

- ▷末梢血中のリンパ球の免疫表現型
- ▷末梢血の免疫回復の細胞生物学的解析及び分子生物学的解析
- 免疫系再構築に関する判定基準・評価方法**
- ▷別表に定めた「②臨床研究実施スケジュール(患者)」に従い、免疫表現型に関する検査を行い、「GVHD 発症の有無に関係なく、2 回の連続した検査で CD3 陽性細胞数が 1 μl あたり 100 を超えるとき免疫再構築が達成されたと判定する。」という基準に従い、免疫系再構築の達成を評価する。
- ▷末梢血中のリンパ球の免疫表現型をヒトリンパ球マーカーに対する各種抗体 (CD3、CD4、CD8、CD11c、CD56、CD123 等) を用いた FACS 解析により評価する。
- ▷細胞内サイトカインの測定、Pentamer 解析、T 細胞受容体レパトア解析、TREC 法を用いた解析等により評価する。
- ・GCV 製剤投与による GVHD 沈静化能の判定方法、基準
- GCV 製剤による GVHD 沈静化能の判定に必要な検査・観察項目**
- ▷GVHD 症状評価
- ▷GCV 製剤投与無効時の免疫抑制剤使用頻度
- ▷GVHD 発症組織における遺伝子導入 T リンパ球の存在確認 (実施可能な場合)
- GCV 製剤による GVHD 沈静化能に関する判定基準・評価項目**
- ▷GCV 製剤投与による GVHD 沈静化の評価を行う。
- ▷GVHD に対し GCV 製剤を投与したが、GVHD が改善せず免疫抑制剤を投与した場合を集計し、その頻度を検討する。
- ▷組織診断用の検体採取が可能な場合、組織切片を作製し、抗 LNGFR 抗体を用いた免疫染色により遺伝子導入 T リンパ球の存在を確認する。もしくは、検体から DNA を抽出してリアルタイム PCR を用いてレトロウイルスベクター-SFCMM-3 に特異的な領域を測定することにより遺伝子導入 T リンパ球の存在を確認する。
- ・臨床研究の中止判定基準
- 個々の被験者での中止**
- 同意取得から前処置までの開始前: 以下の場合には、遺伝子導入ドナー T リンパ球の Add-back を行わず、臨床研究を中止し、以降の治療については規定しない。
 - ▷被験者あるいはドナーの同意が撤回された場合
 - ▷被験者あるいはドナーが選択基準に合致していないことが判明した場合
 - ▷被験者あるいはドナーが除外基準に抵触していることが判明した場合
 - ▷症状が悪化し、臨床研究の実施が困難と総括責任者 (又は治療にあたる分担研究者) が判断した場合
 - ▷有害事象発生のため、臨床研究の実施が困難と総括責任者 (又は治療にあたる分担研究者) が判断した場合
 - ▷その他、臨床研究の実施が適当でないと総括責任者 (又は治療にあたる分担研究者) が判断した場合
- 前処置開始後から遺伝子導入 T リンパ球 Add-back 前: 以下の場合には、臨床研究を中止し、以降の治療については規定しない。
 - ▷被験者の同意が撤回された場合
 - ▷重篤な CMV 感染症が発症し、GCV 製剤を投与するに至った時
 - ▷移植した末梢血幹細胞の生着が確認できない場合
 - ▷初回の遺伝子導入 T リンパ球 Add-back より前に、治療を必要とする GVHD が発症した場合
 - ▷有害事象発生のため、臨床研究の実施が困難と総括責任者 (又は治療にあたる分担研究者) が判断した場合
 - ▷症状が悪化し、臨床研究の実施が困難と総括責任者 (又は治療にあたる分担研究者) が判断した場合
 - ▷その他、臨床研究の実施が適当でないと総括責任者 (又は治療にあたる分担研究者) が判断した場合
- 遺伝子導入 T リンパ球 Add-back 後: 以下の場合には、臨床研究を中止し、以降の治療については規定しない。
 - ▷被験者の同意が撤回された場合
 - ▷重篤な GVHD が発症し、免疫抑制剤を投与するに至った時
 - ▷重篤な CMV 感染症が発症し、GCV 製剤を投与するに至った時

- ▷RCRの出現が認められた時
- ▷有害事象発生のため、臨床研究の実施が困難と総括責任者(又は治療にあたる分担研究者)が判断した場合
- ▷症状が悪化し、臨床研究の実施が困難と総括責任者(又は治療にあたる分担研究者)が判断した場合
- ▷その他、臨床研究の実施が適当でないとして総括責任者(又は治療にあたる分担研究者)が判断した場合

臨床研究全体の中止

以下に該当する被験者の安全性に重大な影響を及ぼし、臨床研究の実施に影響を与え、又は臨床研究継続に関する遺伝子治療臨床研究審査委員会の承認を変更する可能性がある情報を得た場合は、遺伝子治療臨床研究効果安全性評価委員会に意見を求め、その提言を参考にして分担研究者と協議し、本臨床研究の中止を決定することができる。

- ▷最初の5例の遺伝子治療実施例に、免疫系再構築を確認できた症例がなかった旨の情報
- ▷最終Add-back後6ヵ月以内の被験者の死亡に関する情報
- ▷重篤な有害事象に関する情報
- ▷遺伝子導入Tリンパ球Add-backとの因果関係を否定できないgrade IV以上の有害事象(副作用)に関する情報
- ▷遺伝子導入Tリンパ球Add-back後のGCV製剤投与により沈静化できないGVHD発症例に関する情報
- ▷その他、総括責任者並びに分担研究者が中止すべきと判断する情報

⑦重篤な有害事象が発現した場合の措置

臨床研究との因果関係の有無に関わらず、重篤な有害事象が発現した場合は、適切な処置を行うとともに、国立がんセンター中央病院の規定に従い、国立がんセンター総長に報告する。国立がんセンター総長はその旨を速やかに厚生労働省に報告する。

