

201309019A

厚生労働科学研究費補助金

医療技術実用化総合研究事業

網膜色素変性に対する視細胞保護遺伝子治療臨床研究

～GCP に準拠した遺伝子治療臨床研究～

平成 25 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 石橋 達朗

平成 26 (2014) 年 5 月

## 目次

I . 総括研究報告 .....	1
網膜色素変性に対する視細胞保護遺伝子治療臨床研究～GCP に準拠した 遺伝子治療臨床研究～に関する研究 石橋達朗	
II . 分担研究報告 .....	7
1. 臨床研究薬(SIV-hPEDF)の網膜下投与の安全性確認 石橋達朗、池田康博、江内田寛、村上祐介	
2. 臨床研究薬(SIV-hPEDF)の網膜下投与の治療効果の評価と原因遺伝子との因果関係 の検討 池田康博、吉田茂生、村上祐介	
3. GCP に準拠した臨床研究データ収集・評価 中西洋一、戸高浩司	
4. 臨床研究実施から製剤化へ向けた準備 米満吉和、池田康博	
III . 研究成果の刊行に関する一覧表 .....	19
IV . 研究成果の刊行物・別刷 .....	21

# I . 総括研究報告

厚生労働科学研究費補助金（医療技術実用化総合研究事業）  
総括研究報告書

網膜色素変性に対する視細胞保護遺伝子治療臨床研究～GCPに準拠した遺伝子治療臨床研究～

研究代表者 石橋 達朗  
九州大学大学院医学研究院 眼科学 教授

**研究要旨** 本研究では、難治性疾患である網膜色素変性（RP）に対する新しい治療法として、国産新規遺伝子治療用ベクターである第3世代アフリカミドリザル由来サル免疫不全ウイルス（SIV）ベクターを用いた視細胞保護遺伝子治療臨床研究（安全性試験）のGCPに準拠した実施と臨床研究データの集積を目的として、1. 臨床研究薬（SIV-hPEDF）の網膜下投与の安全性確認（臨床研究の実施）、2. 臨床研究薬（SIV-hPEDF）の網膜下投与の治療効果の評価と原因遺伝子との因果関係の検討、3. GCPに準拠した臨床研究データ収集・評価、4. 臨床研究実施から製剤化へ向けた準備、という4つのテーマで研究を行った。本年度得られた成果は、①低用量群5名への臨床研究薬投与の完了と投与後28日までの安全性の確認、②原因遺伝子検索体制の整備、③GCPに準拠した臨床研究データの収集ならびに評価の実施、④臨床研究実施期間中の生体材料（血液、尿、前房水、他）を用いた各種検査（ベクターゲノム検出、各種サイトカイン測定など）の実施、⑤大量生産に対応可能な施設でのベクター製造、である。当初の研究計画からやや遅れているが、遺伝子治療臨床研究は順調に実施されており、引き続き高用量群の症例を追加しながら、臨床研究を進めていく予定である。

**研究分担者**

池田康博（九州大学病院 眼科 助教）  
中西洋一（九州大学病院 ARO次世代医療センター 教授）  
米満吉和（九州大学大学院薬学研究院 革新的バイオ医薬創成学 教授）  
吉田茂生（九州大学病院 眼科 講師）  
戸高浩司（九州大学病院 ARO次世代医療センター 准教授）  
江内田寛（九州大学大学院医学研究院 眼科学 講師→佐賀大学医学部 眼科 教授）  
村上祐介（九州大学病院 眼科 医員）

確立されていない難治性疾患で、我が国の中途失明原因の第3位である。新しい治療法の可能性として、平成13年度より医薬品医療機器総合機構メディカルフロンティア研究（MF-21）として、RPに対する国産遺伝子治療技術開発を開始した。この研究成果をもとに、RPに対する遺伝子治療臨床研究実施計画書を九州大学医学研究院等倫理委員会へ提出し、平成20年10月に正式承認を受け、平成22年10月に厚生科学審議会への遺伝子治療臨床研究計画の実施申請を完了した。

平成22年度医療技術実用化総合研究事業に採択された「網膜色素変性に対する視細胞保護遺伝子治療臨床研究」（申請者：石橋達朗、2年間）により、臨床研究薬であるベクターのGMP

