験で以下のことが明らかになった。

<小動物における安全性・効能試験> (12, 13)

- 1) 網膜下投与により、ベクター注入部位に一致した網膜内 (網膜色素上皮細胞) での長期の安定した遺伝子発現が可能であること (少なくとも 1 年間: 正常ラット: SIV-EGFP)。
- 2) 網膜下投与により、ベクター注入に起因する網膜の不可逆性障害は認められないこと (正常ラット: SIV-nls-lacZ)。
- 3) 神経保護作用を持つ因子 (色素上皮由来因子: PEDF) を発現する SIV ベクター (SIV-hPEDF) を用いた遺伝子治療により、網膜変性モデル動物の視細胞変性を組織学的に遅延させることが可能であり、この効果には視細胞のアポトーシス (プログラム細胞死) 抑制が関与していること (RP モデルラットおよびマウス)。
- 4) 網膜電図 (ERG) を用いた網膜の電気生理学的検討において、機能的にも保護効果が得られること (RP モデルラットおよびマウス)。

<大動物における安全性試験> (14, 15)

大型動物かつ本ベクターの基本骨格となる SIV の自然宿主でもあるサルを用い、その網膜下に本臨床研究で使用するベクター (SIV-hPEDF) を投与することにより生じる眼球内さらには全身への影響を検討した。急性毒性試験では、少なくとも投与後 90 日は視機能及び全身状態には問題がないことを確認した。また長期安全性試験では、試験開始より約 5 年間の経過観察を行った。いずれの個体でも全身および眼局所における異常は検出されていない。また、治療遺伝子 (hPEDF) の組み込みならびに発現は試験が終了した時点で採取したサンプルにおいて、それぞれ確認されている。

<ベクター配列の染色体組み込みに関する検討 (未公表データ) >

本臨床研究で使用するベクター (SIV-hPEDF) をヒト網膜色素上皮細胞株へ遺伝子導入し、プロウイルスの宿主染色体挿入部位を 747 クローンについて検討したところ、特定のホットスポットは検出されなかった。さらに、これまでの他の細胞で検討された HIV (16) と同様、蛋白質をコードする遺伝子内部へ組み込まれる傾向 (488 クローン: 約 65%) があつた。また、がんに関与する遺伝子中、蛋白コード領域遺伝子内への組み込みは 31 クローン (約 4.1%) に認めたが、蛋白の構造に影響を与えるエクソン部位への遺伝子挿入は 2 クローンのみに見られ (約 0.27%)、この傾向はその他の遺伝子に対する組み込み (イントロン 94%、エクソン 6%) と同様であつた。

以上から SIV-hPEDF による RP に対する遺伝子治療は、hPEDF が少なくとも数年間は特異的に発現され、その結果、機能的な治療効果が期待でき、前臨床試験において眼局所ならびに全身的な副作用がなく、さらに染色体挿入部位については他の遺伝子組み込み型ベクターと大差を認めないことから、失明という重篤な機能障害に対する治療法として、リスクに対するベネフィットが高いと考えられる。

本臨床研究は、この九州大学独自の遺伝子治療により、神経栄養因子 (PEDF) 遺伝子搭載組換えアフリカミドリザル由来サル免疫不全ウイルスベクター (SIV-hPEDF) による網膜色素変性に対する治療法の安全性 (主要エンドポイント) を明らかにすることを目的とする。

5. 遺伝子治療臨床研究の対象疾患及びその選定理由

(1) 研究区分

(2) 対象疾患に対する現時点での知見

① 網膜色素変性の臨床的特徴

網膜色素変性は、“視細胞と網膜色素上皮細胞の機能を原発性、びまん性に傷害する遺伝性かつ進行性の疾患群”と定義されている。すなわち、視細胞や網膜色素上皮細胞に特異的に発現している遺伝子の異常により、若年期に発症して緩徐に進行し、中年ないし老年で高度な視力障害に至る疾患の総称である。頻度としては、我が国では3,400～8,000人に1人、世界で約150万人(17, 18)が罹患しているとされており、遺伝性疾患としては比較的頻度が高い。我が国における成人の失明原因の上位に位置しており、当科において定期受診している患者(約200名)のうち、社会的失明率は約40%である。

本疾患における遺伝子異常の候補遺伝子はロドプシンをはじめとして40種類以上報告されているが、これらの遺伝子異常が認められる頻度は20%以下に止まっており、大部分が未知の遺伝子異常であるとされている。遺伝形式は、常染色体優性遺伝、常染色体劣性遺伝、伴性劣性遺伝、ふたつの遺伝子異常によって発症する二遺伝子性遺伝など様々で、遺伝形式がはっきりしないもの(孤発)も約50%存在するとされている。

自覚症状としては、夜盲が初発症状であることが多く、視機能の低下は一般に緩徐であり数十年という長い経過をたどるが、進行すると周辺部視野障害・視力低下へとつながり、最終的に失明に至ることもまれではない。眼の異常に初めて気付いた時期は平均26歳前後であり、全体の60%が30歳未満であるとの報告がある(19)。

臨床検査所見は以下に示すとおりである。

- 1) 中心視力に関しては、症例の病型・進行度により影響を受けるが末期まで比較的保たれることが多い
- 2) 地図状暗点、輪状暗点、徐々に拡大して最終的には中心のみ残存する(求心性視野狭窄)という経過が多い
- 3) 眼底所見としては、骨小体状の色素沈着と網膜動脈の狭小化が典型的所見
- 4) 網膜電図(ERG)は診断に際して最も鋭敏な情報を提供する。網膜色素変性ではその眼底所見に比較してERG所見が高度に障害されているのを特徴とし、a波、b波の振幅が低下ないし消失している

② 網膜色素変性に対する現行の治療法

現在、この網膜色素変性に対する有効性が明確にされた治療法はないが、次のような治療法が試みられている。

- 1) Helenien (アダブチノール): アダブチノールは、我が国では以前から頻用されている内服薬で、暗順応改善カルテノイドとして網膜でエステル分解を受け、キサントフィルに変換して作用するとされているが、効能に関する臨床上的直接的エビデンスはない(20)。
- 2) ビタミンA大量療法: 科学的な統計処理により唯一治療効果が報告されているビタミンA大量療法(15,000単位/日)は、長期投与によりフリッカーERGの低下を防ぐとされている(21)。一方で、この結果を否定する報告も多数あり、その副作用(肝障害、骨折の増加など)からすべての患者に適応となる治療法ではない。
- 3) カルシウム拮抗剤: 疾患モデルマウス(retinal degeneration <rd> mouse)において、カルシウム拮抗剤(D-シス-ジルチアゼム)が視細胞変性を防止し、網膜電図の改善に役立ったとの報告があるが(22)、その臨床的な効果についてはこれまでに報告がなく、今後の報告が待たれるところである。

その他にも臨床的に試みられている薬物治療はあるが、現在までのところ、いずれの治療法においても明らかな臨床的治療効果の報告はない。

従って、生活指導など患者の現有視力を有効に利用するための情報提供が重要である。医師の立場からはQOLの維持を目的として、患者への障害の告知と受容から始まり、視力の維持・合併症の早期発見、必要により補装具の紹介・処方、特定疾患の認定とそれによるサービスの情報提供、診断書(身体障害者手帳・障害年金)の交付、リハビリテーションの紹介などがあり、患者のQOLを高めるための総合的な支援が求められている。すなわち、日常診療においてはcareが中心となっているのが現状である。

③ 現在開発中の新しい治療法

1) 遺伝子治療

RP は難治性の遺伝性疾患であることから、RP 疾患モデルを用いた遺伝子治療の有効性は我々の研究を含め、数多く報告されている (2-7, 13, 23)。特に、レーバー先天盲のモデルと考えられる RPE65 遺伝子の異常で網膜変性を示す犬が、アデノ随伴ウイルス (AAV) ベクターを用いた遺伝子治療により、障害物を避けるように歩けるようになったとする報告は、将来の網膜色素変性に対する遺伝子治療の可能性を示した研究であり (6)、その成果を基に 2007 年より英国と米国において同様の遺伝子治療臨床研究が開始されている (10, 55, 56)。これまでに 15 例以上の患者に AAV ベクターが投与されており、半数以上の症例で 1 年以上の経過にわたって視機能が改善し、また重篤な副作用を認めなかったと報告されている (10, 55, 56, D, E)。また、PEDF 遺伝子を搭載した組換えアデノウイルスベクターの硝子体内投与による加齢黄斑変性に対する遺伝子治療の臨床研究は既に米国において施行されており (24, 25)、眼科領域の難治性疾患に対する遺伝子治療は臨床的評価を受ける段階となっている。

2) 他家細胞移植

眼内は免疫学的に寛容であることから、拒絶反応が起こりにくいとされている。そこで胎児網膜やアイバンクの眼球から得られた視細胞をはじめとする網膜細胞の他家細胞移植が注目されるようになった。これまでに胎児網膜細胞移植は、RP に対し 20 例以上に施行されているが、1 例を除いて明らかな治療効果は認められていない (26-29)。治療効果が認められたとされる 1 例においても、詳細なメカニズムが明らかとなっておらず、今後の動向が注目されている。

3) 人工視覚

RP では視細胞が消失するが、この光信号を電気信号に変換するという役割をもつ視細胞に代わる工学的な装置を用いた視覚を人工視覚といい、1990 年頃より精力的に研究が進められるようになった。一般的には、シート状の多点電極を網膜上もしくは網膜下に設置し、電極ごとに直接網膜内の残存神経細胞を電気刺激することによって文字や形を患者に認識させようとするものである。これまでに、米国において試験的に数人の患者に使用されている。我が国でも 2001 年より、新しい網膜刺激方式を用いた人工視覚システムの研究開発を行うプロジェクト (独立行政法人 新エネルギー・産業技術総合開発機構) が進行中である。現時点で開発が始まったばかりの方法であり、症例数も少ないことから、今後の研究の進展が待たれる。

4) 網膜再生

幹細胞 (stem cell) より、網膜を構成する神経細胞、特に視細胞を作り出すという研究は、10 数年前より盛んに行われている。眼球に存在する内在性の幹細胞もしくは、網膜外に存在する幹細胞 (胚性幹細胞、神経幹細胞など) から視細胞を再生させ、患者の網膜内へ移植するという治療法は、ドナー細胞の生着効率の問題やドナー細胞と宿主の残存神経細胞とのシナプス形成など、現時点ではクリアしなくてはならない問題点が多い。網膜再生治療の臨床研究は国内外において実施されていないが、胚性幹細胞由来の網膜色素上皮細胞をスタルガルト病または加齢黄斑変性患者に移植する臨床研究が、米国 FDA に認可されたと報告されており (<http://www.advancedcell.com/>)、今後の研究の進展が待たれる。

我々は以上の背景をもとに、「より効果が高く、より安全な視細胞保護遺伝子治療法の開発」を目指し、種々の治療遺伝子 (神経栄養因子) を検討した結果、病態モデル動物を用いた動物実験では PEDF の治療効果が高いことを見出した (13)。さらに、PEDF は網膜色素上皮細胞より産生される神経栄養因子であり眼内に比較的豊富に存在するため、生理的かつ安全である可能性が高いことが予想された。

また慢性疾患である網膜色素変性に対応し、長期間安定した治療効果を引き出すために、独自に開発した組換えアフリカミドリザル由来サル免疫不全ウイルス (SIVagm) ベクターを使用する。既に本ベクターはマウス (30)、ラット (12, 13, 30)、サル (14, 15) 網膜において高い遺伝子導入・発現効率を得ることが可能であることを明らかにしている。また、本臨床研究で用いるヒト PEDF 遺伝子を搭載した SIV ベクター (SIV-hPEDF) の安全性については非ヒト型霊長類 (サル) において急性毒性試験を実施、終了しており、少なくともこれらの動物においては急性期の重篤な有害事象・副作用が検出されないことを確認した (添付資料 1)。

(3) 当該遺伝子治療臨床研究の概要

① ヒト PEDF 遺伝子搭載組換えアフリカミドリザル由来サル免疫不全ウイルスベクターの作製

ヒト PEDF cDNA は九州大学大学院病理病態学にてクローニングされ、その塩基配列が論文報告と 100% 合致したものが、第 3 世代アフリカミドリザル由来サル免疫不全ウイルスゲノムへ挿入され、既知の方法にてウイルス回収が行なわれる (13-15)。本ベクターの生産は Vector Gene Technology 社 (中華人民共和国・北京市) に委託し、米国 FDA の基準に合致した good manufacturing practice (GMP) 基準に従って生産されたものを使用する。ベクターの構造等については、後述する。

② 遺伝子導入法

2 度にわたる十分なインフォームド・コンセントにより、被験者ならびに家族 (あるいは親族) の文書による同意を得た後、以下の方法によって臨床研究を実施する。なお第 1 回目の同意取得の後に登録された被験者の適応は、治療前検査の結果を踏まえ、九州大学病院内に設置されている「九州大学病院先進医療適応評価委員会 (本臨床研究に関わらない両性の学内外委員より構成される)」により判定され、その結果を踏まえ第 2 回目の同意取得が成される。

1) 術前日より抗生物質を点滴静注する。術後 3 日まで点滴を継続する。抗生剤の点眼は術前日より開始し、術後も継続して行う。また手術操作等による眼内非特異炎症予防の目的で、術翌日よりステロイド剤の点眼を行う。

2) 術当日、九州大学病院北棟 3 階分子細胞調製センター内細胞保存ユニットに -80°C にて凍結保管してある SIV-hPEDF 溶液を封入しているバイアルを同施設内安全キャビネット内へ移動、溶液を溶解する。希釈液として、アルコン社より医療用として市販されているオキシグルタチオン灌流液 (ビーエスエスプラス®、以下 BSS、添付資料 3) を用い最適に希釈する (治療低用量: 2.5×10^7 TU/ml、治療高用量: 2.5×10^8 TU/ml)。

3) 希釈した SIV-hPEDF 溶液を専用のキャリアバック内に厳重に封入して、保冷下で九州大学病院南棟 3 階手術部へ搬入する。

4) 手術部にて局所麻酔 (球後麻酔またはテノン嚢下麻酔) 下に、硝子体手術により中心部硝子体を切除後、後部硝子体剥離を作製。網膜面上に残存した後部硝子体膜ならびに内境界膜を剥離する。その後、SIV-hPEDF 液を 37G もしくは 41G の網膜下注射針 (ドルク社) を用いて網膜下に注入する。注入部位は眼底所見に基づき、原則、黄斑を回避した網膜に注入 (原則 4 カ所、1 カ所あたり 50 μl 、合計液量 200 μl 、図 1) する。但し強い網膜癒着のためベクター液注入が困難な場合は、必要に応じて適宜減ずる。注入部裂孔は、手術中の所見に応じて術者の判断で適宜レーザーを施術し、硝子体腔へのベクター散布ならびに術後の網膜剥離を予防する。白内障を合併する患者には、同時に超音波乳化吸引術+眼内レンズ挿入術を併用して施行する。なお、ベクター液濃度はベクター力価漸増的に 2 段階 (治療低用量 5 例、治療高用量 15 例) 設定し、第 1 ステージの安全性を注入後少なくとも 28 日目までのデータを基に九州大学病院先進医療適応評価委員会にて急性期の安全性が確認された後、第 2 ステージを開始する。九州大学病院先進医療適応評価委員会でのステージアップ判定結果については、会議ごとに結果報告書ならびに参加委員全員の署名または記名捺印を受けた議事録を作成し、九州大学病院長へ提出する。またその写しを九州大学病院遺伝子治療臨床研究倫理審査委員会、総括責任者および所轄官庁へ提出する。

5) ベクター投与後、第一種使用規程に基づいたベクターの拡散防止措置を取りつつ、被験者を速やかに遺伝子治療室 (北棟 11 階遺伝子治療室: 1181 号室および 1182 号室) へ搬送・隔離する。原則として同室における 7 日間の管理を行い、血液および尿中にベクターゲノムが検出されないことを確認の上隔離を解除、一般病棟 (南棟 11 階眼科病棟) へ転棟する。7 日目のサンプルにてベクターゲノムが検出された場合、陰性化するまで適宜隔離期間を延長する。

6) 別紙 1 に掲げるタイムスケジュールで安全性の評価に関する検査 (視力、眼圧、前眼部細隙灯検査、および眼底検査などの眼科的検査、バイタルサイン、呼吸機能検査、心機能検査、腎機能検査、肝機能検査、一般血液・血清検査、尿検査、ベクターゲノムコピー数測定、ヒト水疱性口内炎ウイルス抗体価など) を行う。

7) 以上の安全性に関するデータ収集を、最後の被験者投与後 2 年間実施し、全症例の 2 年目のデータをもって九州大学病院先進医療適応評価委員会にて遠隔期の安全性を判定する。委員会は最終報告書を九州大学病院長へ提出し、またその写しを九州大学病院遺伝子治療臨床研究倫理審査委員会、総括責任者および所轄官庁へ提出する。以上をもって本臨床研究の終了とする。

8) 本臨床研究終了後、染色体組込型ウイルスベクターに関する米国 FDA の推奨 (2006 年 11 月発行: Guidance for Industry; Gene Therapy Clinical Trials- observing participants for delayed adverse events) に則り、九州大学病院眼科において被験者のフォローアップを最低年 1 回、終生行う (フォローア

ップ方法は別途手順を定める)。フォローアップ期間中に生じた被験者に関する新たな知見(治療効果や有害事象を含む)については、九州大学病院眼科科長が速やかに報告書を作成し、九州大学病院遺伝子治療臨床研究倫理審査委員会および所轄官庁へ報告する。また本臨床研究の被験者が死亡した場合、原則的に投与眼球を含めた剖検を依頼するものとするが、被験者あるいはその家族が同意しない場合は、これを理由として臨床研究への被験者登録の条件としない。

③ 対象患者

以下のすべての条件を満たす患者の片眼のみを対象とする。対象眼は、視力・視野により総合的に判定し、視機能の低い非優位眼とする。

1) 厚生労働省特定疾患治療研究事業、網膜脈絡膜・視神経萎縮に関する調査研究班の定める診断基準(別紙2)に従い、2名以上の眼科専門医によって網膜色素変性と診断された患者(ゲノム診断は実施しない)

2) 成人(満40歳以上)

3) 九州大学病院眼科において、視野検査、および網膜電図が定期的に施行されており、それらのデータが被験者登録予定日より逆算して1年以上記録・保管されている患者

④ 除外基準

以下に適合する患者は今回の臨床研究の対象としない。

1) HIV抗体陽性の患者(注)
(既感染の有無について事前に治療前検査として本検査を実施することを説明)

2) 対側眼が失明している患者

3) 網膜色素変性による黄斑部疾患(黄斑変性、黄斑浮腫など)を合併する患者

4) 緑内障を合併している患者

5) 眼底検査(蛍光眼底造影検査、スキャニングレーザー眼底撮影なども含む)にて、網膜もしくは網膜下に網膜色素変性によらない病変(例:網膜出血、網膜浮腫、網膜下増殖組織など)を合併する患者

6) 重篤なアレルギーを有する、あるいは既往のある患者

7) 慢性人工透析を受けている患者

8) 重症の心機能障害、心不全を有する患者

(例:左室駆出率<40%、NYHA-II度以上など)

9) 重篤な肝機能障害、肝硬変を有する患者

(例:ASTあるいはALT値が施設正常値上限の2倍以上、Child BあるいはCなど)

10) 活動性の炎症性疾患を有する患者

(例:活動期の膠原病、慢性関節リウマチ、潰瘍性大腸炎、敗血症など)

11) 最近6ヶ月以内に脳出血、脳梗塞などの既往のある患者

12) 血液疾患を有する患者

(例:重度の貧血、白血病、再生不良性貧血など)

13) アルコール依存症、薬物依存症患者

14) 妊娠中の女性、妊娠が疑われる女性、あるいは授乳中の女性患者

15) その他、本臨床研究により不利益を受けると予測される患者、および本人ならびに家族(あるいは親族)の文書による同意が得られない患者など、九州大学病院先進医療適応評価委員会が不適当と見なした患者

(注) HIV既感染者は、本臨床研究で使用するSIVベクターとの相同組換えにより自己増殖能を有するウイルス(replication competent lentivirus: RCL)が出現する可能性が否定出来ないため、その既感染の有無に関するチェックを必須とする。

(4) 他の治療法との比較及び遺伝子治療を選択した理由

① 他の治療法との比較

前述のごとく、本臨床研究の対象疾患は従来の薬物療法などにより明らかな治療効果が示されておらず、他に有効性が証明されている治療手段が存在しない。

② SIVおよび神経栄養因子を用いた遺伝子治療を選択した理由

1) SIVベクターを選択した理由

本研究において対象とする RP は前述のように様々な遺伝子異常により生じる疾患群であり、視細胞の変性を抑制することが治療の主眼となる。本疾患における視細胞変性は数年から数十年の経過で緩徐に進行するため、長期の治療効果、即ち長期にわたる遺伝子発現を成し得るベクターが必須である。一方、眼球は高度に機能分化した臓器であり、遺伝子導入した細胞を移植する方法（いわゆる *ex vivo* 法）では、現在の技術では必ずしも確実な細胞の生着は得られない。従ってベクターを直接注入して安定な遺伝子発現を得る（いわゆる *in vivo* 法）ことが可能なベクターの選択が必須となる。

長期遺伝子発現が可能なことが証明されているベクターにはレトロウイルスベクター、AAV ベクター、レンチウイルスベクターがあるが、レトロウイルスベクターは *in vivo* 法での遺伝子導入効率は極めて低く、本疾患の治療を目的とした場合には適さない。AAV は網膜に対する遺伝子治療用として有望なベクターと考えられており、英国および米国において 2007 年よりレーバー先天性黒内障（LCA, Leber congenital amaurosis）に対し第 1/2 相試験が開始された（10, 55, 56, D, E）。現在、その安全性が検証されている段階である。現在開発が進んでいるレンチウイルスベクターの多くはヒト免疫不全ウイルス（HIV）を基本骨格にしたものである。現行で最も進んでいる HIV ベクターは、long terminal repeat (LTR) 配列の持つプロモーター活性を完全に除去し（self inactivation: SIN 化）、さらに第 3 世代化されているため複製可能なウイルスの出現（RCL）の危険性は理論的に極めて低いと考えられている。しかしながら、基本骨格となる HIV そのものの病原性と野生型 HIV との相同組換えを起こし自己増殖能を獲得する危険性が懸念されている。

本臨床研究で使用する SIV ベクターは、その構造と製造過程は最も進んだ第 3 世代 HIV ベクターと同等のものである上、野生型 HIV と相同性を有する配列が削除されており、相同組換えが起こりにくい設計となっている。また我々の前臨床試験において、SIV ベクターはラット、マウス、サルにおいて、*in vivo* 法により長期の安定した遺伝子発現が可能であることを証明していることから、この SIV ベクターを選択した。

2) 神経栄養因子：色素上皮由来因子（pigment epithelium-derived factor: PEDF）を治療用遺伝子に選択した理由

遺伝子治療では、A) 正常な遺伝子を導入することにより変異または欠損した遺伝子を置換または補充すること、B) 機能的な遺伝子を導入することにより機能を付加または転換すること、が可能である。眼組織への遺伝子導入の特性として、レンチウイルスベクターを用いた場合、主として網膜色素上皮細胞への遺伝子導入は確実に実施可能であるが、視細胞への安定した遺伝子導入は一般的に困難であることが、我々を含め複数のグループから確認されている。

本研究において対象とする RP は前述のように様々な遺伝子異常により生じる疾患群であり、また視細胞の変性を抑制することが治療の主眼となる。この疾患に対して遺伝子治療を選択した場合、正常な遺伝子を置換・補充するという方法は、被験者ごとにゲノム解析を要するだけでなく、各遺伝子異常に応じて多種類のベクターを用意する必要がある。またこれらを実施しても既知の遺伝子異常は全患者中の 20% 以下しかカバーできていないため、未知の遺伝子異常により発症する RP に対しては、対応出来ない。従って、我々は神経細胞のアポトーシス死を抑制する効果のある神経栄養因子を用いた遺伝子治療を選択した。そのコンセプトを図 2 に示す。

視細胞に対するアポトーシス死の抑制効果を示す神経栄養因子はこれまでに複数報告されているが、その中で PEDF は眼内に豊富に存在する内因性因子であり、さらに血管新生を抑制する効果を併せ持つことから（32, 33）、眼組織内で過剰に産生させても比較的安全である可能性が高いと考えられる。我々の施行したカニクイザルを用いた安全性試験においても、その過剰発現によりサル網膜をはじめとする局所への影響は観察されなかった。また、本臨床研究に使用される遺伝子はヒト由来のものであり、欧米において加齢黄斑変性の遺伝子治療のために眼内への投与（硝子体内投与）実績のあるものである（24, 25）。本遺伝子のヒト生体内投与に関わる重大な副作用はこれまで報告されていない。

hPEDF に関して、組換えタンパクの大量投与による臨床研究は現在までに報告はないが、一般に、組換えタンパクは生体内での半減期は短く、構造的に不安定であることが知られている。本研究にて対象とする網膜色素変性は前述のように慢性の経過をたどるため、hPEDF のような神経栄養因子を用いた場合に有効な治療効果を得るためには、長期間の安定した局所濃度を維持することが必要であると考えられる（図 3）。従って、高濃度の組換えタンパクを頻回に直接投与（硝子体内投与や網膜下投与）するよりも、組換えタンパクを少なくとも年単位で持続的に発現させることができる SIV ベクターを用いた遺伝子治療の方が望ましいと予想される。

以上のように、まだヒトでは検証されていないが、導入遺伝子の局所での持続的なhPEDF産生は、安全性および効果の両面から大量の組換え蛋白投与より望ましいと考えられる。

以上の背景から神経栄養因子 hPEDF を用いた遺伝子治療を選択した。

(5) 研究等における倫理的配慮について

① 利益相反について

九州大学では、「九州大学利益相反マネジメント要項」(別紙3)および「医学系部局における臨床研究に係る利益相反マネジメント要項」(別紙4)を定めており、本臨床研究はこれらの要項に基づいて実施される。

本臨床研究は九州大学病院が自主的に実施するが、本臨床研究に用いられるベクター技術は1995年4月から2004年3月まで医薬品副作用被害救済・研究振興調査機構(現独立行政法人医薬品医療機器総合機構)ならびに民間企業7社が共同出資して設立したベンチャー企業である株式会社ディナベック研究所が開発したものである。株式会社ディナベック研究所は予定の事業期間が終了し、現在は研究成果管理会社になっており、その技術は民間会社として新たに発足したディナベック株式会社(代表取締役社長 長谷川 護、茨城県つくば市)へ2004年4月より継承されている。本臨床研究においては、このベクター技術と材料を用いて、ベクター製造受託会社(ベクター・ジーン・テクノロジー社)に九州大学病院が治療用ベクター製造を委託する。

従って、ベクターに関係する一部の専門的検査項目の測定技術などに関して、同社の助言、指導が必要な場合、例えば、血液、尿サンプルなどにおけるベクターの挙動に関する重要なデータ収集などの場合、同社は科学的助言や、一部では技術的協力を行う可能性があるが、本臨床研究における外部研究協力者として位置付けられる。

また動物実験データ収集など、本臨床研究に至るまでの基礎研究を同社と共同で行ってきた米満吉和の本臨床研究計画における役割は、ベクターの生体内挙動の検査などの基礎研究分野関連業務に限定される。本臨床研究における治療行為の実施、九州大学病院先進医療適応評価委員会など、診療に直接関わり、かつ臨床的判断を行う議決組織の全てにおいて、米満吉和およびディナベック株式会社関係者を一切除外することで中立性と客観性を保つ。

② 研究等の対象とする個人の権利擁護

本研究実施計画書は網膜色素変性に対する新たな、そして有効な治療法の開発を目指したものであり、患者の視機能保存ならびに生活レベルの改善を目指したものである。従って人権擁護に抵触しない。

被験者の個人情報を含む秘密保持に関しては、「九州大学個人情報管理規程」(別紙5)を遵守することにより管理される。但し遺伝子治療臨床研究が社会的に広く関心を集めていることを鑑み、病状経過などについては個人を特定できない状態での公開(学術雑誌、学会、マスコミを含む)を原則とする。その際は被験者の了承のもとに実施することとし、個人情報の保護を厳守する。被験者の診療記録は法律(刑法)で定められた「医師の守秘義務」に則り、九州大学病院にて厳重に管理し、秘密保持を厳守する。

さらに、九州大学病院は個人情報に関する苦情等の窓口を設置し、被験者からの苦情や問い合わせに対して迅速に対応できるような体制を整えている。

[個人情報に関する苦情等の窓口]

九州大学病院地域医療連携室 患者様相談窓口

電話：092-642-5165

FAX：092-642-5155

③ 研究等の対象となる者に理解を求め同意を得る方法

網膜色素変性に対して現時点で有効な治療法がないこと、本臨床研究の実施に同意しない場合であっても何ら不利益は受けないこと、本臨床研究の理論的背景と動物実験成績、安全性に関する成績、本臨床研究により起こりうる副作用、他の開発中の治療法、個人情報の保護、等に関して十分な説明を被験者本人及び家族(あるいは親族)に対して行い、その十分な理解を得た上で自由な意思に基づいて本臨床研究の被験者となることについて文書により同意を得る。

④ 研究等によって生ずる個人への不利益ならびに危険性、及び医学上の貢献の予測

本臨床研究でベクターを眼内に投与することにより、予期せぬ重篤な副作用（失明、発癌、アレルギー反応、死亡など）が生じる危険性がある。

本臨床研究で本方法の安全性が確認された場合、本臨床研究に引き続く高次の臨床研究に進むことになるが、それら臨床研究で有効性が証明されれば、網膜色素変性患者の生活の質（Quality of Life: QOL）を改善することが可能になり、国民福祉ならびに医療経済への貢献が期待される。

6. 遺伝子の種類及びその導入方法

(1) ヒトに導入する遺伝子の構造と性質

① ヒトに導入する遺伝子の構造と性質

添付資料4に実際にヒトに投与するベクター (SIV-hPEDF) を再構成する際に使用されるテンプレートベクターに組み込まれているヒト PEDF 蛋白コード領域の塩基配列 (添付資料4の下線部分) を示す。GeneBank (No. AF400442) に登録されているヒト PEDF cDNA の塩基配列は添付資料4の通りであり、ベクターに搭載されている hPEDF 遺伝子の塩基配列はこれに 100%一致することが確認されている。

本塩基配列はレンチウイルスゲノムコード蛋白の一部として発現されるため、実際に投与される場合は相補的な RNA 配列として投与されることになる。

② 導入遺伝子からの生成物の構造及びその生物活性

添付資料4に上記遺伝子により発現されたヒト PEDF タンパクのアミノ酸配列を示す。

ヒト PEDF タンパクは 418 個のアミノ酸からなる、糖鎖修飾を受けた分子量 46,342Da の一本鎖ポリペプチドである。構造上 serin protease inhibitor (serpin) super family に属し、プロテアーゼ感受性ループ構造を有するが、プロテアーゼ阻害活性はないことが報告されている (34, 35)。

PEDF の代表的な生物活性は、神経親和性である。これまで種々の神経細胞に対して、分化誘導、及び傷害による神経アポトーシスを抑制する作用を持つことが培養細胞のみならず、動物個体においても報告されている。その機序に関しては培養未熟小脳顆粒細胞を用いた検討があり、転写因子 NF κ B の活性化が関与し、また抗アポトーシス遺伝子である Bcl-2、Bcl-x や、神経栄養因子である NGF、BDNF の発現を誘導することが報告されている (36)。一方、同じく培養未熟小脳顆粒細胞を対象としたマイクロアレイによる検討では、PEDF 添加により種々の神経栄養因子 (NGF, Neurotrophin-3, GDNF) の発現を誘導するが、中和抗体を用いた解析で誘導された神経栄養因子は PEDF の神経保護効果に影響しないことが報告され、保護効果は PEDF の直接の作用であることが示唆されている (37)。さらに近年 PEDF は強力な血管新生抑制効果を有することが報告された (33)。種々の血管新生モデル、腫瘍血管新生を抑制する現象が多数報告されており、その機序はレセプターが未だ明らかでないことから詳細に解明されていないが、(1) PEDF が血管内皮細胞における FasL の発現を誘導し、さらに新生過程にある血管内皮細胞では Fas が高発現していることから、Fas/FasL を介した内皮細胞のアポトーシスが血管新生を抑制する可能性 (38)、(2) 細胞外でのリン酸化が関与する可能性 (39)、また(3)細胞外基質との結合が関与する可能性、などが考えられている。眼内血管新生は、視覚に必須である眼組織の透明性を損なうことから、神経保護及び血管新生抑制効果の両面を併せ持つこの因子は、眼局所で発現させるのに最適な因子と考えられる。

また PEDF はヒト胎児網膜色素上皮細胞の培養上清から分離・精製された因子であり、眼内局所において比較的豊富に存在する (32)。PEDF の高発現時における生体への毒性は明らかではないが、眼内での過剰発現による毒性は理論的に低いと考えられ、事実実験動物を用いた前臨床試験 (マウス、ラット、サル) においても、PEDF に起因すると考えられる明らかな毒性は確認されていない。

(2) 本研究計画で使用するその他の DNA の構造と性質

本臨床研究計画では、組換えアフリカミドリザル由来サル免疫不全ウイルス (SIV) ベクター以外の核酸 (DNA、RNA 共に) は使用しない。本ベクターのベクターゲノムは 1 本鎖の RNA であるため、患者に投与される遺伝子は全て RNA で投与されることになる。

(3) 標的細胞とした細胞の由来ならびに当該細胞を標的とした理由

本臨床研究計画では、SIV ベクターの網膜下投与の際に主に遺伝子が導入されることがマウス、ラット、サルによる実験で明らかになっている網膜色素上皮細胞を標的とする。以下 (4) で示す遺伝子導入法で導入操作を行った場合、その他の細胞へ遺伝子が導入されることはまれであることを、マウス、ラット、サルによる実験で明らかになっている。また本臨床研究計画では、治療遺伝子として分泌タンパクである hPEDF を発現する遺伝子を使用する。hPEDF は遺伝子導入細胞より分泌後、細胞外マトリックスに沈着することにより、その生理作用を発揮すると考えられること、また元来眼内に豊富に存在するタンパクであるため、仮に他の細胞への導入や過剰発現に至っても毒性を示さないため、この遺伝子導入法と当該細胞を標的とした。

(4) 遺伝子導入方法の概略及び当導入法を選択した理由

① 遺伝子導入方法の理論的根拠ならびに導入標的細胞

1) SIV ベクターの基本的性質

本臨床研究で用いるレンチウイルスベクターは「アフリカミドリザル由来サル免疫不全ウイルス SIVagmTYO1 株」を基本骨格として開発されたベクターである。

本ベクターが従来のベクターと比較して有利な点は、1) 基本骨格である SIVagm は、自然宿主であるアフリカミドリサルにも免疫不全症状を起こさず、汎用されている HIV ベクターと比較してより臨床的安全性が高いと予想されること、2) 非分裂細胞に導入可能であり、長期安定した遺伝子発現が可能であること、である。

前者のヒトへの安全性については、①ウイルス構築過程には不要であるが、ウイルス増殖に必要な数種類の遺伝子をベクター再構成系から排除することで、相同組換えの危険性を現行の技術レベルで最小にすることにも成功している（第3世代レンチウイルスベクター）こと、②万一相同組み換えによる自己複製能を獲得する replication competent lentivirus が混入した場合を仮定しても、元来野生型ウイルスに自然宿主への病原性がないこと、さらに③野生型 HIV と相同性の高い配列が削除されていることで、病原性を持つ replication competent な HIV とのキメラウイルス出現の可能性が低いことから、従来の HIV を骨格としたレンチウイルスベクターより理論的な安全性が高いと判断される。また後者の遺伝子導入特性については、本導入法では通常は非分裂細胞である網膜色素上皮細胞を標的としていること、さらに数十年という非常に長い経過を示す慢性疾患を対象としていることから、この遺伝子治療に適した特性と捉えることができる。

2) 遺伝子導入方法の理論的根拠

眼内への遺伝子導入法としては、主に硝子体内投与、及び網膜下投与の2つが報告されている。

我々の用いている SIV ベクターを用いた場合、硝子体内投与では高用量を用いても一部の神経節細胞に導入できるが、その効率は比較的低く、治療効果を示すには不十分と考えられた（未発表データ）。

一方網膜下投与では、網膜色素上皮細胞（RPE）に比較的特異的かつ高効率に導入が可能であり、小動物（ラット）において少なくとも1年間（12）、大動物（サル）においても少なくとも3年間の安定した遺伝子発現を確認している（15）。また網膜色素上皮細胞は視細胞に隣接して存在するため、変性・アポトーシス死を起こす視細胞を保護するために、網膜色素上皮細胞に遺伝子を導入し分泌型蛋白を発現させることで、広範な視細胞を標的にすることが理論上可能であり、実際にこれまでの小動物における効能試験で有効な治療効果を認めている（13, 30）。

以上の背景から、本臨床研究において用いるベクターは安全性に優れていること、さらに網膜下投与による網膜色素上皮細胞を標的細胞とする遺伝子導入法により優れた遺伝子発現特性を示すことから、本ベクターと本導入法を選定した。

② 遺伝子導入方法の概略

1) 術前日より抗生物質を点滴静注する。術後3日まで点滴を継続する。抗生剤の点眼は術前日より開始し、術後も継続して行う。また手術操作等による眼内非特異炎症予防の目的で、術翌日よりステロイド剤の点眼を行う。

2) 術当日、九州大学病院北棟3階分子・細胞調製センター内細胞保存ユニットに -80°C にて凍結保管してある SIV-hPEDF 溶液を封入しているバイアルを同施設内安全キャビネット内へ移動、溶液を溶解し、希釈溶媒である BSS を用い最適に希釈する（治療低用量： 2.5×10^7 TU/ml、治療高用量： 2.5×10^8 TU/ml）。

3) 希釈した SIV-hPEDF 溶液を専用のキャリアバック内に厳重に封入して、保冷下で九州大学病院南棟3階手術部へ搬入する。

4) 手術部にて局所麻酔（球後麻酔またはテノン嚢下麻酔）下に、硝子体手術により中心部硝子体を切除後、後部硝子体剥離を作製。網膜面上に残存した後部硝子体膜ならびに内境界膜を剥離する。その後、SIV-hPEDF 液を 37G もしくは 41G の網膜下注射針（ドルク社）を用いて網膜下に注入する。注入部位は眼底所見に基づき、原則、黄斑を回避した網膜に注入（原則4カ所、1カ所あたり 50 μl 、合計液量 200 μl 、図1）する。但し強い網膜癒着のためベクター液注入が困難な場合は、必要に応じて適宜減ずる。注入部裂孔は、手術中の所見に応じて術者の判断で適宜レーザーを施術し、硝子体腔へのベクター散布ならびに術後の網膜剥離を予防する。白内障を合併する患者には、同時に超音波乳化吸引術＋眼内レンズ挿入術を併用して施行する。なお、ベクター液濃度はベクター力価漸増的に2段階（治療低用量5例、治療高用量15例）に設定している。

5) ベクター投与後、第一種使用規程に基づいたベクターの拡散防止措置を取りつつ、被験者を速やかに遺伝子治療室（北棟 11 階遺伝子治療室：1181 号室および 1182 号室）へ搬送・隔離する。原則として同室における 7 日間の管理を行い、血液中および尿中にベクターゲノムが検出されないことを確認の上隔離を解除、一般病棟（南棟 11 階眼科病棟）へ転棟する。7 日目のサンプルにてベクターゲノムが検出された場合、陰性化するまで適宜隔離期間を延長する。

③ 使用するベクター(担体)の作製方法

SIV-hPEDFの作成には複数のプラスミドをセルバンク化した培養ヒト腎臓線維芽細胞由来株 293T細胞に同時に導入し（マスターセルバンクの品質管理試験項目ならびに概要は表1に記載）、細胞上清に放出されるベクター粒子を回収し濃縮する（11）。（本臨床研究で使用するマスターセルバンクの品質管理試験項目ならびに概要は表 1 に記載。）

具体的には、1) ベクター粒子に取り込まれるベクターゲノムRNAを合成する遺伝子導入プラスミド、2) *gag*、*pol*のウイルス構成タンパク質を発現させるパッケージングプラスミド、3)制御タンパク質であるRevを発現するRev発現プラスミド、さらに4)ウイルス外被タンパク質を発現させる VSV-Gプラスミドの4種のプラスミド（図4）を用いる（各プラスミドの塩基配列を添付資料5に、構築手順は添付資料6に記載）。遺伝子導入プラスミドは5'LTRのU3領域をCMVのプロモーター配列と置換しており、*tat*非依存的なゲノムRNAの転写を可能にしている。パッケージングプラスミドはプロモーター活性の高いCAGプロモーターを用い*gag*、*pol*の発現を誘導する。また、後述するRev応答領域（RRE）の挿入により発現を高めている。Rev発現プラスミド、VSV-Gプラスミドは共にCMVプロモーターを用い、それぞれRevとVSV-Gを発現する。これらのプラスミドを一定の比率でヒト腎臓線維芽細胞由来株293Tに遺伝子導入を行う。プラスミド導入後ウイルスベクターを含む培養上清を回収・濾過し、濃縮を行う（マスターセルバンクからの製造工程のフローチャートならびにその詳細を添付資料7、8に記載）。濃縮後のベクター力価は遺伝子導入プラスミド中の遺伝子配列を標的にしたリアルタイムRT-PCRにより粒子力価（viral particle: Vp）を測定する。抗ヒトPEDF抗体を用いて免疫組織化学的検出によるfunctional titerの算出（transducing unit: TU）も併せて行う。

表1 マスターセルバンクの品質管理試験

	項目	概要	規格値
1	無菌試験	細胞溶解液接種による無菌試験(直接法)	陰性
2	マイコプラズマ否定試験	PCR 法によるマイコプラズマ否定試験	陰性
3	マイコプラズマ否定試験	培養法	陰性
4	細胞の同定試験	DNA fingerprint 法、アイソザイム試験によって種細胞と同一であることを確認する	陽性
5	ウイルス存在否定 in vitro 試験	細胞形態確認、細胞溶解液接種により培養細胞にて blind passage 法で HA の有無をみる	陰性
6	ウイルス存在否定 in vivo 試験	細胞溶解液接種により乳飲みマウスの blind passage 法で異常の有無、ニワトリ胎児への blind passage 法での viability と HA の有無、成熟マウスへの投与による異常検出	陰性
7	レトロウイルス否定試験	細胞溶解液の逆転写酵素活性を測定する	陰性

		(PERT 法)	
8	腫瘍原性試験	ヌードマウス皮下に MCB 細胞を接種する。	陰性
9	HBV 否定試験	PCR 法による否定試験	陰性
10	HCV 否定試験	PCR 法による否定試験	陰性
11	HIV 否定試験	PCR 法による否定試験	陰性
12	SIV 否定試験	PCR 法による否定試験	陰性
13	アデノウイルス否定試験	PCR 法による否定試験	陰性

④ 使用するベクター(担体)の構造(図5)

本臨床研究で使用する SIV ベクター (SIV-hPEDF) はエンベロープ型のウイルスベクターであり、ヒト水疱性口内炎ウイルス (Vesicular Stomatitis Virus: VSV) エンベロープタンパク質 VSV-G によるシュードタイプ化を施すことにより、多種の細胞への感染を可能としている。構造タンパク質として SIVagm 由来の Gag (group-specific antigen) タンパク質および逆転写酵素、Pol を含み、さらにベクターゲノム RNA を包含している。ベクターゲノム RNA は、5'端と 3'端にそれぞれ LTR(Long Terminal Repeat)を持つ単鎖 RNA である。前述のように遺伝子導入プラスミドの 5'LTR は、LTR 内の U3 領域を CMV プロモーター配列と置換しており、この部分により tat 非依存的に転写が開始されるため、プロモーター直下の R および U5 領域のみを持つ LTR となる。また、3'LTR は、U3 領域を欠失させているためにやはり U3 領域を欠失した R および U5 領域の LTR となっている。5'LTR 下流には SIV のパッケージングシグナル ψ 、Rev との作用により転写産物の核外移行を亢進する Rev 応答領域 (Rev-response element: RRE)、遺伝子の導入効率を上昇させる central polypurine tract (cPPT)配列 (130 塩基長) を有し、CMV プロモーターとその直下に搭載遺伝子 PEDF が挿入されている。その下流には PEDF mRNA の安定性を高めることにより導入遺伝子の発現効率を高める約 600 塩基長ウッドチャック肝炎ウイルスの post-transcriptional regulatory element (WPRE) 配列 (40) が挿入されている (SIV-hPEDF の全塩基配列を添付資料 9 に記載)。本臨床研究では、ORF の開始コドンの 1 塩基とその上流のプロモーター領域の 5 塩基を他の塩基に置換した mutant WPRE 配列を使用している。

本ベクターによって導入される遺伝子はヒト PEDF のみであり、ウイルス由来の他の配列から翻訳される産物はない。本ベクターは自己不活性 (Self inactivation: SIN) 化しているため標的細胞に感染、遺伝子導入が起こる際には U3 領域を欠失させることにより不活化した 3'LTR が複製して 5'LTR と置換されて宿主細胞のゲノムに挿入されるため、この LTR からの転写は理論上ないと考えられ (41)、また同時に内部の CMV プロモーターの活性が亢進されているため、安定した強い遺伝子発現が可能であるが、3'LTR の R 配列中にある poly A 配列 (AATAAA) により CMV プロモーターからの転写は理論上停止する。

⑤ 使用するベクター(担体)の生物学的特徴

本ベクターはアフリカミドリザルを宿主とするサル免疫不全ウイルス (SIVagm) の株である TYO-1 (42) に由来する。分類学上、本ウイルスはレトロウイルス科レンチウイルス属に属し、HIV-1, HIV-2 等とともに霊長類レンチウイルスグループを形成する。HIV 類と異なり、自然宿主に対し病原性を有さず、遺伝学的にも、宿主に病原性を持つ HIV や SIVcmp と大きく隔絶されていることが明らかになっている (43)。したがって、本ベクターと HIV 間において相同組み換えが起こる可能性も理論的に低いことが予想される。この SIVagmTYO1 ゲノム cDNA (図 5) のサイズは 9 kbp であり、ベクター化に際し、不要な遺伝子を除去した。即ち、*vif*, *vpr*, *tat*, *env*, *nef* を欠失し、パッケージングに必要な *gag*, *pol*, *rev* は分離したプラスミド上に搭載している。従って実際にベクター(担体)のゲノム RNA に相補的なテンプレート DNA 配列は、80%以上が取り除かれている。

本ベクターは前述したように SIN 化しており、標的細胞ゲノムに挿入後の 5'LTR は不活化されるため、LTR によるプロモーター活性は消失しており、挿入部位の遺伝子を非特異的に活性化する危険性は原理的にない。また、遺伝子導入プラスミド、パッケージングプラスミド、Rev 発現プラスミド、VSVG プラスミドにそれぞれ分離してあるいわゆる第 3 世代ベクターであるため相同組み換え等により、自立複製ウイルスの出現の確率は理論的に極めて低いと考えられている。

