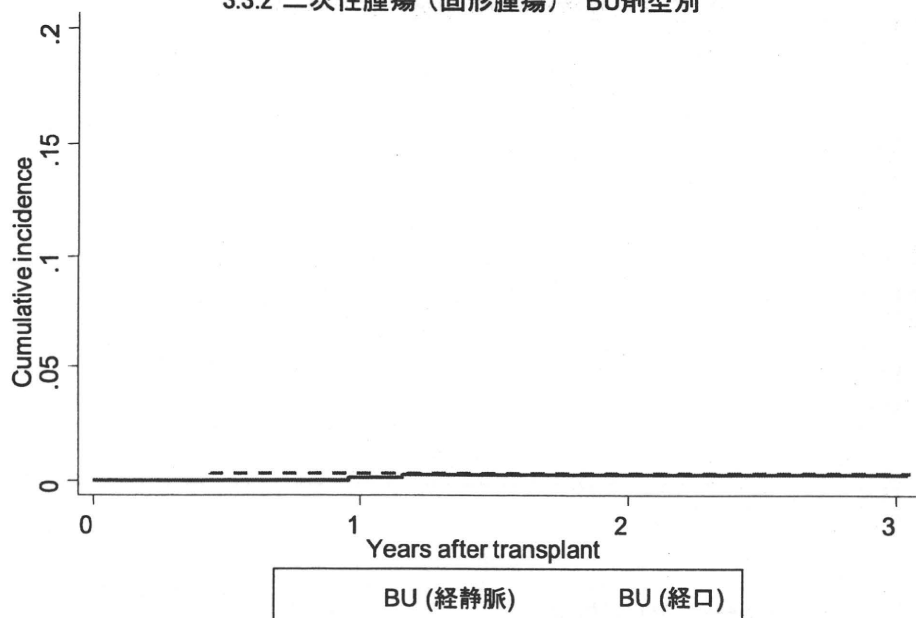


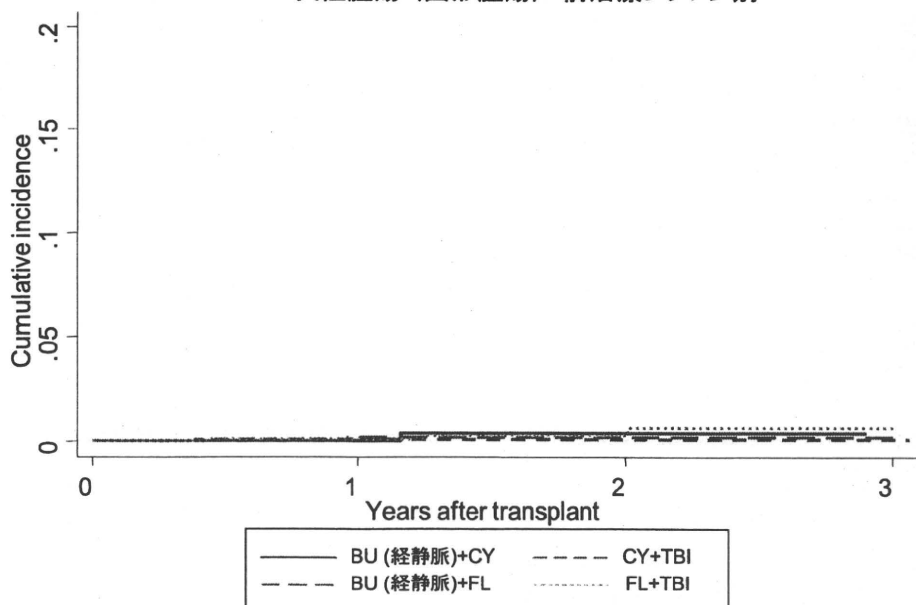
3.3.2 がん腫別累積発現率(固形腫瘍) Cumulative incidence(CI)法

3.3.2 二次性腫瘍(固形腫瘍) BU剤型別



対象レジメン	症例数	移植後 1年			移植後 2年			移植後 3年		
		発現率	95%信頼区間	観察症例数	発現率	95%信頼区間	観察症例数	発現率	95%信頼区間	観察症例数
① BU (経静脈)	1273	0.1%	0.0-0.6%	477	0.2%	0.1-0.8%	124	0.2%	0.1-0.8%	1
② BU (経口)	368	0.3%	0.0-1.6%	157	0.3%	0.0-1.6%	74	0.3%	0.0-1.6%	1

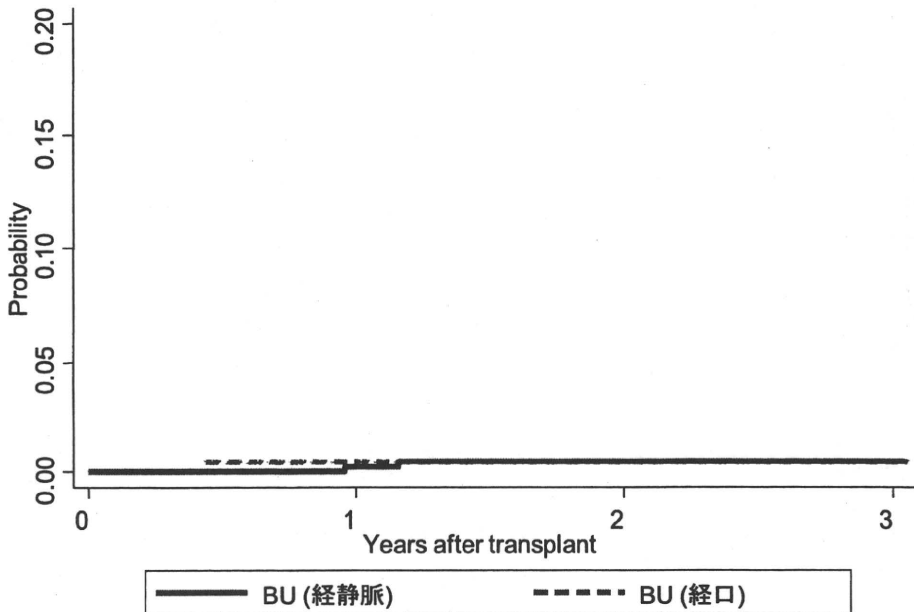
3.3.2 二次性腫瘍(固形腫瘍) 前治療レジメン別



対象レジメン	症例数	移植後 1年			移植後 2年			移植後 3年		
		発現率	95%信頼区間	観察症例数	発現率	95%信頼区間	観察症例数	発現率	95%信頼区間	観察症例数
① BU (iv)+CY	462	0.0%	.	185	0.4%	0.0-1.9%	52	.	.	.
② CY+TBI	1911	0.1%	0.0-0.3%	840	0.1%	0.0-0.3%	254	0.1%	0.0-0.3%	3
③ BU (iv)+FL	718	0.2%	0.1-1.1%	247	0.2%	0.1-1.1%	63	0.2%	0.1-1.1%	1
④ FL+TBI	1071	0.1%	0.0-0.6%	418	0.3%	0.1-0.9%	115	0.7%	0.1-2.1%	2

