

in patients with severe hemophilia B. Blood 101: 2963-2972 (2003)

文献 21: Manno, C. S., et al., Successful transduction of liver in hemophilia by AAV-factor IX and limitations imposed by the host immune response. Nat. Med. 12: 342-347 (2006)

文献 22: J.L. Eberling, W.J. Jagust, C.W. Christine, et al. Results from a phase I safety trial of hAADC gene therapy for Parkinson disease. Neurology ;70 1980-1983, 2008

文献 23: C.W. Christine, P.A. Starr, P.S. Larson, et al. Safety and tolerability of putaminal AADC gene therapy for Parkinson disease. Neurology 73:1662-1669, 2009

文献 24 : G. Mittermeyer, C.W. Christine, K.H. Rosenbluth, et al. Long-Term Evaluation of a Phase 1 Study of AADC Gene Therapy for Parkinson' s Disease. HUMAN GENE THERAPY 23:377-381, 2012

#### IV 生物多様性影響評価

##### 1 他の微生物を減少させる性質

###### (1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定

本遺伝子組換え生物及び本遺伝子組換え生物由来RCA の感染性は野生型AAV2 と同一と考えられ、微生物に感染するとの報告はない。また、競合、有害物質の産生により他の微生物を減少させることはないと考えられる。よって、影響を受ける可能性のある微生物は特定されなかった。

###### (2) 影響の具体的内容の評価

(該当せず。)

###### (3) 影響の生じやすさの評価

(該当せず。)

###### (4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断

よって、他の微生物を減少させる性質について、第一種使用規程承認申請書に記載した遺伝子組換え生物等の第一種使用等の方法によるかぎり、生物多様性影響が生ずるおそれはないと判断される。

##### 2 病原性

###### (1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定

本遺伝子組換え生物が自然界で感染する対象は、哺乳動物である。また、たとえ本遺伝子組換え生物からRCA が生じて、ヘルパーウイルスが同時に感染しないかぎり複製は起こらない(文献1)。

###### (2) 影響の具体的内容の評価

本遺伝子組換え生物が感染した動物で一過性にhAADC 遺伝子が発現する可能性はあるが、hAADC の基質となるL-dopa 又は5-HTPが供給されないかぎり、ドパミン又はセロトニンが産生されることはない。動物体内にあるL-dopa 又は5-HTP は少量であり、また自然界においてこれらの基質が外来性に供給されることはないため、たとえhAADC が過剰発現しても生成するドパミン又はセロトニンの量は生理的範囲内であると予想される。

AAV-hAADC-2 由来RCA は、野生型AAV-hAADC-2 と同様に病原性をもたないと考えられる。なお、AAV2 に由来する遺伝子組換えウイルスは1999 年以後、米国で使用され（文献10、11）、血清型が異なる遺伝子組み換えAAVが欧州で医薬品（Glybera）として承認されたが、環境への悪影響に関する報告はない。また、これまで当該ウイルスを投与されたヒトにおいて当該ウイルスに由来する重篤な副作用は報告されていない。

### (3) 影響の生じやすさの評価

第一種使用規程承認申請書に記載した遺伝子組換え生物等の第一種使用等の方法によるかぎり、本遺伝子組換え生物及び本遺伝子組換え生物由来RCA が環境中へ拡散する可能性は低く、また、拡散したとしても極めて微量である。また、本遺伝子組換え生物自体はヘルパーウイルスが存在しても増殖することなく、本遺伝子組換え生物由来RCA も、ヘルパーウイルスであるアデノウイルス等と共感染しないかぎり、環境中で増殖することはない。さらに、本遺伝子組換え生物が効率よく感染する対象はヒトに限られるため、本遺伝子組換え生物及び本遺伝子組換え生物由来RCA が被験者以外のヒトに対して病原性を示す可能性は極めて小さいと考えられる。

### (4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断

よって、病原性について、第一種使用規程承認申請書に記載した遺伝子組換え生物等の第一種使用等の方法によるかぎり、生物多様性影響が生ずるおそれはないと判断される。

## 3 有害物質の産生性

### (1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定

本遺伝子組換え生物の有害物質の産生性は知られておらず、影響を受ける可能性がある野生動植物等は特定されなかった。

### (2) 影響の具体的内容の評価

（該当せず。）

### (3) 影響の生じやすさの評価

（該当せず。）

### (4) 生物多様性が生ずるおそれの有無等の判断

よって、有害物質の産生性について、第一種使用規程承認申請書に記載した遺伝子組換え生物等の第一種使用等の方法によるかぎり、生物多様性影響が生ずるおそれはないと判断される。

#### 4 核酸を水平伝達する性質

##### (1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定

本遺伝子組換え生物及び本遺伝子組換え生物由来RCA の感染性は野生型AAV2 と同一と考えられる。自然界では、野生型AAV2 はヒトを自然宿主とし、ヒト以外で増殖を伴う感染が成立するかどうかは明らかではない。遺伝子組換えAAV2 を使用した実験結果から、ヒト以外にカンクイサル、アカゲサル、イヌ、ラット、マウスなどのほ乳動物に感染することが報告されている。

##### (2) 影響の具体的内容の評価

本遺伝子組換え生物が感染したヒト又はヒト以外のほ乳類で一過性にhAADC 遺伝子を発現する可能性はあるが、これによる他のほ乳類個体への核酸の水平伝達は知られていない。本遺伝子組換え生物由来の遺伝子組換え生物に該当するRCA が出現したとしても、核酸を水平伝達する性質は野生型AAV2 と同等である。

##### (3) 影響の生じやすさの評価

第一種使用規程承認申請書に記載した遺伝子組換え生物等の第一種使用等の方法によるかぎり、本遺伝子組換え生物及び本遺伝子組換え生物由来RCA の環境中への拡散は極めて微量である。また、本遺伝子組換え生物自体はヘルパーウイルスが存在しても増殖する能力はなく、本遺伝子組換え生物由来RCA も、ヘルパーウイルスであるアデノウイルス等と共感染しないかぎり、環境中で増殖することはない。さらに、本遺伝子組換え生物が効率よく感染する対象はヒトに限られることから、本遺伝子組換え生物はやがて環境中から消滅すると考えられる。

極めて微量の本遺伝子組換え生物由来のRCA の環境中への放出も完全には否定できないが、AAV 粒子へパッケージングできるDNA のサイズに上限があるため、RCA は野生型AAV2 と同じになるか、あるいは短い外来遺伝子を含んでも野生型AAV2 に極めて近い構造になると考えられる。RCA の感染性、増殖性、病原性及び核酸を水平伝達する性質は野生型AAV2 と同等であり、ヒト及び他のほ乳動物、植物並びに微生物に新たな影響を与えることはないと考えられる。

