

クターは細胞外では極めて不安定であり、また、ヒト血清（補体）により直ちに不活性化されるため、たとえレトロウイルスベクター粒子が感染細胞の膜表面に付着して患者体内に混入しても、それが原因で新たな細胞に感染が起こることはない。

7-1-6 患者以外のヒトへの遺伝子導入の可能性

本遺伝子治療臨床研究では、遺伝子導入操作は体外で行われるため、患者以外の人に遺伝子が導入される可能性は否定できない。このため遺伝子導入に十分な知識と経験を有する研究者のみが、P2 レベルの遺伝子導入専用施設で、細心の注意を払いレトロウイルスベクターを含む上清を扱う。レトロウイルスベクターは非常に不安定であり、レトロウイルスベクターを含む上清に直接触れた程度で遺伝子導入が成立するとは考えにくい。レトロウイルスベクターを含む廃液の全ては高圧滅菌後に廃棄する。また、大量の RCR が患者体内に存在しない限り、患者を介して患者以外の人に遺伝子導入が起こり得る可能性はない。

7-1-7 染色体内へ遺伝子が組み込まれる場合の問題点

従来、レトロウイルスベクターの挿入範囲は全染色体に及び、とりわけ特定の遺伝子近傍に挿入されるわけではないので、ベクターの染色体挿入自体に大きな問題はないとされてきた。しかし最近の研究で、レトロウイルスは遺伝子のプロモーター/エンハンサー領域などの染色体が活性化されている部位に挿入されやすいと報告され、その挿入部位近傍の遺伝子になんらかの影響を及ぼした場合に問題が起こる可能性がある。ベクター挿入により細胞増殖遺伝子に障害を与えた場合では、その細胞は増殖できず細胞死に至るのみで患者本人にはなんら影響はない。一方、挿入部位近傍に癌原遺伝子が存在し、挿入によりそれら遺伝子の発現誘導、あるいは増強を促した場合、すなわちベクター挿入が癌原遺伝子に対し正に働いた場合、細胞は癌化する可能性が出てくる。事実、フランスで行われた X-SCID に対する造血幹細胞遺伝子治療において使用したレトロウイルスベクターが、患者染色体の *LMO-2* 遺伝子近傍に挿入され、白血病を発症したとの報告がある (11)。現時点でレトロウイルスベクターの挿入部位を制御することは不可能なので、遺伝子治療により得られると考えられる患者利益が、この白血病発症の危険性を超えると見なされた場合のみ、患者への詳細な説明と患者の同意のもとに遺伝子治療は行われている。

7-1-8 癌原性

ウイルス感染による癌原性は RCR が存在しない限り、その可能性は極めて低い。一方、前項で述べたように挿入部位近傍遺伝子の活性化による癌化の可能性はフランス X-SCID 遺伝子治療で見られたように決して低いものではない。本遺伝子治療臨床研究に先行して行われたドイツ・スイスでの同一ウイルスベクターを用いた CGD 遺伝子治療臨床研究においても特定の遺伝子領域 (*MDS1-EVII*) にベクターが挿入された CD15 陽性細胞が増殖優位性を示したと報告されているが (9)、オリゴクローナルに増殖した遺伝子導入細胞は白血病化していない。

7-2 遺伝子産物の安全性

レトロウイルスベクター SF71gp91^{phox} の遺伝子導入により標的細胞はヒト gp91^{phox} 遺伝子産物のみを獲得する。この遺伝子産物には、毒性及び発癌性はない。

7-3 細胞の安全性

7-3-1 培養細胞の純度

使用するウイルス上清は EUFETS 社において微細な孔 (0.22 μ m) のフィルターに通されており、細胞成分の混入はない。安全を期すため、一度に取り扱う患者細胞は 1 名とし、また、微生物の汚染を防ぐために、全ての操作は P2 レベルの細胞調製室で行う。細胞の取り扱いに関してはクラス IIa の安全キャビネット内でのみ行う。遺伝子導入前の無菌性検査は、好気性・嫌気性細菌、真菌ならびにマイコプラズマについて行い、遺伝子導入後の凍結貯蔵直前には、RCR を含むウイルス汚染の検査も行う。これらの検査は SRL 社によって行われる。

7-3-2 細胞の遺伝型、発現型の安全性

レトロウイルスベクターの染色体挿入部位は全染色体にわたり 500 か所以上と言われ、一定ではない。したがって、細胞レベルでは、その挿入部位が少なからず近傍遺伝子の発現に何らかの影響を与え、個々の導入細胞の形質に変化が生じている可能性があるが、個体の特定の遺伝型に変化が起こるわけではない。しかし、これらの細胞レベルの形質の変化はフランスの X-SCID 遺伝子治療の例を除き微細なため、一般臨

床検査では異常値を示さない。

7-3-3 被験者に投与する細胞の安全性

投与する細胞はレトロウイルスベクターSF71gp91^{phox}を導入した患者自家骨髄CD34陽性細胞である。現在、リンパ腫などに対し自家骨髄を移植する治療が行われていることを考えると、自家CD34陽性細胞の投与は患者に重大な影響を及ぼす可能性は低い。また、細胞培養に使用するサイトカインなども残存濃度は微量で、生体への影響は少ないと考えられる。