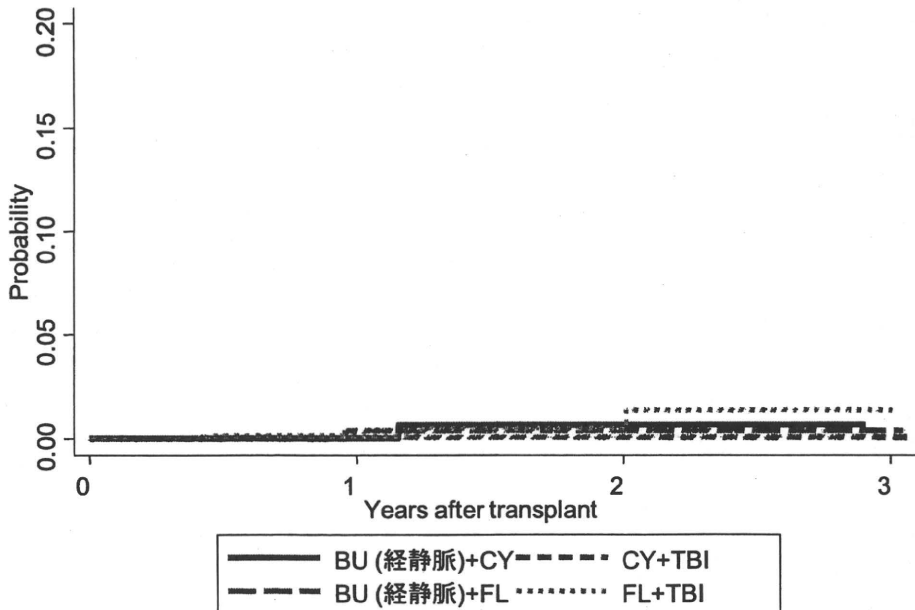
3.3.2 がん腫別累積発現率(固形腫瘍) Kaplan-Meier (KM)法

3.3.2 二次性腫瘍(固形腫瘍) BU剤型別



対象レジメン	症例数	移植後 1年			移植後 2年			移植後 3年		
		発現率	95%信頼区間	観察症例数	発現率	95%信頼区間	観察症例数	発現率	95%信頼区間	観察症例数
① BU (経静脈)	1273	0.2%	0.0-1.4%	477	0.4%	0.1-1.8%	124	0.4%	0.1-1.8%	1
② BU (経口)	368	0.4%	0.1-3.0%	157	0.4%	0.1-3.0%	74	0.4%	0.1-3.0%	1

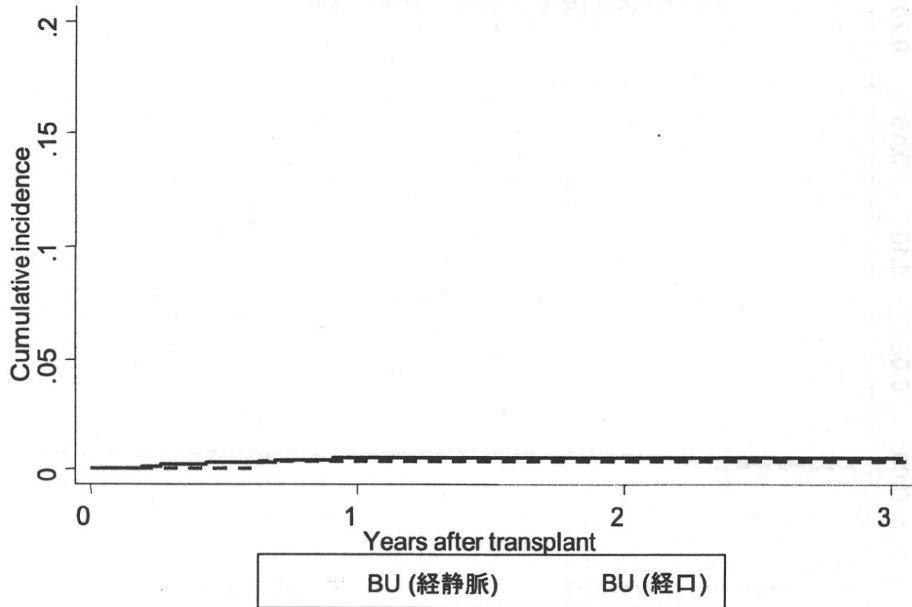
3.3.2 二次性腫瘍(固形腫瘍) 前治療レジメン別



対象レジメン	症例数	移植後 1年			移植後 2年			移植後 3年		
		発現率	95%信頼区間	観察症例数	発現率	95%信頼区間	観察症例数	発現率	95%信頼区間	観察症例数
① BU (iv)+CY	462	0.0%	.	185	0.6%	0.1-4.3%	52	.	.	.
② CY+TBI	1911	0.1%	0.0-0.5%	840	0.1%	0.0-0.5%	254	0.1%	0.0-0.5%	3
③ BU (iv)+FL	718	0.4%	0.1-2.7%	247	0.4%	0.1-2.7%	63	0.4%	0.1-2.7%	1
④ FL+TBI	1071	0.2%	0.0-1.1%	418	0.5%	0.1-2.1%	115	1.3%	0.3-5.2%	2

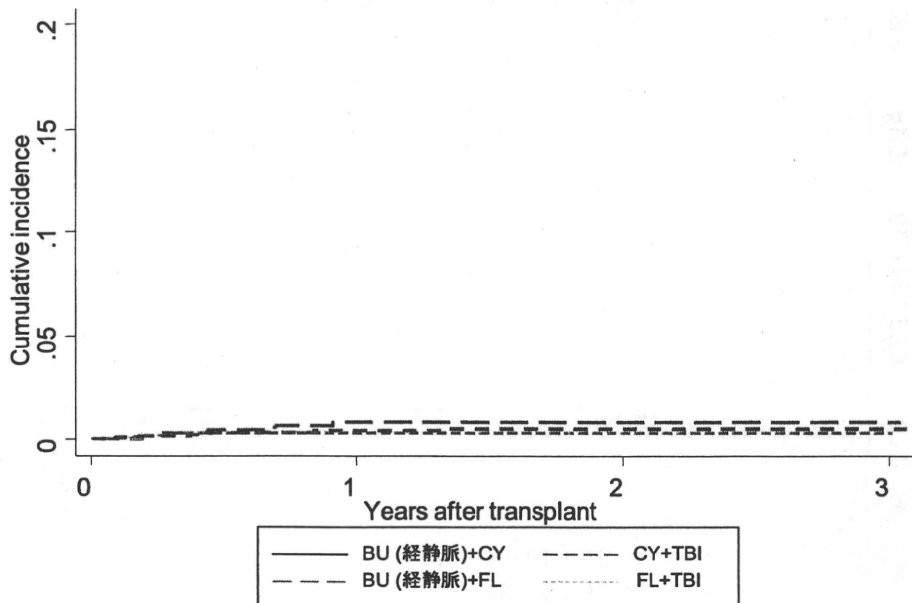
3.3.2 二次性腫瘍 がん腫(PTLD、固形腫瘍、造血器腫瘍)別累積発現率 (PTLD) Cumulative incidence (CI) 法

3.3.2 二次性腫瘍(PTLD) BU剤型別



対象レジメン	症例数	移植後 1年			移植後 2年			移植後 3年		
		発現率	95%信頼区間	観察症例数	発現率	95%信頼区間	観察症例数	発現率	95%信頼区間	観察症例数
① BU (経静脈)	1273	0.5%	0.2-1.0%	476	0.5%	0.2-1.0%	124	0.5%	0.2-1.0%	1
② BU (経口)	368	0.3%	0.0-1.6%	156	0.3%	0.0-1.6%	74	0.3%	0.0-1.6%	1

