


1. 遺伝子治療臨床研究 実施計画変更報告書

※ 遺伝子治療臨床研究実施計画書の変更点を添付。

遺 伝 子 治 療 臨 床 研 究 実 施 計 画 変 更 報 告 書

平成15年12月25日

厚 生 労 働 大 臣 殿

実 施 設	所 在 地	〒170-8455 東京都豊島区上池袋1丁目37番1号 および 東京都豊島区上池袋1丁目30番20号
	名 称	財団法人癌研究会附属病院化学療法科および 財団法人癌研究会癌化学療法センター 分子生物治療研究部、臨床部、基礎研究部 TEL: 03-3918-0111 FAX: 03-3918-3716
	代 表 者 役職名・氏名	財団法人癌研究会附属病院 病院長・武藤 徹一郎 

下記の遺伝子治療臨床研究について、別添のとおり実施計画を変更したことを報告します。



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
乳癌に対する癌化学療法の有効性と安全性を高めるための耐性遺伝子治療の臨床研究	財団法人癌研究会附属病院化学療法科・医長 兼財団法人癌研究会癌化学療法センター・臨床部・ 医長・高橋俊二

遺伝子治療臨床研究実施計画変更報告書

(受付番号)

初回申請年月日：平成10年7月14日

研究の名称	乳癌に対する癌化学療法の有効性と安全性を高めるための耐性遺伝子治療の臨床研究		
研究実施期間	平成12年2月24日から平成18年12月31日		
総括責任者	所属部局の所在地	〒170-8455 東京都豊島区上池袋1丁目37番1号	
	所属機関・部局・職	財団法人癌研究会附属病院・化学療法科・医長 兼財団法人癌研究会癌化学療法センター・臨床部・医長	
	氏名	高橋 俊二 	
実施の場所	所在地	〒170-8455 東京都豊島区上池袋1丁目37番1号 および 東京都豊島区上池袋1丁目30番20号	
	名称	財団法人癌研究会附属病院化学療法科および 財団法人癌研究会癌化学療法センター分子生物治療研究部、臨床部、 基礎研究部	
	連絡先	東京都豊島区上池袋1丁目37番1号 (電話番号：03-3918-0111)	
総括責任者以外の研究者	氏名	所属機関・部局・職	役割
	杉本 芳一	財団法人癌研究会癌化学療法センター・分子生物治療研究部・部長	遺伝子治療研究の基礎研究部門の総括。MDR1 遺伝子発現の検討及び評価。増殖性レトロウィルスの検索及びレトロウィルスベクターの安全性の評価
	梶 清彦	財団法人癌研究会附属病院化学療法科・部長 兼財団法人癌研究会癌化学療法センター・臨床部・部長	乳癌患者の自家骨髄細胞および自己末梢血幹細胞採取の安全性とその評価
	伊藤 良則	財団法人癌研究会附属病院化学療法科・副部長 兼財団法人癌研究会癌化学療法センター・臨床部・副部長	腫瘍内科的診療。乳癌患者の骨髄中における残存癌細胞の検出及び評価
	鶴尾 隆	財団法人癌研究会癌化学療法センター・基礎研究部・部長	遺伝子治療臨床研究における基礎研究部門の総括的指導
相羽 恵介	東京慈恵会医科大学・臨床腫瘍部・講師	研究の総括	
審査委員会が研究計画の実施を適当と認める理由	本臨床研究は癌研究会遺伝子治療臨床研究に関する審査委員会においてその倫理性、科学性、治療方針などが妥当であると判断され、平成10年2月24日に承認されたものである。本変更事項については、平成15年9月18日の財団法人癌研究会遺伝子治療臨床研究に関する審査委員会およびその後の追加審議において、その倫理性、科学性について審査し、妥当と認めた。		
	審査委員会の長の職名	氏名	
	財団法人癌研究会附属病院副院長	福井 巖 	

