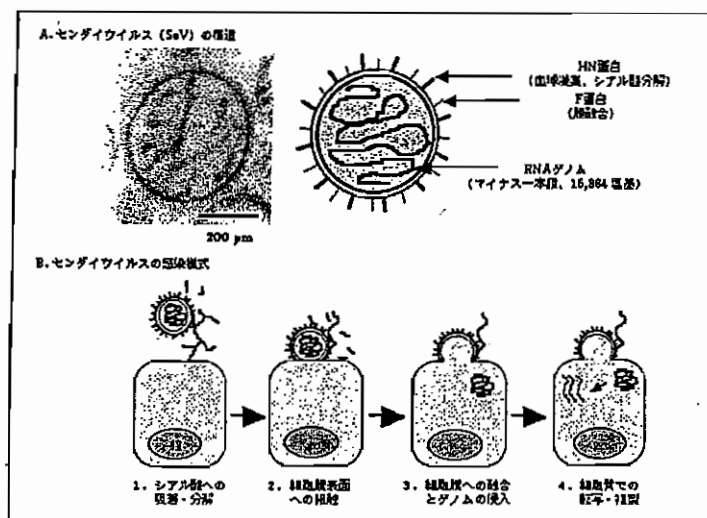


ミクソウイルスに属する。マウスなどげっ歯類に肺炎を起こすことで有名なウイルスであるが、現在までヒトに対する病原性は報告されていない。また、野生型 SeV をサル (African Green Monkey) の気道内投与した実験では、鼻水分泌が増加した他、重篤な副作用が見られず (40)、これに続く野生型 SeV による生ワクチン臨床研究でも同様であったことが報告されている (41)。

SeV/dF の特性は、概ねウイルス本来の特徴に由来する。第 1 の特性として、センダイウイルスはその生活環において、レトロウイルスと異なり DNA に変換されないことが挙げられる。また、転写ならびにゲノムの複製は細胞質内で、自前の RNA ポリメラーゼ (P 及び L 蛋白) を利用して行われるため、宿主細胞の染色体との相互作用をしない。これらの特徴は、同じ RNA ウイルスであるがプロウイルス DNA へ変換された後、宿主細胞染色体へ挿入されるレトロウイルスベクターなどで危惧されている発癌の危険性などを避けることができるという利点を持っている。



SeV/dF の第 2 の利点はその感染価の高さである。エンベロープは感染に必要な HN と F を持つ。哺乳動物細胞のほとんどに存在するシアル酸と HN を介して結合し、F 蛋白は細胞膜のコレステロールを認識して膜融合を起こす。このため SeV/dF は多種の哺乳動物細胞に感染可能である。本臨床研究で用いられる SeV/dF は、ゲノムにおいて F 遺伝子を欠失しているが、ベクター粒子そのものは製造過程で F タンパクをトランスに供給しているため、野生型センダイウイルスと同等の感染価を保持しつつ、遺伝子導入後は F 遺伝子の欠失のため感染性 2 次粒子を産生しない、則ち、非伝播型であるという特性を有する。

第 3 の利点はその転写能の高さである。SeV/dF は細胞に感染すると直ちにゲノムの転写・複製を開始し、以後遺伝子発現は対数的に増加する。感染後 2 日程で遺伝子発現は最大となり、多くの培養細胞において以後安定な持続感染に至る (in vivo ではベクターの排除により約 2 週間で消失)。これは増殖期の細胞で遺伝子発現が急激に減衰するアデノウイルスと好対照を成す。COS7 細胞を用いた実験では数 $\sim$ 数十 $\text{mg}/10^5$ 細胞/24 時間という、極めて高い発現量を示している。これは高発現系として有名なバキュロウイルス系、ワクシニアウイルス系に優るとも劣らない発現レベルである。転写能が高い場合の利点は、治療に必要なウイルス力価を下げるのが可能であり、組換えウイルス投与に関わる宿主反応を軽減することが可能である点である。

⑥ 実施施設における当該遺伝子治療臨床研究に関する研究成果

A. 培養細胞を用いた研究成果

(a) SeV/dF-hFGF2 を投与した培養細胞より発現・分泌されるヒト FGF-2 タンパクに関する検討 (文献 14 及び未公表データ)

血管新生因子 VEGF (SeV-VEGF165: 付加型ベクター) と FGF-2 を搭載する SeV (付加型ベクター) ならびに SeV/dF (F 遺伝子欠損非伝播型ベクター) を細胞当たり 10 活性ウイルス粒子 (10 multiplicity of infections: MOI=10) 投与したその 2 日後に 10^5 細胞を 6-well 培養プレートに播種し、24 時間の間に培養液中に分泌される組換え蛋白量を ELISA 法 (R&D 社 Quantikine assay system) にて検出した。ヒト臍帯内皮細胞 (HUEVC: クラボウより購入)、ウシ大動脈平滑筋細胞 (BSMC: 屠殺ウシ大動脈より分離後 6 継代目)、ラット心筋芽細胞 (H9C2: 米国 ATCC 社より購入) イヌ腎臓尿管上皮細胞 (MDCK: 米国 ATCC 社より購入)、サル腎細胞 (COS7: 大日本製薬より購入) の全てにおいて、付加型・非伝播型あるいは VEGF・FGF-2 の違いに因らず、高い蛋白分泌量を示した (最大約 $5\text{--}10 \text{ ng}/10^5$ 細胞/24 時間) (図 2)。

またこれらの培養上清は HUVEC、ウシ副腎由来毛細血管内皮細胞の増殖、コラーゲンゲル上の管腔形成を促進した。

(b) SeV/dF-hFGF2 を投与した培養細胞より分泌されるヒト FGF-2 タンパクの分泌機序に関する検討 (未公表データ)

FGF-2は旧来より古典的分泌シグナルを欠いていることが知られており、本臨床研究に使用する SeV/dF-hFGF2を再構成するベクターテンプレートに組み込まれているヒト FGF-2 cDNAも、遺伝子工学的に改変を加えていないため、同シグナル配列を持たない。しかしながら上記(a)で示したごとく、本ベクターにて発現させたヒト FGF-2は同シグナル配列を有する VEGF と同等の細胞外分泌を示す。

FGF-2の細胞外分泌には今なお不明な点があるが、少なくともその機序の一部には $\text{Na}^+\text{-K}^+$ ATPase の α -サブユニットとの相互作用が関与することが、COS-1細胞を用いた研究で明らかにされている(42)。

SeV/dF-hFGF2より分泌されるヒト FGF-2について同様の機序が関与するかを明らかにするために、MDCK細胞およびCOS7細胞へ $\text{MOI}=10$ で SeV/dF-hFGF2 を感染させ、培養液中へ分泌されるヒト FGF-2 量について検討した (ELISA法)。

双方の細胞株において、培養液中へ分泌される SeV/dF-hFGF2 由来のヒト FGF-2 は、 $\text{Na}^+\text{-K}^+$ ATPase 阻害剤であるウバイン処理にて抑制された (図3)。

このことから、SeV/dF-hFGF2 由来のヒト FGF-2 は論文報告と同様、少なくとも一部は $\text{Na}^+\text{-K}^+$ ATPase による能動的細胞外分泌を受けていると考えられた。

B. 実験動物を用いた研究成果

(a) 非伝播型組換えセンダイウイルスベクター (F 遺伝子欠損型ベクター: SeV/dF) と増殖伝播型組換えセンダイウイルスベクター (付加型ベクター: SeV+18) の筋肉への大腸菌 lacZ 遺伝子導入・発現効率 (非公表データ: 図4)

非伝播型ベクターが野生型を基本骨格とした付加型ベクターと比較して、同等の遺伝子導入・発現効率を示すことを確認するため、大腸菌 lacZ 遺伝子を搭載した両ベクターをそれぞれ 10^7 cfu/50 μl /head ずつ7週齢オス C57BL6/J マウス左大腿筋に投与し、2日後に β -ガラクトシダーゼ酵素活性を測定した (各群 $n=6$)。

双方の群において、筋肉中の β -ガラクトシダーゼ酵素活性は同等の値を示した (図4)。このことから、F 遺伝子欠損非伝播型ベクターは、野生型ウイルスの感染効率を示す増殖型付加型ベクターと比較して同等の遺伝子導入・発現効率を保持していることが確認された。

(b) マウス虚血後肢骨格筋に対するレポーター遺伝子 (ルシフェラーゼ) 導入効率と遺伝子発現の経時的変化 (付加型ベクターを用いた検討: 図5: 文献14, Masaki I et al. Circ Res 2002)

C57BL6/J マウス (日本チャールズリバーより購入) の大腿動静脈を抜去し、軽度虚血モデルを作製した。同時にホタルルシフェラーゼ遺伝子をプラスミドベクター (pCMV-luciferase: ヒトサイトメガロウイルス前初期遺伝子プロモーター) あるいは SeV-luciferase を 100 μl ずつ投与した (図5: 縦目盛りは対数表示)。

pCMV-luciferase は体重比にして欧米におけるプラスミドを用いた類似試験における臨床投与量の約 50 倍 (100 μl /30g 体重) を投与し、2日後に発現量を測定したところ、高い遺伝子発現を認めた。SeV では用量依存性に発現が上昇し、 10^7 cfu (活性ウイルス粒子数) にて約 5 倍、 10^8 cfu にて約 100 倍の高い遺伝子発現が得られた。次に遺伝子発現を経時的に測定したところ、pCMV-luciferase においては低い発現が遅延したが、SeV では 14 日目にほぼ消失し、SeV が骨格筋において高発現・短期発現型ベクターであることが明らかとなった。

(c) ウサギ慢性虚血後肢骨格筋に対するヒト FGF-2 遺伝子導入効率と遺伝子発現の経時的変化 (付加型ベクターを用いた検討: 図6: 文献21, Shoji T et al. Am J Physiol 2003)

日本白色種家兎 (日本チャールズリバーより購入) 左後肢に既知の方法 (43) にて慢性虚血モデルを作製した。ヒト FGF-2 を発現するセンダイウイルスベクター (SeV-hFGF2: 10^9 cfu/head) あるいはルシフェラーゼ (SeV-luciferase: hFGF2: 10^9 cfu/head) を投与し、遺伝子発現を経時的に ELISA 法にて測定した (図6)。

マウスにて得られた所見と同様、投与後 2 日目に発現がピークとなり、以後漸減し 14 日目にほぼ消失した。従って SeV はウサギ骨格筋においても高発現・短期発現型ベクターであることが明らかとなった。

(d)マウス急性虚血後肢骨格筋に対する濃度依存性血管新生因子遺伝子発現効率 (付加型ベクターおよび F 遺伝子欠損非伝播型ベクターを用いた検討: 図 7: 文献 14、Masaki I et al. Circ Res 2002、および非公表データ)

C57BL/6J マウス (日本チャールズリバーより購入) の大腿動静脈を抜去し、軽度虚血モデルを作製した。同時にマウス FGF-2 を発現する付加型 SeV あるいはヒト FGF-2 を発現する非伝播型 SeV (SeV-mFGF2 および SeV/hFGF2: 濃度 10^6 、 10^7 、 10^8 ciu/100 μ l) を 100 μ l ずつ大腿筋に投与した。2 日後大腿筋、下腿筋を採取、筋肉中の FGF-2 を R&D 社の ELISA system (ヒト、マウスともに検出する) にて検出した (図 7、縦軸は対数表示)。

いずれの構造のベクターの場合でも、FGF-2 はルシフェラーゼ遺伝子の場合と同様に濃度依存的に筋肉内蛋白発現が上昇し (10^7 ciu=内因性 FGF-2 の約 50 倍、 10^8 ciu=約 300 倍)、血液中には FGF-2 蛋白は検出できなかった (検出限界: 5 pg/ml)。

(e) マウスおよびウサギ虚血後肢に対するセンダイウイルスベクターによる血管新生因子遺伝子導入の治療効果 (文献 14、Masaki I et al. Circ Res 2002、文献 21、Shoji T et al. Am J Physiol 2003、および非公表データ)

(e)-1 マウスにおける検討

計 4 種類 (C57BL/6、Balb/c、Balb/c nu/nu、C3H) のマウスに対し、外腸骨動静脈、大腿回旋動静脈、大腿深動脈、大伏在動静脈全てを抜去して得られる、マウス重症虚血肢モデルを作製した。安定して後肢が残存する C57BL/6 マウス (非脱落モデル)、例外なく後肢が脱落する Balb/c nu/nu マウス (後肢脱落モデル) を選択し、血管新生因子遺伝子導入による副作用と治療効果について検討した。

(e)-1-1 血管新生因子遺伝子導入に関わる副作用 (文献 14、Masaki I et al. Circ Res 2002)

C57BL/6 マウス (非脱落モデル) に対し、前述と同様の手技にて 10^7 ciu の付加型ベクター (SeV-luciferase、SeV-mFGF2、SeV-hVEGF165) を注入すると、コントロール群、マウス FGF-2 群では後肢脱落はほとんど認めなかったが、ヒト VEGF165 群では高率に脱落した (図 8 上段)。これは VEGF の過剰発現は虚血肢の予後を増悪させる副作用があることを示唆する。

(e)-1-2 血管新生因子遺伝子導入の治療効果 (文献 14、Masaki I et al. Circ Res 2002)

Balb/c nu/nu マウス (脱落モデル) に対し、前述と同様の手技にて 10^7 ciu の付加型ベクター (SeV-luciferase、SeV-mFGF2、SeV-hVEGF165) を注入すると、コントロール群、ヒト VEGF 群ではほとんどの個体で後肢が脱落したが、マウス FGF-2 群では高率に救肢された (図 8 下段)。これは FGF-2 の重症虚血肢に対する有意な治療効果を示唆する。

(e)-1-3 下肢脱落モデルに対するヒト FGF-2 遺伝子導入の用量依存的治療効果: 付加型ベクターと非伝播型ベクターの比較 (図 9: 文献 21、Shoji T et al. Am J Physiol 2003、および非公表データ)

Balb/cnu/nu マウス (脱落モデル) に対し、前述と同様の手技にて 10^6 、 3×10^6 、 10^7 、 5×10^7 ciu のヒト FGF-2 を搭載した付加型ベクター (SeV-hFGF2: 図 9 上段) あるいはヒト FGF-2 を搭載した非伝播型ベクターを注入し、後肢脱落の状態を経時的に観察した。PBS 群、コントロールベクター群ではほとんどの個体で後肢が脱落したが、いずれのベクターでもヒト FGF-2 群では高率に救肢された (図 9)。最大治療効果は、 3×10^6 、 10^7 ciu/head にて得られた。

(e)-1-4 FGF-2 遺伝子導入による血管新生効果と血行回復効果 (文献 14、Masaki I et al. Circ Res 2002)

C57BL/6 マウス (非脱落モデル) に前述の方法にて SeV-mFGF2 あるいは SeV-hVEGF165 (10^7 ciu/head) を投与し、10 日目の筋肉内微小血管数 (免疫組織化学的に PECAM-1 を染色し算出) および鏡面切片にて周皮細胞を伴う微小血管数 (免疫組織化学的に α -SM アクチンを染色し算出) を計測した (図 10 上段)。FGF-2 治療群ではコントロールに比べ、3.5 倍の新生血管数を認めた。さらに、VEGF 群と比較して FGF-2 群では周皮細胞の被覆が有意に多く、新生血管がより成熟していることが示唆された。

また下肢血流量をレーザー Doppler 血流計 (Moor Instruments Inc. U.K.) にて計測すると、FGF2 群で有意な血行の改善を認め、逆に VEGF 群では血行回復の遅延が認められた (図 10 下段)。

(e)-2 ウサギ慢性虚血後肢に対する付加型センダイウイルスベクターによる血管新生因子遺伝子導入の治療効果 (図 11、12: 文献 21、Shoji T et al. Am J Physiol)

日本白色種家兎 (日本チャールズリバーより購入) の左後肢に対し、既知の方法で慢性虚血モデルを作製した (文献 43、44)。血行動態が安定する 2 週目にヒト FGF-2 を発現する付加型 SeV

(SeV-hFGF2 : 濃度 10^9 ciu/ml) あるいは対照のレポーター遺伝子 luciferase を発現する SeV (SeV-luciferase) を合計 1 ml、大腿および下腿筋に計 6 ケ所投与した。2 日後大腿筋、下腿筋を採取、FGF-2 タンパク量を R&D 社の ELISA system にて検出した。

SeV-luciferase 投与群では平均 128.8 pg/mg protein (n=10) であったのに対し、SeV-hFGF2 投与群では 1,711.9 pg/mg protein (n=10) であった。

同一の実験系において、レーザードップラーによる血流測定を経時的に行った。SeV-hFGF2 投与群では投与一週目より有意な血流上昇を認め、以後 1 ヶ月以上維持された (図 1 1)。

また、本ウサギモデルはヒト疾患と同様の血行動態を示すが、ヒトの閉塞性動脈硬化症では浅大腿動脈閉塞に伴い大腿深動脈の血流が増加しこれが側副血行路となるため、SeV-hFGF2 投与により側副血行路が実際に増加するか否かを直接的に検討した。図 1 1 に示すように外腸骨動脈血流総量に対する大腿深動脈血流量の相対的血流測定値は、SeV-hFGF2 投与群で有意に高値であった。

7. 安全性についての評価

(1) 遺伝子導入方法の安全性

① 遺伝子導入に用いるウイルスベクター (担体) の純度

GMP ベクターの生産、精製、供給は BioReliance 社により行われる。同社が生産したウイルスベクター (レトロウイルス、アデノウイルスを含む) は、これまで多数の遺伝子治療臨床研究に使われており、十分な実績を有する。GMP 生産ラインによる SeV/dF-hFGF2 生産の 3 度に亘るテストランにおいて GMP 基準に合致することが確認された。さらに本臨床研究に用いるロットのベクター生産も終了し、GMP 基準を満たすことを確認している。詳細は以下に表にして記載する。

② 患者に投与する物質の純度及びその安全性

本遺伝子治療臨床研究に用いるベクターの生産には、以下のマスターセルバンク、マスターウイルスバンクを用いた。以下のバンクは全て管理試験項目に合格している。

マスターセルバンク	
製造年月日	2002年6月27日（製造ロット：M0009.100550）
製造場所	BioReliance 社（Innovation Park, Hillfoots Road, Stirling, UK）：Scion House Lab2
保存条件	保存補助剤（80%D-MEM, 10%FBS, 10%DMSO）存在下で、Controlled Rate Freezer にて-130℃までに凍結後、液体窒素気相タンクにて保存
製造本数	1ml バイアルを149本
管理方法(QC)	下記13検査項目をパスすること
管理試験項目	試験方法の概略
1) 細胞増殖性	ダブリング・タイム
2) 無菌試験	細胞融解物接種により培養法で陰性
3) 静菌・静真菌試験	細胞融解物接種により陽性対照菌の発育への影響を調べる
4) マイコプラズマ培養試験	マイコプラズマ用液体培地及び寒天培地で培養、また、PCR によりその有無を判定
5) ウィルス・コンタミ否定試験 1	In vitro：細胞融解物接種により培養細胞にて blind passage 法で CPE, HAD, HA の有無をみる。陽性対照ウィルスと比較
6) ウィルス・コンタミ否定試験 2	In vivo：細胞融解物接種により乳飲みマウスの blind passage 法での異常の有無、ニフトリ胎児への blind passage 法での viability と HA の有無、成熟マウスへの投与による異常検出
7) 電子顕微鏡検査	細胞形態の特徴、ウィルス、細菌、真菌などの有無
8) ウシ・ウィルス否定試験	細胞融解物接種により BT 細胞、Vero 細胞培養で CPE の有無、免疫抗体法、HAD で陰性
9) ブタ・ウィルス否定試験	細胞融解物接種により PT-1 細胞培養で CPE の有無、免疫抗体法で陰性
10) Isoenzyme 試験	MCB 細胞と L929 マウス細胞、HeLa ヒト細胞、BHK ハムスター細胞の LD, G6PD, MD, NP のゲル電気泳動パターンからサル細胞由来であることを確認する
11) レトロ・ウィルス否定試験	PCR 法により Reverse transcriptase の否定
12) SV40 否定試験	PCR 反応による否定
13) RCA 否定試験	細胞融解物接種により A549 細胞培養で CPE 観察。Blind passage を2回実施することにより判定する。

