

患者さんまたは保護者の方へ

「慢性肉芽腫症に対する遺伝子治療臨床研究」

説明文書及び同意書(本人用及び保護者用)

これから「臨床研究」についてご説明します。この「臨床研究」への参加に同意していただけるかどうかは、あなたとあなたのお子さまの自由な意思によるもので、誰からも強要されるものではありません。あなたとあなたのお子さまの参加に同意できない場合には、遠慮なく申し出てください。また、保護者の方が参加に同意した場合でも、あなたのお子さまが拒否した場合は、臨床研究に参加することはできません。ただ、この「臨床研究」への参加に同意していただけない場合でも、今後の診療や治療になんら不利益が生じることはありませんので、ご安心ください。

この説明文書は、研究に参加される16歳以上の方を対象としていますので、保護者の方が読まれる場合は、あなたを「あなたのお子さま」と読み替えてください。

目次

1. はじめに	3
2. この臨床研究で行う遺伝子治療について	4
3. 目的	4
4. この研究に参加できる方とできない方	4
5. この臨床研究の方法	5
6. この研究の参加により期待される効果と、予想される不利益	8
7. この臨床研究に参加されない場合の治療法	12
8. 臨床研究参加に伴う費用について	12
9. 健康被害に対する治療と補償について	13
10. 新たな情報の提供について	13
11. プライバシーの保護について	13
12. 知的財産権の帰属について	13
13. 保存サンプルに関して	14
14. データの二次利用について	14
15. お願いしたいこと	14
16. 臨床研究参加に対する拒否および撤回について	14
17. 相談窓口	15
《スケジュール》	16
《付録 用語集》	17
同意書	19

1. はじめに

あなたは、医師から今の病状が現在行っている治療だけでは良ならず、また、慢性肉芽腫症に対して有効と考えられるHLA一致造血幹細胞移植もドナー不在などの理由により実施することが難しいとお聞きしていると思います。同時に、医師から新しい治療法としての遺伝子治療について、簡単な説明を受けていると思います。

遺伝子治療は、研究段階の治療法のため、その有効性、安全性について調べています。

そこで、国立成育医療研究センターの免疫科で慢性肉芽腫症の方を対象とした遺伝子治療の臨床研究を行うこととしました。これから、この説明文書を用いて、その内容をご説明します。心配なこと、わからないことがありましたら、遠慮なく、この遺伝子治療を担当する医師にお尋ねください。

なお、この説明文書は、「慢性肉芽腫症に対する遺伝子治療臨床研究」（以下、「臨床研究」とします。）の説明資料であり、慢性肉芽腫症の病気の特徴や一般的な治療方法ならびに遺伝子治療に関しては、別冊「慢性肉芽腫症についてのパンフレット」をご覧ください。

この説明文書と同意書の控えは、大切に保管してください。

《臨床研究とは》

現在、日常的に行われている診療では、いろいろな予防法、診断法、治療法の中から安全性や有効性などの点で最善と認められた方法が選択されます。このように標準的な医療が生み出されるためには、前もってその安全性や有効性を、ヒト（患者さんや健康な方）を対象とした科学的検証によって確認する必要があります。そこで、患者さんの生活の質の向上を目的として、医療の標準化を目指した医学研究を「臨床研究」とよびます。

今回の臨床研究は、当センター内に設置された「遺伝子治療臨床研究審査委員会」（倫理委員会）及び国の遺伝子治療審査委員会において、この臨床研究に参加される患者さんの人権保護や安全性確保ならびに科学的に問題がないか等について審査され、上記の点に関して「特段、問題はなく、実施して良い」と承認を受けております。

（独）国立成育医療研究センター遺伝子治療臨床研究審査委員会：平成X年Y月Z日承認
厚生労働大臣（国の遺伝子治療審査委員会）：平成X年Y月Z日 承認

なお、あなたは、当センター内に設置された「遺伝子治療臨床研究適応判定委員会（以下：「適応判定委員会）」において、臨床研究へ参加することが適切であるか審査されます。また、臨床研究に参加している間、今回の遺伝子治療の安全性、有効性に関して「遺伝子治療臨床研究評価判定委員会」において評価されます。

2. この臨床研究で行う遺伝子治療について

慢性肉芽腫症は、活性酸素を作るための必要な酵素（この酵素を“NADPH オキシダーゼ”^{☆i}といいます）が働かないために発症する病気です。

慢性肉芽腫症の方は、この“NADPH オキシダーゼ”を構成するタンパク質をつくる遺伝子に異常があるため、病原体を殺菌する正常な好中球をもちません。

そこで、好中球など血液細胞の源（みなもと）となる細胞（造血幹細胞といいます）に正しく機能する“遺伝子”を入れ、そこから生み出される好中球に病原体を殺菌してもらいます。このように“遺伝子”を用いて病気を治す治療法を「遺伝子治療」といい、今回、遺伝子を入れる細胞が造血幹細胞であることから「造血幹細胞遺伝子治療」といいます。

☆i NADPH オキシダーゼについては、付録用語集をご覧ください。

3. 目的

今回の遺伝子治療臨床研究では、慢性肉芽腫症に対する造血幹細胞遺伝子治療の安全性と有効性を評価します。

4. この研究に参加できる方とできない方

1) この遺伝子治療臨床研究に参加できる方

以下の選定項目を全て満たす場合は、参加できます。

- ① 遺伝子検査でX連鎖慢性肉芽腫症^{☆ii}の診断が確定している方
- ② 3歳以上の患者さんで、体重が10kg以上の方
- ③ 遺伝子治療に必要な自分の造血幹細胞を体重あたり 5×10^6 個以上が採取可能な方
- ④ 2ヶ月以上の治療を行っても臨床症状や検査所見に改善が見られず、今後、治療を継続しても病状の改善が期待できない方
- ⑤ 同種造血幹細胞移植のためのHLAアレル検査で5/6以上一致ドナーの見つからない方
- ⑥ 文書による今回の遺伝子治療臨床研究への参加の意思を示す方
- ⑦ 腎臓、肝臓、心臓、肺などの機能が、検査によりこの臨床研究に参加できると担当医師が判断した方
- ⑧ 遺伝子治療期間中及び終了後5年間、避妊をすることに同意された方

☆ii X連鎖慢性肉芽腫症については、付録用語集をご覧ください。

2) この遺伝子治療臨床研究に参加できない方

以下の除外項目にひとつでも当てはまる場合は、参加できません。

- ① HIV（エイズ）に感染している方
- ② 悪性腫瘍（がん）にかかっている方
- ③ 慢性肉芽腫症と関連しない重い合併症がある方
- ④ 過去の病歴から薬物などに対し重いアレルギー反応（意識障害や血圧低下な

- どの循環障害)を発症する可能性がある方
- ⑤ 長期(3ヶ月程度)の生命予後が見込まれない方
 - ⑥ 成人の方で本人からの同意の取得が困難な精神障害を有している方

また、診察や検査などの結果により、この臨床研究の参加条件に合わないと担当医師が判断した場合は、この臨床研究には参加できませんので、あらかじめご了承ください。

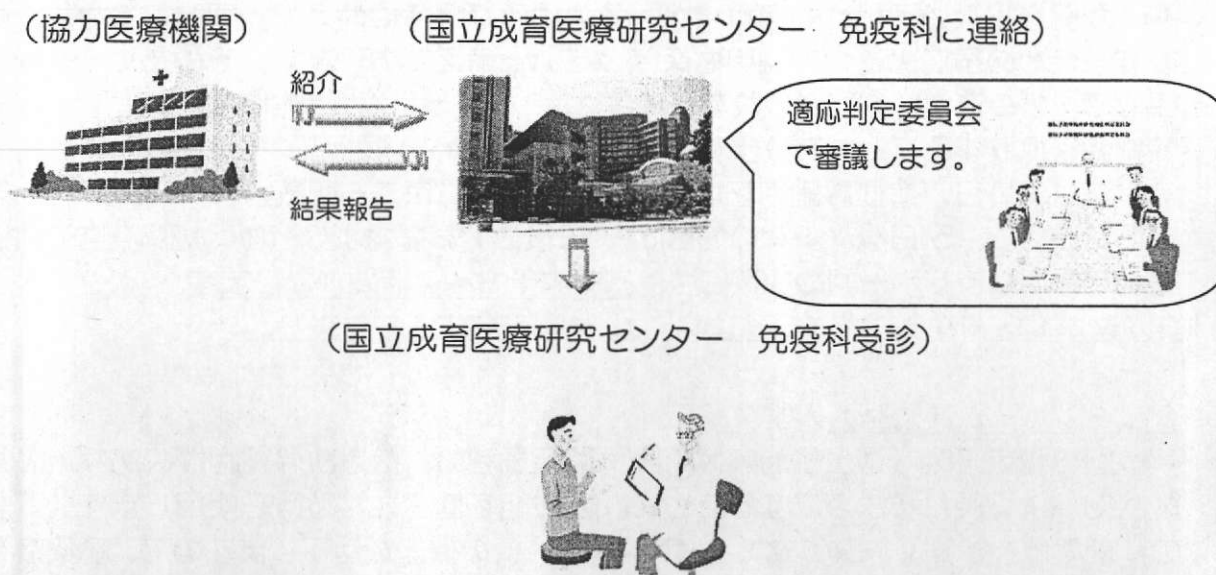
5. この臨床研究の方法

1) この臨床研究に参加する人数と期間

この臨床研究に参加される方は、5名を予定しており、治療を受けてから少なくとも5年間は健康状態を確認するため、当センター病院「免疫科」を受診していただきます。

2) この臨床研究の流れ

遺伝子治療に関する簡単な説明を受け、この臨床研究に参加して治療を希望される方は、当センター病院「免疫科」を受診してください。なお、他院で治療を受けている方は、一度、その病院から当免疫科に紹介していただくことになります。当免疫科では、あなたの病状を協力医療機関の医師と共に検討し、今回の臨床研究に適していると判断した場合は、当センターの「適応判定委員会」に実施に関する審査を申請します。そこで「実施可能」と判断された場合は、当免疫科の医師があなたに今回の臨床研究に関する詳細な説明を行い、同意の有無を確認いたします。



3) 当センターで行う遺伝子治療の流れ

この遺伝子治療臨床研究のスケジュールは別紙「スケジュール」をご参照ください。

① 遺伝子治療臨床研究の説明

免疫科の医師から、臨床研究について詳しい説明があります。臨床研究の説明を受け、参加して良いと思われましたら、同意書に署名します。

あなたを診察し、病状が安定している事を確認した上で、遺伝子治療の日程と入院日を決めます。

② 当センターへ入院

遺伝子治療のために入院をします。

③ 登録時の検査

遺伝子治療を受けることができるか確認するため血液検査、骨髄検査、画像検査、心電図などの生理学的検査を行います。この検査結果によっては、この臨床研究に参加できない場合もありますので、ご了承ください。

*ただし、2ヵ月以内に同様の検査を行っている場合は、これら検査を省略できる場合もあります。

*外来受診時に検査する事もあります。

④ 造血幹細胞の採取

今回の臨床研究（遺伝子治療）では、少なくとも体重1kgあたり500万個の造血幹細胞が必要です。ただ、何らかの原因で治療後にあなたの血液を造る能力（造血能）が回復しない可能性もあります。そのような場合に備えて、同時に造血能を回復するための予備の造血幹細胞も保存したいと考えております。そのため、一回の採取で十分の造血幹細胞が取れない場合は、1～2ヵ月程度期間を空け、再度、造血幹細胞を採取することもあります。

方法は、毎日、造血幹細胞を増やす薬（顆粒球コロニー刺激因子 G-CSF[☆]）を皮下に注射し、5日後（少ない場合は6日後も）に静脈より造血幹細胞を含む血液細胞を採取します。一回の採取には、おおよそ3～4時間かかります。

☆ 顆粒球コロニー刺激因子：G-CSFについては、付録用語集をご覧ください。

⑤ クリーンルーム（個室）入室

今回の臨床研究（遺伝子治療）では、遺伝子をいれた造血幹細胞が、あなたの骨髄へ効率よく戻れるようにするために、造血能を低下させる薬を使用します（下記の「前処置」参照）。このため、一定期間、免疫の機能が低下しますので、感染症を予防するためにクリーンルーム（個室）に入室します。

⑥ 前処置

正常な遺伝子が入った造血幹細胞が、あなたの体内で長期間定着するためには、骨髄の中にあらかじめ十分な居場所を用意する必要があります。造血機能を抑える薬（ブスルファン）を一定期間点滴することで、あなたの骨髄にその場所を作ることができます。体重にあった量を1日4回、2時間くらいかけて、3日間、静脈から点滴（点滴静注）します。体重による投与方法は以下の通りです。

【ブスルファンの投与量の目安】		
体重 (kg)	体重あたりの1回量	体重あたりの総投与量 (回数)
10 ≤ 体重 ≤ 23	1.00mg	10.0mg (10回)
23 < 体重 ≤ 34	0.95mg	9.5mg (10回)
34 < 体重	0.80mg	9.6mg (12回)

⑦ 遺伝子を入れた造血幹細胞の点滴

最後にブスルファンを点滴してから24～36時間後に、遺伝子を入れた細胞をゆっくりと（10分以上かけて）静脈から点滴します。遺伝子を入れた細胞を点滴する前後で、安全確認のため、体温、呼吸、血圧などの全身状態を注意深く観察します。また、この段階ではあなたの免疫は著しく低下しているため、生活面で一定の制限があります。

なお、具体的な内容については、入院時に医師や看護師より説明があります。

⑧ 一般病室への移動

この臨床研究で使用するレトロウイルスベクター^{☆iv}の安全性は確立されたものですが、あなたの身体の中に感染能力のあるウイルスがでていないかを確認するために、造血幹細胞を戻した後、あなたの血液や尿を調べます。このような感染能力があるウイルスが検出させず、造血能も回復したら、クリーンルームから一般病室に移ります。一般病室に移るまでの期間は、個人差があり明確には示せませんが、およそ2～4週間を予定しています。一般病室に移り、検査でも問題がないと判断されたら、退院することができます。遺伝子治療の全入院期間は、約3ヵ月程度の予定です。

☆ivレトロウイルスベクターについては付録用語集をご覧ください。

⑨ 退院後

退院後も定期的に免疫科を受診していただき、治療の効果や副作用などを確認します。感染症にかかった回数や、抗生剤を使用の有無、学校や仕事を休んだ回数なども確認します。

退院後1年目まで1ヵ月毎に診察と検査が必要となります。免疫科には、3ヵ月毎に受診してください。それ以外は、かかりつけの病院を受診することもできます。

1年目以降5年間は、3ヵ月毎に診察と検査を行います。当免疫科は、6ヵ月毎に受診してください。骨髄検査があるときは、入院することがあります。

詳しくは、別紙「スケジュール表」をご確認ください。

⑩ 退院後5年以降のフォローアップ

長期にわたり、この遺伝子治療の安全性と有効性を評価するために、あなたの病状や血液検査を確認する必要があります。できるだけ1年毎に、免疫科を受診していただきますが、困難な場合は、かかりつけの医療機関を受診することも可能です。その医療機関からあなたの情報を提供して頂く必要がありますので、かかりつけの医療機関名、所在地、連絡先等をお知らせください。

6. この研究の参加により期待される効果と、予想される不利益

1) 期待される効果について

この臨床研究で行われる遺伝子治療が治療効果を示すと、現在、発症している重い感染症がおさまり、その後も慢性肉芽腫症による重い病状が発症しにくくなることが予想されます。これは、2006年に同一プロトコールで行われたアメリカの遺伝子治療で、遺伝子治療を受けた3名のうち2名の方で肝膿瘍や肺膿瘍などの感染症が治り、その後も重い感染症を発症していないことから推測されます。ただ、残念ながら残り1名の方は全く治療効果を確認できず、感染症は治癒しませんでした。具体的な内容を下記の表に示します。

	症例 1	症例 2	症例 3
年齢	28 歳	28 歳	19 歳
遺伝子導入効率	73%	41%	25%
移植直後の遺伝子導入細胞の比率	26%	5%	4%
最終的な遺伝子導入細胞の比率（期間）	0.7~1% (3 年)	0%	0.03% (2 年)
遺伝子治療前の感染症	ブドウ球菌の巨大肝膿瘍。3~6 ヶ月ごとに感染症に罹患	真菌肺感染症 (Paecilomyces)。胸部から肋骨にわたり膿瘍を形成し、2 年間のドレナージ施行	アスペルギルス肺炎。1 年間の抗真菌剤にて改善せず。
遺伝子治療後の感染症	新たな肝膿瘍	真菌感染症のため 6 ヶ月後に死亡。移植準備中	肝膿瘍を 1 回発症
遺伝子治療後の治療	抗生剤のみで軽快	ICU 管理	外科的切除と抗菌剤にて現在は軽快
遺伝子治療の感染予防効果	あり	なし	あり

このような遺伝子治療の効果は患者さんごとで大きく異なり、また、症状の回復程度や治療効果が続く期間も患者さんによって異なることが予想されます。慢性肉芽腫症により発症する腸炎に関しては造血幹細胞移植により治ることから、今回の遺伝子治療により良くなることは期待されますが、現在まで腸炎に対しての遺伝子治療は行われておらず、その治療効果に関しては断定できません。

遺伝子治療に使われる造血幹細胞は、もともとあなたの細胞ですから、これまで行われてきた輸血や顆粒球輸注あるいは同種造血幹細胞移植とは異なり、重度のアレルギー反応や移植片対宿主病を合併することはありません。

2) 予想される不利益

(1) 薬の副作用や手技に関する危険性

・遺伝子導入細胞は体外で培養されているため、時にアレルギー反応（かゆみ、発疹、発熱）が起こることがあります。

・造血幹細胞を採取することによって、採血部位に出血や感染症が起こることがあります。また、細胞採取中に全身の倦怠感、手足のしびれ、めまい、吐き気、嘔吐などが発症する場合があります。

・G-CSFは血液中の造血幹細胞を増やす薬ですが、時に関節痛や筋肉痛などの全身の痛み、発疹、吐き気、嘔吐、頭痛、発熱、食欲不振などが起こります。また、重度の副作用としてアレルギー性ショック、間質性肺炎、血圧の低下、心筋梗塞、脳血管障害、脾臓の破裂などがあります。

・ブスルファンには以下のような副作用があります。

【吐き気とけいれん】

吐き気や嘔吐は70%以上の患者さんで認められます。このため、吐き気が強いときは、点滴で吐き気止めを使用します。また、けいれんはブスルファンが脳脊髄液中に流れ込むことで起こるといわれ、重大な副作用です。その発症頻度は、けいれん予防薬を使用しない場合は、10%以上で起こると報告されています。このため、今回の臨床研究では、ブスルファンを点滴する前には抗けいれん薬を使用し、また、ブスルファンを複数回に分け、ゆっくりと点滴することでけいれんを予防します。

【造血機能抑制】

ブスルファンを使用することで、造血能が低下します。そのため、使用後に複数回血液検査を行い、必要であれば輸血等を含めて迅速に対処いたします。

なお、ブスルファンの影響で、免疫の機能も一定期間低下します。免疫の機能が回復するまでは、感染症を予防するためにクリーンルームに入室していただきます。

【肝障害】

重大な副作用として、肝中心静脈閉塞症があります。これは肝臓の細い静脈が急速につまり、肝臓が急激に腫れ、腹水（おなかに水が貯まる）や黄疸をきたす病気です。

その発症はブスルファンの使用例の7.5%でおこり、肝中心静脈閉塞症により急激に肝不全が進行すると、死亡することもあります。

【生殖細胞への影響】

マウスなどの動物実験から、ブスルファンにより生殖細胞（精子）が障害されると報告されています。今回使用する用量は、通常の造血幹細胞移植で使用される量と比べて少なく、あなたの生殖細胞がどの程度、障害を受けるかはわかりませんが、将来、子どもを持つ際に何からの影響がある可能性があります。

(2) あなたに戻した造血幹細胞が骨髄に定着しない危険性

今回使用する細胞はあなたの造血幹細胞ですから、あなたの骨髄に定着しない可能性は低いと思われます。ただ、何らかの原因により投与した細胞が定着せず、ブスルファンによる造血能の抑制が遷延する危険性が考えられます。そのような状態が長引くと、造血能が低下して貧血、感染症の悪化、出血などを合併することがあります。その場合

には、予備として保存しておいたあなたの造血幹細胞を点滴します。しかし、この治療を行っても造血能が回復しない場合は、緊急処置として臍帯血を含めた HLA 不完全一致の造血幹細胞移植が必要な場合もあります。

