

201332019A

厚生労働科学研究費補助金

難病・がん等の疾患分野の医療の実用化研究事業(がん関係研究分野)

希少がんに対するウイルス療法の実用化臨床研究  
(H24-実用化(がん)-一般-007)

平成25年度 総括研究報告書

研究代表者 藤堂 具紀

平成26(2014)年 5月

## 目 次

### I. 総括研究報告

希少がんに対するウイルス療法の実用化臨床研究 .....	1
藤堂 具紀	

### II. 分担研究報告

1. 悪性脳腫瘍に対するウイルス療法の開発と臨床製剤製造 .....	11
稲生 靖	
2. 前立腺癌に対するウイルス療法の開発 .....	16
福原 浩	
3. 希少・難治がんに対するウイルス療法の開発 .....	20
中原 寛和	
4. 希少・難治がんに対するウイルス療法の開発 .....	27
中森 幹人	
5. 希少・難治がんに対するウイルス療法の開発 .....	29
菅原 稔	

III. 研究成果の刊行に関する一覧表 .....	34
---------------------------	----

IV. 研究成果の刊行物・別刷 .....	36
-----------------------	----

厚生労働科学研究費補助金  
(難病・がん等の疾患分野の医療の実用化研究事業 (がん関係研究分野))  
総括 研究報告書

「希少がんに対するウイルス療法の実用化臨床研究」

研究代表者・藤堂 具紀  
(東京大学医科学研究所 先端がん治療分野・教授)

研究要旨

がんの死亡率は増加の一途を辿っており、特に希少・難治性がんや、標準治療後に再発して有効治療の選択肢がなくなったがん難民に対する新しいがん治療法開発のニーズは高い。がん特異的に複製するウイルスをがん細胞に感染させ、ウイルス複製による直接的な殺細胞作用を利用する「ウイルス療法」は、放射線治療や化学療法が効かないがん幹細胞をも根絶し得る革新的な治療法として注目される。単純ヘルペスウイルスI型(HSV-1)はがん治療に有利な特長を多く有し、殊に第三世代HSV-1 (G47Δ)は、人為的三重変異によって高い安全性と強力な抗腫瘍作用を実現し、我が国で世界に先駆けた開発を進めている。GMPグレードで臨床用G47Δ製剤の製造を行い、厚生労働省の承認を得て、平成21年より脳腫瘍の中で最も悪性度が高い膠芽腫の再発患者を対象としたfirst-in-man臨床研究を開始した。これまでG47Δに起因する特記すべき有害事象はなく、標準治療では得られない効果を示唆する臨床所見も一部観察されている。本研究では、膠芽腫を対象とした臨床研究を発展させ、我が国初のウイルス療法の医師主導治験を開始し、最終的な薬事承認を目指す。また、遺伝子組換えHSV-1療法に精通した研究者でチームを組み、膠芽腫以外の難治性がんへの適応拡大の可能性を探究し、我が国におけるウイルス療法の普及と実用化を目指す。平成24年度には、医薬品医療機器総合機構の薬事戦略相談を通して、膠芽腫に対する医師主導治験の準備と確認申請書類の作成、非臨床試験、臨床用ウイルス製剤のGMP製造と品質試験、他の難治性がんに対するウイルス療法の基礎開発を行った。平成25年度は、5月までに医薬品医療機器総合機構の事前面談を合計5回実施して確認申請書類を完成させつつあったが、制度の廃止に伴い、年度末の治験申請に目標を改め、更に治験申請書類の作成を行った。平成26年2月の品質、安全性、臨床プロトコルのそれぞれについての薬事戦略相談の対面助言を実施した。平成26年中に第II相治験を開始し、可及的早期の製品化の道を探る。本研究の成果はがんの制圧に向けた医療に直接貢献するのみならず、医療費削減や新産業育成など経済・社会効果が期待できる。汎用性・応用性に優れた我が国発の革新的がん治療法を確立させる。

## A. 研究目的

がんの死亡率が増加の一途を辿る中、希少がんや標準治療後に再発して有効治療の選択肢がなくなったがんに対する新規治療法開発のニーズは高い。がん特異的に複製するウイルスをがん細胞に感染させ、ウイルス複製による直接的な殺細胞作用を利用してがんの治癒を図るウイルス療法は、全く新しい概念に基づく治療法であり、遺伝子組換え単純ヘルペスウイルスI型(HSV-1)は早くから応用が試みられた[1]。本研究は、脳腫瘍の中で最も悪性度が高い膠芽腫を対象とした臨床試験を医師主導治験で実施し、最終的な薬事承認を目指す。本研究で活用するG47Δは、人為的三重変異により高い安全性を保ったまま強い抗がん作用を実現した世界唯一の第三世代がん治療用HSV-1であり、その治療域の広さは、他のがん治療用ウイルスの追従を許していない[2]。G47Δは第二世代HSV-1 (G207) [3]を更に改良して治療域を広め、安全性を向上させながらG207の約10倍の抗がん作用を示し、また10倍の濃度の製剤を生産することを可能にした。G47Δは特異的抗腫瘍免疫を強く惹起するため、一箇所のがん病変に対する局所治療が全身に転移したがんを制御する可能性がある[4]。G47Δはまた、がん幹細胞を効率よく殺すことが最近判明した[5]。これらは化学療法や放射線治療のいずれにも見られない新しい作用機序であり、実用化されれば、根治的治療としてがんの治療選択を大きく変えると期待される。平成21年より再発膠芽腫を対象としたfirst-in-man臨床研究を開始した。これまでG47Δに起因する特記すべき有害事象はなく、標準治療では得られない効果を示唆する臨床所見も一部観察されている。本研究では、

研究期間内に膠芽腫を対象とした医師主導治験を実施してGCPで臨床データを蓄積し、更に第II相治験へつなげる。すでに、医薬品医療機器総合機構の薬事戦略相談を通して準備と書類作成を行っており、平成26年の開始を目指している。本研究ではまた遺伝子組換えHSV-1療法に精通した研究者でチームを組み、膠芽腫以外の難治性がんへの適応拡大を探求する。本研究の最大の特徴は、がんの多様性に対応しうる応用範囲の広さと実用化への直結であり、世界をリードする開発実績を背景に我が国発のがん治療開発を実現して、研究成果の社会還元を目指す。

- 1) Martuza RL et al: Experimental therapy of human glioma by means of a genetically engineered virus mutant. *Science* 252: 854-856, 1991.
- 2) Todo T et al. Oncolytic herpes simplex virus vector with enhanced MHC class I presentation and tumor cell killing. *Proc. Natl. Acad. Sci US A* 98: 6396-6401, 2001.
- 3) Markert JM, Todo T 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.
- 4) Todo T, et al: Systemic antitumor immunity in experimental brain tumor therapy using a multi-mutated, replication-competent herpes simplex virus. *Hum Gene Ther* 10: 2741-2755, 1999.
- 5) Takahashi M, Ino Y, Todo T: Efficient killing of cancer stem-like cells derived from human glioblastoma using oncolytic HSV-1 (G47Δ). 第68回日本癌学会学術総会, 2009.

