

<p>安全性について の評価 (続き)</p>	<p>(6) 染色体内への遺伝子が組み込まれる場合の問題点 非伝播型組換えセンダイウイルスベクターは細胞質で転写・複製が行なわれるため、宿主染色体と相互作用を行なわない。よって染色体内へ遺伝子が組み込まれることは理論的にないと考えられる。</p> <p>(7) 癌原性の有無 上記のごとく、非伝播型組換えセンダイウイルスベクターは細胞質で転写・複製が行なわれるため、宿主染色体と相互作用を行なわない。よって染色体内へ遺伝子が組み込まれることは理論的になく、宿主癌遺伝子の活性化などの危険性はレトロウイルスベクターなどと比較して極めて低い。 またセンダイウイルスの構造蛋白に関しては、宿主細胞の細胞周期制御蛋白や細胞内増殖シグナルを活性化することを示した報告はなく、事実我々のセンダイウイルスベクターを投与した経験においても、細胞が増殖亢進を示した例は全くない。</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>本臨床試験研究計画は有効性が大きいに期待できる上、ヒトに対し非病原性ウイルスを用いているため安全性が高い。さらには懸念される急性毒性が、少なくとも治療効果発現投与量においてアデノウイルスベクターより遥かに少ないことが証明されており、宿主染色体との相互作用をしないことから発癌の可能性や子孫への影響が極めて低い。</p> <p>それに加え、既にベクターのGMP生産技術の確立・ベクター供給体制の整備も既に終了しており、近日中に九州大学医学部附属病院内に遺伝子治療専用病室を設置する予定としている。さらには九州大学医学部附属病院第2外科は、重症虚血肢に関する永年の豊富な診療経験と優れた診断技術・治療成績、経験豊富なスタッフを擁しており、本臨床試験の対象となる患者も多く診療している。</p> <p>以上から本遺伝子治療臨床研究は十分に実施可能であると判断する。</p>

実施計画	<p><u>1) 全体の治療計画</u></p> <p>十分なインフォームド・コンセントにより、患者ならびに親族の文書による2度にわたる了承を得た後、以下の方法によって臨床試験を実施する（添付資料2-1、2-2参照）。</p> <p>1) 術前に手術室にて腰椎硬膜持続麻酔チューブを挿入し、前日よりソル・メドロール125 mgを点滴静注する。以後3日間点滴を継続する。</p> <p>2) 術当日、23ゲージ注射針にて大腿および下腿に計20-30ヶ所、組換え非伝播型センダイウイルスベクター液を注入する。</p> <p>3) 血液中のVEGF、HGF、FGF2濃度、逆転写PCRによる血液中の組み換えセンダイウイルスゲノムの検出を投与7日前、投与6時間後、1、2、4、7、14、28日後に行う。また血液中のサイトカインレベル（IL-1、-4、-6、-8、TNF、INF-gamma）を同様に測定する。</p> <p>4) 同意の得られた患者から投与後2日目に筋生検により局所の組織細胞を採取し、逆転写PCR、ELISA法にて遺伝子発現、蛋白の定量を行う。</p> <p>5) 施術前、施術後3、12、24、36、48、60ヵ月後に血管造影、MR血管造影により側副血行路形成状態などを経時的に観察し、毎月非侵襲的診断法にて臨床症状や血流状態の経過を観察する。</p> <p><u>2) 被験者の選択基準および除外項目</u></p> <p>以下の条件を満たす患者を対象とする。</p> <p>(1) 閉塞性動脈硬化症あるいは血栓性閉塞性血管炎（Fontaine III度～IV度）患者で、人工血管あるいは自家静脈グラフトによる大腿動脈以下の血行再建術の適応がない、かつ40歳以上の症例。</p> <p>(2) 閉塞性動脈硬化症あるいは血栓性閉塞性血管炎（Fontaine II度）患者で、人工血管あるいは自家静脈グラフトによる大腿動脈以下の血行再建術の適応がなく、歩行制限のため本人および家族が本臨床試験の実施を強く希望する患者。かつ40歳以上の症例。</p> <p>候補対象患者は申請に関わる研究者と外部評価委員の一部で構成される、対象患者適応評価委員会にて決定される。</p>
------	---