⑧症例記録に関する記録用紙等の様式

カルテとは別に本臨床研究専用の症例報告書を作成する。

⑨記録の保存及び成績の公表の方法

記録の保存は、国立がんセンター総長が指名した保管責任者が適切に行う。
成績の公表は、ドナー・被験者本人の同意のもと、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じゅうぶんに配慮し、個人情報特定できないような必要な措置を行う。

⑩個人情報の保護の徹底

・個人情報保護に関する責務

国立がんセンターの保有する個人情報の適切な管理のために必要な措置について定めた国立がんセンター保有個人情報管理規程に従い、保有する個人情報の漏洩、毀損などを防止し、適正な管理を図る。

・個人情報の取得と利用に関する制限

- ▷診療・研究機関としての国立がんセンター中央病院における一般的な取扱
国立がんセンター中央病院は、社会的な使命の実現に向けて、一般的な診療行為等に関する限定された目的に限り、患者の個人情報を使用する。
- ▷その他本遺伝子治療臨床研究の遂行に必要な被験者の個人情報の利用・取扱い
本臨床研究の遂行における個人情報の利用・取り扱いについては、総括責任者はあらかじめ被験者の個人情報の利用を公開している場合を除き、速やかに、その利用目的を被験者等に通知し、又は公表しなければならない。
特別の目的で使用する場合は、事前に被験者に再度説明し了解を得てから使用する。
また、本臨床研究の成績などを公表・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。

▷個人情報保護に関する安全管理措置

国立がんセンター総長は国立がんセンター保有個人情報管理規程に従い、個人情報保

	<p>護に関して、組織的に安全管理措置を実施し、個人情報の漏洩、滅失又は棄損の防止に関する措置を講じている。さらに本臨床研究では、死者に関する個人情報をも生存する個人と同様に死者に関する個人情報についても同様の管理下で取り扱う。</p> <p>▷外部共同研究者が閲覧可能なデータ 遺伝子導入 T リンパ球の安全性や機能に関する客観的な記録を外部共同研究者が閲覧することを可能とするが、遺伝子導入用レトロウイルスベクター-SFCMM-3 及び遺伝子導入 T リンパ球の調製に限定されたものであり、本臨床研究のデータの客観的かつ公正な記録はその意向に影響を受けることはない。 閲覧目的を限定した上で外部共同研究者がデータを閲覧する場合でも、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>▷第三者提供の制限 総括責任者は、あらかじめ被験者等の同意を得ないで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、外部共同研究者が個人情報を保護した上で一部データの閲覧を行う予定であるが、あらかじめ、その旨を被験者等に通知し同意を得る。</p> <p>▷個人情報の開示、訂正、利用停止等 本臨床研究においては、「臨床研究実施機関の名称」、「個人情報の利用目的」、「苦情の申出先」について同意説明文書に明記した。また、「個人情報の開示、訂正、利用停止等に関する手続き」については、それらの手続きができることを同意説明文書に明記し、その申し出に応じて、手続きの詳細を国立がんセンター個人情報開示等取扱規程に従い、被験者に説明する。</p>
備考	<p>1. 本遺伝子治療臨床研究実施計画については、平成 18 年 8 月 15 日から国立がんセンター遺伝子治療臨床研究審査委員会で慎重な審議がなされ、その科学的および倫理的妥当性について平成 19 年 3 月 30 日付けで承認されている。</p> <p>2. 実施施設における当該遺伝子治療臨床研究に関する培養細胞、実験動物を用いた研究成果 国立がんセンター中央病院 11 階に設置された P2 レベル、クラス 10,000 の無菌細胞調整施設において、3 バッチの HSV-TK 遺伝子導入 T リンパ球の試験調製を行った。閉鎖系での作業が可能な工程については閉鎖系で行い、それ以外の作業は無菌細胞調整施設内に設置したクラス II 安全キャビネット内で行った。 品質試験結果は、3 バッチとも、あらかじめ定めた規格に合格するものであった。</p> <p>3. 当該遺伝子治療臨床研究に関連する実施施設以外の内外の研究状況 HSV-TK 遺伝子及び ΔLNGFR 遺伝子を含むレトロウイルスベクターで遺伝子導入されたヒト T リンパ球を用いた、造血器悪性腫瘍に対する臨床研究・治験としては、イタリアで 2 件の臨床研究、イタリアで 1 件の治験、日本で 1 件の臨床研究、及びイタリアで 1 件の治験(モルメド社の臨床第 I / II 相試験)が実施されている。 イタリアの DL1 としての臨床研究では、遺伝子治療を受けた患者 23 例中、解析可能な患者が 17 例あり、その内 3 例に Grade II 以上の急性 GVHD が発症し、1 例に慢性 GVHD が発症した。これら 4 例に GCV が投与され、急性 GVHD の 3 例では完全な沈静化が認められ、慢性 GVHD の 1 例では部分的な沈静化が認められた。造血器悪性腫瘍に対する治療効果としては、解析可能であった 17 例中、完全寛解は 6 例、部分寛解は 5 例であった。 イタリアの add-back としての臨床研究では、8 例の患者に造血幹細胞移植後、Add-back にて漸増用量で遺伝子導入リンパ球が輸注された。1 × 10⁷ 個/kg の HSV-TK 遺伝子導入ドナーリンパ球を投与された 1 例に急性 GVHD が発症し、GCV の投与により GVHD の症状は完全に沈静化された。Add-back による免疫系再構築に有効な遺伝子導入リンパ球の用量としては、1 × 10⁷ 個/kg が有望であることが示された。 日本での臨床研究としては、筑波大学附属病院での DL1 としての臨床研究が実施されており、9 例の症例に対して遺伝子導入細胞が調製され、5 例に計 8 回の遺伝子導入細胞の投与が行われた(3 例では 2 回投与)。このうち 1 例で急性 GVHD を発症し、GCV を投与することによって末梢血中の遺伝子導入リンパ球は減少して GVHD は沈静化したのが、</p>