実施計画書 変更点

実施計画書における事項	変更前	変更後	変更理由
12 遺伝子治療の対象症例 (5) 実施期間および目標症例数	平成12年2月24日より平成15年3月31日まで	平成12年2月24日より平成18年12月31日まで	研究の継続のため
9 安全性についての評価 (1) 遺伝子導入方法の安全性 (f) 染色体内へ遺伝子が組み込まれる場合の問題点	<p>本研究においては標的細胞の染色体にMDR1遺伝子が組み込まれることが必要であり、染色体に組み込まれることによる問題が発生する。レトロウイルスはランダムに標的細胞のゲノムDNAに挿入されるため、細胞機能に重要な遺伝子を破壊する可能性もあるが、たいていの場合そうした細胞は死滅すると考えられる。レトロウイルスの組み込みが癌遺伝子、癌抑制遺伝子の近傍に起こることによって、将来腫瘍が発生することも考えられる。2002年に実際にレトロウイルスの組み込みにより白血病を発症したという症例がフランスで報告された。</p> <p>X-SCID(X染色体性重症複合免疫不全症)は、共通γ鎖(γc)遺伝子の異常によっておこる先天性の疾患である。X-SCIDの患者では、共通γ鎖の異常のためにインターロイキン-2(IL-2)、IL-4、IL-7、IL-9、IL-15の各受容体が全て機能不全になり、その結果として免疫担当細胞であるTリンパ球、NK(ナチュラルキラー)細胞の欠失とBリンパ球の機能不全をおこす。すなわち、免疫を担うリンパ球がほとんど機能しない、という疾患である。この病気に対してはこれまでは骨髄移植以外に有効な治療法はなく、骨髄移植を施行しない患者は乳幼児期に死亡する。フランスの</p>	<p>本研究においては標的細胞の染色体にMDR1遺伝子が組み込まれることが必要であり、染色体に組み込まれることによる問題が発生する。レトロウイルスはランダムに標的細胞のゲノムDNAに挿入されるため、細胞機能に重要な遺伝子を破壊する可能性もあるが、たいていの場合そうした細胞は死滅すると考えられる。レトロウイルスの組み込みが癌遺伝子、癌抑制遺伝子の近傍に起こることによって、将来腫瘍が発生することも考えられる。2002年にフランスで実際にレトロウイルスの組み込みにより白血病を発症したという症例が2例報告された。</p> <p>X-SCID(X染色体性重症複合免疫不全症)は、共通γ鎖(γc)遺伝子の異常によっておこる先天性の疾患である。X-SCIDの患者では、共通γ鎖の異常のためにインターロイキン-2(IL-2)、IL-4、IL-7、IL-9、IL-15の各受容体が全て機能不全になり、その結果として免疫担当細胞であるTリンパ球、NK(ナチュラルキラー)細胞の欠失とBリンパ球の機能不全をおこす。すなわち、免疫を担うリンパ球がほとんど機能しない、という疾患である。この病気に対してはこれまでは骨髄移植以外に有効な治療法はなく、骨髄移植を施行しない患者は乳幼児期に死亡する。フランスの</p>	フランスでX-SCID遺伝子治療を受けた患者が白血病を発症した。このことを記述する。

ネッカー小児病院の Fischer 博士らは、レトロウイルスベクター-MFG/ γ c を用いて X-SCID 患者の自家骨髄由来 CD34 陽性細胞へ正常な γ c 遺伝子を導入して患者へ移植する遺伝子治療を 1999 年 3 月より開始した。これまでに 11 例の患者に遺伝子治療を行ったところ、9 例で免疫不全症が完全に修復され、致死的な感染症への罹患がなくなったと報告された。この結果は 2000 年 4 月の Science 誌に掲載され、遺伝子治療の最大の成功例として世界中の注目を集めた。この遺伝子治療の第 4 例目の患者が、白血病を発症した。この患者は 1999 年 10 月に生後 1 カ月で遺伝子治療を受けたところ、早期に T リンパ球が正常化し、1999 年末よりは普通の生活を送っていた。2002 年 4 月に $\gamma\delta$ T 細胞増殖症 (5,000/ μ l) が発見され、その直後に水痘に感染した。この水痘感染を契機に T 細胞が 50,000/ μ l に増加した。2002 年 8 月になって T 細胞が急激に増えて 300,000/ μ l に達し、脾腫と血小板減少が見られたため、化学療法を施行した。2002 年 10 月現在患者の状態は良好である。患者で増殖した T 細胞では、11 番染色体の LMO-2 遺伝子にレトロウイルスが 1 コピー挿入され、LMO-2 が高発現していた。LMO-2 高発現マウスの 15% が T 細胞腫をおこすことから、LMO-2 は癌遺伝子と考えられている。また、白血病期では、t(6; 13) の染色体転座も認められた。今回の事例には、①レトロウイルスの LMO-2 部位への挿入による活性化②水痘持続感染による T 細胞の増殖刺激③家系内に 2 症例の髄芽腫をもつ患者の遺伝的背景、などが相互に関与したと考えられる。

