

13. 遺伝子治療臨床研究を担当する医師

IX. 4.2 ドナーに対する説明及びその同意の取得方法

ドナーより末梢血単核球（PBMC）及び血漿を採取するに先立ち、総括責任者（又は治療にあたる分担研究者）はドナーの同意を得るに際し、施設の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（XI. 8）を説明の前、又は説明するときに渡し、以下の内容を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。

1. はじめに
2. 遺伝子治療臨床研究の内容
3. Tリンパ球採取について
4. 血漿採取について
5. 末梢血幹細胞採取について
6. 採取前後の健康診断
7. 臨床研究に関する健康被害が発生した場合の治療及び補償
8. 個人情報の保護について
9. 臨床研究を担当する医師

IX. 4.3 ドナー・被験者に対する説明の体制

- (1) 総括責任者（又は治療にあたる分担研究者）が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並びに移植科レジデント・移植を主業務とするがん専門看護師・移植病棟専門薬剤師・移植病棟専門栄養士・移植コーディネーター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、上記のカンファレンス並びにがん専門看護師からの説明にて、総括責任者（又は治療にあたる分担研究者）以外の移植専門医が被験者に説明を行う必要があると判断された場合には、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。
- (2) 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、ドナーの適格性が確認できるまでは、被験者にドナーに関する情報を伝えないことで、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。

IX. 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 ヶ月迄で、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。

IX. 6 遺伝子治療臨床研究の実施方法

IX. 6. 1 対照群の設定方法

特に設けない。

IX. 6. 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

IX. 6. 2. 1 「ドナーからの末梢血単核球 (PBMC) の採取」～IX. 6. 2. 3. 3 「CD34 陽性細胞分離」のドナーに関するスケジュールの概略については、XI. 3 「臨床研究実施スケジュール」に記載する。

IX. 6. 2. 1 ドナーからの末梢血単核球 (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、ドナーの特定に必要な情報を確認し、ドナーの健康診断〔身長、体重、血液型、患者との関係 (HLA など)、血算、生化学、感染症 (B 型肝炎ウイルス、C 型肝炎ウイルス、成人 T 細胞白血病ウイルス、梅毒血清反応、HIV、CMV、EBV、HSV)、過去の造血幹細胞採取の有無、尿、胸部単純写真、心電図〕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、 1×10^{10} 個を採取目標量の最大とし、1 回のアフ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。

IX. 6. 2. 2 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、VII. 3. 1 「遺伝子導入細胞の調製方法」に従い、細胞調製を行う。細胞調製後、VII. 3. 4 「被験者に投与する細胞の安全性」に示した各種試験により、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。

IX. 6. 2. 3 CD34 陽性細胞採取

末梢血幹細胞の動員・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

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こととする。

IX. 6. 2. 3. 1 造血幹細胞の末梢血への動員

G-CSF 製剤を用法・用量に従って投与する。

IX. 6. 2. 3. 2 アフェレーシス

CD34 陽性細胞が多量に採取可能と考えられる適当な時期〔目安：動員開始から4日後より3回（200～250 mL/kg/日処理）〕に、アフェレーシスにより末梢血幹細胞（PBSC）を採取する。

IX. 6. 2. 3. 3 CD34 陽性細胞分離

アフェレーシス後は、直ちに CD34 陽性細胞分離装置を用い CD34 陽性細胞を分離し、この分離細胞を移植細胞とする。CD34 陽性細胞純化確認のため、アフェレーシス毎に CD34 陽性細胞数を測定し、分離前後の CD34 陽性細胞の純度、及び回収率を算出する。

IX. 6. 2. 4 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する。移植日に用意した移植細胞（CD34 陽性細胞の分離細胞 4.0×10^6 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。

IX. 6. 2. 5 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 は以下に従い、それぞれ定められた日から7日以内に行う。

IX. 6. 2. 5. 1 初回の Add-back

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を受けた後、自発的な免疫系再構築の開始（造血幹細胞移植後30日から40日間の免疫表現型評価で循環血液中 CD3 陽性細胞 >100 個/ μ l となった場合）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日目に細胞数 1×10^6 個/kg の遺伝子導入 T リンパ球を Add-back する。