SIV ベクター自体は他ウイルスを基本骨格としたレンチウイルスベクターと同様、静止期にある細胞に遺伝子導入が可能であることが複数の細胞を用いて示されている (11)。造血幹細胞や、霊

長類胚性幹細胞 (ES) 細胞に対して遺伝子導入し、安定した長期の外来遺伝子発現が確認されている (44, 45)。

⑥ 実施施設における当該遺伝子治療臨床研究に関する研究成果

1) 培養細胞を用いた研究成果

(a) SIV-EGFP による培養細胞への遺伝子導入効率に関する検討 (未公表データ)

ヒト網膜色素上皮細胞株である ARPE-19 に SIV-EGFP をそれぞれ MOI (multiplicity of infection) = 1, 10, 100 で感染させ、48 時間後に蛍光顕微鏡下で観察し、その発現効率を検討した。MOI=100 における発現効率は約 70% と高効率での感染を示し、観察期間において明らかな細胞傷害を認めなかった (図 6)。

(b) SIV-hPEDF を投与した培養細胞より発現・分泌されるヒト PEDF タンパクに関する検討

ヒト網膜色素上皮細胞株である ARPE-19 ならびにサル腎由来培養細胞である COS7 に SIV-hPEDF をそれぞれ MOI=1, 10, 100 で感染させ、48 時間後に培養上清を回収し、上清中に分泌されたヒト PEDF タンパク量を ELISA 法 (PEDF ELISA kit: #CYT420; CHEMICON International, Inc.) にて検討した。ARPE-19 ならびに COS7 の培養上清中より、それぞれ MOI 依存性のヒト PEDF タンパクが検出された (図 7)。

2) 実験動物を用いた研究成果

(a) SIV ベクターの小動物における遺伝子導入・発現特性 (12)

小動物における眼内遺伝子発現特性を確認するため、SV40 大型 T 抗原核移行シグナル付加大腸菌 *lacZ* 遺伝子を搭載した SIV-nls-lacZ、及び緑色蛍光タンパク質である enhanced green fluorescent protein (EGFP) 遺伝子を搭載した SIV-EGFP の両ベクター (2.5×10^7 TU/ml) 各々約 2-3 μ l を顕微鏡下にて Wistar ラットの網膜下腔に投与した。

SIV-nls-lacZ 投与眼の X-gal 染色による検討では、網膜下投与により網膜色素上皮細胞に特異的に高率に導入されていることが確認された (図 8)。また SIV-EGFP 投与眼の同一個体における発現を同一個体にて経時的に観察することにより、少なくとも 1 年間の安定した遺伝子発現が持続することが確認された (図 8)。

(b) hPEDF 搭載 SIV ベクターの小動物網膜下投与による遺伝子発現の検討 (未公表データ)

Wistar ラット 6 週齢の網膜下に SIV-hPEDF (5.0×10^6 , 2.5×10^7 , 1.25×10^8 TU/ml) 各々 2-3 μ l を投与し、10 日後におけるヒト PEDF の発現量を ELISA 法にて検討した (図 9)。図に示すように、SIV-hPEDF 投与群でベクター濃度依存性のヒト PEDF の発現が認められ、導入された遺伝子が確実に発現していることが確認できた。

(c) SIV ベクターのカニクイザルにおける遺伝子発現の検討 (15)

大型動物における眼内遺伝子発現特性を確認するため、EGFP 遺伝子を搭載した SIV-EGFP ベクター (2.5×10^7 TU/ml) 20-50 μ l を顕微鏡下にてカニクイザルの網膜下腔に投与した。投与眼の同一個体における発現を経時的に観察することにより、少なくとも 4 年間の安定した遺伝子発現が持続することが確認された (図 10)。

(d) hPEDF 搭載 SIV ベクターのカニクイザル網膜下投与による遺伝子導入、ならびに発現の検討 (未公表データ)

長期安全性試験では、カニクイザル網膜下に SIV-hPEDF (2.5×10^7 もしくは 2.5×10^8 TU/ml) 20-50 μ l を投与し、約 5 年間の経過観察を行った。試験終了時に摘出した眼球から採取したゲノム DNA (200 ng) 内に含まれるベクターゲノムのコピー数を real-time PCR 法を用いて検討したところ、表 2 のように遺伝子導入したすべての眼球でベクターが検出された。また、同時に採取した前房水におけるヒト PEDF の濃度を ELISA 法にて検討したところ、表 3 のようにヒト PEDF の発現が認められた。以上の結果より、導入された遺伝子が網膜に長期間安定して発現していることが確認できた。

表 2 SIV-hPEDF copy number in genome DNA from the eyes

非公開 (厚生科学審議会科学技術部会)

非公開（厚生科学審議会科学技術部会）

表3 カニクイザル長期安全性試験における前房水内 hPEDF 濃度

非公開（厚生科学審議会科学技術部会）

(e) 網膜色素変性モデルに対するヒト PEDF 搭載 SIV ベクター網膜下投与による治療効果の検討
(e)-1 RP モデルラット(RCS ラット)における検討(13)

実験に使用した網膜色素変性モデルである RCS (Royal College of Surgeons)ラットは、玉井信（前東北大学医学部眼科教授）氏より譲渡され、当実験施設にて適切な環境で飼育し系統を維持している。本ラットは Retinal dystrophy (*rdy*)遺伝子座に存在する *Mertk* 遺伝子の異常により、網膜色素上皮細胞の視細胞外節食食機能が低下する機序で発症する。常染色体劣性遺伝形式をとり、ヒト網膜色素変性患者においても同様の遺伝子異常が報告されていることから(46)、よりヒトに近いモデルとして汎用されている。本検討では、視細胞変性の始まる生後3週齢の RCS ラットを前臨床効能試験対象動物として使用した。

(e)-1-1 ヒト PEDF 遺伝子導入の組織学的治療効果

RCS ラット3週齢の周辺部網膜下腔に SIV-hPEDF、SIV-nls-lacZ（各 2.5×10^7 TU/ml）、希釈溶媒である BSS を約 20 μ l 投与し、4週後に眼球を摘出、視神経を含む切片上の網膜10箇所における単位長当りの視細胞核数を光学顕微鏡的に計測した。コントロール群（SIV-nls-lacZ 投与群、BSS 投与群）と比較して、SIV-hPEDF 投与群では導入部位で有意に残存視細胞数の増加を認め、この効果は遺伝子導入8、12週後までの長期間認められた（図11、12）。

また視細胞のアポトーシス頻度を検討するために、導入4週後の組織に対してTUNEL染色を行った。SIV-hPEDF群では導入部位において有意にTUNEL陽性細胞が減少しており(図13)、視細胞保護効果はPEDFのアポトーシス抑制の機序であることが示唆された。

さらに経過観察期間を通じて、炎症所見、網膜変性、腫瘍性増殖変化等の合併症は全症例で認められなかった。

(e)-1-2 ヒト PEDF 遺伝子導入の電気生理学的治療効果

前述の実験系にて、導入4、8週後に暗順応網膜電図を行った。コントロール群(SIV-nls-lacZ投与群、BSS投与群)と比較して、SIV-hPEDF群ではa波、b波とも高い振幅が得られ、電気生理学的検討における網膜機能面での治療効果が得られることが確認できた(図14)。

(e)-2 *rds* マウスにおける検討(30)

rds (retinal degeneration slow) マウスは、The Jackson Laboratory (USA)より譲渡され、九州大学附属動物実験施設にて適切な環境で飼育され、系統が維持されている。視細胞特異的糖蛋白、ペリフェリンをコードする *peripherin/rds* 遺伝子の異常により発症し、常染色体半優性遺伝形式をとる。この遺伝子異常によるヒト網膜色素変性患者も多く存在し、理想的な長期疾患モデルとして広く認知されている。このマウスにおいても、視細胞変性の始まる生後3週齢を遺伝子導入開始の時点と設定した。

(e)-2-1 ヒト PEDF 遺伝子導入の組織学的治療効果

rds マウス3週齢の周辺部網膜下腔にSIV-hPEDF、コントロールとしてSIV-EGFP(各 2.5×10^7 TU/ml)を約2 μ lを投与し、6ヶ月後に眼球を摘出し、視神経を含む切片を光学顕微鏡的に検討した。SIV-hPEDF投与全症例において、炎症所見、網膜変性、腫瘍性増殖変化等の合併症は認められなかった。

(e)-2-2 ヒト PEDF 遺伝子導入の電気生理学的治療効果

前述の実験系にて、導入4週後に暗順応網膜電図を行った。コントロール群(未処置群、SIV-EGFP投与群)と比較して、SIV-hPEDF群ではa波、b波とも高い振幅が得られる傾向がみられた(図15)。

7. 安全性についての評価

(1) 遺伝子導入方法の安全性

① 遺伝子導入に用いるウイルスベクター(担体)の純度

GMP ベクターの生産、精製、供給は Vector Gene Technology 社（中華人民共和国・北京市）により行われる（Vector Gene Technology 社の GMP 生産ラインの見取り図および施設設備概要を添付資料 10 に記載）。GMP 生産ラインによる SIV-hPEDF 生産のテストランを実施後、実生産を行い、最終生産物が GMP 基準に合致することを確認する（ベクターの品質管理試験の項目ならびに概要は表 4 に記載）。

表4 臨床研究薬の品質管理試験項目

	項目	概要	規格値
1	粒子力価測定 (Vp)	ベクターゲノム内の WPRE をターゲットにしたリアルタイム PCR 法による粒子力価の測定	規定値
2	機能力価測定 (TU)	抗 PEDF 抗体を用いた細胞免疫染色法による機能力価の測定	規定値
3	PCR of gene of interest	PCR 法による hPEDF 遺伝子の確認	目的断片の確認
4	SDS-PAGE	SDS-PAGE により分離したタンパク質の CBB 染色による分析	目的バンドの確認
5	タンパク質濃度	Bradford 法によるタンパク質濃度の測定	規定値
6	微生物限度試験	直接培養法による微生物群の分析	陰性
7	無菌試験	細胞溶解液接種による無菌試験（直接法）	陰性
8	マイコプラズマ否定試験	PCR 法によるマイコプラズマ否定試験	陰性
9	マイコプラズマ否定試験	培養法	陰性
10	ウイルス混入否定試験	PCR 法によるウイルス混入否定試験 (HIV, HBV, HCV)	陰性
11	異常毒性試験	マウス腹腔内注射による異常毒性試験	陰性
12	電子顕微鏡検査	細菌、真菌の混入否定検査	陰性
13	エンドトキシン	ゲル化法によるエンドトキシンの測定	<10 EU/ml
14	細胞由来 DNA 濃度測定	ドットブロット法による細胞由来残存 DNA 濃度の測定	10ng/dose
15	BSA 濃度測定	ELISA 法による残存 BSA 濃度の測定	50ng/dose
16	Benzonase 濃度測定	ELISA 法による残存ベンゾナーゼ濃度の測定	規定値 ≤ pg/ml
17	増殖性レンチウイルス (RCL)	PCR 法による増殖性レンチウイルス (RCL) 否定試験	陰性
18	In vitro 遺伝子発現	ELISA 法 による PEDF タンパク質濃度の測定	規定値 ≥ ng/ml
19	PEDF 濃度測定	ELISA 法 による製品中における PEDF タンパク質濃度の測定	規定値 ≤ ng/ml
20	PCR for E1A, E1B, SV40 large T antigen	PCR 法によるアデノウイルス E1A, E1B, SV40, ラージ T 抗原 の検出	情報確認
21	充填量	充填量の確認	規定値
22	pH	pH メータによる測定	規定値
23	外観	目視による外観の検査	無色、透明～やや白濁

② 患者に投与する物質の純度及びその安全性

患者に投与する物質は、GMP 基準に合致したベクターを希釈液で希釈したものを使用する。希釈液としては、BSS を使用する。凍結状態の SIV-hPEDF 溶液の融解、バイアルの開封並びに SIV-hPEDF 溶液の希釈及び分注操作は、P2 レベルの実験室内の安全キャビネット内で行う。

③ 増殖性ウイルス出現の可能性

本臨床研究に使用する組換えアフリカミドリザル由来サル免疫不全ウイルスベクターは、ウイルス固有のゲノムシーケンスをほとんど排除した第3世代と呼ばれるもので（ウイルスのゲノム RNA から 80.6%を欠失している、図5）、作製されたベクター内には導入遺伝子のみ取り込まれるようになっており、エンベロープタンパク質や gag、pol 等の遺伝子を持ち込まないようになってい。従って、相同組換えにより自己複製能をもつウイルス (RCLs: replication competent lentiviruses) が生じる可能性は理論的に低く、生産されたベクター溶液中に混入する可能性はほとんどないと考えられる。

また、外界に存在するレトロウイルスとの相同組換えによる、RCLs の発生についても、HIV と相同性の高い配列が削除されていることから HIV との相同組換えの確率は低いと予想されます。

④ 遺伝子導入に用いるウイルスベクター(担体)の細胞傷害性

当初、第2世代（本臨床研究で使用するベクターは第3世代、制御タンパク質である Rev を発現する遺伝子が搭載されている）組換えアフリカミドリザル由来サル免疫不全ウイルス (SIV) ベクターを使用した研究では、レポーター遺伝子（核移行シグナル付加大腸菌 lacZ 遺伝子、及び EGFP 遺伝子）を搭載した高濃度 (2.5×10^8 TU/ml, 約 5 μ l) のベクター (SIV-nls-lacZ、SIV-EGFP) をラット網膜下へ投与することで、術後3ヶ月前後に一部の個体でベクター投与部位において網膜構造の破壊（網膜変性）が生じるという組織学的所見を得た（12、図16）。

原因を特定するために詳細な検討を加え以下の結果を得ている。1) 培養ヒト網膜色素上皮由来細胞を含めた複数の細胞において、第2世代ならびに第3世代の SIV ベクターの感染実験においても明確な細胞傷害性を認められなかった（未発表データ）、2) 第2世代のヒト PEDF、ヒト FGF-2 を搭載したベクターにおいては、同量の高濃度ベクターの網膜下投与により同様の組織学的所見は得られなかった（13、30）、3) 第3世代の SIV ベクターを用いたラット 51 眼の検討では、BSS 群、外来遺伝子を発現しない SIV ベクター（empty-SIV）群ならびに SIV-hPEDF 群では、低濃度ならびに高濃度ともに、明らかな網膜構造の破壊の所見を認めなかった。一方、レポーター遺伝子群（SIV-nls-lacZ もしくは SIV-EGFP）では、低濃度で 10 眼中 2 眼、高濃度で 10 眼中 3 眼で網膜変性の所見が観察された（表5、未公表データ）、4) カニクイザルを用いた SIV-hPEDF（第3世代）に関する安全性試験（添付資料1参照）において、最大濃度投与群 (1.0×10^9 TU/ml, 20-50 μ l) で投与後 90 日の時点で網膜組織の変性など重篤な副作用は認められなかった（14）、5) カニクイザルを用いた SIV-hPEDF（第3世代）に関する長期安全性試験において、高濃度投与群 (2.5×10^8 TU/ml, 20-50 μ l) において、投与後2年の時点で検眼鏡的に網膜変性の所見は認められなかった（図17）。

以上の結果から、明らかな原因は同定できないものの、第2世代に比べ頻度は低いが、レポーター遺伝子を発現させた眼球において網膜変性が生じることが示された。レポーター遺伝子産物自身の免疫原性と炎症惹起作用が他施設から報告されており（47-49）、今回観察された所見もレポーター遺伝子産物に対する炎症反応が関与している可能性が考えられるが、今後はカニクイザルを用いた長期安全性試験の個体を注意深く経過観察し、ベクター投与そのものによる網膜変性の可能性の有無を検討していく必要がある。

⑤ 体内の標的細胞以外への遺伝子導入の可能性

本臨床研究に使用する組換えアフリカミドリザル由来サル免疫不全ウイルスベクターは、そのエンベロープとしてヒト水疱性口内炎ウイルス (VSV) の G タンパク質をもつ。VSV-G は脂質への結合と細胞膜への融合により細胞内へと侵入するため、VSV-G をエンベロープにもつ組換えアフリカミドリザル由来サル免疫不全ウイルスベクターは幅広い哺乳動物細胞へ感染可能である。そのため、網膜下へ投与された場合においても、血行や周辺組織への漏出により、網膜色素上皮細胞以外の細胞への遺伝子導入される可能性は否定出来ない。

これを明らかにするため、カニクイザルを用いた安全性試験にて、RT-PCR 法による生体内分布 (biodistribution) を検討した。最大濃度 (1.0×10^9 TU/ml, 20-50 μ l) までの網膜下投与 (SIV-hPEDF) において、少なくとも血液、尿中には、全経過（術後 1, 8, 30, 90 日）を通じてベクターの遺伝子配列は確認されておらず（図18、19）、全身散布の可能性は低いと考えられる。

⑥ 患者以外のヒトに遺伝子が導入される可能性

上述のごとく、本ベクターはVSV-Gタンパク質によりシュードパッケージングされているため、多種の細胞へ感染可能である。従って一定量の漏出が生じれば、患者以外のヒトへの遺伝子導入の可能性は否定出来ない。

本臨床研究においては安全性を確保するため、また生物学的多様性への影響を最小限にするため、ベクター投与後少なくとも1週間は、第一種使用規程に則り、厳重に管理され陰圧で制御される遺伝子治療室にて被験者を管理する（サルを用いた安全性試験成績では、投与直後から投与後3ヵ月の経過全てにおいて、血液ならびに尿中にベクターの遺伝子配列は検出されていないため、1週間の管理期間で十分であると考えられる）。

実際の治療においては、投与当日、1日目、3日目、8日目に血液・尿よりベクター由来の核酸配列が検出されないことを確認（RT-PCR法）した後に、陰性の場合にのみ一般病棟へ移送する。

⑦ 染色体内へ遺伝子が組み込まれる場合の問題点

フランスで施行されたレトロウイルスベクターを用いたX連鎖重症複合免疫不全症（XSCID）に対する臨床研究において、治療を施した患者10名のうち4名にT細胞性白血病が発症し（50）、その後の英国における同疾患に対する臨床研究において、1名にT細胞性白血病が発症したと最近報告された（51）。フランスの3例と英国の1例では、白血病の原因は造血幹細胞の増殖に関与するLMO2遺伝子の近傍へのプロウイルス挿入が確認されており（50, 51）、フランスの1例では、リンパ球の癌遺伝子（CCND2）の近傍への挿入が確認されている（50）。一方、ドイツで施行されたレトロウイルスベクターを用いた慢性肉芽腫症に対する臨床研究においても、治療を施した患者2名にベクターが組み込まれた顆粒球の異常増殖（骨髄異形成症候群：MDS）が確認された（52, 53, Ref G）。このように、レトロウイルスベクターを用いて造血幹細胞への遺伝子導入を必要とする臨床研究では、細胞の増殖活性を制御する遺伝子近傍へのプロウイルスの挿入により、細胞増殖が活性化されることによる合併症が報告されている。レトロウイルスベクターと同様に、レンチウイルスベクターは宿主ゲノムに組み込まれるため、ウイルスゲノムのLTR（long terminal repeat）挿入による宿主染色体の過剰発現やプロウイルスゲノム挿入によるinsertional mutagenesisが生じる可能性がある。本臨床研究で使用する組換えレンチウイルスベクターは、5' LTRならびに3' LTRのU3、U5領域を一部欠失させることによりその転写活性を排除できており、SIN（self-inactivation）化されたベクターである。従って、プロウイルス組み込みに起因する宿主染色体由来遺伝子の非特異的発現の可能性は理論的に低いと予想される。また、insertional mutagenesisにより必要な遺伝子発現を抑制する可能性が考えられるが、理論上可能性は低い。しかしながら最近、β-サラセミアに対する臨床研究の1例において、SIN化されたレンチウイルスベクターを用いたにも関わらず、HMGA2遺伝子内にベクターが組み込まれた血球細胞の増殖が見られたと報告された（Ref B）。したがって、SIN化されたベクターを用いた場合においても、細胞の異常増殖を誘発する可能性を完全には否定できない。これらの造血幹細胞を対象とした遺伝子治療臨床研究と比較し、本研究計画では終末分化した神経細胞であるRPEが遺伝子導入の主な対象であり、またRPE由来の悪性腫瘍は極めて稀であることから（Ref H）、発がんを引き起こす可能性は極めて低いと予想される。小動物（マウス、ラット）およびサルを用いた前臨床試験においても、SIVベクターの投与後、小動物で1年以上、サルで4年以上の期間、がんの発生などの明らかな異常を認めなかった。

本ベクターによりヒト網膜色素上皮細胞株へ遺伝子導入し、プロウイルスの宿主染色体挿入部位を747クローンについて検討したところ、特定のホットスポットは検出されなかった。さらに、これまでの他の細胞で検討されたHIV（16）と同様、蛋白質をコードする遺伝子内部へ組み込まれる傾向（488クローン：約65%）があった。また、がんに関与する遺伝子中、蛋白コード領域遺伝子内への組み込みは31クローン（約4.1%）に認めたが、蛋白の構造に影響を与えるエクソン部位への遺伝子挿入は2クローンのみに見られ（約0.27%）、この傾向はその他の遺伝子に対する組み込み（イントロン94%、エクソン6%）と同様であった（添付資料11）。

⑧ がん原性の有無

発現させるヒトPEDFは内在性のタンパク質であり、元来眼球に一定量存在すること、また欧米においてアデノウイルスベクターによる遺伝子治療臨床研究に使用された経験のある治療遺伝子であり（25）、この試験でも悪性腫瘍の発生は報告されていない。

上記のごとく、染色体へのSIVプロウイルスの組み込みに伴う宿主がん遺伝子の過剰発現や宿主がん抑制遺伝子の発現抑制による発がんの危険性については、HIVと同等程度の可能性は否定出来ない。これまでのマウス、ラットを用いた実験において、全経過を通じて悪性新生物の発生を認めず、カニクイザルを用いた長期安全性試験においても、少なくとも遺伝子導入2年後までの悪性新生物の発生は確認されていない。また対象臓器は異なるが、これまで欧米で使用されているAAVやHIVによる臨床研究においてもがん原性は確認されていない。

以上から、本臨床研究に伴う発がんの可能性は比較的低いと推察される。

⑨ ベクターの網膜下投与の安全性

ベクターの網膜下投与により生じうる合併症として考えられる主なものは、投与時の出血（網膜下出血、硝子体出血）と術後の網膜剥離残存である。出血は、注入する針を細くすること、硝子体手術に精通した眼科医が投与を施行することにより、危険性を下げることが可能である。また、網膜剥離の残存については、1)カニクイザルを用いた安全性試験では、全例1週間以内にベクター溶液が吸収されることを経験したこと、2)これまでに行われたLCAに対する臨床試験においても、網膜下に投与されたベクター溶液が数日で完全に吸収されていることから(10, 55)、可能性は高くない推察される。

(2) 遺伝子産物の安全性

PEDFはヒト胎児網膜色素上皮細胞の培養上清から分離・精製された因子であり、眼内局所において比較的豊富に存在する。PEDFの高発現時における生体への毒性は明らかではないが、眼内での過剰発現による毒性は非常に低いと考えられ、動物実験においても明らかな毒性は全症例で確認されていない。

さらに、米国において施行されているAdPEDFの硝子体内投与の臨床研究においても、ヒトPEDFの過剰発現による毒性は示されていない(25)。

(3) 安全性に関連する研究の成果

カニクイザルを用いたヒトPEDF搭載SIVベクター(SIV-hPEDF)の安全性に関する検討

遺伝子治療の臨床研究では、これまでに後述するような死亡例を含めた安全性に関する問題点が報告されている。

1) 米国ペンシルバニア大学で1999年に報告された死亡例(19歳男性、オルニチンカルバミラーゼ欠損症患者)では、肝動脈内へのアデノウイルスベクター投与による全身性炎症反応症候群(systemic inflammatory response syndrome: SIRS)が発症した(54)。

2) 2001年には、レトロウイルスベクターを用いたX連鎖重症複合免疫不全症(XSCID)に対する臨床研究において、治療を施した患者10名のうち4名にT細胞性白血病が発症した(発症後は化学療法によりコントロールされていたが、1名は死亡)。その後の検討により、これらのケースにおいては、造血幹細胞の増殖に関与するLMO2遺伝子や癌遺伝子であるCCND2の近傍にウイルスゲノムが逆向きに挿入されてこれらの遺伝子が活性化され、さらに染色体転座や遺伝子コピーの変化など多様な染色体異常を伴ってT細胞前駆細胞の増殖能が異常に活性化されたことが確認されており、ウイルスゲノムのヒト染色体への挿入が白血病発症の原因と考えられている(8, 50)。また、英国において施行されている同疾患に対する臨床研究において、1名にT細胞性白血病が発症したと最近報告されたが、この症例もフランスの事例と同様にLMO2遺伝子近傍へのプロウイルス挿入が確認されている(51)。

そこで、我々はSIVの自然宿主であるカニクイザルを用いた急性毒性試験(90日間の観察:8頭)と長期安全性試験を実施した。前者は既に終了しており、全身ならびに眼局所において重篤な副作用を認めていない(14、添付資料1)。以下にその概略を示す。

(方法の概略)

本実験(急性毒性試験)は、第I期には国立感染症研究所医学実験用霊長類センターにて繁殖育成された3~7歳のカニクイザル(*Macaca fascicularis*)雌1頭(動物番号#2)及び雄2頭(動物番号#7, 10)、第II期には2002年9月及び2004年7月に中国より輸入し、試験受託者により検疫された3~5歳のカニクイザル雄8頭(動物番号#14-16, 23, 25-28)を用いた。(担当者:寺尾恵治博士、小野文子博士、揚山直英博士)。

ベクター投与量は、投与するベクター濃度をlow titer (2.5×10^7 TU/ml) (3頭、動物番号#7, 25, 28)、その10倍量にあたるhigh titer (2.5×10^8 TU/ml) (3頭、動物番号#2, 14, 27)、さらにその4倍量にあたるmax titer (1.0×10^9 TU/ml) (3頭、動物番号#10, 15, 23)とし、網膜下に20-50 μ l注入した。コ

ントロールとして、人工眼内灌流液（BSS）を投与した個体も同様に検討した（2頭、動物番号#16, 26）。投与後術翌日、8日目、30日目、90日目に検体を採取し、また投与後翌日、8日目、30日目、90日目に眼底検査および眼底造影検査（投与後30日目と90日目のみ）を施行し、90日目に網膜機能を評価する目的で網膜電図測定を行った後、全身を解剖、諸臓器の一部を採取し、病理組織学的に検索した。

（主な結果）（14、添付資料1）

<1>一般状態：

観察期間を通じて死亡例ならびに重篤な副作用を生じた個体は認められなかった。

<2>体重：

著しい変動は認められなかった。

<3>体温：

ベクター濃度に依存した変化は認められなかった。

<4>脈拍、血圧、尿検査：

特記事項は認められなかった。

<5>血液学的検査：

接種1日後、全頭においてWBC数が上昇し、8日後にほぼもとのレベルに回復した。変化の度合いは投与したベクター濃度に依存しておらず、投与群及び対照群とも同様に上昇していた。その他の項目については特に異常は認められなかった。

<6>血清学的検査：

接種1日後、全頭においてGOT及びGPT値が顕著に上昇したが、投与3か月後には投与前の値に回復していた。CPK、LDH及びCRP値は投与1日後に顕著に上昇し、8日から1か月後に投与前の値に回復した。これらの変動は投与したベクター濃度に依存せず、投与群及び対照群ともほぼ同様であったため、これは試験プロトコルに起因するものと考えられた。その他の項目については、特に異常は認められなかった。

<7>血清サイトカインレベル（九州大学大学院病理病態学における検査）

1）血清IL-6はPEDF投与群のうち3個体（#23:最大濃度群、#25:低濃度群、#28:低濃度群）でわずかに一過性（接種1日後のみ）の上昇を認めた。これらの変動はベクター投与による影響の可能性はあるが、濃度依存性変化は認められなかった。また、その最大値は11.39 pg/mlと非常に低いレベルであった。

2）血清TNF- α は観察期間中、全個体において検出できなかった。

3）血清IFN- γ は観察期間中、全個体において検出できなかった。

4）血清IL-8のレベルは個体差が大きかったが、接種による変動は認めなかった。

<8>解剖・病理組織学的所見：

リンパ組織（顎下リンパ節、耳前リンパ節、単径リンパ節）の一部ならびに脾臓で濾胞の過形成が認められたが、未処置カニクイザルにおいても通常観察される所見であり、ベクター投与に起因する異常所見ではないと考えられた。また、採取した諸臓器（大脳、心臓、肺、肝臓、腎臓、脾臓、腎臓、副腎、空腸、生殖器＜精巣あるいは卵巣＞、骨髄）において、病理組織学的異常は認められなかった。

<9>前眼部所見：

術後一過性の炎症反応を認めた個体があったが、ベクター濃度に依存せず、点眼薬でのコントロールが可能であった。

<10>眼圧：

1個体（#15:最大濃度群）において、術後3か月での眼圧上昇が観察された。

<11>眼底検査

網膜下投与時の網膜穿刺部の網膜変性を認めた。また、ベクターならびにBSSを投与した部位（網膜剥離が生じた部位）に一致して網膜色素上皮細胞の色調のムラ（脱色素など）を認めた。

<12>蛍光眼底造影検査

網膜穿刺部の網膜変性の部位に一致した過蛍光（造影剤の漏出）を認めた。その他の部位に造影剤の漏出ならびに貯留は認めなかった。また、網膜色素上皮細胞の色調のムラの認められる部位に一致して、window defectを認めた。

<13>網膜機能評価（網膜電図）：

術後90日に、全網膜電図（full-field electroretinogram: full-field ERG）、ならびに多局所網膜電図（multifocal ERG）を測定し、ベクター投与の網膜機能に対する影響を検討した。両ERGにおいて、

すべての個体における明らかな網膜機能に対する影響は認められなかった。

長期安全性試験については、試験開始より約5年間の経過観察を行った。いずれの個体でも全身および眼局所における異常は検出されていない（添付資料2）。以下にその概略を示す。

（方法の概略）

本試験には、カニクイザル *Macaca fascicularis* 雄7頭（フィリピン SICONBREC, INC. 由来2頭〔#22, #24〕及び中国広西雄森霊長類実験動物養殖開発有限公司由来5頭〔#29-#33〕、いずれも2004年7月に輸入され試験受託者により検疫が実施された）を供した。これらの個体は2000年7月から2001年6月の生誕で、試験開始時は3～4歳であった。（担当者：小野文子博士、片貝祐子博士）。

ベクター投与量は、投与するベクター濃度を low titer (2.5×10^7 TU/ml) (4頭、#22, #24, #32, #33)、その10倍量にあたる high titer (2.5×10^8 TU/ml) (3頭、#29, #30, #31) とし、網膜下に 20-50 μ l 注入した。また#31, #32, #33の3頭については、一回目の投与から9か月後、無処置側の眼にベクター或いは BSS を投与した。投与後半年毎に検体を採取し、また眼底検査、眼底造影検査、および網膜電図測定を行った。最終観察日（約5年間）に全身を解剖、諸臓器の一部を採取し、病理組織学的に検索した。

（主な結果）（添付資料2）

< 1 > 一般健康状態

試験期間を通じて死亡は認められなかった。毎日の一般健康観察では、全頭において活動性に異常は認められなかった。食欲及び便性状にも全頭ほぼ異常は認められなかった。ただし、#31, #32 及び #33 で、固型飼料残餌或いは嘔吐が検査等処置後の数日間観察される場合があった。また#29で、2008年5月から2009年6月にかけて軟便或いは水様便が散発的に観察され、同時に全身の脱毛傾向が観察された。その間、食欲及び活動性に異常は認めなかった。2009年7月以降は正常便となり、脱毛も改善した。

< 2 > 体重

全頭において、2007年頃まで成長に応じた体重増加が認められ、その後の体重はほぼ一定に維持された。ほとんどの個体で急激な増減等異常な体重変動は認められなかった。なお#29は、2008年5月から2009年3月にかけて体重が漸減したが、2009年9月より体重増加が認められた。

< 3 > 体温

試験期間を通じてほとんど異常は認められなかった。ただし#29においては、2008年3月及び2009年3月の測定時、37度未満の低体温傾向が認められた。

< 4 > 脈拍・血圧

全頭において異常は認められなかった。

< 5 > 尿性状

#33ではしばしば蛋白が陽性であった。その他の個体では異常は認められなかった。

< 6 > 血液学的性状

全頭において異常値は認められなかった。

< 7 > 血清生化学値

#22 及び #24 では、接種翌日に CPK 値が上昇したが、2週間後には元のレベルに戻っていた。#29では、2006年3月、2008年8月及び2009年3月に BUN の軽度上昇が見られた。それ以外の個体では異常値は認められなかった。

< 8 > 眼圧

全頭において、左右いずれの眼にも明らかな異常値は認められなかった。なお、#30では、しばしば軽度高値の 20mmHg 以上を示した。

< 9 > 眼底所見

全頭において、眼底検査でベクター投与の際に生じた人工的な網膜剥離の範囲に一致して色素ムラが認められ、網膜への刺入部周囲は瘢痕化していた。視神経乳頭の発赤、腫脹は認めず、投与部位以外の網膜への影響も認められなかった。また、網膜剥離などの合併症も認めなかった。蛍光眼底検査では、早期より色素ムラに一致した window defect を認め、網膜が瘢痕化している部分は過蛍光を示した。視神経乳頭ならびに網膜血管から造影剤の漏出などは認められなかった。

< 10 > 病理学的及び病理組織学的所見

#24 を除く 6 頭において、脾臓或いは下顎リンパ節で明瞭な胚中心を持つリンパ濾胞の軽度の増数が見られたが、生理学的範疇を超える程度のもではなかった。#33 の剖検時に左肺後葉の癒着等が認められ、組織所見では軽度の誤嚥性気管支肺炎所見が認められた。いずれの個体においても自然発生或いは偶発的と考えられる軽微～軽度の所見が認められたが、明らかな異常所見は認められなかった。

眼球の病理組織学的検索では、網膜下投与を施行した眼球全てにおいて、投与部位付近の網膜色素上皮細胞に極めて軽度の色素ムラが認められた。High titer 投与群においては、視細胞層への少数のマクロファージ浸潤が限局的に認められたが、基本的な網膜構造は十分維持されていた。

以上、カニクイザルを用いた 2 つの安全性試験により、カニクイザルに対して重篤な毒性を発現しなかったことから、本ベクターの網膜下投与における毒性は極めて低いものと判断された。なお、試験期間中に観察された所見についての考察は以下の通りである。

1. 炎症について:急性毒性試験において前眼部に認められた術後早期の炎症所見は、ベクター濃度に非依存性であった。また、一過性であり、ステロイド点眼薬で消炎が可能であった。従って、手術手技に起因した一過性の炎症であり、投薬によるコントロールが可能と判断した。

2. 眼圧上昇について:急性毒性試験において、1眼で眼圧上昇が認められた。検眼鏡的に眼内に炎症所見等なく、その後の病理組織学的検討においても隅角閉塞や炎症所見など、続発性に眼圧が上昇する原因は認められなかった。また、長期安全性試験においては、眼圧が高度に上昇した個体はなかったことから、ベクター投与との直接的な因果関係はないと判断した。

3. 網膜変性について:ベクター投与時の穿刺部位の変性(癒痕化)は手術手技により生じる変化で、限局性であった。網膜機能へ大きな影響を生じなかったことから安全性に問題がないと判断した。

SIV ベクターのみならずレンチウイルスベクター全般において、霊長類における 2 年以上の長期観察を行っている報告はこれまで皆無であるため、染色体組込型ベクターの遠隔期に生体へおよぼす影響をモニターする意味で、国際的に見ても極めて貴重な情報になる。

8. 遺伝子治療臨床研究が実施可能であると判断した理由

これまでに、網膜色素変性 (RP) に対し臨床的に明らかに有効な治療法の報告はなく、日常診療においては、生活指導など患者の現有視力を有効に利用するための情報提供などといった care が中心となっているのが現状である。

前臨床効能試験成績より考察すると、本臨床研究計画は RP における視細胞変性の進行 (視機能の低下) を有意に遅延させることが期待でき、cure を目指した治療法となる可能性がある。

また、ヒトに対し非病原性ウイルスをベクターの基本骨格として用いていること、ベクターの相同組換えによる RCLs 発生の可能性が理論的に極めて低いこと、安全性試験により全身へのウイルス散布が検出されていないことから、発癌の可能性や子孫への影響に関する理論的危険性も低いと判断される。さらに各種安全性試験成績より、本研究計画で使用を想定している投与量であれば、免疫反応を含む生体への影響は比較的低いであろうと予測される。

九州大学病院眼科は、RP に関する永年の豊富な診療経験と優れた診断技術を有し、ベクター投与に際して必要となる硝子体手術に関しても豊富な経験をもつスタッフを擁している。さらに、本臨床研究の対象となる患者も九州を中心に全国から集まっており、系統立てた診療とデータ管理体制が整っている。既に九州大学病院眼科における網膜色素変性専門外来では、200 名以上の患者をフォローしており、そのほとんどの患者において 1 年以上の継続した視機能および全身状態に関する綿密なデータを集積している。

九州大学病院では、既に厚生労働大臣に意見を求め、九州大学病院長により実施了承を得た遺伝子治療臨床研究 (「血管新生因子 (線維芽細胞増殖因子: FGF-2) 遺伝子搭載非伝播型組換えセンダイウイルスベクターによる慢性重症虚血肢 (閉塞性動脈硬化症、バージャー病) に対する血管新生遺伝子臨床研究」) が進められており、カルタヘナ関連法、個人情報保護法を含め、本臨床研究の実施に必要な学内・院内のシステムは全て整っている。九州大学病院北棟 11 階には遺伝子治療専用病室 (無菌病棟内遺伝子治療室) を既に設置している。

以上から、本遺伝子治療臨床研究は実施可能であると判断する。

9. 遺伝子治療臨床研究の実施計画

(1) 遺伝子治療臨床研究を含む全体の治療計画

【本臨床研究の実施に際し設置される委員会】

本遺伝子治療臨床研究においては、選定患者の適応、臨床研究の安全性を客観的に判定するため、九州大学病院内に九州大学病院先進医療適応評価委員会を設置する。

この委員会は両性よりなる学内外の専門家より構成され、本臨床研究に関与する医師他は含まれない。本委員会においては、本臨床研究に関与する研究者は症例の提示以外の委員会会議への参加は行わないが、有害事象発現時の状況の説明など、委員会が必要と認めた場合には、総括責任者を含め本臨床研究に関与する医師の参加を要請することができる。いずれの場合も、症例の適応評価判定やステージアップ判定など決定事項の合議の際には、臨床研究に係る研究者は退席させる。また以下の委員会の委員は、必要に応じて患者の容態の診察や診療録などの直接閲覧する権限を有する。また委員会は必要に応じて、疾患専門委員など、委員以外の外部の専門家を招聘し、その意見を聴くことにより判定の参考にすることができる。

委員会の運営については、別途作成した手順書（別紙6）に従って行う。

各種判定結果については、会議ごとに結果報告書ならびに参加委員全員の署名または記名捺印を受けた議事録を作成し、九州大学病院長へ提出する。九州大学病院長は委員会の結果を受けて通知書を作成し、委員会の記録の写しとともに、総括責任者に提出する。特にステージアップ判定、有害事象・重大事態等発生時の因果関係判定、ならびに臨床研究全般の安全性評価総合判定については、会議ごとに結果報告書ならびに参加委員全員の署名または記名捺印を受けた議事録を作成し、九州大学病院長へ提出した後、その写しを九州大学病院遺伝子治療臨床研究倫理審査委員会、総括責任者および所轄官庁へ提出する。

・九州大学病院先進医療適応評価委員会（別紙6）：

〔役割1〕治療前適応評価

本臨床研究の候補として登録された患者の治療前検査が問題なく実施されたか検討する。治療前検査の実施に問題が無い場合、そのデータを参考に、患者の病状が選定基準に合致するか、そして除外項目に抵触しないかを検討することにより、本臨床研究の対象患者として適当か否かを判定する。

〔役割2〕ステージアップ適応評価

各ステージの安全性を注入後少なくとも28日目までのデータを基に九州大学病院先進医療適応評価委員会にて急性期の安全性が確認された後、次ステージを開始する。九州大学病院先進医療適応評価委員会での判定結果については、会議ごとに結果報告書ならびに参加委員全員の署名または記名捺印を受けた議事録を作成し、九州大学病院長へ提出する。またその写しを九州大学病院遺伝子治療臨床研究倫理審査委員会、総括責任者および所轄官庁へ提出する。

〔役割3〕有害事象・重大事態等発生時の対応

有害事象・重大事態等の発現に際し、総括責任者ならびに分担研究者・その他の協力者より状況の報告と臨床データの提示を求め、本臨床研究薬との因果関係、臨床研究の続行の可否について判定する。

〔役割4〕臨床研究全般の安全性評価総合判定

最後の被験者投与後2年間実施し、全症例の2年目のデータをもって九州大学病院先進医療適応評価委員会にて遠隔期の安全性を判定する。本委員会は最終報告書を九州大学病院長へ提出し、またその写しを九州大学病院遺伝子治療臨床研究倫理審査委員会、総括責任者および所轄官庁へ提出する。以上をもって本臨床研究の終了とする。

(注) 本臨床研究終了後、染色体組込型ウイルスベクターに関する米国FDAの推奨(2006年11月発行:Guidance for Industry; Gene Therapy Clinical Trials- observing participants for delayed adverse events)に則り、九州大学病院眼科において被験者のフォローアップを最低年1回、終生行う(フォローアップの方法は別途手順を定める)。フォローアップ期間中に生じた被験者に関する新たな知見(有害事象を含む)については、九州大学

病院眼科科長が速やかに報告書を作成し、九州大学病院遺伝子治療臨床研究倫理審査委員会および所轄官庁へ報告する。また本臨床研究の被験者が死亡した場合、原則的に投与眼球を含めた剖検を依頼するものとするが、被験者あるいはその家族が同意しない場合は、これを理由として臨床研究への被験者登録の条件としない。

【本臨床研究の実施手順】

【患者選定、登録から治療前検査】

本遺伝子治療臨床研究の適応が予測される患者については、九州大学病院にて患者ならびに家族（あるいは親族）に対し文書によるインフォームド・コンセント（第1回目）を行い、同意が得られた場合に限り、本臨床研究へエンロール（患者登録）し治療前検査を開始する。

【患者適応評価から治療実施】

治療前検査にて後述する選択基準に合致、さらに除外基準に抵触しないことが明らかになった場合、九州大学病院内に設置されている九州大学病院先進医療適応評価委員会にて適応を評価する。

2度にわたる十分なインフォームド・コンセントにより、被験者ならびに家族（あるいは親族）の文書による同意を得た後、以下の方法によって臨床研究を実施する。なお第1回目の同意取得の後に登録された被験者の適応は、治療前検査の結果を踏まえ、九州大学病院先進医療適応評価委員会により判定され、その結果を踏まえ第2回目の同意取得が成される。

1) 術前日より抗生物質を点滴静注する。術後3日まで点滴を継続する。抗生剤の点眼は術前日より開始し、術後も継続して行う。また手術操作等による眼内非特異炎症予防の目的で、術翌日よりステロイド剤の点眼を行う。

2) 術当日、九州大学病院北棟3階分子細胞調製センター内細胞保存ユニットに -80°C にて凍結保管してあるSIV-hPEDF溶液を封入しているバイアルを同施設内安全キャビネット内へ移動、溶液を溶解し、希釈溶媒であるBSSを用い最適に希釈する（治療低用量： 2.5×10^7 TU/ml、治療高用量： 2.5×10^8 TU/ml）。

3) 希釈したSIV-hPEDF溶液を専用のキャリアバック内に厳重に封入して、保冷下で九州大学病院南棟3階手術部へ搬入する。

4) 手術部にて局所麻酔（球後麻酔またはテノン囊下麻酔）下に、硝子体手術により中心部硝子体を切除後、後部硝子体剥離を作製。網膜面上に残存した後部硝子体膜ならびに内境界膜を剥離する。その後、SIV-hPEDF液を37Gもしくは41Gの網膜下注射針（ドルク社）を用いて網膜下に注入する。注入部位は眼底所見に基づき、原則、黄斑を回避した網膜に注入（原則4カ所、1カ所あたり50 μl 、合計液量200 μl 、図1）する。但し強い網膜癒着のためベクター液注入が困難な場合は、必要に応じて適宜減ずる。注入部裂孔は、手術中の所見に応じて術者の判断で適宜レーザーを施術し、硝子体腔へのベクター散布ならびに術後の網膜剥離を予防する。白内障を合併する患者には、同時に超音波乳化吸引術＋眼内レンズ挿入術を併用して施行する。なお、ベクター液濃度はベクター力価漸増的に2段階（治療低用量5例、治療高用量15例）設定し、第1ステージの安全性を注入後少なくとも28日目までのデータを基に九州大学病院先進医療適応評価委員会にて急性期の安全性が確認された後、第2ステージを開始する。九州大学病院先進医療適応評価委員会での判定結果については、会議ごとに結果報告書ならびに参加委員全員の署名または記名捺印を受けた議事録を作成し、九州大学病院長へ提出する。またその写しを九州大学病院遺伝子治療臨床研究倫理審査委員会、総括責任者および所轄官庁へ提出する。

5) ベクター投与後、第一種使用規程に基づいたベクターの拡散防止措置を取りつつ、被験者を速やかに遺伝子治療室（北棟11階遺伝子治療室：1181号室および1182号室）へ搬送・隔離する。原則として同室における7日間の管理を行い、血液中および尿中にベクターゲノムが検出されないことを確認の上隔離を解除、一般病棟（南棟11階眼科病棟）へ転棟する。7日目のサンプルにてベクターゲノムが検出された場合、陰性化するまで適宜隔離期間を延長する。

6) 別紙1に掲げるタイムスケジュールで安全性の評価に関する検査（視力、眼圧、前眼部細隙灯検査、および眼底検査などの眼科的検査、バイタルサイン、呼吸機能検査、心機能検査、腎機能検査、肝機能検査、一般血液・血清検査、尿検査、ベクターゲノムコピー数測定、ヒト水疱性口内炎ウイルス抗体価など）を行う。

(2) 被験者の選定基準及び除外基準

選定基準:以下のすべての条件を満たす患者の片眼を対象とする。対象眼は、視力・視野により総合的に判定し、視機能の低い非優位眼とする。

- 1) 厚生労働省特定疾患治療研究事業、網膜脈絡膜・視神経萎縮に関する調査研究班の定める診断基準(別紙2)に従い、2名以上の眼科専門医によって網膜色素変性と診断された患者(ゲノム診断は原則として行わない)
- 2) 成人(満40歳以上)
- 3) 九州大学病院眼科において、視野検査、および網膜電図が定期的に施行されており、それらのデータが被験者登録予定日より逆算して1年以上記録・保管されている患者

