

精製後、SDS-PAGE およびウェスタンブロットでタンパク質の量と質を確認したところ、図6で示したように、いずれのタンパク質も、回収率は悪いながらも比較的高純度で精製されていることが確認できた。

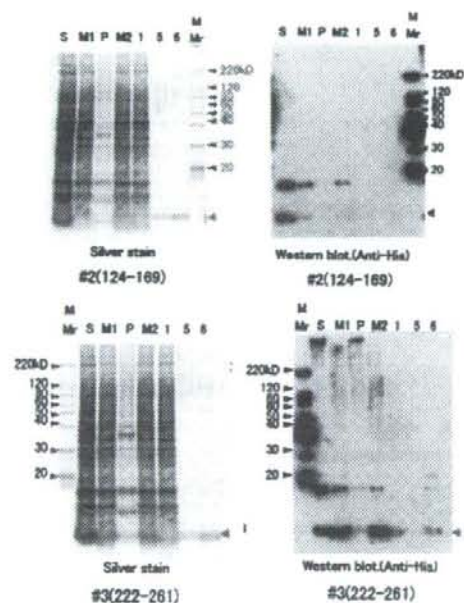


図6. 精製タンパク質の確認

#### D. 考察

CGD患者はgp91遺伝子欠損による好中球の機能が障害されているが、T、B、樹状細胞を含めた他の免疫細胞は機能している。そのため、免疫学の観点から、遺伝子治療を受けた患者の治療後の血液中遺伝子導入細胞や活性酸素産生細胞の乖離の原因について考える際、導入遺伝子により発現されたgp91蛋白質に対する特異的な抗体ができることを視野に入れなければならない、これがgp91蛋白質発現細胞の排除によるものだという可能性

は否定できない。現時点では、その抗体を検出する手段がないため、本研究でgp91蛋白質細胞外の3つのドメインを用い、それぞれピースと融合した抗原を作成して、FACSにてgp91蛋白質に対する特異的な抗体の簡便な検出方法の開発を試みている。

今回、精製を行った2つのリコンビナントタンパク質は、回収率は悪いものの、比較的高純度で精製できていることが確認できた。また、銀染色の結果より、最終溶出画分のタンパク濃度は数 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 程度と推定され、トータル量で、数十 $\mu\text{g}$ ～数百 $\mu\text{g}$ 程度あると考えられる。この量は、この後、予定している抗原の適正評価を行う際に必要な量を満たしていた。しかしながら、回収率の悪さや、不溶化の問題が残っているため、タグの種類や場所、タンパク質のサイズ、抗原設計場所、精製方法、タンパク質発現系などの検討が、さらに必要と思われる。

遺伝子導入細胞と活性酸素産生細胞の乖離が遺伝子幹細胞療法における重要な問題とされている。本研究はその問題に関わる抗gp91抗体を検出するため、遺伝子・タンパク質情報やバイオインフォマティクス技術を利用し、高精度かつ簡便なgp91抗体診断用キットの開発および抗体産生機序の解明を目的とする。その成果は、今後遺伝子治療を受けた患者のみならず、骨髄移植後患者の幹細胞の永久生着による根治治療法成績の向上、遺伝子医療の確立および発展に資するものである。

#### E. 結論

本研究で精製した2つのリコンビナントタンパク質（#2(124-169), #3(226-261)）を用いて、抗原として有効であるかを適正評価することにした。今回の精製には、カイコ蛹破碎後可溶化した溶液の1/7を用いた。今後、適正評価をする際、この精製産物が抗 gp91 抗体検出系の検討に利用できるものであれば、残り全部を精製し、研究に用いる予定である。また、回収率の悪さ、不溶化の問題等、具体的な解決策の検討も同時に行う予定である。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表：

1 Kitazawa Y, Fujino M, Sakai T, Azumu H, Kimura H, Isaka Y, Takahara S, Hunig T, Abe R, Li X-K. Foxp3-expressing regulatory T-cells expanded with CD28 superagonist antibody prevent rat cardiac allograft rejection. *J Heart Lung Transplant* 27(4):362-71;2008.)

2)Funeshima-Fuji N, Fujino M, Kimura H, Takahara S, Nakayama T, Ezaki T, Li X-K, Survival of skin allografts is prolonged in mice with a dominant-negative H-Ras. *Transpl Immunol* 18(4):302-6; 2008.

3)Azuma H, Isaka Y, Li X-K, Hunig T, Skamoto T, Takabatake Y, Mizui M, Kitazawa Y, Ichimaru N, Ibuki N,

Inamoto T, Katsuoka Y, Takahara S. Superagonistic CD28 antibody induces donor-specific tolerance in rat renal allografts. *Am J Transplant* 8(10):2004-14; 2008.

##### 2. 学会発表：

なし

#### H. 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

ライソゾーム病に対する肝細胞遺伝子治療の可能性について  
研究分担者 奥山 虎之 国立成育医療センター 臨床検査部部长

### 研究要旨

ライソゾーム病の遺伝子治療の可能性をモデル動物を用いて検証した。将来の遺伝子治療臨床研究に資するため、ムコ多糖症 VI 型モデルラットに正常ラット肝を移植しその効果を評価した。尿中ウロン酸排泄量の低下は確認できたが、全身骨 X 線検査上、骨病変に対する効果は確認できなかった。肝臓移植の効果は限定的であり、ライソゾーム病の肝細胞遺伝子治療の効果についても限定的であることが示唆された。

### A. 研究目的

本研究の目的は、ライソゾーム病の遺伝子治療の可能性をモデル動物を用いて検証し、将来の遺伝子治療臨床研究に資する基礎的な成績とすることである。昨年度は、ムコ多糖症 VI 型モデルラットに正常ラット肝を移植しその効果を尿中のムコ多糖（ウロン酸）排泄量の推移から検討した。本年度は、肝臓移植の効果をさらに検討する目的で、肝臓以外の臓器における治療効果を検討した。

### B. 研究方法

ムコ多糖症の病型のひとつであるムコ多糖症 VI 型ラットに対して、肝移植とその治療効果を検討する。

MPR ラットは、ラット *arsb* 遺伝子（アシルスルファターゼ  $\beta$ ）の一塩基挿入により発症するラットである。

生後 3 ヶ月のムコ多糖症 VI 型ラットに正常ラットの肝臓を移植した。肝移植後ラットの尿中ウロン酸を定量した。また、移植したラットの脾臓の組織所見を移植していない MPR ラットの脾臓組織と比較した。また、ラットの全身骨 X

