

遺伝子治療における ICH-GCP に準拠したデータ管理

分担研究者 瀧本哲也

国立成育医療研究センター研究所社会・臨床研究センター
開発薬事・プロジェクト管理部データ管理室長

研究要旨

国立成育医療研究センターで実施する遺伝子治療について、ICH-GCP 水準のデータマネジメントを行うための作業の一環として、「データマネジメント用語集」のほか、「症例登録」、「データ管理」、「電子的臨床情報収集システム活用」、「有害事象報告」についての手順書を作成した。これと併せて、モニタリングの責任者を雇用し、施設訪問モニタリングを行うための人材育成の体制整備に着手した。遺伝子治療の領域における ICH-GCP 準拠、すなわち再生医療等薬品としての承認申請にも耐えられるような品質の臨床試験を実施できる体制の構築は、小児・成育疾患の専門施設として求められる重要な柱のひとつでもあると考えられる。

A. 研究目的

国立成育医療研究センターではこれまで先進的な医療である遺伝子治療研究のデータ管理のあり方について研究してきた。また平成 26 年 7 月には慢性肉芽腫症患者を対象とした当センターではじめての遺伝子治療も実施した。

このような背景のもとに本分担研究では、現在の臨床試験のデータマネジメント体制を充実させ、ICH-GCP 水準に引き上げることによって、海外のベクターを用いた医師主導治験のデータ管理の実施も可能な体制を整備することを目的としている。

B. 研究方法

遺伝子治療における ICH-GCP 準拠のデータ管理にむけて、標準業務手順書(SOP)を整備する。また、source document verification (SDV) モニタリングが可能な体制を構築するためモニタリング専門家を雇用し、モニターの養成に向けた作業を開始する。

(倫理面への配慮)

国立成育医療研究センターでは現在すでに、「遺伝子治療臨床研究に関する指針」に従った臨床データ管理が可能な体制をとっている。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（二重ロックのサーバおよび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。今回、ICH-GCP に準拠した体制を構築するため、新たにデータセンターにおける患者情報保護および情報セキュリティガイドラインに関するガイドラインも作成した。

C. 研究結果

1. ICH-GCP に準拠したデータ管理にむけた SOP の作成
昨年度で考察した事項をふまえ、ICH-GCP に準拠したデータ管理を実施するために必要と考えられる SOP の作成をすすめた。ただし、SOP は必ずしも対象を遺伝子治療に限定せず、また将来的に多施設共同研究に拡大することを前提として作成し、必要に応じて遺伝子治療に対応した補足を行うことを基本方針とした。

作成した SOP とその概略は、以下のとおりである。

1) データマネジメント用語集

データセンターの職員間あるいは研究者との間でのやりとりにおいて齟齬が生じることのないように、データセンター内で使用される臨床研究やデータ管理関連の用語の定義を明確にした。

なお、SOP 共通の体裁は定めたが、当センター内の他の部署で作成される SOP との整合性をつける必要があるため、「SOP の作成/管理」のための SOP については、今後の課題とした。

2) 症例登録に関する SOP

「多施設共同臨床研究の症例登録に関する標準業務手順書」を作成し、臨床研究への症例登録を担当データマネージャーが実施する際の手順について規定した。ただし、遺伝子治療の登録に対応するために、これに加えて追加文書「遺伝子治療における症例登録手順」を作成した。これには、紹介施設における遺伝子治療の意思確認および遺伝子治療臨床研究適応評価判定委員会(判定委員会)への判定依頼についての同意、判定委員会による判定の確認など、遺伝子治療の固有の事項が含まれている。

3) データ管理に関する SOP およびデータマネジメントマニュアル

業務の中心となるデータ管理については、データ管理に関する SOP で臨床試験開始前業務(試験実施計画書作成支援、データマネジメント計画書の作成、Case Report Form (CRF) の作成、CRF 記入の手引きの作成など)、臨床試験実施中業務(CRF の記載に基づいた症例の適格性判定と症例登録、収集されたデータのクリーニング、有害事象報告への対応、データセンターでのモニタリングなど)、臨床試験終了後業務(症例検討や症例固定の支援、解析用データセットの作成、データマネジメント報告書の作成、データおよび関連書類の保管など)、および中間解析等について業務内容を規定し、さらにデータマネジメントマニュアルで、これらのより具体的な手順を定めた。

3) データベースおよび Electric Data Capture (EDC)

EDC については、「電子的臨床情報収集システム活用に関する SOP」を作成した。これには EDC システムの選定、ベンダーと協力してのシステムの構築、EDC システムの運用などの内容が含まれている。ただし EDC 構築に高額の費用を要することから、データベース構築の SOP と同様、実施施設が限られ、対象例数の少ない遺

