

## 8. 予想される臨床上の利益

この臨床研究により HIV に対する抵抗力をつけることは、たとえ抗 HIV 薬を中断しない場合でも HIV 感染症の進行を防ぐのに有利になると考えられます。もし抗 HIV 薬を長期間に渡り中断してもウイルス量の著明な増加や CD4 数の減少が起こらない場合は、服薬による副作用や生活上のわずらわしさ、経済的負担から開放される可能性があります。

## 9. 参加期間

同意書に署名を頂いてから、抗 HIV 療法中断後 2 年目までです。

その間に、ワクチンに用いる樹状細胞を作成するためにアフエレーションを行いますので、その際は原則として 1 泊 2 日の入院をして頂きます。ワクチン注射が始まると、1 - 2 週ごとの外来通院が必要です。抗 HIV 薬中断後 8 週間は毎週、その後は 2 - 4 週ごとに外来通院をして頂きます。

## 10. 医療費の負担について

この臨床試験のために生じる医療費の自己支払い分（アフエレーシスのための入院費用、樹状細胞の作製や血液検査の費用、副作用が生じた場合の治療費など）については、病院が負担させていただきます。この臨床試験とは関係のない医療費（抗 HIV 薬や定期的な血液検査など）については、これまでと同様に保健診療となります。

## 1 1. 健康被害が発生した際の処置について

今回の臨床研究中、または終了後でも体の異常に気づかれた場合は担当医または下記の医師ににすぐ連絡して下さい。担当医は適切な治療を行います。

緊急で医師と連絡を取る必要が生じた場合は、あなたの担当医師または感染免疫内科医師 中村哲也にご連絡下さい。

### <緊急時の連絡先>

電話 03-5449-5338 (中村哲也 直通)

03-3442-5683 (医科学研究所附属病院 直通：24 時間対応)

## 1 2. 参加に同意しなくても不利益を受けないこと

この臨床研究に参加するかどうかは、あなたの自由意志でお決め下さい。たとえ同意されなくても不利益を受けることは一切ありません。病院と担当医はあなたの意志を尊重し、あなたの病気の状態を専門的に判断した上であなた自身が選択された治療法に従って最善を尽くします。

### 13. あなたのプライバシーが守られること

この臨床研究に参加されることに関して、あなたのプライバシーには厳重な注意を払います。臨床研究の結果を学会や専門誌で発表する可能性があります。あなたのプライバシーに関する情報が明らかになることは決してありません。

## 1 4. 臨床研究を中止する場合

以下の条件に当てはまる場合には樹状細胞療法を中止することがあります。

- (1) あなたの状態が、この臨床研究を行うのに適当でないとされたとき
- (2) 症状が変化し、継続が困難と判断されたとき
- (3) 重い副作用の発現が確認されたとき
- (4) その他責任医師が中止すべきと判断した場合

また、この臨床研究はあなたの意思でいつでも中止することが出来ます。その場合も、あなたが不利益を被ることはありませんし、それまでと同様に医科学研究所附属病院で診療を受けることが出来ます。

## 15. 最後に

以上の説明でも十分ご理解されない点がある場合には、何なりと主治医におたずね下さい。

十分納得いただいた上でご同意頂ける場合は、お手数ですが同意書に署名をお願いします。



## 同意書

平成 年 月 日  
東京大学医科学研究所附属病院長  
岩本 愛吉 殿

私は、HIV 感染症に対する免疫療法に関して、\_\_\_\_\_ 医師から病状、治療内容・予想される合併症につき十分な説明を受け、自らすすんで自由意思で本臨床研究への参加に同意しました。つきましては、私の権利・プライバシーに十分配慮頂き、最大限の努力をしていただけるようお願いいたします。

患者住所：

患者氏名：\_\_\_\_\_

説明医師：\_\_\_\_\_

立ち会い医師：\_\_\_\_\_

東京大学医科学研究所附属病院

標準手技 ver2.0  
(2004年1月23日)

