

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

**【 自治医科大学附属病院 】**

課題名 : CD19 特異的キメラ抗原受容体発現 T リンパ球を用いた  
難治性 B 細胞性悪性リンパ腫に対する遺伝子治療臨床研究

**遺伝子治療臨床研究実施計画の申請**

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

**遺伝子治療臨床研究に係る生物多様性影響評価に関する申請**

- 諮問及び付議 . . . . . P. 55
- 第一種使用規程承認申請書 . . . . . P. 57
- 生物多様性影響評価書 . . . . . P. 59

(参考)

- 遺伝子治療臨床研究に関する審査委員会委員名簿 . . . P. 77

厚科審第39号

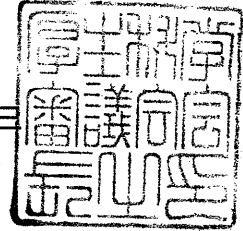
平成25年8月20日

科学技術部会部会長

永井 良三 殿

厚生科学審議会会長

永井 良三



遺伝子治療臨床研究実施計画について（付議）

標記について、平成25年8月20日付厚生労働省発科0820第1号をもって厚生労働大臣より諮問があったので、厚生科学審議会運営規程第3条の規定に基づき、貴部会において審議方願いたい。



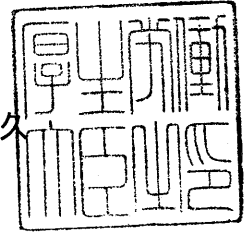
厚生労働省発科 0820 第1号  
平成 25 年 8 月 20 日

厚生科学審議会会長

永井 良三 殿

厚生労働大臣

田村 憲久



諮 問 書

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

記

1. 申請日 平成 25 年 7 月 3 日

申請者 自治医科大学附属病院 病院長 安田 是和

遺伝子治療臨床研究の名称

CD19 特異的キメラ抗原受容体発現 T リンパ球を用いた難治性 B 細胞性  
悪性リンパ腫に対する遺伝子治療臨床研究

厚科審第40号

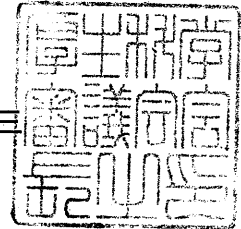
平成25年8月20日

科学技術部会部会長

永井 良三 殿

厚生科学審議会会長

永井 良三



遺伝子治療臨床研究に係る生物多様性影響評価について（付議）

標記について、平成25年8月20日付厚生労働省発科0825第2号をもって厚生労働大臣より諮問があったので、厚生科学審議会運営規程第3条の規定に基づき、貴部会において審議方願いたい。

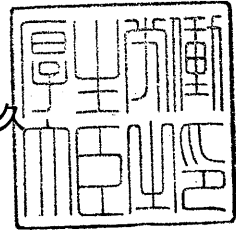
厚生労働省発科 0820 第 2 号  
平成 25 年 8 月 20 日

厚生科学審議会会長

永井 良三 殿

厚生労働大臣

田村 憲久



諮 問 書

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

記

1. 申請日 平成 25 年 7 月 3 日

申請者 自治医科大学附属病院 病院長 安田 是和

遺伝子治療臨床研究の名称

CD19 特異的キメラ抗原受容体発現 T リンパ球を用いた難治性 B 細胞性悪性リンパ腫に対する遺伝子治療臨床研究

遺伝子組換え生物等の名称

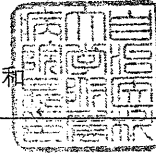
CD19 特異的キメラ抗原受容体を発現し、Gibbon ape 白血病ウイルスの Env タンパク質をエンベロープに持つ非増殖性の遺伝子組換えモロニーマウス白血病ウイルス (SFG-1928z)

遺伝子治療臨床研究実施計画申請書

平成25年 7月 3日


厚生労働大臣 殿

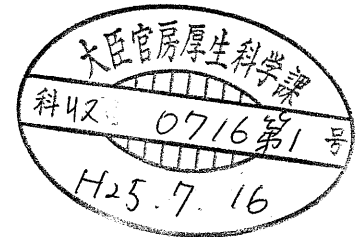
実 施 施 設	所在地	〒329-0498 栃木県下野市薬師寺3311-1
	名称	自治医科大学附属病院 (電話番号) 0285-44-2111 (FAX 番号) 0285-40-8303
	代表者 役職名・氏名	自治医科大学附属病院長 安田 是和 (職印)



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
CD19 特異的キメラ抗原受容体発現Tリンパ球を用いた難治性B細胞性悪性リンパ腫に対する遺伝子治療臨床研究	自治医科大学 内科学講座血液学部門 分子病態治療研究センター遺伝子治療研究部 免疫遺伝子細胞治療学 (タカラバイオ) 講座 教授 小澤 敬也 





## 遺伝子治療臨床研究実施計画概要書

平成 25 年 7 月 3 日


(申請年月日)

研究の名称	CD19 特異的キメラ抗原受容体発現 T リンパ球を用いた難治性 B 細胞性悪性リンパ腫に対する遺伝子治療臨床研究
研究実施期間	承認日から 3 年間

総括責任者	所属部局の所在地	栃木県下野市薬師寺 3311-1 (郵便番号 329-0498)	
	所属機関・部局・職	自治医科大学 内科学講座血液学部門 分子病態治療研究センター遺伝子治療研究部 免疫遺伝子細胞治療学(タカラバイオ)講座 教授	
	氏名	小澤 敬也	
実施の場所	所在地	栃木県下野市薬師寺 3311-1 (郵便番号 329-0498)	
	名称	自治医科大学附属病院	
	連絡先	栃木県下野市薬師寺 3311-1 (電話番号 0285-44-2111)	
総括責任者以外の研究者	氏名	所属機関・部局・職	役割
	大嶺 謙	自治医科大学 内科学講座血液学部門 免疫遺伝子細胞治療学(タカラバイオ)講座 講師	臨床分野からの研究計画の推進及び試験登録患者の診療
	塚原 智典	自治医科大学 内科学講座血液学部門 免疫遺伝子細胞治療学(タカラバイオ)講座 助教	CAR 遺伝子導入 T リンパ球製剤の製造管理責任者
	内堀 亮介	自治医科大学 遺伝子治療研究部 免疫遺伝子細胞治療学(タカラバイオ)講座 助教	基礎分野からの研究計画の推進
	室井 一男	自治医科大学 輸血・細胞移植部 教授	細胞プロセッシング室の管理責任者及び試験登録患者の診療
	岡塚 貴世志	自治医科大学 内科学講座血液学部門 助教	CAR 遺伝子導入 T リンパ球製剤の品質管理責任者、遺伝子治療プロトコールの作成及び試験登録患者の診療
	永井 正	自治医科大学 内科学講座血液学部門 准教授	試験登録患者の診療
	森 政樹	自治医科大学 内科学講座血液学部門 講師	試験登録患者の診療
	鈴木 隆浩	自治医科大学 内科学講座血液学部門 講師	試験登録患者の診療



	藤原 慎一郎 翁 家国 多々良 礼音 上原 英輔 久米 晃啓 水上 浩明 卜部 匡司 福嶋 敬宜 吉尾 卓 山崎 晶司	自治医科大学 内科学講座血液学部門 講師 自治医科大学 内科学講座血液学部門 講師 自治医科大学 内科学講座血液学部門 助教 自治医科大学 内科学講座血液学部門 助教 自治医科大学 遺伝子治療研究部 准教授 自治医科大学 遺伝子治療研究部 准教授 自治医科大学 遺伝子治療研究部 講師 自治医科大学 病理診断部 教授 自治医科大学附属病院臨床試験センター センター長 自治医科大学附属病院臨床試験センター 副センター長	試験登録患者の診療 CAR 遺伝子導入 T リンパ球製剤の 品質管理副責任者、遺伝子治療プ ロトコールの作成及び試験登録患 者の診療 遺伝子治療プロトコールの作成及 び試験登録患者の診療 遺伝子治療プロトコールの作成及 び試験登録患者の診療 ウイルスベクター及び遺伝子導入 T リンパ球調製に関する助言 ウイルスベクター及び遺伝子導入 T リンパ球調製に関する助言 ウイルスベクター及び遺伝子導入 T リンパ球調製に関する助言 病理組織学的診断 試験実施の支援 試験実施の支援
外部 協力者	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	レトロウイルスベクター製剤の製 造・品質管理者、遺伝子導入 T リ ンパ球調製技術の提供と助言、遺 伝子導入 T リンパ球製剤の体内動 態検査、RCR 検査及び LAM-PCR に 関する技術提供
	Renier J Brentjens	メモリアル・スローン・ケタリング癌センター Associate Member	マスターセルバンクの提供、遺伝 子治療プロトコールの作成の助言
	Isabelle Riviere	メモリアル・スローン・ケタリング癌センター Gene Transfer & Somatic Cell Engineering Facility Director	マスターセルバンクの提供、遺伝 子治療プロトコールの作成の助言
	Michel Sadelain	メモリアル・スローン・ケタリング癌センター Center for Cell Engineering Founding Director	マスターセルバンクの提供、遺伝 子治療プロトコールの作成の助言
	西川 博嘉	大阪大学 免疫学フロンティア研究センター 特任准教授	基礎分野からの研究計画の推進

審査委員会が研究計画の実施を適切と認める理由	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「CD19特異的キメラ抗原受容体発現Tリンパ球を用いた難治性B細胞性悪性リンパ腫に対する遺伝子治療臨床研究」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、遺伝子治療臨床研究に関する指針（平成14年文部科学省・厚生労働省告示第1号、平成16年文部科学省・厚生労働省告示第2号により全部改正、平成20年文部科学省・厚生労働省告示第2号により一部改正以下「国の指針」という。）の必要条件を全て満たしていると認められたため、所轄官庁に遺伝子治療臨床研究実施計画を申請することを決定した。	
	審査委員会の長の職名	氏名
	自治医科大学附属病院遺伝子治療臨床研究審査委員会委員長 自治医科大学地域医療センター センター長	梶井英治 

研究の区分	<div style="display: flex; justify-content: space-around;"> <div style="border: 1px solid black; padding: 2px;">遺伝子治療臨床研究</div> <div>遺伝子標識臨床研究</div> </div>
研究の目的	<p>本臨床研究は、標準的な治療法（化学療法、放射線療法等）による効果が期待できない治療抵抗性のB細胞性非ホジキンリンパ腫（B-NHL）を対象とした養子免疫遺伝子療法の第I/II相臨床研究である。具体的には、CD19抗原を特異的に認識するキメラ抗原受容体（CAR: chimeric antigen receptor）の遺伝子を導入した自己Tリンパ球（以下、CAR遺伝子導入Tリンパ球）を輸注し、その安全性を検証することを目的とする。併せて、臨床効果とCAR遺伝子導入Tリンパ球の体内動態を評価する。</p> <p>① 主要評価項目</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>● 本遺伝子治療の安全性 <ul style="list-style-type: none"> <li>(1) CAR 遺伝子導入 T リンパ球の検定</li> <li>(2) 有害事象 <ul style="list-style-type: none"> <li>● 一般臨床検査 <ul style="list-style-type: none"> <li>● 正常 B リンパ球（減少の有無）</li> <li>● 血清免疫グロブリン濃度</li> </ul> </li> <li>● 増殖性レトロウイルス（RCR）</li> <li>● 挿入変異によるクローナルな細胞増殖及びがん化の監視 <ul style="list-style-type: none"> <li>● FACS 及び定量的 PCR による体内 CAR 遺伝子導入 T リンパ球の解析</li> <li>● linear amplification mediated-PCR (LAM-PCR)</li> </ul> </li> </ul> </li> </ul> </li> </ul> <p>② 主な副次的評価項目</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>● 腫瘍縮小効果</li> <li>● CAR 遺伝子導入 T リンパ球のサブセット解析</li> <li>● human anti-mouse antibody (HAMA) テスト</li> </ul>
対象疾患及びその選定理由	<p>対象疾患：CD19 抗原陽性の難治性 B-NHL</p> <p>対象疾患に関する現時点での知見：</p> <p>初発 B-NHL に対しては、CHOP 療法に抗 CD20 抗体（リツキシマブ）を加えた R-CHOP 療法が現在スタンダードとなっている。しかし、R-CHOP 療法に不応あるいは再発するリンパ腫も多い。再発・難治性の中悪性度 B-NHL に対しては、サルベージ（救援）療法や自家造血幹細胞移植併用大量化学療法が行われるが、十分な治療成績は得られていない。低悪性度 B-NHL やマントル細胞リンパ腫などに関しては、治癒が期待できる標準的治療法は確立されていない。その他、同種造血幹細胞移植も治療選択肢の一つであるが、やはり対象症例は限定され、治療成績も必ずしも良好でない。</p> <p>現在、リツキシマブ以外の新規抗体医薬を始めとする分子標的治療薬の開発が行われているが、その限界もあり、全く新しい観点からの治療法として遺伝子治療法の開発が期待される。</p>

<p>遺伝子の種類及びその導入方法</p>	<p><b>人に導入する遺伝子の構造と遺伝子導入方法：</b></p> <p>本臨床研究において用いる遺伝子は、ヒト CD8<math>\alpha</math> リーダーペプチド、ヒト CD19 抗原特異的マウス単鎖抗体 (scFv)、ヒト CD28 の一部、及びヒト CD3<math>\zeta</math> 細胞内シグナル伝達領域のキメラ抗原受容体 (CAR) をコードしている。</p> <p>患者の末梢血リンパ球 (peripheral blood lymphocyte : PBL) に CAR 遺伝子を導入するにあたっては、遺伝子導入効率の高いレトロウイルスベクター法を用いる。今回用いるレトロウイルスベクターの SFG-1928z のもとになる野生型ウイルスは MoMLV である。パッケージング細胞株 PG13 は、GaLV のエンベロープタンパク質を持つ。この細胞により産生されるレトロウイルスベクターは、ラット・サル・ヒト等を含む多くの種の哺乳類細胞に遺伝子導入できる。遺伝子導入する際は、組換えフィブロネクチンフラグメント (レトロネクチン CH-296 ; タカラバイオ) をコートした培養バッグ中にて、刺激した T リンパ球浮遊液とレトロウイルスベクターの SFG-1928z を混合培養する。</p>
<p>安全性についての評価</p>	<p><b>1. 遺伝子導入方法の安全性</b></p> <p><b>1.1. 遺伝子導入に用いるウイルスベクターの純度</b></p> <p>ワーキングセルバンク (WCB) は、米国 Memorial Sloan-Kettering Cancer Center (MSKCC) より入手したマスターセルバンク (MCB) を出発原材料として、タカラバイオの管理された製造エリアにて GMP 遵守下で製造する。組成と品質の確認された培地及び試薬を使用する。</p> <p><b>1.2. 被験者に投与する物質の純度及びその安全性</b></p> <p>被験者に投与されるのは CAR 遺伝子を導入した自己 T リンパ球である。この細胞は、RPMI1640 培地とヒト血清アルブミン (HSA) 含細胞凍害保護液 (CP-1) と 1:1 の割合で混合された溶液の懸濁液として投与される。</p> <p><b>1.3. 増殖性ウイルス出現の可能性</b></p> <p>①レトロウイルスベクターの安全性</p> <p>本臨床研究で使用する SFG-1928z は、MoMLV 由来の gag、pol、env をコードする遺伝子を完全に欠如しており、RCR の出現する可能性は極めて低いと考えられる。確認のために RCR 試験を行い、RCR 陰性の SFG-1928z を臨床研究に使用する。</p> <p>②パッケージング細胞株の安全性</p> <p>SFG-1928z 作製用のパッケージング細胞 PG13 は、gag、pol をコードする DNA 断片と env をコードする DNA 断片を異なるプラスミドでトランスフェクションして作製された第 3 世代パッケージング細胞株で、予期せぬ遺伝子組換えにより RCR が出現する可能性は極めて低い。</p> <p><b>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</b></p> <p>SFG-1928z 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。</p> <p><b>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</b></p> <p>本臨床研究では、被験者の T リンパ球に <i>ex vivo</i> (生体外) で CAR 遺伝子を導入し、拡大培養や細胞洗浄等の工程を経た後に投与する。SFG-1928z 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であるため、細胞培養中に大部分は不活化されると考えられる。さらに、マウス細胞由来のパッケージング細胞株を用いて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、たとえレトロウイルスベクター粒子が患者体内に侵入しても、それが原因で患者体内において遺伝子導入が起こる可能性は低い。したがって、RCR が出現しない限り標的細胞以外の細胞に遺伝子導入が起きることはないと考えられる。</p> <p><b>1.6. 被験者以外の人に遺伝子が導入される可能性</b></p> <p>本臨床研究の細胞調製は、当該操作に十分な知識と経験を有する研究者のみが行う。遺伝子導入操作は P2 レベルの臨床用細胞プロセッシング室において、可能な作業は閉鎖系で行い、開放系での作業は臨床用細胞プロセッシング室内に設置されたクラス II 安全キャビネット内で行う。レトロウイルスベクターを含む廃液の全てはオートクレーブ後に廃棄される。このような対策により、SFG-1928z の環境</p>

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。SFG-1928z 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導入が起こる可能性は、大量の RCR が患者体内に存在しない限り極めて低い。

### 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染色体上のランダムな位置に組み込まれるので、その挿入位置によっては細胞の生存や増殖等の機能に影響を及ぼすことがある。特に、癌遺伝子の近傍に挿入され、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、及び癌抑制遺伝子の近傍に挿入されてその遺伝子の発現量が減少した場合には、その細胞ががん化する可能性がある。

### 1.8. がん原性の有無

レトロウイルスベクターの染色体への組み込みが細胞の増殖にとって正に働く場合には、上述のとおり異常増殖によるがん化の問題が出現する。実際に、CD34 陽性細胞を遺伝子導入の標的細胞とした X 連鎖重症複合免疫不全症 (X-SCID) の遺伝子治療において、白血病発症が報告されている。造血幹細胞を含む CD34 陽性細胞を遺伝子導入の標的細胞とした場合には、がん化のリスクは否定できないが、本臨床研究の場合のように、末梢リンパ球を標的としたレトロウイルスベクターによる遺伝子導入では、これまで白血病発症の報告はない。

なお、本臨床研究では、遺伝子導入細胞の被験者体内におけるクローン性増殖を LAM-PCR によってモニタリングし、遺伝子導入細胞のがん化の有無を評価する予定である。

## 2. 遺伝子産物の安全性

本研究で用いる CAR 遺伝子の産物は、細胞表面抗原 CD19 を特異的に認識する抗体の Fab 領域に由来する単鎖抗体 (scFv)、T リンパ球活性化の副刺激因子である CD28 ドメイン、及び TCR のシグナル伝達領域である CD3 $\zeta$  のキメラタンパク質である。CD19 は正常 B リンパ球にも発現していることから、CAR 遺伝子導入 T リンパ球を投与することにより、正常 B リンパ球が減少する可能性がある。必要に応じ、免疫グロブリン製剤の予防投与を行うことで安全性を確保することができる。また、CAR 遺伝子導入 T リンパ球の投与細胞数の少量からの漸増、2 回の分割投与により、腫瘍崩壊症候群が起こらないように配慮する。

## 3. 細胞の安全性

### 3.1. 遺伝子導入細胞の調製方法

細胞分離・細胞培養・遺伝子導入の全ての操作は自治医科大学附属病院内に設置された清浄度クラス 10,000 かつ封じ込め対応 (P2 レベル) の臨床用細胞プロセッシング室内で行われる。また、細胞調製操作時には、品質が確認された試薬、培地類を使用し、クラス II 安全キャビネット内で、又は可能な工程については閉鎖系で細胞を取り扱うことにより、外来微生物の混入などを防止する。

### 3.2. 培養細胞の純度

健常人末梢血リンパ球を用いた遺伝子導入では、遺伝子導入 T リンパ球の比率は 15%程度である。患者に投与される細胞中には、遺伝子導入されていない T リンパ球やその他の細胞が混在すると予測されるが、もともと患者末梢血中に存在したものであり問題ないと考えられる。

細胞培養の際に使用する抗 CD3 抗体、レトロネクチン CH-296、rhIL-2 等の洗浄後の残留濃度は極めて微量であり、これらの刺激性物質が生体に及ぼす影響は限りなく少ない。

### 3.3. 細胞の遺伝子型、表現型の安定性

本臨床研究で遺伝子導入する細胞は成人 PBL であり、挿入変異によって細胞のがん化が起きる可能性はほとんどないと考えられるが、完全には否定できないので、LAM-PCR によるモニタリングを行う。

*ex vivo* で培養したリンパ球や TCR 遺伝子を導入したリンパ球を用いた Rosenberg SA らの臨床研究では、輸注 T リンパ球の安全性に関する大きな問題は報告されていない。さらに、TCR 遺伝子を導入した臨床試験では、6 日から 9 日という比較的短期間の *ex vivo* 培養を行った T リンパ球が、被験者体内で長期間観察されたことが報告されている。本臨床研究でも、T リンパ球の培養は同程度の短期間にとどめている。

### 3.4. 被験者に投与する細胞の安全性

被験者に投与する細胞は、SFG-1928z により CD19-CAR 遺伝子を導入した被験者由来の T リンパ球である。細胞調製に用いられる培地成分、SFG-1928z、種々の試薬に関しては、遺伝子導入 T リンパ球を凍結保存する前に RPMI1640 で十分に洗浄される。そのため被験者に投与される量は極めて少なく、これらが直接影響を及ぼすことはないと考えられるが、細胞調製終了後、最終培養液又は凍結保存専用バッグに充填する前の細胞懸濁液を検体として採取し、以下の試験を行うことにより品質を担保する。

1. マイコプラズマ否定試験 (PCR 法)
2. RCR 試験 (RT-PCR 法)
3. 無菌試験 (日本薬局方)
4. エンドトキシン試験 (日本薬局方)
5. 細胞生存率試験 (セルカウンター)
6. 細胞数試験
7. 遺伝子導入効率試験
8. 導入遺伝子の機能試験