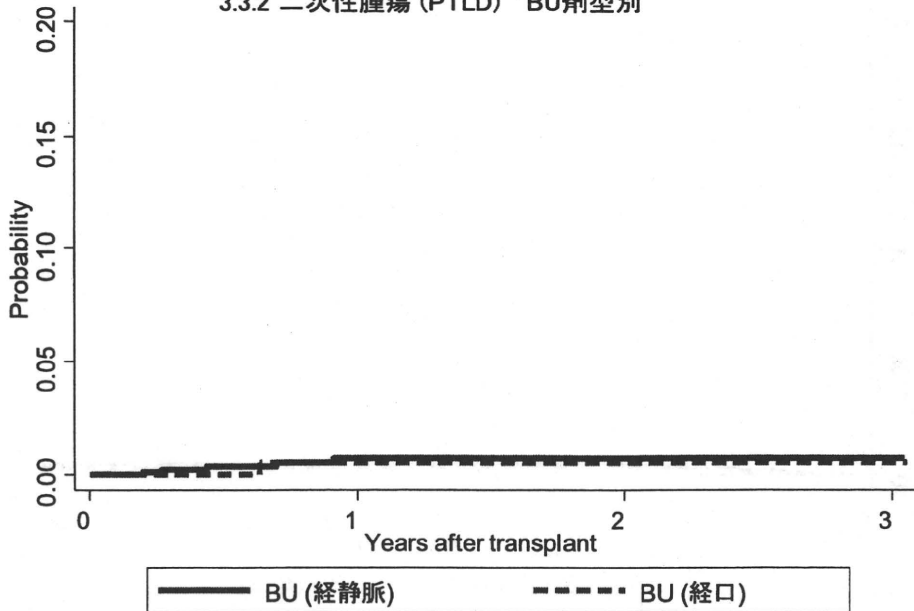
3.3.2 二次性腫瘍(PTLD) 前治療レジメン別



対象レジメン	症例数	移植後 1年			移植後 2年			移植後 3年		
		発現率	95%信頼区間	観察症例数	発現率	95%信頼区間	観察症例数	発現率	95%信頼区間	観察症例数
① BU (iv)+CY	462	0.0%	.	185	0.0%	.	52	.	.	.
② CY+TBI	1911	0.4%	0.2-0.8%	840	0.5%	0.2-1.0%	254	0.5%	0.2-1.0%	3
③ BU (iv)+FL	718	0.8%	0.3-1.8%	246	0.8%	0.3-1.8%	63	0.8%	0.3-1.8%	1
④ FL+TBI	1071	0.3%	0.1-0.8%	416	0.3%	0.1-0.8%	115	0.3%	0.1-0.8%	2

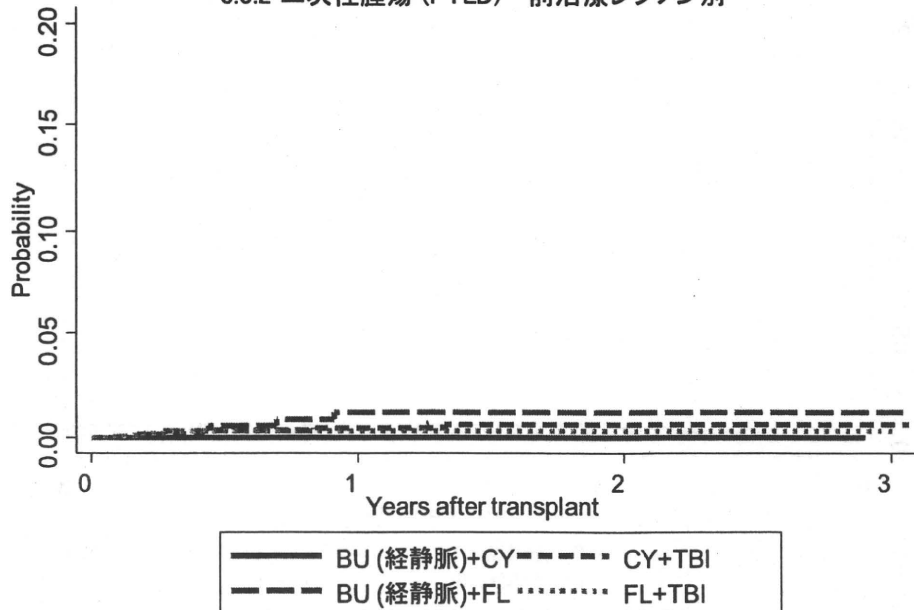
3.3.2 二次性腫瘍 がん腫(PTLD、固形腫瘍、造血器腫瘍)別累積発現率 (PTLD) Kaplan-Meier (KM) 法

3.3.2 二次性腫瘍 (PTLD) BU剤型別



対象レジメン	症例数	移植後 1年			移植後 2年			移植後 3年		
		発現率	95%信頼区間	観察症例数	発現率	95%信頼区間	観察症例数	発現率	95%信頼区間	観察症例数
① BU (経静脈)	1273	0.7%	0.3-1.6%	476	0.7%	0.3-1.6%	124	0.7%	0.3-1.6%	1
② BU (経口)	368	0.5%	0.1-3.5%	156	0.5%	0.1-3.5%	74	0.5%	0.1-3.5%	1

3.3.2 二次性腫瘍 (PTLD) 前治療レジメン別



対象レジメン	症例数	移植後 1年			移植後 2年			移植後 3年		
		発現率	95%信頼区間	観察症例数	発現率	95%信頼区間	観察症例数	発現率	95%信頼区間	観察症例数
① BU (iv)+CY	462	0.0%	.	185	0.0%	.	52	.	.	.
② CY+TBI	1911	0.5%	0.2-1.0%	840	0.7%	0.3-1.4%	254	0.7%	0.3-1.4%	3
③ BU (iv)+FL	718	1.3%	0.5-3.1%	246	1.3%	0.5-3.1%	63	1.3%	0.5-3.1%	1
④ FL+TBI	1071	0.4%	0.1-1.1%	416	0.4%	0.1-1.1%	115	0.4%	0.1-1.1%	2

## 3.4.3 低身長

対象を15歳以下とした。

	カテゴリ区分①		検定
	BU(経静脈)を含むレジメン n=164	BU(経口)を含む レジメン n=30	
低身長無	99 (60.4%)	21 (70.0%)	P=0.79
低身長有	9 (5.5%)	1 (3.3%)	
不明	50 (30.5%)	7 (23.3%)	
未記載	6 (3.7%)	1 (3.3%)	

	カテゴリ区分②				検定
	BU(経静脈) +CY±other drugs n=73	CY+TBI ±other drugs n=232	BU(経静脈) +FL±other drugs n=42	FL+TBI ±other drugs n=133	
低身長無	43 (59.0%)	171 (73.7%)	24 (57.1%)	93 (70.0%)	P=0.18
低身長有	4 (5.5%)	9 (3.9%)	3 (7.1%)	9 (6.8%)	
不明	23 (31.5%)	43 (18.5%)	14 (33.3%)	29 (21.8%)	
未記載	3 (4.1%)	9 (3.9%)	1 (2.4%)	2 (1.5%)	

## 3.4.2 性腺障害

## 男性

	カテゴリ区分①		検定
	BU(経静脈)を含むレジメン n=743	BU(経口)を含むレジメン n=211	
性腺機能障害無	44 (5.9%)	15 (7.1%)	P=0.36
性腺機能障害有	5 (0.7%)	2 (0.9%)	
未検査	466 (62.7%)	118 (55.9%)	
不明	228 (30.7%)	76 (36.0%)	

