

- 3) Sanuki S, Hamanaka S, Kaneko S, Otsu M, Karasawa S, Miyawaki A, Nakauchi H, Nagasawa T, Onodera M. A new red fluorescent protein that allows efficient marking of murine hematopoietic stem cells. *J Gene Med* 10: 965-971, 2008.
- 4) Kamiya A, Kakinuma S, Onodera M, Miyajima A, Nakauchi H. Prospero-related homeobox 1 and liver receptor homolog 1 coordinately regulate long-term proliferation of murine fetal hepatoblasts. *Hepatology* 48: 252-264, 2008.
- 5) Onodera M. Gene and cell therapy for relapsed leukemia after allo-stem cell transplantation. *Front Biosci* 13: 3408-3414, 2008.
- 6) 小野寺雅史 造血幹細胞遺伝子治療の将来的展望最新医学 63: 2318-2323, 2008.

## 2. 学会発表

- 1) 小野寺雅史, How do we advance stem cell gene therapy in Japan? 第14回日本遺伝子治療学会総会, 札幌, 2008年6月12-14日.
- 2) 小野寺雅史, 原発性免疫不全症に対する遺伝子治療, 第7回遺伝子治療シンポジウム, 大阪, 2009年1月30日.

## H. 知的財産権の出願・登録状況 なし

### Ⅲ. 資 料

- 1) 遺伝子治療臨床研究実施計画書

# 遺伝子治療臨床研究実施計画書

[課題名]

「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」

目次

1. 遺伝子治療臨床研究の名称	- 6
2. 研究者の氏名、所属部局、役職、役割	
2-1. 総括責任者氏名及びその担当する役割	- 7
2-1. 副総括責任者氏名及びその担当する役割	- 7
2-3. 総括責任者、副総括責任者以外の研究者氏名及び その担当する役割	- 7
2-4. 海外共同研究社	- 9
3. 遺伝子治療臨床研究実施施設の名称及びその所在	- 10
4. 遺伝子治療臨床研究の目的	- 11
5. 対象疾患及び対象疾患をして選定した理由	
5-1. 対象疾患	- 13
5-2. 対象疾患に関する現時点での知見	- 13
5-2-1. 慢性肉芽腫 (CGD) の病因と頻度	- 13
5-2-2. 慢性肉芽腫 (CGD) の症状と経過	- 14
5-2-3. 従来の治療法	- 15
5-3. 本遺伝子治療臨床研究の概要	- 16
5-4. 他の治療法との比較及び遺伝子治療臨床研究を実施する 適応があると判断した理由	- 17
6. 遺伝子の種類及び遺伝子導入方法	
6-1. ヒトに導入する遺伝子の構造と性質	- 19
6-1-1. ヒトに導入する遺伝子の構造	- 19
6-1-1-1. ヒト CYBB 遺伝子	- 19
6-1-2. 導入する遺伝子の性質ならびに導入遺伝子からの生成物の 構造及び生物活性	- 22
6-2. 標的細胞とした細胞の由来および生物学的特徴ならびに 標的細胞とした理由	- 22
6-3. 遺伝子導入方法の概略及び当導入法を選択した理由	- 22