ヒト免疫不全ウイルス感染症に対する特異的免疫療法と計画的抗ウイルス薬の中断（第I相試験）

## 目次

A. はじめに .....	4
B. 操作手順 .....	5
(1) 各操作手順に共通する事項 .....	6
(2) 各操作手順で用いる試薬の調整 .....	7
(3) 患者からの末梢血単核球分離 .....	10
(4) 末梢血単核球の分離と凍結保存 .....	14
(5-1) 末梢血単核球の解凍と未熟樹状細胞の誘導 (第1回目) .....	19
(6-1) 成熟樹状細胞の誘導と抗原ペプチド添加 (第1回目) .....	22
(7-1) 成熟樹状細胞の回収 (第1回目) .....	24
(8-1) 被験者への成熟樹状細胞接種 (第1回目) .....	27
(5-2) 末梢血単核球の解凍と未熟樹状細胞の誘導 (第2回目) .....	29
(6-2) 成熟樹状細胞の誘導と抗原ペプチド添加 (第2回目) .....	32
(7-2) 成熟樹状細胞の回収 (第2回目) .....	34
(8-2) 被験者への成熟樹状細胞接種 (第2回目) .....	37
(5-3) 末梢血単核球の解凍と未熟樹状細胞の誘導 (第3回目) .....	39
(6-3) 成熟樹状細胞の誘導と抗原ペプチド添加 (第3回目) .....	42
(7-3) 成熟樹状細胞の回収 (第3回目) .....	44
(8-3) 被験者への成熟樹状細胞接種 (第3回目) .....	47
(5-4) 末梢血単核球の解凍と未熟樹状細胞の誘導 (第4回目) .....	49
(6-4) 成熟樹状細胞の誘導と抗原ペプチド添加 (第4回目) .....	52
(7-4) 成熟樹状細胞の回収 (第4回目) .....	54
(8-4) 被験者への成熟樹状細胞接種 (第4回目) .....	57
(5-5) 末梢血単核球の解凍と未熟樹状細胞の誘導 (第5回目) .....	59
(6-5) 成熟樹状細胞の誘導と抗原ペプチド添加 (第5回目) .....	62
(7-5) 成熟樹状細胞の回収 (第5回目) .....	64
(8-5) 被験者への成熟樹状細胞接種 (第5回目) .....	67
(5-6) 末梢血単核球の解凍と未熟樹状細胞の誘導 (第6回目) .....	69
(6-6) 成熟樹状細胞の誘導と抗原ペプチド添加 (第6回目) .....	72
(7-6) 成熟樹状細胞の回収 (第6回目) .....	74
(8-6) 被験者への成熟樹状細胞接種 (第6回目) .....	77
C. 必要物品・機材リストの一覧と保管条件 .....	78

D. 細菌培養等の安全性試験の結果 .....	8 0
(1) ステップ 1 (RPMI ; 7 ページ ; (2)-1) .....	8 1
(2) ステップ 2 (単核球 ; 15 ページ ; (4)-16) .....	8 2
(3-1) ステップ 3 (成熟樹状細胞、第 1 回目) .....	8 3
(3-2) ステップ 3 (成熟樹状細胞、第 2 回目) .....	8 4
(3-3) ステップ 3 (成熟樹状細胞、第 3 回目) .....	8 5
(3-4) ステップ 3 (成熟樹状細胞、第 4 回目) .....	8 6
(3-5) ステップ 3 (成熟樹状細胞、第 5 回目) .....	8 7
(3-6) ステップ 3 (成熟樹状細胞、第 6 回目) .....	8 8
E. 作業工程予定表 .....	8 9
第 1 回接種用 .....	9 0
第 2 回接種用 .....	9 1
第 3 回接種用 .....	9 2
第 4 回接種用 .....	9 3
第 5 回接種用 .....	9 4
第 6 回接種用 .....	9 5

## A. はじめに

この標準手技には、臨床試験「ヒト免疫不全ウイルス感染症に対する特異的免疫療法と計画的抗ウイルス薬の中断（第Ⅰ相試験）」で使用する樹状細胞ワクチン作製の操作手順について記載してある。

全ての操作は、「実施者」と「確認者」の2名によって行う。実施者は、各セクションごとに「必要物品・機材リスト」を確認し、確認者署名欄に署名をする。また、実施する[手技]の各項目の「□」の部分には、実施者が実施のチェックをする。全ての「□」がチェックされねばならない。

各セクションごとに、標準手技が正しく行なわれたことを実施者とは別の人間（確認者）が確認する。各セクション終了後、実施者と確認者は、実施日（複数日にわたる時は開始日）・患者名・患者ID番号・登録番号を記入し、それぞれが署名する。責任医師は全てを確認後、署名を行なうものとする。