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を受けた後、自発的な免疫系再構築の開始が確認された場合には、遺伝子導入 T リンパ球の追加の Add-back は行わず、造血幹細胞移植後42日を0日として、XI. 3「臨床研究実施スケジュール」に従い、検査・観

察を行う。但し、免疫表現型評価で免疫系再構築が解除されたと判断される場合には、総括責任者の判断により 1×10^6 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。この遺伝子導入 T リンパ球の Add-back を初回の Add-back として、IX. 6. 2. 5. 2 「2 回目の Add-back」以降の実施手順に従うものとする。

初回の遺伝子導入 T リンパ球の Add-back より前に治療を要する GVHD が発症した場合には、本遺伝子治療臨床研究を中止し、適切な処置を施す。治療の内容については本遺伝子治療実施計画では規定しない。

IX. 6. 2. 5. 2 2 回目の Add-back

初回の Add-back 以降、免疫系再構築（初回の Add-back 後 14 日、21 日、28 日の免疫表現型評価で連続して循環血液中 CD3 陽性細胞 > 100 個/ μ l となった場合）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（造血幹細胞移植日を 0 日として 72 日目）に細胞数 1×10^7 個/kg の遺伝子導入 T リンパ球を Add-back（2 回目）する。

初回の Add-back 以降、免疫系再構築が確認された場合には、遺伝子導入 T リンパ球の追加の Add-back は行わず、初回の Add-back を行った日を 0 日として、XI. 3 「臨床研究実施スケジュール」に従って、検査・観察を行う。但し、免疫表現型評価で免疫系再構築が解除されたと判断される場合には、総括責任者の判断により 1×10^7 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。この遺伝子導入 T リンパ球の Add-back を 2 回目の Add-back として、IX. 6. 2. 5. 3 「3 回目の Add-back」以降の実施手順に従うものとする。

IX. 6. 2. 5. 3 3 回目の Add-back

2 回目の Add-back 以降、免疫系再構築（2 回目の Add-back 後 14 日、21 日、28 日の免疫表現型評価で連続して循環血液中 CD3 陽性細胞 > 100 個/ μ l となった場合）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（造血幹細胞移植日を 0 日として 102 日目）に 1×10^7 個/kg の細胞数の遺伝子導入 T リンパ球を Add-back（3 回目）する。

2 回目の Add-back 以降、免疫系再構築が確認された場合には、遺伝子導入 T リンパ球の Add-back は行わず、2 回目の Add-back を行った日を 0 日として、XI. 3 「臨床研究実施スケジュール」に従って、検査・観察を行う。但し、免疫表現型評価で免疫系再構築が解除されたと判断される場合には、総括責任者の判断により 1×10^7 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。この遺伝子導入 T リンパ球の Add-back を 3 回目の Add-back として、IX. 6. 2. 5. 4 「3 回目の Add-back 以降」の実施手順に従うものとする。

IX. 6. 2. 5. 4 3 回目の Add-back 以降

3回目のAdd-back以降、免疫系再構築（3回目のAdd-back後14日、21日、28日の免疫表現型評価で連続して循環血液中CD3陽性細胞 >100 個/ μ lとなった場合）が確認されない場合は、以降は遺伝子導入Tリンパ球のAdd-backは行わず、3回目のAdd-backを行った日を0日として、XI.3「臨床研究実施スケジュール」に従って、検査・観察を行う。

3回目のAdd-back以降、免疫系再構築が確認された場合には、遺伝子導入Tリンパ球のAdd-backは行わず、3回目のAdd-backを行った日を0日として、XI.3「臨床研究実施スケジュール」に従って、検査・観察を行う。

IX. 6. 2. 6 GVHD 発症時の対応

IX. 6. 2. 6. 1 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。急性GVHDのGradeはXI.5「急性GVHDのGrade」に従い、総括責任者（又は治療にあたる分担研究者）が判断する。急性GVHDか慢性GVHDかはその病態から総括責任者（又は治療にあたる分担研究者）が判断する。

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」である以下の基準に従う。

- 治療開始3日目以降の病状の悪化
- 治療開始7日目の時点で、不変（特に肝と腸管のstage 3以上の臓器障害）
- 治療開始14日目の時点で、効果不十分（特に肝と腸管のstage 2以上の臓器障害）