マスターウイルスバンク	
製造年月日	2002年10月19日 (製造ロット: M0205.100748)
製造場所	BioReliance 社 (Innovation Park, Hillfoots Road, Stirling, UK) : Scion House Lab1
保存条件	ドライアイス/エタノールにて凍結後、-60℃以下のディープフリーザーに保存
製造本数	40ml バイアルを123本
管理方法(QC)	下記9検査項目をパスすること
管理試験項目	試験方法の概略
1) 無菌試験	細胞融解物接種により培養法で陰性
2) 静菌・静真菌試験	細胞融解物接種により陽性対照菌の発育への影響を調べる
3) マイコプラズマ培養試験1	マイコプラズマ用液体培地及び寒天培地で培養、また、PCRによりその有無を判定
4) マイコプラズマ培養試験2	マイコプラズマ用液体培地及び寒天培地で培養、また、PCRによりその有無を判定
5) ウィルス・コンタミ否定試験1	In vitro: 細胞融解物接種により培養細胞にて blind passage 法で CPE, HAD, HA の有無をみる。陽性対照ウィルスと比較
6) ウィルス・コンタミ否定試験2	In vivo: 細胞融解物接種により乳飲みマウスの blind passage 法での異常の有無、ニワトリ胎児への blind passage 法での viability と HA の有無、成熟マウスへの投与による異常検出
7) ベクタータイター検定	ベクターのタイターを蛍光法により測定する
8) アデノウィルス否定試験	細胞 DNA をアデノウィルス検出用 primer を用いた PCR 後、サザンハイブリダイゼーション法で判定する。
9) RT-PCR によるベクター定量	ベクターのゲノム量を RT-PCR により定量する

BioReliance 社 (GMP 製造責任者: Jon Marshall 氏) より電子メールにて送付されて来た、臨床研究にて患者へ使用される予定の最終生産物 (SeV/dF-hFGF2) に関する GMP 検査試験合格証明書を次ページに添付する。

実施したマイコプラズマ否定試験、ウィルス混入否定試験、増殖性ウィルス否定試験、エンドトキシン混入否定試験に全て合格している。ベクター力価も 2.35×10^9 ciu/ml であり、本臨床研究の実施に十分な力価を得ている。

CERTIFICATE OF ANALYSIS
FGF2-SeV/dF Sendai virus Vector

Sponsor:	Kyushu University		
Final Product Designation:	SeV (FGF2) Δ CL4		
Lot number:	M0209.100911	Part number:	M8.50056
Date of final product filling:	25-Mar-03	Number of vials produced:	147
Volume per vial:	0.2 ml	Storage conditions:	Store at $\leq -60^{\circ}\text{C}$

Test Description	Study Number	Result
Mock Cell Lysate (5 x 10⁵ cells/ml) Lot Number M0204.100912		
Test for the Detection of Non-Cultivable Mycoplasmas in Accordance with US FDA Points to Consider (1993) Recommendations using an Extended Vero Cell Assay	J03YC49.102018	Negative
Cell Lysate (5 x 10⁵ cells/ml) Lot Number M0204.100912		
Test for the Presence of Agar-Cultivable Mycoplasmas in Accordance with the US FDA Points to Consider (1993) and 21 CFR 610.30 Recommendations for Agar and Broth Cultures	J03YC52.102016	Negative
Cell Lysate (1 x 10⁵ cells/ml) Lot Number M0204.100912		
Test for the Presence of Inapparent Viruses in Suckling Mice, Adult Mice and Embryonated Hens' Eggs	AA74DA.005900.BSV	No evidence of contamination with adventitious viral agents
Extended <i>in vitro</i> Assay (with preliminary passage) for the detection of Viral Contaminants using 3 Detector Cell Lines	J03YC51.003014	No evidence of viral contaminants
Pooled Filtered Bulk Lot Number M0204.100912		
Quantitative Product Enhanced Reverse Transcriptase (Q-PERT) Assay for the Detection of Retroviral Reverse Transcriptase Activity	J03YC50.002107	No activity found
Post snap freezing final product Lot Number M0209.100911		
Sterility Test in Accordance with 21 CFR, USP 26 and/or European Pharmacopoeia (EP) for Final Product	AA74DB.510036.BSV	Satisfactory
USP Procedure for the <i>Limulus</i> Amebocyte Lysate Assay using the Gel Clot Method	J03YC48.360001	<1.2 EU/ml
Determination of Sendai Virus Titre Using Fluorescence Foci Formation	J03YC48.022828	2.35 x 10 ⁵ FFU/ml
Electron Microscopic Evaluation of Biological Fluids: Detection and Quantitation of Viral Particles	J03YC48.013004	1.3 x 10 ¹⁰ particles/ml

I certify that the above information has been accurately transcribed.

By M Henderson Date 27 Oct 2004
QA Auditor Signed on behalf of Alex Kulich Date 27 Oct 2004

Approved: Jon Marshall
Jon Marshall
Director of Manufacturing Services
BioReliance

27 Oct 2004
Date

M Henderson
Maria Henderson, BSc
QA Manager, BioReliance

27 Oct 2004
Date

③ 増殖性ウイルス出現の可能性

SeV/dF は、ベクター粒子は F タンパクを持つ（製造過程でトランスに供給される）ため野生型ウイルスと比較して遜色のない遺伝子導入効率を保持するが、ゲノムには感染に必要な F 遺伝子を欠損しているため、一端感染したのちには理論的に感染性 2 次粒子は放出しない。これは培養細胞レベルの実験でも明らかにされている（23）。このベクター構築過程は、（1）細胞内においてゲノム RNA-タンパク複合体（RNP）を形成させる過程、（2）RNP を F タンパク発現細胞へ導入し、ベクター粒子を回収する増幅過程、に分けられており、ウイルスゲノムの相同組み換えがほとんどないことも影響して、野生型ウイルスの混入は全く認められていない。これは英国のベクター生産委託企業（BioReliance 社）で行った GMP 生産 3 回のテストランサンプルにおいて全て同様の結果であり、本臨床研究で使用される最終生産物においても試験結果は陰性であった。

以上の様に増殖性ウイルス出現の可能性は低いと考えられるが、本臨床研究は SeV/dF の世界で最初の使用例となるため、投与前、ならびに投与 6 ヶ月後まで定期的に血中抗センダイウイルス抗体価をモニタリングし、安全性の確認を行う。但し SeV のヒトにおける既感染については、血清学的に必ずしも検出が容易ではない。これは SeV とヒトパラインフルエンザ 1 型、3 型の間に免疫学的交叉性があるためであり（45）、事実 SeV がヒトパラインフルエンザの生ワクチンとしてサルやヒトへ投与された報告（40、41）、逆にヒトパラインフルエンザ 1 型をマウスにおける SeV への生ワクチンとして使用したとする報告もある（46）。これらのことから、血中抗センダイウイルス抗体価のモニタリングデータは、ベクター投与前後の推移を以て参考データとして取り扱う。

④ 遺伝子導入に用いるウイルスベクター（担体）の細胞傷害性

培養系において、いくつかの細胞では、ウイルス量依存的細胞傷害性（cytopathic effect: CPE）が報告されており、また一部の培養細胞ではアポトーシスを起こすことも報告されている。但し、血管内皮細胞などでは、一時的な細胞傷害様所見を示すが、細胞死に至らずに次第に増殖が回復してくるものも存在する（35）。

ヒトあるいはマウス FGF-2 を搭載した付加型ベクター、ヒト FGF-2 を搭載した非伝播型ベクターのみならず、その他種々の遺伝子を搭載したベクターを多種に渡りマウスの後肢骨格筋へ投与を経験しているが、筋肉の壊死など、組織学的に重篤な細胞傷害性を示唆する所見は得られていない。

カニクイサルを用いた SeV/dF-lacZ および SeV/dF-hFGF2 に関する安全性試験（添付資料参照）においても、ベクター投与に特異的な組織学的に筋組織の壊死あるいは筋肉酵素の著明な逸脱など重篤な副作用がないことは確認されている。

ラットおよびサルを用いた安全性試験（臨床研究使用予定の GMP 生産ラインで生産した SeV/dF-lacZ および SeV/dF-hFGF2 を使用した GLP コンプライアンス下の急性毒性試験、生体内分布試験）に関しても、同様の所見であった。

⑤ 体内の標的細胞以外への遺伝子導入の可能性

センダイウイルスは多種の哺乳動物細胞へ感染可能であるため、筋肉以外の臓器への遺伝子導入が危惧されたが、マウスを用いた成績では、 10^7 ciu/30g までの筋肉内投与（luciferase 遺伝子搭載付加型ベクター）では他臓器での遺伝子発現は確認できなかった。血液成分と本ベクターを混じた実験では、ウイルスの急激な不活化が観察され、一般的な非働化操作（56°C、30 分加熱）を施した全血、血清、血漿でこの効果が消失したため、ベクターの不活化には補体が関与していることが推察される（図 13、非公表データ：非働化ありあるいはなしの血清に SeV-luciferase を添加、1、5、30、60、180 分後に COS7 細胞へ MOI=10 で投与、2 日後の相対的ルシフェラーゼ活性を測定）。

カニクイサルを用いた SeV/dF-lacZ および SeV/dF-hFGF2 に関する安全性試験（添付資料参照）においても、少なくとも血液、尿中には、全経過を通じてベクターの遺伝子配列は確認されておらず、全身散布の可能性は低いと考えられる。

⑥ 患者以外のヒトに遺伝子が導入される可能性

厚生労働省吉川班によるカニクイサルを用いた水平感染に関する検討（増殖伝播型組換えセンダイウイルスベクターを使用）では、同一ケージ内で飼育された非感染動物への水平感染は認められなかったことが示されている。

本臨床試験においてはさらに安全性を確保するため、また生物学的多様性への影響を最小限にするため、ベクター投与後少なくとも 1 週間は陰圧で制御される遺伝子治療室にて管理する（サルを用いた安全性試験成績では、投与後 2 週間の経過全てにおいて、血液ならびに尿中にベクターの遺伝子配列は検出されていないため、1 週間の管理期間で十分であると考えられる）。排泄物よりベクターが検出されないことを確認（RT-PCR 法、血球凝集法にて検定）した後に、陰性の場合にのみ一般病棟へ移送する。

⑦ 染色体内へ遺伝子が組み込まれる場合の問題点

非伝播型組換えセンダイウイルスベクターは細胞質で転写・複製が行なわれるため、宿主染色体と相互作用を行なわない。よって染色体内へ遺伝子が組み込まれることは理論的にないと考えられる。

⑧ がん原性の有無

上記のごとく、非伝播型組換えセンダイウイルスベクターは細胞質で転写・複製が行なわれるため、宿主染色体と相互作用を行なわない。よって染色体内へ遺伝子が組み込まれることは理論的になく、宿主癌遺伝子の活性化などの危険性はレトロウイルスベクターなどと比較して極めて低い。

またセンダイウイルスの構造蛋白に関しては、宿主細胞の細胞周期制御蛋白や細胞内増殖シグナルを活性化することを示した報告はなく、事実我々のセンダイウイルスベクターを投与した経験においても、細胞が増殖亢進を示した例はない。

(2) 遺伝子産物の安全性

搭載する FGF-2 遺伝子に関しては、種々の間葉系細胞、血管内皮細胞などの増殖を促進することが知られているものの、トランスジェニックマウスを用いた成績においても悪性新生物が発生したとする報告はない。

FGF-2 の高発現時における生体への毒性は十分に明らかではないが、ヒト冠状動脈内への大量のタンパク投与の結果によると、一過性のタンパク尿、血圧低下が観察されているが、重篤な副作用は認められていない(29)。また FGF-2 のトランスジェニックマウスでは、特に血管系の異常は報告されておらず、主な形態の変化は大きな頭蓋骨と軟骨異栄養症のみであった(30)。さらに現在、FGF-2 のタンパク製剤はフィブラストスプレーとして科研製薬より発売されており、国内での人体投与実績がある。

(3) 安全性に関連する研究の成果

① マウスを用いた炎症性サイトカイン誘導に関する予備的検討

(FGF-2 搭載付加型ベクターによる予備的検討)(図14)

米国ペンシルバニア大学で1999年に報告された死亡例(19歳男性、オルニチンカルバミラーゼ欠損症患者)では、肝動脈内へのアデノウイルスベクター投与途中より発熱、悪寒などの症状が現れ、血液中のインターロイキン6(IL-6)が最高6,000 pg/ml以上に上昇し、全身性炎症反応症候群(systemic inflammatory response syndrome: SIRS)を発症したとされている。

そこでまずマウスを用いた SIRS 誘導に関する予備的検討として、FGF-2 搭載付加型ベクターによる炎症性サイトカイン誘導について検討を行なった。

(方法) C57BL/6 マウス(雄、8週齢)の左後肢に重症虚血(外腸骨動静脈、伏在動静脈、大腿回旋枝、大腿深動静脈を全て結紮・抜去)を作製、同時に 10^7 c.i.u./100 μ l のマウス FGF-2 搭載付加型ベクター(SeV-mFGF2: マウス FGF-2 とヒト FGF-2 では、アミノ酸配列上の相同性は98%である)を投与し、筋肉中、血清中の IL-6、腫瘍壊死因子(tumor necrosis factor- α : TNF- α)、ならびにウイルス感染の指標として、インターフェロン- γ (IFN- γ) の産生量を ELISA 法にて経時的に測定した。それぞれのサイトカインは同一の検体で測定した。実験群は以下の各群を設定した。

1) 手術のみ、2) SeV-mFGF2 のみ(ベクターのみ)、3) 手術+SeV-mFGF2

(結果1: IL-6の動態) 筋肉局所において、虚血手術後1日目は大量の IL-6 (平均値4,654 pg/mg 蛋白)を誘導したが、ベクター単独ではその約 1/20 (204 pg/mg 蛋白)に留まった。ベクター投与により虚血により誘導される局所の IL-6 の上昇は2日目まで遷延する傾向を認めたものの、以後激減した(図14上段)。

一方、血清中に誘導される IL-6 蛋白はベクター単独では全く検出不可能であり、虚血肢に投与してもわずかな上昇(8.9 pg/mg 蛋白)に留まった(図14下段)。

(結果2: IFN- γ の動態) 筋肉局所において、虚血手術群は全観察期間において IFN- γ はほとんど誘導されなかったが、ベクター投与群、手術+ベクター投与群では有意な上昇を認め、本実験系においてベクターの感染が成立していることを示唆した。一方、全観察期間において血清中には全く検出できなかった(図15)。

(結果3: TNF- α の動態) 筋肉局所において、ベクター投与群では全観察期間を通じて TNF- α を全く検出できなかった。ベクター投与群、虚血+ベクター投与群では有意な上昇を認めたが、両者に有意差は認めなかった。血清中には全観察期間において TNF- α は全く検出できなかった。

②カニクイサルを用いたレポーター遺伝子（大腸菌 *lacZ* 遺伝子）搭載

非 GMP 生産非伝播型ベクター（SeV/dF）による安全性試験（添付資料）

（方法の概略）

本実験（急性毒性試験）は国立感染症研究所筑波医学実験用霊長類センターにて平成13年3月29日より同4月12日に行なわれた（担当者：寺尾恵治博士、小野文子博士）。

中国産育成カニクイサル（*Macaca fascicularis* 雄2頭（体重約2.5kg）を用いた。ベクター投与量はkg当り臨床使用予定量のほぼ最大量に相当する約 10^8 ciu/kg（動物番号#G11）、さらにその10倍量にあたる約 10^9 ciu/kg（動物番号#G13）をそれぞれ10mlに調整し、右大腿部に4ヶ所、下腿部2ヶ所、それぞれ1～2ml、計6ヶ所に直接筋肉内注射を行なった。コントロールとして、生理食塩水を投与した個体も同様に検討した（動物番号#G14）。投与後2週間連続して動物を観察、検体を採取し、14日目に全身を解剖、諸臓器の一部を採取し、病理組織学的に検索した。

（主な結果）

<1>食物摂取量、運動性、体重（添付資料：Figure 2、Table 2）に変化は認められなかった。

<2>収縮期血圧、拡張期血圧、心拍数に変化は認められなかった（添付資料：Figure 3、Table 3）。

<3>尿検査：尿量、電解質、比重、pH、蛋白、糖質、ビリルビン、ウロビリノーゲン、色調、潜血に変化や異常は認められなかった。コントロールを含む全個体で投与後1～3日にケトン体が一過性に陽性となったが、これは操作に対する影響と考えられた（添付資料：Table 5）。

<4>血液学的検査（添付資料：Figure 6、Table 6）：

1) ベクター投与群にのみ軽度の一過性白血球減少を認めた。これはウイルス量が高い程減少の度合いが大きかった。

2) コントロールを含む全個体で軽い貧血を認めた（RBC、Hb、Hct共に）。これは採血量の影響であると考えられた。

3) 血小板数には全個体で有意な変化はなかった。

4) 血液凝固系において、ベクター投与群にのみ投与後3～7日目にフィブリンノーゲンの軽度の低下、APTTの軽度の延長が認めれた。

<5>血清学的検査（添付資料：Figure 7、Table 7）：

1) 血清蛋白、アルブミン、A/G比、血清クレアチニン、血清コレステロール、遊離コレステロール、トリグリセライド、血清リン、カルシウム、トランスアミナーゼ（GOT、GTP）、アルカリフォスファターゼ、LDH、 γ -GTP、LAP、コリンエステラーゼ、血清電解質（ナトリウム、カリウム、塩素イオン）に顕著な変化は認められなかった。

2) 血清CRPは#G13（高用量）の個体でわずかに一過性（～1日目）の上昇を認めた。

3) 血清CPKは全個体において一過性（～1日目）に上昇した。これは筋肉内注射に関わる影響と考えられた。

<6>血清サイトカインレベル（九大病理病態学における検査）

1) 血清IL-6は#G13（高用量）の個体でわずかに一過性（～1日目）の上昇を認めた（最大値：11.95 pg/ml、投与6時間後）。

2) 血清TNF- α は観察期間中、全個体において検出できなかった。

3) 血清IFN- γ は#G13（高用量）の個体でわずかに上昇を認めた（最大値：16.3 pg/ml、投与後5日目）。

<7>解剖・病理組織学的所見：

検索した全臓器において、肉眼的に異常は認められなかった。採取した諸臓器（脳、心臓、肺、胸腺、肝臓、脾臓、腎臓、膵臓、大腸、精巣、対側筋肉）に病理組織学的異常は認められなかった。注入側筋肉にはごく一部に慢性炎症細胞浸潤（リンパ球）を認めたが、筋肉細胞の壊死などの所見は認めなかった。