線写真から、骨病変の治療効果を評価した。

### C. 研究成果

尿中ウロン酸の測定結果は図 1 で示したように、罹患 MPR ラット (Mut) では、正常ラット (wild) に比べ著しい高値を示していたが、肝移植治療後 4 ヶ月経過したラット (LTx) では、尿中に排泄されるウロン酸量が移植前および同週齢の罹患ラットと比べて、顕著に低下することが示された。

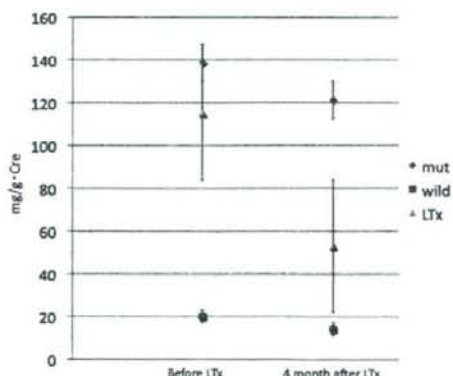


図 1. ラットの尿中ウロン酸の測定結果

治療後のラット組織 HE 染色の検討では、図 2 で示したように、罹患ラット（中）の脾臓で観察された脾臓細胞内の空胞が肝移植後 47 日目の時点で減少していることが示された（右）。

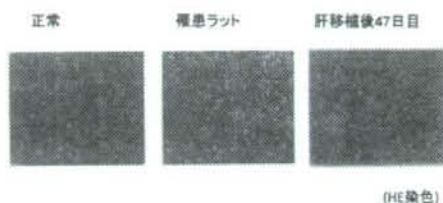


図 2 ラット脾臓 HE 染色所見（左から正常、罹患、肝移植後）

肝移植治療 4 ヶ月後のラットの全身骨 X 線像を示す(図 3)。治療後 4 ヶ月経過したラットにおいて、ムコ多糖症による骨格変化について、未治療ラットと肝移植ラットで明らかな相違は認められなかった。



図 3 ラット X 線写真（左から正常、罹患、肝移植後）

#### D. 考察

今回の研究で、肝臓移植がライソゾーム病の治療に有効であるが、骨髄移植や酵素補充療法と同様に骨病変に対する効果が乏しいことが明らかとなった。し

かし、骨髄移植には移植関連死亡の危険性があること、酵素補充療法には、継続投与の必要があり医療費が高いことなどの問題がある。肝臓移植にはドナー確保の困難さがあるので、技術的な問題がクリアされるなら肝細胞遺伝子治療は有効な治療手段となる可能性がある。

#### E. 結論

ムコ多糖症モデルラットを用いて肝臓移植による治療効果を検討し、限定的ではあるが有効性が示された。この結果は、ライソゾーム病の治療手段として、肝細胞遺伝子治療が有効である可能性を示唆している。

#### F. 健康危険情報

なし。

#### G. 研究発表

Hayashi S, Mizuno S, Migita O, Okuyama T, Makita Y, Hata A, Imoto I, Inazawa J. The CASK gene harbored in a deletion detected by array-CGH as a potential candidate for a gene causative of X-linked dominant mental retardation. *Am J Med Genet A*. 2008 15; 146A (16):2145-51.

Sugawara K, Saito S, Ohno K, Okuyama T, Sakuraba H. Structural study on mutant alpha-L-iduronidases: insight into mucopolysaccharidosis type I. *J Hum Genet*. 2008; 53: 467-74.

#### H. 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

国立成育医療センターにおける CGD 患者の現況

研究分担者 小林信一 国立成育医療センター膠原病・感染症科医長

**研究要旨**

1988 年から 2008 年までの 21 年間に当院では CGD 患者 34 名の経過観察をおこなってきた。内訳は生存 22 名 (64.7%)、死亡 7 名 (20.6%)、骨髄移植 5 名 (14.7%)。病型では gp91 欠損型 29 名 (85.3%)、p22 欠損型 2 名 (5.9%)、p47 欠損型 1 名 (2.9%)、p67 欠損型 2 名 (5.9%) であった。

出生後からの詳細な診療記録が得られた 23 名について検討した。重症感染症（入院して抗生剤点滴が必要とする感染症）は 203 回、平均入院回数は 8.2 回/人、1 回重症感染症/2 年、4.2 回重症感染症/100 患者・月であった。呼吸器感染症は 23 人中 20 人で発症した。病原が特定できた重症感染症 47 回中 12 回 (45%) では糸状菌が検出された。gp91 型のキャリアーは 19 例あり、重症感染症は 203 回の重症感染症のうち 47 回 (23%) は糸状菌が検出された。生存 20 名の身長は  $-0.8 \pm 1.3SD$ 、体重は  $-1.9 \pm 1.9SD$  であった。低身長、低体重 (10 パーセントタイル以下) はそれぞれ 22%、17% でみられた。移植例は全例生存しており、通常的生活をおくっている。

移植例を除く 29 例の Kaplan-Meier 法による 20 年生存率は 75.9% であった。これまでの 20 年生存率は 60% とされており、改善がみられている。しかし、Liese らによる独 39 例の CGD 患者の 20 年生存率は 86% と報告されており、当科の生存率はやや落ちる。

**A. 研究目的**

CGD は好中球の殺菌能が障害される先天性免疫異常症で、先天性免疫不全症では最多の疾患である。乳児期より細菌、真菌感染を反復し、長期の入院を余儀なくされる。生命的予後は新しい抗生剤、抗真菌剤が使用可能となったことより以前と比べ、改善しているが、前述のような長期の入院、感染症による臓器障害などにより、通常的生活を送ることは困難と思われる。本研究では当科で長期間経過観察を行っている CGD 患者の予後、感染症罹患状況、移植、生活の内容などを分析し CGD 患者の現況を明らかにしたい。

**B. 研究方法**

国立成育医療センターに定期的に受診している CGD 患者の診察記録、入院記録、前医の記録を検討する。

**C. 研究結果**

出生後からの詳細な診療記録が得られた 23 名について検討した。  
重症感染症（入院して抗生剤点滴が必要とする感染症）は 203 回、平均入院回数は 8.2 回/人、

