

## 自治医科大学附属病院の 遺伝子治療臨床研究実施計画について

- 遺伝子治療臨床研究実施計画に係る意見について .....P 1  
(パーキンソン病遺伝子治療臨床研究作業委員会)
- パーキンソン病遺伝子治療臨床研究作業委員会委員名簿 .....P 7
- 遺伝子治療臨床研究実施計画申請書及び概要書（改訂後） .....P 9
- 遺伝子治療臨床研究実施計画（改訂後） .....P31
- 資料2：Modified Hoehn & Yahr 重症度、UPDRS、MMSE、GDS ...P97
- 遺伝子治療臨床研究のための説明と同意 .....P109  
(資料3 臨床研究「パーキンソン病遺伝子治療」参加のしおり<改訂後>)
- 資料6：評価スケジュール .....P138

### (参考資料)

- 我が国で実施されている遺伝子治療臨床研究の一覧 .....P140
- 「遺伝子治療臨床研究に関する指針」に基づく審査の流れ .....P141
- 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) .....P142



平成 18 年 9 月 29 日

## 自治医科大学附属病院から申請のあった遺伝子治療臨床研究実施計画に係る意見について

パーキンソン病遺伝子治療  
臨床研究作業委員会  
委員長 笹月 健彦

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

### 記

1. AADC 発現 AAV ベクター線条体内投与による進行期パーキンソン病遺伝子治療の臨床研究  
申請者：自治医科大学附属病院 病院長 島田 和幸  
(申請時：布施 勝生)  
申請日：平成 18 年 1 月 25 日

## 1. 遺伝子治療臨床研究実施計画の概要

(1) 研究課題名： AADC 発現 AAV ベクター線条体内投与による進行期パーキンソン病遺伝子治療の臨床研究

(2) 申請年月日： 平成 18 年 1 月 25 日

(3) 実施施設： 自治医科大学附属病院  
代表者： 病院長 島田 和幸（申請時：布施 勝生）

(4) 総括責任者： 自治医科大学 医学部 神経内科学教室  
教授 中野 今治

(5) 対象疾患： 進行期パーキンソン病  
導入遺伝子： ヒト芳香族 L-アミノ酸脱炭酸酵素（hAADC）遺伝子  
ベクターの種類： 非増殖性アデノ随伴ウイルス 2 型（AAV2）ベクター  
用法・用量：  $3 \times 10^{11}$  vector genome (vg)（第 1 群）又は  $9 \times 10^{11}$  vg（第 2 群）  
を線条体内に定位脳手術的に注入

研究実施期間： 厚生労働大臣の承認後、自治医科大学病院附属病院長による開始承認の日から、最終登録症例にベクターを投与した時点の 9 カ月後まで  
（但し、各症例に対して、ベクター投与 5 年後までは有効性・安全性に関する一定の評価を行い、さらに同 10 年後までは安全性に関する追跡調査を行うものとする。）

目標症例数： 6 例（各用量群 3 例）  
（但し、副作用が発生した場合には、必要に応じてその用量群の症例数を増やし、安全性の評価を強化する。）

### (6) 研究の概略：

本研究は、進行したパーキンソン病患者の線条体に、hAADC 遺伝子を組み込んだ非増殖性 AAV2 ベクターを定位脳手術的に注入し、その安全性を検証することを第 1 の目的とする。併せて、経口投与する L-ドーパによってドパミン産生を促し、パーキンソン症状を改善する効果についても評価する（第 I/II 相臨床研究）。

### (7) その他（外国での状況等）：

わが国においては、パーキンソン病を対象とした遺伝子治療及び AAV2 ベクターを含むアデノ随伴ウイルス 2 型ベクターを用いた遺伝子治療はこれまで実施されていない。パーキンソン病を対象として、同一のベクターを用いる等、本臨床研究とほぼ共通の実施計画による第 I 相遺伝子治療臨床研究が米国カリフォルニア大学サンフランシスコ校（UCSF）で平成 16 年から実施されている。この UCSF の臨床研究では低・中・高

の3用量群が設定されているが、本臨床研究ではUCSFでの中・高用量に相当する用量で検討を行う。平成18年4月の時点で、UCSFでは低用量群の3名にベクターの投与が行われ、少なくとも投与後6カ月まで、投与部位でのhAADC発現が確認され、かつ患者日記による評価でも症状の改善がみられているとの報告がなされている。また、重篤な副作用は今のところみられていないとのことである。

野生型AAV2の病原性は知られていない。また、上記UCSFでの臨床研究も含めた非増殖性AAV2ベクターを用いた外国の遺伝子治療臨床研究において、AAV2ベクターによる重篤な副作用は報告されていない。

## 2. パーキンソン病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18年3月22日(月) 15:00~17:00

② 議事概要：

平成18年1月25日付けで自治医科大学附属病院から申請のあった遺伝子治療臨床研究実施計画（対象疾患：進行期パーキンソン病）について第1回の審議を行った。

まず、研究実施計画について同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の審議を行った。

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) 本ベクターの有効性及び安全性に関して、UCSF又は米国Avigen社で実施されたサルでの研究成績について、論文等資料を申請資料として提出すること。
- 2) AAV2ベクター全般の臨床的安全性に関して、海外で実施された同ベクターを用いた遺伝子治療臨床研究の公表成績に基づき、各臨床研究における投与量・投与経路・投与部位や安全性評価／観察期間等のプロトコルの違いにも留意しながら、詳細かつ具体的に説明すること。
- 3) 本臨床研究は、安全性を主要評価項目、有効性を副次的評価項目とするオープン試験として実施すること。それに伴い、各群の例数及び第3群の用量を適切に見直すこと。また、副作用発現時に各群の症例数を増やす必要性についても検討すること。
- 4) 本臨床研究の有効性及び安全性の判定に関して、第三者が入る判定グループを組織して判定の客観性を確保すること。さらに、次の増量群に移行するタイ

ミング及び移行を妥当とする判定基準について、実施計画書中で明確に規定すること。

- 5) 患者への説明及び同意取得については、客観性を確保するために第三者に依頼すること。
- 6) AAV ベクターが生殖細胞等の標的以外の非特異的な臓器に導入されて長期的な影響が起きるリスクを考慮し、本臨床研究では生殖年齢が過ぎた者を対象とすること。
- 7) 本臨床研究の実施により副作用が生じた際の補償に関して、6 カ月という補償期間の設定が適切であるかさらなる検討を図ること。

## 2) 第2回審議

① 開催日時： 平成 18 年 8 月 4 日(金) 15:00～17:00

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、自治医科大学附属病院から回答書及び追加資料が提出されたことを受けて、再度審議を行った。

まず、回答書及び追加資料について同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、同意説明文書中の記載や米国で実施中の類似の遺伝子治療臨床研究に関する情報等、各委員から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、これらの指摘に対する回答については、平成 18 年 9 月 29 日に委員長了承。)

(各委員からの主な指摘の内容)

- 1) UCSF で実施中の hAADC 発現 AAV2 ベクターを用いたパーキンソン病に対する遺伝子治療臨床研究に関して
  - ① 使用するベクターの品質も含めて、本臨床研究の実施計画との異同を、可能なかぎり詳細に明らかにすること。
  - ② UCSF での遺伝子治療における有効性及び安全性に関する情報の入手方法や入手予想頻度について、詳細に説明すること。さらに、UCSF での遺伝子治療において重篤な副作用が万一発生した場合に、その情報を申請者が迅速に入手可能かどうか、説明すること。
- 2) UPDRS の評価はベクター投与後 6 カ月まで実施することとされているが、最低 5 年後まで継続して実施するよう検討すること。

### 3. パーキンソン病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患者への同意説明文書の主な変更内容

#### (実施計画)

- ・ 被験者の選択基準に関して、申請時には「患者あるいは配偶者が妊娠する可能性のある場合、コンドームを用いた避妊に同意すること」とされていた基準が、本作業委員会の意見を踏まえて、「女性の場合は閉経していること。男性の場合は子供をつくらぬことに同意すること（ただし、遺伝子治療前に精子を凍結保存し、その精子を使用して子供をつくる場合はこの規定に該当しない）」に改められた。
- ・ 各用量群の症例数に関して、申請時には各群3症例に固定されていたが、本作業委員会の意見を踏まえて、副作用が発生した場合には必要に応じてその用量群の症例数を増やすこととされた。
- ・ 用量群の設定に関して、申請時には第3群も設定されており、当該群では第2群までの有効性及び安全性の結果をみながら第1群より減量又は第2群より増量するとされていたが、本作業委員会の意見を踏まえて、第3群は削除された。
- ・ 有効性及び安全性の判定に関して、申請時には重篤で予測できない副作用が発生した場合にのみ自治医科大学附属病院遺伝子治療臨床研究審査委員会の意見を求めることとされていたが、本作業委員会の意見を踏まえて、第2群への移行の可否も含めた有効性及び安全性の判定の客観性を確保するために、学外のパーキンソン病専門医が委員として加わる安全・効果評価・適応判定部会が上記審査委員会の下に新たに設置され、そこで判定を行うこととされた。なお、登録時の被験者の適格性の判断も上記部会で併せて行うこととされた。
- ・ 有効性評価に関して、申請時にはパーキンソン病統一スケール（UPDRS）の評価をベクター投与後6ヵ月まで実施するとされていたが、本作業委員会での意見を踏まえて、ベクター投与後5年まで定期的に継続して実施することとされた。
- ・ 患者への説明及び同意取得に関して、申請時には臨床研究担当医師が説明及び同意取得を行うこととされていたが、本作業委員会の意見を踏まえて、本臨床研究と利害関係を有しない治験コーディネーター（同病院治験推進室の薬剤師又は看護師）が行うこととされた。

#### (患者への同意説明文書)

- ・ 本臨床研究の実施によって副作用が生じた際の補償期間に関して、本作業委員会の意見を踏まえて、理解しやすい記載に改められた。

- ・ 外国で過去に実施された又は現在実施中の AAV2 ベクターを用いる遺伝子治療臨床研究に関して、本作業委員会の意見を踏まえて、その成績も含めた詳細な情報が追記された。

#### **4. パーキンソン病遺伝子治療臨床研究作業委員会の検討結果**

自治医科大学附属病院からの遺伝子治療臨床研究実施計画（対象疾患：進行期パーキンソン病）に関して、パーキンソン病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。







別紙様式第 1

遺伝子治療臨床研究実施計画申請書

平成 18 年 1 月 25 日

厚生労働大臣 川崎 二郎 殿

実施施設	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 0285-44-2111 (電話番号) 0285-44-8169 (FAX 番号)
	代表者 役職名・氏名	自治医科大学附属病院 病院長 布施 勝生 

下記の遺伝子治療臨床研究について、別添の実施計画書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
AADC 発現 AAV ベクター線条体内投与による進行期パーキンソン病遺伝子治療の臨床研究	自治医科大学医学部・神経内科・教授 中野 今治

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（改訂後）

平成 18 年 1 月 25 日	(申請年月日)
平成 18 年 9 月 15 日	(改正年月日)

研究の名称	AADC 発現 AAV ベクター線条体内投与による進行期パーキンソン病遺伝子治療の臨床研究
研究実施期間	平成 年 月 日 (承認日) から 最終登録症例にベクターを投与した時点の <u>9</u> ヶ月後まで

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	自治医科大学医学部 神経内科・教授	
	氏名	中野 今治 印	
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 0285-58-7352)	
総括責任者以外の研究者	氏名	所属機関・部局・職	役割
	・小澤敬也	自治医科大学・遺伝子治療研究部・教授	副責任医師, ウイルスベクターに関する全般管理
	・渡辺英寿	自治医科大学・脳神経外科・教授	副責任医師, 脳内へのベクター注入の管理・助言
	・藤本健一	自治医科大学・神経内科・助教授	患者評価統括と定位脳手術補助
	・村松慎一	自治医科大学・神経内科・助教授	適応患者の選択・評価およびウイルスベクターの管理
	・加藤正哉	自治医科大学・脳神経外科・助教授	遺伝子導入のための定位脳手術実施
	・久米晃啓	自治医科大学・遺伝子治療研究部・助教授	ウイルスベクターの品質検査と管理
	・池口邦彦	自治医科大学・神経内科・講師	患者への説明と同意の取得および患者評価
	・水上浩明	自治医科大学・遺伝子治療研究部・講師	ウイルスベクターの検出
	・岡田尚巳	自治医科大学・遺伝子治療研究部・講師	ウイルスベクターの管理と注入に関する情報収集
	・卜部匡司	自治医科大学・遺伝子治療研究部・講師	ウイルスベクターの解析
	・川上忠孝	自治医科大学・神経内科・助手	適応患者の選択, 患者評価および定位脳手術補助
・松下 卓	自治医科大学・遺伝子治療研究部・助手	ウイルスベクターの品質検査と管理	

	・佐藤俊彦	宇都宮セントラルクリニック・院長	PET 検索
審査委員会が研究計画の実施を適切と認める理由	<p>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。</p> <p>さらにパーキンソン病モデルサルに於ける前臨床試験成績から、従来の治療法では対処困難である進行期パーキンソン病に対し治療効果が期待できること、さらに本研究で使用される組換えウイルス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、所轄官庁に臨床研究実施計画を申請することを決定した。</p>		
	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学講座 教授	梶井英治 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	<p>本研究は、進行したパーキンソン病患者の線条体（被殻）に、ヒト芳香族 L アミノ酸脱炭酸酵素（aromatic L-amino acid decarboxylase : AADC）遺伝子を組み込んだ 2 型アデノ随伴ウイルス（adeno-associated virus : AAV）ベクターを定位脳手術的に注入し、その安全性を検証することを第 1 の目的とする。併せて、経口投与する L-DOPA によってドパミン産生を促し、パーキンソン症状を改善する効果についても評価する。ドパミンの過剰合成に伴って生じうるジスキネジアは L-DOPA の投与量を減らすことにより予防する。</p>	
対象疾患およびその選定理由	<p>① パーキンソン病に関する現時点での知見</p> <p>パーキンソン病は振戦、寡動、筋強剛、姿勢反射障害を主たる症候とし、40-70 歳で発症し、10 年前後で臥床状態となる進行性神経変性疾患である。パーキンソン病は、線条体に投射する黒質ドパミン合成ニューロンが脱落する結果、線条体のドパミンが欠乏して発症すると考えられている。パーキンソン病に対しては薬物療法や深部脳電気刺激療法など、複数の治療法があるが、いずれも問題を有している。治療の主流となる薬物療法では、長期投与により①効果が減弱し、②wearing-off 現象、on-off 現象、ジスキネジアが出現、③幻覚や妄想が現れるようになる。L-DOPA 治療後 2 年で、運動症状の動揺は約 50%、不随意運動は 30%に出現する。また、ドパミン受容体作動薬単剤で長期間治療するのは困難で、3 年目までに約 50%、5 年目までに 70%近くの患者は L-DOPA との併用を要する。深部脳電気刺激療法は、進行して L-DOPA の効果がなくなった症例には無効であり、長期予後も良好とは言えない。そのため、新規治療法の開発が望まれている。</p> <p>② 当該遺伝子治療臨床研究の概要</p> <p>ヒト AADC 遺伝子を搭載した 2 型 AAV ベクター（AAV-hAADC-2）を進行したパーキ</p>	

	<p>ンソン病患者の被殻に定位脳手術的に注入する。AADC は L-DOPA をドパミンに変換する酵素であり、L-DOPA の服用でドパミン産生が増加し、症状の改善が期待できる。仮に AADC が過剰に発現した場合には L-DOPA 服用量を減らすことでジスキネジアを予防できる。</p> <p>③ 他の治療法との比較および遺伝子治療を選択した理由</p> <p>a. ドパミン産生細胞の移植</p> <p>ドパミン産生細胞を被殻に移植する治療法で、これまで自家副腎髄質細胞、交感神経節細胞の移植が行われてきたが、効果は不十分である。</p> <p>近年、米国においてパーキンソン病患者の両側被殻に中絶胎児の黒質ドパミン細胞を移植する二重盲検試験が実施された。治療 1 年後、運動症状の多少の改善が認められたが、多くの症例でジスキネジアが出現した。この治療では、患者 1 人あたり胎児 4 人分のドパミン細胞が必要である。我が国では中絶胎児組織の臨床応用に関するガイドラインが存在せず、この治療法を実施することは倫理的に困難である。</p> <p>b. 幹細胞治療</p> <p>幹細胞は適切な条件下で神経細胞を含む種々の細胞に分化させることができ、これをパーキンソン病の移植治療に用いる基礎研究がなされている。この領域の研究は大きな成果をもたらす可能性を秘めているが、ドナー細胞をどこに求めるか、腫瘍化の阻止にはどうすればよいかなど、実用化の前に解決すべき問題が多い。</p> <p>c. 遺伝子導入療法</p> <p>脳内に存在する自己細胞にドパミン産生に関わる酵素遺伝子（本研究では AADC）を導入して自己細胞にドパミンを産生させる遺伝子導入療法が海外で開始され、一定の有効性が確認されつつある。ドパミンが機能するには、線条体の細胞間隙に一定量が徐々に漏れ出していれば十分であるとの考えもあり、ドパミン合成に必要な酵素遺伝子を線条体の神経細胞に導入してドパミンを産生させることで症状が改善することが期待される。AADC 遺伝子の導入と L-DOPA の経口投与を組み合わせる方法は安全性も高く、実際にパーキンソン病モデルサルにおいても有効性、安全性が確認されている。そこでパーキンソン病遺伝子治療臨床研究の第一歩として、この方法を選択した。</p>
<p>遺伝子の種類およびその導入方法</p>	<p>(1) 人に導入する遺伝子の構造と性質</p> <p>① 人に導入する遺伝子の構造</p> <p>ヒト AADC 遺伝子は、第 7 染色体上に位置しており、8 万 5 千塩基対以上におよぶ大きな DNA からなり、15 のエキソンを含んでいる。本研究ではヒト AADC の cDNA (1443 塩基対) を治療遺伝子として用いる。</p> <p>② 人に導入する遺伝子の性質</p> <p>2 型 AAV ベクターに搭載する AADC cDNA は、ベクター内では 1 本鎖 DNA であるが、細胞内で 2 本鎖 DNA に変換される。</p> <p>③ 導入遺伝子からの生成物の構造およびその生物活性</p> <p>AADC は 2 量体として存在し、L-DOPA の脱炭酸によりドパミンを合成する。その他</p>

<p>に5-水酸化トリプトファン (5-HTP) の脱炭酸によりセロトニンを合成する。</p> <p>(2) 本計画で使用するその他の組換え DNA の構造と性質 本計画では他の組換え DNA は使用しない。</p> <p>(3) 標的細胞とした細胞の由来および生物学的特徴ならびに当該細胞を標的細胞とした理由 本計画では、黒質-線条体路の投射先である被殻の背外側部に存在する神経細胞を標的として遺伝子導入を行い、ドパミンを産生させる。パーキンソン病では、線条体に投射している黒質ニューロンの脱落によって、線条体のドパミンが欠乏している。したがって、被殻の神経細胞を標的として遺伝子導入を行うことが、治療効果を得るために効果的であると考えられる。</p> <p>(4) 遺伝子導入方法の概略および当該導入法を選択した理由 AAV ベクターは、神経細胞に効率良く遺伝子導入できること、非分裂細胞で長期間遺伝子発現できること、細胞毒性が少なく非病原性のウイルスを基本骨格としていて安全性が高いことから、本臨床研究の目的に適している。AAV には2型以外に様々な血清型が同定されているが、2型 AAV は神経細胞への特異性が高い。従来、2型 AAV ベクターを用いた臨床研究が欧米で実施されてきており、血友病に対して第IX凝固因子発現2型 AAV ベクターの骨格筋あるいは肝動脈への注入、パーキンソン病に対して AADC 発現2型 AAV ベクターの被殻への注入、グルタミン酸デカルボキシラーゼ発現2型 AAV ベクターの視床下核への注入などが既に試みられている。以上のことから、今回の臨床研究では、2型 AAV ベクターを利用するのが妥当と考えられる。</p> <p>(5) ウイルスベクターを用いて遺伝子導入を行う場合 ① 野生型ウイルスの生物学的特徴および人に対する影響 AAV はパルボウイルス科デPENDウイルス属に分類される直径約26nmのエンベロープを持たない球形ウイルスである。ウイルス粒子は物理化学的にきわめて安定である。ゲノムは4679ヌクレオチドからなる1本鎖DNAであり、プラス鎖あるいはマイナス鎖が含まれている。ゲノム両末端145ヌクレオチドはT字型ヘアピン構造を形成しており inverted terminal repeat (ITR) と呼ばれる。AAV ゲノムの左半分は <i>rep</i> 遺伝子、右半分は <i>cap</i> 遺伝子で、それぞれ非構造蛋白質とキャプシド蛋白質をコードしている。AAV はヘルパーウイルスの存在下でのみ増殖でき、自律増殖はできない。単独で細胞に感染した場合、第19番染色体の AAVS1 領域 (19q13.42) に特異的にそのゲノムを組み込み、潜伏感染の状態となる。AAV は呼吸器を主たる感染経路として人から人へ感染するとされている。大部分は不顕性感染で AAV の感染に伴う特有の疾患は報告されておらず、非病原性と考えられている。米国での調査によると、出生直後は AAV に対する抗体は検出できないが、学童期で人口の50%以上で抗体が陽性となる。</p>
---

	<p>② ウイルスベクターの作製方法</p> <p>AAV ゲノムの ITR を除いた <i>rep/cap</i> 遺伝子部分を挿入した AAV ヘルパープラスミド (pHLP19), 両端に ITR を連結した AADC 発現カセットを挿入した AAV ベクタープラスミド (pAAV-hAADC-2), 2 型アデノウイルスの E2A, E4, VA RNA 遺伝子を挿入したアデノウイルスヘルパープラスミド (pladeno5) の 3 種類をリン酸カルシウム法にて HEK293 細胞にトランスフェクションする. 3 日後, 凍結融解操作で細胞内の AAV ベクター AAV-hAADC-2 を遊離させ, 2 回の塩化セシウム密度勾配超遠心によって精製する. 10mM リン酸ナトリウム / 140mM NaCl / 5% ソルビトール溶液 (pH 7.4) にて透析を行い, Poloxamer 188 を最終濃度 0.001% になるよう加え, 0.22 μm のフィルターで滅菌処理を行いウイルスベクター液とする. 使用する培地, 血清, 試薬等はすべて米国の Food and Drug Administration (FDA) の good manufacturing practice (GMP) 規格に適合しており, 米国 Avigen 社および米国 Genzyme 社の内部規定に基づいて作製されている.</p> <p>③ ウイルスベクターの構造</p> <p>キャプシドは野生型ウイルスと同じである. キャプシドに被われるベクターゲノムは 3466 ヌクレオチドからなり, 両末端の ITR は野生型と同じであるが, その間にある <i>rep/cap</i> 遺伝子は, サイトメガロウイルスのプロモーター / エンハンサー, CMV / β グロビンキメライントロン, ヒト AADC 遺伝子, ヒト成長ホルモン遺伝子ポリ A シグナルに置き換えられている.</p> <p>④ ウイルスベクターの生物学的特徴</p> <p>AAV ベクターは神経細胞, 筋細胞, 肝臓などに遺伝子を効率良く導入できる. 1 本鎖ベクターゲノムは核内で 2 本鎖となり, 導入遺伝子を発現できるようになる. 大半はエピソームとして存在し, 染色体に組み込まれるのはごく一部である. 非分裂細胞ではベクターゲノムは長期間に亘って安定に保持される. 動物実験では年余に亘る導入遺伝子の発現が報告されている.</p> <p>AAV ベクターゲノムは一部が染色体に組み込まれたとしても, <i>rep</i> 遺伝子を欠いているため AAVS1 領域への部位特異性は失われている.</p>
<p>安全性についての評価</p>	<p>(1) 遺伝子導入方法の安全性</p> <p>① 遺伝子導入に用いるウイルスベクターの純度</p> <p>組換えウイルスの製造および純度の検定は, ベクター供給元である米国 Avigen 社および 2006 年以降は米国 Genzyme 社において行う. 本研究においては, FDA による医薬品および医療用装置に関する GMP の認可を受けた品質管理のための設備を有している Avigen 社において製造されたロットを用いる.</p> <p>② 患者に投与する物質の純度およびその安全性</p> <p>患者に投与するベクターは米国 GMP ガイドラインにしたがって品質管理される. ベクター溶液への添加物 (ソルビトールならびに Poloxamer 188) はいずれも医薬品添加物として米国で認可されたものであり, 純度および安全性に問題のないものを用いる.</p>

③ 増殖性ウイルス出現の可能性

野生型 AAV は単独では複製できず、ヘルパーウイルスの存在を必要とする。さらに AAV ベクターはウイルス由来遺伝子がすべて除去されているため、ヘルパーウイルスが存在しても複製できない。ただし、ベクター作製時に野生型 AAV が生成された場合、ヘルパーウイルス存在下で複製することがあり得る。また、AAV ヘルパープラスミドと AAV ベクタープラスミドの間の組換えによる偽野生型 AAV の出現についても、pHLP19 ではそれを抑える工夫をしてある。

野生型あるいは偽野生型 AAV は HEK293 細胞にベクターストックと野生型アデノウイルスとを同時に感染させた後、検出する。この方法の検出感度は  $10^7$  ゲノムあたり 1 コピーであり、検出感度以下を基準とする。

④ 遺伝子導入に用いるウイルスベクターの細胞傷害性

本研究に用いる用量以上の AAV ベクターをサルの脳内に注入した前臨床研究では、細胞傷害性は認められなかった。

⑤ 体内の標的細胞以外の細胞への遺伝子導入の可能性

AAV ベクターを用いた血友病 B の臨床研究において、肝動脈にベクターを投与した際、数週間精液中にベクターが検出された。しかし、精子ゲノムへのベクターゲノムの組込みはなかったものと結論された。一方、本研究では血友病の臨床研究に用いられた量のおおよそ 1/100 量のベクターを頭蓋内に局所投与するものであり、頭蓋外の細胞に遺伝子導入が起こる可能性は低い。サルの脳へのベクター投与実験（最大投与量： $4.35 \times 10^{10}$  vg）では、脾臓、心臓、肝臓、卵巣でベクターゲノムは検出されなかった。

⑥ 患者以外の人に遺伝子が導入される可能性

本研究では血友病の臨床研究（血管内投与）に比べてきわめて少量のベクターの局所投与で実施されることから、ベクターが患者体外に排出される可能性は低い。しかしながら、ベクター拡散の可能性を最小限にするため、本研究の対象患者はベクター投与後、患者の尿、便、血液および唾液中のベクター DNA が PCR 法で陰性になるまで個室に隔離する。

⑦ 染色体内へ遺伝子が組み込まれる場合の問題点

AAV ベクターは標的細胞の染色体に組み込まれる可能性はあるが、その頻度は著しく低いものと推定される。また、遺伝子導入の標的が非分裂細胞のニューロンであることから、挿入変異を契機にがん化が進む危険性はほとんどないものと考えられる。

マウス肝臓への遺伝子導入実験（最大投与量： $3 \times 10^{11}$  vg/animal,  $1 \times 10^{13}$  vg/kg 相当）で、組込み部位が遺伝子存在領域に多いこと、組込み部位近傍のゲノムが約 2kb まで欠失しているとの報告がある。ただし、AAV ベクターゲノムの組込みが一部起きたとしても、非分裂細胞のニューロンではがん化の危険性は低いものと考えら

	<p>れる。なお、肝臓で AAV ベクターゲノムの組込みが観察されたのは、再生しうる臓器であることと関係があるかもしれない。因みに、マウス筋肉細胞では AAV ベクターゲノムの染色体への組込みは検出されない（投与量：<math>1 \times 10^{11}</math>vg/animal）。</p> <p>⑧ がん原性の有無  これまでのところ野生型 AAV や AAV ベクターを原因とするがん発生の報告はなく、がん原性はないものと考えられる。</p> <p>(2) 遺伝子産物の安全性  AADC は線条体内のドパミンニューロン終末に存在する酵素である。この酵素は L-DOPA の供給がなくてはドパミンを産生することはできない。したがって本臨床研究では、L-DOPA の投与量を調節することで線条体内のドパミン濃度が過剰とならないように制御することが可能であり、安全性が高い。また、ドパミンの他に AADC により 5-HTP を基質としてセロトニンが生成されるが、内因性の 5-HTP は少量であり、AADC の過剰発現が起こっても生成されるセロトニンの量は生理的範囲内であると予想されるため、これによる副反応は生じないと考えられる。</p> <p>(3) 細胞の安全性  AAV ベクターは HEK293 細胞に 3 種類のプラスミドをトランスフェクションして製造される。この HEK293 細胞の品質はベクターを製造する米国 Avigen 社および 2006 年以降は米国 Genzyme 社において厳重に管理されている。</p> <p>① 培養細胞の純度  HEK293 細胞は Genzyme 社において品質管理試験が施行されている。細菌、真菌、マイコプラズマ、ウイルス等による汚染の有無については専門の検査会社でテストされ、安全性が確認されている。細胞培養に用いられる培地、FBS などは FDA の基準を満たすものである。</p> <p>② 細胞の遺伝子型、表現型の安定性  いくつかの細胞内酵素の発現パターンを電気泳動法によって比較し、他種細胞の混入のないことを確認している。また、ベクター作製にはマスターセルバンクからの継代数が 4 から 20 までの HEK293 細胞を用いており、表現型が安定していると考えられる時期の細胞を使用している。</p> <p>③ 被験者に投与する細胞の安全性  被験者には細胞は投与しない。</p>
<p>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</p>	<p>当施設で診療している多数の進行期パーキンソン病患者は、新しい治療法に大きな期待を寄せている。パーキンソン病モデルサル被験体への AAV-hAADC-2 注入による前臨床研究では、AADC が長期間被験体内で発現して治療効果が認められ、かつ副作用はみられず安全性が確認されている。本臨床研究の遂行には、組換え DNA 技術をはじめとする遺伝子工学、パーキンソン病診療、定位脳手術に精通した専門家の協力</p>

	<p>が必要である。当施設はこの条件を満たし、綿密な協力体制ができ上がっており、遺伝子治療臨床研究の実施が可能である。</p>
<p>実施計画</p>	<p>(1) 遺伝子治療臨床研究を含む全体の治療計画</p> <p>本研究は患者間用量比較オープン試験であり、臨床治験の第 I/II 相に相当する。本研究の主要評価項目は、進行期パーキンソン病患者被殻内への AAV-hAADC-2 注入療法の安全性である。副次評価項目は、AAV-hAADC-2 注入療法の有効性であり、その判定は症状日誌、臨床的評価、服用する L-DOPA の必要量に基づいて行う。かつ、被殻注入 AAV-hAADC-2 の発現量も副次評価項目とし、FMT-PET によって判定する。</p> <p>進行期パーキンソン病患者の被殻に左右 2 箇所ずつ計 4 箇所に AAV-hAADC2 を定位脳手術的に注入する。対象患者は 1 群 3 例で 2 群を予定している。第 1 群では、注入量 (vector genomes : vg) は 1 症例あたり <math>3 \times 10^{11}</math> vg, 注入容量は 1 箇所あたり <math>50 \mu\text{l}</math> (症例あたり <math>200 \mu\text{l}</math>), 注入速度は <math>1 \mu\text{l}/\text{min}</math> とし、第 2 群では第 1 群の 3 倍量である <math>9 \times 10^{11}</math> vg を注入し、注入容量は 1 箇所あたり <math>150 \mu\text{l}</math> (症例あたり <math>600 \mu\text{l}</math>), 注入速度は <math>3 \mu\text{l}/\text{min}</math> とする。</p> <p>(2) 被験者の選択基準および除外基準</p> <p>対象は自治医科大学附属病院、あるいはその関連病院に通院中の進行期パーキンソン病患者で、以下の選択基準を満たし、かつ以下の除外基準のいずれにも該当しない 6 症例とする。</p> <p>選択基準：</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>① 「厚生省特定疾患：神経変性疾患調査研究班（1995 年度）の診断基準」を満たす特発性パーキンソン病で、初期には L-DOPA が有効であり、また他の神経変性疾患を示唆する所見を認めない患者</li> <li>② 治療時点での年齢は 75 歳以下</li> <li>③ 発症年齢は 40 歳以上</li> <li>④ L-DOPA による 5 年以上の治療歴を有する</li> <li>⑤ 治療開始時の OFF state での Hoehn &amp; Yahr の重症度が IV 度</li> <li>⑥ UPDRS のスコアの合計 (OFF state) が 20~80 点</li> <li>⑦ ドパミン治療に対する反応が明らかで、on と off で UPDRS-III (運動スコア) の改善が明らかであること。具体的にはドパミン治療によって UPDRS-III が 8 点以上改善する</li> <li>⑧ 耐え難い運動合併症、具体的には UPDRS-IV の項目 B (症状の日内変動) のスコアが 3~7 であり、適切な薬物療法によっても満足できる治療効果が得られず、定位脳手術が可能な患者</li> <li>⑨ 女性の場合は閉経していること。男性の場合は子供をつくらないことに同意すること (ただし、遺伝子治療前に精子を凍結保存し、その精子を使用して子供をつくる場合はこの規定に該当しない)</li> <li>⑩ 治療後の頻回の診察を含め、研究に必要な条件を守ることが可能なこと</li> <li>⑪ 研究に参加する前の少なくとも 2 ヶ月間、パーキンソン病治療薬を変更しないこと</li> <li>⑫ 患者本人から、インフォームドコンセントが得られること</li> </ol>

除外基準：

- ① 脳血管障害，抗精神病薬や毒物への暴露，脳炎等の病歴によって，あるいは進行性核上性麻痺や小脳症状，錐体路徴候，自律神経徴候，認知症，幻覚や妄想などの症状によって，あるいはラクナー梗塞や中脳被蓋部の萎縮，橋と小脳の萎縮などの magnetic resonance imaging (MRI) 所見によって，二次性あるいは非典型的パーキンソニズムであることが示唆される患者
- ② 過去6ヶ月以内に，日に3時間以上続く強く激しいジスキネジアの病歴を有する患者
- ③ 既にパーキンソン病に対する定位脳手術（淡蒼球凝固術，視床凝固術，脳深部刺激）を実施済みの患者
- ④ MMSE (Mini-Mental State Examination) で20点以下，あるいは神経心理検査で認知症と診断される患者
- ⑤ 過去6ヶ月以内に幻覚や妄想を認めた患者，統合失調症あるいは affective disorder の病歴のある患者
- ⑥ 脳血管障害をはじめ，明らかな心血管系疾患を有する患者
- ⑦ 脳内の悪性新生物，臨床的に明らかな神経疾患（例えば年齢相応でない，明らかな脳萎縮）
- ⑧ 5年以内の，治療済みの皮膚がんを除くその他の悪性腫瘍の病歴
- ⑨ コントロールされていない高血圧，具体的には収縮期血圧160mmHg以上
- ⑩ 血液凝固異常症，あるいは抗凝固療法が必要な患者
- ⑪ 臨床的に明らかな免疫異常症（例えば免疫抑制薬が必要な症例）
- ⑫ GDS (Geriatric Depression Scale) の short scale が10点以上，抗うつ薬服薬中は5点以上
- ⑬ MAO-A 阻害薬，あるいは抗精神病薬を服薬中
- ⑭ MRI が撮影できない患者
- ⑮ FMT-PET で異常所見を認めない症例
- ⑯ AAV-2 に対する中和抗体価が高い患者（1：1200以上）
- ⑰ 閉経前の女性，子供をもうけることを希望する男性．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
- ⑱ 3年以内に痙攣発作の既往のある患者，抗てんかん薬を服薬中の患者，あるいは脳波検査でてんかん性の異常を認める患者
- ⑲ 重篤な薬物アレルギーの既往のある患者
- ⑳ 過去6ヶ月以内に，本臨床研究，他の臨床研究，治験のいずれかに参加したことがある患者
- ㉑ 以下の管理不良な疾患を合併する患者
  - a) 高度な腎障害患者（血清クレアチニン $>2.0\text{mg/dl}$  かつ BUN $>25\text{mg/dl}$ ）
  - b) 高度な肝障害（AST/GOT あるいは ALT/GPT が正常域上限の2.5倍以上）
  - c) 管理不良な糖尿病患者（随時あるいは食後血糖値 $>200\text{mg/dl}$  かつヘモグロビン A1c $>9\%$ ）
- ㉒ その他，総括責任者が本研究の対象として不適当と判断した患者

### (3) 被験者の同意の取得方法

本研究に参加する候補者は、自治医科大学附属病院あるいはその関連病院に通院している患者の中から募集する。募集にあたっては、この臨床治療研究についての情報を関係する神経内科医に広く提供する。被験者に対しては、本遺伝子治療臨床研究の内容と期待される治療効果および危険性について、臨床治療研究実施医師より、「パーキンソン病遺伝子治療の臨床研究ご参加のしおり」を基にして十分な説明を行う。さらに、自治医科大学附属病院のコーディネーター（治験推進室の薬剤師あるいは看護師）がわかりやすく説明を行い、被験者の自由意思に基づき文書による同意を得る。

すべての対象者は研究のいかなる時点においても、不利益を被ることなく本研究への参加を取り止めることができる。対象者が参加を取り止めた場合、次の基準にしたがって他の対象者に振り替える。

- ① 対象者が遺伝子導入以前に参加を取り止めた場合、次の対象者に振り替える。
- ② 対象者が遺伝子導入後に参加を取り止めた場合、次の対象者への振り替えは行わない。この場合、安全性に関する経過観察は継続する。

### (4) 実施期間および目標症例数

実施期間は厚生労働大臣の承認後、自治医科大学附属病院病院長による開始承認の日から、最終登録症例にベクターを投与した時点の9ヶ月後までとする。ただし、5年後までは有効性・安全性に関して一定の評価を行い、さらに10年後まで安全性に関して長期フォローする。

目標症例数は6例（各用量群3例）とする。副作用が生じた場合には、必要に応じてその群の症例数を増やし、安全性の評価を強化する。治療後の評価に関しては各群とも同じとする。

### (5) 遺伝子治療臨床研究の実施方法

#### ① 対照群の設定方法

本研究は無作為抽出を行わない患者間用量比較オープン試験であり、対照群の設定は行わない。

#### ② 遺伝子導入方法（安全性および有効性に関する事項を除く。）

被験者は治療開始10日前（Day -10）に自治医科大学附属病院に入院する。

遺伝子の導入は全身麻酔下で定位脳手術によって被殻へ直接注入する。AAV-hAADC-2を注入する目標となる部位は手術に先だって撮影したMRI上で同定する。2個所の目標点は、被殻の中心に近い背外側寄りで十分に離れていることを条件として決定する。頭蓋骨のburr holeは1側につき1つとし、そこから2トラックの刺入路でAAV-hAADC-2を注入する。

AAV-hAADC-2を含む溶液は $1.5 \times 10^{12}$  vg/mlの濃度に調整し、専用のポンプを用いて第1群では1個所あたり $1 \mu\text{l}/\text{min}$ の速度で $50 \mu\text{l}$ 注入し、第2群では $3 \mu\text{l}/\text{min}$ の速度で $150 \mu\text{l}$ 注入する。4個所の注入が完了したら、カニューレを抜去して出血がないことを確認し、皮膚を縫合閉鎖する。麻酔覚醒後、直ちに頭部CTスキャンを

撮影し、血腫などの合併症がないことを確認する。

③ 前処置および併用療法の有無

通常の全身麻酔時に行う処置の他には特に前処置を行わない。薬物療法、特に L-DOPA の投与が本治療では必須であるので、必ず併用する。抗パーキンソン病薬の投与量は screening visit の 8 週間前から、評価 9 (Month 6) までに変更しない。ただし遺伝子治療後に抗パーキンソン病薬の効果が過剰になった場合は L-DOPA を減量する。なお適切なリハビリテーションは随時行って良いこととする。

④ 臨床検査項目および観察項目 (別表)

遺伝子導入手術後、全例 2 週間 (Day 14) は入院することとする。患者は以下のスケジュールにしたがって評価と臨床検査を受ける。ベクター投与後 3 日間は個室に隔離し、外出・外泊は認めない。なお投与後 3 日目に PCR 法で血液、唾液、尿、便のいずれかにベクター DNA を認める場合には、ベクター DNA が陰性になるまで個室への隔離期間を延長する。Day 14 には退院可能とし、スケジュールにしたがって外来における観察を受けることとする。

評価項目：i) 一般身体所見，ii) UPDRS I~IV を含む神経学的所見，iii) 有害事象，iv) 抗パーキンソン病薬の必要量，v) 臨床検査 (特に血清抗 AAV 抗体検査と血液、尿、便、唾液の PCR 分析，vi) 脳の PET スキャンと MRI，vii) Hoehn & Yahr の重症度，viii) Geriatric Depression Scale (GDS) の short form，および ix) Mini-Mental State Examination (MMSE) など

⑤ 予測される副作用およびその対処方法

a. ベクターによる合併症

炎症反応を惹起し、発熱などの全身症状や脳浮腫による痙攣や意識障害をきたす可能性は低いと完全に否定することはできない。患者を注意深く観察することによって合併症の発生をいち早く察知し、適切な処置をとる。

AAV ベクターが患者細胞の染色体に組み込まれる確率は著しく低いものと推定される。万一、このような事態が生じた場合に最も懸念されるのは、発がんの危険性が高まることである。身体所見および画像診断などを通じて、早期発見に努める。またベクター DNA が生殖細胞に組み込まれる可能性も否定はできない。そこで基本的に生殖年齢を過ぎた患者を被験者とする。女性では閉経後の患者を対象とし、男性では遺伝子治療後に子供をつくらぬことに同意する患者を対象とする。なお将来子供をもうけることを希望する場合、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ことが可能であることを、その既知のリスクとともに説明する。

b. 手術による合併症

定位脳手術は侵襲の少ない手技であるが、予期しない合併症を起こす危険は避けられない。すべての定位脳手術における手術合併症の報告は、ほとんど無症状のものを含めても 5% 以下で、出血、感染および麻酔の合併症が主である。

⑥ 遺伝子治療臨床研究の評価方法、評価基準および中止判定基準

有効性および安全性の判定を客観的に行うため、学外のパーキンソン病専門医が入る安全・効果評価・適応判定部会を自治医科大学附属病院遺伝子治療臨床研究審査委員会の下に設置し、登録時の被験者の適格性の判断、ならびに有効性および安全性の判定を行う。

第1群の遺伝子治療を実施した後、全症例の6ヶ月後の評価が終了した時点で、上記部会および委員会において有効性および安全性を判定し、第2群（増量群）への移行の可否を決定する。この際、次に該当する場合には第2群への移行を行わないこととする。

- ① 以下の「臨床研究の中止判定基準」に該当する事象が確認された場合
- ② 明らかに関連あり、あるいは多分関連ありと判定される中等度（日常生活に支障をきたす程度のもの）以上の有害事象が発生した場合。ただし手術手技に基づく有害事象は、遺伝子治療とは直接関係ないため、この判定基準の対象とはしないこととする。

臨床研究の中止判定基準：

下記の情報が得られ、研究の続行が困難であると考えられる場合には、総括責任者またはその他の研究者は速やかに自治医科大学附属病院長ならびに倫理委員会に報告し、研究を中止する。

- a. 「予測できない」重篤な副作用の発生
- b. 「予測できる」重篤な副作用の発生数、発生頻度、発生条件等の発生傾向が、予測できないことを示す情報が得られたとき
- c. 副作用の発生数、発生頻度、発生条件等が著しく変化したことを示す研究報告があったとき
- d. がん、その他の重大な疾患、障害もしくは死亡が発生するおそれがあることを示す研究報告があったとき
- e. Genzyme 社が AAV-hAADC-2 の開発、評価、あるいは試験の中止を決めたとき

なお、自治医科大学附属病院遺伝子治療臨床研究審査委員会での審議後、病院長は厚生労働省の厚生科学審議会科学技術部会パーキンソン病遺伝子治療臨床研究作業委員会に審議結果を毎回報告する。

<安全性の評価>

研究開始から観察終了時（5年後）あるいは観察中止時までの間に発生した有害事象（被験者に生じたあらゆる好ましくない医療上の出来事。本研究との因果関係の有無は問わない）の症状、発現日、程度、被験薬の投与継続の有無、処置の有無、被験薬との因果関係、経過（回復した場合はその回復日）を調査し、症例報告書に記入する。治験薬との因果関係が否定できない有害事象（副作用）は、消失または軽快するまで追跡調査を行う。

総括責任者またはその他の研究者は、有害事象に対する医療が必要になった場合には、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、被験者の安全確保に留意し、その原因究明に努める。

重篤な有害事象が発現した場合、総括責任者またはその他の研究者は直ちに適切な処置をとるとともに、治療との因果関係の有無にかかわらず速やかに病院長に報告する。病院長はその有害事象が重篤で予測できない場合には、治療研究の継続の可否について速やかに施設内の遺伝子治療臨床研究審査委員会の意見を求める。ま

た、総括責任者またはその他の研究者は重篤な有害事象発現 48 時間以内に、厚生労働省に連絡することとする。

なお、臨床治療研究期間中あるいは終了後に対象患者が死亡したときには、死亡原因の特定および治療の病理学的評価を行うため、死亡原因の如何を問わず剖検を行うよう努力する。被験者に対しても、本治療の開始前にその可能性について説明を行っておく。

被験薬との因果関係が否定できない有害事象（副作用）が最終観察日までに消失または軽快しなかった場合には、観察終了時または観察中止時までの症状の経過を症例報告書に記載するとともに、有害事象（副作用）消失、あるいはその原因が明らかになり症状が安定するまで経過観察を継続する。経過観察の結果については別途追跡調査用紙に記載する。なお、何らかの理由により追跡調査が不可能であった場合はその理由を症例報告書または追跡調査用紙に記入する。

米国 Avigen 社および米国 Genzyme 社との契約によって、AAV-hAADC-2UCSF での遺伝子治療において重篤な副作用が万一発生した場合には、その情報を迅速に入手可能である。その場合には、速やかに施設内の遺伝子治療臨床研究審査委員会へ本研究の継続について審議を依頼するとともに、48 時間以内に厚生労働大臣へ報告する。また、同意説明文書に記載する。

#### <治療効果の評価>

a. 評価 9 (Month 6) における患者のパーキンソン症状の程度の改善度を 1 次評価項目とする。治療前の症状と評価 9 (Month 6) において、UPDRS の Part II (日常生活動作)、Part III (運動スコア)、Part IV (治療の合併症)、Hoehn & Yahr Stage、MMSE、GDS を比較する。なお UPDRS Part IV の項目 32 (ジスキネジアの出現時間) および 36~39 (症状の日内変動) の判定にあたっては、患者のつけた「症状日誌」を参考にする。さらに、L-DOPA の必要量の変化を評価する。なお、治療効果が 6 ヶ月間持続しない可能性もあるため、評価 3 (Day 28)、評価 6 (Month 3) 時点でも評価を行う。

b. FMT-PET による被殻注入 AAV-hAADC-2 の発現量を 2 次評価項目とする。評価 3 (Day 28) および評価 9 (Month 6) における FMT-PET を遺伝子導入前と比較し判定する。

#### ⑦ 症例記録に関する記録用紙等の様式

本研究の記録に関する様式 (症例報告書および追跡調査用紙) を研究開始前に定める。

#### ⑧ 記録の保存および成績の公表の方法

本研究に関連した記録は、自治医科大学附属病院において、研究の中止もしくは終了の後 10 年間保存する。また遺伝子治療臨床研究に関する指針に基づき、研究に関する情報は適切かつ正確に公開するように努め、かつプライバシーの保護を徹底する。これは、文部科学省・厚生労働省の「遺伝子治療臨床研究に関する指針」{平成 14 年 3 月 27 日 (平成 16 年 12 月 28 日全部改正)} に則って行う。

備考	<p>1) 本遺伝子治療臨床研究については、平成 14 年 11 月 1 日から平成 17 年 3 月 14 日まで自治医科大学附属病院遺伝子治療臨床研究審査委員会で審議され、その科学的および倫理的妥当性について承認されている。</p> <p>2) 患者のプライバシー保護と秘密の保全に関しては、「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)にしたがって厳重に取り扱い、外部に漏れることのないようにする。また、「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」を遵守することとする。</p> <p>本研究は米国 Genzyme 社と自治医科大学との共同研究であり、両者に共同して利用される個人情報は患者の年齢、治療成績、検査データ、ビデオ記録などで、それらを利用する者は Genzyme 社と自治医科大学でこの研究に携わった者に限ることとする。これらの情報の利用目的は、学会発表や論文作成およびこの治療法を関係する国に申請するための資料作成である。患者の個人情報の管理は Genzyme 社と自治医科大学で行う。自治医科大学は Genzyme 社に臨床研究情報を送る場合には、連結可能匿名化する。さらに自治医科大学は、Genzyme 社は同社に送付された患者プライバシーに関する情報を一切外部に漏らさないとの約定を、同社との間で文書にて締結している。</p> <p>3) 海外で実施中の類似の遺伝子治療臨床研究の成果</p> <p>2 型 AAV ベクターを用いたパーキンソン病に対する遺伝子治療として、3 種類の第 I 相臨床試験が米国で行われている。</p> <p>第 1 のプロトコールは、抑制性神経伝達物質である <math>\gamma</math>-aminobutyric acid (GABA) の合成酵素である glutamic acid decarboxylase (GAD-65 および GAD-67) の遺伝子を視床下核の細胞に導入して、視床下核の出力を興奮性から抑制性に変換することを目標とした遺伝子治療である。2003 年 8 月 18 日に米国 Neurologix 社を実施主体として第 1 例が Weill Cornell 大学で実施され、以来 2005 年 6 月までに 12 例に実施された。<math>1 \times 10^{11}</math>, <math>3 \times 10^{11}</math>, <math>1 \times 10^{12}</math> vg の 3 種類の用量を各群 4 症例の片側の視床下核に注入した。結果は論文としては未発表であるが、Neurologix 社の発表によると安全性に問題がなかった。第 I 相試験ということで治療効果については言及していない。</p> <p>第 2 のプロトコールは、米国カリフォルニア大学サンフランシスコ校 (UCSF) で行われている米国 Avigen 社 (2006 年から米国 Genzyme 社) による本試験と同様の AAV-hAADC-2 の被殻への注入と L-DOPA の服用を組み合わせた方法の第 I 相試験である。2004 年 12 月 15 日に第 1 例、2005 年 7 月 20 日に第 2 例、2005 年 9 月 7 日に第 3 例、2006 年年 2 月 7 日に第 4 例、2006 年 5 月 23 日に第 5 例が行われた。いずれも総量 <math>9 \times 10^{10}</math> vg の AAV-hAADC-2 を両側の被殻に注入した。第 1 例の遺伝子導入 6 ヶ月後の FMT-PET では、被殻で FMT の取り込みの増加が認められ、導入した AADC が発現していることが示されている。</p> <p>第 3 のプロトコールは、神経栄養因子の Neurturin (CERE-120) 遺伝子を両側の被殻に導入するもので、米国 Creregene 社により UCSF で行われている。<math>2 \times 10^{11}</math> vg</p>
----	---