伝子治療にはなじまないと考えられる。遺伝子治療に特化した EDC のあり方の詳細については今後の課題と考えている。

5) 有害事象の収集と報告

遺伝子治療の有害事象報告については有効性評価の時期や判定、あるいは安全性評価の方法等に関して遺伝子治療に特化させる必要があり、一般のデータ管理の SOP では規定できないと考えられた。そのため「遺伝子治療における有害事象報告手順」を独立に作成した。これに沿って作成した CRF は本年度に実施している慢性肉芽腫症に対する遺伝子治療の CRF で実験的に使用している。

3. 施設訪問モニタリング体制

遺伝子治療は現時点では当センター単独での実施となるため、施設訪問モニタリングについては当面不要と考えられるが、施設訪問モニタリングによる Source Document Verification (SDV) が可能な体制の構築は、ICH-GCP 規準を満たすためには必須と考えられる。このため、モニタリングの責任者として外部の CRO でモニタリングの経験が豊富な人材を雇用し、モニターと認定することができるような人材を育成するためのガイドライン、および多施設共同臨床試験のモニタリングに関する標準業務手順書を作成した。前者(ガイドライン)には、モニターの教育研修、モニター認定試験(外部のものを含む)、モニター認定およびその継続のための条件、モニター資格の取り消し・再認定等についての規定を含んでいる。後者(モニタリングに関する SOP)では、モニタリングの実施体制、モニタリングの業務内容、モニタリング報告書の作成などについて記載した。

また、これらに付随して、モニター認定試験面談の記録様式等の付属書類の作成も行った。ただし、モニターの教育研修そのものが SOP に準拠して実施される必要があるため、引き続き具体的な教育内容について検討中である。

D. 考察

国立成育医療研究センターは、臨床研究中核機関のひとつとして、原発性免疫不全症患者をはじめとする小児稀少難病に対する新規治療法開発のための中心となることが期待されており、遺伝子治療もそのシーズのひとつとして期待されているところである。

遺伝子治療のように、ヒトの細胞を加工して用いる医療はこれまで「臨床研究」として実施されてきたが、平成 25 年改正の薬事法の施行に伴い、再生医療等薬品という新たなカテゴリーとして承認申請にも耐えられるような形での開発が求められるようになった。ICH-GCP 準拠のデータ管理体制の構築は、このために必須であるのみならず、臨床研究中核機関として必要な機能の確立にもつながるものである。この目的のために、今後もひき続いて SOP の充実を目指すとともに、将来の多施設での実施も視野に入れて、施設訪問によるモニタリング体制の構築を進めていく。また SOP については今後、実際の遺伝子治療のデータ管理の経験に基づいた見直しを行い、より実際に即したのものへと改善していく必要があると考えられる。さらにモニター教育については、具体的な研究内容を定めるとともに実際に施設訪問を行うモニタリング要員を雇用して、教育していくことを目指したいと考えている。このような体制構築活動の中で、特に遺伝子治療に特化した事項のあり方について、本研究班でひきつづき検討していく必要があると考えられる。

E. 結論

遺伝子治療のデータマネジメント体制を ICH-GCP 水準に引き上げるための作業の一環として、SOP の作成を進めるとともに、モニタリングの責任者を雇用して、施設訪問モニタリングを行うための人材育成の体制整備に着手した。

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

Ⅲ. 班会議

プログラム

議事録

発表スライド

厚生労働科学研究費補助金 成育疾患克服等次世代育成基盤研究事業
「国際共同治験に基づく小児稀少難病に対する遺伝子・細胞治療の実施とその支援体制の整備」

平成 26 年度班会議プログラム

日 時：平成 27 年 1 月 19 日（月）12 時～16 時

場 所：国立成育医療センター研究所 2 階セミナールーム

- | | | |
|--|------------------------|-------------------|
| 1. 研究代表者挨拶 | 国立成育医療研究センター研究所成育遺伝研究部 | 小野寺雅史 |
| 2. 報 告 | | |
| 1) 本研究会の体制及び方向性の説明 | | 小野寺雅史 |
| 2) 当センター慢性肉芽腫症の報告 | | 小野寺雅史 |
| 3) 遺伝子治療のための迅速で網羅的な染色体挿入部位同定法の開発 | | 岡本 浩司 |
| 4) 造血幹細胞移植時使用薬物の血中濃度モニタリング | | 大森 栄 |
| 5) IVIM アッセイによる遺伝子治療ベクターの安全性の評価法の確立 | | 内山 徹 |
| 6) 単球/マクロファージに NADPH oxidase 活性を有した X-CGD 症例 | | 有賀 正 |
| 7) CGD の遺伝子解析について -p47phox 欠損症のまとめ- | | 布井 博幸 |
| 8) 原発性免疫不全症に対する新生児マススクリーニングのパイロット研究 | | 今井 耕輔 |
| 9) TREC/KREC 測定の原発性免疫不全症診断と治療への応用 | 野々山恵章 | |
| 10) ファブリー病患者 α ガラクトシダーゼ A 遺伝子の遺伝子変異解析 | | 大橋 十也 |
| 11) ライソゾーム病の早期診断システム | | 奥山 虎之 |
| 12) 遺伝子治療に向けてのライソゾーム病のハイリスク・スクリーニング
酸性リパーゼ欠損症とニーマンピツク C 病 | | 衛藤 義勝 |
| 3. その他 | | |
| 4. 事務連絡 | | |
| 締め切り | 会計書類：3 月 16 日（月） | 研究報告書：1 月 30 日（金） |

