

10¹⁰vp(viral particle)から開始して10倍ずつ増量し1.0×10¹¹vp, 1.0×10¹²vpに至る3レベルの治療群を設定する。A)内分泌療法抵抗性再燃前立腺癌、B)ハイリスク初発限局性前立腺癌それぞれの群において独立して、ベクターの各用量レベルでそれぞれ3人の被験者を評価し、有害事象が発生しなければ逐次用量レベルの上昇を行う。ただし有害事象が発生した場合はその重篤度を評価し、プロトコルにのっとり症例数を追加し同一用量で検討するか、試験を中止するかを判断する。最大耐量(Maximum Tolerated Dose, MTD)では3人ずつに投与して問題なければさらに3人ずつ、計6人ずつの被験者で評価する。つまり、A)内分泌療法抵抗性再燃前立腺癌、B)ハイリスク初発限局性前立腺癌それぞれの群において独立して、各用量レベルでの安全性の検討(最大耐量の推定)を行った後、治療効果の観察も行うことを目的とする第I/II相試験として計画した。

2. 治療実施

本遺伝子治療臨床研究の適応が予測される患者について、岡山大学病院にて患者に対し、文書によるインフォームド・コンセント(第1回目)を行い、同意が得られた場合に限り、本臨床研究へエンロール(患者登録)し治療前検査を開始する。正常な理解と判断は行えるものの、身体的な事由により患者の署名が不可能、もしくは困難な場合は、患者とともに、代諾者に対しても文書によるインフォームド・コンセントを行い、代諾者より同意署名を得ることとする。治療前検査にて後述する選択基準に合致、さらに除外基準に抵触しないことが明らかになった場合、治療前検査データを基に安全・効果評価・適応判定部会にて適応を評価する。安全・効果評価・適応判定部会には岡山大学病院外部の前立腺癌専門医が委員として参加している。安全・効果評価・適応判定部会にて被験者における全血清PSA測定値、画像評価ならびに前立腺癌と診断されてからの治療内容が提出され、本臨床研究の適応と判断された場合、岡山大学病院にて患者または代諾者に対し、文書によるインフォームド・コンセント(第2回目)を行う。インフォームド・コンセントの方法は第1回目と同様とする。同意が得られた場合に限り、以下の方法によって臨床研究を実施する。

A) 内分泌療法抵抗性再燃前立腺癌

①内分泌療法抵抗性局所再燃前立腺癌(非転移症例)

岡山大学病院北病棟3階手術場無菌室内にて、全身麻酔を施行し、経直腸的超音波装置を用い病変部を確認した後、その超音波装置に装着された穿刺用ガイド装置を用いREIC/Dkk-3遺伝子発現アデノウイルスベクターの溶液を1ないし2ヵ所(最大2ヵ所)に注入する。ウイルスベクター溶液は1ヶ所につき1mlとする。注入そのものにより前立腺部の一過性の腫大を来し、尿閉を生じることがまれにあるため、尿道カテーテルを注入直後に留置し、翌日抜去する。治療後3日間の抗生剤投与を行う。

②内分泌療法抵抗性転移性再燃前立腺癌(有転移症例)

②-1. 前立腺全摘出手術未施行例

岡山大学病院北病棟3階手術場無菌室内にて、全身麻酔を施行し、経直腸的超音波装置を用い病変部を確認した後、その超音波装置に装着された穿刺用ガイド装置を用いREIC/Dkk-3遺伝子発現アデノウイルスベクターの溶液を1ないし2ヵ所(最大2ヵ所)に注入する。ウイルスベクター溶液は1ヶ所につき1mlとする。尿道カテーテルを注入直後に留置し、翌日抜去する。治療後3日間の抗生剤投与を行う。

②-2. 前立腺全摘出手術施行例

局所再発腫瘍に対しては岡山大学病院北病棟3階手術場無菌室内にて、全身麻酔を施行し、経直腸的超音波装置を用いて病変部を確認した後、その超音波装置に装着された穿刺用ガイド装置を用いREIC/Dkk-3遺伝子発現アデノウイルスベクターの溶液を1ないし2ヵ所(最大2ヵ所)に注入する。ウイルスベクター溶液は1ヶ所につき1mlとする。尿道カテーテルを注入直後に留置し、翌日抜去する。治療後3日間の抗生剤投与を行う。

転移性腫瘍に対しては、超音波下で投与する場合は岡山大学病院北病棟 3 階手術場無菌室内にて全身麻酔を施行し、その超音波装置に装着された穿刺用ガイド装置を用い REIC/Dkk-3 遺伝子発現アデノウイルスベクターの溶液を注入する。CT ガイド下で注入する場合は岡山大学病院中央放射線部 CT 室にて全身麻酔を施行し、CT ガイド下にベクター溶液を注入する。治療後 3 日間の抗生剤投与を行う。

その後、プロトコルを遵守して安全性ならびに治療効果の評価を行う。重篤な副作用を認めない場合は 28 日毎に 2 回の投与を実施する。2 回目の投与を終了した 28 日後に、臨床症状、検査結果および病変部の総合評価を安全・効果評価・適応判定部会にて行う。総合評価にて安全性が確認されるとともに悪化傾向を認めず (PD:Progressive Disease でなく)、追加投与について患者の希望があり了解が得られた場合、担当医師および総括責任者は 8 週時点の総合評価を含めた治療中、治療後に集積されたデータを含めて、追加投与申請書を安全・効果評価・適応判定部会に提出する。部会において追加投与に関する適格性を科学的、倫理的に評価し、その上部組織である遺伝子治療臨床研究審査委員会に意見を提出する。投与回数の上限は設定しないが、「治療中止の判定基準」を満たす場合には投与を中止する。また投与を継続する場合は、初回と同様に 2 回目毎に投与を終了した 28 日後に総合評価を安全・効果評価・適応判定部会にて行い投与継続の適格性を科学的、倫理的に評価する。

B) ハイリスク初発限局性前立腺癌

岡山大学病院北病棟 3 階手術場無菌室内にて、全身麻酔を施行し、経直腸的超音波装置を用い病変部を確認した後、その超音波装置に装着された穿刺用ガイド装置を用い REIC/Dkk-3 遺伝子発現アデノウイルスベクターの溶液を 1 ないし 2 ヶ所 (最大 2 ヶ所) に注入する。ウイルスベクター溶液は 1 ヶ所につき 1 ml とする。注入そのものにより前立腺部の一過性の腫大を来し、尿閉を生じることがまれにあるため、尿道カテーテルを注入直後に留置し、翌日抜去する。治療後 3 日間の抗生剤投与を行う。その後、プロトコルを遵守して安全性ならびに治療効果の評価を行う。重篤な副作用を認めない場合は 14 日後に 2 回目のウイルスベクター注入を実施する。2 回目の投与を終了した 42 日後に、外科的切除 (根治的前立腺全摘術) を行う。その後、プロトコルを遵守して安全性ならびに治療効果の評価を行う。

3. 安全性の評価

それぞれ、以下に示すタイムスケジュールにて安全性の評価に関する検査を行う。

A) 内分泌療法抵抗性再燃前立腺癌

項目	投与前	1日後	7日後	2週後	4週後 (2回目投与前)	8週後 (2回目投与4週後)	治療終了後 3ヶ月毎	治療終了後1年後 (以後3ヶ月ごと5年日まで)
	各投与毎に実施						治療終了とは最終投与4週後をさす	
4週ごとの2回投与を1サイクルとする 継続投与症例はこのサイクルを繰り返す								
理学所見 (体重、PSを含む)	○	毎日観察する			○	○	○	○
血液一般 (血小板数、白血球分画を含む)	○	2日毎に観察 ○		○	○	○	○	○
生化学検査一般 (腎機能・肝機能を含む)	○	2日毎に観察 ○		○	○	○	○	○
クレアチニン・クリアランス	○					○		
PT, PTT, fibrinogen	○					○		
尿沈渣	○		○	○	○	○	○	○
尿培養、感受性試験	○		○			○		
アデノウイルス中和抗体測定	○		○	○	○	○	○	○
アデノウイルスベクターの同定 (血液、尿中PCR法)	○	2日毎に観察 ○			○	○		
心電図	○			○		○	○	○
胸部レントゲン	○		○			○	○	○
排尿状態 (Uroflowmetry, IPSS score)	○*		○*		○*	○	○*	○
採血量 (ml)	14	10	10.2	8.2	10.2	14	8.2	8.2

