

6. CGD 腸炎や自己免疫性疾患のひどい症例でも、遺伝子治療を行う理由になるのか。

CGD 腸炎が幹細胞移植により改善することから、ステロイド治療にも抵抗する難治性の肉芽腫症（CGD 腸炎など）も今回の遺伝子治療に含めたいと思います。

7. 「造血幹細胞移植による治療ができない場合」について、もって具体的で正確な記述が必要ではないか。

ご指摘の通り、「造血幹細胞移植による治療ができない場合」を、以下のように変更致します。

「DNA typing により 5/6 以上の HLA 一致の移植ドナーが見つからない症例」に変更致しました。

8. 中止判定基準、選定基準の中の「なんらかの理由」について具体的に明記した方がよいのではないか。

不明瞭な表現で申し訳ありません。「なんらかの理由」は「外部評価委員会からの中止要請」があった場合を想定しておりましたので、そのような表現に改めます。

「外部評価委員会等から中止要請がなされた場合」

9. 選定基準に「3ヶ月以上生存が望めること」とあるが、この期間の設定した根拠は何か。これは安全性や有効性の評価に十分な期間なのか。

「3ヶ月以上生存が望まれる症例」は通念的な表現で、今ある病状が急激な変化を遂げる可能性は少なく、これにより短期間のうちに死亡することは少ないと思われる症例です。この期間が十分であるかはわかりませんが、臨床研究の安全性、有効性を評価する上では必要な期間を考えております。ただ、選定基準の項目に入れるのが適切かわかりませんので、除外基準の方に「長期（3ヶ月程度）の生命予後が見込まれない症例」と入れさせていただきました。

10. 除外基準（9-2-1）に脾腫を加えるべきではないか。

慢性肉芽腫症において、脾腫の発症はほとんど起こりません。すいませんが、その理由を教えてくださいませんか。

11. 以前に移植を受けて、拒絶された患者さんは除外されないのか。

今回の遺伝子治療臨床研究では、移植の拒絶例は対象として想定していません。

・その他

1. 緊急的に造血幹細胞移植を行うとあるが、これは遺伝子治療適応基準の「造血幹細胞移植による治療ができない場合」との間に矛盾するのではないか

選定基準における移植ドナーの定義は、「DNA typing で HLA が 5/6 以上一致の移植ドナーがいない症例」としています。このため、緊急的な幹細胞移植においては、臍帯血を含め HLA が 4/6 以下の一致のドナーからの移植を考えています。

2. 9-6-5-3 で「HLA 不完全一致」ではなく、「HLA 部分一致」と記載すべきではないか。また、緊急移植が念頭にあるのであれば、HLA 検査も事前項目に含めるべきではないか。

「HLA 不完全一致」を「HLA 部分一致」に訂正します。また、HLA 検査に関しては、遺伝子治療の前に移植を前提に検査がなされると思われます。その意味で、遺伝子治療の適否の段階で、患者さんの HLA 検査はすでにあるものと思われ、改めて HLA 検査を事前項目に含める必要はないかと思いません。

3. 10-2-8 の「参照、質問」については研究実施計画書にも具体的に相談窓口を記載すべきではないか。

実施計画書にも追記します。

4. IC5 ページ目の「以下の点」にプライバシーの保護をいれるべきではないか。

IC2 版 p 12 「11. プライバシーの保護について」項目を追記しました。

5. IC6 ページ目、セカンドオピニオンの相手は原則、研究グループから指定できないのではないかと指摘の通りです。IC2 版では削除致しました。

6. ページ 7 と 50、実施期間：実施期間は前者では 5 年、後者では 3 年となっている。どちらが正しいか。

実施期間は 5 年です。訂正いたします。

7. 知的財産権の記載がない

IC2 版 p12 「12.知的財産権の帰属について」の項目を追加しました。
実施計画書 p54 に記載しました。

8. P101 に、「不要になった血液細胞や組織検体を保存した」の保存という言葉は、法律用語としては不明確な用語で、所有権が明確でない。

保存した検体に関しては、被験者は検体破棄に関する権利は有しますが、それ以外の権利（所有権）は放棄して頂くための項目を、IC2 版 p12 に記載しました（?）。

9. 生殖細胞の保存を希望した場合、どのような対応をするのか。

本遺伝子治療臨床研究において、生殖細胞の保存に関しては直接関与いたしません、必要に応じて、適切な医療機関を紹介したいと思います。

10. 目標症例 5 例となっているが、2 例程度行ったところで外部評価委員に審査してもらい、残り患者さんのリクルートはその審査後としたらどうか。

最低でも一年に一度は、annual report（年報）のかたちで評価委員会に本臨床研究の進捗状況を報告いたします。また、必要に応じて、適宜、進捗状況を評価委員会に報告し、その判断を仰ぎたいと考えております。

11. 選定基準で、それほど調子の悪くない患者が選定された時にきちんと同意が取れるのか。

選定基準を満たす患者さんは、移植を想定する程、慢性肉芽腫症の症状が重い症例だと思われますので、ご指摘のような患者さんが選定されることはないと思われます。

・インフォームドコンセント及び同意説明書

1. 遺伝子治療における危険の開示が必要である。当センターと患者・家族間に紛争が生じることを可及的に防ぐには、「遺伝子治療臨床研究により予想される効果及び危険」、特に事前に詳しく開示をし、患者・家族がどのように理解したか確認を取るべきではないか。

