

## 第 70 回 SSC2024 学術報告 -18-

### SSC Session - Working Group on Gene Therapy

柏倉裕志、大森司

(自治医科大学医学部生化学講座病態生化学部門・  
自治医科大学遺伝子治療研究センター)

Mon, Jun 24, 2024 16:30 – 18:30

Moderator: Wolfgang Miesbach – Germany

Flora Peyvandi – Italy

Speakers: Wolfgang Miesbach – Germany

Glenn F. Pierce – United States

Alok Srivastava – India

Pratima Chowdary – United Kingdom

Vincenzo La Mura – Italy

David Lillicrap – Canada

Radek Kaczmarek – United States

Paul Batty – United Kingdom

Steven W. Pipe – United States

### Session Welcome

Wolfgang Miesbach:

最近の活動を報告する。2022年11月に最初の運営委員会のミーティングが行われた。ISTH 2023では、血友病の遺伝子治療法の標準化について検討し、ISTH ウェブサイトに報告書を載せた。2023年から2024年にかけて、複数のプロジェクトを計画し開始した。そのまとめは“Recommendations for a Minimum Data Set for Monitoring Gene Therapy in Hemophilia: Communication from the ISTH SSC Working Group on Gene Therapy”としてJTHに出版されている。現在、“Call for Standardization of Methods in Haemophilia Gene Therapy: A Communication from the ISTH SSC Working Group on Gene Therapy”というタイトルの原稿を投稿している。

このWorking Groupの計画と研究トピックは多岐に渡り、1) 抗AAV抗体の標準化、2) 肝生検の標準化、3) 国際的ガイドラインの概要、4) 血友病遺伝子治療製品のプロファイルの提言、5) 血友病遺伝子治療臨床試験データ（何をどのように公表すべきか）、6) ベクターのsheddingについて、7) 遺伝子挿入変異について現在までわかっていること、8) 患者が癌を発症したらどうするか／遺伝子挿入変異を検出する方法、9) 遺伝子治療後の長期発現の戦略、および長期発現と相関する潜在的バイ

オマーカーの同定、10) 遺伝子治療を発展途上国にどのように提供できるか、が提案され議論を進めている。

今後の活動として、2024年9月に規制当局と会合を開く予定がある。また、他の学会や若手研究者との協力に取り組み、他の研究団体やWFHとともに血友病遺伝子治療のガイダンスを実施する予定である。

今回のSSC Sessionでは、「遺伝子治療の患者をどのように管理するか」をテーマとしてそれぞれのSpeakerが発表する。

## Who should be treated with gene therapy for hemophilia A and B?

Glenn F. Pierce:

遺伝子治療を受けるべき人とは？というシンプルな疑問に対し、答えは複雑である。治療を受ける意思決定には、次に挙げるような判断項目が考えられる。1. 遺伝子治療にアクセスできる環境であるか（承認されており、保険償還されることを含め）。2. 血友病Aと血友病Bでは成果が異なること。3. 現在の治療に対する満足度と治療へのアクセスはどうか。4. 患者におけるリスクファクターはあるか（肝疾患など）。5. 薬剤に対する短期間の毒性の懸念はどうか（免疫抑制の毒性など）。6. 治療効果やリスクについて不明な点が多い。7. 個人的嗜好とニーズが様々であること。8. 遺伝子治療の治療評価の曖昧さと不確実性への対応。などである。よって、意思決定ツールの共有は、意思決定プロセスの枠組みを提供できるかもしれない。

近年の血友病の治療は目覚ましい発展がみられ、患者の遺伝子治療への関心は高まっている。これまでに標準の凝固因子製剤をはじめ、EHL製剤の開発、また超長期作動型のFVIIIが開発されている。Non-factor製剤では、FVIIIの機能を代替する抗体医薬は臨床で広く利用され、新しいタイプのFVIII代替抗体医薬も臨床試験が進められている。一方で、リバランシング製剤についても開発が進められている。血友病治療における未解決のニーズが新発見を後押しし、技術の進歩が治療の進歩を可能にした例とも言える。同様にこれら新しい治療薬の開発が、遺伝子治療の開発を後押しする可能性もある。