## B. 操作手順

## (1) 各操作手順に共通する事項

- 1 本操作手順により作成される細胞は、患者に投与されるものである。患者検体を間違えたり汚染させたりすることがないように、適切な操作手順に沿って細胞処理を行なう。
- 2 同時に複数患者の検体を処理してはいけない。
- 3 あらかじめ、患者氏名、患者 ID 番号、登録番号を印刷したシールを用意する。処理過程で用いるディッシュ、チューブ類にはすべてこのシールを貼る。ラベルされていない検体は廃棄処分とする。
- 4 すべての処理過程は生物学的に安全なキャビネット内で、無菌的に操作しなければならない。
- 5 細胞処理などは、東大医科研臨床細胞工学室運営ガイドライン ver. 4.0、バイオハザードルームの利用および機器管理手順 ver. 2.1、クリーンルーム利用および機器管理手順 ver. 1.0 に基づき、臨床細胞工学室バイオハザードルーム (P3) で行なわれる。臨床細胞工学室は作業環境測定記録、および機器稼動・管理記録により管理運営されている。
- 6 この操作手順は平成 14 年 7 月現在のものであるが、今後機器類の更新や消耗品などの納入会社の変更があり得る。その場合は本操作手順に用いられているものと同様以上のものを用いることとする。
- 7 本操作手順では HIV 感染者の検体を扱う。実施者は HIV に曝露しないよう、手袋・シールド付きマスクを着用し、細心の注意を払って操作を行う。患者検体を実験室外で運搬する場合はタッパウエア等に入れ、容器を破損させないように注意する。患者検体またはそれを含む溶液で実験室を汚染させたときは、消毒用アルコールで消毒する。万が一、曝露事故が生じた際は、医科学研究所附属病院 院内感染対策マニュアルにしたがって、適切な処置をとる。

---

平成 年 月 日

患者名：

患者 ID 番号：

登録番号：

実施者名と署名： \_\_\_\_\_

確認者名と署名： \_\_\_\_\_

責任医師名と署名： \_\_\_\_\_

## (2) 各操作手順で用いる試薬の調整

## [目的]

本操作手順で使用する試薬を調整する。

## [施行場所]

細胞プロセッシング研究部門、臨床細胞工学室バイオハザードルーム (P3)

## [必要物品・機材リスト]

製品名	会社名 ; 製品番号 <sup>1)</sup>	製造 番号 <sup>2)</sup>	消費 期限	確認者 署名
RPMI-1640	Hy Clone; SH30313.01	AMJ17230	2003/9	
ヒト AB 型血清 (非働化済み)	COSMO BIO; KOJ813-10	01047		
Antibiotic-Antimycotic	GIBCO BRL; 15240-062	1148352	2003/9	
GM-CSF	PeptoTech; 300-03			
インターロイキン 4	PeptoTech; 200-04			
TNF- $\alpha$	PeptoTech; 300-01B			
大塚蒸留水	大塚製薬株式会社			
ペプチド (Gag28)	Multiple Peptide Systems			
ペプチド (Gag28 (3R))	Multiple Peptide Systems			
ペプチド (Gag296)	Multiple Peptide Systems			
ペプチド (Nef138)	Multiple Peptide Systems			
ペプチド (Nef138 (2F))	Multiple Peptide Systems			
ペプチド (Env584)	Multiple Peptide Systems			
ペプチド (Env584 (4Q))	Multiple Peptide Systems			
DMSO	Sigma; D2650			
15 ml コニカルチューブ	Iwaki; 2314-015			
アシストチューブ	アシスト; 72.694.0065			
ピペット 25 ml	Falcon; 6535	2241868		
ピペット 10 ml	Falcon; 6551	2238780		
ピペット 5 ml	Falcon; 6543	226701		
ピペット 2 ml	Falcon; 6507	2294269		
ピペット 1 ml	Falcon; 7522			
マイクロピペット用チップ 1000	Greiner bio-one; 740288			
マイクロピペット用チップ 200	Greiner bio-one; 739228			
マイクロピペット用チップ 20	Greiner bio-one; 774288			
消毒用アルコール綿 (イコット)	健栄製薬株式会社	2050	2005/11	
プラスチック手袋 (S)	Allegiance; 2D7243I	PS02N063	2007/6/30	
プラスチック手袋 (M)	Allegiance; 2D7242I	PS02N062	2007/6/30	
Fluid Shield Surgery Mask	Kimberly-clark; 4713	20064752		
ピペットエイド	Falcon	16660		
マイクロピペッター	Gilson			
安全キャビネット	SANYO; MHE-130B1	600015		
-150℃ディープフリーザー	SANYO; MDF-1155AT	010047		
4℃冷蔵庫	SANYO; MPR-311D	600823		