③カニクイサルを用いたヒト FGF-2 遺伝子搭載非 GMP 生産非伝播型ベクター（SeV/dF-hFGF2）による安全性試験（添付資料）

（方法の概略）

本実験（急性毒性試験）は国立感染症研究所筑波医学実験用霊長類センターにて平成14年6月12日より同7月4日に行なわれた（担当者：寺尾恵治博士、小野文子博士）。

中国産育成カニクイサル（*Macaca fascicularis* 雄9頭（体重約3.0-3.5 kg）を用いた。ベクター投与量はkg当り臨床使用予定量のほぼ最大量の5倍にあたる 5×10^8 ciu/kg（動物番号#G4、G18、G20）、さらにその10倍量にあたる 5×10^9 ciu/kg（動物番号#G3、G15、G16）をそれぞれ10mlに調整し、右大腿部に4ヶ所、下腿部2ヶ所、それぞれ1～2ml、計6ヶ所に直接筋肉内注射を行なった。コントロールとして、生理食塩水を投与した個体も同様に検討した（動物番号#G9、G17、G19）投与後2週間連続して

動物を観察、検体を採取し、14日目に全身を解剖（投与群のみ）、諸臓器の一部を採取し、病理組織学的に検索した。

（主な結果）

<1>食物摂取量、運動性、便性状など（添付資料：Table 1）に有意な変化は認められなかった。

<2>体重に有意な変化は認められなかった（添付資料：Table 2）。

<3>体温に有意な変化は認められなかった（添付資料：Table 3）

<4>尿検査：尿量、電解質、比重、pH、蛋白、糖質、ビリルビン、ウロビリノーゲン、色調、潜血に変化や異常は認められなかった。コントロールを含む全個体で投与後1～3日にケトン体ならびに潜血が一過性に陽性となったが、これは操作に対する影響と考えられた（添付資料：Table 4）。

<5>血圧（添付資料：Table 5）：観察期間中、有意な血圧の変動は認められなかった。

<6>血液学的検査（添付資料：Table 6）：

1) 全群で軽度かつ一過性白血球減少を認める個体が存在した。

2) コントロールを含む全個体で軽い貧血を認めた（RBC、Hb、Hct 共に）。これは採血量の影響であると考えられた。

3) 血小板数には全個体で有意な変化はなかった。

4) 血液凝固系において、ベクター投与群にのみ投与後3～7日目にフィブリノーゲンの軽度の低下、APTTの軽度の延長が認められた。これは2週目までには回復した。

<7>血清学的検査（添付資料：Table 7）：

1) 血清蛋白、アルブミン、A/G 比、血清クレアチニン、血清コレステロール、遊離コレステロール、トリグリセリド、血清リン、カルシウム、トランスアミナーゼ（GOT、GTP）、アルカリフォスファターゼ、LDH、 γ -GTP、LAP、コリンエステラーゼ、血清電解質（ナトリウム、カリウム、塩素イオン）に顕著な変化は認められなかった。

2) 血清 CRP は全群でわずかに一過性の上昇を認める個体が存在した。

3) 血清 CPK は全個体において中等度かつ一過性に上昇した。これは筋肉内注射に関わる影響と考えられた。

<8>ガン・パイオブシー採取骨格筋における FGF-2 の発現レベル（九大病理病態学における検査）

（方法）筋肉採取はベクター投与後2日目に行った。採取部位は大腿筋のベクター投与部位から行った。ベクター投与時に部位を油性マジックでマークし、各部位から2回米粒大の筋肉片を採取した。1個体当たり2ヶ所（合計4回）パイオブシーを行い、1部位の2片の筋肉組織を一つにまとめて、ヒト FGF-2 タンパク用 ELISA キット（R&D 社）を用いて測定した。それぞれの測定値は、Bradford 法で測定した総タンパク量で標準化した。

（結果）コントロール群では、採取筋肉における FGF-2 発現レベルは全て 23.2-32.2pg/mg protein であったため、これを内因性 FGF-2 レベルの概算値とした。

低用量群では測定値は 21.5-111.8 pg/mg protein であった。

高用量群では測定値は 30.2-1,612.9 pg/mg protein であった。

（考察）ガン・パイオブシーによる盲目的組織採取のために測定値にばらつきがあったと考えられるが、全ての部位で内因性 FGF-2 レベルの概算値を超える FGF-2 タンパクが認められる部位があり（内因性 FGF-2 と比較して最大50倍以上：高用量群）、サルにおけるベクターの遺伝子導入・発現効率はマウスとほぼ同等であると考えられた。

<9>血清サイトカインレベル（九大病理病態学における検査）

1) 血清 TNF- α 値は観察期間中全個体において検出できなかった。

2) 血清 IFN- γ 値は観察期間中、高用量群の1個体のみに軽度かつ持続性の発現上昇を認めた。（今回は全体にバックグラウンドの測定値が高い傾向にあった）

3) 血清 IL-6 値は、低用量、高用量それぞれ1個体に有意かつ一過性の軽度の発現上昇を認めた。実験終了時採血ではこれらは検出感度以下に低下した。

<10>解剖・病理組織学的所見：

検索した全臓器において、肉眼的に異常は認められなかった。採取した諸臓器（脳、心臓、肺、胸腺、肝臓、脾臓、腎臓、膵臓、大腸、精巣、対側筋肉）に病理組織学的異常は認められなかった。注入側筋肉にはごく一部に慢性炎症細胞浸潤（リンパ球）を認めたが、筋肉細胞の壊死などの所見は認めなかった。

安全性に関する試験として、以上に加え、さらに以下の試験を外委託企業にて実施、全てを終了した。以下の試験では特に特筆すべき異常所見は得ていない（下記試験は全て添付資料として提出済み）。

- (1) 大腸菌 lacZ 遺伝子搭載 GMP 生産非伝播型センダイウイルスベクターによる GLP コンプレックス標準ラット急性毒性試験
(経筋肉：試験番号 NDL1006、経静脈：同 NDL1002、経気道：同 NDL1001)
- (2) 大腸菌 lacZ 遺伝子搭載 GMP 生産非伝播型センダイウイルスベクターによる GLP コンプレックス標準ラット生体内分布試験
(経筋肉：試験番号 NDL1021)
- (3) ヒト FGF-2 遺伝子搭載 GMP 生産非伝播型センダイウイルスベクターによる GLP コンプレックス標準ラット急性毒性試験
(経筋肉：試験番号 NDL1015、経静脈：同 NDL1016)
- (4) ヒト FGF-2 遺伝子搭載 GMP 生産非伝播型センダイウイルスベクターによる GLP コンプレックス標準サル生体内分布試験
(経筋肉：試験番号 NDL1019)

8. 遺伝子治療臨床研究が実施可能であると判断した理由

前臨床効能試験成績より考察すると、本臨床研究計画は既存の血管新生療法と比較してさらなる高い有効性が期待できる。ヒトに対し非病原性ウイルスをベクターの基本骨格として用いていること、ベクターゲノムが宿主染色体との相互作用をしないことなどから、発癌の可能性や子孫への影響に関する理論的危険性も低いと判断される。さらに各種安全性試験成績より、本研究計画で使用を想定している投与量であれば、免疫反応を含む生体への影響は比較的低いであろうと予測される。

既に本臨床研究に使用するベクターの GMP 生産と生産物の検定試験は終了しており、九州大学病院冠動脈疾患治療部内には既に遺伝子治療専用病室（遺伝子治療室）を設置している。さらに九州大学病院第2外科は、重症虚血肢に関する永年の豊富な診療経験と優れた診断技術・治療成績、経験豊富なスタッフを擁しており、本臨床研究の対象となる患者も多く診療している。

以上から本遺伝子治療臨床研究は実施可能であると判断する。

9. 遺伝子治療臨床研究の実施計画

(1) 遺伝子治療臨床研究を含む全体の治療計画

【本臨床研究の実施に際し設置される委員会】

本遺伝子治療臨床研究においては、選定患者の適応、臨床研究の安全性、そして臨床効果を客観的に判定するため、九州大学病院内に以下の2種の委員会を設置する。

これら2委員会は学内外の専門家から構成され、本臨床研究に関与する医師他は含まれず原則として委員会会議への参加も行わない。但し、有害事象発現時の状況の説明など、委員会が必要と認めた場合には、総括責任者を含め本臨床研究に関与する医師の参加を要請することができるが、判定など決定事項の合議の際には退席させる。また以下の各委員会の委員は、必要に応じて患者の容態の診察や診療録などの直接閲覧する権限を有する。また各委員会は必要に応じて委員以外の外部の専門家を招聘し、その意見を聴くことにより判定の参考にすることができる。

各委員会の運営については、別途作成した手順書（別紙1、2）に従って行う。

各委員会は、結果報告書ならびに参加委員全員の署名または記名捺印を受けた出席リストを添付した議事録を作成し、九州大学病院長へ提出する。九州大学病院長は委員会の結果を受けて通知書を作成し、委員会の記録の写しとともに、総括責任者に提出する。九州大学病院長はその写しを九州大学医学部倫理委員会および所轄官庁へ随時提出する。

・九州大学病院先進医療適応評価委員会（別紙1）:

【役割1】治療前適応評価

本臨床研究の候補として登録された患者の治療前検査が問題なく実施されたか検討する。治療前検査の実施に問題が無い場合、そのデータを参考に、患者の病状が選定基準に合致するか、そして除外項目に抵触しないかを検討することにより、本臨床研究の対象患者として適当か否かを判定する。

【役割2】ステージアップ適応評価

各ステージにおいて3名の投与が終了し、3例目の投与が終了して28日間までのデータを収集、ステージごとの安全性を判定し、次ステージへのdose upが適当か否かについて判定する。

【役割3】有害事象・重大事態等発生時の対応

有害事象・重大事態等の発現に際し、総括責任者ならびに分担研究者・その他の

協力者より状況の報告と臨床データの提示を求め、本臨床研究薬との因果関係、臨床研究の続行の可否について判定する。

【役割4】臨床研究全般の安全性評価総合判定

全12例の患者の投与が終了、全例で6ヶ月の観察期間を経た後、全例の転帰と臨床データを参考に、本臨床研究が安全であったか否かを総合的に判定する。

・ 効果判定委員会（別紙2）：

全12例の患者の投与が終了、全例で6ヶ月の観察期間を経た後、全例の転帰と臨床データを参考に、本臨床研究が有効であったか否かを総合的に判定する。

【本臨床研究の実施手順】

【患者選定、登録から治療前検査】

本遺伝子治療臨床研究の適応が予測される患者〔手術適応がなく、安静時疼痛あるいは虚血性潰瘍・壊死を有する患者：Fontaine分類IIIあるいはIV度（Rutherford慢性虚血肢重症度分類III度6群を除く）〕については、九州大学病院あるいは紹介病院において2週間の継続した薬物療法（血管拡張薬、抗血小板薬など、使用薬剤は個々の患者の症状による）を施行。症状に変化がない場合、九州大学病院にて患者ならびに家族（あるいは親族）に対し文書によるインフォームド・コンセント（第1回目）を行い、同意が得られた場合に限り、本臨床研究へエンロール（患者登録）し治療前検査を開始する。

【患者適応評価から治療実施】

治療前検査にて後述する選択基準に合致、さらに除外基準に抵触しないことが明らかになった場合、治療前検査データを基に九州大学病院内に設置する九州大学病院先進医療適応評価委員会にて適応を評価する。

九州大学病院先進医療適応評価委員会が本臨床研究の適応と判断された場合、九州大学病院にて患者ならびに家族（あるいは親族）に対し文書によるインフォームド・コンセント（第2回目）を行う。同意が得られた場合に限り、以下の方法によって治療を実施する。

- 1) 術前に腰椎硬膜外持続麻酔チューブを挿入し、前日よりソル・メドロール125mg、抗生物質を点滴静注する。以後3日間点滴を継続する。
- 2) 術当日、九州大学病院外来棟3階セルプロセッシングルームに-80℃にて凍結保管してある組換え非伝播型センダイウイルスベクター液を封入しているポリプロピレン製クリオチューブを同施設内安全キャビネット内へ移動、溶液を溶解する。最新の患者体重を参考に、生理食塩水にて最適に希釈する。
- 3) 希釈した組換え非伝播型センダイウイルスベクター液を専用のコンテナ内に厳重に封入して、保冷下で九州大学病院南棟3階冠動脈疾患治療部内遺伝子治療室へ搬入する。
- 4) 腰椎硬膜外持続麻酔下23ゲージ注射針にて下肢の一侧の大腿および下腿に計20-30ヶ所、組換え非伝播型センダイウイルスベクター液を注入する。注入部位は血管造影所見に基づき、概ねin flowが得られている動脈周辺より開始し、下大腿一足関節直上付近までに注入する。なお、ベクター液はベクター力価漸増式に4段階設定し、各ステージの安全性を注入後少なくとも28日目までのデータを基に九州大学病院先進医療適応評価委員会にて安全であることが確認できた後、次ステージを開始する。
- 5) 別紙6に掲げるタイムスケジュールで安全性の評価に関する検査（バイタルサイン、呼吸機能検査、腎機能検査、肝機能検査、一般血液・血清検査、尿検査、ベクターゲノム数測定、センダイウイルス価、センダイウイルス抗体価、血液中サイトカイン濃度、血管新生因子濃度など）を行う。
- 6) 同意の得られた患者から投与後2日目に筋生検により局所の組織細胞を採取しELISA法にて遺伝子から発現した蛋白の定量を行う。
- 7) 別紙6に掲げるタイムスケジュールで効果判定に関する検査（血管造影による側副血行路形成状態の観察、非侵襲的診断法など）を行い臨床症状や血流状態の経過を観察する。
- 8) 本臨床研究終了後、患者のフォローアップとして九州大学病院において投与後60ヶ月まで追跡調査を行う。

(2) 被験者の選定基準及び除外基準

選定基準：以下の条件を満たす患者を対象とする。

閉塞性動脈硬化症あるいは閉塞性血栓性血管炎〔Fontaine III 度あるいは IV 度（Rutherford 慢性虚血肢重症度分類 III 度 6 群を除く）〕患者で、人工血管あるいは自家静脈グラフトによる大腿動脈以下の血行再建術の適応がなく、2 週間の継続した薬物療法で症状の改善が見られない患者、かつ 40 歳以上の症例。

選定根拠：

①適応疾患：閉塞性動脈硬化症、閉塞性血栓性血管炎（バージャー病）

Fontaine III 度～IV 度は他に確立された治療法がなく、またこれまでの国内外の成績から血管新生療法の効果が期待できる。ただし、Fontaine IV 度であっても広範な組織喪失がみられ、本治療が適用されないと考えられる Rutherford 慢性虚血肢重症度分類 III 度 6 群を除くこととした。

②性別：男性及び女性（妊娠中及び妊娠の可能性のある女性は除く）

性別による血管新生療法の効果の差異は報告されていないが、遺伝子治療は子孫への影響と安全性が確立していないため、妊娠中及び妊娠が疑われる女性は除く（除外項目 13）。

③年齢：40 歳以上

遺伝子治療は子孫への影響と安全性が確立していないため予期せぬ副作用を起こす可能性がある 40 歳未満の若年者は除く。

④対象：大腿動脈以下の血行再建術の適応がなく、2 週間の継続した薬物療法で症状の改善が見られない患者

遺伝子治療の性質に鑑み、代替医療が無く、かつ厚生労働省、文部科学省のガイドラインを満たす患者を選定する。

候補対象患者は治療前検査データを基に九州大学病院内に設置する九州大学病院先進医療適応評価委員会にて適応を評価する。

除外項目：

以下に適合する患者は今回の臨床研究の対象としない。

- 1) 重篤なアレルギーを有する、あるいは既往のある患者
- 2) 術前に担癌状態が証明されている、あるいは疑われる患者
- 3) 糖尿病性網膜症患者
- 4) 慢性人工透析を受けている患者
- 5) 重症の心機能障害、心不全を有する患者（例：左室駆出率<40%など）
- 6) 重篤な肝機能障害、肝硬変を有する患者
（例：AST>50U/L、ALT>50U/L、ICG 15 分値 20%以上など）
- 7) 腎機能障害を有する患者（例：血清 Cr>2.0mg/dl、CCr<40ml/min）
- 8) 活動性の炎症性疾患（活動期の膠原病、慢性関節リウマチ、潰瘍性大腸炎、敗血症など）を有する患者
- 9) 過去 5 年以内に悪性腫瘍の摘出手術を受けた患者
- 10) 最近 6 ヶ月以内に脳出血、脳梗塞などの既往のある患者
- 11) 血液疾患を有する患者（例：重度の貧血 Hb<10g/dl、白血病、再生不良性貧血など）
- 12) アルコール依存、薬物依存症患者
- 13) 妊娠中の女性、あるいは妊娠が疑われる女性患者
- 14) その他、本臨床研究により不利益を受けると予測される患者、および本人ならびに家族（あるいは親族）の文書による同意が得られない患者など、九州大学病院先進医療適応評価委員会が不適当と見なした患者

（注 1）高率に腎機能障害など生命維持に関わる臓器障害を持つ症例が多い糖尿病性壊疽の患者は本臨床研究から除外する。但し他臓器合併症を持たずインスリンなどで良好にコントロールされている症例

は、本臨床研究計画の対象とする。

(注2) 項目8)において、感染が潰瘍部に限局している場合、また下肢に広範囲の感染を認めるものの、抗生剤投与などにより感染がコントロールでき、さらに本人および家族(あるいは親族)に臨床研究参加の強い要望がある場合、感染拡大の危険性について十分なインフォームド・コンセントを行った上で、厳重な管理のもとで本研究の対象とする。

＜患者選定に必要な検査項目(治療前4日までに施行)＞

1) 外表所見:

虚血性潰瘍は写真撮影する。部位・深さ・壊死の形状を記録する。

潰瘍の大きさは、(長径)×(短径)で評価する。なお、趾間などの測定不能部位では、表面積を概算する。潰瘍の深さは下記の基準でスコア化する。

1＝表在欠損；2＝皮下組織に達する；3＝腱もしくは骨の露出；

4＝腱もしくは骨の壊死

注) 虚血性潰瘍を有する患者は、潰瘍部のぬぐい液を用いた細菌感染の有無の確認、さらに潰瘍部に細菌感染が検出された場合は血液培養を実施し全身性炎症性疾患の有無を確認する。

2) 現病歴・既往歴の問診:

特に以下の項目について、十分な問診を行う。

- (1) アレルギー歴(例:喘息重積発作やアナフィラキシーなどの既往の有無)
- (2) 手術歴(例:悪性腫瘍の摘出手術の有無)
- (3) 既往歴(例:心不全、脳梗塞、血液疾患などの既往の有無)
- (4) 常用薬(例:向精神薬などの常習性の有無)
- (5) 喫煙歴
- (6) 併存疾患

3) 病状に対する検査

以下の検査を、確定診断と臨床病期確定のために行う。

- (1) 仰臥位でのABPI(ankle-brachial pressure index)
(足関節以下の閉塞などの場合、必ずしもABPIの低下は見られない患者も存在することが想定されることから、本検査の結果は参考として取り扱い、患者選定の条件とはしない)
- (2) 仰臥位でのTPI(toe pressure index)
- (3) 仰臥位でのAP(ankle pressure)
- (4) PVR(趾尖脈波)
- (5) サーモグラフィー
- (6) レーザードップラー血流測定
- (7) 血管造影(IA-DSA)
- (8) 疼痛の程度(問診)
- (9) QOL調査
- (10) トレッドミル運動負荷試験(可能な場合)

4) 全身状態検索のための検査

(1) バイタルサイン:

体重、体温、血圧(収縮期/拡張期)、脈拍

(2) 呼吸機能検査:

胸部X線(正、横)、生理機能(肺活量、1秒率)

(3) 心機能検査:

12誘導心電図、心エコー(左室駆出率、壁運動等)、
ジピリダモール負荷心筋シンチグラム

(4) 腎機能検査:

BUN、クレアチニン、クレアチニンクリアランス、尿蛋白、尿潜血

(5) 肝機能検査:

アルブミン、総ビリルビン、直接ビリルビン、AST、ALT、アルカリフォスファターゼ、LDH、γ-GTP、ICG15分値
肝炎ウイルス検査(HBs抗原、HCV抗体)

(6) 血液・凝固系:

赤血球数、ヘモグロビン、ヘマトクリット、白血球数、白血球分画、
血小板数、血小板凝集能、PT、APTT、FDP、プラスミノーゲンアクチベ-
ーター、アンチトロンビン III、プロテイン C 活性、プロテイン S 活性、
フィブリノーゲン

(7) 筋融解・炎症マーカー:

CPK、CPK アイソザイム、CRP

(8) 糖尿病関連検査

空腹時血糖、HbA1c、眼底検査

(9) 血液電解質:

Na、K、Cl、Ca

(10) 悪性腫瘍スクリーニング検査

a) 全身 PET

b) 頭部・胸部・腹部 CT

c) 血清 PSA-ACT (男性のみ)

d) 便潜血

e) 直腸診

f) 上部消化管内視鏡

g) 子宮頸部細胞診 (女性のみ)

(11) 妊娠検査 (女性のみ)

尿中 HCG

(12) HIV 否定検査

なお被験者の負担軽減のため、除外項目判定のための以下の検査については、同意日以前3ヶ月以内に実施された検査結果を用いることができることとする。九州大学病院以外の施設で実施された検査については、撮影フィルムおよび検査報告書のコピーを入手し、カルテ並びに臨床研究記録に保存するものとする。

(1) 全身 PET

(2) 頭部・胸部・腹部 CT

(3) 眼底検査

(4) 上部消化管内視鏡

(5) ジピリダモール負荷心筋シンチ

(6) クレアチニン・クリアランス

(7) ICG15 分値

(8) 子宮頸部細胞診

(3) 被験者の同意の取得方法

下肢虚血性疾患の病態と重症虚血状態が従来の治療法に対し抵抗性であること、本臨床研究の理論的背景と動物実験成績、安全性に関する成績に関して十分な説明を被験者及び家族 (あるいは親族) に対して行い、十分な理解を得た上で自由な意思によって本臨床研究の被験者となることについて文書により同意を得る。

同意の取得は患者登録時、および全身検索が終了し、九州大学病院先進医療適応評価委員会が適応有と判定した後の、計2度行う。

また、同意に関連し得る新たな重要な情報を入手した場合は、その情報を被験者及び家族 (あるいは親族) に伝え、継続して参加するか否かについて被験者の意思を確認する。

(4) 実施期間及び目標症例数

研究実施期間 承認時より36ヶ月

各症例の研究実施期間: 遺伝子導入後6ヶ月

(本臨床研究の効能・安全性は全症例への投与終了後、6ヶ月の観察を以て判定される)

追跡調査期間: 遺伝子導入後60ヶ月

(本臨床研究は上記のごとく全症例への投与終了後6ヶ月のデータにて判定される。しかしながら、本臨床研究において使用される組換えセンドライウィルスベクターの人体への投与は世界で初めてであることを

鑑み、本臨床研究が終了しても、九州大学病院における患者のフォローアップでは、投与終了後60ヶ月まで観察を行う)
 目標症例数 12例 (3例 x 4用量)

(5) 遺伝子治療臨床研究の実施方法

① 対照群の設定方法

本研究計画に用いるベクターは世界的に使用例がないことを鑑み、安全性の検定を主眼とした最大使用量までの4段階の用量漸増式とし、対照群はおかない。

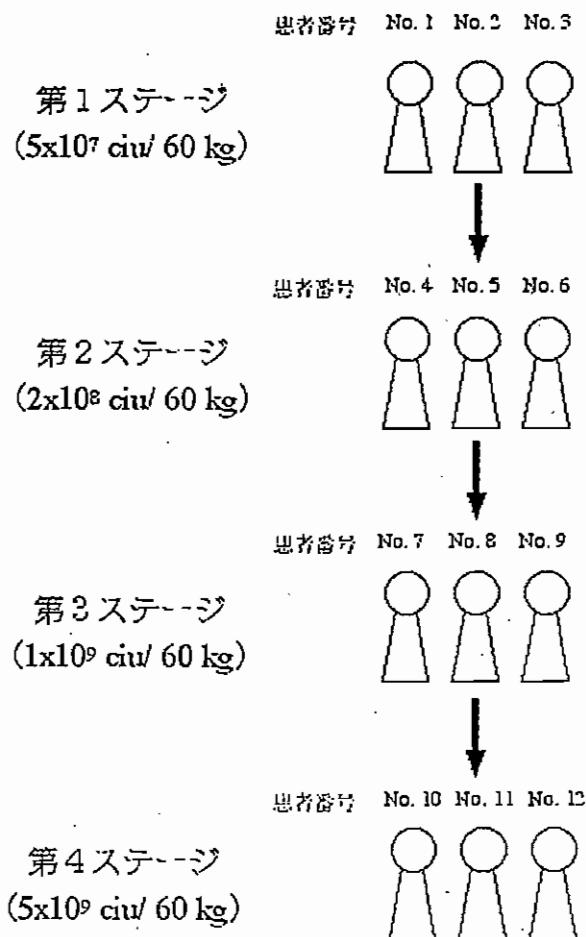
本臨床研究にて安全性が証明された場合に限り、別途対照群を設定した効果判定試験の申請を行う。

第I & IIa 相 臨床研究実施方法

用量漸増式安全性・効果判定試験

対象患者数 計12名

(ciu=活性組換えウイルス粒子数)



各ステージにおいて3名の患者への投与が終了し、最後の患者への投与から28日以上を経過した時点で、九州大学病院内に設置され、院内外の委員からなる九州大学病院先進医療適応評価委員会を開催、3名の患者の28日までの全ての臨床データをもとに安全性(急性期)を評価する。本委員会で安全性に問題がないと判断された場合、総括責任者は本委員会の結果報告書ならびに参加委員全員の署名又は記名捺印を受けた出席リストを添付した議事録および通知書の送付を受けて、次ステージの症例エントリーを開始する。

② 遺伝子導入方法

下肢の一方に術前血管造影所見をもとに、20-30カ所をマーキングし、それぞれの部位にベクター液を虚血筋肉内に注入する。投与部位は平均20-30カ所を想定しているが（浅大腿動脈一下腿3分枝を標準に想定）、下腿3分枝以下の閉塞症例も頻繁に見られるなど、症例により注入すべき範囲の個体差が大きいため、血管造影所見を参考に、1症例当たりのベクター力価総量と1カ所当たりの投与量（0.5 mlとする）を一定とし、ベクター液の総投与容量は症例ごとに適宜増減する。

注入操作に関わる疼痛などの苦痛を避けるため、術前日に硬膜外麻酔チューブを挿入し、持続麻酔を行う。

③ 前処置及び併用療法の有無

本臨床研究の対象は既存の外科手術を含めた治療法が無効であることが自明である患者のみとする。

被験者の不利益を最小限にすること、本臨床研究が安全性評価を主眼にすることを考慮し、併用薬剤に関しては抗ウイルス剤を除き、特に制限しない。

抗ウイルス剤は患者登録から投与後28日後の検査終了後まで有害事象の処置を除き使用しない。

併用薬剤には以下のものが挙げられるが、これに限るものではない。

- 1) 亜硝酸剤
- 2) 降圧剤
- 3) 血小板機能抑制剤
- 4) 抗凝固剤、血栓溶解剤
- 5) 血管拡張剤
- 6) 消炎鎮痛剤、消炎酵素剤
- 7) ステロイド
- 8) 抗生物質
- 9) 抗高脂血症剤
- 10) 蛋白分解酵素阻害剤
- 11) 抗アレルギー剤、抗ヒスタミン剤
- 12) その他

被験者には、ベクター投与後6ヶ月の避妊をするよう指導する。

④ 臨床検査項目及び観察項目

本臨床研究における安全性の判定、有害事象の予見、効果の判定のために、以下の各種検査を実施する。なお検査実施時期については、別紙6に記載する。

但し、病状によっては設定した時期以外にも実施されることがある。

＜効果判定に関する検査＞

1) 外表所見：

虚血性潰瘍は写真撮影する。部位・深さ・壊死の形状を記録する。

潰瘍の大きさは、(長径)×(短径)で評価する。なお、趾間などの測定不能部位では、表面積を概算する。潰瘍の深さは下記の基準でスコア化する。

1＝表在欠損；2＝皮下組織に達する；3＝腱もしくは骨の露出；

4＝腱もしくは骨の壊死

2) 病状に対する検査

以下の検査を、効果判定の参考のために、予め設定した時期に実施する。

但し、病状によっては設定した時期以外にも実施されることがある。

- (1) 仰臥位での ABPI (ankle-brachial pressure index)
- (2) 仰臥位での TPI (toe pressure index)
- (3) PVR (趾尖脈波)
- (4) 仰臥位での AP (ankle pressure)
- (5) サーモグラフィー
- (6) レーザードップラー血流測定
- (7) 血管造影 (IA-DSA)
- (8) 疼痛の程度 (問診)
- (9) QOL 調査^{※)}
- (10) トレッドミル運動負荷試験 (可能な場合)

注) QOL は NPO 健康医療評価研究機構の発行する SF-36 v2 (MOS Short-Form 36-Item Health Survey: 振り返り期間過去 1 ヶ月、既に日本語版の標準化が終了しているもの) により、(1)身体機能、(2)日常役割機能 (身体)、(3)日常役割機能 (精神)、(4)全体的健康感、(5)社会生活機能、(6)体の痛み、(7)活力、(8)心の健康、の計 8 項目について評価する。

<安全性評価のための検査>

- (1) 症状に関する問診:
アレルギーの有無 (例: 発疹、呼吸困難感) など
- (2) バイタルサイン:
体重、体温、血圧 (収縮期/拡張期)、脈拍
- (3) 呼吸機能検査:
胸部 X 線 (正、横)
- (4) 腎機能検査:
BUN、クレアチニン、尿蛋白、尿潜血、
- (5) 肝機能検査:
アルブミン、免疫グロブリン (IgG、IgA、IgM、IgD、IgE)、総ビリルビン、直接ビリルビン、AST、ALT、アルカリフォスファターゼ、LDH、 γ -GTP
- (6) 血液・凝固系:
赤血球数、ヘモグロビン、ヘマトクリット、白血球数、白血球分画、
血小板数、血小板凝集能、
PT、APTT、FDP、プラスミノーゲンアクチベーター、
アンチトロンビン III、プロテイン C 活性、プロテイン S 活性、
フィブリノーゲン
- (7) 筋融解・炎症マーカー:
CPK、CPK アイソザイム、CRP
- (8) 糖尿病関連検査
眼底検査
- (9) 血液電解質:
Na、K、Cl、Ca
- (10) 悪性腫瘍スクリーニング検査
 - a) 頭部・胸部・腹部 CT
 - b) 血清 PSA-ACT (男性のみ)
 - c) 便潜血
 - d) 直腸診
 - e) 上部消化管内視鏡
 - f) 子宮頸部細胞診 (女性のみ)
- (11) 妊娠検査 (女性のみ、必要な場合)
尿中 HCG
- (12) 血清サイトカイン定量 (ELISA 法)
IL-1 β 、IL-4、IL-6、IL-8、TNF- α 、IFN- γ
- (13) SeV/dF-hFGF2 ゲノムコピー数測定 (定量的 taqman-PCR 法)
全血中 SeV/dF-hFGF2 ゲノムコピー数、尿中 SeV/dF-hFGF2 ゲノムコピー数
- (14) センダイウイルス価 (トリ血球凝集法)
全血中センダイウイルス価、尿中センダイウイルス価
- (15) 血清中抗センダイウイルス抗体価 (ELISA 法)
- (16) 血中血管新生因子蛋白量定量 (ELISA 法)
ヒト FGF-2 (血清、血漿)、ヒト HGF (血清、血漿)、
ヒト VEGF (血清、血漿)
- (17) 筋生検 (ガンバイオプシーによる: 同意が取れた患者のみ)
ヒト FGF-2 蛋白測定 (ELISA 法)
- (18) 病理解剖
遺伝子導入後の死亡例で、家族あるいは親族の承諾が取れた症例全てにおいて病理解剖を行う。通常の全身解剖に加え、下肢遺伝子導入部位を一部摘出し、定量 PCR 法による SeV/dF-hFGF2 ゲノムコピー数の定量、FGF-2 濃度の測定、ならびに病理組織学的検討を行う。

有害事象

定義：本治療が実施された被験者に生じたあらゆる好ましくない医療上のできごと。必ずしも本治療との因果関係が明らかなもののみを示すものではない。つまり有害事象とは、本治療に際して起こる、あらゆる好ましくない、あるいは意図しない徴候（臨床検査値の異常変動を含む）、症状、又は病気のことであり、当該治療との因果関係の有無は問わない。本治療との因果関係が否定できないものを副作用とする。

記録・報告内容：

上記安全性評価のための検査において有害事象が認められた場合は、以下の細目について症例記録用紙に記録する。

a) 有害事象の症状の詳細と、その前後の状況

b) 有害事象の重症度（程度）

有害事象の重症度を下記の3段階で判定し、記録する。

1：軽度（通常の活動に支障なし）

2：中等度（通常の活動に支障となる）

3：高度（通常の活動を不可能にする）

なお、通常の活動を可能とするために、何らかの治療・処置が必要となる有害事象の場合は、中等度あるいは高度と判定する。

c) 発現日

有害事象の発現日（または確認日）を記録する。

d) 処置

有害事象に対して行われた処置について記録する。

e) 転帰

有害事象の転帰について下記の基準により判断し、記録する。

転帰を確認した日付も同時に記録する。

1：後遺症あり：有害事象により後遺症が残った

2：未回復：有害事象が回復していない

3：軽快：有害事象の程度が発現当時と比較して軽快している

4：回復：発現した有害事象が消失した

5：死亡

6：不明

f) 併用薬および臨床研究薬以外の被疑薬の有無

有害事象発生前後の併用薬の投薬状況について、全て記録する。併用薬の中に有害事象との関連が疑われるものがある場合は、その旨、ならびにその根拠について略述する。

有害事象と臨床研究薬の関連性の判定は、以上の臨床的所見ならびに診療録（併用薬、併用療法、合併症、患者背景）などを総合的に考慮し、九州大学病院先進医療適応評価委員会は以下の4段階で判定する。本委員会の結果報告書ならびに参加委員全員の署名または記名捺印を受けた出席リストを添付した議事録を作成し、九州大学病院長へ提出する。九州大学病院長は委員会の結果を受けて通知書を作成し、委員会の記録の写しとともに、総括責任者に提出する。またその写しを九州大学医学部倫理委員会および所轄官庁へ提出する。

関連性の4段階評価：

1：明確にあり

臨床研究薬を投与した後、一定期間内に発現した事象であり、他の要因（原疾患、環境因子、他の薬剤や治療など）との関連性が否定され、投薬中止により症状が消失した場合。

2：多分にあり

臨床研究薬を投与した後、一定期間内に発現した事象であり、他の要因（原疾患、環境因子、他の薬剤や治療など）との関連性がおそらくないと考えられ、投薬中止により症状が消失した場合。

3：可能性を否定できない

臨床研究薬を投与した後、一定期間内に発現した事象であり、臨床研究薬と有害事象が関連する可能性があるが、他の要因（原疾患、環境因子、他の薬剤や治療など）と

の関連性も否定できない場合。

4. 関連無し

明らかに臨床研究薬との関連性が否定でき、かつ明らかに他の要因（原疾患、環境因子、他の薬剤や治療など）との関連性がある場合。あるいは臨床研究薬を投与した後、一定期間外に発現した事象であり（投与してから有害事象が起こるまでの期間が明らかに短すぎる、もしくは長すぎる）、かつ明らかに他の要因（原疾患、環境因子、他の薬剤や治療など）との関連性がある場合。

⑤ 予想される副作用及びその対処方法

A. 本臨床研究において、特有に見られる可能性がある副作用

(a) 筋肉内注射の操作に伴う、可能性がある副作用

(1) 一般的事項（投与部位の痛み・腫脹）

→（対処法）非ステロイド系消炎・鎮痛剤の投与

(2) 感染の拡大

→（対処法）虚血性潰瘍を有する患者は、潰瘍部に細菌感染を認める症例が多く、注射を契機に感染が拡大する可能性が否定できない。このため潰瘍部に細菌感染が検出された場合は血液細菌培養を実施し、陽性症例の場合は除外項目8（活動性炎症性疾患）に該当するため、本臨床研究より除外する。血液細菌培養が陰性の場合、感染拡大に関するインフォームド・コンセントを特に厳重に行い、同意が得られた場合は検出細菌に対し感受性のある抗生物質の予防投与を行いつつ、慎重に臨床研究を実施する。

(b) ベクター（非伝播型組換えセンダイウイルス）に関して起こりえる副作用

本ベクターは細胞へ遺伝子を導入した後、細胞質で転写を行い、DNAへ変換されないため、ベクターによる悪性腫瘍の発生など、患者の遺伝情報をかく乱する理論的危険性はないと考えられる。一方で他のウイルスベクターで報告されているのと同様、生体へ投与された後、自然免疫系の賦活化による炎症性サイトカインの誘導、獲得免疫の誘導による抗体産生と細胞障害性T細胞の誘導がマウス、サルなどで確認されており、これらが患者の病状へ悪影響を及ぼす可能性は否定できない。

→（対処法）血清中サイトカイン、血中抗センダイウイルス抗体価、血中・尿中センダイウイルスゲノムコピー数、血中・尿中センダイウイルス価を予め設定した時期（別紙6）に厳密に測定し、患者への悪影響を及ぼす危険性の予見を行う。特に自然免疫系の賦活化による高サイトカイン血症を予防する目的で、投与前後にはソル・メドロール 125 mg/day の点滴を行う（投与前日より3日間）。

組換えウイルス抗原やその遺伝子産物に対する過剰な免疫反応などには、センダイウイルス排除に有効であることが示されている薬剤（リバビリン：商品名レベトール、Chemotherapy 1975）の投与（1日 600mg～800mg を1日2回に分けて連日朝夕食後経口投与する。体重 60kg 以下の場合は1日 600mg、また体重 60kg を超える場合は1日 800mg。なお、投与量を1日 600mg とする場合は朝食後 200mg、夕食後 400mg を経口投与）と共に、アレルギー反応に対する適切な処置を行う。

(c) 血管新生因子（ヒト FGF-2）の過剰発現に伴い、予想される副作用

(1) 血管腫：

血管新生因子の過剰発現は、時に生体（投与部位局所）に血管腫を発生することが知られており、これは特に VEGF において我々の施設を含む複数の研究グループより報告されている（15～18）。SeV/dF-hFGF2 による FGF-2 過剰発現においては、このような病変は認められておらず、また FGF-2 のトランスジェニックマウスにおいても、このような血管系の異常は認められていない（30）。以上から、本臨床研究において血管腫を形成する危険性は低いであろうと考えられる。

→（対処法）仮に血管腫が発生しても良性病変であり、治療を行わなかった場合は下肢切断を余儀なくされることから、利益がリスクを上回ると考えられる。

(2) 悪性腫瘍（潜在癌）の増大：

FGF-2 に限らず、血管新生因子の発現は悪性腫瘍の増殖を促進することが知られている。従って詳細な全身検索（全身 CT、PET、その他）により悪性腫瘍の存在を否定するよう試みるが、各種検査の検出感度には限界があるため、潜在癌の存在が見落とされる可能性は否定できない。但しマウス、サルにおける試験成績では、下肢骨格筋に SeV/dF-hFGF2 に