EHL製剤や、FVIII代替抗体医薬、リバランシング製剤、および遺伝子治療は、標準治療に比べ高いトラフとなる治療である。全ての新しい治療法のエンドポイントは、“出血ゼロ”のコンセプトである。以前の凝固因子製剤ではトラフレベルが低いため、破綻性出血や不顕性微小出血を引き起こし、出血のたびにダメージが蓄積していく。新しく開発された治療製剤は、治療の負担を軽減し患者の出血予防の向上を可能にしている。

治療法の違いによって血友病患者が考える懸念事項は変化することが予測される。凝固因子製剤の予防的投与では、出血リスク、関節痛、治療用製剤、血液媒

介感染症、治療効果、投与スケジュール、運動量、旅行、就職や教育、家族とキャリア、など全てにおいて日々懸念される内容である。Non-factor 製剤による治療では、運動量、就職や教育、治療効果、についてはほぼ懸念することは無くなり、出血リスク、関節痛、治療用製剤、投与スケジュール、旅行、などは起こった時に懸念されるものとなる。日々の懸念は、血液媒介感染症と家族とキャリアのみと推測される。遺伝子治療では、日々の懸念は、血液媒介感染症と家族とキャリアのみで、関節痛については起こった時に懸念されるものの、他の事項はほぼ懸念することが無くなる。

2024年6月現在の血友病遺伝子治療の現状について個人的見解を示す。第一世代のAAV-FIXは、ばらつきがあり個々の反応性は予測できないが、治験ではほとんどの患者が治療効果を得ており、耐久性は少なくとも25年と予測される。第一世代のAAV-FVIIIは、FIXよりも高いばらつきがあり個々の反応性は予測できない。多くの患者では持続性がなく、凝固因子製剤や抗体医薬の投与に戻る患者もいる。これらのことからAAV-FVIIIは治療の負担からの一時的な解放と考えられる。また、免疫抑制による副作用は投与期間により異なる。第一世代のLenti-FVIIIは、AAVの遺伝子治療とは異なるリスク・ベネフィットがあり、予備的検討での治療の有効性が示されている。

遺伝子治療を待つべきか、今後、どのような治療が開発されるのかについて解説すると、現在ゲノム編集により持続的治癒の可能性も視野となっている。FVIIIについては、分泌の増加や活性を高めたFVIII導入遺伝子の改良がなされている。待機することで、治療効果の可能性が高まる1回限りの改良型AAV療法を受ける可能性もある。FVIII代替製剤や新しいタンパク質工学技術の発展、遺伝子治療の新しいベクター開発などにより、血友病治療のイノベーションは止まらなると推察される。飲み薬のような夢の薬の開発も進むかもしれない。治療法開発が進歩しており、複雑な技術により治療のゴールも変化すると示唆される。

治療法の意味決定については、結局患者が中心になって決定することになる。そのために現在の治療状況について情報を集め、意思決定する必要がある。WFHでは、意思決定を共有するためのツールを提供している(SDM.WFH.org)。Step-by-stepで患者自身の考えについて選択し、最終的には担当の医療チームと相談し、治療について確認・決定できるツールである。

## **Towards standardization of anti-AAV antibody assays**

Alok Srivastava:

AAVベクターによる遺伝子治療では、AAVに対する中和抗体を保持している場合には著しく遺伝子導入が阻害される。AAVキャプシドに対する抗体の保有率は高く、野生型のAAVに暴露され、遺伝子治療に用いるAAVキャプシドに交差反応している可

能性がある。総 AAV 抗体 (AAV TAbs) は AAV キャプシドと免疫複合体を形成することができるため、本来のベクターの生体内分布を変化させ、遺伝子導入効率や治療効果に影響を与える。AAV に対する中和抗体 (AAV NAbs) は、TAbs の一部であるが、AAV の受容体との結合に重要なエピトープに結合し、標的細胞へのベクターの侵入を妨害して遺伝子導入効率を減少させる。また NAbs の一部は細胞内でのキャプシドのプロセッシングを阻害し、細胞質から核内への遺伝子導入の過程を阻害する可能性もある。