**A. 研究目的**

網膜色素変性（RP）は、未だ有効な治療法の

生産と長期安全性試験の最終評価は完了しており、厚生科学審議会での承認後、速やかに臨床研究の開始が可能な状態となっている。

本研究では、RPに対する視細胞保護遺伝子治療臨床研究のスムーズな実施を行い、以下の研究を行う。

1. 臨床研究薬（SIV-hPEDF）の網膜下投与の安全性確認（臨床研究の実施）
2. 臨床研究薬（SIV-hPEDF）の網膜下投与の治療効果の評価と原因遺伝子との因果関係の検討
3. GCPに準拠した臨床研究データ収集・評価
4. 臨床研究実施から製剤化へ向けた準備

## B. 研究方法

1. 本臨床研究は、オープンラベル、2段階用量漸増式で、安全性の確認を主眼とした臨床研究（第I相に相当）であり、臨床研究実施計画書の記載に基づいて実施される。被験者に本臨床研究参加への同意取得を行った後、所定の問診・スクリーニング検査で適格基準の確認を行い、臨床研究薬の投与を行う。投与後24ヶ月までを観察期間とし、有害事象の発生、疾患に対する検査、一般検査、臨床症状などから安全性を評価する。
2. 遺伝子治療臨床研究の被験者それぞれにおける治療効果と原因遺伝子の因果関係を検討するために、被験者の原因遺伝子検索を実施する体制を整備する。
3. 九州大学病院 ARO 次世代医療センターが支援し、GCP に準拠した書類の作成整備や報告書作成、モニタリング、データマネジメント、安全性情報管理、遺伝子治療臨床研究指針で求められる有害事象報告等の規制当局対応を担当する。
- 4-1. 臨床研究実施のための準備として、ベクターの受け入れ試験ならびに、臨床研究実施期間中の生体材料（血液、尿、前房水、他）を用いた

各種検査法（ベクターゲノム検出、抗体レベル測定、ベクター活性測定、各種サイトカイン測定など）の適正化を行い、手順に従って各種検査を適切に実施する。

4-2. 本臨床研究薬（SIV-hPEDF）の製剤化へ向けた準備として、大量生産に対応可能な施設でのベクター製造を実施する。

### （倫理面への配慮）

本臨床研究の実実施計画は、厚生労働省・文部科学省の遺伝子治療ガイドライン他、以下の指針・法律等に基づいて立案されており、「臨床研究実施計画書」ならびに「患者説明・同意書」の倫理性等については、九州大学医学研究院等倫理委員会および同遺伝子治療臨床研究審査専門委員会にて十分に議論され、平成 20 年 10 月 3 日に最終承認を受けた。さらに、平成 24 年 8 月に厚生労働大臣より臨床研究実施計画の了承を取得した。

- 1) 「遺伝子治療臨床研究に関する指針」（文部科学省／厚生労働省 告示第二号、平成 16 年 12 月 28 日）
- 2) 「臨床研究に関する倫理指針」（厚生労働省 告示第四百五十九号、平成 16 年 12 月 28 日）
- 3) 「遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律」（法律第 97 号、平成 15 年 6 月 18 日）
- 4) 「遺伝子治療臨床研究に関する「遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律」に基づく第一種使用規程承認申請の手続等について」（科発第 0219001 号、厚生労働省大臣官房厚生科学課長通知、平成 16 年 2 月 19 日）
- 5) 「遺伝子組換え微生物の使用等による医薬品等の製造における拡散防止措置等について」（薬食発第 0219011 号、各都道府県知事あて厚生労働省医薬食品局長通知、平成 16 年 2 月 19

日)

6)「遺伝子治療用医薬品の品質及び安全性の確保に関する指針について」(薬発第 1062 号、各都道府県知事あて厚生省薬務局長通知、平成 7 年 11 月 15 日)

7)「遺伝子治療用医薬品の品質及び安全性の確保に関する指針の改正について」(医薬発第 329004 号、各都道府県知事あて厚生労働省医薬局長通知、平成 14 年 3 月 29 日)

8)「遺伝子組み換え生物等の使用等の規制による生物多様性の確保に関する法律」(平成 15 年法律第 97 号)。

1) の指針に基づき、平成 22 年 10 月 23 日に厚生科学審議会へ実施申請を行い、実施計画の妥当性や倫理性等について審議される予定となっている。

また、原因遺伝子の検索は、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」(平成 20 年 12 月 1 日一部改正)に基づいて、ゲノム診断を施行する。

## C. 研究結果

### 1. 臨床研究薬 (SIV-hPEDF) の網膜下投与の安全性確認 (臨床研究の実施)

平成 24 年 8 月に厚生労働大臣より臨床研究実施計画の了承を取得し、平成 25 年 3 月より遺伝子治療臨床研究を開始した。

低用量群として、RP-01, 02, 03, 04 および 06 の 5 例がスクリーニング検査結果に基づき適応ありと判断された後に、臨床研究薬を投与するに至った。