	カテゴリ区分②				検定
	BU(経静脈)+CY±other drugs n=264	CY+TBI±other drugs n=1116	BU(経静脈)+FL±other drugs n=436	FL+TBI±other drugs n=677	
性腺機能障害無	22 (8.3%)	111 (10.0%)	18 (4.1%)	56 (8.3%)	P=0.01
性腺機能障害有	2 (0.8%)	7 (0.6%)	3 (0.7%)	1 (0.1%)	
未検査	173 (65.5%)	667 (59.8%)	266 (61.0%)	405 (59.8%)	
不明	67 (25.4%)	331 (29.7%)	149 (34.2%)	215 (31.8%)	

## 女性

	カテゴリ区分①		検定
	BU(経静脈)を含むレジメン n=539	BU(経口)を含むレジメン n=161	
性腺機能障害無	44 (8.2%)	18 (11.2%)	P=0.28
性腺機能障害有	28 (5.2%)	8 (5.0%)	
未検査	298 (55.3%)	76 (47.2%)	
不明	169 (31.4%)	59 (36.6%)	

	カテゴリ区分②				検定
	BU(経静脈)+CY±other drugs n=201	CY+TBI±other drugs n=811	BU(経静脈)+FL±other drugs n=287	FL+TBI±other drugs n=408	
性腺機能障害無	12 (6.0%)	58 (7.2%)	27 (9.4%)	42 (10.3%)	P<0.001
性腺機能障害有	10 (5.0%)	91 (11.2%)	14 (4.9%)	17 (4.2%)	
未検査	127 (63.2%)	418 (51.5%)	150 (52.3%)	214 (52.5%)	
不明	52 (25.9%)	244 (30.1%)	96 (33.4%)	135 (33.1%)	

## 3.4.1 甲状腺障害

	カテゴリ区分①		検定
	BU(経静脈)を含むレジメン n=1283	BU(経口)を含むレジメン n=372	
正常	268 (20.9%)	62 (16.7%)	P=0.05
機能亢進	4 (0.3%)	0 (0.0%)	
機能低下	20 (1.6%)	5 (1.3%)	
未検査	698 (54.4%)	195 (52.4%)	
不明	293 (22.8%)	110 (29.6%)	

	カテゴリ区分②				検定
	BU(経静脈) +CY±other drugs n=465	CY+TBI ±other drugs n=1927	BU(経静脈) +FL±other drugs n=723	FL+TBI ±other drugs n=1085	
正常	103 (22.2%)	514 (26.7%)	129 (17.8%)	266 (24.5%)	P<0.001
機能亢進	3 (0.7%)	4 (0.2%)	1 (0.1%)	0 (0.0%)	
機能低下	7 (1.5%)	43 (2.2%)	10 (1.4%)	21 (1.9)	
未検査	261 (56.1%)	950 (49.3%)	401 (55.5%)	555 (51.2%)	
不明	91 (19.6%)	416 (21.6%)	182 (25.2%)	243 (22.4%)	

## CGD 遺伝子治療の臨床試験対象者の選択基準の作成にあたって

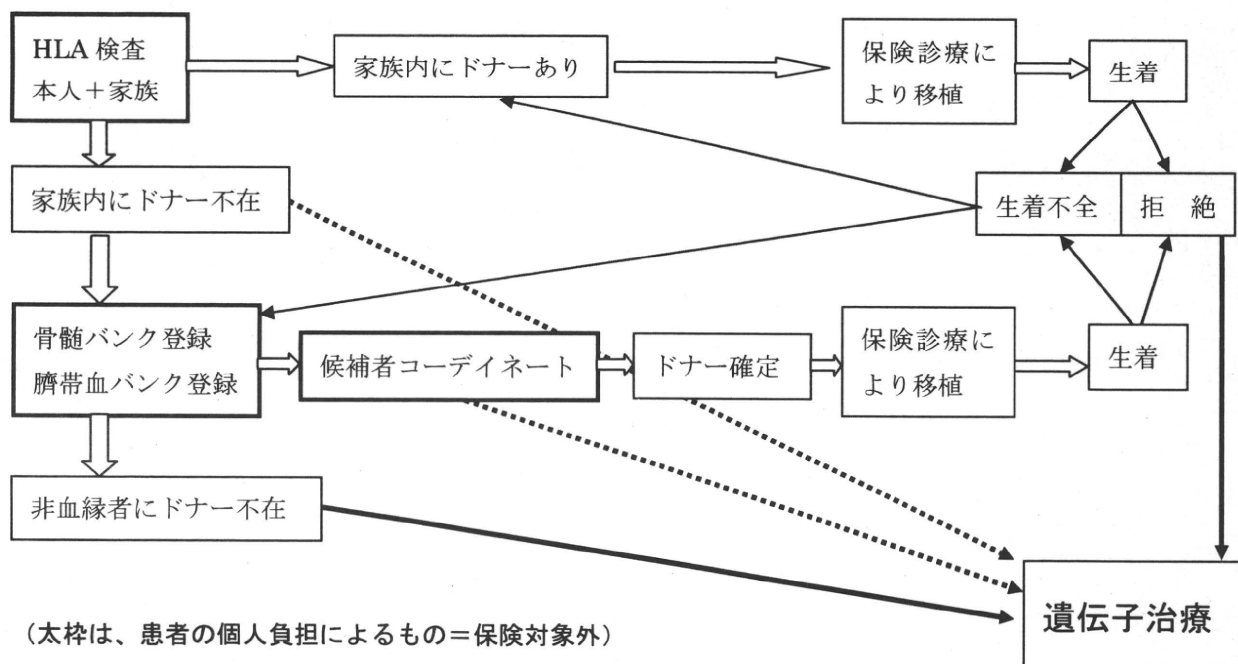
同種造血幹細胞移植を優先させる条件（個人アンケートによる）

（骨髄移植推進財団の移植認定施設（診療科）の専門医を対象に調査）

移植の種類	医師A 小児医療専門施設	医師B 特定機能病院	医師C 総合病院
血縁骨髄	1 抗原不一致	1 抗原不一致	一致
非血縁骨髄	DRB1 の 1 箇所不一致	1 抗原不一致	一致
非血縁臍帯血	2 抗原不一致	2 抗原不一致	GT 採用も可か

- ・ 医師 A および医師 B は、HSV-TK DLI 療法臨床試験の主要メンバーであり、小児を対象とした遺伝子治療の経験を有する。
- ・ CGD 遺伝子治療に対するイメージの個人差が大きい。
- ・ 積極的適応基準と、希望があるならば引き受けるという両方向のスタンスがある。  
（「学術研究」の側面と「患者に提供できる実践上の選択肢」の側面）

## CGD 遺伝子治療適応者の抽出アルゴリズム（2010 年案）





## 慢性肉芽腫症の遺伝子検査の倫理的配慮について

研究分担者 奥山虎之 国立成育医療研究センター 臨床検査部 部長

### 研究要旨

旧来の遺伝関連 10 学会による遺伝学的検査ガイドライン（10 学会ガイドライン）と 2011 年 2 月に日本医学会から発表された遺伝学的検査・診断に関するガイドライン（医学会ガイドライン）の比較検討をもとに、慢性肉芽腫症の遺伝学的検査のあり方を検討した。遺伝学的検査は、発症者の確定診断として有用であり、医学会ガイドラインにより適切なインフォームドコンセントを取得して診断を行うことが適切である。