現在、Working Group において NAbs と TAbs について評価法の標準化を進めている。その中で、抗 AAV 抗体アッセイにおける、検体と試薬と評価手法や、クオリティーチェックについて、また結果の解釈と臨床での判断の限界について、調査を行った。9つのラボに依頼したところ7つのラボからの返答があり、その結果 NAbs と TAbs 双方で評価しているラボが多く、手法は様々であった。抗 AAV 抗体のスクリーニングと確定診断についてはどちらのアッセイで評価すべきかの判断は分かれた。今回のデータは調査範囲内でのデータであり、これらの調査結果を踏まえて抗 AAV 中和抗体アッセイの標準化を進める。

最終的に International Standards Organization (ISO) 勧告として検討される規格文書を作成するために機能する委員会、複数の主体的関係者による「技術／プロジェクト委員会」を立ち上げる。この委員会は、ISTH 代表者を含めた関係者、規制当局、科学団体、および抗 AAV 抗体アッセイの実施に携わるすべての研究機関／研究室を対象とし、独立組織である ‘Standards Coordinating Body’ (Catherine Zander, PhD, [www.standardscoordinatingbody.org](http://www.standardscoordinatingbody.org)) が調整する。TAbs と NAbs の両アッセイの詳細な技術的側面をカバーするための文書草案が検討されている。

Medicines & Healthcare products Regulatory Agency (MHRA) にて、抗 AAV 抗体のフィールド研究を実施している。その中で、AAV5 と AAV8 の抗体アッセイに必要な血清サンプルの提供を求めている。提供によって集められた血清サンプルは、陰性検体から高力価抗体保有検体までを5グループに分け、各グループで3サンプルずつを抗 AAV 抗体アッセイ標準化に協力するラボに送付する予定である。抗 AAV 抗体アッセイの標準化に向けた次のステップとしては、サンプル提供者候補との協議、MHRA とのプロジェクト提案の最終決定、MHRA へのサンプルの収集と輸送、サンプルの処理と協力ラボへの配布、本研究に参加する研究室の募集を継続する。

## **Interdisciplinary crosstalk on ALT elevation: case-based discussion**

Pratima Chowdary:

肝臓の健康と遺伝子治療について、何が問題となるのか。短期間では、肝臓の炎症反

応は免疫反応のマーカーとなり、ALT や AST などの肝臓の逸脱酵素の上昇として出現する。遺伝子治療では、治療遺伝子の発現消失の予後、および肝臓の健康状態の鑑別診断となる。長期間の肝臓の健康については、遺伝子導入による染色体への挿入変異による肝細胞癌の発症のリスクが考えられる。現在のスクリーニングプロトコルでは、身長・体重・ベースラインの肝機能検査・構造的病変、慢性肝疾患、脂肪肝の超音波検査・初期の慢性肝疾患のためのファイバースキャン検査・肝炎ウイルスの既往 (PCR 検査など)、などが検査されている。

実際に遺伝子治療を受けた患者のデータを紹介する。Case 1 は、血友病 B でベースラインの肝臓の評価では超音波検査は正常で、肝炎ウイルスの既往もない。予防的な免疫抑制は投与後 21 日目に計画されていた。投与日は何も問題もなく、投与後 22 日目で ALT 15・AST 18 と上昇は認められなかった。その結果、FIX レベルに変化はなかったが、ALT 55・AST 155 であったため、ステロイドの投与を開始した。FIX レベルに変化は無く、2 週間以内の上昇のため、免疫反応の可能性は低かった。溶血が原因で同様の結果が研究で報告されていたため、患者背景を見直すことにした。この 2 週間以内に普段と変わったことはないか尋ねると、ジムに行って普段よりも激しい運動(ウエイトリフティングなど)をしていたことが報告された(CK 8680・LDH 389)。よって Case 1 では運動が誘導する AST・ALT の上昇であることが明らかとなった。

