第 49 回科学技術部会	資料３－３
平成 21 年 4 月 15 日	

遺伝子治療臨床研究実施計画について
（国立がんセンター）

- 国立がんセンター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（がん遺伝子治療臨床研究作業委員会） P1
- がん遺伝子治療治療臨床研究作業委員会委員名簿 P7
- 遺伝子治療臨床研究実施計画申請書及び概要書（改訂後） P8
- 遺伝子治療臨床研究実施計画（改訂後） P36

平成 21 年 3 月 19 日

国立がんセンターから申請のあった
遺伝子治療臨床研究実施計画に係る意見について

がん遺伝子治療臨床研究
作業委員会
委員長　笹 月　健 彦

国立がんセンター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. ハプロタイプ一致ドナー由来 T 細胞除去造血幹細胞移植後の HSV-TK 遺伝子導入 T リンパ球“Add-back”療法
   申請者：国立がんセンター　総長　廣橋　説雄
   申請日：平成 20 年 6 月 9 日

1.　遺伝子治療臨床研究実施計画の概要

(1) 研 究 課 題 名：　ハプロタイプ一致ドナー由来 T 細胞除去造血幹細胞移植後の HSV-TK 遺伝子導入 T リンパ球“Add-back”療法

(2) 申 請 年 月 日：　平成 20 年 6 月 9 日

(3) 実 施 施 設：　国立がんセンター
代 表 者：　国立がんセンター　総長　廣橋　説雄

(4) 総 括 責 任 者：　国立がんセンター中央病院・薬物療法部・幹細胞移植療法室 医長 平家　勇司

(5) 対 象 疾 患：　造血器悪性腫瘍
導 入 遺 伝 子：　単純ヘルペスウイルス 1 型-チミジンキナーゼ（HSV-TK）遺伝子及び細胞内領域欠損ヒト低親和性神経成長因子受容体（ΔLNGFR）遺伝子
ベクターの種類：　非増殖性レトロウイルスベクター
用 法 ・ 用 量：　ハプロタイプ一致ドナー由来 T 細胞除去造血幹細胞移植後、免疫系再構築の開始が確認されず、かつ Grade II 以上の治療を必要とする GVHD を発症しない場合、移植 42 日後に 1×10^6 個/kg の遺伝子導入ドナーT リンパ球を追加輸注（Add-back）する。Add-back 後も免疫系再構築が確認されず、かつ Grade II 以上の治療を必要とする GVHD を発症しない場合、移植後 72 日目及び 102 日目にそれぞれ 1×10^7 個/kg の遺伝子導入ドナーT リンパ球を Add-back する。
研 究 実 施 期 間：　厚生労働大臣より了承された日から３年間
目 標 症 例 数：　１０例（5 例終了時点で遺伝子治療臨床研究効果安全性評価委員会にて目的が十分に評価されうると判断された場合は 5 例で終了）

(6) 研究の概略：

本研究は、ヒト白血球抗原（human leukocyte antigen; HLA）適合又は１抗原不一致（血清型）の適切なドナーのいない、早期に移植治療を必要とする高リスク造血器悪性腫瘍患者に対して、HLA ハプロタイプ一致ドナー由来 T 細胞除去造血幹細胞の移植を施行した後、レトロウイルスベクターSFCMM-3 を用いて HSV-TK 遺伝子及びΔLNGFR 遺伝子を導入した同一ドナー由来の T リンパ球を Add-back する治療法の安全性の評価と Add-back 後の免疫系再構築並びに GVHD 発症頻度及び制御能の評価を主要エンドポイントとする。また本治療法における感染症頻度、無病生存率及び全般生存率等の有効性を検討することを副次的エンドポイントとする。

(7) その他（外国での状況等）:

イタリアのモルメド社により欧州で同一のベクターを用いた同様の第Ⅰ/Ⅱ相臨床試験が実施され、イタリアで第Ⅲ相臨床試験が開始されている。また、筑波大では、同種造血幹細胞移植後の再発白血病を対象として、同一のベクターを用いた遺伝子治療臨床研究を実施中である。タカラバイオ（株）では、同種造血幹細胞移植後の再発した造血器悪性腫瘍患者を対象として、同一のベクターを用いた治験が計画されている。

2. がん遺伝子治療臨床研究作業委員会における審議概要

1) 第1回審議

① 開催日時： 平成20年7月15日（火） 10:00～12:30

② 議事概要：

平成20年6月9日付けで国立がんセンター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：造血器悪性腫瘍）について第1回目の審議を行った。

まず、研究実施計画について同センター中央病院の総括責任者らから説明を受けた後、説明及び提出資料を基に、委員間で実施計画の妥当性等について審議を行った。

各委員の意見については、事務局で整理の上、本作業委員会の意見として申請者に検討を依頼することとし、その結果を基に再度審議することとした。

（本作業委員会の意見）

１． モルメド社の欧州での臨床試験（Phase Ⅰ/Ⅱ）について、最新の詳細なデータを入手し、以下の点について説明すること。

・Add-back２回目までの投与における免疫系再構築の頻度

・３回以上のAdd-back例、及びIL-2投与がなされた例についての詳細な情報

・免疫系の再構築が見られなかった例について、その理由の解析が行われたかどうか

・遺伝子導入細胞の動態と長期的な免疫系再構築に関する情報

２． モルメド社がイタリアで開始したPhase Ⅲのプロトコールに関し、IL-2の使用の有無、Add-backの量、投与回数等について説明すること。

３． GCV投与によるHSV-TK遺伝子導入細胞の殺細胞効果の確実性について、動物実験及びモルメド社の臨床データ等に基づき説明すること。なお、GCV投与の回数、タイミングと殺細胞効果との関係について、モルメド社のデータ及び他のデータを確認すること。また、GCV投与に関するモルメド社のプロトコールと本臨床研究のプロトコールに相違があれば相違点を明確にすること。モルメド社以外にもGCV投与に関するデータが入手できれば参考データとして提出すること。

4． 被験者の選択基準について、最近の知見を踏まえて再検討した上で修正すること。

5． これまでのT細胞への遺伝子導入効率について説明すること。

6． 遺伝子を導入した T 細胞が投与された後、どういう表現型のものが生体内で寄与すると考えられているのか説明すること。

7． 被験者用の同意説明文書に関し、プロトコールが複雑なので丁寧な説明が必要であることを踏まえ、以下について検討すること。
- ・導入している HSV-TK は治療そのものではなく GVHD に対する介入措置であることを分かりやすく説明すること。
- ・被験者への Add-back 投与が複数回になる可能性があるということについて、同意説明文書 22 頁（計画書 157 頁）の図や文章での説明ではわかりにくいので、計画書 83 頁の図を参考に説明を修正すること。
- ・遺伝子導入細胞を投与後、一定期間被験者を個室管理することについて、同意説明文書に記載すること。
- ・本遺伝子治療は、既存の方法ではドナーが得られない患者を対象とすることを同意説明文書でより明確に説明し、ハプロタイプ一致移植は我が国においては必ずしも確立している治療方法ではないことがわかりやすいように記載を再検討すること。なお、海外のデータを提示する場合には、我が国との状況の相違についても十分説明すること。
- ・モルメド社の成績については、HSV-TK 遺伝子導入細胞投与前に死亡した 10 例を含めて生存率を解析し、臍帯血移植、骨髄移植と比較した結果について同意説明文書で説明すること。また、同意説明文書 19 頁（計画書 154 頁）には 2006 年 11 月で 21 例登録とあるが、説明資料には 2006 年 1 月時点で 29 名とあり、最新の情報を得た上で、正確な記載とすること。
- ・HSV-TK 遺伝子導入 T リンパ球の品質試験に関し、Add-back 後に試験結果が判明するものがあること、及びその場合の対応について、同意説明文書にわかりやすく記載すること。

2） 第 2 回審議

① 開催日時： 平成 21 年 1 月 23 日（金） 10:00～12:00

② 議事概要：

前回の審議における本作業委員会の意見に対し、国立がんセンターから回答書及び追加資料が提出されたことを受けて、第 2 回目の審議を行った。

まず、回答書及び追加資料について同センター中央病院の総括責任者ら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を行った。

その結果、本実施計画を概ね了承することとしたが、遺伝子導入細胞のクローナリティー検査等に関して委員より指摘のあった点については、申請者と事務局との間で整備の上、委員長が確認した後に、次回以降の科学技術部会に報告することとした。（なお、これら実施計画書等の整備については、平成21年3月19日に委員長了承。）

(各委員からの主な指摘の内容)

1. 血液中の遺伝子導入Tリンパ球の動態について、臨床研究終了後もフォローアップを実施すること。また、経過観察により遺伝子導入細胞の増加が観察された場合等においては、ΔLNGFR陽性細胞を分画してクローナリティー解析を追加実施することにより、遺伝子導入細胞の増加は何らかの抗原刺激を受けてポリクローナルに増殖したことによるものなのか、あるいは、遺伝子導入に伴う挿入変異を契機にTリンパ球が単クローン性増殖を起こしたことによるものなのかを検討すること。

2. 申請書の「がん原性の有無」及び同意説明書の「レトロウイルスベクターを用いることによる危険性」の項に、XSCIDでの白血病の発症例だけではなく、CGDでのMDSの発症例や、ADA欠損症での成功例などの最新の情報も追記すること。その上で、レトロウイルスベクターによるがん化の頻度は対象疾患、標的細胞、ベクターの種類により大きく異なっており、本研究で行う分化した末梢リンパ球に対するレトロウイルスベクターによる遺伝子導入ではこれまで白血病化の報告がないことも追記すること。

3. がん遺伝子治療臨床研究作業委員会における審議を踏まえた第１回審議時からの実施計画及び被験者への同意説明文書の主な変更内容

（実施計画）

- 本作業委員会の意見を踏まえ、被験者の仮登録時選択基準について、臍帯血移植を優先する場合の具体的なデータが明記され、また、最近の知見を踏まえ、「3回目又はそれ以降の寛解期にある悪性リンパ腫の患者」及び「自家移植後に再発、あるいは悪化した多発性骨髄腫の患者」は選択基準から削除された。

- モルメド社の臨床試験について、本作業委員会の意見を踏まえ、実施計画書に最新の状況が追記された。同意説明文書にも説明が追記された。

- レトロウイルスベクターのがん原性について、実施計画書に最新の情報が追記されるとともに、レトロウイルスベクターによるがん化の頻度は、対照疾患、標的細胞、ベクターの種類により大きく異なることが追記された。同意説明文書にも説明が追記された。

- 臨床研究終了後の追跡調査について、本作業委員会の意見を踏まえ、血液中の遺伝

子導入Tリンパ球比率測定が1年毎のフォローアップ検査項目として追加された。

（患者への同意説明文書）

- 本作業委員会の意見を踏まえ、本臨床研究の対象患者は、既存の方法ではドナーが得られない患者であること、及びハプロタイプ一致移植は我が国では必ずしも確立している治療方法ではないことについて、より明確な記載に改められた。

- HSV-TK遺伝子について、悪性腫瘍に対する治療効果があるものではなく、GVHDに対する安全性を高めるために導入されているものであることが明記された。

- 遺伝子導入リンパ球の品質試験について、Add-back後に試験結果が判明するものがあることの説明、及び投与後に不合格であることが判明した場合の対応と予測される危険（副作用）に関する説明が追記された。

- 臨床研究のスケジュールについて、Add-backが複数回になる可能性があることが分かりやすく記載され、治療スケジュールを説明する図も改訂された。

- 臨床研究中に個室管理が行なわれることに関する説明が追加された。

4.　がん遺伝子治療臨床研究作業委員会の検討結果

国立がんセンター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：造血器悪性腫瘍）に関して、がん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て、それらの結果を実施計画及び患者への同意説明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。

次回以降の科学技術部会に報告する。

厚生科学審議会科学技術部会
がん遺伝子治療臨床研究作業委員会委員名簿

氏　名	所　属
浅野　茂隆	早稲田大学理工学術院特任教授
荒戸　照世	独立行政法人医薬品医療機器総合機構生物系審査部審査役
上田　龍三	名古屋市立大学大学院医学研究科臨床分子内科学教授
小澤　敬也	自治医科大学医学部教授
金子　周一	金沢大学医学部長
金田　安史	大阪大学大学院医学系研究科教授
○笹月　健彦	国立国際医療センター名誉総長
島田　隆	日本医科大学医学部教授
濱田　洋文	札幌医科大学教授
早川　堯夫	独立行政法人医薬品医療機器総合機構顧問
吉倉　廣	厚生労働省医薬食品局食品安全部企画情報課参与

（がん化学療法、造血器）

兼任　上田　龍三	名古屋市立大学大学院医学研究科臨床分子内科学教授

○委員長　（五十音順　敬省略）

（平成 21 年 3 月 29 日現在）

別紙様式第１

遺伝子治療臨床研究実施計画申請書

平成 20 年　6 月　9 日

厚生労働大臣　殿

実施施設	所在地	（郵便番号）104-0045 東京都中央区築地五丁目１番１号
	名称	国立がんセンター （電話番号）　03-3542-2511 （FAX 番号）　03-3545-3567
	代表者 役職名・氏名	国立がんセンター 総長 廣橋　説雄　（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
ハプロタイプ一致ドナー由来 T 細胞除去造血幹細胞移植後の HSV-TK 遺伝子導入 T リンパ球“Add-back”療法	国立がんセンター中央病院 薬物療法部・幹細胞移植療法室 医長　　平家　勇司

大臣官房厚生科学課
科　収第 0611002 号
H20. 6. 11

別紙様式第1の別添

遺伝子治療臨床研究実施計画概要書

平成 20 年　6 月　9 日	（申請年月日）

研究の名称	ハプロタイプ一致ドナー由来T細胞除去造血幹細胞移植後のHSV-TK遺伝子導入Tリンパ球“Add-back”療法
研究実施期間	年　月　日(承認日)から3年間

総括責任者	所属部局の所在地	（郵便番号）104-0045　東京都中央区築地五丁目1番1号	
	所属機関・部局・職	国立がんセンター中央病院・薬物療法部・幹細胞移植療法室・医長	
	氏名	平家　勇司	(印)
実施の場所	所在地	（郵便番号）104-0045　東京都中央区築地五丁目1番1号	
	名称	国立がんセンター中央病院	
	連絡先	（電話番号）03-3542-2511	
総括責任者以外の研究者	氏名	所属機関・部局・職	役割
	吉田輝彦	国立がんセンター研究所 ・腫瘍ゲノム解析・情報研究部・部長	遺伝子導入細胞製剤の製造管理責任者
	青木一教	国立がんセンター研究所 ・がん宿主免疫研究室・室長	遺伝子導入細胞製剤の品質管理責任者
	高上洋一	国立がんセンター中央病院 ・薬物療法部・薬物療法部長	臨床効果の評価
	飛内賢正	国立がんセンター中央病院 ・第一領域外来部・第一領域外来部長	臨床効果の評価
	森慎一郎	国立がんセンター中央病院 ・臨床検査部・細菌検査室医長	投与患者の診療
	金　成元	国立がんセンター中央病院	投与患者の診療

		・特殊病棟部・13B 病棟医師	
	福田隆浩	国立がんセンター中央病院 ・特殊病棟部・12B 病棟医長	投与患者の診療
	田野崎隆二	国立がんセンター中央病院 ・臨床検査部・輸血管理室医長	投与患者の診療
外部共同研究者	氏　名	所属機関・部局・職	役　割
	峰野純一	タカラバイオ株式会社 ・細胞・遺伝子治療センター ・センター長	遺伝子導入用レトロウイルスベクターSFCMM-3 に関する基礎的助言及び遺伝子導入 T リンパ球調製技術の提供と助言
審査委員会が研究計画の実施を適当と認める理由		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を慎重に審査した結果、本遺伝子治療臨床研究実施計画は平成 14 年文部科学省・厚生労働省告示第 1 号「遺伝子治療臨床研究に関する指針」平成 14 年 3 月 27 日告示(平成 16 年 12 月 28 日全部改正)の必要条件を満たしていると認めた。 さらに先行する海外での臨床研究での成績から、従来の治療法では対処困難である HLA 適合ドナーを持たない高リスク造血器悪性腫瘍患者に対するハプロタイプ一致(HLA2～3 座不一致)血縁ドナーからの移植において有効な治療法となること、本研究で輸注する遺伝子導入Tリンパ球の品質および安全性は十分に保証されるものと認められたため、所轄官庁への臨床研究実施計画申請を承認することを差しつかえないものと判断した。 国立がんセンター遺伝子治療臨床研究審査委員会・委員長 国立がんセンター中央病院・院長　　土屋　了介　(印)	

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	高リスク造血器悪性腫瘍患者に対して、ヒト白血球抗原(human leukocyte antigen: HLA)ハプロタイプ一致ドナー由来T細胞除去造血幹細胞の移植を施行した後、レトロウイルスベクターSFCMM-3 を用いて単純ヘルペスウイルス 1 型－チミジンキナーゼ(herpes simplex virus 1-thymidine kinase: HSV-TK)遺伝子を導入した同一ドナー由来の T リンパ球を追加輸注(Add-back)する治療法の全体としての安全性及び有効性について検討する。 ＜主要エンドポイント＞ ・「ハプロタイプ一致ドナー由来 T 細胞除去造血幹細胞移植後の HSV-TK 遺伝子導入 T リンパ球“Add-back”療法」の安全性 ・HSV-TK 遺伝子導入 T リンパ球 Add-back 後の免疫系再構築並びに GVHD 発症頻度及び制御能 ＜副次的エンドポイント＞ ・「ハプロタイプ一致ドナー由来 T 細胞除去造血幹細胞移植後の HSV-TK 遺伝子導入 T リンパ球“Add-back”療法」における感染症頻度、無病生存率、及び全般生存率

対象疾患及びその選定理由	1. 対象疾患 ヒト白血球抗原(HLA)適合又は 1 抗原不一致(血清型)の適切なドナーのいない、早期に移植治療を必要とする高リスク造血器悪性腫瘍患者。 2. 対象疾患に対する現時点での知見 **【造血器悪性腫瘍に対する造血幹細胞移植の現状】** HLA 適合血縁者間での造血幹細胞移植は確立された治療手段であるが、約 60%の患者は HLA 適合ドナーが存在しない。この場合、骨髄バンクを介して、非血縁者ドナーを探すこととなるが、ドナーが存在しない可能性及びコーディネートに時間を要するという問題がある。 **【本邦における成人に対する臍帯血移植の現状】** 本邦では、1994 年に最初の同胞間臍帯血移植、1997 年に非血縁者間臍帯血移植が行われて以来、緊急的移植にも迅速に対応可能であること、ドナーの負担がないこと、HLA 2 座不一致まで移植可能であること等の利点があり、増加の一途を辿っている。2002 年以降は成人における移植件数が小児のそれを上回るようになった。 **【当施設における臍帯血移殖の経験】** 国立がんセンター中央病院では複数の臨床研究において症例登録を行い臍帯血移殖を実施、着実に経験を蓄積している。 **【日米欧から報告された成人に対する臍帯血移植の成績】** 今までに報告された日米欧の多施設あるいは単施設からの成人に対する臍帯血移植の成績から、以下が明らかにされた。 ・ 成人に対する骨髄破壊的前処置を用いた臍帯血移植においても、造血の再構築が得られること。 ・ 発症する急性・慢性 GVHD は許容できるものであること。 ・ ハイリスク患者を対象とした場合でも 10～20 数%の長期生存が得られること。 ・ 患者の年齢、移植された CD34 陽性細胞数が成績に相関すること。 ・ 移植後 100 日以内の早期死亡例では感染症や前処置関連毒性が多いこと。 また、日本国内では、学会を中心に継続して成績の集積が行われている。 **【日米欧から報告された成人における非血縁者骨髄移植と非血縁者臍帯血移殖の成績の比較】** 2004 年末に欧米及び本邦から成人に対する非血縁臍帯血移植と非血縁者骨髄移植の治療成績が報告された。 欧米からの 2 つの報告の結果は、いずれも、HLA 一致ドナーが見つからない場合には臍帯血は許容できる幹細胞ソースであると結論されており、類似していた。 本邦からの報告(単一施設による)では、血縁者ドナーが存在しない場合には、臍帯血が第一の幹細胞ソースであると結論されていた。臍帯血移殖の成績としては、極めて優れていると評価されており、欧米からの報告とは異なっている。 **【成人に対する臍帯血移植の課題】** 現時点では、成人に対する臍帯血移植は、造血幹細胞移植の中の一つの選択肢として捉えられているが、体重あたりの移植細胞数が少ない場合には、生着不全の頻度が高い、生着までに時間を要する、移植後の重症感染症による治療関連死が多いといった点が指摘されている。 **【ミスマッチ移植の現状と課題】** ミスマッチ移植は 100%に近い確率でドナーを見つけることが可能である。しかし、移植片が非自己を認識する作用が強いため、そのままでは生着しにくく、拒絶のリスク及び重篤な急性 GVHD 発症のリスクが問題となる。G-CSF により動員した末梢血幹細胞(peripheral blood stem cell ; PBSC)から T 細胞を除去した大量の造血幹細胞を急性白血病患者に移植することで、造血幹細胞を高率に生着させ、かつ重篤な GVHD を回避する手法も確立されているが、非血液疾患死亡率及び白血病再発率は依然として高く、この

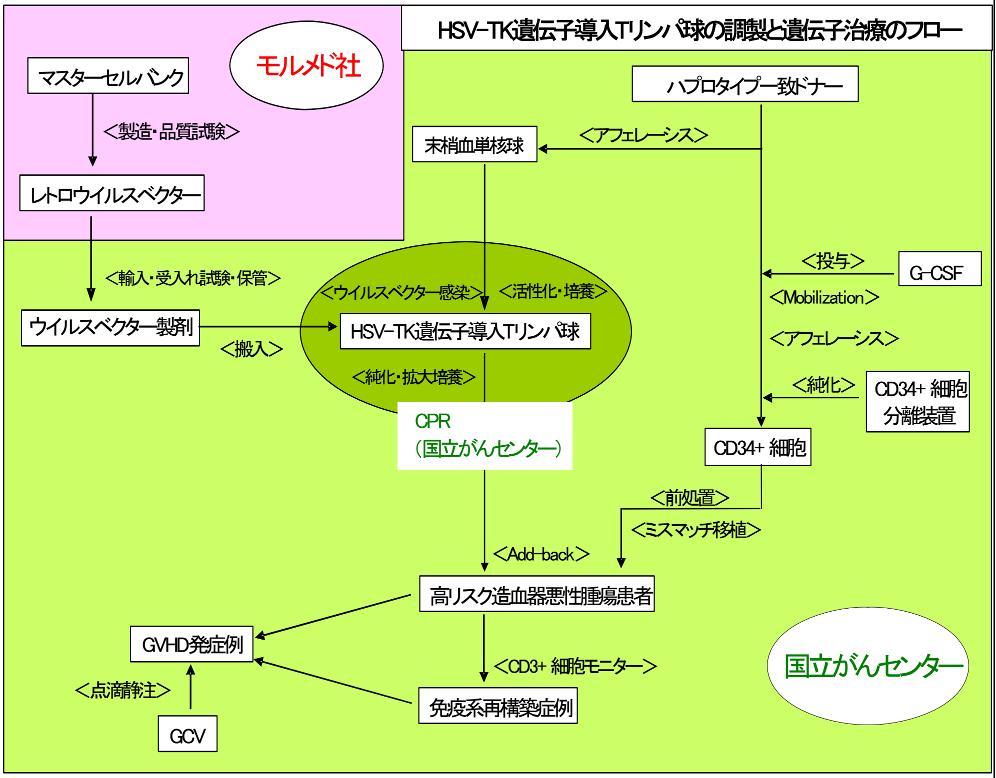
	観点でのより有効な治療法の開発が必須となっている。 **【本邦におけるミスマッチ移植の現状と課題】** 　近年行われた調査によると、HLA 2 座以上の不一致を伴う移植においては、通常のGVHD 予防のみを行った場合には生存率が大きく低下した。HLA 2 座以上の不一致血縁者間移植を成功させるために、体外での T 細胞除去又は CD34 陽性細胞純化を行うミスマッチ移植、母子間免疫寛容の仮説に基づいたミスマッチ移植、強力なGVHD 予防法を用いたミスマッチ移植、及びアレムツズマブを用いた in vivo での T 細胞除去によるミスマッチ移植などの応用・研究が進んでいる。 **【T 細胞除去ミスマッチ移植における課題に対する対策】** 　ドナー由来の T 細胞は造血幹細胞の生着及び宿主免疫再構築を促進しており、移植患者から日和見感染を予防し、GVM 効果による再発防止に寄与している。したがって、T 細胞除去ミスマッチ移植では、移植後早期に免疫系を再構築する手立てが必須である。 　イタリアのモルメド社は、自殺遺伝子である HSV-TK 遺伝子をレトロウイルスベクターにより導入したドナーT リンパ球を調製し、これを T 細胞除去ミスマッチ移植後に Add-back することで、早期に免疫系を再構築する臨床試験を実施している。HSV-TK 遺伝子導入 T リンパ球には重篤な GVHD 発症時に GCV 製剤投与により当該細胞を抹消して沈静化する安全装置としての機能が付与されており、大量に Add-back することにより早期の免疫系再構築、感染症を含む治療関連死の発生率低下、及び GVM 効果による疾患再発阻止が期待できる。 **【モルメド社の臨床試験概要】** 　現在、「ハプロタイプ一致ドナー由来 T 細胞除去造血幹細胞移植後の HSV-TK 遺伝子導入 T リンパ球 Add-back 療法」による第 I／II 相臨床試験（TK007)を欧州 4 施設において実施している。第 47 回米国血液学会において発表された本試験の途中経過では、HSV-TK 遺伝子導入ドナーT リンパ球の Add-back が、早期免疫系再構築を促進し、移植後の感染死を含む治療関連死を予防し、全体としての生存率を上げることが確認された。 **【タカラバイオ株式会社の治験概要（予定）】** 　モルメド社から輸入した本臨床研究と同一のレトロウイルスベクターを用いた治験が、タカラバイオ（株）により計画されている。この治験では、同種造血幹細胞移植後に再発をきたした造血器悪性腫瘍患者を対象として、遺伝子導入 T リンパ球がドナーリンパ球輸注療法において投与される。タカラバイオ（株）は第 I 相試験を国立がんセンター中央病院で平成 20 年度に開始する予定である。

3. 本遺伝子治療臨床研究の概要

【本遺伝子治療臨床研究の全体フロー】

以上の状況を踏まえ、モルメド社が実施した臨床試験と同様のプロトコールによる遺伝子治療臨床研究を実施計画することとした。

本遺伝子治療臨床研究を実施するにあたっては、病院内に設置された無菌細胞調整施設(CPR)にて、モルメド社から輸入したレトロウイルスベクターを用いてHSV-TK遺伝子導入細胞をGMP基準に準拠して調製し、品質試験を行う。



【患者仮登録時選択基準の概要】

1) 予後不良の高リスク造血器悪性腫瘍患者(詳細は別途規定)
2) HLA 適合又は HLA 1 座不一致の適切なドナーがいない
3) 末梢血幹細胞提供可能な HLA 2～3 座不一致の血縁ドナーがいる
4) 年齢が 20 歳以上 60 歳以下
5) ECOG の Performance Status が 0 又は 1
6) 主要臓器の機能が保たれている(詳細は別途規定)
7) ドナー及び患者の両者から文書での同意が得られている

【HSV-TK 遺伝子導入 T リンパ球の調製】

使用するレトロウイルスベクターSFCMM-3 は、モルメド社で GMP 基準に則って作製され、品質規格に適合したものを輸入して受け入れる。なお、当該レトロウイルスベクターは、モルメド社が欧州で実施中の臨床試験(TK007)及び本邦における筑波大学付属病院での遺伝子治療臨床研究で使用されているものと同一である。

T 細胞除去ミスマッチ移植ドナーと同一のドナーに由来する PBMC をアフェレーシスにより採取する。IL-2 存在下で抗 CD3 抗体により PBMC を刺激して活性化し、SFCMM-3 により HSV-TK 遺伝子及び細胞内領域欠損ヒト低親和性神経成長因子受容体(ΔLNGFR)遺伝子を ex vivo 遠心法により導入する。その後、抗 LNGFR 抗体と二次抗体結合磁気ビーズ及び細胞分離装置による純化、並びに IL-2 存在下での拡大培養を経て遺伝子導入 T リンパ球を調製し、品質試験に合格した後に用いる。一部の品質試験項目については、Add-back 後に試験を実施することとし、万一不合格となった項目があればその時点で臨床研究を中止して適切な措置を講ずることとする。つまり、化学療法や移植幹細胞ソースの再検索といった臨床現場において現時点で HLA 適合又は HLA 一座不一致の血縁ドナーが見当たらない高リスク造血器悪性腫瘍患者に行われている中で、患者の状態に応じ

	総括責任者(又は治療にあたる分担研究者)が最も適切と考える治療法を行う。 **【T 細胞除去ミスマッチ移植】** ドナーからの末梢血幹細胞は、G-CSF 製剤投与により動員し、アフェレーシスにより採取する。その後、CD34 陽性細胞を分取し、4×10^6 個/kg を最少量として患者に移植する。 前処置は、モルメド社の臨床試験(TK007)と同様の内容で実施する計画である。アシクロビル(ACV)製剤及び GCV 製剤は、後に Add-back する HSV-TK 遺伝子導入 T リンパ球の自殺機能を惹起することから、本臨床研究で感染予防・治療には使用しないこととする。サイトメガロウイルス(CMV)感染が問題となった場合には、ホスカルネットナトリウム製剤を使用する予定である。 **【HSV-TK 遺伝子導入 T リンパ球 Add-back 及びフォローアップ】** T 細胞除去ミスマッチ移植後、免疫系再構築の開始が確認されない場合には、造血幹細胞の生着が見込まれる移植後 42 日目の時点で、HSV-TK 遺伝子導入 T リンパ球 1×10^6 個/kgを Add-back する。その後、免疫系再構築が認められず、かつ Grade Ⅱ以上の治療を必要とする GVHD を発症しない場合は、移植後 72 日目及び 102 日目の時点で、それぞれ 1×10^7 個/kg の HSV-TK 遺伝子導入 T リンパ球を Add-back する。最終の Add-back 実施の 6 ヵ月後に本臨床研究のフォローアップを終了する。Grade Ⅱ～Ⅳの GVHD の発症が認められた場合には、通常の CMV 感染症治療に用いられる用法・用量に従って GCV 製剤を投与する。この場合、患者の状態によっては、それまでの Add-back の回数が 1 回または 2 回の場合、医師の判断により、GCV 製剤投与後に 1 回のみ HSV-TK 遺伝子導入 T リンパ球(1×10^6 個/kg)の Add-back を許すものとする。 **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ミスマッチ移植** ミスマッチ移植の課題の解決策を他の治療手段との比較をしながら段階的に示す。 **【ミスマッチ移植 vs T 細胞除去ミスマッチ移植】** ミスマッチ移植における T 細胞除去は重篤な GVHD 予防に最も有効な手段であるが、移植後の免疫抑制状態が感染症を引き起こすリスクを高めており、また再発などの問題も指摘されているため、早期の免疫系再構築、及び GVM 効果が課題となる。 **【T 細胞除去ミスマッチ移植 vs T 細胞除去ミスマッチ移植+T リンパ球 Add-back】** T 細胞除去ミスマッチ移植後の早期免疫系再構築においては、移植時と同じドナーに由来する T リンパ球の Add-back は、理論的に有効な手段と考えられる。しかし、少量の T リンパ球の Add-back でも致死的な GVHD を発症した例があり、改善が必須である。 **【T リンパ球 Add-back vs HSV-TK 遺伝子導入 T リンパ球 Add-back】** 本遺伝子治療では、T 細胞除去ミスマッチ移植後の早期に免疫系を再構築するために、同一ドナー由来の HSV-TK 遺伝子導入 T リンパ球を Add-back する計画である。これは Add-back した T リンパ球が直接要因となる致死的 GVHD 発症に対する対策として、安全装置としての自殺機能を当該 T リンパ球に付与するという考えに基づき、理論的には移植した造血幹細胞由来の免疫系には影響を与えずに GVHD を選択的に沈静化することが期待される。 **②臍帯血移殖** 臍帯血移植については、近年、その評価は定まりつつあるが、成人に適用する場合の細胞数不足及び移植後療法としてのドナーリンパ球輸注などの細胞療法が不可能であることなどが問題点として挙げられている。臍帯血移植の利点である「ドナーの負担がない」という点では、本遺伝子治療は通常の移植以上にドナーの負担が大きいことから、臍帯血移植の方が優れているが、代表的な問題点である移植細胞数の不足、造血回復の遅延、生着不全の頻度の高さについては、本遺伝子治療により解決策を見出せる可能性がある。

	ドナーの負担という点では、本遺伝子治療の個々の症例への適応については、慎重かつじゅうぶんな検討が必要である。しかしながら、本遺伝子治療は、一連の治療法の課題に対する解決策を模索した上で計画されたものであり、これまでの海外での臨床実績からも安全性及び有効性が見込まれるものとして妥当な手法と考え選択した。
遺伝子の種類及びその導入方法	**1. 人に導入する遺伝子の構造と性質** 本臨床研究において発現する遺伝子はΔLNGFR 遺伝子と HSV-TK 遺伝子である。 **①人に導入する遺伝子の構造** **・細胞内領域欠損ヒト低親和性神経成長因子受容体遺伝子（ΔLNGFR 遺伝子）** 使用するΔLNGFR 遺伝子は、LNGFR 遺伝子の細胞内領域をコードする塩基対を除去したもので、翻訳開始コドン ATG の上流に 113 塩基対の非翻訳領域を有し、ΔLNGFR をコードする 956 塩基対の遺伝子である。 **・単純ヘルペスウイルス 1 型-チミジンキナーゼ遺伝子（HSV-TK 遺伝子）** 使用する HSV-TK 遺伝子は、CL101 株 DNA 由来の HSV-TK をコードする 1,131 塩基対及び翻訳開始コドン ATG の上流に位置する 14 塩基対の非翻訳領域からなる。 **②人に導入する遺伝子の性質** レトロウイルスベクターSFCMM-3 に含まれるΔLNGFR 遺伝子及び HSV-TK 遺伝子は細胞内に侵入した後、逆転写酵素によってウイルスゲノム RNA から 2 本鎖 DNA が合成され、核内に移行する。5'-LTR と 3'-LTR ではさまれた DNA はウイルスが持っているインテグラーゼによって細胞染色体に組み込まれ（プロウイルス）、細胞ゲノムの複製に伴って複製されて安定的に娘細胞へ受け継がれる。このために継続的な遺伝子発現が可能である。 **③導入遺伝子からの生成物の構造及びその生物活性** **・ΔLNGFR の生物活性** ΔLNGFR は、細胞内領域のほとんどが除去されているため、シグナルを細胞内に伝達することはない。in vitro 及び in vivo において、ΔLNGFR の機能活性は観察されない。ΔLNGFR は細胞膜でたん白発現するため細胞表面マーカーとして利用され、特異的抗体を用いて in vitro で発現細胞を迅速に分離することができ、ex vivo での発現細胞の検出や生存状態、増殖状態等のキャラクタリゼーションを行うことができる。 **・HSV-TK の生物活性** HSV-TK は、遺伝子導入された細胞において自殺遺伝子産物として機能する。自殺遺伝子が導入された細胞では、その遺伝子産物により非毒性のプロドラッグであるGCVが毒性型ドラッグに変換され、細胞が傷害を受ける。 **2. 本計画で使用するその他の組換え DNA の構造と性質** 本計画では使用しない。 **3. 標的細胞とした細胞の由来及び生物学的特徴並びに当該細胞を標的細胞とした理由** GVM 効果を担う免疫担当細胞がドナー由来の T リンパ球であること、及び当該細胞が GVHD の原因となることが知られている。レトロウイルスベクターによる遺伝子導入は増殖中の細胞を標的としており、組換えヒトインターロイキン 2（rhIL-2）存在下、抗 CD3 抗体で刺激することにより活性化された T リンパ球に対しても高い遺伝子導入効率が得られることが証明されている。レトロウイルスベクターSFCMM-3 を用いた遺伝子治療においては、ドナーリンパ球から得られる活性化 T リンパ球が標的細胞として使用される。 **4. 遺伝子導入方法の概略及び当該遺伝子導入法を選択した理由** **①遺伝子導入方法の概略** レトロウイルスベクターSFCMM-3 を含むウイルス産生細胞の培養上清中にドナー末梢血リンパ球を加え、遠心することで行う。 **②当該遺伝子導入法を選択した理由**

	当該遺伝子導入法としてレトロウイルスベクターを用いた遠心法を選択した理由は、レトロウイルスベクターは感染後細胞染色体に組み込まれて細胞ゲノムの複製に伴って複製されるために、長期にわたり導入遺伝子を安定して発現することができること、多くのモロニーマウス白血病ウイルス(MoMLV)ベースのレトロウイルスベクターがヒト血液細胞への遺伝子導入に利用されていること、及び末梢血 T リンパ球がレトロウイルスベクターにより効率よく遺伝子導入されることである。 **③レトロウイルスベクターの選択根拠** レトロウイルスベクターを用いて遺伝子導入を行うことにより、他のベクターに比べて効率よく遺伝子を細胞染色体に組み込むことが可能である。 レトロウイルスベクターSFCMM-3 の基になる SFCMM-3 DNA は、野生型レトロウイルス由来の gag、pol、env をコードする遺伝子の全てもしくは一部を欠如しており、この DNA のみを通常の細胞に導入したのではウイルス粒子を産生することはない。また、ウイルスベクター製造に用いるパッケージング細胞株 GP+envAm12(Am12、ATCC CRL-9641)は、gag、pol を発現する DNA 断片と env を発現する DNA 断片とが異なったベクターを用いて導入されているため、増殖性レトロウイルス(RCR)が出現する可能性は極めて低いと考えられており、すでに世界的に広く使用されている。 **5. ウイルスベクターを用いた遺伝子導入** **①野生型ウイルスの生物学的特徴及び人に対する影響** レトロウイルスベクターSFCMM-3 のもとになる野生型ウイルスは MoMLV であり、形態的には直径約 100 nm の球形の C 型粒子に分類され、ウイルスコアをエンベロープが囲っている。ウイルスゲノムは分子量約 3×10^6 の 1 本鎖 RNA で、相同の RNA 分子が 2 分子、ウイルスコア中に存在する。 MoMLV はマウス白血病ウイルス(MLV)を実験室で継代して高病原性株として単離された。MLV は AKR や C58 系マウスの自然発症白血病の病原ウイルスであり、オンコウイルス亜科のガンマレトロウイルス属に属する。オンコウイルスの病原性として、主体となるものは、肉腫、急性白血病、白血病、がんであり、野生マウスの後肢麻痺を招く神経好性ウイルスも知られているが、MoMLV は細胞由来の遺伝子を持たないウイルスであり、AKR や C58 系マウスでのみ白血病を誘発する。ヒトへの感染の報告はない。 **②ウイルスベクターの作製方法** **・SFCMM-3 DNA ベクターの構築** pLXSN からネオマイシン耐性遺伝子(NEO)の配列を取り除いて SV40 初期プロモーターの下流にΔLNGFR 遺伝子を、パッケージングシグナルの下流に HSV-TK 遺伝子を組み込んだものが SFCMM-3 DNA ベクターである。 **・パッケージング細胞株の構築** 本臨床研究において使用するパッケージング細胞株は、Am12 である。本細胞株は、パッケージングに必要なウイルス遺伝子を 2 種類のプラスミド(ひとつは gag 遺伝子と pol 遺伝子で、もうひとつはマウスアンフォトロピックウイルス 4070A 由来の env 遺伝子)で別々にマウス繊維芽細胞株 NIH 3T3 に導入したアンフォトロピックパッケージング細胞株である。また、gag 遺伝子と pol 遺伝子を含むプラスミド及び MoMLV の env 遺伝子を含むプラスミドによりこれらの遺伝子を NIH 3T3 に導入して作製されたエコトロピックパッケージング細胞株 GP+E-86(ATCC CRL-9642)をウイルス産生細胞の構築に用いた。 **・ウイルス産生細胞株の構築** パッケージング細胞 GP+E-86 に SFCMM-3 DNA ベクターをトランスフェクションし、レトロウイルスベクターエコトロピック SFCMM-3 を含む培養上清を回収した。この上清を Am12 に感染させることにより、安定なレトロウイルスベクターSFCMM-3 産生細胞を構築した。 SFCMM-3 産生細胞から、良好な生育性と T リンパ球への高い遺伝子導入効率を示すクローンを得た。これをマスターセルバンク(MCB)用シードセルとして樹立し、MCB を作製した。 **・レトロウイルスベクターSFCMM-3 の製造** レトロウイルスベクターSFCMM-3 は、バンキングされたウイルス産生細胞株の培養上

	清中にウイルス粒子の状態で存在する。 　製造は全てモルメド社の管理された製造エリアにて GMP 遵守下で行われる。 **③ウイルスベクターの構造** 　レトロウイルスベクターSFCMM-3 はパッケージングシグナルとしてΨ^{+}を有し、gag、pol、env をコードする遺伝子は除かれている。 **④ウイルスベクターの生物学的特徴** 　レトロウイルスベクターSFCMM-3 はアンフォトロピックパッケージング細胞株 Am12 により産生されるので、マウス、ラット、サル、ヒト等を含む多くの種の哺乳類細胞に感染しうる。また、レトロウイルスベクターSFCMM-3 は増殖能を欠いているので、遺伝子導入した末梢血 T リンパ球内でウイルス粒子を形成することはない。したがって、RCR が出現しない限り周囲の細胞に感染することはない。
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の純度** 　レトロウイルスベクターSFCMM-3 の製造は、モルメド社の管理された製造エリアにて GMP 遵守下で行われる。製剤は、ロットごとにウイルス安全性を含め品質試験を行う。 **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、HSV-TK 遺伝子導入ドナーT リンパ球及びその懸濁媒である RPMI 1640 及びヒト血清アルブミン含細胞凍害保護液（CP-1）である。細胞調製の際に用いられる培地、試薬等に関しては、遺伝子導入細胞を患者に投与する前に生理食塩水でじゅうぶんに洗浄されるので、患者に影響を及ぼすことはないと考えられる。 **③増殖性レトロウイルス（RCR）出現の可能性** **・レトロウイルスベクターの安全性** 　レトロウイルスベクターSFCMM-3 のゲノムは gag、pol、env をコードする遺伝子の全部、若しくは一部を欠如しているので、パッケージング細胞内でしか増殖できない。レトロウイルスベクターSFCMM-3 上清の試験項目に RCR 試験が含まれており、RCR 陰性の製剤だけを臨床使用する。 **・パッケージング細胞の安全性** 　Am12 は、パッケージングに必要なウイルス遺伝子を 2 種類のプラスミドで別々に導入した第 3 世代のパッケージング細胞株であり、RCR を産生する可能性は、第 1 世代及び第 2 世代パッケージング細胞株と比較して極めて低い。従って、SFCMM-3 DNA ベクターと Am12 の組み合わせにより作製されたウイルス産生細胞株を使用してレトロウイルスベクターSFCMM-3 を製造する過程で RCR が出現する可能性は極めて低いと考えられる。 　Am12 を用いて産生したレトロウイルスベクター中に RCR を検出したという報告があり、Am12 を用いても RCR 出現の可能性を完全には否定できないことを示唆している。一方、Am12 を用いて多種類のウイルスの RCR チェックを試みたが検出されなかったという報告がある。 **・HSV-TK 遺伝子導入ドナーT リンパ球の安全性** 　HSV-TK 遺伝子導入ドナーT リンパ球の調製完了後、RT-PCR 法及び Mus dunni 細胞との共培養後の PG-4 S+L-テスト（以下、増幅法）による RCR 試験を行う。RT-PCR 法による試験の結果、RCR 陰性であった細胞だけが患者に投与される。増幅法による試験は日数を要するために患者への投与後に結果が判明する場合も考えられるが、万一不合格となればその時点で臨床研究を中止して適切な措置を講ずる。 **④遺伝子導入に用いるウイルスベクターの細胞傷害性** 　レトロウイルスベクターによる遺伝子導入過程において、細胞を傷害することはないと考えられている。一方、細胞染色体上の遺伝子導入位置によっては細胞の生存・増殖に必須な遺伝子の発現が抑制され、細胞が死に至ることがありうるが、このような細胞の割合は少ないと考えられる。なお、レトロウイルスベクターを用いた遺伝子治療において細胞傷害性は報告されていない。 **⑤体内の標的細胞以外の細胞への遺伝子導入の可能性**

本遺伝子治療臨床研究では、ドナーTリンパ球に ex vivo で HSV-TK 遺伝子を導入し、拡大培養や細胞洗浄等の工程を経たあと患者に投与するので、感染性を持ったレトロウイルスベクターSFCMM-3 が患者に投与される可能性は低い。また、レトロウイルスベクターSFCMM-3 は増殖能を欠いているので、RCR が出現しない限り標的細胞以外の細胞に遺伝子が導入されることはない。

⑥患者以外の人に遺伝子が導入される可能性

本臨床研究の細胞調製は、当該操作にじゅうぶんな知識と経験を有する研究者のみが行い、細胞調製作業者に遺伝子が導入される可能性は極めて低いと考えられる。遺伝子導入操作は P2 レベルの細胞調製施設において行い、レトロウイルスベクターSFCMM-3 の環境中への拡散を防止する。レトロウイルスベクターSFCMM-3 は、増殖能欠損型なので、患者を介して患者以外の人に遺伝子が導入される可能性は、大量の RCR が患者体内に存在しない限り非常に低い。

⑦染色体内へ遺伝子が組み込まれる場合の問題点

細胞の生存や増殖に重要な遺伝子の近傍に挿入され、その遺伝子の発現が抑制された場合にはその細胞は死に至る可能性があるが、このような細胞は遺伝子導入細胞のごく一部であると考えられるので、患者への影響は極めて小さい。一方、がん遺伝子やがん抑制遺伝子の近傍に挿入され、これらの遺伝子の発現量が変化することにより当該細胞が無限増殖する可能性がある。

⑧がん原性の有無

レトロウイルスベクターの組込みが細胞の増殖にとって正に働く場合には、がん原性の問題が出現するが、本遺伝子治療は、1)対象が造血幹細胞移植を要する成人の白血病患者であること、2)分化した成熟リンパ球への遺伝子導入であること、3)導入遺伝子(HSV-TK及びΔLNGFR)は安全装置及びマーカーであること、から安全性が高い臨床計画と考えられている。遺伝子導入細胞の患者体内におけるクローン増殖性については linear amplification-mediated PCR(LAM-PCR)によってモニタリングすることにより、評価する予定である。

2. 遺伝子産物の安全性

①HSV-TK 遺伝子の異常発現

HSV-TK は、GCV との組み合わせにより選択的自殺作用(HSV-TK/GCV 自殺システム)を示す。一方、GCV 非存在下、HSV-TK が触媒する反応は通常の細胞内で行われている代謝反応であり、過剰発現による体細胞への影響は小さいものと思われる。ただし、HSV-TK遺伝子発現細胞が免疫原となり、患者体内で当該細胞に対する細胞傷害性T細胞(CTL)が誘導されることが過去の遺伝子治療臨床研究で示唆されている。このことは、GVM 効果の長期継続に対する障害となっている。HSV-TK/GCV 自殺システムを利用した遺伝子治療臨床試験において、本自殺システムに関連する有害事象は報告されていない。

②ΔLNGFR遺伝子の異常発現

ΔLNGFRは細胞内領域を欠損させており、細胞外領域及び細胞膜貫通領域を有するたん白質であり、ΔLNGFR遺伝子を導入したTリンパ球はNGFに対する反応を示さないことが報告されている。

3. 細胞の安全性

①遺伝子導入細胞の調製方法

ドナーリンパ球を抗 CD3 抗体で刺激した後、レトロウイルスベクターSFCMM-3 に懸濁し、遠心法により遺伝子導入を行う。抗 LNGFR 抗体及び磁気ビーズを用いて遺伝子導入細胞を選択し、拡大培養を行う。培養終了後の細胞を洗浄し、RPMI 1640 及びヒト血清アルブミン含細胞凍害保護液(CP-1)に懸濁して一旦凍結し、輸注時に解凍後、そのまま患者に投与する。

	②培養細胞の純度 全ての操作は国立がんセンター中央病院内に設置したP2レベルの無菌細胞調整施設内にて行われる。培養細胞間の細胞汚染を防ぐために、異なるドナー細胞への遺伝子導入を同時には行わない。また、細胞の取扱いはクラスⅡの安全キャビネット内で行い、感染性微生物の混入を防ぐ。 **③細胞の遺伝子型、表現型の安全性** 抗LNGFR抗体及び磁気ビーズを用いた遺伝子導入細胞の選択により、ΔLNGFR陽性率が90%以上のTリンパ球が得られることが知られている。過去の実績から、レトロウイルスベクターSFCMM-3により遺伝子導入したTリンパ球は非導入細胞と同様に、Tリンパ球としての機能を保持していることが確認されている。 **④被験者に投与する細胞の安全性** 投与する細胞はレトロウイルスベクターSFCMM-3により遺伝子導入したドナーTリンパ球である。現在、白血病に対するドナーリンパ球輸注は広く行われており、ドナーTリンパ球の投与がGVHD以外に患者に重大な影響を及ぼすことはない。遺伝子導入細胞の品質は、品質試験によって担保される。
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	以下の理由により、本臨床研究は実施可能と判断される。 1. 本臨床研究で使用されるレトロウイルスベクターSFCMM-3はイタリアのモルメド社によりGMPに従って製造され、本邦では筑波大学附属病院における臨床研究に使用された実績がある。またモルメド社は、これを用いて調製したHSV-TK遺伝子導入Tリンパ球に対して、造血幹細胞移植における付加的治療として、2003年に欧州におけるオーファン医薬品の指定を受けており、現在、同ベクターを用いて本臨床研究と同様の治験を欧州4施設において実施している。2005年12月に開催された米国血液学会における発表では、途中経過として、その良好な経緯が報告された。 このことから、ハプロタイプ一致ドナー由来T細胞除去造血幹細胞移植後のHSV-TK遺伝子導入Tリンパ球“Add-back”療法は、非常に有望であり、T細胞除去ミスマッチ移植を安全かつ有効に行える可能性が示唆されている。 2. 国立がんセンター中央病院は我が国の悪性腫瘍治療の基幹病院である。 本臨床研究対象疾患の診療では、設立以来の豊富な経験を有し、経験豊富なスタッフを擁している。また、本臨床研究対象疾患に合致する患者が多く受診している。 3. 総括責任者である平家勇司は、国立がんセンター研究所並びに中央病院において、細胞療法並びに遺伝子治療の開発研究を行ってきた。1997～1998年にかけて、米国アラバマ大学遺伝子治療センターにおいて、アデノウイルスベクター開発に携わると共に遺伝子治療臨床研究の研修を行った。前勤務地である国立病院四国がんセンター（現独立行政法人国立病院機構四国がんセンター）では、治験を含む複数の臨床研究に携わった。現在、国立がんセンター中央病院・薬物療法部遺伝子免疫療法室において細胞療法並びに遺伝子治療の開発研究及び固形腫瘍に対する骨髄非破壊的前処置による同種造血幹細胞移植療法の臨床開発に従事している。分担研究者である、吉田輝彦並びに青木一教はベクター開発を含む遺伝子治療開発研究を行っている。高上洋一、飛内賢正、森慎一郎、金　成元、福田隆浩、田野崎隆二は、造血幹細胞移植の専門家で、多くの治験並びに医師主導の臨床試験の実績がある。

実　施　計　画	1. 遺伝子治療臨床研究を含む全体の治療計画 ①本臨床研究の実施に際し国立がんセンター中央病院内に設置される委員会・事務局 本遺伝子治療臨床研究実施計画が了承された後に、遺伝子治療臨床研究効果安全性評価委員会及び遺伝子治療臨床研究実施事務局を国立がんセンター中央病院内に設置する。 遺伝子治療臨床研究効果安全性評価委員会及び遺伝子治療臨床研究実施事務局は遺伝子治療臨床研究審査委員会からは独立しており、それぞれ次に示す役割を担う。 遺伝子治療臨床研究効果安全性評価委員会は、被験者選定の適格性確認の妥当性の判定、臨床研究の安全性の客観的な判定、臨床効果の客観的な判定、プロトコールの変更の妥当性確認、5 例終了時点での臨床研究の目的が評価できたかについての判定等を行う。 遺伝子治療臨床研究実施事務局は、遺伝子治療臨床研究効果安全性評価委員会との連絡等事務局業務、症例登録業務等の本遺伝子治療臨床研究を適切に実施するための支援業務を行う。 ②本臨床研究の実施手順 <u>被験者・ドナー選定、登録～遺伝子導入Ｔリンパ球調製・移植細胞の分離・移植前処置</u> 適応が予測される被験者及びそのドナーに対し、文書によるインフォームドコンセントを行い、文書による同意が得られた場合、適格性を確認する。適格性が確認できた被験者及びそのドナーについて、遺伝子治療臨床研究実施事務局に本臨床研究への仮登録及び登録をそれぞれ依頼する。ドナーより、血漿、末梢血単核球（PBMC）画分及び末梢血幹細胞（PBSC）の採取を行い、一連の細胞調製を行う。遺伝子導入Ｔリンパ球は、品質を確認した後に Add-back に用いる。PBSC については、専用の細胞分離装置を用いて CD34 陽性細胞の分離を行い、この分離細胞を移植細胞とする。 遺伝子導入 T リンパ球の調製及び移植細胞の採取後、被験者の適格性を確認し、遺伝子治療臨床研究実施事務局に本臨床研究への本登録を依頼する。被験者が本登録となったことを確認した後、Fludarabine 製剤、Thiotepa 製剤、Thymoglobin 製剤、及び放射線全身照射（TBI）による骨髄破壊的前処置を移植前処置として施行し、移植前処置の安全性及び原疾患の状態を確認する。 <u>造血幹細胞移植</u> 移植前処置後、CD34 陽性細胞の分離細胞 4.0×10^6個/kg 以上を移植細胞として造血幹細胞移植を行う。 <u>造血幹細胞移植後～遺伝子導入Ｔリンパ球 Add-back</u> 移植直後の転帰の確認及び自発的な免疫系再構築の開始の確認を目的に造血幹細胞移植 30 日後から 40 日後の間に被験者の検査・観察を行う。遺伝子導入 T リンパ球 Add-back は以下に従い、免疫再構築の確認が得られるまで最大 3 回、それぞれ定められた日から 7 日以内に行うものとする。 初回の遺伝子導入Ｔリンパ球 Add-back 以降、GVHD が発症した場合には「GVHD 発症時の対応」の項の記載に従い、治療を行う。 初回の Add-back：自発的な免疫系再構築の開始が確認されない場合、かつ GVHD を発症しないあるいは Grade Ⅱ以上の治療を必要とする GVHD を発症しない場合には造血幹細胞移植日を 0 日として 42 日目に 1×10^6個/kg の遺伝子導入Ｔリンパ球を Add-back する。 2 回目の Add-back：初回の Add-back 以降、免疫系再構築が確認されない場合、かつ GVHD を発症しないあるいは Grade Ⅱ以上の治療を必要とする GVHD を発症しない場合には初回の Add-back から 30 日後に 1×10^7個/kg の遺伝子導入Ｔリンパ球を Add-back する。 3 回目の Add-back：2 回目の Add-back 以降、免疫系再構築が確認されない場合、かつ GVHD を発症しないあるいは Grade Ⅱ以上の治療を必要とする GVHD を発症しない場合には 2 回目の Add-back から 30 日後に 1×10^7個/kg の遺伝子導入Ｔリンパ球を Add-back する。 <u>遺伝子導入Ｔリンパ球 Add-back 後のフォローアップ</u> 安全性の判定に関する検査・観察、免疫系再構築の判定に関する検査・観察、GCV 製剤投与による GVHD 沈静化能の判定に関する検査・観察等を行う。 遺伝子導入 T リンパ球の Add-back に伴い、重篤な GVHD が発症した場合には、GCV 製剤を投与する。その場合、GCV 製剤投与による GVHD の沈静化能に関する検査・観察

	を行う。 本研究終了後も、被験者の生存期間中にわたり、追跡調査を行う。 **2. ドナー・被験者の選択基準及び除外基準** **①ドナーの選択基準及び除外基準** **・選択基準** 1) 被験者の 4 親等以内の血縁者である者。4 親等以内には、父母、兄弟姉妹、祖父母、孫、叔父叔母、甥姪、従兄弟などが含まれる。 2) 患者との HLA が 2 抗原あるいは 3 抗原(血清型)不一致のドナーである者。なお、不一致の対象となる HLA 抗原は HLA-A、B、DR とする。 3) 登録時の年齢が 20 歳以上 65 歳以下である者。 4) ECOG Performance Status が 0 である者。 5) ドナーとしてじゅうぶんな心・肺・腎・肝機能を有する者。 ▹ 心電図上虚血性変化や治療を要する不整脈を認めない者。 ▹ 血清クレアチニン値が 1.5 mg/dL 未満及び血清総ビリルビン値が 2.0 mg/dL 以下の者。 ▹ 胸部 X 線写真で異常がなく、酸素非投与時の酸素飽和度が 93%以上の者。 ▹ AST が 56 IU/L 未満の者。 ▹ ALT が 66 IU/L 未満の者。 6) ドナーとしてじゅうぶんな造血能を有する者。 ▹ 白血球数が 3,000/μL 以上の者。 ▹ 血小板が 130,000/μL 以上の者。 ▹ ヘモグロビン濃度が 13.0 g/dL 以上の男性、又は 11.0 g/dL 以上(鉄剤服用後でも可)の女性。 7) 本臨床研究協力に対する自由意思による同意が本人から文書により得られている者。 **・除外基準** 1) 自己免疫疾患(膠原病を含む)の現有及び既往のある者。 2) 静脈血栓、動脈硬化性疾患の現有及び既往のある者。 3) うっ血性心不全、虚血性心疾患、脳血管病変の現有及び既往のある者。 4) 間質性肺炎の現有及び既往のある者。 5) 悪性腫瘍の現有及び既往のある者。 6) 薬物治療を必要とする高血圧、糖尿病を現有する者。 7) 脾腫を認める者。 8) 臨床研究参加に対する同意に影響を及ぼす精神的疾患、薬物依存がある者。 9) 重篤な薬剤アレルギーの既往がある者。 10) G-CSF 製剤に対するアレルギーがある者。 11) 妊婦あるいは妊娠している可能性がある者及び授乳中である者。 12) HBs 抗原、HIV 抗体のいずれかが陽性の者。 13) 他の臨床試験・臨床研究に参加している者。 14) その他、総括責任者(又は、治療に当たる分担研究者)が不適当と認めた者。 **②被験者の選択基準及び除外基準** **・仮登録時の選択基準及び除外基準** 仮登録時選択基準 造血器悪性腫瘍患者の診断及び分類は新 WHO 分類に従うものとし、本遺伝子治療臨床研究による治療効果が、現在可能な他の方法と比較して優れていることが予測され、かつ以下の 1)～8)の全てを満たす患者を対象とする。 なお、選定にあたっては、提供可能な HLA 適合または 1 抗原不一致(血清型)の適切な血縁ドナーの存在の確認及び骨髄バンクの検索サービスを用いての非血縁ドナーの存在の確認を行い、さらに日本さい帯血バンクネットワークの検索システムを用いての移植可能な臍帯血の存在を確認するものとする。なお、患者の疾患、病期、候補となる臍帯血ユニットの細胞数及び HLA 等を慎重に検討した上で、選定の時点で得られている日本さい帯血バンクネットワークが公式に公開している最新の治療成績で、95%信頼下限が 50%

	を超えている疾患、病期の組み合わせについては、臍帯血移植を優先する。 1)　以下のいずれかを満たす患者 ▻高リスク急性骨髄性白血病の初回寛解期。高リスクとは、1 回の寛解導入療法にて完全寛解が得られなかった、初発時白血球数が 20,000/μl 以上、二次性白血病、M0、M6、M7、又は予後不良染色体異常〔複雑な異常、-7, -5, abn(3q), del (5q)〕を有する、のうちいずれかの条件を満たす例とする。 ▻急性骨髄性白血病(二次性含む)の第二以上の寛解期。 ▻骨髄異形成症候群のうち、IPSS(International Prognosis Scoring System) Intermediate-2 以上の予後不良群。 ▻骨髄異形成症候群であり、週 10 単位以上の血小板輸血、もしくは 2 週に 2 単位以上の赤血球輸血を要する輸血依存例。 ▻慢性骨髄性白血病の第一慢性期以降の慢性期、又は移行期。メシル酸イマチニブによる治療歴を有する例に限る。 ▻高リスク急性リンパ性白血病初回寛解期。高リスクとは、初発時年齢が 30 歳上以上、初発時白血球数 30,000/μl 以上、表面形質が mature B-cell 又は early T-cell である、予後不良の染色体異常〔t(9;22), t(4;11), t(1;19), hypodiploid, -7, +8〕を有する例、寛解導入に 4 週間以上要した、のうちいずれかの条件を満たす例とする。 ▻急性リンパ性白血病の第二以上の寛解期。 2)　提供可能な HLA 適合(1 抗原不一致(血清型)含む)の適切な血縁ドナー及び非血縁ドナーがいない患者。 3)　選択基準に合致し、除外基準に抵触しないドナーを有している患者。 4)　造血幹細胞移植後 9ヵ月以上の生存が可能であると思われる 20 歳以上 60 歳以下の患者。 5)　ECOG Performance Status 0 又は 1 の患者。 6)　以下の全ての主要臓器機能が保たれている患者。 ▻酸素非投与下での動脈血中酸素飽和度が 93%以上(経皮的測定でも可) ▻血清クレアチニン値が施設基準値上限(男性:1.1 mg/dL、 女性:0.7 mg/dL)の 2 倍以内 ▻血清ビリルビン値が 2.0 mg/dL 以下 ▻AST が施設基準値上限(33 IU/L)の 3 倍以内 ▻ALT が施設基準値上限(男性:42 IU/L、 女性:27 IU/L)の 3 倍以内 ▻心電図上、治療を要する異常を認めない 7)　臨床研究参加期間中に安全性や免疫系再構築等、必要な評価が可能であると考えられる患者。 8)　治療開始にあたり、自由意思により文書で同意が得られた患者。 **仮登録時除外基準** 1)　CMV 感染症を発症、又は CMV 抗原血症を呈し、ガンシクロビル製剤にて治療中の患者。 2)　ACV 製剤で治療中の患者。 3)　心エコーにて安静時の心駆出率が 50%未満の患者。 4)　インスリンの継続使用によってもコントロール不良の糖尿病を有する患者。 5)　コントロール不良の高血圧症を合併する患者。 6)　本臨床研究の参加に対する同意に影響を及ぼすような精神疾患、薬物依存症などの疾患を有する患者。 7)　治療を要するアレルギー、又は本臨床研究で用いられる薬剤に対してアレルギーのある患者。 8)　活動性の感染症を有する患者。 9)　中枢神経系にコントロール不能な明らかな腫瘍細胞の浸潤を認める患者。 10)　活動性の重複癌がある患者。 11)　過去に TBI、全身リンパ節照射(TLI)を実施した患者。 12)　HIV 抗体陽性、HBs 抗原陽性、又は HCV 抗体陽性の患者。 13)　妊婦、妊娠の可能性のある患者、授乳中の患者又は臨床研究終了後 5 年間の避妊に協力できない患者。 14)　他の臨床試験・臨床研究に参加している患者。

	15)　その他、総括責任者（又は治療にあたる分担研究者）が不適当と認めた患者。 **・本登録時の選択基準及び除外基準** **本登録時選択基準** 1)　本臨床研究への参加の同意の撤回がない患者。 2)　本臨床研究における Add-back に必要な量の遺伝子導入 T リンパ球が得られた患者 3)　ドナーから採取された純化後の CD34 陽性細胞数が 4.0×10^6個/kg 以上の患者。 4)　造血幹細胞移植後 9 ヵ月以上の生存が可能であると思われる患者。 5)　ECOG Performance Status 0 又は 1 の患者。 6)　以下の全ての主要臓器機能が保たれている患者。 ▹酸素非投与下での動脈血中酸素飽和度が 93%以上（経皮的測定でも可） ▹血清クレアチニン値が施設基準値上限（男性：1.1 mg/dL、 女性：0.7 mg/dL）の 2 倍以内 ▹血清ビリルビン値が 2.0 mg/dL 以下 ▹AST が施設基準値上限（33 IU/L）の 3 倍以内 ▹ALT が施設基準値上限（男性：42 IU/L、 女性：27 IU/L）の 3 倍以内 ▹心電図上、治療を要する異常を認めない 7)　臨床研究参加期間中に安全性や免疫系再構築等、必要な評価が可能であると考えられる患者。 **本登録時除外基準** 1)　CMV 感染症を発症、又は CMV 抗原血症を呈し、ガンシクロビル製剤にて治療中の患者。 2)　移植した末梢血幹細胞の生着が確認できない患者。 3)　治療を必要とする GVHD が発症した患者。 4)　ACV 製剤で治療中の患者。 5)　心エコーにて安静時の心駆出率が 50%未満の患者。 6)　インスリンの継続使用によってもコントロール不良の糖尿病を有する患者。 7)　コントロール不良の高血圧症を合併する患者。 8)　本臨床研究の参加に対する同意に影響を及ぼすような精神疾患、薬物依存症などの疾患を有する患者。 9)　治療を要するアレルギー、又は本臨床研究で用いられる薬剤に対してアレルギーのある患者。 10)　体表面積当たりのクレアチニン・クリアランスが 20 mL/分/m^2 未満[標準体表面積 1.48m^2 で算出した場合のクレアチニン・クリアランスが 30 mL/分未満]。 11)　活動性の感染症を有する患者。 12)　中枢神経系にコントロール不能な明らかな腫瘍細胞の浸潤を認める患者。 13)　活動性の重複癌がある患者。 14)　過去に TBI、TLI を実施した患者。 15)　HIV 抗体陽性、HBs 抗原陽性、又は HCV 抗体陽性の患者。 16)　妊婦、妊娠の可能性のある患者、授乳中の患者又は臨床研究終了後 5 年間の避妊に協力できない患者。 17)　他の臨床試験・臨床研究に参加している患者。 18)　その他、総括責任者（又は治療にあたる分担研究者）が不適当と認めた患者。 **3. 登録** **①ドナーの登録** 自由意思による文書同意を得た後、適格性確認に必要な検査・観察を行う。適格性が確認できた場合、遺伝子治療臨床研究実施事務局にドナーの登録を依頼する。 **②被験者の仮登録** 自由意思による文書同意を得た後、適格性確認に必要な検査・観察を行う。適格性が確認できた場合、遺伝子治療臨床研究実施事務局に被験者の仮登録を依頼する。 **③被験者の本登録** 遺伝子導入 T リンパ球の調製及び移植細胞の採取後に、被験者の適格性を確認する。

遺伝子導入Tリンパ球が調製後の品質試験に不合格となった場合、本臨床研究におけるAdd-back に必要な細胞数の遺伝子導入 T リンパ球の確保ができなかった場合、及び純化後の CD34 陽性細胞数が移植に必要な数に満たなかった場合には、本登録には移行せず、臨床研究は中止とする。適格性が確認できた場合は、遺伝子治療臨床研究実施事務局に被験者の本登録を依頼する。

4. ドナー・被験者に対する説明及びその同意の取得方法

①被験者に対する説明及びその同意の取得方法

開始に先立ち、被験者の同意を得るに際し、遺伝子治療臨床研究審査委員会の承認が得られた同意説明文書を説明の前、又は説明するときに渡し、内容にそって口頭で詳しく説明する。その後、自由意思による同意を文書にて取得する。なお、同意を取得する前には、質問する機会と臨床研究に参加するか否かを判断するじゅうぶんな時間を被験者本人に与えることとし、質問についてはじゅうぶんに答える。

②ドナーに対する説明及びその同意の取得方法

ドナーより PBMC 及び血漿を採取するに先立ち、ドナーの同意を得るに際し、遺伝子治療臨床研究審査委員会の承認が得られた同意説明文書を説明の前、又は説明するときに渡し、内容にそって口頭で詳しく説明する。その後、自由意思による同意を文書にて取得する。なお、同意を取得する前には、質問する機会と臨床研究に参加するか否かを判断するじゅうぶんな時間をドナー本人に与えることとし、質問についてはじゅうぶんに答える。

③ドナー・被験者に対する説明の体制

▹被験者の同意を取得する前には、移植専門医に加えて血液科医師等が参加するカンファレンスにて当該被験者の症例を紹介し、客観的な判断に基づいた確認を得るものとする。被験者への説明の際には、総括責任者(又は治療にあたる分担研究者)からの説明に加え、がん専門看護師から異なる立場で説明補助を行う。さらに、必要に応じ院内外の移植専門医が中立的立場での説明を行うものとする。

▹ドナーに対する説明は、被験者と別に行うものとする。また、ドナーとなることに同意する以前に患者より有形・無形の圧力がかからないように配慮する。

5. 実施期間及び目標症例数

実施期間は厚生労働大臣から実施が差し支えない旨の回答を得た時点から最長 3 年間である。各症例毎の実施期間は、最終の遺伝子導入 T リンパ球 Add-back 後 6 ヵ月迄で、臨床研究終了後も当該被験者の生存期間にわたり長期追跡調査を実施する。

目標症例数は 10 例とする。なお 5 例終了時点で、遺伝子治療臨床研究効果安全性評価委員会にて、以降の研究の継続の可否について審議を行うものとする。審議により、当該遺伝子治療臨床研究の目的がじゅうぶんに評価されうると判断された場合には、その 5 例をもって当該遺伝子治療臨床研究は終了とする。

6. 遺伝子治療臨床研究の実施方法

①対照群の設定方法

特に設けない。

②遺伝子導入方法、遺伝子導入 T リンパ球の追加輸注(Add-back)等

「ドナーからの PBMC の採取」~「CD34 陽性細胞採取」については別表に定めた「①臨床研究実施スケジュール(ドナー)」で実施する。

・ドナーからの PBMC の採取

ドナーの選択・除外基準に関する適否を確認した後、ドナーの健康診断を行い、異常がないことを確認する。同意取得日から採取当日までの使用薬剤についても確認する。血球分離装置にてドナーより PBMC 画分を採取する。採取する細胞数は、輸注に必要な遺伝子導入Tリンパ球の必要量によって異なるが、1×10^{10} 個を採取目標量の最大とし、1 回