原疾患の進行により GCV 投与後 38 日に死亡した。残り 4 例は、遺伝子治療実施から約 4 か月～2 年の時点でいずれも生存中である。

モルメド社の臨床第 I / II 相試験では、登録患者 29 例の内 17 例に遺伝子導入 T リンパ球が Add-back され、その 14 例に免疫系再構築が確認された。また、14 例中 6 例に Add-back 後の急性 GVHD が発症したが、その内の 5 例に GCV 製剤が投与されいずれも GVHD 症状が完全に沈静化した。登録された患者は高リスク造血器悪性腫瘍患者にもかかわらず、Add-back を受けた 17 例中 7 例に再発を認めたに過ぎなかった。免疫系再構築に至った 14 例では、その後の感染症エピソード及び治療関連死が極端に少なくなっており、特に CMV 感染による死亡例は、評価対象 16 例中わずか 1 例であった。以上より、HSV-TK 遺伝子導入ドナー T リンパ球の Add-back により、早期免疫系再構築を促進し、移植後の感染死を含む治療関連死を予防し、全体としての生存率を上げることが確認された。

これらの臨床研究・治験の結果から、HSV-TK 遺伝子及び ΔLNGFR 遺伝子をレトロウイルスベクターで導入したヒト T リンパ球について、ヒト体内において遺伝子治療に関連する重篤な副作用報告はなく、その免疫機能により発症した GVHD 症状は、HSV-TK の自殺機能により期待通り沈静化している状況である。

モルメド社の臨床第 I / II 相試験実施計画と本臨床研究実施計画は類似するものである。主要評価項目及び副次的評価項目に含まれる項目はほぼ同様であるが、安全性については本臨床研究では主要評価項目であるのに対し、モルメド社の臨床第 I / II 相試験では副次的評価項目である。これに関連して、本臨床研究では治療効果を期待しつつ安全性の評価を行うことを目的とするために、IL-2 を併用することなく、短期間により多くの遺伝子導入リンパ球を Add-back する用法・用量とした。その他、適格性確認の時点、再発時の対応等に相違があるが、評価に大きな影響を及ぼすものではなく計画全体としてはほぼ同様であると考えられる。一方で、筑波大学附属病院の臨床研究とは同一の遺伝子ベクターを用いるという点を除いて対象・治療法が大きく異なり、計画全体としては類似するものではない。

モルメド社の臨床第 I / II 相試験実施計画との主な異同

	モルメド社の 臨床第 I / II 相試験	本遺伝子治療
遺伝子 ベクター	● モルメド社由来 SFCMM-3	● モルメド社由来 SFCMM-3
細胞調製法	● 遠心法による遺伝子導入 ● 培養期間が 10 日間	● 遠心法による遺伝子導入 ● 培養期間が 10 日間
対象疾患	● 移植が適応となる高リスク 白血病	● 移植が適応となる高リスク 白血病
実施期間	● 当初計画では 2 年間	● 3 年間
目標症例数	● 18 症例	● 10 症例
治療概要	● ハプロタイプ一致ドナー由来 T 細胞除去移植 42 日後に遺伝 子導入リンパ球を Add-back する 療法	● ハプロタイプ一致ドナー由来 T 細胞除去移植 42 日後に遺伝 子導入リンパ球を Add-back する 療法
用法・用量	● 1×10^6 /kg (Day 42) → 1×10^7 /kg (Day 72) → 1×10^6 /kg + IL-2 (Day 102) → 1×10^7 /kg + IL-2 (Day 132) の 4 回の Add-back	● 1×10^6 /kg (Day 42) → 1×10^7 /kg (Day 72) → 1×10^7 /kg (Day 102) の 3 回の Add-back
主要評価項目	● 免疫系再構築 ● GCV 製剤投与による GVHD 沈 静化	● 安全性 ● 免疫系再構築 ● GCV 製剤投与による GVHD 沈

	<ul style="list-style-type: none"> • GVL 効果 • (安全性は副次的評価項目) 	静化
GVHD 対応	<ul style="list-style-type: none"> • GCV を 14 日間点滴静注 	<ul style="list-style-type: none"> • GCV を 7～14 日間点滴静注

4. 類似の遺伝子治療臨床研究の成果
 HSV-TK 遺伝子を含むレトロウイルスベクター(ΔLNGFR を含まず)により遺伝子導入されたTリンパ球を用いた造血器悪性腫瘍に対する臨床研究・治験としては、フランスで1件の臨床研究、ドイツで1件の臨床研究、アメリカで2件の臨床研究について、学術論文が発表されている。
 これらの結果から、HSV-TK の自殺機能による遺伝子導入リンパ球の消失及び GVHD の沈静化が確認されている。

5. 本遺伝子治療臨床研究は、以下の法令/省令等を遵守して実施される。

- ①「遺伝子治療臨床研究に関する指針」
 (平成 16 年文部科学省・厚生労働省告示第二号、平成 16 年 12 月 28 日)
- ②「臨床研究に関する倫理指針」
 (厚生労働省告示第四百五十九号、平成 16 年 12 月 28 日)
- ③「遺伝子組換え微生物の使用等による医薬品等の製造における拡散防止措置等について」
 (薬食発第 0219011 号、各都道府県知事あて厚生労働省医薬食品局長通知、平成 16 年 2 月 19 日)
- ④「遺伝子治療用医薬品の品質及び安全性の確保に関する指針について」
 (薬発第 1062 号、各都道府県知事あて厚生省薬務局長通知、平成 7 年 11 月 15 日)
- ⑤「遺伝子治療用医薬品の品質及び安全性の確保に関する指針の改正について」
 (医薬発第 329004 号、各都道府県知事あて厚生労働省医薬局長通知、平成 14 年 3 月 29 日)
- ⑥「遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物多様性の確保に関する法律」
 (平成 15 年 6 月 18 日法律第 97 号)
- ⑦行政機関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 58 号)
- ⑧厚生労働省保有個人情報管理規程
 (平成 17 年 3 月 23 日厚生労働省訓令第 3 号)

