

遺伝子治療臨床研究実施計画の申請及び遺伝子治療臨床研究に係る生物多様性影響評価に関する申請について
(三重大学医学部附属病院)

(遺伝子治療臨床研究実施計画の申請)

- 諮問及び付議（案）P1
- 遺伝子治療臨床研究実施計画申請書及び概要書P3
- 同意説明文書.....P25
- 厚生科学審議会科学技術部会がん遺伝子治療臨床研究作業委員会委員名簿 ...P46

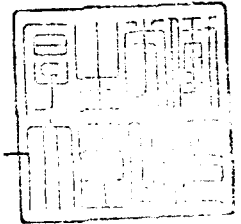
(遺伝子治療臨床研究に係る生物多様性影響評価に関する申請)

- 諮問及び付議（案）P47
- 第一種使用規程承認申請書.....P49
- 生物多様性影響評価書P52
- 厚生科学審議会科学技術部会遺伝子治療臨床研究作業委員会
遺伝子治療臨床研究に係る生物多様性影響評価に関する作業委員会委員名簿
.....P70

厚生労働省発科第 0623002 号
平成 20 年 6 月 23 日

厚生科学審議会会長
久道 茂 殿

厚生労働大臣 外 添 要



諮 問 書

下記の遺伝子治療臨床研究実施計画について、その医療上の有用性及び倫理性に関し、厚生労働省設置法（平成 11 年法律第 97 号）第 8 条第 1 項第 1 号イ及び遺伝子治療臨床研究に関する指針（平成 14 年文部科学省・厚生労働省告示第 1 号）の規定に基づき、貴会の意見を求めます。

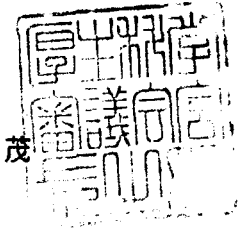
記

平成 20 年 6 月 9 日に三重大学医学部附属病院長から提出された「MAGE-A4 抗原特異的 TCR 遺伝子導入リンパ球輸注による治療抵抗性食道癌に対する遺伝子治療臨床研究」計画

厚科審第10号
平成20年6月23日

科学技術部会部会長
垣添忠生 殿

厚生科学審議会会長
久道 茂



遺伝子治療臨床研究実施計画について（付議）

標記について、平成20年6月23日付け厚生労働省発科第0623002号をもって厚生労働大臣より諮問があったので、厚生科学審議会運営規程第3条の規定に基づき、貴部会において審議方願いたい。

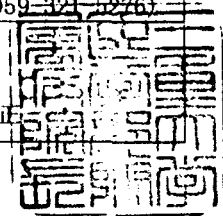
別紙様式第1

遺 伝 子 治 療 臨 床 研 究 実 施 計 画 申 請 書

平成 20 年 6 月 9 日

厚生労働大臣 殿

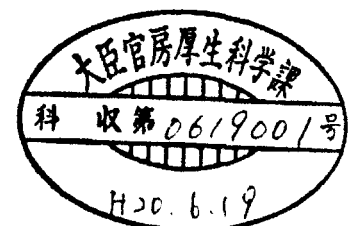
実 施 施 設	所 在 地	三重県津市江戸橋二丁目 174 番地 (郵便番号 514-8507)
	名 称	国立大学法人三重大学医学部附属病院 (電話番号 059-232-1111) (FAX 番号 059-321-5276)
	代 表 者 役職名・氏名	国立大学法人三重大学医学部附属病院 病院長・内田 淳正



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
MAGE-A4 抗原特異的 TCR 遺伝子導入リンパ球輸注による治療抵抗性食道癌に対する遺伝子治療臨床研究	国立大学法人三重大学大学院医学系研究科 遺伝子・免疫細胞治療学講座・ 教員・珠玖 洋



遺伝子治療臨床研究実施計画概要書


平成 20 年 6 月 9 日 (申請年月日)

研究の名称	MAGE-A4 抗原特異的 TCR 遺伝子導入リンパ球輸注による治療抵抗性食道癌に対する遺伝子治療臨床研究
研究実施期間	平成 年 月 日 (承認日) から 3 年間

総括責任者	所属部局 の所在地	三重県津市江戸橋二丁目 174 番地 (郵便番号 514-8507)	
	所属機関・ 部局・職	三重大学大学院医学系研究科 遺伝子・免疫細胞治療学講座・教員	
	氏 名	珠玖 洋 (印)	
実施の場所	所 在 地	三重県津市江戸橋二丁目 174 番地 (郵便番号 514-8507)	
	名 称	三重大学医学部附属病院	
	連 絡 先	三重県津市江戸橋二丁目 174 番地 (電話番号 059-232-1111)	
総括責任者以外の研究者	氏 名	所属機関・部局・職	役 割
	影山 慎一	三重大学大学院医学系研究科・遺伝子・免疫細胞治療学講座・准教授	レトロウイルスベクター製剤の品質管理責任者、遺伝子導入細胞製剤の品質管理責任者、試験登録患者の診療
	日浅 厚則	三重大学大学院医学系研究科・遺伝子・免疫細胞治療学講座・助教	レトロウイルスベクター製剤の製造管理責任者、遺伝子導入細胞製剤の製造管理責任者
	池田 裕明	三重大学大学院医学系研究科・がんワクチン講座・准教授	遺伝子導入細胞製剤の体内動態及び免疫反応の評価
西川 博嘉	三重大学大学院医学系研究科・がんワクチン講座・講師	遺伝子導入細胞製剤の体内動態及び免疫反応の評価	

	片山 直之	三重大学大学院医学系研究科・病態制御医学講座 造血病態内科学・教授	試験登録患者の診療
	中瀬 一則	三重大学医学部附属病院・血液内科、腫瘍・免疫内科 ・科長	試験登録患者の診療
	榎屋 正浩	三重大学大学院医学系研究科・病態制御医学講座・ 造血病態内科学・准教授	試験登録患者の診療
	水野 聡朗	三重大学大学院医学系研究科・病態制御医学講座・ 腫瘍・免疫内科学・助教	試験登録患者の診療
	北野 滋久	三重大学医学部附属病院・腫瘍・免疫内科・医員	試験登録患者の診療、 遺伝子導入細胞製剤の体内動態及び 免疫反応の評価
	大石 晃嗣	三重大学医学部附属病院・輸血部・部長、講師	アフェレーシスの 管理
	田中 匡介	三重大学医学部附属病院・光学医療診療部・助教	試験登録患者の診療
	白石 泰三	三重大学大学院医学系研究科・病態解明医学講座 腫瘍病態解明学・教授	病理組織学的診断
	佐藤 永一	東京医科大学・病理学講座・助教	病理組織学的診断
	大谷 明夫	独立行政法人国立病院機構 水戸医療センター・ 研究検査科・臨床研究部長	病理組織学的診断
外部協力者	峰野 純一	タカラバイオ株式会社・ 細胞・遺伝子治療センター・センター長	ウイルスベクターに 関する基礎的助言及 び遺伝子導入 T リン パ球調製技術の提供 と助言

審査委員会が研究計画の実施を適当と認める理由	<p>本臨床研究は、「遺伝子治療臨床研究に関する指針（平成14年3月27日 文部科学省・厚生労働省告示第1号（平成16年12月28日全部改正）」の必要条件を満たしている」と認める。</p> <p>本臨床研究で遺伝子導入する細胞はレトロウイルスベクターによる癌化リスクは低く、対象疾患の利益・不利益を総括すると遺伝子治療臨床研究の実施に問題は少ない。また本臨床研究実施計画に先立ち施行された実験動物に遺伝子導入ヒトリンパ球を投与した安全性試験の結果、遺伝子導入細胞投与群に毒性所見は観察されなかった。また遺伝子導入細胞は本学内細胞調製施設においてGMP基準に準拠して調製され、細胞品質は調製時毎に確認される。本臨床研究を担当する研究者は、遺伝子ベクター調製、細胞治療等の経験者であり計画施行に適切な構成である。</p>
------------------------	--

	審査委員会の長の職名	氏名
	三重大学医学部附属病院遺伝子治療臨床研究審査委員会 委員長 三重大学大学院医学系研究科 病態解明医学講座 臨床検査医学分野 教授	登 勉 

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>本臨床研究は、標準的な治療法（化学療法、放射線療法等）による効果が期待できない治療抵抗性の食道癌患者を対象として、腫瘍抗原 MAGE-A4 を特異的に認識する T 細胞受容体 (TCR) α 鎖及び β 鎖の遺伝子をレトロウイルスベクターにより遺伝子導入した自己リンパ球 (TCR 遺伝子導入リンパ球) 輸注について、その安全性、体内動態及び臨床効果を以下のエンドポイントにより評価することを目的とする。</p> <p>①主要エンドポイント ・本遺伝子治療の安全性〔有害事象、臨床検査、増殖性レトロウイルス (RCR)、linear amplification mediated-PCR (LAM-PCR)〕</p> <p>②副次エンドポイント ・TCR 遺伝子導入リンパ球の血中動態及び腫瘍組織への浸潤 ・腫瘍特異的免疫反応 ・腫瘍縮小効果</p>	
対象疾患及びその選定理由	<p>1. 対象疾患に関する現時点での知見 食道癌は 60 歳代男性に多くみられる疾患であり、本邦での年間罹患数 (1999 年、年齢調整) は男性 12,402 人、女性 2,428 人、死亡数 (2003 年、年齢調整) は男性 9,397 人、女性 1,651 人である。食道癌は縦隔等へ浸潤傾向が強く、また、早期からリンパ節転移をきたす治療困難例が多いため、予後不良癌とされている。食道癌の治療法はその進行度により、内視鏡的粘膜切除、手術、放射線療法及び化学療法から選択される。近年、食道癌の治療成績は手術や補助療法の進歩により改善が得られているが、全国食道癌登録調査報告書によれば、全体の 5 年生存率 (TNM 病期分類) は、0 期: 70.2%、I 期: 64.5%、IIa 期: 51.5%、IIb 期: 34.0%、III 期: 19.8%、IVa 期: 13.7%、IVb 期: 5.5% と未だ予後不良である。現在、病期進行食道癌に対する治療法として、シスプラチン (CDDP:白金系抗腫瘍剤) /5-フルオロウラシル (5-FU:葉酸代謝拮抗剤) による化学療法と放射線療法の併用療法 (化学放射線療法) が標準的治療法として選択されているが、無効例も少なくない。また、CDDP/5-FU の他、ドセタキセルやパクリタキセル (本邦では食道癌の適応未承認) 等のタキソイド系薬剤の併用が検討されている。食道癌では、初回治療が適正に行われたにもかかわらず再発を認めることが多く、再発食道癌に対する治療法は、現在のところ一定のコンセンサスが得られていない。治療にあたっては、もっぱら延命効果の期待あるいは患者の生活の質 (QOL) の改善を目的とし、再発食道癌の 50% 生存期間は約 6 ヶ月とされている。</p> <p>2. 当該遺伝子治療臨床研究の概要 本臨床研究では、治療抵抗性の食道癌患者から採取した末梢血リンパ球に、MAGE-A4 特異的 TCR α 鎖及び β 鎖遺伝子をレトロウイルスベクターにより遺伝子導入し、その自己リンパ球を経静脈的に投与する。遺伝子導入リンパ球を投与後、MAGE-A4₁₄₉₋₁₅₅ ペプチド (9 アミノ酸: NYKRCFPVI) を投与し、患者体内での TCR 遺伝子導入リンパ球の増殖を図る。本臨床研究は、ヒト白血球抗原 (HLA)-A2402 拘束性 MAGE-A4 特異的 TCR 遺伝子導入リンパ球を輸注することにより、腫瘍特異的免疫反応、更には腫瘍縮小効果を期待するものである。 MAGE-A4 は食道癌の多くに発現する腫瘍抗原であり、癌組織と精巣においてのみ発現される。また、HLA-A2402 は日本人の約 60% が有する主要組織適合抗原である。TCR 遺伝子導入リンパ球による細胞傷害活性は、遺伝子導入された細胞傷害性 T 細胞</p>	

ンパ球 (CTL) 表面上の MAGE-A4 特異的 TCR が、腫瘍細胞表面上の HLA-A2402 分子と MAGE-A4₁₄₃₋₁₅₁ ペプチドの複合体を特異的に認識することにより発揮される。なお、精巣細胞は HLA 分子を発現しないため MAGE-A4 抗原を認識する T リンパ球による傷害を受けない。

本臨床研究における評価項目は、遺伝子治療の安全性、TCR 遺伝子導入リンパ球の体内動態及び臨床効果である。

3. 他の治療法との比較及び遺伝子治療を選択した理由

治療抵抗性食道癌に対する根治療法は現時点では存在せず、栄養管理や QOL 向上のための緩和医療を行っているのが現状である。食道癌に対する抗癌剤以外の治療として、分子標的治療の開発が期待されているが、臨床研究結果の報告はない。このような現状において、食道癌に発現する腫瘍抗原を標的とした新規治療の開発が期待される。腫瘍抗原を標的とした免疫療法の 1 つとして、抗腫瘍活性を有する自己 T リンパ球を投与する細胞療法が積極的に研究されており、複数の臨床試験において有効例が報告されている。中でも、米国国立衛生研究所 (NIH) の Rosenberg らのグループは、転移性悪性黒色腫患者を対象とした臨床試験において、体外で増殖させた腫瘍浸潤リンパ球 (TIL) を患者に再移入する養子免疫療法を実施し、RECIST ガイドラインによる判定として 51% の腫瘍縮小効果を報告している。これら養子免疫療法における従来の細胞調製法と比較して、本遺伝子治療では、HLA-A2402 陽性患者の T リンパ球に MAGE-A4 特異的 TCR 遺伝子を導入することによって、腫瘍細胞に対する傷害活性を付与するものであり、必要量の MAGE-A4 抗原特異的 T リンパ球を調製することが可能である。実際に、当施設で調製された MAGE-A4 TCR 遺伝子導入リンパ球は、MAGE-A4 陽性・HLA-A2402 陽性のヒト腫瘍細胞株に対して特異的な細胞傷害活性を示すことが *in vitro* において確認されている。また、免疫不全マウスに MAGE-A4 陽性・HLA-A2402 陽性のヒト腫瘍細胞株を接種したモデル実験において、TCR 遺伝子導入ヒトリンパ球投与群に特異的な腫瘍径増大の抑制効果が認められた。なお、上記の Rosenberg らのグループは、腫瘍抗原 MART-1 特異的 TCR 遺伝子を導入した T リンパ球を投与した臨床試験において、悪性黒色腫患者 17 名中 2 名について転移腫瘍巣の明らかな退縮を観察しており、この戦略が有望な新規癌治療法となる可能性を示唆している。

4. MAGE-A4₁₄₃₋₁₅₁ ペプチド投与を併用する理由

近年の T 細胞の養子免疫療法における研究により、可能な限り短期の培養において必要な移入量を達成し、担癌宿主への移入後に *in vivo* において抗原刺激を加え活性化することにより効果的な抗腫瘍効果が得られると考えられている。これまでに、抗原ペプチドと不完全フロイントアジュバントのエマルジョンを含む、様々な形態のワクチンの投与を腫瘍抗原特異的 T 細胞の輸注療法に組み合わせることにより、輸注療法の抗腫瘍効果を増大させることが動物実験により報告されている。また、臨床試験においても同様にワクチン投与を腫瘍抗原特異的 T 細胞療法と組み合わせさせてメラノーマ患者の治療が試みられている。このような知見に基づき、本臨床研究においては試験細胞の *in vitro* 培養を短期間とし、試験細胞の患者への移入後 2 週目と 4 週目に MAGE-A4₁₄₃₋₁₅₁ ペプチドを投与することを計画した。本治療スケジュールにより、まず患者体内における MAGE-A4 反応性 T 細胞の頻度を飛躍的に増大させ、その後に抗原ペプチドを投与することにより輸注した MAGE-A4 反応性 T 細胞を患者体内で活性化すると共にさらなる増殖を引き起こし、より高い免疫応答と臨床効果を期待するものである。

ペプチドの投与量については、マウスを用いた研究において、腫瘍抗原ペプチド特異的な免疫応答を誘導するために、約 100 μ g のペプチドを不完全フロイントアジュバントとエマルジョン化して用いると有効であることが示されてきた。腫瘍抗原由来ペプチドを用いた初期のペプチドワクチン療法の臨床試験では当初 100 μ g から 10 mg の投与量の範囲で用いられたが、その最大投与量においても毒性は認められなかった。加えて、ワクチン投与と患者の末梢血単核球 (peripheral blood mononuclear cell: PBMC) を用いた *in vitro* の解析において、ワクチン投与による抗原特異的な T 細胞免疫応答の誘導と投与ペプチド量との間には特定の相関を認めるに至っていない。これらの結果に基づき、以後の第 I 相臨床試験の多くでは、

	<p>100 μg から 1 mg 程度の固定した投与量が設定されており、これまでに重篤な副作用は報告されていない。このような経緯と、従来の化学療法剤と腫瘍ワクチンとの根本的な性質の違いから、腫瘍抗原ペプチドを用いたワクチン療法の臨床試験においては用量試験の意義は限られていると考えられている。これらの知見に基づき、本臨床研究においては安全に投与可能であり、かつ免疫反応を誘導することが期待される投与量として 300 μg を設定した。</p>
<p>遺伝子の種類及びその導入方法</p>	<p>1. 人に導入する遺伝子の構造と性質 本臨床研究において発現する遺伝子は TCR α 鎖及び β 鎖遺伝子である。</p> <p>1.1. 人に導入する遺伝子の構造 本臨床研究に用いる TCR α 鎖遺伝子は 272 アミノ酸からなるポリペプチドをコードしており、この遺伝子にコードされる蛋白は、111 アミノ酸からなる V8-1 領域、20 アミノ酸からなる J10 領域、141 アミノ酸からなる C 領域という構造からなっている。TCR β 鎖遺伝子は 313 アミノ酸からなるポリペプチドをコードしており、この遺伝子にコードされる蛋白は、116 アミノ酸からなる V7-9 領域、3 アミノ酸からなる N 領域、15 アミノ酸からなる J2-5 領域、179 アミノ酸からなる C2 領域という構造からなっている。これらの遺伝子は、HLA-A2402 拘束性 MAGE-A4₁₄₃₋₁₅₁ ペプチドに特異的な CTL クローン #2-28 から単離された。</p> <p>1.2. 人に導入する遺伝子の性質 本臨床研究において使用するレトロウイルスベクター MS-bPa が細胞に感染すると、MS-bPa のゲノムは逆転写を経て細胞染色体に組み込まれ、プロウイルスとなる。 本臨床研究において導入する遺伝子は、TCR α 鎖と β 鎖をコードする cDNA である。ヒトにおいて TCR α 鎖は 14 番染色体上に、β 鎖は 7 番染色体上にコードされ、多様なクロナイプが存在する。TCR 遺伝子は免疫グロブリン (Ig) と同様に多数の亜型からなる V、D、J の可変領域と少数の C の定常領域からなる。その中で α 鎖の可変領域は V-J で β 鎖の可変領域は V-D-J で形成される。TCR 遺伝子は T 細胞の分化に伴い、これらの領域の遺伝子再構成という特徴的な過程を経て機能的遺伝子を形成する。まず D-J の遺伝子再構成が起こり、続いて V-DJ の再構成が生じる。再構成に伴い V-D 及び D-J 間にランダムな塩基配列 (N 領域) が組み込まれ TCR の多様性はさらに増加する。本臨床研究にはこの再構成を経た後の TCR 遺伝子の cDNA を導入する。われわれの使用する TCR α 鎖は Vα 8-1、Jα 10、C であり、TCR β 鎖は Vβ 7-9、Jβ 2-5、C2 の配列である。 レトロウイルスベクター MS-bPa により遺伝子導入された細胞において、TCR α 鎖遺伝子はマウスホスホグリセリン酸キナーゼ (PGK) 遺伝子プロモーター (P_{PGK}) によって転写される。マウス P_{PGK} はヒトを含む広範囲の哺乳類細胞において、細胞が増殖中であるか否かを問わずに機能するプロモーターであり、レトロウイルスベクター MS-bPa により導入される P_{PGK} は 513 bp のマウスゲノム由来 DNA 断片に含まれる。 TCR β 鎖遺伝子は LTR プロモーターによって転写される。レトロウイルスベクター MS-bPa ゲノム RNA の 5' -LTR は R 領域と U5 領域、3' -LTR は U3 領域と R 領域からなり、U5 領域と両端の R 領域は Moloney murine leukemia virus (MoMLV) 由来、U3 領域は murine leukemia virus (MLV) の変異株である murine stem cell virus (MSCV) 由来である。細胞に遺伝子導入されてプロウイルスになると、両末端の LTR はいずれも U3-R-U5 領域の構造をとる。LTR 中では、MSCV 由来の U3 領域が強いプロモーター活性とエンハンサー活性を有する。MSCV LTR は胚性幹細胞、胎児癌細胞及びその他の哺乳動物細胞において高い発現レベルを持続的に保持することが可能である。</p> <p>1.3. 導入遺伝子からの生成物の構造及びその生物活性 TCR α 鎖及び β 鎖は S-S 結合でヘテロダイマーとして機能的な TCR 分子を構成し、主要組織適合抗原 (MHC) 拘束性に標的細胞の MHC 分子と抗原ペプチドの複合体を認識する。このことにより、T 細胞は抗原特異性を示す。抗原認識の際の結合力の強弱や補助レセプターからのシグナルの有無により、T 細胞の活性化、アナジーの誘導、分化、生存と細胞死等を司る。TCR 鎖は Ig スーパーファミリー分子に属し、</p>

2つのIgドメインからなる細胞外領域、20アミノ酸からなる膜貫通領域、数個のアミノ酸からなる細胞内領域で構成される。2つのIgドメインのうち、N末端側が可変領域、C末端側が定常領域に相当する。細胞外領域に存在する相補性決定領域(CDR)1、CDR2領域はMHCとの結合に貢献し、CDR3領域は主としてペプチドを認識するのに必要とされる。

本遺伝子治療において導入するMAGE-A4特異的TCRは、TCR α 鎖及び β 鎖のヘテロダイマーによって機能的なMAGE-A4特異的TCR分子を構成している。このMAGE-A4特異的TCR分子は、標的細胞あるいは抗原提示細胞上のMHC-class I分子であるHLA-A2402分子とMAGE-A4分子由来の抗原ペプチドであるMAGE-A4₁₄₃₋₁₅₁ペプチドの複合体によって形作られる構造を特異的に認識し、結合する。T細胞表面上に存在するCD8分子は、HLA-A2402分子とMAGE-A4₁₄₃₋₁₅₁ペプチドの複合体がMAGE-A4特異的TCR分子と結合する際の結合の安定化に必要であり、CD8分子の非存在下では本MAGE-A4特異的TCR分子は機能しない。

導入されたMAGE-A4特異的TCRによるHLA-A2402分子とMAGE-A4₁₄₃₋₁₅₁ペプチドの複合体の認識が起こると、複合体を形成したCD3分子群を通して遺伝子導入CD8陽性T細胞内に活性化シグナルが伝達され、遺伝子導入CD8陽性T細胞の分裂・増殖、IFN- γ をはじめとしたサイトカインの産生、及びグランザイムB、パーフォリン等の細胞傷害性分子の放出が起こり、標的細胞の破壊を導く。

2. 本計画で使用するその他の組換えDNAの構造と性質

本計画では使用しない。

3. 標的細胞とした細胞の由来及び生物学的特徴並びに当該細胞を標的細胞とした理由

本臨床研究における標的細胞は、治療抵抗性食道癌患者(HLA-A2402陽性、腫瘍組織にMAGE-A4発現)末梢血由来のTリンパ球である。その生物学的特徴として、①CTLは癌細胞を認識して破壊する能力を有する、②自己のTリンパ球を輸注した場合は、非自己では生じる可能性のある移植片対宿主病(GVHD)等の副作用がないことが挙げられる。Tリンパ球を標的としてMAGE-A4特異的TCR α 鎖及び β 鎖遺伝子をレトロウイルスベクターにより遺伝子導入することで、腫瘍細胞表面上のHLA-A2402分子とMAGE-A4₁₄₃₋₁₅₁ペプチド複合体の特異的認識能を獲得した自己Tリンパ球を輸注することにより、腫瘍特異的免疫反応、更には腫瘍縮小効果が期待される。レトロウイルスベクターは増殖中の細胞に高効率で遺伝子導入することから、本臨床研究では、抗CD3抗体であるオルソクロンOKT3(OKT3)による活性化とTリンパ球増殖因子であるインターロイキン2(IL-2)の存在下で増殖するTリンパ球が標的細胞として使用される。

4. 遺伝子導入方法の概略及び当該導入法を選択した理由

4.1. 遺伝子導入方法の概略

自己末梢血リンパ球(PBL)にTCR α 鎖及び β 鎖遺伝子を導入するにあたっては、組換えフィブロネクチンフラグメント(レトネクチンCH-296;タカラバイオ(株))をコートした培養バッグ中にて、Tリンパ球にレトロウイルスベクターMS-bPaを感染させる。

4.2. 当該導入法を選択した理由

レトロウイルスベクターは感染した後に逆転写を経て細胞染色体に組み込まれ、細胞ゲノムの複製に伴って複製されるために、導入遺伝子を長期にわたり発現しうる。また、レトロウイルスベクターによる末梢血Tリンパ球への遺伝子導入効率が高いことが知られている。さらに、多くのMoMLVベースのレトロウイルスベクターがヒト血液細胞への遺伝子導入に利用されており、過去のT細胞遺伝子治療において重篤な副作用は報告されていない。以上の理由により、自己PBLへのTCR α 鎖及び β 鎖遺伝子を導入する方法として、レトロウイルスベクターを選択した。

4.3. レトロウイルスベクターの選択根拠

他の遺伝子導入ベクターとして、アデノウイルスベクターやウイルスを利用しな

い Naked DNA ベクターが使用されるが、それらは導入遺伝子が細胞染色体に組み込まれて長期にわたり安定に発現する効率が低いことが知られている。一方、レトロウイルスにより遺伝子導入する場合、他のベクターに比べて効率よく遺伝子を細胞染色体に組み込むことが可能である。レトロウイルスベクターMS-bPa を選択したもうひとつの根拠は安全性である。すなわち、もとなる MS-bPa DNA は、野生型レトロウイルス由来の gag、pol、env をコードする遺伝子の全てを欠如しており、この DNA のみを通常の細胞に導入したのではウイルス粒子を産生することはない。また、ウイルスベクター製造に用いるパッケージング細胞株 PG13 は、すでに世界的に広く使用されているパッケージング細胞株であり、American Type Culture Collection (ATCC) から購入可能である (CRL-10686)。本パッケージング細胞株において、gag、pol をコードする DNA 断片と env をコードする DNA 断片とが染色体上の異なった位置に導入されているため、RCR が出現する可能性は極めて低いと考えられる。

5. ウイルスベクターを用いた遺伝子導入

5.1. 野生型ウイルスの生物学的特徴及び人に対する影響

レトロウイルスベクターMS-bPa のもとなる野生型ウイルスは MoMLV であり、以下のようなウイルス学的特徴を持つ。形態的には直径約 100 nm の球形の C 型粒子に分類され、ウイルスコアをエンベロープが囲っている。ウイルスゲノムは分子量約 3×10^6 の 1 本鎖 RNA で、相同の RNA 分子が 2 分子、ウイルスコア中に存在する。レトロウイルス科は、オルソレトロウイルス及びスプーマレトロウイルスの 2 つの亜科に分類される。MoMLV はオルソレトロウイルス亜科のガンマレトロウイルス属に属する、マウスを宿主とする白血病ウイルスの一種である。マウス白血病ウイルスは AKR や C58 系マウスの自然発症白血病の病原ウイルスであるが、MoMLV は実験室内での継代により病原性の高いウイルス株として単離されたものである。

オルソレトロウイルスの病原性として、主体となるものは、肉腫、急性白血病、白血病、癌であり、野生マウスの後肢麻痺を招く神経向性ウイルスも知られている。肉腫ウイルスや急性白血病ウイルスはウイルスと細胞の間での遺伝子の組換えにより形成されるが、MoMLV は細胞由来の遺伝子を持たないウイルスであり、AKR や C58 系マウスでのみ白血病を誘発する。病理学的には胸腺リンパ腫を原発とした白血病所見を示し、脾臓への浸潤が顕著に認められる。AKR マウスの自然発症白血病に対しては抗 AKR MLV 血清が効果を示し、発症を遅延させることが報告されているが、MoMLV に対する血清の効果については不明である。ヒトへの感染の報告はない。