##### (4) 生物多様性が生ずるおそれの有無等の判断

よって、拡散を水平伝達する性質について、第一種使用規程承認申請書に記載した遺伝子組換え生物等の第一種使用等の方法によるかぎり、生物多様性影響が生ずるおそれはないと判断される。

#### 5 その他の性質

なし。

文献 25: Kay, M. A., et al., Evidence for gene transfer and expression of factor IX in haemophilia B patients treated with an AAV vector. Nat. Genet. 24: 257-261 (2000)

文献 26 : High, K., et al., Human immune responses to AAV-2 capsid may limit duration of expression in liver-directed gene transfer in humans with hemophilia B. Blood 104: 121a (2004)

## V 総合的評価

本遺伝子組換え生物が感染する動植物等の種類は野生型AAV2 と同等で、ほ乳動物に感染する。自然界で植物及び微生物に感染するとの報告はない。

第一種使用規程承認申請書に記載した遺伝子組換え生物等の第一種使用等の方法によるかぎり、本遺伝子組換え生物の環境中への拡散は極力抑えられており、拡散したとしても、その量は検出レベル以下であると推定される。本遺伝子組換え生物によるhAADC 遺伝子の発現はヒトに病原性をもたないので、ヒトに対する影響はないと考えられる。さらに、本遺伝子組換え生物は増殖能を失っているため、野生型AAV 及びそのヘルパーウイルスであるアデノウイルス等との三重感染がないかぎり、環境中で増殖することはない。ヒト体内の同一の細胞に本遺伝子組換え生物と野生型AAV 及びそのヘルパーウイルスであるアデノウイルス等が感染する可能性は極めて低く、本遺伝子組換え生物はやがて環境中から消滅すると考えられる。極めて微量の本遺伝子組換え生物由来のRCA の環境中への放出も完全には否定できないが、AAV 粒子へパッケージングできるDNA のサイズに上限があるため、RCA は野生型AAV2 と同じになるか、あるいは短い外来遺伝子を含んでも野生型AAV2 に極めて近い構造になると考えられる。RCA の感染性、増殖性、病原性及び核酸を水平伝達する性質は野生型AAV2 と同等であり、ヒト及び他のほ乳動物、植物並びに微生物に新たな影響を与えることはないと考えられる。

従って、第一種使用規程承認申請書に記載した遺伝子組換え生物等の第一種使用等の方法によるかぎり、本遺伝子組換え生物による生物多様性影響が生ずるおそれはないと判断される。

### 生物多様性影響評価書 別紙 目次

- 別紙 1 : AAV-hAADC-2 の全塩基配列
- 別紙 2 : hAADC のアミノ酸配列
- 別紙 3 : AAV-hAADC-2 の構造
- 別紙 4 : プラスミドの構造
- 別紙 5 : 組換え AAV ウイルス作製の概略図
- 別紙 6 : AAV-hAADC-2の品質管理試験
- 別紙 7 : 293T/17細胞 (MWCB)の品質管理試験
- 別紙 8 : 治療施設の地図及び保管場所の概略図
- 別紙 9 : 治療施設医療廃棄物管理規程

アデノ随伴ウイルスベクターを用いた遺伝子治療における諸条件の基礎的検討

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

小澤敬也、水上浩明

研究要旨 AAV ベクターを用いた遺伝子治療が広がりを見せる中、関連技術に関する報告が増えており、最適な方法に関して改めて検討する必要性が生じている。そこで今回このような観点から AAV ベクターの作製・精製法、定量法に関して検討した。その結果、研究室レベルでは現在用いている方法で概ね最適と考えられたものの、今後臨床応用に向けて大量に調製する場合には新しい方法に移行する必要があるものと考えられた。

#### A. 研究目的

アデノ随伴ウイルス (AAV) ベクターを用いた遺伝子治療が広まるにつれて、関連する技術の開発が進んできている。近年報告されている技術に関して広く情報を収集し、ベクター作製・精製法、定量法などに関して最適な方法を探ることを目的とする。

#### B. 研究方法

・AAV ベクターの作製法に関する検討：これまでの報告を精査し、長所及び短所を比較検討した。また、現在最も広く行われているトランスフェクション法に関して、使用するフラスコのサイズと収量に関して検討した。

・AAV ベクターの精製法に関する検討：これまでの報告を精査し、我々が通常行っている塩化セシウムによる濃度勾配を用いる方法よりも有用なものがあるかどうかに関して検討した。

・AAV ベクターの定量法に関する検討：これまでの報告を精査し、我々が通常行っているリアルタイム PCR 法に比較して有利な方法があるかどうかに関して検討した。

（倫理面への配慮）

本研究は、非病原性の AAV に由来するベクターの開発とその応用を目指したものであり、周辺環境および実験従事者の安全性に関して、

倫理的な問題が生ずることは基本的にはないものと考えている。

#### C. 研究結果

・AAV ベクターの作製法に関する検討：ベクターの作製法としては依然としてリン酸カルシウム法によるトランスフェクションが優れているものと考えられた。また、効率良い作製のためにはできるだけ大きなフラスコを用いることが望ましいとの考えから 10 段のフラスコを用いてきたが、単位面積あたりの収量に換算すると無駄が多いことが問題となっている。このため、より段数の少ない 4 段、2 段のフラスコを用いて効率を検討したところ、段数が少なくなるにつれて単位面積あたりの作製効率が高まる傾向が見られた。総合的には 4 段のフラスコを用いることが最適と考えられた。また、将来的に臨床用に大量調製する場合にはウイルスを用いる方法、中でもバキュロウイルスを用いる方法が有望と考えられた。

・AAV ベクターの精製法に関する検討：多くの方法が報告されている中で、塩化セシウム法は全ての血清型のベクターに応用可能であり、空ベクターを効率良く除去できるなど有利な点が多いものと考えられた。将来的に大量調製する場合には処理能力に限界があるこ

とから異なる方法に移行する必要があるものと思われ、その際にはアフィニティーカラムを用いる方法などが有力な候補と考えられた。

・AAV ベクターの定量法に関する検討：リアルタイム PCR 法が最も広く用いられているが、誤差の問題があり、正確な定量には他の方法と組み合わせて実施する必要があるものと思われた。このような欠点を克服した方法としてデジタル PCR 法が開発されており、今後普及するものと予想される。