(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. 字は黒・インクを用い、楷書ではっきり書くこと。
4. 記載欄に記載事項のすべてを記載できない時は、その欄に「別紙()のとおり」と記載し、別紙を添付すること。
5. 備考欄には、「第4その他」に掲げる各種指針への適合状況等、特記すべき事項について記載すること。
6. 大学等にあつては、この申請書の写しを文部科学大臣にも送付すること。

②臨床研究実施スケジュール(患者)

	幹細胞移植前			幹細胞移植日	幹細胞移植後 (移植日を0として)				最終 Add-back ¹ 後 (最終 Add-back ¹ 日を0として)								患者生存期間中 1年毎	
	仮登録時以前	本登録時以前	本登録後		0	42日以前	42日	72日	102日	1週	2週	3週	4週	6週	10週	14週		18週
同意取得	○																	
仮登録	○																	
本登録		○																
患者背景	○																	
自覚症状・他覚所見 (PS 等)	○	○		○	○ ²				○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
血液学的検査	○	○		○	○ ²				○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
血液生化学的検査	○	○		○	○ ²				○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
免疫学的検査	○	○							○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
感染症検査	○	○			○ ⁴				○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
尿定性		○			○ ⁴							○	○	○	○	○	○	○
ケルチン・グリタン		○																
動脈血液中酸素飽和度	○	○																
心電図	○	○																
心エコー	○	○																
胸部 X 線検査	○	○																
原疾患に関する検査・観察	○	○							4週に1回、中止あるいは終了時他、治療上で必要な時期									
移植前処置			○															
造血幹細胞移植				○														
遺伝子導入 T リンパ球 Add-back						○	○	○										
輸血・併用療法 状況確認	実施期間を通して確認																	
RCR									○ ⁷			○		○				○
LAM-PCR ⁵												○	○	○	○	○	○	○
免疫系再構築の判定 に関する検査・観察					○ ⁴	○			○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
GVHD 評価 ⁶					○ ⁴	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
GVHD 発症組織の遺伝子導入 T リンパ球の存在確認	GVHD 発症時、GCV 製剤投与前、4日後、終了あるいは中止の翌日																	
血中遺伝子導入 T リンパ球比率測定					○ ⁴				○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
有害事象	実施期間を通して確認																	

- 1: 診察日時点から見て最終(直近)の遺伝子導入 T リンパ球の Add-back をさし、初回あるいは 2 回目の Add-back が最終(直近)の場合にも上記スケジュールに従う
 - 2: 造血の確認(生着)が確認されるまでの毎日と造血幹細胞移植後 30 日から 40 日の間に 1 回
 - 3: 造血の確認(生着)が確認されるまでは週3回と造血幹細胞移植後 30 日から 40 日の間に 1 回
 - 4: 造血幹細胞移植後 30 日から 40 日の間に 1 回
 - 5: 検査検体採取を行う。検査実施は必要時
 - 6: GVHD 発症時等、必要時にはスケジュールに定められた以外でも実施する
 - 7: 最終 Add-back 後、1~3 日の間に 1 回
- ・ 造血幹細胞移植は臨床研究実施スケジュールに定められた日から 7 日以内に実施する。
 - ・ 最終 Add-back 後の検査・観察は定められた週のいずれかの日に実施する。

ハプロタイプ一致ドナー由来 T 細胞除去
造血幹細胞移植後の HSV-TK 遺伝子導入
T リンパ球 “ A d d - b a c k ” 療法

遺伝子治療臨床研究実施計画書

国立がんセンター

中央病院

作成年月日：平成 21 年 2 月 ___ 日
版 番 号：4.7

記号・略号一覧表

記号・略号	一般名等
ACV	aciclovir (アシクロビル)
Add-back	(追加輸注)
ALL	acute lymphoblastic leukemia (急性リンパ性白血病)
AML	acute myelogenous leukemia (急性骨髄性白血病)
CMV	cytomegalovirus (サイトメガロウイルス)
CTL	cytotoxic T lymphocyte (細胞傷害性T細胞)
ΔLNGFR	truncated low-affinity nerve growth factor receptor (細胞内領域欠損ヒト低親和性神経成長因子受容体)
G-CSF	granulocyte colony-stimulating factor (顆粒球コロニー刺激因子)
GCV	ganciclovir (ガンシクロビル)
GVHD	graft-versus-host disease (移植片対宿主病)
GVL	graft-versus-leukemia (移植片対白血病作用)
GVM	graft-versus-malignancy (移植片対悪性腫瘍)
HLA	human leukocyte antigen (ヒト白血球抗原)
HSV-TK	herpes simplex virus 1-thymidine kinase (単純ヘルペスウイルス1型-チミジンキナーゼ)
LAM	linear amplification-mediated PCR
LNGFR	human low affinity nerve growth factor receptor (ヒト低親和性神経成長因子受容体)
LTR	long terminal repeat (末端反復配列)
MCB	master cell bank (マスターセルバンク)
MoMLV	Molony murine leukemia virus (モロニーマウス白血病ウイルス)
NGF	nerve growth factor (神経成長因子)
OKT3	Orthoclone OKT3 (オルソクロン OKT3:抗 CD3 抗体)
PBMC	peripheral blood mononuclear cell (末梢血単核球)
PBSC	peripheral blood stem cell (末梢血幹細胞)
PCR	polymerase chain reaction (ポリメラーゼ連鎖反応)
RCR	replication competent retrovirus (増殖性レトロウイルス)
rhIL-2	recombinant human interleukin 2 (組換えヒトインターロイキン2)
WCB	working cell bank (ワーキングセルバンク)