臨床研究を中止するような重篤な有害事象はこれまでに確認されていない。

### 2. 臨床研究薬 (SIV-hPEDF) の網膜下投与の治療効果の評価と原因遺伝子との因果関係の検討

手順に従い、被験者から採取されたサンプルは

適切に保存されている。また、既知の原因遺伝子を検出するためのプライマーやプローブを設計し、適正化を実施している。

さらに、全ゲノム解析による原因遺伝子検索を実施するため、他施設との共同研究についての話し合いを開始した。

### 3. GCPに準拠した臨床研究データ収集・評価

昨年度までに作成した各種業務手順書に従って GCP に準拠したデータ収集を実施した。RP-03 (第 3 症例) の際に発生した重大事態を受け、有害事象報告等の規制当局対応を実施した。

### 4. 臨床研究実施から製剤化へ向けた準備

血液、尿、涙液中のベクターゲノムを検出する方法を確立し、各被験者から収集したサンプルに対して検査を実施し、RP-06 (第 5 症例) の臨床研究薬投与後 6 時間の涙液中からのみベクターゲノムが検出された。

抗 VSV-G 抗体価の測定法について、ELISA 法を用いた検査手順書を作成し、適正化を実施した。

血清中の炎症サイトカイン測定を手順書に従って実施した。IL-6 では、RP-04 のスクリーニング時、RP-06 の投与後 14 日で高値が検出され、IL-8 でも、RP-04 のスクリーニング時と投与後 3 日、RP-06 の投与後 14 日で高値が検出された。さらに、TNF- $\alpha$  でも、RP-01 のスクリーニング時、RP-06 の投与後 14 日で高値が検出された。

本臨床研究薬の製剤化へ向けた準備として、大量生産に対応可能な施設 (深圳市源興生物医薬科技有限公司: 中華人民共和国) でのベクター製造を開始した。

## D. 考察

### 1. 臨床研究薬 (SIV-hPEDF) の網膜下投与の安全性確認 (臨床研究の実施)

RP-03 (第 3 症例) で網膜剥離手術という重大事態を認めたが、再手術後の経過は良好である。

また、登録する症例の選択基準を再検討することで、その後は網膜下液の吸収の遅延が生じることはなかった。

以上より、低用量群での安全性が確認できたため、高用量群へ移行することができると判断し、ステージアップ審査に向けたデータ収集と解析を進めている。来年度は、ステージアップの審査を受けた後、高用量群15名への投与を開始する予定である。

## 2. 臨床研究薬 (SIV-hPEDF) の網膜下投与の治療効果の評価と原因遺伝子との因果関係の検討

原因遺伝子検査を実施する体制が順調に整備されており、臨床研究における効果判定後速やかに検査を実施することが可能となる予定である。

## 3. GCPに準拠した臨床研究データ収集・評価

臨床研究支援体制の整備は完了しており、臨床研究をスムーズに実施できている。また、業務手順に従い、適切なデータ収集ならびにデータ解析が可能となっている。来年度以降も引き続き症例を追加しながら、臨床研究を進めていく予定となっている。

## 4. 臨床研究実施から製剤化へ向けた準備

血清中の炎症性サイトカイン濃度測定において、投与後のみならずスクリーニング時のサンプルにおいても複数の項目で高値が検出されたため、保存法や検査法を含めて原因の検索を行った。その結果、血清サンプル回収後に速やかに保存されなかったことによりサイトカインが高値を示したと推察された。今後の対応として、手順通りに速やかな血清の保存を徹底することとした。

また、大量生産されたベクターを来年度中に輸入し、受け入れ試験を実施する予定である。

## **E. 結論**

当初の研究計画からやや遅れているが、遺伝子治療臨床研究は順調に実施されている。引き続き、

高用量群の症例を追加しながら、臨床研究を進めていく予定である。また、大量生産に対応な施設での生産準備も完了し、来年度には本臨床研究薬 (SIV-hPEDF) の製剤化への対応も完了する予定である。