#### D. 考察

AAV ベクターを用いる遺伝子治療法は近年臨床研究における数々の成功により急速に普及が進んでいる。その結果ベクター調製に関しても多くの技術が開発されてきている。それぞれに長所と短所があることから、目的に応じて選択することになるが、改良も行われており、変化が激しい。今回は研究室レベルでの視点から最適な技術を選択したが、今後臨床への展開が進むにつれて産業用に調製する必要が出てくるものと思われ、そのような視点からも選択を考慮する必要がある。特に作製法ではトランスフェクションのスケールを大きくするだけでは限界があり、バキュロウイルス法などを採用することが必要と考えられた。

#### E. 結論

AAV ベクターの作製・精製法、定量法に関して検討した結果、研究室レベルでは現在用いている方法で概ね最適と考えられた。しかしながら、今後臨床応用に向けて大量調製する場合には、新たな方法に移行する必要があるものと考えられた。今後も新しい技術の開

発が続くものと予想されることから、引き続き検討を続けていきたい。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

Mimuro, J., Mizukami, H., Shima, M., Matsushita, T., Taki, M., Muto, S., Higasa, S., Sakai, M., Ohmori, T., Madoiwa, S., Ozawa, K., Sakata, Y.: Prevalence of neutralizing antibodies against adeno-associated virus capsids is reduced in young Japanese individuals. **J Med Virol**, *in press*.

Takahashi, K., Mizukami, H., Saga, Y., Takei, Y., Urabe, M., Kume, A., Machida, S., Fujiwara, H., Suzuki, M., Ozawa, K.: Suppression of lymph node and lung metastases of endometrial cancer by muscle-mediated expression of soluble vascular endothelial growth factor receptor-3. **Cancer Sci**, 104:1107-11, 2013.

Shimada, M., Abe, S., Takahashi, T., Shiozaki, K., Okuda, M., Mizukami, H., Klinman, D.M., Ozawa, K., Okuda, K.: Prophylaxis and treatment of Alzheimer's disease by delivery of an adeno-associated virus encoding a monoclonal antibody targeting the amyloid Beta protein. **PLoS One**, 8(3):e57606. 2013.

H. 知的所有権の出願・取得状況（予定を含む）

なし

## AADC欠損症に対する遺伝子治療の臨床研究-定位脳手術法の確立

研究分担者 中嶋 剛 自治医大脳神経外科 助教

### 研究要旨

AADC 欠損症に対する遺伝子治療の実施に向けて定位的脳手術法の開発を行った。  
定位的脳手術用治具、遺伝子注入用カニューレ、注入ポンプを製作した。  
また、小児での脳定位手術の実施法について検討した。

### A. 研究目的

AADC 欠損症に対する遺伝子治療の実施に向けて定位的脳手術法（遺伝子導入法）を確立する。

### B. 研究方法

定位的脳手術装置用の治具、遺伝子注入用カニューレ、注入ポンプの設計、製造し安全性について検証する。

また、小児での脳低手術の方法について確認した。

（倫理面への配慮）

自治医科大学倫理委員会において承認された研究計画に則って実施した。

### C. 研究結果

定位的脳手術用治具、遺伝子注入用カニューレ、注入ポンプの製作行程が終了した。

乳幼児は、骨が柔らかいため、脳定位手術での固定がずれる可能性や骨折のリスクがあるが、これまでの経験と、文献上から、4 歳以上ではリスクも低く、実施可能であると判断した。

### D. 考察

定位的脳手術で使用する遺伝子注入用カニューレは直径を過度に小さくすると脳深部への刺入時に容易に撓み遺伝子導入部位の精度低下の原因になることが示唆されたため、脳深部標的部位の近傍では細く、脳表の近傍ではより太い径となるような一部テーパ形状を有するカニューレが本研究に最適であると考えられた。

### E. 結論

遺伝子治療の実施に必要な定位的脳手術フレーム用治具、遺伝子注入用カニューレ、ポンプ

の設計と製作を終えた。

### G. 研究発表

#### 1. 論文発表

Horisawa S, Taira T, Goto S, Ochiai T, Nakajima T. Long-Term improvement of musician's dystonia after stereotactic ventro-oral thalamotomy. Ann Neurol 74:648-54, 2013

中嶋剛. 新たな脳深部刺激装置. 先端医療シリーズ45「臨床医のための最新脳神経外科」先端医療技術研究所, 東京 (in press).

中嶋剛, 手塚正幸, 河村洋介, 黒田林太郎, 木村唯子, 横田英典, 小黒恵司, 渡辺英寿. 脳深部刺激バッテリー留置術における腋下皮膚切開法の利点. 日本整容脳神経外科研究会記録集 4 1-2, 2013

手塚正幸, 中嶋剛, 木村唯子, 横田英典, 小黒恵司, 平孝臣, 渡辺英寿. 痙性斜頸に対する選択的末梢神経遮断術後のボツリヌス毒素筋肉注射: 術後補助療法としての有用性. 機能的脳神経外科 52:166-69, 2013

#### 2. 学会発表

脳深部刺激バッテリー留置術における腋下皮膚切開法の利点, 日本整容脳神経外科研究会, 2013年4月 長野

定位的脳手術の精度とその管理（招待講演）, 東京女子医科大学機能脳神経外科夏季セミナー, 2013年8月 東京

自治医大式手術用ナビゲーションと市販汎用型経頭蓋磁気刺激相当のシステム統合, 脳神経外科学会総会, 2013年10月 東京

DBS vs ablation for movement disorder (invited lecture). The 9<sup>th</sup> Scientific Meeting for Asian Australian Society of Stereotactic and Functional Neurosurgery, January 2014 Shanghai