選定根拠:

①適応疾患:網膜色素変性

網膜色素変性は現状で有効な治療法が確立されていない難治性の疾患である。これまでに報告されている疾患モデル動物に対する神経栄養因子を用いた遺伝子治療研究より、同様の機序にて網膜変性が生じる患者に視細胞保護療法の効果が期待できる。また、網膜色素変性であっても、対側眼を失明している者、緑内障やその他の網膜ならびに網膜下に病変を合併する症例の場合は遺伝子治療の効果が低下する可能性が想定されるため、今回の臨床研究では適応から除外することとした(除外項目2, 3, 4, 5)。

②性別:男性及び女性(妊娠中、妊娠の可能性のある女性、あるいは授乳中の女性は除く)

性別による視細胞保護療法の効果の差異は報告されていないが、遺伝子治療は子孫への影響と安全性が確立していないため、妊娠中及び妊娠が疑われる女性は除く(除外項目14)。また授乳による子へのベクター移行に関する知見は明確ではなく、従って授乳期の女性は除く(除外項目14)。

③年齢:成人(満40歳以上)

年齢による視細胞保護療法の効果の差異は報告されていないが、遺伝子治療は子孫への影響と安全性が確立していない。子孫への予期せぬ影響を起こす可能性があり、ベクター投与後最低12ヶ月の避妊が必要である。

④対象:網膜色素変性の患者であり、かつ病状の安定している患者

網膜色素変性は一般に慢性に進行する疾患であり、少なくとも1年間は視力・視野などの検査データにより病状が安定しており、急激な視力低下をきたす黄斑部疾患などの合併症を発症していないことを確認する(除外項目3)。また、遺伝子治療の性質に鑑み、代替医療が無く、かつ厚生労働省、文部科学省のガイドラインを満たす患者を選定する。

候補対象患者は治療前検査データを基に九州大学病院内に設置する九州大学病院先進医療適応評価委員会にて適応を評価する。

除外項目:

以下に適合する患者は今回の臨床研究の対象としない。

- 1) HIV 抗体陽性の患者(注)
(既感染の有無について事前に治療前検査として本検査を実施することを説明)
- 2) 対側眼が失明している患者
- 3) 網膜色素変性による黄斑部疾患(黄斑変性、黄斑浮腫、など)を合併する患者
- 4) 緑内障を合併している患者
- 5) 眼底検査(蛍光眼底造影検査、スキャニングレーザー眼底撮影なども含む)にて、網膜もしくは網膜下に網膜色素変性によらない病変(例:網膜出血、網膜浮腫、網膜下増殖組織など)を合併する患者
- 6) 重篤なアレルギーを有する、あるいは既往のある患者
- 7) 慢性人工透析を受けている患者
- 8) 重症の心機能障害、心不全を有する患者(例:左室駆出率<40%、NYHA-II度以上など)

- 9) 重篤な肝機能障害、肝硬変を有する患者
(例：AST あるいは ALT 値が施設正常値上限の 2 倍以上、Child B あるいは C など)
- 1 0) 活動性の炎症性疾患を有する患者
(例：活動期の膠原病、慢性関節リウマチ、潰瘍性大腸炎、敗血症など)
- 1 1) 最近 6 ヶ月以内に脳出血、脳梗塞などの既往のある患者
- 1 2) 血液疾患を有する患者
(例：重度の貧血、白血病、再生不良性貧血など)
- 1 3) アルコール依存症、薬物依存症患者
- 1 4) 妊娠中の女性、妊娠が疑われる女性、あるいは授乳中の女性患者
- 1 5) ベクター投与後最低 12 ヶ月の避妊に同意が得られない患者。
- 1 6) その他、本臨床研究により不利益を受けると予測される患者、および本人ならびに家族(あるいは親族)の文書による同意が得られない患者など、九州大学病院先進医療適応評価委員会が不適当と見なした患者

(注) HIV 既感染者は、本臨床研究で使用する SIV ベクターとの相同組換えにより自己増殖能を有するウイルス (replication competent lentivirus: RCL) が出現する可能性が、低頻度ながら否定出来ないため、その既感染の有無に関するチェックを必須とする。

<被験者選定に必要な検査項目(治療前 4 日までに施行)>

- 1) 眼科的検査所見：
 - (1) 視力・視野検査
視力は、万国式試視力表 (ランドルト環) を用いて測定し、log MAR 視力にて表す。視野は、Goldmann 視野計、ハンフリー自動視野計もしくはそれに準ずる視野計を用いた視野を測定する。また、厚生労働省特定疾患治療研究事業、網膜脈絡膜・視神経萎縮に関する調査研究班の定める重症度分類を行う。
 - (2) 眼底検査
散瞳剤を用いて散瞳して後極部ならびに周辺部網膜を詳細に観察し、網膜変性部を記録する。また、視神経ならびに黄斑部を含む後極部の眼底写真を記録・保存する。
- 2) 現病歴・既往歴の問診：

特に以下の項目について、十分な問診を行う。

 - (1) アレルギー歴 (例：喘息重積発作やアナフィラキシーなどの既往の有無)
 - (2) 手術歴 (例：悪性腫瘍の摘出手術の有無)
 - (3) 既往歴 (例：心不全、脳梗塞、血液疾患などの既往の有無)
 - (4) 常用薬 (例：向精神薬などの常習性の有無)
 - (5) 喫煙歴
 - (6) 併存疾患
- 3) 病状に対する検査

以下の検査を、確定診断と臨床病期確定のために行う。

 - (1) 眼圧検査
Goldmann 眼圧計、もしくはそれに準ずる眼圧計を用いて測定する。
 - (2) 細隙灯検査
 - (3) 蛍光眼底造影検査 (FA、IA)
 - (4) 網膜電図 (ERG)、ならびに多局所網膜電図 (multifocal ERG)
 - (5) 光干渉断層計 (OCT)
 - (6) 暗順応曲線
- 4) 全身状態検索のための検査
 - (1) バイタルサイン：

体重、体温、血圧 (収縮期/拡張期)、脈拍
 - (2) 呼吸機能検査：

胸部 X 線 (正、横)

- (3) 心機能検査：
12 誘導心電図、心エコー（左室駆出率、壁運動等）
- (4) 腎機能検査：
BUN、クレアチニン、クレアチニンクリアランス、尿蛋白、尿潜血
- (5) 肝機能検査：
アルブミン、総ビリルビン、直接ビリルビン、AST、ALT、アルカリフォスファターゼ、LDH、 γ -GTP
肝炎ウイルス検査（HBs 抗原、HCV 抗体）
- (6) 血液・凝固系：
赤血球数、ヘモグロビン、ヘマトクリット、白血球数、白血球分画、血小板数、PT、APTT、フィブリノーゲン
- (7) 炎症マーカー：
CRP
- (8) 糖尿病関連検査
空腹時血糖、HbA1c
- (9) 血液電解質：
Na、K、Cl、Ca
- (10) 悪性腫瘍スクリーニング検査
 - a) 頭部・胸部・腹部 CT
 - b) 血清 PSA-ACT（男性のみ）
 - c) 便潜血
 - d) 直腸診
 - e) 上部消化管内視鏡
 - f) 子宮頸部細胞診（女性のみ）
- (11) 妊娠検査（女性のみ）
尿中 HCG
- (12) HIV 否定検査

なお被験者の負担軽減のため、除外項目判定のための以下の検査については、同意日以前 3 ヶ月以内に実施された検査結果を用いることができることとする。九州大学病院以外の施設で実施された検査については、撮影フィルムおよび検査報告書のコピーを入手し、カルテ並びに臨床研究記録に保存するものとする。

- (1) 頭部・胸部・腹部 CT
- (2) 上部消化管内視鏡
- (3) クレアチニン・クリアランス
- (4) 子宮頸部細胞診

<治療前検査項目（治療前 3 日～1 日までに施行）>

第 2 回目同意取得後に以下の検査を実施する。

- 1) 眼科的検査所見：
 - (1) 視力・視野検査
 - (2) 眼底検査
- 2) 病状に対する検査
以下の検査を、確定診断と臨床病期確定のために行う。
 - (1) 眼圧検査
Goldmann 眼圧計、もしくはそれに準ずる眼圧計を用いて測定する。
 - (2) 細隙灯検査
- 3) 全身状態検索のための検査
 - (1) バイタルサイン：
 - 体重
 - 体温、血圧（収縮期／拡張期）、脈拍（-1 日に実施）
 - (2) 腎機能検査：
BUN、クレアチニン、尿蛋白、尿潜血

(3) 肝機能検査：

アルブミン、総ビリルビン、直接ビリルビン、AST、ALT、アルカリフォスファターゼ*、LDH、 γ -GTP*

*：必須ではない

(4) 血液・凝固系：

赤血球数、ヘモグロビン、ヘマトクリット、白血球数、白血球分画、血小板数、PT、APTT、フィブリノーゲン

(5) 炎症マーカー：

CRP

(6) 血液電解質：

Na、K、Cl、Ca

(7) 血清サイトカイン定量 (ELISA 法)

IL-1 β 、IL-4、IL-6、IL-8、TNF- α 、INF- γ

(8) 血清中ならびに尿中 SIV-hPEDF 由来核酸配列の検出 (RT-PCR 法)

血清および尿より採取した RNA を鋳型に逆転写を行い、生成された cDNA に対して以下のプライマーを用いて PCR を行い、SIV-hPEDF のパッケージングシグナル (Ψ) 領域を検出する。

(フォワードプライマー: CGGAGGGCTTAAAAAGTCTGTTC,

リバースプライマー: ATAGGGCTTGAAACATGGGTACT)

(9) 血清中抗ヒト水疱性口内炎ウイルス抗体価 (ELISA 法)

(10) 原因遺伝子検査 (ゲノム診断)

本臨床研究では、対象患者の選定に際してゲノム診断は実施しないが、治療効果との因果関係など、原因遺伝子の検索が必要となる場合の準備として、被験者よりベクター投与前に血清を採取し、診療科にて凍結保存する。

(3) 被験者の同意の取得方法

網膜色素変性に対して現時点で有効な治療法がないこと、本臨床研究の実施に同意しない場合であっても何ら不利益は受けないこと、本臨床研究の理論的背景と動物実験成績、安全性に関する成績、本臨床研究により起こりうる副作用、他の開発中の治療法、個人情報保護、等に関して十分な説明を被験者本人及び家族（あるいは親族）に対して行い、その十分な理解を得た上で自由な意思に基づいて本臨床研究の被験者となることについて文書により同意を得る。

同意の取得は患者登録時、および全身検査が終了し、九州大学病院先進医療適応評価委員会が適応有と判定した後の、計2度行う。

また、同意に関連し得る新たな重要な情報を入手した場合は、その情報を被験者及び家族（あるいは親族）に伝え、継続して参加するか否かについて被験者の意思を確認する。

(4) 実施期間及び目標症例数

研究実施期間：承認時より 60 ヶ月

各症例の研究実施期間：遺伝子導入後 24 ヶ月

(本臨床研究の安全性は全症例への投与終了後、24 ヶ月の観察を以て判定される)

追跡調査期間：臨床研究終了後、最低年 1 回、可能な限り外来受診でのフォローアップを終生実施する

本臨床研究終了後、染色体組込型ウイルスベクターに関する米国 FDA の推奨(2006 年 11 月発行: Guidance for Industry; Gene Therapy Clinical Trials- observing participants for delayed adverse events) に則り、九州大学病院眼科において被験者のフォローアップを最低年 1 回、終生行う。フォローアップ期間中に生じた被験者に関する新たな知見(有害事象を含む)については、九州大学病院眼科科長が速やかに報告書を作成し、九州大学病院遺伝子治療臨床研究倫理審査委員会、および所轄官庁へ報告する。また本臨床研究の被験者が死亡した場合、原則的に投与眼球を含めた剖検を依頼するものとするが、被験者あるいはその家族が同意しない場合は、これを理由として臨床研究への被験者登録の条件としない。

目標症例数：20 例 (2 段階：治療低用量 5 例、治療高用量 15 例)

投与後の経過時間によるフォローの方法は以下のとおりとする。

- 1) 投与後 24 ヶ月まで(プロトコールで規定する観察期間): 12 ヶ月までは 1 ヶ月ごと、24 ヶ月までは 2 ヶ月ごとの規定のビジットに来院検査
- 2) 投与後 36 ヶ月まで: 3 ヶ月に 1 回の来院検査
- 3) 投与後 60 ヶ月まで: 6 ヶ月に 1 回の来院検査
- 4) 投与後 5 年以降: 可能なかぎり 1 年に 1 回の来院検査。不可能な場合は、担当医による電話もしくは郵便によるフォローアップ確認実施

(5) 遺伝子治療臨床研究の実施方法

① 対照群の設定方法

本研究計画に用いるベクターは世界的に使用例がないことを鑑み、安全性の評価を主眼とした最大使用量までの 2 段階の用量漸増式とし、対照群は置かない。但し本臨床研究は片眼のみを対象としているため、非投与眼の所見を便宜上の対照とする。

治療低用量群において 5 名の投与が終了し、5 例目の投与が終了して 28 日間までの時点で、九州大学病院内に設置され、院内外の委員からなる九州大学病院先進医療適応評価委員会を開催、治療低用量群 5 名の患者の 28 日までの全ての臨床データをもとに安全性(急性期)を評価する。本委員会で安全性に問題がないと判断された場合、総括責任者は、委員会結果報告書及び参加委員全員の署名又は記名捺印を受けた議事録の送付を受けて、治療高用量群の症例エントリーを開始する。

② 遺伝子導入方法

局所麻酔(球後麻酔またはテノン嚢下麻酔)下に、硝子体手術により中心部硝子体を切除後、後部硝子体剥離を作製。網膜面上に残存した後部硝子体膜ならびに内境界膜を剥離する。その後、SIV-hPEDF 液を 37G もしくは 41G の網膜下注射針(ドルク社)を用いて網膜下に注入する。注入部位は眼底所見に基づき、原則、黄斑を回避した網膜に注入(原則 4 カ所、1 カ所あたり 50 μ l、合計液量 200 μ l、図 1) する。但し強い網膜癒着のためベクター液注入が困難な場合は、適宜減ずる。注入部裂孔は、手術中の所見に応じて術者の判断で適宜レーザーを施術し、硝子体腔へのベクター散布ならびに術後の網膜剥離を予防する。白内障を合併する患者には、同時に超音波乳化吸引術+眼内レンズ挿入術を併用して施行する。なお、ベクター液濃度はベクター力価漸増式に 2 段階(治療低用量 5 例、治療高用量 15 例)設定する。

③ 前処置及び併用療法の有無

本臨床研究の対象は既存の外科手術を含めた治療法が無効であることが自明である患者のみとする。

被験者の不利益を最小限にすること、本臨床研究が安全性評価を主眼にすることを考慮し、併用薬剤に関しては抗ウイルス剤を除き、特に制限しない。

抗ウイルス剤は患者登録から投与後 28 日後の検査終了後まで有害事象の処置を除き使用しない。

併用薬剤には以下のものが挙げられるが、これに限るものではない。

- 1) 亜硝酸剤
- 2) 降圧剤
- 3) 血小板機能抑制剤
- 4) 抗凝固剤、血栓溶解剤
- 5) 血管拡張剤
- 6) 消炎鎮痛剤、消炎酵素剤
- 7) ステロイド
- 8) 抗生物質
- 9) 抗高脂血症剤
- 10) 蛋白分解酵素阻害剤
- 11) 抗アレルギー剤、抗ヒスタミン剤
- 12) その他

④ 臨床検査項目及び観察項目

本臨床研究における安全性の判定、有害事象の予見のために、以下の各種検査を実施する。
なお検査実施時期については、別紙1に記載する。

但し、病状によっては設定した時期以外にも実施されることがある。

1) 眼科的検査所見:

(1) 視力・視野検査

視力は、万国式試視力表（ランドルト環）を用いて測定し、log MAR 視力にて表す。視野は、Goldmann 視野計、ハンフリー自動視野計もしくはそれに準ずる視野計を用いた視野を測定する。また、厚生労働省特定疾患治療研究事業、網膜脈絡膜・視神経萎縮に関する調査研究班の定める重症度分類を行う。

(2) 眼底検査

散瞳剤を用いて散瞳して後極部ならびに周辺部網膜を詳細に観察し、網膜変性部を記録する。また、視神経ならびに黄斑部を含む後極部の眼底写真を記録・保存する。

2) 病状に対する検査

以下の検査を、効果判定の参考のために、予め設定した時期に実施する。

但し、病状によっては設定した時期以外にも実施されることがある。

(1) 眼圧検査

Goldmann 眼圧計、もしくはそれに準ずる眼圧計を用いて測定する。

(2) 細隙灯検査

(3) 蛍光眼底造影検査 (FA、IA)

(4) 網膜電図 (ERG)、ならびに多局所網膜電図 (multifocal ERG)

(5) 光干渉断層計 (OCT)

(6) 暗順応曲線

<安全性評価のための検査>

(1) 症状に関する問診:

アレルギーの有無 (例: 発疹、呼吸困難感) など

(2) バイタルサイン:

体重、体温、血圧 (収縮期/拡張期)、脈拍

(3) 呼吸機能検査:

胸部 X 線 (正、横)

(4) 腎機能検査:

BUN、クレアチニン、尿蛋白、尿潜血

(5) 肝機能検査:

アルブミン、免疫グロブリン (IgG、IgA、IgM、IgE)、総ビリルビン、直接ビリルビン、AST、ALT、アルカリホスファターゼ、LDH、 γ -GTP

(6) 血液・凝固系:

赤血球数、ヘモグロビン、ヘマトクリット、白血球数、白血球分画、血小板数、PT、APTT、フィブリノーゲン

(7) 炎症マーカー:

CRP

(8) 血液電解質:

Na、K、Cl、Ca

(9) 悪性腫瘍スクリーニング検査

a) 頭部・胸部・腹部 CT

b) 血清 PSA-ACT (男性のみ)

c) 便潜血

d) 直腸診

e) 上部消化管内視鏡

f) 子宮頸部細胞診 (女性のみ)

(10) 妊娠検査 (女性のみ、必要な場合)

尿中 HCG

- (1 1) 血清サイトカイン定量 (ELISA 法)
IL-1 β 、IL-4、IL-6、IL-8、TNF- α 、INF- γ
- (1 2) 血清中ならびに尿中 SIV-hPEDF 由来核酸配列の検出 (RT-PCR 法)
血清および尿より採取した RNA を鋳型に逆転写を行い、生成された cDNA に対して以下のプライマーを用いて PCR を行い、SIV-hPEDF のパッケージングシグナル (Ψ) 領域を検出する。
(フォワードプライマー: CGGAGGGCTTAAAAAGTCTGTTC,
リバースプライマー: ATAGGGCTTGAAACATGGGTACT)
- (1 3) 血清中抗ヒト水疱性口内炎ウイルス抗体価 (ELISA 法)
- (1 4) 前房水採取 (27G 針による前房水穿刺: 同意が取れた被験者のみ)
ヒト PEDF 蛋白測定 (ELISA 法)
- (1 5) 病理解剖
遺伝子導入後の死亡例で、家族あるいは親族の承諾が取れた症例全てにおいて病理解剖 (剖検) を行う。通常の全身解剖に加え、遺伝子導入眼を摘出し、PCR 法による SIV-hPEDF 由来核酸の検出 (全身分布)、眼内におけるヒト PEDF 濃度の測定、ならびに病理組織学的検討を行う。

有害事象

定義: 本臨床研究が実施された被験者に生じたあらゆる好ましくない医療上のできごと。必ずしも本治療との因果関係が明らかなもののみを示すものではない。つまり有害事象とは、本治療に際して起こる、あらゆる好ましくない、あるいは意図しない徴候 (臨床検査値の異常変動を含む)、症状、又は病気のことであり、当該臨床研究薬との因果関係の有無は問わない。

本臨床研究薬との因果関係が否定できないものを副作用とする。

記録・報告内容:

上記安全性評価のための検査において有害事象が認められた場合は、以下の細目について症例記録用紙に記録する。

- a) 有害事象の症状の詳細と、その前後の状況
- b) 有害事象の重症度 (程度)
有害事象の重症度を下記の 3 段階で判定し、記録する。
 - 1: 軽度 (通常の活動に支障なし)
 - 2: 中等度 (通常の活動に支障となる)
 - 3: 高度 (通常の活動を不可能にする)なお、通常の活動を可能とするために、何らかの治療・処置が必要となる有害事象の場合は、中等度あるいは高度と判定する。
- c) 発現日
有害事象の発現日 (または確認日) を記録する。
- d) 処置
有害事象に対して行われた処置について記録する。
- e) 転帰
有害事象の転帰について下記の基準により判断し、記録する。
転帰を確認した日付も同時に記録する。
 - 1: 後遺症あり: 有害事象により後遺症が残った
 - 2: 未回復: 有害事象が回復していない
 - 3: 軽快: 有害事象の程度が発現当時と比較して軽快している
 - 4: 回復: 発現した有害事象が消失した
 - 5: 死亡
 - 6: 不明
- f) 併用薬および臨床研究薬以外の被疑薬の有無
有害事象発生前後の併用薬の投薬状況について、全て記録する。併用薬の中に有害事象との関連が疑われるものがある場合は、その旨、ならびにその根拠について略述する。

有害事象と臨床研究薬の関連性の判定は、以上の臨床的所見ならびに診療録（併用薬、併用療法、合併症、患者背景）などを総合的に考慮し、九州大学病院先進医療適応評価委員会は以下の4段階で判定する。本委員会の結果報告書ならびに参加委員全員の署名または記名捺印を受けた出席リストを添付した議事録を作成し、九州大学病院長へ提出する。九州大学病院長は委員会の結果を受けて通知書を作成し、委員会の記録の写しとともに、総括責任者に提出する。またその写しを九州大学病院遺伝子治療臨床研究倫理審査委員会、および所轄官庁へ提出する。

関連性の4段階評価：

- 1：明確にあり
臨床研究薬を投与した後、一定期間内に発現した事象であり、他の要因（原疾患、環境因子、他の薬剤や治療など）との関連性が否定され、投薬中止により症状が消失した場合。
- 2：多分にあり
臨床研究薬を投与した後、一定期間内に発現した事象であり、他の要因（原疾患、環境因子、他の薬剤や治療など）との関連性がおそらくないと考えられ、投薬中止により症状が消失した場合。
- 3：可能性を否定できない
臨床研究薬を投与した後、一定期間内に発現した事象であり、臨床研究薬と有害事象が関連する可能性があるが、他の要因（原疾患、環境因子、他の薬剤や治療など）との関連性も否定できない場合。
- 4：関連無し
明らかに臨床研究薬との関連性が否定でき、かつ明らかに他の要因（原疾患、環境因子、他の薬剤や治療など）との関連性がある場合。あるいは臨床研究薬を投与した後、一定期間外に発現した事象であり（投与してから有害事象が起こるまでの期間が明らかに短すぎる、もしくは長すぎる）、かつ明らかに他の要因（原疾患、環境因子、他の薬剤や治療など）との関連性がある場合。

⑤ 予想される副作用及びその対処方法

1) 本臨床研究において、特有に見られる可能性がある副作用

(a) 網膜下投与の操作に伴う、可能性がある副作用

- (1) 一般的事項（投与眼周囲の痛み・腫脹）
→（対処法）非ステロイド系消炎・鎮痛剤の投与等、適切な対処を行う。
- (2) 細菌性眼内炎
→（対処法）抗生物質の投与等、適切な対処を行う。炎症が高度の場合は硝子体手術を施行する場合もある。
- (3) 網膜・脈絡膜出血、硝子体出血
→（対処法）止血剤、血管強化剤の投与。硝子体出血が遷延する場合は硝子体手術による洗浄を施行する。
- (4) 網膜裂孔および網膜剥離
→（対処法）網膜剥離の原因となる裂孔周囲にレーザー光凝固を施行する。光凝固により網膜剥離の進行が防止できない場合は手術（硝子体手術、もしくは強膜内陥術）を施行する。
- (5) 増殖硝子体網膜症
→（対処法）硝子体手術を施行する。

(b) ベクター（組換えアフリカミドリザル由来サル免疫不全ウイルスベクター）に関して起こりえる副作用

(1) 発がんの可能性

本ベクターは細胞へ遺伝子を導入した後、核内で逆転写酵素によりDNAへ変換される。変換されたDNAはLTR (long terminal repeat) の働きにより宿主細胞のゲノムDNAに組み込まれる。この組み込みにより、遺伝子挿入変異誘発 (insertional mutagenesis) を生

じる可能性がある。少なくとも動物実験では確認されていないが、この機序による発がんを惹起する危険性は否定できない。

→ (対処法) 遺伝子治療後、臨床研究期間内だけでなく臨床研究終了後も、外来にて定期的に悪性腫瘍に関するスクリーニングを行う。

(2) SIRS (systemic inflammatory response syndrome)

他のウイルスベクターで報告されているのと同様、生体へ投与された後、軽度ではあるが、自然免疫系の賦活化による眼内炎症性サイトカインの誘導、獲得免疫の誘導による抗体産生と細胞傷害性 T 細胞の誘導がマウス、サルなどで確認されており、これらが患者の病状へ悪影響を及ぼす可能性は否定できない。

→ (対処法) 血清中サイトカイン、血中抗ヒト水疱性口内炎ウイルス抗体価、血中・尿中アフリカミドリザル由来サル免疫不全ウイルスゲノムコピー数、を予め設定した時期 (別紙 1) に測定し、被験者へ悪影響を及ぼす危険性の予見を行う。

(3) 眼圧上昇

サルにおける安全性試験 (急性毒性試験) の 1 個体において、術後 3 ヶ月での持続した眼圧上昇が観察されている。ベクター投与との因果関係は明らかではないが、眼圧上昇により、患者の視機能へ悪影響を及ぼす可能性は否定できない。

→ (対処法) 眼圧測定、隅角鏡検査を定期的に施行し、患者への悪影響を及ぼす危険性の予見を行う。眼圧上昇に対しては、緑内障治療薬点眼など適切な処置を行う。

(c) ヒト色素上皮由来因子 (PEDF) の過剰発現に伴い、予想される副作用

本来、PEDF は網膜色素上皮細胞より恒常的に分泌されているタンパクであり、眼内には比較的少量に存在するため、眼局所においては過剰発現に対する安全域は広いことが予想される。また、その生理活性は神経保護効果と病的血管新生に対する抑制効果であるため比較的 안전한タンパクであると考えられ、眼内の環境を悪化させる可能性は低いと考えられる。さらに、安全性試験における SIV-hPEDF 投与眼に肉眼的ならびに光学顕微鏡的に病的な変化を認めなかったことから、眼局所への影響は少ないと考えられる。全身への影響は現時点では予測不能であるが、安全性試験では重篤な副作用は観察されていない。

さらに、米国において施行されている AdPEDF の硝子体内投与の臨床研究においても、ヒト PEDF の過剰発現による毒性は示されていない (25)。

2) これまでの国内外の報告から、遺伝子治療一般に比較的良好に見られる軽い副作用
対処法は定型的なものを記載するが、これに限るものではない。

< 1 > 感冒様症状 (発熱、鼻水、など)

→ (対処法) 消炎鎮痛剤、消炎酵素剤、抗生物質、抗アレルギー剤、抗ヒスタミン剤等の投与

< 2 > 消化器症状 (下痢、吐き気など)

→ (対処法) 症状に合わせた薬剤等の投与

< 3 > 軽いアレルギー性反応 (発疹など)

→ (対処法) 抗アレルギー剤、抗ヒスタミン剤、ステロイド等の投与

< 4 > 軽度の白血球減少

→ (対処法) 原則的に経過観察

3) これまでの国内外の報告から、まれではあるが遺伝子治療に見られた比較的に強いと考えられる副作用。対処法は定型的なものを記載するが、これに限るものではない。

< 1 > 腎機能障害

→ (対処法) 試験中止、抗ウイルス薬、輸液、利尿剤等の投与

< 2 > 骨髄抑制 (高度の貧血、高度の白血球減少など)

→ (対処法) 試験中止、抗ウイルス薬、G-CSF 投与、輸血

< 3 > 重度のアレルギー症状 (喘息発作、ショック)

→ (対処法) 試験中止、ステロイド投与

< 4 > 血液凝固障害（出血傾向、血栓症など） など
→（対処法）試験中止、蛋白分解酵素阻害剤、血栓溶解剤投与など

4) その他、本臨床研究の実施における、評価等の検査に付随して起こりえる副作用
通常の検査・処置と同様に、十分なインフォームド・コンセントを行う。

< 1 > 蛍光眼底造影検査：悪心、嘔吐、じんま疹、造影剤に対するショックなど。

5) 有害事象等重大事態発生時の報告等について：

< 1 > 重大事態等：下記のいずれかに該当する場合は、「重大事態等」として取り扱う。

(1) 被験者が死亡した場合

(2) 重篤^{注)}な副作用が発生した場合

(3) 本臨床研究の実施に影響を及ぼす可能性のある知見（国内外を問わない）を入
手した場合

注) 重篤の定義

(1) 死亡

(2) 死亡につながる恐れのある事象

(3) 入院または入院期間の延長が必要とされる事象

(4) 永続的もしくは重大な機能障害・機能不全を呈した事象

(5) 先天異常・出生異常

(6) その他医学的に重要な事象

「死亡」、「死亡につながる恐れ」または「入院」には至らなくとも、被験者を危険に
さらしたり、上記のような結果に至らぬように内科的または外科的処置を必要とした
場合には、適切な医学的判断に基づいて、重篤な事象と判断する。

< 2 > 重大事態発生時の対応・報告手順（別紙 7）

(1) 報告手順：重大事態の場合、別紙 6 の委員会の規程、内規及び、別紙 7 の重大
事態発生時の流れに従い九州大学病院長、九州大学病院先進医療評価委員会、九州
大学病院遺伝子治療臨床研究倫理審査委員会、九州大学病院高度先端医療センター
ならびに所轄官庁へ速やかな報告を行う。この時の重篤な副作用の本臨床研究との
関連性については、総括責任者の判断とする。

(2) 記録・報告内容：総括責任者と実施担当医師は、重大事態報告書（様式 A-2 又
は A-3）を用いて報告を行い、同一のものをカルテに添付する。

< 3 > 重大事態でない有害事象の対応・報告手順（別紙 7）

重大な事態でない有害事象は、次ステージへの移行時、必要時、及び総合的判定時実施
された九州大学病院先進医療評価委員会の評価の結果をもって九州大学病院長、九州大
学病院遺伝子治療臨床研究倫理審査委員会ならびに所轄官庁へ報告する。

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

以下の各項目について集計し、本臨床研究の安全性については九州大学病院先進医療評価委員会
が総合的判定を行う。

判定時期は全症例の投与が終了し、全症例の観察期間が 24 ヶ月を終了、24 ヶ月目までの観察デ
ータ全ての仮固定が終了した時点で、総括責任者が九州大学病院長ならびに九州大学病院先進医療
評価委員会へ判定依頼を行う。依頼を受けた九州大学病院先進医療評価委員会は判定作業を行う。
判定作業終了後、委員会は判定結果について、結果報告書ならびに参加委員全員の署名または記名
捺印を受けた議事録を作成し、九州大学病院長へ提出する。また、その写しを九州大学病院遺伝子
治療臨床研究倫理審査専門委員会、総括責任者および所轄官庁へ提出する。

安全性に関する観察・検査項目・日程の詳細は別紙 1 の通りである。

なお、本臨床研究の安全性判定は投与後 24 ヶ月までのものを使用するが、本研究で用いるウイ
ルスベクターが世界で初めてのヒトへの投与となることを鑑み、臨床研究終了後も終生、九州大学
病院眼科にてフォローアップを行う。

1) 安全性に関する判定に必要な検査項目 (別紙1)

<1>有害事象

<2>臨床症状: アレルギー (発疹、呼吸困難など) の発現の有無など。

<3>バイタルサイン: 体重、体温、血圧、脈拍

<4>眼科的検査

(1) 視力・視野検査

視力は、万国式試視力表 (ランドルト環) を用いて測定し、log MAR 視力にて表す。視野は、Goldmann 視野計、ハンフリー自動視野計もしくはそれに準ずる視野計を用いた視野を測定する。また、厚生労働省特定疾患治療研究事業、網膜脈絡膜・視神経萎縮に関する調査研究班の定める重症度分類を行う。

(2) 眼底検査

散瞳剤を用いて散瞳して後極部ならびに周辺部網膜を詳細に観察し、網膜変性部を記録する。また、視神経ならびに黄斑部を含む後極部の眼底写真を記録・保存する。

(3) 眼圧検査

Goldmann 眼圧計、もしくはそれに準ずる眼圧計を用いて測定する。

(4) 細隙灯検査

(5) 蛍光眼底造影検査 (FA、IA)

(6) 網膜電図 (ERG)、ならびに多局所網膜電図 (multifocal ERG)

(7) 光干渉断層計 (OCT)

(8) 暗順応曲線

<5>各種検査

(1) 呼吸機能検査:

胸部 X 線 (正、横)

(2) 腎機能検査:

BUN、クレアチニン、尿蛋白、尿潜血

(3) 肝機能検査:

アルブミン、免疫グロブリン (IgG、IgA、IgM、IgE)、総ビリルビン、直接ビリルビン、AST、ALT、アルカリフォスファターゼ、LDH、 γ -GTP

(4) 血液・凝固系:

赤血球数、ヘモグロビン、ヘマトクリット、白血球数、白血球分画、血小板数、血小板凝集能、PT、APTT、フィブリノーゲン

(5) 炎症マーカー:

CRP

(6) 血液電解質:

Na、K、Cl、Ca

(7) 悪性腫瘍検査

a) 頭部・胸部・腹部 CT

b) 血清 PSA-ACT (男性のみ)

c) 便潜血

d) 直腸診

e) 上部消化管内視鏡

f) 子宮頸部細胞診 (女性のみ)

(8) 妊娠検査 (女性のみ、必要な場合)

尿中 HCG

(9) 血清サイトカイン定量 (ELISA 法)

IL-1 β 、IL-4、IL-6、IL-8、TNF- α 、INF- γ

(10) 全血中ならびに尿中 SIV-hPEDF 由来核酸配列の検出 (RT-PCR 法)

(11) 血清中抗ヒト水疱性口内炎ウイルス抗体価 (ELISA 法)

(12) 前房水採取 (27G 針による前房水穿刺: 同意が取れた患者のみ)

ヒト PEDF 蛋白測定 (ELISA 法)

(13) 病理解剖

遺伝子導入後の死亡例で、家族あるいは親族の承諾が取れた症例全てにおいて病理解剖

(剖検)を行う。通常の全身解剖に加え、遺伝子導入眼を摘出し、PCR法によるSIV-hPEDF由来核酸の検出(全身分布)、眼内におけるヒトPEDF濃度の測定、ならびに病理組織学的検討を行う。

2) 臨床研究の中止判定基準

以下の条件のいずれかを満たす事象が当該被験者に生じた時、総括責任者は分担研究者と合議の上、当該被験者への本臨床研究の中止を決定することができる。その場合は中止の理由を九州大学病院長ならびに九州大学病院先進医療評価委員会へ書面により7労働日以内に報告しなければならない。

<1>臨床研究の開始の後に、被験者が除外項目に抵触する虚偽の申告をしていたことが明らかになった場合。

<2>被験者の症状が変化し、本臨床研究の継続が困難であると判断された場合
以下に検査項目あるいは臨床症状において中止の基準になる代表的な項目を挙げるが、中止判定の基準はこれに限るものではない。また数値はあくまで参考値であり、病状を判定する基準値ではない。

1. 高度の貧血 (Hb<7 g/dl)
2. 高度の白血球減少 (WBC <2,000/ μ l)
3. 高度の血小板減少 (Plt<30,000/ μ l)
4. DICを示唆する所見 (Fbnの減少など)
5. 高度の肝機能障害 (ALT, AST>100U/L)
6. 高度の腎機能障害 (Cr>3.0 mg/dl)
7. 高度の肺機能低下 (PaO₂<50 mmHg など)
8. 心不全の徴候
9. その他、生命維持に関わる危険性があると考えられる副作用

<3>重篤^{注)}な有害事象や副作用が確認された時

- 1) 重大事態等：下記のいずれかに該当する場合は、「重大事態等」として扱う。
 - i) 被験者が死亡した場合
 - ii) 重篤^{注)}な副作用が発生した場合
 - iii) 本臨床研究の実施に影響を及ぼす可能性のある知見(国内外を問わない)を入手した場合

注) 重篤の定義

- 1) 死亡
- 2) 死亡につながる恐れのある事象
- 3) 入院または入院期間の延長が必要とされる事象
- 4) 永続的もしくは重大な機能障害・機能不全を呈した事象
- 5) 先天異常・出生異常
- 6) その他医学的に重要な事象

「死亡」、「死亡につながる恐れ」または「入院」には至らなくとも、被験者を危険にさらしたり、上記のような結果に至ぬように内科的または外科的処置を必要とした場合には、適切な医学的判断に基づいて、重篤な事象と判断する。

重篤な有害事象のうち、本遺伝子導入との因果関係が否定できないものを「重篤な副作用」とし、遺伝子治療研究に関する指針(平成14年3月27日文科科学省、厚生労働省告示第一号)に従い、厚生労働省および文科科学省へ速やかに報告する。

<4>その他、総括責任者ならびに分担研究者が中止すべきと判断した時。

⑦ 症例記録に関する記録用紙等の様式

専用の記録用紙を2部用意し、1部はカルテと一緒に保管、1部は九州大学病院高度先端医療センターに研究終了後少なくとも5年間は厳重に保管する。

症例記録記載内容については、カルテと照合しデータの品質管理を行う。

コメント、有害事象に関する判断事項については、症例記録に記載された事項を原データとして取り扱う。

⑧ 記録の保存及び成績公表の方法

本人および家族（あるいは親族）の同意のもとに学術集会、学術雑誌、およびマスコミへの公表を行う。その際はプライバシーには十分に配慮し、本人の氏名を含め個人情報が特定できない形で公表を行う。

記録の保管は、九州大学病院長が指名した保管責任者が行い、少なくとも臨床研究終了後5年間保存する。

保管責任者：所属 九州大学病院高度先端医療センター
職種 センター長・教授 氏名 中西洋一

(6) 本臨床研究における個人情報保護

① 個人情報保護に関する責務

国立大学法人九州大学（以下、本学という）は、独立法人等の保有する個人情報の保護に関する法律、独立法人等の保有する個人情報の適切な管理のための措置に関する指針に基づき、国立大学法人九州大学が保有する個人情報の管理について九州大学個人情報管理規程（別紙5）に必要な事項を定めている。本学の総長は文部科学大臣により任命され、本学の個人情報保護体制の最高責任者である。総長は本学の個人情報保護の管理体制として個人情報総括保護管理者を置き、個人情報総括保護管理者の下に個人情報保護管理者、個人情報保護担当者を置き、個人情報保護管理の徹底を行っている。個人情報総括保護管理者は、総長により指名され、総務担当理事が任命をうけている。九州大学病院においては、九州大学病院長、病院事務部管理課長はそれぞれが個人情報総括保護管理者により個人情報保護管理者として指名をうけており、九州大学病院長、病院事務部管理課長は九州大学個人情報管理規程、九州大学病院個人情報保護規程（別紙8）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。保護管理者である九州大学病院長、病院事務部管理課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、適宜必要な措置をとることができる。

② 個人情報の取得と利用に関する制限

1) 診療・教育機関としての九州大学病院における個人情報の一般的な取扱い

九州大学病院は診療・教育機関として、臨床医学の発展と次世代を担う医療人の育成という社会的な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、患者様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九州大学個人情報管理規程、九州大学病院個人情報保護規程や研究活動の実施に関する法令や倫理指針等を遵守した上で取り扱われる。また、九州大学病院を受診する患者様には「患者様の個人情報の保護に関するお知らせ」を用いて九州大学病院で使用する個人情報の使用目的について理解と協力を求めている。

(1) 九州大学病院での利用

- ・被験者が受ける医療サービス
- ・医療保険事務
- ・被験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) 九州大学病院および九州大学での医学教育における利用

- ・医学・歯学・薬学・保健学系の教育（ベッドサイドティーチングなど病院内での診療等に関わる医学教育に限る）
- ・教職員の研修（研修医や新任看護師等への病院内研修、及び医療サービス等、前項（1）に関わる病院事務系職員の研修等に限る）
- ・研究活動（遺伝子治療臨床研究を含め、実施に関する法令や倫理指針、関係団体等のガイドライン等が定められている場合は、それを遵守する）

(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関する連携
- ・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

- ・被験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業務委託
- ・被験者の家族等への診療に関わる説明
- ・医療保険事務（保険事務の委託、審査支払機関への提出）
- ・審査支払機関または保険者からの照会への回答
- ・関係法令等に基づく届出および報告書
- ・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の事業者等へのその結果の通知
- ・医師賠償責任保険等に関わ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
- ・医療上の安全に関わる行政機関又は医療に関する専門の団体等への届出等
- ・医学・歯学・薬学・保健学系の教育研究機関への提出
- ・他の医療機関等との医学の発展を目的とした共同研究活動
- ・外部監査機関への情報提供

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・教育機関としての九州大学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等に通知し、又は公表しなければならない。

本臨床研究で扱う被験者の診療記録をはじめとする個人情報は、主として病状経過観察、本臨床研究の緊急事態発生のための連絡など、被験者の生命を守るために用いる。その他特別の目的で使用する場合は、事前に被験者および家族（あるいは親族）に再度説明し了解を得てから使用する。

また、本臨床研究の成果検討時や医療向上のためなどを目的に試験成績などを公表・公開する場合は、個人を特定できない形すなわち個人情報を保護して公開する。これらのことは、被験者及び家族（あるいは親族）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。

被験者及び家族（あるいは親族）の同意取得は、自由意思によるものであり、臨床研究に参加しない場合であっても被験者に不利益はない。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、被験者及び家族（あるいは親族）へ通知している。

総括責任者は利用目的の達成に必要な範囲内において、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。

③ 個人情報保護に関する安全管理措置

九州大学病院長は九州大学個人情報管理規程、九州大学病院個人情報保護規程に従い、個人情報保護に関して、組織的に安全管理措置を実施し、個人情報の漏洩、滅失又は棄損の防止に対する措置を講じている。一方で個人情報の漏洩等に関わる新しい犯罪手法などが急速な勢いで多様化していることを鑑み、本臨床研究では規程等の柔軟な運用を以て、個別に適切な対応を行う。

さらに本臨床研究では、死者に関する個人情報が死者の人としての尊厳や遺族の感情及び遺伝情報が血縁者と共通していることに鑑み、生存する個人と同様に死者に関する個人情報についても同様の管理下で取り扱う。

④ 第三者提供の制限

総括責任者は、遺伝子治療臨床研究の指針第六章第九で掲げる内容に従い、あらかじめ被験者等の同意を得ないで個人情報を第三者に提供してはならない。本臨床研究では、第三者への個人情報の提供は予定していない。また、第三者への個人情報の提供を行う場合は、適切な目的であることを確認し、遺伝子治療臨床研究の指針第六章第九に従い、その旨被験者等へ通知する。

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、被験者等の知りう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、手続きの詳細を九州大学個人情報開示等取扱規程（別紙9）に従い被験者及び家族（あるいは親族）に説明する。

総括責任者は被験者等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、九州大学個人情報開示等取扱規程に従い求めがあった場合は、遅滞なく必要な対応を行うほか、対応結果について被験者等に通知しなければならない。

さらに、九州大学病院では個人情報に関する苦情等の窓口を設置し、被験者からの苦情や問い合わせに対して迅速に対応できるような体制を整えている。

[個人情報に関する苦情等の窓口]

九州大学病院地域医療連携室 患者様相談窓口

電話：092-642-5165

F A X：092-642-5155

10. 当該遺伝子治療臨床研究に関連する国内外の研究状況

(1) 国内外におけるアフリカミドリザル由来サル免疫不全ウイルスベクターを用いた遺伝子治療臨床研究

本遺伝子治療臨床研究は使用するベクターにおいて、全く新しい九州大学独自の方法である。従って本 SIV ベクターによる臨床研究は、国内外において実施されていない。

(2) 国内外における PEDF を用いた遺伝子治療臨床研究

視細胞保護効果を目的とした遺伝子治療は行われていないが、血管新生抑制効果を目的とした遺伝子治療臨床試験は米国で行われている。米国の Johns Hopkins 大学において、眼科領域の血管新生疾患である加齢黄斑変性 (AMD) を対象とした、アデノウイルスベクターを用いた PEDF 遺伝子導入 (AdPEDF) による臨床試験が開始された。8 段階の用量漸増方式 (最大 $5 \times 10^{9.5}$ pu) (pu: particle units は vp: viral particles と同義) により患者の硝子体内に AdPEDF を投与し、現在まで 28 名に施行されている。軽度の眼内炎症と眼圧上昇を認めた症例はあるものの、重篤な合併症は認められず安全に実施できたことが報告されている (25)。

(3) 国内外における網膜色素変性に対する遺伝子治療研究

英国および米国において 2007 年よりレーバー先天性黒内障 (LCA, Leber congenital amaurosis) に対し第 1/2 相試験が開始され、2008 年にその途中経過が報告された (10, 55, 56)。RPE65 遺伝子のミスセンス変異を有する LCA 患者に対し、正常の RPE65 遺伝子を搭載したアデノ随伴ウイルスを網膜下投与することによって網膜色素上皮細胞に遺伝子導入した。これまでに英国で 3 名、米国で 6 名の患者の結果が報告されているが、ベクター投与後 6~12 ヶ月の経過観察期間で明らかな有害事象を認めず、ベクター DNA の全身散布も認めなかったと報告されている。また一部の患者では暗所視および明所視の改善が得られたと報告されている。

11. 当該遺伝子治療臨床研究に関連する実施施設の状況

[当該疾患の診療実績と周辺環境]

実施施設である九州大学病院は、既に設立から 100 年を超えた、我が国有数の基幹病院の一つである。本臨床研究における当該疾患は、九州大学医学部眼科が設立された当時より継続した診療・研究がすすめられており、九州大学医学部眼科の医師は当該疾患の豊富な診療経験を有する。さらに質の高い、系統立った診療を提供する目的で専門再来として網膜色素変性再来が立ち上げられ、既に 5 年以上を経過している。同専門再来では、当該疾患に精通した医師が診療を行い、福岡県をはじめとする北部九州を中心とした 200 人以上の患者に対し、加療および経過観察を行っている。近郊の九州医療センター、済生会福岡総合病院、福岡市民病院、福岡赤十字病院、九州厚生年金病院、麻生飯塚病院、その他北部九州地区の基幹病院の眼科は、九州大学医学部眼科出身スタッフが占めている。本臨床研究の実施にあたっては、これら関連病院において適応と考えられる患者の発生が見られた場合、速やかに九州大学病院への照会を行い、必要に応じて九州大学病院へ移送される体制が整っている。