平成 26 年度第 1 回班会議 議事録

1. 日時：平成 27 (2015) 年 1 月 19 日 (月) 12:00~16:30
2. 場所：国立成育医療センター研究所 2 階セミナールーム
3. 出席者：
研究代表者： 小野寺雅史 (国立成育医療センター成育遺伝研究部 部長)
分担研究者： 奥山 虎之 (国立成育医療センター臨床検査部 部長)
内山 徹 (国立成育医療研究センター研究所成育遺伝研究部 室長)
野々山恵章 (防衛医科大学小児科学講座 教授)
今井 耕輔 (東京医科歯科大学、大学院医歯学総合研究科
小児・周産期地域医療学講座 寄附講座准教授)
布井 博之 (宮崎大学医学部生殖発達医学講座小児学分野 教授)
有賀 正 (北海道大学大学院研究科小児科学分野 教授)
衛藤 義勝 (脳神経疾患研究所先端医療研究センター センター長)
大森 栄 (信州大学医学部附属病院薬剤部 教授・薬剤部長)
大橋 十也 (東京慈恵会医科大学DNA医学研究所遺伝子治療研究部 教授)
研究協力者： 樋口 孝 (東京慈恵会医科大学DNA医学研究所遺伝子治療研究部 助教)
岡村 浩司 (国立成育医療研究センター研究所システム発生・再生医学研究部 室長)
渡辺 信之 (国立成育医療センター成育遺伝研究部 研究員)
橋井 晶子 (国立成育医療センター成育遺伝研究部 事務)
4. 審議内容
 - 1) 研究代表者の小野寺よりこれまでの流れと今回の方向性が示され、WASに対する遺伝子治療を治験として行っていく体制整備の進捗状況が説明された。
 - 2) 小野寺より、当センターにおいて行われた慢性肉芽腫症に対する遺伝子治療臨床研究の経過が説明された。
 - 3) 岡本より、上記、遺伝子治療臨床研究において得られた患者検体を用いた次世代シーケンサによる遺伝子導入部位の解析結果が報告された。
 - 4) 大森より、造血幹細胞移植・造血幹細胞遺伝子治療で前処置として使用されるブスルファンの血中モニタリングに関する説明があった。
 - 5) 内山より、ベクターの安全性を評価するIVIMアッセイに関する研究結果が報告された。
 - 6) 有賀より、単球と好中球において活性酸素産生能に違いあるCGD患者に関する方向があった。
 - 7) 布井より、国内のp47欠損に関する遺伝子変異を含めた統計結果が報告された。
 - 8) 今井より、TREC/KRECを用いたPIDの新生児スクリーニングに関する報告がなされた。
 - 9) 野々山より、TREC/KREC測定によるPIDの診断の応用法に関する報告があった。
 - 10) 大橋より、ファブリー病患者の自経例 4例に関する遺伝子解析に関して報告があった。
 - 11) 奥山より、ライソゾーム病の新生児マススクリーニングを含む早期診断法に関する研究報告があった。
 - 12) 衛藤より、酸性リパーゼ欠損症、ニーマンピック病のスクリーニング法に関して報告があった。上記に関して時間を超過する程の熱心の討論が行われ、当班の今後の方向性が確認された。
5. 事務連絡
締め切りに関しては、会計書類が3月16日、報告書が1月31日を予定している。