1 回重症感染症/2 年、4.2 回重症感染症/100 患者・月であった。呼吸器感染症は 23 人中 20 人で発症した。病原が特定できた重症感染症 47 回中 12 回 (45%) では糸状菌が検出された。gp91 型のキャリアーは 19 例あり、重症感染症は 203 回の重症感染症のうち 47 回 (23%) は糸状菌が検出された。

Table 1 Localization and frequency of 203 sites of 174 severe infections in 23 Japanese patients with CGD followed by our hospital

|   | Total No. (%) | Age distribution |           |           |          |           |
|---|---------------|------------------|-----------|-----------|----------|-----------|
|   |               | <1 year          | 1-7       | 7-12      | 13-18    | >=19      |
| Lung infections<br>(pneumonia, bronchitis, pleurisy)                                | 31 (26.8)     | 5 (26.4)         | 21 (53.8) | 25 (57.3) | 10 (4.7) | 20 (27.7) |
| Abscess<br>(liver, subcutaneous, perianal, brain)                                   | 21 (15.3)     | 2 (17.8)         | 12 (58.3) | 1 (2.1)   | 5 (25.0) | 8 (17.0)  |
| Lymphadenitis   | 31 (15.3)     | 2 (11.8)         | 15 (25.9) | 5 (12.8)  | 7 (12.5) | 4 (7.5)   |
| Osteomyelitis   | 14 (5.8)      | 0 (0)            | 5 (8.1)   | 7 (8.4)   | 2 (8.2)  | 4 (7.5)   |
| Central nervous tract infections  | 11 (5.4)      | 1 (5.5)          | 1 (3.3)   | 2 (4.3)   | 0 (0)    | 7 (13.2)  |
| Upper respiratory tract infections<br>(otitis, sinusitis, tonsillitis, pharyngitis) | 11 (5.4)      | 0 (0)            | 2 (3.2)   | 5 (10.9)  | 1 (4.2)  | 3 (5.7)   |
| Calculi and abscesses   | 5 (2.5)       | 2 (11.8)         | 0 (0)     | 1 (2.1)   | 0 (0)    | 2 (3.8)   |
| Urinary tract infections  | 5 (2.5)       | 2 (11.8)         | 1 (3.3)   | 1 (2.1)   | 0 (0)    | 1 (1.8)   |
| Septicemia  | 3 (1.5)       | 1 (5.5)          | 1 (3.3)   | 0 (0)     | 0 (0)    | 1 (1.8)   |
| Myositis  | 2 (1.0)       | 0 (0)            | 1 (3.3)   | 0 (0)     | 1 (4.2)  | 0 (0)     |
| Pericarditis  | 1 (0.5)       | 0 (0)            | 0 (0)     | 0 (0)     | 1 (4.2)  | 0 (0)     |
| Others  | 9 (3.8)       | 1 (5.5)          | 2 (3.2)   | 3 (6.4)   | 0 (0)    | 2 (3.8)   |
| Total   | 203 (100)     | 17 (100)         | 62 (100)  | 47 (100)  | 24 (100) | 53 (100)  |

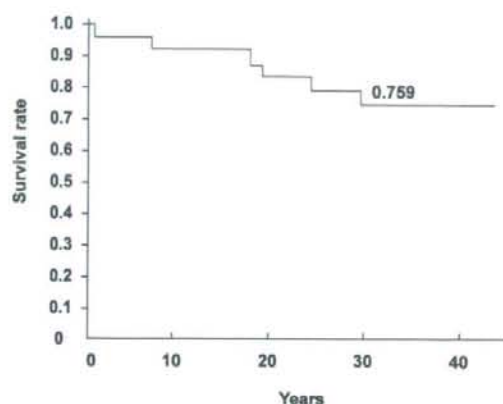
gp91型のキャリアーは19例で、このうち3例(5回)では重症感染症を発症した。

IFN- $\gamma$ は14患者に使用された。治療前後の入院回数、入院日数で効果を検討した。5年間のフォローされた7人では治療前の入院回数、入院日数は24回、2134日から治療後は11日、1521日と減少していた。主な副作用は倦怠感(41%)、熱(32%)、食欲低下と頭痛(11%)であった。

生存20名の身長は $-0.8 \pm 1.3SD$ 、体重は $-1.9 \pm 1.9SD$ であった。低身長、低体重(10パーセントタイル以下)はそれぞれ22%、17%でみられた。1から6歳以下では身長、体重は $-1.9 \pm 0.4SD$ 、 $-0.3SD \pm 1.3SD$ 、7歳から17歳以下では $-0.2SD \pm 1.1SD$ 、 $-0.6 \pm 0.2SD$ 、18歳以上では $-1.1 \pm 1.5SD$ 、 $-1.9 \pm 1.5SD$ であった。重症感染症の罹患頻度の多少で身長体重を検討した。1重症感染症/2年以上では $-1.0 \pm 1.2SD$ 、 $-0.8 \pm 0.8SD$ 、以下では $-0.9 \pm 1.1SD$ 、 $-1.2 \pm 1.0SD$ であった。

CGD腸炎は6人で7回発症した。症状は下痢(100%)、熱(80%)、腹痛(60%)がみられた。移植例を除く29例のKaplan-Meier法による20年生存率は75.9%であった。これまでの20年生存率は60%とされており、改善がみられている。しかし、Lieseらによる独39例のCGD患者の20年生存率は86%と報告されており、当院の生存率はやや落ちる。移植例と死亡例を除いた現生存患者22名の現況は、Karnofsky Index (%)でみると20歳以下9名では平均96.7%、20歳以上13名では平均87.7%と成人例

