

リンパ球の表現型の変化は特に認められないことを報告している(70)。

ex vivo で培養したリンパ球や TCR 遺伝子を導入したリンパ球を用いた Rosenberg SA らの臨床研究では、移入 T 細胞の安全性に対する問題は報告されていない(9, 13, 71, 72)。さらに、レトロウイルスベクターにより TCR 遺伝子を導入した臨床試験では、6 日から 9 日という比較的短期間の ex vivo 培養 T リンパ球の群において移入 T リンパ球が患者生体内で長期間観察されたことが報告されている(13)。本計画においても T リンパ球の培養期間はこれと同程度に抑えている。

Ⅶ. 3. 4 被験者に投与する細胞の安全性

被験者に投与する細胞は、レトロウイルスベクターMS-bPa により TCR α 鎖及び β 鎖遺伝子を導入した被験者個人由来の T リンパ球である。細胞調製の際に用いられる培地の成分、レトロウイルスベクターMS-bPa の成分、種々の試薬、抗体等に関しては、遺伝子導入細胞を凍結保存する前に RPMI1640 で十分に洗浄される。そのため被験者に投与される量は極めて少なく、これらが直接影響を及ぼすことはないと考えられるが、細胞調製終了後、培養上清又は凍結保存専用バッグに充填する前の細胞懸濁液を検体として採取し、以下の試験を行うことにより品質を担保する(品質試験方法の概要を参考資料 14「遺伝子導入リンパ球の品質試験」に、健常人リンパ球での試験調製での結果を参考資料 11「遺伝子導入細胞試験成績書」に示す)。全ての品質試験結果が得られて安全性が確認されるまで遺伝子導入細胞は凍結保存され、安全性が確認された後に使用される。

1. マイコプラズマ否定試験 (PCR 法)
2. RCR 試験 (RT-PCR 法)
3. 無菌試験 (日本薬局方)
4. エンドトキシン試験 (日本薬局方)
5. 細胞生存率試験 (トリパンブルー)
6. 細胞数試験
7. 遺伝子導入効率試験
8. 導入遺伝子の機能試験

被験者への投与の際は、凍結保存専用バッグ中に凍結された細胞懸濁液を投与直前に 37°C 温浴にて急速に解凍し、RPMI1640 培地と HSA 含 CP-1 とが 1:1 の割合で混合された細胞懸濁液として静脈内投与される(生理食塩水の追加により投与液量を調整する場合がある)。

なお、品質試験の検体を採取した後の工程としては、閉鎖系操作による凍結保存専用バッグへの充填、凍結、解凍、及び閉鎖系操作による輸注用バッグ又は注射器への移し替えであり、不純物混入のリスクは極めて低いと考えられる。また、凍結・解凍による細胞生存率の低下については、凍結保存専用バッグに充填する前の細胞懸濁液を別途バイアルに

凍結保存し、投与日以前に細胞生存率を測定することにより確認する。

Ⅶ. 4 ペプチドの安全性

Ⅶ. 4. 1 MAGE-A4₁₄₃₋₁₅₁ ペプチドの純度

本臨床研究に用いられる MAGE-A4₁₄₃₋₁₅₁ ペプチドは米国 NeoMPS 社において GMP 準拠で製造された。その製造工程の概略と品質試験の結果を参考資料 15 「ペプチド製造工程・品質試験報告書」に示す。その純度は逆相 HPLC による解析により 98.3%であった。またエンドトキシンは 0.100 EU/mg 未満であり、無菌試験により無菌性が確認されている。

Ⅶ. 4. 2 MAGE-A4₁₄₃₋₁₅₁ ペプチドの安全性

腫瘍ワクチンの臨床試験はこれまでに国内外ですでに主要なものだけでも 1,300 名以上の対象者につき報告されている(73)。その中でも CTL 認識腫瘍抗原ペプチドを用いた臨床研究は最も多数行われており、米国の Rosenberg らのグループだけでも 2004 年の時点で総数 381 名の患者に腫瘍抗原ペプチドワクチンを投与している(73)。しかしながらこれら CTL 認識腫瘍抗原ペプチドについて、現在までに重篤な副作用の報告はない(29)。軽微な副作用として、皮膚反応(注射部位の発赤、腫脹)、微熱、倦怠感等が報告されている。本臨床研究に用いられる MAGE-A4₁₄₃₋₁₅₁ ペプチドはラットにおける単回皮下投与毒性試験を実施した(株式会社三菱化学安全科学研究所 熊本研究所、熊本県宇土市栗崎町 1285 番地)。ヒトへの投与量として予定している 300 μg/body を投与した結果、一般状態の変化及びペプチド投与に関連する体重の変化は認められず、また病理学的検査においても異常は認められなかった。(参考資料 16 「ラット単回皮下投与急性毒性試験」参照。MAGE-A4₁₄₃₋₁₅₁ ペプチドは資料中「MAGE-A4-A24」に該当)。以上より MAGE-A4₁₄₃₋₁₅₁ ペプチドの投与において重篤な副作用が出現する可能性は極めて小さいと考えられる。なお、有害事象が発現した場合には、「IX. 5. 5. 3 ペプチド投与に伴う副作用」に従い、適切な処置を施す。