以上

平成27年 1月19日

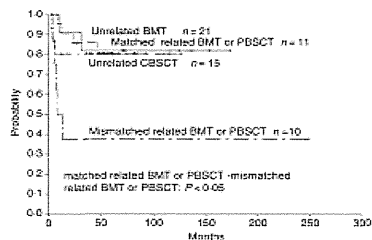
厚生労働科学研究費補助金 成育疾患克服等次世代育成基盤研究事業

国際共同治験に基づく小児稀少難病に対する 遺伝子・細胞治療の実施とその支援体制の整備

国立成育医療研究センター
小野寺 雅史

WASについて

- Wiskott-Aldrich症候群: 3主徴 (血小板減少症、湿疹、易感染性)、X染色体劣性遺伝
- 原因遺伝子はアクチン細胞骨格調節因子のWASP
- 1/25万人、2008年 日本での59名のWAS患者を調査 (医科歯科・今井先生)
- 変異遺伝子の種類により5型に分類。血小板減少のみを発症するクラス1はXLT
- クラス5は血小板減少、湿疹、反復性感染症、自己免疫疾患 or 悪性腫瘍を合併
- 根治療法は造血幹細胞移植のみ
- 免疫不全症例の平均生存年齢は11歳で、死因は感染症、出血、悪性腫瘍
- XLTの予後は良好だが、IgA腎症からの腎不全、自己免疫疾患、悪性腫瘍を併発する



Results of SCT for 57 pts with WAS in Japan

- 1985-2004
- 11: MMRD, 10: MRD, 21: URBM, 15: URCB
- Good result of URCBT and URBM
- BU+CY±ATG conditioning regimen is recommended

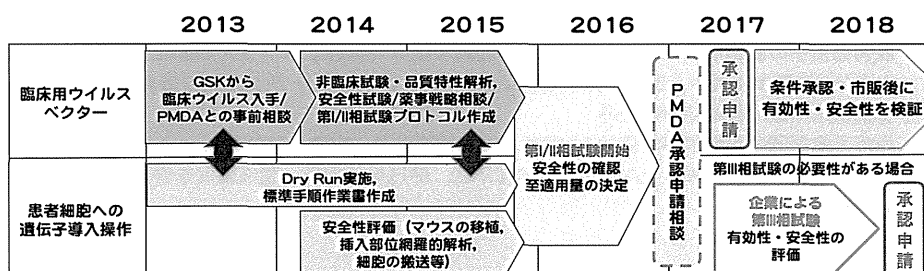
Kobayashi, et al. Br J Haematol.
2006;135:362-366

WAS遺伝子治療に向けての取り組み

1. GSK社との契約の締結
 - Confidential Disclosure Agreement (CBA) between NCCHD, GSK, and TAKARA BIO
 - Data Exchange Agreement between NCCHD and GSK
 - Overall Clinical Research Agreement between NCCHD and GSK
2. 上記契約に基づきIMPB, IB, clinical protocolを入手
3. 平成26年 8月11日 15:00 PMDAにて事前相談を受ける
4. GSK社との販売契約を結び、非臨床用及び臨床用ウイルスベクターの入手
5. Medical writerとの契約にて臨床プロトコルの作成依頼
5. GSK社による成育及びタカラバイオ社の訪問
6. 月一回のGSK社とのTCを実施
7. タカラバイオ社にカルタヘナ1種対策の依頼
 (「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承認申請等の事務手続等に関する質疑応答集 (Q&A)について」(平成26年6月30日)の「問6」において)

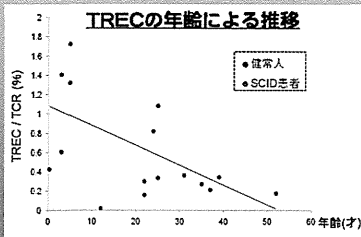
WASに対する造血幹細胞遺伝子治療

開発スケジュール (Road Map)



1. 品質特性試験に関しては今年中 PMDAとの相談を開始
2. 安全性試験に関してはDry Runの結果を合わせて来年度早々までに相談を開始する
3. 2014年度末までに臨床プロトコルを作成
4. 2015年度、成育治療審査委員会に申請し、承認を目指す
5. 第I/II相試験を開始する予定

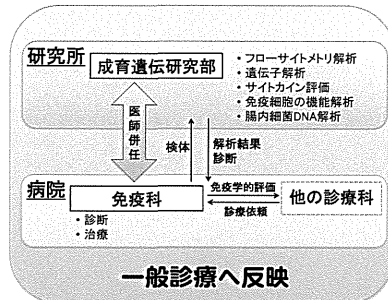
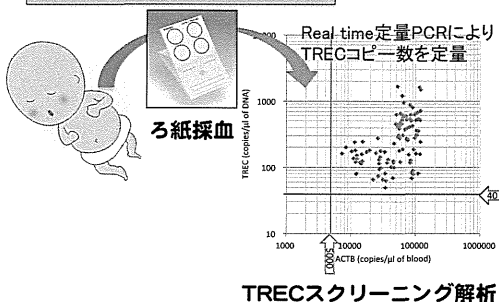
原発性免疫不全症に対するマススクリーニング