特に総括責任者の石橋達朗は、厚生労働省特定疾患治療研究事業、網膜脈絡膜・視神経萎縮に関する調査研究班の班長を務めた経験を持ち、当該分野において我が国の指導的立場にある。

[遺伝子治療・アフリカミドリザル由来サル免疫不全ウイルスベクターに関する研究実績]

本臨床研究の申請者らは、アフリカミドリザル由来サル免疫不全ウイルスに限らずプラスミドベクターやセンダイウイルスベクターについても豊富な実験的使用経験を持ち、研究成果は Gene Therapy, Human Gene Therapy, Investigative Ophthalmology & Visual Science, Experimental Eye Research など、世界的に認知度の高い国際誌に多数の英文原著論文を公表している。

[ベクターの生産と保管]

GMP ベクターの生産、精製、供給は Vector Gene Technology 社 (中華人民共和国・北京市) により行われる。GMP 生産ラインによる SIV-hPEDF 生産の 3 度に亘るテストランを実施しており、生産終了後、最終生産物が GMP 基準に合致することを確認する。九州大学病院北棟 3 階分子・細胞調製センター内細胞保存ユニット内の専用の施設をされた超低温冷凍庫に保管される予定である。ベクターは専用の多重保管器に密閉された状態で保管し、保管エリアは本ベクター専用確保され

ており、万が一の混入を防ぐために他の試薬、ベクターなどは一切置かれず。超低温冷凍庫はベクター搬入以後、最低週2回動作確認をされ、さらに毎回室内温度が記録されている。同細胞保存ユニットは通常は施錠され、また九州大学病院先端分子細胞治療科により入室者は限定されており、入室記録を記録するなどの厳密な管理が行われている。

〔被験者治療室の設置〕

本臨床研究専用のレベル2 バイオハザード遺伝子治療室（封じ込めレベルクラス 10,000 で設計）を九州大学病院北棟 11 階に設置している。本病室は前室と病室（トイレあり）に分かれ、病室内は独立に陰圧に制御されているため、ベクターの飛沫・拡散を防ぐことができるように設計されている。

被験者は投与日に硝子体手術およびベクター投与を受けた後、本治療室へ搬入される。血液・尿よりベクター由来の遺伝子配列が検出されないことが確認された後、原則7日間の予定で一般病棟へ転棟される。治療に使用された器具等など、予め設定した管理方法により消毒、医療用廃棄物として適切に廃棄される。

このように九州大学病院は本臨床研究に対する研究及び支援体制が整っている。さらに研究分担者の各々の専門分野における知識と経験は、本臨床研究の実施を十分に支援し得るものと判断される。

なお、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」
（文部科学省／厚生労働省／告示第一号、平成 14 年 3 月 27 日）
2. 「臨床研究に関する倫理指針」
（厚生労働省告示第二百五十五号、平成 15 年 7 月 16 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. 「遺伝子組み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 年法律第 97 号）

12. その他必要な事項

- (1) 総括責任者及び主な分担研究者の経歴
- (2) 参考文献リスト
- (3) 別紙
 - 別紙 1：検査項目一覧表
 - 別紙 2：網膜色素変性診断基準
 - 別紙 3：九州大学利益相反マネジメント要項
 - 別紙 4：医学系部局における臨床研究に係る利益相反マネジメント要項
 - 別紙 5：九州大学個人情報管理規程
 - 別紙 6：九州大学病院先進医療適応評価委員会規程、内規
 - 別紙 7：重大事態発生時の流れ（フローチャート）
 - 別紙 8：九州大学病院個人情報保護規程
 - 別紙 9：九州大学個人情報開示等取扱規程
 - 別紙 10：アメリカ FDA 発行 細胞・遺伝子治療ガイドライン（英文）
 - 別紙 11：アメリカ FDA 発行 遺伝子治療臨床研究遠隔期副作用モニタリングに関するガイドライン（英文）
- (4) 添付資料
 - 添付資料 1：急性毒性試験 試験報告書

添付資料 2 : 長期安全性試験 試験報告書

添付資料 3 : ビーエスエスプラス添付文書

添付資料 4 : ヒト色素上皮由来因子 (hPEDF) アミノ酸および DNA 塩基配列

添付資料 5 : 各プラスミドの塩基配列

添付資料 6 : 各プラスミドの構築手順

添付資料 7 : マスターセルバンクからベクター製造・精製工程のフローチャート

添付資料 8 : マスターセルバンクからベクター製造・精製工程の詳細

添付資料 9 : SIV-hPEDF の全塩基配列

添付資料 10 : ベクター生産施設の施設概要

添付資料 11 : SIV ベクタープロウイルスの宿主染色体挿入部位一覧

(5) 図表

遺伝子治療臨床研究 説明・同意書

(第2.1版:平成 23年 12月8日)

(申請:平成 18年 7月19日)

研究の名称

神経栄養因子(ヒト色素上皮由来因子:hPEDF)遺伝子搭載
第3世代組換えアフリカミドリザル由来サル免疫不全ウイルスベクターの
網膜下投与による網膜色素変性に対する視細胞保護遺伝子治療
臨床研究

九州大学病院

目次

説明・同意書（第1回目）

はじめに	1
遺伝子治療臨床研究の名称と実施施設、担当医師	2
視細胞保護遺伝子治療臨床研究への参加	2
視細胞保護遺伝子治療臨床研究の辞退	2
視細胞保護遺伝子治療臨床研究の目的	2
遺伝子とは	4
遺伝子治療とは	4
神経保護治療とは	4
本臨床研究で使用する臨床研究薬の骨格となるベクターについて	5
1) 副作用を起こす可能性 その(1): 野生型ウイルスへの「先祖返り」	6
2) 副作用を起こす可能性 その(2): 患者さんの遺伝子情報を攪乱する可能性	6
3) 今回あなたに用いられる「アフリカミドリザル由来サル免疫不全ウイルスベクター」 の特徴	6
4) 投与の安全性に問題がないと判断した根拠	7
本臨床試験に用いられる遺伝子（治療用遺伝子）	8
視細胞保護遺伝子治療臨床研究の実施方法	9
1) 今回の視細胞保護遺伝子治療臨床研究の対象となる患者さん	9
2) 本臨床研究に参加できない方	9
3) 本臨床研究の開始までの流れ	10
4) 臨床研究薬投与法の概略と投与後の隔離について	10
5) 臨床研究薬投与後の観察期間（実施期間内）とその後の フォローアップ期間（実施期間後）	11
本臨床研究によって起こり得る副作用	13
1. 本臨床研究において、特有に見られる可能性がある副作用	13
1) 網膜下投与の操作に伴う、可能性がある副作用	13
(1) 一般的事項：投与眼周囲の痛み・腫張	13
(2) 細菌性眼内炎	13
(3) 網膜・脈絡膜出血、および硝子体出血	13
(4) 網膜裂孔および網膜剥離	13
(5) 増殖硝子体網膜症	14
2) ベクター投与に関して起こりえる副作用	14
(1) 免疫反応	14
① 自然免疫反応	14
② 獲得免疫反応（細胞性免疫）	14
③ 獲得免疫反応（液性免疫）	14
(2) 発がん性	14
(3) 眼圧上昇	15
(4) 網膜変性	15

3) 神経栄養因子 (ヒト色素上皮由来因子 : hPEDF) の過剰産生に伴い、 予想される副作用	15
2. これまでの遺伝子治療で報告されている一般的な副作用 (有害事象)	15
1) 比較的良好に見られる軽い副作用	15
2) まれに見られる比較的強い副作用	15
3. 遺伝子治療特有の有害	16
1) 全身性炎症反応症候群による血液凝固異常と多臓器不全	16
2) T細胞性白血病	16
3) 骨髄異形成症候群 (2010年ドイツ)	16
4) 特定の遺伝子にベクターが挿入された血球細胞の増殖 (2010年フランス)	16
4. 有害事象に関してご理解して頂きたいこと	17
本臨床研究にあたって注意して頂きたいこと	18
1) 必要な検査について	18
(1) 眼の機能と状態を調べる検査	18
(2) 全身の状態を調べる検査	18
(3) 治療用ベクターの挙動を調べる検査	19
(4) あなたの病気の原因となっている遺伝子を調べる検査	19
2) 本臨床研究の参加に必要な費用について	20
(1) 本臨床研究への参加に必要な経費について	20
(2) 本臨床研究への参加に必要な経費と通常の保険診療の関係と、その取扱い	20
(3) 健康被害 (有害事象) に関わる医療費について	21
3) 同意の確認について	22
4) 解剖について	22
5) 臨床研究のフォローアップについて	22
6) その他	23
現在開発中の他の治療法について	24
1) 薬物による治療	24
2) 遺伝子治療	24
3) 他家細胞移植治療	24
4) 人工視覚	24
5) 網膜再生治療	24
利益相反 (りえきそうはん) に関する説明	25
1) 本臨床研究に関わる研究関連組織について	25
2) 本臨床研究の実施における資金出所について	25
(1) 本臨床研究に用いるベクターの GMP 生産	25
(2) 本臨床研究の実施に関わる診療・治療経費	25
個人情報の保護について	26
1) あなたの個人情報の取り扱いにおける九州大学病院の責務	26
2) 九州大学病院における個人情報の一般的な取り扱い	26
(1) 九州大学病院での利用	26
(2) 九州大学病院および九州大学での医学教育における利用	26
(3) 他の事業者等への情報提供	26
3) 本臨床研究の遂行に必要なあなたの個人情報の使用について	27
4) あなたの個人情報を閲覧可能な第三者と、九州大学病院の個人情報管理と監督	27
5) あなたの病状情報の公開による社会への還元と、その際のあなたの個人情報 の管理措置	27
6) あなたの個人情報の管理におけるあなたの権利	28

疑問点や質問について	28
個人情報に関する苦情等の窓口	28
検査項目一覧表	29
視細胞保護遺伝子治療臨床研究に関する同意書（第1回目）	31
遺伝子治療臨床研究参加カード見本	33

説明・同意書（第2回目）	
はじめに	34
遺伝子治療臨床研究の名称と実施施設、担当医師	35
視細胞保護遺伝子治療臨床研究への参加	35
視細胞保護遺伝子治療臨床研究の辞退	35
視細胞保護遺伝子治療臨床研究の目的	35
遺伝子とは	37
遺伝子治療とは	37
神経保護治療とは	37
本臨床研究で使用する臨床研究薬の骨格となるベクターについて	38
1) 副作用を起こす可能性 その(1): 野生型ウイルスへの「先祖返り」	39
2) 副作用を起こす可能性 その(2): 患者さんの遺伝子情報を攪乱する可能性	39
3) 今回あなたに用いられる「アフリカミドリザル由来サル免疫不全ウイルスベクター」 の特徴	39
4) 投与の安全性に問題がないと判断した根拠	40
本臨床試験に用いられる遺伝子（治療用遺伝子）	41
視細胞保護遺伝子治療臨床研究の実施方法	42
1) 今回の視細胞保護遺伝子治療臨床研究の対象となる患者さん	42
2) 本臨床研究に参加できない方	42
3) 本臨床研究の開始までの流れ	43
4) 臨床研究薬投与法の概略と投与後の隔離について	43
5) 臨床研究薬投与後の観察期間（実施期間内）とその後の フォローアップ期間（実施期間後）	44
本臨床研究によって起こり得る副作用	46
1. 本臨床研究において、特有に見られる可能性がある副作用	46
1) 網膜下投与の操作に伴う、可能性がある副作用	46
(1) 一般的事項：投与眼周囲の痛み・腫張	46
(2) 細菌性眼内炎	46
(3) 網膜・脈絡膜出血、および硝子体出血	46
(4) 網膜裂孔および網膜剥離	46
(5) 増殖硝子体網膜症	47
2) ベクター投与に関して起こりえる副作用	47
(1) 免疫反応	47
① 自然免疫反応	47
② 獲得免疫反応（細胞性免疫）	47
③ 獲得免疫反応（液性免疫）	47
(2) 発がん性	47
(3) 眼圧上昇	48
(4) 網膜変性	48
3) 神経栄養因子（ヒト色素上皮由来因子：hPEDF）の過剰産生に伴い、	

予想される副作用	48
2. これまでの遺伝子治療で報告されている一般的な副作用（有害事象）	48
1) 比較的良好に見られる軽い副作用	48
2) まれに見られる比較的に強い副作用	48
3. 遺伝子治療特有の有害	49
1) 全身性炎症反応症候群による血液凝固異常と多臓器不全	49
2) T細胞性白血病	49
3) 骨髄異形成症候群（2010年ドイツ）	49
4) 特定の遺伝子にベクターが挿入された血球細胞の増殖（2010年フランス）	49
4. 有害事象に関してご理解して頂きたいこと	50
本臨床研究にあたって注意して頂きたいこと	51
1) 必要な検査について	51
(1) 眼の機能と状態を調べる検査	51
(2) 全身の状態を調べる検査	51
(3) 治療用ベクターの挙動を調べる検査	52
(4) あなたの病気の原因となっている遺伝子を調べる検査	52
2) 本臨床研究の参加に必要な費用について	53
(1) 本臨床研究への参加に必要な経費について	53
(2) 本臨床研究への参加に必要な経費と通常の保険診療の関係と、その取扱い	53
(3) 健康被害（有害事象）に関わる医療費について	54
3) 同意の確認について	55
4) 解剖について	55
5) 臨床研究のフォローアップについて	55
6) その他	56
現在開発中の他の治療法について	57
1) 薬物による治療	57
2) 遺伝子治療	57
3) 他家細胞移植治療	57
4) 人工視覚	57
5) 網膜再生治療	57
利益相反（りえきそうはん）に関する説明	58
1) 本臨床研究に関わる研究関連組織について	58
2) 本臨床研究の実施における資金出所について	58
(1) 本臨床研究に用いるベクターのGMP生産	58
(2) 本臨床研究の実施に関わる診療・治療経費	58
個人情報の保護について	59
1) あなたの個人情報の取り扱いにおける九州大学病院の責務	59
2) 九州大学病院における個人情報の一般的な取り扱い	59
(1) 九州大学病院での利用	59
(2) 九州大学病院および九州大学での医学教育における利用	59
(3) 他の事業者等への情報提供	59
3) 本臨床研究の遂行に必要なあなたの個人情報の使用について	60
4) あなたの個人情報を閲覧可能な第三者と、九州大学病院の個人情報管理と監督	60
5) あなたの病状情報の公開による社会への還元と、その際のあなたの個人情報の管理措置	60
6) あなたの個人情報の管理におけるあなたの権利	61

疑問点や質問について	61
個人情報に関する苦情等の窓口	61
検査項目一覧表	62
視細胞保護遺伝子治療臨床研究に関する同意書（第2回目）	64
遺伝子治療臨床研究参加カード見本	66

第2.1版（作成日：平成23年12月8日）
被験者候補患者への説明・同意書

課題名「神経栄養因子（ヒト色素上皮由来因子：hPEDF）遺伝子搭載第3世代組換えアフリカミドリザル由来サル免疫不全ウイルスベクターの網膜下投与による網膜色素変性に対する視細胞保護遺伝子治療臨床研究」

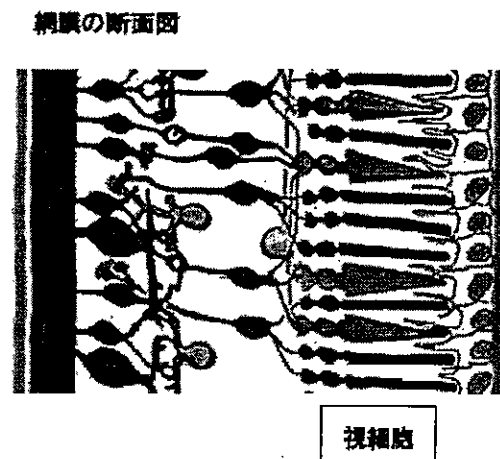
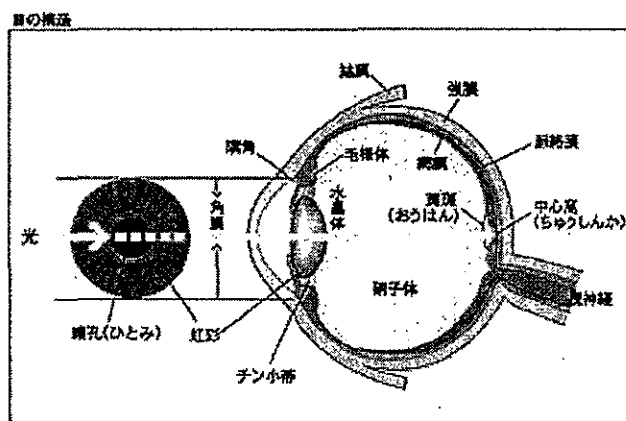
視細胞保護遺伝子治療臨床研究への参加を
希望される患者さんへ
(第1回目 説明と同意書)

【はじめに】

あなたの現在の眼の状態、すなわち網膜色素変性という病気は、光や色を感じる能力を持つ細胞（視細胞）が遺伝子のキズが原因で徐々に悪くなっていくことにより生じています。一般に、暗い所で見えにくくなる夜盲という症状にはじまり、少しずつ周りが見えにくくなり、最終的には高度の視覚障害に至る可能性があります。当院を受診している患者さんの約40%は、身体障害者手帳1級（両眼の視力の和が0.01以下）または2級（両眼の視力の和が0.04以下、もしくは両眼の視野がそれぞれ10度以内でかつ両眼による視野について視能率による損失率が95%以上のもの）を取得しております。これまでに病状を改善させる有効な治療法（手術やお薬）は報告されていません。そこで、私たちは「視細胞保護遺伝子治療」という、全く新しい治療法をここであなたにご紹介しようと考えています。

治療法といっても、この方法はまだ効果と安全性が確認されたものではありません。従って、ここで視細胞保護遺伝子治療に関する情報を聞いていただき、この臨床研究の意義などについて、十分にご理解いただきたいと思います。

遺伝子治療は非常に専門的かつ先進的な分野ですので、これからの説明の途中で分かりにくい言葉なども多く出てくると思います。少しでも分からないな、と感じられたら、話の途中で結構ですので、担当医師・看護師、臨床研究コーディネーターへお気軽にお尋ね下さい。



【遺伝子治療臨床研究の名称と実施施設、担当医師】

臨床研究の名称：神経栄養因子(ヒト色素上皮由来因子:hPEDF)遺伝子搭載
第3世代組換えアフリカミドリザル由来サル免疫不全ウイルスベクターの
網膜下投与による網膜色素変性に対する視細胞保護遺伝子治療
臨床研究

実施施設：九州大学病院

総括責任医師：石橋 達朗（九州大学病院・眼科・科長／教授）

分担研究医師：池田 康博（九州大学病院・眼科・助教：副総括責任者）

米満 吉和（九州大学大学院薬学研究院・教授）

久富 智朗（九州大学大学院医学研究院・眼科学・助教）

宮崎 勝徳（九州大学病院・眼科・助教）

【視細胞保護遺伝子治療臨床研究への参加】

この視細胞保護遺伝子治療臨床研究に関する説明を担当医師から受けた上で、本臨床研究に参加されるかどうかは、あなたの自由な意思で決めて下さい。たとえ参加されなくても、今後の診療上、あなたの不利益になることは全くありません。

また視細胞保護遺伝子治療臨床研究実施中に新しい情報（例えば他の新しい治療法、安全性に関する情報など）が得られた時は、必ずあなたにお知らせします。その場合には、本臨床研究を続けるかどうかについて、再度あなたの意思をお尋ねします。

【視細胞保護遺伝子治療臨床研究の辞退】

この視細胞保護遺伝子治療臨床研究に参加することを同意した後でも、また実際に開始した後でも、あなたが何らかの理由で辞退を申し出た場合は、いつでも自由に辞退することができます。また辞退の後でも今後の診療上、あなたの不利益になることはありません。

【視細胞保護遺伝子治療臨床研究の目的】

本遺伝子治療臨床研究において使用する臨床研究薬（治療用ベクター：遺伝子を導入する担体、SIV-hPEDF）は、人体への初めての投与になるため、安全性を主眼とした試験となります。従って、本遺伝子治療臨床研究の目的は、「臨床研究薬を安全に投与することができるか」を検討することです。

今からあなたにご説明する遺伝子治療臨床研究と同じ治療法は、まだ世界で行われていません。今からあなたに説明する遺伝子治療臨床研究と類似の臨床研究は欧米で実施されていますが、まだ始まって間もない治療法であるために、安全性などいろいろな点がはっきりしていません。ラットおよびサルなどを用いた安全性試験の結果から、本臨床研究は比較的安全であろうと判断していますが、予測し得ない副作用が起こる可能性は否定できません。

また、マウス、ラットおよびサルを用いた動物実験では、眼内に注射された遺伝子から神経保護作用をもつ蛋白質（ヒト色素上皮由来因子：hPEDF）が長期間（約5年間）産生されていること（ラットおよびサル）、また変性して消失していく視細胞が保護され、脱落を免れることにより、光に対してよく反応していたことなど（マウス、ラット）が観察されています。

まだ人における効果は確認されておきませんが、動物での結果から、視機能の低下を遅らせることが期待できます（視細胞保護効果）。私たちは視細胞保護遺伝子治療という新しい治療法が、あなたのような症状を持つ患者さんに有効であるかどうかを最終的には検討したいと考えています。その前段階として、もしあなたの同意が得られるならば、あなたにこの臨床研究に参加いただいて、まず臨床研究薬投与の安全性を

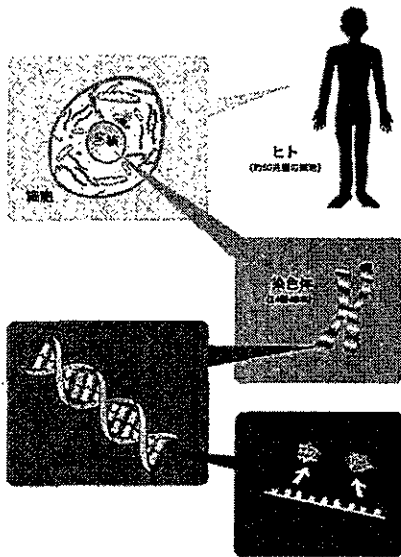
検討させていただきたいと思っています。

なお、本臨床研究において安全性に加えて治療の有効性が確認された場合、次の段階の臨床研究（有効性と投与量の検討など）が計画される可能性があります。その際、今回の臨床研究に参加された方も再び臨床研究に参加する（今回投与した眼と反対の眼に投与）ことが可能となります。

【遺伝子とは】

人間の「遺伝子」は細胞の核と呼ばれる部分にあります。その中にある「染色体」という構造に含まれる、「DNA（デオキシリボ核酸）」のことを指します。この「遺伝子」はあなたの身体を作っている蛋白質の設計図で、この遺伝子の情報をもとに蛋白質が作られます。

「遺伝子」の何らかの異常によって、重要な蛋白質が作られなかったり、蛋白質が正常な機能を持たなかったりした場合に、病気が生じることが一般に知られています。あなたのような症状を持つ網膜色素変性も、この「遺伝子」の何らかの異常が原因と考えられています。



【遺伝子治療とは】

病気の治療を目的として遺伝子あるいは遺伝子を導入した細胞を人の体内に投与する治療法です。病気の原因になっている異常な遺伝子の代わりに正常な遺伝子を外部から補充して本来の機能を回復させたり、病気の回復に役立つ成分を産生する遺伝子を外部から補充して体内でそれらの成分を作り出させることにより病気の治療を行います。

先天的に感染症に罹りやすい病気（先天性免疫不全症）に対する遺伝子治療がアメリカで1990年に開始されて18年、我が国では1995年に北海道大学附属病院において第1例目へ治療が行われて以来、13年を経過しました。しかしこれらの臨床研究は副作用が起きる危険性を最小限にするために慎重に進められており、個々の研究や試験の位置付けは、未だ十分ではありません。

【神経保護治療とは】

神経を保護する蛋白質（神経栄養因子）により、視細胞などの神経細胞を変性（死）から守る方法です。神経保護効果を持つ蛋白質として、色素上皮由来因子（PEDF）、線維芽細胞増殖因子（FGF-2）、脳由来神経栄養因子（BDNF）、毛様体神経栄養因子（CNTF）、神経成長因子（NGF）など複数知られています。

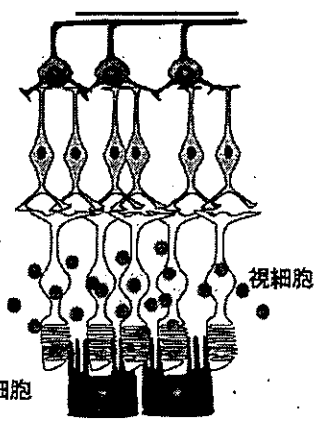
これら神経を保護する蛋白質を直接投与あるいは、遺伝子を投与し体内でこれらの蛋白質を作り出させることにより病気を治療する方法が研究されています。私たちは、神経栄養因子のうち色素上皮由来因子の遺伝子を眼の中の細胞に導入して、あなたのような症状を持つ患者さんの病気の進行を遅らせたいと考えています。

弱っていく視細胞の近くに
薬の遺伝子を導入して、薬の工場を造る



視細胞が弱るのを遅らせる

遺伝子を導入する細胞



【本臨床研究で使用する臨床研究薬の骨格となるベクターについて】

今回あなたが参加する臨床研究に用いられる臨床研究薬は、遺伝子を運ぶ「運び屋」（これを「ベクター」と呼びます）として、「レンチウイルスベクター」が骨格となっています。「ウイルス」という名前に少し驚かれるかもしれませんが、以下にこのベクターについて簡単に説明をいたします。

これまで開発されて来たベクターには、主に以下のものがあります。

- 1) レトロウイルスベクター
- 2) アデノウイルスベクター
- 3) アデノ随伴ウイルスベクター
- 4) センダイウイルスベクター
- 5) レンチウイルスベクター

これらのウイルスの遺伝子構造に人工的に手を加えることによって、増殖せず病気を起こさない「ベクター」として生産され、これらが現在、実際の患者さんの治療に用いられています。

まず、この病気は数年から数十年の経過でゆっくり進行するため、かなり長い間治療を続けなければなりません。そこでベクターとしては、可能な限り長期間治療が可能なものが第一に選ばれることになります。

そこで上記1)、3)、5)が適しますが、1) レトロウイルスベクターは分裂しない細胞には導入ができないことから、分裂する細胞がほとんど存在しない眼の中で遺伝子を発現させることには適しません。3) アデノ随伴ウイルスベクターは血液中でも安定であることから、血液を通じて他の組織に移動する可能性があり、長期の安全性について不明です。5) レンチウイルスベクターは分裂しない細胞にも導入可能で、また血液中で容易に不活性化することから、この病気の治療に有効であると考えられます。従って、本遺伝子治療臨床研究では、このレンチウイルスベクターを使用することにいたしました。

今回は、レンチウイルスベクターの中でも、アフリカミドリザルより分離されたレンチウイルス（サル免疫不全ウイルス：simian immunodeficiency virus from African green monkey: SIVagm）を基に作成したものを我们用います。これについては、後で説明いたします。

一方で、レンチウイルスベクターはレトロウイルスベクターなどと同様、危惧される点があります。それは、低い確率ですが副作用を起こす可能性が残っていることが指摘されていることです。以下にその概略を説明いたします。

1) 副作用を起こす可能性 その(1): 野生型ウイルスへの「先祖返り」

これらのウイルスベクターには、その一部が増殖して病気をおこさないよう人工的に手を加えています。しかし低い確率ですが、その製造過程で野生型ウイルスに先祖返りすることが知られています。この現象は「相同組み換え」として専門家の間で広く知られていて、この先祖返りした野生型ウイルス（専門的には RCL: replication competent lentivirus と呼ばれています）により新たな病気が引き起こされる可能性がわずかながら存在します。

2) 副作用を起こす可能性 その(2): 患者さんの遺伝子情報を攪乱する可能性

レトロウイルスベクター、アデノ随伴ウイルスベクター、レンチウイルスベクターなどは、感染した細胞の染色体、つまりあなたの遺伝子の中にウイルス自身の遺伝子を挿入する機能を持っています。この性質のために、これらのベクターでは長期間の安定した治療効果をもたらすことが期待されているのですが、その反面、あなたの遺伝子がウイルス由来の遺伝子により構造的・機能的に一部変化する（専門的には「プロウイルスの染色体への挿入」と呼びます）ことは避けられません。ヒトの遺伝子は70%以上が活動していないと考えられていますので、多くの場合は問題にならないと考えられますが、極めてまれに細胞のガン化を抑制する遺伝子の中に入り込んだりすることがあり、その場合はガン化を促進することが培養細胞などでは確認されています。

残念ながら、最近このレトロウイルスベクターによる「プロウイルスの染色体への挿入」が原因で白血病が発生したことがフランスで報告されました。同じ治療を受けた、先天性免疫不全症（遺伝的に身体の抵抗力が弱く、重症の細菌やウイルス感染症を起こしやすい）の遺伝子治療を受けた10名の患者さんのうち、4名にT細胞性白血病が発生したと報告されています。また最近、英国でも1例について同様の報告がなされました。現在専門家の統一見解として、「プロウイルスの染色体への挿入」に加えて治療で用いられた遺伝子（共通鎖）を用いたことによる特有の現象ではないか、そしてがん関連遺伝子などの増殖に関わる遺伝子（LMO2 など）の近傍にプロウイルスが挿入された細胞があり、それが種々の条件による徐々に増殖したためではないか、と考えられております。さらに、ドイツで行われた別の先天性免疫不全症（慢性肉芽腫症）の遺伝子治療でも同様に、このレトロウイルスベクターによる「プロウイルスの染色体への挿入」が原因で骨髄異形成症候群という異常な白血球増殖が2名の患者で発生したと報告されました。また最近、レンチウイルスベクターを用いた臨床研究においても、「プロウイルスの染色体への挿入」がある白血球の増殖が1名の患者で見られたと報告されました。これらのレトロウイルスベクターやレンチウイルスベクターを用いたその他の遺伝子治療は、国内外で安全性に最大限の注意を払いつつ、慎重に進められています。

3) 今回あなたに用いられる「アフリカミドリザル由来サル免疫不全ウイルスベクター」の特徴

「非増殖型アフリカミドリザル由来サル免疫不全ウイルス」というベクター用のウイルスを、日本の企業（ディナベック株式会社：茨城県つくば市）が人工的に造り出すことに成功しています。これはレンチウイルスの感染に必要な部分をウイルス遺伝子より取り除くことにより、身体の中で増殖しないように改変された人工のウイルスベクターです。

アフリカミドリザル由来サル免疫不全ウイルスベクター（以下 SIVagm ベクターと略します）にはベクターとして以下のような特徴があります。

第1に、「SIVagm ベクター」は、他の種類のものを含めたレンチウイルスベクター

に共通する特徴である「長期遺伝子発現」が可能です。この SIVagm ベクターを用いたカニクイザルにおける研究で、少なくとも約 3 年間の安定した遺伝子発現を確認しています。理論的にはさらに長期間において遺伝子を発現させることが可能であると考えられており、この性質から、遺伝性疾患である網膜色素変性に適したベクターであると考えられます。

第 2 に、現在国内外で最も研究が進んでいるレンチウイルスベクターは、ヒト免疫不全ウイルス (HIV) ベクター (エイズウイルスを基にしたもの) です。世界中の研究者の努力により改良が進み、ベクターの製造過程において上記の「先祖返り」をしたウイルスが混入する可能性は理論的に非常に低いと考えられています。私たちの知る限り、現時点で前述の先祖返りウイルス (RCL) の報告はありません。

しかしながら、ヒトに投与された場合に野生型ウイルス (自然界に存在する HIV) とベクター (HIV ベクター) の相同組み換えにより、先祖返りだけでなく、さらに重度の病気の原因になるウイルスが出現する可能性が、完全には否定出来ません。

本臨床研究で使用するベクターの基になっている SIVagm は野生型 HIV と遺伝子配列が約 60% 一致しています。しかしながら、SIVagm ベクターでは、そのほとんどが削除されており、野生型 HIV に対する相同組み換えの可能性は理論上ほとんどありません。

さらに万が一先祖返りが生じたり、野生型のウイルスが混入していたりした場合でも、この SIVagm 自体はもともとの感染対象であるサルにおいても病気を発症しないことが広く知られており、免疫不全が生じる可能性は理論上低いと予想されます。

第 3 に、遺伝子導入によりあなたの遺伝子が構造的・機能的に一部変化する可能性についてですが、フランスで報告された副作用はレトロウイルスベクターであることや、導入する遺伝子の種類に誘因があったこと、また導入する細胞が増殖しやすい細胞であり、特定の部位に挿入されやすい状態であったことなどが原因と考えられています。

4) 投与の安全性に問題がないと判断した根拠

本臨床研究で使用する SIV-hPEDF (hPEDF 遺伝子を搭載した SIVagm ベクターをこのように記載します) 投与の安全性についてサルを用いて約 5 年間の観察期間を費やし検討しました。その結果、観察期間内に重篤な副作用を認めず、安全性に大きな問題がないことが明らかとなりました。

また、SIV-hPEDF が遺伝子内に挿入される部位についてもヒト網膜色素上皮細胞 (あなたにベクターが投与された場合に、遺伝子が入り込むと考えられる細胞) を用いた検討を行っており、特定のがん関連遺伝子へ集中した挿入がないことを確認しています。さらにマウスやラットを用いた実験を繰り返していますが、現在までのところがんの発生を含む明らかな異常は全く認められていません。

今回あなたに投与されるベクターは、厳重な管理のもと、海外の委託会社 (ベクター・ジーン・テクノロジー社: 中華人民共和国・北京市) で生産されたものです。現時点では認可された医薬品ではありませんが、人体に投与してもよいと判断される純度の基準 (good manufacturing practice- GMP グレードと呼びます) による検査を合格したものです。

【本臨床研究に用いられる遺伝子(治療用遺伝子)】

本臨床研究の遺伝子として用いるものは、ヒト色素上皮由来因子 (hPEDF) と呼ばれる、もともとあなたの身体中に存在する蛋白質のもとになる設計図 (遺伝子) です。この hPEDF は眼の中に存在する網膜色素上皮細胞という細胞から発見され、15 年以上を経過して世界中の研究者によりその働きが明らかになっています。

hPEDF の機能の最も重要なものに、「神経保護作用」があります。同様の作用を持つものに、線維芽細胞増殖因子 (FGF-2)、脳由来神経栄養因子 (BDNF)、毛様体神経栄養因子 (CNTF)、神経成長因子 (NGF) など複数知られています。

また、hPEDF のもう一つの重要な機能に「血管新生抑制作用」があり、この効果は 1999 年に初めて報告されました。血管新生とは本来存在しない血管が新しく作られる現象であり、糖尿病性網膜症や加齢黄斑変性など、視力低下を来す眼の疾患の一部では、この血管新生がよく発生します。眼の中で発生する血管新生は視力・視野を悪くする可能性があるため、その抑制効果を持つこの hPEDF は世界中で注目されています。さらに加齢黄斑変性に対し、アメリカで hPEDF を用いた遺伝子治療研究が実施されており、重篤な副作用は報告されていません。

今回私共が hPEDF を使用することを決定した理由は、

- 1) hPEDF は他の因子と比較して高い神経保護作用を示すこと
- 2) hPEDF は血管新生抑制作用を持ち併せていること
- 3) hPEDF は、元来眼の中に豊富に存在する蛋白質であるため、眼内での濃度が上昇しても炎症や免疫反応を起こす可能性が理論的にないことです。

私たちはこれまで繰り返しマウス、ラットおよびサルを用いて動物実験を行い、以下の成績を得ました。即ち SIVagm を用いて hPEDF を遺伝子 (蛋白質の設計図) の状態で眼内の細胞に導入すると、

- 1) 少なくとも 1 年 (マウス・ラット) あるいは 3 年 (サル) 以上持続して蛋白質が産生されること
- 2) 網膜色素変性の遺伝性モデル動物で、症状の悪化を有意に遅延させること (マウス・ラット)

を見い出しました。

あなたの治療に用いられる hPEDF 遺伝子は、その全ての遺伝子構造が正常であることが確認されています。即ち、この治療であなたのからだの中で作られる hPEDF 蛋白質は、あなたが本来からだの中に持っているあなたの hPEDF 蛋白質と全く同じものです。

【視細胞保護遺伝子治療臨床研究の実施方法】

1) 今回の視細胞保護遺伝子治療臨床研究の対象となる患者さん

今回の視細胞保護遺伝子治療臨床研究では、年齢が満40歳以上の網膜色素変性の患者さんで、九州大学病院眼科・網膜色素変性再来において1年以上の診療記録が保管されている、症状が安定している方を対象としています。

本遺伝子治療臨床研究の対象となる網膜色素変性は、遺伝子異常による疾患と考えられていますが、確定診断は遺伝子異常ではなく、厚生労働省特定疾患治療研究事業／網膜脈絡膜・視神経萎縮に関する調査研究班の定める診断基準に基づいて実施されます。従って本臨床研究への参加に際し、遺伝子診断がなされることはありません。

2) 本臨床研究に参加できない方

1) の条件を満たしていても、以下のいずれかに該当する場合には、この臨床研究には参加できません。また、参加に同意（今回：第1回目）いただいた後に実施する検査の結果から、参加できなくなることがあります。また、参加に同意いただく前の検査結果から、研究に参加いただくことが可能であるかどうかを判断させていただくことがあります。

研究に参加いただくか否かの最終的な判断は、本遺伝子治療臨床研究の担当医師が関与しない第三者委員会（九州大学病院先進医療適応評価委員会）が、試験前検査とあなたの意思（今回：第1回目）を総合して判断いたします。

【本臨床研究に参加できない条件】

- ① 臨床研究への参加登録時に40歳未満の方
- ② ヒト免疫不全ウイルス（HIV）抗体陽性の方
- ③ 片方の眼が失明している方
- ④ 黄斑部と呼ばれる網膜の中心部分に病気のある方
- ⑤ 緑内障のある方
- ⑥ その他、眼底検査で異常のある方
- ⑦ 重いアレルギーを有するか、これまで経験したことがある方
（花粉症や小児ぜんそくなど、生命に関わる可能性が低いアレルギーと考えられる場合は、これにあたりません）
- ⑧ がんを有するか、有している疑いがある方
（既に治療がなされており、治療前検査で再発の疑いがない場合は、これにあたりません）
- ⑨ 慢性人工透析を受けている方
- ⑩ 心臓あるいは肝臓あるいは腎臓に重い障害を有する方
- ⑪ 活動性の慢性関節リウマチなど、重い炎症性の病気を有する方
（炎症反応が沈静化あるいは低レベルで安定している場合は、これにあたりません）
- ⑫ 最近6ヶ月以内に脳出血、脳梗塞を起こした方
- ⑬ 重症の血液疾患を有する方
（高度の貧血や血液凝固異常など）
- ⑭ アルコール依存、薬物依存の方
- ⑮ 妊娠中、あるいは妊娠が疑われる方
- ⑯ 治療用ベクター投与後最低12ヶ月の避妊に同意しない方
- ⑰ 研究に参加することにより不利益を受けると予測される方
- ⑱ あなたのご家族が、研究の参加に同意しない方
- ⑲ その他の理由により研究に参加することが不適当であると判断される方

3) 本臨床研究の開始までの流れ

今回、私たちの説明に際し、あなた並びにあなたのご家族（あるいはご親族）が本遺伝子治療臨床研究への参加をご承諾なさった場合（今回：第1回目の承諾）、まず臨床研究参加候補患者として登録されます。登録の後、後にご紹介させていただきます検査スケジュールに沿って治療前検査を行います。

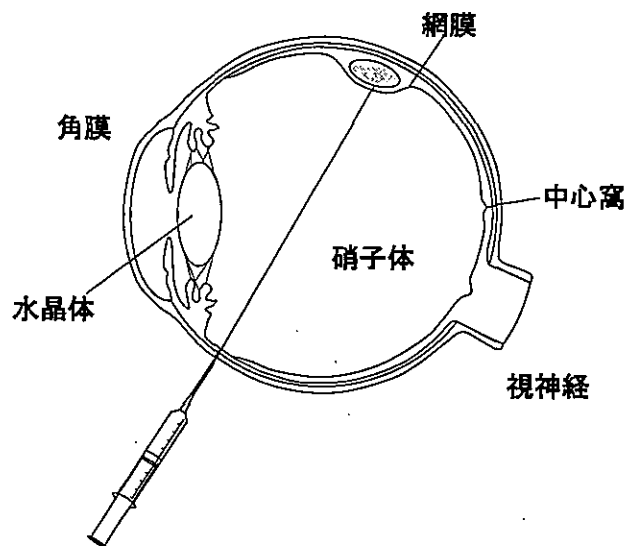
治療前検査が完了した後、そのデータとあなたの病状に基づいて、あなたが本臨床研究を受けることが適切か否かについて、第三者機関である九州大学病院先進医療適応評価委員会が判定を行います。

九州大学病院先進医療適応評価委員会があなたの参加を認めた場合に限り、担当医師より第2回目の説明をいたします。

さらにこの第2回目の説明において、本臨床研究への参加をご承諾いただいた場合にのみ、あなたへの臨床研究が開始されます。

4) 治療用ベクター投与方法の概略と投与後の隔離について

今回、私たちがご紹介する臨床研究は、あなたの眼の中に遺伝子を含む溶液（治療用ベクター）を少量（50 μ l : 1 μ l は 1 ml の 1/1,000）原則4カ所（網膜変性が強く、網膜下投与が不可能と術中に判断された場合は、投与場所を減らすことがあります。）に注射するもので（計 200 μ l）、注射に伴う痛みを軽減するために、眼の奥の方に麻酔液を注入します（局所麻酔）。手術中の所見に応じて術者の判断で適宜レーザーを施行することがあります。



本臨床研究では、2種類の濃度の治療用ベクターを用います。薄い濃度（ 2.5×10^7 TU/ml を 200 μ l : 合計 5×10^6 TU : TU=細胞1個に1つの遺伝子を導入できるベクターの単位で力価を示します）から開始し、5名の方に同じ量の治療用ベクターを使用し、その後経過を観察します。5名の患者さんともに問題がないこと、つまり安全性を確認し、九州大学先進医療適応評価委員会ですべて許可を得た後、より高い濃度の治療用ベクター（濃度が10倍、 2.5×10^8 TU/ml を 200 μ l : 合計 5×10^7 TU）の投与を開始します。治療低用量で5名、治療高用量で15名の計20名の方にこの臨床研究に参加いただく予定です。

増量が可能かどうかの判断は、本臨床研究の担当医師ではなく、前述のごとく九州大学病院先進医療適応評価委員会が第三者の立場で決定いたします。また、あなたに、どの濃度の治療用ベクターが用いられるかについては、担当医師にお尋ね下さい。

後で記載する「可能性のある副作用あるいは有害事象」を予防するため、治療前日

から治療 3 日後まで抗生物質の点滴、および治療前日から抗生剤の点眼を、治療翌日からステロイドホルモンの点眼を開始いたします。

遺伝子を含む溶液の投与前日あるいは当日から、投与した遺伝子が血液及び尿中にないことが確認されるまで（原則的に投与 7 日後までですが、検査の結果によっては延長となることもあります）、特別な治療室（遺伝子治療室）で治療が行われます。遺伝子治療室は、主要各国が批准したカルタヘナ議定書に基づく法律「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 年法律第 97 号）」に沿って使用が義務付けられている基準を満たす施設です。原則 1 週間ではありませんが、あなたに投与されるベクターが外部に漏れ出さないようにするため、原則としてこの部屋を出ることは禁じられています。

この部屋でのあなたの生活は著しく規制されますので、特にご注意ください。主に以下の各点についてご留意いただきますが、その他遺伝子治療室での生活の細かい点については、担当医および看護師へお気軽にお尋ね下さい。

(1) 本臨床研究の実施に必要な検査などの特別な事情がない限り、期間内は遺伝子治療室から出ることは出来ません。

(2) 遺伝子治療室に入室する医師・看護師・検査技師他、また面会者は、すべて専用のガウンやマスク等を着用します。

(3) 歯磨き、排尿・排便、着替えなどはすべて遺伝子治療室内で行っていただきます。これらはすべてベクターが外部に漏れださないようにする措置であるため、治療期間中は厳守していただく必要があります。

5) 治療用ベクター投与後の観察期間(実施期間内)とその後のフォローアップ期間(実施期間後)

本遺伝子治療臨床研究では、あなたへの治療用ベクターの投与を行って 1 ヶ月後から、24 ヶ月（2 年）後まで定期的に外来を受診していただき、必要な検査を受けていただくことが必要です。投与を受けてからこの 2 年後までの期間が、本臨床研究の実施期間です。投与後 12 ヶ月までは 1 ヶ月ごと、12 ヶ月以降 24 ヶ月までは 2 ヶ月ごとの決められた来院日に受診してください。

以上のように本臨床研究は、投与を行ってから 2 年で終了となりますが、九州大学病院眼科では最低 1 年に 1 度の定期的外来受診を、終生（一生涯）続けていただけるようお願いしております。これは、あなたが罹患している網膜色素変性という疾患が比較的ゆっくり進行する病気であるため、臨床研究が終了した後でも症状が変化する可能性があるためです。また多くの遺伝子治療臨床研究が進んでいるアメリカでは、本臨床研究にて使用するレンチウイルスベクターを含めた遺伝子組込型ベクターを用いた臨床研究被験者の終生のフォローアップを推奨しており、我が国もその傾向にあります。

これは遺伝子治療全般における長期にわたる安全性がまだ確立していないことから、臨床研究終了後に問題が生じることがないか、仮に問題が起こったときに早期に発見し対処するために行います。

投与後 2 年以降の来院は以下の目安でお願いします。

- 1) 投与後 24 ヶ月以降、投与後 36 ヶ月（3 年）まで：3 ヶ月に 1 回来院検査
- 2) 投与後 36 ヶ月以降、投与後 60 ヶ月（5 年）まで：6 ヶ月に 1 回来院検査
- 3) 投与後 5 年以降：可能な限り 1 年に 1 回来院検査。来院が不可能な場合は、担当医等が電話もしくは郵便で状況確認の連絡をいたします。

この治療法はまだ試験段階のものであり、ヒトの場合の安全性は現在のところ明らかではありません。また確実に成功するという保証也没有。さらには一時的に効果が見られたとしても、時間が経つにつれて症状が少しずつ悪くなる可能性もあります。従ってあなたがこの臨床研究に参加されている間は、いなる症状があっても必ず担当医師あるいは看護師に報告して下さい。

【本臨床研究によって起こり得る副作用】

本臨床研究における治療法は、これまで人体に投与されたことのないベクターを用いる全く新しいものであるために、副作用に関する情報は十分ではありません。本臨床研究中に少しでも気になることがありましたら、遠慮せずに必ず担当医師または看護師へ申し出て下さい。