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. 臨床ニーズ

本臨床研究は、予後不良かつ他に有効な治療法がない患者を対象としており、このような患者に対する有効な治療手段開発のニーズが存在する。

#### 2. 本臨床研究の品質・安全性

本臨床研究は、CD19 抗原を認識し T リンパ球活性化能を持つ CAR の遺伝子をレトロウイルスベクターにより被験者の T リンパ球に導入した後、増幅する。この製造工程は十分に確立され、また、調製された輸注用の CAR 遺伝子導入 T リンパ球の品質は、調製時毎に確保される。

本臨床研究で遺伝子導入する標的細胞は、造血幹細胞ではなく、成人末梢血 T リンパ球である。T リンパ球への遺伝子導入の場合、レトロウイルスベクターによるがん化のリスクは極めて低く、対象疾患におけるリスク・ベネフィットを考慮すると、レトロウイルスベクターを使用した遺伝子治療の施行に問題はない。同一のレトロウイルスベクターによる遺伝子導入で調製された CAR 遺伝子導入 T リンパ球のヒトへの投与は、米国 MSKCC で既に実績がある。本臨床研究は CAR 遺伝子導入 T リンパ球の品質の管理方法および予測される副作用とその対処法に関する十分な情報の下に遂行される。これまで報告されている CD19-CAR 遺伝子を用いた臨床研究における主な有害事象はインフュージョン反応、高サイトカイン血症、腫瘍崩壊症候群、正常 B リンパ球の減少である。

本臨床研究では、以上の事例を踏まえ CAR 遺伝子導入 T リンパ球輸注量を慎重に漸増し、最大耐用量を決定する。また、初日に 1/3 量を投与し、問題なければ翌日に 2/3 量を投与するデザインにより安全性を図る。正常 B リンパ球の減少に伴う血清免疫グロブリン値の低下に対しては、適宜、免疫グロブリン製剤を投与し、感染症を予防する。

#### 3. 本臨床研究の期待される有効性

CAR 遺伝子導入 T リンパ球は、CD19 陽性の腫瘍細胞株に対して特異的な細胞傷害活性を示すことが *in vitro* において確認されている。また、マウスに腫瘍細胞株を注射したモデル実験において、CAR 遺伝子導入ヒト T リンパ球投与により特異的な腫瘍増大抑制効果が認められた。

米国 MSKCC では、化学療法抵抗性の慢性リンパ性白血病 4 例にシクロホスファミドで前処置を行い、CAR 遺伝子導入 T リンパ球を投与する遺伝子治療臨床研究を行った結果、評価可能な 4 例中 3 例に治療効果を認めた。3 例のうち 1 例で 3 ヶ月目に明らかなリンパ節腫脹の退縮が観察され、リンパ節腫脹と血球減少が急速に進行している別の 2 例は治療後にそれぞれ 8 週間と 4 ヶ月間にわたり進行なく、病態が安定した。彼らは再発 ALL 患者 5 名に対しても 19-28zCAR 導入 T リンパ球による治療を行い、全例(うち 4 例は治療前に微小残存病変を認めた)で分子生物学的寛解が得られたと報告している。本臨床研究においても同様の抗腫瘍効果が見込まれる。

#### 4. 当施設・研究者の能力

本臨床研究の研究者は、患者リンパ球採取、遺伝子ベクター調製、遺伝子導入、細胞培養、品質管理及び当施設における臨床試験の経験者により構成される。自治医科大学附属病院は、悪性リンパ腫に対する長年の豊富な診療経験と優れた診断技術を有し、豊富な経験をもつスタッフを擁している。

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

さらに臨床研究の対象となる患者も北関東を中心に集まっており、系統立てた診療体制とデータ管理体制が整っている。院内に設置された臨床用細胞プロセッシング室は治験薬の製造管理、品質管理等に関する基準（治験薬 GMP）（薬食発第 0709002 号 平成 20 年 7 月 9 日）に基づき運営・管理される体制にあり、CAR 遺伝子導入 T リンパ球は同基準に準拠して調製される。カルタヘナ関連法、個人情報保護法を含め、本臨床研究実施に必要な学内・院内システムは全て整っている。

実施計画

1. 本臨床研究の実施に際し自治医科大学医学部附属病院内に設置される委員会  
遺伝子治療臨床研究審査委員会に安全・効果評価・適応判定部会を設置する。

2. 本臨床研究の実施手順

2.1 プロトコール治療の流れ

(1) CAR 遺伝子導入 T リンパ球の調製

一次登録時の選択基準・除外基準に適合する難治性 B-NHL 患者を選定し、本臨床研究への一次登録を行う。被験者末梢血単核球に SFG-1928z を用いて遺伝子導入を行い、10 日間拡大培養して凍結保存する。CAR 遺伝子導入 T リンパ球の調製と一次品質試験を終了した後、二次登録時の選択基準・除外基準に適合する被験者を選定し、本臨床研究への二次登録を行う。

(2) 前処置薬の投与

Day -2 にシクロホスファミド (1.5 g/m<sup>2</sup>: ただし、年齢及び被験者の状態等によって減量を可とする)、または Day -3 および -2 にベンダムスチン (120 mg/m<sup>2</sup>: ただし、年齢及び被験者の状態等によって減量を可とする) を投与する。

(3) CAR 遺伝子導入 T リンパ球の輸注

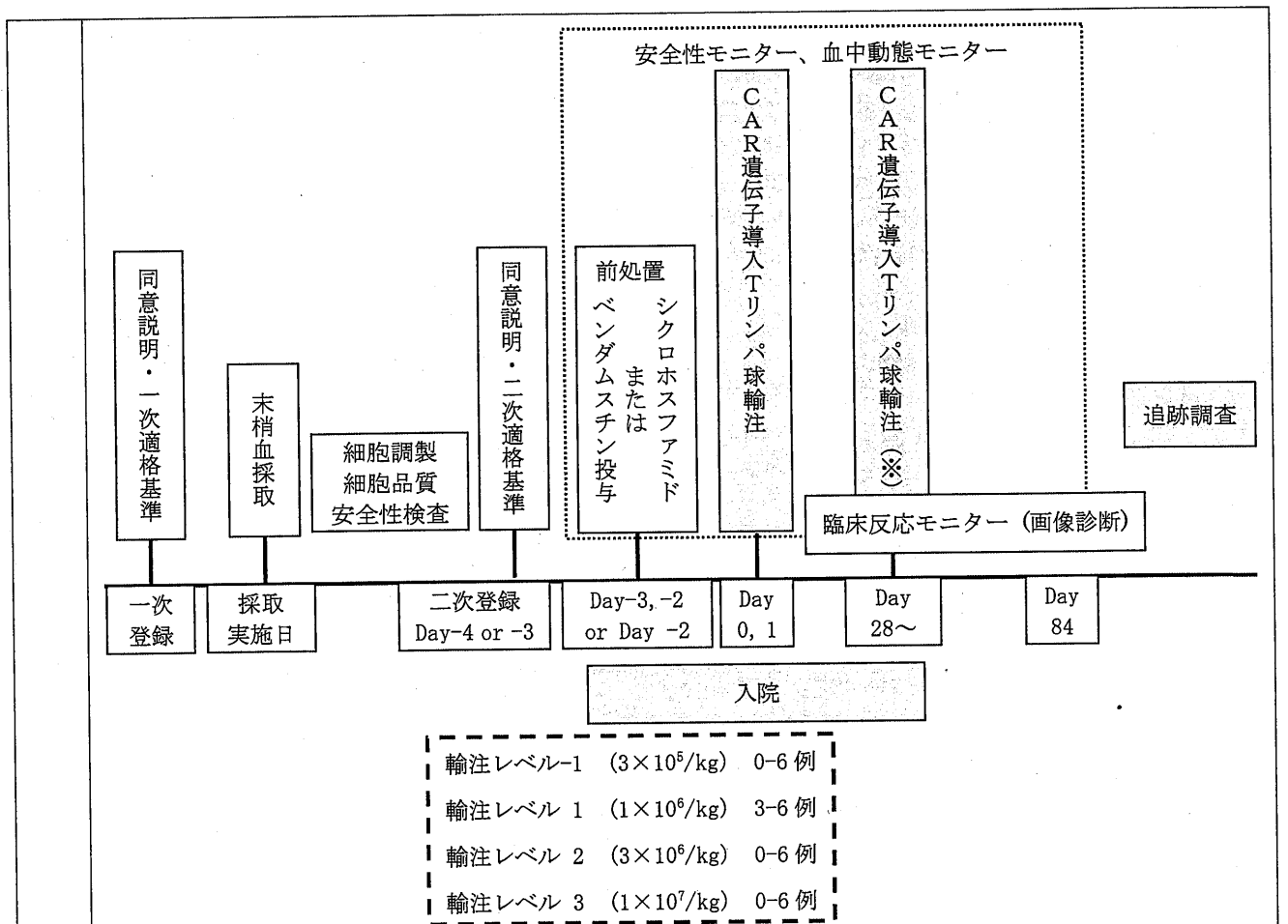
CAR 遺伝子導入 T リンパ球は、Day 0 及び Day 1 に経静脈的に分割投与する (Day 0: 1/3 量、Day 1: 2/3 量)。また、細胞調製において十分な CAR 遺伝子導入 T リンパ球が得られている場合、Day 28 以降に 1 回目投与後の患者の病態変化をみて、2 回目投与の要否の判断を行う。2 回目投与が必要と判断した場合は、適切な時期に投与することができる。

2.2 用量漸増計画

各輸注レベルで投与する CAR 遺伝子導入 T リンパ球数及び被験者数を下の表に示す。なお、本臨床研究における CAR 遺伝子導入 T リンパ球の投与細胞数は CAR 陽性細胞数とし、各輸注レベルで定めている CAR 遺伝子導入 T リンパ球数の 50% 以上が得られた場合、その輸注レベルの DLT 解析対象として投与するものとする。ただし、得られた CAR 遺伝子導入 T リンパ球数が 50% 未満の場合も、DLT 解析対象外ではあるが、最小輸注量 (輸注レベル -1) が得られている場合は、投与を行うものとする。

輸注レベル	CAR 遺伝子導入 T リンパ球数	被験者数
-1	3×10 <sup>5</sup> /kg	0-6
1 (開始レベル)	1×10 <sup>6</sup> /kg	3-6
2	3×10 <sup>6</sup> /kg	0-6
3	1×10 <sup>7</sup> /kg	0-6

- 輸注レベル 1 より開始する。
- 薬物有害事象以外の理由で DLT 観察期間中に臨床研究中止となった患者は、DLT 解析対象外とする。また DLT の解析対象外となった被験者を認めた場合は、該当するレベルに追加登録を行う。
- 各輸注レベル 3 例まで実施し、DLT 出現被験者数に応じて、必要な場合にはさらに 3 例を追加する。各輸注レベルの実施被験者数は 3 例もしくは 6 例となるが、登録一時中止のアナウンスが行われる前に複数の未登録被験者から試験参加への同意取得が得られていた場合、3 例もしくは 6 例を超えて臨床研究を実施することを許容する。



※十分な CAR 遺伝子導入 T リンパ球が得られている場合、Day 28 以降に 1 回目投与後の患者の病態変化をみて、2 回目投与が必要と判断した場合は、適切な時期に投与することができる。

図 本臨床研究の実施手順/遺伝子導入 T リンパ球調製及び輸注計画

### 2.3 用量制限毒性(dose limiting toxicity:DLT)の定義

DLT は以下の通りとする。

- 治療前に白血球数が  $1,000/\mu\text{L}$  以上だった患者において、CAR 遺伝子導入 T リンパ球輸注後 28 日の時点で、本治療との因果関係を否定できない Grade 4 以上の白血球減少 ( $\text{WBC} < 1,000/\mu\text{L}$ ) が認められた場合。但し、原疾患に因る減少の場合は除く。
- 治療前に血小板数が  $50,000/\mu\text{L}$  以上だった患者において、CAR 遺伝子導入 T リンパ球輸注後 28 日の時点で、本治療との因果関係を否定できない Grade 3 以上の血小板減少 ( $\text{Plt} < 50,000/\mu\text{L}$ ) が認められた場合。但し、原疾患に因る減少の場合は除く。
- 本治療との因果関係を否定できない上記以外の Grade 4 以上の血液毒性。
- 本治療との因果関係を否定できない Grade 3 以上の非血液毒性(但し、対処可能な悪心、嘔吐、食欲不振、疲労、下痢、便秘、電解質異常及び過敏反応は除く)が、14 日間以上続いたとき。

### 2.4 最大耐用量(MTD)の推定及び推奨用量 (RD) の定義

MTD は、DLT が起こった患者が 33%未満である用量のうち、最大の用量とする。なお、RD は MTD と同用量とする。

用量移行は 3+3 デザインに従う。最初に輸注レベル 1 に 3 例を登録する。用量移行する場合は、次の輸注レベルに別の 3 例を登録する。輸注レベル移行の可否は、下記の基準に従う。

- ① 各輸注レベルの 3 例に DLT が認められなかった場合は、次の段階の輸注レベルへ移行する。
- ② 各輸注レベルの 3 例中 1 名に DLT が認められた場合は、同レベルに新たに 3 例の被験者を追加登録し、6 例で検討する。DLT 発現が 6 例中 1 例であった場合は、次の段階の輸注レベルへ移行する。
- ③ 輸注レベル 1 の 3 例中 2 例以上、または 6 例中 2 例以上に DLT が認められた場合は、輸注レベル-1 へ移行する。

- ④ 各輸注レベルの2例以上にDLTが認められた場合は、増量検討は行わない。この輸注レベルはMTDを超えていると考え、一つ前の輸注レベルでMTDを検討する。
- ⑤ MTDを決定する輸注レベルのDLT評価対象が3例であった場合は、この輸注レベルへ新たに3例の被験者を追加登録し、6例でDLT評価を行う。6例中DLTが認められないか、1例のみに認められた場合、この輸注レベルをMTDとする。6例中2例以上にDLTが認められた場合は、一つ前の輸注レベルに戻り同様にMTDを検討する。
- ⑥ 上記③に従った後、輸注レベル-1の3例にDLTが認められないか、3例中1例にDLTが認められた場合は、輸注レベル-1に新たに3例の被験者を追加登録し、6例でDLT評価を行う。
- ⑦ 上記③に従った後、輸注レベル-1の2例以上にDLTが認められた場合は、輸注レベル-1はMTDを超えているとする。

### 3. 被験者の選択基準及び除外基準

#### 3.1 一次登録

患者より文書にて同意を取得する。一次登録時の適格基準を全て満たし、かつ除外基準のいずれにも該当しない患者を登録適格例とする。

##### 3.1.1 適格基準（一次登録）

以下の全ての基準を満たす患者を対象とする。

1. 再発・難治性の CD19 陽性 B-NHL 患者
2. 評価可能病変が CT 画像で確認でき、かつ FDG-PET 検査で陽性として検出できること
3. 本臨床研究登録時に 20 歳以上、かつ 70 歳以下であること
4. ECOG の全身状態の指標 (PS) が 0 から 2 であること
5. 主要臓器予備能が以下の基準を満たすこと
  - ① 好中球数  $\geq 1,500 / \text{mm}^3$  (リンパ腫の骨髄浸潤による好中球減少はこの限りではない)
  - ② 血小板数  $\geq 10 \times 10^4 / \text{mm}^3$   
(リンパ腫の骨髄浸潤による血小板減少はこの限りではない)
  - ③ 総ビリルビン  $\leq 2.0 \text{ mg/mL}$
  - ④ AST (GOT)、ALT (GPT)  $\leq 150 \text{ IU/dL}$   
(リンパ腫の肝浸潤による肝障害はこの限りではない)
  - ⑤ ALP 正常上限値の 1.5 倍以下
  - ⑥ 血清クレアチニン  $\leq 2.0 \text{ mg/dL}$
  - ⑦  $\text{SpO}_2 \geq 92 \%$  (酸素吸入なしの状態)
6. 同意取得後、3ヶ月以上の生存が見込めること
7. 試験参加について患者本人から文書で同意が得られていること

##### 3.1.2 除外基準（一次登録）

以下のいずれかの基準に抵触する患者は除外する。

1. 活動性の重複癌を併発している患者
2. リンパ腫の明らかな中枢神経浸潤を伴う患者
3. 同種造血幹細胞移植後の患者
4. 24 週間以内に CAR 遺伝子導入 T リンパ球を投与する臨床試験に既に参加している患者
5. ステロイドまたは免疫抑制剤の全身投与を行っている患者。
6. 重度の心疾患を併発する患者
7. 重度の脳血管疾患の既往を有する、或はそれによる麻痺など後遺症を残す患者
8. 活動性、或は重篤な感染症を併発している患者
9. HIV 抗体陽性患者
10. HB-s 抗原陽性、或は HB-c 抗体陽性かつ HBV-DNA が陽性である患者
11. 活動性の HCV 感染患者
12. 本臨床研究参加への同意に影響を及ぼすような精神疾患、薬物依存症等の疾患を有する患者
13. 妊娠中、授乳中、妊娠している可能性のある女性または妊娠を希望している女性患者。又は育児希望のある男性患者 (ただし、遺伝子治療前に精子を凍結保存し、その精子を用いて子供をもうける場合は該当しない)
14. その他、担当医師によって本臨床試験への参加が適当でないと判断される患者

#### 3.2 二次登録

二次登録時の適格基準の全てを満たし、かつ除外基準のいずれにも該当しないことを確認し二次登録を行う。



### 3.2.1 適格基準（二次登録）

一次登録適格基準の全て、および次の基準を満たす患者を対象とする。

1. 本臨床研究における CAR 遺伝子導入 T リンパ球の一次品質試験に合格し、最小輸注量（輸注レベル -1）が得られた患者
2. 一次登録後に同意撤回がなく、治療内容を理解し、本人の自由意志による同意が文書にて得られた患者

### 3.2.2 除外基準（二次登録）

一次登録除外基準のいずれかの項目に抵触する患者は除外する。

## 4. 被験者の同意取得方法

登録に先立って、担当医師は医療機関及び厚生労働省の承認が得られた説明文書を患者本人に渡し、以下の内容を口頭で詳しく説明する。その後、自由意思による同意を文書にて取得する（文書による同意取得は一次登録時及び二次登録時の計2 回行う。また、二次登録時には施設コーディネーター等が説明補助を行うものとする。

## 5. 目標登録数・登録期間・追跡期間

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3 年間とする。症例毎の実施期間はCAR遺伝子導入Tリンパ球輸注後84日であるが、本臨床研究終了後も当該被験者の生存期間（FDA のガイドラインに従い、最短15 年間）にわたり、1 年に1回の頻度で遺伝子導入Tリンパ球の血中動態及び二次発がんやRCR の有無について追跡調査を実施する。

目標症例数は6例から最大18例である。

## 6. 臨床検査項目及び観察項目

評価項目は、遺伝子治療の安全性、CAR 遺伝子導入 T リンパ球の体内動態及び臨床効果である。フォローアップ期間における臨床モニタリング項目は下記の表に示す通りである。

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、有害事象
遺伝子治療安全性	フローサイトメトリー解析、RCR 検査、LAM-PCR
血中動態	フローサイトメトリー解析、PCR
抗腫瘍効果判定	PET-CT、全生存率、無増悪生存期間
CAR 遺伝子導入 T リンパ球免疫原性	human anti-mouse antibody (HAMA) テスト

検査・観察スケジュール(別紙)に定められたとおりに検査・観察を実施する。

## 7. 予測される副作用及びその対処方法

### 7.1 採血に伴う副作用

- 1) 迷走神経反射：重篤な場合は採取を中止し、必要な処置を行う。

### 7.2 CAR 遺伝子導入リンパ球輸注に伴う副作用

- 1) インフュージョン反応：解熱鎮痛剤や抗ヒスタミン剤等の適切な薬剤を投与する。重篤な場合は投与を中止する。
- 2) 輸注後低ガンマグロブリン血症と易感染性：免疫グロブリン製剤を予防投与する。
- 3) 腫瘍崩壊症候群：自治医科大学血液科のマニュアルに基づき、治療を行う。
- 4) シクロホスファミド及びベンダムスチンの毒性：G-CSF投与や赤血球輸血・血小板輸血を行う。
- 5) 自己免疫疾患の発生：ステロイド等を用いた免疫抑制療法を行うことがある。
- 6) レトロウイルスベクターを用いる危険性：被験者体内におけるRCR出現をRT-PCR法によってモニタリングする。Tリンパ球のクローン性増殖が認められた場合には、当該クローンの遺伝子挿入部位の同定を行うとともに、化学療法等による最善の治療を行う。

## 8. 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

### 8.1 主要評価項目

1. 被験者リンパ球から作製したCAR遺伝子導入Tリンパ球の検定：CAR遺伝子導入Tリンパ球における遺伝子導入効率、Tリンパ球生存率、無菌性、機能の評価する。
2. 本臨床試験に関連した有害事象の評価：有害事象のGradeは、2003 年に米国National Cancer Institute (NCI) が発表した「Common Terminology Criteria for Adverse Events v4.0 (CTCAEv4.0)

- May 28, 2009 (v4.03-Jun 14, 2010、JCOG/JSCO版：日本語表記MedDRA/J v13.1対応 - 2010年9月11日)」に従い、判定を行う。

3. 被験者血清中の免疫グロブリン濃度を測定する。
4. レトロウイルスベクターの安全性を確認するためにRCR検査を行う。
5. 被験者末梢血におけるCAR遺伝子導入Tリンパ球の動態を、FACS及び定量的PCR法を用いて検討すし、挿入変異によるクローナルな細胞増殖及び発がんの監視を行う。