6-4. ウイルスペクターを用いた遺伝子導入	- 23
6-4-1. 野生型ウイルスの生物学的特徴及びヒトに対する影響	- 23
6-4-2. ウイルスペクターの作製方法	- 24
6-4-3. ウイルスペクターDNA の構造	- 26
6-4-4. ウイルスペクターの生物学的特徴	- 26
7. 安全性についての評価	
7-1. 遺伝子導入方法の安全性	- 28
7-1-1. 遺伝子導入に用いられるウイルスベクターの純度	- 28
7-1-2. 患者に投与する物質の純度及び安全性	- 32
7-1-3. 増殖性ウイルス出現の可能性	- 33
7-1-4. 遺伝子導入に用いるウイルスベクターの細胞傷害性	- 33
7-1-5. 体内の標的細胞以外の細胞への遺伝子導入の可能性	- 33
7-1-6. 患者以外の人への遺伝子導入の可能性	- 34
7-1-7. 染色体へ遺伝子が組み込まれる場合の問題点	- 34
7-1-8. 癌原性の問題	- 35
7-2. 遺伝子産物の安全性	- 35
7-3. 細胞の安全性	- 35
7-3-1. 培養細胞の純度	- 36
7-3-2. 細胞の遺伝子型、表現型の安全性	- 36
7-3-3. 被験者に投与する細胞の安全性	- 36
8. 遺伝子治療臨床研究の実施が可能であると判断する根拠	- 37
9. 遺伝子治療臨床研究の計画	
9-1. 遺伝子治療臨床研究を含む全体の治療計画	- 38
9-2. 被験者の選択基準および除外基準	- 38
9-2-1. 被験者の選定基準	- 39
9-2-2. 被験者の除外基準	- 39
9-3. 本遺伝子治療臨床研究に関連する各委員会	- 40
9-3-1. 遺伝子治療臨床研究適応判定委員会	- 40
9-3-2. 遺伝子治療臨床研究評価委員会	- 40
9-3-3. 遺伝子治療臨床研究審査委員会	- 40
9-4. 被験者の同意の取得法	- 40

9-4-1. 被験者が小児の場合の同意の取得と家族への支援体制	- 41
9-5. 実施期間及び目標症例数	- 41
9-6. 遺伝子治療臨床研究の実施方法	- 42
9-6-1. 対照群の設定	- 42
9-6-2. 遺伝子導入方法	- 42
9-6-2-1. 無菌性の確保	- 42
9-6-2-2. ベクターの入手先及び保存法	- 42
9-6-2-3. 被験者からの末梢血 CD34 陽性細胞の採取	- 42
9-6-2-4. 標的細胞への遺伝子導入	- 43
9-6-2-5. 遺伝子導入細胞の患者への投与	- 44
9-6-3. 前処置及び併用療法の有無	- 44
9-6-4. 治療中の観察項目及び臨床研究項目	- 44
9-6-5. 有害事象ならびにその対処方法	- 46
9-6-5-1. 有害事象の定義	- 46
9-6-5-2. 有害事象発症時の対応	- 46
9-6-5-3. 予想される有害事象とその対処法	- 47
9-6-6. 遺伝子治療臨床研究の評価方法、評価基準及び中止判定基準	- 49
9-6-6-1. 遺伝子導入方法の評価基準	- 49
9-6-6-2. 脱落及び中止基準	- 50
9-6-6-2-1. 症例の脱落及び中止基準	- 50
9-6-6-2-2. 遺伝子治療臨床研究の中止基準	- 50
9-6-7. 症例記録に関する記録用紙の様式	- 51
9-6-8. 記録の保存及び成績の公表方法	- 51
10. 本遺伝子治療臨床研究における個人情報について	- 52
10-1-1. 個人情報の定義	- 52
10-1-2. 個人情報の利用目的の特定および利用目的の通知	- 52
10-2. 本遺伝子治療臨床研究における個人情報保護に関する取り組み	- 52
10-2-1. 個人情報の正確性の確保	- 52
10-2-2. 安全管理処置	- 52
10-2-3. 第三者への提供の制限	- 53
10-2-4. 開示	- 53
10-2-5. 訂正について	- 53
10-2-6. 利用停止について	- 53

10-2-7. 開示、訂正、利用等ができない場合の理由説明	- 54
10-2-8. 参照、質問	- 54
11. 参考文献	- 55

---

## 1. 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



## 2. 研究者の氏名、所属部局、役職、役割

### 2-1 総括責任者の氏名及びその担当する役割

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・室長

遺伝子治療臨床研究に関する資料・情報の収集、遺伝子治療臨床研究の科学的妥当性及び倫理性の検討、実施計画書の作成及び実施施設長への提出、遺伝子治療臨床研究実施の適正実施の確認、遺伝子治療臨床研究の進行状況及び研究結果の実施設長及び審査委員会への報告