1. 本臨床研究において、特有に見られる可能性がある副作用

1) 網膜下投与の操作に伴う、可能性がある副作用

(1) 一般的事項: 投与眼周囲の痛み・腫脹

本臨床研究では、眼の後ろ側に麻酔の注射をする局所麻酔（球後麻酔またはテノン嚢下麻酔）下に、硝子体手術により硝子体を切除後、ベクター溶液を網膜下に 50 μ l ずつ4カ所注入します。従って手術時の痛みは軽くなると予想されますが、痛みの感じ方には個人差があります。痛みがひどい場合は担当医師・看護師にお知らせいただければ、状態に応じて麻酔の追加または鎮痛剤を使うことがあります。

また手術後に眼周囲の痛みや腫れが見られることがあります。これには、手術操作に伴う炎症反応による痛みや腫れ、が想定されます。通常は一過性のもので、経過観察により自然に改善すると考えられますが、極端にひどくなると眼の動きが悪くなり、ものがダブって見えるようになる危険性があります。

(2) 細菌性眼内炎

硝子体手術後に眼内で細菌が繁殖することがあります。非常にまれで 2000 例に 1 例ぐらいの割合と報告されています。薬や手術による洗浄で対処しますが高度になると高度の視覚障害となることがあります。九州大学病院眼科では年間 1,000 例の眼内手術を実施していますが、最近 5 年間に細菌性眼内炎の発生はありません。

ベクター投与後にこのような状況に至る危険性があるかどうかについて、細かく診察や血液検査をすることで詳細にモニターしていきます。もしこれらの状態を疑わせる症状や検査結果が現れた場合は、試験を直ちに中止し、最大限の治療を行います。

(3) 網膜・脈絡膜出血、および硝子体出血

まれですが高度の出血（駆逐性出血）の場合手術が続けられなくなることがあります。眼の手術の 0.2% 程度に起こると言われていますが、この場合、高度の視覚障害となることがあります。九州大学病院眼科では最近 5 年間にこのような出血で高度の視覚障害となった症例は経験しておりません。

また、術後に一過性に少量～中等量出血することがあります。止血剤、血管強化剤の投与を行いながら様子を見ます。多くは 1 から 2 週間で自然に治癒します。硝子体出血が遷延する場合は硝子体手術による洗浄を施行する場合もあります。

(4) 網膜裂孔および網膜剥離

治療前に見つからなかった網膜裂孔や網膜剥離が手術中に見つかったり、また治療前に存在しなかったこれらの状態が、手術操作により生じることがあります。網膜裂孔は硝子体手術の 10-20%、網膜剥離は 1-2% に生じると報告されています。

網膜剥離の原因となる裂孔周囲にレーザー光凝固や、空気やガスを眼内に入れること（ガスタンボナーデ）という手術中の処置で多くは治癒します。また、手術後しばらくして網膜剥離が起こることがあります。この場合、光凝固により網膜剥離の進行が防止できない場合は再手術（硝子体手術、もしくは強膜内陥術）が必要になる場合もあります。

(5)増殖硝子体網膜症

硝子体手術に伴い、術後に網膜の上に増殖膜が張ってくることがあります。硝子体手術の約1%に生じると報告されています。増殖膜が張ってくることにより、網膜剥離などの合併症が生じる場合は、再度硝子体手術を行う場合があります。

2)ベクター投与に関して起こりえる副作用

(1)免疫反応

これまでのベクターと同様にアフリカミドリザル由来サル免疫不全ウイルスベクターがあなたの身体に注入されると、あなたの身体はこれを排除しようとします。これを「ベクターの免疫原性」と呼び、いくつかの副作用の原因になる可能性があります。

①自然免疫反応

ベクターのような異物が身体の中に入り込むと、ただちにこの自然免疫反応（非特異的免疫）が始まります。ベクターを認識したあなたの身体の細胞から、色々な物質（サイトカイン、ケモカインなど）が産生され、ベクターの周囲に白血球（ナチュラルキラー細胞、好中球など）が引き寄せられ炎症反応が始まります。この反応が非常に強く起こると発熱などの症状の原因となり、極端な場合には全身性炎症反応症候群による血液凝固異常と多臓器不全の原因になる場合があります。全身性炎症反応症候群を示唆する症状や検査データが得られた場合、試験をただちに中止し、最大限の治療を行います。

②獲得免疫反応（細胞性免疫）

ベクターが注射され数日（4日目ー約2週間）で始まる反応で、ベクターが入り込んだ細胞を除去するための細胞傷害性T細胞（CTL）の誘導・増殖が主です。結核に対し予防接種として行われるBCGは、この細胞性免疫を利用したものです。

この細胞性免疫も炎症反応の原因となるため、血液中の白血球数・その分画など炎症に関わるデータを注意深くモニターします。仮に異常を示唆する症状や検査データが得られた場合、試験をただちに中止し、最大限の治療を行います。

③獲得免疫反応（液性免疫）

一度入り込んだベクターに対し、あなたの身体はベクターの活性を中和する物質（抗体）を産生することがあります。同様な現象は、種々のウイルス（インフルエンザ、ポリオ、おたふく風邪など）に対するワクチンとして利用されています。一方で抗体が産生されると、時に身体の他の臓器や細胞を障害することも報告されています。また、症状を感じない場合でも、ベクターが体内に存在している場合、身体はベクターの活性を中和する物質（抗体）を産生することがあります。

従って、治療前検査を含め、臨床研究期間中は血液中の抗体レベルを注意深くモニターしますが、仮に臓器障害を示唆する症状や検査データが得られた場合、試験をただちに中止し、最大限の治療を行います。

(2)発がん性

本臨床研究において用いる組換えアフリカミドリザル由来サル免疫不全ウイルスベクターは細胞へ遺伝子を導入した後、あなたの染色体にランダムに組み込まれることが知られています。この組み込みという現象によって、遺伝子挿入変異誘発（insertional mutagenesis）が生じる可能性があります。この遺伝子挿入変異誘発とは、組み込まれたベクターの遺伝子によって、あなたの細胞で本来作られるはずの蛋白質が正常に作られなかったり、作らなくていい余計な蛋白質を作ってしまったことです。これによって発がんが惹起される危険性は否定できません。後述しますが実際に、染色体に組み込まれるタイプの別の種類のベクター（レトロウイルスベクター）を用いた臨床研究において、白血病が生じたことが報告されています。

動物を用いた本臨床研究の安全性試験では、発がん性は認められていませんが、遺伝子治療後、臨床研究期間内だけでなく臨床研究終了後も、外来にて定期的に悪性腫瘍に関するスクリーニングを行っていきます。

(3)眼圧上昇

サルにおける安全性試験（急性毒性試験）で、ベクターを投与した9個体中の1個体において、術後3ヵ月までの持続した眼圧上昇が観察されています。ベクター投与との因果関係ははっきりしていませんが、眼圧上昇により、あなたの見え方（視野）へ悪影響を及ぼす可能性があります。従って、本臨床研究の実施前後には詳細な眼圧測定、隅角鏡検査を定期的に行い、あなたの視機能に対し悪影響を及ぼすような変化が生じないかをスクリーニングします。万一、眼圧が上昇した場合は、緑内障治療薬点眼など適切な治療を行います。

(4)網膜変性

小動物を用いたベクターの網膜下投与で、一部の個体に網膜変性が認められました。サルによる急性毒性試験ならびに長期安全性試験においては、明らかな網膜変性は確認されておりませんが、万一に備え、本臨床研究では視力に重要な部分（黄斑部）にはベクターを投与しないことになっています。

3)神経栄養因子(ヒト色素上皮由来因子:hPEDF)の過剰産生に伴い、予想される副作用

本来、hPEDFは網膜色素上皮細胞より恒常的に分泌されている蛋白質であり、眼内には比較的豊富に存在することが知られています。従って、眼局所においては過剰産生に対する安全域は比較的広いと予想しています。また、その生理活性は神経保護効果と病的血管新生に対する抑制効果であるため、比較的安全性の高い蛋白質と考えられ、眼内の環境を悪化させる可能性は低いと予想しています。さらに、サルにおける安全性試験の結果、SIV-hPEDF投与眼において多量のhPEDFが産生されているにも関わらず、肉眼的ならびに光学顕微鏡的に病的な変化を認めなかったことから、眼局所への影響は少ないと予想しています。全身への影響は現時点では予測できない部分もありますが、少なくとも安全性試験では重篤な副作用は観察されていません。

さらに、米国において施行されているhPEDFを搭載したアデノウイルスベクターの硝子体内投与による加齢黄斑変性に対する臨床研究においても、hPEDFが眼内に過剰発現することによる毒性は示されていません。

2. これまでの遺伝子治療で報告されている一般的な副作用

これまでに欧米を中心に4,000人以上の患者さんが遺伝子治療を受けています。これまで実施されてきた遺伝子治療に関する国内外での報告から、以下の副作用が起こる可能性をご承知下さい。

1) 比較的良好に見られる軽い副作用（多くの場合は一時的なものです。）

- (1) 発熱
- (2) 下痢
- (3) 吐き気
- (4) 感冒様症状（鼻水、くしゃみ、など）
- (5) 肝機能障害
- (6) 発疹
- (7) 軽度の血圧低下 など

2) まれに見られる比較強い副作用（時に生命に関わる場合があります。）

- (1) 腎機能障害
- (2) 骨髄抑制（貧血、白血球減少など）
- (3) 重度のアレルギー症状（喘息発作、ショック）
- (4) 血液凝固障害（出血傾向、血栓症など） など

3. 遺伝子治療特有の有害事象

遺伝子治療では「ベクター」に関わる、通常の薬剤とは異なる特有の有害事象が報告されています。その中でも生命に関わる可能性のある重篤な有害事象は 5 件報告されています。

1) 全身性炎症反応症候群による血液凝固異常と多臓器不全(1999 年米国)

18 歳男性、オルニチンカルバミラーゼ（OTC）欠損症（遺伝性疾患）患者さんがアデノウイルスベクターの投与を受け、血液凝固異常と多臓器不全を発症した後、4 日後に死亡。この患者さんは治療前検査で肝機能が低下しており、除外されるべきであったことが報告されています。

2) T細胞性白血病(2001 年フランス、2007 年英国)

遺伝的に免疫不全のために感染症を繰り返す疾患（X 連鎖複合性重症免疫不全症）の男性患児 10 名にレトロウイルスベクターにより欠損遺伝子が補充され、ほとんどの患児が通常の学校へ行けるようになるなど、高い治療効果が得られました。しかしながら、そのうち 4 名の患児が T 細胞性白血病を発症してしまいました。4 名とも制癌剤などによる治療を受けていましたが、残念ながら 1 名の死亡を認めています。その他の 3 名は現在も生存中であり、制癌剤による治療が奏功しています（2010 年 7 月現在）。その後の解析により、レトロウイルスベクターの遺伝子が患児の造血幹細胞の染色体に入り込んだために白血病が発症したことが明らかにされています。また同様の症例が 1 例、英国でも報告されました。

本件について新たな情報が得られました時には、随時報告いたします。

3) 骨髄異形成症候群(2010 年ドイツ)

遺伝的に免疫不全のために感染症を繰り返す疾患（慢性肉芽腫症）の男性患者 2 名に対して、レトロウイルスベクターにより正常な遺伝子が補充される臨床研究が行われました。遺伝子治療後は高い治療効果が得られ、感染症に罹患しにくい状態となりましたが、症例 1 では治療後 15 ヶ月、症例 2 では治療後 28 ヶ月の時点で、白血球の異常増殖が生じる骨髄異形成症候群という病気になりました。症例 1 の患者さんは敗血症で死亡し、症例 2 の患者さんは幹細胞移植という新たな治療を受けました。その後の解析により、レトロウイルスベクターの遺伝子が造血幹細胞の染色体に入り込んだために病気が発症したことが明らかにされています。

本件について新たな情報が得られました時には、随時報告いたします。

4) 特定の遺伝子にベクターが挿入された血球細胞の増殖(2010 年フランス)

ヘモグロビンを構成するグロビン遺伝子の異常により生じる重症貧血（サラセミア）の 18 歳男性患者に対して、レンチウイルスベクターを用いた遺伝子治療臨床研究が行われました。投与後 3 年が経過した時点まで、ヘモグロビンの量が回復し、遺伝子治療の効果が観察されています。一方で HMGA2 遺伝子という特定の遺伝子にベクターが組み込まれた血球の割合が増加するという事象が観察されています。現時点で、患者さんに重篤な副作用は生じておりませんが、注意深く経過観察されています。

本件について新たな情報が得られました時には、随時報告いたします。

4. 有害事象に関してご理解いただきたいこと

繰り返しになりますが、本臨床研究はこれまで世界的にみても例のない初めてのものであり、以上の説明した内容以外にも予期せぬ副作用が起こる可能性があります。このため治療前後の検査は入念に行いますが、不幸にも命に関わる強い副作用が起こる可能性がゼロではないことを、十分にご理解下さい。不幸にもこのような副作用が現れた場合、直ちに臨床研究を中止し、最大限の治療を行います。

【本臨床研究にあたって注意していただきたいこと】

1) 必要な検査について

今回あなたにご紹介している視細胞保護遺伝子治療は世界で初めてのものであり、人における安全性と効果はまだ確認されていません。あなたの病状を調べるものだけでなく、副作用を予知するため、また安全性を確保するため、以下のようなたくさんの検査が必要です。

以下に各検査の概要と目的を記載いたします。詳しくは、本文書末の検査項目一覧表をご覧ください。

＜検査概要＞

(1) 眼の機能と状態を調べる検査

あなたの眼の状態が、本臨床研究に適しているか、治療用ベクター投与による副作用が発生していないか、などを調べるために、臨床研究期間中は以下に示すように数多くの検査が頻回に必要です。多くは痛みを伴わない非侵襲的検査です。

①視力・視野検査:

視力検査と視野検査であなたの見え方を調べます。視力は、万国式試視力表（ランドルト環）を用いて測ります。視野は、標準的な視野計を用いて測ります。

②眼底検査:

散瞳剤を用いて瞳孔を広げ、眼底を詳細に観察し、病気の広がり具合や他の合併症がないかどうかを調べます。また、眼底の中心部分の写真を記録・保存します。

③眼圧検査:

眼の硬さ（眼の中の圧力を反映します）を測り、緑内障の可能性について調べます。

④細隙灯検査:

眼の前方の部分（角膜など）に病気がないかを調べます。

⑤蛍光眼底造影検査(FA、IA):

フルオレセインとインドシアニンググリーンという造影剤を用いて、血管を中心とした眼底の状態を調べます。

⑥網膜電図(ERG)ならびに多局所網膜電図(multifocal ERG):

網膜の光に対する反応を調べます。

⑦光学的干渉断層計(OCT):

網膜の断面を観察し、網膜とくに黄斑部の合併症の有無を調べます。

⑧暗順応曲線:

暗い場所での眼の慣れ具合を調べます。

(2) 全身の状態を調べる検査

あなたの全身の状態が、本臨床研究に適しているか、治療用ベクター投与による副作用が発生していないか、などを調べるために、以下に示すように数多くの検査が必要です。特に血液検査は臨床研究期間中は頻回に必要です。

①QOL アンケート調査:

日常生活の状態について調べるために、アンケート調査を行います。

②胸部レントゲン撮影:

肺に異常がないかを調べるために行います。

③呼吸機能検査(肺活量、一秒率):

肺の機能を調べます。

④がんの検査:以下の検査を行います。

- ①大腸がん検査：検便と直腸診により、大腸がんの可能性について調べます。
- ②上部消化管内視鏡検査（胃カメラ）：胃がんの有無を調べます。
- ③前立腺がん検査（男性のみ）：血液検査により前立腺がんの可能性について調べます。
- ④子宮がん検査（女性のみ）：子宮の出口の部分から細胞をこすりとってきて、子宮がんの可能性について調べます。産婦人科で行います。
- ⑤頭部・胸部・腹部 CT：
放射線を使って、頭部、胸部、及び腹部の異常がないかを調べる検査です。通常の X 線検査とは異なり、コンピュータを使って体の断面写真をとることが出来、より詳細に体の内部の状態を知ることができます。放射線科で行います。
- ⑥妊娠検査（女性のみ）：
尿を採取して、妊娠していないかどうかを調べます。
- ⑦ウイルス検査：
血液を採取して、B 型肝炎、C 型肝炎、エイズウイルスに感染していないかどうかを調べます。
- ⑧血液検査：
全身状態、体液中のイオン濃度、腎機能、肝機能、血液・血液凝固機能などを調べます。

(3) 治療用ベクターの挙動を調べる検査

あなたに投与された治療用ベクターが、あなたの眼だけでなく全身へ散布されていないか、またあなたの身体が治療用ベクターに対しどの程度反応しているか、などを調べるために、以下に示すような検査が必要です。

- ①血中サイトカイン定量：ベクターにより炎症反応の原因となる物質が産生されていないかを調べる検査です。副作用の予知に有益です。
- ②血中・尿中ベクターゲノム定量：血液や尿にベクターが入り込んでいないかを調べる検査です。
- ③血中抗ベクター抗体定量：あなたの身体がベクターに対し、免疫学的に反応していることを調べる検査です。

(4) あなたの病気の原因となっている遺伝子を調べる検査

あなたの病気の原因となっている遺伝子を調べるために、第 2 回目の同意取得以降に行う血液検査の際に、一部の血液成分（血清）のサンプルを保存します。このサンプルは、九州大学病院眼科で凍結保存されます。治療効果との関係性を調べるなど、病気の原因となる遺伝子を調べる必要性が生じた場合、このサンプルを使用します。他の病気の診断や関係する遺伝子異常を調べる目的では使用しません。

2) 本臨床研究の参加に必要な費用について

本臨床研究への参加をご希望いただく患者さんには、本臨床研究の対象となる網膜色素変性だけでなく、他の眼の病気（白内障や緑内障など）や、全く別の病気（高血圧や糖尿病など）を別途治療なさっている場合があります。また臨床研究における治療用ベクターの投与とは関係なくとも、参加のために実施した検査の際に思わぬ副作用により、新たに診療経費が発生することがあります。

これらの診療経費について、本臨床研究では以下のように取り決めておりますので、よくお読みになり十分にご理解下さい（「図表：臨床研究の実施期間における診療経費について」をご参照下さい）。

また診療経費について不明な点があれば、担当医師、あるいは高度先端医療センター臨床研究コーディネーターまで、お気軽にお問い合わせ下さい。

(1) 本臨床研究への参加に必要な経費について

臨床研究には、健康保険等の公的な保険は一切適応されません。

従って、この臨床研究の参加に必要な経費（例えば、ベクターに関する費用、手術に関する費用、投与前後の検査に関わる費用、入院中のベッドに要する費用など）は、全て「自由診療（保険診療を適応しない診療）」経費として取り扱われます。

原則として、この臨床研究の参加に必要な経費（自由診療経費）は、本臨床研究を実施する九州大学病院眼科が研究関係経費から全額負担いたします。一方で、本臨床研究のための投与前検査、入院中、投与後調査期間中には、診療経費について様々な状況が発生します。以下に本臨床研究の実施における診療関係経費に関する具体的な取り決めを記載します。

(2) 本臨床研究への参加に必要な経費と通常の保険診療の関係と、その取扱い

我が国の医療制度上、「自由診療」と「保険診療」は、同時に取り扱うこと（これを「混合診療」とよびます）は、原則的にできないことになっています。

従って本臨床研究では、以下のように取り決めております。一部ご不便をお掛けすることがありますので、十分にご理解とご協力をいただけますようお願いいたします。

<入院中の取扱い>

本臨床研究へのご参加をお決めになり、治療用ベクターの投与を受けるために入院なさった場合、本臨床研究に必要な検査等に必要な経費以外にも、例えば高血圧用のお薬などが必要になります。

この場合は「自由診療」と「保険診療」を別途に扱うことが難しいため、入院中の全ての経費を「自由診療」で取扱います。つまりあなたに必要な全ての医療費を、九州大学病院眼科の研究関係経費から負担いたします。

<外来での投与前、投与後検査時の取扱い>

例えば、今回本臨床研究へのご参加をお決めになり、九州大学病院眼科外来で投与前後の検査を受ける（これは「自由診療」）ことになったあなたが、他にも高血圧で九州大学病院内科外来に通院されている（これは「保険診療」）とします。この場合、高血圧は本臨床研究とは関係のない疾患であり、通常の保険診療の対象であるため、現在の我が国の制度上は、同時に九州大学病院での診療は受けられません。

従って、このような場合は、

- a) 当院眼科外来（自由診療）と内科外来（保険診療）の受診日を別の日にしていただくか、あるいは、
- b) 一度眼科外来での手続きを済まされた後、同日に別途内科外来の受診手続きをし

ていただく（あるいはその逆）、ことになります。

(3) 健康被害（有害事象）に関わる医療費について

本臨床研究の実施には細心の注意が払われますが、予期せぬ健康被害が発生する可能性があります。またこれまで実施されたことのない初めての臨床研究であるため、どの程度の頻度でどのような健康被害が発生するか、については、それを予測するデータがありません。またベクター投与とは直接関係なくとも、本臨床研究に参加するために必要な検査の実施過程で、思わぬ副作用が発生する可能性もあります。

健康被害については、臨床研究や治験では「有害事象」という言葉で表現されます。有害事象には、「臨床研究が原因で発生する有害事象（一般的には副作用と呼ばれています）」だけでなく、「臨床研究とは直接関係せずに発生する有害事象」が含まれます。

有害事象は臨床研究における治療用ベクターの投与が原因であったか否か、については、本臨床研究と利害関係の無い独立した委員会にて判定されます。

この健康被害（有害事象）の治療に必要な経費についても、やはり「自由診療」と「保険診療」の考え方による区別を必要とします。本臨床研究では、以下のように取り決めておりますので、ご理解をいただきますようお願いいたします。

<入院中の取扱い>

本臨床研究の実施に関わる入院中に発生した健康被害（有害事象）については、「自由診療」と「保険診療」の区別を別途に行うことが難しいため、入院中の全ての経費を「自由診療」で取扱います。つまりあなたに必要な全ての医療費を、九州大学病院眼科の研究関係経費から負担いたします。

<外来での投与前、投与後検査時の取扱い>

例えば、今回本臨床研究へのご参加をお決めになり、治療前検査に直接関係した健康被害（有害事象）が発生した場合、これは九州大学病院眼科の研究関係経費から全額負担いたします。臨床研究に必要な治療前検査と無関係な健康被害（有害事象）が発生した場合は、保険診療（原則3割負担）となります。

ベクター投与により生じた健康被害（有害事象）、あるいは投与後検査により生じた健康被害（有害事象）についても、同様にあなたに自己負担は発生しません。ただし臨床研究に必要な治療後検査と無関係な健康被害（有害事象）が発生した場合は、保険診療（原則3割負担）となります。

<臨床研究終了後（追跡期間・外来）における診療経費の取扱い>

ベクター投与後24ヶ月が経過した時点で臨床研究は終了します。以後長期観察を外来にて継続しますが、この期間は本臨床研究の実施に関わる健康被害（有害事象）の発生の有無に関わらず、一切の診療経費は保険診療（原則3割負担）となります。

<健康被害（有害事象）により後遺症が発生した場合の診療経費の取扱い>

臨床研究の実施により健康被害（有害事象）が発生し、のちに何らかの後遺症が発生した場合、臨床研究期間中（治療用ベクター投与後24ヶ月まで）は、後遺症に関わる診療経費は、全て九州大学病院眼科の研究関係経費から負担いたします。ただし、これ以後の長期観察期間では、いかなる場合でも一切の診療経費は保険診療（原則3割負担）となります。

<健康被害（有害事象）により後遺症が発生した場合の補償・賠償について>

臨床研究の実施により健康被害（有害事象）が発生し、のちに何らかの後遺症が発生した場合、本臨床研究では補償・賠償の制度はありません。後遺症などのために就労が困難になるなどの不利益が生じた場合、あるいは心身の苦痛が生じた場合などにおいても、補償や賠償はされません。

あらかじめご了承ください。

3) 同意の確認について

本臨床研究への参加の前には、臨床研究に参加いただく旨を 2 回にわたり説明し、ご同意をいただきます（今回は第 1 回目です）。また検査などに関しても説明しご同意をいただきますが、一度同意し、捺印をいただいたあとでも、研究への参加を辞退することは自由です。たとえ参加されなくても、今後の不利益になることは全くありません。

視細胞保護遺伝子治療臨床研究実施中に新しい情報（例えば他の新しい治療法、安全性に関する情報など）が得られた時は、必ずあなたにお知らせします。その場合には、本臨床研究を続けるかどうかについて、再度あなたの意思をお尋ねします。

4) 解剖について

不幸にして何らかの原因で死に至った場合、本臨床研究との因果関係の有無に関わらず病理解剖の許可が求められます。従って、本臨床研究へ参加する際に家族あるいは親族の方々へ解剖の許可について事前にご相談されることをお勧めいたします。病理解剖の同意がなくても本臨床研究への参加は可能です。あなたの自由な意思で決めて下さい。

5) 臨床研究のフォローアップについて

本臨床研究で使用している臨床研究薬は世界でも初めて使用されるものであるため、投与後 2 年間は定期的な外来と検査を受けていただき、その後は終生（一生涯）投与を受けた患者さんがどのような経過をたどるか追跡することになっております。

従いまして、以下の 2 点について、ご了解とご協力をお願い致します。

1. 九州大学病院からのご連絡：

本臨床研究へご参加なさった方は、投与を受けて 2 年後以降は、担当医あるいは担当臨床研究コーディネーター（CRC）から月に一度程度お電話などの手段にて、現在の病状等についてお尋ねさせていただくように致しますので、ご了解ください。

2. ご本人ならびにご家族へのお願い：

患者さんご本人ならびにご家族におかれましても、眼の病気だけでなく他に身体の不調などにお気づきの場合、また他の病院を受診なさることがありましたら、その旨お気軽に担当医あるいは担当 CRC までご一報いただきますよう、重ねてよろしくお願いいたします。

また、他の病院を受診なさる際は、お渡しする『遺伝子治療臨床研究参加カード』を医師にご提示いただきますようお願いいたします。

ご連絡先：九州大学病院眼科外来

【担当医：_____】

（電話 092-642-5660）

九州大学病院高度先端医療センター

【担当臨床研究コーディネーター：_____】

（電話 092-642-5858）

投与後の来院は以下のとおりお願いします。

①投与後 24 ヶ月まで：12 ヶ月までは 1 ヶ月ごと、24 ヶ月までは 2 ヶ月ごとの決めら

れた日に来院検査

②投与後 36 ヶ月（3 年）まで：3 ヶ月に 1 回の来院検査

③投与後 60 ヶ月（5 年）まで：6 ヶ月に 1 回の来院検査

④投与後 5 年以降：可能なかぎり 1 年に 1 回の来院検査

来院が不可能な場合は、担当医等が電話もしくは郵便で状況確認の連絡をいたします。

6)その他

本臨床研究中は、担当医師の了解なしに薬局で購入できる薬を含む、いかなる薬も使用しないで下さい。

また本臨床研究は遺伝子を用いるため、子孫への影響についてその安全性が明確ではありません。よって今後お子様を希望される方は、その旨担当医師にご相談下さい。
少なくとも治療用ベクター投与後 12 ヶ月は避妊を行う必要があります。

また本臨床研究は試験デザイン上、片方の眼への投与しか行いませんので、ご承知下さい。

【現在開発中の他の治療法について】

網膜色素変性に関して、現在明らかに有効な治療はありません。実際に患者さんに試みられている治療、動物実験が進められている治療について、海外における状況を含めてご紹介いたします。

1) 薬物による治療

暗いところで見やすくする薬（暗順応改善薬：アダプチノール®）や網膜への血液の流れを良くする薬（末梢血管拡張薬：カルナクリン®など）、ビタミンAを大量に投与する治療（ビタミンA大量療法）、血圧を下げる薬（カルシウム拮抗薬：ニバジール®）などが試されています。

しかし現時点で、いずれも明らかな効果は得られていません。

2) 遺伝子治療

網膜色素変性は遺伝性の病気ですので、遺伝子治療が有効であるという動物実験が数多く報告されています。特に、レーバー先天盲と言われるこの病気に類似の病気の犬が、遺伝子治療により視力が改善し、障害物を避けて歩けるようになったとする報告があり、その可能性が非常に期待されています。さらに本疾患に対する遺伝子治療の臨床研究が2007年より英国および米国において開始されたと報告されました。これまでに15名以上の患者さんにアデノ随伴ウイルスベクターが投与されており、半数以上の患者さんで視力などの視機能が改善し、また大きな副作用が見られなかったと報告されています。

また加齢黄斑変性という別の病気に対しては、本臨床研究で使用する遺伝子である色素上皮由来因子（PEDF）と同じ遺伝子を用いた遺伝子治療が、患者さんに開始されており、現在までのところ安全であることが報告されています。

3) 他家細胞移植治療

眼の中は拒絶反応が起こりにくい場所と考えられていますので、胎児の網膜や成人の眼球から得られた視細胞を含めた網膜細胞の移植が行われている施設があります。2008年3月現在、総計20人以上に行われています。その中の1例で視力の改善が報告されていますが、治療効果の詳細なしくみはわかっていません。

4) 人工視覚

網膜色素変性は、光を感じる視細胞が悪くなる病気ですので、その働きを機械に代用させる方法が人工視覚です。シート状の電極を網膜の上もしくは下に設置して、光の刺激を電気刺激に変えて脳へ伝える方法で、これまでに米国において試験的に数人の患者さんに行われました。日本でも2001年から新しい方式を用いた人工視覚システムの研究開発を行うプロジェクトが進行中です。開発が始まったばかりの方法であり、2008年3月現在、その効果は明確ではありませんが、光を感じるができない患者さんにとっては将来よい治療法になると考えられています。

5) 網膜再生治療

いろいろな細胞に変化することが出来る細胞（幹細胞）を、視細胞へ分化させて移植する方法です。原理的には理想的な方法であり、動物実験では治療効果を示すことが報告されていますが、まだ患者さんへの投与は行われていません。また移植した視細胞が網膜の中できちんと生き続けられるかどうか、また他の細胞とうまく連携ができて、光の信号を伝えることが出来るのかなど、動物実験レベルでも未知のことが多く、実際に治療に利用されるまでには、かなりの時間がかかると考えられています。

以上のように網膜色素変性に対して色々な治療法が試みられていますが、まだ治療を受けた患者さんの数が少なく、また試験が終了したものも効果を得るには至っておらず、現時点でどの方法がよいという結果は出ていません。

【利益相反(りえきそうはん)に関する説明】

1) 本臨床研究に関わる研究関連組織について

本遺伝子治療臨床研究は九州大学病院が自主的に実施しますが、この臨床研究に用いられるベクター技術は1995年4月から2004年3月まで医薬品副作用被害救済・研究振興調査機構（現独立行政法人医薬品医療機器総合機構）ならびに民間企業7社が共同出資して設立したベンチャー企業である株式会社ディナベック研究所が開発したものです。株式会社ディナベック研究所は予定の事業期間が終了し、現在は研究成果管理会社になっていますが、その技術は民間会社として新たに発足したディナベック株式会社（代表取締役社長 長谷川 護、茨城県つくば市）へ2004年4月より継承されました。本臨床研究においては、このベクター技術と材料を用いて、ベクター製造受託会社（ベクター・ジーン・テクノロジー社）に九州大学病院が治療用ベクター製造を委託しています。

従って、ベクターに関係する一部の専門的検査項目の測定技術などに関して、同社の助言、指導が必要な場合があります。つまり本臨床研究の実施にはディナベック株式会社は直接的に関与しませんが、あなたの血液、尿サンプルなどにおけるベクターの挙動に関する重要なデータ収集に対して、同社は科学的助言や、一部では技術的協力をを行う予定であるため、本臨床研究における外部研究協力者として位置付けられております。

また動物実験データ収集など、本臨床研究に至るまでの基礎研究を同社と共同で行ってきた米満吉和教授の、本臨床研究計画における役割は、ベクターの生体内挙動の検査などの基礎研究分野関連業務に限定されています。本臨床研究における治療行為の実施、九州大学病院先進医療適応評価委員会など、あなたの診療に直接関わり、かつ臨床的判断を行う議決組織の全てにおいて、米満吉和教授およびディナベック株式会社関係者は除外されているため、中立性と客観性は保たれています。

2) 本臨床研究の実施における資金出所について

本臨床研究における資金分担は以下のようになっています。

(1) 本臨床研究に用いるベクターの GMP 生産:

ヒトに投与可能な品質のベクターを、中華人民共和国の企業（ベクター・ジーン・テクノロジー社）に委託して製造させるための経費です。これには九州大学大学院医学研究院および九州大学病院が獲得した競争的資金（研究費）および委任経理費が充てられています。

(2) 本臨床研究の実施に関わる診療・治療経費:

本臨床研究の安全性や有効性を十分見極め、あなたにできるだけ適切な診療と治療を行うための経費です。これには保険適応可能な経費には保険適応分が、保険適応外の診療経費については九州大学病院あるいは九州大学大学院医学研究院の競争的資金（研究費）および委任経理費などでまかなわれます。

【個人情報の保護について】

1) あなたの個人情報の取扱いにおける九州大学病院の責務

九州大学病院で扱っているあなたの診療記録などをはじめとするあなたの情報は個人情報に当たります。あなたの診療記録は法律（刑法）で定められた「医師の守秘義務」に則り、九州大学病院にて厳重に管理し、秘密保持を厳守します。その他、九州大学病院で働いているものも守秘義務をまもる事が定められています。さらに、九州大学病院では、個人情報を保護することを徹底するために個人情報保護の法律に基づいた規則を定め、適切な管理者等を配置し、個人情報の保護に努めています。

2) 九州大学病院における個人情報の一般的な取扱い

九州大学病院は 100 年を越える歴史を持ち、地域における中核病院であることのみならず全国有数の基幹病院として高度の医療、質の高い医療を提供して参りました。このような活動を通じて、さらには医学教育機関としてこれまで以上に優れた医療人を育成するという、社会的な責務を担っています。

つきましては、九州大学病院におけるあなたの貴重な個人情報を含む記録を、医療機関として、また教育機関として利用させていただきたいと思えます。あなたの個人情報は、各種法令に基づいた院内規程を遵守した上で以下の目的のために利用されますので、あなたのご理解とご協力をいただけますようお願いいたします。

(1) 九州大学病院での利用

- ・あなたがお受けになる医療サービス
- ・医療保険事務
- ・あなた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) 九州大学病院および九州大学での医学教育における利用

- ・医学・歯学・薬学・保健学系の教育（ベッドサイドティーチングなど病院内での診療等に関わる医学教育に限る）
- ・教職員の研修（研修医や新任看護師等への病院内研修、及び医療サービス等、前項（1）に関わる病院事務系職員の研修等に限る）
- ・研究活動（研究活動を実施する際に、実施に関する法令や倫理指針、関係団体等のガイドライン等が定められている場合は、それを遵守して誠実に遂行いたします）

(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関する連携
- ・他の医療機関等からの医療サービス等に関する照会への回答
- ・あなた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業務委託
- ・あなたのご家族等への診療に関わる説明
- ・医療保険事務（保険事務の委託、審査支払機関への提出）
- ・審査支払機関または保険者からの照会への回答
- ・関係法令等に基づく届出および報告書
- ・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の事業者等へのその結果の通知

- ・医師賠償責任保険等に関わ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
- ・医療上の安全に関わる行政機関又は医療に関する専門の団体等への届出等
- ・医学・歯学・薬学・保健学系の教育研究機関への提出
- ・他の医療機関等との医学の発展を目的とした共同研究活動
- ・外部監査機関への情報提供

3) 本臨床研究の遂行に必要なあなたの個人情報の使用について

2) に掲げました九州大学病院における個人情報の一般的な取扱いに加え、本遺伝子治療臨床研究の実施にあたっては、さらに本臨床研究を遂行するために必要な利用目的のためにも使用されます。これは原則的に、本臨床研究の実施に関する緊急事態が発生した場合のご連絡やお手続き、検査のご連絡など、あなたの生命を守るために必要な場合です。

あなたの個人情報に接することが可能なのは、本臨床研究実施関係者に加え、第三者となるこの病院の審査委員会、監査委員会の人や、厚生労働省や文部科学省の審査委員会の人および同省の担当者のみです。

これらの目的と異なる目的のためにあなたの個人情報を使用する場合は、事前にあなたおよび、あなたのご家族（あるいはご親族）にご説明し、ご了承を得てから使用いたします。本臨床研究は、九州大学病院内で実施するため、あなたを特定する情報を上記以外の第三者へ提供することは原則的にありません。

第三者へ情報を提供する必要がある場合は、その目的が適切であることを確認し、あなたおよび、あなたのご家族（あるいはご親族）にご説明のうえ、ご承諾をいただいた場合に限り提供することとなっています。

4) あなたの個人情報を閲覧可能な第三者と、九州大学病院の個人情報管理と監督

前述のように、本臨床研究においては、主にこの病院の医師などからなる審査委員会・監査委員会の人や、厚生労働省や文部科学省の審査委員会の人および同省の担当者があなたの診療記録を閲覧することがありますが、このような人たちには守秘義務が課せられており、あなたの個人的な情報は全て秘密とされます。

一方、この病院の審査委員会や監査委員会には、審査等の客観性を確保するため、あるいはあなたの病状や診療に関わるより専門的な医学的・科学的知識の提供を受けるために、九州大学病院以外の外部の委員が参加することがあります。

また、本臨床研究は、九州大学病院が行っていますが、一部企業の協力を受けて実施されます（ディナベック株式会社：前述）。この企業には、すでに申し上げたとおり、ベクターに関係する一部の専門的検査項目の測定技術などに関して、助言、指導を求める場合があります。つまり本臨床研究の実施にはディナベック株式会社は直接的に関与しませんが、あなたの血液、尿サンプルなどにおけるベクターの挙動に関する重要なデータ収集に対して、科学的助言や、一部では技術的協力を行うことがあります。この場合においては、あなたの個人情報は全て匿名化され、あなたのサンプルと個人情報は全て連結不可能な状態での科学的助言・技術的協力を実施いたしますので、ディナベック株式会社があなたの個人情報を得ることはありません。

5) あなたの病状情報の公開による社会への還元と、その際のあなたの個人情報の管理措置

上記の個人情報保護の体制のもと、あなたの情報は医療の向上のため、本臨床研究の成果を検討するときや、病状経過、試験成績などを公表・公開する場合は、あなた

であることを特定できない形で、すなわち個人情報を保護して取り扱います。遺伝子治療臨床研究は社会的に広く関心を集めていますので、病状経過などについては、個人を特定できない状態での公開（学術雑誌、学会、マスコミを含む）を原則とします。その際はあなたの個人情報を厳守して実施することをお約束いたしますのでご了承下さい。

前述いたしました、ディナベック株式会社は、直接的に本臨床研究には関与しませんが、あなたの血液、尿サンプルなどにおけるベクターの挙動に関する重要なデータ収集に対して、科学的助言や、一部では技術的協力を行うことがあります。この場合、個人を特定できない状態での病状経過などについて、企業関係者に一般公開と同等の情報が、一般公開に先立ち開示されることがありますが九州大学病院の一般公開に先行して企業から個人情報が公になることはありません。

6) あなたの個人情報の管理におけるあなたの権利

本臨床研究で取り扱っている個人情報について、あなたが開示、訂正、利用停止を求めることができます。あなたが個人情報について疑問などがある場合は、担当医師にお問い合わせ下さい。お申し出に応じて、その手続きに関する詳細をご説明いたします。

また、担当医師とは別に個人情報に関する苦情等の窓口もございますので、疑問等がございましたらお問い合わせください。

あなたが同意書に署名（自署）あるいは捺印すること、および、あなたの家族（あるいは親族）が同意書に署名（自署）あるいは捺印することによって、これらの個人情報についての取り扱いを認めることになります。

【疑問点や質問について】

本臨床研究に関して、何か疑問点や質問などがありましたら、以下までお問い合わせ下さい。

九州大学病院 眼科

総括責任者：石橋達朗 分担研究者：池田康博

電話：092-642-5648

尚、休日・夜間は眼科当直医を通じ対応致します。電話（092-642-5654）で眼科当直医の呼び出しをお願い致します。

【個人情報に関する苦情等の窓口】

個人情報に関する苦情等の窓口では、個人情報に関する疑問やご相談に対応いたします。

九州大学病院地域医療連携室 患者様相談窓口

電話：092-642-5165

FAX：092-642-5155

検査項目一覧表

検査項目一覧表		外来	入院(治療前)	入院(治療中)											外来(治療後)														
		同意取得	同意取得日 以後 ～ ～15日	スクリーニング期間				検査日 0日	調査期間																				
				-14 ～ ～4日	-3日	-2日	-1日		6 時間	1日	2日	3日	4日	5日	6日	7日	8- 14日	20日	2ヶ月	3ヶ月	4ヶ月	5ヶ月	6ヶ月	7ヶ月	8ヶ月	9ヶ月	10ヶ月	11ヶ月	12ヶ月
同意取得①②		○			○																								
問診	併存疾患、アレルギー歴、 手術歴、既往歴、常用薬、 喫煙歴			○	○											○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
病状の検査	視力検査など			○		○										○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
生理学的検査	体重			○		○										○	○												
	体温			○			○	△	○	○	○	○	○	○	○	○	□												
	血圧(収縮期/拡張期)、脈 拍			○			○	△	○	○	○	○	○	○	○	○	□	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
呼吸機能検査	胸部X線(正、横)			○												○													
心機能検査	12誘導心電図、心エコー			○																									
血液・尿検査	血液生化学検査、 尿タンパクなど			○		○				○	○		○			○	○	○		○		○		○		○		○	○
癌性腫瘍検査	頭部・胸部・腹部CT		○																	○		○						○	
	PSA-ACT(男性のみ)、 便潜血				○																○		○					○	
	子宮頸部細胞診 (女性のみ)		○																		○								
	直腸診				○																	○							
	上部消化管内視鏡		○																		○								
妊娠検査	(女性のみ)			○																									
乳房水採取	ヒトPEDFタンパク質 濃度測定		○														○	○		○		○		○		○		○	
原因遺伝子検査	血清採取					○																							

△:投与前治療前に実施する。□:その期間内は毎日実施する。

検査項目一覧表

		外来(治療後)								
		追跡期間								
		3ヶ月 1回	30ヶ月	3ヶ月 1回	30ヶ月	6ヶ月 1回	48ヶ月	6ヶ月 1回	60ヶ月	12ヶ月 1回
同意取得①②										
問診	併存疾患、アレルギー歴、 手術歴、既往歴、常用薬、 喫煙歴	○	○	○	○	○	○	○	○	○
病状の検査	視力検査など									
生理学的検査	体重									
	体温									
	血圧(収縮期/拡張期)、脈 拍	○	○	○	○	○	○	○	○	○
呼吸機能検査	胸部X線(正、横)									
心機能検査	12誘導心電図、心エコー									
血液・尿検査	血液生化学検査、 尿タンパクなど		○		○		○		○	○
悪性腫瘍検査	頭部・胸部・腹部CT				○		○		○	○
	PSA-ACT(男性のみ)、 便潜血				○		○		○	○
	子宮頸部細胞診 (女性のみ)									
	直腸診									
	上部消化管内視鏡									

視細胞保護遺伝子治療臨床研究に関する同意書
(第1回目)

1. 私は「神経栄養因子（ヒト色素上皮由来因子：hPEDF）遺伝子搭載第3世代組換えアフリカミドリザル由来サル免疫不全ウイルスベクターの網膜下投与による網膜色素変性に対する視細胞保護遺伝子治療臨床研究」に協力するにあたり、担当医師である、

医師および、

医師より下記の説明を受け、

その内容を理解しました。

医師

患者

- | | |
|--|--------------------------|
| ☐ はじめに | ☐ |
| ☐ 遺伝子治療臨床研究の名称と実施施設、担当医師 | ☐ |
| ☐ 視細胞保護遺伝子治療臨床研究への参加 | ☐ |
| ☐ 視細胞保護遺伝子治療臨床研究の辞退 | ☐ |
| ☐ 視細胞保護遺伝子治療臨床研究の目的 | ☐ |
| ☐ 遺伝子とは | ☐ |
| ☐ 遺伝子治療とは | ☐ |
| ☐ 神経保護治療とは | ☐ |
| ☐ 本臨床研究で使用する臨床研究薬の骨格となるベクターについて | ☐ |
| ☐ 本臨床研究に用いられる遺伝子（治療用遺伝子） | ☐ |
| ☐ 視細胞保護遺伝子治療臨床研究の実施方法 | ☐ |
| ☐ 本臨床研究によって起こり得る副作用 | ☐ |
| ☐ 本臨床研究にあたって注意していただきたいこと | ☐ |
| ☐ 現在開発中の他の治療法について | ☐ |
| ☐ 利益相反（りえきそうはん）に関する説明 | ☐ |
| ☐ 個人情報の保護について | ☐ |
| ☐ 疑問点や質問について | ☐ |
| ☐ 個人情報に関する苦情等の窓口 | ☐ |

2. 以下の臨床研究除外項目に該当しないことを確認しました

- 1) 私は強いアレルギーを持っておりません。また既往もありません
- 2) 私は慢性人工透析を受けておりません
- 3) 最近6ヶ月以内に脳出血、脳梗塞などの既往はありません
- 4) 私には臨床研究の概要は十分に理解できました
- 5) 私はアルコール依存、薬物依存症ではありません
- 6) (女性のみ) 私は妊娠中、あるいは妊娠している可能性はありません

以上をもって、誰からも強制されたものではなく、私の自由な意思で本臨床研究へ参加することに同意しました。また本臨床研究の実施前に必要な全身状態に関する治療前検査を受けることに同意しました。

以上の内容を証明するため、ここに署名・捺印いたします。

同意年月日 平成 年 月 日

本人氏名 (自署)

印

生年月日 年 月 日

私は本人の本臨床研究へ参加することに同意し、ここに署名・捺印いたします。

同意年月日 平成 年 月 日

家族氏名 (本人との続柄：家族あるいは親族のみ)

(自署)

印

説明をした医師および説明日

平成 年 月 日

(署名)

印

(署名)

印

補足的な説明をした臨床研究コーディネーター及び説明日

平成 年 月 日

(署名)

印

説明文書をお渡しした日

平成 年 月 日

同意書を確認した日

平成 年 月 日

署名捺印済み同意書の写しをお渡しした日

平成 年 月 日

*****臨床研究に参加しています*****

わたしは九州大学病院で、
遺伝子治療 の臨床研究に参加しています。

開始日は平成 年 月 日です。
投与後、終生の経過観察が義務付けられています。

〈医療関係者の方へ〉

遺伝子治療臨床研究参加中の患者様に関するお願い

この患者様は、九州大学病院で実施中の『神経栄養因子(ヒト色素上皮由来因子:hPEDF) 遺伝子搭載第3世代組換えアフリカミドリザル由来サル免疫不全ウイルスベクターの網膜下投与による網膜色素変性に対する視細胞保護遺伝子治療臨床研究』に参加しています。