の低用量群と  $8 \times 10^{11}$  vg の高用量群の各群 6 例を予定している。2006 年 4 月までに低用量群の 6 例に遺伝子導入が行われ、2-17 ヶ月間の観察期間において副作用は認められていない。

導入遺伝子	Aromatic L-amino acid decarboxylase (AADC)	Glutamic acid decarboxylase (GAD)	Neurturin (CERE-120)
遺伝子の性状	ドパミン合成系の酵素	抑制性神経伝達物質 GABA の合成酵素	神経栄養因子
ベクター投与量	低用量群 $9 \times 10^{10}$ 中用量群 $3 \times 10^{11}$ 高用量群 $9 \times 10^{11}$ (vector genomes)	低用量群 $3.5 \times 10^9$ 中用量群 $1.0 \times 10^{10}$ 高用量群 $3.5 \times 10^{10}$ (particles)	低用量群 $2 \times 10^{11}$ 高用量群 $8 \times 10^{11}$ (vector genomes)
予定症例数	15 (各群 5)	12 (各群 4)	12 (各群 6)
投与経路	定位脳手術	定位脳手術	定位脳手術
投与部位	両側の被殻	片側の視床下核	両側の被殻
評価	臨床症状 (UPDRS, 患者日記, GDS, MMSE, Hoehn & Yahr) FMT-PET, MRI	臨床症状 (CAPIT, UPDRS) FDG-PET	臨床症状 (UPDRS, 患者日誌など) $^{18}\text{F}$ -DOPA PET
予定観察期間	5 年間 FMT-PET は、ベクター投与 1 ヶ月後と 6 ヶ月後	1 年間	1 年間
2006 年 4 月に米国神経学会 (AAN) で公表された結果	低用量群の 3 名に遺伝子導入を行った。それぞれ術後 1, 3, 6 ヶ月の時点で、患者日記による評価で症状の改善がみられた。FMT-PET では、平均 15% の FMT の取り込みの増加が認められた。術後すぐに軽快した頭痛があったが、重篤な副作用は認めていない。	12 症例に遺伝子導入完了。 11 例で 6 ヶ月後の評価まで終了。安全性に問題はなかった。FDG-PET で、期待された効果 (淡蒼球内節と視床 VL 核における FDG の取り込み減少と大脳皮質運動野の取り込みの増加) が認められた。	低用量群の 6 例に遺伝子導入を完了。2-17 ヶ月の観察期間において、副作用は認められなかった。

UPDRS: Unified Parkinson's Disease Rating Scale, GDS: Geriatric Depression Scale (Mood Assessment)

Scale -Short Form), MMSE: Mini Mental State Examination, CAPIT: Core Assessment Program for Intracerebral Transplantations, FMT: [<sup>18</sup>F] Fluoro-metatyrosine, FDG: [<sup>18</sup>F] Fluoro-deoxyglucose

本研究と UCSF で実施中の遺伝子治療臨床研究（上記第2）では，米国 Avigen 社において 2004 年 11 月に作製された同一ロットの AAV-hAADC-2 ( $1.5 \times 10^{12}$  vg/ml, vg/infectious unit ratio=12) を使用し，共通の項目について評価を行う．本研究では，UCSF の研究の第2群，第3群に相当する  $3 \times 10^{11}$ ,  $9 \times 10^{11}$  vg の投与量を設定している．両研究とも，主要評価項目は安全性であり，副次評価項目は，①治療の有効性，および②AAV-hAADC-2 注入量と AADC 発現量との関係評価である．安全性の評価は，一般身体所見（バイタルサインを含む），神経学的所見，有害事象，抗パーキンソン病薬の必要量，併用薬，臨床検査について行う．①効果の判定は症状日誌，臨床的評価，服用する L-DOPA の必要量に基づいて行う．②の発現量は FMT-PET によって判定する．

両研究間では，下表に示したように被験者の選択基準などに若干の差がある．

実施施設名	自治医科大学	UCSF
研究名	AADC 発現 AAV ベクター線条体内投与による進行期パーキンソン病遺伝子治療の臨床研究	A Phase 1 Open-label Safety Study of Intrastratial Infusion of Adeno-Associated Virus Encoding Human Aromatic L-Amino Acid Decarboxylase (AAV-hAADC-2) in Subjects with Mid- to Late-Stage Parkinson's Disease
試験開始日		2004 年 12 月 16 日
ベクター投与量	$3 \times 10^{11}$ , $9 \times 10^{11}$ vg	$9 \times 10^{10}$ , $3 \times 10^{11}$ , $9 \times 10^{11}$ vg
登録予定症例	各群 3 例，合計 6 例	各群 5 例，合計 15 例
被験者の選択基準	<ul style="list-style-type: none"> <li>発症年齢が 40 歳以上</li> <li>UPDR スコア Part III (OFF 状態)の合計が 20-80 点</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>診断時年齢が 40 歳以上</li> <li>UPDR スコア Part III (OFF 状態)の合計が 20-60 点</li> </ul>
被験者の除外基準	<ul style="list-style-type: none"> <li>MMSE で 20 点以下</li> <li>3 年以内に痙攣発作の既往，抗てんかん薬を服薬中，脳波検査でてんかん性の異常を認める</li> <li>重篤な薬物アレルギーの既往</li> <li>過去 6 ヶ月以内に本臨床研</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>MMSE で 26 点以下</li> </ul>

	究, 他の臨床研究, 治験のいずれかに参加したことがある <ul style="list-style-type: none"> <li>最近の心筋梗塞などの急性疾患あるいは管理不良な疾患を合併している</li> <li>総括責任者が本研究の対象として不適当と判断した</li> </ul>	
試験実施予定期間	最終登録症例にベクターを投与後9ヶ月間	最終登録症例にベクターを投与後5年間
被験者のフォローアップ期間	10年間（フォローアップ期間中に重篤な有害事象が発生した場合には, 病院長から厚生労働大臣への報告を行う）	15年間

パーキンソン病以外に, 頭蓋内への2型 AAV ベクター注入を行った遺伝子治療としては, Canavan 病の小児に対して欠損した酵素の遺伝子を発現する AAV ベクターを大脳に投与した結果が最近報告され, 特段の副作用を認めることなくプロトコルが遂行されている。

嚢胞性線維症の治療を目指した臨床研究では, 合計7つのプロトコルが実施されている。いずれも2型 AAV ベクターを経気道的に投与するもので, 結果が既に報告されている4つのプロトコルにおいて合計80例に対して最大で  $1 \times 10^{13}$  vg 相当量が使用されているが, ベクター自体の毒性による副作用は見出されていない。体内へのベクターの注入に基づく治療法としては, 血友病Bの遺伝子治療を目指して骨格筋ならびに肝臓を標的とするプロトコルが実施された。血友病Bに対して, 肝臓への遺伝子導入を行った2例で軽度の肝逸脱酵素の一過性上昇が認められたが, その他の副作用は認められていない。体内への注入を行った臨床研究はすべて第I相試験であるが, これらの報告をまとめると以下ようになる。

対象疾患	血友病B	血友病B	Canavan 病
標的組織	骨格筋	肝臓	大脳皮質
ベクター投与量	$2 \times 10^{11}$ $6 \times 10^{11}$ $1.8 \times 10^{12}$ (vg/kg)	$8 \times 10^{10}$ $4 \times 10^{11}$ $2 \times 10^{12}$ (vg/kg)	$8 \times 10^{11}$ $1 \times 10^{12}$ (vg, 総投与量)
投与経路・投与部位	大腿・下腿部骨格筋への直接注入	カテーテルによる肝動脈内注入	頭蓋骨6個所を開窓し脳実質内に注入（定位脳手術）
症例数	8例	7例	10例
年齢（平均）	23-67 (39)	20-63 (34)	2.0-6.8 (4.1)

観察期間	1年以上	1年以上 (平均2年以上)	1年以上 (平均2年以上)
その他特記事項	5例で注入部に軽度の一過性の痛みまたは血腫. 全例で AAV キャプシドに対する中和抗体価の著明な上昇	2例で治療後に軽度の肝逸脱酵素の一過性上昇. 全例で AAV キャプシドに対する中和抗体価の著明な上昇	3例で AAV キャプシドに対する中和抗体価の軽度の上昇

	Screen * ≤ 8 weeks	Base line Day -10 ~ -1	手術 Day 0	個室管理			評価 1 Day 7 (注3)	評価 2 Day 14 (注4)	評価 3 Day 28	評価 4 Day 42	評価 5 Day 56	評価 6 3M	評価 7 4M	評価 8 5M	評価 9 6M	評価 10 7M	評価 11 8M	評価 12 9M	評価 13 10M	評価 14 11M	評価 15 12M	
				Day 1	Day 2	Day 3																
一般身体所見	○	○	○			○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
神経所見	○	○	○			○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
UPDRS (注2)	◎	◎					◎	◎			◎											◎
Hoehn & Yahr	○						○				○											
MMSE, GDS	○														○							
服用薬の確認	○	○	○			○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
症状日誌の確認	○	○						○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
有害事象の有無		○	○			○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
PET scan		○					○							○								
頭部MRI		○	○				○	○						○								
血液	○					○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
凝固		○																				
生化学	○					○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
PMBC	○					○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
AAV 抗体	○					○	○							○								
PCR (血清) (注1)	○					○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
尿検査		○						○						○								

\* 全ての臨床検査は Screening 評価の時に実施する (心電図も含む)。

注1. PCR に関しては Day 7 以降は連続 3 検体が陰性になるまで採取を継続する。

注2. ○ : on で part II と III のみ評価, ◎ : on で part I ~ IV, off で part II と III (part III はそれぞれビデオ撮影)。

注3. PCR 陽性のときは個室管理を継続する。

注4. 術後 2 週間まで入院予定。

	評価 16	評価 17	評価 18	評価 19	評価 20	評価 21	評価 22	評価 23	評価 24	評価 25	評価 26	評価 27	評価 28	評価 29	評価 30	評価 31
	15M	18M	21M	24M	27M	30M	33M	36M	39M	42M	45M	48M	51M	54M	57M	60M
一般身体 所見	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
神経所見	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
UPDRS (注2)				◎				◎				◎				◎
服用薬の 確認	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
症状日誌の 確認	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
有害事象の 有無	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
血液				○												○
生化学				○												○
PCR (血清) (注1)	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○

注1. PCR に関しては連続3検体が陰性になるまで採取を継続する。

注2. ○ : on で part II と III のみ評価, ◎ : on で part I ～IV, off で part II と III (part IIIはそれぞれビデオ撮影)。

なお、血液検査、凝固検査、生化学検査に含まれる項目は、次に示すとおりである。

血液検査

赤血球数、ヘモグロビン、ヘマトクリット、MCV, MCH, MCHC,  
白血球数、好中球数、リンパ球数、単球数、好酸球数、好塩基球数、血小板数

凝固検査

PT, aPTT, INR, フィブリノゲン

生化学検査

BUN, クレアチニン, Na, K, Cl, Mg, P, Ca, 血糖, 総タンパク, アルブミン,  
総ビリルビン, GOT (AST), GPT (ALT), ALP, GGT (γ GTP)



遺伝子治療臨床研究実施計画書

(2006年9月15日改訂版)

## 目 次

1 遺伝子治療臨床研究の名称 -----	1
2 総括責任者およびその他の研究者の氏名ならびに当該遺伝子 治療臨床研究において果たす役割 -----	1
(1) 総括責任者の氏名 -----	1
(2) 総括責任者以外の研究者の氏名およびその担当する役割 -----	1
3 実施施設の名称およびその所在地 -----	1
4 遺伝子治療臨床研究の目的 -----	2
5 遺伝子治療臨床研究の対象疾患およびその選定理由 -----	2
(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 -----	2
① 対象疾患に関する現時点での知見 -----	2
② 当該遺伝子治療臨床研究の概要 -----	4
③ 他の治療法との比較および遺伝子治療を選択した理由 -----	4
6 遺伝子の種類およびその導入法 -----	7
(1) 人に導入する遺伝子の構造と性質 -----	7
① 人に導入する遺伝子の構造 -----	7
② 人に導入する遺伝子の性質 -----	9
③ 導入遺伝子からの生成物の構造およびその生物活性 -----	9
(2) 本計画で使用するその他の組換え DNA の構造と性質 -----	9
(3) 標的細胞とした細胞の由来および生物学的特徴ならびに 当該細胞を標的細胞とした理由 -----	9
(4) 遺伝子導入方法の概略および当該導入法を選択した理由 -----	9
(5) ウイルスベクターを用いて遺伝子導入を行う場合 -----	10
① AAV-hAADC-2 の野生型ウイルスの生物学的特徴および人に対する影響 -----	10
② AAV-hAADC-2 の作製方法 -----	11
③ AAV-hAADC-2 の構造 -----	12
④ AAV-hAADC-2 の生物学的特徴 -----	12
7 安全性についての評価 -----	13
(1) 遺伝子導入方法の安全性 -----	13
① 遺伝子導入に用いる AAV ベクターの純度 -----	13
② 患者に投与する AADC 遺伝子の純度およびその安全性 -----	14
③ 増殖性ウイルスの出現の可能性 -----	14

④ 遺伝子導入に用いる AAV ベクターの細胞傷害性 -----	14
⑤ 体内の標的細胞以外の細胞への遺伝子導入の可能性 -----	14
⑥ 患者以外の人に遺伝子が導入される可能性 -----	15
⑦ 染色体内へ遺伝子が組み込まれる場合の問題点 -----	15
⑧ がん原性の有無 -----	15
(2) 遺伝子産物の安全性 -----	15
(3) 細胞の安全性 -----	15
① 培養細胞の純度 -----	15
② 細胞の遺伝子型、表現型の安全性 -----	16
③ 被験者に投与する細胞の安全性 -----	16
(4) AAV 以外のウイルスベクターに起因する重篤な有害事象 -----	16
(5) これまでに実施された臨床試験における成績 -----	17
8 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 -----	19
9 遺伝子治療臨床研究の実施計画 -----	20
(1) 遺伝子治療臨床研究を含む全体の治療計画 -----	20
(2) 被験者の選択基準および除外基準 -----	22
(3) 被験者の同意の取得方法 -----	24
(4) 実施期間および目標症例数 -----	24
(5) 遺伝子治療臨床研究の実施方法 -----	24
① 対照群の設定方法 -----	24
② 遺伝子導入方法（安全性および有効性に関する事項を除く） -----	24
③ 前処置および併用療法の有無 -----	25
④ 臨床検査項目および観察項目 -----	25
⑤ 予測される副作用およびその対処方法 -----	30
⑥ 遺伝子治療臨床研究の評価方法、評価基準および中止判定基準 -----	31
⑦ 被験者の安全性確保および健康被害補償 -----	34
⑧ 症例記録に関する記録用紙等の様式 -----	34
(6) 米国における類似の研究との関連 -----	34
10 患者のプライバシー保護と秘密の保全 -----	36
(1) 実施施設での安全管理措置 -----	36
(2) 本研究における個人情報の保護 -----	37
(3) 記録の保存 -----	37
11 成績の公表の方法 -----	38
<b>&lt;実施計画書に添付すべき資料&gt;</b>	
研究者の略歴および研究業績 -----	39

実施施設の施設設備の状況 -----	48
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 -----	48
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 -----	56
文献 -----	58

- 資料 1： AVIGEN, INC. CLINICAL RESEARCH AGREEMENT  
 および Genzyme からの契約継承の証明（注：添付省略）
- 資料 2： Modified Hoehn & Yahr 重症度、UPDRS、MMSE、GDS
- 資料 3： 臨床研究「パーキンソン病遺伝子治療」参加のしおり
- 資料 4： DEVICE DESCRIPTION AND USE（注：添付省略）
- 資料 5： 2006 年 4 月米国神経学会抄録（同上）
- 資料 6： 評価スケジュール

- 参考資料 1： AVIGEN Protocol No.AAV-hAADC-2-003（注：添付省略）
- 参考資料 2： AAV-hAADC-2 AADC Test Records Lot # 1063-01954（同上）
- 参考資料 3： 受入れ試験の詳細（同上）

## 1 遺伝子治療臨床研究の名称

AADC 発現 AAV ベクター線条体内投与による進行期パーキンソン病遺伝子治療の臨床研究

## 2 総括責任者およびその他の研究者の氏名ならびに当該遺伝子治療臨床研究において果たす役割

### (1) 総括責任者の氏名

中野今治 自治医科大学医学部・神経内科・教授  
遺伝子治療臨床研究の総括

### (2) 総括責任者以外の研究者の氏名およびその担当する役割

小澤敬也 自治医科大学・遺伝子治療研究部・教授  
副責任医師、ウイルスベクターに関する全般管理

渡辺英寿 自治医科大学・脳神経外科・教授  
副責任医師、脳内へのベクター注入の管理・助言

藤本健一 自治医科大学・神経内科・助教授  
患者評価統括と定位脳手術補助

村松慎一 自治医科大学・神経内科・助教授  
適応患者の選択・評価およびウイルスベクターの管理

加藤正哉 自治医科大学・脳神経外科・助教授  
遺伝子導入のための定位脳手術実施

久米晃啓 自治医科大学・遺伝子治療研究部・助教授  
ウイルスベクターの品質検査と管理

池口邦彦 自治医科大学・神経内科・講師  
患者への説明と同意の取得および患者評価

水上浩明 自治医科大学・遺伝子治療研究部・講師  
ウイルスベクターの検出

岡田尚巳 自治医科大学・遺伝子治療研究部・講師  
ウイルスベクターの管理と注入に関する情報収集

卜部匡司 自治医科大学・遺伝子治療研究部・講師  
ウイルスベクターの解析

川上忠孝 自治医科大学・神経内科・助手  
適応患者の選択、患者評価および定位脳手術補助

松下 卓 自治医科大学・遺伝子治療研究部・助手  
ウイルスベクターの品質検査と管理

佐藤俊彦 宇都宮セントラルクリニック・院長  
PET 検索

## 3 実施施設の名称およびその所在地

名称：自治医科大学附属病院

所在地：〒329-0498 栃木県下野市薬師寺 3311-1

#### 4 遺伝子治療臨床研究の目的

本研究は、進行したパーキンソン病患者の線条体(被殻)に、ヒト芳香族Lアミノ酸脱炭酸酵素 (aromatic L-amino acid decarboxylase : AADC) 遺伝子を組み込んだ2型アデノ随伴ウイルス (adeno-associated virus : AAV) ベクターを定位脳手術的に注入し、その安全性を検証するとともに、経口投与する L-dopa によってドパミン産生を促し、パーキンソン症状を改善することを目的とする。ドパミンの過剰合成に伴って生じ得るジスキネジアは L-dopa の投与量を減らすことにより予防する。

#### 5 遺伝子治療臨床研究の対象疾患およびその選定理由

##### (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

###### ① 対象疾患に関する現時点での知見

パーキンソン病は振戦、寡動、筋強剛、姿勢反射障害を主たる症候とし、通常 40-70 歳で発症する進行性の神経変性疾患である。振戦は概して安静時に出現し、病初期には一側性である。衣服の着脱や靴の脱ぎはきなど日常生活動作に時間がかかるようになり、このことはボタンのかけ外しや靴ひもを結ぶなどの指先のこまかい動作において特にめだつ。また、歩行時の腕振り、瞬目、唾液のみこみなど、無意識に行う動作が少なくなる。姿勢は前屈となり、股関節、膝関節、肘関節が屈曲傾向を示す。病気の進行とともに患者の動作はますます遅くなり、椅子やソファに人形のように身動きもせずにならわっているようになる。この段階になると、患者はバランスを失って（立ち直り反射の障害）転倒しやすくなる。最も進行した状態では車椅子あるいはベッドに寝たきりとなり、濃厚な介護を要するようになる。

欧米におけるパーキンソン病の有病率は人口 10 万人当たり 120-130 人と推計されている。本邦でのそれは、従来は欧米よりもはるかに少ないと考えられてきたが、最近の調査では欧米と殆ど変わらないことが判明した<sup>1)</sup>。これは主に人口の高齢化によるものと考えられている。本症の経過には症例差があり、発症から寝たきりになるまでの期間は 3-15 年と幅がある。抗パーキンソン病薬の発達した現在では、発症 15 年を経ても、on 時には約 4 分の 3 の患者が Hoehn-Yahr のステージ分類で III 度以下との報告もある<sup>2)</sup>。

パーキンソン病の病理は、黒質と青斑核のメラニン含有細胞の脱落と Lewy 小体の出現である。黒質のメラニン含有細胞数と体積は加齢でも減少する<sup>3)</sup>。McGeer PL et al.は 80 歳では若年時の 425,000 個から 200,000 個に減少していたと報告している<sup>4)</sup>。黒質のメラニン含有細胞の数、密度、および体積は 10 歳、歳をとるごとにそれぞれ 9.8 %、7.4 %、3.2 %減少する<sup>4)</sup>。その細胞数は、90 歳代では、10 歳代の約 3 分の 1 に減少している。McGeer PL et al.はパーキンソン病においてはメラニン含有細胞数が同年齢正常対照の約 30%に減少していたと報告した。さらに、Pakkenberg B et al.は、7 例のパーキンソン病患者と 7 例の同年代の正常対照例において黒質のメラニン含有細胞の数を計測した。その結果、正常人の黒質メラニン含有細胞の平均数は 550,000 個であるのに対しパーキンソン病ではその約 70 %が脱落していた、とほぼ一致した減少率を記載している<sup>5)</sup>。このようにパーキンソン病でみられる黒質メラニン含有細胞の脱落は加齢のみでは説明し難く、別の要素が関与しているものと考えられる。

黒質のドパミンニューロンは線条体に投射しているので、黒質ニューロンの脱落によって線条体のドパミンが欠乏する。この減少は<sup>18</sup>fluoro-L-dopa を使った PET study によっても示されており<sup>6) 7)</sup>、パーキンソンニズムを生ずる神経薬理学的背景と考えられている。

パーキンソン病の原因は不明である。原因究明はもっぱら遺伝、毒物、ウイルス、フリーラジカル、

視床下部栄養因子欠乏の観点から行われてきた<sup>2)</sup>。これまでのところ、一部の家族性パーキンソン病に限って $\alpha$ -synuclein<sup>8)</sup> や parkin<sup>9)</sup> などの遺伝子変異が見つかっているが、大部分の特発性パーキンソン病では遺伝子変異は明らかになっていない。

毒物に関しては、自然界には存在しない 1-methyl-4-phenyl-1, 2, 3, 6-tetrahydropyridine (MPTP) という合成化合物によって黒質ニューロンが脱落してパーキンソニズムが生じることが報告された<sup>10)</sup>。パーキンソン病は MPTP 類似の、しかし、より慢性的に作用する外毒素により生ずる可能性が示されたわけであるが、これまでの精力的な研究にもかかわらずその毒素は特定されていない。

一方、ドパミンニューロンは上述のように加齢とともに減少し、ドパミンの分解酵素であるモノアミン酸化酵素の活性は加齢とともに上昇することから、内在毒素説が提唱された。細胞酸化反応により過酸化水素とフリーラジカルが発生し、これを取り除かないとドパミンニューロンが傷害される。パーキンソン病患者の黒質では、過酸化水素の除去に対して主要な役割を果たす還元型グルタチオンが高度に減少している<sup>11)</sup>。しかしながら、この減少は酸化ストレスをもたらす(酸素ラジカルを増大させる)原因なのか、逆に酸化ストレスの結果(還元型グルタチオンは酸化ストレスで減少する)なのかは未確定である。一方、パーキンソン病患者の黒質ではミトコンドリアの複合体 I の活性が低下していることが示されている<sup>12) 13)</sup>が、これは外毒素、酸化ストレス、あるいはミトコンドリア DNA の遺伝的欠陥のいずれでも生じ得る。

現在、パーキンソン病に対しては複数の治療法がある。抗パーキンソン病薬(抗パ薬)だけでも数種類、すなわち最も強力な L-dopa のほか、ドパミン作動薬、モノアミン酸化酵素阻害薬、抗コリン剤、アマンタジンなどが使用可能である。実際には臨床症状に合わせて、これらの中から1つあるいは複数を選んで使用する<sup>14)</sup>。さらに、視床破壊術や淡蒼球破壊術などの定位脳手術も行われている。加えて脳内の諸核に刺激電極を留置し、前胸部に植え込んだ電気刺激装置によってこの電極を高頻度刺激する深部脳電気刺激療法(deep brain stimulation)も世界各地で行われている<sup>15)</sup>。本邦でも、2000年4月より、深部脳電気刺激療法に保険が適用されるようになり、当施設でも脳神経外科と神経内科が協力して既に多数例で実施している。また、保険の適用はないが、修正電気痙攣療法(modified electroconvulsive therapy)も試みられている<sup>16)</sup>。

しかしながら、これらの治療法はそれぞれに問題点を有している。抗パ薬、特に L-dopa を長期服用すると様々の不都合が生じる；①効果の減弱、②運動症状の日内変動、すなわち wearing-off 現象や on-off 現象、あるいは過剰運動としてのジスキネジア(不随意運動)、③精神症状、すなわち幻覚や妄想がその代表である。これらは、線条体におけるドパミンニューロンの軸索終末が減少することによって生じると推測されている。L-dopa からドパミンへの変換は軸索終末で行われるために、これらの軸索終末が減少すれば L-dopa を投与してもドパミンへの変換は十分には行われなくなり、L-dopa の効果は減弱する。一方、線条体でのドパミンニューロンの軸索終末の減少によってドパミンに対する脱神経性過敏が生じ、このために L-dopa 投与により線条体のドパミン量がわずかでも過剰になればジスキネジア(不随意運動)が出現すると考えられている<sup>11)</sup>。L-dopa 治療後2年で、運動症状の動揺は約50%、不随意運動は30%に出現する<sup>17)</sup>。また、ドパミン受容体作動薬を単剤で長期間治療するのは困難で、3年目までに約50%、5年目までに70%近くの患者は L-dopa との併用を要する<sup>18) 19)</sup>。また、視床や淡蒼球などの定位脳破壊術や深部脳電気刺激療法も全てのパーキンソン病症例に対して有効なわけではなく、症状によって適用術式が限定される。例えば視床破壊術は振戦や筋強剛の改善効果は強いが、その他のパーキンソン症状に対する効果は弱い。また、両側手術では認知症などの合併症の危険がある。淡蒼球破壊術は筋強剛や抗パ薬の副作用としてのジスキネジア(不随意運動)に対する効果は強いが、歩行障害や寡動、姿

勢反射障害などに対する効果は不十分である。深部脳電気刺激療法、とりわけ両側視床下核の同時刺激は振戦、寡動、筋強剛、姿勢反射障害など全てのパーキンソン症状に対して有効だが、進行して L-dopa の効果がなくなった症例には無効であり、長期予後も良好とは言えない<sup>20)</sup>。磁気刺激療法や修正電気痙攣療法はまだ研究段階であり、どのような症例に有効であるかの基準もなく、広く普及するには至っていない。

## ② 当該遺伝子治療臨床研究の概要

本研究では、進行したパーキンソン病患者の線条体（被殻）に、ヒト AADC 遺伝子を組み込んだ 2 型 AAV ベクター（AAV-hAADC-2）を定位脳手術的に注入する。AADC（酵素番号 enzyme code:EC4.1.1.28）はそれぞれドパミンおよびセロトニンの前駆体である L-dopa および 5-HTP（5-hydroxytryptophan）を特異的基質とする酵素である。したがって AADC によってドパミンの他にセロトニンも生成されるが、セロトニンの生成量は 5-HTP の量に依存する。5-HTP はプロトコール上投与されることはなく、内因性の 5-HTP から AADC を介して生成されるセロトニンの量は生理的範囲内であるのでセロトニンが過剰生成されることはない。

本研究に期待されるもう 1 つの点は、進行したパーキンソン病治療に伴って問題になる精神症状への対策である。ドパミンはパーキンソン病において不足する黒質-線条体路だけではなく、中脳-辺縁系路における神経伝達物質でもある。パーキンソン病の治療を目的として L-dopa などのドパミン受容体刺激薬を使用すると、中脳-辺縁系路が刺激されて精神症状が発現する。本研究では、黒質-線条体路の投射先である被殻の背外側部に選択的に AAV-hAADC-2 を注入するので、精神症状を発現させることなくパーキンソン症状を改善させることが期待される。

## ③ 他の治療法との比較および遺伝子治療を選択した理由

進行したパーキンソン病に対しては、薬物療法のみならず外科的治療も無効である。また磁気刺激療法や修正電気痙攣療法は研究段階であり、パーキンソン病に対する効果が十分には確認されていない。特に進行例に対する効果は限定的であると考えられる。現在のところ、進行したパーキンソン病に対する新しい治療戦略として、ドパミン産生細胞の移植、幹細胞治療、そして遺伝子導入療法が考えられる。

### A. ドパミン産生細胞の移植

ドパミン産生細胞の移植によってパーキンソン病を治療する試みは、1979 年に Bjorklund らがパーキンソン病のモデル動物の線条体に、胎仔の中脳黒質ドパミンニューロンを移植し、症状の改善を報告したことに端を発する。臨床応用では、ドパミンを産生する移植細胞をどこに求めるかが問題になった。最初に注目されたのは患者自身の副腎髄質細胞で、1982 年以来世界中で 300 例以上の自己副腎移植が行われたが、その結果は満足できるものではなかった。原因は細胞の生着率の悪さにあると考えられた。そこで自己副腎と神経栄養因子の分泌がさかんな末梢神経を同時に移植する試みが行われている。治療成績は自己副腎のみの移植と比べて良好であるが、症例数も少なく、一般化するには至っていない。

板倉らはドパミン供給細胞として交感神経節に注目し、1991 年以来、自己の頸部交感神経節（星状神経節）より採取した細胞を線条体に移植している<sup>21)</sup>。治療効果は認められるものの、時間経過とともに効果は減弱するので、星状神経節はドパミン供給のためには量的に不十分と考えられた。より多くの交換神経節細胞を得るために、胸部交換神経節を利用する方法も検討されているが、長期的な効果は不明である。

1987年にメキシコの Madrazo らは中絶胎児の中脳黒質ドパミン細胞をパーキンソン病患者に移植し、症状の改善を報告した。米国の施設も追随しようとしたが、NIH は 1988 年に胎児を用いた移植研究を禁止した。宗教上の理由から人工妊娠中絶に反対する強い世論が存在し、一方で金銭と引きかえに胎児を売る人間が現れてもおかしくない社会情勢に配慮した決定だった。その後連邦政府および各州での法整備が進み、法律に準拠した胎児脳移植が再開され、胎児の黒質ドパミン細胞を用いた二重盲検試験が 2 つ実施された<sup>22)23)</sup>。いずれの試験でも移植群において PET により [<sup>18</sup>F] L-dopa の取込みの増加が認められ、剖検例で移植したドパミン神経細胞が生着していることが確認された。しかし、臨床効果については、当初期待されたほどではなかった。1 番目の試験では、60 歳以下の患者でのみプラセボ群と比較して軽度の症状の改善を認めた。また、2 番目の試験では、移植前の運動障害が軽い患者のみ 2 年後の症状の増悪がプラセボ群より少なかったが、全体としてはプラセボ群と差がなかった。さらに、移植患者の一部で L-dopa を服薬しない状態においても不随意運動 off-medication dyskinesia が出現することが明らかになった。これらの結果から、2 番目の試験を行った Olanow らは、現時点では胎児細胞移植はパーキンソン病の治療として推奨できないとしている。

胎児細胞移植では、1 人のパーキンソン病患者を治療するために、胎児 4 人分のドパミン細胞が必要である。さらに移植細胞の生着のためには、免疫抑制剤を使用した場合には、免疫能力の低下に起因する様々な合併症の危険がある。胎児の黒質ドパミン細胞移植の症例数は世界的にも限られており、効果についても議論が分かれている。また、現在我が国には中絶胎児組織の臨床応用に関するガイドラインが存在せず、直ちにこの治療法を実施することは困難である。

## B. 幹細胞治療

脳内にも分化能力に富む神経幹細胞が存在することが発見され、その移植によって様々な神経疾患の治療ができるのではないかと注目を集めている。多能性の幹細胞は適切な条件下では、神経細胞を含む種々の細胞に分化させることができる。パーキンソン病やアルツハイマー病などの神経疾患の治療に際して、この幹細胞を修復用の細胞や組織の供給源として用いることが研究されている。この領域の研究は大きな成果をもたらす可能性を秘めているが、実用化の前には高いハードルが数多く横たわっている。例えば、神経幹細胞をどこから得るかという問題がある。胎児の幹細胞を利用する場合は、胎児の黒質ドパミン細胞移植の場合と同様の問題が生じよう。成人の死体から神経幹細胞を分離したという報告もあるが、このようにして得た神経幹細胞を利用する場合には、臓器移植と同様の問題が生じる。成体内に元来少数存在する神経幹細胞を取り出して増殖する方法なら、多くの問題を解決できるが、短期間で大量の移植用細胞を分化誘導する技術は確立していない。また増殖中の細胞を利用する場合には、未熟な細胞であるだけに、がん化の可能性も考慮する必要がある。胚性幹細胞 (embryonic stem cell : ES 細胞) からドパミン細胞を分化させる方法も開発されてきているが、未分化細胞の混入による奇形種発生危険性がある。また、胎児細胞移植と同様、細胞移植後に不随意運動が生じる可能性がある。またヒト ES 細胞の利用に際しては、ヒト ES 細胞の臨床応用に関するガイドラインが未整備であることも問題である。このように、パーキンソン病に対して近い将来、幹細胞治療を行い得る見通しは、今のところ立っていないのが実状である。

## C. 遺伝子導入療法

細胞移植に伴う問題点を回避する方法として、遺伝子導入療法が考えられる。脳内に存在する自己細胞に遺伝子を導入することによって、失われた神経細胞の働きを遺伝子導入された自己細胞に代行させ

るという戦略である。導入する遺伝子の種類によって、3種類の戦略が考えられている。第1はドパミン産生にかかわる酵素遺伝子を導入して、自己細胞にドパミンを産生させる方法である。パーキンソン病に対するドパミン神経細胞の移植治療では、その本来の存在部位である黒質への細胞移植は手技的に難しいこと、また仮に黒質に移植したとしても線条体にその軸索を投射させる手法がないことから線条体への細胞移植が行われており、Open-label study では、L-dopa 非服用時における unified Parkinson's disease rating scale (UPDRS)の運動スコアで 30-40 %の運動障害の軽減、1日のうちで L-dopa が無効な時間(off)の 43-66 %の減少、1日あたりに必要な L-dopa の 16-77 %の減量など、実際ある程度奏効している<sup>24)</sup>。線条体に投射しているドパミンニューロンの軸索終末からドパミンが放出される機構は十分には解明されていないが、ドパミンは他の伝達物質とは異なって単に細胞間隙に一定量が徐々に漏れだしていれば十分であるとの考えもある。カプセル化細胞の線条体移植実験<sup>25)</sup>はこの仮説を支持するものである。また、上記の細胞移植治療が奏効することもこの推測に反しない。以上の知見を総合すれば、ドパミン合成に必要な酵素遺伝子を線条体の神経細胞に導入してドパミンを産生させれば症状が改善することが期待される。これが本臨床研究の基本的なコンセプトである。

遺伝子導入療法の第2の戦略は、線条体の細胞に神経栄養因子を産生させる方法である。神経細胞が長期間にわたって生存していくためには、神経栄養因子の存在が必要である。神経変性疾患では、例えばパーキンソン病ではドパミンニューロンが障害され、アルツハイマー病ではアセチルコリンニューロンが障害され、筋萎縮性側索硬化症では運動ニューロンが障害されるというように、特定の系統のニューロンが障害される。特定の機能を持ったニューロンには、その生存に必要な栄養因子が存在し、その栄養因子の欠乏によって神経変性疾患が発病するという説がある。パーキンソン病ではドパミン細胞の生存に必要な栄養因子の不足が、ドパミン細胞の変性脱落を加速している可能性がある。そこで神経膠細胞由来神経栄養因子 (glial cell line-derived neurotrophic factor : GDNF) をはじめとするドパミン細胞の栄養因子を線条体に補充する治療が考慮されている。神経栄養因子は分子量が大きいため、血液脳関門を通過することができない。持続的に脳室内へ投与する工夫もあるが、感染の危険もあって臨床応用は現実的には難しい。そこで遺伝子導入によって、線条体の細胞に神経栄養因子を産生させる方法が考えられた<sup>26)</sup>。2004年から、AAVベクターを使用して GDNF 類似の神経栄養因子である neurturin の遺伝子を被殻に導入する遺伝子治療の臨床試験が米国で開始された。

第3の戦略は、抑制性伝達物質である GABA の合成酵素である glutamic acid decarboxylase (GAD-65 および GAD-67) の遺伝子を視床下核の細胞に導入して、視床下核の出力を興奮性から抑制性に変換する方法である<sup>27)</sup>。パーキンソン病では視床下核の神経細胞の活動性が異常に亢進しており、これが症状発現に大きく関与していることが、様々なデータから推察されている。2003年8月には、米国で AAVベクターを使用したこの方法による臨床試験が開始され、成果が注目されている。しかし、この方法では、視床下核の過剰な抑制に陥る可能性や、視床下核内の機能局在により遺伝子導入の効果が異なる可能性がある。

このように、従来の薬物療法や手術療法では L-dopa の効果が減弱した進行例に対する治療には限界があり、また遺伝子導入以外の新しい治療法はそれぞれの問題があって、直ちに広く臨床応用することは難しい。本研究では進行したパーキンソン病に対する新しい治療法として、ドパミン合成を促進する遺伝子治療を選択した。予定されている AADC 遺伝子の導入と L-dopa の経口投与を組み合わせる方法は安全性も高く、動物実験において有効性も確認されていることから、遺伝子治療臨床研究の第一歩として、この方法を採用した。

今回使用する臨床用 AAV ベクターについては、米国 Avigen 社（1301 Harbor Bay Parkway, Alameda, CA 94502）によって作製された。同社と本研究チームは約 10 年間にわたって AAV ベクターに関する共同研究を幅広く進めてきた。Avigen 社は AAV ベクターを用いた遺伝子治療法の開発を主目的に設置されたベンチャー企業であり、血友病 B に対する遺伝子治療臨床研究を実施したことで知られている。同社は 2 番目の遺伝子治療対象疾患としてパーキンソン病を取り上げ、その戦略としては、AADC 発現 AAV ベクターと L-dopa 内服を組み合わせる方法を採用した。我々は、チロシン水酸化酵素 tyrosine hydroxylase (TH) 発現 AAV ベクター/AADC 発現 AAV ベクター/GTP cyclohydrolase I (GCH) 発現 AAV ベクターの三者を組み合わせる遺伝子治療法の開発を行い、パーキンソン病モデルサル系のその有効性を確認しているが、臨床応用の第 1 段階としてはドパミン産生量の制御が簡単であり、かつ 1 種類のベクターで済む Avigen 社の方法が適していると判断し、Avigen 社の臨床プロトコルにほぼ沿った形で最初の臨床研究を実施することとした。この AAV-hAADC-2 と L-dopa 内服を組み合わせる遺伝子治療法に関しても、パーキンソン病モデルサルを用いた前臨床研究で、その安全性と有効性を既に確認している。

Avigen 社は、本遺伝子治療法（Phase 1 clinical trial using AV201）に関して慎重に準備を進め、2004 年に米国 FDA から IND としての承認を受け、同年 12 月 16 日に第 1 例目の遺伝子治療を米国 UCSF（400 Parnassus Ave. San Francisco, CA 94143）で実施した。本研究チームも、ここ数年、Avigen 社とパーキンソン病の遺伝子治療に関して話し合いを行ってきており、2004 年に入ってから具体的な交渉を進めてきた。また、2004 年 10 月と 12 月には、Avigen 社の担当者が自治医科大学を訪問し、米国の臨床試験の概要説明・自治医科大学の関係施設の視察などを行った。2005 年 7 月 20 日に UCSF で実施された第二例目の遺伝子治療手術は、申請者らの立ち会いのもとで行われた。その上で、自治医科大学と Avigen 社との間でパーキンソン病遺伝子治療のための臨床用 AAV ベクターの提供に関する契約（Clinical Research Agreement:CRA）を締結し、本学での遺伝子治療第 I/II 相臨床研究を実施することとなった。この CRA は 2005 年 8 月 12 日付けで締結された（資料 1）。自治医大における具体的な遺伝子治療プロトコルに関しては、細部については米国 UCSF と全く同じものにする必要はないこと、自治医科大学では UCSF のプロトコルでの第二用量に相当する AAV ベクター量からスタートできることが確認されている。なお、Avigen 社がパーキンソン病の遺伝子治療を目的に AAV-hAADC-2 を提供する施設としては、今のところ、米国では UCSF、米国外では自治医科大学の 2 箇所に限定されている。

2005 年 12 月 17 日に Avigen はこの遺伝子プロトコルを米国の Genzyme 社に売却したため、今後 Genzyme 社からベクターの供給を受けることとなる。本臨床研究で使用する予定のベクターは既に Avigen 社により製造されており、現在は Genzyme 社に保管されている。上述した Avigen 社と自治医科大学間の契約（CRA）は Genzyme 社が引き継ぐことを確認している（資料 1）。

## 6 遺伝子の種類およびその導入法

### (1) 人に導入する遺伝子の構造と性質

#### ① 人に導入する遺伝子の構造

ヒト AADC 遺伝子は第 7 染色体上に位置する 85,000 塩基対以上におよぶ大きな DNA で、メッセンジャー RNA に対応する 15 のエキソンからなり、各々のエキソンは 20 ないし 400 塩基対、イントロンは 1,000 ないし 17,700 塩基対の長さである<sup>28)</sup>。本研究ではメッセンジャー RNA から逆転写で合成されたヒト AADC の相補的 DNA を治療遺伝子として用いるが、イントロンが除かれている点が、もとのゲノム DNA とは異なる。この相補的 DNA はヒト褐色細胞腫の相補的 DNA ライブラリーをもとに、480 個のア

ミノ酸をコードする 1,440 塩基対と終止コドンを含む 1,443 塩基対として単離されている。この相補的 DNA を、アンピシリン耐性遺伝子を含むプラスミドベクターに組み込み、そのプラスミドベクターで形質転換した大腸菌を培養する。この後、大腸菌よりプラスミド精製用陰イオン交換カラムクロマトグラフィを用いて必要量のプラスミドベクターを調製する。

## ② 人に導入する遺伝子の性質

本研究では、2 型 AAV 由来のベクターに神経細胞で安定に遺伝子を発現するサイトメガロウイルス由来のプロモーター配列を組み込み、その下流に配置した AADC 遺伝子を発現させる（図 1）。導入遺伝子が AAV ベクターにより染色体に組み込まれる可能性は極めて低く、導入遺伝子は基本的に染色体外に存在すると考えられている。AAV ベクター内では導入遺伝子は 1 本鎖 DNA であるが、細胞内で 2 本鎖 DNA に変換され導入遺伝子が発現する。ラットでは、この AAV ベクターによる発現は 1 年以上持続することが示唆され、サルにおいても遺伝子導入の効果が 3 年以上持続することが示されている。

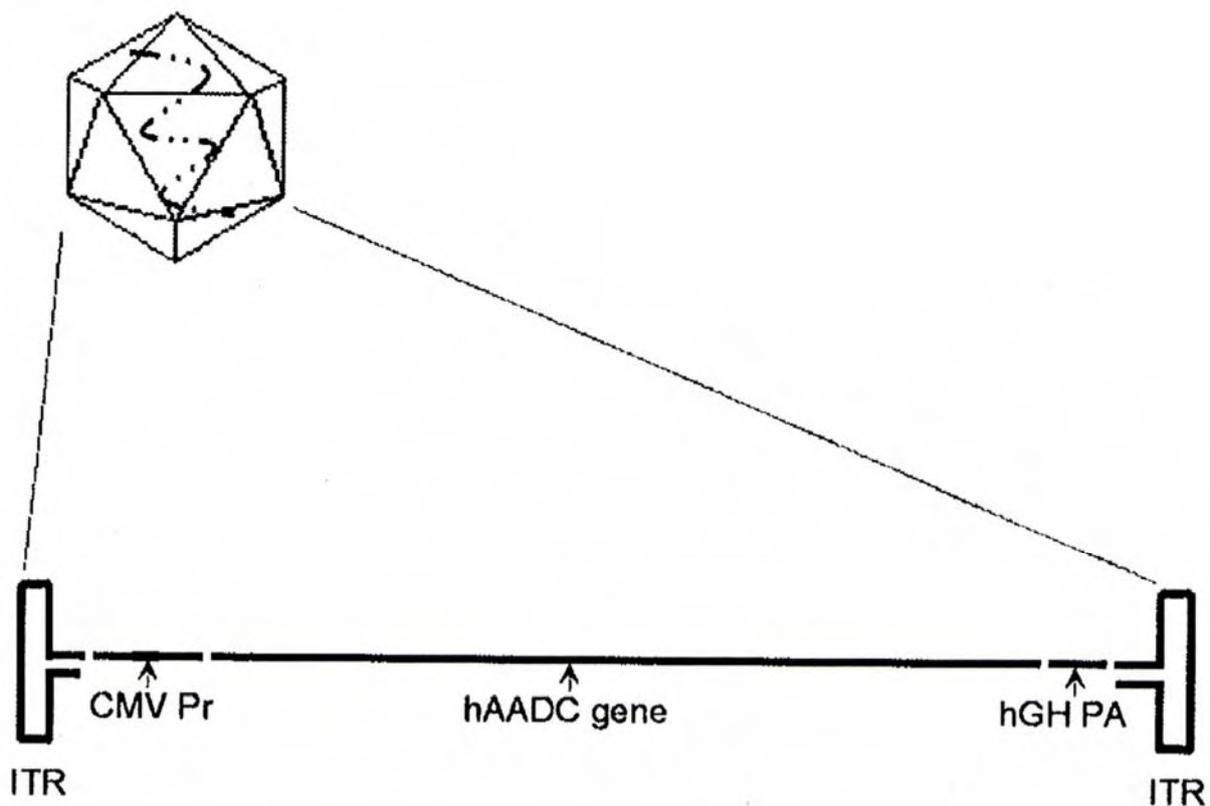


図 1：ウイルスベクターに搭載される遺伝子

AAV 由来の塩基配列は両端に存在する ITR 以外の部分が除かれ、サイトメガロウイルスのプロモーター/エンハンサー (CMV Pr)、ヒト AADC 遺伝子 (hAADC gene)、ヒト成長ホルモンのポリ A 配列 (hGH PA) によって置換されている。

### ③ 導入遺伝子からの生成物の構造およびその生物活性

AADC は 53.9kDa の 2 量体として存在し、ドパミンやセロトニンなどの神経伝達物質の合成にかかわっている。この酵素は、チロシン水酸化酵素により生合成された L-dopa の脱炭酸によりドパミンを合成する。本研究では、経口投与する L-dopa の投与量を調節することにより、AADC によるドパミンの合成量を制御することが可能である。また、AADC はトリプトファン水酸化酵素により生合成された 5-HTP (5-hydroxytryptophan) の脱炭酸によりセロトニンを合成するが、AADC により内因性の 5-HTP から生成されるセロトニンの量は生理的範囲内である。

### (2) 本計画で使用するその他の組換え DNA の構造と性質

本計画では他の組換え DNA は使用しない。

### (3) 標的細胞とした細胞の由来および生物学的特徴ならびに当該細胞を標的細胞とした理由

パーキンソン病では、線条体に投射している黒質ニューロンの脱落によって、線条体のドパミンが欠乏している。このため、黒質の神経細胞や、黒質-線条体路の投射先である被殻の神経細胞を標的として遺伝子導入を行うことが、治療効果を得るために効果的であると期待される。本計画では安全性を考慮し、被殻に存在する自己の神経細胞を標的として遺伝子導入を行い、ドパミンを産生させる。