3Dプリンターがもたらす機能的神経外科のイノベーション, 日本定位機能神経外科学会総会, 2014年2月 大阪

定位脳手術の現状と展望 (招待講演)、CREST「脳機能回路」研究領域 運動系関連研究チーム合同ワークショップ, 2014年2月 愛知

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得  
なし

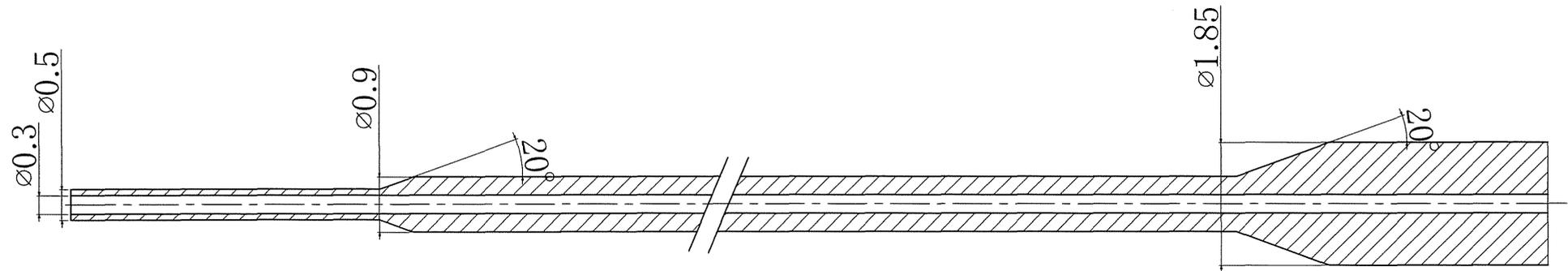
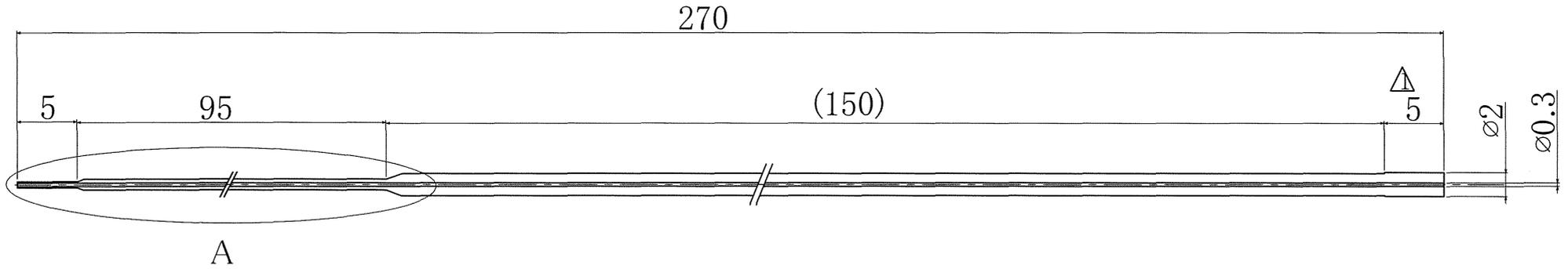
2. 実用新案登録  
なし

3. その他  
なし

## 資料 2

### 注入用カニューレおよびポンプ

公差記載のない寸法に適用する公差 (JIS B0405 中級に準拠)								
長さ					角度			
0.5を超え 3以下	3を超え 6以下	6を超え 30以下	30を超え 120以下	120を超え 400以下	10°以下	10°を超え 50°以下	50°を超え 120°以下	
±0.05	±0.1	±0.2	±0.3	±0.5	±1°	±30'	±20'	

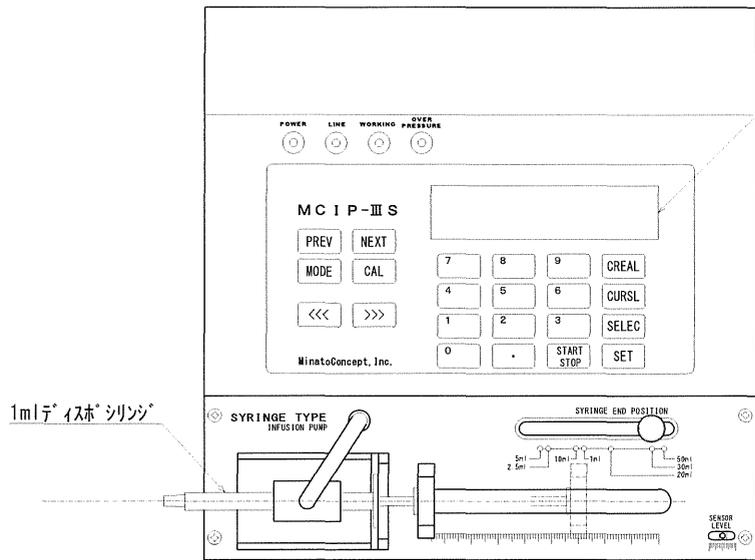


A部詳細(10:1)

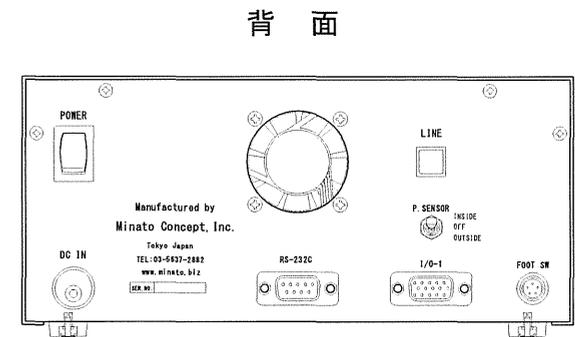
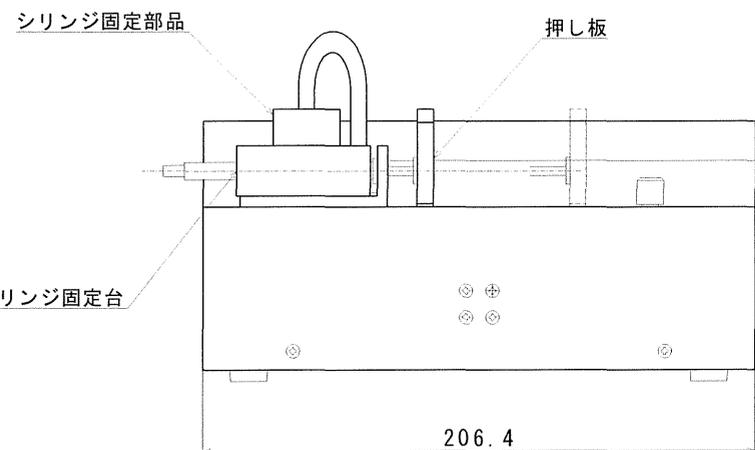
注記