本遺伝子治療臨床研究に参加している患者様については、臨床研究薬投与後、終生注意深く経過観察することが義務付けられています。

この患者様を貴院にてご加療いただく場合には、下記までご連絡ください。

眼科：

臨床研究コーディネーター：

平日(8:30~17:30)

高度先端医療センター 092-642-5516・5858

眼科外来 092-642-5660

夜間・土・日祝日 092-642-()

九州大学病院

第2.1版（作成日：平成23年12月8日）
被験者候補患者への説明・同意書

課題名「神経栄養因子（ヒト色素上皮由来因子：hPEDF）遺伝子搭載第3世代組換えアフリカミドリザル由来サル免疫不全ウイルスベクターの網膜下投与による網膜色素変性に対する視細胞保護遺伝子治療臨床研究」

視細胞保護遺伝子治療臨床研究への参加を
希望される患者さんへ
(第2回目 説明と同意書)

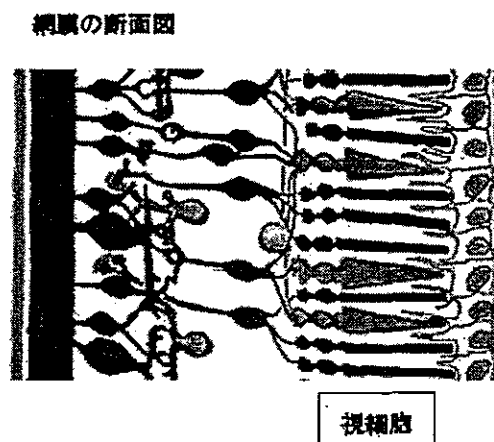
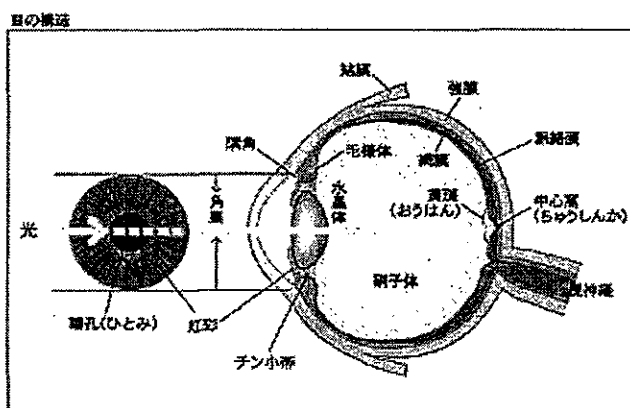
【はじめに】

あなたの現在の眼の状態、すなわち網膜色素変性という病気は、光や色を感じる能力を持つ細胞（視細胞）が遺伝子のキズが原因で徐々に悪くなっていくことにより生じています。一般に、暗い所で見えにくくなる夜盲という症状にはじまり、少しずつ周りが見えにくくなり、最終的には高度の視覚障害に至る可能性があります。当院を受診している患者さんの約40%は、身体障害者手帳1級（両眼の視力の和が0.01以下）または2級（両眼の視力の和が0.04以下、もしくは両眼の視野がそれぞれ10度以内でかつ両眼による視野について視能率による損失率が95%以上のもの）を取得しております。これまでに病状を改善させる有効な治療法（手術やお薬）は報告されていません。そこで、私たちは「視細胞保護遺伝子治療」という、全く新しい治療法をここであなたにご紹介しようと考えています。

治療法といっても、この方法はまだ効果と安全性が確認されたものではありません。従って、ここで視細胞保護遺伝子治療に関する情報を聞いていただき、この臨床研究の意義などについて、十分にご理解いただきたいと思います。

遺伝子治療は非常に専門的かつ先進的な分野ですので、これからの説明の途中で分かりにくい言葉なども多く出てくると思います。少しでも分からないな、と感じられたら、話の途中で結構ですので、担当医師・看護師、臨床研究コーディネーターへお気軽にお尋ね下さい。

今回の説明は第2回目であり、ほぼ第1回目の繰り返しになります。第1回目のご同意により種々の検査を行い、九州大学病院先進医療適応評価委員会により、あなたの病状と全身状態は本遺伝子治療臨床研究の適応と判断されました。従って、今回の説明により再びご同意があれば、臨床研究が開始されます。また今回ご同意なされて臨床研究が開始されても、途中で辞退することも自由です。



【遺伝子治療臨床研究の名称と実施施設、担当医師】

臨床研究の名称：神経栄養因子(ヒト色素上皮由来因子:hPEDF)遺伝子搭載
第3世代組換えアフリカミドリザル由来サル免疫不全ウイルスベクター
の網膜下投与による網膜色素変性に対する視細胞保護遺伝子治療
臨床研究

実施施設：九州大学病院

総括責任医師：石橋 達朗（九州大学病院・眼科・科長／教授）

分担研究医師：池田 康博（九州大学病院・眼科・助教：副総括責任者）

米満 吉和（九州大学大学院薬学研究院・教授）

久富 智朗（九州大学大学院医学研究院・眼科学・助教）

宮崎 勝徳（九州大学病院・眼科・助教）

【視細胞保護遺伝子治療臨床研究への参加】

この視細胞保護遺伝子治療臨床研究に関する説明を担当医師から受けた上で、本臨床研究に参加されるかどうかは、あなたの自由な意思で決めて下さい。たとえ参加されなくても、今後の診療上、あなたの不利益になることは全くありません。

また視細胞保護遺伝子治療臨床研究実施中に新しい情報（例えば他の新しい治療法、安全性に関する情報など）が得られた時は、必ずあなたにお知らせします。その場合には、本臨床研究を続けるかどうかについて、再度あなたの意思をお尋ねします。

【視細胞保護遺伝子治療臨床研究の辞退】

この視細胞保護遺伝子治療臨床研究に参加することを同意した後でも、また実際に開始した後でも、あなたが何らかの理由で辞退を申し出た場合は、いつでも自由に辞退することができます。また辞退の後でも今後の診療上、あなたの不利益になることはありません。

【視細胞保護遺伝子治療臨床研究の目的】

本遺伝子治療臨床研究において使用する臨床研究薬（治療用ベクター：SIV-hPEDF）は、人体への初めての投与になるため、安全性を主眼とした試験となります。従って、本遺伝子治療臨床研究の目的は、「臨床研究薬を安全に投与することができるか」を検討することです。

今からあなたに説明する遺伝子治療臨床研究と同じ治療法は、まだ世界で行われていません。今からあなたに説明する遺伝子治療臨床研究と類似の臨床研究は欧米で実施されていますが、まだ始まって間もない治療法であるために、安全性などいろいろな点がはっきりしておりません。ラットおよびサルなどを用いた安全性試験の結果から、本臨床研究は比較的安全であろうと判断していますが、予測し得ない副作用が起こる可能性は否定できません。

また、マウス、ラットおよびサルを用いた動物実験では、眼内に注射された遺伝子から神経保護作用をもつ蛋白質（ヒト色素上皮由来因子：hPEDF）が長期間（約5年間）産生されていること（ラットおよびサル）、また変性して消失していく視細胞が保護され、脱落を免れることにより、光に対してよく反応していたことなど（マウス、ラット）が観察されています。

まだ人における効果は確認されておりませんが、動物での結果から、視機能の低下を遅らせることが期待できます。私たちは視細胞保護遺伝子治療という新しい治療法が、あなたのような症状を持つ患者さんに有効であるかどうかを最終的には検討したいと考えています。その前段階として、もしあなたの同意が得られるならば、あなたにこの臨床研究に参加いただいて、まず臨床研究薬投与の安全性を検討させていただ

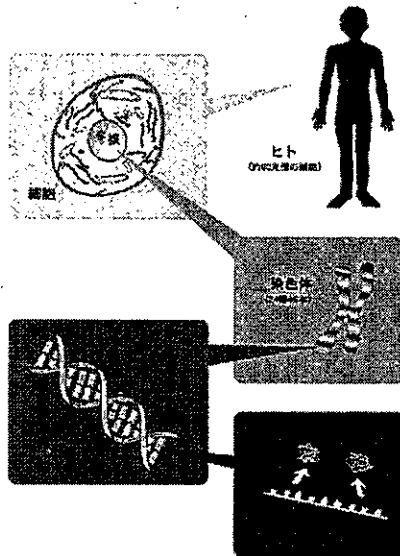
きたいと思っています。

なお、本臨床研究において安全性に加えて治療の有効性が確認された場合、次の段階の臨床研究（有効性と投与量の検討など）が計画される可能性があります。その際、今回の臨床研究に参加された方も再び臨床研究に参加する（今回投与した眼と反対の眼に投与）ことが可能となります。

【遺伝子とは】

人間の「遺伝子」は細胞の核と呼ばれる部分にあります。その中にある「染色体」という構造に含まれる、「DNA（デオキシリボ核酸）」のことを指します。この「遺伝子」はあなたの身体を作っている蛋白質の設計図で、この遺伝子の情報をもとに蛋白質が作られます。

「遺伝子」の何らかの異常によって、重要な蛋白質が作られなかったり、蛋白質が正常な機能を持たなかったりした場合に、病気が生じることが一般に知られています。あなたのような症状を持つ網膜色素変性も、この「遺伝子」の何らかの異常が原因と考えられています。



【遺伝子治療とは】

病気の治療を目的として遺伝子あるいは遺伝子を導入した細胞を人の体内に投与する治療法です。病気の原因になっている異常な遺伝子の代わりに正常な遺伝子を外部から補充して本来の機能を回復させたり、病気の回復に役立つ成分を産生する遺伝子を外部から補充して体内でそれらの成分を作り出させることにより病気の治療を行います。

先天的に感染症に罹りやすい病気（先天性免疫不全症）に対する遺伝子治療がアメリカで1990年に開始されて18年、我が国では1995年に北海道大学附属病院において第1例目へ治療が行われて以来、13年を経過しました。しかしこれらの臨床研究は副作用が起きる危険性を最小限にするために慎重に進められており、個々の研究や試験の位置付けは、未だ十分ではありません。

【神経保護治療とは】

神経を保護する蛋白質（神経栄養因子）により、視細胞などの神経細胞を変性（死）から守る方法です。神経保護効果を持つ蛋白質として、色素上皮由来因子（PEDF）、線維芽細胞増殖因子（FGF-2）、脳由来神経栄養因子（BDNF）、毛様体神経栄養因子（CNTF）、神経成長因子（NGF）など複数知られています。

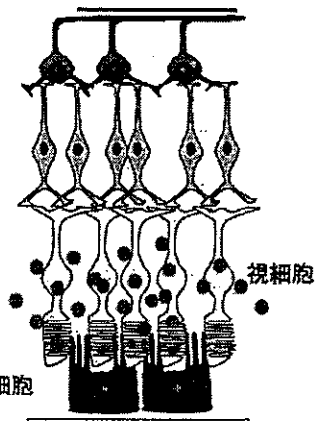
これら神経を保護する蛋白質を直接投与あるいは、遺伝子を投与し体内でこれらの蛋白質を作り出させることにより病気を治療する方法が研究されています。私たちは、神経栄養因子のうち色素上皮由来因子の遺伝子を眼の中の細胞に導入して、あなたのような症状を持つ患者さんの病気の進行を遅らせたいと考えています。

弱っていく視細胞の近くに
薬の遺伝子を導入して、薬の工場を造る



視細胞が弱るのを遅らせる

遺伝子を導入する細胞



【本臨床研究で使用する臨床研究薬の骨格となるベクターについて】

今回あなたが参加する臨床研究に用いられる臨床研究薬は、遺伝子を運ぶ「運び屋」(これを「ベクター」と呼びます)として、「レンチウイルスベクター」が骨格となっています。「ウイルス」という名前に少し驚かれるかもしれませんが、以下にこのベクターについて簡単に説明をいたします。

これまで開発されて来たベクターには、主に以下のものがあります。

- 1) レトロウイルスベクター
- 2) アデノウイルスベクター
- 3) アデノ随伴ウイルスベクター
- 4) センダイウイルスベクター
- 5) レンチウイルスベクター

これらのウイルスの遺伝子構造に人工的に手を加えることによって、増殖せず病気を起こさない「ベクター」として生産され、これらが現在、実際の患者さんの治療に用いられています。

まず、この病気は数年から数十年の経過でゆっくり進行するため、かなり長い間治療を続けなければなりません。そこでベクターとしては、可能な限り長期間治療が可能なものが第一に選ばれることになります。

そこで上記1)、3)、5)が適しますが、1) レトロウイルスベクターは分裂しない細胞には導入ができないことから、分裂する細胞がほとんど存在しない眼の中で遺伝子を発現させることには適しません。3) アデノ随伴ウイルスベクターは血液中でも安定であることから、血液を通じて他の組織に移動する可能性があり、長期の安全性について不明です。5) レンチウイルスベクターは分裂しない細胞にも導入可能で、また血液中で容易に不活性化することから、この病気の治療に有効であると考えられます。従って、本遺伝子治療臨床研究では、このレンチウイルスベクターを使用することにいたしました。

今回は、レンチウイルスベクターの中でも、アフリカミドリザルより分離されたレンチウイルス(サル由来免疫不全ウイルス: Simian immunodeficiency virus from African green monkey: SIVagm)を基に作成したものを用います。これについては、後で説明いたします。

一方で、レンチウイルスベクターはレトロウイルスベクターなどと同様、危惧される点があります。それは、低い確率ですが副作用を起こす可能性が残っていることが指摘されていることです。以下にその概略を説明いたします。

1) 副作用を起こす可能性 その(1):野生型ウイルスへの「先祖返り」

これらのウイルスベクターには、その一部が増殖して病気をおこさないよう人工的に手を加えています。しかし低い確率ですが、その製造過程で野生型ウイルスに先祖返りすることが知られています。この現象は「相同組み換え」として専門家の間で広く知られていて、この先祖返りした野生型ウイルス（専門的には RCL: replication competent lentivirus と呼ばれています）により新たな病気が引き起こされる可能性がわずかながら存在します。

2) 副作用を起こす可能性 その(2):患者さんの遺伝子情報を攪乱する可能性

レトロウイルスベクター、アデノ随伴ウイルスベクター、レンチウイルスベクターなどは、感染した細胞の染色体、つまりあなたの遺伝子の中にウイルス自身の遺伝子を挿入する機能を持っています。この性質のために、これらのベクターでは長期間の安定した治療効果をもたらすことが期待されているのですが、その反面、あなたの遺伝子がウイルス由来の遺伝子により構造的・機能的に一部変化する（専門的には「プロウイルスの染色体への挿入」と呼びます）ことは避けられません。ヒトの遺伝子は70%以上が活動していないと考えられていますので、多くの場合は問題にならないと考えられますが、極めてまれに細胞のガン化を抑制する遺伝子の中に入り込んだりすることがあり、その場合はガン化を促進することが培養細胞などでは確認されています。

残念ながら、最近このレトロウイルスベクターによる「プロウイルスの染色体への挿入」が原因で白血病が発生したことがフランスで報告されました。同じ治療を受けた、先天性免疫不全症（遺伝的に身体の抵抗力が弱く、重症の細菌やウイルス感染症を起こしやすい）の遺伝子治療を受けた10名の患者さんのうち、4名にT細胞性白血病が発生したと報告されています。また最近、英国でも1例について同様の報告がなされました。現在専門家の統一見解として、「プロウイルスの染色体への挿入」に加えて治療で用いられた遺伝子（共通γ鎖）を用いたことによる特有の現象ではないか、そしてがん関連遺伝子などの増殖に関わる遺伝子（LMO2 など）の近傍にプロウイルスが挿入された細胞があり、それが種々の条件による徐々に増殖したためではないか、と考えられております。さらに、ドイツで行われた別の先天性免疫不全症（慢性肉芽腫症）の遺伝子治療でも同様に、このレトロウイルスベクターによる「プロウイルスの染色体への挿入」が原因で骨髄異形成症候群という異常な白血球増殖が2名の患者で発生したと報告されました。また最近、レンチウイルスベクターを用いた臨床研究においても、「プロウイルスの染色体への挿入」がある白血球の増殖が1名の患者で見られたと報告されました。これらのレトロウイルスベクターやレンチウイルスベクターを用いたその他の遺伝子治療は、国内外で安全性に最大限の注意を払いつつ、慎重に進められています。

3) 今回あなたに用いられる「アフリカミドリザル由来サル免疫不全ウイルスベクター」の特徴

「非増殖型アフリカミドリザル由来サル免疫不全ウイルス」というベクター用のウイルスを、日本の企業（ディナベック株式会社：茨城県つくば市）が人工的に造り出すことに成功しています。これはレンチウイルスの感染に必要な部分をウイルス遺伝子より取り除くことにより、身体の中で増殖しないように改変された人工のウイルスベクターです。

アフリカミドリザル由来サル免疫不全ウイルスベクター（以下 SIVagm ベクターと略します）にはベクターとして以下のような特徴があります。

第1に、「SIVagm ベクター」は、他の種類のものを含めたレンチウイルスベクター

に共通する特徴である「長期遺伝子発現」が可能です。この SIVagm ベクターを用いたカニクイザルにおける研究で、少なくとも約 3 年間の安定した遺伝子発現を確認しています。理論的にはさらに長期間において遺伝子を発現させることが可能であると考えられており、この性質から、遺伝性疾患である網膜色素変性に適したベクターであると考えられます。

第 2 に、現在国内外で最も研究が進んでいるレンチウイルスベクターは、ヒト免疫不全ウイルス (HIV) ベクター (エイズウイルスを基にしたもの) です。世界中の研究者の努力により改良が進み、ベクターの製造過程において上記の「先祖返り」をしたウイルスが混入する可能性は理論的に非常に低いと考えられています。私たちの知る限り、現時点で前述の先祖返りウイルス (RCL) の報告はありません。

しかしながら、ヒトに投与された場合に野生型ウイルス (自然界に存在する HIV) とベクター (HIV ベクター) の相同組み換えにより、先祖返りだけでなく、さらに重度の病気の原因になるウイルスが出現する可能性が完全には否定出来ません。

本臨床研究で使用するベクターの基になっている SIVagm は野生型 HIV と遺伝子配列が約 60% 一致しています。しかしながら、SIVagm ベクターでは、そのほとんどが削除されており、野生型 HIV に対する相同組み換えの可能性は理論上ほとんどありません。

さらに万が一先祖返りが生じたり、野生型のウイルスが混入していたりした場合でも、この SIVagm 自体はもともとの感染対象であるサルにおいても病気を発症しないことが広く知られており、免疫不全が生じる可能性は理論上低いと予想されます。

第 3 に、遺伝子導入によりあなたの遺伝子が構造的・機能的に一部変化する可能性についてですが、フランスで報告された副作用はレトロウイルスベクターであることや、導入する遺伝子の種類に誘因があったこと、また導入する細胞が増殖しやすい細胞であり、特定の部位に挿入されやすい状態であったことなどが原因と考えられています。

4) 投与の安全性に問題がないと判断した根拠

本臨床研究で使用する SIV-hPEDF (hPEDF 遺伝子を搭載した SIVagm ベクターをこのように記載します) 投与の安全性についてサルを用いて約 5 年間の観察期間を費やし検討しました。その結果、観察期間内に重篤な副作用を認めず、安全性に大きな問題がないことが明らかとなりました。

また、SIV-hPEDF が遺伝子内に挿入される部位についてもヒト網膜色素上皮細胞 (あなたにベクターが投与された場合に、遺伝子が入り込むと考えられる細胞) を用いた検討を行っており、特定のがん関連遺伝子へ集中した挿入がないことを確認しています。さらにマウスやラットを用いた実験を繰り返していますが、現在までのところがんの発生を含む明らかな異常は全く認められていません。

今回あなたに投与されるベクターは、厳重な管理のもと、海外の委託会社 (ベクター・ジーン・テクノロジー社: 中華人民共和国・北京市) で生産されたものです。現時点では認可された医薬品ではありませんが、人体に投与してもよいと判断される純度の基準 (good manufacturing practice- GMP グレードと呼びます) による検査を合格したものです。

【本臨床研究に用いられる遺伝子(治療用遺伝子)】

本臨床研究の遺伝子として用いるものは、ヒト色素上皮由来因子 (hPEDF) と呼ばれる、もともとあなたの身体中に存在する蛋白質のもとになる設計図 (遺伝子) です。この hPEDF は眼の中に存在する網膜色素上皮細胞という細胞から発見され、15 年以上を経過して世界中の研究者によりその働きが明らかになっています。

hPEDF の機能の最も重要なものに、「神経保護作用」があります。同様の作用を持つものに、線維芽細胞増殖因子 (FGF-2)、脳由来神経栄養因子 (BDNF)、毛様体神経栄養因子 (CNTF)、神経成長因子 (NGF) など複数知られています。

また、hPEDF のもう一つの重要な機能に「血管新生抑制作用」があり、この効果は 1999 年に初めて報告されました。血管新生とは本来存在しない血管が新しく作られる現象であり、糖尿病性網膜症や加齢黄斑変性など、視力低下を来す眼の疾患の一部では、この血管新生がよく発生します。眼の中で発生する血管新生は視力・視野を悪くする可能性があるため、その抑制効果を持つこの hPEDF は世界中で注目されています。さらに加齢黄斑変性に対し、アメリカで hPEDF を用いた遺伝子治療研究が実施されており、重篤な副作用は報告されていません。

今回私共が hPEDF を使用することを決定した理由は、

- 1) hPEDF は他の因子と比較して高い神経保護作用を示すこと
- 2) hPEDF は血管新生抑制作用を持ち併せていること
- 3) hPEDF は、元来眼の中に豊富に存在する蛋白質であるため、眼内での濃度が上昇しても炎症や免疫反応を起こす可能性が理論的にないことです。

私たちはこれまで繰り返しマウス、ラットおよびサルを用いて動物実験を行い、以下の成績を得ました。即ち SIVagm を用いて hPEDF を遺伝子 (蛋白質の設計図) の状態で眼内の細胞に導入すると、

- 1) 少なくとも 1 年 (マウス・ラット) あるいは 3 年 (サル) 以上持続して蛋白質が産生されること
- 2) 網膜色素変性の遺伝性モデル動物で、症状の悪化を有意に遅延させること (マウス・ラット)

を見い出しました。

あなたの治療に用いられる hPEDF 遺伝子は、その全ての遺伝子構造が正常であることが確認されています。即ち、この治療であなたのからだの中で作られる hPEDF 蛋白質は、あなたが本来からだの中に持っているあなたの hPEDF 蛋白質と全く同じものです。

【視細胞保護遺伝子治療臨床研究の実施方法】

1) 今回の視細胞保護遺伝子治療臨床研究の対象となる患者さん

今回の視細胞保護遺伝子治療臨床研究では、年齢が満 40 歳以上の網膜色素変性の患者さんで、九州大学病院眼科・網膜色素変性再来において 1 年以上の診療記録が保管されている、症状が安定している方を対象としています。

本遺伝子治療臨床研究の対象となる網膜色素変性は、遺伝子異常による疾患と考えられていますが、確定診断は遺伝子異常ではなく、厚生労働省特定疾患治療研究事業／網膜脈絡膜・視神経萎縮に関する調査研究班の定める診断基準に基づいて実施されます。従って本臨床研究への参加に際し、遺伝子診断がなされることはありません。

2) 本臨床研究に参加できない方

研究に参加いただくか否かの最終的な判断は、本遺伝子治療臨床研究の担当医師が関与しない第三者委員会（九州大学病院先進医療適応評価委員会）が、試験前検査とあなたの意思（第 1 回目）を総合して判断いたしました。その結果、あなたは本遺伝子治療臨床研究に適応があると判断されました。

〔本臨床研究に参加できない条件〕

あなたは以下のいずれにも該当しないことを、もう一度ご確認ください。

- ① 臨床研究への参加登録時に 40 歳未満の方
- ② ヒト免疫不全ウイルス（HIV）抗体陽性の方
- ③ 片方の眼が失明している方
- ④ 黄斑部と呼ばれる網膜の中心部分に病気のある方
- ⑤ 緑内障のある方
- ⑥ その他、眼底検査で異常のある方
- ⑦ 重いアレルギーを有するか、これまで経験したことがある方
（花粉症や小児ぜんそくなど、生命に関わる可能性が低いアレルギーと考えられる場合は、これにあたりません）
- ⑧ がんを有するか、有している疑いがある方
（既に治療がなされており、治療前検査で再発の疑いがない場合は、これにあたりません）
- ⑨ 慢性人工透析を受けている方
- ⑩ 心臓あるいは肝臓あるいは腎臓に重い障害を有する方
- ⑪ 活動性の慢性関節リウマチなど、重い炎症性の病気を有する方
（炎症反応が沈静化あるいは低レベルで安定している場合は、これにあたりません）
- ⑫ 最近 6 ヶ月以内に脳出血、脳梗塞を起こした方
- ⑬ 重症の血液疾患を有する方
（高度の貧血や血液凝固異常など）
- ⑭ アルコール依存、薬物依存の方
- ⑮ 妊娠中、あるいは妊娠が疑われる方
- ⑯ 治療用ベクター投与後最低 12 ヶ月の避妊に同意しない方
- ⑰ 研究に参加することにより不利益を受けると予測される方
- ⑱ あなたのご家族が、研究の参加に同意しない方
- ⑲ その他の理由により研究に参加することが不適当であると判断される方

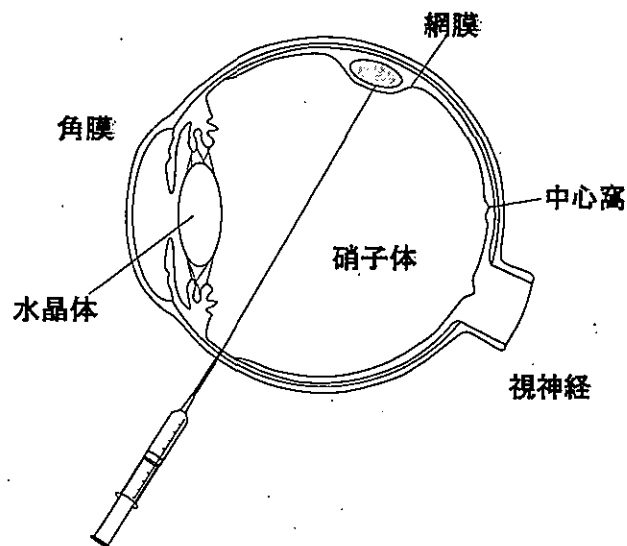
3) 本臨床研究の開始までの流れ

前回、私たちの説明に際し、あなた並びにあなたのご家族（あるいはご親族）が本遺伝子治療臨床研究への参加をご承諾なさったため（第1回目）、あなたは臨床研究参加候補患者として登録されました。登録の後、検査スケジュールに沿って治療前検査が行われました。

治療前検査が完了した後、そのデータとあなたの病状に基づいて、あなたが本臨床研究を受けることが可能か否かに、第三者機関である九州大学病院先進医療適応評価委員会が判定をし、九州大学病院先進医療適応評価委員会があなたの参加を認めましたため、担当医師より今回の説明（第2回目）を行っております。この第2回目の説明において、本臨床研究への参加をご承諾いただいた場合にのみ、あなたへの治療が開始されます。

4) 治療用ベクター投与方法の概略と投与後の隔離について

今回、私たちがご紹介する臨床研究は、あなたの眼の中に遺伝子を含む溶液（治療用ベクター）を少量（50 μ l : 1 μ l は 1 ml の 1/1,000）原則4ヶ所（網膜変性が強く、網膜下投与が不可能と術中に判断された場合は、投与場所を減らすことがあります。）に注射するもので（計 200 μ l）、注射に伴う痛みを軽減するために、眼の奥の方に麻酔液を注入します（局所麻酔）。手術中の所見に応じて術者の判断で適宜レーザーを施行することがあります。



本臨床研究では、2種類の濃度の異なる治療用ベクターを用います。薄い濃度（ 2.5×10^7 TU/ml を 200 μ l: 合計 5×10^6 TU : TU=細胞1個に1つの遺伝子を導入できるベクターの単位で力価を示す）から開始し、5名の方に同じ量の治療用ベクターを使用し、その後経過を観察します。5名の患者さんともに問題がないこと、つまり安全性を確認し、九州大学先進医療適応評価委員会ですべての許可を得た後、より高い濃度の治療用ベクター（濃度が10倍、 2.5×10^8 TU/ml を 200 μ l: 合計 5×10^7 TU）の投与を開始します。治療低用量で5名、治療高用量で15名の計20名の方にこの臨床研究に参加いただく予定です。

増量が可能かどうかの判断は、本臨床研究の担当医師ではなく、前述のごとく九州大学病院先進医療適応評価委員会が第三者の立場で決定いたします。また、あなたに、どの濃度の治療用ベクターが用いられるかについては、担当医師にお尋ね下さい。

後で記載する「可能性のある副作用あるいは有害事象」を予防するため、治療前日

から治療 3 日後まで抗生物質の点滴、および治療前日から抗生剤の点眼を、治療 1 日後からステロイドホルモンの点眼を開始いたします。

遺伝子を含む溶液の投与前日あるいは当日から、投与した遺伝子が血液及び尿中にないことが確認されるまで（原則的に投与 7 日後までですが、検査の結果によっては延長となることもあります）、特別な治療室（遺伝子治療室）で治療が行われます。遺伝子治療室は、主要各国が批准したカルタヘナ議定書に基づく法律「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 年法律第 97 号）」に沿って使用が義務付けられている基準を満たす施設です。原則 1 週間ではありますが、あなたに投与されるベクターが外部に漏れ出さないようにするため、原則としてこの部屋を出ることは禁じられています。

この部屋でのあなたの生活は著しく規制されますので、特にご注意ください。主に以下の各点についてご留意いただきますが、その他遺伝子治療室での生活の細かい点については、担当医および看護師へお気軽にお尋ね下さい。

(1) 本臨床研究の実施に必要な検査などの特別な事情がない限り、期間内は遺伝子治療室から出ることは出来ません。

(2) 遺伝子治療室に入室する医師・看護師・検査技師他、また面会者は、すべて専用のガウンやマスク等を着用します。

(3) 歯磨き、排尿・排便、着替えなどはすべて遺伝子治療室内で行っていただきます。これらはすべてベクターが外部に漏れださないようにする措置であるため、治療期間中は厳守していただく必要があります。

5) 治療用ベクター投与後の観察期間(実施期間内)とその後のフォローアップ期間(実施期間後)

本遺伝子治療臨床研究では、あなたへの治療用ベクターの投与を行って 1 ヶ月後から、24 ヶ月（2 年）後まで定期的に外来を受診していただき、必要な検査を受けていただくことが必要です。投与を受けてからこの 2 年後までの期間が、本臨床研究の実施期間です。投与後 12 ヶ月までは 1 ヶ月ごと、12 ヶ月以降 24 ヶ月までは 2 ヶ月ごとの決められた来院日に受診してください。

以上のように本臨床研究は、投与を行ってから 2 年で終了となりますが、九州大学病院眼科では最低 1 年に 1 度の定期的外来受診を、終生（一生涯）続けていただけるようお願いしております。これは、あなたが罹患している網膜色素変性という疾患が比較的ゆっくり進行する病気であるため、臨床研究が終了した後も症状が変化する可能性があるためです。また多くの遺伝子治療臨床研究が進んでいるアメリカでは、本臨床研究にて使用するレンチウイルスベクターを含めた遺伝子組込型ベクターを用いた臨床研究被験者の終生のフォローアップを推奨しており、我が国もその傾向にあります。

これは遺伝子治療全般における長期にわたる安全性がまだ確立していないことから、臨床研究終了後に問題が生じることがないか、仮に問題が起こったときに早期に発見し対処するために行います。

投与後 2 年以降の来院は以下の目安でお願いします。

- 1) 投与後 24 ヶ月以降、投与後 36 ヶ月（3 年）まで：3 ヶ月に 1 回来院検査
- 2) 投与後 36 ヶ月以降、投与後 60 ヶ月（5 年）まで：6 ヶ月に 1 回来院検査
- 3) 投与後 5 年以降：可能な限り 1 年に 1 回来院検査。来院が不可能な場合は、担当医等が電話もしくは郵便で状況確認の連絡をいたします。

この治療法はまだ試験段階のものであり、ヒトの場合の安全性は現在のところ明らかではありません。また確実に成功するという保証也没有。さらには一時的に効果が見られたとしても、時間が経つにつれて症状が少しずつ悪くなる可能性もあります。従ってあなたがこの臨床研究に参加されている間は、いなる症状があっても必ず担当医師あるいは看護師に報告して下さい。

【本臨床研究によって起り得る副作用】

本臨床研究における治療法は、これまで人体に投与されたことのないベクターを用いる全く新しいものであるために、副作用に関する情報は十分ではありません。本臨床研究中に少しでも気になることがありましたら、遠慮せずに必ず担当医師または看護師へ申し出て下さい。

1. 本臨床研究において、特有に見られる可能性がある副作用

1) 網膜下投与の操作に伴う、可能性がある副作用

(1) 一般的事項: 投与眼周囲の痛み・腫脹

本臨床研究では、眼の後ろ側に麻酔の注射をする局所麻酔（球後麻酔またはテノン囊下麻酔）下に、硝子体手術により硝子体を切除後、ベクター溶液を網膜下に 50 μ l ずつ4カ所注入します。従って手術時の痛みは軽くなると予想されますが、痛みの感じ方には個人差があります。痛みがひどい場合は担当医師・看護師にお知らせいただければ、状態に応じて麻酔の追加または鎮痛剤を使うことがあります。

また手術後に眼周囲の痛みや腫れが見られることがあります。これには、手術操作に伴う炎症反応による痛みや腫れ、が想定されます。通常は一過性のもので、経過観察により自然に改善すると考えられますが、極端にひどくなると眼の動きが悪くなり、ものがダブって見えるようになる危険性があります。

(2) 細菌性眼内炎

硝子体手術後に眼内で細菌が繁殖することがあります。非常にまれで 2000 例に 1 例ぐらいの割合と報告されています。薬や手術による洗浄で対処しますが高度になると高度の視覚障害となることがあります。九州大学病院眼科では年間 1,000 例の眼内手術を実施していますが、最近 5 年間に細菌性眼内炎の発生はありません。

ベクター投与後にこのような状況に至る危険性があるかどうかについて、細かく診察や血液検査をすることで詳細にモニターしていきます。もしこれらの状態を疑わせる症状や検査結果が現れた場合は、試験を直ちに中止し、最大限の治療を行います。

(3) 網膜・脈絡膜出血、および硝子体出血

まれですが高度の出血（駆逐性出血）の場合手術が続けられなくなることがあります。眼の手術の 0.2% 程度に起こると言われていますが、この場合、高度の視覚障害となることがあります。九州大学病院眼科では最近 5 年間にこのような出血で高度の視覚障害となった症例は経験しておりません。

また、術後に一過性に少量～中等量出血することがあります。止血剤、血管強化剤の投与を行いながら様子を見ます。多くは 1 から 2 週間で自然に治癒します。硝子体出血が遷延する場合は硝子体手術による洗浄を施行する場合があります。

(4) 網膜裂孔および網膜剥離

治療前に見つからなかった網膜裂孔や網膜剥離が手術中に見つかったり、また治療前に存在しなかったこれらの状態が、手術操作により生じることがあります。網膜裂孔は硝子体手術の 10-20%、網膜剥離は 1-2% に生じると報告されています。

網膜剥離の原因となる裂孔周囲にレーザー光凝固や、空気やガスを眼内に入れること（ガスタンポナーデ）という手術中の処置で多くは治癒します。また、手術後しばらくして網膜剥離が起こることがあります。この場合、光凝固により網膜剥離の進行が防止できない場合は再手術（硝子体手術、もしくは強膜内陥術）が必要になる場合もあります。

(5) 増殖硝子体網膜症

硝子体手術に伴い、術後に網膜の上に増殖膜が張ってくることがあります。硝子体手術の約1%に生じると報告されています。増殖膜が張ってくることにより、網膜剥離などの合併症が生じる場合は、再度硝子体手術を行う場合があります。

2) ベクター投与に関して起こりえる副作用

(1) 免疫反応

これまでのベクターと同様にアフリカミドリザル由来サル免疫不全ウイルスベクターがあなたの身体に注入されると、あなたの身体はこれを排除しようとし、これを「ベクターの免疫原性」と呼び、いくつかの副作用の原因になる可能性があります。

① 自然免疫反応

ベクターのような異物が身体の中に入り込むと、ただちにこの自然免疫反応（非特異的免疫）が始まります。ベクターを認識したあなたの身体の細胞から、様々な物質（サイトカイン、ケモカインなど）が産生され、ベクターの周囲に白血球（ナチュラルキラー細胞、好中球など）が引き寄せられ炎症反応が始まります。この反応が非常に強く起こると発熱などの症状の原因となり、極端な場合には全身性炎症反応症候群による血液凝固異常と多臓器不全の原因になる場合があります。全身性炎症反応症候群を示唆する症状や検査データが得られた場合、試験をただちに中止し、最大限の治療を行います。

② 獲得免疫反応（細胞性免疫）

ベクターが注射され数日（4日目～約2週間）で始まる反応で、ベクターが入り込んだ細胞を除去するための細胞傷害性T細胞（CTL）の誘導・増殖が主です。結核に対し予防接種として行われるBCGは、この細胞性免疫を利用したものです。

この細胞性免疫も炎症反応の原因となるため、血液中の白血球数・その分画など炎症に関わるデータを注意深くモニターします。仮に異常を示唆する症状や検査データが得られた場合、試験をただちに中止し、最大限の治療を行います。

③ 獲得免疫反応（液性免疫）

一度入り込んだベクターに対し、あなたの身体はベクターの活性を中和する物質（抗体）を産生することがあります。同様な現象は、種々のウイルス（インフルエンザ、ポリオ、おたふく風邪など）に対するワクチンとして利用されています。一方で抗体が産生されると、時に身体の他の臓器や細胞を障害することも報告されています。また、症状を感じない場合でも、ベクターが体内に存在している場合、身体はベクターの活性を中和する物質（抗体）を産生することがあります。

従って、治療前検査を含め、臨床研究期間中は血液中の抗体レベルを注意深くモニターしますが、仮に臓器障害を示唆する症状や検査データが得られた場合、試験をただちに中止し、最大限の治療を行います。

(2) 発がん性

本臨床研究において用いる組換えアフリカミドリザル由来サル免疫不全ウイルスベクターは細胞へ遺伝子を導入した後、あなたの染色体にランダムに組み込まれることが知られています。この組み込みという現象によって、遺伝子挿入変異誘発（insertional mutagenesis）が生じる可能性があります。この遺伝子挿入変異誘発とは、組み込まれたベクターの遺伝子によって、あなたの細胞で本来作られるはずの蛋白質が正常に作られなかったり、作らなくていい余計な蛋白質を作ってしまったことです。これによって発がんが惹起される危険性は否定できません。後述しますが実際に、染色体に組み込まれるタイプの別の種類のベクター（レトロウイルスベクター）を用いた臨床研究において、白血病が生じたことが報告されています。

動物を用いた本臨床研究の安全性試験では、発がん性は認められていませんが、遺伝子治療後、臨床研究期間内だけでなく臨床研究終了後も、外来にて定期的に悪性腫瘍に関するスクリーニングを行っていきます。

(3)眼圧上昇

サルにおける安全性試験（急性毒性試験）で、ベクターを投与した9個体中の1個体において、術後3ヵ月までの持続した眼圧上昇が観察されています。ベクター投与との因果関係ははっきりしていませんが、眼圧上昇により、あなたの見え方（視野）へ悪影響を及ぼす可能性があります。従って、本臨床研究の実施前後には詳細な眼圧測定、隅角鏡検査を定期的に行い、あなたの視機能に対し悪影響を及ぼすような変化が生じないかをスクリーニングします。万一、眼圧が上昇した場合は、緑内障治療薬点眼など適切な治療を行います。

(4)網膜変性

小動物を用いたベクターの網膜下投与で、一部の個体に網膜変性が認められました。サルによる急性毒性試験ならびに長期安全性試験においては、明らかな網膜変性は確認されておりませんが、万一に備え、本臨床研究では視力に重要な部分（黄斑部）にはベクターを投与しないことになっています。

3)神経栄養因子(ヒト色素上皮由来因子:hPEDF)の過剰産生に伴い、予想される副作用

本来、hPEDFは網膜色素上皮細胞より恒常的に分泌されている蛋白質であり、眼内には比較的豊富に存在することが知られています。従って、眼局所においては過剰産生に対する安全域は比較的広いと予想しています。また、その生理活性は神経保護効果と病的血管新生に対する抑制効果であるため、比較的安全性の高い蛋白質と考えられ、眼内の環境を悪化させる可能性は低いと予想しています。さらに、サルにおける安全性試験の結果、SIV-hPEDF投与眼において多量のhPEDFが産生されているにも関わらず、肉眼的ならびに光学顕微鏡的に病的な変化を認めなかったことから、眼局所への影響は少ないと予想しています。全身への影響は現時点では予測できない部分もありますが、少なくとも安全性試験では重篤な副作用は観察されていません。

さらに、米国において施行されているhPEDFを搭載したアデノウイルスベクターの硝子体内投与による加齢黄斑変性に対する臨床研究においても、hPEDFが眼内に過剰発現することによる毒性は示されていません。

2. これまでの遺伝子治療で報告されている一般的な副作用

これまでに欧米を中心に4,000人以上の患者さんが遺伝子治療を受けています。これまで実施されてきた遺伝子治療に関する国内外での報告から、以下の副作用が起こる可能性をご承知下さい。

1) 比較的良好に見られる軽い副作用（多くの場合は一時的なものです。）

- (1) 発熱
- (2) 下痢
- (3) 吐き気
- (4) 感冒様症状（鼻水、くしゃみ、など）
- (5) 肝機能障害
- (6) 発疹
- (7) 軽度の血圧低下 など

2) まれに見られる比較強い副作用（時に生命に関わることがあります。）

- (1) 腎機能障害
- (2) 骨髄抑制（貧血、白血球減少など）
- (3) 重度のアレルギー症状（喘息発作、ショック）
- (4) 血液凝固障害（出血傾向、血栓症など） など

3. 遺伝子治療特有の有害事象

遺伝子治療では「ベクター」に関わる、通常の薬剤とは異なる特有の有害事象が報告されています。その中でも生命に関わる可能性のある重篤な有害事象は 5 件報告されています。

1) 全身性炎症反応症候群による血液凝固異常と多臓器不全(1999 年米国)

18 歳男性、オルニチンカルバミラーゼ (OTC) 欠損症（遺伝性疾患）患者さんがアデノウイルスベクターの投与を受け、血液凝固異常と多臓器不全を発症した後、4 日後に死亡。この患者さんは治療前検査で肝機能が低下しており、除外されるべきであったことが報告されています。

2) T細胞性白血病(2001 年フランス、2007 年英国)

遺伝的に免疫不全のために感染症を繰り返す疾患（X 連鎖複合性重症免疫不全症）の男性患儿 10 名にレトロウイルスベクターにより欠損遺伝子が補充され、ほとんどの患儿が通常の学校へ行けるようになるなど、高い治療効果が得られました。しかしながら、そのうち 3 名の患儿が T 細胞性白血病を発症してしまいました。3 名とも制癌剤などによる治療を受けていましたが、残念ながら 1 名の死亡を認めています。その他の 2 名は現在も生存中であり、制癌剤による治療が奏功しています（2010 年 7 月現在）。その後の解析により、レトロウイルスベクターの遺伝子が患儿の造血幹細胞の染色体に入り込んだために白血病が発症したことが明らかにされています。また同様の症例が 1 例、英国でも報告されました。

本件について新たな情報が得られました時には、随時報告いたします。

3) 骨髄異形成症候群(2010 年ドイツ)

遺伝的に免疫不全のために感染症を繰り返す疾患（慢性肉芽腫症）の男性患者 2 名に対して、レトロウイルスベクターにより正常な遺伝子が補充される臨床研究が行われました。遺伝子治療後は高い治療効果が得られ、感染症に罹患しにくい状態となりましたが、症例 1 では治療後 15 ヶ月、症例 2 では治療後 28 ヶ月の時点で、白血球の異常増殖が生じる骨髄異形成症候群という病気になりました。症例 1 の患者さんは敗血症で死亡し、症例 2 の患者さんは幹細胞移植という新たな治療を受けました。その後の解析により、レトロウイルスベクターの遺伝子が造血幹細胞の染色体に入り込んだために病気が発症したことが明らかにされています。

本件について新たな情報が得られました時には、随時報告いたします。

4) 特定の遺伝子にベクターが挿入された血球細胞の増殖(2010 年フランス)

ヘモグロビンを構成するグロビン遺伝子の異常により生じる重症貧血（サラセミア）の 18 歳男性患者に対して、レンチウイルスベクターを用いた遺伝子治療臨床研究が行われました。投与後 3 年が経過した時点まで、ヘモグロビンの量が回復し、遺伝子治療の効果が観察されています。一方で HMGA2 遺伝子という特定の遺伝子にベクターが組み込まれた血球の割合が増加するという事象が観察されています。現時点で、患者さんに重篤な副作用は生じておりませんが、注意深く経過観察されています。

本件について新たな情報が得られました時には、随時報告いたします。

4. 有害事象に関してご理解いただきたいこと

繰り返しになりますが、本臨床研究はこれまで世界的にみても例のない初めてのものであり、以上の説明した内容以外にも予期せぬ副作用が起こる可能性があります。このため治療前後の検査は入念に行いますが、不幸にも命に関わる強い副作用が起こる可能性がゼロではないことを、十分にご理解下さい。不幸にもこのような副作用が現れた場合、直ちに臨床研究を中止し、最大限の治療を行います。

【本臨床研究にあたって注意していただきたいこと】

1) 必要な検査について

今回あなたにご紹介している視細胞保護遺伝子治療は世界で初めてのものであり、人における安全性と効果はまだ確認されていません。あなたの病状を調べるものだけでなく、副作用を予知するため、また安全性を確保するため、以下のようなたくさんの検査が必要です。

以下に各検査の概要と目的を記載いたします。詳しくは、本文書末の検査項目一覧表をご覧ください。

<検査概要>

(1) 眼の機能と状態を調べる検査

あなたの眼の状態が、本臨床研究に適しているか、治療用ベクター投与による副作用が発生していないか、などを調べるために、臨床研究期間中は以下に示すように数多くの検査が頻回に必要です。多くは痛みを伴わない非侵襲的検査です。

①視力・視野検査:

視力検査と視野検査であなたの見え方を調べます。視力は、万国式試視力表（ランドルト環）を用いて測ります。視野は、標準的な視野計を用いて測ります。

②眼底検査:

散瞳剤を用いて瞳孔を広げ、眼底を詳細に観察し、病気の広がり具合や他の合併症がないかどうかを調べます。また、眼底の中心部分の写真を記録・保存します。

③眼圧検査:

眼の硬さ（眼の中の圧力を反映します）を測り、緑内障の可能性について調べます。

④細隙灯検査:

眼の前方の部分（角膜など）に病気がないかを調べます。

⑤蛍光眼底造影検査(FA、IA):

フルオレセインとインドシアニンググリーンという造影剤を用いて、血管を中心とした眼底の状態を調べます。

⑥網膜電図(ERG)ならびに多局所網膜電図(multifocal ERG):

網膜の光に対する反応を調べます。

⑦光学的干渉断層計(OCT):

網膜の断面を観察し、網膜とくに黄斑部の合併症の有無を調べます。

⑧暗順応曲線:

暗い場所での眼の慣れ具合を調べます。

(2) 全身の状態を調べる検査

あなたの全身の状態が、本臨床研究に適しているか、治療用ベクター投与による副作用が発生していないか、などを調べるために、以下に示すように数多くの検査が必要です。特に血液検査は臨床研究期間中に頻回に必要です。

①QOL アンケート調査:

日常生活の状態について調べるために、アンケート調査を行います。

②胸部レントゲン撮影:

肺に異常がないかを調べるために行います。

③呼吸機能検査(肺活量、一秒率):

肺の機能を調べます。

④がんの検査:以下の検査を行います。

- ①大腸がん検査：検便と直腸診により、大腸がんの可能性について調べます。
- ②上部消化管内視鏡検査（胃カメラ）：胃がんの有無を調べます。
- ③前立腺がん検査（男性のみ）：血液検査により前立腺がんの可能性について調べます。
- ④子宮がん検査（女性のみ）：子宮の出口の部分から細胞をこすりとってきて、子宮がんの可能性について調べます。産婦人科で行います。
- ⑤頭部・胸部・腹部 CT：
放射線を使って、頭部、胸部、及び腹部の異常がないかを調べる検査です。通常の X 線検査とは異なり、コンピュータを使って体の断面写真をとることが出来、より詳細に体の内部の状態を知ることができます。放射線科で行います。
- ⑥妊娠検査（女性のみ）：
尿を採取して、妊娠していないかどうかを調べます。
- ⑦ウイルス検査：
血液を採取して、B 型肝炎、C 型肝炎、エイズウイルスに感染していないかどうかを調べます。
- ⑧血液検査：
全身状態、体液中のイオン濃度、腎機能、肝機能、血液・血液凝固機能などを調べます。

(3) 治療用ベクターの挙動を調べる検査

あなたに投与された治療用ベクターが、あなたの眼だけでなく全身へ散布されていないか、またあなたの身体が治療用ベクターに対しどの程度反応しているか、などを調べるために、以下に示すような検査が必要です。

- ①血中サイトカイン定量：ベクターにより炎症反応の原因となる物質が産生されていないかを調べる検査です。副作用の予知に有益です。
- ②血中・尿中ベクターゲノム定量：血液や尿にベクターが入り込んでいないかを調べる検査です。
- ③血中抗ベクター抗体定量：あなたの身体がベクターに対し、免疫学的に反応していることを調べる検査です。

(4) あなたの病気の原因となっている遺伝子を調べる検査

あなたの病気の原因となっている遺伝子を調べるために、第 2 回目の同意取得以降に行う血液検査の際に、一部の血液成分（血清）のサンプルを保存します。このサンプルは、九州大学病院眼科で凍結保存されます。治療効果との関係を調べるなど、病気の原因となる遺伝子を調べる必要性が生じた場合、このサンプルを使用します。他の病気の診断や関係する遺伝子異常を調べる目的では使用しません。

2) 本臨床研究の参加に必要な費用について

本臨床研究への参加をご希望いただく患者さんには、本臨床研究の対象となる網膜色素変性だけでなく、他の眼の病気（白内障や緑内障など）や、全く別の病気（高血圧や糖尿病など）を別途治療なさっている場合があります。また臨床研究における治療用ベクターの投与とは関係なくとも、参加のために実施した検査の際に思わぬ副作用により、新たに診療経費が発生することがあります。

これらの診療経費について、本臨床研究では以下のように取り決めておりますので、よくお読みになり十分にご理解下さい（「図表：臨床研究の実施期間における診療経費について」をご参照下さい）。

また診療経費について不明な点があれば、担当医師、あるいは高度先端医療センター臨床研究コーディネーターまで、お気軽にお問い合わせ下さい。

(1) 本臨床研究への参加に必要な経費について

臨床研究には、健康保険等の公的な保険は一切適応されません。

従って、この臨床研究の参加に必要な経費（例えば、ベクターに関する費用、手術に関する費用、投与前後の検査に関わる費用、入院中のベッドに要する費用など）は、全て「自由診療（保険診療を適応しない診療）」経費として取り扱われます。

原則として、この臨床研究の参加に必要な経費（自由診療経費）は、本臨床研究を実施する九州大学病院眼科が研究関係経費から全額負担いたします。一方で、本臨床研究のための投与前検査、入院中、投与後調査期間中には、診療経費について様々な状況が発生します。以下に本臨床研究の実施における診療関係経費に関する具体的な取り決めを記載します。

(2) 本臨床研究への参加に必要な経費と通常の保険診療の関係と、その取扱い

我が国の医療制度上、「自由診療」と「保険診療」は、同時に扱うこと（これを「混合診療」とよびます）は原則的にできないことになっています。

従って本臨床研究では、以下のように取り決めております。一部ご不便をお掛けすることがありますので、十分にご理解とご協力をいただけますようよろしくお願いいたします。

<入院中の取扱い>

本臨床研究へのご参加をお決めになり、治療用ベクターの投与を受けるために入院なさった場合、本臨床研究に必要な検査等に必要な経費以外にも、例えば高血圧用のお薬などが必要になります。

この場合は「自由診療」と「保険診療」を別途に扱うことが難しいため、入院中の全ての経費を「自由診療」で取扱います。つまりあなたに必要な全ての医療費を、九州大学病院眼科の研究関係経費から負担いたします。

<外来での投与前、投与後検査時の取扱い>

例えば、今回本臨床研究へのご参加をお決めになり、九州大学病院眼科外来で投与前後の検査を受ける（これは「自由診療」）ことになったあなたが、他にも高血圧で九州大学病院内科外来に通院されている（これは「保険診療」）とします。この場合、高血圧は本臨床研究とは関係のない疾患であり、通常の保険診療の対象であるため、現在の我が国の制度上は、同時に九州大学病院での診療は受けられません。

従って、このような場合は、

- a) 当院眼科外来（自由診療）と内科外来（保険診療）の受診日を別の日にしていただくか、あるいは、
- b) 一度眼科外来での手続きを済まされた後、同日に別途内科外来の受診手続きをし

ていただく（あるいはその逆）、ことになります。

(3) 健康被害（有害事象）に関わる医療費について

本臨床研究の実施には細心の注意が払われますが、予期せぬ健康被害が発生する可能性があります。またこれまで実施されたことのない初めての臨床研究であるため、どの程度の頻度でどのような健康被害が発生するか、については、それを予測するデータがありません。またベクター投与とは直接関係なくとも、本臨床研究に参加するために必要な検査の実施過程で、思わぬ副作用が発生する可能性もあります。

健康被害については、臨床研究や治験では「有害事象」という言葉で表現されます。有害事象には、「臨床研究が原因で発生する有害事象（一般的には副作用と呼ばれています）」だけでなく、「臨床研究とは直接関係せずに発生する有害事象」が含まれます。

有害事象は臨床研究におけるベクターの投与が原因であったか否か、については、本臨床研究と利害関係の無い独立した委員会にて判定されます。

この健康被害（有害事象）の治療に必要な経費についても、やはり「自由診療」と「保険診療」の考え方による区別を必要とします。本臨床研究では、以下のように取り決めておりますので、ご理解をいただきますようお願いいたします。

<入院中の取扱い>

本臨床研究の実施に関わる入院中に発生した健康被害（有害事象）については、「自由診療」と「保険診療」の区別を別途に行うことが難しいため、入院中の全ての経費を「自由診療」で取扱います。つまりあなたに必要な全ての医療費を、九州大学病院眼科の研究関係経費から負担いたします。

<外来での投与前、投与後検査時の取扱い>

例えば、今回本臨床研究へのご参加をお決めになり、治療前検査に直接関係した健康被害（有害事象）が発生した場合、これは九州大学病院眼科の研究関係経費から全額負担いたします。臨床研究に必要な治療前検査と無関係な健康被害（有害事象）が発生した場合は、保険診療（原則3割負担）となります。

治療用ベクター投与により生じた健康被害（有害事象）、あるいは投与後検査により生じた健康被害（有害事象）についても、同様にあなたに自己負担は発生しません。ただし臨床研究に必要な治療後検査と無関係な健康被害（有害事象）が発生した場合は、保険診療（原則3割負担）となります。

<臨床研究終了後（追跡期間・外来）における診療経費の取扱い>

臨床治療薬投与後24ヶ月が経過した時点で臨床研究は終了します。以後長期観察を外来にて継続しますが、この期間は本臨床研究の実施に関わる健康被害（有害事象）の発生の有無に関わらず、一切の診療経費は保険診療（原則3割負担）となります。

<健康被害（有害事象）により後遺症が発生した場合の診療経費の取扱い>

臨床研究の実施により健康被害（有害事象）が発生し、のちに何らかの後遺症が発生した場合、臨床研究期間中（治療用ベクター投与後24ヶ月まで）は、後遺症に関わる診療経費は、全て九州大学病院眼科の研究関係経費から負担いたします。ただし、これ以後の長期観察期間では、いかなる場合でも一切の診療経費は保険診療（原則3割負担）となります。

<健康被害（有害事象）により後遺症が発生した場合の補償・賠償について>

臨床研究の実施により健康被害（有害事象）が発生し、のちに何らかの後遺症が発生した場合、本臨床研究では補償・賠償の制度はありません。後遺症などのために就労が困難になるなどの不利益が生じた場合、あるいは心身の苦痛が生じた場合などにおいても、補償や賠償はされません。

あらかじめご了承下さい。

3) 同意の確認について

本臨床研究への参加の前には、臨床研究に参加いただく旨を2回にわたり説明し、ご同意をいただきます(今回は第2回目です)。また検査などに関しても説明しご同意をいただきますが、一度同意し、捺印をいただいたあとでも、研究への参加を辞退することは自由です。たとえ参加されなくても、今後の不利益になることは全くありません。

視細胞保護遺伝子治療臨床研究実施中に新しい情報(例えば他の新しい治療法、安全性に関する情報など)が得られた時は、必ずあなたにお知らせします。その場合には、本臨床研究を続けるかどうかについて、再度あなたの意思をお尋ねします。

4) 解剖について

不幸にして何らかの原因で死に至った場合、本臨床研究との因果関係の有無に関わらず病理解剖の許可が求められます。従って、本臨床研究へ参加する際に家族あるいは親族の方々へ解剖の許可について事前にご相談されることをお勧めいたします。病理解剖の同意がなくても本臨床研究への参加は可能です。あなたの自由な意思で決めて下さい。

5) 臨床研究のフォローアップについて

本臨床研究で使用している臨床研究薬は世界でも初めて使用されるものであるため、投与後2年間は定期的な外来と検査を受けていただき、その後は終生(一生涯)投与を受けた患者さんがどのような経過をたどるか追跡することになっております。

従いまして、以下の2点について、ご了解とご協力をお願い致します。

1. 九州大学病院からのご連絡：

本臨床研究へご参加なさった方は、投与を受けて2年後以降は、担当医あるいは担当臨床研究コーディネーター(CRC)から月に一度程度お電話などの手段にて、現在の病状等についてお尋ねさせていただくように致しますので、ご了解ください。

2. ご本人ならびにご家族へのお願い：

患者さんご本人ならびにご家族におかれましても、眼の病気だけでなく他に身体の不調などにお気づきの場合、また他の病院を受診なさることがありましたら、その旨お気軽に担当医あるいは担当CRCまでご一報いただきますよう、重ねてよろしくお願いいたします。

また、他の病院を受診なさる際は、お渡しする『遺伝子治療臨床研究参加カード』を医師にご提示いただきますようお願いいたします。

ご連絡先：九州大学病院眼科外来

【担当医：_____】

(電話 092-642-5660)

九州大学病院高度先端医療センター

【担当臨床研究コーディネーター：_____】

(電話 092-642-5858)

投与後の来院は以下のとおりお願いします。

- ①投与後 24 ヶ月まで：12 ヶ月までは1 ヶ月ごと、24 ヶ月までは2 ヶ月ごとの決められた日に来院検査
- ②投与後 36 ヶ月（3 年）まで：3 ヶ月に1 回の来院検査
- ③投与後 60 ヶ月（5 年）まで：6 ヶ月に1 回の来院検査
- ④投与後 5 年以降：可能なかぎり 1 年に1 回の来院検査
来院が不可能な場合は、担当医等が電話もしくは郵便で状況確認の連絡をいたします。

6) その他

本臨床研究中は、担当医師の了解なしに薬局で購入できる薬を含む、いかなる薬も使用しないで下さい。

また本臨床研究は遺伝子を用いるため、子孫への影響についてその安全性が明確ではありません。よって今後お子様を希望される方は、その旨担当医師にご相談下さい。
少なくとも治療用ベクター投与後 12 ヶ月は避妊を行う必要があります。

また本臨床研究は試験デザイン上、片方の眼への投与しか行いませんので、ご承知下さい。

【現在開発中の他の治療法について】

網膜色素変性に関して、現在明らかに有効な治療はありません。実際に患者さんに試みられている治療、動物実験が進められている治療について、海外における状況を含めてご紹介いたします。

1) 薬物による治療

暗いところで見やすくする薬（暗順応改善薬：アダプチノール®）や網膜への血液の流れを良くする薬（末梢血管拡張薬：カルナクリン®など）、ビタミンAを大量に投与する治療（ビタミンA大量療法）、血圧を下げる薬（カルシウム拮抗薬：ニバジル®）などが試されています。

しかし現時点で、いずれも明らかな効果は得られていません。

2) 遺伝子治療

網膜色素変性は遺伝性の病気ですので、遺伝子治療が有効であるという動物実験が数多く報告されています。特に、レーバー先天盲と言われるこの病気に類似の病気の犬が、遺伝子治療により視力が改善し、障害物を避けて歩けるようになったとする報告があり、その可能性が非常に期待されています。さらに本疾患に対する遺伝子治療の臨床研究が2007年より英国および米国において開始されたと報告されました。これまでに15名以上の患者さんにアデノ随伴ウイルスベクターが投与されており、半数以上の患者さんで視力などの視機能が改善し、また大きな副作用が見られなかったと報告されています。

また加齢黄斑変性という別の病気に対しては、本臨床研究で使用する遺伝子である色素上皮由来因子（PEDF）と同じ遺伝子を用いた遺伝子治療が、患者さんに開始されており、現在までのところ安全であることが報告されています。

3) 他家細胞移植治療

眼の中は拒絶反応が起こりにくい場所と考えられていますので、胎児の網膜や成人の眼球から得られた視細胞を含めた網膜細胞の移植が行われている施設があります。2007年5月現在、総計20人以上に行われています。その中の1例で視力の改善が報告されていますが、治療効果の詳細なしくみはわかりません。

4) 人工視覚

網膜色素変性は、光を感じる視細胞が悪くなる病気ですので、その働きを機械に代用させる方法が人工視覚です。シート状の電極を網膜の上もしくは下に設置して、光の刺激を電気刺激に変えて脳へ伝える方法で、これまでに米国において試験的に数人の患者さんに行われました。日本でも2001年から新しい方式を用いた人工視覚システムの研究開発を行うプロジェクトが進行中です。開発が始まったばかりの方法であり、2007年5月現在、その効果は明確ではありませんが、光を感じるができない患者さんにとっては将来よい治療法になると考えられています。

5) 網膜再生治療

いろいろな細胞に変化することが出来る細胞（幹細胞）を、視細胞へ分化させて移植する方法です。原理的には理想的な方法であり、動物実験では治療効果を示すことが報告されていますが、まだ患者さんへの投与は行われていません。また移植した視細胞が網膜の中できちんと生き続けられるかどうか、また他の細胞とうまく連携ができて、光の信号を伝えることが出来るのかなど、動物実験レベルでも未知のことが多く、実際に治療に利用されるまでには、かなりの時間がかかると考えられています。

以上のように網膜色素変性に対して色々な治療法が試みられていますが、まだ治療を受けた患者さんの数が少なく、また試験が終了したものも効果を得るには至っておらず、現時点でどの方法がよいという結果は出ていません。

【利益相反(りえきそうはん)に関する説明】

1) 本臨床研究に関わる研究関連組織について

本遺伝子治療臨床研究は九州大学病院が自主的に実施しますが、この臨床研究に用いられるベクター技術は1995年4月から2004年3月まで医薬品副作用被害救済・研究振興調査機構（現独立行政法人医薬品医療機器総合機構）ならびに民間企業7社が共同出資して設立したベンチャー企業である株式会社ディナベック研究所が開発したものです。株式会社ディナベック研究所は予定の事業期間が終了し、現在は研究成果管理会社になっていますが、その技術は民間会社として新たに発足したディナベック株式会社（代表取締役社長 長谷川 護、茨城県つくば市）へ2004年4月より継承されました。本臨床研究においては、このベクター技術と材料を用いて、ベクター製造受託会社（ベクター・ジーン・テクノロジー社）に九州大学病院が治療用ベクター製造を委託しております。

従って、ベクターに関係する一部の専門的検査項目の測定技術などに関して、同社の助言、指導が必要な場合があります。つまり本臨床研究の実施にはディナベック株式会社は直接的に関与しませんが、あなたの血液、尿サンプルなどにおけるベクターの挙動に関する重要なデータ収集に対して、同社は科学的助言や、一部では技術的協力を行う予定であるため、本臨床研究における外部研究協力者として位置付けられています。

また動物実験データ収集など、本臨床研究に至るまでの基礎研究を同社と共同で行ってきた米満吉和教授の、本臨床研究計画における役割は、ベクターの生体内挙動の検査などの基礎研究分野関連業務に限定されています。本臨床研究における治療行為の実施、九州大学病院先進医療適応評価委員会など、あなたの診療に直接関わり、かつ臨床的判断を行う議決組織の全てにおいて、米満吉和教授およびディナベック株式会社関係者は除外されているため、中立性と客観性は保たれています。

2) 本臨床研究の実施における資金出所について

本臨床研究における資金分担は以下のようになっています。

(1) 本臨床研究に用いるベクターの GMP 生産:

ヒトに投与可能な品質のベクターを、中華人民共和国の企業（（ベクター・ジーン・テクノロジー社）に委託して製造させるための経費です。これには九州大学大学院医学研究院および九州大学病院が獲得した競争的資金（研究費）および委任経理費が充てられています。

(2) 本臨床研究の実施に関わる診療・治療経費:

本臨床研究の安全性や有効性を十分見極め、あなたにできるだけ適切な診療と治療を行うための経費です。これには保険適応可能な経費には保険適応分が、保険適応外の診療経費については九州大学病院あるいは九州大学大学院医学研究院の競争的資金（研究費）および委任経理費などでまかなわれます。

【個人情報の保護について】

1) あなたの個人情報の取扱いにおける九州大学病院の責務

九州大学病院で扱っているあなたの診療記録などをはじめとするあなたの情報は個人情報に当たります。あなたの診療記録は法律（刑法）で定められた「医師の守秘義務」に則り、九州大学病院にて厳重に管理し、秘密保持を厳守します。その他、九州大学病院で働いているものも守秘義務をまもる事が定められています。さらに、九州大学病院では、個人情報を保護することを徹底するために個人情報保護の法律に基づいた規則を定め、適切な管理者等を配置し、個人情報の保護に努めています。

2) 九州大学病院における個人情報の一般的な取扱い

九州大学病院は 100 年を越える歴史を持ち、地域における中核病院であることのみならず全国有数の基幹病院として高度の医療、質の高い医療を提供して参りました。このような活動を通じて、さらには医学教育機関としてこれまで以上に優れた医療人を育成するという、社会的な責務を担っています。

つきましては、九州大学病院におけるあなたの貴重な個人情報を含む記録を、医療機関として、また教育機関として利用させていただきたいと思えます。あなたの個人情報は、各種法令に基づいた院内規程を遵守した上で以下の目的のために利用されますので、あなたのご理解とご協力をいただけますようお願いいたします。

(1) 九州大学病院での利用

- ・ あなたがお受けになる医療サービス
- ・ 医療保険事務
- ・ あなたに関係する管理運營業務
(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) 九州大学病院および九州大学での医学教育における利用

- ・ 医学・歯学・薬学・保健学系の教育（ベッドサイドティーチングなど病院内での診療等に関わる医学教育に限る）
- ・ 教職員の研修（研修医や新任看護師等への病院内研修、及び医療サービス等、前項（1）に関わる病院事務系職員の研修等に限る）
- ・ 研究活動（研究活動を実施する際に、実施に関する法令や倫理指針、関係団体等のガイドライン等が定められている場合は、それを遵守して誠実に遂行いたします）

(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関する連携
- ・ 他の医療機関等からの医療サービス等に関する照会への回答
- ・ あなた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業務委託
- ・ あなたのご家族等への診療に関わる説明
- ・ 医療保険事務（保険事務の委託、審査支払機関への提出）
- ・ 審査支払機関または保険者からの照会への回答
- ・ 関係法令等に基づく届出および報告書
- ・ 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の事業者等へのその結果の通知

- ・医師賠償責任保険等に関わ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
- ・医療上の安全に関わる行政機関又は医療に関する専門の団体等への届出等
- ・医学・歯学・薬学・保健学系の教育研究機関への提出
- ・他の医療機関等との医学の発展を目的とした共同研究活動
- ・外部監査機関への情報提供

3) 本臨床研究の遂行に必要なあなたの個人情報の使用について

2) に掲げました九州大学病院における個人情報の一般的な取扱いに加え、本遺伝子治療臨床研究の実施にあたっては、さらに本臨床研究を遂行するために必要な利用目的のためにも使用されます。これは原則的に、本臨床研究の実施に関する緊急事態が発生した場合のご連絡やお手続き、検査のご連絡など、あなたの生命を守るために必要な場合です。

あなたの個人情報に接することが可能なのは、本臨床研究実施関係者に加え、第三者となるこの病院の審査委員会、監査委員会の人や、厚生労働省や文部科学省の審査委員会の人および同省の担当者のみです。

これらの目的と異なる目的のためにあなたの個人情報を使用する場合は、事前にあなたおよび、あなたのご家族（あるいはご親族）に説明し、ご了解を得てから使用いたします。本臨床研究は、九州大学病院内で実施するため、あなたを特定する情報を上記以外の第三者へ提供することは原則的にありません。

第三者へ情報を提供する必要がある場合は、その目的が適切であることを確認し、あなたおよび、あなたのご家族（あるいはご親族）にご説明のうえ、ご承諾をいただいた場合に限り提供することとなっています。

4) あなたの個人情報を閲覧可能な第三者と、九州大学病院の個人情報管理と監督

前述のように、本臨床研究においては、主にこの病院の医師などからなる審査委員会・監査委員会の人や、厚生労働省や文部科学省の審査委員会の人および同省の担当者があなたの診療記録を閲覧することがありますが、このような人たちには守秘義務が課せられており、あなたの個人的な情報は全て秘密とされます。

一方、この病院の審査委員会や監査委員会には、審査等の客観性を確保するため、あるいはあなたの病状や診療に関わるより専門的な医学的・科学的知識の提供を受けるために、九州大学病院以外の外部の委員が参加することがあります。

また、本臨床研究は、九州大学病院が行っていますが、一部企業の協力を受けて実施されます（ディナベック株式会社：前述）。この企業には、すでに申し上げたとおり、ベクターに関係する一部の専門的検査項目の測定技術などに関して、助言、指導を求める場合があります。つまり本臨床研究の実施にはディナベック株式会社は直接的に関与しませんが、あなたの血液、尿サンプルなどにおけるベクターの挙動に関する重要なデータ収集に対して、科学的助言や、一部では技術的協力を行うことがあります。この場合においては、あなたの個人情報は全て匿名化され、あなたのサンプルと個人情報は全て連結不可能な状態での科学的助言・技術的協力を実施いたしますので、ディナベック株式会社があなたの個人情報を得ることはありません。

5) あなたの病状情報の公開による社会への還元と、その際のあなたの個人情報の管理措置

上記の個人情報保護の体制のもと、あなたの情報は医療の向上のため、本臨床研究の成果を検討するときや、病状経過、試験成績などを公表・公開する場合は、あなた

であることを特定できない形で、すなわち個人情報を保護して取り扱います。遺伝子治療臨床研究は社会的に広く関心を集めておりますため、病状経過などについては、個人を特定できない状態での公開（学術雑誌、学会、マスコミを含む）を原則とします。その際はあなたの個人情報を厳守して実施することをお約束いたしますのでご了承下さい。

前述いたしました但、ディナベック株式会社は、直接的に本臨床研究には関与しませんが、あなたの血液、尿サンプルなどにおけるベクターの挙動に関する重要なデータ収集に対して、科学的助言や、一部では技術的協力を行うことがあります。この場合、個人を特定できない状態での病状経過などについて、企業関係者に一般公開と同等の情報が、一般公開に先立ち開示されることがありますが九州大学病院の一般公開に先行して企業から個人情報が公になることはありません。

6) あなたの個人情報の管理におけるあなたの権利

本臨床研究で取り扱っている個人情報について、あなたが開示、訂正、利用停止を求めることができます。あなたが個人情報について疑問などがある場合は、担当医師にお問い合わせください。お申し出に応じて、その手続きに関する詳細をご説明いたします。

また、担当医師とは別に個人情報に関する苦情等の窓口もございますので、疑問等がございましたらお問い合わせ下さい。

あなたが同意書に署名（自署）あるいは捺印すること、および、あなたのご家族（あるいはご親族）が同意書に署名（自署）あるいは捺印することによって、これらの個人情報についての取り扱いを認めることになります。

【疑問点や質問について】

本臨床研究に関して、何か疑問点や質問などがありましたら、以下までお問い合わせ下さい。

九州大学病院 眼科

総括責任者：石橋達朗 分担研究者：池田康博

電話：092-642-5648

尚、休日・夜間は眼科当直医を通じ対応致します。電話（092-642-5654）で眼科当直医の呼び出しをお願い致します。

【個人情報に関する苦情等の窓口】

個人情報に関する苦情等の窓口では、個人情報に関する疑問やご相談に対応いたします。

九州大学病院地域医療連携室 患者様相談窓口

電話：092-642-5165

FAX：092-642-5155

[illegible]

- 62 -

検査項目一覧表

検査項目一覧表		外来(治療後)								
		追跡期間								
		3ヶ月 1回	30ヶ月	3ヶ月 1回	36ヶ月	6ヶ月 1回	48ヶ月	6ヶ月 1回	60ヶ月	12ヶ月 1回
同意取得①②										
問診	併存疾患、アレルギー歴、手術歴、既往歴、常用薬、喫煙歴	○	○	○	○	○	○	○	○	○
病状の検査	視力検査など									
生理学的検査	体重									
	体温									
	血圧(収縮期/拡張期)、脈拍	○	○	○	○	○	○	○	○	○
呼吸機能検査	胸部X線(正、横)									
心機能検査	12誘導心電図、心エコー									
血液・尿検査	血液生化学検査、尿タンパクなど		○		○		○		○	○
悪性腫瘍検査	頭部・胸部・腹部CT				○		○		○	○
	PSA-ACT(男性のみ)、便潜血				○		○		○	○
	子宮頸部細胞診(女性のみ)									
	直腸診									
	上部消化管内視鏡									

視細胞保護遺伝子治療臨床研究に関する同意書
(第2回目)

1. 私は「神経栄養因子（ヒト色素上皮由来因子：hPEDF）遺伝子搭載第3世代組換えアフリカミドリザル由来サル免疫不全ウイルスベクターの網膜下投与による網膜色素変性に対する視細胞保護遺伝子治療臨床研究」に協力するにあたり、担当医師である、

医師および、

医師より下記の説明を受け、

その内容を理解しました。

医師

患者

- | | |
|--|--------------------------|
| ☐ はじめに | ☐ |
| ☐ 遺伝子治療臨床研究の名称と実施施設、担当医師 | ☐ |
| ☐ 視細胞保護遺伝子治療臨床研究への参加 | ☐ |
| ☐ 視細胞保護遺伝子治療臨床研究の辞退 | ☐ |
| ☐ 視細胞保護遺伝子治療臨床研究の目的 | ☐ |
| ☐ 遺伝子とは | ☐ |
| ☐ 遺伝子治療とは | ☐ |
| ☐ 神経保護治療とは | ☐ |
| ☐ 本臨床研究で使用する臨床研究薬の骨格となるベクターについて | ☐ |
| ☐ 本臨床研究に用いられる遺伝子（治療用遺伝子） | ☐ |
| ☐ 視細胞保護遺伝子治療臨床研究の実施方法 | ☐ |
| ☐ 本臨床研究によって起こり得る副作用 | ☐ |
| ☐ 本臨床研究にあたって注意していただきたいこと | ☐ |
| ☐ 現在開発中の他の治療法について | ☐ |
| ☐ 利益相反（りえきそうはん）に関する説明 | ☐ |
| ☐ 個人情報の保護について | ☐ |
| ☐ 疑問点や質問について | ☐ |
| ☐ 個人情報に関する苦情等の窓口 | ☐ |

2. 以下の臨床研究除外項目に該当しないことを確認しました

- 1) 私は強いアレルギーを持っておりません。また既往もありません
- 2) 私は慢性人工透析を受けておりません
- 3) 最近6ヶ月以内に脳出血、脳梗塞などの既往はありません
- 4) 私には臨床研究の概要は十分に理解できました
- 5) 私はアルコール依存、薬物依存症ではありません
- 6) (女性のみ) 私は妊娠中、あるいは妊娠している可能性はありません

以上をもって、誰からも強制されたものではなく、私の自由な意思で本臨床研究へ参加することに同意しました。また本臨床研究の実施前に必要な全身状態に関する治療前検査を受けることに同意しました。

以上の内容を証明するため、ここに署名・捺印いたします。

同意年月日 平成 年 月 日

本人氏名 (自署)

⑩

生年月日 年 月 日

私は本人の本臨床研究へ参加することに同意し、ここに署名・捺印いたします。

同意年月日 平成 年 月 日

家族氏名 (本人との続柄：家族あるいは親族のみ)

(自署)

⑩

説明をした医師および説明日

平成 年 月 日

(署名)

⑩

(署名)

⑩

補足的な説明をした臨床研究コーディネーター及び説明日

平成 年 月 日

(署名)

⑩

説明文書をお渡しした日

平成 年 月 日

同意書を確認した日

平成 年 月 日

署名捺印済み同意書の写しをお渡しした日

平成 年 月 日

*******臨床研究に参加しています*******

わたしは九州大学病院で、
遺伝子治療 の臨床研究に参加しています。

開始日は平成 年 月 日です。
投与後、終生の経過観察が義務付けられています。

〈医療関係者の方へ〉

遺伝子治療臨床研究参加中の患者様に関するお願い

この患者様は、九州大学病院で実施中の『神経栄養因子（ヒト色素上皮由来因子：hPEDF）
遺伝子搭載第3世代組換えアフリカミドリザル由来サル免疫不全ウイルスベクターの網膜
下投与による網膜色素変性に対する視細胞保護遺伝子治療臨床研究』に参加しています。

本遺伝子治療臨床研究に参加している患者様については、臨床研究薬投与後、終生注意
深く経過観察することが義務付けられています。

この患者様を貴院にてご加療いただく場合には、下記までご連絡ください。

眼科：

臨床研究コーディネーター：

平日（8：30～17：30）

高度先端医療センター 092-642-5516・5858

眼科外来 092-642-5660

夜間・土・日祝日 092-642-（ ）

九州大学病院

平成 24 年 7 月 13 日

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
法律に基づき申請のあった第一種使用規程に係る意見について

遺伝子治療臨床研究に係る生物多様性
影響評価に関する作業委員会

委員長 小澤 敬也

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）に基づき申請のあった下記の遺伝子組換え生物等の第一種使用規程について、本作業委員会で検討を行い、その結果を別紙のとおりまとめたので報告いたします。

記

1. ヒト色素上皮由来因子（hPEDF）を発現し、ヒト水疱性口内炎ウイルス（Vesicular Stomatitis Virus : VSV）の env 蛋白質（VSV-G）をエンベロープにもつ非増殖性の遺伝子組換えアフリカミドリザル由来サル免疫不全ウイルス（SIVagm-hPEDF）

申請者：九州大学病院 病院長 久保 千春

申請日：平成 22 年 9 月 29 日

【作業委員会の評価結果（九州大学病院）】

1. ヒト色素上皮由来因子 (hPEDF) を発現し、ヒト水疱性口内炎ウイルス (Vesicular Stomatitis Virus : VSV) の env 蛋白質 (VSV-G) をエンベロープにもつ非増殖性の遺伝子組換えアフリカミドリザル由来サル免疫不全ウイルス (SIVagm-hPEDF)
第一種使用等の内容：治療施設におけるヒトの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
申請者：九州大学病院 病院長 久保 千春
(1) 生物多様性影響評価の結果について ① 他の微生物を減少させる性質 申請されている第一種使用規程に従った使用を行うかぎり、SIVagm-hPEDF の環境中への拡散は極めて微量である。さらに、SIVagm-hPEDF は増殖能を失っており、環境中では増殖することではなく、また、相同組換えによって増殖性ウイルスが出現する可能性も極めて低いと考えられる。したがって、第一種使用規程に従った使用を行うかぎり、環境中へ拡散したとしても、やがて消滅すると考えられる。 SIVagm-hPEDF は、ヒト水疱性口内炎ウイルス (VSV) の env 蛋白質 (VSV-G) によってシェードタイプパッケージされており、感染性は VSV と同一と考えられるので、微生物には感染せず、また、競合や有害物質の産生により他の微生物を減少させる性質はないと考えられる。 これらのことから、第一種使用規程に従った使用を行うかぎり、他の微生物を減少させる性質に起因する生物多様性影響が生じるおそれはないとした申請者の結論は妥当であると判断した。
② 病原性 SIVagm-hPEDF の感染性は VSV と同一と考えられるため、自然界で病原性を受ける対象はヒトの他にサル、ウシなど多くの哺乳動物が想定される。 しかしながら、まず、SIVagm-hPEDF が感染したヒトではヒト色素上皮由来因子 (hPEDF) を発現する可能性があるが、これによるヒトへの病原性は知られていない。 また、SIVagm-hPEDF は、自己不活性 (SIN) 化されており、遺伝子挿入により宿主遺伝子が非特異的に活性化する可能性を最小化しているなど、遺伝子挿入によって悪性腫瘍が生じる可能性は理論的に極めて低いと考えられる。実際に、小動物 (マウス、ラット) およびサルを用いた安全性試験において、免疫不全やがんの発生を含め、重篤な有害事象を認めなかった。 さらに、SIVagm-hPEDF は増殖能を失っており、また、増殖性ウイルスが出現する可能性も極めて低いと考えられる上、万一増殖型ウイルスが出現したとしても、元来野生型ウイルスは自然宿主に対しても病原性を示さない。 したがって、SIVagm-hPEDF が被験者以外のヒトに対して病原性を示す可能性は極めて低いと考えられる。 これらのことから、第一種使用規程に従った使用を行うかぎり、病原性に起因する生物多様性影響が生ずるおそれはないとした申請者の結論は妥当であると判断した。
③ 有害物質の産生性 SIVagm-hPEDF の有害物質の産生性は知られておらず、第一種使用規程に従った使用を行うかぎり、有害物質の産生性に起因する生物多様性影響が生ずるおそれはないとした申請者の結論は妥当であると判断した。
④ 核酸を水平伝達する性質 SIVagm-hPEDF の感染性は VSV と同一と考えられるため、自然界で病原性を受ける対象はヒトの他にサル、ウシなど多くの哺乳動物が想定される。 SIVagm-hPEDF が感染したヒトでは PEDF 遺伝子を発現する可能性はあるが、これによるヒトへの核酸の水平伝達は知られていない。 また、第一種使用規程に従った使用を行うかぎり、SIVagm-hPEDF の環境中への拡散は極めて微量である。さらに、SIVagm-hPEDF は増殖能を失っており、また、増殖性ウイルスが出現する可能性も極めて低く、環境中へ拡散したとしても、やがて消滅すると考えられる。 これらのことから、第一種使用規程に従った使用を行うかぎり、核酸を水平伝達する性質に起因する生物多様性影響が生ずるおそれはないとした申請者の結論は妥当であると判断した。
(2) 生物多様性影響評価書を踏まえた結論 以上を踏まえ、SIVagm-hPEDF を第一種使用規程に従って使用した場合に生物多様性影響が生ずるおそれはないとした生物多様性影響評価書の結論は妥当であると判断した。

厚生科学審議会科学技術部会
遺伝子治療臨床研究作業委員会に係る
生物多様性影響評価に関する作業委員会 委員名簿

【九州大学病院】

「神経栄養因子（ヒト色素上皮因子：hPEDF）遺伝子搭載第3世代組換えアフリカミドリザル由来サル免疫不全ウイルスベクターの網膜下投与による網膜色素変性に対する視細胞保護遺伝子治療臨床研究」

氏 名	所 属
いわさき かずひろ 岩崎 一弘	(独)国立環境研究所 主任研究員
おざわ けいや 小澤 敬也	自治医科大学 医学部教授
かんだ ただひと 神田 忠仁	(独)理化学研究所 新興・再興感染症研究ネットワーク推進センター 業務展開チーム チームリーダー
さいとう いずむ 斎藤 泉	東京大学医科学研究所 遺伝子解析施設教授
しまだ たかし 島田 隆	日本医科大学 医学部教授
はやかわ たかお 早川 堯夫	近畿大学 薬学総合研究所所長
やまぐち てるひで 山口 照英	国立医薬品食品衛生研究所 生物薬品部研究員

○：委員長（五十音順 敬称略）

第一種使用規程承認申請書

22. 9. 29

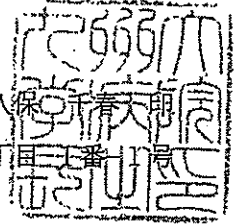
平成 年 月 日

厚生労働大臣 細川 律夫 殿

環境大臣 松本 龍 殿

氏名 九州大学病院 病院長 久保 正典

住所 福岡県福岡市東区馬出3丁目7番1号



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の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。）の規程により、次のとおり申請します。

遺伝子組換え生物等の 種類の名称	ヒト色素上皮由来因子 (hPEDF) を発現し、ヒト水疱性口内炎ウイルス (Vesicular Stomatitis Virus: VSV) の env 蛋白質 (VSV-G) をエンベロープにもつ非増殖性の遺伝子組換えアフリカミドリザル由来サル免疫不全ウイルス (SIVagm-hPEDF)
遺伝子組換え生物等の 第一種使用等の内容	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不随する行為
遺伝子組換え生物等の 第一種使用等の方法	治療施設の住所地 福岡県福岡市東区馬出3丁目-1番1号 治療施設の名称 九州大学病院 (1) SIVagm-hPEDF 溶液は、容器に密閉され、凍結状態で治療施設に輸送し、凍結状態のまま施設内の施設可能な P2 レベルの保管室内の冷凍庫に保管する。 (2) 凍結状態の SIVagm-hPEDF 溶液の融解、バイアルの開封並びに SIVagm-hPEDF 溶液の希釈及び分注操作は、P2 レベルの実験室内の安全キャビネット内で行う。SIVagm-hPEDF 希釈溶液の保管は、上記保管室内の冷凍庫において行う。なお、SIVagm-hPEDF 希釈溶液又はその凍結品を、開放系区域を通して他の P2 レベル区域に運搬する必要がある場合には、密閉した容器に入れ、容器の落下や破損を防止するために当該容器を箱等に入れ運搬する。 (3) SIVagm-hPEDF 溶液 (希釈溶液も含む。) を廃棄する際には、滅菌処理 (70%エタノール [30 分]、塩素系漂白剤 [有効塩素濃度 0.1~1.0% 次亜塩素酸ナトリウム、30 分]、もしくはオートクレーブ) を行った後、九州大学病院で定められた医療廃棄物管理規程に従い廃棄する。 (4) 被験者に投与する SIVagm-hPEDF 希釈溶液は、P2 レベルの実験室内の安全キャビネット内でシリンジへ充填する。充填されたシリンジは、密閉した容器に入れ、容器の落下や破損を防止するために当該容器を箱等に入れ、九州大学病院南棟3階手術部まで運搬する。 (5) 被験者に対する SIVagm-hPEDF の投与は、環境中への拡散防止措置を適切に執った九州大学病院南棟3階手術部において行う。局所麻酔下に硝子体手術により硝子体を切除後、SIVagm-hPEDF 希釈溶液を網膜に注入する。 (6) ベクター投与後、被験眼はガーゼにて覆い、眼帯を着用し遮蔽してウイルスの漏出を防止する。その後、被験者を速やかに環境中への拡散防止措置を適切に執った陽圧でない遺伝子治療室 (以下「個室」という。) へ搬送する。 (7) 投与時に SIVagm-hPEDF と直接接触する注射針、シリンジ、ガーゼ、

滅菌シート等は使い捨てとし、環境中への拡散防止措置を適切に執った室内において適切に滅菌処理を実施した後、医療廃棄物管理規程に従い、廃棄する。なお、これらの滅菌処理を別室にて行う場合には、二重に密閉した容器に入れて運搬する。

(8) 投与後1週間まで、被験者を上記室内で個室管理し、検査等の理由で被験者が一時的に個室外の開放系区域に出る場合には、マスク及びガウン着用等のウイルス漏出予防を義務付ける。看護師1名を常時同伴させ、開放系区域での排泄や喀痰喀出等の禁止を義務付ける。

(9) 個室管理期間中の被験者の排泄物(血液、体液、尿及び糞便)は、臨床検体として使用するものを除いては、当該室内で塩素系漂白剤(有効塩素濃度 0.1~1.0% 次亜塩素酸ナトリウム、30分)に浸漬、固形化剤を使用して固形化した後、オートクレーブバックへ回収、バイオハザードマーク付き医療廃棄物用段ボールへ梱包した後、九州大学病院で定められた医療廃棄物管理規程に従い廃棄する。これらの滅菌処理を別室にて行う場合には、二重に密閉した容器に入れて運搬する。なお、臨床検体として使用する被験者の排泄物の取扱いは、上記 SIVagm-hPEDF 溶液の取扱いに準ずる。

(10) 個室管理期間中、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に接触した器具等は、環境中への拡散防止措置を適切に執った室内において 70%エタノール(30分)の噴霧もしくは塩素系漂白剤(有効塩素濃度 0.1~1.0% 次亜塩素酸ナトリウム、30分)に浸漬の滅菌処理を実施した後、医療廃棄物管理規程に従い廃棄又は十分に洗浄する。なお、これらの滅菌処理を別室にて行う場合には、二重に密閉した容器に入れて運搬する。

(11) 被験者の個室管理を解除する前に、経時的に(投与後当日、1、3、7日目)被験者の血液、尿中及び涙液中の SIVagm-hPEDF が陰性であることを RT-PCR 法にて確認する。投与後7日を越えて同遺伝子配列が検出される場合、陰転化が確認できるまで同室での個室管理を継続する。ただし、投与後14日を越えて同遺伝子配列が検出される場合は、培養細胞を用いて感染性ウイルスの存在の有無を確認する。患者より採取したサンプル中の感染性ウイルスの存在が否定された後、同室の退出を許可する。

(12) 被験者の個室管理を解除後に被験者の血液、尿中及び涙液中から SIVagm-hPEDF が検出された場合は、直ちに被験者を個室における管理下に移し、上記(8)から(11)までと同様の措置を執る。

生物多様性影響評価書

(区分：遺伝子治療臨床研究)

I 宿主又は宿主の属する分類学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

「ヒト色素上皮由来因子 (hPEDF) 遺伝子搭載第3世代組換えアフリカミドリザル由来サル免疫不全ウイルスベクター (SIVagm-hPEDF)」の基本骨格に用いられているアフリカミドリザル由来サル免疫不全ウイルス (Simian immunodeficiency virus from African green monkeys: SIVagm) は、分類学的にはレトロウイルス科、レンチウイルス属に分類されている (文献 1)。レトロウイルスは逆転写酵素を有するRNAウイルスの総称で、レンチウイルス、ガンマレトロウイルスなど7属に分類される。レンチウイルス属には、サル免疫不全ウイルス (SIV) の他にヒト免疫不全ウイルス (Human immunodeficiency virus: HIV)、ウマ伝染性貧血ウイルス (Equine infectious anemia virus: EIAV) などが含まれ、SIVはさらにSIVsm/mac, SIVcpz, SIVagm, SIVmd, SIVsykの5種に分類される (文献 2, 3)。

SIVagm はアフリカミドリザルを主な自然宿主とするが、実験室内ではマカクザルやブタオザルにも感染することが報告されている。HIV類と異なり自然宿主に対し病原性を示さないことが知られている。また遺伝学的にも宿主に病原性を持つ HIV と大きく隔絶されている。本研究に使用される SIVagm-hPEDF は、SIVagmTYO 株を基本骨格として作成された (文献 4)。

ヒトへの SIV の感染については、これまでに報告がない。

文献 1 : Knipe DM, Howley PM: Nonhuman Lentiviruses. Fields virology fifth edition, Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; pp.2215-2243 (2007).

文献 2 : Hirsch, V.M., Dapolito, G., Goeken, R., and Campbell, B.J. 1995. Phylogeny and natural history of the primate lentiviruses, SIV and HIV. *Curr Opin Genet Dev* 5:798-806.

文献 3 : 井戸栄治、速水正憲. サル免疫不全ウイルスの遺伝子と感染・病原性. 蛋白質核酸酵素 39(8): 1425-1437 (1994)

文献 4 : Fukasawa, M., Miura, T., Hasegawa, A., Morikawa, S., Tsujimoto, H., Miki, K., Kitamura, T., and Hayami, M. 1988. Sequence of simian immunodeficiency virus from African green monkey, a new member of the HIV/SIV group. *Nature* 333:457-461.