VIII. 遺伝子治療臨床研究の実施が可能であると判断した理由

以下の理由により本臨床研究は実施可能と判断される。

①臨床ニーズ

再発食道癌の患者の50%生存期間は約6ヶ月である。さらに、化学療法等の治療に抵抗性となれば、もっぱら栄養管理等の緩和医療以外の手立てがないのが現状である。本臨床研究は、絶対予後不良かつ他に有効な治療法がない患者を対象としており、このような患者に対する有効な治療手段開発の臨床ニーズが存在する。

②本臨床研究の品質・安全性

本臨床研究は、腫瘍抗原 MAGE-A4 を認識する CTL クローン由来の TCR 遺伝子をレトロウイルスベクターにより遺伝子導入した自己リンパ球を患者に投与する。この製造過程は十分に確立され、また、調製された輸注用の TCR 遺伝子導入リンパ球の品質は、調製時毎に確保される。

本臨床研究で遺伝子導入する細胞は、小児由来の造血幹細胞ではなく、成人末梢血由来の T リンパ球であり、T リンパ球への遺伝子導入の場合、レトロウイルスベクターによる癌化のリスクは極めて低く、対象疾患（治療抵抗性食道癌）とのリスク・ベネフィットを総括すると、レトロウイルスベクターを使用した遺伝子治療の施行に問題はない。

免疫不全マウスに TCR 遺伝子導入ヒトリンパ球を投与した安全性比較試験において、対照とした非遺伝子導入ヒトリンパ球投与群と比較して、TCR 遺伝子導入ヒトリンパ球投与群に特異的な毒性所見は観察されなかった（添付資料、47 ページ）。

レトロウイルスベクターによる遺伝子導入で同様にして調製された、他の腫瘍抗原を認識する TCR 遺伝子導入リンパ球のヒトへの投与は、NIH の Rosenberg SA らのグループで既の実績があり（13）、調製された TCR 遺伝子導入リンパ球の品質に起因する有害事象の報告はない（添付資料、54 ページ）。

③本臨床研究の期待される有効性

当施設で調製された MAGE-A4 TCR 遺伝子導入リンパ球は、MAGE-A4 陽性・HLA-A2402 陽性のヒト腫瘍細胞株に対して特異的な細胞傷害活性を示すことが *in vitro* において確認されている（添付資料、38 ページ）。また、免疫不全マウスに MAGE-A4 陽性・HLA-A2402 陽性のヒト腫瘍細胞株を接種したモデル実験において、TCR 遺伝子導入ヒトリンパ球投与群に特異的な腫瘍径増大の抑制効果が認められた（添付資料、42 ページ）。

NIH の Rosenberg SA らは、転移性悪性黒色腫患者 17 例に腫瘍抗原 MART-1 の TCR 遺伝子導入リンパ球を投与する遺伝子治療臨床研究を行った結果、2 例（12%）に PR（partial response：部分奏効）を認めており（13）（添付資料、54 ページ）、本臨床研究においても同

様の抗腫瘍効果が見込まれる可能性がある。

④当施設・研究者の能力

当施設内に設置された細胞調製施設は GMP 準拠で運営・管理される体制にあり、TCR 遺伝子導入リンパ球は同基準に準拠して調製される。

本臨床研究の研究者は、遺伝子ベクター調製、リンパ球アフェレーシス、遺伝子導入、細胞培養、品質管理及び当施設における腫瘍抗原由来ペプチドワクチン臨床試験の経験者により構成される。

IX. 遺伝子治療臨床研究の実施計画

IX. 1 遺伝子治療臨床研究を含む全体の治療計画

IX. 1. 1 本臨床研究の実施に際し三重大学医学部附属病院内に設置される委員会

遺伝子治療臨床研究審査委員会に安全・効果評価・適応判定部会及び遺伝子製剤検証部会を設置する。

上記の委員会・部会の運営に関しては、別途作成の業務手順書に従うものとする。

IX. 1. 1. 1 遺伝子治療臨床研究審査委員会安全・効果評価・適応判定部会

安全・効果評価・適応判定部会は、本臨床研究の安全性及び効果並びに被験者の適応性に関する具体的事項について評価及び判定を行い、その適否及び留意事項、改善事項等について遺伝子治療臨床研究審査委員会に意見を提出する。