8 遺伝子治療臨床研究が実施可能であると判断する根拠

(1) 最近、CGD に対する骨髄非破壊的前処置を行った HLA 一致同種骨髄移植が安全に行われ、完治する症例も増加しており、CGD に対する骨髄移植に関する技術はすでに確立されている。

(2) レトロウイルスベクターは、これまで多数の遺伝子治療に用いられている。国内でも 1995~1997 年に北海道大学において末梢血単核球を標的とした ADA 欠損症に対する遺伝子治療臨床研究が実施された。さらに、2002 年から同大学において ADA 欠損症に対し骨髄血 CD34 陽性細胞を標的に遺伝子治療が行われ、2002 年から筑波大学においても白血病に対する免疫療法が行われている。その結果、レトロウイルスベクターを用いた遺伝子治療の有効性が確認されている。

(3) 本研究で使用するベクターSF71gp91^{phox}は、これまで記述したようにドイツ・スイスの遺伝子治療臨床研究で使用され、すでに有効性が確認されている。

(4) 本臨床研究の研究者等は、これまでに「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（平成 18 年度厚生労働科学研究費補助金子ども家庭総合研究事業）」において、X-CGD に対する遺伝子治療の実施可能性について調査研究を行った。その結果、造血幹細胞移植が最良の治療法と考えられるが、移植が実施不能な患者については、積極的に遺伝子治療を考慮することが妥当であるとの結論を得た (27)。

(5) 実施施設の国立成育医療センターは、成育医療（小児医療、母性・父性医療及び関連・境界領域を包括する医療）に特化した高度専門医療センターである。その使命は、先天性疾患を含む小児の難治性疾患の機序解明と、その理論を応用した診断・治療法の開発ならびに臨床研究の実践である。この使命を達成するため、高度先駆的医療やモデル的医療を推進・提供する病院と基盤研究を行う研究所の相互協力の下、橋渡し研究が行われている。それに加え、本臨床研究には、国内の他の遺伝子治療臨床研究の実績を有する多数の専門家も参画する。

以上のことより、本臨床研究は実施可能であると判断した。

9 遺伝子治療臨床研究の計画

9-1 遺伝子治療臨床研究の概要

(1) 適応患者としての選定基準・除外基準を満たし、遺伝子治療臨床研究適応判定委員会（9-3-1 参照）において承認された X-CGD 患者を対象とする。

(2) 患者の自家骨髄CD34 陽性細胞を標的としてgp91^{phox}遺伝子を導入する。全身麻酔下に患者骨髄血を採取し、CD34 陽性細胞を分離する。分離したCD34 陽性細胞に対し体外で遺伝子導入を行い、洗浄後患者の静脈内へ遺伝子導入細胞を投与する。レトロウイルスベクターはSF71gp91^{phox}を使用する。このベクターはドイツEUFETS社より購入するが、RCRほかの安全性に関して検査され合格したGMP基準ウイルス上清である。

(3) 遺伝子導入細胞を患者体内で確実に生着させるため、造血幹細胞移植前治療薬を用いた前処置を行う。治療期間中は、無菌室に準じた環境下で患者を注意深く観察する。

(4) 遺伝子導入細胞投与後は、患者の状態、臨床症状の変化を注意深く経過観察し、患者の末梢血好中球または骨髄細胞を用いて導入遺伝子の存在、gp91^{phox}遺伝子の発現、活性酸素産生能、単クローンの異常な細胞増殖の有無、RCRの有無などを検索する。

(5) 有害事象及び被験者の個人情報については、「遺伝子治療臨床研究に関する指針」(平成 14 年 3 月 27 日 文部科学省・厚生労働省告示、平成 16 年 12 月 28 日 全部改正)、「行政機関の保有する個人情報の保護に関する法律」(平成 15 年 法律第 58 号。「個人情報保護法」) 及び、「行政機関の保有する個人情報の保護に関する法律施行令」(平成 17 年 4 月 1 日 施行。「個人情報保護法施行令」) に基づき、適切に対応する。

9-2 被験者の選定基準及び除外基準 (添付資料三-5-1)

9-2-1 選定基準

- (1) X-CGD の診断が確定している。
- (2) HLA 適合ドナーがないか、ドナーがいても移植の前処置に耐えられないなどの理由から、造血幹細胞移植が実施困難である。
- (3) 治療に抵抗性、または治療をしても悪化がみられる感染症に罹患しており、治癒の見込みがない。
- (4) 本治療に耐えうる身体生理機能が保持されている。
 - a) 腎機能：体表面積 (1.73m^2) 補正クレアチニンクリアランス (Ccr) ≥ 70 mL/分
 - b) 肝機能：AST、ALT とともに ≤ 100 IU/L
 - c) 心機能：左室駆出率 $> 50\%$
 - d) 肺機能：安静時の SpO₂ $\geq 95\%$
 - e) 重度の糖尿病を合併していない (随時または食後 2 時間後の血糖 $\leq 200\text{mg/dL}$ 、HbA1c $\leq 9\%$)。
- (5) 年齢 3 歳以上、体重 10kg 以上である。

9-2-2 除外基準

- (1) インフォームドコンセントが得られない。
- (2) HIV が陽性である。
- (3) 悪性腫瘍を併発している。
- (4) 脳炎、髄膜炎などの脳の活動性病変がある。
- (5) 身体生理機能が、選定基準の (4) の基準に満たない。
- (6) 既往歴より、重篤なアレルギー反応を起こす可能性がある。