TRECによるT細胞産生の検討

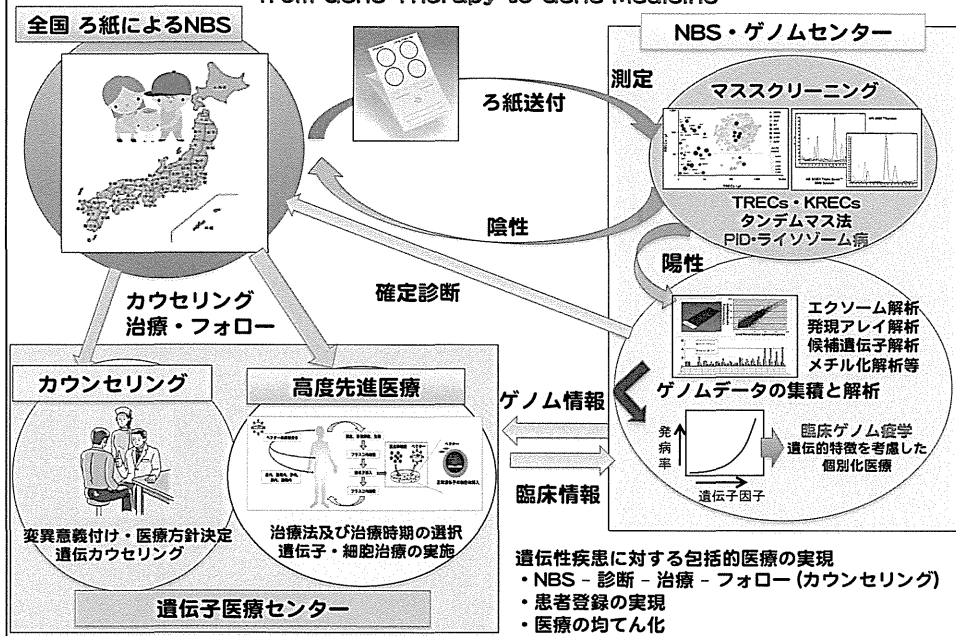
- PID患者の発症前診断が可能
⇒患者の生命予後の改善に貢献し得る
 - 欧米でPIDスクリーニングが実施
⇒5万人に一人の割合でSCID患者が診断
- 全国展開に向けたパイロット研究

新生児PIDスクリーニング



遺伝子「治療」から「医療」へ

from Gene Therapy to Gene Medicine

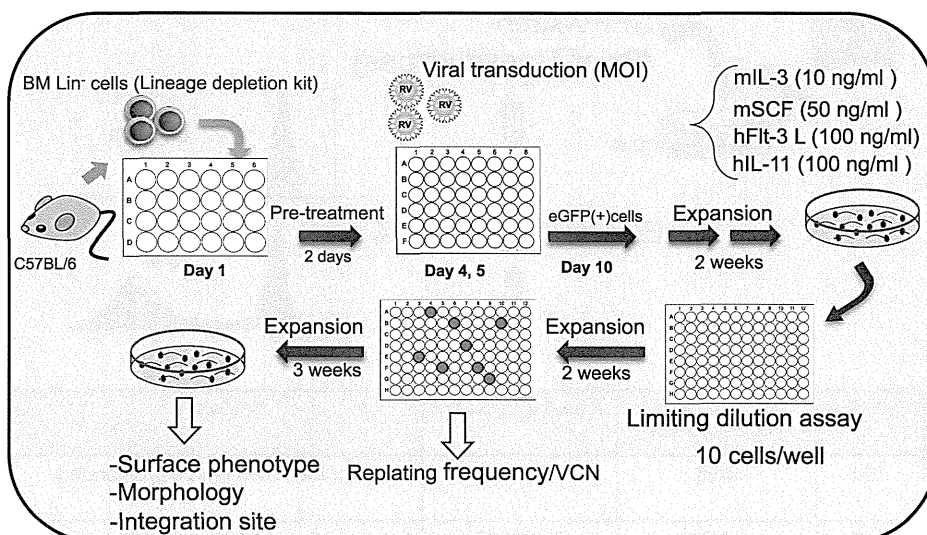


IVIMアッセイによる遺伝子治療ベクターの安全性の 評価法の確立

国立成育医療研究センター研究所
成育遺伝研究部
内山徹

1

In vitro immobilization (IVIM) assay using Mouse BM cells



2

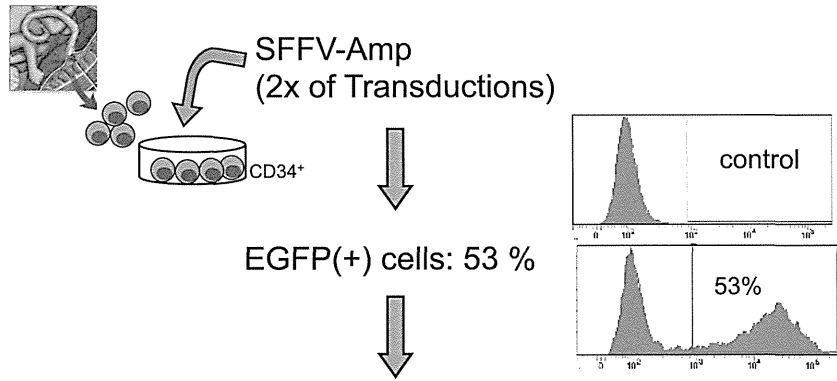
Result **Toxicity of VSV-G from stable producer cells**

