

第49回厚生科学審議会科学技術部会

— 議 事 次 第 —

【日 時】 平成21年4月15日（水） 17:00～19:00

【場 所】 厚生労働省 省議室（9階）

【議 題】

1. 部会長代理の指名について
2. 生殖補助医療研究目的でのヒト受精胚の作成・利用の在り方について
3. 遺伝子治療臨床研究について
4. ヒト幹細胞臨床研究について
5. その他

【配布資料】

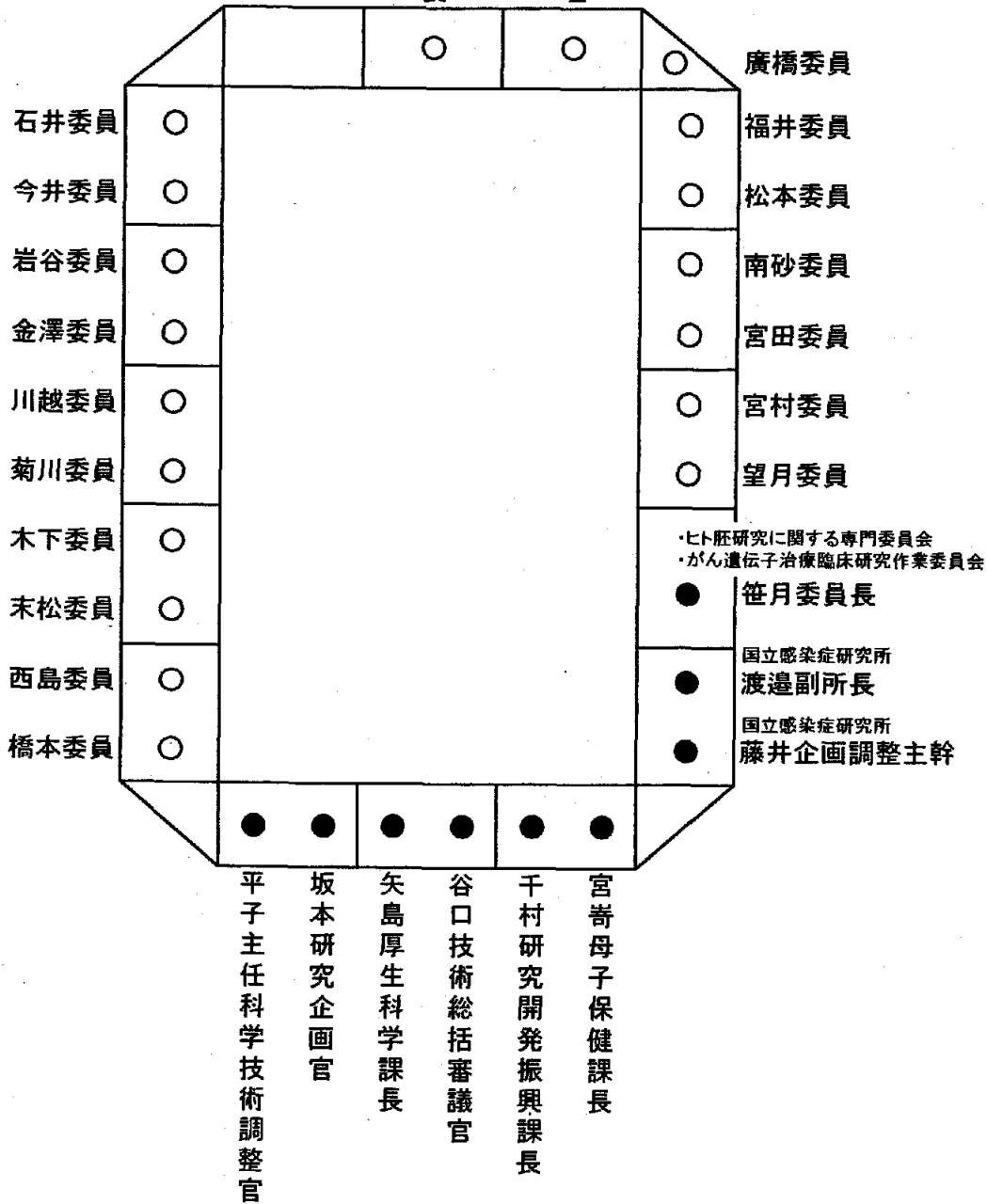
- 資料1. 厚生科学審議会科学技術部会委員名簿
- 資料2-1. 生殖補助医療研究目的でのヒト受精胚の作成・利用について（概要）
- 資料2-2. 生殖補助医療研究目的でのヒト受精胚の作成・利用の在り方について（案）
- 資料3-1. 遺伝子治療臨床研究実施計画について（東京大学医学部附属病院）
- 資料3-2. 遺伝子治療臨床研究に係る第一種使用規程について（東京大学医学部附属病院）
- 資料3-3. 遺伝子治療臨床研究実施計画について（国立がんセンター）
- 資料3-4. 遺伝子治療臨床研究に係る第一種使用規程について（国立がんセンター）
- 資料3-5. 遺伝子治療臨床研究終了報告について（東京大学医科学研究所附属病院）
- 資料4-1. ヒト幹細胞臨床研究実施計画の申請について
- 資料4-2. ヒト幹細胞臨床研究実施計画について
- 資料5-1. 国立感染症研究所の評価報告書等について
- 資料5-2. 平成21年度厚生労働科学研究費補助金公募要項（二次）
- 資料5-3. 戦略研究（がん、エイズ）の中間評価について
- 資料5-4. 厚生労働科学研究費補助金取扱規程等の主な改正内容について
- 参考資料1. 厚生科学審議会関係規程等
- 参考資料2. 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参考資料
- 参考資料3. ヒト幹細胞を用いる臨床研究実施計画の申請に関する参考資料
- 参考資料4. 厚生労働省の科学研究開発評価に関する指針（平成20年4月1日厚生労働省大臣官房厚生科学課長決定）

第49回厚生科学審議会科学技術部会

平成21年4月15日(水) 17:00~19:00
於: 厚生労働省 省議室(9階)

永井部会長

部会長代理



速記者

出入口

事務局

傍聴席

厚生科学審議会科学技術部会委員名簿

氏名	所属
いしい みちこ 石井 美智子	明治大学法学部教授
いまい みちこ 今井 通子	株式会社ル・ベルソー代表取締役
いわや つとむ 岩谷 力	国立障害者リハビリテーションセンター総長
かなざわ いちろう 金澤 一郎	日本学会会議会長
かわごえ こう 川越 厚	クリニック川越院長
きくかわ つよし 菊川 剛	日本医用光学機器工業会副会長
きのした かつゆき 木下 勝之	社団法人日本医師会常任理事
きりの たかあき 桐野 高明	国立国際医療センター総長
さとう ひろし 佐藤 洋	東北大学大学院医学系研究科教授
すえまつ まこと 末松 誠	慶応義塾大学医学部長
たけなか どういち 竹中 登一	アステラス製薬株式会社代表取締役会長
ながい りょうぞう ◎ 永井 良三	東京大学大学院医学系研究科教授
にしじま まさひろ 西島 正弘	国立医薬品食品衛生研究所長
はしもと のぶお 橋本 信夫	国立循環器病センター総長
ひろはし せつお 廣橋 説雄	国立がんセンター総長
ふくい つぐや 福井 次矢	聖路加国際病院院長
まつもと つねお 松本 恒雄	一橋大学大学院法学研究科教授
みなみ ひろこ 南 裕子	近大姫路大学長
みなみ まさご 南 砂	読売新聞東京本社編集委員
みやた みつる 宮田 満	日経BP社医療局主任編集委員
みやむら たつお 宮村 達男	国立感染症研究所長
もちづき まさたか 望月 正隆	東京理科大学薬学部教授

生殖補助医療研究目的でのヒト受精胚の作成・利用の在り方について
(概要)

平成21年4月15日
厚生労働省雇用均等・児童家庭局母子保健課

1. 経緯

- 総合科学技術会議意見「ヒト胚の取扱いに関する基本的考え方」(平成16年7月)に基づき、平成17年、生殖補助医療研究目的でのヒト受精胚の作成・利用に関するガイドラインの作成に向け、文科・厚労の両省で検討を開始。
- 平成21年1月26日、両省の合同による専門委員会*において、ガイドラインを作成する上で基本的考え方となる報告書(案)の取り纏め。

※科学技術・学術審議会 生命倫理・安全部会 生殖補助医療研究専門委員会
厚生科学審議会 科学技術部会 ヒト胚研究に関する専門委員会

2. 報告書(案)のポイント

(1) 検討の対象

- 生殖補助医療の向上に資する研究でヒト受精胚の作成を伴うもの。

(2) 作成されるヒト受精胚の取扱い等

- 取扱期間は、受精後14日以内(原始線条の形成前まで)。
- 人又は動物への胎内移植は禁止。
- 研究終了後は、速やかに廃棄。
- 作成したヒト受精胚の他の機関への移送は禁止。

(3) 研究に必要な配偶子(卵子、精子)の入手の在り方

- 基本的考え方
 - ・ 配偶子の提供は、無償とする。
 - ・ いわゆる「無償ボランティア」からの卵子の採取は、当面禁止
 - ・ 自由意思によるインフォームド・コンセントの確保
 - ・ 提供の際の、肉体的侵襲や精神的負担の最小化(特に卵子)

・ 提供者の個人情報の保護

○ 研究への提供が認められる卵子

- ① 生殖補助医療に用いられない卵子（非受精卵や不要化した凍結卵子等）
- ② 手術等により摘出された卵巣や卵巣切片から採取された卵子
- ③ 生殖補助医療目的で採取する卵子の一部*

- － 卵子の提供について、一般的な広報手段（ポスター等）により情報を入手した後に、本人から自発的な申し出があった場合
- － 採取する卵子の一部を研究に提供する機会があることについて、主治医等から患者に対して情報提供が行われた後に、本人から申し出があった場合

※③については、次の事項を機関内倫理審査委員会が事前及び事後に確認することを条件に、提供を認める。

- ・ 採取の際、提供者に本来の治療目的以上の侵襲を加えないこと。
- ・ 排卵誘発剤の過剰な使用等の疑念が持たれないよう、その使用量など治療の詳細な記録を保存。
- ・ インフォームド・コンセントの際、結果として治療成績の低下につながる可能性があることを説明。
- ・ 写真等による採取した卵子の数や形状等の記録。

(4) インフォームド・コンセント

- 卵子の提供について、具体的な研究内容が確定していない段階でのインフォームド・コンセントを禁止。（将来の研究利用のための保存についてのインフォームド・コンセントは可。）
- インフォームド・コンセントは原則、いつでも撤回可能。
- 提供者が医療の過程にある場合は、提供機関が「説明者」を配置。
 - ・ 提供者が医療の過程にある場合、提供者の医療に直接関与せず、提供者保護を最優先に行う「説明者」から、インフォームド・コンセントの説明を行う。
- その他、提供が認められる卵子等に応じた要件・手続。

(5) 研究実施の要件

- 提供機関と研究実施機関が別の場合、同一の場合、それぞれについて検討。
 - ① 研究実施機関
 - ・ 研究実施機関の要件、研究実施機関の長の責務と要件、研究責任者の責務と要件、研究実施者の責務と要件

② 提供機関

- ・ 提供機関の要件、提供機関の長の責務と要件

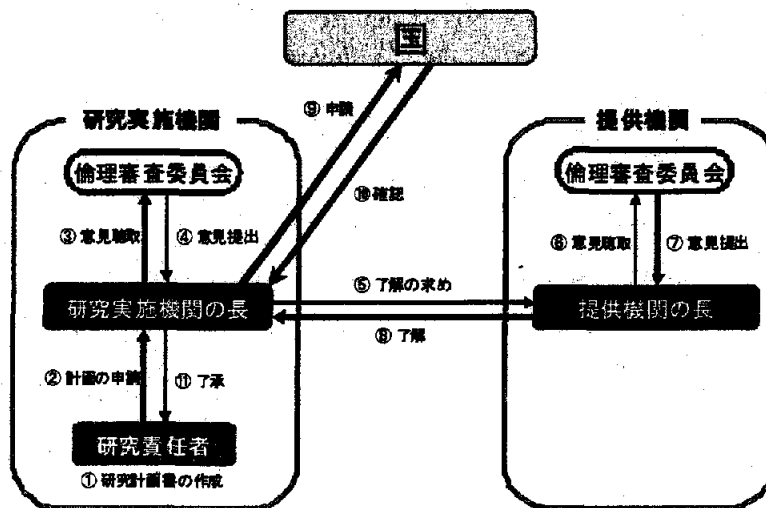
③ 機関内倫理審査委員会

(構成員の要件、関係者の審査への参画の制限、議事内容の原則公開)

(6) 研究実施の手続等

- 研究計画の妥当性について、研究実施機関、提供機関それぞれの機関内倫理審査委員会において審査を行い、それぞれの機関の長の了承(了解)を得る。
- 研究計画の指針適合性を国が確認。
- 研究実施機関の長は、作成される受精胚の管理状況を定期的に国に報告。

審査に係る手続の流れ



※ 研究実施機関と提供機関が同一の場合は、⑤～⑩の手続は不要。

(7) 個人情報の保護等

- 提供機関において、提供者の個人情報を匿名化。
- 研究実施機関において、「個人情報管理者」(個人情報の管理を行う責任者)を設置。
- その他、医学研究に関連する倫理指針と同様の措置を講ずる。
- 研究成果は、原則公開。

第49回科学技術部会	資料2-2
平成21年4月15日	

生殖補助医療研究目的でのヒト受精胚の
作成・利用の在り方について
(案)

平成21年 月

厚生労働省 厚生科学審議会 科学技術部会
文部科学省 科学技術・学術審議会 生命倫理・安全部会

目次

第1章 総論	… 1
第1節 検討経緯	… 1
第2節 総論的事項	… 1
1. 検討の対象	… 1
2. 作成されるヒト受精胚の取扱い等	… 2
第2章 配偶子の入手の在り方	… 4
第1節 共通的事項	… 4
第2節 卵子の入手	… 4
1. 基本的考え方	… 4
2. 提供が認められる卵子	… 5
3. いわゆる無償ボランティアからの卵子の採取	… 6
第3節 精子の入手	… 8
第3章 インフォームド・コンセント	… 9
第1節 総論的事項	… 9
1. 説明の方法及び内容等	… 9
2. 将来的な研究利用のための配偶子の提供及び保存	…10
3. インフォームド・コンセントの撤回	…11
4. 医療の過程でインフォームド・コンセントを受ける場合の説明	…11

第2節	卵子の提供におけるインフォームド・コンセント	…12
1.	凍結保存された卵子の提供を受ける場合	…12
2.	非凍結の卵子の提供を受ける場合	…14
第3節	精子の提供におけるインフォームド・コンセント	…21
第4章	研究実施の要件及び手続等	…22
第1節	研究実施の要件	…22
1.	研究実施機関及び提供機関	…22
2.	機関、機関の長及び研究者等の要件	…22
3.	ヒト受精卵の他の機関への移送の禁止	…27
第2節	研究実施の手続等	…27
1.	国の関与の在り方	…27
2.	審査に係る手続	…28
第5章	個人情報の保護等	…31
1.	個人情報の保護	…31
2.	情報の公開	…31
参考資料1	審議経過	… i
1.	両専門委員会における審議	… i
2.	両部会における審議	… vii
参考資料2	厚生労働省 厚生科学審議会 科学技術部会 ヒト胚研究に関する専門委員会委員名簿	… viii
参考資料3	文部科学省 科学技術・学術審議会 生命倫理・安全部会 生殖補助医療研究専門委員会委員名簿	… ix

第1章 総論

第1節 検討経緯

平成16年7月、総合科学技術会議は、その意見「ヒト胚の取扱いに関する基本的考え方」（以下「総合科学技術会議意見」という。）において、「研究材料として使用するために新たに受精によりヒト胚を作成しないこと」などを原則（「ヒト受精胚尊重の原則」）としつつ、その例外として、生殖補助医療研究のためのヒト受精胚の作成・利用については、十分科学的に合理性があるとともに、社会的にも妥当性があるため、容認し得るとした。

その上で、総合科学技術会議意見は、例外的に作成・利用が認められるヒト受精胚の取扱いについて、ヒト受精胚尊重の原則を踏まえた取扱い手続を定めるとともに、未受精卵の入手制限や自由意思によるインフォームド・コンセントの徹底、不必要な侵襲の防止など、未受精卵の提供者である女性の保護を図るための制度的枠組みを整備する必要があるとしている。

さらに、生殖補助医療研究目的でヒト受精胚の作成・利用を行う研究を実施するための枠組みとして、文部科学省及び厚生労働省において、ガイドラインの具体的な内容を検討し、策定する必要があるとしている。

これを受けて、本検討のため、平成17年7月に厚生労働省では厚生科学審議会科学技術部会の下に「ヒト胚研究に関する専門委員会」を、同年10月に文部科学省では科学技術・学術審議会生命倫理・安全部会の下に「生殖補助医療研究専門委員会」をそれぞれ設置し、「ヒト胚研究に関する専門委員会」においては25回、「生殖補助医療研究専門委員会」においては24回にわたり審議を行った（これらのうち23回は、両専門委員会による合同開催）。

第2節 総論的事項

1. 検討の対象

本報告書では、生殖補助医療の向上に資する研究でヒト受精胚の作成を伴うものを検討の対象とした。

具体的には、

- ・ 正常な受精又は受精率の向上を目的とする受精メカニズムに関する研究
- ・ 正常な胚の発生及び発育の補助を目的とする胚発生・発育に関する研究
- ・ 正常な胚の着床又は着床率の向上を目的とする着床メカニズムに関する研究
- ・ 配偶子及び胚の保存効率の向上に関する研究（当該配偶子を用いて新たに胚を作成することまでを一連のプロセスとする研究に限る。）

等が考えられる。

2. 作成されるヒト受精胚の取扱い等

（ヒト受精胚の作成の制限）

生殖補助医療研究目的でのヒト受精胚の作成は、ヒト受精胚尊重の原則の例外として認められるものであることを踏まえ、当該研究に必要とされる最小限のものに限ることとする。

（ヒト受精胚の取扱期間）

総合科学技術会議意見は、ヒト受精胚は、原始線条を形成して臓器の分化を開始する前までは、ヒト受精胚の細胞（胚性細胞）が多分化性を有していることから、ヒト個体としての発育を開始する段階に至っていないと考えることができるが、原始線条を形成して臓器分化を開始してからは、ヒト個体としての発育を開始したものと考えられることができる。これを踏まえ、研究目的でのヒト受精胚の作成・利用においては、その取扱期間を原始線条の形成前までに限定すべきであるとしている。

このため、作成されるヒト受精胚の取扱期間は、原始線条の形成前までに限定することとする。具体的には、受精後14日以内とし、14日以内であっても原始線条が形成された場合には取り扱わないこととする。

なお、ヒト受精胚を凍結する場合には、当該凍結期間は取扱期間に算入しないこととする。

（ヒト受精胚の胎内への移植の禁止）

総合科学技術会議意見は、ヒト受精胚の取扱いのための具体的な遵守事項の一つとして、研究に用いたヒト受精胚を臨床に用いないこととしている。

このため、作成されるヒト受精胚を人又は動物の胎内に移植することを禁止することとする。

（研究終了後の取扱い）

作成されるヒト受精胚は、研究終了後に、速やかに廃棄することとする。

第2章 配偶子の入手の在り方

総合科学技術会議意見は、ヒト受精胚を作成し、これを利用する研究では、必ず未受精卵を使用するものであるが、その入手については、採取に当たっての提供女性の肉体的侵襲や精神的負担、更には採取が拡大し広範に行われるようになった場合の人間の道具化・手段化といった懸念も考慮し、個々の研究において必要最小限の範囲に限定し、みだりに未受精卵を採取することを防止しなければならないとしている。

第1節 共通的事項

(無償提供)

配偶子の提供は無償とする。ただし、提供に伴って発生する新たな費用(提供者の交通費等)に限り、実費相当分を必要な経費として認めることとする。

(未成年者等からの配偶子の入手の禁止)

ヒト受精胚の作成を伴う生殖補助医療研究に利用するための配偶子(卵子・精子)の提供者については、十分な同意能力が必要であることから、未成年者等同意能力を欠く者からの入手は認めないこととする。

第2節 卵子の入手

1. 基本的考え方

卵子(未受精卵)の採取は、精子の採取より肉体的侵襲や精神的負担が大きく、また、一度に採取できる数等に違いがあることから、卵子の提供を受ける際には慎重な配慮が必要である。

このため、卵子の提供を受ける際には、

- ・自由意思によるインフォームド・コンセントの徹底
- ・肉体的侵襲や精神的負担の最小化
- ・個人情報の保護

を確保することを条件とする。

2. 提供が認められる卵子

(1) 入手し得る卵子の分類

総合科学技術会議意見では、卵子の入手について、

- ①生殖補助医療目的で採取された未受精卵の一部利用
- ②手術等により摘出された卵巣や卵巣切片からの採取
- ③媒精したものの受精に至らなかった非受精卵の利用
- ④卵子保存の目的で作成された凍結未受精卵の不要化に伴う利用

等の可能性が示されている。

さらに、このうち①「生殖補助医療目的で採取された未受精卵の一部利用」については、具体的に次のとおり分類できる。

- ①-1：形態学的な異常により生殖補助医療に用いられない卵子の利用
- ①-2：形態学的な異常はないが、精子等の理由で結果的に生殖補助医療に用いられない卵子の利用
- ①-3：生殖補助医療目的で採取する卵子の一部の利用

(2) 提供が認められる卵子及びその条件

(1)に掲げる卵子の入手については、いずれも1.に掲げる条件を満たす場合に限り、認めることとする。

また、このうち①-3「生殖補助医療目的で採取する卵子の一部の利用」については、以下の懸念等が考えられるため、一層の配慮が必要である。

- ・排卵誘発剤による過剰排卵や卵子の選別方法に対する疑念が生じる可能性があること。
- ・本来の治療に用いることができる卵子の数が減るという意味で、結果として治療成績の低下につながる場合があり得ること。
- ・採取する卵子の一部を研究のために提供する機会があることについての情報提供が主治医等から行われる場合、患者との関係によっては、卵子の提供に関する同意に際して、自由意思が必ずしも確保されない可能性があること。

一方、当該卵子の提供については、生殖補助医療技術の発展や向上に貢献できるという意味で、提供者である患者自身に、研究のため提供を行うインセンティブが働く可能性がある。さらに、採取は生殖補助医療の目的で行われたものであり、その一部を研究利用することで、提供者に本来の治療以上の新たな(不必要な)侵襲が加えられることはない。

以上を踏まえ、①-3「生殖補助医療目的で採取する卵子の一部を研究に利

用する場合」については、提供者保護等の観点から、更に次の事項が満たされることを機関内倫理審査委員会が事前及び事後に確認する場合に限り、提供を認めることとする。

- ・生殖補助医療目的での採取が行われる際に、提供者に本来の治療目的以上の新たな侵襲を加えないこと。
- ・排卵誘発剤の過剰な使用等の疑念が持たれないよう、使用量など治療の詳細な記録が保存されること。
- ・卵子を研究に提供することにより、本来の治療に用いることができる卵子の数が減るという意味で、結果として治療成績の低下につながる場合があり得ることをインフォームド・コンセントの際に説明すること。
- ・治療に必要な卵子まで研究に用いられることのないよう、採取した卵子及び研究に提供される卵子の数や形状等につき、写真等を用いて記録に残すこと。

また、当該卵子の提供者は、生殖補助医療に伴う肉体的侵襲や精神的負担、提供が結果として治療成績の低下につながる場合があり得ること等について十分に理解している必要があるため、少なくとも過去に1度は体外受精又は顕微授精を受けた経験のある者が望ましいこととする。

なお、以上を確保するためのインフォームド・コンセントの際の手続等については、第3章第2節2. (2) に示す。

3. いわゆる無償ボランティアからの卵子の採取

(1) 総合科学技術会議の考え方

総合科学技術会議意見は、いわゆる無償ボランティアからの未受精卵の採取については、自発的な提供を望む気持ちは尊いものとして尊重するとしても、一方で、関係者である女性に未受精卵の提供が過大に期待される環境が形成され、本当の意味での自由意思からの提供とならない場合も考えられるため、原則、認めるべきではないとしている。

(2) 今回の検討における議論

いわゆる無償ボランティアからの卵子の採取（専ら研究目的のために卵子を採取する場合）について、総合科学技術会議意見の考え方を踏まえつつ検討した結果、次のとおり「認めるべきでない」（慎重に対応すべき）とする意見と「認めるべきである」とする意見の両論が存在した。

① 「認めるべきでない」とする意見

- ・本人が肉体的侵襲や精神的負担について十分に理解した上で、自発的に

申し出を行う純然たる無償ボランティアの自由意思は尊重されるべきである。しかし、韓国ソウル大学の人クローン胚研究に見られたように、卵子を提供するよう心理的圧力を受けやすい立場にある女性が存在する可能性があること、純然たる無償ボランティアの自由意思であるか否かを確認することが困難であること等の問題があることから、現時点において、無償ボランティアからの卵子の採取は認めるべきでないのではないか。

- ・ 卵子を採取するための^{せんし}穿刺、排卵誘発剤の投与等による副作用として、個人差はあるものの、かなり大きな肉体的侵襲や精神的負担が生じる可能性があることにかんがみれば、治療の一環ではない、専ら研究目的での卵子の採取には慎重であるべきではないか。

② 「認めるべきである」とする意見

- ・ 肉体的侵襲や精神的負担について十分に理解した上で、自発的に申し出を行う純然たる無償ボランティアであれば、研究目的での卵子の採取は認めるべきではないか。
- ・ 関係者等である女性に卵子の提供が過大に期待される環境が形成され、本当の意味での自由意思からの提供とならない場合も考えられることをもって、それが直ちに無償ボランティアからの採取を一律に認めないということにはならないのではないか。
- ・ ヒト受精胚の作成を伴う研究を進める上では、比較的状态の良い卵子を一定数確保することが望まれるが、通常、卵子の入手は非常に困難であり、入手できたとしても卵子の状態が良いとは限らないため、無償ボランティアからの採取を認めた方が、研究によって得られる社会的利益は大きくなるのではないか。

③ その他の意見

以上のほか、卵子の採取には大きな肉体的・精神的・経済的負担が伴うことから、ボランティアを募るのであれば、無償ではなく、有償でなければ現実的ではないとする意見もあった。

(3) 当面の取扱い

いわゆる無償ボランティアからの卵子の採取については、「認めるべきでない」とする意見と「認めるべきである」とする意見の両論が存在する状況にあるが、

- ・ 提供者の保護等に関する様々な問題が指摘されていること。特に、治療に

- おける必要性から行うものではない新たな肉体的侵襲や精神的負担を与えることになること
- ・生殖補助医療目的で採取される卵子の一部利用等が可能であれば、研究の実施に必要な卵子の確保も可能と考えられること
- にかんがみ、当面は、無償ボランティアからの採取を認めないこととする。

第3節 精子の入手

(提供を受ける際の条件)

精子の提供を受ける際には、

- ・自由意思によるインフォームド・コンセントの徹底
- ・個人情報の保護

を確保することを条件とする。

なお、精子の採取は、卵子の採取と比べ肉体的侵襲や精神的負担が小さいと考えられることから、原則として自発的な申し出があった場合に限り、研究目的での精子の採取を認めることとする。ただし、研究の実施において特定の者からの採取が必要不可欠である場合には、その科学的合理性及び社会的妥当性について十分検討を行い、適切なインフォームド・コンセントを受けた上で、当該特定の者に提供を依頼できることとする。

(提供が認められる精子)

提供が認められる精子の具体例としては、以下のとおり。

- ①生殖補助医療目的で採取されたが、結果的に用いられない精子
- ②泌尿器疾患等の手術により摘出された精巣又は精巣切片から採取される精子
- ③外来検査受診の後に不要となる精子
- ④生殖補助医療研究目的で採取される精子

第3章 インフォームド・コンセント

総合科学技術会議意見は、特に未受精卵の入手について、提供への同意に心理的圧力がかかることがないよう、女性の保護を図る必要があるため、自由意思によるインフォームド・コンセントの徹底等を義務づける必要があるとしている。

第1節 総論的事項

1. 説明の方法及び内容等

(文書によるインフォームド・コンセント)

提供者からのインフォームド・コンセントは、文書により受けることとする。

(説明内容)

インフォームド・コンセントの説明は、次の内容を記載した説明書を用いて行うこととする。

[研究の内容、研究体制等]

- ・ 研究の概要（研究課題名、目的、方法、期間、資金源等）
- ・ 予想される研究の成果
- ・ 研究組織（研究実施機関名、研究責任者の氏名及び職名、その他必要な情報）
- ・ 問合せの連絡先等

[提供される配偶子等の取扱い]

- ・ 提供される配偶子並びに研究終了後のヒト受精胚及び試料の取扱い
 - 滅失・廃棄、保存（保存場所、保存方法、保存期間、最終的な処分方法）、管理及び将来の利用について
 - 提供者の有する権利（将来の利用に関する決定、保存の拒否等）について
 - インフォームド・コンセントの撤回を申し出た場合でも、研究を中止できない場合があることについて

[提供に関する利益／不利益]

- ・ 提供の有無が提供者に対して何らかの利益又は不利益をもたらすものではないこと。

- ・原則としていつでも不利益を受けることなくインフォームド・コンセントの撤回が可能であること及び撤回が不可能となる場合の具体的な条件
- ・提供者に対して予測される危険性や不利益（危険性や不利益について過小評価しないことに留意する。）
- ・提供が無償であること及び提供者が将来にわたり報酬を受けることのないこと。
- ・研究の成果から特許権、著作権その他知的財産権又は経済的利益が生ずる可能性があること及びこれらが提供者に帰属しないこと。
- ・提供者の希望により、他の提供者の個人情報保護に支障がない範囲内で、当該研究の計画書等の資料を入手又は閲覧できること。

[個人情報の保護等]

- ・個人情報の保護の具体的な方法
- ・提供者を特定できないようにした上で、研究の成果が公開される可能性があること。

[その他必要な事項]

(インフォームド・コンセントを受ける者)

インフォームド・コンセントを受ける者（提供者が同意の署名を行う際の同意書上の名宛人）は、提供機関の長とする。

(機関内倫理審査委員会による確認)

機関内倫理審査委員会は、実際にインフォームド・コンセントが適切に行われたことについて、説明書や署名を受けた同意文書等により、事後に確認することとする。

2. 将来の研究利用のための配偶子の提供及び保存

将来の研究利用のための配偶子の提供については、具体的な研究計画が確定していない段階でインフォームド・コンセントを受けることを認めないこととする。

将来の研究利用のための配偶子の保存については、具体的な研究計画が確定していない段階でも、次の条件の下でインフォームド・コンセントを受けることを認めることとする。

- ・当該配偶子が治療に用いられず廃棄されることについて、提供者により確認されていること。

- ・具体的な研究計画が確定した後に、改めて当該配偶子の提供についてインフォームド・コンセントを受けること。

3. インフォームド・コンセントの撤回

(インフォームド・コンセントの撤回)

インフォームド・コンセントの撤回は、既に終了している研究内容に対するものを除き、いつでも行うことができることとする。

提供者から撤回の申し出があった場合、提供者が自らの生殖補助医療に用いることを希望する場合を除き、原則として提供された配偶子等を廃棄し、その旨を文書により提供者に報告しなければならない。

(撤回後も研究の継続が認められる場合)

インフォームド・コンセントの撤回の申し出があった場合でも、次のいずれかの場合には、当該研究の継続を認めることとする。

- ・既に連結不可能匿名化されている場合
- ・研究を継続することが適当であると倫理審査委員会が判断し、かつ、研究実施機関の長が了承した場合

(熟考する機会の確保への配慮)

インフォームド・コンセントは原則としていつでも撤回できるが、例外として上記のように撤回後も研究の継続が認められる場合がある。提供者保護の観点から、提供者が熟考する機会を持てるよう、インフォームド・コンセントを受けてから研究を開始するまで可能な限り一定の期間を確保することが望ましい。

4. 医療の過程でインフォームド・コンセントを受ける場合の説明

医療（生殖補助医療の過程と、生殖補助医療以外の疾患の治療過程の両方を含む。以下同じ。）の過程で卵子提供についてのインフォームド・コンセントを受ける場合、提供者に対し、心理的圧力等がかかることなく十分な理解の下で自由な意思決定を行うことができるような環境が確保されなければならない。

このため、提供機関は、このような環境を確保するよう努めるとともに、主治医とは別に、インフォームド・コンセントの説明を行う説明者を置くこととする。

説明者は、心理的圧力により提供者の意思に反してインフォームド・コンセントの手続が行われることのないよう、提供者保護を最優先に説明を行うこととする。

また、説明者は提供機関に所属する者でも構わないが、提供者に対する医療に直接関与しない者でなければならない。さらに、必要な教育・訓練を受ける等により、生殖補助医療及び生殖補助医療研究に深い知識を有する者でなければならない。

第2節 卵子の提供におけるインフォームド・コンセント

卵子の提供におけるインフォームド・コンセントの際の手続については、凍結保存期間の有無、提供者が受けている医療の種類等に応じて定める必要がある。

第2章第2節2. の提供が認められる卵子については、次の場合が考えられる。

1. 凍結保存された卵子の提供を受ける場合
2. 非凍結の卵子の提供を受ける場合
 - (1) 卵子の不要化に伴い提供を受ける場合
 - ① 生殖補助医療の過程で生じた卵子の不要化に伴い提供を受ける場合
 - ② 生殖補助医療以外の医療の過程で生じた卵子の不要化に伴い提供を受ける場合
 - (2) 生殖補助医療目的で採取する卵子の一部を研究に利用する場合
 - ① 卵子の提供について、一般的な広報手段により情報を入手した後に、本人から自発的な申し出がある場合
 - ② 採取する卵子の一部を研究に提供する機会があることについて、主治医等から患者に対して情報提供を行う場合

1. 凍結保存された卵子の提供を受ける場合

具体的には、次の場合が考えられる。

- ・ 将来の生殖補助医療のために凍結保存された卵子の不要化に伴う利用
(第2章第2節2. (1) ④参照)
- － 形態学的な異常はないが、精子等の理由で生殖補助医療に用いられず凍結保存された卵子

- 疾患の治療等のため将来の妊娠に備えて凍結保存された卵子
- ・ 将来の研究利用のために凍結保存された卵子の利用（第3章第1節2. 参照）

(i) インフォームド・コンセント

(時期)

将来の生殖補助医療のために凍結保存された卵子の不要化に伴う利用の場合、当該生殖補助医療に利用しないことが決定された後、インフォームド・コンセントを受けることとする。

将来の研究利用のために凍結保存された卵子の場合、治療に用いられず廃棄されることが提供者本人によって確認されており、かつ、具体的な研究計画が確定した後、インフォームド・コンセントを受けることとする。

(同意権者)

夫婦と医療機関との契約に基づく生殖補助医療の目的で採取された卵子の場合、インフォームド・コンセントは夫婦双方から受けることとする（ただし、インフォームド・コンセントの時点で夫婦でない場合は、提供者本人から受けることで構わない）。

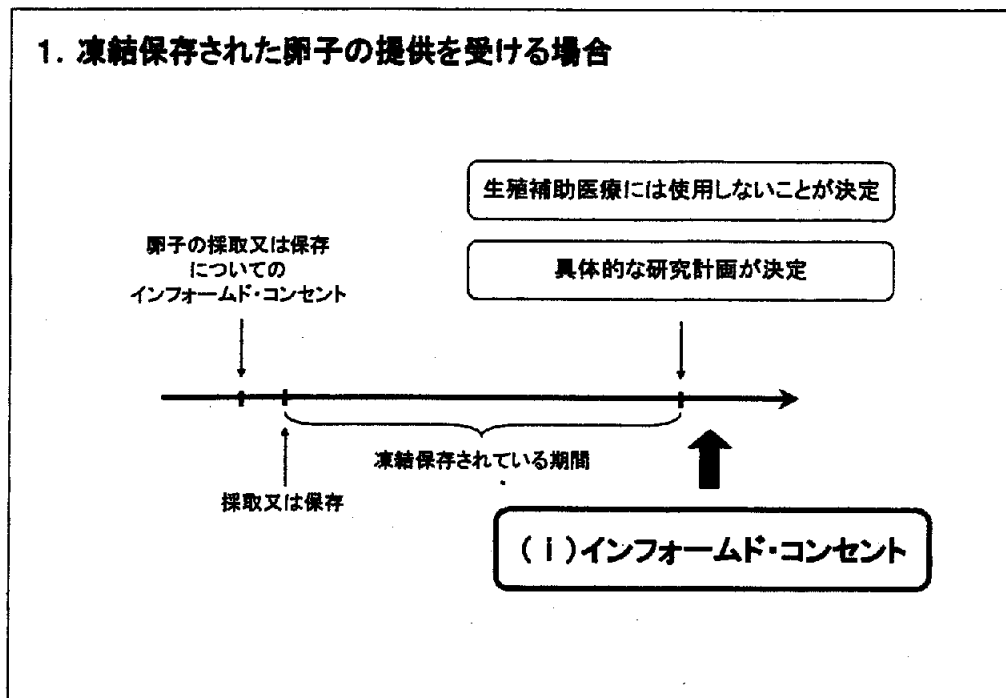
その他の場合（生殖補助医療以外の医療の目的で採取された卵子の場合）には、提供者本人から受けることとする。

(説明者)

医療の過程でインフォームド・コンセントを受ける場合、主治医とは別に説明者を置くこととする。

一方、医療の過程が終了した後にインフォームド・コンセントを受ける場合には、主治医とは別に説明者を置く必要はないこととする。

1. 凍結保存された卵子の提供を受ける場合



2. 非凍結の卵子の提供を受ける場合

(1) 卵子の不要化に伴い提供を受ける場合

① 生殖補助医療の過程で生じた卵子の不要化に伴い提供を受ける場合

具体的には、次の場合が考えられる。

- ・媒精したものの受精に至らなかった卵子（第2章第2節2.（1）③参照）
- ・形態学的な異常により生殖補助医療に用いられない卵子（第2章第2節2.（1）①-1参照）
- ・形態学的な異常はないが、精子等の理由で結果的に生殖補助医療に用いられない卵子（第2章第2節2.（1）①-2参照）

(i) 事前説明

非凍結の卵子を用いてヒト受精胚の作成を伴う研究を行う場合、技術上、採卵後数時間以内にヒト受精胚を作成する必要がある。このため、採取された卵子について、生殖補助医療に用いず、凍結保存もしないことが決定された場合、研究利用についてのインフォームド・コンセントを受けるまでの時間及びその撤回可能期間を十分確保することは実質的に困難である。このよ

うな場合は、インフォームド・コンセントとは別に、あらかじめ研究利用についての事前説明を行うこととするのが適当である。

(時期)

研究利用についての事前説明は、生殖補助医療に関するインフォームド・コンセントの後に、事前説明を、文書を用いて夫婦双方に行うこととする。

事前説明は、主治医が行っても構わないこととする。

事前説明の内容は、次の事項を含むこととする。

- ・生殖補助医療に用いられない卵子を研究に利用すること。
- ・研究の目的及び方法
- ・予想される研究の成果
- ・生殖補助医療に用いられない卵子が生じた際に、改めてインフォームド・コンセントを提供者本人から受けること。

事前説明を受けたことについて、夫婦双方から署名を受けることとする。

(ii) インフォームド・コンセント

(時期)

当該卵子を生殖補助医療に利用しないことが決定された後、インフォームド・コンセントを受けることとする。

(同意権者)

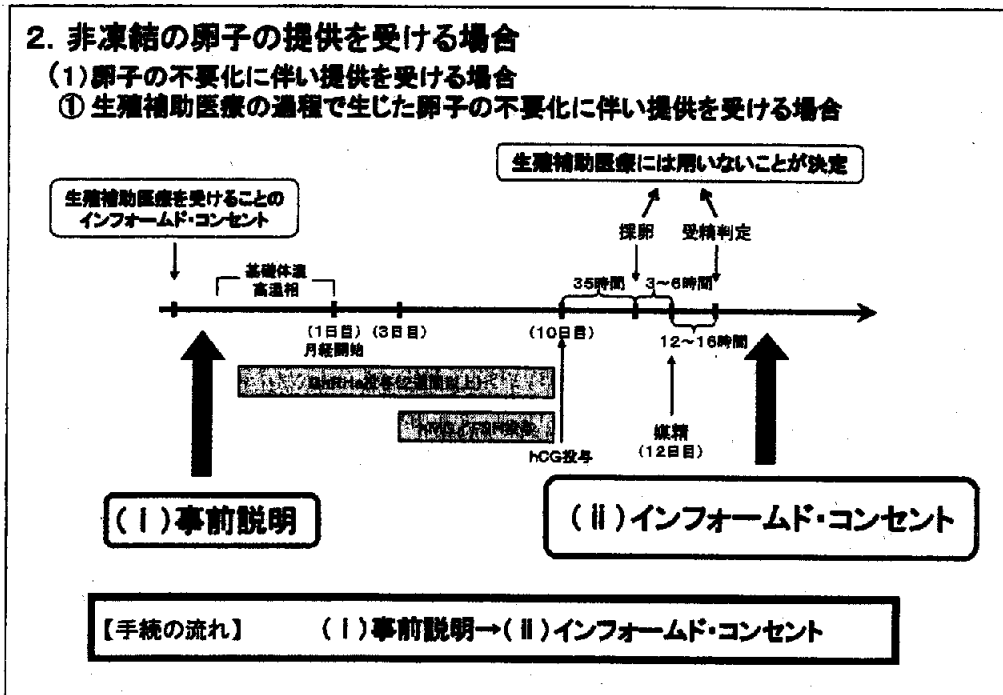
夫婦双方に事前説明を行っているため、インフォームド・コンセントは提供者本人から受けることで足りることとする。

(説明者)

主治医とは別に説明者を置くこととする。

(留意事項)

インフォームド・コンセントの撤回可能期間が実質的に数時間しかないことについても説明することとする。



② 生殖補助医療以外の医療の過程で生じた卵子の不要化に伴い提供を受ける場合

具体的には、手術等により摘出された卵巣や卵巣切片から採取される卵子の場合（第2章第2節2. (1) ②参照）が考えられる。

(i) インフォームド・コンセント

(時期)

手術のためのインフォームド・コンセントにおいて摘出される卵巣又は卵巣切片の廃棄の意思が確認された後、これらの研究への提供についてインフォームド・コンセントを受けることとする。

(同意権者)

生殖補助医療ではないため、インフォームド・コンセントは提供者本人から受けることで足りることとする。

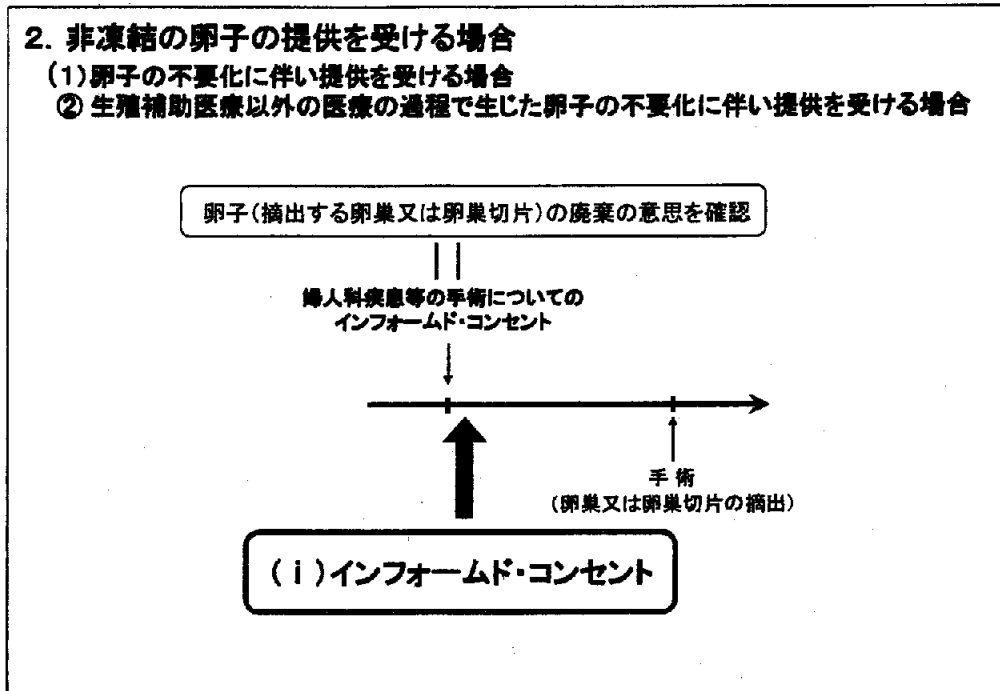
(説明者)

主治医とは別に説明者を置くこととする。

2. 非凍結の卵子の提供を受ける場合

(1) 卵子の不要化に伴い提供を受ける場合

② 生殖補助医療以外の医療の過程で生じた卵子の不要化に伴い提供を受ける場合



(2) 生殖補助医療目的で採取する卵子の一部を研究に利用する場合 (第2章第2節2.(1)①-3参照)

① 卵子の提供について、一般的な広報手段により情報を入手した後に、本人から自発的な申し出がある場合

(i) 自発的な申し出

生殖補助医療を受けている患者が、生殖補助医療目的で採取される卵子の一部を研究に提供する機会があることについて、ポスターの掲示やパンフレットの配布等の一般的な広報手段によって情報を入手した後に、自発的に当該卵子の提供を申し出る場合がある。

(ii) インフォームド・コンセント

(時期)

以上の申し出を受けた後、インフォームド・コンセントを受けることとする。

(同意権者)

当該卵子は、夫婦と医療機関との契約に基づく生殖補助医療の目的で採取

されるものであり、また、本来の治療に用いることができる卵子の数が減るという意味で結果として治療成績の低下につながる場合もあり得ることから、夫婦双方からインフォームド・コンセントを受けることとする。

(説明者)