*前立腺内注入例または前立腺全摘出後の局所再発に実施

B) ハイリスク初発限局性前立腺癌

項目	投与前	1日後	7日後	2週後 (2回目投与)	4週後	8週後 (外科的切除)	12週後(治療終了) (外科的切除4週後)	治療終了後 3ヶ月毎	治療終了後 1年後
	各投与毎に実施							(以後3ヶ月ごと 5年目まで)	
	2週ごとの2回投与を行う							治療終了とは外科的切除4週 後をさす	
理学所見 (体重、PSを含む)	○	毎日観察する		○	○	○	○	○	○
血液一般 (血小板数、白血球分 画を含む)	○	2日毎に観察 ○		○	○	○	○	○	○
生化学検査一般 (腎機能・肝機能を含 む)	○	2日毎に観察 ○		○	○	○	○	○	○
クレアチニン・クリア ランス	○					○	○		
PT, PTT, Fibrinogen	○					○	○		○
尿沈渣	○	○		○	○	○	○	○	○
尿培養、感受性試験	○	○				○	○		
アデノウイルス中和抗 体測定	○	○		○	○	○	○	○	○
アデノウイルスベク ターの同定 (血液、尿中PCR法)	○	2日毎に観察 ○			○	○	○		
心電図	○			○			○	○	○
胸部レントゲン	○			○			○	○	○
排尿状態 (Uroflowmetry, IPSS score)	○			○	○			○	○
採血量 (ml)	14	10	10.2	8.2	10.2	10.2	14	8.2	8.2

4. 有効性の評価

以下にそれぞれ示すタイムスケジュールにて効果判定に関する検査を行い、臨床症状や腫瘍マーカーの推移、画像評価を行う。

A) 内分泌療法抵抗性再燃前立腺癌

項目	投与前	3日	7日後	2週後	4週後 (2回目投与前)	8週後 (2回投与4週後)	治療終了後 3ヶ月毎	治療終了後1年後 (以後3ヶ月ごと5年目まで)	
	4週ごとの2回投与を1サイクルとする 継続投与症例はこのサイクルを繰り返す							治療終了とは 最終投与4週後をさす	
	PSA								
PSA	○			○	○	○	○	○	
REIC/Dkk-3 mRNA	○	○	○	○	○	○	○	○	
REIC/Dkk-3蛋白	○	○	○	○	○	○	○	○	
経直腸的超音波検査 (注)	○								○
前立腺生検 または組織生検	○	○*					○	○ (1年毎)**	
骨シンチ	○						○	○ (1年毎)	
骨転移部のMRI (骨転移症例)	○						○	○	
前立腺部MRI (注)	○						○	○	
腹部、骨盤部CT	○						○	○	
採血量 (ml)	19.5	9.5	14.5	14.5	19.5	19.5	19.5	19.5	

注 前立腺全摘除例については、吻合部の検査を行う

* 主治医が医学的に可能と判断し、同意が得られた場合 48-72 時間後に実施 (遺伝子発現解析)

** 同意が得られた患者に対して治療終了後 1 年後より 1 年毎に施行予定 (組織学的治療効果判定)

B) ハイリスク初発限局性前立腺癌

項目	投与前	3日	7日後	2週後	4週後	8週後 (外科的切除)	12週後 (外科的切除4週後)	治療終了後 3ヶ月毎	治療終了後
									1年後 (以後3ヶ月ごと5年目まで)
PSA	○			○	○	○	○	○	○
REIC/Dkk-3 mRNA	○	○	○	○	○	○	○	○	○
REIC/Dkk-3蛋白	○	○	○	○	○	○	○	○	○
経直腸的超音波検査	○								○
前立腺生検	○								
骨シンチ	○						○	○	○ (1年毎)
前立腺部MRI	○						○	○	○
腹部、骨盤部CT	○						○	○	○
採血量 (ml)	19.5	9.5	14.5	14.5	19.5	19.5	19.5	19.5	19.5

上記表での項目に加えて、B)ハイリスク初発限局性前立腺癌では、外科的切除により摘出した前立腺組織を用いた、組織学的検討 (アポトーシスの有無、免疫学的検討) も行う。

5. 本臨床研究による治療終了 (最終投与又は外科的切除から 4 週後をさす) 後、患者のフォローアップとして岡山大学病院において投与後 60 ヶ月まで追跡調査をする。

6. 選択基準

それぞれ、以下の条件を満たす患者を対象とする。

A) 内分泌療法抵抗性再燃前立腺癌

(ア) 被験者は 20 歳以上の成人としその年齢に上限を設けないが、医学的に本試験を遂行するに足る十分な身体的機能を有すると判断された者

- (イ) 内分泌治療を施行中であること。
- (ウ) 血中テストステロンが 1 ng/ml 以下の症例。
- (エ) 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し、最終的に PSA 値が 4.0ng/ml 以上) を認める生物学的に活動性の局所再燃癌。被験者登録時から 3 回前に測定した数値からの 3 回連続上昇となる。
- (オ) 前治療の影響がないと考えられる症例。
- (カ) 被験者は、効果判定のため少なくとも 12 週以上の生存が期待でき、performance status (PS) が 2 以下の者。
- (キ) 被験者は正常な骨髄機能、肝機能、腎機能を保っていること。その指標としては、末梢血顆粒球数 > 2000/mm³、血小板数 > 100,000/mm³、総ビリルビン < 1.5mg/dl、クレアチニン < 1.5mg/dl とする
- (ク) 被験者はドセタキセルが無効となった者。ただし、高齢、薬剤へのアレルギーなどの理由で同薬の投与が不適切・困難と判断される症例はドセタキセル投与の有無にかかわらず対象とする。

B) ハイリスク初発限局性前立腺癌

- (ア) 被験者は 20 歳以上 75 歳以下の成人とし、医学的に本試験を遂行するに足る十分な身体的機能を有すると判断された症例
- (イ) 前立腺生検にて組織学的に前立腺癌と診断され、かつ臨床的に前立腺に局在すると判断された症例
- (ウ) 初発例で前立腺癌に対する治療を受けていない症例
- (エ) 画像上明らかな転移を病巣有さない症例
- (オ) 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予測される症例 (総得点 115 点以上)
- (カ) 被験者は、効果判定のため少なくとも 12 週以上の生存が期待でき、performance status (PS) が 2 以下の症例。
- (キ) 被験者は正常な骨髄機能、肝機能、腎機能を保っていること。その指標としては、末梢血顆粒球数 > 2000/mm³、血小板数 > 100,000/mm³、総ビリルビン < 1.5mg/dl、クレアチニン < 1.5mg/dl とする
- (ク) 出血傾向を認めない (PT・PTT の著明延長を認めない) 症例。

7. 除外基準

以下の項目に該当する被験者は本研究の対象としない。

- 1) コントロールされていない活動性感染症など、重篤な併発疾患がある場合。
- 2) 本研究参加 6 ヶ月以内に未承認薬の臨床試験 (治験も含む) に参加している場合。
- 3) 前立腺癌以外の悪性腫瘍歴がある場合。ただし根治しており、無病期間が 2 年以上に達している場合はこの限りではない。
- 4) 当該臨床研究にいったん参加し何らかの理由で投与を終了した場合 (重複登録の禁止)
- 5) その他、担当医が不適当と認める場合。

8. 被験者の同意の取得方法

A) 内分泌療法抵抗性再燃前立腺癌 では、内分泌療法抵抗性前立腺癌の病態と従来の治療法に対し抵抗性であること、B) ハイリスク初発限局性前立腺癌 では、手術単独療法では、将来再発を来す可能性が高いこと、をそれぞれ説明した上で、さらに本臨床研究の理論的背景と動物実験成績、安全性に関する成績に関して十分な説明を患者本人または代諾者に対して行い、十分な理解を得た上で自由な意思によって本臨床研究の被験者となることについて文書に基づいて同意を得る。

