

遺伝子治療臨床研究実施計画の変更報告について

○ 神戸大学医学部附属病院からの変更報告書P 1

課題名：前立腺癌転移巣前立腺癌転移巣及び局所再発巣に対する
臓器特異性オステオカルシンプロモーターを組み込んだ
アデノウイルスベクター（Ad-OC-TK）及びバラシクロ
ビルを用いた遺伝子治療臨床研究

○ 名古屋大学医学部附属病院からの変更報告書.....P 7

課題名：正電荷リポソーム包埋ヒト β 型インターフェロン遺伝子
による悪性グリオーマの遺伝子治療臨床研究

遺伝子治療臨床研究実施計画の終了報告について

○ 岡山大学医学部・歯学部附属病院からの終了報告書.....P19

課題名：非小細胞肺癌に対する正常型 p53 遺伝子発現アデノウイ
ルスベクター及びシスプラチン（CDDP）を用いた遺伝
子治療臨床研究

別紙様式第2

遺 伝 子 治 療 臨 床 研 究 実 施 計 画 変 更 報 告 書

平成17年12月26日

厚生労働大臣殿

(文部科学大臣)

実 施 施 設	所 在 地	神戸市中央区楠町7-5-2 (650-0017)
	名 称	神戸大学医学部附属病院 (078-382-5202) (078-382-5693)
	代表者 役職名・氏名	病院長・春日 雅人 (職印)

下記の遺伝子治療臨床研究について、別添のとおり実施計画を変更したことを報告します。

記

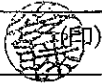
遺伝子治療臨床研究の課題名	総括責任者の所属・職・氏名
前立腺癌転移巣及び局所再発巣に対する臓器特異性オステオカルシンプロモーターを組み込んだアデノウイルスベクター (Ad-OC-TK) 及びバラシクロビルを用いた遺伝子治療臨床研究	神戸大学医学部・助教授・後藤章暢

別紙様式第2の別添

遺伝子治療臨床研究実施計画変更報告書

(受付番号) 平成14年2月15日

研 究 の 名 称	前立腺癌転移巣及び局所再発巣に対する臓器特異性オステオカルシンプロモーターを組み込んだアデノウイルスベクター (Ad-OC-TK) 及びバラシクロビルを用いた遺伝子治療臨床研究
研 究 実 施 期 間	平成15年2月5日から平成18年2月4日まで

総括責任者	所属部局の所在地	神戸市中央区楠町7-5-1 (650-0017)	
	所属機関・部局・職	神戸大学・医学部・助教授	
	氏 名	後藤 章暢 	
実施の場所	所 在 地	神戸市中央区楠町7-5-2 (650-0017)	
	名 称	神戸大学医学部附属病院	
	連 絡 先	神戸大学医学部総務課庶務第二係 (電話番号078-382-5012)	
総括責任者以外の研究者	氏 名	所属機関・部局・職	役割
	白川 利朗	神戸大学・医学部・助教授	患者の選定, ベクターの調整, 投与, 臨床観察, 臨床効果判定, 基礎効果判定
	藤澤 正人	神戸大学・大学院医学系研究科・教授	泌尿器科的診療の統括
	守殿 貞夫	神戸大学・理事	臨床効果判定
	荒川 創一	神戸大学・医学部・助教授	泌尿器科的診療
	原 勲	神戸大学・大学院医学系研究科・助教授	泌尿器科的診療
	寺尾 秀治	神戸大学・大学院医学系研究科・大学院生	臨床観察, 臨床効果判定
	和田 義孝	神戸大学・大学院医学系研究科・研究員	基礎効果判定
	松尾 雅文	神戸大学・大学院医学系研究科・教授	全般的指導
	杉村 和朗	神戸大学・大学院医学系研究科・教授	ベクターの投与, 臨床効果判定
	佐々木良平	神戸大学・大学院医学系研究科・講師	ベクターの投与, 臨床効果判定
	前田 盛	神戸大学・大学院医学系研究科・教授	臨床効果判定, 基礎効果判定
	Leland W.K. Chung	エモリー大学・泌尿器科学教室・教授	全般的指導

審査委員会の開催状況及び実施計画の変更を 適当と認める理由	平成17年12月7日に遺伝子治療臨床研究審査委員会を開催した。 総括責任者の変更：総括責任者、後藤章暢の他施設（兵庫医科大学、先端医学研究所、細胞・遺伝子治療部門）への転出に伴い、当施設での本臨床研究の円滑な継続のため、共同研究者の白川利朗の総括責任者就任を承認した。同時に後藤章暢の共同研究者への就任、他の研究者の異動等の計画書への反映を承認した。（総括責任者以外の研究者については、別紙様式第2の別添2ページをご覧ください） 研究実施期間の延長：被験者の適応規程および除外規定の厳格な適応により、研究期間の3年の間、選定された被験者は5人に留まり、当初予定されていた6人に未だ達していない。6人の臨床研究終了のため2年間の研究実施期間延長を承認した。 <table border="1" data-bbox="774 790 1364 904"> <tr> <th data-bbox="774 790 1070 837">審査委員会の長の職名</th><th data-bbox="1070 790 1364 837">氏名</th></tr> <tr> <td data-bbox="774 837 1070 904">教授</td><td data-bbox="1070 837 1364 904">横野 浩一 (印)</td></tr> </table>	審査委員会の長の職名	氏名	教授	横野 浩一 (印)
審査委員会の長の職名	氏名				
教授	横野 浩一 (印)				

研究の区分	遺伝子治療臨床研究
研究の目的	癌に対する遺伝子治療において、対象とする遺伝子を癌細胞に特異的に効率良く発現させるために、近年、癌細胞特異的に活性化される臓器特異性プロモーターを用いた癌遺伝子治療法の基礎研究、及び臨床試験が盛んにおこなわれている。特に臓器特異性プロモーターと自殺遺伝子を組み合わせた治療法が注目を集めている。自殺遺伝子とは、細胞毒性のないプロドラッグを細胞毒性を有する物質に変換する酵素をコードする遺伝子であり、この遺伝子を導入された細胞はプロドラッグの投与によって殺傷される。癌細胞に特異的なプロモーターと自殺遺伝子を組み合わせた場合、自殺遺伝子は癌細胞特異的に発現し、正常細胞に自殺遺伝子が導入されても発現せず、プロドラッグを投与しても正常細胞は殺傷されない。このように臓器特異性プロモーターを用いることによって癌遺伝子治療の安全性を高め、副作用を軽減させることができると考えられる。本研究は、内分泌療法抵抗性前立腺癌の骨転移、リンパ節転移及び、局所再発例に対し、自殺遺伝子として、単純ヘルペスウイルスのチミジンキナーゼ (Herpes Simplex Virus-Thymidine Kinase, (以下: HSV-TK) 遺伝子を、臓器特異性オステオカルシン (Osteocalcin, 以下: OC) プロモーターにより制御発現させるアデノウイルスベクター (以下: Ad-OC-TK) を単独で癌転移巣又は局所再発巣に局所内投与し、その後バラシクロビルを経口投与するという局所療法を施行した場合の安全性の検討及び、治療効果の観察 (評価可能症例) を目的とする第1/2相試験である。OC プロモーターは、造骨中の骨内に見られる骨芽細胞で機能する臓器特異的なプロモーターで、OC 遺伝子の転写を誘導し OC タンパク質の発現をもたらす。組織内における OC タンパク質の発現は一般的に骨形成、骨芽細胞の活性化、石灰化、癌細胞の発育に伴う組織の微少石灰化と関係する。これまでの我々の研究において、OC プロモーターは、前立腺癌や骨肉腫の種々の細胞株において特異的にプロモーター活性が高いことが確認されている。また、臨床検体においては、前立腺癌の原発巣及び転移巣 (リンパ節と骨) での組織化学的免疫染色で OC の発現が確認されており、OC プロモーターのヒト前立腺癌の転移巣における特異的なプロモーター活性が予想される。内分泌療法抵抗性前立腺癌症例で、画像診断学的 (CT, MRI) に転移又は局所再発を確認できる症例に対し、まず Ad-OC-TK を単独で CT 又は超音波ガイド下に腫瘍内に直接投与し、その後バラシクロビルを経口投与する。その際の質的、量的安全性を確認することを本試験の主な目的とする。また、治療効果の判定を行い、組織採取が可能な症例においては、画像診断学的な腫瘍退縮や血清中の前立腺特異抗原 (PSA) の低下を期待する際の根拠となる、分子生物学的効果、ベクターの感染、OC プロモーター 制御下の mRNA レベル及びたんぱく質レベルでの HSV-TK 遺伝子の発現、アポトーシスの誘導について解析する。 本臨床研究は米国ヴァージニア大学で実施された遺伝子治療臨床研究のプロトコールとその結果を参考に、同医科大学のLeland W.K. Chung博士 (現、エモリー大学教授) ら研究協力者と神戸大学の研究者間で実施される共同研究であり、製造承認を目的とした試験ではない。本臨床研究に用いられるAd-OC-TKベクターは米国Molecular Medicine社で製造され、直接、神戸大学に供給される。
対象疾患	対象疾患は、根治的前立腺全摘出術後の前立腺癌再発例又は、外科的切除不能な進行性前立腺癌症例 (臨床病期C, D) で、内分泌療法 (放射線療法、抗癌化学療法の併用を含む) を施行された経験があり、腫瘍マーカーであるPSAを用いた生化学診断上、内分泌療法抵抗性前立腺癌と診断され、かつ画像診断学的に評価可能な病巣を有する患者を対象とする。