## B. 研究方法

ウイルス療法は、がん細胞に感染したがん治療用ウイルスが、がんの中で増えながら直接がん細胞を破壊する。HSV-1のウイルスゲノムを遺伝子工学的にデザインし意図的に治療域を広げること、がん治療に最適なHSV-1が得られる。HSV-1療法は、特異的抗腫瘍免疫を誘導して局所治療で遠隔の転移巣にも治療効果を及ぼし、がん幹細胞をも効率良く殺すことから、新しい根治的治療法として高いポテンシャルを有する。G47Δは、研究代表者らが開発した世界初の第三世代の遺伝子組換えHSV-1であり、三重変異により高い安全性を保ったまま強い抗がん作用を実現した。その治療域の広さは、他のがん治療用ウイルスの追随を許さず、第二世代HSV-1 (G207) に比べると、約10倍の抗がん作用と、約10倍の濃度の製剤生産が得られる。First-in-man臨床研究は脳腫瘍の中で最も悪性度が高い膠芽腫の再発患者を対象とし、遺伝子治療指針に則って厚労省の承認を得、平成21年11月より被験者登録を開始した。使用する臨床用G47Δ製剤は学内のP2対応Cell Processing Center (CPC)においてGMPで製造した。第I-IIa相の試験デザインとし、主要エンドポイントを安全性の評価としたこの試験は、PMDAからの出向者をプロジェクトマネージャーとし、既にIIa相段階に進んでいる。これまでG47Δに起因する特記すべき有害事象はなく、標準治療では得られない効果を示唆する臨床所見も一部観察された。本研究では、進行中の臨床研究から得られたデータと経験を基に、我が国初のウイルス療法の医師主導治験を開始し、

GCPで臨床データを蓄積する。主体となる東大医科学研究所附属病院は先端医療開発をミッションとし、データセンターを始め探索的臨床試験病院やGMP準拠CPC施設など臨床研究実施のための充実した基盤を有する。

本研究で実施する臨床試験の概要は平成25年度開始当初以下を想定した：

### (1) 対象疾患

- 初期治療後に残存もしくは再増大した膠芽腫

### (2) 試験のデザイン

- 第I-IIa相。単アーム。

- 定位脳手術により腫瘍内にG47Δを投与

- KPSが50%になるまで1ヶ月ごとに繰り返し投与

- 目標症例：20例

- 主要エンドポイント：全生存期間、無増悪生存期間、画像上の腫瘍変化

### (3) 主な選択基準

- 病理診断が確定している

- 初期放射線治療が終了している

- 18歳以上、造影MRIで1cm以上の病変が描出される

- KPS 60%以上 など

本臨床研究は悪性脳腫瘍を切り口としてG47Δの最終的な薬事承認を目指す。一方、前臨床ではあらゆる固形がんにも有効であることが示唆される。本研究の主体となる膠芽腫の臨床試験と並行して、遺伝子組換えHSV-1に精通した研究者でチームを組み、他の希少・難治性がんにも適応を広げて我が国におけるウイルス療法の実用化を目指す。特にホルモン療法抵抗性前立腺癌や悪性中皮腫については可及的早期の臨床開発を図る。平成25年度開

始当初における3年間の具体的計画は以下の通りであった：

平成24年度

1. 膠芽腫を対象とした医師主導治験に向けた確認申請の準備（藤堂・稲生）
2. 治験のための臨床用G47Δ 製剤の製造（東大）
3. ホルモン療法抵抗性前立腺癌の臨床研究のための体制整備（福原）
4. 他の希少・難治性がんを対象とした非臨床試験（中森、中原、菱木、菅原）

平成25年度

1. 膠芽腫を対象とした臨床プロトコル作成、医師主導治験の申請と開始（藤堂・稲生）
2. 臨床用G47Δ製剤のGMP製造とGLP品質試験（藤堂・稲生）
3. ホルモン療法抵抗性前立腺癌の臨床研究の開始（福原）
4. 他の希少・難治性がんを対象とした非臨床試験（中森、中原、菅原）

平成26年度

1. 臨床試験のGLP実施とデータ蓄積・解析
2. 第II相治験の準備
3. 他の希少・難治性がんの臨床実施計画の策定（倫理面への配慮）

本研究は、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、文部科学省・厚生労働省）、遺伝子組換え実験等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律（カルタヘナ

法）（平成15年法律第97号）、遺伝子組換え実験等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律施行規則（平成15年財務・文部科学・厚生労働・農林水産・経済産業環境省令第1号）、および研究開発等に係る遺伝子組換え実験等の第二種使用等に当たって執るべき拡散防止措置等を定める省令（平成16年文部科学・環境省令第1号）を遵守して行われる。東京大学においては、東京大学研究用微生物管理規則、東京大学遺伝子組換え生物等の使用等実施規則、および東京大学研究用微生物安全管理マニュアルが制定されており、それらに則って保管管理および利用を行う。東京大学においては、東京大学医科学研究所遺伝子組み換え生物等委員会もしくは東京大学医学部組換えDNA安全委員会よりP2レベルの承認を受けた実験室にておいて実験は行われる。東京大学で行う遺伝子組み換え実験は、申請者の「組換えDNA実験計画書」（課題名「遺伝子組換え単純ヘルペスウイルス1型を用いた腫瘍ウイルス療法」）に含まれ、平成15年4月30日に東京大学医学部の組換えDNA実験委員会に提出され、平成15年7月1日付で承認された。同実験計画書は、東京大学の組換えDNA実験委員会における平成15年8月8日の審議を経て、「組換えDNA実験指針」（平成14年1月31日文部科学省告示第5号）第1章第4の規定に基づき、文部科学省の科学技術・学術審議会生命倫理・安全部会組換えDNA技術等専門委員会にて検討され、平成15年10月1日付にて実験計画通り文部科学大臣より確認を受けた。同計画書は遺伝子組換え生物等の使用等の規制に関する生物の多様性の確保に関する法律第13条第1項の規定と書式の改定に伴い文部