Two round of Lin(-) mBM transduction by preloading virus on RetroNectin-coated plate(MOI of 20)

Limiting dilution: Mock and SFFV transduced BM cells
Cell densit: 10 cells/well

Env.	#	No. of replating clones/total well	EGFP+ (%)	Replating frequency	CN	Replating index (frequency/CN)	Mice age (month)
VSV-G	1	25/84	82.9	0.03532 (1 in 28)	2.3	0.01342	4.5
	2	0/96	81.8	0	2.63	0	2
Eco	1	50/96	74.9	0.07357 (1 in 14)	5.6	0.01414	5
	2	8/96	83.2	0.00870 (1 in 115)	5.2	0.00167	2

IVIMassay using human CD34+cells



Cells/well	No. of replating clones/total well	Replating frequency	IVIM clone
100	4/96	0.000425	All of them can not be proliferated
200	12/96	0.000667	2 out of 12 seem to be able to proliferate

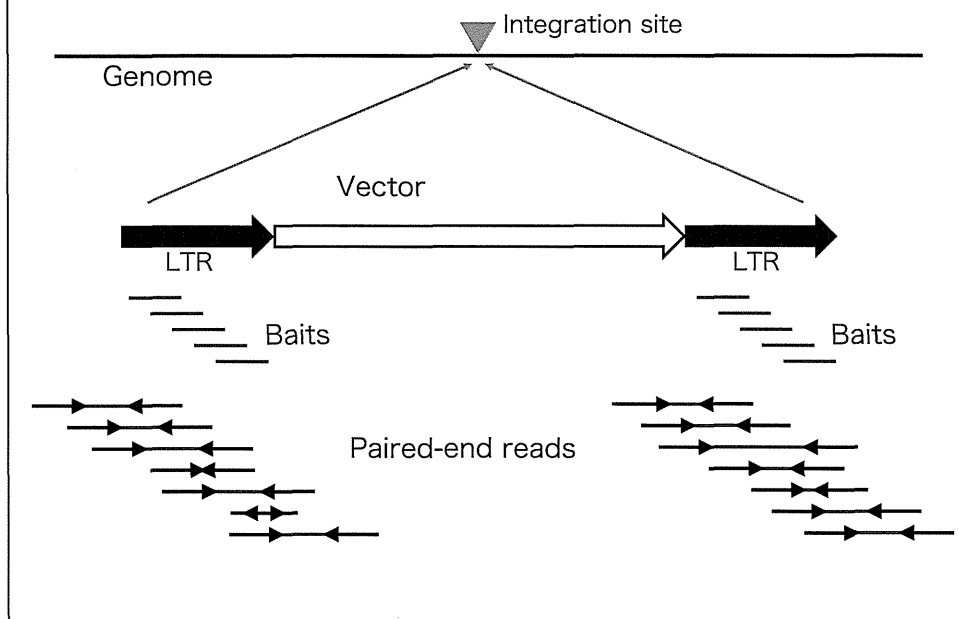
遺伝子治療のための迅速で網羅的な 染色体挿入部位同定法の開発

岡村 浩司¹, 河合 利尚², 林 恵子³, 秦 健一郎³, 小野寺 雅史², 中林 一彦³

¹成育医療研究センター研究所・システム医学¹, 成育遺伝², 周産期病態³

1. 遺伝子治療ベクター両端に存在するLTRの塩基配列を基にベイトを設計
2. 抽出されたゲノムDNAを断片化、ベイトへのハイブリダイゼーションによりベクター近隣断片を回収
3. HiSeqを用いて回収された断片の両端配列をペアでシーケンス
4. 得られた配列データを入力とし、挿入部位、頻度等を入力するパイプライン・ソフトウェアを構築