### 2-2 副総括責任者の氏名及びその担当する役割

奥山 虎之

国立成育医療センター病院・臨床検査部・部長

総括責任者の補佐、遺伝子治療臨床研究に関する資料・情報の収集、遺伝子治療臨床研究の科学的妥当性及び倫理性の検討、患者の選定基準の作成、遺伝カウンセリング

### 2-3 総括責任者、副総括責任者以外の研究者の氏名及び担当する役割

氏名	所属	役割	役割分担
藤本 純一郎	国立成育医療センター研究所	副所長	遺伝子治療臨床研究の環境整備
小林 信一	国立成育医療センター病院	膠原病・感染症科・医員	遺伝子治療臨床研究に必要な病棟体制の整備、患者の診療
熊谷 昌明	国立成育医療センター病院	血液科医長	患者骨髄細胞の採取と遺伝子導入細胞の投与

森 鉄也	国立成育医療センター 病院	小児腫瘍科医長	患者骨髄細胞の採取と遺伝子 導入細胞の投与
清河 信敬	国立成育医療センター 研究所	発生・分化研究部・ 部長	遺伝子導入に関する予備実験 の実施
梨井 康	国立成育医療センター 研究所	移植免疫研究室・ 室長	遺伝子導入細胞の解析、遺伝子 導入効率及び遺伝子挿入部位 の検討
緒方 勤	国立成育医療センター 研究所	小児思春期発育研 究部・部長	遺伝子導入細胞の解析、遺伝子 導入効率及び遺伝子挿入部位 の検討
瀧本 哲也	国立成育医療センター 研究所	ラジオアイソト プ管理室・室長	臨床データの管理の指導
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・室長	遺伝子治療臨床研究の倫理性 と個人情報保護の管理および 評価の実施
土田 尚	国立成育医療センター 病院	第一診療部・医師	臨床データの管理の指導
河合 利尚	国立成育医療センター 病院	膠原病感染症科・ レジデント	患者管理
加藤 俊一	東海大学医学部	基盤診療学系再生 医療科学・教授	患者の選定、幹細胞移植の指導
有賀 正	北海道大学医学部	生殖発達医学 小児科学・教授	患者の選定、免疫学検査の管理 と指導
布井 博幸	宮崎大学医学部	生殖発達医学講座 小児学分野・教授	患者の選定、免疫学検査の管理 と指導
久米 晃啓	自治医科大学	分子病態治療研 究センター遺伝子治 療研究部・准教授	遺伝子治療後の検査体制の確 立
大津 真	東京大学医科学研究所	ヒト疾患モデル研 究センター・助教	遺伝子治療臨床研究の実施、高 効率遺伝子導入法の確立
岡田 真由美	都立東大和療育 センター	小児科・医師	臨床データの管理

## 2-4 海外共同研究者

本遺伝子治療臨床研究は、米国国立衛生研究所、国立アレルギー・感染症科・先天性免疫不全症部門・宿主防御研究室 (Laboratory of Host Defenses, Genetic Immunodeficiency Section, National Institute of Allergy and infectious Diseases, National Institutes of Health) の Malech 博士 (Dr. Harry L. Malech)、Kang 博士 (Dr. Elizabeth Kang)、および過去に同様の遺伝子治療臨床研究を行った実績のあるドイツ Georg-Speyer-Haus 生物研究所の Grez 博士 (Dr. Manuel Grez)、スイス Zurich 大学小児病院の Seger 博士 (Dr. Reinhard Seger)、イギリス小児保健研究所の Thrasher 博士 (Dr. Adrian J. Thrasher) より多くの有益な情報を得て行うものである。なお、本遺伝子治療臨床研究は米国、ドイツ、本邦の各医療機関における共同臨床研究として行われる。