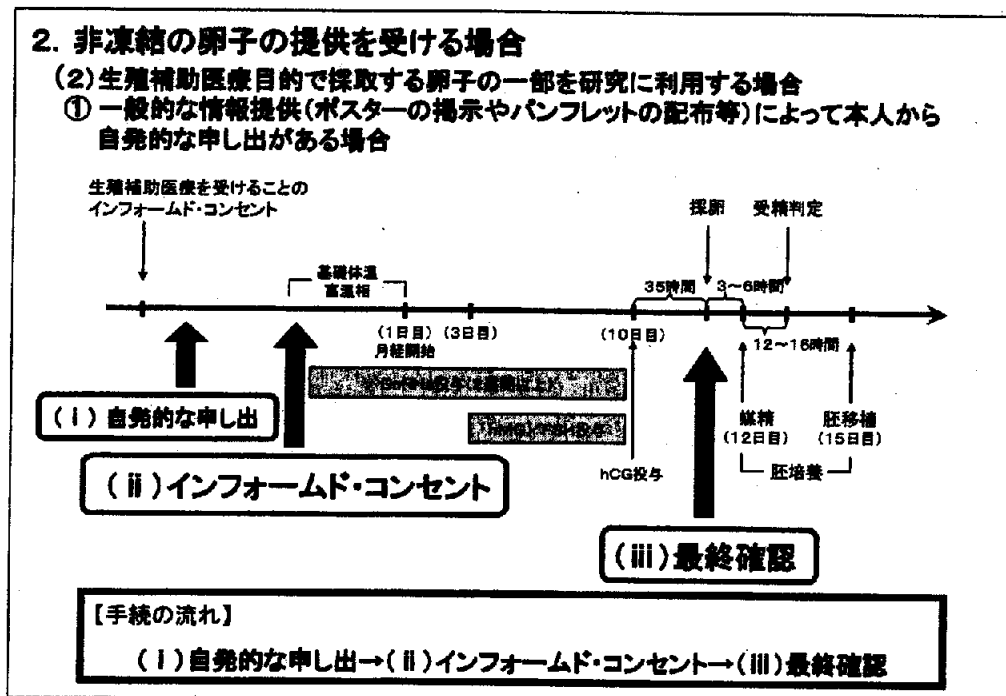
主治医とは別に説明者を置くこととする。

(留意事項)

本来の治療に用いることができる卵子の数が減るという意味で、結果として治療成績の低下につながる場合があり得ることについても、説明することとする。

(iii) 最終確認

採卵後、研究に利用する前に、改めて提供者本人から提供の意思確認を行うこととする。



- ② 採取する卵子の一部を研究に提供する機会があることについて、主治医等から患者に対して情報提供を行う場合

(i) 情報提供

主治医等から情報提供を行う場合には、次を条件とする。

- ・あらかじめ一般的な広報手段（ポスター掲示やパンフレット配布等）によって卵子提供についての情報が入手されていること。
- ・強制的・圧力的にならないよう配慮すること。
- ・文書を用いて行うこと。

情報提供の内容は、次のとおりとする。

- ・生殖補助医療目的で採取する卵子の一部を生殖補助医療の向上のため研究に提供する機会があること。
- ・本来の治療に用いることができる卵子の数が減るという意味で、結果として治療成績の低下につながる場合があり得ること。
- ・提供する旨の申し出があれば、詳細について改めて説明し、インフォームド・コンセントの手続を行うこと。
- ・提供しないことによる不利益はないこと。

情報提供の際には、必ず主治医以外の者（説明者と同一の者でも構わない。）が同席することとする。

(ii) 自発的な申し出

(i) に掲げる条件等をすべて満たした上で、患者が卵子の提供を申し出る場合がある。

(iii) インフォームド・コンセント

(時期)

以上の申し出を受けた後、インフォームド・コンセントを受けるとする。

この場合、申し出の後に引き続いてインフォームド・コンセントの説明を行っても構わないこととする。ただし、本来の治療に用いることができる卵子の数が減るという意味で結果として治療成績の低下につながる場合もあり得ることから、インフォームド・コンセントを受けるまでの間に夫と相談する機会を確保するなど熟考する時間を持つことができるよう配慮することとする。

(同意権者)

当該卵子は、夫婦と医療機関との契約に基づく生殖補助医療の目的で採取されるものであり、また、本来の治療に用いることができる卵子の数が減るという意味で結果として治療成績の低下につながる場合もあり得ることから、インフォームド・コンセントは夫婦双方から受けることとする。

(説明者)

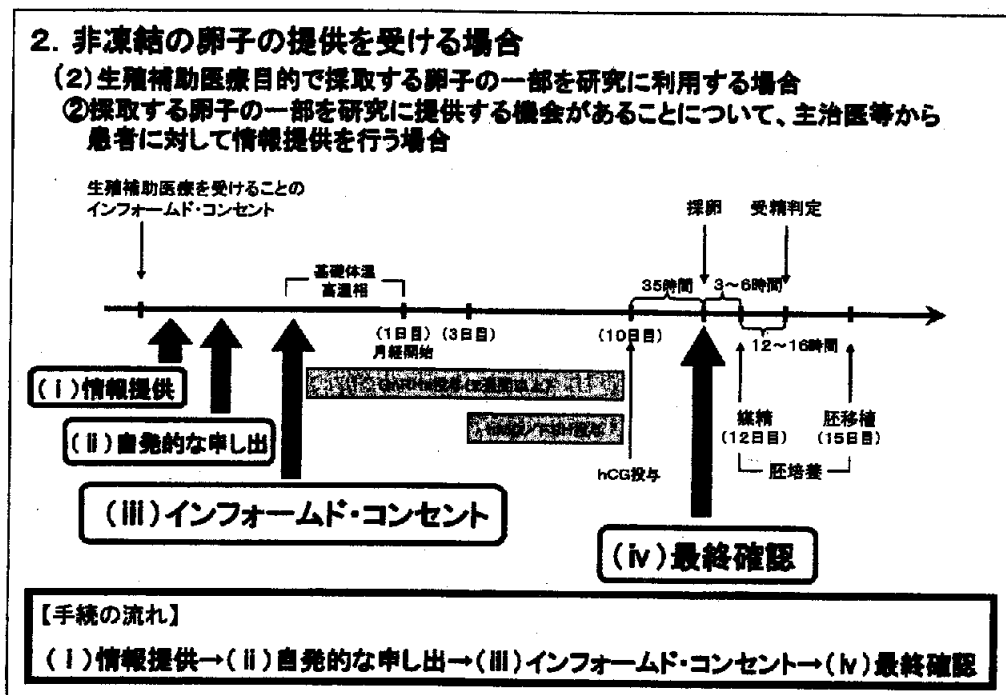
主治医とは別に説明者を置くこととする。

(留意事項)

本来の治療に用いることができる卵子の数が減るという意味で、結果として治療成績の低下につながる場合があり得ることについても、説明することとする。

(iv) 最終確認

採卵後、研究に利用する前に、改めて提供者本人から提供の意思確認を行うこととする。



第3節 精子の提供におけるインフォームド・コンセント

(時期)

提供者の医療に利用しないことが決定された後、インフォームド・コンセントを受けることとする。

ただし、生殖補助医療研究目的で採取する場合には、本人の自発的申し出があった後に、インフォームド・コンセントを受けることとする。

(同意権者)

夫婦と医療機関との契約に基づく生殖補助医療の目的で採取された精子の場合、インフォームド・コンセントは夫婦双方から受けることとする（ただし、インフォームド・コンセントの時点で夫婦でない場合は、提供者本人から受けることで構わない。）。

その他の場合（生殖補助医療の以外の目的で採取する精子の場合）には、提供者本人から受けることとする。

(説明者)

主治医とは別に説明者を置く必要はないこととする。

第4章 研究実施の要件及び手続等

総合科学技術会議意見は、研究実施の要件等に関する事項として、研究実施機関の研究能力・設備の要件、研究機関における倫理的問題に関する検討体制の整備及び責任の明確化等を定める必要があるとしている。

第1節 研究実施の要件

1. 研究実施機関及び提供機関

研究に関わる機関としては、

- ・研究を実施する（ヒト受精胚の作成を行う又は作成されたヒト受精胚を取り扱う）機関（以下「研究実施機関」という。）
- ・研究に用いられるヒトの配偶子を研究実施機関に提供する機関（以下「提供機関」という。）

がある。

なお、作成されるヒト受精胚を直接取り扱わず、当該ヒト受精胚から抽出されたDNA、RNA及びタンパク質等の分析等を行う機関は、研究実施機関には該当しない。

2. 機関、機関の長及び研究者等の要件

(1) 研究実施機関と提供機関が異なる場合

① 研究実施機関

(i) 研究実施機関

ヒト受精胚を作成し、培養するために十分な施設・設備が整備されていることとする。

作成されるヒト受精胚の取扱いを適切に行うための管理体制（管理者の設置、記録の保存、施設管理等）及び規則等が整備されていることとする。

実験室は、臨床（生殖補助医療）を行う場と分けることとする。

また、実験室は、原則として他の動物細胞を用いる実験室と分けることと

する。ただし、研究において必要不可欠な場合には、当該実験室内で他の動物細胞を取り扱うことを認める。

第三者的な立場から研究の科学的妥当性及び倫理的妥当性について意見を述べる倫理審査委員会が、機関内に設置されていることとする。

研究実施機関は、ヒトの配偶子及びヒト受精胚を取り扱った十分な実績とともに、動物の受精胚又はヒト受精胚の作成に関する十分な実績がなければならない。

研究実施機関ごとに、少なくとも1名の医師が研究に参画することとする。

(ii) 研究実施機関の長

研究実施機関の長は、研究責任者から提出される研究計画の妥当性を確認し、その実施を了承するとともに、研究の進捗状況を把握し、研究責任者に対し必要に応じて指示を与える等の監督等を行うこととする。また、機関内倫理審査委員会を設置して、研究責任者から提出された研究計画の妥当性について意見を求めることについてもその役割を果たす必要がある。

研究実施機関の長は、教育研修計画（技術的能力及び倫理的認識を維持・向上させるために必要な教育及び研修を実施するための計画）を策定し、これに基づき教育研修を実施することとする（なお、具体的な教育研修例としては、指針を策定するに至った背景や指針の内容の理解、生命倫理に関する一般的な知識の向上等を目指すための勉強会・講習会等が想定）。

研究実施機関の長は、以上の役割を果たす上で、中立性、透明性を確保する観点から、原則として研究責任者や研究実施者を兼ねてはならないこととする。

ただし、技術的な観点から研究責任者や研究実施者として適当な者が研究機関の長以外に存在しない場合もあり得ることから、その場合には、研究実施機関の長以外の者であって、当該研究に係る研究実施機関の長としての業務を適切に果たすことができる者に、当該業務を代行させることができることとする。

研究実施機関の長の代行を置く場合に限り、研究実施機関の長は、研究責任者や研究実施者を兼ねることができる。

(iii) 研究責任者

研究責任者は、研究に係る業務を総括する責任を負う者として、動物の受精胚又はヒト受精胚の作成に関する十分な専門的知識及び実績がなければならない。

研究責任者が動物に関する実績しか有していない場合は、研究実施者のうち少なくとも1名はヒトに関する実績を有していなければならない。

研究責任者は、必ずしも医師であることを要件とはしない。

研究責任者は、研究実施者を指導・監督する立場にあることから、生殖補助医療研究に関し十分な倫理的認識を持つ者でなければならない。

研究責任者は、研究実施者を教育研修に参加させることとする。

(iv) 研究実施者

研究実施者には、直接ヒトの配偶子又はヒト受精胚を取り扱わない者は含まれない。

研究実施者は、研究責任者の指導・監督の下で、直接ヒトの配偶子又はヒト受精胚を取り扱う者であることから、動物又はヒトの配偶子又は受精胚の操作等の技術に習熟した者でなければならない。

研究実施者は、教育研修を受講することとする。

(v) 機関内倫理審査委員会

委員の構成について、研究計画の科学的妥当性及び倫理的妥当性を総合的に審査できるように、生物学、医学（生殖補助医療）及び法律に関する専門家、生命倫理に関する意見を述べるにふさわしい識見を有する者並びに一般の立場に立って意見を述べられる者を含むこととする。

中立的な審査を確保するために、研究実施機関に属する者以外の者を2名以上含むこととする。

また、男性及び女性をそれぞれ2名以上含むこととする。

機関内倫理審査委員会は、研究関係者との間で常に中立性を保ち、第三者的立場から意見を述べる必要があることから、研究実施機関の長、研究に係る者（研究責任者、研究実施者、研究責任者との間に利害関係を有する

者及び研究責任者の三親等以内の親族)は、当該研究計画の審査に加わってはならない。

審査の透明性を確保するため、機関内倫理審査委員会の議事の内容は、知的財産権に関する情報、個人情報の保護に支障を生じる事項など公開が不適切であるものを除き、原則として公開することとする。

② 提供機関

(i) 卵子の提供機関

卵子の提供機関は、医療機関でなければならない。

提供者から直接卵子の提供を受けることから、採卵室及び卵子の保存設備など十分な施設・設備とともに、管理体制(管理者の設置、管理記録の保存、施錠管理等)及び遵守すべき規則等が整備されていることとする。

なお、手術等で摘出された卵巣又は卵巣切片から採取される卵子については、採卵室のような施設・設備は必要ない。ただし、その場合でも、管理体制(管理者の設置、管理記録の保存、施錠管理等)及び遵守すべき規則等が整備されていることとする。

第三者的な立場から研究の科学的妥当性及び倫理的妥当性について意見を述べる倫理審査委員会が、機関内に設置されていることとする。

十分な臨床経験のある産科婦人科の医師が所属していることとする。

(ii) 精子の提供機関

精子の提供機関は、原則として医療機関でなければならない。

提供者から直接精子の提供を受けることから、精子の保存設備など十分な施設・設備とともに、管理体制(管理者の設置、管理記録の保存、施錠管理等)及び遵守すべき規則等が整備されていることとする。また、採精室が設置されていることが望ましいこととする。

第三者的な立場から研究の科学的妥当性及び倫理的妥当性について意見を述べる倫理審査委員会が、機関内に設置されていることとする。

十分な臨床経験のある産科婦人科又は泌尿器科の医師が所属していること

とする。

(iii) 提供機関の長

提供機関の長は、研究実施機関の長より了解を求められた研究計画について、インフォームド・コンセントの内容を含めてその実施を了解するとともに、提供の進捗状況を把握し、主治医に対し必要に応じて指示を与える等の監督等を行うこととする。

研究の実施には直接関わらないことから、提供機関の長が主治医を兼ねても構わないこととする。

(iv) 機関内倫理審査委員会

提供機関の機関内倫理審査委員会は、提供機関におけるインフォームド・コンセントの手続等について審査を行うとともに、研究実施機関が行う研究計画の科学的妥当性及び倫理的妥当性についても、ヒトの配偶子を提供する提供機関としての立場で審査を行うこととする。

機関内倫理審査委員会は、提供に関係する者（主治医等）との間で常に中立性を保ち、第三者的立場から意見を述べる必要があることから、これらの提供に関係する者は、当該案件に関して機関内倫理審査委員会の検討に加わってはならない。

その他の要件については、研究実施機関の機関内倫理審査委員会と同じものとする。

(2) 研究実施機関と提供機関が同一の場合

(i) 機関

機関の要件については、(1)の研究実施機関及び提供機関の要件をともに満たすこととする。

研究実施機関と提供機関が同一である場合、当該機関は配偶子の提供者の個人情報保護のため、「個人情報管理者」を置くこととする（その他個人情報の保護に関する具体的な要件については、第5章1. に示すとおり。）

(ii) 機関の長（※研究実施機関と提供機関が同一の場合、機関の長も同一の者となる。）

機関の長の要件については、(1)の研究実施機関の長及び提供機関の長の要件をともに満たすこととする。

ただし、配偶子の提供者に対する心理的圧力等を防止する観点から、機関の長は、提供者の主治医を兼ねてはならないこととする。

(iii) 研究責任者及び研究実施者

研究責任者及び研究実施者の要件については、それぞれ(1)の研究責任者及び研究実施者の要件を満たすこととする。

配偶子の提供者に対する心理的圧力等を防止する観点から、研究責任者及び研究実施者は、提供者の主治医を兼ねてはならないこととする。

(iv) 機関内倫理審査委員会

研究実施機関と提供機関が同一である場合、機関内倫理審査委員会は一つで構わないこととする。

機関内倫理審査委員会の要件については、(1)の研究実施機関の機関内倫理審査委員会及び提供機関の機関内倫理審査委員会の要件をともに満たすこととする。

3. ヒト受精胚の他の機関への移送の禁止

作成されるヒト受精胚からの個体産生を事前に防止する観点から、研究実施機関は、原則として、当該ヒト受精胚を他の機関に移送してはならない。

ただし、複数の研究実施機関が共同でヒト受精胚を作成・利用する場合、例外として、これらの研究実施機関間でのみ、当該ヒト受精胚の移送を認めることとする。

第2節 研究実施の手続等

1. 国の関与の在り方

研究計画の指針適合性について、国が確認を行うこととする。

国は、作成されるヒト受精胚の管理状況について、定期的に研究実施機関の長から報告を受けることとする。

なお、国は、研究の進展等を勧告し、必要に応じ指針の見直しを行うこととする。

2. 審査に係る手続

(1) 研究実施機関と提供機関が異なる場合

研究実施の手続は、次のとおりとする。

- ①研究責任者が、研究計画書を作成する。
- ②研究責任者は、研究実施機関の長に研究計画の了承を申請する。
- ③研究実施機関の長は、機関内倫理審査委員会の意見を求める。
- ④機関内倫理審査委員会は、研究計画について審査し、研究実施機関の長に対して意見を提出する。
- ⑤研究実施機関の長は、提供機関の長に対して、研究計画について了解することを求める。
- ⑥提供機関の長は、機関内倫理審査委員会の意見を求める。
- ⑦機関内倫理審査委員会は、研究計画について審査し、提供機関の長に対して意見を提出する。
- ⑧提供機関の長は、研究実施機関の長に対して、研究計画を了解した旨を伝える。
- ⑨研究実施機関の長は、国に、研究計画の確認を申請する。
- ⑩国は、研究計画の指針適合性について確認を行う。
- ⑪研究実施機関の長は、研究責任者に対して、研究計画を了承する。

なお、複数の研究実施機関が共同でヒト受精卵を作成・利用する場合、研究計画全体について、提供機関の倫理審査委員会において審査を行い、提供機関の長から了承を得ることとする。

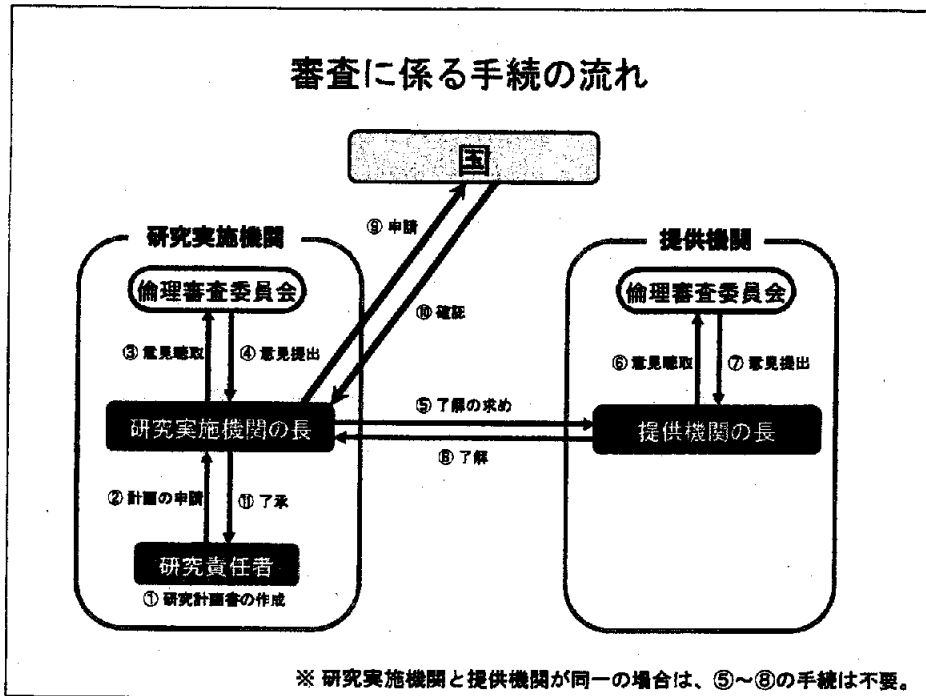
(2) 研究実施機関と提供機関が同一の場合

研究実施の手続は、次のとおりとする。

- ①研究責任者が、研究計画書を作成する。
- ②研究責任者は、機関の長に研究計画の了承を申請する。
- ③機関の長は、機関内倫理審査委員会の意見を求める。
- ④機関内倫理審査委員会は、研究計画について審査し、機関の長に対して意見を提出する。
- (⑤～⑧：不要)
- ⑨機関の長は、国に、研究計画の確認を申請する。

⑩国は、研究計画の指針適合性について確認を行う。

⑪機関の長は、研究責任者に対して、研究計画の了承を行う。



(3) 研究計画書の記載事項

研究計画書には、次の事項を記載することとする。

[研究に関する事項]

- ・ 研究計画の名称
- ・ 研究の目的
- ・ 研究計画の概要
- ・ 予想される研究の成果

[提供される配偶子及び胚の作成・利用に関する事項]

- ・ 胚の作成に用いられる配偶子に関する説明（入手方法等）
- ・ 胚を作成・利用する必要性
- ・ 胚の作成・利用の方法及び研究計画の期間
- ・ インフォームド・コンセントに関する説明

[研究実施機関及び提供機関に関する事項]

- ・ 研究の体制（複数の研究実施機関が共同で胚を作成・利用する場合はその役割分担も含む。）
- ・ 研究実施機関の名称及びその所在地並びに研究実施機関の長の氏名

- ・ 研究責任者及び研究実施者の氏名、略歴、研究業績及び研究計画において果たす役割
- ・ 研究実施機関の基準に関する説明（施設、設備、実績、教育研修計画）
- ・ 研究実施機関の倫理審査委員会に関する説明
- ・ 提供機関の基準に関する説明（施設、設備）
- ・ 提供機関の倫理審査委員会に関する説明

第5章 個人情報の保護等

総合科学技術会議意見は、ヒト受精胚の取扱いのための具体的な遵守事項として、未受精卵等の提供者の個人情報の保護や研究に関する適切な情報公開等を定める必要があるとしている。

また、個人情報の保護については、医学研究に関連する倫理指針である「臨床研究に関する倫理指針」、「疫学研究に関する倫理指針」及び「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」等において、個人情報保護法の趣旨を踏まえ、個人情報を取り扱う機関が講ずべき措置等の遵守事項が定められており、ヒト受精胚の作成を伴う生殖補助医療研究においても、個人情報を取り扱う研究実施機関は所要の措置を講ずる必要がある。

1. 個人情報の保護

提供機関の長は、提供者の個人情報を保護するため、機関内において匿名化の措置を講ずることとする。

個人情報を保有する研究実施機関の長は、当該機関の長の指示を受けて提供者の個人情報の管理を行う責任者として「個人情報管理者」を置くこととする。

その他個人情報保護のための措置については、医学研究に関連する倫理指針と基本的に同様の措置を講ずることとする。

2. 研究成果の公開

研究実施機関の長は、個人情報の保護に反する場合等を除き、原則として研究成果を公開することとする。

審議経過

1. 両専門委員会における審議

ヒト胚研究に関する専門委員会（第1回）

平成17年9月29日

（1）関係者からのヒアリング

- ①文部科学省生命倫理・安全対策室石井室長：文部科学省におけるヒト胚に関連した生命倫理に関する取組みについて
- ②吉村泰典氏：厚生労働科学特別研究費補助金「ヒト胚の研究体制に関する研究」について

（2）今後の検討課題について

ヒト胚研究に関する専門委員会（第2回）

平成17年12月13日

（1）本検討に関する厚生労働省及び文部科学省の連携体制について

（2）関係者からのヒアリング

- ①久慈直昭氏：我が国及び諸外国におけるヒト胚研究の現状について
- ②神里彩子氏：生殖補助医療研究に関する海外の規制状況について

生殖補助医療研究専門委員会（第1回）

平成18年1月20日

（1）文部科学省及び厚生労働省の検討について

（2）関係者からのヒアリング

- ①吉村泰典氏：ヒト胚の研究体制に関する研究
- ②久慈直昭氏：精子・卵子・胚研究の現状

※ 以下、両専門委員会を合同で開催

ヒト胚研究に関する専門委員会（第3回）

生殖補助医療研究専門委員会（第2回）

平成18年1月27日

（1）関係者からのヒアリング

- ①中辻憲夫氏：ヒトの発生について
 - ②安達知子氏：不妊治療、ARTへの流れとARTの臨床
 - ③斎藤英和氏：ヒト精子・卵子・受精胚を取り扱う研究に係わる日本産科婦人科学会会告に基づく規制の状況について
- (2) クローン技術規制法に規定される特定胚について
 - (3) 今後の検討事項について

ヒト胚研究に関する専門委員会（第4回）

生殖補助医療研究専門委員会（第3回）

平成18年4月7日

- (1) 現地調査報告「生殖補助医療実施医療機関（国立成育医療センター）の現地調査」
- (2) 関係者からのヒアリング
 - ①文部科学省生命倫理・安全対策室石井室長：韓国国家生命倫理審議委員会調査の中間報告及び人クローン胚研究利用作業部会の審議状況について
 - ②厚生労働省医政局研究開発振興課廣田課長補佐：臨床研究に関する倫理指針の概要について
- (3) 生殖補助医療研究における「臨床研究の取扱い」について

ヒト胚研究に関する専門委員会（第5回）

生殖補助医療研究専門委員会（第4回）

平成18年5月12日

- (1) 関係者からのヒアリング
 - ①奥山明彦氏、辻村晃氏：ヒト精子を取り扱う研究の現状について
- (2) 規制対象として検討する範囲について

ヒト胚研究に関する専門委員会（第6回）

生殖補助医療研究専門委員会（第5回）

平成18年7月7日

- (1) ヒト受精胚の生殖補助医療研究目的での作成・利用に係る制度的枠組みの検討について
 - ①規制対象として検討する範囲
 - ②ヒト受精胚の作成・利用における研究の目的について
 - ③ヒト受精胚の作成・利用における禁止事項について

ヒト胚研究に関する専門委員会（第7回）

生殖補助医療研究専門委員会（第6回）

平成18年9月14日

- (1) ヒト受精胚の生殖補助医療研究目的での作成・利用に係る制度的枠組みの検討について
- ①規制対象として検討する範囲
 - ②ヒト受精胚の作成・利用における研究の目的について
 - ③ヒト受精胚の作成・利用における禁止事項について

ヒト胚研究に関する専門委員会（第8回）

生殖補助医療研究専門委員会（第7回）

平成18年10月14日

- (1) ヒト受精胚の生殖補助医療研究目的での作成・利用に係る制度的枠組みの検討について
- (2) 関係者からのヒアリング
- ・石原理氏：ヒト受精胚の作成・利用のための配偶子・ヒト受精胚の入手方法について「採卵を受けることはどのくらい負担になりどのようなリスクを伴うのか」

ヒト胚研究に関する専門委員会（第9回）

生殖補助医療研究専門委員会（第8回）

平成18年12月8日

- (1) ヒト受精胚の生殖補助医療研究目的での作成・利用に係る制度的枠組みの検討について
- ・ヒト受精胚の作成・利用のための配偶子・ヒト受精胚の入手方法について

ヒト胚研究に関する専門委員会（第10回）

生殖補助医療研究専門委員会（第9回）

平成19年3月1日

- (1) ヒト受精胚の生殖補助医療研究目的での作成・利用に係る制度的枠組みの検討について
- ①ヒト受精胚の作成・利用のための配偶子・ヒト受精胚の入手方法について
 - ②ヒト受精胚の作成・利用のための配偶子・ヒト受精胚の提供に係るインフォームド・コンセントのあり方について

ヒト胚研究に関する専門委員会（第11回）

生殖補助医療研究専門委員会（第10回）

平成19年5月7日

（1）ヒト受精胚の生殖補助医療研究目的での作成・利用に係る制度的枠組みの検討について

①ヒト受精胚の作成・利用のための配偶子・ヒト受精胚の入手方法について

②ヒト受精胚の作成・利用のための配偶子・ヒト受精胚の提供に係るインフォームド・コンセントのあり方について

ヒト胚研究に関する専門委員会（第12回）

生殖補助医療研究専門委員会（第11回）

平成19年6月29日

（1）ヒト受精胚の生殖補助医療研究目的での作成・利用に係る制度的枠組みの検討について

・ヒト受精胚の作成・利用のための配偶子・ヒト受精胚の提供に係るインフォームド・コンセントのあり方について

ヒト胚研究に関する専門委員会（第13回）

生殖補助医療研究専門委員会（第12回）

平成19年10月1日

（1）ヒト受精胚の生殖補助医療研究目的での作成・利用に係る制度的枠組みの検討について

①研究実施の手続について

②研究実施の要件について

ヒト胚研究に関する専門委員会（第14回）

生殖補助医療研究専門委員会（第13回）

平成19年11月9日

（1）ヒト受精胚の生殖補助医療研究目的での作成・利用に係る制度的枠組みの検討について

・研究実施の要件について

ヒト胚研究に関する専門委員会（第15回）

生殖補助医療研究専門委員会（第14回）

平成20年2月4日

- (1) ヒト受精胚の生殖補助医療研究目的での作成・利用に係る制度的枠組みの検討について
- ① 研究実施の手続について
 - ② 研究実施の要件について

ヒト胚研究に関する専門委員会（第16回）

生殖補助医療研究専門委員会（第15回）

平成20年3月3日

- (1) ヒト受精胚の生殖補助医療研究目的での作成・利用に係る制度的枠組みの検討について
- ・ 研究実施の要件について

ヒト胚研究に関する専門委員会（第17回）

生殖補助医療研究専門委員会（第16回）

平成20年6月2日

- (1) ヒト受精胚の生殖補助医療研究目的での作成・利用に係る制度的枠組みの検討について
- ① 研究実施の要件について
 - ② 研究実施の手続について

ヒト胚研究に関する専門委員会（第18回）

生殖補助医療研究専門委員会（第17回）

平成20年6月30日

- (1) ヒト受精胚の生殖補助医療研究目的での作成・利用に係る制度的枠組みの検討について
- ・ ヒト受精胚の作成・利用のための配偶子・ヒト受精胚の入手方法について

ヒト胚研究に関する専門委員会（第19回）

生殖補助医療研究専門委員会（第18回）

平成20年7月18日

- (1) ヒト受精胚の生殖補助医療目的での作成・利用に係る制度的枠組みの検討について
- ・ ヒト受精胚の作成・利用のための配偶子・ヒト受精胚の入手方法について

ヒト胚研究に関する専門委員会（第20回）

生殖補助医療研究専門委員会（第19回）

平成20年9月1日

- (1) ヒト受精胚の生殖補助医療研究目的での作成・利用に係る制度的枠組みの検討について
- ① ヒト受精胚の作成・利用のための配偶子・ヒト受精胚の入手方法について
 - ② ヒト受精胚の作成・利用のための配偶子・ヒト受精胚の提供に係るインフォームド・コンセントのあり方について

ヒト胚研究に関する専門委員会（第21回）

生殖補助医療研究専門委員会（第20回）

平成20年10月2日

- (1) ヒト受精胚の生殖補助医療研究目的での作成・利用に係る制度的枠組みの検討について
- ① ヒト受精胚の作成・利用のための配偶子・ヒト受精胚の提供に係るインフォームド・コンセントのあり方について
 - ② 個人情報保護について

ヒト胚研究に関する専門委員会（第22回）

生殖補助医療研究専門委員会（第21回）

平成20年10月31日

- (1) ヒト受精胚の生殖補助医療研究目的での作成・利用に係る制度的枠組みの検討について
- ① ヒト受精胚の作成・利用のための配偶子の提供に係るインフォームド・コンセントのあり方について
 - ② 個人情報保護について

ヒト胚研究に関する専門委員会（第23回）

生殖補助医療研究専門委員会（第22回）

平成20年11月21日

- (1) ヒト受精胚の生殖補助医療研究目的での作成・利用に係る制度的枠組みの検討について
- ① ヒト受精胚の作成・利用のための配偶子の提供に係るインフォームド・コンセントのあり方について

- ②個人情報保護について
- ③国の関与のあり方について
- ④その他（研究実施の手続、配偶子の入手方法のあり方について）

ヒト胚研究に関する専門委員会（第24回）

生殖補助医療研究専門委員会（第23回）

平成20年12月26日

- (1) ヒト受精胚の生殖補助医療研究目的での作成・利用に係る制度的枠組みの検討について
 - ・これまでの議論の取りまとめについて

ヒト胚研究に関する専門委員会（第25回）

生殖補助医療研究専門委員会（第24回）

平成21年1月26日

- (1) ヒト受精胚の生殖補助医療研究目的での作成・利用に係る制度的枠組みの検討について
 - ・これまでの議論の取りまとめについて

2. 両部会における審議

科学技術・学術審議会 生命倫理・安全部会（第19回）

平成21年2月9日

厚生科学審議会 科学技術部会（第49回）

平成21年4月15日

参考資料 2

厚生労働省 厚生科学審議会 科学技術部会 ヒト胚研究に関する専門委員会委員名簿案

安達	知子	総合母子保健センター愛育病院産婦人科部長
位田	隆一	京都大学大学院法学研究科教授
小澤	敬也	自治医科大学医学部内科学講座血液学部門主任教授
小幡	純子	上智大学大学院法科大学院教授
加藤	尚武	京都大学名誉教授
木下	勝之	社団法人日本医師会常任理事（平成18年5月から）
○ 笹月	健彦	国立国際医療センター名誉総長
鈴木	良子	フィンレージの会
中辻	憲夫	京都大学物質-細胞統合システム拠点長
橋本	信也	前社団法人日本医師会常任理事（平成18年4月まで）
秦	順一	常磐大学人間科学部教授
町野	朔	上智大学大学院法科大学院教授
吉村	泰典	慶應義塾大学医学部産婦人科教授

（敬称略、50音順、○：委員長）

参考資料3

文部科学省 科学技術・学術審議会 生命倫理・安全部会 生殖補助医療研究専門委員会委員名簿

- | | | |
|------|-----|----------------------------|
| 安達 | 知子 | 総合母子保健センター愛育病院産婦人科部長 |
| 石原 | 理 | 埼玉医科大学産科婦人科教授 |
| 位田 | 隆一 | 京都大学大学院法学研究科教授 |
| 大隅 | 典子 | 東北大学大学院医学系研究科教授（平成19年1月まで） |
| 奥山 | 明彦 | 大阪大学大学院医学系研究科教授（平成18年2月から） |
| 小幡 | 純子 | 上智大学大学院法学研究科教授 |
| 木下 | 勝之 | 社団法人日本医師会常任理事（平成18年5月から） |
| 後藤 | 節子 | 学校法人相山女学園大学教授 |
| ○ 笹月 | 健彦 | 国立国際医療センター名誉総長 |
| 高木 | 美也子 | 日本大学総合科学研究所教授 |
| 中辻 | 憲夫 | 京都大学物質-細胞統合システム拠点長 |
| 橋本 | 信也 | 前社団法人日本医師会常任理事（平成18年4月まで） |
| 深見 | 希代子 | 東京薬科大学教授（平成19年2月から） |
| 星 | 和彦 | 山梨大学医学部附属病院長 |
| 町野 | 朔 | 上智大学大学院法学研究科教授 |
| 水野 | 紀子 | 東北大学大学院法学研究科教授（平成19年2月から） |
| 吉村 | 泰典 | 慶應義塾大学医学部教授 |

（敬称略、50音順、○：主査）

遺伝子治療臨床研究実施計画について (東京大学医学部附属病院)

- 東京大学医学部から申請のあった遺伝子治療臨床研究実施計画に係る意見
について (がん遺伝子治療臨床研究作業委員会) P1
- がん遺伝子治療臨床研究作業委員会委員名簿 P6
- 遺伝子治療臨床研究実施計画申請書及び概要書 (改訂後) P7
- 遺伝子治療臨床研究実施計画 (改訂後) P29
- 同意説明文書 (改訂後) P82

平成 21 年 3 月 19 日

東京大学医学部附属病院から申請のあった
遺伝子治療臨床研究実施計画に係る意見について

がん遺伝子治療臨床研究
作業委員会
委員長 笹月 健彦

東京大学医学部附属病院から申請のあった下記の遺伝子治療臨床研究実施計画について、本作業委員会で検討を行い、その結果を別紙のとおりとまとめたので報告いたします。

記

1. 進行性膠芽腫患者に対する増殖型遺伝子組換え単純ヘルペスウイルス G47 Δ を用いた遺伝子治療（ウイルス療法）の臨床研究
申請者：東京大学医学部附属病院 病院長 武谷 雄二
申請日：平成 19 年 10 月 23 日

1. 遺伝子治療臨床研究実施計画の概要

- (1) 研究課題名： 進行性膠芽腫に対する増殖型遺伝子組換え単純ヘルペスウイルス G47Δを用いた遺伝子治療（ウイルス療法）の臨床研究
- (2) 申請年月日： 平成19年10月23日
- (3) 実施施設： 東京大学医学部附属病院
代表者： 病院長 武谷 雄二
- (4) 総括責任者： 東京大学大学院医学系研究科・TRセンター（脳神経外科）
特任教授 藤堂 具紀
- (5) 対象疾患： 進行性膠芽腫
導入遺伝子・
ベクターの種類： 増殖型遺伝子組換え単純ヘルペスウイルス I 型（HSV-1）
G47Δ（大腸菌 LacZ 遺伝子を含む）
用法・用量： 各コホート1例目は7日以上14日以内、2例目以降は5日以上14日以内の間隔で計2回、定位的に腫瘍内に G47Δ を投与。1回あたりの投与量は 3.0×10^8 プラーク形成単位 (pfu)、 1.0×10^9 pfu 及び 3.0×10^9 pfu の3段階の用量レベルで増量。
研究実施期間： 厚生労働大臣より了承された日から5年間
目標症例数： 標準21例、最大30例（各用量群3～18例）

(6) 研究の概略：

本研究は、初期放射線治療にもかかわらず再増大または進行する膠芽腫の患者に対して、増殖型遺伝子組換え HSV-1 である G47Δ の定位的腫瘍内投与を行った場合の安全性の評価を主目的とする。副次目的として、G47Δ の効果を評価する。

(7) その他（外国での状況等）：

増殖型遺伝子組換え HSV-1 である G47Δ は、国内外を含めてヒトへの投与経験がない。G47Δ は、増殖型遺伝子組換え HSV-1 である G207 のウイルスゲノムに $\alpha 47$ 遺伝子の欠失変異を加えて改変したものである。G207 については、米国で再発悪性グリオーマの患者21例を対象とした第I相臨床試験が実施され、その結果、G207 に起因する grade3 以上の有害事象は認められていない。

2. がん遺伝子治療臨床研究作業委員会における審議概要

1) 第1回審議

① 開催日時： 平成 19 年 12 月 25 日（火） 15:00-16:40

② 議事概要：

平成 19 年 10 月 23 日付けで東京大学医学部附属病院より申請のあった遺伝子治療臨床研究実施計画（対象疾患：進行性膠芽腫）について第一回目の審議を行なった。

まず、研究実施計画について同病院の総括責任者らから説明を受けた後、説明及び提出資料を基に、委員間で実施計画の妥当性等について審議を行なった。

各委員の意見については、事務局で整理の上、本作業委員会の意見として申請者に検討を依頼することとし、その結果を基に再度審議することとした。

（本作業委員会の意見）

1. G47Δはこれまでヒトに投与された経験がないことから、被験者への安全性を考慮し、本臨床研究における投与スケジュールに関して、1 回目投与の安全性を十分に確認した上で 2 回目投与を行うよう、投与間隔を再検討すること（定位脳手術の数日後に有害事象が認められることも考えられ、2 日後に 2 回目投与を実施する妥当性については再検討すること）。また、生体内でのウイルス量の推移等も考慮すると、投与間隔によって、安全性あるいは有効性に影響があることも考えられ、投与間隔はできるだけ一定の間隔とするよう検討すること。
2. 有害事象の早期発見・対処等の観点から、脳神経外科の専門家のみならず、内科医及び臨床心理士等の本臨床研究への参画について検討すること。
3. G47Δ製剤の製造方法に関して
 - ①G47Δ製剤の cGMP 生産の詳細が不明であり、精製が十分かどうか疑問もあることから、製造工程、精製工程の各段階について、フローチャートを示すとともに、製造に使用する施設・設備、培地や試薬類の組成、濃度、精製条件等を含めて具体的かつ詳細に回答すること。また、標準操作手順書 (SOP) 及び SOP に従って製造したかどうかを確認するチェックリストを作成した上で提出すること。なお、製造された製剤のチェックリスト等を確認する者も研究組織に加えるよう検討すること。
 - ②最終製品の精製度、純度を具体的に回答するとともに、最終製品の SDS-PAGE のデータ (CBB 染色と銀染色の両者のデータに、Western 分析による HSV 蛋白質の正しいバンド位置を併せて示したもの) を提出すること。
 - ③G47Δ製剤は人の脳内に直接投与するものであり、G207 の臨床試験でもサイズ排除クロマトグラフィー及び超遠心により精製したものが使用されており (Gene Therapy (2000) 7, 867-874)、G47Δ製剤について高速遠心のみの精製しか行っていないのであれば精製度は不十分と考えられるので、G207 と同程度の精製の実施を検討すること。

4. 研究組織に入っている統計解析責任者に関して、その役割分担について明確に説明すること。
5. 被験者への同意説明文書に関し、2回目の投与が行われない場合についての分かりやすい説明を再検討すること。

2) 第2回審議

① 開催日時： 平成21年1月23日（金）10:00-12:00

② 議事概要：

前回の審議における本作業委員会の意見に対し、東京大学医学部附属病院から回答書及び追加資料が提出されたことを受けて、第2回目の審議を行った。

まず、回答書及び追加資料について同病院の総括責任者らより説明を受けた後、委員間で実施計画の妥当性等について審議を行った。

その結果、本実施計画を概ね了承することとしたが、同意説明文書の記載に関して委員より指摘のあった点については、申請者と事務局との間で整備の上、委員長の確認を得た後に、次回以降の科学技術部会に報告することとした。

（なお、これら実施計画書等の整備については、平成21年3月19日に委員長了承。）

3. がん遺伝子治療臨床研究作業委員会における審議を踏まえた第1回審議時からの実施計画及び被験者への同意説明文書の主な変更内容

（実施計画）

- ・ 研究体制に関して、本作業委員会の意見を踏まえ、有害事象の早期発見・対処等の観点から、内科医及び臨床心理士が新たに追加された。
- ・ 本作業委員会の意見を踏まえて、投与スケジュールが検討され、1回目投与の安全性を十分に確認した上で2回目投与を行うため、各群の2例目以降も1回目投与後4日間の観察期間を設けることに改められた。それに伴い、1回目投与と2回目投与の間隔は各コホート1例目に関しては7日以上14日以内、2例目以降は5日以上14日以内となった。
- ・ G47Δの製造方法及び精製度に関して、添付資料の製造工程のフローチャートがより詳細なものに改められ、製造施設及び設備に関する資料が追加された。また、添付資料の品質試験項目に関して、全ての品質試験が終了し全項目で合格したことが示された。
- ・ 臨床検査項目及び観察項目について、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の意見を踏まえて、HSVの排出に関する尿の検査に加えて唾液の検査が追加された。

(患者への同意説明文書)

- ・ 本作業委員会の意見を踏まえて、2回目の投与が行われない場合の説明について、より分かりやすい記載に改められた。
- ・ 本作業委員会の意見を踏まえて、G47Δの製造工程にはG207の製造工程にあるカラムクロマトグラフィーという工程がないこと、G47Δと全く同じ方法で製造された単純ヘルペスウイルス製剤が患者に投与されたという情報は得られていないので、製造方法の相違に起因して、G207の第I相臨床試験では認められていない有害事象が生じる可能性があることが明記された。

4. がん遺伝子治療臨床研究作業委員会の検討結果

東京大学医学部附属病院から申請のあった遺伝子治療臨床研究実施計画（対象疾患：進行性膠芽腫）に関して、がん遺伝子治療臨床研究作業委員会は、主として科学的観点から以上のおり論点整理を進めて、それらの結果を実施計画及び患者への同意説明文書に適切に反映させた。その上で、本作業委員会は本実施計画の内容が科学的に妥当であると判断した。

次回以降の科学技術部会に報告する。

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
浅野 茂隆	早稲田大学理工学術院特任教授
荒戸 照世	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
上田 龍三	名古屋市立大学大学院医学研究科臨床分子内科学教授
小澤 敬也	自治医科大学医学部教授
垣添 忠生	国立がんセンター名誉総長
金子 周一	金沢大学医学部長
金田 安史	大阪大学大学院医学系研究科教授
○笹月 健彦	国立国際医療センター名誉総長
島田 隆	日本医科大学医学部教授
濱田 洋文	札幌医科大学教授
早川 堯夫	独立行政法人医薬品医療機器総合機構顧問
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
(神経芽腫)	
牧本 敦	国立がんセンター中央病院小児科医長
(ウイルス(ヘルペスウイルス))	
佐多 徹太郎	国立感染症研究所感染病理部長

○委員長 (五十音順 敬省略)

(平成21年3月29日現在)

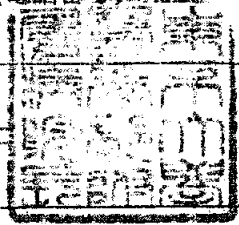
別紙様式第1

遺伝子治療臨床研究実施計画申請書

平成19年10月23日

厚生労働大臣 舩添 要一 殿

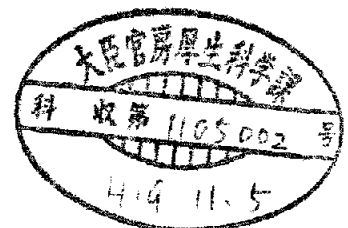
実施施設	所在地	東京都文京区本郷 7-3-1 (郵便番号 113-8655)
	名称	東京大学医学部附属病院 03-3815-5411 (電話番号)
	代表者 役職名・氏名	東京大学医学部附属病院 病院長 武谷 雄二



下記の遺伝子治療臨床研究について、別添の実施計画書に対する意見を求めます。

記

遺伝子治療臨床研究の課題名	総括責任者の所属・職・氏名
進行性膠芽腫患者に対する増殖型遺伝子組換え単純ヘルペスウイルス G47Δを用いた遺伝子治療 (ウイルス療法) の臨床研究	東京大学医学部附属病院・脳神経外科・講師 藤堂 具紀





遺 伝 子 治 療 臨 床 研 究 実 施 計 画 概 要 書

平成 19 年 10 月 23 日

(申請年月日)