	のアフェレーシスにつき最大 200 mL/kg の血液を処理する。 ドナーからの PBMC 画分採取は、国立がんセンター中央病院内に設置する遺伝子治療臨床研究実施事務局での本臨床研究へのドナーの登録、被験者の仮登録後に行う。 ・遺伝子導入Tリンパ球の調製 採取されたドナーPBMC 画分を用いて、「安全性についての評価 3. 細胞の安全性 ①遺伝子導入細胞の調製方法」の記載に従い、細胞調製を行う。細胞調製後、「安全性についての評価 3. 細胞の安全性 ④被験者に投与する細胞の安全性」の記載に従い、遺伝子導入Tリンパ球としての品質を確認したうえで、Add-back に用いる。 **・CD34 陽性細胞採取** CD34 陽性細胞の動員・採取は「同種末梢血幹細胞移植のための健常人からの末梢血幹細胞動員・採取に関するガイドライン（日本造血細胞移植学会・日本輸血学会、2003 年 4 月 21 日 改訂第 3 版）」に準じて行う。なお、動員・採取中はもとより採取終了後もドナーを慎重に観察し、安全の確保に努める。 **・末梢血幹細胞移植** 移植治療前に末梢ラインあるいは中心静脈ラインを確保し、移植日に用意した移植細胞（CD34 陽性細胞の分離細胞 4.0×10^6個/kg 以上）を末梢ラインあるいは中心静脈ラインから患者に輸注する。 **・遺伝子導入Tリンパ球の Add-back** 「実施計画 1. 遺伝子治療臨床研究を含む全体の治療計画 ②本臨床研究の実施手順 造血幹細胞移植後～遺伝子導入Tリンパ球 Add-back」の記載に従う。 **<u>GVHD 発症時の対応</u>** GVHD に対する治療：遺伝子導入Tリンパ球の Add-back 後、GVHD 発症時には免疫系再構築の有無にかかわらず、以下に従う。 Grade Ⅰの急性 GVHD が発症した場合には、そのまま経過観察を行う。 Grade Ⅱの急性 GVHD 又は慢性 GVHD が発症した場合には、総括責任者の判断のもと、治療を行ってもよい。 Grade Ⅲ以上の急性 GVHD を発症した場合、又は Grade Ⅱの急性 GVHD 又は慢性 GVHD を発症しかつ総括責任者により治療が必要であると判断された場合、GCV 製剤 5 mg/kg/回を 1 日 2 回 7～14 日間点滴静注する。GVHD が改善しない場合は、免疫抑制剤（例、タクロリムス製剤、メチルプレドニゾロン製剤及びシクロスポリン A 製剤）を総括責任者の判断により投与する。GVHD の改善の判断は、日本造血細胞移植学会の「造血細胞移植ガイドライン-GVHD の診断と治療に関するガイドライン」に示された「標準的な secondary treatment の治療適応」に記載の基準に従う。 重篤な GVHD が発症し、GCV 製剤を投与しても GVHD が改善しない場合の secondary treatment は本実施計画では規定しない。 GVHD 治療後の遺伝子導入Tリンパ球の Add-back：遺伝子導入Tリンパ球の Add-back 後に、Grade Ⅱ以上の GVHD が発症し、GCV 製剤投与により、じゅうぶんに沈静化できた場合には、GCV 製剤投与直前の遺伝子導入 T リンパ球の Add-back が初回あるいは 2 回目の場合に限り、GCV 製剤投与終了後、総括責任者の判断により 1×10^6個/kg の細胞数の遺伝子導入Tリンパ球を Add-back することができる。発症した GVHD が GCV 製剤投与に反応しない場合には、新たな遺伝子導入Tリンパ球の輸注は行わず、本臨床研究を中止するものとし、以降の治療は規定しない。 **<u>CMV 感染症時の対応</u>** 適宜ホスカルネットナトリウム製剤を投与する。 **<u>細菌、真菌感染時の対応</u>** 本実施計画では規定しない。症状に応じて、適切な抗生剤、抗真菌剤を投与する。 **<u>再発時の対応</u>** 研究を中止し、以降の治療については規定しない。 **③前処置及び併用療法の有無** **・移植前処置** 骨髄破壊的前処置法として、TBI（7.5 Gy 単回照射 Day -9）+ thiotepa 製剤（5 mg/kg/q12h Day -8）+ fludarabine phosphate 製剤（40 mg/m^2/日 Day -7～Day -3）+ methylpredonisolone 製剤（2 mg/kg/日）と併せて Thymoglobulin 製剤〔3 mg/kg/日（Merieux） あるいは 5 mg/kg/日（Fresenius） Day -6～Day -2〕+ 安静（Day -1）を用いる。

	・許容される併用療法 **メシル酸イマチニブ** 慢性骨髄性白血病に対しては、前処置開始までに終了する。 **感染症予防薬** 細菌感染症予防：前処置開始時から好中球の生着確認時までキノロン系経口薬を投与。 真菌感染症予防：フルコナゾール製剤 200 mg/日 を前処置開始時から免疫系再構築確認時まで投与。カリニ肺炎予防のため、Sulfamethoxazole/Trimethoprim 合剤を前処置開始前は連日少なくとも 2 週間、好中球の生着後から少なくとも免疫系再構築確認時までは週に 2 回、1 日 4 錠の 2 分割投与。 ウイルス感染症予防：単純ヘルペス感染症及び帯状疱疹予防のため、ビダラビン製剤を Day -7 から Day 35 まで 1,500 mg/日、点滴静注で投与。CMV 感染予防として、CMV 抗原血症検査（C7-HRP あるいは C10/C11）を生着後 Day 100 まで週に 1 回ずつ施行する。CMV 抗原血症検査の結果に基づいて適宜ホスカルネットナトリウム製剤を投与。 **・併用禁止療法** ▹移植前処置開始時以降、臨床研究参加期間中を通じ、移植前処置で用いる以外の抗がん剤治療は禁止。ただし、仮登録から移植前処置開始までの期間については、他の抗がん剤による治療を禁止しない。 ▹末梢血幹細胞移植後のシクロスポリン A 製剤の使用は禁止。又、原則として G-CSF 製剤の投与も禁止。 ▹初回の遺伝子導入 T リンパ球の輸注以降は、GCV 製剤・ACV 製剤の投与は禁止。 **④臨床検査項目及び観察項目** 被験者の適格性他の確認、本臨床研究における安全性の判定、免疫系再構築の判定、GCV 製剤投与による GVHD 沈静化の判定、治療反応性の判定 等のために以下の検査・観察を別表に定めた「②臨床研究実施スケジュール（患者）」で実施する。 **・被験者の適格性他の確認に関する検査・観察** ドナー背景：HLA の型、現有、既往、自覚症状、他覚所見（Performance Status 等）、心電図、血液学的検査、血液生化学検査、感染症検査、胸部 X 線検査、動脈血液中酸素飽和度 等 被験者仮登録時：HLA の型、臨床診断名・病歴、現有、既往、HLA 適合又は1抗原不一致の血縁ドナーの有無、妊娠の有無、自覚症状、他覚所見（Performance Status 等）、心エコー、心電図、動脈血液中酸素飽和度、胸部 X 線検査（感染症の検査として）、血液学的検査、血液生化学、感染症検査 等 被験者本登録時：現有、既往、妊娠の有無、自覚症状、他覚所見（Performance Status 等）、心エコー、心電図、動脈血液中酸素飽和度、胸部 X 線検査（感染症の検査として）、血液学的検査、血液生化学検査、感染症検査、ドナーからの採取 CD34 陽性細胞数、遺伝子導入 T リンパ球数、クレアチニン・クリアランス、尿定性 等 **・移植細胞数** 移植された CD34 陽性細胞数、及びこれに含まれる CD3 陽性細胞数 **・輸血状況** 輸血日、血小板輸血量（単位）、赤血球輸血量（単位） **・併用薬剤使用状況** 併用薬剤名、1 日用法用量、併用期間、使用目的 **・遺伝子導入 T リンパ球数** 輸注した遺伝子導入 T リンパ球数 **・原疾患に関する検査・観察** 臨床検査〔芽球の有無、ヘモグロビン量、好中球数、血小板数、LDH、CRP、血清電解質（Ca）〕、骨髄像（有核細胞数、腫瘍細胞割合、骨髄球の成熟、形態学的異常、巨核球数、M/E 比）、細胞遺伝学的検査、分子学的検査、キメリズム解析、腫瘍関連症状（発熱、盗汗、体重減少）、血清 M 蛋白・尿中 M 蛋白、画像診断 **・安全性の判定に関する検査・観察** 臨床検査（血液学的検査、血液生化学検査、免疫学的検査、感染症検査、尿定性検査等）、有害事象（感染事象、GVHD、臨床検査値異常変動含む）、RCR 発現の有無、LAM-PCR による遺伝子導入 T リンパ球クローナリティー解析 **・免疫系再構築の判定に関する検査・観察**

	末梢血中の CD3 陽性リンパ球数、末梢血中のリンパ球の免疫表現型、末梢血の免疫回復の細胞生物学的解析及び分子生物学的解析 **・GCV 製剤投与による GVHD 沈静化能の判定に関する検査・観察** GVHD 症状評価、GCV 製剤投与無効時の免疫抑制剤使用頻度、GVHD 発症組織における遺伝子導入 T リンパ球の存在確認（実施可能な場合） **・その他の検査・観察** **無病生存率** 腫瘍性疾患に関わる検査、転帰、最終確認日 **全般生存率** 転帰、最終確認日 **感染症の頻度** 治療を要した感染事象の頻度、事象確認日、転帰、最終確認日 **輸注後血中動態** 抗 LNGFR 抗体を用いた FACS 解析、又は PCR 法を用いて測定された血中遺伝子導入 T リンパ球比率の推移 **研究終了後の追跡調査** 本臨床研究終了後も生存期間中にわたり、以下の項目について追跡調査を行う。 ▹RCR 出現の有無 ▹血中遺伝子導入 T リンパ球比率測定 ▹LAM-PCR による遺伝子導入 T リンパ球クローナリティーの解析 ▹転帰（原疾患評価、生死の別、最終転帰確認日） **⑤予測される副作用及びその対処方法** **・ドナー末梢血リンパ球採取に伴うドナーへの危険性** ドナーからのリンパ球採取は基本的に安全性が確立した手技であるが、特に以下の 4 点には注意を払う。対処法については、下記の記載のほか、「日赤成分採血マニュアル」の記載に従うこととする。 ▹低カルシウム血症 （対処法）予防のため、カルシウムを補充。 ▹中心静脈確保の必要性 （対処法）習熟した医師が行う。合併症発生時には症状にあわせ薬剤投与・処置を行う。 ▹リンパ球採取後の血球減少 （対処法）原則的に経過観察する。血小板については、必要に応じて返血を行う。 ▹一時的な血圧低下 （対処法）生理食塩水の点滴により対処可能。 **・ドナー末梢血幹細胞採取に伴うドナーへの危険性** 「ドナー末梢血リンパ球採取に伴うドナーへの危険性」で示した以外に、以下の 2 点に注意を払う。 ▹血管迷走神経反射を認めることがある。 （対処法）必ず ECG モニターを用い、硫酸アトロピン、エチホール、エフェドリンなどを直ちに静注するための準備を行う。 ▹採取後に血小板減少が高頻度（50%以上）に見られ、50,000/μL 未満の高度の血小板減少も少なからず見られる。 （対処法）採取終了後 1 週間くらいは血小板数を確認し、採取前値への回復を確認する。PBSC 動員から採取終了までアスピリン製剤は使用しない。 **・T 細胞除去造血幹細胞移植に伴う被験者への危険性** ▹感染症を主要因とする移植関連死 （対処法）本遺伝子治療実施計画では規定しないが、医師の判断による適切な予防投薬等の徹底した予防策を実施し、早期発見により早期治療を行う。 ▹原疾患の再発 （対処法）本遺伝子治療臨床研究を中止し、以降の治療については規定しない。 **・遺伝子導入 T リンパ球 Add-back に伴う被験者への危険性** ▹投与時に被験者に発熱、悪寒、筋痛等を認めることがある。 （対処法）鎮痛解熱剤等の適切な薬剤にて対処する。 ▹重篤なアレルギー反応を認めることがある。

	（対処法）輸注速度を遅くし、経過観察を行う。 ▹重症の GVHD を発症することがある。 （対処法）「実施計画 6. 遺伝子治療臨床研究の実施方法 ②遺伝子導入方法、遺伝子導入 T リンパ球の追加輸注（Add-back）等 ・遺伝子導入 T リンパ球の Add-back GVHD 発症時の対応」の記載に従う。 **·ガンシクロビル（GCV）製剤投与に伴う被験者への危険性** 遺伝子導入 T リンパ球を輸注した被験者における GVHD 発症に対する治療に使用される用量（10 mg/kg/日）は、CMV 感染に対する治療に使用される用量であり、腎機能に障害がある場合にはその程度に応じて適宜減量する。GCV 製剤の使用には、骨髄抑制、消化管障害、腎機能障害等の副作用を伴う可能性があるので、じゅうぶんな観察を行い、減量若しくは投与を中止する等の適切な処置を講じる。 **・RCR の危険性** 本臨床研究においては RCR が出現する可能性は極めて低いが、出現した場合、悪性リンパ腫を発症する可能性も否定できないので、被験者の経過を注意深く観察して対処するものとする。 **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** 安全性、免疫系再構築、GCV 製剤投与による GVHD 沈静化能等に関する検査・観察スケジュールは、別表に定めた「②臨床研究実施スケジュール（患者）」に記載の通りである。 本臨床研究の主たる評価は遺伝子導入 T リンパ球最終 Add-back 後 6 ヵ月までのデータによって行われるが、遺伝子導入 T リンパ球のクローナルな増殖、RCR 出現の可能性を完全には否定できないため、遺伝子治療を受けた被験者については臨床研究終了後も生存期間中にわたり、以下の項目について年 1 回のフォローアップを行う。 ▹RCR 出現の有無 ▹LAM-PCR による遺伝子導入 T リンパ球クローナリティーの解析 ▹転帰（原疾患評価、生死の別、最終転帰確認日） **・安全性の判定方法、基準** **<u>安全性に関する判定に必要な検査・観察項目</u>** ▹臨床検査 ▹有害事象 ▹RCR ▹LAM-PCR **<u>安全性に関する判定基準・評価方法</u>** ▹臨床検査については、検査値の異常及び異常変動を判定する。 臨床検査値の異常の判定は、国立がんセンター中央病院の基準範囲を逸脱した場合とする。 異常変動「有」の判定は、正常値→異常値、もしくは異常値→異常値の増強がみられた場合に、その臨床的意義を考慮して判断する。これに該当しない場合においても、その変動の臨床的意義を考慮した結果、異常変動「有」と判断された場合も含まれる。 ▹開始時より終了時までの臨床研究期間中を通して発生した有害事象について、その症状、発現時期、程度、臨床研究継続・中止の別、処置の有無及び内容、遺伝子導入 T リンパ球輸注との因果関係、転帰（回復した場合にはその回復日）を調査し、そのグレード及び遺伝子導入 T リンパ球 Add-back との因果関係を判定する。 有害事象のグレードは、2003 年米国 National Cancer Institute （NCI）が発表した「Common Terminology Criteria for Adverse Events v3.0 （CTCAE v3.0）～日本語訳 JCOG/JSCO 版-2004 年 10 月 27 日～」に従い、判定を行う。 因果関係は、被験者の状態、既往歴、合併症、併用薬、Add-back と有害事象発現の時間的関係及び Add-back 自体の影響等を考慮し、「関連あり・関連があるかもしれない・おそらく関連なし・関連なし」の 4 分類で判定する。 ▹末梢血中の RCR を RT-PCR 法により測定する。 ▹LAM-PCR については、遺伝子導入 T リンパ球のクロナリティーを検討する。 **・免疫系再構築の判定方法、基準** **<u>免疫系再構築の判定に必要な検査・観察項目</u>** ▹末梢血中の CD3 陽性リンパ球数

	▻末梢血中のリンパ球の免疫表現型 ▻末梢血の免疫回復の細胞生物学的解析及び分子生物学的解析 **<u>免疫系再構築に関する判定基準・評価方法</u>** ▻別表に定めた「②臨床研究実施スケジュール（患者）」に従い、免疫表現型に関する検査を行い、「GVHD 発症の有無に関係なく、2 回の連続した検査で CD3 陽性細胞数が 1μl あたり 100 を超えるとき免疫再構築が達成されたと判定する。」という基準に従い、免疫系再構築の達成を評価する。 ▻末梢血中のリンパ球の免疫表現型をヒトリンパ球マーカーに対する各種抗体（CD3、CD4、CD8、CD11c、CD56、CD123　等）を用いた FACS 解析により評価する。 ▻細胞内サイトカインの測定、Pentamer 解析、T 細胞受容体レパトア解析、TREC 法を用いた解析等により評価する。 **・GCV 製剤投与による GVHD 沈静化能の判定方法、基準** **<u>GCV 製剤による GVHD 沈静化能の判定に必要な検査・観察項目</u>** ▻GVHD 症状評価 ▻GCV 製剤投与無効時の免疫抑制剤使用頻度 ▻GVHD 発症組織における遺伝子導入 T リンパ球の存在確認（実施可能な場合） **<u>GCV 製剤による GVHD 沈静化能に関する判定基準・評価項目</u>** ▻GCV 製剤投与による GVHD 沈静化の評価を行う。 ▻GVHD に対し GCV 製剤を投与したが、GVHD が改善せず免疫抑制剤を投与した場合を集計し、その頻度を検討する。 ▻組織診断用の検体採取が可能な場合、組織切片を作製し、抗 LNGFR 抗体を用いた免疫染色により遺伝子導入 T リンパ球の存在を確認する。もしくは、検体から DNA を抽出してリアルタイム PCR を用いてレトロウイルスベクターSFCMM-3 に特異的な領域を測定することにより遺伝子導入 T リンパ球の存在を確認する。 **・臨床研究の中止判定基準** **<u>個々の被験者での中止</u>** 同意取得から前処置までの開始前：以下の場合には、遺伝子導入ドナーT リンパ球の Add-back を行わず、臨床研究を中止し、以降の治療については規定しない。 ▻被験者あるいはドナーの同意が撤回された場合 ▻被験者あるいはドナーが選択基準に合致していないことが判明した場合 ▻被験者あるいはドナーが除外基準に抵触していることが判明した場合 ▻症状が悪化し、臨床研究の実施が困難と総括責任者（又は治療にあたる分担研究者）が判断した場合 ▻有害事象発生のため、臨床研究の実施が困難と総括責任者（又は治療にあたる分担研究者）が判断した場合 ▻その他、臨床研究の実施が適当でないと総括責任者（又は治療にあたる分担研究者）が判断した場合 前処置開始後から遺伝子導入 T リンパ球 Add-back 前：以下の場合には、臨床研究を中止し、以降の治療については規定しない。 ▻被験者の同意が撤回された場合 ▻重篤な CMV 感染症が発症し、GCV 製剤を投与するに至った時 ▻移植した末梢血幹細胞の生着が確認できない場合 ▻初回の遺伝子導入 T リンパ球 Add-back より前に、治療を必要とする GVHD が発症した場合 ▻有害事象発生のため、臨床研究の実施が困難と総括責任者（又は治療にあたる分担研究者）が判断した場合 ▻症状が悪化し、臨床研究の実施が困難と総括責任者（又は治療にあたる分担研究者）が判断した場合 ▻その他、臨床研究の実施が適当でないと総括責任者（又は治療にあたる分担研究者）が判断した場合 遺伝子導入 T リンパ球 Add-back 後：以下の場合には、臨床研究を中止し、以降の治療については規定しない。 ▻被験者の同意が撤回された場合 ▻重篤な GVHD が発症し、免疫抑制剤を投与するに至った時 ▻重篤な CMV 感染症が発症し、GCV 製剤を投与するに至った時

	▻RCR の出現が認められた時 ▻有害事象発生のため、臨床研究の実施が困難と総括責任者（又は治療にあたる分担研究者）が判断した場合 ▻症状が悪化し、臨床研究の実施が困難と総括責任者（又は治療にあたる分担研究者）が判断した場合 ▻その他、臨床研究の実施が適当でないと総括責任者（又は治療にあたる分担研究者）が判断した場合 <u>臨床研究全体の中止</u> 以下に該当する被験者の安全性に重大な影響を及ぼし、臨床研究の実施に影響を与え、又は臨床研究継続に関する遺伝子治療臨床研究審査委員会の承認を変更する可能性がある情報を得た場合は、遺伝子治療臨床研究効果安全性評価委員会に意見を求め、その提言を参考にして分担研究者と協議し、本臨床研究の中止を決定することができる。 ▻最初の 5 例の遺伝子治療実施例に、免疫系再構築を確認できた症例がなかった旨の情報 ▻最終 Add-back 後 6 ヵ月以内の被験者の死亡に関する情報 ▻重篤な有害事象に関する情報 ▻遺伝子導入 T リンパ球 Add-back との因果関係を否定できない grade Ⅳ以上の有害事象（副作用）に関する情報 ▻遺伝子導入 T リンパ球 Add-back 後の GCV 製剤投与により沈静化できない GVHD 発症例に関する情報 ▻その他、総括責任者並びに分担研究者が中止すべきと判断する情報 **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、国立がんセンター中央病院の規定に従い、国立がんセンター総長に報告する。国立がんセンター総長はその旨を速やかに厚生労働省に報告する。 **⑧症例記録に関する記録用紙等の様式** カルテとは別に本臨床研究専用の症例報告書を作成する。 **⑨記録の保存及び成績の公表の方法** 記録の保存は、国立がんセンター総長が指名した保管責任者が適切に行う。 成績の公表は、ドナー・被験者本人の同意のもと、研究者全員の合意を得て行う。公表の際には、被験者のプライバシーにじゅうぶんに配慮し、個人情報が特定できないよう必要な措置を行う。 **⑩個人情報の保護の徹底** **・個人情報保護に関する責務** 国立がんセンターの保有する個人情報の適切な管理のために必要な措置について定めた国立がんセンター保有個人情報管理規程に従い、保有する個人情報の漏洩、毀損などを防止し、適正な管理を図る。 **・個人情報の取得と利用に関する制限** ▻診療・研究機関としての国立がんセンター中央病院における一般的な取扱 国立がんセンター中央病院は、社会的な使命の実現に向けて、一般的な診療行為等に関する限定された目的に限り、患者の個人情報を使用する。 ▻その他本遺伝子治療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 本臨床研究の遂行における個人情報の利用・取り扱いについては、総括責任者はあらかじめ被験者の個人情報の利用を公開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。 特別の目的で使用する場合は、事前に被験者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。 ▻個人情報保護に関する安全管理措置 国立がんセンター総長は国立がんセンター保有個人情報管理規程に従い、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関する措置を講じている。さらに本臨床研究では、死者に関する個人情報をも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。 ▹外部共同研究者が閲覧可能なデータ 遺伝子導入 T リンパ球の安全性や機能に関する客観的な記録を外部共同研究者が閲覧することを可能とするが、遺伝子導入用レトロウイルスベクターSFCMM-3 及び遺伝子導入Tリンパ球の調製に限定されたものであり、本臨床研究のデータの客観的かつ公正な記録はその意向に影響を受けることはない。 閲覧目的を限定した上で外部共同研究者がデータを閲覧する場合でも、治験と同様に被験者識別コードを用いることにより、個人を特定できない措置を講じて個人情報を保護する。 ▹第三者提供の制限 総括責任者は、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、外部共同研究者が個人情報を保護した上で一部データの閲覧を行う予定であるが、あらかじめ、その旨を被験者等に通知し同意を得る。 ▹個人情報の開示、訂正、利用停止等 本臨床研究においては、「臨床研究実施機関の名称」、「個人情報の利用目的」、「苦情の申出先」について同意説明文書に明記した。また、「個人情報の開示、訂正、利用停止等に関する手続き」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、手続きの詳細を国立がんセンター個人情報開示等取扱規程に従い、被験者に説明する。
備　考	1. 本遺伝子治療臨床研究実施計画については、平成 18 年 8 月 15 日から国立がんセンター遺伝子治療臨床研究審査委員会で慎重な審議がなされ、その科学的および倫理的妥当性について平成 19 年 3 月 30 日付けで承認されている。 2. 実施施設における当該遺伝子治療臨床研究に関する培養細胞、実験動物を用いた研究成果 国立がんセンター中央病院 11 階に設置された P2 レベル、クラス 10,000 の無菌細胞調整施設において、3 バッチの HSV-TK 遺伝子導入Tリンパ球の試験調製を行った。閉鎖系での作業が可能な工程については閉鎖系で行い、それ以外の作業は無菌細胞調整施設内に設置したクラスⅡ安全キャビネット内で行った。 品質試験結果は、3 バッチとも、あらかじめ定めた規格に合格するものであった。 3. 当該遺伝子治療臨床研究に関連する実施施設以外の内外の研究状況 HSV-TK 遺伝子及びΔLNGFR 遺伝子を含むレトロウイルスベクターで遺伝子導入されたヒトTリンパ球を用いた、造血器悪性腫瘍に対する臨床研究・治験としては、イタリアで 2 件の臨床研究、イタリアで 1 件の治験、日本で 1 件の臨床研究、及びイタリアで 1 件の治験（モルメド社の臨床第Ⅰ/Ⅱ相試験）が実施されている。 イタリアの DLI としての臨床研究では、遺伝子治療を受けた患者 23 例中、解析可能な患者が 17 例あり、その内 3 例に Grade Ⅱ以上の急性 GVHD が発症し、1 例に慢性 GVHD が発症した。これら 4 例に GCV が投与され、急性 GVHD の 3 例では完全な沈静化が認められ、慢性 GVHD の 1 例では部分的な沈静化が認められた。造血器悪性腫瘍に対する治療効果としては、解析可能であった 17 例中、完全寛解は 6 例、部分寛解は 5 例であった。 イタリアの add-back としての臨床研究では、8 例の患者に造血幹細胞移植後、Add-back にて漸増用量で遺伝子導入リンパ球が輸注された。1×10^7 個/kg の HSV-TK 遺伝子導入ドナーリンパ球を投与された 1 例に急性 GVHD が発症し、GCV の投与により GVHD の症状は完全に沈静化された。Add-back による免疫系再構築に有効な遺伝子導入リンパ球の用量としては、1×10^7 個/kg が有望であることが示された。 日本での臨床研究としては、筑波大学附属病院での DLI としての臨床研究が実施されており、9 例の症例に対して遺伝子導入細胞が調製され、5 例に計 8 回の遺伝子導入細胞の投与が行われた（3 例では 2 回投与）。このうち 1 例で急性 GVHD を発症し、GCV を投与することによって末梢血中の遺伝子導入リンパ球は減少して GVHD は沈静化したが、

原疾患の進行によりGCV投与後38日に死亡した。残り4例は、遺伝子治療実施から約4ヵ月～2年の時点でいずれも生存中である。

モルメド社の臨床第Ⅰ/Ⅱ相試験では、登録患者29例の内17例に遺伝子導入Tリンパ球がAdd-backされ、その14例に免疫系再構築が確認された。また、14例中6例にAdd-back後の急性GVHDが発症したが、その内の5例にGCV製剤が投与されいずれもGVHD症状が完全に沈静化した。登録された患者は高リスク造血器悪性腫瘍患者にもかかわらず、Add-backを受けた17例中7例に再発を認めたに過ぎなかった。免疫系再構築に至った14例では、その後の感染症エピソード及び治療関連死が極端に少なくなっており、特にCMV感染による死亡例は、評価対象16例中わずか1例であった。以上より、HSV-TK遺伝子導入ドナーTリンパ球のAdd-backにより、早期免疫系再構築を促進し、移植後の感染死を含む治療関連死を予防し、全体としての生存率を上げることが確認された。

これらの臨床研究・治験の結果から、HSV-TK遺伝子及びΔLNGFR遺伝子をレトロウイルスベクターで導入したヒトTリンパ球について、ヒト体内において遺伝子治療に関連する重篤な副作用報告はなく、その免疫機能により発症したGVHD症状は、HSV-TKの自殺機能により期待通り沈静化している状況である。

モルメド社の臨床第Ⅰ/Ⅱ相試験実施計画と本臨床研究実施計画は類似するものである。主要評価項目及び副次的評価項目に含まれる項目はほぼ同様であるが、安全性については本臨床研究では主要評価項目であるのに対し、モルメド社の臨床第Ⅰ/Ⅱ相試験では副次的評価項目である。これに関連して、本臨床研究では治療効果を期待しつつ安全性の評価を行うことを目的とするために、IL-2を併用することなく、短期間により多くの遺伝子導入リンパ球をAdd-backする用法・用量とした。その他、適格性確認の時点、再発時の対応等に相違があるが、評価に大きな影響を及ぼすものではなく計画全体としてはほぼ同様であると考えられる。一方で、筑波大学附属病院の臨床研究とは同一の遺伝子ベクターを用いるという点を除いて対象・治療法が大きく異なり、計画全体としては類似するものではない。

モルメド社の臨床第Ⅰ/Ⅱ相試験実施計画との主な異同

	モルメド社の臨床第Ⅰ/Ⅱ相試験	本遺伝子治療
遺伝子ベクター	• モルメド社由来SFCMM-3	• モルメド社由来SFCMM-3
細胞調製法	• 遠心法による遺伝子導入 • 培養期間が10日間	• 遠心法による遺伝子導入 • 培養期間が10日間
対象疾患	• 移植が適応となる高リスク白血病	• 移植が適応となる高リスク白血病
実施期間	• 当初計画では2年間	• 3年間
目標症例数	• 18症例	• 10症例
治療概要	• ハプロタイプ一致ドナー由来T細胞除去移植42日後に遺伝子導入リンパ球をAdd-backする療法	• ハプロタイプ一致ドナー由来T細胞除去移植42日後に遺伝子導入リンパ球をAdd-backする療法
用法・用量	• 1×10^{6}/kg(Day 42) →1×10^{7}/kg(Day 72) →1×10^{6}/kg +IL-2 (Day 102) →1×10^{7}/kg + IL-2 (Day 132) の4回のAdd-back	• 1×10^{6}/kg(Day 42) →1×10^{7}/kg(Day 72) →1×10^{7}/kg(Day 102) の3回のAdd-back
主要評価項目	• 免疫系再構築 • GCV製剤投与によるGVHD沈静化	• 安全性 • 免疫系再構築 • GCV製剤投与によるGVHD沈

		● GVL 効果 ●（安全性は副次的評価項目）	静化
	GVHD 対応	● GCV を 14 日間点滴静注	● GCV を 7～14 日間点滴静注

4. 類似の遺伝子治療臨床研究の成果

HSV-TK 遺伝子を含むレトロウイルスベクター（ΔLNGFR を含まず）により遺伝子導入されたＴリンパ球を用いた造血器悪性腫瘍に対する臨床研究・治験としては、フランスで 1 件の臨床研究、ドイツで 1 件の臨床研究、アメリカで 2 件の臨床研究について、学術論文が発表されている。

これらの結果から、HSV-TK の自殺機能による遺伝子導入リンパ球の消失及び GVHD の沈静化が確認されている。

5. 本遺伝子治療臨床研究は、以下の法令/省令等を遵守して実施される。

①「遺伝子治療臨床研究に関する指針」
（平成 16 年文部科学省・厚生労働省告示第二号、平成 16 年 12 月 28 日）

②「臨床研究に関する倫理指針」
（厚生労働省告示第四百五十九号、平成 16 年 12 月 28 日）

③「遺伝子組換え微生物の使用等による医薬品等の製造における拡散防止措置等について」
（薬食発第 0219011 号、各都道府県知事あて厚生労働省医薬食品局長通知、平成 16 年 2 月 19 日）

④「遺伝子治療用医薬品の品質及び安全性の確保に関する指針について」
（薬発第 1062 号、各都道府県知事あて厚生省薬務局長通知、平成 7 年 11 月 15 日）

⑤「遺伝子治療用医薬品の品質及び安全性の確保に関する指針の改正について」
（医薬発第 329004 号、各都道府県知事あて厚生労働省医薬局長通知、平成 14 年 3 月 29 日）

⑥「遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物多様性の確保に関する法律」
（平成 15 年 6 月 18 日法律第 97 号）

⑦行政機関の保有する個人情報の保護に関する法律
（平成 15 年 5 月 30 日法律第 58 号）

⑧厚生労働省保有個人情報管理規程
（平成 17 年 3 月 23 日厚生労働省訓令第 3 号）

（注意）

1．用紙の大きさは、日本工業規格A列4番とすること。

2．この申請書は、正本1通及び副本2通を提出すること。

3．字は黒・インクを用い、楷書ではっきり書くこと。

4．記載欄に記載事項のすべてを記載できない時は、その欄に「別紙（　　）のとおり」と記載し、別紙を添付すること。

5．備考欄には、「第4その他」に掲げる各種指針への適合状況等、特記すべき事項について記載すること。

6．大学等にあっては、この申請書の写しを文部科学大臣にも送付すること。

別表

①臨床研究実施スケジュール（ドナー）

	0 日	1 日	2 日	3 日	4 日	5 日	6 日
同意取得	○						
ドナー背景	○						
リンパ球採取前健康診断	○						
登録		○					
リンパ球・血漿採取（血液学的検査含む）		○					
細胞調製の開始		○					
G-CSF 投与*1			○	○	○	○	
末梢血幹細胞採取*2						○	
CD34 陽性細胞分離*3						○	
末梢血幹細胞採取後健康診断*4							○
有害事象*5		←――――――――――――――――――――――――→					

*1：採取された CD34 陽性細胞数によっては 7 日まで延長されることもある。

*2：採取された CD34 陽性細胞採取状況によっては、6 日、7 日にも行われることもある。

*3：末梢血幹細胞採取状況によっては、6 日、7 日にも行われることもある。

*4：末梢血幹細胞採取終了翌日に行われるため、7 日、8 日の場合もある。

*5：末梢血幹細胞採取状況によっては、7 日、8 日まで調査が行われる。

なお、本スケジュール表は最短の目安を示すものであり、ドナーの都合等で 0 日と 1 日、1 日と 2 日の間隔が開く場合も想定される。

②臨床研究実施スケジュール（患者）

	幹細胞移植前			幹細胞移植日	幹細胞移植後（移植日を0として）				最終Add-back[1]後（最終Add-back[1]日を0として）									患者生存期間中
	仮登録時以前	本登録時以前	本登録後	0	42日以前	42日	72日	102日	1週	2週	3週	4週	6週	10週	14週	18週	24週	1年毎
同意取得	○																	
仮登録	○																	
本登録		○																
患者背景	○																	
自覚症状・他覚所見（PS等）	○	○		○	○[2]				○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
血液学的検査	○	○		○	○[2]				○	○	○	○	○	○	○	○	○	
血液生化学的検査	○	○		○	○[3]				○	○	○	○	○	○	○	○	○	
免疫学的検査	○	○							○	○	○	○	○	○	○	○	○	
感染症検査	○	○			○[4]				○	○	○	○	○	○	○	○	○	
尿定性		○			○[4]							○	○	○	○	○	○	
ｸﾚｱﾁﾆﾝ･ｸﾘｱﾗﾝｽ		○																
動脈血液中酸素飽和度	○	○																
心電図	○	○																
心ｴｺｰ	○	○																
胸部X線検査	○	○																
原疾患に関する検査・観察	○	○							4週に1回、中止あるいは終了時他、治療上で必要な時期									
移植前処置			○															
造血幹細胞移植				○														
遺伝子導入Tリンパ球Add-back						○	○	○										
輸血・併用療法状況確認		実施期間を通して確認																
RCR									○[7]			○		○			○	○
LAM-PCR[5]												○	○	○	○	○	○	○
免疫系再構築の判定に関する検査・観察					○[4]	○			○	○	○	○	○	○	○	○	○	
GVHD評価[6]					○[4]	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	
GVHD発症組織の遺伝子導入Tリンパ球の存在確認					GVHD発症時、GCV製剤投与前、4日後、終了あるいは中止の翌日													
血中遺伝子導入Tリンパ球比率測定					○[4]				○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
有害事象		実施期間を通して確認																

[1]：診察日時点から見て最終（直近）の遺伝子導入Tリンパ球のAdd-backをさし、初回あるいは2回目のAdd-backが最終（直近）の場合にも上記スケジュールに従う

[2]：造血の確認（生着）が確認されるまでの毎日と造血幹細胞移植後30日から40日の間に1回

[3]：造血の確認（生着）が確認されるまでは週3回と造血幹細胞移植後30日から40日の間に1回

[4]：造血幹細胞移植後30日から40日の間に1回

[5]：検査検体採取を行う。検査実施は必要時

[6]：GVHD発症時等、必要時にはスケジュールに定められた以外でも実施する

[7]：最終Add-back後、1～3日の間に1回

- 造血幹細胞移植は臨床研究実施スケジュールに定められた日から7日以内に実施する。
- 最終Add-back後の検査・観察は定められた週のいずれかの日に実施する。

ハプロタイプ一致ドナー由来Ｔ細胞除去造血幹細胞移植後のHSV-TK遺伝子導入Ｔリンパ球“Ａｄｄ－ｂａｃｋ”療法

遺伝子治療臨床研究実施計画書

国立がんセンター

中央病院

作成年月日：平成21年　2月　27日

版　番　号：4.7

記号・略号一覧表

記号・略号	一　般　名　等
ACV	aciclovir（アシクロビル）
Add-back	（追加輸注）
ALL	acute lymphoblastic leukemia（急性リンパ性白血病）
AML	acute myelogenous leukemia（急性骨髄性白血病）
CMV	cytomegalovirus（サイトメガロウイルス）
CTL	cytotoxic T lymphocyte（細胞傷害性T細胞）
ΔLNGFR	truncated low-affinity nerve growth factor receptor （細胞内領域欠損ヒト低親和性神経成長因子受容体）
G-CSF	granulocyte colony-stimulating factor （顆粒球コロニー刺激因子）
GCV	ganciclovir（ガンシクロビル）
GVHD	graft-versus-host disease（移植片対宿主病）
GVL	graft-versus-leukemia（移植片対白血病作用）
GVM	graft-versus-malignancy（移植片対悪性腫瘍）
HLA	human leukocyte antigen（ヒト白血球抗原）
HSV-TK	herpes simplex virus 1-thymidine kinase （単純ヘルペスウイルス1型－チミジンキナーゼ）
LAM	linear amplification-mediated PCR
LNGFR	human low affinity nerve growth factor receptor （ヒト低親和性神経成長因子受容体）
LTR	long terminal repeat（末端反復配列）
MCB	master cell bank（マスターセルバンク）
MoMLV	Molony murine leukemia virus（モロニーマウス白血病ウイルス）
NGF	nerve growth factor（神経成長因子）
OKT3	Orthoclone OKT3（オルソクローン OKT3:抗CD3抗体）
PBMC	peripheral blood mononuclear cell（末梢血単核球）
PBSC	peripheral blood stem cell（末梢血幹細胞）
PCR	polymerase chain reaction（ポリメラーゼ連鎖反応）
RCR	replication competent retrovirus（増殖性レトロウイルス）
rhIL-2	recombinant human interleukin 2 （組換えヒトインターロイキン2）
WCB	working cell bank（ワーキングセルバンク）

目　次

	頁
Ⅰ. 遺伝子治療臨床研究の名称	6
Ⅱ. 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	7
Ⅱ.1 総括責任者の氏名	7
Ⅱ.2 総括責任者以外の研究者の氏名及びその担当する役割	7
Ⅲ. 実施施設の名称及びその所在地	8
Ⅳ. 遺伝子治療臨床研究の目的	9
Ⅴ. 遺伝子治療臨床研究の対象疾患及びその選定理由	12
Ⅴ.1 治療を直接の目的とした遺伝子治療臨床研究を行う場合	12
Ⅴ.1.1 対象疾患に関する現時点での知見	12
Ⅴ.1.2 当該遺伝子治療臨床研究の概要	35
Ⅴ.1.3 他の治療法との比較及び遺伝子治療を選択した理由	39
Ⅵ. 遺伝子の種類及びその導入方法	43
Ⅵ.1 人に導入する遺伝子の構造と性質	43
Ⅵ.1.1 人に導入する遺伝子の構造	43
Ⅵ.1.2 人に導入する遺伝子の性質	49
Ⅵ.1.3 導入遺伝子からの生成物の構造及びその生物活性	49
Ⅵ.2 本計画で使用するその他の組換えDNAの構造と性質	50
Ⅵ.3 標識細胞とした細胞の由来及び生物学的特徴並びに当該細胞を標的細胞とした理由	50
Ⅵ.4 遺伝子導入方法の概略及び当該導入法を選択した理由	50
Ⅵ.4.1 遺伝子導入方法の概略	50
Ⅵ.4.2 当該導入方法を選択した理由	50
Ⅵ.4.3 レトロウイルスベクターの選択根拠	51
Ⅵ.5 ウイルスベクターを用いた遺伝子導入	51
Ⅵ.5.1 野生型ウイルスの生物学的特徴及び人に対する影響	51
Ⅵ.5.2 ウイルスベクターの作製方法	52
Ⅵ.5.3 ウイルスベクターの構造	55
Ⅵ.5.4 ウイルスベクターの生物学的特徴	60
Ⅶ. 安全性についての評価	61
Ⅶ.1 遺伝子導入方法の安全性	61
Ⅶ.1.1 遺伝子導入に用いるウイルスベクターの純度	61
Ⅶ.1.2 患者に投与する物質の純度及びその安全性	63

Ⅶ.1.3 増殖性レトロウイルス（RCR）出現の可能性	64
Ⅶ.1.4 遺伝子導入に用いるウイルスベクターの細胞傷害性	68
Ⅶ.1.5 体内の標的細胞以外の細胞への遺伝子導入の可能性	68
Ⅶ.1.6 患者以外の人に遺伝子が導入される可能性	69
Ⅶ.1.7 染色体内へ遺伝子が組み込まれる場合の問題点	69
Ⅶ.1.8 がん原性の有無	69
Ⅶ.2 遺伝子産物の安全性	70
Ⅶ.2.1 HSV-TK 遺伝子の異常発現	70
Ⅶ.2.2 HSV-TK/GCV 自殺システムの臨床実績	71
Ⅶ.2.3 ΔLNGFR 遺伝子の異常発現	72
Ⅶ.3 細胞の安全性	72
Ⅶ.3.1 遺伝子導入細胞の調製方法	72
Ⅶ.3.2 培養細胞の純度	74
Ⅶ.3.3 細胞の遺伝子型、表現型の安全性	74
Ⅶ.3.4 被験者に投与する細胞の安全性	75
Ⅷ. 遺伝子治療臨床研究の実施が可能であると判断した理由	77
Ⅸ. 遺伝子治療臨床研究の実施計画	79
Ⅸ.1 遺伝子治療臨床研究を含む全体の治療計画	79
Ⅸ.1.1 本研究の実施に際し国立がんセンター中央病院に設置される委員会・事務局	79
Ⅸ.1.2 本臨床研究の実施手順	80
Ⅸ.2 ドナー･被験者の選択基準及び除外基準	84
Ⅸ.2.1 ドナーの選択基準及び除外基準	84
Ⅸ.2.2 被験者の選択基準及び除外基準	85
Ⅸ.3 登録	88
Ⅸ.3.1 ドナーの登録	88
Ⅸ.3.2 被験者の仮登録	89
Ⅸ.3.3 被験者の本登録	89
Ⅸ.4 ドナー・被験者に対する説明及びその同意の取得方法	89
Ⅸ.4.1 被験者に対する説明及びその同意の取得方法	89
Ⅸ.4.2 ドナーに対する説明及びその同意の取得方法	90
Ⅸ.4.3 ドナー・被験者に対する説明の体制	90
Ⅸ.5 実施期間及び目標症例数	91
Ⅸ.6 遺伝子治療臨床研究の実施方法	91
Ⅸ.6.1 対照群の設定方法	91

Ⅸ.6.2 遺伝子導入方法、遺伝子導入Tリンパ球の追加輸注（Add-back）等	91
Ⅸ.6.3 前処置及び併用療法の有無	95
Ⅸ.6.4 臨床検査項目及び観察項目	99
Ⅸ.6.5 予測される副作用及びその対処方法	102
Ⅸ.6.6 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	104
Ⅸ.6.7 重篤な有害事象が発現した場合の措置	111
Ⅸ.6.8 症例記録に関する記録用紙等の様式	111
Ⅸ.6.9 記録の保存及び成績の公表の方法	111
Ⅸ.6.10 個人情報の保護の徹底	112
Ⅹ. 用語説明	116
Ⅺ. その他の必要な事項	119
Ⅺ.1 遵守する法令／省令など	119
Ⅺ.2 引用文献	120
Ⅺ.3 臨床研究実施スケジュール	127
Ⅺ.4 Performance StatusのGradeと判定基準	130
Ⅺ.5 急性GVHDのGrade	131
Ⅺ.6 急性GVHDの治療効果判定基準	132
Ⅺ.7 同意説明文書及び同意文書（被験者用）	135
Ⅺ.8 同意説明文書及び同意文書（ドナー用）	172

Ⅰ．遺伝子治療臨床研究の名称

ハプロタイプ一致ドナー由来T細胞除去造血幹細胞移植後のHSV-TK遺伝子導入Tリンパ球“Add-back”療法

Ⅱ. 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

Ⅱ.1 総括責任者の氏名

平家勇司

国立がんセンター中央病院・薬物療法部・幹細胞移植療法室・医長

遺伝子治療臨床研究に関する資料・情報の収集、遺伝子治療臨床研究の科学的妥当性・倫理性の検討、実験計画の作成及び国立がんセンター総長への提出、遺伝子治療臨床研究の適正実施の確認、遺伝子治療臨床研究の開始・終了・予期せぬ事態等の国立がんセンター総長及び遺伝子治療臨床研究審査委員会への説明/報告等

Ⅱ.2 総括責任者以外の研究者の氏名及びその担当する役割

表1　総括責任者以外の研究者・協力者と役割分担

氏　名		所　属	役　職	役割分担
分担研究者	吉田輝彦	国立がんセンター研究所・腫瘍ゲノム解析・情報研究部	部長	遺伝子導入細胞製剤の製造管理責任者
	青木一教	国立がんセンター研究所・がん宿主免疫研究室	室長	遺伝子導入細胞製剤の品質管理責任者
	高上洋一	国立がんセンター中央病院・薬物療法部	薬物療法部長	臨床効果の評価
	飛内賢正	国立がんセンター中央病院・第一領域外来部	第一領域外来部長	臨床効果の評価
	森慎一郎	国立がんセンター中央病院・臨床検査部	細菌検査室医長	投与患者の診療
	金　成元	国立がんセンター中央病院・特殊病棟部	13B 病棟医師	投与患者の診療
	福田隆浩	国立がんセンター中央病院・特殊病棟部	12B 病棟医長	投与患者の診療
	田野崎隆二	国立がんセンター中央病院・臨床検査部	輸血管理室医長	投与患者の診療
外部共同研究者	峰野純一	タカラバイオ株式会社・細胞・遺伝子治療センター	センター長	遺伝子導入用レトロウイルスベクターSFCMM-3 に関する基礎的助言及び遺伝子導入Tリンパ球調製技術の提供と助言

Ⅲ．実施施設の名称及びその所在地

名称：国立がんセンター　中央病院

所在地：東京都中央区築地五丁目１番１号

TEL：03-3542-2511　　　　FAX：03-3547-5228

Ⅳ. 遺伝子治療臨床研究の目的

本遺伝子治療臨床研究は、高リスク造血器悪性腫瘍患者に対して、ヒト白血球抗原（human leukocyte antigen：HLA）ハプロタイプ[*1]一致ドナー由来T細胞除去造血幹細胞の移植を施行した後、レトロウイルスベクターSFCMM-3を用いて単純ヘルペスウイルス1型－チミジンキナーゼ（herpes simplex virus 1-thymidine kinase：HSV-TK）遺伝子を導入した同一ドナー由来のTリンパ球を追加輸注（Add-back[*2]）する治療法の全体としての安全性及び有効性について検討することを目的とする。

早期に移植治療を必要とする高リスク造血器悪性腫瘍患者にとり、HLA適合血縁ドナーが存在せず、バンクからのHLA適合非血縁ドナーが存在しない、あるいはドナー検索にかける時間的余裕が無い場合、ハプロタイプ一致（HLA 2～3座不一致）血縁ドナーから移植を行うことが有効である。

しかしながら、HLAハプロタイプ一致ドナー由来造血幹細胞の移植（ミスマッチ移植）を行う上では、以下の2つの大きなバリアーにより、現時点、ミスマッチ移植は普及するに至っておらず、これらのバリアーの克服が課題となっている。

1) 拒絶頻度が高いこと（宿主対移植片方向のミスマッチ移植のバリアー）
2) 生着が得られたとしても、その後、重度の移植片対宿主病（graft-versus-host disease：GVHD）が発症すること（移植片対宿主方向のミスマッチ移植のバリアー）

バリアー1）に対しては、前処置により宿主側のリンパ球をある程度減少又は抑制させた上で、十分量の造血幹細胞を移植することにより、移植片に対する拒絶の頻度を減少させ、移植片の生着が得られることが周知となってきている。

本臨床研究においても、同様の手法を用いることを予定しており、その効果を検討することとなる。

バリアー2）に対しては、ミスマッチ移植に用いる移植片からT細胞を除去（CD34陽性細胞選択）することにより、GVHD発症頻度を減少させる試みがなされてきたが、これに伴い易感染性と再発の回避が、新たな課題として発生した。

本臨床研究では、T細胞除去したハプロタイプ一致ドナー由来の造血幹細胞を移植し、その後の早期免疫系再構築と移植片対悪性腫瘍作用（graft-versus-malignancy：GVM）効果を期待したTリンパ球の追加輸注（Add-back）を実施することで、これらの課題の克服を企図している。その際、このTリンパ球のAdd-backに伴う重度又は致死的なGVHDの発症が懸念されることから、GVHD発症時にTリンパ球の制御が可能なように、自殺遺伝子であるHSV-TK遺伝子を導入した遺伝子導入Tリンパ球を用いたAdd-backを計画している。

すなわち、本臨床研究の操作ステップは、大きく以下のとおりとなる（図1参照）。

① ハプロタイプ一致ドナー由来T細胞除去造血幹細胞移植(T細胞除去ミスマッチ移植)

ドナーに顆粒球コロニー刺激因子（granulocyte colony-stimulating factor: G-CSF）を投与して造血幹細胞を末梢血に動員し（mobilize）、造血幹細胞を含む末梢血単核球（peripheral blood mononuclear cell: PBMC）画分を採取する。細胞分離装置によりPBMC画分からT細胞を除去してCD34陽性細胞を純化し、これを化学療法剤等による前処置後の対象患者に移植（T細胞除去ミスマッチ移植）する。

② HSV-TK遺伝子導入細胞の調製

同一ドナー由来Tリンパ球を採取し、これに自殺遺伝子としてのHSV-TK遺伝子及び細胞表面マーカー遺伝子としての細胞内領域欠損ヒト低親和性神経成長因子受容体（truncated low-affinity nerve growth factor receptor: ΔLNGFR）遺伝子をレトロウイルスベクター[*3]により導入し、ex vivoで拡大培養して遺伝子導入細胞を調製する。

③ HSV-TK遺伝子導入Tリンパ球のAdd-back

T細胞除去ミスマッチ移植した造血幹細胞が生着した時点以降で、遺伝子導入Tリンパ球を大量にAdd-backする。

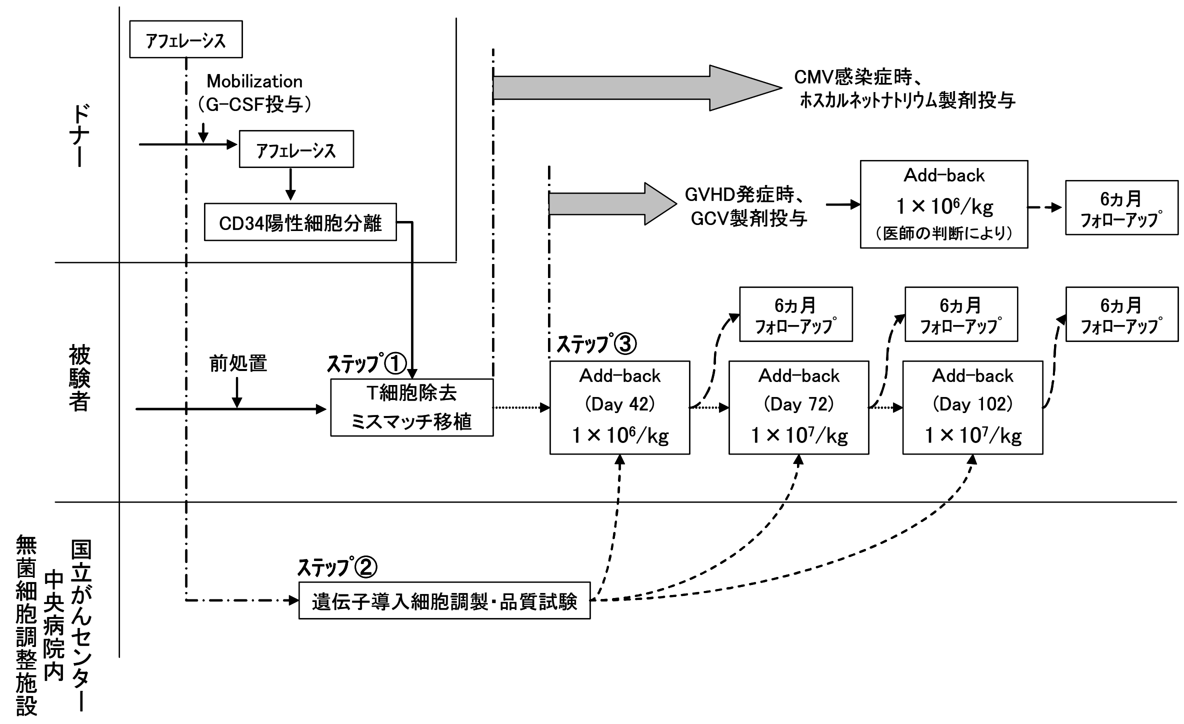


図1　本遺伝子治療臨床研究の全体計画フロー（プロトコール概要）

本臨床研究は、上記3ステップによる「HSV-TK遺伝子導入Tリンパ球のAdd-back療法を含む新規ミスマッチ移植法の確立」を最終的な目的とする。そのために、治療法全体としての安全性の評価のほか、ステップ③「HSV-TK遺伝子導入Tリンパ球のAdd-back」においてのTリンパ球のAdd-backによるT細胞除去ミスマッチ移植を受けた患者の早期の免疫系再構築、免疫系再構築により感染症等の治療関連有害事象が予防又は軽減できるか否か、また疾患再発・増悪を阻止できるか否かの評価を目的とする。また、もし遺伝子導入Tリンパ球のAdd-backにより重篤なGVHDが発症した場合には、ガンシクロビル(ganciclovir:GCV)製剤を投与することにより、HSV-TK遺伝子の自殺機能を発揮させ、当該細胞の選択的な抹消によりGVHD症状が沈静化できるか否かを評価することも目的とする。

＜主要エンドポイント＞

- 「ハプロタイプ一致ドナー由来T細胞除去造血幹細胞移植後のHSV-TK遺伝子導入Tリンパ球“Add-back”療法」の安全性
- HSV-TK遺伝子導入Tリンパ球Add-back後の免疫系再構築並びにGVHD発症頻度及び制御能

＜副次的エンドポイント＞

- 「ハプロタイプ一致ドナー由来T細胞除去造血幹細胞移植後のHSV-TK遺伝子導入Tリンパ球“Add-back”療法」における感染症頻度、無病生存率、及び全般生存率

Ⅴ．遺伝子治療臨床研究の対象疾患及びその選定理由

Ⅴ.1 治療を直接の目的とした遺伝子治療臨床研究を行う場合

Ⅴ.1.1 対象疾患に関する現時点での知見

【造血器悪性腫瘍患者に対する造血幹細胞移植の現状】

造血器悪性腫瘍の治療成績が、造血幹細胞移植の普及により格段に向上したことは周知であり、特に、HLA が適合した血縁者間での造血幹細胞移植は、既に確立した治療手段となっている。しかし、2 人の兄弟姉妹間で HLA が一致する確率は 1/4 であり、患者の他に 2 人の兄弟姉妹が存在するとしても、約 60%の患者は血縁者に HLA 適合ドナーが存在しない。このような場合、先ずは、骨髄バンクを介して、HLA が適合又は 1 座不適合の非血縁者ドナーを探すこととなる。日本骨髄バンク（http://www.jmdp.or.jp/index.html）は、全米骨髄バンク（NMDP）、台湾骨髄バンク（BTCSCC）、韓国骨髄バンク（KMDP）と相互検索を提携して、HLA 1 座不適合までのドナーを高い確率で見出すシステムを充実させてきたが、非血縁ドナーが存在しない可能性、及びドナーコーディネートそのものに時間を要するという最大の問題がある。実際、日本骨髄バンクの患者登録者のうち、約 8 割にドナー候補が見出せるが移植がなされているのは半数以下であるのが現状である（上記ホームページ、日本骨髄バンクニュース vol 26）。更に今後、本邦での少子高齢化は深刻であり、移植を急ぐ患者にとっては、早急に造血幹細胞を調達できる移植システムのニーズがますます高まっている。

このニーズに対しては、臍帯血由来の造血幹細胞移植（臍帯血移植）とハプロタイプ一致血縁ドナー由来造血幹細胞移植（ミスマッチ移植）の大きく 2 つの方策が検討されてきた。

【本邦における成人に対する臍帯血移植の現状】

1988 年 Gluckman らが Fanconi 貧血患者に対する HLA 一致同胞間臍帯血移植に成功して以来(1)、臍帯血移植は、骨髄移植、末梢血幹細胞移植に次ぐ第 3 の造血幹細胞移植として 1990 年代に臨床応用が開始された。わが国においては、1994 年に最初の同胞間臍帯血移植が東海大学で行われ(2)、以来 2004 年までに 45 例の同胞間臍帯血移植が実施された(3)。非血縁者間の臍帯血移植は 1997 年に神奈川県臍帯血バンクを通じて実施され、緊急的移植にも迅速に対応可能であること、ドナーの負担がないこと、HLA 2 座不一致まで移植可能であること等の利点があり、増加の一途を辿っている。1997 年以降、当初の数年は小児における移植が大半を占めていたが、2002 年以降は成人における移植件数が小児のそれを上回るようになった。50 歳以上の高齢者における移植は 2003 年を境に急増している（図 2）。

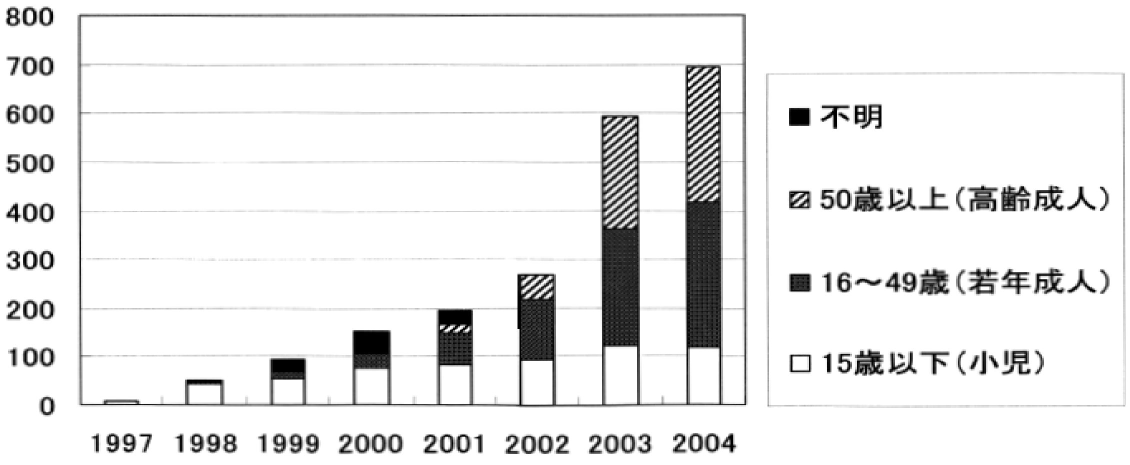


図２　わが国における非血縁者間臍帯血移植の年齢別実施数
（日本さい帯血バンクネットワークホームページより）

【当施設における臍帯血移植の経験】

国立がんセンター中央病院では、厚生科学研究ヒトゲノム・再生医療研究事業（斎藤班および高上班）の援助を受け、2003年８月１日より「RIST0304非血縁者間臍帯血移植の安全性の検討　リン酸フルダラビン、ブスルファン、全身放射線照射併用多施設共同臨床研究」を行った。左記研究においては６症例の登録を行ったが、生着前の高熱など予想しなかった合併症が現れたため、多施設で行う前に解決すべき問題点があると判断し、2004年８月31日に多施設共同研究を中止した。その治療経験を元に2005年６月１日から厚生科学研究ヒトゲノム・再生医療研究事業（斎藤班および高上班）並びに厚生労働省科学研究効果的医療技術の確立推進臨床研究事業（谷口班）の支援を受け、「RICBT0501非血縁者間臍帯血移植の安全性の検討　リン酸フルダラビン、ブスルファン、全身放射線照射併用２施設共同臨床研究」を開始し現在に至っており、臍帯血移植においても着実に経験を蓄積している。

【日米欧から報告された成人に対する臍帯血移植の成績】

15頁の表２に今までに報告された日米欧の多施設あるいは単施設からの成人に対する臍帯血移植の成績を記す (4-7)。

多くがハイリスク造血器悪性腫瘍例に対して行われ、ごく一部のHLA一致例を除いてはほとんどの症例で２抗原以上の不一致移植である。前処置は施設毎、疾患毎にさまざまであるが、GVHD予防はシクロスポリン＋プレドニゾロン、シクロスポリン＋メソトレキサートの２剤で行われる場合が多かった。移植された有核細胞数は、中央値で $1.5〜2.47×10^7$/kgであった。４つの報告の患者背景はそれぞれに異なっているが、早期死亡率は４〜14%、28あるいは42日以上生存した症例の好中球生着率は85〜100%であり、好中球が500/μl以上に到達するのに中央値で22〜27日を要している。血小板が20,000/μl以上に到達した症

例は33～81%であり、中央値で48～84日を要した。急性GVHDに関しては、Ⅱ度以上の発症頻度は 40～70%であるが、Ⅲ度以上の発症頻度は 7～32%とほとんどの症例で 2 抗原以上の不一致移植であるにもかかわらず高くない。慢性GVHD の発症頻度は32～90%と報告毎に大きく異なるが、限局型が多くを占めているという特徴がある。再発率に関しては、観察期間が短いため、ハイリスク症例を対象としているにもかかわらず高くない。移植関連死亡率、長期生存率に関しては、東京大学医科学研究所附属病院からの報告（7）が他に比べて極めて良好である。これらの報告の結果から、以下が明らかにされた。

- 成人に対する骨髄破壊的前処置を用いた臍帯血移植においても、造血の再構築が得られること。
- 発症する急性・慢性GVHDは許容できるものであること。
- ハイリスク患者を対象とした場合でも10～20数%の長期生存が得られること。
- 患者の年齢・移植されたCD34陽性細胞数が成績に相関すること。
- 移植後100日以内の早期死亡例では感染症や前処置関連毒性が多いこと。

表２　日米欧の成人臍帯血移植成績

報告者	Laughlin M, et al.(4)	Sanz G, et al.(5)	Long GD, et al.(6)	Takahashi S, et al.(7)
症例数	68 非悪性疾患 14 例、造血器悪性腫瘍 54 例うちﾊｲﾘｽｸ 50 例	22 ﾊｲﾘｽｸ 16 例	57 1996 年以降、非悪性疾患 2 例含む、ﾊｲﾘｽｸ造血器腫瘍	68 41 例がﾊｲﾘｽｸ症例
年齢（歳）	31.4 (17.6～58.1)	29 (18～46)	31 (18～58)	36 (16～53)
体重（kg）	69.2 (40.9～115)	69.5 (41～85)	70 (46～110)	55.1 (36.2～76.2)
HLA 適合度	4/6≧;48(71%)	6/6;1 5/6;13 4/6;8 4/6≧;8(36%)	3/6;3 4/6;44 5/6;8 6/6;2 4/6≧;47(82%)	2/6;2 3/6;15 4/6;37 5/6;14 4/6≧;54(79%)
移植前処置	TBI を基本；51 例 BU を基本；14 例 その他；3 例	TEPA/BU/CY/ATG ;21 例 TEPA/FLU/ATG;1 例	TBI＋LPAM＋ATG；29 例 BU＋LPAM＋ATG；17 例 BU＋CY＋ATG；2 例 TAI＋CY＋ATG；1 例 TBI＋CY＋ATG；8 例	TBI＋AraC /G-CSF＋CY;49 例 TBI＋CY；12 例 TBI＋α；7 例
GVHD 予防法	CSA/PSL CSA 単独	CSA/PSL	CSA/PSL	CSA/sMTX(65) CSA(3)
移植有核細胞数 (×10^7/kg)	1.6 (0.6～4.0)	1.71 (1.01～4.96)	1.50 (0.54～2.78)	2.47 (1.1～5.29)
移植 CD34 陽性細胞数 (×10^5/kg)	1.2 (0.2～16.7)	0.79 (0.27～2.60)	1.37 (0.02～12.45)	記載なし
早期死亡例数（%）	8 (12.5%)	2 (9%)	8 (14%)	3 (4%)
好中球生着率 (>0.5×10^9/l) 到達日数	55/60(92%)＊ 27 日(13～59)	20/20(100%)＊＊ 22 日(13～59)	41/49(84%)# 26 日(12～55)	60/65(92%)## 22 日(16～41)
血小板生着率 (>20×10^9/l) 到達日数	30(44%) 58 日(35～142 日)	12(55%) 69 日(49～153 日)	19(33%) 84 日(35～167 日)	55(81%) 48 日(30～263 日)
急性 GVHD 発症例 /評価可能例 Ⅱ-Ⅳ度 (Ⅲ-Ⅳ度)	33/55;60% (11/55;20%)	16/22;73% (7/22;32%)	17/41;41% (8/41;20%)	30/60;50% (4/60;7%)
慢性 GVHD 発症例 /評価可能例	12/33	9/10	8/25	42/54
移植関連死	32 例が 3 ヶ月以内に死亡	43% (100 日)	50% (100 日)	9% (1 年)
再発	4 例;1 年以内の再発	0%	記載なし	16% (2 年)
生存率	26%；40 ヶ月 (無ｲﾍﾞﾝﾄ生存率)	53%；1 年 (無病生存率)	15%；3 年 (無ｲﾍﾞﾝﾄ生存率) 19%；3 年 (粗生存率)	74%；2 年 (無病生存率)

＊ ：28 日以内の早期死亡 8 例を除く 60 例中 5 例が生着不全
＊＊：30 日以内の早期死亡 2 例を除く全例が生着
：42 日以上生存した 49 例中 41 例に好中球生着
##：28 日以内の早期死亡 3 例を除く 65 例中 5 例が生着不全

2004 年に発表された日本さい帯血バンクネットワーク・データ管理委員会による骨髄破壊的前処置で移植された成人悪性腫瘍例361例のPreliminaryな解析結果を表3に記す(8)。

表3　日本さい帯血バンクネットワークの成績(8)

症例数	361(初回移植例は 329 例)
年齢(歳)	36(16～60)
体重(kg)	55(23.5～95)
HLA 適合度	4/6≧;65%
移植有核細胞数（$\times10^7$/kg)	2.51(1.15～6.0)
移植 CD34 陽性細胞数（$\times10^5$/kg)	0.82(0.09～9.07)
早期死亡(%)	9
移植後 90 日の好中球(500/μl 以上)の予測回復率(%)、到達日数	90(Kaplan-Meier 法による)、23 日(11～48 日)
移植後 180 日の血小板(50,000/μl 以上)の予測回復率(%)、到達日数	81(Kaplan-Meier 法による)、46 日(17～263 日)
急性 GVHD　Ⅱ度以上発症率(%)(Ⅲ度以上発症率(%))	43(14)
慢性 GVHD　発症例/評価可能例	69/212
移植関連死	38%(1 年)
生存率	22%(標準ﾘｽｸ群；40%、ﾊｲﾘｽｸ群；15%)；3 年(無ｲﾍﾞﾝﾄ生存率)

また、1997 年の 1 例目から 2005 年 10 月末までに日本国内でさい帯血バンクを通じて移植が行われた 2,600 例以上のうち、調査票が報告された 1,860 例の移植成績が 2006 年 1 月に日本さい帯血バンクネットワーク移植データ管理委員会から発表された(9)。1,860 例の内訳は小児例が 663 例、16 歳以上の成人例が 1,197 例（50 歳以上が全体の 27%)、疾患別では、血液悪性疾患が大多数を占め、急性リンパ性および骨髄性白血病が全体の 54%、続いて骨髄異形成症候群 14%、悪性リンパ腫 12%に施行されていた。その他、全体の 5%以下であるが、成人 T 細胞性白血病、慢性骨髄性白血病、多発性骨髄腫と続いていた。骨髄破壊的前処置による急性白血病初回移植の移植後 3 年の無イベント生存率は初回寛解期移植、第 2 寛解期移植でそれぞれ 40%、56%、非寛解期移植で 18%であった（図 3A)。また、骨髄異形成症候群に対する成績は良好で、長期生存率は約 50%、そのうち標準危険群（不応性貧血、および白血病化後の初回寛解期）では 79%、高度危険群（標準危険群以外の病期の移植）でも 43%の無イベント生存率が得られている。(図 3B)

臍帯血移植の成績については、学会を中心に追加集積が行われている。

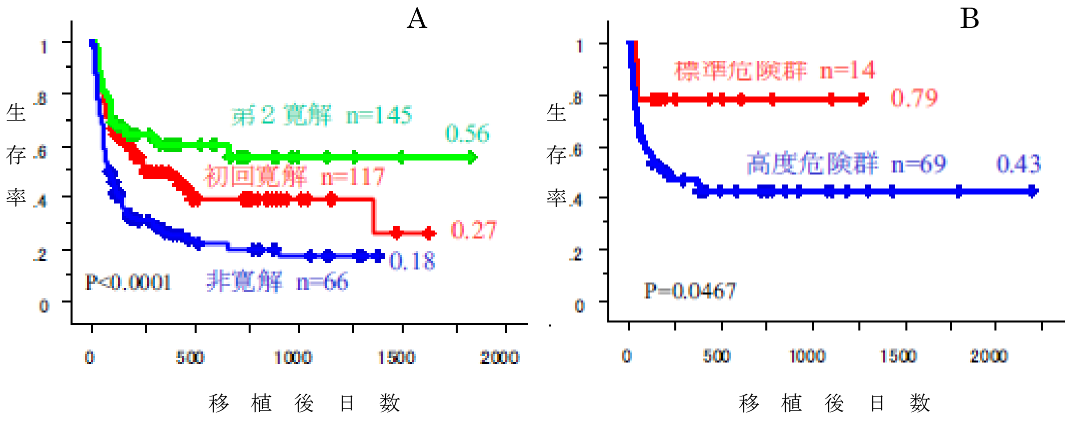


図３ 骨髄破壊的前処置による成人臍帯血移植の成績

急性白血病（A)、および骨髄異形成症候群（B）における移植病期と無イベント生存率

【日米欧から報告された成人における非血縁者骨髄移植と非血縁者臍帯血移植の成績の比較】

表４に、2004 年末に欧米及び本邦から報告された成人に対する非血縁臍帯血移植と非血縁者骨髄移植の治療成績の比較検討結果を示す(7, 10，11）。欧州の報告(10)は EBMT(European Blood and Marrow Transplant Group)と EUROCORD、米国の報告(11)は IBMTR(International Bone Marrow Transplant Registry)と New York Cord Blood Bank の共同による研究であり、本邦の報告(7)は東京大学医科学研究所附属病院単独の研究である。