1) またはコード番号など、2) またはロット番号など



## 参考資料 4

- 1 RPMI-1640 培地 500 ml のボトルに、ヒト AB 型血清 (非働化済み) 25 ml、Antibiotic-Antimycotic (ペニシリン 10,000 単位/ml、ストレプトマイシン 10,000  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、アンフォテリシン B 25  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) 5 ml を加え、緩やかに攪拌し完全培地とする。ここからアシストチューブ 2 本に 1 ml ずつ移し、1 本をマイコプラズマ・一般細菌・真菌検査、エンドトキシン・ $\beta$ -D-glucan 測定用として SRL 社に提出し (ステップ 1)、残りの 1 本はバックアップとして臨床細胞工学室バイオハザードルーム (P3) 内の $-150^{\circ}\text{C}$ ディープフリーザーに保管する。SRL 社に提出するアシストチューブには患者氏名の記載のないラベルを貼る。検査結果は本標準手技の巻末に貼付する。検査結果に異常がある場合は、責任医師に報告し対応を協議する。作成した完全培地は、 $4^{\circ}\text{C}$ 冷蔵庫に保管する。
- 2 GM-CSF (10  $\mu\text{g}/\text{ボトル}$ ) を 200  $\mu\text{l}$  の蒸留水で溶解し (50  $\mu\text{g}/\text{ml}$ )、アシストチューブ 4 本に 50  $\mu\text{l}/\text{チューブ}$  で分注する。分注したチューブは、臨床細胞工学室バイオハザードルーム (P3) 内の $-150^{\circ}\text{C}$ ディープフリーザーに保管する。
- 3 インターロイキン 4 (10  $\mu\text{g}/\text{ボトル}$ ) を 200  $\mu\text{l}$  の注射用蒸留水で溶解し (50  $\mu\text{g}/\text{ml}$ )、アシストチューブ 4 本に 50  $\mu\text{l}/\text{チューブ}$  で分注する。分注したチューブは、臨床細胞工学室バイオハザードルーム (P3) 内の $-150^{\circ}\text{C}$ ディープフリーザーに保管する。
- 4 TNF- $\alpha$  (50  $\mu\text{g}/\text{ボトル}$ ) を 1 ml の注射用蒸留水で溶解し (50  $\mu\text{g}/\text{ml}$ )、アシストチューブ 20 本に 50  $\mu\text{l}/\text{チューブ}$  で分注する。分注したチューブは、臨床細胞工学室バイオハザードルーム (P3) 内の $-150^{\circ}\text{C}$ ディープフリーザーに保管する。
- 5 DMSO 20 ml、ヒト AB 型血清 (非働化済み) 40 ml、RPMI 1640 培地 40 ml を混合し凍結培地を作成する。15 ml コニカルチューブに 10 ml ずつ分注し、臨床細胞工学室バイオハザードルーム (P3) 内の $-150^{\circ}\text{C}$ ディープフリーザーに保管する。解凍し使用した残りは、再使用せず廃棄する。
- 6 Multiple Peptide Systemes 社の臨床使用グレードのペプチド Gag28 (分子量 1214.19)、Gag28 (3R) (分子量 1242.51)、Gag296 (分子量 1475.65)、Nef138 (分子量 1289.48)、Nef138 (2F) (分子量 1273.48)、Env584 (分子量 1374.61)、Env584 (4Q) (分子量 1346.55) 各 100 mg を、それぞれ DMSO 4120  $\mu\text{l}$ 、4025  $\mu\text{l}$ 、3390  $\mu\text{l}$ 、3880  $\mu\text{l}$ 、3925  $\mu\text{l}$ 、4140  $\mu\text{l}$ 、3715  $\mu\text{l}$  で溶解し、アシストチューブに移し 20 mM のストック溶液を作る。15 ml コニカルチューブを 7 本用意し、蒸留水 3800  $\mu\text{l}$  加える。各チューブに、各ペプチドの 20 mM ストック溶液を 200  $\mu\text{l}$  加え Vortex で攪