Case 2 は、血友病 A でベースラインの肝臓の評価では超音波検査は正常で、HCV の既往があり根治済み、予防的な免疫抑制はしていない。投与日は何も問題もなく、投与後 22 日目で ALT 15・AST 18 と上昇は認められなかった。投与後 27 日で ALT 48 と上昇したため、プレドニゾロンを 80 mg 投与した。投与後 29 日でも ALT 55 と低下しないため、プレドニゾロン 80 mg とメチルプレド 1 g を投与し、投与後 30 日と 31 日にはメチルプレド 1 g を投与すると ALT 42 まで低下したが、投与後 34 日に ALT 82 と上昇したため、再びプレドニゾロン 80 mg を開始し、漸減するスケジュールとしている。

Case 3 は、血友病 B でベースラインの肝臓の評価では超音波検査は正常で、肝炎ウイルスの既往もない。予防的な免疫抑制は投与後 21 日目からプレドニゾロン 60 mg の投与が計画されていた。投与後 36 日目でプレドニゾロンの漸減を開始したが、投与後 45 日目に ALT 99 となったため、60 mg 投与に戻した。この間に患者の誕生日があり、その時のアルコール摂取量は不明である。そのためこの ALT・AST の上昇 (46 日目 ALT 133・AST 61、48 日目 ALT 222・AST 98) がアルコールによるものか、免疫抑制での他の感染症によるものかは確定できていない。Case 3 は突発性トランスアミナーゼ血症と診断され、タクロリムス 8 mg とメチルプレド 1 g の投与が開始された。51 日目には ALT 219・AST 33 となったため、メチルプレドを 60 mg

プレドニゾロンに変え、タクロリムス 8 mg を継続すると、62 日目に ALT 64・AST 21 まで低下した。

Vincenzo La Mura:

Case 1-3 についての免疫抑制の使用について、血液専門医（血友病診療者）と肝臓専門医（遺伝子治療の訓練を受けていない）との見解は異なる。血液専門医では、Case 1 の免疫抑制の必要なしとの判断は肝臓専門医でも受け入れられる。しかし、Case 2 と Case 3 については、血液専門医では、免疫抑制が必要との判断であるが、肝臓専門医ではこれを承認できない。ではなぜこのような不一致が引き起こされるのか。肝臓専門医において遺伝子治療後の ALT 上昇についての視点は、遺伝子治療以外で ALT 上昇が起こる可能性と、このような背景を遺伝子治療の経験にどのように生かすのかという点にある。ALT は急性の肝臓細胞傷害のマーカーである。急性傷害には、急性肝障害（acute liver injury: ALI）と急性肝不全（acute liver failure: ALF）があるが、主な肝臓専門医が懸念するのは、急性肝不全 ALF である。ウイルス性肝炎における急性肝不全についてまとめると、HBV が最も ALI/ALF を引き起こすウイルスである。HAV の ALF は 1% 未満で、HEV も ALF による死亡率は低い。他の稀なウイルスが原因となる ALF は認められており、免疫抑制の患者に共通して多く観察される。ウイルスがなんであれ、ALF においてステロイドは第一選択の治療としては決して推奨できない。肝臓専門医がステロイドを推奨するのは、アルコール性肝臓病と自己免疫性肝炎の時であるが、免疫抑制の副作用が治療効果を上回った時には中止する。

2023 年に、血友病遺伝子治療における血液専門医と肝臓専門医の密接な連携についての行動喚起を表明した。ALT の上昇時のコルチコステロイドの投与は、導入遺伝子発現の維持と免疫による急性肝傷害を調節するためである。しかし、導入遺伝子発現維持の効果的なデータには一貫性はなく、プラセボの比較もない。ALT 上昇のメカニズムも不明な点が多い。コルチコステロイドによる免疫抑制療法は、遺伝子発現を維持する可能性はあるが、急性 ALT 上昇を理由に肝臓専門医から第一選択として指示されることはない。遺伝子治療の訓練を経た肝臓専門医の見解としては、Case 1 の免疫抑制の必要なしとの判断は受け入れられ、Case 2 と Case 3 についても導入遺伝子の発現を維持できる可能性を考慮すると、その判断も受け入れられるだろう。

## Long-term fate and structure of AAV vectors

David Lillicrap:

今回は血友病イヌへの投与実験のデータについて紹介したい。AAV による遺伝子治療には懸念されることがいくつかある。まずベクターの技術が複雑で、バイオインフォ

マティクス的な解析が極めて複雑であること、また薬価だけでなく研究にも高額のコストがかかること、さらに標準化が必要なこと、などである。

AAV ベクターを投与し、10 年以上経過した血友病 A イヌでは、8 匹中 6 匹が 10%程度の FVIII 活性を示している。残りの 2 匹は反応しなかった。これら血友病 A イヌの肝臓ゲノム DNA において、治療遺伝子全長のベクターゲノム (vg) の導入が確認された。

新生仔犬・幼犬 (生後 2 ヶ月)・成犬それぞれの時期においてベクターを投与し、肝生検を 4 回のタイミングで実施後、in situ hybridization で遺伝子導入細胞を確認すると、ベクター投与から 12 ヶ月後において、新生仔犬・幼犬ではベクター導入細胞の割合が著減した。一方で、成犬ではベクター投与後 18 ヶ月経過しても高い割合の細胞に遺伝子導入が確認された。環状の全長 vg 数と肝臓導入遺伝子 mRNA 発現を比較した場合、正の相関が認められた。幼齢の血友病患者への AAV 遺伝子治療の効果は減弱する可能性がある。

AAV ベクターを投与し、10 年以上経過した血友病 A イヌについて、肝臓細胞内の染色体に組み込まれないエピソームなベクターの導入は、治療に反応しない 2 匹を含め全 8 匹で確認された。また、染色体へ挿入された vg は 15%以下ではあるが確認された。染色体へ挿入されたベクター配列は、主にゲノムの遺伝子間領域 (遺伝子上流や下流) に位置していた。また、AAV ベクターの染色体へ挿入は宿主ゲノムの種々の箇所 (14 番染色体と 28 番染色体、X 染色体で比較的多い) で認められたが、ベクターの挿入部位に隣接する遺伝子 (例: KCNIP2 や CLIC2 など) の発現異常にはつながらなかった。染色体へ挿入された AAV ベクター配列は断片化され、再配列されていた。これらの結果をまとめると、長期的な FVIII の発現は、染色体に組み込まれていないエピソームベクターから主に (あるいは独占的に) 誘導されている可能性が高い。ゲノムに挿入されるのは、FVIII 遺伝子を欠く断片であること、がん関連遺伝子の近くへの選択的挿入は見られないこと、挿入部位の選択は主にクロマチンへのアクセスの可能性によって誘導されることが示唆された。

## What to do when a patient gets cancer after AAV vector dosing?

Radek Kaczmarek:

組み換え AAV ベクターは 0.01-1%染色体へ組み込まれる可能性がある。投与されるベクター総量を  $10^{12}$ - $10^{15}$  vg とすると、約 100 万もの遺伝子挿入イベントが引き起こされる可能性がある。一方でレトロウイルスベクターによる遺伝子挿入は、ヒト細胞において悪性腫瘍への形質転換を引き起こすことが報告されている。

AAV ベクターによる血友病遺伝子治療は肝臓を標的とするが、全身投与によって他の臓器・組織へ導入される可能性がある。よって悪性腫瘍のサーベイランス

は肝臓に限定すべきではない。これまでの AAV ベクターによる遺伝子治療の臨床試験では、AAV の染色体挿入に直接関連は無いものの、肝細胞癌・扁桃扁平上皮癌・腺房細胞癌・B 細胞急性リンパ球性白血病 (B-ALL) ・類上皮肉腫・浸潤性非粘液性腺癌・前立腺癌が治療を受けた患者で確認されている。

AAV ベクターを投与した後に患者に癌が見つかった場合には、ヨーロッパの場合には the SmPC へ、アメリカの場合には USPI にコンサルトする。そこには悪性腫瘍の報告専用のウェブサイトおよび電話番号がある。染色体への遺伝子挿入解析のためのサンプル採取については、メーカーが提供・指導する。採取する腫瘍サンプルの品質への配慮として、量と純度・保存培地・健全な比較組織と採血検体・サンプルの形式 (ブロックや切片) ・化学療法開始前のサンプル、などを確認することが重要である。報告する医師・研究者、メーカーの担当者、検証する病理学者、サンプルを採取する研究者、これらの間のコミュニケーションが重要である。

