

ていない。患者によってはベクターが挿入部位から見た特定の血液細胞のクローナルな増加が観察されたが、挿入部位の検査から癌遺伝子の関与は否定的であった。また、細胞表面マーカーやT細胞受容体からみたクローナルな増加は認められなかった。

7. Pt. 1では治療後に抗原特異性免疫能の獲得も示唆された。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

Ariga T: Gene therapy for primary immunodeficiency diseases; recent progress and misgivings. *Curr Pharm Dsign* 12, 557-563, 2006

Ariga T. Adenosine deaminase (ADA) deficiency. Chapter 4, 29-41; Genetic errors associated with purine and pyrimidine metabolism in humans: diagnosis and treatment. Yuji Moriwaki (ed) *Research Signpost India*, 2006

Kobayashi R, Ariga T, Nonoyama S, Kanegane H, Tsuchiya S, Morio T, Yabe H, Nagatoshi Y, Kawa K, Tabuchi K, Tsuchida M, Miyawaki T, Kato S. Outcome in patients with Wiskott-Aldrich syndrome following stem cell transplantation: an analysis of 57 patients in Japan. *British J Haematol.* 135, 362-366, 2006

### 2. 学会・講演会 発表

Ariga T, Introduction : Gene therapy for childhood illnesses. *International Symposium I; Gene Therapy 20 years later: Does it still hold promise for pediatric diseases?* :第109回日本小児科学会総会 平成18年4月21-23日 金沢

Otsu, M, Nakajima S, Kida M, Maeyama Y, Toita N, Hatano N, Kawamura N, Kobayashi R, Tatsuzawa O, Onodera M, Candotti F, Bali P, Hershfield MS, Sakiyama Y, Ariga T.: *Stem Cell*

*Gene Therapy with No Pre-conditioning for the ADA-Deficiency Patients Leads to Generalized Detoxification and Delayed, but Steady Hematological Reconstitution.* The 9<sup>th</sup> American Society of Gene Therapy, Baltimore, MD, 5/31-6/4, 2006

Otsu, M, Nakajima S, Kida M, Maeyama Y, Toita N, Hatano N, Kawamura N, Kobayashi R, Tatsuzawa O, Onodera M, Candotti F, Bali P, Hershfield MS, Sakiyama Y, Ariga; Steady ongoing hematological and immunological reconstitution achieved in ADA-deficiency patients treated by stem cell gene therapy with no myelopreparative conditioning. *The Japan Society of Gene Therapy : The 12<sup>th</sup> annual meeting 2006.* Tokyo, August 24-26, 2006

Ariga T. Hematopoietic stem cell gene therapy for two patients with adenosine deaminase deficiency without myelopreparative conditioning; a suggestion for the optimal protocol of HSC gene therapy for ADA. *Symposium. The Japan Society of Gene Therapy : The 12<sup>th</sup> annual meeting 2006.* Tokyo, August 24-26, 2006

Ariga T. Gene therapy for primary immunodeficiency diseases. *2<sup>nd</sup> International Symposium on declining birthrate and aging society.* Sapporo, September 23-24, 2006

第288回北陸小児科地方会 特別講演 原発性免疫不全症に対する遺伝子治療について (平成18年12月10日:富山市)

## G. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)

### 1. 特許取得

なし

### 2. 実用新案登録

なし

### 3. その他

なし

## 遺伝子治療対象患者に対する倫理的配慮に関する検討 — 遺伝子治療の現状と倫理的課題の検討 (1) —

分担研究者 掛江 直子 国立成育医療センター研究所 成育保健政策科学研究室長

### 研究要旨

本邦において難治性先天性異常症の治療を目的とした遺伝子医療体制を確立するにあたり、遺伝子治療対象患者に対する倫理的配慮について十分に検討することが不可欠である。本分担研究では、本研究班において検討が進められている成育医療センターにおける遺伝子治療臨床研究を念頭におき、患者被験者に対する倫理的配慮の一側面としての、研究審査のあり方とインフォームド・コンセントによるリスクの引き受けの妥当性について検討を行った。

**見出し語** 遺伝子治療、英国、研究審査システム、被験者保護、インフォームド・コンセント

### A. 研究目的

本邦において難治性先天性異常症の治療を目的とした遺伝子医療体制を確立するにあたり、遺伝子治療対象患者に対する倫理的配慮について十分に検討することが不可欠である。本分担研究では、本研究班において検討が進められている成育医療センターにおける遺伝子治療臨床研究を念頭におき、患者被験者に対する倫理的配慮の一側面としての、研究審査のあり方とインフォームド・コンセントによるリスクの引き受けの妥当性について検討を行った。

ける遺伝子治療の現状とこれまでの経緯等についてヒアリングを行った。さらに、英国政府の遺伝子治療に対するスタンスや研究審査体制について調査するために、英国保健省の Dr. Monika Preuss (Scientific Development and Bioethics Division, Genetics Science Safety & Regulation) を訪問し、ヒアリングならびに意見交換を行った。

本分担研究では、以上の英国調査の結果を踏まえ、成育医療センターにおける遺伝子治療臨床研究の適切なあり方について、倫理的視座からの検討を行った。

### B. 研究方法

本分担研究では、成育医療センターにおいて検討されている遺伝子治療臨床研究と同じベクターを用いて良い成果をあげている英国を訪問し、英国の遺伝子治療研究者である Dr. Adrian Thrasher (Molecular Immunology Unit, Institute of Child Health, London) に英国にお

### C. 結果

英国調査の結果は以下の通りである。

#### 1) 英国における遺伝子治療臨床研究審査システム

遺伝子治療臨床研究は、大別すると臨床研究 (clinical trial) ではあるが、その他の臨床研究と

は別に倫理審査システムが設置されている。これらは、the Medicines for Human Use (Clinical Trials) Regulations 2004 in United Kingdom によって規定されているが、この法律自体は、European Law<sup>1)</sup>を受けて英国内で整備されたものである。

したがって、遺伝子治療研究の倫理審査システムとしては、英国政府によって設置された遺伝子治療倫理審査（諮問）委員会 (Gene Therapy Advisory Committee; GTAC) による審査のみとなり、個々の施設における研究審査は求められない。この委員会は、法に基づく独立諮問委員会であり、英国政府による遺伝子治療臨床研究における中央審査の役割を担っている。