目 次

	頁
I. 遺伝子治療臨床研究の名称	6
II. 総括責任者及びその他の研究者の氏名並びに当該遺伝子治療臨床研究において果たす役割	7
II.1 総括責任者の氏名	7
II.2 総括責任者以外の研究者の氏名及びその担当する役割	7
III. 実施施設の名称及びその所在地	8
IV. 遺伝子治療臨床研究の目的	9
V. 遺伝子治療臨床研究の対象疾患及びその選定理由	12
V.1 治療を直接の目的とした遺伝子治療臨床研究を行う場合	12
V.1.1 対象疾患に関する現時点での知見	12
V.1.2 当該遺伝子治療臨床研究の概要	35
V.1.3 他の治療法との比較及び遺伝子治療を選択した理由	39
VI. 遺伝子の種類及びその導入方法	43
VI.1 人に導入する遺伝子の構造と性質	43
VI.1.1 人に導入する遺伝子の構造	43
VI.1.2 人に導入する遺伝子の性質	49
VI.1.3 導入遺伝子からの生成物の構造及びその生物活性	49
VI.2 本計画で使用するその他の組換え DNA の構造と性質	50
VI.3 標識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	50
VI.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	50
VI.4.1 遺伝子導入方法の概略	50
VI.4.2 当該導入法を選択した理由	50
VI.4.3 レトロウイルスベクターの選択根拠	51
VI.5 ウイルスベクターを用いた遺伝子導入	51
VI.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	51
VI.5.2 ウイルスベクターの作製方法	52
VI.5.3 ウイルスベクターの構造	55
VI.5.4 ウイルスベクターの生物学的特徴	60
VII. 安全性についての評価	61
VII.1 遺伝子導入方法の安全性	61
VII.1.1 遺伝子導入に用いるウイルスベクターの純度	61
VII.1.2 患者に投与する物質の純度及びその安全性	63

VII. 1. 3 増殖性レトロウイルス (RCR) 出現の可能性	64
VII. 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	68
VII. 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	68
VII. 1. 6 患者以外の人に遺伝子が導入される可能性	69
VII. 1. 7 染色体内へ遺伝子が組み込まれる場合の問題点	69
VII. 1. 8 がん原性の有無	69
VII. 2 遺伝子産物の安全性	70
VII. 2. 1 HSV-TK 遺伝子の異常発現	70
VII. 2. 2 HSV-TK/GCV 自殺システムの臨床実績	71
VII. 2. 3 ΔLNGFR 遺伝子の異常発現	72
VII. 3 細胞の安全性	72
VII. 3. 1 遺伝子導入細胞の調製方法	72
VII. 3. 2 培養細胞の純度	74
VII. 3. 3 細胞の遺伝子型、表現型の安全性	74
VII. 3. 4 被験者に投与する細胞の安全性	75
VIII. 遺伝子治療臨床研究の実施が可能であると判断した理由	77
IX. 遺伝子治療臨床研究の実施計画	79
IX. 1 遺伝子治療臨床研究を含む全体の治療計画	79
IX. 1. 1 本研究の実施に際し国立がんセンター中央病院に設置される委員会・事務局	79
IX. 1. 2 本臨床研究の実施手順	80
IX. 2 ドナー・被験者の選択基準及び除外基準	84
IX. 2. 1 ドナーの選択基準及び除外基準	84
IX. 2. 2 被験者の選択基準及び除外基準	85
IX. 3 登録	88
IX. 3. 1 ドナーの登録	88
IX. 3. 2 被験者の仮登録	89
IX. 3. 3 被験者の本登録	89
IX. 4 ドナー・被験者に対する説明及びその同意の取得方法	89
IX. 4. 1 被験者に対する説明及びその同意の取得方法	89
IX. 4. 2 ドナーに対する説明及びその同意の取得方法	90
IX. 4. 3 ドナー・被験者に対する説明の体制	90
IX. 5 実施期間及び目標症例数	91
IX. 6 遺伝子治療臨床研究の実施方法	91
IX. 6. 1 対照群の設定方法	91

IX. 6. 2 遺伝子導入方法、遺伝子導入 T リンパ球の追加輸注 (Add-back) 等	91
IX. 6. 3 前処置及び併用療法の有無	95
IX. 6. 4 臨床検査項目及び観察項目	99
IX. 6. 5 予測される副作用及びその対処方法	102
IX. 6. 6 遺伝子治療臨床研究の評価方法、評価基準及び中止判定基準	104
IX. 6. 7 重篤な有害事象が発現した場合の措置	111
IX. 6. 8 症例記録に関する記録用紙等の様式	111
IX. 6. 9 記録の保存及び成績の公表の方法	111
IX. 6. 10 個人情報の保護の徹底	112
X. 用語説明	116
XI. その他の必要な事項	119
XI. 1 遵守する法令／省令など	119
XI. 2 引用文献	120
XI. 3 臨床研究実施スケジュール	127
XI. 4 Performance Status の Grade と判定基準	130
XI. 5 急性 GVHD の Grade	131
XI. 6 急性 GVHD の治療効果判定基準	132
XI. 7 同意説明文書及び同意文書 (被験者用)	135
XI. 8 同意説明文書及び同意文書 (ドナー用)	172

I. 遺伝子治療臨床研究の名称

ハプロタイプ一致ドナー由来 T 細胞除去造血幹細胞移植後の HSV-TK 遺伝子導入 T リンパ球 “Add-back” 療法

II. 総括責任者及びその他の研究者の氏名並びに当該遺伝子治療臨床研究において果たす役割

II.1 総括責任者の氏名

平家勇司

国立がんセンター中央病院・薬物療法部・幹細胞移植療法室・医長

遺伝子治療臨床研究に関する資料・情報の収集、遺伝子治療臨床研究の科学的妥当性・倫理性の検討、実験計画の作成及び国立がんセンター総長への提出、遺伝子治療臨床研究の適正実施の確認、遺伝子治療臨床研究の開始・終了・予期せぬ事態等の国立がんセンター総長及び遺伝子治療臨床研究審査委員会への説明/報告等