9-3 被験者の選定方法

被験者の選定に当たっては、人権保護の観点から、病状、年齢、同意能力等を考慮し、慎重に検討する。本臨床研究の総括責任者は、9-2 項の選定基準を満たし、除外基準に該当しない患者に対して、本臨床研究を実施することについて実施施設長の了承を得る。実施施設長は、遺伝子治療臨床研究適応判定委員会（9-3-1 参照）に対し、当該患者の本臨床研究実施の適格性について審議を依頼する。遺伝子治療臨床研究適応判定委員会は、迅速かつ十分に審議の上、本臨床研究の被験者を選定し、実施施設長に意見を述べる。

9-3-1 遺伝子治療臨床研究適応判定委員会

実施施設長は、本遺伝子治療臨床研究を了承した時点で、国立成育医療センター内に 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」という。）を設置し、委員長を任命する。委員の選任に関しては、別途定める。

9-3-2 遺伝子治療臨床研究評価委員会

実施施設長は、本遺伝子治療臨床研究を了承した時点で、国立成育医療センター内に 遺伝子治療臨床研究評価委員会（以下、「評価委員会」という。）を設置する。委員の選任に関しては、別途定める。

9-3-3 遺伝子治療臨床研究審査委員会

実施施設長は、本臨床研究が、生命及び医の倫理に基づき、また「遺伝子治療臨床研究に関する指針」を遵守し、適正に行われるよう、遺伝子治療臨床研究審査委員会（以下、「審査委員会」という。）を設置する。審査委員会は、本臨床研究の実施計画及び実施の適否について、科学的観点とともに倫理的観点も含めて審査する。審査委員会の委員の選任に関しては、別途定める。

9-4 被験者の同意の取得方法

本遺伝子治療臨床研究を開始するにあたって、総括責任者あるいは総括責任者に代

わる医師である研究者は、被験者に対して、添付資料三-5-2（「慢性肉芽腫症の遺伝子治療臨床研究」参加のしおり）をもとに、下記の 1~10 について説明し、自由意志による本臨床治療研究参加の同意を文書にて得る。被験者が 3~15 歳の小児の場合は、保護者等の代諾者に同様の説明を行い、文書による同意を得る。被験者が、16 歳以上満 20 歳未満の未成年者の場合、代諾者ととも、被験者本人からも文書による同意を得る。

1. 臨床研究について。
2. CGD の病気の説明。
3. X-CGD に対する他の治療法の有無及びその内容。
4. 本臨床研究の目的及び方法。
5. 予想される効果及び危険性。
6. 被験者が治療への参加に同意しない場合でも何ら不利益を被らないこと。
7. 被験者が治療への参加に同意した後でも随時これを撤回できること。
8. その他、被験者の人権保護に関する必要事項。
9. 本研究における個人情報保護に関する体制。
10. 患者及び保護者等は随時心理相談を受けることができること。

9-5 実施期間及び目標症例数

実施期間は厚生労働省の承認が得られた時点から 5 年間で、目標症例数は 5 例と設定する。

9-6 遺伝子治療臨床研究の実施方法

9-6-1 対照群の設定方法

本研究では、対照群の設定は行わない。

9-6-2 遺伝子導入方法

①無菌性の確保

クリーンルーム内に設置された P2 レベルの培養室を使用し、入室時には消毒液による手洗いとともにガウンテクニックを確実に実行する。細胞の採取、サイトカイン

による前刺激、培養、洗浄、静脈内投与等に使用する器具、試薬類は全て滅菌済みの使い捨て製品を使用する。また、培養器は専用のもを使用する。培養液の交換などの処理は、可能な限り非開放的に操作する。クリーンルーム内での標準作業手順（SOP）は、別に定める。

②ベクターの入手、保存法

ドイツEUFETS社が作製し、GMP基準合格証が添付されたレトロウイルスベクター SF71gp91^{phox}培養上清を輸入する。輸入にあたっては、国際航空運送協会（IATA）の規則を遵守し、本遺伝子治療臨床研究に関する厚生労働省の承認が得られたのち、これに基づいて通関手続きが行われる。SF71gp91^{phox}は数か月以内の凍結保存では遺伝子導入効率が著減しないことが確認されているので、ドライアイスによって凍結状態で輸送され、入手後は使用するまで-80℃の冷凍庫で保存する。輸入したウイルス上清の一部を使って、日本でも安全性検査等を行う。検査項目は、遺伝子導入効率、RCRの有無の確認、細菌検査、マイコプラズマ検査、エンドトキシン検査を行う。

③患者からの骨髄血の採取

患者の自己骨髄採取は、国立成育医療センターに入院して行う。骨髄採取前に必要な検査（血液細胞数、血液生化学、尿、胸部 X線写真、心電図など）と麻酔医の診察等を行い、骨髄採取が可能であることを確認する。全身麻酔下で患者の腸骨を穿刺し、骨髄血を採取する。穿刺は、数か所に分けて行い、採取する骨髄血は1回の穿刺につき5-10mlとする（総量が〇〇ml/kgを越えないようにする）。

④標的細胞の調製

骨髄血からバツフィーコートを分離し、更に CliniMACS（Miltenyi Biotec 社）を用いて CD34 陽性細胞を選択後、その純度と細胞数を検査後、生理食塩水で洗浄して標的細胞とする。一部を検査用に保存する。