科学省に再度申請され、平成16年8月9日第27回遺伝子組換え技術等専門委員会にて第二種使用等拡散防止措置確認を受けた。実験場所追加のため、全く同内容の計画書を再度新規申請として平成17年11月28日付で文部科学省に提出し、平成18年5月16日付で大臣確認を得た（17学文科振第627号）。更なる実験場所と遺伝子組換えウイルス追加のため、都度同課題を新規申請として文部科学省に提出し、平成19年6月13日付（18学文科振第776号）、平成20年2月21日付（19学文科振第408号）、平成21年6月1日付（21学文科振第6551号）にてそれぞれ大臣確認を得た。更に実験管理者の異動と実験場所の追加のため同内容で申請を行い平成24年6月6日付（24受文科振第417号）、使用場所の追加に伴い平成24年7月18日付（24受文科振第719号）、平成24年10月3日付（24受文科振第1765号）、平成25年3月25日付（24受文科振第2953号）で大臣確認を得た。これに従い本研究では適切な拡散防止措置がとられる。がん研究会、和歌山医大、千葉大、大阪大（近畿大中原の実験場所）、岩手医大、関西医大においても同様に第二種使用拡散防止措置の文部科学大臣確認を受けた。東京大学において動物を使用する実験については、東京大学動物実験実施規則に従って作成され、審査、承認を受けた動物実験計画に基づいて実施される。また、単純ヘルペスウイルス1型と2型、およびそれ由来する遺伝子組換えウイルスについて、「レベル2微生物取扱等届出書」（利用責任者および保管責任者：藤堂具紀）が平成24年3月27日付で東京大学医科学研究所長に提出されている。

## C. 研究結果

研究代表者は、がん特異的に複製する第三世代単純ヘルペスウイルスI型（G47Δ）を開発し、脳腫瘍の中で最も悪性度が高い膠芽腫の再発患者を対象として、我が国で初めてのウイルス療法臨床試験となるfirst-in-man臨床研究を行ってきた。これまでG47Δに起因する特記すべき有害事象はなく、標準治療では得られない効果を示唆する臨床所見も一部観察されている。本研究では、進行中の臨床研究から得られたデータと経験を基に、我が国初のウイルス療法の医師主導治験を開始し、最終的な薬事承認を目指す。平成24年度は東大医科学研究所附属病院でG47Δの臨床研究を実施するために、臨床チームの準備と環境の整備、更に遺伝子治療臨床研究審査委員会の立ち上げと審査を行い、実施計画書と遺伝子組換え生物等第一種使用規程申請を厚労省に提出した。実施計画については、平成25年3月22日付で厚生労働大臣の承認を得た。平成25年5月には遺伝子組換え生物等第一種使用規程の厚労大臣・環境大臣の確認を得、東大医科学研究所附属病院においてもG47Δの臨床研究を実施することが可能となった。更に平成25年5月からは再発前立腺癌を対象としたG47Δの臨床研究を開始し、9月には新たな厚労省承認を得て再発嗅神経芽細胞腫に対する臨床研究を開始した。繰り返し投与や効果判定、ウイルス排泄等に関する新たな臨床データを蓄積しつつある。

また、医薬品医療機器総合機構の薬事戦略相談を通して、膠芽腫を対象とした医師主導治験のプロトコルの作成と確認申請書類の準備を進めた。平成25年5月までに事前面談を5回実施して、確認

申請書類を完成させつつあったが、制度の廃止に伴い、治験の可及的早期申請に目標を改め、更に治験申請書類の作成を行った。

平成25年度における医師主導治験に向けた医薬品医療機器総合機構との折衝経緯は以下のとおりである：

平成25年5月17日	事前面談資料提出
平成25年5月29日	事前面談（品質・安全性）4回目
平成25年7月2日	事前面談（治験計画）5回目
平成25年12月2日	「医薬品戦略相談対面助言日程調整依頼書」提出
平成25年12月12日	事前面談資料提出
平成25年12月18日	事前面談（品質・安全性）（治験計画）6回目・7回目
平成26年1月8日	「医薬品戦略相談対面助言申込書」提出
平成26年1月14日	資料搬入
平成26年1月22日	品質・安全性に関する「照会事項」受領
平成26年1月24日	治験計画に関する「照会事項」受領
平成26年1月28日	照会事項（品質）に対する回答書提出
平成26年1月29日	照会事項（安全性）に対する回答書提出
平成26年1月31日	照会事項（治験計画）に対する回答書提出
平成26年2月6日	品質・安全性に関する「機構意見」受領
平成26年2月14日	機構意見（品質・安全性）に対する回答書提出
平成26年2月17日	治験計画に関する「機構意見」受領
平成26年2月19日	対面助言（品質・安全性）資

	料提出
平成26年2月20日	機構意見（治験計画）に対する回答書提出
平成26年2月20日	対面助言（治験計画）資料提出
平成26年2月20日	対面助言（品質・安全性）
平成26年2月21日	対面助言（治験計画）
平成26年3月4日	対面助言（品質・安全性）の相談記録案受領
平成26年3月10日	事前面談（治験計画）（フォローアップ面談）
平成26年3月10日	対面助言（治験計画）の相談記録案受領
平成26年3月17日	対面助言（品質・安全性）の相談記録案に対する修正希望提出
平成26年3月20日	対面助言（治験計画）の相談記録案に対する修正希望提出
平成26年3月26日	対面助言（品質・安全性）の相談記録案（修正版）受領
平成26年4月1日	対面助言（治験計画）の相談記録案（修正版）受領