<p>実施計画 (続き)</p>	<p>除外項目：</p> <p>以下に適合する患者は今回の臨床試験の対象としない。</p> <ol style="list-style-type: none"> 1) 重篤なアレルギーを有する、あるいは既往のある患者 2) 術前に担癌状態が証明されている、あるいは疑われる患者 3) 糖尿病性網膜症患者 4) 慢性人工透析を受けている患者 5) 重症の心機能障害、心不全を有する患者 (例：左室駆出率<40%など) 6) 重篤な肝機能障害、肝硬変を有する患者 (例：AST>50、ALT>50、ICG 15分値20%以上など) 7) 腎機能障害を有する患者 (例：血清Cr>2.0、CCr<40ml/min) 8) 活動性の炎症性疾患を有する患者 (活動期の膠原病、慢性関節リウマチ、潰瘍性大腸炎など) 9) 過去5年以内に悪性腫瘍の摘出手術を受けた患者 10) 最近6ヶ月以内に脳出血、脳梗塞などの既往のある患者 11) 血液疾患を有する患者 (例：重度の貧血Hb<10mg/ml、白血病、再生不良性貧血など) 12) アルコール依存、薬物依存症患者 13) 妊娠中の女性、あるいは妊娠が疑われる女性患者 14) その他、本臨床試験により不利益を受けると予測される患者、および本人ならびに家族の承諾が得られない患者など、適応症例評価委員会が不相当と見なした患者 <p>高率に腎機能障害など生命維持に関わる臓器障害を持つ症例が多い糖尿病性下肢壊疽の患者は、本臨床試験からは当面除外する。但し多臓器合併症を持たずインスリンなどで良好にコントロールされている症例は、本臨床研究計画の対象とする。</p> <p><u>3) 被験者の同意の取得方法</u></p> <p>下肢虚血性疾患の病態と重症虚血状態が従来の治療法に対し抵抗性であること、本臨床試験の理論的背景と動物実験成績、安全性に関する成績に関して十分な説明を患者本人ならびに親族に対して行い、十分な理解を得た上で本臨床研究の被験者となることについて文書により同意を得る。</p> <p>同意の取得は入院前、および全身検索の終了した時点で、計2度行なう。</p>
----------------------	---

実施計画
(続き)

4) 実施期間および目標症例数

研究実施期間 承認時より18ヶ月
目標症例数 12例

5) 実施方法





(1) 対象群の設定

本研究計画に用いるベクターは世界的に使用例がないことを鑑み、安全性の検定を主眼とした最大使用量までの用量漸増式とし、対象群はおかない。

本臨床試験にて安全性が証明された場合に限り、別途対象群を設定した効果判定試験の申請を行なう。

臨床試験実施方法

用量漸増式安全性・効果判定試験 対象患者数 計12名
(ciu=活性組換えウイルス粒子数)

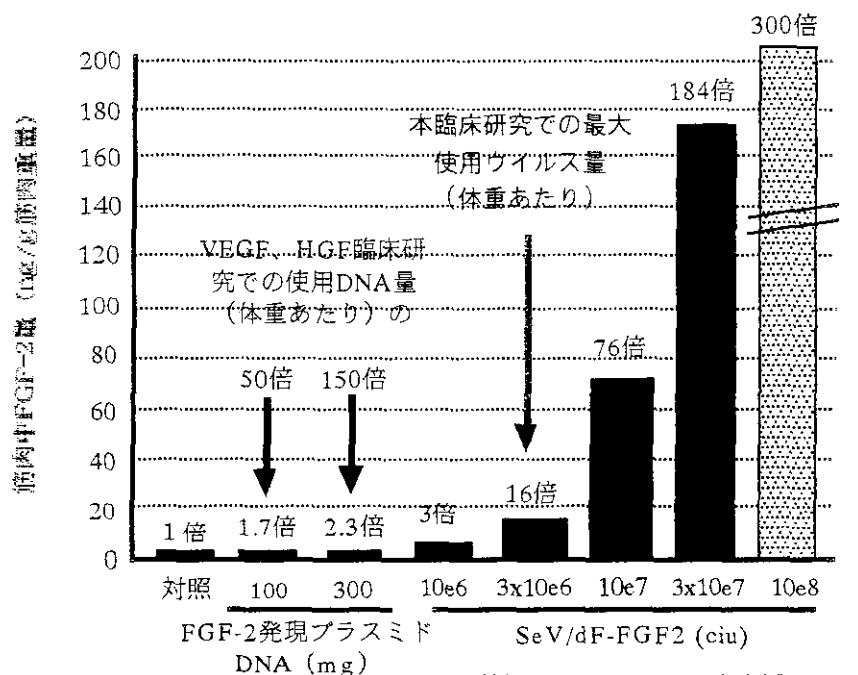
第1ステージ		5x10 ⁷ ciu/ 60 kg 約3x10 ⁷ ciu/マウス に相当
第2ステージ		2x10 ⁸ ciu/ 60 kg 約1x10 ⁸ ciu/マウス に相当
第3ステージ		1x10 ⁹ ciu/ 60 kg 約5x10 ⁸ ciu/マウス に相当
第4ステージ		5x10 ⁹ ciu/ 60 kg 約3x10 ⁹ ciu/マウス に相当

