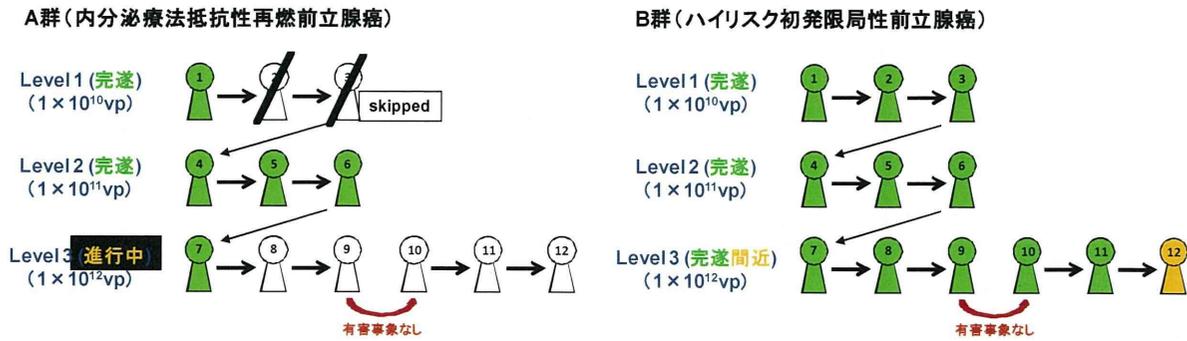


1) 臨床研究の進行状況：

以下に示すように、A群（内分泌療法抵抗性再燃前立腺癌）でレベル3が進行中、B群（ハイリスク初発限局性前立腺癌）ではレベル3までの12例が終了間近である。5月1日に12例目2回目の投与終了

臨床試験のデザインと現在の進行状況



2) それぞれの群における状況：

A群 (内分泌療法抵抗性再燃前立腺癌)：

5名を臨床研究にエントリーし、治療を行った。患者背景、結果一覧を下記に示す。

・患者背景

患者No.	1	4	5	6	7
年齢	74	73	42	71	72
Vector dose level	1	2		3	
(vp)	1 × 10 ¹⁰	1 × 10 ¹¹		1 × 10 ¹²	
遺伝子治療前PSA	19.61	33.21	232.5	72.93	113
内分泌療法	リュープロレリン ビカルタミド フルタミド	リュープロレリン ゴセレリン ビカルタミド フルタミド クロルマジノン	除睾術 ビカルタミド フルタミド	リュープロレリン ビカルタミド フルタミド エストラムスチン	リュープロレリン ゴセレリン ビカルタミド フルタミド エストラジオール
化学療法	なし	なし	なし	なし	なし
放射線療法	前立腺	なし	なし	なし	なし
その他の治療	なし	遺伝子治療	温熱療法	なし	免疫療法
転移巣	リンパ節 骨	リンパ節	リンパ節 骨	骨	なし

・結果

患者No.	1	4	5	6	7
年齢	74	73	42	71	72
Vector dose level	1	2			3
(vp)	1×10^{10}	1×10^{11}			1×10^{12}
注入部位	前立腺	前立腺	前立腺	前立腺	前立腺
1回目投与日	2011/2/1	2011/8/2	2011/9/13	2011/11/8	2012/1/31
2回目投与日	2011/3/1	2011/8/30	-	2011/12/6	2012/2/28
試験の状況	完遂	完遂	Drop Out	進行中 (追加投与中)	完遂
有害事象	(grade 0)	-	-	-	-
	(grade 1)	-	-	-	-
	(grade 2)	-	-	-	-
	(grade 3)	TA上昇 (治療関連性なし)	-	-	-
	(grade 4)	-	-	-	-
治療前PSA	19.61	33.21	232.5	72.93	113
治療後PSA	26.27	37.69		73.79	184.6
治療前PSADT	113.3	387.3	49.3	65.9	149.2
治療後PSADT	63.3	312.2		3784.1	79.1
画像評価 (CT, MRI, 骨シンチ)	PD	SD		PR (MRI上前立腺 主要病変の縮小)	PD
病理学的変化	-	アポトーシス CD8リンパ球の浸潤	-	腫瘍細胞の 変性	-
総合治療評価	PD	SD		SD	PD