では低下していた。20歳以上の13名は学生1名、常勤4名、結婚しているのは2名、このうち1名はp22欠損型のvariantで軽症型であった。



#### D. 考察

CGDの発生頻度は、米国における1980-1989のannual incidenceは1/255,000 livebirthsとWinkelsteinらは報告している。日本においては、1974年から2004年までの厚生省免疫不全症調査研究班のまとめでは、男性213人、女性28人計241人が登録された。また1999年にHasuiらはCGDの年平均の発生頻度は1/287,709 live birthsと報告した。病型ではgp-91phoxが(74.7%)、p-22phoxが(10.7%)、p47-phoxが(7.0%)、p67-phoxが(7.6%)を占めた。前述の米国の頻度はgp-91phox70%、p-22phoxが1.9%、p47-phoxが12.0%、p67-phoxが2.7%、不明が5.2%であり、日本ではp-22phoxとp67-phoxが多く、p47-phoxが少なかった。当センターではgp91が78%と多くみられた。これはおそらく兄弟が3組、6人いたためと思われる。p22も13%と多かったが、その他の病型はいずれも低頻度であった。

当センターでフォローしている患者のsurvival rateはthird decadeで87%とこれまでの報告よりかなり長くなった。この理由としては、①早期のST合剤や抗真菌剤の予防投与、②定期的血液検査、画像検査による早期診断と治療、③早期入院治療を可能とする日本の医療制度などがあげられる。JLらの39人のCGD患者の報告によれば、1人平均入院回数は4.3回に対し成育では7.6回、重症感染は3.6年に1回に対し、成育では2.0年、

severe infection per 100 patients months は 3.7 に対し成育では 4.2 と入院回数、重症感染症が多かった。これは感染の予防が成育では不十分であることと示唆しているとともに、入院治療に関する制度の違いを反映していると思われる。

重症感染症は肺炎が最も多く約 40% をしめた。これは従来の報告よりやや高い。感染症の原因微生物は 23% で明らかになり、このうちアスペルギルスが 45% と最多であった。これは抗真菌剤の予防投与薬は移植した 4 例、死亡した 3 例、現在治療中の 2 例を除いた 14 例中、p22variant1 例、p471 例以外は全てアスペルギルスに有効な ICTZ, AMPB, MCFG が投与されているが、数年前まではアスペルギルスに無効な FLCZ が 2/3 の症例で投与されていたためと思われる。死亡例 3 例中 2 例でアスペルギルスが原因であったが、これらの 2 例とも 12, 13 年前にそれぞれ死亡した症例であり、抗真菌剤の予防はされていなかった。

移植例を除く 29 例の Kaplan-Meier 法による 20 年生存率は 75.9% であった。これまでの 20 年生存率は 60% とされており、改善がみられている。しかし、Liese らによる独 39 例の CGD 患者の 20 年生存率は 86% と報告されており、当科の生存率はやや落ちる。移植例と死亡例を除いた現生存患者 22 名の現況は、Karnofsky Index (%) でみると 20 歳以下 9 名では平均 96.7%、20 歳以上 13 名では平均 87.7% と成人例では低下していた。20 歳以上の 13 名は学生 1 名、常勤 4 名、結婚 2 名であった。生命的予後は改善しているが、健常人と同様の生活を送ることはかなり困難であることが明らかになった。

#### E. 結論

CGD の生命的予後は以前と比べ改善しているが、通常の生活を送ることは非常に困難である。現時点で唯一の根治療法は骨髄移植であるが、HLA 一致ドナーがえられない、薬剤や感染症の反復による臓器障害などで移植に伴う処置が困難などの理由で不可能な症例も多い。このような移植不可能の CGD 患者に対しては、遺伝子治療が今後の治療の選択肢になりうると考えられる。

#### F. 健康危険情報

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

Kobayashi S, et al. Clinical features and prognosis of 23 patients with chronic granulomatous disease (CGD) followed by a single hospital in Japan for 21 years. Eur J Pediatr. 167 1389-94, 2008.

##### 2. 学会発表

小林信一他：国立成育医療センターにおける CGD 患者の死亡例の検討. 第 16 回食細胞機能異常症研究会. 08.12.19

#### H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)

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

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**

当該研究班では、平成19年度から「小児難治性先天異常症に対する幹細胞遺伝子細胞治療法の開発と臨床応用」研究班において、X連鎖慢性肉芽腫症（X-CGD）の遺伝子治療臨床研究を実施するための基礎的な検討を進めてきた。本年度は、具体的な研究計画、インフォームド・コンセントのための説明文書等の作成が進められてきた。

そこで、本分担研究では、研究計画書およびインフォームド・コンセントのための説明文書を倫理的な視座から検討するとともに、被験者保護の体制等についても検討を行った。結論としては、国立成育医療センターにおいて遺伝子治療臨床研究を実施するための基本的な体制が整備されていることが確認された。今後求められる倫理的配慮としては、被験者が未成年者である場合のアセント用説明文書の作成等が挙げられる。

**研究協力者**

小野寺雅史（国立成育医療センター研究所 成育  
遺伝研究部 遺伝子診断治療研究室  
長）

丸山 英二（神戸大学法科大学院 教授）

河原 直人（早稲田大学先端科学・健康医療融合  
研究機構 生命医療工学インスティ  
テュート 准教授）

**A. 研究目的**

当該研究班では、平成19年度から「小児難治性先天異常症に対する幹細胞遺伝子細胞治療法の開発と臨床応用」研究班において、X連鎖慢性肉芽腫症（X-CGD）の遺伝子治療臨床研究を実施するための基礎的な調査・検討を進めてきた。本年度は、これらの知見を基に、具体的な研究計画およびインフォームド・コンセントのための説明文書等の作成が進められてきた。

そこで、本分担研究では、当該研究班により検討・準備が進められてきたX-CGDに対する遺伝子治療臨床研究の研究計画書およびインフォームド・

コンセントのための説明文書について、倫理的な観点から検討を行うことを目的とした。

**B. 研究方法**

本分担研究では、1. 研究計画に関する倫理的検討、2. インフォームド・コンセントに関する倫理的検討、3. 被験者保護体制に関する倫理的検討、の3点について、本邦文部科学省・厚生労働省によって平成14年3月27日策定され、平成16年12月28日に全部改正された「遺伝子治療臨床研究に関する指針」（以下「指針」と呼ぶ。）を参照しながら詳細を検討する。