同意の取得は患者登録時、および全身検索が終了し、安全・効果評価・適応判定部会が適応有り判定した後の計 2 回行う。

また、同意に関連しうる新たな重要な情報を入手した場合は、その情報を被験者または代諾者に伝え、継続して参加するか否かについて被験者の意思を確認す

	<p>る。</p> <p>9. 実施期間および目標症例数 本研究の実施期間は最終症例の治療終了後5年間とする。予定症例数は計画通りに進めばA、B各群それぞれ、12例、各用量レベルでの副作用の出現の有無によって最大それぞれ18例とする。</p>
<p>備 考</p>	<p>被験者の同意取得について：被験者は本臨床研究について、文書に基づいて説明を受け、その内容と期待される治療効果及び危険性を十分に理解し、自主的に同意をした上で、同意書に署名するものとする。なお、同意後も被験者からの申し出により同意を撤回し、本臨床研究への参加をいつでも中止することができるものである。</p> <p>個人情報については、「遺伝子治療臨床研究に関する指針」、「国立大学法人岡山大学病院の保有する個人情報の適切な管理のための措置に関する規程」に沿って適切な取り扱いを行うものとする。</p>

別紙理由書

岡山大学病院遺伝子治療臨床研究審査委員会
が研究計画の実施を適当と認める理由

岡山大学病院遺伝子治療臨床研究審査委員会の遺伝子治療臨床研究実施計画に係わる審査状況及び実施計画が適当であると承認した理由は、次のとおりであります。

1. 審査の経過状況

泌尿器病態学講座公文裕巳教授から、平成20年5月1日付けで岡山大学病院遺伝子治療臨床研究審査委員会（以下「審査委員会」という）規定に基づき、「前立腺癌に対する Reduced Expression in Immortalized Cells/Dickkopf-3 (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」の審査申請書の提出があった。

平成20年7月23日第1回審査委員会を開催し、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16年12月28日全部改正）に基づき、本遺伝子治療計画の研究の目的、対象疾患、遺伝子の導入方法、国内外におけるこれまでの研究の成果、安全性及び有効性、インフォームド・コンセント等について審査を開始した。

審査委員会では、本遺伝子治療臨床研究実施計画概要書、実施計画書等に関し、総括責任者である泌尿器病態学講座公文裕巳教授ほか臨床研究者から詳細な説明を求めるとともに、審査委員の質疑に対する説明資料の提出を求め、慎重に検討を重ねた。

特に、新規性という観点より REIC/Dkk-3 遺伝子導入による抗腫瘍効果発現の詳細な機序、また安全性について解説をもとめ慎重に検討を行った。

また、審査委員会に本遺伝子治療の安全性や効果の評価並びに被験者の適応性に関する専門的事項を調査検討する組織として、生物薬品製造学等の研究者を含めた「安全・効果評価・適応判定部会」を設置し、本臨床研究の具体的実施に関して、その留意点、改善点等があれば審査委員会に意見を提出する体制とした。

さらに、「説明書と同意書」については、よりわかりやすい内容とする観点から、報道機関に公開し、広くその意見を反映させるなど社会に開かれた臨床研究とすべく審査が進められた。

平成21年4月6日開催の第3回審査委員会において、今日までの審議結果から、申請に向けての条件がクリアされており、厚生労働省へ申請手続きを進めることの結論に達した。

2. 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概要書、実施計画書等を慎

重に審査した結果、本遺伝子治療臨床研究は、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 16 年 12 月 28 日全部改正）の必要要件を満たしていると認め、所轄官庁への臨床研究実施計画申請を承認することを差し支えないものと判断した。

平成 21 年 4 月 27 日

岡山大学病院
遺伝子治療臨床研究審査委員会委員長
伊達 勲



〔資料2〕

遺 伝 子 治 療 臨 床 研 究 実 施 計 画 概 要 書

平成 23 年 3 月 28 日

研究の名称	悪性胸膜中皮腫に対する Reduced Expression in Immortalized Cells/Dickkopf-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
研究実施期間	平成 年 月 日 (承認日) から最終症例の治療終了後 5 年間

総括責任者	所属部局の所在地	岡山市北区鹿田町 2-5-1 (郵便番号 700-8558)	
	所属機関・部局・職	岡山大学病院・呼吸器外科・助教	
	氏 名	豊 岡 伸 一 印	
実施施設	所 在 地	岡山市北区鹿田町 2-5-1 (郵便番号 700-8558)	
	名 称	岡山大学大学院医歯薬学総合研究科病態制御科学専攻 (腫瘍・胸部外科学分野) 及び岡山大学病院	
	連 絡 先	岡山市北区鹿田町 2-5-1 (電話番号 086-235-7265) 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 (腫瘍・胸部外科学分野)	
総括責任者以外の研究者	氏 名	所属機関・部局・職	役 割
	宗 淳 一	岡山大学病院 呼吸器外科・助教	患者の選定、患者への説明及び同意の取得、ベクターの調製、ベクターの投与、臨床観察、臨床効果判定
	山 根 正 修	岡山大学病院 呼吸器外科・助教	患者の選定、患者への説明及び同意の取得、ベクターの調製、ベクターの投与、臨床観察、基礎的効果判定
	大 藤 剛 宏	岡山大学病院 呼吸器外科・講師	患者への説明及び同意の取得、ベクターの投与、臨床観察
	三 好 新 一 郎	岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 腫瘍・胸部外科学・教授	患者の選定、臨床観察、基礎的効果判定
	堀 田 勝 幸	山大学病院 血液・腫瘍・呼吸器・アレルギー内科・助教	患者の選定、患者への説明及び同意の取得、ベクターの調製、ベクターの投与、臨床効果判定
市 原 英 基	岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 緩和医療学講座・助教	患者への説明及び同意の取得、ベクターの投与、臨床効果判定	

総括責任者以外の研究者	滝川 奈義夫	岡山大学病院 血液・腫瘍・呼吸器・アレルギー内科・助教	患者への説明及び同意の取得、ベクターの投与、臨床効果判定
	田端 雅弘	岡山大学病院 腫瘍センター・准教授	患者の選定、臨床効果判定、臨床観察
	木浦 勝行	岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 血液・腫瘍・呼吸器内科学・准教授	患者の選定、臨床観察、基礎的効果判定、臨床効果判定
	谷本 光音	岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 血液・腫瘍・呼吸器内科学・教授	患者の選定、臨床観察、臨床効果判定
	芝本 健太郎	岡山大学病院 放射線科・助教	ベクター投与、画像効果判定
	平木 隆夫	岡山大学病院 放射線科・助教	ベクター投与、画像効果判定
	郷原 英夫	岡山大学病院 放射線科・助教	ベクター投与、画像効果判定
	三村 秀文	岡山大学病院 放射線科・准教授	ベクター投与、画像効果判定
	金澤 右	岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 放射線医学科・教授	ベクター投与、画像効果判定
	渡部 昌実	岡山大学病院 遺伝子・細胞治療センター・准教授	ベクターの調製、ベクターの管理、基礎的効果判定
那須 保友	岡山大学病院 新医療研究開発センター・教授	総括責任者の補佐、研究全体の総合的支援、関係省庁との調整	
研究協力者	公文 裕巳	岡山大学大学院医歯薬学総合研究科泌尿器病態学・教授	研究の円滑な遂行のための包括的アドバイス(研究全般)
	大槻 剛巳	川崎医科大学衛生学・教授	研究の円滑な遂行のための包括的アドバイス(免疫学的事項)
	岡部 和倫	国立病院機構山口宇部医療センター・外科系診療部長、呼吸器外科医長	研究の円滑な遂行のための包括的アドバイス(臨床的事項)
	岸本 卓巳	独立行政法人労働者健康福祉機構岡山労災病院・副院長	研究の円滑な遂行のための包括的アドバイス(臨床的事項)