### A. 研究目的

近年、医療の様々な場面で、遺伝学的検査が広く用いられるようになったが、臨床的な遺伝学的検査における倫理的配慮については、これまで限られた遺伝学関連 10 学会の学会員を対象としたガイドラインの他に参考となるべきものはわずかであった。実際、10 学会ガイドラインは、遺伝学的検査のリスクを強調するあまり、遺伝学的検査が広く日常診療で行うことの障壁となっていた。この問題を解決するために、日本医学会は、新たなガイドラインを 1 年間かけて作成した。上記の背景をもとに、本研究では、旧来の遺伝関連 10 学会による遺伝学的検査ガイドライン（10 学会ガイドライン）と 2011 年 2 月に日本医学会から発表された遺伝学的検査・診断に関するガイドライン（医学会ガイドライン）の比較検討をもとに、わが国の実情に即した遺伝病診断ガイドラインのあり方について検討し、これらの検討を通じて慢性肉芽腫症の遺伝学的検査施行時の倫理的配慮について検討する。

### B. 研究方法

旧来の遺伝関連 10 学会による遺伝学的検査ガイドライン（10 学会ガイドライン）と 2011 年 2 月に日本医学会から発表された遺伝学的検査・診断に関するガイドライン（医学会ガイドライン）のそれぞれ該当する部分を抽出し、その変化を明らかにする。

さらに、その変化が、慢性肉芽腫症の遺伝学的検査施行時に与える影響について検討する。

### （倫理面への配慮）

本研究では、特に倫理面での問題はない。

### C. 研究結果

#### 1. 医学会ガイドラインの概要

1) 遺伝学的検査の適用範囲については、DNA や RNA の検査だけでなく、遺伝生化学的検査、染色体検査も含まれる。

2) 医学会ガイドラインは、アンブレラであるという立場を明確にし、診療科別のガイドラインやマニュアルは、各医学会分科会が作成することを推奨している。

3) 医学会ガイドラインでは、遺伝学的検査実施上の留意点（倫理的配慮）を遺伝学的検査の用途に即して示した。特記すべきことは、すでに発症している患者の診断を目的として行われる遺伝学的検査については、検査の説明は、主治医が行うこととし、10 学会ガイドラインが義務づけていた検査前の遺伝カウンセリングは、必要に応じて行うこととした点である。

#### 2. 慢性肉芽腫症の遺伝学的検査

医学会ガイドラインをもとに慢性肉芽腫症の遺伝学的検査の在り方を検討した。慢性肉芽腫症の診断には、緊急を要する場合が少なくないので、事前に

遺伝カウンセリングを行うために不必要な時間をとられて、診断および治療が手遅れになることは極力避けなければならない。また、本疾患はX連鎖性劣性遺伝病であり、母親が保因者となっている場合がほとんどである。出生前診断も考慮される重篤な疾患である。しかし、現在造血幹細胞移植が可能となり、さらに遺伝子治療が安全に行われるようになれば、出生前診断の意義も変わっていくことが考えられる。

#### **D. 考察**

近年のゲノム医学の進歩により、今日、多くの遺伝学的検査が日常診療の中に組み入れられている。しかし、一般の臨床医を対象とした遺伝学的検査のガイドラインは我が国ではこれまで示されてこなかった。そのため、遺伝学関連 10 学会が編纂した「遺伝学的検査ガイドライン」を参考に対応している現状があったが、10 学会ガイドラインは、すべての遺伝学的検査について、検査前に十分な遺伝カウンセリングを行うことを要求しており、慢性肉芽腫症のような迅速な診断・治療を行う必要のある疾患のガイドラインとしては極めて不適切であった。今回の医学会ガイドラインは、この点の改良がみられ、慢性肉芽腫症にも適用できるガイドラインとなっている。ただし、医学会ガイドラインは、医学会分科会が今後作成するガイドラインで、個々の疾患について記載する必要がある。

#### **E. 結論**

医学会ガイドラインに基づく遺伝学的検査が、慢性肉芽腫症の確定診断および出生前診断に有用である。

#### **F. 健康危険情報**

なし

#### **G. 研究発表**

なし

#### **H. 知的財産権の出願・登録状況**

該当なし

分担研究報告書

遺伝子治療臨床研究における臨床データの管理

研究分担者	瀧本哲也	国立成育医療研究センター臨床研究センター臨床研究推進室長
研究協力者	河合利尚 渡部 静	国立成育医療研究センター内科系専門診療部免疫科 国立成育医療研究センター臨床研究センター治験推進室

**研究要旨**

国立成育医療研究センターで計画されている慢性肉芽腫症（chronic granulomatous disease; CGD）に対する遺伝子治療研究の実施の際に用いられる Case Report Form (CRF) を、研究の特異性を考察して作成した。作成した CRF は、「登録票」ほか計 15 種であり、その他に「検査スケジュール」、「患者用スケジュール」も作成した。作成にあたっては、通常の臨床試験の場合と同様の注意事項とともに、遺伝子治療に特徴的な事情（登録プロセス、特殊検査、有害事象など）にも対応することが求められた。本年度に作成した CRF は、他の先進的な臨床試験にも応用でき、また、これを今回の遺伝子治療研究で実際に使用して得られる経験に基づいて、今後さらに改善していくことも可能であると考えられる。

**A. 研究目的**

国立成育医療研究センター臨床研究センターでは、小児領域のさまざまな疾患分野の臨床試験および臨床研究の支援が可能な体制の構築を目指している。

このような活動の一環として、国立成育医療研究センターで計画されている慢性肉芽腫症（chronic granulomatous disease; CGD）に対する遺伝子治療研究について、これまで研究計画書作成の補助等を行ってきた。

本年度は、遺伝子治療実施の際に用いられる Case Report Form (CRF) を、治療の特異性を考察して作成することを目的とする。

**B. 研究方法**

遺伝子治療臨床研究実施計画書（以下、研究計画書）の記載内容や「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」をふまえ、臨床研究センター（臨床研究推進室および治験推進室）が遺伝子治療実施チーム（国立成育医療研究センター免疫科）と協議したうえで、CRF を作成する。

（倫理面への配慮）

遺伝子治療そのものは、遺伝子治療臨床研究に関する指針（平成 20 年 12 月 1 日一部改正；以下、「指針」）を遵守して実施される。取り扱う患者データには、遺伝子解析結果なども含まれるため、データセンターでも指針に従った臨床データ管理を行う。すなわち組織的安全管理措置（国立成育医療研究センターの保有個人情報管理規定など）のもとで、人的安全管理措置（データ管理業務担当者との個人情報非開示契約の締結、個人情報の取扱いにかかわる教育など）、物理的安全管理措置（二重ロックのデータセンター内イントラネット、入退室管理、無停電装置設置など）、技術的安全管理措置（システムのファイアウォールによる保護、ユーザー認証、不正ソフトウェア対策、データの定期的バックアップなど）を講じている。

**C. 研究結果**

作成した CRF は、「登録票」、「被験者情報」、「G-CSF」、「ベースライン」、「前処置」、「遺伝子導入細胞投与日」、「投与後 1 日」～「投与後 7 日」、「投与後 2 週」～「投与後 8 週」、「有害事象」、「併用療法」、「併用薬」、「特殊検査」、「画像検査」、「安全性評価」、「有

効性評価」の15種類27枚であり、この他に「検査スケジュール」、「患者用スケジュール」も作成した。

「登録票」は通常の臨床試験の症例登録票と基本的に同じである。したがって患者の適格性を確認する目的で、研究計画書に記載されている選定基準/除外基準項目が記載されている。ただし、登録票を記入するのは施設から患者の紹介を受けた国立成育医療研究センターの医師であるが、それだけで登録されるのではなく、登録票が遺伝子治療臨床研究適応判定委員会に提出される判定資料のひとつとなるのが、通常の臨床試験の場合と異なっている。それゆえ、この「登録票」には遺伝子治療臨床研究適応判定結果の記載欄を設け、判定が適格である場合のみ、本研究の登録票として有効となるようにした。