II.2 総括責任者以外の研究者の氏名及びその担当する役割

表1 総括責任者以外の研究者・協力者と役割分担

	氏名	所属	役職	役割分担
分担研究者	吉田輝彦	国立がんセンター研究所 ・腫瘍ゲノム解析・情報研究部	部長	遺伝子導入細胞製剤の製造管理責任者
	青木一教	国立がんセンター研究所 ・がん宿主免疫研究室	室長	遺伝子導入細胞製剤の品質管理責任者
	高上洋一	国立がんセンター中央病院 ・薬物療法部	薬物療法部長	臨床効果の評価
	飛内賢正	国立がんセンター中央病院 ・第一領域外来部	第一領域外来部長	臨床効果の評価
	森慎一郎	国立がんセンター中央病院 ・臨床検査部	細菌検査室医長	投与患者の診療
	金成元	国立がんセンター中央病院 ・特殊病棟部	13B病棟医師	投与患者の診療
	福田隆浩	国立がんセンター中央病院 ・特殊病棟部	12B病棟医長	投与患者の診療
	田野崎隆二	国立がんセンター中央病院 ・臨床検査部	輸血管理室医長	投与患者の診療
外部共同研究者	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	遺伝子導入用レトロウイルスベクターSFCMM-3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

Ⅲ. 実施施設の名称及びその所在地

名称：国立がんセンター 中央病院

所在地：東京都中央区築地五丁目 1 番 1 号

TEL : 03-3542-2511 FAX : 03-3547-5228

IV. 遺伝子治療臨床研究の目的

本遺伝子治療臨床研究は、高リスク造血器悪性腫瘍患者に対して、ヒト白血球抗原 (human leukocyte antigen: HLA) ハプロタイプ^{*1}一致ドナー由来 T 細胞除去造血幹細胞の移植を施行した後、レトロウイルスベクター-SFCMM-3 を用いて単純ヘルペスウイルス 1 型-チミジンキナーゼ (herpes simplex virus 1-thymidine kinase: HSV-TK) 遺伝子を導入した同一ドナー由来の T リンパ球を追加輸注 (Add-back^{*2}) する治療法の全体としての安全性及び有効性について検討することを目的とする。

早期に移植治療を必要とする高リスク造血器悪性腫瘍患者にとり、HLA 適合血縁ドナーが存在せず、バンクからの HLA 適合非血縁ドナーが存在しない、あるいはドナー検索にかかる時間的余裕が無い場合、ハプロタイプ一致 (HLA 2~3 座不一致) 血縁ドナーから移植を行うことが有効である。

しかしながら、HLA ハプロタイプ一致ドナー由来造血幹細胞の移植 (ミスマッチ移植) を行う上では、以下の 2 つの大きなバリアーにより、現時点、ミスマッチ移植は普及するに至っておらず、これらのバリアーの克服が課題となっている。

- 1) 拒絶頻度が高いこと (宿主対移植片方向のミスマッチ移植のバリアー)
- 2) 生着が得られたとしても、その後、重度の移植片対宿主病 (graft-versus-host disease: GVHD) が発症すること (移植片対宿主方向のミスマッチ移植のバリアー)

バリアー 1) に対しては、前処置により宿主側のリンパ球をある程度減少又は抑制させた上で、十分量の造血幹細胞を移植することにより、移植片に対する拒絶の頻度を減少させ、移植片の生着が得られることが周知となってきた。

本臨床研究においても、同様の手法を用いることを予定しており、その効果を検討することとなる。

バリアー 2) に対しては、ミスマッチ移植に用いる移植片から T 細胞を除去 (CD34 陽性細胞選択) することにより、GVHD 発症頻度を減少させる試みがなされてきたが、これに伴い易感染性と再発の回避が、新たな課題として発生した。

本臨床研究では、T 細胞除去したハプロタイプ一致ドナー由来の造血幹細胞を移植し、その後の早期免疫系再構築と移植片対悪性腫瘍作用 (graft-versus-malignancy: GVM) 効果を期待した T リンパ球の追加輸注 (Add-back) を実施することで、これらの課題の克服を企図している。その際、この T リンパ球の Add-back に伴う重度又は致死的な GVHD の発症が懸念されることから、GVHD 発症時に T リンパ球の制御が可能なように、自殺遺伝子である HSV-TK 遺伝子を導入した遺伝子導入 T リンパ球を用いた Add-back を計画している。

すなわち、本臨床研究の操作ステップは、大きく以下のとおりとなる (図 1 参照)。

① **ハプロタイプ一致ドナー由来 T 細胞除去造血幹細胞移植 (T 細胞除去ミスマッチ移植)**

ドナーに顆粒球コロニー刺激因子 (granulocyte colony-stimulating factor: G-CSF) を投与して造血幹細胞を末梢血に動員し (mobilize)、造血幹細胞を含む末梢血単核球 (peripheral blood mononuclear cell: PBMC) 画分を採取する。細胞分離装置により PBMC 画分から T 細胞を除去して CD34 陽性細胞を純化し、これを化学療法剤等による前処置後の対象患者に移植 (T 細胞除去ミスマッチ移植) する。

② **HSV-TK 遺伝子導入細胞の調製**

同一ドナー由来 T リンパ球を採取し、これに自殺遺伝子としての HSV-TK 遺伝子及び細胞表面マーカー遺伝子としての細胞内領域欠損ヒト低親和性神経成長因子受容体 (truncated low-affinity nerve growth factor receptor: Δ LNGFR) 遺伝子をレトロウイルスベクター*3により導入し、ex vivo で拡大培養して遺伝子導入細胞を調製する。