欧米からの２つの報告の結果は以下のとおりで、類似していた。いずれの報告も、HLA 一致ドナーが見つからない場合には、臍帯血は許容できる幹細胞ソースであると結論している。

- 臍帯血移植を受けた患者は骨髄移植を受けた患者と比べて低年齢、低体重、高リスクが多かった。
- 移植された有核細胞数は、骨髄移植を受けた患者よりも臍帯血移植を受けた患者のほうが少なかった。
- Ⅱ度以上の急性 GVHD の発症頻度は、骨髄移植を受けた患者群に比べ臍帯血移植を受けた患者群で有意に低かった。
- 好中球回復は、骨髄移植を受けた患者群に比べ臍帯血移植を受けた患者群で有意に遅かった。
- 慢性 GVHD 発症頻度、治療関連死率、再発率、無再発生存率などは有意な差を認めなかった。

本邦からの報告は以下のとおりで、血縁者ドナーが存在しない場合には、臍帯血を第一の幹細胞ソースであると結論している。単一施設の結果としては極めて優れた成績であると評価されており、欧米からの報告とは異なっている。まとめると以下のとおりであった。

- ドナー検索期間は、骨髄移植よりも臍帯血移植で圧倒的に短かった。
- 移植された細胞数は臍帯血移植のほうが少なかった。
- HLA の適合度は臍帯血移植のほうが低かった。
- 免疫抑制剤を早期に中止、ステロイドの使用を控えたにも関わらず、臍帯血移植ではGVHD による死亡はなかった。
- 骨髄移植と比較すると臍帯血移植では有意に治療関連死が少なく、無病生存率が良好であった。

本邦からの東京大学医科学研究所附属病院の報告は、単一施設の成績としては極めて優れた成績であると評価されており、欧米からの報告とは異なっている。この点については、前処置、GVHD 予防・治療、感染症対策等種々の面からの検討が必要と考えられる。

表 4　成人に対する非血縁臍帯血移植と骨髄移植の比較検討

報告者	Rocha V, et al.(10)		Laughlin M, et al.(11)			Takahashi S, et al.(7)	
移植種類；症例数	臍帯血移植；98	骨髄移植；584	(a) 臍帯血移植；150	(b) HLA 1 抗原不一致骨髄移植；83	(c) HLA 一致骨髄移植；367	臍帯血移植；68	骨髄移植；45
年齢(歳)	24.5	32	NA	NA	NA	36	26
好中球生着率 (>0.5×10^9/l) 到達日数	75%# 26 日 (14～80)	89% 19 日 (5～72)	中央値；27 日	中央値；20 日	中央値；18 日	92%* 22 日 (16～41)	100%* 18 日 (12～33)
p 値	<0.001		<0.001			<0.01	
血小板生着率 (>20×10^9/l) 到達日数	NA	NA	中央値；60 日	中央値；29 日	中央値；29 日	90%** 40 日 (13～99)	91%** 25 日 (10～172)
p 値	-		<0.001			<0.01	
Ⅱ-Ⅳ度急性 GVHD 発症例数	25	232	61	43	176	30/60	30/45
p 値	0.02		(a) vs (c);0.17 (a) vs (b);0.04			0.05	
慢性 GVHD 発症例数	18	94	35/69	17/43	86/243	42/54	26/35
p 値	0.02		(a) vs (c);0.02 (a) vs (b);0.69			0.21	
移植関連死亡率 (%､症例数)	44% (2 年)	38% (2 年)	95 例	54 例	169 例	9% (1 年)	29% (1 年)
p 値	0.13		(b) vs (c);<0.001 (a) vs (c);<0.001 (a) vs (b);0.96			0.02	
再発率 (%、症例数)	23% (2 例)	23% (2 例)	26 例	12 例	83 例	16% (2 年)	25% (2 年)
p 値	0.71		(b) vs (c);0.61 (a) vs (c);0.16 (a) vs (b);0.65			0.73	
無病生存率 (%)	AML 32% ALL 34% (2 年)	AML 42% ALL 33% (2 年)	23% (3 年)	19% (3 年)	33% (3 年)	74% (2 年)	44% (2 年)
p 値	AML 0.18 ALL 0.21		(a) vs (b);0.69 (b) vs (c);0.001			0.01	

#60 日および*42 日における好中球数 0.5×10^9/l 以上の到達率
**100 日における血小板数 20×10^9/l 以上の到達率
NA　データなし

【成人に対する臍帯血移植の課題】

成人に対する臍帯血移植の適応を考慮する場合には他の造血幹細胞移植と同様の検討が必要である。具体的には、他の治療法では治療が困難であるか、臍帯血移植により他の治療法より良好な結果が期待できるか、原疾患以外の患者背景（患者の年齢、全身状態、感染症をはじめとする合併症の有無等）が移植の適応であるか等である。

本邦においては、成人に対する臍帯血移植の適応を検討する際、日本さい帯血バンクネットワーク、New York 血液センター、EUROCORD の日米欧の臍帯血バンク及び関連するネットワークからの多数例の報告と東京大学医科学研究所附属病院をはじめとする単施設からの報告が参考とされる。それぞれの成績は同様ではなくその解釈には注意を要するが、他の造血細胞移植と比較すると臍帯血移植では造血回復が遅延すること、非血縁者間 HLA 不一致であっても重症 GVHD 発症は低頻度であることは共通の特徴として挙げられている。また、生着すれば長期間の造血能を維持すること、ある程度の GVM 効果を有することも分かってきたが、移植後再発を来たした場合のドナーリンパ球輸注[*4]は行うことができない。

New York 血液センターや EUROCORD からの報告では、移植成績と移植細胞数には関連があると考えられている。すなわち、細胞数が限られている臍帯血移植では、成人を対象とする場合、体重当りの細胞数が確保しにくく、造血回復が遅延し生着不全や好中球回復の遅延が高い頻度で見られる。移植有核細胞数や移植 CD34 陽性細胞数が多くなるにつれ生着率が高まり、生着までの期間（好中球数が 500/μl 以上あるいは血小板数が 20,000/μl に到達するまでの期間）も早まり、移植関連死亡率・生存率が改善される(4-6)。日本さい帯血バンクネットワークからの報告では生着不全や移植関連死亡率は欧米の報告と比較すると低いが、移植成績と移植 CD34 陽性細胞数との関連性は同様とされている(12)。

一方で、東京大学医科学研究所附属病院などの単施設からの報告は、生着不全、移植関連死、生存率など、多くの点で日米欧の各臍帯血バンクからの報告と比較すると概ね良好である。単施設からの報告では、各骨髄バンクからの報告よりも移植有核細胞数が多くかつ狭い範囲におさまっているなど条件が異なり、単純な比較は困難でありその解釈には注意を要する。

現時点では、成人に対する臍帯血移植は、造血幹細胞移植の中の一つの選択肢として捉えられており、同種造血幹細胞移植を考慮しなければならない腫瘍性疾患患者で、適切なドナーがみつからず、適した臍帯血を見出せる場合に治療法として選択する移植医が多い状況と考えられる。さらに、保険診療が承認され急速な移植数の増加により症例数が蓄積されており、その評価は定まりつつある。しかしながら、体重あたりの移植細胞数が少ない成人に対する臍帯血移植では、生着不全の頻度が高い、生着までに時間を要する、移植後の重症感染症による治療関連死が多いといった点も指摘されている。その解決策として、欧米及びわが国で複数臍帯血移植の試みが開始されている(13,14)が未だ検討段階にあり、現在、厚生労働省科学研究費（加藤俊一班長）に基づく前向き臨床試験が計画されている。その他にも、臍帯血移植後の免疫系再構築に関する解析が今後の課題として考えられてお

り、検討すべき点は残されている。

【ハプロタイプ一致ドナー由来造血幹細胞移植（ミスマッチ移植）の現状と課題】

ミスマッチ移植は、通常 HLA 2～3 座不一致の親、子供又は兄弟をドナーとすることができるため、100%に近い確率でドナーを見出すことが可能となる。しかし、非自己を認識する作用が強いため、そのままでは移植片が生着しにくく、拒絶のリスク(15)及び重篤な急性 GVHD 発症のリスクが問題となる(16)。ちなみに、移植前処置として全身放射線照射とシクロスポリン製剤投与を行った初期の臨床試験では、移植片から T 細胞の機能を様々な手法で抑制しても 60～100%が生着不全を起こしている(17)。この拒絶のリスクに関しては、G-CSF 製剤により動員した末梢血幹細胞（peripheral blood stem cell: PBSC）を大量に投与することで回避することが可能となった(18-20)。また、重篤な GVHD 発症を回避する目的では、強い免疫抑制剤の使用や抗 CD52 抗体（Campath-1H）の使用、又は T 細胞を選択的に除去する等の試みがなされている。特に、T 細胞の選択的除去は、重篤な GVHD に対する最強の予防手段であり、これによる臨床研究が進んできている。その中で、1993 年以降、ペルージャ大学（イタリア）の Aversa F らが中心となり、G-CSF により動員した PBSC から T 細胞を除去した大量の幹細胞を急性白血病患者に移植する 2 つのパイロット臨床試験(21,22)を進め、造血幹細胞を高率に生着させ、かつ重篤な GVHD を回避する手法を確立した(23)。

すなわち、最初のパイロット臨床試験(21)の症例及びその後の追加症例を含めた計 36 例の患者に対して、骨髄破壊的前処置後、患者体重 1kg あたり 10.8×10^6 個（以下 /kg と記す）の CD34 陽性細胞と 2.2×10^5 個/kg の CD3 陽性細胞を含むハプロタイプ一致ドナー由来 T 細胞除去造血幹細胞が移植され、高率（92%）に生着することが示された(24)。この時の Grade Ⅱ～Ⅳの急性 GVHD 発症頻度は、移植後に免疫抑制剤を使用せずともわずか 18%であった。以上のパイロット試験の概要を「ペルージャ大学の第 1 回パイロット臨床試験」として表 5 に示す(24)。

表５　ペルージャ大学の第１回パイロット臨床試験（1993-1995）

（Aversa F の論文 24 の Table 1 を転載）

Table 1
The first pilot study (1993–1995)

Conditioning regimen

TBI 8 Gy in single dose at 16 cGy/m
Thiotepa 10 mg/kg
Cyclophosphamide 50 mg/kg × 2
Rabbit ATG 5 mg/kg × 5

	AML	All
Patients	12	24
Median age	26	22
CR ⩾ II	3	14
Relapse	9	10

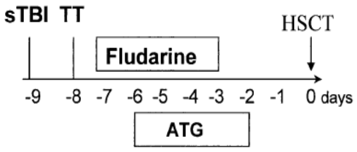
T-cell depletion:	SBA and E-rosette
Graft composition:	BM + PBPC
$CD34^+$	10.8×10^6 kg^{-1}
$CD3^+$	2.2×10^5 kg^{-1}
Results	
Primary engraftment	29 (80%)
Secondary engraftment	4
Overall engraftment	33 (92%)
Acute GvHD II–IV	6/32 (18%)
Chronic GvHD	1/23 (4%)
Disease-free survivors:	
AML	5/12
ALL	1/24

その後、前処置毒性を減らすと同時に免疫抑制効果を高めることを目的として、前処置の内容を変更した次のパイロット臨床試験(22)が実施された。また、この臨床試験では、GVHD の発症を更に低減させるために、移植片に含まれる CD3 陽性細胞レベルを最初のパイロット試験から 1 桁減少させた。すなわち GVHD 発症の閾値として報告された数値〔(<4～<5) ×10^4個/kg〕(25,26)以下に低下させるために、細胞分離装置を用いて調製された高純度の CD34 陽性細胞集団が使用された。計 43 例の患者に、10×10^6個/kg の CD34 陽性細胞と 0.2×10^5個/kg の CD3 陽性細胞を含むハプロタイプ一致ドナー由来 T 細胞除去造血幹細胞を移植した結果、2 次生着を含む最終的な生着率が 100%となり、Grade Ⅱ～Ⅳの急性 GVHD の発症が 0/41 例、慢性 GVHD の発症が 1/37 例とほぼ完全に GVHD の発症も回避できた。そのパイロット試験の概要を「ペルージャ大学の 2 回パイロット臨床試験」として表 6 に示す(24)。

表 6　ペルージャ大学の第 2 回パイロット臨床試験（1995-1997）

（Aversa F の論文 24 の Table 2 を転載）

Table 2
The second pilot study (1995–1997)

Conditioning regimen			T-cell depletion :	E-rosette + CD34 selection (Ceprate)
			Graft composition	
			CD34+	10 × 10^6 kg^{-1}
			CD3+	0.2 × 10^5 kg^{-1}
			Results	
			Primary engraftment	41 (95%)
TBI 8 Gy in single dose at 16 cGy/m			Secondary engraftment	2
Thiotepa 10 mg/kg			Overall engraftment	43 (100%)
Fludarabine 40 mg/sqm × 5			Acute GvHD II–IV	0/41
Rabbit ATG 5 mg/kg × 5			Chronic GvHD	1/37
	AML	All	Disease-free survivors:	
Patients	20	23	AML	4/20
Median age	30	22	ALL	4/23
CR I	3	4		
CR ⩾ II	10	11		
Relapse	7	8		

更に、Aversa F らは、上記のパイロット臨床試験を経て、目標症例 100 例を対象とした「再発高リスク急性白血病患者におけるフルハプロタイプミスマッチ移植による第Ⅱ相臨床試験」(27)を行い、新たな細胞分離装置を用いることによりワンステップで CD34 陽性細胞を選択的に分離した造血幹細胞を大量に移植することで、移植後の免疫抑制剤を使わなくとも、高い生着率と最小限の GVHD 発症率が達成できることを検証している(表 7)。なお、先の第 2 回パイロット臨床試験において、移植後の免疫系再構築を促進する目的で、2 例に

移植3ヵ月後にドナーTリンパ球をAdd-backしているが、Tリンパ球Add-back量が少量(3×10^4個/kg)であったにもかかわらず1例でGrade Ⅳの急性GVHDが発症し、死亡に至っている(22)。したがって、上記第Ⅱ相臨床試験(27)においては、ミスマッチ移植における移植片中に含まれるCD3陽性細胞の閾値として、3×10^4個/kgが採用されており、これが以降のT細胞除去ミスマッチ移植における目指すべき閾値と考えられている。

以上、2つのパイロット臨床試験及び上記第Ⅱ相臨床試験の全ての解析において、ミスマッチ移植における生着率とGVHD発症の課題は克服されたが、非血液疾患死亡率〔全183例において、移植時完全寛解(CR)例では47%、再発例では62%にのぼり、それら死亡例の70%が感染症による〕、及び白血病再発率〔全183例において、移植時にCR 1の急性骨髄性白血病(acute myelogenous leukemia: AML)又は急性リンパ性白血病(acute lymphoblastic leukemia: ALL)患者では19%又は22%、CR 2以上では36%又は56%、再発例では49%又は90%〕は依然として高く、この観点でのより有効な治療戦略の開発が必須となっている(23)。

表7　再発高リスク急性白血病患者におけるフルハプロタイプ
ミスマッチ移植による第Ⅱ相臨床試験 (27)

患者及び方法	概要
対象患者	AML：67例(CR 1: 19、CR 2: 14、CR>2: 9、再発：25) ALL：37例(CR 1: 14、CR 2: 8、CR>2: 2、再発：13)
前処置	全身照射 ＋ Thiotepa ＋ Fludarabine ＋ ATG
アフェレーシス	末梢血造血幹細胞はG-CSF製剤により動員して採取
CD34陽性細胞分離装置	CliniMACS使用例: 88例(回収率中央値：79%、純度：90%) Isolex使用例　: 16例(回収率中央値：71%、純度：95%)
移植後のGVHD予防	免疫抑制剤は使用せず
結果	**概要**
移植細胞数	CD34陽性細胞数中央値: 13.8×10^6個/kg〔(5.1～29.7)×10^6個/kg〕 CD3陽性 細胞数中央値: 1×10^4個/kg〔(0.04～3.0)×10^4個/kg〕
生着率	Overall: 100/101 (Primary: 94/101、Secondary: 6/7)
GVHD発症率	急性GVHD: 8/100、慢性GVHD: 5/70
非血液疾患死亡率	38/104例(CMV感染死: 14例、Aspergillus感染死: 4例)
再発率(2年後)	移植時CR例: 9/66 (AML: 7/42、ALL: 2/24) 移植時再発例：17/38 (AML: 10/25、ALL: 7/13)
無病生存率(中央値22ヵ月)	AML患者42例: 48% 、ALL患者24例: 46%

【本邦におけるミスマッチ移植の現状と課題】

近年行われた日本国内の調査によると、HLA 1 座不一致血縁者間移植は特殊な GVHD 予防を実施しなくても移植が可能であったが、2 座以上の不一致を伴う移植においては通常の GVHD 予防のみを行った場合には生存率が大きく低下した（図 4）(28)。

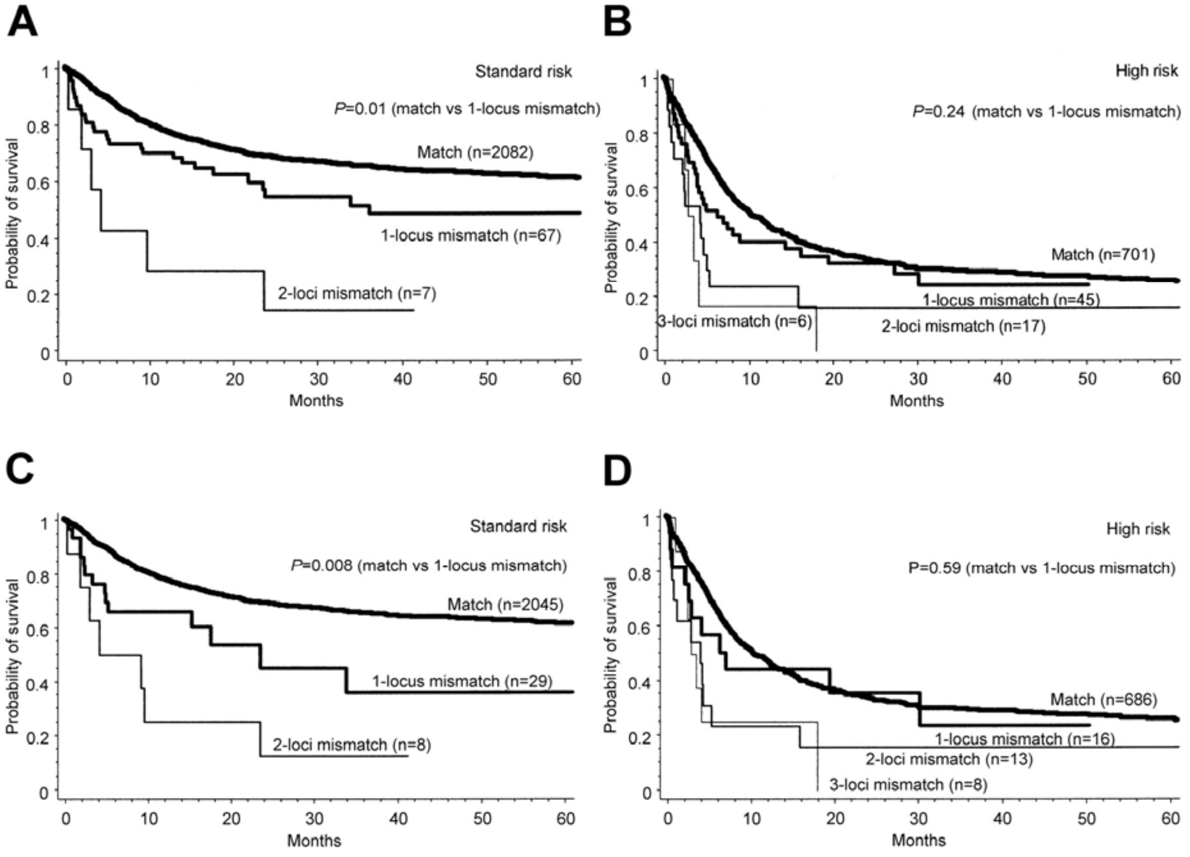


図 4　血縁者間移植の HLA 不一致度と全生存率 (28)

移植後の全生存率を血清レベルでの不一致度（A-B）及び DNA レベルでの不一致度（C-D）、並びに病期（A、C：スタンダードリスク、B、D：ハイリスク）に従い分類した。HLA 一致と HLA 1 座不一致群間での P 値を示した。

HLA 2 座以上の不一致血縁者間移植を成功させるために様々な試みが行われているが、日本国内では、体外での T 細胞除去又は CD34 陽性細胞純化を用いたミスマッチ移植、母子間免疫寛容の仮説に基づいたミスマッチ移植、強力な GVHD 予防法を用いたミスマッチ移植、及びアレムツズマブ（CAMPATH-1H）を用いた in vivo での T 細胞除去によるミスマッチ移植の応用・研究が進んでいる。

①体外でのT細胞除去又はCD34陽性細胞純化を用いたミスマッチ移植

本邦では、Yamasaki Sらが、1996〜2002年に20の施設において、HLA 2〜3座不一致血縁ドナー由来PBSC移植を受けた50例の高リスク造血器悪性腫瘍患者の臨床成績をレトロスペクティブに解析した結果を報告している(29)。これによると、18例はPBSCをそのまま移植されており、残りの32例はCD34陽性細胞を分離して移植されている（表8)。また、骨髄破壊的前処置例が31例であるのに対して、骨髄非破壊的前処置が19例に施された（表9)。解析の結果、移植後28日以上生存した39例の内、好中球生着に至った症例は37例(95%)であり、生着しなかった例は39例中2例（5%）及び生着後に拒絶された例は37例中3例（8%）であった（表10)。CD34陽性細胞を分離して移植した症例では、Grade Ⅱ〜Ⅳの急性GVHDの発症が、PBSC投与症例に比し、有意に低かった（表10)。一方、移植後1年までに28例（56%）が移植関連合併症による死亡に至り、その中では感染症によるものが30%と主要因であった（表11)。以上から、本邦においても、ハプロタイプ一致ドナー由来造血幹細胞移植の治療法を確立する上で、特に感染症を含む治療関連死の回避が重要課題であることが示されている。

表8　患者及びドナー背景と造血幹細胞移植の実態

(Yamasaki Sらの論文29のTable 1を改変)

(n=50)	細胞分離無し (n=18)	CD34陽性細胞分離 (n=32) CliniMACS (n=17)	Isolex (n=15)
Relationship of donor to patient			
Father/mother	1/7	2/2	3/2
Sibling	5	9	9
Son/daughter	0/5	3/1	0/0
Aunt	0	0	1
Disease at transplant			
AML	2	9	6
ALL	1	2	3
MDS	4	0	2
CML	4	3	1
NHL	6	2	3
MM	1	1	0
Prior autologous PBSCT/allogeneic HSCT	3/4	2/3	5/0
Median graft size (range)			
Nucleated cell dose ($\times 10^7$/kg)	78.2 (11.3-324.0)	0.71 (0.36-1.4)	0.38 (0.19-0.56)
CD34+ cell dose ($\times 10^6$/kg)	4.2 (1.5-9.5)	6.8 (2.9-13.5)	4.4 (0.67-9.8)
CD3+ cell dose (/kg)	2.7×10^8 (1.3-5.4)	2.8×10^4 (0.30-5.0)	4.9×10^4 (1.7-24.7)
Median follow-up (range) (months)	2.5(0.10-15.4)	3.8(0.20-16.8)	2.7(0.30-35.5)

表 9　前処置の詳細（Yamasaki S らの論文 29 の Table 2 を転載）

Table 2　Treatment characteristics

	Manipulation		
	No. (n = 18)	*CD34+ cell selection (n = 32)*	
		CliniMACS (n = 17)	*Isolex (n = 15)*
Conventional conditioning regimen	7 (39%)[a]	9 (53%)	15 (100%)
TBI + CY + others[b]/TBI + melphalan	3/0	8/1	14/0
BU + CY + others[c]	4	0	1
ATG-containing	1 (6%)	0	7 (47%)
GVHD prophylaxis			
CYA + MTX/CYA + prednisolone/CYA	1/0/0	5/0/1	7/2/2
FK506 + MTX/FK506	6/0	3/0	0/4
Reduced-intensity conditioning regimen	11 (61%)	8 (47%)	0
TBI + CY/TBI + Flu + BU/TBI + Flu + ATG + others[d]/TBI + BU + ATG	1/0/0/0	0/2/4/1	0/0/0/0
Flu + others[e]	10	1	0
ATG-containing	6 (33%)	5 (29%)	0
GVHD prophylaxis			
CYA + MTX/CYA + prednisolone/CYA + MMF/CYA	1/1/0/1	0/0/3/2	0/0/0/0
FK506 + MTX/FK506 + prednisolone + MMF/FK506 + prednisolone/FK506	6/1/1/0	0/0/0/1	0/0/0/0
Prednisolone/none	0/0	1/1	0/0
G-CSF after transplant	12 (67%)	16 (94%)	14 (93%)

[a]Number of patients (%) unless indicated otherwise.
[b]Others = ATG, BU, Ara-C, thiotepa or VP-16.
[c]Others = ATG, Ara-C, Flu or melphalan.
[d]Others = BU, CY or thiotepa.
[e]Others = BU, CY, Ara-C, idarubicin or melphalan.
ATG, antithymocyte globulin; Flu, fludarabine; MMF, mycophenolate mofetil.

表 10　生着、GVHD 及び治療関連毒性（Yamasaki S らの論文 29 の Table 3 を転載）

Table 3　Engraftment, GVHD and regimen-related toxicity

	Manipulation		
	No. (n = 18)	*CD34+ cell selection (n = 32)*	
		CliniMACS (n = 17)	*Isolex (n = 15)*
Median time of engraftment (range) (days)			
Neutrophil	14 (10–27)	14 (9–20)	12 (9–20)
Platelet	18.5 (0–46)	14 (9–23)	16 (12–37)
Graft failure/rejection	0[a]/0	1/3	1/0
Acute GVHD[b]			
0/I	3/2	9/3	5/4
II/III/IV	1/6/2	2/0/1	2/2/1
Median onset (range) (days) of ⩾II acute GVHD	14 (6–77)	26.5 (3–50)	12.5 (5–32)
Chronic GVHD[c] *(onset, days)*			
None/limited/extensive	7/1 (105)/0	9/0/1 (112)	6/1 (101)/0
RRT[d] II/III/IV	2/2/2	1/1/2	2/6/1
VOD/TMA	2/5	1/1	0/2

[a]Number of patients unless indicated otherwise.
[b]A total of 43 patients who developed acute GVHD within 28 days or who survived ⩾28 days after transplant were evaluated for acute GVHD.
[c]A total of 25 patients who engrafted and survived ⩾100 days after transplant were evaluated for chronic GVHD.
[d]Maximum early RRT was graded according to the criteria documented by Bearman *et al.*RRT, regimen-related toxicity; VOD, veno-occlusive disease; TMA, thrombotic microangiopathy; ⩾II acute GVHD, grades II–IV acute GVHD.

表 11　移植 1 年後までの死亡例の原因（Yamasaki S らの論文 29 の Table 5 を転載）

Table 5　Causes of death before 1 year post transplant

	Manipulation	
	No. (n=18)	*CD34+ cell selection (n=32)*
Relapse/progressive disease	2 (11%)	9 (28%)
Treatment-related problem	11 (61%)	17 (53%)
Infectious complication	5 (28%)	10 (31%)
Organ toxicity[a]	5 (28%)	5 (16%)
Acute GVHD+infectious complication	1 (5%)	2 (6%)

[a]Organ toxicity=pulmonary hemorrhage (*n*=2), VOD (*n*=2), TMA (n=2), interstitial pneumonia (*n*=2), intracerebral hemorrhage (*n*=1) and asphyxia due to oral hematoma (*n*=1).

②母子間免疫寛容の仮説に基づいたミスマッチ移植

両親から子へは 1 組の HLA ハプロタイプが受け継がれる。受け継がれなかった HLA ハプロタイプのうち、母親の HLA ハプロタイプ由来の非遺伝母親由来 HLA 抗原（NIMA）に対して、免疫学的寛容が成立していることが提唱されている(30)。

本邦では、ドナー末梢血における母子間マイクロキメリズムの存在を免疫寛容の指標として、進行期の造血器腫瘍を対象に HLA 不一致血縁者から T 細胞除去を行わずに移植を行い、このようなドナー選択を行うことにより急性 GVHD の重症化を起こすことなく移植が可能であることが示された(31)。その後、2001 年から 2004 年まで厚生労働省の研究班で実施された調査研究では、NIMA の不一致例（NIMA 不一致同胞間での移植及び子供から母親に対して実施される移植）では、父親由来 HLA 抗原（IPA）の不一致例（母親から子供への移植）と比較して、GradeⅢ以上の急性 GVHD の発症頻度が低い結果が報告されている(図 5)(32)。

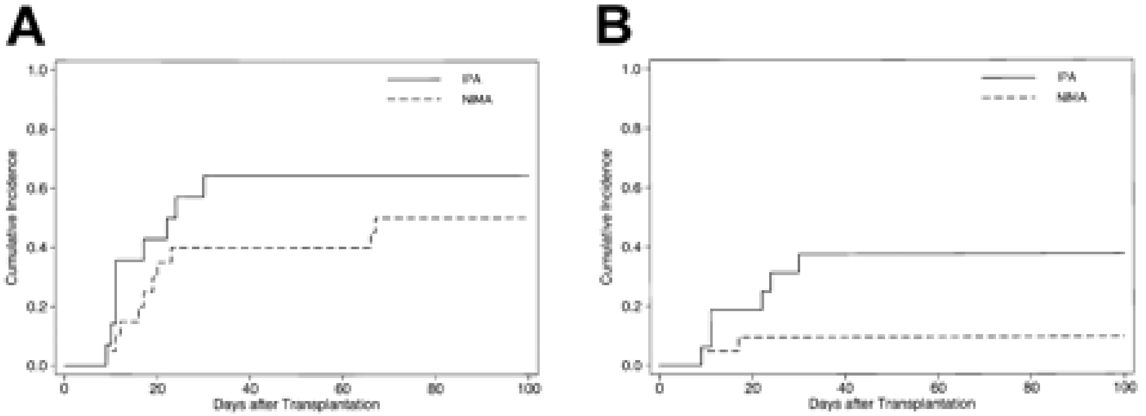


図５　T 細胞非除去 NIMA 相補的造血幹細胞移植を受けた患者における
急性 GVHD の累積発生率（32）

NIMA 相補的造血幹細胞移植を受けた評価可能 34 症例中の、GVH 標的に従った GradeⅡ-Ⅳ（A）及びⅢ-Ⅳ（B）の急性 GVHD の累積発生率。実線が母から子への移植（GVH 標的；IPA）を示し、点線が子又は NIMA 不一致同胞からの移植（GVH 標的；NIMA）を示す。

③強力な GVHD 予防法を用いたミスマッチ移植

HLA 一致移植で用いられるメトトレキサート（MTX）とシクロスポリン（CYA）の組み合わせによる GVHD 予防のみでは、HLA 不一致移植の際の GVHD を抑制することは困難である。しかし、タクロリムス（FK506）、ミコフェノール酸モフェチル（MMF）などの免疫抑制剤が使用できるようになり、現在では強力な GVHD 予防が可能になってきている。

FK506、MTX、メチルプレドニゾロン（mPSL）の 3 剤、又は MMF を加えた 4 剤による GVHD 予防により、HLA 2、3 座不一致血縁ドナーからの T 細胞非除去移植が試みられ、無病長期生存が得られる症例がみられている(33､34)。

GVHD を強力に予防することで HLA のバリアを越えることは可能であることが示されたが、慢性 GVHD、血栓性微小血管障害（TMA）、ウイルス感染症などの移植関連合併症の頻度が高いのが問題である。

④アレムツズマブ（Campath-1H）を用いた in vivo での T 細胞除去によるミスマッチ移植

Campath-1H はリンパ球などの細胞表面に存在する CD52 に対するモノクローナル抗体である。移植前に投与してホストのリンパ球を抑制することによって拒絶を予防し、移植後も 2～3 週間という長い体内半減期を有することからドナーのリンパ球を抑制して GVHD 発症を抑制する効果を有することが知られている。

東京大学で行われた HLA 不一致移植の臨床試験では、HLA 2 座不一致の 5 名、3 座不一致の 7 名の合計 12 名のハイリスク又は進行期の造血器腫瘍患者に移植が行われた(35)。全例にドナー細胞の生着が得られ、好中球回復（> 500/mm^3）、血小板回復（> 20,000/mm^3）までの期間の中央値はそれぞれ 17.5 日（12～29 日）と 16 日（12～27 日）であった。GradeⅢ

以上の GVHD は 1 名だけに認められ、移植合併症による死亡は GVHD による 1 名（移植後 66 日）と、間質性肺炎による 1 名（197 日）であった。症例数と評価期間は少ないものの、拒絶や GVHD は抑制され、新たな HLA 2 座以上不一致の血縁者間移植と成り得ることが示唆された。

一方、Campath-1H 投与に関連する心毒性の報告がなされており、移植前処置に Campath-1H を使用することが同様に心毒性出現のリスクを高めることが報告されている(36)。

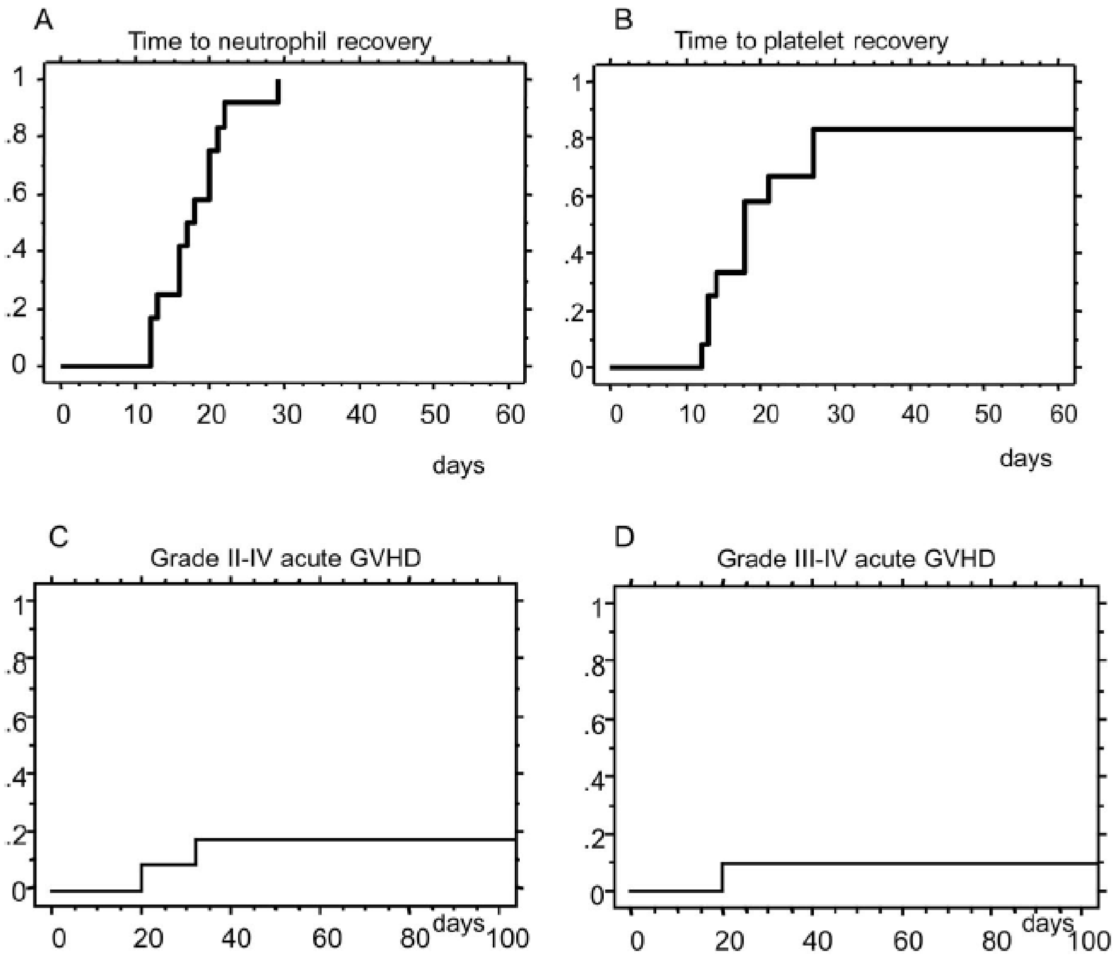


図 6　Campath-1H を使用した HLA 不一致移植の結果(35)

移植後の好中球（A）及び血小板（B）回復までの日数、並びに GradeⅡ-Ⅳ（C）及びⅢ-Ⅳ（D）の累積発生率を示す。

【T 細胞除去ミスマッチ移植における課題に対する対策】

ミスマッチ移植は、HLA 適合血縁ドナーが見つからない場合において、骨髄バンクを介した非血縁ドナーとの調整にかかる手間や時間及び臍帯血移植における種々の問題を回避する有望な移植法である。これまでに、種々の検討がなされ、治療成績の向上が報告されて

きているものの、未だ確立された治療法とは言い難い状況である。

ミスマッチ移植における、造血幹細胞の生着、拒絶阻止及び重篤な GVHD 発症回避という課題の解決策の一つとして、G-CSF により動員した末梢血幹細胞の大量移植と T 細胞の選択的除去を用いての実施が検討されてきた。しかしながら、特に再発高リスク患者においては、移植後の感染症を主要因とする移植関連死や造血器悪性腫瘍の再発が、依然、大きな課題として残されており、この解決なくしては確立した移植法になり得ない。すなわち、ドナー由来の T 細胞は造血幹細胞の生着及び宿主免疫再構築を促進しており、これにより移植患者から日和見感染を予防するとともに、GVM 効果による再発防止に寄与している。したがって、T 細胞除去ミスマッチ移植では、移植後早期に免疫系を再構築する手立てが必須である。

モルメド社*5（イタリア）は、自殺遺伝子である HSV-TK 遺伝子及び表面マーカーとしての ΔLNGFR 遺伝子をレトロウイルスベクターにより導入したドナーT リンパ球を調製し、これを T 細胞除去ミスマッチ移植後に追加輸注（Add-back）することで、早期に免疫系を再構築する臨床試験を実施している。これは、ドナーT リンパ球をそのまま Add-back した場合、重篤な急性 GVHD を発症するケースがあり（上記 Aversa F らの論文 22 に記載されている 1 例）、そのリスクを回避する為に Add-back 量をどうしても下げざるを得ず、その結果免疫系再構築への寄与が低下する。一方、抗 LNGFR 抗体で高度に純化した HSV-TK 遺伝子導入 T リンパ球を用いた場合、重篤な GVHD 発症時に GCV 製剤投与により当該細胞を抹消して沈静化する機能が付与され、これらが安全装置となる。すなわち、HSV-TK 遺伝子導入 T リンパ球を大量に Add-back することにより早期に免疫系を再構築でき、感染症を含む治療関連死の発生率低下や GVM 効果による疾患再発阻止が期待できる。したがって、この手法により、高リスク造血器悪性腫瘍患者に対して、T 細胞除去ミスマッチ移植をより安全かつ有効なものとすることが可能と考えられる。

【モルメド社の臨床試験概要】

造血幹細胞移植後の付加的治療（add-back 療法）として用いられる HSV-TK 遺伝子導入ドナーT リンパ球に対して、モルメド社は 2003 年に欧州医薬品審査庁（European Medicines Agency: EMEA）からオーファンドラッグの指定を受けており、現在、高リスク造血器悪性腫瘍患者を対象とした「ハプロタイプ一致ドナー由来 T 細胞除去造血幹細胞移植後の HSV-TK 遺伝子導入 T リンパ球 Add-back 療法」による第Ⅰ/Ⅱ相臨床試験（TK007）を欧州 4 施設において実施している。2005 年 12 月に開催された第 47 回米国血液学会における発表では、登録患者 29 例の内 17 例に遺伝子導入 T リンパ球（1×10^7 個/kg オーダー）が Add-back され、その 14 例（82%）に免疫系再構築を確認している。また、14 例中 6 例（43%）に Add-back 後の急性 GVHD が発症したが、その内の 5 例に GCV 製剤が投与され、いずれも GVHD 症状が完全に沈静化している。したがって、導入した HSV-TK 遺伝子は、意図したとおり、自殺機能をヒト体内で発揮していることが確認されている。また、登録症例は高リスク造血器悪性腫瘍患者にもかかわらず、Add-back を受けた 17 例中 7 例に再発が認められたに過ぎない。更に、免疫系再構築に至った 14 例では、その後の感染症エピソード及び治療関連死が有意に少なくなっており（免疫系再構築前が 87%に対して 13%）、特にサイトメガロウイルス（cytomegalovirus: CMV）感染による死亡例は、評価対象 16 例中わずか 1 例（6%）に留まり、Perruccio K らが発表したハプロタイプ一致 T 細胞除去造血幹細胞移植のみを実施したコントロール症例 33 例中の 9 例（27%）(37)に比し、有意に低下していると報告している。途中経過としての全体生存率は、移植後 800 日時点で 46%に上り、European group for Blood and Marrow Transplantation（EBMT）が集計したハプロタイプ一致ドナー由来 T 細胞除去造血幹細胞移植のみの場合に比し、有意に高い推移を示している（図 7）。

その後、臨床プロトコールの改訂により目標症例数が 30 症例に増加されており、2008 年 3 月時点で進行中である。2008 年 3 月～4 月に行なわれた欧州骨髄移植学会での発表及びモルメド社から入手した情報によると、2007 年 9 月時点で、51 例の症例登録が完了している。そのうち 27 例に遺伝子導入ドナーT リンパ球が Add-back され、22 例で免疫系再構築が達成された。

以上より、HSV-TK 遺伝子導入ドナーT リンパ球の Add-back が、早期免疫系再構築を促進し、移植後の感染死を含む治療関連死を予防し、全体としての生存率を上げることが確認された。すなわち、HSV-TK 遺伝子導入ドナーT リンパ球を大量に Add-back する手法は非常に有用で、T 細胞除去ミスマッチ移植を安全かつ有効に行える可能性が示唆されている。

【タカラバイオ株式会社の治験概要（予定）】

モルメド社から輸入した本臨床研究と同一のレトロウイルスベクターを用いた治験が、タカラバイオ（株）により計画されている。この治験では、同種造血幹細胞移植後に再発をきたした造血器悪性腫瘍患者を対象として、遺伝子導入 T リンパ球がドナーリンパ球輸注療法において投与される。タカラバイオ（株）は第 I 相試験を国立がんセンター中央病

院で平成20年度に開始する予定である。

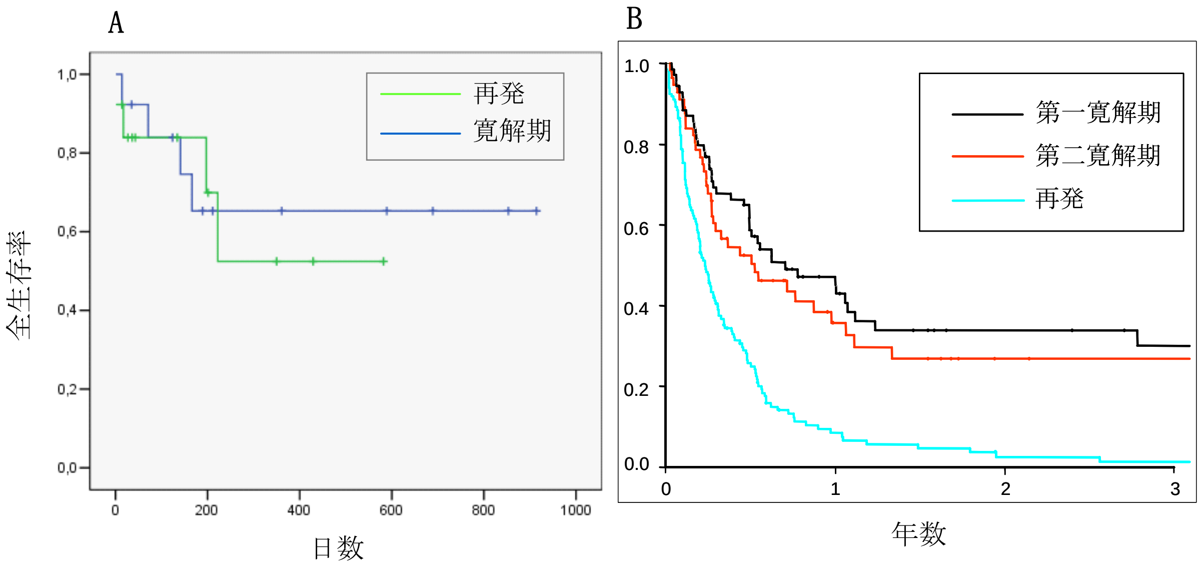


図7　ハプロタイプ一致Tリンパ球除去造血幹細胞移植の全生存率

(モルメド社より入手)

AがTK007（HSV-TK遺伝子導入Tリンパ球をAdd-back）の結果、BがEBMT（Add-back無し）の結果を示す。グラフの凡例は、移植時の患者の状態を示す。

【本遺伝子治療臨床研究の全体フロー】

以上の状況を踏まえ、国立がんセンター中央病院において、モルメド社が実施した臨床試験（TK007）と同様のプロトコールによる遺伝子治療臨床研究を実施計画することとした（添付資料　表7参照)。対象患者は高リスク造血器悪性腫瘍患者であり、移植前の前処置、ハプロタイプ一致ドナー由来造血幹細胞からのCD34陽性細胞の分離装置、HSV-TK遺伝子及びΔLNGFR 遺伝子を含む遺伝子導入用レトロウイルスベクター、遺伝子導入細胞の調製法、及びAdd-backする際の細胞数は、モルメド社のTK007の場合と同様とする計画である。主要評価項目及び副次的評価項目に含まれる項目はほぼ同様であるが、安全性については今回の臨床研究では主要評価項目であるのに対し、モルメド社の臨床第Ⅰ/Ⅱ相試験では副次的評価項目である。これに関連して、本臨床研究では治療効果を期待しつつ安全性の評価を行うことを目的とするために、IL-2 を併用することなく、短期間により多くの遺伝子導入リンパ球をAdd-backする用法・用量とした。その他、適格性確認の時点、再発時の対応等に相違があるが、評価に大きな影響を及ぼすものではなく計画全体としてはほぼ同様であると考えられる。

本遺伝子治療臨床研究を実施するにあたっては、国立がんセンター中央病院内に設置された無菌細胞調整施設（CPR）にて、タカラバイオ(株)からの技術提供と助言を受け、モル

メド社から輸入したレトロウイルスベクターを用いて HSV-TK 遺伝子導入細胞を GMP 基準に準拠して調製し、品質試験を行う（図 8）。また、ハプロタイプ一致ドナーからの造血幹細胞の G-CSF 製剤による動員（mobilization）後のアフェレーシス*6 及び同一ドナーからの遺伝子導入用リンパ球アフェレーシスは、国立がんセンター中央病院で行われる計画である（図 8）。

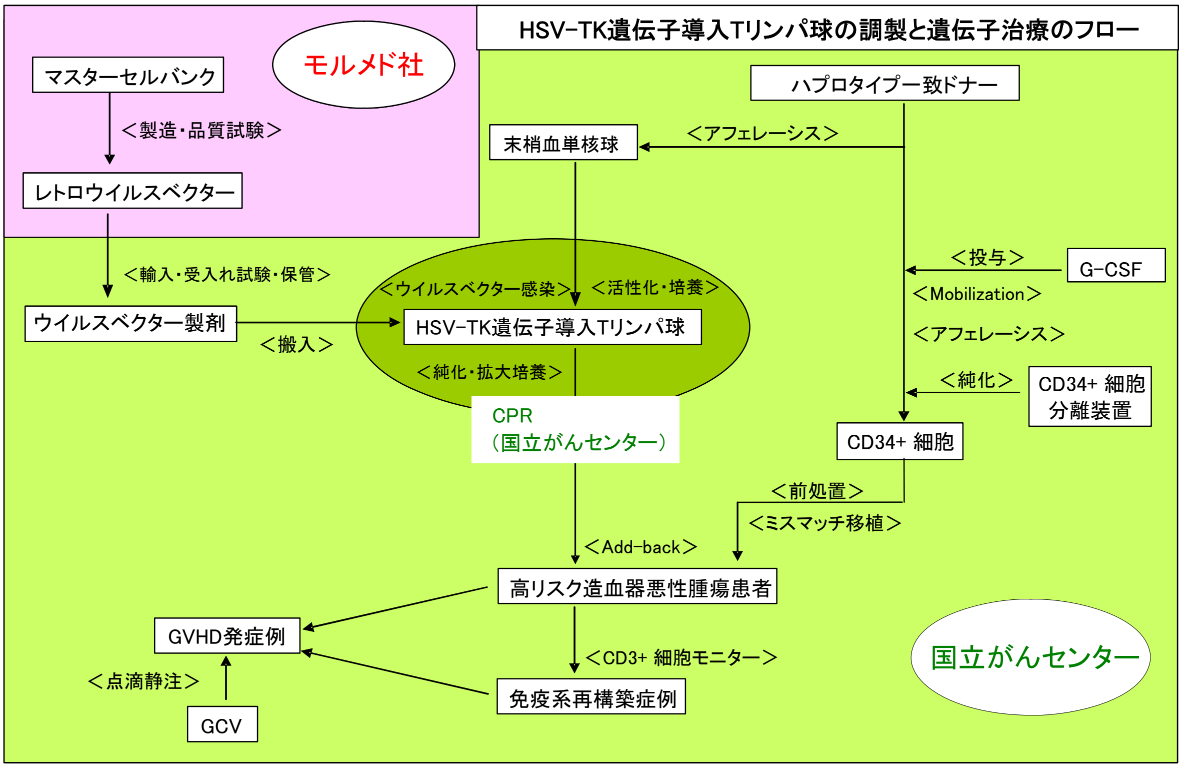


図 8　HSV-TK 遺伝子導入 T リンパ球の調製と遺伝子治療のフロー

Ⅴ.1.2 当該遺伝子治療臨床研究の概要

当該遺伝子治療臨床研究は、以下の選択基準に合致した患者を対象とし、前出図1に示した全体計画フロー（プロトコール概要）に基づいて行われる。

＜患者仮登録時選択基準の概要＞

1）予後不良の高リスク造血器悪性腫瘍患者（詳細は別途規定）
2）HLA 適合又は HLA 1座不一致の適切なドナーがいない
3）末梢血幹細胞提供可能な HLA 2〜3 座不一致の血縁ドナーがいる
4）年齢が 20 歳以上 60 歳以下
5）ECOG の Performance Status が 0 又は 1
6）主要臓器の機能が保たれている（詳細は別途規定）
7）ドナー及び患者の両者から文書での同意が得られている

【HSV-TK 遺伝子導入 T リンパ球の調製】

遺伝子導入に使用するレトロウイルスベクターSFCMM-3 は、モルメド社で GMP 基準に則って作製され、品質規格に適合したものを輸入して受け入れ、国立がんセンター中央病院内の CPR に搬入する。なお、当該レトロウイルスベクターは、モルメド社が実施中の治験（TK007）及び本邦における筑波大学付属病院での遺伝子治療臨床研究で使用されているものと同じベクター*7 である。

国立がんセンター中央病院内において、T 細胞除去ミスマッチ移植ドナーと同一のドナーに由来する PBMC をアフェレーシスにより採取する。IL-2 存在下で抗 CD3 抗体により PBMC を刺激して活性化し、当該レトロウイルスベクターにより HSV-TK 遺伝子及びΔLNGFR 遺伝子を ex vivo 遠心法により導入する。その後、抗 LNGFR 抗体と二次抗体結合磁気ビーズ及び細胞分離装置による純化、IL-2 存在下での拡大培養を経て HSV-TK 遺伝子導入 T リンパ球 Add-back 液を調製する。当該 Add-back 液の品質試験項目は次頁のとおりであり、HSV-TK 遺伝子導入 T リンパ球の＜品質試験項目-1＞に合格したことを確認した後に用いる。また、HSV-TK 遺伝子導入 T リンパ球の＜品質試験項目-2＞は Add-back 後に試験を開始するが、試験に日数を要するために結果の判明が Add-back 後になる場合がある。万一、Add-back 後に不合格であることが判明した項目があればその時点で臨床研究を中止して適切な措置を講ずることとする。つまり、化学療法や移植幹細胞ソースの再検索といった臨床現場において現時点で HLA 適合又は HLA 一座不一致の血縁ドナーが見当たらない高リスク造血器悪性腫瘍患者に行われている治療法の中で、患者の状態に応じ総括責任者（又は治療にあたる分担研究者）が最も適切と考える治療法を行う。なお、ドナーアフェレーシスに際しては、担当医師からドナーへのじゅうぶんなインフォームドコンセントを行い、文書による同意を取得する。

＜HSV-TK 遺伝子導入 T リンパ球の品質試験項目-1＞

- 細胞生存率
- エンドトキシン試験（日本薬局方）
- ΔLNGFR 発現試験
- 増殖性レトロウイルス（replication competent retrovirus: RCR）*8 試験（RT-PCR 法）
- マイコプラズマ否定試験（PCR 法）

＜HSV-TK 遺伝子導入 T リンパ球の品質試験項目-2＞

- 無菌試験（日本薬局方）
- RCR 試験（増幅法）
- マイコプラズマ否定試験（日本薬局方、培養法）
- GCV 感受性試験
- IL-2 依存的増殖試験

【T 細胞除去ミスマッチ移植】

ハプロタイプ一致ドナーからの末梢血幹細胞は、G-CSF 製剤投与により動員し、10 L 規模で 2～3 回アフェレーシスをすることにより採取する。その後、CD34 陽性細胞分離装置（ミルテニーバイオテク社製 CliniMACS 又は同等のもの）を用いて CD34 陽性細胞を分取し、4 $\times 10^6$ 個/kg を最少量として患者に移植する。その際、CD3 陽性細胞の混入量についても確認する。

T 細胞除去ミスマッチ移植時の前処置は、モルメド社の治験（TK007）と同様の内容で実施する計画である（図 9）。また、移植後の GVHD 予防に対する処置は行わないものとし、感染時には速やかに抗ウイルス剤や抗菌剤を処方することとする。なお、アシクロビル（aciclovir: ACV）製剤及び GCV 製剤は、後に Add-back する HSV-TK 遺伝子導入 T リンパ球の自殺機能を惹起することから、本臨床研究で感染予防・治療には使用しないこととする。もし、CMV 感染が問題となった場合には、ホスカルネットナトリウム製剤を使用する予定である。

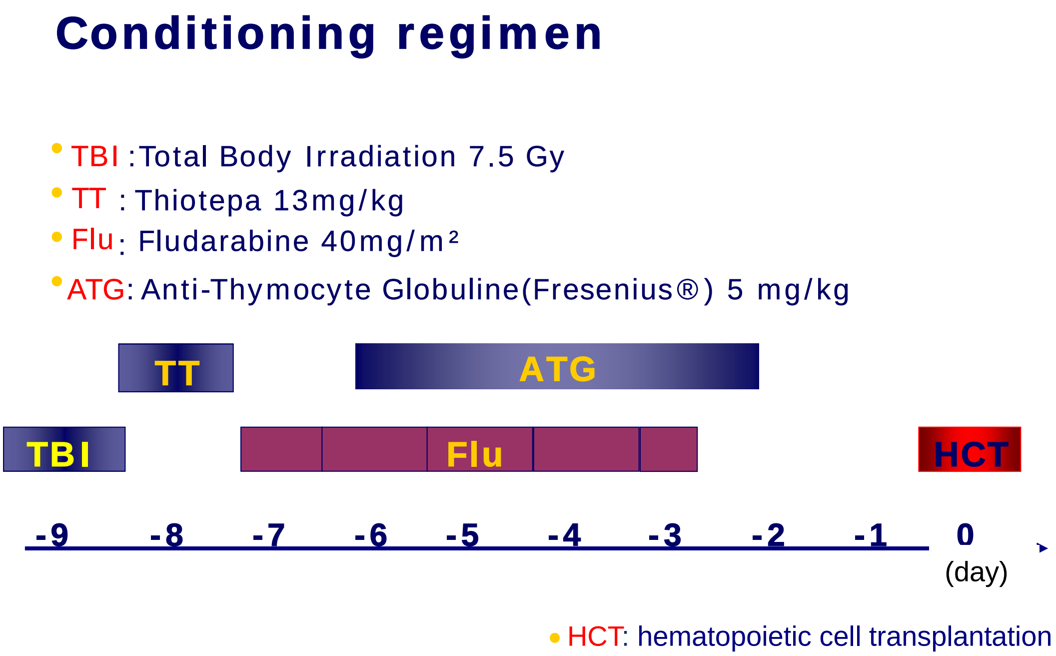


図 9　T 細胞除去ミスマッチ移植における前処置

【HSV-TK 遺伝子導入 T リンパ球 Add-back 及びフォローアップ】

自発的な免疫系再構築の開始が確認されない場合には、T 細胞除去ミスマッチ移植後の造血幹細胞の生着が見込まれる移植後 42 日目に、上記により調製した HSV-TK 遺伝子導入 T リンパ球 1×10^{6} 個/kg を追加輸注（Add-back）する。その後、免疫系再構築が認められず、かつ Grade Ⅱ以上の治療を必要とする GVHD を発症しない場合は、移植後 72 日目の時点に、1×10^{7} 個/kg の HSV-TK 遺伝子導入 T リンパ球を再度 Add-back する。更に、その後、免疫系再構築が認められず、かつ Grade Ⅱ以上の治療を必要とする GVHD を発症しない場合は、移植後 102 日目の時点で 1×10^{7} 個/kg を Add-back する。最終の Add-back 実施の 6 ヵ月後に本臨床研究のフォローアップを終了する。Grade Ⅱ～Ⅳの GVHD の発症が認められた場合には、通常の CMV 感染症治療に用いられる用法・用量に従って GCV 製剤を投与し、末梢血中の HSV-TK 遺伝子導入 T リンパ球をモニターすると共に GVHD 症状の沈静化能を評価する。この場合、患者の状態によっては、それまでの Add-back の回数が 1 回または 2 回の場合、医師の判断により、GCV 製剤投与後に 1 回のみ HSV-TK 遺伝子導入 T リンパ球（1×10^{6} 個/kg）の Add-back を許すものとする。

フォローアップ期間における臨床モニタリング実施項目は、表 12 に示すとおりである。

表 12　臨床モニタリング実施項目

評価事項	モニタリング実施項目
治療全体の安全性	血液学的検査、血液生化学検査、免疫学的検査、感染症検査、尿定性検査、有害事象
遺伝子治療安全性	RCR、LAM (linear amplification-mediated)-PCR (polymerase chain reaction)
移植生着	骨髄像、キメリズム
免疫系再構築	リンパ球免疫表現型 (CD3+、CD4+、CD8+等)
血中動態	フローサイトメトリー解析、PCR
GVHD 発症に対する GCV 製剤による鎮静効果	GVHD 症状、血中動態、免疫組織染色
副次的エンドポイント	再発までの時間、死亡に至るまでの時間、感染症の種類・発症件数・発症時期

V.1.3 他の治療法との比較及び遺伝子治療を選択した理由

本遺伝子治療の対象患者は、HLA 適合又は HLA 1 座不一致の血縁ドナーが見当たらない高リスク造血器悪性腫瘍患者である。この患者においては、移植治療は必須かつ急務であり、ミスマッチ移植および臍帯血移植が候補として考えられる。

① ミスマッチ移植

以下に、ミスマッチ移植の課題の解決策を段階的に、他の治療手段との比較をしながら示す。

【ミスマッチ移植 vs T 細胞除去ミスマッチ移植】

ミスマッチ移植における T 細胞除去の利点は、上述のとおり〔V.1.1「対象疾患に関する現時点での知見」【ハプロタイプ一致ドナー由来造血幹細胞移植（ミスマッチ移植）の現状と課題】の項参照〕、重篤な GVHD 予防に最も有効な手段であり、近年の細胞分離装置の進歩により混入する CD3 陽性細胞の少ない高純度の CD34 陽性細胞が得られるようになったため、移植後の重篤な GVHD 発症をほぼ完全に回避できるまでになっている。ただし、その反面、移植後の免疫抑制状態が感染症を引き起こすリスクを高めており、また再発などの問題も指摘されているため、早期の免疫系再構築、及び GVM 効果が課題となる。

【T 細胞除去ミスマッチ移植 vs T 細胞除去ミスマッチ移植＋T リンパ球 Add-back】

前項に記載のとおり、T 細胞除去ミスマッチ移植においては、移植後の早期免疫系再構築が、重篤な感染症等による移植関連死を防御する上で最大の課題であり、T 細胞除去ミスマッチ移植時と同じドナーに由来する T リンパ球の Add-back は、理論的に有効な手段と考えられる。しかし、Aversa F らの報告(22)にあるとおり、少量の T リンパ球の Add-back でも致死的な GVHD を発症した例があり、この点での改善が必須である。

【T リンパ球 Add-back vs HSV-TK 遺伝子導入 T リンパ球 Add-back】

本遺伝子治療では、T 細胞除去ミスマッチ移植後の早期に免疫系を再構築するために、同一ドナー由来の HSV-TK 遺伝子導入 T リンパ球を Add-back する計画である。これは、前項に示したとおり、Add-back した T リンパ球が直接要因となる致死的 GVHD 発症に対する対策として、安全装置である自殺機能を当該 T リンパ球に付与するという考えに基づく。GVHD 発症に対する治療手段としては、シクロスポリン製剤又はタクロリムス製剤といった免疫抑制剤や副腎皮質ステロイド製剤の併用が考えられるが、移植後の Grade Ⅱ以上の急性 GVHD に対して標準的なステロイド治療を含む種々の治療法を行っても、部分反応（PR）以上の効果が認められる確率は 50%に至っていない(38,39)。また、いずれも非特異的に免疫系を抑制することから、急速に易感染性を高め、重度の感染症頻度が

顕著に増加するリスクを伴う。一方、本遺伝子治療では、GCV 製剤投与により HSV-TK 遺伝子導入 T リンパ球のみを選択的に抹消でき、理論的には移植した造血幹細胞由来の免疫系には影響を与えずに GVHD を選択的に沈静化できる可能性が期待される。実際、HSV-TK 遺伝子導入 T リンパ球を移入した後に GCV 製剤が投与された臨床試験例では、ほぼ全例で自殺機能が確認され、GVHD 沈静化に至っている。また、遺伝子治療に関連する有害事象報告は皆無である(40-42)。

② 臍帯血移植

臍帯血移植については、上述したとおり(「V.1.1 対象疾患に関する現時点での知見」【造血器悪性腫瘍患者に対する造血幹細胞移植の現状】の項参照)、近年、その件数が増大し、その評価は定まりつつある。事実、国立がんセンター中央病院においても、2006 年度に適応があると判断された患者計 8 例の臍帯血移植を施行している、しかし一方では、成人に適用する場合の細胞数不足及び移植後療法としてのドナーリンパ球輸注などの細胞療法が不可能であることなどが問題点として挙げられている。細胞数不足に対しては複数臍帯血移植や臍帯血体外増幅といった試みもなされているが、未だ研究段階であり最終的な評価は定まっていない。臍帯血移植と HSV-TK 遺伝子導入 T リンパ球 Add-back 療法である本遺伝子治療の比較を表 13 に示す。

表 13　臍帯血移植と本遺伝子治療の比較

視点	臍帯血移植	本遺伝子治療
●HLA 一致度	●1-2 座の HLA 抗原の不一致。	●3 座までの HLA 抗原の不一致。
●GVHD によるリスク	●発症した場合でも、重症例は少ない。	●発症した場合でも、自殺機能で制御可能。
●移植までの時間	●ドナープールに適合するものがあれば、検索開始から最短 7～10 日間で施行することが可能。	●血縁ドナーが原則であるため、遺伝子導入 T リンパ球の調製期間も含め、最短 2～3 週間で施行することが可能。
●ドナーの負担	●なし。	●他の移植*と同等の負担に加え、遺伝子導入 T リンパ球調製のための末梢血単核球及び血漿の採取が行われる。遺伝子導入 T リンパ球調製後に、細胞が規格を満たさないことが判明した場合、本遺伝子治療が行えない可能性がある。
●移植スケジュールの調整	●患者の都合のみで調整可能。	●ドナー、患者の双方の都合を調整する必要がある。
●ドナーからの感染症	●リスクは低い。	●他の移植*と同等であるが、事前に確認することで回避可能。
●GVM 効果	●期待できる。	●期待できる。
●拒絶・生着不全	●報告によっては 15%前後の症例で見られ、移植する細胞数の不足に関連して不全の頻度が高まる。生着しても時間のかかる場合が多い。 ●複数臍帯血移植の検討が開始されている。	●他の移植*と同等。
●治療関連毒性	●生着不全･造血回復の遅延に伴う、治療関連毒性が多い。	●移植後、免疫系再構築までの期間は感染症のリスクが高まる。
●再発時の対応	●同一ドナーからのリンパ球輸注ができない。	●同一ドナーからのリンパ球輸注が可能。
●遺伝性疾患伝播	●可能性は否定できない。	●可能性は否定できないが、血縁ドナーが原則ゆえに排除しやすい。

＊：臍帯血移植を除く

参考資料:･高橋　聡. 成人に対する臍帯血移植の現況. 医学のあゆみ, 218(4):271-275,2006.
・甲斐俊朗. 成人への臍帯血移植. 今日の移植, 19(3):250-255,2006.
・高橋　聡、浅野茂隆. 臍帯血移植. 癌と化学療法, 31(3):307-313,2004.
･加藤俊一. 臍帯血移植, 第 68 回日本血液学会･第 48 回日本臨床血液学会合同総会教育講演 5, 2006.

