

第 9 回 科学技術部会	資 料
平成 1 4 年 6 月 6 日	2 - 1

東 北 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

# 東北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28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 ……………	69
5. 施設内審査委員会関係資料 ……………	81
(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 ……………	89

別紙様式第 1

遺伝子治療臨床研究実施計画申請書

平成14年 2月28日

厚生労働大臣 坂 口 力 殿

実施施設	所在地	仙台市青葉区星陵町1-1 (郵便番号)
	名称	東北大学医学部附属病院 022-717-7145 (電話番号) 022-717-7016 (FAX番号)
	代表者 役職名・氏名	東北大学医学部附属病院長 玉 井 信 (職印)

下記の遺伝子治療臨床研究について、別添の実施計画に対する意見を求めます。

記

遺伝子治療臨床研究の課題名	総括責任者の所属・職・氏名
X連鎖重症複合免疫不全症(X-SCID)に対する 遺伝子治療臨床研究	東北大学医学部附属病院 小児腫瘍科長 教授 土 屋 滋


## 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28日

研究の名称	X連鎖重症複合免疫不全症(X-SCID)に対する遺伝子治療臨床研究
研究実施期間	厚生労働大臣による了承の日より2年間

総括責任者	所属部局の所在地	仙台市青葉区星陵町1-1	(郵便番号 980-8574)
	所属機関・部局・職	東北大学医学部附属病院 小児腫瘍科長 教授	
	氏名	土屋 滋	(印)
実施の場所	所在地	仙台市青葉区星陵町1-1	(郵便番号 980-8574)
	名称	東北大学医学部附属病院	
	連絡先	仙台市青葉区星陵町1-1 東北大学医学部附属病院 小児腫瘍科	(電話番号 022-717-8490)
総括責任者以外の研究者	氏名	所属機関・部局・職	役割
	菅村和夫	東北大学大学院医学系研究科 生体防御学講座免疫学分野 教授	副総括責任者として総括責任者を補佐し、研究全体の指導を行う
	飯沼一字	東北大学医学部附属病院 小児科長 教授	患者の選定、患者への説明及び同意の取得、臨床観察、効果判定
	松原洋一	東北大学医学部附属病院 遺伝科長 教授	患者の選定、患者への説明及び同意の取得、遺伝子診断、遺伝子相談、効果判定
	久間木 悟	東北大学医学部附属病院 小児腫瘍科 助教授	患者の選定、患者への説明及び同意の取得、 $\gamma$ c鎖遺伝子導入、患者管理、効果判定
	峯岸正好	東北大学医学部附属病院 輸血部 助教授	骨髄細胞からのCD34陽性細胞の分離、 $\gamma$ c鎖遺伝子導入
	今泉益栄	東北大学大学院医学系研究科 小児腫瘍学分野 助教授	患者の選定、患者への説明及び同意の取得、患者管理、効果判定
浅尾裕信	東北大学大学院医学系研究科 生体防御学講座免疫学分野 助教授	$\gamma$ c鎖遺伝子導入、免疫機能の評価	

	大橋 芳之	東北大学医学部附属病院 小児腫瘍科 助手	患者への説明及び同意の 取得、患者からの骨髄採 取、患者管理
	浅田 洋司	東北大学医学部附属病院 小児腫瘍科 助手	患者への説明及び同意の 取得、患者からの骨髄採 取、患者管理
	阿南 和昭	東北大学医学部附属病院 小児腫瘍科 助手	患者への説明及び同意の 取得、患者からの骨髄採 取、患者管理
	石井 直人	東北大学大学院医学系研究科 生体防御 学講座免疫学分野 助手	$\gamma$ c 鎖遺伝子導入、免疫機 能の評価
	佐藤 篤	東北大学医学部附属病院 小児科 助手	患者への説明及び同意の 取得、患者からの骨髄採 取、患者管理
その 他の 共同 研究 者	氏 名	所 属 機 関 ・ 部 局 ・ 職	役 割
	Alain Fischer	Necker 小児病院、パリ大学 V 教授	Necker 小児病院で実際 に行われた X-SCID に対 する遺伝子治療につい ての情報提供、 $\gamma$ c 鎖を 含むレトロウイルスベク ターの供給
	小宮山 淳	信州大学医学部小児科学講座 教授	厚生労働省特定疾患血 液系疾患調査研究班原 発性免疫不全症候群分 科会を介しての本研究 の共同研究体制の確立
審査委員会が研究計画の 実施を適当と認める理由	本研究計画については、「遺伝子治療臨床研究に関する指針（平成 6年厚生省告示第23号）」及び「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）」に基づき 臨床研究の目的、遺伝子導入方法、フランスにおける研究成果、安 全性及び有効性及び患者（法定代理人等）に対するインフォームド コンセント等について審議した結果、科学的及び倫理的妥当性、医 の倫理に適合し、いずれも患者の倫理性、安全性、権利を保証し、 新たな遺伝子治療臨床研究として東北大学医学部附属病院で実施 する上で、必要な条件を満たしていると判断した。		
	審査委員会の長の職名	氏 名	
	東北大学大学院医学系研究 科外科病態学講座消化器外 科学分野教授	松野 正紀	