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。

遺伝子導入Tリンパ球のAdd-backより前に治療を要するGVHDが発症した場合には、本遺伝子治療臨床研究を中止し、適切な処置を施す。治療の内容については本遺伝子治療実施計画では規定しない。

IX. 6. 2. 6. 2 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 1×10^6 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。

IX. 6. 2. 7 CMV 感染症時の対応

IX. 6. 3. 2. 2 「感染症予防薬」に従う。

IX. 6. 2. 8 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。

IX. 6. 2. 9 再発時の対応

原疾患の増悪又は再発が認められた場合には、研究を中止し、以降の治療については規定しない。

IX. 6. 3 前処置及び併用療法の有無

IX. 6. 3. 1 移植前処置

IX. 6. 3. 1. 1 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/m²/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。

移植前処置は、適格の判定を受け、本登録となった後、可及的速やかに開始することとする。

表 15 移植前処置

		Day	-9	-8	-7	-6	-5	-4	-3	-2	-1	0
TBI	7.5 Gy			↓								
thiotepa	5 mg/kg/q12h			↓								
fludarabine phosphate	40 mg/m ² /日				↓	↓	↓	↓	↓			
Thymoglobulin	3 mg/kg/日 (Merieux)											
	5 mg/kg/日 (Fresenius)					↓	↓	↓	↓	↓		
+methylpredonisolone	2 mg/kg/日					↓	↓	↓	↓	↓		
末梢血幹細胞移植												↓

IX. 6. 3. 1. 2. 前処置薬剤投与方法

前処置薬剤の投与量は、本登録時の身長、体重及び身長・体重から算出される体表面積に従って以下のように算出し、投与期間中変更しない。

標準体重を以下の計算式により求める。

$$[\text{標準体重}] = (\text{身長} - 100) \times 0.9$$

実体重が標準体重を下回る場合は、計算に用いる体重は実体重とする。

実体重が標準体重を上回る場合は、計算に用いる体重は以下のように求める。

$$[\text{計算に用いる体重}] = (\text{標準体重}) + (\text{実体重} - \text{標準体重}) / 3$$

体表面積は、以下の式により算出し、投与期間中は変更しない。

$$[\text{体表面積}] = \text{計算に用いる体重}[\text{kg}]^{0.444} \times \text{身長}[\text{cm}]^{0.663} \times 88.83/100$$

それぞれの算出にあたり、身長及び実体重は小数点以下第1位を四捨五入した整数値を使用する。体表面積を算出した場合は小数点以下第4位を四捨五入し、第3位までの値を用いる。

(1) チオテパ (thiotepa)

チオテパ製剤 5 mg/kg を 1 日 2 回、4 時間かけて経静脈的に投与する。

(2) リン酸フルダラビン (fludarabine phosphate)

リン酸フルダラビン製剤は 40 mg/m²/日を Day -7 から Day -3 までの 5 日間投与する。

ただし、腎機能が低下している患者（体表面積当たりのクレアチニンクリアランスが 20~47 mL/min/m²）では、腎機能の低下に応じて、下記に示す式により投与量を減量して、安全性を確認しながら慎重に投与すること。

（投与量の算出方法）

上記に記載した方法で得られた体表面積を用い、下記の計算式にて体表面積あたりの

クレアチニンクリアランス[mL/min/m²]を算出する。

$$CLcr[mL/min/m^2] = (Ucr \times Uv) / \{(Scr \times Bsa) \times 1440\}$$

CLcr[mL/min/m²]：体表面積あたりのクレアチニンクリアランス

Ucr[mg/dL]：尿中クレアチニン濃度

Uv[mL]：尿量

Scr[mg/dL]：血清クレアチニン濃度

Bsa[m²]：体表面積

体表面積あたりのクレアチニンクリアランス(CLcr:小数点以下第1位を四捨五入し、整数値を使用)により表16の通り投与量を算出、又は投与不適格と判定する。

表 16 リン酸フルダラビン製剤投与

体表面積あたりのクレアチニンクリアランス	投与量算出式
48 ≤ CLcr	投与量[mg/day]=30×体表面積
20 ≤ CLcr ≤ 47	投与量[mg/day]=30×(0.4+0.01×体表面積あたりのCLcr)×体表面積
CLcr < 20	投与不適格