#### 8.2 副次的評価項目

1. CAR遺伝子導入Tリンパ球の抗腫瘍効果
  - ・ 抗腫瘍効果を画像検査で判定する。
  - ・ 治療前、腫瘍細胞が末梢血または骨髄中で検出可能だった場合には、細胞表面マーカー、染色体分析、FISH法、RT-PCR法を用いて微小残存病変 (MRD) の有無を判定する。
  - ・ 全生存率 (OS) と無増悪生存期間 (PFS) を判定する。
2. CAR遺伝子導入Tリンパ球のサブセット解析
3. human anti-mouse antibody (HAMA) テスト  
治療後に、腫瘍組織またはリンパ節、骨髄の生検可能な病変を有し、侵襲的検査のリスクが少ないと判断される場合、生検を行う。

#### 8.3 各被験者における臨床研究中止基準

以下のいずれかの場合、臨床研究を中止する。なお、中止例については、出来るだけ早い時期に可能な限り中止時の検査をすべて行うとともに、中止日、中止理由を調査する。

- 1) 治療開始後に原病の増悪が認められた場合
- 2) 有害事象によりプロトコール治療が継続できない場合
- 3) 有害事象との関連が否定できない理由により、患者がプロトコール治療の中止を申し出た場合
- 4) 有害事象との関連が否定できる理由により、患者がプロトコール治療の中止を申し出た場合
- 5) プロトコール治療中の死亡
- 6) その他、登録後治療開始前の増悪 (急速な増悪によりプロトコール治療が開始できなかった)、プロトコール違反が判明、登録後の病理診断変更などにより不適格性が判明して治療を変更した場合など

#### 9. 記録の保存及び成績の公表の方法

##### 9.1 記録の保存

本臨床研究に関する記録の保存期間は、本臨床研究の特殊性に鑑み、15年間とする。

##### 9.2 個人情報の保護の徹底

患者のプライバシー保護と秘密の保全に関しては、「自治医科大学附属病院の患者等の個人情報保護に関する取扱要領」ならびに「自治医科大学附属病院の患者等の個人情報保護に関する規定」に沿って適切な取扱いを行う。

##### 9.3 成績の公表の方法

1. 遺伝子治療臨床研究に関する指針に基づき、自治医科大学附属病院長は、遺伝子治療臨床研究に関する情報の適切かつ正確な公開に努めるものとする。
2. 本研究の結果は、本研究に用いた技術の厚生労働省への製造 (輸入) 販売承認申請における参考資料として使用する。また、本臨床研究から得られたデータを学会などで発表、論文として医学雑誌などに発表する場合がある。なお、承認後、結果の一部を添付文書及びインタビューフォームに記載することがあるが、それ以外の目的には使用しない。また、前記の資料に公表する場合にあっても被験者のプライバシーは確保される。

備考

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14年文部科学省・厚生労働省告示第一号、平成16年12月28日全部改正、平成20年12月1日一部改正)
2. 「臨床研究に関する倫理指針」(厚生労働省告示第四百十五号、平成20年7月31日)
3. 「遺伝子組換え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)

(別紙) 検査・観察スケジュール

日数	スクリーニング期間		前治療期間			輸注日		観察期間																		84 または 中止時 <sup>4</sup>					
	一次 登録時	末梢血 採取時	2次 登録時	前処 置時	-1	0	1	2~5	6	7	8	9	10	11	12	14	17	20	22	25	28	35	42	49	56		63	70	77	±3	
来院許容範囲	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±1	±1	±1	±1	±1	±1	±3	±3	±3	±3	±3	±3	±3	±3	±3	
入院※				○																											
同意取得	○		○																												
一次登録	○																														
二次登録			○																												
被験者背景	○																														
末梢血採取		○																													
CAR 遺伝子導入 T リンパ球投与						○	○																								(○) 該当する場合
問診・バイタルサイン	○			○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
Performance status	○			○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
感染症検査	○																														
血液検査	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
尿検査	○		○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
腫瘍マーカー検査	○																														
胸部 X 線検査	○		○																												○
12 誘導心電図	○		○ <sup>1</sup>																												○
CT 検査	○		○																												○
PET-CT・脳 MRI	○ <sup>1</sup>		○ <sup>1</sup>																												○
心臓超音波検査	○ <sup>1</sup>		○ <sup>1</sup>																												○
呼吸機能検査	○ <sup>1</sup>		○ <sup>1</sup>																												○
上部消化管内視鏡検査	○																														
血漿サイトカイン			○	○	○		○ <sup>2</sup>								○						○										○
CAR 遺伝子導入 T リンパ球血中動態							○ <sup>2</sup>								○						○										○
T リンパ球サブセ ット解析				○				○ <sup>3</sup>							○						○										○
制御性 T 細胞解析			○																		○										○
骨髄検査	○																				○										○
LAM-PCR																					○										○
RCR 検査・HAMA テスト								○ <sup>3</sup>													○										○
有害事象				○																											
予定末梢血採取量(ml)	12	8	46	28	18	48*	48*	18	8	8	-	8	-	8	-	18	-	-	-	28	28	-	-	-	21	-	-	28	28		

※ 個室管理に該当する期間は、その規定に従う。

\* Day 0 および Day 1 はそれぞれ採血を 4 回施行する。採血量は各 18 mL, 10 mL, 10 mL, 10mL.

1. 同意取得時はスクリーニング期間開始前 12 週間以内、2 次登録時は 4 週間以内の成績の利用を可とする。
2. 1 回目 CAR 遺伝子導入 T リンパ球輸注前及び輸注後：1、3、8 hr、2 回目 CAR 遺伝子導入 T リンパ球輸注前及び輸注後：1、3、8、24、48、72、96 hr
3. Day 2 のみ実施
4. 中止時は出来るだけ早い時期に可能な限りすべての中止時の検査を行う。

## 臨床研究ご参加についての説明文書

CD19 特異的キメラ抗原受容体発現 T リンパ球を用いた  
難治性 B 細胞性悪性リンパ腫に対する遺伝子治療臨床研究

この臨床研究の内容は人権と安全性に最大限の配慮をして、当院に設置されている倫理委員会において、患者さんの人権が保護され、科学的・倫理的に妥当であることが確認されております。

(遺伝子治療臨床研究審査委員会 承認日： 年 月 日 )

第1版

作成年月日：2012 年 12 月 27 日

## <目次>

1. はじめに.....	3
2. 臨床研究について.....	3
3. あなたの病気と治療について.....	4
4. この臨床研究の概要について.....	5
5. CD19 を標的とした CAR 遺伝子治療臨床研究の海外での状況.....	7
6. 臨床研究の具体的な方法.....	8
7. この臨床研究に参加できる人、できない人.....	11
8. 臨床研究のスケジュール.....	13
9. 期待される効果.....	16
10. 予想される副作用及び不利益.....	16
11. この臨床研究の予定期間と参加予定患者数.....	20
12. 臨床研究に参加しない場合や臨床研究後の他の治療法について.....	20
13. 臨床研究への参加の自由と、参加の取りやめについて.....	20
14. 健康被害補償について.....	21
15. 新たな情報のお知らせについて.....	21
16. 臨床研究の中止について.....	22
17. あなたに守っていただきたいこと.....	22
18. 検体の保存と臨床研究が終了した後の保存検体について.....	23
19. 臨床研究参加中の費用負担について.....	23
20. 個人情報の保護について.....	23
21. 臨床研究の成績の使用と公表について.....	24
22. 個人情報の保護と診療情報の開示の問い合わせや苦情の窓口.....	24
23. 緊急連絡先およびお問い合わせ先について.....	25
24. 遺伝子治療臨床研究の名称と実施組織体制.....	26
25. その他.....	27

## 1. はじめに

臨床研究参加のお願い

この臨床研究への参加は

- 標準的な治療法（化学療法、放射線治療など）に抵抗性となった CD19 陽性 B 細胞性非ホジキンリンパ腫
- 化学療法、あるいは放射線治療後に再発をきたした CD19 陽性 B 細胞性非ホジキンリンパ腫

の患者さんをお願いしています。

以下に、この研究の内容について説明させていただきます。

この説明文書は、担当医師による説明を補い、あなたに研究内容、この研究に参加することによる利益と危険性について、理解を深めていただくためのものです。よく読まれて、研究にご協力いただけるかどうかご検討ください。説明の中でわかりにくいことや疑問、心配なことがありましたらどんなことでも、いつでも遠慮なく担当医師にお尋ねください。

## 2. 臨床研究について

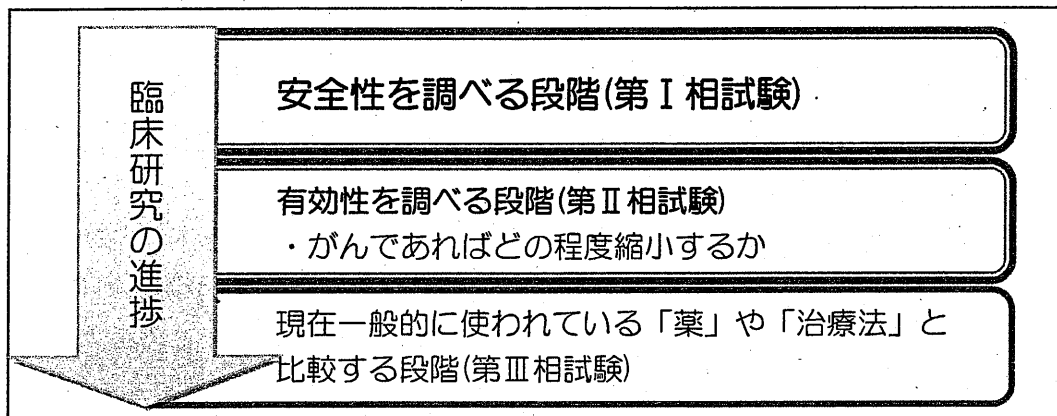
臨床研究とは、ある病気の患者さんに新しい治療法を試みて、それが「安全であるか」、「効果があるか」などを判定するために医師が行う研究です。

その治療法は、患者さんで行う前に動物実験をはじめとして様々な実験を行って、少なくとも動物実験レベルでは安全であることと効果があることが確認されています。ただし、動物で得られた研究結果が人でも同じように得られるとはいいきれません。したがって、患者さんに広く応用する前に、少ない患者さんで治療を行ってみて、安全性と効果を確かめる必要があります。このように臨床研究には、研究的な一面があることを十分ご理解ください。

臨床研究は、国が定めた指針に基づいて計画され、当院の倫理委員会（臨床研究を実施する者から独立した委員会）と国の審議会において倫理的、科学的に厳しく審議したうえで、承認されたもののみが実施可能となります。

この臨床研究も国と当院の委員会等の承認を得て実施しています。

一般的に臨床研究には、次のような段階があり、今回の臨床研究は、「第Ⅰ/Ⅱ相試験であり、治療の安全性を調べることを主な目的とし、併せて治療の有効性についても調べる試験」に相当するものです。



### 3. あなたの病気と治療について

#### 3.1 悪性リンパ腫とは

リンパ系の組織から発生する腫瘍（いわゆる“がん”）です。腫瘍の組織的な違いから、大きく以下の2つに分けられます。

- ・ ホジキンリンパ腫
- ・ 非ホジキンリンパ腫

さらに腫瘍細胞の種類、増殖の仕方やがん細胞の形などから、数十種類以上のタイプがあります。あなたの病気はその中の” CD19 陽性 B 細胞性非ホジキンリンパ腫” に分類されるものです。

#### 3.2 悪性リンパ腫の治療法

化学療法（抗がん剤）、生物学的製剤（抗 CD20 抗体）、放射線療法、造血幹細胞移植（自家移植、同種移植）などがあります。

ほとんどのタイプの悪性リンパ腫の場合、初回の標準的治療が確立されています。“CD19 陽性 B 細胞性非ホジキンリンパ腫 “ の場合は、初回治療に化学療法とリツキサスが用いられます。

リツキサスはマウスとヒト由来のタンパクを遺伝子工学的手法を用いて改変したマウス-ヒトキメラ抗体で、ヒト B 細胞の表面抗原である CD20 に結合し、B 細胞を特異的に傷害する抗 CD20 抗体医薬です。この標準的治療が効かない場合や、再発した場合には、薬剤の種類や量を変えた化学療法や造血幹細胞移植を行うことがあります。しかし、これら従来の治療法で治療効果がみられなくなった際には、適当な治療法が確立されていないのが実情です。また、高齢であること、合併症がある場合には、強力な治療が適さないこともあります。

## 4. この臨床研究の概要について

この臨床研究は、米国のメモリアル・スローン・ケタリング癌センターの協力を得て、自治医科大学免疫遺伝子細胞治療学講座（タカラバイオとの産学連携講座）および分子病態治療研究センター・遺伝子治療研究部とタカラバイオ（本社：滋賀県大津市瀬田）との共同研究に基づいて、自治医科大学附属病院血液科で実施します。また、一部の解析については、大阪大学免疫学フロンティア研究センターとの共同研究に基づいて実施します。

### 4.1 この臨床研究の目的

この臨床研究の目的は、従来の治療法では治療が困難な CD19 陽性 B 細胞性非ホジキンリンパ腫の患者に対する新たな治療法の確立を目指すことです。

### 4.2 悪性リンパ腫に対する遺伝子治療臨床研究

私たちの計画している遺伝子治療は、以下のとおりです。

- (1) CD19 陽性 B 細胞性非ホジキンリンパ腫の患者さんから血液を採取します。
- (2) 採取した血液中のリンパ球に、腫瘍抗原である CD19 を認識する CAR 遺伝子を、レトロウイルスベクターを使って導入します。
- (3) CAR 遺伝子を導入したリンパ球を体外で培養して数を増やした後に、再び患者さん自身に投与します。
- (4) その際に投与したリンパ球が体内から排除されにくくするため、患者さんに予め、抗がん剤を投与します。
- (5) 腫瘍細胞を認識する CAR を発現したリンパ球が、患者さんの体内で活性化され、腫瘍細胞を攻撃・破壊することが期待されます。



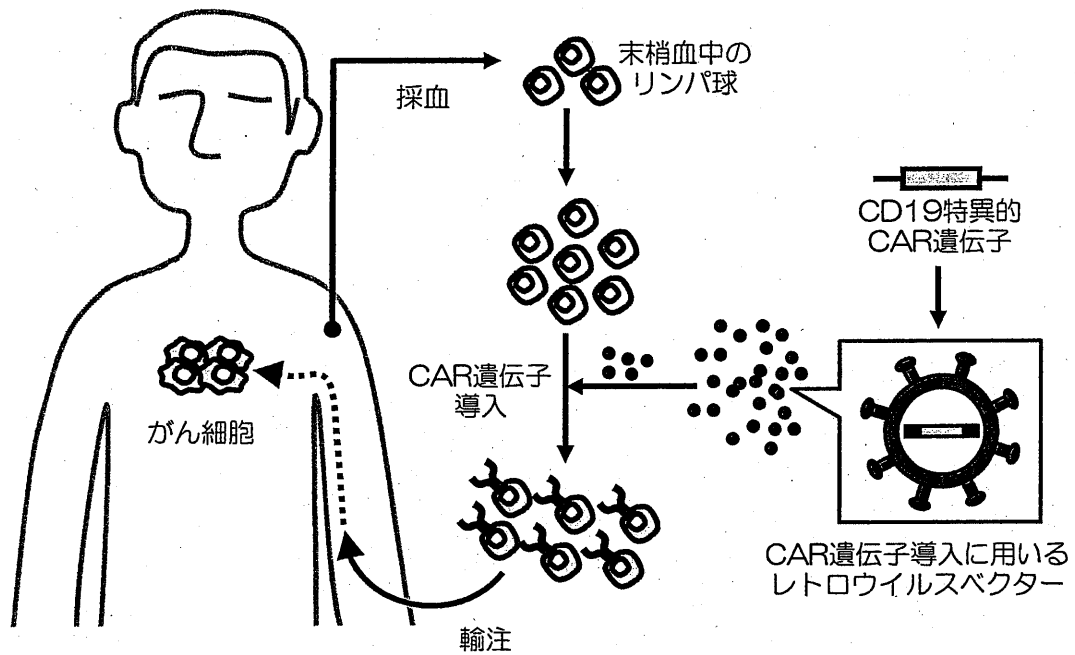
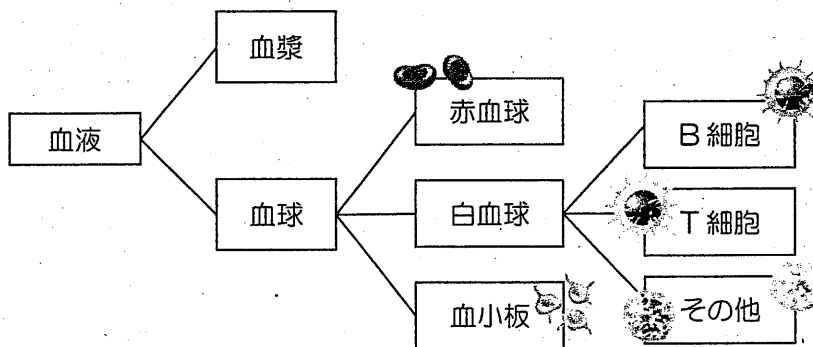


図1 遺伝子治療臨床研究の概要

【リンパ球について】

血液は、血漿という液体成分と血球という細胞成分からできていて、血球には赤血球、白血球、血小板の3種類の細胞があります。

リンパ球は、白血球のうち約25%を占める細胞のことで、免疫系にかかわるB細胞（Bリンパ球）、T細胞（Tリンパ球）等から構成されています。



【CD19について】

近年、がん細胞の表面に発現する“目印”（この目印を「抗原」といいます）が存在することが科学的に解明されました。CD19はBリンパ球に発現する抗原のひとつです。多くのB細胞性リンパ腫は細胞表面にCD19を発現しています。

### 【キメラ抗原受容体 (CAR) について】

ヒトの体の中には抗原を認識して、がんを攻撃・破壊することができる細胞（この細胞を「細胞傷害性Tリンパ球」といいます）が存在します。この細胞傷害性T細胞をいったん体外に取り出し、そこにがん抗原を認識するために必要な「アンテナ」の遺伝子を導入した後、再びその細胞を体内に戻すことによって、効率よく腫瘍細胞を攻撃・破壊することができます。

キメラ抗原受容体 (CAR; Chimeric Antigen Receptor) とは、この「アンテナ」である抗体遺伝子と細胞傷害性T細胞を活性化する遺伝子 (T細胞受容体の一部) を遺伝子工学的に結合させて作製された分子です。この抗体遺伝子はリツキサンと同様にマウス由来の抗体産生細胞から作られます。

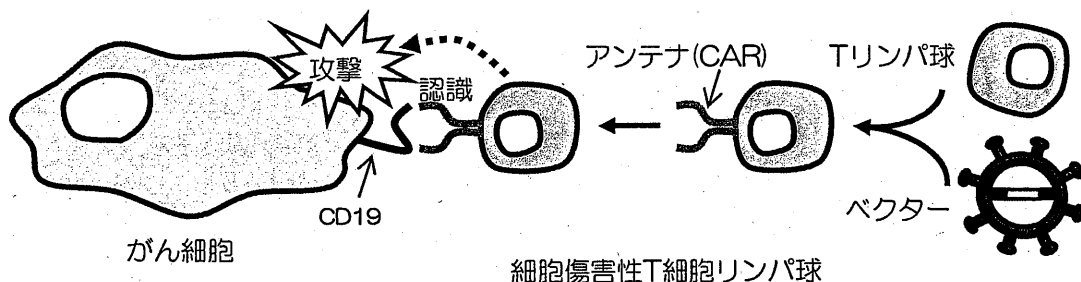


図2 細胞傷害性Tリンパ球によるがん抗原の認識

### 【レトロウイルスベクターについて】

遺伝子治療では、目的の遺伝子(本研究の場合、CAR遺伝子)を患者さんの細胞の中に入れるための「運び屋」として、自然界に存在するウイルスを、病原性が無くなるように人工的に作り替えて利用することがあります(これを「治療用ウイルスベクター」といいます)。レトロウイルスとは遺伝子を導入するベクターとして最も応用が早く進んだウイルスであり、これを用いて遺伝子を導入することで、導入した遺伝子が標的細胞の染色体に組み込まれるため、長期間安定に遺伝子を発現させることが可能です。

遺伝子導入の方法にはウイルスを利用しない方法もありますが、患者さんのからだの中に遺伝子を入れてその効果を長期間維持するための方法としては、現時点ではウイルスを利用する方法が最も優れていると考えています。

## 5. CD19を標的としたCAR遺伝子治療臨床研究の海外での状況

約10年前、米国において、神経芽細胞腫や腎癌、卵巣癌などの固形腫瘍、濾胞性リンパ腫に対するCAR遺伝子治療臨床研究が始まりました。当初は、

十分な治療効果が認められませんでしたでしたが、様々な改良が加えられ、臨床研究も盛んに行われています。特に CD19 を標的とした B 細胞性腫瘍（非ホジキンリンパ腫を含む）に対する遺伝子治療は、一定の治療効果が得られ、注目されています。

以下に代表的な 3 つのグループの臨床研究の結果を説明します。

- (1) メモリアル・スローン・ケタリング癌センター(ニューヨーク)のグループ  
私たちの共同研究者です。  
慢性リンパ球性白血病 (CLL) 患者と再発急性リンパ球性白血病 (ALL) 患者に対し、臨床試験を行っています。  
これまで評価可能な CLL 患者 4 例中 3 例で治療効果が認められました。治療効果のあった 3 例のうち 1 例は、3 ヶ月目に明らかなリンパ節腫脹の退縮が認められ、2 例は 8 週間と 4 ヶ月間の安定状態を維持しました。ただし、最初の 1 例は遺伝子治療の 2 日後に死亡し、その後プロトコルが変更され、安全に治療が遂行されています。また ALL 患者については、5 例に CAR 遺伝子治療が行われ、治療前に残存病変が認められた 4 例全例で治療効果が認められました。私たちは、彼らの研究結果を基にプロトコルを作成し、彼らと同じ CAR 遺伝子ベクターを用いています。
- (2) ペンシルバニア大学のグループ  
3 例の CLL 患者に対する治療を行った結果、腫瘍崩壊症候群を経て 2 例に完全奏効、1 例に部分奏効を得たと報告しています。また、2 例の小児の再発 ALL 患者にも治療を行い、両者とも治療後約 1 ヶ月で完全寛解を得ています。
- (3) 米国の国立癌研究所のグループ  
CLL 患者 7 例全例に治療効果が見られましたが、4 例で長期にわたって正常 B 細胞数の低下が認められました。1 例は遺伝子治療の 18 日後にインフルエンザ肺炎と心内膜炎、脳梗塞の合併で死亡しています。