（倫理面への配慮）

本分担研究では、人ならびに人由来資料等を用いることのない研究であることから、倫理的問題はないと考える。

**C. 研究結果**

研究の結果は以下の通りである。

1. 研究計画に関する倫理的検討



## 1-1. 当該治療研究のリスクとベネフィットの比較 衡量

### 指針 第一章 総則 第四 有効性及び安全性

遺伝子治療臨床研究は、有効かつ安全なものであることが十分科学的知見に基づき予測されるものに限る。

当該遺伝子治療臨床研究の有効性及び安全性については、同様の先行研究の現在までの知見に基づき検討を進めている。具体的には、2003年ドイツ Grez 博士らが行った遺伝子治療臨床研究において前処置の有効性が明らかになっている。また、同一レトロウイルスベクターを用いたスイスで行われた遺伝子治療臨床研究では、肉芽腫に起因する脊椎圧迫による麻痺を有する患者が歩行可能となるまでに回復したとの治療の有効性に関する報告も届いている。さらに2006年から米国 Malech 博士らのグループが、同一レトロウイルスベクターを用い、かつブスルファンによる前処置を伴う遺伝子治療臨床研究を開始し、一定の治療効果を確認しているという。(第13回米国遺伝子治療学会にて報告) また、前処置に使用するブスルファンの投与量と被験者に対するリスクについては、一般的な同種造血幹細胞移植と異なり少量であることから、医学的には代替療法とも位置づけられる同種造血幹細胞移植におけるリスクに比較するとそのリスクは小さいものと考えられ、さらに既に同種造血幹細胞移植の症例経験を多く有する当センターの専門医が慎重に対応することによりそのリスクは対応できるものと考えられる。その他、ヒト造血幹細胞の採取法やベクターへの遺伝子導入法、細胞の調整法等における無菌性等の品質安全性については、既に検討が済んでいる。

これらの知見により、当該研究にて用いるレトロウイルスベクターの長期的リスクは不明ではあるが、短期的なリスクは必ずしも大きくなく、かつブスルファンによる前処置との組み合わせによりその治療有効性が期待されると言える。したがって、本邦 指針 第一章 総則 第四 有効性及び安全性の要件は満たしていると考えられる。

## 1-2. 対象者選定の公正性・妥当性の検討

### 指針 第二章 被験者の人権保護 第一 被験者の選定

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、慎重に検討しなければならない。

当該研究計画においては、被験者の選定基準ならびに除外基準は以下の通りと定めている。

#### 9-2-1. 被験者の選定基準

1. 遺伝子学的検査により gp91<sup>phox</sup> に異常のある X-CGD と診断された男性
2. 3歳以上、体重10kg以上
3. 最低3か月以上の生存が可能と推測される症例
4. 患者もしくはその法定代理人(家族、配偶者、親権者等)からの本遺伝子治療臨床研究に対する文書による同意が得られている症例
5. ドナー不在あるいは全身状態不良等なんらかの理由にて移植医療の適応とならない症例
6. 治療に抵抗性を示し、治療を行っても症状の悪化が危惧される症例
7. 以下に示す心肺肝腎機能を有する症例
  - ・ performance status (PS) 0-2
  - ・ 左室駆出率  $\geq 50\%$
  - ・ 安静時の動脈酸素飽和度 (SpO<sub>2</sub>)  $\geq 95\%$
  - ・ AST, ALT  $\geq 100\text{IU/L}$
  - ・ 体表面積 (1.73m<sup>2</sup>) 補正クレアチニン・クリアランス (Ccr)  $\geq 70\text{ml/min}$
  - ・ 随時または食後2時間後の血糖値  $\geq 200\text{mg/dl}$ , HbA1c  $\geq 9\%$
8. 治療期間中及び治療終了後5年間の避妊に同意した症例

#### 9-2-2. 被験者の除外基準

1. X-CGD 以外の症例あるいは女性例
2. 文書による同意が得られない症例
3. HIV 陽性例
4. 悪性腫瘍併発例
5. ウィルス性脳炎等の活動性病変がある症例
6. 重篤な精神障害を有する症例

7. 重篤な合併症を有する症例(心疾患、肺疾患等)
8. 既往歴により重篤なアレルギー反応を起こす可能性のある症例
9. これまでにマウス血清を含む薬剤を受けた既往のある症例
10. その他、総括責任者が不適当と認めた症例

上記、被験者の選定基準をまず「病状」の観点から検討する。CGDは重篤な細菌・真菌感染症を反復罹患し、青年期までにその多くの患者が死亡する予後不良な疾患である。特に当該研究計画で対象としているgp91<sup>phox</sup>欠損型のX-CGD患者の場合、重症感染症を反復しやすいため、早期のうちに根治療法を実施することが望ましいとされている。治療効果の増強した抗生物質や抗真菌剤が開発され、重症感染症に対しても一定の治療効果を上げつつあるが、未だ完全に感染症を鎮静化するには至っておらず、またIFN- $\gamma$ や顆粒球輸血も限定的な治療効果しかもたらしていないことから、現時点において対象疾患について確立された根治療法は同種造血幹細胞移植のみである。したがって、同種造血幹細胞移植の適応があり、かつ適切なドナーが確保できた症例は、当該研究計画の対象から外すこと、すなわち当該研究計画が対象とする症例は、同種造血幹細胞移植の適応がなく、治療抵抗性が認められ他に有効な治療法のない症例に限定されていることは合理性があると考えられる。

次に「年齢」ならびに「同意能力」の観点から検討する。当該選定基準では、未成年者を含む3歳以上の症例としているが、これは幼少期に上記の状況に置かれる患者が存在することは当該疾患の特性に鑑みて容易に推測できること、他に有効な治療法が存在せずかつ当該治療研究においてリスクを上回る治療効果が期待できる可能性があることから、未成年であり本人からの自発的な同意が得られないことを理由に、本人が同意能力を有していたならば享受できたであろう利益(ここでは一定の治療効果)を受けられないとすることは倫理的にも妥当ではないと考えられる。これは、**指針 第二章 被験者の人権保護 第二 被験者の同意 二「同意能力を**

**欠く等被験者本人の同意を得ることが困難であるが、遺伝子治療臨床研究を実施することが被験者にとって有用であることが十分に予測される場合には、審査委員会の審査を受けた上で、当該被験者の法定代理人等被験者の意思及び利益を代弁できると考えられる者(以下「代諾者」という。)の文書による同意を得るものとする。**この場合においては、当該同意に関する記録及び同意者と当該被験者の関係を示す記録を残さなければならない。」の下線部(下線は筆者による)にも合致する。したがって、当該臨床研究においては、「同意能力」が十分ではない未成年者を対象に含み、親権者等からの代諾(代行判断)において研究へ参加することを認めることについて、許容できると考える。