TA : Transaminase

いずれもスケジュール通り投与が可能であり、手技的問題は認めなかった。

安全性について

有害事象：

1例目の患者において、1回目投与後7日目（平成23年2月8日）の血液検査にて肝機能検査異常を認めた。肝機能検査異常に伴う自覚症状は認めなかった。

入院の上、適切な加療が行われた（安静、強力ミノファーゲン投与）。肝機能検査値は徐々に改善した。

1回目投与後14日目（平成23年2月15日）の血液検査では肝機能検査値はほぼ正常まで改善したため、退院した。

2回目投与後、注意深く観察するも、肝機能検査異常は認められず、1回目投与後の肝機能検査異常は、当該遺伝子治療と関連性はないものと判断した。

2例目以降では有害事象を認めなかった。

以上より、5名の患者に対して $1 \times 10^{10} \sim 1 \times 10^{12}$ vpのベクターが投与されたが、ベクター投与に直接起因する特記すべき有害事象はなく、現時点までは、安全性上の懸念はないものと考えられる。

有効性について

治療（抗腫瘍）効果：

Vector dose level 1 (1×10^{10} vp) では有効性は認められなかった。

Vector dose level 2 (1×10^{11} vp) では3例中2例で病状進行の抑制、病理組織学的有効性（癌細胞のアポトーシス、免疫担当細胞の浸潤）を認め、4例目では3回の、6例目では4回の追加投与を行った（6例目は5回目の追加投与を検討中）。以下にそれぞれの症例における病理組織像、画像所見を示す。