## 6. 臨床研究の具体的な方法

本臨床研究は以下のステップで行います。これらの適格基準を満たすことが確認されたら、以下の処置・治療に進みます。

- (1) 本研究に参加が可能か否かを調べるために別表に示した採血、骨髄検査、PET、または CT 等の画像診断検査の項目を確認します。
- (2) あなたのこれまでの病歴と検査データがカルテで確認されます。また改めてあなたの病歴聴取と診察を行います。

## 第Ⅰ段階：Tリンパ球へのCAR遺伝子の導入

### (1) Tリンパ球の採取

あらかじめ、あなたの末梢血中にリンパ球が何個存在するか調べます。十分なリンパ球数が存在する場合には、あなたの全身状態に問題がないことを確認し、通常の採血法、または返血を伴う自己末梢血採取法で血液を最大600 mLまで採取します。

通常の採血法では、所定量の血液を採血します。採血量によっては、採血後スポーツ飲料等を飲んで頂きます。場合によっては、点滴することもあります。返血を伴う自己末梢血採取法では、所定量を採血した後、採血針は抜去せず、そのままとし、点滴液に繋がります。採血した血液からTリンパ球を分離し、残った赤血球と血漿を採血針から返血します。採血から返血終了まで、約2-3時間かかります。目標とする採血量が多い場合には、この操作を午前と午後の2回行うことがあります。

どちらの採血でも、医師と看護師が立ち会います。採取中や採取後、血圧低下や気分不快等の症状が表れた場合には、直ちに適切な対応をとります。また、採取により貧血が生じた場合には輸血を行うこともあります。

### (2) CAR遺伝子導入Tリンパ球の調製

自治医科大学附属病院内の細胞処理室において、採取されたリンパ球に前述したレトロウイルスベクターを使ってCAR 遺伝子が導入されます。この過程での細胞の処理はすべて無菌操作で行います。遺伝子導入を含めて試験管内で10日間程度培養し、いったん凍結させて保存します。その後、この試験ではCAR遺伝子導入Tリンパ球の品質の確認がされて、投与することが可能になるまで、1週間程度かかります。その間は無治療で経過をみせていただきます。さらに、投与前に選択基準を満たすかどうかを確認して投与することになります。基準を満たさない際は、投与することができなくなる場合があることをご了解下さい。

以降の段階は入院にて実施します。少なくとも投与後28日までは入院を継続します。

## 第Ⅱ段階：抗がん剤投与

CAR遺伝子導入Tリンパ球投与前に、エンドキサンやトリアキシンという抗がん剤を投与します。この薬剤の投与により、CAR遺伝子導入Tリンパ球があなたの体内から排除されにくくなる効果が期待できます。

### 第Ⅲ段階：CAR 遺伝子導入Tリンパ球の投与

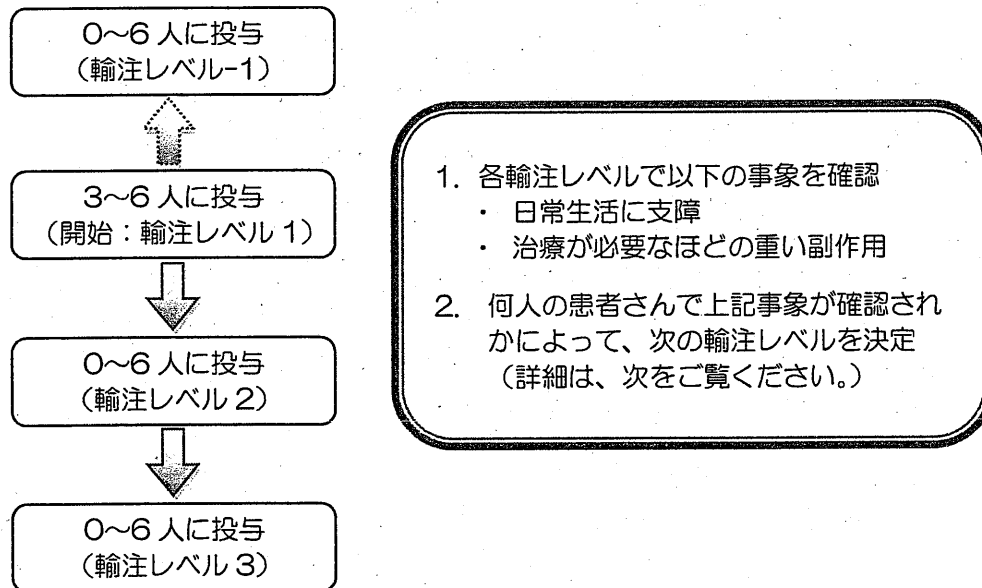
(1) CAR 遺伝子導入Tリンパ球を投与します。

治療効果が最も期待でき、かつ、安全なCAR 遺伝子導入Tリンパ球の量は、現時点でははっきりしていません。

投与するCAR 遺伝子導入Tリンパ球の量は、次の3段階を予定しています。

輸注レベル	細胞数
-1	$3 \times 10^5 / \text{kg}$
1	$1 \times 10^6 / \text{kg}$
2	$3 \times 10^6 / \text{kg}$
3	$1 \times 10^7 / \text{kg}$

この臨床研究は以下の説明に従い、投与細胞数の漸増・決定をします。



最初の3人には $1 \times 10^6$  個/kg (レベル1) の細胞を投与します。

各輸注レベルで治療した方が3人も、日常生活に支障をきたしたり、また治療が必要なほどの重い副作用(高度な有害事象と言われます)を起こさなければ、次の段階に進みます。

最初の3人のうち、1人に高度の有害事象が発現した場合には、増量せずに同じ細胞数でさらに3人の患者さんに対して投与を続け、高度の有害事象が起こらなかった場合は、次の段階に進みます。

各輸注レベルで治療された合計6人の患者さんのうち、2人以上に重い副作用が発現した場合には、更に細胞数を $3 \times 10^5$ 個に減らして、3人の患者さんに投与します。

各輸注レベルの細胞数で、高度の有害事象が2人以上の患者さんに起こらなければ、更に3人の患者さんに同じの細胞数を投与します。

(2) スケジュールに従って十分な観察を行い、副作用が発現した場合には、適切な処置を行います。

(3) 本臨床研究終了後、自治医科大学附属病院では患者さんの生存期間（アメリカ食品医薬品局(FDA)のガイドラインに従い15年間にわたり、二次発がんや増殖能を持つレトロウイルスの有無についてフォローアップを行う予定であることをご了解ください。これは遺伝子治療の長期にわたる安全性がまだ確立していないことから、臨床研究後に問題が生じることがないかを追跡するために行います。

## 7. この臨床研究に参加できる人、できない人

### 7.1 参加できる条件

- (1) 組織診断によって CD19 陽性 B 細胞性非ホジキンリンパ腫であることが確認されている方。
- (2) 再発後、2 サイクル以上の救済化学療法が行われている方、又は、標準的化学療法で完全奏効を得られなかった後、2 サイクル以上の救済化学療法が行われている方。
- (3) CT 検査、PET 検査などで非ホジキンリンパ腫の病変を確認できる方
- (4) 本臨床研究に参加時点の年齢が 20 歳以上かつ 70 歳以下の方
- (5) Performance Status (全身一般状態の指標) が 0 から 2 の方  
「発病前と同じ社会活動ができる方～時に介助が必要な方」程度に相当します。
- (6) 心臓、肺、肝臓、腎臓などのはたらきに大きな問題がなく、臨床検査が以下の基準を満たす方
  - (ア) クレアチニン(Cr)  $\leq 2.0$  mg/dl
  - (イ) AST(GOT), ALT(GPT)  $\leq 150$  IU/dl (リンパ腫の肝浸潤による肝障害はこの限りではない)
  - (ウ) T-bil  $\leq 2$  mg/ml
  - (エ) ALP 正常上限値の 1.5 倍以下

- (7) 好中球数  $\geq 1,500/\mu\text{l}$  (リンパ腫の骨髄浸潤による好中球減少はこの限りではない)
- (8) 血小板数  $\geq 10$  万/ $\mu\text{l}$  (リンパ腫の骨髄浸潤による血小板減少はこの限りではない)
- (9) 血中酸素飽和度  $\geq 92\%$
- (10) 同意取得後、3 ヶ月以上の生存が見込める事
- (11) 患者さん本人に十分な説明が行われた上で同意が得られ、同意書に署名された方
- (12) 治療内容を理解し、本人の自由意志による同意を文章で得られた方
- (13) 本臨床研究における 1 次品質試験に合格した最小輸注量 ( $3 \times 10^5$  個/kg) の CAR 遺伝子導入 T リンパ球が得られた方

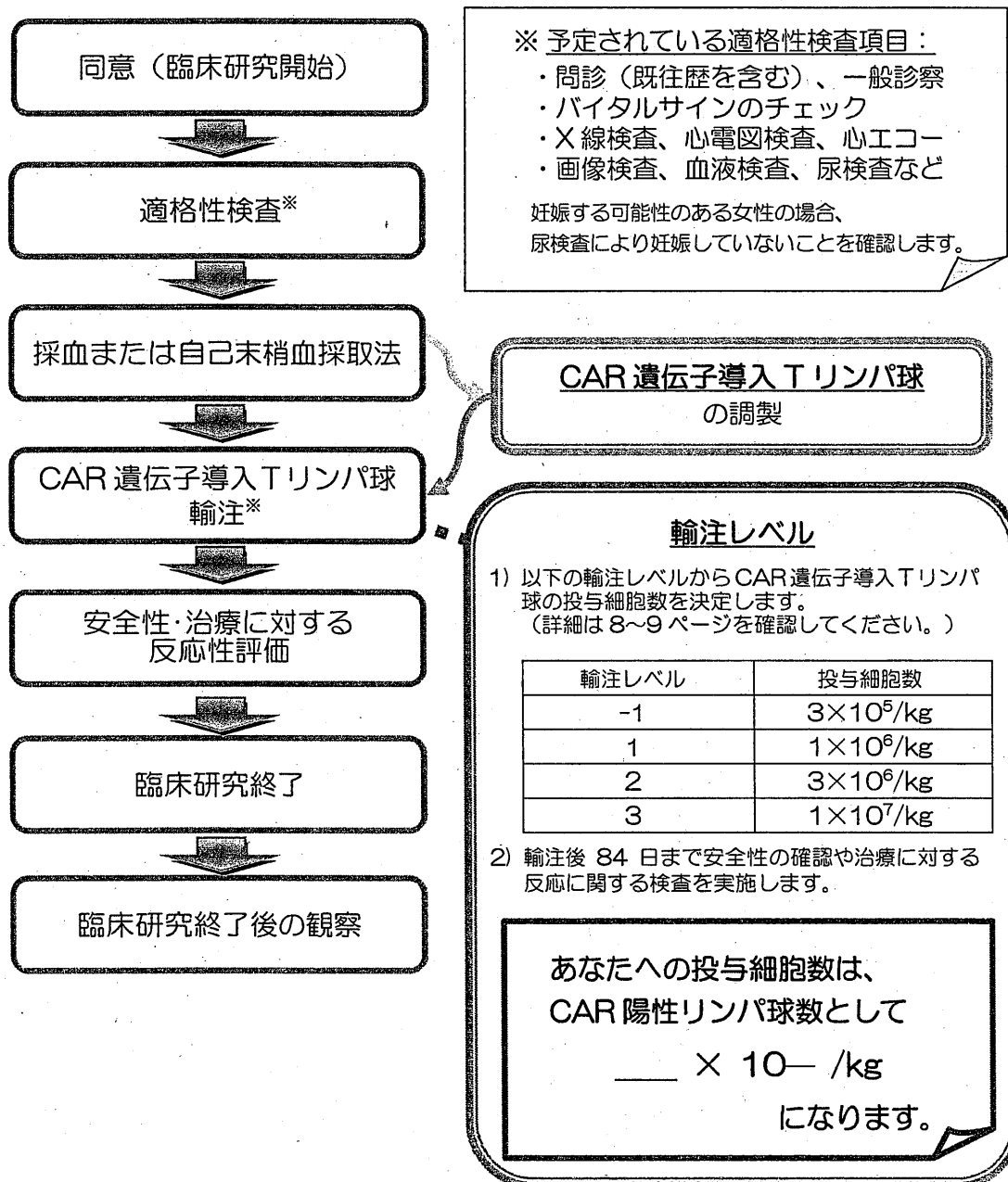
## 7.2 参加できない条件

- (1) 活動性の重複癌を併発している方
- (2) リンパ腫の明らかな中枢神経浸潤を伴う方
- (3) 同種造血幹細胞移植後の方
- (4) 24 週間以内に抗 CD19 遺伝子導入 T リンパ球を投与する臨床試験に既に参加している方
- (5) ステロイドまたは免疫抑制剤の全身投与を行っている方。
- (6) 重度の心疾患を併発する方
- (7) 重度の脳血管疾患の既往を有する、或はそれによる麻痺など後遺症を残す方
- (8) 全身的な治療が必要な活動性、或は重篤な感染症を併発する方
- (9) HIV 抗体陽性の方
- (10) HB-s 抗原陽性、或は HB-c 抗体陽性かつ HBV-DNA が陽性である方
- (11) 活動性の HCV 感染症の方
- (12) 本臨床研究参加への同意に影響を及ぼすような精神疾患、薬物依存症等の疾患を有する方
- (13) 妊娠中、授乳中、妊娠の可能性のある女性または妊娠を希望している女性の方。又は育児希望のある男性の方 (ただし、遺伝子治療前に精子を凍結保存し、その精子を用いて子供をもうける場合は該当しない)
- (14) その他、担当医師によって本臨床試験への参加が適当でないと判断される方

## 8. 臨床研究のスケジュール

あなたが先に説明した「参加できる条件」に当てはまる場合、次の「検査・観察スケジュール」に従って本臨床研究を実施します。

### <臨床研究の流れ>

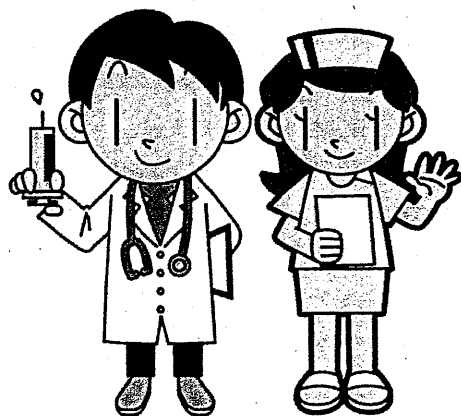


※ 2回目の投与の投与に十分なCAR 遺伝子導入Tリンパ球が得られていて、担当医師が投与した方が良いと判断した場合、28日目以降にもう一度投与する可能性があります。



はじめに、あなたから遺伝子を導入するTリンパ球を採取させていただきます。

あなたから採取した細胞にCAR遺伝子を導入する一連の作業を自治医科大学附属病院内にある臨床用細胞プロセッシング室にて行い、その細胞の安全性を確認します。この間に診察や画像診断、各種の検査を実施します。本臨床研究は、最後のCAR遺伝子導入Tリンパ球投与から84日後に終了となります。それ以降も、11ページに記載したようにCAR遺伝子導入Tリンパ球投与後15年間にわたり、フォローアップとして1年に1回の頻度で、CAR遺伝子導入Tリンパ球の血中動態、および二次発がんや増殖能を持つレトロウイルスの有無について注意深く経過を観察します。



### 検査・観察スケジュール

日 項目	1次登録時	末梢血採取時	2次登録時	-3 -2 -1	0	1	2-5	6 7	8	9	10	11	12	14	17 20 22 25	28	35 42 49	56	63 70 77	84 または 中止時	
入院期間				投与後3日間の個室管理 <sup>2</sup> (該当する場合)																	
診察	●		●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●
末梢血採取		●																			
投与					●	●															(●)該当する場合
副作用等の確認				前処置開始時から実施期間を通して確認																	
臨床検査	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●
尿検査	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●
心電図・心エコー	●																				●
呼吸器の機能検査	●																				●
胸部X線検査	●		●																		●
CT検査	●	●																			●
その他画像診断	●																				●
上部消化管造影	●																				
骨髄検査	●																●				●
血漿サイトカイン			●	●	●	●	●							●		●		●			●
CAR遺伝子導入Tリンパ球輸注前及び輸注後			●		●	●	●							●		●		●			●
レトロウイルススペクターの増殖検査・T細胞の解析			●#	●#			● 2のみ								●#	●			●#		●
予定採血量 (mL)	12	8	46	28	48*	48*	18	8	-	8	-	8	-	18	28#	28	-	21	28#	28	

- ※ 同意時の検査は過去のデータが利用できる場合、一部利用することがあります。  
 \* Day 0 および Day 1 はそれぞれ採血を4回施行する。採血量は各 18 mL, 10 mL, 10 mL, 10mL  
 # 2次登録時、前処置時、25日と77日は制御性T細胞の解析のみ実施のみ実施  
 1: 1回目 CAR 遺伝子導入 Tリンパ球輸注前及び輸注後: 1、3、8hr  
 2回目 CAR 遺伝子導入 Tリンパ球輸注前及び輸注後: 1、3、8、24、48、72、96 hr  
 2: 個室管理について (該当する場合、以下の対応を取らせていただきます)

- ① 輸注直前～輸注3日後まで、指定された個室に入院
- ② 個室入院中、個室外に出る場合は、マスクとガウンを着用
- ③ 輸注翌日～輸注3日後までの採血で、レトロウイルススペクターの増殖検査を行い、増殖がみられた場合は、引き続き個室に入院
- ④ ③の検査で増殖なしと判明するまでの間、排泄物は個室内で消毒してから処分
- ⑤ 病院スタッフによる個室での器具類の消毒、洗浄  
 治療終了後年1回の長期追跡調査で、レトロウイルススペクターの増殖を検査で確認、万が一増殖が見られた場合、ただちに個室に入院

## 9. 期待される効果

この治療によって、次の効果が期待されます。

- ・ からだの中に投与した遺伝子導入リンパ球が非ホジキンリンパ腫の細胞を攻撃し、リンパ腫の病変が小さくなったり無くなったりすること。
- ・ リンパ腫の病変によっておきている様々な症状を改善すること。

## 10. 予想される副作用及び不利益

### (1) 通常のリンパ球投与に伴う副作用

以下の反応がみられることがあります。

- ・ 悪寒、戦慄
- ・ 頭痛
- ・ 息切れ
- ・ 血圧上昇
- ・ 徐脈
- ・ アレルギー反応（皮膚のかゆみ、舌が腫れるなど）
- ・ けいれん
- ・ 吐き気、嘔吐
- ・ 貧血

### (2) インフュージョン反応（輸注関連反応）

CAR遺伝子はリツキサンと同様にマウス由来の抗体部分を含んでおり、そのためCAR遺伝子導入Tリンパ球を輸注すると開始後30分から2時間でインフュージョン反応という特徴的な副作用が出る可能性があります。この発症頻度は同様にマウス由来の抗体部分を有するリツキサンと同程度と予想されます。本反応の出現を予防するために、輸注前に解熱鎮痛薬と抗ヒスタミン薬を内服します。また、万が一インフュージョン反応が現れた場合には、一時的な輸注の中止や薬剤の投与などの処置を行います。

リツキサン投与時のインフュージョン反応の頻度：発熱(64%)、悪寒(34%)、頭痛(21%)、発疹(14%)、血圧低下(12%)、呼吸障害(1%)

### (3) 高サイトカイン血症

CAR 遺伝子導入 T リンパ球がリンパ腫細胞を攻撃する際にはサイトカインと呼ばれるタンパクを放出します。サイトカインが血中に多量に放出されると発熱、悪寒等の症状があらわれることがあります。時に重症化し、血圧低下、呼吸障害、けいれんや意識障害が出現することがあります。発症時には、副腎皮質ステロイド剤やサイトカインを抑制する薬剤の投与を

行いますが、重症化した場合には、人工呼吸器や昇圧剤の投与が必要になることもあります。

(4) B 細胞の減少

本臨床研究で行う治療では、正常な B リンパ球にも存在する抗原を標的とするため、遺伝子導入 T リンパ球投与後には、あなたの末梢血中の正常 B リンパ球が減少し、血清免疫グロブリン値が低下することが予想されます。この状態は遺伝子導入 T リンパ球があなたの体内に存在する限り続き、B リンパ球が長期間回復しない可能性もあります。これまでには治療 1 年半後も正常 B リンパ球の減少が持続している事例の報告があります。B 細胞が減少し、免疫グロブリンが低下し状態では、一般に細菌やウイルス感染症への危険性が増すため、担当医師の判断で感染予防として免疫グロブリン製剤を投与します。

(5) 腫瘍崩壊症候群

抗がん剤や遺伝子導入 T リンパ球投与後に、腫瘍崩壊症候群が起こることがあります。治療により腫瘍細胞が急速に破壊されることで、血液中に細胞内の分解産物が急激に大量放出され、高尿酸血症、高リン血症、低カルシウム血症、高カリウム血症、尿毒症、腎不全等の重篤な病態を引き起こすことを腫瘍崩壊症候群といいます。この場合、嚴重な経過観察と、時に人工透析を含めた管理が必要になります。

