

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 26 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 石橋 達朗

平成 27 (2015) 年 5 月

目次

I . 総括研究報告

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

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、池田康博、村上祐介

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

IV . 研究成果の刊行物・別刷

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、低用量群5名の定期的な経過観察と高用量群へのステージアップの承認取得、原因遺伝子検索のための他施設との共同研究開始、GCPに準拠した臨床研究データの収集ならびに評価の実施、臨床研究実施期間中の生体材料（血液、尿、涙液、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、大量生産に対応可能な施設で生産されたベクターの品質試験ならびに国内輸入後の受入試験の実施、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 講師）
中西洋一（九州大学病院 ARO次世代医療センター センター長）
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（九州大学大学院医学研究院 眼科 講師）
戸高浩司（九州大学病院 ARO次世代医療センター 副センター長）
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 助教）

網膜色素変性（RP）は、未だ有効な治療法の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

A．研究目的

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

ターの受入試験ならびに、臨床研究実施期間中の生体材料(血液、尿、涙液、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、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。

低用量群 5 例すべてにおいて、28 日目までに重篤な有害事象を認めなかった。また、RP-03(第 3 症例)で右膝関節鏡手術という重大事態を認めしたが、臨床研究薬との因果関係はないと判断され、

これまでに臨床研究の中止に至るような重篤な有害事象も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

同意の得られた被験者 3 名から採取したいずれの前房水においても、投与後 6 ヶ月、12 ヶ月の時点で、ヒト色素上皮由来因子濃度が投与前よりも上昇しており、眼内で遺伝子が発現していることが確認できた。

また、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。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、適正化した。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、東北大学眼科、理化学研究所横浜キャンパスと共同研究を開始する手続きを完了した。

3. GCPI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)の投与後 1 年 2 ヶ月に発生した重大事態(右膝関節鏡手術)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

生体材料を用いた各種検査(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)を昨年度に引き続き適切に実施した。

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)で生産されたベクターの品質試験と国内輸入後の受入試験を実施し、現在測定中の感染力価測定を除くすべての項目で適格であった。

また、平成 26 年 11 月 6 日に医薬品医療機器総合機構 (PMDA) の事前面談を受けた。その結果、「治験薬製造」、「治験薬非臨床試験」、「治験実施」の 3 つのカテゴリー別に今後は事前面談、さらに

は対面助言を受けることとなった。

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)

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となった。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

治療遺伝子であるヒト色素上皮由来因子 (PEDF) の眼内での発現を確認できたことより、これまでの動物実験で得られた知見と同様の結果がヒトにおいても証明され、視細胞保護効果が期待できる状況であることが明らかとなった。

また、原因遺伝子検査を実施する体制は共同研究実施により十分整備されたので、必要な時期に速やかに検査を実施することが可能となった。

3 . GCPI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、順調にデータ収集・評価が進んでいる。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

臨床研究を推進するための各種検査法は整備され、スムーズに実施できている。

製剤化へ向け、当局対応しながら医師主導治験 (Phase I/II) 実施の準備を進めていく。

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、製剤化へ向け、当局対

応しながら医師主導治験 (Phase I/II) 実施の準備を進めていく。

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) Clinical Trial of Gene Therapy for Retinitis Pigmentosa. The World Ophthalmology Congress (WOC) 2014 (Tokyo, Japan) 2014. 4. 2-6.

2 . Ikeda Y: (Symposium) Phase I clinical study of a third-generation simian immunodeficiency virus (SIV)-based lentiviral vector carrying human pigment epithelium-derived factor (PEDF) gene for patients with retinitis pigmentosa. 2014 Annual Meeting of Association for Research in Vision and Ophthalmology (Orlando, USA) 2014. 5. 4-8.

3 . Ikeda Y, Ishibashi T, et al.: Phase I clinical study for patients with retinitis pigmentosa: interim report of initial 5 subjects (low-titer group). 22nd Anniversary Congress of the European Society of Gene and Cell Therapy (Hague, Netherlands) 2014. 10. 23-26.