研究の区分	○遺伝子治療臨床研究      遺伝子治療標識研究
研究の目的	<p>(1) X連鎖重症複合免疫不全症 (X-SCID) 患者に対する<math>\gamma c</math>鎖遺伝子を用いた遺伝子治療の安全性を確認する。</p> <p>(2) 上記遺伝子導入 CD34 陽性細胞が患者体内で正常に分化し、結果として患児の免疫不全状態が改善されるかどうかについて経過観察を行う。</p> <p>(3) 遺伝子導入した<math>\gamma c</math>鎖の発現が長期的に維持されるかどうかを検討する。</p>
対象疾患及びその選定理由	<p>X-SCID は末梢血とリンパ組織における T 細胞及び NK 細胞の欠如あるいは著減で特徴づけられる遺伝性疾患であり、伴性劣性の遺伝形式をとる。X-SCID は重症複合免疫不全症 (SCID) の約半数を占め、約 150,000 人に 1 人の割合で出生する。この疾患の原因遺伝子は<math>\gamma c</math>鎖遺伝子で、IL-2、IL-4、IL-7、IL-9、IL-15 及び IL-21 の受容体の一部を形成する。このため、<math>\gamma c</math>鎖遺伝子に変異を有する本疾患では、これらのサイトカインによるシグナルを細胞内へ伝達できずに T 細胞及び NK 細胞の発生が障害され、B 細胞も機能的に異常となる。</p> <p>X-SCID 患者は生後早期より様々な種類の重症感染症 (細菌、寄生虫、真菌、ウイルス) に繰り返し罹患し、治療が行なわれなければ乳幼児期に死亡する。現在確立している唯一の有効な治療法は同種骨髄移植である。HLA 一致ドナーが家族内に存在する場合の生存率は 90%以上と良好であるが、それ以外の場合は、非血縁 HLA 一致ドナーか血縁 HLA ハプロタイプ不一致ドナーから移植を受けることになる。患者は重篤感染症に罹患する危険性が高いため非血縁 HLA 一致ドナーを確保する時間的余裕がなく、血縁 HLA ハプロタイプ不一致ドナーからの移植が標準的な治療法となる。本治療法による X-SCID 患者生存率は最も成績の良い報告で約 70%である。HLA ハプロタイプ不一致骨髄移植の問題点は 1) 非自己のリンパ球が移入され移植片対宿主病 (GVHD) を起こす可能性があること、2) T 細胞の生着が遅延し 3~4 ヶ月間免疫不全状態が持続するため、その間致命的ウイルス感染症の危険にさらされること、3) 生着後も B 細胞機能不全が続く、40~60%の患者で生涯にわたるガンマグロブリン補充療法が必要となること、4) NK 細胞は末梢血に出現しないことが多いこと、5) 約 20%の症例で生着が認められず再移植が行われていること、6) 自己免疫性溶血性貧血が約 20%の症例に発症することなどから満足のいくものとはいえない。</p> <p>一方、本臨床研究の共同研究者である Alain Fischer 博士らは既にフランスで家族内に HLA 一致ドナーの存在しない 5 例の X-SCID 患者に対して<math>\gamma c</math>鎖を用いた遺伝子治療を施行し、うち 4 例で T 細胞の数と機能が時間の経過と共にほぼ完全に正常化し、免疫不全状態の改善も認めている。特に最初の 2 症例については詳細な報告がなされていて、その結果から本遺伝子治療と上述の HLA ハプロタイプ不一致骨髄移植を比較すると、本遺伝子治療の利点として 1) T 細胞が治療後 1~2 カ月めと早期に出現したこと、2) 血清中の免疫グロブリン値は正常域となり免疫グロブリンの補充療法を中止できたこと、3) NK 細胞の出現が認められたこと、4) GVHD や自己免疫性溶血性貧血などの合併を認めなかったことがあげられる。学会で追加公表された 3 症例と上述の 2 症例の経過から、本治療法の利点として、上記 1) 4) が再確認された。</p> <p>さらに、初期に治療を受けた 2 症例については遺伝子治療後 2 年以上経っても T 細胞の数と機能が維持され、免疫グロブリンの補充も必要なく、自宅で元気に通常の生活を送っていると報告された。遺伝子治療の問題点としては、1) NK 細胞の数が時間経過と共に減少傾向にあること、2) B 細胞中の<math>\gamma c</math>鎖陽性率は 5%以下と少ないこと、3) 1 症例で遺伝子治療後、播種性 BCG 感染症による巨大な脾腫を伴い、末梢血では<math>\gamma c</math>鎖を発現した T 細胞の発現がみられなかったことがあげられる。3) については SCID に対する血縁 HLA ハプロタイプ不一致骨髄移植でも同様の報告があることから遺伝子治療の副作用であるとは考えにくい。長期予後についてはこれからの課題であるが、家族内に HLA 一致ドナーの存在しない X-SCID 患者に対する<math>\gamma c</math>鎖を用いた遺伝子治療は有効かつ安全であると考えられた。</p>