(6) 抗がん剤(エンドキサン及びトリアキシン)投与に伴う副作用

エンドキサン及びトリアキシンによる骨髄抑制が高頻度で起こります。骨髄抑制に伴う好中球減少に対しては、好中球刺激因子(ノイトロジン、グランまたはノイアップ)を投与します。また、血小板減少が生じた場合、厚生労働省の「血液製剤の使用指針」に基づき濃厚血小板を輸血します。エンドキサンによる頻度の低い副作用として、心毒性と出血性膀胱炎、抗利尿ホルモン不適合分泌症候群や二次発がんの危険性があります。

(7) レトロウイルスベクターによる発がんのリスク

今回の臨床研究では前述のように(7 ページ参照)他人へ感染性がなく、病原性のないレトロウイルスベクターを使います。レトロウイルスベクターは CAR 遺伝子をヒトの染色体のいずれかの場所に組み込みます。ただし、この組み込まれる場所はあらかじめ予測することができないため、組み込まれる場所によっては、大切な遺伝子に悪い影響を与えてしまう危険性があります。通常、染色体には、がん遺伝子やがんの発生を抑える働き

をする遺伝子が含まれていますが、遺伝子導入によってこれらの遺伝子に「挿入変異」とよばれる影響がおきて、がん化へと進む可能性があります。一般的には、1つの遺伝子に影響が生じただけでは、がん化する可能性は極めて低いと考えられていますが、その危険性は完全には否定できません。

このことは極めて大切なことですので具体例についてさらに詳しく説明します。1999年から欧州で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疾患）や慢性肉芽腫症（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免疫不全症）という先天性の病気の乳幼児に対して、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になる造血幹細胞に導入する遺伝子治療の臨床研究が行われました。当初、これらの遺伝子治療では有効性が確認され、注目を集めました。しかしながら、2002年にフランスのグループから遺伝子治療を受けた2例の患者が白血病を発症（治療後30又は34ヵ月後）したという報告がなされました。この患者について解析した結果、遺伝子治療による「挿入変異」が白血病の原因と考えられました。具体的には、この白血病発症の原因として、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、その結果、このがん遺伝子が活性化されて、細胞が腫瘍性に増殖し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、細胞の増殖をコントロールする遺伝子だったことが、白血病の発症リスクをさらに高くしたと考えられています。この報告の後に、アメリカでは、同様の先天性免疫不全症に対するレトロウイルスベクター遺伝子治療臨床研究を一時中断し、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ご家族に正しく伝えたいと再開することとなりました。しかし、その後も数例の白血病や骨髄異形成症候群という造血器疾患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になる造血幹細胞に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、ベクターの種類等によって大きく異なっています。今回のCAR遺伝子導入Tリンパ球輸注療法では、遺伝子を

導入する細胞はTリンパ球であり、先に述べた先天性免疫不全症に対する遺伝子治療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。Tリンパ球は造血幹細胞のように分化・増殖能が旺盛な細胞でないことからがん化しにくい細胞と考えられています。このことから、治療用遺伝子が染色体に組み込まれることによる挿入変異のリスクはTリンパ球と造血幹細胞の間で同程度ではあるものの、今回の治療法でがん化がおきる危険性は、先天性免疫不全症に対する遺伝子治療と比較して低いものと考えています。これまでにTリンパ球にレトロウイルスベクターで遺伝子を導入する臨床研究においては、遺伝子治療によるがん化は1件も報告されていません。

長期間にわたって被験者の追跡調査を行うとともに、それぞれの遺伝子治療のリスクとベネフィットに関する評価を最新の知見に基づき定期的に実施することが重要と考えています。万一、がん化が認められた場合には、化学療法等の最善の治療を行います。

(8) レトロウイルスの自己複製のリスクについて

今回の遺伝子治療で使われるレトロウイルスベクターは、一度細胞に感染すると二度は感染しないように、安全性を高める工夫が施されています。しかし、何らかの理由によってこのレトロウイルスベクター自身が増殖を始め、患者さんにウイルス性の疾患を引き起こす可能性は皆無とはいえません。この危険性を可能な限り取り除くために、あらかじめ定められた品質規格に合格した遺伝子導入Tリンパ球のみが投与され、投与後も体内で増殖性ウイルスが発生していないことを確認する検査が念のために繰り返し行われる計画になっています。

(9) 生殖細胞へ影響する可能性について（子孫への影響の可能性）

ベクターの遺伝子が卵子や精子などの生殖細胞に組み込まれる可能性は極めて低いものと思われませんが、否定はできません。そのため、臨床研究に参加中はコンドームを使って避妊してください。なお、あなたが男性で将来子供をつくることを希望する場合は、手術前に精子を凍結保存するようおすすめします。

注：体外受精では妊娠効率を上げるために受精卵を複数個子宮に戻しますので、多胎（双子、三つ子等）に伴う危険性が高まります。

また、授乳による子供への影響が完全には否定できないため、妊娠中の方や臨床研究期間中に妊娠の可能性のある患者さんはこの臨床研究に参加することが出来ません。

(10) 生検による合併症（骨髄穿刺、リンパ節生検）

骨髄穿刺、リンパ節生検により採取部位の痛み、出血、感染などが起こることがあります。検査を行う前に、検査のやり方について詳しく説明いたします。

(11) その他、予想できない副作用

上記以外にも予想できない重い副作用が現れる可能性があります。その一部は個人差によるものと考えられます。予想できない副作用の中には回復不可能なものが含まれる可能性があります。このような場合、できるだけ適切な処置をとらせていただきます。

## 11. この臨床研究の予定期間と参加予定患者数

2010年〇月〇日から3年間を目途に、少なくとも6名（「6.臨床研究の具体的な方法」を参照）の患者さんにご参加いただき、CAR 遺伝子導入 T リンパ球を投与します。

## 12. 臨床研究に参加しない場合や臨床研究後の他の治療法について

考えられる他の治療法の選択肢としては、これまで投与歴のない抗がん剤による治療、造血幹細胞移植、新たな薬剤の臨床試験を受ける、放射線療法などが考えられます。どの治療がもっとも適当かについては、悪性リンパ腫の組織型、過去の治療歴、年齢、合併症の有無などにより様々ですが、一般に標準的化学療法で難治性の悪性リンパ腫の予後は不良で、従来、行われている治療法では治癒が困難です。最良支持療法という症状緩和を目指す治療（栄養管理や生活の質を向上させるための緩和医療）を受けることもできます。

また、臨床研究後に残存病変を認めた場合は、別の化学療法を行い病状をコントロールすることも検討します。

いずれの場合も、あなたの病状や全身状態にあわせ、担当医師があなたにとって最善と思われる治療を、あなたとご相談のうえ決めていきますので、ご安心ください。

## 13. 臨床研究への参加の自由と、参加の取りやめについて

この臨床研究に参加されるかどうかはあなたの自由な意思が尊重されます。強制はいたしません。一旦同意した場合でも、参加を取りやめたい場合、いつでも同意を取り消し、臨床研究への参加を取りやめることができます。

いずれの場合も、あなたのこれからの治療に差し支えることは全くありません。今まで通りに何ら不利益を受けることなく、あなたの病状に最適と考えられる治療を受けることができます。

ただし、CAR 遺伝子導入 T リンパ球投与を受けた後は、体内に入れた遺伝子導入リンパ球を取り除くことはできません。あなたが CAR 遺伝子導入 T リンパ球投与後に臨床研究の参加の中止を申し出られた場合でも、あなたの安全のために、定期的な診察や血液や尿の検査などは実施します。

#### 14. 健康被害補償について

この臨床研究に関してあなたが副作用などによる何らかの健康被害を受けた場合は適切な治療が受けられますので、すぐに担当医師に連絡してください。

あなたに起こった健康被害がこの臨床研究と関係があるかどうかの判断は、研究者とは利害関係のない独立した審査委員会が行います。その結果、この臨床研究との関連が否定できないと判断された場合は、その治療に対する検査や医療費は、本臨床研究グループが支払いますので、患者さんの医療費負担はありません。また、臨床研究に参加することで生じた健康被害は、症状が安定するまで（最長 1 年まで）のあなたが自己負担する分の医療費を本臨床研究グループが支払います。ただし、健康被害が生じた場合の医療費以外の実費や、症状が固定した後の治療費や療養費については補償されません。上記の補償の条件は他科で検査・治療した場合も同様に適用します。

この臨床研究では、CAR 遺伝子導入 T リンパ球を体内に投与するという新規の治療を実施します。これまで動物実験を実施し、安全性には十分配慮してきましたが、予測できない副作用が起こる可能性はゼロではありません。もしあなたに健康被害が何か生じたら、どのような場合であっても、研究グループができるだけのことをいたします。

#### 15. 新たな情報のお知らせについて

本臨床研究に参加中、新しい情報（例えば本臨床研究と同様の試験が海外で行われた場合の成績等）が得られることがあります。このような新しい情報を知ることによって、あなたが本臨床研究への参加をやめるという判断をされるかもしれません。よって、本臨床研究に関連する全ての情報はできるだけ速やかにお知らせし、本臨床研究に継続して参加されるかどうかについて、担当医師があらためてお尋ねします。



## 16. 臨床研究の中止について

あなたに本臨床研究参加の意思があったとしても、以下の場合には本臨床研究を中止させていただきます。なお、必要な検査・観察を行うとともに、有害事象の発現や対象疾患の悪化など、安全性に問題が生じて中止した場合には、速やかに適切な処置を行い、安全性が確認されるまで追跡調査を行います。

- (1) 本臨床研究開始後に対象として不適格であることが判明した場合
- (2) 本臨床研究の継続が困難な有害事象が発現した場合
- (3) 本臨床研究の継続が困難な対象疾患の悪化が生じた場合
- (4) 担当医師が本臨床研究の中止が必要と判断した場合
- (5) 本臨床研究自体が中止となった場合
- (6) あなたが同意を撤回された場合

なお、中止の後は採取した検体や遺伝子を調べた結果などは廃棄され、診療記録などもそれ以降は研究目的に用いられることはありません。ただし、同意を取り消した時すでに研究結果が論文などで公表されていた場合などのように、遺伝子を調べた結果などを廃棄することができない場合があります。

## 17. あなたに守っていただきたいこと

本臨床研究に参加される場合は、次のことを守ってください。

- (1) 他の診療科や病院を受診していたり、他の治療を受けている場合、またそこでもらった薬や薬局で買われているお薬がありましたら本臨床研究の担当医師（総括責任者または分担研究者）にお知らせください。
- (2) 臨床研究中は、使用するのが制限されているお薬があります。他の診療科や病院を受診される時は、本臨床研究の担当医師（総括責任者または分担研究者）にお知らせください。
- (3) 担当医師の指示にしたがって、定期的に来院してください（通院中）。ご都合が悪くなった場合には、なるべく早めにご連絡をお願いします。日程調整をいたします。
- (4) 住所や電話など連絡先が変更になる場合は、必ず担当医師までお知らせください。
- (5) いつもと体調が違ったり感じられた場合は、いつでも担当医師までご連絡ください。
- (6) あなた又はあなたのパートナーが妊娠していることが判明した場合には、速やかに担当医師に連絡してください。仮に妊娠が判明した場合には、適

切な検査とカウンセリングを行います。

## 18. 検体の保存と臨床研究が終了した後の保存検体について

「9. 臨床研究のスケジュール」で説明しましたように、臨床研究中は様々な検査を実施します。あなたの血液の一部は、あなたの名前などの個人を識別できないように、割り振られた番号（被験者識別コード）がつけられ、自治医科大学・免疫遺伝子細胞治療学(タカラバイオ)講座に、匿名化されたまま厳重に保存され、必要に応じ解析します（解析の一部は共同研究者のタカラバイオまたは大阪大学が行います）。

もし同意していただければ、解析を終了した後に残った血液細胞や DNA、RNA は本臨床研究終了後も同様に匿名化されたまま厳重に保存され、将来の医学研究のための貴重な資源として、保管させていただきます。将来、検体を医学研究に用いる場合には、改めてその研究について自治医科大学の倫理委員会に申請し、承認を受けた上で使用します。

将来の医学研究のための保管について同意いただけない場合は、この研究が終了後、検体を廃棄いたします。

## 19. 臨床研究参加中の費用負担について

臨床研究には、健康保険等の公的な医療保険は適用されません。その代わりに、臨床研究に参加するために必要な経費、たとえば遺伝子導入リンパ球投与にかかわる費用、この臨床研究にかかわる検査の費用（遺伝子導入リンパ球を投与してから2年後まで）などは本臨床研究グループがすべてを負担します。この臨床研究に参加することで、あなたに今まで以上に余分なお金を負担していただくことはありません。

ただし、この臨床研究の期間内であっても、この遺伝子治療と関係のない病状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。

## 20. 個人情報の保護について

自治医科大学においては、あなたの個人情報（お名前、住所、電話番号などの個人を特定できる情報）は、「個人情報の保護に関する法律」（平成15年5月30日法律第57号）にしたがって取り扱われます。

本臨床研究で扱うあなたの個人情報は、主としてあなたの年齢、病状の経過

観察、検査データ、緊急事態発生のための連絡等、あなたの生命を守るために使用します。その他、特別な目的で使用する場合には、事前にあなたに説明し、ご了解を頂いてから使用します。また、本臨床研究の成果を検討する時や、医療向上等を目的に本臨床研究の成績を公表・公開する場合には、個人を特定できない形すなわち個人情報保護を保護して公開します。

## 21. 臨床研究の成績の使用と公表について

個人情報は適切に管理し、あらかじめあなたの同意を得ることなく第三者に提供することは絶対にありません。

当院の倫理委員会における審査や国の審議会における審査の過程において、厚生労働省の担当官および審議会の委員が、あなたの個人情報を取り扱うことがあります。また、本臨床研究の客観性を保証するために当院以外の外部の監査担当者があなたの診療記録を閲覧することがあります。いずれの場合も、あなたの個人情報はすべて秘密として取り扱われます。

本臨床研究では、タカラバイオが共同研究者として遺伝子治療に関する技術提供に限定し、間接的に関与しています。調製された CAR 遺伝子導入 T リンパ球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匿名化してから、タカラバイオの担当者が閲覧する可能性があります（患者さんを特定する情報については、担当医師が厳重に管理します）。

また、本臨床研究から得られたデータを学会などで発表、論文として医学雑誌などに発表する場合があります。本臨床研究で採取された血液やその他の検体は、臨床検査や遺伝子導入細胞の生存状態等の検査に使用されます。測定で残った検体は再測定の必要がなくなるまで保存されますが、この臨床研究以外の目的には絶対に使用されません。

## 22. 個人情報の保護と診療情報の開示の問い合わせや苦情の窓口

自治医科大学では、個人情報の保護や診療情報の開示に関する問い合わせや苦情の窓口を設けております。この研究に関係した個人情報の保護や診療情報の開示についてのご質問や苦情の窓口は次のとおりです。

個人情報の保護に関する事項：自治医科大学附属病院経営管理課  
(電話 0285-58-7103)

診療情報の開示に関する事項：自治医科大学附属病院医事課  
(電話 0285-58-7115)

診療情報の開示は次のような手続きで申請できます。

(1) 診療情報の開示を申請できる方

- ・ あなた自身
- ・ あなたが何らかの身体的あるいは精神的な理由で申請できない場合は、法律で決められた代理人あるいはあなたの世話を実際に行っている二親等以内の親族です。

(2) 診療情報の開示申請に必要な書類

- ・ あなた自身が申請する場合は、運転免許証、パスポート、健康保険証、国民年金手帳などの申請者の身分を証明する書類をお持ちください。
- ・ 法廷代理人や上に述べた親族が申請する場合は、申請する人の身分を証明する書類(運転免許証、パスポート、健康保険証、国民年金手帳など)と、あなたとの関係を証明する書類(戸籍謄本、健康保険者証など)をお持ちください。

(3) 申請の仕方：上の書類をお持ちいただき、自治医科大学附属病院医事課で所定の書類に記入頂きます。

(4) あなたの申請書は、自治医科大学附属病院内に設置されております診療情報提供委員会で審議され、診療情報の開示を行うかどうか決定されます。

## 23 緊急連絡先およびお問い合わせ先について

緊急時、またはこの臨床研究について何かご心配やご質問がありましたら、下記にご連絡ください。

お問い合わせ先：自治医科大学附属病院 血液科

電話番号：0285-58-7353 (血液科)

総括責任者：小澤 敬也

---

分担研究者：大嶺 謙

---

あなたの担当医師： \_\_\_\_\_

夜間・休日連絡先：

自治医科大学附属病院 救急受付（電話：0285-44-2111）経由で血液科宅直当番医師をご指名ください。宅直当番医師経由で、上記の総括責任者または分担研究者に連絡します。

## 24. 遺伝子治療臨床研究の名称と実施組織体制

### (1) 臨床研究の正式名称

CD19 特異的キメラ抗原受容体発現 T リンパ球を用いた難治性 B 細胞性悪性リンパ腫に対する遺伝子治療臨床研究

### (2) 実施施設

自治医科大学附属病院

### (3) 総括責任者

小澤 敬也：自治医科大学 教授  
内科学講座 血液学部門  
分子病態治療研究センター 遺伝子治療研究部  
免疫遺伝子細胞治療学（タカラバイオ）講座

### (4) 分担研究者

氏名	役職	所属
大嶺 謙	講師	内科学講座血液学部門 免疫遺伝子細胞治療学（タカラバイオ）講座
塚原 智典	助教	遺伝子治療研究部 免疫遺伝子細胞治療学（タカラバイオ）講座
内堀 亮介	助教	免疫遺伝子細胞治療学（タカラバイオ）講座
室井 一男	教授	輸血・細胞移植部
永井 正	准教授	内科学講座血液学部門
森 政樹	講師	内科学講座血液学部門
鈴木 隆浩	講師	内科学講座血液学部門
藤原 慎一郎	講師	内科学講座血液学部門
翁 家国	講師	内科学講座血液学部門
多々良 礼音	助教	内科学講座血液学部門
岡塚 貴世志	助教	内科学講座血液学部門
上原 英輔	助教	内科学講座血液学部門

久米 晃啓	准教授	遺伝子治療研究部
水上 浩明	准教授	遺伝子治療研究部
卜部 匡司	講師	遺伝子治療研究部
福嶋 敬宜	教授	病理診断部
吉尾 卓	センター長	臨床試験センター
山崎 晶司	副センター長	臨床試験センター

## 25. その他

この臨床研究では、CAR 遺伝子導入 T リンパ球投与 2 年後までを評価期間としておりますので、その間には他の臨床研究または治験に参加できません（この臨床研究の中止を希望される場合はこの限りではありません）。

この研究に参加された方がお亡くなりになられた場合は、ご遺族に対して解剖をお願いすることがあります。

この臨床研究について  
十分に理解していただけただけでしょうか？

もし、この臨床研究に参加してもよいとお考えでしたら、次のページにある「臨床研究への参加に関する同意書（一次登録）」、「臨床研究における輸注に関する同意書（二次登録）」という用紙にご記入いただきたいと思います。

また、同意した後に、参加を取りやめたくなられましたら、「同意撤回書」という用紙にご記入いただきたいと思います。

心配なこと、わからないことがありましたら、いつでも遠慮なく総括責任者、担当医師にお問い合わせください。



## 臨床研究への参加に関する同意書(一次登録)

自治医科大学附属病院  
病院長 殿

私は「CD19 特異的キメラ抗原受容体発現 T リンパ球を用いた難治性 B 細胞性悪性リンパ腫に対する遺伝子治療臨床研究」の臨床研究に参加するに当たり、担当医師から「臨床研究ご参加についての説明文書」を用いて説明を受け、その内容について十分理解しました。

### 説明を受けた項目

各項目について、ご自分で  の印を付けてください。

(CAR 遺伝子導入 T リンパ球数については、担当医師が記入いたします。)

- ・ 説明を受け理解できた場合は「はい」
- ・ 説明を受け理解できていない場合には「いいえ」
- ・ 全ての項目で「はい」になることが同意の条件です。

1. はじめに	<input type="checkbox"/> はい <input type="checkbox"/> いいえ
2. 臨床研究について	<input type="checkbox"/> はい <input type="checkbox"/> いいえ
3. あなたの病気と治療について	<input type="checkbox"/> はい <input type="checkbox"/> いいえ
4. この臨床研究の概要について	<input type="checkbox"/> はい <input type="checkbox"/> いいえ
5. CD19 を標的とした CAR 遺伝子治療臨床研究の 海外での状況	<input type="checkbox"/> はい <input type="checkbox"/> いいえ
6. この臨床研究の具体的な方法	<input type="checkbox"/> はい <input type="checkbox"/> いいえ
7. この臨床研究に参加できる人、できない人	<input type="checkbox"/> はい <input type="checkbox"/> いいえ
8. 臨床研究のスケジュール	<input type="checkbox"/> はい <input type="checkbox"/> いいえ
調製予定の CAR 遺伝子導入 T リンパ球数	___ ×10 <sup>—</sup> /kg
9. 期待される効果	<input type="checkbox"/> はい <input type="checkbox"/> いいえ
10. 予想される副作用及び不利益	<input type="checkbox"/> はい <input type="checkbox"/> いいえ



