

東京大学医学部附属病院から申請のあった 遺伝子治療臨床研究実施計画について

平成 24 年 7 月 13 日
大臣官房厚生科学課

- 東京大学医学部附属病院から申請のあった下記の遺伝子治療臨床研究実施計画については、遺伝子治療臨床研究に関する指針（以下、「指針」という。）第五章の第一の三の規定に基づき、複数の有識者に意見を伺った結果、新規性はなく、指針第五章の第一の三のいずれの項目にも該当しないものと判断された。
- しかしながら、厚生労働省としては、「新規性なし」の判断は初めてのケースであり、指針の制定経緯やこれまでの解釈事例を踏まえ、厚生科学審議会に意見を聴くこととした。（以上につき別添参照）
- その結果、平成 23 年 11 月 9 日に開催された科学技術部会において、「新規性なし」（すなわち、実施して差し支えないもの）と判断された。

注）なお、別添の有識者意見を踏まえ、以下の点を留意事項として本臨床研究実施施設の長に通知する予定である。

- ① 転移巣のある患者を含める理由としてあげられている抗腫瘍免疫について、CTL アッセイなどの免疫系の評価ができないか検討すること。
- ② 研究の透明性を確保するため、適格性判定委員会にも外部の専門家を加えることを考慮すること。
- ③ 安全性の観点から、投与回数の増加、及びコホートの移行に際しての有害事象の評価は慎重に行うこと。

記

1. ホルモン療法抵抗性再燃前立腺癌に対する増殖型遺伝子組換え単純ヘルペスウイルス G47Δ を用いたウイルス療法の臨床研究
申請者：東京大学医学部附属病院 病院長 門脇 孝
申請日：平成 23 年 9 月 22 日

遺伝子治療臨床研究実施計画（東京大学医学部附属病院）について

平成 23 年 11 月 9 日
大臣官房厚生科学課

1. 背景

遺伝子治療臨床研究実施計画に係る厚生科学審議会への意見聴取の必要性について、遺伝子治療臨床研究に関する指針（平成 16 年文部科学省・厚生労働省告示第 2 号）（以下「指針」という。）第五章の第一の三の規定に基づき、複数の有識者に意見を伺うこととなっている。

2. 有識者の意見

東京大学医学部附属病院より申請（平成 23 年 9 月 22 日）のあった遺伝子治療臨床研究実施計画について、有識者に意見を伺った結果は、別紙の通りである。

3. 対応

厚生労働省としては、有識者の意見は「新規性なし」であったものの、「新規性なし」の判断は初めてのケースであり、指針の当該規定の制定経緯やこれまでの解釈事例を踏まえ、厚生科学審議会に意見を聴くこととした。

【参照条文】

第五章 厚生労働大臣の意見等

第一 厚生労働大臣の意見

三 厚生労働大臣は、二に基づき意見を求められた場合において、複数の有識者の意見を踏まえ、当該遺伝子治療臨床研究が次に掲げる事項のいずれかに該当すると判断するときは、当該遺伝子治療臨床研究の医療上の有用性及び倫理性について厚生科学審議会の意見を聴くものとする。

- 1 疾病の治療のための遺伝子が組み込まれた DNA 又はこれを含むウイルスその他の粒子であつて、当該遺伝子を細胞内に導入する際に用いられる新規のもの又は新規の遺伝子投与方法を用いていること。
- 2 新規の疾病を対象としていること。
- 3 新規の遺伝子治療方法を用いていること（1 又は 2 に該当するものを除く。）。
- 4 その他個別の審査を必要とするような事項を含んでいること。

四 厚生労働大臣は、三の規定による厚生科学審議会からの意見の聴取が必要ないと判断する場合には、意見を求められた日から三十日以内に、当該遺伝子治療臨床研究の実施に関し意見を述べるものとする。

以 上

遺伝子治療臨床研究実施計画に係る有識者からの意見

○ 対象となる遺伝子治療臨床研究実施計画

課題名： ホルモン療法抵抗性再燃前立腺癌に対する増殖型遺伝子組換え単純ヘルペスウイルス G47Δを用いたウイルス療法の臨床研究

総括責任者： 東京大学医学部附属病院・泌尿器科・男性科・講師 福原 浩

対象疾患： 前立腺非摘出で、ホルモン療法後に再燃した前立腺癌
(遠隔転移がある場合も含む。抗癌剤ドセタキセル投与の有無を問わない。)

○ 意見を伺った有識者

小澤 敬也	自治医科大学医学部教授
島田 隆	日本医科大学医学部教授
那須 保友	岡山大学病院新医療研究開発センター教授
山口 照英	国立医薬品食品衛生研究所生物薬品部研究員

○ 有識者からの意見

1. ベクターについて

使用される遺伝子組換えウイルス G47Δは、単純ヘルペスウイルス I 型 (HSV-1) を腫瘍溶解性ウイルスとして改変したもので、欧米の臨床研究で使われている G207 を更に改良したものである。現在、東京大学医学部附属病院で行われているグリオーマの遺伝子治療臨床研究で使われているものと構造も、品質も同等であり新規性はない。

2. 対象疾患について

前立腺癌は腫瘍内へのベクターの注入が容易なことから、遺伝子治療の重要な対象疾患と考えられており世界中で既に 100 件以上の臨床研究が行われている。日本でも、これまでに複数の施設でアデノウイルスベクターの前立腺癌を対象とした腫瘍内投与が行われている。

本遺伝子治療臨床研究は、既に実施されている腫瘍溶解性 HSV-1 の適用拡大（脳腫瘍→前立腺癌）にあたると考えられるが、本臨床研究を実施するに当たり、有効性及び安全性は以下のように示されている。

前立腺癌に対する腫瘍溶解性 HSV-1 の有効性については培養細胞の実験や担癌モデル動物を用いた実験で示されている。

腫瘍溶解性 HSV-1 の安全性については、G207 について多くの研究が行われている。前臨床研究としては G207 をサルの前立腺に注入し安全性を確認したものが報告されている。また、腫瘍溶解性 HSV-1 を使ったヒトでの遺伝子治療臨床研究としては脳

腫瘍内への投与以外に、肝癌、頭頸部腫瘍、メラノーマ、悪性中皮腫に対する腫瘍内投与が行われている。さらに、転移性肝癌の治療として腫瘍溶解性 HSV-1 の肝動脈内投与も行われている。これらの臨床研究において安全性の問題は報告されていない。

3. 遺伝子治療法について

超音波ガイド下に前立腺に針を刺す手技は、泌尿器科では日常行われている既に確立した診療技術であり新規性はない。投与量についても、既に実施されているグリオーマ遺伝子治療臨床研究と同等である。

以上のように、本臨床研究について、新規性はなく、指針第五章の第一の三のいずれの項目にも該当しないと判断した。なお、以下の点を留意事項として本臨床研究実施施設の長に通知する必要があると考える。

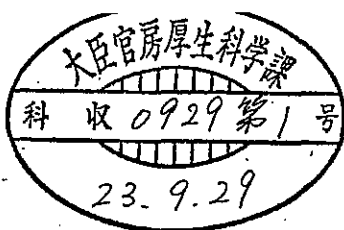
- ① 転移巣のある患者を含める理由としてあげられている抗腫瘍免疫について、CTL アッセイなどの免疫系の評価ができないか検討すること。
- ② 研究の透明性を確保するため、適格性判定委員会にも外部の専門家を加えることを考慮すること。
- ③ 安全性の観点から、投与回数の増加、及びコホートの移行に際しての有害事象の評価は慎重に行うこと。

(参考)

○ これまでの解釈事例【第 28 回科学技術部会（平成 18 年 2 月 1 日）】

- ・下の比較表のように、既に臨床研究を実施していた岡山大学医学部附属病院と同一の導入遺伝子・ベクターを用い、同じく前立腺癌を対象とする北里大学病院の遺伝子治療臨床研究について、新規性があるか否かが検討された。
- ・遺伝子発現ベクターの投与回数が 1 回である岡山大学医学部附属病院に対して、北里大学病院は 2 回であることなど、治療スケジュールが少し異なっていることから、慎重を期してということで、「新規性あり」と判断された。

実施施設名	課題名	対象疾患	導入遺伝子の種類・ベクター	申請日及び大臣回答日
岡山大学医学部附属病院	前立腺癌に対する Herpes Simplex Virus-thymidine kinase 遺伝子発現アデノウイルスベクター及びガンシクロビルを用いた遺伝子治療臨床研究	外科的切除により根治不能な局所的に進行した前立腺癌症例で、内分泌療法（放射線療法、抗癌化学療法の併用を含む）の経過中に、腫瘍マーカーである前立腺特異抗原（PSA:Prostate Specific Antigen）を用いた生化学診断上、内分泌療法抵抗性局所再燃前立腺癌と診断され、かつ臨床的に遠隔転移を認めない患者	HSV-TK 遺伝子 アデノウイルスベクター →癌組織内に局所投与	1999/9/16 2000/6/29
北里大学病院	前立腺癌に対する Herpes Simplex Virus-thymidine kinase 遺伝子発現アデノウイルスベクター及びガンシクロビルを用いた遺伝子治療臨床研究	外科的切除は可能であるが、手術前における血清前立腺特異抗原値（PSA）、臨床病期、および前立腺生検の病理学的分化度を指標とした予測（ノモグラム評価）において、術後 5 年以内に 35%以上の確率で再発するとされるハイリスク群症例（総得点 11.5 点以上）で、かつ臨床的に遠隔転移を認めない局所限局性前立腺癌患者	HSV-TK 遺伝子 アデノウイルスベクター →癌組織内に局所投与	2006/1/19 2007/3/26



別紙様式第1

遺伝子治療臨床研究実施計画申請書

平成23年9月22日

厚生労働大臣 殿

実施施設	所在地	東京都文京区本郷 7-3-1 (郵便番号 113-8655)
	名称	東京大学医学部附属病院 03-3815-5411 (電話番号)
	代表者 役職名・氏名	東京大学医学部附属病院 病院長 門脇 孝

下記の遺伝子治療臨床研究について、別添の実施計画書に対する意見を求めます。

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
ホルモン療法抵抗性再燃前立腺癌に対する増殖型遺伝子組換え単純ヘルペスウイルス G47Δを用いたウイルス療法の臨床研究	東京大学医学部附属病院・泌尿器科・男性科・ 講師 福原 浩

遺 伝 子 治 療 臨 床 研 究 実 施 計 画 概 要 書

平成 23 年
9 月 22 日

〈申請年月日〉

研究の名称	ホルモン療法抵抗性再燃前立腺癌に対する増殖型遺伝子組換え単純ヘルペスウイルス G47Δを用いたウイルス療法の臨床研究
研究実施期間	平成 年 月 日 (承認日) から 5 年間

