

第9回科学技術部会	資料
平成14年 6月 6日	1-1

北海道大学医学部附属病院の  
遺伝子治療臨床研究実施計画について

# 北海道大学医学部附属病院遺伝子治療臨床研究実施計画書

## 目 次

	(頁)
1. 遺伝子治療臨床研究実施計画申請書及び概要書 ……………	1
(当初：平成14年2月18日)	
2. 遺伝子治療臨床研究実施計画概要書 ……………	9
(最終：平成14年5月31日)	
3. 遺伝子治療臨床研究実施計画書 ……………	15
4. 遺伝子治療臨床研究のための説明と同意書 ……………	85
5. 施設内審査委員会関係資料 ……………	99
(審査経過、結果、規定、委員名簿)	
参考：遺伝子治療臨床研究に関する指針 ……………	105

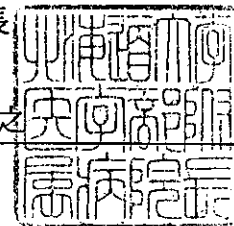
別紙様式第 1

遺伝子治療臨床研究実施計画申請書

平成 1 4 年 2 月 1 8 日

厚生労働大臣 殿

実 施 施 設	所在地	札幌市北区北 1 4 条西 5 丁目 (郵便番号) 060-8648
	名称	北海道大学医学部附属病院 011-716-1161(電話番号) 011-747-1622(FAX番号)
	代表者 役職名・氏名	北海道大学医学部附属病院長 加 藤 紘 之 (職印)



下記の遺伝子治療臨床研究について、別紙様式第 2 の実施計画に対する意見を求めます。

記


遺伝子治療臨床研究の課題名	総括責任者の所属・職・氏名
アデノシンデアミナーゼ欠損症における血液幹細胞を標的とする遺伝子治療臨床研究	北海道大学大学院医学研究科病態制御学専攻 遺伝子治療講座(寄附講座) 客員教授 崎 山 幸 雄


別紙様式第1の別添

遺伝子治療臨床研究実施計画概要書

平成14年 2月18日

研究の名称	アデノシンデアミナーゼ欠損症における血液幹細胞を標的とする遺伝子治療臨床研究
研究実施期間	承認日 年 月 日から平成17年 3月31日まで

総括責任者	所属部局の所在地	札幌市北区北15条西7丁目 (郵便番号060-8638)	
	所属機関・部局・職	北海道大学・大学院医学研究科・客員教授	
	氏名	崎山 幸雄 	
実施の場所	所在地	札幌市北区北15条西7丁目 (060-8368)・札幌市北区北14条西5丁目 (060-8648)	
	名称	北海道大学大学院医学研究科病態制御学専攻遺伝子治療講座・北海道大学医学部附属病院	
	連絡先	北海道大学大学院医学研究科病態制御学専攻遺伝子治療講座 (電話番号 011-700-5321)	
総括責任者以外の研究者	氏名	所属機関・部局・職	役割
	小林 邦彦	北海道大学・大学院医学研究科・教授	患者診療全般
	有賀 正	北海道大学・大学院医学研究科・客員助教授	遺伝子導入操作全般 遺伝子導入基礎実験
	川村 信明	北海道大学・大学院医学研究科・講師	患者の免疫機能解析・評価
	立澤 幸	国立小児病院・小児科医長	治療前後の患者の診療
	小野寺 雅史	筑波大学・基礎医学系・講師	ベクター開発
F.Candotti	米国国立衛生研究所・主任研究員	ベクター供与	

審査委員会 が 研究計画の実施を 適当と認める理由	別紙のとおり	
	審査委員会の長の職名	氏名
	北海道大学医学部附属病院 遺伝子治療臨床研究審査委員会 委員長代行 副委員長	小池 隆夫 