(3) レトロウイルスベクターの危険性

一般にウイルスは、次から次に周囲の細胞に感染することで増えていきますが、今回使用するレトロウイルスベクターは遺伝子治療用に関与されたもので、安全性の面から、周りの細胞に感染しないよう工夫されています。そのため、あなたの身体で新しいウイルスが出現する可能性は極めて少ないと考えられます。ただ、何らかの原因でこのような感染性ウイルスが発生する危険性もあります。万が一、そのようなウイルスが出現した際は抗ウイルス薬等を用いて早急に対処します。

(4) 重大な危険性 遺伝子を入れた細胞のがん化

今回の遺伝子治療では、正しく機能する遺伝子をあなたの造血幹細胞に入れるためレトロウイルスを使用します。このレトロウイルスは染色体に入るとき、特定の場所だけに入るのではなく、いろいろな場所に入ることが分かっています。特に、最近の研究からレトロウイルスは私たちがもともと染色体のなかに持っている「がん遺伝子」(「がん」の原因となる遺伝子) や「がん抑制遺伝子」(「がん」の発生を抑える遺伝子) の近くに入りやすいことが明らかになりました。このように、もし、あなたの染色体に入ったレトロウイルスが「がん遺伝子」を活性化(遺伝子を動かすこと)したり、「がん抑制遺伝子」を不活性化(遺伝子の働きを止めること)したりすると、がん(白血病)を発生する危険性があります。

実際、2002年10月に次のような有害事象がフランスより報告されました。それは、X連鎖重症複合免疫不全症に対して行われた造血幹細胞遺伝子治療において白血病が発症したというものでした。X連鎖重症複合免疫不全症は重い免疫不全症の一つで、共通ガンマ鎖という遺伝子に異常があることが知られており、造血幹細胞遺伝子治療では患者さんの造血幹細胞にレトロウイルスベクターにてこの共通ガンマ鎖遺伝子を入れ、再び、患者さんに戻しました。現在まで11名の方がこの遺伝子治療を受け、9名の方で治療が成功し、患者さんは通常の日常生活を送れるようになりました。しかし、4番目に遺伝子治療を受けた方が、急性リンパ性白血病(血液のがん)を発症しました。ただ、この方はすぐに化学療法を受けられ、白血病は寛解になり(治まった状態)、再び、通常の日常生活を送れるようになっていました。白血病が起こった原因は、治療に使用したレトロウイルスベクターが染色体に入ったとき、近くにあった「がん遺伝子」を活性化したためと考えられていますが、このようにフランスでは遺伝子治療を受けられ、白血病を発症した患者さんは現在まで4名おられ、うち1名は治療の効果なく亡くなっています。また、同様の遺伝子治療を行ったイギリスでも10名中1名で白血病を発症しています。

一方、慢性肉芽腫症に対する遺伝子治療では、使用したレトロウイルスベクターの種類がドイツ・スイスとアメリカでは異なり、ドイツ・スイスでのベクターの方が強力なものが使用されています。その結果、他の国と比べ長期にわたる治療効果が得られましたが、逆にウイルスベクターの強さが原因と思われる副作用が出現し、治療を受けた患者さん4名中3名で重い血液の病気(骨髄異形成)を発症しました。ただ、アメリカでは比較的弱いレトロウイルスベクターを使用したため、ドイツ・スイスのような治療効果を確認できた症例は一例のみでしたが、現時点(2010年)で重い血液の病気を発

症した患者さんは一名もおられません。なお、イギリスでの遺伝子治療のうち1名がアメリカで使用されたベクターを使用し、残り3名がドイツ・スイスで使用したベクターを使用しましたが、いずれの患者さんにおいても白血病を発症しておりません。また、韓国で行われた遺伝子治療ではアメリカで使用されたベクターに近いベクターを使用しましたが、白血病等の有害事象は発症していません。

以下の表に、遺伝子治療に伴って発症した白血病など重い血液の病気の頻度をまとめました。

病名	実施国	遺伝子治療患者(人)	重い血液の病気	病気別の頻度
X連鎖重症複合免疫不全症	フランス	12	4人(白血病)	5/26人
	イギリス	11	1人(白血病)	
	アメリカ	3	0	
慢性肉芽腫症	ドイツ・スイス	4	3人(骨髄異形成)	3/13人
	イギリス	4	0	
	アメリカ	3	0	
	韓国	2	0	
ADA欠損症	イタリア	15	0	0/32人
	アメリカ	6	0	
	イギリス	9	0	
	日本	2	0	
WAS	ドイツ	10	1	1/10人
合 計				9/81人

今回の臨床研究は、レトロウイルスベクターを含め、アメリカで行われた遺伝子治療とほぼ同一の方法で行われますので、この臨床研究で白血病などのがんが発症する危険性は高くないと思われれます。ただ、遺伝子治療によって白血病が発症するメカニズムは、いまだ十分には解明されておらず、また、疾患は異なるとは言え、今回使用するベクターはX連鎖重症複合免疫不全症において白血病を起こしたベクターとほぼ同一のものでありますから、あなたに白血病が発症する危険性は否定できません。

白血病などを発症した際には、抗がん剤治療を含め、適切な治療を行います。必要に応じて、臍帯血を含めた造血幹細胞移植を実施することも考慮します。

なお、今回の臨床研究ではこれら白血病の発症を予測し、また、早期に発見するために欧米で採用されている最新の検査技術を導入し、危険性を最小限に抑えるように努めています。

(5) 免疫の機能が回復しない危険性

たとえ、あなたの身体にもどした造血幹細胞が骨髄に定着し造血能が回復しても、遺伝子を入れた細胞が十分に働かない場合、あなたの免疫の機能(病原体を殺菌する能力)は回復しません。この場合、現在行っている抗生剤、抗真菌剤、インターフェロン・ガンマ等の治療を継続することになります。しかし、それでも慢性肉芽腫症による症状が悪化する時には、非血縁者骨髄あるいは臍帯血を用いた造血幹細胞移植も考慮します。その場合には、再度、その内容を詳細に説明します。ただし、今回の臨床研究ではこのような場合でも、同様の遺伝子治療を繰り返し行うことはありません。

(6) 子どもを持つ際の問題点

今回、使用するレトロウイルスベクターがあなたの生殖細胞（精子）に影響を与える可能性は極めて低いと思われませんが、その危険性を完全に否定することは出来ません。そのため、一定期間（5 年程度）の避妊にご協力ください。

7. この臨床研究に参加されない場合の治療法

今回の臨床研究に参加されない場合は、下記のような治療法を継続あるいは提案いたします。

(1) 薬物療法

重い感染症にかかっている方は、いままで通り抗生剤や抗真菌剤による治療を継続します。また、インターフェロン・ガンマ治療は、慢性肉芽腫症の 3 割の方に有効であると考えられ、国内では慢性肉芽腫症の方のうち約 40%の方が週 1～3 回程度受けています。

感染症以外に、肉芽腫によって様々な臓器障害をきたしている方には、必要に応じてステロイド治療を行います。

(2) 外科的治療法

上記の薬物治療を行っても、症状が改善しない場合、手術によって病気の部位を取り除くこともあります。しかし、病気の部位や程度によっては摘出できないこともあります。

(3) 臍帯血あるいは非血縁者からの造血幹細胞移植

慢性肉芽腫症に対する根本的な治療は、HLA が一致したご家族（血縁）からの造血幹細胞移植（同種造血幹細胞移植）です。しかし、一致する方がいない時は、骨髄バンクや臍帯血バンクから HLA が一致する方を探すことになります。ただ、このような条件で幹細胞移植を行う場合、最低でもドナーと患者の方の HLA が 5/6 以上一致することが望めます。それ以下の条件で移植を行っても、重い副作用（移植片対宿主病など）や移植した細胞が拒絶される可能性も高いため、積極的には勧めていません。ただ、病状によっては慎重な判断が求められるため、移植の詳細については血液専門の医師から説明させていただきます。

8. 臨床研究参加に伴う費用について

この臨床研究に係わる費用は、健康保険等の公的な医療保険は適応されません。そのため、臨床研究に参加するために必要な費用、たとえば治療用レトロウイルスベクターの費用や遺伝子導入細胞の調製費、また、その際に使用する薬剤の費用、ならびに今回の遺伝子治療臨床研究の安全性を確認するための必要な検査や個室使用料等は、この臨床研究費用にて負担します。ただし、今回の遺伝子治療臨床研究期間中であっても、遺伝子治療に直接関係しない、病状に対する治療費などはこれまでどおり公的医療保険が適応され、あなたの負担となります。

なお、この遺伝子治療に参加することでの協力費などは支払われません。

9. 健康被害に対する治療と補償について

この臨床研究に参加したことにより、あなたに好ましくない症状があった場合には、適切な治療及び処置を行います。この医療の提供をもって補償といたします。その際、診察や治療にかかる費用は臨床研究費用にて負担します。金銭的な補償はありませんので、ご了承ください。また、補償の対象となるのは、その健康被害がこの臨床研究に起因するものに限られ、遺伝子治療に直接関係しない、病状に対する治療費などはこれまでどおり公的医療保険が適応され、あなたの負担となります。あなたやご家族の方の故意や重大な過失による健康被害に関しては補償の対象とはなりませんので、ご了承ください。

10. 新たな情報の提供について

今回の臨床研究に関連する新たな情報等を、担当医師が入手した際は速やかにお伝えしますので、この臨床研究に参加するかどうかの意思決定にお役立てください。また、治療を受けられた後も、欧米で先行して行われている遺伝子治療の情報も速やかにお伝えいたします。

11. プライバシーの保護について

この臨床研究がきちんと行われているかどうか調べるために、厚生労働省などの人たちが、あなたのカルテなど資料を見る場合があります。あなたのカルテなど、個人を特定する情報（お名前、生年月日、カルテ番号、住所、電話番号など）は、個人情報の保護に関する法律に従って取り扱われます。この遺伝子治療臨床研究を共同で行う他の施設の研究者もこれに従います。よって、あなたの個人情報は守られます。

今回の遺伝子治療臨床研究については、その安全性や有効性を公の場で正式に評価するために、治療成績、副作用の発生につきましては公開が原則となっております。ただし、そのような場合でも、公開される内容については、あなたと特定できないように配慮いたします。最終的な研究の結果は、学術誌や学会等で公表されることもありますが、その際にあなたのお名前や個人を特定できるような情報を使用することはありません。

なお、この臨床研究の参加に同意され、同意書に署名することは、あなたのカルテの閲覧をご了承いただいたこととなります。

12. 知的財産権の帰属について

この臨床研究の結果により、新たな知見が得られることがあります。その際に生じる特許、その他知的財産に関する権利は、あなたにではなく、(独)国立成育医療研究センターに帰属します。

13. 保存サンプルに関して

あなたの血液が予定された検査に使用された後、血液検体につきましては保存したいと考えております。この保存サンプルは、将来、予期せぬ副作用などが発生した際、必要な検査を行うために使用されます。

保存期間は10年間を予定しています。保存サンプルは、症例番号によって匿名化されますので、個人が特定されることはありません。また、保存期間を越えた保存サンプルは自動的に破棄されます。ただし、副作用が発生し検査をさらに追加する必要がある場合、あなたが同意された場合のみ、保存期間は延長されます。

なお、これら保存サンプルの所有権は国立成育医療研究センターに帰属し、保存サンプルの返還請求は応じかねます。

14. データの二次利用について

この研究のために集められたデータを、この研究とは別の目的の研究で利用することがあります。現時点では計画・予測されていないものの、将来非常に重要な検討が必要となる場合です。こうしたデータの二次利用に関しては、再同意取得を含め国立成育医療研究センターに設置された倫理委員会の判断に従って行われます。ただし、この際も「二次利用」データに個人の特定できる情報を含むことはありません。

15. お願いしたいこと

- 1) この臨床研究期間中は、医師の指示に従ってください。
- 2) 別の病気にかかり他の医師の診療を受ける場合は、担当医師にお知らせ下さい。
- 3) 遺伝子治療後のあなたの健康状態や治療効果を確認する必要があります。
また、遺伝子治療は、急速に発展する治療であり、新しい情報が得られた時にはすぐにお伝えしますので、住所や電話番号など連絡先が変わった際には速やかにご連絡ください。
- 4) この遺伝子治療は、あなたの生殖細胞（精子）に影響を与える可能性は極めて低いと思われませんが、その危険性はいまだ不明なため、一定期間（5年程度）の避妊をお願いします。

16. 臨床研究参加に対する拒否および撤回について

この臨床研究への参加に同意するかどうかは、あなたの自由意思によるもので、誰からも強要されるものではありません。もちろん、必要な場合には誰かに相談していただいてもかまいません。またこの臨床研究に参加することに一旦同意した場合でも、いつでもこの臨床研究への参加を取りやめることができます。

ただし、ブスルファンの点滴により長期間白血球数を減少させ、重症な感染症を引き起こす危険性があります。一旦、ブスルファンを点滴した後は、遺伝子の入った細胞をあなたの身体に戻すことをお勧めします。

また、造血幹細胞を点滴した後に参加を取り止めた際でも、あなたの健康状態を確認するための検査だけは継続したいと考えておりますのでご協力ねがいます。

17. 相談窓口

この臨床研究に関する薬剤や検査のことでわからないことや、心配なことなどがありましたら、いつでも遠慮なく担当医師にお尋ねください。あなたが理解できるまで十分に説明をいたします。

《担当医師の連絡先》

担当医師名	河合 利尚
所属	国立成育医療研究センター病院 免疫科
連絡先	(03) 3416-0181 (代)

《研究代表者 研究事務局》

臨床研究責任者	小野寺 雅史
所属	国立成育医療研究センター病院 免疫科
所在地	〒157-8535 東京都世田谷区大蔵 2-10-1 TEL:03-5494-7295



《スケジュール》

スケジュール		造血幹細胞採取						入院	前処置							投与直後観察							将来的観察		長期的観察			
		登録前	8週前	0日目	1日目	2日目	3日目		4日目	5日目	6日目	4日前	3日前	2日前	1日前	U日	1日目	2日目	3日目	4日目	5日目	6日目	7日目	2週間	3-8週間	3-12カ月	13-60カ月	5年目以降
外来	○	○	△*																							△*	△*	○
入院								○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○					
臨床研究の説明	○																											
同意の確認	○																											
患者適性評価 (病歴等)	○																											
診察		○							○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○					○	
登録時検査*		○																										
骨髄検査*		○																									○	
血液一般検査		○							○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○					○	
生化学検査(免疫学的検査含む)		○							○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○					○	
感染症の検査*		○							○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○					○	
特殊検査*		○							○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○					○	
尿検査		○							○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○					○	
CT画像検査				○																								
G-CSF投与				○	○	○	○	○																				
造血幹細胞採取								○																				
マスアンプルの点滴								○	○	○	○	○	○															
造血幹細胞の投与									○					○														

△:外来と入院の場合あるとき ○:必須です ★スケジュールに沿って実施します

*1:必要の場合入院

*2:登録時の検査(血液検査、尿検査、感染症の検査(HIV、HBs、HCV、梅毒)、CT検査、心電図検査、心エコー検査、肺機能検査、骨髄検査)

*3:骨髄検査(入院することがあります。)

*4:感染症の検査(β-D2グルカナーゼ、チラリアリアス、ウイルス抗原、抗体検査)

*5:特殊検査(末梢好中球gp130検査、好中球活性酸素産生能検査...移植した血液のたまたまをみる検査)

※造血幹細胞の6ヵ月後からは、骨髄検査と特殊検査があるときは、国立成育医療研究センターに受診して頂きます。その以外に、かかりつけの病院で検査をすることもできます。

右座のため、中心静脈のカテーテルを挿入します。

《付録 用語集》

☆ i 【NADPHオキシダーゼ】

NADPH酸化酵素と呼ばれ、好中球はこの酵素の働きで病原体を殺菌するために必要な活性酸素をつくります。この酵素は6種類のタンパク質から成り、主に顆粒球に存在します。

X連鎖慢性肉芽腫症の方では、この酵素の一つであるgp91^{シービー91}phoxと呼ばれるタンパク質が機能しないため、活性酸素をつくることができません。

☆ ii 【X連鎖慢性肉芽腫症】

形質の遺伝パターンを遺伝形式と呼び、常染色体優性、常染色体劣性、X連鎖性に分類されます。2本一組で存在する染色体は父親と母親のそれぞれに由来し、染色体には常染色体と性別で異なる性染色体があります。性染色体が2本ともX染色体であれば女性、X染色体とY染色体であれば男性となります。

常染色体の2本のうち、どちらかに異常があっても発症しない遺伝形式を「常染色体劣性遺伝」といいます。また、X連鎖遺伝では、性染色体のうち1本のX染色体に病気の原因になる遺伝子がありますが、女性は他方に正常なX染色体をもつため発症しません。しかし、男性はX染色体を1本しかもたないため、X染色体に病気の遺伝子があると病気は発症します。X連鎖慢性肉芽腫症の方は、X連鎖遺伝の遺伝形式をとります。

☆ iii 【顆粒球コロニー刺激因子 G-CSF】

主にマクロファージからつくられるサイトカインで、骨髄を刺激して好中球などの白血球を多くつくりさせる作用をもちます。医薬品として、この遺伝子組み換え製剤が好中球の減少した方に使用されています。また、骨髄の造血幹細胞を血液中へ放出する作用ももっており、血液から造血幹細胞を採取する際に使用されます。

☆ iv 【レトロウイルスベクター】

細胞に遺伝子を導入する目的で使用する、遺伝子の「運び屋」です。もともと自然界にいるウイルスは、ヒトなどの細胞に感染する能力を持っています。なかでも、レトロウイルスは感染した細胞の染色体に自らの遺伝子を入れる特徴をもちます。さらに、病原性を限りなく除去するとともに、ヒトの造血幹細胞に効率よく感染するように人為的に改良したレトロウイルスをレトロウイルスベクターといいます。

【前処置】

骨髄には血液の細胞をつくる造血幹細胞で隙間なく占められています。そのため造血幹細胞移植や遺伝子治療の際に、移植された造血幹細胞が骨髄に入り込む「場所」をつくる必要があります。前処置は、移植をする直前に、薬剤を使ってあなたの骨髄にある造血幹細胞を減らし、「場所」をつくるために行われます。

【造血能】

造血幹細胞は、白血球、赤血球、血小板など血液の細胞をつくったり、自分自身を複製したりする能力を持っています。この能力を造血能と呼びます。

【脳脊髄液】

頭蓋骨の中で、脳の周りは脳脊髄液で満たされています。脳脊髄液は脳や脊髄を取り囲むように循環しており、脳や脊髄神経が安定して機能するように緩衝する役割を担っています。

【間質性肺炎】

「呼吸」によって取り込まれた酸素は、気道から肺の奥にある「肺胞」と呼ばれる部屋に運ばれ、そこで血液中の二酸化炭素とガス交換されます。間質性肺炎は、細菌やウイルスの感染症によっておこる一般的な肺炎とは異なり、肺胞の壁に炎症がおこり肺胞壁が厚く硬くなるため、呼吸をしてもガス交換ができにくくなる病気です。特殊な感染症やリウマチ性疾患、薬剤など原因は様々ですが、重症になることも多く治療が難しいため、予防することが大切です。

【X連鎖重症複合免疫不全症】

リンパ球が正常につくられないためにおこる免疫不全症です。生後まもなくから重症な感染症を繰り返すため、造血幹細胞移植などの根本的な治療がすみやかに行われなければ、救命されない重篤な病気です。

【ADA欠損症】

ADA欠損症は重症複合免疫不全症の亜型で、アデノシン・デアミナーゼ(ADA)という酵素の働きが著しく低下しているためにおこる免疫不全症です。このため、リンパ球が減り免疫の機能が低下するため、感染症を繰り返し、重い感染症にもかかります。

【WAS：Wiskott-Aldrich (ウイスコット・アルドリッチ) 症候群】

Wiskott-Aldrich 症候群(以下 WAS)は、WASP 遺伝子の異常によっておこる免疫不全症です。感染症を繰り返すだけでなく、血小板が減少するため出血し易くなったり、アトピー性皮膚炎に類似した難治性の湿疹がみられたりします。