4 . 池田康博:(シンポジウム) 硝子体手術と遺伝子治療の融合. 第 68 回 日本臨床眼科学会. 2014 年 11 月 13-16 日、神戸

5 . 池田康博:(シンポジウム) 網膜色素変性に対する遺伝子治療. 第 53 回 日本網膜硝子体学会総会. 2014 年 11 月 28-30 日、大阪

6 . 池田康博:(指定演者)Phase I clinical study

for patients with retinitis pigmentosa. :
interim report of initial 5 subjects
(low-titer group) 第5回 国際協力遺伝病遺伝
子治療フォーラム. 2015年1月15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 講師
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 助教

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、低用量群5名への投与を完了した。本年度は、遺伝子治療臨床研究審査委員会にて、高用量群へのステージアップの承認を得た。RP-03（第3症例）において、術後1年2ヶ月に右膝関節鏡手術という重大事態が発生したが、「基本的には従前より罹患していたものであるということ、臨床研究薬投与とは関係ないものである」と結論付けられた。現在、高用量群の被験者をリクルートする準備を進めている。

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續等について」(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-05 はスクリーニング検査結果にて適応なしと判断された)。

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。平成 27 年 4 月 14 日に投与後 24 ヶ月目までの経過観察が終了した。視力は、投与前 0.02 から指数弁まで低下したが、視野検査にて大きな変化を認めず、また非投与眼(左眼)も 0.06 から 0.01 まで低下していることから、病気の自然な進行によるものと判断した。

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。投与後 22 ヶ月の時点で、眼局所ならびに全身的に重篤な有害事象は認めていない。投与後 6 ヶ月以降、投与眼の視力は 0.15 から 0.3 と変動している(投与前は 0.3p)。平成 27 年 5 月に投与後 24 ヶ月の最終検査を実施し、最終的な安全性を評価する予定となっている。

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 0.06 から 0.08p と比較的安定している(投与前は 0.07)。術後 1 年 2 ヶ月に右膝関節鏡手術という重大事態が発生したが、平成 26 年 10 月 2 日に開催された第 17 回遺伝子治療臨床研究倫理審査委員会で、「基本的には従前より罹患していたものであるということで、臨床研究薬投与とは関係ないものである」と結論付

けられた。その後は眼局所ならびに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0.07から0.1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、投与後7ヶ月の時点でYAGレーザーにて後嚢切開を実施した。投与後18ヶ月の時点までに、その他の眼局所ならびに全身的に重篤な有害事象は認めていない。

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。投与眼の視力は0.05pから0.08で経過しており（投与前は0.05）眼局所に重篤な有害事象は認めていない。全身的には、投与後12ヶ月に実施した血液検査にてAST, ALT, ALP, γ -GTPが軽度高値を示し、その後も遷延していたため、内科にて肝機能障害の原因を精査する予定となっている。

以上のように、低用量群5例において、投与後28日目までに重篤な有害事象を認めなかったため、遺伝子治療臨床研究倫理審査委員会にて高用量群へのステージアップの承認が得られた。また、臨床研究の中止に至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。

D, E . 考察、結論

当初の研究計画からやや遅れているが、低用量群5名への投与が完了し、高用量群へのステージアップの承認も得られた。RP-03（第3症例）で右膝関節鏡手術という重大事態を認めたが、臨床研究薬との因果関係はないと判断された。

来年度は、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 . Ikeday: (Symposium) Clinical Trial of Gene Therapy for Retinitis Pigmentosa. The World Ophthalmology Congress (WOC) 2014 (Tokyo, Japan) 2014. 4. 2-6.

2 . Ikeday: (Symposium) Phase I clinical study of a third-generation simian immunodeficiency virus (SIV)-based lentiviral vector carrying human pigment epithelium-derived factor (PEDF) gene for patients with retinitis pigmentosa. 2014 Annual Meeting of Association for Research in Vision and Ophthalmology (Orlando, USA) 2014. 5. 4-8.

3 . Ikeday, Ishibashi T, et al.: Phase I clinical study for patients with retinitis pigmentosa: interim report of initial 5 subjects (low-titer group). 22nd Anniversary Congress of the European Society of Gene and Cell Therapy (Hague, Netherlands) 2014. 10. 23-26.