### (4) 遺伝子導入方法の概略および当該導入法を選択した理由

遺伝子導入法に関しては、ウイルスベクターあるいは非ウイルスベクターが用いられるが、それぞれには一長一短があるため、標的細胞の種類や必要とされる発現期間などを考慮して目的に応じて使い分ける必要がある。神経細胞に遺伝子導入する場合には、①非分裂細胞である神経細胞に目的遺伝子を効率よく導入できること、②導入遺伝子が長期間にわたり発現すること、③生体に対して安全であること、が求められる。アデノウイルスベクターは細胞障害性が強く、導入遺伝子の発現が一過性である。レンチウイルスベクターは非分裂細胞に遺伝子を導入可能であるが、ヒト免疫不全ウイルス (HIV) を基本骨格としており、前臨床試験において十分に研究されておらず安全性の面で問題がある。AAV ベクターは神経細胞に効率よく遺伝子を導入できること、細胞毒性が少なく、静止期細胞で長期間発現が望めること、非病原性のウイルスを基本骨格としていることから上記 3 条件を満たす。霊長類の AAV には 2 型をはじめとして複数の血清型が同定されている (表 1)。またさらに多数の遺伝子型が存在する可能性が指摘されている。5 型では神経細胞以外にグリア細胞にも導入遺伝子の発現が多く認められるが、2 型 AAV は比較的特異的に神経細胞で導入遺伝子が発現する。米国では 2 型 AAV ベクターのみが臨床研究に使用することを認められており、血友病に対して第 IX 凝固因子発現 AAV ベクターの骨格筋<sup>29)</sup>および肝臓への注射<sup>30)</sup>、パーキンソン病に対してグルタミン酸デカルボキシラーゼ (GAD) 発現 AAV ベクターを視床下核に注入する臨床研究<sup>27)</sup>および神経栄養因子である neurturin 発現 AAV ベクターを被殻に注入する臨床研究が既に行われている。以上のことから今回の臨床研究では 2 型 AAV ベクターを利用するのが最適と考えられる。

表 1. 霊長類 AAV の血清型

血清型	2 型との相同性	由来	レセプター	標的組織
1	中	サル	シアル酸	骨格筋
2	-	ヒト	ヘパラン硫酸プロテオグリカン	神経
3	高	ヒト	不明	神経
4	低	サル	シアル酸	脳室上皮
5	低	ヒト	シアル酸	気道・網膜・神経
6	中	1+2 型	不明	骨格筋
7	中	サル	不明	骨格筋
8	中	サル	不明	肝臓
9	中	ヒト	不明	気道・肝臓・骨格筋

#### (5) ウイルスベクターを用いて遺伝子導入を行う場合

##### ① AAV-hAADC-2 の野生型ウイルスの生物学的特徴および人に対する影響

2型 AAV はパルボウイルス科デPENDウイルス属に分類される直径約 26 nm のエンベロープを持たない球形ウイルスである。VP1 (82 kDa)、VP2 (65 kDa)、VP3 (60 kDa) が 1:1:10 の比率で合計 60 分子が集まって約 3,600 kDa のキャプシドを構成している。ゲノムは 4,679 ヌクレオチドからなる 1 本鎖 DNA (約 1,500 kDa) であり、プラスとマイナス鎖がほぼ同じ比率で混在する。ゲノム両末端 145 ヌクレオチドは T 字型ヘアピン構造を形成しており inverted terminal repeat (ITR) と呼ばれる。AAV ゲノムには *rep* と *cap* 遺伝子がありそれぞれ非構造蛋白質とキャプシド蛋白質をコードしている。AAV はアデノウイルス、ヘルペスウイルスなどのヘルパーウイルスの存在下でのみ増殖でき、単独では増殖できない。単独で細胞に感染した場合、第 19 番染色体の AAVS1 領域 (19q13.42) に特異的にそのゲノムを組み込み、潜伏感染の状態となる。ヘルパーウイルスと同時に感染したり、潜伏感染状態でヘルパーウイルスが感染したときに AAV の増殖が起こる (図 2)。2 型 AAV は呼吸器を主たる感染経路として人から人へ感染するとされている。大部分は不顕性感染で AAV の感染に伴う特有の疾患は報告されておらず、非病原性と考えられている。米国での調査によると出生直後は AAV に対する抗体は検出できないが、学童期で人口の 50 % 以上で抗体が陽性となる。*rep* 遺伝子より合成される Rep 蛋白質は過剰発現すると細胞増殖を抑制したり、ヘルパーウイルスを含めた他のウイルスの複製も抑制する。ウイルス粒子は物理化学的に極めて安定で、pH 3 から 9 の間で不活化されず、また 56°C、1 時間の処理でも不活化されない。

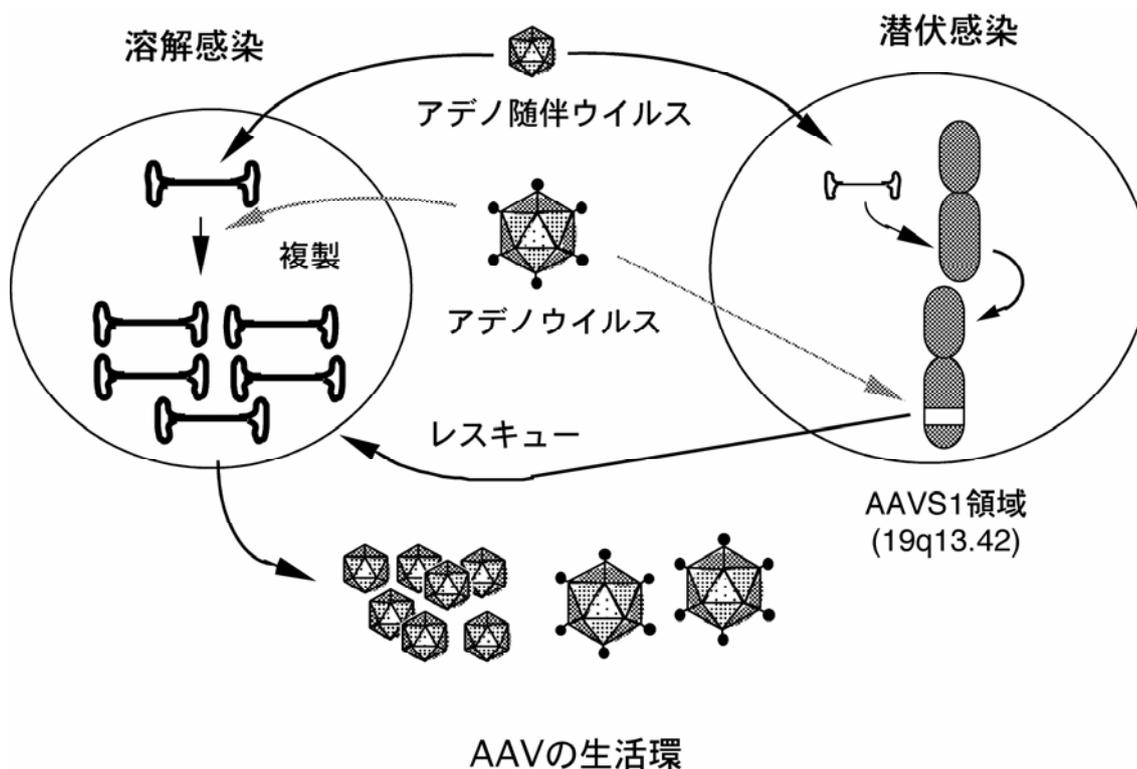


図 2

## ② AAV-hAADC-2 の作製方法

AAV ゲノムの ITR を除き *rep*、*cap* 遺伝子をクローニングした AAV ヘルパープラスミド (pHLP19)、サイトメガロウイルスのプロモーター/エンハンサー、CMV/ $\beta$  グロビンキメライントロン、ヒト AADC 遺伝子、ヒト成長ホルモン遺伝子ポリ A シグナルからなる AADC 発現カセットを ITR 間に挿入した AAV ベクタープラスミド (pAAV-hAADC-2)、そして 2 型アデノウイルスの E2A、E4、VARNA 遺伝子をクローニングしたアデノウイルスヘルパープラスミド (pladeno5) の 3 種類をリン酸カルシウム法にて HEK293 細胞にトランスフェクションする<sup>31)</sup>。トランスフェクション 3 日後、細胞を回収し凍結融解操作で細胞内の AAV ベクターを遊離させ 2 回の塩化セシウム密度勾配超遠心によって精製する。10 mM リン酸ナトリウム/140 mM NaCl/5% ソルビトール溶液 (pH 7.4) にて透析を行い、Poloxamer 188 を最終濃度 0.001% になるよう加え、0.22  $\mu$ m のフィルターで滅菌処理を行いウイルスベクター液とする。使用する培地、血清、試薬等は全て米国の Food and Drug Administration (FDA) の good manufacturing practice (GMP) 規格に適合しており、Avigen 社の内部規定に基づいて作製されている。

ITR は AAV キャプシドへのパッケージングシグナルであるが、*rep*、*cap* 遺伝子を持つ AAV ヘルパープラスミド pHLP19 は ITR 配列を持たないため、replication-competent AAV の出現は極力抑えられている。また *rep* 遺伝子の p5 プロモーター配列は AAV ヘルパープラスミドと AAV ベクタープラスミドの間で組換えを促進し、偽野生型 AAV の産生を起こすことが知られているが p5 プロモーターの TATA box を破壊し *rep*、*cap* 遺伝子のポリ A 配列の下流に移動させることにより偽野生型 AAV が生じなくなることがわかっている。pHLP19 では偽野生型 AAV の産生を抑えるため p5 プロモーター配列を移動してある<sup>32)</sup>。

### ③ AAV-hAADC-2 の構造

ウイルスキャプシドは野生型ウイルスと異なる。キャプシド内に組み込まれているベクターゲノムは 3,466 ヌクレオチドからなり、両末端の ITR は野生型と同じであるがその間にはヒト AADC を発現させるための、サイトメガロウイルスのプロモーター/エンハンサー、CMV/ $\beta$  グロビンキメライントロン、ヒト AADC 遺伝子、ヒト成長ホルモン遺伝子ポリ A シグナルに置き換えられている。

### ④ AAV-hAADC-2 の生物学的特徴

AAV はヘパラン硫酸プロテオグリカンを受容体として感染する。この分子は色々な細胞表面に存在すると考えられるため AAV の組織特異性は低い。人以外の動物でも感染が成立すると考えられている。AAV ベクターは神経細胞、肝臓、骨格筋、心筋などで効率の良い遺伝子発現が起こる。1 本鎖ベクターゲノムは核内でその相補鎖とアニールしたり、宿主の DNA 合成酵素の働きで 2 本鎖となり導入遺伝子を発現できるようになる。また、2 本鎖となったベクター DNA は複数が連なり環状 DNA を形成したり、コンカタマーを形成し、その一部が染色体に組み込まれると考えられる。AAV ベクターにより分裂細胞、静止期の細胞双方に遺伝子導入が可能であるが、発現様式に違いがある。分裂細胞では宿主 DNA 合成酵素の働きで発現型 2 本鎖に変換され感染直後より良好な導入遺伝子の発現が認められる。染色体に組み込まれていない導入遺伝子は細胞分裂に伴い希釈され失われてゆき、染色体に組み込まれた導入遺伝子を持つ細胞が最終的に長期発現を維持する。一方静止期細胞では相補鎖同士のアニーリングが 2 本鎖ゲノムの主たる合成経路と考えられ、約 1 ヶ月程かかって徐々に導入遺伝子の発現が上昇してゆき、染色体外でコンカタマーの形態で長期間にわたって安定に保持される (図 3)。動物実験では年余にわたる導入遺伝子の発現も報告されている。AAV ベクターゲノムの染色体での組込み部位は、*rep* 遺伝子を欠いているため AAVS1 領域へは組み込まれず、ランダムに組み込まれるが<sup>33)</sup>、その組込み効率は極めて低いと考えられている。マウスでの肝臓での組込み部位の解析では組込みは遺伝子存在領域に組み込まれていることが多く、組込み部位近傍のゲノムが約 2 kb 程まで欠失していることもある<sup>34)</sup>。ITR は弱いながらプロモーター活性を持つが、内向きにプロモーター活性を持ち<sup>35)</sup>、また染色体への組込みに伴い欠失することが多く、組込み部位近傍の遺伝子の発現を誘導する可能性は少ない。

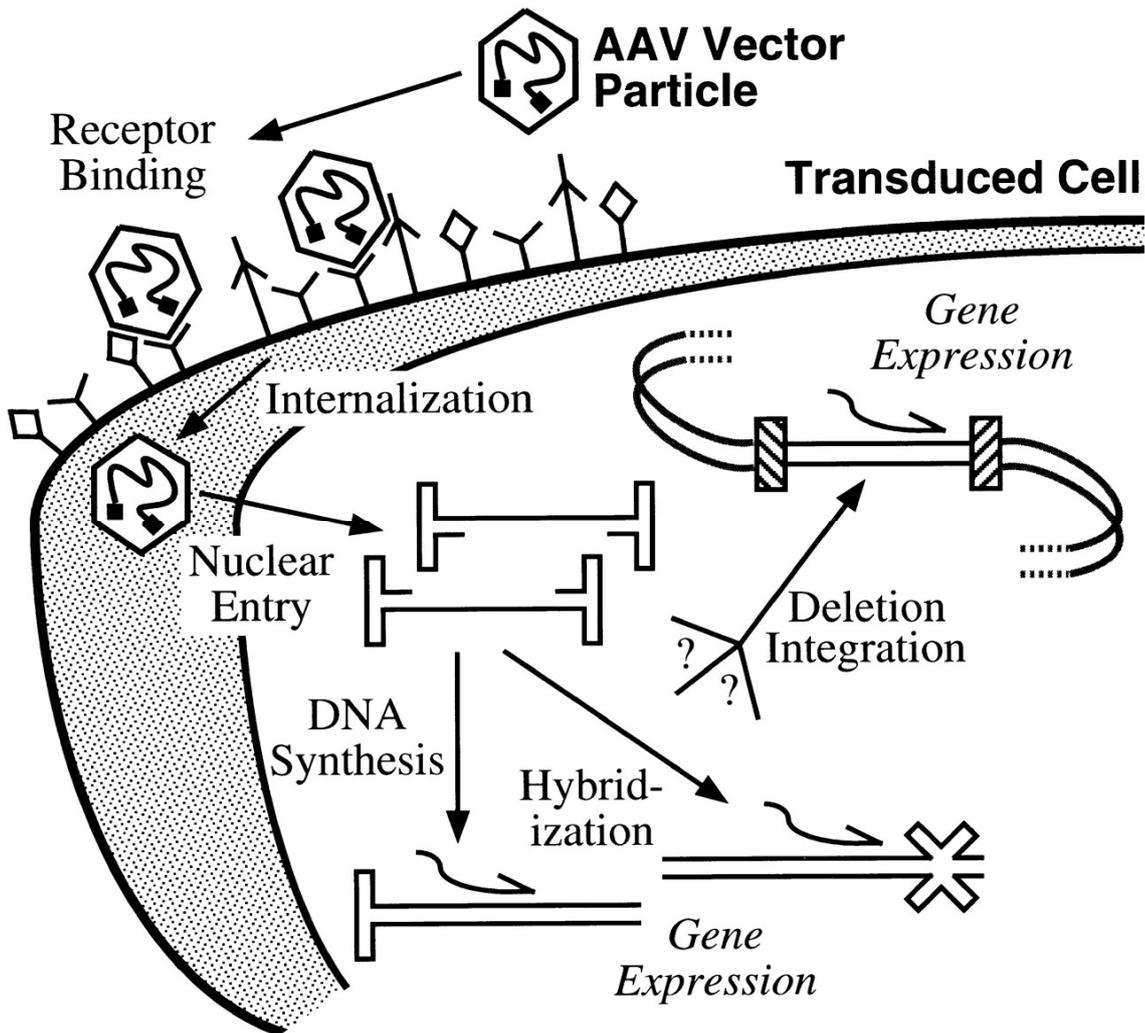


図 3. AAV の感染と発現様式<sup>26)</sup>

## 7 安全性についての評価

### (1) 遺伝子導入方法の安全性

#### ① 遺伝子導入に用いる AAV ベクターの純度

組換えウイルスの製造および純度の検定は、ベクター供給元である米国 Avigen 社および 2006 年以降は Genzyme 社において行う。本研究においては、米国 FDA による医薬品および医療用装置に関する GMP の認可を受けた品質管理のための設備を有している Avigen 社において製造されたロットを用いる。ベクターはポリエチレングリコールによる沈殿の後、2 度にわたる塩化セシウムを用いた密度勾配遠心分離により精製される。ベクターは最終濃度 5% のソルビトールならびに 0.001% の Poloxamer 188 を含む pH 7.4 の PBS (Phosphate-buffered Saline) 内に浮遊しており、患者に投与する際には必要に応じてこの溶液でベクター溶液を希釈する。これらの物質はいずれも米国で医薬品添加物として認可されたものであり、純度および安全性に問題のないものを用いることとする。最終的なベクター溶液は無色・無臭であり、エンドトキシンの含有量は (10 EU/ml 以下) である。混入蛋白質は SDS-PAGE によって検定し、300 ng ( $5 \times 10^{10}$  vg) のベクターを電気泳動・銀染色して確認した場合にウイルス由来以外のバンドが検出されないこととする (10 ng 以下に相当)。また、ウェスタン法によってもウイルス構造蛋白質に該当する分

子量以外のバンドは認められないこととする。一方、産生細胞およびプラスミドに由来する DNA の混入についてはそれぞれ特異的な配列を標的とした定量的 PCR 法を用いて検討し、基準は 120 pg/ml 以下とする。エンドトキシンは LAL アッセイにより測定し、基準は 10 EU/ml 以下とする。この方法の測定感度は 0.005 EU/ml である。また、精製に使用した塩化セシウムの残留に関しては、NEL Laboratories において ICP-MS 法により測定する。この方法の感度は 5 ng/mL であり、1.4  $\mu$ g/ml 以下を合格とする。無菌性の確認は BioReliance 社に委託して行われ、14 日間にわたる培養で細菌および真菌が検出されないことを基準とする。なお、本研究で使用するヒト AADC 遺伝子を搭載した 2 型 AAV ベクター (AAV-hAADC-2) の品質検査の結果を添付する (参考資料 2)。

## ② 患者に投与する AADC 遺伝子の純度およびその安全性

AAV-hAADC-2 に搭載されたヒトサイトメガロウイルスプロモーター (略称 CMV) は、ヒト AADC 遺伝子のみを転写し AADC (EC 4.1.1.28) が発現する。また、ヒト成長ホルモンの poly A 付加シグナル (略称 GH pA) により転写が終了する。細胞培養および動物実験において AADC の過剰発現による毒性は報告されていない。

## ③ 増殖性ウイルスの出現の可能性

元来野生型の AAV は単独では複製できず、複製するためにはアデノウイルスや単純ヘルペスウイルスなどのヘルパーウイルスの存在を必要とする。さらに AAV ベクターは構築の段階でウイルス由来の遺伝子の大部分が除去されているため、ヘルパーウイルスが存在しても複製することはできない。唯一の可能性としてベクター作製時に非相同組換えにより生成した野生型 AAV がヘルパーウイルスの存在下で複製することがあり得る。野生型 AAV の混入を検出するため、作製したベクターを野生型のアデノウイルスとともに HEK293 細胞に感染させ、低分子量の DNA を回収し電気泳動を行って AAV に相当するバンドを確認する。この方法の検出感度は  $10^7$  ゲノムあたり 1 コピーであり、検出感度以下を基準とする。

## ④ 遺伝子導入に用いる AAV ベクターの細胞傷害性

AAV ベクターを用いた場合の細胞傷害性は一般に低い。本研究に用いる濃度以上の AAV ベクターをサル脳内に注入した前臨床研究では、細胞傷害性は認められなかった。これまで血友病 B に対して行われた臨床研究においては、AAV ベクターの肝臓への遺伝子導入を行った 2 例で軽度の肝逸脱酵素の一過性上昇が認められたが<sup>36)</sup>、骨格筋内への注入では悪影響は認められていない。米国で行われているパーキンソン病に対する AAV ベクターによる 3 種類の遺伝子治療については、2006 年 8 月の時点で手術操作によって生じたと推察される軽度の頭痛が報告されているのみで、ベクター自体によると考えられる副作用は生じていない。今回の治療により細胞傷害が起こる可能性は極めて低いものと考えられる。

## ⑤ 体内の標的細胞以外の細胞への遺伝子導入の可能性

AAV ベクターを用いた血友病 B の臨床研究において、肝動脈経路でベクターを投与した際に、数週間精液中へのベクターの排出が認められた。しかしながら、その後の検討で、生殖細胞に対して高力価のベクターを作用させた場合にも、遺伝子導入が起こる可能性は極めて低いことが示された<sup>37)</sup>。本研究では血友病の臨床研究に用いられた量のおおよそ 1/100 程度の量のベクターを頭蓋内に局所投与するものであり、標的とした神経細胞以外に顕著な遺伝子導入が起こる可能性は低い。サル脳へのベクター投

与実験（最大投与量： $4.35 \times 10^{10}$  vg）では脾臓、心臓、肝臓、卵巣へのベクターゲノムの取込みは認められなかった。

## ⑥ 患者以外の人に遺伝子が導入される可能性

本研究では血友病の臨床研究に比べて極めて少ない量のベクターを局所に投与することから、ベクターを投与した患者から有意な量のベクター排出がみられる可能性は低いと考えられる。しかしながらベクターが排出された場合には、本研究の対象となる患者以外に感染する可能性を否定することはできない。ベクター拡散の可能性を最小限にするために、本研究の対象患者はベクター投与後一定の方法で隔離する。また、患者の尿、便、血液および唾液はPCR法でベクターDNAが陰性になるまで検査する（「9-(5)-④. 臨床検査および観察項目」を参照のこと）。なお、本研究の対象患者は女性では閉経期以降の患者、男性では治療後には子供をもうけることを希望しない患者としている。

## ⑦ 染色体内へ遺伝子が組み込まれる場合の問題点

AAVベクターは遺伝子が導入された細胞の染色体に組み込まれる可能性があるが、その確率や程度は著しく低いものと推定される。宿主細胞のDNAに組みこまれた結果として最も懸念されるのは、外来遺伝子の挿入によりがん遺伝子が活性化したり、がん抑制遺伝子が不活化されたりすることで発がんの危険性が高まることである。遺伝子導入の結果として染色体内へ遺伝子が組み込まれる可能性は完全には否定できないが、極めて低いものと思われる。また、今回遺伝子導入の標的とするのは非分裂細胞と考えられるニューロンであることから、遺伝子を導入した細胞が腫瘍化する危険性は低いものと考えられる。

## ⑧ がん原性の有無

これまでのところ野生型のAAVやAAVベクターを原因とする腫瘍発生の報告はなく、がん原性はないものと考えられる。

## (2) 遺伝子産物の安全性

AADCは正常でも線条体内のドパミンニューロン終末に存在する酵素である。この酵素はL-dopaをドパミンに変換する働きを有するので、原料であるL-dopaの供給がなくてはドパミンを産生することはできない。したがって本臨床研究では、L-dopaの投与量を調節することで線条体内のドパミン濃度が過剰とならないように制御することが可能であり、遺伝子発現における安全性は高いと考えられる。また、ドパミンの他にAADCにより5-HTPを基質としてセロトニンが生成されるが、内因性の5-HTPは少量であり、AADCの過剰発現が起こっても生成されるセロトニンの量は生理的範囲内であると予想されるため、これによる副反応は生じないと考えられる。

## (3) 細胞の安全性

AAVベクターはHEK293細胞（ヒト胎児腎細胞由来の5型アデノウイルスによる形質転換株）に3種類のプラスミドをトランスフェクションして製造される。このHEK293細胞はベクターを製造するAvigen社およびGenzyme社において厳密に品質管理がなされている。

### ① 培養細胞の純度

HEK293 細胞は Avigen 社において希釈法によって AAV ベクターに適したクローンが選択され、品質管理試験が施行されている。細菌、真菌、マイコプラズマ、ウイルス等による汚染の有無については専門の検査会社（BioReliance Corp. (Rockville, MD)）にてテストされ、安全性が確認されている。実際に細菌および真菌については直接培地に接種してコントロールとの比較試験を行いサンプルからはいかなる細菌、真菌の発現を認めず安全であることが確認された。マイコプラズマに関しては寒天培地による検出法および Vero 細胞による培養試験のいずれでも検出されず安全であることが確認された。ウイルスについては *in vitro*、*in vivo* でウイルスの増殖試験を行ったがウイルスの感染を示す徴候は検出されず HEK293 細胞の安全性が確認された。また細胞の培養に用いられている培地、FBS などは全て FDA の基準を満たすものである。

## ② 細胞の遺伝子型、表現型の安全性

いくつかの細胞内酵素（lactate dehydrogenase, glucose-6-phosphate dehydrogenase, malate dehydrogenase, nucleoside phosphorylase）の発現パターンを電気泳動法によって比較し、他種の細胞の混入の有無をテストし、混入を認めないことを確認している。また実際ベクター作製にはマスターセルバンクからの継代数が 4 から 20 までの HEK293 細胞を用いており、表現型が安定していると考えられる時期の細胞をベクター作製に使用している。

## ③ 被験者に投与する細胞の安全性

被験者にはこの HEK293 細胞は投与されない。AAV ベクターの精製の過程でこの HEK293 細胞は破碎、除去される。その残留物に関しては必要に応じ適切な純度試験が設定される。

## (4) AAV 以外のウイルスベクターに起因する重篤な有害事象

これまで臨床遺伝子治療における重篤な有害事象の例は 2 つ報告されている。1 つはアデノウイルスベクター全身投与を受けた患者が死亡した例、もう 1 つはレトロウイルスベクターによる治療を受けた免疫不全症患者に白血病が発症した事例である。

### ① アデノウイルスベクターによる全身性炎症反応症候群（1999 年、米国）

1997 年米国ペンシルベニア大学にて、アデノウイルスベクター肝動脈内投与によるオルニチントランスカルバミラーゼ（OTC）欠損症の遺伝子治療が始まった。ベクター量を漸増しつつ臨床試験を継続していたところ、第 18 例目の患者（18 歳、男性）が血液凝固異常と多臓器不全を起こし 4 日後に死亡した<sup>38)</sup>。この症例では、多量のアデノウイルス全身投与により患者の自然免疫系が強く活性化され、全身性炎症反応症候群（SIRS）と呼ばれる重篤な状態に陥った。一方、より低いベクター量を投与した先行 16 例および本患者と同用量を用いた第 17 例目でもこのような副作用は起こらなかったことから、SIRS の発症には宿主側の要因も寄与していると考えられる<sup>39)</sup>。動物実験においても、ウイルス投与量の増加に伴う免疫反応の増大は直線的ではなく、SIRS 発症の予測は難しいことが示されている<sup>40) 41)</sup>。

### ② レトロウイルスベクターによる白血病（2002-2005 年、フランス）

X 連鎖重症複合免疫不全症（X-SCID）は、サイトカイン受容体コモンガンマ鎖（ $\gamma c$ ）遺伝子の変異により細胞性および液性免疫が高度に障害される疾患である。1999 年からフランスでレトロウイルスベクターを用いた X-SCID の遺伝子治療が始まり、大半の患者が免疫能を獲得して通常の生活を送れるよ

うになった。ところが、同国で治療を受けた患者 15 名のうち、約 3 年後に 3 名が T リンパ性白血病を発症し、1 名が死亡した。2002 年に発症した 2 例では、患者染色体中の LMO2 原がん遺伝子の近傍にレトロウイルスが組み込まれ、その異常活性化ががん化の引き金となった<sup>42)</sup>。最近報道された白血病第 3 例目についての詳細は不明だが、LMO2 とは異なる部位へのベクター組み込みによるらしい<sup>43)</sup>。レトロウイルスベクターによる挿入発がんの危険性は従来から指摘されてきたが、これまで世界中でレトロウイルスが投与された数千名の患者のうち実際に発がんに至ったのはフランスでの X-SCID の事例だけである。細胞のがん化には複数の遺伝子異常が蓄積する必要があり、1 個の原がん遺伝子活性化だけでは不十分である。X-SCID の場合、治療用の  $\gamma$ c 遺伝子自体が強力な T リンパ球増殖作用を持つという特殊事情が重なって白血病を発症したと考えられる<sup>44)</sup>。

本臨床試験が上記と異なる点

上記有害事象①を引き起こしたアデノウイルスは、現在臨床で用いられている遺伝子治療ベクターの中では最も免疫原性・炎症惹起性が強く、全身投与については特に慎重を期すべきであるが、死亡した患者の術前の状態は必ずしも良好ではなかったようである。一方、アデノ随伴ウイルス (AAV) は野生型にも病原性がなく、免疫原性もアデノウイルスに比べて格段に弱い。しかも、パーキンソン病に対する本遺伝子治療では脳内の線条体に限局してベクターを注入するので、血管内にベクターを注射するのに比べて、全身の反応はさらに出にくいと考えられる (注 1)。

一方、本臨床試験では以下に掲げるいくつかの理由から、上記有害事象②のようなベクター挿入発がんの危険性は極めて小さいと考えられる。第一に、ベクター化した AAV には、染色体に遺伝子を組み込む力は殆どない。第二に、ベクターを投与する脳内の大部分の細胞、特に標的となる神経細胞は既に増殖能力を失っている。一部の造血系由来の細胞 (ミクログリアなど) は分裂能力を有しているが、2 型 AAV はこれらの細胞に殆ど感染できない。第三に、本ベクターで発現させる AADC には、細胞増殖促進やアポトーシス抑制などのシグナル伝達機能がなく、X-SCID 遺伝子治療における  $\gamma$ c 遺伝子の作用とは根本的に異なる。以上の点から、AADC 発現 AAV ベクターが患者の同一細胞染色体の複数個所に組み込まれて発がんに至る可能性は非常に小さいと予想される。

注 1: ただし、大動物における AAV の急性毒性の閾値は今のところ不明である。サルへの AAV8 門脈内投与自験例では、少なくとも  $1 \times 10^{12}$  vg/kg までは明らかな副作用は観察されなかった。

一方サルへのアデノウイルス投与については、 $5 \times 10^{12}$  vg/kg を越えると急性毒性を示すが<sup>45)</sup>、死亡した患者 (Jessie Gelsinger) はこれよりも少ない投与量 ( $6 \times 10^{11}$  vg/kg) であった。

## (5) これまでに実施された臨床試験における成績

これまで 2 型 AAV ベクターを用いた遺伝子治療臨床研究として、米国で 12 種類の疾患に対して合計 30 のプロトコールが提唱されている {Office of Biotechnology Activities, NIH, USA による<sup>46)40)</sup>}. このうちパーキンソン病に対しては、以下のような 3 種類の臨床研究が行われている。いずれも primary outcome を safety assessment とした、phase I non-randomized, open label, uncontrolled, single group assignment study である。2006 年 4 月の米国神経学会で公表された結果では、これまでに AADC の 3 例、GAD の 12 例、CERE120 の 6 例にベクターの投与が行われ、AAV-hAADC-2 投与例で術後すぐに軽快した頭痛を生じた以外に有害事象は報告されていない。

導入遺伝子	Aromatic L-amino acid decarboxylase (AADC)	Glutamic acid decarboxylase (GAD)	Neurturin (CERE-120)
遺伝子の性状	ドパミン合成系の酵素	抑制性神経伝達物質 GABAの合成酵素	神経栄養因子
ベクター投与量	低用量群 $9 \times 10^{10}$ 中用量群 $3 \times 10^{11}$ 高用量群 $9 \times 10^{11}$ (vector genomes)	低用量群 $3.5 \times 10^9$ 中用量群 $1.0 \times 10^{10}$ 高用量群 $3.5 \times 10^{10}$ (particles)	低用量群 $2 \times 10^{11}$ 高用量群 $8 \times 10^{11}$ (vector genomes)
予定症例数	15 (各群5)	12 (各群4)	12 (各群6)
投与経路	定位脳手術	定位脳手術	定位脳手術
投与部位	両側の被殻	片側の視床下核	両側の被殻
評価	臨床症状 (UPDRS, 患者日記, GDS, MMSE, Hoehn & Yahr) FMT-PET, MRI	臨床症状 (CAPIT, UPDRS) FDG-PET	臨床症状 (UPDRS, 患者日誌など) $^{18}\text{F}$ -dopa PET
予定観察期間	5年間 FMT-PETは、ベクター投与1ヶ月後と6ヶ月後	1年間	1年間
2006年4月に米国神経学会 (AAN) で公表された結果 (資料5)	低用量群の3名に遺伝子導入を行った。それぞれ術後1、3、6ヶ月の時点で、患者日記による評価で症状の改善がみられた。FMT-PETでは、平均15%のFMTの取込みの増加が認められた。術後すぐに軽快した頭痛があったが、重篤な副作用は認めない。	12症例に遺伝子導入完了。11例で6ヶ月後の評価まで終了。安全性に問題はなかった。FDG-PETで、期待された効果 (淡蒼球内節と視床VL核におけるFDGの取込み減少と大脳皮質運動野の取込みの増加) が認められた。	低用量群の6例に遺伝子導入を完了。2-17ヶ月の観察期間において、副作用は認められなかった。

UPDRS: Unified Parkinson's Disease Rating Scale, GDS: Geriatric Depression Scale (Mood Assessment Scale -Short Form), MMSE: Mini Mental State Examination, CAPIT: Core Assessment Program for Intracerebral Transplantations, FMT: [ $^{18}\text{F}$ ] Fluoro-metatyrosine, FDG: [ $^{18}\text{F}$ ] Fluoro-deoxyglucose

パーキンソン病以外に、頭蓋内への2型 AAV ベクター注入を行った遺伝子治療としては、Canavan 病の小児に対して欠損した酵素の遺伝子を発現する AAV ベクターを大脳に投与した結果が最近報告され<sup>47)41)</sup>、特段の副作用を認めることなくプロトコールが遂行されている。

嚢胞性線維症の治療を目指した臨床研究では、合計7つのプロトコールが実施されている。いずれも2型 AAV ベクターを経気道的に投与するもので、結果が既に報告されている4つのプロトコールにおい

て合計 80 例に対して最大で  $1 \times 10^{13}$  vg 相当量が使用されているが、ベクター自体の毒性による副作用は見出されていない<sup>48) 42) 49) 43) 50) 44) 51) 45)</sup>。体内へのベクターの注入に基づく治療法としては、血友病 B の遺伝子治療を目指して骨格筋<sup>52) 46) 53) 47)</sup>ならびに肝臓<sup>24)</sup>を標的とするプロトコールが実施された。血友病 B に対して、肝臓への遺伝子導入を行った 2 例で軽度の肝逸脱酵素の一過性上昇が認められたが、その他の副作用は認められていない。体内への注入を行った臨床研究は全て第 I 相試験であるが、これらの報告をまとめると以下のようなになる。

対象疾患	血友病 B	血友病 B	Canavan 病
標的組織	骨格筋	肝臓	大脳皮質
ベクター投与量	$2 \times 10^{11}$ , $6 \times 10^{11}$ , $1.8 \times 10^{12}$ (vg/kg)	$8 \times 10^{10}$ , $4 \times 10^{11}$ , $2 \times 10^{12}$ (vg/kg)	$8 \times 10^{11}$ , $1 \times 10^{12}$ (vg, 総投与量)
投与経路・投与部位	大腿・下腿部骨格筋への直接注入	カテーテルによる肝動脈内注入	頭蓋骨 6 箇所を開窓し脳実質内に注入 (定位脳手術)
症例数	8 例	7 例	10 例
年齢 (平均)	23-67 (39)	20-63 (34)	2.0-6.8 (4.1)
観察期間	1 年以上	1 年以上 (平均 2 年以上)	1 年以上 (平均 2 年以上)
その他特記事項	5 例で注入部に軽度の一過性の痛みまたは血腫。 全例で AAV キャプシドに対する中和抗体価の著明な上昇。	2 例で治療後に軽度の肝逸脱酵素の一過性上昇。 全例で AAV キャプシドに対する中和抗体価の著明な上昇	3 例で AAV キャプシドに対する中和抗体価の軽度の上昇

血友病 B に対する遺伝子治療では骨格筋・肝臓のいずれを標的とした場合においても全例で 2 型 AAV に対する中和抗体価の著明な上昇が認められた。Canavan 病を対象とした場合の中和抗体価の上昇は血友病 B の場合に比べて軽度であった。これは中枢神経系に対する遺伝子導入法の場合には①ベクター量が数十分の程度であること、②ベクターが中枢神経内に留まっていれば免疫反応は起こりにくいこと、などによるものと考えられる。2 型 AAV に対する中和抗体価は健常人においても一定の割合で認められるものであり、かつベクターの有効性に著しい影響はおよぼしていないことから、有害事象としての副作用には該当しないと考えられる。以上の報告を総括すると、2 型 AAV ベクターの臨床的安全性に関してはこれまでのところ特段の疑念は見出されていない。

なお、2 型以外の AAV に由来するベクターを使用した遺伝子治療臨床研究はこれまで報告されていない。

## 8 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 米国において、2 型 AAV ベクターを使用した血友病や嚢胞性線維症に対する臨床試験が行われて

おり、これまで2型 AAV ベクターに起因する副作用は報告されていない。

- ② 薬物治療で十分な効果が得られなくなった進行した病期のパーキンソン病患者に対しても、本研究と同様なプロトコールにより、本研究と同じく Avigen 社から供給された2型 AAV ベクターを使用した臨床試験が2004年12月に既に開始されている。また、2型 AAV ベクターを使用して抑制性神経伝達物質の合成酵素（GAD）遺伝子を視床下核に導入する臨床試験も2003年8月から行われている。さらに、神経栄養因子 *neurturin* 遺伝子を搭載した2型 AAV ベクターを使用した臨床試験も開始されている。これまで、副作用は報告されていない。
- ③ 申請者らは、パーキンソン病のモデル動物を使用して、前臨床試験を行っており、効果と安全性を確認している。特に、パーキンソン病患者と同様の症状を呈する MPTP サルにおいて運動障害の改善効果が得られている。
- ④ 申請者らは、AAV ベクターを使用した多くの研究を行っており、ベクターの扱いに習熟している。
- ⑤ 申請者らは、パーキンソン病患者に対して視床下核の深部電気刺激を施行しており、定位脳手術の手技を確立している。

以上のことから、本研究の実施は理論的にも、実質的にも可能と思われる。

## 9 遺伝子治療臨床研究の実施計画

### (1) 遺伝子治療臨床研究を含む全体の治療計画

本研究は抽出を行わない患者間用量比較オープン試験であり、臨床試験の第 I/II 相に相当する。

#### 9-(1)-1 研究の目的

本研究の主要評価項目は、進行期パーキンソン病患者被殻内への AAV-hAADC-2 注入療法の安全性である。副次評価項目は、①AAV-hAADC-2 注入療法の有効性であり、その判定は症状日誌、臨床的評価、服用する L-dopa の必要量に基づいて行う。かつ、②被殻注入 AAV-hAADC-2 の発現量も副次評価項目とし、FMT-PET によって判定する。

#### 9-(1)-2 AAV-hAADC-2 の投与方法

進行期パーキンソン病患者の線条体(被殻)に、定位脳手術の手法によって AAV-hAADC-2 を注入する。対象患者は1群3例で2群を予定している。AAV-hAADC-2 の注入量は全体で200 $\mu$ L(第1群)または600 $\mu$ L(第2群)とし、被殻内の4個所に分けて注入する。具体的には片側の被殻あたり2個所、両側で計4個所に各々50 $\mu$ L(第1群)または150 $\mu$ L(第2群)を注入する。第1群での注入量(vector genomes: vg)は1症例あたり $3 \times 10^{11}$  vgとし、第2群では第1群の3倍量である $9 \times 10^{11}$  vgを注入する。具体的な注入法は表2に示す。なお、副作用が生じた場合には、必要に応じてその群の症例数を増やし、安全性の評価を強化する。注入治療後の安全性の評価および治療効果の判定に関しては、各群とも同じとする。

表2 ベクターの群別投与量

群	症例数	総用量 (vg)	注入速度 ( $\mu$ L/min)
1	3	$3 \times 10^{11}$	1
2	3	$9 \times 10^{11}$	3

#### 9-(1)-3 前治療薬および併用薬

Screening の 8 週間以前より服用している薬を前治療薬、screening visit において患者が承諾書に署名した日以降に使用した薬を併用薬とする。

ドパミン受容体遮断作用を有する薬剤、抗てんかん薬、免疫抑制剤、抗凝固薬、抗血小板薬、他の治療薬は screening visit の 8 週間前より本研究が終了するまで原則として使用してはならない。抗パ薬は screening visit の 8 週間前より Visit 9 (Month 6) まで変更してはならない。ただし遺伝子治療後に抗パ薬の効果が過剰になった場合には L-dopa を減量する。

#### 9-(1)-4 対象患者

対象は自治医科大学附属病院あるいはその関連病院に通院中の、進行期パーキンソン病患者 6 症例とする。

#### 9-(1)-5 評価項目 (資料 2)

- ① 一般身体所見 (バイタルサインを含む)
- ② 神経学的所見
- ③ 有害事象
- ④ 抗パーキンソン病薬 (L-dopa) の必要量
- ⑤ 併用薬
- ⑥ 臨床検査 (血液検査、生化学検査、免疫検査、PCR 分析、尿検査)

血液検査	赤血球数、ヘモグロビン、ヘマトクリット、MCV、MCH、MCHC、白血球数、好中球数、リンパ球数、単球数、好酸球数、好塩基球数、血小板数
凝固検査	PT、aPTT、INR、フィブリノゲン
生化学検査	BUN、クレアチニン、Na、K、Cl、Mg、P、Ca、血糖、総蛋白、アルブミン、総ビリルビン、GOT (AST)、GPT (ALT)、Al-P、GGT ( $\gamma$ GTP)
免疫検査	PMBC、AAV 抗体
PCR 分析	連続 3 検体が陰性になるまで、採取と分析を継続する。
尿検査	女性に対しては、念のため妊娠反応を検査する。

- ⑦ 心電図
- ⑧ 脳の PET スキャン
- ⑨ 脳の MRI スキャン

- ⑩ 患者の記載する症状日誌  
症状を「ジスキネジアを伴う ON」、「ジスキネジアを伴わない ON」、「部分的な OFF」、「完全な OFF」に分類して評価
- ⑪ ON と OFF における UPDRS  
ON は抗パーキンソン病薬の効果が最大限発揮されているときとする。OFF は抗パーキンソン病薬を 12 時間休薬後の症状とする。ただし 12 時間の休薬に耐えられない場合は、耐えられる最大休薬時間後の評価とし、研究中をとおして基準を変えないこととする。
- ⑫ Hoehn & Yahr の重症度
- ⑬ Geriatric Depression Scale (GDS) の short form
- ⑭ Mini-Mental State Examination (MMSE)

#### 9-(1)-6 評価スケジュール (添付資料 6)

### (2) 被験者の選択基準および除外基準

総括責任者は、研究を開始するに先立ち、対象者が選択基準に適合し除外基準に適合しないこと、インフォームドコンセントが得られていることを確認しなくてはならない。対象者は、研究にエントリーする前に、以下に示す選択基準の全ての項目を満たし、かつ除外基準のいずれにも該当しないものとする。

#### 9-(2)-1 選択基準

- ① 「厚生省特定疾患：神経変性疾患調査研究班（1995 年度）の診断基準」を満たす特発性パーキンソン病で、初期には L-dopa が有効であり、また他の神経変性疾患を示唆する所見を認めない患者
- ② 治療時点での年齢は 75 歳以下
- ③ 発症年齢は 40 歳以上
- ④ L-dopa による 5 年以上の治療歴を有する
- ⑤ 治療開始時の OFF state での Hoehn & Yahr の重症度が IV 度
- ⑥ UPDRS のスコアの合計 (OFF state) が 20～80 点
- ⑦ ドパミン治療に対する反応が明らかで、on と off で UPDRS-III (運動スコア) の改善が明らかであること。具体的にはドパミン治療によって UPDRS-III が 8 点以上改善する
- ⑧ 耐え難い運動合併症、具体的には UPDRS-IV の項目 B (症状の日内変動) のスコアが 3～7 であり、適切な薬物療法によっても満足できる治療効果が得られず、定位脳手術が可能な患者
- ⑨ 女性の場合は閉経していること。男性の場合子供をつくらないことに同意すること (ただし、遺伝子治療前に精子を凍結保存し、その精子を使用して子供をつくる場合はこの規定に該当しない)
- ⑩ 治療後の頻回の診察を含め、研究に必要な条件を守ることが可能なこと
- ⑪ 研究に参加する前の少なくとも 2 ヶ月間、パーキンソン病治療薬を変更しないこと
- ⑫ 患者本人から、インフォームドコンセントが得られること

#### 9-(2)-2 除外基準

- ① 脳血管障害、抗精神病薬や毒物への暴露、脳炎等の病歴によって、あるいは進行性核上性麻痺や

小脳症状、錐体路徴候、自律神経徴候、認知症、幻覚や妄想などの症状によって、あるいはラクナー梗塞や中脳被蓋部の萎縮、橋と小脳の萎縮などの magnetic resonance imaging (MRI) 所見によって、二次性あるいは非典型的パーキンソニズムであることが示唆される患者

- ② 過去 6 ヶ月以内に、日に 3 時間以上続く強く激しいジスキネジアの病歴を有する患者
- ③ 既にパーキンソン病に対する定位脳手術（淡蒼球凝固術、視床凝固術、脳深部刺激）を実施済みの患者
- ④ MMSE (Mini-Mental State Examination) で 20 点以下、あるいは神経心理検査で認知症と診断される患者
- ⑤ 過去 6 ヶ月以内に幻覚や妄想を認めた患者、統合失調症あるいは affective disorder の病歴のある患者
- ⑥ 脳血管障害をはじめ、明らかな心血管系疾患を有する患者
- ⑦ 脳内の悪性新生物、臨床的に明らかな神経疾患（例えば年齢相応でない、明らかな脳萎縮）
- ⑧ 5 年以内の、治療済みの皮膚がんを除くその他の悪性腫瘍の病歴
- ⑨ コントロールされていない高血圧、具体的には収縮期血圧 160 mmHg 以上
- ⑩ 血液凝固異常症、あるいは抗凝固療法が必要な患者
- ⑪ 臨床的に明らかな免疫異常症（例えば免疫抑制薬が必要な症例）
- ⑫ GDS (Geriatric Depression Scale) の short scale が 10 点以上、抗うつ薬服薬中は 5 点以上
- ⑬ MAO-A 阻害薬、あるいは抗精神薬を服薬中
- ⑭ MRI が撮影できない患者
- ⑮ FMT-PET で異常所見を認めない症例
- ⑯ AAV-2 に対する中和抗体価が高い患者 (1 : 1200 以上)
- ⑰ 閉経前の女性、子供をもうけることを希望する男性、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
- ⑱ 3 年以内に痙攣発作の既往のある患者、抗てんかん薬を服薬中の患者、あるいは脳波検査でてんかん性の異常を認める患者
- ⑲ 重篤な薬物アレルギーの既往のある患者
- ⑳ 過去 6 ヶ月以内に、本臨床研究、他の臨床研究、治験のいずれかに参加したことのある患者
- ㉑ 以下の管理不良な疾患を合併する患者
  - a) 高度な腎障害患者（血清クレアチニン > 2.0 mg/dl かつ BUN > 25 mg/dl）
  - b) 高度な肝障害（AST/GOT あるいは ALT/GPT が正常域上限の 2.5 倍以上）
  - c) 管理不良な糖尿病患者（随時あるいは食後血糖値 > 200 mg/dl かつヘモグロビン A1c > 9 %）
- ㉒ その他、主任研究者が本研究の対象として不相当と判断した患者

#### 9-(2)-3 対象者の参加取りやめ

全ての対象者は研究のいかなる時点においても、不利益を被ることなく、研究への参加を取りやめることができる。この場合であっても、安全性に関する経過観察は、対象者に受け入れ可能な方法で実施すべきものとする。

対象者が参加を取りやめた場合、次の基準にしたがって他の対象者に振り替えることとする。

- ① 対象者が遺伝子導入以前に参加を取りやめた場合、次の対象者に振り替える。

- ② 対象者が遺伝子導入後に参加を取りやめた場合、次の対象者への振り替えは行わない。しかしながら、安全性に関する経過観察は継続する。

### (3) 被験者の同意の取得方法

本研究に参加する候補者は、自治医科大学附属病院あるいはその関連病院への通院患者の中から募集する。募集に当たっては、この臨床治療研究についての情報を、それらの病院に勤務する神経内科医に広く提供する。被験者に対しては臨床治療研究実施医師より、「パーキンソン病遺伝子治療の臨床研究参加のしおり」(資料3)を基にして十分な説明を行う。さらに、研究実施医師と利害関係のない自治医科大学附属病院のコーディネーター(治験推進室の薬剤師あるいは看護師)が、研究実施医師とは独立してわかりやすく説明を行い、文書による同意を得ることとする。

### (4) 実施期間および目標症例数

実施期間は、厚生労働大臣の承認後、自治医科大学附属病院病院長による開始承認の日から、最終登録症例にベクターを投与した時点から9ヶ月後までとする。ただし、5年後までは有効性・安全性に関して一定の評価を行い、さらに10年後まで安全性に関して長期フォローする。