臍帯血移植の利点である「ドナーの負担がない」という点では、本遺伝子治療は通常の移植以上にドナーへの負担を強いるものであり、臍帯血移植のほうが優れている。しかしながら、臍帯血移植の代表的な問題点である移植細胞数の不足、造血回復の遅延、生着不全の頻度の高さについては、本遺伝子治療では解決策を見出せる可能性がある。その他にも、特に高リスク造血器悪性腫瘍患者を対象とする場合には、GVM 効果を有することやドナーリンパ球輸注が可能であることは重要であると考えられる。臍帯血移植と比較すると本遺伝子治療では GVM 効果の発現が早期に期待できると考えられ、かつ状況に応じてドナーリンパ球輸注が実施可能であり、これらの点おいても本遺伝子治療は有効な治療となりうる。

以上から、臍帯血移植と本遺伝子治療を比較した場合、本遺伝子治療は悪性度の高い疾患において、臍帯血移植を凌駕する可能性のある治療法になりうると考えられる。

ドナーの負担という点では、本遺伝子治療の個々の症例への適応については、治療効果や得られる利益等について慎重かつじゅうぶんな検討が必要である。しかしながら、本遺伝子治療は、一連の治療法の課題に対する解決策を模索した上で計画されたものであり、これまでの臨床実績からも安全性及び有効性が見込まれるものとして妥当な手法と考え選択した。

Ⅵ. 遺伝子の種類及びその導入方法

Ⅵ.1 人に導入する遺伝子の構造と性質

本臨床研究において発現する遺伝子はΔLNGFR 遺伝子と HSV-TK 遺伝子である。導入されるが発現しないベクターDNA 等の構造と性質は、Ⅵ.5「ウイルスベクター*9 を用いた遺伝子導入」の項で述べられている。

Ⅵ.1.1 人に導入する遺伝子の構造

Ⅵ.1.1.1 細胞内領域欠損ヒト低親和性神経成長因子受容体遺伝子（ΔLNGFR 遺伝子）

ΔLNGFR 遺伝子は、細胞内領域欠損ヒト低親和性神経成長因子受容体（truncated low-affinity nerve growth factor receptor： ΔLNGFR）をコードする遺伝子である(43-45)。ヒト低親和性神経成長因子受容体（human low affinity nerve growth factor receptor：LNGFR)遺伝子は、1986 年 Johnson らによってヒトメラノーマ細胞株 A875 から単離され(43)、427 アミノ酸からなるポリペプチドをコードする 1,281 塩基対と終止コドン TAG より成り立っている。N 末端から、28 アミノ酸からなるシグナルペプチド、細胞外ドメインとして 6 個のシステイン残基を保存位置とする 40 アミノ酸からなるポリペプチドの 4 回繰り返し配列、セリン／スレオニンリッチ領域、1 回膜貫通領域、及び 155 アミノ酸を有する細胞内領域という構造からなっている。今回使用するΔLNGFR 遺伝子は、LNGFR 遺伝子の cDNA から細胞内領域をコードする塩基対を除去したもので、翻訳開始コドン ATG の上流に 113 塩基対の非翻訳領域を有し、細胞外ドメイン及び細胞膜貫通領域の 280 アミノ酸からなるポリペプチドをコードする 956 塩基対の遺伝子である。図 10 にΔLNGFR 遺伝子の塩基配列とコードするアミノ酸配列を示す。下線部分が細胞内領域の変更部位である。

```
 LNGFR  GCCGCGGCCAGCTCCGGCGGGCAGGGGGGCGCTGGAGCGCAGCGCA
ΔLNGFR  GCCGCGGCCAGCTCCGGCGGGCAGGGGGGCGCTGGAGCGCAGCGCA

 LNGFR  GCGCAGCCCCATCAGTCCGCAAAGCGGACCGAGCTGGAAGTCGAGCG
ΔLNGFR  GCGCAGCCCCATCAGTCCGCAAAGCGGACCGAGCTGGAAGTCGAGCG

                                  M   G   A   G   A   T   G   R       8 AA
 LNGFR  CTGCCGCGGGAGGCGGGCG      ATG GGG GCA GGT GCC ACC GGC CGC   137 b
ΔLNGFR  CTGCCGCGGGAGGCGGGCG      ATG GGG GCA GGT GCC ACC GGC CGC   137 b
                                  M   G   A   G   A   T   G   R       8 AA

         A   M   D   G   P   R   L   L   L   L   L   L   L   G   V    23 AA
 LNGFR  GCC ATG GAC GGG CCG CGC CTG CTG CTG TTG CTG CTT CTG GGG GTG   182 b
ΔLNGFR  GCC ATG GAC GGG CCG CGC CTG CTG CTG TTG CTG CTT CTG GGG GTG   182 b
         A   M   D   G   P   R   L   L   L   L   L   L   L   G   V    23 AA

         S   L   G   G   A   K   E   A   C   P   T   G   L   Y   T    38 AA
 LNGFR  TCC CTT GGA GGT GCC AAG GAG GCA TGC CCC ACA GGC CTG TAC ACA   227 b
ΔLNGFR  TCC CTT GGA GGT GCC AAG GAG GCA TGC CCC ACA GGC CTG TAC ACA   227 b
         S   L   G   G   A   K   E   A   C   P   T   G   L   Y   T    38 AA

         H   S   G   E   C   C   K   A   C   N   L   G   E   G   V    53 AA
 LNGFR  CAC AGC GGT GAG TGC TGC AAA GCC TGC AAC CTG GGC GAG GGT GTG   272 b
ΔLNGFR  CAC AGC GGT GAG TGC TGC AAA GCC TGC AAC CTG GGC GAG GGT GTG   272 b
         H   S   G   E   C   C   K   A   C   N   L   G   E   G   V    53 AA

         A   Q   P   C   G   A   N   Q   T   V   C   E   P   C   L    68 AA
 LNGFR  GCC CAG CCT TGT GGA GCC AAC CAG ACC GTG TGT GAG CCC TGC CTG   317 b
ΔLNGFR  GCC CAG CCT TGT GGA GCC AAC CAG ACC GTG TGT GAG CCC TGC CTG   317 b
         A   Q   P   C   G   A   N   Q   T   V   C   E   P   C   L    68 AA

         D   S   V   T   F   S   D   V   V   S   A   T   E   P   C    83 AA
 LNGFR  GAC AGC GTG ACG TTC TCC GAC GTG GTG AGC GCG ACC GAG CCG TGC   362 b
ΔLNGFR  GAC AGC GTG ACG TTC TCC GAC GTG GTG AGC GCG ACC GAG CCG TGC   362 b
         D   S   V   T   F   S   D   V   V   S   A   T   E   P   C    83 AA

         K   P   C   T   E   C   V   G   L   Q   S   M   S   A   P    98 AA
 LNGFR  AAG CCG TGC ACC GAG TGC GTG GGG CTC CAG AGC ATG TCG GCG CCG   407 b
ΔLNGFR  AAG CCG TGC ACC GAG TGC GTG GGG CTC CAG AGC ATG TCG GCG CCG   407 b
         K   P   C   T   E   C   V   G   L   Q   S   M   S   A   P    98 AA

         C   V   E   A   D   D   A   V   C   R   C   A   Y   G   Y   113 AA
 LNGFR  TGC GTG GAG GCC GAC GAC GCC GTG TGC CGC TGC GCC TAC GGC TAC   452 b
ΔLNGFR  TGC GTG GAG GCC GAC GAC GCC GTG TGC CGC TGC GCC TAC GGC TAC   452 b
         C   V   E   A   D   D   A   V   C   R   C   A   Y   G   Y   113 AA

         Y   Q   D   E   T   T   G   R   C   E   A   C   R   V   C   128 AA
 LNGFR  TAC CAG GAT GAG ACG ACT GGG CGC TGC GAG GCG TGC CGC GTG TGC   497 b
ΔLNGFR  TAC CAG GAT GAG ACG ACT GGG CGC TGC GAG GCG TGC CGC GTG TGC   497 b
         Y   Q   D   E   T   T   G   R   C   E   A   C   R   V   C   128 AA


         E   A   G   S   G   L   V   F   S   C   Q   D   K   Q   N   143 AA
 LNGFR  GAG GCG GGC TCG GGC CTC GTG TTC TCC TGC CAG GAC AAG CAG AAC   542 b
ΔLNGFR  GAG GCG GGC TCG GGC CTC GTG TTC TCC TGC CAG GAC AAG CAG AAC   542 b
         E   A   G   S   G   L   V   F   S   C   Q   D   K   Q   N   143 AA
```

```
            T   V   C   E   E   C   P   D   G   T   Y   S   D   E   A     158 AA
  LNGFR    ACC GTG TGC GAG GAG TGC CCC GAC GGC ACG TAT TCC GAC GAG GCC    587 b
Δ LNGFR    ACC GTG TGC GAG GAG TGC CCC GAC GGC ACG TAT TCC GAC GAG GCC    587 b
            T   V   C   E   E   C   P   D   G   T   Y   S   D   E   A     158 AA

            N   H   V   D   P   C   L   P   C   T   V   C   E   D   T     173 AA
  LNGFR    AAC CAC GTG GAC CCG TGC CTG CCC TGC ACC GTG TGC GAG GAC ACC    632 b
Δ LNGFR    AAC CAC GTG GAC CCG TGC CTG CCC TGC ACC GTG TGC GAG GAC ACC    632 b
            N   H   V   D   P   C   L   P   C   T   V   C   E   D   T     173 AA

            E   R   Q   L   R   E   C   T   R   W   A   D   A   E   C     188 AA
  LNGFR    GAG CGC CAG CTC CGC GAG TGC ACA CGC TGG GCC GAC GCC GAG TGC    677 b
Δ LNGFR    GAG CGC CAG CTC CGC GAG TGC ACA CGC TGG GCC GAC GCC GAG TGC    677 b
            E   R   Q   L   R   E   C   T   R   W   A   D   A   E   C     188 AA

            E   E   I   P   G   R   W   I   T   R   S   T   P   P   E     203 AA
  LNGFR    GAG GAG ATC CCT GGC CGT TGG ATT ACA CGG TCC ACA CCC CCA GAG    722 b
Δ LNGFR    GAG GAG ATC CCT GGC CGT TGG ATT ACA CGG TCC ACA CCC CCA GAG    722 b
            E   E   I   P   G   R   W   I   T   R   S   T   P   P   E     203 AA

            G   S   D   S   T   A   P   S   T   Q   E   P   E   A   P     218 AA
  LNGFR    GGC TCG GAC AGC ACA GCC CCC AGC ACC CAG GAG CCT GAG GCA CCT    767 b
Δ LNGFR    GGC TCG GAC AGC ACA GCC CCC AGC ACC CAG GAG CCT GAG GCA CCT    767 b
            G   S   D   S   T   A   P   S   T   Q   E   P   E   A   P     218 AA

            P   E   Q   D   L   I   A   S   T   V   A   G   V   V   T     233 AA
  LNGFR    CCA GAA CAA GAC CTC ATA GCC AGC ACG GTG GCA GGT GTG GTG ACC    812 b
Δ LNGFR    CCA GAA CAA GAC CTC ATA GCC AGC ACG GTG GCA GGT GTG GTG ACC    812 b
            P   E   Q   D   L   I   A   S   T   V   A   G   V   V   T     233 AA

            T   V   M   G   S   S   Q   P   V   V   T   R   G   T   T     248 AA
  LNGFR    ACA GTG ATG GGC AGC TCC CAG CCC GTG GTG ACC CGA GGC ACC ACC    857 b
Δ LNGFR    ACA GTG ATG GGC AGC TCC CAG CCC GTG GTG ACC CGA GGC ACC ACC    857 b
            T   V   M   G   S   S   Q   P   V   V   T   R   G   T   T     248 AA

            D   N | L   I   P   V   Y   C   S   I   L   A   A   V   V     263 AA
  LNGFR    GAC AAC|CTC ATC CCT GTC TAT TGC TCC ATC CTG GCT GCT GTG GTT    902 b
Δ LNGFR    GAC AAC|CTC ATC CCT GTC TAT TGC TCC ATC CTG GCT GCT GTG GTT    902 b
            D   N | L   I   P   V   Y   C   S   I   L   A   A   V   V     263 AA

細胞外領域 ←─┼─→      1回膜貫通領域      ←─┼─→ 細胞内領域   PvuII (CAGCTG)

            V   G   L   V   A   Y   I   A   F | K   R   W   N   S   C     278 AA
  LNGFR    GTG GGC CTT GTG GCC TAC ATA GCC TTC|AAG AGG TGG AAC AGC TGC    947 b
Δ LNGFR    GTG GGC CTT GTG GCC TAC ATA GCC TTC|AAG AGG TGG AAC AGG GGG    947 b
            V   G   L   V   A   Y   I   A   F | K   R   W   N   R   G     278 AA

            K   Q   N   K   Q   G   A   N   S   R   P   V   N   Q   T     293 AA
  LNGFR    AAG CAG AAC AAG CAA GGA GCC AAC AGC CGG CCA GTG AAC CAG ACG    992 b
Δ LNGFR    ATC CTC TAG                                                    956 b
            I   L   *                                                     280 AA


            P   P   P   E   G   E   K   L   H   S   D   S   G   I   S     308 AA
  LNGFR    CCC CCA CCA GAG GGA GAA AAA CTC CAC AGC GAC AGT GGC ATC TCC   1037 b

            V   D   S   Q   S   L   H   D   Q   Q   P   H   T   Q   T     323 AA
  LNGFR    GTG GAC AGC CAG AGC CTG CAT GAC CAG CAG CCC CAC ACG CAG ACA   1082 b
```

	A	S	G	Q	A	L	K	G	D	G	G	L	Y	S	S	338	AA
LNGFR	GCC	TCG	GGC	CAG	GCC	CTC	AAG	GGT	GAC	GGA	GGC	CTC	TAC	AGC	AGC	1127	b
	L	P	P	A	K	R	E	E	V	E	K	L	L	N	G	353	AA
LNGFR	CTG	CCC	CCA	GCC	AAG	CGG	GAG	GAG	GTG	GAG	AAG	CTT	CTC	AAC	GGC	1172	b
	S	A	G	D	T	W	R	H	L	A	G	E	L	G	Y	368	AA
LNGFR	TCT	GCG	GGG	GAC	ACC	TGG	CGG	CAC	CTG	GCG	GGC	GAG	CTG	GGC	TAC	1217	b
	Q	P	E	H	I	D	S	F	T	H	E	A	C	P	V	383	AA
LNGFR	CAG	CCC	GAG	CAC	ATA	GAC	TCC	TTT	ACC	CAT	GAG	GCC	TGC	CCC	GTT	1262	b
	R	A	L	L	A	S	W	A	T	Q	D	S	A	T	L	398	AA
LNGFR	CGC	GCC	CTG	CTT	GCA	AGC	TGG	GCC	ACC	CAG	GAC	AGC	GCC	ACA	CTG	1307	b
	D	A	L	L	A	A	L	R	R	I	Q	R	A	D	L	413	AA
LNGFR	GAC	GCC	CTC	CTG	GCC	GCC	CTG	CGC	CGC	ATC	CAG	CGA	GCC	GAC	CTC	1352	b
	V	E	S	L	C	S	E	S	T	A	T	S	P	V	*	427	AA
LNGFR	GTG	GAG	AGT	CTG	TGC	AGT	GAG	TCC	ACT	GCC	ACA	TCC	CCG	GTG	TGA	1397	b

図 10 LNGFR 遺伝子と ΔLNGFR 遺伝子の塩基配列比較

下線部分は細胞内領域の変更部位

Ⅵ.1.1.2　単純ヘルペスウイルス1型-チミジンキナーゼ遺伝子（HSV-TK遺伝子）

HSV-TK遺伝子は、単純ヘルペスウイルス1型-チミジンキナーゼ（herpes simplex virus 1-thymidine kinase: HSV-TK）をコードする遺伝子であり、1981年、Wagner MJらによりヒト単純ヘルペス1型のCL101株由来の遺伝子配列が明らかにされた(46)。単一エクソンからなり、翻訳開始コドンATGの上流に107塩基対の非翻訳領域を有し、376アミノ酸からなるポリペプチドをコードする1,128塩基対とTAGを終止コドンとする1,131塩基対で構成されている。今回使用するHSV-TK遺伝子は、CL101株のDNAをBamHⅠとEcoRⅠで処理した後平滑末端化してLXSNのHpaⅠサイトにクローニングされた1,128塩基対を含む1,131塩基対の遺伝子であり、翻訳開始コドンATGの上流に14塩基対の非翻訳領域を有する。図11にHSV-TK遺伝子の塩基配列とコードするアミノ酸配列を示す。

```
GATCCGCCGCCACC ATG GCT TCG TAC CCC TGC CAT CAA CAC GCG TCT    47
                M   A   S   Y   P   C   H   Q   H   A   S

GCG TTC GAC CAG GCT GCG CGT TCT CGC GGC CAT AGC AAC CGA CGT    92
 A   F   D   Q   A   A   R   S   R   G   H   S   N   R   R

ACG GCG TTG CGC CCT CGC CGG CAG CAA GAA GCC ACG GAA GTC CGC    137
 T   A   L   R   P   R   R   Q   Q   E   A   T   E   V   R

CTG GAG CAG AAA ATG CCC ACG CTA CTG CGG GTT TAT ATA GAC GGT    182
 L   E   Q   K   M   P   T   L   L   R   V   Y   I   D   G

CCT CAC GGG ATG GGG AAA ACC ACC ACC ACG CAA CTG CTG GTG GCC    227
 P   H   G   M   G   K   T   T   T   T   Q   L   L   V   A

CTG GGT TCG CGC GAC GAT ATC GTC TAC GTA CCC GAG CCG ATG ACT    272
 L   G   S   R   D   D   I   V   Y   V   P   E   P   M   T

TAC TGG CAG GTG CTG GGG GCT TCC GAG ACA ATC GCG AAC ATC TAC    317
 Y   W   Q   V   L   G   A   S   E   T   I   A   N   I   Y

ACC ACA CAA CAC CGC CTC GAC CAG GGT GAG ATA TCG GCC GGG GAC    362
 T   T   Q   H   R   L   D   Q   G   E   I   S   A   G   D

GCG GCG GTG GTA ATG ACA AGC GCC CAG ATA ACA ATG GGC ATG CCT    407
 A   A   V   V   M   T   S   A   Q   I   T   M   G   M   P

TAT GCC GTG ACC GAC GCC GTT CTG GCT CCT CAT GTC GGG GGG GAG    452
 Y   A   V   T   D   A   V   L   A   P   H   V   G   G   E

GCT GGG AGT TCA CAT GCC CCG CCC CCG GCC CTC ACC CTC ATC TTC    497
 A   G   S   S   H   A   P   P   P   A   L   T   L   I   F

GAC CGC CAT CCC ATC GCC GCC CTC CTG TGC TAC CCG GCC GCG CGA    542
 D   R   H   P   I   A   A   L   L   C   Y   P   A   A   R

TAC CTT ATG GGC AGC ATG ACC CCC CAG GCC GTG CTG GCG TTC GTG    587
 Y   L   M   G   S   M   T   P   Q   A   V   L   A   F   V

GCC CTC ATC CCG CCG ACC TTG CCC GGC ACA AAC ATC GTG TTG GGG    632
 A   L   I   P   P   T   L   P   G   T   N   I   V   L   G

GCC CTT CCG GAG GAC AGA CAC ATC GAC CGC CTG GCC AAA CGC CAG    677
 A   L   P   E   D   R   H   I   D   R   L   A   K   R   Q

CGC CCC GGC GAG CGG CTT GAC CTG GCT ATG CTG GCC GCG ATT CGC    722
 R   P   G   E   R   L   D   L   A   M   L   A   A   I   R

CGC GTT TAC GGG CTG CTT GCC AAT ACG GTG CGG TAT CTG CAG GGC    767
 R   V   Y   G   L   L   A   N   T   V   R   Y   L   Q   G

GGC GGG TCG TGG TGG GAG GAT TGG GGA CAG CTT TCG GGG ACG GCC    812
 G   G   S   W   W   E   D   W   G   Q   L   S   G   T   A

GTG CCG CCC CAG GGT GCC GAG CCC CAG AGC AAC GCG GGC CCA CGA    857
 V   P   P   Q   G   A   E   P   Q   S   N   A   G   P   R

CCC CAT ATC GGG GAC ACG TTA TTT ACC CTG TTT CGG GCC CCC GAG    902
 P   H   I   G   D   T   L   F   T   L   F   R   A   P   E

TTG CTG GCC CCC AAC GGC GAC CTG TAT AAC GTG TTT GCC TGG GCC    947
 L   L   A   P   N   G   D   L   Y   N   V   F   A   W   A

TTG GAC GTC TTG GCC AAA CGC CTC CGT CCC ATG CAC GTC TTT ATC    992
 L   D   V   L   A   K   R   L   R   P   M   H   V   F   I

CTG GAT TAC GAC CAA TCG CCC GCC GGC TGC CGG GAC GCC CTG CTG    1037
 L   D   Y   D   Q   S   P   A   G   C   R   D   A   L   L

CAA CTT ACC TCC GGG ATG GTC CAG ACC CAC GTC ACC ACC CCA GGC    1082
 Q   L   T   S   G   M   V   Q   T   H   V   T   T   P   G

TCC ATA CCG ACG ATC TGC GAC CTG GCG CGC ACG TTT GCC CGG GAG    1127
 S   I   P   T   I   C   D   L   A   R   T   F   A   R   E

ATG GGG GAG GCT AAC TGA 1145
 M   G   E   A   N   *
```

図 11　HSV-TK 遺伝子の塩基配列とコードするアミノ酸配列

Ⅵ.1.2 人に導入する遺伝子の性質

LNGFR は主に神経系細胞に発現する膜貫通型の神経成長因子（nerve growth factor：NGF）に対する受容体で、神経細胞以外では筋肉、精巣で発現しているが、ほとんどの造血系細胞には発現していない(47)。現在、tropomyosin-related kinase（Trk）と結合することで高親和性の神経成長因子受容体を形成すると報告されており、LNGFR 単独では NGF の刺激を細胞内に伝播することはない(48)。

HSV-TK はウイルス特有のチミジンキナーゼで、ヒト細胞が有するチミジンキナーゼとは異なった基質特異性を有し、グアノシンの類似物質である ACV や GCV をリン酸化することが可能である(49,50)。ACV や GCV は生物活性が低いプロドラック(prodrug)と呼ばれ、HSV-TK を発現していない細胞に対しては何ら毒性を示さないが、ウイルス感染等により HSV-TK が発現している細胞では ACV や GCV がリン酸化され、最終的に細胞を死に至らしめる。このように HSV-TK は ACV や GCV との組み合わせにより生物活性を示す特異な酵素である。

レトロウイルスベクターSFCMM-3 は、標的細胞上の受容体にウイルス粒子の外皮表面に存在するエンベロープが結合することにより、ウイルスと細胞の膜融合が起こり、ウイルスゲノム RNA 及び逆転写酵素等のウイルスの感染に必要な酵素が細胞内へ侵入する。細胞内に入った後、逆転写酵素によってウイルスゲノム RNA から 2 本鎖 DNA が合成され、核内に移行する。5’-LTR と 3’-LTR ではさまれた DNA はウイルスが持っているインテグラーゼによって細胞染色体に組み込まれ（プロウイルス）、細胞ゲノムの複製に伴って複製されて安定的に娘細胞へ受け継がれる。このために継続的な遺伝子発現が可能である。

細胞染色体に組み込まれたΔLNGFR 遺伝子及び HSV-TK 遺伝子は、SFCMM-3 内部のプロモーターである SV40 初期プロモーター及びウイルス末端反復配列（long terminal repeat：LTR）プロモーターによってそれぞれ発現し、その発現はいずれも持続的である。

Ⅵ.1.3 導入遺伝子からの生成物の構造及びその生物活性

VI.1.3.1 ΔLNGFR の生物活性

ΔLNGFR は、細胞内領域のほとんど（LNGFR の第 277 アミノ酸から最終第 427 アミノ酸まで）が除去されているため、シグナルを細胞内に伝達することはない。in vitro 及び in vivo において、ΔLNGFR の機能活性は観察されず(45)、また Bonini C らの報告(51)により、本研究で用いるレトロウイルスベクターSFCMM-3 と同じΔLNGFR 遺伝子を別のレトロウイルスベクターSFCMM-2 により活性化ヒト T リンパ球に導入し、NGF 濃度依存的な、ｉ）細胞増殖、ⅱ）CD25 発現、及びⅲ）腫瘍壊死因子（TNF）－α産生による細胞傷害活性を経時的に調査した結果、遺伝子導入ヒトリンパ球は、遺伝子非導入ヒトリンパ球と同様に、NGF に対する反応を示さないことが確認された。なお、ΔLNGFR 遺伝子が導入される T リンパ球は、通常、LNGFR を殆ど発現していないことが確認されている(45)。

ΔLNGFR は細胞膜でたん白発現するため細胞表面マーカーとして利用され、特異的抗体を用いて in vitro で発現細胞を迅速に分離することができ、ex vivo での発現細胞の検出や

生存状態、増殖状態等のキャラクタリゼーションを行うことができる。

VI.1.3.2 HSV-TK の生物活性

HSV-TK は 376 アミノ酸からなるたん白質であり、本剤により遺伝子導入した細胞において自殺遺伝子産物として機能する。自殺遺伝子が導入された細胞では、その遺伝子産物により非毒性のプロドラッグが毒性型ドラッグに変換され、細胞が傷害を受ける。HSV-TK はガンシクロビル（GCV）をリン酸化することにより GCV 一リン酸を生成し、GCV 一リン酸は細胞由来のキナーゼにより GCV 三リン酸に変換される。GCV 三リン酸は dGTP に代わって合成中の DNA に取り込まれることにより DNA 合成を阻害し、細胞は死に至る(52)。ほ乳類のチミジンキナーゼで GCV はリン酸化されないが、HSV-TK 遺伝子が導入された細胞では GCV 三リン酸が生成するので、HSV-TK 遺伝子導入細胞は in vitro 及び in vivo で選択的に死滅させることができる(53,54)。

Ⅵ.2 本計画で使用するその他の組換え DNA の構造と性質

本計画では使用しない。

Ⅵ.3 標的細胞とした細胞の由来及び生物学的特徴並びに当該細胞を標的細胞とした理由

移植片対悪性腫瘍（graft-versus-malignancy: GVM）効果を担う免疫担当細胞がドナー由来の T リンパ球であることが多くの実験から支持されている一方、当該細胞が GVHD の原因となることが知られている。T リンパ球は組換えヒトインターロイキン 2（rhIL-2）の存在下で培養可能であり、抗 CD3 抗体の刺激により活性化され、活発な増殖を開始する。レトロウイルスベクターによる遺伝子導入は増殖中の細胞を標的としており、活性化された T リンパ球に対しても高い遺伝子導入効率が得られることが過去の臨床研究により証明されている(55,56)。したがって、レトロウイルスベクターSFCMM-3 を用いた遺伝子治療においては、ドナーリンパ球を rhIL-2 存在下、抗 CD3 抗体で刺激することにより得られる活性化 T リンパ球が標的細胞として使用される。

Ⅵ.4 遺伝子導入方法の概略及び当該導入法を選択した理由

Ⅵ.4.1 遺伝子導入方法の概略

ドナー末梢血リンパ球へのΔLNGFR 及び HSV-TK 遺伝子の導入は、レトロウイルスベクターSFCMM-3 を含むウイルス産生細胞の培養上清中にドナー末梢血リンパ球を加え、遠心することで行う。遺伝子導入工程を含む遺伝子導入細胞の調製方法の詳細をⅦ.3.1「遺伝子導入細胞の調製方法」に記載する。

Ⅵ.4.2 当該導入方法を選択した理由

ドナー末梢血 T リンパ球へのΔLNGFR 遺伝子及び HSV-TK 遺伝子を導入する方法としてレ

トロウイルスベクターを選択した理由は、レトロウイルスベクターは感染後細胞染色体に組み込まれて細胞ゲノムの複製に伴って複製されるために、長期にわたり導入遺伝子を安定して発現することができること、多くのモロニーマウス白血病ウイルス（Moloney murine leukemia virus： MoMLV）ベースのレトロウイルスベクターがヒト血液細胞への遺伝子導入に利用されていること(55-59)、及び末梢血Tリンパ球がレトロウイルスベクターにより効率よく遺伝子導入されることである。また安全性に関して、CD34 陽性細胞を標的とした X 連鎖重症複合免疫不全症（X-SCID）の遺伝子治療では白血病発症の報告がされているが、過去のT細胞遺伝子治療において重篤な副作用は報告されていない(55-58,60)。

Ⅵ.4.3 レトロウイルスベクターの選択根拠

他の遺伝子導入ベクターとして、アデノウイルスベクターや Naked DNA ベクターが使用されるが、それらは導入遺伝子が細胞染色体に組み込まれて長期にわたり安定に発現する効率が低いことが知られている。例えば、Naked DNA が細胞染色体に組み込まれる確率は 1.5 /1×10^4(61)又は1 /1×10^4(62)程度であり、アデノウイルスベクターがウイルス自身の DNA を標的細胞のゲノムに組み込む確率は 1 /1×$10^{3\sim5}$ 程度であると報告されている(63)。すなわち、細胞染色体に組み込まれ、長期にわたって導入遺伝子が安定して発現する効率は、これらベクターでは非常に低いものである。

一方、レトロウイルスにより遺伝子導入された細胞において、導入遺伝子はすべて細胞染色体に組み込まれている。例えば、レトロウイルスベクターによる遺伝子導入効率が 50%以上であるとの報告もあり、他の方法に比べると格段に高く(64)、レトロウイルスベクターを用いた場合、他のベクターに比べて効率よく遺伝子を細胞染色体に組み込むことが可能である。

レトロウイルスベクターSFCMM-3 を選択したもうひとつの根拠は安全性である。すなわち、基になる SFCMM-3 DNA は、野生型レトロウイルス由来の gag、pol、env をコードする遺伝子の全てもしくは一部を欠如しており、この DNA のみを通常の細胞に導入したのではウイルス粒子を産生することはない。また、ウイルスベクター製造に用いるパッケージング細胞*10 株 GP+envAm12 は、すでに世界的に広く使用されているパッケージング細胞株であり、American Type Culture Collection（ATCC）から購入可能である。本パッケージング細胞株は、gag、pol を発現する DNA 断片と env を発現する DNA 断片とが異なったベクターを用いて導入されているため、RCR が出現する可能性は極めて低いと考えられる(65)。

Ⅵ.5 ウイルスベクターを用いた遺伝子導入

Ⅵ.5.1 野生型ウイルスの生物学的特徴及び人に対する影響

レトロウイルスベクターSFCMM-3 のもとになる野生型ウイルスは MoMLV であり、以下のようなウイルス学的特徴を持つ(66,67)。

形態的には直径約 100 nm の球形のC型粒子に分類され、ウイルスコアをエンベロープが

囲っている。ウイルスゲノムは分子量約3×10^6の1本鎖RNAで、相同のRNA分子が2分子、ウイルスコア中に存在する。

レトロウイルス科は、オルソレトロウイルス（orthoretrovirus）及びスプーマレトロウイルス（spumaretrovirus）の2つの亜科に分類される。MoMLVはオルソレトロウイルス亜科のガンマレトロウイルス属に属する、マウスを宿主とする白血病ウイルスの一種である。

マウス白血病ウイルスはAKRやC58系マウスの自然発症白血病の病原ウイルスであるが、MoMLVは実験室内での継代により病原性の高いウイルス株として単離されたものである。オンコウイルスの病原性として、主体となるものは、肉腫、急性白血病、白血病、がんであり、野生マウスの後肢麻痺を招く神経好性ウイルスも知られている。肉腫ウイルスや急性白血病ウイルスはウイルスと細胞の間での遺伝子の組換えにより形成されるが、MoMLVは細胞由来の遺伝子を持たないウイルスであり、AKRやC58系マウスでのみ白血病を誘発する。病理学的には胸腺リンパ腫を原発とした白血病所見を示し、脾臓への浸潤が顕著に認められる。AKRマウスの自然発症白血病に対しては抗AKR MLV血清が効果を示し、発症を遅延させることが報告されているが、MoMLVに対する血清の効果については不明である。ヒトへの感染の報告はない。

Ⅵ.5.2 ウイルスベクターの作製方法

VI.5.2.1 SFCMM-3 DNAベクターの構築

本臨床研究で用いられるSFCMM-3 DNAベクターは、標準的な遺伝子工学的手法を用いて構築された。すなわち、ベースとなるレトロウイルスベクターはpLXSN(68)で、その遺伝子概略を図12に示す。

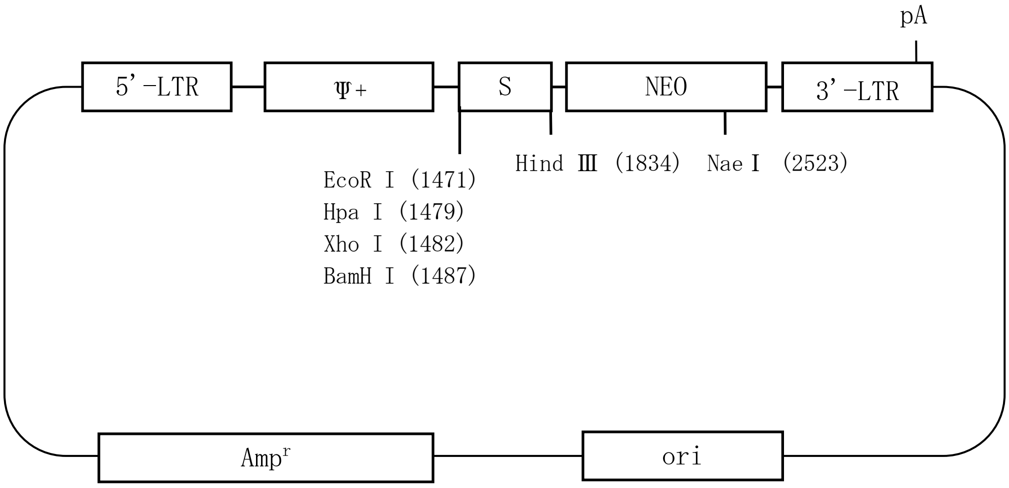


図12　pLXSNの遺伝子構造の概略

LTR: Long Terminal Repeat、Ψ+: パッケージングシグナル、S: SV40初期プロモーター、NEO: ネオマイシン耐性遺伝子、pA: poly A付加シグナル

このベクターから制限酵素 Hind III と Nae I を用いてネオマイシン耐性遺伝子（NEO）の配列を取り除き、SV40 初期プロモーターの下流にΔLNGFR 遺伝子を組み込み、さらに制限酵素 Hpa I で切断して HSV-TK 遺伝子を組み込んだものが SFCMM-3 DNA ベクターである。その遺伝子概略を図 13 に示す。SFCMM-3 DNA ベクターにおいて、LXSN 由来の配列部分は、5’-LTR 及び、パッケージングシグナル、SV40 初期プロモーター、3’-LTR、poly A 付加シグナルである。SFCMM-3 DNA ベクターはウイルス粒子形成に必須な遺伝子である gag、pol、env を欠いているため、この DNA ベクターのみを通常の細胞に導入してもウイルス粒子を産生することはない。

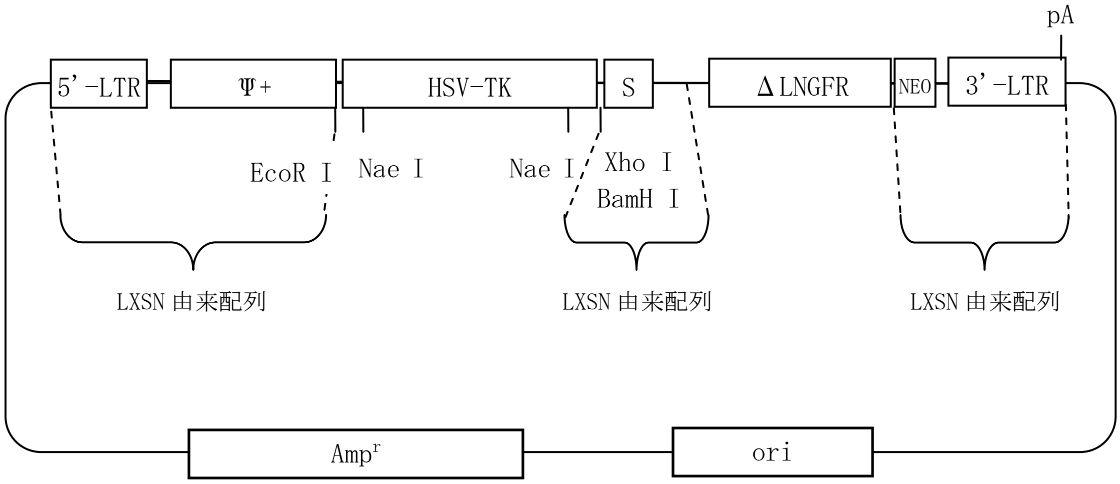


図 13　SFCMM-3 DNA ベクターの遺伝子構造の概略

配列名		塩基数	由来
5’-LTR	：5’-Long Terminal Repeat	(1 - 594)	MoMSV
Ψ+	：パッケージングシグナル	(664 - 1473)	MoMSV、MoMLV
HSV-TK	：単純ヘルペスウイルス１型－チミジンキナーゼ遺伝子	(1498 - 2628)	HSV
S	：SV40 初期プロモーター	(2636 - 2992)	SV40
ΔLNGFR	：細胞内領域欠損 LNGFR 遺伝子	(3113 - 3955)	ヒト
NEO	：ネオマイシン耐性遺伝子の一部	(3960 - 4123)	大腸菌
3’-LTR	：3’-Long Terminal Repeat	(4183 - 4776)	MoMLV
pA	：poly A 付加シグナル	(4678)	MoMLV

VI.5.2.2 パッケージング細胞株の構築

SFCMM-3 DNA ベクターは、ウイルス粒子形成に必須な遺伝子である gag、pol、env を欠いているため、このベクターDNA のみではウイルス粒子を産生することはない。したがって、ウイルス粒子の産生にはパッケージング細胞が必要となる。本臨床研究において使用する

パッケージング細胞株は、GP+envAm12（ATCC CRL-9641）(65)で、パッケージングに必要なウイルス遺伝子を2種類のプラスミド（ひとつはgagとpolで、もうひとつはenv遺伝子）で別々に導入した細胞株である。古い世代のパッケージング細胞株と比較して、このアプローチはRCR出現のリスクは極めて少ないことが知られている。

以下にパッケージング細胞株GP+envAm12（Am12）及びGP+E-86（69)の構築手順を示す。

1) MoMLVのgag遺伝子、pol遺伝子及び選択マーカーのgpt遺伝子配列を持ち、かつΨパッケージングシグナルと3'-LTRを持たないプラスミドpgag-polgptを、マウス繊維芽細胞株 NIH 3T3 にエレクトロポレーション法にてトランスフェクションし、薬剤（Hypoxanthine、Xanthine、Mycophenolic acid）で遺伝子導入細胞を選択した。

2) 選択した細胞株に、マウスアンフォトロピックウイルス*11 4070A 由来の env 遺伝子を持ち、かつΨパッケージングシグナルと 3'-LTR を持たないプラスミド penvAm、及び Hygromycin 耐性遺伝子を持つプラスミド pRSVhyg を共にトランスフェクションし、Hygromycin B で env 遺伝子導入細胞を選択する。使用した全てのプラスミドは、Ψパッケージングシグナルと3'-LTRを持たないため、この方法により、ウイルス由来のgag、pol、env は発現するが RCR を産生しないアンフォトロピック（ヒトを含む多くの哺乳類に感染性を有する）パッケージング細胞株 Am12 を樹立した。

3) 前述のpgag-polgpt と、MoMLVのenvを発現するプラスミドpEnvをNIH 3T3細胞に導入することにより、エコトロピック（マウス細胞にのみ感染性を有する）パッケージング細胞株GP+E-86（ATCC CRL-9642）を構築した。

Ⅵ.5.2.3 ウイルス産生細胞株の構築

パッケージング細胞GP+E-86にSFCMM-3 DNAベクターをトランスフェクションし、48時間後の培養上清を回収した。この培養上清には、効率よくAm12に感染するレトロウイルスベクターエコトロピック SFCMM-3 が含まれる。回収した上清をアンフォトロピックパッケージング細胞株Am12に感染させることにより、安定なレトロウイルスベクターSFCMM-3 産生細胞が構築され、ヒトを含む多くの哺乳類細胞に感染可能なアンフォトロピックレトロウイルスベクターが産生される。

レトロウイルスベクターエコトロピック SFCMM-3感染Am12細胞から、良好な生育性とTリンパ球への高い遺伝子導入効率を示すクローンを得た。これをマスターセルバンク（MCB）用シードセルとして樹立し、これを培養してMCBを作製した。

Ⅵ.5.2.4 レトロウイルスベクターSFCMM-3の製造

本遺伝子治療臨床研究において使用するレトロウイルスベクターSFCMM-3 は、バンキン

グされたウイルス産生細胞株〔MCB、又はワーキングセルバンク（WCB)〕を培養し、その上清中にウイルス粒子の状態で存在する。

製造は全てモルメド社の管理された製造エリアにてGMP遵守下で行われる。

Ⅵ.5.3 ウイルスベクターの構造

レトロウイルスベクターSFCMM-3の遺伝子構造の概略を図14に、レトロウイルスベクターSFCMM-3 DNAの全塩基配列を図15に示す。HSV-TKは5'-LTRにより、ΔLNGFRは内在性プロモーターであるSV40初期プロモーターにより転写が誘導される。SFCMM-3はパッケージングシグナルとしてΨ⁺を有し、gag、pol、envをコードする遺伝子は除かれている。

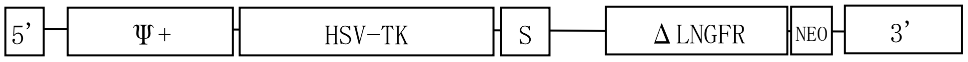


図14　レトロウイルスベクターSFCMM-3の遺伝子構造の概略

5'：5'-LTR、Ψ+: パッケージングシグナル、 S: SV40 初期プロモーター、HSV-TK: 単純ヘルペスウイルス1型－チミジンキナーゼ遺伝子、ΔLNGFR: 細胞内領域欠損LNGFR遺伝子、NEO：ネオマイシン耐性遺伝子の一部、3'：3'-LTR

LTR

AATGAAAGAC CCCACCTGTA GGTTTGGCAA GCTAGCTTAA GTAACGCCAT TTTGCAAGGC 60

ATGGAAAAAT ACATAACTGA GAATAGAGAA GTTCAGATCA AGGTCAGGAA CAGATGGAAC 120

AGCTGAATAT GGGCCAAACA GGATATCTGT GGTAAGCAGT TCCTGCCCCG GCTCAGGGCC 180

AAGAACAGAT GGAACAGCTG AATATGGGCC AAACAGGATA TCTGTGGTAA GCAGTTCCTG 240

CCCCGGCTCA GGGCCAAGAA CAGATGGTCC CCAGATGCGG TCCAGCCCTC AGCAGTTTCT 300

AGAGAACCAT CAGATGTTTC CAGGGTGCCC CAAGGACCTG AAATGACCCT GTGCCTTATT 360

TGAACTAACC AATCAGTTCG CTTCTCGCTT CTGTTCGCGC GCTTCTGCTC CCCGAGCTCA 420

ATAAAAGAGC CCACAACCCC TCACTCGGGG CGCCAGTCTT CCGATAGACT GCGTCGCCCG 480

GGTACCCGTA TTCCCAATAA AGCCTCTTGC TGTTTGCATC CGAATCGTGG TCTCGCTGTT 540

CCTTGGGAGG GTCTCCTCTG AGTGATTGAC TACCCACGAC GGGGGTCTTT CATTTGGGGG 600

LTR

CTCGTCCGGG ATTTGGAGAC CCCTGCCCAG GGACCACCGA CCCACCACCG GGAGGTAAGC 660

Ψ+

TGGCCAGCAA CTTATCTGTG TCTGTCCGAT TGTCTAGTGT CTATGTTTGA TGTTATGCGC 720

CTGCGTCTGT ACTAGTTAGC TAACTAGCTC TGTATCTGGC GGACCCGTGG TGGAACTGAC 780

GAGTTCTGAA CACCCGGCCG CAACCCTGGG AGACGTCCCA GGGACTTTGG GGGCCGTTTT 840

TGTGGCCCGA CCTGAGGAAG GGAGTCGATG TGGAATCCGA CCCCGTCAGG ATATGTGGTT 900

CTGGTAGGAG ACGAGAACCT AAAACAGTTC CCGCCTCCGT CTGAATTTTT GCTTTCGGTT 960

TGGAACCGAA GCCGCGCGTC TTGTCTGCTG CAGCGCTGCA GCATCGTTCT GTGTTGTCTC 1020

TGTCTGACTG TGTTTCTGTA TTTGTCTGAA AATTAGGGCC AGACTGTTAC CACTCCCTTA 1080

AGTTTGACCT TAGGTCACTG GAAAGATGTC GAGCGGATCG CTCACAACCA GTCGGTAGAT 1140

GTCAAGAAGA GACGTTGGGT TACCTTCTGC TCTGCAGAAT GGCCAACCTT TAACGTCGGA 1200

TGGCCGCGAG ACGGCACCTT TAACCGAGAC CTCATCACCC AGGTTAAGAT CAAGGTCTTT 1260

TCACCTGGCC CGCATGGACA CCCAGACCAG GTCCCCTACA TCGTGACCTG GGAAGCCTTG 1320

GCTTTTGACC CCCCTCCCTG GGTCAAGCCC TTTGTACACC CTAAGCCTCC GCCTCCTCTT 1380

CCTCCATCCG CCCCGTCTCT CCCCCTTGAA CCTCCTCGTT CGACCCCGCC TCGATCCTCC 1440

Ψ+

CTTTATCCAG CCCTCACTCC TTCTCTAGGC GCCGGAATTC GTTGATCCGC CGCCACCATG 1500

HSV-TK

GCTTCGTACC CCTGCCATCA ACACGCGTCT GCGTTCGACC AGGCTGCGCG TTCTCGCGGC 1560

CATAGCAACC GACGTACGGC GTTGCGCCCT CGCCGGCAGC AAGAAGCCAC GGAAGTCCGC 1620

CTGGAGCAGA AAATGCCCAC GCTACTGCGG GTTTATATAG ACGGTCCTCA CGGGATGGGG 1680

AAAACCACCA CCACGCAACT GCTGGTGGCC CTGGGTTCGC GCGACGATAT CGTCTACGTA 1740

CCCGAGCCGA TGACTTACTG GCAGGTGCTG GGGGCTTCCG AGACAATCGC GAACATCTAC 1800

ACCACACAAC ACCGCCTCGA CCAGGGTGAG ATATCGGCCG GGGACGCGGC GGTGGTAATG 1860

ACAAGCGCCC AGATAACAAT GGGCATGCCT TATGCCGTGA CCGACGCCGT TCTGGCTCCT 1920

CATGTCGGGG GGGAGGCTGG GAGTTCACAT GCCCCGCCCC CGGCCCTCAC CCTCATCTTC 1980

GACCGCCATC CCATCGCCGC CCTCCTGTGC TACCCGGCCG CGCGATACCT TATGGGCAGC 2040

ATGACCCCCC AGGCCGTGCT GGCGTTCGTG GCCCTCATCC CGCCGACCTT GCCCGGCACA 2100

AACATCGTGT TGGGGGCCCT TCCGGAGGAC AGACACATCG ACCGCCTGGC CAAACGCCAG 2160

CGCCCCGGCG AGCGGCTTGA CCTGGCTATG CTGGCCGCGA TTCGCCGCGT TTACGGGCTG 2220

CTTGCCAATA CGGTGCGGTA TCTGCAGGGC GGCGGGTCGT GGTGGGAGGA TTGGGGACAG 2280

CTTTCGGGGA CGGCCGTGCC GCCCCAGGGT GCCGAGCCCC AGAGCAACGC GGGCCCACGA 2340

CCCCATATCG GGACACGTT ATTTACCCTG TTTCGGGCCC CCGAGTTGCT GGCCCCCAAC 2400

GGCGACCTGT ATAACGTGTT TGCCTGGGCC TTGGACGTCT TGGCCAAACG CCTCCGTCCC 2460

ATGCACGTCT TTATCCTGGA TTACGACCAA TCGCCCGCCG GCTGCCGGGA CGCCCTGCTG 2520

CAACTTACCT CCGGGATGGT CCAGACCCAC GTCACCACCC CAGGCTCCAT ACCGACGATC 2580

TGCGACCTGG CGCGCACGTT TGCCCGGGAG ATGGGGGAGG CTAACTGAGA ATTAACTCGA 2640

HSV-TK

GGATCCGGCT GTGGAATGTG TGTCAGTTAG GGTGTGGAAA GTCCCCAGGC TCCCCAGCAG 2700

GCAGAAGTAT GCAAAGCATG CATCTCAATT AGTCAGCAAC CAGGTGTGGA AAGTCCCCAG 2760

GCTCCCCAGC AGGCAGAAGT ATGCAAAGCA TGCATCTCAA TTAGTCAGCA ACCATAGTCC 2820

CGCCCCTAAC TCCGCCCATC CCGCCCCTAA CTCCGCCCAG TTCCGCCCAT TCTCCGCCCC 2880

ATGGCTGACT AATTTTTTTT ATTTATGCAG AGGCCGAGGC CGCCTCGGCC TCTGAGCTAT 2940

TCCAGAAGTA GTGAGGAGGC TTTTTTGGAG GCCTAGGCTT TTGCAAAAAG CTAATTCGGG 3000

CCGCGGCCAG CTCCGGCGGG CAGGGGGGGC GCTGGAGCGC AGCGCAGCGC AGCCCCATCA 3060

GTCCGCAAAG CGGACCGAGC TGGAAGTCGA GCGCTGCCGC GGGAGGCGGG CGATGGGGGC 3120

ΔLNGFR

AGGTGCCACC GGCCGCGCCA TGGACGGGCC GCGCCTGCTG CTGTTGCTGC TTCTGGGGGT 3180

GTCCCTTGGA GGTGCCAAGG AGGCATGCCC CACAGGCCTG TACACACACA GCGGTGAGTG 3240

CTGCAAAGCC TGCAACCTGG GCGAGGGTGT GGCCCAGCCT TGTGGAGCCA ACCAGACCGT 3300

GTGTGAGCCC TGCCTGGACA GCGTGACGTT CTCCGACGTG GTGAGCGCGA CCGAGCCGTG 3360

CAAGCCGTGC ACCGAGTGCG TGGGGCTCCA GAGCATGTCG GCGCCGTGCG TGGAGGCCGA 3420

CGACGCCGTG TGCCGCTGCG CCTACGGCTA CTACCAGGAT GAGACGACTG GGCGCTGCGA 3480

GGCGTGCCGC GTGTGCGAGG CGGGCTCGGG CCTCGTGTTC TCCTGCCAGG ACAAGCAGAA 3540

CACCGTGTGC GAGGAGTGCC CCGACGGCAC GTATTCCGAC GAGGCCAACC ACGTGGACCC 3600

GTGCCTGCCC TGCACCGTGT GCGAGGACAC CGAGCGCCAG CTCCGCGAGT GCACACGCTG 3660

GGCCGACGCC GAGTGCGAGG AGATCCCTGG CCGTTGGATT ACACGGTCCA CACCCCCAGA 3720

GGGCTCGGAC AGCACAGCCC CCAGCACCCA GGAGCCTGAG GCACCTCCAG AACAAGACCT 3780

CATAGCCAGC ACGGTGGCAG GTGTGGTGAC CACAGTGATG GGCAGCTCCC AGCCCGTGGT 3840

GACCCGAGGC ACCACCGACA ACCTCATCCC TGTCTATTGC TCCATCCTGG CTGCTGTGGT 3900

TGTGGGCCTT GTGGCCTACA TAGCCTTCAA GAGGTGGAAC AGGGGGATCC TCTAGAGTCG 3960

ΔLNGFR

GCTGGGTGTG GCGGACCGCT ATCAGGACAT AGCGTTGGCT ACCCGTGATA TTGCTGAAGA 4020

GCTTGGCGGC GAATGGGCTG ACCGCTTCCT CGTGCTTTAC GGTATCGCCG CTCCCGATTC 4080

GCAGCGCATC GCCTTCTATC GCCTTCTTGA CGAGTTCTTC TGAGCGGGAC TCTGGGGTTC 4140

GATAAAATAA AAGATTTTAT TTAGTCTCCA GAAAAAGGGG GGAATGAAAG ACCCCACCTG 4200

LTR

TAGGTTTGGC AAGCTAGCTT AAGTAACGCC ATTTTGCAAG GCATGGAAAA ATACATAACT 4260

GAGAATAGAG AAGTTCAGAT CAAGGTCAGG AACAGATGGA ACAGCTGAAT ATGGGCCAAA 4320

CAGGATATCT GTGGTAAGCA GTTCCTGCCC CGGCTCAGGG CCAAGAACAG ATGGAACAGC 4380

TGAATATGGG CCAAACAGGA TATCTGTGGT AAGCAGTTCC TGCCCCGGCT CAGGGCCAAG 4440

AACAGATGGT CCCCAGATGC GGTCCAGCCC TCAGCAGTTT CTAGAGAACC ATCAGATGTT 4500

TCCAGGGTGC CCCAAGGACC TGAAATGACC CTGTGCCTTA TTTGAACTAA CCAATCAGTT 4560

CGCTTCTCGC TTCTGTTCGC GCGCTTCTGC TCCCCGAGCT CAATAAAAGA GCCCACAACC 4620

CCTCACTCGG GGCGCCAGTC TTCCGATAGA CTGCGTCGCC CGGGTACCCG TATTCCCAAT 4680

AAAGCCTCTT GCTGTTTGCA TCCGAATCGT GGTCTCGCTG TTCCTTGGGA GGGTCTCCTC 4740

LTR

TGAGTGATTG ACTACCCACG ACGGGGGTCT TTCATT 4776

図15　SFCMM-3 DNAの全塩基配列

LXSN と相同な配列を下線で示す。

Ⅵ.5.4 ウイルスベクターの生物学的特徴

パッケージング細胞株 GP+envAm12 は、アンフォトロピック系のパッケージング細胞株で、この細胞により産生されるレトロウイルスベクターはマウス、ラット、サル、ヒト等を含む多くの種の哺乳類細胞に感染しうる。レトロウイルスは増殖中の細胞にのみ感染するので、遺伝子導入に先立って標的細胞を組換えヒトインターロイキン 2（rhIL-2）と抗 CD3 抗体（OKT3）で刺激する。これにより高い遺伝子導入効率が期待できる。また、レトロウイルスベクターSFCMM-3 は増殖能を欠いているので、遺伝子導入した末梢血 T リンパ球内でウイルス粒子を形成することはない。したがって、RCR が出現しない限り周囲の細胞に感染することはない。

Ⅵ.4.3 「レトロウイルスベクターの選択根拠」の項で述べたように、レトロウイルスベクターを用いた場合、他のベクターに比べてより効率よく遺伝子を導入し、細胞染色体に組み込むことが可能であると言える。

Ⅶ. 安全性についての評価

Ⅶ.1 遺伝子導入方法の安全性

Ⅶ.1.1 遺伝子導入に用いるウイルスベクターの純度

ウイルス産生細胞には、セルバンクシステムを使用する。セルバンク作製に使用した培地及び試薬は、組成と品質の確認されたものを使用してしている。また、マスターセルバンク（MCB）は品質試験を行うことにより、バクテリア、真菌、マイコプラズマ及びウイルスの混入がないこと、並びにエコトロピックとアンフォトロピックの RCR が無いことを確認している（MCB 及びワーキングセルバンク（WCB）の品質試験の詳細を参考資料 1 に、MCB、WCB の品質試験項目と保存中の監視計画を参考資料 2 に記載する）。

レトロウイルスベクターSFCMM-3 の製造フローを図 16 に示す。

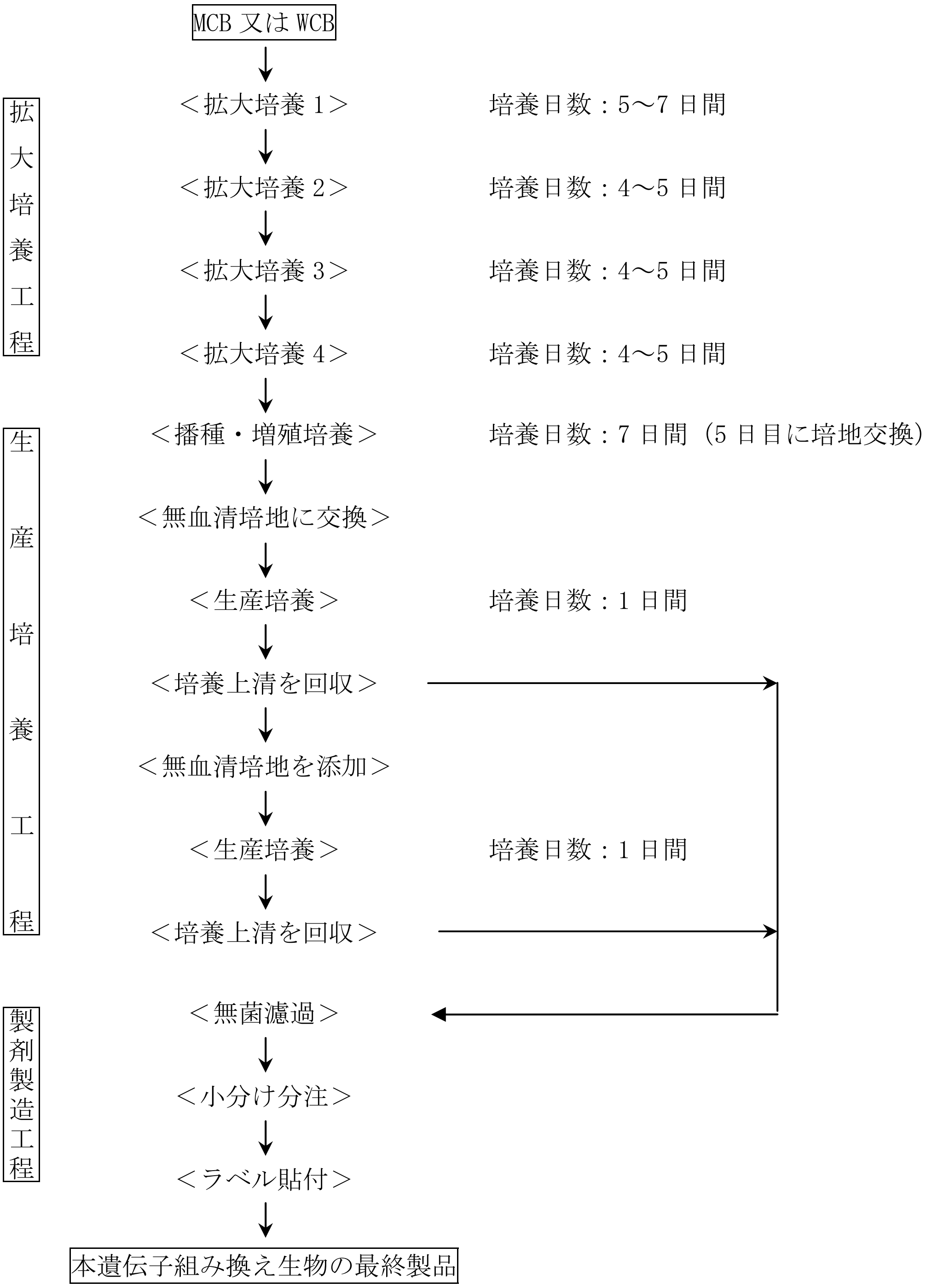


図 16 レトロウイルスベクターSFCMM-3 の製造フロー

レトロウイルスベクターSFCMM-3 は、MCB 又は WCB から培養を開始し拡大培養した後、生産培養工程の培養上清に回収される。拡大培養工程及び生産培養工程の播種・増殖培養には 10%ウシ胎児血清含有培地を用い、生産培養には無血清培地を用いる。レトロウイルスベクターSFCMM-3 の製造に使用する培地及び試薬並びにその規格を参考資料 3 に記載する。回

収した培養上清は、保管、また精製することなく引き続き製剤製造工程に用いる。製剤は、この培養上清を無菌ろ過した後、規定液量に小分け・ラベル貼付して製造する。製造は、全てモルメド社の管理された製造エリアにて GMP 遵守下で行われる。製剤は、ロットごとにウイルス安全性を含め品質試験を行う。

レトロウイルスベクターSFCMM-3 の品質は以下の試験を行うことにより確認する(レトロウイルスベクターの品質試験の詳細を参考資料 4 に記載する)。

１． 無菌試験（欧州薬局方）
２． マイコプラズマ否定試験（欧州薬局方）
３． in vitro ウイルス試験
４． in vivo ウイルス試験
５． RCR 試験
６． エンドトキシン試験（欧州薬局方）
７． 感染効率試験
８． 組み込まれたベクター遺伝子の完全性試験
９． GCV 感受性試験
１０． HSV-TK スプライス型否定試験

HSV-TK スプライス型否定試験は、HSV-TK 遺伝子が導入された細胞において、227 塩基短くなっているスプライス型の HSV-TK 遺伝子を持つものがあり、GCV に対する感受性に影響を与えると報告されていることによる(70)。スプライシングに作用する酵素の基質となりうる潜在的なスプライスサイトが HSV-TK 遺伝子中に予測されており、レトロウイルスベクターSFCMM-3 により遺伝子導入したヒトリンパ球のゲノム DNA について、このサイトが正常であるものの割合を規格設定している。

本邦での臨床研究に使用するレトロウイルスベクターSFCMM-3 は、上記の品質を有し、感染性因子に対する危険性の低い生物由来成分をはじめとする培地、試薬等を用いていること、及び、モルメド社にて確立した製造方法により製造を行う予定であることから、その品質は、安全性の高いものと考える。

Ⅶ.1.2 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、HSV-TK 遺伝子導入ドナーT リンパ球及びその懸濁媒である RPMI 1640 及びヒト血清アルブミン含細胞凍害保護液（CP-1）である。ウシ血清は患者にとっての異種たん白質を含有しており抗原性の問題が生じる可能性があるため使用せず、ドナー血漿を培地添加剤として用いる。細胞調製の際に用いられる培地の成分、レトロウイルスベクターSFCMM-3 懸濁液の成分、種々の試薬、抗体等に関しては、遺伝子導入細胞を患者に投与する前に生理食塩水でじゅうぶんに洗浄されるので、患者に影響を及ぼすことはない

と考えられる。さらに懸濁媒である RPMI 1640 及び CP-1 については、本臨床研究と同様、細胞を凍結保存する目的で造血幹細胞移植等の臨床現場で広く使用されている。これらは医薬品としての承認は得ていないものの、CP-1 は移植用細胞の凍結用に使用され、また RPMI については、公式骨髄バンクレポート中に使用した浮遊液の一つとして記載されている。現時点ではこれらに由来する重篤な有害事象の報告は確認されておらず、本臨床研究における使用に関する安全性についても問題はないと考えられる。

細胞調製終了後、以下の試験を行うことにより品質を担保する。

１．　細胞生存率（トリパンブルー）
２．　エンドトキシン試験（日本薬局方）
３．　ΔLNGFR 発現試験
４．　RCR 試験（RT-PCR 法）
５．　マイコプラズマ否定試験（PCR 法）
６．　無菌試験（日本薬局方）
７．　細胞及び上清の RCR 試験（Mus dunni 細胞との共培養後の PG-4 S+L-テスト）
８．　マイコプラズマ否定試験（日本薬局方、培養法）
９．　GCV 感受性試験
１０．　IL-2 依存的増殖試験

Ⅶ.1.3 増殖性レトロウイルス（RCR）出現の可能性

Ⅶ.1.3.1 レトロウイルスベクターの安全性

本研究で使用するレトロウイルスベクターSFCMM-3 のゲノムは MoMLV 由来の gag、pol、env をコードする遺伝子の全部、若しくは一部を欠如している。また、用いるパッケージング細胞株 GP+envAm12 において、gag、pol をコードする DNA 断片と env をコードする DNA 断片とが染色体上の異なった位置に挿入されているので、RCR の出現する可能性は極めて低いと考えられる。レトロウイルスベクターSFCMM-3 上清の試験項目に RCR 試験が含まれており、RCR 陰性の製剤だけを臨床使用する。また、治療開始後には患者末梢血中の RCR を RT-PCR 法により、最終 add－back 後、1 ヵ月後の 14 日目及び 28 日目、3 ヵ月後の 14 日目、6 ヵ月後の 28 日目並びにそれ以後の患者生存期間中は 1 年ごとに測定する。

Ⅶ.1.3.2 パッケージング細胞の安全性

パッケージング細胞は一般に、ウイルス粒子を構成するたん白質の遺伝子を有さない増殖能欠損型レトロウイルスベクターを生産するために使用される。組換えレトロウイルスベクターを作製するために、パッケージングプラスミド（ウイルスたん白質をコードする gag、pol、env 遺伝子を含む）をあらかじめ NIH 3T3 細胞に組み込んだパッケージング細胞が作られている。この細胞に遺伝子治療用レトロウイルスベクターのゲノム配列を含む DNA

を導入したプロデューサー細胞を樹立することにより、高力価のレトロウイルスベクターを大量に調製することが可能になった(71)。図 17 にその概念図を示す。

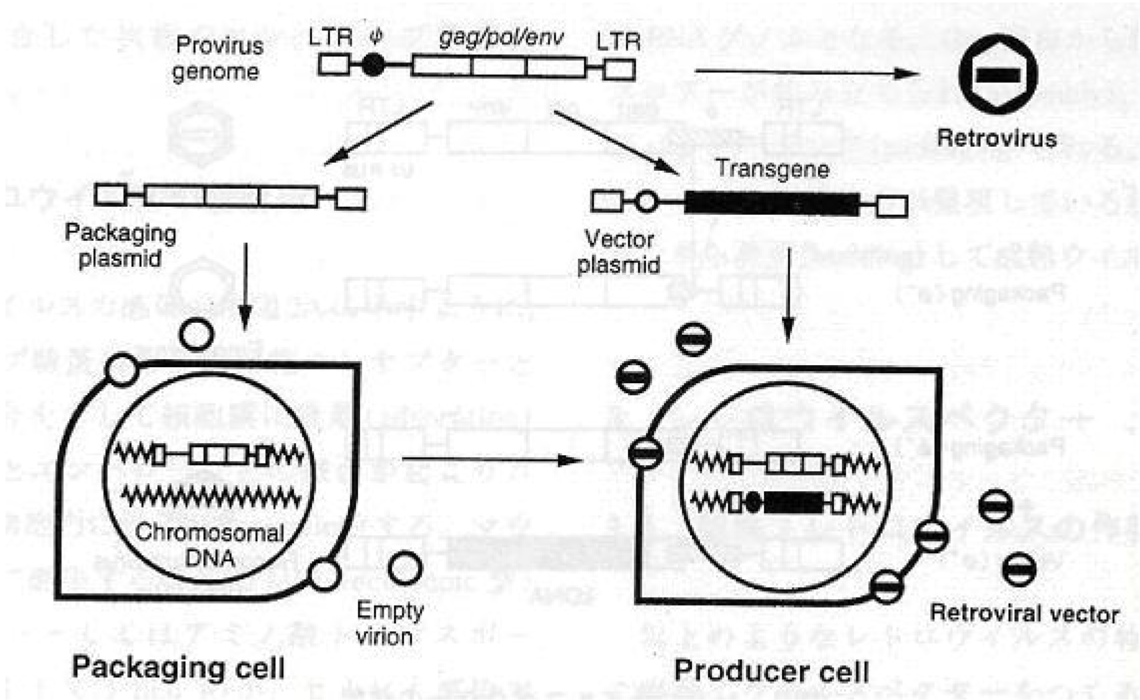


図 17　レトロウイルスベクターの産生　（引用文献 71 より転載）

SFCMM-3 DNA ベクターは、ウイルス粒子形成に必須な遺伝子である gag、pol、env を欠いているため、このプラスミドを通常の細胞に導入しただけではウイルス粒子を産生することはない。さらに、レトロウイルスベクターSFCMM-3 を作製する際に使用されるパッケージング細胞 GP+envAm12 は、パッケージングに必要なウイルス遺伝子を 2 種類のプラスミドで別々に導入した第 3 世代のパッケージング細胞株であり、野生型レトロウイルスを産生する可能性は、第 1 世代及び第 2 世代パッケージング細胞株と比較して極めて低い。従って、SFCMM-3 DNA ベクターとパッケージング細胞株 GP+envAm12 の組み合わせにより作製されたウイルス産生細胞株を使用してレトロウイルスベクターSFCMM-3 を製造する過程で RCR が出現する可能性は極めて低いと考えられる。

表 14 に各世代のパッケージング細胞の特徴を、図 18 に各世代のパッケージング細胞と対応するレトロウイルスベクターの構造をそれぞれ記載する(71)。

表 14　各世代のパッケージング細胞の特徴

	パッケージングプラスミドの構造	RCR 出現の機構
第 1 世代パッケージング細胞（パッケージング細胞に使われているパッケージングプラスミドとレトロウイルスベクターの構造：図 18 中の A)	パッケージングシグナルだけを除いたもの。効率よくベクターを作るために、ベクタープラスミド側に gag 遺伝子の一部を残しておく必要がある。	パッケージング配列とベクター配列に共通する gag 部分で相同組換えが起こると RCR が出現する。
第 2 世代パッケージング細胞（パッケージング細胞に使われているパッケージングプラスミドとレトロウイルスベクターの構造：図 18 中の B)	パッケージングシグナルを除去し、さらに 3'-LTR をポリ A 付加シグナルで置換したもの。	RCR が出現するためには、gag 部分と 3'-LTR 部分の 2 ヵ所で同時に相同組換えが起こる必要があり、その可能性は非常に低いと考えられている。
第 3 世代パッケージング細胞（パッケージング細胞に使われているパッケージングプラスミドとレトロウイルスベクターの構造：図 18 中の C)	パッケージングシグナルを除去して 3'-LTR をポリ A 付加シグナルで置換し、さらにウイルスたん白質のコーディング領域を gag-pol と env の 2 種類に分割して発現させるようにしたもの。	RCR が出現するためには、gag 部分と pol 部分と 3'-LTR 部分の 3 回の相同組換えが同時に起こる必要があり、その可能性は極めて低いと考えられている。

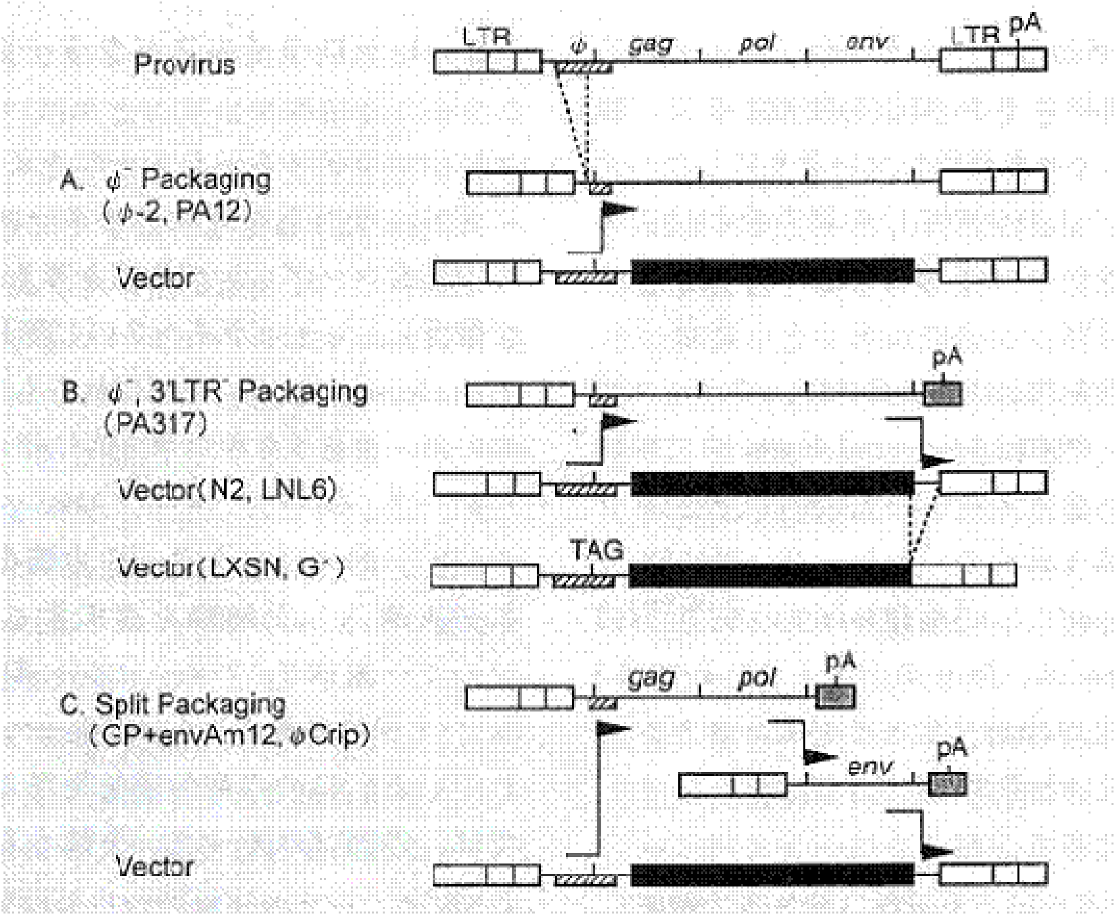


図 18　パッケージング細胞に使われているパッケージングプラスミドと
レトロウイルスベクターの構造　（引用文献 71 より転載）

続いて図 19 に、パッケージング細胞株 GP+envAm12 を作製するために用いた 2 種のプラスミド、pgag-polgpt と penvAm の構造、及び MoMLV ウイルス全塩基配列を含むプラスミド 3PO を示す。