ベクターの遺伝子挿入解析にゴールドスタンダードはない。PCR ベースの解析としては、S-EPTS/LM-PCR があり、サンプルにおける vg の染色体への挿入箇所を周囲のゲノム配列を解析することで同定できるが、悪性化に関連する情報は得られにくい。TES などの次世代シーケンスによる解析では、とても情報量が多くバイオインマティクスによる解析が必要である。全ゲノム解析でも同様にバイオインマティクスによる解析が必要で重要な情報を得ることができるが、配列をエンリッチしないためサンプルの質が解析結果にかなりの影響を及ぼす。これまでに血友病 B の臨床研究で認められた肝細胞癌における全ゲノムシーケンスによる解析を報告した。

## **The need for a protocol on liver biopsies**

Paul Batty:

血友病遺伝子治療において未だ不明なことは、その治療効果が多様で個人差があること、どの程度の耐久性があるのか、またトランスアミナーゼ血症の原因とその処置、長期の安全性が肝臓の健康状態を指標にできるのか、遺伝子挿入を遺伝子毒性と判断して良いのか、などである。

肝臓機能と肝臓の健康の評価は、非侵襲的な方法として、肝細胞の傷害の指標である ALT と AST、胆汁うっ滞の指標となる ALP とビリルビンなど、血清による肝臓酵素の検査がある。超音波検査やファイバースキャン検査など画像検査での評価も可能であり、線維症評価システムやバイオマーカーテストなどもある。一方で、侵襲的な方法として、肝生検がある。

血友病における肝生検の標準化を考える上で必要なステップは、肝生検の適応と凝固因子レベル、サンプリングと検体の保存、プレ解析と本解析、解析した結果の報告である。現状、肝生検の適応には、実質性肝疾患・原因不明の肝機能検査異常・



原因不明の発熱・画像上の局所的またはびまん性異常、などの診断が必要である。肝生検後の検査により、既知の実質性肝疾患の病期分類や腫瘍の悪性度分類が可能となり、診断時の治療方針の決定や治療効果のモニタリングに役に立つ。研究としては、血友病遺伝子治療の肝生検研究として、血友病 A では BioMarin の NCT02576795、血友病 A と血友病 B では UCL/St Jude's & Freeline の NCT04817462 の臨床試験で実施している。

肝生検の方法は、腹腔へ経皮的にアプローチする方法 (Percutaneous) と頸静脈にカテーテルを挿入する方法 (Trans-Juglar) がある。Percutaneous では被膜穿孔を伴い、間接撮影や超音波などの画像をもとに実施する。麻酔は部分麻酔で強い痛みがあるが回復は早い。一方で Trans-Juglar では被膜穿孔を伴わず、超音波の画像をもとに実施し、部分麻酔と必要に応じて鎮静する。門脈三分枝からの採取も可能で、痛みは少ないが、回復は Percutaneous よりも遅く、コストも多少高額となる。これらの手法で、1561 g (838-2584 g) の肝臓組織 (肝細胞で換算すると 1 億 3900 万 cell/g) が得られる。

肝生検における凝固因子レベルについては、MASAC # 223 が推奨している。その内容として、入院が必要であり、経静脈的アプローチ Trans-Juglar を考慮すること、凝固因子レベルを 100%まで補充すること、血液専門医の判断により凝固因子を追加投与することを推奨している。研究では一晩の入院とし、BioMarin の臨床試験では、Trans-Juglar 2 名、Percutaneous 3 名とした。処置前で FVIII > 50 IU/dL となるように凝固因子を補充した。UCL の臨床試験では、Trans-Juglar を採用し、処置前で FVIII/FIX > 70%、10-18 時間後に必要であれば追加投与、1 日後に FVIII/FIX > 70%となるように追加投与、2 日後に FVIII/FIX > 50%となるように追加投与としている。