## **F. 健康危険情報**

なし

## **G. 研究発表**

### **1. 論文発表**

なし

### **2. 学会発表**

1. Ikeda Y: (Symposium) Phase I clinical study of a third-generation simian immunodeficiency virus (SIV)-based lentiviral vector carrying human PEDF gene for patients with retinitis pigmentosa. 19th Annual Meeting of Japan Society of Gene Therapy (Okayama, Japan) 2013. 7. 4-6.
2. Ikeda Y, Ishibashi T, et al. Phase I clinical study of a third-generation simian immunodeficiency virus (SIV)-based lentiviral vector carrying human PEDF gene for patients with retinitis pigmentosa. 21th Anniversary Congress of the European Society of Gene and Cell Therapy (Madrid, Spain) 2013. 10. 25-28.
3. 池田康博: (指定演者) Phase I clinical study of a third-generation simian immunodeficiency virus (SIV)-based lentiviral vector carrying human PEDF gene for patients with retinitis pigmentosa. 第4回 国際協力遺伝病遺伝子治療フォーラム, 2014年1月16日、東京

## **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



## II . 分 担 研 究 報 告

厚生労働科学研究費補助金（医療技術実用化総合研究事業）  
分担研究報告書

臨床研究薬（SIV-hPEDF）の網膜下投与の安全性確認

研究代表者	石橋 達朗	九州大学大学院医学研究院	眼科学	教授
研究分担者	池田 康博	九州大学病院	眼科	助教
	江内田 寛	佐賀大学医学部	眼科	教授
	村上 祐介	九州大学病院	眼科	医員

**研究要旨** 本臨床研究では、難治性疾患である網膜色素変性（RP）に対する新しい治療法として、国産新規遺伝子治療用ベクターである第3世代アフリカミドリザル由来サル免疫不全ウイルス（SIV）ベクターを用いた視細胞保護遺伝子治療臨床研究（安全性試験）を実施する。そのため、本研究では臨床研究の速やかな実施と臨床研究薬の網膜下投与の安全性の評価を目的とする。平成24年8月に厚生労働大臣より臨床研究実施計画の了承を取得し、平成25年3月より遺伝子治療臨床研究を開始した。本年度は、さらに4例の被験者への投与を実施し、低用量群5名への投与を完了した。さらに、最終投与後28日の時点での安全性の評価を実施し、重篤な有害事象の発生を認めなかった。来年度初めに開催される遺伝子治療適応評価委員会においてステージアップの審査を受ける予定となっている。

**A. 研究目的**

臨床研究の速やかな実施と臨床研究薬の網膜下投与の安全性の評価を目的とする。

**B. 研究方法**

本臨床研究は、オープンラベル、2段階用量漸増式で、安全性の確認を主眼とした臨床研究（第I相に相当）であり、臨床研究実施計画書の記載に基づいて実施される。被験者に本臨床研究参加への同意取得を行った後、所定の問診・スクリーニング検査で適格基準の確認を行い、臨床研究薬の投与を行う。投与後24ヶ月までを観察期間とし、有害事象の発生、疾患に対する検査、一般検査、臨床症状などから安全性を評価する。

**（倫理面への配慮）**

本臨床研究の実施計画は、厚生労働省・文部科学省の遺伝子治療ガイドライン他、以下の指針・法律等に基づいて立案されており、「臨床研究実施計画書」ならびに「患者説明・同意書」の倫理性等については、九州大学医学研究院等倫理委員会および同遺伝子治療臨床研究審査専門委員会にて十分に議論され、平成20年10月3日に最終承認を受けた。さらに、平成24年8月に厚生労働大臣より臨床研究実施計画の了承を取得した。

- 1) 「遺伝子治療臨床研究に関する指針」（文部科学省／厚生労働省 告示第二号、平成16年12月28日）
- 2) 「臨床研究に関する倫理指針」（厚生労働省 告示第四百五十九号、平成16年12月28日）
- 3) 「遺伝子組換え生物等の使用等の規制によ

る生物の多様性の確保に関する法律」(法律第97号、平成15年6月18日)

4)「遺伝子治療臨床研究に関する「遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律」に基づく第一種使用規程承認申請の手続等について」(科発第0219001号、厚生労働省大臣官房厚生科学課長通知、平成16年2月19日)

5)「遺伝子組換え微生物の使用等による医薬品等の製造における拡散防止措置等について」(薬食発第0219011号、各都道府県知事あて厚生労働省医薬食品局長通知、平成16年2月19日)

6)「遺伝子治療用医薬品の品質及び安全性の確保に関する指針について」(薬発第1062号、各都道府県知事あて厚生省薬務局長通知、平成7年11月15日)

7)「遺伝子治療用医薬品の品質及び安全性の確保に関する指針の改正について」(医薬発第329004号、各都道府県知事あて厚生労働省医薬局長通知、平成14年3月29日)