⑤標的細胞の前培養

遺伝子導入前の培養はstem cell factor（SCF、R & D）、Flt-3 リガンド（Flt-3L、R & D）、トロンボポエチン（TPO、R & D）、インターロイキン-6（IL-6、R & D）、可溶性IL-6

受容体 (sIL-6R, R & D) をそれぞれ最終濃度 50, 300, 50, 100, 500ng/mlで添加した 1%ヒト血清アルブミン/X-VIVO 10™培地 (Lonza社) で行う。

細胞濃度を $0.5\sim 1 \times 10^6$ /mlに調製し、炭酸ガス透過性バッグ (CultiLife Spin™、タカラバイオ) を用い、炭酸ガス培養器内で 37°C、5%CO₂の条件で 48 時間培養する。

⑥標的細胞への遺伝子導入

培養バッグをあらかじめ組換えヒトフィブロネクチンCH-296 RetroNectin® (タカラバイオ) で固相化する。RetroNectin®固相化培養バッグに、37°Cで迅速に融解した SF71gp91^{phox}を含むウイルス液を加える。ウイルス液を充填したバッグを恒温仕様多本架遠心機にて遠心する (ウイルス前処理法)。前培養を終えたCD34 陽性細胞を、上記サイトカインとともに、ウイルスの入った培養バッグに入れ、5%CO₂の培養器内で 24 時間培養する。24 時間後に、遺伝子導入細胞を回収し、新たにウイルス前処理を行った培養バッグで、24 時間培養を行う。同操作を繰り返し、合計 3 回遺伝子導入を行う。3 回目の遺伝子導入終了時に、細菌検査及び遺伝子導入率の測定のため、培養上清及び細胞の一部を採取する。遺伝子導入細胞を洗浄したのち回収し、生細胞数を算出する。検査項目は、無菌性検査 (グラム染色)、細菌培養 (BACTEC™ NR16A及びNR17A)、エンドトキシン検査 (エンドスペシー法)、マイコプラズマ検索、ベクター挿入の確認 (gp91^{phox}遺伝子PCR法、7D5 抗体を用いたフローサイトメトリー解析)、RCRの検索 (*env*遺伝子PCR法)、細胞表面マーカー解析等について行う。

⑦遺伝子導入細胞の患者への投与方法

最終的に得られた遺伝子導入細胞の 5%を検査用に保存する。残り 95%を生理食塩水に再浮遊し、シリンジまたは輸血バッグに入れる (総投与量: 10ml/kg以内、総投与細胞数: 6×10^6 /kg以内)。3 回目の遺伝子導入後に施行した培養上清の無菌性検査に異常がないのを確認後、患者への投与を行う。最初はテスト量として、総投与量の 2~5%をゆっくりと静脈内投与し、その後 5~10 分間状態を観察する。特別な異常が認められなければ、およそ 20 分の時間をかけてゆっくり静注する。少なくとも 2 時間はモニター監視を行い、循環系の指標 (血圧、脈拍、体温、呼吸) は最初の 1 時間は 15 分おきに、その後は 30 分おきに計測する。

9-6-3 前処置及び併用療法の有無

造血幹細胞移植前治療薬ブスルファンによる前処置を行う。投与法はドイツ・スイスの計画に準ずる。遺伝子導入細胞輸注の3日前及び2日前に、点滴静注用ブスルファン4mg/kg/日の投与を行う（1日量を4回に分割して6時間ごとに投与する。1回の点滴時間は2時間。最後投与から遺伝子導入細胞輸注まで30時間）。ブスルファンの投与中は、十分な排尿の確保と電解質平衡の正常化のために輸液による水分補給を十分に行い、抗てんかん剤（クロナゼパム）と必要であれば制吐剤（グラニセトロン）の投与を行う。

治療期間中は、無菌室に準じた管理を行う。骨髄抑制の程度を血液検査で評価し、必要時には輸血を行う。

本臨床研究前から行われている治療については、IFN- γ 製剤は2ヶ月前までに中止する。イトリゾールは、ブスルファン投与前日まで、トリメトブリン/スルファメトキサゾールは、遺伝子導入細胞輸注の前日まで内服し、day 0 から day14 までは、内服中止する。

9-6-4 観察項目及び臨床検査項目とそのスケジュール（添付資料三-5-3）

被験者は、遺伝子治療の21日前までに国立成育医療センター病院に入院することとする。被験者は、付帯資料三-5-3の表に示したスケジュールに従って、遺伝子治療前及び遺伝子導入細胞輸注後に定期的に評価と臨床検査を受ける。

(1) 観察項目

- ①生命徴候：体温、収縮期血圧、拡張期血圧、脈拍、呼吸数
- ②身体計測：身長、体重
- ③内科診察：頭頸部、口腔内、胸腹部（聴診、打診、肝腫大、脾腫、その他）、皮膚（毛嚢炎、発疹、その他）、四肢、リンパ節（頸部、腋窩、鼠径部、その他）、外陰部（肛門周囲膿瘍、その他）、その他感染の徴候の有無

(2) 臨床検査項目

- ① 血液一般検査：血液細胞数、白血球分画
- ② 尿一般検査：蛋白、潜血、糖、沈渣
- ③ 生化学検査：尿酸、血清電解質（Na、K、Cl、Ca、P）、AST、ALT、 γ -GTP、LDH、ALP、ビリルビン、尿素窒素、クレアチニン（血清、尿）、総蛋白、アル

