

**国内で実施が承認されている
レトロウイルスベクターを用いて血液細胞系列に
外来遺伝子を導入する遺伝子治療臨床研究の経過について
(報告)**

1. 経緯

フランスで実施されていた X 連鎖重症複合免疫不全症 (X-SCID) に対するレトロウイルスベクター (RV) 遺伝子治療において、全 11 例中、遺伝子治療に起因する白血病がこれまでに 3 例報告されている。

平成 17 年 1 月に報告された 3 例目の発生を受け、平成 17 年 3 月 8 日に厚生科学審議会科学技術部会第 14 回がん遺伝子治療臨床研究作業委員会・第 9 回小児免疫不全疾患遺伝子治療臨床研究作業委員会合同会議が開催され、国内で実施が承認されている、RV を用いて血液細胞系列に外来遺伝子を導入する遺伝子治療臨床研究 4 施設 4 件^{*1}の現状の確認及び取扱いについて審議が行われた。

その結果、遺伝子治療を受けた各症例の臨床経過の詳細の他、遺伝子導入細胞の異常増殖の有無及び染色体へのベクター組込み部位の検索等を実施し、作業委員会に報告するよう指導がなされた (平成 17 年 3 月 18 日開催の科学技術部会にて報告)。

今般、上記 4 施設から、前回合同会議以後の臨床経過、染色体へのベクター組込み部位の解析結果、海外における RV 遺伝子治療の実施状況等が提出されたことから、平成 18 年 11 月 10 日の合同会議において、再度審議が行われた。

^{*1}: 癌研究会有明病院、筑波大学附属病院、北海道大学病院及び東北大学病院の 4 施設 4 件 (詳細は P.4「(別紙)国内で実施が承認されている、レトロウイルスベクターを用いて血液細胞系列に外来遺伝子を導入する遺伝子治療臨床研究の概略」参照)。

2. 第 17 回がん遺伝子治療臨床研究作業委員会・第 10 回小児免疫不全疾患遺伝子治療臨床研究作業委員会合同会議（平成 18 年 11 月 10 日開催）の議事概要

平成 18 年 11 月 10 日に開催された厚生科学審議会科学技術部会第 17 回がん遺伝子治療臨床研究作業委員会・第 10 回小児免疫不全疾患遺伝子治療臨床研究作業委員会合同会議の概要は以下のとおり。

まず、RV 遺伝子治療に対する日米 EU 医薬品規制調和国際会議（ICH）遺伝子治療専門家会議の見解について参考人² から説明がなされた後、筑波大学附属病院及び東北大学病院の遺伝子治療臨床研究の担当医師から、当該施設の報告内容についてそれぞれ説明がなされた³。

*2：国立医薬品食品衛生研究所 山口 照英 生物薬品部長。

*3：癌研究会有明病院及び北海道大学病院からの各報告内容については、事務局から説明。

引き続き、委員間で、国内で実施が承認されている、RV を用いて血液細胞系列に外来遺伝子を導入する遺伝子治療臨床研究 4 件を含めた国内外の RV 遺伝子治療の現状の確認及び国内における今後の取扱いについて審議が行われた。

主な審議結果は、以下①～③のとおり。

- ① X-SCID に対する RV 遺伝子治療は、白血病の副作用が発生したフランス以外に、これまでに英国で 11 例、米国で 3 例に類似の治療が行われているが、英国及び米国では安全性上の問題はみられていない。さらに、RV 遺伝子治療は全世界で 280 件以上が実施されているが、フランス X-SCID 遺伝子治療以外に、白血病など重篤な副作用が報告されている例はない⁴。

*4：現時点までの科学的知見では、同一の目的たん白質（ヒトインターロイキン 2 受容体 γ 鎖）を発現する RV（モロニーマウス白血病ウイルス由来）を用いているにもかかわらず、フランスでのみ白血病発症がみられ、英米ではみられていない理由は不明。