さらに、遺伝子治療の安全性に関する審査の一つとして、Medicines and Healthcare product Regulatory Agency (MHRA) による審査が義務付けられている。こちらの審査では、患者の移植される治療用ベクターの製造工程や material の安全性等を審査する（米国 FDA のような組織とのこと）。この2つの審査委員会の承認を得て、遺伝子治療臨床研究が実施可能となる。なお、GTAC の審査にはだいたい 60 日～90 日（2～3 ヶ月）、MHRA の審査には 13～16 日（約 2 週間）を要するとのこと。

GTAC の委員の構成については、科学者、医師といった医療専門家に加え、法律家、ビショップ、一般市民（例えば、テレビのプロデューサーや患者団体の代表をしているエンジニア等）が現在のメンバーに含まれているという。

GTAC では、主に研究プロトコルと患者への説明文書・同意書の審査を行う。個別の症例審査はせず、被験者選定については研究プロトコル上の被験者選定のクライテリアに従うという。同意可能年齢の考え方については、英国ではギリック判決<sup>2)</sup>に基づき原則 16 歳以上としている。したがって、被験者候補者が 16 歳以上の未成年者の場合、本人のみの同意で被験者となることが可能であり、一方 16 歳未満の未成年者が

被験者候補者となる場合については、両親の了解と本人のアセントを得ることになるという。

## 2) 英国において遺伝子治療臨床研究が進んだ社会的背景と倫理的議論

英国において遺伝子治療臨床研究に対する社会的な理解・許容性がどこから生じているのかという疑問について、Dr. Adrian Thrasher ならびに Dr. Monika Preuss の双方に意見を伺った。その結果、最も大きな要因としては、英国では遺伝子治療の代替療法と位置づけられる骨髄移植の適応が、10 ローカスマッチであり、骨髄ドナーを見つけることが容易ではない点が挙げられるということであった。また、英国では、国民健康保健制度ではあるが、医療経済の破綻が問題となっていることから、酵素補充療法等の対処療法における医療コストの問題が深刻であるという。このような社会的背景もあり、遺伝子治療が早期に臨床応用されることが望まれている状況が推察された。

さらに、フランスで 2002 年 9 月、X連鎖重症複合免疫不全症 (X-linked Severe Combined Immunodeficiency; X-SCID) 患者 (治療時 1 歳の男児) に対して 1994 年に実施された遺伝子治療において白血病が発症し、また 2002 年 12 月に同じ遺伝子治療をした 3 歳男児にも発症白血病が発症したことについて、英国政府ならびに GTAC ほどのように対応したかについて質問した。これについては、2002 年の 2 例目の発症報告があった時点で、GTAC と MHRA による合同委員会を開催し、英国での遺伝子治療臨床研究の継続について議論を行ったという。その結果、その段階ではリスクとベネフィットの評価は困難であるが、英国で承認した研究プロトコルにおいて未だ発症例がないことを踏まえ、慎重な態度で継続することとしたという。また、2004 年に、2 例目の児の死亡と 3 例目の発症の報告を受けたが、議論としては前回と同様に、リスクとベネフィットの明確な評価は困難であり、その後の英国での遺伝子治療臨床研究では

問題が生じていないことを踏まえて、英国においては研究を継続することとなったという。

#### D. 考察

英国での調査結果を踏まえて、本邦における遺伝子治療臨床研究における研究審査のあり方とインフォームド・コンセントによるリスクの引き受けの妥当性について検討した。

##### 1) 研究審査体制

英国では、GTAC による倫理審査と MHRA による material の安全性審査を、英国政府諮問機関による中央審査にて実施している。これについては、本邦の厚生労働大臣が遺伝子治療臨床研究について厚生科学審議会の意見を聴く（正確にはさらに科学技術部会、そして遺伝子治療臨床研究作業委員会での議論となる）と同時に、治療臨床研究に係る遺伝子細換え生物等に関する第一種使用規程の審査を受けるという審査体制と類似していると考えられる。

しかしながら、大きく異なる点は、本邦ではこれらの前提として、個々の研究機関において国の定める倫理指針を遵守した倫理審査が求められており、2重審査の構造になっている点である。

この2重審査体制については、被験者保護の観点からより慎重な審査を求めているという理解ができる一方、審査に要する時間が非常に長くなるという問題点も抱えている。ちなみに英国では2～3ヶ月以内に全ての審査が終了するという。

##### 2) インフォームド・コンセントによるリスクの引き受けの妥当性

患者被験者に対する倫理的配慮として、被験者保護のあり方の検討が重要である。臨床研究の場合、被験者の自発的意思決定が前提として不可欠となるが、その前段階として、人被験者を対象とすることが許されるだけの科学性ならびに安全性が担保された研究プロトコルである

か否かの評価が重要となる。つまり、被験者が臨床研究に参加した場合に生じうるリスクを引き受けると同意したならば、どんな研究でも許されるという問題ではないという点である。本遺伝子治療臨床研究が、現段階でどういうレベルにあるのかについては、実際のところリスクとベネフィットの正確な評価というのは困難であり、明確な見解を示すことができる段階ではない。

この議論で検討されなければならないのは、代替療法の有無と、それらの有するリスクとベネフィットと本遺伝子治療臨床研究の有するリスクとベネフィットの比較考量であろう。例えば、英国では骨髄移植は医学的に10ローカスマッチが求められるため、骨髄ドナーがなかなか見つからないという問題を抱えているが、本邦では6ローカスマッチでかなり良い成績が出ていることから、英国よりも骨髄移植という選択肢が有力と評価される可能性が高い。また、酵素補充療法に対する医療コストの問題についても、英国の医療経済が抱える問題の深刻さに比べ、本邦の問題意識は低いように思われることから、遺伝子治療の臨床応用の社会的要求は英国ほど強くはないのかもしれない。このような社会的背景も含めた様々な要素により、このような新しい治療の臨床研究の社会的許容性に相違がでると推察される。

#### E. 結論

本分担研究では、英国の現状を調査し、それらを踏まえて、本邦における遺伝子治療の倫理的問題について検討をした。結論としては、遺伝子治療臨床研究のリスクとベネフィットの評価については、新しいベクターの開発等、科学の進歩に伴い変化が生じるため、引き続き検討を続ける必要がある。また、リスク評価については、つねに明確に判断することは困難であると推察されることから、これらリスクを伴う臨床研究における (1) 厳

格なクライテリアによる対象者の限定、(2) 十分なリスク（不確実性を含む）の理解に基づくインフォームド・コンセントの実施のための支援、について、具体的な検討していくことが重要であると考えます。

最後に、英国の状況だけで安易に本邦における難治性先天異常症の遺伝子治療臨床研究の方向性について結論を出すことは適切ではないと考えることから、引き続き諸外国の調査を続け、総合的に検討したいと考える。