研究の名称	進行性膠芽腫患者に対する増殖型遺伝子組換え単純ヘルペスウイルス G47Δを用いた遺伝子治療（ウイルス療法）の臨床研究
研究実施期間	平成 年 月 日（承認日）から 5年間

総括責任者	所属部局の所在地	113-8655 東京都文京区本郷7-3-1	
	所属機関・部局・職	東京大学大学院医学系研究科・TRセンター（脳神経外科）・特任教授	
	氏名	藤堂 具紀 	
実施の場所	所在地	113-8655 東京都文京区本郷7-3-1	
	名称	東京大学医学部附属病院	
	連絡先	03-3815-5411	
総括責任者以外の研究者	氏名	所属機関・部局・職	役割
	稲生 靖	東京大学・大学院医学系研究科・TRセンター（脳神経外科）・特任准教授	総括責任者補佐。ウイルス管理と準備。患者の手術、術前術後管理。データ管理。標本の管理と処理。
	田中 実	東京大学・医学部附属病院・輸血部・助教	患者の手術と術前術後管理。ウイルス準備補佐。標本の管理補佐と処理。
	山田 奈美恵	東京大学・大学院医学系研究科・TRセンター（循環器内科）・特任助教	臨床研究実施の補佐。
	大内 佑子	東京大学・保健センター（精神神経科）・臨床心理士	臨床研究実施における臨床心理面の補佐。

審査委員会が研究計画の実施を適当と認める理由	<p>審査委員会では、提出された遺伝子治療臨床研究実施計画書を慎重に審査した結果、本遺伝子治療臨床研究実施計画は平成 14 年文部科学省・厚生労働省告示第 1 号「遺伝子治療臨床研究に関する指針」平成 14 年 3 月 27 日告示（平成 16 年 12 月 28 日全部改正）の必要条件を満たしていると認めた。</p> <p>さらに非臨床試験成績から、従来の治療法では対処困難である進行性膠芽腫に対し治療効果が期待できること、さらに本研究で使用される組換えウイルスの品質および安全性は十分に保証されるものと認められたため、所轄官庁に臨床研究実施計画を申請することを決定した。なお、患者に発生する費用の説明について議論があった。（承認：平成 19 年 1 月 31 日）</p>	
	審査委員会の長の職名	氏名
	東京大学医学部遺伝子治療臨床研究審査委員会 委員長 東京大学大学院医学系研究科医療倫理学分野 教授	赤林 朗 

研究の区分	○遺伝子治療臨床研究（ウイルス療法）	遺伝子標識臨床研究
研究の目的	<p>本研究は、初期放射線治療にもかかわらず再増大または進行する膠芽腫の患者に対して遺伝子組換え単純ヘルペスウイルスI型であるG47Δの定位的腫瘍内投与を行う。オープンラベル方式によりコホート単位で3段階に用量を増加し、安全性の評価すなわち有害事象の種類と発生頻度の調査を主目的とする。副次目的として、画像上の腫瘍縮小効果や全生存期間、無増悪生存期間によりG47Δの効果を評価する。</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</p> <p>原発性脳腫瘍は人口10万人に年間11~12人発生するとされ、国内全体では年間13,000~14,000人程度となる。脳腫瘍全国統計によれば、原発性脳腫瘍の組織分類別の発生頻度は神経膠腫26%、髄膜腫27%、下垂体腺腫18%、神経鞘腫10%である。神経膠腫は神経細胞の支持組織であるグリア細胞から発生する原発性脳腫瘍であり、星細胞腫が神経膠腫の約80%を占める。星細胞腫はその病理学的悪性度によりGrade1~Grade4に細分類される。本試験の対象となるGrade4は膠芽腫とも呼ばれ予後が不良である。膠芽腫は、神経膠腫の32%を占め5年生存割合は6%である。神経膠腫は脳実質内に発生し浸潤性に発育するが、その中でも膠芽腫は特にその傾向が強く、境界が不鮮明で増殖速度も速く、各種治療を行っても再発は必至である。</p> <p>膠芽腫の確定診断は組織学的診断によるため、画像診断にて膠芽腫が考えられる場合、手術による摘出術か生検が行われる。しかし、手術で腫瘍を全摘することは機能温存のため通常不可能であり、一般に術後には補助療法が行われる。術後補助療法は、現在はアルキル化剤であるtemozolomideと局所照射60Gyを用いた放射線化学療法が欧米では標準治療として行われている。国内では、nitrosourea系のアルキル化剤ACNUと局所照射が従来最も一般的に行われてきたが、最近ACNUに代わりtemozolomideも使用されるようになった。他の化学療法薬が使用されたりインターフェロンβが併用されることもある。</p> <p>膠芽腫は一般的に放射線抵抗性であり、化学療法への反応も低く、補助療法中にも治療に反応せず腫瘍が増大する症例もしばしば見られる。手術や診断技術の目覚ましい進歩にもかかわらず、膠芽腫の治療成績はこの40年間ほとんど改善が見られておらず、その生存期間中央値は、診断後約12-14ヶ月とされる。東京大学医学部附属病院におけるテント上膠芽腫の治療成績は、生存期間中央値では60Gyの照射で12.4ヶ月、80-90Gyの照射で16.2ヶ月、2年生存率は60Gyの照射で11.4%、80-90Gyの照射で38.4%である。</p> <p>現在再発時に有効な治療法として確立されたものはない。脳の耐容線量のため有効線量の追加照射は困難または無効な場合が多く、化学療法も種々の薬剤や投与方法が試みられてきた中で、再発に対して有効性が確立されたものはない。</p> <p>このように、初期放射線治療後に進行した膠芽腫には有効な治療法が存在せず、予後は不良であり、従来とは異なるアプローチによる新たな治療法の開発が不可欠と考えられる。</p> <p>(2) 当該臨床研究の概要</p> <p>ウイルス療法 (oncolytic virus therapy) は、腫瘍細胞内で選択的に複製する増殖型ウイルスを腫瘍細胞に感染させ、ウイルス複製に伴うウイルスそのものの直接的な殺細胞効果により腫瘍を治療する方法である。腫瘍内でのウイルスの複製能を最大限に保ちつつ、正常組織での病原性を最小限に押さえるため、ウイルスゲノムに人為的な遺伝子操作による改変を加えた遺伝子組換えウイルスを用いる。腫瘍細胞に感染した増殖型遺伝子組換えウイルスは腫瘍細胞内で複製し、その過程でウイルスに感染した細胞は死滅する。複製したウイルスはさらに周囲の腫瘍細胞に感染し、その後複製→細胞死→感染を繰り返して抗腫瘍効果を現す。ウイルス複製に伴い感染した腫瘍細胞は死滅するため、外来治療遺伝子を導入せずに腫瘍を治癒させることが可能であると期待される¹⁾。脳腫瘍、特に神経膠腫は、定位的脳手術等により比較的容易かつ確実にウイルスの腫瘍内直接投与が行えることや、神経組織という高度に分化した非増殖細胞からなる組織に囲まれていること、腫瘍の他臓器への転移が稀であること、著効を示す治療法が存在していないことなどから、ウイルス療法の臨床試験対象に適している。</p> <p>脳腫瘍の分野のウイルス療法では、単純ヘルペスウイルスI型 (HSV-1) の開発が進んでいる。HSV-1が脳腫瘍治療に適していると考えられるのは、次のような利点に基づいている。すなわち、HSV-1は元来神経組織に親和性が高い上に、1) ヒトのほぼ全ての種類の細胞に感染可能である、2) 比較的低い multiplicity of infection (MOI; 細胞数に対する感染性ウイルス投与量の比) で全ての細胞の死滅が可能である、3) 脳における病原性を呈するのに必要なウイルス遺伝子が解明されており、遺伝子操作を加えることで病原性の除去が可能である、4) HSV-1に感受性を示すマウスが存在するために、動物で安全性や効果の前臨床的評価を行える、5) 抗ウイルス薬が存在するため</p>	

に治療を中断することが可能である、6) ウイルス自体の免疫原性が比較的 low、血中抗 HSV-1 抗体が細胞間ウイルス伝搬に影響しない、7) ウイルス DNA が宿主細胞のゲノムに取り込まれない、という特徴を有する。

本臨床研究では、複製型遺伝子組換え HSV-1 である G47Δ を、初期放射線治療後の進行性膠芽腫の患者の腫瘍内に定位手術的に注入する。G47Δ は、米国で再発悪性グリオーマを対象として臨床試験 (第 I 相) で用いられた第二世代複製型遺伝子組換え HSV-1 の G207 を改良した第三世代で、腫瘍細胞を破壊しつつ腫瘍内で複製するが、正常脳組織は傷害しないと考えられる²⁾。G207 および G47Δ についての詳細は「遺伝子の種類及びその導入方法(8)」の欄に記載する。治療効果と複数回投与の安全性確認のため、投与は2回行う。3段階の用量増加にて安全性の評価すなわち有害事象の種類と発生頻度の調査を行うことを主目的とする。副次的目的として、画像上の腫瘍縮小効果や全生存期間、無増悪生存期間により G47Δ の効果を評価する。

(3) 他の治療法との比較及び当該治療法を選択した理由

初期放射線治療にもかかわらず進行または再発した膠芽腫に対して有効性が確認されている治療法は現在なく、治療手段は非常に限られている。手術で再度の摘出を行える場合は摘出術を試みるが、症状を悪化させずに再摘出を行える例は少ない。初期放射線治療では、脳の耐容線量の限界まで照射を行うため、追加放射線照射には線量、照射部位ともに限りがあり、有効性は期待できない。化学療法は、薬剤を変更して行われることがあるが、副作用もあり、有効性の確立されたものはない。総じて、化学療法および放射線治療に対する膠芽腫の感受性は低く、初期治療期間中の腫瘍増大もしばしば認められる。40年来治療成績の向上がほとんど見られていないことから、膠芽腫の治療には全く新しいアプローチが必要であることは明白であり、ウイルス療法は有効性が期待される。上述のごとく、ウイルス療法の中でも HSV-1 は脳腫瘍治療に適している。「安全性についての評価(5)ウイルスの細胞傷害性」に記載のとおり G207 は第 I 相臨床試験において安全性が示され有効性を示唆する所見も得られている。「遺伝子の種類及びその導入方法(9)G47Δ ウイルスの生物学的特徴」に記載のとおり動物実験において G47Δ は G207 に比し優れた腫瘍縮小効果と同等以上の安全性を示す。G47Δ は、安全性と効果を高めた最新世代の複製型遺伝子組換え HSV-1 で、進行が早く予後が極めて不良な進行性の膠芽腫の患者にも効果が期待できる。

(引用文献)

1. Todo T, Martuza, RL, Rabkin, SD, et al. Oncolytic herpes simplex virus vector with enhanced MHC class I presentation and tumor cell killing. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 98: 6396-6401.2001.
2. Hunter WD, Martuza, RL, Feigenbaum, F, et al. Attenuated, replication-competent herpes simplex virus type 1 mutant G207: safety evaluation of intracerebral injection in nonhuman primates. J. Virol. 73: 6319-6326.1999

遺伝子の種類及びその導入方法

(1) 人に導入する遺伝子の構造と性質

本臨床研究では、複製型遺伝子組換え HSV-1 である G47Δ そのものが直接腫瘍細胞を破壊するものであり、治療目的で人に導入される外来治療遺伝子はない。なお、G47Δ にはウイルス複製を検出するために大腸菌 LacZ 遺伝子 cDNA が挿入されており、G47Δ が複製する腫瘍細胞に導入され一過性に発現される。

(2) 導入遺伝子からの生成物の構造および生物活性

LacZ 遺伝子からの生成物はβ-ガラクトシダーゼである。β-ガラクトシダーゼは分子量 116 kDa で四量体として機能し、ラクトースを分解してグルコースとガラクトースを生成する。β-ガラクトシダーゼは人体に対し毒性や病原性を有しない。「安全性についての評価(5)ウイルスの細胞傷害性」に記載の如く、LacZ 遺伝子を発現する第二世代複製型遺伝子組換え HSV-1 である G207 が第 I 相臨床試験において人の脳内 (脳腫瘍内) に投与されており、LacZ 遺伝子生成物の安全性は示されている。

(3) 本研究で使用するその他の組換え DNA の構造と性質

本計画では他の組換え DNA は使用しない。

(4) 標的細胞とした細胞の由来及び当該細胞を標的細胞とした理由

本研究での標的細胞は膠芽腫の腫瘍細胞そのものであり、G47Δ が感染した標的細胞でウイルス複製が行われる過程で腫瘍細胞が直接破壊される。

(5) 遺伝子導入方法の概略及び当該導入法を選択した理由

G47Δは定位的脳手術により腫瘍内へ直接投与する。定位的腫瘍内直接投与は、標的腫瘍細胞へ最も効率よく、また選択的にウイルスを感染させることができる方法の一つである。

(6) 野生型ウイルスの生物学的特徴及び人に対する影響

HSV-1はエンベロープを持つ二重鎖DNAウイルスである。ゲノムの大きさが約152kbであり、約80のウイルス遺伝子を持つ。ゲノムは両端に特徴的な繰り返し配列がある。ヒトを宿主とし、「口唇ヘルペス」として知られ、野生型ウイルスの初期感染は一般に軽症あるいは無症状である。まれに、角膜炎や脳炎を起こす。ヘルペス脳炎の発生は日本の調査では年間100万人に2.9人、欧米では年間20万人に1人である。発癌性はない。免疫不全や新生児など特殊な条件を除くと、HSV-1はウイルス血症を生じることがなく、初期感染後全身に分布しない。成人の60~70%は抗HSV-1抗体を保持している。抗ウイルス薬が存在し、重症の場合アシクロビル、バラシクロビルなどで治療される。

HSV-1は、ヒトの粘膜表面（通常は口腔咽頭）への直接の接触により感染する。接触感染以外の感染形式はない。感染した局所で複製した後、神経末端から感覚神経節（しばしば三叉神経節）にウイルスは移送され、潜伏感染（latency）を確立する。潜伏感染においてはウイルスの複製は行われず、別の宿主への感染性を有しない。潜伏感染から再活性化（reactivation）が起きると、ウイルスは皮膚粘膜（通常は口唇）で顕在化し、水疱を形成する。

HSV-1は、エンベロープが破壊・変性すると容易に感染性を失う。宿主から離れると常温では約7日で死滅する。Biosafety上、消毒薬（chemical disinfectants）に対する感受性の点でlipid virusesに分類され、微生物の中で消毒薬に対する感受性が最も高い。物理的不活化（physical inactivation）として、HSV-1は56℃(30分間)の加熱や紫外線照射(15分間)、pH4以下で速やかに感染性を失う。

(7) G47Δウイルスの作製方法

試験薬である複製型遺伝子組換え単純ヘルペスウイルス1型G47Δは、院内製剤としてcGMP準拠施設である東京大学医科学研究所治療ベクター開発室にて製造される。製造は、東京大学大学院医学系研究科TRセンター（脳神経外科）・特任教授・藤堂具紀を責任者とし、東京大学医学部脳神経外科が行なう。マスターセルバンク、マスターウイルスストック制を採用し、使用する試薬もcGMP準拠のものまたは医薬品規格のものを使用する。製造の4工程、すなわち、マスターセルバンク、精製前のウイルス回収液（バルクハーベスト）、精製後のウイルス、およびチューブに分注後の製剤において、英国BioReliance社に委託して品質試験を施行する。

(8) G47Δウイルスの構造

エンベロープおよびその内側のキャプシドは野生型HSV-1と同じである。G207は二重の人為的変異を有し、二つの異なる機序で腫瘍特異的なウイルス複製を達成させ、臨床応用された第二世代複製型遺伝子組換えHSV-1である。G47ΔはG207の改良型で、第三世代複製型遺伝子組換えHSV-1に位置づけられる。正常組織では複製せず腫瘍細胞においてのみウイルス複製を可能にするため、ウイルスゲノムの遺伝子組換え操作により、3つの非必須遺伝子（合計4箇所）が人為的に除去或いは不活化されている。すなわち、2つコピーが存在する γ 34.5遺伝子の双方の欠失と、マーカークのLacZ遺伝子の挿入によるICP6遺伝子（ribonucleotide reductase (RR)の大サブユニットをコードする）の不活化、および α 47遺伝子の欠失という三重変異を有する。

G47Δは、 γ 34.5遺伝子欠失とICP6遺伝子不活化の二重変異を有する遺伝子組換えHSV-1 G207のウイルスゲノムに、 α 47遺伝子の欠失変異を加えることによって作製された。 γ 34.5はHSV-1の病原性に関連した遺伝子で、これを欠失させた変異株は正常細胞でのウイルス複製能が著しく減弱する。正常細胞ではウイルス感染が起こると二本鎖RNA依存性プロテインキナーゼ(double stranded RNA-activated protein kinase: PKR)がリン酸化され、それが翻訳開始因子eIF-2aをリン酸化し、その結果ウイルス蛋白を含む細胞内での蛋白合成が遮断される。 γ 34.5遺伝子産物はこのリン酸化PKR機能に拮抗してウイルス蛋白の合成を可能にするが、 γ 34.5遺伝子欠失HSV-1は正常細胞では複製できないことが判明している³⁾。しかし、正常細胞と異なり、腫瘍細胞では普遍的に感染に伴うPKRのリン酸化が低いため、 γ 34.5遺伝子欠失のHSV-1でも複製可能となると考えられている⁴⁾。RRはウイルスDNA合成に必要な酵素であるが、この遺伝子を不活化すると、ウイルスは非分裂細胞では複製できず、分裂が盛んでRR活性の上昇した細胞でのみウイルスの欠落酵素が補われてウイルス複製が可能となる。

α 47遺伝子のコードする蛋白質は、宿主細胞の抗原呈示関連トランスポーター(TAP)を阻害して細胞表面のMHC Class Iの発現を抑えることによって、ウイルス蛋白の提示を抑制し、宿主の免疫サーベイランスから逃れる作用を有する。従って α 47遺伝子欠失HSV-1では宿主細胞のMHC Class I

発現が維持され、抗腫瘍免疫細胞に対する刺激が強くなると期待される。また G47Δは、α47 遺伝子と重なる US11 遺伝子のプロモーターも欠失するため、US11 遺伝子の発現時期が早まり、これが γ34.5 変異の second site suppressor として機能して γ34.5 欠失 HSV-1 において減弱したウイルス複製能を腫瘍細胞に限って復元する。

これらの三重変異により、G47Δは、ウイルス複製に関して高い腫瘍特異性を示し、腫瘍細胞に限局した高い殺細胞効果を呈する一方、正常組織では毒性を呈さない。親ウイルス G207 に比較して、その安全性を維持しながら、抗腫瘍効果が格段に改善された。また G207 に比べ、高い力価のウイルス製剤が生産できることもあり、同じ容量でも高い治療効果が期待できる。G47Δは、ウイルスゲノム上、間隔の離れた 4 箇所の人為的変異を有することから、野生型 HSV-1 に戻る(revert)可能性がゼロに等しい点でも安全性の高いゲノム構造となっている。G47Δは HSV-1 strain F 由来であることから、37°C では複製するが 39.5°C では複製しないという温度感受性を有する。

(9) G47Δウイルスの生物学的特徴

① 培養細胞におけるウイルス複製能力：

G47Δは、臨床応用された第二世代複製型遺伝子組換え HSV-1 G207 の改良型であることから、G47Δの生物学的特徴については G207 との比較検討が主になされた。ヒト神経芽細胞腫株 SK-N-SH、ヒト膠芽腫細胞株 U87MG、ヒト膠芽腫細胞株 U373、ヒト頭頸部扁平上皮癌細胞株 SQ20B、およびアフリカミドリザル腎細胞株 Vero において、G47Δは G207 に比し優れた複製能力を示し、multiplicity of infection (MOI) = 0.01 にて感染後 24 時間後の産生ウイルスの回収量は G207 に比し 4 倍から 1000 倍高かった¹⁾。U87MG は MOI=2 でも検討を行い、感染後 24 時間後のウイルスの回収量は G207 に比し 12 倍高かった¹⁾。ヒト前立腺癌細胞株 LNCaP および Du145 においても、MOI=2 で感染させた 24 時間後の G47Δの産生ウイルス回収量は G207 に比し 22 倍高かった²⁾。

② 培養細胞における殺細胞効果：

ヒト膠芽腫細胞株 U87MG、U373、U138、ヒト悪性黒色腫細胞株 624 および 888 においては MOI = 0.01 にて、またマウス神経芽細胞腫株 Neuro2a においては MOI=0.1 にて、感染後 3-4 日で G47Δは G207 に比しより速やかに細胞を死滅させた。U87MG 細胞株において G47Δ (MOI=0.01, day3) が 80%の細胞を死滅させたのに対し、G207 は 10%の細胞を死滅させたのみであった¹⁾。ヒト前立腺癌細胞株 LNCaP と DU145 において、MOI=0.1 で、G47Δは G207 に比べ有意に速やかな殺細胞効果を呈した³⁾。

③ 感染宿主細胞の MHC Class I 発現に対する影響：

ヒト繊維芽細胞株 Detroit551 において、野生型 HSV-1 (strain F) または G207 は、感染 24 時間以内に宿主細胞の MHC Class I の発現を 40%程度にまで低下させたのに対し、G47Δは MHC Class I の発現を 100%維持した¹⁾。ヒト悪性黒色腫細胞株を用いた検討では、MHC Class I の発現が元来比較的高い 938 株と 1102 株において、G47Δは G207 に比べ、感染後の MHC Class I の発現低下を有意に抑制した。MHC Class I の発現が元来低い 624 株、888 株、および 1383 株においては G207 との差は見られなかった。

④ 腫瘍反応性 T 細胞の活性化作用：

ヒト悪性黒色腫細胞株 938 および 1102 において、G47Δ感染腫瘍細胞は G207 感染腫瘍細胞に比べ、それぞれの細胞株に特異的に反応する腫瘍浸潤 T 細胞株の刺激によるインターフェロン γ の分泌を 25-40%増加させた¹⁾。888 株においては、腫瘍浸潤 T 細胞刺激によるインターフェロン γ の分泌は G47Δ、G207 いずれの感染腫瘍細胞でもほとんど見られなかった。

⑤ マウス皮下腫瘍に対する抗腫瘍効果

ヌードマウスの皮下に形成された U87MG ヒトグリオーマや A/J マウスの皮下に形成された Neuro2a マウス神経芽細胞腫に 1×10^6 plaque-forming units (pfu) を 2 回腫瘍内投与すると、G47Δは G207 に比し有意に優れた腫瘍増殖抑制効果を示した。U87MG 皮下腫瘍を有するマウスにおいて、G207 治療群では 12 匹中 3 匹に治癒が見られたのに対し、G47Δ治療群は 12 匹中 8 匹に治癒が見られた¹⁾。

アンドロゲン依存性前立腺癌細胞株であるヒト HONDA およびマウス TRAMP を用いたマウス皮下腫瘍モデルにおいて、G47Δを 2 回腫瘍内投与すると投与量依存性に腫瘍増殖が抑制された。また前モデルに対しては 2×10^5 pfu 2 回、後モデルに対しては 5×10^6 pfu 2 回の腫瘍内投与を行い、ホルモン療法を併用するとさらに治療効果の増強が得られた³⁾。またホルモン療法後に

ホルモン不応性となり再発したヒト前立腺癌 HONDA に対しても G47Δの腫瘍内投与は増殖抑制効果を示した⁵⁾。

⑥ マウス脳腫瘍に対する抗腫瘍効果：

マウス脳内に形成された U87MG ヒトグリオーマや Neuro2a マウス神経芽細胞腫に対し、それぞれ 1×10^6 pfu 単回および 2×10^5 pfu 2 回の腫瘍内投与を行うと、G47Δは G207 に比べ生存期間を延長した。U87MG 対照群の生存期間中央値が 27 日であったのに対し、G207 治療群は 36 日、G47Δ治療群は 42 日と有意に生存期間を延長した。Neuro2a においては対照群の生存期間中央値が 11 日であったのに対し、G207 治療群は 14 日、G47Δ治療群は 15 日と生存期間を延長する傾向が見られた。

⑦ マウス皮下腫瘍におけるウイルス複製能：

ヌードマウス皮下に形成された U87MG ヒトグリオーマ腫瘍内に 1×10^6 pfu のウイルスを投与し、48 時間後に複製したウイルス量を測定すると G47Δは G207 に比べ 5 倍高かった。

⑧ マウス乳癌モデルにおける抗腫瘍効果：

マウス乳癌細胞株 M6c の皮下腫瘍および脳内移植腫瘍のモデルにおいて、それぞれ 2×10^7 pfu の 4 回腫瘍内投与および 2×10^6 pfu の単回腫瘍内投与を施行したところ、G47Δは G207 に比し有意に優れた抗腫瘍効果を示した^{6,7)}。また、ヒト乳癌 MDA-MB-435 の脳内移植腫瘍に対して血液脳関門開放薬剤との併用で 1×10^7 pfu 単回の頸動脈内投与を行ったところ、対照群の生存期間中央値が 12.9 日であったのに対し、G47Δ治療群は 17.4 日と有意に生存期間を延長した^{6,7)}。乳癌を自然発生する C3(1)/T-Ag マウスモデルにおいて、 2×10^7 pfu の G47Δを毎週 1 回腫瘍内に投与したところ、対照群の生存期間中央値が 5.5 週であったのに対し、G47Δ治療群は 8.5 週と有意に優れた抗腫瘍効果を示した^{6,7)}。

⑨ マウス神経線維腫モデルにおける抗腫瘍効果：

マウス神経線維腫症 2 型(NF2)の自然発生腫瘍モデル P0-SchΔ(39-121) line 27 において腫瘍の大きさを経時的に MRI にて観察したところ、 1×10^7 pfu の 6 日おき 2 回の G47Δ腫瘍内投与にて腫瘍増殖が抑制される傾向が見られた。またヌードマウス皮下で継代した NF2 患者由来のヒト神経鞘腫において、 1×10^7 pfu の 6 日おき 2 回の G47Δ腫瘍内投与を行なうと、腫瘍縮小効果が見られた⁸⁾。

⑩ G207 を用いた調査

G207 は、ヒトグリオーマ及び悪性髄膜腫細胞株に対し高い殺細胞効果を示し、*in vitro* では MOI 0.1 で 3-6 日以内に腫瘍細胞を全滅させる。一方、同じ投与量でラットの初代培養の神経細胞や星状細胞には影響を及ぼさない。この効果は *in vivo* にも反映され、ヌードマウスの頭蓋内に形成された U87MG グリオーマや F5 悪性髄膜腫に G207 ($2-5 \times 10^6$ pfu) を 1 回腫瘍内投与すると有意に生存期間が延長する。G207 は現在までに 60 種以上の細胞株で試され、脳腫瘍に限らず、多種のヒトの腫瘍に (血液腫瘍を除く)有効であることが確かめられている。

正常免疫下における G207 の抗腫瘍効果は、A/J マウス及び同系の N18 (神経芽細胞腫) 細胞や Neuro2a (神経芽細胞腫) 細胞の脳腫瘍および皮下腫瘍モデル、および BALB/c マウスの CT26

(大腸癌) 皮下腫瘍モデルで調べられた。その結果、G207 は正常免疫下においても高い抗腫瘍効果を呈するのみならず、腫瘍内投与により特異的抗腫瘍免疫を惹起するため、抗腫瘍効果が増強されることが示された。この抗腫瘍免疫は腫瘍特異的な細胞傷害性 T 細胞活性 (CTL) の上昇を伴い、脳内と皮下のいずれでも効果を示した。同じマウス腫瘍モデルでステロイド投与の影響を調べたところ、免疫抑制下においても腫瘍内のウイルス複製に変化はなく、基本的な抗腫瘍効果に影響は無かったが、ステロイド長期投与では CTL 活性の抑制に伴い、腫瘍の治癒率が減少した。また、成人の 60-70% は HSV-1 に対する抗体を保有するが、予め非致死量の HSV-1 を投与して抗体を形成させたマウスで調べた結果、G207 の抗腫瘍効果は血中の抗 HSV-1 抗体には全く影響されなかった。

(引用文献)

- 3 Chou J, Kern, ER, Whitley, RJ, et al. Mapping of herpes simplex virus-1 neurovirulence to γ 134.5, a gene nonessential for growth in culture. Science 250: 1262-1266. 1990.
- 4 Farassati F, Yang, AD, Lee, PW. Oncogenes in Ras signalling pathway dictate host-cell permissiveness to herpes simplex virus 1. Nat Cell Biol 3: 745-750. 2001.

	<p>5. Fukuhara H, Martuza, RL, Rabkin, SD, et al. Oncolytic herpes simplex virus vector g47delta in combination with androgen ablation for the treatment of human prostate adenocarcinoma. Clin Cancer Res 11: 7886-7890.2005.</p> <p>6. Liu R, Martuza, RL, Rabkin, SD. Intracarotid delivery of oncolytic HSV vector G47Delta to metastatic breast cancer in the brain. Gene Ther 12: 647-654.2005.</p> <p>7. Liu R, Varghese, S, Rabkin, SD. Oncolytic herpes simplex virus vector therapy of breast cancer in C3(1)/SV40 T-antigen transgenic mice. Cancer Res 65: 1532-1540.2005.</p> <p>8. Messerli SM, Prabhakar, S, Tang, Y, et al. Treatment of schwannomas with an oncolytic recombinant herpes simplex virus in murine models of neurofibromatosis type 2. Hum Gene Ther 17: 20-30.2006.</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 G47Δの投与は脳腫瘍の生検などを目的に一般に用いられる、通常の定位脳手術の手法で行われる。遺伝子組換え HSV-1 の定位脳手術による脳腫瘍内投与法は、G207 の第 I 相臨床試験（米国）でも採用され、G207 に起因する grade 3 以上の有害事象は観察されず、安全性が確認されている。</p> <p>(2) 遺伝子導入に用いるウイルスベクターの純度 臨床研究に使用される G47Δ製剤は、cGMP 準拠の管理施設である東京大学医科学研究所治療ベクター開発室において cGMP 生産される。サザンブロット法とゲノムシーケンシングにより正しい変異を有することが確認された G47Δを用い、WHO Vero 細胞のマスターセルバンクを用いて、ウイルスシードストックが作製される。臨床研究用製剤生産の 4 工程において、英国 BioReliance 社に委託して品質試験を施行する。</p> <p>(3) 患者に投与する物質の純度及びその安全性 臨床研究用 G47Δ製剤は、cGMP 生産され、10% グリセリン/リン酸緩衝生理食塩水(phosphate buffered saline: PBS)の懸濁液として、滅菌状態で凍結用バイアルに分注され、-75℃以下で凍結保存される。患者に投与する製剤は、cGMP 生産の最終工程として英国 BioReliance 社に委託して品質試験を施行する。</p> <p>(4) 増殖性ウイルス出現の可能性 G47Δ自体が複製可能型であるが、前述の通り、複数の機序を介して、そのウイルス複製は、高い特異性をもって腫瘍細胞に限られる。G47Δは、ウイルスゲノム上、間隔の離れた 4 箇所の人為的変異を有することから、野生型 HSV-1 に戻る(revert)可能性はゼロに等しい。万一 3 つの遺伝子のうち 2 箇所または 1 箇所の変異に復元したものが生じたとしても、ICP 6 または γ34.5 の少なくとも一方が不活化されていれば腫瘍選択的な複製は維持される。α47 のみが不活化されたウイルスは宿主の免疫系に認識されやすく、宿主における複製能が低下する。いずれも、野生型に比し毒性や病原性の増加はない。野生型 HSV-1 が既に脳に潜伏している状態で脳内に複製型遺伝子組換え HSV-1 を投与した場合の、潜伏野生型 HSV-1 の活動を誘発する可能性 (reactivation) については、二重変異複製型遺伝子組換え HSV-1 G207 を用いてマウスで調査されており、潜伏野生型 HSV-1 の活動を誘発しないことが実証された。</p> <p>(5) ウイルスの細胞傷害性 A/J マウスや BALB/c マウスは、HSV-1 に感受性の高いマウス系として知られる⁹⁾。三重変異を有する第三世代複製型遺伝子組換え HSV-1 G47Δは、臨床応用を目的に安全性を主眼に開発された第二世代複製型遺伝子組換え HSV-1 G207 の二重変異ウイルスゲノムに更に遺伝子工学的に変異を加えて作製された、G207 の改良型である。A/J マウスを用いて、G47Δ (2 x 10⁶ pfu) の脳内単回投与の安全性を、野生型 HSV-1 (strain F; 2 x 10³ pfu) および G207 の可能最高投与量 (2 x 10⁶ pfu) を対照として盲検法で比較した¹⁾。野生型 HSV-1 は 10 匹全て死亡したのに対し、G207 は 2/8 匹が一過性の軽度の外観異常、G47Δは 1/10 匹が一過性の軽度の外観異常を呈したに過ぎず、脳内投与において G47Δが G207 と同等以上の安全性を有していること、野生型 HSV-1 の少なくとも 1000 倍以上安全であることが示された (計画書添付資料 5(2)12-1)。 更に A/J マウスを用い、G47Δの脳内投与、静脈内投与、腹腔内投与の安全性を、野生型 HSV-1 (strain F) を対照に、繰り返し徹底的に調査した。脳内単回投与では、野生型 HSV-1 (2 x 10³ pfu) で 29/30 匹が死亡したのに対し、G47Δではその 1000 倍量 (2 x 10⁶ pfu) で 30 匹全て、2500 倍量 (5 x 10⁶ pfu) で 29/30 匹が生存した。静脈内単回投与では、野生型 HSV-1 は 1 x 10³ pfu で 11/15 匹、1 x 10⁶ pfu で 22/25 匹、1 x 10⁷ pfu で 6/10 匹が死亡したのに対し、G47Δは 1 x 10⁷ pfu で 10 匹</p>

全て、 4×10^7 pfu で 15 匹全て、 2×10^8 pfu で 19/25 匹が生存した。腹腔内単回投与では、野生型 HSV-1 は、 2×10^4 pfu で 2/25 匹、 2×10^5 pfu で 2/25 匹、 2×10^6 pfu で 3/10 匹が死亡したのに対し、G47Δ は試験に用いた 60 匹全てが生存した (1×10^7 pfu が 5 匹、 3×10^7 pfu が 25 匹、 1×10^8 pfu が 20 匹、 3×10^8 pfu が 10 匹)。以上より、脳内単回投与では、G47Δ は野生型 HSV-1 に比べ 1000 倍以上の安全性を示すことが再確認された。また、静脈内単回投与や腹腔内単回投与では、野生型 HSV-1 でも全例死亡するほどの毒性を呈するに至らなかったが、死亡例が出始める最低投与量を比較すると、いずれの投与経路においても、G47Δ は野生型 HSV-1 に比べ、少なくとも 1000 倍以上の安全性を呈することが示された。

G47Δ は G207 の改良型ウイルスであり、G47Δ は A/J マウスに対する脳内投与で G207 と同等以上の安全性を示すことが確認されている。G207 についても、動物を用いた徹底的な安全性評価が行われている。BALB/c マウスの脳内または脳室内単回投与では最高量 1×10^7 pfu で何の症状も認めず、LD₅₀ 量の野生型 HSV-1 の脳内単回投与を生き延びた BALB/c マウスの脳に再度 G207 (1×10^7 pfu) を投与しても潜在 HSV-1 の再活動を誘発しなかった¹⁰⁾。また、ヨザル (*Aotus nancymae* (owl monkey)) は HSV-1 に感受性が高い霊長類として知られており、合計 22 匹が G207 の安全性評価に用いられた^{12, 13)}。ヨザルの脳に野生型 HSV-1 (strain F) を 10^3 pfu を単回投与すると脳炎を生じて 5 日以内に死亡するが、G207 では 10^9 pfu までの単回投与或いは 10^7 pfu の反復投与でも症状を呈さず、MRI や病理学上も異常を示さなかった¹¹⁾ (計画書添付資料 5(2)12-3)。カラムで精製した臨床用 (clinical grade) の G207 の安全性は 4 匹のサルで詳細に検討され、 3×10^7 pfu が脳内に単回投与された¹²⁾。そのうち 2 匹は投与 1 ヶ月後に、2 年前に laboratory grade G207 を 1×10^9 pfu 脳内投与された 1 匹とともに解剖され、全身組織の HSV-1 の分布を PCR 法とウイルス培養により検討し、また病理組織学的変化を検討した。観察期間中、サルは全く無症状の上、1 ヶ月間採取した涙、唾液、髄分泌液からは PCR 法、ウイルス培養いずれでも HSV-1 が検出されなかった。1 ヶ月後の剖検では G207 DNA が脳に限局し、感染性ウイルスは全く検出されず、病理学的には正常であった (計画書添付資料 5(2)12-2)。また、全例で血清抗 HSV-1 抗体が G207 脳内投与約 3 週間後より上昇した。ヨザルを用いた安全性評価の結果は、マウスを用いた安全性評価の結果を再確認した。

G207 を用いた第 I 相臨床試験が、再発悪性グリオーマの患者 21 例を対象に、米国ジョージタウン大学とアラバマ大学バーミングハム校にて行われた。結果は論文で発表されている¹³⁾。一投与量ごとに 3 例ずつ、 1×10^6 pfu から 3 倍ずつ投与量を増やして 3×10^9 pfu まで、増強 CT の増強部位に定位脳手術により腫瘍内に単回投与された。その結果、G207 に起因する grade 3 以上の有害事象は認めず、軽度の adverse events として痙攣発作 2 例、脳浮腫 1 例を認めた。1 例 (3×10^8 pfu) が投与後 24 時間以内に見当識障害と構語障害を呈したが、投与 14 日後の定位的生検は腫瘍所見のみで炎症を認めず、HSV 免疫染色も陰性であった。投与 3 ヶ月以上後の、腫瘍増大では説明できない神経症状悪化が 2 例あったが、いずれも生検で HSV 免疫染色が陰性であった。生検或いは再摘出術で得られた腫瘍組織 7 例中 2 例で PCR にて G207 DNA が検出された (投与後 56 日と 157 日)。G207 投与後、Karnofsky スコアの改善が 6 例 (29%) に認められた。経時的 MRI 評価を行った 20 例中 8 例に腫瘍の縮小を認めたが、脳梗塞で死亡した 1 例を除いた全例にて再増大を認めた。ステロイド投与にも関わらず、術前抗 HSV-1 抗体が陰性であった 5 例中 1 例に陽転を認めた。剖検が 5 例で行われ、脳病理はいずれも脳炎や白質変性を認めず、HSV-1 免疫染色陰性であった。3 例にて腫瘍が脳の 1 領域に限局し、膠芽腫に通常見られるような腫瘍細胞の周囲脳組織への著明な浸潤を認めなかった。脳梗塞で死亡した 1 例では残存腫瘍を認めなかった。この臨床試験で、G207 の 3×10^9 pfu までの脳内投与の安全性が確認された。

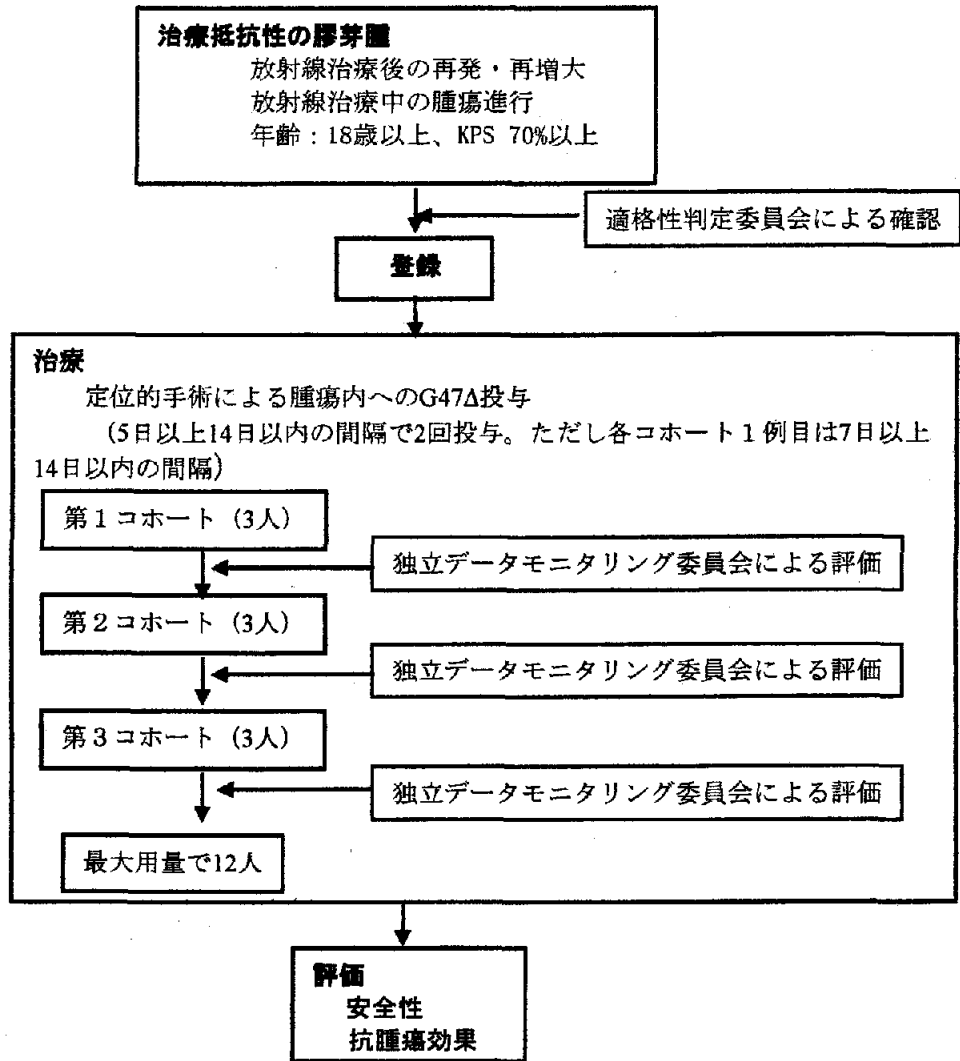
(引用文献)

9. Lopez C. Genetics of natural resistance to herpesvirus infections in mice. *Nature* 258: 152-153.1975.
 10. Sundaresan P, Hunter, WD, Martuza, RL, et al. Attenuated, replication-competent herpes simplex virus type 1 mutant G207: safety evaluation in mice. *J. Virol.* 74: 3832-3841.2000.
 11. Hunter WD, Martuza, RL, Feigenbaum, F, et al. Attenuated, replication-competent herpes simplex virus type 1 mutant G207: safety evaluation of intracerebral injection in nonhuman primates. *J. Virol.* 73: 6319-6326.1999.
 12. Todo T, Feigenbaum, F, Rabkin, SD, et al. Viral shedding and biodistribution of G207, a multimitated, conditionally-replicating herpes simplex virus type 1, after intracerebral inoculation in *Aotus*. *Mol. Ther.* 2: 588-595.2000.
 13. Markert JM, Medlock, MD, Rabkin, SD, et al. Conditionally replicating herpes simplex virus mutant, G207 for the treatment of malignant glioma: results of a phase I trial. *Gene Ther.* 7: 867-874.2000.
- (6) 体内の標的細胞以外の細胞へ、また患者以外の人への遺伝子導入の可能性

	<p>本臨床研究はウイルス (G47Δ) のみの腫瘍内投与を行い、治療遺伝子の導入はない。G47Δは、ウイルス複製に関して腫瘍細胞に高い特異性を有し、腫瘍細胞以外では複製不能である。また、そのため自然界で増殖拡散し得ない。G207の第I相臨床試験では、G207の脳内投与後、尿中へのウイルス排出を検出しなかった。またヨザルを用いた非臨床試験では、G207の脳内投与後、1ヶ月間採取した涙、唾液、腔分泌液からはPCR法、ウイルス培養いずれでもウイルス排出が検出されなかった。</p> <p>(7) 染色体内へ遺伝子が組み込まれる場合の問題点 HSV-1のウイルスゲノムまたは遺伝子は宿主の染色体には組み込まれない。</p> <p>(8) がん原性の有無 HSV-1のウイルスゲノムまたは遺伝子は宿主の染色体には組み込まれず、HSV-1にがん原性はない。遺伝子組換えHSV-1を原因とするがんの発生は、臨床試験、非臨床試験いずれでも報告されていない。</p> <p>(9) 遺伝子産物の安全性 G47Δは直接的な殺細胞作用により腫瘍細胞を破壊する。大腸菌 LacZ 遺伝子が G47Δから腫瘍細胞に導入され一過性に発現されるが、その遺伝子産物β-ガラクトシダーゼは人体に対し毒性や病原性を有しない。「安全性についての評価(5)ウイルスの細胞傷害性」に記載の如く、LacZ 遺伝子を発現する第二世代複製型遺伝子組換え HSV-1 である G207 が第 I 相臨床試験において人の脳内（脳腫瘍内）に投与されており、LacZ 遺伝子生成物の安全性は示されている。</p> <p>(10) 細胞の安全性 G47Δウイルスはマスターウイルスストックを Vero 細胞(アフリカミドリザル由来腎細胞株)に感染させて作製する。</p> <p>① 培養細胞の純度 Vero 細胞のマスターセルバンクは、ワクチン製造用に WHO で唯一認定されている Vero 細胞の Seed lot 10-87 (WHO Vero) をもとに構築され、英国 BioReliance 社において無菌性、病原性ウイルス混入の否定、他種細胞の混入の否定などに関して品質試験を行う。</p> <p>② 細胞の遺伝子型、表現型の安定性 マスターセルバンクの Vero 細胞については英国 BioReliance 社において品質試験を行う。G47Δウイルス作製にはマスターセルバンクからの継代数が低い Vero 細胞を用い、表現型は安定している。</p> <p>③ 被験者に投与する細胞の安全性 本臨床研究では被験者に細胞成分の投与を行わない。</p>
<p>遺伝子治療臨床研究の実施が可能であると判断する理由</p>	<p>初期放射線治療後に進行または再発した膠芽腫に対して、確立された有効な治療法はなく、新しい治療法が必要とされる。培養細胞およびマウスを用いた前臨床研究では、G47Δの抗腫瘍効果と、安全性が示されている。増殖型遺伝子組換え単純ヘルペスウイルスである G207 を用いた膠芽腫を対象とした臨床試験が海外で行なわれており、その安全性が示されている。本臨床研究の遂行には、遺伝子組換え単純ヘルペスウイルスの取り扱いや、悪性脳腫瘍診療、定位脳手術に精通した者による実施が必要である。当施設はこの条件を満たす研究チームが存在し、かつ実施に必要な設備を有している。以上から本遺伝子治療臨床研究の実施は理論的にも、実質的にも可能であると判断される。</p>