- |                                    |  |
|------------------------------------|--|
| 11.臨床研究への参加予定期間と参加予定患者数            | <input type="checkbox"/> はい <input type="checkbox"/> いいえ |
| 12.臨床研究に参加しない場合や臨床研究後の他の治療法について    | <input type="checkbox"/> はい <input type="checkbox"/> いいえ |
| 13.臨床研究への参加の自由と、参加の取りやめについて        | <input type="checkbox"/> はい <input type="checkbox"/> いいえ |
| 14.健康被害補償について                      | <input type="checkbox"/> はい <input type="checkbox"/> いいえ |
| 15.新たな情報のお知らせについて                  | <input type="checkbox"/> はい <input type="checkbox"/> いいえ |
| 16.臨床研究の中止について                     | <input type="checkbox"/> はい <input type="checkbox"/> いいえ |
| 17.あなたに守っていただきたいこと                 | <input type="checkbox"/> はい <input type="checkbox"/> いいえ |
| 18.検体の保存と臨床研究終了後の保存検体について          | <input type="checkbox"/> はい <input type="checkbox"/> いいえ |
| 19.臨床研究に参加するために必要な費用について           | <input type="checkbox"/> はい <input type="checkbox"/> いいえ |
| 20.個人情報の保護について                     | <input type="checkbox"/> はい <input type="checkbox"/> いいえ |
| 21.臨床研究の成績の使用と公表について               | <input type="checkbox"/> はい <input type="checkbox"/> いいえ |
| 22.個人情報の保護と診療情報の開示についての問い合わせや苦情の窓口 | <input type="checkbox"/> はい <input type="checkbox"/> いいえ |
| 23.緊急連絡先およびお問い合わせ先について             | <input type="checkbox"/> はい <input type="checkbox"/> いいえ |
| 24.遺伝子治療臨床研究の名称と実施組織体制             | <input type="checkbox"/> はい <input type="checkbox"/> いいえ |

25.上記 1.~24.以外に説明を受けたい事項がある場合は、下の空欄に記載して下さい。

25 の空欄に記載した場合、その内容について、適切な説明を受け、理解できましたか？  はい  いいえ

説明を受け、1～24の項目について理解し、さらに25の空欄に記載をした場合はそれに対する説明についても理解しましたので、自らの自由意思により、本臨床研究に参加することに同意いたします。

患者さん 同意日： \_\_\_\_\_ 年 月 日

氏名（署名）： \_\_\_\_\_

説明者 説明日： \_\_\_\_\_ 年 月 日

所属・職名： \_\_\_\_\_

説明者署名： \_\_\_\_\_

## 臨床研究における輸注に関する同意書(二次登録)

自治医科大学附属病院  
病院長 殿

私は以前「CD19 特異的キメラ抗原受容体発現 T リンパ球を用いた難治性 B 細胞性悪性リンパ腫に対する遺伝子治療臨床研究」の臨床研究に参加するに当たり、担当医師から「臨床研究ご参加についての説明文書」を用いて説明を受け、その内容について十分理解し、この臨床研究への参加に同意しました。

この度、この臨床研究における CAR 遺伝子導入 T リンパ球の輸注を受けるに当たり、もう一度担当医師からこの臨床研究に関する説明を受け、その内容について十分に理解しました。

### 説明を受けた項目

各項目について、ご自分で  の印を付けてください。

(CAR 遺伝子導入 T リンパ球数については、担当医師が記入いたします。)

- ・ 説明を受け理解できた場合は「はい」
- ・ 説明を受け理解できていない場合には「いいえ」
- ・ 全ての項目で「はい」になることが同意の条件です。

1. はじめに	<input type="checkbox"/> はい <input type="checkbox"/> いいえ
2. 臨床研究について	<input type="checkbox"/> はい <input type="checkbox"/> いいえ
3. あなたの病気と治療について	<input type="checkbox"/> はい <input type="checkbox"/> いいえ
4. この臨床研究の概要について	<input type="checkbox"/> はい <input type="checkbox"/> いいえ
5. CD19 を標的とした CAR 遺伝子治療臨床研究の 海外での状況	<input type="checkbox"/> はい <input type="checkbox"/> いいえ
6. この臨床研究の具体的な方法	<input type="checkbox"/> はい <input type="checkbox"/> いいえ
7. この臨床研究に参加できる人、できない人	<input type="checkbox"/> はい <input type="checkbox"/> いいえ
8. 臨床研究のスケジュール	<input type="checkbox"/> はい <input type="checkbox"/> いいえ
輸注予定の CAR 遺伝子導入 T リンパ球数	____ × 10 <sup>—</sup> / kg.

9. 期待される効果	<input type="checkbox"/> はい <input type="checkbox"/> いいえ
10. 予想される副作用及び不利益	<input type="checkbox"/> はい <input type="checkbox"/> いいえ
11. 臨床研究への参加予定期間と参加予定患者数	<input type="checkbox"/> はい <input type="checkbox"/> いいえ
12. 臨床研究に参加しない場合や臨床研究後の他の治療法について	<input type="checkbox"/> はい <input type="checkbox"/> いいえ
13. 臨床研究への参加の自由と、参加の取りやめについて	<input type="checkbox"/> はい <input type="checkbox"/> いいえ
14. 健康被害補償について	<input type="checkbox"/> はい <input type="checkbox"/> いいえ
15. 新たな情報のお知らせについて	<input type="checkbox"/> はい <input type="checkbox"/> いいえ
16. 臨床研究の中止について	<input type="checkbox"/> はい <input type="checkbox"/> いいえ
17. あなたに守っていただきたいこと	<input type="checkbox"/> はい <input type="checkbox"/> いいえ
18. 検体の保存と臨床研究終了後の保存検体について	<input type="checkbox"/> はい <input type="checkbox"/> いいえ
19. 臨床研究に参加するために必要な費用について	<input type="checkbox"/> はい <input type="checkbox"/> いいえ
20. 個人情報の保護について	<input type="checkbox"/> はい <input type="checkbox"/> いいえ
21. 臨床研究の成績の使用と公表について	<input type="checkbox"/> はい <input type="checkbox"/> いいえ
22. 個人情報の保護と診療情報の開示についての問い合わせや苦情の窓口	<input type="checkbox"/> はい <input type="checkbox"/> いいえ
23. 緊急連絡先およびお問い合わせ先について	<input type="checkbox"/> はい <input type="checkbox"/> いいえ
24. 遺伝子治療臨床研究の名称と実施組織体制	<input type="checkbox"/> はい <input type="checkbox"/> いいえ

25. 上記 1.~24.以外に説明を受けたい事項がある場合は、下の空欄に記載して下さい。

25 の空欄に記載した場合、その内容について、適切な説明を受け、理解できましたか？  はい  いいえ

説明を受け、1～24 の項目について理解し、さらに 25 の空欄に記載をした場合はそれに対する説明についても理解しましたので、自らの自由意思により、本臨床研究において CAR 遺伝子導入 T リンパ球の輸注を受けることに同意いたします。

患者さん

同意日： \_\_\_\_\_ 年 \_\_\_\_\_ 月 \_\_\_\_\_ 日

氏名（署名）： \_\_\_\_\_

担当医師

説明日： \_\_\_\_\_ 年 \_\_\_\_\_ 月 \_\_\_\_\_ 日

医師署名： \_\_\_\_\_

コーディネーター  
(補足説明を行った場合)

説明日： \_\_\_\_\_ 年 \_\_\_\_\_ 月 \_\_\_\_\_ 日

コーディネーター署名： \_\_\_\_\_

また、私が本研究のために提供する検体の研究終了後の取扱いについては、

1. 本研究終了時に速やかに破棄してください。
2. 自治医科大学免疫遺伝子細胞治療学(タカラバイオ)講座に本研究終了後も保存され、将来新たに計画・実施される医学研究(付随研究)に使用されることに同意します。

(1. 又は 2. のどちらかを丸で囲んでください。どちらなのか不明確な場合は、1. を選択したものとします。)

患者さん

同意日： \_\_\_\_\_ 年 \_\_\_\_\_ 月 \_\_\_\_\_ 日

氏名（署名）： \_\_\_\_\_

## 遺伝子治療臨床研究に関する同意撤回書

自治医科大学附属病院  
病院長 殿

私は、「CD19 特異的キメラ抗原受容体発現 T リンパ球を用いた難治性 B 細胞性悪性リンパ腫に対する遺伝子治療臨床研究」への参加するにあたり、担当医師から説明を受け、十分理解しに同意し同意書に署名しましたが、私の自由意思により、この臨床研究への参加の同意を撤回したく、担当医師に口頭で伝え、確認のため、ここに同意撤回書を提出します。

私は、同意撤回後、以下の通り希望します(いずれかに☑をいれてください)。

- 以降の臨床研究の参加はしませんが、今までのデータ利用は認めます
- この臨床研究で私が提供したすべてのデータの研究利用を認めません

提出日： \_\_\_\_\_ 年 \_\_\_\_\_ 月 \_\_\_\_\_ 日

本人氏名 (自署)： \_\_\_\_\_

連絡先： \_\_\_\_\_

代諾者 (該当する場合)

提出日： \_\_\_\_\_ 年 \_\_\_\_\_ 月 \_\_\_\_\_ 日

代諾者氏名 (自署)： \_\_\_\_\_

連絡先： \_\_\_\_\_

患者との関係： \_\_\_\_\_

私は、上記被験者が本臨床研究に関する同意を撤回したことを確認しました。  
担当医師または総括責任者

受領日： \_\_\_\_\_ 年 \_\_\_\_\_ 月 \_\_\_\_\_ 日

所属・職名： \_\_\_\_\_

受領者署名： \_\_\_\_\_

# CD19特異的キメラ抗原受容体発現Tリンパ球を用いた 難治性B細胞性悪性リンパ腫に対する遺伝子治療臨床研究

この治療方法は今までにない新しい治療法です。

? わからないことがあれば、本編の同意説明文書をご覧くださいか、担当医師にご相談下さい。

## ① この臨床研究の目的 ①

- ☆ CAR遺伝子導入Tリンパ球による治療法の安全性の確認
- ☆ CAR遺伝子導入Tリンパ球による治療効果の確認
- ☆ 投与したCAR遺伝子導入Tリンパ球が体の中で存続しているかの確認

## ◎ 大切なお知らせ ◎

- ☞ 協力をお断りになっても、不利益を受けることはありませんので、あなたの自由意思で決めてください。
- ☞ 同意の後でも、不利益を受けることなく、いつでも参加をとりやめることができます。
- ☞ この臨床研究は、厚生労働省の審議会や自治医科大学の「遺伝子治療臨床研究審査委員会」で承認を受けています。
- ☞ あなたの個人情報は、自治医科大学で厳重に管理します。
- ☞ この臨床研究にかかる費用は臨床研究チームが負担しますが、それ以外の診察・検査の費用はこれまでと同様窓口でお支払ください。
- ☞ この臨床研究が原因と考えられる健康被害の医療費は病院が支払います。補償金はありません。
- ☞ この臨床研究に参加している間、新しい重要な情報が得られた場合は、すぐにお知らせします。

## □ あなたへのお願い □

- ☞ この臨床研究に参加している間は以下のことをまもってください。
- ✓ 臨床研究中に薬を使用する場合、他院・他科にかかる場合は、担当医師にご相談ください。
- ✓ この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。

## □ この臨床研究に関するお問い合わせ先 □

○ 自治医科大学附属病院 ○

〒329-0498 栃木県下野市薬師寺3311-1

休日・夜間救急  
以外の受付は  
8:30~17:15  
です。

### ■ 臨床研究に関すること ■

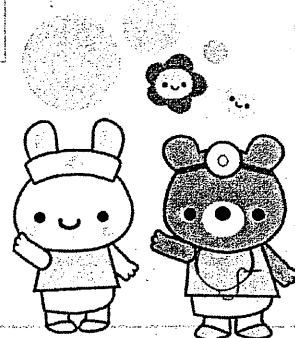
総括責任者	血液科	小澤 敬也	0285-58-7353
担当医師		大嶺 謙	休日・夜間救急受付： 0285-44-2111

### ■ 個人情報の保護に関すること ■

経営管理課：0285-58-7103

### ■ 診療情報の開示に関すること ■

医事課：0285-58-7115

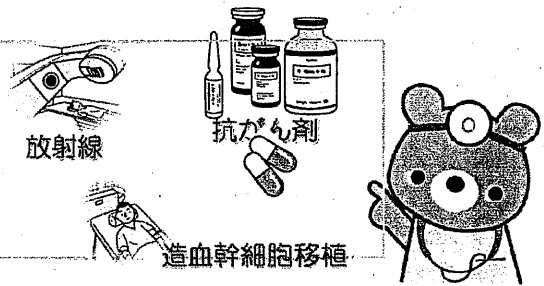


悪性リンパ腫に対する一般的な治療法

化学療法や生物学的製剤、放射線療法、造血幹細胞移植  
があります

再発 効果不十分

こんなとき・・・次の確立された治療がないのが現状です



そこで、この臨床研究「CAR遺伝子導入Tリンパ球輸注」が検討されます

この臨床研究「CAR遺伝子導入Tリンパ球輸注」の内容

CAR遺伝子導入Tリンパ球とは

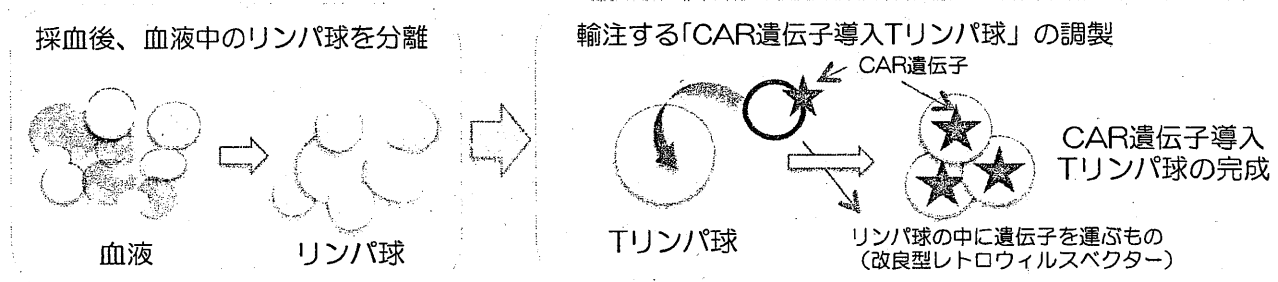
B細胞のCD19をターゲットとして攻撃するCAR遺伝子を入れたTリンパ球

CAR遺伝子導入Tリンパ球は、通常の免疫反応に加え、がん化したB細胞をより強力に攻撃することができます

この臨床研究への参加確認後の輸注までの流れは以下の通りです

CAR遺伝子導入Tリンパ球輸注のための準備

1. あなただけの「CAR遺伝子導入Tリンパ球」を準備します

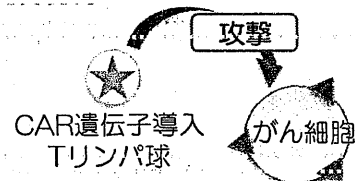


2. 輸注の前処置を行います

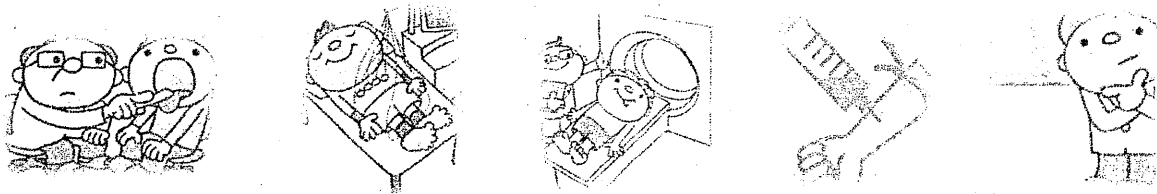


- ・ エンドキサン
  - ・ トレアキシン
- 等を投与します

CAR遺伝子導入Tリンパ球輸注の実施  
2日に分けて輸注します



その後、診察やいろいろな検査で悪性リンパ腫への効果を含め、あなたの体調・状態を確認します





😊 **メリット**

既存の治療法では十分な治療効果が期待できない場合でも新しい治療法であり、効果が期待できます。

😞 **デメリット** (以下の可能性があります。)

遺伝子導入を行うことに伴う危険

(体内でのベクターの増殖、細胞のがん化、腫瘍崩壊、正常B細胞減少 など)

遺伝子導入リンパ球の調製過程での問題

(調製不良、不純物の混入、機能変化 など)

腫瘍が急速に破壊されたときの危険性

(血液中に壊れた腫瘍細胞の成分が急速に流れ込み、電解質異常や腎不全が起こる)

免疫能の低下

(正常の免疫能が低下して、感染症を合併しやすくなる)

**検査・観察スケジュール**

入院期間

	1次登録	末梢血採取	2次登録	-3 -2	0	1	2-5	7	8	9	10	11	12	14	17 20 22 25	28	35 42 49	56	63 70 77	84 または 中止時
血採取	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
検査	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
検査	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
図	○																			○
コー	○																			○
器の機能検査	○																			○
線検査	○		○																	○
検査	○	○																		○
他画像診断	○																			○
消化管内視鏡検査	○																			
検査																○				○
サイトカイン				○	○	○	○							○		○		○		○
遺伝子導入Tリ 球血中動態					○	○	○							○		○		○		○
ウイルスバク -の増殖検査							○ 20のみ									○				○
胞の解析			○	○			○ 20のみ							○	○ 25のみ	○		○		○ 77のみ
費用等の確認				前処置開始時から実施期間を通して確認																

**個室管理について (該当する場合)**

リンパ球の調製に改良型レトロウイルスベクターを使用しますので、投与3日前から3日後まで個室に入院していただきます。その際、以下の対応を行いますので、ご了承ください。

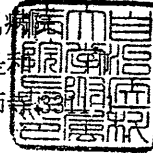
- ※ 1回目輸注日～RCR検査が陰性とわかるまで：排泄物は個室で専用容器で消毒してから処分します
- ※ 1回目輸注日～3日後：
  - ※ 個室の外に出るときはマスクとガウンの着用が必要です。
  - ※ この間は、病院スタッフが個室で器具類を消毒、洗浄します。

第一種使用規程承認申請書

平成 25 年 7 月 3 日

厚生労働大臣 殿  
環境大臣 殿

申請者 氏名 自治医科大学附属病院  
病院長 安田 是利  
住所 栃木県下野市薬師寺



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

<p>遺伝子組換え生物等の種類の名称</p>	<p>CD19 特異的キメラ抗原受容体を発現し、Gibbon ape 白血病ウイルスの Env タンパク質をエンベロープに持つ非増殖性の遺伝子組換えモロニーマウス白血病ウイルス (SFG-1928z)</p>
<p>遺伝子組換え生物等の第一種使用等の内容</p>	<p>治療施設におけるヒト遺伝子治療を目的とした使用、保管、運搬及び廃棄並びにこれらに付随する行為</p>
<p>遺伝子組換え生物等の第一種使用等の方法</p>	<p>治療施設の所在地：栃木県下野市薬師寺 3311-1 治療施設の名称：自治医科大学附属病院</p> <p>(1) SFG-1928z 溶液は、容器に密閉され、凍結状態で治療施設に輸送し、施設内の P2 レベルの実験室（以下「P2 実験室」という。）内の冷凍庫に保管する。</p> <p>(2) 凍結状態の SFG-1928z 溶液の融解、希釈及び分注操作は、P2 実験室内の安全キャビネット内又は P2 実験室内で閉鎖系にて行う。患者リンパ球への SFG-1928z 導入操作、SFG-1928z 導入細胞の培養その他の SFG-1928z 希釈溶液及び SFG-1928z 導入細胞の取扱いも同様に P2 実験室内の安全キャビネット内又は P2 実験室内で閉鎖系にて行う。SFG-1928z 希釈溶液及び SFG-1928z 導入細胞の保管は、P2 実験室内の冷蔵庫、冷凍庫又は培養器にて行う。なお、SFG-1928z 希釈溶液若しくはその冷凍品又は SFG-1928z 導入細胞を、開放系区域を通して他の P2 レベル区域に運搬する場合には、密閉した容器に入れ、容器の落下や破損を防止するために当該容器を箱等に入れ運搬する。</p> <p>(3) SFG-1928z 溶液（希釈液を含む。）又は SFG-1928z 導入細胞を廃棄する際には、ウイルス不活化（高圧蒸気滅菌処理、0.5% 次亜塩素酸ナトリウム溶液処理又は消毒用アルコール処理による。以下同じ。）を行った後、自治医科大学附属病院で定められた医療廃棄物管理規程（以下「医療廃棄物管理規程」という）に従い廃棄する。</p> <p>(4) 被験者に対する SFG-1928z 導入細胞の投与は、環境中への拡散防止措置を適切に執った陽圧でない個室（以下「個室」という）内において輸注により行う。なお、投与時に SFG-1928z 導入細胞に直接接触する注射針、注射器、チューブ等の器具は使い捨てとし、適切にウイルス不活化を実施した後、医療</p>



廃棄物管理規程に従い廃棄する。なお、これらのウイルス不活化を個室内以外の区域で行う場合には、二重に密閉した容器に入れて運搬する。

- (5) 投与後 3 日まで、被験者を個室内で管理する。検査等の理由で被験者が一時的に個室外の開放区域に出る場合には、マスク及びガウン着用等のウイルス漏出予防措置を義務付ける。
- (6) 個室内における管理期間中の被験者の血液及び体液は、その都度適切にウイルス不活化を行い、医療廃棄物管理規程に従い廃棄する。また、被験者の尿及び糞便等の排泄物は、投与翌日以降に行われる被験者の血液を用いたポリメラーゼ連鎖反応 (PCR) 法試験にて自律増殖能を獲得したレトロウイルス (以下「RCR」という) の存在が否定されるまで、適切にウイルス不活化を行い、医療廃棄物管理規程に従い廃棄する。なお、これらのウイルス不活化を個室内以外の区域で行う場合には、二重に密閉した容器に入れて運搬する。また、臨床検体として使用する被験者の排泄物等の取扱いは、SFG-1928z 溶液及び SFG-1928z 導入細胞の取扱いに準じる。
- (7) 個室内における管理期間中、被験者に対して侵襲的に使用した器具等及び被験者の排泄物等に接触した器具等は、適切にウイルス不活化を実施した後、医療廃棄物管理規程に従い廃棄又は十分に洗浄する。なお、これらのウイルス不活化又は洗浄を個室以外以外の区域で行う場合には、二重に密閉した容器に入れて運搬する。
- (8) 個室内における被験者の管理を解除する前に、RCR が被験者の末梢血単核球 (以下「PBMC」という。) 及び血漿において陰性であることを確認する。RCR が検出されたときは、個室における管理を継続する。
- (9) SFG-1928z 導入細胞を投与した 3 例の被験者において RCR が検出されなかった場合、それ以降の被験者については、個室における管理を行わない。
- (10) 個室における管理解除後又は上記 (9) に該当する場合に被験者の PBMC 又は血漿から RCR が検出された場合は、直ちに被験者を個室における管理下に移し、上記 (5) から (8) までと同様の措置を執る。

「CD19 特異的キメラ抗原受容体を発現し、  
Gibbon ape 白血病ウイルスの Env タンパク質を  
エンベロープに持つ非増殖性の遺伝子組換えモ  
ロニーマウス白血病ウイルス (SFG-1928z)」

生物多様性影響評価書

自治医科大学附属病院

## 生物多様性影響評価書

(区分：遺伝子治療臨床研究)

### I 宿主又は宿主の属する分類学上の種に関する情報

#### 1 分類学上の位置づけ及び自然環境における分布状況

SFG-1928z (以下、本遺伝子組換え生物という) は、ヒト CD8 $\alpha$  リーダーペプチド、ヒト CD19 特異的マウス一本鎖抗体 (scFv)、ヒト CD28 の一部、及びヒト CD3 $\zeta$  鎖の細胞内シグナル領域を結合させた CD19 特異的キメラ抗原受容体 (以下、1928z という) を発現し、Gibbon ape 白血病ウイルスの Env タンパク質をエンベロープに持つ非増殖性の遺伝子組換えモロニーマウス白血病ウイルスであり、増殖能欠損型レトロウイルスベクターである。本遺伝子組換え生物の宿主はモロニーマウス白血病ウイルス (Moloney murine leukemia virus: MoMLV) である。

レトロウイルス科はアルファ、ベータ、ガンマ、デルタ及びイプシロンレトロウイルス、レンチウイルス (いずれもオルソレトロウイルス亜科) 並びにスプーマウイルス (スプーマレトロウイルス亜科) の7つの属に分類される。マウス白血病ウイルス (Murine leukemia virus: MLV) はガンマレトロウイルス属に属する種である (文献1)。MLV は AKR や C58 系マウスの自然発症白血病の病原ウイルスとして発見された。MoMLV は、実験室内で MLV を継代することにより、病原性の高いウイルス株として Sarcoma 37 細胞から単離されたエコトピック (同種指向性) レトロウイルスである。MoMLV は発がん遺伝子を持たず、マウスの年齢及び系統にかかわらず感染し、長期間感染したマウスのほぼすべてがリンパ性白血病を発症することが報告されている (文献2)。MoMLV はマウスやラット等のげっ歯類にのみ感染し、ヒトを含む他の動物に対する感染性や病原性の報告はない。

文献1: ICTVdB - The Universal Virus Database, version 4.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/ICTVdb/ICTVdB/>

文献2: Moloney JB. Biological studies on a lymphoid-leukemia virus extracted from sarcoma 37. I. Origin and introductory investigations. J Natl Cancer Inst 24:933-951 (1960).

