



別紙様式第1

遺伝子治療臨床研究実施計画申請書

平成18年1月25日

厚生労働大臣 川崎 二郎 殿

実施施設	所在地	栃木県下野市薬師寺 3311-1 (郵便番号 329-0498)
	名称	自治医科大学附属病院 0285-44-2111 (電話番号) 0285-44-8169 (FAX 番号)
	代表者 役職名・氏名	自治医科大学附属病院 病院長 布施 勝生

下記の遺伝子治療臨床研究について、別添の実施計画書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
AADC 発現 AAV ベクター線条体内投与による進行期パーキンソン病遺伝子治療の臨床研究	自治医科大学医学部・神経内科・教授 中野 今治

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（改訂後）

平成18年1月25日	(申請年月日)
平成18年9月15日	(改正年月日)

研究の名称	AADC 発現 AAV ベクター 線条体内投与による進行期パーキンソン病遺伝子治療の臨床研究
研究実施期間	平成 年 月 日 (承認日) から 最終登録症例にベクターを投与した時点の9ヶ月後まで

総括責任者	所属部局の所在地	栃木県下野市薬師寺 3311-1 (郵便番号 329-0498)	
	所属機関・部局・職	自治医科大学医学部 神経内科・教授	
	氏名	中野 今治 印	
実施の場所	所在地	栃木県下野市薬師寺 3311-1 (郵便番号 329-0498)	
	名称	自治医科大学附属病院	
	連絡先	栃木県下野市薬師寺 3311-1 (電話番号 0285-58-7352)	
総括責任者以外の研究者	氏名	所属機関・部局・職	役割
	・小澤敬也	自治医科大学・遺伝子治療研究部・教授	副責任医師, ウイルスベクターに関する全般管理
	・渡辺英寿	自治医科大学・脳神経外科・教授	副責任医師, 脳内へのベクター注入の管理・助言
	・藤本健一	自治医科大学・神経内科・助教授	患者評価統括と定位脳手術補助
	・村松慎一	自治医科大学・神経内科・助教授	適応患者の選択・評価およびウイルスベクターの管理
	・加藤正哉	自治医科大学・脳神経外科・助教授	遺伝子導入のための定位脳手術実施
	・久米晃啓	自治医科大学・遺伝子治療研究部・助教授	ウイルスベクターの品質検査と管理
	・池口邦彦	自治医科大学・神経内科・講師	患者への説明と同意の取得および患者評価
	・水上浩明	自治医科大学・遺伝子治療研究部・講師	ウイルスベクターの検出
	・岡田尚巳	自治医科大学・遺伝子治療研究部・講師	ウイルスベクターの管理と注入に関する情報収集
	・卜部匡司	自治医科大学・遺伝子治療研究部・講師	ウイルスベクターの解析
・川上忠孝	自治医科大学・神経内科・助手	適応患者の選択, 患者評価および定位脳手術補助	
・松下 卓	自治医科大学・遺伝子治療研究部・助手	ウイルスベクターの品質検査と管理	

	・佐藤俊彦	宇都宮セントラルクリニック・院長	PET 検索
審査委員会が研究計画の実施を適当と認める理由	<p>審査委員会では、提出された遺伝子治療臨床研究実施計画書を慎重に審査した結果、本遺伝子治療臨床研究実施計画は平成 14 年文部科学省・厚生労働省告示第 1 号「遺伝子治療臨床研究に関する指針」平成 14 年 3 月 27 日告示（平成 16 年 12 月 28 日全部改正）の必要条件を満たしていると認めた。</p> <p>さらにパーキンソン病モデルサルに於ける前臨床試験成績から、従来の治療法では対処困難である進行期パーキンソン病に対し治療効果が期待できること、さらに本研究で使用される組換えウイルスの品質および安全性は十分に保証されるものと認められたため、所轄官庁に臨床研究実施計画を申請することを決定した。</p>		
	審査委員会の長の職名		氏名
	自治医科大学附属病院遺伝子治療臨床研究審査委員会 委員長 自治医科大学地域医療学講座 教授		梶井英治 印