- ② 国内の当該遺伝子治療臨床研究 4 件において、既に遺伝子治療が実施された症例の解析は適切になされており、現在までのところ遺伝子治療に起因する安全性上の問題は認められていないと判断された。

検査・観察内容も含めて、被験者の追跡調査体制は現時点では十分であると考えられるが、今後も長期間にわたって被験者の追跡調査を行うとともに、それぞれの遺伝子治療臨床研究のリスク／ベネフィットに関する評価を最新の知見に基づき定期的を実施するよう各施設を指導することとされた。

また、国内において、新規の安全な遺伝子治療用ベクターの開発研究が積極的に実施されることが重要であると指摘された。

- ③ フランス X-SCID 遺伝子治療と同一のベクター及び実施計画を採用している東北大学病院の X-SCID 遺伝子治療臨床研究に関しては、今後も開始保留を継続するとの施設からの報告について妥当であると判断した。

他の 3 施設の各遺伝子治療臨床研究に関しては、今後も継続して実施するとの報告についていずれも妥当であると判断した。

以上の審議結果は、次回の科学技術部会に報告することとされた。

(別紙) 国内で実施が承認されている、レトロウイルスベクターを用いて血液細胞系列に外来遺伝子を導入する遺伝子治療臨床研究の概略
 (第 17 回がん遺伝子治療臨床研究作業委員会・第 10 回小児免疫不全疾患遺伝子治療臨床研究作業委員会合同会議審議分)

①癌研究会有明病院

研究課題名	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
実施施設	癌研究会有明病院
総括責任者	癌研究会有明病院化学療法科・癌研究会癌化学療法センター臨床研究部 高橋 俊二 化学療法科乳がん骨転移担当・原発不明癌担当部長
申請・回答年月日	平成 10 年 7 月 14 日 申請 平成 12 年 2 月 24 日 回答
対象疾患	乳がん
導入遺伝子	ヒト多剤耐性 (MDR1) 遺伝子 (P-糖たん白質を発現)
ベクター	レトロウイルスベクター (ハーペーマウス肉腫ウイルス由来)
予定症例数	3 例 (第 1 段階) + 10 例 (第 2 段階)
実施症例数	3 例 (第 1 段階)
研究計画の概略	乳がんの被験者の末梢血単核細胞を採取し、分離した CD34 抗原陽性細胞に生体外で MDR1 遺伝子を導入する。被験者に大量化学療法を施行した後、遺伝子導入 CD34 抗原陽性細胞を未処理の末梢血単核細胞とともに移植する。その後、さらに抗がん剤投与を行う。
臨床経過の概略	遺伝子治療を実施した 3 例において、遺伝子治療実施から約 2 年～ 5 年半が経過したが、いずれも生存中。被験者の新規登録は自主的に保留中。

②筑波大学附属病院

研究課題名	同種造血幹細胞移植後の再発白血病に対するヘルペスウイルス・チミジンキナーゼ導入ドナー T リンパ球輸注療法の臨床研究
実施施設	筑波大学附属病院
総括責任者	筑波大学臨床医学系血液内科・筑波大学附属病院血液内科 長澤 俊郎 教授
申請・回答年月日	平成 13 年 9 月 17 日 申請 平成 14 年 3 月 14 日 回答
対象疾患	再発白血病（同種造血幹細胞移植後）
導入遺伝子	単純ヘルペスウイルスチミジンキナーゼ（HSV-TK）遺伝子
ベクター	レトロウイルスベクター（モロニー Maus 白血病ウイルス由来）
予定症例数	10 例
実施症例数	5 例
研究計画の概略	ドナーの末梢血リンパ球を採取し、前刺激した末梢血リンパ球に生体外で HSV-TK 遺伝子を導入する。同種造血幹細胞移植後の再発白血病の被験者に遺伝子導入リンパ球を移植する。その後、重度移植片対宿主病（GVHD）が発症した際には、ガンシクロビルを投与することによって遺伝子導入リンパ球を死滅させ、GVHD の沈静化を図る。
臨床経過の概略	5 例に計 8 回の遺伝子治療を実施（3 例では 2 回移植）。このうち 1 例で急性 GVHD を発症し、ガンシクロビルを投与することによって末梢血中の遺伝子治療導入リンパ球は減少して GVHD は沈静化した。原疾患の進行によりガンシクロビル投与後 38 日に死亡。残り 4 例は、遺伝子治療実施から約 4 月～ 2 年が経過したが、いずれも生存中。