実験デザイン



解析結果

	HEK293SPA	K562MFGS	TA010723 患者への投与前	CGDGT01 投与後
Cell type	HEK293	K562	CD34+	Neutrophil
Number of bases	1.63Gb	1.53Gb	4.05Gb	5.10Gb
Number of read pairs	8.08M	7.59M	20.0M	25.25M
Number of bases (trimmed)	1.52Gb	1.41Gb	2.86Gb	4.64Gb
Number of read pairs (trimmed)	7.56M	7.59M	14.4M	23.25M
PCR duplicates	9.60%	37.50%	79.80%	80.50%
Reads mapped to the vector	0.99%	2.90%	0.43%	0.07%
Reads mapped to the SHH gene	0.55%	1.15%	3.89%	1.78%
Number of integration sites (> 7 reads)	1	49	78	34
Number of integration sites (> 0 reads)	1695	4658	415	221

造血幹細胞遺伝子治療を受けたX連鎖性慢性肉芽患者症例のベクター挿入部位解析：
 患者末梢血より単核球を採取し、CD34+造血幹細胞を分離。正常遺伝子を有するレトロウイルスベクターを細胞に感染させ、培養。一部の細胞からゲノムDNA抽出 ⇒ TA010723 (投与前)
 この細胞を静脈注射を介して患者に投与。投与の8週間後に患者より末梢血を採取し、好中球を分離。一部の細胞からゲノムDNA抽出 ⇒ CGDGT01 (投与後)

造血幹細胞移植時使用薬物の血中濃度 モニタリングに関する研究

研究分担者 大森 栄 信州大学医学部附属病院

ブスルファンの投与量設計

- 造血幹細胞移植の前治療薬としての有効性を高める
- 経口投与でのバイオアベイラビリティが低い
- 移植の成功、不成功に直接関与してくる可能性

信州大学医学部附属病院での 造血幹細胞移植時等のブスルファン投与設計

◎症例数	(件数)
平成24年8月～12月	4
平成25年1月～12月	22
平成26年1月～10月	23

◎プロトコール内容

厚生労働省科学研究A	15
厚生労働省科学研究B	10
小野寺班	1
臨床研究	2
その他	21

本研究班の症例患者背景

患者 慢性肉芽腫症

男性、27歳、体重：62.9 kg 体表面積：1.71m²

ブスルファン：48 mg/dose (0.763 mg/kg) 6時間毎投与

採血時間 投与開始後 3, 6, 66, 69 時間

肝機能：正常

併用薬	クロナゼパム	1mg/day
	リシノプリル	5mg/day
	スクラルファート	3g/day
	ウルソデオキシコール酸	600mg/day
	メサラジン	2.25g/day
	ポリコナゾール	400mg/day

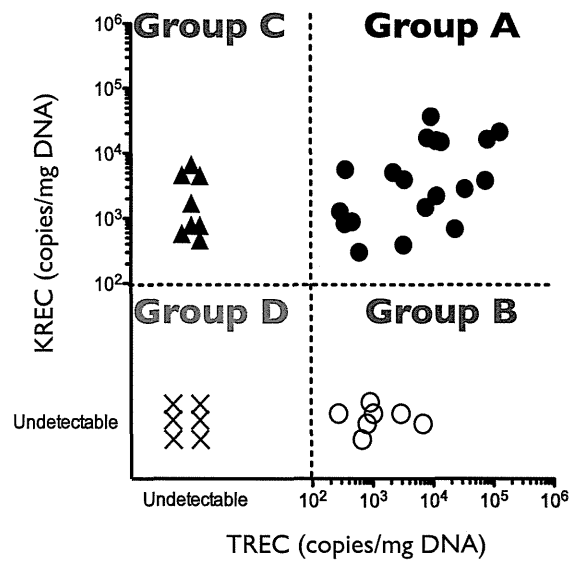
解析の報告

現在の投与量	48 mg
体重	62.9 kg
現在のC _{ss,av}	926 ng/mL
現在のAUC _{0-∞}	1,354 μmol*min/L
○推奨される投与量	
目標C _{ss,av} (ng/ml)	推奨投与量 (mg)
600	31.1
700	36.3
800	41.5
900	46.7
1,000	51.8

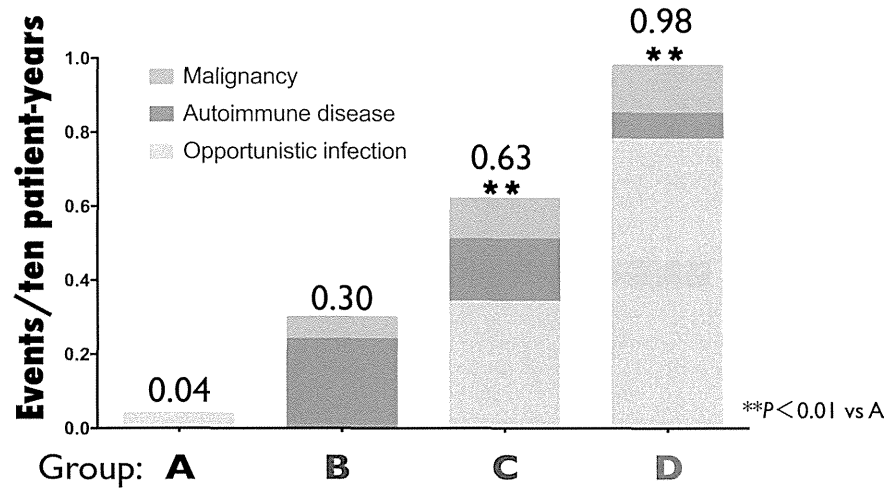
REC/KREC測定の原因性免疫不全症診断と治療への応用

防衛医科大学校小児科学講座 野々山恵章

CVID patients can be classified into 4 groups by TREC and KREC.



