

## 2. 遺伝子治療臨床研究 実施計画書（変更後）

# 北海道大学医学部附属病院 遺伝子治療臨床研究実施計画書・目次 1

- 1 研究の名称
- 2 研究者の氏名および担当する役割
  - (1) 総括責任者及び担当する役割
  - (2) 総括責任者以外の研究者及びその担当する役割
- 3 遺伝子治療臨床研究の実施施設の名称及びその所在地
- 4 遺伝子治療臨床研究の目的
- 5 ADA欠損症に対する本遺伝子治療臨床研究の理論的根拠
  - (1) 対象疾患に関する現時点での知見
    - (i) ADA欠損症の病態
    - (ii) ADA欠損症の治療
  - (2) ADA欠損症における従来までの遺伝子治療臨床研究の概要
  - (3) 従来の方法からの改良点
  - (4) 他の治療法との比較及び血液幹細胞を標的とした遺伝子治療臨床研究を選択した理由
- 6 遺伝子及び遺伝子導入方法
  - (1) ベクターの構造と性質
    - (i) 野生型ウイルスの生物学的特徴および人に対する影響
    - (ii) ベクターの構造
    - (iii) ベクター遺伝子の性質
  - (2) 導入遺伝子からの生成物の構造及び生物活性
- 7 自己血液幹細胞の生物学的特徴並びに当該細胞を標的細胞とした理由
- 8 遺伝子導入方法の概要及び当導入法を選択した理由
- 9 これまでの研究成果
  - (1) 方法
    - (i) ウイルスベクター
    - (ii) 標的細胞
    - (iii) 遺伝子導入方法
    - (iv) 導入遺伝子の確認方法
  - (2) 結果
    - (i) 遺伝子導入
    - (ii) マウスへの移植実験
    - (iii) 考察
- 10 安全性についての評価
  - (1) 遺伝子導入方法の安全性

# 北海道大学医学部附属病院 遺伝子治療臨床研究実施計画書・目次 2

- (i) 遺伝子導入に用いるウイルスベクターの純度
- (ii) 患者に投与する物質の純度及び安全性
- (iii) RCR 出現の可能性
- (iv) 遺伝子導入に用いるウイルスベクターの細胞障害性
- (v) 体内の標的細胞以外の細胞への遺伝子導入の可能性
- (vi) 患者以外の人への遺伝子導入の可能性
- (vii) 染色体内へ遺伝子が組み込まれる場合の問題点
- (viii) 癌原性の有無
- (2) 遺伝子産物の安全性
- (3) 細胞の安全性
  - (i) 培養細胞の純度
  - (ii) 細胞の遺伝型、発現型の安全性
  - (iii) 被験者に投与する細胞の安全性
- 11 遺伝子治療臨床研究の実施が可能であると判断する根拠
- 12 遺伝子治療臨床研究の計画
  - (1) 遺伝子治療臨床研究を含む全体の治療計画
  - (2) 適応患者の選定基準及び適応除外基準
    - (i) 選択基準
    - (ii) 除外基準
  - (3) 適応患者の選定方法
  - (4) 被験者の同意の取得方法
  - (5) 実施期間及び目標症例数
  - (6) 遺伝子治療臨床研究の実施方法
    - (i) 前処置及び併用療法の有無
    - (ii) 遺伝子導入方法
    - (iii) 臨床検査項目及び観察項目
    - (iv) 予測される副作用並びにその対処方法
    - (v) 遺伝子治療臨床研究の評価、モニタリング
    - (vi) PEG-ADA 療法再開、再度中断の基準
    - (vii) 症例記録に関する記録用紙等の様式
    - (viii) 記録の保存及び成績の公表方法
- 13 当該遺伝子治療臨床研究の実施施設の状況
- 14 当該遺伝子治療臨床研究に関連する国内外の研究状況
- 15 研究者の略歴、研究業績
- 16 文献