4 . 池田康博: (シンポジウム) 硝子体手術と遺伝子治療の融合. 第68回 日本臨床眼科学会. 2014年11月13-16日、神戸

5 . 池田康博: (シンポジウム) 網膜色素変性に対する遺伝子治療. 第53回 日本網膜硝子体学会総会. 2014年11月28-30日、大阪

6 . 池田康博: (指定演者) Phase I clinical study for patients with retinitis pigmentosa. : interim report of initial 5 subjects (low-titer group) 第5回 国際協力遺伝病遺伝

子治療フォーラム．2015年1月15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 講師
吉田 茂生 九州大学大学院医学研究院 眼科学 講師
村上 祐介 九州大学病院 眼科 助教

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。治療効果の評価の一つとして、治療タンパクであるヒト色素上皮由来因子（PEDF）の発現を確認するため、同意の得られた被験者3名から採取した前房水を用いて、タンパク濃度をELISA法にて測定した。いずれの被験者のサンプルにおいても、投与後6ヶ月、12ヶ月の時点で、ヒト色素上皮由来因子濃度が投与前よりも上昇しており、眼内で遺伝子が発現していることが確認できた。一方、原因遺伝子の検索については、独自で実施する体制整備を整えとともに、より精度の高い遺伝子診断を実現するために東北大学眼科、理化学研究所横浜キャンパスと共同研究を開始する手続きを完了した。これまでの低用量群5名の被験者からのサンプルは回収済みで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

1．治療効果の評価の一つとして、ヒト色素上皮由来因子（PEDF）の眼内での発現を確認する。同意の得られた被験者から採取した前房水を用いて、タンパク濃度をELISA法にて測定する。
2．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。さらに、次世代シーケンサーを用いた全ゲノム解析、ならびにエクソーム解析を

実施するため、他施設との共同研究を開始する。

（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

1．同意の得られた被験者3名から採取したいずれの前房水においても、投与後6ヶ月、12ヶ月の時点で、ヒト色素上皮由来因子濃度が投与前よりも上昇しており、眼内で遺伝子が発現していることが確認できた。
2．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。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、適正化した。また、全ゲノム解析による原因遺伝子

検索を実施するため、東北大学眼科、理化学研究所横浜キャンパスと共同研究を開始した。

D, E . 考察、結論

治療遺伝子であるヒト色素上皮由来因子 (PEDF) の眼内での発現を確認できたことより、これまでの動物実験で得られた知見と同様の結果がヒトにおいても証明され、視細胞保護効果が期待できる状況であることが明らかとなった。今後実施予定である医師主導治験 (phase I/II) で治療効果を検討する。

また、原因遺伝子検査を実施する体制は共同研究実施により十分整備されたので、必要な時期に速やかに検査を実施することが可能となった。

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 . Ikedo Y: (Symposium) Clinical Trial of Gene Therapy for Retinitis Pigmentosa. The World Ophthalmology Congress (WOC) 2014 (Tokyo, Japan) 2014. 4. 2-6.

2 . Ikedo Y: (Symposium) Phase I clinical study of a third-generation simian immunodeficiency virus (SIV)-based lentiviral vector carrying human pigment epithelium-derived factor (PEDF) gene for patients with retinitis pigmentosa. 2014 Annual Meeting of Association for Research in Vision and Ophthalmology (Orlando, USA) 2014. 5. 4-8.

3 . Ikedo Y, Ishibashi T, et al.: Phase I clinical study for patients with retinitis

pigmentosa: interim report of initial 5 subjects (low-titer group). 22nd Anniversary Congress of the European Society of Gene and Cell Therapy (Hague, Netherlands) 2014. 10. 23-26.

4 . 池田康博:(シンポジウム) 硝子体手術と遺伝子治療の融合. 第 68 回 日本臨床眼科学会. 2014 年 11 月 13-16 日、神戸

5 . 池田康博:(シンポジウム) 網膜色素変性に対する遺伝子治療. 第 53 回 日本網膜硝子体学会総会. 2014 年 11 月 28-30 日、大阪

6 . 池田康博:(指定演者)Phase I clinical study for patients with retinitis pigmentosa. : interim report of initial 5 subjects (low-titer group) 第 5 回 国際協力遺伝病遺伝子治療フォーラム. 2015 年 1 月 15 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

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	センター長
	戸高 浩司	九州大学病院	ARO 次世代医療センター	副センター長
	池田 康博	九州大学病院	眼科	講師
	村上 祐介	九州大学病院	眼科	助教

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した。本年度は、低用量群 5 名の投与後の定期的な経過観察を実施した。

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し、臨床研究実施計画書に従って GCP に準拠したデータ収集・評価を実施する。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續等について」(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