### 註釈

- 1) DIRECTIVE 2001/20/EC OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL of 4 April 2001 “on the approximation of the laws, regulations and administrative provisions of the Member States relating to the implementation of good clinical practice in the conduct of clinical trials on medicinal products for human use”, Official Journal of the European Communities, pp. L 121/34-L 121/44 (2001)を参照のこと。
- 2) ギリック判決とは、未成年者に対して医師は親の同意なしに避妊の処置を行い得るか否かについて争われた英国の判例である。本判決における議論等を踏まえ、英国では成人年齢 18 歳に満たないが 16 歳以上の未成年者は単独で医療行為についての同意ができる（1969 年家族法改正法 1 条、8 条）とし、さらに 16 歳未満の未成年者であっても、提案されている医療行為の意味を完全に理解できるだけの十分な理解力と知能に達している場合には、治療を受けるか否かの決定権を有するものとされている。詳細については、家永登「子どもの治療決定権—ギリック判決とその後」日本評論社（2007）を参照

難治性先天異常症の克服に向けた包括的遺伝子医療体制の確立に関する研究  
分担研究者 布井 博幸 宮崎大学医学部小児科教授

研究要旨

慢性肉芽腫症(CGD)に対する遺伝子治療の適応となる患者数を把握し、また患者・家族が遺伝子治療などの根治療法についてどれだけ知識を有しているかを把握するためにアンケート調査を行った。主治医が遺伝子治療を考慮する患者として7名が挙げられた。また患者・家族の56%が遺伝子治療について説明を受けたり、自分で調べたりしており、36%が将来的な根治療法に遺伝子治療を考慮していた。しかし遺伝子治療に関する知識は未だ不十分であり、今後治療法に関する詳細な情報提供が必要と考えられた。

研究協力者 水上智之 宮崎大学医学部小児科

A. 研究目的

慢性肉芽腫症(CGD)は食細胞殺菌能欠損のために、乳児期から反復性・遷延性の重症細菌・真菌感染症に罹患し、諸臓器に肉芽腫を形成する予後不良の疾患である。近年の新規抗生物質・抗真菌剤を投与しても治療に難渋する症例が少なからず存在するため、以前から根治療法の確立が期待されていた。

国内ではこの15年間に32例に対して造血幹細胞移植が実施され、25例(78%)で成功している（食細胞機能異常症研究会登録症例のみ）。移植適応患者の判断基準はまだ定まっていないが、現時点において移植は根治療法の第1選択といえる。

しかし根治療法が必要であるにもかかわらず、HLA一致ドナー不在や臓器障害などの理由によって移植を実施できない患者も存在する。最近欧州で移植も困難なCGD症例に対して遺伝子治療が試みられ、Ottらのグループは2例にBusulphanの前処置で実施していずれも難治性感染症病変の軽快を得ることができている。さらにSeegerらは1例に遺伝子治療を行い、四肢麻痺の改善を認めている。またイギリスのThrasher博士らも2名のCGD患者にmelphalan前処置ののち遺伝子治療を行い、半年間程度の好中球活性酸素産生の回復を確認している(学会発表のみ)。遺伝子治療はこのような事情を有し、かつ数年のうちに根治療法が必要な患者に適応があるのではないかと考えられた。

そこで今回、このような事情下で遺伝子治療を治療の選択肢として考慮されるCGD患者がどのくらいおられるのか、実数を把

握するために各施設の主治医にアンケート調査を行った。また移植や遺伝子治療など根治療法について患者および家族がどの程度知識があり、実際に根治療法を受けることを希望しているのかについて把握するために調査を行ったので、その結果について報告する。

B. 研究方法

まず欧州のCGD患者に対する骨髄移植患者適応基準と日本国内の骨髄移植成績の詳細な検討をふまえて、遺伝子治療適応基準案(表1)を設定した。

食細胞機能異常症研究会に登録されているCGD患者を診療している施設の主治医宛てに、主治医に対するアンケート(A)と患者・家族に対するアンケート(B)を送付した。

主治医に対するアンケート(A)では表1の基準を呈示した上で、①基準案の妥当性、②骨髄移植を考慮している患者の存在、③遺伝子治療を考慮する患者の存在について質問した。

患者および家族に対するアンケート(B)では、CGDに対する国内骨髄移植のまとめと、欧米で実施された遺伝子治療の結果など治療法の最新の状況について説明したのち、表2のような質問を行った。

アンケート(A)は主治医記名、アンケート(B)は患者・家族無記名で患者の年齢と性別のみを記載するものとし、FAXまたは封書にて宮崎大学小児科まで返送した。

調査対象は国内78施設の主治医80名と、登録済CGD患者173名であった。

(倫理面への配慮)

食細胞機能異常症研究会に登録された患

者は連結可能匿名化されており、さらに患者および家族からの回答は無記名で返送される。このため患者および家族が特定されることはない。

### C. 研究結果

アンケート(A)は25施設25名の主治医より回答を得た(回収率31%)。

アンケート(B)は31名の患者または家族より回答を得た(回収率は18%)。患者の年齢は2~41歳(中央値15歳)、患者男女比は29:2。回答者は、患者年齢20歳未満ではすべて父親または母親、20歳以上ではすべて患者本人であった。また回答時点で、25名が移植前、6名が移植中または移植後であった。

#### 1. 主治医に対するアンケート(A)

遺伝子治療適応基準の適否については、主治医11名が「賛成」、1名が「わからない」と回答した。ほかに3名は、二次性悪性腫瘍の危険に関する安全性や遺伝子治療の効果持続性などについて、さらなる検討が必要と指摘した。残る主治医10名からはとくに意見が得られなかった。

骨髄移植を考慮されている患者として6名(2~22歳)、遺伝子治療を考慮する患者として7名(11~32歳)が挙げられた。

#### 2. 患者・家族に対するアンケート(B)

全回答のうち、移植未実施の患者25名の回答を対象として解析した。

「移植または遺伝子治療について説明を受けたり、調べたりしたことがあるか」の質問について「はい」と回答したのは、移植が21名(84%)、遺伝子治療が14名(56%)であった(図1)。移植に対しては、20歳未満の患者をもつ全家族に何らかの知識があった。逆に20歳以上の患者10名うち4名は「いいえ」と回答した。遺伝子治療については、10歳未満の患者がいる家族は、他の年代の患者に比べ説明を受けたり調べたりした割合が高かった。