「被験者情報」には、適格と判定され、本研究に登録された症例について、適格性判定項目の補助情報（インフォームドコンセント（IC）の状況やアレルギー歴の詳細など）、遺伝子解析結果、HLA 検査結果、および有効性に関する評価のための基礎データ（登録前の重症感染症や学校・職場への出席状況、好中球活性酸素産生能など）の記載欄を設けた。特にICについては、研究計画書の記載に従い、同意取得が説明日から1週間以上経過していること、アセント取得状況、患者本人の同意取得の有無および同意取得なしの理由などが確認できるものとした。

以後のCRFは、医療行為が実際に開始されてからの医学的情報を収集する。

「G-CSF」は、患者末梢血からのCD34陽性細胞採取時に用いるもので、G-CSF投与前日から幹細胞採取日までの数日間について、1日ずつ記録する。内容はG-CSF投与や幹細胞採取前後のバイタルサインの変化等が主となる。

「ベースライン」は、遺伝子導入細胞を患者に投与するための自家末梢血幹細胞移植手技のうち、前処置開始時の状態を記録する。診察所見や画像検査を含む感染症チェックのための項目のほか、有効性に関する評価のために治療前値としての好中球機能、gp91phox

発現検査の記載欄を設けた。

「前処置」は、遺伝子導入細胞投与の4日前から始まるブスルファン療法のためのCRFである。投薬の記録や重症感染症の有無などの通常どおりの記載欄に加えて、自己幹細胞の再輸注に先だって野生型ウイルス（replication competent retrovirus; RCR）混入がないことを確認しておく目的で、Env 遺伝子の増幅検査（PCR法）結果の記載欄を設けた。

「遺伝子導入細胞投与日」～「投与後7日」までは集中的な観察が必要と考えられるため、CRFは1日ごととした。この時期は、好中球減少期であるため、感染症徴候のチェック項目が中心となる。

「投与後2週」以降のCRFは、研究計画書に規定された観察頻度をふまえて作成した。内容は「投与後〇日」報告書に準じるが、末梢血好中球の回復時期を見計らって、導入遺伝子コピー数、Env 遺伝子の増幅、好中球機能、gp91phox 発現検査の記載欄を設けた。

有害事象は、治療経過のCRFごとに収集するのではなく、「有害事象」専用のCRFで一括し、有害事象発生時に迅速に対応できるようにした。記載される内容は、有害事象の発現日、重症度、処置の内容、治療との因果関係などである。

「併用療法」、「併用薬」は、併用した処置や薬剤、併用理由、投与量、投与期間などを記載するもので、通常の臨床試験の場合と特に違いはない。

「特殊検査」は、導入遺伝子コピー数、Env 遺伝子の増幅、好中球機能、gp91phox 発現検査、「画像検査」はCT、超音波、消化管内視鏡、PET-CT 検査について、CRFの規定以外の時期に施行された結果を記載するために作成した。

「安全性評価」は、研究計画書に記載された安全性評価項目について、遺伝子導入細胞（無菌性検査、マイコプラズマ検査、エンドトキシン検査、Env 遺伝子の増幅）および患者（薬物有害反応判定基準項目のチェック等）ごとに記載する。

「有効性評価」は、同じく遺伝子導入細胞（遺伝子導入効率）、患者（感染症/CGD症状）ごとに有効性

評価項目について記載する。

「検査スケジュール」および「患者用スケジュール」は、治療現場、患者の双方の便宜のために、本研究における予定された検査や処置について経時的に図示したものである。

#### D. 考察

CGD は重篤な細菌性あるいは真菌性の感染症を繰り返す、諸臓器に肉芽腫性病変を形成する先天性免疫不全症で、これまで造血幹細胞移植が唯一の根治的治療とされてきた。しかし、全身状態不良、適当なドナーが不在などの理由で造血幹細胞移植の適応とならない例も存在している。国立成育医療研究センターで計画されている遺伝子治療は、このような症例を対象とするものであるが、CD34 陽性細胞の採取、標的細胞への遺伝子導入、自家末梢血幹細胞移植前後の管理など種々の特殊な医療技術を要する。

また臨床試験としてみた場合にも、遺伝子治療に特異的と思われる事柄が多い。

①遺伝子治療の対象となる患者は、もとの入院施設での仮同意を得て国立成育医療研究センターへ紹介されるが、研究への登録には、主治医の判定や患者の同意だけでなく、遺伝子治療臨床研究適応判定委員会による適応判定が必要なこと

②適格性判定が難しい項目(例えば「体重(1kg)あたり $5 \times 10^6$  個の CD34 陽性細胞が回収可能と思われる症例」、「最低 3 ヶ月以上の生存が可能と推測される」、「移植の適応とならない理由」、「感染症の治癒を目指した抗菌剤等の投与を行っても、症状が軽減しない、あるいは病状が進行する」など)があること

③自己幹細胞の輸注に先だって野生型ウイルスの混入がないことを確認する必要があること

④遺伝子治療後に特殊な手法(患者末梢血の遺伝子導入細胞数や好中球活性酸素産生能の測定など)で有効性を確認すること

⑤CD34 陽性細胞の採取や末梢血幹細胞移植関連、あるいはベクターのウイルスの病原性発現や癌化など、通

常の臨床試験では生じにくい有害事象があること

⑥長期的な観察を要する観察項目(遺伝子治療後の CGD 特有の感染症、外来受診や入院回数、学校・職場などへの欠勤数等の治療前後比較、白血病発症、不妊等)があることなどである。

CRF は臨床情報を収集するための用紙であり、モニタリングを行うためにも重要である。また、特に先進的な医療の場合には、各種の審査の資料にもなる。作成にあたっての注意事項(研究計画書に規定された有効性・安全性の評価に必要な項目を網羅する、効率的である等)は通常臨床試験の場合と同様と考えられる一方で、先述のような遺伝子治療に特徴的な事情にも対応することが求められた。このため、結果的に臨床医や CRC が臨床現場で書ける部分と、特殊な検査が終了した後でなければ書けない部分が 1 枚の CRF 内に混在する形となった。

また、有害事象の発生時には、指針の規定に則って、総括責任者を介して速やかに実施施設長に報告し、遺伝子治療臨床研究評価委員会に諮らなければならない。このため、有害事象報告は、迅速な事態の把握を容易にするため、個々の治療経過の CRF とは分離させた。ただし、治療経過の CRF にも「有害事象あり」のチェック項目を設けて、後の整合が容易にできるようにした。

遺伝子治療研究のように、きわめて高度で先進的な臨床試験は、先天性疾患を含む難治性疾患の機序解明や診断・治療法の開発を使命とする国立成育医療研究センターにおいて、今後増加してくるものと思われる。本年度に作成した CRF は、他の先進的な臨床試験にも応用でき、また、これを今回の遺伝子治療研究で実際に使用して得られる経験に基づいて、今後さらに改善していくことも可能であると考えられる。