症例4（病理組織像）

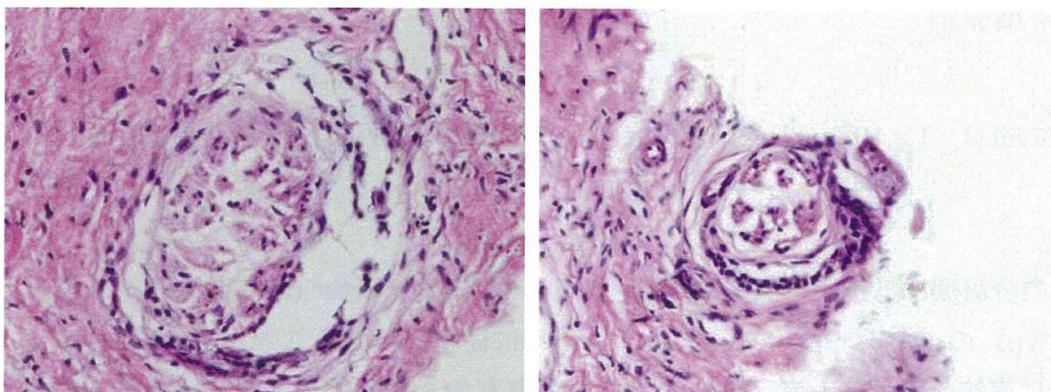


HE 染色

TUNEL 染色

免疫染色（CD8 陽性細胞）

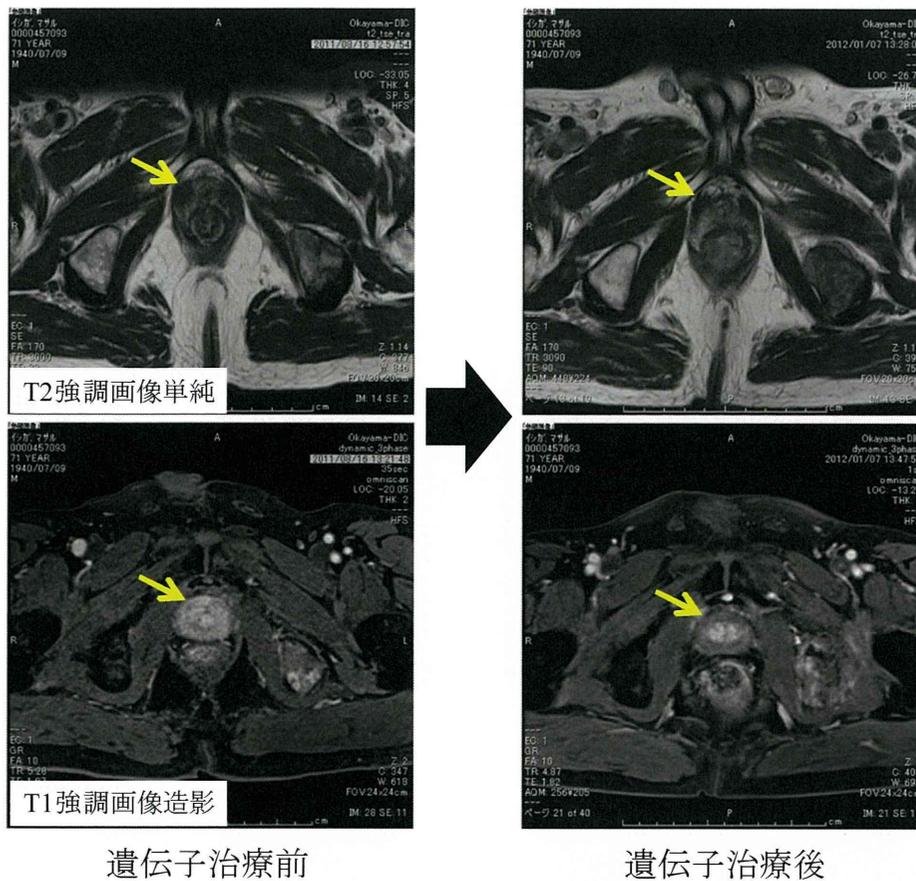
症例6（病理組織像）



HE 染色

MRI 所見

T2 強調画像で low intensity area として認められる右葉辺縁域腹側よりの癌病変は治療後縮小し、同部位の造影効果（T1 強調画像造影）は減弱した。



遺伝子治療前

遺伝子治療後

Vector dose level 3 (1×10^{12} vp) では現時点では 1 例のみの登録であるが、有効性を認めなかった。

結論：A 群（内分泌療法抵抗性再燃前立腺癌）5 名に対して、Vector dose level 1~3 ($1 \times 10^{10} \sim 1 \times 10^{12}$ vp) のベクター注入を、プロトコールに従い施行することが可能であった。ベクター注入に直接起因すると考えられる重篤な有害事象を認めず、高い安全性が示唆された。有効性に関しては、Vector dose level 2 (1×10^{11} vp) から、一部症例で組織学的変化（癌細胞のアポトーシス、ベクター注入部位での腫瘍細胞の消失）、病状進行の抑制（PSA doubling time の延長）などの有効所見が得られた。

B群（ハイリスク初発限局性前立腺癌）：

B群では、下記のごとく、スケジュール通りにベクターの注入を行い、プロトコルを完遂間近である。

・患者背景

患者No.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
年齢	74	67	59	63	62	61	70	65	70	66	71	63
Vector dose level	1			2			3					
(vp)	1×10 ¹⁰			1×10 ¹¹			1×10 ¹²					
治療前PSA	21.83	7.65	15.75	26.62	11.1	5.02	16.18	9.82	14.19	14.23	10.81	13.36
臨床病期	B2	C	B1	C	B2	C	C	B2	C	B2	C	C
Gleason Score	4+5	4+5	4+4	4+4	5+5	4+5	4+5	4+4	4+4	4+4	4+3	4+3
Nomogram Score	148	141	124	176	140	133	167	127	161	137	143	159

・結果

患者No.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
年齢	74	67	59	63	62	61	70	65	70	66	71	63
Vector dose level	1			2			3					
(vp)	1×10 ¹⁰			1×10 ¹¹			1×10 ¹²					
1回目投与日	2011/1/25	2011/2/15	2011/2/22	2011/3/8	2011/4/5	2011/4/12	2011/4/26	2011/6/14	2011/9/27	2012/1/10	2012/2/28	2012/4/17
2回目投与日	2011/2/8	2011/3/1	2011/3/8	2011/3/22	2011/4/19	2011/4/26	2011/5/10	2011/6/28	2011/10/11	2012/1/24	2012/3/13	2012/5/1
前立腺全摘施行日	2011/3/24	2011/4/19	2011/4/19	2011/4/26	2011/5/31	2011/6/7	2011/6/21	2011/8/9	2011/11/22	2012/3/6	2012/4/24	2012/6/12 予定
試験の状況	完遂	完遂	完遂	完遂	完遂	完遂	完遂	完遂	完遂	完遂	進行中	進行中
有害事象	(grade 0)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	(grade 1)	-	-	-	-	-	発熱	-	発熱	発熱 TA上昇	発熱	発熱
	(grade 2)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	(grade 3)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	(grade 4)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
治療前PSA	21.83	7.65	15.75	26.62	11.1	5.02	16.18	9.82	14.19	14.23	10.81	13.36
前立腺全摘時PSA	30.13	9.12	14.94	22.49	11.29	4.16	14.26	7.59	11.32	12.48	9.04	
MRI	SD	SD	SD	SD	SD	SD	SD	SD	PR	SD	SD	
病理学的変化	-	-	-	-	+	+	+	++	++	++		