<p>遺伝子の種類及びその導入方法</p>	<p>本臨床研究で導入を計画している遺伝子はヒト<math>\gamma c</math>鎖の野生型・完全長 cDNA である。Moloney murine leukemia virus (MLV) 由来である MFG ベクターにこの<math>\gamma c</math>鎖 cDNA を組み込んだ組み換えレトロウイルスベクター-MFG/B2-<math>\gamma c</math> を患者の細胞に導入する。ヒト<math>\gamma c</math>鎖 cDNA は MLV 由来である組み換えレトロウイルスベクター-MFG/B2-<math>\gamma c</math> によって標的細胞内に導入された後、MFG/B2-<math>\gamma c</math> の long terminal repeat (LTR) 内のプロモーターによって mRNA に転写され、<math>\gamma c</math>鎖遺伝子の開始コドン ATG からヒト<math>\gamma c</math>鎖が翻訳される。</p> <p>本臨床研究の標的細胞は X-SCID で欠損している T 細胞及び NK 細胞、そして機能的に異常な B 細胞などのリンパ球に分化できる能力を有する造血系の前駆細胞である。CD34 陽性細胞を標的として遺伝子を導入すれば、造血幹細胞のゲノム中に導入遺伝子が組み込まれることになり、造血幹細胞から供給される末梢血細胞中に導入遺伝子が持続的に発現することになる。</p> <p>遺伝子導入法は、患者の骨髄から採取した細胞から CD34 陽性細胞を選択的に分離し、サイトカイン (SCF、Flt3-L、TPO、IL-3 を含む) による前刺激を加えた後、レトロウイルスベクターを含むウイルス産生細胞の培養上清を用いて計 3 サイクルの感染を行う (3 日間連日)。遺伝子導入された自家 CD34 陽性細胞は十分に洗浄された後、経静脈的に患者に再び戻される。</p>
<p>これまでの研究の成果</p>	<p><i>In vitro</i> で行われた X-SCID 患者細胞への<math>\gamma c</math>鎖遺伝子を含むレトロウイルスベクターを用いた遺伝子導入実験の結果から、B 細胞株のみならず、骨髄細胞でも遺伝子導入した<math>\gamma c</math>鎖の発現は安定で、<math>\gamma c</math>鎖を受容体とするサイトカインに対する反応も正常化することが示された。また、遺伝子導入した骨髄細胞を SCF と IL-15 を含んだ培地で培養すると、6 週間後には NK 細胞に分化した。一方、マウス胎仔胸腺 (抗癌剤によって T 細胞を死滅させる) と<math>\gamma c</math>鎖遺伝子導入を行った骨髄細胞を SCF、Flt3-L、IL-7、IL-1<math>\alpha</math>、IL-15 存在下で共培養すると、T 細胞が出現した。</p> <p>遺伝子治療の動物モデルとして、<math>\gamma c</math>鎖ノックアウトマウスに対する<math>\gamma c</math>鎖を用いた遺伝子治療もおこなわれ、免疫系の再構築に成功している。<math>\gamma c</math>鎖ノックアウトマウスの骨髄細胞をサイトカインで刺激した後に<math>\gamma c</math>鎖を含むレトロウイルスベクターを用いて遺伝子導入を行い、致死量の全身放射線照射を受けた<math>\gamma c</math>鎖ノックアウトマウスに経静脈的に移入したもので、正常の<math>\gamma c</math>鎖を発現した T 細胞、B 細胞、NK 細胞が出現した。さらに遺伝子治療をしたマウスの骨髄細胞を別のノックアウトマウスに移入したところ、<math>\gamma c</math>鎖遺伝子導入骨髄細胞は生着し、はじめのマウスと同様なリンパ球系細胞の再構築を示した。また、細胞内領域を欠失した<math>\gamma c</math>鎖を細胞表面上に発現する X-SCID のモデルマウスにおいても遺伝子治療により免疫系の再構築に成功している。</p> <p>ヒトにおいても、本臨床研究の共同研究者である Alain Fischer 博士らは、既にフランスで HLA 一致同胞の存在しない 5 例の X-SCID 患者に対して<math>\gamma c</math>鎖を用いた遺伝子治療を施行し、4 例で免疫不全状態の改善を認めている。この臨床研究は現在も進行中である。</p>
<p>安全性についての評価</p>	<p>ウイルスベクター産生細胞 MFG-96B2<math>\gamma c</math> の master cell bank (MCB) はフランス Paris の INSERM U429 にあり、液体窒素に保存されている。レトロウイルスベクター-MFG/B2-<math>\gamma c</math> は現在フランスの Genopoeitics 社がクリニカルグレードベクターとして管理しており、最終製品について、Genopoeitics 社及び Genethon 社などにおいて A.F.S.S.A.P.S. (French Agency for the Medical Safety of Health Products) 及び Agence du Medicament (National Drug Agency) の基準に従い安全試験が行われたものを輸入する。輸入されたレトロウイルスベクター-MFG/B2-<math>\gamma c</math> の最終製品は、本臨床研究実施責任者の所属機関である東北大学加齢医学研究所・発達病態研究分野にて受け入れ試験を行う。</p> <p>使用するレトロウイルスベクター-MFG/B2-<math>\gamma c</math> は構造タンパク質をコードしている遺伝子を欠損しているため複製能力を持たない。本臨床研究で使用予定のレトロウイルスベクターを含むウイルス上清はフランスで行われた X-SCID の遺伝子治療で実際に用いられたウイルス上清と同じクリニカルロットのものを用いる。遺伝子治療を施行された X-SCID 患者では、遺伝子治療後 2 年以上経過観察されているが、複製能力のあるウイルス粒子は検出されていない。さらにこれまでに行われた他のレトロウイルスベクター</p>