本研究でも、レトロウイルスの組み込みが癌遺伝子、癌抑制遺伝子の近傍に起こることによって、将来腫瘍が発生することが考えられるため、この点については対象患者によく説明した上でイ

ネッカー小児病院の Fischer 博士らは、レトロウイルスベクター-MFG/ γ c を用いて X-SCID 患者の自家骨髄由来 CD34 陽性細胞へ正常な γ c 遺伝子を導入して患者へ移植する遺伝子治療を 1999 年 3 月より開始した。これまでに 11 例の患者に遺伝子治療を行ったところ、9 例で免疫不全症が完全に修復され、致死的な感染症への罹患がなくなったと報告された。この結果は 2000 年 4 月の Science 誌に掲載され、遺伝子治療の最大の成功例として世界中の注目を集めた。

この遺伝子治療を受けた患者のうち 2 例が T 細胞白血病を発症した。1 例目の患者は 1999 年 10 月に生後 1 カ月で遺伝子治療を受け、その後は普通の生活を送っていた。移植 2 年半後より T 細胞増殖症が発見され、数ヶ月後に T 細胞白血病となった。この患者には化学療法が施行された。患者で増殖した T 細胞では、11 番染色体の LMO-2 遺伝子にレトロウイルスが 1 コピー挿入され、LMO-2 が高発現していた。LMO-2 高発現マウスの 15% が T 細胞腫をおこすことから、LMO-2 は癌遺伝子と考えられている。また、白血病期では t(6; 13) の染色体転座も認められた。2 例目の患者は生後 3 ヶ月で遺伝子治療を受け、移植 3 年後に T 細胞白血病となった。この患者の細胞でも、LMO-2 遺伝子の近傍にレトロウイルスが 1 コピー挿入され、LMO-2 が高発現していた。この 2 例目の患者では、1 例目の患者でみられたような水痘感染、家系内に癌患者がいるという遺伝的背景などはない。よって、レトロウイルスの挿入による LMO-2 遺伝子の活性化が白血病の直接的な原因と考えられる。この 2 症例は、(1) 非常に幼少期に遺伝子治療を受けた、(2) 大量の遺伝子導入細胞が移植された、などの共通点を持つが、これらと白血病発症との因果関係は明らかにされていない。

	<p>ンフォームドコンセントを取る。</p>	<p>本研究でも、レトロウイルスの組み込みが癌遺伝子、癌抑制遺伝子の近傍に起こることによって、将来腫瘍が発生することが考えられるため、この点については対象患者によく説明した上でインフォームドコンセントを取る。</p>	
<p>13 遺伝子治療臨床研究を含む一連の治療計画の実施方法</p> <p>(10) 臨床検査項目及び観察項目</p> <p>(b) 患者の血液細胞における MDR1 遺伝子の組み込みと発現の評価</p>	<p>上記の血液検査のために採取された患者の末梢血あるいは骨髄液の一部を用いて、患者の CD34 抗原陽性細胞へ導入されたヒト多剤耐性遺伝子 (MDR1) の血液細胞における発現を、抗ヒト P-糖蛋白モノクローナル抗体 MRK16 による細胞の免疫染色後の FACS 解析により評価する。また、PCR 法を用いて HaMDR レトロウイルス遺伝子の患者の細胞への導入と発現を調べる。HaMDR レトロウイルス遺伝子の患者の細胞への組み込みは、サザンハイブリダイゼーション法あるいは PCR 法を用いて調べる。特に血液検査により遺伝子導入細胞のクローナルな増幅が疑われた場合には、組み込み部位の同定、組み込み部位近傍の遺伝子の発現の変化、および組み込みが細胞の増殖に与える効果について調べる。</p>	<p>上記の血液検査のために採取された患者の末梢血あるいは骨髄液の一部を用いて、患者の CD34 抗原陽性細胞へ導入されたヒト多剤耐性遺伝子 (MDR1) の血液細胞における発現を、抗ヒト P-糖蛋白モノクローナル抗体 MRK16 による細胞の免疫染色後の FACS 解析により評価する。また、PCR 法を用いて HaMDR レトロウイルス遺伝子の患者の細胞への導入と発現を調べる。HaMDR レトロウイルス遺伝子の患者の細胞への組み込みは、LAM-PCR を用いて調べる。LAM-PCR で得られた主要なバンドについてはクローニングし、組み込み部位の同定を行う。特に上記の FACS および PCR において抗癌剤治療期間以外に MDR1 遺伝子導入細胞が異常に増加し、また LAM-PCR において特定の遺伝子導入細胞クローン由来と推定されるバンドが強く検出されるようになった場合には、その遺伝子導入細胞クローンにおける特異的な primer を用いた PCR によってそのクローンの異常増幅が起こっているかどうかを確認する。そのクローンの増幅が確認された場合には、組み込み部位近傍の遺伝子の発現の変化、および組み込みが細胞の増幅に与える効果について調べる。</p>	<p>フランスで X-SCID 遺伝子治療を受けた患者が白血病を発症した。本研究においても導入遺伝子を組み込んだ白血球のクローナルな異常増幅が疑われた場合には、組み込み部位の同定、組み込み部位近傍の遺伝子の発現の変化、および組み込みが細胞の増殖に与える効果について調べ、有害事象の発生に速やかに対応する。</p>