同意書

カルテ ID: _____

氏名: _____

独立行政法人国立成育医療研究センター 総長 殿

臨床研究名：慢性肉芽腫症に対する造血幹細胞を標的とした遺伝子治療臨床研究

説明内容：下記の項目について理解できたものに☑チェックしてください。

- 治療は臨床研究であること
- 臨床研究の参加は自由であり、参加しない場合でも不利益を受けないこと
- 臨床研究で行う遺伝子治療について
- この臨床研究の対象者
- 臨床研究の方法について
- 臨床研究による期待される効果と不利益
- この臨床研究に参加しない場合の別な治療法
- 臨床研究の参加に伴う費用について
- 健康被害に対する治療と補償について
- プライバシーの保護について
- 知的財産権について
- 保存サンプルの取り扱いについて
- データの二次利用について
- 臨床研究参加に対する拒否及び撤回について
- 相談窓口と連絡先

上記の臨床研究について、わたしが説明しました。

説明年月日：西暦 _____ 年 _____ 月 _____ 日

説明担当医師署名： _____

上記の臨床研究について、わたしが説明補助を行いました。

説明年月日：西暦 _____ 年 _____ 月 _____ 日

説明担当者： _____

上記の臨床研究について担当医師から説明を受け、よく理解しましたので、臨床研究に参加します。

同意年月日：西暦 _____ 年 _____ 月 _____ 日

患者さんのご署名： _____ (年齢 _____ 歳)

代諾者のご署名： _____ (続柄 _____)

*口頭によるアセントを取得(6歳以上)： した しない

同意撤回書

国立成育医療研究センター総長
加藤 達夫 殿

私は、「慢性肉芽腫に対する遺伝子治療臨床研究」への参加に同意したことを撤回いたします。

平成 年 月 日

被験者 住所
氏名 印

代諾者 住所
氏名 印

「慢性肉芽腫に対する遺伝子治療臨床研究」の臨床研究について、同意の撤回を確認いたしました。

説明医師 所属
氏名 印

同席医師 所属
氏名 印



厚科審第29号

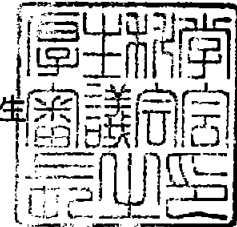
平成23年11月2日

科学技術部会部会長

永井 良三 殿

厚生科学審議会会長

垣添 忠生



遺伝子治療臨床研究に係る生物多様性影響評価について（付議）

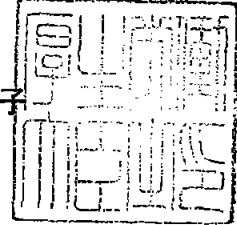
標記について、平成23年11月2日付厚生労働省発科1102第2号をもって厚生労働大臣より諮問があったので、厚生科学審議会運営規程第3条の規定に基づき、貴部会において審議方願いたい。

厚生労働省発科 1102 第 2 号
平成 23 年 11 月 2 日

厚生科学審議会会長

垣添 忠生 殿

厚生労働大臣 小宮山 洋子



諮 問 書

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

記

1. 申請日 平成 23 年 9 月 22 日

申請者 東京大学医学部附属病院 病院長 門脇 孝

遺伝子治療臨床研究の名称

ホルモン療法抵抗性再燃前立腺癌に対する増殖型遺伝子組換え単純ヘルペスウイルス G47Δ を用いたウイルス療法の臨床研究

遺伝子組換え生物等の名称

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 (G47Δ)

2. 申請日 平成 23 年 9 月 29 日

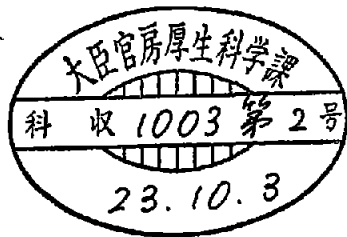
申請者 国立成育医療研究センター 総長 加藤 達夫

遺伝子治療臨床研究の名称

慢性肉芽腫症に対する造血幹細胞を標的とした遺伝子治療臨床研究

遺伝子組換え生物等の名称

ヒト cytochrome b-245, beta polypeptide (CYBB) 遺伝子を含み、マウスアンフトロピックウイルス 4070A のエンベロープタンパク質を有する増殖能欠損型モロニーマウス白血病ウイルスベクター-MFGSgp91

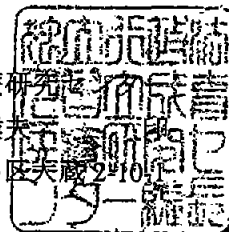


第一種使用規程承認申請書

平成23年10月29日

厚生労働大臣 殿
環境大臣 殿

所 属 国立成育医療研究センター
申請者 加藤 達夫
住 所 東京都世田谷区大蔵2-10-1



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に確保に関する法律第4条第2項(同法第9条第4項において準用する場合を含む)の規定により、次の通り申請します。

<p>遺伝子組換え生物等の種類の名称</p>	<p>ヒト cytochrome b-245,beta polypeptide (CYBB)遺伝子を含み、マウスアンプルオトロピックウイルス 4070A のエンベロープタンパク質を有する増殖能欠損型モロニーマウス白血病ウイルスベクター MFGSgp91</p>
<p>遺伝子組換え生物等の第一種使用等の内容</p>	<p>治療施設におけるヒト遺伝子治療を目的とした使用、保管、運搬及び廃棄ならびにこれらに付随する行為</p> <p>遺伝子治療臨床研究実施施設の名称及びその所在地 国立成育医療研究センター病院及び研究所 〒157-8535 東京都世田谷区大蔵 2-10-1</p>
<p>遺伝子組換え生物等の第一種使用等の方法</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. 本遺伝子組換え生物 MFGSgp91 (以下、「本遺伝子組換え生物」と記す) は、容器に密封後、凍結状態で治療施設に輸送され、施設内の施錠可能な保存室内の冷凍庫にて保管する。 2. 凍結状態の本遺伝子組換え生物の融解、希釈及び分注操作は P2 レベルの拡散防止措置を執ることができる細胞調製室 (以下、「細胞調製室」と記す) の安全キャビネット内または細胞調製室内での閉鎖系バッグにて行う。患者由来末梢血 CD34 陽性細胞 (以下、「造血幹細胞」と記す) への本遺伝子組換え生物の導入操作、それら細胞の培養、その他、本遺伝子組換え生物の希釈溶液及び本遺伝子組換え生物導入細胞の取り扱いもすべて同様に細胞調製室の安全キャビネット内または細胞調製室内での閉鎖系バッグにて行う。本遺伝子組換え生物の希釈液及び遺伝子導入細胞の保管は、細胞調製室内の冷凍庫及び冷蔵庫または培養器にて行う。なお、本遺伝子組換え生物希釈液もしくはその冷凍品または本遺伝子組換え生物を、開放系区間を通して他の P2 レベル区域に運搬する場合には、二重に密封した容器に入れて運搬する。 3. 本遺伝子組換え生物液 (希釈液を含む) または本遺伝子組換え生物導入細胞を廃棄する際には、滅菌操作を行った後、本施設で定められた感染性廃棄物処理規程 (以下、「感染性廃棄物処理規程」と記す) に

従い、廃棄する。

4. 被験者に対する本遺伝子組換え生物導入細胞の投与は、環境中への拡散防止措置を適切に執った個室（以下「クリーンルーム」と記す）内で輸注により行う。なお、投与時に本遺伝子組換え生物導入細胞に直接接触した注射針、注射器、チューブ等の器具類は使い捨てとし、クリーンルーム内で適切に滅菌操作を実施した後、感染性廃棄物処理規程に従い廃棄する。
5. 投与後3日まで、被験者をクリーンルーム内の個室で管理し、検査等の理由で被験者が一時的にクリーンルーム外の開放区内に出る場合には、マウス及びガウン着用等のウイルス漏出予防措置を義務付ける。また、投与後3日目の被験者クリーンルーム管理解除は、被験者血液細胞ならびに血漿中の RCR が陰性であることを確認してから行う。なお、RCR が確認されたときはクリーンルームにおける管理を継続する。
6. クリーンルームにおける管理期間中の被験者の血液及び体液は、その都度適切に滅菌操作し、感染性廃棄物処理規程に従い廃棄する。また、被験者の尿及び糞便等の排泄物は、投与翌日以降に行われる被験者の血液を用いた PCR にて自己増殖能を獲得した野性型レトロウイルス（以下、「RCR」と記す）の存在が否定されるまで、クリーンルーム内で適切に滅菌操作を行い、感染性廃棄物処理規程に従い廃棄する。なお、臨床検体として使用する被験者の排泄物取り扱い、本遺伝子組換え生物溶液及び本遺伝子組換え生物導入細胞の取り扱いに準ずる。
7. クリーンルーム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及び被験者の排泄物等に接触した器具は、クリーンルーム内で適切に滅菌操作を実施した後、感染性廃棄物処理規程に従い廃棄するかまたはクリーンルーム内で十分に洗浄する。
8. クリーンルームにおける管理解除後に被験者の血液細胞または血漿から RCR が検出された場合は、直ちに被験者をクリーンルームにおける管理下に移し、上記、(5)から(7)までと同様の措置を執る。

生物多様性影響評価書

I 宿主または宿主の属する分類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

レトロウイルスは逆転写酵素を内包する RNA ウイルスの総称で、現在、7種に分類され、そのうち 5 種類は腫瘍形成能を有するオンコウイルス (oncovirus) で、他はレンチウイルス (lentivirus) とスプーマウイルス (spumavirus) に分けられる (文献 1)。遺伝子治療用ベクターとして広く使用されているレトロウイルスはガンマレトロウイルス属に分類するマウス白血病ウイルス (murine leukemia virus; MLV) で、AKR や C58 系マウスなどでの自然発症白血病原ウイルスとして同定された。MLV のうち、実験室内で sarcoma 37 細胞の継代培養により分離されたウイルスが Moloney murine leukemia virus (MoMLV) で、この MoMLV は発がん遺伝子を持たず、マウスの年齢や系統にかかわらず感染し、長期間感染したマウスにリンパ性白血病を発症することが報告されている (文献 2)。MoMLV はマウスやラット等の齧歯類のみに感染し、ヒトに対して感染性、病原性は有しない (文献 3)。

文献 1. Buchen-Osmond C ed, ICTVdB - The Universal Virus Database, version 3. ICTVdB Management, Columbia University, New York, USA (2004).

文献 2: Moloney JB. Biological studies on a lymphoid leukemia virus extracted from sarcoma 37. I. Origin and introductory investigations. J Natl. Cancer Inst 24: 933-947, 1960.

文献 3: Coffin JM, Hughes S, Varmus HE ed., Retroviruses, pp14, 478-502, Cold Spring Harbor Laboratory Press (1977).

2 使用等の歴史及び現状

レトロウイルスは、医学生物領域において遺伝子導入用ベクターとしての応用が最も進んだウイルスで、米国で行われた最初の遺伝子治療臨床研究においても MoMLV を宿主とした遺伝子組換え生物が用いられた (文献 4)。現在、遺伝子治療/遺伝子マーキングの臨床プロトコルで、このレトロウイルスを基とした遺伝子組換え生物を用いたものが全体の約 21% を占めている (文献 5)。

文献 4. Blaese RM, et al. T lymphocyte-directed gene therapy for ADA-SCID: Initial trial results after 4 years. Science 270: 475-480, 1995.

文献 5. <http://www.wiley.co.uk/genethrapy/clinical/>

3 生理学的及び生態学的特性

1) 基本特性 (文献 6)

MoMLV の径はおよそ 80~100 μ m で、ゲノムを内包するコアとそれを取り囲む外被 (エンベロープ) よりなる。コアは主としてカプシドタンパク (CA) により構成され、その中に 2 分子の 10kb 程度のプラス鎖 RNA ゲノムを有する。その他、逆転写酵素 (RT)、インテグラーゼ (IN)、プロテアーゼ (PR)、核酸結合タンパク質 (NC) もコア内部に存在する。外被はウイルス産生細胞由来の脂質二重膜に由来し、外被とコアの間にはマトリックスタンパク質 (MA)、外被には細胞表面において表面タンパク質 (SU) と結合する膜貫通タンパク質 (TM) が貫通している。

2) 生育または生育可能な環境の条件

MoMLVはマウス、ラットなどの齧歯類の細胞しか感染せず、また、その宿主細胞に感染した場合のみ増殖が可能である。MoMLVは比較的不安定なウイルスで、体液や培養液中などの限られた環境でしか感染性を保持しない。なお、常温においてウイルスの感染力は2時間程度で失活する

3) 捕食性または寄生性

自然界では、マウス、ラットなどの齧歯類のみに感染が成立し、ウイルスゲノムは自らが持つ逆転写酵素によりDNAに変換され、宿主染色体に挿入される。他の生物を捕食することはない。

4) 繁殖または増殖様式

レトロウイルスは感染した動物の血液、体液（唾液、精子、母乳）に存在し、それらに触れることで新たな感染が生ずる（水平感染）。また、ほぼ100%のマウスが内在性レトロウイルスゲノムを染色体に有し、生殖行為により子孫へと伝播していく（垂直感染）。

増殖様式は、(1)吸着、(2)侵入、(3)逆転写、(4)宿主染色体への組み込み、(5)RNA合成、(6)タンパク質合成、(7)集合・放出、(8)成熟といった各段階を経る。

5) 病原性（文献7）

MoMLVの病原性に関しては、以下のことが知られている。

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

6) 有害物質の産生性

MoMLVが有害物質を産生することはなく、また、MoMLVに感染したことで細胞が有害物質を産生することもない。

7) その他の情報

MoMLVの不活化の条件としては、MoMLVと同じレトロウイルス科に属するヒト免疫不全ウイルス（HIV）の滅菌、滅菌操作法として、(1)121°C、20分間の蒸気滅菌、(2)170°C、2時間の乾熱滅菌、(3)20～30分間の煮沸消毒、4)有効塩素濃度0.1～1.0%の次亜塩素酸ナトリウム、5)70%エタノールまたは70%イソプロピルアルコール、6)3.5～4.0%ホルマリン、7)2%グルタール、が上げられている（文献8）。また、10%及び1%ポピドンヨード液（文献9）、0.3%過酸化水素水（文献10）で不活化が可能との報告もある。

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

- 文献 6: 遺伝子治療開発研究ハンドブック 第3章、第2節、1.1 レトロウイルスの増殖サイクル (p322)
- 文献 7: J. Virological methods 5: 165-171, 1982.
- 文献 8: 日本ウイルス学会 ウイルス研究におけるバイオセーフティ指針 ウイルス 43: 199-232、1993
- 文献 9: 加藤真吾、平石佳之、富永恵子、他 プラーク法を用いた各種消毒剤による HIV-1 不活化の検討 基礎と臨床 30: 3615-3620, 1996.
- 文献 10: Martin LS, MaDougal JS, and Loskoski SL. Disinfection and inactivation of the human T lymphocyte virus type III/ Lymphadenopathy-associated virus. J Infect Dis 152: 400-403, 1985.
- 文献 11: Yoshikura H. Thermostability of human immunodeficiency virus (HIV-1) in a liquid matrix is far higher than that of an ectropic murine leukemia virus. Jpn J Cancer Res 80: 1-5, 1989.
- 文献 12: Takeuchi Y, Cosset FL, Lachmann PJ, Okada H, Weiss RA, Collins MK. Type C retrovirus inactivation by human complement is determined by both the viral genome and the producer clone. J Virol 68: 8001-8007, 1994.
- 文献 13: Galili Uri, Tanemura M. Significance of a-Gal (Gal a1-3Gal b1-4GlcNAc-R) Epitopes and a 1, 3 Galactosyltransferase of Xenotransplantation. Trend Glycosci Glycotechnol 11: 317-327, 1999.
- 文献 14: Rother RP, Fedor WI, Springhorn JP, et al. A novel mechanism of retrovirus inactivation in human serum mediated by anti-a-galactosyl natural antibody. J Exp Med 182: 1345-1355, 1995.

II 遺伝子組換え生物等の調整等に関する情報

1 供与核酸に関する情報

1) 構成及び構成要素の由来

本遺伝子組換え生物を構成するゲノムのうち供与核酸は、ヒト由来 cytochrome b-245, beta polypeptide (CYBB)と制限酵素認識部位等の人工配列である。

(1) CYBB は、1986年、Orkin 博士らによってヒト白血病細胞株より単離された 4353 塩基対の糖タンパク質 gp91^{phox}をコードする遺伝子で、X染色体短腕 (Xp21.1) 上にある全長 33.5kb の遺伝子である (GenBank NM_000397 文献 15)。転写産物は、翻訳開始コドン (ATG) の上流に 61bp の非翻訳領域を有し、570 アミノ酸をコードする 1710bp と終止コドン (TTA) よりなる 1713bp である。CYBB の塩基配列及びタンパク質をコードするものはそのアミノ酸配列を別紙 1 に示す。

(2) MFGSgp91 DNA 構築過程で挿入された制限酵素認識配列部位等の人工配列を別紙 2 に示す。

2) 構成要素の機能

(1) ヒト CYBB 遺伝子により発現される gp91^{phox}は、363 個のアミノ酸からなる分子量約 40kDa の細胞質内タンパク質で、p22^{phox}と会合することで膜タンパク質のシトクロム b558 を構成する。このシトクロム b558 は菌体成分等の刺激により細胞質内タンパク質の p47^{phox}、p67^{phox}、p40^{phox}、rac と会合し、superoxide anion の産生に関わる酵素 NADPH oxidase を生成する。一般に休止状態では、シトクロム b558 は細胞質因子と乖離しているため NADPH の活性は起こらないが、刺激により細胞質因子が細胞膜に移行し、シトクロム b558 と会合することで活性型 NADPH oxidase が生成される。本酵素は分子酸素を直接還元することで superoxide anion (O₂⁻) を生成し、食細胞へと放出して、さらに強力な活性酸素種 (H₂O₂, HClO) を生成し、強力な殺菌作用を発揮する。

(2) 制限酵素認識部位等は人工的な配列であり、生物学的には影響を及ぼさないと考えられる。

文献 15: Royer-Pokora B, Kunkel LM, Monaco AP, et al. Cloning the gene for an inherited human disorder – chronic granulomatous disease – on the basis of its chromosomal location. Nature 322: 32-38, 1986.

2 ベクターに関する情報

1) 名称及び由来

本遺伝子組換え生物 (レトロウイルスベクター) は MFGSgp91 であり、米国国立衛生研究所 (NIH) の Harry L. Malech 博士らにより作製されたが (文献 16)、以下にその作製法について記載する。

(1) MFG の DNA 配列

MFGSgp91 の基となるベクターは MFG であり (文献 17)、この MFG は、MoMLV ゲノムの 5'LTR から 1038 塩基対 (bp) 番目の *NarI* 部位までの DNA 配列 (ただし、*NarI* 配列は MFG では *NdeI* 配列に変換されている)、5401bp 番目の *NdeI* 配列番目から 5674bp 番目の *XbaI* 配列の DNA 配列、合成 DNA 配列 CTAGACTTGCCATGGCGCGATC (二重鎖) 及び 7672bp 番目の *Clal* (*BamHI* 配列に変換) から 3'LTR までの DNA 配列まで含んでいる。

(2) MFG の転写単位

MFG が宿主染色体に挿入された後、プロウイルス (宿主染色体に挿入された MFG) は 5'LTR から 396bp 番目の転写開始点より転写が開始され、3'LTR から 696bp 番目まで転写される。MFG

では、gag、pol、env のウイルスゲノムはほぼ全て欠失しているが、gag の一部 (5'側) の約 400bp、env 5'側のスプライスアクセプター領域の約 400bp、env の一部 (3'側) の約 90bp は残されている。

(3) MFG の特徴

MFG のパッケージングシグナル Ψ は gag の一部まで及んでおり、この gag 配列の一部を含むパッケージングシグナルを拡張パッケージングシグナル (Ψ^*) とよび、ウイルスゲノムのパッケージング効率を著しく向上させている。また、MFG は MoMLV 由来の splice donor/ acceptor 配列を有し、さらに導入遺伝子の開始コドンに MoMLV の env 開始コドンに合わせることで、導入遺伝子の転写効率を高めている。MFG は薬剤選択マーカー遺伝子を有してはいない。

(4) MFGS の特徴

3)で述べたように、MFG の Ψ^* は gag の一部を有している。この部分はウイルス粒子膜表面や粒子内にある 2つの重複した Gag-Pol ポリペプチドのアミノ酸末端側をコードするもので、これがパッケージング細胞株が持つ gag-pol と遺伝子相同組換えを起こし、複製可能なレトロウイルス (replication competent virus; RCR) を産生する危険性がある。同時に、このポリペプチドがウイルス由来のタンパク質であるため、宿主の免疫反応を惹起する可能性もあり、MFG の gag 配列に以下のような変異を挿入し、遺伝子組換え率の低下と免疫原性の軽減を図ったものが MFGS である。

(1) 5'LTR より 1256bp 番目の A を T に、1478bp 番目の C を T に変換することで、Gag-Pol の重複翻訳フレームを 84bp と 15bp に短縮させた。

(2) 5'LTR より 1273bp 番目の T を A に変換することで、重複翻訳フレームには影響を与えず、パッケージング機能のためのステムループの形成能力を保持させた。

以上の変異により、導入遺伝子の発現は低下させず、p15Gag の発現は消失した。

尚、pMFGS の全配列を、別紙 3 に示す。

2) 特性

MFGS はアンピシリン (Amp) 耐性の pBR322 系プラスミドベクターに組込まれている。MFGS は、複製に必要な gag、pol、env を欠いているため、パッケージング細胞株以外で複製・増殖することはない。

文献 16: Brenner S, Whiting-Theobald NL, Linton GF, et al. Concentrated RD114-pseudotyped MFGS-gp91phox vector achieves high levels of functional correction of the chronic granulomatous disease oxidase defect in NOD/SCID/beta-microglobulin-/- repopulating mobilized human peripheral blood CD34+ cells. Blood 102: 2789-2797, 2003.