研究の区分	○遺伝子治療臨床研究	遺伝子標識臨床研究
研究の目的	<p>本研究は、進行したパーキンソン病患者の線条体（被殻）に、ヒト芳香族 L アミノ酸脱炭酸酵素（aromatic L-amino acid decarboxylase : AADC）遺伝子を組み込んだ 2 型アデノ随伴ウイルス（adeno-associated virus : AAV）ベクターを定位脳手術的に注入し、その安全性を検証することを第 1 の目的とする。併せて、経口投与する L-DOPA によってドパミン産生を促し、パーキンソン症状を改善する効果についても評価する。ドパミンの過剰合成に伴って生じるジスキネジアは L-DOPA の投与量を減らすことにより予防する。</p>	
対象疾患およびその選定理由	<p>① パーキンソン病に関する現時点での知見</p> <p>パーキンソン病は振戦、寡動、筋強剛、姿勢反射障害を主たる症候とし、40-70 歳で発症し、10 年前後で臥床状態となる進行性神経変性疾患である。パーキンソン病は、線条体に投射する黒質ドパミン合成ニューロンが脱落する結果、線条体のドパミンが欠乏して発症すると考えられている。パーキンソン病に対しては薬物療法や深部脳電気刺激療法など、複数の治療法があるが、いずれも問題を有している。治療の主流となる薬物療法では、長期投与により①効果が減弱し、②wearing-off 現象、on-off 現象、ジスキネジアが出現、③幻覚や妄想が現れるようになる。L-DOPA 治療後 2 年で、運動症状の動揺は約 50%、不随意運動は 30% に出現する。また、ドパミン受容体作動薬単剤で長期間治療するのは困難で、3 年目までに約 50%、5 年目までに 70% 近くの患者は L-DOPA との併用を要する。深部脳電気刺激療法は、進行して L-DOPA の効果がなくなった症例には無効であり、長期予後も良好とは言えない。そのため、新規治療法の開発が望まれている。</p> <p>② 当該遺伝子治療臨床研究の概要</p> <p>ヒト AADC 遺伝子を搭載した 2 型 AAV ベクター（AAV-hAADC-2）を進行したパーキ</p>	