さらに、前述「…審査委員会の審査を受けた上で…」については、国立成育医療センター遺伝子治療臨床研究審査委員会による審査により、研究計画における被験者選定の公正性ならびに妥当性について検討されることによりみたまされることとなる。また、実際に対象者を選定する際には国立成育医療センター遺伝子治療臨床研究適応評価委員会において専門委員らにより対象者選定の公正性ならびに妥当性について具体的に確認される手続きとなっている。これらのことから、本邦 **指針 第二章 被験者の人権保護 第一 被験者の選定、及び第二 被験者の同意** の要件は満たしていると考えられる。なお、各委員会の適切性については、後述する。

## 2. インフォームド・コンセントに関する倫理的検討

### 第二章 被験者の人権保護 第三 被験者に対する説明事項

総括責任者等は、第二の同意を得るに当たり次のすべての事項を被験者(第二の二に該当する場合にあっては、代諾者)に対し十分な理解が得られるよう可能な限り平易な用語を用いて説明しなければならない。

- 一 遺伝子治療臨床研究の目的、意義及び方法
- 二 遺伝子治療臨床研究を実施する機関名
- 三 遺伝子治療臨床研究により予期される効果及

## び危険

四 他の治療法の有無、内容並びに当該治療法により予期される効果及び危険

五 被験者が遺伝子治療臨床研究の実施に同意しない場合であっても何ら不利益を受けることはないこと。

六 被験者が遺伝子治療臨床研究の実施に同意した場合であっても随時これを撤回できること。

七 個人情報所語に関し必要な事項

八 その他被験者の人権の保護に関し必要な事項

当該研究計画においては、被験者に対して、できるだけ分かり易く当該臨床研究計画を説明できるよう、『慢性肉芽腫症に対する遺伝子治療臨床研究』参加のしおり』および「遺伝子治療臨床研究のチェックリスト」を作成している。なお、『慢性肉芽腫症に対する遺伝子治療臨床研究』参加のしおり』の構成については、以下の通りである。

### <内容目次>

#### I. はじめに

#### II. 臨床研究とは

#### III. 慢性肉芽腫症 (CGD) について

##### 1. 病気の特徴

- 1) 病気の原因
- 2) 原因遺伝子

##### 2. 現在の治療法

- 1) 薬物療法など
- 2) 造血幹細胞移植

##### 3. 遺伝子治療

- 1) どの細胞に遺伝子を入れるのか
- 2) どのように遺伝子を入れるのか
- 3) どのように投与するのか

#### IV. 今回の遺伝子治療臨床研究について

##### 1. 目的

##### 2. 参加基準

##### 3. 参加に関する注意

- 1) 16歳以上20歳未満の場合
- 2) 16歳未満の場合
- 3) 参加が許可されないとき

#### 4. 臨床研究の流れ

- 1) 登録時検査
- 2) G-CSF 投与と危険性
- 3) プスルファン投与と危険性
- 4) 遺伝子導入細胞投与と危険性
- 5) 退院後の短期的観察
- 6) 退院後の長期的観察

#### 5. 重大な危険性について

- 1) 投与細胞が生着しない危険性
- 2) レトロウィルスベクターの危険性
- 3) 免疫能が回復しない危険性
- 4) 子どもを持つ際の問題点

#### 6. 治療効果に関して

#### 7. 費用に関して

#### 8. 副作用発生時に関して

#### 9. 個人情報に関して

#### 10. おねがい

- 1) 住所や連絡先が変わった時のおねがい
- 2) この臨床研究から離れる際のおねがい
- 3) 保存サンプルに関するおねがい

#### V. おわりに

#### VI. Q&A

#### VII. 用語集

#### VIII. 参考になる資料

#### IX. 緊急連絡先

上記の内容から構成される「『慢性肉芽腫症に対する遺伝子治療臨床研究』参加のしおり」には、指針 第二章 被験者の人権保護 第三 被験者に対する説明事項 の内容は網羅されていることから、当該要件は満たしていると考えます。

ただし、被験者が未成年者の場合、特に16歳未満の者を対象とする場合にもわかりやすく説明し、被験者本人からの了解(アセント)を得ることとしていることから、子ども用のしおりの作成についても今後取り組む必要があると考えます。

#### 3. 被験者保護体制に関する倫理的検討

被験者保護の体制整備においてもっとも重要なものは、独立した研究審査体制を有し、当該審査委

員会により公正な審査がなされ、かつ実施されている研究計画については研究計画を遵守し適切に実施されているかを確認することであろう。これらについては、指針 第三章 研究及び審査の体制 において示されている。国立成育医療センターでは「遺伝子治療臨床研究審査委員会」が設置され、この任にあたっている。

その要件とは、第三章 研究及び審査の体制 第五 審査委員会 に示されている。特に、委員会の構成要件としては、二「審査委員会は、次のすべての要件を満たさなければならない。1 審査委員会は、遺伝子治療臨床研究の実施に関する医療上の有用性及び倫理性を総合的に審査できるよう分子生物学、細胞生物学、遺伝学、臨床薬理学、病理学等の専門家、遺伝子治療臨床研究の対象となる疾患に係る臨床医、法律に関する専門家及び生命倫理に関する意見を述べるにふさわしい識見を有する者を含めて構成されるものであること。2 審査委員会は、男性委員及び女性委員双方から構成され、複数の外部委員を服務ものとする。3 審査委員会における審査が公正に行われるよう審査委員会の活動の自由及び独立が保障されていること。なお、実施計画書を提出している研究者は、審査委員会の求めに応じてその会議に出席し、説明する場合を除き、当該遺伝子治療臨床研究に関する審査に参加できないものであること。4 審査委員会の構成、組織及び運営並びに公開その他遺伝子治療臨床研究の審査に必要な手続に関する規則が定められ、公開されているものであること。5 審査委員会による審査の過程は、記録を作成してこれを保管し、個人の情報、研究の独創性及び知的財産権の保護に支障を生じるおそれのある事項を除き公開すること。」と定められている。当センターの遺伝子治療臨床研究審査委員会は資料 1 のような構成となっており、また規則については平成 17 年 11 月 1 日に「国立成育医療センター遺伝子治療臨床研究審査委員会規程」（資料 2）を定めることにより、本邦指針を遵守する体制整備が整っていると考えられる。