#### E. 結論

国立成育医療研究センターで計画されている慢性肉芽腫症に対する遺伝子治療研究の実施の際に用いられる CRF を、研究の特異性を考察して作成した。

作成にあたっては、通常の臨床試験の場合と同様の注意事項とともに、遺伝子治療に特徴的な事情にも対応することが求められた。

本年度に作成した CRF は、他の先進的な臨床試験にも応用可能であると考えられる。

#### **F. 研究危険情報**

特になし

#### **G. 研究発表**

##### **1. 論文発表等**

なし

##### **2. 学会発表等**

なし

#### **H. 知的財産権の出願・登録状況**

##### **1. 特許取得**

なし

##### **2. 実用新案登録**

なし

##### **3. その他**

なし

慢性肉芽腫症に対する遺伝子治療実施体制の構築

研究分担者 小野寺雅史 国立成育医療研究センター 成育遺伝研究部 部長

**研究要旨**

現在、成育医療研究センター（病院、研究所、臨床研究センター）では、小児難治性疾患の一つである慢性肉芽腫症に対する造血幹細胞遺伝子治療を計画している。本年度は、当該遺伝子治療の対象者としての選定基準に関する造血幹細胞移植の適当基準の検討と遺伝子治療で使用される遺伝子治療に特化された細胞調製室の整備を行った。これらの研究を進めることで慢性肉芽腫症に対する造血幹細胞遺伝子治療は可能となり、また、そこで得られる知見、技術は難治性成育疾患に対する新たな治療法の開発に繋がるものと思われる。

**A. 研究目的**

近年、小児難治性疾患に対して、患者造血幹細胞を用いた遺伝子治療が一定の治療効果を上げている。特に、アデノシン・デアミナーゼ欠損症では適当な HLA 一致ドナーがいない患者に対して治療法の一つと認識されている。ただ、我が国の実情を鑑みるとき、遺伝子治療に関する基礎的技術等は優れているものの、それら知見を臨床の場で応用する体制が整っておらず、欧米諸国と比較した場合、遺伝子治療の実施数は極端に少ない。

そこで、本研究の目的は小児難治性疾患に対する遺伝子・細胞治療を円滑に進めるための基盤整備を行うことであり、具体的には、現在、当センター（病院、研究所、臨床研究センター）が実施する慢性肉芽腫症遺伝子治療の申請書の作成と遺伝子治療臨床研究において使用される細胞調製室の整備を行うことにある。

**B. 研究方法**

1.慢性肉芽腫症における幹細胞移植の適応基準

慢性肉芽腫症の根治療法は、HLA が一致した造血幹細胞移植と考えられているが、これら適当なドナーが見つかる確率は全体の 1/3 程度であり、また、慢性肉芽腫症の場合、患者リンパ球系免疫能が正常であることから移植に際して強力な前処置が必要

となる。そこで、布井・水上（宮崎大）がまとめた現在までの我が国で行われた慢性肉芽腫症に対する造血幹細胞移植の結果（慢性肉芽腫症研究の新展開 日本臨床免疫学会会誌 301:1-10,2007）を検討し、その適応条件を勘案した。

2.遺伝子導入細胞調製室の整備

今回の遺伝子治療では、患者造血幹細胞を G-CSF 刺激患者末梢血から CD34 陽性細胞として採取し、それら細胞にレトロウイルスベクター（MFGSgp91phox）を用いて慢性肉芽腫症の治療遺伝子 CYBB を導入し、再び患者静脈より投与するものである。このため、国が定める指針（「医薬品の臨床試験の実施の基準に関する省令（平成 9 年厚生省令第 28 号）」第 17 条第 1 項）において求められる水準に達している施設において製造され、その品質、有効性及び安全性を確認する必要がある。このため、これら基準を満たす細胞調製室の設置準備を研究所内で始めた。

**（倫理面への配慮）**

本研究では、特に倫理面での問題はない。

**C. 研究結果**

1.慢性肉芽腫症における幹細胞移植の適応基準

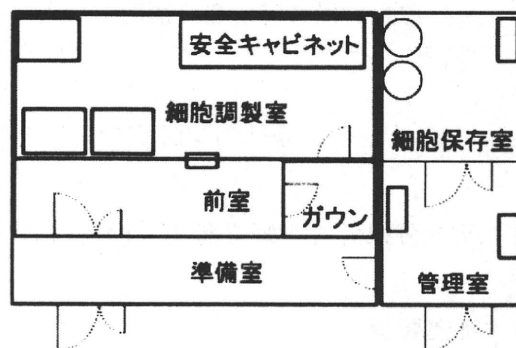
現在、慢性肉芽腫症に対する造血幹細胞の移植基

準としては、「重症感染症を反復罹患し、かつ、HLA 一致血縁あるいは非血縁ドナーがいる」ことが上げられる(慢性肉芽腫症に対する造血幹細胞移植ガイドライン [http://pidj.rcai.riken.jp/medical\\_guideline091221.html](http://pidj.rcai.riken.jp/medical_guideline091221.html))。ただ、HLA 一致ドナーが得られる可能性は低く、これらドナーが得られない場合は HLAB1 の遺伝子型一座不一致非血縁ドナーか臍帯血がドナーとして考慮される。しかし、実際には移植の症例数が少ないことから、安全性、有効性の面で不明な点が多い。

そこで、布井、水上が全国の慢性肉芽腫症に対する幹細胞移植の成績を集計したところ、現在まで全国で34名の慢性肉芽腫症患者に対して38回の移植が行われ、そのうち、骨髄由来の移植が27回、臍帯血由来の移植が7回、末梢血由来の移植が4回行われていた。また、HLA の A、B、DR の6遺伝子に関して完全一致例は24回、5/6一致で8回、4/6一致以下で6回の移植が行われていた。治療成績は、移植時の全身状態や前処置の違いのより評価は難しいところであるが、血縁、非血縁を問わず HLA が完全に一致した骨髄血由来移植では20例中19例で移植が成功している。一方、HLA が一遺伝子異なる場合(5/6)、治療成績は50~60%と低下する。このため、現時点で慢性肉芽腫症に対する幹細胞移植は HLA として5/6以上一致したドナーがいる場合が優先され、それ以外の場合に遺伝子治療の適応が考慮されることになる。

## 2. 遺伝子導入細胞調製室の整備

細胞調製室は研究所5階の実験室5-2に整備された。その広さは8m x 6mの実験室を改装して整備され、そこに安全キャビネット、CO<sub>2</sub>インキュベーター、遠心機等を設置した。また、この培養調製室は前室、器材保管スペースを有している。また、培養室のとなりの部屋(内部ドアを通して出入りが可能)に SOP (standard operating procedure) などの書類等を保管する保管室ならびに細胞・ウイルス等を保存する細胞保存室も同様に整備する。これらは、国が定める基準を十分に満たすものであり、遺伝子治療における安全な細胞調製が可能になると思われる。具体的に見取り図は以下の通りである。



## D. 考察

現在、当センターでは慢性肉芽腫症に対する造血幹細胞遺伝子治療を計画しているが、その実施に際しては施設全体の支援体制が必須である。本研究では、実施計画書作成の際に必要な慢性肉芽腫症に関する移植適応基準ならびに実際の遺伝子治療の際に使用される細胞調製室の整備に関する研究を行った。

### 1. 慢性肉芽腫症における幹細胞移植の適応基準

これまで全国で行われてきた38回の慢性肉芽腫症に対する幹細胞移植の治療成績を検討したところ、血縁、非血縁に関わらず HLA 一致ドナーからの移植ではその成功率は90%を超える。ただ、HLA が一遺伝子異なった場合は、その治療成績は50~60%と著しく低下する。このように HLA 一致度は移植性成績に多大な影響を与えるため、現時点での移植の適当基準はアリルレベルで5/6以上一致ドナーが求められ、それ以下の場合には今回の遺伝子治療を含めて、治療方針の再選択がなされるべきである。