説明と同意書における事項 変更点

実施計画書における事項	変更前	変更後	変更理由
<p>予想される副作用とその対策は？(前半部)</p>	<p>なお、この説明文は2002年10月の発表に基づいていますが、それ以降の情報についてもあわせてご説明いたします。</p> <p>問題となった遺伝子治療は、フランスで行われた、X-SCID という重症の免疫不全症に対するレトロウイルスを用いた遺伝子治療です。この病気は、免疫の機能、つまり感染などの抵抗力に重要なγc 蛋白(ガンマ c 蛋白といいます)ができない、あるいは働かないため、免疫を担うリンパ球がほとんどできないという病気です。この病気にたいしてはこれまでは健康な人の骨髄を移植する以外には有効な治療法がなく、骨髄移植を受けられなかった、あるいは骨髄移植がうまくいかなかった患者は重い感染のために乳幼児期に死亡することがほとんどでした。</p> <p>フランスのネッカー小児病院の Fischer 博士らは、レトロウイルスベクター(MFG/γc といいます)を用いて X-SCID 患者本人の骨髄の CD34 陽性細胞へ正常な γc 遺伝子を導入して患者へ移植する遺伝子治療を1999年3月より開始しました。これまでに11例の患者に遺伝子治療を行ったところ、9例で治療が成功し、患者は重い感染症の心配なく普通の生活ができるようになりました。この結果は有名な学術雑誌に発表され、遺伝子治療の最大の成功例として世界中の注目を集めました。</p> <p>しかし、この遺伝子治療を受けた第4例目の患者が、白血病(この場合はリンパ球のがん)を発症しました。この患者は1999年10月に生後1カ月で遺伝子治療を受けたところ、リンパ球が正常の人と同じレベルに回復し、1999年末よりは普通の生活を送っていました。ところが、2002年4月になっ</p>	<p>なお、この説明文は2003年9月の情報に基づいていますが、それ以降に明らかになったことについてもあわせてご説明いたします。</p> <p>問題となった遺伝子治療は、フランスで行われた、X-SCID という重症の免疫不全症に対するレトロウイルスを用いた遺伝子治療です。この病気は、免疫の機能、つまり感染などの抵抗力に重要なγc 蛋白(ガンマ c 蛋白といいます)ができない、あるいは働かないため、免疫を担うリンパ球がほとんどできないという病気です。この病気にたいしてはこれまでは健康な人の骨髄を移植する以外には有効な治療法がなく、骨髄移植を受けられなかった、あるいは骨髄移植がうまくいかなかった患者は重い感染のために乳幼児期に死亡することがほとんどでした。</p> <p>フランスのネッカー小児病院の Fischer 博士らは、レトロウイルスベクター(MFG/γc といいます)を用いて X-SCID 患者本人の骨髄の CD34 陽性細胞へ正常な γc 遺伝子を導入して患者へ移植する遺伝子治療を1999年3月より開始しました。これまでに11例の患者に遺伝子治療を行ったところ、9例で治療が成功し、患者は重い感染症の心配なく普通の生活ができるようになりました。この結果は有名な学術雑誌に発表され、遺伝子治療の最大の成功例として世界中の注目を集めました。</p> <p>しかし、この遺伝子治療を受けた患者のうち2人が白血病(この場合はリンパ球のがん)を発症しました。1人目の患者は1999年10月に生後1カ月で遺伝子治療を受けたところ、リンパ球が正常の人と同じレベルに回復し、1999年末よりは普通の生活を送っていました。ところが、2002年4月になっ</p>	<p>フランスで X-SCID 遺伝子治療を受けた患者が白血病を発症した。このことを患者に正しく伝える。</p>