事前面談・対面助言での議論を基に、標準治療を行ってもほぼ100%死に至る膠芽腫を対象とすることや、単一の施設で実施する予定であるため実施可能性の観点から集積可能な症例数に限界があること、また侵襲的な投与方法のためプラセボ群の設定は困難であることなどを考慮し、治験実施計画について綿密に計画を練った。特に、対照の設定については生物統計的に十分な検討を行い、平成25年度末の時点では以下のような治験計画案となっている：

対象疾患：標準治療中に腫瘍が残存もしくは再



発した膠芽腫患者

試験デザイン：第Ⅱ相。対照群のないオープンラベル

治験薬： G47Δ

投与方法： 定位脳手術による腫瘍内投与  
投与量は一定

4週間間隔の反復投与。最大6回

主要エンドポイント： 一年生存割合

副次エンドポイント： 全生存期間，無増悪生存期間，腫瘍縮小効果，有害事象

被験者数： 30名

平成25年度も引き続き、遺伝子組換えHSV-1療法に精通した研究者でチームにおいて、薬事承認の先を見据えて、膠芽腫以外の難治性がんに対する非臨床試験を実施した。

#### D. 考察

希少がんや難治性がん、標準治療後に再発を来したがん難民に対する新しい治療選択肢のニーズは高く、実用性の高い革新的治療法の国内開発が待望される。遺伝子組換えHSV-1を用いたウイルス療法は、遺伝学的背景や分子機構に左右されずあらゆる固形がんに応用できるという汎用性があり、既存の治療法との併用による相乗効果や副作用の低さ、抗腫瘍免疫の誘導など、革新性と実用化ポテンシャルが高い。本研究では、世界最新型の遺伝子組換えHSV-1(G47Δ)を悪性脳腫瘍に臨床応用し、医師主導治験を実施して最終的な薬事承認を目指している。更に国内の研究班を組織し、我が国におけるウイルス療法開発を国際レベルに上げて、他の希少・難治性がんに対しても適応拡

大を探求する。手術、放射線治療、薬物療法に限られていたがん治療に、新しく標準となりうる治療ジャンルを導入し、治療の選択肢を増やすことの意義は大きく、がん治療成績の飛躍的向上につながり得る。医療行政上は、治療成績の改善や患者QOLの改善に伴って喪失国民所得を削減することができ、入院・介助患者数減少による医療費削減効果にもつながる。医療産業の面でも、G47Δを基に、遺伝子組換えによってさまざまな機能付加型のがん治療用HSV-1が開発可能で、創薬として発展しうる。ウイルス製剤の開発、生産、品質テストなど我が国の新産業や周辺産業の育成にもつながり得る。

本研究は、真にアカデミア発の医師主導治験の実施である。我が国に前例のないウイルス療法の治験であることから、規制対応に予想以上の時間を要している。規制による障壁の質や高さ、当局による対応内容や時間などは、研究者の努力と能力だけでは如何ともしがたいところがある。ウイルス療法はしかし、世界でも開発競争が激化しており、官学協力して推進し、可及的速やかな治験開始が望まれる。本研究も、平成26年度中には医師主導治験を開始する予定である。

#### E. 結論

世界最新型の遺伝子組換えHSV-1(G47Δ)を悪性脳腫瘍に臨床応用し、真にアカデミア主体の医師主導治験の実現に向けて前進している。悪性脳腫瘍に加え、前立腺癌や嗅神経芽細胞腫におけるG47Δの臨床研究データも蓄積しつつあり、G47Δの安全性確認と治療効果の手応えが強まっている。

遺伝子組換えHSV-1療法に精通した研究者で、日本初の全国的研究班が組織され、希少がん・難治性がんに対するウイルス療法の非臨床試験が進んでいる。ウイルス療法の開発競争が世界で激化する中、我が国初のウイルス療法治験を可及的速やかに開始し、世界に先駆けたウイルス療法の普及と実用化を目指す。

## F. 健康危険情報

特になし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

- ① Tsuji T, Nakamori M, Iwahashi M, Nakamura M, Ojima T, Iida T, Katsuda M, Hayata K, Ino Y, Todo T, Yamaue H: An armed oncolytic herpes simplex virus expressing thrombospondin-1 has an enhanced in vivo antitumor effect against human gastric cancer. *Int J Cancer* 132 (2): 485-494, 2013 (published online 2012 Jun 22. doi: 10.1002/ijc.27681).
- ② Koyama-Nasu R, Nasu-Nishimura Y, Todo T, Ino Y, Saito N, Aburatani H, Funato K, Echizen K, Sugano H, Haruta R, Matsui M, Takahashi R, Manabe E, Oda T, Akiyama T: The critical role of cyclin D2 in cell cycle progression and tumorigenicity of glioblastoma stem cells. *Oncogene* 32 (33): 3840-3845, 2013 (published online 2012 Sep 10. doi: 10.1038/onc.2012.399).
- ③ Tanaka M, Tsuno NH, Fujii T, Todo T, Saito N, Takahashi K: Human umbilical vein endothelial cell vaccine therapy in patients with recurrent glioblastoma. *Cancer Sci* 104 (2): 200-205, 2013 (Epub 2012 Oct 27. doi: 10.1111/cas.12055).
- ④ Shibui S, Narita Y, Mizusawa J, Beppu T, Ogasawara K, Sawamura Y, Kobayashi H, Nishikawa R, Mishima K, Muragaki Y, Maruyama T, Kuratsu J, Nakamura H, Kochi M, Minamida Y, Yamaki T, Kumabe T, Tominaga T, Kayama T, Sakurada K, Nagane M, Kobayashi K, Nakamura H, Ito T, Yazaki T, Sasaki H, Tanaka K, Takahashi H, Asai A, Todo T, Wakabayashi T, Takahashi J, Takano S, Fujimaki T, Sumi M, Miyakita Y, Nakazato Y, Sato A, Fukuda H, Nomura K: Randomized trial of chemoradiotherapy and adjuvant chemotherapy with nimustine (ACNU) versus nimustine plus procarbazine for newly diagnosed anaplastic astrocytoma and glioblastoma (JCOG0305). *Cancer Chemother Pharmacol* 71 (2): 511-512, 2013 (Epub 2012 Dec 11. doi: 10.1007/s00280-012-2041-5)
- ⑤ Koyama-Nasu R, Hruta R, Nasu-Nishimura Y, Taniue K, Katou Y, Shirahige K, Todo T, Ino Y, Mukasa A, Saito N, Matsui M, Takahashi R, Hoshino-Okubo A, Sugano H, Manabe E, Funato K, Akiyama T: The pleiotrophin-ALK axis is required for tumorigenicity of glioblastoma stem cells. *Oncogene* (Epub 2013 May 20. doi: 10.1038/onc.2013.168).
- ⑥ Echizen K, Nakada M, Hayashi T, Sabit H, Furuta T, Nakai M, Koyama-Nasu R, Nishimura Y, Taniue K, Morishita Y, Hirano S, Terai K, Todo T, Ino Y,