1) 適格性評価

一次登録後に各患者が選択基準を全て満たし、かつ除外基準のいずれにも抵触しないことを確認し、本臨床研究の対象患者として適当かどうかを判定する。

2) 用量増加における評価

各コホートの全被験者における day35 までのデータをもとにコホートごとの安全性を判定する。安全性に問題がないと判定された場合、次のコホートに移行する。

3) 重篤な有害事象発現時の対応

重篤な有害事象が発現した場合、本臨床研究との因果関係並びに本臨床研究継続の可否について判定する。

4) 臨床研究の総合判定

全被験者における臨床研究が終了した後、全被験者のデータをもとに本臨床研究の安全性並びに効果について総合的に判定する。

IX. 1. 1. 2 遺伝子治療臨床研究審査委員会遺伝子製剤検証部会

遺伝子製剤検証部会は、本臨床研究に用いる遺伝子導入細胞製剤の検証及びその品質の評価を行い、その結果を遺伝子治療臨床研究審査委員会に提出する。

IX. 1.2 本臨床研究の実施手順

本臨床研究の治療計画は以下の図 14 のとおりである。

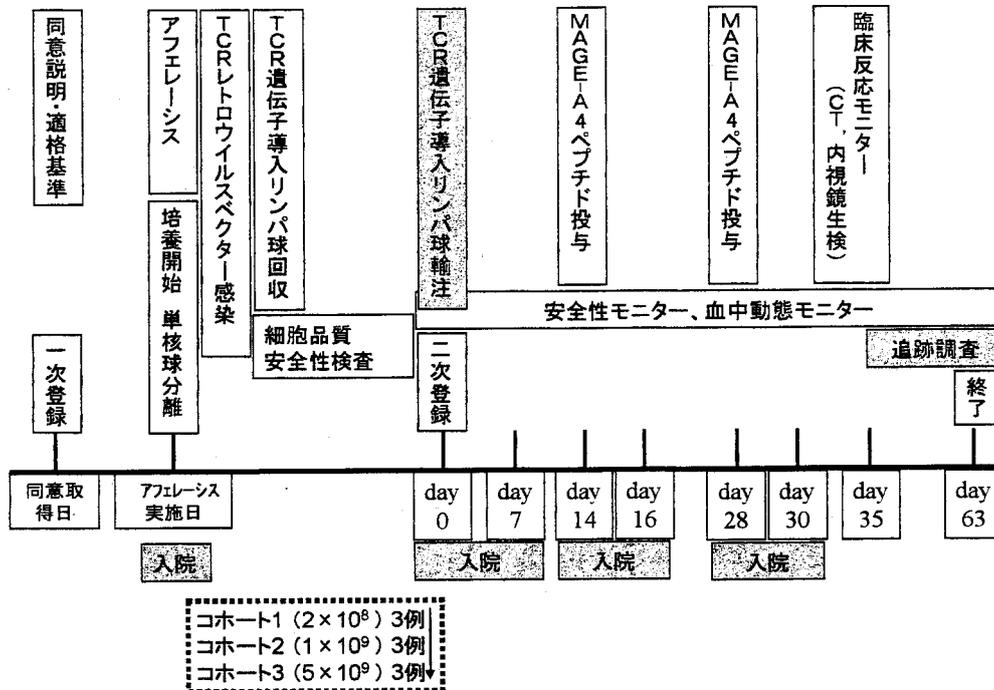


図 14 TCR 遺伝子導入リンパ球調製及び輸注計画

治療抵抗性食道癌患者より一次登録時の選択基準・除外基準に適合する患者を選定し、本臨床研究への一次登録を行う。

アフェレーシスにて採取した自己 PBL に MAGE-A4₁₄₃₋₁₅₁ ペプチドを認識する TCR α 鎖及び β 鎖遺伝子をレトロウイルスベクターにて導入し、得られた TCR 遺伝子導入リンパ球を ex vivo 培養し、一旦凍結保存する。

TCR 遺伝子導入リンパ球の調製を終了し、安全性を確認した時点で、二次登録時の選択基準・除外基準に適合する患者を選定し、本臨床研究への二次登録を行う。

TCR 遺伝子導入リンパ球（単回投与）を経静脈的に投与する。

1 日投与量 $300 \mu\text{g}$ の MAGE-A4₁₄₃₋₁₅₁ ペプチドと不完全フロイントアジュバントとの懸濁液を、TCR 遺伝子導入リンパ球投与日を 0 日として 14 日目及び 28 日目の 2 日間の計 2 回、皮下投与する。