実施計画

ウイルス療法臨床研究を含む全体の治療計画
本研究はオープンラベルによる用量増加試験である。
シエーマ



対象疾患と病期

初期放射線治療にもかかわらず再増大または進行する膠芽腫の患者。東京大学医学部附属病院の受診患者（紹介患者を含む）の中で本試験を希望し、④I. 選択基準の項に記載ならびに臨床研究プロトコルに詳述の選択基準を全て満たし、かつ除外基準のいずれにも該当しない者を対象とする。

試験のデザイン

本試験は無作為化を行わないオープンラベルによる G47Δの段階的用量増加試験である。再発または進行性膠芽腫の患者を対象とし、定量的に腫瘍内に G47Δを投与する。5日以上14日以内に同じ部位に同量の G47Δの2回目の投与を行う。3段階3例ずつの用量増加を行い、安全性が確認されたら、最大用量で更に12例に投与する。安全性の評価すなわち有害事象の種類と発生頻度の調査を主目的とし、副次目的として、画像上の腫瘍縮小効果や全生存期間、無増悪生存期間により G47Δの効果进行评估する。

被験者の選択基準および除外基準

1. 選択基準

病理学的に膠芽腫との診断が確定していること。かつ

放射線治療に不反応となったもの。すなわち、放射線治療後に再発あるいは進行したも

の、あるいは放射線治療中に腫瘍が増大しつつあるもの。
腫瘍の存在部位が除外基準に記されたものでないこと。
G47Δ投与前 14 日以内の MRI にて増影される病変が 1.0cm 以上あること。
化学療法の施行歴の有無は問わない。
Karnofsky Performance Scale (KPS) \geq 70%。
年齢 18 歳以上。
ステロイド投与は支障ないが、投与量が G47Δ投与前の 1 週間以内は一定であること。
G47Δ投与後少なくとも 6 ヶ月間はバリア型避妊を実行する意志があること。
3 か月以上の生存が見込まれること。
主要臓器の機能が正常であること (除外基準参照)。
文書でインフォームドコンセントを行う能力と意志があること。

2. 除外基準

既往歴

治療可能な子宮頸部の *in situ* 癌および皮膚の基底細胞癌または扁平上皮癌を除く、他の癌の既往または併存。
脳炎、多発性硬化症、または他の中枢神経感染症の既往。
HIV 陽性またはその既往。
アルコールまたは他の薬物中毒の既往または併存。
MRI 検査(造影剤使用)が禁忌の場合。例えば、ペースメーカー、持続注入ポンプの体内留置、MRI 造影剤アレルギー。
その他、医学的あるいは精神的異常のため、プロトコル治療を遵守することが困難であると思われる場合。

腫瘍の存在部位

脳外転移の存在。
頭蓋内に複数の (2 か所以上の) 悪性グリオーマ病変の存在。
脳室・脳幹・あるいは後頭蓋窩に投与しなければならない場合、あるいは脳室経由で到達しなくてはならない場合。
上衣下・くも膜下播種。

臨床検査値

白血球 $\leq 2.0 \times 10^3/\text{mm}^3$ 、好中球 $\leq 1.0 \times 10^3/\text{mm}^3$ 、血小板 $\leq 100,000/\text{mm}^3$ 、Hb ≤ 9.0 g/dl、INR or PTT > 正常値の 1.3 倍。
血清クレアチニン $\geq 1.7\text{mg/dl}$ 。
肝トランスアミナーゼ (AST または ALT) > 正常値の 4 倍。
総ビリルビンまたは直接ビリルビン > 1.5mg/dl。

併存疾患

活動性のヘルペスウイルス感染の存在。
臨床研究開始時に、HSV に対する抗ウイルス薬 (アシクロビル、バラシクロビル) 治療を必要とする場合。
手術の適応外となるような、活動性でコントロールされていない感染症の存在。
コントロール不良または重度の心不全・糖尿病・高血圧・間質性肺炎・腎不全・自己免疫疾患など。

アレルギー歴

抗 HSV 薬 (アシクロビル) に対するアレルギーの存在。

併用薬、併用療法

G47Δの投与に先立ち 30 日以内の他の臨床試験薬の投与。
G47Δ投与前 6 週間以内に免疫療法 (インターフェロンなど) を行っていること。
G47Δ投与前 30 日以内の何らかのワクチン投与。
G47Δ投与前 30 日以内の脳腫瘍切除術。
遺伝子治療または G47Δ以外のウイルス療法の既往。
G47Δウイルス療法の既往または既登録者。

妊娠に関する事項

妊娠中または授乳中の女性。

その他

その他、担当医師が不適切と判断する場合。

被験者の同意の取得方法

1) 患者への説明

登録に先立って、担当医は患者本人に施設の遺伝子治療臨床研究審査委員会の承認を得た説明文書（計画書添付資料4）を患者本人に渡し、臨床試験コーディネーター（Clinical Research Coordinator: CRC）同席のもとで以下の内容を口頭で詳しく説明する。

病名と病状に関する説明。

本試験が臨床研究であること。

臨床研究と一般診療との違い。

本試験のデザインおよび意義。

プロトコル治療の内容。

治療法、プロトコル治療全体の期間など。

プロトコル治療により期待される効果

延命効果、腫瘍縮小効果など。

予想される有害事象、合併症、後遺症とその対処法について

合併症、後遺症、治療関連死を含む予期される有害事象の程度と頻度、及びそれらが生じた際の対処法について。

費用負担と補償

健康被害が生じた場合担当医師が適切な治療を行うが、健康被害に対する補償はないことなどの説明。

代替治療法

現在の一般的治療法（緩和医療も含む）や標準治療法の内容、効果、副作用など。

代替治療を選択した場合の利益と不利益。

試験に参加することで患者に予想される利益と可能性のある不利益

試験に参加することによって享受できると思われる利益と被る可能性のある不利益。

病歴の直接閲覧について

必要に応じて独立データモニタリング委員などの関係者が医療機関の施設長の許可を得て病歴などを直接閲覧する可能性に関する説明。

同意拒否と同意撤回

試験参加に先立っての同意拒否が自由であることや、いったん同意した後の同意の撤回も自由であり、それにより不当な診療上の不利益を受けないこと。

人権保護

氏名や個人情報等は守秘されるための最大限の努力が払われること。

質問の自由

担当医の連絡先および研究代表者の連絡先を文書で知らせ、試験や治療内容について自由に質問できること。

2) 同意

同意の方法

試験についての説明を行った翌日以降に、被験者が試験の内容をよく理解したことを確認した上で、試験への参加について依頼する。被験者本人が試験参加に同意した場合、付表の同意書を用い、説明をした医師名、説明を受け同意した被験者名、同意を得た日付を記載し、医師、被験者各々が署名する。

代筆者の署名に関する規定

神経症状（麻痺、振戦など）によって被験者本人の署名が困難である場合は、被験者名を代筆者が署名しても良い（ただし、同意そのものは本人の意思に限る）。代筆者は以下の者から被験者本人が指名する：被験者の配偶者、成人の子、父母、成人の兄弟姉妹若しくは孫、祖父母、同居の親族又はそれらの近親者に準ずると考えられる者。

同意文書の部数

同意書は3部作成し、1部は被験者本人に手渡し、1部はデータセンターが保管する。1部はカルテに保管する。

同意書の改訂と再同意

被験者の同意に影響を及ぼすと考えられる有効性や安全性等の情報が得られたときや、被験者の同意に影響を及ぼすような実施計画等の変更が行われるときは、速やか

に被験者に情報提供し、試験等に参加するか否かについて被験者の意思を改めて確認するとともに、遺伝子治療臨床研究審査委員会の承認を得て同意説明文書等の改訂を行い、被験者の再同意を得る。同意承諾を得て臨床研究が開始された後に、病状の増悪などにより本人に同意承諾能力がなくなったと判断される場合には、代諾者による再同意の判断を可能とする。

v) 同意の撤回

被験者はどの時点においても、またいかなる理由でも同意を撤回することができる。同意の撤回は付表の同意撤回書に被験者が署名して試験担当医師に提出することによってなされる。病状の増悪などにより被験者本人に同意撤回能力がなくなったと判断される場合には、代諾者による同意撤回の判断を可能とする。

3) 登録

i) 試験担当医師は、候補となる患者に説明を行い同意取得の後、所定の検査を実施して適格性の判断に必要な情報を収集する。

ii) 試験担当医師は、各選択基準および除外基準に関する情報を症例登録用紙に記載した後、施設内の適格性判定委員会に症例を提示し、対象患者が選択基準を全て満たし、除外基準のいずれにも該当しないことを確認する。その後、独立データモニタリング委員会により適格性判定委員会の判定の確認を受ける。

iii) 記載した症例登録用紙をデータセンターに送付する。

iv) データセンターは、受領した内容を確認した上で登録番号を付与し、試験の進行段階に応じてG47Δ投与量の指定を行なう。その後、登録確認書を作成し、試験担当医師に送付する。受領した登録用紙の内容に不備が認められた場合、データセンターは試験担当医師に問い合わせ、不備を解決する。

4) プライバシーの保護と患者識別

被験者の個人情報を実施施設以外に提供する場合には、研究代表者/試験担当医師が匿名化を行う。匿名化は、被験者識別番号を付すことによって行う。

5) プロトコルの遵守

本試験に参加する研究者は、被験者の安全と人権を損なわない限りにおいて本研究実施計画書を遵守する。

実施期間および目標症例数

i) 実施期間

目標登録期間を約1年とする。観察期間をG47Δ投与完了後90日間とする。G47Δ治療後2年間、全生存期間と無増悪生存期間について追跡する。

ii) 目標症例数

21人(最大30人)。Grade 3以上のG47Δに起因する有害事象が見られない場合、用量増加段階で9人、最大用量でさらに12人、合計21人の治療を行う。G47Δに起因するgrade 3以上の有害事象が出現し症例数の追加を行う場合の最大症例数は30人である。

ウイルス療法臨床研究の実施方法

i) 対照群の設定方法

この臨床研究はオープンラベルであり、盲検化は行わず、対照群も設けない。

ii) 用量増加の方法

本試験ではコホート単位で用量を増加する。

1群3例ずつ、3群にわたって用量を増加する。1回あたり 3.0×10^8 pfu、 1.0×10^9 pfu、または 3.0×10^9 pfuを2回投与、すなわち一人あたり合計 6.0×10^8 pfu、 2.0×10^9 pfu、または 6.0×10^9 pfuを投与する。各群のそれぞれ1例目については、第1回の投与後6日間の観察期間をおいた後に、第2回の投与を行う。また、同群の次の患者の治療を開始するまでには、直前の被験者への第2回投与後、最低6日間の観察期間をおく。次のコホートに移るまえには、直前のコホートの最後の被験者への第2回投与後、投与日を含めて最低14日間の観察期間をおく。

1つのコホートでG47Δに起因するgrade 3以上の有害事象が1例もみられない場合は、次のコホートに進む。第3コホートでG47Δに起因するgrade 3以上の有害事象が全く見られない場合には 6.0×10^9 pfuを最大用量とする。

ある用量で1人にG47Δに起因するgrade 3以上の有害事象が見られた場合には、そのコホートに被験者を3例追加する。追加3例にG47Δに起因するgrade 3以上の有害事象が見ら

れない場合は、次のコホートに進む。第3コホートで被験者を追加した結果、G47Δに起因する grade 3 以上の有害事象が6例中1例以下の場合、 6.0×10^9 pfu を最大用量とする。

ある用量で2人以上にG47Δに起因する grade 3 以上の有害事象が見られた場合には、その時点でそれより1段階低い用量を仮の最大耐用量とする。

仮の最大耐用量が設定された場合、そのコホートでの被験者を追加し、合計6例とする。その用量でG47Δに起因する grade 3 以上の有害事象の見られる被験者が1例以下の場合、その用量を最大耐用量と決定する。2人以上にG47Δに起因する grade 3 以上の有害事象が見られた場合には、その時点で更に1段階低い用量を仮の最大耐用量とし、その用量で合計6例となるまで被験者を追加する。

最小用量のコホートにおいて2人以上の被験者にG47Δに起因する grade 3 以上の有害事象が見られた場合には、この臨床研究は終了となる。

最大用量または最大耐用量が定められたのちは、その量においてさらに12例の治療を行う。なお、この12例の治療中にこの用量での3分の1以上の被験者にG47Δに起因する grade 3 以上の有害事象が見られた場合には、試験を中断し、独立データモニタリング委員会で試験の中止・継続を検討する。

iii) 遺伝子導入方法

G47Δの脳腫瘍内投与は入院の上、手術室にて行う。投与に際しては、レクセル型の定位手術装置を使用し、局所麻酔または全身麻酔下に穿頭手術のうえ、MRI画像のガイド下に腫瘍の造影部位に定位的に投与する。10%グリセリン/磷酸緩衝生理食塩水(PBS)で総量1mlとなるよう希釈したG47Δを、2-5箇所の標的部位へ、生検の後に緩徐に注入する。第1回投与後5日以上14日以内(各コホート1例目は7日以上14日以内)に、再度同じ穿頭部位から第2回の投与と同様に行う。

iv) 臨床検査項目及び観察項目とそのスケジュールの概要 (別表1参照)

1) 同意説明後の適格性評価時

- ① 現病歴、既往歴・手術歴
- ② 理学所見、身長・体重
- ③ 神経学的所見
- ④ バイタルサイン
- ⑤ KPS
- ⑥ 薬剤服用歴
- ⑦ 血算(白血球分画および血小板数を含む)
- ⑧ 血液生化学検査
肝機能(総ビリルビン、Al-P、LDH、 γ GTP、AST、ALT)
腎機能(クレアチニン)
電解質(Na、K)
- ⑨ 凝固系(PT INRおよびPTT)
- ⑩ 心電図
- ⑪ 胸部X線
- ⑫ 頭部造影MRI

2) 登録後第1回G47Δ投与前日まで

- ① リンパ球CD4/CD8数および比
- ② HSV抗体価(ELISA)を含む血清学的検査。
- ③ 遅延型皮膚過敏反応

3) 第1回G47Δ投与前日

- ① 神経学的所見
- ② バイタルサイン
- ③ KPS
- ④ 血算(白血球分画および血小板数を含む)
- ⑤ 血液生化学検査
肝機能(総ビリルビン、Al-P、LDH、 γ GTP、AST、ALT)
腎機能(クレアチニン)
電解質(Na、K)
- ⑥ 凝固系(PT INRおよびPTT)
- ⑦ 併用薬剤
- ⑧ 有害事象評価

4) 第1回G47Δ投与当日の投与前

- ① 頭部造影MRI

5) 第1回G47Δ投与当日の投与中

- ① 腫瘍組織採取
- 6) 第1回 G47Δ投与当日の投与後
 - ① 頭部単純 CT
 - ② 神経学的所見
 - ③ バイタルサイン
 - ④ KPS
 - ⑤ 併用薬剤
 - ⑥ 有害事象の評価
- 7) 第1回 G47Δ投与翌日
 - ① 頭部単純 CT
 - ② 神経学的所見
 - ③ バイタルサイン
 - ④ KPS
 - ⑤ 併用薬剤
 - ⑥ 血液生化学検査
肝機能 (総ビリルビン、Al-P、LDH、γGTP、AST、ALT)
腎機能 (クレアチニン)
電解質 (Na、K)
 - ⑦ HSVの排出 (唾液、尿のPCR。陽性の場合には定量的PCRも)
 - ⑧ 血清のPCRおよびウイルス培養
 - ⑨ 有害事象の評価
- 8) 第2回 G47Δ投与前日
 - ① 神経学的所見
 - ② バイタルサイン
 - ③ KPS
 - ④ 血算(白血球分画および血小板数を含む)
 - ⑤ 血液生化学検査
肝機能 (総ビリルビン、Al-P、LDH、γGTP、AST、ALT)
腎機能 (クレアチニン)
電解質 (Na、K)
 - ⑥ 凝固系 (PT INR および PTT)
 - ⑦ 併用薬剤
 - ⑧ 有害事象の評価
- 9) 第2回 G47Δ投与当日の投与前
 - ① 頭部造影 MRI
- 10) 第2回 G47Δ投与当日の投与中
 - ① 腫瘍組織採取
- 11) 第2回 G47Δ投与当日の投与後
 - ① 頭部単純 CT
 - ② 神経学的所見
 - ③ バイタルサイン
 - ④ KPS
 - ⑤ 併用薬剤
 - ⑥ 有害事象の評価
- 12) 第2回 G47Δ投与翌日
 - ① 頭部単純 CT
 - ② 神経学的所見
 - ③ バイタルサイン
 - ④ KPS
 - ⑤ 併用薬剤
 - ⑥ 血算(白血球分画および血小板数を含む)
 - ⑦ 血液生化学検査
肝機能 (総ビリルビン、Al-P、LDH、γGTP、AST、ALT)
腎機能 (クレアチニン)
電解質 (Na、K)
 - ⑧ HSVの排出 (唾液、尿のPCR。陽性の場合には定量的PCRも)
 - ⑨ 血清のPCRおよびウイルス培養
 - ⑩ 有害事象の評価
- 13) 第2回 G47Δ投与7日後±2日
 - ① 神経学的所見
 - ② バイタルサイン
 - ③ KPS

- ④ 血算(白血球分画および血小板数を含む)
- ⑤ 血液生化学検査
肝機能 (総ビリルビン、Al-P、LDH、 γ GTP、AST、ALT)
腎機能 (クレアチニン)
電解質 (Na、K)
- ⑥ 凝固系 (PT INR および PTT)
- ⑦ HSV の排出 (唾液、尿の PCR。陽性の場合には定量的 PCR も)
- ⑧ 血清の PCR およびウイルス培養
- ⑨ 頭部造影 MRI
- ⑩ 併用薬剤
- ⑪ 有害事象の評価

14) 第 2 回 G47 Δ 投与 28 日後 \pm 4 日

- ① 理学所見。体重。
- ② 神経学的所見
- ③ バイタルサイン
- ④ KPS
- ⑤ 血算(白血球分画および血小板数を含む)
- ⑥ 血液生化学検査
肝機能 (総ビリルビン、Al-P、LDH、 γ GTP、AST、ALT)
腎機能 (クレアチニン)
電解質 (Na、K)
- ⑦ 凝固系 (PT INR および PTT)
- ⑧ リンパ球 CD4/CD8 数および比
- ⑨ HSV 抗体価(ELISA)を含む血清学的検査。
- ⑩ 遅延型皮膚過敏反応
- ⑪ 頭部造影 MRI
- ⑫ 併用薬剤
- ⑬ 有害事象の評価

15) 第 2 回 G47 Δ 投与 2 ヶ月後 \pm 7 日

- ① 理学所見。体重。
- ② 神経学的所見
- ③ バイタルサイン
- ④ KPS
- ⑤ 血算(白血球分画および血小板数を含む)
- ⑥ 頭部造影 MRI
- ⑦ 併用薬剤
- ⑧ 有害事象の評価

16) 第 2 回 G47 Δ 投与 3 ヶ月後 \pm 7 日

- ① 理学所見。体重。
- ② 神経学的所見
- ③ バイタルサイン
- ④ KPS
- ⑤ 血算(白血球分画および血小板数を含む)
- ⑥ リンパ球 CD4/CD8 数および比
- ⑦ 遅延型皮膚過敏反応
- ⑧ HSV 抗体価(ELISA)を含む血清学的検査。
- ⑨ 頭部造影 MRI
- ⑩ 併用薬剤
- ⑪ 有害事象の評価

v) 前処置および併用療法の有無

前処置はない。併用療法に関しては

ステロイドは併用可である。ただし、適格性判定の 7 日前から第 2 回 G47 Δ 投与後 7 日後までの投与量は一定とする。臨床上の必要から投与量を変更する場合は、理由を患者経過記録用紙 (CRF) に記載する。

浸透圧利尿剤および抗痙攣剤に関しては制限を設けない。

手術中および術後は原則として抗生物質の投与を行う。その内容には制限を設けない。

アシクロビル、バラシクロビルなどの抗 HSV 薬 (ただし、G47 Δ 投与後の HSV-1 感染症-疑い例を含む-) に対する投与を除く)、ステロイド以外の免疫抑制薬、あるいは

インターフェロンなどの免疫療法薬は併用することはできない。
併用薬剤は、市販薬やワクチン、および併用禁止薬剤も含めて、薬剤名、量、回数、投薬経路、日付、および投与理由を患者経過記録用紙（CRF）に記載する。

vi) 予想される有害事象およびその対処方法

G47Δの脳腫瘍内投与に伴う有害事象としては次のものが考えられる。

1) 試験薬 G47Δの投与によるもの

- ① 悪寒戦慄、筋肉痛、関節痛、リンパ節腫脹などの全身性ウイルス感染の症状
- ② かゆみ、じんま疹、血圧の変動、呼吸困難などのアレルギー反応
- ③ 発熱、痙攣、筋力低下、失語、意識障害などの HSV-1 脳炎の症状
- ④ 頭痛

2) 原病に関連するもの

- ① 意識障害、神経症状の出現や悪化
- ② 痙攣
- ③ 頭痛、嘔気、嘔吐など頭蓋内圧亢進症状

3) 手術手技に関連するもの

- ① 意識障害、神経症状の出現や悪化
- ② 脳外出血や腫瘍内出血
- ③ 髄膜炎や創感染などの術後感染
- ④ 痙攣
- ⑤ 肺炎や肝機能障害など全身術後合併症
- ⑥ 髄液漏

G47Δ投与後に、発熱の持続や、痙攣、筋力低下、失語、意識障害、その他原病で説明困難な神経症状悪化の出現、および画像診断にて出血を伴う炎症や腫瘍周囲の浮腫の増大が見られた場合には HSV-1 感染に伴う脳炎を疑い、髄液（脳圧亢進がない場合）や血液の PCR 検査やウイルス培養の検査、さらに必要な場合には脳生検を行なう。HSV-1 感染に伴う脳炎である場合には、通常のヘルペス脳炎治療に準じて、アシクロビルなどの抗 HSV 薬を用いた治療を速やかに開始する。

vii) ウイルス療法臨床研究の評価方法、評価基準、および中止判定基準

1) 評価方法および評価基準

ア) 有害事象発生割合

適格・不適格を問わず、プロトコル治療の一部以上が施行された患者数（全治療例）を分母とし、第 2 回 G47Δ投与後 90 日までの下記の有害事象についてそれぞれ NCI-CTCAE ver3.0 日本語訳 JCOG/JSCO 版による最悪の Grade の頻度を（群別に）求める。

- ① 血液/骨髄：ヘモグロビン、白血球、血小板
- ② 代謝/臨床検査値：総ビリルビン、Al-P、LDH、γGTP、AST、ALT、Na、K、クレアチニン
- ③ 全身症状：発熱、倦怠感、筋肉痛、頭痛、食欲不振、悪心、嘔吐
- ④ 神経：意識障害、神経症状、痙攣
- ⑤ 感染：好中球減少に伴わない感染
- ⑥ 中枢神経合併症：脳炎、髄膜炎、脳内出血、腫瘍内出血、水頭症

イ) 重篤有害事象発生割合

プロトコル治療の一部以上が開始された患者数（全治療例）を分母として、以下のいずれかの重篤な有害事象がひとつ以上観察された患者数を分子とする割合を重篤有害事象発生割合とする。

- ① 第 1 回 G47Δ投与から第 2 回 G47Δ投与後 30 日以内までの全ての死亡。（死因は治療との因果関係を問わない）
- ② 第 2 回 G47Δ投与後から 31 日以降であるが、治療との因果関係が否定できない死亡。
- ③ Grade 4 の有害事象。

ウ) 全生存期間 Overall survival

初回手術日を起算日とし、あらゆる原因による死亡日までの期間。生存例では最終

生存確認日をもって打ち切りとする。追跡不能例では追跡不能となる以前で生存が確認されていた最終日をもって打ち切りとする。

エ) 無増悪生存期間 Progression-free survival (PFS)

第2回 G47A投与日を起算日とし、増悪と判断された日またはあらゆる原因による死亡日のうち早い方までの期間。「増悪 progression」は、画像上のPD (進行)、画像診断検査で確認できない原病の増悪 (臨床的増悪) の両者を含む。増悪と判断されていない生存例では臨床的に増悪がないことが確認された最終日 (最終無増悪生存確認日) をもって打ち切りとする。

オ) 奏効割合 (奏効率) Response proportion (Response rate)

測定可能病変を有する適格例のうち、「効果」がCR またはPR のいずれかである患者の割合を奏効割合とする。

2) 中止基準

早期中止とは、独立データモニタリング委員会の次のいずれかの判定により、臨床研究を予定より早く中止することをさす。

重篤な有害事象または当該臨床研究以外の情報に基づき、本臨床研究の安全性に問題があると判定した。

その他、症例登録の遅れ、プロトコル逸脱の頻発などの理由により、臨床研究の完遂が困難と判断した。

有害事象観察数に基づいての早期中止に関しては用量増加の項に記述する。

3) 委員会

i) 独立データモニタリング委員会

遺伝子治療臨床研究審査委員会のもとに独立データモニタリング委員会をおく。研究実施主体以外から3名以上の委員を遺伝子治療臨床研究審査委員会委員長が選出する。悪性脳腫瘍治療に精通する臨床医、統計の専門家、有害事象の評価を行う専門知識を有する者などから構成される。独立データモニタリング委員会は、以下の役割を有する。

- ① 適格性判定委員会の判定の確認
- ② 安全性・有効性の判定の確認と用量増加の可否の判断 (コホート間)
- ③ 安全性・有効性の判定の確認と最大用量または最大耐用量の設定の適切性の判断 (用量増加段階終了時)
- ④ 「重篤な有害事象」に関する報告書の受け取り、および本臨床研究との因果関係の判定

独立データモニタリング委員会は、下記の項目に関してプロトコル改訂の必要性を検討し、その結果必要な場合は総括責任者にプロトコルの改訂や試験の中止を勧告できる権限を持つ。

- ① 登録期間の変更
- ② 適格基準の変更
- ③ 目標症例数の再設定
- ④ プロトコル治療計画の変更
- ⑤ その他の必要な変更

ii) 適格性判定委員会

遺伝子治療臨床研究審査委員会のもとに適格性判定委員会をおく。適格性判定委員会は、対象患者が選択基準を全て満たし除外基準のいずれにも該当しないことの判定・確認を行なう。毎週月・水・金の朝8時から東京大学医学部附属病院脳神経外科で行なわれる定例カンファレンスにおいて適格性判定委員会を開催する。総括責任者または試験担当医師が症例提示を行うが、適格性判定には関与しない。適格性判定委員会での承認の記録は症例登録票に記載する。

iii) 遺伝子治療臨床研究審査委員会での審査

登録に先立ち、実施施設における遺伝子治療臨床研究審査委員会においてプロトコルの審査を受け、承認を受ける。

viii) 到達目標と研究完了期間

目標症例数の達成をもって新規登録の終了とし、すべての登録症例について観察期間が

	<p>満了し、症例報告書の提出が完了して時点で、本臨床研究は終了とする。</p> <p>ix) 症例記録に関する記録用紙等の様式 症例記録報告書 (CRF)は被験者毎に準備する。訂正の場合は、訂正事項が判読できるように一重線で抹消し、訂正者の署名と訂正の日付を添え書きする。記入は試験担当医師または CRC が行なうこととする。評価に関わる内容は担当医師が記入を行なう。</p> <p>x) 記録の保存及び成績の公表の方法 研究代表者は、試験等の実施に関係する全ての文書（申請書類、各種通達文書、各種申請書・報告書、被験者識別コードリスト、同意書、症例報告書、その他データの信頼性を保証するのに必要な書類または記録など、またはその写し）を保存し、試験終了後最低 5 年間は保管する。 研究代表者はこの臨床研究の結果を学術雑誌・学術集会などで発表する。結果の公表を行なう場合には、個人情報保護に配慮する。研究結果は研究代表者に帰属する。この臨床研究から得られた情報は G47Δの医薬品としての開発に使用される可能性があり、その内容は様々な国の政府機関に公開される可能性がある。以上は、試験が途中で中止あるいは中断になった場合も同様である。 上記に記載された手続きを経た公表以外には、臨床研究で得られた結果は第三者に公開されることはない。 これは、文部科学省・厚生労働省の「遺伝子治療臨床研究に関する指針」（平成 14 年 3 月 27 日（平成 16 年 12 月 28 日全部改正））に則って行なう。</p>
備考	

別表1

臨床試験日程	前 適格性評価	前 投与前日まで	1週 第1回投与前日	1週 第1回当日	1週 第1回翌日	2週 第2回投与前日	2週 第2回当日	2週 第2回翌日	3週 第2回投与7日後	5週 第2回投与1か月	9週 第2回投与2か月	13週 第2回投与3か月
身体所見												
説明と同意	○									○	○	○
病歴・理学所見	○									○	○	○
バイタルサインと神経所見	○		○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
KPS	○		○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
有害事象評価	○		○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
併用薬剤記録	○		○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
検査所見												
血算と白血球分画	○		○		○	○		○	○	○	○	○
生化学および凝固系	○		○		○	○		○	○	○		
心電図	○											
胸部単純撮影	○											
リンパ球分画										○		○
遅延型皮膚反応		○								○		○
HSV抗体価		○								○		○
HSV排泄(尿・唾液)					○			○	○			
血清内HSV					○			○	○			
画像検査												
頭部CT				○	○		○	○				
頭部MRI(Gd造影)	○			○			○		○	○		○
治療・手術												
G47A投与				○			○					
腫瘍組織採取				○			○					

投与当日のMRIは術前に、CTは術後に施行する。

計画書添付資料

- 資料1：研究者の略歴および研究業績
- 資料2：実施施設の施設設備の状況
- 資料3：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
- 資料4：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
- 資料5（1）：類似の遺伝子治療臨床研究の成果
- 資料5（2） 1：用量増加のフローチャート
- 資料5（2） 2：KPSスコア
- 資料5（2） 3：臨床検査値施設基準域表
- 資料5（2） 4：NCI-CTC AE Ver3.0（抜粋）
- 資料5（2） 5：同意説明文書
- 資料5（2） 6：試験票概要書
- 資料5（2） 7：製剤品質試験項目および結果
- 資料5（2） 8：製剤製造標準作業手順書(SOP)一覧（抜粋）
- 資料5（2） 9：重篤な有害事象発生時の報告・対応手順書
- 資料5（2） 10：症例登録票、症例経過記録票
- 資料5（2） 11：G47Δの構造
- 資料5（2） 12：安全性試験
- 資料5（2） 13：遺伝子治療臨床研究審査委員会規則
- 資料5（2） 14：個人情報の適切な管理のための措置に関する規程

遺伝子治療臨床研究実施計画書

東京大学医学部附属病院 脳神経外科

作成日：2007年 10月 23日

修正日：2008年 5月 21日

2008年 7月 31日

目次

遺伝子治療臨床研究の名称.....	5
1. 総括責任者およびその他の研究者の氏名ならびに当該遺伝子治療臨床研究において果たす役割.....	5
(1) 総括責任者の氏名.....	5
(2) 総括責任者以外の研究者の氏名ならびにその担当する役割.....	5
2. 実施施設の名称およびその所在地.....	5
3. 遺伝子治療臨床研究の目的.....	5
4. 遺伝子治療臨床研究の対象疾患およびその選定理由.....	6
(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.....	6
① 対象疾患に関する現時点での知見.....	6
② 当該遺伝子治療臨床研究の概要.....	7
③ 他の治療法との比較および遺伝子治療を選択した理由.....	8
5. 遺伝子の種類およびその導入法.....	8
(1) 人に導入する遺伝子の構造と性質.....	8
① 人に導入する遺伝子の構造.....	8
② 人に導入する遺伝子の性質.....	8
③ 導入遺伝子からの生成物の構造およびその生物活性.....	8
(2) 本計画で使用するその他の組換え DNA の構造と性質.....	9
(3) 標的細胞とした細胞の由来および生物学的特徴ならびに標的細胞とした理由.....	9
(4) 遺伝子導入方法の概略および当導入法を選択した理由.....	9
(5) ウイルスを用いて遺伝子導入を行う場合.....	9
① G47Δの野生型ウイルスの生物学的特徴および人に対する影響.....	9
② G47Δの作製方法.....	10
③ G47Δの構造.....	10
④ G47Δの生物学的特徴.....	12
6. 安全性についての評価.....	15
(1) 遺伝子導入方法の安全性.....	15
① 遺伝子導入方法の安全性.....	15
② 遺伝子導入に用いる G47Δの純度.....	15
③ 被験者に投与する物質の純度およびその安全性.....	17
④ 増殖性ウイルスの出現の可能性.....	17
⑤ 遺伝子導入に用いる G47Δの細胞傷害性.....	17
⑥ 体内の標的細胞以外の細胞へ、また被験者以外の人への遺伝子導入の可能性.....	19
⑦ 染色体内へ遺伝子が組み込まれる場合の問題点.....	19

⑧ がん原性の有無.....	19
(2) 遺伝子産物の安全性.....	20
(3) 細胞の安全性.....	20
① 培養細胞の純度.....	20
② 培養細胞の遺伝子型、表現型の安全性.....	20
③ 被験者に投与する細胞の安全性.....	20
7. 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.....	20
8. 遺伝子治療臨床研究の実施計画.....	22
(1) 遺伝子治療臨床研究を含む全体の治療計画.....	22
① シェーマ.....	22
② 対象疾患と病期.....	23
③ 試験のデザイン.....	23
(2) 被験者の選択基準および除外基準.....	23
(3) 被験者の同意の取得方法.....	25
(4) 実施期間および目標症例数.....	27
(5) 遺伝子治療臨床研究の実施方法.....	27
1. 対照群の設定方法.....	27
2. 遺伝子導入方法（安全性および有効性に関する事項を除く）.....	27
3. 前処置および併用療法の有無.....	31
4. 臨床検査項目ならびに観察項目.....	31
5. 予想される有害事象およびその対処方法.....	38
1) 有害事象報告・対応手順.....	38
2) 有害事象の定義.....	38
3) 重篤な有害事象の定義.....	38
4) 有害事象の評価と報告.....	38
6) 予期される有害事象.....	39
7) 有害事象の緊急報告と対応.....	40
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.....	41
7. 被験者の安全性確保および健康被害補償.....	43
1) モニタリング.....	43
2) 遺伝子治療臨床研究審査委員会での審査.....	44
3) 遵守すべき諸規則.....	44
4) プロトコルの遵守.....	44
5) 臨床研究の費用負担.....	44
① 資金源および財政上の関係.....	44
② 臨床研究に関する費用.....	44

6) 健康被害に対する補償.....	44
7) プロトコルの改訂.....	45
① プロトコル改訂の報告.....	45
② 再審査が必要なプロトコル改訂.....	45
③ 同意説明文書の改訂.....	45
④ 記録用紙 (CRF) の変更.....	45
8. 試験の終了と早期中止.....	45
1) 試験の終了.....	45
2) 試験の早期中止.....	46
9. 研究組織.....	46
10. 被験者のプライバシー保護と秘密の保全.....	47
(1) 実施施設での安全管理措置.....	47
(2) 本研究における個人情報の保護.....	49
11. 成績の公表の方法.....	49

添付資料

資料1：研究者の略歴および研究業績

資料2：実施施設の施設設備の状況

資料3：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

資料4：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

資料5 (1)：類似の遺伝子治療臨床研究の成果

資料5 (2) 1：用量増加のフローチャート

資料5 (2) 2：KPS スコア

資料5 (2) 3：臨床検査値施設基準域表

資料5 (2) 4：NCI-CTC AE Ver3.0 (抜粋)

資料5 (2) 5：同意説明文書

資料5 (2) 6：試験薬概要書

資料5 (2) 7：製剤品質試験項目および結果

資料5 (2) 8：製剤製造標準作業手順書(SOP)一覧 (抜粋)

資料5 (2) 9：重篤な有害事象発生時の報告・対応手順書

資料5 (2) 10：症例登録票、症例経過記録票

資料5 (2) 11：G47Δの構造および塩基配列解析

資料5 (2) 12：安全性試験

資料5 (2) 13：遺伝子治療臨床研究審査委員会規則

資料5 (2) 14：個人情報の適切な管理のための措置に関する規程

遺伝子治療臨床研究の名称

進行性膠芽腫患者に対する増殖型遺伝子組換え単純ヘルペスウイルス G47Δを用いた遺伝子治療（ウイルス療法）の臨床研究

1. 総括責任者およびその他の研究者の氏名ならびに当該遺伝子治療臨床研究において果たす役割

(1) 総括責任者の氏名

藤堂 具紀 東京大学大学院医学系研究科・TRセンター（脳神経外科）・特任教授
遺伝子治療臨床研究の総括

(2) 総括責任者以外の研究者の氏名ならびにその担当する役割

稲生 靖 東京大学大学院医学系研究科・TRセンター（脳神経外科）・特任准教授
総括責任者補佐、ウイルス管理と準備、患者の手術、術前術後管理、データ管理、標本の管理と処理

田中 実 東京大学医学部附属病院・輸血部・助教

患者の手術と術前術後管理、ウイルス準備補佐、標本の管理補佐と処理。

山田 奈美恵 東京大学大学院医学系研究科・TRセンター（循環器内科）・特任助教

臨床研究実施の補佐。

大内 佑子 東京大学保健センター（精神神経科）・臨床心理士

臨床研究実施における臨床心理面の補佐。

2. 実施施設の名称およびその所在地

名称：東京大学医学部附属病院

所在地：〒113-8655 東京都文京区本郷 7-3-1

電話（代表） 03-3815-5411

3. 遺伝子治療臨床研究の目的

本研究は、初期放射線治療にもかかわらず再増大または進行する膠芽腫の患者に対して遺伝子組換え単純ヘルペスウイルス I 型である G47Δ¹⁾の定位的腫瘍内投与を行う。オープンラベル方式によりコホート単位で 3 段階に用量を増加し、安全性の評価すなわち有害事象の種類と発生頻度の調査を主目的とする。副次目的として、画像上の腫瘍縮小効果や全生存期間、無増悪生存期間により G47Δの効果を評価する。

4. 遺伝子治療臨床研究の対象疾患およびその選定理由

(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

① 対象疾患に関する現時点での知見

原発性脳腫瘍は人口 10 万人に年間 11~12 人発生するとされ²⁾、国内全体では年間 13,000 ~14,000 人程度となる。脳腫瘍全国統計によれば、原発性脳腫瘍の組織分類別の発生頻度は神経膠腫 26%、髄膜腫 27%、下垂体腺腫 18%、神経鞘腫 10%である³⁾。神経膠腫は神経細胞の支持組織であるグリア細胞から発生する原発性脳腫瘍であり、星細胞腫が神経膠腫の約 80%を占める。

神経膠腫は病理学的所見に基づき組織型が診断され、また悪性度分類がなされる。WHO の grading system が国際的に使用され、細胞の異形性、核分裂像、壊死、血管内皮増生などの所見の有無により Grade 1 から Grade 4 までに分類される。本臨床研究は、星細胞腫 Grade 4 (Grade IV astrocytoma) を対象とする。星細胞腫 Grade 4 は一般に膠芽腫 (glioblastoma) または多形性膠芽腫 (glioblastoma multiforme) と称される。星細胞腫 Grade 3 (Grade III astrocytoma; anaplastic astrocytoma) においては、組織学的に乏突起神経膠腫 (oligodendrogiloma) の成分の混在が予後良好因子として知られており、これらを区別して扱う場合があるが、Grade 4 においては乏突起神経膠腫の成分の混在の考慮は通常行わない。神経膠腫において病期分類 (ステージ分類) は行われていない。

膠芽腫は、神経膠腫の 32%を占め 5 年生存割合は 6%である。神経膠腫は脳実質内に発生し浸潤性に発育するが、その中でも膠芽腫は特にその傾向が強く、境界が不鮮明で増殖速度も速く、各種治療を行っても再発は必至である⁴⁾。

星細胞腫 Grade3・4 の予後を左右する因子として、組織型、年齢、手術摘出度、術前の performance status(PS) などが挙げられている。

膠芽腫の確定診断は組織学的診断によるため、画像診断にて膠芽腫が考えられる場合、手術による摘出術か生検が行われる。しかし、手術で腫瘍を全摘することは機能温存のため通常不可能であり、一般に術後には補助療法が行われる⁵⁾。術後補助療法は、現在はアルキル化剤である temozolomide と局所照射 60Gy を用いた放射線化学療法が欧米では標準治療として行われている⁶⁾。国内では、nitrosourea 系のアルキル化剤 ACNU と局所照射が従来最も一般的に行われてきたが⁷⁾、最近 ACNU に代わり temozolomide も使用されるようになった。他の化学療法薬が使用されたりインターフェロン β が併用されることもある。

膠芽腫は一般的に放射線抵抗性であり、化学療法への反応も低く、補助療法中にも治療に反応せず腫瘍が増大する症例もしばしば見られる。手術や診断技術の目覚ましい進歩にもかかわらず、膠芽腫の治療成績はこの 40 年間ほとんど改善が見られておらず、その生存期間中央値は、診断後約 12-14 ヶ月とされる。東京大学医学部附属病院におけるテント上膠芽腫の治療成績は、生存期間中央値では 60Gy の照射で 12.4 ヶ月、80-90Gy の照射で 16.2 ヶ月、2 年生存率は 60Gy の照射で 11.4%、80-90Gy の照射で 38.4%である⁸⁾。

現在再発時に有効な治療法として確立されたものはない。脳の耐容線量のため有効線量

の追加照射は困難または無効な場合が多く、化学療法も種々の薬剤や投与方法が試みられてきた中で、再発に対して有効性が確立されたものはない。

このように、初期放射線治療後に進行した膠芽腫には有効な治療法が存在せず、予後は不良であり、従来とは異なるアプローチによる新たな治療法の開発が不可欠と考えられる。

② 当該遺伝子治療臨床研究の概要

ウイルス療法 (oncolytic virus therapy) は、腫瘍細胞内で選択的に複製する増殖型ウイルスを腫瘍細胞に感染させ、ウイルス複製に伴うウイルスそのものの直接的な殺細胞効果により腫瘍を治療する方法である⁹⁾。腫瘍内でのウイルスの複製能を最大限に保ちつつ、正常組織での病原性を最小限に押さえるため、ウイルスゲノムに人為的な遺伝子操作による改変を加えた遺伝子組換えウイルスを用いる。腫瘍細胞に感染した増殖型遺伝子組換えウイルスは腫瘍細胞内で複製し、その過程でウイルスに感染した細胞は死滅する。複製したウイルスはさらに周囲の腫瘍細胞に感染し、その後複製→細胞死→感染を繰り返して抗腫瘍効果を現す。ウイルス複製に伴い感染した腫瘍細胞は死滅するため、外来治療遺伝子を導入せずに腫瘍を治癒させることが可能であると期待される⁹⁾。脳腫瘍、特に神経膠腫は、定位的脳手術等により比較的容易かつ確実にウイルスの腫瘍内直接投与が行えることや、神経組織という高度に分化した非増殖細胞からなる組織に囲まれていること、腫瘍の他臓器への転移が稀であること、著効を示す治療法が存在していないことなどから、ウイルス療法の臨床試験対象に適している。

脳腫瘍の分野のウイルス療法では、単純ヘルペスウイルス I 型 (HSV-1) の開発が進んでいる。HSV-1 が脳腫瘍治療に適しているとされるのは、次のような利点に基づいている。すなわち、HSV-1 は元来神経組織に親和性が高い上に、1) ヒトのほぼ全ての種類の細胞に感染可能である、2) 比較的低い multiplicity of infection (MOI; 細胞数に対する感染性ウイルス投与量の比) で全ての細胞の死滅が可能である、3) 脳における病原性を呈するのに必要なウイルス遺伝子が解明されており、遺伝子操作を加えることで病原性の除去が可能である、4) HSV-1 に感受性を示すマウスが存在するために、動物で安全性や効果の前臨床的評価を行える、5) 抗ウイルス薬が存在するために治療を中断することが可能である、6) ウイルス自体の免疫原性が比較的 low、血中抗 HSV-1 抗体が細胞間ウイルス伝搬に影響しない、7) ウイルス DNA が宿主細胞のゲノムに取り込まれない、という特徴を有する。

本臨床研究では、複製型遺伝子組換え HSV-1 である G47Δ を、初期放射線治療後の進行性膠芽腫の患者の腫瘍内に定位手術的に注入する。G47Δ は、米国で再発悪性グリオーマを対象として臨床試験 (第 I 相) で用いられた第二世代複製型遺伝子組換え HSV-1 の G207 を改良した第三世代で、腫瘍細胞を破壊しつつ腫瘍内で複製するが、正常脳組織は傷害しないと考えられる¹⁰⁾。G207 および G47Δ についての詳細は「6 章 (5)③G47Δ の構造 および ④G47Δ の生物学的特徴」の欄に記載する。治療効果と複数回投与の安全性確認のため、投与は 2 回行う。3 段階の用量増加にて安全性の評価すなわち有害事象の種類と発生頻度

の調査を行うことを主目的とする。副次目的として、画像上の腫瘍縮小効果や全生存期間、無増悪生存期間により G47Δ の効果を評価する。

③ 他の治療法との比較および遺伝子治療を選択した理由

初期放射線治療にもかかわらず進行または再発した膠芽腫に対して有効性が確認されている治療法は現在なく、治療手段は非常に限られている。手術で再度の摘出を行える場合は摘出術を試みるが、症状を悪化させずに再摘出を行える例は少ない。初期放射線治療では、脳の耐容線量の限界まで照射を行うため、追加放射線照射には線量、照射部位ともに限りがあり、有効性は期待できない。化学療法は、薬剤を変更して行われることがあるが、副作用もあり、有効性の確立されたものはない。総じて、化学療法および放射線治療に対する膠芽腫の感受性は低く、初期治療期間中の腫瘍増大もしばしば認められる。40 年来治療成績の向上がほとんど見られていないことから、膠芽腫の治療には全く新しいアプローチが必要であることは明白であり、ウイルス療法は有効性が期待される。上述のごとく、ウイルス療法の中でも HSV-1 は脳腫瘍治療に適している。「7 章 安全性についての評価 (1) ⑤ 遺伝子導入に用いる G47Δ の細胞傷害性」に記載のとおり G207 は第 I 相臨床試験において安全性が示され有効性を示唆する所見も得られている。「6 章 遺伝子の種類およびその導入法 (5) ⑨ G47Δ の生物学的特徴」に記載のとおり動物実験において G47Δ は G207 に比し優れた腫瘍縮小効果を示す。特に G47Δ は、安全性と効果を高めた最新世代の複製型遺伝子組換え HSV-1 で、進行が早く予後が極めて不良な進行性の膠芽腫の患者にも効果が期待できる。