1.各エッジバリ・カエリなきこと。

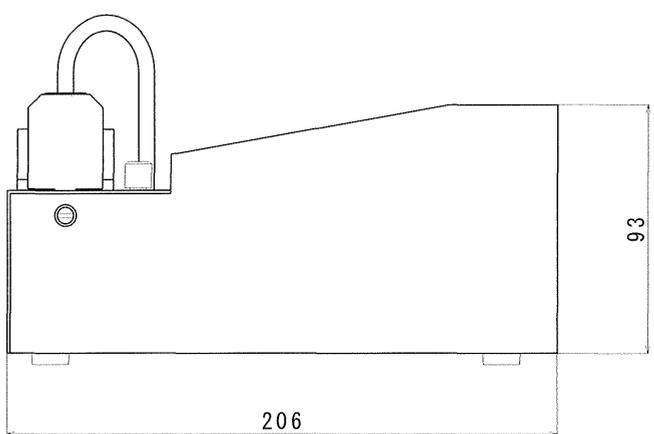
承認	検図	製図	材質	チタン	処理	-	作成日	2013.03.07		品名	TW-270B カニューレ		図面番号	Rev	
			改訂	担当	年月日	記事	3 角 法	寸法	縮尺	株式会社 スズキプレシオン	RD1302-10001-1		工程	工程No.	
		川田	△	川田	2013.06.05	寸法変更		109 mm	2:1						



液晶表示



背面



- 仕様
- 名称 : 据置型シリンジポンプ
  - 使用シリンジ : 1~50ml
  - 流量範囲 : 約0.001~666.6ml/分 (50ml使用時)
  - 最大速度 : 約600mm/分
  - 最大推力 : 約35kgf
  - ストローク : 最大84mm
  - 再現精度 : ±0.2%
  - 筐体 : 据置箱型板金焼付け塗装
  - 本体重量 : 約2.8kg

年月日	記号	品名	数量	単位	備考
1	1	シリンジポンプ	1	台	
		MCIP-III S外觀図			

## AADC欠損症に対する遺伝子治療の臨床研究-手術法の検討

研究分担者 渡辺英寿 自治医大脳神経外科 教授

### 研究要旨

脳内へのベクター注入の管理・定位脳手術実施を行う。

### A. 研究目的

脳内へのベクター注入の管理・  
定位脳手術実施を行う。

### B. 研究方法

2型AAV由来のベクターに神経細胞で安定に遺伝子を発現するサイトメガロウイルス由来のプロモーター配列を組み込み、その下流に配置したAADC遺伝子を発現させる。分担者はこのための外科的なAA導入法の確立を目指す。

（倫理面への配慮）

患者に投与する AADC 遺伝子の純度およびその安全性を慎重に検討する。

### C. 研究結果

本年度は実際の打ち込み手術は行わず、その準備を行った。準備は以下の3点である。

1)ターゲットを決定し手術ナビゲーション手術を行うための特別に手術支援ナビゲーターを用意する。  
2)ナビゲーションを行うための画像解析システムの準備と手術シミュレーションを行う。

3) A V virus 打ち込み中、打ち込み後の感染予防対策を手術室及び病棟でのシミュレーションを行った。

### D. 考察

本年は実際の打ち込みを行っていないので、予備的な実施予行を行うにと止まったが、大きな問題なく施行できると考えられた。

### E. 結論

本年は術前検討のシステム構築と手術

の準備・予行を行った。

### G. 研究発表

#### 1. 論文発表

別紙 4 参照

#### 2. 学会発表

##### ● 新井文博, 小黒恵司, 渡辺英寿: 難

治性てんかん患者に対する新規抗てんかん薬 levetiracetam の使用経験. 日本脳神経外科学会第 71 回学術総会, 大阪, 2012 年 10 月 18 日.

##### ● 海老原彰, 紺野武彦, 田中裕一,

渡辺英寿: 酸素吸入法による光トポグラフィーを用いた脳虚血側診断-主成分分析による評価-. 第 71 回日本脳神経外科学会総会, 大阪, 2012 年 10 月 17-19 日.

### 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

## AADC欠損症遺伝子治療実施に向けた手術および術後管理体制の検討

研究分担者 竹内 護 自治医科大学 麻酔科学・集中治療医学 教授  
研究協力者 多賀 直行 自治医科大学 麻酔科学・集中治療医学 准教授

### 研究要旨

AADC 欠損症の遺伝子治療臨床研究を実施する上で、麻酔や術後管理について、台湾での AADC 欠損症に対する遺伝子治療と自治医科大学で実施したパーキンソン病の遺伝子治療臨床研究の結果を基に検討した。麻酔に対しての問題点は報告されていない。術後管理では、無呼吸発作の増加と一過性のジスキネジアの出現に注意が必要である。

また、ウィルスベクター拡散防止対策を確認した。

### A. 研究目的

AADC 欠損症に対する遺伝子治療は、台湾で 4 例実施した論文報告があり、現在、8 例実施されている。また、同じ AAV-hAADC-2 ベクターを用いた遺伝子治療臨床研究が、自治医科大学で 6 例実施されている。いずれも、ベクターを定位脳手術により被殻に注入する手法で実施された。

AADC 欠損症は、ドーパミン、カテコールアミンやセロトニンの合成が低下し、発達遅滞と共に、筋緊張異常、ジストニアなどの不随意運動、睡眠障害などの神経症状に加え、成長障害や体重増加不良があり、全身状態が不良になる例もある。遺伝子治療臨床研究を行う上で、術前、術中、術後の管理上の問題点と対応法を、台湾での実施例の情報等から検討した。また、ウィルスベクター拡散防止対策、手術の安全対策等についても検討した。

### B. 研究方法

#### (1) 有害事象の解析

台湾での AADC 欠損症に対する遺伝子治療を実施した 8 例について、有害事象等の詳細な情報を入手した。また、自治医科大学で実施したパーキンソン病の遺伝子治療臨床研究での報告書も検討した。これらの実施例から、治療実施上の問題点と対応法について検討した。

#### (2) ウィルスベクター拡散防止対策

ベクターの移送、手術室での対応、術後の患者管理について検討した。

#### (3) 術前、術中、術後管理の検討

上記検討結果から、術前、術中、術後の管

理方法を検討した。

（倫理面への配慮）

総括報告書参照。

### C. 研究結果

#### (1) 有害事象の解析

台湾での AADC 欠損症の有害事象として、術後に無呼吸発作を反復した例が報告されている。一過性の強いジスキネジアが 2 例で見られた。その中の 1 例は口唇・顔面ジスキネジアが強く、摂食困難になり、一時的に経管栄養を実施した。一例は、術前から疾患の進行により全身状態が不良であった。術後、自宅で胃腸炎症状から脱水、ショックになり、心肺停止、蘇生した。

パーキンソン病の遺伝子治療臨床研究では、脳内出血を起こした例が 1 例あった。一時的な神経症状を示したが、後遺症は残さなかった。今回、ベクター注入用のカニューレは改良されており、出血のリスクは低いと考えられるが、十分な注意は必要である。