③北海道大学病院

研究課題名	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
実施施設	北海道大学病院
総括責任者	北海道大学大学院医学研究科小児科・北海道大学病院小児科 有賀 正 教授
申請・回答年月日	平成 14 年 2 月 18 日 申請 平成 14 年 6 月 17 日 回答
対象疾患	アデノシンデアミナーゼ (ADA) 欠損症
導入遺伝子	ヒト ADA 遺伝子
ベクター	レトロウイルスベクター (モロニーマウス白血病ウイルス由来)
予定症例数	4 例
実施症例数	2 例
研究計画の概略	ADA 欠損症の被験者の造血幹細胞を骨髄から採取し、分離した CD34 抗原陽性細胞に生体外で ADA 遺伝子を導入する。ADA 酵素補充療法を中止した被験者に遺伝子導入 CD34 抗原陽性細胞を移植する。
臨床経過の概略	遺伝子治療を実施した 2 例において、遺伝子治療実施から約 2 年半が経過したが、いずれも生存中。定期的な γ -グロブリンの補充は継続しているものの、それ以外は、ADA 酵素補充療法も行わず、通常の日常生活を営んでいる。

④東北大学病院

研究課題名	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
実施施設	東北大学病院
総括責任者	東北大学大学院医学系研究科小児病態学分野・東北大学病院小児腫瘍科 土屋 滋 教授
申請・回答年月日	平成14年2月18日 申請 平成14年6月17日 回答
対象疾患	X連鎖重症複合免疫不全症(X-SCID)
導入遺伝子	ヒトインターロイキン2受容体γ鎖(γc)遺伝子
ベクター	レトロウイルスベクター(モロニー Maus 白血病由来。フランス X-SCID 遺伝子治療で用いられたベクターと同一)
予定症例数	5例
実施症例数	0例
研究計画の概略	X-SCIDの被験者の骨髄から造血幹細胞を採取し、分離・前刺激したCD34抗原陽性細胞に生体外でγc遺伝子を導入する。被験者に遺伝子導入CD34抗原陽性細胞を移植する。
臨床経過の概略	被験者の登録は自主的に保留しており、被験者に対する遺伝子治療は実施されていない。

参考資料

<遺伝子治療臨床経過に関する各実施施設からの報告（抜粋）>

- ① 癌研究会有明病院 P.1
- ② 筑波大学附属病院 P.3
- ③ 北海道大学病院 P.6

<その他の資料>

- ④ これまでの審議経過（詳細） P.10
- ⑤ がん遺伝子治療臨床研究作業委員会・小児免疫疾患遺伝子治療臨床研究作業委員会委員名簿 P.16
- ⑥ 我が国で実施されている遺伝子治療臨床研究の一覧 P.17