## 遺伝子治療臨床研究実施計画書

### 1. 研究の名称

アデノシンデアミナーゼ欠損症における血液幹細胞を標的とする遺伝子治療臨床研究

### 2. 研究者の氏名及び担当する役割

#### (1) 総括責任者氏名及びその担当する役割

崎山幸雄（北海道大学大学院医学研究科遺伝子治療・客員教授）：遺伝子治療臨床研究実施の総合判断及び研究成果の総括、インフォームド・コンセント

#### (2) 総括責任者以外の研究者氏名及びその担当する役割

小林邦彦（北海道大学大学院医学研究科小児発達医学分野・教授）：患者選択基準の評価、診療全般

守内哲也（北海道大学遺伝子病制御研究所病因研究部門癌関連遺伝子・教授）：  
遺伝子挿入部位、モニタリングの解析、評価

有賀 正（北海道大学大学院医学研究科遺伝子治療・客員助教授）：遺伝子導入操作全般、造血幹細胞への遺伝子導入基礎実験

大津 真（北海道大学大学院医学研究科遺伝子治療・特別研究員）：遺伝子発現細胞の解析、モニタリングの解析、評価

川村信明（北海道大学大学院医学研究科小児発達医学分野・講師）：患者の免疫機能解析・評価、T, B細胞のクローナリティ解析などの臨床効果の評価

立沢 宰（国立成育医療センター膠原病・感染症科医長、厚生労働省技官）：治療前後の患者診療、臨床評価

小野寺雅史（筑波大学臨床医学系免疫学・講師）：予備実験用ベクター供与

F. Candotti（米国国立衛生研究所・主任研究員）：レトロウイルスベクターの供与に関する米国内での実務。モニタリングの解析、評価

### 3. 遺伝子治療臨床研究の実施施設の名称及びその所在地

北海道大学大学院医学研究科遺伝子治療、同大学医学部附属病院

札幌市北区北 15 条西 7 丁目、札幌市北区北 14 条西 5 丁目

#### 4. 遺伝子治療臨床研究の目的

アデノシンデアミナーゼ(ADA)欠損による重症複合免疫不全症(SCID)患者に対する根治治療としてはヒト主要組織適合抗原(HLA)の一致する血縁骨髄ドナー等による血液幹細胞移植(HST)があるが、このようなドナーの存在しない患者に対する根治治療は確立されていない。

1990年、米国国立衛生研究所(NIH) M. Blaese 博士らは酵素補充療法(ポリエチレングリコール修飾アデノシンデアミナーゼ療法; PEG-ADA 療法)下の ADA 欠損症患者に対し、末梢血リンパ球を標的としてレトロウイルスベクター LASN を用いた遺伝子治療を試み、その有効性を示唆した<sup>1)</sup>。我々も1995年8月から1997年3月までに M. Blaese 博士との共同研究下に同様の方法で「アデノシンデアミナーゼ欠損症における遺伝子治療臨床研究」を実施し、免疫機能の改善などの有効性と安全性を示した<sup>2)</sup>(添付資料 1-1)。しかし、末梢血リンパ球を標的とした遺伝子治療では、PEG-ADA 療法の併用下で、その効果に制約が予測され、治療後に体内で検出される遺伝子導入細胞は一部の T 細胞に限られている。

一方、永続的な治療効果が期待される血液幹細胞を標的とする遺伝子治療も1995-96年、ADA 欠損症患者を対象に臍帯血細胞、骨髄血細胞を用いて試みられている<sup>3,4,5)</sup>。しかし、臨床レベルでの有効性が PEG-ADA 療法の中断下に確認された報告はなかった。この時点で、血液幹細胞を標的とする遺伝子導入で臨床効果が得られなかったのは、ヒト血液幹細胞の同定、効率的な分離法が確立されていなかったこと、血液幹細胞への遺伝子導入効率の低さが主な理由と考えられていた。近年、ヒト血液幹/前駆細胞として CD34 陽性細胞分離法の確立、レトロウイルスベクターの改良、CD34 陽性細胞への遺伝子導入技術の改善等がもたらされ、血液幹細胞への遺伝子導入効率はほぼ 20%レベルと明らかに改善されてきている<sup>6)</sup>。2002年にはイタリアから、PEG-ADA 療法なしで、さらにブスルファンによるコンディショニングを前提とした成功例が報告された<sup>7)</sup>。