ご指摘のとおり、本臨床研究において起こりうる危険性を十分にご理解頂きことは重要なことを考えます。そこで、本臨床研究に関しての同意を頂く際には、以下の3点を特に配慮したいと考えます。

1) 有害事象など本臨床研究における危険性の説明

担当医師が、同意説明書ならびに遺伝子治療用のパンフレットを使用して、懇切丁寧に口頭で説明します。

2) 臨床研究コーディネータなど第三者に介在

担当医師以外に第三者（臨床研究コーディネーター）を配置し、患者さんが本臨床研究に関する疑問点などを気兼ねなく質問できるよう状況をつくります。

3) 同意書を取得する時間

同意書は、担当医師が説明した際に取るのではなく、十分な考えのもと患者さんの自由意思で判断されるために（上記、第三者との面談などを含め）、説明後1週間の期間をあけてから取得致します。

2. 遺伝子治療に関連する腫瘍発症などの危険性に重点をおいた説明が必要ではないか。具体的な割合を記載した方が良いのではないか。

ご指摘の通り、本臨床研究において腫瘍性疾患の危険性について患者・家族の方に十分理解してもらう必要があります。そのため、IC2版とパンフレットに、これまで先天性免疫不全症の患者に行われた遺伝子治療で腫瘍性疾患が発生した事実を公開します。また、今回実施される臨床研究では、アメリカと同一のウイルスベクターや同様のプロトコールが使用します。現時点では、アメリカの遺伝子治療は腫瘍を発症した患者さんはいませんが、このような危険性が起こりえることを十分に患者さんに説明します。

3. 今回と同じベクターを用いた臨床研究で、どれくらいの期間でそれくらいの癌が発症したのか。

上記、3質問は非常に重要な質問と認識しており、今回の遺伝子治療臨床研究では、被験者本人用（代諾者用）ICとパンフレットを作成し、腫瘍発症の危険性を十分に理解してもらえるように努めました。

4. 同意説明書16ページ：造血幹細胞移植の実施が困難なこととの記載があるが、その様な場合が困難か具体的に。

表現が不明確でしたので、IC2版 p4 4. 1) 参加基準 ④「同種造血幹細胞移植のための適切なドナーが見つからない方」に変更しました。

5. 同意説明書19ページ：患者さんにイメージがわくように、造血幹細胞回収時の方法を具体的に記載した方が良いのではないか。

パンフレットを作成し、造血幹細胞回収時の方法を含め、遺伝子治療全体の流れがわかるように記載しました。

6. 20 ページ、ブスルファン投与がわかりづらく、何日間行うのか記したほうがよいのではないかと。もしくは、図表にしたほうがよいのではないかと。

IC2 版 p15、最終ページにスケジュール表を追加し、ブスルファン投与を含め、遺伝子治療全体の流れがわかるように記載しました。

7. ブスルファンの副作用でけいれん、VOD、不妊など患者さんにとって非常に心配な副作用については、添付文章から頻度を記載した方がよいのではないかと。

添付文章をもとに、IC2 版 p8 ブスルファンの副作用として、その頻度を追記しました。

8. 参加のしおり、Q&A とも難しい。また、ふりがなをつけたほうがよいのではないかと。

IC2 版、アセント/A《低学年対象》、B《高学年対象》、C《中学正対象》ならびにパンフレットを作成しました。

9. 「参加のしおり」 p 22 の 2 行目、「排泄物の処理を含めて生活面で一定の制限があります。詳細は、入院時にご説明いたします。」は参加のしおりに簡単な説明をいれたほうがよいのではないかと。

排泄物の処理方法に関しては、別紙患者さん用の資料と病棟用の排泄物の取り扱いに関するマニュアルを作成中です。

10. 「参加のしおり」 p 31 (p101)、3)保存サンプルに関するお願いについて、期限を明示する必要はないのか。また、目的は副作用発症の際の検査のためだけなのか。

保存期間を 10 年としました。また、使用目的は副作用などのため、今回の遺伝子治療の目的以外で使用することはありません。

IC2 版 p12 13. 保存サンプルに関して に記載しました。

11. 「参加のしおり」 p 31 (p101)、3)保存サンプルに関するお願いについて、保存の同意は包括同意ということなのか。

保存サンプルは、副作用発症など、今回の遺伝子治療臨床研究に関する検査にのみ使用します。他の研究のためには使用しませんので、包括同意ではありません。

12. 3 ブスルファン投与後の中止希望があった場合の記載で、自由意思による研究参加であるといいつながら、この部分では非常に強い圧力が伺わっているのではないかと。

ご指摘のとおりです。しかし、ブスルファンの投与により患者の造血能は著しく抑制された状態であるため、一般的な医学常識から、慢性肉芽腫症の患者が長期間そのような状態を続けることは勧められません。そこで IC2 版 p13 「16.臨床研究参加に対する拒否及び撤回」として、以下の文章に変更致しました。

「ただし、ブスルファンの点滴により長期間白血球数を減少させ、重症な感染症を引き起こす危険性

があります。一旦、ブスルファンを点滴した後は、遺伝子が入った細胞をあなたの身体に戻すことを推奨します。」

13. 用語集 p40 (110) に遺伝子についての説明があるほうが良いのではないか。

パンフレットの用語集に追記しました。

14. 同意説明書（しおり）：全体的に COI の記載も必要か。

当センターの COI 委員会に本遺伝子治療臨床研究の利益相反に関する書類を提出し、その結果を記載します。

15. 実際に患者・家族に説明する際には、p71 以下の文書と p117-118 のチェックリストを渡すだけでなく、p96 以下の危険性についての記載について口頭で説明し、質問があれば十分に回答することが望まれる。