### 3 遺伝子治療臨床研究実施施設の名称及びその所在地

名称：国立成育医療センター病院および研究所

所在地：東京都世田谷区大蔵 2-10-1 〒157-8535

電話：03-3416-0181 FAX：03-3416-2222

## 4 遺伝子治療臨床研究の目的

慢性肉芽腫症 (chronic granulomatous disease: CGD) は、生命を脅かすような重篤な細菌性あるいは真菌性の感染症を繰り返す先天性免疫不全症である。これまでは、唯一の根治療法としてヒト主要組織適合抗原 (HLA) が一致した血縁ドナーからの造血幹細胞移植が行われてきたが、HLA 一致ドナーが存在する確率はおよそ 3 割で、また、たとえ HLA 一致ドナーが存在したとしても患者が造血幹細胞移植のための前処置に耐えられないほどの重度の感染症に罹患している場合も多く、その治療法の選択に苦渋することが多い。

本遺伝子治療臨床研究の目的は、適当なドナーが見つからないなどの理由により造血幹細胞移植の適応とはならない重症の CGD 患者のうち、特に、CGD としては症例数が最も多い、NADPH オキシダーゼ酵素複合体の構成タンパク質 gp91<sup>phox</sup> に変異のある X-連鎖慢性肉芽腫症 (X-CGD) に対し、有効な治療法を確立することである。

具体的には、レトロウイルスベクターを用いて患者造血幹細胞に gp91<sup>phox</sup> をコードするヒト cytochrome b245, beta polypeptide (CYBB) 遺伝子 (NM\_000397) を導入し、これら細胞を患者に再投与するという、「造血幹細胞遺伝子治療」を重症の CGD に対する治療法として確立することを目的としている。

方法としては、患者末梢血中より顆粒球コロニー刺激因子 (G-CSF) にて誘導した CD34 陽性細胞を遺伝子導入の標的細胞とし、ヒト抗 CD34 抗体を用いて回収する。これら回収された細胞に無血清で調整したレトロウイルスベクター-MFGSgp91 を用いて CYBB 遺伝子を導入し、あらかじめ遺伝子導入細胞の骨髄生着率を高めるためにブスルファン投与を行った患者に再投与する。投与後は、長期間にわたり、患者末梢血の gp91<sup>phox</sup> の発現状況、好中球の活性酸素産生能、遺伝子導入細胞のベクターの挿入状態ならびに臨床症状を注意深く観察することで、本遺伝子治療の安全性及び有効性を検証することとしている。なお、本遺伝子治療の安全性及び有効性に関しては、以下の項目を検討することで評価することとしている。

### ○ 安全性

- ・ 遺伝子導入操作の安全性：投与する細胞の状態、無菌性 (マイコプラズマ等も含む)、エンドトキシン等により評価する。
- ・ 遺伝子導入細胞の安全性：投与する細胞の増殖能、ベクターコピー数ならびに挿入部位、野生型ウイルス (RCR) 等により評価する。

○ 有効性

感染治癒による評価：

感染予防による評価：

## 5 対象疾患及び対象疾患として選定した理由

### 5-1 対象疾患

CYBB 遺伝子 (gp91<sup>phox</sup>) に変異を持つ X 連鎖慢性肉芽腫症 (X-CGD)

### 5-2 対象疾患に関する現時点での知見

#### 5-2-1 慢性肉芽腫症 (CGD) の病因と頻度

CGD は、乳幼児期より重篤な細菌感染症および真菌感染症に反復罹患し、また、諸臓器に肉芽腫を形成する、先天性免疫不全症候群の一疾患である(1)。

そもそも、好中球をはじめとする食細胞は、活性酸素種 ( $O_2^-$ 、 $H_2O_2$ 、 $HClO$  など) を産生し、体外から侵入してきた細菌や異物を殺菌する機構を有している。この活性酸素産生を担う主要な分子が NADPH オキシダーゼ酵素複合体である。本酵素は細胞膜上の gp91<sup>phox</sup>、p22<sup>phox</sup> のヘテロ 2 量体と、細胞質内の p67<sup>phox</sup>、p47<sup>phox</sup>、p40<sup>phox</sup>、Rac p21 から構成される(2)。

