

	<p>ドナーの負担という点では、本遺伝子治療の個々の症例への適応については、慎重かつしゅうぶんな検討が必要である。しかしながら、本遺伝子治療は、一連の治療法の課題に対する解決策を模索した上で計画されたものであり、これまでの海外での臨床実績からも安全性及び有効性が見込まれるものとして妥当な手法と考え選択した。</p>
<p>遺伝子の種類及びその導入方法</p>	<p><b>1. 人に導入する遺伝子の構造と性質</b>  本臨床研究において発現する遺伝子はΔLNGFR 遺伝子と HSV-TK 遺伝子である。</p> <p><b>①人に導入する遺伝子の構造</b>  ・細胞内領域欠損ヒト低親和性神経成長因子受容体遺伝子(ΔLNGFR 遺伝子)  使用するΔLNGFR 遺伝子は、LNGFR 遺伝子の細胞内領域をコードする塩基対を除去したもので、翻訳開始コドン ATG の上流に 113 塩基対の非翻訳領域を有し、ΔLNGFR をコードする 956 塩基対の遺伝子である。  ・単純ヘルペスウイルス 1 型-チミジンキナーゼ遺伝子(HSV-TK 遺伝子)  使用する HSV-TK 遺伝子は、GL101 株 DNA 由来の HSV-TK をコードする 1,131 塩基対及び翻訳開始コドン ATG の上流に位置する 14 塩基対の非翻訳領域からなる。</p> <p><b>②人に導入する遺伝子の性質</b>  レトロウイルスベクター-SFCMM-3 に含まれる ΔLNGFR 遺伝子及び HSV-TK 遺伝子は細胞内に侵入した後、逆転写酵素によってウイルスゲノム RNA から 2 本鎖 DNA が合成され、核内に移行する。5'-LTR と 3'-LTR ではさまれた DNA はウイルスが持っているインテグラーゼによって細胞染色体に組み込まれ(プロウイルス)、細胞ゲノムの複製に伴って複製されて安定的に娘細胞へ受け継がれる。このために継続的な遺伝子発現が可能である。</p> <p><b>③導入遺伝子からの生成物の構造及びその生物活性</b>  ・ΔLNGFR の生物活性  ΔLNGFR は、細胞内領域のほとんどが除去されているため、シグナルを細胞内に伝達することはない。in vitro 及び in vivo において、ΔLNGFR の機能活性は観察されない。ΔLNGFR は細胞膜でたん白発現するため細胞表面マーカーとして利用され、特異的抗体を用いて in vitro で発現細胞を迅速に分離することができ、ex vivo での発現細胞の検出や生存状態、増殖状態等のキャラクタリゼーションを行うことができる。  ・HSV-TK の生物活性  HSV-TK は、遺伝子導入された細胞において自殺遺伝子産物として機能する。自殺遺伝子が導入された細胞では、その遺伝子産物により非毒性のプロドラッグである GCV が毒性型ドラッグに変換され、細胞が傷害を受ける。</p> <p><b>2. 本計画で使用するその他の組換え DNA の構造と性質</b>  本計画では使用しない。</p> <p><b>3. 標的細胞とした細胞の由来及び生物学的特徴並びに当該細胞を標的細胞とした理由</b>  GVM 効果を担う免疫担当細胞がドナー由来の T リンパ球であること、及び当該細胞が GVHD の原因となることが知られている。レトロウイルスベクターによる遺伝子導入は増殖中の細胞を標的としており、組換えヒトインターロイキン 2(mIL-2)存在下、抗 CD3 抗体で刺激することにより活性化された T リンパ球に対しても高い遺伝子導入効率を得られることが証明されている。レトロウイルスベクター-SFCMM-3 を用いた遺伝子治療においては、ドナーリンパ球から得られる活性化 T リンパ球が標的細胞として使用される。</p> <p><b>4. 遺伝子導入方法の概略及び当該遺伝子導入法を選択した理由</b>  <b>①遺伝子導入方法の概略</b>  レトロウイルスベクター-SFCMM-3 を含むウイルス産生細胞の培養上清中にドナー末梢血リンパ球を加え、遠心することで行う。  <b>②当該遺伝子導入法を選択した理由</b></p>

当該遺伝子導入法としてレトロウイルスベクターを用いた遠心法を選択した理由は、レトロウイルスベクターは感染後細胞染色体に組み込まれて細胞ゲノムの複製に伴って複製されるために、長期にわたり導入遺伝子を安定して発現することができること、多くのモロニー Maus 白血病ウイルス (MoMLV) ベースのレトロウイルスベクターがヒト血液細胞への遺伝子導入に利用されていること、及び末梢血 T リンパ球がレトロウイルスベクターにより効率よく遺伝子導入されることである。

### ③レトロウイルスベクターの選択根拠

レトロウイルスベクターを用いて遺伝子導入を行うことにより、他のベクターに比べて効率よく遺伝子を細胞染色体に組み込むことが可能である。

レトロウイルスベクター SFCMM-3 の基になる SFCMM-3 DNA は、野生型レトロウイルス由来の gag, pol, env をコードする遺伝子の全てもしくは一部を欠如しており、この DNA のみを通常の細胞に導入したのではウイルス粒子を産生することはない。また、ウイルスベクター製造に用いるパッケージング細胞株 GP+envAm12 (Am12, ATCC CRL-9641) は、gag, pol を発現する DNA 断片と env を発現する DNA 断片とが異なったベクターを用いて導入されているため、増殖性レトロウイルス (RCR) が出現する可能性は極めて低いと考えられており、すでに世界的に広く使用されている。

## 5. ウイルスベクターを用いた遺伝子導入

### ①野生型ウイルスの生物学的特徴及び人に対する影響

レトロウイルスベクター SFCMM-3 のもとになる野生型ウイルスは MoMLV であり、形態的には直径約 100 nm の球形の C 型粒子に分類され、ウイルスコアをエンベロープが囲っている。ウイルスゲノムは分子量約  $3 \times 10^6$  の一本鎖 RNA で、相同の RNA 分子が 2 分子、ウイルスコア中に存在する。

MoMLV はマウス白血病ウイルス (MLV) を実験室で継代して高病原性株として単離された。MLV は AKR や C58 系マウスの自然発症白血病の病原ウイルスであり、オンコウイルス亜科のガンマレトロウイルス属に属する。オンコウイルスの病原性として、主体となるものは、肉腫、急性白血病、白血病、がんであり、野生マウスの後肢麻痺を招く神経好性ウイルスも知られているが、MoMLV は細胞由来の遺伝子を持たないウイルスであり、AKR や C58 系マウスでのみ白血病を誘発する。ヒトへの感染の報告はない。

### ②ウイルスベクターの作製方法

#### ・SFCMM-3 DNA ベクターの構築

pLXSN からネオマイシン耐性遺伝子 (NEO) の配列を取り除いて SV40 初期プロモーターの下流に  $\Delta$ LNGFR 遺伝子を、パッケージングシグナルの下流に HSV-TK 遺伝子を組み込んだものが SFCMM-3 DNA ベクターである。