変更時期	平成18年 1月1日		
変更内容	実施計画書における事項	変更前	変更後
	総括責任者	神戸大学・医学部・ 助教授 後藤章暢	神戸大学・医学部・ 助教授 白川利朗
	総括責任者以外の研究者	神戸大学・医学部・ 助教授 白川利朗	兵庫医科大学、先端医学 研究所、細胞・遺伝 子治療部門 教授 後藤章暢 (他の研究者については、別紙様式第2の別 添2ページを参照)
	研究実施期間	平成15年2月5日から 平成18年2月4日まで	平成15年2月5日から平 成20年2月4日まで
変更理由	総括責任者の変更：総括責任者の他施設(兵庫医科大学、先端医学研究所、細胞・遺伝子治療部門)への転出のため。 研究実施期間の延長：被験者の選定の問題。本研究実施期間中の約3年間の間に多数の研究参加希望者があったが、期待される生命予後、Performance Status、などにより担当医が不適当と判断した症例が数多く存在した。また腫瘍マーカー、血清PSA値の持続的な上昇を認めず適応とならなかった症例も同時に多く存在した。結果、期間中に選定された被験者は5人に留まり、予定の6人に実施できなかった。従って、残りの1名の遺伝子治療実施および経過観察のため研究期間の2年の延長を申請する。		
今後の研究計画	臨床研究参加予定患者6人の最後の患者に遺伝子治療を行う。 治療後経過観察を継続して行い、臨床および基礎的な解析を引き続き行う。		
これまでの研究結果及び研究結果の公表状況	現在までに低用量群 3名、高用量群 2名に対して遺伝子治療を実施した。 本治療に関連すると思われる重篤な有害事象はいずれの患者にも認めなかった。 低用量群 1名にPSA効果判定基準によるPartial Response (PR)を認めた。 研究結果の公表：第8回アメリカ遺伝子治療学会で公表、Molecular Therapy, volume 9, Supplement 1, S228-229, 2004		

(注意)

1. 用紙の大きさは、日本工業規格A 列4 番とすること。
2. この報告書は、正本1 通及び副本2 通を提出すること。
3. 字は墨・インク等を用い、楷書ではっきり書くこと。
4. 記載欄に記載事項のすべてを記載できない時は、その欄に「別紙 () のとおり」と記載し、別紙を添付すること。

別紙様式第2

遺伝子治療臨床研究実施計画変更報告書

平成18年1月17日

厚生労働大臣 殿

実施施設	所在地	名古屋市昭和区鶴舞町65番地 (郵便番号) 466-8560
	名称	名古屋大学医学部附属病院 052-741-2111 (電話番号) 052-744-2785 (FAX番号)
	代表者 役職名・氏名	名古屋大学医学部附属病院長 (職印) 井口 昭久

下記の遺伝子治療臨床研究について、別添のとおり実施計画を変更したことを報告します。

記

遺伝子治療臨床研究の課題名	総括責任者の所属・職・氏名
正電荷リポソーム包埋ヒトβ型インターフェロン遺伝子による悪性グリオーマの遺伝子治療臨床研究	名古屋大学大学院医学系研究科 脳神経外科学分野・教授 吉田 純

別紙様式第2の別添

遺伝子治療臨床研究実施計画変更報告書

(受付番号)	(申請年月日) 平成11年12月8日
--------	-----------------------

研究の名称	正電荷リポソーム包埋ヒト β 型インターフェロン遺伝子による悪性グリオーマの遺伝子治療臨床研究
研究実施期間	平成12年1月19日より6年間

総括責任者	所属部局の所在地	名古屋市昭和区鶴舞町65番地（郵便番号466-8560）				
	所属機関・部局・職	名古屋大学大学院医学系研究科・脳神経外科学分野・教授				
	氏名	吉田 純 				
実施の場所	所在地	名古屋市昭和区鶴舞町65番地（郵便番号466-8560）				
	名称	名古屋大学医学部附属病院				
	連絡先	名古屋市昭和区鶴舞町65番地（電話番号052-741-2111/代表） 名古屋大学大学院医学系研究科脳神経外科学				
総括責任者以外の研究者	氏名	所属機関・部局・職	役割			
	八木 國夫	（財）応用生化学研究所 ・ 所長	基礎研究の総括			
	若林 俊彦	名古屋大学医学部附属病院・遺伝子・再生医療センター・助教授	患者の選定・説明及び同意の取得			
	水野 正明	名古屋大学大学院医学系研究科・遺伝子治療学・助教授	リポソーム・プラスミドの調製とその品質管理と安全性の確認			
	梶田 泰一	名古屋大学大学院医学系研究科・脳神経外科学・講師	薬剤投与・臨床観察・効果判定			
	永谷 哲也	同上 ・ 助手	同上			
	妹尾 久雄	名古屋大学環境医学研究所 ・ 教授	免疫学的評価			
審査委員会の開催状況及び実施計画の変更を 適当と認める理由	別紙のとおり					
	<table><tr><td>審査委員会の長の職名</td><td>氏名</td></tr><tr><td>名古屋大学大学院医学系研究科 病態病理学講座 腫瘍病理学・教授</td><td>高橋 雅英 </td></tr></table>			審査委員会の長の職名	氏名	名古屋大学大学院医学系研究科 病態病理学講座 腫瘍病理学・教授
審査委員会の長の職名	氏名					
名古屋大学大学院医学系研究科 病態病理学講座 腫瘍病理学・教授	高橋 雅英					