ブミン、血糖

- ④ 免疫学検査：IgG、IgA、IgM、IgE、CH50、リンパ球表面マーカー（CD3、CD4、CD8、CD19、CD20、CD56）
- ⑤ 血液凝固能検査：PT、PTT、フィブリノゲン
- ⑥ 骨髄穿刺検査（骨髄細胞染色検査）
- ⑦ 感染症関連検査：CRP、 β -D-グルカン、アスペルギルス抗原、カンジダ抗原
- ⑧ 末梢血好中球におけるgp91^{phox}の発現（7D5抗体を用いたフローサイトメトリ一解析）
- ⑨ 末梢血好中球活性酸素産生能（DHR検査、NBT検査）
- ⑩ 画像検査：胸腹部CT、頭部CT、さらに必要性に応じて、上下部消化管内視鏡、超音波検査、PETスキャン
- ⑪ 導入遺伝子gp91^{phox}の定量PCR（末梢血好中球、骨髄検査時は骨髄血も）

(3) 患者細胞で行うモニタリングの項目

- ① RCRの検索：*env*遺伝子のPCR
- ② LAM-PCR法によるクローン性増殖の有無の解析は適宜行う。

(4) 観察と検査のスケジュール

治療開始前 遺伝子導入細胞輸注前 4~8週以内

インフォームドコンセント、病歴の聴取、生命徴候を含む一般身体所見

感染症の有無の診断（上記の⑦の検査を含む）

治療前1年間の重症感染症の罹患回数（発熱日数、入院回数、感染症治療の方法、用量、投与日数）、併用薬の確認、臨床検査（上記の①-⑤、⑦-⑨）、心電図

治療前の⑥骨髄検査については、治療のために採取する骨髄血を用いる。

なお、この治療開始前の観察項目、検査項目の結果をもって、評価項目のベースラインとする。

治療当日 (Day 0)

生命徴候を含む一般身体所見、有害事象の有無の確認

治療後 72時間 (Day3)

生命徴候を含む一般身体所見、有害事象

血液一般検査（白血球分画を含む）、尿検査、生化学検査、
RCR の検索（*env* 遺伝子の PCR）

治療後 1 週（Day 7 ± 2）

生命徴候を含む一般身体所見、有害事象

血液一般検査（白血球分画を含む）、尿検査、生化学検査

末梢血好中球の導入遺伝子 gp91^{phox} の定量 PCR、RCR の検索（*env* 遺伝子の PCR）

治療後 2 週（Day 14 ± 2）

生命徴候を含む一般身体所見、有害事象

血液一般検査（白血球分画を含む）、尿検査、生化学検査

感染症関連検査（CRP、β-D-グルカン、アスペルギルス抗原、カンジダ抗原）

末梢血好中球における gp91^{phox} の発現

治療後 3 週（Day 21 ± 3）

生命徴候を含む一般身体所見、有害事象

血液一般検査（白血球分画を含む）、尿検査、生化学検査

<1 年目の経過観察>

治療後 4 週（Day 28 ± 3）

生命徴候を含む一般身体所見、有害事象

血液一般検査（白血球分画を含む）、尿検査、生化学検査

免疫学検査（IgG、IgA、IgM、IgE、CH50）

リンパ球表面マーカー（CD3、CD4、CD8、CD19、CD20、CD56）

感染症関連検査（CRP、β-D-グルカン、アスペルギルス抗原、カンジダ抗原）

画像診断（胸腹部 CT）

末梢血好中球における gp91^{phox} の発現

末梢血好中球活性酸素産生能（DHR 検査、NBT 検査）

末梢血好中球の導入遺伝子 gp91^{phox} の定量 PCR、RCR の検索（*env* 遺伝子の PCR）

治療後 6 週（Day 42 ± 5）

生命徴候を含む一般身体所見、有害事象

血液一般検査（白血球分画を含む）、尿検査、生化学検査

治療後 8 週 (Day 56 ± 5)

生命徴候を含む一般身体所見、有害事象

血液一般検査 (白血球分画を含む)、尿検査、生化学検査、免疫学的検査 (IgG)

感染症関連検査 (CRP、 β -D-グルカン、アスペルギルス抗原、カンジダ抗原)

骨髄検査

末梢血好中球におけるgp91^{phox}の発現

末梢血好中球活性酸素産生能 (DHR 検査、NBT 検査)

末梢血好中球の導入遺伝子gp91^{phox}の定量PCR、RCRの検索 (*env*遺伝子のPCR)

治療後 3 か月 (Day 90 ± 7)

生命徴候を含む一般身体所見、有害事象

血液一般検査 (白血球分画を含む)、尿検査、生化学検査、免疫学的検査 (IgG)

感染症関連検査 (CRP、 β -D-グルカン、アスペルギルス抗原、カンジダ抗原)

画像診断 (胸腹部 CT)

末梢血好中球におけるgp91^{phox}の発現

末梢血好中球活性酸素産生能 (DHR 検査、NBT 検査)

末梢血好中球の導入遺伝子gp91^{phox}の定量PCR、RCRの検索 (*env*遺伝子のPCR)

治療後 4 か月 (Day 120 ± 7)