上記の点を十分に留意して、口頭による説明を行い、文書により同意を得たいと思います。

16. 当センターが十分な説明をしたことを後日、第三者に示せて無用な紛争を減らすために、患者・家族の理解を得た上で、患者・家族への説明について、ビデオ撮影、録音することが最も効果的ではないか。

当センターの方針によると思われますが、上記の点を考慮して、同意を得たいと思います。なお、同意取得は、臨床研究コーディネータなどの第三者の同席の下に行いたいと思います。

17. 年齢別の説明書の書式が必要ではないか。16 才未満の患者に対するアセントの年齢別の説明書の書式が必要ではないか取得はどのように行うのか。

IC と共に、年齢別のアセントを作成しました。

18. 患者自身が持つ、わかりやすい手引き、手帳形式の記録、開示請求の仕方など、同意説明時に備えて提示してはどうか。

慢性肉芽腫症や遺伝子治療に関する詳しい内容を記載したパンフレットを作成しました。また、患者自身による記録のため、手帳形式の記録簿を作成しました。

19. 低年齢の患者に説明するためには、別の説明書が必要ではないか。例えば、絵やふりがななどのついた説明書が望ましいのではないか。アセント用など。

年齢別のアセント文章を作成しました。

20. 17 ページ目で 16 歳以上と 16 歳未満で分ける根拠は何か。文書による同意は、年齢別にどのように行うのか。

成育医療研究センターでは、未成年を 16 歳以上と未満でわけていますが、これは臨床研究の指針に沿ったものです。文書による同意（アセントを含む）に関しては、アセントを 3 種類作成（アセント C 主に中学生を対象、アセント B 小学校高学年を対象、アセント A 小学校低学年を対象）致しました。また、16 歳以上の被験者に対しては、本人用の同意書を用いて説明を行い、署名を取得する予定です。

小児に対して、口頭でアセントを取得した際には、同意書の欄に、口頭によるアセントを取得した欄を設けました。

21. 患者・家族の不安や質問について、誰がどのように対応するのか。同席者を詳細に示した方が良い。

臨床研究コーディネータなどの第三者の同席にて、同意取得を行います。

第 1 回 遺伝子治療臨床研究審査委員会
質疑内容とその回答 2

慢性肉芽腫症臨床研究審査委員会における質問一覧

1. 慢性肉芽腫症の疾患について（主に移植に関して）

1) 根治療法において、骨髄移植、臍帯血移植、遺伝子治療の選択基準は？

日本では、2008年までに評価可能な慢性肉芽腫症に対する造血幹細胞移植は、34名の方に38回行われてきました（下図）。

HLA	血縁									非血縁									計
	6/6			5/6			4/6以下			6/6			5/6			4/6以下			
ソース	BM	CB	PB	BM	CB	PB	BM	CB	PB	BM	CB	PB	BM	CB	PB	BM	CB	PB	計
症例数	12	1	2	2	0	1	4	0	1	8	1	0	1	4	0	0	1	0	38
死亡例	1	1	1	1	0	0	1	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	7
拒絶例	0	0	0	0	0	1	2	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	4
生着 (%)	92	0	50	50	0	0	25	0	0	100	0	0	100	75	0	0	100	0	71

HLA	6/6			5/6			4/6以下			計
ソース	BM	CB	PB	BM	CB	PB	BM	CB	PB	
症例数	20	2	2	3	4	1	4	1	1	38
死亡例	1	1	1	1	1	0	1	0	1	7
拒絶例	0	1	0	0	0	1	2	0	0	4
生着 (%)	95	0	50	67	75	0	25	100	0	71

そのうち、骨髄由来は27回、臍帯血由来が7回、末梢血由来が4回で、HLAの完全一致の例が24、5/6の例で8、4/6以下の例で6です。治療成績は、移植時の感染症の有無ならびに前処置の違いにより異なりますが、血縁、非血縁を問わずHLAが完全に一致した骨髄血を用いた場合は、20例中19例で移植が成功しています。一方、HLAが一遺伝子異なる場合（5/6）、治療成績は50～60%と低下し、この値は、小児非腫瘍性疾患に対する臍帯血移植の成績（51±8%）と大方一致します（日本さい帯血バンクネットワーク・移植データ管理小委員会 2007年度解析結果）。ただ、慢性肉芽腫症に対する造血幹細胞移植は、白血病等悪性腫瘍に対する移植に比べ、その数が極端に少ないことから、前処置を含め、現時点でそのような移植が各々患者に適切かはわかっていません。ただ、上記の成績を考慮したとき、DNA typing等（DNA型、遺伝子型）にてHLAが5/6以上一致したドナーがいる場合は、移植を優先するべきものと考えています。よって、HLAが5/6以上一致したドナーがない場合に遺伝子治療の実施を考慮します。

2) 移植を受けられる患者さんはどの程度か

現在、日本では300名程度の患者さんがおられ、そのうち34名の方が移植を受けられていますので、その割合は10%かと思えます。ただし、移植が必要でも、ドナーや感染症の関係から移植を受けられない患者さんもおられますので、移植を必要とする方は多いと思えます（X連鎖慢性肉芽腫症は、移植以外治療法がないので、そのほとんどの方が移植を必要になると思えます）。