研究の区分	○遺伝子治療臨床研究 遺伝子標識研究		
研究の目的	脳実質内に発生する悪性グリオーマは、腫瘍細胞の増殖が速く、その上正常脳内に浸潤性に発育するため、手術で全摘出することが不可能である。通常手術後、放射線療法、化学療法、免疫療法を駆使した集学的治療が行われているが、残念ながら現時点では余命が2年以下と極めて予後不良である。そこでこうした悪性グリオーマに対する新しい治療法として遺伝子治療の開発に期待が寄せられている。我々は安全性が高い日本独自の遺伝子治療法を開発する目的で「正電荷リポソーム包埋ヒトβ型インターフェロン遺伝子による悪性グリオーマの遺伝子治療臨床研究」を行い、本治療法の安全性と有効性を評価する。本臨床研究に用いるプラスミドとリポソームは名古屋大学医学部附属病院遺伝子治療製剤調製室で調製し、臨床研究は同附属病院にて行う。なお本臨床研究でいう悪性グリオーマとは膠芽腫または悪性星細胞腫をさす。		
対象疾患	膠芽腫及び悪性星細胞腫		
変更時期	平成18年1月以降		
変更内容	実施計画書における事項	変 更 前	変 更 後
	1. 研究者	八木國夫	八木國夫 (削除)
	2. 症例数	第1グループ5症例	第1グループ25症例
	3. 研究実施期間	平成12年1月19日より 6年間	平成12年1月19日より 9年間
変更理由	1. 研究者変更について 本臨床研究の研究者であった八木國夫博士が死去されたことに伴い、研究者から削除することになった。 2. 症例数変更について 本臨床研究は、純国産技術で開発したわが国初の脳腫瘍に対する伝子治療の安全性と有効性を評価するために、承認日（平成12年1月19日）からこれまでに悪性グリオーマの再発例5例（第1グループ）で実施し、本遺伝子治療の安全性と有効性を評価してきた。このたび、その評価結果の統計学的精度を高めるために、対象症例数をさらに20例に増やし、25症例にした。 3. 研究実施期間の変更 本臨床研究で対象となっている第1グループの症例数を、5例から20例増やし、25症例とすることに伴い、研究実施期間をさらに3年間延長することとした。		
今後の研究計画	第1グループの対象症例数を、5症例から25症例に増やすことで、本遺伝子治療の安全性及び有効性を十分検証し、本遺伝子治療の実用化の方向性を模索する。一方で、当初計画したとおり、手術適応のない脳深部膠芽腫の初発例（第2グループ）が登録されれば、本遺伝子治療の		

	安全性と有効性を別の面から解析できる。
これまでの研究結果及び研究結果の公表状況	別紙 1 のとおり

別紙

審査委員会報告

名古屋大学医学部附属病院
遺伝子治療臨床研究審査委員会

申請課題 : 正電荷リポソーム包埋ヒト β 型インターフェロン遺伝子による悪性グリオーマの
遺伝子治療臨床研究

総括責任者 : 吉田 純 (脳神経外科学)

名古屋大学医学部附属病院遺伝子治療臨床研究審査委員会 (以下審査委員会) は、同大学院医学系研究科脳神経外科学 吉田 純教授が進めている「正電荷リポソーム包埋ヒト β 型インターフェロン遺伝子による悪性グリオーマの遺伝子治療臨床研究」の実施期間中に申請された研究者の変更、症例数の変更並びに研究実施期間の延長について審議を行い、平成 18 年 1 月 13 日開催の第 25 回審査委員会において本変更を承認するとの結論に達した。

審査委員会が研究者変更、症例数の変更並びに研究実施期間の延長を適当と認める理由

本遺伝子治療臨床研究は、平成 12 年 1 月 19 日以降、今日までに悪性グリオーマの再発例 5 例 (第 1 グループ) の本遺伝子治療の実施を確認し、その安全性並びに有効性を評価した。その後、申請者より 3 件 (研究者の変更、症例数の変更並びに研究実施期間の延長) の審議依頼があり、委員会として慎重に審議した。

1. 研究者の変更について

本臨床研究の研究者であった八木國夫博士が死去されたとの報告を受け、研究者からの削除を了承した。

2. 症例数の変更について

当該委員会では、本臨床研究において、第 1 グループ (悪性グリオーマ再発例) 5 症例の安全性と有効性を確認できたことを受け、統計学的精度を高めるための追加症例の申し出を了承し、対象症例数を 20 例に増やし、25 症例にすることとした。

3. 研究実施期間の延長の延長について

上記 2 の了承に伴い、研究実施期間の延長の必要性を討議し、3 年間の期間延長を了承した。

以上の理由により、案件となった 3 件はいずれも妥当であるとの結論に達したので厚生労働省に変更報告をする旨を決定した。

名古屋大学医学部附属病院
遺伝子治療臨床研究審査委員会
委員長 高橋 雅英

正電荷リボソーム包埋ヒト β 型インターフェロン遺伝子による

悪性グリオーマの遺伝子治療臨床研究

— 第 1 グループ全 5 症例の報告（病理所見について） —

吉田 純

名古屋大学大学院医学系研究科脳神経外科学

名古屋大学医学部附属病院遺伝子・再生医療センター

平成 17 年 12 月

目 次

1. 各症例の病理所見

- (1) 第1グループ第1症例：31歳女性 病理診断（遺伝子治療開始前）：巨細胞性膠芽腫
腫瘍局在：左頭頂部
- (2) 第1グループ第2症例：64歳女性 病理診断（遺伝子治療開始前）：退形成性星細胞腫
腫瘍局在：右側頭部
- (3) 第1グループ第3症例：54歳男性 病理診断（遺伝子治療開始前）：退形成性星細胞腫
腫瘍局在：右前頭部
- (4) 第1グループ第4症例：47歳女性 病理診断（遺伝子治療開始前）：退形成性星細胞腫
腫瘍局在：右後頭部
- (5) 第1グループ第5症例：28歳女性 病理診断（遺伝子治療開始前）：退形成性星細胞腫
腫瘍局在：左前頭部

2. 病理所見総括

- (1) 安全性の評価
- (2) 治療効果の変化

1. 各症例の病理所見

(1) 第1グループ第1症例：31歳女性 病理診断：巨細胞性膠芽腫 腫瘍局在：左頭頂部

i) 病理所見

治療前の病理所見は、典型的な神経膠芽腫 (glioblastoma) の所見であった。遺伝子治療後、腫瘍細胞の壊死傾向は著明となり、マクロファージの浸潤とリンパ球浸潤を伴った。経過を追って壊死の範囲は広がり、残存する少数の腫瘍細胞も変性状となった。周囲脳実質には反応性のグリオーシスを認めた。免疫組織化学染色では、浸潤する炎症細胞の主体はCD68陽性のマクロファージであることが確認された。リンパ球はT細胞 (CD8陽性細胞) が主体で、B細胞、NK細胞はほとんど認めなかった。以上の病理所見は、インターフェロンβ遺伝子治療の腫瘍組織に対する効果と考えられる。

ii) 病理解剖所見

本症例の剖検は得られなかった。

(2) 第1グループ第2症例：64歳女性 病理診断：退形成性星細胞腫 腫瘍局在：右側頭部

i) 病理所見

治療前の病理所見は、退形成性星細胞腫 (Astrocytoma Grade III) の所見であった。遺伝子治療後、腫瘍の一部に壊死を認め、その後壊死の拡大と著明なマクロファージの出現をみた。第4回手術時 (9月3日) の標本では著明な壊死とマクロファージの浸潤、血管周囲のリンパ球、炎症細胞浸潤、反応性のグリオーシスを認めた。免疫組織化学染色では、第2回目の検体以降、CD68陽性のマクロファージの出現がみられ、第3、第4回と経過と共に増加した。CD20陽性のBリンパ球はほとんど見られず、CD3陽性Tリンパ球の浸潤がみられた。Tリンパ球は、数的には初回手術時から変化を認めず、CD8陽性細胞がCD4陽性細胞に比して優位であった。以上の病理所見より、この病理組織学的な変化は、遺伝子治療の効果と考えられた。