2 使用等の歴史及び現状

レンチウイルスの中で、HIVはヒト後天性免疫不全症候群 (Acquired immune deficiency syndrome: AIDS) の原因ウイルスとして知られており、1983年に同定されて以来、その病原性を解明するために研究室での実験に多く用いられている。現在までに、その遺伝情報、感染の機序、複製と遺伝子発現の調節などについて多くの情報が明らかとなり、HIVに対する治療薬の研究が進められている (文献5, 6)。

SIVagmはサルより分離された、HIVと類縁のレンチウイルスであるが、HIVと異なり自然宿主に対して病原性を有さないことが知られている (文献7)。

近年、cDNAからレンチウイルスを回収する技術が確立され、ウイルスの改変・改良が可能となった。遺伝子組換えレンチウイルスベクターは、マウスオンコウイルス由来であるレトロウイルスベクターと異なり非分裂細胞への遺伝子導入が可能であり、一般に遺伝子導入効率も高いことから、レンチウイルスを遺伝子導入ベクターとして捉えた研究・開発が進められている (文献8-11)。

最近では、ベクターを構築するパッケージングシステムから、免疫不全症の発症に関連する修飾タンパク質などを全て取り除き、さらにベクター再構成に使用するテンプレートを複数に分割しつつ、効率よくベクター粒子を再構成する技術が開発されている。これらの方法を使用することにより、再構成中の相同組換えにより偶発的に生成される自己複製

能を獲得したレンチウイルス (replication competent lentivirus: RCL) が発生する可能性は、理論的にほとんどないと考えられている (文献12-14)。

最近、遺伝子組換えレンチウイルスベクター (HIVベクター) を用いた臨床試験成績が明らかにされた。AIDSに対する治療薬としての使用を目標とした安全性試験であったが、ベクターの使用により重篤な有害事象の発現の発現は認めなかったと報告されている (文献15)。一方、本臨床研究に使用される遺伝子組換えSIVagmベクターの人体への投与については、これまで報告はない。

- 文献 5 : Knipe DM, Howley PM: HIVs and Their Replication. Fields virology fifth edition, Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; pp.2107-2185 (2007).
- 文献 6 : 吉仲由之、山本直樹. レトロウイルス研究の流れと展望. 蛋白質核酸酵素 52(10): 1056-1062 (2007)
- 文献 7 : Miura, T., Tsujimoto, H., Fukasawa, M., Ohta, Y., Honjo, S., and Hayami, M. 1989. Genetic analysis and infection of SIVAGM and SIVMND. *J Med Primatol* 18:255-259.
- 文献 8 : Naldini, L., Blomer, U., Gallay, P., Ory, D., Mulligan, R., Gage, F.H., Verma, I.M., and Trono, D. 1996. In vivo gene delivery and stable transduction of nondividing cells by a lentiviral vector. *Science* 272:263-267.
- 文献 9 : Naldini, L., Blomer, U., Gage, F.H., Trono, D., and Verma, I.M. 1996. Efficient transfer, integration, and sustained long-term expression of the transgene in adult rat brains injected with a lentiviral vector. *Proc Natl Acad Sci USA* 93:11382-11388.
- 文献 10 : Nakajima, T., Nakamaru, K., Ido, E., Terao, K., Hayami, M., and Hasegawa, M. 2000. Development of novel simian immunodeficiency virus vectors carrying a dual gene expression system. *Hum Gene Ther* 11:1863-1874.
- 文献 11 : 埴秀樹. レンチウイルスベクターの最近の進歩. バイオテクノロジージャーナル 7(2): 158-162 (2007)
- 文献 12 : Zufferey, R., Nagy, D., Mandel, R.J., Naldini, L., and Trono, D. 1997. Multiply attenuated lentiviral vector achieves efficient gene delivery in vivo. *Nat Biotechnol* 15:871-875.
- 文献 13 : Dull, T., Zufferey, R., Kelly, M., Mandel, R.J., Nguyen, M., Trono, D., and Naldini, L. 1998. A third-generation lentivirus vector with a conditional packaging system. *J Virol* 72:8463-8471.
- 文献 14 : Zufferey, R., Dull, T., Mandel, R.J., Bukovsky, A., Quiroz, D., Naldini, L., and Trono, D. 1998. Self-inactivating lentivirus vector for safe and efficient in vivo gene delivery. *J Virol* 72:9873-9880.
- 文献 15 : Levine, B.L., Humeau, L.M., Boyer, J., MacGregor, R.R., Rebello, T., Lu, X., Binder, G.K., Slepishkin, V., Lemiale, F., Mascola, J.R., et al. 2006. Gene transfer in humans using a conditionally replicating lentiviral vector. *Proc Natl Acad Sci USA* 103:17372-17377.

3 生理・生態学的特性 (文献 1)

(1) 基本的特性

SIVagmは直径約100nmの球型のエンベロープウイルスで、一本鎖のプラス鎖RNAをゲノムとして持つ。SIVagmのゲノムには、*gag*, *pol*, *env*といったすべてのレトロウイルスに共通する遺伝子、*tat*, *rev*といった調節遺伝子のほかに、*vif*, *vpx*, *nef*というアクセサリ遺伝子を有する。*gag*はウイルスの構造タンパク質をコードし、*pol*はウイルス酵素群を、*env*はエンベロープタンパク質をコードする。*tat*, *rev*は発現制御遺伝子で、*tat*は遺伝子発現の制御シグナル配列を含むTAR (transacting responsive element) に結合してさらに下流の転写を促進し、*rev*はmRNAの核外輸送に関わるRRE (rev response element) に結合する。*vif*, *vpx*, *nef*はSIVagmの複製に必ずしも必須ではなく、アクセサリ遺伝子と呼ばれる。SIVagmは細胞に吸着・侵入したのち、自らの逆転写酵素を用いてRNAゲノムを2本鎖DNAに変換する。逆転写で形成された二本鎖DNAはインテグラーゼによって宿主染色体に組み込まれる。この組み込みは一般にランダムに起こると考えられているが、一方で最近の報告では発現遺伝子近傍に取り込まれる確率が高いことが報告されており、これはレトロウイルスにも同様の傾向があることから、クロマチン構造の状態との関連が示唆されている (文献16)。宿主染色体に組み込まれたウイルス由来DNA配列 (プロウイルス) からは、宿主細胞のRNAポリメラーゼを利用して、新しいウイルスRNA分子が合成される (文献1, 3, 4)。

(2) 生育又は生育可能な環境の条件

SIVagmはサルに血液感染、性感染または母子感染し、潜伏期を経て増殖する。SIVagmはHIVと同様にCD4分子を主要なレセプターとしており、CD4陽性Tリンパ球、マクロファージや一部の樹状細胞などに感染する。血液・性感染をすることから推定されるように、血液や精液などの体液中では比較的安定であるが、空気感染をしないことから環境中ではやがて消滅すると考えられる。SIVagmのヒトへの感染はこれまでに報告がない。

(3) 捕食性又は寄生性

報告によっても異なるが、アフリカミドリザルの10-60%にSIVagmの感染を認めることが報告されている(文献17-19)。また実験施設においては、アフリカミドリザル以外のマカクザルにも感染することが報告されている(文献20)。ヒトへの感染性に関しては、これまでに報告がない。

(4) 繁殖又は増殖の様式

SIVagmはアフリカミドリザルを自然宿主とし、血液感染、性感染または母子感染によって伝播し、潜伏期間を経て感染個体で増殖する。細胞に感染後、ウイルスのRNAゲノムは2本鎖DNAに変換され、宿主染色体へ組み込まれる。染色体に組み込まれたプロウイルスから、ウイルスRNAゲノムやウイルスタンパク質が翻訳・転写され、新たなウイルス粒子が形成・放出される。空気伝播はしない。増殖したウイルスは、HIVと同様に血液、精液、母乳などの体液に排出される(文献3-5)。

(5) 病原性

SIVagmはアフリカミドリザルを自然宿主とするが、アフリカミドリザルに対して病原性を有さないことが知られている(文献7)。実験施設においては、SIVagm90株をブタオザル(pig-tailed macaque)に感染させた場合、CD4陽性リンパ球の減少、易感染性など、後天性免疫不全症(AIDS)と類似した症状を呈することが報告されている(文献21)。しかし、今回我々の用いたSIVagm TYO株に関しては、マカクザルに感染させても特に異常を認めず、これまでに病原性は報告されていない(文献20)。ヒトへの感染に関してはこれまでに報告がなく、その病原性も報告されていない。

(6) 有害物質の産生性

SIVagmそのもの、およびその構造蛋白が有害物質を産生することは報告がなく、また感染を契機に有害物質が産生されるとする報告もない。

(7) その他の情報

物理化学的安定性に関しては、SIVagmはエンベロープを有しており、有機溶媒(グルタールアルデヒド、エタノールなど)や塩素化合物などの処理で容易に失活し、ヒト免疫不全ウイルス(HIV)と同様に感染性を失う。例えば、有機溶媒としては2%グルタールアルデヒドあるいは50%エタノールで10分、70%アルコールで1分処理、塩素化合物としては有効塩素濃度0.1~1.0%の次亜塩素酸ナトリウムで処理することで容易に失活する(文献22-25)。また実験室においては、通常はオートクレーブによる滅菌処理により失活させる。保存安定性に関しては、-80℃以下では、数年間にわたり感染性がほとんど低下しない。ただし、凍結融解を繰り返すと、エンベロープが障害を受けて感染性が急激に低下する。

文献 16: Mitchell, R. S., Beitzel, B.F., Schroder, A. R., Shinn, P., Chen, H., Berry, C.C., Ecker, J.R., and Bushman, F. D. 2004. Retroviral DNA integration: ASLV, HIV, and MLV show distinct target site preferences. *PLoS Biol.* 2:E234 (1127-1137).

文献 17: Ohta, Y., Masuda, T., Tsujimoto, H., Ishikawa, K., Kodama, T., Morikawa, S., Nakai, M., Honjo, S., and Hayami, M. 1988. Isolation of simian immunodeficiency virus from African green

- monkeys and seroepidemiologic survey of the virus in various non-human primates. *Int J Cancer* 41:115-122.
- 文献 18 : Hendry, R.M., Wells, M.A., Phelan, M.A., Schneider, A.L., Epstein, J.S., and Quinnan, G.V. 1986. Antibodies to simian immunodeficiency virus in African green monkeys in Africa in 1957-62. *Lancet* 2:455.
- 文献 19 : Allan, J.S., Short, M., Taylor, M.E., Su, S., Hirsch, V.M., Johnson, P.R., Shaw, G.M., and Hahn, B.H. 1991. Species-specific diversity among simian immunodeficiency viruses from African green monkeys. *J Virol* 65:2816-2828.
- 文献 20 : Honjo, S., Narita, T., Kobayashi, R., Hiyaoka, A., Fujimoto, K., Takasaka, M., Sakakibara, I., Mukai, R., Ishikawa, K., Ohta, Y., et al. 1990. Experimental infection of African green monkeys and cynomolgus monkeys with a SIVAGM strain isolated from a healthy African green monkey. *J Med Primatol* 19:9-20.
- 文献 21 : Hirsch, V.M., Dapolito, G., Johnson, P.R., Elkins, W.R., London, W.T., Montali, R.J., Goldstein, S., and Brown, C. 1995. Induction of AIDS by simian immunodeficiency virus from an African green monkey: species-specific variation in pathogenicity correlates with the extent of in vivo replication. *J Virol* 69:955-967.
- 文献 22 : 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. 1993. ウイルス 43:199-232.
- 文献 23 : Spire, B., Barre-Sinoussi, F., Montagnier, L., and Chermann, J.C. 1984. Inactivation of lymphadenopathy associated virus by chemical disinfectants. *Lancet* 2:899-901.
- 文献 24 : Resnick, L., Veren, K., Salahuddin, S.Z., Tondreau, S., and Markham, P.D. 1986. Stability and inactivation of HTLV-III/LAV under clinical and laboratory environments. *Jama* 255:1887-1891.
- 文献 25 : Watanabe, Y., Miyata, H., and Sato, H. 1989. Inactivation of laboratory animal RNA-viruses by physicochemical treatment. *Jikken Dobutsu* 38:305-311.

II 遺伝子組換え生物等の調製等に関する情報

1 供与核酸に関する情報

(1) 構成及び構成要素の由来

ヒト色素上皮由来因子 (略称: hPEDF) をコードする全長の cDNA は 1257bp であり、ヒト由来培養網膜色素上皮細胞 (ARPE-19) の cDNA ライブラリーをテンプレートとして、サブクローニングを行った。さらにその塩基配列が Genbank に登録されている hPEDF 遺伝子の塩基配列 (No. AF400442) と完全に同一であることを確認し、供与核酸とした。(供与核酸の全塩基配列および対応するアミノ酸配列は別紙 1)

ベクターゲノム RNA を合成する遺伝子導入ベクタープラスミドは、pBluescript KS+ベクターを基本骨格とし、 $\Delta 5'$ LTR、パッケージングシグナル (Ψ)、RRE、cPPT、CMV プロモーター、搭載遺伝子 (hPEDF)、WPPE、 $\Delta 3'$ LTR の構造を持つ。(RRE、cPPT、CMV プロモーター、WPPE の全塩基配列、塩基数、由来については別紙 2) 供与核酸の転写には、プロモーター活性の高い CMV プロモーターを用い、ベクターゲノム RNA の 5'端と 3'端にある Long terminal repeat (LTR) 配列の持つプロモーター活性は完全に除去した (文献 10, 14)。

(2) 構成要素の機能

1) ヒト PEDF 遺伝子

ヒト PEDF タンパクは 418 個のアミノ酸からなる、糖鎖修飾を受けた分子量 46,342Da の一本鎖ポリペプチドで、分泌シグナルを有し細胞外に分泌される。構造上セリンプロテアーゼ感受性ループを有するが、プロテアーゼ阻害活性はないことが報告されている (文献 26, 27)。

PEDF の代表的な生物活性は神経親和性である。これまで種々の神経細胞に対して、分化誘導、および傷害による神経アポトーシス死を抑制する作用を持つことが、培養細胞および動物個体において報告されている。その機序としては培養未熟小脳顆粒細胞を用いた検討があり、転写因子 NFkB の活性化が関与し、また抗アポトーシス遺伝子である Bcl-2, Bcl-x や、神経栄養因子である NGF、BDNF の発現を誘導することが報告されている (文献 28)。さらに近年では、PEDF は強力な血管新生抑制効果を有し、種々の血管新生モデル、腫瘍血管新生を抑制することが報告されている (文献 29)。

また PEDF はヒト胎児網膜色素上皮細胞の培養上清から分離・精製された因子であり、眼内局所において比較的豊富に存在し、眼内での過剰発現による副作用は理論的に低いと考えられる (文献 30)。実際に、発生期のマウス網膜に PEDF を高発現させた場合においても、神経系・血管系の発達に異常を認めなかったことが報告されている (文献 31)。さらに、米国において施行されている hPEDF 遺伝子を搭載したアデノウイルスベクターの硝子体投与による加齢黄斑変性に対する臨床研究においても、過剰発現による毒性は報告されていない (文献 32)。

また PEDF により野生型ならびに遺伝子組換え SIV ベクターの感染性 (感染する動植物の種類や感染様式) が変化したとする報告はない。

2) RRE (Rev-response element)

この核酸は SIVagmTYO1 株由来で、Rev タンパク質との作用により転写産物 (ウイルス RNA) の細胞質への核外移行を促進する。

3) cPPT (central polypurine tract)

この核酸は SIVagmTYO1 株由来で、ウイルスゲノムの核移行や宿主染色体への組換え効率を高めて遺伝子導入効率を上昇させる。

4) CMV プロモーター

この核酸は Cytomegarovirus プロモーター配列由来で、多くの細胞において構成的に機能するプロモーターであり、本遺伝子組換え生物により遺伝子導入された細胞において、hPEDF 遺伝子の転写を行う。

5) WRPE (woodchuck hepatitis virus post-transcriptional regulatory element)

この核酸はウッドチャック肝炎ウイルス由来で、RNA 安定性を高めることにより導入遺伝子の発現効率を高める。

供与核酸は、殆どのウイルス由来の遺伝子を欠失させた非伝播型ベクターに搭載されているため、伝播性は消失しているが、これら供与核酸の導入によって SIVagm-hPEDF の感染性及び増殖性が変わることはないと考えられる。これはウイルス遺伝子の欠失に関わらず、ラット網膜に同等の効率で大腸菌 LacZ 遺伝子 (別紙 3 (1)) 及び hPEDF (別紙 3 (2)) を発現させることができることから支持されることが考えられる。

- 文献 26 : Steele, F.R., Chader, G.J., Johnson, L.V., and Tombran-Tink, J. 1993. Pigment epithelium-derived factor: neurotrophic activity and identification as a member of the serine protease inhibitor gene family. *Proc Natl Acad Sci USA* 90:1526-1530.
- 文献 27 : Becerra, S.P. 1997. Structure-function studies on PEDF. A noninhibitory serpin with neurotrophic activity. *Adv Exp Med Biol* 425:223-237.
- 文献 28 : Yabe, T., Wilson, D., and Schwartz, J.P. 2001. NFkappaB activation is required for the neuroprotective effects of pigment epithelium-derived factor (PEDF) on cerebellar granule neurons. *J Biol Chem* 276:43313-43319.
- 文献 29 : Dawson, D.W., Volpert, O.V., Gillis, P., Crawford, S.E., Xu, H., Benedict, W., and Bouck, N.P. 1999. Pigment epithelium-derived factor: a potent inhibitor of angiogenesis. *Science* 285:245-248.
- 文献 30 : Tombran-Tink, J., Shivaram, S.M., Chader, G.J., Johnson, L.V., and Bok, D. 1995. Expression, secretion, and age-related downregulation of pigment epithelium-derived factor, a serpin with neurotrophic activity. *J Neurosci* 15:4992-5003.
- 文献 31 : Wong, W.T., Rex, T.S., Auricchio, A., Maguire, A.M., Chung, D., Tang, W., and Bennett, J. 2004. Effect of over-expression of pigment epithelium derived factor (PEDF) on developing retinal vasculature in the mouse. *Mol Vis* 10:837-844.
- 文献 32 : Campochiaro, P.A., Nguyen, Q.D., Shah, S.M., Klein, M.L., Holz, E., Frank, R.N., Saperstein, D.A., Gupta, A., Stout, J.T., Macko, J., et al. 2006. Adenoviral vector-delivered pigment epithelium-derived factor for neovascular age-related macular degeneration: results of a phase I clinical trial. *Hum Gene Ther* 17:167-176.

2 ベクターに関する情報

(1) 名称及び由来

ヒト色素上皮由来因子 (hPEDF) を発現する第 3 世代遺伝子組換え SIVagm ベクター (SIVagm-hPEDF) は、1) ジーントランスフェープラスミド (pGTV-PEDF)、2) パッケージングプラスミド (pPV 3rd)、3) rev 発現プラスミド (pCI-rev)、4) VSV-G 発現プラスミド (pVSV-G) の 4 種類のプラスミドより作製される。ベクターの構造図は別紙 4。

1) ジーントランスフェープラスミド (pGTV-PEDF)

CMV プロモーターの制御下にあるヒト色素上皮由来因子 (hPEDF) 遺伝子を含む。

2) パッケージングプラスミド (pPV 3rd)

パッケージングに必要な SIVagmTYO1 株由来の gag、pol を含む。

3) rev 発現プラスミド (pCI-rev)

パッケージングに必要な SIVagmTYO1 株由来の rev を含む。

4) VSV-G 発現プラスミド (pVSV-G)

ヒト水疱性口内炎ウイルス (VSV) の G 蛋白 (VSV-G) を発現する遺伝子を含む。

(2) 特性

1) ジーントランスフェープラスミド (pGTV-PEDF)

ベクターゲノム RNA を合成する遺伝子導入プラスミドで、アンピシリン耐性遺伝子を有

している。

2) パッケージングプラスミド (pPV 3rd)

gag、*pol* のウイルス構成タンパク質を発現させるプラスミドで、アンピシリン耐性遺伝子を有している。

3) *rev* 発現プラスミド (pCI-*rev*)

制御タンパク質である *Rev* を発現するプラスミドで、アンピシリン耐性遺伝子を有している。

4) VSV-G 発現プラスミド (pVSV-G)

ウイルス外殻タンパク質である VSV-G を発現させるプラスミドで、アンピシリン耐性遺伝子を有している。

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成

SIVagm-hPEDFベクター粒子に含まれるベクターゲノムRNAは、5'端と3'端にそれぞれLTRを持つ単鎖RNAである。前述のように5'LTRと3'LTRのU3領域は削除され、替わりに治療遺伝子の発現のためにCMVのプロモーター配列が挿入されており、*tat*非依存的なゲノムRNAの転写を可能としている。5'LTR下流にはSIVのパッケージングシグナル (ψ)、*Rev*との作用により転写産物の核外移行を亢進する*Rev*応答領域 (Rev-response element: RRE)、遺伝子の導入効率を上昇させるcentral polypurine tract (cPPT) 配列を有し、CMVプロモーターとその直下に搭載遺伝子hPEDFが挿入されている。その下流にはhPEDF mRNAの安定性を高めることにより導入遺伝子の発現効率を高めるウッドチェック肝炎ウイルスのpost-transcriptional regulatory element (WPPE) 配列が挿入されている。

野生型SIVagm及び構築された SIVagm-hPEDF のゲノム構造の概略図は別紙 5。

(2) 宿主内に移入された核酸の移入方法

レトロウイルスベクターの一般的な作製方法と同様、複数のプラスミドを培養細胞に同時に導入し、細胞上清に放出されるベクター粒子を回収し、精製・濃縮する方法を用いた。具体的には、1) ベクターゲノム RNA を合成する遺伝子導入プラスミド、2) *gag*、*pol* のウイルス構成タンパク質を発現させるパッケージングプラスミド、3) 制御タンパク質である *Rev* を発現する *Rev* 発現プラスミド、4) ウイルス外殻タンパク質を発現させる VSV-G プラスミドの 4 種のプラスミド (各プラスミド構築法は別紙 6) を、最適化された一定の比率でヒト腎臓線維芽細胞由来株 293T にトランスフェクションすることにより作成される (概略図は別紙 7)。

293T 細胞はセルバンク化し、SIVagm-PEDF の製造毎にプラスミドを導入する。

(3) 遺伝子組換え生物等の育成の経過

プラスミド導入後、ウイルスベクターを含む培養上清を回収・濾過し、混入DNAを除去した後に濃縮を行う。濃縮後のベクター力価は遺伝子導入プラスミド中の遺伝子配列を標的にしたリアルタイムRT-PCRにより粒子数 (viral particle: Vp) を測定する。抗ヒトPEDF抗体を用いて免疫組織化学的検出によるfunctional titerの算出 (transduction unit: T.U.) も併せて行う。SIVagm-hPEDF の最終製品は中華人民共和国 Vector Gene Technology社にて製造される (製造工程の概略図は別紙 8)。製造工程は現行のGMP 基準に従ってセルバンクシステムを用い、品質管理は FDA 基準に従う (セルバンクの品質検査試験の詳細は別紙 9)。凍結した状態で日本へ輸送した最終製品は、九州大学病院北棟2階分子・細胞調製センター内細胞保存ユニット (P2レベル) において受け入れ、同室内のディープフリーザーに施錠の上保管する (当該治療施設の地図及び保管場所の概略図は別紙 10)。また最終製品は、九州大学大学院医学研究院病理病態学第 5 研究室 (P2レベル) において受け入れ試験 (別紙 11) を実施する。

マスターセルバンクは、Vector Gene Technology 社に保管されている。

SIVagm-hPEDFは第3世代に改良されており、相同組換えにより増殖性遺伝子組み換えウイルスが出現する可能性は極めて低い（文献13）。

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 SIVagm-hPEDF の一本鎖 RNAとして存在し、保管中は極めて安定で、感染する動植物の種類及び感染様式が保管中に変化することはない。

細胞に感染すると、SIVagm-hPEDF の RNA ゲノムは核内へは移行し、逆転写酵素によって2本鎖DNAに変換され、宿主染色体に組み込まれる。組み込まれたDNA（プロウイルス）からは、宿主のRNAポリメラーゼによってhPEDFが転写される。hPEDFの発現は、小動物（ラット）において少なくとも1年間、大動物（サル）においても少なくとも3年間の安定した遺伝子発現を確認している（文献33, 34）。また遺伝子組換えによりウイルスが感染する動物種や感染様式が変化したとする報告はない。

ベクターゲノムの染色体内への組み込み部位については、本ベクターをヒト網膜色素上皮細胞株に遺伝子導入し、プロウイルスの染色体挿入部位について検討を行った。747クローンを検討した結果、特定のホットスポットは検出されず、過去のHIVの報告と同様にランダムな遺伝子挿入と考えられた（文献35）。

SIVagm-hPEDF を作製する過程で、ゲノムから欠失した *gag*、*pol* タンパク質や *Rev* タンパク質を分離したプラスミドよりトランスに供給するが（第3世代に改良）、ベクターゲノムと *gag*、*pol*、*Rev* タンパク質遺伝子には、相同部分はなく、相同組換えによりRCLが出現する可能性は極めて低い（文献13）。

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

SIVagm-hPEDF の検出にはRT-PCR法を用いる。SIVagm-hPEDFは自然界に存在するSIVagm が有しないヒト由来 PEDF 遺伝子を含むが、正常ヒト組織はPEDFを高く発現しているため、この部分を標的とした場合、リアルタイムRT-PCR法ではバックグラウンドが高い。

そのため、SIVagm-hPEDF、野生型SIVagm及び相同組換えにより増殖能を獲得する組換えウイルスの全てを検出し得るパッケージングシグナル (ψ) 領域を標的とした検出方法を確立した。このパッケージングシグナル (ψ) 領域の RNA を RT 法で DNA に逆転写後、PCR法を用いて 増幅、定量する方法で SIVagm-hPEDF を検出できる。細胞から抽出したバックグラウンドRNA 0.1mgに10コピーのSIVagm-hPEDFがあれば検出することができる。

RCL (replication competent lentivirus) 検出について：

米国 Recombinant DNA Advisory Committee において議論されているように（2006年3月および6月開催）（文献36, 37）、レンチウイルスベクターにおけるRCLの検出法として再現性が高く安定した方法は確立していないことが報告されている。第3世代の製造方法によって生産された HIV 由来レンチウイルスベクターについて、最も経験のある2施設（Inder Verma 博士の研究室ならびに National Gene Vector Laboratories）において繰り返し実施された、1）遺伝子導入標的細胞における capsid 蛋白 (p24) 検出法、2）vector mobilization assay、3）*gag*, *pol* 遺伝子を対象としたPCR法、のいずれにおいてもRCLの出現は検出できなかったことから、広汎なRCL検出試験を実施する必要性はないのではないか、とされている。従って本臨床研究において実施するRCL検出試験は、基本的にVIRxSYS社が公表している方法と同様に、最終生産物ならびに最終生産に使用した293T細胞に対する継代培養増幅法（10継代）により増幅し、SIVagm *gag* に対するDNA/RNA RT-PCRにより、Vector Gene Technology 社においてGMP生産物最終検定の一貫として検定する。本法では、1検体あたり10コピーの検出感度が得られている。

6 宿主又は宿主の属する分類学上の種との相違

野生型レンチウイルスの場合、ウイルスゲノムに自身の複製に必要な遺伝子群がコードされており、宿主の染色体に組み込まれた後、ウイルスタンパク質が合成され、新たなウイルス粒子が形成される。ウイルスゲノムの両端には、転写活性を有するLTRが存在し、この部位より転写が開始される。またウイルス粒子はCD4分子を主要なレセプターとするため、感染性はCD4陽性Tリンパ球、マクロファージや一部の樹状細胞などに限定される。

一方、SIVagmゲノム領域における野生型との違いは、1) 修飾タンパク質であるvif、vpx、nef、LTRの転写修飾因子であるtat、エンベロープタンパク質であるenvを全て取り除いていること、2) パッケージングに必要なgag、pol、revは分離したプラスミドに搭載され、ベクター再構成時には2つのプラスミドより独立して供給されること、3) 5'LTRならびに3'LTRのU3、U5領域の一部が欠失されており、その転写活性が取り除かれていること (self-inactivation: SIN化)、の3点である。その結果、塩基配列としてウイルスゲノムの80%以上が取り除かれている。本ベクターによって導入される遺伝子はhPEDFのみである。そのため、遺伝子導入後に新たなウイルス粒子は形成されず、非伝播性となっている。またhPEDFの転写にはCMVプロモーターを用い、LTRの転写活性部位は削除している。そのため、本ベクターの遺伝子導入によってhPEDFタンパクが遺伝子導入細胞で発現されるが、hPEDF以外の遺伝子が非特異的に活性化される可能性は理論的に低い。

本ベクターは、その製造過程において、パッケージングに必要なgag、pol、revタンパクをトランスに供給して生産し、エンベロープタンパク質としてVSV-Gを用いているため、ヒトの他にサル、ウシなど多くの哺乳動物の幅広い細胞への感染が可能である。網膜下投与によって、網膜色素上皮細胞へ選択性の高い遺伝子導入を確認している。

- 文献 33 : Ikeda, Y., Goto, Y., Yonemitsu, Y., Miyazaki, M., Sakamoto, T., Ishibashi, T., Tabata, T., Ueda, Y., Hasegawa, M., Tobimatsu, S., et al. 2003. Simian immunodeficiency virus-based lentivirus vector for retinal gene transfer: a preclinical safety study in adult rats. *Gene Ther* 10:1161-1169.
- 文献 34 : Miyazaki, M., Ikeda, Y., Yonemitsu, Y., Goto, Y., Sakamoto, T., Tabata, T., Ueda, Y., Hasegawa, M., Tobimatsu, S., Ishibashi, T., et al. 2003. Simian lentiviral vector-mediated retinal gene transfer of pigment epithelium-derived factor protects retinal degeneration and electrical defect in Royal College of Surgeons rats. *Gene Ther* 10:1503-1511.
- 文献 35 : Schroder, A.R., Shinn, P., Chen, H., Berry, C., Ecker, J.R., and Bushman, F. 2002. HIV-1 integration in the human genome favors active genes and local hotspots. *Cell* 110:521-529.
- 文献 36 : Minutes of March 2006 RAC Meeting. Biosafety Considerations for Research with Lentiviral Vectors (http://oba.od.nih.gov/rdna/rdna_resources.html)
- 文献 37 : Minutes of June 2006 RAC Meeting. Biosafety Considerations for Research with Lentiviral Vectors (http://oba.od.nih.gov/rdna/rdna_resources.html)

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投与及び保管、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

治療施設の所在地：福岡県福岡市東区馬出3丁目1番1号

治療施設の名称：九州大学病院

(1) 輸送・保管方法：

SIVagm-hPEDF 溶液は、容器に密閉され、凍結状態で治療施設に輸送し、凍結状態のまま施設内の施錠可能な P2 レベルの保管室内の冷凍庫に保管する。

(2) 投与用試料の調製等：

凍結状態の SIVagm-hPEDF 溶液の融解、バイアルの開封並びに SIVagm-hPEDF 溶液の希釈及び分注操作は、P2 レベルの実験室内の安全キャビネット内で行う。SIVagm-hPEDF 希釈溶液の保管は、上記保管室内の冷凍庫において行う。なお、SIVagm-hPEDF 希釈溶液又はその凍結品を、開放系区域を通して他の P2 レベル区域に運搬する必要がある場合には、密閉した容器に入れ、容器の落下や破損を防止するために当該容器を箱等に入れ運搬する。

(3) 滅菌処理・廃棄方法：

SIVagm-hPEDF 溶液（希釈溶液も含む。）を廃棄する際には、滅菌処理（塩素系漂白剤〔有効塩素濃度 0.1～1.0% 次亜塩素酸ナトリウム、30 分〕、もしくはオートクレーブ）を行った後、九州大学病院で定められた医療廃棄物管理規程（別紙 12）に従い、廃棄する。

(4) 投与時の試料運搬等：

被験者に投与する SIVagm-hPEDF 希釈溶液は、P2 レベルの実験室内の安全キャビネット内でシリンジへ充填する。充填されたシリンジは、密閉した容器に入れ、容器の落下や破損を防止するために当該容器を箱等に入れ、九州大学病院南棟 3 階手術部まで運搬する。

(5) 投与法：

被験者に対する SIVagm-hPEDF の投与は、環境中への拡散防止措置を適切に執った九州大学病院南棟 3 階手術部において行う。局所麻酔下に硝子体手術により硝子体を切除後、SIVagm-hPEDF 希釈溶液を網膜に注入する。

(6) 被験者への試料の投与時における被験者からの環境中への拡散防止措置：

ベクター投与後、被験眼はガーゼにて覆い、眼帯を着用し遮蔽してウイルス漏出防止する。その後、被験者を速やかに遺伝子治療室（北棟 11 階遺伝子治療室: 1181 号室および 1182 号室）（以下「個室」という。）へ搬送する。

(7) 被験者への試料の投与時、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等の滅菌処理・廃棄方法：

投与時に SIVagm-hPEDF と直接接触する注射針、シリンジ、ガーゼ、滅菌シート等は使い捨てとし、環境中への拡散防止措置を適切に執った室内（九州大学病院南棟 3 階手術部）において適切に滅菌処理を実施した後、医療廃棄物管理規程に従い、廃棄する。なお、これらの滅菌処理を別室にて行う場合には、二重に密閉した容器に入れて運搬する。

(8) 個室管理期間における被験者からの環境中への拡散防止措置：

投与後 1 週間まで、被験者を上記室内で個室管理し、検査等の理由で被験者が一時的に個室外の開放系区域に出る場合には、マスク及びガウン着用等のウイルス漏出予防を義務付ける。看護師 1 名を常時同伴させ、開放系区域での排泄や喀痰喀出等の禁止を義務付ける。

(9) 個室管理期間における被験者の排泄物等の滅菌処理・廃棄方法

個室管理期間中の被験者の排泄物（血液、体液、尿及び糞便）は、臨床検体として使用するものを除いては、当該室内で塩素系漂白剤（有効塩素濃度 0.1～1.0% 次亜塩素酸ナトリウム、30 分）に浸漬、固形化剤を使用して固形化した後、オートクレーブバックへ回収、バイオハザードマーク付き医療廃棄物用段ボールへ梱包した後、九州大学病院で定められた医療廃棄物管理規程に従い廃棄する。これらの滅菌処理を別室にて行う場合には、二重に密閉した容器に入れて運搬する。なお、臨床検体として使用する被験者の排泄物の取扱いは、上記 SIVagm-hPEDF 溶液の取扱いに準ずる。

(10) 個室管理期間中、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等の滅菌処理・廃棄方法：

個室管理期間中、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に接触した器具等は、環境中への拡散防止措置を適切に執った室内において 70%エタノール（30 分）の噴霧もしくは塩素系漂白剤（有効塩素濃度 0.1～1.0% 次亜塩素酸ナトリウム、30 分）に浸漬の滅菌処理を実施した後、医療廃棄物管理規程に従い廃棄又は十分に洗浄する。なお、これらの滅菌処理を別室にて行う場合には、二重に密閉した容器に入れて運搬する。

(11) 被験者の個室管理を解除する前の遺伝子組換えウイルスの陰性確認等：

被験者の個室管理を解除する前に、経時的に（投与後当日、1、3、7 日目）被験者の血液、尿中及び涙液中の SIVagm-hPEDF が陰性であることを RT-PCR 法にて確認する。投与後 7 日を越えて同遺伝子配列が検出される場合、陰転化が確認できるまで同室での個室管理を継続する。ただし、投与後 14 日を越えて同遺伝子配列が検出される場合は、培養細胞を用いて感染性ウイルスの存在の有無を確認する。患者より採取したサンプル中の感染性ウイルスの存在が否定された後、同室の退出を許可する。

(12) 被験者の個室管理を解除後に遺伝子組換えウイルスが検出された場合の措置：

被験者の個室管理を解除後に被験者の血液、尿中及び涙液中から SIVagm-hPEDF が検出された場合は、直ちに被験者を個室における管理かに移し、上記 (8) から (11) までと同様の措置を執る。

3 承認を受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、被験者の血液及び尿中の SIVagm-hPEDF を含む SIV 由来パッケージ

ングシグナル (ψ) 配列を、経時的 (投与後当日、1、3、7日目) にRT-PCRで検出する。同時に血中の炎症性サイトカイン (IL-1、IL-4、IL-6、IL-8、TNF- α 、INF- γ) の経時的変化をELISA法でモニターする。サルを用いた安全性試験結果では、投与直後から投与後3ヶ月の経過全てにおいて、血液ならびに尿中にベクターの遺伝子配列は検出されていないため、一週間の管理期間で十分であると考えられる。投与後7日を越えて同遺伝子配列が検出される場合、陰転化が確認できるまで同室での個室管理とする。ただし、投与後14日を越えて同遺伝子配列が検出される場合は、培養細胞を用いて感染性ウイルスの存在の有無を確認する。患者より採取したサンプル中の感染性ウイルスの存在が否定された後、同室の退出を許可する。

4 生物多様性影響が生じるおそれの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

被験者に対する SIVagm-hPEDF の投与後 1 週間まで、環境中への拡散防止措置を適切に執った室内での個室管理を行う。

検査等の理由で被験者が一時的に個室外の開放系区域に出る場合には、マスク及びガウン着用等のウイルス漏出予防を義務付ける。看護師 1 名を常時同伴させ、開放系区域での排泄や喀痰喀出等の禁止を義務付ける。個室管理期間中の被験者の排泄物 (血液、体液、尿及び糞便) は、臨床検体として使用するものを除いては、当該室内で塩素系漂白剤 (有効塩素濃度 0.1~1.0% 次亜塩素酸ナトリウム、30 分) に浸漬、固形化剤を使用して固形化した後、オートクレーブバックへ回収、バイオハザードマーク付き医療廃棄物用段ボールへ梱包した後、九州大学病院で定められた医療廃棄物管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の取扱いは、2 項 SIVagm-hPEDF 溶液の取扱いに準ずる。

SIVagm-hPEDF 投与時に用いた注射針、シリンジ、ガーゼ、滅菌シート等は使い捨てとし、環境中への拡散防止措置を適切に執った室内において塩素系漂白剤 (有効塩素濃度 0.1~1.0% 次亜塩素酸ナトリウム、30 分) にて不活化処理を実施した後、廃棄する。また、個室管理期間中、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に接触した器具等は、環境中への拡散防止措置を適切に執った室内において 70%エタノール噴霧後 30 分の不活化処理を実施した後、廃棄又は上記室内で十分洗浄する。

被験者の個室管理を解除する前に、被験者の血液、尿中及び涙液中の SIVagm-hPEDF が陰性であることを RT-PCR 法にて確認する。投与後 7 日を越えて同遺伝子配列が検出される場合、陰転化が確認できるまで同室での個室管理を継続する。ただし、投与後 14 日を越えて同遺伝子配列が検出される場合は、培養細胞を用いて感染性ウイルスの存在の有無を確認する。患者より採取したサンプル中の感染性ウイルスの存在が否定された後、同室の退出を許可する。

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

カニクイザルを用いた水平感染に関する検討において、SIVagm-hPEDF を網膜下投与したカニクイザルと非感染カニクイザルを同一飼育室内で飼育した場合の水平感染の有無について、非感染カニクイザルの VSV-G タンパク (SIVagm-hPEDF のエンベロープ) に対する抗体価の上昇は認められていない。

6 国外における使用等により得られた情報

増殖型、非伝播型を問わず、遺伝子組換え SIVagm の投与実績は国内外に無い。

遺伝子組換え HIV ベクターを AIDS に対する治療薬として使用した臨床試験が米国で実施されており (文献14)、この報告では重篤な副作用は検出されていない。また本報告では環境中への拡散に関する記載は無い。

IV 生物多様性影響評価

1 他の微生物を減少させる性質

(1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定

SIVagm-hPEDFはVSV-Gによってシュードタイプパッケージされており、感染性はVSVと同一と考えられるので、微生物には感染せず、また競合、有害物質の産生により他の微生物を減少させることはないと考えられる。よって、影響を受ける可能性のある微生物は特定されなかった。

(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等の判断

以上より、他の微生物を減少させる性質について、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かぎり、生物多様性影響が生じ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等の特定

SIVagm-hPEDFはVSV-Gによってシュードタイプパッケージされており、感染性はVSVと同一と考えられる。そのため、自然界で病原性を受ける対象はヒトの他にサル、ウシなど多くの哺乳動物が想定される。

(2) 影響の具体的内容の評価

SIVagm-hPEDFが感染したヒトではhPEDFを発現する可能性があるが、これによるヒトへの病原性は知られていない。米国において、PEDF遺伝子を搭載したアデノウイルスベクターを硝子体内へ投与する臨床研究が行われているが、PEDFの過剰発現による病原性は報告されていない(文献32)。

レンチウイルス、レトロウイルス、アデノ随伴ウイルスなどを宿主としたベクターでは、ウイルスゲノムが宿主染色体へ組み込まれるため、長期間の安定した遺伝子発現が得られる。一方で、マウス白血病ウイルス(MLV)を基本骨格としたレトロウイルスベクターが、造血幹細胞において特定のがん遺伝子領域(LMO2)を活性化したように、悪性腫瘍の発生に関する危険性を完全には否定できない(文献38)。遺伝子挿入による悪性腫瘍発生の機序としては、1)がん遺伝子のプロモーター、エンハンサー領域への挿入による転写活性化、2)がん抑制遺伝子のエクソン領域あるいはプロモーター、エンハンサー領域への挿入による発現阻害、の2つが考えられるが、本ベクターは前述のようにSIN化されており、1)の機序によって非特異的にがん遺伝子を活性化させる可能性は理論的にない(文献14)。SIVagm-hPEDFを網膜色素上皮細胞株に感染させ、遺伝子挿入部位について検討したところ、747ヶ所の組み込み部位で特定のホットスポットを認めなかった。またがん抑制遺伝子の発現に影響を与える可能性のある部位への挿入は1ヶ所(0.13%)のみであった。がん抑制遺伝子の発現阻害によるがん化には、遺伝子対の両方の発現阻害が必要であることから、本ベクターによるがん化の可能性は計算上約60万分の1以下(0.0013²)である上、さらに一つの細胞に複数のベクターが感染する必要が

あり、その可能性は理論的には非常に低いと考えられる。近年、白血病発症マウスモデルにおいて、MLVを基本骨格としたレトロウイルスベクターが有意にがん化を促進したのに対し、SIN化されたレンチウイルスベクターはがん化に関与しなかったとの報告があり（文献39）、SIN化されたレンチウイルスベクターはレトロウイルスベクターに比し安全性が高いと考察されている。実際に、小動物（マウス、ラット）およびサルを用いて本ベクターの安全性を確認したが、全経過において免疫不全やがんの発生を含め、重篤な有害事象を認めなかった。

なおSIVagmベクターは、2000年に最初の構築の成功が報告されて以来（文献10）、まだ限られた施設でしか使用されていないために、環境への影響に関する既存の知見が不足している。但し、野生型のSIVagmTYO株は発見以来20年を経過し、多くの研究機関において使用されてきたが、環境に対する影響はこれまで報告されていない。従ってその危険性は理論的に低いものと判断される。

（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、SIVagm-hPEDFの環境中への拡散は極めて微量である。さらにSIVagm-hPEDFは増殖能を失っており、環境中では増殖することはない。また野生型HIVと共存した場合においても、SIVagm-hPEDFは第3世代に改良されていること、HIVと相同性の高い配列が削除されていることから相同組換えにより増殖型ウイルスが出現する可能性は極めて低いと考えられる。さらに万一増殖型ウイルスが出現した場合にも、元来SIVagmTYO株は自然宿主に対しても病原性を示さないことが知られている（文献3, 6）。

従って、SIVagm-hPEDFが被験者以外のヒトに対して病原性を示す可能性は極めて低いと考えられる。

（４）生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断

以上より、病原性について、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かぎり、生物多様性影響が生ずるおそれはないと判断される。

文献 38 : Hacein-Bey-Abina, S., Von Kalle, C., Schmidt, M., McCormack, M.P., Wulffraat, N., Leboulch, P., Lim, A., Osborne, C.S., Pawliuk, R., Morillon, E., et al. 2003. LMO2-associated clonal T cell proliferation in two patients after gene therapy for SCID-X1. *Science* 302:415-419.

文献 39 : Montini, E., Cesana, D., Schmidt, M., Sanvito, F., Ponzoni, M., Bartholomae, C., Sergi, L., Benedicenti, F., Ambrosi, A., Di Serio, C., et al. 2006. Hematopoietic stem cell gene transfer in a tumor-prone mouse model uncovers low genotoxicity of lentiviral vector integration. *Nat Biotechnol* 24:687-696.

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等の特定

SIVagm-hPEDFの有害物質の産生性は知られておらず、影響を受ける可能性のある野生動植物等は特定されなかった。

（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等の判断

以上より、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した遺伝子組換え生物等の第一種使用等の方法によるかぎり、生物多様性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等の特定

SIVagm-hPEDFはVSV-Gによってシュードタイプパッケージされており、感染性はVSVと同一と考えられる。そのため、自然界で病原性を受ける対象はヒトの他にサル、ウシなど多くの哺乳動物が想定される。

(2) 影響の具体的内容の評価

SIVagm-hPEDFが感染したヒトではPEDF遺伝子を発現する可能性はあるが、これによるヒトへの核酸の水平伝達は知られていない。

(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、SIVagm-hPEDFの環境中への拡散は極めて微量である。さらにSIVagm-hPEDFは増殖能を失っており、環境中では増殖することはない。また上述のように相同組換えによって増殖性ウイルスが出現する可能性は極めて低いと考えられる。従って、仮に微量なSIVagm-hPEDFが環境中へ拡散しても、やがて消滅すると考えられる。

(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断

以上より、核酸を水平伝達する性質について、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かぎり、生物多様性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

なし。

V 総合的評価

SIVagm-hPEDFはVSV-Gによってシュードタイプパッケージされているため、ヒトを含め幅広い哺乳動物への感染性を有する。しかしSIVagm-hPEDFによって導入される遺伝子はhPEDFのみであること、SIVagm-hPEDFの基本骨格となるSIVagmTYO株は自然宿主においても病原性を有さないことから、感染が成立しても病原性は低いと考えられる。また野生型SIVならびにSIVagm-hPEDFは植物および微生物には感染することは報告されていない。

申請している管理方法を用いる限り、SIVagm-hPEDFの環境中への拡散は極力抑えられており、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。さらに、SIVagm-hPEDFはウイルス由来のゲノムシーケンスの殆どが排除（第3世代化）されており、2次感染粒子の放出がなく、また仮に野生型HIVと共感染しても、相同部分が殆どないため増殖性ウイルスを生じる可能性は極めて低いと考えられる。従って、SIVagm-hPEDFはやがて環境中から消滅するものと考えられる。

SIVagm-hPEDFによるhPEDF遺伝子発現は、被験者の網膜色素上皮細胞に限定される。またhPEDFは元来眼内局所において比較的豊富に存在するため、眼内での過剰発現によるヒトに対する影響はないと考えられる。SIVagm-hPEDFは、5'LTRならびに3'LTRの転写活性を取り除いており（SIN化）、遺伝子挿入により宿主遺伝子が非特異的に活性化する可能性を最小化している。また遺伝子挿入部位に特定の偏りを認めず、遺伝子挿入によって悪性腫瘍が生じる可能性は理論的に極めて低いと考えられる。実際に、小動物（マウス、ラット）およびサルを用いた安全性試験において、重篤な有害事象を認めなかった。

SIVagm-hPEDF由来の増殖性レンチウイルスの出現の可能性は理論的にはないと考えられるが、仮に出現し環境中へ拡散したとしても、元来野生型ウイルスに自然宿主への病原性がなく、ヒト及び他の哺乳動物、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。

従って、第一種使用規程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かぎり、SIVagm-hPEDFによる生物多様性が生ずるおそれはないと判断される。