総括責任者	所属部局の所在地	113-8655 東京都文京区本郷7-3-1	
	所属機関・部局・職	東京大学医学部附属病院・泌尿器科・男性科・講師	
	氏名	福原 浩	
実施の場所	所在地	113-8655 東京都文京区本郷7-3-1	
	名称	東京大学医学部附属病院	
	連絡先	03-3815-5411	
総括責任者以外の研究者	氏名	所属機関・部局・職	役割
	藤堂具紀	東京大学医科学研究所・先端医療研究センター・先端がん治療分野・教授	遺伝子治療臨床研究における指導。ウイルス管理と準備。
	稲生靖	東京大学医科学研究所・先端医療研究センター・先端がん治療分野・准教授	ウイルス管理と準備。標本の管理と処理。
	本間之夫	東京大学医学部附属病院・泌尿器科・男性科・教授	臨床研究における指導。
	藤村哲也	東京大学医学部附属病院・泌尿器科・男性科・講師	術前術後管理。
	鈴木基文	東京大学医学部附属病院・泌尿器科・男性科・講師	術前術後管理。
	後藤明輝	秋田大学・器官病態学・教授	病理学的評価・解析。

審査委員会が研究計画の実施を適当と認める理由	審査委員会では、提出された遺伝子治療臨床研究実施計画書を慎重に審査した結果、本遺伝子治療臨床研究実施計画書は平成 14 年文部科学省・厚生労働省告示第 1 号「遺伝子治療臨床研究に関する指針」平成 14 年 3 月 27 日告示（平成 20 年 12 月 1 日一部改正）の必要条件を満たしていると認めた。（承認：平成 23 年 8 月 25 日）	
	審査委員会の長の職名	氏名
	東京大学医学部遺伝子治療臨床研究審査委員会 委員長 東京大学大学院医学系研究科医療倫理学分野 教授	赤林 朗

研究の区分	○遺伝子治療臨床研究（ウイルス療法）
研究の目的	本研究は、前立腺非摘出でホルモン治療後に再燃してきた再燃前立腺癌の患者を対象とし、遺伝子組換え単純ヘルペスウイルスⅠ型（herpes simplex virusⅠ、以下 HSV-Ⅰ）である G47Δ を前立腺内に投与する。コホート単位で 3 段階に用量を増加し、安全性の評価すなわち有害事象の種類と発生頻度の調査を主目的とする。副次目的として、血清前立腺特異抗原値（PSA 値）の変化により抗腫瘍効果を評価する。
対象疾患及びその選定理由	「前立腺非摘出で、ホルモン療法後に再燃した前立腺癌。」 （遠隔転移がある場合も含む。抗癌剤ドセタキセル投与の有無を問わない。） 主な選定理由 ・ ホルモン療法抵抗性前立腺癌は生存期間中央値が 12-15 ヶ月と予後が悪い。唯一生存期間延長効果のある抗癌剤ドセタキセルは、副作用のため治療を完遂できない場合が多い。 ・ 前立腺は経直腸超音波ガイド下に経会陰的にアプローチすることができ、安全に治療が行える。 ・ 前立腺癌には前立腺特異抗原 (PSA) という腫瘍マーカーが存在し、治療効果の評価が容易である。 ・ 他臓器転移の有無を問わないのは、本臨床研究が安全性の評価をエンドポイントとしていること、前立腺癌では原発巣の治療が予後の延長につながる可能性があること、抗腫瘍免疫を介した遠隔転移への効果の可能性があること、などのためである。 ・ 抗癌剤ドセタキセル使用に関しては、G47Δ との同時投与を行わないが、実際の臨床では、副作用のためにドセタキセルを希望しない患者も多いため、ドセタキセル使用を臨床研究参加の条件としないこととした。 (1) 対象疾患に関する現時点での知見 我が国における 2005 年の男性の推定年齢調整罹患率(対人口 10 万人、日本人モデル人口)に関しては、前立腺癌は 42.0 であり、胃癌、肺癌について 3 番目に高い(国立がん研究センターがん対策情報センターのデータより)。米国では、男性の罹患率が全ての癌の中で 2 番目に多く、我が国でも罹患率が近年増加してきている。癌死に関しても、2009 年には現実には 10,036 人が前立腺癌で亡くなっている。前立腺癌の年齢調整死亡率は、1950 年は 0.5 と低かったが、その後年々高くなっており、1975 年は 3.8、1998 年には 8.6 と 1975 年の約 2.3 倍に増加している。今後の前立腺癌死亡率の傾向は、2000 年の前立腺癌死亡率の実測値に対して 2020 年の推定値は 2.8 倍になると予測されている。 限局性前立腺癌治療に対しては複数の選択肢が複数用意されており、手術療法や放射線療法およびホルモン療法が標準治療である。副作用を危惧して手術療法や放射線療法を希望しない患者や 70 歳以上の高齢者がホルモン療法の対象となり、実臨床ではホルモン療法が選択される場合も多い。また、初診時に転移を有する進行性前立腺癌については、初期治療としてホルモン療法が選択される。ホルモン療法は、前立腺癌の促進因子である男性ホルモンを抑制することにより、前立腺癌の縮小を目指す治療法である。しかし、多くの患者でホルモン療法導入初期は良好に反応して PSA 値を低下させるが、2-10 年(平均 5 年)で PSA 値が再上昇するという「再燃」が見られる。一度ホルモン療法抵抗性となった前立腺癌に対しては、有効な治療法がないのが現状であり、予後不良である。ホルモン抵抗性前立腺癌の生存期間中央値は約 10-12 ヶ月と短く、しかも Quality of Life(QOL)の面からも問題がある。つまり、健康な期間を過ごした後に肺や肝臓への転移を呈して急速に死に至るといった経過をたどらず、多くは骨に転移をして、骨転移の疼痛に対するモルヒネなどの疼痛コントロール下で延命してという場合が多い。 ホルモン療法抵抗性となった前立腺癌に対して、全身状態が良好な場合には抗癌剤治療が行われることもある。本邦で保険適応があるのは、イフォマイド、シスプラチン、ペプロマイシン、UFT、ドセタキセルの各抗癌剤である。いずれも一過性の PSA の低下は認めるが、生存率を延長することが示されているのはドセタキセルのみである。延命効果が認められなかった抗癌剤ミトキサントロンとの比較では、平均生存期間が対象群で 16.5 ヶ月に対し、ドセタキセル群では 18.9 ヶ月で、PSA 効果も 32%に対して 45.8%であった。同様の大規模 RCT(randomized control trial)でも、平均生存期間が対象群で 15 ヶ月に対し、ドセタキセル群では 18 ヶ月で、PSA 効果も 10%に対して 17%であった。これらの結果を踏まえて、我が国でも 2008 年 8 月より保険適応が承認された。ただ、海外においても、骨髄抑制を中心とした grade3/4 の副作用を 45-54%に認めており、治療関連死も 0.3-2%に認めている。我が国では、骨髄抑制による副作用による治療脱落例が海外よりも多いと言われている。実際に、最近の我が国での報告では、対象年齢が 65(50-74)歳と実臨床で投与されるよりも

比較的若年であるにもかかわらず、grade3/4の白血球減少症を8割以上に、grade3/4の好中球減少症を9割以上に認めている。実際の対象年齢が75歳以上であることを考慮すると、完遂できるのは僅かであることが想定される。このように、抗癌剤ドセタキセルは2-3ヶ月程の延命効果を認めるが、対象者が高齢であることもあり上記の如く忍容性に問題がある。実際には、ドセタキセル施行中に抗癌剤の骨髄抑制などの副作用で全身状態が徐々に悪化していきることが多く見られる。

局所再燃前立腺癌に対して放射線治療が行われることがある。排尿症状などの局所の症状の緩和には有効性を認めるが、2年以内に約75%の症例においてPSAの再上昇を認め、予後の改善に関しては良好な成績は得られていない。しかも、前立腺に照射する場合は3-5%に直腸瘻や直腸出血などの重篤な晩期合併症を認める。また、骨転移やリンパ節転移部位に放射線治療を行うことがあるが、それらは転移に伴う疼痛を緩和するために施行され、放射線照射部位以外の病巣に対して効果は期待できない。

このように、唯一生存期間延長効果のある抗癌剤ドセタキセルは、副作用のため治療を完遂できない場合が多い。そもそも忍容性から対象にならない患者群が多く存在する治療法である。また、当研究対象患者は、前立腺全摘を希望しなかった群であり、高齢もしくは抗癌剤の副作用への危惧等の理由によりドセタキセルを選択しないことが多い。ホルモン療法抵抗性再燃前立腺癌の予後は不良であり、従来とは異なるアプローチによる新たな治療法の開発が不可欠であると考えられる。

(2) 当該臨床研究の概要

ウイルス療法 (oncolytic virus therapy) は、腫瘍細胞内で選択的に複製する増殖型ウイルスを腫瘍細胞に感染させ、ウイルス複製に伴うウイルスそのものの直接的な殺細胞効果により腫瘍を治療する方法である。腫瘍内でのウイルスの複製能を最大限に保ちつつ、正常組織での病原性を最小限に押さえるため、ウイルスゲノムに人為的な遺伝子操作による改変を加えた遺伝子組換えウイルスを用いる。腫瘍細胞に感染した増殖型遺伝子組換えウイルスは腫瘍細胞内で複製し、その過程でウイルスに感染した細胞は死滅する。複製したウイルスはさらに周囲の腫瘍細胞に感染し、その後複製→細胞死→感染を繰り返して抗腫瘍効果を現す。ウイルス複製に伴い感染した腫瘍細胞は死滅するため、外来治療遺伝子を導入せずに腫瘍を治癒させることが可能であると期待される¹⁾。前立腺癌は、経直腸的超音波をガイドにして、経皮的に比較的容易かつ確実にウイルスの腫瘍内直接投与が行えることや、前立腺そのものがいわゆる critical organ ではないこと、効果判定に感度の良いPSA腫瘍マーカーが利用できることなどから、ウイルス療法の臨床研究対象に適している。

HSV-1 が癌治療に適しているとされるのは、次のような利点に基づいている。1) ヒトのほぼ全ての種類の細胞に感染可能である、2) 比較的低い multiplicity of infection (MOI; 細胞数に対する感染性ウイルス投与量の比) で全ての細胞の死滅が可能である、3) 病原性を呈するのに必要なウイルス遺伝子が解明されており、遺伝子操作を加えることで病原性の除去が可能である、4) HSV-1 に感受性を示すマウスが存在するために、動物で安全性や効果の非臨床的評価を行える、5) 抗ウイルス薬が存在するために治療を中断することが可能である、6) ウイルス自体の免疫原性が比較的低く、血中抗 HSV-1 抗体が細胞間ウイルス伝搬に影響しない、7) ウイルス DNA が宿主細胞のゲノムに取り込まれない、という特徴を有する。

本臨床研究では、複製型遺伝子組換え HSV-1 である G47Δ を、ホルモン療法抵抗性再燃前立腺癌患者の前立腺内に経会陰的に注入する。G47Δ は、米国で再発悪性グリオーマを対象として臨床試験 (第I相) で用いられた第二世代複製型遺伝子組換え HSV-1 の G207 を改良した第三世代で、腫瘍細胞を破壊しつつ腫瘍内で複製するが、正常組織は傷害しないと考えられる²⁾。また、ウイルスが患者の抗腫瘍免疫を惹起させ、遠隔転移の腫瘍にも抗癌作用が期待できる。現在、脳腫瘍に対する臨床研究が東京大学附属病院にて進行中である。G207 および G47Δ についての詳細は「遺伝子の種類及びその導入方法(8) G47Δ の構造」の欄に記載する。3段階の用量増加にて安全性の評価すなわち有害事象の種類と発生頻度の調査を行うことを主目的とする。副次目的として、血清前立腺特異抗原値 (PSA 値) の変化を評価する。