#### (2) ウィルスベクター拡散防止対策（参考資料参照）

カルタヘナ法に基づき、ウィルス拡散防止法の検討を行った。ベクターを細胞調整室から密封した容器に入れ、手術室へ移送する方法を確認した。また、手術室で一時的な保管場所、受け渡し方法などの拡散防止対策と安全管理を確認した。終了後は、被験者の創部を皮膚欠損用創傷被覆材により密閉し、さらに三角巾で覆い、マスク及びガウンを着用した被験者を、自治医科大学子ども医療センタ

一病棟に移動する手順とした。

術後は、ウィルスベクターの排出がないことが確認されるまで陰圧個室にて管理する。

### (3) 術前、術中、術後管理の検討

#### (a) 術前管理

全身状態不良例で術後ショック状態になった例があり、術前の水分、栄養管理に留意し、全身状態を良好に保つようにする。

睡眠障害があり、適宜メラトニンのアゴニストであるラメルテオン、あるいはトリクロリール等を使用する。ベンゾジアゼピン系薬は、痰が増加するので、使用時は呼吸状態に注意する。

#### (b) 麻酔および術中管理

麻酔に対して問題があった例はなく、通常の麻酔で実施可能と考える。AADC 欠損症で悪性高熱の報告もないが、神経筋接合部をブロックする作用がある麻酔薬は出来る限り使用しない。術中の脳内出血等の副作用症状に注意する。

最少年齢が4歳と想定される。低年齢の児での定位脳手術の経験は全国的に少ない。慎重に実施する。

#### (c) 術後管理

全身状態に応じ、PICU 個室あるいは病棟の陰圧個室で管理する。もっとも問題となる有害事象は無呼吸発作で、発作時にすぐに対応が取れるようにするが、頻回、重度の場合は呼吸管理も検討する。

### D. 考察

これまでの AADC 欠損症の遺伝子治療における有害事象から、無呼吸発作の増加と一過性のジスキネジアが起こるリスクはあると考えられ、術後それらに注意して管理を行う。パーキンソン病遺伝子治療研究では、一例で脳内出血があった。カニューレの改良も行っており、リスクは軽減されているが、留意して術中管理を行う。また、術前に全身状態を良好に保つことも重要である。

他に、麻酔や術前術後の管理上、問題とな

ることはなく、遺伝子治療実施可能であるが、低年齢の児に対しては、より慎重に実施する。

### E. 結論

AADC 欠損症の遺伝子治療臨床研究実施における麻酔や管理上の問題について検討した結果、術後に無呼吸発作の増加と一過性のジスキネジアの出現に注意が必要である。麻酔上の問題は報告されていないが、注意して実施する。

### G. 研究発表

#### 1. 論文発表

竹内護、堀田訓久：実践臨床麻酔マニュアル、

中外医学社、東京、1-459, 5/30/2013

丹羽康則、井上荘一郎、中村文人、多賀直行、竹内護、小西宏明：小児における連続呼吸監視 (RRa®) の使用経験。麻酔62(7)：855-858; 2013.

中村文人、大塚洋司、永野達也、五十嵐孝、多賀直行、竹内護：抗菌薬治療抵抗性の肺炎：呼吸不全を契機に診断された重症複合型免疫不全症の1症例。日本集中治療医学会雑誌20：629-633; 2013

#### 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

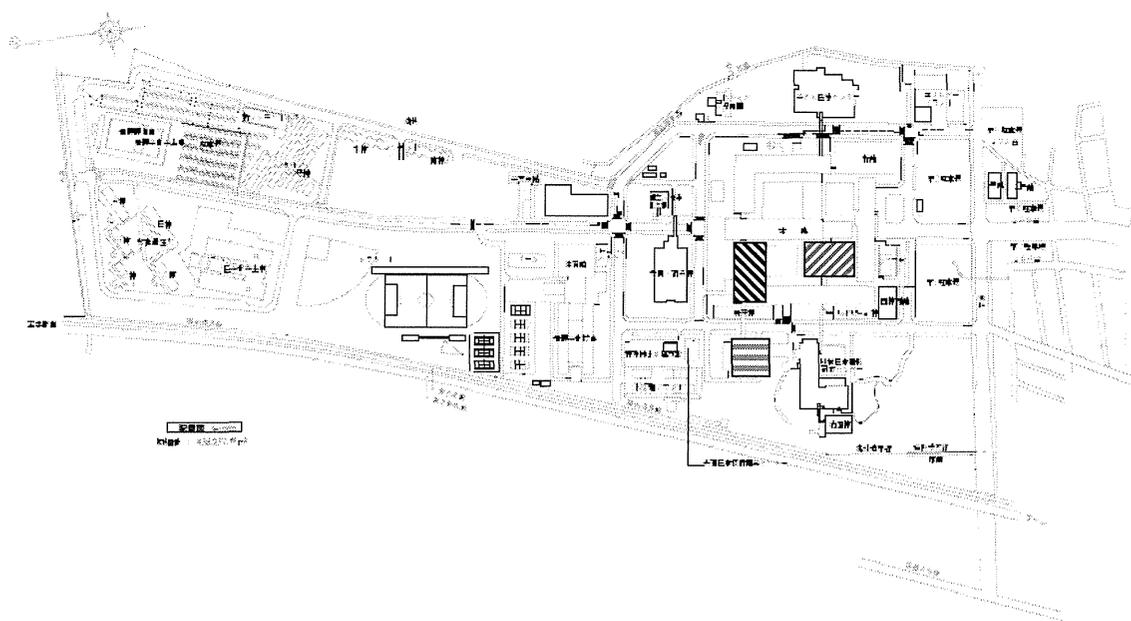
なし



## II 自治医科大学の平面図

自治医科大学医学部附属病院及び自治医科大学医学部とちぎ子ども医療センター周辺の平面図を以下に示す。

本遺伝子組換え生物の保管は自治医科大学医学部附属病院本館、投与は自治医科大学医学部附属病院新館にて実施し、投与後の患者は自治医科大学医学部附属病院とちぎ子ども医療センター病棟にて管理する。



図．自治医科大学構内敷地図

本遺伝子組換え生物の保管は自治医科大学医学部附属病院本館 1 階の無菌細胞調製室（右上がり斜線枠内）にて、患者への投与は自治医科大学附属病院新館（右下がり斜線枠内）3 階手術室にて、投与後の患者の管理は自治医科大学とちぎ子ども医療センター病棟（横線枠内）3 階 PICU、4 階又は 2 階個室病室にて実施する。自治医科大学とちぎ子ども医療センター病棟と自治医科大学附属病院新館は渡り廊下で接続されている。