さらに、被験者保護及び科学性の担保を目的として、「遺伝子治療臨床研究適応判定委員会」及び「遺

伝子治療臨床研究評価委員会」を設置しており、被験者選択の公正性や適切性等について研究審査委員会以外の手続きによっても十分に検討する体制となっている。

#### D. 考察と結論

ここまで、当該研究班において作成された「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」研究計画書（遺伝子治療臨床研究実施計画書）およびインフォームド・コンセントのための説明文書（『慢性肉芽腫症に対する遺伝子治療臨床研究』参加のしおり）について、倫理的視座から検討を行ってきた。結論としては、国立成育医療センターにおいて国の定める指針を遵守して遺伝子治療臨床研究を実施するための基本的な体制が整備されていることが確認された。

今後さらに求められる倫理的配慮としては、被験者が未成年者である場合のアセント用説明文書の作成等が挙げられるであろう。また、インフォームド・コンセントのための説明文書（『慢性肉芽腫症に対する遺伝子治療臨床研究』参加のしおり）は、その内容が正確かつ丁寧である反面、分量としては非常に多く、体調の優れない患者被験者が通読するには負担が大きいことも考えられる。したがって、イラストによる図解を中心とした説明文書のサマリー（概要）のようなものを作成する等して、被験者の正確な理解と負担の軽減の両立を検討していくことも大切であると考えられる。

資料 1. 国立成育医療センター遺伝子治療臨床研究審査委員会 委員名簿

(50音順敬称略)

| 氏 名    | 所 属 施 設                  | 職 名  | 領 域               |
|--------|--------------------------|------|-------------------|
| 阿部 隆徳  | 阿部隆徳国際法律特許事務所            | 所長   | 法律                |
| 折居 忠夫  | 岐阜大学医学部                  | 名誉教授 | 対象疾患臨床医           |
| 小安 重夫  | 慶応義塾大学医学部                | 教授   | 細胞生物学             |
| 近藤 博子  | がんの子どもを守る会               | 理事   | 一般<br>(ソーシャルワーカー) |
| 斎藤 加代子 | 東京女子医科大学遺伝子医療センター        | 教授   | 遺伝学               |
| 齋藤 有紀子 | 北里大学医学部                  | 助教授  | 生命倫理              |
| 島田 隆   | 日本医科大学                   | 教授   | 分子生物学             |
| 田上 昭人  | 国立成育医療センター研究所薬剤治療研究部     | 部長   | 臨床薬理学             |
| 辻 省次   | 東京大学大学院医学系研究科            | 教授   | 分子生物学             |
| 堀川 玲子  | 国立成育医療センター第一専門診療部部内分泌代謝科 | 医長   | 対象疾患臨床医           |
| 矢田 純一  | 東京医科歯科大学                 | 名誉教授 | 細胞生物学             |

## 遺伝子治療臨床研究審査委員会規程

制定 平成17年11月1日

国立成育医療センター

## 目次

|              | 頁 |
|--------------|---|
| 第1条 目的       | 3 |
| 第2条 責務       | 3 |
| 第3条 構成       | 3 |
| 第4条 委員長      | 4 |
| 第5条 運営       | 4 |
| 第6条 審査及び決議方法 | 4 |
| 第7条 審査手続き等   | 5 |
| 第8条 研究完了後の報告 | 5 |
| 第9条 庶務       | 5 |
| 第10条 細則      | 5 |
| 第11条 改定      | 5 |
| 第12条 準用      | 5 |
| 附則           | 6 |

## 国立成育医療センター遺伝子治療臨床研究審査委員会規程

### (目的)

第1条 本規程は、国立成育医療センター（以下、「センター」という。）において行なわれる遺伝子治療臨床研究が、生命倫理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」（平成14年3月27日文科科学省・厚生労働省告示、平成16年12月28日全部改正）（以下、「指針」という。）に基づき適正に行なわれるよう、遺伝子治療臨床研究審査委員会（以下、「委員会」という。）の組織及び運営に関して必要な事項を定めることを目的とする。

### (責務)

第2条 委員会は、センターに所属する者（以下、「研究者」という。）が、遺伝子治療臨床研究を実施する場合、倫理指針に基づき、その実施の適否等について、科学的観点とともに倫理的観点も含めて審査し、センター総長（以下、「総長」という。）に対して文書により意見を述べなければならない。なお、審査に当たっては、次に掲げる要件に留意する。

- (1) 遺伝子治療臨床研究の実施計画を記載した書類（以下、「実施計画書」という。）等に基づき、当該遺伝子治療臨床研究の適否及び留意点、改善点等について意見を述べる。
- (2) 遺伝子治療臨床研究の実施に関する重大な変更について、その実施の適否及び留意点、改善点等について意見を述べる。
- 2 委員会は、遺伝子治療臨床研究が計画通りに行なわれているかを確認するために、必要に応じてその状況の調査を行ない、適正な研究実施を求めることができる。
- 3 委員会は、総長に対して、既に承認された遺伝子治療臨床研究が実施中であっても、その計画の変更、中止その他必要と認める意見を述べることができる。
- 4 委員会の委員は、職務上知り得た情報を正当な理由なく漏らしてはならない。その職を辞した後も、同様である。

### (構成)

第3条 委員会は、次の各号に掲げる委員をもって構成する。

- (1) 分子生物学、細胞生物学、遺伝学、臨床薬理学、病理学等を専門とする者5名以上
  - (2) 遺伝子治療臨床研究の対象となる疾患に係る臨床医1名以上
  - (3) 法律を専門とする者1名以上
  - (4) 生命倫理に関する意見を述べるにふさわしい識見を有する者1名以上
- 2 委員は8名以上とし、総長が委嘱する。
- 3 委員のうち、外部委員は半数以上とする。



- 4 委員のうち、男性及び女性をそれぞれ2名以上とする。
- 5 委員の任期は2年とする。但し、再任を妨げない。
- 6 委員は任期途中であっても、理由を述べて辞任することができる。
- 7 委員に欠員が生じた場合の後任の委員の任期は、前任者の残任期間とする。