追跡調査を行った後、本遺伝子治療の安全性（有害事象、臨床検査、RCR、LAM-PCR）、TCR 遺伝子導入リンパ球の血中動態及び腫瘍組織への浸潤、腫瘍特異的免疫反応及び腫瘍縮小効果を評価する。

TCR 遺伝子導入リンパ球投与後 63 日目に本臨床研究を終了とする。

TCR 遺伝子導入リンパ球数の設定

投与する TCR 遺伝子導入リンパ球数は 1 回投与量 2×10^8 個、 1×10^9 個、 5×10^9 個の各コホート別とする。各コホートは 3 例とし、1 回投与量を 1×10^9 個、 5×10^9 個へと増加させる。

腫瘍浸潤リンパ球や T 細胞クローンを体外で増殖後に投与する自家培養リンパ球輸注が米国を中心に行われ、 $3 \times 10^8 \sim 4 \times 10^{11}$ 個のリンパ球が投与され細胞輸注に起因する重篤な有害事象の報告はない(9, 74)。また、TCR 遺伝子導入リンパ球を投与する類似研究 (NIH、米国) では、17 例において 1×10^8 以上 ($1 \times 10^9 \sim 8.6 \times 10^{10}$; 中央値 7×10^9) のリンパ球が 1 回に静脈内投与され、投与リンパ球に起因する重篤な有害事象の報告はない (添付資料、54 ページ)。本計画では安全性を評価するために、その投与数より少ない 2×10^8 個のリンパ球数を初期投与数と設定した。また、臨床試験のプロトコールに従うと、体外にて遺伝子導入細胞調製時に培養増殖される細胞数が 1×10^{10} 程度と予想されるため、調製し投与可能な最大リンパ球数を 5×10^9 個と設定した。

投与量増加基準は、以下のとおりとする (有害事象のグレードについては「IX. 5.6 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」参照)。

- 1) 3 例のうち 1 例も「本治療との因果関係を否定できないグレード 3 以上の有害事象」が発現しなかった場合、次のコホートに 3 例が登録される。
- 2) 3 例のうち 1 例に「本治療との因果関係を否定できないグレード 3 以上の有害事象」が発現した場合、同じコホートに 3 例が登録される。
- 3) 3 例のうち 2 例又は 3 例に「本治療との因果関係を否定できないグレード 3 以上の有害事象」が発現した場合、投与量の増加はそこで中止される。
- 4) 上記 2) に従った後、6 例のうち 1 例に「本治療との因果関係を否定できないグレード 3 以上の有害事象」が発現した場合、投与量の増加は続けられる。
- 5) 上記 2) に従った後、6 例のうち 2 例以上に「本治療との因果関係を否定できないグレード 3 以上の有害事象」が発現した場合、投与量の増加はそこで中止される。

IX. 2 被験者の選択基準及び除外基準

IX. 2.1 一次登録

患者より文書にて同意を取得する。一次登録時の選択基準を全て満たし、かつ除外基準のいずれにも抵触しないことを確認し、登録を行う。

IX. 2.1.1 選択基準 (一次登録)

以下の全ての基準を満たす患者を対象とする。

- 1) 組織診で確定診断の得られた食道癌の患者
- 2) 根治切除不能かつ標準的な治療法 (化学療法、放射線療法等) 抵抗性となった臨床病

期Ⅲ期あるいはⅣ期（TNM分類）の食道癌患者、又は術後あるいは初回放射線化学療法後に再発転移をきたし治療抵抗性となった食道癌患者

- 3) HLA-A2402 陽性の患者
- 4) PCR 法にて腫瘍組織に MAGE-A4 発現が確認* されている患者
- 5) 画像診断等による臨床効果判定に必要とされる測定可能な腫瘍病変を有する患者
- 6) ECOG Performance Status 0~1 の患者
- 7) 本臨床研究参加時点の年齢が 20 歳以上 75 歳以下の患者
- 8) 細胞採取時に前治療（手術、化学療法、放射線療法）終了から 4 週間以上の経過が見込める患者
- 9) 同意取得後 4 ヶ月以上の生命予後が見込める患者
- 10) 主要臓器（骨髄、心、肺、肝、腎等）に高度な障害がなく、臨床検査が以下の基準を満たす患者

- ・白血球数 $\geq 3,000/\text{mm}^3$
- ・好中球数 $\geq 1,500/\text{mm}^3$
- ・ヘモグロビン $\geq 8.0 \text{ g/dL}$
- ・血小板数 $\geq 100,000/\text{mm}^3$
- ・総ビリルビン (T-Bil) $\leq 2.0 \text{ mg/dL}$
- ・AST (GOT)、ALT (GPT) $\leq 150 \text{ IU/dL}$
- ・クレアチニン (Cr) $\leq 2.0 \text{ mg/dL}$