目標症例数は6例とする。副作用が生じた場合には、必要に応じてその群の症例数を増やし、安全性の評価を強化する。治療後の評価に関しては各群とも同じとする。

### (5) 遺伝子治療臨床研究の実施方法

#### ① 対照群の設定方法

本研究は無作為抽出を行わない患者間用量比較オープン試験であり、対照群の設定は行わない。

#### ② 遺伝子導入方法(安全性および有効性に関する事項を除く)

被験者は治療開始10日前(Day -10)に自治医科大学附属病院に入院する。遺伝子の導入は定位脳手術によって線条体(被殻)内へ直接注入する。全ての外科的な手技は、運動異常症に対して行われる大脳基底核を目標とした定位・機能神経外科手術の標準的な手技にしたがうものとする。原則として、手術は全身麻酔下に行う。全身麻酔の方法は、麻酔科医と相談の上、ラリングアルマスクを用いた気道確保等、安全かつ最も侵襲の少ないと思われる方法を選択する。AAV-hAADC-2を注入する目標となる被殻は手術に先立って撮影したMRI画像上で同定する。具体的には、自治医科大学附属病院において通常使用しているRadionics社製CRW-FN定位脳手術装置ならびにImage Fusion softwareを含む定位脳手術支援ソフトウェアStereo Planを用いてワークステーション上に表示されるMRI画像の中で、AAV-hAADC-2の注入点となる被殻内の2個所のポイントを決定する。2個所の目標点は、被殻の中心に近い背外側より十分に離れていることを条件として、患者本人の画像上で手術中に決定する。

頭蓋骨にあけるburr holeは1側につき1つとし、そこから2トラックの刺入路で先の2つの目標部位にAAV-hAADC-2を注入する。Burr holeの位置は通常の視床や視床下核を目標とする定位脳手術で穿頭する位置とし、Hair lineより後方でBregmaの前方、正中より約4cmを目安とするが、撮像したMRI画像で脳表およびAAV-hAADC-2注入部位までの経路に存在する血管構造を避けるように適宜移動する。穿刺には定位脳手術装置に取り付けたmicromanipulatorを用い、Avigen Device Cannulaを直接、目標点に刺入する。先端が目標に達していることは、Cアームを用いたレントゲン透視で確認する。

AAV-hAADC-2を含む溶液は、専用のシリンジポンプを用いて1 $\mu$ l/min(第1群)または3 $\mu$ l/min(第

2 群) の速度で 50 分かけて注入する。1 個所の注入が終了したら、cannula を引き抜き、同じ burr hole から、2 番目の注入目標点に新たな cannula を刺入する。1 個所目と同様に AAV-hAADC-2 を含む溶液を注入後、対側も全く同じように、1 つの burr hole から 2 個所の被殻内の目標部位に AAV-hAADC-2 を含む溶液を注入する。4 個所の注入が完了したら、cannula を抜去した後、通常の穿頭手術同様に出血がないことを確認して、皮膚を縫合閉鎖する。定位脳手術用フレームを取り外して麻酔覚醒後、直ちに頭部 CT スキャンを撮影し、血腫などの合併症の有無を確認する。定位脳手術装置をはじめとする手術に用いた器具は、ウイルスの核酸に対する不可逆的アルキル化作用を有するエチレンオキシドガスを用いて十分に滅菌する。

### ③ 前処置および併用療法の有無

通常の全身麻酔時に行う処置の他には特に前処置を行わない。薬物療法、特に L-dopa の投与が本治療では必須であるので、必ず併用する。抗パ薬の投与量は screening visit の 8 週間前から、評価 9 (Month 6) までは変更しない。ただし遺伝子治療後に抗パ薬の効果が過剰になった場合は L-dopa を減量する。なお適切なリハビリテーションは随時行って良いこととする。

### ④ 検査項目および観察項目

遺伝子導入手術後 2 週間 (Day 14) までは入院することとする。患者は添付資料 6 に示したスケジュールにしたがって評価と臨床検査を受ける (表)。ベクター投与直後 3 日間は個室に隔離し、外出・外泊は認めない。なお投与後 3 日目の時点で PCR 法による検査でベクター DNA を認める場合には、ベクター DNA が陰性になるまで個室への隔離期間を延長する。陰性になれば、スケジュールにしたがって外来における観察を受けることとする。

PET スキャンは Base line (Day -10~-1)、評価 3 (Day 28)、評価 9 (Month 6) に実施する。その結果によって、それぞれの用量ごとにどれだけの AADC が発現したかを予測することが可能である。

このほか治療前後の検査で特記すべきことは、ベクター排泄の検討と AAV ベクターに対する免疫反応の評価を行うことである。まずベクターの排泄量を調べるため、患者の血液を、screening visit、Day 1~3 の連続 3 日間採取して PCR でベクター DNA を調べる。その後は、ベクター DNA が検出されなくなるまで評価ごとに採取・検査する。AAV カプシド蛋白質に対する抗体は、screening visit、評価 2 (Day 14)、評価 9 (Month 6) に患者の血清を採取して測定する。

#### Screening 手術 (遺伝子の注入) 前 8 週間以内

インフォームドコンセント、病歴の聴取、一般身体所見 (バイタルサインを含む)、神経所見  
UPDRS の評価 ON で part I~IV、OFF で part II と III (part III はそれぞれビデオ撮影)  
Hoehn & Yahr、MMSE、GDS (Mood Assessment Scale - Short Form)  
服薬中の抗パーキンソン病薬、その他の併用薬、症状日誌の記録トレーニング  
臨床検査 (血液、生化学、PMBC、AAV 抗体)、心電図

#### Baseline 手術直前の評価 (Day -10~Day -1)。対象者は自治医科大学附属病院脳神経センターに入院する。

一般身体所見 (バイタルサインを含む)、神経所見  
UPDRS の評価 ON で part I~IV、OFF で part II と III (part III はそれぞれビデオ撮影)

服薬中の抗パーキンソン病薬、その他の併用薬、症状日誌の確認、有害事象  
PET scan、頭部 MRI 検査、臨床検査（凝固検査、尿検査）

**手術**

(Day 0)

一般身体所見（バイタルサインを含む）、神経所見  
服薬中の抗パーキンソン病薬、その他の併用薬、有害事象  
頭部 MRI 検査

**評価 1**

(Day 7 ± 2 days) 入院中の評価

一般身体所見（バイタルサインを含む）、神経所見  
服薬中の抗パーキンソン病薬、その他の併用薬、有害事象  
臨床検査（血液、生化学）

**評価 2**

(Day 14 ± 3 days) 入院中の評価

一般身体所見（バイタルサインを含む）、神経所見  
UPDRS の評価 ON で part II と III のみ評価  
服薬中の抗パーキンソン病薬、その他の併用薬、有害事象  
頭部 MRI 検査  
臨床検査（血液、生化学、PMBC、AAV 抗体）

<1年目の経過観察開始>

**評価 3**

(Day 28 ± 5 days) Month 1

一般身体所見（バイタルサインを含む）、神経所見  
UPDRS の評価 ON で part I~IV、OFF で part II と III（part III はそれぞれビデオ撮影）  
Hoehn & Yahr  
服薬中の抗パーキンソン病薬、その他の併用薬、症状日誌の確認、有害事象  
PET scan、頭部 MRI 検査  
臨床検査（血液、生化学、PMBC、尿検査）

**評価 4**

(Day 42 ± 5 days)

一般身体所見（バイタルサインを含む）、神経所見  
服薬中の抗パーキンソン病薬、その他の併用薬、有害事象

**評価 5**

(Day 56 ± 5 days) Month 2

一般身体所見（バイタルサインを含む）、神経所見  
UPDRS の評価 ON で part II と III のみ評価  
服薬中の抗パーキンソン病薬、その他の併用薬、症状日誌の確認、有害事象

**評価 6**

(Month 3 ± 7 days)

一般身体所見（バイタルサインを含む）、神経所見

UPDRS の評価 ON で part I~IV、OFF で part II と III (part III はそれぞれビデオ撮影)  
Hoehn & Yahr

服薬中の抗パーキンソン病薬、その他の併用薬、症状日誌の確認、有害事象  
臨床検査 (血液、生化学、PMBC)

評価 7

(Month 4 ± 7 days)

一般身体所見 (バイタルサインを含む)、神経所見

服薬中の抗パーキンソン病薬、その他の併用薬、症状日誌の確認、有害事象

評価 8

(Month 5 ± 7 days)

一般身体所見 (バイタルサインを含む)、神経所見

服薬中の抗パーキンソン病薬、その他の併用薬、症状日誌の確認、有害事象

評価 9

(Month 6 ± 7 days)

一般身体所見 (バイタルサインを含む)、神経所見

UPDRS の評価 ON で part I~IV、OFF で part II と III (part III はそれぞれビデオ撮影)

Hoehn & Yahr、MMSE、GDS (Mood Assessment Scale -Short Form)

服薬中の抗パーキンソン病薬、その他の併用薬、症状日誌の確認、有害事象

PET scan、頭部 MRI 検査

臨床検査 (血液、生化学、PMBC、AAV 抗体、尿検査)

評価 10

(Month 7 ± 7 days)

一般身体所見 (バイタルサインを含む)、神経所見

服薬中の抗パーキンソン病薬、その他の併用薬、症状日誌の確認、有害事象

評価 11

(Month 8 ± 7 days)

一般身体所見 (バイタルサインを含む)、神経所見

服薬中の抗パーキンソン病薬、その他の併用薬、症状日誌の確認、有害事象

評価 12

(Month 9 ± 7 days)

一般身体所見 (バイタルサインを含む)、神経所見

服薬中の抗パーキンソン病薬、その他の併用薬、症状日誌の確認、有害事象

評価 13

(Month 10 ± 7 days)

一般身体所見 (バイタルサインを含む)、神経所見

服薬中の抗パーキンソン病薬、その他の併用薬、症状日誌の確認、有害事象

評価 14

(Month 11 ± 7 days)

一般身体所見 (バイタルサインを含む)、神経所見

服薬中の抗パーキンソン病薬、その他の併用薬、症状日誌の確認、有害事象

**評価 15** (Month 12 ± 7 days)

一般身体所見 (バイタルサインを含む)、神経所見

UPDRS の評価 ON で part I~IV、OFF で part II と III (part III はそれぞれビデオ撮影)

服薬中の抗パーキンソン病薬、その他の併用薬、症状日誌の確認、有害事象

臨床検査 (血液、生化学)

<2年目の経過観察開始>

**評価 16** (Month 15 ± 14 days)

一般身体所見 (バイタルサインを含む)、神経所見

服薬中の抗パーキンソン病薬、その他の併用薬、症状日誌の確認、有害事象

**評価 17** (Month 18 ± 14 days)

一般身体所見 (バイタルサインを含む)、神経所見

服薬中の抗パーキンソン病薬、その他の併用薬、症状日誌の確認、有害事象

**評価 18** (Month 21 ± 14 days)

一般身体所見 (バイタルサインを含む)、神経所見

服薬中の抗パーキンソン病薬、その他の併用薬、症状日誌の確認、有害事象

**評価 19** (Month 24 ± 14 days)

一般身体所見 (バイタルサインを含む)、神経所見

UPDRS の評価 ON で part I~IV、OFF で part II と III (part III はそれぞれビデオ撮影)

服薬中の抗パーキンソン病薬、その他の併用薬、症状日誌の確認、有害事象

臨床検査 (血液、生化学)

<3年目の経過観察開始>

**評価 20** (Month 27 ± 14 days)

一般身体所見 (バイタルサインを含む)、神経所見

服薬中の抗パーキンソン病薬、その他の併用薬、症状日誌の確認、有害事象

**評価 21** (Month 30 ± 14 days)

一般身体所見 (バイタルサインを含む)、神経所見

服薬中の抗パーキンソン病薬、その他の併用薬、症状日誌の確認、有害事象

**評価 22** (Month 33 ± 14 days)

一般身体所見 (バイタルサインを含む)、神経所見

服薬中の抗パーキンソン病薬、その他の併用薬、症状日誌の確認、有害事象

**評価 23** (Month 36 ± 14 days)

一般身体所見（バイタルサインを含む）、神経所見

UPDRS の評価 ON で part I~IV、OFF で part II と III（part III はそれぞれビデオ撮影）

服薬中の抗パーキンソン病薬、その他の併用薬、症状日誌の確認、有害事象

臨床検査（血液、生化学）

<4年目の経過観察開始>

評価 24 (Month 39 ± 14 days)

一般身体所見（バイタルサインを含む）、神経所見

服薬中の抗パーキンソン病薬、その他の併用薬、症状日誌の確認、有害事象

評価 25 (Month 42 ± 14 days)

一般身体所見（バイタルサインを含む）、神経所見

服薬中の抗パーキンソン病薬、その他の併用薬、症状日誌の確認、有害事象

評価 26 (Month 45 ± 14 days)

一般身体所見（バイタルサインを含む）、神経所見

服薬中の抗パーキンソン病薬、その他の併用薬、症状日誌の確認、有害事象

評価 27 (Month 48 ± 14 days)

一般身体所見（バイタルサインを含む）、神経所見

UPDRS の評価 ON で part I~IV、OFF で part II と III（part III はそれぞれビデオ撮影）

服薬中の抗パーキンソン病薬、その他の併用薬、症状日誌の確認、有害事象

臨床検査（血液、生化学）

<5年目の経過観察開始>

評価 28 (Month 51 ± 14 days)

一般身体所見（バイタルサインを含む）、神経所見

服薬中の抗パーキンソン病薬、その他の併用薬、症状日誌の確認、有害事象

評価 29 (Month 54 ± 14 days)

一般身体所見（バイタルサインを含む）、神経所見

服薬中の抗パーキンソン病薬、その他の併用薬、症状日誌の確認、有害事象

評価 30 (Month 57 ± 14 days)

一般身体所見（バイタルサインを含む）、神経所見

服薬中の抗パーキンソン病薬、その他の併用薬、症状日誌の確認、有害事象

評価 31 (Month 60 ± 14 days)

一般身体所見（バイタルサインを含む）、神経所見

UPDRS の評価 ON で part I~IV、OFF で part II と III（part III はそれぞれビデオ撮影）

服薬中の抗パーキンソン病薬、その他の併用薬、症状日誌の確認、有害事象  
臨床検査（血液、生化学）

## ⑤ 予測される副作用およびその対処方法

### A. ベクターによる合併症

ベクターの投与が炎症反応を惹起し、発熱などの全身症状や脳浮腫による痙攣や意識障害を招来する可能性は低いと考えられるが完全には否定することはできない。患者を注意深く観察することによって合併症の発生をいち早く察知し、発熱に対しては解熱剤を、痙攣に対しては抗痙攣薬を、意識障害に対してはグリセオール等の脳浮腫治療薬を適切に使用して重篤な続発症に陥るのを予防する。

AAV-hAADC-2 ベクターの投与により、ウィルスカプシドに対する免疫反応が生じる可能性がある。その場合には、ベクター再投与の際に治療遺伝子の発現に影響が生じるおそれがあり、以降の AAV を使った治療の対象から除外されることも考えられる。

AAV ベクターが患者細胞の染色体に組み込まれる可能性は否定できないが、その確率は著しく低いものと推定される。万一、このような事態が生じた場合に最も懸念されるのは、発がんの危険性が高まることである。身体所見および画像診断などを通じて、早期発見に努める。またベクターDNA が生殖細胞に組み込まれることは考えにくい、その可能性を完全に否定することはできない。患者には避妊するよう指導し、将来子供をもうけることを希望する患者には、治療前に精子を凍結保存しておくようカウンセリングを行う。

### B. 手術による合併症

定位脳手術は侵襲の少ない手技であるが、予期しない合併症を起こす危険は避けられない。全ての定位脳手術における手術合併症の報告は、5%以下で、出血、感染および麻酔の合併症が主である<sup>54)</sup>。

頭蓋内出血：cannula の刺入経路に血管があれば、それを傷つけて出血する危険がある。その可能性は2~3%と報告<sup>55)</sup>されているが、その大半は無症候性の小さい出血である。しかし稀に麻痺などの重篤な神経脱落症状を残す危険もゼロではない。液体の遺伝子溶液を注入する操作は、通常の定位脳手術で行われる熱凝固や生検などに比して出血を来す可能性は低いと思われる。被殻で出血が起こり、中等度以上の血腫を形成した場合、対側の運動麻痺を起こす可能性がある。また被殻に到達するまでの経路は主に前頭葉であるが、この領域では出血が起こっても神経症状や後遺症を出すことは少ない。前頭葉内で中等度以上の出血が起こったときにみられる可能性のある症状は、注意力の障害、感情の障害、意欲の障害、記憶障害、運動性失語、構音障害、運動麻痺などである。出血の部位にかかわらず、万一後遺症を残す可能性があるほどの出血を来した場合は、この遺伝子治療を中断して、開頭による血腫除去手術を含む脳出血に対する治療を優先する。

感染：治療用ベクターを溶かした液は完全に無菌であり、感染の危険は極めて低いと考えられる。ただし皮膚を切開し、頭蓋骨に穴をあける操作自体が、術後に髄膜炎などの感染症を引き起こす危険性は低いが、完全に否定できない。そこで定位脳手術の際に、通常の脳神経外科手術時に行われている抗生物質の予防投与を行う。

麻酔の副作用・合併症：全身麻酔の副作用と合併症については、担当する麻酔科医より説明を行い、別途麻酔についての承諾書を頂く。

上記以外にも手術に関係して、予想し得ない重篤な副作用が現れる可能性がある。有害事象の一部は個体差によるものが考えられるが、予想し得ない副作用の中には回復不可能なものも含まれる可能性が

ある。副作用が生命に影響をおよぼしたり、重篤な後遺症を残す可能性がある場合は本研究を中断し、外科的治療を含む適切な処置を優先する。

## ⑥ 遺伝子治療臨床研究の評価方法、評価基準および中止判定基準

### A. 安全性の評価

有害事象とは、研究開始から観察終了時（5年後）あるいは観察中止時までの間に、被験者に生じたあらゆる好ましくない医療上の出来事を指す。本研究との因果関係の有無は問わない。有害事象の症状、発現日、程度、被験薬の投与継続の有無、処置の有無、被験薬との因果関係、経過（回復した場合はその回復日）を調査し、症例報告書に記入する。被験薬との因果関係が否定できない有害事象（副作用）は、消失または軽快するまで追跡調査を行う。

総括責任者またはその他の研究者は、有害事象に対する医療が必要になった場合には、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、被験者の安全確保に留意し、その原因究明に努める。

重篤な有害事象が発現した場合、総括責任者またはその他の研究者は直ちに適切な処置をとるとともに、治療との因果関係の有無にかかわらず速やかに病院長に報告する。病院長はその有害事象が重篤で予測できない場合には、治療研究の継続の可否について施設内遺伝子治療臨床研究審査委員会の意見を求める。また、総括責任者またはその他の研究者は重篤な有害事象発現から48時間以内に、臨床研究終了後の期間も含めて、実施施設の長を介して厚生労働省に連絡することとする。遺伝子治療臨床研究の実施に影響をおよぼすおそれがある情報を得た場合にも、速やかに厚生労働省に報告を行う。

なお、臨床治療研究期間中あるいは終了後に対象患者が死亡したときには、死亡原因の特定および治療の病理学的評価を行うため、死亡原因の如何を問わず剖検を行うよう努力する。被験者に対しても、本治療の開始前にその可能性について説明を行っておく。

被験薬との因果関係が否定できない有害事象（副作用）が最終観察日までに消失または軽快しなかった場合には、観察終了時または観察中止時までの症状の経過を症例報告書または追跡調査用紙に記載するとともに、有害事象（副作用）消失、あるいはその原因が明らかになり症状が安定するまで経過観察を継続する。経過観察の結果については別途追跡調査用紙に記載する。なお、何らかの理由により追跡調査が不可能であった場合はその理由を症例報告書または追跡調査用紙に記入する。

AVIGEN, INC. CLINICAL RESEARCH AGREEMENT および Genzyme からの契約継続の証明書(資料1)によって、UCSF での遺伝子治療において重篤な副作用が万一発生した場合には、その情報を迅速に入手可能である。その場合には、速やかに施設内遺伝子治療臨床研究審査委員会へ本研究の継続について審議を依頼するとともに、48時間以内に厚生労働大臣へ報告する。また、同意説明文書に記載する。

#### a. 程度

「医薬品等の副作用の重篤度分類基準（平成4年6月29日 薬安第80号）」（付録参照）および以下の基準を参考とし軽度、中等度、高度の3段階で判定する。

程度	判定基準(参考)
軽度	一過性で容易に耐えられる、あるいは日常生活に支障とならない程度のもの
中等度	日常生活に支障を来す程度のもの
高度	日常生活を不可能にする程度のもの

#### b. 因果関係

被験薬との因果関係は被験者の状態、既往歴、併用薬剤および発症の時間的關係などを考慮し、以下の4段階で判定する。因果関係が否定できないもの、すなわち①～③と判定されたものを「副作用」として取り扱う。また、いずれの場合も、判定した根拠を症例報告書のコメント欄に記入する。

因果関係	判定基準(参考)
明らかに関連あり	被験薬投与と時間的に明白な関係があり、その被験薬に既知(基礎実験および今までの臨床試験)の反応を示す場合
多分関連あり	被験薬投与と時間的に明白な関係があり、その被験薬の薬理作用から予想される反応を示し、かつ被験者の既往などの要因が否定され、被験薬との関連性が否定できない場合
関連ないともいえない	被験薬投与と時間的に明白な関係があり、被験者の既往などの本剤以外の要因も推定されるが、被験薬による可能性も除外できない場合
関連なし	被験薬投与と時間的に関係がないと判断される場合、または被験薬に関連ないとする情報がある場合

c. 経過

有害事象(症状および臨床検査値異常変動)の経過は、以下の5段階で判定する。

経過	判定基準(参考)
消失	症状の消失、検査値の正常化あるいは投与前値への回復が認められたもの
軽快	程度が軽減したもの、あるいは症状に改善傾向が認められたもの
不変	症状や検査値に変化がないもの
悪化	症状や検査値の増悪があるもの
追跡不能	消失または軽快することなく追跡不能となった場合

d. 重篤な有害事象

次の場合は「重篤な有害事象」と判定する。

- i) 死に至るもの
- ii) 生命を脅かすもの
- iii) 治療のため入院または入院期間の延長が必要となるもの
- iv) 永続的または顕著な障害・機能不全に陥るもの
- v) 先天異常を来すもの
- vi) その他、患者にとって著しく有害なことが示唆されるもの

B. 臨床研究の中止判定基準

下記の情報が得られ、研究の続行が困難であると考えられる場合には、総括責任者またはその他の研究者は速やかに自治医科大学附属病院長ならびに施設内遺伝子治療臨床研究審査委員会に報告し、研究を中止する。

- a. 「予測できない」重篤な副作用の発生
- b. 「予測できる」重篤な副作用の発生数、発生頻度、発生条件等の発生傾向が、予測できないことを示す情報が得られたとき

- c. 副作用の発生数、発生頻度、発生条件等が著しく変化したことを示す研究報告があったとき
- d. がん、その他の重大な疾患、障害若しくは死亡が発生するおそれがあることを示す研究報告があったとき
- e. Genzyme 社が AAV-hAADC-2 の開発、評価、あるいは試験の中止を決めたとき

#### C. 臨床研究への参加取りやめおよび脱落基準

本研究では、治療は1回の定位脳手術による脳内注入であるため、治療行為自体の中止はできない。治療後の観察期間に①被験者から参加取りやめの申し出があった場合、②再三の連絡にもかかわらず被験者が来院しなくなったときなど、被験薬投与終了後の調査・観察および検査が実施不能となった場合や、③他の治療への変更を必要とした場合、④有害事象（AAV-hAADC-2 投与との因果関係がないものを含む）が発現し、総括責任者またはその他の研究者が観察を中止すべきと判断した場合には、観察中止日およびその理由を症例報告書に記入する。なお、有害事象の発現など安全性に問題が生じ中止した場合には、総括責任者またはその他の研究者は速やかに適切な処置を行い、被験者の安全が確認されるまで追跡調査を行う。

#### D. 有効性および安全性の安全・効果評価・適応判定部会

有効性および安全性の判定を客観的に行うため、第三者が入る有効性および安全性の判定検討部会を自治医科大学附属病院遺伝子治療臨床研究審査委員会の下に設置する。当該部会の名称、構成員は下記のとおりとする。

名称：自治医科大学附属病院遺伝子治療臨床研究審査委員会 安全・効果評価・適応判定部会

委員：自治医科大学 地域医療学センター 地域医療学部門 教授 梶井英治、  
自治医科大学 副医学部長 病態生化学部門 教授 富永眞一、  
自治医科大学 大宮医療センター 神経内科 教授 植木 彰、  
自治医科大学 臨床薬理学部門 教授 藤村昭夫、  
自治医科大学 分子病態治療研究センター ゲノム機能研究部 教授 間野博行、  
群馬大学大学院 医学研究科 脳神経内科 助教授 田中 真。

当該部会は被験者登録時に被験者の適格性を確認するとともに、第1群の遺伝子治療を実施した後、全症例の6ヶ月後の評価が終了した時点で、有効性および安全性を判定し、第2群（増量群）への移行の可否についての意見を自治医科大学附属病院遺伝子治療臨床研究審査委員会に提出する。この際、次に該当する場合には第2群への移行を行わないこととする。

- a. 9-(5)-⑥-B 臨床研究の中止判定基準に該当する事象が確認された場合
- b. 明らかに関連あり、あるいは多分関連ありと判定される中等度（日常生活に支障を来す程度のもの）以上の有害事象が発生した場合（参照：9-(5)-⑥-A-a. 程度、9-(5)-⑥-A-b. 因果関係）。ただし手術手技に基づく有害事象は、遺伝子治療とは直接関係ないため、この判定基準の対象とはしないこととする。

なお、自治医科大学附属病院遺伝子治療臨床研究審査委員会での審議後、病院長は厚生労働省の厚生科学審議会科学技術部会パーキンソン病遺伝子治療臨床研究作業委員会に審議結果を毎回報告する。

#### E. 治療効果の評価

- a. 評価 9 (Month 6) における患者のパーキンソン症状の程度の改善度を 1 次評価項目とする。治療前の症状と評価 9 (Month 6) において、UPDRS の Part II (日常生活動作)、Part III (運動スコア)、Part IV (治療の合併症)、Hoehn & Yahr Stage、MMSE、GDS を比較する。なお UPDRS Part IV の項目 32 (ジスキネジアの出現時間) および 36~39 (症状の日内変動) の判定に当たっては、患者のつけた「症状日誌」を参考にする。さらに、L-dopa の必要量の変化を評価する。なお、治療効果が 6 ヶ月間持続しない可能性もあるため、評価 3 (Day 28)、評価 6 (Month 3) 時点でも評価を行う。
- b. FMT-PET による被殻注入 AAV-hAADC-2 の発現量を 2 次評価項目とする。評価 3 (Day 28) および評価 9 (Month 6) における FMT-PET を遺伝子導入前と比較し判定する。

### ⑦ 被験者の安全性確保および健康被害補償

#### A. 安全性確保

- a. 安全性を確保するために、遺伝子導入は入院して行い、その後も 14 日間入院して経過観察を密に行う計画である。
- b. さらに、本実施計画書の 9-(5)-⑤「予測される副作用およびその対処方法」に則って適切に対応する。

#### B. 健康被害補償：本臨床研究に関連して副作用等、本臨床研究と因果関係を有する健康被害が生じた場合の補償に関しては以下のように対応する。

- a. 急性期および症状が固定または治癒するまでの治療費、検査費、入院費は本研究グループが負担する。ただし、治療後最長 1 年までとする。
- b. 医療費以外の実費や、副作用等による症状が固定した後の治療費を含む費用については補償しない。
- c. a、b は他の医療機関で治療された場合にも適用する。

### ⑧ 症例記録に関する記録用紙等の様式

本研究の記録に関する様式（症例報告書および追跡調査用紙）は、別に定める。

## (6) 米国における類似の計画との関連

今回申請している臨床研究は、米国カリフォルニア大学サンフランシスコ校 (UCSF) と自治医大がジョイントして多施設共同臨床研究として実施するものではない。ただし、Genzyme 社を含めた 3 者 (UCSF、Genzyme 社、自治医大) が情報交換をしながら密接な連携を図り、限られた数の被験者から安全性も含めて最大限の知見を得る。

本研究と UCSF で実施中の遺伝子治療臨床研究では、Avigen 社において 2004 年 11 月に作製された同一ロットの AAV-hAADC-2 ( $1.5 \times 10^{12}$  vg/ml、vg/infectious unit ratio=12、注 1) を使用し、共通の臨床評価項目について評価を行う。本研究では、UCSF の研究の第 2 群、第 3 群に相当する  $3 \times 10^{11}$ 、 $9 \times 10^{11}$  vg の投与量を設定している。両研究とも、主要評価項目は安全性であり、副次評価項目は、①治療の有効性、および②AAV-hAADC-2 注入量と AADC 発現量との関係評価である。安全性の評価は、一般身体所見 (バイタルサインを含む)、神経学的所見、有害事象、抗パーキンソン病薬の必要量、併用薬、臨床検査について行う。①の効果の判定は症状日誌、臨床的評価、服用する L-dopa の必要量に基づいて行う。

②の発現量は FMT-PET によって判定する。

両研究間では、下表に示したように被験者の選択基準などに若干の差がある。

実施施設名	自治医科大学	UCSF
研究名	AADC 発現 AAV ベクター線条体内投与による進行期パーキンソン病遺伝子治療の臨床研究	A Phase 1 Open-label Safety Study of Intrastratial Infusion of Adeno-Associated Virus Encoding Human Aromatic L-Amino Acid Decarboxylase (AAV-hAADC-2) in Subjects with Mid- to Late- Stage Parkinson's Disease
試験開始日		2004 年 12 月 15 日
試験実施予定期間	最終登録症例にベクターを投与後 9 ヶ月間 (注 2)	最終登録症例にベクターを投与後 5 年間
ベクター投与量	$3 \times 10^{11}$ 、 $9 \times 10^{11}$ vg	$9 \times 10^{10}$ 、 $3 \times 10^{11}$ 、 $9 \times 10^{11}$ vg
登録予定症例	各群 3 例、合計 6 例	各群 5 例、合計 15 例 (注 3)
被験者の選択基準	<ul style="list-style-type: none"> <li>●発症年齢が 40 歳以上</li> <li>●UPDR スコア Part III (OFF 状態) の合計が <u>20-80 点</u></li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>●診断時年齢が 40 歳以上</li> <li>●UPDR スコア Part III (OFF 状態) の合計が <u>20-60 点</u></li> </ul>
被験者の除外基準	<ul style="list-style-type: none"> <li>●MMSE で <u>20 点</u>以下。</li> <li>●3 年以内に痙攣発作の既往、抗てんかん薬を服薬中、脳波検査でてんかん性の異常を認める。</li> <li>●重篤な薬物アレルギーの既往。</li> <li>●過去 6 ヶ月以内に本臨床研究、他の臨床研究、治験のいずれかに参加したことがある。</li> <li>●以下の管理不良な疾患を合併している。 a)高度な腎障害、 b)高度な肝障害、 c)管理不能な糖尿病</li> <li>●総括責任者が本研究の対象として不適当と判断した。</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>●MMSE で <u>26 点</u>以下。</li> </ul>
試験実施予定期間	最終登録症例にベクターを投与後 9 ヶ月間 (注 2)	最終登録症例にベクターを投与後 5 年間
被験者のフォローアップ期間	10 年間 (フォローアップ期間中に重篤な有害事象が発生した場合には、病院長から厚生労働大臣への報告を行う)	15 年間

注 1 :

ベクターの力価の単位として、ゲノムコピー数の他に empty capsid 数を考慮した particle 数も使用されてきたが、導入した遺伝子の発現効率は混入する empty capsid だけでなく、2 本鎖 DNA への変換効率などの要因にも影響されることから、実際に遺伝子を発現させたときの効率を測定した infectious unit が使用されるようになっている。本研究で使用する AAV-hAADC-2 の vg/infectious unit 比は 12 であり、empty capsid の混入の多い AAV ベクターでは、この比の価は数 100 以上になることから、本ベクターでは empty capsid の混入は殆どないと推察される。

注 2 :

本研究では、有効性および安全性にかかわる最終評価は最終登録症例にベクターを投与した 6 ヶ月後、FMT-PET を含む評価が全て終了した時点に行う。終了報告書作成に要する期間（3 ヶ月）を考慮し、実施予定期間は最終登録症例にベクターを投与した 9 ヶ月後とした。

注 3 :

UCSF の臨床研究では 20056 年 5 月までに低用量群の 5 例に投与されている。当初は、次の症例に投与するまでの間隔を 4 ヶ月あけるプロトコールになっていた。AAV を使用したパーキンソン病に対する他の 2 つの臨床試験（GAD および CERE-120）でも特に有害事象がみられていないことなどから、現在はその制限はない。

## 10 患者のプライバシー保護と秘密の保全

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」を遵守することとする。以下、これらの文書から要点となる事項を転記する。

### (1) 実施施設での安全管理措置

- ① 自治医科大学附属病院は、個人情報の適切な管理を図るため、次の各号に掲げる管理者等を置く。
  - A 個人情報保護管理者
  - B 個人情報保護管理補助者
  - C 個人情報保護取扱責任者
- ② 自治医科大学附属病院は、個人情報の適切な取扱に関する事項を審議するため、附属病院個人情報保護検討委員会を置く。
- ③ 個人情報の安全管理措置として、物理的・人的・技術的な安全管理措置を講じることとする。
  - A 物理的安全管理措置：個人情報を保管している部屋には必ず施錠する。ファイル・台帳・MO 等は鍵のついた棚や書庫、机の引き出し、金庫などに保管し施錠する。
  - B 人的安全管理措置：個人の所有するパソコン、MO、ノートなどの記録媒体には個人情報を登録しない。やむを得ない事情により個人のパソコン等に個人情報を登録するときは、「個人のパソコン等への個人情報登録許可申請書」に必要事項を記載し、管理者に申請し許可を得ることとする。個人のパソコン等に個人情報を登録するときはできるだけ匿名化を図る。
  - C 技術的安全管理措置：個人情報を保管したパソコン、システム等については、ファイヤウォール、ウイルス対策ソフト等の安全管理措置を講じる。
- ④ 自治医科大学附属病院は、患者等から得た個人情報をあらかじめ本人の同意を得ないで第三者に提供してはならない。ただし、次のいずれかに該当するときはこの限りではない。

- A 法令に基づくとき。
  - B 人の生命、身体または財産の保護のために必要がある場合であって本人の同意を得ることが困難であるとき。
  - C 公衆衛生の向上または児童の健全な育成の推進のために特に必要がある場合であって、本人の同意を得ることが困難であるとき。
  - D 国の機関若しくは地方公共団体またはその委託を受けた者が法令の定める事務を遂行することに対して協力する必要がある場合であって本人の同意を得ることにより当該事務の遂行に支障をおよぼすおそれがあるとき。
  - E 患者への医療の提供に必要であり、かつ、個人情報の利用目的として院内掲示等により患者等に明示してあるとき。
- ⑤ 自治医科大学附属病院は、個人情報または個人情報が記録されている媒体を廃棄する場合には、復元または判読が不可能な方法により、当該情報の消去または当該媒体の廃棄を行わなければならない。
- A 紙ファイル、台帳等の廃棄についてはシュレッダーによる廃棄または専業者による廃棄とする。専業者による廃棄を行うときは必ず病院職員立ち会いのもと行う。
  - B フロッピーディスク、MO等の電子記録媒体については、保存されているデータを全て消去した上で粉碎などの物理的な廃棄を行う。
- ⑥ 自治医科大学附属病院の職員および学校法人自治医科大学と雇用関係にある者で病院に勤務する職員は、個人情報を適切に取り扱い、業務上知り得た個人情報を漏洩し、または不当な目的に使用してはならない。また、その職を退いた後も同様とする。
- ⑦ 自治医科大学附属病院の職員等は、誤り、犯罪行為、システムエラー等による個人情報の漏洩等の事故を発見したときは直ちに取扱責任者に報告すること。取扱責任者が不在のときは、管理者または管理補助者に報告すること。
- ⑧ 自治医科大学附属病院の患者および患者の家族等の個人情報に関する取扱に関する庶務は、経営管理課が行う。

## (2) 本研究における個人情報の保護

本研究は Genzyme 社と自治医科大学との共同研究である。両者に共同して利用される個人情報は患者の年齢、治療成績、検査データ、ビデオ記録などで、それらを利用する者は Genzyme 社と自治医科大学でこの研究に携わった者に限ることとする。

これらの情報の利用目的は、学会発表や論文作成およびこの治療法を関係する国に申請するための資料作成である。患者の個人情報の管理は Genzyme 社と自治医科大学で行う。

自治医科大学においては、個人情報は、「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）にしたがって厳重に取り扱い、外部に漏れることのないようにする。また、自治医科大学は Genzyme 社に臨床研究情報を送る場合には、連結可能匿名化する。さらに自治医科大学は、Genzyme 社は同社に送付された患者プライバシーに関する情報を一切外部に漏らさないとの約定を、同社との間で文書にて締結した。

## (3) 記録の保存

本研究に関連した記録は、自治医科大学附属病院において、研究の中止若しくは終了の後 10 年間保存することとする。

## 11 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、本研究に用いた薬剤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。なお、承認後、結果の一部を添付文書およ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患者のプライバシーは確保される。

## 実施計画に添付すべき資料

### 1 研究者の略歴および研究業績

中野今治

- 1974年 東京大学医学部卒業
- 1975年 東京医科歯科大学第三解剖学教室助手
- 1977年 国立療養所下志津病院、厚生技官医師
- 1979年 NINCDS Research Center, NIH (Guam), fellow
- 1980年 Montefiore Medical Center, Neuropathology, fellow
- 1984年 医学博士 (東京大学)
- 1984年 国立療養所下志津病院神経内科医長、理学診療科医長
- 1988年 東京大学助教授 (医学部脳研病理)
- 1991年 東京都神経科学総合研究所 副参事研究員 (神経病理)
- 1996年 自治医科大学教授 (神経内科)

Muramatsu S, Fujimoto K, Ikeguchi K, Shizuma N, Kawasaki K, Ono F, Shen Y, Wang L-J, Mizukami H, Kume A, Matsumura M, Nagatsu I, Urano F, Ichinose H, Nagatsu T, Terao K, Nakano I, and Ozawa K: Behavioral recovery in a primate model of Parkinson's disease by triple transduction of striatal cells with adeno-associated viral vectors expressing dopamine-synthesiz in Avigens. *Hum Gene Ther* 13: 345-354, 2001.

Wang L, Muramatsu S, Lu Y, Ikeguchi K, Fujimoto K, Okada K, Mizukami H, Hanazono Y, Kume A, Urano F, Ichinose H, Nagatsu T, Nakano I, and Ozawa K.: Delayed delivery of AAV-GDNF prevents nigral neurodegeneration and promotes functional recovery in a rat model of Parkinson's disease. *Gene Ther* 9: 381-389, 2002.

Lu Y-Y, Wang L-J, Muramatsu S, Ikeguchi K, Fujimoto K, Okada T, Muzukami H, Matushita T, Hanazono Y, Kume A, Nagatsu T, Ozawa K, Nakano I: Intramuscular injection of AAV-GDNF results in sustained expression of transgenic GDNF, and its delivery to spinal motoneurons by retrograde transport. *Neuroscience Research* 45: 33-40, 2003.

Muramatsu S, Wang L-J, Ikeguchi K, Fujimoto K, Okada T, Mizukami H, Hanazono Y, Kume A, Nakano I, Ozawa K: Adeno-associated viral vectors for Parkinson's disease. *International Review of Neurobiology* 55: 205-222, 2003.

Shimazaki H, Takiyama Y, Sakoe K, Ando Y, Nakano I.: A phenotype without spasticity in saccinrelated ataxia. *Neurology* 64: 2129-2131, 2005.

小澤敬也

- 1977年 東京大学医学部医学科卒業
- 1980年 自治医科大学血液医学研究部門造血発生講座助手
- 1984年 東京大学医学部第3内科助手

1985 年 米国 NIH (CHB, NHLBI) 留学 (Fogarty Fellow)  
1987 年 東京大学医科学研究所病態薬理学研究部講師、附属病院内科講師  
1990 年 東京大学医科学研究所病態薬理学研究部助教授、附属病院内科助教授  
1994 年 自治医科大学血液医学研究部門分子生物学講座教授  
1998 年 自治医科大学血液学講座 (現 内科学講座血液学部門) 主任教授  
輸血部 (現 輸血・細胞移植部) 教授 (兼任)  
分子病態治療研究センター遺伝子治療研究部教授 (兼任)

Muramatsu S, Fujimoto K, Ikeguchi K, Shizuma N, Kawasaki K, Ono F, Shen Y, Wang L, Mizukami H, Kume K, Matsumura M, Nagatsu N, Urano F, Ichinose H, Nagatsu T, Terao T, Nakano I, and Ozawa K: Behavioral recovery in a primate model of Parkinson's disease by triple transduction of striatal cells with adeno-associated viral vectors expressing dopamine-synthesis in Avigens. *Hum Gene Ther* 13: 345-354, 2002.

Ideno J, Mizukami H, Honda K, Okada T, Hanazono Y, Kume A, Saito T, Ishibashi S, and Ozawa K: Persistent phenotypic correction of central diabetes insipidus using adeno-associated virus vector-expressing arginine-vasopressin in brattleboro rats. *Mol Ther* 8: 895-902, 2003.

Nomoto T, Okada T, Shimazaki K, Mizukami H, Matsushita T, Hanazono Y, Kume A, Katsura K, Katayama Y, and Ozawa K: Distinct patterns of gene transfer to gerbil hippocampus with recombinant adeno-associated virus type 2 and 5. *Neurosci Lett* 340: 153-157, 2003.

Yoshioka T, Okada T, Maeda Y, Ikeda U, Shimpo M, Nomoto T, Takeuchi K, Nonaka-Sarukawa M, Ito T, Takahashi M, Matsushita T, Mizukami H, Hanazono Y, Kume A, Ookawara S, Kawano M, Ishibashi S, Shimada K, and Ozawa K: Adeno-associated virus vector-mediated interleukin-10 gene transfer inhibits atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice. *Gene Ther* 11: 1772-1779, 2004.

Toyo-Oka T, Kawada T, Nakata J, Xie H, Urabe M, Masui F, Ebisawa T, Tezuka A, Iwasawa K, Nakajima T, Uehara Y, Kumagai H, Kostin S, Schaper J, Nakazawa M, and Ozawa, K: Translocation and cleavage of myocardial dystrophin as a common pathway to advanced heart failure: a scheme for the progression of cardiac dysfunction. *Proc Natl Acad Sci USA* 101: 7381-7385, 2004.

#### 渡辺英寿

1976 年 東京大学医学部医学科卒業  
1976 年 東京大学脳神経外科入局  
1977 年 三井記念病院脳神経外科医師  
1979 年 都立墨東病院脳神経外科医師  
1980 年 東京大学医学部第一生理学教室助手  
1983 年 東京大学脳神経外科助手  
1985 年 西ドイツ・エルランゲン大学脳神経外科に留学  
1988 年 東京警察病院脳神経外科医幹  
1999 年 東京警察病院脳神経外科部長  
2004 年 自治医科大学脳神経外科教授

- Watanabe E, Yamashita Y, Maki A, Ito Y, and Koizumi H: Non-invasive functional mapping with multi-channel near infra-red spectroscopic topography in humans. *Neurosci Lett* 205: 41-44, 1996.
- Watanabe E, Kaneko Y, Takashiro K, and Mayanagi Y: Ictal SPECT in temporal and extratemporal epilepsy. *Epilepsia* 38: Suppl 6: 48-53, 1997.
- Watanabe E, et al.: Non-invasive Cerebral Blood Volume Measurement During Seizures Using Multi-Channel Near Infrared Spectroscopic Topography. *J Epilepsy* 11: 335-340, 1998.
- Watanabe E, Maki A, Kawaguchi F, Takashiro K, Yamashita Y, Koizumi H, and Mayanagi Y: Non-invasive assessment of language dominance with near-infrared spectroscopic mapping. *Neurosci Lett* 256: 49-52, 1998.
- Watanabe E, Maki A, Kawaguchi F, Yamashita Y, Koizumi H, and Mayanagi Y: Noninvasive cerebral blood volume measurement during seizures using multichannel near infrared spectroscopic topography. *J Biomed Opt* 5: 287-290, 2000.
- Mayanagi Y, Watanabe E, Nagahori Y, and Nankai M: Psychiatric and neuropsychological problems in epilepsy surgery: analysis of 100 cases that underwent surgery. *Epilepsia* 42: Suppl 6: 19-23, 2001.

藤本健一

- 1980年 自治医科大学医学部卒業、筑波大学附属病院内科研修医
- 1982年 茨城県立中央病院内科医員
- 1989年 自治医科大学大学院卒業（医学博士）、自治医科大学神経内科助手
- 1989年 米国 Tennessee 大学留学 Anatomy and Neurobiology, Research Associate
- 1993年 自治医科大学神経内科講師
- 1997年 国立療養所足利病院内科医長
- 2000年 自治医科大学神経内科助教授

- Wang L, Muramatsu S, Lu Y, Ikeguchi K, Fujimoto K, Okada T, Mizukami H, Hanazono Y, Kume A, Urano F, Ichinose H, Nagatsu T, Nakano I, and Ozawa K: Delayed delivery of AAV-GDNF prevents nigral neurodegeneration and promotes functional recovery in a rat model of Parkinson's disease. *Gene Ther* 9: 381-389, 2002.
- Muramatsu S, Fujimoto K, Ikeguchi K, Shizuma N, Kawasaki K, Ono F, Shen Y, Wang L, Mizukami H, Kume A, Matsumura M, Nagatsu I, Urano F, Ichinose H, Nagatsu T, Terao K, Nakano I, and Ozawa K: Behavioral recovery in a primate model of Parkinson's disease by triple transduction of striatal cells with adeno-associated viral vectors expressing dopamine-synthesis in Avigens. *Hum Gene Ther* 13: 345-354, 2002.
- Shen Y, Muramatsu S, Ikeguchi K, Fujimoto K, Fan DS, Ogawa M, Mizukami H, Urabe M, Kume A, Nagatsu I, Urano F, Suzuki T, Ichinose H, Nagatsu T, Monahan J, Nakano I, and Ozawa K: Triple transduction with adeno-associated virus vectors expressing tyrosine hydroxylase, aromatic-L-amino-acid decarboxylase, and GTP cyclohydrolase I for gene therapy of Parkinson's disease. *Hum Gene Ther* 11: 1509-1519, 2000.
- Fan D-S, Ogawa M, Fujimoto K, Ikeguchi K, Ogasawara Y, Urabe M, Nishizawa M, Nakano I, Yoshida M,

Nagatsu I, Ichinose H, Nagatsu T, Kurtzman G-J, and Ozawa K: Behavioral recovery in 6-hydroxydopamine-lesioned rats by cotransduction of striatum with tyrosine hydroxylase and aromatic L-amino acid decarboxylase genes using two separate adeno-associated virus vectors. *Hum Gene Ther* 9: 2527-2535, 1998.

#### 加藤正哉

1982年 自治医科大学医学部卒業、国立仙台病院臨床研修医  
1984年 東北大学医学部附属脳疾患研究施設脳神経外科  
1989年 医学博士（東北大学）  
1990年 宮城県公立佐沼総合病院脳神経外科医長  
1991年 大原総合病院附属大原医療センター脳神経外科副部長  
1992年 東北大学医学部脳疾患研究施設脳神経外科助手  
1992年 自治医科大学脳神経外科（兼）救急医学講座助手  
1994年 自治医科大学脳神経外科（兼）救急医学講座講師  
1997年 University of New Mexico, Dept. of Neurology, MEG laboratory (fellow)  
1999年 自治医科大学脳神経外科（兼）救急医学講座講師  
2002年 自治医科大学救急医学講座助教授

加藤正哉、木村友昭、橋本勲：鼻腔電気刺激による三叉神経感覚誘発磁場。日本生体磁気学会誌 13: 186-187, 2000.

Kato S, Wang Y, Papuashvili N, and Okada Y-C: Stable synchronized high-frequency signals from the main sensory and spinal nuclei of the pig activating by A-beta fibers of the maxillary nerve innervating the snout. *Brain Res* 959: 1-10, 2003.

Kato S, Papuashvili N, Okada Y-C: Identification and functional characterization of the trigeminal ventral cervical reflex pathway in the swine. *Clin Neurophysiol* 114: 263-271, 2003.

加藤正哉、藤本健一、増澤紀男：視床下核脳深部刺激に伴う副作用とその対策。機能的脳神経外科 42(2): 62-63, 2003.

#### 久米晃啓

1984年 東北大学医学部卒業、神奈川県立こども医療センター小児科研修医  
1990年 東北大学大学院医学研究科修了、学位取得  
1990年 東北大学小児科医員  
1992年 Indiana University School of Medicine, Pediatrics, Post-doctoral fellow  
1994年 熊本大学医学部助手（免疫識別学）  
1996年 自治医科大学講師（分子生物学）  
2001年 自治医科大学助教授（遺伝子治療研究部）

Kume A, Xu R, Ueda Y, Urabe M, and Ozawa K: Long-term tracking of murine hematopoietic cells transduced

- with a bicistronic retrovirus containing CD24 and EGFP genes. *Gene Ther* 7: 1193-1199, 2000.
- Kume A, Koremoto M, Mizukami H, Okada T, Hanazono Y, Sugamura K, and Ozawa K: Selective growth advantage of wild-type lymphocytes in X-linked SCID recipients. *Bone Marrow Transplant* 30: 113-118, 2002.
- Kume A, Koremoto M, Xu R, Okada T, Mizukami H, Hanazono Y, Hasegawa M, and Ozawa K: *In vivo* expansion of transduced murine hematopoietic cells with a selective amplifier gene. *J Gene Med* 5: 175-181, 2003.
- Mochizuki S, Mizukami H, Ogura T, Kure S, Ichinohe A, Kojima K, Matsubara Y, Kobayashi E, Okada T, Hoshika A, Ozawa K, and Kume A: Long-term correction of hyperphenylalaninemia by AAV-mediated gene transfer leads to behavioral recovery in phenylketonuria mice. *Gene Ther* 11: 1081-1086, 2004.
- Hara T, Kume A, Hanazono Y, Mizukami H, Okada T, Tsurumi H, Moriwaki H, Ueda Y, Hasegawa M, and Ozawa K: Expansion of genetically corrected neutrophils in chronic granulomatous disease mice by cotransferring a therapeutic gene and a selective amplifier gene. *Gene Ther* 11: 1370-1377, 2004.