よりヒト FGF-2 を過剰に発現させても、血液中に FGF-2 の発現は検出されていない（測定感度 5pg/ml 以下）。特にマウスの試験では、筋肉局所濃度が内因性 FGF-2 の 300 倍程度まで発現させても血中での FGF-2 は検出されなかったことから、FGF-2 の生物学的特性と合わせて考察するに、細胞外マトリックスに結合して投与部位近傍に留まっているものと類推される。

一方で、FGF-2 の過剰発現は内因性の HGF 及び VEGF の発現を強力に誘導することから、これらの因子を介して潜在癌の増殖促進へ関与する可能性もまた否定できない。

また SeV/dF-hFGF2 そのものが血流を介して他臓器へ散布され、FGF-2 を産生することで潜在癌の増殖を促進する危険性も否定できないが、センダイウイルスベクターは血中で速やかに不活化されること、サルによる安全性試験成績で血中、尿中へのベクターの漏出は検出できていないことから、可能性は低いと考えられる。

→（対処法）治療前に徹底した悪性腫瘍の全身検索を行い、治療後も定期的にフォローする。血中血管新生因子（FGF-2、HGF、VEGF）、血中・尿中センダイウイルスベクターゲノムコピー数、センダイウイルス価を測定し、危険性について詳細にモニターする。

（3）糖尿病性網膜症の増悪：

（2）悪性腫瘍（潜在癌）の増大、と同じ理由から、糖尿病性網膜症を悪化させる可能性が否定できない。

→（対処法）糖尿病性網膜症の患者は、本臨床研究から除外する。これは治療前評価段階において、眼科専門医による眼底検査によってスクリーニングされる。

（4）動脈硬化の進展促進と粥腫破綻（plaque rupture）の可能性：

血管新生因子は動脈硬化を促進する可能性があることが指摘されている。特に VEGF の場合、血中に低用量投与されても動脈硬化の程度を顕著に促進することが動物モデルにおいて明らかにされている（47, 48）。またヒトにおいても、頸動脈の動脈硬化の程度は血中 VEGF 濃度に相関することが報告されている（49）。

FGF ファミリーでは、酸性 FGF（aFGF/FGF-1）は動脈硬化の程度と関連するとされる報告があるものの、同報告では FGF-2 の関与は認められないとしている（50）。しかしながら FGF-2 の過剰発現に伴う HGF、VEGF の間接的誘導による動脈硬化の進展の可能性については否定はできない。

→（対処法）血中血管新生因子（FGF-2、HGF、VEGF）の推移を詳細にモニターする。

B. これまでの国内外の報告から、遺伝子治療一般に比較的良好に見られる軽い副作用
対処法は定型的なものを記載するが、これに限るものではない。

1）感冒様症状（発熱、鼻水、など）

→（対処法）消炎鎮痛剤、消炎酵素剤、抗生物質、抗アレルギー剤、抗ヒスタミン剤などの投与

2）消化器症状（下痢、吐き気など）

→（対処法）症状に合わせた薬剤の投与

3）軽いアレルギー性反応（発疹など）

→（対処法）抗アレルギー剤、抗ヒスタミン剤、ステロイドなどの投与

4）軽度の白血球減少

→（対処法）原則的に経過観察

C. これまでの国内外の報告から、まれではあるが遺伝子治療に見られた比較的に強いと考えられる副作用。対処法は定型的なものを記載するが、これに限るものではない。

1）腎機能障害

→（対処法）試験中止、抗ウイルス薬、輸液、利尿剤などの投与

2）骨髄抑制（高度の貧血、高度の白血球減少など）

→（対処法）試験中止、抗ウイルス薬、G-CSF 投与、輸血

3）重度のアレルギー症状（喘息発作、ショック）

→（対処法）試験中止、ステロイド投与

4）血液凝固障害（出血傾向、血栓症など） など

→ (対処法) 試験中止、蛋白分解酵素阻害剤、血栓溶解剤投与など

D. その他、本臨床研究の実施における、評価等の検査に付随して起こりえる副作用
通常の検査・処置と同様に、十分なインフォームドコンセントを行う。

- 1) 硬膜外麻酔：出血、低血圧、麻酔薬に対するショックなど。
- 2) 血管造影：動脈穿孔、動脈解離、出血、感染、血栓性閉塞、造影剤に対するショックなど。

E. 有害事象等重大事態発生時の報告等について：

- 1) 重大事態等：下記のいずれかに該当する場合は、「重大事態等」として取り扱う。
 - (1) 被験者が死亡した場合
 - (2) 重篤^註な副作用が発生した場合
 - (3) 本臨床研究の実施に影響を及ぼす可能性のある知見（国内外を問わない）を入手した場合

注) 重篤の定義

- (1) 死亡
 - (2) 死亡につながる恐れのある事象
 - (3) 入院または入院期間の延長が必要とされる事象
 - (4) 永続的もしくは重大な機能障害・機能不全を呈した事象
 - (5) 先天異常・出生異常
 - (6) その他医学的に重要な事象
- 「死亡」、「死亡につながる恐れ」または「入院」には至らなくとも、被験者を危険にさらしたり、上記のような結果に至らぬように内科的または外科的処置を必要とした場合には、適切な医学的判断に基づいて、重篤な事象と判断する。

1) 重大事態発生時の対応・報告手順（別紙4）

(1) 報告手順：重大事態の場合、別紙1の委員会の規定、内規及び、別紙4の重大事態発生時の流れに従い九州大学病院長、九州大学病院先進医療評価委員会、九州大学医学部倫理委員会、臨床研究センターならびに所轄官庁へ速やかな報告を行う。この時の重篤な副作用の本臨床研究との関連性については、総括責任者の判断とする。

(2) 記録・報告内容：総括責任者と実施担当医師は、重大事態報告書（様式A-2又はA-3）を用いて報告を行い、同一のものをカルテに添付する。

2) 重大事態でない有害事象の対応・報告手順（別紙5）

重大な事態でない有害事象は、次ステージへの移行時、必要時、及び総合的判定時実施された九州大学病院先進医療適応評価委員会で判定される。委員会は結果報告書ならびに参加委員全員の署名または記名捺印を受けた出席リストを添付した議事録を作成し、九州大学病院長へ提出する。九州大学病院長は本委員会の結果を受けて通知書を作成し、委員会の記録の写しとともに、総括責任者に提出する。またその写しを九州大学医学部倫理委員会および所轄官庁へ報告する。

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

以下の各項目について集計し、本臨床研究の安全性については九州大学病院先進医療適応評価委員会が、本臨床研究の臨床的効果については効果判定委員会が総合的判定を行う。

判定時期は全症例の投与が終了し、全症例の観察期間が6ヶ月を終了、6ヶ月目までの観察データ全ての仮登録が終了した時点で総括責任者が九州大学病院長ならびに九州大学病院先進医療適応評価委員会及び効果判定委員会へ判定依頼を行う。依頼を受けた九州大学病院先進医療適応評価委員会ならびに効果判定委員会は判定作業を行う。判定作業終了後、各委員会は判定結果について、結果報告書ならびに参加委員全員の署名または記名捺印を受けた出席リストを添付した議事録を作成し、九州大学病院長へ提出する。九州大学病院長はその結果を受けて通知書を作成し、委員会の記録の写しとともに、総括責任者に提出する。またその写しを九州大学医学部倫理委員会および所轄官庁へ提出する。

安全性・効果に関する観察・検査項目日程の詳細は別紙6の通りである。

なお、本臨床研究の安全性・効果判定は投与後6ヶ月までのものを使用するが、本研究で用いるウィルスベクターが世界で初めてのヒトへの投与となることを鑑み、臨床研究終了後も投与後60ヶ月まで九州大学病院第2外科外来にてフォローアップを行う。

A. 効果に関する判定に必要な検査項目（別紙6）

- (1) 主観的評価：痛みや入院・日常生活における自由度を被験者に点数化させ、QOLを評価する。(SF-36 version 2: スタンダードによる)。

(参考文献：詳細はNPO法人健康医療評価研究機構：http://www.sf-36.jp/を参照)

鈴嶋よしみ、福原俊一. SF-36 (MOS Short Form 36-item Health Survey) 日本語版. 漆崎一朗監修 新QOL調査書と評価の手引き、メディカルレビュー社、東京、2001

- (2) 客観的評価：以下の項目に対し評価を行なう。

判定は「The Journal of Vascular Surgery：虚血肢取扱い基準（改訂版）：著作権取得1999年8月」をもとに行う（表1および2）。以下の評価項目について、必須項目はa-eの5種類の検査であり、f-jについては参考データとする。

- a) 潰瘍の大きさ：虚血性潰瘍は写真撮影する。部位・深さ・壊死の形状を記録する。

潰瘍の大きさは、(長径) x (短径) で評価する。

なお、趾間などの測定不能部位では、表面積を概算する。

潰瘍の深さは下記の基準でスコア化する。

1 = 表在欠損；2 = 皮下組織に達する；

3 = 腱もしくは骨の露出；4 = 腱もしくは骨の壊死

- b) 仰臥位でのABPI (ankle-brachial pressure index)

- c) 仰臥位でのTPI (toe pressure index)

- d) 仰臥位でのAP (ankle pressure)

- e) PVR (趾尖容積脈波)

- f) サーモグラフィー

- g) レーザードップラー血流測定

- h) 血管造影 (IA-DSA)

- i) 疼痛の程度 (問診)

- j) トレッドミル運動負荷試験 (可能な場合)

表1：慢性虚血肢の臨床病期分類 (Fontaine分類とRutherford分類)

Fontaine 度	Rutherford 度	群	臨床的定義	客観的基準
I	0	0	無症状-循環動態から見て 有意な閉塞病変なし	トレッドミル運動負荷試験、反応性充血試験正常
		1	軽度跛行	トレッドミル運動負荷試験終了可、運動後の足関節圧 (AP)>50 mmHg、しかし安静時に対し最低20 mmHg 下降
II	I	2	中等度跛行	1群と3群の中間
		3	高度跛行	標準的トレッドミル運動負荷試験終了不能、および 運動後 AP<50 mmHg
III	II	4	虚血性安静時痛	安静時 AP<40 mmHg、足関節あるいは中足骨 PVR の 平坦化あるいは波高の激減；足趾血圧(TP)<30 mmHg
IV	III	5	軽度組織喪失-非治癒性潰瘍、 広範足趾虚血を伴う 限局性壊疽	安静時 AP<60 mmHg、足関節あるいは中足骨 PVR の 平坦化あるいは波高の激減；足趾血圧(TP)<40 mmHg
		6	広範な組織喪失-中足骨より 高位に拡大、もはや機能的 足部リムサルベージ不 可能	5群に同じ

* 網掛け部分：本臨床研究の対象となる臨床病期

表2：臨床状態の変化についての段階表

指数	解釈	評価基準
+3	著明改善	虚血症状なく、足部病変は完全治癒、 上肢/下肢血圧比 ABPI は正常化 (0.90 以上)
+2	改善	足部病変はないが運動時に症状あり、表1の少なくとも1群改善、 ABPI は正常ではないが、0.10 以上は上昇
+1	やや改善	ABPI は 0.10 以上改善するも、表1の群の改善はない、または、 逆に ABPI 0.10 以上の改善はないが、群が改善
0	無変化	群の変化なく ABPI 0.10 未満の上昇
-1	やや悪化	群は下がらないが、ABPI 0.10 以上の減少、または、群は下がったが ABPI 0.10 未満の減少
-2	悪化	群は一つ下がったか、小切断が必要となった場合
-3	著明悪化	群1以上の悪化か、大切断が必要となった場合

(注) 上記は主に閉塞性動脈硬化症によく適応される場合が多いが、閉塞性血栓性血管炎（バージャー病）の場合、上述の定量的評価方法のみでは十分に評価できないことがある。従ってこの場合は冷感や安静時疼痛の変化、潰瘍の大きさ、その他臨床所見の変化を総合的に判断し評価する。

B. 安全性に関する判定に必要な検査項目（別紙6）

- 1) 有害事象
- 2) 臨床症状：アレルギー（発疹、呼吸困難など）などの発現の有無など。
- 3) バイタルサイン：体重、体温、血圧、脈拍
- 4) 各種検査
 - (1) 呼吸機能検査：
 - 胸部 X 線（正、横）
 - (2) 腎機能検査：
 - BUN、クレアチニン、尿蛋白、尿潜血
 - (3) 肝機能検査：
 - アルブミン、免疫グロブリン（IgG、IgA、IgM、IgD、IgE）、総ビリルビン、直接ビリルビン、AST、ALT、アルカリフォスファターゼ、LDH、 γ -GTP
 - (4) 血液・凝固系：
 - 赤血球数、ヘモグロビン、ヘマトクリット、白血球数、白血球分画、血小板数、血小板凝集能、PT、APTT、FDP、プラスミノゲンアクチベーター、アンチトロンビン III、プロテイン C 活性、プロテイン S 活性、フィブリノーゲン
 - (5) 筋融解・炎症マーカー：
 - CPK、CPK アイソザイム、CRP
 - (6) 糖尿病関連検査
 - 眼底検査
 - (7) 血液電解質：
 - Na、K、Cl、Ca
 - (8) 悪性腫瘍検査
 - a) 頭部・胸部・腹部 CT
 - b) 血清 PSA-ACT（男性のみ）
 - c) 便潜血
 - d) 直腸診
 - e) 上部消化管内視鏡
 - f) 子宮頸部細胞診（女性のみ）
 - (9) 血清サイトカイン定量（ELISA 法）
 - IL-1 β 、IL-4、IL-6、IL-8、TNF- α 、IFN- γ
 - (10) SeV/dF-hFGF2 ゲノムコピー数測定（定量的 taqman-PCR 法）
 - 全血中 SeV/dF-hFGF2 ゲノムコピー数、尿中 SeV/dF-hFGF2 ゲノムコピー数
 - (11) センダイウイルス価（トリ血球凝集法）

- 全血中センダイウイルス価、尿中センダイウイルス価
- (12) 血清中抗センダイウイルス抗体価 (ELISA 法)
 - (13) 血中血管新生因子蛋白量定量 (ELISA 法)
ヒト FGF-2 (血清、血漿)、ヒト HGF (血清、血漿)、ヒト VEGF (血清、血漿)
 - (14) 筋生検 (ガンバイオブシーによる：同意が取れた患者のみ)
ヒト FGF-2 蛋白測定 (ELISA 法)
 - (15) 病理解剖
遺伝子導入後の死亡例で、家族あるいは親族の承諾が取れた症例全てにおいて病理解剖を行う。通常の全身解剖に加え、下肢遺伝子導入部位を一部摘出し、定量 PCR 法によるベクターゲノムコピー数の定量、FGF-2 濃度の測定、ならびに病理組織学的検討を行う。

C. 臨床研究の中止判定基準

以下の条件のいずれかを満たす事象が生じた時、総括責任者は分担研究者と合議の上、本臨床研究の中止を決定することができる。その場合は中止の理由を九州大学病院長ならびに九州大学病院先進医療適応評価委員会へ書面により 7 労働日以内に報告しなければならない。

- (1) 臨床研究の開始の後に、被験者が除外項目に抵触する虚偽の申告をしていたことが明らかになった場合。
- (2) 被験者の症状が変化し、本臨床研究の継続が困難であると判断された場合。
以下に検査項目あるいは臨床症状において中止の基準になる代表的な項目を挙げるが、中止判定の基準はこれに限るものではない。
 - 1. 高度の貧血 (Hb < 7 g/dl)
 - 2. 高度の白血球減少 (WBC < 2,000/μl)
 - 3. 高度の血小板減少 (Plt < 30,000/μl)
 - 4. DIC を示唆する所見 (Fbn の減少、FDP の増加、など)
 - 5. 高度の肝機能障害 (ALT, AST > 100 U/L)
 - 6. 高度の腎機能障害 (Cr > 3.0 mg/dl)
 - 7. 高度の肺機能低下 (PaO₂ < 50 mmHg など)
 - 8. 心不全の徴候
 その他、生命維持に関わる危険性があると考えられる副作用

(3) 重篤^{注)}な有害事象や副作用が確認された時

- 1) 重大事態等：下記のいずれかに該当する場合は、「重大事態等」として取り扱う。
 - i) 被験者が死亡した場合
 - ii) 重篤^{注)}な副作用が発生した場合
 - iii) 本臨床研究の実施に影響を及ぼす可能性のある知見（国内外を問わない）を入手した場合

注) 重篤の定義

- 1) 死亡
- 2) 死亡につながる恐れのある事象
- 3) 入院または入院期間の延長が必要とされる事象
- 4) 永続的もしくは重大な機能障害・機能不全を呈した事象
- 5) 先天異常・出生異常
- 6) その他医学的に重要な事象

「死亡」、「死亡につながる恐れ」または「入院」には至らなくとも、被験者を危険にさらしたり、上記のような結果に至らぬように内科的または外科的処置を必要とした場合には、適切な医学的判断に基づいて、重篤な事象と判断する。

重篤な有害事象のうち、本遺伝子導入との因果関係が否定できないものを「重篤な副作用」とし、遺伝子治療に関する指針（平成 14 年 3 月 27 日 文部科学省、厚生労働省告示第一号）に従い、厚生労働省および文部科学省へ速やかに報告する。

- (4) その他、総括責任者ならびに分担研究者が中止すべきと判断した時。

⑦ 症例記録に関する記録用紙等の様式

専用の記録用紙を2部用意し、1部はカルテと一緒に保管、1部は九州大学病院臨床研究センターに研究終了後少なくとも5年間は厳重に保管する。

症例記録記載内容については、カルテと照合しデータの品質管理を行う。

コメント、有害事象に関する判断事項については、症例記録に記載された事項を原データとして取り扱う。

⑧ 記録の保存及び成績公表の方法

本人および家族（あるいは親族）の同意のもとに学術集会、学術雑誌、およびマスコミへの公表を行う。その際はプライバシーには十分に配慮し、本人の氏名を含め個人情報が特定できない形での公表を行う。

記録の保管は、九州大学病院長が指名した保管責任者が行い、少なくとも臨床研究終了後5年間保存する。

保管責任者：所属 九州大学病院臨床研究センター

職種 センター長・教授 氏名 中西洋一

(6) 本臨床研究における個人情報保護

① 個人情報保護に関する責務

国立大学法人九州大学（以下、本学という）は、独立法人等の保有する個人情報の保護に関する法律、独立法人等の保有する個人情報の適切な管理のための措置に関する指針に基づき、国立大学法人九州大学が保有する個人情報の管理について九州大学個人情報管理規程（別紙9）に必要な事項を定めている。本学の総長は文部科学大臣により任命され、本学の個人情報保護体制の最高責任者である。総長は本学の個人情報保護の管理体制として個人情報総括保護管理者を置き、個人情報総括保護管理者の下に個人情報保護管理者、個人情報保護担当者を置き、個人情報保護管理の徹底を行っている。個人情報総括保護管理者は、総長により指名され、総務担当理事が任命を受けている。九州大学病院においては、九州大学病院長、病院事務部管理課長はそれぞれが個人情報総括保護管理者により個人情報保護管理者として指名を受けており、九州大学病院長、病院事務部管理課長は九州大学個人情報管理規程、九州大学病院個人情報保護規程（別紙10）に従い組織的に個人情報保護に対する措置を図っている。保護管理者である九州大学病院長、病院事務部管理課長はこれらの規程に従い、本臨床研究に関する個人情報保護に関する措置に関し、適正な実施を確保するために必要があると認めるときは、本臨床研究の総括責任者に対して、適宜必要な措置をとることができる。