2002年11月13日の頭部MRIにて右側頭部内側海馬付近に新たに造影される部分を認め、2003年1月28日開頭腫瘍摘出術施行。同部位の腫瘍の再発を確認した。

ii) 病理解剖所見

神経病理所見：脳重量 1100g。右側頭葉は頭頂葉から島葉を含めて手術による鶏卵大の組織の欠損を認める。断面では側脳室の拡大が強い。脳室壁は不規則で凹凸不正で柔らかい。右側頭葉の部位の組織欠損周囲は柔らかい。右視床には拇指頭大の白色調の腫瘍の形成を認める。中脳から橋では連続的に特に被蓋部を中心に腫瘍が浸潤し、中小脳脚へ広がっている。

組織所見：腫瘍は多形性に富み、壊死が強く、偽配列が明瞭で、血管内皮の増殖あり、神経膠芽腫の所見である。腫瘍細胞は脳室壁に沿ってびまん性に広がり、反対側の白質内への浸潤も目立つ。脳幹部では中脳から延髄まで強い腫瘍細胞の浸潤を認める。小脳でも既存の構築を大きく壊さずびまん性に腫瘍細胞が白質から軟膜直下まで広がりこの部分ではgliomatosis cerebri様の所見を示す。一部の髄膜への浸潤を認めるが極軽度に留まる。

遺伝子治療の注入部位の周囲にも腫瘍細胞は認められるがこの部分に特記すべき他の部位との

違いは認められず副作用の所見はない。

(3) 第1グループ第3症例：54歳男性 病理診断：退形成性星細胞腫 腫瘍局在：右前頭部

i) 病理所見

第1回の遺伝子治療時は星細胞腫 (Astrocytoma Grade II) の所見であった。第2回手術時 (9月17日) の病理所見は壊死とマクロファージの浸潤及び反応性のグリオーススをみるが、腫瘍の残存は認めなかった。第3回手術時 (11月19日) の病理所見も第2回手術時と同じであった。免疫組織化学検査では第1回の遺伝子治療時より壊死傾向が強く、壊死の周囲には CD68 陽性のマクロファージの浸潤を認めた。マクロファージの数は、第1回の遺伝子治療時と第2、第3回の手術時で差異を認めなかった。3回の手術を通じて、CD20 陽性の B リンパ球の浸潤は認めず、血管周囲に CD3 陽性の T リンパ球 (CD8 優位) を認めたが、第1回の遺伝子治療時と第2、第3回の手術時で有意な差は認めなかった。以上の病理組織学的変化は遺伝子治療の効果と考えられた。

ii) 病理解剖所見

神経病理所見：脳重量 1520g。脳は浮腫が強く、鉤ヘルニアを認める。左前頭葉は腫瘍の摘出術後のため組織が欠損している。脳底面は髄膜に浸潤した粘調な腫瘍組織の付着を認める。断面では左前頭葉から連続して腫瘍の増殖を脳室壁に沿い、特に左右の脳室内に著明に認める。腫瘍は出血を伴っている。中脳水道から第4脳室へも浸潤を認める。脳室の拡大を認める。脳幹部・小脳は比較的保存されている。

組織所見：腫瘍細胞は高度の異型を示し、大小不同がめだつ。核異型が強く、多核巨細胞も目立つ。主として血管周囲性に増殖を示す。胞体は好酸性で、星細胞への分化も明瞭なものがみられる。壊死と出血が強く、偽配列と毛細血管内皮細胞の増殖も強く、神経膠芽腫の所見を示す。腫瘍細胞は主として脳室壁に沿って増殖し、周囲の組織は強い浮腫を示す。肉眼所見と同様に、脳室壁に沿って中脳水道から小脳、第4脳室への浸潤を認める。遺伝子注入部位は組織の限局性の変性あり、部位特定を出来るが、周囲には腫瘍細胞の増殖はない。明らかな副作用と考えられる所見はなく、炎症性の変化もない。

(4) 第1グループ第4症例：47歳女性 病理診断：退形成性星細胞腫 腫瘍局在：右後頭部

i) 病理学的変化

2002年2月4日の腫瘍摘出時の病理所見は、退形成性星細胞腫の所見であった。同年2月18日の病理所見は、壊死組織および周囲にグリオーススを認めるが、腫瘍細胞は認めなかった。2月25日の病理所見は、前回 (2月18日) 同様、壊死組織およびグリオーススを認めるが、腫瘍細胞は認めなかった。壊死部周囲に多数の CD68 陽性マクロファージと少数の CD8 陽性 T リンパ球を認めた。3月11日の病理所見は、グリオーススを認めるが、壊死や腫瘍細胞は認めなかった。壊死等の組織学的変化は遺伝子治療の効果と考えられた。

ii) 病理解剖所見

神経病理所見：脳重量 1435g 右頭頂葉から後頭葉は腫瘍摘出術後の組織欠損と硬膜の癒着を認める。脳回は浮腫状で脳底部はくも膜下腔に灰白色調の腫瘍組織の播種を認める。脳ヘルニアの所見はない。断面では右頭頂葉から後頭葉内側部は組織の欠損と出血、壊死が強く、周囲脳組織の破壊を伴っている。脳室周囲には白色調の腫瘍形成を認める。脳梁膨大部は壊死を示し、病変は反対側に広がり、その部位で出血・壊死を示している。第4脳室には腫瘍の浸潤と出血を認める。小脳・脳幹部・脊髄のくも膜下腔には腫瘍の播種を認める。

組織所見：腫瘍細胞は胞体が好酸性で、核のクロマチンが増加した不規則な楕円形を示し、星細胞への分化が明瞭であり、大脳白質を中心にびまん性に浸潤増殖を示す。腫瘍細胞の密度は高く、多形性に富み、免疫組織学的に GFAP が陽性である。白質から皮質へ浸潤し、脳梁を越えて反対側の白質、皮質へと広範な広がりを示す。これらの星細胞への分化が明瞭な腫瘍に加えて、さらに小型で胞体が乏しく未分化な腫瘍細胞が主として血管周囲性に配列・増殖を示し、結節を形成している。この未分化な細胞が所々で増殖し、脳室壁、くも膜下腔に著明な播種を示している。この細胞は多くは GFAP 陰性であるが、一部では陽性を示す。微小血管増殖や偽配列は明瞭ではない。遺伝子療法の注入部位はメカニカルにその部分の組織が壊れており、出血を伴うが極小範囲である。注入部位周囲にも星細胞への分化を示す腫瘍細胞は認められるがやや壊死が強い。一部の血管は硝子様変性を示す。

(5) 第1グループ第5症例)：28歳女性 病理診断：退形成性星細胞腫 腫瘍局在：左前頭部

i) 病理学的変化

2002年3月1日の腫瘍摘出時の病理所見は、退形成性星細胞腫の所見であった。同年3月18日の病理所見は、腫瘍細胞の残存をみるが、一部に変性、壊死を伴っていた。壊死部周囲には少数の CD8 陽性 T リンパ球と CD68 陽性の多数のマクロファージを認めた。4月1日の病理所見は、広範な腫瘍の壊死と少量の腫瘍組織の残存を認めた。壊死部には多数の CD68 陽性マクロファージと壊死組織の周囲に少数の CD8 陽性の T リンパ球をみた。以上の組織学的な変化は、遺伝子治療の効果と考えられる。

ii) 病理解剖所見

神経病理所見：本例は脳の腫瘍部分の 2 x 3 cm のみの局所解剖であり、脳全体の所見は不明である。腫瘍は広範な壊死を示す。腫瘍細胞の主体は小型の円形ないし楕円形のクロマチンに富む核を持ち胞体の乏しい未分化な異型細胞が密に増殖しており特定の配列を示さない。腫瘍の一部では胞体が好酸性で星細胞への分化が明瞭な部分もみられる。腫瘍細胞は大小不同で、多核巨細胞の出現あり、核異型に富む。毛細血管内皮の増殖も目立つ。免疫組織学的には一部は GFAP が陽性である。MIB-1 index は最も高いところは 20%を超える。病理診断は神経膠芽腫である。