(3) 抗胸腺グロブリン (Thymoglobulin)

抗胸腺グロブリン製剤は、メチルプレドニゾン製剤 2 mg/kg/日と併せ、3 mg/kg/日 (Merieux) あるいは 5 mg/kg/日 (Fresenius) を Day -6 から Day -2 の 5 日間投与する。

(4) 安静

Day -1 は化学療法等は行わず、安静を保つ。

IX. 6. 3. 2 許容される併用療法

IX. 6. 3. 2. 1 メシル酸イマチニブ

慢性骨髄性白血病に対するメシル酸イマチニブ製剤は、前処置開始までに終了することを条件に使用可能である。

IX. 6. 3. 2. 2 感染症予防薬

細菌・真菌・ウイルス感染の予防の投薬について規定はしないが、以下の方法を推奨する。

(1) 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する。

- (2) 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する。
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分割投与を行う。
- (3) 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、点滴静注の投与を行う。
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*を投与する。
(*ホスカルネットナトリウム製剤の投与開始基準)
陽性細胞が1個以上存在する場合にはホスカルネットナトリウム製剤 90 mg/kg 1日1回投与を開始する。次週、陽性細胞数が50%以上上昇していた場合には 90 mg/kg 1日2回に増量する。1日2回投与を行っている期間に抗原血症の減少が認められたら1日1回投与に減量する。抗原血症が陰性化したら中止する。

IX. 6. 3. 3 併用禁止療法

- (1) 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とする。抗がん剤治療とは、一般的な化学療法薬を用いた治療の他、抗体療法、インターフェロン製剤やインターロイキン2製剤等を含む非特異的免疫賦活薬療法を含むものとする。ただし、本臨床研究が対象としている疾患には、進行期も含まれることを考慮し、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。
- (2) 免疫系再構築及び免疫学的多様性に対して悪影響を及ぼす末梢血幹細胞移植後のシクロスポリン A 製剤の使用は禁止する。又、やむを得ず感染症合併時に使用する G-CSF 製剤投与などの場合を除き、原則として G-CSF 製剤の投与は禁止する。
- (3) 初回の遺伝子導入 T リンパ球の輸注以降は、GCV 製剤・ACV 製剤の投与は禁止する。CMV の再活性化の場合には、GCV 製剤の投与は避け、抗ウイルス薬であるホスカルネットナトリウム製剤の投与で代替する。
ホスカルネットナトリウム製剤投与に不応性で CMV 感染症が改善しない場合には、GCV 製剤による治療を行い、遺伝子導入 T リンパ球の輸注は GCV 製剤の投与中止後、24 時間経過以降であれば行うことができる。

IX. 6.4 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・観察を実施する。なお、検査時期については、XI.3「臨床研究実施スケジュール」に記載する。

但し、病状により、以下の項目以外についても検査・観察を実施することがある。検査・観察スケジュールについても定めた時期以外にも実施されることがある。

IX. 6.4.1 被験者の適格性他の確認に関する検査・観察

(1) ドナー背景：

文書同意取得日、被験者との続柄、HLAの型、性別、生年月日、体重、血圧、脈拍、体温呼吸数、現有、既往、Performance Status、心電図、血液学的検査（白血球数、白血球分画、赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値、血小板、網状赤血球数）、血液生化学検査〔総たん白、アルブミン、AST (GOT)、ALT (GPT)、 γ -GTP、LDH、Al-P、総ビリルビン、BUN、クレアチニン、尿酸、血清電解質 (Na、K、Cl、Ca)、CRP、血糖〕、感染症検査（HIV抗体、HBs抗原、HCV抗体等）、胸部X線検査、動脈血液中酸素飽和度、腹部エコーなどによる脾腫のチェック、過去の末梢血幹細胞採取の有無・時期

(2) 被験者仮登録時：

文書同意取得日、HLAの型、性別、生年月日、身長、体重、血圧、脈拍、体温呼吸数、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、Performance Status、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（白血球数、赤血球数、ヘモグロビン濃度、血小板）、血液生化学検査〔総たん白、アルブミン、AST (GOT)、ALT (GPT)、 γ -GTP、LDH、Al-P、総ビリルビン、BUN、クレアチニン、尿酸、血清電解質 (Na、K、Cl、Ca)、CRP、血糖〕、感染症検査（HIV抗体、HBs抗原、HCV抗体等）、血液型