#### ・パッケージング細胞株の構築

本臨床研究において使用するパッケージング細胞株は、Am12 である。本細胞株は、パッケージングに必要なウイルス遺伝子を 2 種類のプラスミド (ひとつは gag 遺伝子と pol 遺伝子で、もうひとつはマウスアンフトロピックウイルス 4070A 由来の env 遺伝子) で別々にマウス繊維芽細胞株 NIH 3T3 に導入したアンフトロピックパッケージング細胞株である。また、gag 遺伝子と pol 遺伝子を含むプラスミド及び MoMLV の env 遺伝子を含むプラスミドによりこれらの遺伝子を NIH 3T3 に導入して作製されたエコトロピックパッケージング細胞株 GP+E-86 (ATCC CRL-9642) をウイルス産生細胞の構築に用いた。

#### ・ウイルス産生細胞株の構築

パッケージング細胞 GP+E-86 に SFCMM-3 DNA ベクターをトランスフェクションし、レトロウイルスベクターエコトロピック SFCMM-3 を含む培養上清を回収した。この上清を Am12 に感染させることにより、安定なレトロウイルスベクター SFCMM-3 産生細胞を構築した。

SFCMM-3 産生細胞から、良好な生育性と T リンパ球への高い遺伝子導入効率を示すクローンを得た。これをマスターセルバンク (MCB) 用シードセルとして樹立し、MCB を作製した。

#### ・レトロウイルスベクター SFCMM-3 の製造

レトロウイルスベクター SFCMM-3 は、パンキングされたウイルス産生細胞株の培養上

	<p>液中にウイルス粒子の状態が存在する。 製造は全てモルメド社の管理された製造エリアにて GMP 遵守下で行われる。</p> <p><b>③ウイルスベクターの構造</b> レトロウイルスベクター-SFCMM-3 はパッケージングシグナルとして<math>\Psi^+</math>を有し、gag、pol、env をコードする遺伝子は除かれている。</p> <p><b>④ウイルスベクターの生物学的特徴</b> レトロウイルスベクター-SFCMM-3 はアンフォトロピックパッケージング細胞株 Am12 により産生されるので、マウス、ラット、サル、ヒト等を含む多くの種の哺乳類細胞に感染する。また、レトロウイルスベクター-SFCMM-3 は増殖能を欠いているので、遺伝子導入した末梢血 T リンパ球内でウイルス粒子を形成することはない。したがって、RCR が出現しない限り周囲の細胞に感染することはない。</p>
安全性についての評価	<p><b>1. 遺伝子導入方法の安全性</b></p> <p><b>①遺伝子導入に用いるウイルスベクターの純度</b> レトロウイルスベクター-SFCMM-3 の製造は、モルメド社の管理された製造エリアにて GMP 遵守下で行われる。製剤は、ロットごとにウイルス安全性を含め品質試験を行う。</p> <p><b>②患者に投与する物質の純度及びその安全性</b> 患者に投与する物質は、HSV-TK 遺伝子導入ドナー T リンパ球及びその懸濁媒である RPMI 1640 及びヒト血清アルブミン含細胞凍害保護液 (CP-1) である。細胞調製の際に用いられる培地、試薬等に関しては、遺伝子導入細胞を患者に投与する前に生理食塩水でじゅうぶんに洗浄されるので、患者に影響を及ぼすことはないと考えられる。</p> <p><b>③増殖性レトロウイルス (RCR) 出現の可能性</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>・レトロウイルスベクターの安全性 レトロウイルスベクター-SFCMM-3 のゲノムは gag、pol、env をコードする遺伝子の全部、若しくは一部を欠如しているため、パッケージング細胞内でしか増殖できない。レトロウイルスベクター-SFCMM-3 上清の試験項目に RCR 試験が含まれており、RCR 陰性の製剤だけを臨床使用する。</li> <li>・パッケージング細胞の安全性 Am12 は、パッケージングに必要なウイルス遺伝子を 2 種類のプラスミドで別々に導入した第 3 世代のパッケージング細胞株であり、RCR を産生する可能性は、第 1 世代及び第 2 世代パッケージング細胞株と比較して極めて低い。従って、SFCMM-3 DNA ベクターと Am12 の組み合わせにより作製されたウイルス産生細胞株を使用してレトロウイルスベクター-SFCMM-3 を製造する過程で RCR が出現する可能性は極めて低いと考えられる。 Am12 を用いて産生したレトロウイルスベクター中に RCR を検出したという報告があり、Am12 を用いても RCR 出現の可能性を完全には否定できないことを示唆している。一方、Am12 を用いて多種類のウイルスの RCR チェックを試みたが検出されなかったという報告がある。</li> <li>・HSV-TK 遺伝子導入ドナー T リンパ球の安全性 HSV-TK 遺伝子導入ドナー T リンパ球の調製完了後、RT-PCR 法及び Mus dunni 細胞との共培養後の PG-4 S+L-テスト (以下、増幅法) による RCR 試験を行う。RT-PCR 法による試験の結果、RCR 陰性であった細胞だけが患者に投与される。増幅法による試験は日数を要するために患者への投与後に結果が判明する場合も考えられるが、万一不合格となればその時点で臨床研究を中止して適切な措置を講ずる。</li> </ul> <p><b>④遺伝子導入に用いるウイルスベクターの細胞傷害性</b> レトロウイルスベクターによる遺伝子導入過程において、細胞を傷害することはないと考えられている。一方、細胞染色体上の遺伝子導入位置によっては細胞の生存・増殖に必要な遺伝子の発現が抑制され、細胞が死に至ることがありうるが、このような細胞の割合は少ないと考えられる。なお、レトロウイルスベクターを用いた遺伝子治療において細胞傷害性は報告されていない。</p> <p><b>⑤体内の標的細胞以外の細胞への遺伝子導入の可能性</b></p>

本遺伝子治療臨床研究では、ドナーTリンパ球に ex vivo で HSV-TK 遺伝子を導入し、拡大培養や細胞洗浄等の工程を経たあと患者に投与するので、感染性を持ったレトロウイルスベクター-SFCMM-3 が患者に投与される可能性は低い。また、レトロウイルスベクター-SFCMM-3 は増殖能を欠いているので、RCR が出現しない限り標的細胞以外の細胞に遺伝子が導入されることはない。

#### ⑥患者以外の人に遺伝子が導入される可能性

本臨床研究の細胞調製は、当該操作にじゅうぶんな知識と経験を有する研究者のみが行い、細胞調製作業員に遺伝子が導入される可能性は極めて低いと考えられる。遺伝子導入操作は P2 レベルの細胞調製施設において行い、レトロウイルスベクター-SFCMM-3 の環境中への拡散を防止する。レトロウイルスベクター-SFCMM-3 は、増殖能欠損型なので、患者を介して患者以外の人に遺伝子が導入される可能性は、大量の RCR が患者体内に存在しない限り非常に低い。

#### ⑦染色体内へ遺伝子が組み込まれる場合の問題点

細胞の生存や増殖に重要な遺伝子の近傍に挿入され、その遺伝子の発現が抑制された場合にはその細胞は死に至る可能性があるが、このような細胞は遺伝子導入細胞のごく一部であると考えられるので、患者への影響は極めて小さい。一方、がん遺伝子やがん抑制遺伝子の近傍に挿入され、これらの遺伝子の発現量が変化することにより当該細胞が無制限増殖する可能性がある。