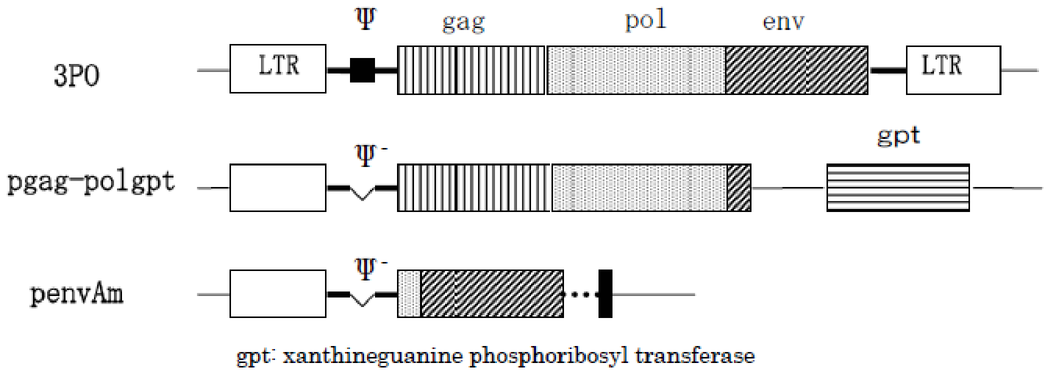


図 19　MoMLV ウイルス全塩基配列を含む 3PO プラスミドと
パッケージング細胞構築用プラスミド pgag-polgpt 及び、penvAm の比較

pgag-polgpt と penvAm は、どちらもΨパッケージングシグナルと 3'-LTR を持たないので、GP+envAm12 細胞が内在性のパッケージングシグナルと 3'-LTR を持つことはなく、gag-pol 遺伝子や env 遺伝子がウイルス粒子内にパッケージングされて細胞外に出ることはない。

また、レトロウイルスベクターSFCMM-3 産生細胞の作製途上で使用されるパッケージング細胞株 GP+E-86 も同様に、NIH 3T3 細胞に pgag-polgpt プラスミド DNA と pEnv プラスミド DNA をエレクトロポレーションにより遺伝子導入し、薬剤選択により株化して樹立されたものである。

以上のことから、パッケージング細胞株 GP+E-86 と GP+envAm12 で作製したウイルスが RCR を含む可能性は極めて低く、これらのパッケージング細胞株は安全であると考えられる。

1996 年に、Chong H ら(72)によりパッケージング細胞株 GP+envAm12 を用いて産生したレトロウイルスベクター中に RCR を検出したことが初めて報告された。このことは、GP+envAm12 を用いても RCR 出現の可能性を完全には否定できないことを示唆している。その頻度を正確に推定することは不可能であるが、過去 4 年間、GP+envAm12 細胞を用いてウイルス産生細胞株を樹立し、60 以上のウイルスについて RCR チェックを試みたが検出されておらず、極めて低い頻度と考察されている(73)。

Ⅶ.1.4 遺伝子導入に用いるウイルスベクターの細胞傷害性

レトロウイルスベクターによる遺伝子導入過程において、細胞を傷害することはないと考えられている。一方、細胞染色体上の遺伝子導入位置によっては細胞の生存・増殖に必須な遺伝子の発現が抑制され、細胞が死に至ることがありうる。しかしながら、このような細胞の割合は少ないと考えられる。なお、レトロウイルスベクターを用いた遺伝子治療において細胞傷害性は報告されていない。

Ⅶ.1.5 体内の標的細胞以外の細胞への遺伝子導入の可能性

本遺伝子治療臨床研究では、標的細胞としてのドナーT リンパ球に ex vivo で HSV-TK 遺伝子を導入し、拡大培養や細胞洗浄等の工程を経たあと患者に投与する。使用したレトロウイルスベクターSFCMM-3 はこの過程でほぼ完全に除去され、また、レトロウイルスは比較的不安定なウイルスなので、細胞培養中に大部分は不活化されると考えられる。また、マウス細胞由来のパッケージング細胞株により生産されたレトロウイルスベクターはヒト血清中の補体により速やかに不活化されるため、たとえわずかに混入したレトロウイルスベクター粒子が患者体内に投与されたとしても、それが原因で患者体内において遺伝子が導入される蓋然性は低い。

また、レトロウイルスベクターSFCMM-3 は増殖能を欠いているので、遺伝子導入したドナーT リンパ球内でウイルス粒子を形成することはなく、RCR が出現しない限り標的細胞以外の細胞に遺伝子が導入されることはない。

Ⅶ.1.6 患者以外の人に遺伝子が導入される可能性

本臨床研究の細胞調製は、当該操作にじゅうぶんな知識と経験を有する研究者のみが行う。一連の細胞調製操作時には、マスク、手袋、実験用衣服を着用し、レトロウイルスベクターの皮膚等への付着を防止する。このような配慮により、細胞調製作業者に遺伝子が導入される可能性は極めて低いと考えられる。

遺伝子導入操作はP2レベルの細胞調製施設において、可能な作業は閉鎖系で、また開放系での作業は細胞調製施設内に設置されたクラスⅡ安全キャビネット内で行う。更にレトロウイルスベクターを含む全廃液は高圧蒸気滅菌後に廃棄される。以上のようにしてレトロウイルスベクターSFCMM-3 の環境中への拡散及び環境中における予期しない遺伝子導入を防止する。

レトロウイルスベクターSFCMM-3は、増殖能欠損型なので、患者を介して患者以外の人に遺伝子が導入される可能性は、大量のRCRが患者体内に存在しない限り非常に低い。

Ⅶ.1.7 染色体内へ遺伝子が組み込まれる場合の問題点

レトロウイルスベクターは細胞染色体上のランダムな位置に組み込まれるので、その位置によって生存や増殖等の細胞機能に影響を及ぼすことがある。挿入変異と呼ばれる事象で、細胞の生存や増殖に重要な遺伝子の近傍に挿入され、その遺伝子の発現が抑制された場合にはその細胞は死に至る可能性がある。しかしながらこのような細胞は遺伝子導入細胞のごく一部であると考えられるので、患者への影響は極めて小さい。一方、がん遺伝子の近傍に挿入され、レトロウイルスベクターの末端反復配列(LTR)が有するエンハンサー・プロモーター活性によりその遺伝子の発現量が増加した場合、及び、がん抑制遺伝子の近傍に挿入され、その遺伝子の発現量が減少した場合には、当該細胞が無限増殖する可能性がある。

Ⅶ.1.8 がん原性の有無

レトロウイルスベクターの組込みが細胞の増殖にとって正に働く場合には、上述のとおりがん原性の問題が出現する。実際にCD34陽性細胞を標的としたX連鎖重症複合免疫不全症（X-SCID）のフランスでの遺伝子治療において合計4例のT細胞白血病の発症が報告されている(74-76)。報告された事象は、１）免疫系が未熟な幼少の患者を対象としていること、２）遺伝子導入細胞が、分化・増殖能が旺盛な造血幹細胞であること、３）導入遺伝子（IL-2受容体γc）は細胞増殖に直接関与する機能を有すること、等、特殊な事情が重なって重篤な副作用を招いた可能性が示唆されている。このような背景より、欧米ではX-SCID以外のレトロウイルスベクターを用いる遺伝子治療臨床応用は、既に再開されている。なお、同様にX-SCIDに対し、レトロウイルスベクターによりIL-2受容体γc鎖遺伝子をCD34陽性細胞に導入するイギリスでの遺伝子治療においても、10例中1例に白血病が発症したことが2007年12月に報告された(77,78)。また、CD34陽性細胞を標的とした慢性肉芽腫症（CGD）のド

イツでの遺伝子治療において、2例中2例の骨髄異形成症候群（MDS）の発症が報告されている(79,80)。一方、CD34陽性細胞を標的としたアデノシンデアミナーゼ（ADA）欠損症のイタリアでの遺伝子治療においては、10例中8例で酵素補充療法の必要がなくなり、遺伝子治療の有効性が確認されるとともに、長期フォローアップにおいてがん化が見られなかったと報告されている(81)。このように、レトロウイルスベクターによる癌化の頻度は対象疾患、標的細胞、ベクターの種類により大きく異なっており、本研究で行う分化した末梢リンパ球に対するレトロウイルスベクターによる遺伝子導入ではこれまで白血病化の報告はない(55-58,60)。

本遺伝子治療は、１）対象が造血幹細胞移植を要する成人の白血病患者であること、２）分化した成熟リンパ球への遺伝子導入であること、３）導入遺伝子(HSV-TK 及び ΔLNGFR)は、安全装置及びマーカーであること、と言ったより安全性が高い臨床計画と考えられている。なお、本臨床研究の実際においては、IL-2 依存的増殖試験により遺伝子導入 T リンパ球が in vitro で異常増殖しないことを確認する。また、遺伝子導入細胞の患者体内におけるクローン増殖性を linear amplification-mediated PCR (LAM-PCR) *12 によってモニタリングすることにより、評価する予定である。

なおこれまでに 17 の独立した研究機関による動物モデル試験及び計 31 例の白血病又は再発白血病の患者を対象とした臨床研究の結果をまとめたレトロスペクティブなデータ解析により、ΔLNGFR 遺伝子を導入した細胞を投与しても、がん化の誘導を支持するようなデータが得られなかったことが Bonini C らにより報告されている(51)。

Ⅶ.2 遺伝子産物の安全性

Ⅶ.2.1 HSV-TK 遺伝子の異常発現

導入遺伝子の構成分子である HSV-TK 遺伝子の発現産物である HSV-TK は、ウイルス特有のチミジンキナーゼで、ヒト細胞が有するチミジンキナーゼとは異なった基質特異性を有している。すなわち、通常のヒト細胞内ではリン酸化されず、ヌクレオシドアナログとして既に臨床上の安全性が認められている GCV や ACV をリン酸化することが知られている。すなわち、GCV 又は ACV がプロドラッグとして投与された場合、HSV-TK 発現細胞では、GCV 又は ACV は細胞内でリン酸化され、更に内在性グアニル酸キナーゼとチミジンキナーゼにより二、三リン酸化物へと変換され、この最終産物の三リン酸化物が DNA ポリメラーゼ阻害や DNA 伸長傷害を起こし、細胞死を誘導する(49,53)。図 20 に HSV-TK/GCV 自殺システムを図示する。

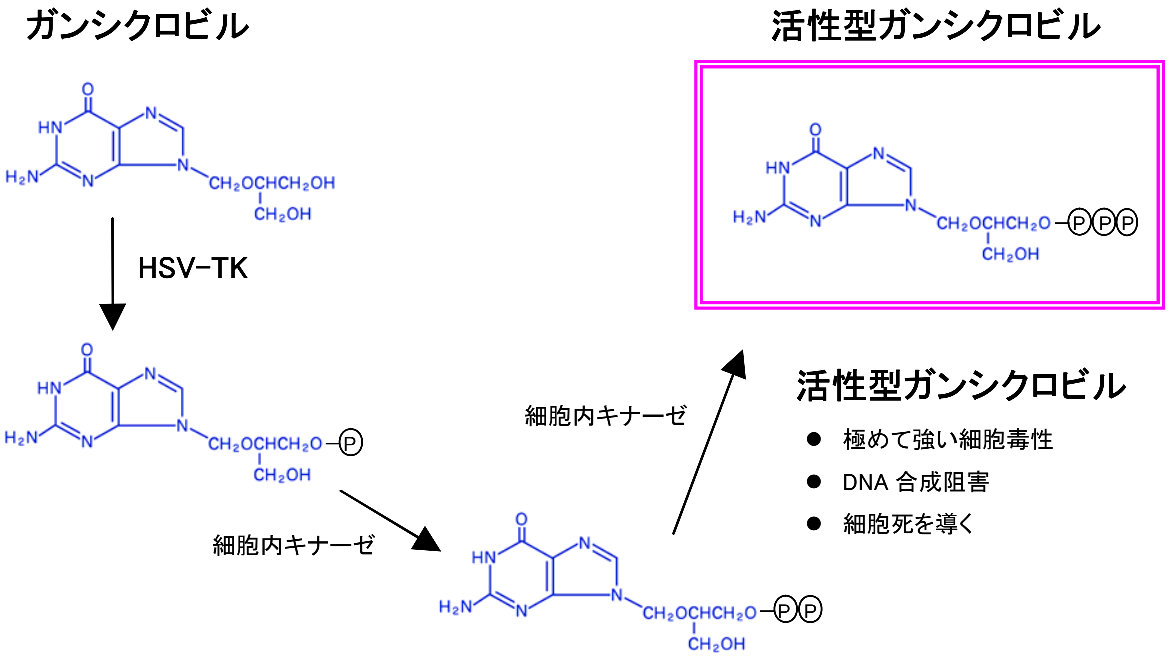


図 20　HSV-TK/GCV 自殺システム

一方、HSV-TK を発現しない細胞では、GCV 又は ACV は未変化のままであり、毒性を示さない。したがって、HSV-TK は、GCV との組み合わせにより選択的自殺作用（HSV-TK/GCV 自殺システム）を示す分子であり、発現そのものの毒性はないと考えられる。

また、GCV 等のプロドラッグ非存在下、HSV-TK が触媒する反応は通常の細胞内で行われている代謝反応であり、遺伝子過剰発現による体細胞への影響は小さいものと思われる。ただし、HSV-TK がヒトにとって異種たん白質であることから、HSV-TK 遺伝子発現細胞の投与を受けた患者において免疫原となり、患者体内で HSV-TK 発現細胞に対する細胞傷害性 T 細胞（cytotoxic T lymphocyte: CTL）が誘導されることが過去の遺伝子治療臨床研究で示唆されている(57)。実際、同遺伝子治療を行ったイタリアの症例においても、遺伝子治療を受けた患者において CTL の誘導が報告されている(82)。このことは CTL による患者体内からの HSV-TK 遺伝子発現ドナーT 細胞の排除を意味しており、GVM 効果の長期継続に対する障害となっている。過去の症例から遺伝子導入リンパ球の投与回数と CTL の出現頻度はある程度相関していることから、投与回数を減らすことで CTL の誘導を抑えられることができる可能性がある。また、イタリアの症例で観察された CTL は全て HSV-TK 発現細胞に対するものであり、この CTL が患者自身の細胞に影響を及ぼすことはないと思われるが、遺伝子治療後はこれら CTL の動態について注意深く観察する必要がある。

Ⅶ.2.2 HSV-TK/GCV 自殺システムの臨床実績

HSV-TK/GCV 自殺システムに関しては、イタリアで 2 件、フランスで 1 件、アメリカで 1

件の臨床実績がある(42,51,82-87)。これらでは、遺伝子導入に用いられたレトロウイルスベクターや遺伝子導入細胞の調製法が一部異なるものの、GCV 製剤との組合わせによる自殺機能は、いずれの臨床研究でも確認されている。

すなわち、計 52 例の HSV-TK 遺伝子導入細胞投与例のうち、急性 GVHD 発症に対して GCV 製剤が投与された症例が 8 例、慢性 GVHD 発症に対して GCV 製剤が投与された症例が 3 例、CMV 感染症で GCV 製剤が投与された症例が 8 例あるが、これら 19 例の症例では、GCV 製剤の投与により、慢性 GVHD で効果が部分的であった症例 1 例（イタリアの臨床研究）(51,83)と、急性 GVHD を発症したものの最初から遺伝子導入細胞の血中レベルが低かった 1 例（フランスの臨床研究）(87)を除き、残りの 17 例において、HSV-TK 遺伝子導入細胞数が検出限界以下に又は顕著に減少しており、自殺機能がヒトにおいて発揮されることが確認されている。いずれにおいても、本自殺システムに関連する有害事象は報告されていない。

Ⅶ.2.3 ΔLNGFR 遺伝子の異常発現

LNGFRはNGFに対する膜貫通型の受容体である。LNGFRは主として神経系細胞で発現しているが、これ以外では筋肉、精巣で発現しており、殆どの造血系細胞には発現していない(45)。ΔLNGFRは細胞内領域を欠損させており、細胞外領域及び細胞膜貫通領域を有するたん白質であるため、内因性のNGFや抗体を含む外来性リガンドに反応して細胞内シグナル伝達を発揮することはなく、発現細胞に対して標識以外の影響を与える可能性は低い。実際、Bonini Cらの報告(51)により、今回の臨床研究で用いるレトロウイルスベクターSFCMM-3と同じΔLNGFR遺伝子を別のレトロウイルスベクターSFCMM-2により活性化ヒトTリンパ球に導入し、NGF濃度依存的な、ｉ)細胞増殖、ⅱ）CD25発現、及びⅲ）腫瘍壊死因子（TNF）－α産生による細胞傷害活性を経時的に調査した結果、遺伝子導入ヒトリンパ球は、遺伝子非導入ヒトリンパ球と同様に、NGFに対する反応を示さないことが確認されている。また、SFCMM-3及び類似のベクターであるSFCMM-2を用いた遺伝子治療例においても細胞傷害性は報告されていない。ΔLNGFRマーカー遺伝子をレトロウイルスベクターにより導入したマウス骨髄細胞を別のマウスに移植し、更に、再移植を繰り返して長期観察した結果、レトロウイルスベクターがEvi1遺伝子内に挿入されたことによるプロトオンコジーン*13活性化が原因と考えられる白血病が高率に発症したとの報告(88)があるが、実際のメカニズムの詳細は明らかとされていない。

Ⅶ.3 細胞の安全性

Ⅶ.3.1 遺伝子導入細胞の調製方法

以下に示す遺伝子導入細胞の調製にかかわる全ての操作は国立がんセンター中央病院内に設置された P2 レベルの無菌細胞調整施設内にて、タカラバイオ(株)からの技術提供と助言を受け行われる。

本臨床研究に用いるレトロウイルスベクターSFCMM-3はイタリア・モルメド社により製造され、総括責任者が輸入して受入れ試験（参考資料 5 参照）を行い、国立がんセンター中央病院 11 階の施錠可能な製剤保管室に設置した超低温フリーザー（-80℃）に保管する。レトロウイルスベクターSFCMM-3を用いたAdd-back用遺伝子導入Tリンパ球調製工程の概略を以下に、調製フローを参考資料6に示す。なお、本細胞調製工程は、第10日目の遺伝子導入細胞の濃縮・洗浄・懸濁液を RPMI 1640 に変更している点のみが参考資料 6 に記載の調製フローと異なる。

第0日：Add-back 3回分に必要な遺伝子導入細胞数(2.1×10^7個/kg)及び患者の体重から、培養ユニット数を決定し、培養ユニットに応じた以下の個数を満たすドナーリンパ球を採取し、遺伝子導入細胞の調製に使用する。

培養ユニット数	1	2	3	4
培養に必要な生細胞数（個）	1.5×10^9以下	1.5×10^9超 3.0×10^9以下	3.0×10^9超 4.5×10^9以下	4.5×10^9超 6.0×10^9以下

セルプロセッサを用いてドナーリンパ球の濃縮と PBS/11.8% ACD-A 液による洗浄を行ったあと、生細胞数及び細胞生存率を測定する。抗 CD3 抗体(30 ng/mL)を添加した培養用培地（基本培地GT-T503。620～720 IU/mL rhIL-2、1～3 % 非働化ドナー血漿、0.2 % ヒト血清アルブミン及び2.5 μg/ml アムホテリシンB含有。）にドナーリンパ球を1(±0.1)×10^6個/mLとなるように懸濁し、ガス透過性培養用バッグを使用し、37℃、5% CO_2インキュベーター内にて培養を開始する。

基本培地GT-T503の組成を参考資料7に示す。

第2日：第0日から培養した活性化Tリンパ球の生細胞数及び細胞生存率を測定し、セルプロセッサを用いて細胞を濃縮し回収する。細胞濃縮液の濃度を 1×10^7個/mL に調整した後、等量のレトロウイルスベクターSFCMM-3（感染タイター：0.72～2.16×10^6 Infectious units;IFU /mL）と混合し、硫酸プロタミンを添加する（4 μg/mL)。これを遠心感染用バッグに移して1000×g、32±3℃で2時間遠心し、遺伝子導入を行う。次に、細胞を回収し、セルプロセッサで濃縮と PBS による洗浄を行った後、新鮮な培養用培地に懸濁し、培養する。

第3日：第2日と同様の遺伝子導入操作を行う。

第6日：遺伝子導入率の測定を行う。遺伝子導入率は、マウス抗 LNGFR 抗体を用いたフローサイトメトリーにより測定した細胞内領域欠損ヒト低親和性神経成長因子受容体（ΔLNGFR）陽性細胞の割合とする。セルプロセッサを用いて細胞の濃縮と SB〔PBS＋0.04 mL/mL ブミネート（アルブミン最終濃度 1.0%）＋0.01mL/mL 輸血用チトラミン「フソー」(クエン酸Na最終濃度0.1%)〕による洗浄を行った後、ヒトIgGでブロッキング（最大使用量を 15 mL として、4×10^8個の細胞あたり 1 mL のガンマガードを使用）してから抗LNGFR抗体を添加(最大使用量を2.5 mgとして、

5×10^6個の細胞あたり 1μg の抗体）し、反応させる。細胞を SB で洗浄した後、$MgSO_4$液（0.3 mL のマグネゾール）、組換えヒト DNase（5 mL の Pulmozyme）及びマウス IgG に対する二次抗体結合磁気ビーズ（最大使用量を 20 mL として、1×10^6個の細胞あたり 12.5 μL の磁気ビーズ）を加えて反応させ、磁気細胞分離装置を用いて磁気ビーズに結合したΔLNGFR 陽性細胞を選択する。得られた細胞はセルプロセッサにより培養用培地に懸濁し、培養する。

第 7 日：磁気細胞分離装置により細胞培養液中の磁気ビーズと遺伝子導入細胞を含む懸濁液を分離する。分離した遺伝子導入細胞は培養用培地に 0.5(±0.05)×10^6 個/mL となるように懸濁し、ガス透過性培養用バッグにて 37℃、5% CO_2インキュベーター内にて培養する。磁気ビーズ画分も培養用培地に懸濁し、ガス透過性培養用バッグにて 37℃、5% CO_2インキュベーター内にて培養する。

第 8 日：第 7 日に培養を開始した磁気ビーズ画分から、第 7 日と同様の操作により磁気ビーズを除去する。

第 10 日：セルプロセッサを用いて細胞の洗浄と濃縮を RPMI 1640 で行い、0.5x10^7細胞/mL から 10×10^7細胞/mL となるように RPMI 1640 に懸濁する。その後、ヒト血清アルブミン（ブミネート）含細胞凍害保護液（CP-1）と 1:1 の割合で混合する。ヒト血清アルブミン含 CP-1 と混合した遺伝子導入 T リンパ球は、投与に必要な細胞数に相当する液量を凍結保存専用バッグに充填したのちに温度管理されたディープフリーザー（-80℃）にて凍結し使用時まで保存する。

RPMI 1640 及び CP-1 の組成を参考資料 8 及び 9 に示す。

投与日：冷凍保存された遺伝子導入 T リンパ球を投与直前に 37℃温浴にて急速に解凍し、投与する。

Ⅶ.3.2 培養細胞の純度

培養細胞間の細胞汚染を防ぐために、各ドナー細胞への遺伝子導入は日時を変えて行う。また、微生物の汚染を防ぐために、全ての操作は国立がんセンター中央病院内に設置した P2 レベルの無菌細胞調整施設内にて、タカラバイオ(株)からの技術提供と助言を受け行われる。細胞の取扱いはクラスⅡの安全キャビネット内で行われ、感染性微生物の混入を防ぐとともにレトロウイルスベクターSFCMM-3 の環境中への拡散を防止する。

Ⅶ.3.3 細胞の遺伝子型、表現型の安全性

遺伝子導入細胞の分離にあたっては、抗 LNGFR 抗体及び磁気ビーズを用いて遺伝子導入細胞を選択する。この選択によりΔLNGFR 陽性率が 90%以上の T リンパ球が得られることが知られている。また、過去の症例においても、レトロウイルスベクターSFCMM-3 により遺伝子導入した T リンパ球は非導入細胞と同様に、T リンパ球としての機能を保持しており、このことから遺伝子導入による末梢血 T 細胞の表現型の大きな変化はないものと考えられる。

なお本研究では、投与細胞の性質を同定するため、培養各段階において各種細胞表面マーカーに対する抗体を用いて投与細胞の特徴を解析する予定である。

Ⅶ.3.4 被験者に投与する細胞の安全性

投与する細胞はレトロウイルスベクターSFCMM-3 により遺伝子導入したドナー由来の末梢血 T 細胞である。現在、白血病に対する治療としてドナー由来の末梢血リンパ球を患者に投与するドナーリンパ球輸注は広く行われており、ドナーT 細胞の投与は、GVHD 以外に患者に重大な影響を及ぼすことはない。

遺伝子導入細胞は、冷凍保存前の細胞を試験検体として採取し、参考資料 10 に示す試験によって品質が担保される。品質試験は国立がんセンター中央病院、または外部委託機関にて実施する。細胞生存率（トリパンブルー）とΔLNGFR 発現試験については遺伝子導入細胞調製当日に、国立がんセンター中央病院において実施する。その他の試験については、採取した試験検体を凍結して外部委託機関に送付し、試験を実施する。

１．　細胞生存率（トリパンブルー）
２．　エンドトキシン試験（日本薬局方）
３．　ΔLNGFR 発現試験
４．　RCR 試験（RT-PCR 法）
５．　マイコプラズマ否定試験（PCR 法）
６．　無菌試験（日本薬局方）
７．　RCR 試験（増幅法）
８．　マイコプラズマ否定試験（日本薬局法、培養法）
９．　GCV 感受性試験
１０．　IL-2 依存的増殖試験

なお、品質試験項目のうち、細胞生存率（トリパンブルー）、エンドトキシン試験（日本薬局方）、ΔLNGFR 発現試験、RCR 試験（RT-PCR 法）及びマイコプラズマ否定試験（PCR 法）についていずれも適合の場合に、遺伝子導入細胞について仮合格として被験者に適切な時期に Add-back される。試験結果を得るまでに日数を要する試験項目である無菌試験（日本薬局方）、RCR 試験（増幅法）、マイコプラズマ否定試験（日本薬局方、培養法及び指標細胞を用いた DNA 染色法）、GCV 感受性試験及び IL-2 依存的増殖試験については、Add-back をする時点では結果が得られていない場合も考えられるが、万一不合格となった項目があれば、その時点で臨床研究を中止して適切な措置を講ずることとする。

遺伝子導入した細胞は閉鎖系で凍結保存専用バッグに充填・密封し、ディープフリーザー（-80℃）にて凍結保存するため、保存の間に外部からの細菌やエンドトキシン等の混入はなく安全が担保される。また、唯一冷凍保存による劣化の可能性がある細胞生存率につ

いて、細胞調製 10 日目に専用バッグに充填する際に品質試験用としてバイアルに充填する最終産物を、投与の前日以前に 37℃温浴にて急速に解凍し細胞生存率の確認（70%以上の生存率）を行い、Add-back が行われる。

Ⅷ. 遺伝子治療臨床研究の実施が可能であると判断した理由

以下の理由により、本臨床研究は実施可能と判断される。

(1) 本臨床研究で使用されるレトロウイルスベクターSFCMM-3 はイタリアのモルメド社により GMP に従って製造され、本邦では筑波大学附属病院における臨床研究に使用実績がある。またモルメド社は、これを用いて調製した HSV-TK 遺伝子導入 T リンパ球に対して、造血幹細胞移植における付加的治療として、2003 年に欧州におけるオーファン医薬品の指定を受けており、現在、同ベクターを用いて本臨床研究と同様の治験を欧州 4 施設において実施している。2005 年 12 月に開催された米国血液学会における発表では、登録患者 29 例のうち 17 例に遺伝子導入 T リンパ球が Add-back され、その 14 例（82%）に免疫系再構築を確認している。また 14 例中 6 例（43%）に Add-back 後の急性 GVHD が発症したが、うち 5 例に GCV 製剤が投与されいずれも GVHD 症状が完全に沈静化している。免疫系再構築に至った 14 例では、その後の感染症頻度及び治療関連死が減少しており、途中経過ではあるが 800 日時点での全般生存率は 46%に上り、EBMT が集計したハプロタイプ一致ドナー由来 T 細胞除去造血幹細胞移植のみの場合に比し、有意に改善を示している。このことから、ハプロタイプ一致ドナー由来 T 細胞除去造血幹細胞移植後の HSV-TK 遺伝子導入 T リンパ球“Add-back”療法は、非常に有望であり、T 細胞除去ミスマッチ移植を安全かつ有効に行える可能性が示唆されている。

(2) 国立がんセンター中央病院は我が国の悪性腫瘍治療の基幹病院である。
本臨床研究対象疾患の診療では、国立がんセンター中央病院が設立されて以来の豊富な経験を有し、経験豊富なスタッフを擁している。また、本臨床研究対象疾患に合致する患者が多く受診している。

(3) 本研究総括責任者である平家勇司は、国立がんセンター研究所並びに中央病院において、細胞療法並びに遺伝子治療の開発研究を行ってきた。また、1997〜1998 年にかけて、米国アラバマ大学遺伝子治療センターにおいて、アデノウイルスベクター開発に携わると共に遺伝子治療臨床研究の研修を行った。前勤務地である国立病院四国がんセンター（現独立行政法人国立病院機構四国がんセンター）では、治験を含む複数の臨床研究に携わった。現在、国立がんセンター中央病院・薬物療法部・幹細胞移植療法室において細胞療法並びに遺伝子治療の開発研究を行うと共に、固形腫瘍に対する骨髄非破壊的前処置による同種造血幹細胞移植療法の臨床開発に従事している。分担研究者である、吉田輝彦並びに青木一教は、国立がんセンター研究所において、ベクター開発を含む遺伝子治療開発研究を行っている。高上洋一、飛内賢正、森慎一郎、

金　成元、福田隆浩、田野崎隆二は、造血幹細胞移植の専門家であり、数多くの治験並びに医師主導の臨床試験の実績がある。

Ⅸ. 遺伝子治療臨床研究の実施計画

Ⅸ.1 遺伝子治療臨床研究を含む全体の治療計画

Ⅸ.1.1 本臨床研究の実施に際し国立がんセンター中央病院内に設置される委員会・事務局

本遺伝子治療臨床研究実施計画が了承された後に、遺伝子治療臨床研究効果安全性評価委員会及び遺伝子治療臨床研究実施事務局を国立がんセンター中央病院内に設置する。それぞれの委員会・事務局の運営に関しては、別途作成する業務手順書に従うものとする。

Ⅸ.1.1.1 遺伝子治療臨床研究効果安全性評価委員会

遺伝子治療臨床研究効果安全性評価委員会は、被験者選定の適格性確認の妥当性の判定、臨床研究の安全性の客観的な判定、臨床効果の客観的な判定、プロトコールの変更の妥当性確認、5 例終了時点での臨床研究の目的が評価できたかについての判定等を行う。本委員会は国立がんセンター内外の専門家から構成される。本遺伝子治療臨床研究に関与する研究者は原則として本委員会への参加、審議への参加は行わない。但し、本委員会が特に必要と認めた場合には、総括責任者他の研究者の参加を要請することができるが、判定などの審議の際は退室する。また、必要に応じ、委員以外の専門家を招聘し、その意見を聴取し判定などの審議の参考とすることができる。本委員会で審議を行った場合には、その審議内容を記した議事録とともに審議結果を総括責任者に通知する。

委員：金沢大学大学院医学系研究科細胞移植学	教授	中尾眞二
自治医科大学医学部内科学講座血液学部門、 輸血・細胞移植部、 及び分子病態治療研究センター遺伝子治療研究部	教授	小澤敬也
国立がんセンター中央病院総合病棟 14A	医長	國頭英夫

Ⅸ.1.1.2 遺伝子治療臨床研究実施事務局

遺伝子治療臨床研究実施事務局は、遺伝子治療臨床研究効果安全性評価委員会との連絡等事務局業務、症例登録業務等の本遺伝子治療臨床研究を適切に実施するための支援業務を行う。

Ⅸ.1.2 本臨床研究の実施手順

本臨床研究の実施手順は、個々の症例の該当する時期により、大きく以下の 4 期に分類される。全体の計画を図 21 に示す。

1. **被験者･ドナー選定、登録～遺伝子導入 T リンパ球調製・移植細胞の分離・移植前処置**

   総括責任者（又は治療にあたる分担研究者）は、本遺伝子治療臨床研究への適応が予測される被験者及びそのドナーに対し、文書によるインフォームドコンセントを行い、文書による同意が得られた場合、適格性確認に必要な検査を開始する。適格性が確認できた被験者及びそのドナーについて、遺伝子治療臨床研究実施事務局に本臨床研究への仮登録及び登録をそれぞれ依頼する。遺伝子治療臨床研究実施事務局は、被験者及びドナーの適格性を確認したうえで、総括責任者（又は治療にあたる分担研究者）に仮登録及び登録となった旨通知する。

   総括責任者（又は治療にあたる分担研究者）は、被験者及びドナーが仮登録及び登録となったことを確認した後、ドナーより、血漿、末梢血単核球（PBMC）画分及び末梢血幹細胞（PBSC）の採取を行い、一連の細胞調製を行う。遺伝子導入 T リンパ球は、品質を確認した後に Add-back に用いる。PBSC については、専用の細胞分離装置を用いて CD34 陽性細胞の分離を行い、この分離細胞を移植細胞とする。なお CD34 陽性細胞の分離に際しては、分離前後の T リンパ球数（CD3 陽性細胞数）を測定し、T リンパ球除去率を算出する。

   総括責任者（又は治療にあたる分担研究者）は、遺伝子導入 T リンパ球の調製及び移植細胞の採取後、被験者の適格性を確認し、遺伝子治療臨床研究実施事務局に本臨床研究への本登録を依頼する。遺伝子治療臨床研究実施事務局は、仮登録時と同様に被験者の適格性を確認したうえで、総括責任者（又は治療にあたる分担研究者）に本登録となった旨通知する。

   総括責任者（又は治療にあたる分担研究者）は、被験者が本登録となったことを確認した後、Fludarabine 製剤、Thiotepa 製剤、Thymoglobin 製剤、及び放射線全身照射（total body irradiation;TBI）を用いた骨髄破壊的前処置を移植前処置として施行し、移植前処置の安全性及び原疾患の状態を確認する。

2. **造血幹細胞移植**

   移植前処置後、CD34 陽性細胞の分離細胞 4.0×10^{6} 個/kg 以上を移植細胞として造血幹細胞移植を行う。

3. **造血幹細胞移植後～遺伝子導入 T リンパ球 Add-back**

   XI.3「臨床研究実施スケジュール」の項の記載に従い、移植直後の転帰の確認

及び自発的な免疫系再構築の開始の確認を目的に造血幹細胞移植 30 日後から 40 日後の間に被験者の検査・観察を行う。遺伝子導入 T リンパ球 Add-back は以下に従い、免疫再構築の確認が得られるまで最大 3 回、それぞれ定められた日から 7 日以内に行うものとする。

初回の遺伝子導入 T リンパ球 Add-back 以降、GVHD が発症した場合にはⅨ.6.2.6「GVHD 発症時の対応」の項の記載に従い、治療を行う。GCV 製剤を投与した場合には GCV 製剤投与による GVHD の沈静化能に関する検査・観察を行う。

初回の遺伝子導入 T リンパ球以前に治療を要する GVHD が発症した場合には、本遺伝子治療臨床研究を中止し、適切な治療を施す。治療の内容については本実施計画では規定しない。

<u>初回の Add-back</u>

ハプロタイプ一致ドナー由来 T 細胞除去造血幹細胞移植を受けた後、自発的な免疫系再構築の開始（移植後 30 日から 40 日の免疫表現型評価で循環血液中 CD3 陽性細胞＞100 個/μl となった場合）が確認されない場合、かつ GVHD を発症しないあるいは Grade Ⅱ以上の治療を必要とする GVHD を発症しない場合には造血幹細胞移植日を 0 日として 42 日目に 1×10^6 個/kg の細胞数の遺伝子導入 T リンパ球を Add-back する。

<u>2 回目の Add-back</u>

初回の Add-back 以降、免疫系再構築（初回の Add-back 後 14 日、21 日、28 日の免疫表現型評価で連続して循環血液中 CD3 陽性細胞が＞100 個/μl となった場合）が確認されない場合、かつ GVHD を発症しないあるいは Grade Ⅱ以上の治療を必要とする GVHD を発症しない場合には初回の Add-back から 30 日後（造血幹細胞移植日を 0 日として 72 日目）に 1×10^7 個/kg の細胞数の遺伝子導入 T リンパ球を Add-back する。

<u>3 回目の Add-back</u>

2 回目の Add-back 以降、免疫系再構築（2 回目の Add-back 後 14 日、21 日、28 日の免疫表現型評価で連続して循環血液中 CD3 陽性細胞が＞100 個/μl となった場合）が確認されない場合、かつ GVHD を発症しないあるいは GradeⅡ以上の治療を必要とする GVHD を発症しない場合には 2 回目の Add-back から 30 日後（造血幹細胞移植日を 0 日として 102 日目）に 1×10^7 個/kg の細胞数の遺伝子導入 T リンパ球を Add-back する。

4.　遺伝子導入 T リンパ球 Add-back 後のフォローアップ

XI.3「臨床研究実施スケジュール」の項の記載に従い、安全性の判定に関する検査・観察、免疫系再構築の判定に関する検査・観察、GCV 製剤投与による GVHD 沈静化能の判定に関する検査・観察等を行う。

遺伝子導入 T リンパ球の Add-back に伴い、重篤な GVHD が発症した場合にはIX.6.2.6 「GVHD 発症時の対応」の項の記載に従って、GCV 製剤を投与する。その場合、GCV 製剤投与による GVHD の沈静化能に関する検査・観察を行う。

本研究終了後も、被験者の生存期間中にわたり、追跡調査を行う。

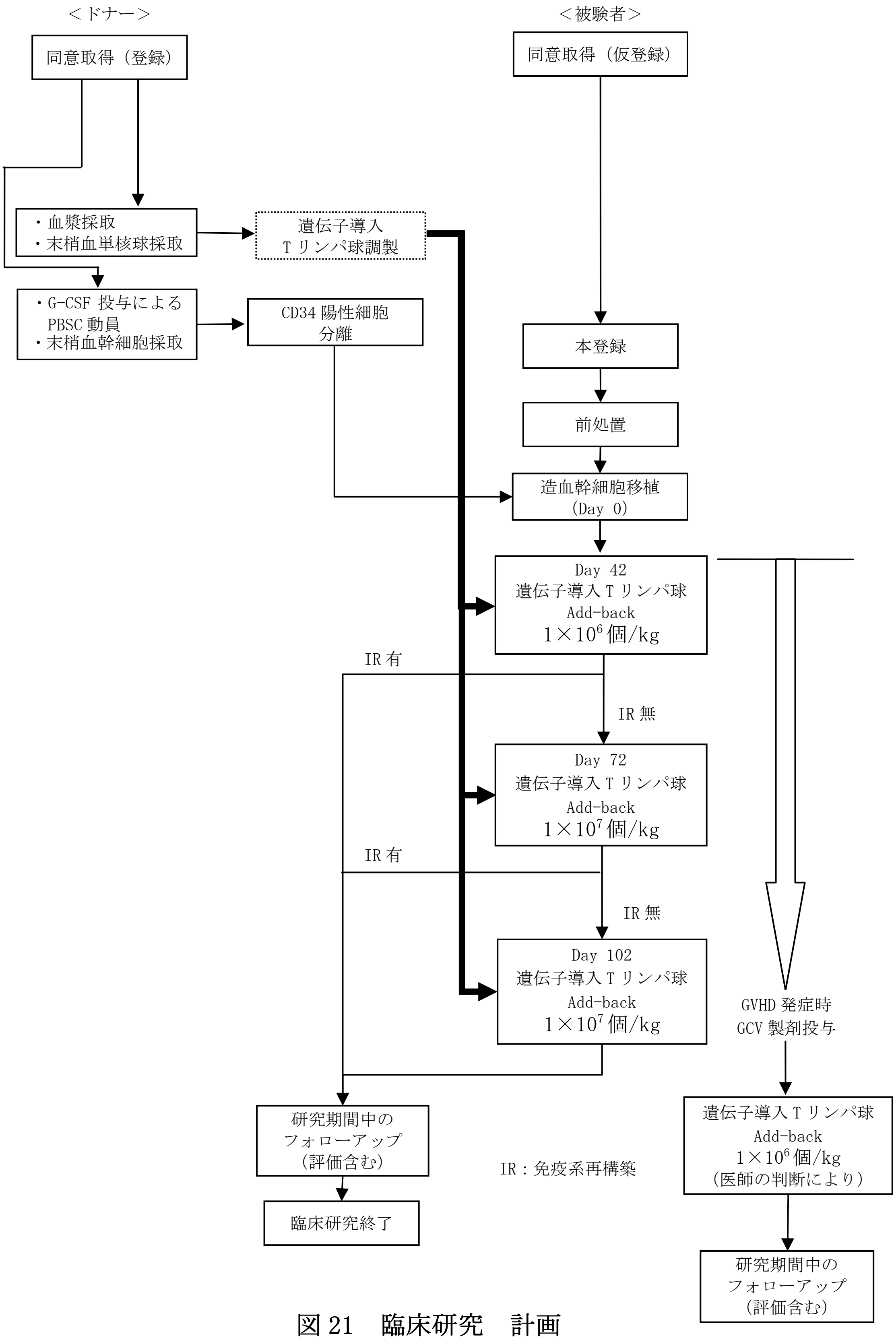

＜ドナー＞
同意取得（登録）
・血漿採取
・末梢血単核球採取
遺伝子導入
T リンパ球調製
・G-CSF 投与による
PBSC 動員
・末梢血幹細胞採取
CD34 陽性細胞
分離
＜被験者＞
同意取得（仮登録）
本登録
前処置
造血幹細胞移植
(Day 0)
Day 42
遺伝子導入 T リンパ球
Add-back
1×10⁶個/kg
IR 有
IR 無
Day 72
遺伝子導入 T リンパ球
Add-back
1×10⁷個/kg
IR 有
IR 無
Day 102
遺伝子導入 T リンパ球
Add-back
1×10⁷個/kg
GVHD 発症時
GCV 製剤投与
遺伝子導入 T リンパ球
Add-back
1×10⁶個/kg
(医師の判断により)
研究期間中の
フォローアップ
(評価含む)
研究期間中の
フォローアップ
(評価含む)
臨床研究終了
IR：免疫系再構築

図 21　臨床研究　計画

Ⅸ.2 ドナー・被験者の選択基準及び除外基準

Ⅸ.2.1 ドナーの選択基準及び除外基準

Ⅸ.2.1.1 選択基準

以下の基準を満たす健常人を対象とする。

なお、ドナーの選択基準・除外基準は、同種末梢血幹移植のための健常人ドナーからの、末梢血幹細胞動員・採取に関するガイドライン（日本造血細胞移植学会・日本輸血学会、2003 年 4 月 21 日：改訂第 3 版）をもとに設定した。また、各臓器機能及び造血機能の具体的な基準に関しては、日本骨髄バンク コーディネートマニュアル「ドナー適格性判定基準」（2005 年 1 月 1 日：第 4 版）を参考に設定した。

(1) 被験者の 4 親等以内の血縁者である者。4 親等以内には、父母、兄弟姉妹、祖父母、孫、叔父叔母、甥姪、従兄弟などが含まれる。
(2) 患者との HLA が 2 抗原あるいは 3 抗原（血清型）不一致のドナーである者。なお、不一致の対象となる HLA 抗原は HLA-A、B、DR とする。
(3) 登録時の年齢が 20 歳以上 65 歳以下である者。
(4) ECOG Performance Status（Ⅺ.4「Performance Status の Grade と判定基準」）が 0 である者。
(5) ドナーとしてじゅうぶんな心・肺・腎・肝機能を有する者。
  1) 心電図上虚血性変化や治療を要する不整脈を認めない者。
  2) 血清クレアチニン値が 1.5 mg/dL 未満及び血清総ビリルビン値が 2.0 mg/dL 以下の者。
  3) 胸部 X 線写真で異常がなく、酸素非投与時の酸素飽和度が 93%以上の者。
  4) AST が 56 IU/L 未満の者。
  5) ALT が 66 IU/L 未満の者。
(6) ドナーとしてじゅうぶんな造血能を有する者。
  1) 白血球数が 3,000/μL 以上の者。
  2) 血小板が 130,000/μL 以上の者。
  3) ヘモグロビン濃度が 13.0 g/dL 以上の男性、又は 11.0 g/dL 以上（鉄剤服用後でも可）の女性。
(7) 本臨床研究協力に対する自由意思による同意が本人から文書により得られている者。

Ⅸ.2.1.2 除外基準

以下のいずれかに該当するドナーは除外する。

(1) 自己免疫疾患（膠原病を含む）の現有及び既往のある者。
(2) 静脈血栓、動脈硬化性疾患の現有及び既往のある者。

(3)　うっ血性心不全、虚血性心疾患、脳血管病変の現有及び既往のある者。

(4)　間質性肺炎の現有及び既往のある者。

(5)　悪性腫瘍の現有及び既往のある者。

(6)　薬物治療を必要とする高血圧、糖尿病を現有する者。

(7)　脾腫を認める者。

(8)　臨床研究参加に対する同意に影響を及ぼす精神的疾患、薬物依存がある者。

(9)　重篤な薬剤アレルギーの既往がある者。

(10) G-CSF 製剤に対するアレルギーがある者。

(11) 妊婦あるいは妊娠している可能性がある者及び授乳中である者。

(12) HBs 抗原、HIV 抗体のいずれかが陽性の者。

(13) 他の臨床試験・臨床研究に参加している者。

(14) その他、総括責任者（又は、治療に当たる分担研究者）が不適当と認めた者。

Ⅸ.2.2 被験者の選択基準及び除外基準

Ⅸ.2.2.1 仮登録時の選択基準及び除外基準

Ⅸ.2.2.1.1 仮登録時選択基準

造血器悪性腫瘍患者の診断および分類は新 WHO 分類に従うものとし、本遺伝子治療臨床研究による治療効果が、現在可能な他の方法と比較して優れていることが予測され、かつ以下の(1)～(8)の全てを満たす患者を対象とする。

なお、選定にあたっては、提供可能な HLA 適合または 1 抗原不一致（血清型）の適切な血縁ドナーの存在の確認及び骨髄バンクの検索サービス〔海外骨髄バンク（全米、台湾、韓国、中国）を含む〕を用いての非血縁ドナーの存在の確認を行い、さらに日本さい帯血バンクネットワークの検索システムを用いての移植可能な臍帯血の存在を確認するものとする。なお、患者の疾患、病期、候補となる臍帯血ユニットの細胞数及び HLA 等を慎重に検討した上で、選定の時点で得られている日本さい帯血バンクネットワークが公式に公開している最新の治療成績で、95%信頼下限が 50%を超えている疾患、病期の組み合わせについては、臍帯血移植を優先する。

(1)　以下のいずれかを満たす患者

- 高リスク急性骨髄性白血病の初回寛解期。高リスクとは、1 回の寛解導入療法にて完全寛解が得られなかった、初発時白血球数が 20,000/μl 以上、二次性白血病、M0、M6、M7、又は予後不良染色体異常〔複雑な異常、-7, -5, abn (3q) , del (5q)〕を有する、のうちいずれかの条件を満たす例とする。
- 急性骨髄性白血病（二次性含む）の第二以上の寛解期。
- 骨髄異形成症候群のうち、IPSS (International Prognosis Scoring System) Intermediate-2 以上の予後不良群。

・骨髄異形成症候群であり、週10単位以上の血小板輸血、もしくは2週に2単位以上の赤血球輸血を要する輸血依存例。

・慢性骨髄性白血病の第一慢性期以降の慢性期、又は移行期。メシル酸イマチニブによる治療歴を有する例に限る。

・高リスク急性リンパ性白血病初回寛解期。高リスクとは、初発時年齢が30歳以上、初発時白血球数30,000/μl以上、表面形質がmature B-cell又はearly T-cellである、予後不良の染色体異常〔t (9;22), t (4;11), t (1;19), hypodiploid, -7, +8〕を有する例、寛解導入に4週間以上要した、のうちいずれかの条件を満たす例とする。

・急性リンパ性白血病の第二以上の寛解期。

(2) 提供可能なHLA適合(1抗原不一致(血清型)含む)の適切な血縁ドナー及び非血縁ドナーがいない患者。

(3) 選択基準に合致し、除外基準に抵触しないドナーを有している患者。

(4) 造血幹細胞移植後9ヵ月以上の生存が可能であると思われる20歳以上60歳以下の患者。

(5) ECOG Performance Status 0又は1の患者。

(6) 以下の全ての主要臓器機能が保たれている患者。

・酸素非投与下での動脈血中酸素飽和度が93%以上(経皮的測定でも可)

・血清クレアチニン値が施設基準値上限(男性:1.1 mg/dL、 女性:0.7 mg/dL)の2倍以内

・血清ビリルビン値が2.0 mg/dL以下

・ASTが施設基準値上限(33 IU/L)の3倍以内

・ALTが施設基準値上限(男性:42 IU/L、 女性:27 IU/L)の3倍以内

・心電図上、治療を要する異常を認めない

(7) 臨床研究参加期間中に安全性や免疫系再構築等、必要な評価が可能であると考えられる患者。

(8) 治療開始にあたり、自由意思により文書で同意が得られた患者。

Ⅸ.2.2.1.2 仮登録時除外基準

(1) CMV感染症を発症、又はCMV抗原血症を呈し、ガンシクロビル製剤にて治療中の患者。

(2) ACV製剤で治療中の患者。

(3) 心エコーにて安静時の心駆出率(Ejection Fraction)が50%未満の患者。

(4) インスリンの継続使用によってもコントロール不良の糖尿病を有する患者。

(5) コントロール不良の高血圧症を合併する患者。

(6) 本臨床研究の参加に対する同意に影響を及ぼすような精神疾患、薬物依存症などの疾患を有する患者。

(7)　治療を要するアレルギー、又は本臨床研究で用いられる薬剤に対してアレルギーのある患者。
(8)　活動性の感染症を有する患者。
(9)　中枢神経系にコントロール不能な明らかな腫瘍細胞の浸潤を認める患者。
(10) 活動性の重複癌がある患者。
(11) 過去に TBI、全身リンパ節照射（total lymphoid irradiation;TLI）を実施した患者。
(12) HIV 抗体陽性、HBs 抗原陽性、又は HCV 抗体陽性の患者。
(13) 妊婦、妊娠の可能性のある患者、授乳中の患者又は臨床研究終了後 5 年間の避妊に協力できない患者。
(14) 他の臨床試験・臨床研究に参加している患者。
(15) その他、総括責任者（又は治療にあたる分担研究者）が不適当と認めた患者。

Ⅸ.2.2.2 本登録時の選択基準及び除外基準

Ⅸ.2.2.2.1 本登録時選択基準

(1)　本臨床研究への参加の同意の撤回がない患者。
(2)　本臨床研究における Add-back に必要な量の遺伝子導入 T リンパ球が得られた患者。
(3)　ドナーから採取された純化後の CD34 陽性細胞数が 4.0×10^{6} 個/kg 以上の患者。*
(4)　造血幹細胞移植後 9 ヵ月以上の生存が可能であると思われる患者。
(5)　ECOG Performance Status 0 又は 1 の患者。
(6)　以下の全ての主要臓器機能が保たれている患者。
・酸素非投与下での動脈血中酸素飽和度が 93%以上（経皮的測定でも可）
・血清クレアチニン値が施設基準値上限（男性：1.1 mg/dL、 女性：0.7 mg/dL）の 2 倍以内
・血清ビリルビン値が 2.0 mg/dL 以下
・AST が施設基準値上限（33 IU/L）の 3 倍以内
・ALT が施設基準値上限（男性：42 IU/L、 女性：27 IU/L）の 3 倍以内
・心電図上、治療を要する異常を認めない
(7)　臨床研究参加期間中に安全性や免疫系再構築等、必要な評価が可能であると考えられる患者。

*：(3)の設定根拠

HLA ハプロタイプ一致ドナー由来造血幹細胞移植における必要最低 CD34 陽性細胞数についてはじゅうぶんな検討はなされていない。すでに報告されている論文(22,89,90)では平均 1×10^{7} 個/kg 以上であり、ある程度大量の CD34 陽性細胞数を必要とすることが示されている。また、Aversa F らの報告(22)では合計の CD34 陽性細胞数として $3.8〜33.7\times10^{6}$ 個/kg の範囲で移植され、Handgretinger R らの報告(90)では合計の CD34 陽性細胞数として

5.4～39×10^{6}個/kg の範囲で移植され、ほとんどの症例で生着が確認されている。このことから、純化後の CD34 陽性細胞数としては 4.0×10^{6}個/kg 以上が必要であるとした。

Ⅸ.2.2.2.2 本登録時除外基準

(1) CMV 感染症を発症、又は CMV 抗原血症を呈し、ガンシクロビル製剤にて治療中の患者。
(2) 移植した末梢血幹細胞の生着が確認できない患者。
(3) 治療を必要とする GVHD が発症した患者。
(4) ACV 製剤で治療中の患者。
(5) 心エコーにて安静時の心駆出率が 50%未満の患者。
(6) インスリンの継続使用によってもコントロール不良の糖尿病を有する患者。
(7) コントロール不良の高血圧症を合併する患者。
(8) 本臨床研究の参加に対する同意に影響を及ぼすような精神疾患、薬物依存症などの疾患を有する患者。
(9) 治療を要するアレルギー、又は本臨床研究で用いられる薬剤に対してアレルギーのある患者。
(10) 体表面積当たりのクレアチニン・クリアランスが 20 mL/分/m^{2}未満[標準体表面積 1.48m^{2}で算出した場合のクレアチニン・クリアランスが 30 mL/分未満]。
(11) 活動性の感染症を有する患者。
(12) 中枢神経系にコントロール不能な明らかな腫瘍細胞の浸潤を認める患者。
(13) 活動性の重複癌がある患者。
(14) 過去に TBI、TLI を実施した患者。
(15) HIV 抗体陽性、HBs 抗原陽性、又は HCV 抗体陽性の患者。
(16) 妊婦、妊娠の可能性のある患者、授乳中の患者又は臨床研究終了後 5 年間の避妊に協力できない患者。
(17) その他、総括責任者（又は治療にあたる分担研究者）が不適当と認めた患者。

Ⅸ.3 登録

Ⅸ.3.1 ドナーの登録

総括責任者（又は治療にあたる分担研究者）は、適格であると予測されるドナー候補者に対し、本臨床研究のための末梢血単核球採取及び末梢血幹細胞採取についてじゅうぶんな説明を行い、自由意思による文書同意を得る。文書同意を得た後、適格性確認に必要な検査・観察を行う。適格性が確認できた場合、国立がんセンター中央病院内に設置する遺伝子治療臨床研究実施事務局にドナーの登録を依頼する。

Ⅸ.3.2 被験者の仮登録

総括責任者（又は治療にあたる分担研究者）は、適格であると予測される被験者候補者

に対し、本臨床研究参加について十分な説明を行い、自由意思による文書同意を得る。文書同意を得た後、適格性確認に必要な検査・観察を行う。適格性が確認できた場合、国立がんセンター中央病院内に設置する遺伝子治療臨床研究実施事務局に被験者の仮登録を依頼する。

Ⅸ.3.3 被験者の本登録

総括責任者（又は治療にあたる分担研究者）は、遺伝子導入 T リンパ球の調製及び移植細胞の採取後に、被験者の適格性を確認する。遺伝子導入 T リンパ球が調製後の品質試験に不合格となった場合、本臨床研究における Add-back に必要な細胞数の遺伝子導入 T リンパ球の確保ができなかった場合、純化後の CD34 陽性細胞数が移植に必要な数に満たなかった場合には、本登録には移行せず、臨床研究は中止とする。適格性が確認できた場合は、国立がんセンター中央病院内に設置する遺伝子治療臨床研究実施事務局に被験者の本登録を依頼する。

Ⅸ.4 ドナー・被験者に対する説明及びその同意の取得方法

Ⅸ.4.1 被験者に対する説明及びその同意の取得方法

本遺伝子治療臨床研究の開始に先立ち、総括責任者（又は治療にあたる分担研究者）は被験者の同意を得るに際し、施設の遺伝子治療臨床研究審査委員会の承認が得られた同意説明文書（Ⅺ.7）を説明の前、又は説明するときに渡し、以下の内容を口頭で詳しく説明する。その後、自由意思による同意を文書にて取得する。なお、同意を取得する前には、質問する機会と臨床研究に参加するか否かを判断するじゅうぶんな時間を被験者本人に与えることとし、質問についてはじゅうぶんに答える。

1. はじめに
2. 遺伝子治療臨床研究の名称と実施施設、担当者
3. 遺伝子治療臨床研究の概要
4. 遺伝子治療臨床研究により予期される効果
5. 予期される危険（副作用）
6. 他の治療法（特にさい帯血移植について）
7. 今回用いるものと同じレトロウイルスベクターを使用したその他の遺伝子治療臨床研究･治験の状況
8. 遺伝子治療臨床研究の目的・意義
9. 遺伝子治療臨床研究の方法
10. 研究の公正性について
11. 遺伝子治療臨床研究に関する健康被害が発生した場合の治療及び補償
12. 個人情報の保護について

13. 遺伝子治療臨床研究を担当する医師

Ⅸ.4.2 ドナーに対する説明及びその同意の取得方法

ドナーより末梢血単核球（PBMC）及び血漿を採取するに先立ち、総括責任者（又は治療にあたる分担研究者）はドナーの同意を得るに際し、施設の遺伝子治療臨床研究審査委員会の承認が得られた同意説明文書（XI.8）を説明の前、又は説明するときに渡し、以下の内容を口頭で詳しく説明する。その後、自由意思による同意を文書にて取得する。なお、同意を取得する前には、質問する機会と臨床研究に参加するか否かを判断するじゅうぶんな時間をドナー本人に与えることとし、質問についてはじゅうぶんに答える。

1. はじめに
2. 遺伝子治療臨床研究の内容
3. Tリンパ球採取について
4. 血漿採取について
5. 末梢血幹細胞採取について
6. 採取前後の健康診断
7. 臨床研究に関する健康被害が発生した場合の治療及び補償
8. 個人情報の保護について
9. 臨床研究を担当する医師

Ⅸ.4.3 ドナー･被験者に対する説明の体制

(1) 総括責任者（又は治療にあたる分担研究者）が被験者の同意を取得する前には、移植専門医に加えて血液科医師並びに移植科レジデント・移植を主業務とするがん専門看護師・移植病棟専門薬剤師・移植病棟専門栄養士・移植コーディネーターが参加するカンファレンスにて当該被験者の症例を紹介し、客観的な判断に基づいた確認を得るものとする。被験者への説明の際には、総括責任者（又は治療にあたる分担研究者）からの説明に加え、がん専門看護師から異なる立場で説明補助を行う。
さらに、上記のカンファレンス並びにがん専門看護師からの説明にて、総括責任者（又は治療にあたる分担研究者）以外の移植専門医が被験者に説明を行う必要があると判断された場合には、院内外の移植専門医が中立的立場での説明を行うものとする。

(2) ドナーに対する説明は、被験者と別に行うものとする。また、ドナーの適格性が確認できるまでは、被験者にドナーに関する情報を伝えないことで、ドナーとなることに同意する以前に患者より有形・無形の圧力がかからないように配慮する。

Ⅸ.5 実施期間及び目標症例数

実施期間は厚生労働大臣から実施が差し支えない旨の回答を得た時点から最長 3 年間で

ある。各症例毎の実施期間は、最終の遺伝子導入Tリンパ球 Add-back 後6ヵ月迄で、臨床研究終了後も当該被験者の生存期間にわたり長期追跡調査を実施する。

目標症例数は10例とする。なお5例終了時点で、遺伝子治療臨床研究効果安全性評価委員会にて、以降の研究の継続の可否について審議を行うものとする。審議により、当該遺伝子治療臨床研究の目的がじゅうぶんに評価されうると判断された場合には、その 5 例をもって当該遺伝子治療臨床研究は終了とする。

Ⅸ.6 遺伝子治療臨床研究の実施方法

Ⅸ.6.1 対照群の設定方法

特に設けない。

Ⅸ.6.2 遺伝子導入方法、遺伝子導入Tリンパ球の追加輸注（Add-back）等

Ⅸ.6.2.1「ドナーからの末梢血単核球（PBMC）の採取」～Ⅸ.6.2.3.3「CD34 陽性細胞分離」のドナーに関するスケジュールの概略については、Ⅺ.3「臨床研究実施スケジュール」に記載する。

Ⅸ.6.2.1 ドナーからの末梢血単核球（PBMC）の採取

ドナーの選択・除外基準に関する適否を確認した後、ドナーの特定に必要な情報を確認し、ドナーの健康診断〔身長、体重、血液型、患者との関係（HLA など)、血算、生化学、感染症（B型肝炎ウイルス、C型肝炎ウイルス、成人T細胞白血病ウイルス、梅毒血清反応、HIV、CMV、EBV、HSV)、過去の造血幹細胞採取の有無、尿、胸部単純写真、心電図〕を行い、異常がないことを確認する。同意取得日から採取当日までの使用薬剤についても確認する。血球分離装置にてドナーより PBMC 画分を採取する。採取する細胞数は、輸注に必要な遺伝子導入 T リンパ球の必要量によって異なるが、1×10^{10}個を採取目標量の最大とし、1 回のアフェレーシスにつき最大 200 mL/kg の血液を処理する。

ドナーからの PBMC 画分採取は、国立がんセンター中央病院内に設置する遺伝子治療臨床研究実施事務局での本臨床研究へのドナーの登録、被験者の仮登録後に行う。

Ⅸ.6.2.2 遺伝子導入Tリンパ球の調製

採取されたドナーPBMC 画分を用いて、Ⅶ.3.1「遺伝子導入細胞の調製方法」に従い、細胞調製を行う。細胞調製後、Ⅶ.3.4「被験者に投与する細胞の安全性」に示した各種試験により、遺伝子導入Tリンパ球としての品質を確認したうえで、Add-back に用いる。

Ⅸ.6.2.3 CD34 陽性細胞採取

末梢血幹細胞の動員・採取は「同種末梢血幹細胞移植のための健常人からの末梢血幹細

胞動員・採取に関するガイドライン（日本造血細胞移植学会・日本輸血学会、2003 年 4 月 21 日　改訂第 3 版)」に準じて行う。なお、動員・採取中はもとより採取終了後もドナーを慎重に観察し、安全の確保に努めることとする。

Ⅸ.6.2.3.1 造血幹細胞の末梢血への動員

G-CSF 製剤を用法・用量に従って投与する。

Ⅸ.6.2.3.2 アフェレーシス

CD34 陽性細胞が多量に採取可能と考えられる適当な時期〔目安：動員開始から 4 日後より 3 回（200～250 mL/kg/日処理)〕に、アフェレーシスにより末梢血幹細胞（PBSC）を採取する。

Ⅸ.6.2.3.3 CD34 陽性細胞分離

アフェレーシス後は、直ちに CD34 陽性細胞分離装置を用い CD34 陽性細胞を分離し、この分離細胞を移植細胞とする。CD34 陽性細胞純化確認のため、アフェレーシス毎に CD34 陽性細胞数を測定し、分離前後の CD34 陽性細胞の純度、及び回収率を算出する。

Ⅸ.6.2.4 末梢血幹細胞移植

移植治療前に末梢ラインあるいは中心静脈ラインを確保する。移植日に用意した移植細胞（CD34 陽性細胞の分離細胞 4.0×10^6個/kg 以上）を末梢ラインあるいは中心静脈ラインから患者に輸注する。

Ⅸ.6.2.5 遺伝子導入 T リンパ球の Add-back

遺伝子導入 T リンパ球の Add-back は以下に従い、それぞれ定められた日から 7 日以内に行う。

Ⅸ.6.2.5.1　初回の Add-back

ハプロタイプ一致ドナー由来 T 細胞除去造血幹細胞移植を受けた後、自発的な免疫系再構築の開始（造血幹細胞移植後 30 日から 40 日の間の免疫表現型評価で循環血液中 CD3 陽性細胞＞100 個/μl となった場合）が確認されない場合、かつ GVHD を発症しないあるいは GradeⅡ以上の治療を必要とする GVHD を発症しない場合には造血幹細胞移植日を 0 日として 42 日目に細胞数 1×10^6個/kg の遺伝子導入 T リンパ球を Add-back する。

ハプロタイプ一致ドナー由来 T 細胞除去造血幹細胞移植を受けた後、自発的な免疫系再構築の開始が確認された場合には、遺伝子導入 T リンパ球の追加の Add-back は行わず、造血幹細胞移植後 42 日を 0 日として、Ⅺ.3「臨床研究実施スケジュール」に従い、検査・観

察を行う。但し、免疫表現型評価で免疫系再構築が解除されたと判断される場合には、総括責任者の判断により 1×10^{6}個/kg の細胞数の遺伝子導入 T リンパ球を Add-back することができる。この遺伝子導入Tリンパ球のAdd-backを初回のAdd-backとして、Ⅸ.6.2.5.2 「2回目の Add-back」以降の実施手順に従うものとする。

初回の遺伝子導入 T リンパ球の Add-back より前に治療を要する GVHD が発症した場合には、本遺伝子治療臨床研究を中止し、適切な処置を施す。治療の内容については本遺伝子治療実施計画では規定しない。

Ⅸ.6.2.5.2　2回目の Add-back

初回の Add-back 以降、免疫系再構築（初回の Add-back 後 14 日、21 日、28 日の免疫表現型評価で連続して循環血液中 CD3 陽性細胞＞100 個/μl となった場合）が確認されない場合、かつ GVHD を発症しないあるいは Grade Ⅱ以上の治療を必要とする GVHD を発症しない場合には、初回の Add-back から 30 日後（造血幹細胞移植日を 0 日として 72 日目）に細胞数 1×10^{7}個/kg の遺伝子導入 T リンパ球を Add-back（2 回目）する。

初回の Add-back 以降、免疫系再構築が確認された場合には、遺伝子導入 T リンパ球の追加の Add-back は行わず、初回の Add-back を行った日を 0 日として、Ⅺ.3「臨床研究実施スケジュール」に従って、検査・観察を行う。但し、免疫表現型評価で免疫系再構築が解除されたと判断される場合には、総括責任者の判断により 1×10^{7}個/kg の細胞数の遺伝子導入 T リンパ球を Add-back することができる。この遺伝子導入 T リンパ球の Add-back を 2 回目の Add-back として、Ⅸ.6.2.5.3 「3 回目の Add-back」以降の実施手順に従うものとする。

Ⅸ.6.2.5.3　3回目の Add-back

2 回目の Add-back 以降、免疫系再構築（2 回目の Add-back 後 14 日、21 日、28 日の免疫表現型評価で連続して循環血液中 CD3 陽性細胞＞100 個/μl となった場合）が確認されない場合、かつ GVHD を発症しないあるいは Grade Ⅱ以上の治療を必要とする GVHD を発症しない場合には、2 回目の Add-back から 30 日後（造血幹細胞移植日を 0 日として 102 日目）に 1×10^{7}個/kg の細胞数の遺伝子導入 T リンパ球を Add-back（3 回目）する。

2 回目の Add-back 以降、免疫系再構築が確認された場合には、遺伝子導入 T リンパ球の Add-back は行わず、2 回目の Add-back を行った日を 0 日として、Ⅺ.3「臨床研究実施スケジュール」に従って、検査・観察を行う。但し、免疫表現型評価で免疫系再構築が解除されたと判断される場合には、総括責任者の判断により 1×10^{7}個/kg の細胞数の遺伝子導入 T リンパ球を Add-back することができる。この遺伝子導入 T リンパ球の Add-back を 3 回目の Add-back として、Ⅸ.6.2.5.4「3 回目の Add-back 以降」の実施手順に従うものとする。

Ⅸ.6.2.5.4　3 回目の Add-back 以降

3回目のAdd-back以降、免疫系再構築（3回目のAdd-back後14日、21日、28日の免疫表現型評価で連続して循環血液中CD3陽性細胞＞100個/μl となった場合）が確認されない場合は、以降は遺伝子導入Tリンパ球のAdd-backは行わず、3回目のAdd-backを行った日を0日として、XI.3「臨床研究実施スケジュール」に従って、検査・観察を行う。

3回目のAdd-back以降、免疫系再構築が確認された場合には、遺伝子導入Tリンパ球のAdd-backは行わず、3回目のAdd-backを行った日を0日として、XI.3「臨床研究実施スケジュール」に従って、検査・観察を行う。

IX.6.2.6 GVHD発症時の対応

IX.6.2.6.1 GVHDに対する治療

遺伝子導入Tリンパ球のAdd-back後、GVHD発症時には免疫系再構築の有無にかかわらず、以下に従う。

Grade Ⅰの急性GVHDが発症した場合には、そのまま経過観察を行う。

Grade Ⅱの急性GVHD又は慢性GVHDが発症した場合には、総括責任者の判断のもと、治療を行ってもよい。

Grade Ⅲ以上の急性GVHDを発症した場合、又はGrade Ⅱの急性GVHD又は慢性GVHDを発症しかつ総括責任者により治療が必要であると判断された場合、GCV製剤5 mg/kg/回を1日2回7～14日間点滴静注する。急性GVHDのGradeはXI.5「急性GVHDのGrade」に従い、総括責任者（又は治療にあたる分担研究者）が判断する。急性GVHDか慢性GVHDかはその病態から総括責任者（又は治療にあたる分担研究者）が判断する。

GVHDが改善しない場合は、免疫抑制剤（例、タクロリムス製剤、メチルプレドニゾロン製剤及びシクロスポリンA製剤）を総括責任者の判断により投与する。GVHDの改善の判断は、日本造血細胞移植学会の「造血細胞移植ガイドライン-GVHDの診断と治療に関するガイドライン」に示された「標準的なsecondary treatmentの治療適応」である以下の基準に従う。

- 治療開始3日目以降の病状の悪化
- 治療開始7日目の時点で、不変（特に肝と腸管のstage 3以上の臓器障害）
- 治療開始14日目の時点で、効果不十分（特に肝と腸管のstage 2以上の臓器障害）

重篤なGVHDが発症し、GCV製剤を投与してもGVHDが改善しない場合のsecondary treatmentは本実施計画では規定しない。

遺伝子導入Tリンパ球のAdd-backより前に治療を要するGVHDが発症した場合には、本遺伝子治療臨床研究を中止し、適切な処置を施す。治療の内容については本遺伝子治療実施計画では規定しない。

Ⅸ.6.2.6.2 GVHD治療後の遺伝子導入Tリンパ球のAdd-back

遺伝子導入Tリンパ球のAdd-back後に、Grade Ⅱ以上のGVHDが発症し、GCV製剤投与により、じゅうぶんに沈静化できた場合には、GCV製剤投与直前の遺伝子導入Tリンパ球のAdd-backが初回あるいは2回目の場合に限り、GCV製剤投与終了後、総括責任者の判断により1×10^6個/kgの細胞数の遺伝子導入Tリンパ球をAdd-backすることができる。