「将来的に根治療法を受けることを考えているか」の質問に対して、いずれかの根治療法を挙げたのは11名(44%)で、その内訳は「移植」が2名(8%)、「移植または遺伝子治療」が5名(20%)、「遺伝子治療」が4名(16%)であった(図2)。なかでも20歳以上の患者においては、根治療法を挙げた4名全員とも遺伝子治療を考慮していた。いっぽう全体の半数以上の患者・家族は、将来的に考慮する根治療法をとくに挙げなかった。

移植または遺伝子治療について患者・家族の印象や考えを質問したところ、移植に

ついては「完治できる」「現時点で可能な治療」であるが「化学療法の副作用や合併症が怖い」などの回答が多かった。遺伝子治療については「リスクが低そう」「治療による負担が少なそう」だが、「まだ研究段階」「白血病などの合併症が不安」「難しくてわからない」などの回答も目立った。また「患者会・親の会など情報の場を確立してほしい」など、詳細な医療情報を受けたり交換したりできる場の設置を求める声が多く見られた。

### D. 考察

アンケート(A)、(B)とも回収率が低く、主治医や患者・家族から多くの幅広い意見を拾うに充分とはいえなかった。

#### 1 主治医に対するアンケート(A)

遺伝子治療適応基準案を作成するに当たり以下のことを考慮した。

骨髄移植も明確なプロトコールが確立されておらず、現在成功率は78%とはいえ副作用も多く今後も新しい試みが必要となると考えられた。しかし現時点では骨髄移植しか根治療法として考慮出来るものはなく、骨髄移植を第1選択とし、ドナー不在や臓器障害などの理由によって骨髄移植が難しいと思われるもののみを遺伝子治療の適応とした。

このため適応基準案としては制限が多く、案に賛成ではあるが、「もっと早い段階で適応とできないか」など、条件緩和を求める意見も見られた。適応拡大には遺伝子治療の有効性と安全性、効果持続性などのデータが蓄積され検討される必要がある。

安全性については、Ottらが行ったCGDに対する遺伝子治療ではこれまでのところ白血病発症はない。X-SCIDで見られた遺伝子治療後の白血病発症とは比較できないが、今後の追跡が必要である。一方効果持続性については、3例とも遺伝子治療後に経時的に末梢血中活性酸素産生好中球の割合が減少している。このため効果が軽減して易感染をきたす場合は、骨髄移植を追加する場合も想定される。

遺伝子治療が考慮された患者7名については、適応基準にそって評価を行い、規定の委員会でも検討される必要がある。

#### 2 患者・家族に対するアンケート(B)

移植前の患者25名のうち21名(84%)、とくに20歳未満の患者がいる家族では全例に骨髄移植の説明または知識があった。「いい

え」と答えた20歳以上の患者4名(16%)でも、家族に対しては何らかの説明がされ、または知識を持っておられた。

遺伝子治療については説明または知識があったのは14名(56%)で、移植に比べると少なかったが、現時点では遺伝子治療に対する情報提供が不十分である。

将来的に根治療法を考慮していたのは11名(44%)であった。10歳未満患者の家族でもすでに半数以上が根治療法実施を考慮していた。家族は早い段階でCGDを根治できることを期待しており、移植については「不安はある」が「治癒するためには現在利用可能な唯一の手段である」と認識しているコメントが散見された。逆に20歳以上の患者では遺伝子治療を考慮する回答が目立ったが、骨髄移植に比べて「楽そう」「負担が少なそう」などのイメージが影響しており、遺伝子治療については「理解が難しい」などの漠然とした理解で、安全面や効果持続性などの問題点まで意識した回答はわずかであった。

また全体の半数は根治療法に対する態度を決めておらず、「病状安定しているので早急な根治療法を受ける必要はない」という考えや、根治療法の危険性を危惧して決断できないものが多かった。

患者・家族からは、根治療法や日常生活などに関する情報が不足しているとの指摘が多く見られた。骨髄移植に比べると、CGDに対する遺伝子治療の結果や準備状況などを詳細に把握している主治医も少なく、患者に遺伝子治療の安全性(合併症)や効果の持続性などについて十分な説明や情報開示がなされているとは言えない。骨髄移植や遺伝子治療などの根治療法の確立が急がれるとともに、これらの治療法に対する患者・家族への詳細な情報提供態勢作りが必要であると考えられた。

## E. 結論

遺伝子治療適応基準案は現時点では妥当なものと考えられ、適応と考えられる7名の患者が把握された。患者および家族は移植と遺伝子治療について説明を受けたり調べたりして知識を有するものが大半であったが、それらに関する詳細な情報提供が今後必要と考えられた。

## 参考文献

- 1) Ott MG, et al. *Nat Med.* 2006, 12(4):401-9
- 2) Hacein-Bey-Abina S, et al. *Science.* 2003, 302:415-9

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) 布井博幸, 結核予防接種法改正による免疫不全患者への影響は?, 小児感染免疫, 18:415-419, 2006
- 2) Hidaka F, Matsuo S, Muta T, Takeshige K, Mizukami T, Nunoi H, A missense mutation of the Toll-Like receptor 3 gene in a patient with influenza-associated encephalopathy, *Clinical Immunology*, 119:188-194, 2006
- 3) 布井博幸, 慢性肉芽腫症研究の新展開, *日本臨床免疫* 30(1):1-10, 2007

### 2. 学会発表

- 1) 水上智之, 布井博幸. CGD造血幹細胞移植のまとめ. 第14回食細胞機能異常症研究会, 2006.
- 2) 水上智之, 布井博幸. 慢性肉芽腫症患者・家族における根治療法についての意識調査. 第14回食細胞機能異常症研究会, 2006.

(発表誌名巻号・頁・発行年等も記入)

## G. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得  
なし
2. 実用新案登録  
なし
3. その他  
なし



表1

## 遺伝子治療対象適応基準(案)

1. 難治性感染症・炎症や臓器障害があり, この1-2年で骨髄移植が必要と考えられる
  - (a) アスペルギルス感染症
  - (b) ステロイド依存性感染(腸炎, 肺炎)
  - (c) 進行性臓器障害(肺または腎障害)
2. HLA一致ドナーがない(ただし臍帯血を除く)
3. 臓器障害などのために, 移植の適応が危ぶまれる
4. すでに造血幹細胞移植を実施したが, 持続した効果が得られなかった

1の状態にあり, さらに2-4のいずれかの項目に該当する症例について, 成育医療センターで評価を行う. そのうち遺伝子治療の適応があるか否かを検討する外部委員会会議を開き, 決定する.