文献 17: Ohashi T, Bomst S, Robinson P, et al. Efficient transfer and sustained high expression of the human glucocerebrosidase gene in mice and their functional macrophage following transplantation of bone marrow transduced by a retroviral vector. Proc Nat Acad Sci USA 89: 11332-11336, 1992.

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造

本遺伝子組換え生物のゲノム構造と制限地図を別紙 2 にて示す。ただし、本遺伝子組換え生物のゲノムは一本鎖 RNA であるため、別表に示す制限地図は DNA 配列に変換されたときのものである。ゲノム配列は、5'末端側より、5'LTR、拡張パッケージングシグナル (Ψ^*)、ヒト由来 CYBB 遺伝子及び 3'LTR である。

2) 宿主内に移入された核酸の移入方法

MFGSgp91 は、MFGS 内の *NcoI-BamHI* の配列とその両端に相当する配列を有するヒト由来 CYBB 遺伝子を挿入して作製された。

3) 遺伝子組換え生物等の育成の経過

(1) パッケージング細胞株

MFGSgp91 はウイルス粒子形成に必須の遺伝子 *gag*、*pol*、*env* を有していないため、これ自体では完全なウイルス粒子を形成することはない。このため、MFGSgp91 に相当する遺伝子組換え生物を作製するためには、パッケージング細胞株が必要となる。

本遺伝子組換え生物の作製に使用されるパッケージング細胞株は 293-SPA であるが、これは、a) ヒト由来胎児腎細胞 293 細胞 (ATCC CRL 1573) に MoMLV ゲノム DNA よりパッケージングシグナル、*env* 及び 3'LTR のゲノム配列を取り除いた 5'LTR と *gag-pol* 配列を含む pCRIPenv-ベクターと SV40 early promoter より大腸菌由来 *gpt* 遺伝子を発現する pSV2*gpt* ベクターをリポフェクション法にて導入し、薬剤 (mycophenolic acid) にて Gag-Pol 発現する細胞を選択する。次に、b) これら Gag-Pol 発現細胞に、マウスアンフォトロピックウイルス由来 4070A *env* を発現する pCRIPAm*gag*-と大腸菌由来 *hyg* 遺伝子を発現する PSV2*hyg* を導入し、薬剤 (hygromycin) にて Env 発現細胞を選択する。最終的に、c) Gag-Pol 及び Env を高発現し、レトロウイルスベクターを導入することで高力価のウイルスを産生する細胞株をパッケージング細胞株 293-SPA として樹立した。この 293-SPA はパッケージングシグナルを有していないため、パッケージングシグナルを有するレトロウイルスベクターを導入しない限り、遺伝子組換え生物 (レトロウイルス) は生じない。

(2) ウイルス産生細胞株

MFGSgp91 ウイルス産生細胞株は、上記、293-SPA に pMFGgp91 をリポフェクション法にて導入し、そのうちで最もウイルス力価の高いものをウイルス産生細胞株として樹立した。

(3) 遺伝子治療臨床研究に使用されるウイルス産生細胞株の Master Cell Bank (MCB)

遺伝子治療臨床研究で使用される MFGgp91 産生細胞株 293-SPA-gp91-155 は、NIH の Harry L. Malech 博士らによって樹立され、同博士が所属する National Institute of Allergy and Infectious Diseases との契約に基づき、米国 Magenta 社 (Rockville, MD) が臨床用ベクター (GMP) として管理・保管されている。今回の遺伝子治療臨床研究において、Magenta 社が製造した 293-SPA-gp91-155 のマスターセルバンク (Master Cell Bank) より作製した MFGSgp91 のウイルス上清が使用される (別紙 4)。

(4) 本遺伝子組換え生物の最終製品の製造・輸送

全ての製造は Magenta 社の管理された製造エリアにて、GMP 準拠の下、行われる。MCB または Working Cell Bank (WCB) を融解し、拡大培養及び生産培養を行うことで本遺伝子組換え生物を含む培養上清を得、これを無菌濾過して小分けに分注し、凍結することで本遺伝子組換え生物を有効成分とする製材を得る (別紙 5)。

Magenta 社において製造された製材は適切な拡散防止措置を執り、ドライアイス詰めで日本まで空輸し、国立成育医療センターにて受け入れ試験を実施する (別紙 6)。適切と判断された製材は同センター管理区域内の超低温フリーザーにて凍結保管する。

なお、BioReliance 社が行った今回の遺伝子組換え生物の品質検査結果を別紙 7 に示す。

4 移入した核酸の存在状態及び当該核酸による形質発現の安定性

移入した核酸は本遺伝子組換え生物のゲノム RNA の一部として存在し、凍結保管中は極めて安定で、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。

本遺伝子組換え生物が細胞に感染すると、移入された核酸を含むウイルスゲノム RNA は逆転写酵素により DNA に変換され、プロウイルスとして宿主染色体に組込まれる。プロウイルスは宿主染色体の複製に伴って複製されるので、移入された核酸は細胞が活着している限り安定して保存される。

本遺伝子組換え生物を製造する過程で、ウイルス産生細胞株内で本遺伝子組換え生物のゲノムの gag-pol 断片及び env 断片が相同組換えを起こし、増殖能を獲得したウイルス (RCR) が生じる可能性がある。生ずる可能性のある RCR の大部分は、供与核酸を失った MFGSgp91 あるいは MoMLV そのもの (これらは遺伝子組換え生物には該当しない) と考えられるが、供与核酸の一部を保持した RCR (遺伝子組換え生物に該当) が生ずる可能性は否定できない。

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

1) 本遺伝子組換え生物の検出方法

本遺伝子組換え生物は宿主である MoMLV に存在しないヒト由来 CYBB 遺伝子を含むので、CYBB 遺伝子をリアルタイム PCR 法にて定量することで本遺伝子組換え生物を検出することが可能である。

2) 本遺伝子組換え生物により遺伝子導入された細胞の検出方法

細胞から調製されたゲノム DNA を鋳型に、CYBB 遺伝子をリアルタイム PCR 法にて定量することで検出可能である。この方法により定量下限は、遺伝子導入細胞を非導入細胞中の希釈率として 10^{-3} であることを確認している。同様に、遺伝子導入細胞膜表面上に発現される CYBB 遺伝子の遺伝子産物 gp91^{phox} を抗ヒト gp91^{phox} 抗体 (7AD) にて染色し、flow-cytometry (FACS) にて検出できる。この検出感度は、 10^4 から 10^5 ($1/10^4 \sim 10^5$) と考えられる。

3) RCR の検出法

(1) S+L-アッセイ

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

(2) PCR 法

被検試材から DNA を調製し、4070A 特異的プライマーを用いて PCR を行い、env の増幅を図る。本試験の感度は、パッケージング細胞株を用いた系で希釈率として $10^4 \sim 10^5$ であることが確認されている。

6 宿主または宿主の属する分類学上の種との相違

宿主である MoMLV と本遺伝子組換え生物との相違は以下の点である。

- ・ 本遺伝子組換え生物は gag、pol 及び env を欠失しているため、これら領域にコードされているウイルス粒子形成に必須なウイルスタンパク質は発現しない。したがって、Gag-Pol 及び Env を持続的に発現している細胞株においてのみ、増殖が可能である。
- ・ 本遺伝子組換え生物はヒト由来 CYBB 遺伝子を発現する。
- ・ MoMLV がマウス、ラット等の齧歯類の細胞にのみ感染するのに対し、アンフォトロピック 4070A を Env として有するウイルスはヒト、サルなどの細胞にも感染する。したがって、本遺伝子組換え生物は MoMLV とは異なり、ヒト、サルなどの細胞にも核酸を伝播する。

上記、3点を除き、本遺伝子組換え生物の性質は宿主である MoMLV と同等である。また、本遺伝子組換え生物由来の RCR に関しても、感染可能な生物種は異なるものの、感染様式、病原性など生物多様性に影響を与える性質に関しては野性型 MoMLV と大差がないものと考えられる。

III 遺伝子組換え生物等の使用等に関する情報

1 使用等の内容

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

2 使用等の方法

所在地: 東京都世田谷区大蔵 2-10-1

名称: 国立成育医療センター (治療実施場所・保管場所は別紙 8)

1) 本遺伝子組換え生物 MFSGp91 (以下、「本遺伝子組換え生物」と記す) は、容器に密封後、凍結状態で治療施設に輸送され、施設内の施設可能な保存室内の冷凍庫にて保管する。

2) 凍結状態の本遺伝子組換え生物の融解、希釈及び分注操作は P2 レベルの拡散防止措置を執ることができる細胞調製室 (以下、「細胞調製室」と記す) の安全キャビネット内または細胞調製室内での閉鎖系バッグにて行う。患者由来末梢血 CD34 陽性細胞 (以下、「造血幹細胞」と記す) への本遺伝子組換え生物の導入操作、それら細胞の培養、その他、本遺伝子組換え生物の希釈溶液及び本遺伝子組換え生物導入細胞の取り扱いもすべて同様に細胞調製室の安全キャビネット内または細胞調製室内での閉鎖系バッグにて行う。本遺伝子組換え生物の希釈液及び遺伝子導入細胞の保管は、細胞調製室内の冷凍庫及び冷蔵庫または培養器にて行う。なお、本遺伝子組換え生物希釈液もしくはその冷凍品または本遺伝子組換え生物を開放系区間を通して他の P2 レベル区域に運搬する場合には、二重に密封した容器に入れて運搬する。

3) 本遺伝子組換え生物液 (希釈液を含む) または本遺伝子組換え生物導入細胞を廃棄する際には、滅菌操作を行った後、本施設で定められた感染性廃棄物処理規程 (以下、「感染性廃棄物処理規程」と記す) に従い、廃棄する。

4) 被験者に対する本遺伝子組換え生物導入細胞の投与は、環境中への拡散防止措置を適切に執った個室 (以下「クリーンルーム」と記す) 内にて輸注により行う。なお、投与時に本遺伝子組換え生物導入細胞に直接接触した注射針、注射器、チューブ等の器具類は使い捨てとし、クリーンルーム内で適切に滅菌操作を実施した後、感染性廃棄物処理規程に従い廃棄する。

5) 投与後 3 日まで、被験者をクリーンルーム内の個室で管理し、検査等の理由で被験者が一時的にクリーンルーム外の開放区内に出る場合には、マウス及びガウン着用等のウイルス漏出予防措置を義務付ける。また、投与後 3 日目の被験者クリーンルーム管理解除は、被験者血液細胞ならびに血漿中の RCR が陰性であることを確認してから行う。なお、RCR が確認されたときはクリーンルームにおける管理を継続する。

6) クリーンルームにおける管理期間中の被験者の血液及び体液は、その都度適切に滅菌操作し、感染性廃棄物処理規程に従い廃棄する。また、被験者の尿及び糞便等の排泄物は、投与翌日以降に行われる被験者の血液を用いた PCR にて自己増殖能を獲得した野性型レトロウイルス (以下、「RCR」と記す) の存在が否定されるまで、クリーンルーム内で適切に滅菌操作を行い、感

染性廃棄物処理規程に従い廃棄する。なお、臨床検体として使用する被験者の排泄物取り扱い、本遺伝子組換え生物溶液及び本遺伝子組換え生物導入細胞の取り扱いに準ずる。

7) クリーンルーム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は、クリーンルーム内で適切に滅菌操作を実施した後、感染性廃棄物処理規程に従い廃棄するかまたはクリーンルーム内で十分に洗浄する。

8) クリーンルームにおける管理解除後に被験者の血液細胞または血漿から RCR が検出された場合は、直ちに被験者をクリーンルームにおける管理下に移し、上記、(5)から(7)までと同様の措置を執る。

3 承認をう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、被験者体内で増殖能を獲得した遺伝子組換えウイルス (RCR) の有無は、投与後 3 日間及び 1、3 週目、それ以降は半年までは月に 1 回、それ以降は年に 1 回の 4070A env を標的とした PCR にて確認する。RCR 出現の際には、患者を入院管理とし、リンパ腫等の発症を注意深く観察する。

4 生物多様性影響が生ずるおそれがある場合における生物多様性影響を防止するための措置

本遺伝子組換え生物を用いた遺伝子導入細胞は、P2 レベルの拡散防止措置を執ることができ細胞調製室において、第一種使用規程に従い調製される。本遺伝子組換え生物が細胞調製室の床等に漏出した場合は、ただちにペーパータオル、布等で拭き取る。拭き取った後は、消毒用エタノールを該当箇所が完全に覆われるまで噴霧し、1 分以上放置する。使用したペーパータオルや布等は 121°C、20 分間以上のオートクレーブにより滅菌した後に廃棄する。

クリーンルームにおける管理解除後の被験者血液に RCR が検出された場合には、第一種使用規程に従い、被験者を直ちにクリーンルームにおける管理下に移すとともに、次亜塩素酸を用いて血液及び体液の滅菌操作等、第一種使用規程に定められた措置を執る。

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

当センターでは、前臨床研究として実際に臨床研究で使用する遺伝子組換え生物を用いて、複数回の Dry Run を行う予定であり、その過程で複数回 RCR の有無を確認する予定である。なお、基礎研究で使用した同ウイルスでの RCR は陰性であり、また、当該遺伝子治療臨床研究では、患者からの造血幹細胞の採取から投与までを全ての細胞操作を閉鎖系システムで行うため、外部へウイルスが漏出することはないと思われる。

6 国外における使用等により得られた情報

今回の遺伝子治療臨床研究は、現在までの米国国立衛生研究所の Malech 博士らが使用していた同一の遺伝子組換え生物 (レトロウイルスベクター) を使用する予定であり、現時点で本遺

伝子組換え体に RCR の検出はない。また、治療を受けた 3 名に患者においても MFGSgp91 の活性を認めた症例はない。

IV 生物多様性影響評価

1 他の微生物を減少される性質

1) 影響を受ける可能性のある野生動植物の特定

本遺伝子組換え生物及びRCRの感染性は、ウイルスがアンフォトロピック Env を持つので、ヒト細胞を含む広範囲の動物種の細胞に感染するが、微生物には感染しない。したがって、影響を受ける可能性のある微生物は特定されていない。

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の判断

よって、他の微生物を減少される性質について、第一種使用規程承認申請書に記載され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、生物多様性の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の特定

本遺伝子組換え生物及びRCRの感染性は、ウイルスがアンフォトロピック Env を持つので、ヒト、サル、イヌ、ネコ等の広範囲の動物種の細胞に感染する。したがって、これら生物種は本遺伝子組換え生物の核酸を伝播されることにより影響を受ける可能性はある。

2) 影響の具体的内容の評価

本遺伝子組換え生物はヒト、サル、イヌ、ネコ等の細胞に感染し、染色体への挿入変異によりがん化を引き起こす可能性がある。マウス、ラットに対する病原性は宿主と同等と考えられる。本遺伝子組換え生物からの発現産物であるヒト由来CYBBは、NADPH oxidaseの構成タンパク質であり、この遺伝子が発現することでの病原性は極めて低いと考えられる。

3) 影響の生じやすさの評価

第一種使用規程承認申請書に記載された遺伝子組換え生物等の第一種使用等にしたがって用いられる限り、本遺伝子組換え生物が施設外に放出される可能性は極めて低い。たとえ、放出されたとしてもその量はごく微量である。また、本遺伝子組換え生物は増殖能を欠いているので、通常の細胞に感染してもウイルス粒子を産生することはない。一方、本遺伝子組換え生物の製造過程で出現したRCRが被験者細胞に混入して、被験者に投与された場合、被験者体内でRCRが産生される可能性がある。しかし、本遺伝子組換え生物はRCRの出現の可能性が極めて低いパッケージング細胞株を使用して製造されており、さらに使用に関しては、事前検査にてRCRが検出されないウイルス上清を使用するので、被験者体内にRCRが侵入する可能性は極めて低い。

4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無の判断

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され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、生物多様性の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の特定

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

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され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、生物多様性の影響が生ずるおそれはないと判断される。

4 核酸を水平伝達する性質

1) 影響を受ける可能性のある野生動植物の特定

本遺伝子組換え生物及び RCR の感染性は、ウイルスがアンフォトロピック Env を持つので、ヒト、サル、イヌ、ネコ等の広範囲の動物種の細胞に感染する。したがって、これら生物種は本遺伝子組換え生物の核酸を伝播されることにより影響を受ける可能性がある。

2) 影響の具体的内容の評価

本遺伝子組換え生物または本遺伝子組換え生物に該当する RCR によって、これら遺伝子組換え生物の核酸が野生生物のゲノム中に組込まれる可能性ある。

3) 影響の生じやすさの評価

第一種使用規程承認申請書に記載された遺伝子組換え生物等の第一種使用等にしたがって用いられる限り、本遺伝子組換え生物が施設外に放出される可能性は極めて低い。たとえ、放出されたとしてもその量はごく微量である。このため、ごく微量の本遺伝子組換え生物によって野生生物に核酸が伝播する可能性は極めて低い。

遺伝子組換え生物に該当する RCR が多量に出現した場合には、血液、体液等を通じて他の個体に RCR が感染し、その核酸が伝播される可能性は否定できないが、RCR の出現の可能性が極めて小さいので、その可能性も極めて小さい。

4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無の判断

よって、核酸の水平伝播する性質について、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限り、生物多様性の影響が生ずるおそれはないと判断される。

5 その他の性質

核酸を垂直伝播する性質

本遺伝子組換え生物が感染可能な野生生物の生殖系細胞のゲノム中に組み込まれて、核酸垂直伝播する可能性は完全に否定できない。しかし、第一種使用規程承認申請書に記載され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、本遺伝子組換え生物によりその核酸が野生生物に伝播される可能性は極めて低く、さらに RCR が出現しない限り、本遺伝子組換え生物の核酸が伝播される細胞は本遺伝子組換え生物が最初に感染した細胞のみに限られているため、その細胞が生殖細胞である確率は極めて低い。また、RCR が出現する可能性は極めて低いため、本遺伝子組換え生物または RCR の核酸が生殖細胞に伝播される可能性は極めて低い。よって、核酸を垂直伝播する性質について、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限り、生物多様性の影響が生ずるおそれはないと判断される。

V 生物多様性の総合的評価

本遺伝子組換え生物が感染する動植物の種類は4070A アンフォトロピック Env によつて規定されるため、齧歯類及びヒトを含む霊長類に感染するが、自然界で植物及び微生物には感染しない。

第一種使用規程承認申請書に記載され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、本遺伝子組換え生物の環境中への拡散は極力抑えられており、たとえ拡散したとしても、その量は検出レベル以下であると推定される。本遺伝子組換え生物によるヒト由来 CYBB 遺伝子の発現はヒトには病原性はなく、ヒトに対する影響もない。さらに、本遺伝子組換え生物は増殖能を欠いているため、MLV が増殖しているマウスに感染させれば、MLV が助けとなって増殖する可能性がある。しかし、その場合でも、MLV は血液を介してのみ感染し、同居等による水平感染はないので、さらなる感染が広がる可能性はほとんどない。本遺伝子組換え生物が MLV と同等に増殖するとは考えられず、やがて環境から消滅すると思われる。