CGD ではこれらのうち gp91<sup>phox</sup>、p22<sup>phox</sup>、p67<sup>phox</sup>、p47<sup>phox</sup> の 4 分子のうちいずれかのタンパク質が先天的に機能していないため、活性酸素を産生できず、体内に侵入した微生物を殺菌することができない。特に、ブドウ球菌、クレブシエラ菌、大腸菌、カンジダ、アスペルギルスなどの過酸化水素非産生・カタラーゼ陽性菌を殺菌することができないため、乳幼児期より細菌や真菌による全身性難治性感染症を反復し、しばしば致命的となる(2)。

わが国の先天性免疫不全症の患者数は、CGD が最も多く約 18% を占める (平成 18 年度厚生労働省原発性免疫不全症候群研究班)。CGD の発症頻度は 22.5 万出生に 1 人程度であり、国内では 2006 年 12 月現在、200 家系以上、270 名以上が登録されている。男女比はおおよそ 6.9:1 で、国内の分布には地域による偏りはない。日本人の病型別の患者割合を見ると X 連鎖性遺伝の gp91<sup>phox</sup> 欠損型 (X-CGD) が 79.7% と最も頻度が高く、常染色体劣性遺伝の 3 病型は p22<sup>phox</sup> 欠損型 (8.3%)、p67<sup>phox</sup> 欠損型 (6.3%)、p47<sup>phox</sup> 欠損型 (5.7%) で、諸外国に比べ p47<sup>phox</sup> 欠損型が少ない。病型の違いによって重症度が異なることが報告されており、米国では gp91<sup>phox</sup> 欠損型が常染色体劣性遺伝型の三病型に比べて死亡率が高かったとの報告がある(3)。また、国内でも、gp91<sup>phox</sup> 欠損型の重症度が高い傾向にある (文献必要検索中)。

gp91<sup>phox</sup> 欠損型は X 連鎖遺伝のため患者の大部分は男性である。多くはその

母親がヘテロ接合体の保因者であるが、両親とも変異を持たず子に新規変異が生じる場合もある。保因者の末梢血食細胞は、正常食細胞と異常食細胞が混在するモザイクを呈するが、Lyon 効果の程度により正常食細胞と異常食細胞の割合に個人差がある。保因者であっても、正常食細胞が全体の 5%以上存在すれば、感染症に罹患しても重症にはなりにくいことが明らかにされている(4)。これまでに行われた国内の X-CGD の遺伝子変異の解析結果を見てみると、ナンセンス変異 24 例、ミスセンス変異 12 例、スプライス部位変異 17 例、欠失 10 例、挿入 7 例であった。特に変異が集積する hot spot は存在せず、変異は翻訳領域全体に散在している。また、同一変異であっても、他の遺伝要因や生活環境などの影響により、重症度が異なる。

### 5-2-2 慢性肉芽腫症 (CGD) の症状と経過

症状としては、乳幼児期より繰り返す全身諸臓器の難治性細菌・真菌感染症を特徴とする。化膿性皮膚炎、リンパ節炎、肺炎、中耳炎、肛門周囲膿瘍などがよく見られ、感染症が重症・遷延化して、抗生物質や抗真菌剤の多剤併用や長期入院が必要になることが多い。肺の真菌感染症、特にアスペルギルス感染症は頻度も高く、強力な抗真菌剤を用いても無効なことが多く致死的になりやすい(2)。一方、軽症例では、10 歳を越えてから肝膿瘍などをきっかけとして初めて CGD として診断される場合もある。