8)「遺伝子組み換え生物等の使用等の規制による生物多様性の確保に関する法律」(平成15年法律第97号)。

1)の指針に基づき、平成22年10月23日に厚生科学審議会へ実施申請を行い、実施計画の妥当性や倫理性等について審議される予定となっている。

### C. 研究結果

平成24年8月に厚生労働大臣より臨床研究実施計画の了承を取得し、平成25年3月より遺伝子治療臨床研究を開始した。

低用量群として、RP-01, 02, 03, 04 および 06 の5例がスクリーニング検査結果に基づき適応ありと判断された後に、臨床研究薬を投与するに

至った。

RP-01は、平成25年3月26日に右眼に投与し、28日目までに重篤な有害事象を認めなかった。術後早期より白血球減少を認め、有害事象との判断に至ったが、その後の経過観察で回復した。また、それ以降は全身的ならびに眼局所に重篤な有害事象は認めていない。投与後11ヶ月後に0.01と投与眼の視力が軽度低下したが(投与前は0.02)、翌月には0.02であり、変動の範囲内と判断した。

RP-02は、平成25年5月28日に右眼に投与し、28日目までに重篤な有害事象を認めなかった。その後も重篤な有害事象は認めていない。投与後6ヶ月以降は0.15と投与眼の視力が軽度低下したが(投与前は0.3p)、その他の眼科的検査所見に著変を認めなかった。投与前2年間は0.1-0.2で変動しており、変動の範囲内と判断した。

RP-03は、平成25年7月2日に右眼に投与した。投与した臨床研究薬の吸収が遅く、網膜剥離が遷延したため、投与後14日に網膜剥離手術(硝子体切除術、眼内光凝固術、液-ガス置換術)を実施。同日、重大事態の認知日時とし、所轄官庁へ速報を実施した。再手術後、臨床研究薬は完全に吸収され、網膜剥離の再発やその他の合併症を認めていない。投与後の視力は0.1前後(投与前は0.07)で経過していたが、投与後8ヶ月に0.07と軽度低下していた。後発白内障の影響と判断し、進行が認められればレーザー加療を施行する予定としている。全身的に重篤な有害事象は認めていない。

RP-04は、平成25年10月8日に左眼に投与し、28日目までに重篤な有害事象を認めなかった。投与眼の視力は0.08で経過しているが(投与前は0.1)、視力低下に関連する眼底の変化は認めていない。術後早期より後発白内障が認められており、その影響であると判断した。現在も混濁は

増加しており、視力がさらに低下すればレーザー加療を施行する予定としている。

RP-06は、平成26年1月28日に右眼に投与し、28日目までに重篤な有害事象を認めなかった。

#### D, E. 考察、結論

当初の研究計画からやや遅れているが、遺伝子治療臨床研究を開始し、低用量群5名への投与が完了した。RP-03（第3症例）で網膜剥離手術という重大事態を認めたが、再手術後の経過は良好である。また、登録する症例の選択基準を再検討することで、その後は網膜下液の吸収の遅延が生じることはなかった。

以上より、低用量群での安全性が確認できたため、高用量群へ移行することができると判断し、ステージアップ審査に向けたデータ収集と解析を進めている。来年度は、ステージアップの審査を受けた後、高用量群15名への投与を開始する予定である。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

なし

##### 2. 学会発表

1. Ikeda Y: (Symposium) Phase I clinical study of a third-generation simian immunodeficiency virus (SIV)-based lentiviral vector carrying human PEDF gene for patients with retinitis pigmentosa. 19th Annual Meeting of Japan Society of Gene Therapy (Okayama, Japan) 2013. 7. 4-6.

2. Ikeda Y, Ishibashi T, et al. Phase I clinical study of a third-generation simian immunodeficiency virus (SIV)-based

lentiviral vector carrying human PEDF gene for patients with retinitis pigmentosa. 21th Anniversary Congress of the European Society of Gene and Cell Therapy (Madrid, Spain) 2013. 10. 25-28.

3. 池田康博: (指定演者) Phase I clinical study of a third-generation simian immunodeficiency virus (SIV)-based lentiviral vector carrying human PEDF gene for patients with retinitis pigmentosa. 第4回 国際協力遺伝病遺伝子治療フォーラム. 2014年1月16日、東京