#### ⑧がん原性の有無

レトロウイルスベクターの組み込みが細胞の増殖にとって正に働く場合には、がん原性の問題が出現するが、本遺伝子治療は、1) 対象が造血幹細胞移植を要する成人の白血病患者であること、2) 分化した成熟リンパ球への遺伝子導入であること、3) 導入遺伝子 (HSV-TK 及び  $\Delta$ LNGFR) は安全装置及びマーカーであること、から安全性が高い臨床計画と考えられている。遺伝子導入細胞の患者体内におけるクローン増殖性については linear amplification-mediated PCR (LAM-PCR) によってモニタリングすることにより、評価する予定である。

### 2. 遺伝子産物の安全性

#### ①HSV-TK 遺伝子の異常発現

HSV-TK は、GCV との組み合わせにより選択的自殺作用 (HSV-TK/GCV 自殺システム) を示す。一方、GCV 非存在下、HSV-TK が触媒する反応は通常の細胞内で行われている代謝反応であり、過剰発現による体細胞への影響は小さいものと思われる。ただし、HSV-TK 遺伝子発現細胞が免疫原となり、患者体内で当該細胞に対する細胞傷害性 T 細胞 (CTL) が誘導されることが過去の遺伝子治療臨床研究で示唆されている。このことは、GVM 効果の長期継続に対する障害となっている。HSV-TK/GCV 自殺システムを利用した遺伝子治療臨床試験において、本自殺システムに関連する有害事象は報告されていない。

#### ② $\Delta$ LNGFR 遺伝子の異常発現

$\Delta$ LNGFR は細胞内領域を欠損させており、細胞外領域及び細胞膜貫通領域を有するタンパク質であり、 $\Delta$ LNGFR 遺伝子を導入した Tリンパ球は NGF に対する反応を示さないことが報告されている。

### 3. 細胞の安全性

#### ①遺伝子導入細胞の調製方法

ドナーリンパ球を抗 CD3 抗体で刺激した後、レトロウイルスベクター-SFCMM-3 に懸濁し、遠心法により遺伝子導入を行う。抗 LNGFR 抗体及び磁気ビーズを用いて遺伝子導入細胞を選択し、拡大培養を行う。培養終了後の細胞を洗浄し、RPMI 1640 及びヒト血清アルブミン含細胞凍害保護液 (CP-1) に懸濁して一旦凍結し、輸注時に解凍後、そのまま患者に投与する。

	<p><b>②培養細胞の純度</b>        全ての操作は国立がんセンター中央病院内に設置した P2 レベルの無菌細胞調整施設内にて行われる。培養細胞間の細胞汚染を防ぐために、異なるドナー細胞への遺伝子導入を同時には行わない。また、細胞の取扱いはクラス II の安全キャビネット内で行い、感染性微生物の混入を防ぐ。</p> <p><b>③細胞の遺伝子型、表現型の安全性</b>        抗 LNGFR 抗体及び磁気ビーズを用いた遺伝子導入細胞の選択により、Δ LNGFR 陽性率が 90% 以上の T リンパ球が得られることが知られている。過去の実績から、レトロウイルスベクター-SFCMM-3 により遺伝子導入した T リンパ球は非導入細胞と同様に、T リンパ球としての機能を保持していることが確認されている。</p> <p><b>④被験者に投与する細胞の安全性</b>        投与する細胞はレトロウイルスベクター-SFCMM-3 により遺伝子導入したドナー T リンパ球である。現在、白血病に対するドナーリンパ球輸注は広く行われており、ドナー T リンパ球の投与が GVHD 以外に患者に重大な影響を及ぼすことはない。遺伝子導入細胞の品質は、品質試験によって担保される。</p>
<p>遺伝子治療臨床研究の実施が可能であると判断する理由</p>	<p>以下の理由により、本臨床研究は実施可能と判断される。</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 本臨床研究で使用されるレトロウイルスベクター-SFCMM-3 はイタリアのモルメド社により GMP に従って製造され、本邦では筑波大学附属病院における臨床研究に使用された実績がある。またモルメド社は、これを用いて調製した HSV-TK 遺伝子導入 T リンパ球に対して、造血幹細胞移植における付加的治療として、2003 年に欧州におけるオーファン医薬品の指定を受けており、現在、同ベクターを用いて本臨床研究と同様の治験を欧州 4 施設において実施している。2005 年 12 月に開催された米国血液学会における発表では、途中経過として、その良好な経緯が報告された。          このことから、ハプロタイプ一致ドナー由来 T 細胞除去造血幹細胞移植後の HSV-TK 遺伝子導入 T リンパ球“Add-back”療法は、非常に有望であり、T 細胞除去ミスマッチ移植を安全かつ有効に行える可能性が示唆されている。</li> <li>2. 国立がんセンター中央病院は我が国の悪性腫瘍治療の基幹病院である。本臨床研究対象疾患の診療では、設立以来の豊富な経験を有し、経験豊富なスタッフを擁している。また、本臨床研究対象疾患に合致する患者が多く受診している。</li> <li>3. 総括責任者である平家勇司は、国立がんセンター研究所並びに中央病院において、細胞療法並びに遺伝子治療の開発研究を行ってきた。1997～1998 年にかけて、米国アラバマ大学遺伝子治療センターにおいて、アデノウイルスベクター開発に携わると共に遺伝子治療臨床研究の研修を行った。前勤務地である国立病院四国がんセンター（現独立行政法人国立病院機構四国がんセンター）では、治験を含む複数の臨床研究に携わった。現在、国立がんセンター中央病院・薬物療法部遺伝子免疫療法室において細胞療法並びに遺伝子治療の開発研究及び固形腫瘍に対する骨髄非破壊的前処置による同種造血幹細胞移植療法の臨床開発に従事している。分担研究者である、吉田輝彦並びに青木一教はベクター開発を含む遺伝子治療開発研究を行っている。高上洋一、飛内賢正、森慎一郎、金 成元、福田隆浩、田野崎隆二は、造血幹細胞移植の専門家であり、多くの治験並びに医師主導の臨床試験の実績がある。</li> </ol>