・動脈血酸素分圧 70torr 以上、または動脈血酸素飽和度 94%以上

- 11) 免疫組織染色法にて腫瘍組織に HLA クラス I 分子発現が確認されている患者
- 12) 治療内容を理解し、本人の自由意思による同意を文書で得られた患者

*: 試験方法は参考資料 17 「MAGE-A4 抗原発現検査プロトコール」参照。MAGE-A4 発現陽性の判断基準は、定量的 RT-PCR 法により GAPDH 発現 10,000 コピー当たり MAGE-A4 発現が 50 コピー以上とする。

IX. 2. 1. 2 除外基準（一次登録）

以下のいずれかの基準に抵触する患者は除外する。

- 1) 以下の重篤な合併症を有する患者
 - ・不安定狭心症、心筋梗塞又は心不全
 - ・コントロール不良な糖尿病又は高血圧症
 - ・活動性の感染症
 - ・胸部 X 線検査による明らかな間質性肺炎又は肺線維症
 - ・自己免疫疾患
 - ・出血傾向（プロトロンビン時間 (PT) <50%、活性化トロンボプラスチン時間 (APTT)

>60 sec、フィブリノゲン (Fbg) <100 mg/dL、フィブリン分解産物 (FDP) >20 μ g/mL)

・血栓形成傾向

- 2) 重篤な過敏症の既往歴を有する患者
- 3) HBs 抗原、HCV 抗体、HIV 抗体、HTLV-1 抗体のいずれかが陽性である患者
- 4) コントロール不能な胸水・腹水・心嚢水を有する患者
- 5) 制御困難な脳内転移を有する患者
- 6) 副腎皮質ステロイド剤又は免疫抑制剤を全身投与中の患者
- 7) MAGE-A4₁₄₃₋₁₅₁ ペプチド投与に適さない患者 (例えば MAGE-A4₁₄₃₋₁₅₁ ペプチドの成分、アジュバントに対して過敏症の既往を有する患者)
- 8) 本臨床研究参加への同意に影響を及ぼすような精神疾患、薬物依存症等の疾患を有する患者
- 9) 妊娠中、授乳中、妊娠している可能性のある女性又は妊娠を希望している女性患者。又は挙子希望の男性患者 (ただし、遺伝子治療前に精子を凍結保存し、その精子を用いて子供をもうける場合は該当しない)
- 10) 一次登録前 4 ヶ月以内に他の臨床試験 (臨床研究) に参加している患者
- 11) その他、総括責任者又は分担研究者が不相当と認めた患者

IX. 2. 2 二次登録

一次登録した患者における TCR 遺伝子導入リンパ球の調製が終了した後、再度患者より文書にて同意を取得する。二次登録時の選択基準を全て満たし、かつ除外基準のいずれにも抵触しないことを確認し、登録を行う。

IX. 2. 2. 1 選択基準 (二次登録)

以下の全ての基準を満たす患者を対象とする。

- 1) 本臨床研究における最小輸注量 (2×10^8 個) の TCR 遺伝子導入リンパ球が得られた患者
- 2) 画像診断等による臨床効果判定に必要なとされる測定可能な腫瘍病変を有する患者
- 3) ECOG Performance Status 0~1 の患者
- 4) 主要臓器 (骨髄、心、肺、肝、腎等) に高度な障害がなく、臨床検査が以下の基準を満たす患者。

・白血球数	$\geq 3,000/\text{mm}^3$
・好中球数	$\geq 1,500/\text{mm}^3$
・ヘモグロビン	$\geq 8.0 \text{ g/dL}$
・血小板数	$\geq 100,000/\text{mm}^3$
・総ビリルビン (T-Bil)	$\leq 2.0 \text{ mg/dL}$
・AST (GOT)、ALT (GPT)	$\leq 150 \text{ IU/dL}$
・クレアチニン (Cr)	$\leq 2.0 \text{ mg/dL}$

- ・動脈血酸素分圧 70torr 以上、または動脈血酸素飽和度 94%以上
- 5) 一次登録後に同意撤回がなく、治療内容を理解し、本人の自由意思による同意を文書で得られた患者