(3) 被験者本登録時：

血圧、脈拍、体温呼吸数、現有、既往、妊娠の有無、Performance Status、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（白血球数、白血球分画、赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値、血小板）、血液生化学検査〔総たん白、アルブミン、AST (GOT)、ALT (GPT)、 γ -GTP、LDH、Al-P、総ビリルビン、BUN、クレアチニン、尿酸、血清電解質 (Na、K、Cl、Ca)、CRP、血糖〕、感染症検査（TPHA、HBs抗原、HCV抗体）、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

IX. 6. 4. 2 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

IX. 6. 4. 3 輸血状況

輸血日、血小板輸血量（単位）、赤血球輸血量（単位）

IX. 6. 4. 4 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

IX. 6. 4. 5 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

IX. 6. 4. 6 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)〕、骨髓像 (有核細胞数、腫瘍細胞割合、骨髓球の成熟、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

IX. 6. 4. 7 安全性の判定に関する検査・観察

(1) 臨床検査

血液学的検査 (白血球数、白血球分画、赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値、血小板、網状赤血球数)

血液生化学検査〔総たん白、アルブミン、AST (GOT)、ALT (GPT)、 γ -GTP、LDH、Al-P、総ビリルビン、BUN、クレアチニン、尿酸、血清電解質 (Na、K、Cl、Ca)、CRP、血糖〕
免疫学的検査 (IgG 量、IgA 量、IgM 量)

感染症検査 (CMV 抗体価、CMV Antigenemia あるいは血清中の CMV-DNA 定量測定等)

尿定性検査 (たん白、糖、潜血、ウロビリノーゲン、沈渣)

その他 (体重、脈拍、血圧)

(2) 有害事象 (感染事象、GVHD、臨床検査値異常変動含む)

有害事象とは、本治療が実施された際に起こるあらゆる好ましくない、あるいは意図しない徴候 (臨床検査値の異常を含む)、症状、又は病気のことであり、本治療との因果関係の有無は問わない。

総括責任者 (又は治療にあたる分担研究者) は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、グレード、研究継続・中止の別、処置の有無及び内容、本治療との因果関係、転帰を調査する。

- (3) RCR 発現の有無
末梢血中の RCR を RT-PCR 法により測定する。
- (4) LAM-PCR による遺伝子導入 T リンパ球クローナリティー解析

IX. 6. 4. 8 免疫系再構築の判定に関する検査・観察

- (1) 末梢血中の CD3 陽性リンパ球数
- (2) 末梢血中のリンパ球の免疫表現型
末梢血中のリンパ球の免疫表現型をヒトリンパ球マーカーに対する各種抗体 (CD3、CD4、CD8、CD11c、CD56、CD123 等) を用いた FACS 解析により評価する。
- (3) 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
細胞内サイトカインの測定、Pentamer 解析、T 細胞受容体レパトア解析、TREC 法を用いた解析等により評価する。
細胞内サイトカインとしては、サイトメガロウイルス抗原並びに PMA 抗原刺激後の、リンパ球内のインターフェロン γ (IFN- γ) 及び IL-4 を定量解析する。IFN- γ は TH-1 反応 (細胞性免疫) の指標として、IL-4 は TH-2 反応 (液性免疫) の指標であり、ドナーリンパ球追加輸注療法後に、ドナー由来リンパ球 (ドナーリンパ球輸注に使用した遺伝子導入リンパ球並びにドナー幹細胞より分化したリンパ球の双方を含む) の再活性化が起こるか否かの指標となる。
Pentamer 解析とは、蛍光標識した合成 HLA 蛋白分子に抗原ペプチドを結合させ、それを用いて抗原特異的リンパ球の定量解析を行うものである。本研究ではサイトメガロウイルス抗原ペプチドを有する HLA-A2402 並びに HLA-A0201 ペンタマーを用いて、遺伝子導入ドナーリンパ球輸注による抗原特異的免疫に与える影響を検証する。
T 細胞レパトア解析とは、PCR 法を用いて T 細胞レセプターの可変領域の多様性を PCR 法を用いて解析する方法である。TREC 解析とは、Naïve T 細胞が抗原特異的 T 細胞に成熟する際に切り出される遺伝子断片の量を、PCR 法を用いて解析する方法である。両者とも、T 細胞の多様性を示す指標と考えられており、遺伝子導入リンパ球ならびに投与後患者におけるリンパ球の多様性を評価すると共に、感染症や GVHD 発症時に多様性の変化が起こるか否かを検証する。
なお、上記の解析方法は、申請機関内の研究室にて既に確立された作業手順書に基づいて行なうこととする。