村松慎一

- 1983年 自治医科大学卒業  
 1991年 自治医科大学大学院卒業（医学博士）  
 1991年 自治医科大学神経内科助手  
 1992年 長野原町へき地診療所長  
 1995年 NHLBI, NIH, visiting associate  
 1997年 自治医科大学神経内科助手  
 2004年 自治医科大学神経内科講師  
 2005年 自治医科大学神経内科助教授

- Muramatsu S, Mizukami H, Young N-S, and Brown K-E: Nucleotide sequencing and generation of an infectious clone of adeno-associated virus 3. *Virology* 221: 208-217, 1996.
- Shen Y, Muramatsu S, Ikeguchi K, Fujimoto K, Fan D-S, Ogawa M, Mizukami H, Urabe M, Kume A, Nagatsu I, Urano F, Suzuki T, Ichinose H, Nagatsu T, Monahan J, Nakano I, and Ozawa K: Triple transduction with adeno-associated virus vectors expressing tyrosine hydroxylase, aromatic-L-amino-acid decarboxylase, and GTP cyclohydrolase I for gene therapy of Parkinson's disease. *Hum Gene Ther* 11: 1509-1519, 2000.
- Muramatsu S, Fujimoto K, Ikeguchi K, Shizuma N, Kawasaki K, Ono F, Shen Y, Wang L, Mizukami H, Kume A, Matsumura M, Nagatsu I, Urano F, Ichinose H, Nagatsu T, Terao K, Nakano I, and Ozawa K: Behavioral recovery in a primate model of Parkinson's disease by triple transduction of striatal cells with adeno-associated viral vectors expressing dopamine-synthesis in Avigens. *Hum Gene Ther* 13: 345-354, 2002.
- Wang L, Muramatsu S, Lu Y, Ikeguchi K, Fujimoto K, Okada T, Mizukami H, Hanazono Y, Kume A, Urano F, Ichinose H, Nagatsu T, Nakano I, and Ozawa K: Delayed delivery of AAV-GDNF prevents nigral neurodegeneration and promotes functional recovery in a rat model of Parkinson's disease. *Gene Ther* 9: 381-389, 2002.

Li X-G, Okada T, Kodera M, Nara Y, Takino N, Muramatsu C, Ikeguchi K, Urano F, Ichinose H, Metzger D, Chambon P, Nakano I, Ozawa K, and Muramatsu S: Viral Mediated temporally-controlled dopamine production in a rat model of Parkinson's disease. *Mol Ther* 13: 160-166, 2006.

#### 池口邦彦

1982年 筑波大学医学専門学群卒業  
1982年 自治医科大学内科研修医  
1984年 自治医科大学神経内科研修医  
1987年 自治医科大学神経内科病院助手  
1990年 自治医科大学神経内科講座助手  
1995年 医学博士 (自治医科大学)  
2001年 自治医科大学神経内科学内講師  
2004年 自治医科大学神経内科講師

Hanyu S, Ikeguchi K, Imai H, Imai N, and Yoshida M: Cerebral infarction associated with 3,4-methylenedioxymethamphetamine ('ecstasy') abuse. *Eur Neurol* 35: 173, 1995.

Ikeguchi K, and Kuroda A: Mianserin treatment of patients with psychosis induced by antiparkinsonian drugs. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* 244: 320-324, 1995.

Ikeguchi K, and Kuroda A: Mianserin, a 5-HT<sub>2</sub> receptor antagonist, in the treatment of delirium: an open study. *Eur J Neurol* 1: 261-266, 1995.

Koike R, Onodera O, Tabe H, Kaneko K, Miyatake T, Iwasaki S, Nakano M, Shizuma, N, Ikeguchi K, Nishizawa M, Mosser J, Sarde C-O, and Tsuji S: Partial deletions of putative adrenoleukodystrophy (ALD) gene in Japanese ALD patients. *Hum Mutat* 6: 263-267, 1995.

#### 水上浩明

1986年 防衛医科大学校卒業  
1988年 潜水医学実験隊実験部員  
1990年 防衛医科大学校第3内科  
1992年 自衛隊舞鶴病院  
1993年 Hematology Branch, NHLBI, NIH, Visiting Associate  
1995年 自衛隊横須賀病院  
1998年 自治医科大学助手 (遺伝子治療研究部)  
2004年 自治医科大学講師 (遺伝子治療研究部)

Mizukami H, Young N-S, and Brown K-E: Adeno-associated virus type 2 binds to a 150-Kilodalton cell membrane glycoprotein. *Virology* 217: 124-130, 1996.

Qiu J, Mizukami H, and Brown K-E: Adeno-associated virus 2 co-receptors? *Nat Med* 5: 467-468, 1999.

Ideno J, Mizukami H, Honda K, Okada T, Hanazono Y, Kume A, Saito T, Ishibashi S, and Ozawa K: Persistent

phenotypic correction of central diabetes insipidus using adeno-associated virus vector-expressing arginine-vasopressin in brattleboro rats. *Mol Ther* 8: 895-902, 2003.

Iwata N, Mizukami H, Shirotani K, Takaki Y, Muramatsu S, Lu B, Gerard N-P, Gerard C, Ozawa K, and Saido T-C: Presynaptic localization of neprilysin contributes to efficient clearance of amyloid-beta peptide in mouse brain. *J Neurosci* 24: 991-998, 2004.

Mizukami H, Okada T, Ogasawara Y, Matsushita T, Urabe M, Kume A, and Ozawa K: Separate control of Rep and Cap expression utilizing mutant and wild-type loxP sequences and improved packaging system for adeno-associated virus vector production. *Mol Biotechnol* 27: 7-14, 2004.

#### 岡田尚巳

1991年 金沢大学医学部卒業

1995年 金沢大学大学院医学研究科修了、医学博士

1995年 富山市民病院脳神経外科

1996年 Clinical Gene Therapy Branch, NHGRI, NIH (Fogarty Fellow)

1998年 公立能登総合病院脳神経外科

2000年 自治医科大学医学部助手 (ウイルス学)

2001年 自治医科大学医学部助手 (遺伝子治療研究部)

2004年 自治医科大学医学部講師 (遺伝子治療研究部)

Okada T, Nomoto T, Yoshioka T, Nonaka-Sarukawa M, Ito T, Ogura T, Iwata-Okada M, Uchibori R, Shimazaki K, Mizukami H, Kume A, and Ozawa K: Large-scale production of recombinant viruses using a large culture vessel with active gassing. *Hum Gene Ther* (in press)

Okada T, Mizukami H, Urabe M, Nomoto T, Matsushita T, Hanazono Y, Kume A, Tobita K, and Ozawa K: Development and characterization of an antisense-mediated regulation system for adeno-associated virus vector production with introduction of Cre recombinase. *Biochem Biophys Res Comm* 288: 62-68, 2001.

Okada T, Shah M, Higginbotham J, Li Q, Wildner O, Walbridge S, Oldfield E, Blaese M, and Ramsey J: AV.TK-mediated killing of subcutaneous tumors *in situ* results in effective immunization against established secondary intracranial tumor deposits. *Gene Ther* 8: 1315-1322, 2001.

Okada T, Shimazaki K, Nomoto T, Matsushita T, Mizukami H, Urabe M, Hanazono Y, Kume A, Tobita K, Ozawa K, and Kawai N: AAV mediated gene transfer for gene therapy of ischemia-induced neuronal death. *Method Enzymol* 346: 378-393, 2002.

Okada T, Caplen N-J, Ramsey W-J, Onodera M, Shimazaki K, Nomoto T, Ajalli R, Wildner O, Morris J, Kume A, Hamada H, Blaese R-M, and Ozawa K: *In situ* generation of pseudotyped retroviral progeny by adenovirus-mediated transduction of tumor cells enhances the killing effect of HSV-tk suicide gene therapy *in vitro* and *in vivo*. *J Gene Med* 6: 288-299, 2004.

Okada T, Nomoto T, Yoshioka T, Nonaka-Sarukawa M, Ito T, Ogura T, Iwata-Okada M, Uchibori R, Shimazaki K, Mizukami H, Kume A, and Ozawa K: Large-scale production of recombinant viruses using a large culture vessel with active gassing. *Hum Gene Ther* (in press)

#### 卜部匡司

- 1985年 自治医科大学医学部卒業、福井県立病院研修医
- 1987年 社会保険高浜病院内科医員
- 1989年 福井医科大学第二内科助手
- 1995年 自治医科大学大学院卒業（医学博士）、自治医科大学ウイルス学講座助手
- 1999年 米国 NIH 分子血液学教室留学
- 2004年 自治医科大学遺伝子治療研究部助手
- 2005年 自治医科大学遺伝子治療研究部講師

Surosky R-T, Urabe M, Godwin S-G, McQuiston S-A, Kurtzman GJ, Ozawa K, and Natsoulis G: Adeno-associated virus Rep proteins target DNA sequences to a unique locus in the human genome. *J Virol* 71:7951-7959, 1997.

Urabe M, Hasumi Y, Kume A, Surosky R-T, Kurtzman G-J, Tobita K, and Ozawa K: Charged-to-alanine scanning mutagenesis of the N-terminal half of adeno-associated virus type 2 Rep78 protein. *J Virol* 73: 2682-2693, 1999.

Kawada T, Nakazawa M, Nakauchi S, Yamazaki K, Shimamoto R, Urabe M, Nakata J, Hemmi C, Masui F, Nakajima T, Suzuki J, Monahan J, Sato H, Masaki T, Ozawa K, and Toyo-Oka T: Rescue of hereditary form of dilated cardiomyopathy by rAAV-mediated somatic gene therapy: amelioration of morphological findings, sarcolemmal permeability, cardiac performances, and the prognosis of TO-2 hamsters. *Proc Natl Acad Sci USA* 99: 901-906, 2002.

Urabe M, Ding C, and Kotin R-M: Insect cells as a factory to produce adeno-associated virus type 2 vectors. *Hum Gene Ther* 13: 1935-43, 2002.

Urabe M, Kogure K, Kume A, Sato Y, Tobita K, and Ozawa K: Positive and negative effects of adeno-associated virus Rep on AAVS1-targeted integration. *J Gen Virol* 84: 2127-32, 2003.

Toyo-Oka T, Kawada, T, Nakata J, Xie H, Urabe M, Masui F, Ebisawa T, Tezuka A, Iwasawa K, Nakajima T, Uehara Y, Kumagai H, Kostin S, Schaper J, Nakazawa M, and Ozawa K: Translocation and cleavage of myocardial dystrophin as a common pathway to advanced heart failure: a scheme for the progression of cardiac dysfunction. *Proc Natl Acad Sci USA* 101: 7381-7385, 2004.

#### 川上忠孝

- 1985年 自治医科大学医学部卒業
- 1985年 島根県立中央病院内科研修医
- 1987年 島後町村組合立隠岐病院内科医員
- 1988年 島前町村組合立島前診療所内科・国保知夫村診療所
- 1990年 石見町立邑南病院内科医員
- 1992年 羽須美村国保阿須那診療所
- 1994年 自治医科大学神経内科臨床助手
- 1996年 国立療養所足利病院内科医員

1998年 厚生連上都賀総合病院内科医員  
1999年 医学博士（自治医科大学）  
2000年 自治医科大学神経内科病院助手  
2004年 自治医科大学神経内科講座助手

Kawakami T, Takiyama Y, Yanaka I, Taguchi T, Tanaka Y, Nishizawa M, and Nakano I: Chronic bromvalerylurea intoxication: a case report of a dystonic posture and cerebellar ataxia due to nonsteroidal anti-inflammatory drug abuse. *Intern Med* 37: 788-791, 1998.

Kawakami T, Takiyama Y, Yoshioka T, Nishizawa M, Reid ME, Kobayashi O, Nonaka I, and Nakano I: A case of McLeod syndrome with unusually severe myopathy. *J Neurol Sci* 166: 36-39, 1999.

川上忠孝、池口邦彦、田中康文、西澤正豊、中野今治：Diltiazemにより急性にパーキンソニズムを呈した1症例。神経治療 17: 57-60, 2000.

川上忠孝、中野今治：【検査計画法】神経・筋疾患編 頭痛。総合臨床 51: 1090-1093, 2002.

田口朋広、川上忠孝、中野今治：【非ヘルペス性辺縁系脳炎をめぐる最近の話題(そのII)症例集】失読・失書で初発し、痙攣重積を呈するがMRI上有意の所見を認めず epilepsy partialis continuaを残した脳炎の20歳女性例。神経内科 59: 184-187, 2003.

#### 松下 卓

1989年 信州大学医学部卒業、浜松医科大学小児科研修医  
1990年 県西部浜松医療センター小児科研修医  
1991年 国立がんセンター研修医（小児科）  
1994年 浜松医科大学小児科医員  
1995年 自治医科大学分子生物学講座研究生  
1995年 University of Southern California, Dept of Urology/ Avigen, Inc.  
1999年 自治医科大学遺伝子治療研究部研究生  
2000年 ヒューマンサイエンス振興財団リサーチレジデント  
2001年 自治医科大学助手（ウイルス学）  
2003年 自治医科大学助手（分子病態治療研究センター）

松下卓、矢島周平、大平睦郎：自家骨髄移植を行った肝芽腫の治療。小児外科 27: 86-92, 1995.

Hongo T, Matsushita T, Ogawa N, and Yajima S: In vitro assay results of 15 children with Philadelphia chromosome positive acute lymphoblastic leukemia and their clinical outcomes. *Drug Resistance in Leukemia and Lymphoma II* 59-64, 1996.

Matsushita T, Elliger S, Elliger C, Podsakoff G, Villarreal L, Kurtzman G-J, Iwaki Y, and Colosi P: Adeno-associated virus vectors can be efficiently produced without helper virus. *Gene Ther* 5: 938-945, 1998.

Grimm D, Zhou S, Nakai H, Thomas C-E, Storm T-A, Fuess S, Matsushita T, Allen J, Surosky R, Lochrie M, Meuse L, McClelland A, Colosi P, and Kay M-A: Preclinical in vivo evaluation of pseudotyped adeno-associated virus vectors for liver gene therapy. *Blood* 102: 2412-2419, 2003.

Matsushita T, Okada T, Inaba T, Mizukami H, Ozawa K, and Colosi P: The adenovirus E1A and E1B19K genes provide a helper function for transfection-based adeno-associated virus vector production. J Gen Virol 85: 2209-2214, 2004.

佐藤俊彦

- 1985年 福島県立医科大学卒業、同大学放射線科入局
- 1987年 日本医科大学第一病院放射線科入局
- 1989年 獨協医科大学附属病院放射線科入局
- 1993年 鷲谷病院副院長就任、獨協医大越谷病院放射線科非常勤講師
- 1996年 有限会社ドクターネット設立
- 1997年 宇都宮セントラルクリニックを開業

佐藤俊彦：臨床家のための Clinical-PET. デジタルメデイスン社、東京、2004.

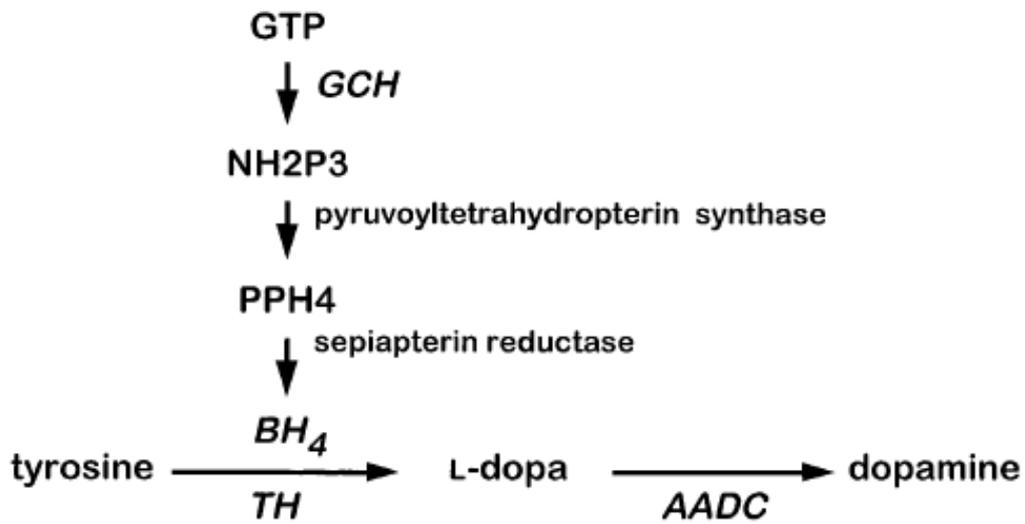
## 2 実施施設の施設設備の状況

当該遺伝子治療臨床研究は自治医科大学医学部附属病院手術室、隔離室および脳神経センター病棟で行う。本院では、手術室に定位脳手術装置を備えている。手術に用いた器具はエチレンオキサイドガス滅菌装置を用いて処理し、患者排泄物は本院が有する高压滅菌機で処理する。また、ウイルスベクターの取扱に関しては、Avigen 社から提供された臨床用 AAV ベクターの脳内注入のための試験管分注と注射器への吸引は、指示書（資料4）にしたがい、自治医科大学附属病院「臨床用細胞プロセッシング室」（クリーンかつ P2 レベル対応）の中の安全キャビネット内（クラス 100）において、担当者が行う。

## 3 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

効率よくドパミンを生合成するためには、アミノ酸のチロシンを L-dopa に変換するチロシン水酸化酵素 tyrosine hydroxylase (TH)、L-dopa をドパミンに変換する芳香族アミノ酸脱炭酸酵素 aromatic L-amino acid decarboxylase (AADC)、TH の補酵素である tetrahydrobiopterine (BH<sub>4</sub>) を合成するのに必要な GTP cyclohydrolase I (GCH) の3種類の酵素が必要である (図 1)。

図 1：ドパミンの生合成経路



TH, Tyrosine hydroxylase; AADC, aromatic-L-amino-acid decarboxylase;  
 BH<sub>4</sub>, tetrahydrobiopterin, a cofactor of TH; PPH<sub>4</sub>, 6-pyruvoyl tetrahydropterin; NH<sub>2</sub>P<sub>3</sub>,  
 D-erythro-7, 8-dihydroneopterin triphosphate ;  
 GTP, guanosine triphosphate; GCH, GTP cyclohydrolase I.

自治医科大学では、AAV ベクターを使用して、これらの酵素の遺伝子を導入することによりドパミン産生を回復する遺伝子治療法を開発してきた。

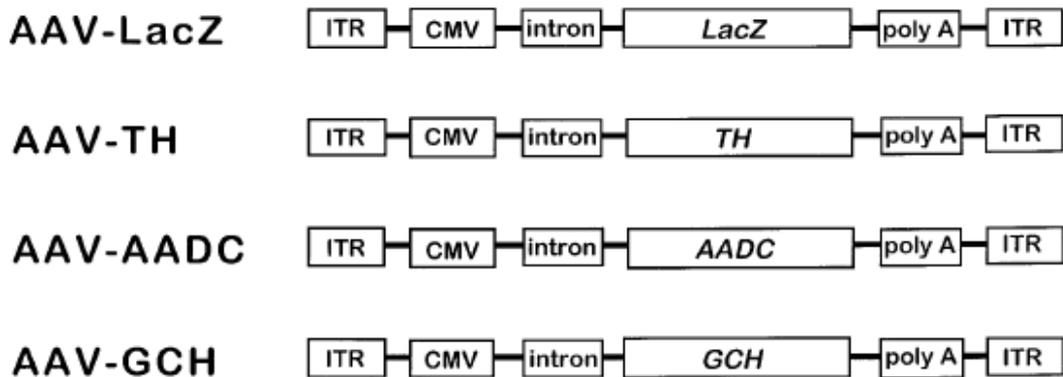
## (1) 培養細胞を用いた研究の成果

### ① 実験計画の概要

ラット脳の初代培養神経細胞およびヒト胎児腎臓由来の HEK293 細胞において、LacZ マーカー遺伝子を発現する AAV ベクター (AAV-LacZ) を使用して遺伝子導入効率を検討した。また、TH、AADC、GCH の各遺伝子を発現する AAV ベクター (AAV-TH、AAV-AADC、AAV-GCH) を使用して、AAV-TH 単独の場合と AAV-AADC および AAV-GCH を併用した場合とで、ドパミン産生への効果を比較検討した。

使用した AAV ベクターは、いずれも臨床研究と同じく 2 型 AAV (AAV-2) 由来で、CMV プロモーターにより各遺伝子を発現する (図 2)。

図 2 : 実験に使用したベクターの構造



ITR, AAV inverted terminal repeat; CMV, cytomegalovirus immediate-early promoter; intron, the human growth hormone first intron; poly A, the SV40 polyadenylation signal sequence.

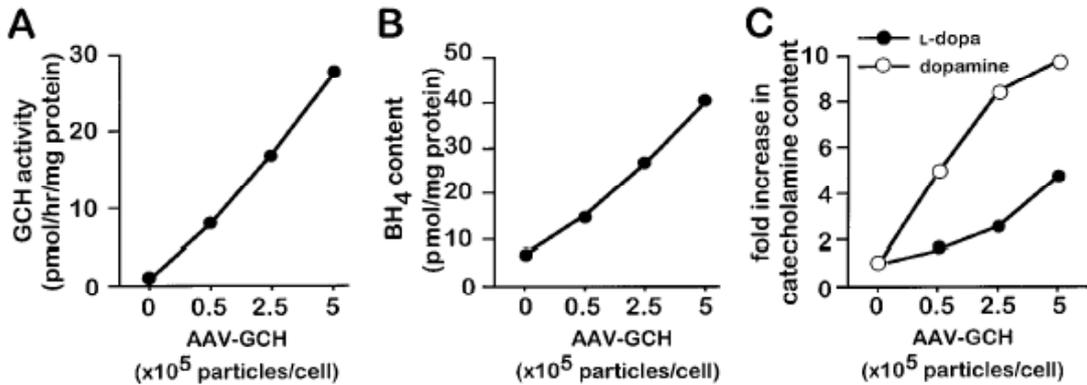
### ② 培養細胞における遺伝子導入効率および導入された遺伝子の構造と安定性

ラット胎仔 (Wistar, 胎生 20 日) 線条体の初代培養神経細胞に、AAV-LacZ を  $5 \times 10^2$  から  $1 \times 10^5$  vector genome (vg) /cell の力価範囲で感染させると、 $1 \times 10^4$  vg/cell 以上の力価では、1 週間後にほぼ 30 % の細胞が LacZ 陽性となった。2 週間後にも同様の発現が持続して認められた<sup>56)</sup>。各  $1 \times 10^5$  vg/cell の AAV-TH、AAV-AADC、AAV-GCH を感染させた HEK293 細胞において、Western blot により TH、AADC、GCH 各蛋白質の発現が確認された。

### ③ 培養細胞に導入された遺伝子の機能

HEK293 細胞に  $4.5 \times 10^3$  vg/cell の AAV-TH を感染させると 23.35 fg/cell の L-dopa の産生が認められたがドパミンは検出されなかった。しかし、AAV-TH に加えて  $4.5 \times 10^2$  から  $4.5 \times 10^3$  vg/cell までの範囲の AAV-AADC を感染させると、AAV-AADC の量が増えるにしたがい L-dopa が減少してドパミンが増加した。このことは、導入された AADC 遺伝子が発現し、L-dopa からドパミンへの変換が行われた結果と考えられた。ラットの初代培養神経細胞において、各  $1.4 \times 10^4$  vg/cell の AAV-TH と AAV-AADC を感染させた場合には、 $0.91 \pm 0.03$  fg/cell のドパミンが産生された。AAV-TH 単独の感染では、ドパミン産生量は 0.20 fg/cell 未満であった<sup>56)</sup>。293 細胞において、AAV-TH、AAV-AADC、AAV-GCH (各  $5 \times 10^5$  vg/cell) の 3 種類を同時に感染させると、ドパミンの産生量は AAV-GCH を加えないときに比べて約 10 倍に増加した (図 3)。

図 3 : 培養細胞における AAV-GCH 添加によるドパミン産生の増強



HEK293 細胞に各  $5 \times 10^5$  vg/cell の AAV-TH と AAV-AADC、および  $0, 0.5, 2.5, 5 \times 10^5$  vg/cell の AAV-GCH を添加した。AAV-GCH の用量依存的に BH<sub>4</sub> の産生増加が認められ、ドパミンも増加した。

#### ④ 培養細胞を用いた実験の評価

AAV ベクターによりラットの初代培養神経細胞では 30 % 程度に遺伝子導入された。TH、AADC、GCH の各遺伝子を HEK293 細胞に導入することによりドパミンが産生された。AADC 遺伝子導入により、L-dopa からドパミンの変換が行われると考えられる。

## (2) 実験動物を用いた研究の成果

### ① 実験計画の概要

選択的に黒質ドパミン神経細胞を傷害する 6-hydroxydopamine (6-OHDA) と 1-methyl-4-phenyl-1, 2, 3, 6-tetrahydropyridine (MPTP) によるパーキンソン病モデル動物を使用した。6-OHDA を黒質線条体路に注入したラット、および MPTP を慢性的に全身投与したカニクイサル (*Macaca fascicularis*) の線条体に、AAV-TH、AAV-AADC、AAV-GCH を注入して、遺伝子導入によるドパミン産生と運動障害の改善効果を検討した。

### ② 実験動物における遺伝子導入効率および導入された遺伝子の構造と安全性

6-OHDA モデルラットの線条体に各  $5 \times 10^7$  vg の AAV-TH、AAV-AADC、AAV-GCH を 3 個所に分けて注入 (合計  $1.5 \times 10^8$  vg) した場合、免疫蛍光染色の結果から遺伝子導入された細胞の 95 % 以上は抗 microtubule-associated protein (MAP2) 抗体に反応する神経細胞であった。線条体の神経細胞への遺伝子導入効率は約 20 % で、ベクター注入部位では  $1-2 \times 10^5$  の神経細胞が遺伝子導入された<sup>57)</sup>。AAV-TH、AAV-AADC、AAV-GCH の各遺伝子は 18 ヶ月後にも発現していた<sup>58)</sup> (図 4)。



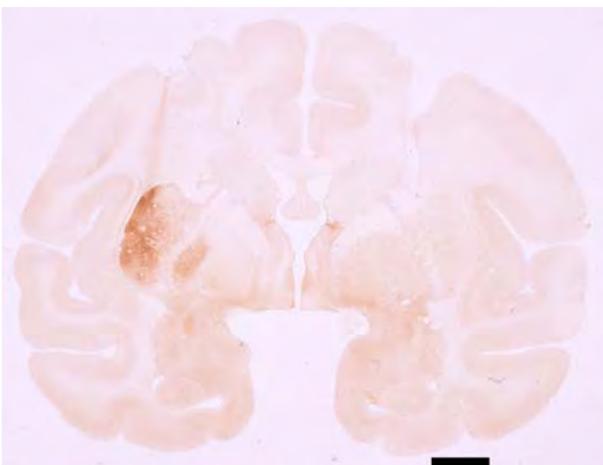
図 4 : モデルラット線条体の免疫染色

AAV-TH、AAV-AADC、AAV-GCH の 3 種類のベクターを注入  
18 ヶ月後の抗 TH 抗体による免疫染色。  
2 本の注入トラックを中心に遺伝子導入されている。  
Scale bar = 2 mm

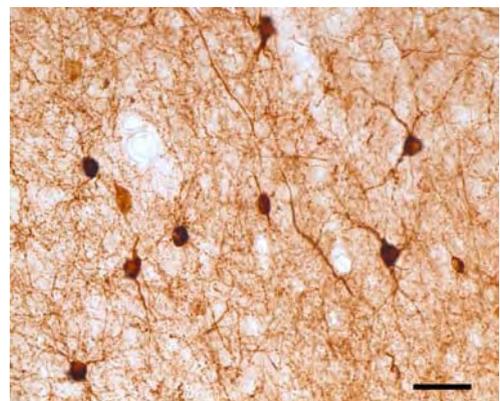
MPTP サルにおいて、各  $1.5 \times 10^{11}$  vg のベクターを被殻の 9 個所に注入した場合には、被殻の 92-94 % の領域に遺伝子導入された (図 5)。

図 5 : MPTP サル脳 (冠状断) の免疫染色

左図 : AAV-TH、AAV-AADC、AAV-GCH の 3 種類のベクターを注入 65 日後の抗 AADC 抗体による免疫染色。被殻の広範な領域に遺伝子導入されている (矢印)。選択的神経毒 MPTP により黒質からのドーパミン神経終末が脱落し、遺伝子非導入側の被殻および両側の尾状核では染色性が低下している。  
右図 : 遺伝子導入側の被殻では多数の TH 陽性細胞が認められる。



Scale bar = 5 mm



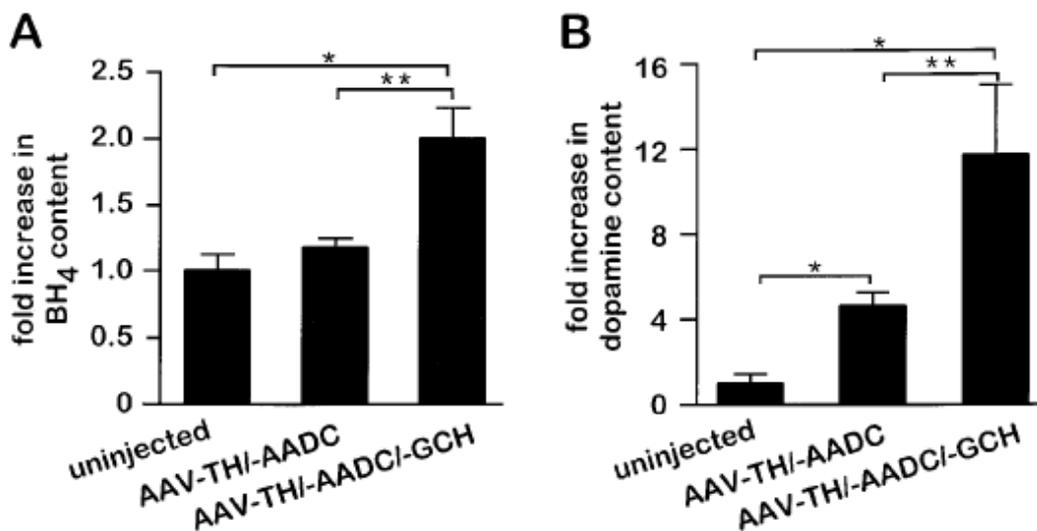
Scale bar = 50 mm

MPTP サルでは、positron emission tomography (PET) により遺伝子導入3ヶ月後にも被殻で $[b-^{11}C]$  L-dopa の取込みの増加が認められ、AADC 遺伝子の発現が持続していると考えられた<sup>59)</sup>。

### ③ 実験動物に導入された遺伝子の機能

6-OHDA モデルラットの傷害側線条体に総量  $1.5 \times 10^9$  vg の AAV-TH を注入し、6 週間後に線条体の L-dopa の含有量を測定すると非注入群に比べて有意に増加した。AAV-TH と AAV-AADC を同時に注入した場合には、ドパミンの代謝産物である 3, 4-dihydroxyphenylacetic acid (DOPAC) が増加した<sup>56)</sup>。さらに AAV-GCH も加えて AAV-TH、AAV-AADC、AAV-GCH の3種類のベクター (各  $1.5 \times 10^7$  vg) を注入すると、AAV-TH 単独注入の場合と比較して、線条体の BH<sub>4</sub> 含量は約2倍に増加し、ドパミン含量も約3倍に増加した (図6)。

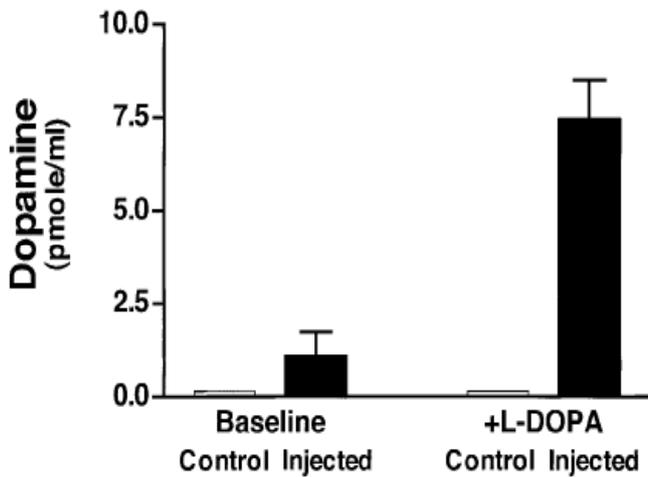
図6：モデルラット線条体における遺伝子導入後のBH<sub>4</sub>およびドパミン含量の増加



AAV-TH と AAV-AADC の2種類のベクターの投与によってアポモルフィン誘発の回転運動は抑制されたが、AAV-GCHを加えるとその効果は増加した。運動障害の改善効果は、ベクター注入後18ヶ月間の観察期間の間持続した。

MPTP サル (4頭) の片側の被殻に AAV-TH、AAV-AADC、AAV-GCH (各  $1.5 \times 10^{11}$  vg) を定位脳手術により注入すると、反対側の上下肢では動作が速くなり、筋強剛、振戦も消失した。ドパミン受容体作動薬であるアポモルフィンの筋肉注射によりベクター注入側を向いた体軸の回転傾向が出現し、同側 (ベクター注入側) の被殻でドパミンが産生されドパミン受容体の super-sensitivity が改善されたと考えられた。in vivo dialysis によって、同側の被殻でドパミンとその代謝物の増加が確認され、さらに L-dopa の全身投与によりドパミン生成の増加が認められた (図7)。

図7：MPTP サル線条体のドパミンの増加



遺伝子導入側 (injected) の被殻では、非導入側 (control) に比べてドパミンの量が多かった。さらに L-dopa を静注すると遺伝子導入側ではドパミンの産生量が増加した。

特に副作用は認められず、脳組織標本でも炎症反応や神経細胞の脱落などの異常を認めなかった。治療前の症状が最も重く臥床状態であった1頭のサルについては、治療後対側の上下肢の運動障害の改善とともに起立可能となり4年後にも症状の悪化は認めていない。

AAV-AADC のみを注入した MPTP サル 3 頭のうち PET 計測を行った 2 頭 (各  $5.4 \times 10^{10}$ 、 $7.2 \times 10^{10}$  vg 注入) では、遺伝子導入した被殻で  $[b-^{11}C]$ L-dopa の取込みの増加が認められ AADC 活性が回復していた (図 8)。

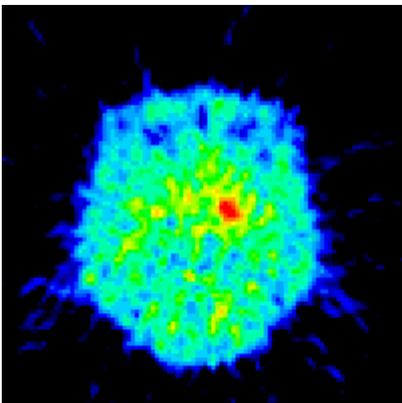


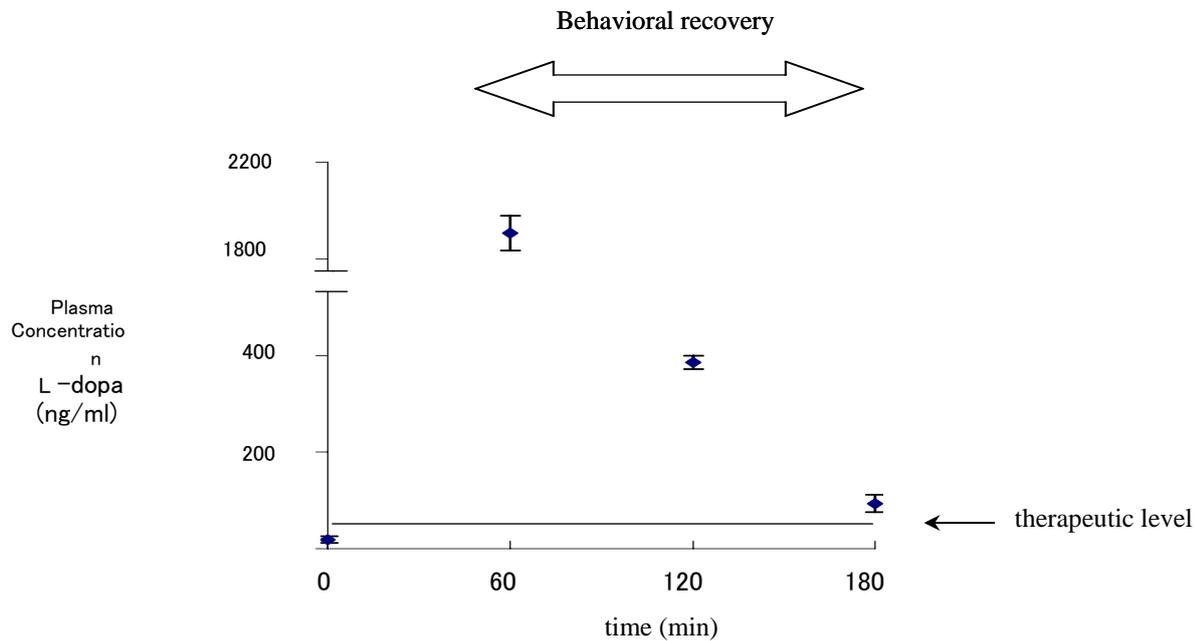
図8：MPTP サルの遺伝子治療後の PET 画像

左側の被殻に AAV-AADC  $5.4 \times 10^{10}$  vg を注入 12 週間後の  $[b-^{11}C]$ L-dopa PET 画像。

また、L-dopa 5 mg/kg を末梢性脱炭酸阻害剤の Benserazide 1.25 mg/kg とともに経口投与すると、注入反対側の上下肢では運動障害が改善し、その効果は L-dopa の血中濃度を反映して 3-4 時間持続した (図 9)。

長期観察中のサル ( $4.35 \times 10^{10}$  vg 注入) では、ベクター注入 1 年後にも L-dopa による症状の改善効果が認められている。

図 9 : L-dopa 投与後の血中濃度と運動障害の改善



#### ④ 実験動物の評価

選択的神経毒によるパーキンソン病モデル動物において、AAV ベクターによるドパミン合成系の酵素遺伝子 (TH、AADC、GCH) を線条体で発現させることにより運動障害の改善が得られた。動作緩慢・筋強剛・振戦などパーキンソン病患者と同様の運動障害を呈する MPTP サルにおいて、臨床研究と同様、AADC の遺伝子導入と L-dopa の経口投与により運動症状の改善が認められた。

### (3) 関連する研究の成果

パーキンソン病の遺伝子治療の第 2 の戦略として、ドパミン神経細胞の変性を抑制するために神経保護作用のある物質を脳内に持続的に供給する遺伝子治療がある。神経栄養因子の Glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF) は、微量でも培養ドパミン神経細胞に対して保護効果を示すことが知られている。GDNF を発現する AAV ベクター (AAV-GDNF) を作製し、ラットの初代培養系においてドパミン神経細胞へ感染させることにより、神経細胞の生存率が上がることを明らかにした<sup>60)</sup>。また、6-OHDA を線条体に注入してから 4 週間を経て既に黒質線条体路の変性が進行している状態のラットの線条体に AAV-GDNF を注入する実験では、黒質ドパミン細胞の変性脱落が抑制され運動障害の改善効果が得られることを示した<sup>61)</sup>。さらに、GDNF は培養運動ニューロンにも保護効果があることが知られているため、筋萎縮性側索硬化症のモデル動物である SOD1 トランスジェニックマウスを使用して、四肢の筋肉に AAV-GDNF を発現させることにより、脊髄の運動ニューロンの脱落を抑制し、延命効果が得られることを報告した<sup>62)</sup>。

## 4 その他必要な資料

### 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

#### (1) カリフォルニア大学サンフランシスコ校 (UCSF) で行われた動物実験の結果

- ① 6-OHDA モデルラットの実験では、総量  $4 \times 10^9$  particles の AAV-AADC または AAV-GFP を傷害側の線条体に注入した結果、AAV-AADC 群では、遺伝子導入前には反応のみられなかった低用量 (5 mg/kg) の L-dopa を腹腔内投与すると対側への回転運動を生じるようになった。この回転運動量は AAV-AADC 注入線条体における AADC の活性と相関し、AADC 活性は正常側線条体の 50 % にまで達した。遺伝子導入線条体における L-dopa (50 mg/kg) 腹腔内投与 2 時間後のドパミン産生量は、AAV-AADC 群 ( $4.34 \pm 0.78$  mols/fraction, n=6) では AAV-GFP 群 ( $1.69 \pm 0.53$  mols/fraction, n=6) より有意に高かった。なお、この実験では AADC 遺伝子が導入された領域は、線条体の 30 % 未満 ( $6.7 \pm 0.4$  mm<sup>3</sup>) である<sup>63)</sup>。
- ② アカゲサルに MPTP 2.5-3.5 mg を右側の内頸動脈に注入するとともに 0.3 mg/kg を 4 回静脈注射することによって作製した、右側の線条体に傷害の強いパーキンソン病モデルを使用した実験では、総量  $3.6 \times 10^{11}$  vg の AAV-AADC (2 頭) または  $1.5 \times 10^{11}$  particles の AAV-LacZ (2 頭) を、尾状核に 2 個所と被殻に 4 個所の合計 6 個所に注入した結果、遺伝子導入 7-8 週間後の FMT-PET で、AAV-AADC 注入側の被殻における FMT の取込みは顕著に増加しており、1 頭では、反対側を超える程度まで増加していた。AAV-AADC を注入した 2 頭の免疫染色で AADC 抗体に反応する細胞 (AADC-IR) の密度は、被殻において各  $7,709,000/\text{mm}^3$ 、 $5,925,000/\text{mm}^3$  で、大部分は典型的な medium spiny neuron の形態を示していた。AAV-AADC を注入したサルに L-dopa 250 mg/carbidopa 25 mg を投与して 30-45 分後に回収した被殻では、L-dopa が減少し HVA が増加しており、AADC 活性の回復により速やかに L-dopa が代謝されて HVA が生成したと推察された<sup>64)</sup>。
- ③ ②と同様に行ったアカゲサルの MPTP 片側モデルを使用した実験で、AADC-IR 細胞数を定量したところ、AAV-AADC 注入 8 週後と 3 年後に安楽殺した各 2 頭では、総数  $1,711,867 \pm 204,852$  および  $2,539,212 \pm 531,186$  であった。AAV 注入側の被殻における抗 NeuN 抗体 (神経細胞のマーカー) に反応する細胞 (NeuN-IR) 数は  $37,555,406 \pm 2,690,866$  であり、注入 8 週後と 3 年後で NeuN-IR 細胞のうちそれぞれ 4.6 % と 6.8 % に、AADC 遺伝子が導入されたことになる<sup>65)</sup>。
- ④ アカゲサル 7 頭を使用して、4 頭は右側の内頸動脈に 2.5-3.5 mg の MPTP を注入 (そのうち 1 頭は 0.3 mg/kg を静脈注射で追加) する方法により、3 頭は 2-3 mg の MPTP を 2-7 日の間隔で皮下注射する方法によってパーキンソン病のモデルを作製した。両側の線条体に総量  $1 \times 10^{12}$  vector genomes (このベクター溶液は 4 : 1 の割合で empty capsid を含むため、 $5 \times 10^{12}$  particles に相当する) の AAV-AADC を注入し、遺伝子導入の前後で線条体における FMT の取込みの変化を、小脳を reference として計測し、抗 AADC 抗体を使用した免疫染色の画像解析により推定した遺伝子導入領域の大きさ (全線条体に対する %) との相関を検討した。その結果、より傷害の強い右側では相関係数 0.78 を示した。このことから、FMT-PET は、*in vivo* で AADC の発現をモニターするのに有用である<sup>66)</sup>。
- ⑤ 今回の臨床研究で使用するものと同じ注入用のカニューレの安全性を検証するため、4 頭の正常アカゲサルの両側被殻の合計 4 個所の総量  $3 \times 10^{11}$  vg の AAV-hAADC-2 を注入した。その結果、遺伝子導入後の AAV に対する血中の中和抗体価の上昇は軽度で、5.5 週間後の脳組織では注入針のトラックに沿って軽微な限局した炎症反応を認めたのみであった。注入速度を  $0.2 \mu\text{L}/\text{min}$  から  $1 \mu\text{L}/\text{min}$  に漸増した場合と、 $1 \mu\text{L}/\text{min}$  の一定にした場合で遺伝子導入された容積には差がなかった<sup>67)</sup>。

- ⑥ 7年前にMPTPの慢性皮下注射により作製し、その後AAV-5ベクターによるNeurturinの遺伝子治療実験に使用した既往のあるモデルサル5頭において、総量 $1 \times 10^{12}$  vgのAAV-AADC(3頭)、またはAAV-NULを両側の線条体(各半球について、尾状核1個所、被殻2個所)に注入し、注入前3週間および注入後6ヶ月間で、L-dopaに対する反応を検討した。その結果、AAV-AADC導入群では、治療効果が得られるL-dopaの必要量は減少した。しかし、L-dopa誘発性不随意運動L-dopa induced dyskinesia(LID)がより低用量のL-dopaで生じるようになった。これらの3頭では、遺伝子導入された領域が狭くAADCの発現が線条体の小領域に局限していたためと考えられる<sup>68)</sup>。
- ⑦ ②と同様に作製したアカゲサルMPTP片側モデル12頭を使用した実験で、片側の被殻の2個所に、10頭では総量各6、18、55、170、 $500 \times 10^9$  vgのAAV-AADCを各2頭ずつ投与し、2頭では総量 $500 \times 10^9$  vgのAAV-GFPを投与した。FMT-PETの線条体/小脳の比は、正常では2.72(n=8)であり、MPTP投与後1.51に低下していた(n=12)。遺伝子導入4-6週間後には、 $170 \times 10^9$  vg以上のAAV-AADCを注入した5頭では2.0以上に回復したが、 $55 \times 10^9$  vg未満では殆ど改善は認められず、FMT-PETの変化には $55 \times 10^9$  vg付近に閾値があるものと推察された。同様にL-dopa投与後の運動障害の改善効果も $55 \times 10^9$  vg以上の投与群でのみ認められた。さらに、遺伝子導入6ヶ月後の線条体と淡蒼球におけるAADC活性は、 $55 \times 10^9$  vgまでは投与量に比例して増加が認められた<sup>69)</sup>。

## (2) 類似の遺伝子治療臨床研究の成果

パーキンソン病に対する遺伝子治療として、2種類の第I相臨床試験が米国で行われている。いずれもAAVベクターを使用している。

第1のプロトコールは、抑制性神経伝達物質である $\gamma$ -aminobutyric acid(GABA)の合成酵素であるglutamic acid decarboxylase(GAD-65およびGAD-67)の遺伝子を視床下核の細胞に導入して、視床下核の出力を興奮性から抑制性に変換することを目標とした遺伝子治療である<sup>22)</sup>。2003年8月18日にNeurologix社を実施主体として第1例がWeill Cornell大学で実施され、以来2005年6月までに12例に実施された。 $1 \times 10^{11}$ 、 $3 \times 10^{11}$ 、 $1 \times 10^{12}$  vector genomeの3種類の用量を各群4症例の片側の視床下核に注入した。結果は論文としては未発表であるが、Neurologixの発表によると安全性に問題がなかった。第I相試験ということで治療効果については言及していない。

第2のプロトコールは、UCSFで行われているAvigen社による本試験と同様のAAV-hAADC-2の被殻への注入とL-dopaの服用を組み合わせた方法の第I相試験である。2004年12月16日に第1例、2005年7月20日に第2例、2005年9月7日に第3例、2006年2月7日に第4例、2006年5月23日に第5例が行われた。いずれも総量 $9 \times 10^{10}$  vector genomeのAAV-hAADC2を両側の被殻に注入した。第1例の遺伝子導入6ヶ月後のFMT-PETでは、被殻でFMTの取込みの増加が認められ、導入したAADCが発現していることが示されている(今のところ、有効性・安全性についての正式な発表はまだない)。

第3のプロトコールは、神経栄養因子のNeurturin(CERE-120)遺伝子を両側の被殻に導入するもので、Creregene社によりUCSFで行われている。 $2 \times 10^{11}$ の低用量群と、 $8 \times 10^{11}$  vector genomeの高用量群の各群6例を予定している。2006年4月までに低用量群の6例に遺伝子導入が行われ、2-17ヶ月間の観察期間において副作用は認められていない。