5.2. ウイルスベクターの作製方法

① ウイルスプラスミドベクター pMS-bPa の構築

レトロウイルスベクターMS-bPa 産生細胞株の構築に使用したウイルスプラスミドベクター pMS-bPa は、標準的な遺伝子工学的手法を用いて構築された。MoMLV プロウイルスの 5'-LTR 及び 3'-LTR を含み、ウイルス蛋白をコードする配列を全く含まないレトロウイルスベクターである MT ベクターのプロウイルス配列を含むプラスミドがウイルスプラスミドベクター pMT であり、pMT の 3'-LTR を MSCV プロウイルスの 3'-LTR で置換したものがウイルスプラスミドベクター pMS である。pMT のマルチプルクロニングサイトに、TCR β 鎖 cDNA のコード域、マウス P_{pcr} 及び TCR α 鎖 cDNA のコード域を組み込んだ後、これら発現ユニットを pMS に載せ換えることにより pMS-bPa を構築した。

② パッケージング細胞株の構築

本臨床研究において使用するパッケージング細胞株は、PG13 で、パッケージングに必要なウイルス遺伝子を 2 種類のプラスミド (1 つは gag と pol、もう 1 つは env 遺伝子) で別々に導入した細胞株である。古い世代のパッケージング細胞株と比較して、このアプローチは RCR 出現のリスクは極めて少ないことが知られている。

③ ウイルス産生細胞株の構築

gag-pol 遺伝子発現プラスミドである pGP、エコトロピック env 遺伝子発現プラスミドである pE-eco 及びウイルスプラスミドベクター pMS-bPa を 293T 細胞にコトランスフェクトした。培養上清中には、マウス由来のパッケージング細胞である PG13 に効率よく感染するエコトロピックレトロウイルスベクターMS-bPa が一過性

	<p>に産生される。この培養上清を PG13 細胞に感染させ、限界希釈法により細胞をクローニングした。こうして得られたクローンから、高力価なアンフォトロピックウイルスを産生するクローン MS-bPa #20 を得た。これをマスターセルバンク (MCB) 用シードセルとして樹立し、これを培養して MCB を作製した。</p> <p>④レトロウイルスベクターMS-bPa の製造 本臨床研究において使用するレトロウイルスベクターMS-bPa は、ウイルス産生細胞株 MCB の培養上清を回収することにより製造する。製造は全て管理された製造エリアにて GMP 遵守下で行われる。</p> <p>5.3. ウイルスベクターの構造 レトロウイルスベクターMS-bPa はパッケージングシグナルとしてΨ+を有し、gag、pol、env をコードする配列を持たない。</p> <p>5.4. ウイルスベクターの生物学的特徴 パッケージング細胞株 PG13 は、GaLV のエンベロープ蛋白を持つレトロウイルスベクターを製造するためのパッケージング細胞株で、この細胞により産生されるレトロウイルスベクターはマウス、ラット、サル、ヒト等を含む多くの種の哺乳類細胞に感染しうる。また、レトロウイルスベクターMS-bPa は増殖能を欠いているので、遺伝子導入した末梢血 T リンパ球内でウイルス粒子を形成することはない。したがって、RCR が出現しない限り周囲の細胞に感染することはない。</p>
<p>安全性についての評価</p>	<p>1. 遺伝子導入方法の安全性 1.1. 遺伝子導入に用いるウイルスベクターの純度 レトロウイルスベクターMS-bPa を安定かつ安全に供給するために、ウイルス産生細胞にはセルバンクシステムを使用する。MCB の作製・保存及びレトロウイルスベクターMS-bPa の製造は GMP 管理下で行う。組成と品質の確認された培地及び試薬を使用し、特にウシ胎児血清はウシ海綿状脳症非発生国産のものを使用する。</p> <p>①MCB の作製法 ウイルス産生細胞 MS-bPa #20 の初代細胞ストックより作製された Primary Seed Bank が拡大培養され、ウイルス産生細胞 MCB が GMP 遵守下で作製された。MCB の作製においては組成と品質が確認された培地及び試薬が使用された。作製された MCB に関しては、以下の品質試験が行われた。</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. マイコプラズマ否定試験 (培養法、DNA 染色法) 2. in vivo ウイルス試験 3. in vitro ウイルス試験 4. RCR 試験 (細胞) (293 細胞で増幅後、PG-4 S+L-アッセイ) 5. RCR 試験 (上清) (293 細胞で増幅後、PG-4 S+L-アッセイ) 6. XC プラークアッセイ 7. マウス抗体産生試験 (MAP 試験) 8. 無菌試験 (日本薬局方) 9. ウシウイルス試験 10. ヒトウイルス試験 11. アイソザイム分析による細胞の由来動物種同定 12. 組み込まれたベクター遺伝子の組み込み数試験 13. 導入遺伝子配列解析 14. 細胞生存率試験 (トリパンブルー) 15. 産生ウイルスの力価試験 16. 導入遺伝子の機能確認 <p>②レトロウイルスベクターMS-bPa の製造方法 MCB の細胞を拡大培養した後、培地を交換し生産培養を経て培養上清液を回収する。回収した培養上清は、保管、精製することなく引き続きレトロウイルスベクター製造工程に用いる。回収した培養上清液を 0.22 μm の濾過フィルターによる無菌</p>

濾過を経て培養上清液を回収した後、ウイルスベクターとして凍結保存バッグに小分け分注を行い、使用時まで凍結保存する。

製造は、本遺伝子治療臨床研究の研究者が製造管理責任者となり、全てタカラバイオ社の管理された製造エリアにて GMP 遵守下で行われる。また、タカラバイオ社の製造施設から三重大学医学部内細胞調製施設へのウイルスベクターの輸送は、凍結・ドライアイス詰で、輸送中の温度変化をモニター・記録して行う。

レトロウイルスベクター MS-bPa に関しては、以下の品質試験を行う。

1. マイコプラズマ否定試験（培養法）
2. in vivo ウイルス試験
3. in vitro ウイルス試験
4. RCR 試験（293 細胞で増幅後、PG-4 S+L-アッセイ）
5. 無菌試験（日本薬局方）
6. エンドトキシン試験（日本薬局方）
7. 導入遺伝子配列解析
8. 産生ウイルスの力価試験
9. 導入遺伝子の機能確認

1.2. 患者に投与する物質の純度及びその安全性

患者に投与されるのはレトロウイルスベクター MS-bPa により TCR α 鎖及び β 鎖遺伝子を導入した患者由来 T リンパ球である。この細胞は、RPMI1640 培地とヒト血清アルブミン（HSA）含細胞凍害保護液（CP-1）とが 1:1 の割合で混合された溶液の懸濁液として投与される。

また、遺伝子導入細胞の投与後に、MAGE-A4₁₄₃₋₁₅₁ ペプチドが不完全フロイントアジュバントとの懸濁液として皮下投与される。このペプチドの純度は逆相 HPLC による解析により 98.3% であり、エンドトキシン試験や無菌試験などにより品質が確認されている。

1.3. 増殖性ウイルス出現の可能性

①レトロウイルスベクターの安全性

本臨床研究で使用されるレトロウイルスベクター MS-bPa のゲノムは MoMLV 由来の gag、pol、env をコードする遺伝子を完全に欠如している。また、パッケージング細胞株として PG13 を用いるので、RCR の出現する可能性は極めて低いと考えられる。レトロウイルスベクター MS-bPa の試験項目に RCR 試験が含まれており、RCR 陰性のレトロウイルスベクターを臨床使用する。また、治療後には患者末梢血中の RCR を測定する。

②パッケージング細胞の安全性

レトロウイルスベクター MS-bPa を作製する際に使用されるパッケージング細胞 PG13 は、第 3 世代のパッケージング細胞株であり、RCR を産生する可能性は極めて低い。すなわち、パッケージングに必要なウイルス遺伝子が pLGPS 及び pMOV-GaLV Seato env という 2 個の DNA 断片として別々に導入されていることに加え、どちらの DNA 断片も Ψ パッケージングシグナルと 3'-LTR を欠失しているため、gag-pol 遺伝子や env 遺伝子がウイルス粒子内にパッケージングされて細胞外に出ることはない。

PG13 と同じ第 3 世代のアンフォトロピック系パッケージング細胞株 GP+envAm12 を用いて産生したレトロウイルスベクター中に RCR を検出したことが 1996 年に Chong らにより初めて報告された。RCR 出現の頻度を測定することは困難であるが、過去 4 年間、GP+envAm12 細胞を用いてウイルス産生細胞株を樹立し、60 以上のウイルスについて RCR チェックを試みたが検出されなかったため、極めて低い頻度と考察されている。なお、PG13 を用いてレトロウイルスベクターを作製する過程で RCR が出現したという報告はない。

1.4. 遺伝子導入に用いるウイルスベクターの細胞傷害性

レトロウイルスベクターによる遺伝子導入過程において、細胞を傷害することは

ないと考えられている。一方、細胞染色体上の遺伝子導入位置によっては細胞の生存・増殖に必須な遺伝子の発現が抑制され、細胞が死に至ることがありうるが、このような細胞の割合は少ないと考えられる。なお、レトロウイルスベクターを用いた遺伝子治療において細胞傷害性は報告されていない。

1.5. 体内の標的細胞以外の細胞への遺伝子導入の可能性

本臨床研究では、患者Tリンパ球に *ex vivo* (生体外) で TCR α 鎖及び β 鎖遺伝子を導入し、拡大培養や細胞洗浄等の工程を経た後に患者に投与する。使用したレトロウイルスベクターMS-bPaはこの過程でほぼ完全に除去され、また、レトロウイルスは比較的不安定なウイルスなので、細胞培養中に大部分は不活化されると考えられる。また、マウス細胞由来のパッケージング細胞株により生産されたレトロウイルスベクターはヒト血清中の補体により速やかに不活化されるため、たとえレトロウイルスベクター粒子が患者体内に侵入しても、それが原因で患者体内において遺伝子導入が起こる可能性は低いと考えられる。また、レトロウイルスベクターMS-bPaは増殖能を欠いているので、遺伝子導入した患者Tリンパ球内でウイルス粒子を形成することはなく、RCRが出現しない限り標的細胞以外の細胞に遺伝子導入が起きることはない。

1.6. 患者以外の人に遺伝子が導入される可能性

本臨床研究の細胞調製は、当該操作に十分な知識と経験を有する研究者のみが行う。一連の細胞調製操作時には、マスク、手袋、実験用衣服を着用し、レトロウイルスベクターの皮膚等への付着を防止する。このような配慮により、細胞調製作業者に遺伝子が導入される可能性は極めて低いと考えられる。遺伝子導入操作はP2レベルの細胞調製施設において、可能な作業は閉鎖系で行い、開放系での作業は細胞調製施設内に設置されたクラスII安全キャビネット内で行う。また、レトロウイルスベクターを含む廃液の全ては高圧蒸気滅菌後に廃棄される。以上のようにしてレトロウイルスベクターMS-bPaの環境中への拡散及び環境中における予期しない遺伝子導入を防止する。レトロウイルスベクターMS-bPaは増殖能欠損型なので、患者を介して患者以外の人に遺伝子導入が起こる可能性は、大量のRCRが患者体内に存在しない限り非常に低い。

1.7. 染色体内へ遺伝子が組み込まれる場合の問題点

レトロウイルスベクターは細胞染色体上のランダムな位置に組み込まれるので、その挿入位置によっては細胞の生存や増殖等の機能に影響を及ぼすことがある。細胞の生存や増殖に重要な遺伝子の近傍に挿入され、その遺伝子の発現が抑制された場合には細胞は死に至る可能性がある。ただし、このような細胞は遺伝子導入細胞のごく一部であると考えられるので、患者への影響は極めて小さい。一方、癌遺伝子の近傍に挿入され、レトロウイルスベクターのLTRが有するエンハンサー・プロモーター活性によりその遺伝子の発現量が増加した場合、及び、癌抑制遺伝子の近傍に挿入され、その遺伝子の発現量が減少した場合には、その細胞が異常増殖する可能性がある。

1.8. 癌原性の有無

レトロウイルスベクターの染色体への組み込みが細胞の増殖にとって正に働く場合には、上述のとおり異常増殖による癌化の問題が出現する。実際に、CD34陽性細胞を遺伝子導入の標的細胞としたX連鎖重症複合免疫不全症(X-SCID)の遺伝子治療臨床研究において、フランスで4例及びイギリスで1例の合計5例の白血病発症が報告されている。本臨床研究における遺伝子導入標的細胞である成熟Tリンパ球の癌化のリスクは造血幹細胞に比べて低いとの見解が、ICHの遺伝子治療専門家グループから出されている。過去に実施されたT細胞を遺伝子導入の標的細胞とした遺伝子治療において、遺伝子導入細胞の癌化は報告されていない。また、レトロウイルスベクターで遺伝子導入したTリンパ球を投与した46例のフォローアップ(最長9年間)において、遺伝子導入Tリンパ球のクローン増殖が認められなかったとの報告がある。なお、本臨床研究では、遺伝子導入細胞の患者体内におけるクローン増殖をLAM-PCRによってモニタリングして、遺伝子導入細胞の異常増殖の有

無を評価する。

2. 遺伝子産物の安全性

導入遺伝子の産物は、可変領域の配列に違いがあるものの、標的細胞であるT細胞は内在性にTCR α 鎖及び β 鎖を発現している。したがって、導入遺伝子が発現することにより標的細胞が獲得する性質は、異なる抗原特異性だけであると考えられる。Ex vivoで培養、増殖させたT細胞クローンを大量に投与する臨床試験において、重大な有害事象は併用した化学療法剤又はIL-2によるものだけであったとの報告がある。このことから、特定のTCR可変領域を持つT細胞の大量投与による安全上の問題は小さいと考えられる。

前述したとおり、本臨床研究における遺伝子導入の標的細胞の大半は内在性にTCR α 鎖及び β 鎖を発現している。ここに新たにMAGE-A4に対するTCR遺伝子を導入するので、遺伝子導入細胞において2種類の配列の α 鎖及び β 鎖が発現する。このため、(1)予測不可能な抗原特異性を持つ混合TCR2量体の形成、(2)自己抗原特異的TCRを有する無応答T細胞の、導入されたTCRからの刺激による活性化及び(3)腫瘍抗原ペプチドとHLA分子との複合体が、自己抗原ペプチドと患者のHLAアレル(対立遺伝子)との複合体の立体構造に酷似していることによる、自己細胞の攻撃、のいずれかのメカニズムにより、理論的には自己免疫疾患を発症する可能性が指摘されている。

ただし、メラノーマ抗原に対するTCR遺伝子を用いた臨床試験において遺伝子導入細胞による毒性は認められていないことから、TCR遺伝子を導入したT細胞が自己免疫疾患を引き起こす可能性は否定できないものの、臨床における安全性は確保されていると考えられる。

3. 細胞の安全性

3.1. 遺伝子導入細胞の調製方法

以下に示す細胞培養にかかわる全ての操作は三重大学医学部内に設置されたP2レベルの細胞調製施設内で行う。また、細胞調製操作時には、品質が確認された試薬、培地類を使用し、清浄度クラス100、クラスII安全キャビネット内で、又は可能な工程については閉鎖系で細胞を取り扱うことにより、他の患者由来の細胞や外来微生物の混入を防止する。

遺伝子導入Tリンパ球調製工程の概略は以下に示すとおりである。すなわち、OKT3及び組換えヒトIL-2を含む培地で患者リンパ球の培養を開始し、レトロウイルスベクターMS-bPaを結合させたレトロネクチンCH-296コートバッグに上記活性化Tリンパ球懸濁液を添加して遠心することにより遺伝子導入を合計2回行い、拡大培養後に細胞を洗浄・濃縮・回収するというものである。こうして得られた細胞懸濁液に凍害保護液を添加し、凍結保存バッグに移した後、ディープフリーザー(-80℃)にて凍結保存する。投与日には、凍結保存バッグをディープフリーザーより取り出し、37℃温浴にて急速に解凍し、投与する。

3.2. 培養細胞の純度

健常人末梢血リンパ球を用いた細胞調製では、遺伝子導入後の細胞中の遺伝子導入細胞の比率は20%程度であり、Tリンパ球が95%以上を占め、若干のBリンパ球が含まれていた。患者に投与される細胞中にも、遺伝子導入されていないTリンパ球やその他の細胞が混在すると予測されるが、もともと患者末梢血中にあった細胞であり問題はないと考えられる。また、仮にTリンパ球以外に遺伝子導入された場合には、発現したTCR分子は受容体としての機能を発揮しないと考えられることから、生体への影響が発生する可能性は低いと考えられる。

遺伝子導入により、導入遺伝子の本来の機能とは関係なく移入細胞の腫瘍化を誘導する確率が一定程度に存在すると考えられる。ただし造血幹細胞以外の細胞に遺伝子導入された場合には、血液系細胞はいずれもその生理的寿命が限られていることから腫瘍が発生する確率は極めて低いと考えられる。なお、造血幹細胞の混入については、①培養開始時点の患者末梢血リンパ球中の造血幹細胞の比率は極めて低いこと(通常0.1%以下)、②Tリンパ球を活性化させる今回の培養条件ではレトロウイルス感染時に造血幹細胞が分裂増殖している可能性が極めて低いこと、③造血幹

細胞の増殖に必要なサイトカイン等を含まない条件で増殖培養されることを総合すると、遺伝子導入された造血幹細胞が混入する可能性は極めて低いと考えられる。実際に、健常人末梢血リンパ球を用いた細胞調製では、遺伝子導入後の細胞中の CD34 陽性細胞の比率は 0.1%未満（検出限界以下）であった。ただし、万が一、造血幹細胞に遺伝子導入された場合には腫瘍発生のリスクを否定できないことから、投与後の遺伝子導入細胞のクローン増殖をモニタリングする予定である。

また、細胞培養の際に使用する原材料の残留は極めて微量であり、これらが生体に及ぼす影響は限りなく少ない。TCR 遺伝子導入リンパ球は、「3.4. 被験者に投与する細胞の安全性」に記載の試験によって品質が担保される。

3.3. 細胞の遺伝子型、表現型の安定性

リンパ球と遺伝子導入細胞の遺伝子型の違いは、後者には TCR α 鎖及び β 鎖の遺伝子が導入されていること、及び、レトロウイルスベクターMS-bPa のプロウイルス配列が染色体内のランダムな位置に挿入されていることである。本臨床研究で遺伝子導入する細胞は成人 PBL であり、挿入変異によって細胞の癌化が起きる可能性は大変低いと考えられるが完全には否定できないので、LAM-PCR によるモニタリングを行う予定である。OKT3 で刺激することによって CD3 陽性細胞が活発に増殖し、その結果として CD3 陽性細胞の割合が増加する。また、一般にリンパ球を *ex vivo* で培養すると CD4 陽性細胞の割合が減少し、CD8 陽性細胞の割合が増加する。しかし、培養後の細胞集団を構成する個々の細胞のサブタイプは末梢血中に存在するものであり、これを患者に投与しても安全性に問題はないと考えられる。Sauce らは、PBMC を OKT3 や IL-2 を含む培地で *ex vivo* にて培養すると、リンパ球の表現型が変化するが、レトロウイルスベクターの感染による変化は特に認められないことを報告している。*ex vivo* で培養したリンパ球や TCR 遺伝子を導入したリンパ球を用いた Rosenberg らの臨床研究では、移入 T 細胞の安全性に対する問題は報告されていない。また、レトロウイルスベクターにより TCR 遺伝子を導入した臨床試験では、6 日から 9 日という比較的短期間の *ex vivo* 培養 T リンパ球の群において移入 T リンパ球が患者生体内で長期間観察されたことが報告されている。本計画においても同様に短期間培養した遺伝子導入 T リンパ球を使用する予定である。

3.4. 被験者に投与する細胞の安全性

細胞調製終了後、培養上清又は凍結保存専用バッグに充填する前の細胞懸濁液を検体として採取し、以下の試験を行うことにより遺伝子導入細胞の品質を担保する。全ての品質試験結果が得られて安全性が確認されるまで凍結保存され、安全性が確認された後に使用される。

1. マイコプラズマ否定試験（PCR 法）
2. RCR 試験（RT-PCR 法）
3. 無菌試験（日本薬局方）
4. エンドトキシン試験（日本薬局方）
5. 細胞生存率試験（トリパンブルー）
6. 細胞数試験
7. 遺伝子導入効率試験
8. 導入遺伝子の機能試験

被験者への投与の際は、凍結保存専用バッグ中に凍結された細胞懸濁液を投与直前に 37°C 温浴にて急速に解凍し、RPMI1640 培地と HSA 含 CP-1 とが 1:1 の割合で混合された細胞懸濁液として静脈内投与される。

なお、品質試験の検体を採取した後の工程としては、閉鎖系操作による凍結保存専用バッグへの充填、凍結、解凍、及び閉鎖系操作による輸注用バッグ又は注射器への移し替えであり、不純物混入のリスクは極めて低いと考えられる。また、凍結・解凍による細胞生存率の低下については、凍結保存専用バッグに充填する前の細胞懸濁液を別途バイアルに凍結保存し、投与日以前に細胞生存率を測定することにより確認する。

	<p>4. ペプチドの安全性</p> <p>本臨床研究に用いられる MAGE-A4₁₄₃₋₁₅₁ ペプチドは米国 NeoMPS 社において GMP 準拠で製造された。その純度は逆相 HPLC による解析により 98.3%であった。またエンドトキシンは 0.100 EU/mg 未満であり、無菌試験により無菌性が確認されている。</p> <p>腫瘍ワクチンの臨床試験はこれまでに国内外ですでに主要なものだけでも 1,300 名以上の対象者につき報告されている。その中でも CTL 認識腫瘍抗原ペプチドを用いた臨床研究は最も多数行われており、米国の Rosenberg らのグループだけでも 2004 年の時点で総数 381 名の患者に投与されている。しかしながらこれら CTL 認識腫瘍抗原ペプチドについて、現在までに重篤な副作用の報告はない。軽微な副作用として、皮膚反応、微熱、倦怠感等が報告されているのみである。本臨床研究に用いられる MAGE-A4₁₄₃₋₁₅₁ ペプチドはラットにおける単回皮下投与毒性試験を実施した。ヒトへの投与量として予定している 300 μg/body を投与した結果、一般状態の変化及びペプチド投与に関連する体重の変化は認められず、また病理学的検査においても異常は認められなかった。以上より MAGE-A4₁₄₃₋₁₅₁ ペプチドの投与において重篤な副作用が出現する可能性は極めて小さいと考えられる。なお、有害事象が発現した場合には、「7.3 ペプチド投与に伴う副作用」に従い、適切な処置を施す。</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>以下の理由により本臨床研究は実施可能と判断される。</p> <p>①臨床ニーズ</p> <p>再発食道癌の患者の 50%生存期間は約 6 ヶ月である。さらに、化学療法等の治療に抵抗性となれば、もっぱら栄養管理等の緩和医療以外の手立てがないのが現状である。本臨床研究は、絶対予後不良かつ他に有効な治療法がない患者を対象としており、このような患者に対する有効な治療手段開発の臨床ニーズが存在する。</p> <p>②本臨床研究の品質・安全性</p> <p>本臨床研究は、腫瘍抗原 MAGE-A4 を認識する CTL クローン由来の TCR 遺伝子をレトロウイルスベクターにより遺伝子導入した自己リンパ球を患者に投与する。この製造過程は十分に確立され、また、調製された輸注用の TCR 遺伝子導入リンパ球の品質は、調製時毎に確保される。</p> <p>本臨床研究で遺伝子導入する細胞は、小児由来の造血幹細胞ではなく、成人末梢血由来の T リンパ球であり、T リンパ球への遺伝子導入の場合、レトロウイルスベクターによる癌化のリスクは極めて低く、対象疾患とのリスク・ベネフィットを総括すると、レトロウイルスベクターを使用した遺伝子治療の施行に問題はない。</p> <p>免疫不全マウスに TCR 遺伝子導入ヒトリンパ球を投与した安全性比較試験において、対照とした非遺伝子導入ヒトリンパ球と比較して、遺伝子導入に起因する毒性所見は観察されなかった。</p> <p>レトロウイルスベクターによる遺伝子導入で同様にして調製された、他の腫瘍抗原を認識する TCR 遺伝子導入リンパ球のヒトへの投与は、NIH の Rosenberg らのグループで既の実績があり、調製された TCR 遺伝子導入リンパ球の品質に起因する有害事象の報告はない。</p> <p>③本臨床研究の期待される有効性</p> <p>当施設で調製された MAGE-A4 TCR 遺伝子導入リンパ球は、MAGE-A4 陽性・HLA-A2402 陽性の腫瘍細胞株に対して特異的な細胞傷害活性を示すことが <i>in vitro</i> において確認されている。また、免疫不全マウスにヒト腫瘍細胞株を接種したモデル実験において、TCR 遺伝子導入ヒトリンパ球投与に特異的な腫瘍径増大抑制効果が認められた。</p> <p>NIH の Rosenberg らは、転移性悪性黒色腫患者 17 例に腫瘍抗原 MART-1 の TCR 遺伝子導入リンパ球を投与する遺伝子治療臨床研究を行った結果、2 例 (12%) に PR (部分奏功) を認めており、本臨床研究においても同様の抗腫瘍効果が見込まれる可能性がある。</p> <p>④当施設・研究者の能力</p> <p>当施設内に設置された細胞調製施設は GMP 準拠で運営・管理される体制にあり、TCR 遺伝子導入リンパ球は同基準に準拠して調製される。本臨床研究の研究者は、遺伝子ベクター調製、リンパ球アフエレーシス、遺伝子導入、細胞培養、品質管理</p>

	及び当施設における腫瘍抗原由来ペプチドワクチン臨床試験の経験者により構成される。
実施計画	<p>1. 本臨床研究の実施に際し三重大学医学部附属病院内に設置される委員会 遺伝子治療臨床研究審査委員会に安全・効果評価・適応判定部会及び遺伝子製剤 検証部会を設置する。</p> <p>1.1. 遺伝子治療臨床研究審査委員会安全・効果評価・適応判定部会 安全・効果評価・適応判定部会は、本臨床研究の安全性及び効果並びに被験者の 適応性に関する具体的事項について評価及び判定を行い、その適否及び留意事項、 改善事項等について遺伝子治療臨床研究審査委員会に意見を提出する。</p> <p>1.2. 遺伝子治療臨床研究審査委員会遺伝子製剤検証部会 遺伝子製剤検証部会は、本臨床研究に用いる遺伝子導入細胞製剤の検証及びその 品質の評価を行い、その結果を遺伝子治療臨床研究審査委員会に提出する。</p> <p>2. 本臨床研究の実施手順 治療抵抗性食道癌患者より一次登録時の選択基準・除外基準に適合する患者を選 定し、本臨床研究への一次登録を行う。 アフェレーシスにて採取した自己 PBL に MAGE-A4₁₄₃₋₁₅₁ ペプチドを認識する TCR α 鎖及びβ鎖遺伝子をレトロウイルスベクターにて導入し、得られた TCR 遺伝子導入 リンパ球を ex vivo 培養し、一旦凍結保存する。 TCR 遺伝子導入リンパ球の調製を終了し、安全性を確認した時点で、二次登録時 の選択基準・除外基準に適合する患者を選定し、本臨床研究への二次登録を行う。 TCR 遺伝子導入リンパ球（単回投与）を経静脈的に投与する。 1日投与量 300 μg の MAGE-A4₁₄₃₋₁₅₁ ペプチドと不完全フロイントアジュバントとの 懸濁液を、TCR 遺伝子導入リンパ球投与日を 0 日として 14 日目及び 28 日目の 2 日 間の計 2 回、皮下投与する。 追跡調査を行った後、本遺伝子治療の安全性（有害事象、臨床検査、RCR、LAM-PCR）、 TCR 遺伝子導入リンパ球の血中動態及び腫瘍組織への浸潤、腫瘍特異的免疫反応及 び腫瘍縮小効果を評価する。 TCR 遺伝子導入リンパ球投与後 63 日目に本臨床研究を終了とする。</p> <p>TCR 遺伝子導入リンパ球数の設定： 投与する TCR 遺伝子導入リンパ球数は 1 回投与量 2×10^8 個、1×10^9 個、5×10^9 個の各コホート別とする。各コホートは 3 例とし、1 回投与量を 1×10^9 個、5×10^9 個へと増加させる。ただし、有害事象が発現した場合には、投与量増加基準に従っ てそのコホートの症例数を増加し、安全性の評価を強化する。</p> <p>3. 被験者の選択基準及び除外基準 選択基準（一次登録）： 以下の全ての基準を満たす患者を対象とする。 1) 組織診で確定診断の得られた食道癌の患者 2) 根治切除不能かつ標準的な治療法（化学療法、放射線療法等）抵抗性の臨床病 期Ⅲ期あるいはⅣ期（TNM 分類）の食道癌患者、又は術後あるいは初回放射線化 学療法後に再発転移をきたした治療抵抗性の食道癌患者 3) HLA-A2402 陽性の患者 4) PCR 法にて腫瘍組織に MAGE-A4 発現が確認されている患者 5) 画像診断等による臨床効果判定に必要なとされる測定可能な腫瘍病変を有する患 者 6) ECOG Performance Status 0~1 の患者 7) 本臨床研究参加時点の年齢が 20 歳以上 75 歳以下の患者 8) 細胞採取時に前治療（手術、化学療法、放射線療法）終了から 4 週間以上の経 過が見込める患者 9) 同意取得後 4 ヶ月以上の生命予後が見込める患者</p>