表2

## 患者・家族に対する質問

CGDの治療に関する最新の状況を説明したのち,

- ①長期の入院を必要とする感染症にかかったことがあるか
- ②根治療法の説明を受けたり, 調べたりしたことがあるか
- ③現在予防投薬を受けているか(ST, IFN $\gamma$ , 抗真菌剤)
- ④現在何かの感染症に対して治療を行っているか
- ⑤将来的に考えている根治療法があるか(移植, 遺伝子治療)
- ⑥骨髄移植について, どのような印象や考えを持っているか
- ⑦遺伝子治療について, どのような印象や考えを持っているか
- ⑧質問や疑問, 不安な点, 示してほしい情報, ご要望など

図1

## 骨髄移植や遺伝子治療について説明を受けたり調べたりしましたか？

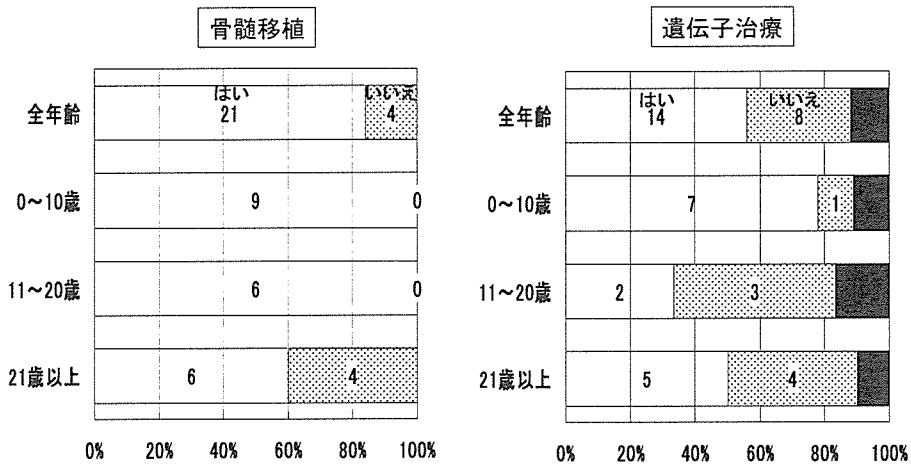
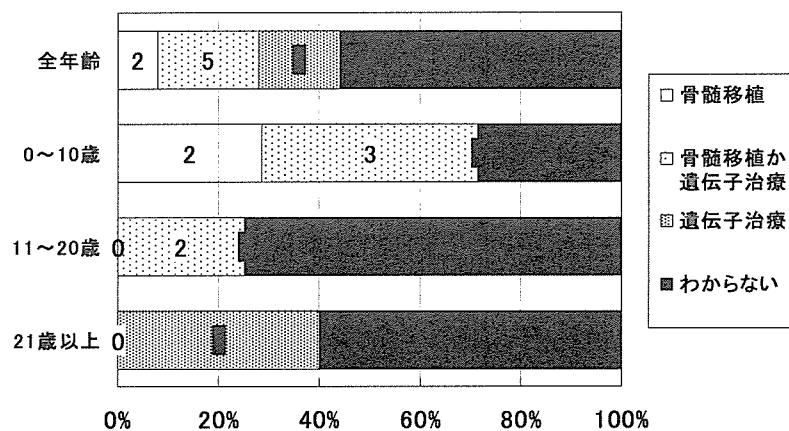


図2

## 将来的に何らかの根治療法を受けることを考えていますか？



厚生労働科学研究費補助金（子ども家庭総合研究事業）  
分担研究報告書

難治性先天異常症の克服に向けた包括的遺伝子医療体制の確立に関する研究

分担研究者 奥山虎之 国立成育医療センター遺伝診療科医長

研究要旨

骨髄細胞を標的とした遺伝子治療は、小児先天異常症の有力な治療手段となる可能性がありその開発と臨床効用が期待されている。対象疾患の遺伝子解析は、遺伝子治療の適応を決める上で、重要な要素となる。われわれは、遺伝子治療候補疾患のひとつであるムコ多糖症などの小児先天異常症の迅速遺伝子解析法を確立し、解析を行った。

研究協力者

田中藤樹（成育医療センター遺伝診療科）  
右田王介（成育医療センター遺伝診療科）  
岡田美智代（成育医療センター遺伝診療科）

については日本人類遺伝学会の定める臨床遺伝専門医および認定遺伝カウンセラーにより、検査前カウンセリングを行い、遺伝子検査の結果が判明後に再度結果を説明し、遺伝子検査全般のサポートを実施した。

A. 研究目的

小児先天異常症の中で、原発性免疫不全症候群および先天代謝異常症は、遺伝子治療の対象疾患としてその開発と臨床応用がきたされている。対象疾患の遺伝子解析は、遺伝子治療の適応を決める上で、重要な要素となる。しかし、該当疾患の遺伝子解析は多くの場合、研究ベースで進められており、臨床に対応できる状態になっていない。われわれは、臨床のニーズに対応できるような、迅速遺伝子診断法を確立し、ムコ多糖症などの対象疾患で検討した。

B. 研究方法

ムコ多糖症II型（ハンター症候群）患者の血液からDNAを調製し、X染色体上に存在するイズロネート2-サルファターゼ遺伝子の各エクソンをPCRで増幅し、直接シーケンス法にて塩基配列を決定した。また、欠失や遺伝子の組み換えが疑われる症例については、CGHマイクロアレイや組み換え部位を同定できるようなPCR法をデザインした。

（倫理面への配慮）

遺伝学関連の10学会による「遺伝学的検査のガイドライン」に準拠して、すべての症例で、検査前の遺伝カウンセリングを行った。また、本遺伝子検査にあたって、当センター遺伝学的検査運営委員会で定めた遺伝学的検査取扱規程にのっとり、同意を得て実施した。また、遺伝カウンセリング

C. 研究結果

ムコ多糖症II型17症例のすべてで変異が解析開始から4週間以内に確認しえた。

遺伝子異常としては、遺伝子全長の欠失1例、遺伝子組み換え1例、ミスセンス変異10例、ナンセンス変異1例、挿入変異1例、1-2塩基欠失変異2例、未同定1例であった。

D. 考察

ムコ多糖症は尿中グリコサミノグリカンの過剰排泄および末梢血白血球中の酵素活性低下により確定診断可能である。ムコ多糖症が疑わしい患者はこれらの検査を早期に行い、確定診断することで、早期に根治療法へと導くことができる。また、保因者診断や出生前診断においては、酵素活性測定では確実な診断が困難なことが多く、信頼性の高い遺伝子検査のニーズが高まっている。

E. 結論

ムコ多糖症患者において遺伝子診断を試行した。17例において、発端者の変異が検出されたことにより、保因者診断や出生前診断が臨

床応用可能となり、ムコ多糖症診断に対する家系内の幅広いニーズに応えることが可能となった他に、新たな早期遺伝子治療への展望が開けた。このように家系内での遺伝子診断を行っていく上で、遺伝カウンセリングは非常に重要であり、専門外来において臨床遺伝専門医および認定遺伝カウンセラーによる入念なカウンセリングを提供する機会を設ける体制作りが欠かせない。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. Fukuhara Y, Li XK, Kitazawa Y, Inagaki M, Matsuoka K, Kosuga M, Kosaki R, Shimazaki T, Endo H, Umezawa A, Okano H, Takahashi T, Okuyama T. Histopathological and behavioral improvement of murine mucopolysaccharidosis type VII by intracerebral transplantation of neural stem cells. *Mol Ther.* 2006 13:548-55..