これに先だって、A. Fisher 博士らは X 連鎖重症複合免疫不全症(X-SCID)患者に対して、自己骨髄血 CD34 陽性細胞を標的とした遺伝子治療を実施し、その有効性を報告した<sup>8)</sup>。X-SCID はサイトカイン IL-2, 4, 7, 9, 15, 21 の受容体共通サブユニットである  $\gamma c$  遺伝子の異常が原因で、その病態は T 細胞、NK 細胞の欠損、B 細胞の機能異常を特徴とする。このことから  $\gamma c$  は細胞の分化・増殖シグナル、特に T, NK 細胞のそれに関連した分子と考えられている。

従って、遺伝子導入によって患者の T,NK 細胞が $\gamma c$  を発現すればその細胞は他の $\gamma c$  欠損細胞に対して増殖優位性を獲得する。この遺伝子治療では 11 例中 9 例に明らかな臨床効果を認め、遺伝子治療により先天性疾患が初めて治癒する例として注目を浴びていた。しかし、2002 年 10 月と 12 月に成功例の 9 例中 2 例から T 細胞白血病が連続して発症したことが報告され<sup>9)10)</sup>、同様の方法による遺伝子治療臨床研究は中断を余儀なくされた<sup>11)</sup>。その後の解析で、2 例の事象とも白血病細胞ではベクターの挿入部位が癌遺伝子の一つである LMO2 遺伝子内/近傍にあることが判明し<sup>12)</sup>、挿入変異による白血病発生機序が確認された。しかしながら、確率的には  $1/10^6$  程度に LMO2 近傍にも遺伝子が組み込まれる可能性があるにもかかわらず、 $\gamma c$  以外の導入遺伝子による過去多くの症例ではこのような有害事象はない。このことから、導入遺伝子 $\gamma c$  と癌遺伝子 LMO2 の発現がどちらも非生理的条件下に起こることが、白血病様副反応の誘因の一つとして関わっていると推測されている。また、有害事象の発生に関連する他の要因としては、被験者の年齢や、投与する遺伝子導入細胞数も推測されている。これらの解析結果を受けて 2003 年 2 月 10 日に行われた会議で、モニタリングプラン、リスク・ベネフィットを考慮し適切な選択基準の下での $\gamma c$  関連以外の遺伝子導入での遺伝子治療の実施は妥当であろうと、米国 NIH の組み換え DNA 勧告委員会 (RAC) は判断している<sup>13)</sup> (添付資料 1-2)。

本研究は、PEG-ADA 療法を継続しても複合免疫不全状態にある ADA 欠損症患者に対し、PEG-ADA 療法を中断もしくは可及的に減量した上で自己骨髓血 CD34 陽性細胞を標的とする遺伝子治療臨床研究を実施して、その安全性と遺伝子導入効率を検討し、さらに遺伝子導入血液幹細胞に由来する末梢血 T, B, NK 細胞、単球での導入遺伝子の存在、発現と免疫機構の再建、モニタリングプランによる安全性の解析を評価することを目的とする。

## 5. ADA 欠損症に対する本遺伝子治療臨床研究の理論的根拠

### (1) 対象疾患に関する現時点での知見

#### (i) ADA 欠損症の病態

ADA はリボヌクレオシドであるアデノシンをイノシンへ、デオキシアデノシン(dAdo)をデオキシイノシンへ脱アミノ化させるプリン・サルベージ経路の触媒酵素である。ADA はヒトのほとんど全ての組織・細胞に存在するが、その活性は組織・細胞によって異なり、胸腺で最も高く、次いでリンパ組織・胃腸管・脳皮質で高く、赤血球では最も低いことが知られている。