発症したGVHDがGCV製剤投与に反応しない場合には、新たな遺伝子導入Tリンパ球の輸注は行わず、本臨床研究を中止するものとし、以降の治療は規定しない。

Ⅸ.6.2.7 CMV感染症時の対応

Ⅸ.6.3.2.2 「感染症予防薬」に従う。

Ⅸ.6.2.8 細菌、真菌感染時の対応

本実施計画では規定しない。症状に応じて、適切な抗生剤、抗真菌剤を投与する。

Ⅸ.6.2.9 再発時の対応

原疾患の増悪又は再発が認められた場合には、研究を中止し、以降の治療については規定しない。

Ⅸ.6.3 前処置及び併用療法の有無

Ⅸ.6.3.1 移植前処置

Ⅸ.6.3.1.1 移植前処置

骨髄破壊的前処置法として、TBI(7.5 Gy 単回照射 Day -9) + thiotepa製剤(5 mg/kg/q12h Day -8) + fludarabine phosphate 製剤(40 mg/m^2/日 Day -7～Day -3) + methylpredonisolone製剤(2 mg/kg/日)と併せてThymoglobulin製剤〔3 mg/kg/日 (Merieux) あるいは5 mg/kg/日 (Fresenius) Day -6～Day -2〕 + 安静 (Day -1) を用いる。

移植前処置は、適格の判定を受け、本登録となった後、可及的速やかに開始することとする。

表 15　移植前処置

	Day	-9	-8	-7	-6	-5	-4	-3	-2	-1	0
TBI	7.5 Gy	↓									
thiotepa	5 mg/kg/q12h		↓								
fludarabine phosphate	40 mg/m²/日			↓	↓	↓	↓	↓			
Thymoglobulin	3 mg/kg/日 (Merieux) 5 mg/kg/日 (Fresenius) ＋methylpredonisolone 2 mg/kg/日				↓	↓	↓	↓	↓		
末梢血幹細胞移植											↓

Ⅸ.6.3.1.2. 前処置薬剤投与法

前処置薬剤の投与量は、本登録時の身長、体重及び身長・体重から算出される体表面積に従って以下のように算出し、投与期間中変更しない。

標準体重を以下の計算式により求める。

[標準体重]＝（身長　－　100）×　0.9

実体重が標準体重を下回る場合は、計算に用いる体重は実体重とする。

実体重が標準体重を上回る場合は、計算に用いる体重は以下のように求める。

[計算に用いる体重]＝（標準体重）＋（実体重　－　標準体重）/3

体表面積は、以下の式により算出し、投与期間中は変更しない。

[体表面積]＝計算に用いる体重[kg]$^{0.444}$×身長[cm]$^{0.663}$×88.83/100

それぞれの算出にあたり、身長及び実体重は小数点以下第 1 位を四捨五入した整数値を使用する。体表面積を算出した場合は小数点以下第 4 位を四捨五入し、第 3 位までの値を用いる。

(1)　チオテパ（thiotepa）

チオテパ製剤 5 mg/kg を 1 日 2 回、4 時間かけて経静脈的に投与する。

(2)　リン酸フルダラビン（fludarabine phosphate）

リン酸フルダラビン製剤は 40 mg/m²/日を Day -7 から Day -3 までの 5 日間投与する。ただし、腎機能が低下している患者（体表面積当たりのクレアチニンクリアランスが 20～47 mL/min/m²）では、腎機能の低下に応じて、下記に示す式により投与量を減量して、安全性を確認しながら慎重に投与すること。

（投与量の算出方法）

上記に記載した方法で得られた体表面積を用い、下記の計算式にて体表面積あたりの

クレアチニンクリアランス[mL/min/m^2]を算出する。

CLcr[mL/min/m^2]= (Ucr×Uv) ／ {(Scr×Bsa) ×1440}

CLcr[mL/min/m^2]：体表面積あたりのクレアチニンクリアランス

Ucr[mg/dL]：尿中クレアチニン濃度

Uv[mL]：尿量

Scr[mg/dL]：血清クレアチニン濃度

Bsa[m^2]：体表面積

体表面積あたりのクレアチニンクリアランス(CLcr:小数点以下第1位を四捨五入し、整数値を使用）により表16の通り投与量を算出、又は投与不適格と判定する。

表16　リン酸フルダラビン製剤投与

体表面積あたりのクレアチニンクリアランス	投与量算出式
48≦CLcr	投与量[mg/day]=30×体表面積
20≦CLcr≦47	投与量[mg/day]＝30×（0.4＋0.01×体表面積あたりのCLcr）×体表面積
CLcr＜20	投与不適格

(3)　抗胸腺グロブリン（Thymoglobulin）

抗胸腺グロブリン製剤は、メチルプレドニゾロン製剤 2 mg/kg/日と併せ、3 mg/kg/日（Merieux）あるいは5 mg/kg/日（Fresenius）をDay -6からDay -2の5日間投与する。

(4)　安静

Day -1は化学療法等は行わず、安静を保つ。

Ⅸ.6.3.2 許容される併用療法

Ⅸ.6.3.2.1 メシル酸イマチニブ

慢性骨髄性白血病に対するメシル酸イマニチブ製剤は、前処置開始までに終了することを条件に使用可能である。

Ⅸ.6.3.2.2 感染症予防薬

細菌・真菌・ウイルス感染の予防の投薬について規定はしないが、以下の方法を推奨する。

(1)　細菌感染症予防

前処置開始時から好中球の生着確認時までキノロン系経口薬を投与する。

(2)　真菌感染症予防

フルコナゾール製剤 200 mg/日 を前処置開始時から免疫系再構築確認時まで投与する。

カリニ肺炎予防のため、Sulfamethoxazole/Trimethoprim 合剤を前処置開始前は連日少なくとも 2 週間、好中球の生着後から少なくとも免疫系再構築確認時までは週に 2 回、1 日 4 錠の 2 分割投与を行う。

(3)　ウイルス感染症予防

単純ヘルペス感染症及び帯状疱疹予防のため、ビダラビン製剤を Day -7 から Day 35 まで 1,500 mg/日、点滴静注の投与を行う。

CMV 感染予防として、CMV 抗原血症検査（C7-HRP あるいは C10/C11）を生着後 Day 100 まで週に 1 回ずつ施行する。CMV 抗原血症検査の結果に基づいて適宜ホスカルネットナトリウム製剤※を投与する。

(※ホスカルネットナトリウム製剤の投与開始基準)

陽性細胞が 1 個以上存在する場合にはホスカルネットナトリウム製剤 90 mg/kg 1 日 1 回投与を開始する。次週、陽性細胞数が 50%以上上昇していた場合には 90 mg/kg 1 日 2 回に増量する。1 日 2 回投与を行っている期間に抗原血症の減少が認められたら 1 日 1 回投与に減量する。抗原血症が陰性化したら中止する。

Ⅸ.6.3.3 併用禁止療法

(1)　移植前処置開始時以降、臨床研究参加期間中を通じ、移植前処置で用いる以外の抗がん剤治療は禁止とする。抗がん剤治療とは、一般的な化学療法薬を用いた治療の他、抗体療法、インターフェロン製剤やインターロイキン 2 製剤等を含む非特異的免疫賦活薬療法を含むものとする。ただし、本臨床研究が対象としている疾患には、進行期も含まれることを考慮し、仮登録から移植前処置開始までの期間については、他の抗がん剤による治療を禁止しない。

(2)　免疫系再構築及び免疫学的多様性に対して悪影響を及ぼす末梢血幹細胞移植後のシクロスポリン A 製剤の使用は禁止する。又、やむを得ず感染症合併時に使用する G-CSF 製剤投与などの場合を除き、原則として G-CSF 製剤の投与は禁止する。

(3)　初回の遺伝子導入 T リンパ球の輸注以降は、GCV 製剤・ACV 製剤の投与は禁止する。CMV の再活性化の場合には、GCV 製剤の投与は避け、抗ウイルス薬であるホスカルネットナトリウム製剤の投与で代替する。

ホスカルネットナトリウム製剤投与に不応性で CMV 感染症が改善しない場合には、GCV 製剤による治療を行い、遺伝子導入 T リンパ球の輸注は GCV 製剤の投与中止後、24 時間経過以降であれば行うことができる。

Ⅸ.6.4 臨床検査項目及び観察項目

被験者の適格性他の確認、本臨床研究における安全性の判定、免疫系再構築の判定、GCV製剤投与による GVHD 沈静化の判定、治療反応性の判定　等のために以下の検査・観察を実施する。なお、検査時期については、Ⅺ.3「臨床研究実施スケジュール」に記載する。

但し、病状により、以下の項目以外についても検査・観察を実施することがある。検査・観察スケジュールについても定めた時期以外にも実施されることがある。

Ⅸ.6.4.1 被験者の適格性他の確認に関する検査・観察

(1)　ドナー背景：

文書同意取得日、被験者との続柄、HLA の型、性別、生年月日、体重、血圧、脈拍、体温呼吸数、現有、既往、Performance Status、心電図、血液学的検査（白血球数、白血球分画、赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値、血小板、網状赤血球数)、血液生化学検査〔総たん白、アルブミン、AST (GOT)、ALT (GPT)、γ-GTP、LDH、Al-P、総ビリルビン、BUN、クレアチニン、尿酸、血清電解質 (Na、K、Cl、Ca)、CRP、血糖〕、感染症検査 (HIV 抗体、HBs 抗原、HCV 抗体等)、胸部 X 線検査、動脈血液中酸素飽和度、腹部エコーなどによる脾腫のチェック、過去の末梢血幹細胞採取の有無・時期

(2)　被験者仮登録時：

文書同意取得日、HLA の型、性別、生年月日、身長、体重、血圧、脈拍、体温呼吸数、臨床診断名・病歴、現有、既往、HLA 適合又は 1 抗原不一致の血縁ドナーの有無、
妊娠の有無、
Performance Status、心エコー、心電図、動脈血液中酸素飽和度、胸部 X 線検査（感染症の検査として)、血液学的検査（白血球数、赤血球数、ヘモグロビン濃度、血小板)、血液生化学検査〔総たん白、アルブミン、AST (GOT)、ALT (GPT)、γ-GTP、LDH、Al-P、総ビリルビン、BUN、クレアチニン、尿酸、血清電解質 (Na、K、Cl、Ca)、CRP、血糖〕、感染症検査 (HIV 抗体、HBs 抗原、HCV 抗体等)、血液型

(3)　被験者本登録時：

血圧、脈拍、体温呼吸数、現有、既往、妊娠の有無、
Performance Status、心エコー、心電図、動脈血液中酸素飽和度、胸部 X 線検査（感染症の検査として)、血液学的検査（白血球数、白血球分画、赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値、血小板)、血液生化学検査〔総たん白、アルブミン、AST (GOT)、ALT (GPT)、γ-GTP、LDH、Al-P、総ビリルビン、BUN、クレアチニン、尿酸、血清電解質 (Na、K、Cl、Ca)、CRP、血糖〕、感染症検査 (TPHA、HBs 抗原、HCV 抗体)、ドナーからの採取 CD34 陽性細胞数、遺伝子導入 T リンパ球数、クレアチニン・クリアランス

Ⅸ.6.4.2 移植細胞数

移植された CD34 陽性細胞数、及びこれに含まれる CD3 陽性細胞数

Ⅸ.6.4.3 輸血状況

輸血日、血小板輸血量（単位)、赤血球輸血量（単位）

Ⅸ.6.4.4 併用薬剤使用状況

併用薬剤名、1 日用法用量、併用期間、使用目的

Ⅸ.6.4.5 遺伝子導入 T リンパ球数

輸注した遺伝子導入 T リンパ球数

Ⅸ.6.4.6 原疾患に関する検査・観察

臨床検査〔芽球の有無、ヘモグロビン量、好中球数、血小板数、LDH、CRP、血清電解質（Ca)〕、骨髄像（有核細胞数、腫瘍細胞割合、骨髄球の成熟、形態学的異常、巨核球数、M/E 比)、細胞遺伝学的検査、分子学的検査、キメリズム解析、腫瘍関連症状（発熱、盗汗、体重減少)、血清 M 蛋白・尿中 M 蛋白、画像診断

Ⅸ.6.4.7 安全性の判定に関する検査・観察

(1) 臨床検査

血液学的検査（白血球数、白血球分画、赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値、血小板、網状赤血球数)

血液生化学検査〔総たん白、アルブミン、AST (GOT)、ALT (GPT)、γ-GTP、LDH、Al-P、総ビリルビン、BUN、クレアチニン、尿酸、血清電解質（Na、K、Cl、Ca)、CRP、血糖〕

免疫学的検査（IgG 量、IgA 量、IgM 量)

感染症検査（CMV 抗体価、CMV Antigenemia あるいは血清中の CMV-DNA 定量測定等)

尿定性検査（たん白、糖、潜血、ウロビリノーゲン、沈渣)

その他（体重、脈拍、血圧)

(2) 有害事象（感染事象、GVHD、臨床検査値異常変動含む)

有害事象とは、本治療が実施された際に起こるあらゆる好ましくない、あるいは意図しない徴候（臨床検査値の異常を含む)、症状、又は病気のことであり、本治療との因果関係の有無は問わない。

総括責任者（又は治療にあたる分担研究者）は臨床研究期間中を通して発生した有害事象について、その症状、発現時期、グレード、研究継続・中止の別、処置の有無及び内容、本治療との因果関係、転帰を調査する。

(3)　RCR 発現の有無

末梢血中の RCR を RT-PCR 法により測定する。

(4)　LAM-PCR による遺伝子導入 T リンパ球クローナリティー解析

Ⅸ.6.4.8 免疫系再構築の判定に関する検査・観察

(1)　末梢血中の CD3 陽性リンパ球数

(2)　末梢血中のリンパ球の免疫表現型

末梢血中のリンパ球の免疫表現型をヒトリンパ球マーカーに対する各種抗体（CD3、CD4、CD8、CD11c、CD56、CD123　等）を用いた FACS 解析により評価する。

(3)　末梢血の免疫回復の細胞生物学的解析及び分子生物学的解析

細胞内サイトカインの測定、Pentamer 解析、T 細胞受容体レパトア解析、TREC 法を用いた解析等により評価する。

細胞内サイトカインとしては、サイトメガロウイルス抗原並びに PMA 抗原刺激後の、リンパ球内のインターフェロンγ(IFN-γ)及び IL-4 を定量解析する。IFN-γは TH-1 反応（細胞性免疫）の指標として、IL-4 は TH-2 反応（液性免疫）の指標であり、ドナーリンパ球追加輸注療法後に、ドナー由来リンパ球(ドナーリンパ球輸注に使用した遺伝子導入リンパ球並びにドナー幹細胞より分化したリンパ球の双方を含む)の再活性化が起こるか否かの指標となる。

Pentamer 解析とは、蛍光標識した合成 HLA 蛋白分子に抗原ペプチドを結合させ、それを用いて抗原特異的リンパ球の定量解析を行うものである。本研究ではサイトメガロウイルス抗原ペプチドを有する HLA-A2402 並びに HLA-A0201 ペンタマーを用いて、遺伝子導入ドナーリンパ球輸注による抗原特異的免疫に与える影響を検証する。

T 細胞レパトア解析とは、PCR 法を用いて T 細胞レセプターの可変領域の多様性を PCR 法を用いて解析する方法である。TREC 解析とは、Naïve T 細胞が抗原特異的 T 細胞に成熟する際に切り出される遺伝子断片の量を、PCR 法を用いて解析する方法である。両者とも、T 細胞の多様性を示す指標と考えられており、遺伝子導入リンパ球ならびに投与後患者におけるリンパ球の多様性を評価すると共に、感染症や GVHD 発症時に多様性の変化が起こるか否かを検証する。

なお、上記の解析方法は、申請機関内の研究室にて既に確立された作業手順書に基づいて行なうこととする。

Ⅸ.6.4.9 GCV 製剤投与による GVHD 沈静化能の判定に関する検査・観察

(1)　GVHD 症状評価

(2)　GCV 製剤投与無効時の免疫抑制剤使用頻度

(3)　GVHD 発症組織における遺伝子導入 T リンパ球の存在確認（実施可能な場合）

組織診断用の検体採取が可能な場合、組織切片を作製し、抗 LNGFR 抗体を用いた免

疫染色により遺伝子導入Tリンパ球の存在を確認する。もしくは、検体からDNAを抽出してリアルタイムPCRを用いてレトロウイルスベクターSFCMM-3に特異的な領域を測定することにより遺伝子導入Tリンパ球の存在を確認する。

Ⅸ.6.4.10 その他の検査・観察

Ⅸ.6.4.10.1 無病生存率

腫瘍性疾患に関わる検査、転帰、最終確認日

Ⅸ.6.4.10.2 全般生存率

転帰、最終確認日

Ⅸ.6.4.10.3 感染症の頻度

治療を要した感染事象の頻度、事象確認日、転帰、最終確認日

Ⅸ.6.4.10.4 輸注後血中動態

抗LNGFR抗体を用いたFACS解析又はPCR法を用いて測定された血中遺伝子導入Tリンパ球比率の推移

Ⅸ.6.4.10.5 研究終了後の追跡調査

遺伝子治療を受けた患者については、本臨床研究終了後も生存期間中にわたり、以下の項目について追跡調査を行う。

(1) RCR出現の有無
(2) 血中遺伝子導入Tリンパ球比率測定
(3) LAM-PCRによる遺伝子導入Tリンパ球クローナリティーの解析
(4) 転帰（原疾患評価、生死の別、最終転帰確認日）

Ⅸ.6.5 予測される副作用及びその対処方法

Ⅸ.6.5.1 ドナー末梢血リンパ球採取に伴うドナーへの危険性

ドナーからのリンパ球採取は基本的に安全性が確立した手技であるが、特に以下の4点には注意を払う。対処法については、下記の記載のほか、「日赤成分採血マニュアル」の記載に従うこととする。

(1) ドナー末梢血リンパ球採取は、血球分離装置を用いて行われ、リンパ球採取中はクエン酸ナトリウム（ACD-A液）が抗凝固剤として用いられるため、低カルシウム血症をきたすことがある。

⇒（対処法）予防するためにカルシウムを補充しながら行う。

(2) リンパ球の採取は通常は末梢静脈ラインを確保することによって可能であるが、ドナーの体格、血管の状態などによりじゅうぶんな血流が確保できない時には、中心静脈ラインを確保する必要がある。ごく稀に静脈血栓症、動静脈ろう等を合併することがある。

⇒（対処法）中心静脈穿刺に関しては、習熟した医師が行う。合併症にはじゅうぶんな注意を払い、発生時には症状にあわせた薬剤投与・処置を行う。

(3) リンパ球採取後の血球減少に関しても幾つかの報告がある。白血球に関しては一過性の好中球減少を合併したとの報告があるが、易感染性をきたすまでには至らない。ヘモグロビン値が 2 g/dL 以上低下する症例が 23.5%に、血小板数が 50,000/μL 以下に低下する症例が 10.8%に認められるという報告もあり、注意を要する。

⇒（対処法）原則的に経過観察する。血小板については、採取終了後に検査を行い、必要に応じて返血を行う。

(4) 採取スピードが速い場合には、急激な循環血漿量の減少により、一時的な血圧低下をまねく可能性がある。

⇒生理食塩水の点滴により対処可能である。

Ⅸ.6.5.2 ドナー末梢血幹細胞採取に伴うドナーへの危険性

Ⅸ.6.5.1「ドナー末梢血リンパ球採取に伴うドナーへの危険性」で示した以外に、以下の2点に注意を払う。

(1) めまい、吐き気、嘔吐など血管迷走神経反射（vaso-vagal reflex: VVR）を認めることがある。

⇒（対処法）VVR は重篤な場合は高度の「徐脈（脈拍数 29/分以下)」が出現し、意識喪失、失禁がみられることがあり、さらに「心停止」にいたる可能性があることから、必ず ECG モニターを用い、硫酸アトロピン、エチホール、エフェドリンなどを直ちに静注するための準備を行う。

(2) 血小板も大量に採取されるので、採取後に血小板減少が高頻度（50%以上）に見られ、50,000/μL 未満の高度の血小板減少も少なからず見られる。

⇒（対処法）採取終了後 1 週間くらいは血小板数を確認し、採取前値への回復を確認する。PBSC 動員から採取終了までアスピリン製剤は使用しない。

Ⅸ.6.5.3 T 細胞除去造血幹細胞移植に伴う被験者への危険性

(1) 感染症を主要因とする移植関連死

⇒（対処法）本遺伝子治療実施計画では規定しないが、医師の判断による適切な予防投薬等の徹底した予防策を実施し、早期発見により早期治療を行う。

(2)　原疾患の再発

⇒（対処法）本遺伝子治療臨床研究を中止し、以降の治療については規定しない。

Ⅸ.6.5.4 遺伝子導入Tリンパ球Add-backに伴う被験者への危険性

特に以下の3点については注意を払う。

(1)　遺伝子導入ドナーT リンパ球投与時に被験者に発熱、悪寒、筋痛等を認めることがある。

⇒（対処法）鎮痛解熱剤等の適切な薬剤にて対処する。

(2)　アナフィラキシー等の重篤なアレルギー反応を認めることがある。

⇒（対処法）輸注速度を遅くし、経過観察を行う。

(3)　重症のGVHDを発症することがある。

⇒（対処法）Ⅸ.6.2.6.1「GVHDに対する治療」に従い、治療を行う。

遺伝子導入ドナーT リンパ球Add-back後に発症したGVHDは、理論上はGCV製剤投与によって沈静化に向うが、遺伝子導入Tリンパ球を完全に死滅させることができず沈静化できない可能性も否定できない。その場合には、総括責任者の判断のもと、免疫抑制剤を投与することとする。

Ⅸ.6.5.5 ガンシクロビル（GCV）製剤投与に伴う被験者への危険性

GCV製剤は、免疫能低下を引き起こす先天性及び後天性の病状の分野で、CMVの再活性化の予防と治療のために広く使用されている。遺伝子導入 T リンパ球を輸注した被験者におけるGVHD発症に対する治療に使用される用量（10 mg/kg/日）は、CMV感染に対する治療に使用される用量であり、腎機能に障害がある場合にはその程度に応じて適宜減量する。GCV製剤の使用には、骨髄抑制、消化管障害、腎機能障害等の副作用を伴う可能性があるので、じゅうぶんな観察を行い、減量若しくは投与を中止する等の適切な処置を講じる。

Ⅸ.6.5.6 RCRの危険性

本臨床研究においてはRCRが出現する可能性は極めて低い。また、たとえRCRがPCR等で検出されても、マウス由来のパッケージ細胞株より生産されるレトロウイルスはヒト補体により破壊されるので、ウイルス血症は一過性に終わる可能性が高い。しかしながらヒト細胞から RCR が出現した場合、悪性リンパ腫を発症する可能性も否定できないので、被験者の経過を注意深く観察して対処するものとする。

Ⅸ.6.6 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

安全性、免疫系再構築、GCV製剤投与による GVHD 沈静化能等に関する検査・観察スケジュールは、Ⅺ.3「臨床研究実施スケジュール」に記載の通りである。

本臨床研究の主たる評価は遺伝子導入Tリンパ球最終 Add-back 後6ヵ月までのデータによって行われるが、遺伝子導入Tリンパ球のクローナルな増殖、RCR 出現の可能性を完全には否定できないため、遺伝子治療を受けた被験者については臨床研究終了後も生存期間中にわたり、国立がんセンター中央病院にて以下の項目について年 1 回のフォローアップを行う。

(1)　RCR 出現の有無
(2)　血中遺伝子導入Tリンパ球比率測定
(3)　LAM-PCR による遺伝子導入Tリンパ球クローナリティーの解析
(4)　転帰（原疾患評価、生死の別、最終転帰確認日）

Ⅸ.6.6.1 安全性の判定方法、基準

Ⅸ.6.6.1.1 安全性に関する判定に必要な検査・観察項目

(1)　臨床検査
(2)　有害事象
(3)　RCR
(4)　LAM-PCR

Ⅸ.6.6.1.2 安全性に関する判定基準・評価方法

(1)　臨床検査値の異常及び異常変動の判定法

・臨床検査値の異常の判定は、国立がんセンター中央病院の基準範囲を逸脱した場合とする。

・異常変動「有」の判定は、正常値→異常値、もしくは異常値→異常値の増強がみられた場合に、その臨床的意義を考慮して総括責任者（又は治療にあたる分担研究者）が判断する。これに該当しない場合においても、その変動の臨床的意義を考慮した結果、総括責任者（又は治療にあたる分担研究者）が異常変動「有」と判断した場合も含まれる。

なお、異常変動の判定について、正常値→異常値、もしくは異常値の増強が見られ、かつ異常変動を「無」と判断した場合にはその理由について、臨床経過を踏まえて考察を行う。

(2)　有害事象（感染事象、GVHD、臨床検査値異常変動を含む）

総括責任者（又は治療にあたる分担研究者）は、開始時より終了時までの臨床研究期間中を通して発生した有害事象について、その症状、発現時期、程度、臨床研究継続・中止の別、処置の有無及び内容、遺伝子導入Tリンパ球輸注との因果関係、転帰（回復した場合にはその回復日）を調査する。遺伝子導入Tリンパ球輸注との因果関

係を否定できない有害事象（副作用）は、原則として、消失又は軽快するまで追跡調査を行う。

総括責任者（又は治療にあたる分担研究者）は、有害事象に対する治療が必要となった場合には、速やかに被験者にその旨を伝える。同時に適切な処置を施し、被験者の安全を確保し、その原因究明に努める。

また、重篤な有害事象については、Ⅸ.6.7「重篤な有害事象が発現した場合の措置」に従う。

・グレード

有害事象のグレードは、2003年米国National Cancer Institute （NCI）が発表した「Common Terminology Criteria for Adverse Events v3.0 （CTCAE v3.0）～日本語訳 JCOG/JSCO版-2004年10月27日～」に従い、判定を行う（表17）。

表17　有害事象のグレード

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

・因果関係

レトロウイルスベクターSFCMM-3により遺伝子導入されたTリンパ球Add-backとの因果関係は被験者の状態、既往歴、合併症、併用薬、Add-backと有害事象発現の時間的関係及びAdd-back自体の影響等を考慮し、以下の4分類で判定する（表18）。

表18　因果関係の分類

因果関係	判定基準
(1)関連あり	この分類は、高い確度で遺伝子導入Tリンパ球Add-backに関連があると考えられる有害事象が該当する。次の項目に該当するものを「関連あり」と判定する。: ❑ 遺伝子導入Tリンパ球Add-backから合理的かつ一時的な推移が見られる ❑ 被験者の臨床的状態、環境又は有害因子あるいは被験者に実施している別の治療法の既知の特性からは合理的に説明できない ❑ 遺伝子導入Tリンパ球Add-backを中止するかAdd-back量を減量すると有害事象が消失するか軽減される ❑ 遺伝子導入Tリンパ球Add-backに対して、既知の反応パターンを示す ❑ 遺伝子導入Tリンパ球Add-backを再開すると再び現れる
(2)関連があるかもしれない	この分類では、遺伝子導入Tリンパ球Add-backとは関連性はないように見えるが、完全には排除できない有害事象が該当する。次の項目に該当するものを「関連があるかもしれない」と判定する。: ❑ 遺伝子導入Tリンパ球Add-backから合理的かつ一時的な推移が見られる ❑ 被験者の臨床的状態、環境、有害因子あるいは被験者に実施している別の治療法が原因になっている可能性がある ❑ 遺伝子導入Tリンパ球Add-backに対して、既知の反応パターンを示す
(3)おそらく関連なし	次の項目に該当するものを「おそらく関連なし」と判定する。: ❑ 遺伝子導入Tリンパ球Add-backから合理的かつ一時的な推移をたどらない ❑ 被験者の臨床的状態、有害因子あるいは被験者に実施している別の治療法によって容易に起こっている可能性がある ❑ 遺伝子導入Tリンパ球Add-backに対して、既知の反応パターンを示さない ❑ 遺伝子導入Tリンパ球Add-backを再開したときに有害事象が再び現れるようなこと、又は症状が悪化するようなことは見られない
(4)関連なし	この分類は外部にのみ原因(疾患、環境等)があると明確かつ異論なく判定される有害事象が該当し、「おそらく関連なし」、「関連があるかもしれない」、「関連あり」の項に記載された判定基準を満たさない。

(3)　RCRについては、臨床研究期間中の出現を検討する。
(4)　LAM-PCRについては、遺伝子導入Tリンパ球のクロナリティーを検討する。

Ⅸ.6.6.2 免疫系再構築の判定方法、基準

Ⅸ.6.6.2.1 免疫系再構築の判定に必要な検査・観察項目

(1)　末梢血中のCD3陽性リンパ球数
(2)　末梢血中のリンパ球の免疫表現型
(3)　末梢血の免疫回復の細胞生物学的解析及び分子生物学的解析

Ⅸ.6.6.2.2 免疫系再構築に関する判定基準・評価方法

(1)　Ⅺ.3「臨床研究実施スケジュール」に従い、免疫表現型に関する検査を行い、「GVHD発症の有無に関係なく、2回の連続した検査でCD3陽性細胞数が1μlあたり100を超えるとき免疫再構築が達成されたと判定する。」という基準に従い、免疫系再構築の達成を評価する。
(2)　末梢血中のリンパ球の免疫表現型をヒトリンパ球マーカーに対する各種抗体を用いたFACS解析により評価する。
(3)　細胞内サイトカインの測定、Pentamer解析、T細胞受容体レパトア解析、TREC法を用いた解析等により評価する。

Ⅸ.6.6.3 GCV製剤投与によるGVHD沈静化能の判定方法、基準

Ⅸ.6.6.3.1 GCV製剤投与によるGVHD沈静化能の判定に必要な検査・観察項目

(1)　GVHD症状評価
(2)　GCV製剤投与無効時の免疫抑制剤使用頻度
(3)　GVHD発症組織における遺伝子導入Tリンパ球の存在確認（実施可能な場合）

Ⅸ.6.6.3.2 GCV製剤投与によるGVHD沈静化能に関する判定基準・評価方法

(1)　Ⅺ.6「急性GVHDの治療効果判定基準」により、GCV製剤投与によるGVHD沈静化の評価を行う。
(2)　Ⅸ.6.2.6「GVHD発症時の対応」に従い、GVHDに対しGCV製剤を投与したが、GVHDが改善せず免疫抑制剤を投与した場合を集計し、その頻度を検討する。
(3)　Ⅸ.6.2.6「GVHD発症時の対応」に従い、GVHDに対しGCV製剤を投与した場合には、GVHD発症組織における遺伝子導入Tリンパ球の存在を確認する（実施可能な場合）。

Ⅸ.6.6.4 臨床研究の中止判定基準

Ⅸ.6.6.4.1 個々の被験者での中止

Ⅸ.6.6.4.1.1 同意取得から前処置の開始前

以下の場合には、遺伝子導入ドナーT リンパ球の Add-back を行わず、臨床研究を中止し、以降の治療については規定しない。

- 被験者あるいはドナーの同意が撤回された場合
- 被験者あるいはドナーが選択基準に合致していないことが判明した場合
- 被験者あるいはドナーが除外基準に抵触していることが判明した場合
- 症状が悪化し、臨床研究の実施が困難と総括責任者（又は治療にあたる分担研究者）が判断した場合
- 有害事象発生のため、臨床研究の実施が困難と総括責任者（又は治療にあたる分担研究者）が判断した場合
- その他、臨床研究の実施が適当でないと総括責任者（又は治療にあたる分担研究者）が判断した場合

Ⅸ.6.6.4.1.2 前処置開始後から遺伝子導入 T リンパ球 Add-back 前

以下の場合には、臨床研究を中止し、以降の治療については規定しない。総括責任者（又は治療にあたる分担研究者）は必要に応じ、適切な処置を施し、中止日時、中止理由、中止後の処置及び転帰を確認する。総括責任者は必要に応じ、国立がんセンター総長に報告する。また、総括責任者（又は治療にあたる分担研究者）は、その時点での観察、検査、評価を行う。

- 被験者の同意が撤回された場合
- 重篤な CMV 感染症が発症し、GCV 製剤を投与するに至った時
- 移植した末梢血幹細胞の生着が確認できない場合
- 初回の遺伝子導入 T リンパ球 Add-back より前に、治療を必要とする GVHD が発症した場合
- 有害事象発生のため、臨床研究の実施が困難と総括責任者（又は治療にあたる分担研究者）が判断した場合
- 症状が悪化し、臨床研究の実施が困難と総括責任者（又は治療にあたる分担研究者）が判断した場合
- その他、臨床研究の実施が適当でないと総括責任者（又は治療にあたる分担研究者）が判断した場合

Ⅸ.6.6.4.1.3 遺伝子導入Tリンパ球Add-back後

以下の場合には、臨床研究を中止し、以降の治療については規定しない。総括責任者（又は治療にあたる分担研究者）は必要に応じ、適切な処置を施し、中止日時、中止理由、中止後の処置及び転帰を確認する。総括責任者は必要に応じ、国立がんセンター総長に報告する。また、総括責任者（又は治療にあたる分担研究者）は、その時点での観察、検査、評価を行う。

- 被験者の同意が撤回された場合
- 重篤なGVHDが発症し、免疫抑制剤を投与するに至った時
- 重篤なCMV感染症が発症し、GCV製剤を投与するに至った時
- RCRの出現が認められた時
- 有害事象発生のため、臨床研究の実施が困難と総括責任者（又は治療にあたる分担研究者）が判断した場合
- 症状が悪化し、臨床研究の実施が困難と総括責任者（又は治療にあたる分担研究者）が判断した場合
- その他、臨床研究の実施が適当でないと総括責任者（又は治療にあたる分担研究者）が判断した場合

Ⅸ.6.6.4.2 臨床研究全体の中止

総括責任者は、被験者の安全性に重大な影響を及ぼし、臨床研究の実施に影響を与え、又は臨床研究継続に関する遺伝子治療臨床研究審査委員会の承認を変更する可能性がある情報を得た場合は、遺伝子治療臨床研究効果安全性評価委員会に意見を求め、その提言を参考にして分担研究者と協議し、本臨床研究の中止を決定することができる。

中止を決定した場合には、中止をした旨及びその理由の詳細を速やかに国立がんセンタ総長に報告する。国立がんセンター総長はその旨を厚生労働省に報告する。

「被験者の安全性に重大な影響を及ぼし、臨床研究の実施に影響を与え、又は臨床研究継続に関する遺伝子治療臨床研究審査委員会の承認を変更する可能性がある情報」とは以下に該当する場合を指す。

- 最初の 5 例の遺伝子治療実施例に、免疫系再構築の確認ができた症例がなかった旨の情報
- 最終Add-back後6ヵ月以内の被験者の死亡に関する情報
- 重篤な有害事象に関する情報
- 遺伝子導入Tリンパ球Add-backとの因果関係を否定できないgrade Ⅳ以上の有害事象（副作用）に関する情報
- 遺伝子導入Tリンパ球Add-back後のGCV製剤投与にても沈静化できないGVHD発症

例に関する情報

- その他、総括責任者並びに分担研究者が中止すべきと判断する情報

Ⅸ.6.7 重篤な有害事象が発現した場合の措置

重篤な有害事象には重大な危険、禁忌となる副作用あるいは警戒の必要を示唆するようなあらゆる所見が該当する。当該所見に関する具体的な症状は次の通りである。

- 死に至るもの
- 生命を脅かすもの
- 治療のために入院又は入院期間の延長が必要なもの
- 永続的又は顕著な障害/機能不全に至るもの
- 先天異常/先天奇形をきたすもの
- その他、被験者にとって著しく有害なことが示唆されるもの

なお、「その他、被験者にとって著しく有害なことが示唆されるもの」については、2003年米国 National Cancer Institute (NCI) が発表した「Common Terminology Criteria for Adverse Events v3.0 (CTCAE v3.0) ～日本語訳 JCOG/JSCO 版-2004 年 10 月 27 日～」の Grade 4 を参考にする。

臨床研究との因果関係の有無に関わらず、上記に示す重篤な有害事象が発現した場合は、総括責任者（又は治療にあたる分担研究者）は適切な処置を行うとともに、国立がんセンター中央病院の規定に従い、国立がんセンター総長に報告する。国立がんセンター総長はその旨を速やかに厚生労働省に報告する。

Ⅸ.6.8 症例記録に関する記録用紙等の様式

一般入院患者同様に、カルテに被験者の容態、治療内容、検査内容と結果及び同意に関する記録を記載する。

また、カルテとは別に本臨床研究専用の症例報告書を作成することとする。専用の症例報告書様式に記載された内容の原資料は原則カルテとし、コメント、有害事象に関する判定等については症例報告書様式に記載された内容を原資料として取り扱う。

Ⅸ.6.9 記録の保存及び成績の公表の方法

記録の保存は、国立がんセンター総長が指名した保管責任者が適切に行う。

成績の公表は、ドナー・被験者本人の同意のもと、研究者全員の合意を得て行う。公表の際には、被験者のプライバシーにじゅうぶんに配慮し、個人情報が特定できないよう必要な措置を行う。

Ⅸ.6.10 個人情報の保護の徹底

Ⅸ.6.10.1 個人情報保護に関する責務

国立がんセンターは、行政機関の保有する個人情報の保護に関する法律（平成 15 年法律第 58 号）第 6 条、厚生労働省保有個人情報管理規程（平成 17 年厚生労働省訓令第 3 号）及び国立がんセンター個人情報保護関係組織規程の規定に基づき、国立がんセンターの保有する個人情報の適切な管理のために必要な措置について定めた国立がんセンター保有個人情報管理規程に従い、保有する個人情報の漏洩、毀損などを防止し、適正な管理を図っている。

国立がんセンターでは保有する個人情報管理業務の適正な企画、管理及び運用を図ることを目的として個人情報保護委員会を設置しており､組織毎に 5 つの部会が置かれている。国立がんセンター中央病院には中央病院部会が置かれ、部会長は中央病院長が務める。国立がんセンター中央病院では、中央病院部会のもと、各規程に従い、組織的に個人情報の保護に対する措置を図っている。

Ⅸ.6.10.2 個人情報の取得と利用に関する制限

(1)　診療・研究機関としての国立がんセンター中央病院における一般的な取扱い

国立がんセンター中央病院はがん対策の中核として総合的な診療・研究機関として、診療、研究、研修、情報収集・発信を続け、我が国のがん施策において中心的な役割を果たすという社会的な使命の実現に向けて、一般的な診療行為等に関する以下に掲げる目的に限り、患者の個人情報を使用する。この使用に関しては、個人情報の保護の法律に基づいた国立がんセンター保有個人情報管理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、国立がんセンター中央病院を受診する患者には「国立がんセンター中央病院における個人情報の利用目的について」を用いて国立がんセンター中央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医療の提供に必要な利用目的

- 医療サービス（診療）を適切に行うため
- 提供した医療サービスに関する医療保険事務を行うため
- 医療サービスの品質管理のため（治療成績や有害事象評価も含む）
- 医療に関する外部監査機関への情報提供のため（日本医療機能評価機構等）
- 法律等に基づく情報提供義務遂行のため
- 国立がんセンター東病院での情報利用
- 診療上必要な場合で、他の医療機関医師の意見・助言を求めるため
- 外部委託検査（検体検査など）の実施のため
- 院内感染予防対策のため
- 院外調剤薬局から処方に関する問い合わせがあった場合

②上記以外の利用目的

（当病院内部での利用）

・国立がんセンターがん予防・検診研究センターでの情報利用

・院内がん登録への情報の登録及び利用（個人を特定できる情報を削除した上で診療情報等を全国がん（成人病）センター協議会等に提出）

・アンケート調査やサービスに関する情報収集時に活用

・医学生などの実習、研修等での利用のため

・病歴内に既に存在する情報を集計して行う臨床研究のため（治療品質管理の一環との判断）

（院外への情報提供）

・疾患別がん登録への情報提供

・地域がん登録を行う都道府県への情報提供

・がん検診事業者への情報提供

（他の事業者等への情報提供を行う利用）

・医学知識普及を目的とした講演、著述等での利用や、当院ホームページ等への掲載のため（個人を識別できる情報を削除した上で診療画像等を利用）

・医療スタッフの専門認定等の資格申請での提出のため

(2)　その他本遺伝子治療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・研究機関としての国立がんセンター中央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・取り扱いについては、総括責任者はあらかじめ被験者の個人情報の利用を公開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、被験者への同意説明文書中に記載し、被験者へ個人情報の保護及び使用目的について通知し同意を得る計画とした。

被験者の同意取得は、自由意思によるものであり、臨床研究に参加しない場合であっても被験者の不利益はない。このことは医学研究を行ううえで大切な倫理であるため、本臨床研究では、これらのことを同意説明文書に記載し、被験者へ通知している。

総括責任者は利用目的の達成に必要な範囲において、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

国立がんセンター総長は国立がんセンター保有個人情報管理規程に従い、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関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意運用を以て、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を鑑み、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)　外部共同研究者が閲覧可能なデータ

本臨床研究は国立がんセンター中央病院が主体的に実施するものであるが、遺伝子導入用レトロウイルスベクターSFCMM-3 に関する基礎的助言及び遺伝子導入 T リンパ球調製技術の提供と助言を行うため、タカラバイオ（株）は外部共同研究者として本研究に関与する。したがって、遺伝子導入 T リンパ球の安全性や機能に関する客観的な記録をタカラバイオ（株）が閲覧することを可能とするが、遺伝子導入用レトロウイルスベクターSFCMM-3 及び遺伝子導入 T リンパ球の調製に限定されたものであり、本臨床研究のデータの客観的かつ公正な記録はその意向に影響を受けることはない。

本臨床研究は国立がんセンター中央病院内で実施され、被験者・ドナーから取得したデータは治験と同様、個人を容易に特定できないよう個人情報保護が図られている。共同研究のために、タカラバイオ（株）がデータを閲覧する場合でも、治験と同様に被験者識別コードを用いることにより、個人を特定できない措置を講じて個人情報を保護する。

なお、被験者識別コードから被験者・ドナーを特定する情報については、総括責任者が厳重に管理を行うものとする。

(5)　第三者提供の制限

総括責任者は、「遺伝子治療臨床研究に関する指針」第六章第九で掲げる内容に従い、あらかじめ被験者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、タカラバイオ（株）が個人情報を保護した上で一部データを共同研究のために閲覧を行う予定であるが、あらかじめ、その旨を被験者等に通知し同意を得る。個人情報としては第三者への提供は予定しておらず、第三者へ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に関する指針」第六章第九に従い、その旨被験者等へ通知する。

(6)　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。

・臨床研究実施機関の名称
・個人情報の利用目的
・個人情報の開示、訂正、利用停止等に関する手続き
・苦情の申出先

本臨床研究においては、「臨床研究実施機関の名称」、「個人情報の利用目的」、「苦情の申出先」について同意説明文書に明記した。また、「個人情報の開示、訂正、利用停止等に関する手続き」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、手続きの詳細を国立がんセンター個人情報開示等取扱規程に従い、被験者に説明する。

総括責任者は被験者から当該被験者が識別される保有する個人情報についての開示、訂正、利用停止等について国立がんセンター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に通知しなければならない。

さらに、国立がんセンター中央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に体制を整備している。

[個人情報に関する苦情等の窓口]
国立がんセンター中央病院医事課（初診窓口）
電話：03-3542-2511

Ｘ．用語説明

本遺伝子治療に関して、重要と思われる用語につき、以下に簡単に説明する。説明の対象とした用語は、本実施計画書の本文中（「Ⅳ．遺伝子治療臨床研究の目的」以降の記載。但し、図表は除く）の初出の箇所に*と番号を付している。

*1　HLA（human leukocyte antigen；ヒト白血球抗原）及びハプロタイプ：

HLA は、自己と非自己を区別して認識する最も重要な抗原で、ヒトの 6 番染色体に存在し、一塊（ハプロタイプ）として遺伝する。ここには多数の遺伝子が存在するが、HLA 適合性を検査されているのは、A、B、DR の 3 種類の遺伝子座であり、ヒト細胞は A 抗原、B 抗原、DR 抗原の遺伝子を各 2 個、計 6 個有しており、これらの抗原は細胞表面に発現している。親子間では、父母から必ずハプロタイプを一つずつ共有していることから、骨髄移植を受ける患者の親又は子供はハプロタイプ一致（ただし、通常 2〜3 座 HLA 不一致）のドナーとなることを意味する。これのメリットは、血縁者をドナーとすることができるため、ほぼ 100%に近い確率でドナーを見出すことができることである。

*2　Add-back：

追加輸注療法は、化学療法又は放射線療法後の白血病患者に対して、HLA 不一致（ハプロタイプ一致）移植での T 細胞除去造血幹細胞移植後に、同一ドナー由来のリンパ球を輸注することをいう。すなわち、移植時には急性 GVHD を回避する目的で T リンパ球を除去するが、そのままでは、重篤な感染症に陥る場合が多く、また白血病が再発する場合もあり、これらを予防する目的で、先の造血幹細胞の生着が確認できた時点でドナーリンパ球を追加輸注して、患者の免疫系を再構築する治療法である。

*3　レトロウイルスベクター：

レトロウイルスとは、一本鎖 RNA をゲノムとする約 0.1 μm のウイルスで、このウイルスが感染した細胞では､RNA ゲノムから合成された DNA が染色体に組み込まれる。遺伝子治療用ベクターとして、レトロウイルスの一種であるモロニーマウス白血病ウイルス（Moloney murine leukemia virus; MoMLV）を特別な細胞（パッケージング細胞）の中でのみ増殖できるように改変し、自己増殖能を奪ったものが広く用いられている。このベクターを使用すれば種々の細胞に遺伝子導入を行うことができ、安定した形質発現が期待できる。

*4　ドナーリンパ球輸注：

ドナーリンパ球には、白血病細胞を免疫的に攻撃し、死滅させる能力（GVL 効果）

があることがわかっている。微少残存病変（minimal residual disease；MRD）の根絶を図る等の目的でドナーリンパ球を輸注することをいう。通常のドナーリンパ球輸注は、同種造血幹細胞移植後の再発及びウイルス関連リンパ腫に対して実施される。

*5　モルメド社：

1997年に設立されたイタリア・ミラノにあるベンチャー企業。聖ラファエル病院を拠点として、HSV-TK遺伝子治療の臨床開発のほか、癌ワクチンやエイズワクチンの遺伝子治療研究を推進。社長のClaudio Bordignonは、この領域における著名な研究者。モルメド社は、HSV-TK遺伝子治療に関し、これまでの臨床研究を踏まえ、現在イタリア2施設、英国1施設、イスラエル1施設の計4施設での臨床第Ⅰ－Ⅱ相試験（TK007）を実施中。当該遺伝子治療の基本特許を保有している。

*6　アフェレーシス：

専用の装置に供血者の血液を通して体外循環させ、必要に応じて血小板・赤血球・白血球・血漿の各成分を取り出し、残りを供血者に戻す処理。

*7　ベクター：

目的遺伝子を宿主細胞に導入するときに使われる運搬体をいう。ただし、組換えウイルスを使用する場合には導入遺伝子を含めてウイルスベクターという。目的遺伝子を含むプラスミドを直接細胞に導入する場合にはプラスミドDNAをベクターという。

*8　RCR（replication competent retrovirus；増殖性レトロウイルス）：

遺伝子治療に使用されるレトロウイルスベクターは、増殖能を欠損しているが、ウイルス粒子を構成するたん白質の遺伝子（gag、pol、env 遺伝子）を獲得して増殖能を持つようになったレトロウイルスをRCRと呼ぶ。

RCR が出現する原因は、レトロウイルスベクターが、相同組換えによりパッケージング細胞のこれら遺伝子を獲得してしまうことによる。ちなみに、第3世代のパッケージング細胞は、3回の相同組換えが起こらなければRCRが出現しないようになっており、その出現確率は極めて低い。

*9　ウイルスベクター：

ベクターとして用いられる組換えウイルスであって、野生型ウイルスゲノムの代わりに目的遺伝子を組み込んだ組換えウイルスゲノムがウイルス粒子内にパッケージされているものをいう。

*10　パッケージング細胞：

ヘルパー機能を持った遺伝子を導入した細胞をいう。

遺伝子治療に使用されるレトロウイルスベクターは、増殖能を欠損させるために、ウイルス粒子を構成するたん白質の遺伝子（gag、pol、env 遺伝子）を除去してある。従って、ウイルス粒子を形成するためには、欠損している遺伝子が導入された細胞を使用する必要があり、そのような細胞をパッケージング細胞という。

*11　アンフォトロピックウイルス：

両種指向性ウイルスともいい、自然宿主のみならず、他種動物にも感染し増殖するウイルス。おもにレトロウイルス、中でもマウス白血病ウイルスにおいて用いられる分類。アンフォトロピックウイルスはヒト細胞にも感染できることから、このウイルス由来の遺伝子導入用のベクターが開発されている。

*12　LAM-PCR 法（linear amplification mediated-PCR 法）：

レトロウイルスベクターを用いた遺伝子導入において、in vivo における幹細胞からの分化細胞の挿入部位の解析やクローンの存在状態をモニタリングする手法である。

この方法では、まずレトロウイルス特有の配列である LTR 配列に相補的なビオチン化プライマーを使用し、染色体 DNA を鋳型に linear PCR（1 本鎖 DNA の合成）を行なう。この linear PCR 産物をストレプトアビジン固定化磁性ビーズにより回収し、相補鎖を合成して二本鎖とした後、制限酵素で切断し、その末端にリンカーカセットとよばれる二本鎖 DNA を連結する。こうして得られた連結産物を鋳型として、LTR とリンカーカセットにそれぞれ相補的なプライマーで nested PCR（内部プライマーによる増幅）を行い、LTR とそれに隣接する宿主染色体由来の領域を含む DNA 断片を増幅する。

*13　プロトオンコジーン：

RNA 型腫瘍ウイルスのゲノム上に見出されるオンコジーン（ウイルス性がん遺伝子）に相同な、細胞由来の遺伝子。細胞性のオンコジーンという意味で、c-onc と表記される。染色体上の遺伝子に突然変異が起こり、細胞ががん化能を有するようになる場合、この変化する前の遺伝子をプロトオンコジーンとよぶ。プロトオンコジーン産物は、細胞内の種々のオルガネラに存在し、細胞の増殖や分化に基本的な役割をになっていることが知られている。増殖因子として働くもの、チロシンキナーゼ活性をもつもの、GTP 結合たん白質、転写因子として働くものなどに分類される。このように細胞の生命活動に基本的な機能に変異が起こることによって、増殖の制御機構に異常が起こり、細胞のがん化が引き起こされると考えられる。

XI. その他の必要な事項

XI. 1 遵守する法令／省令など

本遺伝子治療臨床研究は、以下の法令/省令等を遵守して実施される。

(1) 「遺伝子治療臨床研究に関する指針」
(平成 16 年文部科学省・厚生労働省告示第二号、平成 16 年 12 月 28 日)

(2) 「臨床研究に関する倫理指針」
(厚生労働省告示第四百五十九号、平成 16 年 12 月 28 日)

(3) 「遺伝子組換え微生物の使用等による医薬品等の製造における拡散防止措置等について」
(薬食発第 0219011 号、各都道府県知事あて厚生労働省医薬食品局長通知、平成 16 年 2 月 19 日)

(4) 「遺伝子治療用医薬品の品質及び安全性の確保に関する指針について」
(薬発第 1062 号、各都道府県知事あて厚生省薬務局長通知、平成 7 年 11 月 15 日)

(5) 「遺伝子治療用医薬品の品質及び安全性の確保に関する指針の改正について」
(医薬発第 329004 号、各都道府県知事あて厚生労働省医薬局長通知、平成 14 年 3 月 29 日)

(6) 「遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物多様性の確保に関する法律」
(平成 15 年 6 月 18 日法律第 97 号)

(7) 行政機関の保有する個人情報の保護に関する法律
(平成 15 年 5 月 30 日法律第 58 号)

(8) 厚生労働省保有個人情報管理規程
(平成 17 年 3 月 23 日厚生労働省訓令第 3 号)

XI.2 引用文献

1. Gluckman E, Broxmeyer HA, Auerback AD, et al. Hematopoietic reconstitution in a patient with Fanconi's anemia by means of umbilical cord blood from HLA-identical sibling. N Engl J Med 321:1174-1178, 1989.
2. 服部欽哉、矢部普正、矢部みはる他. 臍帯血幹細胞移植を施行した急性骨髄性白血病（M1）. 臨床血液 37:1371-1376, 1996.
3. Kato S, Nishihira H, Sako M, et al. Cord Blood transplantation from sibling donors in Japan. A report of the national survey. Int J Hematol 67:389, 1998.
4. Laughlin MJ, Baker J, Bambach B, et al. Hematopoietic engraftment and survival in adult recipients of umbilical-cord blood from unrelated donors. N Engl J Med 344:1815-1822, 2001.
5. Sanz GF, Saavedra S, Planelles D, et al. Standardized, unrelated donor cord blood transplantation in adults with hematologic malignancied. Blood 98:2332-2338, 2001.
6. Long GD, Laughlin M, Madan B, et al. Unrelated cord blood transplantation in adult patients. Biol. Blood Marrow Transplantation 9:772-780, 2003.
7. Takahashi S, Iseki T, Ooi J, et al. Single-institute comparative analysis of unrelated bone marrow transplantation and cord blood transplantation for adults patients with hematological malignancies. Blood 104:3813-3820, 2004.
8. 甲斐ら口頭発表. 第27回日本造血細胞移植学会総会(岡山)シンポジウム4, 2004.
9. 日本さい帯血バンクネットワーク. さい帯血バンクNOW. 第27号：2-3ページ, 2006年1月15日発行.
10. Rocha V, Labopin M, Sanz G, et al. Transplants of umbilical-cord blood or bone marrow from unrelated donors in adults with acute leukemia. N Engl J Med 351: 2276-2285, 2004.
11. Laughlin MJ, Eapen M, Rubinstein P, et al. Outcomes after transplantation of cord blood or bone marrow from unrelated donors in adults with leukemia. N Engl J Med 351:2265-2275, 2004.
12. 日本さい帯血バンクネットワークホームページ　わが国における非血縁者間さい帯血移植の成績（1997年2月～2005年3月集計）
13. Baker JN, Weisdorf DJ, DeFor TE, et al. Transplantation of two partially HLA-matched umbilical cord blood units to enhance engraftment in adults with hematologic malignancy. Blood 105(3):1343-1347, 2005.
14. 原宏　編著. 臍帯血移植. 新興医学出版社 107ページ, 2006.

15. Kernan NA, Flomenberg N, Dupont B, et al. Graft rejection in recipients of T-cell-depleted HLA-nonidentical marrow transplants for leukemia. Identification of host-derived antidonor allocytotoxic T lymphocytes. Transplantation. 43(6):842-847, 1987.
16. Beatty PG, Clift RA, Mickelson EM, et al. Marrow transplantation from related donors other than HLA-identical siblings. N Engl J Med 313(13):765-771, 1985.
17. Cunningham I, Aversa F, Martelli MF. Making successful haplotype-mismatched transplants possible. Forum 72:203, 1997.
18. Besinger WI, Weaver CH, Appelbaum FR, et al. Transplantation of allogeneic blood stem cells mobilized by recombinant human granulocyte colony-stimulating factor. Blood 85(6):1655-1658, 1995.
19. Schmitz N, Dreger P, Suttorp M, et al. Primary transplantation of allogeneic peripheral blood progenitor cells mobilized by filgrastim (granulocyte colony-stimulating factor). Blood 86(2):1666-1672, 1995.
20. Korbling M, Huh YO, Durett A, et al. Allogeneic blood stem cell transplantation: peripheralization and yield of donor-derived primitive hematopoietic progenitor cells (CD34+Thy-1dim) and lymphoid subsets, and possible predictors of engraftment and graft-versus-host disease. Blood 86(7):2842-2848, 1995.
21. Aversa F, Tabilio A, Terenzi A, et al. Successful engraftment of T-cell-depleted haploidentical "three-loci" incompatible transplants in leukemia patients by addition of recombinant human granulocyte colony-stimulating factor-mobilized peripheral blood progenitor cells to bone marrow inoculum. Blood 84(11):3948-3955, 1994.
22. Aversa F, Antonio T, Velardi A, et al. Treatment of high-risk acute leukemia with T-cell-depleted stem cells from related donors with one fully mismatched HLA haplotype. N Engl J Med 339:1186-1193, 1998.
23. Aversa F, Massimo F, Martelli MF. Transplantation of haploidentically mismatched cells for the treatment of malignant diseases. Springer Semin Immun 26:155-168, 2004.
24. Aversa F. Hematopoietic stem cell transplantation from full-haplotype mismatched donors. Transfus Apheresis Sci 27:175-181, 2002.
25. Reisner Y, Kapoor N, Kirkpatrick D, et al. Transplantation for severe combined immunodeficiency with HLA-A, B, D, DR incompatible parental marrow cells fractionated by soybean agglutinin and sheep red blood cells. Blood 61(2):341-348,

1983.
26. Muller SM, Schulz AS, Reiss UM, et al. Definition of a critical T cell threshold for prevention of GVHD after HLA non-identical PBPC transplantation in children. Bone Marrow Transplant 24:575-581, 1999.
27. Aversa F, Terenzi A, Tabilio A, et al. Full haplotype-mismatched hematopoietic stem-cell transplantation: A phase II study in patients with acute leukemia at high risk of relapse. J Clin Oncol 23:3447-3454, 2005.
28 Kanda Y, Chiba S, Hirai H, et al. Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation from family members other than HLA-identical siblings over the last decade (1991-2000). Blood 102(4):1541-1547, 2003.
29. Yamasaki S, Ohno Y, Taniguchi S, et al. Allogeneic peripheral blood stem cell transplantation from two- or three- loci-mismatched related donors in adult Japanese patients with high-risk hematologic malignancies. Bone Marrow Transplant 33:279-289, 2004.
30 Claas FH, Gijbels Y, van der Velden-de Munck J, et al. Induction of B cell unresponsiveness to noninherited maternal HLA antigens during fetal life. Science 241:1815-1817, 1988.
31 Shimazaki C, Ochiai N, Uchida R, et al. Non-T-cell-depleted HLA haploidentical stem cell transplantation in advanced hematologic malignancies based on the feto-maternal michrochimerism. Blood 101(8):3334-3336, 2003.
32 Ichinohe T, Uchiyama T, Shimazaki C, et al. Feasibility of HLA-haploidentical hematopoietic stem cell transplantation between noninherited maternal antigen (NIMA)-mismatched family members linked with long-term fetomaternal microchimerism. Blood 104(12):3821-3828, 2004.
33 Ikegame K, Tanji Y, Kitai N, et al. Successful treatment of refractory T-cell acute lymphoblastic leukemia by unmanipulated stem cell transplantation from an HLA 3-loci mismatched (haploidentical) sibling. Bone Marrow Transplant 31(6):507-510, 2003.
34 Ikegame K, Mukouchi C, Kunitomi A, et al. Successful treatment of bcr/abl-positive acute mixed lineage leukemia by unmanipulated bone marrow transplantation from an HLA-haploidentical (3-antigen-mismatched) cousin. Bone Marrow Transplant 31(12):1165-1168, 2003.
35 Kanda Y, Oshima K, Asano-Mori Y, et al. In vivo alemtuzumab enables haploidentical human leukocyte antigen-mismatched hematopoietic stem-cell transplantation

without ex vivo graft manipulation. Transplantation 79(10):1351-1357, 2005.
36 Oshima K, Sakata-Yanagimoto M, Asano-Mori Y, et al. Cardiac complications after haploidentical HLA-mismatched hematopoietic stem cell transplantation using in vivo alemtuzumab. Bone Marrow Transplant 36(9):821-824, 2005.
37. Perruccio K, Tosti A, Burchielli E, et al. Transferring functional immune responses to pathogens after haploidentical hematopoietic transplantation. Blood 106(13):4397-4406, 2005.
38. Hings IM, Severson R, Filipovich AH, et al. Treatment of moderate and severe acute GVHD after allogeneic bone marrow transplantation. Transplantation 58(4):437-442, 1994.
39. Aschan J. Treatment of moderate to severe acute graft-versus-host disease: a retrospective analysis. Bone Marrow Transplant 14(4):601-607, 1994.
40. Bonini C, Ferrari G, Verzeletti S, et al. HSV-TK gene transfer into donor lymphocytes for control of allogeneic graft-versus-leukemia. Science 276:1719-1724, 1997.
41. Tiberghein P, Ferrand C, Lioure B, et al. Administration of herpes simplex-thymidine kinase-expressing donor T cells with a T-cell-depleted allogeneic marrow graft. Blood 97(1):63-72, 2001.
42. Burt RK, Drobyski WR, Seregina T, et al. Herpes simplex thymidine kinase gene-transduced donor lymphocyte infusions. Exp Hematol 31:903-910, 2003.
43. Johnson D, Lanahan A, Buck CR, et al. Expression and structure of the human NGF receptor. Cell 47:545-554, 1986.
44. Hempstead BL, Patil N, Thiel B, et al. Deletion of cytoplasmic sequences of the nerve growth factor receptor leads to loss of high affinity ligand binding. J Biol Chem 265:9595-9598, 1990.
45. Mavilio F, Ferrari G, Rossini S, et al. Peripheral blood lymphocytes as target cells of retroviral vector-mediated gene transfer. Blood 83:1988-1997, 1994.
46. Wagner MJ, Sharp JA, Summers WC. Nucleotide sequence of the thymidine kinase gene of herpes simplex virus type 1. Proc Natl Acad Sci USA 78:1441-1445, 1981.
47. Casaccia-Bonnefil P, Gu C, Chao MV. Neurotrophins in cell survival/death decisions. Adv Exp Med Biol 468:275-282, 1999.
48. Klein R, Jing SQ, Nanduri V, et al. The trk proto-oncogene encodes a receptor for nerve growth factor. Cell 65:189-197, 1991.
49. Moolten FL, Wells JM. Tumor chemosensitivity conferred by inserted herpes

thymidine kinase genes: paradigm for a prospective cancer control strategy. Cancer Res 46:5276-5281, 1986.
50. Reardon JE. Herpes simplex virus type 1 and human DNA polymerase interactions with 2'-deoxyguanosine 5'-triphosphate analogues: kinetics of incorporation into DNA and induction of inhibition. J Biol Chem 264:19039-19044, 1989.
51. Bonini C, Grez M, Traversari C, et al. Safety of retroviral gene marking with a truncated NGF receptor. Nat Med 9:367-369, 2003.
52. Moolten FL. Drug sensitivity ("suicide") genes for selective cancer chemotherapy. Cancer Gene Ther 1:279-287, 1994.
53. St Clair MH, Lambe CU, and Furman PA. Inhibition by ganciclovir of cell growth and DNA synthesis of cells biochemically transformed with herpesvirus genetic information. Antimicrob Agents Chemother 31:844-849, 1987.
54. Lyons RM, Forry-Schaudies S, Otto E, et al. An improved retroviral vector encoding the herpes simplex virus thymidine kinase gene increases antitumor efficacy in vivo. Cancer Gene Therapy 2:273-280, 1995.
55. Blaese RM, Culver KW, Miller AD, et al. T lymphocyte-directed gene therapy for ADA-SCID: initial trial results after 4 years. Science 270:475-480, 1995.
56. Onodera M, Ariga T, Kawamura N, et al. Successful peripheral T-lymphocyte-directed gene transfer for a patient with severe combined immune deficiency caused by adenosine deaminase deficiency. Blood 91:30-36, 1998.
57. Riddell SR, Elliott M, Lewinsohn DA, et al. T-cell mediated rejection of gene-modified HIV-specific cytotoxic T lymphocytes in HIV-infected patients. Nat Med 2:216-223, 1996.
58. Heslop HE, Ng CY, Li C, et al. Long-term restoration of immunity against Epstein-Barr virus infection by adoptive transfer of gene-modified virus-specific T lymphocytes. Nat Med 2:551-555, 1996.
59. Dunbar C, Kohn D. Retroviral mediated transfer of the cDNA for human glucocerebrosidase into hematopoietic stem cells of patients with Gaucher disease. A phase I study. Hum Gene Ther 7:231-253, 1996.
60. Woffendin C, Ranga U, Yang Z, et al. Expression of a protective gene-prolongs survival of T cells in human immunodeficiency virus-infected patients. Proc Natl Acad Sci U S A 93:2889-2894, 1996.
61. Toneguzzo F, Hayday AC, Keating A. Electric field-mediated DNA transfer: transient and stable gene expression in human and mouse lymphoid cells. Mol Cell

Biol 6:703-706, 1986.
62. Ohtani K, Nakamura M, Saito S, et al. Electroporation: application to human lymphoid cell lines for stable introduction of a transactivator gene of human T-cell leukemia virus type I. Nucleic Acids Res 17:1589-1604, 1989.
63. Harui A, Suzuki S, Kochanek S, et al. Frequency and stability of chromosomal integration of adenovirus vectors. J Virol 73:6141-6146, 1999.
64. Hanazono Y, Brown KE, Dunbar CE. Primary T Lymphocytes as Targets for Gene Therapy. J Hematother Stem Cell Res 9:611-622, 2000.
65. Markowitz D, Goff S, Bank A. Construction and use of a safe and efficient amphotoropic packaging cell line. Virology 167 : 400-406, 1988.
66. 渡辺　格、福見秀雄　編集. ウイルスの研究 181、1984.
67. Weiss R, et al. RNA TUMOR VIRUSES, 901-911, 1982.
68. Miller AD, Rosman GJ. Improved retroviral vectors for gene transfer and expression. Biotechniques 7:980-990, 1989.
69. Markowitz D, Goff S, Bank A. A safe packaging line for gene transfer: separating viral genes on two different plasmids. J Virol 62:1120-1124, 1988.
70. Garin MI, Garrett E, Tiberghien P, et al. Molecular mechanism for ganciclovir resistance in human T lymphocytes transduced with retroviral vectors carrying the herpes simplex virus thymidine kinase gene. Blood 97:122-9, 2001.
71. 早川堯夫、山崎修道、延原正弘　編集、バイオ医薬品の品質・安全性評価　第２部、第１章、第１節　レトロウイルスベクター, 351-363.
72. Chong H, Vile RG. Replication-competent retrovirus produced by a 'split-function' third generation amphotropic packaging cell line. Gene Therapy 3:624-629, 1996.
73. Garrett E, Miller AR, Goldman JM, et al. Characterization of recombination events leading to the production of an ecotropic replication-competent retrovirus in a GP+envl2-derived producer cell line. Virology 266:170-179, 2000.
74. Hacein-Bey-Abina S, Von Kalle C, Schmidt M, et al. LMO2-associated clonal T cell proliferation in two patients after gene therapy for SCID-X1. Science 302:415-419, 2003.
75. Check E. Gene therapy put on hold as third child develops cancer. Nature 433:561, 2005.
76. Commentary from the Board of the European Society of Gene and Cell Therapy (ESGCT) Fourth case of leukaemia in the first SCID-X1 gene therapy trial, and the diversity of gene therapy.

77. Thrasher A and Gaspar B. Severe Adverse Event in Clinical Trial of Gene Therapy for X-SCID. (http://www.esgct.org/upload/X-SCID_statement_AT.pdf) December 18, 2007.
78. Board of the European Society of Gene and Cell Therapy, Executive Committee of the Clinigene Network of Excellence, Executive of the Consert Integrated Project. Case of Leukaemia Associated with X-Linked Severe Combined Immunodeficiency Gene Therapy Trial in London. Hum Gene Ther 19(1):3-4, 2008.
79. Williams DA. An international conversation on Stem Cell Gene Therapy. 4th Stem Cell Conference on Stem Cell Gene Therapy, Thessaloniki, Greece, 13-17 September 2007. Mol Ther 15(12):2058-2059, 2007.
80. Fischer A, and Cavazzana-Calvo M. Gene therapy of inherited diseases. Lancet 371:2044-2047, 2008.
81. Aiuti A, Cattaneo F, Galimberti S,et al. Gene therapy for immunodeficiency due to adenosine deaminase deficiency. N Engl J Med 360(5):447-458, 2009.
82. Bonini C, Ferrari G, Verzeletti S, et al. HSV-TK gene transfer into donor lymphocytes for control of allogeneic graft-versus-leukemia. Science 276: 1719-1724, 1997.
83. Ciceri F, Bonini C, Marktel S, et al. Anti-tumor effect of HSV-TK engineered donor lymphocytes after allogeneic stem cell transplantation. Blood 109(11):4698-4704, 2007.
84. Ciceri F, Bonini C, Marktel S, et al. HSV-TK engineered donor lymphocytes provide early immune reconstitution after haplo-identical hemopoietic stem cell transplantation. Paper presented at presidential symposium from European Group for Blood and Marrow Transplantation (EBMT) Annual Meeting (Istanbul, EBMT), 2003.
85. Bonini C, Ciceri F, Apperley J, et al. HSV-TK engineered donor lymphocytes provide early immune reconstitution and control of GVHD after haplo-identical hemopoietic stem cell transplantation. Blood 102(11): Abstract #534, 2003.
86. Ciceri F, Bonini C, Bondanza Z, et al. Early immune reconstitution and abrogation of GVHD after infusion of HSV-TK engineered donor lymphocytes after haplo-identical hemopoietic stem cell transplantation. American Society of Clinical Oncology Annual Meeting, Abstract #6515, 2004.
87. Tiberghien P, Ferrand C, Lioure B, et al. Administration of herpes simplex-thymidine kinase-expressing donor T cells with a T-cell-depleted

allogeneic marrow graft. Blood 97:63-72, 2001.
88. Li Z, Dullmann J, Schiedlmeier, et al. Murine leukemia induced by retroviral gene marking. Science 296:497, 2002.
89. Reisner Y, Bachar-Lustig E, Li HW, et al. The role of megadose CD34+ progenitor cells in the treatment of leukemia patients without a matched donor and in tolerance induction for organ transplantation. Ann N Y Acad Sci 872:336-348; discussion 348-350, 1999.
90. Handgretinger R, Schumm M, Lang P. Transplantation with megadoses of haploidentical mobilized stem cells highly purified by magnetic-activated cell sorting. Blood 92:688a, 1998.