臨床研究実施計画書ならびに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。予定通り順調に進行中である。

RP-03 (第 3 症例) で、術後 1 年 2 ヶ月に発生した重大事態(右膝関節鏡手術)を受け、有害事象報告等の規制当局対応を実施した。

本重大事態について、平成 26 年 10 月 2 日に開催された第 17 回遺伝子治療臨床研究倫理審査委員会で、「基本的には従前より罹患していたものであるということで臨床研究薬投与とは関係ないものである」と結論付けられた。

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) Clinical Trial of Gene Therapy for Retinitis Pigmentosa. The World Ophthalmology Congress (WOC) 2014 (Tokyo, Japan) 2014. 4. 2-6.

2. Ikeda Y: (Symposium) Phase I clinical study of a third-generation simian immunodeficiency virus (SIV)-based lentiviral vector carrying human pigment epithelium-derived factor (PEDF) gene for patients with retinitis pigmentosa. 2014 Annual Meeting of Association for Research in Vision and Ophthalmology (Orlando, USA) 2014. 5. 4-8.

3 . Ikeda Y, Ishibashi T, et al.: Phase I clinical study for patients with retinitis pigmentosa: interim report of initial 5 subjects (low-titer group). 22nd Anniversary Congress of the European Society of Gene and Cell Therapy (Hague, Netherlands) 2014. 10. 23-26.

4 . 池田康博:(シンポジウム)硝子体手術と遺伝子治療の融合. 第 68 回 日本臨床眼科学会. 2014 年 11 月 13-16 日、神戸

5 . 池田康博:(シンポジウム)網膜色素変性に対する遺伝子治療. 第 53 回 日本網膜硝子体学会総会. 2014 年 11 月 28-30 日、大阪

6 .池田康博:(指定演者)Phase I clinical study for patients with retinitis pigmentosa. : interim report of initial 5 subjects (low-titer group) 第5回 国際協力遺伝病遺伝子治療フォーラム. 2015 年 1 月 15 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 講師

研究要旨 本研究では、臨床研究実施期間中の生体材料（血液、尿、涙液、他）を用いた各種検査（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）を実施し、さらには本臨床研究薬（SIV-hPEDF）の製剤化へ向けた準備を整えることを目的とする。生体材料を用いた各種検査を症例毎に適切に実施した。また、大量生産に対応可能な施設（中華人民共和国：深圳市源興生物医薬科技有限公司＜THYX社＞）で製造されたベクターの受入試験を実施し、現在使用中の臨床研究薬との同等性を品質試験にて確認した。さらに、製剤化へ向けた準備として、平成26年11月6日に医薬品医療機器総合機構（PMDA）の事前面談を受けた。今後、医師主導治験（Phase I/II）の実施へ向けた準備を進めていく。

A．研究目的

臨床研究実施期間中の生体材料（血液、尿、涙液、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、各種サイトカイン測定）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を製造し、並行して当局対応を行いながら、医師主導治験（Phase I/II）の実施へ向けた準備を進めていく。

B．研究方法

1．臨床研究実施期間中の生体材料（血液、尿、涙液、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、各を手順に従って適切に実施する。

2．大量生産に対応可能な施設（中華人民共和

国：深圳市源興生物医薬科技有限公司＜THYX社＞）で製造されたベクターの品質試験を実施する。さらに、ベクターを輸入し、受入試験を実施する。3．医薬品医療機器総合機構（PMDA）の事前面談、さらには対面助言を受け、医師主導治験（Phase I/II）の実施へ向けた準備を進めていく。

（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續等について」(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

1. 生体材料を用いた各種検査(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)を昨年度に引き続き適切に実施した。すべての被験者の各検査時点で採取されたサンプル(血液、尿、涙液)から、ベクターゲノムは検出されなかつた。

2. 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)で製造されたベクターの品質試験(試験項目等は添付の表に記載)を実施した。すべての項目について、適格であった。

また、上記ベクターを国内に輸入し、受入試験を実施した。具体的には、無菌試験、エンドトキシン試験、マイコプラズマ否定試験(PCR法、MycoAlert法)、感染力価測定(TU)で、からは終了し、すべて適格であった。また、感染力価測定は、現在実施中である。

3. 平成26年11月6日に医薬品医療機器総合機構(PMDA)の事前面談を受けた。その結果、「治験薬製造」、「治験薬非臨床試験」、「治験実施」の3つのカテゴリー別に今後は事前面談、さらには対面助言を受けることとなった。

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。

製剤化へ向け、当局対応しながら医師主導治験(Phase I/II)実施の準備を進めていく。

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) Clinical Trial of Gene Therapy for Retinitis Pigmentosa. The World Ophthalmology Congress (WOC) 2014 (Tokyo, Japan) 2014. 4. 2-6.