	<p>ンソン病患者の被殻に定位脳手術的に注入する。AADC は L-DOPA をドパミンに変換する酵素であり、L-DOPA の服用でドパミン産生が増加し、症状の改善が期待できる。仮に AADC が過剰に発現した場合には L-DOPA 服用量を減らすことでジスキネジアを予防できる。</p> <p>③ 他の治療法との比較および遺伝子治療を選択した理由</p> <p>a. ドパミン産生細胞の移植</p> <p>ドパミン産生細胞を被殻に移植する治療法で、これまで自家副腎髄質細胞、交感神経節細胞の移植が行われてきたが、効果は不十分である。</p> <p>近年、米国においてパーキンソン病患者の両側被殻に中絶胎児の黒質ドパミン細胞を移植する二重盲検試験が実施された。治療 1 年後、運動症状の多少の改善が認められたが、多くの症例でジスキネジアが出現した。この治療では、患者 1 人あたり胎児 4 人分のドパミン細胞が必要である。我が国では中絶胎児組織の臨床応用に関するガイドラインが存在せず、この治療法を実施することは倫理的に困難である。</p> <p>b. 幹細胞治療</p> <p>幹細胞は適切な条件下で神経細胞を含む種々の細胞に分化させることができ、これをパーキンソン病の移植治療に用いる基礎研究がなされている。この領域の研究は大きな成果をもたらす可能性を秘めているが、ドナー細胞をどこに求めるか、腫瘍化の阻止にはどうすればよいかなど、実用化の前に解決すべき問題が多い。</p> <p>c. 遺伝子導入療法</p> <p>脳内に存在する自己細胞にドパミン産生に関わる酵素遺伝子（本研究では AADC）を導入して自己細胞にドパミンを産生させる遺伝子導入療法が海外で開始され、一定の有効性が確認されつつある。ドパミンが機能するには、線条体の細胞間隙に一定量が徐々に漏れ出ていれば十分であるとの考えもあり、ドパミン合成に必要な酵素遺伝子を線条体の神経細胞に導入してドパミンを産生させることで症状が改善することが期待される。AADC 遺伝子の導入と L-DOPA の経口投与を組み合わせる方法は安全性も高く、実際にパーキンソン病モデルサルにおいても有効性、安全性が確認されている。そこでパーキンソン病遺伝子治療臨床研究の第一歩として、この方法を選択した。</p>
<p>遺伝子の種類およびその導入方法</p>	<p>(1) 人に導入する遺伝子の構造と性質</p> <p>① 人に導入する遺伝子の構造</p> <p>ヒト AADC 遺伝子は、第 7 染色体上に位置しており、8 万 5 千塩基対以上におよぶ大きな DNA からなり、15 のエクソンを含んでいる。本研究ではヒト AADC の cDNA (1443 塩基対) を治療遺伝子として用いる。</p> <p>② 人に導入する遺伝子の性質</p> <p>2 型 AAV ベクターに搭載する AADC cDNA は、ベクター内では 1 本鎖 DNA であるが、細胞内で 2 本鎖 DNA に変換される。</p> <p>③ 導入遺伝子からの生成物の構造およびその生物活性</p> <p>AADC は 2 量体として存在し、L-DOPA の脱炭酸によりドパミンを合成する。その他</p>

に5-水酸化トリプトファン (5-HTP) の脱炭酸によりセロトニンを合成する。

(2) 本計画で使用するその他の組換え DNA の構造と性質

本計画では他の組換え DNA は使用しない。

(3) 標的細胞とした細胞の由来および生物学的特徴ならびに当該細胞を標的細胞とした理由

本計画では、黒質-線条体路の投射先である被殻の背外側部に存在する神経細胞を標的として遺伝子導入を行い、ドパミンを産生させる。パーキンソン病では、線条体に投射している黒質ニューロンの脱落によって、線条体のドパミンが欠乏している。したがって、被殻の神経細胞を標的として遺伝子導入を行うことが、治療効果を得るために効果的であると考えられる。

(4) 遺伝子導入方法の概略および当該導入法を選択した理由

AAV ベクターは、神経細胞に効率良く遺伝子導入できること、非分裂細胞で長期間遺伝子発現できること、細胞毒性が少なく非病原性のウイルスを基本骨格としていて安全性が高いことから、本臨床研究の目的に適している。AAV には2型以外に様々な血清型が同定されているが、2型 AAV は神経細胞への特異性が高い。従来、2型 AAV ベクターを用いた臨床研究が欧米で実施されてきており、血友病に対して第IX凝固因子発現2型 AAV ベクターの骨格筋あるいは肝動脈への注入、パーキンソン病に対して AADC 発現2型 AAV ベクターの被殻への注入、グルタミン酸デカルボキシラーゼ発現2型 AAV ベクターの視床下核への注入などが既に試みられている。以上のことから、今回の臨床研究では、2型 AAV ベクターを利用するのが妥当と考えられる。