ADA 欠損は細胞内にアデノシン、dAdo の蓄積をもたらす。アデノシンの増加は細胞内の cAMP 濃度を増加させて、メチル化に関わる S-アデノシルホモシステインヒドロラーゼ (SAHase) を不活化させる。また、dAdo の増加は DNA 修復機構を障害し、一方、主としてリンパ球内でのリン酸化デオキシアデノシン (dATP) の蓄積は、DNA 合成に必須の酵素であるリボ核酸還元酵素を阻害して DNA 複製を障害する。これらの結果、細胞の DNA 合成阻害、機能低下からリンパ球を主体に細胞死を誘導すると考えられている<sup>14) 15) 16)</sup>。

ADA 欠損症は分子レベルでその原因が明らかにされた最初の SCID である<sup>17)</sup>。その定型的な臨床像は生後間もなくより日和見感染症を含む易感染性、リンパ球減少、低 $\gamma$ -グロブリン血症を呈する T、B 細胞の重篤な機能不全症で、他の病因による SCID、すなわち ADA(+)-SCID と臨床的、免疫学的に区別することは出来ない。全 SCID における ADA 欠損症の頻度はおよそ 20-25% である。

ADA 欠損症には臨床像の重篤度から、乳児期早期に発症し急速に致死的となる早期発症型 SCID、乳児期早期には抗体産生能を残し進行性に発症する遅発型 SCID、5-8 歳時までは診断されないことが多い晩発若年型 SCID、赤血球中の ADA 活性は欠損するが他の細胞では正常の 10-80% の活性を保持している部分 ADA 欠損症の異なる 4 型の存在が知られている<sup>18)</sup>。その重症度は赤血球中の dATP の濃度と相関するとも考えられており、早期発症型 SCID では dATP はおよそ 273-1839nmol/ml (正常: <2nmol/ml) と著しく高値となり、遅発型では 100-263nmol/ml、部分 ADA 欠損症では 3-27nmol/ml と正常域より僅かに高値を呈する<sup>19)</sup>。従って赤血球中の dATP レベルを知ることによって臨床像の重症度、免疫反応の欠陥の程度を推定する事が可能である。

ADA 遺伝子 (20q13.11) の欠陥は ADA 活性の欠損もしくは著しい欠乏をきたす。ADA 遺伝子の病的変異はこれまでに 50 種類以上が報告されて、ミスセンス変異が最も多く、ナンセンス変異、スプライス異常の変異、欠失等様々な変異がある。いずれの遺伝子欠陥も酵素活性の欠損もしくは蛋白質としての不安定をきたすものと考えられる。近年 ADA 活性が欠損した *E. coli* を用いて患者由来の変異 ADA を発現させ *in vitro* にて ADA 酵素活性を測定する研究が報告された。その結果、変異の種類と酵素活性、ひいては臨床像との強い関連が示され、変異の種類と上記病型との関係も明瞭に示された<sup>19) 20)</sup> (添付資料 1-3)<sup>21)</sup> (添付資料 1-4)。

## (ii) ADA 欠損症の治療

これまで報告されている大部分の ADA 欠損症は早期発症型 SCID で、免疫機構が再建されなければ、他の SCID と同じように 1 歳前後までにそのほとんどの患者が重症感染症で死の転帰をとる。その治療法については、これまでの所、HST が唯一の根治療法で、HLA の一致した血縁骨髄ドナーによる HST では 90% 近い生存率が得られている。しかし HLA 一致の血縁骨髄ドナーの存在する症例は SCID 症例の 20% 前後にすぎないので、ハプロタイプ HLA 一致の両親のいずれかをドナーとする HST も行われる<sup>22) 23) 24) 25)</sup>。非血縁者 HLA 一致のドナーによる HST はこれまで数例の報告があるのみで、その有用性は評価できない。