5. 遺伝子の種類およびその導入法

(1) 人に導入する遺伝子の構造と性質

① 人に導入する遺伝子の構造

本臨床研究では、複製型遺伝子組換え HSV-1 である G47Δ そのものが直接腫瘍細胞を破壊するものであり、治療目的で人に導入される外来治療遺伝子はない。なお、G47Δ にはウイルス複製を検出するために大腸菌 LacZ 遺伝子 cDNA が挿入されており、G47Δ が複製する腫瘍細胞に導入される。

② 人に導入する遺伝子の性質

導入された腫瘍細胞内において大腸菌 LacZ 遺伝子 cDNA は G47Δ ウイルスゲノムの一部として存在し、細胞の染色体に組込まれることはない。導入された LacZ 遺伝子は G47Δ 自身の ICP6 プロモーターにより一過性に発現される。

③ 導入遺伝子からの生成物の構造およびその生物活性

LacZ 遺伝子からの生成物は β-ガラクトシダーゼである。β-ガラクトシダーゼは分子量

116 kDa で四量体として機能し、ラクトースを分解してグルコースとガラクトースを生成する。β-ガラクトシダーゼは人体に対し毒性や病原性を有しない。「7章 安全性についての評価 (1)⑤遺伝子導入に用いる G47Δの細胞傷害性」に後述の如く、LacZ 遺伝子を発現する第二世代複製型遺伝子組換え HSV-1 である G207 が第 I 相臨床試験において人の脳内（脳腫瘍内）に投与されており、LacZ 遺伝子生成物の安全性は示されている。

(2) 本計画で使用するその他の組換え DNA の構造と性質

本計画では他の組換え DNA は使用しない。

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

本研究での標的細胞は膠芽腫の腫瘍細胞そのものであり、G47Δが感染した標的細胞でウイルス複製が行われる過程で腫瘍細胞が直接破壊される。

(4) 遺伝子導入方法の概略および当導入法を選択した理由

G47Δは定位的脳手術により腫瘍内へ直接投与する。定位的腫瘍内直接投与は、標的腫瘍細胞へ最も効率よく、また選択的にウイルスを感染させることができる方法の一つである。

(5) ウイルスを用いて遺伝子導入を行う場合

① G47Δの野生型ウイルスの生物学的特徴および人に対する影響

HSV-1はエンベロープを持つ二重鎖DNAウイルスである。ゲノムの大きさが約152kbであり、約80のウイルス遺伝子を持つ。ゲノムは両端に特徴的な繰り返し配列がある。ヒトを宿主とし、「口唇ヘルペス」として知られ、野生型ウイルスの初期感染は一般に軽症あるいは無症状である。まれに、角膜炎や脳炎を起こす。ヘルペス脳炎の発生は日本の調査では年間100万人に2.9人¹¹⁾、欧米では年間20万人に1人^{12, 13)}である。発癌性はない。免疫不全や新生児など特殊な条件下を除くと、HSV-1はウイルス血症を生じることがなく、初期感染後全身に分布しない。成人の60~70%は抗HSV-1抗体を保持している。抗ウイルス薬が存在し、重症の場合アシクロビル、バラシクロビルなどで治療される。

HSV-1は、ヒトの粘膜表面（通常は口腔咽頭）への直接の接触により感染する。接触感染以外の感染形式はない。感染した局所で複製した後、神経末端から感覚神経節（しばしば三叉神経節）にウイルスは移送され、潜伏感染（latency）を確立する。潜伏感染においてはウイルスの複製は行われず、別の宿主への感染性を有しない。潜伏感染から再活性化（reactivation）が起きると、ウイルスは皮膚粘膜（通常は口唇）で顕在化し、水疱を形成する。潜伏感染の再燃などに際しまれに脳炎を発症する。そのウイルス侵入経路については三叉神経説と嗅神経説がある¹⁴⁾。

HSV-1は、エンベロープが破壊・変性すると容易に感染性を失う。宿主から離れると環境中では2時間で死滅する¹⁵⁾。Biosafety上、消毒薬（chemical disinfectants）に対する感

受性の点でlipid virusesに分類され、微生物の中で消毒薬に対する感受性が最も高い。HSV-1を速やかに不活化する消毒薬 (chemical disinfectants) は以下のものを含む：70% イソプロパノール、70-90%エタノール、塩素系漂白剤 (例えば0.2%次亜塩素酸ナトリウム など)、10%ポビドンヨード、0.5~0.1%グルコン酸クロルヘキシジン、0.05~0.2%塩化ベンザルコニウム、など。物理的不活法 (physical inactivation) として、HSV-1は56°C(30分間)の加熱や紫外線照射(15分間)、pH4以下で速やかに感染性を失う¹⁶⁾。

② G47Δの作製方法

試験薬である複製型遺伝子組換え単純ヘルペスウイルス 1 型 G47Δは、院内製剤として cGMP 準拠施設である東京大学医科学研究所治療ベクター開発室にて製造される。製造は、東京大学大学院医学系研究科 TR センター (脳神経外科)・特任教授・藤堂 具紀を責任者とし、東京大学医学部脳神経外科が行なう。

WHO Vero マスターセルバンク (詳細は7章(3) 細胞の純度 の項に記述)からワーキングセルバンクを構築し、ウイルス製造には継代数の低い細胞を使用する。正しい変異を有することが確認された G47Δから作製したマスターウイルスストックを Vero 細胞に感染させる。2日後、細胞を回収し、凍結融解操作で細胞内の G47Δを遊離させる。フィルターろ過により細胞成分を除去したのち、細胞由来の DNA および RNA を Benzonase にて酵素処理する。高速遠心にてウイルスを沈殿させ、混入する核酸および蛋白を除去する。これを 10% グリセリン加磷酸緩衝液(PBS)に再浮遊する (添付資料 5(2)11)。

使用する培地、血清、試薬等は全て cGMP 規格に準拠している。ウシ血清についてはオーストラリア産でウイルスなどの病原体の混入がなく、さらにガンマ線照射されたものを使用する。

③ G47Δの構造

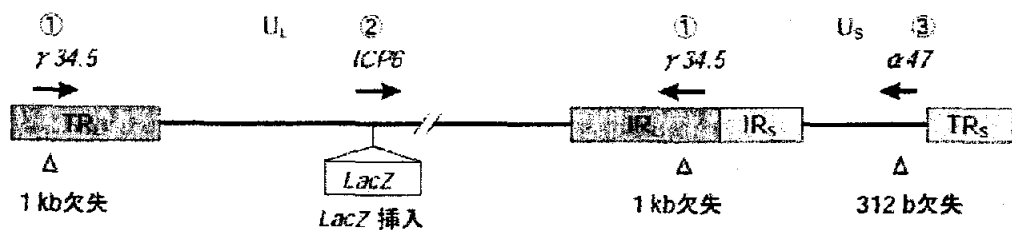


図 増殖性遺伝子組換え HSV-1 G47Δ の構造

HSV-1 のゲノムは 152 kb の大きさで、2 つの固有配列領域 (unique sequences : U_L と U_S) とその両端に位置する繰り返し配列 (terminal repeat : TR, inverted repeat : IR) からなる。① 同コピーの $\gamma 34.5$ 領域の欠失により、病原性の消失と腫瘍選択的ウイルス複製が得られる。② ICP6 の不活化により、増殖が盛んで RR 活性が上昇している細胞において選択的にウイルスは複製する。③ $\alpha 47$ の欠失により、ウイルスに感染した細胞の MHC Class I の提示低下が防止される。また $\gamma 34.5$ 欠失ウイルスの複製能力が腫瘍細胞で改善するが、正常細胞への毒性に変化はない。

エンベロープおよびその内側のキャプシドは野生型 HSV-1 と同じである。G47Δ は、臨床応用された第二世代複製型遺伝子組換え HSV-1 G207 の改良型で、第三世代複製型遺伝子組換え HSV-1 に位置づけられる。正常組織では複製せず腫瘍細胞においてのみウイルス複製を可能にするため、ウイルスゲノムの遺伝子組換え操作により、3 つの非必須遺伝子 (合計 4 箇所) が人為的に除去或いは不活化されている¹⁾。すなわち、2 つコピーが存在する $\gamma 34.5$ 遺伝子の双方の欠失と、マーカーの LacZ 遺伝子の挿入による ICP6 遺伝子 (ribonucleotide reductase (RR) の大サブユニットをコードする) の不活化、および $\alpha 47$ 遺伝子の欠失という三重変異を有する (添付資料 5(2)11)。G47Δ は、 $\gamma 34.5$ 遺伝子欠失と ICP6 遺伝子不活化の二重変異を有する遺伝子組換え HSV-1 G207 のウイルスゲノムに、 $\alpha 47$ 遺伝子の欠失変異を加えることによって作製された。

$\gamma 34.5$ は HSV-1 の病原性に関連した遺伝子で、これを欠失させた変異株は正常細胞でのウイルス複製能が著しく減弱することが判明している¹⁷⁾。正常細胞ではウイルス感染が起ると二本鎖 RNA 依存性プロテインキナーゼ (double stranded RNA-activated protein kinase: PKR) がリン酸化され、それが翻訳開始因子 eIF-2a をリン酸化し、その結果ウイルス蛋白を含む細胞内での蛋白合成が遮断される。 $\gamma 34.5$ 遺伝子産物はリン酸化 PKR に拮抗してウイルス蛋白の合成を可能にするが、 $\gamma 34.5$ 遺伝子欠失 HSV-1 は正常細胞では複製を行えない。しかし、正常細胞と異なり、腫瘍細胞では普遍的に PKR のリン酸化が低いため、 $\gamma 34.5$ 遺伝子欠失の HSV-1 でも複製可能となると考えられている¹⁸⁾。

RR はウイルス DNA 合成に必要な酵素であるが、この遺伝子を生不活化すると、ウイルスは非分裂細胞では複製できず、分裂が盛んで RR 活性の上昇した細胞でのみウイルスの欠落酵素が補われてウイルス複製が可能となる。 $\alpha 47$ 遺伝子のコードする蛋白質は、宿主細胞の抗原呈示関連トランスポーター (TAP) を阻害して細胞表面の MHC Class I の発現を抑え

ることによって、ウイルス蛋白の提示を抑制し、宿主の免疫サーベイランスから逃れる作用を有する。従って $\alpha 47$ 遺伝子欠失 HSV-1 では宿主細胞の MHC Class I 発現が維持され、抗腫瘍免疫細胞に対する刺激が強くなると期待される。また G47 Δ は、 $\alpha 47$ 遺伝子と重なる US11 遺伝子のプロモーターも欠失するため、US11 遺伝子の発現時期が早まり、これが $\gamma 34.5$ 変異の second site suppressor として機能して $\gamma 34.5$ 欠失 HSV-1 において減弱したウイルス複製能を腫瘍細胞に限って復元する。

これらの三重変異により、G47 Δ は、ウイルス複製に関して高い腫瘍特異性を示し、腫瘍細胞に限局した高い殺細胞効果を呈する一方、正常組織では毒性を呈さない。親ウイルス G207 に比較して、その安全性を維持しながら、抗腫瘍効果が格段に改善された。また G207 に比べ、高い力価のウイルス製剤が生産できることもあり、同じ容量でも高い治療効果が期待できる。G47 Δ は、ウイルスゲノム上、間隔の離れた4箇所の人為的変異を有することから、野生型 HSV-1 に戻る(revert)可能性がゼロに等しい点でも安全性の高いゲノム構造となっている。G47 Δ は HSV-1 strain F 由来であることから、37°C では複製するが 39.5°C では複製しないという温度感受性を有する。

臨床製剤の製造に先立ち、使用する G47 Δ の全ゲノムの塩基配列の解析を行い、 $\gamma 34.5$ 、ICP6、 $\alpha 47$ の3つの遺伝子の改変箇所が設計どおりであることが確認された。遺伝子改変部付近の塩基配列解析結果を添付する(添付資料 5(2)11)。

④ G47 Δ の生物学的特徴

1) 培養細胞におけるウイルス複製能力:

G47 Δ は、臨床応用された第二世代複製型遺伝子組換え HSV-1 G207 の改良型であることから、G47 Δ の生物学的特徴については G207¹⁹⁾との比較検討が主になされた。ヒト神経芽細胞腫株 SK-N-SH、ヒト膠芽腫細胞株 U87MG、ヒト膠芽腫細胞株 U373、ヒト頭頸部扁平上皮癌細胞株 SQ20B、およびアフリカミドリザル腎細胞株 Vero において、G47 Δ は G207 に比し優れた複製能力を示し、multiplicity of infection (MOI) = 0.01 にて感染後 24 時間後の産生ウイルスの回収量は G207 に比し 4 倍から 1000 倍高かった¹⁾。U87MG は MOI=2 でも検討を行い、感染後 24 時間後のウイルスの回収量は G207 に比し 12 倍高かった¹⁾。ヒト前立腺癌細胞株 LNCaP および Du145 においても、MOI=2 で感染させた 24 時間後の G47 Δ の産生ウイルス回収量は G207 に比し 22 倍高かった²⁰⁾。

G47 Δ と野生型 HSV-1 との比較では、MOI=2 における産生ウイルスの回収量は、U87MG では感染 24 時間後において 9.5 倍、U138 では感染 22 時間後において 125 倍、野生型 HSV-1 のほうが G47 Δ より高く、野生型 HSV-1 に比べると G47 Δ の複製能は減弱している。

G47 Δ は細胞周期を停止させたヒト初代培養ケラチノサイト (HKC) において、MOI \leq 10 でウイルス複製による殺細胞効果を現さなかった²¹⁾。G207 は MOI=0.1 で正常星状細胞や正常神経細胞の培養細胞においてウイルス複製による殺細胞効果を現さなかった¹⁹⁾。

2) 培養細胞における殺細胞効果 :

ヒト膠芽腫細胞株 U87MG、U373、U138、ヒト悪性黒色腫細胞株 624 および 888 においては MOI=0.01 にて、またマウス神経芽細胞腫株 Neuro2a においては MOI=0.1 にて、感染後 3-4 日で G47Δ は G207 に比しより速やかに細胞を死滅させた。U87MG 細胞株において G47Δ (MOI=0.01, day3) が 80% の細胞を死滅させたのに対し、G207 は 10% の細胞を死滅させたのみであった¹⁾。ヒト前立腺癌細胞株 LNCap と DU145 において、MOI=0.1 で、G47Δ は G207 に比べ有意に速やかな殺細胞効果を呈した²⁰⁾。

3) 感染宿主細胞の MHC Class I 発現に対する影響 :

ヒト繊維芽細胞株 Detroit551 において、野生型 HSV-1 (strain F) または G207 は、感染 24 時間以内に宿主細胞の MHC Class I の発現を 40% 程度にまで低下させたのに対し、G47Δ は MHC Class I の発現を 100% 維持した¹⁾。ヒト悪性黒色腫細胞株を用いた検討では、MHC Class I の発現が元来比較的高い 938 株と 1102 株において、G47Δ は G207 に比べ、感染後の MHC Class I の発現低下を有意に抑制した。MHC Class I の発現が元来低い 624 株、888 株、および 1383 株においては G207 との差は見られなかった。

4) 腫瘍反応性 T 細胞の活性化作用 :

ヒト悪性黒色腫細胞株 938 および 1102 において、G47Δ 感染腫瘍細胞は G207 感染腫瘍細胞に比べ、それぞれの細胞株に特異的に反応する腫瘍浸潤 T 細胞株の刺激によるインターフェロン γ の分泌を 25-40% 増加させた¹⁾。888 株においては、腫瘍浸潤 T 細胞刺激によるインターフェロン γ の分泌は G47Δ、G207 いずれの感染腫瘍細胞でもほとんど見られなかった。

5) マウス皮下腫瘍に対する抗腫瘍効果

ヌードマウスの皮下に形成された U87MG ヒトグリオーマや A/J マウスの皮下に形成された Neuro2a マウス神経芽細胞腫に 1×10^6 plaque-forming units (pfu) を 2 回腫瘍内投与すると、G47Δ は G207 に比し有意に優れた腫瘍増殖抑制効果を示した。U87MG 皮下腫瘍を有するマウスにおいて、G207 治療群では 12 匹中 3 匹に治癒が見られたのに対し、G47Δ 治療群は 12 匹中 8 匹に治癒が見られた¹⁾。

アンドロジェン依存性前立腺癌細胞株であるヒト HONDA およびマウス TRAMP を用いたマウス皮下腫瘍モデルにおいて、G47Δ を 2 回腫瘍内投与すると投与量依存性に腫瘍増殖が抑制された。また前モデルに対しては 2×10^5 pfu 2 回、後モデルに対しては 5×10^6 pfu 2 回の腫瘍内投与を行い、ホルモン療法を併用するとさらに治療効果の増強が得られた²⁰⁾。またホルモン療法後にホルモン不応性となり再発したヒト前立腺癌 HONDA に対しても G47Δ の腫瘍内投与は増殖抑制効果を示した²⁰⁾。

6) マウス脳腫瘍に対する抗腫瘍効果 :

マウス脳内に形成された U87MG ヒトグリオーマや Neuro2a マウス神経芽細胞腫に対し、それぞれ 1×10^6 pfu 単回および 2×10^5 pfu 2 回の腫瘍内投与を行うと、G47Δは G207 に比べ生存期間を延長した。U87MG 対照群の生存期間中央値が 27 日であったのに対し、G207 治療群は 36 日、G47Δ治療群は 42 日と有意に生存期間を延長した。Neuro2a においては対照群の生存期間中央値が 11 日であったのに対し、G207 治療群は 14 日、G47Δ治療群は 15 日と生存期間を延長する傾向が見られた。

7) マウス乳癌モデルにおける抗腫瘍効果：

マウス乳癌細胞株 M6c の皮下腫瘍および脳内移植腫瘍のモデルにおいて、それぞれ 2×10^7 pfu の 4 回腫瘍内投与および 2×10^6 pfu の単回腫瘍内投与を施行したところ、G47Δは G207 に比し有意に優れた抗腫瘍効果を示した^{22, 23)}。また、ヒト乳癌 MDA-MB-435 の脳内移植腫瘍に対して血液脳関門開放薬剤との併用で 1×10^7 pfu 単回の頸動脈内投与を行ったところ、対照群の生存期間中央値が 12.9 日であったのに対し、G47Δ治療群は 17.4 日と有意に生存期間を延長した。乳癌を自然発生する C3(1)/T-Ag マウスモデルにおいて、 2×10^7 pfu の G47Δを毎週 1 回腫瘍内に投与したところ、対照群の生存期間中央値が 5.5 週であったのに対し、G47Δ治療群は 8.5 週と有意に優れた抗腫瘍効果を示した^{22, 23)}。

8) マウス神経線維腫モデルにおける抗腫瘍効果：

マウス神経線維腫症 2 型(NF2)の自然発生腫瘍モデル P0-SchΔ(39-121) line 27 において腫瘍の大きさを経時的に MRI にて観察したところ、 1×10^7 pfu の 6 日おき 2 回の G47Δ腫瘍内投与にて腫瘍増殖が抑制される傾向が見られた。またヌードマウス皮下で継代した NF2 患者由来のヒト神経鞘腫において、 1×10^7 pfu の 6 日おき 2 回の G47Δ腫瘍内投与を行なうと、腫瘍縮小効果が見られた²⁴⁾。

9) G207 を用いた調査

G207 は、ヒトグリオーマ及び悪性髄膜腫細胞株に対し高い殺細胞効果を示し、*in vitro* では MOI 0.1 で 3~6 日以内に腫瘍細胞を全滅させる。一方、同じ投与量でラットの初代培養の神経細胞や星状細胞には影響を及ぼさない。この効果は *in vivo* にも反映され、ヌードマウスの頭蓋内に形成された U87MG グリオーマや F5 悪性髄膜腫に G207 ($2\sim 5 \times 10^6$ pfu) を 1 回腫瘍内投与すると有意に生存期間が延長する²⁴⁾。G207 は現在までに 60 種以上の細胞株で試され、脳腫瘍に限らず、多種のヒトの腫瘍に (血液腫瘍を除く)有効であることが確かめられている。

正常免疫下における G207 の抗腫瘍効果は、A/J マウス及び同系の N18 (神経芽細胞腫)細胞や Neuro2a (神経芽細胞腫)細胞の脳腫瘍および皮下腫瘍モデル、および BALB/c マウスの CT26 (大腸癌) 皮下腫瘍モデルで調べられた。その結果、G207 は正常免疫下においても高い抗腫瘍効果を呈するのみならず、腫瘍内投与により特異的抗腫瘍免疫を惹

起するため、抗腫瘍効果が増強されることが示された。この抗腫瘍免疫は腫瘍特異的な細胞傷害性T細胞活性 (CTL) の上昇を伴い、脳内と皮下のいずれでも効果を示した²⁵⁾。同じマウス腫瘍モデルでステロイド投与の影響を調べたところ、免疫抑制下においても腫瘍内のウイルス複製に変化はなく、基本的な抗腫瘍効果に影響は無かったが、ステロイド長期投与では CTL 活性の抑制に伴い、腫瘍の治癒率が減少した。また、成人の 60～70%は HSV-1 に対する抗体を保有するが、予め非致死量の HSV-1 を投与して抗体を形成させたマウスで調べた結果、G207 の抗腫瘍効果は血中の抗 HSV-1 抗体には全く影響されなかった²⁶⁾。

6. 安全性についての評価

(1) 遺伝子導入方法の安全性

① 遺伝子導入方法の安全性

G47Δの投与は脳腫瘍の生検などを目的に一般に用いられる、通常の定位脳手術の手法で行われる。遺伝子組換え HSV-1 の定位脳手術による脳腫瘍内投与法は、G207 の第 I 相臨床試験 (米国) でも採用され、G207 に起因する grade 3 以上の有害事象は観察されず、安全性が確認されている。

② 遺伝子導入に用いる G47Δの純度

臨床研究に使用される G47Δ製剤は、cGMP 準拠の管理施設である東京大学医科学研究所治療ベクター開発室において cGMP 生産される。製造は、東京大学大学院医学系研究科・TR センター (脳神経外科)・藤堂 具紀を責任者とし、東京大学医学部脳神経外科が行なう。正しい変異を有することが確認された G47Δを用い、WHO Vero 細胞のマスタースセルバンクを用いて臨床製剤は作製される。G47Δ製剤は 10%のグリセリンを含む磷酸緩衝液(Phosphate-buffered Saline: PBS) 内に浮遊している。これらの物質はいずれも純度および安全性に問題のないものを用いることとする。

これらは臨床製剤生産の 4 工程、すなわち、マスタースセルバンク、精製前のウイルス回収液 (バルクハーベスト)、精製後のウイルス、およびチューブに分注後の製剤において、英国 BioReliance 社に委託して品質試験を施行する。精製前のウイルス回収液 (バルクハーベスト) において最も重点的な試験を行なう。ろ過と遠心による精製、およびチューブへの分注過程では細胞成分および動物由来の試薬を使用しておらず、各種ウイルスの混入の可能性は極めて少ないと考えられ、この 2 工程においては無菌試験およびエンドトキシン試験のみを行う。

品質試験項目を以下に記載する。その概要およびすでに得られている結果については添付資料 5 (2) 7 に記載する。

A. Vero 細胞のマスタースセルバンクの品質管理試験

無菌・真菌否定試験

マイコプラズマ否定試験

- 透過型電子顕微鏡によるウイルス粒子の評価
- レトロウイルス否定試験 (FPERT: 逆転写酵素活性)
- ウイルス存在否定 *in vitro* 試験
- ウイルス存在否定 *in vivo* 試験
- SIV ウイルス 検出 PCR 試験
- アインザイムによる細胞確認試験
- ウシ由来ウイルス存在否定 *in vitro* 試験
- ブタ由来ウイルス存在否定 *in vitro* 試験
- サルD型レトロウイルス 検出 PCR 試験
- STLV ウイルス 検出 PCR 試験
- サル *Spuma* ウイルス 検出 PCR 試験
- HIV-I・HIV-II 検出 PCR 試験
- HTLV-I・HTLV-II 検出 PCR 試験
- B. G47Δ精製前のウイルス回収液 (バルクハーベスト) の品質管理試験
 - 無菌・真菌否定試験
 - マイコプラズマ否定試験
 - 電子顕微鏡によるウイルス粒子の評価
 - ヒトウイルス検出定量的 PCR 試験
 - SIV ウイルス 検出 PCR 試験
 - STLV ウイルス 検出 PCR 試験
 - サルD型レトロウイルス 検出 PCR 試験
 - サル *Spuma* ウイルス 検出 PCR 試験
 - レトロウイルス否定試験 (FPERT: 逆転写酵素活性)
 - ウシ由来ウイルス検出 PCR 試験
 - ブタ由来ウイルス検出 PCR 試験
- C. 精製後の G47Δウイルス液の品質管理試験
 - 無菌・真菌否定試験
 - エンドトキシン試験 (Limulus Amebocyte Lysate (LAL) 法)
- D. G47Δ最終製品の品質管理試験
 - 無菌・真菌否定試験
 - エンドトキシン試験 (Limulus Amebocyte Lysate (LAL) 法)
- E. 東京大学脳神経外科で行なう品質管理試験
 - 力価測定試験
 - 野生型 HSV-1 ウイルス混入否定試験
 - Benzonase 定量

③ 被験者に投与する物質の純度およびその安全性

臨床研究用 G47Δ製剤は、cGMP 生産され、10% グリセリン/リン酸緩衝生理食塩水 (phosphate buffered saline: PBS)の懸濁液として、滅菌状態で凍結用バイアルに分注され、-75°C以下で凍結保存される。使用する培地、血清、試薬等は全て cGMP 規格に準拠しており、医薬品、医薬品原料、またはそれに準じている。ウシ血清についてはオーストラリア産でウイルスなどの病原体の混入がなく、さらにガンマ線照射されたものを使用する。

④ 増殖性ウイルスの出現の可能性

G47Δ自体が複製可能型であるが、前述の通り、複数の機序を介して、そのウイルス複製は、高い特異性をもって腫瘍細胞に限られる。G47Δは、ウイルスゲノム上、間隔の離れた4箇所の人為的変異を有することから、野生型 HSV-1 に戻る(revert)可能性はゼロに等しい。野生型 HSV-1 が既に脳に潜伏している状態で脳内に複製型遺伝子組換え HSV-1 を投与した場合の、潜伏野生型 HSV-1 の活動を誘発する可能性 (reactivation) については、二重変異複製型遺伝子組換え HSV-1 G207 を用いてマウスで調査されており、潜伏野生型 HSV-1 の活動を誘発しないことが実証された。

上記②および添付資料5(2)7に記載のように、G47Δ製剤中に増殖型・非増殖型の各種ウイルスの混入がないことの品質試験を英国 BioReliance 社に委託して行なう。また、最終製剤中の G47Δ以外の組換え HSV-1 の混入の有無については、LacZ 挿入部位の外側に設計したプライマーを用いた PCR を行い、野生型に由来する長さの DNA 断片が増幅されないことを検証する。

⑤ 遺伝子導入に用いる G47Δの細胞傷害性

A/J マウスや BALB/c マウスは、HSV-1 に感受性の高いマウス系として知られる²⁷⁾。三重変異を有する第三世代複製型遺伝子組換え HSV-1 G47Δは、臨床応用を目的に安全性を主眼に開発された第二世代複製型遺伝子組換え HSV-1 G207 の二重変異ウイルスゲノムに更に遺伝子工学的に変異を加えて作製された、G207 の改良型である。A/J マウスを用いて、G47Δ (2×10^6 pfu) の脳内単回投与の安全性を、野生型 HSV-1 (strain F; 2×10^3 pfu) および G207 の可能最高投与量 (2×10^6 pfu) を対照として盲検法で比較した¹⁾。野生型 HSV-1 は 10 匹全て死亡したのに対し、G207 は 2/8 匹が一過性の軽度の外観異常、G47Δ は 1/10 匹が一過性の軽度の外観異常を呈したに過ぎず、脳内単回投与において G47Δが G207 と同等以上の安全性を有していること、野生型 HSV-1 の少なくとも 1000 倍以上安全であることが示された (添付資料5(2)12-1)。

更に A/J マウスを用い、G47Δの脳内単回投与、静脈内単回投与、腹腔内単回投与の安全性を、野生型 HSV-1 (strain F) を対照に、繰り返し徹底的に調査した。脳内単回投与

では、野生型 HSV-1 (2×10^3 pfu) で 29/30 匹が死亡したのに対し、G47Δではその 1000 倍量 (2×10^6 pfu) で 30 匹全て、2500 倍量 (5×10^6 pfu) で 29/30 匹が生存した。静脈内単回投与では、野生型 HSV-1 は 1×10^5 pfu で 11/15 匹、 1×10^6 pfu で 22/25 匹、 1×10^7 pfu で 6/10 匹が死亡したのに対し、G47Δは 1×10^7 pfu で 10 匹全て、 4×10^7 pfu で 15 匹全て、 2×10^8 pfu で 19/25 匹が生存した。腹腔内単回投与では、野生型 HSV-1 は、 2×10^4 pfu で 2/25 匹、 2×10^5 pfu で 2/25 匹、 2×10^6 pfu で 3/10 匹が死亡したのに対し、G47Δは試験に用いた 60 匹全てが生存した (1×10^7 pfu が 5 匹、 3×10^7 pfu が 25 匹、 1×10^8 pfu が 20 匹、 3×10^8 pfu が 10 匹)。以上より、脳内単回投与では、G47Δは野生型 HSV-1 に比べ 1000 倍以上の安全性を示すことが再確認された。また、静脈内単回投与や腹腔内単回投与では、野生型 HSV-1 でも全例死亡するほどの毒性を呈するに至らなかったが、死亡例が出始める最低投与量を比較すると、いずれの投与経路においても、G47Δは野生型 HSV-1 に比べ、少なくとも 1000 倍以上の安全性を呈することが示された。

G47Δは G207 の改良型ウイルスであり、G47Δは A/J マウスに対する脳内単回投与で G207 と同等以上の安全性を示すことが確認されている。G207 に関しても、動物を用いた徹底的な安全性評価が行われている。BALB/c マウスの脳内または脳室内単回投与では最高量 1×10^7 pfu で何の症状も認めず、LD₅₀ 量の野生型 HSV-1 の脳内単回投与を生き延びた BALB/c マウスの脳に再度 G207 (1×10^7 pfu) を投与しても潜在 HSV-1 の再活動を誘発しなかった²⁸⁾。また、ヨザル (*Aotus nancymae* (owl monkey)) は HSV-1 に感受性が高い霊長類として知られており、合計 22 匹が G207 の安全性評価に用いられた^{10, 29)}。ヨザルの脳に野生型 HSV-1 (strain F) を 10^3 pfu 単回投与すると脳炎を生じて 5 日以内に死亡するが、G207 では 10^9 pfu までの単回投与或いは 10^7 pfu の反復投与でも症状を呈さず、MRI や病理学上も異常を示さなかった¹⁰⁾ (添付資料 5(2)12-3)。カラムで精製した臨床用 (clinical grade) の G207 の安全性は 4 匹のサルで詳細に検討され、 3×10^7 pfu が脳内に単回投与された²⁹⁾。観察期間中、サルは全く無症状の上、1, 3, 7, 10, 14, 21, 31 日目に唾液、涙、腫分泌液を採取し、ウイルス排出の有無が検証されたが、いずれの検体からも感染性ウイルスおよび G207 の DNA は検出されなかった。G207 の脳内投与 1 ヶ月後 (3×10^7 pfu) もしくは 2 年後 (10^9 pfu) の解剖で採取した全身の組織検体からは、いずれも感染性ウイルスが検出されず、PCR により G207 の DNA が中枢神経系に限局して検出された。(添付資料 5(2)12-2)。また、全例で血清抗 HSV-1 抗体が G207 脳内投与約 3 週間後より上昇した。ヨザルを用いた安全性評価の結果は、マウスを用いた安全性評価の結果を再確認した。

米国アラバマ大学バーミングハム校とジョージタウン大学医療センターにおいて、再発神経腫瘍を対象とし、腫瘍治療用に開発された第二世代遺伝子組換え HSV-1 の G207 を用いて再発悪性グリオーマ患者 21 例を対象に米国で第 I 相臨床試験が行われた (1998 年 - 2000 年)³⁰⁾。一投与量ごとに 3 例ずつ、 1×10^6 pfu から 3 倍ずつ投与量を増やして 3×10^9 pfu まで、増強 CT の増強部位に定位脳手術により腫瘍内に単回投与された。その結果、

G207に起因する grade 3 以上の有害事象は認めず、軽度の adverse events として痙攣発作 2 例、脳浮腫 1 例を認めた。1 例 (3×10^8 pfu) が投与後 24 時間以内に見当識障害と構語障害を呈したが、投与 14 日後の定位的生検は腫瘍所見のみで炎症を認めず、HSV 免疫染色も陰性であった。投与 3 ヶ月以上後の、腫瘍増大では説明できない神経症状悪化が 2 例あったが、いずれも生検で HSV 免疫染色が陰性であった。生検或いは再摘出術で得られた腫瘍組織 7 例中 2 例で PCR にて G207 DNA が検出された(投与後 56 日と 157 日)。G207 投与後、Karnofsky スコアの改善が 6 例 (29%) に認められた。経時的 MRI 評価を行った 20 例中 8 例に腫瘍の縮小を認めたが、脳梗塞で死亡した 1 例を除いた全例にて再増大を認めた。ステロイド投与にも関わらず、術前抗 HSV-1 抗体が陰性であった 5 例中 1 例に陽転を認めた。剖検が 5 例で行われ、脳病理はいずれも脳炎や白質変性を認めず、HSV-1 免疫染色陰性であった。3 例にて腫瘍が脳の 1 領域に限局し、膠芽腫に通常見られるような腫瘍細胞の周囲脳組織への著明な浸潤を認めなかった。脳梗塞で死亡した 1 例では残存腫瘍を認めなかった。この臨床試験で、G207 の 3×10^9 pfu までの脳内投与の安全性が確認された。

⑥ 体内の標的細胞以外の細胞へ、また被験者以外の人への遺伝子導入の可能性

本臨床研究はウイルス (G47Δ) のみの腫瘍内投与を行い、治療遺伝子の導入はない。G47Δは、ウイルス複製に関して腫瘍細胞に高い特異性を有し、腫瘍細胞以外では複製不能である。また、そのため自然界で増殖拡散し得ない。G207 の第 I 相臨床試験では、G207 の腫瘍内単回投与後 4 日、1 ヶ月、3 ヶ月、6 ヶ月、1 年の各時点で患者の唾液と血液が採取され、ウイルス排出の有無が検証されたが、いずれの検体からも感染性ウイルスおよび G207 の DNA は検出されなかった³⁰⁾。またヨザルを用いた非臨床試験では、G207 の脳内単回投与後 (3×10^7 pfu)、1, 3, 7, 10, 14, 21, 31 日目に唾液、涙、膺分泌液を採取し、ウイルス排出の有無が検証されたが、いずれの検体からも感染性ウイルスおよび G207 の DNA は検出されなかった。G207 の脳内単回投与 1 ヶ月後 (3×10^7 pfu) もしくは 2 年後 (10^9 pfu) の解剖で採取した全身の組織検体からは、中枢神経系を含めいずれも感染性ウイルスは検出されなかった。また PCR による DNA 残存の検索では、G207 の DNA が中枢神経系(注入部位、同側の前頭葉、側頭葉、頭頂葉、脳幹、および対側前頭葉)に限局して検出された(添付資料 5(2)12-2)²⁹⁾。

⑦ 染色体内へ遺伝子が組み込まれる場合の問題点

HSV-1 のウイルスゲノムまたは遺伝子は宿主の染色体には組み込まれない。

⑧ がん原性の有無

HSV-1 のウイルスゲノムまたは遺伝子は宿主の染色体には組み込まれず、HSV-1 にがん原性はない。遺伝子組換え HSV-1 を原因とするがんの発生は、臨床試験、非臨床試験い

ずれでも報告されていない。

(2) 遺伝子産物の安全性

G47Δは直接的な殺細胞作用により腫瘍細胞を破壊し、治療遺伝子を発現しない。「6章 遺伝子の種類および導入方法 (1)③導入遺伝子からの生成物の構造およびその生物活性」の項に既述のように、G47Δにはウイルス複製を検出するために大腸菌 LacZ 遺伝子 cDNA が挿入されており、G47Δが複製する腫瘍細胞に導入される。LacZ 遺伝子からの生成物はβ-ガラクトシダーゼである。β-ガラクトシダーゼは分子量 116 kDa で四量体として機能し、ラクトースを分解してグルコースとガラクトースを生成する。β-ガラクトシダーゼは人体に対し毒性や病原性を有しない。「7章 安全性についての評価 (1)⑤ 遺伝子導入に用いる G47Δの細胞傷害性」に後述の如く、LacZ 遺伝子を発現する第二世代複製型遺伝子組換え HSV-1 である G207 が第 I 相臨床試験において人の脳内（脳腫瘍内）に投与されており、LacZ 遺伝子生成物の安全性は示されている。

(3) 細胞の安全性

① 培養細胞の純度

G47Δウイルスはマスターウイルスストックを Vero 細胞(アフリカミドリザル由来腎細胞株)に感染させて作製する。Vero 細胞のマスターセルバンクは、ワクチン製造用に WHO で唯一認定されている Vero 細胞の Seed lot 10-87 (WHO Vero) をもとに構築され、英国 BioReliance 社において無菌性、病原性ウイルス混入の否定、他種細胞の混入の否定などに関して品質試験を行う。品質試験項目とその概要およびすでに得られている結果については添付資料 5 (2) 7 に記載する。

② 培養細胞の遺伝子型、表現型の安全性

マスターセルバンクの Vero 細胞については英国 BioReliance 社において品質試験を行う。G47Δウイルス作製にはマスターセルバンクからの継代数が低い Vero 細胞を用い、表現型は安定している。品質試験項目とその概要およびすでに得られている結果については添付資料 5 (2) 7 に記載する。

③ 被験者に投与する細胞の安全性

本臨床研究では被験者にはこの Vero 細胞は投与されない。G47Δの精製の過程でこの Vero 細胞は破碎、除去される。

7. 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

初期放射線治療後に進行または再発した膠芽腫に対して、確立された有効な治療法はなく、新しい治療法が必要とされる。培養細胞およびマウスを用いた前臨床研究では、G47Δ

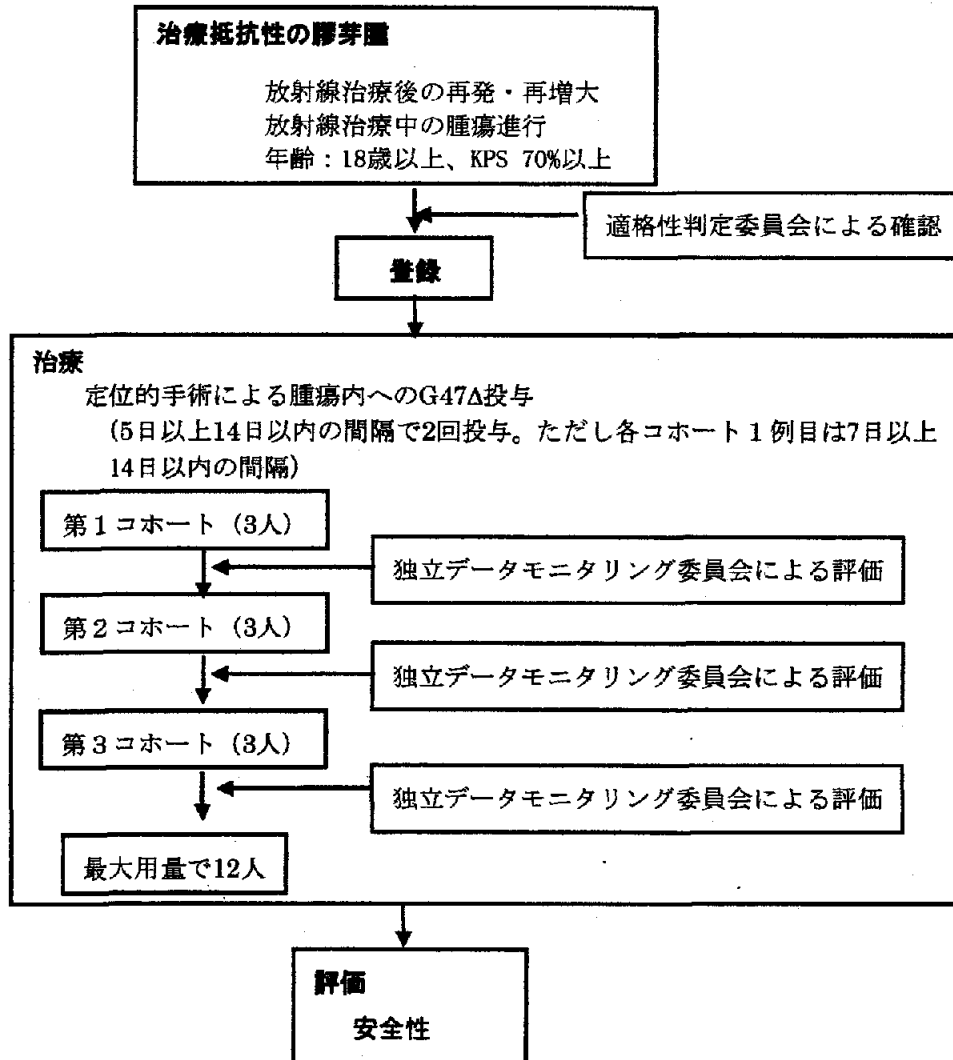
の抗腫瘍効果と、安全性が示されている。複製型遺伝子組換え HSV-1 の G207 を用い、膠芽腫を対象とした第 I 相臨床試験が海外で行なわれており、その安全性が示されている。本臨床研究の遂行には、遺伝子組換え単純ヘルペスウイルスの取り扱いや、悪性脳腫瘍診療、定位脳手術に精通した者による実施が必要である。当施設はこの条件を満たす研究チームが存在し、かつ実施に必要な設備を有している。以上から、本遺伝子治療臨床研究の実施は理論的にも、実質的にも可能であると判断される。

8. 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

本研究はオープンラベルによる用量増加試験である。

① シェーマ



用量増加法

用量レベル	一回投与量 (pfu)	総用量 (pfu)	人数
1	3×10^8 pfu	6×10^8 pfu	3人
2	1×10^9 pfu	2×10^9 pfu	3人
3	3×10^9 pfu	6×10^9 pfu	3人

pfu = plaque-forming units

段階的用量増加ののち、用量レベル3もしくは最大耐用量でさらに12人の試験を行う。

② 対象疾患と病期

初期放射線治療にもかかわらず再増大または進行する膠芽腫の患者。東京大学医学部附属病院の受診患者（紹介患者を含む）の中で本試験を希望し、臨床研究プロトコルに詳述の選択基準を全て満たし、かつ除外基準のいずれにも該当しない者を対象とする。

③ 試験のデザイン

本試験は無作為化を行わないオープンラベルによる G47Δ の段階的用量増加試験である。再発または進行性膠芽腫の患者を対象とし、定位的に腫瘍内に G47Δ を投与する。5 日以上 14 日以内（各コホート 1 例目は 7 日以上 14 日以内）に同じ部位に同量の G47Δ の 2 回目の投与を行う。3 段階 3 例ずつの用量増加を行い、安全性が確認されたら、最大用量で更に 12 例に投与する。安全性の評価すなわち有害事象の種類と発生頻度の調査を主目的とし、副次目的として、画像上の腫瘍縮小効果や全生存期間、無増悪生存期間により G47Δ の効果を評価する。

(2) 被験者の選択基準および除外基準

1. 選択基準

病理学的に膠芽腫との診断が確定していること。かつ

放射線治療に不反応となったもの。すなわち、放射線治療後に再発あるいは進行したもの、あるいは放射線治療中に腫瘍が増大しつつあるもの。

腫瘍の存在部位が除外基準に記されたものでないこと。

G47Δ 投与前 14 日以内の MRI にて増影される病変が 1.0cm 以上あること。

化学療法の施行歴の有無は問わない。

Karnofsky Performance Scale (KPS) \geq 70%。

年齢 18 歳以上。

ステロイド投与は支障ないが、投与量が G47Δ 投与前の 1 週間以内は一定であること。

G47Δ 投与後少なくとも 6 ヶ月間はバリア型避妊を実行する意志があること。

3 か月以上の生存が見込まれること。

主要臓器の機能が正常であること（除外基準参照）。

文書でインフォームドコンセントを行う能力と意志があること。

2. 除外基準

既往歴

治療可能な子宮頸部の *in situ* 癌および皮膚の基底細胞癌または扁平上皮癌を除く、他の癌の既往または併存。

脳炎、多発性硬化症、または他の中枢神経感染症の既往。

HIV 陽性またはその既往。

アルコールまたは他の薬物中毒の既往または併存。

MRI 検査(造影剤使用)が禁忌の場合。例えば、ペースメーカー、持続注入ポンプの体内留置、MRI 造影剤アレルギー。

その他、医学的あるいは精神的異常のため、プロトコル治療を遵守することが困難であると思われる場合。

腫瘍の存在部位

脳外転移の存在。

頭蓋内に複数の（2 か所以上の）悪性グリオーマ病変の存在。

脳室・脳幹・あるいは後頭蓋窩に投与しなければならない場合、あるいは脳室経由で到達しなくてはならない場合。

上衣下・くも膜下播種の存在。

臨床検査値

白血球 $\leq 2.0 \times 10^3/\text{mm}^3$ 、好中球 $\leq 1.0 \times 10^3/\text{mm}^3$ 、血小板 $\leq 100,000/\text{mm}^3$ 、Hb $\leq 9.0 \text{ g/dl}$ 、INR or PTT > 正常値の 1.3 倍。

血清クレアチニン $\geq 1.7 \text{ mg/dl}$ 。

肝トランスアミナーゼ（AST または ALT） > 正常値の 4 倍。

総ビリルビンまたは直接ビリルビン > 1.5mg/dl。

併存疾患

活動性のヘルペスウイルス感染の存在。

臨床試験開始時に、HSV に対する抗ウイルス薬（アシクロビル、バラシクロビル）治療を必要とする場合。

手術の適応外となるような、活動性でコントロールされていない感染症の存在。
コントロール不良または重度の心不全・糖尿病・高血圧・間質性肺炎・腎不全・自己免疫疾患など。