TA : Transaminase

安全性について

B群での有害事象に関しては、上記のごとくすべて軽微かつ一過性であり、経過観察もしくは、対症療法（解熱剤の投与）のみで軽快し、高い安全性が確認された。同時にプロトコル上の最大投与量である1×10¹²vpの投与でも現時点で6例全てgrade2以上の有害事象を認めず（12例目はベクター1回投与後）、1×10¹²vpの投与量は、プロトコル上で確認すべき、Maximum tolerable dose（MTD）に達していないと判断される。

有効性について

治療（抗腫瘍）効果：

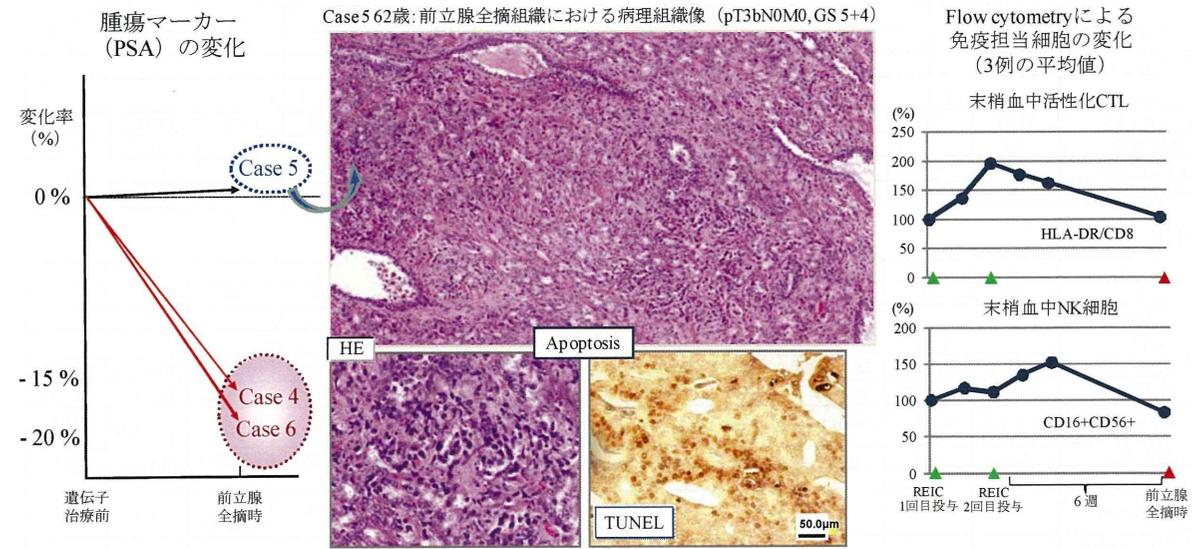
Vector dose level 1（1×10¹⁰vp）では有効性は認められなかった。

Vector dose level 2（1×10¹¹vp）では、3例中2例で腫瘍マーカーであるPSAの低下、病理組織学的・免疫病理学的検査において、癌細胞のアポトーシス、崩壊、細胞傷害性T細胞（CTL）、樹状細胞（DC）様細胞、NK細胞の腫瘍組織内への浸潤などの臨床的有効性を示唆する所見が得られた。

Vector dose level 3（1×10¹²vp）では、上記組織学的抗腫瘍効果が顕著になるとともに、腫瘍マーカーであるPSAは現時点で評価可能な5例全例で低下（11.87～22.71%）した。以下にlevel 2, 3におけるPSAの変化、代表的な病理組織像、免疫学的変化、画像所見な