研究区分	○遺伝子治療臨床研究 遺伝子標識臨床研究
研究目的	<p>アデノシンデアミナーゼ(ADA)欠損による重症複合免疫不全症(SCID)患児に対する根治治療としてはヒト主要組織適合抗原(HLA)の一致する血縁骨髄ドナーによる血液幹細胞移植(HST)がある。しかし、このようなドナーの存在しない患児に対する根治治療は確立されていない。1990年、米国国立衛生研究所 M.Blaese 博士らは酵素補充療法下の ADA 欠損症患児に対し、末梢血リンパ球を標的にレトロウイルスベクター LASN による遺伝子治療を試み、その有効性を示唆した。我々も1995年8月から1997年3月までに同様の方法で「アデノシンデアミナーゼ欠損症における遺伝子治療臨床研究」を実施し、その有効性と安全性を示した。しかし、末梢血リンパ球を標的とする遺伝子治療では、その効果に制約が予測され、実際に体内での遺伝子導入細胞の存在は極めて限られている。</p> <p>酵素補充療法下の ADA 欠損症患児に対し、自己血液幹細胞を標的にレトロウイルスベクターによる ADA 遺伝子治療臨床研究を実施して、その安全性、遺伝子導入効率を検討し、ADA 遺伝子導入から免疫機構の再建におよぼす効果を解析する。また末梢血中にベクター由来 ADA 遺伝子を発現する細胞の存在とその持続を確認できた時には、遺伝子導入 T 細胞のレベルと機能を評価するために酵素補充療法の漸減、中断を検討する。</p>
対象疾患及びその選定理由	<p>対象疾患は ADA 欠損による SCID である。この疾患は免疫機構が再建されなければ、早期に重症感染症により死の転帰となる重篤な免疫不全症である。現在唯一の免疫機構の再建法は HLA 一致の血縁骨髄ドナーによる HST である。HLA 一致の血縁骨髄ドナーのいない対象患児らは、牛由来のポリエチレングリコール修飾 ADA(PEG-ADA)による酵素補充療法を受けている。</p> <p>対象患児の一例は、既に PEG-ADA 療法下に末梢血リンパ球を標的とする遺伝子治療臨床研究を実施した症例である。この遺伝子治療臨床研究の臨床的な有効性は現在も認められるが、遺伝子導入細胞はごく一部の T 細胞で、その効果は PEG-ADA 療法の継続下にあり、かつ持続期間に限りが予測される。他の一例は一昨年誕生し、HLA 一致の血縁骨髄ドナーがいない ADA 欠損症患児である。診断後、PEG-ADA 療法を開始し、2年を経過しているが、リンパ球数低値、低<math>\gamma</math>グロブリン血症は持続しており静注用免疫グロブリンの定期的補充などの感染予防対策が必須の状況で、複合免疫不全の状態にある。</p> <p>遺伝子治療の安全性は 3000 症例を超える臨床研究によってほぼその評価が確立された。血液幹細胞はリンパ系幹細胞に欠陥を有する原発性免疫不全症に対する遺伝子治療の理想的な標的として考えられている。しかし、ADA 欠損症に対する血液幹細胞を標的とする遺伝子治療はこれまでに試みはなされているが、有効性を認める報告は見いだされず、遺伝子導入などにいくつかの技術的な問題点が指摘されていた。最近になって血液幹細胞の分離法、ベクターの改良、遺伝子導入法の改善等に進展が認められ、X 連鎖 SCID 症例に対し、臨床的に有効性を認めた血液幹細胞を標的とする遺伝子治療例の報告がなされた。</p> <p>このような背景と基礎研究の結果から、2名の ADA 欠損症患児に対する自己血液幹細胞を標的とする遺伝子治療臨床研究はその適応になると判断した。</p>