IX. 6. 4. 9 GCV 製剤投与による GVHD 沈静化能の判定に関する検査・観察

- (1) GVHD 症状評価
- (2) GCV 製剤投与無効時の免疫抑制剤使用頻度
- (3) 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)
組織診断用の検体採取が可能な場合、組織切片を作製し、抗 LNGFR 抗体を用いた免

疫染色により遺伝子導入 T リンパ球の存在を確認する。もしくは、検体から DNA を抽出してリアルタイムPCRを用いてレトロウイルスベクター-SFCMM-3 に特異的な領域を測定することにより遺伝子導入 T リンパ球の存在を確認する。

IX. 6. 4. 10 その他の検査・観察

IX. 6. 4. 10. 1 無病生存率

腫瘍性疾患に関わる検査、転帰、最終確認日

IX. 6. 4. 10. 2 全般生存率

転帰、最終確認日

IX. 6. 4. 10. 3 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

IX. 6. 4. 10. 4 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

IX. 6. 4. 10. 5 研究終了後の追跡調査

遺伝子治療を受けた患者については、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。

- (1) RCR 出現の有無
- (2) 血中遺伝子導入 T リンパ球比率測定
- (3) 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
- (4) 転帰（原疾患評価、生死の別、最終転帰確認日）

IX. 6. 5 予測される副作用及びその対処方法

IX. 6. 5. 1 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。

- (1) ドナー末梢血リンパ球採取は、血球分離装置を用いて行われ、リンパ球採取中はクエン酸ナトリウム（ACD-A 液）が抗凝固剤として用いられるため、低カルシウム血症をきたすことがある。

- ⇒ (対処法) 予防するためにカルシウムを補充しながら行う。
- (2) リンパ球の採取は通常は末梢静脈ラインを確保することによって可能であるが、ドナーの体格、血管の状態などによりじゅうぶんな血流が確保できない時には、中心静脈ラインを確保する必要がある。ごく稀に静脈血栓症、動静脈ろう等を合併することがある。
- ⇒ (対処法) 中心静脈穿刺に関しては、習熟した医師が行う。合併症にはじゅうぶんな注意を払い、発生時には症状にあわせた薬剤投与・処置を行う。
- (3) リンパ球採取後の血球減少に関しても幾つかの報告がある。白血球に関しては一過性の好中球減少を合併したとの報告があるが、易感染性をきたすまでには至らない。ヘモグロビン値が 2 g/dL 以上低下する症例が 23.5%に、血小板数が 50,000/ μ L 以下に低下する症例が 10.8%に認められるという報告もあり、注意を要する。
- ⇒ (対処法) 原則的に経過観察する。血小板については、採取終了後に検査を行い、必要に応じて返血を行う。
- (4) 採取スピードが速い場合には、急激な循環血漿量の減少により、一時的な血圧低下をまねく可能性がある。
- ⇒ 生理食塩水の点滴により対処可能である。

IX. 6. 5. 2 ドナー末梢血幹細胞採取に伴うドナーへの危険性

IX. 6. 5. 1「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。

- (1) めまい、吐き気、嘔吐など血管迷走神経反射 (vaso-vagal reflex: VVR) を認めることがある。
- ⇒ (対処法) VVR は重篤な場合は高度の「徐脈 (脈拍数 29/分以下)」が出現し、意識喪失、失禁がみられることがあり、さらに「心停止」にいたる可能性があることから、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。
- (2) 血小板も大量に採取されるので、採取後に血小板減少が高頻度 (50%以上) に見られ、50,000/ μ 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。