(委員長)

第4条 委員会には委員長及び副委員長を置き、第3条1項の委員のうちから、委員会委員の互選によって定める。

- 2 副委員長は、委員長を補佐し、委員長が職務を遂行できない場合は、その職務を代行する。

(運営)

第5条 委員会は、委員長がこれを招集する。

- 2 委員会の議長は委員長とする。
- 3 委員会は、委員の3分の2以上の出席で成立する。
- 4 委員会は、本委員会の審査及び決議事項等を記した議事録を作成し、審査の際に用いた関連資料等とともに、研究の完了後5年間保管する。議事録及び関連資料等は、原則としてその概要を公開する。但し、公開することにより被験者及びその家族の人権、研究に係る獨創性、特許権などの知的財産権の保護に支障が生じる恐れがある部分については、非公開とすることができる。
- 5 委員会は、遺伝子治療臨床研究が計画に基づいて適切に行なわれていることを確認するため、必要に応じて研究状況の調査を行ない、審査事項等の周知徹底を図るものとする。

(審査及び決議方法)

第6条 審査における判定は、出席委員の合意を原則とする。

- 2 総長、審査対象となる研究の責任者（以下、「総括責任者」という。）及び当該研究に関係する者は、その審議又は採決に参加してはならない。但し、委員会の求めに応じて、会議に出席し、当該研究に関して説明することができる。
- 3 委員会は、総括責任者に対し、審査のために必要な説明及び資料の追加提出を求めることができる。総括責任者は、正当な理由がない限りこれに応じなければならない。
- 4 判定は、次の各号のいずれかを選択することにより行なう。

- (1) 承認
- (2) 資料確認のうえ承認
- (3) 条件付承認
- (4) 不承認
- (5) 保留

- 5 専門的事項については、委員以外の専門家から意見を聴取することができる。

(審査手続き等)

- 第7条 研究者が遺伝子治療臨床研究について審査を受けようとするときは、遺伝子治療臨床研究審査申請書に必要事項を記入し、研究計画書を添付して、総長に提出しなければならない。
- 2 総長は、前項により申請があったときは、当該研究計画の審査を委員会に諮問しなければならない。
- 3 委員会は、申請された研究計画について審査を行ない、委員長は委員会での審査終了後直ちに、その審査結果を、遺伝子治療臨床研究倫理審査結果報告書をもって総長に答申しなければならない。
- 4 前項の報告にあたっては、判定及びその理由等を明記しなければならない。
- 5 総長は、委員会からの答申に基づき、速やかに当該申請に対する取扱いに係る決定を行ない、必要に応じて当該研究計画について厚生労働大臣の承認を求めなければならない。
- 6 研究計画に変更が生じた場合には、研究責任者は遺伝子治療臨床研究計画変更審査依頼書に変更事項を記入の上、総長に提出しなければならない。
- 7 前項により研究者から変更審査依頼があった場合には、総長は当該研究計画の変更について委員会に諮問しなければならない。

(研究完了後の報告)

- 第8条 総長は、遺伝子治療臨床研究計画が完了した後、総括責任者から提出された研究報告書の写しを委員長に提出する。

(庶務)

- 第9条 委員会の庶務は、運営部政策医療企画課において処理する。

(細則)

- 第10条 本規程に定めるものの他、この規程の実施にあたって必要な事項は、総長が定める。

(改定)

- 第11条 本規程は、センターに設置された運営会議の意見に基づき、総長が改定することができる。

(準用)

- 第12条 センター病院又は研究所が、「指針」に定める実施機関となる場合は、委員会を

もって当該機関の倫理審査委員会とし、本規程を準用する。

この場合において、「総長」とあるのは、「病院長」又は「研究所長」と読み替えるものとする。

#### 附則

(施行期日) 本規程は、平成17年11月 1日より施行する。

本規程は、平成19年 9月26日より施行する。

正常細胞分画を検出した X 連鎖性慢性肉芽腫症 (X-CGD) モザイク 2 症例の解析

研究分担者 有賀 正 北海道大学大学院医学研究科小児科学分野教授

**研究要旨** X-連鎖性慢性肉芽腫症 (X-CGD) の 2 症例において正常の機能を持つ一部の細胞群を検出し、その機序の解明を試みた。in vivo では正常な機能を持つ細胞が優位に増殖する現象も確認した。この様な現象が X-CGD に対する血液幹細胞遺伝子治療の際、遺伝子発現細胞を優位なポピュレーションにする目的に何らかの示唆を与える可能性がある。

### A. 研究目的

正常細胞分画を検出した X-連鎖慢性肉芽腫症 (X-CGD) のモザイク 2 症例を検出した。患者体内では異常細胞の比率が優位であったが、樹立した細胞株の一部では正常細胞が優位に増殖する現象を認めた。一般に、本疾患では X-連鎖重症複合免疫不全症の様に機能の正常な細胞が異常細胞よりも増殖優位性がある現象は期待されていない。本研究ではこれらの患者における正常細胞分画出現の機序解明し、また細胞株において認めた正常細胞が異常細胞よりも優位増殖した機序の解明を目的とした。この机上の解明は本疾患に対する幹細胞遺伝子治療において遺伝子導入細胞のポピュレーションを優位にする要素を

検出できる可能性がある。

### B. 研究方法

#### 1) 症例

表 1. 症例のプロフィール

|        | 症例1                                | 症例2                         |
|--------|------------------------------------|-----------------------------|
| 年齢     | 13才                                | 1才                          |
| CYBB変異 | G681T, Gly223X<br>(exon6)          | G1398T, Glu462X<br>(exon11) |
| 既往歴    | 腸炎の傾向(1才)<br>肝臓病(1才)<br>呼吸器感染症(1才) | BCGリンパ節炎(1才)                |
| 母      | 非保因者                               | 非保因者                        |
| 胎盤型    | なし                                 | なし                          |

症例 1、2 ともに食細胞の活性酸素産生能検査、ならびに遺伝子解析により既に X-CGD と判明していた。特徴的なのは二症例とも母が非保因者であった事である。また、症例 2 はまだ幼少ではあるが、BCG による腋窩リンパ節炎以外の感染症は経験していなかった。