#### 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

厚生労働科学研究費補助金（医療技術実用化総合研究事業）  
分担研究報告書

臨床研究薬（SIV-hPEDF）の網膜下投与の治療効果の評価と原因遺伝子との因果関係の検討

研究分担者	池田 康博	九州大学病院	眼科	助教
	吉田 茂生	九州大学病院	眼科	講師
	村上 祐介	九州大学病院	眼科	医員

**研究要旨** 本研究では、遺伝子治療臨床研究の被験者それぞれにおける治療効果と原因遺伝子の因果関係を検討するために、被験者の原因遺伝子検索を実施する体制を整備することを目的とする。平成 24 年 8 月に厚生労働大臣より臨床研究実施計画の了承を取得し、平成 25 年 3 月より遺伝子治療臨床研究を開始した。本年度は、さらに 4 例の被験者への投与を実施し、低用量群 5 名への投与を完了した。被験者から採取されたサンプルは手順に従って適切に保存されている。

#### A. 研究目的

遺伝子治療臨床研究の被験者それぞれにおける治療効果と原因遺伝子の因果関係を検討するために、被験者の原因遺伝子検索を実施する体制を整備することを目的とする。

#### B. 研究方法

被験者から採取されたサンプルからの DNA 抽出法、保存法の手順作成し、既知の原因遺伝子を検出するためのプライマーやプローブを設計する。

（倫理面への配慮）

「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」（平成 20 年 12 月 1 日一部改正）に基づいて、ゲノム診断を施行する。

#### C. 研究結果

手順に従い、被験者から採取されたサンプルは適切に保存されている。また、既知の原因遺伝子を検出するためのプライマーやプローブを設計

し、適正化を実施している。

さらに、全ゲノム解析による原因遺伝子検索を実施するため、他施設との共同研究についての話し合いを開始した。

#### D, E. 考察、結論

原因遺伝子検査を実施する体制が順調に整備されており、臨床研究における効果判定後速やかに検査を実施することが可能となる予定である。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

なし

##### 2. 学会発表

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

厚生労働科学研究費補助金（医療技術実用化総合研究事業）  
分担研究報告書

GCP に準拠した臨床研究データ収集・評価

研究分担者 中西 洋一 九州大学病院 ARO 次世代医療センター 教授  
戸高 浩司 九州大学病院 ARO 次世代医療センター 准教授

**研究要旨** 本研究では、GCP に準拠したデータ収集・評価を実施するために、人員の配備と業務手順書を作成し、臨床研究をスムーズに実施することを目的とする。平成 24 年 8 月に厚生労働大臣より臨床研究実施計画の了承を取得した後、ARO 次世代医療センターを中心に臨床研究支援体制を整備し、平成 25 年 3 月より遺伝子治療臨床研究を開始できた。本年度は、さらに 4 例の被験者への投与を実施し、低用量群 5 名への投与を完了した。来年度以降も引き続き症例を追加しながら、臨床研究を進めていく予定となっている。

### A. 研究目的

九州大学病院 ARO 次世代医療センターが支援し、GCP に準拠したデータ収集・評価を実施するための支援体制を整備する。また、臨床研究薬の保管、希釈等は、cGMP に準拠した細胞調製室（CPC）を使用するため、各種手順書を作成し、担当者のトレーニングを実施する。

### B. 研究方法

1. 本臨床研究は、オープンラベル、2段階用量漸増式で、安全性の確認を主眼とした臨床研究（第I相に相当）であり、臨床研究実施計画書の記載に基づいて実施される。被験者に本臨床研究参加への同意取得を行った後、所定の問診・スクリーニング検査で適格基準の確認を行い、臨床研究薬の投与を行う。投与後24ヶ月までを観察期間とし、有害事象の発生、疾患に対する検査、一般検査、臨床症状などから安全性を評価する。

2. 臨床研究開始後、GCP に準拠した書類の作成

整備や報告書作成、モニタリング、データマネジメント、安全性情報管理、遺伝子治療臨床研究指針で求められる有害事象報告等の規制当局対応を担当する。

3. cGMP に準拠した細胞調製室（CPC）にて臨床研究薬の保管、希釈等を実施するため、手順書を作成し、担当者のトレーニングを実施する。

#### （倫理面への配慮）

本臨床研究の実施計画は、厚生労働省・文部科学省の遺伝子治療ガイドライン他、以下の指針・法律等に基づいて立案されており、「臨床研究実施計画書」ならびに「患者説明・同意書」の倫理性等については、九州大学医学研究院等倫理委員会および同遺伝子治療臨床研究審査専門委員会にて十分に議論され、平成 20 年 10 月 3 日に最終承認を受けた。さらに、平成 24 年 8 月に厚生労働大臣より臨床研究実施計画の了承を取得した。

1) 「遺伝子治療臨床研究に関する指針」（文部科学省／厚生労働省 告示第二号、平成 16 年 12

月 28 日)

2) 「臨床研究に関する倫理指針」(厚生労働省告示第四百五十九号、平成 16 年 12 月 28 日)