① 癌研究会有明病院

今回、最初の3症例に対する半年間（以上）のフォローアップが完了したのでご報告いたします。

- 1) **MDR1 遺伝子導入細胞の異常増殖について**：これまでの3症例では、患者末梢血に最大数%のP-糖タンパク陽性細胞が認められましたが、これらのP-糖タンパク陽性細胞が異常に増殖するという事は末梢血液所見、末梢血白血球のFACS（蛍光励起細胞分取装置）検査、末梢血白血球のDNA-PCR（ポリメラーゼ連鎖反応）検査のいずれにおいても認められませんでした。ほとんどのMDR1 遺伝子導入細胞は、移植後数ヶ月から3年程度で患者体内から消えていきました。
- 2) **MDR1 遺伝子導入細胞における挿入部位の検討**：フランスのX-SCID 遺伝子治療では、レトロウイルスが癌遺伝子 LMO-2 遺伝子に挿入されこの遺伝子を活性化したために白血病化が生じたと考えられております。このため本研究においても、長期間にわたって高率にMDR1 遺伝子陽性細胞のみられる症例1について、末梢血白血球における遺伝子挿入部位のLAM-PCR（片方向増幅を介するポリメラーゼ連鎖反応）法を用いた詳細な解析を行いました。その結果、マウスにおける白血病発症の原因となるMDS1/EVI1 遺伝子の近傍にベクター-HaMDRが挿入されたクローンが2年以上患者体内に存在したことが示されましたが、このMDS1/EVI1 クローンも移植後3年を経て消失したと推定されます。また、このMDS1/EVI1 クローン以外にも症例1で長期生存のみられるクローンが7個以上いることが確認されましたが、いずれのクローンでもレトロウイルスベクターの組み込みに起因する患者遺伝子導入細胞クローンの異常増殖を示唆する所見は末梢血白血球のDNA-PCR 検査において観察されませんでした。現在、引き続いて症例2の末梢血白血球における遺伝子挿入部位の検討を開始しております。症例3以降も同様に解析を行う予定であります。
- 3) **その他の有害事象の検討**：大量化学療法+末梢血幹細胞移植および遺伝子治療に基づく化学療法、さらにその後の経過観察において3症例の有害事象を詳細に検討しましたが、それぞれの治療に一般的に伴う有害事象（大量化学療法における汎血球減少・嘔気・発熱、化学療法に伴う白血球減少）、倦怠感等の他には問題になる有害事象は認められませんでした。最初の2症例は通常の生活を送っており、第3症例も最近は胸膜転移による労作時息切れはありますがPSは1です。
- 4) **治療効果**：本研究による治療効果については今後の研究を重ねることにより明らかにされると思いますが、大量化学療法後のドセタキセル療法における骨髄保護作用については第1、第2症例の比較により、好中球減少に対する保護作用の有効性を示唆する所見が得られたと考えております。なお、赤血球、血小板減少についてはドセタキセルが元々強い抑制をおこさないため、明らかではありません。第1症例は、2001年4月に遺

伝子治療を実施してから約6ヶ月後よりCR（完全寛解）を維持しております。第2症例は2001年10月に遺伝子治療を実施してから約1ヶ月後より約3年半CRの状態にありましたが、約3年8ヶ月後に再発し、現在治療中であります。2004年8月に遺伝子治療を実施した第3症例は大量化学療法にてgood PR（部分寛解）に入りましたが、その後の化学療法中に再発しました。

5) **諸外国における結果**：現在までの情報では、海外での本研究と類似のMDR1遺伝子治療（30例以上に実施）において白血病の発症は報告されておられません。また、遺伝子導入部位の解析結果については公表されておられません。

6) **本臨床研究成果の公表状況**（2005年以降）：

Sugimoto Y, Mitsunashi J, Suzuki R, Tsukahara S, Minowa S, Shibata J, Ito Y, Tsuruo T, Hatake K, Takahashi S: A clinical study of MDR1 gene therapy: oligoclonal expansion of the MDR1-transduced cells *in vivo* by docetaxel. 第11回日本遺伝子治療学会総会. 東京（2005年7月）

杉本芳一, 塚原里美, 伊藤良則, 鶴尾隆, 畠清彦, 高橋俊二: MDR1 遺伝子治療を受けた乳癌患者の末梢血で長期に維持されていた遺伝子導入細胞クローンの解析. 第64回日本癌学会学術総会. 札幌（2005年9月）