(3) 他の治療法との比較及び当該治療法を選択した理由

ホルモン療法にもかかわらず再燃した前立腺癌に対して、治療手段は非常に限られている。遠隔転移を認めない場合は放射線治療を試みるが、局所的な症状を緩和させることはできても予後を延長させたという報告はない。遠隔転移を認める場合も認めない場合も抗癌剤治療が行われることがあるが、対象に高齢者が多く、骨髄抑制などで消耗するばかりで、唯一効果があるとされるドセタキセルでも忍容性から選択されないことも多い。前立腺癌は多くの研究がなされている分野でありながら、再燃前立腺癌に対しては確立された治療プロトコルが存在せず、その治療には全く新しいアプローチが必要であることは明白であり、ウイルス療法は有効性が期待される。上述のごと

	く、ウイルス療法の中でも HSV-1 は癌治療に適しており、また、「安全性についての評価(5)ウイルスの細胞傷害性」に記載のとおり G207 は第 I 相臨床試験において安全性が示され有効性を示唆する所見も得られている。「遺伝子の種類及びその導入方法(9)G47Δの生物学的特徴」に記載のとおり動物実験において G47Δは G207 に比し優れた腫瘍縮小効果と同等以上の安全性を示す。G47Δは、安全性と効果を高めた最新世代の複製型遺伝子組換え HSV-1 で、ホルモン療法抵抗性再燃前立腺癌の患者にも効果が期待できる。 (引用文献) 1. Todo T, Martuza, RL, Rabkin, SD, et al. Oncolytic herpes simplex virus vector with enhanced MHC class I presentation and tumor cell killing. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 98: 6396-6401.2001. 2. Varghese S, Newsome JT, Rabkin SD, et al. Preclinical safety evaluation of G207, a replication-competent herpes simplex virus type 1, inoculated intraprostatically in mice and nonhuman primates. Hum Gene Ther. 12: 999-1010, 2001.
--	--

遺伝子の種類 及びその導入方法	(1) 人に導入する遺伝子の構造と性質 本臨床研究では、複製型遺伝子組換え HSV-1 である G47Δそのものが直接腫瘍細胞を破壊するものであり、治療目的で人に導入される外来治療遺伝子はない。なお、G47Δにはウイルス複製を検出するために大腸菌 LacZ 遺伝子 cDNA が挿入されており、G47Δが複製する腫瘍細胞に導入され一過性に発現される。 (2) 導入遺伝子からの生成物の構造および生物活性 LacZ 遺伝子からの生成物は β-ガラクトシダーゼである。β-ガラクトシダーゼは分子量 116 kDa で四量体として機能し、ラクトースを分解してグルコースとガラクトースを生成する。β-ガラクトシダーゼは人体に対し毒性や病原性を有しない。「安全性についての評価(5)ウイルスの細胞傷害性」に記載の如く、LacZ 遺伝子を発現する第二世代複製型遺伝子組換え HSV-1 である G207 が第 I 相臨床試験において人の脳内(脳腫瘍内)に投与されており、LacZ 遺伝子生成物の安全性は示されている。 (3) 本研究で使用するその他の組換え DNA の構造と性質 本計画では他の組換え DNA は使用しない。 (4) 標的細胞とした細胞の由来及び当該細胞を標的細胞とした理由 本研究での標的細胞は前立腺癌の腫瘍細胞そのものであり、G47Δが感染した標的細胞でウイルス複製が行われる過程で癌細胞が直接破壊される。 (5) 遺伝子導入方法の概略及び当該導入法を選択した理由 G47Δは経会陰的手法によって前立腺内へ直接投与する。経会陰的前立腺内直接投与は、標的腫瘍細胞へ最も効率よく、また選択的にウイルスを感染させることができる方法の一つである。 (6) 野生型ウイルスの生物学的特徴及び人に対する影響 HSV-1 はエンベロープを持つ二重鎖 DNA ウイルスである。ゲノムの大きさが約 152kb であり、約 80 のウイルス遺伝子を持つ。ゲノムは両端に特徴的な繰り返し配列がある。ヒトを宿主とし、「口唇ヘルペス」として知られ、野生型ウイルスの初期感染は一般に軽症あるいは無症状である。まれに、角膜炎や脳炎を起こす。ヘルペス脳炎の発生は日本の調査では年間 100 万人に 2.9 人、欧米では年間 20 万人に 1 人である。発癌性はない。免疫不全や新生児など特殊な条件を除くと、HSV-1 はウイルス血症を生じることがなく、初期感染後全身に分布しない。成人の 60~70%は抗 HSV-1 抗体を保持している。抗ウイルス薬が存在し、重症の場合アシクロビル、バラシクロビルなどで治療される。 HSV-1 は、ヒトの粘膜表面(通常は口腔咽頭)への直接の接触により感染する。接触感染以外の感染形式はない。感染した局所で複製した後、神経末端から感覚神経節(しばしば三叉神経節)にウイルスは移送され、潜伏感染(latency)を確立する。潜伏感染においてはウイルスの複製は行われず、別の宿主への感染性を有しない。潜伏感染から再活性化(reactivation)が起きると、ウイルスは皮膚粘膜(通常は口唇)で顕在化し、水疱を形成する。 HSV-1 は、エンベロープが破壊・変性すると容易に感染性を失う。宿主から離れると常温では約 7 日で死滅する。Biosafety 上、消毒薬(chemical disinfectants)に対する感受性の点で lipid viruses に分類され、微生物の中で消毒薬に対する感受性が最も高い。物理的不活法(physical inactivation)として、HSV-1 は 56℃(30 分間)の加熱や紫外線照射(15 分間)、pH4 以下で速やかに感染性を失う。
--------------------	--

(7) G47Δの作製方法

研究案である複製型遺伝子組換え単純ヘルペスウイルス1型 G47Δは、院内製剤として cGMP 準拠施設である東京大学医学研究所治療ベクター開発室にて製造される。製造は、東京大学大学院医学系研究科 TR センター（脳神経外科）・特任教授・藤堂 具紀を責任者として行なった。マスターセルバンク、マスターウイルスストック制を採用し、使用する試薬も cGMP 準拠のものまたは医薬品規格のものを使用した。製造の4工程、すなわち、マスターセルバンク、精製前のウイルス回収液（バルクハーベスト）、精製後のウイルス、およびチューブに分注後の製剤において、英国 BioReliance 社に委託して品質試験を施行した。

(8) G47Δの構造

エンベロープおよびその内側のキャプシドは野生型 HSV-1 と同じである。G207 は二重の人為的変異を有し、二つの異なる機序で腫瘍特異的なウイルス複製を達成させ、臨床応用された第二世代複製型遺伝子組換え HSV-1 である。G47Δは G207 の改良型で、第三世代複製型遺伝子組換え HSV-1 に位置づけられる。正常組織では複製せず腫瘍細胞においてのみウイルス複製を可能にするため、ウイルスゲノムの遺伝子組換え操作により、3つの非必須遺伝子（合計4箇所）が人為的に除去或いは不活化されている。すなわち、2つコピーが存在する γ 34.5 遺伝子の双方の欠失と、マーカールの LacZ 遺伝子の挿入による ICP6 遺伝子（ribonucleotide reductase (RR) の大サブユニットをコードする）の不活化、および α 47 遺伝子の欠失という三重変異を有する。

G47Δは、 γ 34.5 遺伝子欠失と ICP6 遺伝子不活化の二重変異を有する遺伝子組換え HSV-1 G207 のウイルスゲノムに、 α 47 遺伝子の欠失変異を加えることによって作製された。 γ 34.5 は HSV-1 の病原性に関連した遺伝子で、これを欠失させた変異株は正常細胞でのウイルス複製能が著しく減弱することが判明している³⁾。 γ 34.5 遺伝子欠失 HSV-1 が正常細胞では病原性を失い、かつ、腫瘍細胞では増殖能を維持することは多くの研究で現象として知られている。ただ、そのメカニズムは完全には解明されておらず、いくつかの説が述べられている。一つの機序として、腫瘍細胞における PKR の活性化阻害機構が考えられている。正常細胞ではウイルス感染が起こると二本鎖 RNA 依存性プロテインキナーゼ(double stranded RNA-activated protein kinase: PKR)が活性化され、その結果ウイルス蛋白を含む細胞内での蛋白合成が遮断される。 γ 34.5 遺伝子産物は活性化 PKR に拮抗してウイルス蛋白の合成を可能にするが、 γ 34.5 遺伝子欠失 HSV-1 は正常細胞で複製を行えない。一方、ras シグナルを活性化させた NIH-3T3 細胞では、PKR の活性化が妨げられ、 γ 34.5 遺伝子欠失の HSV-1 でも複製可能となると考えられている⁴⁾。RR はウイルス DNA 合成に必要な酵素であるが、この遺伝子を不活化すると、ウイルスは非分裂細胞では複製できず、分裂が盛んで RR 活性の上昇した細胞でのみウイルスの欠落酵素が補われてウイルス複製が可能となる。

α 47 遺伝子のコードする蛋白質は、宿主細胞の抗原呈示関連トランスポーター(TAP)を阻害して細胞表面の MHC Class I の発現を抑えることによって、ウイルス蛋白の提示を抑制し、宿主の免疫サーベイランスから逃れる作用を有する。従って α 47 遺伝子欠失 HSV-1 では宿主細胞の MHC Class I 発現が維持され、抗腫瘍免疫細胞に対する刺激が強くなると期待される。また、 α 47 遺伝子欠失の結果、 α 47 プロモータが US11 遺伝子と直結してそれを制御するようになるため、本来晩期発現型の US11 遺伝子が最早期に発現し、これが γ 34.5 変異の second site suppressor として機能して γ 34.5 欠失 HSV-1 において減弱したウイルス複製能を腫瘍細胞に限って復元する。

これらの三重変異により、G47Δは、ウイルス複製に関して高い腫瘍特異性を示し、腫瘍細胞に限局した高い殺細胞効果を呈する一方、正常組織では毒性を呈さない。親ウイルス G207 に比較して、その安全性を維持しながら、抗腫瘍効果が格段に改善された。また G207 に比べ、高い力価のウイルス製剤が生産できることもあり、同じ用量でも高い治療効果が期待できる。G47Δは、ウイルスゲノム上、間隔の離れた4箇所の人為的変異を有することから、野生型 HSV-1 に戻る(revert)可能性がゼロに等しい点でも安全性の高いゲノム構造となっている。G47Δは HSV-1 strain F 由来であることから、37°C では複製するが 39.5°C では複製しないという温度感受性を有する。

(9) G47Δの生物学的特徴

① 培養細胞におけるウイルス複製能力：

G47Δは、臨床応用された第二世代複製型遺伝子組換え HSV-1 G207 の改良型であることから、G47Δの生物学的特徴については G207 との比較検討が主になされた。ヒト神経芽細胞腫株 SK-N-SH、ヒト膠芽腫細胞株 U87MG、ヒト膠芽腫細胞株 U373、ヒト頭頸部扁平上皮癌細胞株 SQ20B、およびアフリカミドリザル腎細胞株 Vero において、G47Δは G207 に比し優れた複製能力を示し、multiplicity of infection (MOI)=0.01 にて感染後 24 時間後の産生ウイルスの回収量は G207 に比し 4