3) 「遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律」(法律第 97 号、平成 15 年 6 月 18 日)

4) 「遺伝子治療臨床研究に関する「遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律」に基づく第一種使用規程承認申請の手続等について」(科発第 0219001 号、厚生労働省大臣官房厚生科学課長通知、平成 16 年 2 月 19 日)

5) 「遺伝子組換え微生物の使用等による医薬品等の製造における拡散防止措置等について」(薬食発第 0219011 号、各都道府県知事あて厚生労働省医薬食品局長通知、平成 16 年 2 月 19 日)

6) 「遺伝子治療用医薬品の品質及び安全性の確保に関する指針について」(薬発第 1062 号、各都道府県知事あて厚生省薬務局長通知、平成 7 年 11 月 15 日)

7) 「遺伝子治療用医薬品の品質及び安全性の確保に関する指針の改正について」(医薬発第 329004 号、各都道府県知事あて厚生労働省医薬品局長通知、平成 14 年 3 月 29 日)

8) 「遺伝子組み換え生物等の使用等の規制による生物多様性の確保に関する法律」(平成 15 年法律第 97 号)。

## C. 研究結果

昨年度までに作成した各種業務手順書に従って、各被験者に対して GCP に準拠したデータ収集を実施した。RP-03 (第 3 症例) の際に発生した重大事態を受け、有害事象報告等の規制当局対応を実施した。

## D, E. 考察、結論

臨床研究支援体制の整備は完了しており、臨床研究をスムーズに実施できている。また、業務手順に従い、適切なデータ収集ならびにデータ解析が可能となっている。来年度以降も引き続き症例を追加しながら、臨床研究を進めていく予定となっている。

## F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

なし

### 2. 学会発表

1. Ikeda Y: (Symposium) Phase I clinical study of a third-generation simian immunodeficiency virus (SIV)-based lentiviral vector carrying human PEDF gene for patients with retinitis pigmentosa. 19th Annual Meeting of Japan Society of Gene Therapy (Okayama, Japan) 2013. 7. 4-6.

2. Ikeda Y, Ishibashi T, et al. Phase I clinical study of a third-generation simian immunodeficiency virus (SIV)-based lentiviral vector carrying human PEDF gene for patients with retinitis pigmentosa. 21th Anniversary Congress of the European Society of Gene and Cell Therapy (Madrid, Spain) 2013. 10. 25-28.

3. 池田康博: (指定演者) Phase I clinical study of a third-generation simian immunodeficiency virus (SIV)-based lentiviral vector carrying human PEDF gene for patients with retinitis pigmentosa. 第 4 回 国際協力遺伝病遺伝子治療フォーラム. 2014 年 1 月 16 日、東京



## 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

厚生労働科学研究費補助金（医療技術実用化総合研究事業）  
分担研究報告書

臨床研究実施から製剤化へ向けた準備

研究分担者

米満 吉和 九州大学大学院薬学研究院 革新的バイオ医薬創成学 教授

池田 康博 九州大学病院 眼科 助教

**研究要旨** 本研究は、ベクターの受け入れ試験ならびに、臨床研究実施期間中の生体材料（血液、尿、前房水、他）による、一般検査以外の各種検査法（ベクターゲノム検出、抗体レベル測定、ベクター活性測定、各種サイトカイン測定など）の実施体制整備し、それぞれの検査を適切に実施することを目的とする。ベクターゲノム検出、抗体レベル測定、各種サイトカイン測定については、実施体制が整備され、検査を実施した。また、本臨床研究の最終的な目標である本臨床研究薬（SIV-hPEDF）の製剤化へ向けた準備として必要と判断された大量生産に対応可能な施設でのベクター製造の準備が整い、深圳市源興生物医薬科技有限公司（中華人民共和国）でのベクターの大量生産を開始した。

### A. 研究目的

ベクターの受け入れ試験ならびに、臨床研究実施期間中の生体材料（血液、尿、前房水、他）による、一般検査以外の各種検査法（ベクターゲノム検出、抗体レベル測定、ベクター活性測定、各種サイトカイン測定など）の実施体制を整備し、それぞれの検査を適切に実施する。

また、本臨床研究薬（SIV-hPEDF）の製剤化へ向けた準備として、大量生産に対応可能な施設でのベクターの製造を開始する。

### B. 研究方法

1. 臨床研究実施のための準備として、ベクターの受け入れ試験ならびに、臨床研究実施期間中の生体材料（血液、尿、前房水、他）を用いた各種検査法（ベクターゲノム検出、抗体レベル測定、ベクター活性測定、各種サイトカイン測定など）の validation を行い、手順に従って各種検査を