(5) ウイルスベクターを用いて遺伝子導入を行う場合

① 野生型ウイルスの生物学的特徴および人に対する影響

AAV はパルボウイルス科デベンドウイルス属に分類される直径約26nm のエンベロープを持たない球形ウイルスである。ウイルス粒子は物理化学的にきわめて安定である。ゲノムは4679ヌクレオチドからなる1本鎖DNAであり、プラス鎖あるいはマイナス鎖が含まれている。ゲノム両末端145ヌクレオチドはT字型ヘアピン構造を形成しており inverted terminal repeat (ITR) と呼ばれる。AAV ゲノムの左半分は *rep* 遺伝子、右半分は *cap* 遺伝子で、それぞれ非構造蛋白質とキャプシド蛋白質をコードしている。AAV はヘルパーウイルスの存在下でのみ増殖でき、自律増殖はできない。単独で細胞に感染した場合、第19番染色体の AAVS1 領域 (19q13.42) に特異的にそのゲノムを組み込み、潜伏感染の状態となる。AAV は呼吸器を主たる感染経路として人から人へ感染するとされている。大部分は不顕性感染で AAV の感染に伴う特有の疾患は報告されておらず、非病原性と考えられている。米国での調査によると、出生直後は AAV に対する抗体は検出できないが、学童期で人口の50%以上で抗体が陽性となる。

	<p>② ウイルスベクターの作製方法</p> <p>AAV ゲノムの ITR を除いた <i>rep/cap</i> 遺伝子部分を挿入した AAV ヘルパープラスミド (pHLPI9), 両端に ITR を連結した AADC 発現カセットを挿入した AAV ベクタープラスミド (pAAV-hAADC-2), 2 型アデノウイルスの E2A, E4, VA RNA 遺伝子を挿入したアデノウイルスヘルパープラスミド (pladeno5) の 3 種類をリン酸カルシウム法にて HEK293 細胞にトランスフェクションする. 3 日後, 凍結融解操作で細胞内の AAV ベクター AAV-hAADC-2 を遊離させ, 2 回の塩化セシウム密度勾配超遠心によって精製する. 10mM リン酸ナトリウム/140mM NaCl/5% ソルビトール溶液 (pH 7.4) にて透析を行い, Poloxamer 188 を最終濃度 0.001% になるよう加え, 0.22 μm のフィルターで滅菌処理を行いウイルスベクター液とする. 使用する培地, 血清, 試薬等はすべて米国の Food and Drug Administration (FDA) の good manufacturing practice (GMP) 規格に適合しており, 米国 Avigen 社および米国 Genzyme 社の内部規定に基づいて作製されている.</p> <p>③ ウイルスベクターの構造</p> <p>キャプシドは野生型ウイルスと同じである. キャプシドに被われるベクターゲノムは 3466 ヌクレオチドからなり, 両末端の ITR は野生型と同じであるが, その間にある <i>rep/cap</i> 遺伝子は, サイトメガロウイルスのプロモーター/エンハンサー, CMV /β グロビンキメライントロン, ヒト AADC 遺伝子, ヒト成長ホルモン遺伝子ポリ A シグナルに置き換えられている.</p> <p>④ ウイルスベクターの生物学的特徴</p> <p>AAV ベクターは神経細胞, 筋細胞, 肝臓などに遺伝子を効率良く導入できる. 1 本鎖ベクターゲノムは核内で 2 本鎖となり, 導入遺伝子を発現できるようになる. 大半はエピソームとして存在し, 染色体に組み込まれるのはごく一部である. 非分裂細胞ではベクターゲノムは長期間に亘って安定に保持される. 動物実験では年余に亘る導入遺伝子の発現が報告されている.</p> <p>AAV ベクターゲノムは一部が染色体に組み込まれたとしても, <i>rep</i> 遺伝子を欠いているため AAVS1 領域への部位特異性は失われている.</p>
安全性についての評価	<p>(1) 遺伝子導入方法の安全性</p> <p>① 遺伝子導入に用いるウイルスベクターの純度</p> <p>組換えウイルスの製造および純度の検定は, ベクター供給元である米国 Avigen 社および 2006 年以降は米国 Genzyme 社において行う. 本研究においては, FDA による医薬品および医療用装置に関する GMP の認可を受けた品質管理のための設備を有している Avigen 社において製造されたロットを用いる.</p> <p>② 患者に投与する物質の純度およびその安全性</p> <p>患者に投与するベクターは米国 GMP ガイドラインにしたがって品質管理される. ベクター溶液への添加物 (ソルビトールならびに Poloxamer 188) はいずれも医薬品添加物として米国で認可されたものであり, 純度および安全性に問題のないものを用いる.</p>