生命徴候を含む一般身体所見、有害事象

血液一般検査 (白血球分画を含む)、尿検査、生化学検査

治療後 5 か月 (Day 150 ± 7)

生命徴候を含む一般身体所見、有害事象

血液一般検査 (白血球分画を含む)、尿検査、生化学検査

治療後 6 か月 (Day 180 ± 7)

生命徴候を含む一般身体所見、有害事象

血液一般検査 (白血球分画を含む)、尿検査、生化学検査

免疫学検査 (IgG、IgA、IgM、IgE、CH50)

リンパ球表面マーカー (CD3、CD4、CD8、CD19、CD20、CD56)

感染症関連検査 (CRP、 β -D-グルカン、アスペルギルス抗原、カンジダ抗原)

骨髄検査、画像診断 (胸腹部 CT)

末梢血好中球におけるgp91^{phox}の発現

末梢血好中球活性酸素産生能 (DHR 検査、NBT 検査)

末梢血好中球の導入遺伝子gp91^{phox}の定量PCR、RCRの検索 (*env*遺伝子のPCR)

治療後 7 か月 (Day 210 ± 7)

生命徴候を含む一般身体所見、有害事象

血液一般検査 (白血球分画を含む)、尿検査、生化学検査

治療後 8 か月 (Day 240 ± 7)

生命徴候を含む一般身体所見、有害事象

血液一般検査 (白血球分画を含む)、尿検査、生化学検査

治療後 9 か月 (Day 270 ± 7)

生命徴候を含む一般身体所見、有害事象

血液一般検査 (白血球分画を含む)、尿検査、生化学検査、免疫学的検査 (IgG)

感染症関連検査 (CRP、 β -D-グルカン、アスペルギルス抗原、カンジダ抗原)

末梢血好中球におけるgp91^{phox}の発現

末梢血好中球活性酸素産生能 (DHR 検査、NBT 検査)

末梢血好中球の導入遺伝子gp91^{phox}の定量PCR、RCRの検索 (*env*遺伝子のPCR)

治療後 10 か月 (Day 300 ± 7)

生命徴候を含む一般身体所見、有害事象

血液一般検査 (白血球分画を含む)、尿検査、生化学検査

治療後 11 か月 (Day 330 ± 7)

生命徴候を含む一般身体所見、有害事象

血液一般検査 (白血球分画を含む)、尿検査、生化学検査

治療後 12 か月 (Day 365 ± 7)

生命徴候を含む一般身体所見、有害事象

血液一般検査 (白血球分画を含む)、尿検査、生化学検査

免疫学検査 (IgG、IgA、IgM、IgE、CH50)

リンパ球表面マーカー (CD3、CD4、CD8、CD19、CD20、CD56)

感染症関連検査 (CRP、 β -D-グルカン、アスペルギルス抗原、カンジダ抗原)

骨髄検査、画像診断（胸腹部 CT）

末梢血好中球におけるgp91^{phox}の発現

末梢血好中球活性酸素産生能（DHR 検査、NBT 検査）

末梢血好中球の導入遺伝子gp91^{phox}の定量PCR、RCRの検索（env遺伝子のPCR）

<2年目の経過観察>

治療後 15 か月 (Day 450 ± 14)

生命徴候を含む一般身体所見、有害事象

血液一般検査（白血球分画を含む）、尿検査、生化学検査、免疫学的検査（IgG）

感染症関連検査（CRP、β-D-グルカン、アスペルギルス抗原、カンジダ抗原）

末梢血好中球におけるgp91^{phox}の発現

末梢血好中球活性酸素産生能（DHR 検査、NBT 検査）

末梢血好中球の導入遺伝子gp91^{phox}の定量PCR、RCRの検索（env遺伝子のPCR）

治療後 18 か月 (Day 540 ± 14)

生命徴候を含む一般身体所見、有害事象

血液一般検査（白血球分画を含む）、尿検査、生化学検査

免疫学検査（IgG、IgA、IgM、IgE、CH50）

リンパ球表面マーカー（CD3、CD4、CD8、CD19、CD20、CD56）

感染症関連検査（CRP、β-D-グルカン、アスペルギルス抗原、カンジダ抗原）

末梢血好中球におけるgp91^{phox}の発現

末梢血好中球活性酸素産生能（DHR 検査、NBT 検査）

末梢血好中球の導入遺伝子gp91^{phox}の定量PCR、RCRの検索（env遺伝子のPCR）

治療後 21 か月 (Day 630 ± 14)

生命徴候を含む一般身体所見、有害事象

血液一般検査（白血球分画を含む）、尿検査、生化学検査、免疫学的検査（IgG）

感染症関連検査（CRP、β-D-グルカン、アスペルギルス抗原、カンジダ抗原）

末梢血好中球におけるgp91^{phox}の発現

末梢血好中球活性酸素産生能（DHR 検査、NBT 検査）

末梢血好中球の導入遺伝子gp91^{phox}の定量PCR、RCRの検索（env遺伝子のPCR）

治療後 24 か月 (Day 730 ± 14)