Ⅲ 本遺伝子組換え生物を保管する施設の平面図

本遺伝子組換え生物の保管はP2レベルの実験室である自治医科大学付属病院本館1階輸血細胞移植部細胞調製室に設置した超低温フリーザー内に保管する。



図. 自治医科大学付属病院輸血細胞移植部細胞調製室周辺の見取り図

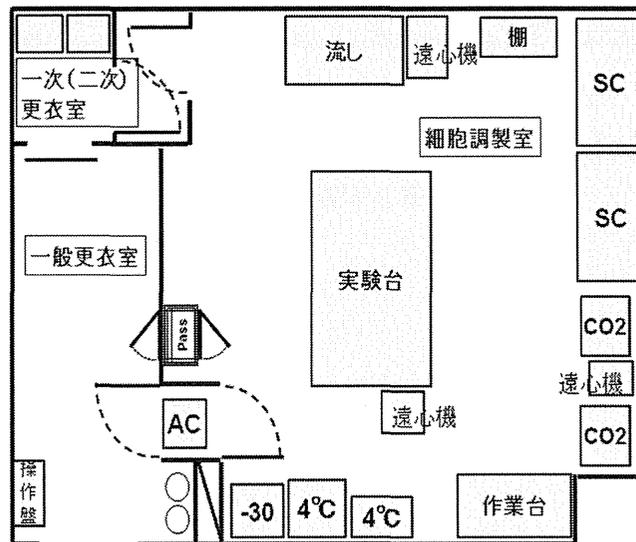


図. 細胞調製室の見取り図

#### IV 遺伝子治療を行う施設の見取り図

本組換え生物の投与は、自治医科大学医学部附属病院新館 3 階の手術室にて行う。投与終了後、被験者の創部を皮膚欠損用創傷被覆材により密閉し、さらに三角巾で覆う。マスク及びガウンを着用した被験者を、自治医科大学子ども医療センター病棟 3 階 PICU 個室、自治医科大学子ども医療センター病棟 4 階又は 2 階の環境中への拡散防止措置を適切に執った個室病室にて管理する。