Mukasa A, Takayanagi S, Ohtani R, Saito N, Akiyama T: PCDH10 is required for the tumorigenicity of glioblastoma cells. *Biochem Biophys Res Commun* 444(1): 13-18, 2014 (Epub 2014 Jan 6. Doi: 10.1016/j.bbrc.2013.12.138).

## 2. 学会発表

- ① 藤堂 具紀：がんのウイルス療法の開発。第112回日本皮膚科学会総会（横浜）、2013年6月14日。
- ② 藤堂 具紀：悪性グリオーマに対するウイルス療法の臨床開発。第12回小児脳腫瘍研究会（大阪）、2013年6月29日。
- ③ Uchihashi T, Nakahara H, Ino Y, Todo T : A new therapeutic strategy for oral squamous cell carcinoma using G47Δ, A third generation oncolytic herpes simplex virus type 1. 第19回日本遺伝子治療学会年次学術集会（岡山）、2013年7月4日。
- ④ Kakutani S, Fukuhara H, Takeshima Y, Homma H, Ino Y, Todo T : Oncolytic virus therapy using recombinant HSV-1 for nonseminoma germ cell tumors. 第19回日本遺伝子治療学会年次学術集会（岡山）、2013年7月4日。
- ⑤ 藤堂 具紀、田中 実、伊藤 元一、福原 浩、稲生 靖：Clinical development of a third-generation recombinant oncolytic HSV-1 (G47Δ) for brain tumors and rare cancers. 第19回日本遺伝子治療学会年次学術集会（岡山）、2013年7月4日。
- ⑥ 藤堂 具紀：がんのウイルス療法の臨床開発。第17回日本がん免疫学会総会（山口）、2013年7月4日。
- ⑦ Uchihashi T, Nakahara H, Ino Y, Fukuhara H, Kogo M, Todo T : Therapeutic efficacy of oncolytic virus G47Δ for oral squamous cell carcinoma in orthotopic tongue cancer models. 第72回日本癌学会学術総会（横浜）、2013年10月4日。
- ⑧ Kakutani S, Fukuhara H, Takeshima Y, Homma H, Ino Y, Todo T : Antitumor efficacy of oncolytic HSV-1 (G47Δ) for testicular cancer. (がん治療用 HSV-1(G47Δ)の精巣腫瘍に対する抗腫瘍効果)。第72回日本癌学会学術総会（横浜）、2013年10月4日。
- ⑨ 藤堂 具紀、福原 浩、稲生 靖：ウイルス療法の臨床開発。第72回日本癌学会学術総会（横浜）、2013年10月5日。
- ⑩ Uchihashi T, Nakahara H, Ino Y, Fukuhara H, Kogo M, Todo T: A new therapeutic strategy for oral squamous cell carcinoma using oncolytic herpes simplex virus G47Δ. The 9th China-Japan Joint Laboratory Workshop —Pathogenesis, Gene Regulation and Signal Transduction—, Beijing. Nov 1, 2013.
- ⑪ Todo T : Clinical development of third generation oncolytic HSV-1. The 7th Annual Meeting of Korean Society of Gene and Cell Therapy, Seoul. Nov 22, 2013.
- ⑫ 藤堂 具紀：がんのウイルス療法の実用化と課題。第34回日本臨床薬理学会（東京）、2013年12月4日。

- ⑬ 田中 実、伊藤 元一、稲生 靖、藤堂 具紀：  
G47△を用いた嗅神経芽細胞腫の臨床試験。第  
31回日本脳腫瘍学会学術集会（宮崎）、2013  
年12月9日。
- ⑭ 伊藤 元一、稲生 靖、田中 実、伊藤 博崇、  
藤堂 具紀：がん治療用ウイルス(G47△)とマイ  
クロRNA阻害を併用した悪性グリオーマ治療  
の開発。第31回日本脳腫瘍学会学術集会（宮  
崎）、2013年12月9日。
- ⑮ 内橋 俊大、中原 寛和、古郷 幹彦、稲生 靖、  
藤堂 具紀：第三世代がん治療用単純ヘルペス  
ウイルス I 型G47△を用いた口腔扁平上皮癌に  
対する新規治療戦略。第32回日本口腔腫瘍学  
会総会・学術大会（札幌）、2014年1月24日。

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

##### 1. 特許取得

なし

##### 2. 実用新案登録

なし

##### 3. その他

なし

厚生労働科学研究費補助金  
(難病・がん等の疾患分野の医療の実用化研究事業 (がん関係研究分野))  
分担研究報告書

「希少がんに対するウイルス療法の実用化臨床研究」  
(悪性脳腫瘍に対するウイルス療法の開発と臨床製剤製造)

研究分担者・稲生 靖  
(東京大学医科学研究所 先端がん治療分野・准教授)

研究要旨

医科学研究所附属病院において、遺伝子組換え単純ヘルペスウイルス I 型 (HSV-1) を用いたウイルス療法の臨床研究を開始した。対象は進行性膠芽腫および進行性嗅神経芽細胞腫であり、平成26年1月および平成25年9月にそれぞれ患者登録が開始された。一方、医師主導治験実施のための準備としては、確認申請制度の廃止に伴い、医薬品医療機器総合機構における医薬品薬事戦略相談に向け準備を進めた。医科学研究所治療ベクター開発室においては、治験に使用するためのウイルス製剤調製のための準備と、臨床研究用のウイルスの追加調製を行った。調製されたウイルスについては海外の専門機関に外部委託を行い、品質検査を実施した。