他の特徴として、諸臓器に形成される肉芽腫性病変がある。肺や消化管、肝臓などに多く見られ、ときに頭蓋内にも見られる。肉芽腫を形成する機序は不明だが、貪食したが殺菌できない単球が活性化状態を持続したまま多種のサイトカインを放出し、周囲に炎症細胞を集結させる結果、肉芽腫を形成し、増大していくものと考えられている。肉芽腫性病変は薬物に反応しにくく、外科的切除の対象になることも多い。消化管に肉芽腫を形成すると通過障害を起こしやすい。またクローン病様の症状を呈する場合、腸管生検で粘膜下組織に非乾酪性肉芽腫を伴う CGD 腸炎を併発している場合がある(5)。McLeod 症候群は、gp91<sup>phox</sup> 遺伝子と隣接遺伝子の XK や RP3 を共に欠失しており、有棘赤血球症や網膜色素変性症を合併する(6)。

X-CGD 患者に抗生物質の予防投与を行わない場合、患者一人あたりの重症感染症罹患回数は平均年 2 回である(7)。こうした重症感染症の罹患頻度の高さから、これまで国内の X-CGD 患者の多くは 30 歳までに死亡しており、その死因としては、特に敗血症やアスペルギルス感染症が多かった(8)。しかし、最近では、新たな抗生物質や抗真菌剤が登場したことにより、30 歳を越えて生存する患者が増加してきている。



### 5-2-3 従来の治療法

CGD の治療の基本は、抗生物質や抗真菌剤といった抗菌剤の投与であり、投与方法により、感染症に対する対症療法と予防投薬に分けられる。一旦感染症に罹患すると、重症化、長期化しやすく、難治であり、多剤併用や長期入院を要する場合が多い。最近では、抗生物質や効力の強い抗真菌剤（ミカファンギン、ポリコナゾールなど）の新薬が登場し、従来は治療困難であった感染症も軽快する場合が増えてきたが、重症例では薬剤効果が及ばないことが多い。一方、トリメトプリム/スルファメトキサゾール及びイトラコナゾールの予防的投与を行うと、感染症の罹患率は年 0.43～1.2 回まで減少すると報告されている(9, 10)。

また、抗菌剤治療に次ぐ、二番目の治療法としてインターフェロン・ガンマ (IFN- $\gamma$ ) の投与がある。IFN- $\gamma$  は、約 3 分の 1 の症例に重症感染症に対する予防効果があり(10, 11)、国内患者の約 4 割に投与されている。抗菌剤の投与、IFN- $\gamma$  の投与によって一定の予防効果は得られているが、重症感染症や合併症による年間死亡率は 2～5% (米国、3) とされ、国内でも毎年死亡例がある。

そもそも CGD は造血幹細胞を起源とする食細胞の異常であるから、造血幹細胞移植によって根治が可能である。1968 年に重症複合型免疫不全症に対する骨髄移植が成功して以来(12)、CGD を含む先天性免疫不全症に対する根治療法として造血幹細胞移植が行われ、多くの知見が得られてきた。以前は HLA 一致血縁者間移植でも生着率が低く、成績不良であったが、最近では骨髄非破壊的前処置の導入や、移植後管理技術の進歩などにより成功率が改善し、症例数も増加している。同種造血幹細胞移植は、これまでに確立した CGD の唯一の根治療法である。スイスの Seger らの報告(13)によると、欧州の造血幹細胞移植 27 症例のうち、HLA 一致同胞からの移植が 25 例、骨髄幹細胞移植が 24 例であった。大半はブスルファン (Bu)、シクロフォスファミド (Cy) による前処置を行い、27 例中 23 例が生存、4 例が死亡した。また移植時点での活動性感染症を有していた群がより危険度が高かったことを示した。米国で行われた 10 例の骨髄非破壊的末梢血幹細胞移植(14)では、Cy、フルダラビン (Flu)、抗胸腺細胞グロブリン (ATG) による前処置後、HLA 一致同胞の T 細胞を除去した末梢血幹細胞を移植し、10 例中 3 例が死亡、1 例は生着不全であった。