<p>遺伝子の種類及びその導入方法</p>	<p>導入を計画している遺伝子は、ヒト ADA の全ての翻訳領域を含む ADAcDNA である。遺伝子導入には、レトロウイルスベクター GCsap M-ADA を用いる。このベクターはその LTR プロモーターに myeloproliferative sarcoma virus (MPSV) 遺伝子を使用し、選択遺伝子を含まず、gibbon ape leukemia virus (GaLV) envelope (env) をもつ PG13 細胞をパッケージングに用いている。</p> <p>標的となる血液幹細胞は患児の骨髓血から CD34 陽性を指標として選別される。CD34 陽性細胞は、フィブネクチンフラグメント/CH-296 上で SCF, Flt-3L, TPO と培養後、GCsap M-ADA 産生細胞株の上清を用いて遺伝子導入される。この遺伝子導入操作は 12 時間間隔で 4 回実施、遺伝子導入 CD34 陽性細胞は生理的食塩水で良く洗浄後、患児静脈内に点滴静注で投与される。</p>
-----------------------	--

<p>安全性についての評価</p>	<p>本遺伝子治療臨床研究はレトロウイルスベクター GCsap M-ADA を用いて、患児の自己骨髓血 CD34 陽性細胞を標的に、体外 (ex vivo) 導入法で行われる。使用する GCsap M-ADA は、その安全性が増殖性レトロウイルス (RCR) の検索などを中心に master cell bank, ウイルス産生細胞培養上清などについて検討され、米国食品医薬品局 (FDA) によってヒト遺伝子治療臨床研究への使用が認可されているレトロウイルスベクターである。</p> <p>遺伝子治療臨床研究が実施されてから 10 年以上が経過している。2001 年 9 月までの集計ではレトロウイルスベクターを用いた遺伝子治療臨床研究は 1755 症例に行われて重篤な副作用の報告はない。RCR の発生や、ランダムに組み込まれる事に基づく癌の発生などの重大な副作用は理論上は考えうるが、極めて稀である事が臨床研究からも裏付けられている。RCR の検出に関しては、以前の遺伝子治療臨床研究同様の方法 (env 遺伝子の PCR 法, 逆転写酵素活性の測定, S+L-法) で検索する。</p> <p>ex vivo 導入法での標的細胞の操作過程で病原性微生物が混入する可能性については、予備実験によって十分に予防されている事を確認している。遺伝子導入細胞の投与前に塗沫検鏡して病原体の混入を検索する。</p> <p>患児は遺伝子治療臨床研究の開始前後を通じて免疫抑制剤の使用を受けないし、PEG-ADA 療法も常に考慮されるので、遺伝子治療臨床研究によって不利益をもたらされることはない。</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>本研究の遺伝子導入に用いるレトロウイルスベクターは、安全性試験を通過した GCsap M-ADA 産生細胞株の培養上清として共同研究者の F. Candotti 博士より供与を受けることで了解を得ている。</p> <p>「アデノシンデアミナーゼ欠損症における遺伝子治療臨床研究」に使用した施設・機器・器具等はそのまま使用可能であり、実施者も細胞の分離等の操作に習熟している。CD34 陽性細胞の分離、その細胞への遺伝子導入、導入遺伝子の評価に関する操作は臍帯血、ボランティアの骨髓血を用いて繰り返し検討済みで、その技術を修得している。</p> <p>A.Fisher 博士らは X-SCID を対象とし、本研究とはほぼ同様の方法で患児骨髓血 CD34 陽性細胞を用いた遺伝子治療を実施し、その有効性を報告している。</p> <p>予備実験として対象患児の骨髓血 CD34 陽性細胞を分離して GCsap M-ADA による遺伝子導入を行った。この遺伝子導入 CD34 陽性細胞を NOD/SCID マウスの尾静脈内に投与し、移植 6 - 8 週後にマウス体内でヒト B 細胞の存在と導入遺伝子を見出して血液幹細胞への遺伝子導入を確認した。骨髓血 CD34 陽性細胞を標的とする本研究の成果も十分に期待できると考える。</p>
---------------------------	---