③ 増殖性ウイルス出現の可能性

野生型 AAV は単独では複製できず、ヘルパーウイルスの存在を必要とする。さらに AAV ベクターはウイルス由来遺伝子がすべて除去されているため、ヘルパーウイルスが存在しても複製できない。ただし、ベクター作製時に野生型 AAV が生成された場合、ヘルパーウイルス存在下で複製することがあり得る。また、AAV ヘルパープラスミドと AAV ベクタープラスミドの間の組換えによる偽野生型 AAV の出現についても、pHLP19 ではそれを抑える工夫をしてある。

野生型あるいは偽野生型 AAV は HEK293 細胞にベクターストックと野生型アデノウイルスとを同時に感染させた後、検出する。この方法の検出感度は 10^7 ゲノムあたり 1 コピーであり、検出感度以下を基準とする。

④ 遺伝子導入に用いるウイルスベクターの細胞傷害性

本研究に用いる用量以上の AAV ベクターをサル脳内に注入した前臨床研究では、細胞傷害性は認められなかった。

⑤ 体内の標的細胞以外の細胞への遺伝子導入の可能性

AAV ベクターを用いた血友病 B の臨床研究において、肝動脈にベクターを投与した際、数週間精液中にベクターが検出された。しかし、精子ゲノムへのベクターゲノムの組込みはなかったものと結論された。一方、本研究では血友病の臨床研究に用いられた量のおおよそ 1/100 量のベクターを頭蓋内に局所投与するものであり、頭蓋外の細胞に遺伝子導入が起こる可能性は低い。サル脳へのベクター投与実験（最大投与量： 4.35×10^{10} vg）では、脾臓、心臓、肝臓、卵巣でベクターゲノムは検出されなかった。

⑥ 患者以外の人に遺伝子が導入される可能性

本研究では血友病の臨床研究（血管内投与）に比べてきわめて少量のベクターの局所投与で実施されることから、ベクターが患者体外に排出される可能性は低い。しかしながら、ベクター拡散の可能性を最小限にするため、本研究の対象患者はベクター投与後、患者の尿、便、血液および唾液中のベクター DNA が PCR 法で陰性になるまで個室に隔離する。

⑦ 染色体内へ遺伝子が組み込まれる場合の問題点

AAV ベクターは標的細胞の染色体に組み込まれる可能性はあるが、その頻度は著しく低いものと推定される。また、遺伝子導入の標的が非分裂細胞のニューロンであることから、挿入変異を契機にがん化が進む危険性はほとんどないものと考えられる。

マウス肝臓への遺伝子導入実験（最大投与量： 3×10^{11} vg/animal, 1×10^{13} vg/kg 相当）で、組込み部位が遺伝子存在領域に多いこと、組込み部位近傍のゲノムが約 2kb まで欠失しているとの報告がある。ただし、AAV ベクターゲノムの組込みが一部起きたとしても、非分裂細胞のニューロンではがん化の危険性は低いものと考えら