2. 田中藤樹、奥山虎之：酵素補充療法ムコ多糖症 I 型、VI 型：小児科診療 69、2006、1735-1739

##### 2. 学会発表

1. Histopathological and Behavioral Improvement of Murine Mucopolysaccharidosis Type VII by Intra-cerebral Transplantation of Neural Stem Cells "Workshop on the blood brain barrier" 9th International Symposium on Mucopolysaccharide and Related Diseases which Venice 29-July 2, 2006, Italy
2. Assessment Long-term outcomes in MPS I and MPSII The 9th Annual Asia Lysosomal Storage Disorders (LSD) Meeting Sept 10-12,2006 Ma kuhari Japan

#### H. 知的財産権の出願・登録状況 該当なし

厚生労働科学研究費補助金（子ども家庭総合研究事業）  
分担研究報告書

難治性先天異常症の克服に向けた包括的遺伝子医療体制の確立に関する研究

分担研究者 倉辻忠俊 国立成育医療センター研究所長

研究要旨

原発性免疫不全症候群は、骨髄細胞を標的とした遺伝子治療の最も適した対象疾患である。近年、欧州を中心に慢性肉芽腫症における遺伝子治療の良好な治療成績が報告されている。本研究では、欧州の遺伝子治療の実情調査に基づき、わが国での慢性肉芽腫症遺伝子治療臨床研究の実施可能性を検証するとともに適応基準案を作成した。

研究協力者（分担研究者以外）

国立成育医療センター病院：奥山虎之、右田王介（遺伝診療科）、立澤宰、小林信一（感染症科）、熊谷昌明（血液科）、森鉄也（腫瘍科）、ジョン高山一郎（総合診療部）、田中敏章（臨床検査部）、今野理恵（看護部）

国立成育医療センター研究所：藤本純一郎（研究所）、清河信敬、堀内保臣（発生・分化研究部）、緒方勤（小児思春期発育研究部）、李小康（移植・外科研究部移植免疫研究室）、網脇祥子（母児研究部感染防御研究室）

自治医科大学分子病態治療研究センター：久米晃啓（遺伝子治療研究部）

東京大学医科学研究所ヒト疾患モデル研究センター：大津真（幹細胞治療研究分野）

筑波大学臨床医学系：小野寺雅史（血液内科）

A. 研究目的

小児先天異常症は、医学・医療の進歩とともに、遺伝子レベルの正確な診断がなされ、病態もかなり解明されてきている。また、補充療法や対症療法の開発・改善により、致命的な疾患

であった先天異常症の多くは寿命の延長や、合併症の軽減、生活の質の向上も認められてきた。しかしそれにもかかわらず、先天異常症は根本的な治療がないために、多くの患者は原疾患および合併症のため苦痛を強いられ、難治性疾患となっている。これら先天異常症の中で、原発性免疫不全症候群とくに慢性肉芽腫症（CGD）は、対象患者数も多く、生命を脅かす難治性感染症を繰り返すことから、遺伝子治療の対象疾患としてその開発と臨床応用が期待されている。すでに、CGD に対しては、欧州では良好な治療成績が報告されている。本研究では、欧州の CGD 遺伝子治療の状況を視察・調査し、わが国の CGD 治療の現状と比較し、その実現可能性とそのための包括的遺伝子医療体制を構築すること、さらに遺伝子治療の適応基準について検討することを目的とする。

B. 研究方法

1) 欧州で、CGD 遺伝子治療を積極的に推進している、Manuel Grez（ドイツ）、Reinhardt Seger（スイス）、Adirian Thrasher（イギリス）

を訪問し、遺伝子治療臨床研究の現状、適応患者の選択方法、同意のとり方、今後の展望、などについて、調査した。

2) 上記の調査結果とわが国での CGD の治療の現状を総合的に判断し、遺伝子治療臨床研究を国立成育医療センターで実施することの可能性と、実施体制の検討

3) わが国における遺伝子治療臨床研究の適応基準の作成。

## C. 研究結果

1) 欧州での CGD 遺伝子治療臨床研究の実情：

すでに、5 症例（ドイツ 2、スイス 1、イギリス 2）の遺伝子治療が行われていた。いずれの症例でも保存的治療に抵抗性の感染症（肺アスペルギルス、肝膿瘍、脊椎炎）などに劇的な効果がみられた。遺伝子挿入変異に伴う白血病の発生など重篤な副作用はいまのところ、いずれの症例にも見られていないが、ドイツの 2 症例（成人男子）で、MDS1/EV1 領域にウイルスゲノムが挿入された細胞の選択的な増殖を認めている。また、ドイツの 2 症例で遺伝子導入細胞の遺伝子発現効率が次第に低下する現象（Gene Silencing）を認めており、効果の減少と不適切な感染症への対応が原因で、1 症例が敗血症により死亡している。

2) 国立成育医療センターで遺伝子治療臨床研究を実現できる可能性と妥当性について：

国立成育医療センターは、病院と研究所を併設しており、各分野の専門家が高度先進医療を実施、研究を行っている。

病院には、感染症科、血液科、腫瘍科、遺伝子診療科がそれぞれ診療を実施しており、感染症科では前身の国立小児病院時代から 20 年以上にわたり、慢性肉芽腫症の患者の診療を実施、

IFN $\gamma$  の全国スタディーも実施した実績がある。血液科及び腫瘍科では同じく 130 例を越す造血幹細胞移植を実施した実績があり、看護部、臨床検査部、診療放射線部、薬剤部等との連携によるグループ診療は非常によく機能している。特に近年はその成績は 72% の治癒率である。遺伝子診療科は、遺伝カウンセリング、遺伝子診断体制が整備され、研究所とも連携して、高度な遺伝子解析も行っている。又、同診療科では、特にムコ多糖症をはじめとする数多くの種類の先天異常疾患の診断と患者フォローアップを実施し、また、「患者・家族の会」を指導している。総合診療部では、各種の疾患のフォローアップ体制が整っている。