3) 感染症のある患者さんは移植の適応となるのか

理想的には感染症が鎮静化してから移植を行うべきですが、慢性肉芽腫症の場合、感染症が治癒しにくいので、感染症があっても移植を行います。前述の我が国の移植では、活動性の炎症がある患者さんへの移植は6例あり、その多くは感染症を有した症例です(21例)。ただ、感染症が鎮静化しない状態での移植の治療成績は良くありません(拒絶1例、死亡3例)。

4) 感染症のない状態でも移植の適応となるのか

X連鎖慢性肉芽腫症は幹細胞移植以外治療法がないので、原則的にはHLA一致ドナーが見つかった段階で移植の適応と考えられ、感染症の状態での移植は理想的です。

5) 移植の適当とまらない症例はあるか

理想的な移植を行うと言う意味では、HLAの一致ドナーがない場合、移植は行いません。ただ、病状が極端に悪化した場合は、どんな移植でも行う必要があり、移植適応とまらない症例はないかと思えます。もちろん、移植の耐えられない程の腎障害があるなどは、移植は無理と思われれますが。

6) 移植成功の定義は

移植を評価する方法は複数ありますが、慢性肉芽腫症における移植成功とは「移植した細胞が生着し、原病の症状がなく生存している患者」だと思えます(無イベント生存率: event free survival: EFS)。

7) 移植を受けた、受けないでの予後の違いは

X連鎖慢性肉芽腫症の場合、30歳を越えての延命は難しいので、移植を受けない場合は予後不良と言えます。一方、HLAが一致したドナーが存在する場合は、成功率が90%を超えるので予後は良好ですが、その一致度が低下するに従い、GVHDや拒絶例が多くなるので、予後は不良と言えます。

8) HLAミスマッチ、ハプロ一致でも移植は可能か

可能ですが、その成績は悪くなります。ハプロの移植は2例行われていて、1名が生着しています。

9) 仮にHLAが一致した血縁ドナーが存在した場合、ヘテロ間(CYBB遺伝子に関して)の移植は可能か

血縁carrier(姉妹、母)を想定した移植と思われれますが、一般的にcarrierは臨床症状がないので、移植は可能と思えます。

10) 幹細胞移植を行った後の追加の治療は

移植が成功した場合は、慢性肉芽腫症に関する治療は不要になります。ただ、一般の移植同様、GVHD 予防などの免疫抑制剤の投与は必要です。

11) HLA のタイプにより、将来的にドナーが出現する可能性を推測することは可能か。

難しいと思います。

12) 幹細胞移植を行った後の追加の治療は

移植が成功した場合は、慢性肉芽腫症に関する治療は不要になります。ただ、一般の移植同様、GVHD 予防などの免疫抑制剤の投与は必要です。

2. 遺伝子治療に関して (基礎編)

1) 移植する CD34 陽性細胞 (5.0×10^6 /kg) は少ないのではないか

今回の遺伝子治療臨床研究におきましては、米国での遺伝子治療と同様、最低で体重 1kg あたり 5×10^6 個を投与する予定です。その際、より多くの細胞が調製された場合はその全量を投与し、調製した細胞数とその数に満たない場合は、保存してある患者末梢血単核球を補充し、体重 1kg あたり 5×10^6 個の細胞を投与します。その意味で、アメリカとの症例に比べ、投与数が少ないことはありません。

2) なぜ、遺伝子治療で白血病が起こるのか

レトロウイルスは、その特性上、感染時に宿主染色体の proto-oncogene (癌原遺伝子) 近傍に挿入することが知られています。このため、レトロウイルスが持つ promoter/enhancer が周囲の遺伝子を活性化し、癌化に繋がると考えられています。ただ、ウイルスの挿入だけにより癌化が起こるのではなく、細胞の培養条件、投与した細胞数、治療を受けた患者に状態に大きく左右されることが知られています。

3) 遺伝子導入細胞と非導入細胞では、白血球以外の造血系細胞に与える影響はあるか

今回の遺伝子治療では、X 連鎖慢性肉芽腫症の原因遺伝子である CYBB 遺伝子を造血幹細胞に導入するため、白血球 (好中球、単球の意味) 以外の細胞にも、導入遺伝子の CYBB 遺伝子が発現することになります。ただ、マウス造血幹細胞を用いた実験では、CYBB 遺伝子発現造血幹細胞は正常にリンパ球や血球系細胞にも分化することから、CYBB 遺伝子発現による白血球以外の造血系細胞への影響は少ないと思います。

4) SFV の特性は

これは、以前、Friend virus と呼ばれていたウイルスで、ウイルス gag 自体に発がん活

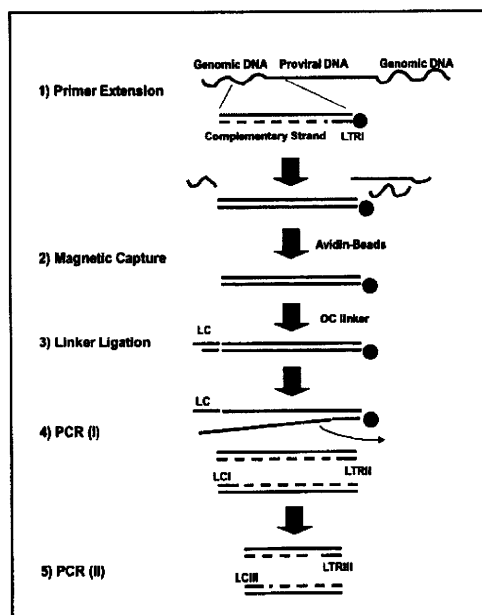
性があり、マウスにおいて急速に赤白血病を発症するウイルスです。また、LTR 自体の活性も強く、ルセフェラーゼアッセイで今回使用するモロニーマウス白血病ウイルス (MoMLV) の 50~100 倍活性があるとされています。