拌する (1 mM ストック溶液)。アシストチューブに 500  $\mu$ l ずつ分注し、  
20 mM ストック溶液と共に  $-150^{\circ}\text{C}$  ディープフリーザーに保管する。

---

平成 年 月 日

患者名：

患者 ID 番号：

登録番号：

実施者の署名： \_\_\_\_\_

確認者の署名： \_\_\_\_\_

責任医師名の署名： \_\_\_\_\_

### (3) 患者からの末梢血単核球分離

#### [目的]

樹状細胞のもととなる単球を分離するため、アフエレーシスにより患者末梢血単核球を採取する。

#### [施行場所]

医科学研究所附属病院病室

#### [必要物品・機材リスト]

製品名	会社名；製品番号 <sup>1)</sup>	製造番号 <sup>2)</sup>	消費期限	確認者署名
コープスペクトラ用 WBC セット	GAMBRO BCT; 777-006-000			
操作アダプター	テルモ；TC-MP			
分離バッグ 600ml	テルモ；BB-T060CJ			
ACD-A 液 500ml	テルモ；			
生理食塩水 1000ml	テルモ；			
ヘパリン 5000 単位/5ml	持田薬品；			
ハッピーキャス	メディキット；			
クイントンカテーテル	Kendall			

1) またはコード番号など、2) またはロット番号など

#### [手技]

- 1 施行日時は主治医と輸血部医師の合意のもとに決定し、輸血部医師から透析室婦長に連絡する。透析室婦長は当日のアフエレーシス担当看護婦を指名する。
- 2 実施日前日までに輸血部医師が患者を診察し、実施可能かどうか評価を行う。これは患者にアフエレーシス担当者を認識させ、アフエレーシスに対する不安感を少しでも軽減させるために欠かしてはならない。
- 3 輸血部医師の診察により肘静脈からのアフエレーシス施行が困難と判断された場合は、患者の鎖骨・頸部・そけい部付近の太い静脈にクイントン・カテーテルを挿入する（清潔性を考慮し、大腿静脈からの挿入は極力避ける）。主治医は透析室よりカテーテルを取り寄せ、病棟にて挿入する。挿入後位置が適切であることをレントゲン写真にて確認する。
- 4 プライミングに際しては、使用回路キットを COBE SPECTRA に正しく装

着する。装着の仕方は、東大医科研輸血・アフエレーシスマニュアル（改訂第3版）98 ページの「セクション3. ディスポーザブル製品の取り付け、プライミング、および取り外し」に準ずる。

- ACD-A 液 500mL のなかにヘパリン 3mL (3000 単位) を注入してよく混和する。
  - 抗凝固液専用ライン（オレンジ色のスパイクの付いたライン）につなぐ
  - 画面の採取モードから『WBC』および『MNC』モードを選択し、プライミングを開始する。プライミングは東大医科研輸血・アフエレーシスマニュアル（改訂第3版）98 ページの「セクション3. ディスポーザブル製品の取り付け、プライミング、および取り外し」に準ずる。
  - プライミング終了後アラームテストを行う。アラームテストの仕方はアフエレーシスマニュアル「セクション9. 診断」に準ずる。
- 5 患者は朝食を済ませて病棟で待機し、アフエレーシス自体は原則的に午前 10 時頃に開始する。開始前にトイレを済ませるよう指導する。
- 6 クイントンカテーテルを使用しない場合は、返血ライン、採血ラインの順で穿刺する。
- 7 患者に血管迷走神経反射などの副作用が出現していないことを確認のうえ、採取を開始する。操作はアフエレーシスマニュアル「セクション8A. WBC の操作」に準ずる。
- 8 血液の採取スピードは 50 mL/min で開始し、患者の状態を観察しながら調整する。
- 9 器械の観察窓から採取の状態を適宜観察し、白血球層の採取スピードを調整する。
- 10 処理量は症例ごとに異なるが、概ね 7 L から 15 L の間で行う。3 時間を超えるアフエレーシスは患者の負担が大きいため原則的に避けるべきである。
- 11 終了後の操作は、アフエレーシスマニュアル「セクション8A. WBC 操作」に準ずる。
- 12 返血が終了したら末梢ルートは抜針し圧迫止血を行う。クイントンカテーテルを使用した場合は、アフエレーシス終了後に主治医が抜去す