適切に実施する。

2. 大量生産に対応可能な施設でのベクター製造を開始する。

#### （倫理面への配慮）

本臨床研究の実施計画は、厚生労働省・文部科学省の遺伝子治療ガイドライン他、以下の指針・法律等に基づいて立案されており、「臨床研究実施計画書」ならびに「患者説明・同意書」の倫理性等については、九州大学医学研究院等倫理委員会および同遺伝子治療臨床研究審査専門委員会にて十分に議論され、平成 20 年 10 月 3 日に最終承認を受けた。さらに、平成 24 年 8 月に厚生労働大臣より臨床研究実施計画の了承を取得した。

1) 「遺伝子治療臨床研究に関する指針」（文部科学省／厚生労働省 告示第二号、平成 16 年 12 月 28 日）

2) 「臨床研究に関する倫理指針」（厚生労働省

告示第四百五十九号、平成 16 年 12 月 28 日)

3) 「遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律」(法律第 97 号、平成 15 年 6 月 18 日)

4) 「遺伝子治療臨床研究に関する「遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律」に基づく第一種使用規程承認申請の手続等について」(科発第 0219001 号、厚生労働省大臣官房厚生科学課長通知、平成 16 年 2 月 19 日)

5) 「遺伝子組換え微生物の使用等による医薬品等の製造における拡散防止措置等について」(薬食発第 0219011 号、各都道府県知事あて厚生労働省医薬食品局長通知、平成 16 年 2 月 19 日)

6) 「遺伝子治療用医薬品の品質及び安全性の確保に関する指針について」(薬発第 1062 号、各都道府県知事あて厚生省薬務局長通知、平成 7 年 11 月 15 日)

7) 「遺伝子治療用医薬品の品質及び安全性の確保に関する指針の改正について」(医薬発第 329004 号、各都道府県知事あて厚生労働省医薬局長通知、平成 14 年 3 月 29 日)

8) 「遺伝子組み換え生物等の使用等の規制による生物多様性の確保に関する法律」(平成 15 年法律第 97 号)。

### C. 研究結果

血液、尿、涙液中のベクターゲノムを検出する方法を確立し、各被験者から収集したサンプルに対して検査を実施した。RP-06 (第 5 症例) の臨床研究薬投与後 6 時間の涙液中よりベクターゲノムが検出されたが、その他のサンプルはすべて検出感度以下であった。

抗 VSV-G 抗体価の測定法について、ELISA 法を用いた検査手順書を作成し、適正化を実施した。

血清中の炎症サイトカイン測定を手順書に従って実施した。IL-4, IFN- $\gamma$  すべての症例のすべての時点で検出限界以下だった。また、IL-1 $\beta$  もほぼ同様な結果だった。IL-6 では、RP-04 のスクリーニング時、RP-06 の投与後 14 日で高値が検出され、IL-8 でも、RP-04 のスクリーニング時と投与後 3 日、RP-06 の投与後 14 日で高値が検出された。さらに、TNF- $\alpha$  でも、RP-01 のスクリーニング時、RP-06 の投与後 14 日で高値が検出された。

本臨床研究薬の製剤化へ向けた準備として、大量生産に対応可能な施設(深圳市源興生物医薬科技有限公司: 中華人民共和国)でのベクター製造を開始した。

### D, E. 考察、結論

臨床研究を推進するための各種検査法は整備され、臨床研究をスムーズに推進できている。

血清中の炎症性サイトカイン濃度測定において、投与後のみならずスクリーニング時のサンプルにおいても複数の項目で高値が検出されたため、保存法や検査法を含めて原因の検索を行った。その結果、これらのサンプルにおいて、回収から保存までに 1 時間以上経過していたことが明らかとなった。さらに、健常人(4 人)の血清を用いて、採血直後、室温 1 時間、室温 3 時間で保存した際のサイトカインを測定したところ、IL-8 と TNF- $\alpha$  は室温 3 時間でサイトカイン濃度が大きく上昇することが確認された。文献的にも IL-6 や IL-8 は採血後に含まれる白血球からの分泌により、濃度が上昇することが報告されており、サンプル回収後に速やかに保存されなかったことによりサイトカインが高値を示したと推察された。今後の対応として、手順通りに速やかな血清の保存を徹底することとした。

また、大量生産されたベクターを来年度中に輸

入し、受け入れ試験を実施する予定である。

**F. 健康危険情報**

なし

**G. 研究発表**

**1. 論文発表**

なし

**2. 学会発表**

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