IX. 2. 2. 2 除外基準（二次登録）

以下のいずれかの基準に抵触する患者は除外する。

- 1) 以下の重篤な合併症を有する患者
 - ・不安定狭心症、心筋梗塞又は心不全
 - ・コントロール不良な糖尿病又は高血圧症
 - ・活動性の感染症
 - ・胸部 X 線検査による明らかな間質性肺炎又は肺線維症
 - ・自己免疫疾患
 - ・出血傾向（プロトロンビン時間 (PT) < 50%、活性化トロンボプラスチン時間 (APTT) > 60 sec、フィブリノゲン (Fbg) < 100 mg/dL、フィブリン分解産物 (FDP) > 20 μ g/mL)
 - ・血栓形成傾向
- 2) 重篤な過敏症の既往歴を有する患者
- 3) コントロール不能な胸水・腹水・心嚢水を有する患者
- 4) 制御困難な脳内転移を有する患者
- 5) 副腎皮質ステロイド剤又は免疫抑制剤を全身投与中の患者
- 6) MAGE-A4₁₄₃₋₁₅₁ ペプチド投与に適さない患者（例えば MAGE-A4₁₄₃₋₁₅₁ ペプチドの成分、アジュバントに対して過敏症の既往を有する患者）
- 7) 本臨床研究参加への同意に影響を及ぼすような精神疾患、薬物依存症等の疾患を有する患者
- 8) 妊娠中、授乳中、妊娠している可能性のある女性又は妊娠を希望している女性患者。又は挙子希望の男性患者（ただし、遺伝子治療前に精子を凍結保存し、その精子を用いて子供をもうける場合は該当しない）
- 9) その他、総括責任者又は分担研究者が不相当と認めた患者

IX. 3 被験者の同意の取得方法

本臨床研究の開始に先立ち、総括責任者又は分担研究者は被験者の同意を得るに際し、三重大学医学部附属病院内に設置された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（X. 7）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（文書による同意取得は一次登録時及び二次登録時の計 2 回行う）。なお、同意を取得する前には、質問する機会と本臨床研究に参加するか否かを判断するのに十分な時間を被験者本人に与え、全ての質問に対して被験者が満足するように答えるものとする。また、二次登録時の説明の際は、総括責

任者又は分担研究者と利害関係のない三重大学医学部附属病院の治験コーディネーター等が説明補助を行うものとする。

1. はじめに
2. 臨床研究について
3. あなたの食道癌について
4. 遺伝子治療臨床研究の概要について
5. TCR 遺伝子治療臨床研究の海外での状況について
6. 臨床研究の方法
7. 参加できる方、参加できない方
8. 臨床研究のスケジュール
9. 期待される効果
10. 予想される危険性および副作用
11. 臨床研究への参加予定期間
12. 臨床研究への参加患者数
13. 他の治療法について
14. 臨床研究への参加の自由と、参加の取りやめについて
15. 健康被害の補償について
16. 新たな情報のお知らせについて
17. 遺伝子治療臨床研究の中止について
18. あなたに守っていただきたいこと
19. あなたの費用負担について
20. 個人情報の保護について
21. 個人情報の第三者への提供の制限について
22. 個人情報の開示、訂正、利用停止や問い合わせ・相談・苦情の窓口について
23. 緊急連絡先およびお問い合わせ先について
24. 遺伝子治療臨床研究の名称と実施組織体制

IX. 4 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3年間とする。症例毎の実施期間はTCR遺伝子導入リンパ球輸注後63日であるが、本臨床研究終了後も当該被験者の生存期間（FDAのガイドライン(75)に従い、最短15年間）にわたり、1年に1回の頻度で遺伝子導入Tリンパ球の血中動態及び二次発癌やRCRの有無について追跡調査を実施する。

目標症例数は以下のとおり9例とするが、有害事象が発現した場合には、「IX. 1.2 本臨床研究の実施手順」の投与量増加基準に従って、安全性の評価を強化する。

1回当たりのTCR遺伝子導入リンパ球輸注量

コホート1	2×10^8 個	3例
コホート2	1×10^9 個	3例
コホート3	5×10^9 個	3例

また、TCR遺伝子導入リンパ球の増殖率は培養ごとに予測することができないため、症例の取り扱いを以下のとおりとする。

- ・コホート1で定められたTCR遺伝子導入リンパ球輸注量(2×10^8 個)を本臨床研究における最小輸注量とする。最小輸注量に満たない場合にはTCR遺伝子導入リンパ球を投与せず、本臨床研究における脱落例とする。
- ・コホート2で定められたTCR遺伝子導入リンパ球輸注量(1×10^9 個)が得られなかった場合にはその被験者に輸注可能な全てのTCR遺伝子導入リンパ球を投与する。投与したTCR遺伝子導入リンパ球輸注量が 0.8×10^9 個以上の場合、コホート2の症例数として数えるが、それ未満の場合は投与量増加の評価例としない。
- ・コホート3で定められたTCR遺伝子導入リンパ球輸注量(5×10^9 個)が得られなかった場合にはその被験者に輸注可能な全てのTCR遺伝子導入リンパ球を投与する。投与したTCR遺伝子導入リンパ球輸注量が 4×10^9 個以上の場合、コホート3の症例数として数えるが、それ未満の場合は投与量増加の評価例としない。
- ・コホート2及び3の投与量増加のための評価対象としない症例における臨床観察項目データは、当臨床研究の安全性評価解析対象とする。
- ・投与量増加の評価対象としない症例数は、コホート2、3において最大3例までとし、その症例をもって当該コホートへの登録を終了し、本臨床研究におけるTCR遺伝子導入リンパ球の臨床至適用量を決定する。