## 文献

- 1) ミニシンポジウム：パーキンソン病をめぐって(2). 厚生科学研究補助金特定疾患対策事業「神経変性疾患に関する研究」班・2001年度研究報告書. pp. 35-46, 2002.
- 2) 水野美邦：パーキンソン病の基礎と臨床. 臨床神経 44: 741-750, 2004.
- 3) Ma S-Y, Royttat M, Collant Y, et al.: Unbiased morphometrical measurements show loss of pigmented neurons with ageing. *Neuropathol Appl Neurobiol* 25: 394-399, 1999.
- 4) McGeer P-L, McGeer E-G, and Suzuki J-S: Aging and extrapyramidal function. *Arch Neurol* 34: 33-35, 1977.
- 5) Pakkenberg B, Moller A, Gundersen H-J, et al.: The absolute number of nerve cells in substantia nigra in normal subjects and in patients with Parkinson's disease estimated with an unbiased stereological method. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 54: 30-33, 1991.
- 6) Otsuka M, Ichiya Y, Hosokawa S, et al.: Striatal blood flow, glucose metabolism and 18F-dopa uptake: difference in Parkinson's disease and atypical parkinsonism. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 54: 898-904, 1991.
- 7) Eckert T, Barnes A, Dhawan V, et al.: FDG PET in the differential diagnosis of parkinsonian disorders. *Neuroimage* 26: 912-921, 2005.
- 8) Polymeropoulos M-H, Lavedan C, Leroy E, et al.: Mutation in the alpha-synuclein gene identified in families with Parkinson's disease. *Science* 276: 2045-2047, 1997.
- 9) Kitada T, Asakawa S, Hattori N, et al.: Deletion mutation in a novel protein "Parkin" gene causes autosomal recessive juvenile parkinsonism (AR-JP). *Nature* 392: 605-608, 1998.
- 10) Langston J-W, Ballard P, Tetrud J-W, et al.: Chronic parkinsonism in humans due to a product of meperidine-analog synthesis. *Science* 219: 979-980, 1983.
- 11) Jenner P: Pathophysiology and biochemistry of dyskinesia: clues for the development of non-dopaminergic treatments. *J Neurol* 247 (Suppl 2: II): 43-50, 2000.
- 12) Schapira A-H, Cooper J-M, Dexter D, et al.: Mitochondrial complex I deficiency in Parkinson's disease. *Lancet* 1: 1269, 1989.
- 13) Mizuno Y, Suzuki K, and Ohta S: Postmortem changes in mitochondrial respiratory enzymes in brain and a preliminary observation in Parkinson's disease. *J Neurol Sci* 96: 49-57, 1990.
- 14) 日本神経学会治療ガイドライン—パーキンソン病治療ガイドライン  
(<http://www.neurology-jp.org/guideline/parkinson/index.html>)
- 15) Breit S, Schulz J-B, and Benabid A-L: Deep brain stimulation. *Cell Tissue Res* 318: 275-288, 2004.
- 16) Kennedy R, Mittal D, and O'Jile J: Electroconvulsive therapy in movement disorders: an update. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci* 15: 407-421, 2003.
- 17) Parkinson Study Group: Impact of deprenyl and tocopherol treatment on Parkinson's disease in DATATOP patients requiring levodopa. *Ann Neurol* 39: 37-45, 1996.
- 18) Rascol O, Brooks D-J, Brunt E-R, Korczyn A-D, Poewe W-H, Stocchi F: Ropinirole in the treatment of early Parkinson's disease: a 6-month interim report of a 5-year levodopa-controlled study. 056 Study Group. *Mov Disord* 13: 39-45, 1998.
- 19) Rascol O, Brooks D-J, Korczyn A-D, De Deyn P-P, Clarke CE, Lang A-E: A five-year study of the incidence of dyskinesia in patients with early Parkinson's disease who were treated with ropinirole or levodopa. 056 Study Group. *N Engl J Med* 342: 1484-1491, 2000

- 20) Volkmann J, Allert N, Voges J, et al.: Long-term results of bilateral pallidal stimulation in Parkinson's disease. *Ann Neurol* 55: 871-875, 2004.
- 21) Itakura T, Uematsu Y, Nakao N, Nakai E, Nakai K: Transplantation of autologous sympathetic ganglion into the brain with Parkinson's disease. Long-term follow-up of 35 cases. *Stereotact Funct Neurosurg.* 69: 112-115, 1997.
- 22) Freed C-R, Green P-E, Breeze R-E, et al.: Transplantation of embryonic dopamine neurons for severe Parkinson's disease. *The New Eng J Med* 344: 710-719, 2001.
- 23) Olanow C-W, Goetz C-G, Kordower J-F, et al.: A double-blind controlled trial of bilateral fetal Nigral transplantation in Parkinson's disease. *Ann Neurol* 54: 403-414, 2003.
- 24) Dunnett S-B, Bjorklund A, Lindvall O: Cell therapy in Parkinson's disease - stop or go? *Nat Rev Neurosci.* 2(5): 365-369, 2001.
- 25) Yoshida H, Date I, Shingo T, Fujiwara K, Kobayashi K, Miyoshi Y, Ohmoto T: Stereotactic transplantation of a dopamine-producing capsule into the striatum for treatment of Parkinson disease: a preclinical primate study. *J Neurosurg* 98(4): 874-881, 2003.
- 26) Dass B, Olanow W, Kordower J-H: Gene transfer of trophic factors and stem cell grafting as treatments for Parkinson's disease. *Neurology* 66 (Suppl 4): S89-S103, 2006.
- 27) During M-J, Kaplitt M-G, Stern M-B, Eidelberg D: Subthalamic GAD gene transfer in Parkinson disease patients who are candidates for deep brain stimulation. *Hum Gene Ther* 12:1589-91, 2001.
- 28) Sumi-Ichinose C, Ichinose H, Takahashi E, Hori T, Nagatsu T: Molecular cloning of genomic DNA and chromosomal assignment of the gene for human aromatic L-amino acid decarboxylase, the enzyme for catecholamine and serotonin biosynthesis. *Biochemistry* 31: 2229-2238, 1992.
- 29) Kay M-A, Manno C-S, Ragni M-V, Larson P-J, Couto L-B, McClelland A, Glader B, Chew A-J, Tai S-J, Herzog R-W, Arruda V, Johnson F, Scallan C, Skarsgard E, Flake A-W, High K-A: Evidence for gene transfer and expression of factor IX in haemophilia B patients treated with an AAV vector. *Nat Genet* 24: 257-261, 2000.
- 30) Manno C-S, Pierce G-F, Arruda V-R, et al.: Successful transduction of liver in hemophilia by AAV-Factor IX and limitations imposed by the host immune response. *Nat Med* 12: 342-347, 2006.
- 31) Matsushita T, Elliger S, Elliger C, Podsakoff G, Villarreal L, Kurtzman G-J, Iwaki Y, Colosi P: Adeno-associated virus vectors can be efficiently produced without helper virus. *Gene Ther* 5: 938-945, 1998.
- 32) Natsoulis G, Kurtzman G-J, Colosi P: High-efficiency AAV helper functions. USA patent 6,365,403, November 29, 1999, 2002.
- 33) Kearns W-G, Afione S-A, Fulmer S-B, Pang M-C, Erikson D, Egan M, Landrum M-J, Flotte T-R, Cutting G-R: Recombinant adeno-associated virus (AAV-CFTR) vectors do not integrate in a site-specific fashion in an immortalized epithelial cell line. *Gene Ther* 3: 748-755, 1996.
- 34) Nakai H, Montini E, Fuess S, Storm T-A, Grompe M, Kay M-A: AAV serotype 2 vectors preferentially integrate into active genes in mice. *Nat Genet* 34: 297-302, 2003.
- 35) Flotte T-R, Afione S-A, Solow R, Drumm M-L, Markakis D, Guggino W-B, Zeitlin P-L, Carter B-J: Expression of the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator from a novel adeno-associated virus promoter. *J Biol Chem* 268: 3781-3790, 1993.
- 36) Russell D-W, Kay M-A: Adeno-associated virus vectors and hematology. *Blood* 94: 864-874, 1999.

- 37) Couto L, Parker A, Gordon J-W: Direct exposure of mouse spermatozoa to very high concentrations of a serotype-2 adeno-associated virus gene therapy vector fails to lead to germ cell transduction. *Hum Gene Ther* 15: 287-291, 2004.
- 38) Raper SE, et al.: Fatal systemic inflammatory response syndrome in a ornithine transcarbamylase deficient patient following adenoviral gene transfer. *Mol Genet Metab* 80: 148, 2003.
- 39) Raper SE, et al.: A pilot study of in vitro liver-directed gene transfer with an adenoviral vector in partial ornithine transcarbamylase deficiency. *Hum Gene Ther* 13: 163, 2002.
- 40) Schnell M-A, et al.: Activation of innate immunity in nonhuman primates following intraportal administration of adenoviral vectors. *Mol Ther* 3: 708, 2001.
- 41) Zhang Y, et al.: Acute cytokine response to systemic adenoviral vectors in mice is mediated by dendritic cells and macrophages. *Mol Ther* 3: 697, 2001.
- 42) Hacein-Bey-Abina S, et al.: LMO2-associated clonal T cell proliferation in two patients after gene therapy for SCID-X1. *Science* 302: 415, 2003.
- 43) Check E: Gene therapy put on hold as third child develops cancer. *Nature* 433: 561, 2005.
- 44) Williams D-A, Baum C: Gene therapy -new challenges ahead. *Science* 302: 400, 2003.
- 45) Nunes F-A, et al.: Gene transfer into the liver of nonhuman primates with E1-deleted recombinant adenoviral vectors: safety of readministration. *Hum Gene Ther* 10: 2515, 1999.
- 46) OBA (Office of Biotechnology Activities, NIH, USA) のホームページ  
(<http://www4.od.nih.gov/oba/>)
- 47) McPhee S-W-J, Janson C-G, Li C, et al.: Immune responses to AAV in a phase I study for Canavan disease. *J Gene Med* 8: 577-588, 2006.
- 48) Aitken M-L, Moss R-B, Walts D-A, et al.: A phase I study of aerosolized administration of tgAAVCF to cystic fibrosis subjects with mild lung disease. *Hum Gene Ther* 12: 1907-1916, 2001.
- 49) Wagner J-A, Nepomuceno I-B, Messner A-N, et al.: A phase II, double-blind, randomized, placebo-controlled clinical trial of tgAAVCF using maxillary sinus delivery in patients with cystic fibrosis with antrostomies. *Hum Gene Ther* 13: 1349-1359, 2002.
- 50) Flotte T-R, Zeitlin P-L, Reynolds T-C, et al.: Phase I trial of intranasal and endobronchial administration of a recombinant adeno-associated virus serotype 2 (rAAV2)-CFTR vector in adult cystic fibrosis patients: a two-part clinical study. *Hum Gene Ther* 14: 1079-1088, 2003.
- 51) Moss R-B, Rodman D, Spencer L-T, et al.: Repeated adeno-associated virus serotype 2 aerosol-mediated cystic fibrosis transmembrane regulator gene transfer to the lungs of patients with cystic fibrosis. *Chest* 125: 509-521, 2004.
- 52) Kay M-A, Manno C-S, Ragni M-V, et al.: Evidence for gene transfer and expression of factor IX in haemophilia B patients treated with an AAV vector. *Nat Genet* 24: 257-261, 2000.
- 53) Manno C-S, Chew A-J, Hutchison S, et al.: AAV-mediated factor IX gene transfer to skeletal muscle in patients with severe hemophilia B. *Blood* 101: 2963-2972, 2003.
- 54) 寺尾 亨、沖山亮一、高橋 宏、横地房子、谷口 真、浜田生馬、長谷川有美：不随運動に対する定位的温熱凝固術、脳深部電極留置術の合併症についての比較、検討。 *脳神経外科* 31: 629-636, 2003.
- 55) Anderson W-S, Lenz F-A: Surgery insight: deep brain stimulation for movement disorders. *Nature Clinical Practice Neurology* 2: 310-320, 2006.

- 56) Fan D-S, Ogawa M, Fujimoto K, Ikeguchi K, Ogasawara Y, Urabe M, Nishizawa M, Nakano I, Yoshida M, Nagatsu I, Ichinose I, Nagatsu T, Kurtzman G-J, Ozawa K: Behavioral recovery in 6-hydroxydopamine-lesioned rats by cotransduction of striatum with tyrosine hydroxylase and aromatic L-amino acid Decarboxylase genes using two separate adeno-associated virus vectors. *Hum Gene Ther* 9: 2527-2535, 1998.
- 57) Shen Y, Muramatsu S, Ikeguchi K, Fujimoto K, Fan D-S, Ogawa M, Mizukami H, Urabe M, Kume A, Nagatsu I, Urano F, Suzuki T, Ichinose H, Nagatsu T, Monahan J, Nakano I, Ozawa K: Triple transduction with adeno-associated virus vectors expressing tyrosine hydroxylase I for gene therapy of Parkinson's disease. *Hum Gene Ther* 11: 1509-1519, 2000.
- 58) Muramatsu S, Fujimoto K, Ikeguchi K, Shizuma N, Kawasaki K, Ono F, Shen Y, Wang L-J, Mizukami H, Kume A, Matsumura M, Nagatsu I, Urano F, Ichinose H, Nagatsu T, Terao K, Nakano I, Ozawa K: Behavioral recovery in a primate model of Parkinson's disease by triple transduction of striatal cells with adeno-associated viral vectors expressing dopamine-synthetase in Avigens. *Hum Gene Ther* 13: 345-354, 2002.
- 59) Muramatsu S, Ono F, Nara Y, Kodera M, Takino N, Kawasaki K, Ikeguchi K, Fujimoto K, Terao K, Tsukada H, Ozawa K, Nakano I: AAV vector-mediated gene delivery of aromatic L-amino acid decarboxylase restored L-dopa efficacy in a primate model of Parkinson's disease. 2004 Society for Neuroscience, Washington, DC, Oct. 23, 2004.
- 60) Fan D-S, Ogawa M, Ikeguchi K, Fujimoto K, Urabe M, Kume A, Nishizawa M, Matsushita N, Kiuchi K, Ichinose H, Nagatsu T, Kurtzman G-J, Nakano I, Ozawa K: Prevention of dopaminergic neuron death by adeno-associated virus vector-mediated GDNF gene transfer in rat mesencephalic cells in vitro. *Neuroscience Letters* 248: 61-64, 1998.
- 61) Wang L-J, Muramatsu S, Lu Y-Y, Ikeguchi K, Fujimoto K, Okada K, Mizukami H, Hanazono Y, Kume A, Urano F, Ichinose H, Nagatsu T, Nakano I, Ozawa K: Delayed delivery of AAV-GDNF prevents nigral neurodegeneration and promotes functional recovery in a rat model of Parkinson's disease. *Gene Ther* 9(6): 381-389, 2002.
- 62) Wang L-J, Lu Y-Y, Muramatsu S, Ikeguchi K, Fujimoto K, Okada T, Mizukami H, Matsushita T, Hanazono Y, Kume A, Nagatsu T, Ozawa K, Nakano I: Neuroprotective effects of glial cell line-derived neurotrophic factor mediated by an adeno-associated virus vector in a transgenic animal model of amyotrophic lateral sclerosis. *J Neurosci* 22: 6920-6928, 2002.
- 63) Sanchez-Pernaute R, Harvey-White J, Cunningham J, Bankiewicz K-S: Functional effect of adeno-associated virus mediated gene transfer of aromatic L-amino acid decarboxylase into the striatum of 6-OHDA-lesioned rats. *Mol Ther* 4(4): 324-330, 2001.
- 64) Bankiewicz K-S, Eberling J-L, Kohutnicka M, Jagust W, Pivrotto P, Bringas J, Cunningham J, Budinger T-F, Harvey-White J: Convection-enhanced delivery of AAV vector in parkinsonian monkeys; in vivo detection of gene expression and restoration of dopaminergic function using pro-drug approach. *Exp Neurol* 164(1): 2-14, 2000.
- 65) Daadi M-M, Pivrotto P, Bringas J, Cunningham J, Forsayeth J, Eberling J, Bankiewicz K-S: Distribution of AAV2-hAADC-transduced cells after 3 years in Parkinsonian monkeys. *Neuroreport* 17(2): 201-204, 2006. Erratum in: *Neuroreport* 17(4): 453, 2006.

- 66) Eberling J-L, Cunningham J, Pivrotto P, Bringas J, Daadi M-M, Bankiewicz K-S: In vivo PET imaging of gene expression in Parkinsonian monkeys. *Mol Ther* 8(6): 873-875, 2003.
- 67) Sanftner L-M, Sommer J-M, Suzuki B-M, Smith P-H, Vijay S, Vargas J-A, Forsayeth J-R, Cunningham J, Bankiewicz K-S, Kao H, Bernal J, Pierce G-F, Johnson K-W: AAV2-mediated gene delivery to monkey putamen: evaluation of an infusion device and delivery parameters. *Exp Neurol* 194(2): 476-483, 2005.
- 68) Bankiewicz K-S, Daadi M, Pivrotto P, Bringas J, Sanftner L, Cunningham J, Forsayeth J-R, Eberling J-L: Focal striatal dopamine may potentiate dyskinesias in parkinsonian monkeys. *Exp Neurol* 197(2): 363-372, 2006.
- 69) Forsayeth J-R, Eberling J-L, Sanftner L-M, Zhen Z, Pivrotto P, Bringas J, Cunningham J, Bankiewicz K-S: A dose-ranging study of AAV-hAADC therapy in Parkinsonian monkeys. *Mol Ther* 2006 June 15: Epub ahead of print.

別表\*

## Modified Hoehn & Yahr 重症度

0 =No signs of disease	0 =パキンソンズ病なし
1 =Unilateral disease	1 =一側性パキンソンズ病
1.5=Unilateral plus axial involvement	1.5=一側性パキンソンズ病+体幹障害(neck rigidity など)。
2 =Bilateral disease, without impairment of balance	2 =両側性パキンソンズ病だが平衡障害なし。
2.5=Mild bilateral disease, with recovery on pull test	2.5=軽度両側性パキンソンズ病+後方突進があるが自分で立ち直れる。
3 =Mild to moderate bilateral disease; some postural instability: physically independent	3 =軽～中等度パキンソンズ病+平衡障害, 肉体的には介助不要。
4 =Severe disability; still able to walk or stand unassisted	4 =高度のパキンソンズ病, 歩行は介助なしでどうにか可能。
5 =Wheelchair bound or bedridden unless aided	5 =介助なしでは, 車椅子またはベッドに寝たきり(介助でも歩行は困難)。

別表\*

UPDRS Part I · II · III · IV

Part I. MENTATION, BEHAVIOR AND MOOD 精神機能、行動及び気分

(問診により評価する。なお、L-DOPA 製剤併用例については、on 時または off 時に関係なく評価する)

<p>1. <i>Intellectual impairment:</i> 知的機能障害:</p>	<p>0 = None. 1 = Mild. Consistent forgetfulness with partial recollection of events and no other difficulties. 2 = Moderate memory loss, with disorientation and moderate difficulty handling complex problems. Mild but definite impairment of function at home with need of occasional prompting. 3 = Severe memory loss with disorientation for time and often to place. Severe impairment in handling problems. 4 = Severe memory loss with orientation preserved to person only. Unable to make judgments or solve problems. Requires much help with personal care. Cannot be left alone at all.</p>	<p>0 = なし。 1 = 軽度障害、健忘が一貫して見られるが、部分的に思い出すことが可能。他の障害なし。 2 = 中等度の記憶障害、見当識障害もあり、複雑な問題への対処に中等度の障害、家庭内でも時に、介助を要する。 3 = 重篤な記憶障害、時間と場所に対する見当識障害、問題への対処に重篤な障害。 4 = 重篤な記憶障害、見当識は人に対してのみ残存、身の回りのことにもかなりの介助が必要、自力での家庭生活は困難。</p>
<p>2. <i>Thought disorder:</i> (Due to dementia or drug intoxication) 思考障害: (痴呆または薬物の副作用による)</p>	<p>0 = None. 1 = Vivid dreaming. 2 = "Benign" hallucinations with insight retained. 3 = Occasional to frequent hallucinations or delusions: without insight; could interfere with daily activities. 4 = Persistent hallucinations, delusions, or florid psychosis. Not able to care for self.</p>	<p>0 = なし。 1 = 鮮明な夢をみる程度。 2 = 良性の幻覚、病識は保たれている。 3 = 時々ないししばしば幻覚または妄想があり、病識がなく日常生活に支障をきたすことがある。 4 = 持続的な幻覚・妄想状態、または増悪期精神症、自力での社会生活は不可能。</p>
<p>3. <i>Depression:</i> 抑うつ状態:</p>	<p>0 = Not present. 1 = Periods of sadness or guilt greater than normal, never sustained for days or weeks. 2 = Sustained depression (1 week or more). 3 = Sustained depression with vegetative symptoms (insomnia, anorexia, weight loss, loss of interest). 4 = Sustained depression with vegetative symptoms and suicidal thoughts or intent.</p>	<p>0 = なし。 1 = 時に悲壮感や罪悪感に悩まされる。しかし、数週以上続くことはない。 2 = 1週間以上継続する抑うつ状態。 3 = 不眠、食欲低下、体重減少、興味の消失などを伴う持続的な抑うつ状態 4 = 上記の状態に更に自殺念慮または自殺企図が加わる。</p>
<p>4. <i>Motivation / Initiative:</i> 意欲、自発性:</p>	<p>0 = Normal. 1 = Less assertive than usual; more passive. 2 = Loss of initiative or disinterest in elective (nonroutine) activities. 3 = Loss of initiative or disinterest in day-to-day (routine) activities. 4 = Withdrawn, complete loss of motivation.</p>	<p>0 = 正常。 1 = 通常より消極的、受動的。 2 = 急を要しない活動に関する意欲、興味の低下。 3 = 日常生活動作に関しても意欲、興味の低下。 4 = 意欲、自発性の完全な消失、逃避的。</p>

Part II. ACTIVITIES OF DAILY LIVING 日常生活動作

(問診により評価する。なお、L-DOPA 製剤併用例については、on 時および off 時に分けて評価する。)

5. <i>Speech:</i>  会 話 :	0 = Normal. 1 = Mildly affected. No difficulty being understood. 2 = Moderately affected. Sometimes asked to repeat statements. 3 = Severely affected. Frequently asked to repeat statements. 4 = Unintelligible most of the time.	0 = 正 常。 1 = 軽度の障害だが完全に理解できる。 2 = 中等度の障害。時々聞き返す必要がある。 3 = 高度の障害。頻繁に聞き返す必要がある。 4 = ほとんど聞き取り不可能。
6. <i>Salivation:</i>  流 涎 :	0 = Normal. 1 = Slight but definite excess of saliva in mouth; may have nighttime drooling. 2 = Moderately excessive saliva; may have minimal drooling. 3 = Marked excess of saliva with some drooling. 4 = Marked drooling, requires constant tissue or handkerchief.	0 = 正 常。 1 = 口中の唾液軽度増加, 睡眠中流涎を見ることあり。 2 = 中等度の口中唾液増加, しかし, 流涎はごくわずか。 3 = 高度の口中唾液増加, 時に流涎。 4 = 高度の口中唾液増加, 流涎のためティッシュまたはハンカチが常に必要。
7. <i>Swallowing:</i>  嚥 下 :	0 = Normal. 1 = Rare choking. 2 = Occasional choking. 3 = Requires soft food. 4 = Requires NG tube or gastrostomy feeding.	0 = 正 常。 1 = 稀にむせることあり。 2 = 時々むせる。 3 = 柔らかい食事にしないとむせる。 4 = チューブ栄養が必要
8. <i>Handwriting:</i>  書 字 :	0 = Normal. 1 = Slightly slow or small. 2 = Moderately slow or small: all words are legible. 3 = Severely affected: not all words are legible. 4 = The majority of words are not legible.	0 = 正 常。 1 = 多少のろいか多少字が小さい。 2 = 中等度にのろいか中等度に字が小さい。 3 = 高度の障害, 読めない字がある。 4 = ほとんど読めない。
9. <i>Cutting food and handling utensils:</i>  食事と食器の扱い :	0 = Normal. 1 = Somewhat slow and clumsy, but no help needed. 2 = Can cut most foods, although clumsy and slow some help needed. 3 = Food must be cut by someone, but can still feed slowly. 4 = Needs to be fed.	0 = 正 常。 1 = 少しのろきこちないが全て一人でできる。 2 = 大部分の食事は, 箸またはナイフとフォークで食べられる。時に介助を要する程度。 3 = 硬いもの, 大きいものは切ってもら必要がある。その他はのろいが自分で食べられる。 4 = 介助で食べさせてもらう必要がある。

10. Dressing: 着衣:	0 = Normal. 1 = Somewhat slow, but no help needed. 2 = Occasional assistance with buttoning, getting arms in sleeves. 3 = Considerable help required, but can do some things alone. 4 = Helpless.	0 = 正常 1 = やや遅いが全て自分でできる。 2 = ボタンを止める, 袖の所に手を持っていくなどで時に助けが必要。 3 = 自分でできる部分もあるが, かなり介助が必要。 4 = 自分では, なにもできない。
11. Hygiene: 入浴・トイレ:	0 = Normal. 1 = Somewhat slow, but no help needed. 2 = Needs help to shower or bathe. or very slow in hygienic care. 3 = Requires assistance for washing, brushing teeth, combing hair, going to bathroom. 4 = Foley catheter or other mechanical aids.	0 = 正常。 1 = やや遅いが全て自力でできる。 2 = 入浴には一部介助が必要, あるいは洗顔・トイレは極めてのろい。 3 = 洗顔, 歯磨き, 整髪, トイレに介助が必要 4 = 膀胱カテーテルが必要な状態。
12. Turning in bed and adjusting bedclothes: 寝返りおよびふとん直し:	0 = Normal. 1 = Somewhat slow and clumsy, but no help needed. 2 = Can turn alone or adjust sheets, but with great difficulty. 3 = Can initiate, but not turn or adjust sheets alone. 4 = Helpless.	0 = 正常。 1 = 少しのろいが自分でできる。 2 = 寝返りやふとんを直すのは一人でどうか可能だが努力を要する。 3 = 寝返りやふとん直しをしようとするが一人ではできない。 4 = 自分では全くできない。
13. Falling (unrelated to freezing): 転倒(すくみによらない):	0 = None. 1 = Rare falling. 2 = Occasionally falls, less than once per day. 3 = Falls an average of once daily. 4 = Falls more than once daily	0 = なし。 1 = 稀にある。 2 = 時々あるが1日1回以内。 3 = 平均して1日に一度は転ぶ。 4 = 1日に1回以上転ぶ。
14. Freezing when walking: 歩行中のすくみ:	0 = None. 1 = Rare freezing when walking: may have start-hesitation. 2 = Occasional freezing when walking. 3 = Frequent freezing. Occasionally falls from freezing. 4 = Frequent falls from freezing.	0 = なし。 1 = 稀にあり, start hesitation を起こすことあり。 2 = 歩行中時々すくむ。 3 = しばしば, すくみ足を生じ, そのために時々転倒する。 4 = すくみ足のためしばしば転倒する。
15. Walking: 歩行:	0 = Normal. 1 = Mild difficulty. May not swing arms or may tend to drag leg. 2 = Moderate difficulty, but requires little or no assistance. 3 = Severe disturbance of walking, requiring assistance. 4 = Cannot walk at all, even with assistance	0 = 正常。 1 = 軽度の障害, 手をふらないか足を引きずることがある。 2 = 中等度の障害があるが, 介助は不要。 3 = 高度の障害があり, 介助が必要。 4 = 介助があっても歩行は不能。
16. Tremor: ふるえ:	0 = Absent. 1 = Slight and infrequently present. 2 = Moderate; bothersome to patient. 3 = Severe; interferes with many activities. 4 = Marked; interferes with most activities.	0 = なし。 1 = 軽度: 時に見られる程度。 2 = 中等度: 気になる程度のふるえ。 3 = 高度: かなりの日常生活動作の障害となる。 4 = 極めて高度: 大部分の日
17. Sensory complaints related to parkinsonism: パーキンソン病に関連し	0 = None. 1 = Occasionally has numbness, tingling, or mild aching. 2 = Frequently has numbness, tingling, or aching; not distressing. 3 = Frequent painful sensations. 4 = Excruciating pain.	0 = なし。 1 = 時にしびれ感, ビリビリ感, 軽い鈍痛を感じる。 2 = しばしば, しびれ感, ビリビリ感, 鈍痛を感じるが, 気に障るほどではない。 3 = しばしば, 痛みを感じる。 4 = 耐え難い痛みを感じる。

た感覚症状：		
--------	--	--

Part III. MOTOR EXAMINATION 運動能力検査

(検査により評価する。なお、L-DOPA 製剤併用例については、on 時に検査し評価する。)

<p>18. <i>Speech:</i></p> <p>言語:</p>	<p>0 = Normal. 1 = Slight loss of expression, diction, and / or volume. 2 = Monotone, slurred but understandable; moderately impaired. 3 = Marked impairment, difficult to understand. 4 = Unintelligible.</p>	<p>0 = 正 常。 1 = 表現, 用語, 声量の軽度の減少がある。 2 = 単調で不明瞭な発音, しかし, 理解可能。 3 = 高度の構音障害, 理解するのはかなり困難。 4 = 理解不能。</p>
<p>19. <i>Facial expression:</i></p> <p>顔の表情:</p>	<p>0 = Normal. 1 = Minimal hypomimia, could be normal "Poker Face". 2 = Slight but definitely abnormal diminution of facial expression. 3 = Moderate hypomimia; lips parted some of the time. 4 = Masked or fixed facies with severe or complete loss of facial expression; lips parted 1/4 inch or more.</p>	<p>0 = 正 常。 1 = わずかの表情の乏しさ, ポーカーフェイス。 2 = 軽度であるがはっきりした表情の乏しさ。 3 = 中等度の表情の乏しさ, 口を閉じていない時がある。 4 = 著明な表情の乏しさ, ほとんど表情が無く, 口は 1/4inch(0.6cm)以上開いている。</p>
<p>20. <i>Tremor at rest (Face Left Hand Rihgt Hand Left Hand Rihgt Foot)</i></p> <p>安静時振戦(顔面, 左手, 右手, 左足, 右足):</p>	<p>0 = Absent. 1 = Slight and infrequently present. 2 = Mild in amplitude and persistent. Or moderate in amplitude, but only intermittently present. 3 = Moderate in amplitude and present most of the time. 4 = Marked in amplitude and present most of the time.</p>	<p>0 = な し。 1 = ごくわずかでたまに出現する程度。 2 = 軽度の振幅の振戦で持続的に出現しているか中等度の振幅で間欠的に出現する。 3 = 中等度の振幅で, 大部分の時間出現している。 4 = 大きな振幅の振戦が, 大部分の時間出現している。</p>
<p>21. <i>Action or postural tremor of hands(Left,Right):</i></p> <p>手の動作時振戦または姿勢振戦(左, 右):</p>	<p>0 = Absent. 1 = Slight; present with action. 2 = Moderate in amplitude, present with action. 3 = Moderate in amplitude with posture holding as well as action. 4 = Marked in amplitude; interferes with feeding.</p>	<p>0 = な し。 1 = 動作時に出現する軽度の振戦。 2 = 動作時に出現する中等度振幅の振戦。 3 = 動作時および姿勢保持で出現する中等度振幅の振戦。 4 = 高度の振幅で, 食事動作が障害される振戦。</p>
<p>22. <i>Rigidity(Neck, Left Upper Extremitities, Rihgt Upper Extremitities, Left Lower Extremitities, Rihgt Lower Extremitities):</i></p> <p>(Judged on passive movement of major joints with patient relaxed in sitting position. Cogwheeling to be ignored.)</p> <p>固縮(頸部, 左上肢, 右上肢, 左下肢, 右下肢): (安静坐位で検査, 歯車現象の有無は無視)</p>	<p>0 = Absent. 1 = Slight or detectable only when activated by mirror or other movements. 2 = Mild to moderate. 3 = Marked, but full range of motion easily achieved. 4 = Severe, range of motion achieved with difficulty.</p>	<p>0 = な し。 1 = 軽微な固縮, または他の部位の随意運動で誘発される固縮。 2 = 軽~中等度の固縮。 3 = 高度の固縮。しかし関節可動域は正常。 4 = 著明な固縮。正常可動域を動かすには, 困難を伴う。</p>

<p>23. <i>Finger Taps(Left Right):</i></p> <p><i>(Patient taps thumb with index finger in rapid succession with widest amplitude possible, each hand separately.)</i></p> <p>指タップ(左, 右): (母指と示指をできるだけ大きな振幅です早くタッピングを行う, 左右別々に検査する)</p>	<p>0 = Normal.</p> <p>1 = Mild slowing and / or reduction in amplitude.</p> <p>2 = Moderately impaired. Definite and early fatiguing. May have occasional arrests in movement.</p> <p>3 = Severely impaired. Frequent hesitation in initiating movements or arrests in ongoing movement.</p> <p>4 = Can barely perform the task.</p>	<p>0 = 正常。</p> <p>1 = やや遅いか, 振幅がやや小さい。</p> <p>2 = 中等度の障害。明らかにまた早期に疲労を示す。動きが止まってしまうこともある。</p> <p>3 = 高度の障害。運動開始時に, hesitation をしばしば起こすか, 動きが止まることもある。</p> <p>4 = 殆どタッピングの動作にならない。</p>
<p>24. <i>Hand movements</i></p> <p><i>(Left,Right):</i></p> <p><i>(Patient opens and closes hands in rapid succession with widest amplitude possible, each hand separately.)</i></p> <p>手の運動(左, 右): (できるだけ大きくかつす早く手の開閉運動を繰り返す。片手ずつおこなう。)</p>	<p>0 = Normal.</p> <p>1 = Mild slowing and / or reduction in amplitude.</p> <p>2 = Moderately impaired. Definite and early fatiguing. May have occasional arrests in movement.</p> <p>3 = Severely impaired. Frequent hesitation in initiating movements or arrests in ongoing movement.</p> <p>4 = Can barely perform the task.</p>	<p>0 = 正常。</p> <p>1 = 少し遅くなるか, 振幅がやや小さくなる。</p> <p>2 = 中等度の障害。すぐ疲れてしまう。運動が止まってしまうことが時にある。</p> <p>3 = 高度の障害。運動開始時, しばしば hesitation を起こすか, 運動が途中で止まってしまうことがしばしばある。</p> <p>4 = 殆ど指の開閉運動ができない。</p>
<p>25. <i>Rapid alternating movements of hands</i></p> <p><i>(Left,Right):(Pronation-supination movements of hands, vertically or horizontally, with as large an amplitude as possible, both hands simultaneously.)</i></p> <p>手の回内回外運動(左, 右): (空中にてできるだけ早く両側同時に行う。)</p>	<p>0 = Normal.</p> <p>1 = Mild slowing and / or reduction in amplitude.</p> <p>2 = Moderately impaired. Definite and early fatiguing. May have occasional arrests in movement.</p> <p>3 = Severely impaired. Frequent hesitation in initiating movements or arrests in ongoing movement.</p> <p>4 = Can barely perform the task.</p>	<p>0 = 正常。</p> <p>1 = 軽度に緩慢か振幅がやや小さい。</p> <p>2 = 中等度の障害。早期に疲労する。時に運動が中断することもある。</p> <p>3 = 高度の障害。しばしば運動の開始に hesitation があるか運動の停止がある。</p> <p>4 = 殆ど所定の運動ができない。</p>
<p>26. <i>Leg agility</i></p> <p><i>(Left,Right):(Patient taps heel on ground in rapid succession, picking up entire leg. Amplitude should be about 3 inches.)</i></p> <p>下肢の敏捷性(左, 右): (下肢全体を上げて踵で床をタップする。踵は7.5cm以上上げる。)</p>	<p>0 = Normal.</p> <p>1 = Mild slowing and / or reduction in amplitude.</p> <p>2 = Moderately impaired. Definite and early fatiguing. May have occasional arrests in movement.</p> <p>3 = Severely impaired. Frequent hesitation in initiating movements or arrests in ongoing movement.</p> <p>4 = Can barely perform the task.</p>	<p>0 = 正常。</p> <p>1 = 軽度に緩慢か振幅がやや小さい。</p> <p>2 = 中等度の障害。早期に疲労する。時に運動が中断することもある。</p> <p>3 = 高度の障害。しばしば運動の開始に hesitation があるか運動の停止がある。</p> <p>4 = 殆ど所定の運動ができない。</p>

<p>27. Arising from chair: (Patient attempts to arise from a straight-back wood or metal chair with arms folded across chest.)</p> <p>椅子からの立ち上がり：(診察用の椅子から腕を組んだまま立ち上がる。)</p>	<p>0 = Normal. 1 = Slow; or may need more than one attempt. 2 = Pushes self up from arms of seat. 3 = Tends to fall back and may have to try more than one time, but can get up without help. 4 = Unable to arise without help</p>	<p>0 = 正常。 1 = 可能だがおそい。一度でうまく行かないこともある。 2 = 肘掛けに腕をついて立ち上がる必要がある。 3 = 立ち上がろうとしても椅子に倒れ込むことがある。しかし、最後には一人で立ち上がる。 4 = 立ち上がるには、介助が必要。</p>
<p>28. Posture:</p> <p>姿勢：</p>	<p>0 = Normal erect. 1 = Not quite erect, slightly stooped posture; could be normal for older person. 2 = Moderately stooped posture, definitely abnormal; can be slightly leaning to one side. 3 = Severely stooped posture with kyphosis; can be moderately leaning to one side. 4 = Marked flexion with extreme abnormality of posture.</p>	<p>0 = 正常。 1 = 軽度の前屈姿勢(高齢者では正常としてもおかしくない程度の前屈)。 2 = 中等度の前屈姿勢。一側にやや傾くこともある。 3 = 高度の前屈姿勢、脊椎後弯を伴う。一側へ中等度に傾くこともある。 4 = 高度の前屈、究極の異常前屈姿勢。</p>
<p>29. Gait:</p> <p>歩行：</p>	<p>0 = Normal. 1 = Walks slowly, may shuffle with short steps, but no festination or propulsion. 2 = Walks with difficulty, but requires little or no assistance; may have some festination, short steps, or propulsion. 3 = Severe disturbance of gait, requiring assistance. 4 = Cannot walk at all, even with</p>	<p>0 = 正常。 1 = 歩行は緩慢、小刻みでひきずることもあり、しかし、加速歩行や前方突進はない。 2 = 困難を伴うが、一人で歩ける。加速歩行、小刻み歩行、前方突進がみられることもある。 3 = 高度の歩行障害、介助を要する。 4 = 介助があっても歩けない。</p>
<p>30. Postural stability (Response to sudden posterior displacement produced by pull on shoulders while patient erect with eyes open and feet slightly apart. Patient is prepared.)</p> <p>姿勢の安定性：(後方突進現象)</p>	<p>0 = Normal. 1 = Retropulsion, but recovers unaided. 2 = Absence of postural response; would fall if not caught by examiner. 3 = Very unstable, tends to lose balance spontaneously. 4 = Unable to stand without assistance.</p>	<p>0 = なし。 1 = 後方突進現象があるが、自分で立ち直れる。 2 = 後方突進現象があり、支えないと倒れる。 3 = 極めて不安定で、何もしなくても倒れそうになる。 4 = 介助なしには起立が困難。</p>
<p>31. Body bradykinesia and hypokinesia: (Combining slowness, hesitancy, decreased armswing, small amplitude, and poverty of movement in general.)</p> <p>動作緩慢と運動減少：(動作緩慢、躊躇、腕振り減少、運動の振幅の減少、運動量の減少を総合的に評価。)</p>	<p>0 = None. 1 = Minimal slowness, giving movement a deliberate character; could be normal for some persons. Possibly reduced amplitude. 2 = Mild degree of slowness and poverty of movement which is definitely abnormal. Alternatively, some reduced amplitude. 3 = Moderate slowness, poverty or small amplitude of movement. 4 = Marked slowness, poverty or small amplitude of movement.</p>	<p>0 = なし。 1 = わずかに緩慢、慎重にやっているように見える。運動の振幅がやや小さいこともある。 2 = 軽度に運動緩慢がある。運動量が低下している。または運動の大きさが低下している。 3 = 中等度の動作緩慢。中等度に運動量が低下するか運動の大きさが低下する。 4 = 高度の動作緩慢。高度に運動量が低下するか運動の大きさが低下する。</p>

Part IV. COMPLICATIONS OF THERAPY 治療の合併症 (問診により評価する)

A. Dyskinesias ジスキネジア

<p>32. Duration: What proportion of the waking day are dyskinesias present? (Historical information.)</p> <p>ジスキネジアの出現時間：(起きている時間の何%ジスキネジアが起きているかを病歴から聴取する)</p>	<p>0 = None. 1 = 1-25% of day. 2 = 26-50% of day. 3 = 51-75% of day. 4 = 76-100% of day.</p>	<p>0 = な し。 1 = 1-25% 2 = 26-50% 3 = 51-75% 4 = 76-100%</p>
<p>33. Disability: How disabling are the dyskinesias? (Historical information; may be modified by office examination.)</p> <p>ジスキネジアに起因する障害：(病歴ならびに診察室での所見を総合的に判断)</p>	<p>0 = Not disabling. 1 = Mildly disabling. 2 = Moderately disabling. 3 = Severely disabling. 4 = Completely disabled.</p>	<p>0 = 不自由はない。 1 = 軽度に障害となる。 2 = 中等度に障害となる。 3 = 高度に障害となる。 4 = ジスキネジアのため、殆どなにもできない</p>
<p>34. Painful dyskinesias: How painful are the dyskinesias?</p> <p>痛みを伴うジスキネジア：どの位痛むか</p>	<p>0 = No painful dyskinesias. 1 = Slight. 2 = Moderate. 3 = Severe. 4 = Marked.</p>	<p>0 = 痛まない。 1 = 少し痛む。 2 = かなり痛む。 3 = とても痛む。 4 = ものすごく痛む。</p>
<p>35. Presence of early morning dystonia: (Historical information)</p> <p>早朝のジストニア：(病歴より)</p>	<p>0 = No. 1 = Yes.</p>	<p>0 = な し 1 = あ り</p>

B. Clinical Fluctuations 症状の日内変動

<p>36. Are any "off" periods predictable as to timing after dose of medication?</p> <p>服薬時間から予想できるオフ期間の有無</p>	<p>0 = No. 1 = Yes.</p>	<p>0 = な し 1 = あ り</p>
<p>37. Are any "off" periods unpredictable as to timing after a dose of medication?</p> <p>服薬時間から予想できないオフ期間の有無</p>	<p>0 = No. 1 = Yes.</p>	<p>0 = な し 1 = あ り</p>
<p>38. Do any of the "off" periods come on suddenly, e.g., over a few seconds?</p> <p>数秒間の中に突然起きるオフ期間の有無</p>	<p>0 = No. 1 = Yes.</p>	<p>0 = な し 1 = あ り</p>
<p>39. What proportion of the waking day is the patient "off" on average?</p> <p>起きている時間の何%がオフ期間か?</p>	<p>0 = None. 1 = 1-25% of day. 2 = 26-50% of day. 3 = 51-75% of day. 4 = 76-100% of day.</p>	<p>0 = な し 1 = 1-25% 2 = 26-50% 3 = 51-75% 4 = 76-100%</p>

C. *Other Complications* その他の合併症状

<p>40. <i>Does the patient have anorexia, nausea, or vomiting?</i></p> <p>食欲低下、吐き気、嘔吐の有無</p>	<p>0 = No.</p> <p>1 = Yes.</p>	<p>0 = なし</p> <p>1 = あり</p>
<p>41. <i>Does the patient have any sleep disturbances, e.g., insomnia or hypersomnolence?</i></p> <p>不眠、眠気などの睡眠障害の有無</p>	<p>0 = No.</p> <p>1 = Yes.</p>	<p>0 = なし</p> <p>1 = あり</p>
<p>42. <i>Does the patient have symptomatic orthostasis?</i></p> <p>起立性低血圧による立ち眩み・失神の有無</p>	<p>0 = No.</p> <p>1 = Yes.</p>	<p>0 = なし</p> <p>1 = あり</p>

別表\*

## Geriatric Depression Scale (GDS) short form

次の質問を読んで、「はい」と「いいえ」のうち、あてはまる方に○印をつけてください。

1. 自分の生活に満足していますか。 ( はい いいえ )
2. これまでやってきた事や興味のあった事の多くを、最近やめてしまいましたか。 ( はい いいえ )
3. 自分の人生はむなしい物と感じますか。 ( はい いいえ )
4. 退屈と感ずることがよくありますか。 ( はい いいえ )
5. ふだんは気分の良いほうですか。 ( はい いいえ )
6. 自分に何か悪いことが起こるかもしれないという不安はありますか。 ( はい いいえ )
7. あなたはいつも幸せと感ずていますか。 ( はい いいえ )
8. 自分が無力と感ずることがよくありますか。 ( はい いいえ )
9. 外に出て新しい物事をするより、家の中にいるほうが好きですか。 ( はい いいえ )
10. 他の人に比べ、記憶力が落ちたと感ずますか。 ( はい いいえ )
11. いま生きていることは、すばらしいことと思えますか。 ( はい いいえ )
12. 自分の現在の状態は、まったく価値のないものと思えますか。 ( はい いいえ )
13. 自分は活力が満ちあふれていると感ずますか。 ( はい いいえ )
14. 今の自分の状況は、希望のないものと思えますか。 ( はい いいえ )
15. 他の人は、あなたより恵まれた生活をしていると思えますか。 ( はい いいえ )

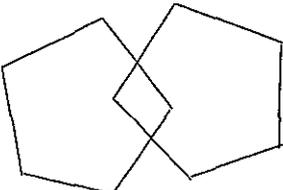
患者には「はい」と「いいえ」が太字になっていない書式を渡して回答してもらう。

太字に○印がつくと「うつ」であることを示す。5個異常太字に○印がついた場合には、「うつ」の可能性がある。

10個以上○印がついた場合には、ほぼ間違いなく「うつ」と考えられる。

別表\*

Mini-Mental State Examination (MMSE)

		質問内容	回答	得点
1.	5点	今年は平成何年ですか。 今の季節はなにですか。 今日は何曜日ですか。 今日は何月何日ですか。	年	
			曜日	
			月	
			日	
2.	5点	ここは、なに県ですか。 ここは、なに市ですか。 ここは、なに病院ですか。 ここは、なん階ですか。 ここは、なに痴呆ですか。(例：関東地方)	県	
			市	
			病院	
			階	
3.	3点	物品名3個(相互に無関係)。 検者は物品名を1秒に1個ずつ言い、その後被検者にくり返させる。正答1つごとに1点を与える。3個全て言えるまでくり返す。(最大6回まで) 何回くり返したかを記す。( )回		
4.	5点	100から順に7を引く(5回まで)		
5.	3点	3で提示した物品名を再度復唱させる。		
6.	2点	(時計を見せながら)これはなんですか。		
		(鉛筆を見せながら)これはなんですか。		
7.	1点	次の文章をくり返す。 「みんなで力を合わせて綱を引きます」		
8.	3点	(3段の命令)		
		「右手にこの紙を持ってください」		
		「それを半分に折りたたんでください」		
9.	1点	(次の文章を読んで、その指示に従ってください)		
		「目を閉じなさい」		
10.	1点	(なにか文章を書いてください)		
11.	1点	(次の図形を書いてください)		
			得点合計	(30点満点)

よくお読みください

## 臨床研究「パーキンソン病遺伝子治療」

### 参加のしおり

(060915 改訂後)

このしおりは『AADC 発現 AAV ベクター線条体内投与による進行期パーキンソン病遺伝子治療の臨床研究』に参加される予定の患者さんに、  
具体的な内容を説明するために作られたものです。

内容について、わからないことや聞きたいことがありましたら、  
いつでもご遠慮なくお申し出ください。

平成 18 年 1 月 25 日

改訂：平成 18 年 9 月 15 日

自治医科大学用

## <目 次>

1. 臨床研究とは-----	4
2. パーキンソン病とドパミン-----	4
3. パーキンソン病の治療法とその問題点-----	6
4. この臨床研究の概要について-----	8
5. AAV ベクターとは-----	10
6. パーキンソン病遺伝子治療臨床研究の海外での状況-----	11
7. 臨床研究の具体的な方法	
A. 参加できる人、できない人-----	12
B. 臨床研究のスケジュール-----	14
C. 線条体への治療用ベクターの注射-----	16
D. 期待される効果-----	17
E. 予想される危険性および副作用-----	17
1) ウイルスベクターを使うことで起こる危険性-----	19
① 炎症	
② 免疫反応	
③ 神経細胞に遺伝子を入れることで起こる異常	
④ ベクターが生殖細胞に感染する危険性	
⑤ ベクターが増えて散らばる危険性	
2) 手術に伴う危険性-----	21
① 出血	
② 感染	
③ 麻酔の副作用・合併症	
3) その他、手術に関係した予想し得ない副作用-----	22
8. 臨床研究への参加予定期間、参加患者数-----	22
9. 臨床研究の参加をことわったら-----	22
10. 途中でやめたくなったら-----	22
11. 健康被害の治療とその医療費に関して-----	23
12. あなたの個人情報の保護について-----	24
13. 臨床研究の成績の使用と公表について-----	25

14. 個人情報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	25
15. 臨床研究に参加するために必要な費用について	26
16. 臨床研究に参加する間にお願いすること	26
17. その他	27

## 1. 臨床研究とは

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どうか、あるいは効果があるかどうか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。

さらに、臨床研究は、国が定めた指針に基づいて計画され、実施する病院の倫理委員会と国の審議会の厳格な審議を受けて承認された後に行われます。私たちの研究もこのような厳しい審査を受けて認められたものです。