<p>実 施 計 画</p>	<p><b>1. 遺伝子治療臨床研究を含む全体の治療計画</b></p> <p><b>①本臨床研究の実施に際し国立がんセンター中央病院内に設置される委員会・事務局</b>  本遺伝子治療臨床研究実施計画が了承された後に、遺伝子治療臨床研究効果安全性評価委員会及び遺伝子治療臨床研究実施事務局を国立がんセンター中央病院内に設置する。  遺伝子治療臨床研究効果安全性評価委員会及び遺伝子治療臨床研究実施事務局は遺伝子治療臨床研究審査委員会からは独立しており、それぞれ次に示す役割を担う。  遺伝子治療臨床研究効果安全性評価委員会は、被験者選定の適格性確認の妥当性の判定、臨床研究の安全性の客観的な判定、臨床効果の客観的な判定、プロトコールの変更の妥当性確認、5例終了時点での臨床研究の目的が評価できたかについての判定等を行う。  遺伝子治療臨床研究実施事務局は、遺伝子治療臨床研究効果安全性評価委員会との連絡等事務局業務、症例登録業務等の本遺伝子治療臨床研究を適切に実施するための支援業務を行う。</p> <p><b>②本臨床研究の実施手順</b></p> <p><b>被験者・ドナー選定、登録～遺伝子導入Tリンパ球調製・移植細胞の分離・移植前処置</b>  適応が予測される被験者及びそのドナーに対し、文書によるインフォームドコンセントを行い、文書による同意が得られた場合、適格性を確認する。適格性が確認できた被験者及びそのドナーについて、遺伝子治療臨床研究実施事務局に本臨床研究への仮登録及び登録をそれぞれ依頼する。ドナーより、血漿、末梢血単核球(PBMC)画分及び末梢血幹細胞(PBSC)の採取を行い、一連の細胞調製を行う。遺伝子導入Tリンパ球は、品質を確認した後に Add-back に用いる。PBSC については、専用の細胞分離装置を用いて CD34 陽性細胞の分離を行い、この分離細胞を移植細胞とする。  遺伝子導入Tリンパ球の調製及び移植細胞の採取後、被験者の適格性を確認し、遺伝子治療臨床研究実施事務局に本臨床研究への本登録を依頼する。被験者が本登録となったことを確認した後、Fludarabine 製剤、Thiotepa 製剤、Thymoglobulin 製剤、及び放射線全身照射(TBI)による骨髓破壊的前処置を移植前処置として施行し、移植前処置の安全性及び原疾患の状態を確認する。</p> <p><b>造血幹細胞移植</b>  移植前処置後、CD34 陽性細胞の分離細胞 <math>4.0 \times 10^6</math> 個/kg 以上を移植細胞として造血幹細胞移植を行う。</p> <p><b>造血幹細胞移植後～遺伝子導入Tリンパ球 Add-back</b>  移植直後の転帰の確認及び自発的な免疫系再構築の開始の確認を目的に造血幹細胞移植 30 日後から 40 日後の間に被験者の検査・観察を行う。遺伝子導入Tリンパ球 Add-back は以下に従い、免疫再構築の確認が得られるまで最大3回、それぞれ定められた日から7日以内に行うものとする。  初回の遺伝子導入Tリンパ球 Add-back 以降、GVHD が発症した場合には「GVHD 発症時の対応」の項の記載に従い、治療を行う。  初回の Add-back: 自発的な免疫系再構築の開始が確認されない場合、かつ GVHD を発症しないあるいは Grade II 以上の治療を必要とする GVHD を発症しない場合には造血幹細胞移植日を 0 日として 42 日目に <math>1 \times 10^6</math> 個/kg の遺伝子導入Tリンパ球を Add-back する。  2 回目の Add-back: 初回の Add-back 以降、免疫系再構築が確認されない場合、かつ GVHD を発症しないあるいは Grade II 以上の治療を必要とする GVHD を発症しない場合には初回の Add-back から 30 日後に <math>1 \times 10^7</math> 個/kg の遺伝子導入Tリンパ球を Add-back する。  3 回目の Add-back: 2 回目の Add-back 以降、免疫系再構築が確認されない場合、かつ GVHD を発症しないあるいは Grade II 以上の治療を必要とする GVHD を発症しない場合には 2 回目の Add-back から 30 日後に <math>1 \times 10^7</math> 個/kg の遺伝子導入Tリンパ球を Add-back する。</p> <p><b>遺伝子導入Tリンパ球 Add-back 後のフォローアップ</b>  安全性の判定に関する検査・観察、免疫系再構築の判定に関する検査・観察、GCV 製剤投与による GVHD 沈静化能の判定に関する検査・観察等を行う。  遺伝子導入Tリンパ球の Add-back に伴い、重篤な GVHD が発症した場合には、GCV 製剤を投与する。その場合、GCV 製剤投与による GVHD の沈静化能に関する検査・観察</p>
----------------	---

を行う。

本研究終了後も、被験者の生存期間中にわたり、追跡調査を行う。

## 2. ドナー・被験者の選択基準及び除外基準

### ①ドナーの選択基準及び除外基準

#### ・選択基準

- 1) 被験者の 4 親等以内の血縁者である者。4 親等以内には、父母、兄弟姉妹、祖父母、孫、叔父叔母、甥姪、従兄弟などが含まれる。
- 2) 患者との HLA が 2 抗原あるいは 3 抗原(血清型)不一致のドナーである者。なお、不一致の対象となる HLA 抗原は HLA-A、B、DR とする。
- 3) 登録時の年齢が 20 歳以上 65 歳以下である者。
- 4) ECOG Performance Status が 0 である者。
- 5) ドナーとしてじゅうぶんな心・肺・腎・肝機能を有する者。
  - ▷ 心電図上虚血性変化や治療を要する不整脈を認めない者。
  - ▷ 血清クレアチニン値が 1.5 mg/dL 未満及び血清総ビリルビン値が 2.0 mg/dL 以下の者。
  - ▷ 胸部 X 線写真で異常がなく、酸素非投与時の酸素飽和度が 93%以上の者。
  - ▷ AST が 56 IU/L 未満の者。
  - ▷ ALT が 66 IU/L 未満の者。
- 6) ドナーとしてじゅうぶんな造血能を有する者。
  - ▷ 白血球数が 3,000/ $\mu$ L 以上の者。
  - ▷ 血小板が 130,000/ $\mu$ L 以上の者。
  - ▷ ヘモグロビン濃度が 13.0 g/dL 以上の男性、又は 11.0 g/dL 以上(鉄剤服用後でも可)の女性。
- 7) 本臨床研究協力に対する自由意思による同意が本人から文書により得られている者。

#### ・除外基準

- 1) 自己免疫疾患(膠原病を含む)の現有及び既往のある者。
- 2) 静脈血栓、動脈硬化性疾患の現有及び既往のある者。
- 3) うっ血性心不全、虚血性心疾患、脳血管病変の現有及び既往のある者。
- 4) 間質性肺炎の現有及び既往のある者。
- 5) 悪性腫瘍の現有及び既往のある者。
- 6) 薬物治療を必要とする高血圧、糖尿病を現有する者。
- 7) 脾腫を認める者。
- 8) 臨床研究参加に対する同意に影響を及ぼす精神的疾患、薬物依存がある者。
- 9) 重篤な薬剤アレルギーの既往がある者。
- 10) G-CSF 製剤に対するアレルギーがある者。
- 11) 妊婦あるいは妊娠している可能性がある者及び授乳中である者。
- 12) HBs 抗原、HIV 抗体のいずれかが陽性の者。
- 13) 他の臨床試験・臨床研究に参加している者。
- 14) その他、総括責任者(又は、治療に当たる分担研究者)が不適当と認めた者。

### ②被験者の選択基準及び除外基準

#### ・仮登録時の選択基準及び除外基準

##### 仮登録時選択基準

造血器悪性腫瘍患者の診断及び分類は新 WHO 分類に従うものとし、本遺伝子治療臨床研究による治療効果が、現在可能な他の方法と比較して優れていることが予測され、かつ以下の 1)~8)の全てを満たす患者を対象とする。