IX. 6. 5. 3 T 細胞除去造血幹細胞移植に伴う被験者への危険性

- (1) 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。

(2) 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。

IX. 6. 5. 4 遺伝子導入 T リンパ球 Add-back に伴う被験者への危険性

特に以下の 3 点については注意を払う。

(1) 遺伝子導入ドナー T リンパ球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。

(2) アナフィラキシー等の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。

(3) 重症の GVHD を発症することがある。

⇒ (対処法) IX. 6. 2. 6. 1 「GVHD に対する治療」に従い、治療を行う。

遺伝子導入ドナー T リンパ球 Add-back 後に発症した GVHD は、理論上は GCV 製剤投与によって沈静化に向うが、遺伝子導入 T リンパ球を完全に死滅させることができず沈静化できない可能性も否定できない。その場合には、総括責任者の判断のもと、免疫抑制剤を投与することとする。

IX. 6. 5. 5 ガンシクロビル (GCV) 製剤投与に伴う被験者への危険性

GCV 製剤は、免疫能低下を引き起こす先天性及び後天性の病状の分野で、CMV の再活性化の予防と治療のために広く使用されている。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。

IX. 6. 5. 6 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。また、たとえ RCR が PCR 等で検出されても、マウス由来のパッケージ細胞株より生産されるレトロウイルスはヒト補体により破壊されるので、ウイルス血症は一過性に終わる可能性が高い。しかしながらヒト細胞から RCR 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。

IX. 6. 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、XI. 3 「臨床研究実施スケジュール」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ヵ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、国立がんセンター中央病院にて以下の項目について年1回のフォローアップを行う。

- (1) RCR出現の有無
- (2) 血中遺伝子導入Tリンパ球比率測定
- (3) 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
- (4) 転帰（原疾患評価、生死の別、最終転帰確認日）

IX. 6. 6. 1 安全性の判定方法、基準

IX. 6. 6. 1. 1 安全性に関する判定に必要な検査・観察項目

- (1) 臨床検査
- (2) 有害事象
- (3) RCR
- (4) LAM-PCR

IX. 6. 6. 1. 2 安全性に関する判定基準・評価方法

- (1) 臨床検査値の異常及び異常変動の判定法
 - ・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総括責任者（又は治療にあたる分担研究者）が判断する。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、総括責任者（又は治療にあたる分担研究者）が異常変動「有」と判断した場合も含まれる。

なお、異常変動の判定について、正常値→異常値、もしくは異常値の増強が見られ、かつ異常変動を「無」と判断した場合にはその理由について、臨床経過を踏まえて考察を行う。

- (2) 有害事象（感染事象、GVHD、臨床検査値異常変動を含む）

総括責任者（又は治療にあたる分担研究者）は、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）を調査する。遺伝子導入Tリンパ球輸注との因果関

係を否定できない有害事象（副作用）は、原則として、消失又は軽快するまで追跡調査を行う。

総括責任者（又は治療にあたる分担研究者）は、有害事象に対する治療が必要となった場合には、速やかに被験者にその旨を伝える。同時に適切な処置を施し、被験者の安全を確保し、その原因究明に努める。

また、重篤な有害事象については、IX. 6. 7「重篤な有害事象が発現した場合の措置」に従う。

・グレード

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（表17）。

表 17 有害事象のグレード

Grade 1	軽度の有害事象
Grade 2	中等度の有害事象
Grade 3	高度の有害事象
Grade 4	生命を脅かすまたは活動不能とする有害事象
Grade 5	有害事象による死亡

・因果関係

レトロウイルスベクター-SFCMM-3により遺伝子導入されたTリンパ球Add-backとの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、以下の4分類で判定する（表18）。