#### 2 使用等の歴史及び現状

レトロウイルスは、医学生物学領域において遺伝子導入ベクターとしての応用が最も早く進んだウイルスであり、米国で行われた遺伝子治療の最初の臨床例も組換えレトロウイルスを用いたものであった (文献3)。遺伝子治療/遺伝子マーキングの臨床プロトコールでは、組換えレトロウイルスを用いたものが 19.9% を占める (文献4)。レトロウイルスの中でも MoMLV は遺伝子導入用ベクターとして広く使われている。

文献3: Blaese RM, et al. T Lymphocyte-directed Gene Therapy for ADA-SCID: Initial Trial Results after 4 Years. Science 270:475-480 (1995).

文献4: <http://www.wiley.com/legacy/wileychi/genmed/clinical/> (Updated June 2012)

### 3 生理・生態学的特性

#### (1) 基本的特性 (文献5)

MoMLV 粒子は直径約 100 nm の球形の C 型粒子であり、ウイルスゲノムを内包するコアとそれを取り囲むエンベロープ(外被)からなる。コアは主としてカプシドタンパク質(CA)により構築されており、その中に2分子のRNAゲノムを有する。そのほか、逆転写酵素(RT)、インテグラーゼ(IN)、プロテアーゼ(PR)、核酸結合タンパク質(NC)もコア内部に存在する。コアの周囲にはウイルス産生細胞の細胞膜に由来する脂質二重膜のエンベロープが存在する。エンベロープとコアの間にはマトリックスタンパク質(MA)が存在する。エンベロープには膜貫通タンパク質(TM)が突き刺さっており、それに表面タンパク質(SU)が弱く結合している。SUとTMの複合体はウイルス粒子のエンベロープ上で多量体(おそらくは三量体)を形成する。

#### (2) 生息又は生育可能な環境の条件

他のウイルスと同様に、MoMLVは宿主細胞に感染した場合にのみ増殖が可能である(I-3-(4)「繁殖又は増殖の様式」参照)。レトロウイルスは比較的不安定なウイルスであり、体液中、培地中等の限られた環境中でしか感染性を保持できない。なお、ショ糖とゼラチンを添加して凍結乾燥を行うと安定に保存できるとの報告がある(文献6)。

#### (3) 捕食性又は寄生性

MoMLVはマウス及びラットの細胞に感染し、ウイルスゲノムは逆転写によりDNAに変換された後、細胞の染色体に組み込まれる(プロウイルス)。他の生物を捕食することはない。

#### (4) 繁殖又は増殖の様式

レトロウイルスはキャリアーである動物の血液中や体液中に存在し、他の個体がそれに接触することにより感染する。レトロウイルスが細胞に感染し増殖するときは、①吸着、②侵入、③逆転写、④宿主染色体への組み込み、⑤RNA合成、⑥タンパク質合成、⑦アセンブリー・放出、⑧成熟といった各段階を経る。一方、レトロウイルスのゲノム配列が生殖系細胞の染色体中にプロウイルスとして組み込まれている場合には、動物の繁殖によって子孫に受け継がれる。

野生型 MoMLV がヒト細胞に感染することはない。ヒト細胞に感染可能なエンベロープタンパク質(例えば、4070A アンフォトロピック Env タンパク質、gibbon ape leukemia virus (GaLV) Env タンパク質)を持つ MoMLV を人為的に作製した場合にはヒトへの感染が可能である。

#### (5) 病原性

MoMLV の病原性に関して、下記のことが報告されている。

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

#### (6) 有害物質の産生性

MoMLV が有害物質を産生することはない。また、MoMLV に感染したことにより細胞が有害物質の産生能を獲得するとの情報はない。

#### (7) その他の情報

##### 1) MoMLV の不活化条件

MoMLV と同じレトロウイルス科に属するヒト免疫不全ウイルス (HIV) の滅菌、消毒法として、①121℃、20 分間の高圧蒸気滅菌、②170℃、2 時間の乾熱滅菌、③20~30 分間の煮沸消毒、④有効塩素濃度 0.1~1.0%の次亜塩素酸ナトリウム、⑤70%エタノール又は70%イソプロピルアルコール、⑥3.5~4%ホルマリン又は⑦2%グルタラルが有効である (文献7)。また、10%及び 1%ポピドンヨード液 (文献8)、0.3%過酸化水素水 (文献9) で不活化が可能との報告がある。

紫外線及び熱による液体中の MoMLV 及び HIV の不活化を比較した研究によると (文献10)、MoMLV を 1/10 まで不活化するのに必要な紫外線照射量 ( $D_{10}$ ) は 2,800 erg/mm<sup>2</sup> であり、熱処理時間 ( $T_{10}$ ) は 50℃では 50 秒、55℃では 20 秒、70℃では 8 秒である。したがって、55℃、2 分間又は 70℃、50 秒間の熱処理により、MoMLV の感染価を 1/10<sup>6</sup> に低下させることができると考えられる。また、50℃における  $T_{10}$  が 80~90 秒であるとの報告もある (文献11)。

マウス由来のウイルス産生細胞により産生されたレトロウイルスベクターが仮にヒト体内に侵入したとしても、ヒト血清 (補体) により速やかに不活化される (文献12)。抗  $\alpha$ -galactosyl 自然抗体を有する旧世界ザル (文献13) の体内に侵入したときにも同様のメカニズムにより不活化される (文献14) と考えられる。

##### 2) MoMLV からの、増殖能欠損型レトロウイルスベクターの構築

本遺伝子組換え生物は MoMLV ベースの SFG ベクター由来の増殖能欠損型レトロウイルスベクターである。野生型 MoMLV のゲノムから gag-pol 遺伝子及び env 遺伝子のタンパク質

コード領域を欠失させ、残存する MoMLV の gag 配列は発現しないように塩基置換を行っている。1928z 遺伝子の転写は、5'-long terminal repeat (LTR) の U3 領域にあるエンハンサー及びプロモーターの制御下にある。ポリ A 付加シグナルは 3'-LTR の R 領域に存在する。加えて、ウイルス粒子へのゲノム RNA のパッケージングに必要な  $\Psi$ +パッケージングシグナル配列、レトロウイルススプライズドナー (SD) 配列及びスプライズアクセプター (SA) 配列を有する。1928z 遺伝子の開始コドンは MoMLV の env 遺伝子の開始コドンに相当する位置に挿入されている。

- 文献5：遺伝子治療開発研究ハンドブック 第3章、第2節、1.1 レトロウイルスの増殖サイクル (p. 322)
- 文献6：Levy JA, et al. Freeze-drying is an effective method for preserving infectious type C retroviruses. *J Virol Methods* 5:165-171 (1982).
- 文献7：日本ウイルス学会. ウイルス研究におけるバイオセーフティ指針. *ウイルス* 43:199-232 (1993).
- 文献8：加藤真吾, 他. プラーク法を用いた各種消毒剤による HIV-1 不活化の検討. *基礎と臨床* 30:3615-3620 (1996).
- 文献9：Martin LS, et al. Disinfection and inactivation of the human T lymphotropic virus type III/lymphadenopathy-associated virus. *J Infect Dis* 152:400-403 (1985).
- 文献10：Yoshikura H. Thermostability of human immunodeficiency virus-1 (HIV-1) in a liquid matrix is far higher than of an ecotropic murine leukemia virus. *Jpn J Cancer Res* 80:1-5 (1989).
- 文献11：Yoshikura H. Ultraviolet sensitivity of helper function of murine leukemia virus. *Arch Biochem Biophys* 154:76-83 (1973).
- 文献12：Takeuchi Y, et al. Type C retrovirus inactivation by human complement is determined by both the viral genome and the producer cell. *J Virol* 68:8001-8007 (1994).
- 文献13：Galili Uri, et al. Significance of  $\alpha$ -Gal (Gal  $\alpha$ 1-3Gal  $\beta$ 1-4GlcNAc-R) Epitopes and  $\alpha$ 1,3 Galactosyltransferase in Xenotransplantation. *Trends Glycosci Glycotechnol* 11:317-327 (1999).
- 文献14：Rother RP, et al. A novel mechanism of retrovirus inactivation in human serum mediated by anti- $\alpha$ -galactosyl natural antibody. *J Exp Med* 182:1345-1355 (1995).



## II 遺伝子組換え生物等の調製等に関する情報

### 1 供与核酸に関する情報

#### (1) 構成及び構成要素の由来

本遺伝子組換え生物のゲノムを構成する供与核酸は、ヒトCD8 $\alpha$ リーダーペプチドをコードする配列、ヒトCD19特異的マウス一本鎖抗体 (scFv) をコードする配列、ヒトCD28遺伝子の部分配列、ヒトCD3 $\zeta$ 鎖遺伝子の部分配列及び人工配列からなる1928z遺伝子である。本遺伝子組換え生物のゲノムの構成と、その配列をDNA配列に変換したものの制限酵素地図を別紙1に示す。また、供与核酸である1928z遺伝子の塩基配列及びコードするアミノ酸配列を別紙2に示す。

#### 1) ヒト CD8 $\alpha$ リーダーペプチドをコードする配列

ヒト CD8 $\alpha$  遺伝子 cDNA の 57 塩基対 (19 アミノ酸) から成る。

#### 2) ヒト CD19 特異的マウス一本鎖抗体 (scFv) をコードする配列

ヒト CD19 タンパク特異的抗体 (マウスモノクローナル抗体) 産生ハイブリドーマ SJ25C1 株の免疫グロブリン G1 H 鎖及び L 鎖の可変領域をコードする cDNA をクローニングして (Gly<sub>4</sub>Ser)<sub>3</sub> リンカーで結合した 732 塩基対 (244 アミノ酸) から成る。

#### 3) ヒト CD28 遺伝子の部分配列

ヒト CD28 遺伝子 cDNA のうち、細胞外領域の一部の 120 塩基対 (第 114 アミノ酸～第 153 アミノ酸)、膜貫通領域の 78 塩基対 (第 154 アミノ酸～第 179 アミノ酸) 及び細胞質シグナル伝達領域の 123 塩基対 (第 180 アミノ酸～第 220 アミノ酸) から成る。

#### 4) ヒト CD3 $\zeta$ 鎖遺伝子の部分配列

CD3 zeta isoform 2 遺伝子 cDNA の細胞内シグナル伝達ドメイン領域である第 52 アミノ酸から C 末端までの 163 アミノ酸をコードする 336 塩基対と終止コドンから成る。

#### 5) 人工配列

ヒト CD19 特異的マウス一本鎖抗体 (scFv) 遺伝子に含まれる (Gly<sub>4</sub>Ser)<sub>3</sub> リンカー領域をコードする配列、及びヒト CD19 特異抗体 VL 鎖領域配列とヒト CD28 細胞外領域の部分配列との間に位置する配列 (GCG GCC GCA) である (別紙 2 参照)。

#### (2) 構成要素の機能

供与核酸の機能は以下のとおりである。

#### 1) ヒト CD8 $\alpha$ リーダーペプチドをコードする配列

リーダーペプチドは、ヒト CD8 $\alpha$  の細胞膜表面への局在化に必要であり、シグナルペプチダーゼにより除去される。1928z 遺伝子産物においても同様の機能を有するが、除去されるか否かは不明である。

#### 2) ヒト CD19 特異的マウス一本鎖抗体 (scFv) をコードする配列

ヒト CD19 抗原分子を特異的に認識して結合する。CD19 は B 細胞系の正常細胞、並

びに非ホジキンリンパ腫、急性リンパ球性白血病（ALL）及び慢性リンパ球性白血病（CLL）を含む大部分の B 細胞リンパ腫細胞の表面に発現している。一方、その他の組織には発現していないことから、B 細胞系リンパ腫の標的分子になると考えられている（文献15）。

3) ヒト CD28 遺伝子の部分配列

T細胞の活性化及び増殖を促進する T細胞共刺激受容体であるヒト CD28 の細胞外ドメインの一部、膜貫通ドメイン及び細胞質シグナル伝達ドメインを含み、PI3K (Phosphoinositide 3-kinase) を介したシグナル伝達を担う。

4) ヒト CD3 $\zeta$  鎖遺伝子の部分配列

細胞質シグナル伝達ドメインであるヒト CD3 $\zeta$  鎖の 3 個の ITAM (immunoreceptor tyrosine-based activation motif) 領域を含み、ZAP70 (Zeta-chain-associated protein kinase 70) を介したシグナル伝達を担う。

5) 人工配列

スペーサーである (Gly<sub>4</sub>Ser)<sub>3</sub> のアミノ酸配列をコードし、BstEII および BglIII 制限部位を介して免疫グロブリン G1 H 鎖と L 鎖の可変領域を連結しているが、本遺伝子組換え生物の生物学的機能には影響を及ぼさないと考えられる。また、配列 (GCG GCC GCA) はキメラ遺伝子を構築するために付加した制限酵素 NotI の認識部位である。

なお、目的とする機能的なヒト CD19 特異的キメラ抗原受容体は、上記のヒト CD19 特異的マウス scFv、ヒト CD28 の部分配列、ヒト CD3 $\zeta$  鎖の細胞内領域及び人工配列から成る発現産物 1928z のホモダイマーにより構成され、標的抗原である CD19 を発現している細胞に対して、HLA 非依存的かつ特異的に細胞傷害活性を示す。

文献15: FM Uckun, et al. Detailed studies on expression and function of CD19 surface determinant by using B43 monoclonal antibody and the clinical potential of anti-CD19 immunotoxins. Blood 71:13-29, 1988.

2 ベクターに関する情報

(空欄)

3 遺伝子組換え生物等の調製方法

(1) 宿主内に移入された核酸全体の構成

本遺伝子組換え生物のゲノムの構成と制限酵素地図を別紙 1 に示す。本遺伝子組換え生物のゲノムの構成成分は、5' 末端側から順に、5'-LTR、 $\Psi$ 、1928z 遺伝子及び 3'-LTR である (別紙 1 を参照)。

## (2) 宿主内に移入された核酸の移入方法

本遺伝子組換え生物は、パッケージング細胞の染色体にプロウイルス配列が挿入された SFG-1928z 産生細胞から産生される。本遺伝子組換え生物のプロウイルス DNA (SFG-1928z DNA) を挿入したプラスミドである pSFG-1928z は、標準的な遺伝子工学的手法を用いて構築された (別紙 3)。

## (3) 遺伝子組換え生物等の育成の経過

### 1) パッケージング細胞株

pSFG-1928z は、ウイルス粒子形成に必須な gag-pol 遺伝子及び env 遺伝子を欠いているため、この DNA 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。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。本遺伝子組換え生物の産生に使用するパッケージング細胞株は、マウス線維芽細胞由来の PG13 (ATCC No. CRL-10686) (文献16)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 (1 つは gag-pol 遺伝子、もう 1 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、この第 3 世代のパッケージング細胞を使用した場合には RCR 出現のリスクが極めて少ないことが知られている。

### 2) ウイルス産生細胞株の作製

パッケージング細胞株 Phoenix-eco に pSFG-1928z をトランスフェクションし、培養上清が回収された。この培養上清には、一過性に産生された、パッケージング細胞 PG13 に効率よく感染する組換えレトロウイルス ecotropic Phoenix-eco/1928z が含まれる。回収した上清をパッケージング細胞株 PG13 に感染させることにより、本遺伝子組換え生物の安定な産生細胞が構築された。この細胞を限界希釈培養してサブクローニングを行った。得られたクローンについてウイルスタイター測定 (宿主細胞に Hela 細胞を用いた感染測定) を行い、抗 1928z 抗体を用いたフローサイトメトリー解析により最も力価の高いクローン PG13-1928z clone34 を得た。PG13/1928z clone34 をさらに限界希釈培養してサブクローニングを行い、PG13/1928z clone3 を選択した。これをマスターセルバンク (MCB) 用シードセルとし、マイコプラズマ試験、無菌試験及び RCR 試験を実施した。MCB 用シードセルを培養して MCB を作製し、更に、MCB を培養してワーキングセルバンク (WCB) を作製した。セルバンクの作製のフローチャートを別紙 4 に、MCB 及び WCB の品質試験結果を別紙 5 に示す。なお、MCB は国際共同研究施設である米国メモリアル・スローン・ケタリング癌センター (Memorial Sloan-Kettering Cancer Center: MSKCC) で、WCB はタカラバイオ株式会社草津事業所 (滋賀県草津市野路東七丁目 2 番 62 号) の細胞・遺伝子治療センターにて製造された。

### 3) 本遺伝子組換え生物の製造

本遺伝子組換え生物の製造は、タカラバイオ株式会社草津事業所の細胞・遺伝子治療センターの管理された製造エリアにて GMP 遵守下で行われる。

WCB を解凍後、拡大培養及び生産培養を行うことにより本遺伝子組換え生物を含む培養上清を得る。これを無菌ろ過した後、小分け分注を行い、使用時まで凍結保存する。本遺伝子組換え生物の製造方法のフローチャートを別紙 6 に示す。こうして製造された本遺伝子組換え生物の各ロットについて品質試験を行う（別紙 7）。

文献16：Miller AD, et al. Construction and properties of retrovirus packaging cells based on gibbon ape leukemia virus. J Virol 65:2220-2224 (1991).