なお、選定にあたっては、提供可能な HLA 適合または 1 抗原不一致(血清型)の適切な血縁ドナーの存在の確認及び骨髄バンクの検索サービスを用いての非血縁ドナーの存在の確認を行い、さらに日本さい帯血バンクネットワークの検索システムを用いての移植可能な臍帯血の存在を確認するものとする。なお、患者の疾患、病期、候補となる臍帯血ユニットの細胞数及び HLA 等を慎重に検討した上で、選定の時点で得られている日本さい帯血バンクネットワークが公式に公開している最新の治療成績で、95%信頼下限が 50%

を超えている疾患、病期の組み合わせについては、臍帯血移植を優先する。

- 1) 以下のいずれかを満たす患者
  - ▷高リスク急性骨髄性白血病の初回寛解期。高リスクとは、1回の寛解導入療法にて完全寛解が得られなかった、初発時白血球数が20,000/ $\mu$ l以上、二次性白血病、M0、M6、M7、又は予後不良染色体異常[複雑な異常、-7, -5, abn(3q), del(5q)]を有する、のうちいずれかの条件を満たす例とする。
  - ▷急性骨髄性白血病(二次性含む)の第二以上の寛解期。
  - ▷骨髄異形成症候群のうち、IPSS(International Prognosis Scoring System) Intermediate-2以上の予後不良群。
  - ▷骨髄異形成症候群であり、週10単位以上の血小板輸血、もしくは2週に2単位以上の赤血球輸血を要する輸血依存例。
  - ▷慢性骨髄性白血病の第一慢性期以降の慢性期、又は移行期。メシル酸イマチニブによる治療歴を有する例に限る。
  - ▷高リスク急性リンパ性白血病初回寛解期。高リスクとは、初発時年齢が30歳以上、初発時白血球数30,000/ $\mu$ l以上、表面形質がmature B-cell又はearly T-cellである、予後不良の染色体異常[t(9;22), t(4;11), t(1;19), hypodiploid, -7, +8]を有する例、寛解導入に4週間以上要した、のうちいずれかの条件を満たす例とする。
  - ▷急性リンパ性白血病の第二以上の寛解期。
- 2) 提供可能なHLA適合(1抗原不一致(血清型)含む)の適切な血縁ドナー及び非血縁ドナーがいない患者。
- 3) 選択基準に合致し、除外基準に抵触しないドナーを有している患者。
- 4) 造血幹細胞移植後9ヵ月以上の生存が可能であると思われる20歳以上60歳以下の患者。
- 5) ECOG Performance Status 0又は1の患者。
- 6) 以下の全ての主要臓器機能が保たれている患者。
  - ▷酸素非投与下での動脈血中酸素飽和度が93%以上(経皮的測定でも可)
  - ▷血清クレアチニン値が施設基準値上限(男性:1.1 mg/dL、女性:0.7 mg/dL)の2倍以内
  - ▷血清ビリルビン値が2.0 mg/dL以下
  - ▷ASTが施設基準値上限(33 IU/L)の3倍以内
  - ▷ALTが施設基準値上限(男性:42 IU/L、女性:27 IU/L)の3倍以内
  - ▷心電図上、治療を要する異常を認めない
- 7) 臨床研究参加期間中に安全性や免疫系再構築等、必要な評価が可能であると考えられる患者。
- 8) 治療開始にあたり、自由意思により文書で同意が得られた患者。

#### 仮登録時除外基準

- 1) CMV感染症を発症、又はCMV抗原血症を呈し、ガンシクロビル製剤にて治療中の患者。
- 2) ACV製剤で治療中の患者。
- 3) 心エコーにて安静時の心駆出率が50%未満の患者。
- 4) インスリンの継続使用によってもコントロール不良の糖尿病を有する患者。
- 5) コントロール不良の高血圧症を合併する患者。
- 6) 本臨床研究の参加に対する同意に影響を及ぼすような精神疾患、薬物依存症などの疾患を有する患者。
- 7) 治療を要するアレルギー、又は本臨床研究で用いられる薬剤に対してアレルギーのある患者。
- 8) 活動性の感染症を有する患者。
- 9) 中枢神経系にコントロール不能な明らかな腫瘍細胞の浸潤を認める患者。
- 10) 活動性の重複癌がある患者。
- 11) 過去にTBI、全身リンパ節照射(TLI)を実施した患者。
- 12) HIV抗体陽性、HBs抗原陽性、又はHCV抗体陽性の患者。
- 13) 妊婦、妊娠の可能性のある患者、授乳中の患者又は臨床研究終了後5年間の避妊に協力できない患者。
- 14) 他の臨床試験・臨床研究に参加している患者。

15) その他、総括責任者(又は治療にあたる分担研究者)が不適当と認めた患者。

**・本登録時の選択基準及び除外基準**

**本登録時選択基準**

- 1) 本臨床研究への参加の同意の撤回がない患者。
- 2) 本臨床研究における Add-back に必要な量の遺伝子導入 Tリンパ球が得られた患者
- 3) ドナーから採取された純化後の CD34 陽性細胞数が  $4.0 \times 10^6$ 個/kg 以上の患者。
- 4) 造血幹細胞移植後 9 ヶ月以上の生存が可能であると思われる患者。
- 5) ECOG Performance Status 0 又は 1 の患者。
- 6) 以下の全ての主要臓器機能が保たれている患者。
  - ▷ 酸素非投与下での動脈血中酸素飽和度が 93%以上(経皮的測定でも可)
  - ▷ 血清クレアチニン値が施設基準値上限(男性:1.1 mg/dL、女性:0.7 mg/dL)の 2 倍以内
  - ▷ 血清ビリルビン値が 2.0 mg/dL 以下
  - ▷ AST が施設基準値上限(33 IU/L)の 3 倍以内
  - ▷ ALT が施設基準値上限(男性:42 IU/L、女性:27 IU/L)の 3 倍以内
  - ▷ 心電図上、治療を要する異常を認めない
- 7) 臨床研究参加期間中に安全性や免疫系再構築等、必要な評価が可能であると考えられる患者。

**本登録時除外基準**

- 1) CMV 感染症を発症、又は CMV 抗原血症を呈し、ガンシクロビル製剤にて治療中の患者。
- 2) 移植した末梢血幹細胞の生着が確認できない患者。
- 3) 治療を必要とする GVHD が発症した患者。
- 4) ACV 製剤で治療中の患者。
- 5) 心エコーにて安静時の心駆出率が 50%未満の患者。
- 6) インスリンの継続使用によってもコントロール不良の糖尿病を有する患者。
- 7) コントロール不良の高血圧症を合併する患者。
- 8) 本臨床研究の参加に対する同意に影響を及ぼすような精神疾患、薬物依存症などの疾患を有する患者。
- 9) 治療を要するアレルギー、又は本臨床研究で用いられる薬剤に対してアレルギーのある患者。
- 10) 体表面積当たりのクレアチニン・クリアランスが  $20 \text{ mL/分/m}^2$  未満[標準体表面積  $1.48\text{m}^2$  で算出した場合のクレアチニン・クリアランスが  $30 \text{ mL/分}$  未満]。
- 11) 活動性の感染症を有する患者。
- 12) 中枢神経系にコントロール不能な明らかな腫瘍細胞の浸潤を認める患者。
- 13) 活動性の重複癌がある患者。
- 14) 過去に TBI、TJ を実施した患者。
- 15) HIV 抗体陽性、HBs 抗原陽性、又は HCV 抗体陽性の患者。
- 16) 妊婦、妊娠の可能性のある患者、授乳中の患者又は臨床研究終了後 5 年間の避妊に協力できない患者。
- 17) 他の臨床試験・臨床研究に参加している患者。
- 18) その他、総括責任者(又は治療にあたる分担研究者)が不適当と認めた患者。