Takahashi S, Ito Y, Hatake K, Sugimoto Y: Gene therapy for breast cancer—Review of clinical gene therapy trials for breast cancer and MDR1 gene therapy trial in Cancer Institute Hospital. *Breast Cancer* 13: 8-15（2006）

[2006年10月23日現在]

② 筑波大学附属病院

筑波大学附属病院では 2004 年より同種造血幹細胞後に再発した白血病に対し、自殺遺伝子であるヘルペスウイルス・チミジンキナーゼ (HSV-TK) 遺伝子をレトロウイルスベクターにて導入したドナーリンパ球を患者様に投与するドナーリンパ球輸注療法の臨床研究を行ってきたが、この度 5 症例に対し当該治療を行ったので、その臨床経過等に関して報告する。

対象症例

現在まで、筑波大学附属病院内に設置された遺伝子治療培養室で以下の 9 例の症例に対し遺伝子導入操作が行われ、5 症例（症例 3、6、7、8、9）に対し 8 回の遺伝子導入細胞の投与が行われた（症例 7、8、9 に対しては 2 回投与）。尚、症例 1、2、4、5 に関しては、ドナー細胞に対し遺伝子導入操作は行われたが、患者状態の悪化にて投与は見合わされた。

患者一覧

症例#	疾患名*	性別・年齢	登録時の疾患の状態	ドナー	投与年月
1	MDS (RAEB-2)	男・42	再発	兄	-
2	ALL (フィラデルフィア染色体陽性)	女・15	高リスク	母	-
3	MDS → AML	男・60	再発	弟	2004/11
4	ALL	男・20	高リスク	母	-
5**	ALL	男・20	再発	母	-
6	MDS (RAEB-1)	男・58	再発	妹	2005/10
7	ALL	男・14	再発	父	2005/11 + 2006/3
8	AML	男・46	再発	兄	2006/1 + 2006/3
9	ALL	男・50	再発	弟	2006/4 + 2006/6

* : MDS : 骨髄異形成症候群。ALL : 急性リンパ性白血病。AML : 急性骨髄性白血病。RAEB : 芽球過剰性不応性貧血。

** : 症例 4 と症例 5 は同一症例。集計上は別症例として計上され、のべ 9 例となっている。

症例のまとめ

症例	診断名	実施回数	GVL 効果*	効果期間	GVHD*	GCV*投与	予後
3	AML	1	+ (病状軽減)	21日	急性 (Grade III)	+	死亡 (38日後)
6	MDS →AML	1	+ (寛解中)	351日	慢性 (extensive)	-	生存
7	ALL	1	-	-	-		生存
		2	-	-	-		
8	AML	1	+/- (WT1の減少)	51日	-		生存
		2	-	-	-		
9	ALL	1	+ (リンパ節腫脹減)	44日	-		生存
		2	-	-	-		

*: GVL 効果: 造血幹細胞移植による抗白血病効果。GVHD: 移植片対宿主病。GCV: ガンシクロビル (抗ウイルス剤)。

なお、遺伝子治療に関わる有害事象は確認されていない。

LAM-PCR を用いた遺伝子導入細胞のクロナリティーの確認

1. 投与前

遺伝子導入後の細胞を LAM-PCR にてクロナリティーを解析した。多数のプロウイルスの挿入を疑わせるスメアの図が確認された。

2. 投与後

多くの症例で投与後から急速な遺伝子導入細胞の排除を認め、LAM-PCR にてクロナリティーを解析できた症例は症例 3 と症例 6 のみである。両症例ともクローナルな増殖を疑わせるものはなく、最終的には消失した。また、挿入部位の同定を試みたが、ベクター DNA が少ないためか挿入部位の同定には至らなかった。

結語

1. 筑波大学附属病院内に設置された遺伝子治療培養室にて、合計 9 回の遺伝子導入操作が安全に、効果的に行われた。
2. 上記、遺伝子導入細胞を 5 名の患者様にのべ 8 回投与され、現在のところ遺伝子治療に関わる有害事象は認められていない。