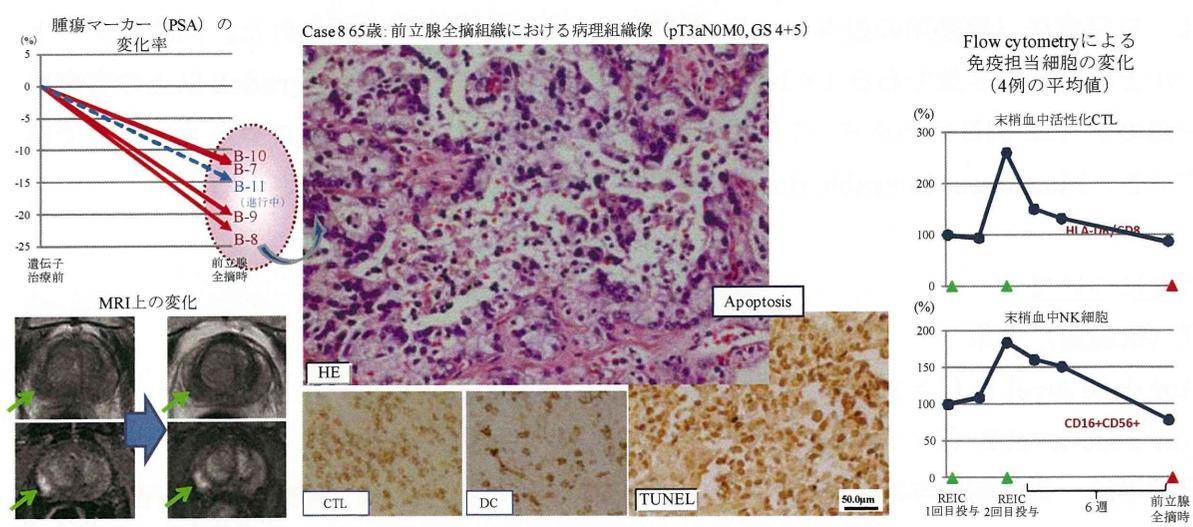
を示す。

B 群 (ハイリスク初発限局性前立腺癌) Dose level 2 (1×10^{11} vp)



15%以上の PSA 低下が 3 例中 2 例 (case 4, 6) でみられ、唯一 PSA の低下が認められなかった Case 5 でも HE 染色や TUNEL 染色における広範な腫瘍細胞のアポトーシス像を認めた。

B 群 (ハイリスク初発限局性前立腺癌) Dose level 3 (1×10^{12} vp)



現時点で評価可能な 5 例全例で PSA の低下 (12~23%) を認めた。一部症例で MRI 上腫瘍の縮小効果を認め、HE 染色や TUNEL 染色における腫瘍細胞のアポトーシス像は Level 2 に比べてより鮮明となった。さらに免疫病理学的検査において、CTL や DC 様細胞の浸潤が認められ、免疫学的抗腫瘍効果を裏付ける結果と考えられた。

両者とも Flow cytometry 上、遺伝子治療中の経時的な免疫担当細胞数の上昇を認めており、免疫染色で得られた組織所見と併せ、本遺伝子治療のハイリスク前立腺癌に対する術前療法としての有効性が示唆された。

結論：B 群（ハイリスク初発限局性前立腺癌）12 名に対して、Vector dose level 1～3（ $1 \times 10^{10} \sim 1 \times 10^{12}$ vp）のベクター注入を、プロトコルに従い施行（12 例目は 1 回の投与）することが可能であった。現時点で、すべての dose で、ベクター注入に起因すると考えられる特記すべき有害事象を認めず、高い安全性が確認された。有効性に関しては、Vector dose level 2（ 1×10^{11} vp）から、一部症例で病理組織学的変化を中心に癌細胞のアポトーシス、崩壊などの有効所見が得られ、Vector dose level 3（ 1×10^{12} vp）では、上記組織学的抗腫瘍効果が顕著になるとともに、腫瘍マーカーである PSA は現時点で評価可能な 5 例全例で低下した。

③ これまでの状況をふまえた総括

以上の結果より、B 群（ハイリスク初発限局性前立腺癌）において、今回プロトコル上で実施した Vector dose level（ $1 \times 10^{10} \sim 1 \times 10^{12}$ vp）では、高い安全性の確認、臨床的有効性を示唆する所見が得られた。一方、Primary endpoint である Maximum tolerable dose（MTD）の確認に関しては、 1×10^{12} vp は MTD に達していないと考えられた。