ハプロタイプ HLA 一致の HST では移植片対宿主反応 (GVHR) を予防するために T 細胞を除去した血液幹細胞を用いた T 細胞除去 HST も行われる。これまでのところ、その生着率は患者の良好な全身状態下で 60-80% と他の SCID に比して低いことが知られている<sup>26) 27)</sup>。これは ADA 欠損症では ADA(+)SCID と異なり拒絶反応に働く免疫能が残存しているため、あるいは体液中にも存在する dAdo が血液幹細胞の生着を阻害するためと推察されている。このため、前者に対しては一部の施設で免疫抑制剤による前処置を行ったハプロタイプ HLA 一致の HST も試みられているが、T, B 細胞の生着には差は見出されず、前処置をしない HST よりも長期生存成績が良いのか否か一定した結果は得られていない。

ウシ胸腺由来の ADA をポリエチレングリコール (PEG) で修飾した PEG-ADA が開発され、PEG-ADA の週 1-2 回/筋注投与は血漿中の ADA 値、dAdo 値を正常域に維持し、大部分の患者に少なくとも部分的な、一部にはほぼ完全な免疫機構の再建をもたらすことが報告された<sup>28)</sup>。1990 年には PEG-ADA は米国エンゾン社から orphan drug; ADAGEN™ として供給されるようになっている。今日まで米国、ヨーロッパを中心に HLA 一致血縁骨髄ドナーは存在せず、ハプロタイプ HLA 一致の HST を安全に施行するには状態が良くないと判断された ADA 欠損症の 85 症例に PEG-ADA は使用され、6 ヶ月以上にわたって継続されている患者の生存率は 75% と大部分の患者で有用性が認められている<sup>29)</sup>。PEG-ADA は細胞外液中の dAdo を変換し、リンパ球数増加、免疫機能の改善などの効果が、開始後 2-4 ヶ月で見出される。しかしながら、より重篤な ADA 欠損では患者の 20% はごく一部の効果しか認められず、その有効性には患者間で相違がある。さらに PEG-ADA は、生涯にわたり 1~2 回/週 (45~60U/kg 体重) の継続が必要で、その費用が少なくとも年間 1700 万円前後となる。何らかの理由で、長期の PEG-ADA 療法を中断し、HST を行った症例の生存率は 8/19 (42%) である。



ADA 欠損症に対する根治治療をまとめると、HLA 一致血縁骨髄ドナーが存在するときには HST が第一選択の治療法となる。存在しない時には患者の状況に応じて両親あるいは非血縁者で HLA 一致骨髄ドナーによる HST か、もしくは PEG-ADA 療法が選択されることになる。しかしこの二つのいずれの治療法にも問題が残されている。両親もしくは非血縁者からの HST では前処置を行わないと生着率が低く、前処置を行っても生着までの期間の感染症対策は必ずしも容易ではない。さらに前処置 HST 後の PEG-ADA 療法はその効果が抑制されるとの報告もあり、新生児期もしくは乳児期早期で感染因子への暴露が比較的少ない時期以外では、これらの HST は危険度が高いと考えざるを得ない。一方 PEG-ADA 療法は治療法自体に危険性はなく数回の投与後には効果が期待され得る利点があるが、一部の症例では血漿中の dAdo のレベルは同じように減少するにもかかわらずその免疫機構の再建が部分的であったり、治療中に自己免疫疾患の発症例が認められている点などが問題である。また、極めて高額であり生涯にわたるその経済的な負担は無視できない<sup>30)</sup>。

本邦においてはこれまで 10 家系 11 症例の ADA 欠損症が報告されており、HLA 一致の血縁骨髄ドナーから HST を受けた 3 症例と新生児期にハプロタイプ HLA 一致の HST を受けた姉妹例の計 5 例が移植によって生存している。PEG-ADA 療法での治療例は 2 症例である。