アレルギー歴

抗 HSV 薬（アシクロビル）に対するアレルギーの存在。

併用薬、併用療法

G47Δの投与に先立ち 30 日以内の他の臨床試験薬の投与。

G47Δ投与前 6 週間以内に免疫療法（インターフェロンなど）を行っていること。

G47Δ投与前 30 日以内の何らかのワクチン投与。

G47Δ投与前 30 日以内の脳腫瘍切除術。

遺伝子治療または G47Δ以外のウイルス療法の既往。

G47Δウイルス療法の既往または既登録者。

妊娠に関する事項

妊娠中または授乳中の女性。

その他

その他、担当医師が不適切と判断する場合。

(3) 被験者の同意の取得方法

1. 同意説明文書の作成と改訂

- 1) 本研究では、施設で定められた様式に従って同意説明文書を作成する。
- 2) 同意説明文書は遺伝子治療臨床研究審査委員会の承認を受ける。
- 3) 同意説明文書を大きく変更する改訂は、遺伝子治療臨床研究審査委員会の審査と承認を受けて行う。

2. 患者への説明

登録に先立って、担当医は患者本人に施設の遺伝子治療臨床研究審査委員会の承認を得た説明文書を患者本人に渡し、臨床試験コーディネーター (Clinical Research Coordinator: CRC) 同席のもとで以下の内容を口頭で詳しく説明する。

- 1) 病名と病状に関する説明。
- 2) 本研究が臨床研究であること。
- 3) 臨床研究と一般診療との違い。
- 4) 本研究のデザインおよび意義。
- 5) プロトコル治療の内容。
治療法、プロトコル治療全体の期間など。
- 6) プロトコル治療により期待される効果
延命効果、腫瘍縮小効果など。
- 7) 予想される有害事象、合併症、後遺症とその対処法について
合併症、後遺症、治療関連死を含む予想される有害事象の程度と頻度、及びそれらが生じた際の対処法について。
- 8) 費用負担と補償
健康被害が生じた場合担当医師が適切な治療を行うが、健康被害に対する補償はないことなどの説明。
- 9) 代替治療法
現在の一般的治療法 (緩和医療も含む) や標準治療法の内容、効果、副作用など。代替治療を選択した場合の利益と不利益。
- 10) 試験に参加することで患者に予想される利益と可能性のある不利益
試験に参加することによって享受できると思われる利益と被る可能性のある不利益。
- 11) 病歴の直接閲覧について

必要に応じて独立データモニタリング委員などの関係者が医療機関の施設長の許可を得て病歴などを直接閲覧する可能性に関する説明。

12)同意拒否と同意撤回

試験参加に先立っての同意拒否が自由であることや、いったん同意した後
の同意の撤回も自由であり、それにより不当な診療上の不利益を受けないこ
と。

13)人権保護

氏名や個人情報を守秘されるための最大限の努力が払われること。

14)質問の自由

担当医の連絡先および総括責任者の連絡先を文書で知らせ、試験や治療内
容について自由に質問できること。

3. 同意

1)同意の方法

試験についての説明を行った翌日以降に、被験者が試験の内容をよく理解
したことを確認した上で、試験への参加について依頼する。被験者本人が試
験参加に同意した場合、付表の同意書を用い、説明をした医師名、説明を受
け同意した被験者名、同意を得た日付を記載し、医師、被験者各々が署名す
る。

2)代筆者の署名に関する規定

神経症状（麻痺、振戦など）によって被験者本人の署名が困難である場合
は、被験者名を代筆者が署名しても良い（ただし、同意そのものは本人の意
思に限る）。代筆者は以下の者から被験者本人が指名する：被験者の配偶者、
成人の子、父母、成人の兄弟姉妹若しくは孫、祖父母、同居の親族又はそれ
らの近親者に準ずると考えられる者。

3) 同意文書の部数

同意書は3部作成し、1部は被験者本人に手渡し、1部はデータセンターが
保管する。1部はカルデに保管する。

4) 同意書の改訂と再同意

被験者の同意に影響を及ぼすと考えられる有効性や安全性等の情報が得ら
れたときや、被験者の同意に影響を及ぼすような実施計画等の変更が行われ
るときは、速やかに被験者に情報提供し、試験等に参加するか否かについて
被験者の意思を改めて確認するとともに、遺伝子治療臨床研究審査委員会の
承認を得て同意説明文書等の改訂を行い、被験者の再同意を得る。同意承諾
を得て臨床試験が開始された後に、病状の増悪などにより本人に同意承諾能
力がなくなったと判断される場合には、代諾者による再同意の判断を可能と
する。

5) 同意の撤回

被験者はどの時点においても、またいかなる理由でも同意を撤回することができる。病状の増悪などにより被験者本人に同意撤回能力がなくなったと判断される場合には、代諾者による同意撤回の判断を可能とする。

4. 登録の手順

- 1) 試験担当医師は、候補となる患者に説明を行い同意取得の後、所定の検査を実施して適格性の判断に必要な情報を収集する。
- 2) 試験担当医師は、各選択基準および除外基準に関する情報を症例登録用紙に記載した後、施設内の適格性判定委員会に症例を提示し、対象患者が選択基準を全て満たし、除外基準のいずれにも該当しないことを確認する。その後、独立データモニタリング委員会により適格性判定委員会の判定の確認を受ける。
- 3) 記載した症例登録用紙をデータセンターに送付する。
- 4) データセンターは、受領した内容を確認した上で登録番号を付与し、試験の進行段階に応じて G47Δ 投与量の指定を行なう。その後、登録確認書を作成し、試験担当医師に送付する。受領した登録用紙の内容に不備が認められた場合、データセンターは試験担当医師に問い合わせ、不備を解決する。

(4) 実施期間および目標症例数

1. 実施期間

目標登録期間を約 1 年とする。観察期間を G47Δ 投与完了後 90 日間とする。G47Δ 治療後 2 年間、全生存期間と無増悪生存期間について追跡する。

観察項目の詳細は「(5) 遺伝子治療臨床研究の実施方法 4 臨床検査項目ならびに観察項目」に記載する。サルを用いた G207 脳内投与の非臨床安全性試験²⁹⁾ならびに G207 の第 I 相臨床試験³⁰⁾において、ウイルスの排泄(shedding)は投与後のどの時点でも認められておらず、shedding に関する検査は第二回投与後 7 日間とする。

2. 目標症例数

21 人 (最大 30 人)。Grade 3 以上の G47Δ に起因する有害事象が見られない場合、用量増加段階で 9 人、最大用量でさらに 12 人、合計 21 人の治療を行う。G47Δ に起因する grade 3 以上の有害事象が出現し症例数の追加を行う場合の最大症例数は 30 人である。

(5) 遺伝子治療臨床研究の実施方法

1. 対照群の設定方法

この臨床研究はオープンラベルであり、盲検化は行わず、対照群も設けない。

2. 遺伝子導入方法 (安全性および有効性に関する事項を除く)

説明と同意の後、適格性判断のための検査を行い、臨床研究被験者として登録

を行う。

前治療に関する規定（選択・除外基準を一部再掲）

初発時または再発時に手術（定位的生検または開頭による切除術）が行われ、膠芽腫の病理診断が得られていること。術後 30 日以上を経ていること。

放射線治療が行われていること。照射方法および量、治療完了の有無、および治療後の経過期間は問わない。

化学療法の施行歴の有無および治療後の経過期間は問わない。

症例登録から第 1 回 G47Δ 投与までの期間は 30 日以内とする。31 日以上になった場合は、その理由を症例報告書に記載する

G47Δ の投与は入院の上、手術室にて行う。投与に際しては、レクセル型の定位手術装置を使用し、局所麻酔または全身麻酔下に穿頭手術のうえ、MRI 画像のガイド下に腫瘍の造影部位に定位的に投与する。10%グリセリン/ 磷酸緩衝生理食塩水（PBS）で総量 1ml となるよう希釈した G47Δ を、2-5 箇所を標的部位へ、生検の後に緩徐に注入する。第 1 回投与後 5 日以上 14 日以内（各コホート 1 例目は 7 日以上 14 日以内）に、再度同じ穿頭部位から第 2 回の投与を同様に行う。被験者の負担と安全性を考慮し各コホート 1 例目は 7 日以上、2 例目以降は 5 日以上の間隔をおき、同じ手術創を用いて投与が可能で、かつ腫瘍の状態の変化により同一部位への投与が困難とならないよう 14 日以内の投与間隔とする。

マウスの皮下腫瘍モデルを用いた非臨床試験では、 1×10^7 pfu の G207 の単回投与と、その十分の一量（ 1×10^6 pfu）の 6 回投与（2 回/週）が比較され、後者では 75%（6/8）が治癒したのに対し前者では治癒が見られなかったことから（0/8）、複数回投与の方が単回投与より治療効果が高いことが示されている³¹⁾。また G207 の第 1b 相臨床試験では脳腫瘍内 2 回投与（7 日以内）が実施された。これらより、本研究では 2 回投与を採択した。また、腫瘍組織内へ G47Δ を分布させるためと、G207 の第 1 相臨床試験で脳腫瘍内 5 箇所へ定位的投与されたことがあることから、本研究では腫瘍内 2-5 箇所への投与を採択した。

生検で得た検体は、その場で分割し、一部は病理診断のため病理部へ送付する。一部は本臨床研究に関連する検査のため、脳神経外科研究室へ送付する。

試験担当医師が退院可能と判断するまでを入院期間とする。

用量増加

1群3例ずつ、3群にわたって用量を増加する。1回あたり 3.0×10^8 pfu、 1.0×10^9 pfu、または 3.0×10^9 pfuを2回投与、すなわち一人あたり合計 6.0×10^8 pfu、 2.0×10^9 pfu、または 6.0×10^9 pfuを投与する。各群のそれぞれ1例目については、第1回の投与後6日間の観察期間をおいた後に、第2回の投与を行う。また、同群の次の被験者の治療を開始するまでには、直前の被験者への第2回投与後、最低6日間の観察期間をおく。次のコホートへの移行は、直前のコホートの最後の被験者への第2回投与後、投与日を含めて最低14日間の観察期間をおき、独立データモニタリング委員会の承認を得て行なう。

1つのコホートでG47Δに起因するgrade 3以上の有害事象が1例もみられない場合は、次のコホートに進む。第3コホートでG47Δに起因するgrade 3以上の有害事象が全く見られない場合には 6.0×10^9 pfuを最大用量とする。

ある用量で1人にG47Δに起因するgrade 3以上の有害事象が見られた場合には、そのコホートに被験者を3例追加する。追加3例にG47Δに起因するgrade 3以上の有害事象が見られない場合は、次のコホートに進む。第3コホートで被験者を追加した結果、G47Δに起因するgrade 3以上の有害事象が6例中1例以下の場合、 6.0×10^9 pfuを最大用量とする。

ある用量で2人以上にG47Δに起因するgrade 3以上の有害事象が見られた場合には、その時点でそれより1段階低い用量を仮の最大耐用量とする。

仮の最大耐用量が設定された場合、そのコホートでの被験者を追加し、合計6例とする。その用量でG47Δに起因するgrade 3以上の有害事象の見られる被験者が1例以下の場合、その用量を最大耐用量と決定する。2人以上にG47Δに起因するgrade 3以上の有害事象が見られた場合には、その時点で更に1段階低い用量を仮の最大耐用量とし、その用量で合計6例となるまで被験者を追加する。

最小用量のコホートにおいて2人以上の被験者にG47Δに起因するgrade 3以上の有害事象が見られた場合には、この臨床研究は終了となる。

最大用量または最大耐用量が定められたのちは、その量においてさらに12例の治療を行う。なお、この12例の治療中にこの用量での3分の1以上の被験者にG47Δに起因するgrade 3以上の有害事象が見られた場合には、試験を中断し、独立データモニタリング委員会で試験の中止・継続を検討する。

用量設定の根拠

HSV-1に感受性の高いA/Jマウスを用いた非臨床安全性試験で、G47Δ単回投与はG207単回投与と同等以上の安全性を有していることが確認された。G207の第I相臨床試験では、 1×10^6 pfu単回投与から開始し最高用量の 3×10^9 pfu単回投与まで、脳腫瘍内投与にてgrade 3以上の有害事象が観察されなかった。その際、最高用量 3×10^9 pfuは、総容量1mlを5箇所に分割して投与された。本研究では、

非臨床試験で G47Δが G207 と同等以上の安全性を有しているとされるものの、G207 より高い抗腫瘍作用を持つことと、力価の測定法の違いを考慮し、開始一回投与量を G207 第 I 相試験最高用量の 10 分の一から開始することにし、一回投与総容量を 1ml、分割投与を 2 ないし 5 箇所と設定した。

用量・スケジュール変更基準

有害事象に応じた個別の用量の変更、延期、減量を行わない（次項「中止」を参照）。

プロトコル治療の中止

以下のいずれかの場合、プロトコル治療を中止する。治療開始後の中止の場合、観察項目の記録は継続する。プロトコル治療中止/終了日は、プロトコル治療中の死亡の場合は死亡日、それ以外の場合はプロトコル治療中止と判断した日とする。プロトコル治療の中止基準を患者経過記録用紙（CRF）に記載する

① 治療開始後に原病の増悪が認められた場合

原病の増悪とは、画像所見による PD と明らかな原病の臨床的増悪の両方を含む。原病の増悪の場合、後療法は規定しない。

② 有害事象によりプロトコル治療が継続できない場合

i) G47Δに起因する Grade 4 の非血液毒性が認められた場合（非血液毒性：NCI-CTC「血液/骨髄」区分以外の有害事象）。

ii) 手術中の有害事象により G47Δ投与が中止された場合。

iii) 有害事象により、担当医が中止が必要と判断した場合。

③ 有害事象との関連が否定できない理由により、被験者がプロトコル治療の中止を申し出た場合や同意を撤回した場合（有害事象との関連が否定できない場合はこの分類を用いる）。

④ 有害事象との関連が否定できる理由により、被験者がプロトコル治療の中止を申し出た場合（本人や家人の転居等、有害事象との関連がほぼ確実に否定できる場合のみこの分類を用いる）。

⑤ プロトコル治療中の死亡。

⑥ その他、登録後治療開始前の増悪（急速な増悪によりプロトコル治療を開始できなかった）、プロトコル違反の判明、登録後の病理診断変更などによる不適格性の判明、併存疾患の増悪などにより検査結果等が選択基準値を満たさなくなった場合や、併用禁止療法を行う必要が生じた場合。

⑦ その他、試験担当医師が中止が適切と判断した場合。

3. 前処置および併用療法の有無

1) 前処置

前処置はない

2) 併用療法

- ① ステロイドは併用可である。ただし、適格性判定の7日前から第2回 G47Δ投与後7日後までの投与量は一定とする。臨床上の必要から投与量を変更する場合は、理由を患者経過記録用紙 (CRF) に記載する。
- ② 浸透圧利尿薬および抗痙攣薬に関しては制限を設けない。
- ③ 手術中および術後は原則として抗生物質の投与を行う。その内容には制限を設けない。
- ④ アシクロビル、バラシクロビルなどの抗 HSV 薬 (ただし、G47Δ投与後の HSV-1 感染症-疑い例を含む-に対する投与を除く)、ステロイド以外の免疫抑制薬、あるいはインターフェロンなどの免疫療法薬は併用することができない。
- ⑤ 併用薬剤は、市販薬やワクチン、および併用禁止薬剤も含めて、薬剤名、量、回数、投薬経路、日付、および投与理由を患者経過記録用紙 (CRF) に記載する。

3) 支持療法

① HSV-1 感染に伴う脳炎

G47Δ投与後に、発熱の持続や、痙攣、筋力低下、失語、意識障害、その他原病で説明困難な神経症状悪化の出現、および画像診断にて出血を伴う炎症や腫瘍周囲の浮腫の増大が見られた場合には HSV-1 感染に伴う脳炎を疑い、髄液 (脳圧亢進がない場合) や血液の PCR 検査やウイルス培養の検査、さらに必要な場合には脳生検を行なう。HSV-1 感染に伴う脳炎である場合には、通常のヘルペス脳炎治療に準じて、アシクロビルなどの抗 HSV 薬を用いた治療を速やかに開始する。

② その他の有害事象

その他の有害事象に関しては、現行の医学水準に基づく適切な支持療法を行う。

4) 後治療

- ① 第2回 G47Δ投与完了後は、増悪や再発を認めるまでの期間もしくは90日間のいずれか早い方の期間、他の抗腫瘍治療は行わないで観察する。
- ② プロトコル治療中止後および90日の観察期間後の治療は規定しない。

4. 臨床検査項目ならびに観察項目

1) 同意説明後の適格性評価時

- ① 現病歴、既往歴・手術歴
 - ② 理学所見、身長・体重
 - ③ 神経学的所見
 - ④ バイタルサイン
 - ⑤ KPS
 - ⑥ 薬剤服用歴
 - ⑦ 血算(白血球分画および血小板数を含む)
 - ⑧ 血液生化学検査
- 肝機能 (総ビリルビン、Al-P、LDH、 γ GTP、AST、ALT)
- 腎機能 (クレアチニン)
- 電解質 (Na、K)
- ⑨ 凝固系 (PT INR および PTT)
 - ⑩ 心電図
 - ⑪ 胸部 X 線
 - ⑫ 頭部造影 MRI
- 2) 登録後第 1 回 G47 Δ 投与前日まで
- ① リンパ球 CD4/CD8 数および比
 - ② HSV 抗体価(ELISA)を含む血清学的検査。
 - ③ 遅延型皮膚過敏反応
- 3) 第 1 回 G47 Δ 投与前日
- ① 神経学的所見
 - ② バイタルサイン
 - ③ KPS
 - ④ 血算(白血球分画および血小板数を含む)
 - ⑤ 血液生化学検査
- 肝機能 (総ビリルビン、Al-P、LDH、 γ GTP、AST、ALT)
- 腎機能 (クレアチニン)
- 電解質 (Na、K)
- ⑥ 凝固系 (PT INR および PTT)
 - ⑦ 併用薬剤
 - ⑧ 有害事象評価
- 4) 第 1 回 G47 Δ 投与当日の投与前
- ① 頭部造影 MRI
- 5) 第 1 回 G47 Δ 投与当日の投与中
- ① 腫瘍組織採取
- 6) 第 1 回 G47 Δ 投与当日の投与後

- ① 頭部単純 CT
 - ② 神経学的所見
 - ③ バイタルサイン
 - ④ KPS
 - ⑤ 併用薬剤
 - ⑥ 有害事象の評価
- 7) 第1回 G47Δ投与翌日
- ① 頭部単純 CT
 - ② 神経学的所見
 - ③ バイタルサイン
 - ④ KPS
 - ⑤ 併用薬剤
 - ⑥ 血液生化学検査
肝機能 (総ビリルビン、Al-P、LDH、 γ GTP、AST、ALT)
腎機能 (クレアチニン)
電解質 (Na、K)
 - ⑦ HSV の排出 (唾液、尿の PCR。陽性の場合は定量的 PCR も)
 - ⑧ 血清の PCR およびウイルス培養
 - ⑨ 有害事象の評価
- 8) 第2回 G47Δ投与前日
- ① 神経学的所見
 - ② バイタルサイン
 - ③ KPS
 - ④ 血算(白血球分画および血小板数を含む)
 - ⑤ 血液生化学検査
肝機能 (総ビリルビン、Al-P、LDH、 γ GTP、AST、ALT)
腎機能 (クレアチニン)
電解質 (Na、K)
 - ⑥ 凝固系 (PT INR および PTT)
 - ⑦ 併用薬剤
 - ⑧ 有害事象の評価
- 9) 第2回 G47Δ投与当日の投与前
- ① 頭部造影 MRI
- 10) 第2回 G47Δ投与当日の投与中
- ① 腫瘍組織採取
- 11) 第2回 G47Δ投与当日の投与後

- ① 頭部単純 CT
- ② 神経学的所見
- ③ バイタルサイン
- ④ KPS
- ⑤ 併用薬剤
- ⑥ 有害事象の評価

12) 第 2 回 G47Δ投与翌日

- ① 頭部単純 CT
- ② 神経学的所見
- ③ バイタルサイン
- ④ KPS
- ⑤ 併用薬剤
- ⑥ 血算(白血球分画および血小板数を含む)
- ⑦ 血液生化学検査
肝機能 (総ビリルビン、Al-P、LDH、γGTP、AST、ALT)
腎機能 (クレアチニン)
電解質 (Na、K)
- ⑧ HSV の排出 (唾液、尿の PCR。陽性の場合には定量的 PCR も)
- ⑨ 血清の PCR およびウイルス培養
- ⑩ 有害事象の評価

13) 第 2 回 G47Δ投与 7 日後±2 日

- ① 神経学的所見
- ② バイタルサイン
- ③ KPS
- ④ 血算(白血球分画および血小板数を含む)
- ⑤ 血液生化学検査
肝機能 (総ビリルビン、Al-P、LDH、γGTP、AST、ALT)
腎機能 (クレアチニン)
電解質 (Na、K)
- ⑥ 凝固系 (PT INR および PTT)
- ⑦ HSV の排出 (唾液、尿の PCR。陽性の場合には定量的 PCR も)
- ⑧ 血清の PCR およびウイルス培養
- ⑨ 頭部造影 MRI
- ⑩ 併用薬剤
- ⑪ 有害事象の評価

14) 第 2 回 G47Δ投与 28 日後±4 日

- ① 理学所見。体重。
- ② 神経学的所見
- ③ バイタルサイン
- ④ KPS
- ⑤ 血算(白血球分画および血小板数を含む)
- ⑥ 血液生化学検査

肝機能 (総ビリルビン、Al-P、LDH、 γ GTP、AST、ALT)

腎機能 (クレアチニン)

電解質 (Na、K)

- ⑦ 凝固系 (PT INR および PTT)
- ⑧ リンパ球 CD4/CD8 数および比
- ⑨ HSV 抗体価(ELISA)を含む血清学的検査。
- ⑩ 遅延型皮膚過敏反応
- ⑪ 頭部造影 MRI
- ⑫ 併用薬剤
- ⑬ 有害事象の評価

15) 第 2 回 G47 Δ 投与 2 ヶ月後 \pm 7 日

- ① 理学所見。体重。
- ② 神経学的所見
- ③ バイタルサイン
- ④ KPS
- ⑤ 血算(白血球分画および血小板数を含む)
- ⑥ 頭部造影 MRI
- ⑦ 併用薬剤
- ⑧ 有害事象の評価

16) 第 2 回 G47 Δ 投与 3 ヶ月後 \pm 7 日

- ① 理学所見。体重。
- ② 神経学的所見
- ③ バイタルサイン
- ④ KPS
- ⑤ 血算(白血球分画および血小板数を含む)
- ⑥ リンパ球 CD4/CD8 数および比
- ⑦ 遅延型皮膚過敏反応
- ⑧ HSV 抗体価(ELISA)を含む血清学的検査。
- ⑨ 頭部造影 MRI
- ⑩ 併用薬剤

臨床試験日程	前 適格性評価	前 投与前日まで	1週 第1回投与前日	1週 第1回当日	1週 第1回翌日	2週 第2回投与前日	2週 第2回当日	2週 第2回翌日	3週 第2回投与7日後	6週 第2回投与1か月	9週 第2回投与2か月	13週 第2回投与3か月
身体所見												
説明と同意	○									○	○	○
病歴・理学所見	○									○	○	○
バイタルサインと神経所見	○		○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
KPS	○		○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
有害事象評価	○		○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
併用薬剤記録	○		○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
検査所見												
血算と白血球分類	○		○		○	○		○	○	○	○	○
生化学および凝固系	○		○		○	○		○	○	○		
心電図	○											
胸部単純撮影	○											
リンパ球分類		○								○		○
遅延型皮膚反応		○								○		○
HSV抗体価		○								○		○
HSV排泄(尿・唾液)					○			○	○			
血清内HSV					○			○	○			
画像検査												
頭部CT				○	○		○	○				
頭部MRI(Gd造影)	○			○			○		○	○	○	○
治療・手術												
G47Δ投与				○			○					
腫瘍組織採取				○			○					

投与当日のMRIは術前に、CTは術後に施行する。

5. 予想される有害事象およびその対処方法

1) 有害事象報告・対応手順

有害事象の定義や報告・対応の方法については、別途「有害事象の評価・報告手順」に記載する。本項の記載はその手順の抜粋である。

2) 有害事象の定義

有害事象 (Adverse Events: AE) とは、臨床研究中に起こる、あらゆる好ましくない、あるいは意図しない症状、徴候 (臨床検査値の異常を含む)、疾患のことであり、当該治療方法との因果関係の有無は問わない。原病に関連してもしくは慢性的に G47Δ投与以前より存在した症状や徴候は有害事象に含めない。

3) 重篤な有害事象の定義

重篤な有害事象とは、有害事象のうち以下のものをいう。

- ① 死亡
- ② 死亡につながるおそれのあるもの
- ③ 治療のために入院または入院期間の延長が必要となるもの
- ④ 障害
- ⑤ 障害につながるおそれのあるもの
- ⑥ 後世代における先天性の疾病または異常
- ⑦ その他、上記に準じて重篤であるもの

但し、ここでいう障害とは、永続的または顕著な障害・機能不全に陥るものとする。

4) 有害事象の評価と報告

① 有害事象の症例報告書への記載内容

出現した有害事象は National Cancer Institute Common Terminology Criteria for Adverse Events V.3.0 日本語訳版 (CTC; <http://www.ccijapan.com>、<http://www.kutrc.org> または <http://www.tri-kobe.org> よりダウンロード可能) に準じて症例報告書に記載する。また従来の CTC に記載がないものも CTC に準じて分類し、これに基づいて記載する。なお、当該様式以外での項目については、該当する区分の“その他”の障害とし以下の基準に従って grading したうえで症例報告書に記載する。

1. Grade 0: 正常、正常/基準範囲内 (WNL)
2. Grade 1: 軽症/軽度の障害
3. Grade 2: 中等症/中等度の障害
4. Grade 3: 重症/高度の障害
5. Grade 4: 生命を脅かす又は活動不能に至る障害

6. Grade 5: 死亡

全ての有害事象は、発生前の状態に復するまで、あるいは試験担当医師が十分に解決したと判断するまで経過を観察し、必要な検査を行い結果を記載する。

② 関連性の評価

試験担当医師は、G47Δと有害事象との関連性を評価し、以下の基準で記載する。

1. 明らかに関連：G47Δの投与と有害事象の発生に、臨床的にもっともらしい時間的経過があり、他の可能性は否定されている。
2. 関連している可能性が高い：G47Δの投与と有害事象の発生に、臨床的にもっともらしい時間的経過がある。その有害事象は、原疾患・合併疾患・他の薬剤・他の処置によって起こったとは考えにくい（該当する場合のみ：G47Δを中止すると有害事象も軽快する、という時間経過をとる）。
3. 関連している可能性あり：G47Δの投与と有害事象の発生に、臨床的にもっともらしい時間的経過がある場合も、ない場合もある。試験薬が原因として否定はできない。
4. 関連していない可能性が高い：有害事象の理由としては、他の原因がもっともらしい。G47Δの投与と有害事象の発生には時間的関連がない。医学生物学的に、因果関係は考えにくい。
5. 関連はない：G47Δの投与と有害事象の発生には時間的関連がない。有害事象は原疾患あるいは合併疾患、他の薬剤、他の処置によるものである可能性が高い。G47Δを中止しても有害事象は軽快しない。

5) 検査値の異常

1. 臨床的に意義をもたない検査値の異常

検査結果はすべて臨床経過記録に保存し、管理する。臨床的に意義をもたない検査値の異常、すなわち医療処置を要しない若干の正常値からの変動は有害事象とはみなさない。

2. 臨床上的の意味のある検査値の異常

CTC grade 3 および 4 の異常、あるいは試験担当医により臨床的に意義があると判断された異常は臨床記録に記載する。また、すでに報告されている有害事象、疾病、あるいは合併疾患に関連しない検査値の異常や、併用すべき薬剤の変更を要するものに関しては、異常値は有害事象として記載する。それらの異常値は、再検し、早急に「重篤性」についての評価を行う。「重篤」の定義に合致する場合には、重篤な有害事象の項に従い報告する。

6) 予期される有害事象

G47Δの脳腫瘍内投与に伴う有害事象としては次のものが考えられる。

① 試験薬 G47Δの投与によるもの

1. 悪寒戦慄、筋肉痛、関節痛、リンパ節腫脹などの全身性ウイルス感染の症状
 2. かゆみ、じんま疹、血圧の変動、呼吸困難などのアレルギー反応
 3. 発熱、痙攣、筋力低下、失語、意識障害などの HSV-1 脳炎の症状
 4. 頭痛
- ② 原病に関連するもの
1. 意識障害、神経症状の出現や悪化
 2. 痙攣
 3. 頭痛、嘔気、嘔吐など頭蓋内圧亢進症状
- ③ 手術手技に関連するもの
1. 意識障害、神経症状の出現や悪化
 2. 脳内出血や腫瘍内出血
 3. 髄膜炎や創感染などの術後感染
 4. 痙攣
 5. 肺炎や肝機能障害など全身術後合併症
 6. 髄液漏

7) 有害事象の緊急報告と対応

① 報告義務のある有害事象

報告義務のある有害事象は、「定義」で規定した「重篤な有害事象」のうち、臨床研究中または観察期間中に発生したものとする。

② 報告手順

1. 一次報告（発生を知った時点から 72 時間以内にすみやかに）

報告義務のある有害事象が発生した場合、総括責任者は、本治療との因果関係の有無に関わらず、発生を知った時点から 72 時間以内に、所属する医療機関の施設長と所属する医療機関の遺伝子治療臨床研究審査委員会の責任者、および独立データモニタリング委員会に第 1 報を報告する。報告は口頭または電話で行い、「重篤な有害事象に関する報告書」にその時点までに把握できている情報を記載して、直接または FAX で提出する。

医療機関の施設長は、速やかにその概況および対処の方針を厚生労働大臣および文部科学大臣に連絡する。

2. 二次報告（発生を知った時点から 15 日以内）

総括責任者は、重篤な有害事象の発生を知った時点から 7 日以内に「重篤な有害事象に関する報告書」を完成し、所属する医療機関の施設長と所属する医療機関の遺伝子治療臨床研究審査委員会に直接または FAX で提出する。

医療機関の施設長は、発生を知った時点から 15 日以内を目安に、遺伝子治療臨床

研究に関する指針の別紙様式第5を用いて厚生労働大臣および文部科学大臣に報告する。

3. 詳細調査報告

独立データモニタリング委員会から詳細な情報の提供を要請された場合、総括責任者およびデータセンターは、指示に従って必要かつ十分な調査を行い、報告書を提出する。

4. 最終報告

総括責任者は、重篤な有害事象の転帰が確定した後速やかに、二次報告後の経過および転帰に関する報告書を作成し、所属する医療機関の施設長に提出する。医療機関の施設長は、それを厚生労働大臣および文部科学大臣に報告する

5. 最終報告後の対応

総括責任者は、独立データモニタリング委員、データセンターに最終報告書を送付する。また、総括責任者が必要と判断した場合は、独立データモニタリング委員会に再評価を依頼する。最終経過観察日に「明らかにG47Δに関連しない」もの以外の継続中の有害事象は、引き続き経過を観察する。

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

1) 評価方法および評価基準

(a) エンドポイント

主要エンドポイント：安全性評価（有害事象の種類、頻度および程度）。

副次エンドポイント：G47Δ投与後90日間の観察期間における腫瘍縮小効果。
全生存期間と無増悪生存期間。

(b) 効果判定

腫瘍縮小効果判定はMRI画像を基にWHOの効果判定基準に従い以下のように行なう。

CR: Complete Response: 完全奏効

標的病変が完全に消失した場合。

PR: Partial Response: 部分奏効

標的病変の面積の和が50%以上縮小し、新病変の出現はない場合。

SD: Stable Disease: 安定

標的病変の面積の和が50%未満縮小するか25%未満増大し、新病変の出現はない場合。

PD: Progressive Disease: 進行

標的病変の面積の和が25%以上増大するか、新病変の出現があった場合。

NE: Not Evaluable: 評価不能。

全治療例を分母とし、それぞれの有害事象についてその発生頻度を計算する。また、全治療例および最大用量での治療例につき、G47Δ投与後 90 日における画像上の奏効割合を計算する。追跡期間につき、全生存期間、無増悪生存期間を計算する。

(c) 有害事象発生割合

適格・不適格を問わず、プロトコル治療の一部以上が施行された患者数（全治療例）を分母とし、第 2 回 G47Δ投与後 90 日までの下記の有害事象についてそれぞれ NCI-CTCAE ver3.0 日本語訳 JCOG/JSCO 版による最悪の Grade の頻度を（群別に）求める。

- ① 血液/骨髄：ヘモグロビン、白血球、血小板
- ② 代謝/臨床検査値：総ビリルビン、Al-P、LDH、γGTP、AST、ALT、Na、K、クレアチニン
- ③ 全身症状：発熱、倦怠感、筋肉痛、頭痛、食欲不振、悪心、嘔吐
- ④ 神経：意識障害、神経症状、痙攣
- ⑤ 感染：好中球減少に伴わない感染
- ⑥ 中枢神経合併症：脳炎、髄膜炎、脳内出血、腫瘍内出血、水頭症

(d) 重篤有害事象発生割合

プロトコル治療の一部以上が開始された患者数（全治療例）を分母として、以下のいずれかの重篤な有害事象がひとつ以上観察された患者数を分子とする割合を重篤有害事象発生割合とする。

- ① 第 1 回 G47Δ投与から第 2 回 G47Δ投与後 30 日以内までの全ての死亡。（死因は治療との因果関係を問わない）
- ② 第 2 回 G47Δ投与後から 31 日以降であるが、治療との因果関係が否定できない死亡。
- ③ Grade 4 の有害事象。

(e) 全生存期間 Overall survival

初回手術日を起算日とし、あらゆる原因による死亡日までの期間。生存例では最終生存確認日をもって打ち切りとする。追跡不能例では追跡不能となる以前で生存が確認されていた最終日をもって打ち切りとする。

(f) 無増悪生存期間 Progression-free survival (PFS)

第 2 回 G47Δ投与日を起算日とし、増悪と判断された日またはあらゆる原因による死亡日のうち早い方までの期間。「増悪 progression」は、画像上の PD（進行）、画像診断検査で確認できない原病の増悪（臨床的増悪）の両者を含む。増悪と判断されていない生存例では臨床的に増悪がないことが確認された最終日（最終無増悪生存確認日）をもって打ち切りとする。

(g) 奏効割合（奏効率） Response proportion（Response rate）

測定可能病変を有する適格例のうち、「効果」が CR または PR のいずれかである患者の割合を奏効割合とする。

7. 被験者の安全性確保および健康被害補償

1) モニタリング

1. 独立データモニタリング委員会

遺伝子治療臨床研究審査委員会のもとに独立データモニタリング委員会をおく。研究実施主体以外から 3 名以上の委員を遺伝子治療臨床研究審査委員会委員長が選出する。悪性脳腫瘍治療に精通する臨床医、統計の専門家、有害事象の評価を行う専門知識を有する者などから構成される。独立データモニタリング委員会は、以下の役割を有する。

- ① 適格性判定委員会の判定の確認
- ② 安全性・有効性の判定の確認と用量増加の可否の判断（コホート間）
- ③ 安全性・有効性の判定の確認と最大用量または最大耐用量の設定の適切性の判断（用量増加段階終了時）
- ④ 「重篤な有害事象」に関する報告書の受け取り、および本臨床研究との因果関係の判定

独立データモニタリング委員会は、下記の項目に関してプロトコル改訂の必要性を検討し、その結果必要な場合は総括責任者にプロトコルの改訂や試験の中止を勧告できる権限を持つ。

- ①. 登録期間の変更
- ②. 適格基準の変更
- ③. 目標症例数の再設定
- ④. プロトコル治療計画の変更
- ⑤. その他の必要な変更

2. 適格性判定委員会

遺伝子治療臨床研究審査委員会のもとに適格性判定委員会をおく。適格性判定委員会は、対象患者が選択基準を全て満たし除外基準のいずれにも該当しないことの判定・確認を行なう。毎週月・水・金の朝 8 時から東京大学医学部附属病院脳神経外科で行なわれる定例カンファレンスにおいて適格性判定委員会を開催する。総括責任者または試験担当医師が症例提示を行うが、適格性判定には関与しない。適格性判定委員会での承認の記録は症例登録票に記載する。

2) 遺伝子治療臨床研究審査委員会での審査

登録に先立ち、実施施設における遺伝子治療臨床研究審査委員会においてプロトコルの審査を受け、承認を受ける。

3) 遵守すべき諸規則

- ①本研究に関係する全ての研究者は、世界医師会ヘルシンキ宣言 (<http://www.med.or.jp/wma/>) に従って本研究を実施する。
- ②本研究は、医薬品の臨床試験の実施基準 (GCP) に関する省令 (平成9年厚生省令第28号: <http://www.mhlw.go.jp/shingi/2002/09/s0904-3d.html>) を準用して行なう。
- ③本研究は「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」に基づく第1種使用規程に関する申請 (<http://www.mhlw.go.jp/general/seido/kousei/i-kenkyu/seibutu/tuuchi.html>) を行い、これを遵守する。
- ④本研究は、遺伝子治療臨床研究に関する指針 (平成14年3月27日、平成16年12月28日全部改正: <http://www.mhlw.go.jp/general/seido/kousei/i-kenkyu/identshi/0504sisin.html>) に従って行う。

4) プロトコルの遵守

本研究に参加する研究者は、被験者の安全と人権を損なわない限りにおいて本研究実施計画書を遵守する。

5) 臨床研究の費用負担

①資金源および財政上の関係

本研究は、文部科学省「がんトランスレーショナル・リサーチ事業」の支援を得て実施する。総括責任者は試験薬 G47Δの日本における特許を受ける権利を有している。

②臨床研究に関する費用

試験薬 G47Δは東京大学医学部附属病院により無償で提供される。脳神経外科研究室で行われる検査は研究費等で支払われる。

交通費、その他の謝礼金などの支払いはない。

6) 健康被害に対する補償

- ① 本研究により健康被害が生じた場合、急性期および症状が固定または治癒するまでの治療費、検査費、入院費は本研究グループが負担する。ただし、治療後最長1年までとする。
- ② 医療費以外の実費や、副作用等による症状が固定した後の治療費を含む費用については補償しない。

- ③ ①②は他の医療機関で治療された場合にも適用する。
- ④ なお、賠償責任に備え、試験責任医師および試験担当医師は賠償責任保険に加入する。

7) プロトコルの改訂

① プロトコル改訂の報告

プロトコルを改訂する場合は、その内容の重大性にかかわらず全ての改訂内容とその理由を、実施施設の遺伝子治療臨床研究審査委員会に報告する。

医療機関の施設長は、遺伝子治療臨床研究審査委員会への報告に基づき、遺伝子治療臨床研究に関する指針の別紙様式第2を用いて、実施計画に係る事項の変更を厚生労働大臣および文部科学大臣に報告する。

② 再審査が必要なプロトコル改訂

改訂内容が重大と判定される場合、遺伝子治療臨床研究審査委員会での再審査および承認を必要とする。重大と判断される改訂とは、試験に参加する被験者の危険を増大させる可能性のあるもの、あるいは以下のいずれかの項目の変更である。

試験デザイン・適格基準・治療計画・エンドポイント・目標症例数・予想される有害事象。

③ 同意説明文書の改訂

同意説明文書も、プロトコルの変更に応じて改訂する。

④ 記録用紙（CRF）の変更

試験開始後に、記録用紙に必要なデータ項目の欠落や不適切なカテゴリー分類等の不備が判明した場合、「4. 臨床検査項目ならびに観察項目」で規定した収集データの範囲を超えず、かつ記録用紙の修正により登録患者の医学的・経済的負担を増やさないと判断される限りにおいて、総括責任者の判断で記録用紙の修正を行う。プロトコル本文の改訂を要さない記録用紙の修正はプロトコル改訂としないが、記録用紙の修正に関する遺伝子治療臨床研究審査委員会への報告は行なう。

8. 試験の終了と早期中止

1) 試験の終了

- ① 目標症例数の達成をもって新規登録の終了とし、すべての登録症例について観察期間が満了し、症例報告書の提出が完了して時点で、本臨床研究は終了とする。
- ② 総括責任者は所属する医療機関の施設長と所属する医療機関の遺伝子治療臨床研究

審査委員会に試験終了を報告する。医療機関の施設長は、遺伝子治療臨床研究に関する指針の別紙様式第4を用いて、試験の終了を厚生労働大臣および文部科学大臣に報告する。

2) 試験の早期中止

早期中止とは、独立データモニタリング委員会の次のいずれかの判定により、臨床研究を予定より早く中止することをさす。

- ① 重篤な有害事象または当該臨床研究以外の情報に基づき、本臨床研究の安全性に問題があると判定した。
- ② 症例登録の遅れ、プロトコル逸脱の頻発などの理由により、臨床研究の完遂が困難と判断した。
- ③ 有害事象観察数に基づいての早期中止に関しては(5).2.7)⑥および(5).2.7)⑦に記述する。
- ④ 医療機関の施設長は、遺伝子治療臨床研究に関する指針の別紙様式第3を用いて、試験の中止を厚生労働大臣および文部科学大臣に報告する。

9. 研究組織

1) 総括責任者：藤堂 具紀

東京大学大学院医学系研究科・TRセンター（脳神経外科） 特任教授

〒113-8655 東京都文京区本郷7-3-1

Tel: 03-5800-8853

Fax: 03-5800-8655

E-mail: toudou-nsu@umin.ac.jp

2) 適格性判定委員会：(7章 被試験者の安全確保の項を参照)

委員長 東京大学医学部附属病院脳神経外科教授 齊藤 延人

委員 東京大学医学部附属病院脳神経外科准教授 川合 謙介

東京大学医学部附属病院脳神経外科講師 鎌田 恭輔

3) データセンター：

財団法人 先端医療振興財団

臨床研究情報センター

〒650-0047 神戸市中央区港島南町2-2

TEL:078-306-1700(代表) FAX:078-306-1708

内におく。

4) CRC (TRC) :

東京大学医学部附属病院 臨床試験部・TR センター内に置く。

5) プロトコル作成者 :

東京大学大学院医学系研究科・TR センター (脳神経外科) 特任教授
藤堂 具紀

6) 統計解析責任者 :

財団法人 先端医療振興財団
臨床研究情報センター
〒650-0047 神戸市中央区港島南町 2-2
TEL:078-306-1700(代表) FAX:078-306-1708

統計解析責任者は、試験終了に際し、統計解析計画書及び統計解析図表計画書を作成し、それらの計画書に沿った統計解析を行う。また、その結果に関して統計解析報告書を作成する。

7) 独立データモニタリング委員会 : (7章 被試験者の安全確保の項を参照)

委員長	東京大学医学部附属病院神経内科教授	辻 省次
委員	東京労災病院 病院長	野村 和弘
	東京大学医学部附属病院放射線治療部准教授	中川 恵一
	東京大学大学院医学系研究科臨床情報工学教授	小山 博史

8) 臨床研究実施施設および総括責任者 :

東京大学医学部附属病院 / 藤堂 具紀

10. 被験者のプライバシー保護と秘密の保全

被験者のプライバシー保護と秘密の保全に関しては、「東京大学医学部附属病院の保有する個人情報の適切な管理のための措置に関する規程」を遵守することとする。以下、この文書の要点を記載する。

(1) 実施施設での安全管理措置

①管理体制

- (i) 東京大学医学部附属病院に個人情報保護管理者 (以下「保護管理者」という。) を置き、病院長をもって充てる。
- (ii) 東京大学医学部附属病院に個人情報保護担当者 (以下「保護担当者」という。)

を1名以上置き、保護管理者の指名した者をもって充てる。

- (iii) 保護管理者の直属の組織として、個人情報保護推進委員会（以下「委員会」という。）を置く。

②職員等の責務

職員等（保有個人情報を取り扱うことのある大学院生、学生及び外部委託職員を含む。以下同じ。）は、法の趣旨に則り、関連する法令及び規程等の定め並びに総括保護管理者、保護管理者及び保護担当者の指示に従い、保有個人情報を適切に管理し取り扱わなければならない。

③保有個人情報の管理・取扱い

- (i) 職員等は、職務上作成し、又は取得した個人情報を取扱うに当たっては、個人情報の漏洩等の危険に留意し、適切に管理し取扱わなければならない。
- (ii) 職員等は、業務上の目的以外の目的で保有個人情報を取扱ってはならない。
- (iii) 保有個人情報の院外への持出し及び転退職後の保有については、禁止する。
- (iv) 職員等は、業務上の目的で保有個人情報を取り扱う場合であっても、複製、送信、外部への持ち出しおよび送付などについては、保護管理者の指示に従い行う。
- (v) 職員等は、保護管理者の指示に従い、保有個人情報が記録されている媒体を定められた場所に保管するとともに、必要があると認めるときは、耐火金庫への保管、施錠等を行う。
- (vi) 職員等は、保有個人情報又は保有個人情報が記録されている媒体が不要となった場合には、保護管理者の指示に従い、復元又は判読が不可能な方法により当該情報の消去又は当該媒体の廃棄を行う。
- (vii) 保護管理者は、コンピュータウイルスによる保有個人情報の漏えい、滅失又はき損の防止のため、コンピュータウイルスの感染防止等に必要な措置を講ずる。

④保有個人情報の提供及び業務の委託等

保護管理者は、法第9条第2項第3号及び第4号の規定に基づき行政機関及び独立行政法人等以外の者に保有個人情報を提供する場合には、原則として、提供先における利用目的、利用する業務の根拠法令、利用する記録範囲及び記録項目、利用形態等について書面を取り交わす。

⑤事案の報告及び再発防止措置

保有個人情報の漏えい等安全確保の上で問題となる事案が発生した場合に、その事実を知った職員等は、速やかに当該保有個人情報を管理する保護管理者に報告する。保護管理者は、被害の拡大防止又は復旧等のために必要な措置を講ずる。