The incidence of complications per 10 patient-years was higher in the order of group D, C, B and A.



TREC/sjKREC for identifying
the responsible genes

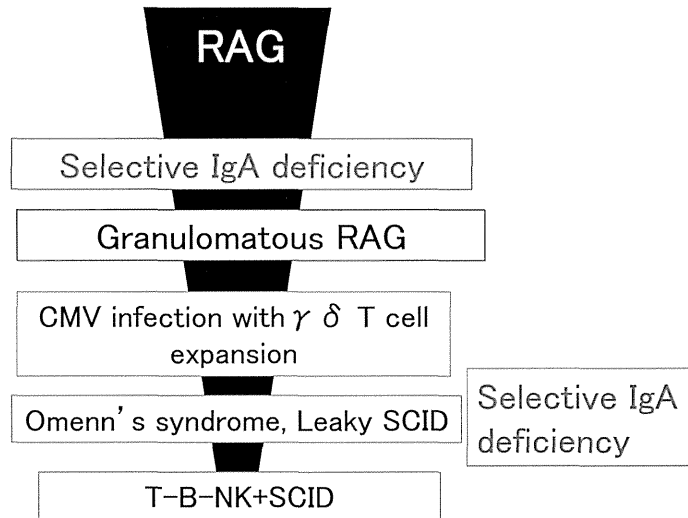
Case: Selective IgA deficiency 4y7m, male

- Pneumonia x3, OMA x1, Skin abscess x1
- IgG 896, IgA <5, IgM 122
- Varicella zoster: normal clinical course,
Varicella zoster skin test (+)
- Specific Ab (+): Measles, Rubella, Varicella,
Mumps, EBV, CMV

TREC/KREC: Group D

- TREC: 0 copy/ μ g
- cj KREC: 0 copy/ μ g
- sj KREC: 0 copy/ μ g

Clinical manifestations of *RAG* mutation

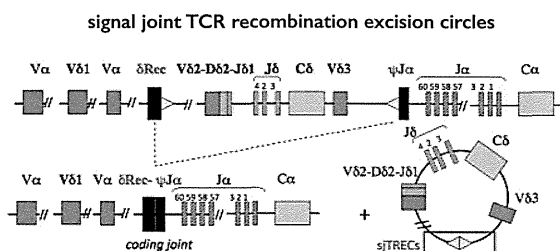


(Blood116:1263-1271;2010)

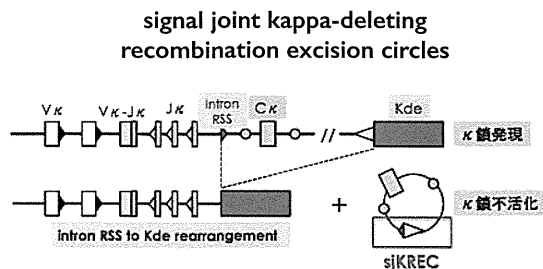
原発性免疫不全症に対する 新生児マススクリーニングのパイロット研究

東京医科歯科大学 小児・周産期地域医療学
今井 耕輔

TRECとsjKREC



- T cell receptor (TCR) α 鎖のVDJ遺伝子再構成 (TCRD deletion) の過程で生じる環状DNA
- T細胞の分化・増殖により複製されず、安定して存在するため、新生T細胞のマーカーとして利用可能
- 当教室で、新生児濾紙血における sjTREC α 定量法を開発し、SCIDのマススクリーニングへの応用が可能であることを報告した (Morinishi et al. J.Pediatrics, 2009)



- λ 鎖再構成時あるいは κ 鎖の allelic exclusion のために、 κ 鎖定常領域 ($C\kappa$) が染色体DNAから切り出された際に生じる環状DNA
- B細胞の分化・増殖により複製されず、安定して存在するため、新生B細胞のマーカーとして利用可能
- 当教室で、新生児濾紙血における sjKREC α 定量法を開発し、XLAなどのB細胞欠損症のマススクリーニングが可能であることを報告した (Nakagawa et al. J. Allergy Clin Immunol, 2011)