まとめ：全経過 6 年 3 ヶ月の左前頭葉原発の症例である。当初の診断は星細胞腫であり、完全緩解の時期が長い。2 回目の手術の診断は退形成性星細胞腫である。剖検時には上記したように神経膠芽腫の所見である。本例は腫瘍組織の小組織片のみの検索のため遺伝子療法との関連を検討

するには十分な情報が得られていない。

(文責：愛知医科大学加齢医科学研究所神経病理教授 橋詰良夫)

2. 病理所見総括

(1) 安全性の評価

すべての症例で、病理学的には遺伝子治療に関連すると思われる有害事象は認められず、本治療の安全性が確認された。

(2) 治療効果の変化

すべての症例で、病理学的には腫瘍の壊死、マクロファージ・CD8 陽性細胞の浸潤が確認された。また、MIB-1 陽性率の低下や異形細胞数の減少も認められた。以上より、病理学的には遺伝子治療の有効性が確認された。

別紙様式第 4

遺 伝 子 治 療 臨 床 研 究 終 了 報 告 書

平成 17 年 5 月 30 日

厚 生 労 働 大 臣 殿

実 施 施 設	所 在 地	岡山市鹿田町 2-5-1 (郵便番号 700-8558)
	名 称	岡山大学医学部・歯学部附属病院 086-223-7151 (電話番号) 086-232-1334 (FAX 番号)
	代 表 者 役職名・氏名	岡山大学医学部・歯学部附属病院長 (職印) 清水 信義



下記の遺伝子治療臨床研究について、別添の終了報告書を提出します。

記

遺 伝 子 治 療 臨 床 研 究 の 課 題 名	総括責任者の所属・職・氏名
非小細胞肺癌に対する正常型 p53 遺伝子発現アデノウイルスベクター及びシスプラチン(CDDP)を用いた遺伝子治療臨床研究	岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 腫瘍制御学講座 教授 (岡山大学医学部・歯学部附属病院 肝胆膵外科 科長) 田中 紀章

遺 伝 子 治 療 臨 床 研 究 終 了 報 告 書

平成8年12月2日

研 究 の 名 称	非小細胞肺癌に対する正常型 p53 遺伝子発現アデノウイルスベクター 及びシスプラチン(CDDP)を用いた遺伝子治療臨床研究
研 究 実 施 期 間	平成10年10月23日から平成15年10月23日まで

総 括 責 任 者	所属部局の所在地	岡山市鹿田町 2-5-1 (郵便番号 700-8558)	
	所属機関・部局・職	岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 腫瘍制御学講座 教授 (岡山大学医学部・歯学部附属病院 肝胆膵外科 科長)	
	氏 名	田中 紀章	 (印)
実 施 の 場 所	所 在 地	岡山市鹿田町 2-5-1 (郵便番号 700-8558)	
	名 称	岡山大学医学部・歯学部附属病院	
	連 絡 先	岡山市鹿田町 2-5-1 (電話番号 086-235-7257 又は 7260) 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 腫瘍制御学講座 (消化器・腫瘍外科学)	
総 括 責 任 者 以 外 の 研 究 者	氏 名	所 属 機 関 ・ 部 局 ・ 職	役 割
	藤原 俊義	岡山大学医学部・歯学部附属病院・ 遺伝子・細胞治療センター・助教授	患者の選定、説明及び同意 の取得、ベクター投与、 臨床観察、効果判定
	香川 俊輔	岡山大学医学部・歯学部附属病院・ 遺伝子・細胞治療センター・助手	説明及び同意の取得、 ベクターの投与、臨床観察、 効果判定
	清水 信義	岡山大学大学院医歯薬学総合研究科・ 病態機構学講座・教授	患者の選定、 説明及び同意の取得
	金澤 右	岡山大学大学院医歯薬学総合研究科・ 腫瘍制御学講座・教授	画像診断、生検、 ベクター投与
	保田 立二	岡山大学大学院医歯薬学総合研究科・ 生体機構再生再建学講座・教授	ウイルスベクター力価の測 定

清水 憲二	岡山大学大学院医歯薬学総合研究科・ 腫瘍制御学講座・教授	p53 遺伝子異常の検索 分子生物学的実験
Jack A. Roth	テキサス大学 M.D アンダーソン 癌センター・胸部心臓血管外科・教授	Ad5CMVp53 の作製、 臨床研究全体の指導
Shawn Gallagher	Introgen Therapeutics 社・製品開発担当 副社長	Ad5CMV-p53 ウイルスベク ターの提供

審査委員会の開催状況	平成 17 年 3 月 14 日、本研究の概要、経過、および成果について審査委員会各委員に報告し、全委員の承諾を得て、本研究の終了が了承された。		
	審査委員会の長の職名	氏	名
	岡山大学医学部・歯学部 附属病院 遺伝子治療臨 床研究審査委員会委員長	白鳥 康史	

研究区分	○遺伝子治療臨床研究	遺伝子治療標識研究
研究の目的	本邦における肺癌患者の発生率は増加を続けている。扁平上皮癌、腺癌、大細胞癌を一括した非小細胞肺癌はその 80%以上を占めており、2/3 が発見時に切除不能であり予後は不良である。肺癌の発生・進展に遺伝子レベルの変化が関与していることは明らかであり、非小細胞肺癌では約 50%に癌抑制遺伝子 p53 の異常が認められている。本研究の目的は、p53 遺伝子に突然変異や欠失などの異常を有する根治的切除不能な原発性あるいは再発性非小細胞肺癌症例において、正常型 p53 遺伝子発現アデノウイルスベクターの局所投与とシスプラチン(CDDP)の全身投与を行った場合の安全性を観察し最大耐量を決定することであり、併せて治療効果も検討することである。まず正常型 p53 遺伝子発現アデノウイルスベクターを単独で局所投与した場合の質的・量的安全性を確認し、次いで CDDP の全身投与を併用した場合の質的・量的安全性を観察する。さらにそれぞれにおいて治療効果の判定を行うとともに、腫瘍退縮や転移抑制、生存期間の延長などを期待する際の根拠となる分子生物学的効果、たとえばベクターの感染、mRNA レベル及び蛋白質レベルでの p53 遺伝子の発現、アポトーシスの誘導、などについて解析する。本研究は、テキサス大学 MD アンダーソン癌センターの遺伝子治療臨床研究プロトコールに準じて、同センターの J. A. Roth 博士との共同研究で行われる。試験薬である正常型 p53 遺伝子発現アデノウイルスベクターAd5CMV-p53 は Introgen Therapeutics 社から供給される。	
対象疾患	非小細胞肺癌	
実施方法	正常型 p53 遺伝子発現アデノウイルスベクター(Ad5CMVp53)は、各種安全性試験を経て本研究に用いられた。第1群は Ad5CMVp53 ウイルスベクター単独投与による安全性を検討するために行われた。被験者が気管支内腔から観察可能な中枢性の腫瘍を有している場合、気管支鏡を挿入し 21G の経気管支的吸引針を用いて腫瘍内数ヵ所に Ad5CMVp53 ウイルスベクター調製液を注入された。局所的に進行した末梢型腫瘍に対しては、21G 穿刺針を用いて CT ガイド下穿刺にて腫瘍内にベクター液を局所注入した。ウイルスベクター量は 10^9 PFU から始め、第1群でのウイルスベクター単独投与が安全であれば、第2群として Ad5CMVp53 ウイルスベクター局所投与と CDDP の全身投与を同時に行った。80 mg/m^2 の CDDP を第1日目に点滴にて静脈内投与し、Ad5CMVp53 ウイルスベクターは第4日目に腫瘍内に局注された。10^9 PFU のレベルで第1群、第2群それぞれ 3 人ずつの被験者に試みられた後、Ad5CMVp53 ウイルスベクター投与量を 10 倍増量し、10^{10} PFU のレベルでは第1群、第2群それぞれ 3 人ずつの被験者に試みられた。次いで最大容量の 10^{11} PFU では、第1群のみで 3 人の被験者に投与された。CDDP 投与量は原則として一定に保たれた。治療後の観察期間中に重篤な副作用が見られず、かつ病変の進行がみられなければ、この治療は1ヶ月に1度繰り返された。被験者は非小細胞肺癌を有し、原則として臨床病期 IIIA・B 期あるいは IV 期で外科的に治療切除不能の症例とされた。被験者の病歴・現症や赤血球・白血球数、血小板数、出血・凝固時間、電解質、生化学検査一般などの検査は、治療前及び治療中各クールの開始前後に行われた。治療開始前後の血液を採取し、アデノウイルスに対する抗体の産生をチェックした。治療前及び治療中の臨床効果を画像診断及び	