5) SFFV と遺伝子挿入部位に何か関連があるのか。特に、MDS1-EVI1 に挿入されやすい理由はあるのか

レトロウイルスが EVI1 近傍に挿入されやすことは知られています (EVI1 は ecotropic viral integration site の略)。ただ、これは SFFV に特異的なものではなく、MoMLV においても同様です。現時点で、SFFV 由来ベクターを用いた慢性肉芽腫症で MDS1-EVI1 遺伝子に関連する造血系異常が発症し、MoMLV 由来ベクターを用いた X-SCID で LMO-2 遺伝子関連白血病が発症したのかは解明されていません。可能性としては、造血幹細胞への感染時には、SFFV、MoMLV とも MDS1-EVI1、LMO-2 遺伝子近傍に挿入し、それが患者に投与された段階で、選択されていくのではないかと考えられます。つまり、X-SCID の場合、T 細胞増殖が起こりやすいため、LMO-2 が発現している細胞が増える。逆に、慢性肉芽腫症の場合、T 細胞は十分にあるので、投与した造血幹細胞の T 細胞への分化が起こらず (LMO-2 を発現している細胞)、顆粒球系に關与する MDS1-EVI1 が発現している細胞が増え、結果的に、慢性肉芽腫症 = MDS1-EVI1 遺伝子、X-SCID = LMO-2 遺伝子となったのではないのでしょうか (つまり、MoMLV を用いた慢性肉芽腫症でも、造血系異常発症した場合は、MDS1-EVI1 に関連するものだと思います)。

6) 挿入部位検出法に関して

現在、広く行われている方法は、PCR 法を用いた LAM-PCR、LN-PCR です。下記の簡単な LAM-PCR の原理を記載します。



- 1) 5' LTR に対し逆向きにビオチン化 primer を設計し、primer extension を行う。
- 2) 増幅された DNA fragment をアビジンビーズにて回収する
- 3) 回収 fragment の両端に linker をつける
- 4) その linker を基に nested PCR を行う
- 5) 増幅産物を電気泳動する
- 6) また、必要に応じて、各バンドを切り出し、配列を決定する。
- 7) ヒトゲノム情報より、染色体の挿入部位を同定する

最近では、挿入部位の網羅的な解析のため、挿入部位 500bp 程度を網羅的に解析できるロッシン

ユ 454 を用いた pyrosequence 法があり、今回の遺伝子治療臨床研究では、この解析法をタカラバイオ社と共同で行う予定です。

7) 遺伝子導入細胞の推移と遺伝子導入部位の推移

・移植時

投与した細胞が骨髄に生着するためには、骨髄に niche (骨髄間隙) が必要です。X-SCID の場合、もともと T 細胞がないため、前処置がなくとも T 細胞、あるいは T 細胞になるべき造血幹細胞は生着します。しかし、ADA 欠損症や慢性肉芽腫症では、T 細胞や顆粒球がすでに存在しているので、移植細胞のための niche はなく、前処置を行わなければ遺伝子導入細胞は生着しません。そのため、遺伝子導入細胞は、投与後、短い期間で消失すると思われます。

・生着後

遺伝子導入細胞が生着した後に、遺伝子導入細胞の推移に影響を与える因子は、遺伝子導入細胞が持つ growth advantage (増殖優位性) です。これは、細胞が持つ増殖能のことで、ADA 欠損症や X-SCID では正常遺伝子を導入された細胞の方が、もともとの細胞 (正常遺伝子を持っていない細胞) より、よく増えるので、結果的に時間とともにその割合は増していきます。一方、慢性肉芽腫症の場合、正常遺伝子を導入された細胞ともともとの細胞の増殖能に違いがないので、時間が経過したとしても、その割合は変わりません。

・腫瘍発症の場合

遺伝子導入細胞の推移に影響を与えるのは、上記の growth advantage に関連することですが、ウイルスベクター挿入により近傍遺伝子が影響を受け、癌原遺伝子の活性により腫瘍が発症した場合は、ただ、この場合、一般的に白血病と同じく、単クローンになる場合が多いです。

・遺伝子導入部位の推移

上記 LAM-PCR で、長期間、造血幹細胞遺伝子治療における遺伝子導入細胞の推移を解析したところ、遺伝子導入細胞を構成する細胞群が変化していることがわかります。逆に、遺伝子導入細胞を構成する細胞群が固定することは、単クローンの増殖を疑わせ、注意が必要となります。

8) これまでの遺伝子治療での長期間における推移の検討

現在まで、欧米を中心に 82 名の原発性免疫不全の患者が造血幹細胞遺伝子治療を受けています。

9) 遺伝子が導入された細胞が消滅する機序ならびに遺伝子が発現しなくなる可能性は。また、その機序は

消滅の機序は 7) で示しました。導入遺伝子が発現しなくなる機序は、ウイルス LTR 領域のメチル化が考えられています (gene silencing と呼ばれる現象)。