	<p>中野孝司</p> <p>樋野興夫</p> <p>Steven Albelda</p> <p>塩見均</p>	<p>兵庫医科大学呼吸器内科・教授</p> <p>順天堂大学医学部病理・腫瘍学・教授</p> <p>University of Pennsylvania Medical Center, Pulmonary, Allergy & Critical Care Division, William Maul Measey Professor of Medicine</p> <p>桃太郎源株式会社 代表取締役社長</p>	<p>研究の円滑な遂行のための包括的アドバイス (臨床的事項)</p> <p>研究の円滑な遂行のための包括的アドバイス (臨床的事項)</p> <p>研究の円滑な遂行のための包括的アドバイス (臨床的事項)</p> <p>米国における関連情報の提供 アデノウイルスベクターの供与</p>				
			<table border="1"> <tr> <td data-bbox="770 828 1124 896">審査委員会の長の職名</td> <td data-bbox="1124 828 1424 896">氏名</td> </tr> <tr> <td data-bbox="770 896 1124 1030">岡山大学病院 遺伝子治療 臨床研究審査委員会 委員長</td> <td data-bbox="1124 896 1424 1030">伊達 勲 印</td> </tr> </table>	審査委員会の長の職名	氏名	岡山大学病院 遺伝子治療 臨床研究審査委員会 委員長	伊達 勲 印
審査委員会の長の職名	氏名						
岡山大学病院 遺伝子治療 臨床研究審査委員会 委員長	伊達 勲 印						

研究の区分	○遺伝子治療臨床研究	遺伝子治療標識研究
研究の目的	<p>本臨床研究は、悪性胸膜中皮腫に対し Reduced Expression in Immortalized Cells/Dickkopf-3 (以下、REIC/Dkk-3) 遺伝子発現アデノウイルスベクターを単独で投与した場合、</p> <ol style="list-style-type: none"> 1) 安全性の検討 (最大耐量の推定) を行うことを本試験の主な目的とする (主要エンドポイント)。 2) 治療効果の観察 (評価可能症例) を行い、治療効果を総合的に判定する (副次エンドポイント)。 3) 当該遺伝子治療における有効性を来す可能性のある免疫学的な反応を解析するとともに、治療効果の病理学的評価を行う (副次エンドポイント) <p>悪性胸膜中皮腫症例に対して、REIC/Dkk-3 遺伝子発現アデノウイルスベクターを単独で胸水または局所病巣内に直接投与する。</p> <p>その際の質的、量的安全性を確認し、治療効果の判定を行うとともに、腫瘍退縮や腫瘍マーカーの低下を期待する際の根拠となる、組織学的 (外科的切除後の病理学的な評価も含む)、分子生物学的効果、ベクターの感染、mRNA レベル及びたんぱく質レベルでの REIC/Dkk-3 遺伝子の発現について総合的に解析することを目的とした第 I / II 相試験とする。</p> <p>本臨床研究は岡山大学前立腺がん遺伝子治療臨床研究プロトコルを参考に、悪性胸膜中皮腫臨床プロトコル検討委員会を含む研究協力者と岡山大学の研究者間で実施される共同研究であり、製造販売承認を目的とした治験ではない。</p> <p>本臨床研究に用いられる REIC/Dkk-3 遺伝子発現アデノウイルスベクターは桃太郎源株式会社より供給される。</p>	
対象患者及びその選定理由	<ol style="list-style-type: none"> 1. 対象疾患 本臨床研究では悪性胸膜中皮腫と診断され、選択基準に該当し、除外基準に抵触しない患者を対象とする。 2. 対象疾患の選定理由 (対象疾患に対する現時点での知見) 悪性胸膜中皮腫は、アスベストへの曝露を原因として発症するとされ、実際にアスベストを吸入してから悪性胸膜中皮腫を発症するまで 20 年から 40 年の潜伏期間があると言われているが、米国では早期のアスベスト規制の結果、すでに 2004 年をピークに悪性胸膜中皮腫の患者数、死亡数とも減少傾向に向かっている。 一方、規制の遅れた日本では、悪性胸膜中皮腫の患者は、1980 年代前半には年間 100 人程度であったが、95 年に 500 人、2004 年には 953 人となっている。1960 年代以降のアスベストの輸入量増加や広範な利用状況を考慮すれば、2025 年にピークに達し、今後 40 年間の死亡者は 10 万 3000 人に達すると推計されている。 さらに、欧州における患者数のピークは 2015 年から 20 年で、今後の 40 年間の死亡者は 25 万人とされ、経済成長の著しい中国やインドにおいては、アスベストの使用は未だに禁止されておらず、早晩、大量の患者が発生すると考えられている。 このように、世界的に増加が推定される悪性胸膜中皮腫患者に対する治療薬のニーズは高まると予測されるが、現時点で悪性胸膜中皮腫に対する治療薬としては顕著に有効な薬剤はない。米国で 2004 年に、日本で 2007 年に承認されたペメトレキセド (商品名: アリムタ) においても、シスプラチンとの併用で延命効果があることが示されているものの、臨床試験に参加した症例では 1 年生存期間中央値 12.1 カ月、1 年生存率 50.3% と限定的なもので、新しい薬剤の開発が強く望まれている。 <p>(REIC/Dickkopf-3 による遺伝子治療に関する現時点での知見)</p> <p>新規がん治療遺伝子 REIC/Dickkopf-3 は、2000 年に、岡山大学での細胞の不死化の研究の過程において、ヒト正常線維芽細胞の不死化に伴って発現が減弱する遺伝子として同定された遺伝子⁴⁾で、細胞のアポトーシスを司る遺伝子と考えられている。後に、アフリカツメガエルの頭部形成に関わる Dkk (dickkopf) 遺伝子ファミリー</p>	

リーの Dkk-3 と相同であることが明らかになった。

REIC/Dkk-3 遺伝子は正常細胞では発現しているが、種々のがん細胞（肺非小細胞がん、腎がん、前立腺がん、精巣がん、胸膜悪性中皮腫）で発現が低下しており、これらのがん細胞に REIC/Dkk-3 遺伝子を過剰発現させると、対照とした正常細胞には傷害を与えず、がん細胞選択的に小胞体ストレスによるアポトーシスが誘導された^{6,7)}。前立腺がんでは、研究協力者・分担者である公文・那須らのグループにおける検討で、マウス前立腺がん同所移植モデルを用いた前臨床試験において、ヒト REIC/Dkk-3 遺伝子発現アデノウイルスベクター（以下、Ad-REIC）の局所投与により、①局所前立腺腫瘍の発育抑制、②肺及びリンパ節転移の抑制という全身効果、③生存期間の延長効果が確認され、原発巣のみならず転移病巣の治療も目的とした REIC/Dkk-3 遺伝子の局所投与の有用性が明らかにされた。すなわち、局所への遺伝子導入（*in situ* gene therapy）により、局所での腫瘍退縮とともに、全身への治療効果を期待するという臨床研究立案のための科学的根拠が明らかにされている。

選択的細胞死による直接的な抗腫瘍効果のみならず、REIC 遺伝子により産生される分泌型 REIC タンパクは、樹状細胞様細胞の分化誘導能を有している。このことは、Ad-REIC による局所遺伝子治療は、腫瘍局所において選択的細胞死の結果生じる‘がん細胞膜断片（がん抗原）’の樹状細胞様細胞への取込みによる特異的な細胞傷害性 T 細胞を誘導するという、自己がんワクチン化のための最適環境を構築する治療法として位置づけることができる。さらに、Ad-REIC の局所腫瘍内投与は、腫瘍組織内間質細胞などからの Interleukin-7 (IL-7) の産生による NK 細胞の活性化も同時に惹起されることから、これらの相乗的な抗がん免疫の賦活化作用の結果として、局所がん病巣のみならず遠隔転移病巣への顕著な治療効果が存在することが動物実験において実証されている（6-3-4-3. 前立腺がんでの基礎的研究に詳細を記載）。これらの研究を踏まえ前立腺がんを対象とした臨床研究はすでに実施承認されている（平成 23 年 1 月 25 日実施）。

悪性胸膜中皮腫に対しても臨床研究の導入を企図して同様の研究が実施された（6-3-4-1. 悪性中皮腫での基礎的研究）。Ad-REIC の局所投与により、①局所腫瘍の発育抑制、②生存期間の延長効果が確認され、③遠隔病巣の発育抑制という全身効果も確認された。これらの結果は前立腺がんを対象とした前臨床研究と同等のものであり、悪性胸膜中皮腫を対象に臨床研究を開始するための科学的根拠となり得る。