**3. 登録**

**①ドナーの登録**

自由意思による文書同意を得た後、適格性確認に必要な検査・観察を行う。適格性が確認できた場合、遺伝子治療臨床研究実施事務局にドナーの登録を依頼する。

**②被験者の仮登録**

自由意思による文書同意を得た後、適格性確認に必要な検査・観察を行う。適格性が確認できた場合、遺伝子治療臨床研究実施事務局に被験者の仮登録を依頼する。

**③被験者の本登録**

遺伝子導入 Tリンパ球の調製及び移植細胞の採取後に、被験者の適格性を確認する。

遺伝子導入 Tリンパ球が調製後の品質試験に不合格となった場合、本臨床研究における Add-back に必要な細胞数の遺伝子導入 Tリンパ球の確保ができなかった場合、及び純化後の CD34 陽性細胞数が移植に必要な数に満たなかった場合には、本登録には移行せず、臨床研究は中止とする。適格性が確認できた場合は、遺伝子治療臨床研究実施事務局に被験者の本登録を依頼する。

#### 4. ドナー・被験者に対する説明及びその同意の取得方法

##### ①被験者に対する説明及びその同意の取得方法

開始に先立ち、被験者の同意を得るに際し、遺伝子治療臨床研究審査委員会の承認が得られた同意説明文書を説明の前、又は説明するときに渡し、内容にそって口頭で詳しく説明する。その後、自由意思による同意を文書にて取得する。なお、同意を取得する前には、質問する機会と臨床研究に参加するか否かを判断するじゅうぶんな時間を被験者本人に与えることとし、質問についてはじゅうぶんに答える。

##### ②ドナーに対する説明及びその同意の取得方法

ドナーより PBMC 及び血漿を採取するに先立ち、ドナーの同意を得るに際し、遺伝子治療臨床研究審査委員会の承認が得られた同意説明文書を説明の前、又は説明するときに渡し、内容にそって口頭で詳しく説明する。その後、自由意思による同意を文書にて取得する。なお、同意を取得する前には、質問する機会と臨床研究に参加するか否かを判断するじゅうぶんな時間をドナー本人に与えることとし、質問についてはじゅうぶんに答える。

##### ③ドナー・被験者に対する説明の体制

▷被験者の同意を取得する前には、移植専門医に加えて血液科医師等が参加するカンファレンスにて当該被験者の症例を紹介し、客観的な判断に基づいた確認を得るものとする。被験者への説明の際には、総括責任者(又は治療にあたる分担研究者)からの説明に加え、がん専門看護師から異なる立場で説明補助を行う。さらに、必要に応じ院内外の移植専門医が中立的立場での説明を行うものとする。

▷ドナーに対する説明は、被験者と別に行うものとする。また、ドナーとなることに同意する以前に患者より有形・無形の圧力がかからないように配慮する。

#### 5. 実施期間及び目標症例数

実施期間は厚生労働大臣から実施が差し支えない旨の回答を得た時点から最長3年間である。各症例毎の実施期間は、最終の遺伝子導入 Tリンパ球 Add-back 後6ヵ月迄で、臨床研究終了後も当該被験者の生存期間にわたり長期追跡調査を実施する。

目標症例数は10例とする。なお5例終了時点で、遺伝子治療臨床研究効果安全性評価委員会にて、以降の研究の継続の可否について審議を行うものとする。審議により、当該遺伝子治療臨床研究の目的がじゅうぶんに評価されうると判断された場合には、その5例をもって当該遺伝子治療臨床研究は終了とする。

#### 6. 遺伝子治療臨床研究の実施方法

##### ①対照群の設定方法

特に設けない。

##### ②遺伝子導入方法、遺伝子導入 Tリンパ球の追加輸注(Add-back)等

「ドナーからの PBMC の採取」～「CD34 陽性細胞採取」については別表に定めた「①臨床研究実施スケジュール(ドナー)」で実施する。

##### ・ドナーからの PBMC の採取

ドナーの選択・除外基準に関する適否を確認した後、ドナーの健康診断を行い、異常がないことを確認する。同意取得日から採取当日までの使用薬剤についても確認する。血球分離装置にてドナーより PBMC 画分を採取する。採取する細胞数は、輸注に必要な遺伝子導入 Tリンパ球の必要量によって異なるが、 $1 \times 10^{10}$  個を採取目標量の最大とし、1回

のアフェレーシスにつき最大 200 mL/kg の血液を処理する。

ドナーからの PBMC 画分採取は、国立がんセンター中央病院内に設置する遺伝子治療臨床研究実施事務局での本臨床研究へのドナーの登録、被験者の仮登録後に行う。

・**遺伝子導入 Tリンパ球の調製**

採取されたドナー-PBMC 画分を用いて、「安全性についての評価 3. 細胞の安全性 ① 遺伝子導入細胞の調製方法」の記載に従い、細胞調製を行う。細胞調製後、「安全性についての評価 3. 細胞の安全性 ④被験者に投与する細胞の安全性」の記載に従い、遺伝子導入 Tリンパ球としての品質を確認したうえで、Add-back に用いる。

・**CD34 陽性細胞採取**

CD34 陽性細胞の動員・採取は「同種末梢血幹細胞移植のための健常人からの末梢血幹細胞動員・採取に関するガイドライン(日本造血細胞移植学会・日本輸血学会、2003 年 4 月 21 日 改訂第 3 版)」に準じて行う。なお、動員・採取中はもとより採取終了後もドナーを慎重に観察し、安全の確保に努める。

・**末梢血幹細胞移植**

移植治療前に末梢ラインあるいは中心静脈ラインを確保し、移植日に用意した移植細胞(CD34 陽性細胞の分離細胞  $4.0 \times 10^6$  個/kg 以上)を末梢ラインあるいは中心静脈ラインから患者に輸注する。