10) 導入遺伝子に対する免疫に関して (遺伝子導入細胞が免疫学的機序により排除されることに関して)

今回使用する導入遺伝子はヒト由来 CYBB 遺伝子なので、これら遺伝子に対し強い免疫反応が起こるとは考えにくいと思われます。また、CYBB 欠損マウスを用いた実験においても、CYBB 遺伝子発現細胞を排除しないことから、その可能性は低いと思われます。ただ、HSV-TK のようなウイルス由来の遺伝子の場合、細胞傷害性 T 細胞が出現することが報告されています。レトロウイルス自体の対する免疫反応は報告されていません（遺伝子導入細胞がウイルス由来のタンパク質を発現しないため）。

3. 遺伝子治療に関して（臨床編）

1) 遺伝子治療の対象となる症例はどの程度存在するのか

当研究センターでも 3 名程度はいますので、その人数は決して少なくないと思います。

2) HLA が一致するドナーがいても重症感染症があれば遺伝子治療の適応となるのか

移植を前提とした遺伝子治療は想定していませんので、この場合、移植が適応です。

3) 移植後の遺伝子治療の可能性は

現時点では、移植後の造血幹細胞の状態（ドナー細胞とのキメラ）などから、移植後の実施は想定していません。

4) 移植して拒絶した患者は遺伝子治療が可能か

上記と同じく、現時点では想定していません。

5) 遺伝子治療を行って何%程度くらいの細胞が正常化されるのか

理想的には投与した遺伝子導入細胞がすべて生着すれば、40～50%の細胞が正常化されると思いますが、NIH の症例での症例では 1%程度ですので、この程度かと思われます。

6) どのくらいの期間維持できるか。短い場合、臨床的には根治とは言えないのではないか

NIH 例では、有効例では 4 年以上、遺伝子導入細胞が 1%程度、患者体内で検出できています。ただ、のこりの 2 例は短期間のうちに遺伝子導入細胞が消失しており、その意味で（臨床的に）、根治とは言えないと思います。もちろん、これら症例においても、難治性感染症の治癒（肝膿瘍の治癒）など、一定の臨床効果は示しています。

7) どのくらいの細胞が正常化されれば遺伝子治療の効果はあるのか

NIH とスイスの症例は、いずれも 1%の遺伝子導入細胞の存在で、長期間の治療効果を示していることから（重度の感染症を罹患しない）、最低 1%程度の遺伝子導入細胞があれば、なんらかの治療効果は発揮すると思われます。

8) 過去の症例で CGD 遺伝子治療では、効果はどの程度持続したか

ドイツ・スイスの白血病の症例を除くと、ドイツの 7 年 (2003 年実施) と NIH の 4 年 (2006 年実施) で、その効果は今も持続しています。

9) CGD 腸炎に対して遺伝子治療は有効か、正常化した細胞 1%でも CGD 腸炎は治癒するのか

造血幹細胞移植が CGD 腸炎に対して有効であることを考えると、遺伝子治療も CGD 腸炎に対して有効と思われます。ただ、正常化した 1%程度の遺伝子導入細胞で CGD 腸炎が治癒するかはわかりません。また、CYBB 欠損マウスでは腸炎は発症せず、動物実験により検証ができていません。

10) 適応基準における感染症の基準とその考えから

「2 ヶ月以上、一般的な治療を継続しても、臨床症状かつ検査結果 (CRP、 β -グルカン、画像など) が改善しない、あるいは悪化する症例で、今後もその治療効果が確認できないと思われる症例」に変更しました。

11) 患者さんに細胞を戻す前に導入細胞を、挿入部位をもとにスクリーニングすることは可能か

導入直後は、複数のウイルスが同一細胞に感染し、また、その段階では単クローナルに増殖するかわからないため、これは難しいと思います。

12) 米国での状況 (マレック博士のベクターで)、何年くらい観察して白血病が発症していないのか

ブスルファンを用いて同一の方法は、2006 年から行われましたので、現時点では 4 年間です。

13) 発がんリスクの説明が不足しているのではないか。具体的に数字で示せないのか

詳細は、新 IC 10 ページに記載しましたが、

腫瘍発症数は X-SCID 5/26、CGD 3/13、ADA 0/32、WAS 0/10 です。

4. その他 (研究計画書、同意書について)

1) 細胞加工における体制について、ヒト幹細胞指針に従う必要がある。体制の整備を行うべき。

現在、上記に関して、体制整備を進めています。また、この体制のもと、早々に Dry Run を開始したと思います。

2) 費用の負担を明確にすべき。保険等（混合診療、有害事象発症時、補償）に関して明確にすべき。

費用負担に関しては、今後も当センター事務と良く相談し、決めて行きたいと思います。

3) 適応判定委員会は、症例をどのような判定するのか。選定基準をもとに行うのか、総合的に判断するのか

総括責任者が提示した症例に対して適応判定委員会が適応基準ならびに除外基準に照らし合わせ、総合的に遺伝子治療実施が可能かを判断します。

4) 米国との遺伝子治療の選定基準の差異は

詳細は回答 1 に記載していますが、NIH との選定、除外基準の違い

1. 対象疾患: NIH では重症感染症のみを対象としていますが、本遺伝子治療では、慢性肉芽腫症が原因となる肉芽腫発症例も対象としています。
 2. 移植ドナー: NIH では血縁ドナーのみを対象としていますが、本遺伝子治療では、骨髄バンク、臍帯血バンクのドナーも想定し、非血縁ドナーもいない症例としています。
 3. 対象疾患の体重: NIH では 20kg 以上の症例を対象としていますが、本遺伝子治療では、10kg 以上の症例を対象としています。
- 2 と 3 に関しては、遺伝子治療の違いというよりは、幹細胞移植の両国の違いによるものとされます。