安全性という観点においても種々の検討が実施されている。Ad-REIC による各種正常細胞に対する細胞毒性について解析を行ったが明らかな細胞毒性は認められていない（6-3-4-2. 各種正常細胞における細胞毒性の解析）。また、投与におけるヒトでの安全性をさらに確認、確保する目的で、種々の動物実験が実施されているが、動物実験レベルではいずれも有害事象は生じていない。さらに、正常細胞においても REIC は強く発現しており、Ad-REIC の局所投与にともなう全身的な随伴症状（副作用）はほとんどないものと考えられる。

以上のように、悪性胸膜中皮腫は現存の治療薬だけでは十分な有用性が得られていないこと、悪性胸膜中皮腫において REIC の発現が 90%以上の症例において抑制されていることさらに前臨床研究（*in vitro*, *in vivo*）における安全性、有効性に関する良好な結果より、悪性胸膜中皮腫に対する REIC/Dkk-3 遺伝子治療は効果が期待されると考え、アデノウイルスベクターにより REIC/Dkk-3 遺伝子を直接がん細胞に導入する遺伝子治療臨床研究を計画した。

遺伝子の種類及びその導入方法

1. ヒトに導入する REIC/Dkk-3 遺伝子の構造、性質、活性（遺伝子の構造）

導入を企図する遺伝子は、Reduced Expression in Immortalized Cells/Dickkopf-3 (REIC/Dkk-3) タンパク質の全ての翻訳領域を含む遺伝子である。ヒト REIC/Dkk-3 遺伝子発現 pAxCawt（コスミドカセットであり、日本国の RIKEN BioResource Center の Recombinant Virus Database No. 1678 より情報を得た）を、E1 領域を欠き複製能力を持たないヒトアデノウイルス 5 型ベクターに組み込み、組換えアデノウイルスベクターを作製した。このアデノウイルスベクターを、E1 遺伝

子導入 PerC6 細胞への感染により増殖させ、塩化セシウム (CsCl) を用いた超遠心にて精製したロットを臨床研究に用いる。REIC/Dkk-3 遺伝子発現アデノウイルスベクターを腫瘍組織内に直接注射することにより REIC/Dkk-3 遺伝子を導入する。アデノウイルスベクターは高力価の濃縮ベクター液を調製することが可能であり、またアデノウイルスベクターの高い遺伝子導入効率は腫瘍内直接投与に適していると思われる。

(REIC/Dkk-3 遺伝子の生物活性)

REIC/Dkk-3 は分子量 38.3kDa の糖タンパク質で、N 末端に 1 つのシグナルペプチドとシステインドメイン、coiled-coil ドメインをそれぞれ 2 つずつ有する 350 のアミノ酸より構成される。REIC/Dkk-3 は Dkk ファミリーと呼ばれる分泌型蛋白群の一種で、Wnt 受容体を介して Wnt シグナル伝達を阻害することが知られている。

REIC/Dkk-3 は腫瘍特異的細胞アポトーシスを誘導する機能を有していると考えられており、その機序として、c-Jun-N-terminal kinase (JNK) を活性化させることでの、Bax のミトコンドリアへの移行促進作用が考えられている。一連の研究において、種々のがん腫で (肺非小細胞がん、腎がん、前立腺がん、精巣がん) で REIC/Dkk-3 の発現が低下しており、その機序として、REIC/Dkk-3 遺伝子プロモーターの過メチル化が指摘されている。これらの腫瘍細胞に REIC/Dkk-3 遺伝子を過剰発現させると、腫瘍細胞のアポトーシスが誘導された。

一方、正常細胞に REIC/Dkk-3 遺伝子を過剰発現させてもアポトーシスが生ずることはほとんどなく、REIC/Dkk-3 には腫瘍特異的なアポトーシス誘導作用がある。その機序として小胞体ストレスが関与することを我々は解明した。すなわち、本来がん細胞では REIC/Dkk-3 タンパク質発現が抑制されているため、REIC/Dkk-3 ががん細胞において強制発現され多量の REIC/Dkk-3 タンパク質が細胞内の小胞体において作られる場合、がん細胞においてより選択的に小胞体ストレスが発生すると考えられる。このことが、REIC/Dkk-3 タンパク質の強制発現による腫瘍特異的細胞アポトーシス誘導の一つの機序と考えられる。

分泌型 REIC タンパクによる樹状細胞の分化誘導作用と正常細胞での IL-7 の産生に基づく NK 細胞の活性化による相乗的抗がん免疫活性化作用が確認されている。

2. 遺伝子導入方法の概略

(ベクターの生産)

本臨床研究に用いられる REIC/Dkk-3 遺伝子発現アデノウイルスベクターは、(株) 桃太郎源社が製造委託した、米国の Sigma-Aldrich Fine Chemical 社で作製され、同社より直接岡山大学に供給される。

(遺伝子導入方法)

本遺伝子治療臨床研究の適応が予測される患者について、岡山大学病院にて患者 (必要な場合は患者及び代諾者^{注)}) に対し、文書による説明 (第 1 回目) を行い、文書による同意が得られた場合に限り本臨床研究に患者登録し、治療前検査を開始する。

^{注)} 代諾者とは被験者の配偶者、後見人、その他これらに準じる者 (成人の子、親、成人の兄弟姉妹など) をさす。

治療前検査にて上述した選択基準に合致、さらに除外基準に抵触しないことが明らかになった場合、治療前検査データを基に安全・効果評価・適応判定部会にて適応を評価する。同部会において本臨床研究の適応と判断された場合、岡山大学病院にて患者 (必要な場合は患者及び代諾者) に対し、文書による説明 (第 2 回目) を行う。

説明と同意書は、本計画書に添付資料 12-1 (悪性胸膜中皮腫遺伝子治療臨床研究のための説明と同意書) として含まれている。同意書は 2 部作成し、署名又は記名捺印された 1 部を被験者に手渡し、他の 1 部を診療記録とともに保存する。

文書による同意が得られた場合に限り、以下の方法によって本臨床研究を実施する。

1) 投与当日、岡山大学病院北病棟 5 階遺伝子細胞治療センターに -80℃ で凍結保管

	<p>してある REIC/Dkk-3 遺伝子発現アデノウイルスベクター液を封入しているポリプロピレン製クリオチューブを同施設内安全キャビネット内へ移動、溶液を融解する。</p> <p>2) REIC/Dkk-3 遺伝子発現アデノウイルスベクター液を専用のキャリアバック内に厳重に封入して、保冷下で岡山大学病院中央放射線部 CT 室に搬入する。</p> <p>3) 各症例に対し、以下の方法にてアデノウイルスベクターを注入する。</p> <p>4) 岡山大学病院中央放射線部 CT 室にて、原則として局所麻酔を施行し、CT ガイド下に、REIC/Dkk-3 遺伝子発現アデノウイルスベクター液を、胸水貯留を認める胸腔中、または評価可能な 1 病変部に注入する。ウイルスベクター液の注入量は胸水中（胸腔）へは 50ml、病変部には 1-2ml とする。胸腔内注入の際は胸腔内にカテーテルチューブを挿入し、可能な限り胸水を排出したのち注入する。</p> <p>注入後の岡山大学病院中央放射線部 CT 室内の消毒、清掃は専門業者（医療関連サービスマーク認定）に依頼する。その後、プロトコルを遵守して安全性並びに治療効果の評価を行う。投与から 4 週後に臨床症状、検査及び病変部の総合評価を行う。</p> <p>ベクター投与量は、ベクター粒子数(vp: viral particle)漸増的に 5 段階とし、用量レベル上昇の適応評価については、それぞれのステージの投与 4 週以降に安全・効果評価・適応判定部会を開催し、全ての症例について投与 4 週後までのデータを基に総合評価する。</p> <p>安全であると判定された後、次のステージを開始する。</p>
<p>これまでの研究成果（臨床に関して）</p>	<p>1. REIC/Dkk-3 遺伝子治療に関して</p> <p>1) 国内の状況</p> <p>岡山大学は前立腺がんを対象とした臨床研究を二つの病態群を対象として実施予定である。カテゴリーA：内分泌療法抵抗性再燃前立腺がん、カテゴリーB：外科的切除の適応のあるハイリスク初発限局性前立腺がん（ネオアジュバント投与）</p> <p>当該臨床研究は平成 22 年 12 月 22 日厚生科学審議会科学技術部会において承認（平成 23 年 1 月 6 日付け 厚生労働大臣意見書発出）されており、すでに平成 23 年 1 月 25 日に第 1 例目を実施した。</p> <p>2) 国外の状況</p> <p>桃太郎源株式会社は、米国での臨床研究実施を計画し FDA との事前協議(平成 20 年 11 月)、Pre-preIND 会議(平成 21 年 1 月)、ワシントン DC での Pre-IND 会議(平成 21 年)を実施し、平成 22 年 3 月に Ad-REIC 製剤を、米国 FDA に IND (Investigational New Drug) 申請、NIH の RAC (Recombinant DNA Advisory Committee・平成 22 年 3 月) 公聴会を通過、平成 22 年 3 月 31 日付けで IND を通過した。ニューヨークマウントサイナイ病院での「再発高リスク限局性前立腺がんを対象とする術前治療」ネオアジュバント遺伝子治療として FIM (First-in-Man) 試験を実施する予定である。</p> <p>2. 悪性胸膜中皮腫の遺伝子治療について</p> <p>2) 悪性胸膜中皮腫に対する遺伝子治療について。</p> <p>悪性胸膜中皮腫に対する遺伝子治療は本邦では行われていない。世界的には米国のペンシルベニア大学、オーストラリアの西オーストラリア大学で行われている。ペンシルベニア大学での遺伝子治療は Albelda らのグループにより行われ、論文発表されているものとして、①Herpes Simplex Virus-thymidine kinase (HSV-tk) を組み込んだアデノウイルスベクターの胸腔内投与とガンシクロピルの全身投与を組み合わせた遺伝子治療、②インターフェロンベータ (IFN-beta) を組み込んだアデノウイルスベクター胸腔内投与による遺伝子治療、がある。</p> <p>① HSV-tk による遺伝子治療の臨床第 1 相試験は 1995 年 11 月から開始された。HSV-tk 遺伝子が組み込まれたアデノウイルスベクターを 1 回、胸腔内に直</p>