II. 分担研究報告

厚生労働科学研究費補助金（医療技術実用化総合研究事業）
「難治性固形がん（悪性胸膜中皮腫、前立腺がん）に対する次世代自己がん
ワクチン治療法としての REIC/Dkk-3 遺伝子治療臨床研究」
分担研究報告書

「前立腺がんに対する REIC/Dkk-3 遺伝子治療臨床研究」

研究分担者	公文裕巳	岡山大学大学院医歯薬学総合研究科	教授
	渡部昌実	岡山大学病院	准教授
	賀来春紀	岡山大学病院	講師
	江原 伸	岡山大学病院	講師
	佐々木克己	岡山大学病院	助教
	谷本竜太	岡山大学病院	助教

研究要旨

REIC/Dkk-3 (Reduced Expression in Immortalized Cells/Dkk-3) 遺伝子は、岡山大学で独自に単離同定され、抗腫瘍効果（局所におけるがんの選択的アポトーシス誘導と全身抗腫瘍免疫の活性化による「自己がんワクチン化」効果）を有する画期的ながん治療遺伝子である。この REIC/Dkk-3 遺伝子を用いたがん治療遺伝子製剤である REIC/Dkk-3 遺伝子発現アデノウイルスベクター（Ad-REIC）の臨床研究（ヒトへの投与）を前立腺がんに対して行い、安全性、有効性を確認し、POC (proof of concept) を確立し、本格的な実用化に向けた最終段階（高度医療評価制度申請）へと到達する。

A. 研究目的

前立腺がんに対する REIC/Dkk-3 遺伝子治療臨床研究を実施する。安全性の検討（最大耐量の推定）を主要エンドポイントとし、治療効果の観察を副次的エンドポイントとする。

B. 研究方法

A 群：内分泌療法抵抗性再燃前立腺がん

B 群：ハイリスク初発限局性前立腺がん

を対象とし、投与量のレベルを 3 段階に設

定し、各群 12 名の治療を実施する。血液生化学的検査・生理検査にて安全性を確認し、血液腫瘍マーカー（PSA）および前立腺組織を用いた免疫組織学的、分子生物学的解析にて有効性を評価する。（遺伝子治療臨床研究実施計画概要書を資料-1 として添付）
（倫理面への配慮）

「遺伝子治療臨床研究に関する指針」「臨床研究に関する倫理指針」を遵守する。

C. 研究結果

A群5例、B群12例に投与した。B群（ハイリスク初発限局性前立腺癌）において、今回プロトコル上で実施した Vector dose level ($1 \times 10^{10} \sim 1 \times 10^{12}$ vp) では、安全性がおおむね確認され、臨床的有効性を示唆する所見が得られた。B群の高用量投与患者において腫瘍マーカーである PSA の低下、MRI 検査での腫瘍病変の縮小傾向、免疫組織学的検査における腫瘍細胞のアポトーシス像を認めた。高用量ベクター (1×10^{12} vp) 投与群で、約 70%の症例に発熱 (Grade-1)が観察された。

(適応・安全性・効果判定部会への提出資料を資料-3として添付)

D. 考察

主要エンドポイントである安全性についてはほぼ確認した。高用量ベクター (1×10^{12} vp) 投与群で、約 70%の症例に発熱が観察されており、今後、本研究を進行するにあたり、注意が必要と考えられた。(有害事情の詳細については総括報告書 (F:健康危険情報に記載)。腫瘍マーカー、組織学的解析を指標とした場合一定の有効性が認められていると考えられる。一方、Primary endpointである Maximum tolerable dose (MTD) の確認に関しては、 1×10^{12} vp は MTD に達していないと考えられた。MTDを設定すべく、さらなる高用量ベクターの投与も考慮される。

E. 結論

前立腺がんにおいて、おおむね安全性、臨床的有効性は確認された。12例のベクター投与が終了したB群においては MTD (最

大耐用量) に達していないと考えられる。

F. 研究発表

1. 論文発表 :

臨床研究実施中につき論文発表該当なし。

2. 学会発表

1)A PHASE I/II STUDY OF REDUCED EXPRESSION IN IMMORTALIZED CELLS (REIC/DKK-3) GENE THERAPY FOR PROSTATE CANCER; INTERIM REPORT. Katsumi Sasaki, Yasutomo Nasu, Haruki Kaku, Masami Watanabe, Taiki Kanbara, Toyohiko Watanabe and Hiromi Kumon. 第17回日本遺伝子治療学会, 平成23年7月15-17日, 福岡市