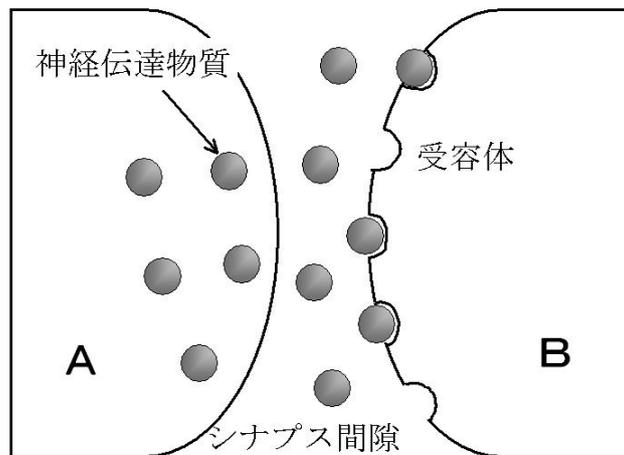
ただし、動物で安全であって効果があったからといって人でも同じように安全で効果があるとはいいきれません。したがって、多くの患者さんに応用する前に、少ない患者さんで治療を行ってみて、安全性と効果を確かめる必要があります。このように、臨床研究には文字どおり研究的な一面があることを十分ご理解の上、以下の文章を読み、説明をお聞きください。

## 2. パーキンソン病とドパミン

脳はものを考えたり動く命令を発するなど、様々な働きをしています。脳にはたくさんの神経細胞があります。肝臓にも細胞はたくさんありますが、肝臓はものを考えたり動く命令を発することはありません。脳と肝臓はどう違うのでしょうか？

脳はたくさんの神経細胞があり、お互いに情報をやりとりしながらネットワークを形成して複雑な働きをします。これに対して肝臓の細胞は、細胞それぞれが重要な働きをしますが、お互いに情報をやりとりすることはほとんどありません。

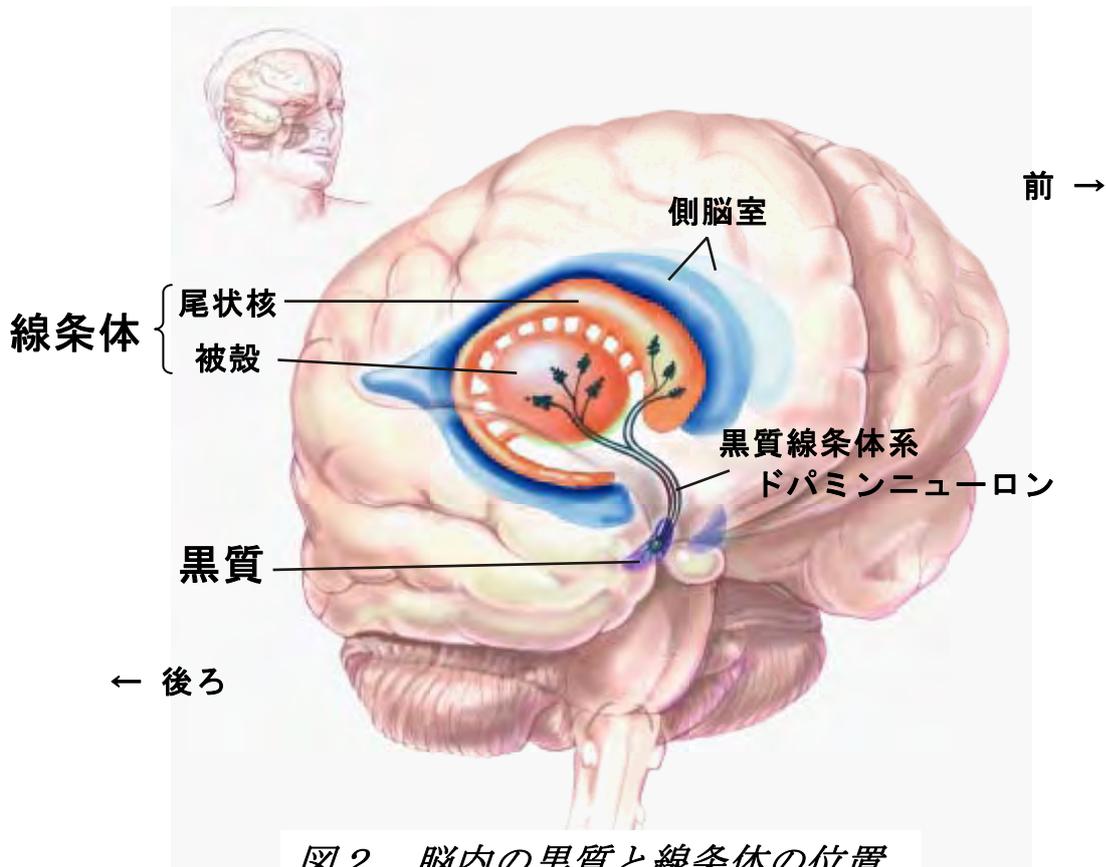
細胞間の情報のやりとりは「神経伝達物質」と呼ばれる化学物質によって行われます。たとえばA細胞がB細胞に情報を伝えるとしましょう(図1)。A細胞は神経伝達物質を放出します。これがB細胞の受容体に結合して情報が伝えられます。現在脳では約40種の神経伝達物質が見つかっており、ドパミンはその1つです。ドパミンが不足するとパーキンソン病になります。



**図1 神経細胞間の情報の伝達**

神経伝達物質は1つの神経細胞(A)から放出され、次の神経細胞(B)の受容体に結合して情報を伝えます。この神経細胞(A)と神経細胞(B)の間のすきまをシナプス間隙かんげきと呼びます。

ドパミンを作る神経細胞は、黒質こくしつと呼ばれる部分にたくさん集まっています。ドパミンを作る細胞は突起を伸ばして線条体にドパミンを送ります(図2)。ドパミンは、線条体細胞の受容体に結合して情報を伝えます。パーキンソン病では黒質のドパミンを作る細胞が減って線条体に情報が届かなくなり、その結果①ふるえ、②関節が硬い、③動作が遅い、④さっと足が出なくて転びやすいなどの症状が出ます。



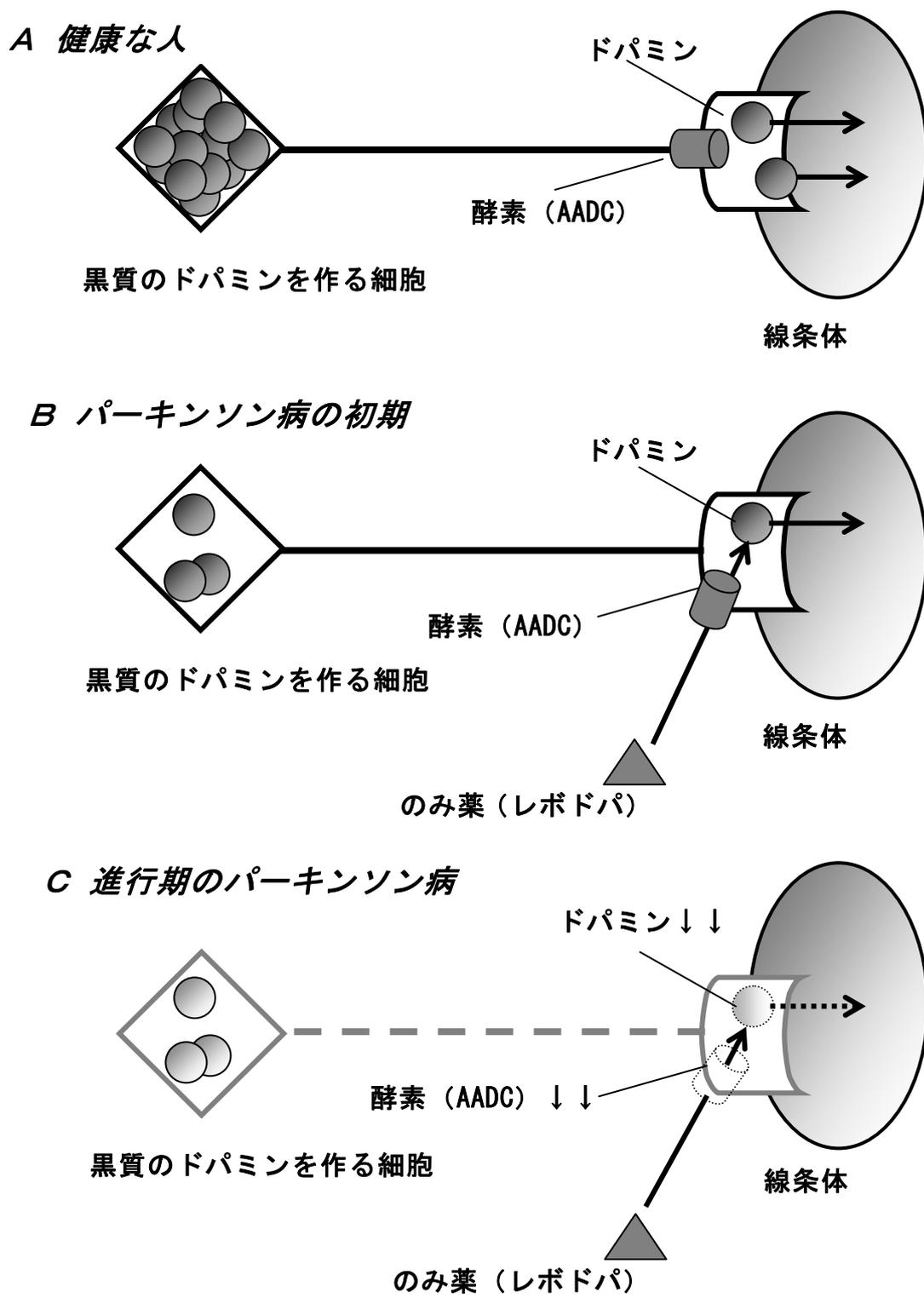
**図2 脳内の黒質と線条体の位置**

中脳にある黒質の神経細胞からは突起が線条体に伸びています。この突起でドーパミンが合成されて線条体に放出されることによって運動がなめらかに行われます。

### 3. パーキンソン病の治療法と問題点

基本はお薬による治療です。しかし病気を根本的に治療する「原因療法」ではありません。不足したドーパミンをお薬で補って症状を緩和する「補充療法」です。お薬の中で最も強力なのがレボドパです。ドーパミンをそのままのんでも脳に到達しないため、ドーパミンの原料であり脳に到達できるレボドパを使います。レボドパは線条体の中で芳香族 L-アミノ酸脱炭酸酵素 (AADC) の働きによってドーパミンに変わります (図3 A)。

パーキンソン病の初期には AADC が十分にあるため、レボドパをのむと速やかにドーパミンとなり症状が良くなります (図3 B)。しかし病気が進行すると AADC が減ってしまうので、レボドパをのんでもドーパミンができません (図3 C)。あなたがレボドパをのんでも満足できる効果が得られない原因の1つは、線条体における AADC の極端な減少と考えられています。



**図3 パーキンソン病の病期による違い**

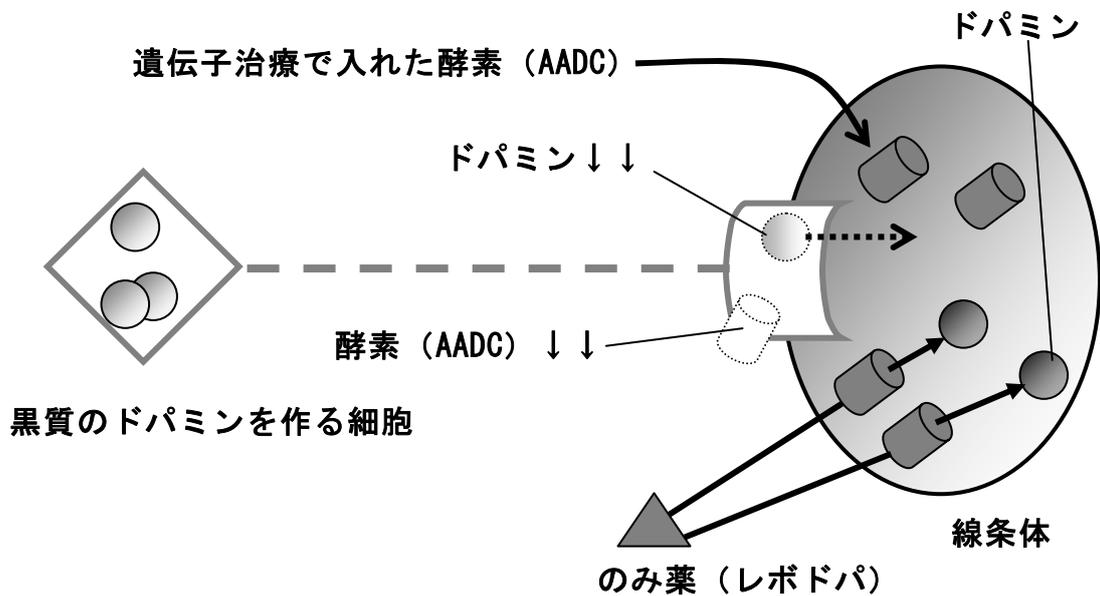
パーキンソン病の初期には黒質の細胞が作るドーパミンが減るので、レボドパを服用して補うことができます。進行期パーキンソン病では、レボドパをドーパミンに変える AADC という酵素が極端に減りますので、レボドパを服用してもドーパミンを補えなくなります。

レボドパ以外のお薬としては、線条体細胞のドパミンの受容体に直接働くドパミン受容体作動薬や、ドパミン以外の神経伝達物質を変化させる薬がありますが、いずれもレボドパより効果が弱く、進行したパーキンソン病では効果はほとんどありません。お薬以外の治療法として①手術によって脳の一部を熱凝固する凝固療法、②手術によって脳内に電極を植え込み前胸部の刺激装置で持続刺激する脳深部刺激療法、③ドパミンを作る細胞の移植、④幹細胞の移植、⑤カプセルに入れた腫瘍細胞の移植などがあります。このうち保険適用があって現実に実施可能な治療法は①と②です。

凝固療法は原則として片側にしか実施できないため、あなたのように両側に症状があるときには片側の効果しか期待できません。またふるえや関節の硬さ、不随意運動には効果があっても、歩行障害や転びやすさに対しては効果が期待できません。脳深部刺激療法は両側に行うことが可能ですが、レボドパの効果がない症例には効きません。また根本的な治療法ではありませんので、一時的にはレボドパの必要量を減らすことができても症状は徐々に進行します。さらに脳内の刺激電極や前胸部の刺激装置が異物として体内に残る点も問題です。

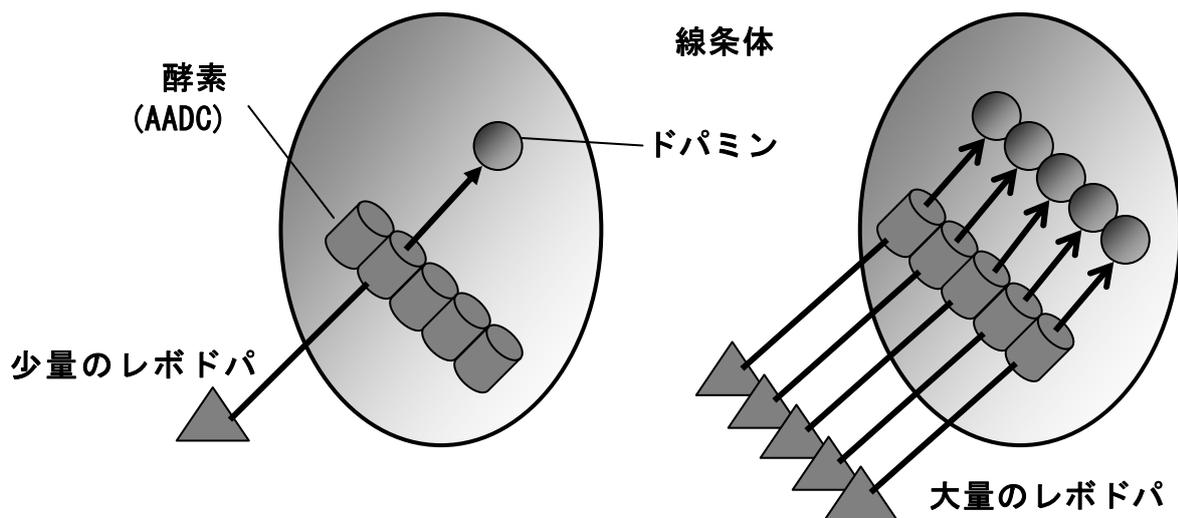
#### 4. この臨床研究の概要について

『AADC 発現 AAV ベクター線条体内投与による進行期パーキンソン病遺伝子治療』は現在開発中の治療法です。極端に減少した AADC という酵素の遺伝子を、2 型アデノ随伴ウイルス (AAV) ベクターを使って線条体の細胞に入れ AADC を作らせます。その結果レボドパからドパミンが効率よく作られるようになり、症状が改善することが期待されます。



**図4 この治療法の模式図**

パーキンソン病は黒質の神経細胞が減少して線条体でドパミンが減ることによって発病します。ドパミンを合成する酵素の遺伝子を線条体に注射して酵素を産生させ、レボドパをのんでドパミンの合成を回復させます。



**図5 作られるドパミンの量の調節**

ドパミンを合成する酵素 (AADC) は十分量作られますが、実際に作られるドパミンの量は、服用するレボドパの量で調節できますので、副作用が防げます。

ドーパミンが作られ過ぎると、自分の意志とは関係なく身体が勝手に動く「不随意運動」が起こる心配がありますので、レボドーパの量を調整することによって作られるドーパミン量を調整します（図5）。

この臨床研究は、米国においても同様のやり方で平行して行われています。自治医科大学附属病院では、症状が進行してレボドーパの効きが悪くなった患者さんを対象にこの臨床研究を実施します。

## 5. AAV ベクターとは

アデノ随伴ウイルス（AAV）は自然界に存在するありふれたウイルスの1つで、多くの方が気づかぬうちに感染しています。それ自身では増えることができず、人の病気を起こしません。ウイルス由来のタンパク質の遺伝子を取り外して、空いた部分に治療用の遺伝子を載せたものが治療用ベクターです。今回は空いた部分に AADC の遺伝子を入れます（図6）。AAV にはウイルス表面のタンパク質の違いによっていくつかの型がありますが、今回使用するベクターはそのうちの2型の AAV を元にして作製されたものです。米国においては、2型 AAV ベクターを使用したいくつかの臨床研究が既に行われており、これまでに、のう胞性線維症（欧米に多い遺伝病）80名、血友病15名、カナバン病（小児の遺伝性病）10名、パーキンソン病23名の合計128名の患者さんに使用されていますが、特段の問題は報告されていません。

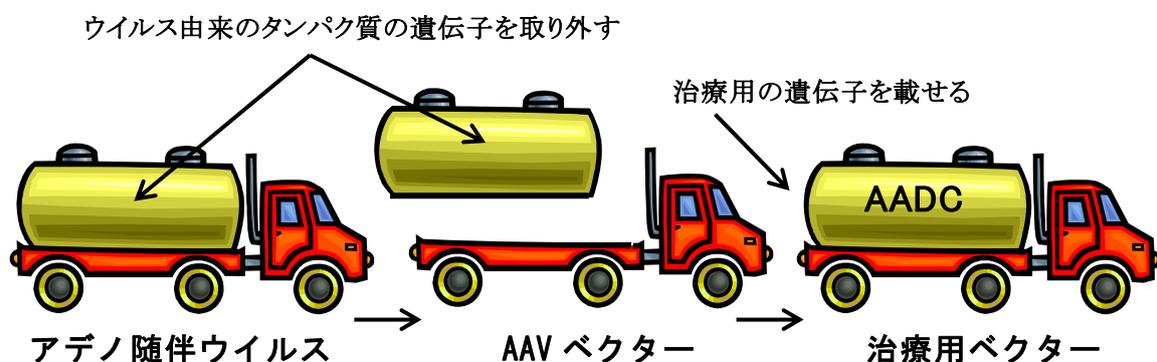


図6 治療用ベクターの構造

自然界のアデノ随伴ウイルスは、荷台にウイルスのタンパク質を合成する遺伝子を積んだトラックにたとえられます。このウイルス由来の遺伝子を取り除いて、ドーパミンを合成するヒトの酵素の遺伝子（AADC）に積み替えたトラックが治療用ベクターです。

あなたに注射するベクターは、私たちと共同研究を行っているアメリカの Avigen<sup>アビジェン</sup>社という会社で作られて、日本に送られてきます。この製造は米国食品医薬品局（FDA）という公的機関の基準に沿って行われました。なお、2005年の12月から、Avigen 社に代わり<sup>ジェンザイム</sup>Genzyme社がこのベクターの管理を行うことになりました。

## 6. パーキンソン病遺伝子治療臨床研究の海外での状況

現在、2型 AAV ベクターを用いて、パーキンソン病の遺伝子治療臨床研究がアメリカで3つ行われています。

1つは、カリフォルニア大学サンフランシスコ校（UCSF）の神経内科と脳神経外科の共同研究で、私たちと同じ方法で行われています（相違点については、下記の表を参照ください）。つまり、AAV ベクターを使って AADC の遺伝子を脳の線条体（被殻）に手術的に注射するものです。2004年12月に最初の患者さんの治療が行われ、2005年7月に2人目、2005年9月に3人目、2006年2月に4人目、2006年5月に5人目の治療が行われました。この研究は、今回の日本での臨床研究と異なり安全性の検証のみを目的とする（第1相）試験であるため、効果については詳細な発表がされていませんが、最初の患者さんの6ヶ月後の PET 検査で、線条体に入れた AADC の遺伝子から AADC が合成されていることが認められました。手術後にすぐに治癒した軽い頭痛の他には特に副作用は報告されていません。

2つ目は、コーネル大学のグループが行っている臨床研究で、AAV ベクターを使って、抑制作用のある神経伝達物質である γ-アミノ酪酸（GABA）を作るために必要な GAD という酵素の遺伝子を脳の視床下核というところにやはり手術で注射する方法です。2003年8月に最初の患者さんの治療が実施され、2005年6月までに12人の患者さんがこの治療を受けました。効果については発表がありませんが、副作用は報告されていません。

3つ目は、やはり UCSF の神経内科と脳神経外科の共同研究で、神経細胞に対して保護作用があるニューロトリンという神経栄養因子の遺伝子を、AAV ベクターを使って被殻に注入するものです。2006年4月までに6人の患者さんに行われて

います。効果については発表がありませんが、副作用は報告されていません。

参考：最初に紹介した UCSF で実施中の遺伝子治療臨床研究では、今回あなたに注射するのと全く同一の AAV ベクターを使用しています。先行して臨床研究が始まった UCSF では安全性を重視して、今回あなたに注射する 1/3 の量のベクターを使用しました。当初、1 人の患者さんに注入してから 4 ヶ月間以上の間隔をおいてから、次の患者さんに注入するという慎重な計画で実施されましたが、上述したように AAV ベクターを使用した GAD あるいはニューロトリンの遺伝子治療でも副作用がないことから、今後、あなたに注射するのと同じ量のベクターを使用した研究に進む予定です。

実施施設名	自治医科大学	UCSF
試験開始日		2004 年 12 月 16 日
試験実施予定期間	ベクターを投与後、9 ヶ月間	ベクターを投与後、5 年間
ベクター投与量	$3 \times 10^{11}$ 、 $9 \times 10^{11}$	$9 \times 10^{10}$ 、 $3 \times 10^{11}$ 、 $9 \times 10^{11}$
予定人数	各群 3 人、合計 6 人	各群 5 人、合計 15 人

## 7. 臨床研究の具体的な方法

### A. 参加できる人、できない人

この臨床研究に参加できるのは次の患者さんです。

- ① 特発性（家族性ではない）パーキンソン病の患者さん。
- ② 年齢が 75 歳以下の方。
- ③ パーキンソン病の発症が 40 歳以降の方。
- ④ レボドパによる治療を 5 年以上続けられた方。
- ⑤ OFF の状態（お薬の切れたとき）で、Hoehn & Yahr の重症度が IV の方。
- ⑥ OFF の状態で UPDRS のスコアの合計が 20～80 点の方。
- ⑦ ドパミン治療に対する反応が明らかで、ON（お薬の効いているとき）と OFF での UPDRS-III（運動スコア）の改善が明らかであること。具体的には UPDRS-III が 8 点以上改善する方。
- ⑧ 耐え難い運動合併症を認め（具体的には UPDRS-IV の項目 B：症状の日内変動のスコアが 3～7）、適切なお薬によって満足できる治療効果が得られず、かつ定位脳手術を受けようと思えば受けることのできる方。

- ⑨ 女性の場合は閉経している方。男性の場合コンドームを用いた避妊に同意された方。
- ⑩ 治療後5年間、頻回の診察を含めて、臨床研究に必要な条件を守ることが可能な方。また、可能な限り治療後10年間は通院していただける方。
- ⑪ 臨床研究に参加する前の少なくとも2ヶ月間、パーキンソン病のお薬の種類と量を変更していない方。
- ⑫ 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。

この臨床研究に参加できないのは次の患者さんです。

- ① 特発性パーキンソン病以外の病気と思われる患者さん。
- ② 過去6ヶ月以内に、3時間以上続く激しいジスキネジアを経験した方。
- ③ 既にパーキンソン病に対する手術治療を受けたことのある方。
- ④ 認知症、統合失調症、重度のうつ病、薬物依存症の患者さん。
- ⑤ 過去6ヶ月以内に精神疾患に基づく幻覚や妄想を認めた方。
- ⑥ 脳血管障害をはじめ、明らかな心血管疾患を有する方。
- ⑦ 脳腫瘍や、年齢に比べて明らかな脳萎縮など、臨床的に明らかな脳の病気を持っている方。
- ⑧ 5年以内に、癌の治療を受けた方（ただし、完治している皮膚癌の場合は参加できます）。
- ⑨ 収縮期血圧160 mmHg以上の高血圧を認める方。
- ⑩ 血液凝固異常のある方、あるいは抗凝固療法の必要な方。
- ⑪ 臨床的に明らかな免疫異常のある患者さん、あるいは免疫抑制剤の必要な方。
- ⑫ MAO-A阻害薬あるいは抗精神薬をのんでいる方。
- ⑬ MRIが撮影できない方。
- ⑭ FMT-PET検査で、パーキンソン病で一般的に認められる異常所見を認めない方。
- ⑮ 既に今回使用するAAVベクターに対する抗体をたくさん持っている方。
- ⑯ 閉経前の女性、子供をもうけることを希望する男性。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<sup>注)</sup>はこの

限りではありません。

注：この方法では通常体外受精を行って、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。

- ⑰ 3年以内に痙攣発作を起こした方、てんかんの薬をのんでいる方、脳波検査でてんかん性の異常がみられる方。
- ⑱ 重い薬物アレルギーのある方。
- ⑲ 過去6ヶ月以内に、他の臨床研究や治験に参加したことのある方。
- ⑳ 重い肝臓病、重い腎臓病、管理の悪い糖尿病の方。
- ㉑ その他、総括責任者が本研究の対象として不相当と判断した方。

これらの条件に当てはまるかどうかの判断には、高度の医学的知識が必要なことが含まれています。あなたがこの条件に当てはまるかどうかの判断は、総括責任者が行います。

## B. 臨床研究のスケジュール

治療用ベクターの注射10日前から注射後2週間の間は、自治医科大学附属病院に入院していただきます。この間に診察やビデオの撮影、各種の検査を行います。これらは治療効果の評価とともに、治療による副作用の有無を確認する目的で行われます。定期的に症状日誌を記載していただくことも予定されていますので、ご協力をお願いします。詳細については日程表をご覧ください。

治療効果の判定のため、治療用ベクターの注射2ヶ月前から注射6ヶ月後の間は、原則としてパーキンソン病の治療薬は変更できません。ただしドパミンの合成が多過ぎるときにはレボドパをのむ量を減らして対処します。

あなたから治療用ベクターがどのようにからだの外に出るかを調べるため、あなたの血液、尿、便、唾液を手術前、手術の後連続3日間および1週間目に採取して検査します。もし、これらの中から治療用ベクターが検出されたときは、検出されなくなるまで調べます。

表 臨床研究のスケジュール

	スクリーニング 8週 以前	術前 評価 10日 以内	手術・ ペクター挿 (0日)	評価 1** 7日	評価 2** 14日	評価 3 28日	評価 4 42日	評価 5 56日	評価 6 3ヶ月	評価 7 4ヶ月	評価 8 5ヶ月	評価 9 6ヶ月	評価 10 7ヶ月	評価 11 8ヶ月	評価 12 9ヶ月	評価 13 10ヶ月	評価 14 11ヶ月	評価 15 12ヶ月
診 察	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
記憶検査 うつの評価	○																	
症状日誌	○	○				○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
ビデオ撮影	○	○		○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
心電図検査	○								○									
血液検査	○	○		○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
PCR 検査*	○			◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎
PET スキャン		○				○												
頭部 MRI		○ (1日前)	○		○	○												

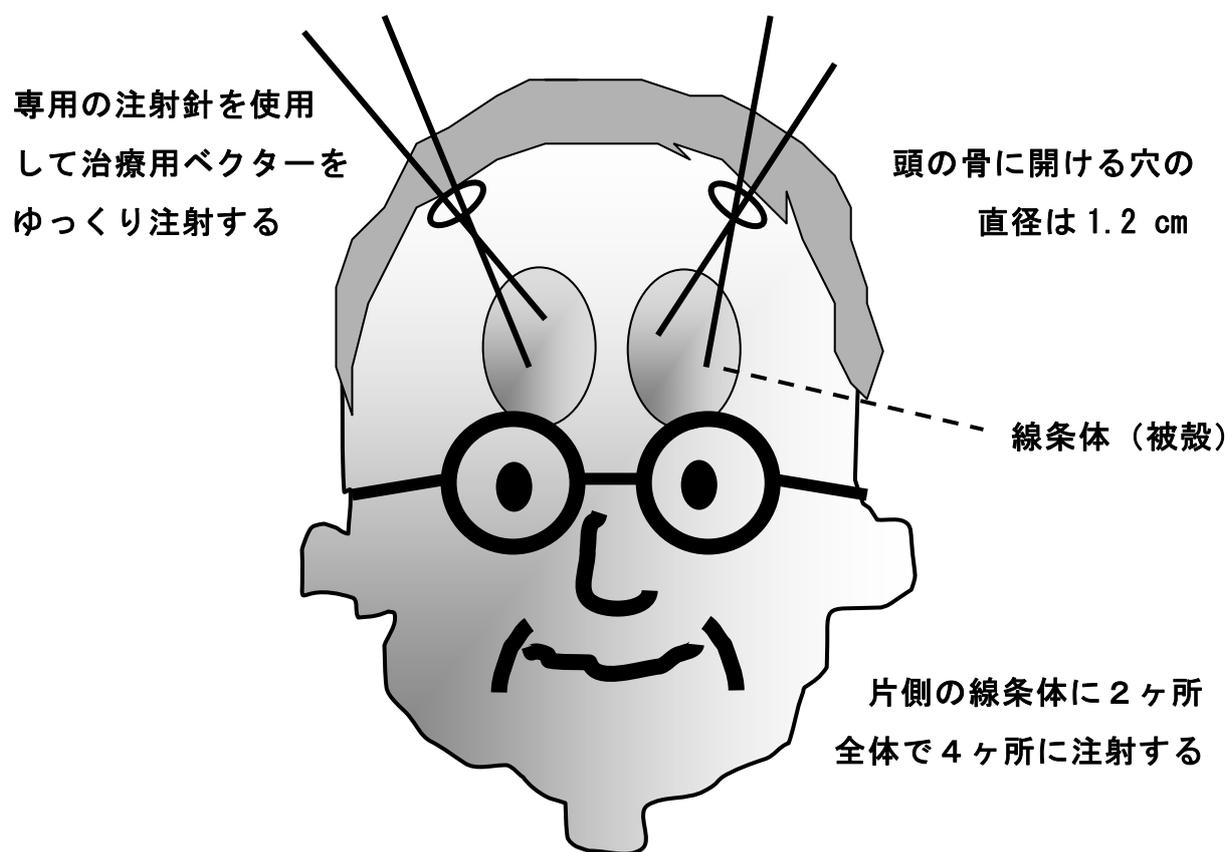
(つづき)

	評価 16 15ヶ月	評価 17 18ヶ月	評価 18 21ヶ月	評価 19 24ヶ月	評価 20 27ヶ月	評価 21 30ヶ月	評価 22 33ヶ月	評価 23 36ヶ月	評価 24 39ヶ月	評価 25 42ヶ月	評価 26 45ヶ月	評価 27 48ヶ月	評価 28 51ヶ月	評価 29 54ヶ月	評価 30 57ヶ月	評価 31 60ヶ月
診 察	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
症状日誌				○				○				○				○
ビデオ撮影				○				○				○				○
血液検査				○				○				○				○
PCR 検査*	◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎

\* PCR 検査は血液、唾液、尿、便の中にウイルスペクターが残っていないか調べる検査です。手術後1、2、3日目にも実施します。3回連続して陰性るとき◎は実施しません。  
\*\* 遺伝子導入後の入院期間中（ペクター注射10日前～14日後）に行います。

### C. 線条体への治療用ベクターの注射

治療用ベクターは外科手術によって線条体に注射します。手術は全身麻酔をかけて行いますので、患者さんは手術中に苦痛を感じることはありません。手術では、まず位置決めをするための枠（フレーム）を4つのネジで頭の骨に固定します。フレームを付けた状態で造影剤を使って頭部のCTスキャンを撮影し、前日にやはり造影剤を使って撮影しておいた脳のMRI画像（詳しい断層写真）と重ね合わせ、治療用ベクターの注射場所を決めます。線条体（被殻）の左右それぞれ2ヶ所、全体で4ヶ所に注射します（図7）。



**図7 治療用ベクターの注射**

治療用ベクターは、全身麻酔をしたあなたの頭の骨に、右と左に1つずつ小さな穴を開け、そこから線条体まで細い管を入れて注射します。

頭の骨に開ける穴の大きさは直径 1.2 cm です。1つの穴から方向を変えて2回針を刺すことによって、片側の線条体（被殻）の異なる2ヶ所に注射します。

治療用ベクターは1ヶ所につき  $50\mu\text{l}$ （1mlの1/20の量）または  $150\mu\text{l}$  注射します。広く行きわたるように、注射は時間をかけてゆっくりと行います。具体的には専用のポンプを使って1分間に  $1\sim 3\mu\text{l}$  の速さで注射しますので、1ヶ所につき50分かかります。計4ヶ所に注射するのに3時間20分かかります。手術全体にかかる時間は約8時間を予定しています。

治療用ベクターは既に米国で行われている臨床研究と同等量を注射します。治療効果が最も期待できて安全な治療用ベクターの量は現時点ではまだわかりませんので、使用する治療用ベクターの量は2段階を予定しています。最初の3人の患者さんには  $3\times 10^{11}$  ベクター量、次の3人には  $9\times 10^{11}$  ベクター量を注入します。あなたはこの臨床研究の（ ）番目の患者さんですので、（  $\times 10$  ）ベクター量を注入する予定です。

#### D. 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。①服用したレボドパが線条体で効率よくドパミンに変わり、パーキンソン病の運動症状が改善すること。②この効果は、服用するレボドパの量で調節できること。

私たちが行っております、パーキンソン病モデルのサルを用いた同じ遺伝子治療研究では一度注射した遺伝子の効果は少なくとも数年間続くことがわかっています。

#### E. 予想される危険性および副作用

遺伝子治療では以前から、病気を治すための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）。遺伝子を入れるための方法にはウイルスを利用しない方法もありますが、患者さんの脳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。ウイルスにはたくさんの種類があり、天然痘やポリオなど重い病気を起こすものから、軽い風邪を起こす程度のもの、かかったとしても全く症状の出ないものまで様々です。今回使

う治療用ベクターのもとになる AAV は本来病気を起こしません。しかも治療用ベクターの安全性を増すために、からだの中で増えることができないように作り替えてあります。

AAV とは全く別のウイルスを用いた遺伝子治療では、生命にかかわる重い副作用がこれまでに 2 件報告されています。

ケース 1：アデノウイルスベクターによる全身性炎症反応症候群（1999 年、米国）

ある種の遺伝病（オルニチントランスカルバミラーゼ欠損症）の 18 歳男性に対し、アデノウイルスベクター（今回使用する AAV ベクターとは異なります）を全身投与したところ、血液障害と多臓器不全を起こし 4 日後に死亡しました。アデノウイルス投与を受けたときの患者さんの状態が良くなかったことに加え、血液中に投与したアデノウイルスの量が多くて免疫反応が強く出過ぎて、全身性炎症反応症候群と呼ばれる状態に陥ったと推定されています。

ケース 2：レトロウイルスベクターによる白血病発症（2002～2005 年、フランス）

ある種の白血球が足りず、細菌やウイルスに全く抵抗力を持たない X 連鎖重症複合免疫不全症という遺伝病に対し、1999 年からフランスでレトロウイルスベクターを用いた遺伝子治療が始まり、めざましい効果をあげました。ところがその後、同国で治療を受けた 15 名の患者さんのうち 3 名が白血病になり、1 名が亡くなりました。レトロウイルスは患者さんの染色体に外から遺伝子を組み込むのが特徴で、その組み込む位置によって癌化の引き金となる可能性があります。これらの患者さんでは実際にそれが起こったことに加えて、この治療自体がある種の白血球をどんどん増やす作用をねらったものであるという特殊事情が重なり、白血病になってしまったと考えられます。

今回の臨床研究では、病原性のない AAV をもとにしたベクターを使います。AAV に対する身体の反応は、アデノウイルスに比べればかなり弱いものです。しかも今回の臨床研究では頭の中のごく狭い範囲にベクターを注射するので、ケース 1 のように血管内にベクターを注射するのと異なり、全身性の反応（全身性炎症反応症候群）は起こりにくいと考えられます。また AAV ベクターはレトロウイルス

ベクターと異なり、あなたの染色体に遺伝子を組み込む力はほとんどありません。たとえ組み込みが起こったとしても神経細胞は既に増える能力を失っているため、ケース2のように癌が発生する可能性も極めて小さいと考えられます。

#### 1) ウイルスベクターを使うことで起こる危険性

この臨床研究では2型 AAV ベクターをヒトの脳に注射します。サルにこのベクターを注射する実験では副作用はありませんでした。また、このベクターをヒトの肺や筋肉に入れた海外の臨床研究でも重い副作用はみられませんでした。しかし、思いがけない合併症が起こる可能性も考えられます。

##### ① 炎症（白血球が局所に集まる反応）

ベクターを注射することで炎症反応が起こり、さらに免疫反応によって脳炎、脳浮腫や脳出血が起こる可能性はゼロではありません。強い炎症反応で頭の中の圧が上がったり、これによる脳の血流障害が起きたり、最も重症の場合には脳ヘルニアが引き起こされる可能性もあります。脳ヘルニアとは、脳の一部が大きく腫れて元の位置からはみ出すことで脳の他の部位を圧迫することをいい、昏睡などの重篤な症状を引き起こします。

この研究では、患者さんを注意深く観察し、万一合併症が起こった場合にはそれをできるだけ早くとらえて、軽いうちにすばやく治療することにしています。

##### ② 免疫反応（体内に入ってきた物質を除去しようとするからだの反応）

注射した治療用ベクターに対して免疫反応が起きる可能性があり、その結果遺伝子を入れた神経細胞が壊されたり、治療遺伝子が働く期間が短くなることも考えられます。しかしこれまでの動物実験の結果から、このようなことは起こりにくいと思われます。免疫反応によって、その後に行われる同じベクターを用いた遺伝子治療の効果が弱くなることも考えられます。その場合、患者さんは、今回の臨床研究や他の臨床研究も含めて、その後の AAV ベクターを使った遺伝子治療がすべて受けられなくなることがあります。

なお、米国で行われた血友病に対する遺伝子治療の臨床研究では、肝臓の動脈に AAV ベクターが注入されました。その際に、肝臓と関連した血液検査で軽度な異常が認められましたが、特に症状はなく正常値に回復しています。

### ③ 神経細胞に遺伝子を入れることで起こる異常（発癌の可能性）

この治療用ベクターが細胞に入った場合、細胞の染色体に遺伝子が組み込まれる可能性はゼロではありませんが、その確率は非常に小さいと考えられます。ベクターは脳に注射しますので、もし起きるならば、遺伝子の組込みは脳細胞で起こる可能性が最も高いと考えられます。しかしそれ以外の場所でも組込みが起こる可能性はあります。

治療用ベクターが細胞の染色体に組み込まれたときに最も心配なことは、癌の危険が高まることです。染色体に外からの遺伝子が入ることにより、癌を起こす遺伝子が働き出したり、癌を抑える遺伝子が働かなくなったりすることがあります。しかし、AAV やそれを治療用に改造したベクターによって癌が発生したという報告はなく、その危険性は極めて低いと考えられます。

### ④ ベクターが生殖細胞に感染する危険性（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。また、ベクターを脳に注入直後に、血液を介して一時的に精液にベクターが入り込む可能性も否定はできません。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。凍結保存の費用は本臨床研究グループが負担します。

注：この方法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。

### ⑤ ベクターが増えて散らばる危険性

治療用ベクターが身体の中で増えることはありません。治療に使われたベクターのうち体外に出されるものはごく一部分と思われませんが、出された場合にそのベクターが他人に感染する可能性がないとはいえません。このような事情から治療の後一定の期間（2週間を予定しています）は、外出や退院を控えていただき、その間あなたの尿・便・血液・唾液を検査してベクターが出ていないかどうかを確認します。術後72時間（3日間）は個室に入ってください。3日目にベクターの排出が認められた場合には、引き続き個室に入ってください。

## 2) 手術に伴う危険性（手術の合併症）

一般的に、このような脳手術に伴う合併症は軽いものを含めても5%以下と考えられています。出血、感染および麻酔の合併症がその主なものです。

### ① 出血（頭の中に出血する可能性）

脳に刺す針は、頭の骨に開けた小さな穴から、我々の目で見えないところをとおりますので、血管に当たるとそれを傷つけ出血する危険があります。その可能性は2～3%と報告されています。仮に出血が起こった場合でも、症状を残さない程度の小さな出血が普通です。しかし稀には重い麻痺を残したり、命にかかわるほどの大出血を来すこともあります。

線条体（被殻）に至るまでに針がとおるのは前頭葉です。この場所では出血が起きても症状を出すことは比較的少ないと思われれます。認められる可能性のある症状は、注意力や記憶、感情、意欲の障害、言葉が出なかつたり呂律が回らないこと、手足の麻痺などです。万一後遺症を残す可能性がある大きな出血を来した場合には、遺伝子治療を中止して、開頭による血腫除去手術を含む脳出血に対する治療を優先します。

### ② 感染（細菌が入る可能性）

治療用ベクターを溶かした液は完全に無菌的です。したがって感染の危険は極めて低いと考えられます。しかし皮膚を切開して頭の骨に穴を開ける操作によって髄膜炎などの感染症を引き起こす危険もごくわずかながらありますので、通常の脳外科手術時に使う抗生物質を予防的に使います。

### ③ 麻酔の副作用・合併症

全身麻酔の副作用と合併症については、この承諾書とは別に麻酔科医より説明します。その際に、麻酔についての承諾書を頂きます。

## 3) 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。

## 8. 臨床研究への参加予定期間、参加患者数

この治療用ベクターの注射手術の前4週間から9ヶ月後までを研究期間とします。ただし、5年後までは定期的に受診していただき、診察と血液検査などを行います。

参加していただく患者さんは全部で6名です。

## 9. 臨床研究の参加をことわったら

この臨床研究に参加されるかどうかはあなたの自由です。

もし、あなたがこの治療への参加をことわっても、主治医はあなたに合った他の治療法で治療を行いますので遠慮なくお申し出ください。参加をことわったからといって、あなたが不利になるようなことはありませんのでご安心ください。

## 10. 途中でやめたくになったら

この臨床研究に参加することをお決めになった後でも、治療用ベクターの注射手術前にこの治療をやめたくになったら、主治医にお知らせください。あなたの自由意思で、いつでも取りやめることができます。中止の後は、主治医が責任を持ってあなたに最も適した他の治療を行います。その場合あなたが不利になるようなことはありません。

ただし、治療用ベクターの注射手術を受けた後は、脳に入れた治療用ベクターを取り除くことはできません。あなたが手術の後に臨床研究への参加の中止を申し出られても、あなたのからだから治療用のベクターが排泄されないことが証明されるまでは、退院することができません。ベクターは体外に排泄されない可能

性が高いのですが、仮に排泄されてもその期間は手術後 14 日以内と予想されています。またあなたが手術の後に臨床研究へ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、手術後の定期的な診察や血液や尿の検査などは実施します。

## 11. 健康被害の治療とその医療費に関して

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、すぐに担当医に連絡してください。あなたの健康被害がこの臨床研究と因果関係があるかどうかの判定は、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。この臨床研究との関連が否定できない副作用に対する検査や治療にかかる医療費は、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、臨床研究で起こった健康被害は、症状が固定するまで（最長 1 年まで）の自己負担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の医療機関で検査・治療した場合にも同様に適応します。

たとえば、医師の側に過失がなくても、副作用として手術で大出血することがあります。そのような場合、医師は直ちに脳出血の治療に力を尽くします。幸いに命が助かっても脳出血のために片麻痺などが残る場合や、最悪の場合はねたきりになることがあります。そのときにはリハビリテーション療法を十分に行って運動機能などの回復を図ります。このような急性期と回復期の医療費は研究グループが支払います。このような場合、リハビリテーションで運動機能などが回復するのは、大多数の方では 6 ヶ月の間と考えられています。稀にはそれを超えて回復がみられるとの報告もありますが、回復のスピードは遅く、1 年経ちますと実質的には症状が固定して、それ以上の回復が望めないと考えられます。このように、症状が固定した後の医療費は補償されません。また、急性期と回復期にかかる医療費以外の費用、たとえば患者さんご自身やお見舞い等でご家族が病院においでになるときの交通費や食事代なども補償されません。さらに、急性期と回復期の治療の間に、あなたやご家族がこの治療に関係して仕事を休んだりしたために収入が減ったとしましても、それも補償されませ

ん.

この臨床研究では、治療用ベクターを脳内に注射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重ね、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。

## 12. あなたの個人情報の保護について

この研究は米国<sup>ジェンザイム</sup>Genzyme社と自治医科大学との共同研究です。共同して利用される個人情報は、あなたの年齢、治療成績、検査データ、ビデオ記録などで、それらを利用する者はGenzyme社と自治医科大学でこの研究に携わった者です。

これらの情報の利用目的は、学会発表や論文作成およびこの臨床研究を多施設で行うために必要な審査を関係機関に申請するための資料です。皆さんの個人情報の管理はGenzyme社と自治医科大学で行います。

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。また、Genzyme社とは、あなたのお名前・住所・電話番号などのプライバシーに関する情報を、外部には一切わからないようにするという契約を結んでいます。

なお、国の審議会における審議の過程等で、厚生労働省の担当官および審議会委員があなたの個人情報を取り扱うことがあります。このような人々には守秘義務が課せられており、あなたの個人情報はすべて秘密とされます。したがって、どのような場合であってもあなたのご了承無しにはあなたの個人情報が外部に漏れることは一切ありません。

## 13. 臨床研究の成績の使用と公表について

あなたの年齢、治療成績、検査データ、ビデオ記録などは学会の発表や論文、あるいは厚生労働省や共同研究の会社である Genzyme 社に提出する書類に記載され、公表・使用されることがあります。ただし、Genzyme 社に提出する情報を含めて、どのような場合でもそれらの記録があなたのものであることはわからないようにします。さらにあなたのお名前・住所・電話番号などのプライバシーに関する情報も外部には一切わからないようにします。

#### 14. 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

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以下のとおりです。

個人情報の保護に関する事柄：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柄：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2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、健康保険者証、国民年金手帳、厚生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。
- ・ 法定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、健康保険者証、国

民年金手帳、厚生年金手帳など) 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いただきます。
- 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。

## 15. 臨床研究に参加するために必要な費用について

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、臨床研究に参加するために必要な経費、たとえば治療用ベクターの代金や手術にかかわる費用、入院中の個室の代金、検査にかかわる費用(治療用ベクターを注射して6ヶ月後から5年後まで)などは本臨床研究グループがすべて負担します。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。

## 16. 臨床研究に参加する間にお願いすること

他の診療科や他の病院にかかったり、他の治療を受ける場合、またそこでもらった薬や薬局で買われた薬がありましたら本臨床研究の主治医(総括責任者または分担研究者)にお知らせください。

受け取ったパーキンソン病の治療薬は、必ず決められたとおりに服用してください。なおのみ忘れた場合は、薬袋に入れたまま次の来院時に持参し、主治医に返却してください。

## 17. その他

事前検査の結果、この臨床研究に参加することが適当でないとわかった場合は、あなたに検査の結果をお知らせするとともに、研究には参加できなくなります。また副作用や血液検査の異常、その他の理由によって研究を続けることが適当ではないと判断されたときには、この研究を中止して他の適切な治療を行います。

この臨床研究では、ベクターを注入6か月後までを評価期間としていますので、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」という用紙にご記入いただきたいと思います。また、心配なこと、わからないことがありましたら、遠慮なく総括責任者、分担研究者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

自治医科大学附属病院

病 院 長 殿

私は「AADC 発現 AAV ベクター線条体内投与による進行期パーキンソン病遺伝子治療」の臨床研究に参加するに当たり、担当医から説明文書「参加のしおり」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。ついでには自らの自由意志により、本臨床研究に参加することに同意いたします。

説明を受け理解した項目（□の中にご自分でチェックの印を付けてください。）

- 臨床研究の意味について
- パーキンソン病の治療法の現状と問題点
- この臨床研究のあらまし
- 臨床研究に参加できる人、できない人
- 治療のスケジュール
- 脳への治療用ベクターの注射方法
- 期待される効果
- ウイルスベクターを使うことで起こる危険性と副作用
- 手術に伴う危険性と副作用
- この治療をことわっても不利益を受けないこと
- 臨床研究への参加をいつでも取りやめることができること
- 健康被害の治療とその医療費に関すること
- 被験者にかかる個人情報保護されること
- 診療情報の開示について
- この治療を受けても今まで以上に余分なお金がかからないこと

私は前頁の項目すべての□にチェックの印を記入した上で、「AADC 発現 AAV ベクター線条体内投与による進行期パーキンソン病遺伝子治療の臨床研究」に参加することに同意いたします。

平成	年	月	日
本人の住所 _____			
署名（自署）または捺印 _____ 印			
電話番号 _____ ( ) _____			

説明日 平成 年 月 日  
説明者の職名 \_\_\_\_\_  
説明者の署名（自署）または捺印 \_\_\_\_\_ 印

**【責任者とその連絡先】**

医療機関名：自治医科大学附属病院
診療科名：神経内科
脳神経外科
救急医学
電話番号：0285-58-7352（神経内科）
0285-58-7373（脳神経外科）
0285-58-7395（救急医学）
総括責任者（神経内科）：中野 今治
分担研究者（神経内科）：藤本 健一、村松 慎一、池口 邦彦、川上 忠孝
分担研究者（脳神経外科、救急医学）：加藤 正哉
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）経由で神経内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。

# 資料6

評価スケジュール1年目

	Screen *	Base line	手術	個室管理			評価 1	評価 2	評価 3	評価 4	評価 5	評価 6	評価 7	評価 8	評価 9	評価 10	評価 11	評価 12	評価 13	評価 14	評価 15
				Day 1	Day 2	Day 3															
一般身体所見	≤ 8 weeks	Day -10 ~ -1	Day 0	Day 1	Day 2	Day 3	Day 7 (注3)	Day 14 (注4)	Day 28	Day 42	Day 56	3M	4M	5M	6M	7M	8M	9M	10M	11M	12M
UPDRS (注2)	○	○	○	○	○	○	○	○	◎	○	○	◎	○	○	○	○	○	○	○	○	◎
Hoehn&Yahr	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
MMSE, GDS	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
服用薬の確認	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
症状日誌の確認	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
有害事象の有無	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
PET scan		○																			
頭部MRI		○	○																		
血液	○																				○
凝固		○																			
生化学	○																				○
PMBC	○																				
AAV 抗体	○																				
PCR (血清) (注1)	○						○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
尿検査		○																			

\* 全ての臨床検査は Screening 評価の時に実施する (心電図も含む).