	<p>れる。なお、肝臓で AAV ベクターゲノムの組込みが観察されたのは、再生しうる臓器であることと関係があるかもしれない。因みに、マウス筋肉細胞では AAV ベクターゲノムの染色体への組込みは検出されない（投与量：1×10^{11}vg/animal）。</p> <p>⑧ がん原性の有無 これまでのところ野生型 AAV や AAV ベクターを原因とするがん発生の報告はなく、がん原性はないものと考えられる。</p> <p>(2) 遺伝子産物の安全性 AADC は線条体内のドパミンニューロン終末に存在する酵素である。この酵素は L-DOPA の供給がなくてはドパミンを産生することはできない。したがって本臨床研究では、L-DOPA の投与量を調節することで線条体内のドパミン濃度が過剰とならないように制御することが可能であり、安全性が高い。また、ドパミンの他に AADC により 5-HTP を基質としてセロトニンが生成されるが、内因性の 5-HTP は少量であり、AADC の過剰発現が起こっても生成されるセロトニンの量は生理的範囲内であると予想されるため、これによる副反応は生じないと考えられる。</p> <p>(3) 細胞の安全性 AAV ベクターは HEK293 細胞に 3 種類のプラスミドをトランスフェクションして製造される。この HEK293 細胞の品質はベクターを製造する米国 Avigen 社および 2006 年以降は米国 Genzyme 社において厳重に管理されている。</p> <p>① 培養細胞の純度 HEK293 細胞は Genzyme 社において品質管理試験が施行されている。細菌、真菌、マイコプラズマ、ウイルス等による汚染の有無については専門の検査会社でテストされ、安全性が確認されている。細胞培養に用いられる培地、FBS などは FDA の基準を満たすものである。</p> <p>② 細胞の遺伝子型、表現型の安定性 いくつかの細胞内酵素の発現パターンを電気泳動法によって比較し、他種細胞の混入のないことを確認している。また、ベクター作製にはマスターセルバンクからの継代数が 4 から 20 までの HEK293 細胞を用いており、表現型が安定していると考えられる時期の細胞を使用している。</p> <p>③ 被験者に投与する細胞の安全性 被験者には細胞は投与しない。</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>当施設で診療している多数の進行期パーキンソン病患者は、新しい治療法に大きな期待を寄せている。パーキンソン病モデルサル被験への AAV-hAADC-2 注入による前臨床研究では、AADC が長期間被験体内で発現して治療効果が認められ、かつ副作用はみられず安全性が確認されている。本臨床研究の遂行には、組換え DNA 技術をはじめとする遺伝子工学、パーキンソン病診療、定位脳手術に精通した専門家の協力</p>

	<p>が必要である。当施設はこの条件を満たし、綿密な協力体制ができ上がっており、遺伝子治療臨床研究の実施が可能である。</p>
実施計画	<p>(1) 遺伝子治療臨床研究を含む全体の治療計画</p> <p>本研究は患者間用量比較オープン試験であり、臨床治験の第 I/II 相に相当する。本研究の主要評価項目は、進行期パーキンソン病患者被殻内への AAV-hAADC-2 注入療法の安全性である。副次評価項目は、AAV-hAADC-2 注入療法の有効性であり、その判定は症状日誌、臨床的評価、服用する L-DOPA の必要量に基づいて行う。かつ、被殻注入 AAV-hAADC-2 の発現量も副次評価項目とし、FMT-PET によって判定する。</p> <p>進行期パーキンソン病患者の被殻に左右 2 箇所ずつ計 4 箇所に AAV-hAADC2 を定位脳手術的に注入する。対象患者は 1 群 3 例で 2 群を予定している。第 1 群では、注入量 (vector genomes : vg) は 1 症例あたり 3×10^{11} vg, 注入容量は 1 箇所あたり $50 \mu\text{l}$ (症例あたり $200 \mu\text{l}$), 注入速度は $1 \mu\text{l}/\text{min}$ とし、第 2 群では第 1 群の 3 倍量である 9×10^{11} vg を注入し、注入容量は 1 箇所あたり $150 \mu\text{l}$ (症例あたり $600 \mu\text{l}$), 注入速度は $3 \mu\text{l}/\text{min}$ とする。</p> <p>(2) 被験者の選択基準および除外基準</p> <p>対象は自治医科大学附属病院、あるいはその関連病院に通院中の進行期パーキンソン病患者で、以下の選択基準を満たし、かつ以下の除外基準のいずれにも該当しない 6 症例とする。</p> <p>選択基準：</p> <ol style="list-style-type: none"> ① 「厚生省特定疾患：神経変性疾患調査研究班（1995 年度）の診断基準」を満たす特発性パーキンソン病で、初期には L-DOPA が有効であり、また他の神経変性疾患を示唆する所見を認めない患者 ② 治療時点での年齢は 75 歳以下 ③ 発症年齢は 40 歳以上 ④ L-DOPA による 5 年以上の治療歴を有する ⑤ 治療開始時の OFF state での Hoehn & Yahr の重症度が IV 度 ⑥ UPDRS のスコアの合計 (OFF state) が 20～80 点 ⑦ ドパミン治療に対する反応が明らかで、on と off で UPDRS-III (運動スコア) の改善が明らかであること。具体的にはドパミン治療によって UPDRS-III が 8 点以上改善する ⑧ 耐え難い運動合併症、具体的には UPDRS-IV の項目 B (症状の日内変動) のスコアが 3～7 であり、適切な薬物療法によっても満足できる治療効果が得られず、定位脳手術が可能な患者 ⑨ 女性の場合は閉経していること。男性の場合は子供をつくらないことに同意すること (ただし、遺伝子治療前に精子を凍結保存し、その精子を使用して子供をつくる場合はこの規定に該当しない) ⑩ 治療後の頻回の診察を含め、研究に必要な条件を守ることが可能なこと ⑪ 研究に参加する前の少なくとも 2 ヶ月間、パーキンソン病治療薬を変更しないこと ⑫ 患者本人から、インフォームドコンセントが得られること