一方、研究所では、発生・分化研究部、小児思春期発育研究部、移植・外科研究部、生殖医療研究部（再生医療を含む）、母児感染研究部、等が最先端の研究を実施し、世界的にも評価の高い成果を上げている。慢性肉芽腫症においては、活性酸素生成酵素である NADPH オキシダーゼの第 5 番目の因子 p40phox を発見し、その機能を解明している。

他方、日本で唯一の先天代謝異常・原発性免疫不全症候群にたいする遺伝子治療を実施、成功している北海道大学小児科チーム、慢性肉芽腫症の臨床研究の世界のトップに行く宮崎大学小児科チーム、本邦の小児における造血幹細胞移植の最も実績のある東海大学小児科、ベクター開発・遺伝子治療動物実験研究の自治医科大学、日本医科大学、筑波大学、東京大学医科学研究所、閉鎖式細胞プロセスシステムを開発したタカラバイオ等と、産学官の連携を組んで既に遺伝子治療臨床研究推進プロジェクトを、成育医療センターを中心に展開している。また、昨年、慢性肉芽腫症における遺伝子治療を成功させたドイツの Manuel Grez 博士が開発した

gp91phox を組み込んだレトロウイルスベクターを Eufets 社から購入し、前臨床試験を実施している。ベクター導入効率は 30%を越え、臨床実施のレベルに達している。遺伝子導入変異の検査法としての LAM-PCR 法の条件確立、その他フォローアップに必要な、血液学的、生化学的、免疫学的、遺伝学的、病理組織学的、等の検査項目の選択と方法の確立も既に済んでいる。また、生命倫理の学習会も繰り返し実施し、遺伝子治療臨床研究に携わろうとするものは積極的に参加し、その精神を理解している。

既に、機関内に「遺伝子治療臨床研究審査委員会」の規程を作成、外部委員 9 名を含む 11 名（内、女性 4 名）からなる委員会も、2007 年 3 月 9 日に第 1 回が開かれ、対象疾患、遺伝子治療の現状と問題点、国の審査体制などの知識を共有した。

3) CGD 遺伝子治療の適応基準と除外基準の作成：

欧州の現状調査から、CGD 遺伝子治療の治療効果とリスクがともに明らかになった。現在、わが国では、難治性感染症をもつ CGD 患者に対して、骨髄移植を施行する患者が増え、著効を示す患者も存在する。これらの状況を踏まえて、「現行の治療法のなかで骨髄移植以外には治療が期待できない重篤な状況にあるが、骨髄移植が実行不能である」症例については、積極的に遺伝子治療を考慮することが妥当であると考えられる。以下の適応基準と除外基準を定めた。

#### 適応基準

- 1) 難治性感染症・炎症や臓器障害があり、この 1 - 2 年以内に造血幹細胞移植が必要と考えられる
  - (a) アスペルギルス感染症

- (b) ステロイド依存性感染（腸炎、肺炎）
- (c) 進行性臓器障害（肺または腎障害）
- 2) HLA 一致の骨髄ドナーが得られない（但し、臍帯血を除く）
- 3) 臓器障害が著しく、造血幹細胞移植の実施が危ぶまれる
- 4) 既に造血幹細胞移植を実施したが、持続した効果が得られなかった
- 5) CGD の型別診断が確定している
- 4) 遺伝子改変細胞の導入前の前処置へのリスクが低い
- 5) インフォームドコンセントが得られている

#### 除外基準

- 1) インフォームドコンセントが得られていない
- 2) 前処置に耐えられない腎障害、心肺機能障害が存在している。
- 3) HIV に感染している。
- 4) 悪性腫瘍が発生している

#### D. 考察

CGD 遺伝子治療臨床研究の現状について、先行する欧州の研究者から直接情報を得た結果、良好な治療効果が期待できることが示された。レトロウイルスベクターによる造血幹細胞遺伝子治療で問題となる挿入変異の問題がある。CGD の遺伝子治療ではこの問題は認められていないが、十分な注意が必要である。遺伝子治療臨床研究の適応患者の選択には、上記のリスクとベネフィットを十分に考慮して選択する必要がある。

#### E. 結論

日本における先天異常症の遺伝子治療のため、遺伝子治療前臨床試験の実施、臨床研究審査体制の整備、生命倫理の学習、等を積み重ね、成

育医療センターを中心に、産学官連携、多施設協同の体制を構築した。

CGD 遺伝子治療臨床研究の欧州での実施状況とわが国での造血幹細胞移植の結果から、わが国での遺伝子治療実施にあたっての対象患者の選択基準を検討した。その結果、「移植以外には治癒が期待できない重篤な状況にあるが、骨髄移植が実行不能である」症例については、積極的に遺伝子治療を考慮することが妥当であると結論した。

#### F. 研究発表

学会発表

奥山虎之、倉辻忠俊他。慢性肉芽腫症の遺伝子治療臨床研究の準備状況について 第 14 回食細胞機能研究会 2006 年 12 月 8 日 東京

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし



## 研究成果の刊行に関する一覧表

## 書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
<u>有賀 正</u>	免疫不全症の検査	五十嵐 隆 水口 雅	小児臨床検査 ガイド	文光堂	東京都	2006	494-499
<u>有賀 正</u>	原発性免疫不全症	山口徹、 北原光夫、 福井次矢	今日の治療指 針	医学書院	東京都	2007	975-976
<u>Ariga T</u>	Adenosine de-ami nase (ADA) deficie ncy	Yuji Moriwaki	Genetic errors ass-ociated with purine a nd pyrimidine metabolism in humans: diag nosis and tre atment	Research Signpost	Kerala India	2006	29-41

## 雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Cho K, Nakata K, <u>Ariga T</u> , Oka jima S, Matsuda T, Ueda K, Furut a I, Kobayashi K , Minakami H	Successful treatment of conge nital pulmonary alveolar prote inosis with intravenous immu no-globulin G administration	Respirology.	Suppl 1	S74-77	2006
Okajima S, Cho K, Chiba H, Azu ma H, Mochizuki T, Yamaguchi M, Sato S, Ikeda H, Yamada H, Minakami H, <u>Ari ga T</u> , Kobayashi K.	Two sibling cases of hydrops f etalis due to alloimmune anti- CD36 (Nak <sup>a</sup> ) antibody	Thrombosis and Hemostasis	95	267-271	2006
<u>Ariga T</u>	Gene therapy for primary im munodeficiency diseases; recent progress and mis- givings	Curr Pharm Dsi gn	12	557-563	2006