倍から 1000 倍高かった¹⁾。U87MG は MOI=2 でも検討を行い、感染後 24 時間後のウイルスの回収量は G207 に比し 12 倍高かった¹⁾。ヒト前立腺癌細胞株 LNCaP においても、MOI=2 で感染させた 24 時間後の G47Δ の産生ウイルス回収量は G207 に比し 22 倍高かった⁵⁾。

また、ウイルスが複製・増殖を行っていることを確認するため、MOI=0.1、つまり、ウイルス 1 に対して 10 倍の腫瘍細胞に感染させるという条件下で殺細胞効果の検討を行った。この条件下では、ウイルスが増殖して 10 倍の細胞を死滅させることとなる。前立腺癌細胞株 LNCaP では day2 までにほぼ全ての細胞が死滅し、DU145 では day4 までにほぼ全ての細胞が死滅した⁵⁾。PC-3 においても day4 までに 70%以上の細胞が死滅した⁵⁾。

G47Δ と野生型 HSV-1 との比較では、MOI=2 における産生ウイルスの回収量は、U87MG では感染 24 時間後において 9.5 倍、U138 では感染 22 時間後において 125 倍、野生型 HSV-1 のほうが G47Δ より高く、野生型 HSV-1 に比べると G47Δ の複製能は減弱している。

G47Δ は細胞周期を停止させたヒト初代培養ケラチノサイト (HKC) において、MOI≤10 でウイルス複製による殺細胞効果を現さなかった。G207 は MOI=0.1 で正常星状細胞や正常神経細胞の培養細胞においてウイルス複製による殺細胞効果を現さなかった。

② 培養細胞における殺細胞効果：

ヒト前立腺癌細胞株 LNCaP と DU145 において、MOI=0.1 で、G47Δ は G207 に比べ有意に速やかな殺細胞効果を呈した⁵⁾。ヒト膠芽腫細胞株 U87MG、U373、U138、ヒト悪性黒色腫細胞株 624 および 888 においては MOI=0.01 にて、またマウス神経芽細胞腫株 Neuro2a においては MOI=0.1 にて、感染後 3-4 日で G47Δ は G207 に比しより速やかに細胞を死滅させた。U87MG 細胞株において G47Δ (MOI=0.01, day3) が 80%の細胞を死滅させたのに対し、G207 は 10%の細胞を死滅させたのみであった¹⁾。

③ 感染宿主細胞の MHC Class I 発現に対する影響：

ヒト前立腺癌細胞株 PC-3、DU145、LNCaP において、G207 は感染 24 時間以内に宿主細胞の MHC Class I の発現を低下させたのに対し、G47Δ は MHC Class I の発現を維持した。特に、MHC Class I 発現の低い LNCaP 細胞と比較して、MHC Class I 発現の高い PC-3 細胞において高い MHC Class I の発現を維持していた。また、ヒト繊維芽細胞株 Detroit551 において、野生型 HSV-1 (strain F) または G207 は、感染 24 時間以内に宿主細胞の MHC Class I の発現を 40%程度にまで低下させたのに対し、G47Δ は MHC Class I の発現を 100%維持した¹⁾。ヒト悪性黒色腫細胞株を用いた検討では、MHC Class I の発現が元来比較的高い 938 株と 1102 株において、G47Δ は G207 に比べ、感染後の MHC Class I の発現低下を有意に抑制した。MHC Class I の発現が元来低い 624 株、888 株、および 1383 株においては G207 との差は見られなかった。

④ 腫瘍反応性 T 細胞の活性化作用：

ヒト悪性黒色腫細胞株 938 および 1102 において、G47Δ 感染腫瘍細胞は G207 感染腫瘍細胞に比べ、それぞれの細胞株に特異的に反応する腫瘍浸潤 T 細胞株の刺激によるインターフェロン γ の分泌を 25-40%増加させた¹⁾。888 株においては、腫瘍浸潤 T 細胞刺激によるインターフェロン γ の分泌は G47Δ、G207 いずれの感染腫瘍細胞でもほとんど見られなかった。

⑤ ヒト前立腺癌およびマウス前立腺癌細胞に対する抗腫瘍効果 (マウス皮下腫瘍モデルにおいて)

アンドロゲン依存性前立腺癌細胞株であるヒト HONDA およびマウス TRAMP-C2 を用いたマウス皮下腫瘍モデルにおいて、G47Δ を 2 回腫瘍内投与すると投与量依存性に腫瘍増殖が抑制された。特に、ヒト HONDA 細胞株においては、 4×10^6 plaque-forming units (pfu) 腫瘍内投与にて 6 匹中 2 匹で腫瘍が消失した。また前モデルに対しては 2×10^5 plaque-forming units (pfu) 2 回、後モデルに対しては 5×10^6 pfu 2 回の腫瘍内投与を行い、ホルモン療法を併用するとさらに治療効果の増強が得られた⁵⁾。またホルモン療法後にホルモン不応性となり再発したヒト前立腺癌 HONDA に対しても G47Δ の腫瘍内投与は増殖抑制効果を示した⁵⁾。

⑥ マウス脳腫瘍に対する抗腫瘍効果：

ヌードマウスの皮下に形成された U87MG ヒトグリオーマや A/J マウスの皮下に形成された Neuro2a マウス神経芽細胞腫に 1×10^6 pfu を 2 回腫瘍内投与すると、G47Δ は G207 に比し有意に優れた腫瘍増殖抑制効果を示した。U87MG 皮下腫瘍を有するマウスにおいて、G207 治療群では 12 匹中 3 匹に治癒が見られたのに対し、G47Δ 治療群は 12 匹中 8 匹に治癒が見られた。¹⁾

マウス脳内に形成された U87MG ヒトグリオーマや Neuro2a マウス神経芽細胞腫に対し、それぞれ 1×10^6 pfu 単回および 2×10^5 pfu 2 回の腫瘍内投与を行うと、G47Δ は G207 に比べ生存期間を延長した。U87MG 対照群の生存期間中央値が 27 日であったのに対し、G207 治療群は 36 日、G47Δ 治療群は 42 日と有意に生存期間を延長した。Neuro2a においては対照群の生存期間中央値が 11 日であったのに対し、G207 治療群は 14 日、G47Δ 治療群は 15 日と生存期間を延長する傾向が見られた。

⑦ マウス乳癌モデルにおける抗腫瘍効果：

マウス乳癌細胞株 M6c の皮下腫瘍および脳内移植腫瘍のモデルにおいて、それぞれ 2×10^7 pfu の 4 回腫瘍内投与および 2×10^6 pfu の単回腫瘍内投与を施行したところ、G47Δ は G207 に比し有意に優れた抗腫瘍効果を示した^{6,7)}。また、ヒト乳癌 MDA-MB-435 の脳内移植腫瘍に対して血液脳関門開放薬剤との併用で 1×10^7 pfu 単回の頸動脈内投与を行ったところ、対照群の生存期間中央値が 12.9 日であったのに対し、G47Δ 治療群は 17.4 日と有意に生存期間を延長した^{6,7)}。乳癌を自然発生する C3(1)/T-Ag マウスモデルにおいて、 2×10^7 pfu の G47Δ を毎週 1 回腫瘍内に投与したところ、対照群の生存期間中央値が 5.5 週であったのに対し、G47Δ 治療群は 8.5 週と有意に優れた抗腫瘍効果を示した^{6,7)}。

⑧ マウス神経線維腫モデルにおける抗腫瘍効果：

マウス神経線維腫症 2 型(NF2)の自然発生腫瘍モデル P0-SchΔ(39-121) line 27 において腫瘍の大きさを経時的に MRI にて観察したところ、 1×10^7 pfu の 6 日おき 2 回の G47Δ 腫瘍内投与にて腫瘍増殖が抑制される傾向が見られた。またヌードマウス皮下で継代した NF2 患者由来のヒト神経鞘腫において、 1×10^7 pfu の 6 日おき 2 回の G47Δ 腫瘍内投与を行なうと、腫瘍縮小効果が見られた⁸⁾。

⑨ G207 を用いた調査

G207 は、ヒト前立腺癌細胞株に対し高い殺細胞効果を示し、*in vitro* では MOI 0.1 で 3~6 日以内に腫瘍細胞を全滅させる。この効果は *in vivo* にも反映され、腫瘍内投与や静脈内投与にて前立腺癌細胞に有効であるが確認されている。ヌードマウスにおける皮下腫瘍モデルでは、G207 投与により有意に腫瘍は縮小し、22%以上で完全に腫瘍の消退を認めた。また、放射線治療後に再発したヒト前立腺癌 LNCaP 細胞にも G207 が有効であることが確認されている⁹⁾。G207 は現在までに 60 種以上の細胞株で試され、前立腺癌に限らず、多種のヒトの腫瘍に（血液腫瘍を除く）有効であることが確かめられている。

正常免疫下における G207 の抗腫瘍効果は、C57BL/6 マウスと同系の TRAMP-C2（前立腺癌）細胞の皮下腫瘍、A/J マウスと同系の N18（神経芽細胞腫）細胞や Neuro2a（神経芽細胞腫）細胞の脳腫瘍および皮下腫瘍モデル、および BALB/c マウスの CT26（大腸癌）皮下腫瘍モデルで調べられた。その結果、G207 は正常免疫下においても高い抗腫瘍効果を呈するのみならず、腫瘍内投与により特異的抗腫瘍免疫を惹起するため、抗腫瘍効果が増強されることが示された。この抗腫瘍免疫は腫瘍特異的な細胞傷害性 T 細胞活性（CTL）の上昇を伴った。同じマウス腫瘍モデルでステロイド投与の影響を調べたところ、免疫抑制下においても腫瘍内のウイルス複製に変化はなく、基本的な抗腫瘍効果に影響は無かったが、ステロイド長期投与では CTL 活性の抑制に伴い、腫瘍の治癒率が減少した。また、成人の 60~70% は HSV-1 に対する抗体を保有するが、予め非致死量の HSV-1 を投与して抗体を形成させたマウスで調べた結果、G207 の抗腫瘍効果は血中の抗 HSV-1 抗体には全く影響されなかった。

(引用文献)

3. Chou J, Kern, ER, Whitley, RJ, et al. Mapping of herpes simplex virus-1 neurovirulence to $\gamma_{134.5}$, a gene nonessential for growth in culture. *Science* 250: 1262-1266.1990.
4. Farassati F, Yang, AD, Lee, PW. Oncogenes in Ras signalling pathway dictate host-cell permissiveness to herpes simplex virus 1. *Nat Cell Biol* 3: 745-750.2001.
5. Fukuhara H, Martuza, RL, Rabkin, SD, et al. Oncolytic herpes simplex virus vector g47delta in combination with androgen ablation for the treatment of human prostate adenocarcinoma. *Clin Cancer Res* 11: 7886-7890.2005.
6. Liu R, Martuza, RL, Rabkin, SD. Intracarotid delivery of oncolytic HSV vector G47Delta to metastatic breast cancer in the brain. *Gene Ther* 12: 647-654.2005.
7. Liu R, Varghese, S, Rabkin, SD. Oncolytic herpes simplex virus vector therapy of breast cancer in C3(1)/SV40 T-antigen transgenic mice. *Cancer Res* 65: 1532-1540.2005.
8. Messerli SM, Prabhakar, S, Tang, Y, et al. Treatment of schwannomas with an oncolytic recombinant herpes simplex virus in murine models of neurofibromatosis type 2. *Hum Gene Ther* 17: 20-