#### 4 移入した核酸の存在状態及び当該核酸による形質発現の安定性

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

本遺伝子組換え生物が細胞に感染すると、移入した核酸を含むウイルスゲノム RNA は逆転写され、プロウイルスとして細胞染色体に組み込まれる。プロウイルスは細胞染色体の複製に伴って複製されるので、移入された核酸は細胞が生きているかぎり安定に保持される。

1928z 遺伝子は MoMLV 由来 LTR の U3 領域により転写される。プロモーターは持続的に機能するので、遺伝子の発現は構成的である。

本遺伝子組換え生物を製造する際に、ウイルス産生細胞の細胞内で本遺伝子組換え生物のゲノム、gag-pol 遺伝子断片及び env 遺伝子断片が相同組換えを起こし、RCR が出現する可能性がある。RCR の出現機構から、その大部分は gag-pol 遺伝子及び env 遺伝子を持ち、1928z 遺伝子を持たないものである。しかし、1928z 遺伝子を持つ RCR の出現する可能性は否定できない。なお、これらの RCR は遺伝子組換え生物等に該当する。

#### 5 遺伝子組換え生物等の検出及び識別の方法並びにそれらの感度及び信頼性

##### 1) SFG-1928z の検出方法

本遺伝子組換え生物は、宿主である MoMLV にはない 1928z 遺伝子を持つので、これらの遺伝子のいずれかを RT-PCR 法で増幅することにより本遺伝子組換え生物の検出が可能である。

##### 2) SFG-1928z により遺伝子導入された細胞の検出方法

細胞から調製したゲノム DNA を鋳型に、パッケージングシグナルに相当する配列をリアルタイム PCR で定量することにより検出可能である。

##### 3) RCR の検出方法

###### ①293 細胞増幅法

293 細胞に検体を添加し、5 回の継代培養を行う。この培養上清を PG-4 細胞に接種し、S+L-アッセイを行う。この方法は増殖能を持つレトロウイルスを検出する方法であり、本遺伝子組換え生物に由来する RCR を特異的に検出するものではない。検出感度は 1 RCR/

接種物であることを確認している。100 mL あたり 1 RCR が含まれる検体から 300 mL の被検試料をサンプリングして接種した場合、95%の確率で被検試料中に RCR が含まれ、検出される。

#### ②RT-PCR 法

被検試料から RNA を調製し、GaLV env 遺伝子に特異的なプライマーを用いて RT-PCR を行った後、アガロースゲル電気泳動を行って増幅産物を検出する。本試験により、末梢血リンパ球中に  $10^{-5}$ ~ $10^{-4}$  の割合で混入した陽性細胞を検出できることを確認している。

### 6 宿主又は宿主の属する分類学上の種との相違

宿主である MoMLV と本遺伝子組換え生物の間には以下の相違点がある。

・本遺伝子組換え生物は gag-pol 遺伝子及び env 遺伝子を欠損しているため、本遺伝子組換え生物が感染した通常の細胞はウイルス粒子形成に必要なタンパク質を合成できない。したがって、本遺伝子組換え生物は gag-pol 遺伝子及び env 遺伝子を発現する細胞においてのみ増殖できる。

・本遺伝子組換え生物は 1928z 遺伝子を持つ。したがって、本遺伝子組換え生物が感染した細胞は 1928z を発現する。

・MoMLV がマウス、ラット等のげっ歯類にだけ感染しうるのに対して、GaLV はラット、ハムスター、ウサギ、ミンク、ウシ、ネコ、イヌ、サル、ヒト及びニワトリの細胞に感染するとの報告がある（文献17）。本遺伝子組換え生物はウイルス粒子表面に GaLV Env タンパク質を持つ。したがって、本遺伝子組換え生物はヒト、サル、イヌ等、幅広い動物種の細胞に本遺伝子組換え生物の核酸を伝達しうる。

本遺伝子組換え生物が自立的増殖能を欠損し、幅広い哺乳動物の細胞に感染する点を除いて、ウイルスとしての性質は宿主と同等である。

本遺伝子組換え生物由来の RCR が感染可能な生物種は宿主である MoMLV のそれと異なっているものの、感染様式、病原性及び挿入変異の可能性などの、生物多様性に影響を及ぼす程度に大きな違いはないと考えられる。

文献17 : Miller AD. Cell-surface receptors for retroviruses and implications for gene transfer. Proc Natl Acad Sci USA 93:11407-11413 (1996).

### III 遺伝子組換え生物等の使用等に関する情報

#### 1 使用等の内容

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

## 2 使用等の方法

治療施設の所在地 栃木県下野市薬師寺 3311-1

治療施設の名称 自治医科大学附属病院

- (1) SFG-1928z 溶液は、容器に密閉され、凍結状態で治療施設に輸送し、施設内の P2 レベルの実験室（以下「P2 実験室」という。）内の冷凍庫に保管する。
- (2) 凍結状態の SFG-1928z 溶液の融解、希釈及び分注操作は、P2 実験室内の安全キャビネット内又は P2 実験室内で閉鎖系にて行う。患者リンパ球への SFG-1928z 導入操作、SFG-1928z 導入細胞の培養その他の SFG-1928z 希釈溶液及び SFG-1928z 導入細胞の取扱いも同様に P2 実験室内の安全キャビネット内又は P2 実験室内で閉鎖系にて行う。SFG-1928z 希釈溶液及び SFG-1928z 導入細胞の保管は、P2 実験室内の冷蔵庫、冷凍庫又は培養器にて行う。なお、SFG-1928z 希釈溶液若しくはその凍結品又は SFG-1928z 導入細胞を、開放系区域を通して他の P2 レベル区域に運搬する場合には、密閉した容器に入れ、容器の落下や破損を防止するために当該容器を箱等に入れ運搬する。
- (3) SFG-1928z 溶液（希釈溶液を含む。）又は SFG-1928z 導入細胞を廃棄する際には、ウイルス不活化（高圧蒸気滅菌処理、0.5%次亜塩素酸ナトリウム溶液への浸漬処理又は消毒用アルコール処理による。以下同じ。）を行った後、自治医科大学附属病院で定められた医療廃棄物管理規程（以下「医療廃棄物管理規程」という。）に従い廃棄する。
- (4) 被験者に対する SFG-1928z 導入細胞の投与は、環境中への拡散防止措置を適切に執った個室（以下「個室」という。）内において輸注により行う。なお、投与時に SFG-1928z 導入細胞に直接接触する注射針、注射器、チューブ等の器具は使い捨てとし、適切にウイルス不活化を実施した後、医療廃棄物管理規程に従い廃棄する。なお、これらのウイルス不活化を個室外の区域で行う場合には、二重に密閉した容器に入れて運搬する。
- (5) 投与後 3 日まで、被験者を個室で管理する。検査等の理由で被験者が一時的に個室外の開放区域に出る場合には、マスク及びガウン着用等のウイルス漏出予防措置を義務付ける。
- (6) 個室における管理期間中の被験者の血液及び体液は、その都度適切にウイルス不活化を行い、医療廃棄物管理規程に従い廃棄する。また、被験者の尿及び糞便等の排泄物は、投与翌日以降に行われる被験者の血液を用いたポリメラーゼ連鎖反応法試験にて自律増殖能を獲得したレトロウイルス（以下「RCR」という。）の存在が否定されるまで、適切にウイルス不活化を行い、医療廃棄物管理規程に従い廃棄する。なお、これらのウイルス不活化を個室外の区域で行う場合には、二重に密閉した容器に入れて運搬する。また、臨床検体として使用する被験者の排泄物等の取扱いは、

SFG-1928z 溶液及び SFG-1928z 導入細胞の取扱いに準ずる。

- (7) 個室内における管理期間中、被験者に対して侵襲的に使用した器具等及び被験者の排泄物等に接触した器具等は、適切にウイルス不活化を実施した後、医療廃棄物管理規程に従い廃棄又は十分に洗浄する。なお、これらのウイルス不活化又は洗浄を個室外の区域で行う場合には、二重に密閉した容器に入れて運搬する。
- (8) 個室内における被験者の管理を解除する前に、RCR が被験者の末梢血単核球（以下「PBMC」という。）及び血漿において陰性であることを確認する。RCR が検出されたときは、個室内における管理を継続する。
- (9) SFG-1928z 導入細胞を投与した 3 例の被験者において RCR が検出されなかった場合、それ以降の被験者については、個室内における管理を行わない。
- (10) 個室内における管理解除後又は上記 (9) に該当する場合に、被験者の PBMC 又は血漿から RCR が検出された場合は、直ちに被験者を個室内における管理下に移し、上記(5)から(8)までと同様の措置を執る。

別紙 8：治療施設の地図及び見取り図

別紙 9：自治医科大学附属病院医療廃棄物管理規程

### 3 承認を受けようとする者による第一種使用等の開始後における情報収集の方法

遺伝子導入細胞を患者に投与した後、患者の PBMC 及び血漿を試料として、GalV env 遺伝子に対する RT-PCR 法により RCR のモニタリングを実施する。RCR のモニタリングは、個室における管理解除前もしくは投与 2 日後、投与 28±1 日後及び 84±2 日後並びに投与 15 年後まで 1 年ごとに実施する。

### 4 生物多様性影響が生じるおそれのある場合における生物多様性影響を防止するための措置

本遺伝子組換え生物を用いた遺伝子導入細胞は、P2 レベルの実験室において、第一種使用規程に従い調製される。本遺伝子組換え生物が細胞調製室の床等に漏出した場合には、ただちにペーパータオル、布等で拭き取る。拭き取った後は、消毒用エタノールを当該箇所が完全に覆われるまで噴霧して 1 分以上放置し、ペーパータオル、布等で拭き取ることにより本遺伝子組換え生物を不活化する。当該ペーパータオル、布等は 121℃、20 分間以上オートクレーブにより滅菌した後、廃棄する。以上により、本遺伝子組換え生物が環境中に漏出して生物多様性影響が生じることはないと考えられる。

個室における管理解除後の患者の PBMC 又は血漿において RCR が検出された場合には、第一種使用規程に従い患者を直ちに個室における管理下に移すとともに、血液及び体液の消毒等、第一種使用規程に定められた措置を執る。

## 5 実験室等での使用又は第一種使用等が予定されている環境と類似の環境での使用等の結果

### (1) 本遺伝子組換え生物の産生細胞及び最終製品の RCR 試験

本遺伝子組換え生物産生細胞の MCB、本遺伝子組換え生物最終製品及び end of production cell (EPC) について品質試験を実施した。その結果、いずれも RCR 陰性であった (別紙5、別紙7)。

### (2) 遺伝子導入リンパ球の RCR 試験

本遺伝子組換え生物を用いて健常人由来 PBMC に遺伝子導入を行い、10日間培養した遺伝子導入細胞について品質試験を実施した。その結果、RCR 陰性であった (別紙10)。

### (3) 遺伝子導入リンパ球の毒性

MSKCC の Brenjents らのグループによる、CLL 患者8名および ALL 患者1名に対して本遺伝子組換え生物と同一の組換えレトロウイルスにて 1928z 遺伝子を導入した患者自己リンパ球を輸注する臨床試験において、CLL 患者3名に発熱性好中球減少症、並びに ALL 患者1名に好中球減少及び低血圧の有害事象が認められた (文献18, 19)。Rosenberg らによる、CLL 患者4名及び濾胞性リンパ腫患者4名に対して組換えレトロウイルスを用いて CD19 特異的 CAR 遺伝子を導入した患者自己リンパ球を輸注する臨床試験において、8名中4名でB細胞の消失が認められ、IFN- $\gamma$  及び TNF の炎症性サイトカインの増加による急性腎不全や毛細血管漏出症候群等の有害事象が認められた (文献20)。

### (4) 本遺伝子組換え生物がヒトに投与され、感染する可能性

遺伝子治療用の遺伝子導入細胞を調製する際には、本遺伝子組換え生物を固相化したバッグ内で PBMC に遺伝子導入を行い、培養後に細胞を濃縮・洗浄する。このため、細胞調製に使用される本遺伝子組換え生物のほとんどは患者に投与される細胞懸濁液から除去されるが、本遺伝子組換え生物がわずかに残存して患者に投与される可能性がある。しかし、マウス由来の産生細胞により製造された本遺伝子組換え生物は、ヒト血清 (補体) により速やかに不活化され、患者体内で遺伝子導入が起きる可能性は低いと考えられる。

文献18 : Brentjens RJ et al. Safety and persistence of adoptively transferred autologous CD19-targeted T cells in patients with relapsed or chemotherapy refractory B-cell leukemias. *Blood* 118:4817-4828, 2011.

文献19 : Brentjens RJ et al. Treatment of chronic lymphocytic leukemia with genetically targeted autologous T cells: Case report of an unforeseen adverse event in a phase I clinical trial. *Mol Ther* 18(4): 666-668, 2010.

文献20 : Kochenderfer JN, Dudley ME, Feldman SA et al. B-cell depletion and remissions of malignancy along with cytokine-associated toxicity in a clinical trial of anti-CD19 chimeric-antigen-receptor-transduced T cells. *Blood* 119(2):2709-2720, 2012.



## 6 国外における使用等により得られた情報

Brentjens らのグループは、本遺伝子組換え生物と同一の組換えレトロウイルスを用いた臨床試験を行った。評価可能な CLL 患者 4 例中 3 例で治療反応が認められたが、別の 1 例は CAR 発現 T 細胞輸注 2 日後にサイトカインストームを伴う敗血症様の反応により死亡した。その後は、輸中 T リンパ球数を減らし、かつ 2 回に分割投与する事で安全に治療を遂行できている (文献 18、19)。

CD19 を標的とするキメラ抗原受容体 (CAR) 遺伝子導入 T 細胞による遺伝子治療は、米国において、既に多くの施設で実施されている (文献 21)。Rosenberg らのグループが ERBB2 をターゲットとした第 3 世代の CAR 遺伝子治療の臨床試験を実施しており、そこで初めて遺伝子導入 T リンパ球が原因の死亡例が発生している。Target として用いた ERBB2 が正常肺細胞にも発現していた為、大量に投与した遺伝子導入細胞が正常肺細胞に結合し、IFN- $\gamma$  や TNF- $\alpha$  などの炎症性サイトカインが大量に放出されるサイトカインストームがおき、多臓器不全になったと考察されている。従って、今後 First-in-man の試験時には、細胞投与数を厳密に考える必要があると結論付けられている (文献 22)。なお、国内において、ヒトに対する本遺伝子組換え生物の使用経験はない。

文献21 : Cooper L et al. Good T cells for bad B cells, Blood 119: 2700-2702, 2012.

文献22 : Morgan RA, et al. Case report of a serious adverse event following the administration of T cells transduced with a chimeric antigen receptor recognizing ERBB2. Mol Ther 18(4):843-851, 2010.

## IV 生物多様性影響評価

### 1 他の微生物を減少させる性質

#### (1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定

本遺伝子組換え生物及び RCR は GaLV Env タンパク質を持つので、広範囲の動物に感染しうるが、微生物への感染性は知られていない。したがって、影響を受ける可能性のある微生物は特定されなかった。

#### (2) 影響の具体的内容の評価

該当せず。

#### (3) 影響の生じやすさの評価

該当せず。

#### (4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断

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

## 2 病原性

### (1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定

本遺伝子組換え生物及び RCR は GaLV Env タンパク質を持つので、患者体外に排出された場合には野生型 GaLV と同様、ラット、ハムスター、ウサギ、ミンク、ウシ、ネコ、イヌ、サル、ヒト及びニワトリを含む広範囲の動物に感染しうる。したがって、これらの生物種は本遺伝子組換え生物の核酸を伝達されることにより影響を受ける可能性がある。

### (2) 影響の具体的内容の評価

本遺伝子組換え生物はヒト、イヌ、サル等の細胞への挿入変異によってがん化を引き起こす可能性がある。マウス、ラットに対する病原性は宿主と同等であると考えられる。

本遺伝子組換え生物からの発現産物である 1928z が T リンパ球において発現した場合、この T リンパ球は CD19 発現細胞特異的な細胞傷害活性を獲得するため、CD19 を発現する B 細胞系腫瘍細胞のみならず正常の B 細胞をも傷害する。したがって、B 細胞の減少に伴う抗体産生機能の低下等により免疫機能が低下する可能性がある。

### (3) 影響の生じやすさの評価

第一種使用規程承認申請書に記載した遺伝子組換え生物等の第一種使用等の方法によるかぎり、本遺伝子組換え生物が患者 T リンパ球とともに患者に投与されることによって当該施設外に出る可能性は極めて低く、出たとしてもごく微量である。また、マウス由来の産生細胞により産生された本遺伝子組換え生物はヒト血清により速やかに不活化される（文献 12）。さらに、本遺伝子組換え生物は増殖能を欠損しているため、通常の細胞に感染してもウイルス粒子を産生することはない。

一方、本遺伝子組換え生物の製造工程中出现した RCR が患者 T リンパ球に混入して患者に輸注された場合には患者体内で RCR が産生される可能性がある。しかし、本遺伝子組換え生物は RCR 出現の可能性が極めて低い第 3 世代のパッケージング細胞を使用して製造されているうえに、本遺伝子組換え生物の最終製品及び遺伝子導入細胞の RCR 陰性を確認してから使用するので、患者体内に RCR が侵入する可能性は極めて低い。また、RCR 試験で検出されなかった RCR が万一患者体内に侵入したとしても、第一種使用規程承認申請書に記載した遺伝子組換え生物等の第一種使用等の方法によるかぎり、RCR が環境中に放出される可能性は極めて低い。

(4) 生物多様性影響が生ずる可能性の有無等の判断

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

3 有害物質の産生性

(1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定

本遺伝子組換え生物が有害物質を直接に産生することはなく、本遺伝子組換え生物により遺伝子導入された細胞が有害物質の産生能を獲得するとの情報はない。したがって、影響を受ける可能性のある野生動植物等は特定されなかった。

(2) 影響の具体的内容の評価

該当せず。

(3) 影響の生じやすさの評価

該当せず。

(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断

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

4 核酸を水平伝達する性質

(1) 影響を受ける可能性のある野生動植物の特定

本遺伝子組換え生物及び RCR は GaLV Env タンパク質を持つので、患者体外に排出された場合には野生型 GaLV と同様、ラット、ハムスター、ウサギ、ミンク、ウシ、ネコ、イヌ、サル、ヒト及びニワトリを含む広範囲の動物に感染しうる。したがって、これらの生物種は本遺伝子組換え生物の核酸を伝達されることにより影響を受ける可能性がある。

(2) 影響の具体的内容の評価

本遺伝子組換え生物又は RCR によってこれらの遺伝子組換え生物の核酸が野生動物のゲノム中に組み込まれる可能性がある。

(3) 影響の生じやすさの評価

第一種使用規程承認申請書に記載した遺伝子組換え生物等の第一種使用等の方法によるかぎり、本遺伝子組換え生物が患者 T リンパ球とともに患者に投与されることによって当該施設外に出たとしてもごく微量である。ごく微量の本遺伝子組換え生物によって野生

動物に核酸が伝達される可能性は非常に低い。

遺伝子組換え生物等に該当する RCR が多量に出現した場合には、血液、体液等を通じて他の個体に RCR が感染し、その核酸が伝達される可能性が否定できないが、RCR 出現の可能性は極めて低い。

(4) 生物多様性影響が生ずる可能性の有無

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

## 5 その他の性質

### 核酸を垂直伝達する性質

本遺伝子組換え生物が感染可能な野生動物等の生殖系細胞のゲノム中に組み込まれて、核酸を垂直伝達する可能性は完全には否定できない。しかし、第一種使用規程承認申請書に記載した遺伝子組換え生物等の第一種使用等の方法によるかぎり、本遺伝子組換え生物によりその核酸が野生動物に伝達される可能性は非常に低い。RCR が出現しないかぎり、本遺伝子組換え生物の核酸が伝達される細胞は本遺伝子組換え生物が最初に感染した細胞に限られ、その細胞が生殖系細胞である確率は低いと考えられる。また、RCR が出現する可能性は極めて低い。以上から、本遺伝子組換え生物又は RCR の核酸が生殖系細胞に伝達される可能性は極めて低い。よって、核酸を垂直伝達する性質について、第一種使用規程承認申請書に記載した遺伝子組換え生物等の第一種使用等の方法によるかぎり、生物多様性影響が生ずるおそれはないと判断される。

## V 総合的評価

本遺伝子組換え生物が感染する動物種は GaLV Env タンパク質によって規定されるため、げっ歯類及びヒトを含む広範囲の動物であり、野生型 GaLV と同じである。自然界で植物及び微生物に感染することはないと考えられる。

第一種使用規程承認申請書に記載した遺伝子組換え生物等の第一種使用等の方法によるかぎり、本遺伝子組換え生物の環境中への拡散は極力抑えられており、拡散したとしても、その量は検出レベル以下であると推定される。導入された SFG-1928z 遺伝子が発現することにより、本遺伝子組換え生物がヒトに病原性を示す可能性は非常に低い。さらに、本遺伝子組換え生物は増殖能を欠損しているため、MLV の感染等により gag、pol 及び env 遺伝子を発現している細胞に感染した場合を除いて増殖することはない。MLV に感染しているマウスに本遺伝子組換え生物が感染すれば、MLV がヘルパーとなって増殖する可能性がある。しかしその場合でも、MoMLV は血液を介してのみ感染するので、本遺伝子組換え

生物の感染が他個体に広がる可能性はほとんどない。ヘルパーを必要とする本遺伝子組換え生物が野生型 MoMLV と同等に増殖することはないので、やがて環境中から消滅すると考えられる。

環境中でマウスに感染し、MLV ゲノムとの相同組換えによって RCR が出現する可能性や、当該第一種使用によって極めて微量の本遺伝子組換え生物由来 RCR が環境中に放出される可能性は完全には否定できないが、RCR の感染性、増殖性、病原性及び核酸を水平伝達する性質は MLV と同等である。ヒトに MLV が感染しても病原性は報告されておらず、RCR がヒト体内に侵入しても、血清中の補体により急速に失活することを考慮すると、ヒト及び他の哺乳動物、植物並びに微生物に新たな影響を与えることはないと考えられる。

したがって、第一種使用規程承認申請書に記載した遺伝子組換え生物等の第一種使用等の方法によるかぎり、本遺伝子組換え生物による生物多様性影響が生ずるおそれはないと判断される。

厚生科学審議会科学技術部会  
遺伝子治療臨床研究に関する審査委員会 委員名簿

氏名	所属
荒戸 照世	北海道大学大学院 医学研究科教授
岩崎 一弘	内閣府 政策統括官付参事官
小野寺 雅史	国立成育医療研究センター研究所 成育遺伝研究部長
神田 忠仁	理化学研究所 新興・再興感染症研究ネットワーク推進センター 業務展開チーム チームリーダー
斎藤 泉	東京大学医科学研究所 遺伝子解析施設教授
竹内 隆正	国立感染症研究所 病原体ゲノム解析研究センター 主任研究官
谷 憲三朗	九州大学生体防御医学研究所 所長
中西 真人	産業技術総合研究所 幹細胞工学研究センター 副研究センター長
那須 保友	岡山大学病院 新医療研究開発センター教授
水口 裕之	大阪大学大学院 薬学研究科分子生物学分野教授
三宅 弘一	日本医科大学 医学部准教授
○ 山口 照英	国立医薬品食品衛生研究所 生物薬品部研究員

○：委員長（五十音順 敬称略）