接投与し、その後ガンシクロビルの全身投与を行った。21 人の未治療の悪性中皮腫患者に対して投与するウイルス量を約 3 倍ずつ上げ、 5.0×10^{13} vp まで達したが、重篤な副作用は認めず、最大耐量には達しなかった[一過性リンパ球減少 (grade 4) 1 例、肝機能異常 (grade 3) 1 例、その他、軽度の一過性の発熱、低酸素血症)、低血圧)、肝機能異常、低酸素血症など]。抗腫瘍効果としては 21 例中 18 例が効果を判定するのに十分な期間を得ており、うち 3 例が 1998 年 2 月の段階で画像上腫瘍の進行を認めなかった。その後、HSV-tk 遺伝子治療はステロイドを追加した投与法に変更し 5 名の患者に施行、また、1998 年 6 月からは単純ヘルペスウイルスチミジンキナーゼ遺伝子はそのままだウイルスの他の構造をより安全に変更したウイルスベクターを用いて (E1/E3 欠失ウイルスから E1/E4 欠失ウイルスへ変更) 8 例に治療を行った。すなわち、合計 34 名の患者に HSV-tk 遺伝子が組み込まれているアデノウイルスベクターが投与された。追加の症例においても重篤な副作用は認められなかった。この追加症例のうち 2 例において 6.5 年以上の長期生存を認めている (2005 年論文発表時)。この 2 名の Positron Emission Tomography (PET) 検査では腫瘍部における、2-deoxy-2-[F-18] fluoro-D-glucose (FDG) の取り込みの低下が確認された (2011 年 3 月の時点で生存例は 1 例、10 年以上の長期生存、もう 1 例は治療後約 8 年後死亡。Dr. Albelda, personal communication)。

② IFN-beta を組み込んだアデノウイルスベクターによる悪性胸水例に対する遺伝子治療の臨床第 1 相試験が 2003 年 8 月から開始された。投与は、胸腔内投与 1 回であり、悪性胸膜中皮腫 7 例、悪性胸水を伴う非小細胞肺癌 2 例、卵巣癌 1 例に行われた。投与開始量である 9.0×10^{11} vp では重篤な副作用は認められなかったが、1 段階投与量を上げたウイルス量の 3.0×10^{12} vp では 4 例中 2 例で重篤な低酸素血症 (grade 3)、肝機能障害 (grade 3) をそれぞれ認めた。低酸素血症を認めた症例は併存疾患として慢性心不全を伴う症例であり、肝機能障害を認めた症例は、以前、悪性リンパ腫のため腹部に放射線治療の既往がある症例であった。この結果、最大耐量は 9.0×10^{11} vp と決定された。悪性胸膜中皮腫 7 例の治療効果に関しては、投与後 60 日の CT の評価において 4 例で腫瘍の大きさは変わらず、3 例で腫瘍の増大を認めた。また PET 検査では 3 例で不変、1 例で FDG の取り込みの低下を認めた。生存に関しては研究が発表された 2007 年時点で、生存例は 3 例 (34 ヶ月、32 ヶ月、26 ヶ月) であった (2011 年 3 月時点では 3 例とも死亡)。

また 2006 年 9 月から、同じく IFN-beta を組み込んだアデノウイルスの繰り返し投与の安全性、有効性を検討する臨床研究が行われた。対象疾患の内訳は悪性胸膜中皮腫 10 例、悪性胸水を伴う非小細胞肺癌 2 例、卵巣癌 2 例、乳癌 2 名であり、開始後 14 名は投与間隔を 2 週間、残りの 3 名は投与間隔を 1 週間と設定された。投与ウイルス量は 3.0×10^{11} vp ~ 3.0×10^{12} vp で行われた。安全性に関しては、ほとんどが予測可能な軽度から中等度の副作用であったが (リンパ球減少、低アルブミン血症、低血圧、低カルシウム血症、発熱と震え、吐き気、頻脈など) 2 例に予期せぬ副作用が認められた。1 例目は 1 回目の投与後、部分トロンボプラスチン時間値が上昇し、2 回目の投与基準を満たせず 1 回投与のみとなった。

しかしながら、長期の経過観察期間中、出血、凝固異常も含め特に症状は出現しなかった。2例目は、2回目のウイルスベクター投与後14日の間に心タンポナーデを発症した症例である。呼吸困難の増悪、嘔吐の症状があり、心嚢ドレナージを行った。原因は2回目投与の際に起こった、炎症反応によるものと推測された。このため今回の REIC 遺伝子治療においても、安全性の確保のため、明らかな心嚢水を有する場合を除外基準として設定している。腫瘍の縮小効果として悪性胸膜中皮腫10例中病変部の大きさが評価可能であった8例を検討したところ、投与後2か月の評価において2例で不変、6例で腫瘍の増大を認めた。生存に関しては論文が発表された2010年時点で、3例の生存例(42ヵ月、39ヵ月、18ヵ月)を認めた(2011年3月の時点でも3例とも生存)。

ペンシルベニア大学で現在症例集積を行っている遺伝子治療としては、2009年2月からIFN-alphaを組み込んだアデノウイルスの繰り返し投与の安全性、有効性を検討する臨床研究が開始された。2011年2月の時点で9例の登録があり重篤な副作用は発生しておらず、2例でPR、4例でSDを得ている(Dr. Albelda, personal communication) また、2010年4月からは同じくIFN-alphaを用いた遺伝子治療に抗がん剤を組み合わせる治療の臨床試験が開始されている。2011年3月の時点で1例の治療が行われた(Dr. Albelda, personal communication)。

米国以外の状況としては、オーストラリアで遺伝子治療が行われた。西オーストラリア大学のRobinsonらはインターロイキン-2を組み込んだワクシニアウイルスベクターを、12週間にわたって腫瘍内に直接投与する遺伝子治療を行った($1.0 \times 10^5 \sim 1.0 \times 10^7$ plaque-forming units)。2000年に発表された論文によると、特に重篤な副作用は出現しなかった。治療効果としては臨床的、画像的効果は認められなかった。

安全性についての評価

1. 遺伝子導入方法の安全性

1) ウイルスベクターの純度と安全性

本遺伝子治療臨床研究に用いるベクターの生産には、別紙記載のマスターセルバンク、マスターウイルスバンクを用いた。これらのバンクはFDAのガイダンスに沿った管理試験項目の条件を満たしている。