10) 主要臓器（骨髄、心、肺、肝、腎等）に高度な障害がなく、臨床検査が以下の基準を満たす患者

- ・白血球数 $\geq 3,000/\text{mm}^3$
- ・好中球数 $\geq 1,500/\text{mm}^3$
- ・ヘモグロビン $\geq 8.0 \text{ g/dL}$
- ・血小板数 $\geq 100,000/\text{mm}^3$
- ・総ビリルビン (T-Bil) $\leq 2.0 \text{ mg/dL}$
- ・AST (GOT)、ALT (GPT) $\leq 150 \text{ IU/dL}$
- ・クレアチニン (Cr) $\leq 2.0 \text{ mg/dL}$

11) 免疫組織染色法にて腫瘍組織に HLA クラス I 分子発現が確認されている患者

12) 治療内容を理解し、本人の自由意思による同意を文書で得られた患者

除外基準（一次登録）：

以下のいずれかの基準に抵触する患者は除外する。

1) 以下の重篤な合併症を有する患者

- ・不安定狭心症、心筋梗塞又は心不全
- ・コントロール不良な糖尿病又は高血圧症
- ・活動性の感染症
- ・胸部 X 線検査による明らかな間質性肺炎又は肺線維症
- ・自己免疫疾患
- ・出血傾向〔プロトロンビン時間 (PT) < 50%、活性化トロンボプラスチン時間 (APTT) > 60 sec、フィブリノゲン (Fbg) < 100 mg/dL、フィブリン分解産物 (FDP) > 20 $\mu\text{g/mL}$ 〕
- ・血栓形成傾向

2) 重篤な過敏症の既往歴を有する患者

3) HBs 抗原、HCV 抗体、HIV 抗体、HTLV-1 抗体のいずれかが陽性である患者

4) コントロール不能な胸水・腹水・心嚢水を有する患者

5) 制御困難な脳内転移を有する患者

6) 副腎皮質ステロイド剤又は免疫抑制剤を全身投与中の患者

7) MAGE-A4₁₄₃₋₁₅₁ ペプチド投与に適さない患者 (例えば MAGE-A4₁₄₃₋₁₅₁ ペプチドの成分、アジュバントに対して過敏症の既往を有する患者)

8) 本臨床研究参加への同意に影響を及ぼすような精神疾患、薬物依存症等の疾患を有する患者

9) 妊娠中、授乳中、妊娠している可能性のある女性又は妊娠を希望している女性患者。又は挙子希望の男性患者 (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)

10) 一次登録前 4 ヶ月以内に他の臨床試験 (臨床研究) に参加している患者

11) その他、総括責任者又は分担研究者が不適当と認めた患者

選択基準（二次登録）：

以下の全ての基準を満たす患者を対象とする。

1) 本臨床研究における最小輸注量 (2×10^8 個) の TCR 遺伝子導入リンパ球が得られた患者

2) 画像診断等による臨床効果判定に必要なとされる測定可能な腫瘍病変を有する患者

3) ECOG Performance Status 0~1 の患者

4) 主要臓器（骨髄、心、肺、肝、腎等）に高度な障害がなく、臨床検査が以下の基準を満たす患者

- ・白血球数 $\geq 3,000/\text{mm}^3$
- ・好中球数 $\geq 1,500/\text{mm}^3$
- ・ヘモグロビン $\geq 8.0 \text{ g/dL}$
- ・血小板数 $\geq 100,000/\text{mm}^3$
- ・総ビリルビン (T-Bil) $\leq 2.0 \text{ mg/dL}$
- ・AST (GOT)、ALT (GPT) $\leq 150 \text{ IU/dL}$
- ・クレアチニン (Cr) $\leq 2.0 \text{ mg/dL}$

5) 一次登録後に同意撤回がなく、治療内容を理解し、本人の自由意思による同意を文書で得られた患者

除外基準（二次登録）：

以下のいずれかの基準に抵触する患者は除外する。

- 1) 以下の重篤な合併症を有する患者
 - ・不安定狭心症、心筋梗塞又は心不全
 - ・コントロール不良な糖尿病又は高血圧症
 - ・活動性の感染症
 - ・胸部 X 線検査による明らかな間質性肺炎又は肺線維症
 - ・自己免疫疾患
 - ・出血傾向〔プロトロンビン時間 (PT) < 50%、活性化トロンボプラスチン時間 (APTT) > 60 sec、フィブリノゲン (Fbg) < 100 mg/dL、フィブリン分解産物 (FDP) > 20 μ g/mL〕
 - ・血栓形成傾向
- 2) 重篤な過敏症の既往歴を有する患者
- 3) コントロール不能な胸水・腹水・心嚢水を有する患者
- 4) 制御困難な脳内転移を有する患者
- 5) 副腎皮質ステロイド剤又は免疫抑制剤を全身投与中の患者
- 6) MAGE-A4₁₄₃₋₁₅₁ ペプチド投与に適さない患者 (例えば MAGE-A4₁₄₃₋₁₅₁ ペプチドの成分、アジュバントに対して過敏症の既往を有する患者)
- 7) 本臨床研究参加への同意に影響を及ぼすような精神疾患、薬物依存症等の疾患を有する患者
- 8) 妊娠中、授乳中、妊娠している可能性のある女性又は妊娠を希望している女性患者。又は挙子希望の男性患者 (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)
- 9) その他、総括責任者又は分担研究者が不適当と認めた患者

4. 被験者の同意の取得方法

本臨床研究の開始に先立ち、総括責任者又は分担研究者は被験者の同意を得るに際し、三重大学医学部附属病院内に設置された遺伝子治療臨床研究審査委員会の承認が得られた同意・説明文書を説明の前又は説明するときには渡し、内容を口頭で詳しく説明する。その後、自由意思による同意を文書にて取得する (文書による同意取得は一次登録時及び二次登録時の計 2 回行う)。なお、同意を取得する前には、質問する機会と本臨床研究に参加するか否かを判断するのに十分な時間を被験者本人に与え、全ての質問に対して被験者が満足するように答えるものとする。また、二次登録時には治験コーディネーター等が説明補助を行うものとする。

5. 実施期間及び目標症例数

実施期間は厚生労働大臣から実施が差し支えない旨の回答を得た時点から 3 年間とする。症例毎の実施期間は TCR 遺伝子導入リンパ球輸注後 63 日であるが、本臨床研究終了後も当該被験者の生存期間にわたり、1 年に 1 回の頻度で二次発癌や RCR の有無について追跡調査を実施する。

目標症例数は以下のとおり 9 例とするが、有害事象が発現した場合には、投与量増加基準に従ってそのコホートの症例数を最大 6 例まで増加し、安全性の評価を強化する。

1 回当たりの TCR 遺伝子導入リンパ球輸注量：

コホート 1	2×10 ⁸ 個	3 例
コホート 2	1×10 ⁹ 個	3 例
コホート 3	5×10 ⁹ 個	3 例

6. 臨床検査項目及び観察項目

検査・観察スケジュール (別紙) に定められたとおりに検査・観察を実施する。

7. 予測される副作用及びその対処方法

7.1. アフェレーシスに伴う副作用

①血管ルート確保に関すること

まれに出血、感染、気胸の合併の危険がある。穿刺皮膚部位を十分に消毒し、手技に習熟した医師が行う。

②迷走神経反射

重篤な場合、意識障害、嘔吐、血圧低下、徐脈（グレード2）、さらに高度では痙攣、失禁（グレード3）がみられることもある。グレード2以上の副作用が出現した場合は、直ちに採取を中止し、補液、昇圧剤、硫酸アトロピン投与等、必要な処置を行う。

③クエン酸反応

抗凝固剤に含まれるクエン酸による低カルシウム血症をきたすことがある。軽症の場合、採取速度を低下させて観察するが、それでも改善しない場合、グルコン酸カルシウムを緩徐に静注する。

④血小板減少

アフェレーシス後に血小板減少が高頻度に見られ、高度の減少も5%前後みられる。アフェレーシス終了後1週間位は必ず血小板をチェックし、採取前値への回復を確認する。

7.2. TCR 遺伝子導入リンパ球輸注に伴う副作用

①発熱、発疹、アレルギー類似反応等

解凍に伴い一部崩壊した細胞内のサイトカイン等による発熱、悪寒、皮疹、関節痛、嘔気等をきたす可能性がある。対処法は、経過観察、あるいは解熱鎮痛剤や抗ヒスタミン剤等の適切な薬剤を投与する。また、グレード3以上の場合には副腎皮質ステロイド剤の投与を行う。

②肺障害

本臨床研究は自己血液細胞輸注によるものであり、輸血関連急性肺障害（TRALI: Transfusion-Related Acute Lung Injury）類似病態発症の可能性は考えにくいだが、TCR 遺伝子導入リンパ球投与後の肺障害に留意すべきと考えられる。対処法として、発症時は副腎皮質ステロイド剤の大量投与等、適切な処置を行う。

③免疫反応に伴う事象

MAGE-A4 は腫瘍特異性が極めて高いため正常組織への細胞傷害の可能性は極めて低いですが、自己免疫疾患様症状には常に留意する必要がある。対処法は、グレード2以上では対症療法を行い、さらに重篤な場合には副腎皮質ステロイド剤を投与する。

④レトロウイルスベクターを用いる危険性

RCR が出現する可能性は極めて低いと考えられるが、被験者体内における RCR 出現を RT-PCR 法によってモニタリングする。万が一、RCR が出現した場合には、抗ウイルス剤によるウイルス感染症治療等の最善の治療を行う。

遺伝子導入した T リンパ球の癌化の危険性は極めて低いと考えられるが、遺伝子導入細胞の被験者体内におけるクローン増殖を LAM-PCR によってモニタリングする。万が一、異常増殖が認められた場合には、化学療法等の最善の治療を行う。

7.3. ペプチド投与に伴う副作用

CTL 認識腫瘍抗原ペプチドを用いた臨床研究での軽微な副作用として、皮膚反応、微熱、倦怠感等が報告されている。本臨床研究ではペプチド反応性 T 細胞の頻度を上昇させた状態においてペプチドを投与する。ペプチド反応性 T 細胞の活性化に伴う微熱、倦怠感等の症状、あるいは予測できない症状が出現する可能性は否定できないが、これまでの異なるペプチド等の抗原と T 細胞を用いた同様な臨床試験ではそのような機序によると考えられる副作用の出現は報告されていない。対処法は、グレード2以上では対症療法を行い、さらに重篤な場合には副腎皮質ステロイド剤

を投与する。

8. 評価方法、評価基準及び中止判定基準

8.1. 主要評価項目

①安全性の評価

1) 有害事象

有害事象とは、本治療が実施された被験者に生じるあらゆる好ましくないあるいは意図しない症状、徴候（臨床検査の異常も含む）又は病気のことであり、当該治療との因果関係の有無は問わない。有害事象のグレードは、2003年に米国 National Cancer Institute (NCI) が発表した「Common Terminology Criteria for Adverse Events v3.0 (CTCAEv3.0) 有害事象共通用語規準 v3.0 日本語訳 JCOG/JSCO 版-2004年10月27日」に従い、判定を行う。

2) 臨床検査

総括責任者又は分担研究者は、臨床検査値の正常・異常について（三重大学医学部附属病院の基準範囲を逸脱した場合、「異常」と判定する）、及び臨床検査値の異常変動の有無について判定する。

3) RCR

本臨床研究期間中の RCR の出現の有無を RT-PCR により検討する。

4) LAM-PCR

TCR 遺伝子導入リンパ球のクローナリティを検討する。

8.2 副次的評価項目

①TCR 遺伝子導入リンパ球の血中動態

被験者から採取した PBMC について、以下の試験を行う。

1) PBMC から DNA を分離し、定量的 PCR によって TCR 遺伝子及びベクター配列を定量する。

2) テトラマー解析により特異的 TCR 発現細胞の血中濃度を測定する。

②TCR 遺伝子導入リンパ球の腫瘍組織への浸潤度

治療期間中、腫瘍組織又はリンパ節の生検の可能な病変を有し、侵襲的検査のリスクが少ないと判断される場合、生検を行い、以下の試験を行う。

1) 腫瘍から RNA を抽出・精製し、定量的 RT-PCR によって MAGE-A4 抗原の発現を評価する。

2) 生検組織内へのリンパ球浸潤度を抗ヒト CD3 抗体及び抗ヒト CD8 抗体を用いて評価する。また、定量的 PCR によって生検組織内のリンパ球中の導入 TCR の定量化を行う。

③腫瘍特異的免疫反応

被験者から PBL を採取し、以下の試験を行う。

1) ELISPOT アッセイにより MAGE-A4 反応性 T リンパ球を定量する。

2) テトラマーにより MAGE-A4 反応性 T リンパ球を定量する。

3) 細胞内サイトカイン染色により MAGE-A4 反応性 T リンパ球の反応特性を解析する。

④腫瘍縮小効果

「RECIST ガイドライン (Response Evaluation Criteria In Solid Tumors)」にしたがって、腫瘍縮小効果を判定する。

8.3 中止基準

①被験者ごとの中止基準

本臨床研究期間中に以下のような事例が発生した場合、総括責任者又は分担研究者は当該被験者における本臨床研究を中止する。また、必要な検査・観察を行うとともに、必要に応じて三重大学医学部附属病院長に本臨床研究を中止した旨を連絡

する。なお、有害事象の発現や対象疾患の悪化等、安全性に問題が生じ中止した場合、総括責任者又は分担研究者は速やかに適切な処置を行い、被験者の安全性が確認されるまで追跡調査を実施する。

- 1) 被験者が同意を撤回した場合
- 2) 本臨床研究開始後に対象として不適格であることが判明した場合
- 3) 本臨床研究継続困難な有害事象が発現した場合
- 4) 本臨床研究継続困難な対象疾患の悪化が生じた場合
- 5) その他、総括責任者又は分担研究者が本臨床研究の中止が必要と判断した場合

②研究全体の中止

総括責任者又は分担研究者は以下の情報が得られ、臨床研究全体の続行が困難であると考えられる場合、安全・効果評価・適応判定部会と本臨床研究全体の中止について協議のうえ決定する。また、必要な検査・観察を行うとともに三重大学医学部附属病院長に中止した旨を報告する。

- 1) 本臨床研究との因果関係を否定できない重篤な有害事象が発生した場合
- 2) 総括責任者又は分担研究者が本臨床研究の継続が不適切であると判断する情報を入手した場合

9. 有害事象が発現した場合の措置

9.1 有害事象が発現した場合

総括責任者又は分担研究者は、有害事象に対する医療が必要になったことを知った場合、被験者にその旨を伝える。また、総括責任者又は分担研究者は、有害事象の発現に際して適切な処置を施し、被験者の安全確保に留意し、その原因究明に努める。

9.2 重篤な有害事象が発現した場合

重篤な有害事象が発現した場合、総括責任者又は分担研究者は、「9.1 有害事象が発現した場合」の対応に加え、本臨床研究との因果関係の有無に係わらず、三重大学医学部附属病院の規定に従い、速やかに三重大学医学部附属病院長に報告する。報告を受けた三重大学医学部附属病院長は、文書をもって速やかに厚生労働大臣に報告する。

10. 記録の保存及び成績の公表の方法

記録の保存は三重大学医学部附属病院長が指名した保管責任者が行う。保管責任者は適切な状態の下で、本臨床研究終了後少なくとも5年間保存するものとする。

成績の公表は、被験者の同意のもと、研究者全員の合意を得て行う。公表の際には、被験者のプライバシーに十分配慮し、個人情報が入り込まないよう必要な措置を講じる。

11. 個人情報の保護の徹底

11.1. 個人情報保護に関する責務

三重大学医学部附属病院においては、三重大学医学部附属病院長が総括保護管理者から保護管理者として指名を受けており、三重大学医学部附属病院長は国立大学法人三重大学個人情報保護規程、三重大学医学部附属病院の保有する個人情報管理規程に従い、組織的に個人情報保護に対する措置を図っている。保護管理者である三重大学医学部附属病院長はこれらの規程に従い、本臨床研究に関する個人情報保護に関する措置に関し、適正な実施を確保するために必要があると認めるときは、本臨床研究の総括責任者に対して、適宜必要な措置を講ずることができる。

11.2. 個人情報の取得と利用に関する制限

本臨床研究で扱う被験者の診療録をはじめとする個人情報は、主として病状経過

	<p>観察、本臨床研究の緊急事態発生のための連絡等、被験者の生命を守るために使用する。その他、特別な目的で使用する場合は、事前に被験者に説明し、了承を得てから使用する。</p> <p>また、本臨床研究の成果検討時や医療向上のため等を目的に本臨床研究成績等を公表・公開する場合は、個人を特定できない形すなわち個人情報を保護して公開する。これらのことは、被験者への同意・説明文書中に記載し、被験者へ個人情報の保護及び使用目的について通知し、同意を得る計画とした。</p> <p>11.3. 個人情報保護に関する安全管理措置</p> <p>三重大学医学部附属病院長は国立大学法人三重大学個人情報保護規程及び三重大学医学部附属病院の保有する個人情報管理規程に従い、個人情報保護に関して、組織的、人的、物理的及び技術的に安全性管理措置を実施し、個人情報の漏洩、滅失又は棄損の防止に対する措置を講じている。</p> <p>11.4. 第三者提供の制限</p> <p>総括責任者は、「遺伝子治療臨床研究に関する指針」第六章第九で掲げる内容に従い、あらかじめ被験者の同意を得ずに個人情報を第三者に提供してはならない。本臨床研究では、タカラバイオ（株）が外部協力者として「ウイルスベクターに関する基礎的助言及び遺伝子導入Tリンパ球調製技術の提供と助言」に限定し、間接的に関与する。したがって、タカラバイオ（株）の担当者が研究協力のために一部データを閲覧する予定であるが、治験と同様に被験者識別コードを用いることにより個人を特定できない措置を講じて個人情報を保護する。</p> <p>11.5. 個人情報の開示、訂正、利用停止等</p> <p>総括責任者は被験者から当該被験者が識別される保有する個人情報についての開示、訂正、利用停止等について、三重大学医学部附属病院の保有する個人情報管理規程に従い求めがあった場合は、遅滞なく必要な対応を行う他、対応結果について被験者に通知しなければならない。</p> <p>さらに、三重大学医学部附属病院では個人情報に関する問い合わせ・相談・苦情の窓口を設置し、被験者からの苦情や問い合わせ等に適切かつ迅速に対応できる体制を整えている。</p>
備 考	

(別紙) 検査・観察スケジュール

臨床研究期間	スクリーニング期間		治療期間										追跡調査期間	
	日数	同意取得日	アフェレーシス実施日	day0*	day1	day2	day3	day7	day14±3	day16±3	day28±3	day30±3		day35±3
入院		○	○						○		○			
同意取得	○		○											
一次登録	○													
二次登録			○											
被験者背景	○													
アフェレーシス			○											
TCR 遺伝子導入リンパ球投与			○											
MAGE-A4 ペプチド投与									○		○			
バイタルサイン	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
一般状態 (PS)	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
感染症検査	○													
血液学的検査	○	○	○ ²	○				○	○		○		○	○
血液生化学的検査	○	○	○ ²	○				○	○		○		○	○
血液凝固能検査	○		○ ²										○	○
免疫血清 (CRP)	○		○ ²	○				○	○		○		○	○
尿検査	○		○ ²	○				○	○		○		○	○
腫瘍マーカー	○		○ ^{2,4}										○ ⁴	○ ⁴
胸部 X 線検査	○		○ ²										○	○ ⁵
12 誘導心電図	○		○ ²										○	○ ⁵
頸部・胸部・腹部・骨盤 CT	○ ¹		○ ³										○	○ ⁵
PET-CT			○ ³										○	○ ⁵
上部消化管内視鏡検査	○ ¹		○ ³										○	○ ⁵
腫瘍組織生検			○ ³										○	○ ⁵
TCR 遺伝子導入リンパ球血中動態用採血			○ ²	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
免疫機能解析用採血			○ ²						○		○		○	○
TCR 遺伝子導入リンパ球の腫瘍組織浸潤度			○ ²										○	○
RCR ⁶				○ ⁷									○	○
LAM-PCR ⁶													○	○
採血量 (mL)	15	-	70	23	10	10	18	68	10	68	10	70	70	
有害事象														

*アフェレーシス実施日より約 14~40 日後 (遺伝子導入細胞製剤の調製・QC に要する日数により異なる)。

1. スクリーニング期間開始前 12 週間以内の成績の利用を可とする。
2. 治療期間開始前 3 日以内の成績の利用を可とする。
3. 治療期間開始前 7 日以内の成績の利用を可とする。
4. スクリーニング期間の測定値が高値例のみ実施。
5. 必要に応じて実施。
6. 臨床研究終了後も 1 年に 1 回の頻度でサンプリングを実施。
7. 遺伝子組換え生物等の第一種使用等の方法として、個室管理を解除する前に実施。

臨床研究ご参加についての説明書

MAGE-A4 抗原特異的 TCR 遺伝子導入リンパ球輸注
による治療抵抗性食道癌に対する遺伝子治療臨床研究

この臨床研究の内容は人権と安全性に最大限の配慮をして、当院に設置されている倫理委員会において、患者さまの人権が保護され、科学的・倫理的に妥当であることが確認されております。

(遺伝子治療臨床研究審査委員会 承認日： 年 月 日)

作成年月日：2008年〇〇月〇〇日

1. はじめに-----	3
2. 臨床研究について-----	3
3. あなたの食道癌について-----	4
4. 遺伝子治療臨床研究の概要について-----	5
5. TCR 遺伝子治療臨床研究の海外での状況について-----	6
6. 臨床研究の方法-----	7
7. 参加できる方、参加できない方-----	8
8. 臨床研究のスケジュール-----	10
9. 期待される効果-----	12
10. 予想される危険性および副作用-----	12
11. 臨床研究への参加予定期間-----	16
12. 臨床研究への参加患者数-----	16
13. 他の治療法について-----	16
14. 臨床研究への参加の自由と、参加の取りやめについて-----	16
15. 健康被害の補償について-----	17
16. 新たな情報のお知らせについて-----	17
17. 遺伝子治療臨床研究の中止について-----	17
18. あなたに守っていただきたいこと-----	18
19. あなたの費用負担について-----	18
20. 個人情報の保護について-----	18
21. 個人情報の第三者への提供の制限について-----	18
22. 個人情報の開示、訂正、利用停止や問い合わせ・相談・苦情の 窓口について-----	19
23. 緊急連絡先およびお問い合わせ先について-----	19
24. 遺伝子治療臨床研究の名称と実施組織体制-----	19

1. はじめに

近年、癌細胞の表面のみに発現する“目印”（この目印を「癌抗原」といいます）が存在することが科学的に解明され、また、この癌抗原を認識して、癌を攻撃・破壊することができる細胞（この細胞を「細胞傷害性 T 細胞」といいます）の存在も証明されました。

本臨床研究では、患者さま自身の細胞をいったん体の外に取り出し、そこに細胞傷害性 T 細胞が癌抗原を認識するために必要な「アンテナ」の遺伝子を導入した後、再びその細胞を患者さまに戻すことによって、治療効果を得る遺伝子治療を考えています。

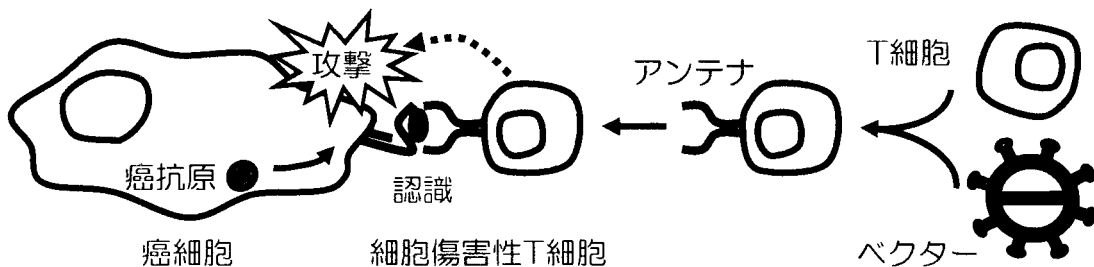


図 1 細胞傷害性 T 細胞による癌抗原の認識

2. 臨床研究について

これまでに多くの病気の原因が解明され、また、たくさんの「薬」や「治療法」が開発され、広く一般に使用されるようになりました。どの「薬」や「治療法」も、患者さまに使っていただけるようになるためには、はじめに試験管等を使った実験により、目的とする作用を持ったいくつもの「薬」や「治療法」を選び出し、次に動物を使ってそれがどれくらい効くか（効果）、また、安全かどうか（安全性）を調べる実験が行われます。そして、最終的に実際の患者さまに試みて、効果と安全性を検討する必要があります。

患者さまを対象にして、「薬」や「治療法」を評価するために行うものを臨床研究といいます。一般的に臨床研究には、安全性を調べる段階（第 I 相試験）、効果（例えば、癌であればどの程度縮小するか）を調べる段階（第 II 相試験）、現在一般的に使われている「薬」や「治療法」と比較する段階（第 III 相試験）があり、段階を踏みながら進んでいきます。このように臨床研究には、研究的な一面があることを十分ご理解ください。

今回、患者さまに説明する臨床研究は、安全性を調べることを目的とした臨床研究（第 I 相試験）に相当するものです。本臨床研究は、国が定めた指針に基づいて計画され、当院の倫理委員会（臨床研究を実施する者から独立した委員会）と国の審議会の厳しい審査を受け、承認されたものです。

3. あなたの食道癌について

癌にはその進行の程度をあらわす分類法があり、癌がどのくらいの大きさになっているか（深達度）、周辺のリンパ節にどれほど転移しているか（リンパ節転移）、遠く離れた臓器への転移があるか（他臓器の転移）、の3つの要素によって決められています。以下にその分類を示します。

表1 食道癌の病期分類

病期	説明
0期	癌が粘膜にとどまっており、早期癌、初期癌と呼ばれるもの
I期	癌が粘膜にとどまっているが近くのリンパ節に転移があるもの、あるいは粘膜下層まで浸潤しているがリンパ節や他の臓器、さらに胸膜・腹膜に癌が認められないもの
II期	癌が筋層あるいは食道の壁の外にわずかに出ているもの、あるいは食道の癌病巣のごく近くのリンパ節のみに転移しているもの
III期	癌が食道の外に明らかに出てると判断された時、食道壁にそっているリンパ節か、あるいは食道の癌病巣から少し離れたリンパ節に癌があると判断され、他の臓器や胸膜・腹膜に癌が認められないもの
IV期	癌が食道周囲の臓器におよんでいるか、癌から遠く離れたリンパ節に癌が転移している時、あるいは他の臓器や胸膜・腹膜に癌が認められたもの