環境中でマウスに感染し、MLV ゲノムとの相同組換えによつて RCR が出現する可能性や当該第一種使用によつて極めて微量の本遺伝子組換え生物由来 RCR の環境中への放出も完全に否定できないが、RCR の感染性、増殖性、病原性及び核酸を水平伝播する性質は野生型アンフォトロピック・マウス白血病ウイルスと同等である。ヒトに MLV が感染しても病原性は報告されておらず、たとえ、ウイルスがヒト体内に侵入しても、血清補体により急速に失活すると考えられ、ヒト及び他の哺乳類、植物並びに微生物に新たな影響を与えることはないと考えられる。

したがって、第一種使用規程承認申請書に記載された遺伝子組換え生物等の第一種使用等による限り、本遺伝子組換え生物による生物多様性影響が生ずるおそれがないと判断される。

遺伝子治療臨床研究実施計画の申請及び 遺伝子治療臨床研究に係る生物多様性影響評価に関する申請について

【 東京大学医学部附属病院 】

課題名 : ホルモン療法抵抗性再燃前立腺癌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 を用いたウイルス療法の臨床研究

遺伝子治療臨床研究実施計画の申請

- 遺伝子治療臨床研究実施計画（東京大学医学部附属病院）について P. 1
- 諮問 及び付議 P. 5
- 遺伝子治療臨床研究実施計画申請書 及び概要書 P. 7
- 同意説明文書 P. 31

遺伝子治療臨床研究に係る生物多様性影響評価に関する申請

- 諮問 及び付議 P. 47
- 第一種使用規程承認申請書 P. 51
- 生物多様性影響評価書 P. 55

遺伝子治療臨床研究実施計画（東京大学医学部附属病院）について

平成 23 年 11 月 9 日
大臣官房厚生科学課

1. 背景

遺伝子治療臨床研究実施計画に係る厚生科学審議会への意見聴取の必要性について、遺伝子治療臨床研究に関する指針（平成 16 年文部科学省・厚生労働省告示第 2 号）（以下「指針」という。）第五章の第一の三の規定に基づき、複数の有識者に意見を伺うこととなっている。

2. 有識者の意見

東京大学医学部附属病院より申請（平成 23 年 9 月 22 日）のあった遺伝子治療臨床研究実施計画について、有識者に意見を伺った結果は、別紙の通りである。

3. 対応

厚生労働省としては、有識者の意見は「新規性なし」であったものの、「新規性なし」の判断は初めてのケースであり、指針の当該規定の制定経緯やこれまでの解釈事例を踏まえ、厚生科学審議会に意見を聴くこととした。

【参照条文】

第五章 厚生労働大臣の意見等

第一 厚生労働大臣の意見

三 厚生労働大臣は、二に基づき意見を求められた場合において、複数の有識者の意見を踏まえ、当該遺伝子治療臨床研究が次に掲げる事項のいずれかに該当すると判断するときは、当該遺伝子治療臨床研究の医療上の有用性及び倫理性について厚生科学審議会の意見を聴くものとする。

- 1 疾病の治療のための遺伝子が組み込まれた DNA 又はこれを含むウイルスその他の粒子であって、当該遺伝子を細胞内に導入する際に用いられる新規のもの又は新規の遺伝子投与方法を用いていること。
- 2 新規の疾病を対象としていること。
- 3 新規の遺伝子治療方法を用いていること（1 又は 2 に該当するものを除く。）。
- 4 その他個別の審査を必要とするような事項を含んでいること。

四 厚生労働大臣は、三の規定による厚生科学審議会からの意見の聴取が必要ないと判断する場合には、意見を求められた日から三十日以内に、当該遺伝子治療臨床研究の実施に関し意見を述べるものとする。

以上

遺伝子治療臨床研究実施計画に係る有識者からの意見

○ 対象となる遺伝子治療臨床研究実施計画

課題名： ホルモン療法抵抗性再燃前立腺癌に対する増殖型遺伝子組換え単純ヘルペスウイルス G47Δを用いたウイルス療法の臨床研究

総括責任者： 東京大学医学部附属病院・泌尿器科・男性科・講師 福原 浩

対象疾患： 前立腺非摘出で、ホルモン療法後に再燃した前立腺癌
(遠隔転移がある場合も含む。抗癌剤ドセタキセル投与の有無を問わない。)

○ 意見を伺った有識者

小澤 敬也	自治医科大学医学部教授
島田 隆	日本医科大学医学部教授
那須 保友	岡山大学病院新医療研究開発センター教授
山口 照英	国立医薬品食品衛生研究所生物薬品部研究員

○ 有識者からの意見

1. ベクターについて

使用される遺伝子組換えウイルス G47Δは、単純ヘルペスウイルス I 型 (HSV-1) を腫瘍溶解性ウイルスとして改変したもので、欧米の臨床研究で使われている G207 を更に改良したものである。現在、東京大学医学部附属病院で行われているグリオーマの遺伝子治療臨床研究で使われているものと構造も、品質も同等であり新規性はない。

2. 対象疾患について

前立腺癌は腫瘍内へのベクターの注入が容易なことから、遺伝子治療の重要な対象疾患と考えられており世界中で既に 100 件以上の臨床研究が行われている。日本でも、これまでに複数の施設でアデノウイルスベクターの前立腺癌を対象とした腫瘍内投与が行われている。

本遺伝子治療臨床研究は、既に実施されている腫瘍溶解性 HSV-1 の適用拡大 (脳腫瘍→前立腺癌) にあたると考えられるが、本臨床研究を実施するに当たり、有効性及び安全性は以下のように示されている。

前立腺癌に対する腫瘍溶解性 HSV-1 の有効性については培養細胞の実験や担癌モデル動物を用いた実験で示されている。

腫瘍溶解性 HSV-1 の安全性については、G207 について多くの研究が行われている。前臨床研究としては G207 をサルの前立腺に注入し安全性を確認したものが報告されている。また、腫瘍溶解性 HSV-1 を使ったヒトでの遺伝子治療臨床研究としては脳

腫瘍内への投与以外に、肝癌、頭頸部腫瘍、メラノーマ、悪性中皮腫に対する腫瘍内投与が行われている。さらに、転移性肝癌の治療として腫瘍溶解性 HSV-1 の肝動脈内投与も行われている。これらの臨床研究において安全性の問題は報告されていない。

3. 遺伝子治療法について

超音波ガイド下に前立腺に針を刺す手技は、泌尿器科では日常行われている既に確立した診療技術であり新規性はない。投与量についても、既に実施されているグリオーマ遺伝子治療臨床研究と同等である。

以上のように、本臨床研究について、新規性はなく、指針第五章の第一の三のいずれの項目にも該当しないと判断した。なお、以下の点を留意事項として本臨床研究実施施設の長に通知する必要があると考える。

- ① 転移巣のある患者を含める理由としてあげられている抗腫瘍免疫について、CTL アッセイなどの免疫系の評価ができないか検討すること。
- ② 研究の透明性を確保するため、適格性判定委員会にも外部の専門家を加えることを考慮すること。
- ③ 安全性の観点から、投与回数の増加、及びコホートの移行に際しての有害事象の評価は慎重に行うこと。

(参考)

○ これまでの解釈事例【第 28 回科学技術部会（平成 18 年 2 月 1 日）】

- ・下の比較表のように、既に臨床研究を実施していた岡山大学医学部附属病院と同一の導入遺伝子・ベクターを用い、同じく前立腺癌を対象とする北里大学病院の遺伝子治療臨床研究について、新規性があるか否かが検討された。
- ・遺伝子発現ベクターの投与回数が 1 回である岡山大学医学部附属病院に対して、北里大学病院は 2 回であることなど、治療スケジュールが少し異なっていることから、慎重を期してということで、「新規性あり」と判断された。

実施施設名	課題名	対象疾患	導入遺伝子の種類・ベクター	申請日及び大臣回答日
岡山大学医学部附属病院	前立腺癌に対する Herpes Simplex Virus-thymidine kinase 遺伝子発現アデノウイルスベクター及びガンシクロビルを用いた遺伝子治療臨床研究	外科的切除により根治不能な局所的に進行した前立腺癌症例で、内分泌療法（放射線療法、抗癌化学療法の併用を含む）の経過中に、腫瘍マーカーである前立腺特異抗原（PSA:Prostate Specific Antigen）を用いた生化学診断上、内分泌療法抵抗性局所再燃前立腺癌と診断され、かつ臨床的に遠隔転移を認めない患者	HSV-TK 遺伝子 アデノウイルスベクター →癌組織内に局所投与	1999/9/16 2000/6/29
北里大学病院	前立腺癌に対する Herpes Simplex Virus-thymidine kinase 遺伝子発現アデノウイルスベクター及びガンシクロビルを用いた遺伝子治療臨床研究	外科的切除は可能であるが、手術前における血清前立腺特異抗原値（PSA）、臨床病期、および前立腺生検の病理学的分化度を指標とした予測（ノモグラム評価）において、術後 5 年以内に 35%以上の確率で再発するとされるハイリスク群症例（総得点 115 点以上）で、かつ臨床的に遠隔転移を認めない局所限局性前立腺癌患者	HSV-TK 遺伝子 アデノウイルスベクター →癌組織内に局所投与	2006/1/19 2007/3/26

厚 科 審 第 28 号

平成 23 年 11 月 2 日

科学技術部会部会長

永井 良三 殿

厚生科学審議会会長

垣添 忠生



遺伝子治療臨床研究実施計画について（付議）

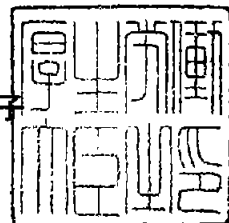
標記について、平成 23 年 11 月 2 日付厚生労働省発科 1102 第 1 号をもって厚生労働大臣より諮問があったので、厚生科学審議会運営規程第 3 条の規定に基づき、貴部会において審議方願いたい。

厚生労働省発科 1102 第 1 号
平成 23 年 11 月 2 日

厚生科学審議会会長

垣添 忠生 殿

厚生労働大臣 小宮山 洋子



諮 問 書

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

記

1. 申請日 平成 23 年 9 月 22 日

申請者 東京大学医学部附属病院 病院長 門脇 孝

遺伝子治療臨床研究の名称

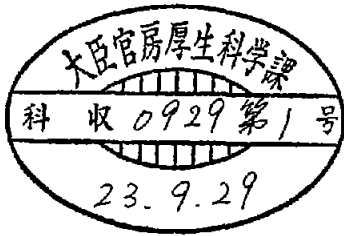
ホルモン療法抵抗性再燃前立腺癌に対する増殖型遺伝子組換え単純ヘルペスウイルス G47Δ を用いたウイルス療法の臨床研究

2. 申請日 平成 23 年 9 月 29 日

申請者 国立成育医療研究センター 総長 加藤 達夫

遺伝子治療臨床研究の名称

慢性肉芽腫症に対する造血幹細胞を標的とした遺伝子治療臨床研究



別紙様式第1

遺伝子治療臨床研究実施計画申請書

平成23年9月22日

厚生労働大臣 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 門脇 孝

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
ホルモン療法抵抗性再燃前立腺癌に対する増殖型遺伝子組換え単純ヘルペスウイルス G47Δを用いたウイルス療法の臨床研究	東京大学医学部附属病院・泌尿器科・男性科・ 講師 福原 浩

遺 伝 子 治 療 臨 床 研 究 実 施 計 画 概 要 書

平成 23 年 9 月 22 日	(申請年月日)
---------------------	---------

研究の名称	ホルモン療法抵抗性再燃前立腺癌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	東京大学医学部附属病院・泌尿器科・男性科・講師	
	氏名	福原 浩 (福原)	
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
	藤堂具紀	東京大学医科学研究所・先端医療研究センター・先端がん治療分野・教授／東京大学医学部附属病院・トランスレーショナルリサーチセンター・副センター長	遺伝子治療臨床研究における指導。ウイルス管理と準備。
	稲生靖	東京大学大学院医学系研究科・橋渡し研究支援推進プログラム・特任准教授	ウイルス管理と準備。標本の管理と処理。
	本間之夫	東京大学医学部附属病院・泌尿器科・男性科・教授	臨床研究における指導。
	藤村哲也	東京大学医学部附属病院・泌尿器科・男性科・講師	術前術後管理。
	鈴木基文	東京大学医学部附属病院・泌尿器科・男性科・講師	術前術後管理。
後藤明輝	東京大学医科学研究所・人癌病因遺伝子分野・講師	病理学的評価・解析。	

審査委員会が研究計画の実施を適当と認める理由	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書は平成 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 20 年 12 月 1 日一部改正) の必要条件を満たしていると認めた。(承認：平成 23 年 8 月 25 日)		
	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 貞	

研究の区分	○遺伝子治療臨床研究（ウイルス療法）
研究の目的	本研究は、前立腺非摘出でホルモン治療後に再燃してきた再燃前立腺癌の患者を対象とし、遺伝子組換え単純ヘルペスウイルスI型（herpes simplex virus1、以下HSV-1）であるG47Δを前立腺内に投与する。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、血清前立腺特異抗原値（PSA値）の変化により抗腫瘍効果を評価する。
対象疾患及びその選定理由	<p>「前立腺非摘出で、ホルモン療法後に再燃した前立腺癌。」 （遠隔転移がある場合も含む。抗癌剤ドセタキセル投与の有無を問わない。）</p> <p>主な選定理由</p> <ul style="list-style-type: none"> ・ホルモン療法抵抗性前立腺癌は生存期間中央値が12-15ヶ月と予後が悪い。唯一生存期間延長効果のある抗癌剤ドセタキセルは、副作用のため治療を完遂できない場合が多い。 ・前立腺は経直腸超音波ガイド下に経会陰的にアプローチすることができ、安全に治療が行える。 ・前立腺癌には前立腺特異抗原（PSA）という腫瘍マーカーが存在し、治療効果の評価が容易である。 ・他臓器転移の有無を問わないのは、本臨床研究が安全性の評価をエンドポイントとしていること、前立腺癌では原発巣の治療が予後の延長につながる可能性があること、抗腫瘍免疫を介した遠隔転移への効果の可能性があること、などのためである。 ・抗癌剤ドセタキセル使用に関しては、G47Δとの同時投与を行わないが、実際の臨床では、副作用のためにドセタキセルを希望しない患者も多いため、ドセタキセル使用を臨床研究参加の条件としないこととした。 <p>(1) 対象疾患に関する現時点での知見</p> <p>我が国における2005年の男性の推定年齢調整罹患率(対人口10万人、日本人モデル人口)に関しては、前立腺癌は42.0であり、胃癌、肺癌について3番目に高い(国立がん研究センターがん対策情報センターのデータより)。米国では、男性の罹患率が全ての癌の中で2番目に多く、我が国でも罹患率が近年増加してきている。癌死に関しても、2009年には現実には10,036人が前立腺癌で亡くなっている。前立腺癌の年齢調整死亡率は、1950年は0.5と低かったが、その後年々高くなっており、1975年は3.8、1998年には8.6と1975年の約2.3倍に増加している。今後の前立腺癌死亡率の傾向は、2000年の前立腺癌死亡率の実測値に対して2020年の推定値は2.8倍になると予測されている。</p> <p>限局性前立腺癌治療に対しては複数の選択肢が複数用意されており、手術療法や放射線療法およびホルモン療法が標準治療である。副作用を危惧して手術療法や放射線療法を希望しない患者や70歳以上の高齢者がホルモン療法の対象となり、実臨床ではホルモン療法が選択される場合も多い。また、初診時に転移を有する進行性前立腺癌については、初期治療としてホルモン療法が選択される。ホルモン療法は、前立腺癌の促進因子である男性ホルモンを抑制することにより、前立腺癌の縮小を目指す治療法である。しかし、多くの患者でホルモン療法導入初期は良好に反応してPSA値を低下させるが、2-10年(平均5年)でPSA値が再上昇するという「再燃」が見られる。一度ホルモン療法抵抗性となった前立腺癌に対しては、有効な治療法がないのが現状であり、予後不良である。ホルモン抵抗性前立腺癌の生存期間中央値は約10-12ヶ月と短く、しかもQuality of Life(QOL)の面からも問題がある。つまり、健康な期間を過ごした後に肺や肝臓への転移を呈して急速に死に至るといった経過をたどらず、多くは骨に転移をして、骨転移の疼痛に対するモルヒネなどの疼痛コントロール下で延命してという場合が多い。</p> <p>ホルモン療法抵抗性となった前立腺癌に対して、全身状態が良好な場合には抗癌剤治療が行われることもある。本邦で保険適応があるのは、イフォマイド、シスプラチン、ペプロマイシン、UFT、ドセタキセルの各抗癌剤である。いずれも一過性のPSAの低下は認めるが、生存率を延長することが示されているのはドセタキセルのみである。延命効果が認められなかった抗癌剤ミトキサントロンとの比較では、平均生存期間が対象群で16.5ヶ月に対し、ドセタキセル群では18.9ヶ月で、PSA効果も32%に対して45.8%であった。同様の大規模RCT(randomized control trial)でも、平均生存期間が対象群で15ヶ月に対し、ドセタキセル群では18ヶ月で、PSA効果も10%に対して17%であった。これらの結果を踏まえて、我が国でも2008年8月より保険適応が承認された。ただ、海外においても、骨髄抑制を中心としたgrade3/4の副作用を45-54%に認めており、治療関連死も0.3-2%に認めている。我が国では、骨髄抑制による副作用による治療脱落例が海外よりも多いと言われている。実際に、最近の我が国での報告では、対象年齢が65(50-74)歳と実臨床で投与されるよりも</p>

比較的若年であるにもかかわらず、grade3/4の白血球減少症を8割以上に、grade3/4の好中球減少症を9割以上に認めている。実際の対象年齢が75歳以上であることを考慮すると、完遂できるのは僅かであることが想定される。このように、抗癌剤ドセタキセルは2-3ヶ月程の延命効果を認めるが、対象者が高齢であることもあり上記の如く忍容性に問題がある。実際には、ドセタキセル施行中に抗癌剤の骨髄抑制などの副作用で全身状態が徐々に悪化していきることが多く見られる。

局所再燃前立腺癌に対して放射線治療が行われることがある。排尿症状などの局所の症状の緩和には有効性を認めるが、2年以内に約75%の症例においてPSAの再上昇を認め、予後の改善に関しては良好な成績は得られていない。しかも、前立腺に照射する場合は3-5%に直腸瘻や直腸出血などの重篤な晩期合併症を認める。また、骨転移やリンパ節転移部位に放射線治療を行うことがあるが、それらは転移に伴う疼痛を緩和するために施行され、放射線照射部位以外の病巣に対して効果は期待できない。

このように、唯一生存期間延長効果のある抗癌剤ドセタキセルは、副作用のため治療を完遂できない場合が多い。そもそも忍容性から対象にならない患者群が多く存在する治療法である。また、当研究対象患者は、前立腺全摘を希望しなかった群であり、高齢もしくは抗癌剤の副作用への危惧等の理由によりドセタキセルを選択しないことが多い。ホルモン療法抵抗性再燃前立腺癌の予後は不良であり、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であると考えられる。

(2) 当該臨床研究の概要

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。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⁾。前立腺癌は、経直腸の超音波をガイドにして、経皮的に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、前立腺そのものがいわゆる critical organ ではないこと、効果判定に感度の良い PSA 腫瘍マーカーが利用できることなどから、ウイルス療法の臨床研究対象に適している。

HSV-1 が癌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。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) 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非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低く、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、ホルモン療法抵抗性再燃前立腺癌患者の前立腺内に経会陰的に注入する。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、正常組織は傷害しないと考えられる²⁾。また、ウイルスが患者の抗腫瘍免疫を惹起させ、遠隔転移の腫瘍にも抗癌作用が期待できる。現在、脳腫瘍に対する臨床研究が東京大学附属病院にて進行中である。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) G47Δ の構造」の欄に記載する。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、血清前立腺特異抗原値 (PSA 値) の変化を評価する。

(3) 他の治療法との比較及び当該治療法を選択した理由

ホルモン療法にもかかわらず再燃した前立腺癌に対して、治療手段は非常に限られている。遠隔転移を認めない場合は放射線治療を試みるが、局所的な症状を緩和させることはできても予後延長させたという報告はない。遠隔転移を認める場合も認めない場合も抗癌剤治療が行われることがあるが、対象に高齢者が多く、骨髄抑制などで消耗するばかりで、唯一効果があるとされるドセタキセルでも忍容性から選択されないことも多い。前立腺癌は多くの研究がなされている分野でありながら、再燃前立腺癌に対しては確立された治療プロトコルが存在せず、そ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 は癌治療に適しており、また、「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、ホルモン療法抵抗性再燃前立腺癌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. Varghese S, Newsome JT, Rabkin SD, et al. Preclinical safety evaluation of G207, a replication-competent herpes simplex virus type 1, inoculated intraprostatically in mice and nonhuman primates. Hum Gene Ther. 12: 999-1010, 2001.