(2) 遺伝子導入法

術前血管造影所見をもとに、20~30ヶ所をマーキングし、それぞれの部位にベクター液を虚血筋肉内に注入する。

注入操作に関わる疼痛などの苦痛を避けるため、術前日に硬膜外麻酔チューブを挿入し、持続硬膜外麻酔を行なう。

実施計画
(続き)



マウス虚血下肢に対する救肢効果 (%)	有効域						中毒域	
	対照	100	300	10e6	3x10e6	10e7	3x10e7	10e8
	20%	20%	50%	65%	80%	83%	60%	20%
		(効果なし)						(効果なし)

グラフ：マウス重症下肢虚血モデルにおける投与量依存的救肢効果
(効果域・中毒域判定試験、プラスミドとの比較試験)

(3) 併用療法の有無

本臨床研究の対象は既存の外科手術を含めた治療法が無効であることが自明である患者のみとする。

被験者の不利益を最小限にすること、本臨床研究が安全性試験を主眼にすることを考慮し、併用薬剤に関しては特に制限しない。

(4) 臨床検査項目

外科手術に準じ綿密かつ詳細な術前、術後検査を行なう
(添付資料2-2：臨床検査プロトコール参照)。

備 考	<p>本臨床研究の研究実施デザイン、動物モデルによる前臨床効能試験、安全性試験は、</p> <p>(1) 米国FDA発行 (1998年3月) 「Guidance for Industry: guidance for human somatic cell therapy and gene therapy」</p> <p>(2) 英国MCA (Medicines Control Agency) 発行 「Draft Guidance Notes on Quality and Preclinical Safety Issues for Clinical Trials with Gene Therapy Products」</p> <p>を参考に、計画あるいは実施されている。</p>
--------	---

(注意)

1. 用紙の大きさは、日本工業規格A列4番とすること。
2. この申請書は、正本1通及び副本2通を提出すること。
3. 字は、墨・インク等を用い、楷書ではっきり書くこと。
4. 記載欄に記載事項のすべてを記載できない時は、その欄に「別紙 () のとおり」と記載し、別紙を添付すること。
5. 備考欄には、「第4. その他」に掲げる各種指針への適合状況等、特記すべき事項について記載すること。
6. 大学等にあつては、この申請書の写しを文部科学大臣にも送付すること。

患者への説明・同意書（案）

課題名「血管新生因子（線維芽細胞増殖因子：FGF2）遺伝子搭載非伝播型組換えセンダイウイルスベクターによる重症虚血肢に対する血管新生遺伝子治療第I、IIa相臨床研究」

血管新生遺伝子治療臨床研究に参加される患者さんへ

【はじめに】

あなたの脚の状態は、血液を送る管（動脈）が閉塞することにより生じています。これまでの治療法で十分な効果が得られなかったことから、「血管新生遺伝子治療」という、全く新しい治療法をあなたにお勧めしようと考えています。ただし、この治療法はまだ始まったばかりであり、安全性など、いろいろな点がはっきりしておりません。

この臨床研究に関わることをあなたに文章および担当医師の口頭で、これから説明を致します。本臨床研究に関わる疑問点などは、どのような些細（ささい）なことでも、担当医師にお尋ね下さい。また判らないことなども、いつでも気軽に質問して下さい。

【血管新生遺伝子治療臨床研究への参加】

この血管新生遺伝子治療臨床研究に関する説明を担当医師から受けた上で、本臨床研究に参加されるかどうかは、あなたの自由な意志で決めて下さい。たとえ参加されなくても、今後の治療に不利益になることは全くありません。

また血管新生遺伝子治療臨床研究実施中に新しい情報（例えば他の新しい治療法など）が得られた時は、必ずあなたにお知らせ致します。

【血管新生遺伝子治療臨床研究の辞退】

この血管新生遺伝子治療臨床研究に参加することを同意した後でも、また実際に開始した後でも、あなたが何らかの理由で辞退を申し出た場合は、いつでも自由に辞退することができます。また辞退の後でも今後の治療に不利益になることはなく、現在行われている最善の治療を行います。