Iguchi A, Kobayashi R, Sato ZT, Nakajima M, Kaneda M, Ariga T.	Successful report of reduced-intensity stem cell transplantation from unrelated umbilical cord blood in a girl with chronic active Epstein-Barr virus infection.	J Pediatr Hematol Oncol	28	254-256	2006
Shiari R, Kobayashi I, Toita N, Hatano N, Kawamura N, Okano M, Hayashi Y, Kobayashi K, Ariga T.	Epitope Mapping of Anti-a-Fodrin Autoantibody in Juvenile Sjögren's Syndrome: Difference in Major Epitopes Between Primary and Secondary Cases	J Rheumatol	33	1395-1400	2006
Kobayashi R, Ariga T, Nonoyama S, Kanegane H, Tsuchiya S, Mori T, Yabe H, Nagatoshi Y, Kawakami T, Tabuchi K, Tsuchida M, Miyawaki T, Kato S.	Outcome in patients with Wiskott Aldrich syndrome following stem cell transplantation: an analysis of 57 patients in Japan.	British J Haematol.	135	362-366	2006
Minegishi Y, Saito M, Morio T, Watanabe K, Agematsu K, Tsuchiya S, Takada H, Hara T, Kawamura N, Ariga T, Kaneko H, Kondo N, Tsuge T, Yachie A, Sakiyama Y, Iwata T, Bessho F, Ohishi T, Joh K, Imai K, Kogawa K, Shinohara M, Fujieda M, Wakiguchi H, Pasic S, Abinun M, Ochs HD, Renner ED, Annette J, Belohradsky BH, Metin A, Shimizu N, Mizutani S, Miyawaki T, Nonoyama S & Karasuyama H	Human Tyk2 deficiency reveals requisite roles of Tyk2 in multiple cytokine signals involved in innate and acquired immunity.	Immunity	25	744-755	2006

Toita N, Hatano N, Ono S, Yamada M, Kobayashi R, Kobayashi <sup>1</sup> I, Kawamura N, Okano M, Satoh A, Nakagawa A, Oshima K, Shindoh M, Takami T, Kobayashi K, <u>Ariga T</u> :	Epstein-Barr virus-associated B cell lymphoma in a patient with DNA ligase IV (LIG4) syndrome.	Am J Med Genet				in press
Sato T, Kobayashi R, Toita N, Kaneda M, Hatano N, Iguchi A, Kawamura N, <u>Ariga T</u> :	Stem cell transplantation in primary immunodeficiency disease patients.	Pediatric International				in press
Kobayashi H, Watabe K, Izuka S, <u>Eto Y</u> et al	Successful Transduction of Mammalian Astrocytes and Oligodendrocytes by Pseudotyped Baculovirus Vector in Vitro and in Vivo.	Jikei Medical Journal	53(2)	55-62		2006
Shiba H, Okamoto T, Futagawa Y, <u>Eto Y</u> et al:	Adenovirus vector-mediated gene transfer using degradable starch microspheres for hepatocellular carcinoma in rats.	J Surg Res	133(2)	193-196		2006
Fujiwara T, Tanaka N, Kanazawa S, <u>Eto Y</u> et al:	Multicenter phase I study of repeated intratumoral delivery of adenoviral p53 in patients with advanced non-small-cell lung cancer.	J Clin Oncol	24(11)	1689-1699		2006
Muguruma Y, Yahata T, Miyatake H, Sato T, Uno T, Itoh J, <u>Kato S</u> , Ito M, Hotta T, Ando K	Reconstitution of the functional human hematopoietic microenvironment derived from human mesenchymal stem cells in the murine bone marrow compartment	Blood	107(5)	1878-87		2006
Ando K, Yahata T, Sato T, Miyatake H, Matsuzawa H, Oki M, Miyoshi H, Tsuji T, <u>Kato S</u> , Hotta T	Direct evidence for ex vivo expansion of human hematopoietic stem cells	Blood	107(8)	3371-7		2006
加藤 俊一	特殊治療－輸血、造血幹細胞、臓器移植、遺伝子治療、再生医療－	小児科診療	69 巻 増刊号	39-41		2006

Yahata T, Yumino S, Miyatake H, Uno T, Muguruma Y, Ito M, Miyoshi H, <u>Kato S</u> , Ando K	Clonal analysis of thymus-repopulating cells presents direct evidence for self-renewal division of human hematopoietic stem cells.	Blood	108(7)	2446-54	2006
<u>加藤 俊一</u>	小児移植－造血幹細胞移植	移植	41 卷 3 号	227-34	2006
<u>加藤 俊一</u>	HLA 血清型不適合非血縁者間骨髓移植	臨床血液	47 卷 7 号	587-8	2006
Yabe H, Inoue H, Matsumoto M, Hamanoue S, Koike T, Ishiguro H, Koike H, Suzuki K, <u>Kato S</u> , Kojima S, Tsuchida M, Mori T, Adachi S, Tsuji K, Koike K, Morimoto A, Sako M, Yabe M	Allogeneic haematopoietic cell transplantation from alternative donors with a conditioning regimen of low-dose irradiation, fludarabine and cyclophosphamide in Fanconi anaemia.	Br J Hematol.	134(2)	208-12	2006
<u>加藤 俊一</u>	わが国の造血幹細胞移植の特徴	内科	98 卷 2 号	193-201	2006
Kametani Y, Shiina M, Katano I, Ito R, Ando K, Toyama K, Tsukamoto H, Matsumura T, Saito Y, Ishikawa D, Taki T, Ito M, Imai K, Tokuda Y, <u>Kato S</u> , Tamaoki N, Habu S	Development of human-human hybridoma from anti-Her-2 peptide-producing B cells in immunized NOG mouse.	Exp Hematol.	34(9)	1240-8	2006
<u>加藤 俊一</u>	造血幹細胞移植	小児科診療	69 卷 11 号	1748-54	2006
Kobayashi R, Ariga T, Nonoyama S, Kanegane H, Tsuchiya S, Morio T, Yabe H, Nagatoshi Y, Kawa K, Tabuchi K, Tsuchida M, Miyawaki T, <u>Kato S</u>	Outcome in patients with Wiskott-Aldrich syndrome following stem cell transplantation: an analysis of 57 patients in Japan.	British Journal of Haematology	135(3)	362-6	2006