2007 年 3 月現在までに、国内で移植を実施された患者は 34 症例で、生存例が 27 例、死亡例が 7 例であり、移植後の生存率は約 8 割である (表)。ドナーの種類別の成績は、HLA 一致同胞骨髄と HLA 一致非血縁骨髄とでは、ともに成績良好で差はなかったが、臍帯血移植は 4 例中 2 例が死亡している。前処置法は Bu+Cy、Cy+Flu とで全体の約 7 割を占めていた。

前処置としては、Bu+Cy 法では生着までの期間が長く、感染症などの合併症に罹患する機会が多くなる。Cy+Flu 法は、生着までの期間が短い、移植後に混合キメラ状態が持続し、徐々にドナー細胞が減少する症例が多く見られ、ドナーリンパ球輸注を行った場合に重度の移植片対宿主病 (graft versus host disease; GVHD) を発症する症例もある。Bu+Cy 法も Cy+Flu 法もいまだ残された課題は多い。

国内の移植の結果でも、Seeger らと同様に、移植時点で活動性感染症を有していた群において比較的死亡例が多く、移植時の感染症の活動性は危険因子と考えられる。HLA 不一致ドナーからの移植は、生着不全例や拒絶例が見られ、必ずしも成績良好とは言えない。

いずれにしても、患者によって、過去の臨床経過、感染症の重症度、治療反応性の差が大きいことから、これまで移植適応基準の確立が容易でなかったため、現在、34 例の経験をふまえた新たなプロトコールが検討されているところである。

同種造血幹細胞移植は、現段階において国内で施行可能な唯一の根治療法ではあるが、移植時の難治性感染症の有無、前処置法の選択、移植後の合併症などが移植後転帰を左右する。HLA 適合ドナーがいない患者やドナーがいても前処置の骨髄抑制に耐えられない患者にとっては、治療を受ける機会がないため、同種造血幹細胞移植以外の安全かつ有効な根治療法の確立が望まれている。

### 5-3 本遺伝子治療臨床研究の概要

造血幹細胞遺伝子治療は、自己の骨髄または末梢血造血幹細胞に治療遺伝子を導入して患者本人に投与することからドナーを必要とせず、移植に伴う移植片対宿主病 (GVHD) 発症の危険性もない。

また、移植する遺伝子導入細胞が患者の体内で増殖優位性を持つ場合には、前処置は不要である。しかし、添付書類三-3 に記したように、国内での基礎的実験および国外での遺伝子治療臨床研究の結果から、CGD の場合、遺伝子導入細胞は、移植された患者体内で増殖優位性を有しないことが明らかになっており、移植細胞が増殖できる空間を作るための何らかの前処置が必要と考えられている。これについて 2003 年、ドイツの 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。本研究においては、難治性感染症があり、適当な移植ドナーが見つからない 2 名の X-CGD 患者に対して、前処置としてブスルファン 8mg/kg 投与を行った。この前処置にて好中球数が 500 個/ $\mu$ l 以下となった期間は、各患者で 10 日間と 6 日間であり、遺伝子導入細胞投与後に活性酸素産生好中球が好中球全体の 10~57% 検出され、ブドウ球菌による肝膿瘍や肺アスペルギルス症が軽快したと報告されてい

る(15)。

また、スイスにおいて Grez らと同一レトロウイルスベクターを用いた遺伝子治療臨床研究では、治療を受けた患者は肉芽腫による脊椎の圧迫による対麻痺から回復し、歩行可能になった (Seger 博士との私信により得た情報)。同様に、2006 年末から 2007 年にかけて、米国 Malech 博士らと韓国の Kim 博士らのグループもブスルファンを用いた遺伝子治療臨床研究を開始したところ、投与後 2 週間の活性酸素産生末梢血好中球数は全体の 24%であったものの、投与後 6 ヶ月目 (2007 年 5 月) には 1.1%まで減少している。ただ、臨床的にはブドウ球菌による肝膿瘍の縮小など、一定の治療効果を確認している (第 13 回米国遺伝子治療学会報告)。