XI. 3 臨床研究実施スケジュール

XI. 3. 1 臨床研究実施スケジュール（患者）

表 19　臨床研究実施スケジュール（患者）

	幹細胞移植前			幹細胞移植日	幹細胞移植後（移植日を 0 として）				最終 Add-back[1] 後（最終 Add-back[1] 日を 0 として）									患者生存期間中
	仮登録時以前	本登録時以前	本登録後	0	42 日以前	42 日	72 日	102 日	1 週	2 週	3 週	4 週	6 週	10 週	14 週	18 週	24 週	1 年毎
同意取得	○																	
仮登録	○																	
本登録		○																
患者背景	○																	
自覚症状・他覚所見（PS 等）	○	○		○	○[2]				○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
血液学的検査	○	○		○	○[2]				○	○	○	○	○	○	○	○	○	
血液生化学的検査	○	○		○	○[3]				○	○	○	○	○	○	○	○	○	
免疫学的検査	○	○							○	○	○	○	○	○	○	○	○	
感染症検査	○	○			○[4]				○	○	○	○	○	○	○	○	○	
尿定性		○			○[4]							○	○	○	○	○	○	
ｸﾚｱﾁﾆﾝ･ｸﾘｱﾗﾝｽ		○																
動脈血液中酸素飽和度	○	○																
心電図	○	○																
心ｴｺｰ	○	○																
胸部 X 線検査	○	○																
原疾患に関する検査・観察	○	○							4 週に 1 回、中止あるいは終了時他、治療上で必要な時期									
移植前処置			○															
造血幹細胞移植				○														
遺伝子導入 T リンパ球 Add-back						○	○	○										
輸血・併用療法状況確認		実施期間を通して確認																
RCR									○[7]			○		○			○	○
LAM-PCR[5]												○	○	○	○	○	○	○
免疫系再構築の判定に関する検査・観察					○[4]	○			○	○	○	○	○	○	○	○	○	
GVHD 評価[6]					○[4]	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	
GVHD 発症組織の遺伝子導入 T リンパ球の存在確認					GVHD 発症時、GCV 製剤投与前、4 日後、終了あるいは中止の翌日													
血中遺伝子導入 T リンパ球比率測定					○[4]				○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
有害事象		実施期間を通して確認																

1：診察日時点から見て最終（直近）の遺伝子導入 T リンパ球の Add-back をさし、初回あるいは 2 回目の Add-back が最終（直近）の場合にも上記スケジュールに従う

2：造血の確認（生着）が確認されるまでの毎日と造血幹細胞移植後 30 日から 40 日の間に 1 回

3：造血の確認（生着）が確認されるまでは週3回と造血幹細胞移植後 30 日から 40 日の間に 1 回

4：造血幹細胞移植後 30 日から 40 日の間に 1 回

5：検査検体採取を行う。検査実施は必要時

[6]:GVHD 発症時等、必要時にはスケジュールに定められた以外でも実施する

[7]:最終 Add-back 後、1～3 日の間に 1 回

- 造血幹細胞移植は臨床研究実施スケジュールに定められた日から 7 日以内に実施する。
- 最終 Add-back 後の検査・観察は定められた週のいずれかの日に実施する。

XI. 3. 2 臨床研究実施スケジュール（ドナー）

表 20　臨床研究実施スケジュール（ドナー）

	0 日	1 日	2 日	3 日	4 日	5 日	6 日
同意取得	○						
ドナー背景	○						
リンパ球採取前健康診断	○						
登録		○					
リンパ球・血漿採取（血液学的検査含む）		○					
細胞調製の開始		○					
G-CSF 投与*1			○	○	○	○	
末梢血幹細胞採取*2						○	
CD34 陽性細胞分離*3						○	
末梢血幹細胞採取後健康診断*4							○
有害事象*5		←→	←→	←→	←→	←→	←→

*1：採取された CD34 陽性細胞数によっては 7 日まで延長されることもある。

*2：採取された CD34 陽性細胞採取状況によっては、6 日、7 日にも行われることもある。

*3：末梢血幹細胞採取状況によっては、6 日、7 日にも行われることもある。

*4：末梢血幹細胞採取終了翌日に行われるため、7 日、8 日の場合もある。

*5：末梢血幹細胞採取状況によっては、7 日、8 日まで調査が行われる。

なお、本スケジュール表は最短の目安を示すものであり、ドナーの都合等で 0 日と 1 日、1 日と 2 日の間隔が開く場合も想定される。

Ⅺ.4 Performance Status の Grade と判定基準

（出典：Oken MM, et al. Am J Clin Oncol 5: 649-655, 1982）

表 21　Grade と判定基準

Grade	判定基準
0	無症状で社会活動ができ、制限を受けることなく、発病前と同等に振舞える。
1	軽度の症状があり、肉体的労働は制限を受けるが、歩行、軽労働や坐業はできる。
2	歩行や身の回りのことはできるが、時に介助が要ることもある。日中の 50%以上は起居している。
3	身の回りのある程度のことはできるが、しばしば介助が要り、日中の 50%以上は就床している。
4	身の回りのこともできず、常に介助が要り、終日就床している。

この基準は全身状態の指標であり、局所状態で活動性が制限されている場合は臨床的に判断する。

XI.5 急性GVHDのGrade

（出典：造血細胞移植学会ガイドライン－GVHDの診断と治療に関するガイドライン及び
Przepiorka D, et al. Bone Marrow Transplant 15: 825-828, 1995）

表22 急性GVHDの重症度stage分類

stage [a]	皮膚	肝	消化管
	皮疹（%）[b]	総ビリルビン（mg/dL）	下痢（mL/day）[c]
1	＜25	2.0～2.9	500～1000 又は持続する嘔気 [d]
2	25～50	3.0～5.9	1000～1500
3	＞50	6.0～14.9	＞1500
4	全身性紅皮症 （水泡形成）	≧15.0	高度の腹痛・出血 [e] （腸閉塞）

a) ビリルビン上昇、下痢、皮疹をひきおこす他の疾患が合併すると考えられる場合はstageを1つ落とし、疾患名を明記する。複数の合併症が存在したり、急性GVHDの関与が低いと考えられる場合は治療にあたる分担研究者判断でstageを2～3落としても良い。

b) 火傷における“rule of nines”（成人）、“rule of fives”（乳幼児・小児）を適応。

c) 3日間の平均下痢量。小児の場合はmL/m²とする。

d) 胃・十二指腸の組織学的証明が必要。

e) 消化管GVHDのstage 4は、3日間平均下痢量＞1500 mLで、かつ、腹痛又は出血（visible blood）伴う場合を指し、腸閉塞の有無は問わないこととする。

表23 急性GVHD重症度Gradeの分類

Grade	皮膚		肝		消化管
	stage		stage		stage
I	1～2		0		0
II	3	or	1	or	1
III	－		2～3	or	2～4
IV	4	or	4		－

注1）パフォーマンスステータス（PS）が極端に悪い場合（PS 4、又はカルノフスキースコア ＜30%）、臓器障害がstage 4に達しなくともGrade IVとする。GVHD以外の病変が合併し、そのために全身状態が悪化する場合、判定は容易ではないが、急性GVHD関連病変によるPSを対象とする。

注2）“or”は、各臓器障害のstageのうち、1つでも満たしていればそのGradeとするという意味である。

注3）“－”は、皮膚の場合、stageが0、1、2、3の範囲で何であっても構わないという意味で、例えば、肝障害がstage 2、3ならば自動的にGrade IIIとなる。つまり皮膚障害の程度はGrade IIIを規定しない。同様に腸管の場合は、障害の程度が何であれGrade IVには関与せず、たとえstage 4でも皮膚又は肝にstage 4病変がない限り、Grade IVとは判定されない。

XI.6 急性GVHDの治療効果判定基準

急性GVHDに対するprimary treatment 開始後は以下の表に従い治療効果判定を行う 。

（出典：McSweeney PA, et al. Blood 97: 3390-3400, 2001.）

表24　臓器別効果判定

Complete response (CR)	障害の消失	
Partial response (PR)	障害の軽減 皮膚： 肝： 下痢： 障害の再燃：	 体表の25%以上の皮疹の消退 総ビリルビン2～3.9 mg/dLの場合、 2 mg/dL未満への減少。 4～7.9 mg/dLの場合、 2 mg/dL以上の減少。 8 mg/dL以上の場合、 25%以上の減少。 消失又は3日間の平均下痢量が500 mL以上減少。あるいは腹痛・下血の消失。 一旦消失した障害の再出現。このときPSLなどの治療薬の早過ぎる減量による場合は含まない。
Progression (PG)	障害の増悪 皮膚： 肝： 下痢：	 体表の25%以上の皮疹の増加 総ビリルビン2～3.9 mg/dLの場合、 3.9 mg/dL超への増加。 4～7.9 mg/dLの場合、 2 mg/dL以上の増加。 8 mg/dL以上の場合、 25%以上の増加。 3日間の平均下痢量が500 mL以上増加。あるいは腹痛・下血の増悪。
No change (NC)	障害の不変 皮膚： 肝： 下痢：	 体表の25%未満の皮疹の増加 あるいは減少 総ビリルビン2～3.9 mg/dLの場合、 2～3.9 mg/dL での変動。 4～7.9 mg/dLの場合、 ±2 mg/dL以内の変動。 8 mg/dL以上の場合、 ±25%以内の変動。 3 日間の平均下痢量が±500 mL 以内の変動。

Unevaluable (UE)	no involvement early death other complication data missing その他	治療中に該当臓器障害が認められなかった場合。 治療開始後 3 日以内の死亡。 急性 GVHD 以外の合併症が主体のため評価不能の場合。 記載がなく不明。

表 25　治療効果総合判定

Complete response（CR）	急性 GVHD によるすべての臓器障害が消失（CR）し、かつ再燃などに対する追加治療を必要としない場合。
Partial response（PR）	少なくとも一臓器の障害が改善（CR 又は PR）し、他の臓器障害が悪化（PG）しない場合。 又は、全ての臓器障害が一旦改善（CR 又は PR）したが、再燃などのため追加治療を必要とした場合（ステロイド剤の早すぎる減量や不十分な初期治療による場合を除く）。
Mixed response（MR）	少なくとも一臓器の障害が改善（CR 又は PR）し、他の臓器障害が悪化（PG）した場合。
Progression（PG）	少なくとも一臓器の障害が悪化（PG）し、他の臓器障害の改善が認められない（NC 又は PG）場合。
No Change（NC）	いずれの臓器障害においても改善も悪化もみられない場合。
Unevaluable（UE）	全ての臓器別障害の治療反応性が UE の場合。

同意取得の際に用いられる説明文書及び同意書

「ハプロタイプ一致ドナー由来T細胞除去造血幹細胞移植後の単純ヘルペスウイルス１型・チミジンキナーゼ（HSV-TK）遺伝子導入Tリンパ球“Add-back（アド バック）”療法」

＜被験者用＞

同意説明文書（被験者用）

遺伝子治療臨床研究

ハプロタイプ一致ドナー由来Ｔ細胞除去造血幹細胞移植後の単純ヘルペスウイルス１型・チミジンキナーゼ（HSV-TK）遺伝子導入Ｔリンパ球“Add-back（アドバック）”療法

（説明文書及び同意書）

1.　はじめに

これから、あなたに今回参加していただきたい遺伝子治療臨床研究の目的、内容について説明させていただきます。

わからないことがあれば何でも遠慮なく担当医師にお尋ねください。あなたの質問に対して、納得していただけるようじゅうぶんに説明させていただきます。

説明いたしました内容をじゅうぶんに把握していただいた上で、この遺伝子治療臨床研究に参加するかどうか、あなた自身の意思で決めてください。参加しても良いと決めた場合には、同意書に署名をお願いいたします。

あなたの病気（造血器悪性腫瘍）に対しては、最初に行われるのが化学療法です（場合によっては放射線療法を行うこともあります）。しかし、現在の化学療法によって完全治癒が得られる例はまれであり、それらの疾患に対して同種造血幹細胞移植療法が行われています。同種造血幹細胞移植とは、大量の抗がん剤や全身への放射線療法で腫瘍細胞を減少させると共に患者さんの造血能を破壊し、その後に提供者（ドナー*）から採取した「造血幹細胞」と呼ばれる血液のもとになる細胞を移植するというもので、造血器悪性腫瘍の治癒を目指した治療法のひとつです。この治療には、白血球の型が完全に一致あるいは一致度の高いドナーが適しています。中でも血縁者、特に兄弟・姉妹であることが好ましいのですが、そういったドナーが見つかる確率は高くありません。白血球の型が完全に一致あるいは一致度の高い血縁ドナーが見つからない患者さんのために骨髄バンクが準備されており、非血縁者（他人）の中で適したドナーからの移植が行われています。ここまでの治療が標準的治療と考えられていますが、骨髄バンクを用いても適切なドナーが見つからず移植できない患者さんが多数いらっしゃいます。

このように、適切なドナーが見つからないために標準的治療としての移植を受けられない患者さんに対し、現在、さい帯（たいけつ）血移植という治療法、あるいはハプロタイプ一致移植という治療法が試みられています（いずれも後ほど詳しくご説明いたします）。欧米ではハプロタイプ一致移植の研究が主に行われていますが、日本では、特にさい帯（たいけつ）血移植の研究が

盛んに行われています。どちらもまだ標準的治療として確立された治療法ではありませんが、日本のさい帯血移植の実施症例は急速に拡大しており、白血球の型が一致するドナーが見つからない場合、日本では主にさい帯血移植について検討するのが一般的になっています。

さい帯血移植の治療成績も徐々に明らかになりつつあり、良好といえる成績が示される疾患がある一方で、現時点では満足できる治療成績が得られていないタイプの疾患もあることがわかってきました。また、さい帯血では移植できる細胞数が限られていることから、体格のよい患者さんでは、さい帯血移植の適応とならないという問題も残されています。そのような患者さんには、日本ではまだ一般的ではありませんが、ハプロタイプ一致移植が次の選択肢となります。

本研究では、白血球の型が一致するドナーが見つからない造血器腫瘍の患者さんに対して、ハプロタイプ一致移植を有効・安全な治療法として確立することを目的として計画されています。さい帯血移植に関する最新のデータを用いて検討しても、満足できる治療成績が期待しにくいと思われる患者さん、あるいは体格等の問題からさい帯血移植を受けられない患者さんが主な対象となります。

＊ 「提供者」、「ドナーさん」、「ドナー」などの表現がありますが、この説明文書においては、以後、「ドナー」という表現に統一させていただきますことをご了解ください。

1.1　遺伝子治療臨床研究とは

臨床研究により新しい治療法を確立することは、国立病院の役割の一つであり、患者さんのご協力により成し遂げることができるものです。今回参加をお願いする臨床研究は、厚生労働省の指針の中で「疾病の治療を目的として遺伝子または遺伝子を導入した細胞を人の体内に投与すること」と定義されている遺伝子治療に相当するもので実際の診療に携わる医師が医学的必要性・重要性に鑑みて、立案・計画して行うものです。製薬会社等が行う新薬の安全性・有用性を調べ、厚生労働省の承認を得るための臨床試験、いわゆる治験ではありません。この遺伝子治療臨床研究は、当院の審査委員会の審議にもとづき国立がんセンター総長の許可を得て、更にその後、厚生労働大臣に意見を求めたうえで実施されています。

1.2　遺伝子治療臨床研究への参加について

この遺伝子治療臨床研究への参加については、ご協力いただけるあなた自身の意思が最も尊重されますので、あなたの自由な判断に委ねられます。また、ご家族の方と相談していただいても結構です。ご自身の判断で決めていただくために、医師もしくは医療スタッフから「あなたの病気に関すること、遺伝子治療臨床研究の目的や方法、その他の治療法」

等について説明を受けていただきます。その結果、ご参加していただかなくてもあなたが不利益を受けることは一切ありません。通常の治療法の中で、あなたにとって最も良いと考えられる治療法が受けられます。

1.3　遺伝子治療臨床研究への参加の取り消しについて

あなたが「遺伝子治療臨床研究への参加をやめたい」と思われたときには、いつでも同意を取り消して遺伝子治療臨床研究への参加をやめることができます。遺伝子治療臨床研究に参加することに同意した後でも、参加の取り消しを希望する場合は遠慮なくおっしゃってください。たとえそれが遺伝子治療臨床研究中であっても、あなたはいつでもこの遺伝子治療臨床研究への参加を取りやめることができます。その場合にも、あなたが不利益を受けることは一切ありません。通常の治療法の中で、あなたにとって最も良いと考えられる治療法が受けられます。

2. 遺伝子治療臨床研究の名称と実施施設、担当者

名　　　称：ハプロタイプ一致ドナー由来T細胞除去造血幹細胞移植後の
HSV-TK遺伝子導入Tリンパ球“Add-back（アドバック）”療法

実 施 施 設 ：国立がんセンター中央病院

総括責任者：平家勇司　（国立がんセンター中央病院・薬物療法部・幹細胞移植療法室医長）

分担研究者：吉田輝彦　（国立がんセンター研究所・腫瘍ゲノム解析・情報研究部・部長）

青木一教　（国立がんセンター研究所・がん宿主免疫研究室・室長）

高上洋一　（国立がんセンター中央病院・薬物療法部・薬物療法部長）

飛内賢正　（国立がんセンター中央病院・第一領域外来部・第一領域外来部長）

森慎一郎　（国立がんセンター中央病院・臨床検査部・細菌検査室・医長）

金　成元　（国立がんセンター中央病院・特殊病棟部・13B病棟医師）

福田隆浩　（国立がんセンター中央病院・特殊病棟部・12B病棟医長）

田野崎隆二（国立がんセンター中央病院・臨床検査部・輸血管理室医長）

3. 遺伝子治療臨床研究の概要

3.1　造血幹細胞移植療法について

3.1.1　同種造血幹細胞移植療法とは

同種造血幹細胞移植療法とは、病気におかされた患者さんの血液細胞を健康な他人のも

のと入れ替える治療法のことをいいます。造血幹細胞移植を受ける前には、患者さんに大量の抗がん剤の投与や全身への放射線照射を行います。これは移植前に病気のもととなっている病的な細胞を可能な限り減らすことや、移植した造血幹細胞が患者さんの免疫細胞に攻撃されて拒絶されてしまうことを防ぐことを目的としています。この移植前の抗がん剤投与や放射線照射による治療のことを「移植前治療」あるいは「移植前処置」と呼びます。「移植前治療」により、病的な細胞は壊滅的なダメージを受けますが、同時に患者さんの骨髄も破壊されてしまい正常な血液細胞を作る造血幹細胞が著しく減少し、患者さんは自らの骨髄で血液細胞を作ることができなくなります。しかし、そこに健康なドナーから提供を受けた造血幹細胞を入れると、その造血幹細胞が患者さんの骨髄に根付いて（生着して)、新しい血液細胞を造るようになります。このように、患者さんが自分以外の人（患者さんと同じ生物種である人間：同種といいます）から造血幹細胞をもらうことを同種造血幹細胞移植といいます。

3.1.2　白血球の型（HLA）が一致していないドナーからの造血幹細胞移植

同種造血幹細胞移植は白血病などの血液のがん（造血系腫瘍）に対する有効な治療として、広く行われていますが、通常白血球の型（HLA）が一致するドナーが見つかることが条件となります。白血球の型（HLA）が一致するドナーが見つかる確率は血縁者間で約 3 割、骨髄バンクを通しても約 8 割であり、実際に移植を受けられるのはその半分ぐらいとあまり高くありません。この問題の解決法のひとつとして、白血球の型（HLA）が半分程度しか一致していないドナー（親・子）からの造血幹細胞の中に含まれる T リンパ球を除去したうえで移植する方法として、ハプロタイプ一致（HLA 2 座、3 座不一致）T 細胞除去同種造血幹細胞移植が世界中で試みられています。

ハプロタイプとは両親から受け継いだ二組の遺伝子のセットの片方のことで、理論的には、両親と本人、本人と子供であれば一組のハプロタイプは必ず一致し、兄弟姉妹と本人のハプロタイプは 75%の確率で一致することになります。（図 1 をご参照下さい。）ただし、もう一組のハプロタイプが一致していないため、この移植では、特にドナー由来のリンパ球が患者さんの臓器を攻撃する移植片対宿主病（GVHD）が強く起こることが問題であるといわれています。そのため、移植するドナー造血幹細胞から、あらかじめ移植片対宿主病（GVHD)を引き起こすと考えられている T リンパ球をできる限り除去する操作を加えます。

ここ数年、血液細胞の研究が進み、各血液細胞の表面に発現している抗原（マーカー）によって各細胞の役割を区別することができ、細胞表面の抗原（マーカー）に番号付けがなされるようになりました。造血幹細胞はマーカーとして CD34 抗原を発現していることがわかっており、CD34 陽性細胞とよばれています。

この CD34 陽性細胞を選択的に分離・濃縮する装置を用いて、ドナーより採取した造血幹細胞から、安全な移植の妨げともなる T リンパ球の大部分を取り除きます。このように選

択的に純化した CD34 陽性細胞を移植することで、先に述べた移植片対宿主病（GVHD）の発症を回避しつつ、白血球の型（HLA）が一致していないハプロタイプ一致血縁者間でも造血幹細胞移植が可能であることが海外の臨床試験の結果で明らかになってきています。しかしながら、T リンパ球は免疫機能の重要な役割を担っているため、T リンパ球を完全に除去した造血幹細胞移植では、移植後の重篤な感染症、疾患再発・増悪といった課題は残されています。

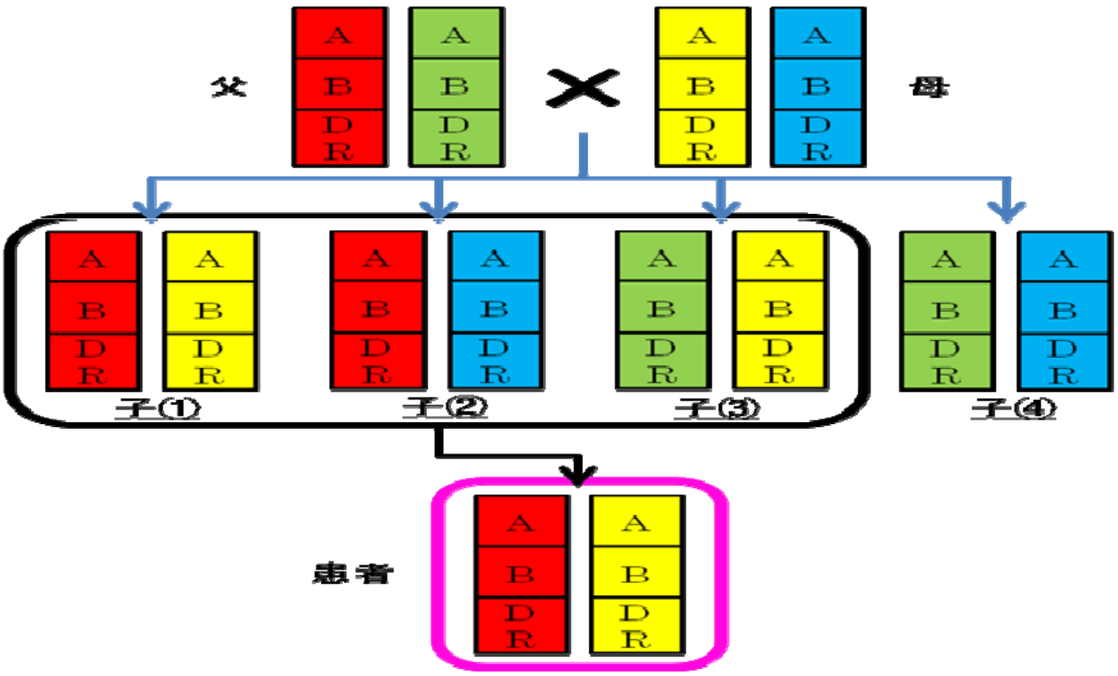


図 1　ハプロタイプ一致（HLA 2 座、3 座不一致）移植

3.2　　HSV-TK 遺伝子導入 T リンパ球“Add-back”療法について

3.2.1　HSV-TK 遺伝子導入 T リンパ球“Add-back”療法とは

上記の 3.1.2「白血球の型（HLA）が一致していないドナーからの造血幹細胞移植」でお話したハプロタイプ一致ドナー由来 T 細胞除去造血幹細胞移植の課題を解決するために、移植した造血幹細胞が患者さんの骨髄に根付いた（生着した）ことが確認されてから、ドナーの T リンパ球を追加輸注（Add-back）するという試みが行われています。ドナーの T リンパ球を追加輸注（Add-back）することで、免疫系再構築（感染症の防御）の促進およびドナーの T リンパ球が有している移植片対悪性腫瘍〔GVM：追加輸注（Add-back）されたドナーT リンパ球が悪性腫瘍細胞を攻撃する作用のこと〕効果が発揮され、悪性腫瘍の治療効果が期待されます。しかしながら、ドナーの T リンパ球を追加輸注（Add-back）した場合には、移植片対宿主病（GVHD）を引き起こす場合があります。この関係を図 2 に示しま

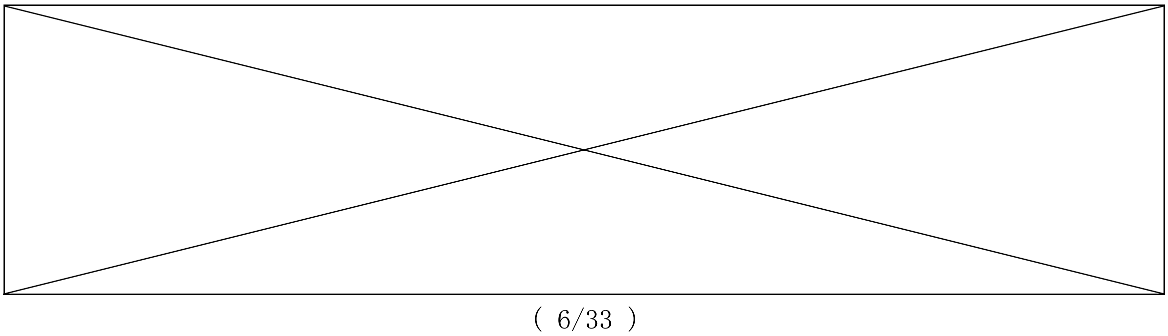
す。移植後100日以内位に見られる皮膚・肝臓・消化管の障害を特徴とする急性GVHDが発症した場合、致死的となることもあるため、ドナーTリンパ球の量を少なくすることでその発症の危険を避けざるを得ず、その場合じゅうぶんな抗腫瘍効果が得られない場合があります。

そこで、今回の遺伝子治療臨床研究では、ハプロタイプ一致ドナー由来 T 細胞除去造血幹細胞移植の補助的治療としてドナーTリンパ球の追加輸注（Add-back）療法で懸念される移植片対宿主病（GVHD）の問題を回避する目的で、自滅装置としての単純ヘルペスウイルス１型・チミジンキナーゼ（HSV-TK）遺伝子が導入されたドナーT リンパ球を使います。

このHSV-TK遺伝子導入Tリンパ球は、ガンシクロビルという薬剤（医薬品として承認されている抗ウイルス薬です）と出会うと、これが自滅装置のスイッチとして働き、減少・消失するように工夫されています。よって、移植片対宿主病（GVHD）が起こった場合には、このガンシクロビルを点滴投与することで、移植片対宿主病（GVHD）の原因として作用しているリンパ球を自滅させることができます。図 3 は、ガンシクロビルにより自滅装置のスイッチが入り、活性型のガンシクロビルの作用で、HSV-TK 遺伝子が導入されたドナーTリンパ球が自滅することを示した図です。

すなわち、もしAdd-back療法により重症の移植片対宿主病（GVHD）が発症しても、ガンシクロビルを点滴投与すれば、発症の原因であるドナー由来Tリンパ球にはHSV-TK遺伝子が導入されているので、自滅装置が作動して消滅し、症状を沈静化できることになります。よって、これまでのように、Add-back 療法の際に、重症の移植片対宿主病（GVHD）発症への危惧から、輸注する T リンパ球の量を控えめに調整せざるをえないということがなくなり、必要な量の T リンパ球を輸注することが可能となりますので、輸注する T リンパ球の量を減らすことに伴う、移植後の重篤な感染症、疾患再発・増悪といった課題の克服が期待できます。（図4をご参照下さい。）

この遺伝子導入により、Add-back 療法における移植片対宿主病（GVHD）に対する安全性は高まりますので、輸注するTリンパ球の量を減らすことに伴う、移植後の重篤な感染症、疾患再発・増悪といった問題を改善できる可能性はありますが、Add-back 療法による免疫系再構築をさらに促進させたり、ドナーT リンパ球が有している移植片対悪性腫瘍（GVM）効果をさらに強化させたりといった、悪性腫瘍に対する治療効果が直接的に増強されるわけではありませんので、この点にはどうぞ十分にご留意ください。



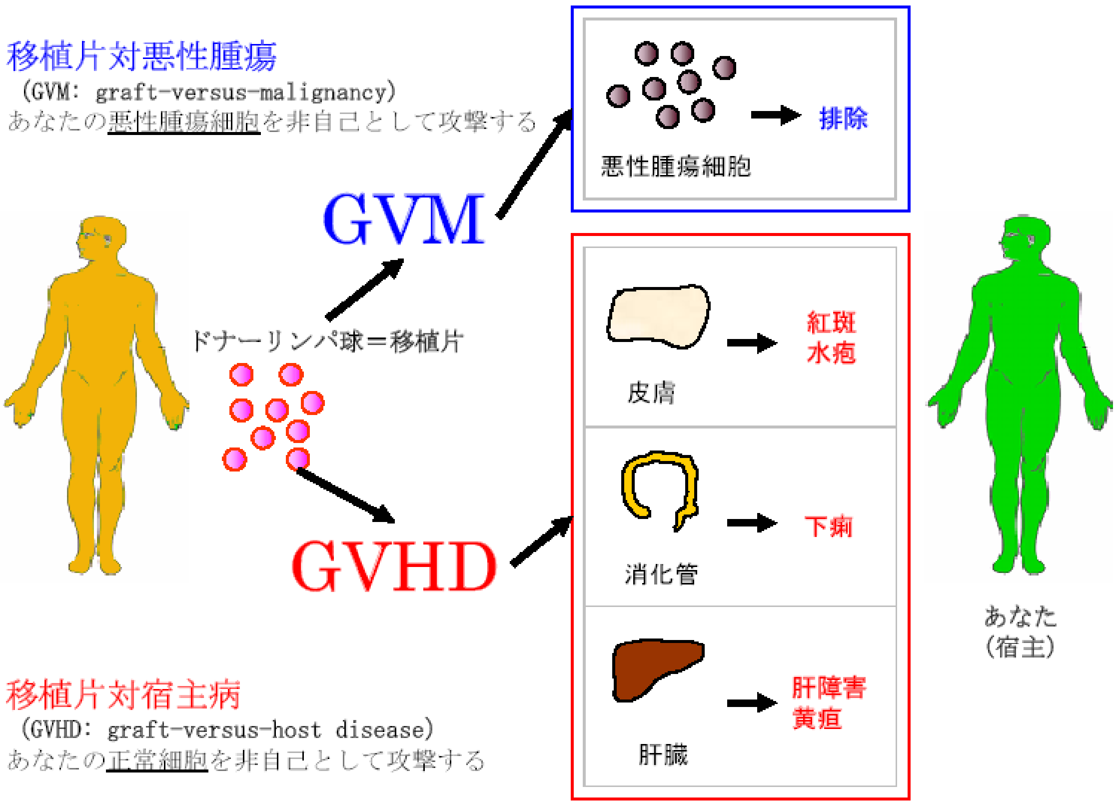


図２　ドナーリンパ球による移植片対悪性腫瘍（GVM）効果と移植片対宿主病（GVHD）

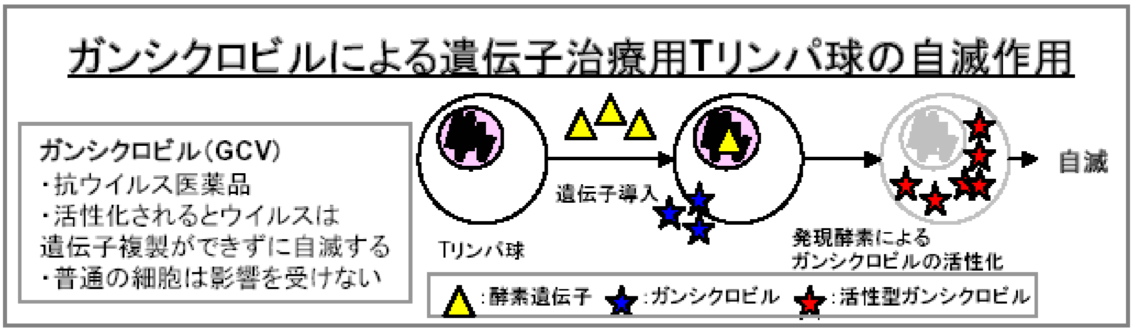
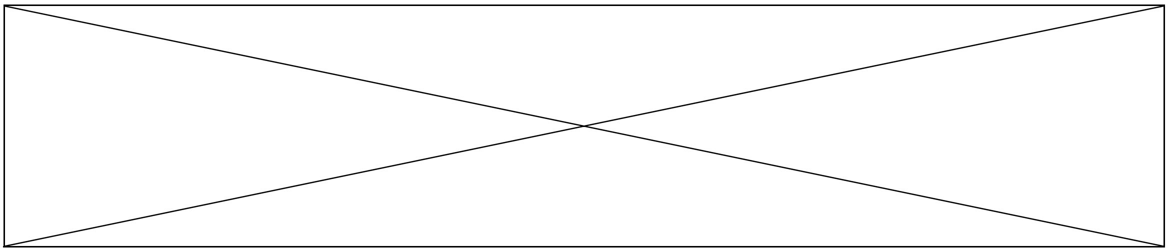


図３　遺伝子導入細胞のガンシクロビル（GCV）による自滅作用



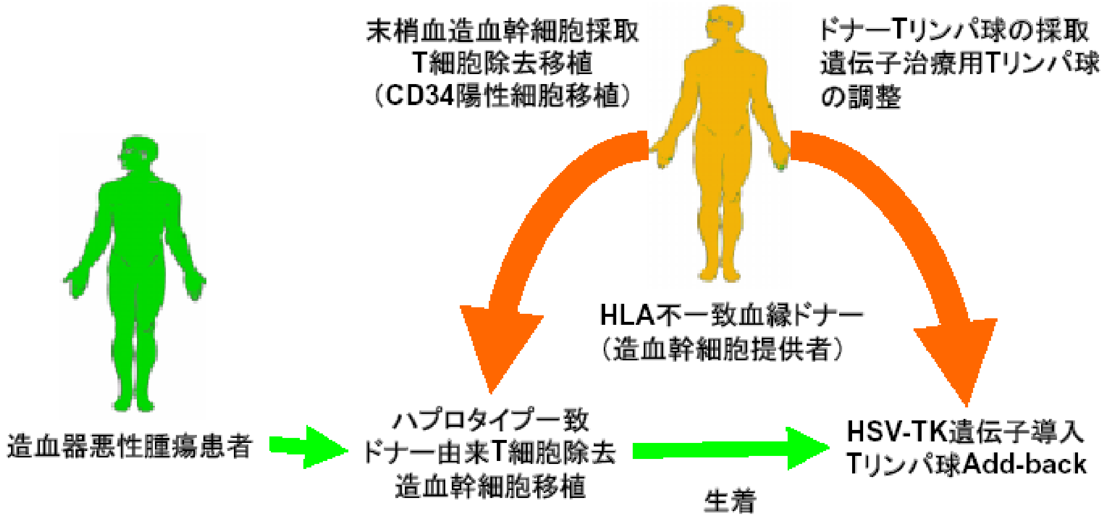


図４　ハプロタイプ一致ドナー由来Ｔ細胞除去造血幹細胞移植後の HSV-TK 遺伝子導入
Ｔリンパ球“Add-back（アド バック）”療法

3.2.2　遺伝子導入Ｔリンパ球の調製

ドナーリンパ球に遺伝子が組み込まれるためには、遺伝子を細胞の中に運ぶ遺伝子の運び屋つまりベクターが必要となります。このベクターにはいろいろな種類があり、今回使用するベクターは、レトロウイルス（自分の遺伝子である RNA を DNA に写し変えて、宿主の DNA の中に入り込み、宿主の中で自分のウイルスを増殖させる仲間のこと）と呼ばれるウイルスの一種で、マウスに感染する種類のレトロウイルスをもとに、遺伝子組換え技術で治療用に改良されたレトロウイルスベクターです。このマウスに感染する種類のレトロウイルスはヒトの細胞には通常感染しませんが、このレトロウイルスベクターはヒト細胞にも感染するように工夫がなされています。同時に、安全性を高めるために、あらかじめ人工的に不完全なウイルスをつくり、感染しても細胞内でウイルスが増殖することが出来ず、周りの細胞に次々に感染しないように改良されています。

このレトロウイルスベクターにより、2 つの遺伝子がドナーリンパ球に組み込まれることになります。一つは単純ヘルペスウイルス 1 型・チミジンキナーゼ（HSV-TK）遺伝子です。これはガンシクロビル（GCV）との組み合わせで自滅装置として働く遺伝子です。もう一つは不活性型ヒト神経成長因子受容体遺伝子（ΔLNGFR）です。ヒト神経成長因子受容体遺伝子はもともと神経細胞の増殖に必要なものですが、不活性型ヒト神経成長因子受容体遺伝子（ΔLNGFR）は神経細胞の増殖機能を人工的に失わせてあり、ここではあくまでも遺伝子を組み込んだ細胞に印をつける（マーキングのこと）ために使用します。

試験管内でドナーリンパ球にウイルスベクターを感染させても全部のリンパ球に遺伝子が組み込まれるのではなく、遺伝子が組み込まれるのは全体の 10～20%程度です。つまり、

80～90%のリンパ球は、単純ヘルペスウイルス1型・チミジンキナーゼ（HSV-TK）遺伝子を持たないことになります。もし、この状態でドナーT リンパ球を補助的に追加輸注（Add-back）した場合、移植片対宿主病（GVHD）発症の際にガンシクロビル（GCV）を投与しても自滅するリンパ球は一部で、残り 80%以上のリンパ球は死滅せず、移植片対宿主病（GVHD）の状態は続くことになります。

このことを避けるためには、補助的に追加輸注（Add-back）するドナーT リンパ球をできる限り単純ヘルペスウイルス 1 型・チミジンキナーゼ（HSV-TK）遺伝子が入ったリンパ球だけにしなければなりません。単純ヘルペスウイルス 1 型・チミジンキナーゼ（HSV-TK）遺伝子が入ったリンパ球のみを取り出すために、遺伝子が組み込まれた細胞にマーキングの必要があるのです。前述のヒト神経成長因子受容体遺伝子（ΔLNGFR）でマーキングされたリンパ球は、神経成長因子受容体と反応する抗体を用いて他のリンパ球（遺伝子が組み込まれていないリンパ球）から分離することができます。このような方法で、追加輸注（Add-back）するドナーT リンパ球をできるだけ遺伝子が組み込まれたリンパ球〔単純ヘルペスウイルス 1 型・チミジンキナーゼ（HSV-TK）遺伝子が入ったリンパ球〕のみにすることが可能となります（図5をご参照下さい）。

なお、今回の遺伝子治療臨床研究に用いる単純ヘルペスウイルス 1 型・チミジンキナーゼ（HSV-TK）遺伝子そのものをあなたが直接服用したり、あなたが直接注射されたりすることはありません。この単純ヘルペスウイルス 1 型・チミジンキナーゼ（HSV-TK）遺伝子は、病院内のじゅうぶんに管理された無菌細胞調整施設でドナーのリンパ球に遺伝子として組み込まれ（遺伝子導入のこと）、いくつかの操作を経て、HLA 2、3 座不一致血縁者間のT 細胞除去同種造血幹細胞移植後のドナーT リンパ球の補助的追加輸注（Add-back）に用いられます。

この遺伝子治療臨床研究で用いられる単純ヘルペスウイルス 1 型・チミジンキナーゼ（HSV-TK）遺伝子をドナーT リンパ球に組み込むための製剤の製造や運搬は、すべて、遺伝子治療を安全に実施するための国の法律や取り決めに従って、細心の注意のもとに行われることになります。ドナーT リンパ球に遺伝子導入する操作なども同様です。

これらの細心の注意のもとに調製したリンパ球は、患者さんに投与する前に、安全性に関する複数の検査を行います。これらの検査の中には、最終的な結果が判明するまでに、時に長い期間を要することがあるものもあり、Add-back 療法として患者さんに投与する時点で、すべての最終的な安全性の検査結果がえられていない可能性があります。万が一、投与後に検査に不適合であったことが判明した場合には、あなたの臨床研究は中止し、すぐに医学的に最善と思われる対処をいたします。具体的な対処法については「5.2.2　遺伝子導入 T リンパ球の投与後に、投与したリンパ球が製剤の検査に不合格であることが判明した場合に予測される危険（副作用）」をご覧ください。

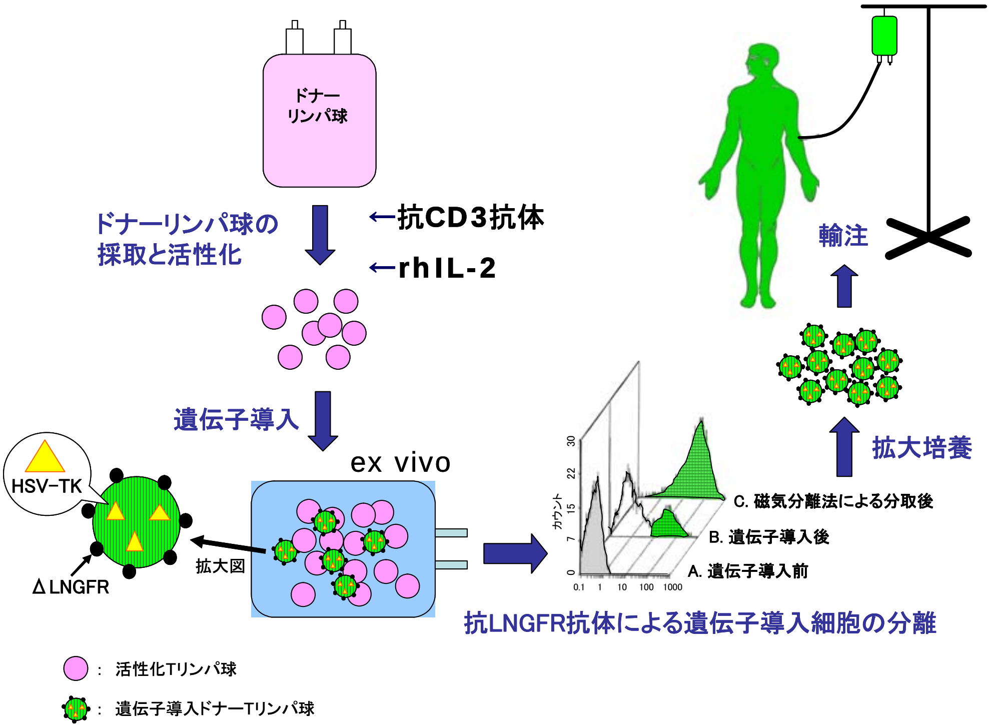


図5　遺伝子を組み込んでマーキングされたドナーTリンパ球の分離とあなたへの追加輸注

4.　遺伝子治療臨床研究により予期される効果

今回の遺伝子治療臨床研究は、造血幹細胞移植の補助的な治療法です。本遺伝子治療臨床研究では、レトロウイルスベクターそのものを投与するわけではなく、レトロウイルスベクターによって単純ヘルペスウイルス 1 型・チミジンキナーゼ（HSV-TK）遺伝子が導入されたドナーTリンパ球を投与します。したがって、単純ヘルペスウイルス1型・チミジンキナーゼ（HSV-TK）遺伝子導入ドナーTリンパ球を投与したときに予期される効き目についてお話しします。

これまでにもお話ししましたが、単純ヘルペスウイルス1型・チミジンキナーゼ（HSV-TK）遺伝子導入ドナーTリンパ球とは、自滅装置をもったドナーTリンパ球です。この自滅装置をもったドナーT リンパ球は、理論上、ガンシクロビル（GCV）の投与によって減少・消失して（図 3)、生体内から排除されます。これまでの多くの事例からも、この理論は実証されています。この自滅装置のおかげで、HLA 2、3 座不一致血縁者間のハプロタイプ一致ドナー由来T細胞除去同種造血幹細胞移植を受けられた患者さんにも、移植片対宿主病（GVHD）を心配せずにじゅうぶん量のドナーTリンパ球を補助的に追加輸注（Add-back）することができます。したがって、HLA 2、3 座不一致血縁者間のハプロタイプ一致ドナー由来T細胞除去同種造血幹細胞移植後の免疫系の再構築を促進し、感染症の予防及び移植片対悪性腫瘍（GVM）効果による造血器悪性腫瘍の再発・増悪に対する高い治療効果が発揮されること

が期待できます。

5.　予期される危険（副作用）

5.1　　造血幹細胞移植に伴い予期される危険（副作用）

ドナーから採取した末梢血単核球からCD34陽性細胞を純化して、安全な移植の妨げともなるTリンパ球(免疫細胞)の大部分を取り除いて移植します(T細胞除去造血幹細胞移植)。このため、特に移植直後は、ウイルス等に対する抵抗力が低下した状態になり、サイトメガロウイルス感染症（日本人の成人では約90%が感染しています。健康なときには問題ありませんが、極端に免疫が抑制された状態の時に肺、胃、網膜の炎症を起こします。）などにかかりやすくなるという危険性があります。

また､CD34陽性細胞を純化することで移植されるTリンパ球を少なくしているとはいえ、移植片対宿主病（GVHD）が発生することもあります。

移植の前には、移植前治療として大量の抗がん剤投与や放射線治療が行われます。その影響によると考えられる副作用[悪心、嘔吐、脱力感、発熱、血液毒性（好中球および血小板減少)、疲労、呼吸困難、不整脈、肝・腎機能障害、色素沈着、脱毛、消化管出血、出血性膀胱炎、皮膚障害など]が起こることがありますが、抗がん剤投与や放射線照射が終われば徐々に回復してきます。また、副作用が現れている時には適切な治療が行われます。

CD34 陽性細胞を純化するときには、鉄分を含むビーズにマウスの抗体のついたものを用います。これはCD34陽性細胞のみに選択的に付着する物質で、この物質についている鉄の磁力を利用してCD34陽性細胞を純化します。あなたの体に輸注するときには、この物質がCD34陽性細胞についた状態で入ることになりますが、3～4時間でCD34陽性細胞から離れていきます。輸注されたCD34陽性細胞の働きは、あなた自身のCD34陽性細胞の働きと変わらず、白血球や血小板などの回復を促進しています。ビーズに含まれる鉄分は造影剤の検査薬としても使われているもので、あなたの体に悪影響を与えることはないと考えられます。また、用いたマウスの抗体はあなたの体の中に入ると異物として認識されて、あなたの体の中に抗体ができる可能性があります。しかしながら、あなたの体に入る量は少ないため、抗体ができる可能性は低いと考えられます。

5.2　　単純ヘルペスウイルス1型・チミジンキナーゼ（HSV-TK）遺伝子導入ドナーTリンパ球“Add-back（アド バック）”療法に伴い予測される危険（副作用）

5.2.1　レトロウイルスベクターを用いる遺伝子治療に伴い予測される危険（副作用）

レトロウイルスベクターを用いた遺伝子治療は、現在までアメリカを中心とした世界各国で数百例をこえる患者に行われており、多くの実績があります。しかし、何らかの理由で患者の体内でこのウイルスベクターが増殖をはじめる可能性や遺伝子を導入した細胞ががん化する可能性は完全には否定できません。

最悪の場合として、この増殖型のウイルスが患者の身体に新たなウイルス性疾患を引き起こす可能性は否定されていません。この可能性を最小限にするため、法律や取り決めに従ってウイルスベクターの安全性と品質の管理が行われています。

また、3.2.2「遺伝子導入Tリンパ球の調製」の項でも説明しましたが、用いられるのは人工的に改良した安全性の高いレトロウイルスベクターです。しかしながら、レトロウイルスベクターがドナーTリンパ球の中に導入され、その後染色体内に組み込まれたときに悪影響を及ぼす可能性は完全には否定できません。そこで、レトロウイルスベクターによる副作用、危険性について説明します。

第1点目は、レトロウイルスベクターで遺伝子を細胞の染色体に組み込む際におこる可能性のある「挿入変異」という問題です。染色体には、たん白質の設計図である多数の遺伝子があり、レトロウイルスベクターは治療用の遺伝子をこの染色体のいずれかの部分に組み込むのですが、その場所については予測できません。治療のための遺伝子が染色体に組み込まれるということは、長期にわたり期待する効果が持続するという利点がありますが、裏を返せば一度組み込まれると長期にわたり取り除くことができないという欠点もあります。この組み込まれる部位によっては、他の遺伝子を壊したり、他の遺伝子に悪影響を及ぼしたりして、細胞をがんにしてしまう危険性があります。通常、染色体の中には、がん遺伝子やがんの発生を抑制する遺伝子が含まれていますが、遺伝子導入によりこれらの遺伝子に何らかの影響を及ぼし、がん化へと進む可能性もあります。一般的には、一つの遺伝子に影響を及ぼしたからといってがんになる可能性は高くはないと考えられていますが、少なくとも危険性は増えることになります。

特にがんになる可能性については、極めて大切なことなので詳しく説明をいたします。ある遺伝子の欠損により正常に免疫細胞をつくれないX連鎖重症複合性免疫不全症（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病気）という先天性の病気があります。近年、フランスでこの病気に対してレトロウイルスベクターを用いて欠けている遺伝子を血液のもとである造血幹細胞へ導入する遺伝子治療が行われました。この遺伝子治療により、患者の免疫細胞の機能が正常化し、感染症の防御機能を得ました。この遺伝子治療は、これまでに11例に実施されて9例で治療が成功し、遺伝子治療の最大の成功例として注目を集めました。しかしながら、この遺伝子治療で「挿入変異」が実際におこり、その後2002年に2例の遺伝子治療を受けた患者が白血病を発症しました。この白血病発症の原因としては、LMO-2というがん遺伝子の近くにレトロウイルスベクターの遺伝子が組み込まれ、その結果、このがん遺伝子が活性化されてしまったという可能性が考えられています。さらに、レトロウイルスベクターで導入した治療用遺伝子が細胞増殖を制御する遺伝子だったことも、白血病の発症リスクを高めたと考えられています。この報告の後に、アメリカでは、先天性免疫不全症に対する遺伝子治療を一時中断し、公聴会での議論がなされ、この症例に関する内容を患者さんやその家族に正しく伝えたうえで再開

することとなりました。しかし、フランスで3例目（2005年1月）及び4例目（2007年3月）の白血病発症の報告がなされ、白血病発症第 1 例目の患者さんが白血病によってお亡くなりになりました。フランスのグループは安全なベクターが開発されるまでこの遺伝子治療を中断しています。さらに、フランスのグループと異なるレトロウイルスベクターを用いて同様の遺伝子治療を行ったイギリスのグループでも、10例中1例で白血病発症の報告がなされました（2007年12月)。また、慢性肉芽腫症（好中球などの食細胞が機能しないため重症な細菌・真菌性感染症を反復して発症する先天性免疫不全症）に対して、レトロウイルスベクターを用いて欠けている遺伝子を血液のもとである造血幹細胞へ導入するドイツの遺伝子治療では、遺伝子導入細胞を投与された 2 例の患者さんで、特定のがん遺伝子の近くにレトロウイルスベクターの遺伝子が挿入された細胞が多く認められており、骨髄異形成症候群という前白血病状態の発症が報告されています。一方、アデノシンデアミナーゼ欠損症（アデノシンデアミナーゼという酵素が先天的に欠けているために血液中の正常に働くリンパ球が減少し、感染症が発症しやすくなる病気）に対して、レトロウイルスベクターを用いて欠けている遺伝子を血液のもとである造血幹細胞へ導入するイタリアの遺伝子治療では、10例中8例で酵素補充療法の必要がなくなり、遺伝子治療の有効性が確認されるとともに、がん化は見られなかったと報告されています。このように、レトロウイルスベクターによるがん化の可能性は、対象となる病気、遺伝子を挿入する細胞、ベクターの種類によって大きく異なっています。ちなみに、本研究で使用する末梢リンパ球に対するレトロウイルスベクターによる遺伝子導入ではこれまでがん化の報告はありません。

先天性免疫不全症以外に対する遺伝子治療では、白血病の発症の頻度は低いと考えられ、その危険性についてじゅうぶんに説明をした上で、継続しても良いとの決定が実施国の所轄官庁からなされております。日本においても、同様の状況で先天性免疫不全症に対する遺伝子治療は中断されていますが、それ以外の遺伝子治療についてはその危険性をじゅうぶんに説明し、インフォームドコンセントを徹底すること、フォローアップをじゅうぶんに実施することを条件に継続されています。

第 2 点目は、何らかの理由でレトロウイルスベクターが無秩序に増殖をはじめる可能性を完全には否定できないという問題です。今回の遺伝子治療に使うレトロウイルスベクターは、一度感染すると二度は感染しないように作成され、安全性を高める種々の工夫が施されています。しかし、このレトロウイルスベクター自身が増殖を始め、患者の体に白血病あるいはリンパ腫を引き起こす危険性を完全には否定できません。この危険性を可能な限り排除するために、あらかじめ定められた規格に合致する遺伝子導入ドナーTリンパ球のみを追加輸注（Add-back）に用い、その後も繰り返し検査が行われます。

その他、今回目印として用いるヒト神経成長因子受容体遺伝子（ΔLNGFR）をレトロウイルスベクターで導入したマウス骨髄細胞で白血病が高率に発症したとの報告もありますが、

そのメカニズムの詳細は明らかとはなっておりません。

単純ヘルペスウイルス 1 型・チミジンキナーゼ（HSV-TK）遺伝子導入ドナーT リンパ球“Add-back”療法では、先に述べた先天性免疫不全症に対する遺伝子治療臨床研究のような造血幹細胞に遺伝子を導入するものではありませんが、類似のレトロウイルスベクターを用いますので、新たながん（白血病やリンパ腫）を発症させる可能性を完全には否定できませんが、遺伝子を挿入する細胞はドナーT リンパ球であり、造血幹細胞との性質の違いから、新たながんが発症する可能性は先天性免疫不全症に対する遺伝子治療のそれと比較し、低いものと考えています。造血幹細胞（CD34 陽性細胞）は未熟な細胞で、極めて増殖力が高く、何らかの原因でがん化しやすい細胞ですが、ドナーT リンパ球は、造血幹細胞から分化した細胞で、増殖力も弱く、がん化しにくい細胞です。

単純ヘルペスウイルス 1 型・チミジンキナーゼ（HSV-TK）遺伝子導入ドナーT リンパ球“Add-back”療法では、末梢血造血幹細胞移植も行われますが、移植する造血幹細胞に遺伝子を導入することはありませんので、この造血幹細胞からのがん化の危険はありません。また、ドナーT リンパ球を採取する際に、末梢血中に存在する造血幹細胞が混入し、それに遺伝子を導入してしまう可能性も考えておかねばなりませんが、通常の末梢血中には造血幹細胞はほとんど存在しません。造血幹細胞移植用の細胞を採取する時は、顆粒球コロニー刺激因子（G-CSF）というお薬を用いて造血幹細胞を骨髄から末梢血へ動員し採取します。遺伝子治療用のリンパ球を採取する際は、そのお薬を使いません。遺伝子治療用のリンパ球に造血幹細胞が混入したとしても、そのほとんどは遺伝子を導入する際には増殖力を失っており、これらの造血幹細胞が原因となってがん化する可能性はほとんどないと考えられています。

これまでに私たちが繰り返してきた研究の結果からは、補助的に追加輸注（Add-back）する細胞の 98%以上がドナーT リンパ球であると考えられます。さらには、万が一、がん化したとしても、追加輸注（Add-back）するドナーT 細胞には自滅遺伝子が導入されていますので、自滅機能を作動させて、がん化した細胞を排除することも考えられます。ただ、遺伝子治療自体が未だ研究中であり確立されたものではないので、もし、がん化してしまった場合には、自滅機能を作動させるとともに化学療法を併用し、最善の治療を行うことになります。

今回の遺伝子治療臨床研究で用いられるレトロウイルスベクターは、その作製にあたっては安全性を高めるための種々の工夫がなされています。

これまで、今回の遺伝子治療臨床研究と全く同じベクターを用いて単純ヘルペスウイルス 1 型・チミジンキナーゼ（HSV-TK）遺伝子を導入したドナーT リンパ球が、海外の患者を対象とした臨床試験で用いられていますが、1 例で発熱・悪寒が認められた以外には、今のところ副作用の報告はありません。

5.2.2　遺伝子導入Tリンパ球の投与後に、投与したリンパ球が製剤の検査に不合格であることが判明した場合に予測される危険（副作用）

今回の臨床研究で使用する遺伝子導入リンパ球は、患者さんに投与する前に、安全性に関する複数の検査を行います。これらの検査の中には、最終的な結果が判明するまでに、時に長い期間を要することがあるものもあり、Add-back 療法として患者さんに投与する時点で、すべての最終的な安全性の検査結果がえられていない可能性があります。万が一、投与後に検査に不適合であったことが判明した場合には、あなたの臨床研究は中止し、すぐに医学的に最善と思われる対処をいたします。

以下にAdd-back療法後に結果の出る可能性のある試験の項目と、不適合になった場合の対処方法についてまとめます。専門的な内容も含みますので、より詳しくお知りになりたい場合は、担当医にご質問ください。

安全性検査の項目	不適合であった場合の対処法
無菌試験	直ちに感染症治療を開始できるよう準備
RCR試験	ウイルス感染症治療を含めた対応法を考慮
マイコプラズマ否定試験	直ちに感染症治療を開始できるよう準備
GCV感受性試験	• 医師の判断により、必要に応じガンシクロビル（GCV）投与 • GVHD発症時には通常のGVHD治療
IL-2依存的増殖試験	• リンパ球ががん化しないか慎重に観察 • がん化に対してはGCV投与 • GCV を投与してもがん化した細胞が取り除けない場合には通常のがん治療

5.2.3　ガンシクロビル（Ganciclovir: GCV）の使用に伴い予期される危険（副作用）

ガンシクロビル（GCV）は、抗サイトメガロウイルス化学療法剤として、後天性免疫不全症候群、臓器移植、悪性腫瘍に伴う重篤なサイトメガロウイルス感染症（通常誰もが持っているウイルスですが、体の免疫力が低下したときに発症します。症状としては、肺炎、網膜炎、胃腸炎がよくみられます。）に対して使用されます。ガンシクロビル（GCV）は、感染症の治療薬として国の承認を受けて医薬品として市販されています。

単純ヘルペスウイルス 1 型・チミジンキナーゼ（HSV-TK）遺伝子導入ドナーT リンパ球“Add-back”療法では、遺伝子導入したドナーT リンパ球が重症の移植片対宿主病（GVHD）を引き起こした場合に、遺伝子導入細胞の自滅装置を働かせる薬として使用します。つまり、遺伝子導入ドナーT リンパ球追加輸注（Add-back）後に重症の移植片対宿主病（GVHD）が発症した際、ガンシクロビル（GCV）を投与することによって、その原因として作用して

いる追加輸注（Add-back）されたドナーT リンパ球を自滅させて、移植片対宿主病（GVHD）を沈静化させます（7 頁の図 3 をご参照下さい）。

なお、サイトメガロウイルス感染症の治療薬としてのガンシクロビル（GCV）の重大な副作用として、汎血球減少（血液中の赤血球、白血球、血小板、全ての血球が減少した状態）、重篤な白血球減少、重篤な血小板減少、腎不全（腎臓の働きが低下して、不要な老廃物や水分の排泄がじゅうぶんにできなくなった状態）、膵炎（すい臓の炎症で腹部・背部の痛みがある）、深在性血栓性静脈炎（主に足の静脈に血液の塊ができ、その部分の血流が悪くなり、炎症をおこした状態。その塊が血流に乗って他臓器に運ばれ障害を起こすこともある）、昏睡、錯乱、けいれん発作、敗血症（細菌が血液中に入って、全身が感染した状態）および消化管出血が知られています。初期投与症例の場合、白血球減少、血小板減少がそれぞれ 20.7%、15.1%に認められたことが報告されています。ガンシクロビル（GCV）投与に伴い血球減少が出現した場合には、輸血や顆粒球コロニー刺激因子（G-CSF）（好中球を増やす薬）などの投与により適切に治療することとしています。

5.2.4　サイトメガロウイルス感染時に予期される危険（副作用）

ガンシクロビル（GCV）は、本来、サイトメガロウイルス感染症の治療薬です。重症のサイトメガロウイルス感染症は、放置すれば致死的となりますので治療をしなければなりませんが、ガンシクロビル（GCV）を投与してしまうと遺伝子導入ドナーT リンパ球の自滅機能が作動してしまい、遺伝子導入ドナーT リンパ球は死滅します。したがって、この時点で遺伝子治療は断念しなければなりません。単純ヘルペスウイルス 1 型・チミジンキナーゼ（HSV-TK）遺伝子導入ドナーT リンパ球“Add-back”療法では、サイトメガロウイルス感染症にかかって薬剤の投与が必要な場合には、フォスカルネットナトリウムというガンシクロビル（GCV）の代替薬剤で対処します。このフォスカルネットナトリウムという薬剤は、諸外国ではサイトメガロウイルス感染症の薬として使われていますが、日本国内ではサイトメガロウイルス感染症の効能・効果での承認は取得されておらず、後天性免疫不全症候群（エイズ）患者におけるサイトメガロウイルス網膜炎の効能・効果で承認されて、既に医療現場で用いられています。

なお、後天性免疫不全症候群（エイズ）患者におけるサイトメガロウイルス網膜炎の治療薬としてのフォスカルネットナトリウムの重大な副作用としては、ショック（発熱・悪寒、発疹等を初発症状に、ふるえ、顔面蒼白、呼吸困難等の症状）、腎不全（腎臓の働きが低下して、不要な老廃物や水分の排泄がじゅうぶんにできなくなった状態）、心不全（心臓が血液のポンプとしての役割を果たせなくなることで起こる疲れやすさ、息切れ、呼吸困難、むくみ等の症状）、けいれん発作（自らの意思とは関係なく起こる筋肉の収縮による発作）、テタニー（血清中のカルシウム濃度が低下し、筋肉が収縮すること）、呼吸抑制、麻

痺性イレウス（腸管の神経・筋肉が影響をうけて腸管運動が麻痺した状態）、失語症（うまくしゃべれない、言っていることが理解できないといった状態）、痴呆、横紋筋融解症（筋肉を作っている骨格筋細胞というものが融解したり壊死したりして、筋肉の成分が血液中に流れ出すこと）、敗血症（細菌が血液中に入って、全身が感染した状態）が報告されています。このような場合には投与を中止するなどの適切な処置が施されます。

6.　他の治療法（特にさい帯血移植について）

白血球の型（HLA）が一致するドナーが見つからない場合は、わが国では主としてさい帯血を用いた同種造血幹細胞移植（さい帯血移植）が行われています。さい帯血とは、母親と胎児を結ぶさい帯（へその緒）と、胎盤の中に含まれる血液のことをいいます。出産のときに胎児とともに出てくる胎盤からとった血液ですが、便宜的に「さい帯血」と呼ばれています。さい帯血の中には骨髄と同様の、血液細胞を作り出すもとである「造血幹細胞」がたくさん含まれています。ですから、骨髄移植と同様の病気に対して、移植して治療に役立てることができます。さい帯血は胎児のものであり、含まれる造血幹細胞は骨髄由来のものと異なりより未熟な細胞であるために、患者さんと HLA が一致しない場合でも移植することができます。また、さい帯血はすでに凍結保存されているため、ドナーを探す必要もなく、早期の移植が可能です。さい帯血移植は保険診療が承認されたこともあり、ここ数年で急速に移植症例数が増加し、その評価が定まりつつあります。事実、国立がんセンター中央病院においても、2006 年度には計 8 例のさい帯血移植を行っています。一方で、さい帯血に含まれる造血幹細胞の数には限りがあり、特に体の大きな大人への移植には細胞数が不十分な場合があり、生着が遅れたり、うまく生着しなかったりする（報告毎に異なりますが、約 15%前後の頻度で発生します。）例が見られ、その結果、感染症の危険性が高まるという問題点が明らかになってきました。大人への移植時の細胞数不足の問題に対しては、欧米や日本で複数のさい帯血を同時に移植するという試みが始められていますが、未だ研究段階にあり最終的な評価は定まっていません。さらに、先にも述べましたが、さい帯血に含まれる造血幹細胞はより未熟な細胞であるため、移植後の免疫力の回復が遅れ、生着後もウイルスなどの感染に弱いとも考えられています。急性 GVHD に関しては、わが国のさい帯血バンクネットワークのデータでは通常治療を要する重症度（II 度以上）の急性 GVHD は全体で約 40%程度にみられており、その発症率は HLA 一致血縁者間の末梢血幹細胞移植とほぼ同等と報告されています。重症例が少ない傾向があるとはされていますが、最終的にさい帯血移植を受けた患者さん全体のうち約 6%の方が急性 GVHD を直接の原因として死亡されています。一方、さい帯血移植後に急性 GVHD を発症した患者さんにおいて原病の再発率が低下する現象は確認されておらず、どの程度の GVM 効果が得られるかは、現時点では、はっきりしていません。この点に関しても、さい帯血バンクネットワークが行っている詳細な追跡調査の結果を待たねばなりません。

参考として、以下に日本さい帯血ネットワークが発行する広報誌“さい帯血バンク NOW 第27 号”(2006 年 1 月 15 日発行）に発表された 1,860 例の成績のうち、1,197 例の成人さい帯血移植のまとめを紹介します。骨髄破壊的前処置による急性白血病初回移植の移植後 3 年の無イベント生存率（「移植したさい帯血が生着し、もとの病気の再発がなく生存している患者さん」の率）は初回寛解期、第 2 寛解期移植でそれぞれ 40%、56%、非寛解期移植で 18%です(図 6A)。また、骨髄異形成症候群に対する成績は良好であり、長期生存率が約 50%、そのうち標準危険群（不応性貧血での移植例および白血病化後の初回寛解期移植例が相当します）では 79%、高度危険群（標準危険群以外の病期の移植例、移行期や白血病化後の初回寛解期以外の移植例が相当します）でも 43%の無イベント生存率が得られています（図 6B)。日本さい帯血バンクネットワークより公表されている最新の治療成績は「説明補足資料：さい帯血移植の治療成績」を用いて、別途、説明いたします。これ以降も引き続き治療成績の集積・解析は行われますので、随時最新の成績を入手しお知らせいたします。

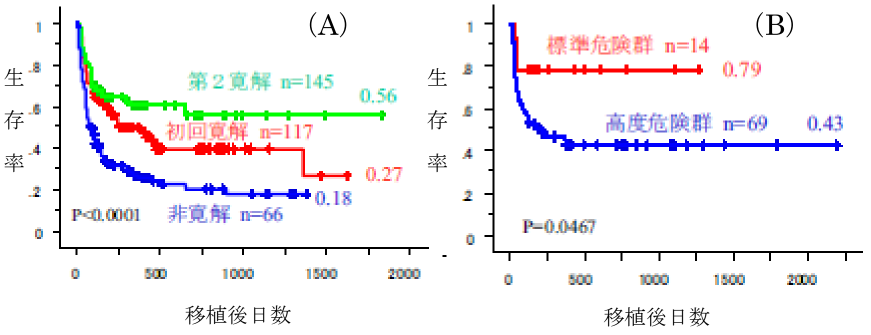


図 6　骨髄破壊的前処置による成人さい帯血移植の成績
急性白血病（A)、および骨髄異形成症候群（B）における移植病期と無イベント生存率

主な説明は以上のとおりですが、次頁にさい帯血移植と今回の遺伝子治療と比較した表を示します。さい帯血移植による治療も含め、今回遺伝子治療臨床研究の内容をじゅうぶんに把握いただいた上で、参加するかどうかを決めてください。

	さい帯血移植	今回の遺伝子治療
●HLA 一致度	●2 座不一致まで移植可能。	●3 座不一致まで移植可能。
●急性 GVHD の危険性	●発症しても、重症化しにくい。	●発症しても、自滅機能で対応可能。
●移植までの時間	●バンクに適合するものがあれば、検索の開始から最短 7～10 日間で移植することが可能。	●血縁ドナーが原則であるため、遺伝子導入 T リンパ球の調製期間も含め、最短 2～3 週間で施行することが可能。
●ドナーの負担	●なし。	●通常の移植*と同等の負担に加え、遺伝子導入 T リンパ球調製のためのリンパ球等の採取が必要。遺伝子導入 T リンパ球の調製後に、それらが規格を満たさないことが判明した場合には、遺伝子治療を行えない可能性がある。
●スケジュール調整	●患者の都合だけで決められる。	●ドナー、患者双方のスケジュールを調整する必要あり。
●ドナーからの感染症	●危険性は低い。	●通常の移植*と同等で、事前にチェックできれば避けられる。
●GVM 効果	●期待できる。	●期待できる。
●拒絶・生着不全	●15%前後の頻度で発生するとする報告もあり。移植する幹細胞数の不足に関連して生着不全の頻度が高くなる。生着しても時間のかかる場合が多い。 ●移植する幹細胞数の不足の問題に対しては、複数の臍帯血を同時に移植する試みが開始されている。	●通常の移植*と同等。
●治療関連毒性	●生着不全・造血回復の遅延に伴う治療関連毒性が多い。	●移植後、免疫系が元通りになるまでの期間は感染症の危険性が高まる。
●再発時の対応	●同一ドナーから GVM 効果を期待してのリンパ球輸注ができない。	●同一ドナーからの GVM 効果を期待してのリンパ球輸注**が可能。
●遺伝性疾患が引き継がれる可能性	●可能性は否定できない。	●可能性は否定できないが、血縁ドナーが原則ゆえに有無を把握しやすく、排除しやすい。

*さい帯血移植を除く。

**遺伝子治療臨床研究の対象外になりますので、輸注されるリンパ球には遺伝子は組み込まれていません。

その他に、あなたの病気に対しては、化学療法、放射線療法といった従来から行われている治療法も考えられます。これらの治療法では、通常認められる副作用が起こる可能性があります。

慢性骨髄性白血病の場合、飲み薬であるグリベック（一般名：メシル酸イマチニブ）は治療効果があります。また、急性骨髄性白血病の場合、昨年、マイロターグ（一般名：ゲムツズマブオゾガマイシン）という新しいお薬が発売され、効果が期待されています。

それぞれの治療法の詳細については、担当医師にお尋ね下さい。

あなたが今回の遺伝子治療臨床研究に参加することを望まれないということであれば、遠慮なく申し出てください。現在、この病院で使用している他の治療薬や実施可能な他の治療法のうち、あなたに最もよいと考えられる薬・方法で治療を行います。