③ **HSV-TK 遺伝子導入 T リンパ球の Add-back**

T 細胞除去ミスマッチ移植した造血幹細胞が生着した時点以降で、遺伝子導入 T リンパ球を大量に Add-back する。

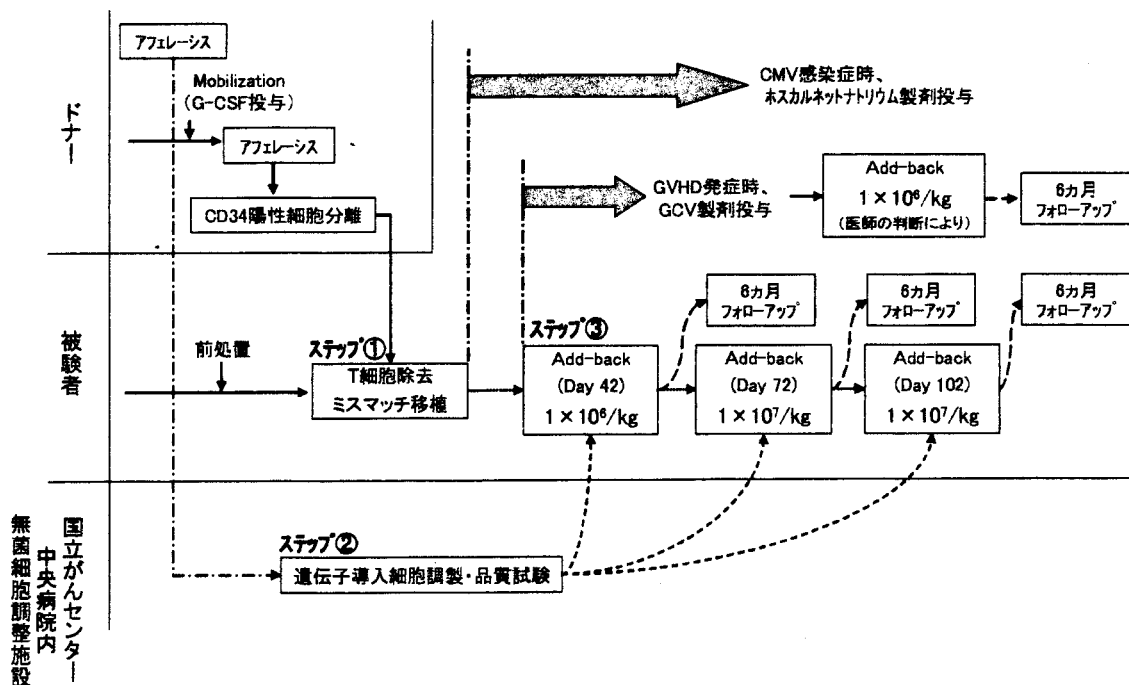


図1 本遺伝子治療臨床研究の全体計画フロー (プロトコール概要)

本臨床研究は、上記3ステップによる「HSV-TK 遺伝子導入 T リンパ球の Add-back 療法を含む新規ミスマッチ移植法の確立」を最終的な目的とする。そのために、治療法全体としての安全性の評価のほか、ステップ③「HSV-TK 遺伝子導入 T リンパ球の Add-back」においての T リンパ球の Add-back による T 細胞除去ミスマッチ移植を受けた患者の早期の免疫系再構築、免疫系再構築により感染症等の治療関連有害事象が予防又は軽減できるか否か、また疾患再発・増悪を阻止できるか否かの評価を目的とする。また、もし遺伝子導入 T リンパ球の Add-back により重篤な GVHD が発症した場合には、ガンシクロビル (ganciclovir: GCV) 製剤を投与することにより、HSV-TK 遺伝子の自殺機能を発揮させ、当該細胞の選択的な抹消により GVHD 症状が沈静化できるか否かを評価することも目的とする。

<主要エンドポイント>

- ・ 「ハプロタイプ一致ドナー由来 T 細胞除去造血幹細胞移植後の HSV-TK 遺伝子導入 T リンパ球 “Add-back” 療法」の安全性
- ・ HSV-TK 遺伝子導入 T リンパ球 Add-back 後の免疫系再構築並びに GVHD 発症頻度及び制御能

<副次的エンドポイント>

- ・ 「ハプロタイプ一致ドナー由来 T 細胞除去造血幹細胞移植後の HSV-TK 遺伝子導入 T リンパ球 “Add-back” 療法」における感染症頻度、無病生存率、及び全般生存率

V. 遺伝子治療臨床研究の対象疾患及びその選定理由

V.1 治療を直接の目的とした遺伝子治療臨床研究を行う場合

V.1.1 対象疾患に関する現時点での知見

【造血器悪性腫瘍患者に対する造血幹細胞移植の現状】

造血器悪性腫瘍の治療成績が、造血幹細胞移植の普及により格段に向上したことは周知であり、特に、HLA が適合した血縁者間での造血幹細胞移植は、既に確立した治療手段となっている。しかし、2人の兄弟姉妹間でHLA が一致する確率は1/4であり、患者の他に2人の兄弟姉妹が存在するとしても、約60%の患者は血縁者にHLA 適合ドナーが存在しない。このような場合、まずは、骨髄バンクを介して、HLA が適合又は1座不適合の非血縁者ドナーを探すこととなる。日本骨髄バンク (<http://www.jmdp.or.jp/index.html>) は、全米骨髄バンク (NMDP)、台湾骨髄バンク (BTCSCC)、韓国骨髄バンク (KMDP) と相互検索を提携して、HLA 1座不適合までのドナーを高い確率で見出すシステムを充実させてきたが、非血縁ドナーが存在しない可能性、及びドナーコーディネイトそのものに時間を要するという最大の問題がある。実際、日本骨髄バンクの患者登録者のうち、約8割にドナー候補が見出せるが移植がなされているのは半数以下であるのが現状である(上記ホームページ、日本骨髄バンクニュース vol 26)。更に今後、本邦での少子高齢化は深刻であり、移植を急ぐ患者にとっては、早急に造血幹細胞を調達できる移植システムのニーズがますます高まっている。

このニーズに対しては、臍帯血由来の造血幹細胞移植(臍帯血移植)とハプロタイプ一致血縁ドナー由来造血幹細胞移植(ミスマッチ移植)の大きく2つの方策が検討されてきた。