実施計画	<p>ADA 欠損症の 2 症例を対象とする。一例は 1995 年 8 月～1997 年 3 月まで PEG-ADA 療法下に末梢血リンパ球を標的とし、レトロウイルスベクター LASN を用いた遺伝子治療臨床研究を実施した男児である。遺伝子治療臨床研究によって臨床的、免疫学的に有効性を認めたが、PEG-ADA 療法の継続、治療効果の持続期間など問題点が残されている。他の一例は、1999 年生まれの女児で PEG-ADA 療法がほぼ 2 年間継続されているが、その治療効果は不十分である。</p> <p>患児骨髓から全身麻酔下に骨髓血を採取し、Isolex 300i にて CD34 陽性細胞を分離してこれを標的とする。GCsap M-ADA を用いて遺伝子導入を行い、その後、静脈内へ遺伝子導入 CD34 陽性細胞を投与する。</p> <p>投与後は患児の末梢血単核球または骨髓細胞を用いて導入遺伝子、ADA 遺伝子の発現、免疫機能、RCRなどを解析しながら患児の状態を経過観察する。導入遺伝子の検索はレトロウイルスベクター LASN と GCsap M-ADA を区別して検出する系を用いて検討する。</p> <p>患児は PEG-ADA 療法（2 症例とも）と共に、静注用免疫グロブリン製剤の投与、カリニ肺炎に対するスルファメトキサゾール・トリメトプリム合剤の予防内服を継続している（1 症例のみ）。本遺伝子治療臨床研究によって骨髓血細胞、末梢血細胞における遺伝子発現を確認後はそのレベルと免疫機構の再建を確認するために PEG-ADA 療法、感染予防対策の漸減、中断を検討する。</p>
備考	<p>本計画に関連する組換え DNA 実験計画（封じ込めレベル P2B1）は平成 12 年、北海道大学組換え DNA 実験安全委員会において承認済である。また、本計画は平成 13 年 1 月 9 日付けで北海道大学医学部附属病院遺伝子治療臨床研究審査委員会において承認済である。</p>

## 北海道大学医学部附属病院遺伝子治療臨床研究審査委員会審査結果

北海道大学医学部附属病院遺伝子治療臨床研究審査委員会は、本学医学研究科遺伝子治療講座（寄附講座）および本院小児科（医学研究科小児発達医学分野）から申請のあった遺伝子治療臨床研究「アデノシンデアミナーゼ欠損症における血液幹細胞を標的とする遺伝子治療臨床研究」の計画について、委員会を開催して審査を行った。審査にあたっては、実施計画の内容が厚生省「遺伝子治療臨床研究に関する指針」および文部省「大学等における遺伝子治療臨床研究に関するガイドライン（平成6年文部省告示第79号）の一部改正について」に基づき、これらに対応しているかどうかについて慎重に検討した。この結果、以下の各要件を全て満たしているとの結論を得た。

### 1. 有効性及び安全性の確保

本申請の対象疾患であるアデノシンデアミナーゼ（ADA）欠損症に対する遺伝子治療臨床研究は既に本院において1995年から末梢血T細胞を標的に実施済みであり、その有効性、安全性を確認している。また今回申請の計画書においては、以下2で述べる治癒の可能性があり、3で述べる研究体制も万全であり、4で述べるベクターの品質確認等においても安全性が確保されていると判断される。

### 2. 対象疾患等

ADA欠損症はこれまでに1)骨髄ドナーの要件が満たされたときには同種骨髄細胞の移植、そのようなドナーが存在しない時には2)ポリエチレングリコール結合ウシADA（PEG-ADA）の投与によって治療されてきた。さらに、PEG-ADAでの治療効果が部分的な場合には3)末梢血リンパ球を標的とする遺伝子治療臨床研究が試みられてきた。しかし、1)は有用性が確立されているが、ドナーがいる症例はほぼ20%に過ぎないこと、2)は免疫機構の再建が部分的であること、3)は既に当該研究者等が実施して、その効果を確認したが、持続が一時的であることなどがそれぞれ問題となっている。