2) 増殖性ウイルス出現の可能性

アデノウイルスベクターの大量製造過程でベクターのゲノムが293細胞に組み込まれているE1遺伝子領域に近接し、相同組み換えが起きることがあり、その結果、現在のアデノウイルスベクター生産の技術では、ある程度の確率でRCAが生じてしまうことは避けられないと考えられている。現在、FDAではRCA量の許容限度は「 3×10^{10} ウイルス粒子あたり1個未満」であることを推奨している。本臨床研究で用いられるREIC/Dkk-3遺伝子発現アデノウイルスベクターは、(株)桃太郎源社が製造委託した、米国のSigma-Aldrich Fine Chemical社で作製され、「 3×10^{10} ウイルス粒子あたり1個未満」であるという条件を満たしたものが使用される。

3) 体内の標的細胞以外の細胞への遺伝子導入の可能性(前立腺の場合)

アデノウイルスベクターを腫瘍内投与した場合の腫瘍周囲及び全身の他臓器への偶発的遺伝子導入の可能性を調べるために、ヒト前立腺への至適投与量(1.0×10^{10} PFU: ベイラー医科大学での臨床研究より)の0.5倍から50倍(体重換算)に相当するベクター量をマウス前立腺に投与しその広がり解析する動物実験がベイラー医科大学で実施された。その結果、前立腺部においては容易にベクターDNA

が検出され、解剖学的に隣接する臓器である精嚢、リンパ節（骨盤部）、肝臓、腸管への広がり認められた。尿、精嚢液、精子、肺への広がり全く認められなかった。精巣においては高濃度注入群において1匹に認められた。血液においては低濃度において1匹にのみ認められた。

マウスにおいては、アデノウイルスベクターの注入側からの広がり解剖学的に隣接する臓器にのみ主に認められ、全身的な広がり示唆する所見はなかった。またベクターの投与によるマウスの死亡は認めなかった。この動物実験は条件上、マウス前立腺体積の約3分の1に相当する容積のベクター液を注入する実験であり一部は周囲に漏出したと考えられるが、ヒトの場合は30分の1又は15分の1に相当する容積を注入するため（ヒト前立腺30ml、注入ベクター量1ml又は2ml）漏出の可能性は極めて低いと考えられる。

本研究は REIC/Dkk-3 遺伝子発現アデノウイルスベクターではなく、Herpes Simplex Virus-thymidine kinase 遺伝子発現アデノウイルスベクターを用いた実験結果であるが、ウイルス学的に同一構造を有する REIC/Dkk-3 遺伝子発現アデノウイルスベクターについても同様の結果が予測される。

4) 患者以外のヒトへの遺伝子導入の可能性

REIC/Dkk-3 遺伝子発現アデノウイルスベクターの患者以外の人への感染の可能性は極めて低いが、患者の家族や医療従事者への感染を防止するために、治療後尿中ならびに血液中のアデノウイルスベクターの存在がないことを確認するまで個室管理とし、治療中はマスクや予防衣の着用など注意を払う。詳細な取り扱い規定等に関しては別途第一種使用規定の国への申請を行う予定である。

5) 染色体内へ遺伝子が組み込まれる場合の問題点

アデノウイルス DNA は宿主細胞のゲノムに組み込まれることなく複製するため、積極的に染色体内に組み込まれる機構を持っていない。アデノウイルス DNA が染色体に取り込まれた場合でも、組み込まれた DNA が活性化されウイルス粒子として染色体上から複製を認めた報告はない。

6) がん原性の有無

ヒト・アデノウイルスには41種の亜型が存在し、6群に分類されているが、げっ歯類におけるその腫瘍形成能は群によって異なり、2型、5型を含む群では発がん性は示されていない。アデノウイルス5型は幼児期の「かぜ」の原因ウイルスの一つであり、ヒトにおいても感染による悪性腫瘍の発生は報告がない。さらに、哺乳類の細胞をトランスフォームさせる機能を持ち、げっ歯類におけるがん化に関与しているとされる E1 領域を REIC/Dkk-3 遺伝子発現ウイルスベクターにおいては欠損させてあり、がん原性はないと考えられる。

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

培養悪性胸膜中皮腫細胞ならびに実験動物を用いた遺伝子治療基礎実験において、REIC/Dkk-3 遺伝子発現アデノウイルスベクターを用いた際の抗腫瘍効果および安全性は確認されており、今回用いる予定である REIC/Dkk-3 遺伝子発現アデノウイルスベクターは、桃太郎源株式会社が製造委託した、米国 Sigma-Aldrich Fine Chemical 社で作製され、同社より直接岡山大学に供給される。

岡山大学ではすでに前立腺がん・肺がんに対する遺伝子治療臨床研究が所定の審査を通過して（肺がん：非小細胞肺がんに対する正常型 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、前立腺がん：前立腺がんに対する 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、前立腺がんに対する Interleukin-12 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）、既に研究が実施されている。また前立腺がんに対する 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についてはすでに所定の審査を経て実施承認（平成23年1月6日付け厚生労働大臣意見書発出）を得ている（平成23年1月25日第一例目実施）。

ベクターの取り扱い場所、患者の研究を実際に行う施設（病棟の隔離室、手術室）

	<p>およびそれらの運用を含めてすでに整備され、経験豊富なスタッフを擁しており、病院側の受け入れ態勢は整備されている。また、遺伝子治療を代表とする一連のトランスレーショナル・リサーチの推進を目的として、平成 15 年度からは岡山大学病院内に遺伝子・細胞治療センターが、平成 22 年からは、新医療研究開発センターが設置され稼働しており、当該遺伝子治療臨床研究も同センターの活動の一環として実施される予定である。また種々の先端的解析は REIC/Dkk-3 の開発研究を担当したナノバイオ標的医療イノベーションセンター：ICONT（科学技術振興調整費：平成 18～平成 21 先端融合領域イノベーション創出拠点形成事業にて整備）において実施される体制が確立している。</p> <p>以上の背景から、今回申請する遺伝子治療臨床研究を岡山大学病院で実施することは、十分可能であると判断した。</p>
<p>実施計画</p>	<p>1. 遺伝子治療臨床研究を含む全体の治療計画</p> <p>悪性中皮腫に対する、本遺伝子治療前検査にて選択基準に合致し、除外基準に抵触しないことを明らかにした上で、治療計画にしたがって遺伝子治療を施行する。REIC/Dkk-3 遺伝子発現アデノウイルスベクターの局所投与による副作用の評価、治療効果、及び REIC/Dkk-3 遺伝子発現アデノウイルスベクターの最大耐量（定義：最大の効果を認めかつ最小の副作用を示す用量）を推定するため、投与量を 3.0×10^{10} vp から開始し約 3 倍ずつ増量し、3.0×10^{12} vp に至る 5 レベルの治療群を設定する。各用量レベルでそれぞれ 3 人の被験者を評価し、有害事象が発生しなければ逐次用量レベルの上昇を行う。ただし、有害事象が発生した場合はその重篤度を評価し、安全・効果評価・適応判定部会における検討結果に従い、症例数を追加して同一用量で検討するか、試験を中止するかを判断する。</p> <p>最大耐量(Maximum Tolerated Dose, MTD)では 3 人に投与して問題なければさらに 3 人、計 6 人の被験者で評価する。つまり、各用量レベルでの安全性の検討（最大耐量の推定）を行った後、治療効果の観察も行うことを目的とする第 I 相試験として計画した。遺伝子治療終了後、評価基準に従って安全性ならびに治療効果を評価する。</p> <p>2. 治療実施</p> <p>本遺伝子治療臨床研究の適応が予測される患者について、岡山大学病院にて患者（必要な場合は患者及び代諾者^{注）}）に対し、文書による説明（第 1 回目）を行い、文書による同意が得られた場合に限り本臨床研究に患者登録し、治療前検査を開始する。</p> <p>^{注）} 代諾者とは被験者の配偶者、後見人、その他これらに準じる者（成人の子、親、成人の兄弟姉妹など）をさす。</p> <p>治療前検査にて上述した選択基準に合致、さらに除外基準に抵触しないことが明らかになった場合、治療前検査データを基に安全・効果評価・適応判定部会にて適応を評価する。同部会において本臨床研究の適応と判断された場合、岡山大学病院にて患者（必要な場合は患者及び代諾者）に対し、文書による説明（第 2 回目）を行う。</p> <p>説明と同意書は、本計画書に添付資料 12-1（悪性胸膜中皮腫遺伝子治療臨床研究のための説明と同意書）として含まれている。同意書は 2 部作成し、署名又は記名捺印された 1 部を被験者に手渡し、他の 1 部を診療記録とともに保存する。</p> <p>文書による同意が得られた場合に限り、以下の方法によって本臨床研究を実施する。</p> <ol style="list-style-type: none"> 1) 投与当日、岡山大学病院北病棟 5 階遺伝子細胞治療センターに -80°C で凍結保管してある REIC/Dkk-3 遺伝子発現アデノウイルスベクター液を封入しているポリプロピレン製クリオチューブを同施設内安全キャビネット内へ移動、溶液を融解する。 2) REIC/Dkk-3 遺伝子発現アデノウイルスベクター液を専用のキャリアバック内に厳重に封入して、保冷下で岡山大学病院中央放射線部 CT 室に搬入する。 3) 各症例に対し、以下の方法にてアデノウイルスベクターを注入する。 4) 岡山大学病院中央放射線部 CT 室にて、原則として局所麻酔を施行し、CT ガイ