## (2) ADA 欠損症における従来までの遺伝子治療臨床研究の概要

1990 年、1991 年に米国 NIH において、PEG-ADA 療法を受けていた二人の ADA 欠損症患者に、自己末梢血リンパ球を標的としてレトロウイルスベクター LASN を用いた遺伝子治療臨床研究が行われた<sup>31)</sup>。これを契機として、その後、我々の症例を含めた 11 例の ADA 欠損症症例に対し、多施設で遺伝子治療が実施されている<sup>31)</sup>。標的としては末梢血リンパ球、臍帯血細胞、骨髄血細胞が選択されて（一部に末梢血リンパ球と骨髄血細胞の併用）、末梢血リンパ球を標的としたものでは臨床的効果を認めているが、いずれも PEG-ADA 療法が併用されている。出生前診断された 3 症例に対し、PEG-ADA 療法下に自己臍帯血中の血液幹細胞を標的として LASN を用いた遺伝子治療が実施され、1-10%の末梢血 T 細胞に遺伝子導入が確認された。しかし、PEG-ADA 療法の中絶時には遺伝子導入 T 細胞の存続にもかかわらず免疫能の低下をきたして、PEG-ADA 療法が再開されている<sup>32)</sup>。

最近、共同研究している米国 NIH と、イタリアにおいて対照的な方法で血液幹細胞を標的とした ADA 欠損症に対する遺伝子治療臨床研究が実施された。これらの遺伝子治療臨床研究

間にベクターの性状や、遺伝子導入方法には大きな違いはなかったが、PEG-ADA 療法は米国の方法では持続しながら実施したものであり、イタリアの方法は PEG-ADA 療法がされていない ADA 欠損症患者にさらに非骨髄破壊コンディショニングをして実施したものであった。その結果、米国の 4 症例は治療後、1 年を過ぎても明確な臨床効果を認めず、イタリアの 4 症例では臨床的有効性が報告されている。以下に 1990 年に行われた自己末梢血を標的とした米国での症例と、1995 年に開始した我々の症例の経過（添付資料 1-1）、さらに 2001 年に実施された血液幹細胞を標的としたイタリアの症例を紹介する。

1990 年 9 月 15 日に米国 NIH で末梢血リンパ球を標的にレトロウイルスベクター LASN を用いて遺伝子治療が開始された症例（4 歳）は、11 ヶ月間に 8 回の反復治療を受けた。その結果、PEG-ADA 療法で治療されていた 2 年間には認められなかった末梢血 T 細胞数の正常化、同種血球凝集素価の出現、インフルエンザ菌ワクチン接種後の特異抗体反応の獲得、カンジダ、破傷風トキソイドに対する遅延型皮膚反応の陽転、抗原刺激による T 細胞増殖反応の正常化などの免疫機構の再建が得られた。末梢血 T 細胞は 2 回目の治療後より 1000/ $\mu$ l 以上となり、3-5 回目の治療時に減少するもその後は確実に増加して 2000/ $\mu$ l 以上とほぼ正常化した。3-5 回目の治療時の T 細胞減少時にも、末梢血単核球の PCR による ADA 遺伝子の発現と ADA 活性は極めて強いことが示されて、ADA 遺伝子を発現した T 細胞が生体内で優位に生存していることが示唆された。末梢血単核球の ADA 活性は 3 回目の治療後に 5U（正常値：40-50U）となり、その後も反復治療毎に増加しており、導入された ADA 遺伝子の発現が安定していることも示唆された。患者は 1992 年 8 月までに 11 回の治療を受けて、その後は中断されている。現在までにその臨床経過は順調で、関連した副作用も投与後の一時的な軽度発熱以外は見いだされていない<sup>33)</sup>。しかし、PEG-ADA 療法は経過を通じて継続されており、 $\gamma$ グロブリン補充療法も必須の状況で、根治に向けた治療の必要性は続いている。