食道癌に対する一般的な治療法として、内視鏡粘膜切除（内視鏡を用いて粘膜上の癌を切除する方法）、手術（身体から癌を切除する方法）、化学療法（抗癌剤による治療）および放射線療法（癌に放射線を照射する治療）の4つの治療法があります。

現在あなたは、

- 根治切除が不可能で、かつ標準的な治療法（化学療法、放射線療法等）に抵抗性のⅢ期、Ⅳ期の食道癌
- 術後あるいは初回放射線化学療法（化学療法と放射線療法を組み合わせたもの）後に再発転移をきたした、治療抵抗性の食道癌

であることが判明しました。

食道癌では、初回の治療がきちんと行われたにもかかわらず再発することが多く、再発した食道癌に対する治療法については、広く確立されたものはありません。その治療法にあたっては、延命効果、あるいは患者さまのQOL（「生活の質」といいます）の改善を目的としますが、再発した癌が治る可能性は非常に少ないと考えねばなりません。（本臨床研究以外の他の治療法については、後ほど説明します。）

4. 遺伝子治療臨床研究の概要について

私たちの計画している遺伝子治療は、以下のとおりです。この臨床研究は、三重大学大学院医学系研究科 遺伝子・免疫細胞治療学（タカラバイオ株式会社との産学連携講座）とタカラバイオ株式会社（本社：滋賀県大津市瀬田）との共同研究に基づいて、三重大学医学部附属病院で実施します。

- 1) 食道癌に癌抗原（本臨床研究で標的としている癌抗原を「MAGE-A4」といいます）が発現し、白血球の型が「HLA-A2402」である患者さまから末梢血（「末梢血」とは血管の中を流れている血液のことをいいます）中のリンパ球を採取します。
- 2) 採取した末梢血中のリンパ球に、MAGE-A4 を認識するアンテナ（これを「T 細胞受容体：TCR」といいます）の遺伝子を、レトロウイルスベクターという運び屋を使って導入します。
- 3) TCR 遺伝子を導入したリンパ球を体外で培養して数を増やした後に、再び患者さま自身に投与します。
- 4) MAGE-A4 ペプチド（蛋白の小さいもので、9 個のアミノ酸からできたもの）を投与し、患者さまの体内での TCR 遺伝子導入リンパ球の増殖を図ります。
- 5) 癌細胞を認識するアンテナ（TCR）を発現した細胞が、患者さまの体内で活性化され、癌細胞を攻撃・破壊することが期待されます。

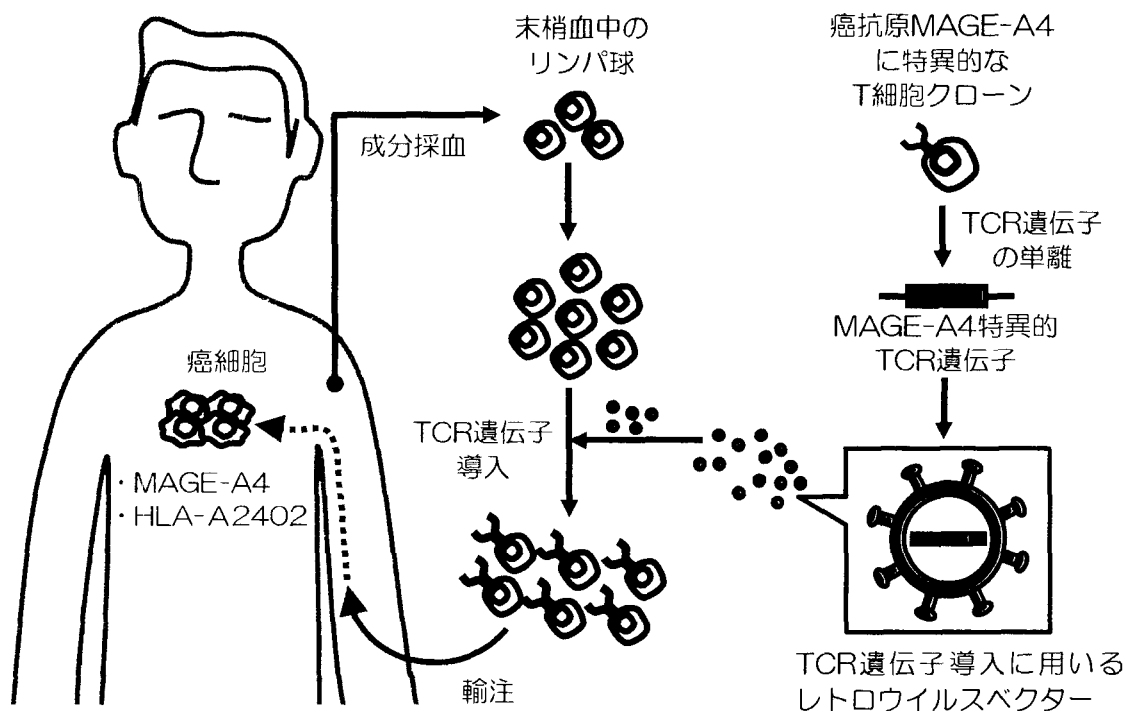


図2 遺伝子治療臨床研究の概要

リンパ球について

血液は、^{けっしやう}血漿という液体成分と血球という細胞成分からできていて、血球には赤血球、白血球、血小板の3種類の細胞があります。リンパ球は、白血球のうち約25%を占める細胞のことで、免疫系にかかわるB細胞（Bリンパ球）、T細胞（Tリンパ球）等から構成されています。

HLA (human leukocyte antigen : ヒト白血球抗原) について

HLAとは白血球の型のことで、自己と非自己を区別して認識する重要な抗原であり、ヒトの6番染色体に存在します。ここには多数の遺伝子が存在しますが、HLAの検査では、A、B、DRの3種類の遺伝子座が検査されます。ヒトの細胞はA抗原、B抗原、DR抗原の遺伝子を各2個、計6個有しており、これらの抗原が細胞表面に発現しています。HLA-A2402の日本人における頻度はおよそ60%です。

T細胞受容体 (TCR) について

T細胞（Tリンパ球）とは例えば癌細胞のような標的細胞を攻撃する役割と、抗体の産生を調節する役割を担う重要な細胞であり、免疫系の司令塔的な役割を担っています。T細胞の表面に出ている、抗原を認識するためのアンテナをT細胞受容体（TCR）といいます。

MAGE-A4 について

MAGE-A4とは癌組織のみに過剰に発現する“目印”であり、正常組織では精巢以外ほとんど発現が認められません。MAGE-A4は食道癌の他に、頭頸部癌や肺癌等の多くの癌で発現が確認されています。

レトロウイルスベクターについて

ベクターとは『運び屋』という意味で、細胞や体に異種のDNAを入れる際に用いる、二本鎖の環状DNAや無毒化したウイルス等を指します。また、レトロウイルスとは遺伝子を導入するベクターとして最も応用が早く進んだウイルスであり、これを用いて遺伝子を導入することで、導入した遺伝子が標的細胞の染色体に組み込まれるため、細胞分裂後も確実に娘細胞に伝達され、長期間安定に遺伝子を発現させることが可能です。

5. TCR 遺伝子治療臨床研究の海外での状況について

アメリカの国立衛生研究所において、私たちの計画と同じくTCR遺伝子を患者さま自身の細胞に導入して戻す臨床試験が行われ、2006年にその報告がされました。ただし、この臨床試験は、あなたと同じ食道癌ではなく、悪性黒色腫（メラノーマと呼ばれる皮膚癌の一種です）の患者さまを対象として行われたものです。

進行性の転移性悪性黒色腫の患者さま 17名に対して、悪性黒色腫に特有な

癌抗原（ここではこれを「MART-1^{マート}」といいます）を認識する TCR 遺伝子をレトロウイルスベクターを用いて遺伝子導入した患者さま自身のリンパ球を輸注したものです。この臨床試験において、17名の患者さまのいずれにおいても、TCR 遺伝子導入細胞の輸注による毒性は認められませんでした。また、そのうち2名の患者さまでは、輸注された TCR 遺伝子導入細胞が、輸注後1年を超えても末梢血単核球（白血球の約25%を占めるリンパ球と、約5%を占める単球の総称）中の40%前後という非常に高い水準で維持され、この2名の患者さまでは癌の明らかな縮小が観察されました。

ただし、今回の臨床研究で使う TCR 遺伝子については、レトロウイルスベクターを用いて遺伝子導入した細胞が、これまで人に投与されたことはありません。

6. 臨床研究の方法

本臨床研究は以下のステップで行います。

第Ⅰ段階：T細胞へのTCR遺伝子の導入

1) Tリンパ球の採取

あなたの全身状態に問題がないことを確認し、採取機械を使ってあなたの末梢血からTリンパ球を採取します。これをアフエレーシス（成分採血）といいます。

あなたの腕（あるいは太もも）の静脈血管から約90分かけて約5,000 mLの血液を採取し、リンパ球の濃縮された成分、およびそのTリンパ球を培養するために必要な血漿（～最大400 mL）を採血します。残りの血液は採血した腕と反対の腕からあなたに戻します。

2) TCR遺伝子導入細胞の調製

三重大学内の細胞処理センターにおいて、採取されたリンパ球に前述したレトロウイルスベクターを使ってTCR遺伝子が導入されます。この施設では細胞の処理はすべて無菌操作で行います。遺伝子導入を含めて試験管内で7日間培養し、いったん凍結させて保存します。

第Ⅱ段階：TCR遺伝子導入リンパ球の投与

TCR遺伝子導入リンパ球を投与します。治療効果が最も期待でき、かつ、安全なTCR遺伝子導入リンパ球の量は、現時点でははっきりしていませんので、投与するTCR遺伝子導入リンパ球の量は次の3段階を予定しています。最初の3人（あるいは6人）の患者さまには 2×10^8 個（2億個）、次の3人（あるいは6人）の患者さまには 1×10^9 個（10億個）、最後の3人（あるいは6人）の患者さまには 5×10^9 個（50億個）の細胞を投与します。あなたには、（ × 個）の細胞を投与します。その後十分な観察を行い、副作用が発現した場合には、適切な処置を行います。なお、各段階で非常に重い有害事象（副作用などの好ましくない事象）が発現した場合には、その段階で最大6人の患者さ

まが投与を受け、そこで2人以上に非常に重い有害事象が発現した場合には、次の段階には進みません。

第Ⅲ段階：MAGE-A4 ペプチドの投与

あなたの体内で TCR 遺伝子導入細胞をさらに増殖させるため、MAGE-A4 ペプチド 1 回量 300 μg を、TCR 遺伝子導入細胞投与後 14 日目および 28 日目の2日間の計 2 回、アジュバント（ペプチドの作用を修飾・増強するために加えられるものを「アジュバント」といいます）とともに投与します。

本臨床研究終了後、三重大学医学部附属病院では患者さまの生存期間（アメリカ食品医薬品局（FDA）のガイドラインに従い、最短 15 年間）にわたり、二次発癌や増殖能を持つレトロウイルスの有無についてフォローアップを行う予定であることをご了解ください。これは遺伝子治療の長期にわたる安全性がまだ確立していないことから、臨床研究後に問題が生じることがないかを追跡するために行います。

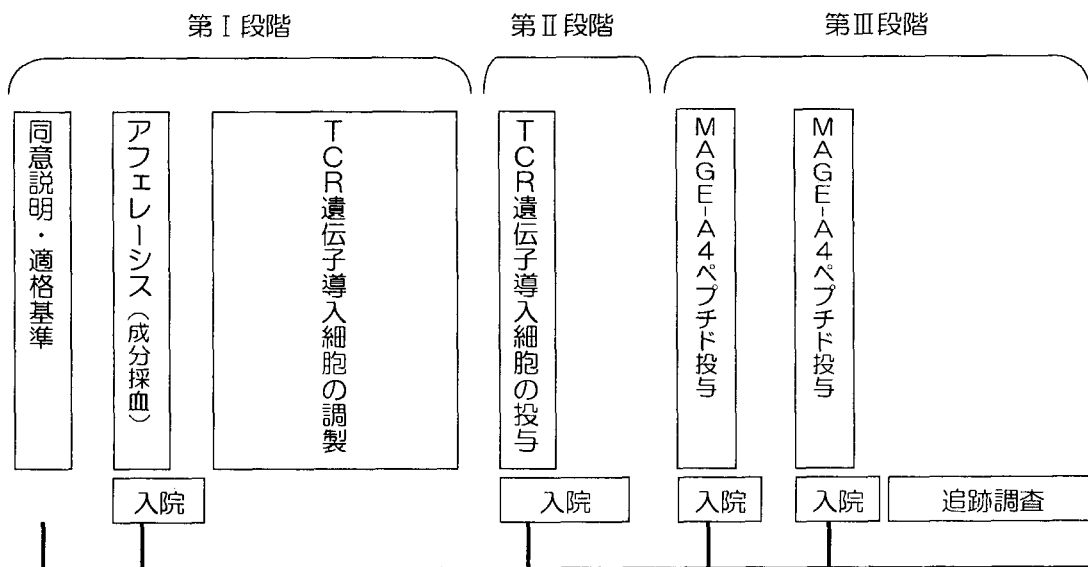


図 3 遺伝子治療臨床研究のステップ

7. 参加できる方、参加できない方

本臨床研究に参加できるのは以下のすべての条件を満たす患者さまです。

- ① 組織診断によって食道癌であることが確認されている方
- ② 根治切除不可能で、かつ標準的な治療法（化学療法、放射線療法等）抵抗性の臨床Ⅲ期、Ⅳ期（表 1）の食道癌の方、又は、術後あるいは初回放射

線化学療法後に再発転移をきたした治療抵抗性の食道癌の方

- ③ HLA-A2402（白血球の型）陽性の方
- ④ 癌組織に MAGE-A4 の発現が確認されている方
- ⑤ 画像診断に必要とされる、測定可能な癌病変を持っている方
- ⑥ Performance Status（全身一般状態）が 0~1 の方
- ⑦ 本臨床研究に参加時点の年齢が 20 歳以上 75 歳以下の方
- ⑧ 細胞採取時に前治療（手術、化学療法、放射線療法）終了から 4 週間以上の経過が見込まれる方
- ⑨ 同意取得後 4 ヶ月以上の生存が見込まれる方
- ⑩ 主要な臓器（骨髄、心、肺、肝、腎等）に高度な障害がなく、臨床検査が以下の基準を満たす方
 - ・白血球数 $\geq 3,000/\text{mm}^3$
 - ・好中球数 $\geq 1,500/\text{mm}^3$
 - ・ヘモグロビン $\geq 8.0 \text{ g/dL}$
 - ・血小板数 $\geq 100,000/\text{mm}^3$
 - ・総ビリルビン (T-Bil) $\leq 2.0 \text{ mg/dL}$
 - ・AST (GOT)、ALT (GPT) $\leq 150 \text{ IU/dL}$
 - ・クレアチニン (Cr) $\leq 2.0 \text{ mg/dL}$
- ⑪ 癌組織に HLA クラス I 分子の発現が確認されている方
- ⑫ 治療内容を理解し、本人の自由意思による同意を文書で得られた方
- ⑬ 本臨床研究における最小輸注量 (2×10^8 個) の TCR 遺伝子導入リンパ球輸注量が得られた方（二次登録時）

本臨床研究に参加できないのは以下のいずれかの条件に該当する患者さまです。

- ① 以下の重篤な合併症を有する方
 - ・不安定狭心症、心筋梗塞又は心不全
 - ・コントロール不良な糖尿病又は高血圧症
 - ・活動性の感染症
 - ・胸部 X 線検査による明らかな間質性肺炎又は肺線維症^{かんしつせい はいせんいしょう}
 - ・自己免疫疾患
 - ・出血傾向（プロトロンビン時間 (PT) < 50%、活性化トロンボプラスチン時間 (APTT) > 60 秒、フィブリノゲン (Fbg) < 100 mg/dL、フィブリン分解産物 (FDP) > 20 $\mu\text{g/mL}$)
 - ・血栓形成傾向
- ② 重篤な過敏症の既往歴を有する方
- ③ HCV 抗体、HBs 抗原、HTLV-1 抗体、HIV 抗体のいずれかが陽性である方
- ④ コントロール不能な胸水・腹水・心嚢水^{しんのう}を有する方
- ⑤ 制御困難な脳内転移を有する方
- ⑥ 副腎皮質ステロイド剤又は免疫抑制剤を全身投与中の方

- ⑦ MAGE-A4 ペプチドの投与に適さない方
- ⑧ 本臨床研究参加への同意に影響を及ぼすような精神疾患、薬物依存症等の疾患を有する方
- ⑨ 妊娠中、授乳中、妊娠している可能性のある女性又は妊娠を希望している女性の方。又は挙子希望の男性の方（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この限りではありません）
- ⑩ 一次登録前 4 ヶ月以内に他の臨床試験（臨床研究）に参加している方
- ⑪ その他、総括責任者又は分担研究者が不適当と認めた方

8. 臨床研究のスケジュール

あなたが先に説明した「参加できる条件」に当てはまる場合、次ページの「表 2」に示したスケジュールに従って本臨床研究を実施します。概要としては、はじめに、あなたから遺伝子を導入する細胞を採取するために数日間入院していただきます。その後、いったん退院いただき、あなたから採取した細胞に TCR 遺伝子を導入する一連の作業を三重大学内にある細胞処理センターにて行い、その細胞の安全性を確認します。また、TCR 遺伝子導入細胞を投与する日から投与後 7 日間、および 2 回の MAGE-A4 ペプチド投与後 2 日間（詳細は次項をご覧ください。）は、再度入院していただくことになります（患者さまの状態によっては長く入院することもあります）。この間に診察や画像診断、各種の検査を実施しますが、それ以外は外来通院での治療が可能です。本臨床研究は、TCR 遺伝子導入細胞投与の 63 日後に終了となります。それ以降も、8 ページに記載したように患者さまの生存期間にわたり、フォローアップとして 1 年に 1 回の頻度で二次発癌や増殖能を持つレトロウイルスの有無について注意深く経過を観察します。

なお、今回使用するレトロウイルスベクターは増殖能力を欠損していますが、万が一増殖能力を持つレトロウイルスが患者さまの血液に出現する場合に備えて、遺伝子導入細胞投与後、最低 3 日間は個室に入院していただく必要があります。また、その個室入院期間中には個室外に出る自由が制限されること、検査等のために個室外に出る際にはマスク及びガウンの着用が義務付けられること、および排泄物が特別な消毒をされること等、増殖能力を持つレトロウイルスが環境中に放出される可能性を最小限にするための措置にご協力していただく必要があります。

表 2 遺伝子治療臨床研究の検査・観察のスケジュール

臨床研究期間	スクリーニング期間		治療期間										追跡調査期間	
	同意取得日	アフェレーシス実施日	day0*	day1	day2	day3	day7	day14 ±3	day16 ±3	day28 ±3	day30 ±3	day35 ±3		day63 ±3
入院		○	○											
同意取得	○		○											
一次登録	○													
二次登録			○											
被験者背景	○													
アフェレーシス		○												
TCR 遺伝子導入リンパ球投与			○											
MAGE-A4ペプチド投与								○		○				
バイタルサイン	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
一般状態 (PS)	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
感染症検査	○													
血液学的検査	○	○	○ ²	○			○	○		○		○	○	○
血液生化学的検査	○	○	○ ²	○			○	○		○		○	○	○
血液凝固能検査	○		○ ²				○	○		○		○	○	○
尿検査	○		○ ²	○			○	○		○		○	○	○
免疫血清 (CRP)	○		○ ²	○			○	○		○		○	○	○
腫瘍マーカー	○		○ ^{2,4}									○ ⁴	○ ⁴	○ ⁴
胸部 X 線検査	○		○ ²									○	○ ⁵	○ ⁵
12 誘導心電図	○		○ ²									○	○ ⁵	○ ⁵
頸部・胸部・腹部・骨盤 CT	○ ¹		○ ³									○	○ ⁵	○ ⁵
PET-CT			○ ³									○	○ ⁵	○ ⁵
上部消化管内視鏡検査	○ ¹		○ ³									○	○ ⁵	○ ⁵
腫瘍組織生検			○ ³									○	○ ⁵	○ ⁵
TCR 遺伝子導入リンパ球血中動態用採血			○ ²	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
免疫機能解析用採血			○ ²									○	○	○
TCR 遺伝子導入リンパ球の腫瘍組織浸潤度			○ ²									○	○	○
RCR ⁶				○ ⁷								○	○	○
LAM-PCR ⁶												○	○	○
採血量 (mL)	15	-	70	23	10	10	18	68	10	68	10	70	70	70
有害事象	←													→

*アフェレーシス実施日より約 14~40 日後 (遺伝子導入細胞製剤の調製・QC に要する日数により異なる)。

- 1.スクリーニング期間開始前 12 週間以内の成績の利用を可とする。
- 2.治療期間開始前 3 日以内の成績の利用を可とする。
- 3.治療期間開始前 7 日以内の成績の利用を可とする。
- 4.スクリーニング期間の測定値が高値例のみ実施。
- 5.必要に応じて実施。
- 6.臨床研究終了後も 1 年に 1 回の頻度でサンプリングを実施。
- 7.遺伝子組換え生物等の第一種使用等の方法として、個室管理を解除する前に実施。

※RCR 検査	遺伝子治療に用いるレトロウイルスベクターは増殖能力を欠損していますが、何らかの理由によって増殖を始めてしまう可能性が皆無ではありません。増殖能力を持つようになったレトロウイルスを RCR といい、その出現の有無を確認する検査です。
※LAM-PCR	レトロウイルスを用いた遺伝子治療において、あなたに投与された遺伝子導入細胞の中である特定の細胞だけがが増えていないかどうかを調べる検査です。また、特別に増えた細胞がある場合には、染色

	体のどの場所に治療用遺伝子が挿入されたかを確認します。
※有害事象	副作用等の好ましくないすべての事象のことで遺伝子治療との因果関係は問いません。

9. 期待される効果

先の説明のとおり、アメリカでの悪性黒色腫の患者さま 17 名に対する同様の臨床試験では、2 名の患者さまで明らかな癌の縮小が認められています。

今回の食道癌の抗原 MAGE-A4 のように、他の癌抗原（あるいは他の癌の種類）でどの程度の効果が得られるかについてははっきりとわかっていませんが、私たちが試験管内で行った実験においては、MAGE-A4 を認識する TCR 遺伝子を導入したリンパ球が、MAGE-A4 陽性/HLA-A2402 陽性の癌細胞株を攻撃・破壊することが確認されており、本臨床研究においても同様の効果が期待されています。

ただし、今回の MAGE-A4 を認識する TCR 遺伝子を導入したリンパ球、そして MAGE-A4 ペプチドのどちらについても、これまで人に投与されたことはありません。

10. 予想される危険性および副作用

1) レトロウイルスベクターを用いることによる危険性

レトロウイルスベクターを用いた遺伝子治療は、現在までアメリカを中心とした全世界で 280 件以上が実施されており、多くの実績があります。しかし、何らかの原因により、治療を受けた患者さまの体内でこのウイルスベクターが増殖をはじめめる可能性や、遺伝子を導入した細胞が腫瘍性に増殖する可能性は皆無とはいえません。

そこで、この可能性を最小限にするために、遺伝子治療についての規則やガイドラインにしたがって、ウイルスベクターの安全性と品質の管理が行われています。また、この臨床研究で使われるのは人工的に改良した安全性の高いレトロウイルスベクターです。しかしながら、レトロウイルスベクターによって導入された治療用の遺伝子が、患者さまの T リンパ球の染色体に組み込まれたときに悪影響を及ぼす可能性は皆無とはいえません。そこで、レトロウイルスベクターを用いることによる副作用および危険性の可能性について、もう少し詳しく説明します。

第 1 点目は、レトロウイルスベクターの無秩序な増殖という問題です。今回の遺伝子治療で使われるレトロウイルスベクターは、一度細胞に感染すると二度は感染しないように、安全性を高める工夫が施されています。しかし、何らかの理由によってこのレトロウイルスベクター自身が増殖を始め、患者さまにウイルス性の疾患を引き起こす可能性は皆無とはいえません。この危険性を可能な限り取り除くために、あらかじめ定められた品質規格に合格した遺伝子導入 T リンパ球のみが投与され、投与後も体内で増殖性ウイルスが発生していないことを確認する検査が繰り返し行われる計画になっています。

第 2 点目は、「挿入変異」といわれる、治療用の遺伝子が細胞の染色体に組み込まれる際におこる可能性のある問題です。染色体には、蛋白の設計図に相当

する多数の遺伝子が並んでいますが、レトロウイルスベクターは治療用の遺伝子をこの染色体のいずれかの場所に組み込みます。ただし、この組み込まれる場所はあらかじめ予測することができないため、組み込まれる場所によっては、大切な遺伝子を壊したり、他の遺伝子に悪い影響を与えたりして、遺伝子導入された細胞を癌細胞に変えてしまう危険性があります。通常、染色体には、癌遺伝子や癌の発生を抑える働きをする遺伝子が含まれていますが、遺伝子導入によってこれらの遺伝子の働きに何らかの影響がおきて、癌化へと進む可能性もあります。一般的には、1つの遺伝子に影響が生じただけでは、癌化する可能性は極めて低いと考えられていますが、その危険性は完全には否定できません。

特に「挿入変異」による癌化の可能性については、極めて大切なことですので具体例についてさらに詳しく説明します。X連鎖重症複合性免疫不全症（遺伝的に身体の抵抗力が弱く、重症の細菌やウイルス感染症を起こしやすい病気）という先天性の病気の乳幼児^{そうけつかん}に対して、レトロウイルスベクターを用いて、欠けている遺伝子を血液のもとになる造血幹細胞に導入する遺伝子治療の臨床研究がフランスで1999年3月から行われました。当初、この遺伝子治療では11例中9例で治療が成功し、遺伝子治療の最大の成功例として注目を集めました。しかしながら、その後2002年に2例の患者さまが白血病を発症（治療後30又は34ヶ月後）したという報告がなされ、解析の結果、遺伝子治療による「挿入変異」が白血病の原因と考えられました。具体的には、この白血病発症の原因として、特定の癌遺伝子の近くにレトロウイルスベクターの遺伝子が挿入され、その結果、この癌遺伝子が活性化されて、細胞が腫瘍性に増殖してしまったという可能性が考えられています。さらに、レトロウイルスベクターで導入した治療用遺伝子が、細胞の増殖をコントロールする遺伝子だったことが、白血病の発症リスクをさらに高くしたと考えられています。この報告の後に、アメリカでは、同様の先天性免疫不全症に対するレトロウイルスベクター遺伝子治療臨床研究を一時中断し、公聴会での議論がなされ、この症例に関する内容を患者さまやそのご家族に正しく伝えたいと再開することとなりました。しかし、2005年1月には上記フランスの臨床研究で3例目の白血病発症（治療後33ヶ月後）の報告がなされるとともに、白血病発症第1例目の患者さまが白血病によって亡くなられたという報告がありました。また、2007年3月には4例目の白血病発症の報告がなされました。現在フランスのグループは、より安全なベクターが開発されるまでこの遺伝子治療を中断しています。なお、このX連鎖重症複合性免疫不全症に対して、イギリスのグループもフランスと同様の遺伝子治療臨床研究を行っていましたが、治療を受けた10例中1例で白血病が発症したことが2007年12月に報告されました。

上記の先天性免疫不全症以外のレトロウイルスベクターを使用する遺伝子治療では、白血病の発症の頻度は比較的低いと考えられ、その危険性について患者さまに十分に説明したうえで実施してもよいとの決定が各実施国の所轄官庁からなされています。日本においても同様の状況で、実施が承認されている4件のレトロウイルスを使用する遺伝子治療臨床研究のうち、先天性免疫不全症

に対する遺伝子治療については実施施設が開始を保留していますが、それ以外の3件の遺伝子治療臨床研究については、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実施することを条件に継続されています。