ド下に、REIC/Dkk-3 遺伝子発現アデノウイルスベクター液を、胸水貯留を認める胸腔中、または評価可能な1病変部に注入する。ウイルスベクター液の注入量は胸水中（胸腔）へは50ml、病変部には1-2mlとする。胸腔内注入の際は胸腔内にカテーテルチューブを挿入し、可能な限り胸水を排出したのち注入する。注入後の岡山大学病院中央放射線部CT室内の消毒、清掃は専門業者（医療関連サービスマーク認定）に依頼する。その後、プロトコルを遵守して安全性並びに治療効果の評価を行う。投与から4週後に臨床症状、検査及び病変部の総合評価を行う。

3. 安全性および有効性の評価

以下に示すタイムスケジュールにて安全性および有効性の評価に関する検査を行う。

細胞性・体液性免疫反応に関する解析については、先行する前立腺がん遺伝子治療臨床研究の結果を反映し解析項目・スケジュールを最終的に確定する予定である。

4. 本臨床研究による治療終了（最終投与から4週後をさす）後、患者のフォローアップとして岡山大学病院において投与後60ヶ月まで追跡調査をする。

安全性の評価及び効果の判定に関する検査項目並びにタイムスケジュール

項目	登録時	投与前	投与初日	7日後	2週後	3週後	4週後	治療終了後 (4週毎)	1年後
理学所見	○	← 毎日 →				○	○		○
Vital Signs	○	○	← 毎日 →				○	○	○
PS	○	○	← 毎日 →				○	○	○
血液・生化学検査 (血液、尿、胸水)	○	○	2日毎		○	○	○		○
心電図	○			○			○		○
胸部X線	○						○	○	○
胸部CT	○	○		○	○		○	○	○
PET-CT	○						○		○
アデノウイルス中和抗体 (血液、胸水)		○	2日毎		○		○		○
アデノウイルスベクター の測定		○	2日毎		○	○	○		○
バイオマーカー		○					○		
細胞性・体液性免疫反応		○			○	○	○		
腫瘍におけるREIC/Dkk-3 発現の確認 (可能な場合)							△		

5. 選択基準

症例の選択に際し、次の項目に該当する被験者を対象とする。

- 1) 病理学的に悪性胸膜中皮腫であることが確認されている患者（組織型は問わない）
- 2) 悪性胸膜中皮腫に対してペメトレキセドを含む全身化学療法による治療を受けたことのある患者。治療レジメンは問わない。
最終投与日から症例登録申請まで3週間以上が経過しており、その有害事象の影響を持ち越していないこと
- 3) 悪性胸膜中皮腫に対する全身化学療法に対して過敏症等があり、化学療法による治療を受けることが出来ない患者
- 4) 悪性胸膜中皮腫に対する全身化学療法あるいは手術による治療を拒否する患者
- 5) 症例登録申請時点で根治目的の手術の適応とならない患者
- 6) 画像診断により同定可能な腫瘍性病変を有している患者
- 7) 同意取得時点の年齢が20歳以上75歳未満の患者

- 8) Performance Status (ECOG PS score を用いる) : 0~1 の患者
- 9) 症例登録申請前に放射線療法が施行されている場合は、造血能を有する骨の25%以内の照射であり、放射線療法終了日から症例登録申請まで 21 日以上が経過しており、かつ当該治療の効果や有害事象の影響を持ち越していないこと
- 10) 悪性胸膜中皮腫に対する根治手術以外の外科療法が施行された場合は、手術日から症例登録申請まで 21 日以上が経過しており、その有害事象の影響を持ち越していないこと。但し、検査のための開胸や開腹などは、手術の影響がなく安全性の確保など被験者の本試験への参加に問題がないと研究担当医師が判断した場合は、手術日から症例登録申請まで 7 日以上経過していれば登録可能とする。
- 11) 主要臓器の機能が保持されている患者で、治療開始時の臨床検査が以下の基準を満たす症例（登録前 14 日以内のデータとする。登録日を day1 とし、2 週前の同一曜日は可とする）
 - ・ヘモグロビン量 : 9.0g/dL 以上
 - ・白血球数 : 3,000/mm³ 以上もしくは 好中球数 : 2,000/mm³ 以上
 - ・血小板数 : 10 万/mm³ 以上
 - ・AST (GOT) 及び ALT (GPT) : 各実施医療機関の基準値上限の 2.5 倍以下
 - ・総ビリルビン : 各実施医療機関の基準値上限の 1.5 倍以下
 - ・血清クレアチニン : 1.5mg/dL 未満
 - ・大気吸入下での SpO₂ (又は PaO₂) : 92% 以上 (PaO₂ : 60mmHg 以上)
 - ・心電図 : 正常 (異常所見が認められた場合については、研究担当医師が被験者の安全性に問題ないと判断した場合は登録可能とする)
- 12) 症例登録日から少なくとも 12 週以上の生存が期待できる患者
- 13) 本人から文書による同意が得られている患者

6. 除外基準

症例の選択に際し、次の項目に該当する被験者は本臨床研究の対象としない。

- 1) 重度又はコントロールが困難な全身疾患の合併を有する患者
- 2) 活動性感染症を有する患者
- 3) 活動性の重複がんを有する患者
- 4) 有症状の脳転移がある患者又は治療を必要とする脳転移がある患者
- 5) 胸部単純 X 線にて、明らかな間質性肺炎、肺線維症を有する患者
- 6) 胸膜肺全摘手術施行後に再発した悪性胸膜中皮腫患者
- 7) CT 上、治療を必要とする心嚢水を有する患者
- 8) Adenovirus に対する血中中和抗体価が 1:1000 を超える患者
- 9) 同意取得前の 4 週以内に未承認薬又は治験薬を投与された患者
- 10) 妊婦、授乳中又は妊娠している可能性のある女性、又は避妊する意思のない患者
- 11) 生殖能力を有する男性又は女性の場合、同意取得日から本剤の最終投与後 90 日間、医学的に容認されている避妊法を使用できない患者
- 12) その他、研究担当医師が本試験の対象として不適当と判断した患者

7. 被験者の同意の取得方法

悪性胸膜中皮腫に関し、その病態、現在適用可能な治療法が限定されること、本臨床研究の理論的背景、動物実験の成績、安全性に関する成績について、患者本人（必要に応じて患者本人及び代諾者）に説明し、十分な理解を得た上で、自由な意思で本臨床研究の被験者となることについて文書による同意を得る。同意の取得は、患者登録時、及び全身検索が終了し、安全・効果評価・適応判定部会が適応可能と判定した後の計 2 回行う。

また、同意に関連する新たな重要な情報を入手した場合は、その情報を被験者（必要に応じて被験者及び代諾者）に伝え、継続して参加するか否かについて被験者の意思を確認する。

8. 実施期間および目標症例数