A. 研究目的

がん特異的に複製するウイルスをがん細胞に感染させ、ウイルス複製による直接的な殺細胞作用を利用してがんの治癒を図るウイルス療法は、全く新しい概念に基づく治療法であり、遺伝子組換え単純ヘルペスウイルスI型(HSV-1)は早くから応用が試みられている。本研究で使用するG47Δは、人為的三重変異により高い安全性を保ったまま強い抗がん作用を実現した第三世代がん治療用HSV-1である。G47Δは第二世代HSV-1 (G207) を更に改良して治療域を広め、安全性を向上させながらG207の約10倍の抗がん作用を示し、また10倍の濃度の製剤の調製を可能にした。G47Δは特異的抗腫瘍免疫を強く惹

起するため、がん病変に対する局所治療が全身に転移したがんを制御する可能性がある。G47Δはまた、がん幹細胞を効率よく殺すことが最近判明している。これらは化学療法や放射線治療のいずれにも見られない新しい作用機序であり、実用化されれば、根治的治療としてがんの治療選択を大きく変えると期待される。本研究は、脳腫瘍の中で最も悪性度が高い膠芽腫を対象とした治験の実施と、最終的な薬事承認を目的とする。

B. 研究方法

研究代表者および分担研究者らは学内のP2対応CPC (治療ベクター開発室) において臨床用G47Δ

製剤をcGMPで3ロット製造し、各ロットのGLP品質試験を完了している。First-in-man臨床研究は脳腫瘍の中で最も悪性度が高い膠芽腫の再発患者を対象とし、遺伝子治療指針に則って厚生省の承認を得、平成21年11月より被験者登録を開始した。第I-IIa相の試験デザインとし、主要エンドポイントを安全性の評価としたこの試験は現在IIa相段階にある。本研究ではG47Δの臨床開発を第II相に発展させ、治験として実施し、GCPで臨床データを蓄積する。主体となる医科研病院は先端医療開発をミッションとし、臨床研究実施のための充実した基盤を有する。膠芽腫に加え、嗅神経芽細胞腫を対象とした臨床研究も開始されている。

(倫理面への配慮) 本研究は、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、文部科学省・厚生労働省)、遺伝子組換え実験等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律(カルタヘナ法)(平成15年法律第97号)、研究開発等に係る遺伝子組換え実験等の第二種使用等に当たって執るべき拡散防止措置等を定める省令(平成16年文部科学・環境省令第1号)、および遺伝子組換え生物等の第二種使用等のうち産業上の使用等に当たって執るべき拡散防止措置等を定める省令(平成16年財務・厚生労働・農林水産・経済産業・環境省令第1号、一部改正:平成18年6月6日財務・厚生労働・農林水産・経済産業・環境省令第2号)を遵守して行われる。東京大学医学部組換えDNA安全委員会よりP2レベルの承認を受けた実験室にてにおいて実験は行われる。遺伝子組み換え実験は、使用場所の追加に伴う数回の申請と承認を経て、現在は「遺

伝子組換え単純ヘルペスウイルス1型を用いた腫瘍ウイルス療法 VII」として平成25年10月15日付にて(25受文科振第1912号)大臣確認を受けている。治験に使用するウイルスの製造については、医薬品医療機器総合機構の審査を経て厚生労働大臣に申請を行い確認を受ける。動物を使用する実験については、東京大学動物実験実施規則に従って作成され、審査承認を受けた動物実験計画(A12-11, PH13-21)に基づいて実施される。また、単純ヘルペスウイルス1型と2型、およびそれに由来する遺伝子組換えウイルスについて、「レベル2微生物取扱等届出書」が平成24年3月27日付で東京大学医科学研究所長に提出されている。医科学研究所におけるウイルス療法臨床研究の実施については、膠芽腫については平成25年3月22日付(厚生労働省発科0322第2号)、嗅神経芽細胞腫については平成25年6月28日付(厚生労働省発科0628第1号)にて、厚生労働大臣の承認を得ている。第一種使用規定については、膠芽腫については平成25年5月13日付にて(厚生労働省発科0513第4号、環自野発第1305131号)、嗅神経芽細胞腫については平成25年8月22日付にて(厚生労働省発科0822第5号、環自野発第1308221号)厚生労働大臣および環境大臣の承認を得ている。臨床研究に関する倫理指針には該当せず、ヒトES細胞を用いる研究にも該当しない。

### C. 研究結果

医科学研究所治療ベクター開発室において昨年度末に調製を終えている第三ロットのG47Δについて、研究内での品質検査を継続するとともに製造記録文書の整備を行った。並行して、中～大規模製造のた

めの技術開発を継続し、培養担体とバイオリアクターを使用した細胞培養方法およびウイルス培養についての条件を検討し、製造に使用する設定を確定した。さらに、中規模培養における精製および濃縮の工程の条件も検討し確定のうえ、試験製造を合計3回実施した。この中規模製造については、作業の効率をさらに向上させるべく検討を重ねている。昨年度実施した外部機関(海外)での委託製造における記録を参考に、技術改良についても検討を重ねた。

治験実施のための申請については、確認申請に必要な資料等に関して医薬品医療機器総合機構での事前面談を受け書類整備を進めていたが、確認申請制度の廃止に伴い、治験申請のための書類の作成に切り替えた。医薬品医療機器総合機構と随時相談しつつ、必要な手続きをすすめている。具体的には、平成25年5月29日(品質・安全性)と7月2日(治験計画)に事前面談を受けた後、12月2日に対面助言日程調整依頼書を提出した。12月18日の再度の事前面談を経て、平成26年1月8日、対面助言申込書を提出した。医薬品医療機器総合機構からの照会事項の受領とそれに対する回答の提出、および医薬品医療機器総合機構意見の受領とそれに対する回答の提出を経て、平成26年2月20日(品質・安全性)と2月21日(治験計画)の2日にわたり、対面助言を受けた。

#### D. 考察

学内施設での製剤調製においては、これまでのロットでほぼ同様の規模および濃度のG47Δウイルスが得られており、安定した調製方法であることが示唆された。他方、中規模から大規模製造に向けての新たな製造工程の開発においては、それが現実的