以上をまとめると、血友病遺伝子治療における肝生検の現在の役割は、肝疾患学的な指導による実施例や、よく構成された臨床研究で実施されている。研究における肝生検の標準化は必要で、AAV のライフサイクルの理解の向上やトランスアミナーゼ血症の機序と新規治療標的の同定にも結びつくと考えられる。また、ISTH SSC プロジェクトの提案書にも記載される。一方で、血友病遺伝子治療における肝生検には限界がある。それは、肝生検は肝臓のごく一部であること、現在の治療や免疫抑制の指針になり得ないこと、肝生検の際に伴う出血と痛みのリスクなどである。

## **Potential for future readjudication of malignant cases**

Steven W. Pipe:

血友病の遺伝子治療は長期フォローアップの段階にある。血友病 A および血友病 B の早期の臨床試験 Phase 1/2 から、長期の成果が報告されている。いくつかの Phase 3

の臨床試験でも計画していた5年の経過観察は完了し、長期観察の試験にシフトしている。遺伝子治療後の長期フォローアップのFDAガイダンスでは、遺伝子治療製品の遺伝子挿入活性やゲノム編集活性、発現維持など、遅発性の有害事象に関連する可能性のあるヒト遺伝子治療製品特有の特徴を特定することを推奨している。また標的細胞/組織/臓器、患者集団、関連する疾患特性を考慮する必要もある。平均余命や複数の併存疾患、他の薬剤への曝露など、集団に遅発性の有害事象の観察を混乱させる特徴がある場合、長期フォローアップの有用性が低下する可能性があることを認識する。長期フォローアップは、遺伝子挿入ベクター（レトロウイルスベクターやレンチウイルスベクター）に関しては具体的な推奨事項であるが、AAVに関するガイダンスは5年間とし、製品に応じたより長期的なフォローアップの検討を推奨している。

では現在、遺伝子治療のリスクとベネフィットをどのように評価し直しているのか？ 染色体遺伝子挿入の分析では、がんとの因果関係を示す証拠はない。血友病遺伝子治療の臨床試験で確認された6例の偶発癌症例において、規制当局に提出された強固な分析によれば、遺伝子治療とこれらのがん症例との因果関係は非常に考えにくいと結論づけられている。現在のエビデンスでは、安全性プロファイルは許容範囲内である。また、遺伝子治療を受けた血友病患者の長期追跡調査が続けられている。

遺伝子治療後の悪性腫瘍の発症メカニズムは、染色体へ遺伝子挿入に関連した遺伝毒性だけなのか？ 血友病Aマウスを用い、肝細胞内でのタンパク質のミスフォールディングの傾向が異なる第VIII因子遺伝子を（ウイルスによる遺伝子導入によらない）導入した実験において、高脂肪食による二次的な肝臓へのストレスを誘導することで肝腫瘍の発症を誘導した。その結果、BDD-FVIIIを投与された血友病Aマウスはすべて肝腫瘍を発症したが、N6-FVIII（ミスフォールディングの傾向が低い）を投与された血友病Aマウスでは58%、ジヒドロ葉酸還元酵素を投与された血友病Aマウスではゼロであった。この実験系では、AAVベクターではなくハイドロダイナミックによる一過性の遺伝子導入によるもので、高脂肪食による二次的なストレスも誘導しており、実際のAAVの遺伝子治療とは異なる。しかし、この研究では染色体への遺伝子挿入が確認されなかったことから、遺伝子挿入によるものだけでなく、肝臓細胞への過度なストレス誘導でも肝臓腫瘍が発症する可能性を示唆した。

AAV 遺伝子治療後の悪性腫瘍症例に対する将来的な再判定の可能性の課題として、患者ケアは最優先事項である。その上で患者の組織へのアクセスと組織入手の可能性を決定しておく必要がある。また採取した患者由来組織の量は限られており、解析の優先順位付けも必要となる。しかし今後、新たな研究成果によるエビデンスや解析技術が利用可能になったとき、どのように再判定すべきかを考慮する必要がある。それにはいくつかの可能性がある。1つ目は、前向きにリスクを調査し、分析技術を磨くために、悪性腫瘍症例の前にオプトイン生検の実施である。2つ目は、ゲノム解

析のための戦略と技術の優先順位付けに関する複数の主体的関係者による合意をとることである。3つ目は、有効性および安全性のエンドポイントを一元的に判定するための臨床エンドポイント委員会を立ち上げることである。