	<p>を用いた遺伝子治療においても、レトロウイルス導入細胞が個体に戻された後に増殖性レトロウイルスを発生したという報告は現在までのところみあたらない。よって本臨床研究において増殖性ウイルスが患者の体内に出現する可能性は極めて低いと考えられる。</p> <p>レトロウイルス遺伝子は標的細胞の染色体にランダムに取り込まれる。レトロウイルスベクターの組み込みが細胞の増殖に関わる遺伝子に障害を及ぼした場合、感染細胞は死に到り、患者本人に影響を及ぼさない。一方、レトロウイルスの組み込み部位近傍に癌原性遺伝子が存在し、遺伝子挿入によりその癌原性遺伝子の発現が誘導された場合、細胞癌化の可能性が出てくる。しかし、臨床遺伝子治療実施症例や数多くの動物実験の結果からその可能性は極めて低いものと推定されている。</p> <p>本研究において導入される遺伝子の産物は、本来正常のヒト造血細胞に発現している<math>\gamma c</math>鎖と同じもので、生理的な蛋白質である。さらに遺伝子治療対象患者は重症の免疫不全状態にあり、抗体を産生できない。また、CD34陽性造血幹細胞に遺伝子導入するので、T細胞は前駆細胞の段階から<math>\gamma c</math>鎖蛋白質を発現する。そのため遺伝子導入後新しく胸腺内で分化するT細胞はこの蛋白質に寛容となる。</p> <p>以上のことから新たに遺伝子導入された<math>\gamma c</math>鎖蛋白質によって免疫反応は起こらないと考えられる。実際、フランスで施行されたX-SCIDに対する遺伝子治療では問題となるような副作用は報告されていない。</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>東北大学医学部附属病院小児病棟では原発性免疫不全症患者を含め、年間約10～15例の同種造血幹細胞移植を施行しており、無菌的治療管理法について習熟しており、その治療管理ユニットは確立している。</p> <p>X-SCIDの発症頻度は約15万人に1人と比較的にまれな疾患であるが、本臨床研究実施責任者の所属施設である東北大学加齢医学研究所・発達病態研究分野は、厚生労働省特定疾患血液系疾患調査研究班・原発性免疫不全症候群分科会において、X-SCIDの診断施設に指定され、年間5～6例のX-SCID患者の<math>\gamma c</math>鎖遺伝子変異を同定している。これは本邦で発症するX-SCID患者の大部分をカバーしていることになる。本臨床研究の実施にあたり、同研究班原発性免疫不全症候群分科会長で、本研究の共同研究者でもある小宮山淳教授を介し同分科会の協力を得て、東北大学医学部附属病院小児病棟を本臨床研究の中心施設として機能させる予定である。</p> <p>本臨床研究の共同研究者であるAlain Fischer博士らは、既にフランスのNecker小児病院にて、家族内にHLA一致ドナーの存在しない5例のX-SCID患者に対して本臨床研究と同じレトロウイルスベクターを用い、同じ方法で遺伝子治療を施行している。結果は5例中4例で免疫不全状態の改善が認められている。そのうち、1年以上経過観察された2例ではT細胞およびNK細胞の<math>\gamma c</math>鎖発現と機能が維持され、さらにB細胞の一部にも正常<math>\gamma c</math>鎖が発現し、免疫グロブリンの補充なしで、普通の生活を送ることができている。本臨床研究で使用されるベクターはフランスのGenopointics社から供与される。副総括責任者の菅村和夫は研究担当医師である久間木悟と共に2000年8月、Necker小児病院を訪問し、Alain Fischer博士と本研究について詳細な打ち合わせを行った。さらに久間木悟は文部省在外研究員として同病院に1か月間滞在し、実際に行なわれているX-SCID患者の遺伝子治療について具体的な手順を習得した。</p> <p>X-SCIDの基礎的研究においても本臨床研究の研究者である東北大学医学部細菌学教室（現東北大学大学院医学系研究科・生体防御学講座免疫学分野）菅村和夫教授のグループが、1992年にX-SCIDの責任遺伝子である<math>\gamma c</math>鎖遺伝子のクローニングを世界に先駆けて成功している。現在までに本臨床研究者グループによるX-SCIDの発症原因及び病態についての膨大な基礎的研究の積み重ねがある。</p>
<p>実施計画</p>	<p>本遺伝子治療臨床研究では、家族内にHLA一致ドナーが存在しないX-SCID患者を対象とする。患者は厚生労働省特定疾患血液系疾患調査研究班・原発性免疫不全症候群分科会の協力を得て、日本全国から東北大学医学部附属病院小児病棟へ搬送する予定である。</p> <p>インフォームド・コンセントによる同意を取得後、野生型<math>\gamma c</math>鎖遺伝子を用いた遺伝子治療を開始する。まずX-SCID患者から骨髓液を採取し、CD34陽性細胞を免疫磁気ビーズによるポジティブセレクション法で回収後、<i>ex vivo</i>でフィブロネクチンフラグメントCH296をあらかじめコートしてあるバッグを用い、SCF、Flt3-L、TPO、IL-3を添加した培地中で24時間培養する。その後、<math>\gamma c</math>鎖遺伝子を組み</p>