5) 感染症に対する治療効果の考え方について（永続的、一時的）

基本的には、ブスルファンを使用する以上、長期間の治療効果を期待しています。これは、実際、NIH の症例でも、治療後 4 年を越えて治療効果が持続しているからです。ただ、他の症例のように、短期間に遺伝子導入細胞が消失する例もあります。ただ、これら症例においても、遺伝子治療を受けた際に存在していた肝膿瘍が消失していることから、遺伝子治療に一定の治療効果はあると思われれます。

- 6) IC の表現がきつい、そっけないので、優しく、不安をくみ取るようなものに。
- 7) IC の取り方に注意すべき。内容をよく説明し、特にマイナス面をしっかりと伝えるように
- 8) 子ども様の IC（アンセント）はつukらないのか
- 9) 今後のことを考えて、規範となる子ども用の IC を作ってはどうか

IC 等を全面改定し、上記に対応しました。

10) 生殖細胞の保護に関する記載について

本遺伝子治療とは直接関与しないため、説明文から削除しました。必要に応じ、適正に対応したいと思います。

11) 倫理委員会の位置づけに関して、科学性と倫理性を審査する委員会を別に作ってはどうか

か

12) 必要に応じて、専門家を招聘するのはどうか

本遺伝子治療審査委員会は、以下のメンバーにて構成されていますので、本委員会で十分に科学性、倫理性を評価して頂きたいと考えております。

- 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

第2回遺伝子治療臨床研究審査委員会

平成22年12月20日(月) 14:05~16:29

平成22年度 第2回独立行政法人国立成育医療研究センター遺伝子治療臨床研究審査委員会

日 時：平成22年12月20日（月）14:05～16:29

場 所：独立行政法人国立成育医療研究センター4階 会議室41、42

出席委員：大橋委員長、藤原副委員長、阿部委員、五十子委員、岡田委員、斎藤委員、
武山委員、田上委員、辻委員、湯坐委員

1 開会

事務局 それでは、ただいまから平成22年度第2回国立成育医療研究センター遺伝子治療倫理審査委員会を開催いたします。

お忙しい中、出席いただき、御礼を申し上げます。

本日は、東京医科歯科大学大学院、森尾先生より欠席の御連絡をいただいております。あと、東京大学の辻先生よりおくれるという御連絡をいただいております。しかし、現在、11名の委員のうち3分の2以上出席しておりますので、遺伝子治療倫理審査委員会規定第5条第3項に基づきまして、委員会は成立いたします。

議事次第に沿って、遺伝子治療臨床研究実施計画申請書の1件の審議をお願いいたします。

以後の議事進行につきましては、大橋委員長をお願いいたします。

大橋委員長 慈恵医大の大橋でございます。

では、早速、始めたいと思いますけれども、始める前に本遺伝子治療臨床研究にCRCとして研究を援助される予定の渡部様がオブザーバーとして、この会議を聴取したいというふうな申し出がありましたけれども、いかがでございましょうか。

特に御意見がないようでしたら許可いたしたいと思います。

では、まず、事務局のほうから資料の説明をお願いいたします。

事務局 事前に申請書類についてはお送りしております。あと、配付してあります資料は、座席表とそれから事前の御意見及び回答、それから委員名簿、それから規程集、指針でございます。不足のものがあれば御連絡ください。

以上でございます。

大橋委員長 よろしいでしょうか。

よろしいようでしたら、早速、審議を行いたいと思います。

2 審査課題

- ・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

大橋委員長 遺伝子治療臨床研究実施計画申請について、小野寺部長をお願いいたします。

（申請者入室）

大橋委員長 では、小野寺先生、よろしくをお願いいたします。

小野寺部長 成育遺伝の小野寺です。本日はお忙しい中、このようにお集まりくださりましてありがとうございます。また、事前あるいは前回の委員会中に非常に貴重な御意見をいただきまして、まことにありがとうございます。

本日は前回にいただきました質問等に対しまして、回答書を作成いたしまして、先日、お配りしたところでもあります。ただ、内容が非常に多量だということで代表的なところというの、今回、非常にこの研究に重要な点を私なりにピックアップして御説明いたしたいと思います。ただ、もちろん、何からの形で漏れている等がありましたら、ぜひ、その後で質問いただければと思っております。

説明する際に、多分、一番、私的に説明しやすいのは患者様への同意書のところをちょっと見ていただきたいと思っております。よろしいでしょうか。この同意書です。患者さんまたは保護者の方へという同意書をよろしいでしょうか。

まず、ページ、5ページ目です。4番のこの研究に参加できる方、できない方という方の選定基準あるいは除外基準について、まず、御説明いたしたいと思います。

質問等々におきまして一番の問題点が、遺伝子治療をやる際の造血幹細胞移植との兼ね合いというのを、非常にもう少し明確にするべきだという御意見をいただきまして、それに関しまして、私たちはことし8月にこのような厚生労働省の班会議がありまして、東海大学のカトウ先生並びに多くのCGDの関係者の関係者の方々に集まっていたいただきまして、今の移植の定義がどのような形で行われているかということを検討いたしました。その結果、また、すみません、結果の事前評価一覧のこの表のところなんですけれども、慢性肉芽腫症質問書一覧の表が出ているところ、質問表がございます、事前評価一覧。