これに対して、今回申請の遺伝子治療臨床研究は、自己血液幹細胞を標的に遺伝子を導入することにより、遺伝子発現はより広範囲の血液細胞に半ば永久的に維持され、これらによってPEG-ADAの中断も可能になる効果が期待される。即ち本研究計画によってADA欠損症の治療が期待される。

### 3. 研究体制

本申請では、既設の遺伝子組換えレベルP2の遺伝子治療臨床研究室で遺伝子導入操作が行われる。総括責任者、共同研究者は前回の遺伝子治療臨床研究を経験し、かつその業績並びに今回の臨床研究のための基礎研究からも、研究体制に問題なしと判断される。

(1)



#### 4. 品質確認等

(1)本申請の遺伝子治療臨床研究を実施するに当たって、安全性を確保するために重要な確認事項はレトロウイルス同士間あるいはベクターとヒト内因性レトロウイルス間に組換えが起こり、新たな感染性を持った増殖性ウイルスが生じていないことを証明することである。本申請で用いられるベクターは、既に実施された遺伝子治療臨床研究に使用されたベクターに比してこのような組換えが起こらないような更なる工夫がほどこされている（参考文献）。

本申請で使用されるレトロウイルスベクター、レトロウイルスベクター産生細胞はアメリカ合衆国FDAの審査に合格したものであり、安全性を確認する資料が計画書に添付されている（ベクター関連資料）。

増殖性ウイルスは時間の経緯と共に産生される可能性があるため、治療前、治療後においても申請者によってその検索がなされる。

(2)レトロウイルスベクターのプロモーター領域が、挿入された近傍にある癌原遺伝子や癌抑制遺伝子をそれぞれ活性化したり、不活性化して発癌に結びつく可能性が指摘されている。しかし、この可能性を事前に検索することは不可能である。またレトロウイルスベクターを使用したこれまでの遺伝子治療臨床研究は症例数で1000例を超えており、これまでの所、関連する副反応は見出されておらず、その可能性は極めて低いと考えられる。この可能性を憂慮して治療を行わないことより、むしろこの治療によって得られる恩恵を家族のインフォームドコンセントを得て優先させるべきである。

(3)多分化能を持つ血液幹細胞が標的であることの安全性に関してはアデノシンデアミナーゼ遺伝子はハウスキーピング遺伝子であり、本来全ての血液細胞に発現していることから、リンパ球以外の細胞での発現も特に問題とならないものと判断される。

#### 5. 適切な説明に基づく被験者（親権者）の同意の確保

本申請においては、既に実施された遺伝子治療臨床研究において使用された「説明と同意書」に新たな治療内容を加えて文部省「大学等における遺伝子治療臨床研究に関するガイドライン（平成6年文部省告示第79号）の一部改正について」に基づき作成された「説明と同意書」に対して親権者から同意が得られている（添付資料3）。

#### 6. 被験者の人権保護

十分配慮されていると判断される。

平成14年1月9日

北海道大学医学部附属病院遺伝子治療臨床研究審査委員会

副委員長 小池 隆夫

(2)