表 18 因果関係の分類

因果関係	判定基準
(1) 関連あり	<p>この分類は、高い確度で遺伝子導入 T リンパ球 Add-back に関連があると考えられる有害事象が該当する。次の項目に該当するものを「関連あり」と判定する。:</p> <ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> 遺伝子導入 T リンパ球 Add-back から合理的かつ一時的な推移が見られる <input type="checkbox"/> 被験者の臨床的状态、環境又は有害因子あるいは被験者に実施している別の治療法の既知の特性からは合理的に説明できない <input type="checkbox"/> 遺伝子導入 T リンパ球 Add-back を中止するか Add-back 量を減量すると有害事象が消失するか軽減される <input type="checkbox"/> 遺伝子導入 T リンパ球 Add-back に対して、既知の反応パターンを示す <input type="checkbox"/> 遺伝子導入 T リンパ球 Add-back を再開すると再び現れる
(2) 関連があるかもしれない	<p>この分類では、遺伝子導入 T リンパ球 Add-back とは関連性はないように見えるが、完全には排除できない有害事象が該当する。次の項目に該当するものを「関連があるかもしれない」と判定する。:</p> <ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> 遺伝子導入 T リンパ球 Add-back から合理的かつ一時的な推移が見られる <input type="checkbox"/> 被験者の臨床的状态、環境、有害因子あるいは被験者に実施している別の治療法が原因になっている可能性がある <input type="checkbox"/> 遺伝子導入 T リンパ球 Add-back に対して、既知の反応パターンを示す
(3) おそらく関連なし	<p>次の項目に該当するものを「おそらく関連なし」と判定する。:</p> <ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> 遺伝子導入 T リンパ球 Add-back から合理的かつ一時的な推移をたどらない <input type="checkbox"/> 被験者の臨床的状态、有害因子あるいは被験者に実施している別の治療法によって容易に起こっている可能性がある <input type="checkbox"/> 遺伝子導入 T リンパ球 Add-back に対して、既知の反応パターンを示さない <input type="checkbox"/> 遺伝子導入 T リンパ球 Add-back を再開したときに有害事象が再び現れるようなこと、又は症状が悪化するようなことは見られない
(4) 関連なし	<p>この分類は外部にのみ原因(疾患、環境等)があると明確かつ異論なく判定される有害事象が該当し、「おそらく関連なし」、「関連があるかもしれない」、「関連あり」の項に記載された判定基準を満たさない。</p>

- (3) RCR については、臨床研究期間中の出現を検討する。
- (4) LAM-PCR については、遺伝子導入 T リンパ球のクロナリティーを検討する。

IX. 6. 6. 2 免疫系再構築の判定方法、基準

IX. 6. 6. 2. 1 免疫系再構築の判定に必要な検査・観察項目

- (1) 末梢血中の CD3 陽性リンパ球数
- (2) 末梢血中のリンパ球の免疫表現型
- (3) 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

IX. 6. 6. 2. 2 免疫系再構築に関する判定基準・評価方法

- (1) XI. 3 「臨床研究実施スケジュール」に従い、免疫表現型に関する検査を行い、「GVHD 発症の有無に関係なく、2 回の連続した検査で CD3 陽性細胞数が $1\mu\text{l}$ あたり 100 を超えるとき免疫再構築が達成されたと判定する。」という基準に従い、免疫系再構築の達成を評価する。
- (2) 末梢血中のリンパ球の免疫表現型をヒトリンパ球マーカーに対する各種抗体を用いた FACS 解析により評価する。
- (3) 細胞内サイトカインの測定、Pentamer 解析、T 細胞受容体レパトア解析、TREC 法を用いた解析等により評価する。

IX. 6. 6. 3 GCV 製剤投与による GVHD 沈静化能の判定方法、基準

IX. 6. 6. 3. 1 GCV 製剤投与による GVHD 沈静化能の判定に必要な検査・観察項目

- (1) GVHD 症状評価
- (2) GCV 製剤投与無効時の免疫抑制剤使用頻度
- (3) 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）

IX. 6. 6. 3. 2 GCV 製剤投与による GVHD 沈静化能に関する判定基準・評価方法

- (1) XI. 6 「急性 GVHD の治療効果判定基準」により、GCV 製剤投与による GVHD 沈静化の評価を行う。
- (2) IX. 6. 2. 6 「GVHD 発症時の対応」に従い、GVHD に対し GCV 製剤を投与したが、GVHD が改善せず免疫抑制剤を投与した場合を集計し、その頻度を検討する。
- (3) IX. 6. 2. 6 「GVHD 発症時の対応」に従い、GVHD に対し GCV 製剤を投与した場合には、GVHD 発症組織における遺伝子導入 T リンパ球の存在を確認する（実施可能な場合）。