	<p>込んだレトロウイルスベクター (MFG/B2-<math>\gamma</math>c) を含むウイルス産生細胞の培養上清を3日間連続で加え、遺伝子導入を行う。遺伝子導入したCD34陽性細胞は十分洗浄した後、経静脈的にX-SCID患者に戻す。</p> <p>また、遺伝子導入した細胞の一部を用いて遺伝子導入効率と<math>\gamma</math>c鎖発現の検討、増殖性レトロウイルスの検索、無菌試験、エンドトキシン試験などを行う。その後、定期的にT細胞、B細胞、NK細胞の数およびその機能を検査し、それぞれの細胞分画における<math>\gamma</math>c鎖発現の変化を経時的に追う。また、長期的な患者の予後、QOLおよび安全性についても検討する。</p>
備 考	<p>1. 説明と同意の考え方</p> <p>通常この病気は、生後1年以内に発症するため、担当医師は親権者（両親がいる場合は両親、片親の場合は片親のみ）に対し十分な説明を行った上で、文書による説明同意を得る。しかし、患者本人が理解可能な年齢に達している場合には、患者本人にも医師から年齢に応じた説明を、保護者あるいは第三者の立ち会いのもとに行う。具体的には患者本人が読み書き可能な場合は、本人からの同意を親権者の文書同意とともに文書で得る。患者本人が読み書き不能な場合は、年齢に応じた説明を口頭で行い、本人からの口頭による承諾を親権者の同意とともに得る。但し、両親の一方が遠方にいる、外国に居住しているなど、両親から文書による説明同意を得ることが著しく困難な場合には、両親の一方から同意を得る。なお、親がいない場合は親権者から文書による説明同意を得る。</p> <p>2. 審査委員会の承認</p> <p>本遺伝子治療臨床研究の実施計画については、平成14年2月21日（木）開催の東北大学医学部附属病院遺伝子治療臨床研究審査委員会で承認されたものである。</p>