別紙様式第1の別添

遺伝子治療臨床研究実施計画概要書

平成14年 2月18日

研究の名称	アデノシンデアミナーゼ欠損症における血液幹細胞を標的とする遺伝子治療臨床研究
研究実施期間	承認日 年 月 日から平成17年 3月31日まで

総括責任者	所属部局の所在地	札幌市北区北15条西7丁目 (郵便番号060-8638)	
	所属機関・部局・職	北海道大学・大学院医学研究科・客員教授	
	氏名	崎山 幸雄 (印)	
実施の場所	所在地	札幌市北区北15条西7丁目 (060-8368)・札幌市北区北14条西5丁目 (060-8648)	
	名称	北海道大学大学院医学研究科病態制御学専攻遺伝子治療講座・北海道大学医学部附属病院	
	連絡先	北海道大学大学院医学研究科病態制御学専攻遺伝子治療講座 (電話番号 011-700-5321)	
総括責任者以外の研究者	氏名	所属機関・部局・職	役割
	小林 邦彦	北海道大学・大学院医学研究科・教授	患児診療全般
	有賀 正	北海道大学・大学院医学研究科・客員助教授	遺伝子導入操作全般・遺伝子導入基礎実験
	大津 真	北海道大学・大学院医学研究科・特別研究員	遺伝子発現細胞の解析
	川村 信明	北海道大学・大学院医学研究科・講師	患児の免疫機能解析・評価
	立澤 宰	国立成育医療センター・膠原病・感染症科医長	治療前後の患児の診療
	小野寺 雅史	筑波大学・基礎医学系・講師	予備実験用ベクター供与
F.Candotti	米国国立衛生研究所・主任研究員	臨床用ベクター供与	

審査委員会 が 研究計画の実施を 適当と認める理由	別紙のとおり	
	審査委員会の長の職名	氏名
	北海道大学医学部附属病院 遺伝子治療臨床研究審査委員会 委員長代行 副委員長	小池 隆夫 (印)

研究区分	○遺伝子治療臨床研究                      遺伝子標識臨床研究
研究目的	<p>アデノシンデアミナーゼ(ADA)欠損による重症複合免疫不全症(SCID)患児に対する根治治療としてはヒト主要組織適合抗原(HLA)の一致する血縁骨髄ドナーによる骨髄移植がある。しかし、このようなドナーの存在しない患児に対する根治治療は確立されていない。1990年、米国国立衛生研究所 M.Blaese 博士らは酵素補充療法下の ADA 欠損症患児に対し、末梢血リンパ球を標的にレトロウイルスベクター LASN による遺伝子治療を試み、その有効性を示唆した。我々も 1995年8月から1997年3月までに同様の方法で「アデノシンデアミナーゼ欠損症における遺伝子治療臨床研究」を実施し、その有効性と安全性を示した。しかし、末梢血リンパ球を標的とする遺伝子治療では、その効果に制約が予測され、実際に体内での遺伝子導入細胞の存在は極めて限られている。</p> <p>酵素補充療法下の ADA 欠損症患児に対し、<u>酵素補充療法を中断もしくは可及的に減量した上で血液幹細胞を標的にレトロウイルスベクターによる ADA 遺伝子治療臨床研究を実施して、その安全性、遺伝子導入効率を検討し、免疫機構の再建におよぼす効果を解析する。</u></p>
対象疾患及びその選定理由	<p>対象疾患は ADA 欠損による SCID である。この疾患は免疫機構が再建されなければ、早期に重症感染症により死の転帰となる重篤な免疫不全症である。現在唯一の免疫機構の再建法は HLA 一致の血縁骨髄ドナーによる骨髄移植である。HLA 一致の血縁骨髄ドナーのいない対象患児らは、牛由来のポリエチレングリコール修飾 ADA(PEG-ADA)による酵素補充療法を受けている。</p> <p>対象患児の一例は、既に PEG-ADA 療法下に末梢血リンパ球を標的とする遺伝子治療臨床研究を実施した症例である。この遺伝子治療臨床研究の臨床的な有効性は現在も認められるが、遺伝子導入細胞はごく一部の T 細胞で、その効果は PEG-ADA 療法の継続下であり、かつ持続期間に限りが予測される。他の一例は一昨年誕生し、HLA 一致の血縁骨髄ドナーがいない ADA 欠損症患児である。診断後、PEG-ADA 療法を開始し、2年を経過しているが、リンパ球数低値、低<math>\gamma</math>グロブリン血症は持続しており静注用免疫グロブリンの定期的補充などの感染予防対策が必須の状況で、複合免疫不全の状態にある。</p> <p>遺伝子治療の安全性は 3000 症例を超える臨床研究によってほぼその評価が確立された。血液幹細胞はリンパ系幹細胞に欠陥を有する原発性免疫不全症に対する遺伝子治療の理想的な標的として考えられている。しかし、ADA 欠損症に対する血液幹細胞を標的とする遺伝子治療はこれまでに試みはなされているが、有効性を認める報告は見いだされず、遺伝子導入法などにいくつかの技術的な問題点が指摘されていた。最近になって血液幹細胞の分離法、ベクターの改良、遺伝子導入法の改善等に進展が認められ、<u>X 連鎖 SCID 症例における血液幹細胞を標的とする遺伝子治療例では多分化能をもつ細胞への遺伝子導入が技術的に可能になったことを裏付ける報告がなされた。</u></p> <p>このような背景と基礎研究の結果から、<u>ADA 欠損症患児に対する自己血液幹細胞を標的とする遺伝子治療臨床研究はその適応になると判断した。</u></p>