【本邦における成人に対する臍帯血移植の現状】

1988年 Gluckman らが Fanconi 貧血患者に対する HLA 一致同胞間臍帯血移植に成功して以来(1)、臍帯血移植は、骨髄移植、末梢血幹細胞移植に次ぐ第3の造血幹細胞移植として1990年代に臨床応用が開始された。わが国においては、1994年に最初の同胞間臍帯血移植が東海大学で行われ(2)、以来2004年までに45例の同胞間臍帯血移植が実施された(3)。非血縁者間の臍帯血移植は1997年に神奈川県臍帯血バンクを通じて実施され、緊急的移植にも迅速に対応可能であること、ドナーの負担がないこと、HLA 2座不一致まで移植可能であること等の利点があり、増加の一途を辿っている。1997年以降、当初の数年は小児における移植が大半を占めていたが、2002年以降は成人における移植件数が小児のそれを上回るようになった。50歳以上の高齢者における移植は2003年を境に急増している(図2)。

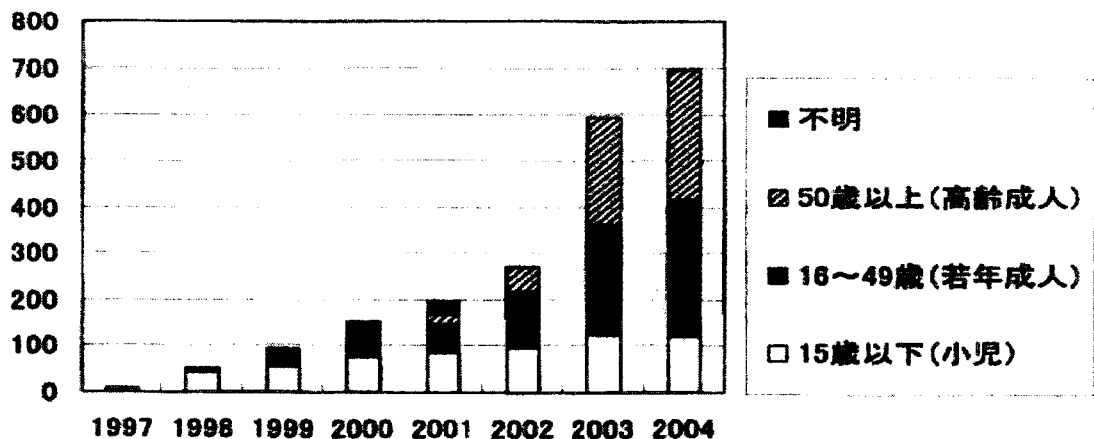


図2 わが国における非血縁者間臍帯血移植の年齢別実施数
(日本さい帯血バンクネットワークホームページより)

【当施設における臍帯血移植の経験】

国立がんセンター中央病院では、厚生科学研究ヒトゲノム・再生医療研究事業（斎藤班および高上班）の援助を受け、2003年8月1日より「RIST0304 非血縁者間臍帯血移植の安全性の検討 リン酸フルダラビン、ブスルファン、全身放射線照射併用多施設共同臨床研究」を行った。左記研究においては6症例の登録を行ったが、生着前の高熱など予想しなかった合併症が現れたため、多施設で行う前に解決すべき問題点があると判断し、2004年8月31日に多施設共同研究を中止した。その治療経験を元に2005年6月1日から厚生科学研究ヒトゲノム・再生医療研究事業（斎藤班および高上班）並びに厚生労働省科学研究効果的医療技術の確立推進臨床研究事業（谷口班）の支援を受け、「RICBT0501 非血縁者間臍帯血移植の安全性の検討 リン酸フルダラビン、ブスルファン、全身放射線照射併用2施設共同臨床研究」を開始し現在に至っており、臍帯血移植においても着実に経験を蓄積している。

【日米欧から報告された成人に対する臍帯血移植の成績】

15頁の表2に今までに報告された日米欧の多施設あるいは単施設からの成人に対する臍帯血移植の成績を記す(4-7)。

多くがハイリスク造血器悪性腫瘍例に対して行われ、ごく一部のHLA一致例を除いてはほとんどの症例で2抗原以上の不一致移植である。前処置は施設毎、疾患毎にさまざまであるが、GVHD予防はシクロスポリン+プレドニゾロン、シクロスポリン+メソトレキサートの2剤で行われる場合が多かった。移植された有核細胞数は、中央値で $1.5\sim 2.47\times 10^7/\text{kg}$ であった。4つの報告の患者背景はそれぞれに異なっているが、早期死亡率は4~14%、28あるいは42日以上生存した症例の好中球生着率は85~100%であり、好中球が $500/\mu\text{l}$ 以上に到達するのに中央値で22~27日を要している。血小板が $20,000/\mu\text{l}$ 以上に到達した症

例は 33～81%であり、中央値で 48～84 日を要した。急性 GVHD に関しては、Ⅱ度以上の発症頻度は 40～70%であるが、Ⅲ度以上の発症頻度は 7～32%とほとんどの症例で 2 抗原以上の不一致移植であるにもかかわらず高くない。慢性 GVHD の発症頻度は 32～90%と報告毎に大きく異なるが、限局型が多くを占めているという特徴がある。再発率に関しては、観察期間が短いため、ハイリスク症例を対象としているにもかかわらず高くない。移植関連死亡率、長期生存率に関しては、東京大学医科学研究所附属病院からの報告 (7) が他に比べて極めて良好である。これらの報告の結果から、以下が明らかにされた。

- ・ 成人に対する骨髄破壊的前処置を用いた臍帯血移植においても、造血の再構築が得られること。
- ・ 発症する急性・慢性 GVHD は許容できるものであること。
- ・ ハイリスク患者を対象とした場合でも 10～20 数%の長期生存が得られること。
- ・ 患者の年齢・移植された CD34 陽性細胞数が成績に相関すること。
- ・ 移植後 100 日以内の早期死亡例では感染症や前処置関連毒性が多いこと。