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前立腺癌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癌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は経会陰的手法によって前立腺内へ直接投与する。経会陰的前立腺内直接投与は、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、水泡を形成する。

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。

(7) G47Δの作製方法

研究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 具紀を責任者として行なった。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した。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した。

(8) G47Δ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ことが判明している³⁾。 γ 34.5 遺伝子欠失 HSV-1 が正常細胞では病原性を失い、かつ、腫瘍細胞では増殖能を維持することは多くの研究で現象として知られている。ただ、そのメカニズムは完全には解明されておらず、いくつかの説が述べられている。一つの機序として、腫瘍細胞における PKR の活性化阻害機構が考えられている。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)が活性化され、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 遺伝子産物は活性化 PKR 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 は正常細胞で複製を行えない。一方、ras シグナルを活性化させた NIH-3T3 細胞では、PKR の活性化が妨げられ、 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、 α 47 遺伝子欠失の結果、 α 47 プロモータが US11 遺伝子と直結してそれを制御するようになるため、本来晩期発現型の US11 遺伝子が最早期に発現し、これが γ 34.5 変異の second site suppressor として機能して γ 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、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、同じ用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 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⁵⁾。

また、ウイルスが複製・増殖を行っていることを確認するため、MOI=0.1、つまり、ウイルス 1 に対して 10 倍の腫瘍細胞に感染させるという条件下で殺細胞効果の検討を行った。この条件下では、ウイルスが増殖して 10 倍の細胞を死滅させることとなる。前立腺癌細胞株 LNCaP では day2 までにほぼ全ての細胞が死滅し、DU145 では day4 までにほぼ全ての細胞が死滅した⁵⁾。PC-3 においても day4 までに 70%以上の細胞が死滅した⁵⁾。

G47Δ 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 G47Δ より高く、野生型 HSV-1 に比べると G47Δ の複製能は減弱している。

G47Δ 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≤10 でウイルス複製による殺細胞効果を現さなかった。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。

② 培養細胞における殺細胞効果：

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⁵⁾。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⁾。

③ 感染宿主細胞の MHC Class I 発現に対する影響：

ヒト前立腺癌細胞株 PC-3、DU145、LNCaP において、G207 は感染 24 時間以内に宿主細胞の MHC Class I の発現を低下させたのに対し、G47Δ は MHC Class I の発現を維持した。特に、MHC Class I 発現の低い LNCaP 細胞と比較して、MHC Class I 発現の高い PC-3 細胞において高い MHC Class I の発現を維持していた。また、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 ヒト前立腺癌およびマウス前立腺癌細胞に対する抗腫瘍効果 (マウス皮下腫瘍モデルにおいて)

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-C2 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。特に、ヒト HONDA 細胞株においては、 4×10^6 plaque-forming units (pfu) 腫瘍内投与にて 6 匹中 2 匹で腫瘍が消失した。また前モデルに対しては 2×10^5 plaque-forming units (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⁵⁾。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：

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 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⁾。

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^{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)}。

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⁸⁾。

⑨ G207 を用いた調査

G207 は、ヒト前立腺癌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。この効果は *in vivo* にも反映され、腫瘍内投与や静脈内投与にて前立腺癌細胞に有効であるが確認されている。ヌードマウスにおける皮下腫瘍モデルでは、G207 投与により有意に腫瘍は縮小し、22%以上で完全に腫瘍の消退を認めた。また、放射線治療後に再発したヒト前立腺癌 LNCaP 細胞にも G207 が有効であることが確認されている⁹⁾。G207 は現在までに 60 種以上の細胞株で試され、前立腺癌に限らず、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、C57BL/6 マウスと同系の TRAMP-C2（前立腺癌）細胞の皮下腫瘍、A/J マウスと同系の 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) の上昇を伴った。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 $\gamma_{134.5}$, 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.
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.
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.
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.
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-

	<p>30.2006.</p> <p>9. Walker JR, McGeagh KG, Sundaresan P, et al. Local and systemic therapy of human prostate adenocarcinoma with the conditionally replicating herpes simplex virus vector G207. <i>Hum Gene Ther.</i> 10:2237-43, 1999.</p>
<p>安全性についての評価</p>	<p>(1) ウイルス投与方法の安全性</p> <p>G47Δの投与は、経直腸超音波ガイド下に会陰部で経皮的に行われる。経直腸超音波ガイド下での操作については、東京大学医学部附属病院泌尿器科では、年間約 350-400 症例の前立腺針生検が日常的に施行されており、習熟度の面からも安全性が確認されている。</p> <p>(2) ウイルスの純度</p> <p>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 生産された。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た。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した。</p> <p>(3) 患者に投与する物質の純度及びその安全性</p> <p>臨床研究用 G47Δ製剤は、cGMP 生産され、10% グリセリン/磷酸緩衝生理食塩水(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ている。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した。</p> <p>(4) 増殖性ウイルス出現の可能性</p> <p>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。また、最終製剤中の野生型 HSV-1 の混入の有無については、PCR にて野生型に由来する DNA 断片が増幅されないことを検証した。</p> <p>(5) ウイルスの細胞傷害性</p> <p>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¹⁰⁾。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。G47Δの前立腺内投与について、マウスを用いた安全性評価が行われた。BALB/c マウスの前立腺内に G47Δの最高量 1×10^7 pfu を単回投与したところ、3 ヶ月の観察期間で何の症状も認めず、死亡したマウスも存在しなかった。一方、野生型 HSV-1 (strain F) 投与群では、1×10^4 pfu 投与にもかかわらず 7 日目までに 10 匹中 3 匹が死亡し、3 週目までには全マウスが死亡した。病理組織学的検査では、G47Δ投与群では異常を認めなかったのに対して、野生型 HSV-1 投与群では、上皮の抜け落ち、間質の浮腫が見られた(添付資料 5(2)10-9~10)。前立腺内投与において、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。</p> <p>また、ヒト前立腺癌細胞株 HONDA を用いたマウス皮下腫瘍モデルでの非臨床試験では、G47Δを 4×10^6 pfu 2 回腫瘍内投与したが、G47Δに起因すると思われる異常を認めなかった。さらに、マウス前立腺癌細胞株 TRAMP-C2 を用いた皮下腫瘍モデルでの非臨床試験では、4 回腫瘍内投与でも G47Δに起因すると思われる異常を認めなかった。従って、このモデルでは、4 回投与まで安全であることが示された。</p> <p>また、A/J マウスを用いて、G47Δの脳内投与の安全性を検討した。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、G47Δ (2×10^6 pfu) の脳内単回投与の安全性を盲検法で比較した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</p>

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)10-1)。さらに、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は研究に用いた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。

現在、First-in-Man臨床研究が東京大学医学部附属病院で進行中である¹¹⁾。再発膠芽腫患者を対象とし、段階的用量増加を行う単施設の第I-IIa相の研究デザインであり、G47Δは腫瘍内の2-5カ所に分けて直接注入し、2週間以内に2回実施する。主な選択規準は、病理診断で膠芽腫と診断された放射線治療後の再発で、定位的脳手術が可能な単一の1cm以上の病変であり、18歳以上で介助がほとんど不要である状態であること、などとなっている。評価期間は3ヶ月間で、安全性の評価が主要エンポイントである。平成21年5月に厚生労働省の承認を得たのち平成21年11月に被験者登録を開始した。

G47ΔはG207の改良型ウイルスであり、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。G207の前立腺内投与に関しても、マウスとサルを用いた安全性評価が行われた²⁾。BALB/cマウスの前立腺内にG207の 1×10^7 pfuを単回投与したところ、5ヶ月の観察期間で何の症状も認めず、死亡したマウスも存在しなかった。一方、 1×10^6 pfuの野生型HSV-1 (strain F) 投与群では、50%に活動が鈍く、姿勢異常のマウスが認められ、13日までに死亡した。病理組織学的検査では、G207投与群では異常を認めなかったのに対して、野生型HSV-1投与群では、上皮の抜け落ち、間質の浮腫が見られた。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、臨床用 (clinical grade) のG207の前立腺内投与の安全性は4匹のサルでも詳細に検討された²⁾。G207 (1×10^7 pfu) を前立腺内に単回投与したところ、21日もしくは28日の観察期間中、サルは全く無症状であった。また、G207の前立腺内投与後、7, 14, 21, 28, 56日目に血液、脳脊髄液、尿、分泌液(尿道、直腸、口内、結膜部)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。14日目の精液からもウイルスは検出されず、剖検時の解剖で採取した脳脊髄液からも感染性ウイルスは検出されなかった。

(6) G207の臨床試験での安全性の確認

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¹²⁾。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。同じく米国アラバマ大学バーミングハム校において、G207を用いて再発悪性グリオーマ患者6例を対象に米国で第Ib相臨床試験が行われた(2002年～2003年)¹³⁾。腫瘍摘出前後の2回、G207を投与するというプロトコルにて施行された。 1.5×10^8

pfu の G207 を腫瘍内に投与した 2-5 日後に、腫瘍を外科的に摘出してその摘除部位に 1.0×10^9 pfu の G207 を投与した。G207 に起因する重篤な有害事象は認めず、ヘルペス脳炎やアシクロビルを要するような副作用は認めなかった。1 例で G207 投与 2 日後に一時的な高熱と見当識障害を認めたが、ステロイド投与にて 12 時間以内に快復した。腫瘍検体の培養から 1 例のみ HSV が単離され、PCR 解析では全ての腫瘍検体で HSV DNA が確認された。一方、唾液、尿、結膜、血清には G207 は認められなかった。効果に関しては、G207 投与後に Karnofsky スコアの改善が 3 例 (50%) に認められた。CR や PR は得られず、生存期間は G207 投与後 6.6 ヶ月 (中央値) であった。死亡原因は原病進行のためと考えられた。しかし、G207 投与部位には進行を認めない 1 例も見られた。剖検が行われた 1 例では、脳、肝臓、膵臓、血液全てで HSV 陰性であった。

(引用文献)

10. Lopez C. Genetics of natural resistance to herpesvirus infections in mice. *Nature* 258: 152-153.1975.
11. Ino Y and Todo T. Clinical development of a third-generation oncolytic HSV-1 (G47Δ) for malignant glioma. *Gene Therapy Regulation* 5: 101-111, 2010.
12. 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.
13. Markert JM, Liechty PG, Wang W, et al. Phase Ib trial of mutant herpes simplex virus G207 inoculated pre- and post-tumor resection for recurrent GBM. *Mol. Ther* 17: 199-207, 2009.

(7) 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
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 の前立腺内投与後、1 ヶ月間採取した涙、唾液、膺分泌液からは 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。

(8) 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。

(9) 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。

(10) 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。

(11) 細胞の安全性
G47Δ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)に感染させて作製した。

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った。

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った。G47Δ作製にはマスターセルバンクからの継代数が低い Vero 細胞を用いた。

③ 被験者に投与する細胞の安全性

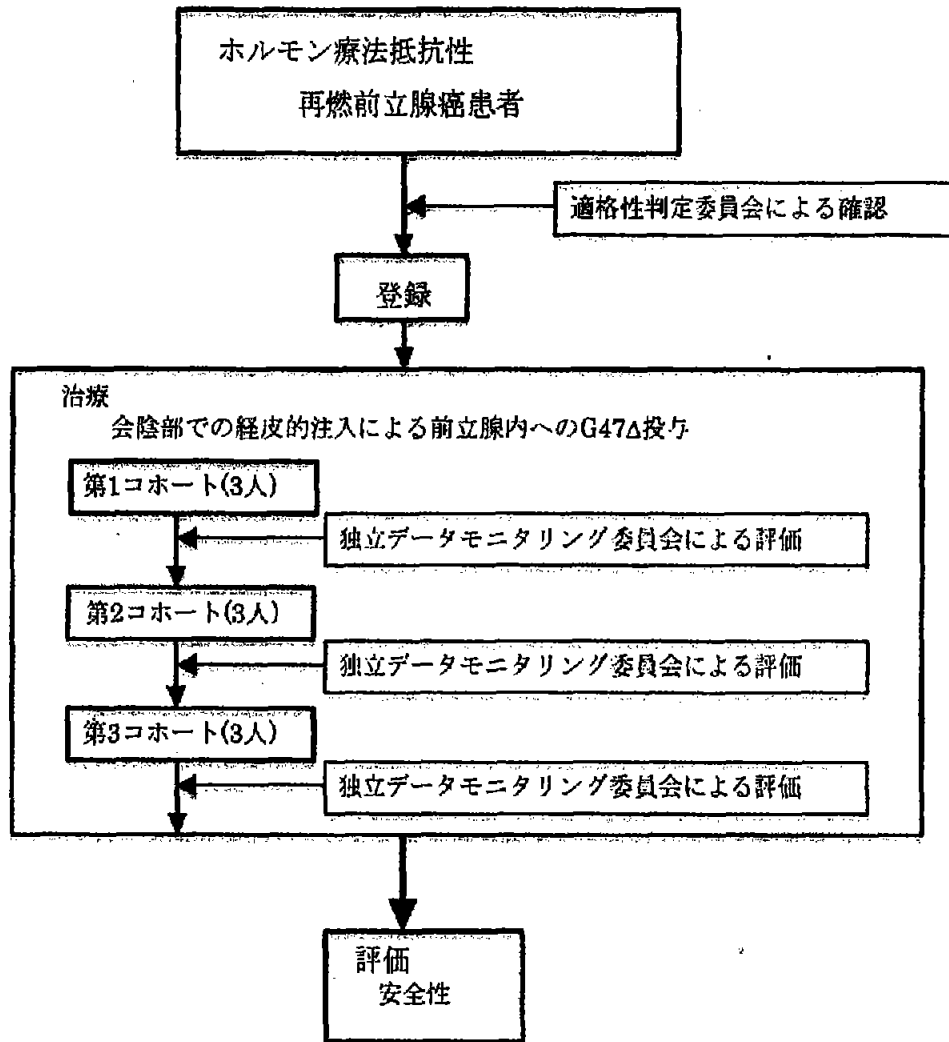
本臨床研究では被験者に細胞の投与を行わない。

<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>培養細胞およびマウスを用いた非臨床研究では、G47Δの抗腫瘍効果と、安全性が示されている。G47Δを用いて進行膠芽腫患者を対象として臨床研究が東京大学医学部附属病院で進行中である。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、前立腺癌診療、経直腸的ガイド下での経皮的穿刺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

(1) 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投与量増加研究である。

① シェーマ



(2) 対象疾患と病期

前立腺非摘出で、ホルモン療法が無効となった再燃前立腺癌患者。東京大学医学部附属病院の受診患者（紹介患者を含む）の中で本研究を希望し、選択規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規準を全て満たし、かつ除外規準のいずれにも該当しない者を対象とする。

(3) 研究のデザイン

本研究は無作為化を行わないオープンラベルによる G47Δの段階的用量増加研究である。ホルモン療法抵抗性再燃前立腺癌の患者を対象とし、経会陰的に前立腺内に G47Δを投与する。3段階 3例ずつの用量増加を行う。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、PSA 変化により G47Δの効果を評価する。

個々の患者については、1週間以上3週間以内に次の回の G47Δの投与（同量）を行う。観察期間は G47Δ投与完了後6ヶ月間とする。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。

(4) 被験者の選択規準および除外規準

1. 選択規準

- ・ 前立腺全摘除術を受けずにホルモン療法を行っていた前立腺癌患者で、ホルモン療法が無効となった（注記1）と判断された者。腹骨盤部 CT 検査や骨シンチグラフィの画像検査にて遠隔転移を認める者も含む。
- ・ ホルモン療法無効と判断された後で前立腺癌の存在が病理学的に確認された者。
- ・ Performance Status (PS)が0または1であること。

- ・ 年齢 20 歳以上。
- ・ 6 ヶ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。
- ・ 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思があること。

注記1： ホルモン治療中であるにもかかわらず、血清PSAの有意な上昇（2週間以上の間隔での3回の測定において連続的に上昇）する者を「ホルモン療法無効症例」と定義する。血中テストステロン値が1.0ng/ml以下であることも確認する。抗アンドロゲン剤を併用している症例では、投薬を中止し抗アンドロゲン除去症候群でないことを確認する。

2. 除外規準

a. 既往歴

- ・ 本研究参加前 30 日以内に未承認薬の治験／臨床研究に参加している場合。
- ・ 遺伝子治療またはウイルス療法の既往。
- ・ HIV 陽性またはその既往。
- ・ 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。

b. 臨床検査値

- ・ 白血球 $\leq 3.0 \times 10^3/\text{mm}^3$ 、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、PT-INR > 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。

c. 併存疾患

- ・ 活動性のヘルペスウイルス感染の存在。
- ・ 前立腺癌以外の活動性の悪性腫瘍の存在。
- ・ 活動性でコントロールされていない感染症の存在。
- ・ アルコールまたは他の薬物中毒の存在。
- ・ 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。

d. 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。

e. 併用薬

- ・ 30 日以内のドセタキセル等の抗癌剤の投与。
- ・ 30 日以内の抗アンドロゲン剤の投与。

f. その他

- ・ その他、担当医師が不適切と判断する場合。

(5) 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 5（2）5）を患者本人に渡し、トランスレーショナルリサーチコーディネータもしくは臨床試験コーディネーター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。

本研究が臨床研究であること。

臨床研究と一般診療との違い。

本研究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

現在の一般的な治療法（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。

研究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

研究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

研究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

氏名や個人情報を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、研究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

研究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、研究への参加について依頼する。被験者本人が研究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。

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。

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研究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) 研究担当医師は、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) 研究担当医師は、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。その後に、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センターに送付する。

iv) 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、研究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、研究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、データセンターは研究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／研究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。

(6) 実施期間および目標症例数

1) 実施期間

研究全体の期間は、承認後4年（症例登録期間は承認後2年）とする。

個々の患者の治療期間は、2回投与群で1-3週間、3回投与群で2-6週間、4回投与群で3-9週間とする。観察期間はG47Δ投与完了後6ヶ月間とする。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。

2) 目標症例数

9人(最大18人)。

(7) 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) 投与量増加の方法

本研究ではコホート単位で投与回数を増加する。

1群3例ずつ、3群にわたって2回、3回、4回と投与回数を増加する。1回あたり 3.0×10^8 pfu、すなわち一人あたり総量 6.0×10^8 pfu、 9.0×10^8 pfu、または 1.2×10^9 pfuを投与する。同群の次の被験者の治療を開始するまでには、直前の被験者への最終投与後、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最終投与後、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。

あるコホートで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。

最小投与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。

iii) ウイルス導入方法

G47Δの投与は入院の上、手術室にて行う。投与に際しては、碎石位にて経直腸超音波ガイド下に前立腺内に経会陰的に投与する。10%グリセリン加磷酸緩衝液(PBS)で総量1mlとなるよう希釈したG47Δを、前立腺内の2カ所に分けて緩徐に注入する。前回投与後1週間以上3週間以内に、次回の投与を同様に行う。

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 身体所見、身長・体重
- ③ バイタルサイン
- ④ 薬剤服用歴
- ⑤ 腹骨盤部CT
- ⑥ 骨シンチ