2 .Ikeda Y: (Symposium) Phase I clinical study of a third-generation simian immunodeficiency virus (SIV)-based lentiviral vector carrying human pigment epithelium-derived factor (PEDF) gene for patients with retinitis pigmentosa. 2014 Annual Meeting of Association for Research in Vision and Ophthalmology (Orlando, USA) 2014. 5. 4-8.

3 . Ikeda Y, Ishibashi T, et al.: Phase I clinical study for patients with retinitis pigmentosa: interim report of initial 5 subjects (low-titer group). 22nd Anniversary Congress of the European Society of Gene and Cell Therapy (Hague, Netherlands) 2014. 10. 23-26.

4 . 池田康博 : (シンポジウム) 硝子体手術と遺伝子治療の融合. 第 68 回 日本臨床眼科学会. 2014 年 11 月 13-16 日、神戸

5 . 池田康博 : (シンポジウム) 網膜色素変性に対する遺伝子治療. 第 53 回 日本網膜硝子体学会総会. 2014 年 11 月 28-30 日、大阪

6 . 池田康博 : (指定演者) Phase I clinical study for patients with retinitis pigmentosa. : interim report of initial 5 subjects (low-titer group) 第 5 回 国際協力遺伝病遺伝子治療フォーラム. 2015 年 1 月 15 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

表：ベクターの品質管理試験

	項目	概要	規格値
1	粒子力価測定 (Vp)	ベクターゲノム内の WPRE をターゲットにしたリアルタイム PCR 法による粒子力価の測定	規定値
2	機能力価測定 (TU)	抗 PEDF 抗体を用いた細胞免疫染色法による機能力価の測定	規定値
3	PCR of gene of interest	PCR 法による PEDF 遺伝子の確認	目的断片の確認
4	SDS-PAGE	SDS-PAGE により分離したタンパク質の CBB 染色による分析	目的バンドの確認
5	タンパク質濃度	Bradford 法によるタンパク質濃度の測定	規定値
6	微生物限度試験	直接培養法による微生物群の分析	陰性
7	無菌試験	細胞溶解液接種による無菌試験 (直接法)	陰性
8	マイコプラズマ否定試験	PCR 法によるマイコプラズマ否定試験	陰性
9	マイコプラズマ否定試験	培養法	陰性
10	ウイルス混入否定試験	PCR 法によるウイルス混入否定試験	陰性
11	異常毒性試験	マウス腹腔内注射による異常毒性試験	陰性
12	電子顕微鏡検査	細菌、真菌の混入否定検査	陰性
13	エンドトキシン	ゲル化法によるエンドトキシンの測定	<10 EU/ml
14	細胞由来 DNA 濃度測定	ドットプロット法による細胞由来残存 DNA 濃度の測定	10ng/dose
15	BSA 濃度測定	ELISA 法による残存 BSA 濃度の測定	50ng/dose
16	Benzonase 濃度測定	ELISA 法による残存ベンゾナーゼ濃度の測定	規定値 pg/ml
17	増殖性レンチウイルス (RCL)	PCR 法による増殖性レンチウイルス (RCL) 否定試験	陰性
18	In vitro 遺伝子発現	ELISA 法による PEDF タンパク質濃度の測定	規定値 ng/ml
19	PEDF 濃度測定	ELISA 法による製品中における PEDF タンパク質濃度の測定	規定値 ng/ml
20	PCR for E1A, E1B, SV40 large T antigen	PCR 法によるアデノウイルス E1A, E1B, SV40 ラージ T 抗原の検出	情報確認
21	充填量	充填量の確認	規定値
22	pH	pH の測定	規定値
23	外観	目視による外観の検査	無色、透明～やや白濁

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
池田 康博	網膜色素変性に対する 遺伝子治療の実際と可 能性	あたらしい眼 科	3 2 巻	203-208	2015年