	内視鏡診断により評価した。気管支鏡的に腫瘍が直視可能であれば一定の距離から写真撮影を行い、その位置と大きさを記録した。また胸部 X 線写真、CT・MRI など抽出可能であれば同様の所見を記録した。臨床病期は肺癌取り扱い規約（改訂第 4 版）に基づいて決定した。動脈血ガス分析、O₂ 飽和度、FEV1.0 を含む呼吸機能検査も施行した。気管支鏡的あるいは CT ガイド下に到達可能な腫瘍からは、Ad5CMVp53 ウイルスベクター投与後に微細針吸引あるいは生検により癌組織を採取し、DNA 及び mRNA を抽出した。癌組織の DNA サンプルより特異的なプライマーを用いて PCR を行い Ad5CMVp53 ウイルスベクターの感染を確認した。また、Reverse Transcription-PCR により正常型 p53 遺伝子の発現を RNA レベルで確認した。治療中及び治療後に見られるすべての毒性・副作用は、各治療前後に 0～4 度で評価された。治療効果は以下の評価指標に基づいて判定された。Complete Response (CR)：完全に腫瘍が消失、Partial Response (PR)：腫瘍体積で 50%かそれ以上の縮小、あるいは直交する長径と短径が測定不能な症例では、最大腫瘍径の平均で 30%かそれ以上の縮小、Progressive Disease (PD)：腫瘍体積で 25%あるいはそれ以上の増加、No Change (NC)：CR、PR、PD、いずれの範中にも入らない場合。本研究の登録症例数は 15 例、本学においては 9 例の被験者に治療が行われた。
研究結果の概要 及び考察	別紙 1 のとおり
研究成果の公表状況	別紙 2 のとおり

研究結果の概要および考察

課題名：

非小細胞肺癌に対する正常型 p53 遺伝子発現アデノウイルスベクター及びシスプラチン(CDDP)を用いた遺伝子治療臨床研究

総括責任者：

田中紀章（岡山大学大学院医歯薬学総合研究科・消化器・腫瘍外科）

主な分担研究者：

衛藤義勝（慈恵会医科大学・DNA 医学研究所）

加藤治文（東京医科大学・外科学第一講座）

貫和敏博（東北大学・加齢医学研究所・呼吸器腫瘍内科）

吉村邦彦（慈恵会医科大学・DNA 医学研究所）

中村治彦（東京医科大学・外科学第一講座）

西條康夫（東北大学医学部・附属病院）

藤原俊義（岡山大学医学部・歯学部・附属病院）

【要旨】

「非小細胞肺癌に対する正常型 p53 遺伝子発現アデノウイルスベクター及びシスプラチン(CDDP)を用いた遺伝子治療臨床研究」について臨床応用を推進した。対象となる被験者は切除不能な p53 遺伝子に異常を持つ非小細胞肺癌患者であり、気管支内に突出する腫瘍を有する場合は気管支鏡下に、また末梢型の腫瘍を認める場合はコンピュータリッド・トモグラフィー(CT)ガイド下穿刺により腫瘍部位に微細穿刺針を用いて正常型 p53 遺伝子発現アデノウイルスベクター Ad5CMVp53 液を注入した。本研究は平成 11 年 3 月より第 1 例目の被験者の治療を開始し、翌平成 12 年 4 月より 4 施設の共同研究の形で進められてきた。平成 15 年 4 月に目標症例数である 15 例目の被験者の登録を終え、平成 17 年 5 月にすべての被験者の死亡が確認されたため第 1 相臨床試験を終了した。15 例中 6 例ではシスプラチン (CDDP) の全身投与が併用された。岡山大学では 9 例 (Ad5CMV-p53 単独 6 例、シスプラチン併用 3 例) の治療が行われた。最も多くみられた副作用は一過性の発熱のみであり、その他に明らかな因果関係が証明された重篤な有害事象は認められなかった。臨床効果としては、咳や血痰の消失、呼吸機能の改善、腫瘍マーカーの低下などがみられた。また、症例によっては腫瘍縮小がみられ、局所的には癌細胞のアポトーシス誘導が組織学的に確認された。Ad5CMVp53 投与後に血中抗アデノウイルス中和抗体価は全例で上昇したが、治療後の生検サンプルを用いた RT-PCR 解析では、p53 mRNA 発現は経過中維持される症例がほとんどであった。Ad5CMV-p53 の生体内分布の解析も行ったが、遷延するベクターの排泄などは認められなかった。ただ、腫瘍内投与にもかかわらず Ad5CMV-p53 は血漿中に検出され、全身循環に入ることが確認された。本研究により、Ad5CMVp53 の腫瘍内投与は安全に施行可能であることが明らかとなった。

【研究目的】

本邦における肺癌患者の発生率は増加を続けている。扁平上皮癌、腺癌、大細胞癌を一括した非小細胞肺癌はその 80%以上を占めており、2/3 が発見時に切除不能であり予後は不良である。肺癌の発生・進展に遺伝子レベルの変化が関与していることは明らかであり、非小細胞肺癌では約 50%に癌抑制遺伝子 p53 の異常が認められている。本研究の目的は、p53 遺伝子に突然変異や欠失などの異常を有する根治的切除不能な原発性あるいは再発性非小細胞肺癌症例において、正常型 p53 遺伝子発現アデノウイルスベクターの局所投与とシスプラチン(CDDP)の全身投与を行った場合の安全性を観察し最大耐量を決定することであり、併せて治療効果も検討することである。まず正常型 p53 遺伝子発現アデノウイルスベクターを単独で局所投与した場合の質的・量的安全性を確認し、次いで CDDP の全身投与を併用した場合の質的・量的安全性を観察する。さらにそれぞれにおいて治療効果の判定を行うとともに、腫瘍退縮や転移抑制、生存期間の延長などを期待する際の根拠となる分子生物学的効果、たとえばベクターの分布や p53 遺伝子の発現などについて解析する。本研究は、テキサス大学 MD アンダーソン癌センターの遺伝子治療臨床研究プロトコルに準じて、同センターの J. A. Roth 博士との共同研究で行われた。試験薬である正常型 p53 遺伝子発現アデノウイルスベクター Ad5CMV-p53 は Introgen