な方法であることが確認されたものの、より効率的な条件に向けた検討が必要であると思われた。医師主導治験開始のための医薬品医療機器総合機構との折衝においては、ウイルス療法という新しい治療法の実用化にむけ、検討課題の確認と解決に向けての議論が行われた。

#### E. まとめ(結論)

G47Δによるウイルス療法の治験の実施にむけて、ウイルス製剤の調製と中～大規模製造のための技術開発を行なった。膠芽腫および嗅神経芽細胞腫を対象とした臨床研究について厚生労働大臣の承認を得、臨床研究を開始した。治験届提出のために必要な医薬品薬事戦略相談のための書類を整備し、対面助言を受けた。次年度の治験実施に向けての準備が進んでいる。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

- ① Tsuji T, Nakamori M, Iwahashi M, Nakamura M, Ojima T, Iida T, Katsuda M, Hayata K, Ino Y, Todo T, Yamaue H: An armed oncolytic herpes simplex virus expressing thrombospondin-1 has an enhanced in vivo antitumor effect against human gastric cancer. *Int J Cancer* 132 (2): 485-494, 2013.
- ② Koyama-Nasu R, Nasu-Nishimura Y, Todo T,

- Ino Y, Saito N, Aburatani H, Funato K, Echizen K, Sugano H, Haruta R, Matsui M, Takahashi R, Manabe E, Oda T, Akiyama T: The critical role of cyclin D2 in cell cycle progression and tumorigenicity of glioblastoma stem cells. *Oncogene* 32 (33): 3840-3845, 2013.
- ③ Koyama-Nasu R, Hruta R, Nasu-Nishimura Y, Taniue K, Katou Y, Shirahige K, Todo T, Ino Y, Mukasa A, Saito N, Matsui M, Takahashi R, Hoshino-Okubo A, Sugano H, Manabe E, Funato K, Akiyama T: The pleiotrophin-ALK axis is required for tumorigenicity of glioblastoma stem cells. *Oncogene*, 2013.
- ④ Echizen K, Nakada M, Hayashi T, Sabit H, Furuta T, Nakai M, Koyama-Nasu R, Nishimura Y, Taniue K, Morishita Y, Hirano S, Terai K, Todo T, Ino Y, Mukasa A, Takayanagi S, Ohtani R, Saito N, Akiyama T: PCDH10 is required for the tumorigenicity of glioblastoma cells. *Biochem Biophys Res Commun* 444(1): 13-18, 2014.
2. 学会発表
- ① Todo T, Tanaka M, Ito M, Fukuhara H, Ino Y : Clinical development of a third-generation recombinant oncolytic HSV-1 (G47Δ) for brain tumors and rare cancers. 第19回日本遺伝子治療学会学術集会（岡山）、2013年7月4-6日。
- ② Uchihashi T, Nakahara H, Ino Y, Todo T : A new therapeutic strategy for oral squamous cell carcinoma using G47Δ, A third generation oncolytic herpes simplex virus type 1. 第19回日本遺伝子治療学会年次学術集会（岡山）、2013年7月4-6日。
- ③ Kakutani S, Fukuhara H, Takeshima Y, Homma H, Ino Y, Todo T : Oncolytic virus therapy using recombinant HSV-1 for nonseminoma germ cell tumors. 第19回日本遺伝子治療学会年次学術集会（岡山）、2013年7月4-6日。
- ④ 藤堂 具紀、福原 浩、稲生 靖 : ウイルス療法の臨床開発。第72回日本癌学会学術総会（横浜）、2013年10月3-5日。
- ⑤ Uchihashi T, Nakahara H, Ino Y, Fukuhara H, Kogo M, Todo T : Therapeutic efficacy of oncolytic virus G47Δ for oral squamous cell carcinoma in orthotopic tongue cancer models. 第72回日本癌学会学術総会（横浜）、2013年10月3-5日。
- ⑥ Kakutani S, Fukuhara H, Takeshima Y, Homma H, Ino Y, Todo T : Antitumor efficacy of oncolytic HSV-1 (G47Δ) for testicular cancer. 第72回日本癌学会学術総会（横浜）、2013年10月3-5日。
- ⑦ 田中 実、伊藤 元一、稲生 靖、藤堂 具紀 : G47Δを用いた嗅神経芽細胞腫の臨床試験。第31回日本脳腫瘍学会学術集会（宮崎）、2013年12月8-10日。



- ⑧ 伊藤 元一、稲生 靖、田中 実、伊藤 博崇、藤堂 具紀：がん治療用ウイルス(G47Δ)とマイクロRNA阻害を併用した悪性グリオーマ治療の開発。第31回日本脳腫瘍学会学術集会（宮崎）、2013年12月8-10日。
- ⑨ 内橋 俊大、中原 寛和、古郷 幹彦、稲生 靖、藤堂 具紀：第三世代がん治療用単純ヘルペスウイルス I 型G47Δを用いた口腔扁平上皮癌に対する新規治療戦略。第32回日本口腔腫瘍学会総会・学術大会（札幌）、2014年1月23-24日。

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

##### 1. 特許取得

なし

##### 2. 実用新案登録

なし

##### 3. その他

なし

厚生労働科学研究費補助金  
(難病・がん等の疾患分野の医療の実用化研究事業 (がん関係研究分野))  
分担研究報告書

「希少がんに対するウイルス療法の実用化臨床研究」  
(前立腺癌に対するウイルス療法の開発)

研究分担者・福原 浩  
(東京大学医学系研究科 泌尿器科・講師)

研究要旨

前立腺癌は、局所に限局している場合は手術療法や放射線療法が行われ、比較的予後が良い疾患であるが、ホルモン療法に抵抗性となった場合は有効な治療法がないのが現状である。ホルモン療法抵抗性となつてからの生存期間中央値は12-15ヶ月であり、新たな機序による治療法が期待されている。そのため、今回、ホルモン療法抵抗性前立腺癌に対する臨床研究を計画しており、これは国の承認を受けて行うウイルス療法として前立腺癌に適応される、国内初の臨床研究となる。