今回の TCR 遺伝子導入リンパ球輸注療法では、遺伝子を導入する細胞は T リンパ球であり、先に述べた先天性免疫不全症に対する遺伝子治療のような造血幹細胞に遺伝子を導入するものではありません。造血幹細胞は未熟な細胞であり、骨髄等で再生する能力があるため、癌化がおこりやすい細胞ですが、T リンパ球は分化や再生能を失った細胞であるため、癌化しにくい細胞と考えられています。このことから、治療用遺伝子が染色体に組み込まれることによる挿入変異のリスクは T リンパ球と造血幹細胞の間で同程度ではあるものの、今回の治療法で癌化がおきる危険性は、先天性免疫不全症に対する遺伝子治療と比較して低いものと考えています。実際に、過去に日本や海外で実施された、T リンパ球にレトロウイルスベクターで遺伝子を導入する臨床研究において、遺伝子治療による癌化は1件も報告されていません。また、イタリアのグループは、レトロウイルスベクターで遺伝子導入した T リンパ球を投与した患者さま46人について、最長9年間の追跡調査をした結果、遺伝子導入した細胞の異常増殖は認められなかったと報告しています。

以上より、今回の遺伝子治療臨床研究における、遺伝子治療に起因する癌化の危険性は極めて低いと考えられます。ただし、万が一、癌化が認められた場合には、化学療法等の最善の治療が行われることとなります。

2) 本遺伝子治療による危険性

①成分採血（アフェレーシス）に伴う副作用

- ・ルート確保に関すること

両腕に十分な太さの血管がなく、鎖骨下静脈又は鼠径静脈に針を刺す場合、まれに出血、感染気胸の合併の危険がありますが、消毒を十分に行い、ルート確保に習熟した医師が行います。また、常に救急カート等の設備を整え、出血、気胸の対処に備えます。

- ・迷走神経反射

精神的な緊張、不安、体調不良等の原因により血管迷走神経反射が起こり、約10%の方でめまい、吐き気、嘔吐が出現し、重篤な場合には、意識障害、嘔吐、血圧低下、徐脈、さらに高度では痙攣、失禁がみられることもあります。このような副作用が出現した場合は、採取を一時休止もしくは中止し、薬剤投与等適切な処置を施します。

- ・クエン酸反応

成分献血は、血液が固まらないように抗凝固剤を加えながら採血していきます。抗凝固剤に含まれるクエン酸による低カルシウム血症をきたすことがあります。

軽い症状では、口唇、手指のしびれ感が出現し、進行により症状が悪化する他、手指の突っ張り感が出現します。軽い症状が出現した場合は、採取速度を低下させて観察しますが、それでも改善しない場合は薬剤を投与します。

・血小板減少

アフエレーシスの際に血小板も一部除去されるため、アフエレーシス後に血小板の減少が高頻度（50%以上）にみられ、また、50,000/mm³未満の高度の減少も5%前後みられます。そのため、アフエレーシス終了後1週間位は必ず血小板をチェックし、採取前値への回復を確認します。また、アフエレーシス開始から終了までアスピリン製剤（血小板の働きを抑え、血液を固まりにくくする作用があります）は使用しません。

②TCR 遺伝子導入リンパ球輸注に伴う副作用

・発熱、発疹、アレルギー類似反応等

TCR 遺伝子を導入し、一旦凍結後に解凍したリンパ球を投与した際に、解凍に伴って一部崩壊した細胞内のサイトカイン（細胞から分泌される蛋白のこと）等による発熱、悪寒、皮疹、関節痛、嘔気等をきたす可能性があります。その際には、経過観察、あるいは解熱鎮痛剤や抗ヒスタミン剤等の適切な薬剤の投与にて対処します。また、高度な副作用の場合には副腎皮質ステロイド剤の投与を行います。

・肺障害

重篤な輸血副作用として「輸血関連急性肺障害」が知られています。抗白血球抗体（抗HLA抗体、抗顆粒球抗体）による抗原・抗体反応が原因と推測されていますが、現在のところ詳細は不明です。本臨床研究は自己血液細胞輸注によるものであり、「輸血関連急性肺障害」に類似の病態が発症する可能性は考えにくいですが、TCR 遺伝子導入リンパ球投与後の肺障害に注意すべきと考えられます。発症時には、副腎皮質ステロイド剤の大量投与等、適切な処置を行います。

・免疫反応に伴う事象

本臨床研究の標的抗原であるMAGE-A4は、「癌・精巣抗原」の一つであり、腫瘍特異性が極めて高いのが特徴です。精巣組織ではHLA分子の発現が欠失しているため、正常組織への細胞傷害の可能性は極めて低いのですが、自己免疫疾患様症状（発熱、皮疹、関節痛、筋肉痛等）には常に注意する必要があります。対処法として、軽度の副作用では無処置で経過観察しますが、中等度以上では対症療法を行い、さらに重篤な場合には副腎皮質ステロイド剤を投与します。

③ペプチド投与に伴う副作用

MAGE-A4 ペプチドはアジュバントとともに2回の皮下投与が予定されています。MAGE-A4と同様な癌抗原のペプチドを用いた臨床研究は種々行われて

いますが、現在までに重篤な副作用の報告はありません。軽微な副作用として、皮膚反応（注射部位の発赤、腫^{しゅちよう}脹）、微熱、倦怠感等が報告されています。軽度の副作用の場合、無処置にて経過観察しますが、中等度以上では対症療法を行い、さらに重篤な場合には副腎皮質ステロイド剤を投与します。また、予期せぬ副作用の発現に十分注意する必要があります。

3) その他予測できない副作用

上記以外にも予測できない副作用が発現する可能性があります。その場合にも必要に応じて、できる限り適切な処置を行います。

11. 臨床研究への参加予定期間

本臨床研究への参加予定期間は、最長で約 110 日間です（TCR 遺伝子導入リンパ球の準備にかかる時間や副作用の有無により変化します）。

12. 臨床研究への参加患者数

本臨床研究に参加していただく患者さまは、9 名（最大で 18 名）を予定しています。

13. 他の治療法について

あなたの食道癌に対する治療に関しては、既に手術、あるいは化学療法や放射線療法が行われておりますので、根治療法はありません。再発形式がリンパ行性、血行性、複合性のいずれであるか、初回治療におけるステージがどの程度であったか、初回治療は何か、などにより治療方法が異なってきますが、一定のコンセンサスが得られている治療法はありません。また、新しい治療法としては、分子標的治療の開発が期待されているところですが、まだ確立された治療法ではありません。

その他、最良支持療法という症状緩和を目指す治療（栄養管理や QOL 向上のための緩和医療）を受けることもできますので、十分に担当医師とご相談ください。

14. 臨床研究への参加の自由と、参加の取りやめについて

この臨床研究へ参加するかどうかは、あなたの自由意思でお決めください。たとえ臨床研究への参加をお断りになっても、あなたが不利益を受けることは一切ありません。その場合、あなたにとって最も良いと考えられる治療を行います。

また、この臨床研究へ参加することに同意された後でも、中止を希望される場合には、どんな理由であっても担当医師に申し出てください。あなたの自由

意思でいつでも参加を取りやめることができます。その場合でもあなたが不利益を受けることは一切ありません。ただし、TCR 遺伝子導入リンパ球の輸注を受けた後は、あなたの体内の TCR 遺伝子導入リンパ球を取り除くことはできません。あなたが TCR 遺伝子導入リンパ球輸注の後に本臨床研究への参加の中止を申し出られても、あなたの体内から TCR 遺伝子導入リンパ球がすべて消失したことが検査によって確認されるまでは検査等を実施します。

15. 健康被害の補償について

本臨床研究に関連する健康被害が生じた場合には、最も適切な治療を行います。健康被害がこの臨床研究と関係があるかどうかの判定は、私たちとは利害関係のない、この遺伝子治療臨床研究のために当院が独立して設置する「安全・効果評価・適応判定部会」で検討し、この臨床研究との関連が否定できないと判断された副作用の検査や治療に対する医療費は当院が負担いたします。一方、この臨床研究との関連が認められない健康被害に関する医療費の支払いには、あなたの加入している健康保険が適用されます。また、当院に過失がない限り、補償金は支払われないことをご了承ください。

16. 新たな情報のお知らせについて

本臨床研究に参加中、新しい情報（例えば本臨床研究と同様の試験が海外で行われた場合の成績等）が得られることがあります。このような新しい情報を知ることによって、あなたが本臨床研究への参加をやめるという判断をされるかもしれません。よって、本臨床研究に関連する全ての情報はできるだけ速やかにお知らせし、本臨床研究に継続して参加されるかどうかについて、担当医師があらためてお尋ねします。

17. 遺伝子治療臨床研究の中止について

あなたに本臨床研究参加の意思があったとしても、以下の場合には本臨床研究を中止させていただきます。なお、必要な検査・観察を行うとともに、有害事象の発現や対象疾患の悪化など、安全性に問題が生じて中止した場合には、速やかに適切な処置を行い、安全性が確認されるまで追跡調査を行います。

- 1) 本臨床研究開始後に対象として不適格であることが判明した場合
- 2) 本臨床研究の継続が困難な有害事象が発現した場合
- 3) 本臨床研究の継続が困難な対象疾患の悪化が生じた場合
- 4) 担当医師が本臨床研究の中止が必要と判断した場合

18. あなたに守っていただきたいこと

- ① 何らかの理由で担当医師以外の医師による治療を受けている場合や、本臨床研究の途中で新たに担当医師以外の医師による治療を受けた場合は、必ずその旨をお知らせください。本臨床研究参加中に服用することが好ましくない薬があった場合には、その薬をやめていただくか、本臨床研究への参加をやめていただくことがあります。
- ② 担当医師の指示に従い、定められた来院日は必ず守るようにしてください。その際には診察や定められた検査を受けていただきます。どうしても来院できない場合には、できるだけ早く担当医師にお知らせください。
- ③ 本臨床研究期間中、今までと比べて身体の調子がおかしいと感じたときは、必ず担当医師等に相談してください。

19. あなたの費用負担について

臨床研究には、健康保険等の公的な医療保険は適用されません。その代わりに、本臨床研究にかかる費用、たとえばレトロウイルスベクターや TCR 遺伝子導入にかかわる費用、遺伝子治療臨床研究の安全性を確認するために必要な検査の費用、および入院中の個室使用料等は当院で負担します。

ただし、今回の臨床研究の期間内であっても、この研究と関係のない病状に対する治療費には、通常の診療と同じようにあなたの加入している健康保険が適用され、その医療費にかかる一部負担金はあなたの負担となります。

なお、この臨床研究の経費の一部には、共同研究先であるタカラバイオ株式会社から提供された資金が使用されています。

20. 個人情報の保護について

あなたの診療録をはじめとする個人情報は、「独立行政法人等の保有する個人情報の保護に関する法律」（平成 15 年 5 月 30 日法律第 59 号）その他関係法令に定めるものの他、「国立大学法人三重大学個人情報保護規程」（平成 17 年 4 月 1 日施行）および「三重大学医学部附属病院の保有する個人情報管理規程」（平成 17 年 4 月 1 日施行）にしたがって保護されます。

本臨床研究で扱うあなたの個人情報は、主として病状の経過観察、緊急事態発生のための連絡等、あなたの生命を守るために使用します。その他、特別な目的で使用する場合には、事前にあなたに説明し、ご了解を頂いてから使用します。また、本臨床研究の成果を検討する時や、医療向上等を目的に本臨床研究の成績を公表・公開する場合には、個人を特定できない形すなわち個人情報を保護して公開します。

21. 個人情報の第三者への提供の制限について

個人情報は適切に管理し、あらかじめあなたの同意を得ることなく第三者に提供することは絶対にありません。

国の審議会における審査の過程において、厚生労働省の担当官および審議会の委員が、あなたの個人情報を取り扱うことがあります。あなたの個人情報はすべて秘密として取り扱われます。また、当院の倫理委員会における審査の過程において、審査の客観性を保つために当院以外の外部委員が、あなたの個人情報を取り扱うことがあります。当院との秘密保持契約のもとで行われますので、あなたの個人情報はすべて秘密として取り扱われます。また、本臨床研究では、タカラバイオという会社が外部協力者としてレトロウイルスベクターに関する基礎的助言や TCR 遺伝子導入リンパ球の調製技術の提供・助言に限定し、間接的に関与しています。調製されたリンパ球をあなたに投与した場合の安全性や機能に関する記録は、通常の治験と同様に被験者識別コードを用いることにより個人が特定できないように個人情報を完全に匿名化してから、タカラバイオの担当者が閲覧する可能性があります（被験者識別コードから患者さまを特定する情報については、担当医師が厳重に管理します）。

22. 個人情報の開示、訂正、利用停止や問い合わせ・相談・苦情の窓口について

本臨床研究で取り扱う個人情報について、あなたは開示、訂正、利用停止を求めることができます。個人情報に関する疑問等がある場合は、担当医師にお問い合わせください。お申し出に応じ、その手続きに関する詳細を説明します。

また、担当医師とは別に個人情報に関する問い合わせ・相談・苦情の窓口もございますので、疑問等がございましたらお問い合わせください。

【個人情報に関する問い合わせ・相談・苦情の窓口】

三重大学医学部附属病院 個人情報相談窓口

- ・診療に関すること：医療サービス課 診療案内係（TEL：059-231-5072）
- ・教育・研究に関すること：総務課 文書広報係（TEL：059-231-5045）

23. 緊急連絡先およびお問い合わせ先について

緊急時、またこの臨床研究について何かご心配やご質問がありましたら、下記にご連絡ください。

三重大学大学院医学系研究科 遺伝子・免疫細胞治療学講座

TEL：059-231-5187

休日・夜間の緊急連絡先 TEL：059-231-5187 又は 059-231-5103（三重大学医学部附属病院7階東内科病棟）

24. 遺伝子治療臨床研究の名称と実施組織体制

1) 研究の正式名称：

MAGE-A4抗原特異的TCR遺伝子導入リンパ球輸注による治療抵抗性

食道癌に対する遺伝子治療臨床研究

2) 実施施設：

三重大学医学部附属病院

3) 総括責任者：

珠玑 洋：三重大学名誉教授

三重大学大学院医学系研究科 遺伝子・免疫細胞治療学講座 教員

4) 分担研究者：

影山 慎一：三重大学大学院医学系研究科 遺伝子・免疫細胞治療学講座
准教授

日浅 厚則：三重大学大学院医学系研究科 遺伝子・免疫細胞治療学講座
助教

池田 裕明：三重大学大学院医学系研究科 がんワクチン講座 准教授

西川 博嘉：三重大学大学院医学系研究科 がんワクチン講座 講師

片山 直之：三重大学大学院医学系研究科 病態制御医学講座
造血病態内科学 教授、

三重大学医学部附属病院 血液内科、腫瘍・免疫内科 科長

中瀬 一則：三重大学医学部附属病院 がんセンター 准教授、センター長

榎屋 正浩：三重大学大学院医学系研究科 病態制御医学講座
造血病態内科学 准教授

水野 聡朗：三重大学大学院医学系研究科 病態制御医学講座
腫瘍・免疫内科学 助教

北野 滋久：三重大学医学部附属病院 腫瘍・免疫内科 医員

大石 晃嗣：三重大学医学部附属病院 輸血部 部長、講師

田中 匡介：三重大学医学部附属病院 光学医療診療部 助教

白石 泰三：三重大学大学院医学系研究科 病態解明医学講座
腫瘍病態解明学 教授

佐藤 永一：東京医科大学 病理学講座 助教

大谷 明夫：独立行政法人国立病院機構 水戸医療センター
研究検査科 臨床研究部長

臨床研究参加同意書

三重大学医学部附属病院 病院長 殿

私は、本臨床研究（研究課題名：MAGE-A4抗原特異的TCR遺伝子導入リンパ球輸注による治療抵抗性食道癌に対する遺伝子治療臨床研究）について、文書と口頭にて説明を受け、以下の事項について十分了解しました。

了解した事項は□内にレを付けて示します。

- はじめに
- 臨床研究について
- あなたの食道癌について
- 遺伝子治療臨床研究の概要について
- TCR 遺伝子治療臨床研究の海外での状況について
- 臨床研究の方法
- 参加できる方、参加できない方
- 臨床研究のスケジュール
- 期待される効果
- 予想される危険性および副作用
- 臨床研究への参加予定期間
- 臨床研究への参加患者数
- 他の治療法について
- 臨床研究への参加の自由と、参加の取りやめについて
- 健康被害の補償について
- 新たな情報のお知らせについて
- 遺伝子治療臨床研究の中止について
- あなたに守っていただきたいこと
- あなたの費用負担について
- 個人情報の保護について
- 個人情報の第三者への提供の制限について
- 個人情報の開示、訂正、利用停止や問い合わせ・相談・苦情の窓口について
- 緊急連絡先およびお問い合わせ先について
- 遺伝子治療臨床研究の名称と実施組織体制

どちらかにレ又は○で囲む。

同意します

同意しません

同意年月日：平成 年 月 日

患者さま

ご署名： _____

説明年月日：平成 年 月 日

総括責任者（又は分担研究者）所属・氏名： _____

説明年月日：平成 年 月 日

その他説明補助者

所属・氏名： _____

**厚生科学審議会科学技術部会
がん遺伝子治療臨床研究作業委員会委員名簿**

氏 名	所 属
あさの 浅野 茂隆 <small>しげたか 茂隆</small>	早稲田大学理工学術院特任教授
あらと 荒戸 照世 <small>てるよ 照世</small>	独立行政法人医薬品医療機器総合機構生物系審査部審査役
うえだ 上田 龍三 <small>りゅうぞう 龍三</small>	名古屋市立大学大学院医学研究科臨床分子内科学教授
おざわ 小澤 敬也 <small>けいや 敬也</small>	自治医科大学医学部教授
かきぞえ 垣添 忠生 <small>ただお 忠生</small>	国立がんセンター名誉総長
かねこ 金子 周一 <small>しゅういち 周一</small>	金沢大学医学部長
かねだ 金田 安史 <small>やすふみ 安史</small>	大阪大学大学院医学系研究科教授
○ さきづき 笹月 健彦 <small>たけひこ 健彦</small>	国立国際医療センター名誉総長
しまだ 島田 隆 <small>たかし 隆</small>	日本医科大学医学部教授
はまだ 濱田 洋文 <small>ひろふみ 洋文</small>	札幌医科大学教授
はやかわ 早川 堯夫 <small>たかお 堯夫</small>	独立行政法人医薬品医療機器総合機構顧問
よしくら 吉倉 廣 <small>ひろし 廣</small>	厚生労働省医薬食品局食品安全部企画情報課参与
(食道がん) あんどう 安藤 暢敏 <small>のぶとし 暢敏</small>	東京歯科大学市川総合病院長

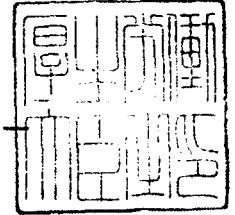
○委員長 (五十音順 敬称略)

(平成20年4月18日現在)

厚生労働省発科第 0623001 号
平成 20 年 6 月 23 日

厚生科学審議会会長
久 道 茂 殿

厚生労働大臣 舩 添 要



諮 問 書

遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律（平成 15 年法律第 97 号）第 4 条第 1 項に基づく第一種使用規程等の主務大臣承認に関し、下記の遺伝子治療臨床研究について、厚生労働省設置法（平成 11 年法律第 97 号）第 8 条第 1 項第 1 号イの規定に基づき、貴会の意見を求めます。

記

1 MAGE-A4 抗原特異的 TCR 遺伝子導入リンパ球輸注による治療抵抗性食道癌に対する遺伝子治療臨床研究

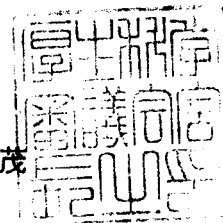
- ・申請者 三重大学医学部附属病院 病院長 内田 淳正
- ・遺伝子組換え生物等の名称

HLA-A2402 拘束性 MAGE-A4 を特異的に認識する T 細胞受容体 α 鎖及び β 鎖を発現し、Gibbon ape 白血病ウイルスの env 蛋白をエンベロープに持つ非増殖性の遺伝子組換えモロニーマウス白血病ウイルス (MS-bPa)

厚科審第11号
平成20年6月23日

科学技術部会部会長
垣添忠生 殿

厚生科学審議会会長
久道 茂



遺伝子治療臨床研究に係る生物多様性影響評価について（付議）

標記について、平成20年6月23日付け厚生労働省発科第0623001号をもって厚生労働大臣より諮問があったので、厚生科学審議会運営規程第3条の規定に基づき、貴部会において審議方願いたい。

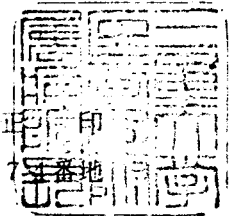
第一種使用規程承認申請書

平成 20 年 6 月 9 日

厚生労働大臣 舩添 要一 殿

環境大臣 鴨下 一郎 殿

氏名 三重大学医学部附属病院
申請者 病院長 内田 淳正
住所 三重県津市江戸橋2丁目17番地



第一種使用規程について承認を受けたいので、遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律第4条第2項（同法第9条第4項において準用する場合を含む。）の規定により、次のとおり申請します。



<p>遺伝子組換え生物等の種類の名称</p>	<p>HLA-A2402 拘束性 MAGE-A4 を特異的に認識する T 細胞受容体 α 鎖及び β 鎖を発現し、Gibbon ape 白血病ウイルスの env 蛋白をエンベロープに持つ非増殖性の遺伝子組換えモロニーマウス白血病ウイルス (MS-bPa)</p>
<p>遺伝子組換え生物等の第一種使用等の内容</p>	<p>治療施設におけるヒト遺伝子治療を目的とした使用、保管、運搬及び廃棄並びにこれらに付随する行為</p>
<p>遺伝子組換え生物等の第一種使用等の方法</p>	<p>治療施設の所在地 三重県津市江戸橋2丁目174番地 治療施設の名称 三重大学医学部附属病院</p> <p>(1) MS-bPa 溶液は、容器に密閉され、凍結状態で治療施設に輸送し、施設内の P2 レベルの実験室内の冷凍庫に保管する。</p> <p>(2) 凍結状態の MS-bPa 溶液の融解、希釈及び分注操作は、P2 レベルの実験室内の安全キャビネット内又は P2 レベル実験室内で閉鎖系にて行う。患者リンパ球への MS-bPa 導入操作、MS-bPa 導入細胞の培養その他の MS-bPa 希釈溶液及び MS-bPa 導入細胞の取扱いも同様に P2 レベルの実験室内の安全キャビネット内又は P2 レベルの実験室内で閉鎖系にて行う。MS-bPa 希釈溶液及び MS-bPa 導入細胞の保管は、P2 レベルの実験室内の冷蔵庫、冷凍庫又は培養器にて行う。なお、MS-bPa 希釈溶液若しくはその冷凍品又は MS-bPa 導入細胞を、開放系区域を通過して他の P2 レベル区域に運搬する場合には、密閉した容器に入れ、容器の落下や破損を防止するために当該容器を箱等に入れ運搬する。</p> <p>(3) MS-bPa 溶液 (希釈溶液を含む) 又は MS-bPa 導入細胞を廃棄する際には、滅菌処理 (高圧蒸気滅菌処理又は 0.5% 次亜塩素酸ナトリウム溶液への 2 時間以上の浸漬処理による。以下同じ。) を行った後、三重大学医学部附属病院医療廃棄物管理規程 (以下「医療廃棄物管理規程」という。) に従い廃棄する。</p> <p>(4) 被験者に対する MS-bPa 導入細胞の投与は、環境中への拡散防止措置を適切に執った陽圧でない個室 (以下「個室」という。) 内において輸注により行う。なお、投与時に MS-bPa 導入細胞に直接接触する注射針、注射器、チューブ等の器具は使い捨てとし、適切に滅菌処理を実施した後、医療廃棄物管理規程に従い廃棄する。なお、これらの滅菌処理を個室以外で行う場合には、二重に密閉した容器に入れて運搬する。</p> <p>(5) 投与後 3 日まで、被験者を個室で管理し、検査等の理由で被験者が一時的に個室外の開放区域に出る場合には、マスク及びガウン着用等のウイルス漏出予防措置を義務付ける。個室における管理期間中の被験者の血液及び体液は、その都度適切に滅菌処理を行い、医療廃棄物管理規程に従い廃棄する。また、被験者の尿及び糞便等の排泄物は、投与翌日以降に行われる被験者の血液を用いたポリメラーゼ連鎖反応法試験にて自己増殖能を獲得したレトロウイルス (以下「RCR」という。) の存在が否定されるまで、適切に滅菌処理を行い、医療廃棄物管理規程に従い廃棄する。なお、これらの滅菌処理を個室以外で行う場合には、二重に密閉した容器に入れて運搬する。また、臨床検体として使用する被験者の排泄物等の取扱いは、MS-bPa 溶液及び MS-bPa 導入細胞の取扱いに準ずる。</p>

	<p>(6) 個室における管理期間中、被験者に対して侵襲的に使用した器具等及び被験者の排泄物等に接触した器具等は、適切に滅菌処理を実施した後、医療廃棄物管理規程に従い廃棄するか、又は十分に洗浄する。なお、これらの滅菌処理又は洗浄を個室以外の区域で行う場合には、二重に密閉した容器に入れて運搬する。</p> <p>(7) 個室における被験者の管理を解除する前に、RCR が被験者の末梢血単核球（以下「PBMC」という。）及び血漿において陰性であることを確認する。RCR が確認されたときは、個室における管理を継続する。</p> <p>(8) 個室における管理解除後に被験者のPBMC又は血漿からRCRが検出された場合は、直ちに被験者を個室における管理下に移し、上記（5）から（7）までと同様の措置を執る。</p>
--	---

「HLA-A2402 拘束性 MAGE-A4 を特異的に認識する T 細胞受容体 α 鎖及び β 鎖を発現し、Gibbon ape 白血病ウイルスの env 蛋白をエンベロープに持つ非増殖性の遺伝子組換えモロニー白血病ウイルス (MS-bPa)」

生物多様性影響評価書

三重大学医学部附属病院

生物多様性影響評価書

(区分：遺伝子治療臨床研究)

I 宿主又は宿主の属する分類学上の種に関する情報

1 分類学上の位置づけ及び自然環境における分布状況

HLA-A2402 拘束性 MAGE-A4 を特異的に認識する T 細胞受容体 α 鎖及び β 鎖を発現し、Gibbon ape 白血病ウイルスの env 蛋白をエンベロープに持つ非増殖性の遺伝子組換えモロニー白血病ウイルス MS-bPa (以下、本遺伝子組換え生物という) は増殖能欠損型レトロウイルスベクターである。本遺伝子組換え生物の宿主はモロニーマウス白血病ウイルス (Moloney murine leukemia virus: MoMLV) である。

レトロウイルス科はアルファ〜イプシロンレトロウイルス及びレンチウイルス (以上はオルソレトロウイルス亜科) 並びにスプーマウイルス (スプーマレトロウイルス亜科) の 7 つの属に分類される。マウス白血病ウイルス (Murine leukemia virus: MLV) はガンマレトロウイルス属に属する種である (文献1)。MLV は AKR や C58 系マウスの自然発症白血病の病原ウイルスとして発見された。MoMLV は、実験室内で MLV を継代することにより、病原性の高いウイルス株として Sarcoma 37 細胞から単離されたエコトロピック (同種指向性) レトロウイルスである。MoMLV は発がん遺伝子を持たず、マウスの年齢及び系統にかかわらず感染し、長期間感染したマウスのほぼすべてがリンパ性白血病を発症することが報告されている (文献2)。MoMLV はマウスやラット等のげっ歯類にのみ感染し、ヒトを含む他の動物に対する感染性や病原性の報告はない。

文献1: ICTVdB - The Universal Virus Database, version 4.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/ICTVdb/ICTVdB/>

文献2: Moloney JB. Biological studies on a lymphoid-leukemia virus extracted from sarcoma 37. I. Origin and introductory investigations. J Natl Cancer Inst 24:933-951 (1960).