- ⑦ 血清 PSA 値
- ⑧ 血算(白血球分画および血小板数を含む)
- ⑨ 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)
- ⑩ 凝固系 (PT INR)
- ⑪ 心電図
- ⑫ 胸部 X 線
- 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
 - ③ 遅延型皮膚過敏反応
- 3) 第 1 回 G47 Δ 投与前日
 - ① バイタルサイン
 - ② 血算(白血球分画および血小板数を含む)
 - ③ 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)
 - ④ 凝固系 (PT INR)
 - ⑤ 併用薬剤
 - ⑥ 有害事象評価
- 4) 第 1 回 G47 Δ 投与当日の投与後
 - ① バイタルサイン
 - ② 併用薬剤
 - ③ 有害事象の評価
- 5) 第 1 回 G47 Δ 投与翌日
 - ① バイタルサイン
 - ② 併用薬剤
 - ③ 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)
 - ④ HSV の排出 (血清、唾液、尿の PCR。陽性の場合は定量的 PCR も)
 - ⑤ 有害事象の評価
- 6) 第 2 回 G47 Δ 投与前日
 - ① バイタルサイン
 - ② 血算(白血球分画および血小板数を含む)
 - ③ 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)
 - ④ 凝固系 (PT INR)
 - ⑤ 併用薬剤
 - ⑥ 有害事象評価
- 7) 第 2 回 G47 Δ 投与当日の投与後
 - ① バイタルサイン
 - ② 併用薬剤
 - ③ 有害事象の評価
- 8) 第 2 回 G47 Δ 投与翌日
 - ① バイタルサイン
 - ② 併用薬剤
 - ③ 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) ④ HSV の排出 (血清, 唾液, 尿の PCR。陽性の場合は定量的 PCR も) ⑤ 有害事象の評価 9) (第 3 回 G47Δ投与前日) ① バイタルサイン ② 血算(白血球分画および血小板数を含む) ③ 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) ④ 凝固系 (PT INR) ⑤ 併用薬剤 ⑥ 有害事象評価 10) (第 3 回 G47Δ投与当日の投与後) ① バイタルサイン ② 併用薬剤 ③ 有害事象の評価 11) (第 3 回 G47Δ投与翌日) ① バイタルサイン ② 併用薬剤 ③ 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) ④ HSV の排出 (血清, 唾液, 尿の PCR。陽性の場合は定量的 PCR も) ⑤ 有害事象の評価 12) (第 4 回 G47Δ投与前日) ① バイタルサイン ② 血算(白血球分画および血小板数を含む) ③ 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) ④ 凝固系 (PT INR) ⑤ 併用薬剤 ⑥ 有害事象評価 13) (第 4 回 G47Δ投与当日の投与後) ① バイタルサイン ② 併用薬剤 ③ 有害事象の評価 14) (第 4 回 G47Δ投与翌日) ① バイタルサイン ② 併用薬剤 ③ 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) ④ HSV の排出 (血清, 唾液, 尿の PCR。陽性の場合は定量的 PCR も) ⑤ 有害事象の評価 15) 最終 G47Δ投与 7 日後±2 日 ① バイタルサイン ② 血算(白血球分画および血小板数を含む) ③ 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)

- ④ 凝固系 (PT INR)
- ⑤ HSV の排出 (血清, 唾液, 尿の PCR。陽性の場合は定量的 PCR も)
- ⑥ 併用薬剤
- ⑦ 有害事象の評価

16) 最終回 G47Δ投与 28 日後±4 日

- ① 身体所見、体重
- ② バイタルサイン
- ③ 血算(白血球分画および血小板数を含む)
- ④ 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)

- ⑤ 凝固系 (PT INR)
- ⑥ リンパ球 CD4/CD8 数および比
- ⑦ HSV 抗体価
- ⑧ 遅延型皮膚過敏反応
- ⑨ 併用薬剤
- ⑩ 有害事象の評価

17) 最終 G47Δ投与 3 ヶ月後±7 日

- ① 身体所見、体重
- ② バイタルサイン
- ③ 血清 PSA 値
- ④ 血算(白血球分画および血小板数を含む)
- ⑤ 腹骨盤部 CT
- ⑥ 骨シンチ
- ⑦ リンパ球 CD4/CD8 数および比
- ⑧ 遅延型皮膚過敏反応
- ⑨ HSV 抗体価
- ⑩ 併用薬剤
- ⑪ 有害事象の評価

18) 最終 G47Δ投与 6 ヶ月後±14 日

- ① 身体所見、体重
- ② バイタルサイン
- ③ 血清 PSA 値
- ④ 血算(白血球分画および血小板数を含む)
- ⑤ 腹骨盤部 CT
- ⑥ 骨シンチ
- ⑦ リンパ球 CD4/CD8 数および比
- ⑧ 遅延型皮膚過敏反応
- ⑨ HSV 抗体価
- 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、LH-RH アゴニストあるいはステロイドは併用可である。手技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。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の前立腺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) 研究薬 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
- 2) 投与手技に関連するもの
- ① 穿刺部位からの出血
 - ② 肛門出血
 - ③ 血尿、血便、血精液症
 - ④ 急性前立腺炎
 - ⑤ 排尿困難、尿閉
 - ⑥ 頻尿、尿意切迫、尿路痛
 - ⑦ 下腹部や会陰、肛門周囲の不快感、鈍痛
- vii) ウイルス療法臨床研究の評価方法、評価規準、および中止判定規準
- 1) 評価方法および評価規準
 - 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、G47Δ投与後2年間までの下記の有害事象についてそれぞれNCI-CTCAE ver4.03 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 腎および尿路障害：頻尿、尿失禁、尿閉、尿路閉塞、尿路痛、尿意切迫、血尿
 - ⑤ 感染：好中球減少を伴わない感染
 - 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 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 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

G47Δ投与日を起算日とし、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。
 - 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
 - ア) 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。前立腺癌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

- ③ 用量増加の可否の判断（コホート間）
 - 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研究の中止を勧告できる権限を持つ。
- ①. 適格基準の変更
 - ②. 目標症例数の再設定
 - ③. プロトコル治療計画の変更
 - ④. その他の必要な変更

イ) 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。東京大学医学部附属病院泌尿器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。総括責任者または研究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。

ウ) 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。

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。記入は研究担当医師または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。

x) 記録の保存及び成績の公表の方法

研究代表者は、研究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、研究終了後最低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、研究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、平成20年12月1日一部改正：<http://www.mhlw.go.jp/general/seido/kousei/i-kenkyu/idenshi/0504sisin.html>）に従って行う。

備考

臨床試験日程	適格性 評価	登録後から G47Δ投与 前まで	第1回 G47Δ投与 前日	第1回 G47Δ投与 当日	第1回 G47Δ投与 翌日	第2回G47Δ 投与 前日	第2回G47Δ 投与 当日	第2回G47Δ 投与 翌日	第3回G47Δ 投与 前日	第3回G47Δ 投与 当日	第3回G47Δ 投与 翌日	第4回G47Δ 投与 前日	第4回G47Δ 投与 当日	第4回G47Δ 投与 翌日	最終回 G47Δ投与 7日後	最終回 G47Δ投与 1ヶ月後	最終回 G47Δ投与 3ヶ月後	最終回 G47Δ投与 6ヶ月後
身体所見																		
説明と同意	○																	
病歴、身体所見	○																	
バイタルサイン	○		○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
PS	○		○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
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(血清、尿、唾液)					○			○						○				
血清PSA	○																○	○
画像検査																		
腹骨盤部CT	○																	
骨シンチ	○																○	○
治療																		
G47Δ投与				○									○					

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：PS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 Ver4.03 (抜粋)

資料5 (2) 5：同意説明文書

資料5 (2) 6：製剤品質試験項目

資料5 (2) 7：重篤な有害事象発生時の報告・対応手順書

資料5 (2) 8：症例登録票、症例経過記録票

資料5 (2) 9：G47Δの構造

資料5 (2) 10：安全性試験

資料5 (2) 11：遺伝子治療臨床研究審査委員会規則

資料5 (2) 12：個人情報の適切な管理のための措置に関する規程

同意説明文書

ホルモン療法抵抗性再燃前立腺癌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・泌尿器科 講師 福原 浩

1. はじめに

東京大学医学部附属病院泌尿器科では、再燃前立腺癌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研究は、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研究を行ったのち、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。本研究に参加されてもあなたの病気が良くならないかもしれません。しかし、あなたが研究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。研究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。

あなたの病気は再燃前立腺癌と呼ばれるものです。これまでに放射線治療およびホルモン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。

この臨床研究は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は前立腺癌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は既に悪性脳腫瘍の膠芽腫に対して、東京大学医学部附属病院脳神経外科において臨床研究が開始されています。現在も投与量を段階的に増やして安全性を確認するための臨床研究が進行中です。今回は、前立腺癌を対象として、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、脳腫瘍や癌に対してウイルス療法の臨床研究が行われています。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. この研究の目的

この臨床研究の主な目的は、会陰部で経皮的に前立腺内へ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（回数）のG47Δを3人以上の患者に投与させていただき、その量（回数）が安全であることを確認した後、次の段階の量（回数）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（回数）を増やしていきます。あなたに投与されるG47Δの量は、あなたが臨床研究に参加される時期によって定められた量（回数）になります。研究担当医師があなたにその量（回数）をお知らせします。

また、G47Δの前立腺癌に対する治療効果をPSA値や画像などで評価します。

3. この研究の方法

この臨床研究の対象となる患者は、東京大学医学部附属病院泌尿器科外来を受診された、再燃前立腺癌の患者の中で、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

以下の主な条件を全て満たす方が対象となります。

- (1) 病理学的に前立腺癌との診断が確定されており、かつ、ホルモン療法が無効となったと判断された方。腹部CT検査や骨シンチグラフィの画像検査にて遠隔転移を認める方も含みます。
- (2) ウイルス投与前の前立腺針生検にて前立腺癌の診断が確定された方。
- (3) 抗癌剤ドセタキセルの投与が無効または投与後に再発した方、およびドセタキセルの投与を希望しない方。
- (4) 歩行や起き上がりなどの日常生活上の基本的動作を、常に介助なしに自分で行うことが可能であ

る状態の方。

対象とならない方

ただし、以下のいずれかに当てはまる場合は参加いただけません。

- (1) 本研究参加前 30 日以内に未承認薬の治験／臨床研究に参加している方。
- (2) 本研究参加前 30 日以内にドセタキセル等の抗癌剤を投与されている方。
- (3) 血液生化学検査などで大きな異常がみられる方。
- (4) 現在、抗ヘルペスウイルス薬による治療中である方。
- (5) G47Δ治療後 6 ヶ月間の避妊を実行する意思のない方。

3- 1. 投与の実際

この臨床研究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問診、診察（血圧、脈拍、体温、呼吸数など）
- 心電図
- 骨シンチグラフィあるいは腹部骨盤部 CT 検査
- 胸部レントゲン
- 血液検査

診察と検査の結果、臨床研究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 G47Δの投与を受けることになります。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。

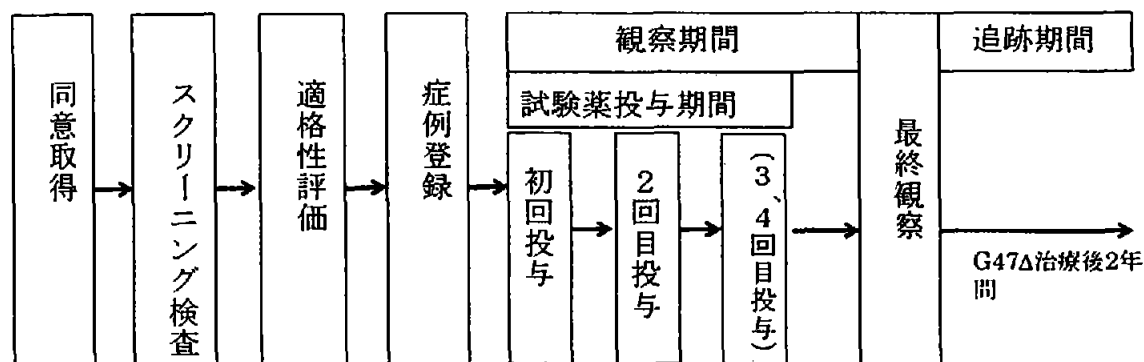
患者によって受ける G47Δの投与回数が異なります。あなたが受ける G47Δの量は、あなたが臨床研究のどの時期と段階で参加されたかによって決まります。一般的には、ある研究薬の投与回数が少なければ安全性上の懸念は減少するが効果への期待も少なく、逆に投与回数が多ければ効果への期待は高まるが安全性上の懸念も増大するということが想定されます。G47Δの量によって安全性や効果に差があるか否かは判っていません。研究担当医師が、あなたが受ける G47Δの投与回数と、いままで何人の患者がその投与回数や異なる投与回数で治療されてきたかを説明します。本臨床研究で予定されている G47Δの投与量は 1 回あたり 3×10^8 pfu (感染単位) で、投与回数は 2 回、3 回、4 回の 3 段階で、各投与回数あたり 3 名を予定しています。次の投与回数群に移る前には、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は前立腺の中に直接投与します。手術室にて、前立腺針生検の時のように砕石位という体位をとります。経直腸的に超音波プローブを挿入して前立腺の位置をよく確認します。局所麻酔をしてから、会陰部の皮膚に穿刺針を挿入し、G47Δを前立腺内にゆっくりと注入します。左右2回穿刺針を前立腺内に挿入します。穿刺は通常局所麻酔で行います。穿刺終了後は病棟に戻ります。

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。

研究担当医師が、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、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、研究担当医師がその必要性をあなたに詳しく説明します。臨床研究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。投与前から投与後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。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。

フローチャート



観察期間はG47Δ投与完了後6ヶ月間とする。

表1 観察・検査・報告スケジュール

臨床試験日程	過性性 評価	登録後から G47.3投与 前まで	第1回 G47.3投与 前日	第1回 G47.3投与 当日	第1回 G47.3投与 翌日	第2回G47.3 投与 前日	第2回G47.3 投与 当日	第2回G47.3 投与 翌日	第3回G47.3 投与 前日	第3回G47.3 投与 当日	第3回G47.3 投与 翌日	第4回G47.3 投与 前日	第4回G47.3 投与 当日	第4回G47.3 投与 翌日	第5回G47.3 投与 前日	第5回G47.3 投与 当日	第5回G47.3 投与 翌日	最終回 G47.3投与 7日後	最終回 G47.3投与 1ヶ月後	最終回 G47.3投与 3ヶ月後	最終回 G47.3投与 6ヶ月後	
身体所見	説明と同意 病歴、身体所見 バイタルサイン PS 有害事象評価 副作用発生記録		○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
検査所見	血算と白血球分類 生化学および凝固系 心電図 胸部単純造影 リンパ球分類 尿酸値及び尿酸化 HSV抗体価 HSV検定(血清、尿、唾液) 血清PBA	○ ○ ○ ○ ○ ○ ○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
画像検査	横断断層CT 骨シンチ																				○	○
治療	G47.3投与			○							○											

PS 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、白血球分類、生化学、凝固系、リンパ球分類、HSV抗体価、血清内HSVの各検査は血頭を採取して行います。

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研究への参加の可否が左右されることはありません。

この臨床研究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。本臨床研究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りした場合には、一般に行われている前立腺癌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. この臨床研究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、臨床研究参加の最初にお伝えする回数を超えた、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、本臨床研究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研究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。他の治験または臨床研究に参加された、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日間は本臨床研究には参加できません。この臨床研究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目途は、研究担当医師に個別にお尋ね下さい。

3-2. 併用療法

G47Δ以外の抗癌剤や抗アンドロゲン剤は、本臨床研究の観察期間中（G47Δ投与後およそ6ヶ月）併用できません。また、アシクロビル、バラシクロビルなどのヘルペスウイルス治療薬も、G47Δ投与後の感染症以外は併用できません。ただし、LH-RHアゴニストやステロイドは、投与量に変化がなければそのまま併用可能です。また、腫瘍の増大や病状の悪化が見られた場合は、その時点で臨床研究を終了し、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、臨床研究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、この研究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。

4. この研究の予定参加期間

あなたにこの研究に参加していただくのは、追跡期間も含めてG47Δ投与後2年です。治療後、1ヶ月後、3ヶ月後、6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、臨床研究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、その時点で臨床研究

参加を終了し、他の適切な治療に切り替えます。

5. この研究への予定参加人数について

この臨床研究を行うのは東京大学医学部附属病院泌尿器科においてのみです。参加人数は9人を予定していますが、有害事象が見られた場合は最大18人まで人数を追加する場合があります。

6. この臨床研究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、これまでにホルモン療法を受けてきましたが、病気は現在進行しています。この臨床研究に参加した場合、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。本臨床研究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、この臨床研究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。

試験薬 G47Δ が前立腺癌に使用されるのは、この臨床研究が世界で初めてです。本臨床研究は研究であり、この臨床研究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。

以下、本臨床研究で受ける手術および試験薬 G47Δ の前立腺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。

・投与手技に関連する有害事象

-出血：穿刺部位に出血を生じます。また、尿、便、精液に血が混じることがあります。出血量が多かったり、血が止まらなかつたりした場合は、経尿道的手術を行って止血や血腫除去を行うこともあります。自然に止血される場合がほとんどで、特別な処置を必要とするのは1%以下の頻度と考えられます。

-排尿困難、尿閉：前立腺内に穿刺することにより、一時的に排尿困難、尿閉を起こすことがあります。一時的に尿道バルーンカテーテルを留置します。

-会陰、肛門周囲の不快感、鈍痛

-投与手技に起因する死亡：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を前立腺内に投与しても高い安全性を示しました。東京大学附属病院脳神経外科においても、悪性脳腫瘍である進行性膠芽腫患者に対して G47Δを用いた臨床研究が 2009 年 11 月より開始され、現在も進行中です。しかし、G47Δを前立腺に用いるのはこの臨床研究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。

起こる可能性が比較的高い有害事象

39°C以上の発熱

可能性は低い、重篤となりうる有害事象

急性前立腺炎

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

脊髄炎—マウスの動物実験で HSV-1 を投与した際に、マウス脊髄で HSV-1 の感染が認められたとの報告があり、脊髄炎を呈する可能性は否定できません。

アレルギー反応

急性前立腺炎が起こった場合には、39°C以上の発熱が生じ、死亡することもあります。抗生物質投与にて対応し、適宜解熱剤やステロイドの投与を行います。この場合、入院が必要になります。その他、ヘルペスウイルス感染を疑った場合は、抗ヘルペスウイルス薬を投与して治療を行います。

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、避妊についての重要性を理解して頂く必要があります。

7. この臨床研究に参加されない場合の、他の治療法

この臨床研究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。

-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。ドセタキセルというお薬は、前立腺癌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。再燃前立腺癌患者を対象に欧米で行われた臨床試験では、

ドセタキセルはミトキサントロンというお薬に比べ、全生存期間を約2-3ヶ月延長しましたが、骨髄抑制を中心とした重篤な副作用が半数の方に認められ、治療関連死も0.3-2%に見られます。

-放射線治療：排尿症状などの局所の症状の緩和には有効性を認めますが、2年以内に約75%の症例においてPSAの再上昇を認め、予後の改善に関しては良好な成績は得られていません。しかも、前立腺に照射する場合は3-5%に直腸瘻や直腸出血などの重篤な晩期合併症を認めます。また、骨転移やリンパ節転移部位に放射線治療を行うことがあります。それらは転移に伴う疼痛を緩和するために施行され、放射線照射部位以外の病巣に対して効果は期待できません。

-他の臨床試験や臨床研究：具体的には主治医にお尋ね下さい。

-再燃前立腺癌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。

8. この研究中にあなたの健康に被害が生じた場合について

この臨床研究は、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。もし臨床研究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。この臨床研究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、その期間は最長で一年間とします。また、あなたの健康被害がこの臨床研究と関係があるかどうかの判定は、私たちとは利害関係のない、この臨床研究のために設置された当院の独立データモニタリング委員会で検討し、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。

9. この研究への参加は、あなたの自由意思によるものです

この臨床研究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。

10. この臨床研究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研究参加の意思決定に影響を与えるような情報が、この臨床研究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 1. この臨床研究を中止させていただく場合があります

以下の場合には臨床研究を中止させていただくことがあります。

- 医療上、臨床研究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
- この臨床研究の実施方法に従っていただけない場合

1 2. この研究に参加された場合、あなたのカルテなどが研究中あるいは研究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、きちんとこの研究が行われているかを確認するために、この臨床研究の関係者（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が、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。

1 3. この研究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

この研究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、この研究で得られたデータが、本研究の目的以外に使用されることはありません。

この臨床研究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、臨床研究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。

1 4. 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・厚生年金手帳等など)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が決まります。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。

15. この臨床研究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 が体液中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、臨床研究は、献血や精子の提供をしないで下さい。6 ヶ月間はコンドームを用いた避妊を行って下さい。

使用してはいけないお薬や治療法など、「3-2. 併用療法」の項に記載の事項を守ってください。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たりする場合、又は薬局で薬を購入した場合には、本臨床研究の研究担当医師に速やかに連絡してください。

16. あなたの費用負担について

G47Δの投与には、健康保険等の公的な医療保険は適用されません。その代わりに、G47Δの投与にかかわる費用は当院が負担します。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、この研究と関係のない医療費も、入院治療期間中は当院が負担致します。そのため、健康保険は使用致しません。ただし、差額ベッド料金、個室料金、食事代、リネン代については負担していただきます。