② 個人情報の取得と利用に関する制限

1) 診療・教育機関としての九州大学病院における個人情報の一般的な取扱い

九州大学病院は診療・教育機関として、臨床医学の発展と次世代を担う医療人の育成という社会的な使命の実現に向けて、一般的な診療行為・教育に関する以下に挙げる目的に限り、患者様の個人情報を使用する。この使用に関しては、個人情報の保護の法律に基づいた九州大学個人情報管理規程、九州大学病院個人情報保護規程や研究活動の実施に関する法令や倫理指針等を遵守した上で取り扱われる。また、九州大学病院を受診する患者様には「患者様の個人情報の保護に関するお知らせ」を用いて九州大学病院で使用する個人情報の使用目的について理解と協力をもとめている。

(1) 九州大学病院での利用

- ・被験者が受ける医療サービス
- ・医療保険事務
- ・被験者に関する管理運営業務
(入退院等の病棟管理、会計・経理、医療事故の報告、医療サービスの向上)
- ・医療サービスや業務の維持・改善のための基礎資料

(2) 九州大学病院および九州大学での医学教育における利用

- ・医学・歯学・薬学・保健学系の教育（ベッドサイドティーチングなど病院内での診療等に関わる医学教育に限る）
- ・教職員の研修（研修医や新任看護師等への病院内研修、及び医療サービス等、前項（1）に関わる病院事務系職員の研修等に限る）
- ・研究活動（遺伝子治療臨床研究を含め、実施に関する法令や倫理指針、関係団体等のガイドライン等が定められている場合は、それを遵守する）

(3) 他の事業者等への情報提供

- ・他の病院、診療所、助産所、薬局、訪問看護ステーション、介護サービス事業者等

との医療サービス等に関する連携

- ・他の医療機関等からの医療サービス等に関しての照会への回答
- ・被験者の診療等にあたり外部の医師等の意見・助言を求める場合
- ・検体検査業務の委託その他業務委託
- ・被験者の家族等への診療に関わる説明
- ・医療保険事務（保険事務の委託、審査支払機関への提出）
- ・審査支払機関または保険者からの照会への回答
- ・関係法令等に基づく届出および報告書
- ・関係法令に基づいて事業者等からの委託を受けて健康診断を行った場合の事業者等へのその結果の通知
- ・医師賠償責任保険等に関わる医療に関する専門の団体、保険会社等への相談又は届出等
- ・医療上の安全に関わる行政機関又は医療に関する専門の団体等への届出等
- ・医学・歯学・薬学・保健学系の教育研究機関への提出
- ・他の医療機関等との医学の発展を目的とした共同研究活動
- ・外部監査機関への情報提供

2) その他本臨床研究の遂行に必要な被験者の個人情報の利用・取扱い

上記の診療・教育機関としての九州大学病院における個人情報の一般的な取扱いに加え、本臨床研究の遂行における個人情報の利用・取扱いについては、総括責任者はあらかじめ被験者の個人情報の利用目的を公表している場合を除き、速やかに、その利用目的を被験者等に通知し、又は公表しなければならない。

本臨床研究で扱う被験者の診療記録をはじめとする個人情報は、主として病状経過観察、本臨床研究の緊急事態発生のための連絡など、被験者の生命を守るために用いる。その他特別の目的で使用する場合は、事前に被験者および家族（あるいは親族）に再度説明し了解を得てから使用する。

また、本臨床研究の成果検討時や医療向上のためなどを目的に試験成績などを公表・公開する場合は、個人を特定できない形すなわち個人情報を保護して公開する。これらのことは、被験者及び家族（あるいは親族）への同意説明文書中に記載し、被験者へ個人情報の保護及び使用目的について通知し同意を得る計画とした。

被験者及び家族（あるいは親族）の同意取得は、自由意思によるものであり、臨床研究に参加しない場合であっても被験者に不利益はない。このことは医学研究を行ううえで大切な倫理であるため、本臨床研究では、これらのことを同意説明文書に記載し、被験者及び家族（あるいは親族）へ通知している。

総括責任者は利用目的の達成に必要な範囲内において、個人情報を正確かつ最新の内容に保つよう努めなければならない。

③ 個人情報保護に関する安全管理措置

九州大学病院長は九州大学個人情報管理規程、九州大学病院個人情報保護規程に従い、個人情報保護に関して、組織的に安全管理措置を実施し、個人情報の漏洩、滅失又は棄損の防止に対する措置を講じている。一方で個人情報の漏洩等に関わる新しい犯罪手法などが急速な勢いで多様化していることを鑑み、本臨床研究では規程等の柔軟な運用を以て、個別に適切な対応を行う。

さらに本臨床研究では、死者に関する個人情報が死者の人としての尊厳や遺族の感情及び遺伝情報が血縁者と共通していることに鑑み、生存する個人と同様に死者に関する個人情報についても同様の管理下で取り扱う。

④ 委託者等の監督

本臨床研究は九州大学病院が主体的に実施するものであるが、使用する遺伝子治療用ベクター技術は国費を用いてその基礎から開発されたものであるため、その研究成果として被験者へ投与された場合のベクターの安全性や性能を客観的に記録することが必要である。そのため同技術を継承しているディナベック株式会社はイービーエス株式会社に対し、第三者の立場から本臨床研究のデータを客観的かつ公正に記録することをディナベック株式会社の資金を拠出して業務委託しており、九州大学病院はこれを承認している。イービーエス株式会社を含む外部受託会社は客観的、中立的に挙動することを使命とする会社であり、ディナベック株式会社の意向に影響を受けることはない。

本臨床研究は九州大学病院内で実施され、被験者から取得したデータは治験と同様、個人を容易に特定できないよう個人情報保護が図られているが、イービーエス株式会社は直接閲覧する立場にある。

本臨床研究においてイービーエス株式会社は第三者に相当するため、九州大学病院は契約書及び機密保持契約書にて九州大学病院個人情報規程に定められている業務の委託に関する条項について、九州大学病院が求める個人情報の管理状況について確認している。また、ディナベック株式会社は、本臨床研究の実施には直接的に関与しないが、ベクターの挙動に関するデータ収集に対して、科学的助言や、技術的協力を行う予定であるため、本臨床研究における外部研究協力者として位置付けられている。この協力を得るに際しては、治験と同様に被験者識別コードを用いることにより個人を特定できない措置を講ずることにより個人情報を保護する。

⑤ 第三者提供の制限

総括責任者は、遺伝子治療臨床研究の指針第六章第九で掲げる内容に従い、あらかじめ被験者等の同意を得ないで個人情報を第三者に提供してはならない。本臨床研究では、第三者への個人情報の提供は予定していない。また、第三者への個人情報の提供を行う場合は、適切な目的であることを確認し、遺伝子治療臨床研究の指針第六章第九に従い、その旨被験者等へ通知する。

⑥ 個人情報の開示、訂正、利用停止等

総括責任者は、保有する個人情報に関し、次に掲げる事項について、被験者等の知りうる状態にしなければならない。

- 1) 臨床研究実施機関の名称
- 2) 個人情報の利用目的
- 3) 個人情報の開示、訂正、利用停止等に関する手続き
- 4) 苦情の申出先

本臨床研究においては、1)、2)、4)について、同意説明文書に明記した。また、3)については、それらの手続きができることを同意説明文書に明記し、その申し出に応じて、手続きの詳細を九州大学個人情報開示等取扱規程(別紙11)に従い被験者及び家族(あるいは親族)に説明する。

総括責任者は被験者等から当該被験者が識別される保有する個人情報についての開示、訂正、利用停止等について、九州大学個人情報開示等取扱規程に従い求めがあった場合は、遅滞なく必要な対応を行うほか、対応結果について被験者等に通知しなければならない。

さらに、九州大学病院では個人情報に関する苦情等の窓口を設置し、被験者からの苦情や問い合わせに対して迅速に対応できるような体制を整えている。

〔個人情報に関する苦情等の窓口〕

九州大学病院地域医療連携室 患者様相談窓口

電話：092-642-5165

FAX：092-642-5155

10. 当該遺伝子治療臨床研究に関連する国内外の研究状況

(1) 国内外におけるセンダイウイルスベクターを用いた遺伝子治療臨床研究

本遺伝子治療臨床研究は使用するベクターにおいて国内外に相当する事例はなく、全く新しい九州大学独自の方法である。但し以下の施設において本ベクターを用いた他疾患への臨床研究が計画されている。これは我々のグループとの共同臨床研究である。

① 英国におけるセンダイウイルスベクターを用いた遺伝子治療臨床研究計画

英国インペリアルカレッジのEric Alton教授らのグループは、致死性の高い劣性遺伝性疾患である嚢胞性線維症(cystic fibrosis: CF)患者に対し、原因遺伝子であるCFTRを搭載した組換え非伝播型センダイウイルスベクターによる遺伝子治療臨床研究を計画している。

(2) 国内外における虚血性疾患に対する血管新生療法(遺伝子治療を含む)

以下に虚血性疾患への血管新生遺伝子治療あるいは組換え蛋白による治療に関連する状況と成績を記す。

① 国内における下肢動脈閉塞性疾患への遺伝子治療臨床研究

大阪大学医学系研究科老年病医学 荻原俊夫教授らのグループが閉塞性動脈硬化症(Fontaine III-IV度)に対し、ヒト肝細胞増殖因子(HGF)を発現するプラスミドDNAによる血管新生遺伝子治療臨床研究(第I・IIa相)を完了している。本年度よりアンジェスMG株式会社による第III相多施設試験(二重盲検試験)が開始されている。

②米国における下肢動脈閉塞性疾患への遺伝子治療臨床研究

米国タフツ大学セントエリザベス病院の Jeffery Isner 教授のグループが、ヒト血管内皮細胞増殖因子-B (VEGF-B) 発現プラスミド DNA による重症虚血下肢に対する血管新生遺伝子治療第 I-II 相臨床研究を実施し、一部の患者で虚血性潰瘍部位の減少、血管造影における血管床の増加、虚血性疼痛の改善など一定の成績が報告されている (51)。但し本臨床研究は対照群を設定しておらず、第 III 相試験による臨床効果の判定が待たれている。

③米国におけるアデノウイルスベクターと VEGF121 による下肢動脈閉塞症 (Fontaine IIb) への遺伝子治療臨床研究

本遺伝子治療臨床試験成績 (GenVec 社 RAVE trial) では、間歇性跛行患者 (Fontaine IIb) に対する第 I 相試験で「有効性が示唆される」とされていたにもかかわらず (52)、105 症例を対象にした第 II 相ランダム化二重盲検試験では有意な効果を示すことが出来なかったことが報告されている (8)。

④FGF-2 タンパクによる虚血肢あるいは虚血性心臓病への治療

(実験的検討) ドイツと米国ハーバード大学のグループは重症心筋虚血に対する FGF-2 蛋白直接注入により、症状の改善と血行改善を報告している。東京医科大学 (イヌ)、米国カリフォルニア大学 (ウサギ)、米国タフツ大学 (ラット) のグループはそれぞれの動物モデルを用いて FGF-2 蛋白の静脈内少量持続投与により下肢動脈閉塞モデルでの血行改善を報告している。東京大学 (ブタ)、金沢大学 (イヌ)、米国 NIH とクリーブランドクリニック (イヌ、ブタ)、近畿大学 (ウサギ) などのグループは、FGF-2 蛋白の局所注入あるいは心筋内注入により血行動態の改善、心筋梗塞巣の減少などを報告している。

(臨床研究) FGF-2 蛋白製剤による臨床研究の報告としては、第 I 相試験として間歇性跛行 (Fontaine II 度) に対し軽度の血流増加と安全性が報告されている (53)。最近 190 例の患者に対する同様の第 II 相試験の結果が報告された。歩行距離の延長が有意に認められているが、客観的指標はほとんど変化を認めていない (54)。また虚血性心疾患に対しても、同様の試験が行われているが、運動耐用量が上昇するも客観的指標についてはほとんど変化を認めていない。その後の FGF-2 タンパクのみを使用した 337 例によるランダム化二重盲検試験 (FIRST trial: 55) では臨床的治療効果を示さなかったことが報告されている。

⑤FGF-2 徐放化製剤による虚血性心疾患への治療

FGF-2 蛋白徐放化製剤を最初に臨床試験に使用した報告はハーバード大学 Beth Israel Deaconess Medical Center の Sellke らが最初であり、まず第 I 相試験として、内胸動脈による冠状動脈 1 枝バイパスを施行した患者 8 名に手術時に FGF-2 徐放化製剤が投与され、全例で左室駆出率が約 10% 程度改善することが報告されている (56)。但し本試験はあくまでコントロールのない feasibility study であり、手術によるバイパスの影響が除外できない試験であったため、その後少数例のランダム化二重盲検試験を実施している (プラセボ、低用量 10 µg、高用量 100 µg: それぞれ 8 例: 文献 57)。観察期間は 2 年半ほど (平均 32.2 ヶ月)。Canadian Cardiovascular Society (CCS) による狭心症の重症度分類に対し、プラセボにおいても改善が見られたため全体の項目での明確な効果は得られていないが (治療後 6 ヶ月でのみ $p=0.03$ 、他の観察ポイントで有意差なし)、狭心症発作の再発について FGF-2 投与群で有意な効果を得ている ($p=0.03$)。

1.1. 当該遺伝子治療臨床研究に関連する実施施設の状況

[当該疾患の診療実績と周辺環境]

実施施設である九州大学病院は、既に設立から 100 年を超えた、我が国有数の基幹病院の一つである。本臨床研究における当該疾患の診療は、九州大学医学部第 2 外科に血管疾患診療部門が設立されてから既に 40 年以上を経過し、豊富な診療経験を有する。同部門は、最近 5 年間では年間 120~150 例の手術症例を有するが、近郊の九州医療センター、済生会福岡総合病院、福岡市民病院、新日鐵八幡総合病院、済生会八幡総合病院、その他北部九州地区の基幹病院の血管外科診療部門でも同程度の手術症例を有し、これらには全て九州大学医学部第 2 外科血管疾患診療部門出身スタッフが全員を占めている。本臨床研究の実施にあたっては、これら関連病院において適応と考えられる患者の発生が見られた場合、速やかに九州大学病院への照会を行い、必要に応じて九州大学病院へ移送される体制が整っている。

[遺伝子治療・センダイウイルスベクターに関する研究実績]

本臨床研究の申請者は、センダイウイルスベクターに限らずプラスミドベクターやアデノウイルスベクターについても豊富な実験的使用経験を持ち、研究成果は Nature Biotechnology (Impact Factor 2003 = 17.72), The FASEB Journal (同 7.17), Circulation (同 11.16), Circulation Research (同 10.11) など、世界的に認

知度の高い国際誌に多数の英文原著論文を公表している。

[ベクターの生産と保管]

本臨床研究薬である SeV/dF-hFGF2 は、英国 BioReliance 社において既に GMP 生産が終了、検定試験に合格したものが、九州大学病院外来棟 3 階セルプロセッシングルーム内の専用の施設をされた超低温冷凍庫に保管されている。ベクターは専用の多重保管器に密閉された状態で保管されており、保管エリアは本ベクター専用で確保されており、万が一の混入を防ぐために他の試薬、ベクターなどは一切置かれていない。超低温冷凍庫はベクター搬入以後、最低週 1 回動作確認をされ、さらに毎回室内温度が記録されている。同セルプロセッシングルームは通常は施設され、また九州大学病院先端分子細胞治療科により入室者は限定されており、入室記録を記録するなどの厳密な管理が行われている。

[患者治療室の設置]

本臨床研究の適応となる重症虚血肢の患者には、通常全身の高度な動脈硬化が存在することが多く、循環器系の予期せぬ有害事象の発生に対処する準備を行う必要がある。そのため、本臨床研究専用のレベル 2 バイオハザード治療室（封じ込めレベルクラス 10,000 で設計）を九州大学病院南棟冠動脈疾患治療部に設置している。本病室は前室と病室（トイレあり）に分かれ、病室内は陰圧に制御されているため、ベクターの拡散を防ぐことができるように設計されている。

患者は投与日（あるいはその前日）から本治療室へ搬入され治療を受け、血液・尿よりベクター由来の遺伝子配列、ウイルス膜蛋白赤血球凝集活性が検出されないことが確認された後、一般病棟へ転棟される。治療に使用された器具はオートクレーブなど、予め設定した管理方法により消毒、医療用廃棄物として廃棄される。また患者の尿尿については、固形化剤による固形化の後、同様な方法で廃棄される。

このように九州大学病院は本臨床研究に対する研究及び支援体制が整っている。さらに研究分担者の各々の専門分野における知識と経験は、本臨床研究の実施を十分に支援し得るものと判断される。

なお、本遺伝子治療臨床研究は、以下の法令／省令等を遵守して実施される。

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）
4. 「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）
5. 「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）
6. 「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 2. その他必要な事項

- (1) 患者への説明・同意書（第 1 回目）
- (2) 患者への説明・同意書（第 2 回目）
- (3) 総括責任者及び主な分担研究者の経歴
- (4) 参考文献リスト
- (5) 別紙
別紙 1：九州大学病院先進医療適応評価委員会規定（案）、内規（案）
別紙 2：効果判定委員会手順書
別紙 3：実施計画書作成・改訂の流れ（フローチャート）
別紙 4：重大事態発生時の流れ（フローチャート）
別紙 5：その他審査の流れ（フローチャート）
別紙 6：検査項目一覧表
別紙 7：九州大学病院先進医療適応評価委員会に関わる様式
別紙 8：効果判定委員会に関わる様式
別紙 9：九州大学個人情報管理規定
別紙 10：九州大学病院個人情報保護規定
別紙 11：九州大学個人情報開示等取扱規定
- (6) 図表

患者への説明・同意書

課題名「血管新生因子（線維芽細胞増殖因子：FGF-2）遺伝子搭載非伝播型組換えセントダイウイルスベクターによる慢性重症虚血肢（閉塞性動脈硬化症、バージャー病）に対する血管新生遺伝子治療臨床研究」

血管新生遺伝子治療臨床研究に参加される患者さんへ （第1回目 説明と同意書）

【はじめに】

あなたの脚の状態は、血液を送る管（動脈）が閉塞することにより生じています。これまでの治療法（手術やお薬）で十分な効果が得られなかったことから、私たちは「血管新生遺伝子治療」という、全く新しい治療法をあなたにご紹介しようと考えています。

新しい治療法、あるいは薬剤が一般的に使われるようになるまでには、その安全性と効果を確認しなければなりません。これを臨床研究あるいは臨床試験と言います。

一般的に臨床研究（試験）は次の3つの段階からなっています。（1）第1相試験：治療あるいは薬剤の副作用を確認し、安全であるかどうかを調べる段階、（2）第2相試験：第1相で確認された方法で治療を行い、その投与量で効果があるかまた安全性はどうかを調べる段階、（3）現在一般的に使用されている治療や薬剤と比較する段階。

血管新生遺伝子治療に限らず、遺伝子治療に関する臨床研究は、まだ始まったばかりであるため、個々の研究や試験の位置付けははっきりしていません。今回、あなたにご紹介する臨床研究は治療の安全性を調べることを主たる目的としており（主要エンドポイントと呼びます）、さらに治療効果を示す投与量を調べる目的も含まれています（副次エンドポイントと呼びます）。従って、本臨床研究は第1相＋第2相試験に相当すると考えられます。