2 使用等の歴史及び現状

レトロウイルスは、医学生物学領域において遺伝子導入ベクターとしての応用が最も早く進んだウイルスであり、米国で行われた遺伝子治療の最初の臨床例もレトロウイルスベクターを用いたものであった (文献3)。遺伝子治療/遺伝子マーキングの臨床プロトコールでは、レトロウイルスベクター法を用いたものが 22.6% を占める (文献4)。レトロウイルスの中でも MoMLV は遺伝子導入用ベクターとして広く使われている。

文献3: Blaese RM, et al. T Lymphocyte-directed Gene Therapy for ADA-SCID: Initial

3 生理・生態学的特性

(1) 基本的特性 (文献5)

MoMLV 粒子は直径約 100 nm の球形の C 型粒子であり、ウイルスゲノムを内包するコアとそれを取り囲むエンベロープ (外被) からなる。コアは主としてカプシド蛋白質 (CA) により構築されており、その中に 2 分子の RNA ゲノムを有する。そのほか、逆転写酵素 (RT)、インテグラーゼ (IN)、プロテアーゼ (PR)、核酸結合蛋白質 (NC) もコア内部に存在する。コアの周囲にはウイルス産生細胞の細胞膜に由来する脂質二重膜のエンベロープが存在する。エンベロープとコアの間にはマトリックス蛋白質 (MA) が存在する。エンベロープには膜貫通蛋白質 (TM) が突き刺さっており、それに表面蛋白質 (SU) が弱く結合している。SU と TM の複合体はウイルス粒子のエンベロープ上で多量体 (おそらくは三量体) を形成する。

(2) 生息又は生育可能な環境の条件

他のウイルスと同様に、MoMLV は宿主細胞に感染した場合にのみ増殖が可能である (I-3-(4)「繁殖又は増殖の様式」参照)。レトロウイルスは比較的不安定なウイルスであり、体液中、培地中等の限られた環境中でしか感染性を保持できない。なお、ショ糖とゼラチンを添加して凍結乾燥を行うと安定に保存できるとの報告がある (文献6)。

(3) 捕食性又は寄生性

MoMLV はマウス及びラットの細胞に感染し、ウイルスゲノムは逆転写により DNA に変換された後、細胞の染色体に組み込まれる (プロウイルス)。他の生物を捕食することはない。

(4) 繁殖又は増殖の様式

レトロウイルスはキャリアーである動物の血液中や体液中に存在し、他の個体がそれに接触することにより感染する。レトロウイルスが細胞に感染し増殖するときは、1) 吸着、2) 侵入、3) 逆転写、4) 宿主染色体への組み込み、5) RNA 合成、6) 蛋白質合成、7) アセンブリー・放出、8) 成熟といった各段階を経る。一方、レトロウイルスのゲノム配列が生殖系細胞の染色体中にプロウイルスとして組み込まれている場合には、動物の繁殖によって子孫に受け継がれる。

野生型 MoMLV がヒト細胞に感染することはない。ヒト細胞に感染可能なエンベロープ蛋白質 (env 蛋白質) [例えば、4070A アンフトロピック env 蛋白質、gibbon ape leukemia virus (GaLV) env 蛋白質] を持つ MoMLV を人為的に作製した場合にはヒトへの感染が可能である。

(5) 病原性

MoMLV の病原性に関して、下記のことが報告されている。

- 1) MoMLV は、マウスに悪性腫瘍を含む多様な疾患を発生させる。
マウスで起こる疾病・病態としては、白血病、リンパ腫、貧血、免疫不全、腫瘍及び神経変性が知られている。
- 2) レトロウイルスはランダムに宿主染色体に挿入されるため、細胞機能に重要な遺伝子を活性化又は不活化し、がん性の変化をもたらす危険性がある。
- 3) 内在性ウイルスとの組換えにより増殖性レトロウイルス (replication competent retrovirus: RCR) が出現する可能性がある。
- 4) MoMLV はマウスやラットにのみ感染するので、ヒトに対する感染性及び病原性はない。
- 5) 感染により宿主細胞が破壊されることはない。

(6) 有害物質の産生性

MoMLV が有害物質を産生することはない。また、MoMLV に感染したことにより細胞が有害物質の産生能を獲得するとの情報は無い。

(7) その他の情報

1) MoMLV の不活化条件

MoMLV と同じレトロウイルス科に属するヒト免疫不全ウイルス (HIV) の滅菌、消毒法として、①121℃、20 分間の高圧蒸気滅菌、②170℃、2 時間の乾熱滅菌、③20～30 分間の煮沸消毒、④有効塩素濃度 0.1～1.0%の次亜塩素酸ナトリウム、⑤70%エタノール又は70%イソプロピルアルコール、⑥3.5～4%ホルマリン、⑦2%グルタラル、が有効である (文献7)。また、10%及び 1%ポピドンヨード液 (文献8)、0.3%過酸化水素水 (文献9) で不活化が可能との報告がある。

紫外線及び熱による液体中の MoMLV 及び HIV の不活化を比較した研究によると (文献10)、MoMLV を 1/10 まで不活化するのに必要な紫外線照射量 (D_{10}) は 2,800 erg/mm² であり、熱処理時間 (T_{10}) は 50℃では 50 秒、55℃では 20 秒、70℃では 8 秒である。したがって、55℃、2 分間又は 70℃、50 秒間の熱処理により、MoMLV の感染価を 1/10⁶ に低下させることができると考えられる。また、50℃における T_{10} が 80～90 秒であるとの報告もある (文献11)。

マウス由来のウイルス産生細胞により産生されたレトロウイルスベクターが仮にヒト体内に侵入したとしても、ヒト血清 (補体) により速やかに不活化される (文献12)。抗 α -galactosyl 自然抗体を有する旧世界ザル (文献13) の体内に侵入したときにも同様のメカニズムにより不活化される (文献14) と考えられる。

2) MoMLV からの、増殖能欠損型レトロウイルスベクターの構築

本遺伝子組換え生物は増殖能欠損型レトロウイルスベクターである。野生型 MoMLV のゲノムから gag-pol 遺伝子及び env 遺伝子の蛋白質コード領域のすべてを除去した増殖能欠損型レトロウイルスベクター MT (文献15, 16) が構築された。MT のプロウイルス配列 (MT

DNA) 中の 3'-long terminal repeat (LTR) を murine stem cell virus (MSCV) 由来の配列で置換したものが MS DNA であり、gag-pol 遺伝子及び env 遺伝子を発現する細胞に MS DNA を導入することによりレトロウイルスベクター-MS が産生される。本遺伝子組換え生物のゲノムは、HLA-A2402 拘束性 MAGE-A4 を特異的に認識する T 細胞受容体 (TCR) β 鎖遺伝子、マウスホスホグリセリン酸キナーゼ遺伝子プロモーター (P_{PGK}) 及び TCR α 鎖遺伝子が MS のゲノムに挿入された構造を有する。

- 文献5 : 遺伝子治療開発研究ハンドブック 第3章、第2節、1.1 レトロウイルスの増殖サイクル (p. 322)
- 文献6 : Levy JA, et al. Freeze-drying is an effective method for preserving infectious type C retroviruses. *J Virol Methods* 5:165-171 (1982).
- 文献7 : 日本ウイルス学会. ウイルス研究におけるバイオセーフティ指針. *ウイルス* 43:199-232 (1993).
- 文献8 : 加藤真吾, 他. プラーク法を用いた各種消毒剤による HIV-1 不活化の検討. *基礎と臨床* 30:3615-3620 (1996).
- 文献9 : Martin LS, et al. Disinfection and inactivation of the human T lymphotropic virus type III/lymphadenopathy-associated virus. *J Infect Dis* 152:400-403 (1985).
- 文献10 : Yoshikura H. Thermostability of human immunodeficiency virus-1 (HIV-1) in a liquid matrix is far higher than of an ecotropic murine leukemia virus. *Jpn J Cancer Res* 80:1-5 (1989).
- 文献11 : Yoshikura H. Ultraviolet sensitivity of helper function of murine leukemia virus. *Arch Biochem Biophys* 154:76-83 (1973).
- 文献12 : Takeuchi Y, et al. Type C retrovirus inactivation by human complement is determined by both the viral genome and the producer cell. *J Virol* 68:8001-8007 (1994).
- 文献13 : Galili Uri, et al. Significance of a-Gal (Gal α 1-3Gal β 1-4GlcNAc-R) Epitopes and α 1,3 Galactosyltransferase in Xenotransplantation. *Trends Glycosci Glycotechnol* 11:317-327 (1999).
- 文献14 : Rother RP, et al. A novel mechanism of retrovirus inactivation in human serum mediated by anti- α -galactosyl natural antibody. *J Exp Med* 182:1345-1355 (1995).
- 文献15 : Yu SS, et al. High efficiency retroviral vectors that contain no viral coding sequences. *Gene Therapy* 7:797-804 (2000).
- 文献16 : Lee J-T, et al. Engineering the splice acceptor for improved gene expression

and viral titer in an MLV-based retroviral vector. Gene Therapy 11:94-99 (2004).

II 遺伝子組換え生物等の調製等に関する情報

1 供与核酸に関する情報

(1) 構成及び構成要素の由来

本遺伝子組換え生物のゲノムを構成する供与核酸はTCR β 鎖遺伝子、 P_{PGK} 、TCR α 鎖遺伝子、3'-LTRのU3領域及び制限酵素認識部位等の人工配列である。本遺伝子組換え生物のゲノムの構成と、その配列をDNA配列に変換したものの制限酵素地図を別紙1に示す。また、供与核酸の塩基配列及び蛋白質をコードするものについてはそのアミノ酸配列を別紙2に示す。

1) TCR β 鎖遺伝子

本遺伝子は、HLA-A2402 拘束性 MAGE-A4₁₄₃₋₁₅₁ ペプチド特異的なヒト由来細胞傷害性 T リンパ球 (cytotoxic T lymphocyte : CTL) クローン #2-28 (文献17) から、TCR β 鎖遺伝子に特異的なプライマーを用いた RT-PCR 法により単離された cDNA である。本遺伝子は 313 アミノ酸からなるポリペプチドをコードする 939 塩基対と終止コドン TAG より成り立っており、コードされる蛋白質は 116 アミノ酸からなる V7-9 領域、15 アミノ酸からなる J2-5 領域及び 179 アミノ酸からなる C2 領域からなっている。TCR β 鎖遺伝子は 7 番染色体に存在し、多数の亜型から構成される。

2) P_{PGK}

P_{PGK} は 513 bp からなるマウスゲノム由来の DNA 断片に含まれる。

3) TCR α 鎖遺伝子

本遺伝子は、クローン #2-28 (文献 17) から TCR β 鎖遺伝子と同様の方法により単離された cDNA である。本遺伝子は 272 アミノ酸からなるポリペプチドをコードする 816 塩基対と終止コドン TGA より成り立っており、コードされる蛋白は 111 アミノ酸からなる V8-1 領域、20 アミノ酸からなる J10 領域及び 141 アミノ酸からなる C 領域からなっている。TCR α 鎖遺伝子は 14 番染色体上に存在し、多数の亜型から構成される。

4) 3'-LTR の U3 領域

本遺伝子組換え生物の 5'-LTR の全域及び 3'-LTR の R 領域は MoMLV 由来であり、3'-LTR の U3 領域は MSCV 由来である。本遺伝子組換え生物を作製するために用いた MS-bPa DNA (II-3-(2)「宿主内に移入された核酸の移入方法」参照) の 5'-LTR は MoMLV 由来、3'-LTR は MSCV 由来であるが、I-3-(7)-2「MoMLV からの、増殖能欠損型レトロウイルスベクターの構築」に記載したとおり、産生細胞から産生される本遺伝子組換え生物の 3'-LTR の U3 領域は MSCV 由来、LTR のそれ以外の領域は MoMLV 由来となる。

MSCV は人工的に作製されたレトロウイルスベクターであり、その LTR は

PCC4-cell-passaged myeloproliferative sarcoma virus (PCMV) 由来である。Myeloproliferative sarcoma virus (MPSV) は、MoMLV に由来するモロニーマウス肉腫ウイルス (Moloney murine sarcoma virus : MoMSV) を実験室で継代することにより得られた変異株であり、マウス胚性がん細胞株である PCC4 細胞で MPSV を継代することにより、PCMV が得られた。

5) 制限酵素認識部位等の人工配列

MS-bPa DNA 構築の過程で挿入された制限酵素認識部位等の人工配列は別紙 2-5 に示すとおりである。

(2) 構成要素の機能

1) TCR α 鎖及び β 鎖遺伝子

TCR は T 細胞及び NKT 細胞に特異的に発現する抗原認識レセプターであり、免疫系における T 細胞、NKT 細胞の抗原特異性を決定している。機能的 TCR 分子は抗原認識を行う TCR α β 鎖又は γ δ 鎖のヘテロダイマーからなり、細胞内へのシグナル伝達を担う CD3 分子群と会合し、TCR-CD3 複合体を形成している。

TCR 分子は主要組織適合抗原 (MHC) 拘束性に、標的細胞の MHC 分子と抗原ペプチドの複合体を認識する。このことにより、T 細胞や NKT 細胞は抗原特異性を示す。抗原認識の際の結合力の強弱や補助レセプターからのシグナルの有無により、T 細胞や NKT 細胞の活性化、アナジーの誘導、分化、生存、細胞死等を司る。

TCR 鎖は免疫グロブリンスーパーファミリー分子に属し、2つの Ig ドメインからなる細胞外領域、20 アミノ酸からなる膜貫通領域、数個のアミノ酸からなる細胞内領域で構成される。2つの Ig ドメインのうち、N 末端側が可変領域、C 末端側が定常領域に相当する。 α 鎖が 45-60 kDa、 β 鎖が 40-50 kDa で α 鎖と β 鎖は S-S 結合でヘテロ 2 量体を形成し、2つの Ig ドメインをもって MHC・ペプチド複合体との接合面を構成している。細胞外領域に存在する CDR1、CDR2 領域は MHC との結合に貢献し、CDR3 領域は主としてペプチドを認識するのに必要とされる。

TCR の発現とシグナル伝達には TCR と複合体を形成する 4 種類の CD3 鎖が重要である。抗原認識の際に TCR-CD3 複合体と CD4 又は CD8 が会合することにより Lck や Fyn 分子が複合体に近づき、CD3 の活性化モチーフ ITAM のチロシンをリン酸化することにより TCR のシグナルが伝達され、T 細胞や NKT 細胞の抗原特異的な生理活性が発現される。

2) P_{PGK}

ホスホグリセリン酸キナーゼ (PGK) は解糖系の酵素であり、ほとんどの組織において構成的に発現している。マウス P_{PGK} はヒトを含む広範囲の哺乳類細胞において、細胞が増殖中であるか否かを問わずに機能するプロモーターである。本遺伝子組換え生物により遺伝子導入された細胞において、TCR α 鎖遺伝子の転写を行う。

3) 3'-LTR の U3 領域

LTR 中の MoMLV 由来の他の部分とともにプロウイルスの 5'-LTR 及び 3'-LTR を形成し、これらは細胞染色体への組込みに必須である。また、MoMLV 由来の相同配列と同様に、強いプロモーター活性とエンハンサー活性を有する。MSCV LTR は MoMLV LTR に比べて、胚性幹細胞、胎児がん細胞及びその他の哺乳動物細胞において高い発現レベルを持続的に保持することが可能である。本遺伝子組換え生物により遺伝子導入された細胞において、TCR β 鎖遺伝子の転写を行う。

4) 制限酵素認識部位等の人工配列

本遺伝子組換え生物の生物学的機能には影響を及ぼさないと考えられる。

5) MS-bPa DNA 中の有害配列の有無

MS-bPa DNA の全塩基配列中の有害配列（がん遺伝子、有害物質、トキシン）の有無について相同性の検索を行ったところ、有害配列は見当たらなかった。

文献17 : Miyahara Y, et al. Determination of cellularly processed HLA-A2402-restricted novel CTL epitopes derived from two cancer germ line genes, MAGE-A4 and SAGE. Clin Cancer Res 11(15):5581-5589 (2005).

2 ベクターに関する情報

(空欄)

3 遺伝子組換え生物等の調製方法

(1) 宿主内に移入された核酸全体の構成

本遺伝子組換え生物のゲノムの構成と制限酵素地図を別紙 1 に示す。本遺伝子組換え生物のゲノムは 1 本鎖 RNA であるが、別紙 1 の制限酵素認識部位は DNA 配列に変換したときのものである。本遺伝子組換え生物のゲノムの構成成分は、5' 末端側から順に、5'-LTR、 Ψ 、TCR β 鎖遺伝子、 P_{PGK} 、TCR α 鎖遺伝子及び 3'-LTR である（詳細は II-1-(1)「構成及び構成要素の由来」及び II-1-(2)「構成要素の機能」を参照）。

(2) 宿主内に移入された核酸の移入方法

本遺伝子組換え生物は、MS-bPa 産生細胞から産生される。この産生細胞は、本遺伝子組換え生物のプロウイルス配列をパッケージング細胞の染色体に挿入することにより作製された。本遺伝子組換え生物のプロウイルス DNA（但し、5'-LTR は MoMLV 由来、3'-LTR は MSCV 由来；MS-bPa DNA と呼ぶ）を挿入したプラスミドである pMS-bPa は、標準的な遺伝子工学的手法を用いて構築された。以下にその概要を、別紙 3 に詳細及びフローチャートを示す。

MT ベクターは MoMLV プロウイルスの 5'-LTR 及び 3'-LTR を含み、ウイルス蛋白質をコードする配列を全く含まないレトロウイルスベクターである（文献 15, 16）。pMT は MT ベク

ターのプロウイルス配列を含むプラスミドであり、pMTの3'-LTRをMSCVプロウイルスの3'-LTRで置換したものがpMSである。pMSの3'-LTRの上流に、TCR β 鎖cDNAのコード域、マウスP_{PGK}及びTCR α 鎖cDNAのコード域を組み込んだものがpMS-bPaである。

(3) 遺伝子組換え生物等の育成の経過

1) パッケージング細胞株

pMS-bPaは、ウイルス粒子形成に必須なgag-pol遺伝子及びenv遺伝子を欠いているため、このDNAを通常の細胞に導入してもウイルス粒子を産生することはない。したがって、ウイルス粒子の産生にはパッケージング細胞が必要となる。本遺伝子組換え生物の産生に使用するパッケージング細胞株は、PG13(ATCC CRL-10686)(文献18)で、パッケージングに必要なウイルス遺伝子を2種類のプラスミド(1つはgag-pol遺伝子、もう1つはenv遺伝子)で別々に導入した細胞株である。古い世代のパッケージング細胞株と比較して、この第3世代のパッケージング細胞を使用した場合にはRCR出現のリスクが極めて少ないことが知られている。

2) ウイルス産生細胞株の作製

gag-pol遺伝子発現プラスミドであるpGP、エコトロピックenv遺伝子発現プラスミドであるpE-eco及びMS-bPa DNAベクターを293T細胞にコトランスフェクトした。培養上清中には、マウス由来のパッケージング細胞であるPG13に効率よく感染するエコトロピックレトロウイルスベクターMS-bPaが一過性に産生される。この培養上清をPG13細胞に感染させ、限界希釈法により細胞をクローニングした。こうして得られたクローンから産生されるレトロウイルスベクターMS-bPaの力価をリアルタイムRT-PCRにより測定し、高力価なウイルスを産生するクローンMS-bPa #20を得た。これをマスターセルバンク(MCB)用シードセルとして樹立し、これを培養してMCBを作製した。MCBの作製のフローチャートを別紙4に、MCBの品質試験項目と結果を別紙5に示す。

3) 本遺伝子組換え生物の最終製品の製造

本遺伝子組換え生物の製造は、タカラバイオ株式会社草津センター(滋賀県草津市野路町2257番地)の細胞・遺伝子治療センターの全て管理された製造エリアにてGMP遵守下で行われる。

MCBを解凍後、拡大培養及び生産培養を行うことにより本遺伝子組換え生物を含む培養上清を得る。これを無菌ろ過した後、小分け分注を行い、使用時まで凍結保存する。本遺伝子組換え生物の製造方法のフローチャートを別紙6に示す。こうして製造された本遺伝子組換え生物の最終製品の各ロットについて品質試験を行う(別紙7)。

文献18: Miller AD, et al. Construction and properties of retrovirus packaging cells based on gibbon ape leukemia virus. J Virol 65:2220-2224 (1991).

4 移入した核酸の存在状態及び当該核酸による形質発現の安定性

移入した核酸は本遺伝子組換え生物のゲノム RNA の一部として存在する。凍結保管中は安定である。感染する動植物の種類及び感染様式が保管中に変化することはない。

本遺伝子組換え生物が細胞に感染すると、移入した核酸を含むウイルスゲノム RNA は逆転写され、プロウイルスとして細胞染色体に組み込まれる。プロウイルスは細胞染色体の複製に伴って複製されるので、移入された核酸は細胞が生きているかぎり安定に保持される。

TCR β 鎖遺伝子は MSCV 由来 LTR の U3 領域により、TCR α 鎖遺伝子は P_{PGK} により転写される。これらのプロモーターは持続的に機能するので、両遺伝子の発現は構成的である。

本遺伝子組換え生物を製造する際に、ウイルス産生細胞の細胞内で本遺伝子組換え生物のゲノム、gag-pol 遺伝子断片及び env 遺伝子断片が相同組換えを起こし、RCR が出現する可能性がある。RCR の出現機構から、その大部分は gag-pol 遺伝子及び env 遺伝子を持ち、TCR α 鎖遺伝子及び β 鎖遺伝子を持たないものである。しかし、TCR α 鎖遺伝子又は β 鎖遺伝子を持つ RCR の出現する可能性は否定できない。なお、これらの RCR は遺伝子組換え生物等に該当する。

5 遺伝子組換え生物等の検出及び識別の方法並びにそれらの感度及び信頼性

1) MS-bPa の検出方法

本遺伝子組換え生物は、宿主である MoMLV にはない TCR α 鎖遺伝子及び β 鎖遺伝子を持つので、これらの遺伝子のいずれかを RT-PCR 法で増幅することにより本遺伝子組換え生物の検出が可能である。

2) MS-bPa により遺伝子導入された細胞の検出方法

細胞から調製したゲノム DNA を鋳型に、パッケージングシグナルに相当する配列をリアルタイム PCR で定量することにより検出可能である。

3) RCR の検出方法

・293 細胞増幅法

293 細胞に検体を添加し、5 回の継代培養を行う。この培養上清を PG-4 細胞に接種し、S+L-アッセイを行う。この方法は増殖能を持つレトロウイルスを検出する方法であり、本遺伝子組換え生物に由来する RCR を特異的に検出するものではない。検出感度は 1 RCR/接種物であることを確認している。100 mL あたり 1 RCR が含まれる検体から 300 mL の被検試料をサンプリングして接種した場合、95%の確率で被検試料中に RCR が含まれ、検出される。

・RT-PCR 法

被検試料から RNA を調製し、GalV env 遺伝子に特異的なプライマーを用いて RT-PCR を行った後、アガロースゲル電気泳動を行って増幅産物を検出する。本試験の感度は、パッケージング細胞の末梢血リンパ球中の希釈率として 10^{-4} ~ 10^{-5} であることを確認してい

る。

6 宿主又は宿主の属する分類学上の種との相違

宿主である MoMLV と本遺伝子組換え生物の間には以下の相違点がある。

- ・本遺伝子組換え生物は gag-pol 遺伝子及び env 遺伝子を欠損しているため、本遺伝子組換え生物が感染した通常の細胞はウイルス粒子形成に必要な蛋白質を合成できない。したがって、本遺伝子組換え生物は gag-pol 遺伝子及び env 遺伝子を発現する細胞においてのみ増殖できる。
- ・本遺伝子組換え生物は TCR α 鎖遺伝子及び β 鎖遺伝子を持つ。したがって、本遺伝子組換え生物が感染した細胞は TCR α 鎖及び β 鎖を発現する。
- ・MoMLV がマウス、ラット等のげっ歯類にだけ感染しうるのに対して、GaLV はラット、ハムスター、ウサギ、ミンク、ウシ、ネコ、イヌ、サル、ヒト及びニワトリの細胞に感染するとの報告がある（文献19）。本遺伝子組換え生物はウイルス粒子表面に GaLV env 蛋白質を持つ。したがって、本遺伝子組換え生物はヒト、サル、イヌ等、幅広い動物種の細胞に本遺伝子組換え生物の核酸を伝達しうる。

本遺伝子組換え生物が自立的増殖能を欠損している点を除いて、I-3「生理・生態学的特性」に記載した性質は同等である。

本遺伝子組換え生物由来の RCR が感染可能な生物種は宿主である MoMLV のそれと異なっているものの、感染様式、病原性及び挿入変異の可能性などの、生物多様性に影響を及ぼす程度に大きな違いはないと考えられる。

文献19 : Miller AD. Cell-surface receptors for retroviruses and implications for gene transfer. Proc Natl Acad Sci USA 93:11407-11413 (1996).

III 遺伝子組換え生物等の使用等に関する情報

1 使用等の内容

治療施設におけるヒト遺伝子治療を目的とした使用、保管、運搬及び廃棄並びにこれらに付随する行為。

2 使用等の方法

所在地：三重県津市江戸橋2丁目174番地

名称：三重大学医学部附属病院

- (1) MS-bPa 溶液は、容器に密閉され、凍結状態で治療施設に輸送し、施設内の P2 レベルの実験室内の冷凍庫に保管する。

- (2) 凍結状態の MS-bPa 溶液の融解、希釈及び分注操作は、P2 レベルの実験室内の安全キャビネット内又は P2 レベル実験室内で閉鎖系にて行う。患者リンパ球への MS-bPa 導入操作、MS-bPa 導入細胞の培養その他の MS-bPa 希釈溶液及び MS-bPa 導入細胞の取扱いも同様に P2 レベルの実験室内の安全キャビネット内又は P2 レベルの実験室内で閉鎖系にて行う。MS-bPa 希釈溶液及び MS-bPa 導入細胞の保管は、P2 レベルの実験室内の冷蔵庫、冷凍庫又は培養器にて行う。なお、MS-bPa 希釈溶液若しくはその冷凍品又は MS-bPa 導入細胞を、開放系区域を通して他の P2 レベル区域に運搬する場合には、密閉した容器に入れ、容器の落下や破損を防止するために当該容器を箱等に入れ運搬する。
- (3) MS-bPa 溶液（希釈液を含む）又は MS-bPa 導入細胞を廃棄する際には、滅菌処理（高圧蒸気滅菌処理又は 0.5%次亜塩素酸ナトリウム溶液への 2 時間以上の浸漬処理による。以下同じ。）を行った後、三重大学医学部附属病院医療廃棄物管理規程（以下「医療廃棄物管理規程」という）に従い廃棄する。
- (4) 被験者に対する MS-bPa 導入細胞の投与は、環境中への拡散防止措置を適切に執った陽圧でない個室（以下「個室」という）内において輸注により行う。なお、投与時に MS-bPa 導入細胞に直接接触する注射針、注射器、チューブ等の器具は使い捨てとし、適切に滅菌処理を実施した後、医療廃棄物管理規程に従い廃棄する。なお、これらの滅菌処理を個室以外で行う場合には、二重に密閉した容器に入れて運搬する。
- (5) 投与後 3 日まで、被験者を個室で管理し、検査等の目的で被験者が一時的に個室外の開放区域に出る場合には、マスク及びガウン着用等のウイルス漏出予防措置を義務付ける。個室における管理期間中の被験者の血液及び体液は、その都度適切に滅菌処理を行い、医療廃棄物管理規程に従い廃棄する。また、被験者の尿及び糞便等の排泄物は、投与翌日以降に行われる被験者の血液を用いたポリメラーゼ連鎖反応（PCR）法試験にて自己増殖能を獲得したレトロウイルス（以下「RCR」という）の存在が否定されるまで、適切に滅菌処理を行い、医療廃棄物管理規程に従い廃棄する。なお、これらの滅菌処理を個室以外で行う場合には、二重に密閉した容器に入れて運搬する。また、臨床検体として使用する被験者の排泄物等の取扱いは、MS-bPa 溶液及び MS-bPa 導入細胞の取扱いに準じる。
- (6) 個室における管理期間中、被験者に対して侵襲的に使用した器具等及び被験者の排泄物等に接触した器具等は、適切に滅菌処理を実施した後、医療廃棄物管理規程に従い廃棄するか、又は十分に洗浄する。なお、これらの滅菌処理又は洗浄を個室以外の区域で行う場合には、二重に密閉した容器に入れて運搬する。
- (7) 個室における被験者の管理を解除する前に、RCR が被験者の末梢血単核球（peripheral blood mononuclear cell : PBMC）及び血漿において陰性であることを

確認する。RCRが確認されたときは、個室における管理を継続する。

- (8) 個室における管理解除後に被験者のPBMC又は血漿からRCRが検出された場合は、直ちに被験者を個室における管理下に移し、上記(5)から(7)までと同様の措置を執る。

別紙8：治療施設の地図及び見取り図

別紙9：三重大学医学部附属病院医療廃棄物管理規程

3 承認を受けようとする者による第一種使用等の開始後における情報収集の方法

遺伝子導入細胞を患者に投与した後、患者のPBMC及び血漿を試料として、GalV env 遺伝子に対するRT-PCR法によりRCRのモニタリングを実施する。RCRのモニタリングは、個室における管理解除前、投与35±3日後及び63±3日後並びに生存中にわたり実施する。

4 生物多様性影響が生じるおそれのある場合における生物多様性影響を防止するための措置

本遺伝子組換え生物を用いた遺伝子導入細胞は、P2レベルの実験室において、第一種使用規程に従い調製される。本遺伝子組換え生物が細胞調製室の床等に漏出した場合には、ただちにペーパータオル、布等で拭き取る。拭き取った後は、消毒用エタノールを当該箇所が完全に覆われるまで噴霧して1分以上放置し、ペーパータオル、布等で拭き取るにより本遺伝子組換え生物を不活化する。当該ペーパータオル、布等は121℃、20分間以上オートクレーブにより滅菌した後、廃棄する。以上により、本遺伝子組換え生物が環境中に漏出して生物多様性影響が生じることはないと考えられる。

個室における管理解除後の患者のPBMC又は血漿においてRCRが検出された場合には、第一種使用規程に従い患者を直ちに個室における管理下に移すとともに、血液及び体液の消毒等、第一種使用規程に定められた措置を執る。

5 実験室等での使用又は第一種使用等が予定されている環境と類似の環境での使用等の結果

(1) 本遺伝子組換え生物の産生細胞及び最終製品のRCR試験

本遺伝子組換え生物産生細胞のMCB、本遺伝子組換え生物最終製品及びend of production cell (EPC)について品質試験を実施した。その結果、いずれもRCR陰性であった(別紙5、別紙7)。

(2) 遺伝子導入リンパ球のRCR試験

本遺伝子組換え生物を用いて健常人由来PBMCに遺伝子導入を行い、7日間培養後の遺伝子導入細胞について品質試験を実施した。その結果、RCR陰性であった(別紙10)。

(3) 遺伝子導入リンパ球の毒性

本遺伝子組換え生物及び健常人由来PBMCを用いて調製した遺伝子導入リンパ球(GMC)

又は遺伝子導入を行わずに GMC と同様に培養したリンパ球 (NGMC) を免疫不全マウスである NOD/SCID/ γc^{null} (NOG) マウスに静脈内投与した。GMC 群と NGMC 群の間で、投与後 7 日目及び 14 日目における生存率、体重及び一般症状、剖検時の臓器重量並びに肝臓、腎臓、脾臓及び肺の病理組織学的所見に差は認められなかった (別紙 11)。

6 国外における使用等により得られた情報

米国国立衛生研究所の Rosenberg らのグループは、レトロウイルスベクターを用いて腫瘍抗原 MART-1 特異的 TCR 遺伝子を患者自己リンパ球に導入し、悪性黒色腫患者に輸注する臨床試験を実施した (文献20)。この試験は、TCR 遺伝子導入ヒトリンパ球を用いた臨床研究として現在まで唯一の論文報告である。17 名の患者に対して遺伝子導入細胞が輸注され、いずれの患者にも遺伝子導入細胞輸注による毒性はみられなかった。なお、国内外において、ヒトに対する本遺伝子組換え生物の使用経験はない。

文献20 : Morgan RA, et al. Cancer regression in patients after transfer of genetically engineered lymphocytes. *Science* 314:126-129 (2006).