・**遺伝子導入 Tリンパ球の Add-back**

「実施計画 1. 遺伝子治療臨床研究を含む全体の治療計画 ②本臨床研究の実施手順 造血幹細胞移植後～遺伝子導入 Tリンパ球 Add-back」の記載に従う。

**GVHD 発症時の対応**

GVHD に対する治療:遺伝子導入 Tリンパ球の Add-back 後、GVHD 発症時には免疫系再構築の有無にかかわらず、以下に従う。

Grade I の急性 GVHD が発症した場合には、そのまま経過観察を行う。

Grade II の急性 GVHD 又は慢性 GVHD が発症した場合には、総括責任者の判断のもと、治療を行ってもよい。

Grade III 以上の急性 GVHD を発症した場合、又は Grade II の急性 GVHD 又は慢性 GVHD を発症しかつ総括責任者により治療が必要であると判断された場合、GCV 製剤 5 mg/kg/回を 1 日 2 回 7～14 日間点滴静注する。GVHD が改善しない場合は、免疫抑制剤(例、タクロリムス製剤、メチルプレドニゾン製剤及びシクロスポリン A 製剤)を総括責任者の判断により投与する。GVHD の改善の判断は、日本造血細胞移植学会の「造血細胞移植ガイドライン-GVHD の診断と治療に関するガイドライン」に示された「標準的な secondary treatment の治療適応」に記載の基準に従う。

重篤な GVHD が発症し、GCV 製剤を投与しても GVHD が改善しない場合の secondary treatment は本実施計画では規定しない。

GVHD 治療後の遺伝子導入 Tリンパ球の Add-back:遺伝子導入 Tリンパ球の Add-back 後に、Grade II 以上の GVHD が発症し、GCV 製剤投与により、じゅうぶんに沈静化できた場合には、GCV 製剤投与直前の遺伝子導入 Tリンパ球の Add-back が初回あるいは 2 回目の場合に限り、GCV 製剤投与終了後、総括責任者の判断により  $1 \times 10^6$  個/kg の細胞数の遺伝子導入 Tリンパ球を Add-back することができる。発症した GVHD が GCV 製剤投与に反応しない場合には、新たな遺伝子導入 Tリンパ球の輸注は行わず、本臨床研究を中止するものとし、以降の治療は規定しない。

**CMV 感染症時の対応**

適宜ホスカルネットナトリウム製剤を投与する。

**細菌、真菌感染時の対応**

本実施計画では規定しない。症状に応じて、適切な抗生剤、抗真菌剤を投与する。

**再発時の対応**

研究を中止し、以降の治療については規定しない。

**③前処置及び併用療法の有無**

・**移植前処置**

骨髄破壊的前処置法として、TBI(7.5 Gy 単回照射 Day -9)+ thiotepa 製剤(5 mg/kg/q12h Day -8)+ fludarabine phosphate 製剤(40 mg/m<sup>2</sup>/日 Day -7～Day -3)+ methylpredonisolone 製剤(2 mg/kg/日)と併せて Thymoglobulin 製剤[3 mg/kg/日(Merieux) あるいは 5 mg/kg/日(Fresenius) Day -6～Day -2]+ 安静(Day -1)を用いる。

・許容される併用療法

**メシル酸イマチニブ**

慢性骨髄性白血病に対しては、前処置開始までに終了する。

**感染症予防薬**

細菌感染症予防: 前処置開始時から好中球の生着確認時までキノロン系経口薬を投与。

真菌感染症予防: フルコナゾール製剤 200 mg/日 を前処置開始時から免疫系再構築確認時まで投与。カリニ肺炎予防のため、Sulfamethoxazole/Trimethoprim 合剤を前処置開始前は連日少なくとも2週間、好中球の生着後から少なくとも免疫系再構築確認時までには週に2回、1日4錠の2分割投与。

ウイルス感染症予防: 単純ヘルペス感染症及び帯状疱疹予防のため、ピダラビン製剤を Day -7 から Day 35 まで 1,500 mg/日、点滴静注で投与。CMV 感染予防として、CMV 抗原血症検査(C7+HRP あるいは C10/C11)を生着後 Day 100 まで週に1回ずつ施行する。CMV 抗原血症検査の結果に基づいて適宜ホスカルネットナトリウム製剤を投与。

・併用禁止療法

▷ 移植前処置開始時以降、臨床研究参加期間中を通じ、移植前処置で用いる以外の抗がん剤治療は禁止。ただし、仮登録から移植前処置開始までの期間については、他の抗がん剤による治療を禁止しない。

▷ 末梢血幹細胞移植後のシクロスポリン A 製剤の使用は禁止。又、原則として G-CSF 製剤の投与も禁止。

▷ 初回の遺伝子導入 T リンパ球の輸注以降は、GCV 製剤・ACV 製剤の投与は禁止。

**④臨床検査項目及び観察項目**

被験者の適格性他の確認、本臨床研究における安全性の判定、免疫系再構築の判定、GCV 製剤投与による GVHD 沈静化の判定、治療反応性の判定 等のために以下の検査・観察を別表に定めた「②臨床研究実施スケジュール(患者)」で実施する。

・被験者の適格性他の確認に関する検査・観察

ドナー背景: HLA の型、現有、既往、自覚症状、他覚所見(Performance Status 等)、心電図、血液学的検査、血液生化学検査、感染症検査、胸部 X 線検査、動脈血液中酸素飽和度 等

被験者仮登録時: HLA の型、臨床診断名・病歴、現有、既往、HLA 適合又は1抗原不一致の血縁ドナーの有無、妊娠の有無、自覚症状、他覚所見(Performance Status 等)、心エコー、心電図、動脈血液中酸素飽和度、胸部 X 線検査(感染症の検査として)、血液学的検査、血液生化学、感染症検査 等

被験者本登録時: 現有、既往、妊娠の有無、自覚症状、他覚所見(Performance Status 等)、心エコー、心電図、動脈血液中酸素飽和度、胸部 X 線検査(感染症の検査として)、血液学的検査、血液生化学検査、感染症検査、ドナーからの採取 CD34 陽性細胞数、遺伝子導入 T リンパ球数、クレアチニン・クリアランス、尿定性 等

・移植細胞数

移植された CD34 陽性細胞数、及びこれに含まれる CD3 陽性細胞数

・輸血状況

輸血日、血小板輸血量(単位)、赤血球輸血量(単位)

・併用薬剤使用状況

併用薬剤名、1日用法用量、併用期間、使用目的

・遺伝子導入 T リンパ球数

輸注した遺伝子導入 T リンパ球数

・原疾患に関する検査・観察

臨床検査[芽球の有無、ヘモグロビン量、好中球数、血小板数、LDH、CRP、血清電解質(Ca)]、骨髄像(有核細胞数、腫瘍細胞割合、骨髄球の成熟、形態学的異常、巨核球数、M/E 比)、細胞遺伝学的検査、分子学的検査、キメリズム解析、腫瘍関連症状(発熱、盗汗、体重減少)、血清 M 蛋白・尿中 M 蛋白、画像診断

・安全性の判定に関する検査・観察

臨床検査(血液学的検査、血液生化学検査、免疫学的検査、感染症検査、尿定性検査等)、有害事象(感染事象、GVHD、臨床検査値異常変動含む)、RCR 発現の有無、LAM-PCR による遺伝子導入 T リンパ球クローナリティ解析

・免疫系再構築の判定に関する検査・観察

末梢血中の CD3 陽性リンパ球数、末梢血中のリンパ球の免疫表現型、末梢血の免疫回復の細胞生物学的解析及び分子生物学的解析

・GCV 製剤投与による GVHD 沈静化能の判定に関する検査・観察

GVHD 症状評価、GCV 製剤投与無効時の免疫抑制剤使用頻度、GVHD 発症組織における遺伝子導入 Tリンパ球の存在確認(実施可能な場合)