IX. 5 遺伝子治療臨床研究の実施方法

IX. 5.1 対照群の設定方法

本臨床研究では対照群を設定しない。

IX. 5. 2 遺伝子導入方法

IX. 5. 2. 1 PBMC の採取

三重大学医学部附属病院輸血部において採取機種 COBE SPECTRA (GAMBRO BCT 社) を用いて、被験者より PBMC、及び T リンパ球培養に必要な血漿を採取する。被験者からの PBMC 採取条件及び被験者のアフエレーシス実施条件は以下のとおりとする。なお、アフエレーシスは日本造血細胞移植学会のガイドラインに準じて、手技に習熟した医師が被験者の状態を十分に観察しながら実施する。

被験者からの PBMC 採取条件

- ・血液処理量：約 5,000 mL (最大で 150 mL/kg)
- ・処理速度：0.8~1.5 mL/kg/min
- ・処理時間：通常 90 分以内 (最大 120 分まで)

被験者のアフエレーシス実施条件

- ・採取当日の身体的、精神的状態が良好であること
- ・採取当日に 37.5℃を超える発熱を有しないこと
- ・採取当日の収縮期血圧が 90 mmHg 以下又は 180 mmHg 以上でないこと
- ・その他、アフエレーシス実施医師が不可能と判断した場合は実施を延期する。

IX. 5. 2. 2 TCR 遺伝子導入リンパ球の調製

採取された PBMC 画分を用いて、「VII. 3. 1 遺伝子導入リンパ球の調製方法」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、TCR 遺伝子導入リンパ球としての品質を確認したうえで投与に用いる。

IX. 5. 2. 3 TCR 遺伝子導入リンパ球の投与

各コホートにて設定された細胞数の TCR 遺伝子導入リンパ球 (単回投与) を静脈内投与する。凍結保存されたリンパ球浮遊液を含むバッグを 37℃恒温槽内で解凍、被験者静脈内へ投与し、投与直後より問診とバイタルサインを取りながら十分な観察を行い、有害事象が発現した場合には、「IX. 5. 5. 2 TCR 遺伝子導入リンパ球輸注に伴う副作用」に従い、適切な処置を施す。

IX. 5. 3 前処置及び併用療法の有無

IX. 5. 3. 1 前処置

前処置は特に必要としない。

IX. 5. 3. 2 MAGE-A4₁₄₃₋₁₅₁ ペプチド投与

1 回量 300 μ g の MAGE-A4₁₄₃₋₁₅₁ ペプチドを、TCR 遺伝子導入リンパ球投与日を 0 日として 14 日目及び 28 日目の 2 日間の計 2 回、不完全フロイントアジュバント (商品名: MONTANIDE™ ISA 51, SEPPIC 社) との懸濁液として皮下投与する。有害事象が発現した場合には、「IX. 5. 5. 3 ペプチド投与に伴う副作用」に従い、適切な処置を施す。

IX. 5. 3. 3 併用禁止療法及び併用禁止薬

以下の療法及び薬剤については、本臨床研究期間中の併用を禁止する。

併用禁止療法

- 1) 化学療法
- 2) 放射線療法
- 3) 手術

併用禁止薬

- 1) 抗癌剤
- 2) 副腎皮質ステロイド剤 (全身投与)
- 3) 免疫抑制剤 (全身投与)

IX. 5. 4 臨床検査項目及び観察項目

以下のとおり検査・観察を実施する。なお、検査・観察スケジュールについては「X. 3 検査・観察スケジュール」に記載する。

同意取得日 (スクリーニング期間)

- 1) 同意取得 (一次登録)
- 2) 被験者背景
 - ・性別、生年月日 (年齢)、診断名、身長、体重、既往歴、合併症、過敏症の有無、前治療、併用療法・併用薬、妊娠の有無、HLA 型、MAGE-A4 発現の有無 (PCR)、他の臨床試験 (臨床研究) への参加の有無
- 3) 問診、バイタルサイン
 - ・血圧、体温、脈拍数
- 4) Performance status
- 5) 感染症検査
 - ・HBs 抗原、HCV 抗体、HIV 抗体、HTLV-1 抗体
- 6) 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、ヘマトクリット、血小板数