てリンパ球が少し増えだし、2002年8月には白血病の状態になりました。この患者はすぐに化学療法を受けて、2002年10月現在白血病は治まっています。

なぜこの患者が白血病になったのかはまだよくわかっていませんが、以下の3つのことが関係していると考えられています。①この患者の白血病の細胞では、レトロウイルスがLMO-2という白血病の発症に関係している遺伝子の中に組み込まれ、その結果としてこの遺伝子を活性化したことがわかっています。つまり、レトロウイルスがたまたまがん遺伝子に組み込まれてがん遺伝子を活性化した、ということです。②この患者はリンパ球が少し増え始めてから水痘に感染し、これがリンパ球のさらなる増殖の引き金となりました。③この患者は家族に遺伝性と思われるがんの患者がいますので、もともとがんになりやすい体質なのかもしれません。

このフランスの報告を受けて、米国ではX-SCIDに対する遺伝子治療を一時中止して、なぜこのようなことが起きたかを議論し、その結果を公開しました。アメリカの公聴会の結論は、今回起こったことを患者に正しく伝えた上でX-SCIDに対する遺伝子治療を再開しよう、ということになりました。

1990年に米国でアデノシンデアミナーゼ欠損症という免疫不全症の患者に対してレトロウイルスベクターを用いた遺伝子治療が行われて以来、これまでにレトロウイルス遺伝子治療を受けた人は世界中で数百人になります。また、この研究と同じ耐性遺伝子による遺伝子治療を受けた人も30人以上になります。今回の報告は、その中で白血病を発症した初めての報告です。

てリンパ球が少し増えだし、2002年8月には白血病の状態になりました。この患者はすぐに化学療法を受けました。2人目の患者は生後3ヶ月で遺伝子治療を受け、移植3年後に白血病の症状がでました。この2人の患者の白血病の細胞では、レトロウイルスがLMO-2という白血病の発症に関係している遺伝子の中に組み込まれ、その結果としてこの遺伝子を活性化したことがわかっています。つまり、レトロウイルスがたまたまがん遺伝子に組み込まれてがん遺伝子を活性化したために白血病になった、と考えられています。

1990年に米国でアデノシンデアミナーゼ欠損症という免疫不全症の患者に対してレトロウイルスベクターを用いた遺伝子治療が行われて以来、これまでにレトロウイルス遺伝子治療を受けた人は世界中で200人以上になります。また、この研究と同じ耐性遺伝子による遺伝子治療を受けた人も30人以上になります。今回の報告は、その中で白血病を発症した初めての報告です。このフランスの報告を受けて、米国では、レトロウイルスを用いた造血幹細胞に対する遺伝子治療を一時中止して、なぜこのようなことが起きたか、他の遺伝子治療では同様のことが起きていないか、を調査し、議論しました。その結果、他の遺伝子治療では白血病の発症はみられていないことがわかりました。しかし今後遺伝子治療を行うにあたっては、(1) 遺伝子治療がもたらす利益と不利益をきちんと理解し、評価すること、(2) 患者にこうした有害事象を正しく伝えること、などが求められるようになりました。しかしこの米国における調査結果は、癌研の耐性遺伝子治療で白血病の発症は起こらないということを必ずしも保証するものではありません。あなたがこの遺伝子治療を受けた場合には、もし白血病の症状が現れたときに早期に発見して治療できるように、入院時には週に1回以上、外来受診になってからは毎回、血液の検査を行って異常の有無を調べます。