<p>遺伝子の種類及びその導入方法</p>	<p>導入を計画している遺伝子は、ヒト ADA の全ての翻訳領域を含む ADAcDNA である。遺伝子導入には、レトロウイルスベクター GCsap M-ADA を用いる。このベクターはその LTR プロモーターに myeloproliferative sarcoma virus (MPSV) 遺伝子を使用し、選択遺伝子を含まず、gibbon ape leukemia virus (GaLV) envelope (env) をもつ PG13 細胞をパッケージングに用いている。</p> <p>標的となる血液幹細胞は患児の骨髄血から CD34 陽性を指標として選別される。CD34 陽性細胞は、フィブロネクチンフラグメント/CH-296 上で SCF, Flt-3L, TPO と培養後、GCsap M-ADA 産生細胞株の上清を用いて遺伝子導入される。この遺伝子導入操作は 12 時間間隔で 4 回実施、遺伝子導入 CD34 陽性細胞は生理的食塩水で良く洗浄後、患児静脈内に点滴静注で投与される。</p>
-----------------------	---

<p>安全性についての評価</p>	<p>本遺伝子治療臨床研究はレトロウイルスベクター GCsap M-ADA を用いて、患児の自己骨髄血 CD34 陽性細胞を標的に、体外 (ex vivo) 導入法で行われる。使用する GCsap M-ADA は、その安全性が増殖性レトロウイルス (RCR) の検索などを中心に master cell bank, ウイルス産生細胞培養上清などについて検討され、米国食品医薬品局 (FDA) によってヒト遺伝子治療臨床研究への使用が認可されているレトロウイルスベクターである。</p> <p>遺伝子治療臨床研究が実施されてから 10 年以上が経過している。これまでの集計ではレトロウイルスベクターを用いた遺伝子治療臨床研究はほぼ 2000 症例に行われて重篤な副作用の報告はない。しかし RCR の発生や、ランダムに組み込まれる事に基づく癌の発生などの重大な副作用は理論上は考えうる。</p> <p>また、ヒト血液幹細胞を標的とする遺伝子導入の安全性は確立されておらず、導入遺伝子によってはマウス血液幹細胞を標的にした遺伝子導入で白血病を発症することも報告されている。本研究で導入する遺伝子はヒト体細胞の全てが発現する ADA 遺伝子のみであり、RCR の検出に関しては、以前の遺伝子治療臨床研究同様の方法 (env 遺伝子の PCR 法, 逆転写酵素活性の測定, S+L-法) で検索する。</p> <p>ex vivo 導入法での標的細胞の操作過程で病原性微生物が混入する可能性については、予備実験によって十分に予防されている事を確認している。遺伝子導入細胞の投与前に塗抹検鏡して病原体の混入を検索する。</p> <p>患児は遺伝子治療臨床研究の開始前後を通じて免疫抑制剤の使用を受けないし、PEG-ADA 療法も常に考慮されるので、この遺伝子治療臨床研究によって直接的な不利益をもたらされる可能性は極め少ない。</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>本研究の遺伝子導入に用いるレトロウイルスベクターは、安全性試験を通過した GCsap M-ADA 産生細胞株の培養上清として共同研究者の F. Candotti 博士より供与を受けることで了解を得ている。</p> <p>「アデノシンデアミナーゼ欠損症における遺伝子治療臨床研究」に使用した施設・機器・器具等はそのまま使用可能であり、実施者も細胞の分離等の操作に習熟している。CD34 陽性細胞の分離、その細胞への遺伝子導入、導入遺伝子の評価に関する操作は臍帯血、ボランティアの骨髓血を用いて繰り返し検討済みで、その技術を修得している。</p> <p><u>A.Fisher 博士らは X 連鎖 SCID を対象とし、本研究とほぼ同様の遺伝子導入方法で患児骨髓血 CD34 陽性細胞を標的にレトロウイルスベクターを用いた遺伝子治療を実施し、末梢血 T,NK 細胞での遺伝子発現の持続を報告している。</u></p> <p><u>予備実験として対象患児の骨髓血 CD34 陽性細胞を分離して GCsap M-ADA による遺伝子導入を行った。この遺伝子導入 CD34 陽性細胞を NOD/SCID マウスの尾静脈内に投与し、移植 6 - 8 週後にマウス骨髓、脾臓でヒト B 細胞の存在と導入遺伝子を見出して血液幹細胞への遺伝子導入を確認した。骨髓血 CD34 陽性細胞を標的に遺伝子導入を実施し、その効果、安全性を評価することが可能と考える。</u></p>
----------------------------------	---