- ・血液生化学的検査：AST (GOT)、ALT (GPT)、ALP、LDH、ロイシンアミノペプチターゼ (LAP)、 γ -GTP、総ビリルビン (T-Bil)、直接ビリルビン (D-Bil)、総蛋白 (TP)、アルブミン (Alb)、尿素窒素 (BUN)、クレアチニン (Cr)、尿酸 (UA)、Na、K、Cl、Ca、血糖値
- ・血液凝固能検査：プロトロンビン時間 (PT)、活性化部分トロンボプラスチン時間 (APTT)、フィブリノゲン (Fgb)、フィブリン分解産物 (FDP)
- ・免疫血清：C反応性蛋白 (CRP)
- ・尿検査：尿定性、尿沈査
- ・腫瘍マーカー検査 (SCC、CEA、CA19-9)

7) 画像診断

- ・胸部 X 線検査、12 誘導心電図、頸部・胸部・腹部・骨盤 CT*

8) 上部消化管内視鏡検査*

9) 有害事象

- ・内容、発現日、グレード、本臨床研究の処置 (継続・中止の別等)、その他の処置、転帰、転帰日、本臨床研究との因果関係

*：スクリーニング期間開始前 12 週間以内の成績の利用を可とする。

アフエレーシス実施日 (スクリーニング期間)

1) 問診、バイタルサイン

- ・血圧、体温、脈拍数

2) Performance status

3) 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、ヘマトクリット、血小板数
- ・血液生化学的検査：AST (GOT)、ALT (GPT)、ALP、LDH、ロイシンアミノペプチターゼ (LAP)、 γ -GTP、総ビリルビン (T-Bil)、直接ビリルビン (D-Bil)、総蛋白 (TP)、アルブミン (Alb)、尿素窒素 (BUN)、クレアチニン (Cr)、尿酸 (UA)、Na、K、Cl、Ca、血糖値

4) 有害事象 (臨床検査値の異常変動含む)

- ・内容、発現日、グレード、本臨床研究の処置 (継続・中止の別等)、その他の処置、転帰、転帰日、本臨床研究との因果関係

day 0 (治療期間)

1) 同意取得 (二次登録)

2) 問診、バイタルサイン

- ・血圧、体温、脈拍数

3) Performance status

4) 臨床検査

- ・血液学的検査^{*1)}：白血球数、白血球分画、赤血球数、ヘモグロビン、ヘマトクリット、血小板数
- ・血液生化学的検査^{*1)}：AST (GOT)、ALT (GPT)、ALP、LDH、ロイシンアミノペプチターゼ (LAP)、 γ -GTP、総ビリルビン (T-Bil)、直接ビリルビン (D-Bil)、総蛋白 (TP)、アルブミン (Alb)、尿素窒素 (BUN)、クレアチニン (Cr)、尿酸 (UA)、Na、K、Cl、Ca、血糖値
- ・血液凝固能検査^{*1)}：プロトロンビン時間 (PT)、活性化部分トロンボプラスチン時間 (APTT)、フィブリノゲン (Fgb)、フィブリン分解産物 (FDP)
- ・免疫血清^{*1)}：C 反応性蛋白 (CRP)
- ・尿検査^{*1)}：尿定性、尿沈査
- ・腫瘍マーカー検査^{*1)} (SCC、CEA、CA19-9。ただし、スクリーニング期間時高値例のみ)

5) 画像診断

- ・胸部 X 線検査^{*1)}、12 誘導心電図^{*1)}、頸部・胸部・腹部・骨盤 CT^{*2)}、PET-CT^{*2)}

6) 上部消化管内視鏡検査^{*2)}、腫瘍組織生検^{*2)}

7) TCR 遺伝子導入リンパ球血中動態^{*1)}

- ・リアルタイム PCR、テトラマー解析

8) 免疫機能解析^{*1)}

- ・テトラマー解析、ELISPOT アッセイ、細胞内サイトカイン染色

9) TCR 遺伝子導入リンパ球の腫瘍組織浸潤度^{*2)}、MAGE-A4 抗原発現検査^{*2)}

- ・浸潤リンパ球の検出
- ・PCR 法による MAGE-A4 発現

10) 有害事象 (臨床検査値の異常変動含む)

- ・内容、発現日、グレード、本臨床研究の処置 (継続・中止の別等)、その他の処置、転帰、転帰日、本臨床研究との因果関係

*1)：治療期間開始前 3 日以内の成績の利用を可とする。

*2)：治療期間開始前 7 日以内の成績の利用を可とする。

day 1 (治療期間)

1) 問診、バイタルサイン

- ・血圧、体温、脈拍数

2) Performance status

3) 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、ヘマトクリット、血小板数