	30.2006. 9. Walker JR, McGeagh KG, Sundaresan P, et al. Local and systemic therapy of human prostate adenocarcinoma with the conditionally replicating herpes simplex virus vector G207. Hum Gene Ther. 10:2237-43, 1999.
安全性についての評価	(1) ウイルス投与方法の安全性 G47Δの投与は、経直腸超音波ガイド下に会陰部で経皮的に行われる。経直腸超音波ガイド下での操作については、東京大学医学部附属病院泌尿器科では、年間約 350-400 症例の前立腺針生検が日常的に施行されており、習熟度の面からも安全性が確認されている。 (2) ウイルスの純度 臨床研究に使用される G47Δ製剤は、cGMP 準拠の管理施設である東京大学医科学研究所治療ベクター開発室において cGMP 生産された。サザンブロット法とゲノムシーケンシングにより正しい変異を有することが確認された G47Δを用い、WHO Vero 細胞のマスターセルバンクを用いて、ウイルスシードストックが作製された。臨床研究用製剤生産の 4 工程において、英国 BioReliance 社に委託して品質試験を施行した。 (3) 患者に投与する物質の純度及びその安全性 臨床研究用 G47Δ製剤は、cGMP 生産され、10% グリセリン/磷酸緩衝生理食塩水(phosphate buffered saline: PBS)の懸濁液として、滅菌状態で凍結用バイアルに分注され、-75℃以下で凍結保存されている。患者に投与する製剤は、cGMP 生産の最終工程として英国 BioReliance 社に委託して品質試験を施行した。 (4) 増殖性ウイルス出現の可能性 G47Δ自体が複製可能型であるが、前述の通り、複数の機序を介して、そのウイルス複製は、高い特異性をもって腫瘍細胞に限られる。G47Δは、ウイルスゲノム上、間隔の離れた 4 箇所の人為的変異を有することから、野生型 HSV-1 に戻る(revert)可能性はゼロに等しい。野生型 HSV-1 が既に脳に潜伏している状態で脳内に複製型遺伝子組換え HSV-1 を投与した場合の、潜伏野生型 HSV-1 の活動を誘発する可能性 (reactivation) については、二重変異複製型遺伝子組換え HSV-1 G207 を用いてマウスで調査されており、潜伏野生型 HSV-1 の活動を誘発しないことが実証された。また、最終製剤中の野生型 HSV-1 の混入の有無については、PCR にて野生型に由来する DNA 断片が増幅されないことを検証した。 (5) ウイルスの細胞傷害性 A/J マウスや BALB/c マウスは、HSV-1 に感受性の高いマウス系として知られる¹⁰⁾。三重変異を有する第三世代複製型遺伝子組換え HSV-1 G47Δは、臨床応用を目的に安全性を主眼に開発された第二世代複製型遺伝子組換え HSV-1 G207 の二重変異ウイルスゲノムに更に遺伝子工学的に変異を加えて作製された、G207 の改良型である。G47Δの前立腺内投与について、マウスを用いた安全性評価が行われた。A/J マウスの前立腺内に G47Δの最高量 1×10^7 pfu を単回投与したところ、3 ヶ月の観察期間で何の症状も認めず、死亡したマウスも存在しなかった。一方、野生型 HSV-1 (strain F) 投与群では、1×10^4 pfu 投与にもかかわらず 7 日目までに 10 匹中 3 匹が死亡し、3 週目までには全マウスが死亡した。病理組織学的検査では、G47Δ投与群では異常を認めなかったのに対して、野生型 HSV-1 投与群では、上皮の抜け落ち、間質の浮腫が見られた(添付資料 5(2)10-9~10)。前立腺内投与において、G47Δは野生型 HSV-1 に比べ、少なくとも 1000 倍以上の安全性を呈することが示された。 また、ヒト前立腺癌細胞株 HONDA を用いたマウス皮下腫瘍モデルでの非臨床試験では、G47Δを 4×10^6 pfu 2 回腫瘍内投与したが、G47Δに起因すると思われる異常を認めなかった。さらに、マウス前立腺癌細胞株 TRAMP-C2 を用いた皮下腫瘍モデルでの非臨床試験では、4 回腫瘍内投与でも G47Δに起因すると思われる異常を認めなかった。従って、このモデルでは、4 回投与まで安全であることが示された。 また、A/J マウスを用いて、G47Δの脳内投与の安全性を検討した。野生型 HSV-1 (strain F; 2×10^3 pfu) および G207 の可能最高投与量 (2×10^6 pfu) を対照として、G47Δ (2×10^6 pfu) の脳内単回投与の安全性を盲検法で比較した¹⁾。野生型 HSV-1 は 10 匹全てに死亡したのに対し、G207 は 2/8 匹が一過性の軽度の外観異常、G47Δは 1/10 匹が一過性の軽度の外観異常を呈したに過ぎず、脳内単回

投与において G47Δ が G207 と同等以上の安全性を有していること、野生型 HSV-1 の少なくとも 1000 倍以上安全であることが示された (添付資料 5(2)10-1)。さらに、G47Δ の脳内単回投与、静脈内単回投与、腹腔内単回投与の安全性を、野生型 HSV-1 (strain F) を対照に、繰り返し徹底的に調査した。脳内単回投与では、野生型 HSV-1 (2×10^3 pfu) で 29/30 匹が死亡したのに対し、G47Δ ではその 1000 倍量 (2×10^6 pfu) で 30 匹全て、2500 倍量 (5×10^6 pfu) で 29/30 匹が生存した。静脈内単回投与では、野生型 HSV-1 は 1×10^5 pfu で 11/15 匹、 1×10^6 pfu で 22/25 匹、 1×10^7 pfu で 6/10 匹が死亡したのに対し、G47Δ は 1×10^7 pfu で 10 匹全て、 4×10^7 pfu で 15 匹全て、 2×10^8 pfu で 19/25 匹が生存した。腹腔内単回投与では、野生型 HSV-1 は、 2×10^4 pfu で 2/25 匹、 2×10^5 pfu で 2/25 匹、 2×10^6 pfu で 3/10 匹が死亡したのに対し、G47Δ は研究に用いた 60 匹全てが生存した (1×10^7 pfu が 5 匹、 3×10^7 pfu が 25 匹、 1×10^8 pfu が 20 匹、 3×10^8 pfu が 10 匹)。以上より、脳内単回投与では、G47Δ は野生型 HSV-1 に比べ 1000 倍以上の安全性を示すことが再確認された。また、静脈内単回投与や腹腔内単回投与では、野生型 HSV-1 でも全例死亡するほどの毒性を呈するに至らなかったが、死亡例が出始める最低投与量を比較すると、いずれの投与経路においても、G47Δ は野生型 HSV-1 に比べ、少なくとも 1000 倍以上の安全性を呈することが示された。

現在、First-in-Man 臨床研究が東京大学医学部附属病院で進行中である¹¹⁾。再発膠芽腫患者を対象とし、段階的用量増加を行う単施設の第 I-IIa 相の研究デザインであり、G47Δ は腫瘍内の 2-5 カ所に分けて直接注入し、2 週間以内に 2 回実施する。主な選択規準は、病理診断で膠芽腫と診断された放射線治療後の再発で、定位的脳手術が可能な単一の 1cm 以上の病変であり、18 歳以上で介助がほとんど不要である状態であること、などとなっている。評価期間は 3 ヶ月間で、安全性の評価が主要エンポイントである。平成 21 年 5 月に厚生労働省の承認を得たのち平成 21 年 11 月に被験者登録を開始した。

G47Δ は G207 の改良型ウイルスであり、G207 に関しても動物を用いた徹底的な安全性評価が行われている。G207 の前立腺内投与に関しても、マウスとサルを用いた安全性評価が行われた²⁾。BALB/c マウスの前立腺内に G207 の 1×10^7 pfu を単回投与したところ、5 ヶ月の観察期間で何の症状も認めず、死亡したマウスも存在しなかった。一方、 1×10^6 pfu の野生型 HSV-1 (strain F) 投与群では、50% に活動が鈍く、姿勢異常のマウスが認められ、13 日までに死亡した。病理組織学的検査では、G207 投与群では異常を認めなかったのに対して、野生型 HSV-1 投与群では、上皮の抜け落ち、間質の浮腫が見られた。また、ヨザル (*Aotus nancymae* (owl monkey)) は HSV-1 に感受性が高い霊長類として知られており、臨床用 (clinical grade) の G207 の前立腺内投与の安全性は 4 匹のサルでも詳細に検討された²⁾。G207 (1×10^7 pfu) を前立腺内に単回投与したところ、21 日もしくは 28 日の観察期間中、サルは全く無症状であった。また、G207 の前立腺内投与後、7, 14, 21, 28, 56 日目に血液、脳脊髄液、尿、分泌液(尿道、直腸、口内、結膜部)を採取し、ウイルス排出の有無が検証されたが、いずれの検体からも感染性ウイルスおよび G207 の DNA は検出されなかった。14 日目の精液からもウイルスは検出されず、剖検時の解剖で採取した脳脊髄液からも感染性ウイルスは検出されなかった。