<p>実施計画</p>	<p>別紙 (2) の通り</p>
<p>備考</p>	<p><u>説明と同意の考え方</u></p> <p><u>両親から文書による説明同意を得る。患者本人が読み書き可能な場合は、本人から同意を両親の文書同意とともに文書で得る。</u></p>

## 北海道大学医学部附属病院遺伝子治療臨床研究審査委員会審査結果

北海道大学医学部附属病院遺伝子治療臨床研究審査委員会は、平成14年5月13日第2回の会議を開き、本院申請の「アデノシンデアミナーゼ欠損症における血液幹細胞を標的とする遺伝子治療臨床研究」に対する厚生労働省小児免疫不全疾患遺伝子治療臨床研究作業委員会の実施計画に対する検討、補正等の意見（以下「意見」）に基づいて、総括責任者が作成した回答書、一部修正、追加した新実施計画書について、次のように審査したので報告する。

### 1. 全般的事項について

新実施計画書は、ほぼ「意見」どおりに修正、追加されていると判断される。

- 1) 前処置については患児の安全性が損なわれる可能性（特に対象症例2）が強く危惧されるので、これを行わないことを認めた。
- 2) アダジェンによる酵素補充療法の中断についてはその対応を含めて十分にご両親に説明して同意を得るよう要請した。
- 3) 対象症例の実施順位に関しては基本的にはより免疫能の再検が得られている症例1でその安全性を確認して症例2に適応することを認めた。

### 2. 実施計画概要書について

新実施計画概要書は、ほぼ「意見」どおりに修正、追加されていると判断される。

### 3. 説明及び同意書について

- 1) 新説明および同意書はほぼ「意見」どおりに記載が整理されていると判断される。
- 2) 本遺伝子治療の目的の一部は永続的効果を得ることではあるが、自己複製能を持つ血液幹細胞への遺伝子導入とその発現の維持が確立されていない現状での臨床研究であることを十分に踏まえた記載であるよう要請した。
- 3) 対象症例1の11歳患児には患者用の説明および同意者を作成するよう要請した。
- 4) 骨髄血採取についてその具体的方法、身体的負担などの説明書を別途作成し、ご両親と患者に十分説明するよう要請した。

平成14年5月13日

北海道大学医学部附属病院遺伝子治療臨床研究審査委員会

副委員長

小池 隆夫 