この臨床研究のために泌尿器科研究室で行なわれる特殊な検査は、研究費で実施されます。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。

17. 知的財産と利益相反について

この臨床研究の結果が特許権等の知的財産を生み出す可能性があります。その場合の知的財産権は研究者もしくは所属する研究機関に帰属します。

なお、研究者の一人は、試験薬 G47Δの日本における特許を有しています。

18. 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 泌尿器科

(代表：03-3815-5411、泌尿器科内線：33566、泌尿器科直通：03-5800-8753)

泌尿器科 講師 福原 浩 (研究代表者)

分担医師

19. いつでも相談窓口にご相談ください。

この臨床研究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 TR センターにご相談下さい。

東京大学医学部附属病院 (代表：03-3815-5411)

泌尿器科 (内線：33566、泌尿器科直通：03-5800-8753、月～金 9:30～17:00)

救急外来 (内線：34100、夜間休日を含み、泌尿器科当直医が24時間対応。)

TRセンター： (直通：03-5800-9072、月～金 9：00～17：00)

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：泌尿器科当直医)

代表：03-3815-5411 (「救急外来」または 内線 34100)

医師用

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:

ホルモン療法抵抗性再燃前立腺癌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. 研究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. 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について
15. 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
16. この臨床研究に参加された場合の費用負担について
17. 知的財産と利益相反について
18. 担当医師について
19. 相談窓口について

【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、本研究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)

【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:

ホルモン療法抵抗性再燃前立腺癌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. 研究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. 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について
15. 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
16. この臨床研究に参加された場合の費用負担について
17. 知的財産と利益相反について
18. 担当医師について
19. 相談窓口について

【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、本研究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)

【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:

ホルモン療法抵抗性再燃前立腺癌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. 研究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. 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について
15. 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
16. この臨床研究に参加された場合の費用負担について
17. 知的財産と利益相反について
18. 担当医師について
19. 相談窓口について

【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、本研究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)

【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)



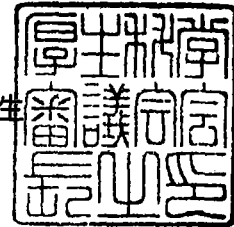
厚 科 審 第 29 号
平成 23 年 11 月 2 日

科学技術部会部会長

永井 良三 殿

厚生科学審議会会長

垣添 忠生



遺伝子治療臨床研究に係る生物多様性影響評価について（付議）

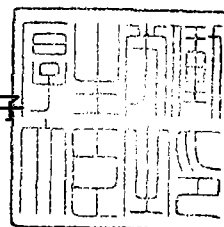
標記について、平成 23 年 11 月 2 日付厚生労働省発科 1102 第 2 号をもって厚生労働大臣より諮問があったので、厚生科学審議会運営規程第 3 条の規定に基づき、貴部会において審議方願いたい。

厚生労働省発科 1102 第 2 号
平成 23 年 11 月 2 日

厚生科学審議会会長

垣添 忠生 殿

厚生労働大臣 小宮山 洋子



諮 問 書

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

記

1. 申請日 平成 23 年 9 月 22 日

申請者 東京大学医学部附属病院 病院長 門脇 孝

遺伝子治療臨床研究の名称

ホルモン療法抵抗性再燃前立腺癌に対する増殖型遺伝子組換え単純ヘルペスウイルス G47Δ を用いたウイルス療法の臨床研究

遺伝子組換え生物等の名称

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 (G47Δ)

2. 申請日 平成 23 年 9 月 29 日

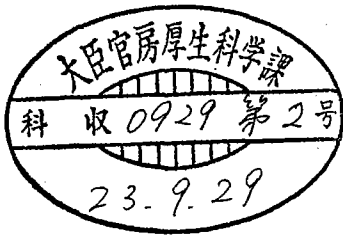
申請者 国立成育医療研究センター 総長 加藤 達夫

遺伝子治療臨床研究の名称

慢性肉芽腫症に対する造血幹細胞を標的とした遺伝子治療臨床研究

遺伝子組換え生物等の名称

ヒト cytochrome b-245, beta polypeptide (CYBB) 遺伝子を含み、マウスアンフトロピックウイルス 4070A のエンベロープタンパク質を有する増殖能欠損型モロニーマウス白血病ウイルスベクター-MFGSgp91



第一種使用規程承認申請書

平成 23 年 9 月 22 日

厚生労働大臣 殿

環境大臣 殿

申請者 氏名 東京大学医学部附属病院

病院長 門脇 孝

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。

<p>遺伝子組換え生物等の種類 の名称</p>	<p>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>遺伝子組換え生物等の第一種使用等の内容</p>	<p>治療施設におけるヒト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>遺伝子組換え生物等の第一種使用等の方法</p>	<p>治療施設の所在地 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実験室内の保冷库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希釈溶液を専用のバイアルに入れ、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。）を経直腸超音波ガイド下に会陰部で経皮的に注入することにより行う。被験者の経直腸的に超音波を挿入し、超音波の画像をガイドにしながら、会陰部で経皮的に注入針を刺入し、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。特に皮膚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。</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で覆う。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</p>

	<p>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。</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>
--	--

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%ポビドンヨード、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°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。

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 ウイルスに関する情報

(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 $\square\Delta$ は、G207からさらに $\square\alpha$ 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%グリセリン加リン酸緩衝液(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附属病院へ搬送する。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科学研究所治療ベクター開発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も、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：ヒト前立腺癌細胞株LNCaP、ヒト前立腺癌細胞株PC-3、ヒト前立腺癌細胞株DU145、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28 : DeBiasi, R. *et al.* Use of PCR for the diagnosis of herpes virus infections of the central nervous

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29)。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30)。

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 (文献31)。

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、32)。

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29 : Chou, J. *et al.* Mapping of herpes simplex virus-1 neurovirulence to γ 34.5, a gene nonessential for growth in culture. *Science* 250: 1262-1266 (1990)

文献30 : 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 : 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)

文献 3 2 : 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-2alpha. *J Virol.* 72: 7005-7011 (1998).

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。
- (4) P2実験室内の安全キャビネット内でG47Δ希釈溶液を専用のバイアルに入れ、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。）を経直腸超音波ガイド下に会陰部で経皮的に注入することにより行う。被験者の経直腸的に超音波を挿入し、超音波の画像をガイドにしなが、会陰部で経皮的に注入針を刺入し、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。特に皮膚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。
- (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う。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。
- (8) 投与後72時間まで、被験者を個室内で管理する。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。

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

G47ΔはG207(二重変異を有する遺伝子組換えHSV-1)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(文献33)。G207の前立腺内投与に関して、マウスとサルを用いた徹底的な安全性評価が行われている。BALB/cマウスの前立腺内にG207の最高量 1×10^7 pfuを単回投与したところ、5ヶ月の観察期間で何の症状も認めず、死亡したマウスも存在しなかった(文献34)。一方、野生型HSV-1(strain F)投与群では、50%に活動が鈍く、姿勢異常のマウスが認められ、13日までに死亡した。病理組織学的検査では、G207投与群では異常を認めなかったのに対して、野生型HSV-1投与群では、上皮の抜け落ち、間質の浮腫が見られた。また、カラムで精製した臨床用(clinical grade)のG207の安全性はHSV-1に感受性のあるサル(*Aotus nancymae*)でも詳細に検討され、4匹のサルに 1×10^7 pfuのG207が前立腺内に単回投与された。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、涙、唾液からはPCR法、ウイルス培養いずれでもHSV-1が検出されず、他臓器へのウイルスは検出されなかった。さらに、G47Δの前立腺内投与に関して、マウスを用いた安全性評価が行われた。BALB/cマウスの前立腺内にG47Δ 1×10^7 pfuを単回投与したところ、3ヶ月の観察期間で何の症状も認めず、死亡したマウスも存在しなかった。一方、野生型HSV-1(strain F)投与群では、 1×10^4 pfu投与にもかかわらず7日目までに10匹中3匹が死亡した。病理組織学的検査では、G207投与群では異常を認めなかったのに対して、野生型HSV-1投与群では、上皮の抜け落ち、間質の浮腫が見られた。

文献33 : 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34 : Varghese S, *et al.* Preclinical safety evaluation of G207, a replication-competent herpes simplex virus type 1, inoculated intraprostatically in mice and nonhuman primates. *Hum Gene Ther.* 12: 999-1010 (2001).

6 国外における使用等により得られた情報

米国アラバマ大学バーミング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)(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。同じく米国アラバマ大学バーミングム校において、G207を用いて再発悪性グリオーマ患者6例を対象に米国で第Ib相臨床試験が行われた(2002年~2003年)(文献35)。腫瘍摘出前後の2回、G207を投与するというプロトコールにて施行された。まず、 1.5×10^8 pfuのG207を腫瘍内に投与し、2-5日後に腫瘍を外

科的に摘出した後で摘除部位に 1.0×10^9 pfuのG207を投与した。G207に起因する重篤な有害事象は認めず、ヘルペス脳炎やアシクロビルを要するような副作用は認めなかった。1例でG207投与2日後に一時的な高熱と見当識障害を認めたが、ステロイド投与にて12時間以内に快復した。腫瘍検体の培養から1例のみHSVが単離され、PCR解析では全ての腫瘍検体でHSV DNAが確認された。一方、唾液、尿、結膜、血清にはG207は認められなかった。効果に関しては、G207投与後にKarnofskyスコアの改善が3例(50%)に認められた。CRやPRは得られず、生存期間はG207投与後6.6ヶ月(中央値)であった。死亡原因は原病進行のためと考えられた。しかし、G207投与部位には進行した所見を認めない1例も見られた。剖検が行われた1例では、脳、肝臓、脾臓、血液全てでHSV陰性であった。

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 週間まで週 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。

東京大学附属病院脳神経外科においても、進行性膠芽腫患者に対してG47Δを用いた臨床試験が2009年11月より開始された。

文献 35 : Markert JM, Liechty PG, Wang W, et al. Phase Ib trial of mutant herpes simplex virus G207 inoculated pre- and post-tumor resection for recurrent GBM. Mol. Ther 17: 199-207, 2009.

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また進行中であるが、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。

遺伝子治療臨床研究実施計画等について

(三重大学医学部附属病院
大阪大学医学部附属病院
(財) 田附興風会医学研究所 北野病院)

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

遺伝子治療臨床研究実施計画に係る意見について

- 遺伝子治療臨床研究作業委員会の意見 P. 1

- 委員名簿 P. 7

平成 23 年 11 月 9 日

大阪大学医学部附属病院、田附興風会医学研究所北野病院から申請のあった遺伝子治療臨床研究実施計画等に係る意見について

遺伝子治療臨床研究作業委員会
委員長 島田 隆

大阪大学医学部附属病院、田附興風会医学研究所北野病院から申請のあった遺伝子治療臨床研究実施計画及び三重大学医学部附属病院からの変更報告書の関係事項について、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

【申請】

1. MAGE-A4 抗原特異的 TCR 遺伝子導入リンパ球輸注による治療抵抗性食道癌に対する遺伝子治療臨床研究
申請者：大阪大学医学部附属病院 病院長 福澤 正洋
申請日：平成 23 年 7 月 5 日
2. MAGE-A4 抗原特異的 TCR 遺伝子導入リンパ球輸注による治療抵抗性食道癌に対する遺伝子治療臨床研究
申請者：田附興風会医学研究所北野病院 病院長 藤井 信吾
申請日：平成 23 年 7 月 6 日

【関係変更報告書】

3. MAGE-A4 抗原特異的 TCR 遺伝子導入リンパ球輸注による治療抵抗性食道癌に対する遺伝子治療臨床研究
報告者：三重大学医学部附属病院 病院長 竹田 寛
報告日：平成 23 年 7 月 6 日

1. 遺伝子治療臨床研究実施計画の概要

- (1) 研究課題名： MAGE-A4 抗原特異的 TCR 遺伝子導入リンパ球輸注による治療抵抗性食道癌に対する遺伝子治療臨床研究
- (2) 申請等年月日： 平成 23 年 7 月 5 日又は 6 日
- (3) 実施施設及び代表者： ①大阪大学医学部附属病院 病院長 福澤 正洋
②田附興風会医学研究所北野病院 病院長 藤井 信吾
③三重大学医学部附属病院 病院長 竹田 寛一)
- (4) 総括責任者： ①大阪大学大学院医学系研究科 外科系臨床医学専攻
外科学講座 消化器外科 教授 土岐 祐一郎
②田附興風会研究所北野病院 消化器センター
外科・副部長 上田 修吾
③三重大学大学院医学系研究科 遺伝子・免疫細胞治療学講座
大学教員 珠玖 洋)
- (5) 対象疾患： 食道癌
導入遺伝子： MAGE-A4 抗原特異的 T 細胞受容体(TCR) α 鎖及び β 鎖遺伝子
ベクターの種類： 非増殖性レトロウイルスベクター
用法・用量： 腫瘍抗原 MAGE-A4 を認識する TCR α 鎖及び β 鎖遺伝子を導入した自己リンパ球を経静脈的に投与し、投与後 14 日目及び 28 日目に MAGE-A4143-151 ペプチド 300 μ g (不完全フロイントアジュバントとの懸濁液) を皮下投与する。TCR 遺伝子導入リンパ球の投与量は各コホート 2×10^8 個、 1×10^9 個及び 5×10^9 個。
研究実施期間： 平成 21 年 7 月 17 日 (三重大学医学部附属病院の実施計画の承認日) から 3 年間
目標症例数： 3 施設合計 9 例 (各コホート 3 例。有害事象が発現した場合には、各コホート最大 6 例まで増加し、最大 18 例。)
- (6) 研究の概略：
本研究は、標準的な治療法 (化学療法、放射線療法等) による効果が期待できない治療抵抗性の食道癌患者を対象として、腫瘍抗原 MAGE-A4 をヒト白血球抗原 (HLA)-A2402 存在下で特異的に認識する TCR α 鎖及び β 鎖の遺伝子をレトロウイルスベクターにより遺伝子導入した自己リンパ球 (TCR 遺伝子導入リンパ球) 輸

注の安全性を主要エンドポイントとする。副次エンドポイントは、TCR 遺伝子導入リンパ球の血中動態及び腫瘍組織への浸潤、腫瘍特異的免疫反応、及び腫瘍縮小効果。

今回の申請等は、従来三重大学医学部附属病院単独で行っていた臨床研究について、共同実施施設として2施設を追加するもの。共同実施施設で行う場合も遺伝子導入・細胞培養等は三重大学において行われる。具体的には、各共同実施施設で患者から採取された自己リンパ球が三重大学細胞調製施設に搬送され、遺伝子導入・細胞培養が行われた後、各共同実施施設に戻され、TCR 遺伝子導入リンパ球が患者に投与される。

(7) その他（現在実施中の臨床研究の状況等）：

三重大学医学部附属病院で現在実施されている臨床研究の状況は、6例が登録され、うち3例に遺伝子導入細胞の投与が実施され、残り3例は脳内転移や原病悪化により遺伝子導入細胞投与前に中止されている。遺伝子導入細胞を投与された3例については、平成23年6月28日時点において遺伝子導入細胞に起因する有害事象は認められていない。

2. 遺伝子治療臨床研究作業委員会における審議概要及び検討結果

(1) 開催日時： 平成23年10月19日(水) 14:00～16:10

(2) 議事概要：

三重大学医学部附属病院の遺伝子治療臨床研究に関連する、大阪大学医学部附属病院及び田附興風会医学研究所北野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：食道癌、多施設共同研究）について、審議が行われた。

申請者から説明を受けた後、質疑応答が行われた。

主な議論は以下の通り。

- ① 三重大学医学部附属病院の遺伝子治療臨床研究実施計画自体は既に平成21年に承認されており、ベクターや遺伝子導入法は同一である。
- ② 今回、新たに提案されている多施設共同研究として遺伝子治療を行うための、遺伝子導入細胞の輸送や受け入れ等の技術的課題についても作業委員会開催前の申請者等との事前のやりとり（別添参照）により十分検討されており特段の問題はないと考えられる。

- ③ しかし、作業委員会での当日の議論のなかで、安全性の評価を主要エンドポイントとして開始された臨床研究を、途中で多施設共同研究に変更することは、安全性の確認が済んだかのような誤った情報を発信することになり、科学的にも倫理的にも問題が多いという意見が複数の委員より出された。また、既に三重大学医学部附属病院単独で開始している臨床研究をこの時点で、多施設共同研究に変更する理由について申請者側から合理的な説明は得られなかった。
- ④ その結果、作業委員会としては、現在進行中の三重大学医学部附属病院の臨床研究はこのまま継続し、第Ⅰ相試験としての安全性の評価を行うべきであり、多施設共同研究については新たな臨床研究として申請することが妥当であるという意見でまとまった。
- ⑤ 一方で、多施設共同研究を進めることは遺伝子治療の発展のためにも重要であると考えられる。今後、再申請を行う場合や、新たに多施設共同の遺伝子治療臨床研究を申請するためには、②の技術的問題だけでなく③で指摘されたような臨床研究の妥当性についても十分に検討する必要があることを申請者に伝達することが妥当とした。
- ⑥ 今回の作業委員会の審議を通し、遺伝子治療の安全性や科学的問題だけでなく、臨床研究としての妥当性や倫理性が主な問題点として取り上げられた。これらの問題をどこまで議論するべきか、作業委員会の役割をより明確にしていく必要がある。

以上について、作業委員会として、科学技術部会に報告することとした。

以 上

(別添)

○ 本作業委員会の事前意見

1. 凍結細胞搬送方法及び解凍方法の設定と手順書に従った運用により、凍結保存細胞の安定性は担保できると考えられるため、各実施施設での凍結保存バイアルによる生存率測定は実施しない予定とのことであるが、搬送中あるいは解凍中の不慮の事態による影響を確認する観点からも、各実施施設において、細胞生存率の確認をすることを検討すること。

【追加意見】

凍結保存細胞の生存率を測定する際、安全性を担保する「生存率の下限」を何%にするのか説明すること。

2. 具体的な搬送時の、業者に渡してから業者のハンドリング方法、保存容器や設定温度、温度モニターの有無などの搬送時の情報について説明すること。

【追加意見】

容器内温度の規格値設定は予定していないとのことだが、本来、規格値は設定すべきではないか説明すること。

3. 各実施施設で検討しない場合には、搬送バリデーションの詳細な内容等を示した上で、搬送及び各実施施設における解凍操作により品質に影響を及ぼさないことを説明すること。

4. 三重大学において搬送前に品質を確認することが記載されているが、他の実施施設において品質を確認できるようなサンプル保存などの方法がとられているか説明すること。

5. 各施設に搬送された後、実際に使用する際の解凍の条件・手順は施設間で統一されているか明らかにすること。

6. 移送に伴って生じる移動や時間によって、遺伝子導入の効率や導入後のリンパ球の数、活性などに変化がないことが実験的に示されているか説明すること。

【追加意見】

実験結果を提示すること。

上記「1.」から「6.」の項目については平成23年9月6日付け、「1.」、「2.」及び「6.」における追加意見については平成23年10月11日付けで三重大学医学部附属病院等へ照会を行った。

○ 事前の意見に対する申請者等の対応

- ・ 輸注用細胞と同時に凍結保存バイアルを搬送することとし、搬送したバイアルを

用いて、共同実施施設にて凍結保存細胞の生存率を測定し、品質の確認を行うこととされた。

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 委員名簿

【 三重大学、大阪大学、北野病院 】

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

氏名	所属
あきの 浅野 茂隆	早稲田大学理工学術院 特任教授
あらと 荒戸 照世	(独) 医薬品医療機器総合機構 レギュラトリーサイエンス推進部研修課 研修課長
おおし 大橋 十也	東京慈恵会医科大学 DNA医学研究所教授
おの 小野 雅史	(独) 国立成育医療研究センター研究所 成育遺伝研究部長
かねこ 金子 周一	金沢大学 医学部長
さいとう 斎藤 泉	東京大学医科学研究所 遺伝子解析施設教授
しまだ 島田 隆	日本医科大学 医学部教授
たに 谷 憲三朗	九州大学 生体防御医学研究所所長
なす 那須 保友	岡山大学病院 新医療研究開発センター教授
はまだ 濱田 洋文	東京薬科大学 生命科学部教授
はやかわ 早川 堯夫	近畿大学 薬学総合研究所所長

○

(疾患専門医)

あんどう 安藤 暢敏	東京歯科大学市川総合病院病院長
------------	-----------------

○：委員長（五十音順 敬称略）