【血管新生遺伝子治療臨床研究の目的】

本臨床研究の目的は、血管が閉塞し血行が悪くなった下肢に、新しい小さなバイパス血管を作ることができるか、そしてその新しい血管によって血行が改善し、歩行時や安静時の脚の痛みが無くなったり、脚にできた潰瘍を直すことができるかどうかを検討することです。このように新しい血管ができることを「血管新生」と呼び、血管新生は「血管新生因子」というタンパク質により誘導できることが解っています。

通常の治療法は、狭くなった血管を風船で広げる方法（血管拡張術）、あるいは自分の静脈や人工血管で閉塞した部分をバイパスする方法で血流を増やすことにより、脚の痛みを無くしたり脚の潰瘍を治療したりします。しかしあなたの脚はこのような治療法が受けられないほど重症である、あるいはこれまでにこのような治療法を受けても十分な効果がありませんでした。また血管を広げるお薬や血液が固まるのを防ぐお薬も使いましたが、十分な効果が得られませんでした。したがってあなたの脚は将来切断せざるを得なくなる可能性が十分にあります。

まだ人における効果は十分に確認されておりませんが、私たちは血管新生遺伝子治療という、新しい治療法があなたのような症状を持つ患者さんに有効であるかどうかを検討しています。この治療法は動物実験ではその効果が確認されています。あなたと同じような症状を持つ動物を作成した後、本治療法を行うと新しい血管がたくさん現れ、脚の状態が大きく改善することが確認されています。

従って私たちは、もしあなたの同意が得られるならば、あなたにこの治療を行って新しい血管を作り、あなたの脚の痛みや潰瘍を治すことができるかどうかを検討させて頂きたいと思っています。

【現在研究が始まっている他の類似の治療法について】

今回の治療法に類似した「血管新生治療（新しい血管を作り、血流が少なくなった足を助けることを目的とした治療法）」は、他にもいくつかの方法が日本を含め世界中で始まっています。ここでは日本で行われている他の代表的な治療法を紹介致します。

1) 骨髄細胞移植療法

あなたの骨の中には「骨髄」という、血液を造り出す細胞がいます。最近の研究でこの中に血管を作る能力がある細胞が、少数ですが含まれていることが明らかにされました。この治療法はあなたの骨髄からこの細胞を含む細胞を取り出し、足の筋肉に注射するもので、一部の患者さんに効果があることが報告されています。この治療法は主に久留米大学病院、関西医科大学病院、山口大学医学部附属病院などで行われております。

2) 末梢血幹細胞移植療法

骨髄と同様に、あなたの血液の中にも血管を作る細胞が少数ながら存在することが知られています。この治療法では、この血管を作る細胞を比較的多く含むCD34陽性という細胞をあなたの血液から採取し、同様に足の筋肉内に注射するもので、我国では現時点で私共の施設（九州大学医学部附属病院第2外科／消化器・総合外科）でのみ行われています。この治療法でも一部の患者さんで痛みが軽くなったり、潰瘍が小さくなったりという効果が得られています。

3) 肝細胞増殖因子（HGF）による遺伝子治療

肝臓の細胞を増殖させるHGFというタンパク質には、血管を造り出す作用もあることが知られており、このHGFの遺伝子により同様の治療を行うものです。この治療法は現時点で大阪大学医学部附属病院で行われており、一部の患者さんで痛みが軽くなるなどの効果が報告されています。

以上のように血管新生療法は色々な方法で始められておりますが、まだ治療を受けた患者さんの数が少なく、どの方法がよいという結果は出ておりません。

【治療の実施方法と注意事項】

今回、私たちがお勧めする治療は、あなたの脚の筋肉内に遺伝子を含む溶液を20～30ヶ所注射するという単純なもので、注射に伴う痛みを軽減するために、しばらく腰に麻酔用のチューブを入れて脚に軽い麻酔を行います。動物実験では筋肉内に注射された遺伝子から血管新生を起こすタンパク質（線維芽細胞増殖因子：FGF-2）が一定期間産生され、あなたのような症状を軽減することが既に証明されています。しかしこの治療法は始まったばかりのため、まだ試験段階のものであり、安全性は100%保証されていません。また確実に成功するという保証もありません。従ってあなたがこの臨床研究に参加なさっている間は、いかなる症状があっても必ず医師あるいは看護師に報告して下さい。また本臨床研究中は、医師の了解なしに薬局で購入できる薬を含む、いかなる薬も使用しないで下さい。また本臨床研究は遺伝子を用いるため、子孫への影響についてその安全性が明確ではありません。よって今後お子様を御希望される方は、その旨担当医師に御相談下さい。