【実施方法】

正常型 p53 遺伝子発現アデノウイルスベクター(Ad5CMVp53)は、各種安全性試験を経て本研究に用いられた。第1群は Ad5CMVp53 ウイルスベクター単独投与による安全性を検討するために行われた。被験者が気管支内腔から観察可能な中枢性の腫瘍を有している場合、気管支鏡を挿入し 21G の経気管支的吸引針を用いて腫瘍内数カ所に Ad5CMVp53 ウイルスベクター調製液を注入された。局所的に進行した末梢型腫瘍に対しては、21G 穿刺針を用いて CT ガイド下穿刺にて腫瘍内にベクター液を局所注入した。ウイルスベクター量は 10^9 PFU から始め、第1群でのウイルスベクター単独投与が安全であれば、第2群として Ad5CMVp53 ウイルスベクター局所投与と CDDP の全身投与を同時に行った。 80 mg/m^2 の CDDP を第1日目に点滴にて静脈内投与し、Ad5CMVp53 ウイルスベクターは第4日目に腫瘍内に局注された。 10^9 PFU のレベルで第1群、第2群それぞれ3人ずつの被験者に試みられた後、Ad5CMVp53 ウイルスベクター投与量を10倍増量し、 10^{10} PFU のレベルでは第1群、第2群それぞれ3人ずつの被験者に試みられた。次いで最大容量の 10^{11} PFU では、第1群のみで3人の被験者に投与された。CDDP 投与量は原則として一定に保たれた。治療後の観察期間中に重篤な副作用が見られず、かつ病変の進行がみられなければ、この治療は1ヶ月に1度繰り返された。被験者は非小細胞肺癌を有し、原則として臨床病期 IIIA・B 期あるいは IV 期で外科的に治癒切除不能の症例とされた。被験者の病歴・現症や赤血球・白血球数、血小板数、出血・凝固時間、電解質、生化学検査一般などの検査は、治療前及び治療中各クールの開始前後に行われた。治療開始前後の血液を採取し、アデノウイルスに対する抗体の産生をチェックした。治療前及び治療中の臨床効果を画像診断及び内視鏡診断により評価した。気管支鏡的に腫瘍が直視可能であれば一定の距離から写真撮影を行い、その位置と大きさを記録した。また胸部 X 線写真、CT・MRI などで抽出可能であれば同様の所見を記録した。臨床病期は肺癌取扱い規約（改訂第4版）に基づいて決定した。動脈血ガス分析、 O_2 飽和度、FEV1.0 を含む呼吸機能検査も施行した。気管支鏡的あるいは CT ガイド下に到達可能な腫瘍からは、Ad5CMVp53 ウイルスベクター投与後に微細針吸引あるいは生検により癌組織を採取し、DNA 及び mRNA を抽出した。癌組織の DNA サンプルより特異的なプライマーを用いて PCR を行い Ad5CMVp53 ウイルスベクターの感染を確認した。また、Reverse Transcription-PCR により正常型 p53 遺伝子の発現を RNA レベルで確認した。治療中及び治療後に見られるすべての毒性・副作用は、各治療前後に0～4度で評価された。治療効果は以下の評価指標に基づいて判定された。Complete Response (CR)：完全に腫瘍が消失、Partial Response (PR)：腫瘍体積で50%かそれ以上の縮小、あるいは直交する長径と短径が測定不能な症例では、最大腫瘍径の平均で30%かそれ以上の縮小、Progressive Disease (PD)：腫瘍体積で25%あるいはそれ以上の増加、No Change (NC)：CR、PR、PD、いずれの範中にも入らない場合。本研究の登録症例数は15例、本学においては9例の被験者に治療が行われた。

（倫理面への配慮）

被験者へのインフォームドコンセントのために作成した文書は新 GCP に乗っ取って作成されており、治療遺伝子やベクターに関しても図を多用してできるだけ平易な言葉で説明している。また、米国で進行中の臨床試験の安全性や治療効果の情報も網羅されている。本研究の「実施計画書」および「説明と同意書」は、各施設の遺伝子治療臨床研究審査委員会で承認されており、また厚生省先端医療技術評価部会および文部省遺伝子治療臨床研究専門委員会で倫理的妥当性について了承されている。

【研究結果】

平成11年3月に岡山大学医学部・歯学部附属病院で開始した本研究は、平成12年4月に多施設共同臨床試験に移行しており、以後、岡山大学医学部・歯学部附属病院、東京医科大学、東北大学加齢医学研究所、慈恵会医科大学の4施設の共同研究として進められた。平成15年4月に15例目の被験者の登録が行われ、平成16年9月にすべての被験者の死亡が確認され第I相臨床試験を終了した。9例の p53 遺伝子導入単独投与あるいは6例のシスプラチン併用の治療が行われた（岡山大学9例、東京医大3例、東北大学2例、慈恵会医大、1例）（表1）。岡山大学で治療された9例（Ad5CMV-p53 単独6例、シスプラチン併用3例）は1-14回の投与を受けているが、明らかな因果関係が疑われる重篤な副作用はみられなかった。また、うち3例は6回投与以上の長期に治療が継続され、臨床的にも症状軽減などの効果が観察された。さらに、1例では死亡後の剖検を施行している。

1) **安全性**：現在までのところ、高い確率をもって発症する重篤な副作用は認められておらず（表2）、

ベクター投与の当日あるいは翌日に一過性の 38℃ 台の発熱はみられているが、いずれも自然と軽快している。ベクター投与後に閉塞性肺炎を発生した症例も認められたが、ベクターそのものとの明らかな因果関係はないと考えられた。CT ガイド下投与の際の気胸やシスプラチン由来と思われる嘔気、食欲不振はみられているが、いずれも米国の臨床試験の結果から予測される範囲内であり、本治療は安全に施行可能であると考えられる。

2) 生体内分布：喀痰から抽出した DNA をテンプレートとしてベクター特異的なプライマーを用いて行った PCR 解析では、多くの症例で投与翌日にベクター断片が検出され、ほとんどの症例で 2 週間以内に陰性となっていた。腫瘍内局所投与にもかかわらず、投与後 30 分をピークに血漿中にベクターが検出された。これはバイオアッセイでの結果であるため、感染性のベクターが検出されていると考えられる。しかし、ベクターの全身循環に由来すると思われる反復する重篤な有害事象は認められていない。投与前後の生検サンプルの RT-PCR により、高率に p53 遺伝子発現が誘導されていることが明らかになった。また、血中抗アデノウイルス中和抗体価は、ほぼ全例で初回投与後に上昇していた。しかし、抗体価の上昇にもかかわらず p53 遺伝子発現は持続的に保たれており、局所投与の場合には全身循環する血中中和抗体は導入遺伝子発現に顕著な影響をおよぼさないと推測された。

3) 臨床効果：岡山大学で Ad5CMV-p53 を投与した 9 例中評価可能であった 7 例の臨床効果は、PR (partial response) 1 例、SD (stable disease) 5 例、PD (progressive disease) 1 例であり、1 例の PR 症例と 2 例の SD 症例、計 3 例では、呼吸機能の改善、血痰の消失、肺活量の増加と咳症状の軽快などの QOL (quality of life) の改善や腫瘍マーカーの低下などの臨床的有用性が確認された。第 1 例目の症例では、気管分岐部の扁平上皮癌の退縮 (PR) が見られ、1 年間、計 14 回の投与を行うことが可能であった。治療期間中、病理学的には complete remission (CR) には至らなかったが、腫瘍量は明らかに減少し、そこからの腫瘍増殖は月 1 回のベクター投与で抑制されていた。

【考察】

非小細胞肺癌に対する p53 遺伝子治療は、安全に施行可能であることが明らかとなった。生体内分布に関しても詳細な解析が行われ、抗アデノウイルス抗体価の上昇にもかかわらず、導入された p53 遺伝子発現が長期に得られることがわかった。また、症例によっては腫瘍縮小効果や増殖抑制が認められ、簡便な局所療法としての有用性が確認された。臨床効果で興味深い点は、p53 遺伝子治療後に放射線療法を行った症例で比較的長期の生存が得られたことである。p53 遺伝子導入により放射線感受性が増強した可能性があり、今後のメカニズムの解析や臨床応用への反映が望まれる。欧米では、Ad5CMV-p53 は ADVEXIN® として開発が進んでおり、2003 年 9 月、米国食品医薬品庁 (FDA) から頭頸部扁平上皮癌に対するオーファンドラッグとして迅速審査対象医薬品に認定された。近い将来、ADVEXIN® は初めての遺伝子治療製剤として市場に出ると考えられる。それに続き、非小細胞肺癌に対しても世界的に臨床開発が進行する予定である。