2)前立腺癌に対する遺伝子治療 -新たな免疫療法の開発をめざした取り組み- 佐々木 克己, 那須保友, 渡部昌実, 賀来春紀, 谷本竜太, 江原伸, 柳井広之, 公文裕巳. 第63回日本泌尿器科学会西日本総会, 平成23年11月10-12日, 久留米市

3)前立腺癌に対する REIC/Dkk-3 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臨床研究 -中間報告- 佐々木克己, 那須保友, 渡部昌実, 賀来春紀, 平田武志, 谷本竜太, 江原伸, 柳井広之, 公文裕巳. 第289回日本泌尿器科学会岡山地方会, 平成23年12月10日, 岡山市

4)A phase I/II study of adenovirus-mediated reduced expression in immortalized cells (REIC/DKK-3) gene therapy for prostate cancer: An interim report. Katsumi Sasaki, Yasutomo Nasu, Masami Watanabe, Haruki Kaku, Ryuta Tanimoto, Taiki Kanbara, Toyohiko Watanabe, Hiroyuki Yanai, Hiromi Kumon. American Society of Clinical

Oncology, 2012 Genitourinary Cancers
Symposium, 平成24年2月2-4日, 米国サン
フランシスコ市

G. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし

厚生労働科学研究費補助金（医療技術実用化総合研究事業）
「難治性固形がん(悪性胸膜中皮腫、前立腺がん)に対する次世代自己がん
ワクチン化療法としての REIC/Dkk-3 遺伝子治療臨床研究」
分担研究報告書

「悪性胸膜中皮腫に対する REIC/Dkk-3 遺伝子治療臨床研究」

研究分担者 豊岡伸一 岡山大学病院 講師
宗 淳一 岡山大学病院 助教

研究要旨

REIC/Dkk-3(Reduced Expression in Immortalized Cells/Dkk-3)遺伝子は、岡山大学で独自に単離同定され、抗腫瘍効果（局所におけるがんの選択的アポトーシス誘導と全身抗腫瘍免疫の活性化による「自己がんワクチン化」効果）を有する画期的ながん治療遺伝子である。この REIC/Dkk-3 遺伝子を用いたがん治療遺伝子製剤である REIC/Dkk-3 遺伝子発現アデノウイルスベクター（Ad-REIC）の臨床研究（ヒトへの投与）を悪性胸膜中皮腫に対して行い、安全性、有効性を確認し、POC（proof of concept）を確立し、本格的な実用化に向けた最終段階（製薬治験申請）へと到達する。

A. 研究目的

胸膜悪性中皮腫に対する臨床研究の実施承認に向けた必要とされる種々の作業をおこない、承認・治療開始を目指す。

B. 研究方法

国への申請に向けた種々の準備を行う。

C. 研究結果

学内審査が終了し国への申請をいったん実施しており、報告書作成の時点において事務当局（厚生労働省厚生科学課）と正式受理に向けて打ち合わせを実施中。（遺伝子治療臨床研究実施計画概要書を資料—2として添付）使用する治療製剤の仕

様（プロモーターの変更）、製造委託先の変更に伴う手続き等を実施した。製剤の作製もほぼ終了し、必要な品質試験も終了した。また製剤の変更のために必要な試験（ブリッジング試験）については関係当局との協議を行いつつ実験を実施した。

D. 考察

使用する治療製剤の仕様、製造委託先の変更に伴う手続き等により計画よりやや遅れ気味であるが今後学内における所定の手続きをおこない、国での審査を受ける方向で課題の進捗をはかる。

E. 結論

計画よりやや遅れ気味であるが、臨床研究の実施承認に向けた作業は着実に進行している。

F. 研究発表

1. 論文発表

臨床研究実施前につき該当なし

2. 学会発表

該当なし

G. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし

Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表

研究成果の刊行に関する一覧表

書 籍

前立腺がんについては臨床研究実施中、胸膜悪性中皮腫については臨床研究実施前につき該当する書籍の刊行はない。

雑 誌

前立腺がんについては臨床研究実施中、胸膜悪性中皮腫については臨床研究実施前につき該当する雑誌の刊行はない。