・その他の検査・観察

**無病生存率**

腫瘍性疾患に関わる検査、転帰、最終確認日

**全般生存率**

転帰、最終確認日

**感染症の頻度**

治療を要した感染事象の頻度、事象確認日、転帰、最終確認日

**輸注後血中動態**

抗 LNGFR 抗体を用いた FACS 解析、又は PCR 法を用いて測定された血中遺伝子導入 Tリンパ球比率の推移

**研究終了後の追跡調査**

本臨床研究終了後も生存期間中にわたり、以下の項目について追跡調査を行う。

- ▷ RCR 出現の有無
- ▷ 血中遺伝子導入 Tリンパ球比率測定
- ▷ LAM-PCR による遺伝子導入 Tリンパ球クローナリティーの解析
- ▷ 転帰(原疾患評価、生死の別、最終転帰確認日)

**⑤ 予測される副作用及びその対処方法**

・ドナー末梢血リンパ球採取に伴うドナーへの危険性

ドナーからのリンパ球採取は基本的に安全性が確立した手技であるが、特に以下の 4 点には注意を払う。対処法については、下記の記載のほか、「日赤成分採血マニュアル」の記載に従うこととする。

- ▷ 低カルシウム血症  
(対処法) 予防のため、カルシウムを補充。
- ▷ 中心静脈確保の必要性  
(対処法) 習熟した医師が行う。合併症発生時には症状にあわせ薬剤投与・処置を行う。
- ▷ リンパ球採取後の血球減少  
(対処法) 原則的に経過観察する。血小板については、必要に応じて返血を行う。
- ▷ 一時的な血圧低下  
(対処法) 生理食塩水の点滴により対処可能。

・ドナー末梢血幹細胞採取に伴うドナーへの危険性

「ドナー末梢血リンパ球採取に伴うドナーへの危険性」で示した以外に、以下の 2 点に注意を払う。

- ▷ 血管迷走神経反射を認めることがある。  
(対処法) 必ず ECG モニターを用い、硫酸アトロピン、エチホール、エフェドリンなどを直ちに静注するための準備を行う。
- ▷ 採取後に血小板減少が高頻度(50%以上)に見られ、50,000/ $\mu$ L 未満の高度の血小板減少も少なからず見られる。  
(対処法) 採取終了後 1 週間くらいは血小板数を確認し、採取前値への回復を確認する。  
PBSC 動員から採取終了までアスピリン製剤は使用しない。

・T 細胞除去造血幹細胞移植に伴う被験者への危険性

- ▷ 感染症を主要因とする移植関連死  
(対処法) 本遺伝子治療実施計画では規定しないが、医師の判断による適切な予防投薬等の徹底した予防策を実施し、早期発見により早期治療を行う。
- ▷ 原疾患の再発  
(対処法) 本遺伝子治療臨床研究を中止し、以降の治療については規定しない。
- ・遺伝子導入 Tリンパ球 Add-back に伴う被験者への危険性
  - ▷ 投与時に被験者に発熱、悪寒、筋痛等を認めることがある。  
(対処法) 鎮痛解熱剤等の適切な薬剤にて対処する。
  - ▷ 重篤なアレルギー反応を認めることがある。

(対処法) 輸注速度を遅くし、経過観察を行う。

▷重症の GVHD を発症することがある。

(対処法)「実施計画 6. 遺伝子治療臨床研究の実施方法 ②遺伝子導入方法、遺伝子導入 T リンパ球の追加輸注(Add-back)等・遺伝子導入 T リンパ球の Add-back GVHD 発症時の対応」の記載に従う。

・**ガンシクロビル(GCV)製剤投与に伴う被験者への危険性**

遺伝子導入 T リンパ球を輸注した被験者における GVHD 発症に対する治療に使用される用量(10 mg/kg/日)は、CMV 感染に対する治療に使用される用量であり、腎機能に障害がある場合にはその程度に応じて適宜減量する。GCV 製剤の使用には、骨髄抑制、消化管障害、腎機能障害等の副作用を伴う可能性があるため、じゅうぶんな観察を行い、減量若しくは投与を中止する等の適切な処置を講じる。

・**RCR の危険性**

本臨床研究においては RCR が出現する可能性は極めて低いが、出現した場合、悪性リンパ腫を発症する可能性も否定できないので、被験者の経過を注意深く観察して対処するものとする。

⑥**遺伝子治療臨床研究の評価方法、評価基準及び中止判定基準**

安全性、免疫系再構築、GCV 製剤投与による GVHD 沈静化能等に関する検査・観察スケジュールは、別表に定めた「②臨床研究実施スケジュール(患者)」に記載の通りである。

本臨床研究の主たる評価は遺伝子導入 T リンパ球最終 Add-back 後 6 ヶ月までのデータによって行われるが、遺伝子導入 T リンパ球のクローナルな増殖、RCR 出現の可能性を完全には否定できないため、遺伝子治療を受けた被験者については臨床研究終了後も生存期間中にわたり、以下の項目について年 1 回のフォローアップを行う。

▷RCR 出現の有無

▷LAM-PCR による遺伝子導入 T リンパ球クローナリティーの解析

▷転帰(原疾患評価、生死の別、最終転帰確認日)

・**安全性の判定方法、基準**

**安全性に関する判定に必要な検査・観察項目**

▷臨床検査

▷有害事象

▷RCR

▷LAM-PCR

**安全性に関する判定基準・評価方法**

▷臨床検査については、検査値の異常及び異常変動を判定する。

臨床検査値の異常の判定は、国立がんセンター中央病院の基準範囲を逸脱した場合とする。

異常変動「有」の判定は、正常値→異常値、もしくは異常値→異常値の増強がみられた場合に、その臨床的意義を考慮して判断する。これに該当しない場合においても、その変動の臨床的意義を考慮した結果、異常変動「有」と判断された場合も含まれる。

▷開始時より終了時までの臨床研究期間中を通して発生した有害事象について、その症状、発現時期、程度、臨床研究継続・中止の別、処置の有無及び内容、遺伝子導入 T リンパ球輸注との因果関係、転帰(回復した場合にはその回復日)を調査し、そのグレード及び遺伝子導入 T リンパ球 Add-back との因果関係を判定する。

有害事象のグレードは、2003 年米国 National Cancer Institute (NCI) が発表した「Common Terminology Criteria for Adverse Events v3.0 (CTCAE v3.0)～日本語訳 JCOG/JSCO 版-2004 年 10 月 27 日～」に従い、判定を行う。

因果関係は、被験者の状態、既往歴、合併症、併用薬、Add-back と有害事象発現の時間的關係及び Add-back 自体の影響等を考慮し、「関連あり・関連があるかもしれない・おそらく関連なし・関連なし」の 4 分類で判定する。

▷末梢血中の RCR を RT-PCR 法により測定する。

▷LAM-PCR については、遺伝子導入 T リンパ球のクローナリティーを検討する。

・**免疫系再構築の判定方法、基準**

**免疫系再構築の判定に必要な検査・観察項目**

▷末梢血中の CD3 陽性リンパ球数