IV 生物多様性影響評価

1 他の微生物を減少させる性質

(1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定

本遺伝子組換え生物及び RCR は GaLV env 蛋白質を持つので、広範囲の動物に感染しうるが、微生物への感染性は知られていない。したがって、影響を受ける可能性のある微生物は特定されなかった。

(2) 影響の具体的内容の評価

該当せず。

(3) 影響の生じやすさの評価

該当せず。

(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断

よって、他の微生物を減少させる性質について、第一種使用規程承認申請書に記載した遺伝子組換え生物等の第一種使用等の方法によるかぎり、生物多様性影響が生ずるおそれはないと判断される。

2 病原性

(1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定

本遺伝子組換え生物及び RCR は GaLV env 蛋白質を持つので、患者体外に排出された場合には野生型 GaLV と同様、ラット、ハムスター、ウサギ、ミンク、ウシ、ネコ、イヌ、サル、ヒト及びニワトリを含む広範囲の動物に感染しうる。したがって、これらの生物種は本遺伝子組換え生物の核酸を伝達されることにより影響を受ける可能性がある。

(2) 影響の具体的内容の評価

本遺伝子組換え生物はヒト、イヌ、サル等の細胞への挿入変異によってがん化を引き起こす可能性がある。マウス、ラットに対する病原性は宿主と同等であると考えられる。

本遺伝子組換え生物からの発現産物である TCR α 鎖及び β 鎖が T リンパ球において発現した場合、この T リンパ球は HLA-A2402 拘束性に MAGE-A4 発現細胞特異的な細胞傷害活性を獲得する。この T リンパ球の影響を受ける可能性のある生物は HLA-A2402 陽性のヒトに限られ、MAGE-A4 を発現する正常組織である精巣において HLA は発現していないので、導入遺伝子が発現することにより、本遺伝子組換え生物がヒトに病原性を示す可能性は非常に低いと考えられる。

本遺伝子組換え生物が有害物質を産生することはなく、本遺伝子組換え生物により遺伝子導入された細胞が有害物質の産生能を獲得するとの情報もない。したがって、有害物質の産生により病原性を示すことはないと考えられる。

(3) 影響の生じやすさの評価

第一種使用規程承認申請書に記載した遺伝子組換え生物等の第一種使用等の方法によるかぎり、本遺伝子組換え生物が患者 T リンパ球とともに患者に投与されることによって当該施設外に出る可能性は極めて低く、出たとしてもごく微量である。また、I-3-(7)「その他の情報」に記載したように、マウス由来の産生細胞により産生された本遺伝子組換え生物はヒト血清により速やかに不活化される（文献 12）。さらに、本遺伝子組換え生物は増殖能を欠損しているため、通常の細胞に感染してもウイルス粒子を産生することはない。

一方、本遺伝子組換え生物の製造工程中出现した RCR が患者 T リンパ球に混入して患者に輸注された場合には患者体内で RCR が産生される可能性がある。しかし、本遺伝子組換え生物は RCR 出現の可能性が極めて低い第 3 世代のパッケージング細胞を使用して製造されているうえに、本遺伝子組換え生物の最終製品及び遺伝子導入細胞の RCR 陰性を確認してから使用するので、患者体内に RCR が侵入する可能性は極めて低い。また、RCR 試験で検出されなかった RCR が万一患者体内に侵入したとしても、第一種使用規程承認申請書に記載した遺伝子組換え生物等の第一種使用等の方法によるかぎり、RCR が環境中に放出される可能性は極めて低い。

(4) 生物多様性影響が生ずる可能性の有無等の判断

よって、病原性について、第一種使用規程承認申請書に記載した遺伝子組換え生物等の第一種使用等の方法によるかぎり、生物多様性影響が生ずるおそれはないと判断される。

3 有害物質の産生性

(1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定

本遺伝子組換え生物及びRCRの有害物質の産生性は知られていない。したがって、影響を受ける可能性のある野生動植物等は特定されなかった。

(2) 影響の具体的内容の評価

該当せず。

(3) 影響の生じやすさの評価

該当せず。

(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断

よって、有害物質の産生性について、第一種使用規程承認申請書に記載した遺伝子組換え生物等の第一種使用等の方法によるかぎり、生物多様性影響が生ずるおそれはないと判断される。

4 核酸を水平伝達する性質

(1) 影響を受ける可能性のある野生動植物の特定

本遺伝子組換え生物及びRCRはGalV env蛋白質を持つので、患者体外に排出された場合には野生型GalVと同様、ラット、ハムスター、ウサギ、ミンク、ウシ、ネコ、イヌ、サル、ヒト及びニワトリを含む広範囲の動物に感染しうる。したがって、これらの生物種は本遺伝子組換え生物の核酸を伝達されることにより影響を受ける可能性がある。

(2) 影響の具体的内容の評価

本遺伝子組換え生物又はRCRによってこれらの遺伝子組換え生物の核酸が野生動物のゲノム中に組み込まれる可能性がある。

(3) 影響の生じやすさの評価

第一種使用規程承認申請書に記載した遺伝子組換え生物等の第一種使用等の方法によるかぎり、本遺伝子組換え生物が患者Tリンパ球とともに患者に投与されることによって当該施設外に出たとしてもごく微量である。ごく微量の本遺伝子組換え生物によって野生

動物に核酸が伝達される可能性は非常に低い。

遺伝子組換え生物等に該当する RCR が多量に出現した場合には、血液、体液等を通じて他の個体に RCR が感染し、その核酸が伝達される可能性が否定できないが、RCR 出現の可能性は極めて低い。

(4) 生物多様性影響が生ずる可能性の有無

よって、核酸を水平伝達する性質について、第一種使用規程承認申請書に記載した遺伝子組換え生物等の第一種使用等の方法によるかぎり、生物多様性影響が生ずるおそれはないと判断される。

5 その他の性質

核酸を垂直伝達する性質

本遺伝子組換え生物が感染可能な野生動物等の生殖系細胞のゲノム中に組み込まれて、核酸を垂直伝達する可能性は完全には否定できない。しかし、第一種使用規程承認申請書に記載した遺伝子組換え生物等の第一種使用等の方法によるかぎり、本遺伝子組換え生物によりその核酸が野生動物に伝達される可能性は非常に低い。RCR が出現しないかぎり、本遺伝子組換え生物の核酸が伝達される細胞は本遺伝子組換え生物が最初に感染した細胞に限られ、その細胞が生殖系細胞である確率は低いと考えられる。また、RCR が出現する可能性は極めて低い。以上から、本遺伝子組換え生物又は RCR の核酸が生殖系細胞に伝達される可能性は極めて低い。よって、核酸を垂直伝達する性質について、第一種使用規程承認申請書に記載した遺伝子組換え生物等の第一種使用等の方法によるかぎり、生物多様性影響が生ずるおそれはないと判断される。

V 総合的評価

本遺伝子組換え生物が感染する動物種は GaLV env 蛋白質によって規定されるため、げっ歯類及びヒトを含む広範囲の動物であり、野生型 GaLV と同じである。自然界で植物及び微生物に感染することはないと考えられる。

第一種使用規程承認申請書に記載した遺伝子組換え生物等の第一種使用等の方法によるかぎり、本遺伝子組換え生物の環境中への拡散は極力抑えられており、拡散したとしても、その量は検出レベル以下であると推定される。導入された TCR α 鎖遺伝子及び β 鎖遺伝子が発現することにより、本遺伝子組換え生物がヒトに病原性を示す可能性は非常に低い。さらに、本遺伝子組換え生物は増殖能を欠損しているため、MLV の感染等により gag、pol 及び env 遺伝子を発現している細胞に感染した場合を除いて増殖することはない。MLV に感染しているマウスに本遺伝子組換え生物が感染すれば、MLV がヘルパーとなって増殖する可能性がある。しかしその場合でも、MoMLV は血液を介してのみ感染するので、本遺

伝子組換え生物の感染が他個体に広がる可能性はほとんどない。ヘルパーを必要とする本遺伝子組換え生物が野生型 MoMLV と同等に増殖することはないので、やがて環境中から消滅すると考えられる。

環境中でマウスに感染し、MLV ゲノムとの相同組換えによって RCR が出現する可能性や、当該第一種使用によって極めて微量の本遺伝子組換え生物由来 RCR が環境中に放出される可能性は完全には否定できないが、RCR の感染性、増殖性、病原性及び核酸を水平伝達する性質は MLV と同等である。ヒトに MLV が感染しても病原性は報告されておらず、RCR がヒト体内に侵入しても、血清中の補体により急速に失活することを考慮すると、ヒト及び他の哺乳動物、植物並びに微生物に新たな影響を与えることはないと考えられる。

したがって、第一種使用規程承認申請書に記載した遺伝子組換え生物等の第一種使用等の方法によるかぎり、本遺伝子組換え生物による生物多様性影響が生ずるおそれはないと判断される。

厚生科学審議会科学技術部会遺伝子治療臨床研究作業委員会
遺伝子治療臨床研究に係る生物多様性影響評価に関する作業委員会委員名簿

氏名	所 属・役 職
いわさき かずひろ 岩崎 一弘	独立行政法人国立環境研究所主任研究員
おざわ けいや 小澤 敬也	自治医科大学医学部教授
かんだ ただひと 神田 忠仁	国立感染症研究所病原体ゲノム解析研究センター長
ささづき たけひこ 笹月 健彦	国立国際医療センター名誉総長
しまだ たかし 島田 隆	日本医科大学医学部教授
はやかわ たかお 早川 堯夫	独立行政法人医薬品医療機器総合機構顧問
やまぐち てるひで 山口 照英	国立医薬品食品衛生研究所生物薬品部長
○ よしくら ひろし 吉倉 廣	厚生労働省医薬食品局食品安全部企画情報課参与
わたなべ まこと 渡邊 信	筑波大学生命環境科学研究科教授

○委員長 (五十音順 敬称略)

(平成20年4月18日現在)

第45回科学技術部会	資料2-3
平成20年7月7日	

遺伝子治療臨床研究実施計画の 変更及び重大事態等報告について

(変更報告)

- 自治医科大学附属病院..... P1
課題名：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

(重大事態等報告)

- 北里大学病院 P15
課題名：前立腺癌に対する Herpes Simplex Virus-thymidine kinase 遺伝子発現アデノウイルスベクター及びガンシクロビルを用いた遺伝子治療臨床研究

遺伝子治療臨床研究実施計画変更報告書

平成20年5月21日

厚生労働大臣 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 TEL 0285-58-7352 FAX 0285-44-5118
	代表者 役職名 氏名	病院長 島田和幸 [職印]

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書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
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

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18年1月25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18年10月31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 	
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・准教授	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・准教授	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・准教授	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・准教授	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・准教授	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
	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・講師	適応患者の選択、患者評価および定位脳手術補助
佐藤 俊彦	医療法人 DIC 宇都宮セントラルクリニック・理事	PET 検索	

審査委員会の開催状況及び実施計画の変更を
 適当と認める理由

平成 20 年 5 月 1 日に本委員会を開催し、総括責任者から提出された遺伝子治療臨床研究実施計画変更報告書について審査した。

この変更は、米国における同様の臨床研究では phase I が終了し、その結果から AAV-hAAD-2 注入量は $200 \mu\text{l}(3 \times 10^{11} \text{vg})$ の低用量で十分な効果が得られたため、安全面を考慮し $600 \mu\text{l}(9 \times 10^{11} \text{vg})$ の高用量の注入試験は実施しないとの共同研究者 Genzyme 社の計画変更要請を受けて行われた。同社からは同時に、今後 phase II に入るため、本年 9 月までに本研究を終了するようこの要請もあった。変更前の計画では、第 1 群 (AAV-hAAD-2 注入量 $200 \mu\text{l}(3 \times 10^{11} \text{vg})$) として 3 例実施した後、第 2 群 (AAV-hAAD-2 注入量 $600 \mu\text{l}(9 \times 10^{11} \text{vg})$) 3 例を実施する予定であったが、第 1 群の残り 1 例と当初予定されていた第 2 群の 3 例の計 4 例については、AAV-hAAD-2 注入量 $200 \mu\text{l}(3 \times 10^{11} \text{vg})$ のプロトコールで実施する計画変更である。すなわち、第 1 群として 6 例を実施し、第 2 群の実施は取り止めとするものである。本委員会から、第 1 群を 3 例から 6 例に増やす意義について質問し、総括責任者から、本治療法に関する日本独自の安全性のデータを持ちたいとの回答があった。総括責任者からの変更理由は納得できるものであり、しかも本邦における本治療の実施はまだ 2 例と少ないことから、わが国独自の安全性に関するデータを蓄積することは極めて有用と判断されたため、計画の変更を承認することとした。

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 教授	梶井 英治 

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	進行したパーキンソン病患者の線条体（被殻）に、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とともに、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ことを目的とする。ドパミンの過剰合成に伴って生じうるジスキネジアはL-DOPAの投与量を減らすことより予防する。		
対象疾患	進行期パーキンソン病		
変更時期	平成20年5月1日		
変更内容	実施計画書における事項	変更前	変更後
1	7 安全性についての評価 (5) これまでに実施された臨床試験における成績	別紙1のとおり	別紙1のとおり
2	9 遺伝子治療臨床研究の実施計画 (1) 遺伝子治療臨床研究を含む全体の治療計画 9-(1)-2 AAV-hAADC-2 の投与方法	別紙1のとおり	別紙1のとおり
3	(5) 遺伝子治療臨床研究の実施方法 (6) 遺伝子治療臨床研究の評価方法、評価基準および中止判定基準 D. 有効性および安全性の安全・効果評価・適応判定部会	別紙1のとおり	別紙1のとおり
4	(6) 米国における類似の計画との関連	別紙1のとおり	別紙1のとおり
5	〈実施計画に添付すべき資料〉 1 研究者の略歴および研究業績	別紙1のとおり	別紙1のとおり
6	4 その他必要な資料	別紙1のとおり	別紙1のとおり

	(2)類似の遺伝子治療臨床研究の成果		
7	補足文献	別紙1のとおり	別紙1のとおり
変更内容	患者説明文書における事項	変更前	変更後
8	『参加のしおり』 6. パーキンソン病 遺伝子治療臨床研究の海外での状況	別紙2のとおり	別紙2のとおり
9	7. 臨床研究の具体的な方法 C. 線条体への治療用ベクターの注射	別紙2のとおり	別紙2のとおり
変更内容	研究者名	変更前	変更後
10	佐藤 俊彦	宇都宮セントラルクリニック・代表	医療法人 DIC 宇都宮セントラルクリニック・理事
変更理由	<p>実施計画書における事項</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 論文が発表されたため 2. 米国における実施計画の変更による 3. 所属、職名の変更による 4. 米国における実施計画の変更による 5. 職名および所属機関の名称、役職の変更による 6. 論文が発表されたため 7. 論文が発表されたため <p>患者説明文書における事項</p> <ol style="list-style-type: none"> 8. 論文が発表されたため 9. 米国における実施計画の変更による <p>総括責任者以外の研究者の氏名およびその担当する役割</p> <ol style="list-style-type: none"> 10. 所属機関の名称、役職の変更による 		
今後の研究計画	<p>症例1、症例2について経過観察および評価を継続して行う 3例目以降の臨床研究を再開する。</p>		
これまでの研究結果および研究結果の公表状況	<p>〈これまでの研究結果〉 本遺伝子治療では、進行期パーキンソン病患者に対し、芳香族Lアミノ酸脱炭酸酵素搭載アデノ随伴ウイルスベクターを、全身麻酔下にて定位脳手術的に両側被殻に注入し、服用するL-DOPAから線条体でのドパミン合成を促進することが主眼である。同時に、FMT-PET装置を開発して、導入遺伝子の発現を非侵襲的・視覚的かつ客観的・経時的に追跡することも重要な目的である。かつ、安全性と有効性を臨床的に判定するために、経時的な脳画像撮影を行い、UPDRSやHDS等で、運動能力や精神症状をチェックする。</p>		

第1例は2007年5月7日に遺伝子治療を実施した。手術直後の脳CTでは脳出血等特段の異常はみられなかったが、5月21日の頭部MRIで左前頭葉皮質下に脳浮腫を認めた。臨床的にはこれに起因する症状の変化は認めなかった。なお、脳浮腫は7月31日の頭部MRIでは消失していた。パーキンソン病の臨床症状の改善は5月16日(DAY 9)より認められた。レボドパの効果が強くなり、1回に1錠服薬するとジスキネジアが強くなるため、服薬量を1回0.5錠とした。予定どおり5月25日(DAY 18)に退院した。自宅では1回0.5錠だと効果が弱いことから1回0.75錠~1錠とした。6月6日(1M)の評価ではジスキネジアが強いため、1回用量は0.75錠に固定することとした。6月7日より片道2時間10分かけて、毎日電車通勤するようになった。通勤する日のレボドパの服薬量は0.75錠×7回、土日は0.75錠×5~6回であった。7月2日(2M)、7月31日(3M)、8月28日(4M)、9月25日(5M)とも著変なく、レボドパの1回用量は0.5錠または0.75錠で自己調節し順調な経過であった。10月16日(6M)には薬効が出るときと切れるときに2峰性のジスキネジアを認めるようになった。11月20日(7M)にはレボドパの効果が短くなったため、entacaponeを追加した。その結果offがほとんど無くなるため、12月21日(8M)、2008年1月18日(9M)は快調であった。

第2例では2007年7月23日に同様に遺伝子治療を実施した。手術終了直後の脳CTでは脳出血等特段の異常は見られなかったが、7月27日の頭部MRIで右前頭葉皮質下白質に”静脈性”出血がみとめられ、臨床的には意欲低下、左上下肢運動無視、軽度左片麻痺に気づかれた。8月中旬にはこれらの症状は改善傾向を示し、8月17日の脳CTでは右前頭葉に浮腫を残しているものの出血は吸収されていた。その後も、症状は着実に軽快して2007年9月7日には副作用はほぼ消失して徒歩退院した。9月18日(2M)の診察では副作用はほぼ消失したままであり、脳CTでも右前頭葉の浮腫は著明に軽減していた。この頃にはパーキンソン病に対するレボドパの効果も認められるようになり、レボドパの1回用量を1.5錠から1錠に減量した。Wearing-offは存在するが、offの症状は遺伝子治療前より軽くなった。10月9日(3M)の認知機能検査の結果は遺伝子治療前と同じレベルまで改善した。11月13日(4M)、12月11日(5M)には著変無かった。2008年1月8日(6M)にも運動症状の改善効果は持続しており、PETでも導入遺伝子の発現が確認できた。なお、脳出血による症候は完全に消失していた。

〈研究結果の公表状況〉

〔注意〕

1. 用紙の大きさは、日本工業規格A列4番とする。
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、楷書ではっきりと書くこと。
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. 大学等にあつては、この報告書を厚生労働大臣のほか文部科学大臣にも提出すること。

実施計画書における変更点

『文書名』 修正項目 (ページ)	変 更 前	変 更 後	変更理由
『実施計画書』 7 安全性についての評価 (5)これまでに実施された臨床試験における成績 (17 ページ下から 5 行目)	<p>これまで 2 型 AAV ベクターを用いた遺伝子治療臨床研究として、世界中で <u>17</u> 種類の疾患に対して合計 <u>48</u> のプロトコールが提唱されている (http://www.wiley.co.uk/genmed/clinical/による ⁴⁶⁾ ⁴⁰⁾。このうちパーキンソン病に対しては、以下のような 3 種類の臨床研究が行われている。いずれも primary outcome を safety assessment とした、phase I non-randomized, open label, uncontrolled, single group assignment study である。2006 年 4 月の米国神経学会で公表された結果では、これまでに AADC の <u>3</u> 例、GAD の 12 例、CERE-120 の <u>6</u> 例にベクターの投与が行われ、AAV-hAADC:2 投与例で術後すぐに軽快した頭痛を生じた以外に有害事象は報告されていない。その後、2007 年に、GAD の 12 例の結果が報告された (補足文献 3)。それによると、臨床症状が軽減し、遺伝子治療に関連した副作用はなかった。また、AADC については、2007 年 8 月までに米国では合計 9 人の治療が行われた。このうち 2 名に脳出血が生じた。1 名は無症状であった。1 名は麻痺を伴う出血であったが、ほぼ回復しさらに改善傾向にある。</p>	<p>これまで 2 型 AAV ベクターを用いた遺伝子治療臨床研究として、世界中で <u>20</u> 種類の疾患に対して合計 <u>52</u> のプロトコールが提唱されている (http://www.wiley.co.uk/genmed/clinical/による ⁴⁶⁾ ⁴⁰⁾。このうちパーキンソン病に対しては、以下のような 3 種類の臨床研究がある。いずれも primary outcome を safety assessment とした、phase I non-randomized, open label, uncontrolled, single group assignment study が行われ、2008 年 3 月までに、米国では、AADC の <u>10</u> 例、GAD の 12 例、CERE-120 の <u>12</u> 例にベクターが投与された。さらに GAD と CERE-120 については phase 2 study が行われている。AADC の 10 症例のうち 2 例に脳出血が生じた。このうち 1 例は無症状であった。他の 1 例は麻痺を伴う出血であったが、ほぼ回復しさらに改善傾向にある。GAD の 12 症例では、遺伝子治療に関連した副作用はなかった (補足文献 5)。また、CERE-120 の 12 症例でも問題となる副作用はなかった。(補足文献 7)</p>	論文が発表されたため
表 (18 ページ)	別添 1	別添 1	

9 遺伝子治療臨床研究の実施計画
 (1) 遺伝子治療臨床研究を含む全体の治療計画
 9-(1)-2
 AAV-hAAD-2 の投与方法
 (20 ページ下から 8 行目)

(5) 遺伝子治療臨床研究の実施方法
 ⑥ 遺伝子治療臨床研究の評価方法、評価基準および中止判定基準
 D. 有効性および安全性の安全・効果

進行期パーキンソン病患者の線条体（被殻）に、定位脳手術の手法によって AAV-hAAD-2 を注入する。対象患者は 1 群 3 例で 2 群を予定している。AAV-hAAD-2 の注入量は全体で 200 μ L（第 1 群）または 600 μ L（第 2 群） とし、被殻内の 4 個所に分けて注入する。具体的には片側の被殻あたり 2 個所、両側で計 4 個所に各々 50 μ L（第 1 群）または 150 μ L（第 2 群） を注入する。第 1 群での注入量（vector genomes:vg）は 1 症例あたり 3×10^{11} vg とし、第 2 群では第 1 群の 3 倍量である 9×10^{11} vg を注入する。具体的な注入法は表 2 に示す。なお、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。注入治療後の安全性の評価および治療効果の判定に関しては、各群とも同じとする。

表 2 ベクターの群別投与量

群	症例数	総用量 (vg)	注入速度 (μ L/min)
1	3	3×10^{11}	1
2	3	9×10^{11}	3

群馬大学大学院 医学研究科 脳神経内科
 助教授 田中 真

進行期パーキンソン病患者の線条体（被殻）に、定位脳手術の手法によって AAV-hAAD-2 を注入する。対象患者は 6 例を予定している。AAV-hAAD-2 の注入量は全体で 200 μ L とし、被殻内の 4 個所に分けて注入する。具体的には片側の被殻あたり 2 個所、両側で計 4 個所に各々 50 μ L を注入する。注入量（vector genomes:vg）は 1 症例あたり 3×10^{11} vg とする。

表 2 ベクターの投与量

群	症例数	総用量 (vg)	注入速度 (μ L/min)
1	6	3×10^{11}	1

医療法人育成会篠塚病院 北関東神経疾患センター 田中 真

米国における実施計画の変更による

所属、職名の変更による

評価・適応判定部
会
(33 ページ、下か
ら 9 行目)

(6)米国における類
似の計画との関連
(34 ページ、下か
ら 3 行目)

表中 (35 ページ中
ほど)

注 3 :
(36 ページ、16 行
目)

本研究と UCSF で実施中の遺伝子治療臨床研究では、Avigen 社において 2004 年 11 月に作製された同一ロットの AAV-hAADC-2 (1.5×10^{12} vg/ml、vg/infectious unit ratio=12、注 1) を使用し、共通の臨床評価項目について評価を行う。本研究では、UCSF の研究の第 2 群、第 3 群に相当する 3×10^{11} 、 9×10^{11} vg の投与量を設定している。

	自治医科大学	UCSF
試験開始日		2004 年 12 月 16 日
試験実施予定期間	最終登録症例にベクターを投与後 9 ヶ月間 (注 2)	最終登録症例にベクターを投与後 5 年間間
ベクター投与量	3×10^{11} 、 9×10^{11} vg	9×10^{10} 、 3×10^{11} 、 9×10^{11} vg
登録予定症例	各群 3 例、合計 6 例	各群 5 例、合計 15 例 (注 3)