⑥公表等

保護管理者は事案の内容、影響等に応じて、事実関係及び再発防止策の公表、当該事案に係る本人への対応等の措置を総括保護管理者と協議の上、講ずる

(2) 本研究における個人情報の保護

A. 個人情報の定義

この臨床研究における「個人情報」とは、「個人情報の保護に関する法律」（平成15年法律第57号）（以下「個人情報保護法」という。）、「医療・介護関係事業者における個人情報の適切な取扱いのためのガイドライン」（平成16年12月24日厚生労働省）（以下「ガイドライン」という。）および「遺伝子治療臨床研究に関する指針」（平成14年3月27日文科科学省・厚生労働省告示第1号）（以下「指針」という。）に基づく情報を示すものとし、当該治療情報に含まれる氏名、生年月日、カルテ番号等その他の記述により、特定の個人を識別することができるものとする。また、この臨床研究は遺伝情報を明らかにする研究ではなく、研究において個人の遺伝情報が明らかになるものではない。

B. 個人情報利用目的の特定および通知

この臨床研究における個人情報利用目的については、「指針」に基づいて作成された本実施計画書、ならびに「同意説明書」に記載された「研究の目的」に基づくものとする。また、個人情報保護法第15条第2項の規定において認められない範囲の利用目的の変更については、改めて本人に通知し書面にて同意を得る。

C. データ内容の正確性の確保

治療結果データを含めた個人情報は、「独立データモニタリング委員会」で常に検証されるものとし、その内容の正確性と最新の内容に保つよう努める。

D. 第三者提供の制限

外部機関に対する個人情報の提供は行わない。止むを得ず研究・解析目的での提供が必要な場合には、改めて書面で通知を行い、同意を得る。

E. 記録の保管

総括責任者は、試験等の実施に関係する全ての文書（申請書類、各種通達文書、各種申請書・報告書、被験者識別番号リスト、同意書、症例報告書、その他データの信頼性を保証するのに必要な書類または記録など、またはその写し）を保存し、試験終了後最低5年間は保管する。保管責任者は総括責任者、または総括責任者が指名した者とする。

11. 成績の公表の方法

- (1) 総括責任者はこの臨床研究の結果を学術雑誌・学術集会などで発表する。結果の公表を行なう場合には、個人情報保護に配慮する。研究結果は総括責任者に帰属する。この臨床研究から得られた情報はG47Δの医薬品としての開発に使用される可能性があり、そ

の内容は様々な国の政府機関に公開される可能性がある。以上は、試験が途中で中止あるいは中断になった場合も同様である。

(2) 上記に記載された手続きを経た公表以外には、臨床研究で得られた結果は第三者に公開されることはない。

(3) 本研究は大学病院医療情報ネットワーク研究センター(UMIN) に臨床研究登録を行う。

引用文献

1. Todo T, Martuza, RL, Rabkin, SD, et al. Oncolytic herpes simplex virus vector with enhanced MHC class I presentation and tumor cell killing. *Proc Natl Acad Sci USA* 98: 6396-6401.2001.
2. CBTRUS (Central Brain Tumor Registry of the United States) Statistical Report: Primary Brain Tumors in the United States 1998-2002. Chicago: Central Brain Tumor Registry of the United States.2005.
3. The Committee of Brain Tumor Registry of Japan: Report of brain tumor registry of Japan (1969-1996) 11th edition. *Neurol medico-chirurgica* 43 (suppl): 1-25, 2003.
4. 山浦 晶 総編集、吉田 純 専門編集 脳神経外科学大系 6 脳腫瘍 I、298-307、東京、中山書店、2004
5. Walker MD, Strike, TA, Sheline, GE. An analysis of dose-effect relationship in the radiotherapy of malignant gliomas. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 5: 1725-1731.1979.
6. Stupp R, Mason, WP, van den Bent, MJ, et al. Radiotherapy plus concomitant and adjuvant temozolomide for glioblastoma. *N Engl J Med* 352: 987-996.2005.
7. Takakura K, Abe, H, Tanaka, R, et al. Effects of ACNU and radiotherapy on malignant glioma. *J Neurosurg* 64: 53-57.1986.
8. Tanaka M, Ino, Y, Nakagawa, K, et al. High-dose conformal radiotherapy for supratentorial malignant glioma: a historical comparison. *Lancet Oncol* 6: 953-960.2005.
9. Todo T, Ebright, MI, Fong, Y, et al. Oncolytic herpes simplex virus (G207) therapy for cancer: from basic to clinical. In *Tumor Suppressing Viruses, Genes, and Drugs - Innovative Cancer Therapy Approaches*. Maruta H. eds., pp45-75, Academic Press, San Diego. 2001
10. Hunter WD, Martuza, RL, Feigenbaum, F, et al. Attenuated, replication-competent herpes simplex virus type 1 mutant G207: safety evaluation of intracerebral injection in nonhuman primates. *J. Virol.* 73: 6319-6326.1999.
11. Kamei S, Takasu, T. Nationwide survey of the annual prevalence of viral and other neurological infections in Japanese inpatients. *Intern Med* 39: 894-900.2000.
12. Whitley RJ, Lakeman, F. Herpes simplex virus infections of the central nervous system: therapeutic and diagnostic considerations. *Clin Infect Dis* 20: 414-420.1995.
13. Wald A, Corey L. Persistence in the population: epidemiology, transmission. In *Human Herpesviruses*. Arvin A., et al. eds., pp659-671, Cambridge University Press, Cambridge 2007
14. Mori I, Nishiyama, Y, Yokochi, T, et al. Olfactory transmission of neurotropic viruses. *J*

- Neurovirol 11: 129-137.2005.
15. Assar, S. et al. Survival of Microorganisms in the Environment. In *Disinfection, Sterilization, and Preservation*. 5th edn Block S. ed., 1221-1242, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia (2001)
 16. Croughan WS, Behbehani, AM. Comparative study of inactivation of herpes simplex virus types 1 and 2 by commonly used antiseptic agents. *J Clin Microbiol* 26: 213-215.1988.
 17. Chou J, Kern, ER, Whitley, RJ, et al. Mapping of herpes simplex virus-1 neurovirulence to $\gamma_134.5$, a gene nonessential for growth in culture. *Science* 250: 1262-1266.1990.
 18. Farassati F, Yang, AD, Lee, PW. Oncogenes in Ras signalling pathway dictate host-cell permissiveness to herpes simplex virus 1. *Nat Cell Biol* 3: 745-750.2001.
 19. Mineta T, Rabkin, SD, Yazaki, T, et al. Attenuated multi-mutated herpes simplex virus-1 for the treatment of malignant gliomas. *Nat Med* 1: 938-943.1995.
 20. Fukuhara H, Martuza, RL, Rabkin, SD, et al. Oncolytic herpes simplex virus vector G47 Δ in combination with androgen ablation for the treatment of human prostate adenocarcinoma. *Clin Cancer Res* 11: 7886-7890.2005.
 21. Hoffmann D, Wildner O. Comparison of herpes simplex virus- and conditionally replicative adenovirus-based vectors for glioblastoma treatment. *Cancer Gene Ther*. 14: 627-639. 2007
 22. Liu R, Martuza, RL, Rabkin, SD. Intracarotid delivery of oncolytic HSV vector G47 Δ to metastatic breast cancer in the brain. *Gene Ther* 12: 647-654.2005.
 23. Liu R, Varghese, S, Rabkin, SD. Oncolytic herpes simplex virus vector therapy of breast cancer in C3(1)/SV40 T-antigen transgenic mice. *Cancer Res* 65: 1532-1540.2005.
 24. Messerli SM, Prabhakar, S, Tang, Y, et al. Treatment of schwannomas with an oncolytic recombinant herpes simplex virus in murine models of neurofibromatosis type 2. *Hum Gene Ther* 17: 20-30.2006.
 25. Todo T, Rabkin, SD, Sundaresan, P, et al. Systemic antitumor immunity in experimental brain tumor therapy using a multimutated, replication-competent herpes simplex virus. *Hum Gene Ther* 10: 2741-2755.1999.
 26. Todo T, Rabkin, SD, Chahlavi, A, et al. Corticosteroid administration does not affect viral oncolytic activity, but inhibits antitumor immunity in replication-competent herpes simplex virus tumor therapy. *Hum Gene Ther* 10: 2869-2878.1999.
 27. Lopez C. Genetics of natural resistance to herpesvirus infections in mice. *Nature* 258: 152-153.1975.
 28. Sundaresan P, Hunter, WD, Martuza, RL, et al. Attenuated, replication-competent

- herpes simplex virus type 1 mutant G207: safety evaluation in mice. *J Virol* 74: 3832-3841.2000.
29. Todo T, Feigenbaum, F, Rabkin, SD, et al. Viral shedding and biodistribution of G207, a multimutated, conditionally replicating herpes simplex virus type 1, after intracerebral inoculation in aotus. *Mol Ther* 2: 588-595.2000.
 30. Markert JM, Medlock, MD, Rabkin, SD, et al. Conditionally replicating herpes simplex virus mutant, G207 for the treatment of malignant glioma: results of a phase I trial. *Gene Ther* 7: 867-874.2000.
 31. Chahlavi A, Rabkin, S, Todo, T, et al. Effect of prior exposure to herpes simplex virus 1 on viral vector-mediated tumor therapy in immunocompetent mice. *Gene Ther.* 6: 1751-1758.1999.

平成19年10月23日第1版

平成20年5月21日修正

平成20年7月28日修正

平成20年9月24日修正

平成21年2月18日修正

同意説明文書

進行性膠芽腫患者に対する増殖型遺伝子組換え単純ヘルペスウイルスG47Δを用いた遺伝子治療(ウイルス療法)の臨床研究

【研究機関名および研究代表者氏名】

この研究が行われる研究機関と責任者は下に示すとおりです。

研究機関 東京大学医学部附属病院

研究代表者 東京大学大学院医学系研究科・TRセンター(脳神経外科) 特任教授 藤堂 具紀

1. はじめに

東京大学医学部附属病院脳神経外科では、膠芽腫の新たな治療法としてウイルス療法の臨床研究を行っています。本文書は、あなたにこの臨床研究への協力をお願いするため、その内容などについて説明したものです。この臨床研究は厚生労働省の承認および本学の遺伝子治療臨床研究審査委員会の承認を得ています。今回参加をお願いする試験は、研究の成果が臨床に役立つか否かを調査するための臨床研究です。製薬会社などが行う、新薬の安全性・有用性を調べ厚生労働省の承認を得るための臨床試験、いわゆる治験ではありません。新しい治療薬の開発は、一般に、安全性を確かめるための臨床試験を行ったのち、少数の患者を対象に治療効果を調べる臨床試験を行い、その上で大勢の患者を対象に臨床試験を行います。この臨床研究は、その最初の段階です。本試験に参加されてもあなたの病気が良くなるかもしれません。しかし、あなたが試験に参加されることは、新しい治療法を開発する上で、今後同じ病気を持つ他の人々の役に立ちます。試験に参加されるかどうかはあなたの自由意思で決めて下さい。参加されなくてもそれを理由にあなたが不利益を被ることはありません。

あなたの病気が膠芽腫と呼ばれるものです。これまでに手術、放射線治療および化学療法などを組み合わせて総合的な治療を行って来ましたが、病気は進行しつつあります。

この臨床試験はG47Δという研究開発段階の薬を使います。研究開発段階の薬ということは、まだG47Δは膠芽腫の治療薬として厚生労働省の承認を受けていないということです。G47Δは遺伝子組換え型の単純ヘルペスウイルス(HSV-1)です。通常の単純ヘルペスウイルスは、口唇ヘルペスとも呼ばれ、口唇に水疱を生じさせる原因となるウイルスですが、ごくまれに角膜炎や重症の脳炎を起こすことがあります。ウイルスに腫瘍細胞を殺す作用があることは以前から知られていましたが、腫瘍細

胞だけを選んで増殖し、正常組織を傷害しないような単純ヘルペスウイルスを遺伝子組換え技術を用いて作製したのが G47Δ です。この臨床試験薬 (G47Δ) は東京大学内で調製され、無償で提供されます。

G47Δ は、遺伝子組換え単純ヘルペスウイルスである G207 の改良型です。G47Δ が臨床で使用されるのはこの臨床試験が世界で初めてですが、G207 についてはアメリカ合衆国で悪性神経膠腫の患者を対象に投与量を段階的に増やして安全性を確認するための第 I 相臨床試験が行われ、脳腫瘍内投与での安全性が確認されています。今回は、投与方法を少し変更して、主に G47Δ の安全性を確認し、同時に抗腫瘍効果を調べるものです。詳細は、後で述べます。

ウイルス療法は、最近開発された全く新しい腫瘍治療の方法です。国内外で、単純ヘルペスウイルスを始めいろいろなウイルスを用いて、脳腫瘍や痛に対してウイルス療法の臨床試験が行われています。近況についてお知りになりたい場合は、担当医師にお聞き下さい。

2. この試験の目的

この臨床試験の主な目的は、定位的脳手術を用いて脳腫瘍内に G47Δ を投与することの安全性を確認することです。そのために、ある量の G47Δ を 3 人以上の患者に投与させていただき、その量が安全であることを確認した後、次の段階の量を次の 3 人以上の患者に投与する、というように段階的に使用する量を増やしていきます。あなたに投与される G47Δ の量は、あなたが臨床試験に参加される時期によって定められた量になります。試験担当医師があなたにその量をお知らせします。

また、G47Δ の膠芽腫に対する治療効果を画像などで評価します。

3. この試験の方法

この臨床試験の対象となる患者は、東京大学医学部附属病院脳神経外科外来を受診された、進行性膠芽腫の患者の中で、次のような条件に合う方です。この説明書には主な条件のみ記載してありますので、詳しくは担当医師におうかがい下さい。

対象となる方

- (1) 以前の手術で腫瘍が膠芽腫であることが確定しており、放射線治療が行われた後に再発した方、あるいは現在放射線治療中であるにもかかわらず病気が進行している方。
- (2) MRI 検査で 1cm 以上の大きさの、造影剤で増強効果を受ける腫瘍が認められる方。
- (3) ある程度自立した生活ができる程度の病状の方。
- (4) 18 歳以上である方、など。

対象とならない方

- (1) 腫瘍が2か所以上に存在する方。
- (2) MRI 検査が行えない方。
- (3) 手術を行うのが困難あるいは危険な状態の方。
- (4) 血液生化学検査などで大きな異常がみられる方。
- (5) 現在、抗ヘルペスウイルス薬による治療中である方。
- (6) 妊娠中または授乳中の女性、など。

4. 投与の実際

この臨床試験に参加される場合には、以下を含むいろいろな診察や検査が行われます。

- 病状の経過についての間診、診察（血圧、脈拍、体温、呼吸数など）、および神経症状の診察
- 心電図
- 脳の MRI あるいは CT 検査
- 胸部レントゲン
- 血液検査

診察と検査の結果、臨床試験に参加する条件を満たしており、あなた自身が参加すると決めた場合には、G47Δの投与を受けるために入院して頂きます。入院しながら2回手術を受け、2回ともG47Δの投与を受けることとなります。1回目と2回目の手術の間隔は5日から14日間です。ただし、1回目の投与後に重度の有害事象が生じた場合や、有害事象により担当医が中止が必要と判断した場合には、2回目の投与が行われなかったことがあります。起こるかもしれない有害事象については、後に詳述します。

患者によって受けるG47Δの量が異なります。あなたが受けるG47Δの量は、あなたが臨床試験のどの時期と段階で参加されたかによって決まります。一般的には、ある試験薬の投与量が少なければ安全性上の懸念は減少するが効果への期待も少なく、逆に投与量が多ければ効果への期待は高まるが安全性上の懸念も増大するということが想定されます。G47Δの量によって安全性や効果に差があるか否かは判っていません。試験担当医師が、あなたが受けるG47Δの量と、いままで何人の患者がその量や異なる量で治療されてきたかを説明します。本臨床試験で予定されているG47Δの投与量は、1回あたり 3×10^8 pfu (感染単位)、 1×10^9 pfu、 3×10^9 pfu の3段階で、各投与量あたり3名から6名を予定しています。1回あたり 3×10^9 pfu で重篤な有害事象が見られない場合には、この投与量でさらに12名を予定しています。次の投与量群に移る前および最高投与量群で12名を追加する前には、研究チームから独立した院内の委員会によってそれまでの投与量群の被験者全例について有効性・安全性の暫定的な確認が行われます。

G47Δは手術をして、脳腫瘍の中に直接投与します。受ける手術は、定位的脳手術というものです。手術当日病棟にて、局所麻酔をしてから、頭に定位手術用の金属製の枠（フレーム）を頭蓋骨に固定して取り付けます。これは、腫瘍に正確に到達する経路を決めるためのものです。フレームを固定し

た状態でMRI検査を行います。その後、手術室に移動します。手術は通常局所麻酔で行いますが、全身麻酔で行うこともできます。頭部の皮膚を切開し、頭蓋骨に小さな穴を開け、その穴から先に決めた経路に沿って生検針を挿入し、腫瘍片を採取したのち、同じ針からG47Δを腫瘍内にゆっくりと注入します。腫瘍の大きさと形状に応じて、同じ頭蓋骨の穴から、2回から5回生検針を腫瘍内に挿入し、同じ操作を繰り返します。G47Δの投与が終了したら、針を抜き、皮膚を縫って手術を終了します。手術室でフレームをはずして、病棟に戻ります。術後CT検査を行います。

G47Δの投与後は、血液や排泄物中にG47Δが存在しないことが確認されるまで、個室に入院する必要があります。その期間は3日から1週間程度と予想されますが、個室入院期間中には個室外に出る自由が制限されます。また、排泄物等には消毒薬などを使用して特別なウイルス不活化処理を行います。これらは、遺伝子組換えウイルスであるG47Δが環境中に散らばって自然界の生物および微生物に影響を与える可能性を最小限に抑えるためのものですので、ご協力をお願いいたします。

1回目の手術のあと5～14日後に、同じ方法で2回目の手術を行い、同じ頭蓋骨の穴と投与経路を用いて2回目のG47Δ投与を行います。

2回目の手術後、7日間程度の入院が必要です。試験担当医師が、病状が安定したと判断するまで入院が延びることもあります。もし、腫瘍の増大や他の脳病変を疑わせるような画像診断結果や症状の悪化などがあれば、その原因を探るためにもう一度生検手術が必要となる場合があります。その際には、試験担当医師がその必要性をあなたに詳しく説明します。臨床試験中に行う画像検査による放射線被曝は、病状に悪影響を与えることはありません。術前から術後3ヶ月間は、比較的頻回に血液や尿の検査および画像検査を行いますので、協力をお願いいたします。表1のスケジュール表に予定をまとめて示しますので、ご覧になってください。

生検で採取された腫瘍片の一部は通常の病理学的診断のために、一部は検査と評価のために使用させていただきます。

万一、将来あなたがお亡くなりになった場合には、G47Δの安全性と効果についてさらに情報を得るために、ご家族の方に病理解剖のご許可のお願いをすることになります。解剖の諾否によりこの臨床試験への参加の可否が左右されることはありません。

この臨床試験に参加するかどうかは、完全にあなたの自由意思に基づくもので、参加しないと決めることもでき、また、いつでも自由に参加を取りやめることができます。それにより不利益をこうむることはありません。本臨床試験への参加に同意されなかったり、同意後に参加をとりやめた場合には、一般に行われている進行性膠芽腫の治療の中から現時点で最善と考えられるものを実施いたします。詳しくは、「9. この臨床試験に参加されない場合の、他の治療法」の項で後述します。

もし、G47Δの治療により効果が見られても、臨床試験参加の最初にお伝えする量を超えた、追加のG47Δ投与を受けることは出来ませんので、ご了解ください。また、本臨床試験に再度登録して追加のG47Δ投与を受けることも出来ません。

現在、他の病院にて治療中の方でこの臨床試験に参加される場合には、その病院の担当医にその旨

をお伝え下さい。他の治療または臨床試験に参加された、または現在参加されている場合には、その試験薬投与後 30 日間は本臨床試験には参加できません。この臨床試験への参加が決定しても、実際の治療が開始するまでには日数がかかります。治療開始日の具体的な日時は、試験担当医師に個別にお尋ね下さい。

5. 併用療法

G47Δ以外の抗腫瘍治療、他の臨床試験薬、抗ヘルペスウイルス薬、ステロイド以外の免疫抑制薬、および免疫賦活剤は、本臨床試験の観察期間中（G47Δ投与後およそ3ヶ月間）併用できません。ただし、腫瘍の増大や病状の悪化が見られた場合は、その時点で臨床試験を終了し、他の治療に切り替えることができます。また、医学的理由のために必要と判断される場合には、他の治療を受けることができます。

現在、あなたが他の病院に通院されている場合は、その病院名と病名、使用しているお薬をお知らせ下さい。また、薬局等で購入して使用しているお薬がある場合もお知らせ下さい。これらの情報は、臨床試験を安全に行うために重要です。また、あなたが他の病院に通院されている場合は、この試験に参加していることをその病院にお知らせすることがありますので、ご了解下さい。

表1 観察・検査・報告スケジュール

臨床試験日程	前 適格性評価	前 投与前日まで	1週 第1回投与前日	1週 第1回当日	1週 第1回翌日	2週 第2回投与前日	2週 第2回当日	2週 第2回翌日	3週 第2回投与7日後	5週 第2回投与1か月	9週 第2回投与2か月	13週 第2回投与3か月
身体所見												
説明と同意	○											
病歴・理学所見	○									○	○	○
バイタルサインと神経所見	○		○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
KPS	○		○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
有害事象評価	○		○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
併用薬剤記録	○		○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
検査所見												
血算と白血球分画	○		○		○	○		○	○	○	○	○
生化学および凝固系	○		○		○	○		○	○	○	○	○
心電図	○											
胸部単純撮影	○											
リンパ球分画		○								○		○
遅延型皮膚反応		○								○		○
HSV抗体価		○								○		○
HSV排泄(尿・唾液)					○			○	○			
血清内HSV					○			○	○			
画像検査												
頭部CT				○	○		○	○				
頭部MRI(Gd造影)	○			○	○		○	○	○	○	○	○
治療・手術												
G47Δ投与				○			○					
腫瘍組織採取				○			○					

投与当日のMRIは術前に、CTは術後に施行する。

KPS: Karnofsky Performance Scale, 日常生活の活動レベル。 HSV: 単純ヘルペスウイルス。

血算、白血球分画、生化学、凝固系、リンパ球分画、HSV抗体価、血清内HSVの各検査は血液を採取して行う。

6. この試験の予定参加期間

あなたにこの試験に参加していただくのは約3ヶ月間です。手術後、1ヶ月後、2ヶ月後、3ヶ月後に診察と血液や尿の検査があります。診療の内容や検査の結果は、臨床試験経過記録用紙に記載されます。腫瘍の増大や病状の悪化が見られた場合は、その時点で臨床試験参加を終了し、他の適切な治療に切り替えます。

その後もG47Δ投与後2年間は病状などの経過を追跡しますので、ご協力下さい。

7. この試験への予定参加人数について

この臨床試験を行うのは東京大学医学部附属病院脳神経外科においてのみです。参加人数は、重度の有害事象が見られない場合、21人を予定しています。

8. この臨床試験の予想される効果と、起こるかもしれない有害事象および不利益

あなたは、これまでに手術や放射線治療などを受けてきましたが、病気は現在進行しています。この臨床試験に参加した場合、医学的な治療効果はあるかも知れませんし、ないかも知れません。本臨床試験のように新しい治療法の開発初期においては、試験薬の投与を受けた個人への治療効果は一般に期待できません。しかし、この臨床試験の結果が同様の病気を持つ他の人々のために役に立ちます。

更に、この臨床試験で治療を受けることにより、後述のような有害事象や予期しない有害事象を生じる危険があります。有害事象が生じた場合は、最も適切と考えられる治療や処置を行います。しかし、有害事象の種類や程度によって、治療が長期にわたったり、治らないものであったり、重篤であったり、命にかかわったりする場合があります。

試験薬G47Δが臨床に使用されるのは、この臨床試験が世界で初めてです。本臨床試験は研究であり、予期しない種類や程度の有害事象が起こる可能性があります。有害事象のために入院が必要になることもあります。

以下、本臨床試験で受ける手術および試験薬G47Δの脳腫瘍内投与によって起こるかもしれない有害事象をそれぞれ列挙します。

・ 定位的脳手術に関連する有害事象

手術の前に、手術の方法と手術に伴うリスクを担当医師が詳しく説明します。手術を行うには、その都度、手術用の承諾書に署名していただく必要があります。

可能性がある有害事象

-出血：脳内や腫瘍内に出血を生じることがあります。症状を伴う出血の頻度は2-3 %と報告されています。出血の結果、神経症状の悪化や意識障害、後遺障害を生じることがあり、死に至る場合もあります。出血量が多かったり、血が止まらなかったりした場合は、開頭手術を行って止血や血腫除去を行うこともあります。

-神経脱落症状の出現：生検針を挿入することによって脳組織が傷つき、新たな神経脱落症状を生じることがあります。神経脱落症状には以下のものを含みます。症状が持続する場合も一過性の場合もあります。その頻度は腫瘍の存在する場所により異なりますので、個別に試験担当医師が説明します。

意識障害

顔や手足の麻痺

顔や手足の感覚障害

視野の欠損

失語（言葉がしゃべれなくなったり、理解できなくなったりすること）

性格の変化や記憶力の障害

目の動きやまぶたを開けることの障害

-症状の悪化：腫瘍内に生検針を挿入することによって、すでにある症状が更に悪化することがあります。

-脳内転移：腫瘍組織を生検針で採取することによって、脳内の別の部位に転移を来たすことがあります。頻度はごくわずかと考えられます。

-感染：細菌の感染によって、髄膜炎を起こしたり、脳の中や外、硬膜の外、頭皮の下に膿がたまったり、創部が化膿したりすることがあります。頻度はわずかと考えられます。

なお、本臨床試験では、一回の手術で、2-5つの異なる経路に生検針を挿入しますので、その分、出血、神経脱落症状、症状の悪化、脳内転移、および感染を来す危険性が、1つの経路に生検針を挿入する場合に比べて高くなります。

-てんかん発作：手術のあと、てんかんによる痙攣発作を起こすことがあります。鎮静薬や抗てんかん薬の投与で対応しますが、てんかん発作が持続する場合には気管内に管を入れて静脈麻酔をすることがあります。てんかん発作が誘因となって脳内出血を来すこともあります。頻度はごくわずかと考えられます。

-髄液漏：切開した硬膜（脳の外を覆う膜）から脳脊髄液が漏れだして、頭皮の下にたまったり、創から漏れだしたりすることがあります。頻度はごくわずかと考えられます。

-手術に起因する死亡：発生する有害事象の程度、種類および経過によっては、手術を原因として死亡することがあります。頻度はまれと考えられます。

・試験薬 G47Δに関連する有害事象

試験薬の G47Δ は遺伝子組換え型の単純ヘルペスウイルスです。通常の単純ヘルペスウイルスは、口唇ヘルペスとも呼ばれ、口唇に水疱を生じさせる原因となるウイルスで、ごくまれに重症の脳炎を起こすことがあります。皮膚、口腔粘膜、眼、そして尿路系に感染することもあります。G47Δは腫瘍細胞だけを選んで増殖し、正常組織を傷害しないように、遺伝子組換え技術を用いて単純ヘルペスウイルスを改変したものです。動物実験では、G47Δを脳内に投与しても高い安全性を示しました。しかし、G47Δを臨床に用いるのはこの臨床試験が世界で初めてですので、起こりうる有害事象はまだ判っていません。

G47Δは、遺伝子組換え単純ヘルペスウイルスである G207 の改良型です。G207 はアメリカ合衆国で悪性神経膠腫の患者を対象に第 I 相臨床試験が行われ、21 人の患者の脳腫瘍内に投与されました。一投与量ごとに 3 人ずつ、 1×10^6 pfu から 3 倍ずつ投与量を増やして 3×10^9 pfu まで、定位脳手術によって腫瘍内に 1 回だけ投与されました。6 人で神経症状の改善があり、8 人で MRI 上の腫瘍縮小が見られましたが、その後腫瘍は再増大しています。G207 の投与に起因する重度の有害事象はありませんでした。中等度以下の有害事象として痙攣が 2 人、術後早期の神経症状の悪化が 1 人に観察されました。また手術操作による出血を来した患者が 1 人、術後早期に腫瘍が増大した患者が 1 人いましたが、いずれもステロイドの投与で改善しています。頻度が高かった有害事象は頭痛で、次に筋力低下と嘔気でした。G207 の第 I 相臨床試験の結果から類推して、予想される G47Δの有害事象は以下の通りです。

起こる可能性が比較的高い有害事象

- 眠気
- 頭痛
- 筋力低下
- 嘔気
- 思考および会話の障害
- 意識混濁
- カゼ様の症状

可能性は低い、重篤となりうる有害事象

- 脳炎
- 抗ヘルペスウイルス薬で治療すべきような広範囲のヘルペスウイルス感染
- アレルギー反応
- 痙攣発作

脳炎が起こった場合には、高熱、意識混濁、意識消失、痙攣などが起こり、死亡することもあります。慎重に観察を行い、このような感染があった場合には、抗ヘルペスウイルス薬の投与を行います。この場合、入院が必要になります。抗ヘルペスウイルス薬を投与しても有効でない場合があります。

す。感染の有無を調べるため、脳の生検や脳脊髄液の採取などの検査が必要なことがあります。

G47Δ投与の結果、腫瘍やその周囲に炎症や腫れが起きると、頭痛、眠気、疲労感、嘔気、嘔吐、痙攣、神経脱落症状などが生じ、死亡することもあります。

わが国の大半の成人はすでに単純ヘルペスウイルスに感染したことがあり、抗体を持っています。抗体を持っていない場合には、G47Δの投与後に抗体を生じることがあります。抗体が生じても害はありません。

胎児に対するG47Δの影響は判っていません。そのため、妊婦と授乳中の方、および妊娠を計画している方はこの臨床試験に参加できません。

・海外で行われた類似の臨床試験

G207: 先に一部記述しましたが、G207を用いた第I相臨床試験が、再発悪性グリオーマの患者21例を対象に、米国ジョージタウン大学とアラバマ大学バーミンガム校で行われました。投与量 3×10^8 pfuの1例で投与後24時間以内に見当識障害と構語障害が見られましたが、投与14日後に脳組織を採取して検討したところ、脳炎の所見はなくHSVウイルスの免疫染色も陰性でした。投与3ヶ月以上後に、腫瘍増大では説明できない神経症状悪化が2例に見られましたが、脳組織を採取して検討したところいずれもHSV免疫染色は陰性でした。検査のための脳組織の採取あるいは再摘出手術で得られた腫瘍組織を検査したところ、感染性のウイルスは検出されませんでした。7例中2例でPCRという方法でG207のDNAが検出されました。G207投与後、神経症状の改善が6例(29%)に認められました。MRIにて腫瘍の大きさの評価を行った20例中8例で腫瘍の縮小が認められましたが、脳梗塞で死亡した1例を除いた全例で腫瘍は再び増大しました。術前抗HSV-1抗体が陰性であった5例中1例で陽転を認めました。病理解剖の結果は、脳炎などの異常は認めず、HSV-1免疫染色も陰性でした。病理解剖では3例で腫瘍が脳の1領域に局限しているのが見られ、また、脳梗塞で死亡した1例では残存腫瘍を認めませんでした。

本研究で使用するG47Δは、米国の臨床試験で使用されたG207と一部異なる方法で製造されています。G207の製造工程にはカラムクロマトグラフィーという工程が含まれていますが、G47Δの製造工程にはそれがありません。G47Δと全く同じ方法で製造された単純ヘルペスウイルス製剤が患者に投与されたという情報は得られておりませんので、製造方法の相違に起因して、G207の第I相臨床試験では認められていない有害事象が生じる可能性があります。

9. この臨床試験に参加されない場合の、他の治療法

この臨床試験に参加しない場合は、次のような治療の方法が考えられます。

-開頭による摘出術(可能な場合): 腫瘍の部位や進展の様式によって開頭による腫瘍摘出術が可能である場合があります。その場合、摘出術が腫瘍の量を減らす最も確実な方法です。但し、腫瘍が存在する脳を切り取ることで、その部位の機能を失うこととなります。また開頭手術と全身麻酔に伴うリスクが生じます。

-化学療法： これまでに化学療法（抗がん剤を用いた治療）を受けていない場合は、化学療法が有効である場合があります。テモダールというお薬は、悪性神経膠腫の治療に我が国で承認されており、現在もっとも一般的に使用されるお薬です。再発膠芽腫に対してもテモダールが有効である場合があります。初回再発膠芽腫患者を対象に欧米で行われた臨床試験では、テモダールはプロカルバジンというお薬に比べ、無増悪生存期間（病気が再び進行し始めるまでの期間）を約1ヶ月延長しましたが、全生存期間には差がありませんでした。すでに化学療法を受けた場合でも、他の化学療法薬に切り替えると効果が見られることがあります。化学療法はいずれのお薬でも副作用が見られます。効果の増強を期待して複数のお薬を組み合わせる化学療法を行うことがありますが、一般に複数のお薬を用いた化学療法は単剤を用いる場合よりも副作用が強くなります。

-追加の放射線治療（可能な場合）： 脳が耐えられる放射線の総量には限度があり、あなたはすでに放射線治療を受けていますので、同じ部位に追加して有効な放射線照射を行うことは通常できません。但し、進行した腫瘍の部位が最初に放射線を照射した部位と異なる場合や進展の様式によっては、何らかの放射線治療を行うことができることがあります。追加の放射線治療を行うと、脳の放射線壊死などの副作用を来すリスクが生じます。

-インターフェロン治療： インターフェロンを静脈内に投与する治療で、膠芽腫の治療として20年ほど前から使われています。免疫を強めたり、直接腫瘍に働いたりして、腫瘍の増大を抑えることがあります。週に1〜5回の点滴を通常8週間続けます。発熱や倦怠感などの副作用があり、治療効果がないこともあります。

-他の臨床試験や臨床研究

-膠芽腫に対する治療は行なわず経過観察または緩和治療

これら、またはそれ以外の治療方法について、得られる利益および危険性についての詳細は担当医師にご相談下さい。

10. この試験中にあなたの健康に被害が生じた場合について

この臨床試験は、これまでの報告や基礎データに基づいて科学的に計画され、慎重に行われます。もし臨床試験の参加期間中あるいは終了後にあなたに有害事象などの健康被害が生じた場合には、担当医師が適切な診察と治療を行います。この臨床試験との関連が否定できない有害事象が生じた場合、その有害事象に対する検査や治療にかかる医療費については当院が負担いたします。ただし、あなたの健康被害がこの臨床試験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試験のために設置された当院の独立審査委員会で検討し、判断させていただきます。医療費

以外の実費(通院のための交通費、宿泊費、食費など)や、休業補償、後遺障害に対する補償、差額ベッド料金の補填、医療手当て等その他の補償は受けられません。

1 1. この試験への参加は、あなたの自由意思によるものです

この臨床試験への参加の同意はあなたの自由意思で決めてください。同意しなくても、あなたの不利益になるようなことはありません。また、いったん同意した場合でも、あなたが不利益を受けることなく、いつでも同意を取り消すことができます。その場合は病状に応じ、最も適した治療を行います。

1 2. この臨床試験に関する情報は随時ご連絡いたします

あなたの健康およびこの臨床試験参加の意思決定に影響を与えるような情報が、この臨床試験またはその他の臨床試験の結果から得られた場合には、速やかにあなたにお伝えします。

1 3. この臨床試験を中止させていただく場合があります

研究代表者は、以下の場合にはあなたの承諾なしに臨床試験を打ち切ることがあります。

- 医療上、臨床試験を中止することがあなたにとって最善であると考えられる場合
- 病状が悪化した場合
- 許容範囲をこえる、または危険な有害事象のあった場合
- G47Δの供給が十分に得られなくなった場合；予想されない資金的、技術的問題や、輸送・保管・品質上の問題などにより、G47Δの在庫が不足した場合など
- 女性の方で妊娠された場合
- この臨床試験の実施方法に従っていただけない場合

1 4. この試験に参加された場合、あなたのカルテなどが試験中あるいは試験終了後に調査されることがあります

患者の人権が守られながら、きちんとこの試験が行われているかを確認するために、この臨床試験の関係者(独立データモニタリング委員会など)、および厚生労働省など公的機関の担当官や国の審議会委員があなたのカルテなどの医療記録を見ることがあります。これらの人には守秘義務が課せられています。また、あなたから得られたデータが、報告書などであなたのデータであると特定されることはありません。

15. この試験結果が公表される場合でも、あなたの身元が明らかになることはありません

この試験で得られた成績やデータは、学術集会発表や学術雑誌などに公表されることがありますが、あなたの名前などの個人情報は一切わからないようにしますので、プライバシーは守られます。また、この試験で得られたデータが、本試験の目的以外に使用されることはありません。

この臨床試験から得られたデータは、診療録に記載され病院に残される一方、臨床試験経過記録用紙に記録されるものもあります。その場合は、名前ではなく符号で記載されます。名前と符号を一致させるための情報は、別な場所で安全に保管されます。関係者以外には個人名を同定できる状態で公開されることはありません。

16. 個人情報の保護と診療情報の開示についての問い合わせや苦情の

窓口

東京大学では、個人情報の保護や診療情報の開示に関する問い合わせや苦情の窓口を設けております。この研究に関係した個人情報の保護や診療情報の開示についてのご質問や苦情の窓口は以下のとおりです。

個人情報の保護に関すること：東京大学情報公開室（電話 03-5841-2049）

診療情報の開示に関すること：東京大学附属病院医事課外来担当（電話 03-5800-8628）

診療情報の開示は次のような手続きで申請できます。

1) 診療情報の開示を申請できる方

- ・原則としてあなた自身の請求に基づき、あなた自身に対して開示いたします。ただし、あなたが未成年である場合、又は成年後見人である場合は、法定代理人の方の申請に基づいて法定代理人の方に対して開示いたします。

- ・万一あなたがお亡くなりになった場合の、ご遺族の方からの開示手続きにつきましては、個別に窓口にご相談下さい。

2) 診療情報の開示申請に必要な書類

- ・あなた自身が申請する場合は、運転免許証、旅券(パスポート)、健康保険等の被保険者証、国民年金手帳・厚生年金手帳等などの申請者の身分を証明する書類をお持ちください。

- ・法定代理人の方が申請する場合は、申請する人の身分を証明する書類（運転免許証、旅券(パスポート)、健康保険等の被保険者証、国民年金手帳・厚生年金手帳等）と、あなたとの関係を証明する書類をお持ち下さい。

3) 申請の仕方

- ・東京大学附属病院医事課外来担当窓口にお越し下さい。「診療情報開示を申請される方へ(お知らせ)」をお渡ししますので、申請書類にご記入し提出してください。

4) 診療情報の開示

・ 「診療情報開示に係る協議」により開示を行なうかどうか決定されます。開示は閲覧及び診療諸記録の複写により行ないます。複写の場合、東京大学医学部附属病院諸料金規程に定められた料金が必要となります。

17. この臨床試験に参加に同意された場合は、次の点を守ってください

投与された G47Δ が体液に排出されるか否かは判っていません。G47Δ の投与を受けてから 2 週間は、妊婦や小児、新生児、および免疫力の低下した人と密接な接触をしないで下さい。また、臨床試験参加中は、献血、精子や卵子の提供をしないで下さい。6 ヶ月間はバリア型の避妊を行って下さい。

万一、臨床試験の参加期間中に妊娠した場合には、担当医師に必ず連絡してください。妊娠および出産の経過は記録として残されます。

使用してはいけないお薬や治療法など、「6. 併用療法」の項に記載の事項を守って下さい。また、G47Δ の投与を受けた後、他の診療科や他の病院を受診したり、他の治療や投薬を受ける場合、又は薬局で薬を購入した場合には、本臨床試験の試験担当医師に速やかに連絡してください。

18. あなたの費用負担について

臨床試験には、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、この臨床試験にかかわる費用は当院が負担します。この臨床試験に参加することによって、余分な費用を負担していただくことはありません。ただし、交通費、宿泊費、謝礼金などその他の費用の給付はありません。また、この臨床試験の期間内であっても、この研究と関係のない病気に要する医療費には通常通り公的医療保険が適用され、その医療費にかかる一部負担金等を負担していただきます

この臨床試験のために脳神経外科研究室で行なわれる特殊な検査は、文部科学省「がんトランスレショナル・リサーチ事業」の支援を得て実施されます。

あなたの経済的負担について質問があれば、担当医師にお聞き下さい。

なお研究代表者は、試験薬 G47Δ の日本における特許を申請中です。

19. この担当医師があなたを担当いたします。

東京大学医学部附属病院 脳神経外科

(代表：03-3815-5411、脳神経外科内線：33345、脳神経外科直通：03-5800-8853)

TR センター(脳神経外科) 特任教授 藤堂 具紀 (研究代表者)

TRセンター(脳神経外科) 特任准教授 稲生 靖 (担当医師)

輸血部 助教 田中 実 (担当医師)

TRセンター(循環器内科) 特任助教 山田 奈美恵 (担当医師)

20. いつでも相談窓口にご相談ください。

この臨床試験について知りたいことや、ご心配なことがありましたら、遠慮なく担当医師または臨床試験部にご相談下さい。

東京大学医学部附属病院 (代表：03-3815-5411)

脳神経外科 (内線:33345、脳神経外科直通：03-5800-8853、月～金 9:00～17:00)

TRセンター(脳神経外科) 特任教授 藤堂 具紀 (研究代表者)

TRセンター(脳神経外科) 特任准教授 稲生 靖 (担当医師)

輸血部 助教 田中 実 (担当医師)

救急外来 (内線：34100、夜間休日を含み、脳神経外科当直医が24時間対応。)

臨床試験部： (内線:34290、月～金 8:30～17:00)

臨床試験コーディネーター 田原 由紀子

休日・夜間緊急連絡窓口

東京大学医学部附属病院 救急外来 (担当：脳神経外科当直医)

代表：03-3815-5411 (「救急外来」または 内線 34100)

東京大学医学部附属病院病院長 殿

臨床研究名:

進行性膠芽腫患者に対する増殖型遺伝子組換え単純ヘルペスウイルスG47Δを用いた遺伝子治療(ウイルス療法)の臨床研究

説明事項

1. 臨床研究について
2. この臨床研究の目的
3. この臨床研究の方法
4. この臨床研究への予定参加期間について
5. この臨床研究への予定参加人数について
6. 試験薬の予想される効果と、起こるかもしれない有害事象および不利益について
7. この臨床研究に参加されない場合の、他の治療方法について
8. この臨床研究中に、あなたの健康に被害が生じた場合について
9. この臨床研究への参加は、患者の自由意思によること
10. この臨床研究に関する情報は、随時ご連絡すること
11. この臨床研究を中止させていただく場合があること
12. この臨床研究に参加の場合、あなたのカルテなどが臨床研究中および後に調査される可能性があること
13. この臨床研究の結果が公表される場合も、あなたの身元が明らかになることはないこと
14. この臨床研究に同意された場合に守っていただきたいこと
15. この臨床研究に参加された場合の費用負担について
16. 担当医師について
17. 相談窓口について
18. その他()

【患者の署名欄】

私はこの臨床研究に参加するにあたり、上記の事項について十分な説明を受け、同意説明文書を受け取り、内容等を十分理解いたしましたので、本試験に参加することに同意します。

同意日 平成 年 月 日 患者ID: _____

患者氏名: _____ (自署)

【代諾者の署名欄】(必要な場合のみ)

私は _____ さんが、この臨床研究に参加するにあたり、上記の事項について十分な説明を受け、同意説明文書を受け取り、内容等を十分理解いたしましたので、本試験に参加することに同意します。

同意日 平成 年 月 日 代諾者氏名: _____ (自署)

本人との続柄: _____

【医師・臨床試験コーディネーターの署名欄】

私は上記患者に、この臨床研究について十分に説明いたしました。

説明日 平成 年 月 日 所属: _____

氏名: _____ (自署)

説明日 平成 年 月 日 所属: _____

氏名: _____ (自署)

東京大学医学部附属病院病院長 殿

臨床研究名:

進行性膠芽腫患者に対する増殖型遺伝子組換え単純ヘルペスウイルスG47Δを用いた遺伝子治療(ウイルス療法)の臨床研究

説明事項

1. 臨床研究について
2. この臨床研究の目的
3. この臨床研究の方法
4. この臨床研究への予定参加期間について
5. この臨床研究への予定参加人数について
6. 試験薬の予想される効果と、起こるかもしれない有害事象および不利益について
7. この臨床研究に参加されない場合の、他の治療方法について
8. この臨床研究中に、あなたの健康に被害が生じた場合について
9. この臨床研究への参加は、患者の自由意思によること
10. この臨床研究に関する情報は、随時ご連絡すること
11. この臨床研究を中止させていただく場合があること
12. この臨床研究に参加の場合、あなたのカルテなどが臨床研究中および後に調査される可能性があること
13. この臨床研究の結果が公表される場合も、あなたの身元が明らかになることはないこと
14. この臨床研究に同意された場合に守っていただきたいこと
15. この臨床研究に参加された場合の費用負担について
16. 担当医師について
17. 相談窓口について
18. その他()

【患者の署名欄】

私はこの臨床研究に参加するにあたり、上記の事項について十分な説明を受け、同意説明文書を受け取り、内容等を十分理解いたしましたので、本試験に参加することに同意します。

同意日 平成 年 月 日 患者ID: _____

患者氏名: _____ (自署)

【代諾者の署名欄】(必要な場合のみ)

私は _____ さんが、この臨床研究に参加するにあたり、上記の事項について十分な説明を受け、同意説明文書を受け取り、内容等を十分理解いたしましたので、本試験に参加することに同意します。

同意日 平成 年 月 日 代諾者氏名: _____ (自署)

本人との続柄: _____

【医師・臨床試験コーディネーターの署名欄】

私は上記患者に、この臨床研究について十分に説明いたしました。

説明日 平成 年 月 日 所属: _____

氏名: _____ (自署)

説明日 平成 年 月 日 所属: _____

氏名: _____ (自署)

患者用

臨床研究への協力の同意文書

東京大学医学部附属病院病院長 殿

臨床研究名:

進行性膠芽腫患者に対する増殖型遺伝子組換え単純ヘルペスウイルスG47Δを用いた遺伝子治療(ウイルス療法)の臨床研究

説明事項

1. 臨床研究について
2. この臨床研究の目的
3. この臨床研究の方法
4. この臨床研究への予定参加期間について
5. この臨床研究への予定参加人数について
6. 試験薬の予想される効果と、起こるかもしれない有害事象および不利益について
7. この臨床研究に参加されない場合の、他の治療方法について
8. この臨床研究中に、あなたの健康に被害が生じた場合について
9. この臨床研究への参加は、患者の自由意思によること
10. この臨床研究に関する情報は、随時ご連絡すること
11. この臨床研究を中止させていただく場合があること
12. この臨床研究に参加の場合、あなたのカルテなどが臨床研究中および後に調査される可能性があること
13. この臨床研究の結果が公表される場合も、あなたの身元が明らかになることはないこと
14. この臨床研究に同意された場合に守っていただきたいこと
15. この臨床研究に参加された場合の費用負担について
16. 担当医師について
17. 相談窓口について
18. その他()