本臨床研究への参加希望が 4 施設で計 450 人以上に達しており、残念ながら適応患者はかなりしぼられたものの、社会的ニーズは極めて高いと思われる。今後、第 II 相臨床試験に進み、その有効性を明らかにすることは、一般医療として本治療法が確立されることにつながり、社会的にも重要であると考えられる。現在は極めて進行した患者が対象であるが、ベクターの安全性が確認されれば積極的に他の治療法との併用を検討することができる。例えば、外科的切除可能な症例に術前投与することで腫瘍サイズの縮小を期待したり、また術中の腫瘍細胞散布による転移を抑制することもできる。根治切除不能な症例の切除断端に投与することで、局所再発や遺残腫瘍組織の再増殖を予防することができる。すなわち、より早期の患者に使用することが可能となり、集学的治療法の一つの選択肢として考えられるようになると期待される。さらに、簡便に行える p53 遺伝子治療は高齢者や合併症を有する患者に恩恵があると思われ、適応基準の年齢制限をはずし、さらに無治療症例に適応を広げることで、その汎用性を検証することが可能となる。

【結論】

p53 遺伝子発現アデノウイルスベクターを用いた遺伝子治療は安全に施行可能であり、遺伝子導入およびその発現が確認された。

表 1 p53 遺伝子治療を施行された症例一覧

症 例	年/性	病 理	部 位	病 期	前 治 療	投与経路	投 与 量	回数
(岡山大学) 01	58/男	扁平上皮癌	気管分岐部	cT4N0M0 St IIIB	化学療法 放射線療法	気管支鏡	10 ⁹ PFU	14
(岡山大学) 02	58/男	扁平上皮癌	左肺下葉	cT4N2M0 St IIIB	化学療法 放射線療法	気管支鏡 CT	10 ⁹ PFU	9
(岡山大学) 03	66/男	扁平上皮癌	右主気管支	cT2N0M0 St IB (術前)	手術 化学療法 レーザー療法	気管支鏡	10 ⁹ PFU	4
(岡山大学) 04	46/女	腺癌	左肺上葉	cT2N3M1 St IV	化学療法	CT	10 ⁹ PFU + CDDP	10
(岡山大学) 05	55/男	扁平上皮癌	右肺下葉	cT4N1M0 St IIIB	化学療法 放射線療法	気管支鏡 CT	10 ⁹ PFU + CDDP	3
(岡山大学) 06	54/男	扁平上皮癌	左肺上葉	cT3N2M0 St IIIB	化学療法 放射線療法	CT	10 ⁹ PFU + CDDP	2
(東北大学) 07	71/男	扁平上皮癌	右肺上葉	cT4N1M0 St IIIB	化学療法 放射線療法	気管支鏡	10 ¹⁰ PFU	2
(岡山大学) 08	52/男	扁平上皮癌	右肺下葉	cT2N2M0 St IIB	化学療法 放射線療法	気管支鏡	10 ¹⁰ PFU	1
(岡山大学) 09	66/男	扁平上皮癌	左肺上葉	cT2N0M0 St IB (術前)	手術 化学療法 放射線療法	CT	10 ¹⁰ PFU	4
(慈恵医大) 10	51/男	腺癌	右肺下葉	cT2N2M1 St IV	化学療法	CT	10 ¹⁰ PFU + CDDP	1
(東京医大) 11	51/男	腺癌	右肺上葉	cT4N3M0 St IIIB	化学療法	CT	10 ¹⁰ PFU + CDDP	2
(東京医大) 12	61/男	扁平上皮癌	右肺上葉	cT4N2M0 St IIIB	化学療法 放射線療法	気管支鏡	10 ¹⁰ PFU + CDDP	2
(岡山大学) 13	62/男	扁平上皮癌	左肺下葉	cT4N3M0 St IIIB	化学療法 放射線療法	気管支鏡	10 ¹¹ PFU	1
(東北大学) 14	70/男	扁平上皮癌	左肺上葉	cT2N2M0 St IIIA	化学療法 放射線療法	気管支鏡	10 ¹¹ PFU	4
(東京医大) 15	62/男	扁平上皮癌	右肺上葉	cT4N2M0 St IIIB	化学療法 放射線療法	気管支鏡	10 ¹¹ PFU	4

表 2 p53 遺伝子治療における有害事象

有害事象	重症度			計 (%) N=15
	軽度	中等度	重度	
発熱	1	11	2	14 (93.3%)
血痰	8	1	0	9 (60%)
悪心	2	3	0	5 (33.3%)
嘔吐	3	2	0	5 (33.3%)
咳	4	0	0	4 (26.7%)
下痢	4	0	0	4 (26.7%)
閉塞性肺炎	0	3	1	4 (26.7%)
便秘	3	0	0	3 (20%)
背部痛	2	1	0	3 (20%)
胸痛	3	0	0	3 (20%)
貧血	0	1	2	3 (20%)
口内炎	2	0	0	2 (13.3%)
左肩疼痛	2	0	0	2 (13.3%)
感染症	1	1	0	2 (13.3%)
全身倦怠感	2	0	0	2 (13.3%)
腰痛	2	0	0	2 (13.3%)
神経系 - 聴覚	0	2	0	2 (13.3%)
呼吸困難	0	0	1	1 (6.7%)
肺炎	0	1	0	1 (6.7%)
無気肺	0	0	1	1 (6.7%)
腹部膨満感	1	0	0	1 (6.7%)
感覚神経異常	1	0	0	1 (6.7%)
気胸	1	0	0	1 (6.7%)
血腫 (前胸部)	1	0	0	1 (6.7%)
鼻汁	1	0	0	1 (6.7%)
胸水	1	0	0	1 (6.7%)
下血	1	0	0	1 (6.7%)
歯痛	1	0	0	1 (6.7%)
急性上気道炎	0	1	0	1 (6.7%)
神経系 - 気分	1	0	0	1 (6.7%)
生検部疼痛	1	0	0	1 (6.7%)
白血球減少	1	0	0	1 (6.7%)
食欲不振	0	1	0	1 (6.7%)
体重減少	0	0	1	1 (6.7%)
左手第 2 指化膿	1	0	0	1 (6.7%)
上腕疼痛 (右)	0	1	0	1 (6.7%)

研究成果の公表状況

【学会発表】

1. 藤原俊義、香川俊輔、西崎正彦、田中紀章：非小細胞肺癌に対する Ad5CMV-p53 による遺伝子治療臨床研究：安全性、効果、遺伝子発現、生体内分布に関する中間報告。第 61 回日本癌学会総会（ワークショップ）、2002.
2. 藤原俊義、田中紀章、香川俊輔、西崎正彦、吉村邦彦、佐藤哲夫、衛藤義勝、西條康夫、貫和敏博、中村治彦、加藤治文：p53 遺伝子発現アデノウイルスベクター（ADVEXIN）を用いた肺癌の遺伝子治療：多施設共同による第 I 相臨床試験。第 41 回日本癌治療学会総会（シンポジウム）、2003.
3. Fujiwara, T., Tanaka, N., Kataoka, M., Nakamura, H., Saji, H., Kato, H., Saijo, Y., Nukiwa, T., Yoshimura, K., Akiba, T., Sato, T., Eto, Y. Multicenter phase I trial of adenovirus expressing the wild-type p53 gene (Ad-p53) administered intratumorally for the treatment of advanced lung cancer patients: safety, efficacy, transgene expression, and shedding in biological fluids. 第 9 回日本遺伝子治療学会、2003.
4. 藤原俊義、田中紀章、香川俊輔、西崎正彦、吉村邦彦、佐藤哲夫、衛藤義勝、中村治彦、加藤治文、西條康夫、貫和敏博：多施設共同による p53 遺伝子発現アデノウイルスベクター（ADVEXIN）を用いた肺癌遺伝子治療の第 I 相臨床試験。第 62 回日本癌学会総会、2003.