注1. PCR に関しては Day 7 以降は連続 3 検体が陰性になるまで採取を継続する.

注2. ○ : on で part II と III のみ評価, ◎ : on で part I ~ IV, off で part II と III (part III はそれぞれビデオ撮影).

注3. PCR 陽性ときは個室管理を継続する.

注4. 術後 2 週間まで入院予定.

評価スケジュール 2~5 年目

	評価 16	評価 17	評価 18	評価 19	評価 20	評価 21	評価 22	評価 23	評価 24	評価 25	評価 26	評価 27	評価 28	評価 29	評価 30	評価 31
	15M	18M	21M	24M	27M	30M	33M	36M	39M	42M	45M	48M	51M	54M	57M	60M
一般身体 所見	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
神経所見	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
UPDRS (注2)			◎					◎				◎				◎
服用薬の 確認	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
症状日誌の 確認	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
有害事象の 有無	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
血液				○				○				○				○
生化学				○				○				○				○
PCR (血清) (注1)	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○

注1. PCR に関しては連続3検体が陰性になるまで採取を継続する。

注2. ○ : on で part II と III のみ評価, ◎ : on で part I ~ IV, off で part II と III (part IIIはそれぞれビデオ撮影)。

なお、血液検査、凝固検査、生化学検査に含まれる項目は、次に示すとおりである。

血液検査

赤血球数、ヘモグロビン、ヘマトクリット、MCV、MCH、MCHC、

白血球数、好中球数、リンパ球数、単球数、好酸球数、好塩基球数、血小板数

凝固検査

PT, aPTT, INR, フィブリノゲン

生化学検査

BUN, クレアチニン, Na, K, Cl, Mg, P, Ca, 血糖, 総タンパク, アルブミン,

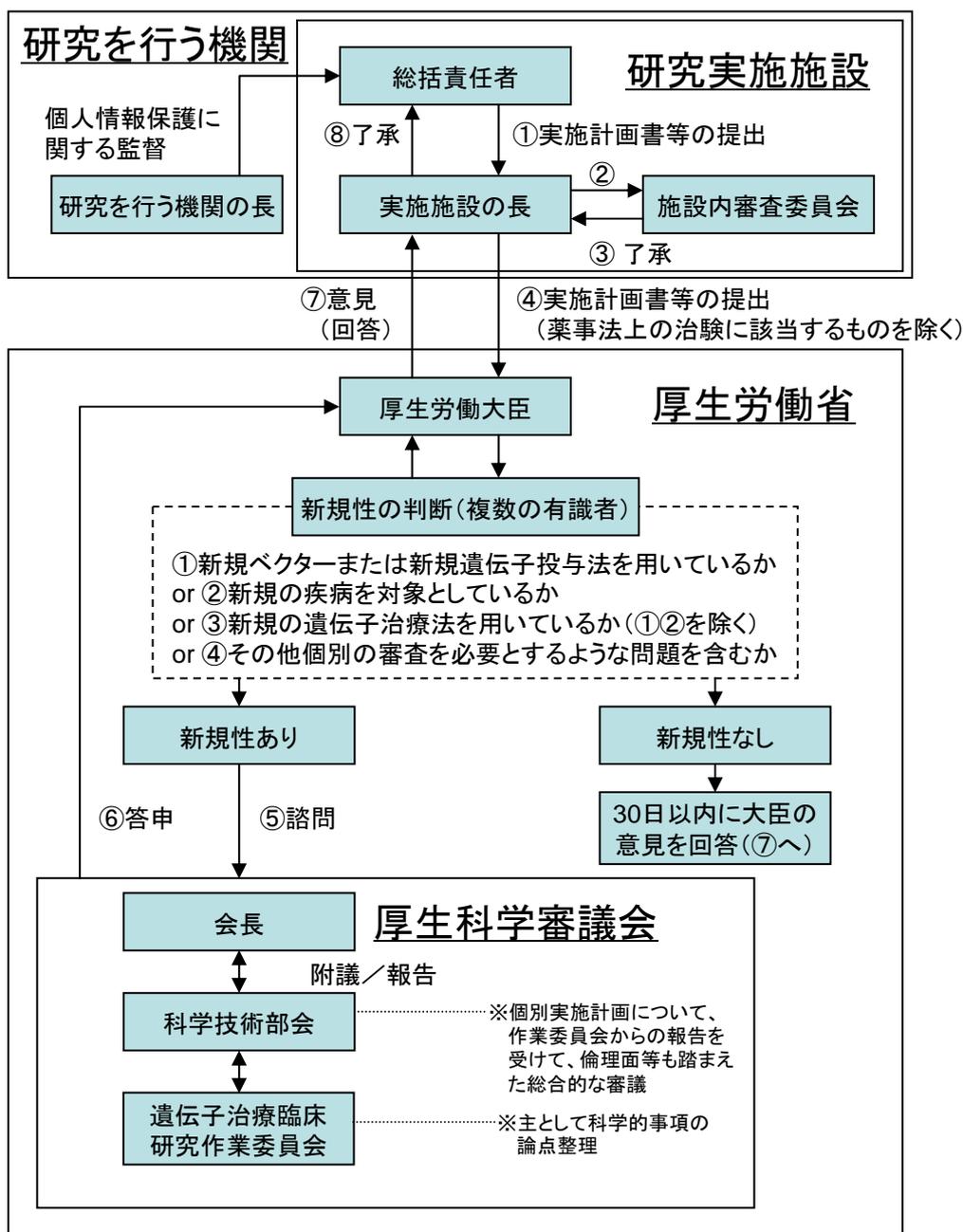
総ビリルビン, GOT (AST), GPT (ALT), Al-P, GGT (γGTP)

我が国で実施されている遺伝子治療臨床研究の一覧について

2006年7月現在

番号	実施施設名	対象疾患	導入遺伝子の種類	導入方法(ベクター)	申請書提出	大臣回答	状態
1	北海道大学医学部附属病院	アデノシンデアミナーゼ(ADA)欠損症	ADA遺伝子	モノマーマウス白血病ウイルス由来レトロウイルスベクター →患者のT細胞に導入し投与	1994/8/31	1995/2/13	終了 2003/3/31
2	東京大学医学部研究所附属病院	腎細胞がん	顆粒球マクロファージ(GM-CSF)遺伝子	モノマーマウス白血病ウイルス由来レトロウイルスベクター →患者の腎がん細胞に導入し投与	1996/12/2	1998/8/10	継続
3	岡山大学医学部附属病院	肺がん(非小細胞肺がん)	p53遺伝子	アデノウイルスベクター →癌組織内に局所投与	1996/12/2	1998/10/23	終了 2003/10/23
4	財団法人癌研究会附属病院及び化学療法センター	乳がん	多剤耐性遺伝子(MDR1)遺伝子	ハーベイマウス肉腫ウイルス由来レトロウイルスベクター →患者の造血幹細胞に導入し投与	2000/7/24 1998/7/14	2000/5/30 2004/1/20	継続
5	千葉大学医学部附属病院	食道がん(進行食道がん)	p53遺伝子	アデノウイルスベクター →癌組織内に局所投与	1998/7/14	2000/5/30	終了 2004/10/20
6	名古屋大学医学部附属病院	悪性グリオーマ	β型インターフェロン遺伝子	正電荷リポソーム →癌組織内に局所投与	1999/4/21	2000/1/17	継続
7	東京慈恵会医科大学附属病院	肺がん(非小細胞肺がん)	p53遺伝子	アデノウイルスベクター →癌組織内に局所投与	1999/4/21	2000/1/17	終了 2003/5/1
8	東北大学加齢医学研究所附属病院(組織統合、医学部附属病院で継続 #12)	肺がん(非小細胞肺がん)	p53遺伝子	アデノウイルスベクター →癌組織内に局所投与	1999/5/14	2000/1/17	施設変更 →#12
9	岡山大学医学部附属病院	前立腺がん	ヘルペスウイルスチミジンキナーゼ遺伝子	アデノウイルスベクター →癌組織内に局所投与	1999/9/16	2000/6/29	終了 2006/1/12
10	東京医科大学病院	肺がん(非小細胞肺がん)	p53遺伝子	アデノウイルスベクター →癌組織内に局所投与	1999/9/17	2000/1/17	終了 2003/7/9
11	大阪大学医学部附属病院	閉塞性動脈硬化化症・パーキンソン病	肝細胞増殖因子(HGF)遺伝子	プラスミドDNA →大腿部筋肉内注射	1999/11/10	2001/5/9	終了 2005/5/9
12	東北大学医学部附属病院	肺がん(非小細胞肺がん)	p53遺伝子	アデノウイルスベクター →癌組織内に局所投与	2000/9/21	2000/9/29	終了 2005/6/24
13	筑波大学附属病院	再発性白血病	ヘルペスウイルスチミジンキナーゼ遺伝子、低親和性神経成長因子受容体の細胞外～細胞膜貫通領域	モノマーマウス白血病ウイルス由来レトロウイルスベクター →ドナーのTリンパ球に導入し投与	2001/9/17	2002/3/14 2003/10/2	継続 (条件付き)
14	東京大学医学部研究所附属病院	神経芽腫	インターロイキン-2遺伝子、リンフオタクチン遺伝子	アデノウイルスベクター →癌組織内に局所投与	2001/10/16	2002/3/14	終了 2003/3/13
15	神戸大学医学部附属病院	前立腺がん	ヘルペスウイルスチミジンキナーゼ遺伝子	アデノウイルスベクター →癌組織内に局所投与	2002/2/15	2003/2/5	継続
16	北海道大学医学部附属病院	ADA欠損症	ADA遺伝子	モノマーマウス白血病ウイルス由来レトロウイルスベクター →患者の造血幹細胞に導入し投与	2002/2/18	2002/6/17 2003/10/2	継続 (条件付き)
17	東北大学医学部附属病院	X連鎖重症複合免疫不全症(X-SCID)	γ鎖遺伝子	モノマーマウス白血病ウイルス由来レトロウイルスベクター →患者の造血幹細胞に導入し投与	2002/2/28	2002/6/17	自主保留中
18	信州大学医学部附属病院	進行期悪性黒色腫	β型インターフェロン遺伝子	正電荷リポソーム →癌組織内に局所投与	2002/8/30	2003/7/1	継続
19	九州大学病院	閉塞性動脈硬化化症・パーキンソン病	塩基性繊維芽細胞増殖因子(FGF-2)遺伝子	センダイウイルスベクター →下肢部筋肉内注射	2002/10/28	2006/1/31	継続
20	北里大学病院	前立腺がん	ヘルペスウイルスチミジンキナーゼ遺伝子	アデノウイルスベクター →癌組織内に局所投与	2006/1/19	審議中	-
21	自治医科大学附属病院	進行期パーキンソン病	芳香族Lアミノ酸脱炭酸酵素(AADC)遺伝子	アデノ随伴ウイルスベクター →一定位脳手術により被殻へ直接注入	2006/1/25	今回審議	-
22	札幌医科大学附属病院	閉塞性動脈硬化化症・パーキンソン病	血管内皮増殖因子(hVEGF)、ヒトアンジオポエチン-1(hAng1)	プラスミドDNA →筋肉内注射	2005/10/28	審議中	-
23	岡山大学医学部・歯学部附属病院	前立腺がん	インターロイキン12遺伝子	アデノウイルスベクター →癌組織内に局所投与(前立腺局所又は転移巣)	2006/7/18	審議中	-

## 「遺伝子治療臨床研究に関する指針」に基づく 審査の流れ



# 遺伝子治療臨床研究に関する指針

## 目次

第一章	総則	1
第二章	被験者の人権保護	3
第三章	研究及び審査の体制	4
第四章	研究実施の手続	6
第五章	厚生労働大臣の意見等	7
第六章	個人情報保護に関する措置	8
第七章	雑則	15

平成14年3月27日  
(平成16年12月28日全部改正)

文 厚 省  
部 生 科 学 省  
生 働 省

## 第一章 総則

### 第一 目的

この指針は、遺伝子治療の臨床研究（以下「遺伝子治療臨床研究」という。）に関し遵守すべき事項を定め、もって遺伝子治療臨床研究の医療上の有用性及び倫理性を確保し、社会に開かれた形での適正な実施を図ることを目的とする。

### 第二 定義

- この指針において「遺伝子治療」とは、疾病の治療を目的として遺伝子又は遺伝子を導入した細胞を人の体内に投与すること及び二に定める遺伝子標識をいう。
- この指針において「遺伝子標識」とは、疾病の治療法の開発を目的として標識となる遺伝子又は標識となる遺伝子を導入した細胞を人の体内に投与することをいう。
- この指針において「研究者」とは、遺伝子治療臨床研究を実施する者をいう。
- この指針において「総括責任者」とは、遺伝子治療臨床研究を実施する研究者に必要な指示を行うほか、遺伝子治療臨床研究を総括する立場にある研究者をいう。
- この指針において「実施施設」とは、遺伝子治療臨床研究が実施される施設をいう。
- この指針において「研究を行う機関」とは、研究を行う機関に該当する法人の代表者及び行政機関の長などの事業者及び組織の代表者をいう。
- この指針において「個人情報」とは、生存する個人に関する情報であつて、当該情報に含まれる氏名、生年月日その他の記述等により特定の個人を識別することができるもの（他の情報と容易に照合することができ、それにより特定の個人を識別することができることとなるものを含む。）をいう。
- この指針において「保有する個人情報」とは、研究を行う機関の長、総括責任者又は研究者が、開示、内容の訂正、追加又は削除、利用の停止、消去及び第三者への提供の停止を行うことのできる権限を有する個人情報であつて、その存否が明らかになることにより公益その他の利益が害されるものとして次に掲げるもの又は6月以内に消去することとなるものを除くもの以外をいう。
  - 当該保有する個人情報の存否が明らかになることにより、被験者又は第三者の生命、身体又は財産に危害が及ぶおそれがあるもの
  - 当該保有する個人情報の存否が明らかになることにより、違法又は不当な行為を助長し、又は誘発するおそれがあるもの

- 当該保有する個人情報存否が明らかになることにより、国の安全が害されるおそれ、他国若しくは国際機関との信頼関係が損なわれるおそれ又は他国若しくは国際機関との交渉上不利を被るおそれがあるもの
- 当該保有する個人情報存否が明らかになることにより、犯罪の予防、鎮圧又は捜査その他の公共の安全と秩序の維持に支障が及ぶおそれがあるもの

### 第三 対象疾患等

- 遺伝子治療臨床研究（遺伝子標識の臨床研究（以下「遺伝子標識臨床研究」という。）を除く。以下この第三で同じ。）の対象は、次のすべての要件に適合するものに限る。
  - 重篤な遺伝性疾患、がん、後天性免疫不全症候群その他の生命を脅かす疾患又は身体機能を著しく損なう疾患であること。
  - 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十分に予測されるものであること。
  - 被験者にとつて遺伝子治療臨床研究により得られる利益が、不利益を上回ることが十分に予測されるものであること。
- 遺伝子標識臨床研究の対象は、次のすべての要件に適合するものに限る。
  - 重篤な遺伝性疾患、がん、後天性免疫不全症候群その他の生命を脅かす疾患又は身体機能を著しく損なう疾患であること。
  - 遺伝子標識臨床研究により得られる医学的知見が、他の方法により得られるものと比較して優れていることが十分に予測されるものであること。
  - 遺伝子標識臨床研究が、被験者に対し実施される治療に組み入れて実施できるものであること。

### 第四 有効性及び安全性

遺伝子治療臨床研究は、有効かつ安全なものであることが十分な科学的知見に基づき予測されるものに限る。

### 第五 品質等の確認

遺伝子治療臨床研究に使用される遺伝子その他の人に投与される物質については、医薬品の臨床試験の実施の基準に関する省令（平成9年厚生省令第28号）第17条第1項において求められる水準に達している施設において製造され、その品質、有効性及び安全性が確認されているものに限る。

### 第六 生殖細胞等の遺伝的改変の禁止

人の生殖細胞又は胚（一の細胞又は細胞群であつて、そのまま又は動物の胎内において発生の過程を経ることにより一の個体に成長する可能性のあるものうち、胎盤の形成を開始する前のものをいう。以下同じ。）の遺伝的改変を目的とした遺伝子治療臨床研究及び人の生殖細胞又は胚の遺伝的改変をもたすおそれのある遺伝子治療臨床研究は、行つてはならない。

- 七 個人情報保護に関し必要な事項
- 八 その他被験者の人権の保護に関し必要な事項

を撤回できること。

＜個人情報保護に関し必要な事項に関する細則＞

- 一 個人情報保護に関し必要な事項には、次に掲げる事項が含まれる。
  - 共同研究を行う場合は、共同研究であること、共同して利用される個人情報の項目、共同して利用する者の範囲、利用する者の利用目的及び当該個人情報の管理について責任を有する者の氏名又は名称
- 二 個人情報を第三者（代諾者を除く。）へ提供する可能性があり、第六章第九の一の1から4に掲げる事項に該当しない場合には、当該内容（第三者へ提供される個人情報の項目など）
- 三 第六章第十の三、第十一の一、第十二の一又は第十三の一若しくは二の規定による求めに応じる手続（第十六の規定により手数料の額を定めたときはその手数料の額を含む）
- 四 個人情報等の取扱に関する苦情の申出先

### 第三章 研究及び審査の体制

#### 第一 研究者

- 一 研究者（総括責任者を除く。）は、総括責任者を補助し遺伝子治療臨床研究の実施計画に関する資料を作成するとともに、当該計画を実施し、総括責任者に対し必要な報告を行わなければならない。
- 二 研究者は、遺伝子治療臨床研究を適正に実施するために必要な専門的知識又は臨床経験を有する者とする。

#### 第二 総括責任者

- 一 総括責任者は、次の業務を行わなければならない。
  - 1 遺伝子治療臨床研究の実施に関して内外の入手し得る資料及び情報に基づき、遺伝子治療臨床研究の医療上の有用性及び倫理性について検討すること。
  - 2 1の検討の結果に基づき、遺伝子治療臨床研究の実施計画を記載した書類（以下「実施計画書」という。）を作成し、実施施設の長の了承を求めること。
  - 3 遺伝子治療臨床研究を総括し、研究者に必要な指示を行うこと。
  - 4 遺伝子治療臨床研究が実施計画書に従い適切に実施されていることを随時確認すること。
  - 5 遺伝子治療臨床研究の進行状況及び結果に関し、実施施設の長及び審査委員会に対し必要な報告を行うこと。
  - 6 1から5までに定めるもののほか、遺伝子治療臨床研究を総括するに当たって必要となる措置を講ずること。
- 二 総括責任者は、一の遺伝子治療臨床研究について一名とし、一に掲げる業務を適確に実施できる者とする。

#### 第三 実施施設

### 第七 適切な説明に基づく被験者の同意の確保

遺伝子治療臨床研究は、適切な説明に基づく被験者の同意（インフォームド・コンセント）が確実に確保されて実施されなければならない。

### 第八 公衆衛生上の安全の確保

遺伝子治療臨床研究は、公衆衛生上の安全が十分確保されて実施されなければならない。

### 第二章 被験者の人権保護

#### 第一 被験者の選定

被験者の選定に当たっては、人権保護の観点から、病状、年齢、同意能力等を考慮し、慎重に検討しなければならない。

#### 第二 被験者の同意

- 一 総括責任者又は総括責任者の指示を受けた医師である研究者（以下「総括責任者等」という。）は、遺伝子治療臨床研究の実施に際し、第三に掲げる説明事項を被験者に説明し、文書により自由意思による同意を得なければならない。
- 二 同意能力を欠く等被験者本人の同意を得ることが困難であるが、遺伝子治療臨床研究を実施することが被験者にとって有用であることが十分に予測される場合には、審査委員会の審査を受けた上で、当該被験者の法定代理人等被験者の意思及び利益を代弁できると考えられる者（以下「代諾者」という。）の文書による同意を得るものとする。この場合においては、当該同意に関する記録及び同意者と当該被験者の関係を示す記録を残さなければならない。

#### 第三 被験者に対する説明事項

- 総括責任者等は、第二の同意を得るに当たり次のすべての事項を被験者（第二の二に該当する場合には、代諾者）に対し十分な理解が得られるよう可能な限り平易な用語を用いて説明しなければならない。
- 一 遺伝子治療臨床研究の目的、意義及び方法
- 二 遺伝子治療臨床研究を実施する機関名
- 三 遺伝子治療臨床研究により予期される効果及び危険
- 四 他の治療法の有無、内容並びに当該治療法により予期される効果及び危険
- 五 被験者が遺伝子治療臨床研究の実施に同意しない場合であっても何ら不利益を受けることはないこと。
- 六 被験者が遺伝子治療臨床研究の実施に同意した場合であっても随時これ

- に係る臨床医、法律に関する専門家及び生命倫理に関する意見を述べるにふさわしい識見を有する者を含めて構成されるものであること。
- 2 審査委員会は、男性委員及び女性委員双方から構成され、複数の外部委員を含むものとする。
- 3 審査委員会における審査が公正に行われるよう審査委員会の活動の自由及び独立が保障されていること。なお、実施計画書を提出している研究者は、審査委員会の求めに応じてその会議に出席し、説明する場合は、当該遺伝子治療臨床研究に関する審査に参加できないものであること。
- 4 審査委員会の構成、組織及び運営並びに公開その他遺伝子治療臨床研究の審査に必要な手続に関する規則が定められ、公開されているものがあること。
- 5 審査委員会による審査の過程は、記録を作成してこれを保管し、個人の情報、研究の独創性及び知的財産権の保護に支障を生じるおそれのある事項を除き公開すること。

## 第四章 研究実施の手続

### 第一 研究の開始の手続

- 一 総括責任者は、遺伝子治療臨床研究を実施するに当たっては、あらかじめ実施計画書を作成し、実施施設の長の了承を得なければならない。
- 二 一の実施計画書には、次の事項を記載しなければならない。
  - 1 遺伝子治療臨床研究の名称
  - 2 総括責任者及びその他の研究者の氏名並びに当該遺伝子治療臨床研究において果たす役割
  - 3 実施設の名称及びその所在地
  - 4 遺伝子治療臨床研究の目的
  - 5 対象疾患及びその選定理由
  - 6 遺伝子の種類及びその導入方法
  - 7 安全性についての評価
  - 8 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
  - 9 遺伝子治療臨床研究の実施計画
  - 10 その他必要な事項
- 三 一の実施計画書には、次の資料を添付しなければならない。
  - 1 研究者の略歴及び研究業績
  - 2 実施施設の施設設備の状況
  - 3 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
  - 4 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
  - 5 その他必要な資料
- 四 実施計画書には、その概要を可能な限り平易な用語を用いて記載した要旨を添付しなければならない。

### 第二 研究中の手続

- 実施施設は、次のすべての要件を満たさなければならない。
  - 一 十分な臨床観察及び検査並びにこれららの結果の分析及び評価を行うことができる人的能力及び施設機能を備えたものであること。
  - 二 被験者の病状に応じた必要な措置を採ることができる人的能力及び施設機能を備えたものであること。
  - 三 審査委員会が置かれているものであること。

## 第四 実施施設の長

- 実施施設の長は、次の業務を行わなければならない。
  - 一 総括責任者から遺伝子治療臨床研究の実施（当該遺伝子治療臨床研究の重大な変更を含む。第四章第三を除き、以下同じ。）の了承を求められた際に、遺伝子治療臨床研究の実施について審査委員会及び厚生労働大臣に意見を求めるとともに、当該意見に基づき必要な指示を与え、実施を承認すること。
  - 二 遺伝子治療臨床研究の進行状況及び結果について、総括責任者又は審査委員会から報告又は意見を受け、必要に応じ、総括責任者に対しその留意事項、改善事項等に関して指示を与え、必要に応じて厚生労働大臣に対し報告を行うこと。
  - 三 総括責任者から受理した総括報告書の写しを速やかに厚生労働大臣に提出すること。
  - 四 被験者の死亡その他遺伝子治療臨床研究の実施に際して生じた重大な事態及び遺伝子治療臨床研究の実施に影響を及ぼすおそれがある情報について、速やかに厚生労働大臣に報告すること。
  - 五 実施施設が大学、大学共同利用機関又は文部科学大臣が所管する法人であつて、法律により直接に設立された法人若しくは民法（明治29年法律第89号）第34条の規定により設立された法人（以下「大学等」という。）である場合においては、一から四までに掲げるもののほか、一の規定による意見の求めの写しを文部科学大臣に提出するとともに、二及び四の規定による報告並びに三の規定による提出を文部科学大臣に対しても行うこと。

## 第五 審査委員会

- 一 審査委員会は、次の業務を行わなければならない。
  - 1 実施計画書等に基づき、当該遺伝子治療臨床研究の実施についてこの指針に即し審査を行い、その適否及び留意事項、改善事項等について、実施施設の長に対し意見を提出するとともに、当該審査の過程の記録を作成し、これを保管すること。
  - 2 遺伝子治療臨床研究の進行状況及び結果について報告を受け、必要に応じて調査を行い、その留意事項、改善事項等について実施施設の長に対し、意見を提出すること。
- 二 審査委員会は、次のすべての要件を満たさなければならない。
  - 1 審査委員会は、遺伝子治療臨床研究の実施に関する医療上の有用性及び倫理性を総合的に審査できるよう分子生物学、細胞生物学、遺伝学、臨床薬理学、病理学等の専門家、遺伝子治療臨床研究の対象となる疾患

総括責任者は、遺伝子治療臨床研究の進行状況を審査委員会及び実施施設の長に随時報告しなければならない。

### 第三 研究の終了の手續

総括責任者は、遺伝子治療臨床研究の終了後直ちに次の事項を記載した総括報告書を作成し、実施施設の長に対し提出しなければならない。

- 一 遺伝子治療臨床研究の目的及びその実施期間
- 二 総括責任者及びその他の研究者の氏名
- 三 実施施設の名称及び所在地
- 四 遺伝子治療臨床研究の実施方法
- 五 遺伝子治療臨床研究の結果及び考察
- 六 その他必要な事項

## 第五章 厚生労働大臣の意見等

### 第一 厚生労働大臣の意見

- 一 厚生労働大臣は、実施施設の長の求めに応じ、あらかじめ当該実施施設における遺伝子治療臨床研究の実施に関し意見を述べるものとする。
- 二 実施施設の長は、第三章第四の一に基づき厚生労働大臣に対し意見を求めるに当たって、次の書類を提出しなければならない。
  - 1 実施計画書及び当該実施計画書に添付する資料
  - 2 審査委員会における審査の過程及び結果を示す書類
  - 3 第三章第五の二の4に定める規則
- 三 厚生労働大臣は、二に基づき意見を求められた場合において、複数の有識者の意見を踏まえ、当該遺伝子治療臨床研究が次に掲げる事項のいずれかに該当すると判断するときは、当該遺伝子治療臨床研究の医療上の有用性及び倫理性について厚生科学審議会の意見を聴くものとする。
  - 1 疾病の治療のための遺伝子が組み込まれたDNA又はこれを含むウイルスその他の粒子であって、当該遺伝子を細胞内に導入する際に用いられる新規のもの又は新規の遺伝子投与方法を用いていること。
  - 2 新規の疾病を対象としていること。
  - 3 新規の遺伝子治療方法を用いていること（一又は二に該当するものを除く。）
  - 4 その他個別の審査を必要とするような事項を含んでいること。
- 四 厚生労働大臣は、三の規定による厚生科学審議会からの意見の聴取が必要ないと判断する場合には、意見を求められた日から三十日以内に、当該遺伝子治療臨床研究の実施に関し意見を述べるものとする。

### 第二 重大な事象等に係る厚生労働大臣の意見

厚生労働大臣は、第三章第四の四に基づき実施施設の長から報告を受けた場合には、必要に応じ、遺伝子治療臨床研究に関して意見を述べるものとする。

## 第三 厚生労働大臣の調査等

厚生労働大臣は、第一の一又は第二の意見を述べるときその他必要があると認めるときは、実施施設の長に対し第一の二に定める書類以外の資料の提出を求めるとともに、当該実施施設の長の承諾を得て当該実施施設の調査その他必要な調査を行うものとする。

## 第四 文部科学大臣への連絡

厚生労働大臣は、実施施設が大学等である場合においては、第一の一又は第二の規定による意見を記載した書面の写しを文部科学大臣に送付するものとする。

## 第六章 個人情報の保護に関する措置

### 第一 研究を行う機関の長の最終的な責務

- 一 研究を行う機関の長は、当該研究機関における遺伝子治療臨床研究の実施に際し、個人情報保護が図られるようにならなければならない。
- 二 研究を行う機関の長は、個人情報保護に関する措置に関し、適正な実施を確保するため必要があると認めるときは、総括責任者に対して、監督上必要な命令をすることができ、
- 三 研究を行う機関の長は、当該機関により定められる規程により、この章に定める権限又は事務を当該機関内の適当な者に委任することができる。

### 第二 利用目的の特定

- 一 総括責任者は、個人情報を取り扱うに当たっては、その利用の目的（以下「利用目的」という。）をできる限り特定しなければならない。
- 二 総括責任者は、個人情報の利用の目的を変更する場合には、変更前の利用目的と相当の関連性を有すると合理的に認められる範囲を超えて行つてはならない。

### 第三 利用目的による制限

- 一 総括責任者は、あらかじめ被験者又は代諾者（以下「被験者等」という。）の同意を得ないで、第二の規定により特定された利用目的の達成に必要な範囲を超えて個人情報を取り扱ってはならない。
- 二 総括責任者は、他の総括責任者から研究を承継することに伴って個人情報取得した場合に、あらかじめ被験者等の同意を得ないで、承継前における当該個人情報の利用目的の達成に必要な範囲を超えて、当該個人情報を取り扱ってはならない。
- 三 一及び二の規定は、次に掲げる場合であって、審査委員会が承認した場合については、適用しない。
  - 1 法令に基づく場合

## 第七 安全管理措置

- 一 研究を行う機関の長は、その取り扱う個人情報情報の漏えい、滅失又はき損の防止その他個人情報情報の安全管理のため、組織的、人的、物理的及び技術的安全管理措置を講じなければならない。
- 二 研究を行う機関の長は、死者に関する個人情報情報が死者の人としての尊厳や遺族の感情及び遺伝情報が血縁者と共通していることに鑑み、生存する個人に関する情報と同様に死者に関する個人情報についても安全管理のため、組織的、人的、物理的及び技術的安全管理措置を講じなければならない。

<安全管理措置に関する細則>  
 組織的、人的、物理的及び技術的安全管理措置とは、取り扱う情報の性質に応じて、必要かつ適切な措置を求めるものである。

- 1. 組織的安全管理措置
  - 組織的安全管理措置とは、安全管理について研究者等の責任と権限を明確に定め、安全管理に対する規程や手順書（以下「規程等」という）を整備運用し、その実施状況を確認することをいう。組織的安全管理措置には以下の事項が含まれる。
    - 個人情報情報の安全管理措置を講じるための組織体制の整備
    - 個人情報情報の安全管理措置を定める規程等の整備と規程等に從った運用
    - 個人情報情報の取扱い状況を一覽できる手段の整備
    - 個人情報情報の安全管理措置の評価、見直し及び改善
    - 事故又は違反への対応
- 2. 人的安全管理措置
  - 人的安全管理措置とは、研究者等に対する、業務上秘密と指定された個人情報情報の非開示契約の締結や教育・訓練等を行うことをいう。人的安全管理措置には以下の事項が含まれる。
    - 雇用契約時及び委託契約時における非開示契約の締結
    - 研究者等に対する教育・訓練の実施

- 3. 物理的安全管理措置
  - 物理的安全管理措置とは、入退館（室）の管理、個人情報情報の盗難の防止等の措置をいう。物理的安全管理措置には以下の事項が含まれる。
    - 入退館（室）管理の実施
    - 盗難等の防止
    - 機器・装置等の物理的保護
- 4. 技術的安全管理措置
  - 技術的安全管理措置とは、個人情報及びそれを取り扱う情報システムのアクセス制御、不正なアクセス対策、情報システムの監視等、個人情報に対する技術的な安全管理措置をいう。技術的安全管理措置には、以下の事項が含まれる。
    - 個人情報へのアクセスにおける識別と認証
    - 個人情報へのアクセス制御
    - 個人情報へのアクセス権限の管理
    - 個人情報のアクセス記録

- 2 人の生命、身体又は財産の保護のために必要がある場合であって、被験者等の同意を得ることが困難であるとき。
- 3 公衆衛生の向上のために特に必要がある場合であって、被験者等の同意を得ることが困難であるとき。
- 4 国の機関若しくは地方公共団体又はその委託を受けた者が法令の定める事務を遂行することに対して協力する必要がある場合であって、被験者等の同意を得ることにより当該事務の遂行に支障を及ぼすおそれがあるとき。

## 第四 適正な取得

総括責任者は、偽りその他不正の手段により個人情報取得してはならない。

## 第五 取得に際しての利用目的の通知等

- 一 総括責任者は、個人情報取得した場合、あらかじめその利用目的を公表している場合を除き、速やかに、その利用目的を、被験者等に通知し、又は公表しなければならない。
- 二 総括責任者は、一の規定にかかわらず、被験者等との間で契約を締結することに伴って契約書その他の書面（電子的方式、磁気的方式その他の他人の知覚によっては認識することができない方式で作られる記録を含む。以下この項において同じ。）に記載された当該被験者の個人情報取得する場合同他被験者等から直接書面に記載された当該被験者の個人情報取得する場合は、あらかじめ、被験者等に対し、その利用目的を明示しなければならない。ただし、人の生命、身体又は財産の保護のために緊急に必要がある場合は、この限りでない。
- 三 総括責任者は、利用目的を変更した場合は、変更された利用目的について、被験者等に通知し、又は公表しなければならない。
- 四 一から三までの規定は、次に掲げる場合であって、審査委員会が承認した場合については、適用しない。
  - 1 利用目的を被験者等に通知し、又は公表することにより被験者又は第三者の生命、身体、財産その他の権利利益を害するおそれがある場合
  - 2 利用目的を被験者等に通知し、又は公表することにより当該研究を行う機関の権利又は正当な利益を害するおそれがある場合
  - 3 国の機関又は地方公共団体が法令の定める事務を遂行することに対して協力する必要がある場合であって、利用目的を被験者等に通知し、又は公表することにより当該事務の遂行に支障を及ぼすおそれがあるとき。
  - 4 取得の状況からみて利用目的が明らかであると認められる場合

## 第六 内容の正確性確保

総括責任者は、利用目的の達成に必要な範囲内において、個人情報を正確かつ最新の内容に保つよう努めなければならない。

個人情報を取り扱う情報システムについての不正ソフトウェア対策

個人情報の移送・通信時の対策

個人情報を取り扱う情報システムの動作確認時の対策

個人情報を取り扱う情報システムの監視

## 第八 委託者等の監督

- 一 総括責任者は、遺伝子治療臨床研究の実施に関し、委託を行う場合は、委託された業務に関して取り扱われる個人情報の安全管理及び個人情報の適切な取扱いが図られるよう、委託を受けた者に対する必要かつ適切な監督を行わなくてはならない。

<委託を受けた者に対する監督に関する細則>

委託を受けた者に対する必要かつ適切な監督とは、例えば委託契約書において、委託者が定める安全管理措置の内容を明示的に規定するとともに、当該内容が遵守されていることを確認することである。

- 二 総括責任者は、研究者に個人情報を取り扱わせるに当たっては、当該個人情報の安全管理が図られるよう、研究者に対し必要かつ適切な監督を行わなければならない。

## 第九 第三者提供の制限

- 一 総括責任者は、次に掲げる場合を除くほか、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。
  - 1 法令に基づく場合
  - 2 人の生命、身体又は財産の保護のために必要がある場合であって、被験者等の同意を得ることが困難であるとき。
  - 3 公衆衛生の向上又は児童の健全な育成の推進のために特に必要がある場合であって、被験者等の同意を得ることが困難であるとき。
  - 4 国の機関若しくは地方公共団体又はその委託を受けた者が法令の定める事務を遂行することに対して協力する必要がある場合であって、被験者等の同意を得ることにより当該事務の遂行に支障を及ぼすおそれがあるとき。
- 二 総括責任者は、第三者に提供される個人情報について、被験者等の求めに応じて当該被験者が識別される個人情報の第三者への提供を停止することとしている場合であって、次に掲げる事項について、あらかじめ、被験者等に通知し、又は被験者等が容易に知り得る状態に置いているときは、一の規定にかかわらず、当該個人情報を第三者に提供することができる。
  - 1 第三者への提供を利用目的とすること。
  - 2 第三者に提供される個人情報の項目
  - 3 第三者への提供の手段又は方法
  - 4 被験者等の求めに応じて当該被験者が識別される個人情報の第三者への提供を停止すること。
- 三 二の2又は3に掲げる事項を変更する場合は、変更する内容について、あらかじめ、被験者等に通知し、又は被験者等が容易に知り得る状態に置かなければならない。

- 四 次に掲げる場合において、当該個人情報の提供を受ける者は、一から三までの規定の適用については、第三者に該当しないため、あらかじめ被験者等の同意を得ずに個人情報を提供することができる。
  - 1 総括責任者が利用目的の達成に必要な範囲内において個人情報の取扱いの全部又は一部を委託する場合
  - 2 研究の承継に伴って個人情報が提供される場合
  - 3 個人情報特定の者との間で共同して利用する場合であって、その旨並びに共同して利用される個人情報の項目、共同して利用する者の範囲、利用する者の利用目的及び当該個人情報の管理について責任を有する者の氏名又は名称について、あらかじめ、被験者等に通知し、又は被験者等が容易に知り得る状態に置いているとき。
- 五 総括責任者は、四の3に規定する利用する者の利用目的又は個人情報の管理について責任を有する者の氏名若しくは名称を変更する場合は、変更する内容について、あらかじめ、被験者等に通知し、又は被験者等が容易に知り得る状態に置かなければならない。

## 第十 保有する個人情報に関する事項の公表等

- 一 総括責任者は、保有する個人情報に関し、次に掲げる事項について、被験者等の知り得る状態（被験者等の求めに応じて遅滞なく回答する場合を含む。）に置かなければならない。
  - 1 当該研究を行う機関の名称
  - 2 すべての保有する個人情報の利用目的(第五の四の1から3までに該当する場合を除く。)
  - 3 二、第十一の一、第十二の一又は第十三の一若しくは二の規定による求めに応じる手続（第十六の規定により手数料の額を定めるときは、その手数料の額を含む。)
  - 4 保有する個人情報の取扱いに関する苦情の申出先
- 二 総括責任者は、被験者等から、当該被験者が識別される保有する個人情報の利用目的の通知を求められたときは、被験者等に対し、遅滞なく、これを通知しなければならぬ。ただし、次の各号のいずれかに該当する場合は、この限りでない。
  - 1 一の規定により当該被験者が識別される保有する個人情報の利用目的が明らかでない場合
  - 2 第五の四の1から3までに該当する場合
  - 3 総括責任者は、二の規定に基づき求められた保有する個人情報の利用目的を通知しない旨の決定をしたときは、被験者等に対し、遅滞なく、その旨を通知しなければならない。

## 第十一 個人情報の開示

- 一 総括責任者は、被験者等から、当該被験者が識別される保有する個人情報の開示（当該被験者が識別される保有する個人情報が存在しないときにその旨を知らせることを含む。以下同じ。）を求められたときは、被験者等に対し書面の交付による方法（被験者等が同意した方法があるときには、当該方法）で開示しなければならない。ただし、開示することにより次の

利益を保護するため必要なこれに代わるべき措置をとるときは、この限りでない。

三 総括責任者は、一の規定に基づき求められた保有する個人情報全部若しくは一部について利用停止等を行ったとき若しくは利用停止等を行わない旨の決定をしたとき、又は二の規定に基づき求められた保有する個人情報の全部若しくは一部について第三者への提供を停止したとき若しくは第三者への提供を停止しない旨の決定をしたときは、被験者等に対し、遅滞なく、その旨を通知しなければならない。

<利用停止等に関する細則>

以下の場合については、利用停止等の措置を行う必要はない。

- ・ 訂正等の求めがあった場合であっても、利用目的から見て訂正等が必要でない場合、誤りである指摘が正しくない場合又は 訂正等の対象が事実でなく評価に関する情報である場合
- ・ 利用停止等、第三者への提供の停止の求めがあった場合であっても、手続違反等の指摘が正しくない場合

### 第十四 理由の説明

総括責任者は、第十の三、第十一の二又は第十二の二又は第十三の三の場合には、被験者等から求められた措置の全部又は一部について、その措置をとらない旨を通知する場合またはその措置と異なる措置をとる旨を通知する場合は、被験者等に対し、その理由を説明するよう努めなければならない。なお、この場合、被験者等の要求内容が事実でないこと等を知らせることにより、被験者等の精神的負担になり得る場合等、説明を行うことが必ずしも適当でないことがあり得ることから、事由に応じて慎重に検討のうえ、対応しなくてはならない。

### 第十五 開示等の求めに応じる手続

一 総括責任者は、第十の二、第十一の一、第十二の一又は第十三の一若しくは二の規定による求め（以下「開示等の求め」という。）に関し、以下の事項につき、その求めを受け付ける方法を定めることができる。この場合において、被験者等は、当該方法に従って、開示等の求めを行わなければならない。

- 1 開示等の求めの申し出先
  - 2 開示等の求めに際して提出すべき書面（電子的方式、磁気的方式その他人の知覚によっては認識することができない方式で作られる記録を含む。）の様式その他の開示等の求めの方式
  - 3 開示等の求めをする者が被験者等であることの確認の方法
  - 4 手数料の徴収方法
- 二 総括責任者は、被験者等に対し、開示等の求めに関し、その対象となる保有する個人情報特定するに足りる事項の提示を求めることができる。この場合において、総括責任者は、被験者等が容易かつ的確に開示等の求めをすることができるよう、当該保有する個人情報の特定に資する情報の提供その他被験者等の利便性を考慮した適切な措置をとらなければならない。

いずれれかに該当する場合は、その全部又は一部を開示しないことができる。被験者又は第三者の生命、身体、財産その他の権利利益を害するおそれがある場合

二 研究を行う機関の業務の適正な実施に著しい支障を及ぼすおそれがある場合

三 他の法令に違反することとなる場合

二 総括責任者は、一の規定に基づき求められた情報の全部又は一部を開示しない旨の決定をしたときは、被験者等に対し、遅滞なく、その旨を通知しなければならない。

三 他の法令の規定により、被験者等に対し一の本文に規定する方法に相当する方法により当該被験者が識別される保有する個人情報の全部又は一部の保有する個人情報については、一の規定は、適用しない。

### 第十二 訂正等

一 総括責任者は、被験者等から、当該被験者が識別される保有する個人情報の内容が事実でないという理由によって、当該保有する個人情報に対して訂正、追加又は削除（以下「訂正等」という。）を求められた場合は、その内容の訂正等に関して法令の規定により特別の手続が定められている場合を除き、利用目的の達成に必要な範囲において、遅滞なく必要な調査を行い、その結果に基づき、当該保有する個人情報の内容の訂正等を行わなければならない。

二 総括責任者は、一の規定に基づき求められた個人情報の全部若しくは一部について訂正等を行ったとき、又は訂正等を行わない旨の決定をしたときは、被験者等に対し、遅滞なく、その旨（訂正等を行ったときは、その内容を含む。）を通知しなければならない。

### 第十三 利用停止等

一 総括責任者は、被験者等から、当該被験者が識別される保有する個人情報第三の規定に違反して取り扱われているという理由又は第四の規定に違反して取得されたものであるという理由によって、当該保有する個人情報の利用の停止又は消去（以下「利用停止等」という。）を求められた場合であって、その求めに理由があることが判明したときは、違反を是正するために必要限度で、遅滞なく、当該保有する個人情報の利用停止等を行わなければならない。ただし、当該保有する個人情報の利用停止等に多額の費用を要する場合その他の利用停止等を行うことが困難な場合であって、被験者の権利利益を保護するため必要なこれに代わるべき措置をとるときは、この限りでない。

二 総括責任者は、被験者等から、当該被験者が識別される保有する個人情報第九の一の規定に違反して第三者に提供されているという理由によって、当該保有する個人情報の第三者への提供の停止を求められた場合であって、その求めに理由があることが判明したときは、遅滞なく、当該保有する個人情報の第三者への提供を停止しなければならない。ただし、当該保有する個人情報の第三者への提供の停止に多額の費用を要する場合その他の第三者への提供を停止すること困難な場合であって、被験者の権利利益を保護するため必要なこれに代わるべき措置をとるときは、この限りでない。

三 総括責任者は、一及び二の規定に基づき開示等の求めに応じる手続きを定めるに当たっては、被験者等に過重な負担を課するものとならないよう配慮しなければならない。

## 第十六 手数料

研究を行う機関の長は、第十の二の規定による利用目的の通知又は第十一の二の規定による開示を求められたときは、当該措置の実施に関し、手数料を徴収することができる。また、その場合には実費を勘案して合理的であると認められる範囲内において、その手数料の額を定めなければならない。

## 第十七 苦情の対応

研究を行う機関の長は、被験者等からの苦情等の窓口を設置する等、被験者等からの苦情や問い合わせ等に適切かつ迅速に対応しなければならない。なお、苦情等の窓口は、被験者等にとって利用しやすいように、担当者の配置、利用手続等に配慮しなくてはならない。

## 第七章 雑則

### 第一 記録の保存

実施施設の長は、遺伝子治療臨床研究に関する記録に関し、保管責任者を定め、適切な状態の下で、研究終了後少なくとも五年間保存しなければならないものとする。

### 第二 秘密の保護

研究者、審査委員会の委員、実施施設の長その他研究に携わる関係者は、遺伝子治療臨床研究を行う上で知り得た個人に関する秘密を正当な理由なく漏らしてはならないものとする。その職を辞した後も同様とする。

### 第三 情報の公開

実施施設の長は、計画又は実施している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。

### 第四 啓発普及

研究者は、あらゆる機会を利用して遺伝子治療臨床研究に関し、情報の提供等啓発普及に努めるものとする。

### 第五 適用除外

第二章から第六章まで及び本章第二及び第四の規定は、薬事法（昭和 3 5

年法律第 1 4 5 号)に定める治験に該当する遺伝子治療臨床研究については、適用しない。

## 第六 細則

この指針に定めるもののほか、この指針の施行に関し必要な事項は、別に定める。

## 第七 施行期日等

- 一 この指針は、平成 1 7 年 4 月 1 日から施行する。
- 二 この指針の施行前に旧指針等の規定によってした手続その他の行為であつて、この指針に相当の規定があるものは、この指針の相当の規定によってしたものとみなす。