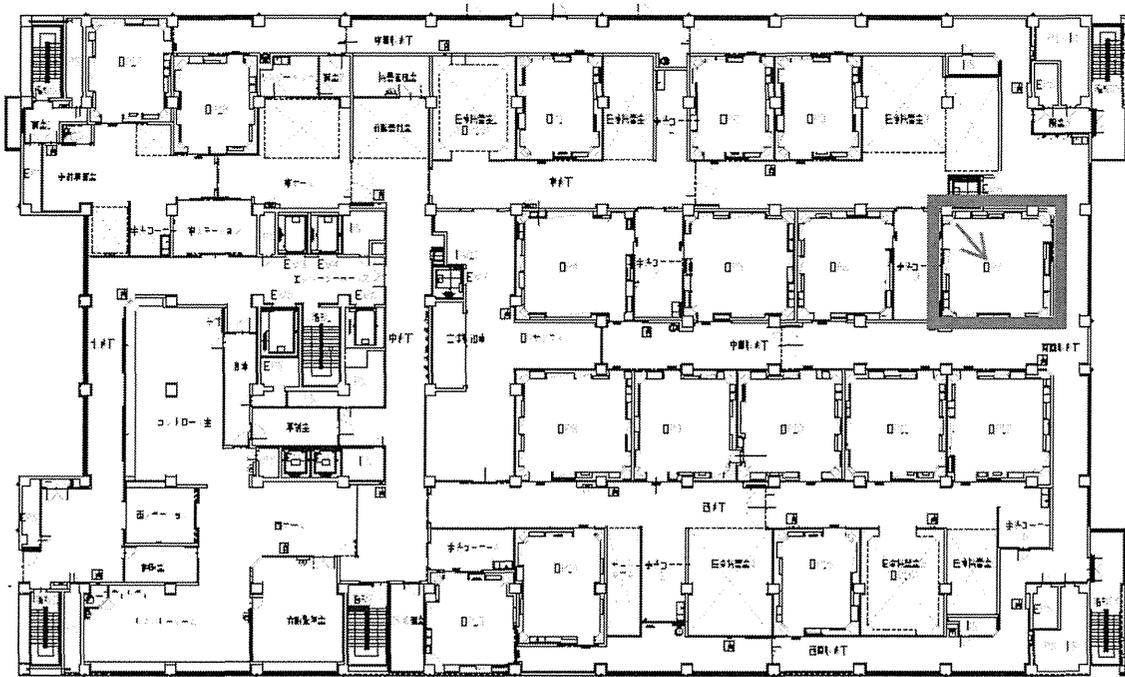


図. 自治医科大学医学部附属病院新館 3 階手術室の見取り図  
手術室を赤線枠で示す。

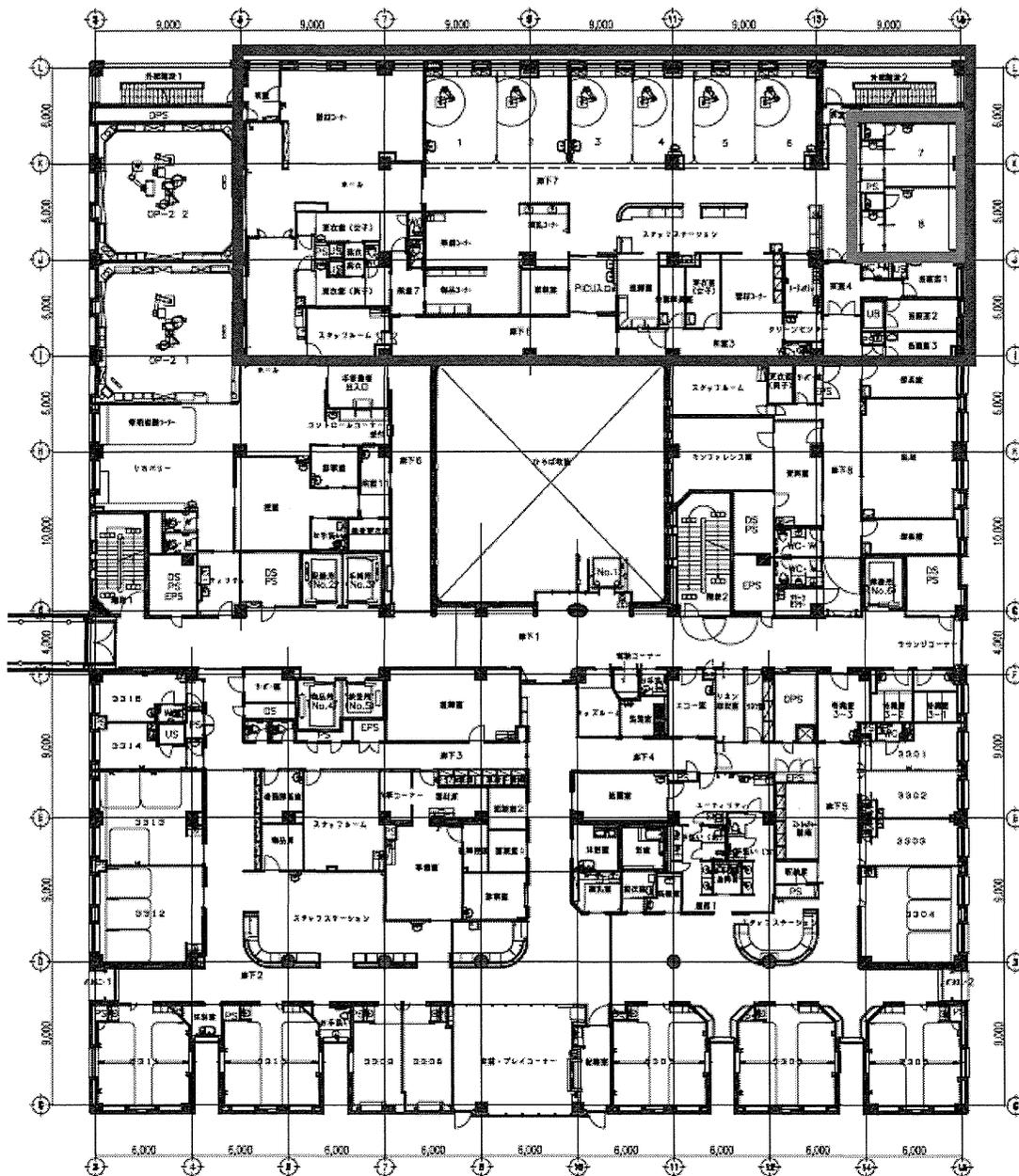


図. 自治医科大学医学部附属病院とちぎ子ども医療センター病棟3階PICU  
及びPICU個室の見取り図

PICUを青線枠で、使用するPICU個室を赤線枠で示す。PICU個室は赤線枠内のどちらかを使用する。図面中央左は自治医科大学附属病院新館3階への渡り廊下を示す。

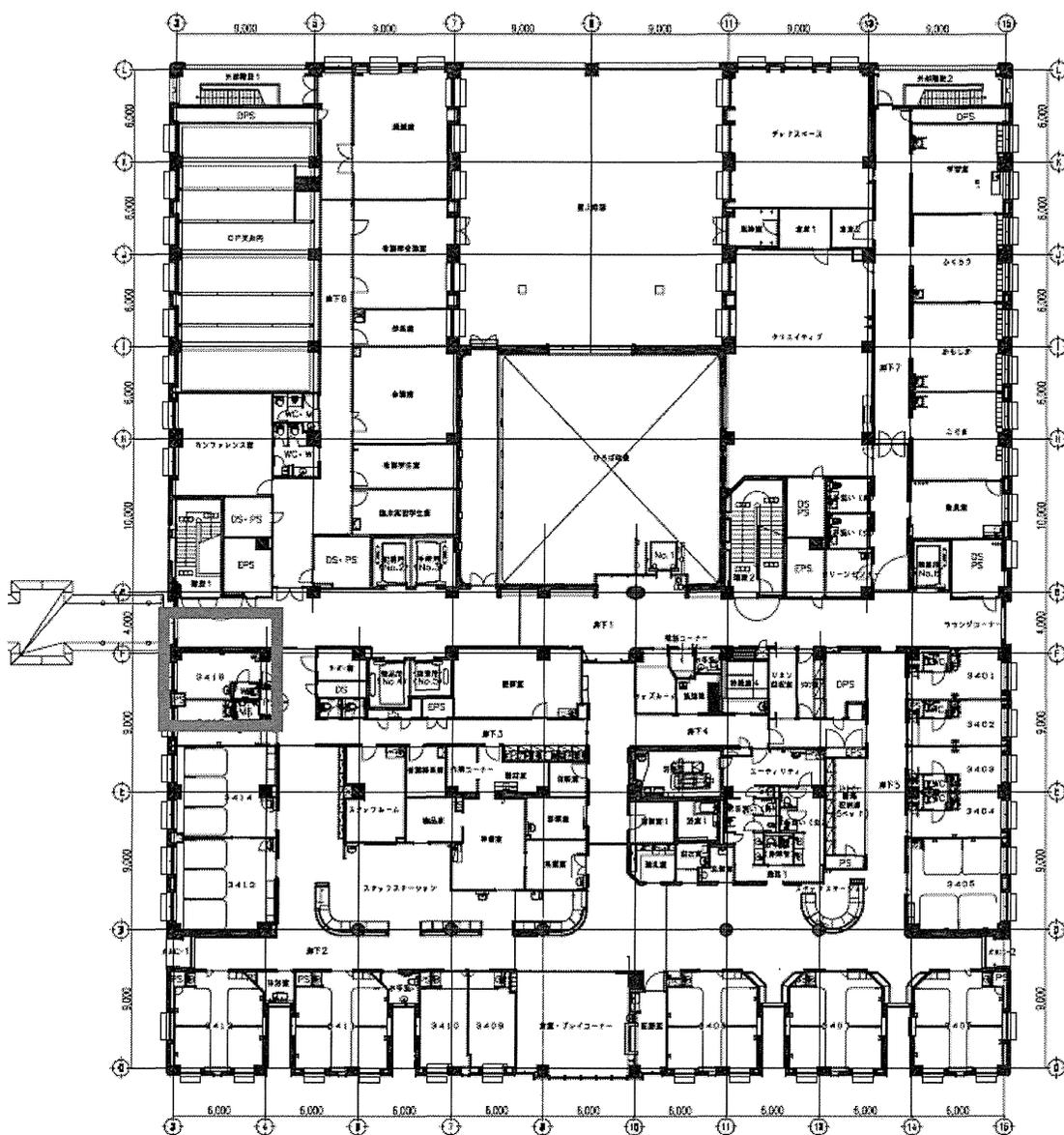


図. 自治医科大学医学部附属病院とちぎ子ども医療センター病棟 4 階及び病室の見取り図

使用する陰圧個室を赤線枠で示す。陰圧個室は赤線枠内のどちらかを使用する。