(6) G207 の臨床試験での安全性の確認

G207 を用いた第 I 相臨床試験が、再発悪性グリオーマの患者 21 例を対象に、米国ジョージタウン大学とアラバマ大学バーミングハム校にて行われた。結果は論文で発表されている¹²⁾。一投与量ごとに 3 例ずつ、 1×10^6 pfu から 3 倍ずつ投与量を増やして 3×10^9 pfu まで、増強 CT の増強部位に定位脳手術により腫瘍内に単回投与された。その結果、G207 に起因する grade 3 以上の有害事象は認めず、軽度の adverse events として痙攣発作 2 例、脳浮腫 1 例を認めた。1 例 (3×10^8 pfu) が投与後 24 時間以内に見当識障害と構語障害を呈したが、投与 14 日後の定位的生検は腫瘍所見のみで炎症を認めず、HSV 免疫染色も陰性であった。投与 3 ヶ月以上後の、腫瘍増大では説明できない神経症状悪化が 2 例あったが、いずれも生検で HSV 免疫染色が陰性であった。生検或いは再摘出術で得られた腫瘍組織 7 例中 2 例で PCR にて G207 DNA が検出された (投与後 56 日と 157 日)。G207 投与後、Karnofsky スコアの改善が 6 例 (29%) に認められた。経時的 MRI 評価を行った 20 例中 8 例に腫瘍の縮小を認めたが、脳梗塞で死亡した 1 例を除いた全例にて再増大を認めた。ステロイド投与にも関わらず、術前抗 HSV-1 抗体が陰性であった 5 例中 1 例に陽転を認めた。剖検が 5 例で行われ、脳病理はいずれも脳炎や白質変性を認めず、HSV-1 免疫染色陰性であった。3 例にて腫瘍が脳の 1 領域に限局し、膠芽腫に通常見られるような腫瘍細胞の周囲脳組織への著明な浸潤を認めなかった。脳梗塞で死亡した 1 例では残存腫瘍を認めなかった。この臨床試験で、G207 の 3×10^9 pfu までの脳内投与の安全性が確認された。同じく米国アラバマ大学バーミングハム校において、G207 を用いて再発悪性グリオーマ患者 6 例を対象に米国で第 Ib 相臨床試験が行われた (2002 年～2003 年)¹³⁾。腫瘍摘出前後の 2 回、G207 を投与するというプロトコルにて施行された。 1.5×10^8

pfu の G207 を腫瘍内に投与した 2-5 日後に、腫瘍を外科的に摘出してその摘除部位に 1.0×10^9 pfu の G207 を投与した。G207 に起因する重篤な有害事象は認めず、ヘルペス脳炎やアシクロビルを要するような副作用は認めなかった。1 例で G207 投与 2 日後に一時的な高熱と見当識障害を認めたが、ステロイド投与にて 12 時間以内に快復した。腫瘍検体の培養から 1 例のみ HSV が単離され、PCR 解析では全ての腫瘍検体で HSV DNA が確認された。一方、唾液、尿、結膜、血清には G207 は認められなかった。効果に関しては、G207 投与後に Karnofsky スコアの改善が 3 例 (50%) に認められた。CR や PR は得られず、生存期間は G207 投与後 6.6 ヶ月 (中央値) であった。死亡原因は原病進行のためと考えられた。しかし、G207 投与部位には進行を認めない 1 例も見られた。剖検が行われた 1 例では、脳、肝臓、脾臓、血液全てで HSV 陰性であった。

(引用文献)

10. Lopez C. Genetics of natural resistance to herpesvirus infections in mice. *Nature* 258: 152-153.1975.
11. Ino Y and Todo T. Clinical development of a third-generation oncolytic HSV-1 (G47Δ) for malignant glioma. *Gene Therapy Regulation* 5: 101-111, 2010.
12. Markert JM, Medlock, MD, Rabkin, SD, et al. Conditionally replicating herpes simplex virus mutant, G207 for the treatment of malignant glioma: results of a phase I trial. *Gene Ther.* 7: 867-874.2000.
13. Markert JM, Liechty PG, Wang W, et al. Phase Ib trial of mutant herpes simplex virus G207 inoculated pre- and post-tumor resection for recurrent GBM. *Mol. Ther* 17: 199-207, 2009.

(7) 体内の標的細胞以外の細胞へ、また患者以外の人への遺伝子導入の可能性

本臨床研究はウイルス (G47Δ) のみの腫瘍内投与を行い、治療遺伝子の導入はない。G47Δは、ウイルス複製に関して腫瘍細胞に高い特異性を有し、腫瘍細胞以外では複製不能である。また、そのため自然界で増殖拡散し得ない。G207 の第 I 相臨床試験では、G207 の脳内投与後、尿中へのウイルス排出を検出できなかった。またヨザルを用いた非臨床試験では、G207 の前立腺内投与後、1 ヶ月間採取した涙、唾液、腔分泌液からは PCR 法、ウイルス培養いずれでもウイルス排出が検出されなかった。

(8) 染色体内へ遺伝子が組み込まれる場合の問題点

HSV-1 のウイルスゲノムまたは遺伝子は宿主の染色体には組み込まれない。

(9) がん原性の有無

HSV-1 のウイルスゲノムまたは遺伝子は宿主の染色体には組み込まれず、HSV-1 にがん原性はない。遺伝子組換え HSV-1 を原因とするがんの発生は、臨床試験、非臨床試験いずれでも報告されていない。

(10) 遺伝子産物の安全性

G47Δは直接的な殺細胞作用により腫瘍細胞を破壊する。大腸菌 LacZ 遺伝子が G47Δから腫瘍細胞に導入され一過性に発現されるが、その遺伝子産物 β-ガラクトシダーゼは人体に対し毒性や病原性を有しない。「安全性についての評価 (5)ウイルスの細胞傷害性」に記載の如く、LacZ 遺伝子を発現する第二世代複製型遺伝子組換え HSV-1 である G207 が第 I 相臨床試験において人の脳内 (脳腫瘍内) に投与されており、LacZ 遺伝子生成物の安全性は示されている。

(11) 細胞の安全性

G47Δはマスターウイルスストックを Vero 細胞(アフリカミドリザル由来腎細胞株)に感染させて作製した。

① 培養細胞の純度

Vero 細胞のマスターセルバンクは、ワクチン製造用に WHO で唯一認定されている Vero 細胞の Seed lot 10-87 (WHO Vero) をもとに構築され、英国 BioReliance 社において無菌性、病原性ウイルス混入の否定、他種細胞の混入の否定などに関して品質試験を行った。

② 細胞の遺伝子型、表現型の安定性

マスターセルバンクの Vero 細胞については英国 BioReliance 社において品質試験を行った。G47Δ作製にはマスターセルバンクからの継代数が低い Vero 細胞を用いた。

③ 被験者に投与する細胞の安全性

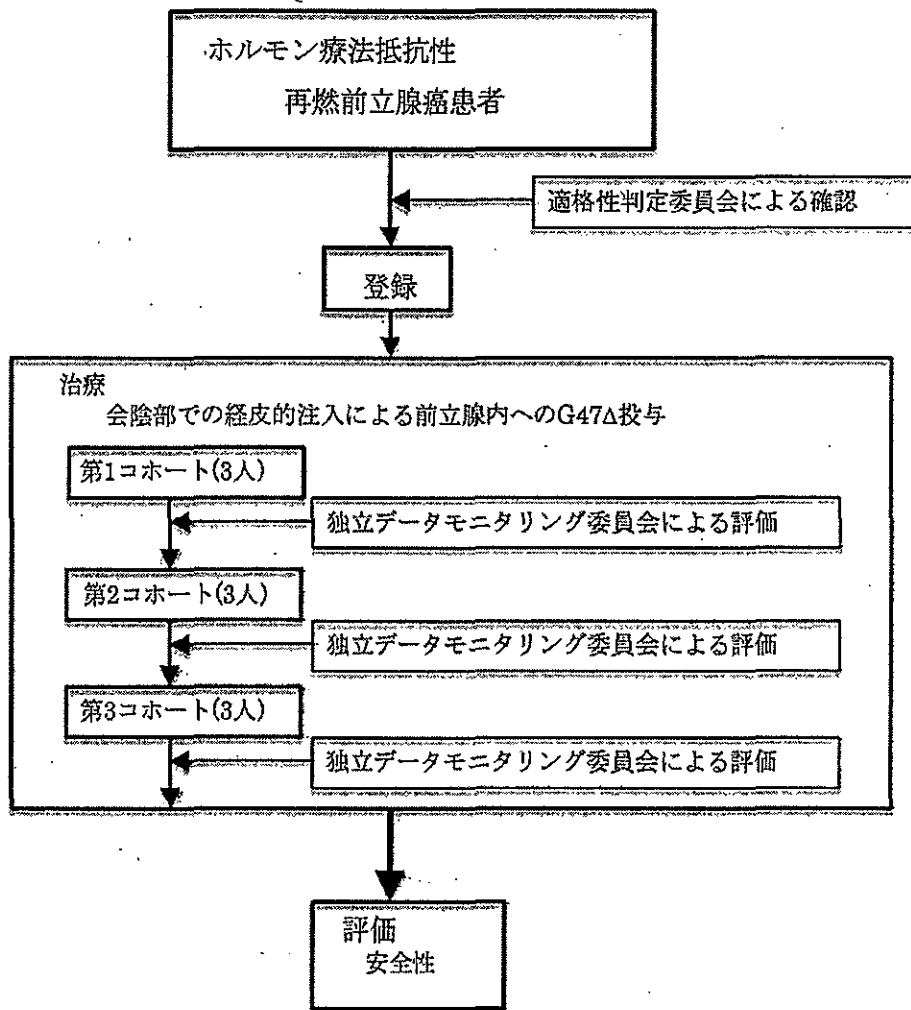
本臨床研究では被験者に細胞の投与を行わない。

遺伝子治療臨床研究の実施が可能であると判断する理由	培養細胞およびマウスを用いた非臨床研究では、G47Δの抗腫瘍効果と、安全性が示されている。G47Δを用いて進行膵臓癌患者を対象として臨床研究が東京大学医学部附属病院で進行中である。本臨床研究の遂行には、遺伝子組換え単純ヘルペスウイルスの取り扱いや、前立腺癌診療、経直腸的ガイド下での経皮的穿刺術に精通した者による実施が必要である。当施設はこの条件を満たす研究チームが存在し、かつ実施に必要な設備を有している。以上から本遺伝子治療臨床研究の実施は理論的にも、実質的にも可能であると判断される。
----------------------------------	--

実施計画

(1) ウイルス療法臨床研究を含む全体の治療計画
本研究はオープンラベルによる投与量増加研究である。

① シェーマ



(2) 対象疾患と病期

前立腺非摘出で、ホルモン療法が無効となった再燃前立腺癌患者。東京大学医学部附属病院の受診患者（紹介患者を含む）の中で本研究を希望し、選択規準の項に記載ならびに臨床研究プロトコルに詳述の選択規準を全て満たし、かつ除外規準のいずれにも該当しない者を対象とする。

(3) 研究のデザイン

本研究は無作為化を行わないオープンラベルによる G47Δの段階的用量増加研究である。ホルモン療法抵抗性再燃前立腺癌の患者を対象とし、経会陰的に前立腺内に G47Δを投与する。3段階3例ずつの用量増加を行う。安全性の評価すなわち有害事象の種類と発生頻度の調査を主目的とし、副次目的として、PSA 変化により G47Δの効果进行评估する。

個々の患者については、1週間以上3週間以内に次の回の G47Δの投与（同量）を行う。観察期間は G47Δ投与完了後6ヶ月間とする。G47Δ治療後2年間、全生存期間と無増悪生存期間について追跡する。

(4) 被験者の選択規準および除外規準

1. 選択規準

- ・ 前立腺全摘除術を受けずにホルモン療法を行っていた前立腺癌患者で、ホルモン療法が無効となった（注記1）と判断された者。腹骨盤部 CT 検査や骨シンチグラフィの画像検査にて遠隔転移を認める者も含む。

- ・ ホルモン療法無効と判断された後で前立腺癌の存在が病理学的に確認された者。

- ・ Performance Status (PS) が0または1であること。

- ・ 年齢 20 歳以上。
 - ・ 6 ヶ月以上の生存が見込まれること。
 - ・ 主要臓器の機能が正常であること。
 - ・ G47Δ投与後少なくとも 6 ヶ月間はバリア型避妊を実行する意図があること。
- 注記1： ホルモン治療中であるにもかかわらず、血清PSAの有意な上昇（2週間以上の間隔での3回の測定において連続的に上昇）する者を「ホルモン療法無効症例」と定義する。血中テストステロン値が1.0ng/ml以下であることも確認する。抗アンドロゲン剤を併用している症例では、投薬を中止し抗アンドロゲン除去症候群でないことを確認する。