除外基準：

- ① 脳血管障害、抗精神病薬や毒物への暴露、脳炎等の病歴によって、あるいは進行性核上性麻痺や小脳症状、錐体路徴候、自律神経徴候、認知症、幻覚や妄想などの症状によって、あるいはラクナー梗塞や中脳被蓋部の萎縮、橋と小脳の萎縮などの magnetic resonance imaging (MRI) 所見によって、二次性あるいは非典型的パーキンソニズムであることが示唆される患者
- ② 過去6ヶ月以内に、日に3時間以上続く強く激しいジスキネジアの病歴を有する患者
- ③ 既にパーキンソン病に対する定位脳手術（淡蒼球凝固術、視床凝固術、脳深部刺激）を実施済みの患者
- ④ MMSE (Mini-Mental State Examination) で20点以下、あるいは神経心理検査で認知症と診断される患者
- ⑤ 過去6ヶ月以内に幻覚や妄想を認めた患者、統合失調症あるいは affective disorder の病歴のある患者
- ⑥ 脳血管障害をはじめ、明らかな心血管系疾患を有する患者
- ⑦ 脳内の悪性新生物、臨床的に明らかな神経疾患（例えば年齢相応でない、明らかな脳萎縮）
- ⑧ 5年以内の、治療済みの皮膚がんを除くその他の悪性腫瘍の病歴
- ⑨ コントロールされていない高血圧、具体的には収縮期血圧 160mmHg 以上
- ⑩ 血液凝固異常症、あるいは抗凝固療法が必要な患者
- ⑪ 臨床的に明らかな免疫異常症（例えば免疫抑制薬が必要な症例）
- ⑫ GDS (Geriatric Depression Scale) の short scale が10点以上、抗うつ薬服薬中は5点以上
- ⑬ MAO-A 阻害薬、あるいは抗精神病薬を服薬中
- ⑭ MRI が撮影できない患者
- ⑮ FMT-PET で異常所見を認めない症例
- ⑯ AAV-2 に対する中和抗体価が高い患者 (1 : 1200 以上)
- ⑰ 閉経前の女性、子供をもうけることを希望する男性。ただし遺伝子治療前に精子を凍結保存し、その精子を用いて子供をもうける場合は該当しない
- ⑱ 3年以内に痙攣発作の既往のある患者、抗てんかん薬を服薬中の患者、あるいは脳波検査でてんかん性の異常を認める患者
- ⑲ 重篤な薬物アレルギーの既往のある患者
- ⑳ 過去6ヶ月以内に、本臨床研究、他の臨床研究、治験のいずれかに参加したことのある患者
- ㉑ 以下の管理不良な疾患を合併する患者
 - a) 高度な腎障害患者（血清クレアチニン > 2.0mg/dl かつ BUN > 25mg/dl）
 - b) 高度な肝障害（AST/GOT あるいは ALT/GPT が正常域上限の 2.5 倍以上）
 - c) 管理不良な糖尿病患者（随時あるいは食後血糖値 > 200mg/dl かつヘモグロビン A1c > 9%）
- ㉒ その他、総括責任者が本研究の対象として不適当と判断した患者