7. 今回用いるものと同じレトロウイルスベクターを使用したその他の遺伝子治療臨床研究・治験の状況

〈国内の治験・遺伝子治療臨床研究〉

現在、単純ヘルペスウイルス1型・チミジンキナーゼ（HSV-TK）遺伝子導入ドナーT リンパ球“Add-back”療法と同じレトロウイルスベクターを用いた遺伝子治療臨床研究が 2003 年10月に文部科学省および厚生労働省の承認を受け、筑波大学附属病院において同種造血幹細胞移植後の、再発白血病の方と骨髄異形成症候群の方を対象に『同種造血幹細胞移植後の再発白血病に対するヘルペスウイルス・チミジンキナーゼ導入ドナーT リンパ球輸注療法の臨床研究』という課題名で行われています（総括責任者：長澤俊郎 筑波大学臨床医学系血液内科教授）。

筑波大学でのこの遺伝子治療臨床研究においては、今回単純ヘルペスウイルス 1 型・チミジンキナーゼ（HSV-TK）遺伝子導入ドナーT リンパ球“Add-back”療法で用いるものと同じレトロウイルスベクターが使われており、対象の患者数は5～10名が予定されています。2006年12月の時点で5名に遺伝子を導入したドナーT リンパ球が輸注されていますが、その安全性・有効性に関する最終的な報告書は作成されていません。

〈海外の治験〉

イタリアのモルメド社は、2003年10月に欧州医薬品審査庁から希少疾病（きしょうしっぺい）用医薬品（患者数が限定されているが医療上の必要性が高いと考えられる疾患の治療薬開発を支援する制度。いわゆるオーファン指定のこと）の指定を受け、今回の『単純ヘルペスウイルス1型・チミジンキナーゼ（HSV-TK）遺伝子導入ドナーT リンパ球“Add-back”療法』で使用するものと同じベクターを使って遺伝子導入したリンパ球を用いた、『造血器悪性腫瘍患者に対するハプロタイプ一致ドナー由来T細胞除去同種造血幹細胞移植後の単純ヘルペスウイルス1型・チミジンキナーゼ（HSV-TK）遺伝子導入ドナーT リンパ球輸注療法・第Ⅰ/Ⅱ相臨床試験（目標30症例)』を実施しています。2007年9月時点で、51名の症例登録が完了しており、そのうち27名の患者さんに実際に遺伝子導入されたドナーT リンパ球が輸注されています。安全性・有効性に関する最終報告書は現時点では作成されたとの報告はありません。

最新の途中解析の結果報告によりますと、免疫能の回復についての評価では、遺伝子導入ドナーT リンパ球が輸注された 27 名中 22 名（およそ 80%）で初期の有効性が確認されています。

一方、有害事象（治験との関連にかかわらず、参加期間中に、それぞれの方に認められた医学的に好ましくないできごと）は、51 名の登録症例において 375 件が報告されています。このうち 283 件は遺伝子導入ドナーリンパ球が投与された患者さんで発生しており、そのうち、遺伝子導入ドナーリンパ球との「関連あり」と判断された有害事象は 22 件でした（GVHD、発熱など）。また、重篤な有害事象は 108 件報告されており、このうち 81 件は遺伝子導入ドナーリンパ球が投与された患者さんで発生し、遺伝子導入ドナーリンパ球との「関連あり」と判断された重篤な有害事象として、2 件の GVHD が報告されています。

遺伝子導入ドナーリンパ球の投与後に、急性の GVHD は grade Ⅰが 1 例、gradeⅡが 7 例、gradeⅢが 1 例、及び grade Ⅳが 1 例の計 10 例で発症し、慢性の GVHD は 1 例で発症しました。grade Ⅰの GVHD 発症例は、投薬等の治療を施すことなく症状は消失しました。その他の gradeⅡ以上の GVHD 発症例（9 例）及び慢性 GVHD（1 例）は、ガンシクロビル（遺伝子導入されたドナーリンパ球の自滅装置のスイッチとなる薬剤）の投与による治療で、その症状はほぼ消失しました。

8.　遺伝子治療臨床研究の目的・意義

今回の遺伝子治療臨床研究では、HLA 2、3 抗原不一致血縁者間の T 細胞除去同種造血幹細胞移植〔今回の場合は、白血球の型（HLA）が一致していない血縁ドナーからの T 細胞除去同種造血幹細胞移植のこと〕を受けられた方に、単純ヘルペスウイルス 1 型・チミジンキナーゼ（HSV-TK）遺伝子導入ドナーT リンパ球の補助的“Add-back”療法を受けていただきます。

この遺伝子治療臨床研究では、この治療法の安全性および有効性について詳しく検討したいと考えています。

この治療法が確立すれば、重症の移植片対宿主病（GVHD）が発症する可能性を恐れずにドナー由来の T リンパ球の補助的な追加輸注（Add-back）を行うことができ、HLA が一致したドナーが見つからない造血器悪性腫瘍患者さんに、安全かつ有効に HLA 2、3 抗原不一致血縁者間の T 細胞除去同種造血幹細胞移植後のドナー由来 T リンパ球の補助的な追加輸注（Add-back）を行うことが可能となり、有効な治療手段となることが期待されています。

9.　遺伝子治療臨床研究の方法

9.1　　今回の遺伝子治療の対象となる患者さん

今回の遺伝子治療臨床研究では以下のいずれかと診断され、HLA 適合または 1 座不一致の適切なドナーが見つからず、かつ適切なさい帯血(たいけつ)も見つからない患者さん、すなわち、血縁者間 HLA ハプロタイプ不一致以外に適切なドナーが見つからない患者さん、並びに、さい帯血(たいけつ)移植後の 2 年生存率が 50%を下回ると考えられる疾患の患者さん、すなわちさい帯血(たいけつ)移植で十分な治療効果が得られないと考えられる方が対象となります。

・高リスク急性骨髄性白血病の初回寛解期
・急性骨髄性白血病の第二以上の寛解期
・骨髄異形成症候群の予後不良群
・骨髄異形成症候群の輸血依存例
・慢性骨髄性白血病の第一慢性期以降の慢性期、または移行期
（グリベック（メシル酸イマチニブ）による治療歴のある患者さんに限られます。）
・　高リスク急性リンパ性白血病初回寛解期

なお、あなたが本研究に参加いただくことが医学的に見て妥当であるか否かは、本研究にかかわる移植医だけでなく、血液専門医、移植科レジデント、移植を担当する専門看護師、移植病棟薬剤師、移植病棟栄養士、移植コーディネーターが一同に介するカンファレンスにて検討いたします。この場で、医学的に見てあなたが本研究によって得られる不利益が利益を上回る可能性が高いと客観的に判断された場合には、本研究に参加いただけない可能性があることをご承知おきください。また、同意いただき、上記カンファレンスにて本研究への参加が妥当であると判断された後、入院前に先立って移植病棟看護師によるオリエンテーションを受けていただくことになります。オリエンテーションには医師は同席せず、看護師により移植治療を受ける際の注意事項、特に衣食住の注意事項の説明をさせていただくと共に、看護師の視点からあなたが本研究についてじゅうぶんにご理解いただいているかどうか、並びに参加の意思の再確認をさせていただきます。何度も似たような説明を受けるかもしれませんが、とても大切なことですのでご理解くださいますようお願い申し上げます。なお、よく理解できなかったことに関してはその都度説明者にご質問下さい。あなたにご理解いただけるよう、できる限りの説明をさせていただきます。

9.2　　参加予定被験者数

この遺伝子治療臨床研究には 10 名の方に被験者として参加していただく予定です。

9.3　　参加予定期間

この遺伝子治療臨床研究の参加予定期間は、最長で約 360 日間（入院期間を含む）です。

9.4　治療スケジュールと検査項目

＜ドナー＞

同意取得（登録）

- ・G-CSF 投与による PBSC 動員
- ・末梢血幹細胞採取

CD34 陽性細胞分離

- ・血漿採取
- ・末梢血単核球採取

遺伝子導入 T リンパ球調製

＜被験者＞

同意取得

臨床研究開始・スクリーニング

あなたが臨床研究にご参加いただけるか否かを確認する検査・観察を行います。適格であると判断された場合に、その判断内容を確認する目的で仮登録を行います。

仮登録

仮登録となった後、遺伝子導入ドナーT リンパ球の調製、移植する幹細胞の採取がおこなわれます。要する期間は、ドナーさんの都合にもよりますが、最短で**約 10 日間**です。臨床研究に必要な遺伝子導入 T リンパ球数や幹細胞数が確保され、あなたの病気の状態に大きな変化がない場合に臨床研究を実施することが適切であるかを最終的に確認し、本登録を行います。

本登録

本登録となった後、移植を行うための前処置に入ります。

前処置

前処置前に入院いただきます。前処置開始～移植までは**約 14 日間**です。
移植後、少なくとも、**28 日間**は入院いただく必要があります。病状によっては、さらに入院期間が延びることもあります。

T リンパ球除去造血幹細胞(CD34 陽性細胞)移植
(Day 0)

IR：免疫系再構築

Day 42
遺伝子導入 T リンパ球
Add-back
1×10^6 個/kg

1 回目の補助的追加輸注：造血幹細胞移植日を 0 日として、42 日時点で免疫系の再構築が確認されない場合に投与されます。

IR 有 → 研究期間中のフォローアップ
IR 無 ↓

Day 72
遺伝子導入 T リンパ球
Add-back
1×10^7 個/kg

2 回目の補助的追加輸注：1 回目の追加輸注（Add-back）から 30 日後に免疫系再構築が確認されず、GVHD が発症しなかった場合または発症した GVHD が Grade Ⅰの場合に投与されます。

IR 有 → 研究期間中のフォローアップ
IR 無 ↓

Day 102
遺伝子導入 T リンパ球
Add-back
1×10^7 個/kg

3 回目の補助的追加輸注：2 回目の追加輸注（Add-back）から 30 日後に免疫系再構築が確認されず、GVHD が発症しなかった場合または発症した GVHD が Grade Ⅰの場合に投与されます。

GVHD 発症時
GCV 製剤投与

遺伝子導入 T リンパ球
Add-back
1×10^6 個/kg
（医師の判断により）

GVHD 発症後の補助的追加輸注：GVHD がガンシクロビルにより沈静化できた場合は、ガンシクロビル投与終了後に投与される場合もあります。

研究期間中のフォローアップ
（評価含む）

最後の補助的追加輸注から**約 6 ヶ月間**は、定められた時期に受診いただく必要があります。

臨床研究終了

長期フォローアップ

1 年ごとに診察・検査があります。

［二重枠］は入院していただいて行われます。なお、追加輸注後は、遺伝子治療の制約により最短で**約 5 日間**の入院が必要となります。病状によっては、さらに入院期間が延びることもあります。

【遺伝子治療臨床研究のおおよそのスケジュール】

今回の遺伝子治療臨床研究は前ページにお示ししたフローにより実施されます。

まず、今回の臨床研究に適格がどうかの検査を受けていただき、適格と判断されれば仮登録となります。この時点でドナーからの細胞採取が開始され、臨床研究に必要な細胞の調製にはいります。十分な遺伝子導入 T リンパ球並びに幹細胞数の確保が確認できた段階で、あなたの病状の最終的な確認を行い、問題がなければ本登録となります。

本登録となりましたら入院いただき、移植に必要な前処置を経て、T 細胞除去造血幹細胞移植を行います。

移植後、ドナーから移植された細胞があなたの体内に生着し、移植の目標のひとつである免疫系の再構築が起こっているかを検査いたしますが、検査の結果、十分な免疫系の再構築が確認できない場合には、移植から 42 日目に、免疫系再構築を促進させる目的で、遺伝子導入ドナーT リンパ球の補助的追加輸注（Add-back）を行います。この追加輸注（Add-back）によっても十分な免疫系再構築が確認できない場合には、72 日目にも第 2 回目の追加輸注（Add-back)、その後の状態によってはさらに 102 日目にも第 3 回目の追加輸注（Add-back）を行いますので、移植後のあなたの免疫系の状態により、最大で 3 回の追加輸注（Add-back）を行う可能性があることになります。

また、追加輸注（Add-back）によって重症の移植片対宿主病（GVHD）が発症した場合、これまでに説明してきましたように、ガンシクロビル製剤にて症状の鎮静化をはかりますが、沈静化された場合には、その後の医師の判断により、GCV 製剤投与直前の追加輸注（Add-back）が初回あるいは 2 回目の場合に限り、ガンシクロビル製剤投与終了後に追加輸注（Add-back）を行う可能性もあります。この場合には、担当医師より改めて説明を行いますのでご相談ください。

最後の追加輸注（Add-back）から約 6 ヵ月間は、定期的な受診により診察・検査を受けていただき臨床研究は終了となりますが、それ以降も毎年 1 回、長期フォローアップのための受診をお願いいたします。

入院は、前処置・T 細胞除去造血幹細胞移植（移植直後の観察期間含む）時、遺伝子導入ドナーT リンパ球の補助的追加輸注（Add-back）時を予定しています。追加輸注（Add-back）のための入院回数は、あなたの免疫系再構築の状況により最大で 3 回です。それぞれの入院期間は、前処置・T 細胞除去造血幹細胞移植時の入院が最短で約 42 日間、追加輸注（Add-back）時の入院が 1 回あたり最短で約 5 日間です。ただし、移植関連合併症が出現した場合には、その治療のために新たな入院が必要となることや入院期間が長期間となることをご承知おきください。

検査・観察や処置の内容やおおよそのスケジュールは 26 頁に示した表のとおりです。

仮登録、本登録前にあなたが臨床研究にご参加いただくのに適格かどうかの検査・観察を行います。最終的に適格であると判断された場合、前処置を経て移植が行われます。移植後の免疫系の再構築の状況によって、42 日、72 日、102 日に追加輸注（Add-back）が必要となる場合も想定されます。移植後の検査・観察は初回の追加輸注（Add-back）前に 1 回、その後はその時点での最終の遺伝子導入ドナーT リンパ球補助的追加輸注（Add-back）から 1,2,3,4,6,10,14,18,24 週の時点で行います。それ以降は毎年 1 回、長期フォローアップのための診察・検査となります。

【検査に必要な採血量】

検査項目によって異なりますが､1 日あたり約 50 mL の採血が必要になる場合があります。当日のあなたの体調を診て、担当医師がその可否を判断いたします。体調がすぐれない場合には、担当医師に申し出てください。

【個室における管理について】

今回の臨床研究では遺伝子組換え技術で製造された改良型レトロウイルスベクターを用いますので、これが環境中に漏れ出すことを防ぐよう、法律により定められています。そこで、(1) ～ (6) の対応を取らせていただきますので、あらかじめご了解ください。

(1) HSV-TK 遺伝子導入 T ドナーリンパ球輸注(Add-back)前から Add-back の 3 日後までは、指定された個室に入院していただきます。

(2) 個室に入院していただく期間中、検査などのために個室の外に出る場合は、マスクとガウンを着けていただきます。

(3) Add-back の翌日から 3 日後までの間に採血し、レトロウイルスベクターが増殖していないことの検査を行います。この検査に合格しなかった場合、引き続き個室に入院していただきます。

(4) (3) の検査に合格の結果が出るまでの間、あなたの排泄物は個室の中で消毒してから処分させていただきます。

(5) 個室に入院していただく間、病院のスタッフが個室内で器具類を消毒したり洗ったりすることがあります。

(6) 臨床研究が終了した後の毎年 1 回のフォローアップ検査で、レトロウイルスベクターが増殖していないことの検査も行います。万一この検査に不合格となった場合、ただちに個室に入院していただきます。

臨床研究のスケジュール

	移植前			移植日	移植後（移植日を０として）				遺伝子導入Ｔリンパ球の補助的追加輸注（Add-back）後（直近の Add-back 日を０として）									研究終了後
	仮登録時以前	本登録時以前	本登録後	0	42日以前	42日	72日	102日	1週	2週	3週	4週	6週	10週	14週	18週	24週	1年毎
診察	○	○		○	○				○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
臨床検査のための採血	○	○		○	○[1]				○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
尿検査		○			○							○	○	○	○	○	○	
腎臓の機能検査		○																
呼吸器の機能検査	○	○																
心電図	○	○																
心ｴｺｰ	○	○																
胸部Ｘ線検査	○	○																
病気に関する検査・観察	○	○							４週に１回、中止あるいは終了時他、治療上で必要な時期									
移植前処置			○															
移植				○														
補助的追加輸注（Add-back）						○	○	○										
レトロウイルスベクターの増殖の検査									○			○		○			○	○
挿入変異の検査のための採血												○	○	○	○	○	○	○
免疫系再構築の判定に関する検査・観察					○	○			○	○	○	○	○	○	○	○	○	
GVHD の観察					○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	
GVHD 発症した場合、障害部位の遺伝子導入Ｔリンパ球の存在確認					GVHD 発症時、GCV 製剤投与前、４日後、終了あるいは中止の翌日													
遺伝子導入Ｔリンパ球の血中の比率測定					○				○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
副作用等の確認		実施期間を通して確認																

[1]：造血の確認（生着）が確認されるまでの毎日と造血幹細胞移植後 30 日から 40 日の間に１回

【遺伝子治療臨床研究への参加予定期間】

あなたの免疫系の再構築にもよりますが、最短で約 30 週間、最長で約 45 週間です。それ以降は毎年 1 回、長期フォローアップとして診察・検査が必要となります。この長期フォローアップとしての診察・検査は原則外来で受診いただき、1 年間に 1 回となります。

9.5　　情報の提供について

この遺伝子治療臨床研究に参加中、あなたの参加継続の意思に影響を与えると考えられるような新しい情報については、速やかに担当医師からお知らせいたします。その説明を聞いて遺伝子治療臨床研究への参加を取り消したい場合は、いつでも参加を取りやめることができますので、担当医師に遠慮なくおっしゃってください。

9.6　　守っていただきたいこと

この遺伝子治療臨床研究への参加に同意いただいた場合、以下の（1）～（4）の事項を守ってください。また、他の病気などで担当医師以外の医師の治療を受けている場合や他の薬を服用している場合には、そのことを必ず担当医師に伝えてください。

(1)　担当医師の指示に従い、定められた来院日は守るようにしてください

(2)　この遺伝子治療臨床研究期間中、今までと比べて身体の調子がおかしいと感じた場合には、いつでも、必ず、担当医師などに相談してください

(3)　この遺伝子治療臨床研究期間中には、他の臨床研究・治験には参加しないでください

(4) この遺伝子治療臨床研究期間中及び終了後5年間は避妊をするようにしてください

9.7　　遺伝子治療臨床研究の中止について

あなたの遺伝子治療臨床研究への参加の同意が得られましたら、参加可能かどうかを確認するために血液検査や十分な臓器機能が保たれているかといった適格性の検査をします。その結果、あなたの健康状態が思わしくない場合には、遺伝子治療臨床研究への参加をお断りすることになりますので、あらかじめご承知おきください。

より安全にCD34陽性細胞を移植するためには、患者さんの体重1kg当たり、4×10^6個以上のCD34陽性細胞が必要とされています。本遺伝子治療臨床研究では、ドナーの方より必要な細胞数のCD34陽性細胞が採取できなかった場合は、安全に造血幹細胞移植を実施することが困難なため、本研究を中止させていただくことになります。

また、白血球の型（HLA）が一致していないドナーの方からCD34陽性細胞を移植する場合には、混在するTリンパ球をじゅうぶんに除去し、純化する必要があります。Tリンパ球をじゅうぶんに除去できなかった場合には、重症の移植片対宿主病（GVHD）の発症が懸念されるため、移植を行うことができません。この場合も、本研究を中止させていただくことになります。

その他、追加輸注（Add-back）に必要なHSV-TK遺伝子導入ドナーTリンパ球が得られなかった場合や移植したCD34陽性細胞が生着しなかった場合、及び以下の（1）～（5）のいずれかに該当する場合は、あなたに遺伝子治療臨床研究への参加継続の意思があったとしても、本研究を中止させていただくことになります。

(1) 担当医師が遺伝子治療臨床研究を中止することが適切と判断した場合

(2) 遺伝子治療臨床研究との関係にかかわらず、あなたに好ましくない症状などが現れ、遺伝子治療臨床研究の継続が困難と判断された場合
(3) あなたがこの遺伝子治療臨床研究の参加基準に合わないことが判明した場合
(4) あなたの病気の症状が悪化し、遺伝子治療臨床研究の継続が困難と判断された場合
(5) その他、あなたが担当医師の指示を守らない等、遺伝子治療臨床研究の継続が困難と担当医師が判断した場合

この遺伝子治療臨床研究への参加継続を中止させていただく場合には、中止した時点のあなたの状態を確認するため、遺伝子治療臨床研究終了時に予定されている検査を受けていただきますので、その点ご了解ください。

なお、遺伝子治療臨床研究が中止となった場合でも、その時点であなたに最善と考えられる治療が行われます。

9.8 遺伝子治療臨床研究中の治療費について

今回の遺伝子治療臨床研究には、健康保険等の公的な医療保険は適応されません。今回の遺伝子治療臨床研究にかかる費用、たとえばCD34陽性細胞純化にかかわる費用、ウイルスベクターや遺伝子導入にかかわる費用、ならびに本臨床研究にかかわる一切の治療・検査経費に関しては研究グループが負担します。

ただし、この臨床研究の期間内であっても、この研究と関係のない病気に要する医療費には、これまでどおり公的医療保険が適用され、その医療費にかかる一部負担金等はあなたの負担となります。

10. 研究の公正性について

本遺伝子治療臨床研究は国立がんセンター中央病院が自主的に実施しますが、外部共同研究者としてタカラバイオ（株）という会社が限定的な役割で関わります。診療行為においてタカラバイオ（株）が関与することは一切ありません。調製された細胞をあなたに投与した場合の安全性や機能に関する記録は、個人が特定できないように個人情報の保護が図られたうえでタカラバイオ（株）が閲覧することもあります。

タカラバイオ（株）の本遺伝子治療臨床研究における役割は、ウイルスベクターに関する基礎的助言や遺伝子導入 T リンパ球調製技術の提供・助言に限定されています。本遺伝子治療臨床研究における治療行為の実施、国立がんセンター中央病院遺伝子治療臨床研究審査委員会、遺伝子治療臨床研究効果安全性評価委員会、遺伝子治療臨床研究実施事務局等、あなたの診療に直接関わり、かつ臨床的評価を行う議決組織等の全てにおいて、タカラバイオ（株）の関係者は一切除外されており、本遺伝子治療臨床研究のデータの客観性および公正性はその意向になんら影響を受けることなく厳正に保たれます。

11. 遺伝子治療臨床研究に関する健康被害が発生した場合の治療及び補償

今回は遺伝子治療臨床研究であり、他の治療法では治癒が難しいと判断される病態の患者さんに対して行うもので危険性を完全には否定することはできません。本遺伝子治療臨床研究との関連が否定できない有害事象が発生した場合には、最も適切な治療を行い、その医療費は研究グループが負担します。なお、補償金は支払われません。

12. 個人情報の保護について

12.1　あなたの個人情報の取扱いにおける国立がんセンター中央病院の責務

国立がんセンター中央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（のっと）り、国立がんセンター中央病院にて厳重に管理し、秘密保持を厳守します。その他、国立がんセンター中央病院で働いている者も守秘義務を守ることが定められています。さらに、国立がんセンター中央病院では、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、個人情報の保護につとめています。

12.2　国立がんセンター中央病院における個人情報の一般的な取扱い

国立がんセンター中央病院は、がん対策の中核の責を担（にな）い総合的な診療・研究機関として、最先端の医療、質の高い医療を提供してまいりました。さらには、我が国のがん施策における中心的な役割を果たすという社会的な使命を担っております。

つきましては、国立がんセンター中央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利用させていただきたいと思います。あなたの個人情報は、各種法令や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頂けますようお願い申し上げます。

(1) 医療の提供に必要な利用目的

- 医療サービス（診療）を適切に行うため
- 提供した医療サービスに関する医療保険事務を行うため
- 医療サービスの品質管理のため（治療成績や有害事象評価も含む）
- 医療に関する外部監査機関への情報提供のため（日本医療機能評価機構等）
- 法律等に基づく情報提供義務遂行のため
- 国立がんセンター東病院での情報利用
- 診療上必要な場合で、他の医療機関医師の意見・助言を求めるため
- 外部委託検査（検体検査など）の実施のため
- 院内感染予防対策のため
- 院外調剤薬局から処方に関する問い合わせがあった場合

(2) 上記以外の利用目的（当院内部での利用）

- 国立がんセンターがん予防・検診研究センターでの情報利用
- 院内がん登録への情報の登録及び利用〔個人を特定できる情報を削除した上で診療情報等を全国がん（成人病）センター協議会等に提出〕
- アンケート調査やサービスに関する情報収集時に活用
- 医学生等の実習、研修等での利用のため
- 病歴内に既に存在する情報を集計して行う臨床研究のため（治療品質管理の一環との判断）

(3) 院外への情報提供

- 疾患別がん登録への情報提供
- 地域がん登録を行う都道府県への情報提供
- がん検診事業者への情報提供

(4) 他の事業者等への情報提供

- 医学知識普及を目的とした講演、著述等での利用や、当院ホームページ等への掲載のため（個人を識別できる情報を削除した上で診療画像等を利用）
- 医療スタッフの専門認定等の資格申請での提出のため

12.3　本遺伝子治療の遂行に必要なあなたの個人情報の使用について

12.2 に掲げました国立がんセンター中央病院における個人情報の一般的な取扱いに加え、さらに本遺伝子治療臨床研究を遂行するために必要な利用目的のためにも利用されます。これは原則的に、本遺伝子治療臨床研究の実施に関する緊急事態発生のためのご連絡やお手続き、検査のご連絡、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直接接することが可能なのは、国立がんセンター中央病院に所属する本遺伝子治療臨床研究実施関係者に加え、第三者となる当院の審査委員会・効果安全性評価委員会の人や、厚生労働省の審査委員会の人及び同省の担当者のみです。これらの第三者におけるあなたの個人情報の取扱いならびにその監督については、後述いたします。

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、事前にあなたに説明し、ご了解を得たうえで使用いたします。本遺伝子治療臨床研究は、国立がんセンター中央病院内で実施するため、あなたを特定し得る情報を上記以外の第三者に提供することは原則としてありません。

第三者へ情報を提供する必要が生じた場合には、その目的が適切であることを確認し、あなたに説明のうえ、ご了解を頂いた場合に限り提供することとしています。

12.4　あなたの個人情報を閲覧可能な第三者と国立がんセンター中央病院の個人情報管理と監督

前述のように、本遺伝子治療臨床研究においては、主に当院の医師などからなる審査委員会・効果安全性評価委員会の人や、厚生労働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、あなたの個人情報は全て秘密として取り扱われます。

一方、この病院の審査委員会並びに効果安全性評価委員会には、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、国立がんセンター中央病院以外の外部の委員が参加することがあります。外部の委員は第三者に相当しますので、このような場合については国立がんセンター中央病院と第三者の秘密保持契約のもとで行われます。したがって、あなたの個人情報は全て秘密として取り扱われます。

また、本遺伝子治療臨床研究は、国立がんセンター中央病院が主体となって実施していますが、タカラバイオ（株）が外部共同研究者として間接的に関与しています。すでに申し上げたとおり、本遺伝子治療臨床研究においては、あなたの診察・治療そのものに直接関与することはありませんが、ウイルスベクターに関する基礎的助言や遺伝子導入 T リンパ球調製技術の提供・助言に限定し、間接的に関与しています。この場合、調製された細胞をあなたに投与した場合の安全性や機能に関する記録は、個人が特定できないように個人情報を完全に匿名化してから、タカラバイオ（株）が閲覧する場合があります。

12.5　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

これまでに述べた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、本遺伝子治療臨床研究の成果を検討するときや、病状経過、研究成績などを公表・公開する場合は、あなたであることを特定できない形、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ので、病状経過などにつきましては、個人を特定できない状態での公開（学術雑誌、学会、マスコミ含む）を行う場合があります。その際はあなたの個人情報保護を厳守して実施することをお約束しますのでご了承下さい。

前述いたしましたが、タカラバイオ（株）はあなたの診察・治療そのものに直接関与することはありませんが、ウイルスベクターに関する基礎的助言や遺伝子導入 T リンパ球調製技術の提供・助言に限定したうえで間接的に関与します。同社に対しては、個人が特定できないように個人情報は完全に匿名化してから、調製された細胞をあなたに投与した場合の安全性や機能に関する記録が一般公開に先立ち、閲覧に供されますが、国立がんセンターでの一般公開に先行して同社から公になることはありません。

12.6　あなたの個人情報の管理におけるあなたの権利

本遺伝子治療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。

【個人情報に関する苦情等の窓口】

以下の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。

国立がんセンター中央病院　医事課（初診窓口）

電話：03-3542-2511（病院代表）

13. 遺伝子治療臨床研究を担当する医師

遺伝子治療臨床研究に参加していただく場合の心配事や遺伝子治療臨床研究についての説明、安全性、補償などのご質問についても、お気軽にお尋ねください。あなたに納得していただけるまでじゅうぶんに説明させていただきます。

国立がんセンター中央病院　薬物療法部　　TEL：03-3542-2511

幹細胞移植療法室医長	平家勇司	薬物療法部	（職名・医師名・診療科）
薬物療法部長	高上洋一	薬物療法部	（職名・医師名・診療科）
第一領域外来部長	飛内賢正	第一領域外来部	（職名・医師名・診療科）
細菌検査室医長	森慎一郎	臨床検査部	（職名・医師名・診療科）
13B 病棟医師	金　成元	特殊病棟部	（職名・医師名・診療科）
12B 病棟医長	福田隆弘	特殊病棟部	（職名・医師名・診療科）
輸血管理室医長	田野崎隆二	臨床検査部	（職名・医師名・診療科）

なお、この遺伝子治療臨床研究は、当病院に設置された遺伝子治療臨床研究審査委員会で、参加される方のプライバシーと安全性に最大限に配慮して科学性及び倫理性について審議され、承認を受けたうえで、「遺伝子治療臨床研究に関する指針」等を守って行われます。また、国からの通達に従い、この遺伝子治療臨床研究の計画は総長から厚生労働大臣に意見を求めております。

以上、遺伝子治療臨床研究『ハプロタイプ一致ドナー由来 T 細胞除去造血幹細胞移植後の単純ヘルペスウイルス１型･チミジンキナーゼ(HSV-TK)遺伝子導入Ｔリンパ球“Add-back（アド バック）”療法』についてお話させていただきました。

この内容をじゅうぶんに把握していただいて、この遺伝子治療臨床研究に参加しても良いと決めた場合は、次の同意書に署名をお願いいたします。

なお、この説明文書と署名した同意書の写しをお渡しいたします。

作成年月日：○年○月○日

（カルテ貼付用）

同　意　書

国立がんセンター中央病院

病院長：＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿殿

私は臨床研究『ハプロタイプ一致ドナー由来 T 細胞除去造血幹細胞移植後の単純ヘルペスウイルス 1 型・チミジンキナーゼ（HSV-TK）遺伝子導入 T リンパ球“Add-back”療法』について、すべての説明を受け、内容を理解し、納得した上で臨床研究に参加することに同意いたします。

また、説明文書と署名した同意書の写しを受け取りました。

［同意内容］

- □ 1. はじめに
- □ 2. 遺伝子治療臨床研究の名称と実施施設、担当者
- □ 3. 遺伝子治療臨床研究の概要
- □ 4. 遺伝子治療臨床研究により予期される効果
- □ 5. 予期される危険（副作用）
- □ 6. 他の治療法（特にさい帯血移植について）
- □ 7. 今回用いるものと同じレトロウイルスベクターを使用したその他の遺伝子治療臨床研究・治験の状況
- □ 8. 遺伝子治療臨床研究の目的・意義
- □ 9. 遺伝子治療臨床研究の方法
- □ 10. 研究の公正性について
- □ 11. 遺伝子治療臨床研究に関する健康被害が発生した場合の治療及び補償
- □ 12. 個人情報の保護について
- □ 13. 遺伝子治療臨床研究を担当する医師

同意年月日：平成　　年　　月　　日

ご署名：＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿

（説明した医師の記入欄）

説明年月日：平成　　年　　月　　日

総括責任者（又は分担研究者）所属・氏名：＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿

（その他の説明者がいた場合）

説明年月日：平成　　年　　月　　日

説明者　　　　　　　所属・氏名：＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿

（ 1/3 ）

（事務局保管用）

同　意　書

国立がんセンター中央病院

病院長：＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿殿

私は臨床研究『ハプロタイプ一致ドナー由来 T 細胞除去造血幹細胞移植後の単純ヘルペスウイルス 1 型・チミジンキナーゼ（HSV-TK）遺伝子導入 T リンパ球“Add-back（アド バック）”療法』について、すべての説明を受け、内容を理解し、納得した上で臨床研究に参加することに同意いたします。

また、説明文書と署名した同意書の写しを受け取りました。

［同意内容］

□ 1. はじめに
□ 2. 遺伝子治療臨床研究の名称と実施施設、担当者
□ 3. 遺伝子治療臨床研究の概要
□ 4. 遺伝子治療臨床研究により予期される効果
□ 5. 予期される危険（副作用）
□ 6. 他の治療法（特にさい帯血移植について）
□ 7. 今回用いるものと同じレトロウイルスベクターを使用したその他の遺伝子治療臨床研究・治験の状況
□ 8. 遺伝子治療臨床研究の目的・意義
□ 9. 遺伝子治療臨床研究の方法
□ 10. 研究の公正性について
□ 11. 遺伝子治療臨床研究に関する健康被害が発生した場合の治療及び補償
□ 12. 個人情報の保護について
□ 13. 遺伝子治療臨床研究を担当する医師

同意年月日：平成　　年　　月　　日

ご署名：＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿

（説明した医師の記入欄）

説明年月日：平成　　年　　月　　日

総括責任者（又は分担研究者）所属・氏名：＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿

（その他の説明者がいた場合）

説明年月日：平成　　年　　月　　日

説明者　　　　　　　　所属・氏名：＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿

（患者用）

同　意　書

国立がんセンター中央病院

病院長：＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿殿

私は臨床研究『ハプロタイプ一致ドナー由来 T 細胞除去造血幹細胞移植後の単純ヘルペスウイルス 1 型・チミジンキナーゼ（HSV-TK）遺伝子導入 T リンパ球“Add-back（アド バック）”療法』について、すべての説明を受け、内容を理解し、納得した上で臨床研究に参加することに同意いたします。

また、説明文書と署名した同意書の写しを受け取りました。

［同意内容］

- □ 1. はじめに
- □ 2. 遺伝子治療臨床研究の名称と実施施設、担当者
- □ 3. 遺伝子治療臨床研究の概要
- □ 4. 遺伝子治療臨床研究により予期される効果
- □ 5. 予期される危険（副作用）
- □ 6. 他の治療法（特にさい帯血移植について）
- □ 7. 今回用いるものと同じレトロウイルスベクターを使用したその他の遺伝子治療臨床研究・治験の状況
- □ 8. 遺伝子治療臨床研究の目的・意義
- □ 9. 遺伝子治療臨床研究の方法
- □ 10. 研究の公正性について
- □ 11. 遺伝子治療臨床研究に関する健康被害が発生した場合の治療及び補償
- □ 12. 個人情報の保護について
- □ 13. 遺伝子治療臨床研究を担当する医師

同意年月日：平成　　年　　月　　日

ご署名：＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿

（説明した医師の記入欄）

説明年月日：平成　　年　　月　　日

総括責任者（又は分担研究者）所属・氏名：＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿

（その他の説明者がいた場合）

説明年月日：平成　　年　　月　　日

説明者　　　　　　　　所属・氏名：＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿

(3/3)

XI.8 同意説明文書及び同意文書（ドナー用）

同意取得の際に用いられる説明文書及び同意書

「ハプロタイプ一致ドナー由来T細胞除去造血幹細胞移植後の単純ヘルペスウイルス1型・チミジンキナーゼ（HSV-TK）遺伝子導入Tリンパ球“Add-back（アド バック）”療法」

＜ドナー用＞

遺伝子治療臨床研究「ハプロタイプ一致ドナー由来 T 細胞除去造血幹細胞移植後の単純ヘルペスウイルス 1 型・チミジンキナーゼ（HSV-TK）遺伝子導入 T リンパ球“Add-back（アドバック）”療法」における造血幹細胞、リンパ球、及び血漿の提供を考えておられるドナーへのご説明

（説明文書及び同意書）

今回、標記遺伝子治療臨床研究において、あなたの造血幹細胞、血液中のリンパ球、及び血漿（血液中の血球以外の成分）を使わせていただきたいと考えています。これから今回の臨床研究の内容、造血幹細胞、リンパ球及び血漿採取の方法、採取にともなう副作用、採取前後の検査の必要性・内容についてご説明します。よくお読みいただき、ご理解の上、ドナーとして本遺伝子治療臨床研究にご協力いただけるかどうかご判断ください。

1. はじめに

1.1　　遺伝子治療臨床研究とは

臨床研究により新しい治療法を確立することは先端医療を手掛ける国立病院の使命であり、患者さん及びドナーのご協力により成し遂げることができるものです。今回協力をお願いする臨床研究は、遺伝子治療に関するもので、実際の診療に携わる医師が医学的必要性・重要性に鑑（かんが）みて、立案・計画して行うものです。製薬会社などが行う新薬の安全性・有用性を調べ、厚生労働省の承認を得るための臨床試験、いわゆる治験ではありません。この遺伝子治療臨床研究を実施するにあたっては、当院の審査委員会の審議にもとづく総長の許可を得て、更にその後、厚生労働大臣に意見を求めています。臨床研究にご協力いただくかどうかはあなたの自由意思で決めてください。たとえご協力いただかなくとも、あなた並びに移植療法を必要とする患者さんが不利益を被ることはありません。

1.2　　遺伝子治療臨床研究へのご協力について

この遺伝子治療臨床研究へのご協力については、あなた自身の意思が最も尊重されますので、あなたの自由な判断で決めてください。また、ご家族の方と相談していただいても結構です。ご自身の判断で決めていただくために、医師若しくは医療スタッフから臨床研究の目的や方法、及びご協力をお願いしたい内容などについて説明を受けていただきます。その結果、ご協力ただかなくてもあなた並びに移植療法を必要とする患者さんが不利益を受けることは一切ありません。

あなたには、この遺伝子治療臨床研究ではドナーとしてご協力をお願いいたしますので、医学的に見た直接的なメリットはありません。

1.3　　遺伝子治療臨床研究へのご協力の取消しについて

あなたが「遺伝子治療臨床研究への協力をやめたい」と思われたときには患者さんへの治療が開始される前であれば、同意を取り消して臨床研究への協力をいつでもやめることが出来ます。しかし、患者さんの治療が開始された後は、あなたから採取したリンパ球から作製した遺伝子導入Ｔリンパ球や採取した末梢血幹細胞の患者さんへの追加輸注や移植を中止することはできません。今回の臨床研究においては、あなたから末梢血幹細胞を採取し、必要な数のCD34陽性細胞が確保できた段階で、患者さんがあなたの造血幹細胞を受け入れるために「移植前処置」と呼ばれる患者さんの骨髄を完全に破壊する治療に入ります。患者さんが「移植前処置」に入った後に、あなたの造血幹細胞の移植や遺伝子導入Ｔリンパ球の輸注を受けられないということになりますと、患者さんは致命的状況に陥ることになり、これを防ぐためです。遺伝子治療臨床研究へのご協力については、今ご説明申し上げたことをご理解の上、じゅうぶんにお考えの上、お決めください。

2.　遺伝子治療臨床研究の内容

2.1　　骨髄移植と末梢血幹細胞移植について

血液のがんである白血病や血液を造る力そのものが弱くなる再生不良性貧血といった血液難病の治癒的治療法として、これまで骨髄移植という治療が広く行われており、その治療効果が確認されています。

さらに最近、全身麻酔や手術を必要とすることなく、末梢血から種々の血液細胞（白血球、赤血球、血小板など）の源になる造血幹細胞を採取して移植する、あるいは採取後一時凍結保存して移植する末梢血幹細胞移植という方法が、骨髄移植の代替法として実施されています。この方法は、ドナー（提供者）の末梢血中に循環している造血幹細胞を血球分離装置で大量に採取し、これを骨髄細胞と同様の方法で移植する治療法です。なお、通常は末梢血にはこの造血幹細胞はわずかしか循環していませんが、顆粒球コロニー刺激因子（G-CSF）という薬をドナーに投与すると、より多くの造血幹細胞が骨髄から動員されてくることが判っています。この方法を用いた移植は、世界で20,000例以上、我が国でも2,000例以上に行われていますが、移植されたドナーの末梢血幹細胞は順調に生着し、患者さんの造血回復が確認されています。

2.2　　白血球の型（HLA）が一致していないドナーからの造血幹細胞移植
（血縁者間のハプロタイプ一致造血幹細胞移植）

このように、他人からの造血幹細胞移植は白血病などの血液のがん（造血系腫瘍）に対する有効な治療として、広く行われていますが、白血球の型（HLA）が一致するドナーが見つかる確率はあまり高くありません。自身以外に 2 人の兄弟姉妹がいたとしても、約 60%の患者さんは白血球の型（HLA）が一致した兄弟姉妹を見出すことができません。そういった場合には、骨髄バンクあるいは臍帯血バンクで非血縁者のドナーあるいは移植細胞を探すことになります。しかしながら、実際には、骨髄バンクではドナーがみつからないある

いは見つかっても移植までに時間がかかってしまう、臍帯血バンクで体の大きい大人では移植細胞数が不足するといったような問題があります。そのため、白血球の型（HLA）が一致していない血縁者のドナーからの造血幹細胞移植をより安全に行えるように、移植細胞に含まれる T リンパ球を除去したうえで造血幹細胞だけを移植する方法の確立が望まれており、血縁者間のハプロタイプ一致（HLA 2 座、3 座不一致）造血幹細胞移植という方法が海外を中心に試みられています。

ハプロタイプとは両親から受け継いだ二組の遺伝子のセットの片方のことで、理論的には、両親と本人、本人と子供であれば一組のハプロタイプは必ず一致し、兄弟姉妹と本人のハプロタイプは 75%の確率で一致することになります。ただし、白血球の型（HLA）が一致していないため、ドナー由来の T リンパ球が患者さんの臓器を攻撃する移植片対宿主病（GVHD）が問題になります。試みられている方法では、この問題を解決するため、ドナーから採取された造血幹細胞から、あらかじめ移植片対宿主病（GVHD）を引き起こすと考えられている T リンパ球をできる限り除去する操作を加えたものを移植します。

2.3　T リンパ球を取り除く方法

ここ数年、血液細胞等の研究が進み、各血液細胞の細胞表面に発現している抗原（マーカー）によって各細胞の役割を区別することができ、細胞表面の抗原（マーカー）に番号付けがなされるようになりました。造血幹細胞はマーカーとして CD34 抗原を発現していることが確認されており、CD34 陽性細胞とよばれています。

この CD34 陽性細胞を選択的に分離・濃縮する装置を用いて、ドナーから採取した末梢血から CD34 陽性細胞を分離して、安全な移植の妨げともなる T リンパ球の大部分を取り除きます。このように選択的に純化した CD34 陽性細胞を移植することで、先に述べた移植片対宿主病（GVHD）の発症を回避しつつ、白血球の型（HLA）が一致していないハプロタイプ一致血縁者間でも造血幹細胞移植が可能であることが海外の臨床試験の結果で明らかになってきています。

2.4　血縁者間のハプロタイプ一致造血幹細胞移植の問題点と遺伝子治療臨床研究

しかしながら、T リンパ球は免疫反応では重要な役割を担っているため、T リンパ球を除去した造血幹細胞移植では、移植後の感染症による死亡、疾患再発・増悪といった課題は残されています。これらの課題を解決するために、移植した造血幹細胞が患者さんの骨髄に根付いた（生着した）ことが確認されてから、ドナーの T リンパ球を追加輸注（Add-back）するという試みが行われています。ドナーの T リンパ球をそのまま追加輸注した場合には致死的な急性 GVHD が発症する場合があるため、ドナーの T リンパ球の量を少なくすることでその発症の危険を避けざるを得ず、結果としてじゅうぶんな治療効果を得られないことがあります。

そこで、今回の遺伝子治療臨床研究では、ドナーの T リンパ球の追加輸注療法で懸念さ

れる移植片対宿主病（GVHD）の問題を回避する目的で、自滅装置を備えたHSV-TK遺伝子導入Tリンパ球を使います。すなわち、もし、重症のGVHDが発症しても、この自滅装置を作動させれば、GVHD 発症の原因として作用しているドナー由来のリンパ球を自滅させることができ、GVHD症状が沈静化され、この安全装置を備えたドナーのTリンパ球のGVHDについての安全性は高いといえます。したがって、必要な量のドナーTリンパ球を追加輸注することが可能となり、移植後の感染症による死亡、疾患再発・増悪といった課題の克服が期待できます。

本臨床研究では、下図に示すフローで T リンパ球・血漿、末梢血幹細胞をご提供いただきます。Tリンパ球・血漿の採取は遺伝子導入Tリンパ球調製のために行うもので、本臨床研究特有のものです。余分に T リンパ球・血漿採取のご負担をお願いすることになり、デメリットとなります。また、遺伝子導入 T リンパ球調製後に、それらが規格を満たさないことが判明した場合には、遺伝子治療が行えない可能性があります。

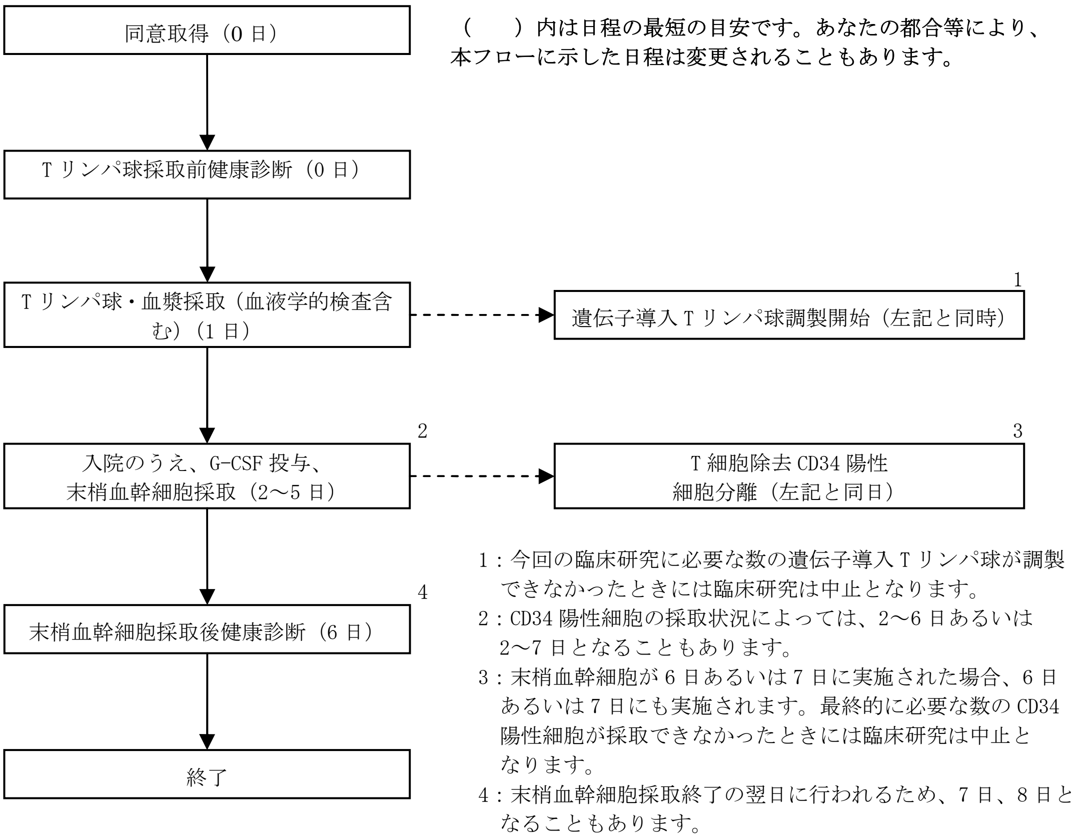


図1　Tリンパ球・血漿、末梢血幹細胞採取のフロー

あなたから提供いただいた末梢血幹細胞からT細胞を除去したCD34陽性細胞を患者さんに移植し、その後、自滅遺伝子〔単純ヘルペスウイルス1型・チミジンキナーゼ（HSV-TK）

遺伝子〕を組み込んだＴリンパ球を患者さんに追加輸注いたします。

また自滅遺伝子を組み込んだ必要な数のＴリンパ球を調製するために、Ｔリンパ球とともにあなたから提供いただいた血漿（血液の血球以外の液体成分）がリンパ球の数を増やすための栄養分として必要になります。

3. Ｔリンパ球採取について

3.1　　採取方法

リンパ球の採取には連続血球分離装置を使用します。

連続血球分離装置を用いた採取では、左（右）腕の静脈から血液を体外循環させ、血球分離装置によって末梢血単核細胞を選択的に採取し、残りの血液成分は右（左）の静脈へ返血します。もし両腕に十分な太さの血管がない場合には、あらかじめカテーテルと呼ばれるやわらかいチューブを、体の太い血管に入れておくことが検討されます。カテーテルは局所麻酔を使用して首、肩（鎖骨の下の部分）、そけい部（足の付け根の部分）などから入れることが可能であり、担当医が最も適切な方法を選択します。それぞれ長所と短所、入れることによって生じうる合併症もあるため、カテーテルをいれる場合には担当医が詳しく説明いたします。採取に必要な処理時間は、このような両腕法で約 3 時間、片腕の血管を用いておこなう片腕法で約 4 時間となります。採取に際しては、医療機器が備えられた専用のスペースが確保され、楽な姿勢が維持できるベットやテレビ、空調設備等が用意されています。また、採取中は定期的に問診、血圧測定など体調のチェックが行われます。採血の直前及び直後には、血液検査が行われ、血小板数などのチェックが行われます。

以上のように、末梢血幹細胞の採取では、あなたの安全確保を最優先して、熟練した専門医師が採取を担当するとともに、副作用が見られた場合はそれに対応できる専門領域の医師が待機し適切な処置を行います。また採取中は、常にあなたの側に医師、看護師あるいは臨床工学技士等の医療スタッフが待機し、安心して採取が受けられるように配慮します。

3.2　　危険性

①血球分離装置による採取に関連すること

1)　採取のための血管確保に関すること

採血用と返血用のために左右の腕のなるべく太い静脈に、やや太めの注射針が入れられます。もし、両腕に十分な太さの血管がない場合で、首、肩（鎖骨の下の部分）、そけい部（足の付け根の部分）などから太い静脈にカテーテルを入れる場合には、稀に出血、感染などの危険性があることが報告されています。肩からカテーテルを入れる場合には、合併症として気胸が稀にみられます。

2)　採取中に関すること

採取中の副作用として全身倦怠感、手足のしびれ、及び血管迷走神経反射に伴うめまい、吐き気、嘔吐などがみられることがあります。全身倦怠感は約 30%と多く見られ、また手足のしびれは、採取中に分離装置内を循環する血液が固まらないよう

にするために用いる薬剤（抗凝固剤: クエン酸ナトリウム）によります。また、きわめて稀なことですが、血管迷走神経反射によると考えられる一過性の心停止が発生した方が我が国で 1 件報告されています。幸い迅速な処置により回復し、後遺症無く社会復帰されています。

3) 採取後に関すること

末梢血幹細胞の採取では血小板も大量に採取されます。このため血小板減少が約 50%の方に見られます。採取終了後は血小板数をチェックしますが、規定以下に減少した場合は、採取した末梢血幹細胞の中から、あなたの血小板成分を分離して、点滴注射で返血する処置を行います。

②その他

上記以外に、採取中に迷走神経反射（血圧低下、冷や汗、気分不快)、動悸、不整脈、採取中及び採取後の白血球減少、血小板減少、採取後穿刺部位からの出血などを合併することがあります。万が一これらの合併症を来たしたときには、当院で適切に治療及び処置をさせていただきます。

4. 血漿採取について

4.1 採取方法

今回あなたから頂くリンパ球の培養に際して、あなたの血液成分（血漿）が必要になります。血漿は血液中の血球以外の液体成分であり、リンパ球を培養する時には栄養分として働きます。採取量は 200～400 mL 程度で、リンパ球採取時に併せて行わせていただきます。

4.2 危険性

血漿採取に伴う危険は殆どありませんが、血液量の減少による一時的な血圧の低下が起こる可能性がまれにあります。そのような場合には、生理食塩水の点滴などで対処可能です。

5. 末梢血幹細胞採取について

5.1 採取方法

今回の遺伝子治療臨床研究への協力に同意をいただき、末梢血幹細胞をご提供いただく場合には、末梢血から十分量の造血幹細胞を採取するために顆粒球コロニー刺激因子 (G-CSF) という薬を 400 μg/m^2（又は 10 μg/kg）を 1 日 1 回、又は 2 回に分割し、5 日間又は採取終了時まで連日皮下注射します。

そして投与開始 4 日目から 6 日目までの期間に 1～3 回、T リンパ球採取時と同様の方法で末梢血（静脈）から血球分離装置を用いて造血幹細胞を採取します。採取した細胞から T 細胞を除去した CD34 陽性細胞を分離・濃縮し、十分量あることを確認してから患者さんに移植します。今回の遺伝子治療臨床研究では、採取後すぐに移植せずに冷凍保存して、後

日移植を行います。
　末梢血幹細胞の採取は、あなたの安全性を十分に配慮して行われます。
　具体的には、

1) 安全性確保のため、顆粒球コロニー刺激因子（G-CSF）の使用前日から細胞採取の最終日までの約一週間は担当医が責任をもってあなたの安全管理を行います。必要な場合は入院していただくこともあります。
2) G-CSF の投与に先立ち血液、尿の検査、及び胸部 X 線検査を行うとともに、採取中、採取終了時及び終了後にも安全性を確認するためにこれらの検査が適宜繰り返し行われます。また、G-CSF 投与中に脾臓が大きくなることが報告されており、このチェックのために腹部超音波検査が行われます。腹部超音波検査は身体に負担は全くありません。
3) G-CSF は少量の薬液が皮下注射で投与されます。次のような身体状況をお持ちの方は、G-CSF の投与を避ける、又は慎重に行うなどの措置が取られます。また、年齢については原則として 20 歳～54 歳とし、55 歳～65 歳の方については本院の遺伝子治療臨床研究効果安全性評価委員会での審議を経て、慎重に適格性を判定させていただきます。
   - G-CSF に対する薬剤アレルギーのある方
   - 妊娠あるいは妊娠している可能性のある方及び授乳中の方
   - 血栓症の既往あるいはリスク：高血圧、冠動脈疾患、脳血管障害、糖尿病、高脂血症などを有する方
   - 脾腫を認める方
   - 白血球増多、血小板増多など骨髄増殖性疾患が疑われる方
   - これまでにがんの診断や治療を受けられたことのある方
   - 現在治療中の、心臓、肺、腎臓の病気を有する方
   - 自己免疫性疾患や炎症性疾患といわれる病気を有する方
   - 肝機能障害を有する方
   - 神経障害を有する方
4) G-CSF 投与中、血液検査において規定以上の白血球増多や血小板減少が見られた場合は G-CSF の投与量を減量するか、又は G-CSF 投与を中止します。
5) 末梢血幹細胞採取は、T リンパ球と同様の方法で連続血球分離装置を用いて行います。

5.2　危険性

　顆粒球コロニー刺激因子（G-CSF）投与に関連することと、血球分離装置による採取に関連することに分けて説明します。

①血球分離装置による採取に関連すること
　T リンパ球採取の危険性と同様です。

②G-CSF 投与に関連すること

G-CSF を使用することにより造血幹細胞が骨髄から末梢血に動員され、移植に必要な造血幹細胞の採取が期待されます。この方法は、ドナーに全身麻酔や骨髄採取の手術を施すことなく、造血幹細胞を採取でき、患者さんへの移植治療が可能になると考えられています。G-CSF は、がんの患者さんにおいて化学療法後の白血球減少に対する有効な薬剤としてこれまできわめて多くの患者さんに投与されてきています。

したがって安全性の高い薬剤といえますが、健常人ドナーに対して使用した場合、これまで以下のような副作用が報告されています。

1) 投与中又は投与後間もない時期の副作用

軽度なものとしては腰痛、胸痛、骨痛、背部痛、関節痛、筋肉痛、発疹、紅斑、悪心、嘔吐、発熱、倦怠感、頭痛、食思不振、動悸などの症状が認められています。特に腰部や胸部などの骨痛は約 70%以上と高頻度にみられていますが、いずれも一過性であり通常の鎮痛剤で軽減します。血液検査では白血球増加、血小板減少、肝機能異常、尿酸値上昇、腎機能異常（血清クレアチニン値上昇）などが知られていますが、いずれも一過性であり、G-CSF 投与終了後 2〜3 日で正常値に回復します。白血球増加、血小板減少に関しては、前述のように注意深く経過をみさせていただき、必要に応じ G-CSF の減量や中止を考慮します。

重大なものとしては、G-CSF に対するアレルギーによると思われるショック、間質性肺炎、血圧低下などが報告されています。また、きわめて稀な副作用として、心筋梗塞、脳血管障害、脾臓破裂などの他、急性虹彩炎、痛風の増悪、さらには基礎疾患を有するドナーにおける死亡例も外国で報告されています。

2) 投与後、長期的な副作用

健常人に対する長期的（数年以上）な影響に関しては、じゅうぶんなデータは得られていません。しかし、我が国では G-CSF の投与を受けた血縁ドナー2 例における骨髄増殖性疾患（G-CSF 投与後 1 年目のフォローアップ時に診断）と急性骨髄性白血病（G-CSF 投与後 14 ヵ月目に診断）の発症が報告されました。日本造血細胞移植学会の見解は、「健常者に短期間 G-CSF を投与しただけで白血病が発症する可能性は科学的には考えられないが、完全に否定することはできない」とされています。G-CSF に対する副作用は、多くの場合一過性であり、あなたへの負担は少ないものと思われますが、担当医師は、稀な副作用に対しても、常に注意しながら G-CSF の投与を行います。その他、製剤としての G-CSF に含まれる添加物に問題となる成分は入っていません。G-CSF を使用することによって、副作用と思われる症状がありましたら担当の医師に申し出てください、直ちに適切な処置を行います。

③その他

T リンパ球採取の危険性と同様です。

6.　採取前後の健康診断

今回、ドナーとしてTリンパ球及び血漿、末梢血幹細胞を提供していただくにあたり、Tリンパ球及び血漿採取前に以下の1～8、採取後に1～3、末梢血幹細胞採取前に1～9、採取後に1～3の項目の健康診断を受けていただきます。これ以外にも、担当の医師の判断により、以下のいずれかを適切に組み合わせて検査・観察をさせていただきます。

1.　身体所見、血圧
2.　一般血液検査
3.　血液生化学検査
4.　血液凝固能検査
5.　尿一般検査
6.　感染症検査
7.　心電図検査
8.　胸部X線単純撮影
9.　腹部超音波検査

7.　臨床研究に関する健康被害が発生した場合の治療及び補償

今回の臨床研究への協力については、その危険性を完全には否定することはできません。本臨床研究への協力に関連する健康被害が発生した場合には、最も適切な治療を行いますが、その場合の医療費はあなたの加入している健康保険が適用されます。また、補償金は支払われません。

8.　個人情報の保護について

8.1　　あなたの個人情報の取扱いにおける国立がんセンター中央病院の責務

国立がんセンター中央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、国立がんセンター中央病院にて厳重に管理し、秘密保持を厳守します。その他、国立がんセンター中央病院で働いている者も守秘義務を守ることが定められています。さらに、国立がんセンター中央病院では、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、個人情報の保護につとめています。

8.2　　国立がんセンター中央病院における個人情報の一般的な取扱い

国立がんセンター中央病院は、がん対策の中核として総合的な診療・研究機関として、最先端の医療、質の高い医療を提供してまいりました。さらには、我が国のがん施策における中心的な役割を果たすという社会的な使命を担っております。

つきましては、国立がんセンター中央病院におけるあなたの貴重な個人情報を含む記録

を医療機関として利用させていただきたいと思います。通常は、各種法令や各種法令に基づいた院内規程を遵守した上で、以下の一般的な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頂けますようお願い申し上げます。

(1)　医療の提供に必要な利用目的

- 医療サービス（診療）を適切に行うため
- 提供した医療サービスに関する医療保険事務を行うため
- 医療サービスの品質管理のため（治療成績や有害事象評価も含む）
- 医療に関する外部監査機関への情報提供のため（日本医療機能評価機構等）
- 法律等に基づく情報提供義務遂行のため
- 国立がんセンター東病院での情報利用
- 診療上必要な場合で、他の医療機関医師の意見・助言を求めるため
- 外部委託検査（検体検査など）の実施のため
- 院内感染予防対策のため
- 院外調剤薬局から処方に関する問い合わせがあった場合

(2)　上記以外の利用目的（当院内部での利用）

- 国立がんセンターがん予防・検診研究センターでの情報利用
- 院内がん登録への情報の登録及び利用〔個人を特定できる情報を削除した上で診療情報等を全国がん（成人病）センター協議会等に提出〕
- アンケート調査やサービスに関する情報収集時に活用
- 医学生等の実習、研修等での利用のため
- 病歴内に既に存在する情報を集計して行う臨床研究のため（治療品質管理の一環との判断）

(3)　院外への情報提供

- 疾患別がん登録への情報提供
- 地域がん登録を行う都道府県への情報提供
- がん検診事業者への状提供

(4)　他の事業者等への情報提供

- 医学知識普及を目的とした講演、著述等での利用や、当院ホームページ等への掲載のため（個人を識別できる情報を削除した上で診療画像等を利用）
- 医療スタッフの専門認定等の資格申請での提出のため

8.3　本遺伝子治療の遂行に必要なあなたの個人情報の使用について

8.2 に掲げました国立がんセンター中央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、さらに本遺伝子治療臨床研究を遂行するために必要な利用目的のためにも利用されます。これは原則的に、本遺伝子治療臨床研究の実施に関する緊急事態発生のためのご連絡や手続き、検査のご連絡、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直接接することが可能なのは、国立がんセンター中央病院に所属する本遺伝子治療臨床研究実施関係者に加え、第三者となる本院の審査委員会・効果安全性評価委員会の人や、厚生労働省の審査委員会の人及び同省の担当者のみです。これらの第三者におけるあなたの個人情報の取扱い並びにその監督については、後述いたします。

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、事前にあなたに説明し、ご了解を得たうえで使用いたします。本臨床研究は、国立がんセンター中央病院内で実施するため、あなたを特定し得る情報を上記以外の第三者に提供することは原則としてありません。

第三者へ情報を提供する必要が生じた場合には、その目的が適切であることを確認し、あなたに説明のうえ、ご了解を頂いた場合に限り提供することとしています。

8.4 あなたの個人情報を閲覧可能な第三者と国立がんセンター中央病院の個人情報管理と監督

前述のように、本遺伝子治療臨床研究においては、主に本院の医師などからなる審査委員会・効果安全性評価委員会の人や、厚生労働省の審査委員会の人及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、あなたの個人情報は全て秘密として取り扱われます。

一方、この病院の審査委員会や効果安全性評価委員会には、審査等の客観性を確保するため、あるいはあなたの本遺伝子治療臨床研究における経過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、国立がんセンター中央病院以外の外部の委員が参加することがあります。外部の委員は第三者に相当しますので、このような場合については国立がんセンター中央病院と第三者の秘密保持契約のもとで行われます。従って、あなたの個人情報は全て秘密として取り扱われます。

また、本遺伝子治療臨床研究は、国立がんセンター中央病院が主体となって実施していますが、タカラバイオ（株）という会社が外部共同研究者として間接的に関与しています。本遺伝子治療臨床研究においては、タカラバイオ（株）はあなたからの T リンパ球等の採取や健康診断そのものに直接関与することはありませんが、遺伝子導入 T リンパ球の調製技術の提供・助言等に限定したうえで、間接的に関与しています。この場合、調製された細胞の安全性や機能に関する記録は、個人が特定できないように個人情報を完全に匿名化してから、タカラバイオ（株）が閲覧する場合があります。

8.5 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

これまでに述べた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、本遺伝子治療臨床研究の成果を検討するときや、患者さんの病状経過、研究成績などを公表・公開する場合は、ドナーがあなたであることを特定できない形、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ので、病状

経過などにつきましては、個人を特定できない状態での公開（学術雑誌、学会、マスコミ含む）を行う場合があります。その際はあなたの個人情報保護を厳守して実施することをお約束しますのでご了承下さい。

前述いたしましたが、タカラバイオ（株）はあなたからの T リンパ球等の採取や健康診断そのものに直接関与することはありませんが、遺伝子導入Tリンパ球の調製技術の提供・助言等に限定したうえで間接的に関与します。同社に対しては、個人が特定できないように個人情報を完全に匿名化したうえで、調製された細胞の安全性や機能に関する記録が一般公開に先立ち、閲覧に供されますが、国立がんセンターの一般公開に先行して同社から公になることはありません。

8.6　あなたの個人情報の管理におけるあなたの権利

本遺伝子治療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。

【個人情報に関する苦情等の窓口】

以下の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。

国立がんセンター中央病院　医事課（初診窓口）

電話：03-3542-2511（病院代表）

9.　臨床研究を担当する医師

臨床研究に協力していただく場合の心配事や臨床研究についての説明、安全性、補償などのご質問についても、お気軽にお尋ねください。あなたに納得していただけるまでじゅうぶんにお話させていただきます。

国立がんセンター中央病院		TEL：03-3542-2511	
幹細胞移植療法室医長	平家勇司	薬物療法部	（職名・医師名・診療科）
薬物療法部長	高上洋一	薬物療法部	（職名・医師名・診療科）
第一領域外来部長	飛内賢正	第一領域外来部	（職名・医師名・診療科）
細菌検査室医長	森慎一郎	臨床検査部	（職名・医師名・診療科）
13B 病棟医師	金　成元	特殊病棟部	（職名・医師名・診療科）
12B 病棟医長	福田隆弘	特殊病棟部	（職名・医師名・診療科）
輸血管理室医長	田野崎隆二	臨床検査部	（職名・医師名・診療科）

なお、この遺伝子治療臨床研究は、当病院に設置された遺伝子治療臨床研究審査委員会で、臨床研究に参加･協力される方のプライバシーと安全性に最大限に配慮して科学性及び倫理性について審議され、承認を受けたうえで、国が定めた「遺伝子治療臨床研究に関する指針」等を守って行われます。また、国からの通達に従い、この臨床研究の計画は総長から厚生労働大臣に意見を求めております。

以上、遺伝子治療臨床研究「ハプロタイプ一致ドナー由来 T 細胞除去造血幹細胞移植後の単純ヘルペスウイルス１型･チミジンキナーゼ(HSV-TK)遺伝子導入 T リンパ球“Add-back”(アドバック)療法」へのご協力についてお話させていただきました。

この内容をじゅうぶんに把握していただいて、この遺伝子治療臨床研究に協力しても良いと決めた場合は、次の同意書に署名をお願いいたします。

なお、この説明文書と署名した同意書の写しをお渡しいたします。

作成年月日：〇年〇月〇日

（カルテ貼付用）

同　意　書

国立がんセンター中央病院長
病院長：＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿殿

私は臨床研究「ハプロタイプ一致ドナー由来 T 細胞除去造血幹細胞移植後の単純ヘルペスウイルス 1 型・チミジンキナーゼ（HSV-TK）遺伝子導入 T リンパ球“Add-back（アドバック）”療法」について、すべての説明を受け、内容を理解し、納得した上で臨床研究に協力することに同意いたします。

また、説明文書と署名した同意書の写しを受け取りました。

［同意内容］

☐ 1. はじめに
☐ 2. 遺伝子治療臨床研究の内容
☐ 3. T リンパ球採取について
☐ 4. 血漿採取について
☐ 5. 末梢血幹細胞採取について
☐ 6. 採取前後の健康診断
☐ 7. 臨床研究に関する健康被害が発生した場合の治療及び補償
☐ 8. 個人情報の保護について
☐ 9. 臨床研究を担当する医師

同意年月日：平成　　年　　月　　日

ご署名：＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿

（説明した医師の記入欄）

説明年月日：　平成　　年　　月　　日
総括責任者（又は分担研究者）所属・氏名：＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿

（その他の説明者がいた場合）
説明年月日：　平成　　年　　月　　日
説明者　　　　　　　　　　所属・氏名：＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿

（ 1/3 ）

（事務局保管用）

同　意　書

国立がんセンター中央病院長
病院長：____________________殿

私は臨床研究「ハプロタイプ一致ドナー由来 T 細胞除去造血幹細胞移植後の単純ヘルペスウイルス 1 型・チミジンキナーゼ（HSV-TK）遺伝子導入 T リンパ球“Add-back（アド バック）”療法」について、すべての説明を受け、内容を理解し、納得した上で臨床研究に協力することに同意いたします。

また、説明文書と署名した同意書の写しを受け取りました。

［同意内容］

□ 1. はじめに
□ 2. 遺伝子治療臨床研究の内容
□ 3. T リンパ球採取について
□ 4. 血漿採取について
□ 5. 末梢血幹細胞採取について
□ 6. 採取前後の健康診断
□ 7. 臨床研究に関する健康被害が発生した場合の治療及び補償
□ 8. 個人情報の保護について
□ 9. 臨床研究を担当する医師

同意年月日：平成　　年　　月　　日

ご署名：______________________________

（説明した医師の記入欄）

説明年月日：　平成　　年　　月　　日
総括責任者（又は分担研究者）所属・氏名：______________________________

（その他の説明者がいた場合）
説明年月日：　平成　　年　　月　　日
説明者　　　　　　　　　　　所属・氏名：______________________________

（ 2/3 ）

（ドナー用）

同　意　書

国立がんセンター中央病院長
病院長：＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿殿

私は臨床研究「ハプロタイプ一致ドナー由来 T 細胞除去造血幹細胞移植後の単純ヘルペスウイルス 1 型・チミジンキナーゼ（HSV-TK）遺伝子導入 T リンパ球“Add-back（アド バック）”療法」について、すべての説明を受け、内容を理解し、納得した上で臨床研究に協力することに同意いたします。

また、説明文書と署名した同意書の写しを受け取りました。

［同意内容］

- □ 1. はじめに
- □ 2. 遺伝子治療臨床研究の内容
- □ 3. T リンパ球採取について
- □ 4. 血漿採取について
- □ 5. 末梢血幹細胞採取について
- □ 6. 採取前後の健康診断
- □ 7. 臨床研究に関する健康被害が発生した場合の治療及び補償
- □ 8. 個人情報の保護について
- □ 9. 臨床研究を担当する医師

同意年月日：平成　　年　　月　　日

ご署名：＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿

（説明した医師の記入欄）

説明年月日：　平成　　年　　月　　日
総括責任者（又は分担研究者）所属・氏名：＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿

（その他の説明者がいた場合）
説明年月日：　平成　　年　　月　　日
説明者　　　　　　　　　所属・氏名：＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