生命徴候を含む一般身体所見、有害事象

血液一般検査（白血球分画を含む）、尿検査、血液生化学検査
免疫学検査（IgG、IgA、IgM、IgE、CH50）
リンパ球表面マーカー（CD3、CD4、CD8、CD19、CD20、CD56）
感染症関連検査（CRP、 β -D-グルカン、アスペルギルス抗原、カンジダ抗原）
骨髄検査、画像診断（胸腹部 CT）
末梢血好中球におけるgp91^{phox}の発現
末梢血好中球活性酸素産生能（DHR 検査、NBT 検査）
末梢血好中球の導入遺伝子gp91^{phox}の定量PCR、RCRの検索（env遺伝子のPCR）

<3年目の経過観察>

治療後 27 か月 (Day 810 ± 14)

生命徴候を含む一般身体所見、有害事象
免疫学的検査（IgG）
感染症関連検査（CRP、 β -D-グルカン、アスペルギルス抗原、カンジダ抗原）
末梢血好中球におけるgp91^{phox}の発現
末梢血好中球活性酸素産生能（DHR 検査、NBT 検査）
末梢血好中球の導入遺伝子gp91^{phox}の定量PCR、RCRの検索（env遺伝子のPCR）

治療後 30 か月 (Day 900 ± 14)

生命徴候を含む一般身体所見、有害事象
血液一般検査（白血球分画を含む）、尿検査、生化学検査、免疫学的検査（IgG）
感染症関連検査（CRP、 β -D-グルカン、アスペルギルス抗原、カンジダ抗原）
末梢血好中球におけるgp91^{phox}の発現
末梢血好中球活性酸素産生能（DHR 検査、NBT 検査）
末梢血好中球の導入遺伝子gp91^{phox}の定量PCR、RCRの検索（env遺伝子のPCR）

治療後 33 か月 (Day 990 ± 14)

生命徴候を含む一般身体所見、有害事象
免疫学的検査（IgG）
感染症関連検査（CRP、 β -D-グルカン、アスペルギルス抗原、カンジダ抗原）
末梢血好中球におけるgp91^{phox}の発現
末梢血好中球活性酸素産生能（DHR 検査、NBT 検査）
末梢血好中球の導入遺伝子gp91^{phox}の定量PCR、RCRの検索（env遺伝子のPCR）

治療後 36 か月 (Day 1095 ± 14)

生命徴候を含む一般身体所見、有害事象
血液一般検査（白血球分画を含む）、尿検査、生化学検査
免疫学検査（IgG、IgA、IgM、IgE、CH50）
リンパ球表面マーカー（CD3、CD4、CD8、CD19、CD20、CD56）
感染症関連検査（CRP、 β -D-グルカン、アスペルギルス抗原、カンジダ抗原）
骨髄検査、画像診断（胸腹部 CT）
末梢血好中球におけるgp91^{phox}の発現
末梢血好中球活性酸素産生能（DHR 検査、NBT 検査）
末梢血好中球の導入遺伝子gp91^{phox}の定量PCR、RCRの検索（env遺伝子のPCR）

<4年目の経過観察>

治療後 39 か月 (Day 1185 ± 14)

生命徴候を含む一般身体所見、有害事象
免疫学的検査（IgG）
感染症関連検査（CRP、 β -D-グルカン、アスペルギルス抗原、カンジダ抗原）
末梢血好中球におけるgp91^{phox}の発現
末梢血好中球活性酸素産生能（DHR 検査、NBT 検査）
末梢血好中球の導入遺伝子gp91^{phox}の定量PCR、RCRの検索（env遺伝子のPCR）

治療後 42 か月 (Day 1275 ± 14)

生命徴候を含む一般身体所見、有害事象
血液一般検査（白血球分画を含む）、尿検査、生化学検査、免疫学的検査（IgG）
感染症関連検査（CRP、 β -D-グルカン、アスペルギルス抗原、カンジダ抗原）
末梢血好中球におけるgp91^{phox}の発現
末梢血好中球活性酸素産生能（DHR 検査、NBT 検査）
末梢血好中球の導入遺伝子gp91^{phox}の定量PCR、RCRの検索（env遺伝子のPCR）

治療後 45 か月 (Day 1365 ± 14)

生命徴候を含む一般身体所見、有害事象
免疫学的検査（IgG）
感染症関連検査（CRP、 β -D-グルカン、アスペルギルス抗原、カンジダ抗原）
末梢血好中球におけるgp91^{phox}の発現

末梢血好中球活性酸素産生能 (DHR 検査、NBT 検査)

末梢血好中球の導入遺伝子gp91^{phox}の定量PCR、RCRの検索 (env遺伝子のPCR)

治療後 48 か月 (Day 1461 ± 14)

生命徴候を含む一般身体所見、有害事象

血液一般検査 (白血球分画を含む)、尿検査、生化学検査

免疫学検査 (IgG、IgA、IgM、IgE、CH50)

リンパ球表面マーカー (CD3、CD4、CD8、CD19、CD20、CD56)

感染症関連検査 (CRP、β-D-グルカン、アスペルギルス抗原、カンジダ抗原)

骨髄検査、画像診断 (胸腹部 CT)

末梢血好中球におけるgp91^{phox}の発現

末梢血好中球活性酸素産生能 (DHR 検査、NBT 検査)

末梢血好中球の導入遺伝子gp91^{phox}の定量PCR、RCRの検索 (env遺伝子のPCR)

<5年目の経過観察>

治療後 51 か月 (Day 1551 ± 14)

生命徴候を含む一般身体所見、有害事象

免疫学的検査 (IgG)

感染症関連検査 (CRP、β-D-グルカン、アスペルギルス抗原、カンジダ抗原)