(3) 被験者の同意の取得方法

本研究に参加する候補者は、自治医科大学附属病院あるいはその関連病院に通院している患者の中から募集する。募集にあたっては、この臨床治療研究についての情報を関係する神経内科医に広く提供する。被験者に対しては、本遺伝子治療臨床研究の内容と期待される治療効果および危険性について、臨床治療研究実施医師より、「パーキンソン病遺伝子治療の臨床研究ご参加のしおり」を基にして十分な説明を行う。さらに、自治医科大学附属病院のコーディネーター（治験推進室の薬剤師あるいは看護師）がわかりやすく説明を行い、被験者の自由意思に基づき文書による同意を得る。

すべての対象者は研究のいかなる時点においても、不利益を被ることなく本研究への参加を取り止めることができる。対象者が参加を取り止めた場合、次の基準にしたがって他の対象者に振り替える。

- ① 対象者が遺伝子導入以前に参加を取り止めた場合、次の対象者に振り替える。
- ② 対象者が遺伝子導入後に参加を取り止めた場合、次の対象者への振り替えは行わない。この場合、安全性に関する経過観察は継続する。

(4) 実施期間および目標症例数

実施期間は厚生労働大臣の承認後、自治医科大学附属病院病院長による開始承認の日から、最終登録症例にベクターを投与した時点の9ヶ月後までとする。ただし、5年後までは有効性・安全性に関して一定の評価を行い、さらに10年後まで安全性に関して長期フォローする。

目標症例数は6例（各用量群3例）とする。副作用が生じた場合には、必要に応じてその群の症例数を増やし、安全性の評価を強化する。治療後の評価に関しては各群とも同じとする。

(5) 遺伝子治療臨床研究の実施方法

① 対照群の設定方法

本研究は無作為抽出を行わない患者間用量比較オープン試験であり、対照群の設定は行わない。

② 遺伝子導入方法（安全性および有効性に関する事項を除く。）

被験者は治療開始10日前（Day -10）に自治医科大学附属病院に入院する。

遺伝子の導入は全身麻酔下で定位脳手術によって被殻へ直接注入する。AAV-hAADC-2を注入する目標となる部位は手術に先だって撮影したMRI上で同定する。2個所の目標点は、被殻の中心に近い背外側寄りです。十分に離れていることを条件として決定する。頭蓋骨のburr holeは1側につき1つとし、そこから2トラックの刺入路でAAV-hAADC-2を注入する。

AAV-hAADC-2を含む溶液は 1.5×10^{12} vg/mlの濃度に調整し、専用のポンプを用いて第1群では1個所あたり $1 \mu\text{l}/\text{min}$ の速度で $50 \mu\text{l}$ 注入し、第2群では $3 \mu\text{l}/\text{min}$ の速度で $150 \mu\text{l}$ 注入する。4個所の注入が完了したら、カニューレを抜去して出血がないことを確認し、皮膚を縫合閉鎖する。麻酔覚醒後、直ちに頭部CTスキャンを