2. 除外規準

a. 既往歴

- ・ 本研究参加前 30 日以内に未承認薬の治験／臨床研究に参加している場合。
- ・ 遺伝子治療またはウイルス療法の既往。
- ・ HIV 陽性またはその既往。
- ・ その他、医学的あるいは精神的異常のため、プロトコル治療を遵守することが困難であると思われる場合。

b. 臨床検査値

- ・ 白血球 $\leq 3.0 \times 10^3/\text{mm}^3$ 、好中球 $\leq 1.0 \times 10^3/\text{mm}^3$ 、血小板 $\leq 100,000/\text{mm}^3$ 、Hb ≤ 9.0 g/dl、PT-INR > 正常値の 1.3 倍。
- ・ 血清クレアチニン $\geq 1.7\text{mg/dl}$ 。
- ・ 肝トランスアミナーゼ（AST または ALT） > 正常値の 4 倍。
- ・ 総ビリルビンまたは直接ビリルビン > 1.5mg/dl。

c. 併存疾患

- ・ 活動性のヘルペスウイルス感染の存在。
- ・ 前立腺癌以外の活動性の悪性腫瘍の存在。
- ・ 活動性でコントロールされていない感染症の存在。
- ・ アルコールまたは他の薬物中毒の存在。
- ・ コントロール不良または重度の心不全・糖尿病・高血圧・間質性肺炎・腎不全・自己免疫疾患など。

d. アレルギー歴

- ・ 抗 HSV 薬（アシクロビル）に対するアレルギーの存在。

e. 併用薬

- ・ 30 日以内のドセタキセル等の抗癌剤の投与。
- ・ 30 日以内の抗アンドロゲン剤の投与。

f. その他

- ・ その他、担当医師が不適切と判断する場合。

(5) 被験者の同意の取得方法

1) 患者への説明

登録に先立って、担当医は患者本人に施設の遺伝子治療臨床研究審査委員会の承認を得た説明文書（計画書添付資料 5（2）5）を患者本人に渡し、トランスレーショナルリサーチコーディネータもしくは臨床試験コーディネーター同席のもとで以下の内容を口頭で詳しく説明する。

病名と病状に関する説明。

本研究が臨床研究であること。

臨床研究と一般診療との違い。

本研究のデザインおよび意義。

プロトコル治療の内容。

治療法、プロトコル治療全体の期間など。

プロトコル治療により期待される効果

	延命効果、腫瘍縮小効果など。 予想される有害事象、合併症、後遺症とその対処法について 合併症、後遺症、治療関連死を含む予期される有害事象の程度と頻度、及びそれらが生じた際の対処法について。 費用負担と補償 健康被害が生じた場合担当医師が適切な治療を行うが、健康被害に対する補償はないことなどの説明。 代替治療法 現在の一般的治療法（緩和医療も含む）や標準治療法の内容、効果、副作用など。代替治療を選択した場合の利益と不利益。 研究に参加することで患者に予想される利益と可能性のある不利益 研究に参加することによって享受できるとされる利益と被る可能性のある不利益。 病歴の直接閲覧について 必要に応じて独立データモニタリング委員などの関係者が医療機関の施設長の許可を得て病歴などを直接閲覧する可能性に関する説明。 同意拒否と同意撤回 研究参加に先立っての同意拒否が自由であることや、いったん同意した後の同意の撤回も自由であり、それにより不当な診療上の不利益を受けないこと。 人権保護 氏名や個人情報は守秘されるための最大限の努力が払われること。 質問の自由 担当医の連絡先および研究代表者の連絡先を文書で知らせ、研究や治療内容について自由に質問できること。 2) 同意 同意の方法 研究についての説明を行った翌日以降に、被験者が試験の内容をよく理解したことを確認した上で、研究への参加について依頼する。被験者本人が研究参加に同意した場合、付表の同意書を用い、説明をした医師名、説明を受け同意した被験者名、同意を得た日付を記載し、医師、被験者各々が署名する。 同意文書の部数 同意書は3部作成し、1部は被験者本人に手渡し、1部はセンターが保管する。1部はカルテに保管する。 同意書の改訂と再同意 被験者の同意に影響を及ぼすと考えられる有効性や安全性等の情報が得られたときや、被験者の同意に影響を及ぼすような実施計画等の変更が行われるときは、速やかに被験者に情報提供し、試験等に参加するか否かについて被験者の意思を改めて確認するとともに、遺伝子治療臨床研究審査委員会の承認を得て同意説明文書等の改訂を行い、被験者の再同意を得る。同意承諾を得て臨床研究が開始された後に、病状の増悪などにより本人に同意承諾能力がなくなったと判断される場合には、代諾者による再同意の判断を可能とする。 同意の撤回 被験者はどの時点においても、またいかなる理由でも同意を撤回することができる。同意の撤回は付表の同意撤回書に被験者が署名して研究担当医師に提出することによってなされる。病状の増悪などにより被験者本人に同意撤回能力がなくなったと判断される場合には、代諾者による同意撤回の判断を可能とする。 3) 登録 i) 研究担当医師は、候補となる患者に説明を行い同意取得の後、所定の検査を実施して適格性の判断に必要な情報を収集する。 ii) 研究担当医師は、各選択基準および除外基準に関する情報を症例登録用紙に記載した後、施設内の適格性判定委員会に症例を提示し、対象患者が選択基準を全て満たし、除外基準のいずれにも該当しないことを確認する。その後、独立データモニタリング委員会により適格性判定委員会の判定の確認を受ける。 iii) 記載した症例登録用紙をセンターに送付する。 iv) センターは、受領した内容を確認した上で登録番号を付与し、研究の進行段階に応じて
--	---

G47Δ投与量の指定を行なう。その後、登録確認書を作成し、研究担当医師に送付する。受領した登録用紙の内容に不備が認められた場合、データセンターは研究担当医師に問い合わせ、不備を解決する。

4) プライバシーの保護と患者識別

被験者の個人情報を実施施設以外に提供する場合には、研究代表者／研究担当医師が匿名化を行う。匿名化は、被験者識別番号を付すことによって行う。

5) プロトコルの遵守

本研究に参加する研究者は、被験者の安全と人権を損なわない限りにおいて本研究実施計画書を遵守する。

(6) 実施期間および目標症例数

1) 実施期間

研究全体の期間は、承認後4年（症例登録期間は承認後2年）とする。

個々の患者の治療期間は、2回投与群で1-3週間、3回投与群で2-6週間、4回投与群で3-9週間とする。観察期間はG47Δ投与完了後6ヶ月間とする。G47Δ治療後2年間、全生存期間と無増悪生存期間について追跡する。

2) 目標症例数

9人(最大18人)。

(7) ウイルス療法臨床研究の実施方法

i) 対照群の設定方法

この臨床研究はオープンラベルであり、盲検化は行わず、対照群も設けない。

ii) 投与量増加の方法

本研究ではコホート単位で投与回数を増加する。

1群3例ずつ、3群にわたって2回、3回、4回と投与回数を増加する。1回あたり 3.0×10^8 pfu、すなわち一人あたり総量 6.0×10^8 pfu、 9.0×10^8 pfu、または 1.2×10^9 pfuを投与する。同群の次の被験者の治療を開始するまでには、直前の被験者への最終投与後、最低6日間の観察期間をおく。次のコホートへの移行は、直前のコホートの最後の被験者への最終投与後、投与日を含めて最低14日間の観察期間をおき、独立データモニタリング委員会の承認を得て行なう。

1つのコホートでG47Δに起因するgrade 3以上の有害事象が1例もみられない場合は、次のコホートに進む。

あるコホートで1人にG47Δに起因するgrade 3以上の有害事象が見られた場合には、そのコホートに被験者を3例追加する。追加3例にG47Δに起因するgrade 3以上の有害事象が見られない場合は、次のコホートに進む。

最小投与量のコホートにおいて2人以上の被験者にG47Δに起因するgrade 3以上の有害事象が見られた場合には、この臨床研究は終了となる。

iii) ウイルス導入方法

G47Δの投与は入院の上、手術室にて行う。投与に際しては、碎石位にて経直腸超音波ガイド下に前立腺内に経会陰的に投与する。10%グリセリン加磷酸緩衝液(PBS)で総量1mlとなるよう希釈したG47Δを、前立腺内の2カ所に分けて緩徐に注入する。前回投与後1週間以上3週間以内に、次の投与を同様に行う。

iv) 臨床検査項目及び観察項目とそのスケジュールの概要 (別表1参照)

1) 同意説明後の適格性評価時

- ① 現病歴、既往歴・手術歴
- ② 身体所見、身長・体重
- ③ バイタルサイン
- ④ 薬剤服用歴
- ⑤ 腹骨盤部CT
- ⑥ 骨シンチ

- ⑦ 血清 PSA 値
- ⑧ 血算(白血球分画および血小板数を含む)
- ⑨ 血液生化学検査
 - 肝機能 (総ビリルビン、Al-P、LDH、γGTP、AST、ALT)
 - 腎機能 (クレアチニン)
 - 電解質 (Na、K)
- ⑩ 凝固系 (PT INR)
- ⑪ 心電図
- ⑫ 胸部 X 線
- 2) 登録後第 1 回 G47Δ投与前日まで
 - ① リンパ球 CD4/CD8 数および比
 - ② HSV 抗体価
 - ③ 遅延型皮膚過敏反応
- 3) 第 1 回 G47Δ投与前日
 - ① バイタルサイン
 - ② 血算(白血球分画および血小板数を含む)
 - ③ 血液生化学検査
 - 肝機能 (総ビリルビン、Al-P、LDH、γGTP、AST、ALT)
 - 腎機能 (クレアチニン)
 - 電解質 (Na、K)
 - ④ 凝固系 (PT INR)
 - ⑤ 併用薬剤
 - ⑥ 有害事象評価
- 4) 第 1 回 G47Δ投与当日の投与後
 - ① バイタルサイン
 - ② 併用薬剤
 - ③ 有害事象の評価
- 5) 第 1 回 G47Δ投与翌日
 - ① バイタルサイン
 - ② 併用薬剤
 - ③ 血液生化学検査
 - 肝機能 (総ビリルビン、Al-P、LDH、γGTP、AST、ALT)
 - 腎機能 (クレアチニン)
 - 電解質 (Na、K)
 - ④ HSV の排出 (血清、唾液、尿の PCR。陽性の場合は定量的 PCR も)
 - ⑤ 有害事象の評価
- 6) 第 2 回 G47Δ投与前日
 - ① バイタルサイン
 - ② 血算(白血球分画および血小板数を含む)
 - ③ 血液生化学検査
 - 肝機能 (総ビリルビン、Al-P、LDH、γGTP、AST、ALT)
 - 腎機能 (クレアチニン)
 - 電解質 (Na、K)
 - ④ 凝固系 (PT INR)
 - ⑤ 併用薬剤
 - ⑥ 有害事象評価
- 7) 第 2 回 G47Δ投与当日の投与後
 - ① バイタルサイン
 - ② 併用薬剤
 - ③ 有害事象の評価
- 8) 第 2 回 G47Δ投与翌日
 - ① バイタルサイン
 - ② 併用薬剤
 - ③ 血液生化学検査
 - 肝機能 (総ビリルビン、Al-P、LDH、γGTP、AST、ALT)