繰り返し申し上げますが、この治療法はまだ始まったばかりであり、安全性などいろいろな点がはっきりしておりません。サルなどを用いた安全性試験の結果から、本治療法は比較的安全であろうと考えられますが、予測し得ない副作用が起こる可能性は否定できません。

この臨床研究に関わることをあなたに文章および担当医師の口頭で、これから説明を致します。本臨床研究に関わる疑問点などは、どのような些細（ささい）なことでも、担当医師にお尋ね下さい。また判らないことなども、いつでも気軽に質問して下さい。

【遺伝子治療臨床研究の名称と実施施設、担当医師】

臨床研究の名称：血管新生因子（線維芽細胞増殖因子：FGF-2）遺伝子搭載
非伝播型組換えセンダイウイルスベクターによる慢性重症虚血肢
（閉塞性動脈硬化症、バージャー病）に対する血管新生遺伝子治療
臨床研究

実施施設：九州大学病院

総括責任医師：前原 喜彦（九州大学病院第2外科・科長）

分担研究医師：居石 克夫（九州大学病院病理部・部長）

砂川 賢二（九州大学病院循環器内科・科長）

小野原俊博（九州大学病院第2外科）

江頭 健輔（九州大学病院循環器内科）

米満 吉和（九州大学大学院医学研究院 病理病態学）

【血管新生遺伝子治療臨床研究への参加】

この血管新生遺伝子治療臨床研究に関する説明を担当医師から受けた上で、本臨床研究に参加されるかどうかは、あなたの自由な意思で決めて下さい。たとえ参加されなくても、今後の治療に不利益になることは全くなく、現在行われている最善の治療を行います。

また血管新生遺伝子治療臨床研究実施中に新しい情報（例えば他の新しい治療法、安全性に関する情報など）が得られた時は、必ずあなたにお知らせ致します。その場合には、この治療法を続けるかどうかについて、再度あなたの意思をお尋ねします。

【血管新生遺伝子治療臨床研究の辞退】

この血管新生遺伝子治療臨床研究に参加することを同意した後でも、また実際に開始した後でも、あなたが何らかの理由で辞退を申し出た場合は、いつでも自由に辞退することができます。また辞退の後でも今後の治療に不利益になることはなく、現在行われている最善の治療を行います。

【血管新生遺伝子治療臨床研究の目的】

今からあなたに説明する遺伝子治療臨床研究と同じ治療法は、まだ世界で行われていません。今からあなたに説明する遺伝子治療臨床研究と類似の臨床試験は欧米や我が国でも一部の施設で実施されていますが、まだ始まって間もない治療法であるために、はっきりとした結果は出ていません。

臨床研究（あるいは臨床試験）とは、新しく考え出された治療方法や薬物を患者さんのご協力を受けて投与することにより、実施の診療・治療の場で安全性や治療効果を検討することを言います。

このような新しい治療方法を一般的に実施し、広く患者さんがその恩恵を受けることができるようにするためには、臨床研究（あるいは臨床試験）を行い、安全性に問題がないか、そして治療効果があるかについて科学的な評価を受けなければなりません（図1に治療薬が医薬品として認められるまでの一般的な流れを示しています）。

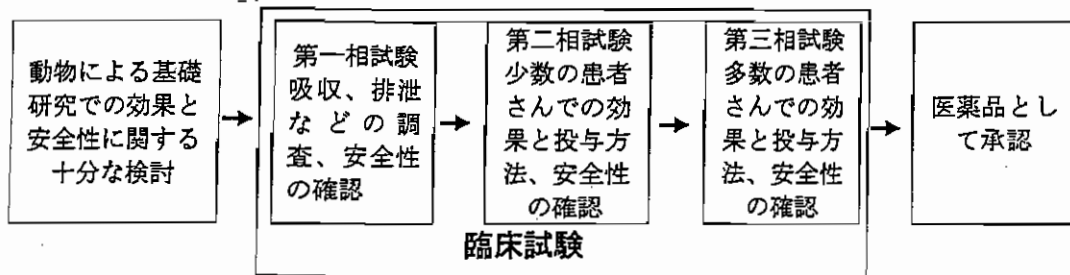


図1：臨床試験の流れ

試験管の中の細胞や実験動物を用いて行われる基礎実験により発見された、治療薬として働くと考えられる物質などは、その後小動物、大動物などを用いて繰り返し安全性と効果について検討されます。その結果、人体へ投与しても強い副作用は起こさず、かつ治療効果が期待できると科学的に判断されたものは、慎重に注意を払いながら臨床研究（試験）へ移ることになります。

一般的には、臨床試験はまず少数の人を対象として安全性を確認する第一相試験、少数の患者さんを対象に安全性に注意を払いつつ効果を示す投与方法と投与量を決定する第二相試験、多くの患者さんを対象に治療効果を科学的に証明する第三相試験へと進みます。これらの臨床試験を経て、十分な効果があることが科学的に証明され、かつ安全性に大きな問題がないと判断されたものが医薬品として認められます。

これからご説明する遺伝子治療臨床研究は、人体への初めての投与になるため、安全性を主眼とした試験となります（第一相試験）。また後に述べますように、3名の方に同じ量を投与した後、安全であることを確認して次の3名の方には増量して投与する試験デザイン（合計4段階＝12名の患者さんが対象）になっていますが、これは遺伝子治療臨床研究を多数実施している米国のガイドラインに従ったデザインであり、治療前後での症状の差を比較することにより、効果を示す投与量を決定致します（第二相試験）。従って、本遺伝子治療臨床研究は、第一・二相試験として位置付けられています。

本遺伝子治療臨床研究の目的は、（1）治療薬剤を安全に投与することができるか、（2）血管が閉塞し血行が悪くなった下肢が治療薬剤により新しい血管ができて血行が改善し、歩行時や安静時の脚の痛みを軽くするあるいは無くすることができるか、そして脚にできた潰瘍を治療することができるかどうか、を検討することです。このように新しい血管ができることを「血管新生」と呼び、血管新生は「血管新生因子」というタンパク質により誘導できることが広く知られています。

通常の治療法は、血管を上げるお薬（血管拡張薬）や血液が固まるのを防ぐお薬（抗凝固剤）など薬物療法、狭くなった血管を風船で広げる方法（血管拡張術）、患者さん自身の静脈あるいは人工血管で閉塞した部分をバイパスする方法で血流を増やすことにより、脚の痛みを無くしたり脚の潰瘍を治療したりする手術療法があります。しかしあなたの脚はこのような手術療法が受けられないほど重症である、あるいはこれまでにこのような治療法を受けても十分な効果がありませんでした。血管を上げるお薬や血液が固まるのを防ぐお薬も使いましたが、十分な効果が得られませんでした。

まだ人における効果は確認されておりませんが、私たちは血管新生遺伝子治療という、新しい治療法があなたのような症状を持つ患者さんに有効であるかどうかを検討しています。従って私たちは、もしあなたの同意が得られるならば、あなたにこの治

療を行って、この治療法の安全性を調べ、また、新しい血管があなたの脚に作られて、脚の痛みや潰瘍を治すことができるかどうかを検討させて頂きたいと思っています。

【遺伝子治療とは】

病気の治療を目的として遺伝子あるいは遺伝子を導入した細胞を人の体内に投与する治療法です。病気の原因になっている異常な遺伝子の代わりに正常な遺伝子を外部から補充して本来の機能を回復させたり、病気の回復に役立つ成分を産生する遺伝子を外部から補充して体内でそれらの成分を作り出すことにより病気の治療を行います。

【血管新生治療とは】

新しい血管を作り血流が少なくなった足を助けることを目的とした治療法です。動物あるいはヒトはあたらしく血管を作る機能をもっており、体内にある血管新生を誘導する蛋白質として線維芽細胞増殖因子 (FGF-2) 血管内皮細胞増殖因子 (VEGF)、肝細胞増殖因子 (HGF)、血小板由来内皮細胞増殖因子 (PD-ECGF) など複数が知られています。

これら血管新生を誘導する蛋白質を直接投与あるいは、遺伝子を投与し体内でこれらの血管新生を誘導する蛋白質を作り出すことにより病気を治療する方法がいろいろ研究されています。

【現在研究が始まっている他の類似の治療法について】

今回の治療法に類似した「血管新生治療 (新しい血管を作り、血流が少なくなった足を助けることを目的とした治療法)」は、他にもいくつかの方法が日本を含め世界中で始まっています。ここでは日本で行われている他の代表的な治療法を紹介致します。

1) 骨髄細胞移植療法

ヒトの骨の中には「骨髄」という、血液を造り出す細胞があります。最近の研究でこの中に血管を作る能力がある細胞が、少数ですが含まれていることが明らかにされました。この治療法は患者さんの骨髄からこの細胞を含む細胞を取り出し、足の筋肉に注射するもので、一部の患者さんに効果があることが報告されています。この治療法は、国内では主に久留米大学病院、関西医科大学病院、名古屋大学医学部附属病院、京都府立医科大学附属病院、山口大学医学部附属病院などで行われております。

2) 肝細胞増殖因子 (HGF) による遺伝子治療

肝臓の細胞を増殖させる HGF というタンパク質には、血管を造り出す作用もあることが知られており、この HGF の遺伝子により同様の治療を行うものです。この治療法は大阪大学医学部附属病院で行われ、一部の患者さんで痛みが軽くなるなどの効果が報告されています。既に第一・二相試験が終了し、安全性が確認されたことから、現在、国内の複数の施設で第三相試験が開始されています (第三相試験は大阪大学医学部附属病院では行われていないのでご注意ください)。

以上のように血管新生療法は色々な方法で始められておりますが、まだ治療を受けた患者さんの数が少なく、どの方法がよいという結果は出ておりません。

【治療の実施方法と注意事項】

(1) 今回の遺伝子治療臨床研究の対象となる患者さん

今回の遺伝子治療臨床研究では、年齢が40歳以上の閉塞性動脈硬化症または閉塞性血栓性血管炎 (バージャー病あるいはビュルガー病と呼びます) の患者さんで、じっとしていても下肢に痛みがある (安静時疼痛) あるいは下肢に部分的に潰瘍・壊疽がある方です。さらに手術・血管拡張術が不可能な方、そして2週間の継続した薬物

治療で症状の改善が認められない方を対象としています。

(2) 治療に参加できない方

(1) の条件を満たしていても、以下のいずれかに該当する場合には、この臨床研究には参加できません。また、参加に同意（今回：第1回目）いただいた後に実施する検査の結果から、参加できなくなることがあります。また、参加に同意いただく前の検査結果から、研究に参加いただくことが可能であるかどうかを判断させていただくことがあります。

研究に参加頂くか否かの最終的な判断は、本遺伝子治療臨床研究の担当医師が関与しない第三者委員会（九州大学病院先進医療適応評価委員会）が、試験前検査とあなたの意思（今回：第1回目）を総合して判断致します。

[本臨床研究に参加できない方]

- 1) 40歳未満の方
- 2) 重いアレルギーを有するか、有したことがある方
- 3) がんを有するか、有している疑いがある方
- 4) 糖尿病性網膜症を有する方
- 5) 慢性人工透析を受けている方
- 6) 心臓あるいは肝臓あるいは腎臓に重い障害を有する方
- 7) 慢性関節リウマチなどの重い炎症性の病気を有する方
- 8) 過去5年以内にがんの手術を受けた方
- 9) 最近6ヶ月以内に脳出血、脳梗塞を起こした方
- 10) 血液疾患を有する方
- 11) アルコール依存、薬物依存の方
- 12) 妊娠中、あるいは妊娠が疑われる方
- 13) 研究に参加することにより不利益を受けると予測される方
- 14) あなたのご家族が、研究の参加に同意しない方
- 15) その他の理由により研究に参加することが不適当であると判断される方

(3) 治療の実施方法（一連の流れ）

今回、私たちのご説明に際し、あなた並びにあなたのご家族（あるいはご親族）が本遺伝子治療臨床研究への参加をご承諾なさった場合（今回：第一回目の承諾）、まず臨床研究参加候補患者さんとして登録されます。登録の後、後にご紹介させて頂く検査スケジュールに沿って治療前検査を行います。治療前検査はあなたの病状に関わるものであるものについては保険適応となるため、あなたに三割負担が必要となる場合があります（パーリソン病の方は国が定める特定疾患であるため、あなたが手続きを行っている場合は病状に関わる検査経費も負担はありません）、本臨床研究に特有の検査については、全て九州大学病院における公費あるいは研究費で負担致します。個々の検査の経費に関する詳細は担当医師にお尋ね下さい。

治療前検査が完了した後、そのデータとあなたの病状に基づいて、あなたが本臨床研究を受けることが可能か否かに、第三者機関である九州大学病院先進医療適応評価委員会が判定をします。九州大学病院先進医療適応評価委員会があなたの参加を認めた場合に限り、担当医師より第二回目のご説明を致します。この第二回目のご説明において、本臨床研究への参加をご承諾頂いた場合にのみ、あなたへの治療が開始されます。

入院中の一切の治療・検査経費に関しては、九州大学病院の公費あるいは研究費でまかなわれますので、あなたへの金銭的負担は発生しません。

治療後の検査の場合、あなたの病状に関わるものであるものについては保険適応と

なるため、あなたに三割負担が必要となる場合があります（バージャー病の方は国が定める特定疾患であるため、あなたが手続きを行っている場合は病状に関わる検査経費も負担はありません）、本臨床研究に特有の検査については、全て九州大学病院における公費あるいは研究費で負担致します。

今回、私たちがご紹介する治療は、あなたの脚の筋肉内に遺伝子を含む溶液を少量（0.5ml）ずつ20～30ヶ所注射するもので、注射に伴う痛みを軽減するために、しばらく腰に麻酔用のチューブを入れて脚に軽い麻酔を行います。動物実験では筋肉内に注射された遺伝子から血管新生を起こすタンパク質（線維芽細胞増殖因子：FGF-2）が一定期間（約2週間程度）産生され、新しい血管ができて血流が回復し、血行障害のために壊疽を起こして脱落する脚が脱落しなかったなどが観察されています。

この臨床研究では、4種類の濃度の異なる遺伝子を含む溶液を用います。最も薄い濃度（ 5×10^7 ciu/60kg：ciu=ベクターの量）から開始し、3名の方に同じ量の治療薬を使用し、3名ともに問題がないこと、つまり安全性を確認しながら順に濃度を上げて行きます（約5倍ずつ増量、以後 2×10^8 ciu/60kg、 1×10^9 ciu/60kg、 5×10^9 ciu/60kg）。それぞれの濃度で3名、計12名の方にこの臨床研究に参加いただく予定です。各ステージごとの増量が可能かどうかの判断は、本臨床研究の担当医師ではなく、九州大学病院先進医療適応評価委員会が第三者の立場で決定致します。また、あなたに、どの濃度の遺伝子を含む溶液が用いられるかについては、担当医師にお尋ね下さい。また、後で記載する「可能性のある副作用（有害事象）」を予防するため、治療前日からステロイドホルモン（ソル・メドロール 125mg）および抗生物質を3日間のみ点滴致します。

この治療法は始まったばかりのため、まだ試験段階のものであり、ヒトの場合の安全性は現在のところ保証されている訳ではありません。また確実に成功するという保証もありません。さらには一時的に効果が見られたとしても、時間が経つにつれて症状が少しずつ悪くなる可能性もあります。従ってあなたがこの臨床研究に参加なさっている間は、いかなる症状があっても必ず担当医師あるいは看護師に報告して下さい。

また不幸にして何らかの原因で死に至った場合、本試験との因果関係の有無に関わらず病理解剖の許可が求められます。従って、本臨床研究へ参加する際に家族あるいは親族の方々へ解剖の許可についてご相談されることをお勧め致します。

本遺伝子治療臨床研究では、あなたへの治療を行って1ヶ月後から毎月6ヶ月後まで定期的に外来を受診して頂き、必要な検査を受けて頂くことが必要です。この時期の検査も治療前検査と同様、病状に関するものについては保険適応となりますので、一部負担金が発生することをご承知置き下さい。バージャー病の患者さんの場合は自己負担がないことも同様です。

本臨床研究は、治療を行ってから6ヶ月で終了となりますが、九州大学病院第2外科では少なくとも5年間は外来受診をお勧めしております。これは、あなたが罹患している慢性動脈閉塞症という疾患が比較的ゆっくり進行する病気であるため、治療により一時的に症状が改善してもまた次第に悪化する可能性があるためです。また本臨床研究では世界で初めてのウイルスベクターを用いた遺伝子治療臨床研究であるため、定期的な外来受診をお願いし、5年の追跡調査を行う予定であることをご承知置き下さい。これは遺伝子治療の長期にわたる安全性がまだ確立していないことから、試験終了後に問題が生じることがないか、を追跡するために行います。

（４）治療にあたって注意して頂きたいこと

本臨床研究中は、医師の了解なしに薬局で購入できる薬を含む、いかなる薬も使用し

ないで下さい。

また本臨床研究は遺伝子を用いるため、子孫への影響についてその安全性が明確ではありません。よって今後お子様を御希望される方は、その旨担当医師に御相談下さい。少なくとも試験実施期間の6ヶ月は避妊を行う必要があります。

また本臨床研究は試験デザイン上、1度限りかつ片方の足への投与しか行えませんので、ご承知置き下さい。これは動物実験のデータから、2回目の投与は治療効果が低くなることが明らかになっているためです。

遺伝子を含む溶液の投与前日あるいは当日から、投与した遺伝子が血液及び尿中がないことが確認されるまで（原則的に投与7日後までですが、延長となることもあります）、特別な治療室（遺伝子治療室）で治療が行われます。この間、トイレは遺伝子治療室内のトイレのみを使用していただきます。面会や外出はできますが、体液や排泄物（唾液、血液、尿、便など）が遺伝子治療室以外に出ないように制限されます。

第 I & IIa 相 臨床研究実施方法

用量漸増式安全性・効果判定試験

対象患者数 計12名

(ciu=活性組換えウイルス粒子数)

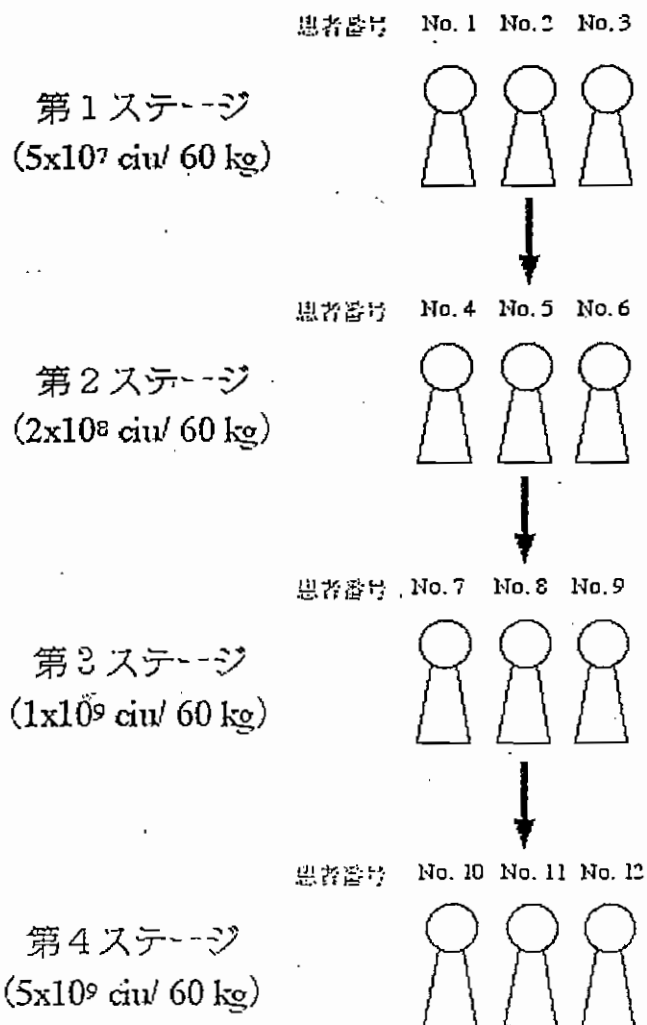


図2：本臨床研究のデザイン

遺伝子治療に関する説明

【治療に用いるベクター（遺伝子を導入する担体）】

今回あなたの治療に用いられる遺伝子を運ぶ「運び屋」（これを「ベクター」と呼びます。）として、「センダイウイルスベクター」という、全く新しいものを用います。「ウイルス」という名前に少し驚かれるかもしれませんが、以下にこのベクターについて簡単に説明をします。