このように、遺伝子治療の効果を確実に得るためには、ブスルファンの投与など適切な前処置を行い必要があるが、CGD に対する遺伝子治療のために必要となる前処置は、同種造血幹細胞移植のために必要となる前処置と比べ、患者の負担が少ない。また、遺伝子治療の場合には、同種幹細胞移植において必要となる免疫抑制剤投与の必要もない。そのため、全体としては骨髄抑制期間が短く、移植関連併症も軽減できる。また、適当な移植ドナー不在患者や難治性感染症に罹患している患者に対しても適応可能であり、患者に対する利点は多い。

ただし、遺伝子治療においては、レトロウイルスベクターを使用した場合に、患者に白血病の発症という有害事象が複数例報告されていることから (後述)、今後とも症例ごとの検討を重ね、遺伝子治療と同種造血幹細胞移植のいずれが患者にとって危険性が少なく、また、治療効果が高いかを検討しながら進めていく必要がある。

#### 5-4 他の治療法との比較及び遺伝子治療臨床研究を実施する適応があると判断した理由

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。患者の一部には軽症例も見受けられるが、特に本遺伝子治療臨床研究が対象とする 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。

これまででも、治療効果が増強した抗生物質や抗真菌剤が開発されてきており、CGD 患者においては発症した重症感染症に対しても一定の治療成績を挙げつつあるが、完全に感染症を沈静化するには至っていない。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。

しかし、同種造血幹細胞移植についても、適当な移植ドナーが不足している

ことにより移植が実施できない場合があり、また、移植に関連した原因で死亡する例も少なくなく、移植医療が確立された安全な治療法とは言い難い。特に、CGD の場合、移植時に難治性感染症に罹患している場合が多く、また、肝、腎、肺機能に障害のある症例も多いことから、同種造血幹細胞移植のリスクは、他の疾患と比べてさらに大きいものになっている。

一方、遺伝子治療は、遺伝子導入細胞の生着に必要とされる前処置においてブスルファン等を使用するが、その量は、一般的な同種造血幹細胞移植とは異なり、少量である。そのため、造血能回復までの日数が短縮でき、また、移植後に免疫抑制剤を使用しないことから晩期副作用も軽減できる。さらに、患者自身の造血幹細胞を用いているため、移植片対宿主病 (GVHD) 発症の危険性を回避することもできる。こうしたことから、本遺伝子治療臨床研究において実施する造血幹細胞遺伝子治療は、同種造血幹細胞移植の適応とはならない重篤な感染症に罹患している CGD 患者に対して実施するに値する治療法と言える。ただし、過去の類似の遺伝子治療において発症した有害事象を考えると、その実施は患者の利益と危険性を十二分に検討し、慎重に考慮を重ねた上で決定され、また、同時に治療開始後も注意深い経過観察が求められる。

以上の点をふまえ、下記の理由により X-CGD に対する遺伝子治療は実施するに値すると判断した。

- ・ X-CGD は単一遺伝性疾患であり、その病態が分子レベルでよく解明されている。
- ・ 現時点で確立されている根治療法は同種造血幹細胞移植しかなく、その危険性も極めて高い。
- ・ 遺伝子導入により機能を回復した食細胞の頻度がたとえ低値でも、末梢血中で 5% 以上の遺伝子改変食細胞があれば、重症感染症に対する治療効果が見込まれる。
- ・ 標的細胞となり得るヒト末梢血造血幹細胞の採取法やこれら細胞へのレトロウイルスベクターを用いた遺伝子導入法がすでに確立している。

遺伝子治療は、ドイツやスイスでの臨床研究において治療を受けた患者において造血障害や白血病が発症したとの報告がある (16) など、新たな問題も提起する実験的な医療の域を越えない。しかし、症例を深く検討することで、遺伝子治療が造血異常等のおこる危険性を上回るほどの十分な利益をもたらすことも期待できる。そのため、本遺伝子治療臨床研究の実施については相当の妥当性があると判断したものである。