大橋委員長 どのあれですか。

小野寺部長 もしかして前回のやつはない、前回というか。

大橋委員長 今、ここに載っている白黒かな。

小野寺部長 それです。今回の最新のやつではなくて前回、送らせていただいたものです。この真ん中ぐらいに。11ページですか。よろしいでしょうか。

11ページの今いただきました質問内容としまして、この治療法として、骨髄移植、臍帯血移植、遺伝子治療の選択基準ということで、これを先ほどお話ししました厚生労働省の班会議を持ちまして、主に東海大学のカトウ先生及び宮崎大学のヌノイ先生、北海道大学のアリガ先生等々から情報をいただきまして、現在まで、2008年までに我が国で慢性肉芽腫症に対する造血幹細胞移植を受けた方の一覧表を下にまとめさせていただきました。34名の方が受けられまして、移植が成功しなかった方もいらっしゃいますので、34名の方に38回の移植が行われたというのが下の図であります。もちろん、この段階で感染症ですとか、それから、前処置によって治療成績等が変わりますけれども、一番問題点となる血縁・非血縁あるいはHLAの一致度というものをこのような表にまとめさせていただきました。

上段の表でありますけれども、血縁と非血縁を下のHLAの6分の6、6分の5、6分の4以下という形でまとめさせていただいております。これをまとめますと、骨髄由来というものが27例、それから、これは血縁・非血縁をまとめたものでありますけれども、臍帯血由来が7例、それから、抹消血由来が4名であると。HLA完全一致の場合が24例、それから、6分の5のものでは8例、それから、6分の4以下では6症例、6回の治療が行われたということで

あります。まとめてみますと、やはり、血縁・非血縁を問わず、HLAが完全に一致した骨髓輸血を用いた場合というものは20名中19例で、非常に移植が成功しているということがわかります。それがここに書いております下段の6分の6のBM、これは骨髓移植です。20で1例の方だけが亡くなられて、19名の方が生存しているということがわかると思います。

ただ、6分の5、HLAの一致度が低下するに従って、その成績は極めて低下すると。例えばHLAが1遺伝子異なった場合、6分の5例の場合は移植成績は50から60%と、かなり低下してしまうということでもあります。この値は最近、ここに書いておりますけれども、日本さい帯血バンクネットワークで移植データ管理小委員会で、子どもの非腫瘍、免疫不全ですとか、それから、再生不良性貧血などの非腫瘍に対する臍帯血バンクで、このような大体、1座不一致の場合というのはこのような値であるということから、慢性肉芽腫症におきましても、やはりHLAの一致度が高いか低いかというものは、極めて重要であろうというふうに考えております。

その結果、先ほどお話ししましたカトウ先生及び、また、慢性肉芽腫症を専門とされる先生方と相談した結果、やはり、移植に関していえばHLAがまず一致することが大条件であろうということです。2番目といたしましてHLAが一致といっても、今、血清型ですとか、それから、DNAタイピングというほうがありますけれども、6分の5以上のとき、症例の中にはA座を調べて8座まで調べる方法もありますけれども、一般的に6分の5以上のときというのは、移植を優先するというふうに考えたいと思っております。

ただ、臍帯血の場合というのは非常に今回の場合、大人も考えられるということから細胞数が極めて重要であるというふうに考えまして、今回の遺伝子治療におきましては、DNAタイピングで6分の5以上のHLAが一致で、また、細胞数、つまり、臍帯血の移植のほうを考えまして、体重当たり2掛け10の7乗個以上のドナーが見つからない場合に、初めて遺伝子治療を定義したいというふうに、今回、こう考えておきまして、症例の参加できるできないのところで、遺伝子治療に必要な自分たちの造血幹細胞の採血が、ごめんなさい、④番の同種造血幹細胞移植のための適切なドナーが見つからないという方は、HLAの一致度で6分の5以上のHLAで、有核細胞数当たり2掛け10の7乗個以上の移植ドナーが見つからないという形で定義したいというふうに考えております。

それで、また、ほかの項目にありました遺伝子治療が成功しない場合の移植の定義ということが質問の中にもありましたけれども、まず、このような形で移植を行えるか行えないかを考えまして、そういう適当なドナーがいらっしゃらない方にまず遺伝子治療を行うと。何らかの形で再度、違う治療が必要なときというのは、もう少し落ちた6分の4以下の移植あるいは臍帯血等を考えた移植ということで、一応、ここで一定の明確な移植の定義を決めたいというふうに考えております。

次に進んでよろしいですか。

大橋委員長 では、どうでしょうか。いいですか。今までのところで質問はございますでしょうか。一応、HLAの一致度と数ということで適用を決めていくという話ですけれども、では、特にないようですね。

小野寺部長 では、2番にいきまして、今後は8ページのところから9ページにかけてであります。今回は説明同意書、ICUのほうの8ページのところ、この研究の参加により期待される効果と、予想される不利益というところを説明させていただきます。

一つはまず第1点として、この遺伝子治療が永続的な効果があるかどうかという点が、非常に問題点であるということがありました。この中で、もう少し詳しく患者さんにお伝えしな