末梢血好中球におけるgp91^{phox}の発現

末梢血好中球活性酸素産生能 (DHR 検査、NBT 検査)

末梢血好中球の導入遺伝子gp91^{phox}の定量PCR、RCRの検索 (env遺伝子のPCR)

治療後 54 か月 (Day 1641 ± 14)

生命徴候を含む一般身体所見、有害事象

血液一般検査 (白血球分画を含む)、尿検査、生化学検査、免疫学的検査 (IgG)

感染症関連検査 (CRP、β-D-グルカン、アスペルギルス抗原、カンジダ抗原)

末梢血好中球におけるgp91^{phox}の発現

末梢血好中球活性酸素産生能 (DHR 検査、NBT 検査)

末梢血好中球の導入遺伝子gp91^{phox}の定量PCR、RCRの検索 (env遺伝子のPCR)

治療後 57 か月 (Day 1731 ± 14)

生命徴候を含む一般身体所見、有害事象

免疫学的検査 (IgG)

感染症関連検査 (CRP、 β -D-グルカン、アスペルギルス抗原、カンジダ抗原)
末梢血好中球におけるgp91^{phox}の発現
末梢血好中球活性酸素産生能 (DHR 検査、NBT 検査)
末梢血好中球の導入遺伝子gp91^{phox}の定量PCR、RCRの検索 (*env*遺伝子のPCR)

治療後 60 か月 (Day 1826 \pm 14)

生命徴候を含む一般身体所見、有害事象
血液一般検査 (白血球分画を含む)、尿検査、生化学検査
免疫学検査 (IgG、IgA、IgM、IgE、CH50)
リンパ球表面マーカー (CD3、CD4、CD8、CD19、CD20、CD56)
感染症関連検査 (CRP、 β -D-グルカン、アスペルギルス抗原、カンジダ抗原)
骨髄検査、画像診断 (胸腹部 CT)
末梢血好中球におけるgp91^{phox}の発現
末梢血好中球活性酸素産生能 (DHR 検査、NBT 検査)
末梢血好中球の導入遺伝子gp91^{phox}の定量PCR、RCRの検索 (*env*遺伝子のPCR)

9-6-5 有害事象ならびにその対処方法

(1) 有害事象の定義

有害事象は、本研究との因果関係の有無に関係なく、研究開始から観察終了時 (5年後) あるいは、観察中止までの間に被験者に生じるあらゆる好ましくない医療上の症状、徴候や疾患などの出来事である。

程度の分類は、「医薬品等の副作用の重篤度分類基準」(平成 4 年 6 月 29 日、厚生省通知薬安第 80 号)(添付資料 9-6-5)を参考にし、かつ被験者の全身状態、原疾患 (CGD)、合併症の状況なども勘案して総合的に評価する。

また、以下のような場合、重篤な有害事象と評価する (「治験中に得られる安全情報の取扱いについて」平成 7 年 3 月 20 日厚生省通知薬審第 227 号)。

- ① 死に至るもの
- ② 生命を脅かすもの
- ③ 治療のため入院または入院期間の延長が必要となるもの
- ④ 永続的または顕著な障害・機能不全に陥るもの
- ⑤ 先天異常を来すもの
- ⑥ その他の状況でも、被験者が危機に瀕したり、①～⑤のような結果に至らぬよう

に処置を必要とする重大な事象

(2) 有害事象発生時の対応

患者に有害事象が発生した場合、総括責任者は、速やかにまず実施施設長に報告し、実施施設長は、「評価委員会」に報告する。報告する項目は、有害事象の内容（症状、発症日、程度、処置の有無、経過等）と遺伝子治療との因果関係の有無の可能性等とする。総括責任者をはじめとする研究者は、被験者に有害事象に対する医療が必要になった場合には、速やかに被験者または代諾者にその旨を伝える。同時に、適切な対応処置をとり、その原因究明に努める。

「評価委員会」は、有害事象の重篤性についての判断や有害事象と本遺伝子治療との因果関係を含むその原因究明について、迅速に審議を行う。また、適切な対応処置とその方法及び研究継続の可否を検討し、実施施設長に意見を述べる。実施施設長は、「評価委員会」の意見・回答を「審査委員会」に報告する。その報告に対し、「審査委員会」の承認が得られたら、有害事象の内容と原因、その後の対応状況について、実施施設長は、厚生労働大臣に対し、文書で報告を行う。

重篤な有害事象の場合は、本臨床研究の終了後であっても、発生時から 48 時間以内に、厚生労働大臣に報告を行う。

また、遺伝子治療の実施に影響を及ぼすおそれがある情報がある場合も、速やかに厚生同大臣に報告する。

遺伝子治療と因果関係が否定できない有害事象の場合は、研究中止になった場合または脱落した被験者に対しても、消失または軽快するまで、経過を追跡調査する。

(3) 予期される有害事象と対処法

① 骨髄血採取に伴う危険性

骨髄血採取は、全身麻酔下に行われるため、麻酔に伴う有害事象が起こる可能性がある。また、骨髄血採取に伴い、相当量の血液の喪失、血球の減少が予想されるが、十分量の輸液を行い、必要であれば輸血を行う。麻酔、骨髄血採取ともに手技は確立されているが、当センターの習熟した医師が十分注意を払い行う。

② ブスルファン投与に伴う危険性