### 2. 遺伝子導入細胞調製室の整備

現在、「ヒト幹細胞を用いる臨床研究に関する指針」や「遺伝子治療臨床研究に関する指針」の定めるところでは、ヒトに投与する細胞の採取、調製及び移植又は投与の過程は、「薬事法」(昭和35年法律第145号)、「医療機関における自家細胞・組織を用いた再生・細胞医療の実施について」(平成22年医政発0330第2号)等の関係規定を遵守した上で、適正に実施されなければならない」とある。この点から考えて、今回、設置の準備を進めている細胞調製室は国が定める GMP 基準を満たすと思われる。その安全性は担保されていると思われる。今後は、これら細胞調製室内での Dry Run を複数回行い、その有効性・安全性を確認していく。



#### E. 結論

慢性肉芽腫症に対する幹細胞移植の適応基準が検討された。また、遺伝子治療のための細胞調製室が準備された。今後は、この研究結果を基に慢性肉芽腫症に対する遺伝子治療臨床研究を開始する。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

論文

- 1) Tozuka Y, Kumon M, Wada E, Onodera M, Mochizuki H, Wada K: Material obesity impairs hippocampal BDNF production and spatial learning performance in young mouse offspring. *Neurochem Int* 57: 235-247, 2010.
- 2) Hirata Y Hamanaka S, Onodera M: Transactivation of the dopamine receptor 3 gene by a single provirus integration results in development of B cell lymphoma in transgenic mice generated from retrovirally transduced embryonic stem cells. *Blood* 115: 3930-3938, 2010.
- 3) Miyamoto N, Tanaka R, Shimura H, Watanabe T, Mori H, Onodera M, Mochizuki H, Hattori N, Urabe T: Phosphodiesterase III inhibition promotes differentiation and survival of oligodendrocyte progenitors and enhances regeneration of ischemic white matter lesions in the adult mammalian brain. *J Cereb Blood Flow Metab* 30: 299-310, 2010

学会発表

小野寺雅史 遺伝子治療における我が国と欧米の違い 第1回国際協力遺伝病遺伝子治療フォーラム (特別講演), 東京, 2011.1.26

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし

慢性肉芽腫症に対する幹細胞遺伝子治療臨床応用に関する研究

研究分担者 岡田（岩田）真由美 東京都立東大和療育センター小児科 医師

**研究要旨** 本研究の主任研究者らは、平成19年度より厚生労働科学研究費補助金子ども家庭総合研究事業「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に関する研究」において、種々の理由で造血幹細胞移植を受けられないX連鎖慢性肉芽腫症(X-CGD)に対する遺伝子治療臨床研究実施の準備を行ってきた。過去に重大な有害事象が見られていない米国立衛生研究所(NIH)のMalech博士らが作製したレトロウイルスベクターを用いて、日本・米国・欧州の国際多施設共同臨床研究を行う。本年度は、実施計画書および臨床研究参加候補者に対する説明書類を臨床研究実施施設である国立成育医療研究センター内の遺伝子治療臨床研究審査委員会(Institutional Review Board: IRB)に提出し審査を受け承認された。

**A. 研究目的**

造血幹細胞を標的としたレトロウイルスベクターを用いた遺伝子治療をX連鎖慢性肉芽腫症の患者に対して実施し、わが国の難治性小児先天異常症に対する遺伝子治療臨床研究実施体制を確立する。

**B. 研究方法**

- 1) 慢性肉芽腫症に対する遺伝子治療臨床研究は、海外では1995年から開始され、これまで24名に対し25回行われた。平成21年度に引き続き、各国の遺伝子治療被験者の経過等について情報収集を行い、新規の有害事象の発生がないか調査する。
- 2) 平成21年度に完成させた遺伝子治療実施計画書および被験者説明書類(informed consent:IC)を遺伝子治療臨床研究実施施設である国立成育医療研究センターの遺伝子治療臨床研究審査委員会(IRB)に提出し審査を受ける。
- 3) 米国NIHのDr. Malechらが製造したレトロウイルスベクター-MFGS-gp91のウイルス上清は使い終わったため、本研究で使用するウ

イルスベクターは米国との共同出資で製造する。ウイルスベクターの安定供給のための体制を確立する。

**(倫理面への配慮)**

本研究の実施計画書および説明文書は、「遺伝子治療臨床研究に関する指針」を遵守して作成し、国立成育医療研究センターの遺伝子治療臨床研究審査委員会において科学的および倫理的妥当性について慎重に審議された。

**C. 研究結果**

- 1) 平成21年度の本研究の報告書に記した以降、各国の慢性肉芽腫症の遺伝子治療被験者で新たに発生した有害事象は報告されていない。
- 2) 平成22年5月31日に第1回の遺伝子治療臨床研究審査委員会(IRB)が国立成育医療研究センターにおいて行われた。IRBに先立ち各委員による事前評価があった。事前評価で安全性、有効性、被験者の選定基準と除外基準、ICの記載の仕方や同意の取得方法、同意の取得の体制、ICにおける危険の開示等につ

いての質問があった。本研究の主任研究者小野寺国立成育医療研究センター研究所成育遺伝研究部部長が委員会で回答するとともに後日文書で回答を行った。平成22年12月21日には第2回委員会が行われ、最終的に平成23年2月24日付けで実施計画書がIRBにより承認された。今後は厚生労働省厚生科学課厚生科学審議会科学技術部遺伝子臨床研究作業委員会で審議される。

3) 平成22年10月中旬に、米国インディアナ大学医学部内にある National gene vector biorepository (NGVB) の Cornetta 教授に本研究で使用するレトロウイルスベクターの製造を NIH と共同出資という条件で依頼した。

#### D. 考察

レトロウイルスベクターを用いた遺伝子治療の実施についての考え方は国によって違いがある。欧州では危険と利益を慎重に検討し患者にとって利益が大きいと判断された場合は、たとえ有害事象が起こったベクターであっても使用されている。当該遺伝子治療臨床研究で使用される MFGS-gp91 も、レトロウイルスベクターである以上、ベクターゲノムの挿入は避けられない。当該遺伝子治療臨床研究の IRB でも、遺伝子治療によって発癌の可能性を否定できないことを被験者にどのように説明し同意を取得するかという質問が大きな焦点となった。また、当該遺伝子治療臨床研究は欧米との共同研究であるが、国によって被験者の選定基準が若干違う。本研究で HLA 一致造血幹細胞移植ができない症例に対し、臍帯血移植ではなくなぜ遺伝子治療を選ぶのか、遺伝子治療の方が安全性の点で優位である証拠を示す必要がある。そのためにこれまでも実施してきたが、国内の臍帯血移植を含む造血幹細胞移植の成績を引き続き全国の移植実施施設の協力のもと集計しデータをだし

ていくことが重要である。一昨年はレンチウイルスベクターを使用した副腎白質ジストロフィー (ALD) に対する遺伝子治療、昨年はレトロウイルスベクターを使用した Wiskott-Aldrich 症候群 (WAS) に対する遺伝子治療の成果報告があった。遺伝子導入細胞に selective advantage がある WAS と CGD の遺伝子治療を単純比較はできないが、ALD の遺伝子治療で骨髄破壊的前処置を行って成功したことは今後の遺伝子治療研究の進む方向に何らかの影響があるかもしれない。

#### E. 結論

X-CGD 患者は、難治性の重症感染症に反復して罹患し、その寿命は30歳前後と言われている。本邦での遺伝子治療の実施を待ち望みながら感染症で死亡した患者もいる。他の先天性異常症に対する治療法の研究推進のためにも当該遺伝子治療臨床研究を開始し知見を積み上げることが重要である。

#### F. 健康危険情報

総括研究報告書に記載のとおり。

#### G. 研究発表

1. 論文発表  
該当なし。
2. 学会発表  
該当なし。

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

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

### Ⅲ. 遺伝子治療臨床研究審査委員会関係