UCSF の臨床研究では 2007 年 8 月までに低用量群の 5 例と中用量群の 4 例の合計 9 例に投与されている。当初は、次の症例に投与するまでの間隔を 4 ヶ月あけるプロトコールになっていたが、現在はその制限はない。ただし、次の用量群に移行するまでの間は 60 日間空けるようになっている。

本研究と UCSF で実施中の遺伝子治療臨床研究では、Avigen 社において 2004 年 11 月に作製された同一ロットの AAV-hAADC-2 (1.5×10^{12} vg/ml、vg/infectious unit ratio=12、注 1) を使用し、共通の臨床評価項目について評価を行う。本研究では、UCSF の研究の第 2 群に相当する 3×10^{11} vg の投与量を設定している。

	自治医科大学	UCSF
試験開始日	2007 年 5 月 7 日	2004 年 12 月 16 日
試験実施予定期間	最終登録症例にベクターを投与後 9 ヶ月間 (注 2)	最終登録症例にベクターを投与後 5 年間間
ベクター投与量	3×10^{11}	9×10^{10} 、 3×10^{11}
登録予定症例	6 例	各群 5 例、合計 10 例 (注 3)

UCSF の臨床研究では 2008 年 3 月までに第 1 群(9×10^{10} vg)の 5 例と第 2 群(3×10^{11} vg)の 5 例の合計 10 例に投与された。当初は、さらに高用量の第 3 群 9×10^{11} vg の 5 例にも投与するプロトコールであったが、第 2 群までの 10 例の結果から第 2 群の用量でも効果が期待できると Genzyme 社が判定し、第 3 群は実施せずに

米国における実施計画
の変更による

<p>〈実施計画に添付すべき資料〉 1 研究者の略歴および研究業績 (41 ページ下から14 行目)</p> <p>(42 ページ下から18 行目)</p> <p>(43 ページ 1 行目)</p> <p>(43 ページ下から12 行目)</p> <p>(44 ページ上から17 行目)</p> <p>(46 ページ上から17 行目)</p>	<p>藤本健一 (中略)</p> <p>加藤正哉 (中略)</p> <p>久米晃啓 (中略)</p> <p>村松慎一 (中略)</p> <p>池口邦彦 (中略)</p> <p>川上忠孝 (中略)</p>	<p><u>より多くの症例による第2相臨床試験へ移行する計画に変更になった。</u></p> <p>藤本健一 (中略) <u>2007 年 自治医科大学神経内科准教授</u></p> <p>加藤正哉 (中略) <u>2007 年 自治医科大学救急医学講座准教授</u></p> <p>久米晃啓 (中略) <u>2007 年 自治医科大学准教授 (遺伝子治療部)</u></p> <p>村松慎一 (中略) <u>2007 年 自治医科大学神経内科准教授</u></p> <p>池口邦彦 (中略) <u>2007 年 自治医科大学神経内科准教授</u></p> <p>川上忠孝 (中略) <u>2007 年 自治医科大学神経内科講師</u></p>	<p>職名および所属機関の名称、役職の変更による</p>
---	---	--	------------------------------

<p>(47 ページ上から 2 行目)</p> <p>4 その他必要な資料 (2)類似の遺伝子治療臨床研究の成果 (56 ページ、下から 16 行目)</p>	<p>佐藤俊彦 (中略)</p> <p>結果は論文としては未発表であるが、<u>Neurologix の発表によると安全性に問題がなかった。第1相試験ということで治療効果については言及していない。</u></p> <p>第2のプロトコールは、UCSFで行われている <u>Avigen 社による本試験と同様の AAV-hAADC-2 の被殻への注入と L-dopa の服用を組み合わせた方法の第1相試験である。2004年12月16日に第1例、2005年7月20日に第2例、2005年9月7日に第3例、2006年2月7日に第4例、2006年5月23日に第5例が行われた。いずれも総量 9×10^{10} vector genome の AAV-hAADC2 を両側の被殻に注入した。第1例の遺伝子導入6ヶ月後の FMT-PET では、被殻で FMT の取込みの増加が認められ、導入した AADC が発現していることが示されている (今のところ、有効性・安全性についての正式な発表はまだない)。</u></p> <p>第3のプロトコールは、神経栄養因子の Neurturin (CERE-120) 遺伝子を両側の被殻に導入するもので、Creregene 社により UCSFで行われている。 2×10^{11} の低用量群と、 8×10^{11} vector genome の高用量群の各群6例を予定している。2006年4月までに低用量群の6例に遺伝子導入が行われ、2-17ヶ月間の観察期間に</p>	<p>佐藤俊彦 (中略) 2008年 医療法人 DIC 宇都宮セントラル クリニック理事</p> <p>2007年6月に公表された論文(補足文献5)によると、安全性に問題はなかった。12ヶ月後の UPDRS motor rating で off 時に 24%、on 時に 27%の改善が認められた。また、FDG-PET で淡蒼球内節と視床 VL 核における FDG の取込み減少と大脳皮質運動野の取込みの増加が認められた。2008年4月時点で第2相臨床試験が実施されている。</p> <p>第2のプロトコールは、UCSFで行われている <u>Genzyme 社による本試験と同様の AAV-hAADC-2 の被殻への注入と L-dopa の服用を組み合わせた方法の第1相試験である。第1群では総量 9×10^{10} vg、第2群では総量 3×10^{11} vg の AAV-hAADC2 を両側の被殻に注入する。2004年12月16日に第1例が開始され、2006年5月までに第1群の5症例に注入、続いて2008年3月までに第2群の5症例の合計10例に遺伝子導入が行われた。第1群までの結果では、術後6ヶ月時点で UPDRS motor rating の off 時に平均14ポイントの改善が認められ、FMT-PET では平均30%の FMT の取込みの増加が認められた (補足文献6)。</u> 第1群の1例と第2群の1例で脳出血が認められた。2008年4月時点では、当初予定していた高用量の第3群は実施せずに第2相臨床試験に移</p>	<p>論文が発表されたため</p>
---	--	--	-------------------

<p>補足文献 (62 ページ下から 6 行目)</p>	<p><u>において副作用は認められていない。</u></p>	<p><u>行する予定となっている。</u> 第 3 のプロトコールは、神経栄養因子の Neurturin (CERE-120) 遺伝子を両側の被殻に導入するもので、Creregene 社により UCSF で行われている。2×10¹¹ の低用量群と、8×10¹¹ vector genome の高用量群の各群 6 例の合計 12 例について実施された。2008 年 4 月に公表された論文 (補足文献 7) によると、問題となる副作用はなかった。術後 12 ヶ月の時点で UPDRS motor rating の off 時に平均 14 ポイントの改善が認められた。FDG-PET で有意な変化はなかった。2008 年 4 月時点で第 2 相臨床試験が実施されている。</p> <p>6) <u>Eberling JL, Jagust WJ, Christine CW, Starr P, Larson P, Bankiewicz KS, Aminoff MJ. Results from a phase I safety trial of hAADC gene therapy for Parkinson disease. Neurology. 2008 Apr 9; [Epub ahead of print]</u></p> <p>7) <u>Marks WJ Jr, Ostrem JL, Verhagen L, Starr PA, Larson PS, Bakay RA, Taylor R, Cahn-Weiner DA, Stoessl AJ, Olanow CW, Bartus RT. Safety and tolerability of intraputaminial delivery of CERE-120 (adeno-associated virus serotype 2-neurturin) to patients with idiopathic Parkinson's disease: an open-label, phase I trial. Lancet Neurol. 7(5):400-8, 2008.</u></p>	<p>論文が発表されたため</p>
--------------------------------------	---------------------------------	--	-------------------

患者説明文書における変更点

『文書名』 修正項目 (ページ)	変 更 前	変 更 後	変更理由
『参加のしおり』 患者説明文書 6. パーキンソン病遺伝子治療臨床研究の海外での状況 (11 ページ、12 行目) (12 ページ、2 行目) (12 ページ、7 行目)	<p>2004 年 12 月に最初の患者さんの治療が行われ、2005 年 7 月に 2 人目、2005 年 9 月に 3 人目、2006 年 2 月に 4 人目、2006 年 5 月に 5 人目の治療が行われ、<u>2007 年 8 月までに合計 9 人の治療が行われました。</u></p> <p><u>2006 年 4 月までに 6 人の患者さんに行われています。効果については発表がありませんが、副作用は報告されていません。</u></p> <p>当初、1 人の患者さんに注入してから 4 ヶ月間以上の間隔をおいてから、次の患者さんに注入するという慎重な計画で実施されましたが、<u>上述したように AAV ベクターを使用した GAD あるいはニューロトリンの遺伝子治療でも副作用がないことから、今後、あなたに注射するのと同じ量のベクターを使用した研究に進む予定です。</u></p>	<p>2004 年 12 月に最初の患者さんの治療が行われ、2005 年 7 月に 2 人目、2005 年 9 月に 3 人目、2006 年 2 月に 4 人目、2006 年 5 月に 5 人目の治療が行われ、<u>2008 年 3 月までに合計 10 人の治療が行われました。</u></p> <p><u>2007 年 4 月までに 12 人の患者さんに行われています。症状の軽減が認められ、問題となる副作用はなかったと報告されています。</u></p> <p>当初、1 人の患者さんに注入してから 4 ヶ月間以上の間隔をおいてから、次の患者さんに注入するという慎重な計画で実施されました。<u>その後、上述したように AAV ベクターを使用した GAD あるいはニューロトリンの遺伝子治療でも副作用がないことから、あなたに注射するのと同じ量のベクターを使用した研究が行われ、これまでに合計 10 名の患者さんに注入されています。</u></p>	論文が発表されたため

表中 (12 ページ)

実施施設名	自治医科大学	UCSF
試験開始日		2004年12月16日
試験実施予定期間	ベクターを投与後、9ヶ月間	ベクターを投与後、5年間
ベクター投与量	3×10^{11} 、 9×10^{11}	9×10^{10} 、 3×10^{11} 、 9×10^{11}
予定人数	各群3人、合計6人	各群5人、合計15人

7. 臨床研究の具体的な方法
C. 線条体への治療用ベクターの注射
(17 ページ、8 行目)

治療用ベクターは1ヶ所につき $50 \mu\text{l}$ (1ml の1/20の量) または $150 \mu\text{l}$ 注射します。広く行きわたるように、注射は時間をかけてゆっくりと行います。具体的には専用のポンプを使って1分間に $1 \sim 3 \mu\text{l}$ の速さで注射しますので、1ヶ所につき50分かかります。計4ヶ所に注射するのに3時間20分かかります。手術全体にかかる時間は約8時間を予定しています。

治療用ベクターは既に米国で行われている臨床研究と同等量を注射します。治療効果が最も期待できて安全な治療用ベクターの量は現時点ではまだわかりませんので、使用する治療用ベクターの量は2段階を予定しています。最初の3人の患者さんには 3×10^{11} ベクター量、次の3人には 9×10^{11} ベクター量を注入します。あなたはこの臨床研究の () 番目の患者さんですので、($\times 10$) ベクター量を注入する予定です。

実施施設名	自治医科大学	UCSF
試験開始日	2007年5月7日	2004年12月16日
試験実施予定期間	ベクターを投与後、9ヶ月間	ベクターを投与後、5年間
ベクター投与量	3×10^{11}	9×10^{10} 、 3×10^{11}
予定人数	6人	各群5人、合計10人

治療用ベクターは1ヶ所につき $50 \mu\text{l}$ (1ml の1/20の量) 注射します。広く行きわたるように、注射は時間をかけてゆっくりと行います。具体的には専用のポンプを使って1分間に $1 \mu\text{l}$ の速さで注射しますので、1ヶ所につき50分かかります。計4ヶ所に注射するのに3時間20分かかります。手術全体にかかる時間は約8時間を予定しています。

治療用ベクターは既に米国で行われている臨床研究と同等量の 3×10^{11} ベクター量を注射します。

米国における実施計画の変更による

遺 伝 子 治 療 臨 床 研 究 重 大 事 態 等 報 告 書

平成 20 年 6 月 25 日

厚生労働大臣 殿

実 施 施 設	所 在 地	神奈川県相模原市北里1丁目15番1号 (郵便番号 228-8555)	
	名 称	北里大学病院	電話番号 042-778-8111 (代表) FAX 番号 042-778-9371
	代 表 者 役職名・氏名	病院長 藤井 清孝	(職印)

下記の遺伝子治療臨床研究について、重大な事態等が生じたので別添のとおり報告します。

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
前立腺癌に対する Herpes Simplex Virus-thymidine kinase 遺伝子発現アデノウイルスベクター及びガンシクロビルを用いた遺伝子治療臨床研究	北里大学医学部・泌尿器科学・教授 (北里大学病院泌尿器科科長) 馬 場 志 郎


遺 伝 子 治 療 臨 床 研 究 重 大 事 態 等 報 告 書

(受付番号)	(初回申請年月日)
	平成18年1月19日

研 究 の 名 称	前立腺癌に対する Herpes Simplex Virus-thymidine kinase 遺伝子発現 アデノウイルスベクター及びガンシクロビルを用いた遺伝子治療臨床研究
研 究 実 施 期 間	平成19年3月26日(承認日)から平成24年3月25日(5年間)

総 括 責 任 者	所属部局の所在地	神奈川県相模原市北里1丁目15番1号(郵便番号 228-8555)	
	所属機関・部局・職	北里大学医学部・泌尿器科学・教授(北里大学病院泌尿器科科長)	
実 施 の 場 所	所 在 地	神奈川県相模原市北里1丁目15番1号(郵便番号 228-8555)	
	名 称	北里大学病院	
総 括 責 任 者 以 外 の 研 究 者	連 絡 先	神奈川県相模原市北里1丁目15番1号(電話番号 042-778-9091) 北里大学医学部泌尿器科学教室内	
	氏 名	所 属 機 関 ・ 部 局 ・ 職	役 割
総 括 責 任 者 以 外 の 研 究 者	佐藤威文	北里大学医学部・泌尿器科・講師	患者の選定、患者への説明及び 同意の取得、ベクターの調整投与、 臨床効果判定、基礎的効果判定
	岩村正嗣	北里大学医学部・泌尿器科・診療准教授	患者の選定、患者への説明及び 同意の取得、病理学的評価判定
	宋 成浩	北里大学医学部・泌尿器科・講師	患者の選定、患者への説明及び 同意の取得、病理学的評価判定
	松本和将	北里大学医学部・泌尿器科・講師	患者の選定、患者への説明及び 同意の取得、基礎的効果判定
	田畑健一	北里大学医学部・泌尿器科・助教	基礎的効果判定、免疫学的評価、 組織内における HSV-tk 遺伝子の 同定、ベクターの調整投与

(以下研究協力者)	
岡安 勲	北里大学医学部・病理学・教授
小幡文弥	北里大学医療衛生学部・免疫学・教授
公文裕巳	岡山大学大学院医歯学総合研究科・病態制御科学専攻病態機構学（泌尿器病態学分野）・教授 岡山大学医学部・歯学部附属病院・遺伝子・細胞治療センター・所長
那須保友	岡山大学大学院医歯学総合研究科・病態制御科学専攻腫瘍制御学（泌尿器病態学分野）・准教授
山田雅夫	岡山大学大学院医歯学総合研究科・社会環境生命科学専攻国際環境科学（ウイルス学講座）・教授
Timothy C. Thompson	MDアンダーソンがんセンター・泌尿器科・教授
Dov Kadmon	ペイラー医科大学・泌尿器科・教授
Thomas M. Wheeler	ペイラー医科大学・病理学科・教授
Malcolm K. Brenner	ペイラー医科大学・小児科・教授 遺伝子・細胞治療センター・室長
山下英之	ペイラー医科大学・泌尿器科・研究員
黒坂黄二	MDアンダーソンがんセンター・泌尿器科・研究員

審査委員会の意見	当該症例にかかわり平成20年3月6日に認められた有害事象（肝機能異常）に関しては、同日開催された本委員会において審議の結果、「本症例に対する遺伝子治療については、中止が適切」と判断した。今回の重大な有害事象（両側肺動脈血栓塞栓症）については、遺伝子治療研究中止後に一度退院し、全身状態の改善も確認されていることから、根治的前立腺摘除術・骨盤リンパ節郭清術に伴う術後合併症の可能性が高いと判断する。	審査委員会の長の職名	氏名
		北里大学医学部・病院遺伝子治療「安全・効果評価・適応判定」専門小委員会委員長	東原 正明 

研究の区分	<p style="text-align: center;">(遺伝子治療臨床研究) 遺伝子標識臨床研究</p>
研究の概要	<p>本研究は、単独治療では治療後に再発する可能性が高い（ハイリスク群）限局性前立腺癌に対し、Herpes Simplex Virus-thymidine kinase（以下：HSV-tk）遺伝子発現アデノウイルスベクターを前立腺内に注入し、抗ウイルス剤であるガンシクロビル（Ganciclovir：GCV）を全身投与した後、根治的前立腺摘除術（以下鏡視下手術を含む）を施行した場合の安全性、および直接的な抗腫瘍効果と、間接的な免疫学的効果の解析・評価を目的とした第I/II相試験である。</p> <p>当該研究のプライマリーエンドポイントは、アデノウイルスを用いた HSV-tk 遺伝子発現ベクターのオアジュバント療法としての安全性の確認であり、セカンダリーエンドポイントは、当該遺伝子治療における有効性を来す可能性のある免疫学的な反応の解析と、同治療効果の病理学的な評価を目的とする。</p>
対象疾患	<p>外科的切除は可能ではあるが、手術前における血清前立腺特異抗原値（PSA）、臨床病期、および前立腺生検の病理学的分化度を指標とした予測（ノモグラム評価）において、術後5年以内に35%以上の確率で再発するとされるハイリスク群症例（総得点115点以上）で、かつ臨床的に遠隔転移を認めない局所限局性前立腺癌患者を対象とする。</p>
重大事態等の発生時期	<p>平成20年5月6日</p>
重大事態等の内容及びその原因	<p>ハイリスク前立腺癌を有する当該症例に対し、平成20年2月21日に HSV-tk 遺伝子発現アデノウイルスベクターを前立腺内に注入した。同治療後、明らかな異常を認めず、同2月28日（治療後7日目）のフォローアップ採血において AST(GOT)25、ALT(GPT)34と正常であった。その後、同3月6日（治療後14日目）のフォローアップ採血において、ALT(GPT)207、AST(GOT)268と高値を認め（施設基準上限のそれぞれ5.9倍、6.7倍）、grade 3の肝機能障害（NCI-CTC v3.0）と判断した。同日の消化器内科専門医の診察の結果、理学所見を含め、全身状態は安定しており、発熱・炎症反応もなく（CRP 0.19mg/dL）、肝底護剤の投与による保存的な加療にて経過観察となる。また同日（3月6日）に北里大学医学部・病院遺伝子治療安全・効果評価・適応判定専門小委員会が緊急招集され、審議の結果、遺伝子治療翌日以後の採血評価において肝機能障害を含めた異常値を認めず、同治療開始7日後の2月28日の定期採血評価でも肝機能は正常であることより、HSV-tk 遺伝子発現アデノウイルスベクターによる直接的な肝機能障害は否定的と考えられた。また経時的な状況から判断すると、遺伝子治療前・後に投与を行った抗生剤、ならびに同治療後、継続して投与を施行している抗ウイルス剤に伴う肝機能障害が考えられ、特に後者に伴う有害事象が強く疑われた。このことより、本症例に対する遺伝子治療の継続については中止が適切と判断され、同委員会の審議結果を受けて、同治療の実施が中止となった。【別添1】</p> <p>その後、肝機能は保存的な加療にて改善し、同3月18日（治療後26日目）にはAST(GOT)47、ALT(GPT)66と軽快したため、翌3月19日に退院となった。</p> <p>上記判断に伴い当該症例に対する臨床研究は中止され、再度前立腺癌に対する根治療法を説明させて頂いた結果、通常に加療として根治的前立腺摘除術・骨盤リンパ節郭清術を希望され、改めて同手術に対する同意取得の元、平成20年4月17日に根治的前立腺摘除術・骨盤リンパ節郭清術を施行する。術翌日より歩行開始となり、入院にて術後経過観察をしていたが、平成20年5月6日に後頸部痛を自覚され、担当医が</p>

診察中に意識障害と呼吸困難を認め、酸素投与を開始。精査中に自発呼吸が停止し、気管内挿管と人工心肺を開始し、緊急CTスキャン評価にて急性肺血栓塞栓症と診断される。ICU管理にて、抗凝固剤投与、ならびに人工呼吸・人工心肺による加療を継続するも、平成20年5月9日に永眠される。

本症例に対する経過を次に記す。

(経過)

2007年：

10月22日：

前立腺生検を施行。

11月6日：

前立腺癌と診断され、全身評価を追加・実施。

12月18日：

ハイリスク前立腺癌と診断される。

12月26日：

前立腺癌根治療法について説明。

本臨床研究の内容について1回目の説明。

2008年

1月7日：

本臨床研究について、2回目の説明。

1月10日：

北里大学医学部・病院遺伝子治療安全・効果評価・適応判定専門小委員会に確認し、適応症例と判定される。

1) 既往歴

高血圧 (オルメサルタンメドキシミル 5mg/1x 日) 内服にて、コントロール良好。

糖尿病 (食事療法のみ、HbA1c 5.6-6.1%)

2) Kattan ノモグラム

総計 116 点

3) 画像診断上明らかな転移病巣を認めず。

4) 肝機能、腎機能についても、異常を認めず

(BUN/Cr 16/0.81, AST/ALT 17/16)。

5) 臨床的に出血傾向を認めず。

1月21日：

本臨床研究につき、書面にて同意取得。

治療前全身評価を再度実施。

2月4日：

上記全身評価において、血算、生化学検査、心電図、胸部・腹部レントゲン等に明らかな異常を認めず。

2月19日：

HSV-tk 遺伝子発現アデノウイルスベクターを前立腺内に注入。

2月23日：

AST/ALT 21/23 と肝機能異常認めず。

2月28日：

AST/ALT 25/34 と肝機能異常認めず。

3月6日：

AST/ALT 207/268 と肝機能異常を認め、消化器内科専門医の診察の結果、理学所見を含め、全身状態は安定しており、発熱・炎症反応もなく（CRP 0.19mg/dL）、薬剤性肝障害の可能性が高いと判断される。肝庇護剤の投与による保存的な加療にて経過観察となる。

同日（3月6日）に北里大学医学部・病院遺伝子治療「安全・効果評価・適応判定」専門小委員会が緊急招集される。

審議の結果、遺伝子治療翌日以後の採血評価において肝機能障害を含めた異常値を認めず、同治療開始7日後の2月28日の定期採血評価でも肝機能は正常であることより、HSV-tk 遺伝子発現アデノウイルスベクターによる直接的な肝機能障害は否定的と考えられた。遺伝子治療前後に投与を行った抗生剤、ならびに同治療後、継続して投与を施行している抗ウイルス剤に伴う肝機能障害が考えられ、特に後者に伴う有害事象が強く疑われた。このことより、当該症例に対する遺伝子治療の継続については中止が適切と判断され、同委員会の審議結果を受けて、本症例に対する同治療の実施が中止となる。

上記、肝機能障害の病態と原因の可能性、ならびに本臨床研究の中止につき、御本人と御家族へ説明し、了解される。

3月18日：

AST47/ALT66 と軽快を確認。

3月19日：

保存的に改善し、同症例に対する臨床研究は終了・退院となる。

3月27日：

外来にて退院後の状態確認。

一般診療としての前立腺癌根治療法を説明する。

4月15日：

根治的前立腺摘除術・骨盤リンパ節郭清術の説明、書面にて同意取得。

4月17日：

根治的前立腺摘除術・骨盤リンパ節郭清術を施行する。

術中から手術翌日まで、弾性ストッキングの使用、ならびに間欠的空気圧迫法を終日装着する。

4月18日：

術翌日より離床し、歩行開始となったため、弾性ストッキングの使用、ならびに間欠的空気圧迫法を終了する。

4月24日：

尿道カテーテル抜去。

4月25日：

肛門より軽度の水様物の流出を自覚され、膀胱鏡にてピンホール状の尿道直腸瘻が疑われ、カテーテルを再度留置する。

	<p>4月27日： 上記加療方針につき再度説明し、高圧酸素療法による保存的加療にて経過観察となる。</p> <p>4月28日： 高圧酸素療法開始し、計10回の実施予定となる。</p> <p>4月30日： 肛門からの水様物の流出改善する。</p> <p>5月6日： 20:00に激しい後頸部痛を自覚し、ナースコールあり。担当医が診察時、呼吸困難を認め、酸素飽和度80%台の低下が確認されたため、酸素投与をフェイスマスクで5L/分で開始。この際、瞳孔5mm/5mm 対光反射は両側緩慢であり、血圧が90台へ低下してきたため、処置室へ移動。院内の救命救急医師の応援を要請。酸素投与と10L/分とし、心電図検査を施行。明らかな虚血性変化を認めず。 20:10 救命救急医師チームが到着。次第に意識低下を認め、自発呼吸が停止し、心肺蘇生をただちに開始する。気管内挿管と経皮的人工心肺補助装置(PCPS)を開始し、緊急CTスキャン評価にて急性肺血栓塞栓症と診断される(両側肺動脈完全閉塞)。ICUへ移送し、抗凝固剤使用による上記対応にて加療を継続する。 御家族へ、現在の病態と今後の可能性について説明する。 同日、病院長への報告の後、関係省庁へ速報を実施する。</p> <p>5月7日： 対症療法を実施するも血圧30台、PCPS流量2.0L/分程度であり、状態の改善は認められず。</p> <p>5月9日： 急性肺血栓塞栓症にて永眠となる。</p> <p>今回の有害事象に対して、2008年5月26日に実施された北里大学医学部・病院遺伝子治療「安全・効果評価・適応判定」専門小委員会の審議結果については、【別添2】として添付する。</p>
その後の対応状況	<p>2008年5月6日、重篤な有害事象として速やかに北里大学病院長、北里大学医学部・病院遺伝子治療「安全・効果評価・適応判定」専門小委員会、北里大学病院・医療安全管理室、関係省庁へ速報を行った。</p> <p>5月7日に北里大学病院・医療安全管理室より、術後肺血栓塞栓症の事例発症報告と、その予防の周知徹底につき、院内へ緊急速報を連絡・配布した。</p> <p>またICUにて人工心肺装置による加療を継続し、状況の好転に向け最善を尽くすも改善が得られず、5月9日に永眠される。</p> <p>また同日に、御家族へ御説明・書面で同意を頂き、病理解剖を北里大学病院病理学で実施する。その結果、両側の肺動脈の血栓塞栓症が確認され、他の死因となりうる病態は確認されなかった。また尿道直腸瘻は治癒しており、剖検にて認められなかった。</p>

5月16日に書面にて、厚生労働省ならびに文部科学省へ有害事象の連絡を行った。また当該事例について、症例数を有するベイラー医科大学スタッフと協議を行う為、北里大学病院の実務担当者が渡米し、5月22日に米国で協議を行った。その結果、HSV-tk 遺伝子発現アデノウイルスベクターによる血栓症の報告は、共同研究機関であるベイラー医科大学でも認めていないことが確認された。また諸外国も含めた前立腺癌に対するアデノウイルスを用いた遺伝子治療においても、同様の事象は報告、確認されていない。【参考資料1、2】

また同治療後に一度退院され、全身状態の改善も確認されており、外科的手術に伴う合併症の可能性が極めて高いと判断された。本症例については、術中から手術翌日まで、弾性ストッキングの使用、ならびに間欠的空気圧迫法を終日装着しているが、離床後となる術後19日目の肺血栓塞栓症の発症であり、現在、北里大学病院医療安全管理室が主導となり、リスクマネジメント委員会・深部静脈血栓症ワーキンググループで対応・改善を検討中である。現在、肺血栓塞栓症/深部静脈血栓症（静脈血栓塞栓症）予防ガイドライン 第2版（肺血栓塞栓症/深部静脈血栓症（静脈血栓塞栓症）予防ガイドライン作成委員会編：Medical Front International Limited 出版）の活用に加え、院内アンケート調査に基づいた「静脈血栓塞栓症予防調査票」を整備中であり、同調査票に基づいた更なる「リスクレベルと推奨される予防方法」の実施に向け、院内で対応・検討中である。

(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. 大学等にあつては、この報告書を、厚生労働大臣のほか文部科学大臣にも提出すること。