【治療に用いるベクター（遺伝子を導入する担体）】

今回あなたの治療に用いられる遺伝子を運ぶ「運び屋」として、「センダイウイルスベクター」という、全く新しいものを用います。これを「ベクター」と呼びます。「ウイルス」という名前に少し驚かれるかもしれませんが、以下にこのベクターについて簡単に説明をします。

これまで欧米を中心に開発されて来たベクターには、主に以下のものがあります。

- 1) レトロウイルスベクター（マウスの白血病の原因ウイルス）
- 2) アデノウイルスベクター（ヒトに肺炎や結膜炎を起こすウイルス）
- 3) アデノ随伴ウイルスベクター（病原性は知られていない）
- 4) ヘルペスウイルスベクター（ヒトに神経炎などを起すウイルス）
- 5) レンチウイルスベクター（後天性免疫不全：エイズを起すウイルス）

一見してお気付きになると思いますが、アデノ随伴ウイルスベクターを除き、多くのベクターは病原性ウイルス（ヒトに病気を起すウイルス）を基礎に開発されたものです。

これらのウイルスの遺伝子構造に人工的に手を加えることによって、増殖せず病気を起さない「ベクター」として生産され、これらが現在、世界中で実際の患者さんの治療に用いられている訳です。

しかしこれらのベクターには非常に低い確率ですが、危険性が残っていることが指摘されています。以下にその概略を説明致します。

（1）野生型ウイルスへの「先祖帰り」の危険性。

これらのウイルスベクターには、非常に低い確率ですが、その製造過程で一部が野生型ウイルスに先祖帰りすることが知られています。この現象は「相同組み換え」

として専門家の間で広く知られていて、この先祖帰りした野生型ウイルスにより新たな病気が引き起こされる可能性がわずかながら存在します。

例えば先祖帰りしたウイルスを含むレトロウイルスベクターの接種を受けたサルにリンパ腫が起きたことなどが報告されております。

(2) 患者さんの遺伝子情報を攪乱する可能性。

レトロウイルスベクター、アデノ随伴ウイルスベクター、レンチウイルスベクターなどは感染した細胞の染色体、つまり遺伝子の中にウイルス自身の遺伝子を挿入する機能を持っています。この性質のために、これらのベクターでは長期間の安定した治療効果をもたらすことが期待されているのですが、その反面、患者さんの遺伝子にキズが付くことは避けられません。ヒトの遺伝子は70%以上が眠っていると考えられていますため、多くの場合は多少のキズは問題になりませんが、極めてまれに細胞のガン化を抑制する遺伝子の中に入り込んだりすることがあり、その場合はガン化を促進することが培養細胞などでは確認されています。

「遺伝子」という言葉に驚かれるかもしれないので、少し説明させていただきます。人間の「遺伝子」は細胞の中心(核)の中にある、「染色体」という構造に含まれる、「DNA(デオキシリボ核酸)」のことを指します。この「遺伝子」はあなたの身体を作っている蛋白質の設計図で、この遺伝子の情報をもとに蛋白質が作られます。欧米で用いられているレトロウイルスベクターの遺伝子はこの染色体の中のあなたの遺伝子に入り込みますので、あなたの遺伝子に軽い傷が付くことは避けられません。

(3) センダイウイルスベクターの安全性に優れた点。

「非伝播型センダイウイルス」というベクター用のウイルスを、日本の企業((株)ディナベック研究所)が人工的に造り出すことに成功しています。これはセンダイウイルスの感染に必要な部分を取り除くことにより、さらに安全性を高めた人工のウイルス様のベクターです。

センダイウイルスにはベクターとして優れた以下のような特徴があります。

第1に、「センダイウイルス」は相同組み換えの可能性がほとんどない、つまり先祖帰りをしないことが知られているため、既存のベクターより安全性が高いと考えられます。

第2に、「センダイウイルス」は日本で最初に見つかった、マウス(ねずみ)に風邪、肺炎を起こすパラインフルエンザウイルスの一種ですが、ヒトには肺炎を含め、病気を起こしたことはこれまで報告されておられません。もちろん私達も永年このウイルスをあつかっていますが、病気になったことはありません。実際に患者さんに投与されるベクターでは、この野生型の混入がないことを綿密に検査し、品質を保証されたものが用いられますが、万が一野生型ウイルスが混入していたとしても、ヒトが病気になる危険性は極めて低いと考えられます。

第3に、「センダイウイルス」は、全ての構造が「RNA(遺伝子としてDNAの仲間ですがDNAと相互作用をしないもの)」から成り立っています。センダイウイル