これまで欧米を中心に開発されて来たベクターには、主に以下のものがあります。

- 1) レトロウイルスベクター（マウスの白血病の原因ウイルス）
- 2) アデノウイルスベクター（ヒトに肺炎や結膜炎を起こすウイルス）
- 3) アデノ随伴ウイルスベクター（病原性は知られていない）
- 4) ヘルペスウイルスベクター（ヒトに神経炎などを起こすウイルス）
- 5) レンチウイルスベクター（後天性免疫不全：エイズを起こすウイルス）

一見してお気付きになると思いますが、アデノ随伴ウイルスベクターを除き、多くのベクターは病原性ウイルス（ヒトに病気を起こすウイルス）を基礎に開発されたものです。

これらのウイルスの遺伝子構造に人工的に手を加えることによって、増殖せず病気を起こさない「ベクター」として生産され、これらが現在、実際の患者さんの治療に用いられています。

しかしこれらのベクターには低い確率ですが、危険性が残っていることが指摘されています。以下にその概略を説明致します。

危険性その（１）：野生型ウイルスへの「先祖返り」。

これらのウイルスベクターには低い確率ですが、その製造過程で一部が増殖せず病気を起こさないよう人工的に手を加えていない野生型ウイルスに先祖返りすることが知られています。この現象は「相同組み換え」として専門家の間で広く知られていて、この先祖返りした野生型ウイルス（専門的には RCR：replication competent retrovirus と呼ばれています）により新たな病気が引き起こされる可能性がわずかながら存在します。

例えば先祖返りしたウイルスを含むレトロウイルスベクターの接種を受けたサルにリンパ腫が起きたことなどが報告されております（1992年 J Exp Med：この報告では100,000～1,000,000 個のベクター粒子につき1個の先祖返りウイルスが検出されています）。

危険性その（２）：患者さんの遺伝子情報を攪乱する可能性。

レトロウイルスベクター、アデノ随伴ウイルスベクター、レンチウイルスベクターなどは感染した細胞の染色体、つまりあなたの遺伝子の中にウイルス自身の遺伝子を挿入する機能を持っています。この性質のために、これらのベクターでは長期間の安定した治療効果をもたらすことが期待されているのですが、その反面、あなたの遺伝子がウイルス由来の遺伝子により構造的・機能的に一部変化する（専門的には「プロウイルスの染色体への挿入」と呼びます）ことは避けられません。ヒトの遺伝子は70%以上が活動していないと考えられていますため、多くの場合は問題になりませんが、極めてまれに細胞のガン化を抑制する遺伝子の中に入り込んだりすることがあり、その場合はガン化を促進することが培養細胞などでは確認されています。

「遺伝子」という言葉に驚かれるかもしれないので説明させていただきます。人間の「遺伝子」は細胞の中心（核）の中にある、「染色体」という構造に含まれる、「DNA（デオキシリボ核酸）」のことを指します。この「遺伝子」はあなたの身体を作っている蛋白質の設計図で、この遺伝子の情報をもとに蛋白質が作られます。レトロウイルスベ

クターの遺伝子はこの染色体の中のあなたの遺伝子の中に入り込みます。

残念ながら、最近このレトロウイルスベクターによる「プロウイルスの染色体への挿入」が原因で白血病が発生したことがフランスで報告されました。同じ治療を受けた、先天性免疫不全症（遺伝的に身体の抵抗力が弱く、重症の細菌やウイルス感染症を起こしやすい）の遺伝子治療を受けた11名の患者さんのうち、3名にT細胞性白血病が発生したと報告されています。現在専門家の統一見解として、「プロウイルスの染色体への挿入」に加えてフランスの治療で用いられた遺伝子（共通鎖）を用いたことによる特有の現象ではないか、と考えられております。フランスの治療は中止されていますが、レトロウイルスベクターを用いたその他の遺伝子治療は、国内外で安全性に最大限の注意を払いつつ、慎重に進められています。

今回あなたに用いられる「センダイウイルスベクター」の特徴。

「非伝播型センダイウイルス」というベクター用のウイルスを、日本の企業（ディナベック株式会社：茨城県つくば市）が人工的に造り出すことに成功しています。これはセンダイウイルスの感染に必要な部分をウイルス遺伝子より取り除くことにより、身体の中で増殖しないように改変された人工のウイルス様ベクターです。

センダイウイルスにはベクターとして以下のような特徴があります。

第1に、「センダイウイルス」は相同組み換えの可能性がほとんどない、つまり先祖返りをする可能性が低いことが知られているため、先祖返りした野生型ウイルスにより、新たな病気が引き起こされる可能性がほとんどないと考えられます。

第2に、「センダイウイルス」は日本で最初に見つかった、マウス（ねずみ）に風邪、肺炎を起こすパラインフルエンザウイルスの一種ですが、ヒトには肺炎を含め、病気を起こしたことはこれまで報告されておられません。本臨床研究において患者さんに投与されるベクターでは、この野生型の混入がないことを綿密に検査したものが用いられますが、万が一野生型ウイルスが混入していたとしても、ヒトが病気になる危険性は理論的に低いと考えられます。例えば投与ルートが異なっており（本臨床研究では下肢筋肉内投与）、投与される最大ウイルス量も少ないですが（本臨床研究では最大投与量 5×10^9 感染ウイルス粒子）、野生型センダイウイルスをヒトパラインフルエンザI型ウイルスへの生ワクチンとして経鼻投与により使用した臨床試験が行われており、重篤な副作用は検出されておられません（最大投与量 5×10^7 感染ウイルス粒子）（Vaccine 2004;22:3182-3186）。

第3に、「センダイウイルス」は、全ての構造が「RNA（DNAから読み取られ、タンパク質合成の型になる物質）」から成り立っています。センダイウイルスの遺伝子は常に細胞の核の外（細胞質）で転写されることが判っており、あなたの「染色体の遺伝子」に入り込むことがないことが、これまでの研究から広く知られております。

あなたの脚に注射されるベクターは、この非伝播型センダイウイルスベクターに血管を増やす蛋白をつくる遺伝子（線維芽細胞増殖因子：FGF-2）を乗せたものです。このベクターはあなたの脚の筋肉に遺伝子を運び、筋肉を工場として血管を作る蛋白FGF-2を産生させます。動物実験から得られた結果から予測して、投与されたベクターとFGF-2の遺伝子、蛋白は投与後2〜4週間で完全にあなたの身体から消えてしまうと考えられます。

今回あなたに投与されるベクターは、厳重な管理のもと、既に他のベクターの医薬品としての生産に実績のあるイギリスの委託会社（バイオ・リライアンス社：BioReliance社）で生産されたもので、現時点では認可された医薬品ではありませんが、

人体に投与してもよいと判断される純度の基準（good manufacturing practice- GMP グレードと呼びます）による検査を合格したものです。既に同じ物をサルに投与して、重篤な副作用がなかったことが確認されています。

【治療に用いられる遺伝子（治療用遺伝子）】

今回治療用の遺伝子として用いるものは、線維芽細胞増殖因子（FGF-2）と呼ばれる、もともとあなたの身体に存在する蛋白のもとになる設計図（遺伝子）です。この FGF-2 は発見されてから 15 年以上を経過して、世界中の研究者によりその働きの多くが明らかになっています。

FGF-2 の機能の最も重要なものに、「血管新生促進効果」があります。同様の作用を持つものに、他にも血管内皮細胞増殖因子（VEGF）、肝細胞増殖因子（HGF）、血小板由来内皮細胞増殖因子（PD-ECGF）など複数が知られています。アメリカでは VEGF 遺伝子があなたと同じような症状を持つ患者さんに使用され、ある程度の効果があることが報告されています。今回私共が FGF-2 を使用することを決定した理由は、

- 1) VEGF は蛋白濃度が高くなると逆に副作用が強くて出て来ること。
 - 2) FGF-2 は高い蛋白濃度でも副作用が特段みられなかったこと。
 - 3) FGF-2 は VEGF と HGF の発現を促し、効果的な血管新生を起こすこと。
- を動物実験で見出したからです。

この FGF-2 は蛋白製剤（薬剤）として、既にアメリカの臨床試験であなたと同じような血管が閉塞している患者さん（慢性動脈閉塞症）の治療に用いられましたが、身体の中ではすぐに分解されて効果がすぐなくなり、明らかな改善効果は認められませんでした。

私たちは遺伝子の状態でこの FGF-2 を筋肉へ入れてあげると、2 週間程度持続して蛋白が産生されること、血流が少なくなった脚に血流回復効果があり、血行不全による下肢の壊疽を 80% 以上の確率で救済できること（治療をしなければ約 20%）が可能であることを動物実験で確認しました。

あなたの治療に用いられる FGF-2 遺伝子は、その全ての遺伝子構造が正常であることが確認されています。即ち、この治療であなたのからだの中で作られる FGF-2 タンパク質は、あなたが本来からだの中に持っているあなたの FGF-2 タンパク質と全く同じものです。

【本臨床研究にあたって注意して頂きたいこと】

(1) 必要な検査について

今回あなたにご紹介している血管新生遺伝子治療は世界で初めてのものであり、人における安全性と効果はまだ確認されていません。あなたの病状を調べるものだけでなく、副作用を予知するため、また安全性を確保するため、以下のようなたくさんの検査が必要です。

以下に各検査の概要と目的を記載します。

＜検査概要＞

- 1) 潰瘍部細菌検査：潰瘍をおもちの患者さんに対して患部の細菌感染の有無を検査します。細菌感染が認められた場合は、血液 10mL を採取してさらに詳しく調べます。
- 2) 足の痛み、アレルギーの調査：痛みの程度やアレルギーの有無について、あなたにお聞きして経過を調べます。
- 3) 潰瘍の観察：経過を調べるため、大きさの測定と状態の観察と写真撮影を行います。
- 4) 歩行検査：(歩ける方のみ)トレッドミルという機械の上を歩き、痛みを感じずに何メートル歩けるかを測定します。
- 5) 足の血流を調べる検査：以下の検査のうちいくつかを行います。
血管造影検査：大腿部あるいは腕の動脈から細い管（カテーテル）を入れ、造影剤を使ってあなたの血管のどの部分が閉塞あるいは狭窄しているかを調べる検査です。
レーザードップラー検査：足の皮膚表面からレーザーを当てて血流を測定する検査です。痛みなどはありません。
サーモグラフィー：足の温度を表面から測定します。痛みなどはありません。
趾尖脈波：脚の趾先に近赤外光をあて、血管運動反応を記録します。痛みなどはありません。
- 6) 足の血圧を測定：足の血圧を測り、腕の血圧と比較し、足の血行状態を調べます。
- 7) QOL アンケート調査：日常生活の状態について調べるために、アンケート調査を行います。
- 8) 胸部レントゲン撮影：肺に異常がないかを調べるために行います。
- 9) 呼吸機能検査（肺活量、一秒率）：肺の機能を調べます。
- 10) 心機能検査（心電図、心エコー、シビリダモール負荷心筋シンチ）：

心臓に異常がないかどうか、心臓に血流の少ない領域がないか、また心

臓の機能（働き）を調べるために行います。

1 1) がんの検査：以下の検査のうちいくつかを行います。

大腸がん検査：検便と直腸診により、大腸がんの可能性について調べます。

上部消化管内視鏡検査（胃カメラ）：胃がんの有無を調べます。

前立腺がん検査（男性のみ）：血液検査により前立腺がんの可能性について調べます。

子宮がん検査（女性のみ）：子宮の出口の部分から細胞をこすり取ってきて、子宮がんの可能性について調べます。産婦人科で行います。

1 2) 頭部・胸部・腹部 CT、全身 PET：放射線を使って、頭部、胸部、腹部及び全身の異常がないかを調べる検査です。通常の X 線検査とは異なり、コンピュータを使って体の断面写真をとることが出来、より詳細に体の内部の状態を知ることができます。放射線科で行います。

1 3) 眼底検査：眼の異常の有無、特に血管が増えて起こる病気が無いかを調べ、写真撮影もします。眼科で行います。

1 4) 妊娠検査（女性のみ）：尿を採取して、妊娠しているかどうかを調べます。

1 5) ウイルス検査：血液を採取して、B 型肝炎、C 型肝炎、エイズウイルスに感染しているかどうかを調べます。

1 6) 筋生検（同意していただいた方のみ）：足の筋肉の組織を微量採取して、筋肉の中に血管新生因子 FGF -2 がどれくらい存在するかを調べます。ガン・バイオプシー針という大きめ（18 ゲージ程度）の針を持つ特殊な器具を用います。硬膜外麻酔に加え局所麻酔も追加しますが、多少の痛みを伴うことがあり、のちに出血したり腫れたりすることがあります。

1 7) 血管新生因子定量：血液を採取して、血管新生因子（FGF-2、VEGF、HGF）がどのくらい存在するかを調べます。

1 8) 血液検査：全身状態、体液中のイオン濃度、腎機能、肝機能、糖尿病の可能性、血液・血液凝固機能などを調べます。

1 9) ベクター検査：あなたの身体の中で投与されたベクターがどのような挙動を示すかを調べるために、以下の検査を行います。全て血液と尿のいずれかで調べる検査ですので、あなたに直接的な苦痛はありません。

- ①血中サイトカイン定量：ベクターにより炎症反応の原因となる物質が産生されていないかを調べる検査です。副作用の予知に有益です。
- ②血中・尿中ベクターゲノム定量：血液や尿にベクターが入り込んでいないかを調べる検査です。
- ③血中・尿中ベクター価定量：②と同様、血液や尿にベクターが入り込んでいないかを調べる検査です。
- ④血中抗ベクター抗体定量：あなたの身体がベクターに対し、免疫学的に反応していることを調べる検査です。

各時点の検査項目と1回あたりの採血量を次頁に示しますが、1回あたりの目安となる採血量は投与日から投与後14日までは40.5mLから26.5mLで計146.5mL、それから6ヶ月までは月1回17.5mLです。潰瘍をお持ちの患者さんで、細菌検査が認められた場合は、治療前の検査ではさらに10mLの採血が必要になります。

<検査スケジュール>

検査項目	治療前							治療後														追跡調査										
	-15	-14	-3	-2	-1	0	1	2	3	4	5	6	7	8~14	28~35	2	3	月1	6	月1	12	月1	24	月1	36	月1	48	月1	60			
	日	日	日	日	日	日	日	日	日	日	日	日	日	日	日	日	月	月	月1回	月	月1回	月	月1回	月	月1回	月	月1回	月	月1回	月		
	外来	入院														外来																
同意	●		●																													
潰瘍部細菌検査 ⁹⁾		▲																														
前処置 (硬膜外麻酔、ステロイド ホルモン点滴)					◎	◎	◎																									
ペクター液投与					◆																											
医師の診察		○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	
体重		○		○									○	○																		
体温、血圧、脈拍		○			○	○*	○	○	○	○	○	○	○	○	○*	○*	○*	○*	○*	○*	○*	○*	○*	○*	○*	○*	○*	○*	○*	○*	○*	
足の痛み、 アレルギーの調査 ²⁾		○					○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○										
潰瘍の観察 ³⁾		○		○									○	○	○	○	○	○	○	○	○	○										
歩行検査 ⁴⁾		○											○	○	○	○	○	○	○	○	○	○										
足の血流を調べる検査 ⁵⁾		○		○									○	○	○		○		○		○											
足の血圧を測定 ⁶⁾		○		○					○				○	○	○	○	○	○	○	○	○	○										
QOL アンケート調査 ⁷⁾		○													○		○		○		○											
胸部レントゲン撮影 ⁸⁾		○											○																			
呼吸機能検査 ⁹⁾		○																														
心機能検査 ¹⁰⁾		○																														
がんの検査 ¹¹⁾		○												○	○				○													
頭部・胸部・腹部 CT、 全身 PET ¹²⁾		○													○-				○-													
眼底検査 ¹³⁾		○																	○													
妊娠検査 (女性のみ) ¹⁴⁾		○																														
ウイルス検査 ¹⁵⁾		○																														
腸生検 ¹⁶⁾								○																								
血管新生因子定量 ¹⁷⁾			○		○		○		○				○	○																		
血液検査 ¹⁸⁾		○	○		○-	○	○		○				○	○	○		○		○		○											
尿検査		○	○		○	○	○		○				○	○	○		○		○		○											
ペクター検査 ¹⁹⁾			○		○	○	○		○				○	○	○*		○*		○*													
総蛋白量(mL)		37.5	40.5		26.5	26.5		26.5					40.5	26.5	17.5		17.5		17.5		16.5											

* : 投与直前に測定 ** : 血圧、脈拍のみ *** : 頭部・胸部・腹部 CT のみ **** : 投与 6 時間後 ★ : 血中抗ペクター抗体定量のみ測定

(2) 必要な費用について

本臨床研究に関わる治療前および治療後検査は、あなたの病状に関わるものであるものについては保険適応となるため、あなたに三割負担が必要となる場合がありますが（バージャー病の方は国が定める特定疾患であるため、あなたが手続きを行っている場合は病状に関わる検査経費も負担はありません）、本臨床研究に特有の検査については、全て九州大学病院における公費あるいは研究費で負担致します。また、あなたの入院中の本臨床研究に關与する治療・検査経費については、全額九州大学病院における公費あるいは研究費で負担致します。

個々の検査の経費に関する詳細は担当医師にお尋ね下さい。

(3) 同意の確認について

治療前には、臨床研究に参加頂く旨を2回にわたり御説明、御同意頂きます（今回は第1回目です）。また検査などに関しても御説明、御同意を頂きますが、一度御同意、御捺印頂いたあとでも、筋生検の実施あるいは研究への参加を辞退することは自由です。

血管新生遺伝子治療臨床研究実施中に新しい情報（例えば他の新しい治療法、安全性に関する情報など）が得られた時は、必ずあなたにお知らせ致します。その場合には、この治療法を続けるかどうかについて、再度あなたの意思をお尋ねします。

(4) 試験参加予定期間について

臨床研究のための入院期間は、原則として治療前2週間、治療後2週間を目安にして下さい。また治療後に退院なさった後も約6ヶ月間は試験期間であり、外来にて経過を観察させて頂くことになります。月に1度は必ず外来を受診し、必要な検査を行います。詳細は担当医師の指示に従って下さい。

また本臨床研究が終了した後でも、疾患の性質上、九州大学病院第2外科では少なくとも5年間は外来受診をお勧めしております。また本臨床研究では世界で初めてのウイルスベクターを用いた遺伝子治療を行う関係上、定期的な外来受診をお願いし、5年の追跡調査を行う予定であることをご承知置き下さい。