	腎機能 (クレアチニン) 電解質 (Na、K) ④ HSV の排出 (血清、唾液、尿の PCR。陽性の場合は定量的 PCR も) ⑤ 有害事象の評価 9) (第 3 回 G47Δ投与前日) ① バイタルサイン ② 血算(白血球分画および血小板数を含む) ③ 血液生化学検査 肝機能 (総ビリルビン、Al-P、LDH、γGTP、AST、ALT) 腎機能 (クレアチニン) 電解質 (Na、K) ④ 凝固系 (PT INR) ⑤ 併用薬剤 ⑥ 有害事象評価 10) (第 3 回 G47Δ投与当日の投与後) ① バイタルサイン ② 併用薬剤 ③ 有害事象の評価 11) (第 3 回 G47Δ投与翌日) ① バイタルサイン ② 併用薬剤 ③ 血液生化学検査 肝機能 (総ビリルビン、Al-P、LDH、γGTP、AST、ALT) 腎機能 (クレアチニン) 電解質 (Na、K) ④ HSV の排出 (血清、唾液、尿の PCR。陽性の場合は定量的 PCR も) ⑤ 有害事象の評価 12) (第 4 回 G47Δ投与前日) ① バイタルサイン ② 血算(白血球分画および血小板数を含む) ③ 血液生化学検査 肝機能 (総ビリルビン、Al-P、LDH、γGTP、AST、ALT) 腎機能 (クレアチニン) 電解質 (Na、K) ④ 凝固系 (PT INR) ⑤ 併用薬剤 ⑥ 有害事象評価 13) (第 4 回 G47Δ投与当日の投与後) ① バイタルサイン ② 併用薬剤 ③ 有害事象の評価 14) (第 4 回 G47Δ投与翌日) ① バイタルサイン ② 併用薬剤 ③ 血液生化学検査 肝機能 (総ビリルビン、Al-P、LDH、γGTP、AST、ALT) 腎機能 (クレアチニン) 電解質 (Na、K) ④ HSV の排出 (血清、唾液、尿の PCR。陽性の場合は定量的 PCR も) ⑤ 有害事象の評価 15) 最終 G47Δ投与 7 日後+2 日 ① バイタルサイン ② 血算(白血球分画および血小板数を含む) ③ 血液生化学検査 肝機能 (総ビリルビン、Al-P、LDH、γGTP、AST、ALT)
--	---

	腎機能 (クレアチニン) 電解質 (Na、K) ④ 凝固系 (PT INR) ⑤ HSV の排出 (血清、唾液、尿の PCR。陽性の場合は定量的 PCR も) ⑥ 併用薬剤 ⑦ 有害事象の評価 16) 最終回 G47Δ投与 28 日後±4 日 ① 身体所見、体重 ② バイタルサイン ③ 血算(白血球分画および血小板数を含む) ④ 血液生化学検査 肝機能 (総ビリルビン、Al-P、LDH、γGTP、AST、ALT) 腎機能 (クレアチニン) 電解質 (Na、K) ⑤ 凝固系 (PT INR) ⑥ リンパ球 CD4/CD8 数および比 ⑦ HSV 抗体価 ⑧ 遅延型皮膚過敏反応 ⑨ 併用薬剤 ⑩ 有害事象の評価 17) 最終 G47Δ投与 3 ヶ月後±7 日 ① 身体所見、体重 ② バイタルサイン ③ 血清 PSA 値 ④ 血算(白血球分画および血小板数を含む) ⑤ 腹骨盤部 CT ⑥ 骨シンチ ⑦ リンパ球 CD4/CD8 数および比 ⑧ 遅延型皮膚過敏反応 ⑨ HSV 抗体価 ⑩ 併用薬剤 ⑪ 有害事象の評価 18) 最終 G47Δ投与 6 ヶ月後±14 日 ① 身体所見、体重 ② バイタルサイン ③ 血清 PSA 値 ④ 血算(白血球分画および血小板数を含む) ⑤ 腹骨盤部 CT ⑥ 骨シンチ ⑦ リンパ球 CD4/CD8 数および比 ⑧ 遅延型皮膚過敏反応 ⑨ HSV 抗体価 ⑩ 併用薬剤 ⑪ 有害事象の評価 v) 前処置および併用療法の有無 前処置はない。併用療法に関しては、LH-RH アゴニストあるいはステロイドは併用可である。手技中および術後は原則として抗生物質の投与を行う。その内容には制限を設けない。併用薬剤は、市販薬やワクチン、および併用禁止薬剤も含めて、薬剤名、量、回数、投薬経路、日付、および投与理由を患者経過記録用紙 (CRF) に記載する。 vi) 予想される有害事象およびその対処方法 G47Δの前立腺内投与に伴う有害事象としては次のものが考えられる。 1) 研究薬 G47Δの投与によるもの ① 悪寒戦慄、筋肉痛、関節痛、リンパ節腫脹などの全身性ウイルス感染の症状
--	--

- ② かゆみ、じんま疹、血圧の変動、呼吸困難などのアレルギー反応
- 2) 投与手技に関連するもの
 - ① 穿刺部位からの出血
 - ② 肛門出血
 - ③ 血尿、血便、血精液症
 - ④ 急性前立腺炎
 - ⑤ 排尿困難、尿閉
 - ⑥ 頻尿、尿意切迫、尿路痛
 - ⑦ 下腹部や会陰、肛門周囲の不快感、鈍痛
- vii) ウイルス療法臨床研究の評価方法、評価規準、および中止判定規準
 - 1) 評価方法および評価規準
 - ア) 有害事象発生割合

適格・不適格を問わず、プロトコル治療の一部以上が施行された患者数（全治療例）を分母とし、G47Δ投与後2年間までの下記の有害事象についてそれぞれ NCI-CTCAE ver4.03 日本語訳 JCOG/JSCO 版による最悪の Grade の頻度を（群別に）求める。

 - ① 血液/骨髄：ヘモグロビン、白血球、血小板
 - ② 代謝/臨床検査値：総ビリルビン、Al-P、LDH、γGTP、AST、ALT、Na、K、クレアチニン
 - ③ 全身症状：発熱、倦怠感、筋肉痛、頭痛、食欲不振、悪心、嘔吐
 - ④ 腎および尿路障害：頻尿、尿失禁、尿閉、尿路閉塞、尿路痛、尿意切迫、血尿
 - ⑤ 感染：好中球減少を伴わない感染
 - イ) 重篤有害事象発生割合

プロトコル治療の一部以上が開始された患者数（全治療例）を分母として、以下のいずれかの重篤な有害事象がひとつ以上観察された患者数を分子とする割合を重篤有害事象発生割合とする。

 - ① G47Δ投与後30日以内までの全ての死亡。（死因は治療との因果関係を問わない）
 - ② G47Δ投与後から31日以降であるが、治療との因果関係が否定できない死亡。
 - ③ Grade 4の有害事象。
 - ウ) 全生存期間Overall survival

G47Δ投与日を起算日とし、あらゆる原因による死亡日までの期間。生存例では最終生存確認日をもって打ち切りとする。追跡不能例では追跡不能となる以前で生存が確認されていた最終日をもって打ち切りとする。
 - 2) 中止基準

早期中止とは、独立データモニタリング委員会の次のいずれかの判定により、臨床研究を予定より早く中止することをさす。

重篤な有害事象または当該臨床研究以外の情報に基づき、本臨床研究の安全性に問題があると判定した。

その他、症例登録の遅れ、プロトコル逸脱の頻発などの理由により、臨床研究の完遂が困難と判断した。

有害事象観察数に基づいての早期中止に関しては用量増加の項に記述する。
 - 3) 委員会
 - ア) 独立データモニタリング委員会

遺伝子治療臨床研究審査委員会のもとに独立データモニタリング委員会をおく。研究実施主体以外から3名以上の委員を遺伝子治療臨床研究審査委員会委員長が選出する。前立腺癌治療に精通する臨床医、統計の専門家、有害事象の評価を行う専門知識を有する者などから構成される。独立データモニタリング委員会は、以下の役割を有する。

 - ① 適格性判定委員会の判定の確認
 - ② 安全性・有効性の判定の確認

	③ 用量増加の可否の判断（コホート間） ④ 「重篤な有害事象」に関する報告書の受け取り、および本臨床研究との因果関係の判定 独立データモニタリング委員会は、下記の項目に関してプロトコル改訂の必要性を検討し、その結果必要な場合は総括責任者にプロトコルの改訂や研究の中止を勧告できる権限を持つ。 ①. 適格基準の変更 ②. 目標症例数の再設定 ③. プロトコル治療計画の変更 ④. その他の必要な変更 イ) 適格性判定委員会 遺伝子治療臨床研究審査委員会のもとに適格性判定委員会をおく。適格性判定委員会は、対象患者が選択基準を全て満たし除外基準のいずれにも該当しないことの判定・確認を行なう。東京大学医学部附属病院泌尿器科で行なわれる定例カンファレンスにおいて適格性判定委員会を開催する。総括責任者または研究担当医師が症例提示を行うが、適格性判定には関与しない。適格性判定委員会での承認の記録は症例登録票に記載する。 ウ) 遺伝子治療臨床研究審査委員会での審査 登録に先立ち、実施施設における遺伝子治療臨床研究審査委員会においてプロトコルの審査を受け、承認を受ける。 viii) 到達目標と研究完了期間 目標症例数の達成をもって新規登録の終了とし、すべての登録症例について観察期間が満了し、症例報告書の提出が完了して時点で、本臨床研究は終了とする。 ix) 症例記録に関する記録用紙等の様式 症例記録報告書（CRF）は被験者毎に準備する。訂正の場合は、訂正事項が判読できるように一重線で抹消し、訂正者の署名と訂正の日付を添え書きする。記入は研究担当医師またはCRCが行なうこととする。評価に関わる内容は担当医師が記入を行なう。 x) 記録の保存及び成績の公表の方法 研究代表者は、研究等の実施に関係する全ての文書（申請書類、各種通達文書、各種申請書・報告書、被験者識別コードリスト、同意書、症例報告書、その他データの信頼性を保証するのに必要な書類または記録など、またはその写し）を保存し、研究終了後最低5年間は保管する。 研究代表者はこの臨床研究の結果を学術雑誌・学術集会などで発表する。結果の公表を行なう場合には、個人情報保護に配慮する。研究結果は研究代表者に帰属する。この臨床研究から得られた情報はG47Δの医薬品としての開発に使用される可能性があり、その内容は様々な国の政府機関に公開される可能性がある。以上は、研究が途中で中止あるいは中断になった場合も同様である。 上記に記載された手続きを経た公表以外には、臨床研究で得られた結果は第三者に公開されることはない。 これは、文部科学省・厚生労働省の遺伝子治療臨床研究に関する指針（平成14年3月27日、平成16年12月28日全部改正、平成20年12月1日一部改正：http://www.mhlw.go.jp/general/seido/kousei/i-kenkyu/identshi/0504sisin.html）に従って行う。
備考	