我々は、1995 年 8 月から 1997 年 3 月までの期間に末梢血リンパ球を標的とし、レトロウイルスベクター LASN (Genetic Therapy Co. 供与)を用いた遺伝子治療を当時 4 才の ADA 欠損症患者に実施した。4-6 週間隔で合計 11 回の遺伝子導入細胞の投与を行い、投与細胞総数は約 850 億個に及んだ。治療による重大な副作用は認められなかった。遺伝子導入細胞の存在は、PCR 法、in situ PCR 法、FISH 法<sup>34)</sup>（添付資料 1-5）等で確認した。治療前後を通して T 細胞のクロナリティーに大きな偏りはなく、in vitro では B 細胞に対する抗体産生の誘導作用も確認された<sup>35) 36) 37)</sup>（添付資料 1-6,1-7）。PEG-ADA 療法との併用下に遺伝子治療臨床研究による以下の効果を確認した。①末梢血リンパ球数は投与期間中は 3000/ $\mu$ l

まで増加、中断後は漸減し、500~1000/ $\mu$ lとなった。②末梢血単核細胞中 ADA 活性は治療中に30Uまで増加したが、中断後は5-10Uを維持している。③血清IgG値の上昇を認めて $\gamma$ グロブリン補充療法を中断した。④特異抗原に対する免疫応答の改善（特異抗体価の上昇、特異抗原に対する遅延型皮膚反応の改善）を認めた。⑤治療中断後に水痘、麻疹、インフルエンザなどのウイルス感染症に罹患するも通常の臨床経過で特異抗体反応も認めた。⑥身体的、精神的に正常な成長発達を認めている。

遺伝子導入細胞の投与を中断して6年を経過しているが遺伝子導入細胞は末梢血リンパ球数は500/ $\mu$ l、単核細胞で0.05copy/cellの導入遺伝子、~5UのADA活性の発現が継続している<sup>38)</sup>。しかし、PEG-ADA療法併用下にリンパ球減少は持続しており、根治に向けた治療の必要性は続いている。

以上の米国NIHと我々の遺伝子治療臨床研究により、末梢血リンパ球を標的としてレトロウイルスベクターを用いたADA欠損症に対する遺伝子治療はPEG-ADA療法併用下に少なくとも一定期間、臨床上有用であることを示している。しかし、PEG-ADA療法の併用下にその単独の治療効果は不明であり、根治療法とはなっていない。

2001年、イタリアでPEG-ADA療法をしていない症例で、さらに非骨髄破壊コンディショニングをした血液幹細胞標的の遺伝子治療が実施された<sup>7)</sup>。詳細な報告は2例で行われているが、最新の報告では既に4例で実施され有効な治療経過が得られている。2例は7ヶ月と2歳6ヶ月の症例で、自己の骨髄血を採取し、CD34陽性細胞を選別して遺伝子導入処理を行った。ベクターはGp+Am12細胞でパッケージングされたLASNに準じたベクターで、CH-296存在下にSCF, FLT3L, TPO, IL3のサイトカインを使用して1日前培養し、その後遺伝子導入操作3回を3日間にわたって行った。移植の3日、2日前にブスルファン2mg/kg/day、二日間前処理の後、遺伝子導入した細胞を投与した。それぞれCD34陽性細胞で $8.6 \times 10^6$ /kgと $0.9 \times 10^6$ /kgで、CFU-C (Neo)で評価した遺伝子導入効率は25%と21%であった。遺伝子導入細胞数の違いのためか、リンパ球数の増加等の遺伝子治療の効果確認の時期は異なったが、2例とも経過とともに種々の免疫機能の再建が得られている。副作用は治療後4年を超えた現在も認められていない。ADA欠損症における遺伝子治療による最初の治癒例である。