【患者の署名欄】

私はこの臨床研究に参加するにあたり、上記の事項について十分な説明を受け、同意説明文書を受け取り、内容等を十分理解いたしましたので、本試験に参加することに同意します。

同意日 平成 年 月 日 患者ID: _____
患者氏名: _____ (自署)

【代諾者の署名欄】(必要な場合のみ)

私は _____ さんが、この臨床研究に参加するにあたり、上記の事項について十分な説明を受け、同意説明文書を受け取り、内容等を十分理解いたしましたので、本試験に参加することに同意します。

同意日 平成 年 月 日 代諾者氏名: _____ (自署)
本人との続柄: _____

【医師・臨床試験コーディネーターの署名欄】

私は上記患者に、この臨床研究について十分に説明いたしました。

説明日 平成 年 月 日 所属: _____
氏名: _____ (自署)

説明日 平成 年 月 日 所属: _____
氏名: _____ (自署)

遺伝子治療臨床研究に係る第一種使用規程について (東京大学医学部附属病院)

- 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に基づき申請のあった第一種使用規程に係る意見について P1
(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)
- 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 P3
- 第一種使用規程承認申請書 P4
- 生物多様性影響評価書 (改訂後) P7

平成 21 年 3 月 31 日

**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
法律に基づき申請のあった第一種使用規程に係る意見について**

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 委員長 吉倉 廣

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)に基づき申請のあった下記の遺伝子組換え生物等の第一種使用規程について、本作業委員会で検討を行い、その結果を別紙のとおりとりまとめたので報告いたします。

記

1. 大腸菌 LacZ 遺伝子を発現し、 γ 34.5 遺伝子・ICP6 遺伝子・ α 47 遺伝子を不活化された制限増殖型遺伝子組換えヒト単純ヘルペスウイルス 1 型(G47 Δ)
申請者：東京大学医学部附属病院 病院長 武谷 雄二
申請日：平成 19 年 10 月 23 日

【作業委員会の評価結果（東京大学医学部附属病院）】

<p>1. 大腸菌 LacZ 遺伝子を発現し、γ34.5 遺伝子・ICP6 遺伝子・α47 遺伝子を不活化された制限増殖型遺伝子組換えヒト単純ヘルペスウイルス 1 型 (G47Δ)</p> <p>第一種使用等の内容：治療施設におけるヒトの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>申請者：東京大学医学部附属病院 病院長 武谷 雄二</p>
<p>(1) 生物多様性影響評価の結果について</p> <p>① 他の微生物を減少させる性質</p> <p>申請されている第一種使用規程に従った使用を行うかぎり、G47Δ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微量と考えられる。</p> <p>さらに、G47Δは制限増殖型であり、腫瘍細胞でのみウイルス複製が可能であることから、自然界では伝搬・複製することはない。</p> <p>したがって、第一種使用規程に従った使用を行うかぎり、G47Δは環境中に拡散したとしても比較的早期に消滅すると考えられる。</p> <p>G47Δが感染する動植物等の種類は野生型ヒト単純ヘルペスウイルス 1 型(HSV-1)と同等で、HSV-1 が微生物に感染するとの報告はない。大腸菌 LacZ 遺伝子を発現すること及び制限増殖型であること以外は、その他の特性についても G47Δは野生型 HSV-1 と同等と考えられ、G47Δが競合や有害物質の産生により他の微生物を減少させる性質はないと考えられる。</p> <p>これらのことから、第一種使用規程に従った使用を行うかぎり、他の微生物を減少させる性質に起因する生物多様性影響が生じるおそれはないとした申請者の結論は妥当であると判断した。</p> <p>② 病原性</p> <p>G47Δが感染する動植物等の種類は野生型 HSV-1 と同等で、ヒトを自然宿主とし、自然界で他の哺乳動物、植物及び微生物に感染するとの報告はない。さらに、腫瘍細胞でのみウイルス複製が可能であり、自然界では伝搬・複製し得ず、ヒト正常組織に対しても病原性はない。</p> <p>一方、これまで欧米で遺伝子組換え HSV-1 が臨床試験に使用されているが、環境への悪影響及び野生型 HSV-1 を超える病原性を示したとする報告はない。G47Δが感染した腫瘍細胞では LacZ 遺伝子が一過性に発現するが、LacZ 遺伝子からの生成物である β-ガラクトシダーゼが人体に対し毒性や病原性を有するという報告はない。</p> <p>G47Δの遺伝子変異は HSV-1 ゲノム上の離れた 4 箇所 (3つの遺伝子) に位置しているため、G47Δ由来の遺伝子組換え生物に該当する野生型復元 HSV-1 が自然に生じる可能性も無に等しい。</p> <p>したがって、G47Δは野生型 HSV-1 を超える病原性は示さないと考えられる。</p> <p>これらのことから、第一種使用規程に従った使用を行うかぎり、病原性に起因する生物多様性影響が生ずるおそれはないとした申請者の結論は妥当であると判断した。</p> <p>③ 有害物質の産生性</p> <p>G47Δの有害物質の産生性は知られておらず、第一種使用規程に従った使用を行うかぎり、有害物質の産生性に起因する生物多様性影響が生ずるおそれはないとした申請者の結論は妥当であると判断した。</p> <p>④ 核酸を水平伝達する性質</p> <p>G47Δの感染性は野生型 HSV-1 と同等で、自然界で感染する対象はヒトのみである。感受性のある一部のマウス、ラット、ハムスター、ウサギ、またはサルを用いた感染実験が報告されているが、G47Δは正常細胞でのウイルス複製能を失っているため、自然界では伝搬・複製することはない。</p> <p>G47Δの投与を受けたヒトでは、腫瘍内に限局して複製した G47Δが生じるが、第一種使用規程に従った使用を行うかぎり、環境中への拡散は極力抑えられている。ヒトからヒトへ腫瘍細胞を介して直接水平伝達して複製することはほぼ不可能であると考えられる。</p> <p>G47Δの遺伝子変異は HSV-1 ゲノム上の離れた 4 箇所 (3つの遺伝子) に位置しているため、G47Δ由来の遺伝子組換え生物に該当する野生型復元 HSV-1 が自然に生じる可能性も無に等しい。</p> <p>これらのことから、第一種使用規程に従った使用を行うかぎり、核酸を水平伝達する性質に起因する生物多様性影響が生ずるおそれはないとした申請者の結論は妥当であると判断した。</p>
<p>(2) 生物多様性影響評価書を踏まえた結論</p> <p>以上を踏まえ、G47Δを第一種使用規程に従って使用した場合に生物多様性影響が生ずるおそれはないとした生物多様性影響評価書の結論は妥当であると判断した。</p>

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
岩崎 一弘	独立行政法人国立環境研究所主任研究員
小澤 敬也	自治医科大学医学部教授
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
笹月 健彦	国立国際医療センター名誉総長
島田 隆	日本医科大学医学部教授
早川 堯夫	独立行政法人医薬品医療機器総合機構顧問
山口 照英	国立医薬品食品衛生研究所生物薬品部長
○ 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
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21年2月28日現在）

第一種使用規程承認申請書

平成19年10月23日

厚生労働大臣 舩添 要一 殿
環境大臣 鴨下 一郎 殿

申請者 氏名 東京大学医学部附属病院
病院長 武谷 雄一
住所 東京都文京区本郷7丁目3番1号

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項の規定により、次のとおり申請します。



遺伝子組換え生物等の種類の名称	大腸菌 LacZ 遺伝子を発現し、 γ 34.5 遺伝子・ICP6 遺伝子・ α 47 遺伝子を不活化された制限増殖型遺伝子組換えヒト単純ヘルペスウイルス 1 型 (G47 Δ)
遺伝子組換え生物等の第一種使用等の内容	治療施設におけるヒトの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
遺伝子組換え生物等の第一種使用等の方法	<p>治療施設の所在地 東京都文京区本郷七丁目3番1号 治療施設の名称 東京大学医学部附属病院</p> <p>(1) G47Δ溶液は、容器に密封後、凍結状態で治療施設に輸送し、施設内の実験室内の冷凍庫に保管する。</p> <p>(2) 凍結状態のG47Δ溶液の融解、希釈及び分注操作は、P2レベルの実験室（以下「P2実験室」という。）内の安全キャビネット内にて行う。G47Δ希釈溶液の保管は、P2実験室内の保冷庫又は冷凍庫において行う。なお、G47Δ希釈溶液又はその凍結品を開放系区域を通して他の区域に運搬する場合には、二重に密閉した容器に入れて運搬する。</p> <p>(3) G47Δ溶液（希釈溶液を含む。）を廃棄する際には、ウイルス不活化（高圧蒸気滅菌処理又は70%イソプロパノール、70%から90%までのエタノール、0.2%次亜塩素酸ナトリウム、10%ポビドンヨード、0.1%から0.5%までのグルコン酸クロルヘキシジン及び0.05%から0.2%までの塩化ベンザルコニウムなどの消毒薬（以下「消毒薬」という。）処理による。以下同じ。）を行った後、東京大学医学部附属病院で定められた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) P2実験室内の安全キャビネット内でG47Δ希釈溶液を専用のシリンジに充填し、それを二重に密閉し、環境中への拡散防止措置を適切に執った手術室（以下「手術室」という。）に運搬する。</p> <p>(5) 被験者に対するG47Δの投与は、手術室内において、被験者の腫瘍内にG47Δの入った緩衝液（以下「G47Δ液」という。）を定位脳手術により注入することにより行う。被験者の頭蓋骨に開けた直径約12mmの骨穴から、定位手術装置に装着した専用の注入針を刺入し、用手的に遅い速度でG47Δ液を注入する。注入後は注入針をそのままの位置で数分間保持した後、遅い速度で抜去する。特に脳表からの抜去は慎重に行い、G47Δ液の漏出及びエアロゾル化を防止する。G47Δ液を予定量全て投与し注入針を抜去した後は速やかに閉創する。なお、頭部の周辺には布を二重に敷き詰める。</p> <p>(6) 被験者へのG47Δの投与終了後、被験者の創部を消毒薬にて消毒してガーゼ</p>

	<p>で覆い、さらに頭部をキャップで覆う。ウイルス漏出予防のためにマスクを着用した被験者を手術室から、環境中の拡散防止措置を適切に執った陽圧でない個室の病室（以下「個室」という。）に移送する。</p> <p>(7) 上記(5)及び(6)で用いたシリンジなどの器具並びに布及びガーゼ類は、ウイルスの不活化を行い、医療廃棄物管理規程に従い廃棄する。これらのウイルス不活化を他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。術後の当該手術室は床を消毒薬で拭き清掃する。なお、手術室内の空気は換気により約5分間に1回（1時間に約12回）入れ替わる。</p> <p>(8) 投与後72時間まで、被験者を個室で管理する。検査等の理由で被験者が一時的に手術室及び個室から外の開放系区域に出る場合には、採血や排泄等を最小限に留め、マスク着用によるウイルス漏出予防措置を義務付ける。</p> <p>(9) 個室における管理期間中の被験者の排泄物は、ウイルス不活化を行った後、医療廃棄物管理規程に従い廃棄する。また、研究用検体として使用する被験者の血液及び尿の取扱いは、G47Δ溶液の取扱いに準じる。</p> <p>(10) 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、ウイルスの不活化を行った後、医療廃棄物管理規程に従い廃棄又は十分に洗浄する。これらのウイルス不活化を他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>(11) 個室における被験者の管理を解除する前に、被験者の血液、唾液及び尿中のG47Δが陰性であることを確認する。G47Δが確認されたときは、それが消失するまでの期間、個室における管理を継続する。</p> <p>(12) 個室における管理解除後に被験者の血液、唾液又は尿中からG47Δが検出された場合には、直ちに被験者を個室における管理下に移し、上記(8)から(10)までと同様の措置を執る。</p> <p>(13) G47Δ脳内投与後G47Δが脳病巣内に存在していると推定される期間内に、病状の悪化等により、G47Δ投与目的以外の開頭手術等を行う場合には、(5)から(12)と同様の措置を執る。</p>
--	--

生物多様性影響評価書

I 宿主又は宿主の属する分類学上の種に関する情報

1 分類学上の位置付け及び自然環境における分布状況

単純ヘルペスウイルスはヘルペスウイルス科アルファヘルペスウイルス亜科に分類されている。これまでに分離されたウイルスは、I型(HSV-1)とII型(HSV-2)の二つであり(文献1)、G47Δは単純ヘルペスウイルスI型(HSV-1)から作製された(文献2)。

ヒトにおけるHSV-1の初感染は通常小児期に起こり、無症候性であることが多い。HSV-1に対する中和抗体の保有率は成人で7-8割程度である(文献1)。HSV-1の感染は種特異的であり、自然環境においては本来の宿主であるヒト以外での複製は報告されていない。実験室内では、一部の系統のマウス、ラット、ハムスター、ウサギ、またはサルには注射等による接種により感染させることができ、それらを用いてワクチンや遺伝子組換えHSV-1の安全性評価などの感染実験が報告されている(文献3-5)。

文献1 : Whitley, R. Herpes simplex viruses. In *Fields' Virology*, 4th edn, ed. Kaipe, D. M., Howley, P. M. ed. pp2461-2509, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia (2001).

文献2 : Todo, T. *et al.* Oncolytic herpes simplex virus vector with enhanced MHC class I presentation and tumor cell killing. *Proc Natl Acad Sci USA* 98: 6396-6401 (2001).

文献3 : Lopez, C. Genetics of natural resistance to herpesvirus infections in mice. *Nature* 258: 152-153(1975)

文献4 : Barahona, H. *et al.*, The owl monkey (*Aotus trivirgatus*) as an animal model for viral diseases and oncologic studies. *Lab Anim Sci.* 6: 1104-1112 (1976).

文献5 : Deisboeck, T. S. *et al.* Development of a novel non-human primate model for preclinical gene vector safety studies. Determining the effects of intracerebral HSV-1 inoculation in the common marmoset: a comparative study. *Gene Ther.* 15: 1225-1233 (2003).

2 使用等の歴史及び現状

HSV-1を生ワクチンとして臨床に試みた報告としては、複製可能型遺伝子組換えHSV-1であるR7020が存在する(文献1、6、7)。また近年、米国および英国においてHSV-1に由来する種々の遺伝子組換えウイルスが、また国内において自然変異型の弱毒ウイルスが、悪性腫瘍に対するウイルス療法としてヒトに対し使用されている(文献8-13)。

文献6 : Cadoz, M. *et al.*, Phase 1 trial of R7020: A live attenuated recombinant herpes simplex (HSV) candidate vaccine. Presented at the 32nd Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy, Anaheim, CA, October 11-14, 1992

文献7 : Whitley, R. *et al.* Herpes simplex viruses: is a vaccine tenable? *J Clin Invest* 110: 145-151.2002.

文献8 : Markert, J. *et al.* Conditionally replicating herpes simplex virus mutant, G207 for the treatment of malignant glioma: results of a phase I trial. *Gene Ther* 7: 867-874 (2000).

文献9 : Rampling, R. *et al.* Toxicity evaluation of replication-competent herpes simplex virus (ICP 34.5

null mutant 1716) in patients with recurrent malignant glioma. *Gene Ther* 7: 859-866 (2000).

文献 1 0 : Papanastassiou, V. *et al.* The potential for efficacy of the modified (ICP 34.5(-)) herpes simplex virus HSV1716 following intratumoural injection into human malignant glioma: a proof of principle study. *Gene Ther* 9: 398-406 (2002).

文献 1 1 : Harrow, S. *et al.* HSV1716 injection into the brain adjacent to tumour following surgical resection of high-grade glioma: safety data and long-term survival. *Gene Ther* 11: 1648-1658 (2004).

文献 1 2 : Fujimoto, Y. *et al.* Intratumoral injection of herpes simplex virus HF10 in recurrent head and neck squamous cell carcinoma. *Acta Otolaryngol.* 126: 1115-1117 (2006).

文献 1 3 : Kimata, H. *et al.* Pilot study of oncolytic viral therapy using mutant herpes simplex virus (HF10) against recurrent metastatic breast cancer. *Ann Surg Oncol.* 13: 1078-1084 (2006).

3 生理・生態学的特性 (文献 1)

(1) 基本的特性

単純ヘルペスウイルスはエンベロープを有し、成熟粒子は100-150nmの大きさである。エンベロープの内側にテグメント、更にその内側にカプシドがあり、カプシド内にウイルスDNAが存在する。ゲノムは約152kbの2本鎖DNAである。

(2) 生育又は生育可能な環境の条件

ヒトに感染し、増殖する。培養細胞では、ヒトの細胞およびVero細胞などの哺乳動物由来の一部の細胞で効率よく増殖する。粘膜表面の直接の接触による感染を主な感染経路とし、外界および室温では不安定である。飛沫感染は起こらない。

(3) 捕食性又は寄生性

自然界では、ヒトでのみ増殖を伴う感染が起こる。

(4) 繁殖又は増殖の様式

HSV-1は、ヒトの粘膜表面(通常は口腔咽頭)への直接の接触により感染する。接触感染以外の感染形式はない。感染した局所で複製した後、神経末端から感覚神経節(しばしば三叉神経節)にウイルスは移送され、潜伏感染(latency)を確立する。潜伏感染においてはウイルスの複製は行われず、別の宿主への感染性を有しない。潜伏感染から再活性化(reactivation)が起きると、ウイルスは皮膚粘膜(通常は口唇)で顕在化し、水疱を形成する(文献 1 4)。潜伏感染の再燃などに際してウイルスはまれに脳炎を発症する。そのウイルス侵入経路については三叉神経説と嗅神経説がある(文献 1 5)。

(5) 病原性

HSV-1は口唇ヘルペスの原因ウイルスで、初期感染は一般に軽症あるいは無症状である。再活性化時に口唇に水疱を形成する。まれに、角膜炎や脳炎を起こす。ヘルペス脳炎の発生は日本の調査では年間100万人に2.9人(文献 1 6)、欧米では年間20万人に1人(文献 1 7、1 8)である。発癌性はない。免疫不全や新生児など特殊な条件下を除くと、HSV-1はウイ

ルス血症を生じることがなく、初期感染後全身に分布しない。

(6) 有害物質の産生性

HSV-1の感染で細胞内に産生される蛋白質等の毒性は報告されていない。

(7) その他の情報

HSV-1はエンベロープを有するウイルスで、エンベロープが破壊・変性すると容易に感染性を失う。宿主から離れると環境中では2時間で死滅する(文献19)。Biosafety上、消毒薬(chemical disinfectants)に対する感受性の点でlipid virusesに分類され、微生物の中で消毒薬に対する感受性が最も高い(文献14)。HSV-1を速やかに不活化する消毒薬(chemical disinfectants)は以下のものを含む: 70%イソプロパノール、70-90%エタノール、塩素系漂白剤(例えば0.2%次亜塩素酸ナトリウムなど)、ヨード溶液、グルタルアルデヒド、ホルマリン、10%ポピドンヨード、0.5~0.1% グルコン酸クロルヘキシジン、0.2~0.05% 塩化ベンザルコニウム、など(文献14、20-23)。物理的不活法(physical inactivation)として、HSV-1は56℃(30分間)の加熱や紫外線照射(15分間)、pH4以下で速やかに感染性を失う。

文献14 : Biosafety Manual: Lawrence Berkeley National Laboratory

(http://www.lbl.gov/ehs/biosafety/Biosafety_Manual/html/decontamination.shtml).

文献15 : Mori, I. *et al.* Olfactory transmission of neurotropic viruses. *J Neurovirol* 11: 129-137 (2005).

文献16 : Kamei, S. *et al.* Nationwide survey of the annual prevalence of viral and other neurological infections in Japanese inpatients. *Intern Med* 39: 894-900 (2000).

文献17 : Whitley, R. *et al.* Herpes simplex virus infections of the central nervous system: therapeutic and diagnostic considerations. *Clin Infect Dis* 20: 414-420 (1995)

文献18 : Wald, A. *et al.* Persistence in the population: epidemiology, transmission. In *Human Herpesviruses*. Arvin A. *et al.* eds., pp659-671, Cambridge University Press, Cambridge (2007)

文献19 : Assar, S. *et al.* Survival of Microorganisms in the Environment. In *Disinfection, Sterilization, and Preservation*. 5th edn Block S. ed., pp1221-1242, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia (2001)

文献20 : Croughan, W. *et al.* Comparative study of inactivation of herpes simplex virus types 1 and 2 by commonly used antiseptic agents. *J Clin Microbiol* 26: 213-215 (1988)

文献21 : Material safety data sheet- infectious substances: Public health agency of Canada (<http://www.phac-aspc.gc.ca/msds-ftss/msds80e.html>.)

文献22 : Centers for Disease Control and Prevention ed., Guideline for hand hygiene in health-care settings: Morbidity and mortality weekly report (MMWR) 51 (2002)

文献23 : 大久保 憲 監修、消毒薬テキスト 新版: 協和企画 (2005)

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

大腸菌(略称 E.Coli) LacZ (3kb) cDNAを宿主に導入した(Gene bank Accession Number:V00296)。(供与核酸の全塩基配列及び対応するアミノ酸配列は別紙1、2参照)

(2) 構成要素の機能

導入されたLacZ遺伝子は宿主のICP6プロモーターにより発現される。LacZ遺伝子にコードされる大腸菌beta galactosidaseは基質X-galを加水分解し青色の沈殿物とする。形質転換した大腸菌や、ベクター感染細胞のマーカーとして用いられ、それらにX-galを加えて識別する方法は一般に広く用いられている。病原性や毒素産生性には関与していない。この供与核酸の導入によって、G47Δの感染性が野生型HSV-1から変わることはないと考えられる。なお、LacZ遺伝子の挿入により宿主のICP6遺伝子は不活化され、G47Δの複製を腫瘍細胞選択的とする機序の一つを担っている。

2 ベクターに関する情報

(1) 名称及び由来

G47Δは、HSV-1 F株由来の二重変異遺伝子組換えHSV-1 G207 (文献24) から、pIE12Δプラズミドを用いて相同遺伝子組換えで作製された。pIE12Δは、HSV-1のα47遺伝子を含むBamHI x フラグメントのうちBamHI-EcoRI の1818 bpを有するpIE12プラズミド (文献25) から、α47遺伝子領域の312 bp (BstEII-EcoNI) を欠失させたプラズミドである (文献2)。G47Δの構造の模式図は別紙3参照。

(2) 特性

pIE12ΔはAmpicillin 耐性遺伝子を有している。宿主にはpIE12Δの挿入外来遺伝子配列のみが移入され、薬剤耐性遺伝子などのベクター配列は移されない。

文献24 : Mineta, T. *et al.* Attenuated multi-mutated herpes simplex virus-1 for the treatment of malignant gliomas. *Nat Med* 1: 938-943 (1995).

文献25 : Johnson, P. *et al.* Improved cell survival by the reduction of immediate-early gene expression in replication-defective mutants of herpes simplex virus type 1 but not by mutation of the virion host shutoff function. *J Virol* 68 : 6347-6362 (1994).

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

HSV-1のICP6領域にLacZ cDNAが挿入されている。これにより、ICP6プロモーターは供

与核酸を発現し、本来のICP6遺伝子は発現されない。また、宿主HSV-1の γ 34.5遺伝子(1kb)の双方のコピーは欠失しており、また、 α 47遺伝子(312bp)も欠失している(別紙4参照)。

(2) 宿主内に移入された核酸の移入方法

G47 Δ の親ウイルスであるG207は野生型HSV-1であるF株から2箇所の γ 34.5遺伝子の双方(1kb)を削除し、ICP6遺伝子領域に大腸菌のLacZ遺伝子を挿入して作製された。G47 Δ は、G207からさらに α 47領域内の312bpを削除して作製された。pIE12 Δ は、pBluescript KSを基本骨格とし、BstEII-EcoNIの312 bpを欠失したHSV-1の α 47遺伝子を含有するフラグメントをインサートとして含むプラスミドである。G207のウイルスDNAとpIE12 Δ プラスミドDNAの共移入に伴うVero細胞内での相同組換えにより、遺伝子組換えHSV-1であるG47 Δ を得た(文献24、25 および別紙4)。

(3) 遺伝子組換え生物等の育成の経過

G47 Δ はウイルス製造に頻用されるVero細胞を使って増殖させた。G47 Δ の臨床製剤は東京大学医科学研究所治療ベクター開発室で生産される。生産工程はセルバンクシステム及びウイルスバンクシステムを用い、米国cGMPに準じた標準作業手順(SOP)に基づき行う。製造は、東京大学医学部脳神経外科・講師・藤堂 具紀を責任者とし、東京大学医学部脳神経外科が行なう。WHO Veroマスターセルバンクからワーキングセルバンクを構築し、ウイルス製造には継代数の低い細胞を使用する。正しい変異を有することが確認されたG47 Δ から作製したマスターウイルスストックをVero細胞に感染させる。2日後、細胞を回収し、凍結融解操作で細胞内のG47 Δ を遊離させる。フィルターろ過により細胞成分を除去したのち、細胞由来のDNAおよびRNAを酵素処理する。高速遠心にてウイルスを沈殿させ、混入する核酸および蛋白を除去する。これを10%グリセリン加磷酸緩衝液(PBS)に再浮遊する(別紙5参照)。生産の4工程、すなわち、マスターセルバンク、精製前のウイルス回収液(バルクハーベスト)、精製後のウイルス、およびチューブに分注後の製剤において、英国BioReliance社に委託して品質試験を行う(品質試験項目に関しては別紙6参照)。東京大学医科学研究所治療ベクター開発室からは凍結した状態で東京大学医学部付属病院へ搬送する。上述の品質試験の合格が確認された製剤の機関内での移動であり、受入れ試験は予定しない。

G47 Δ 製剤中に増殖型・非増殖型の各種ウイルスの混入がないことの品質試験を英国BioReliance社に委託して行なう。また、最終製剤中のG47 Δ 以外の組換えHSV-1の混入の有無については、LacZ挿入部位の外側に設計したプライマーを用いたPCRを行い、野生型に由来する長さのDNA断片が増幅されないことを検証する。

臨床製剤は東京大学医学部附属病院内(管理研究棟2階脳神経外科研究室223号室)の専用の冷凍庫に保管し、施錠のうえ管理する。(当該治療施設の地図及び保管場所の概略図は別紙7参照)。

ウイルスの調製に使用する細胞はWHO-Vero細胞を用いる。マスターセルバンク、ワーキングセルバンク、およびマスターウイルスシードストックは、東京大学医科学研究所治療ベクター開発室に保管されている。

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HSV-1の2本鎖DNAゲノムの一部として存在し、保管中は安定である。感染する動植物等の種類及び感染様式が保管中に変化することはない。

G47Δが細胞に感染すると、G47Δのゲノムは核内の染色体外に存在し、感受性を有する培養増殖細胞（例：ヒト神経芽細胞腫株SK-N-SH、ヒト膠芽腫細胞株U87MG、ヒト膠芽腫細胞株U373、ヒト頭頸部扁平上皮癌細胞株SQ20B、およびアフリカミドリザル腎細胞株Vero）もしくはヒト体内では腫瘍細胞に限ってウイルス複製が起こる（「6 宿主又は宿主の属する分類学上の種との相違」の項に詳述）。また、ウイルス複製の際に感染細胞内で一過性にLacZ蛋白質が発現される。

G47ΔはHSV-1ゲノムの互いに離れた4箇所（3つの遺伝子）に操作が加えられているため、組換えにより自然に野生型のHSV-1に復する可能性は無に等しい。万一3つの遺伝子のうち2箇所または1箇所のみの変異に復元したものが生じたとしても、ICP6またはγ34.5の少なくとも一方が不活化されていれば腫瘍選択的な複製は維持される。α47のみが不活化されたウイルスは宿主の免疫系に認識されやすく、宿主における複製能が低下する（II章6 「宿主又は宿主の属する分類学上の種との相違」参照）。いずれも、野生型に比し毒性や病原性の増加はない。

臨床製剤の生産は、1つのウイルスから得られたG47Δのロットを、十分量に増やしたVero細胞に一回感染させて回収することによって行われるため、ウイルスが継代されることはなく、従って重なるウイルス継代によってゲノムに変化が起こることはない。

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

G47Δは野生型のHSV-1に存在しないLacZ遺伝子を含むので、挿入されたLacZ遺伝子と隣接するHSV-1のICP6遺伝子との境界部をPCRで増幅、定量する方法でG47Δを検出できる（文献26）。このときに用いるPCR反応では、試料1μl中に1-10 コピーのG47Δ DNAがあれば検出することができる。また、感染細胞のX-gal染色を行なうことによっても、G47Δ（青色に染色）と野生型HSV-1（染色されない）を区別することができる。X-gal染色の感度は鋭敏であり、理論上は、細胞内に1 pfuのG47Δが存在すれば検出できる（文献27）。

PCR法による検出の信頼性については、同様の定量的PCR法を用いたウイルス検出法がすでにG207(二重変異遺伝子組換えHSV-1)の臨床試験で用いられており、信頼性が確立している（文献8、28）。

文献26 : Todo, T. *et al.* Viral shedding and biodistribution of G207, a multimutated, conditionally replicating herpes simplex virus type 1, after intracerebral inoculation in aotus. *Mol Ther* 2: 588-595 (2000).

文献27 : Carew, J. *et al.* Selective infection and cytolysis of human head and neck squamous cell carcinoma with sparing of normal mucosa by a cytotoxic herpes simplex virus type 1 (G207). *Hum Gene Ther.* 10: 1599-1606, 1999

文献 2 8 : DeBiasi, R. *et al.* Use of PCR for the diagnosis of herpes virus infections of the central nervous system. *J Clin Virol.* 25: S5-11 (2002)

6 宿主又は宿主の属する分類学上の種との相違

G47Δはウイルスゲノムに遺伝子操作が加えられた遺伝子組み換えHSV-1であり、ICP6、 γ 34.5、 α 47の領域にコードされているウイルス蛋白質を発現できない。ICP6遺伝子 (ribonucleotide reductase (RR)の大サブユニットをコードする) および γ 34.5遺伝子はともに正常細胞でのウイルス複製に必要な遺伝子であり、これらを欠失したウイルスは腫瘍細胞でのみ複製が可能となる。

γ 34.5はHSV-1の病原性に関連した遺伝子で、これを欠失させた変異株は正常細胞でのウイルス複製能が著しく減弱することが判明している (文献 2 9)。正常細胞ではウイルス感染が起こると二本鎖RNA依存性プロテインキナーゼ(double stranded RNA-activated protein kinase: PKR)がリン酸化され、それが翻訳開始因子eIF-2aをリン酸化し、その結果ウイルス蛋白質を含む細胞内での蛋白合成が遮断される。 γ 34.5遺伝子産物はリン酸化PKRに拮抗してウイルス蛋白質の合成を可能にするが、 γ 34.5遺伝子欠失HSV-1は正常細胞では複製を行えない。しかし、正常細胞とは異なり、腫瘍細胞では普遍的にPKRのリン酸化が低いため、 γ 34.5遺伝子欠失のHSV-1でも複製可能となると考えられている (文献 3 0)。

RRはウイルスDNA合成に必要な酵素であるが、この遺伝子を不活化すると、ウイルスは非分裂細胞では複製できず、分裂が盛んでRR活性の上昇した細胞でのみウイルスの欠落酵素が補われてウイルス複製が可能となる (追加文献 1)。

一方、 α 47遺伝子を欠失したウイルスは感染細胞でのtransporter associated with antigen presentation (TAP)に拮抗する機能を失うため、感染細胞のMHCクラスIの発現が維持され、免疫系による認識を促進する。同時にゲノム上で重複して位置するUL11遺伝子の発現を早めることで、 γ 34.5欠失ウイルスの減弱した複製能力を腫瘍細胞において選択的に回復させる (文献 2、24、31)。

ICP6領域には大腸菌LacZ cDNAが挿入されており、G47Δの感染した細胞内で一過性に発現される。

G47ΔはVero細胞で増殖させるが、この細胞においてG47Δの増殖力は親株(StrainF)に比較し低下しており、親株が 10^8 pfu/mlのタイターまで増殖する条件下で、G47Δは 10^7 pfu/mlのタイターにしか達しない (文献 2)。

G47Δの感染性は野生型HSV-1と同じであり、ヒトを宿主とする。ヒトや動植物等への感染性、感染様式など、生物多様性に影響を与える性質は野生型HSV-1と同等であると考えられる。腫瘍細胞でのみウイルス複製が可能であることから、自然界では伝搬・複製し得ない。

文献 2 9 : Chou, J. *et al.* Mapping of herpes simplex virus-1 neurovirulence to γ 134.5, a gene nonessential for growth in culture. *Science* 250: 1262-1266 (1990)

文献 3 0 : Farassati, F. *et al.* Oncogenes in Ras signalling pathway dictate host-cell permissiveness to

herpes simplex virus 1. *Nat Cell Biol* 3: 745-750 (2001)

文献 3 1 : Cassady, K. *et al.* The second-site mutation in the herpes simplex virus recombinants lacking the γ_1 34.5 genes precludes shutoff of protein synthesis by blocking the phosphorylation of eIF-2 α . *J Virol.* 72: 7005-7011 (1998).

追加文献 1 : Goldstein, D.J. *et al.* Factor(s) present in herpes simplex virus type 1-infected cells can compensate for the loss of the large subunit of the viral ribonucleotide reductase: characterization of an ICP6 deletion mutant *Virology* 166: 41-51 (1988)

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

治療施設の所在地 東京都文京区本郷七丁目3番1号
治療施設の名称 東京大学医学部附属病院

- (1) G47Δ溶液は、容器に密封後、凍結状態で治療施設に輸送し、施設内の実験室内の冷凍庫に保管する。
- (2)凍結状態のG47Δ溶液の融解、希釈及び分注操作は、P2レベルの実験室（以下「P2実験室」という。）内の安全キャビネット内にて行う。G47Δ希釈溶液の保管は、P2実験室内の保冷庫又は冷凍庫において行う。なお、G47Δ希釈溶液又はその凍結品を開放系区域を通過して他の区域に運搬する場合には、二重に密閉した容器に入れて運搬する。
- (3) G47Δ溶液（希釈溶液を含む。）を廃棄する際には、ウイルス不活化（高圧蒸気滅菌処理又は70%イソプロパノール、70%から90%までのエタノール、0.2%次亜塩素酸ナトリウム、10%ポピドンヨード、0.1%から0.5%までのグルコン酸クロルヘキシジン及び0.05%から0.2%までの塩化ベンザルコニウムなどの消毒薬（以下「消毒薬」という。）処理による。以下同じ。）を行った後、東京大学医学部附属病院で定められた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) P2実験室内の安全キャビネット内でG47Δ希釈溶液を専用のシリンジに充填し、それを二重に密閉し、環境中への拡散防止措置を適切に執った手術室（以下「手術室」という。）に運搬する。
- (5) 被験者に対するG47Δの投与は、手術室内において、被験者の腫瘍内にG47Δの入った緩衝液（以下「G47Δ液」という。）を定位脳手術により注入することにより行う。被験者の頭蓋骨に開けた直径約12mmの骨穴から、定位手術装置に装着した専用の注入針を刺入し、手動的に遅い速度でG47Δ液を注入する。注入後は注入針をそのままの位置で数分間保持した後、遅い速度で抜去する。特に脳表からの抜去は慎重に行い、G47Δ液の漏出及びエアロゾル化を防止する。G47Δ液を予定量全て投与し注入針を抜去した後は速やかに閉創する。なお、頭部の周辺には布を二重に敷き詰める。
- (6) 被験者へのG47Δの投与終了後、被験者の創部を消毒薬にて消毒してガーゼで覆い、さらに頭部をキャップで覆う。ウイルス漏出予防のためにマスクを着用した被験者を手術室

から、環境中の拡散防止措置を適切に執った陽圧でない個室の病室（以下「個室」という。）に移送する。

- (7) 上記(5)及び(6)で用いたシリンジなどの器具並びに布及びガーゼ類は、ウイルスの不活化を行い、医療廃棄物管理規程に従い廃棄する。これらのウイルス不活化を他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。術後の当該手術室は床を消毒薬で拭き清掃する。なお、手術室内の空気は換気により約5分間に1回（1時間に約12回）入れ替わる。
- (8) 投与後72時間まで、被験者を個室で管理する。検査等の理由で被験者が一時的に手術室及び個室から外の開放系区域に出る場合には、採血や排泄等を最小限に留め、マスク着用によるウイルス漏出予防措置を義務付ける。
- (9) 個室における管理期間中の被験者の排泄物は、ウイルス不活化を行った後、医療廃棄物管理規程に従い廃棄する。また、研究用検体として使用する被験者の血液及び尿の取扱いは、G47Δ溶液の取扱いに準じる。
- (10) 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、ウイルスの不活化を行った後、医療廃棄物管理規程に従い廃棄又は十分に洗浄する。これらのウイルス不活化を他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。
- (11) 個室における被験者の管理を解除する前に、被験者の血液、唾液及び尿中のG47Δが陰性であることを確認する。G47Δが確認されたときは、それが消失するまでの期間、個室における管理を継続する。
- (12) 個室における管理解除後に被験者の血液、唾液又は尿中からG47Δが検出された場合には、直ちに被験者を個室における管理下に移し、上記(8)から(10)までと同様の措置を執る。
- (13) G47Δ脳内投与後G47Δが脳病巣内に存在していると推定される期間内に、病状の悪化等により、G47Δ投与目的以外の開頭手術等を行う場合には、(5)から(12)と同様の措置を執る。

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

被験者への投与後、別途規定のスケジュールに従い被験者の血液、唾液、および尿のPCR法による検査を実施する。また、HSV-1感染症の発症の有無につき被験者の臨床症状を観察する。PCR法による検査結果が陽性の場合には、検出されたウイルスのゲノム構造を確認しG47Δ以外の組換えHSV-1の混在の有無を、また、感染性ウイルスの存在の有無を確認する。

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

遺伝子組換えウイルス投与後の被験者については、PCR法にて血液、唾液、および尿中の遺伝子組換えウイルスの存在の有無を確認し、陽性の場合にはそれが消失するまで追跡する。

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

HSV-1に感受性のあるサル (*Aotus nancymae*) に、G47Δを作製する基となったG207(二重変異を有する遺伝子組換えHSV-1)を脳内に定位的に投与した非臨床試験において、野生型HSV-1 (strain F) は 1×10^3 pfuで脳炎を生じ投与後5日で死亡させたが、G207は 10^9 pfuでも毒性を示さなかった(文献26、32)。G207の脳内投与後(3×10^7 pfu)、1, 3, 7, 10, 14, 21, 31日めに唾液、涙、臍分泌液を採取し、ウイルス排出の有無が検証されたが、いずれの検体からも感染性ウイルスおよびG207のDNAは検出されなかった(文献26)。G207の脳内投与1ヶ月後(3×10^7 pfu) もしくは2年後(10^9 pfu) の解剖で採取した全身の組織検体からのPCRによるDNA残存の検索では、G207のDNAが中枢神経系(注入部位、同側の前頭葉、側頭葉、頭頂葉、脳幹、および対側の前頭葉)に限局して検出された(安全性試験の詳細は計画書添付資料5(2)12に記載)。BALB/cマウスにLD₅₀量の野生型HSV-1の脳内投与を行い、生き延びてHSV-1の潜伏感染を確立したマウスに、G207(1×10^7 pfu)を脳内投与しても潜在HSV-1の再活性化を誘発しなかった(文献33)。

文献32 : Hunter, W.D. *et al.* Attenuated, replication-competent herpes simplex virus type 1 mutant G207: safety evaluation of intracerebral injection in nonhuman primates. *J Virol* 73: 6319-6326 (1999).

文献33 : Sundaresan, P *et al.* Attenuated, replication-competent herpes simplex virus type 1 mutant G207: safety evaluation in mice. *J. Virol.* 74: 3832-3841 (2000).

6 国外における使用等により得られた情報

米国アラバマ大学パーミンガム校とジョージタウン大学医療センターにおいて、再発神経膠腫を対象とし、腫瘍治療用に開発された第二世代遺伝子組換えHSV-1のG207を用いて再発悪性グリオーマ患者21例を対象に米国で第I相臨床試験が行われた(1998年-2000年)(文献8)。G207は定位脳手術により脳腫瘍内に単回投与され、 1×10^6 pfuから 3×10^9 pfuまで3例ずつ用量を増加した。ジョージタウン大学では通常の手術室を用いて他の患者と同様の扱いで手術が施行され、患者は通常の病室で管理された。G207投与後4日、1ヶ月、3ヶ月、6ヶ月、1年の各時点で患者の唾液と血液が採取され、ウイルス排出の有無が検証されたが、いずれの検体からも感染性ウイルスおよびG207のDNAは検出されなかった。

34.5遺伝子のみを欠失した第一世代遺伝子組換えHSV-1の1716を用い、再発悪性グリオーマ患者9例を対象に英国で第I相臨床試験が行われた(文献9)。1716は定位脳手術により脳腫瘍内に単回投与され、 10^3 pfuから 10^5 pfuまで3例ずつ用量を増加した。投与後2日目、6日目、その後4週後まで週1回、血清と口腔粘膜を採取しウイルス排出検査を行ったところ、感染性

のHSV-1はいずれの患者からも検出されなかった。またヘルペスウイルス感染症の皮膚症状も見られなかった。次に行われたproof of principle (POP)試験では、再発悪性グリオーマ12例に対して定位脳手術により 10^5 pfuを脳腫瘍内に単回投与し、その4-9日後に腫瘍摘出を行ってウイルス複製の有無について解析した(文献10)。2例で、摘出腫瘍組織から感染性ウイルスが検出された。PCRでは10例の投与部位から1716のDNAが検出された。1例において、投与5日後(腫瘍摘出の翌日)の血清からHSV-1のDNAがPCRで検出され、その後速やかに陰性化した。他の11例では一度も血清中からHSV-1のDNAは検出されなかった。

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

G47Δの感染性は野生型HSV-1と同一と考えられ、微生物に感染するとの報告はない。また、G47Δは腫瘍細胞でのみウイルス複製が可能であることから、自然界では伝搬・複製し得ない。有害物質の産生もなく、競合や有害物質の産生により他の微生物を減少させることはないと考えられる。よって、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

G47Δの感染性は野生型HSV-1と同一と考えられるので、自然宿主はヒトのみである。さらに、腫瘍細胞でのみウイルス複製が可能であることから、自然界では伝搬・複製し得ない。なお、実験室内で用いられる一部の系統のマウス、ラット、ハムスター、ウサギ、またはサルは感受性があり、注射等による接種によりG47Δを感染させることができる。

(2) 影響の具体的内容の評価

G47Δは投与されたヒトの腫瘍細胞に限局してウイルス複製を行い、ヒト正常組織に対しては病原性がない。欧米において遺伝子組換えHSV-1を用いたウイルス療法の臨床試験が複数完了した進行中であるが、重大な有害事象や死亡の報告はなく、環境への悪影響に関する報告もない(文献8-13)。G47Δにはウイルス複製を検出するために大腸菌LacZ遺伝子cDNAが挿入されており、G47Δが複製する腫瘍細胞に導入され、一過性に発現される。LacZ遺伝子からの生成物であるβ-ガラクトシダーゼは人体に対し毒性や病原性を有しない。LacZ遺伝子を発現する第二世代複製型遺伝子組換えHSV-1であるG207が第I相臨床試

験において人の脳内（脳腫瘍内）に投与されており、LacZ遺伝子生成物の安全性は示されている。G47Δに加えられた遺伝子変異はHSV-1ゲノム上の離れた4箇所（3つの遺伝子）に位置しているため、G47Δ由来の遺伝子組換え生物に該当する野生型復元HSV-1が自然に生じる可能性も無に等しい。

(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限り、G47Δの環境中への拡散は防止され、また自然界においてG47Δが伝搬・複製し得ないことから、G47Δが被験者以外に病原性を示す可能性は極めて低いと考えられる。

(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、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

G47Δの有害物質の産生性は知られておらず、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等の特定

G47Δの感染性は野生型HSV-1と同一と考えられるので、自然界で感染する対象はヒトのみである。実験室内では、感受性のある一部のマウス、ラット、ハムスター、ウサギ、またはサルには注射等による接種により感染させることができ、ワクチンや遺伝子組換えHSV-1の安全性評価に使用されている。

(2) 影響の具体的内容の評価

G47Δの投与を受けたヒトでは、腫瘍内に局限して複製したG47Δが生じるが、これは体外へ排泄される可能性は極めて低く、また腫瘍細胞以外でのウイルス複製能を有さず、これによる他の哺乳類への核酸の水平伝達は知られていない。

(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、G47Δの環境中への拡散は防止される。G47Δは正常細胞でのウイルス複製能を失っているため、自然界では繁殖し得ない。さらに、G47Δの自然界での感染対象は野生型HSV-1と同様にヒトに限られること、及びヒトからヒトへ腫瘍細胞を介して直接水平伝達して複製することはほぼ不可能であることを考慮すると、影響の生じやすさは極めて低いと考えられる。G47ΔはHSV-1ゲノム上の離れた4箇所（3つの遺伝子）に変異が加えられているため、G47Δ由来の遺伝子組換え生物に該当する野生型復元HSV-1が自然に生じる可能性も無に等しい。

(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、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

なし。

V 総合的評価

G47Δが感染する動植物等の種類は野生型HSV-1と同等で、ヒトを自然宿主とし、自然界で他のほ乳動物、植物及び微生物には感染したり拡散したりするという報告はない。

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、G47Δの環境中への拡散は防止される。G47ΔによるLacZ遺伝子の一過性発現はヒトに病原性をもたないので、ヒトに対する影響はないと考えられる。

さらに、G47Δは腫瘍細胞に限って複製することが可能で、正常細胞でのウイルス複製能を失っているため、自然界で伝搬し増えることができない。環境中の別個体のヒトの腫瘍細胞にG47Δが直接水平感染する可能性は極めて低く、G47Δが環境中に拡散する可能性は無に等しい。

G47ΔはHSV-1ゲノム上の離れた4箇所（3つの遺伝子）に変異が加えられているため、G47Δ由来の遺伝子組換え生物に該当する野生型復元HSV-1が自然に生じる可能性も無に等しい。

従って、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、G47Δ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。