A. 研究目的

ホルモン療法を施行したにもかかわらず再燃(再発)した前立腺癌に対して、治療手段は非常に限られており、ホルモン療法に抵抗性となつてからは、生存期間中央値(いわゆる平均余命)が12-15ヶ月とされている。抗癌剤治療が行われることがあるが、対象に高齢者が多いこともあり、そもそも選択されないことも多く。唯一効果があるとされるドセタキセルでも平均2-3ヶ月の延命効果しか認めていない。また、骨髄抑制などの副作用にて消耗して治療中止となる場合も多く見られるのが現状である。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、再燃した際には有効な手だてがないことから、今回臨床研究を開始するウイルス療法のような、全く新しいアプローチによる

治療法開発が待ち望まれている。

G47Δをホルモン療法抵抗性前立腺癌患者に投与することが今回の臨床研究の目的である。

B. 研究方法

前立腺を摘出しておらず、ホルモン療法後に再燃した前立腺癌患者を対象疾患とする。遠隔転移がある場合も含み、抗癌剤ドセタキセル投与の既往は問わない。試験デザインは安全性確認の第I相とする。

経直腸超音波ガイド下に経会陰的(経皮的)に前立腺内に2カ所投与する方法で行い、

3例ずつ3段階で増加(2回投与→3回投与→4回投与、合計9例)する用量増加方法で行う。主目的は安全性の評価で、観察期間を6ヶ月、生

存期間追跡は2年間行うこととする。

なし

#### C. 研究結果

ウイルス療法は、厳密には遺伝子治療ではないが、今回の実施計画書は、「遺伝子治療臨床研究に関する指針」に則って審査を受けている。平成23年8月に東京大学医学部遺伝子治療臨床研究審査委員会の承認を受けたのち、厚生労働省に申請され、平成24年8月7日付で厚生労働大臣の承認を受けた。また、増殖型遺伝子組換えウイルスを使用するため、「遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律」（カルタヘナ法）に則って、第一種使用規程が厚生労働省に同時申請され、厚生労働大臣と環境大臣の承認を受けている。国の承認を受けて行うウイルス療法として前立腺癌に適応されるのは、今回の臨床研究が国内で初めてとなる。

#### D. 考察

この臨床研究は東京大学医学部附属病院泌尿器科にて平成25年5月より開始され、4症例にウイルス投与が終了している。平成26年度中に残りの5症例も投与する予定である。

#### E. 結論

ホルモン療法抵抗性再燃前立腺癌に対して、増殖型遺伝子組換え単純ヘルペスウイルス1型G47Δを用いたウイルス療法の臨床研究を東京大学医学部附属病院泌尿器科に開始する予定である。

#### F. 健康危険情報

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

- ① Sato YT, Fukuhara H, Suzuki M, Fujimura T, Nakagawa T, Nishimatsu H, Kume H, Morikawa T, Fukayama M, Homma Y. Long-term results of radical prostatectomy with immediate adjuvant androgen deprivation therapy for pT3N0 prostate cancer. BMC Urol. 2014;14:13.
- ② Taguchi S, Nakagawa T, Hattori M, Niimi A, Nagata M, Kawai T, Fukuhara H, Nishimatsu H, Ishikawa A, Kume H, Homma Y. Prognostic Factors for Metastatic Urothelial Carcinoma Undergoing Cisplatin-based Salvage Chemotherapy. Jpn J Clin Oncol. 43, 923-928, 2013.
- ③ Kamei J, Nishimatsu H, Nakagawa T, Suzuki M, Fujimura T, Fukuhara H, Igawa Y, Kume H, Homma Y. Risk factors for septic shock in acute obstructive pyelonephritis requiring emergency drainage of the upper urinary tract. Int Urol Nephrol. 2013, in press.
- ④ Nishimatsu H, Suzuki E, Nomiya A, Niimi A, Suzuki M, Fujimura T, Fukuhara H, Homma Y. Adrenomedullin and Angiotensin-1 Additively Restore Erectile Function in Diabetic Rats: Comparison

with the Combination Therapy of Vascular Endothelial Growth Factor and Angiopoietin-1. *J Sex Med.* 10, 1707-1709, 2013.

- ⑤ Yamada D, Nishimatsu H, Kumano S, Hirano Y, Suzuki M, Fujimura T, Fukuhara H, Enomoto Y, Kume H, Homma Y. Reduction of prostate cancer incidence by naftopidil, an  $\alpha 1$  -adrenoceptor antagonist and transforming growth factor- $\beta$  signaling inhibitor. *Int J Urol.* 20, 1220-1227, 2013.

- ⑥ 藤村 哲也、福原 浩、山田 大介、鈴木 基文、榎本 裕、西松 寛明、石川 晃、久米 春喜、本間 之夫：根治的前立腺全摘除術における3手術（ミニマム創小切開、腹腔鏡、ロボット支援手術）の導入期での術式別の比較。日本内視鏡外科学会雑誌, 18, 189-197, 2013。

## 2. 学会発表

- ① Yamada D, Nishimatsu H, Teshima S, Kumano S, Hirano Y, Suzuki M, Fujimura T, Fukuhara H, Enomoto Y, Kume H, Homma Y : R Reduction of prostate cancer incidence by naftopidil, an  $\alpha 1$  adrenoceptor antagonist and TGF- $\beta$  signaling inhibitor. American Urological Association 2013 Annual Meeting, San Diego, USA. May 7, 2013.
- ② Nishimatsu H, Niimi A Suzuki E, Nomiya A , Fukuhara H, Fujimura T, Suzuki M,

Nakagawa T, Enomoto Y, Kume H, Homma Y : Adrenomedullin and Angiopoietin-1 have a integrated restiration activity on Erectile Function in Diabetic Rats: Comparison with the Combination Therapy with Vascular Endothelial Growth Factor and Angiopoietin-1. American Urological Association 2013 Annual Meeting, San Diego, USA. May 7, 2013.

- ③ Suzuki M, Igawa Y, Fujimura T, Fukuhara H, Nishimatsu H, Kume H, Koyama Y, Iguchi Y, Saito T, Homma Y. : Socioeconomical effect of bladder functional assessment-based optimal prompted voiding care for institutionalized elderly with urinary incontinence in Japan. 43rd Annual Meeting of the ICS 2013, Barcelona, Spain. Aug 29, 2013.
- ④ Kume H, Taguchi S, Nagata M, Nishimatsu H, Enomoto Y, Nakagawa T, Fukuhara H, Fujimura T, Suzuki M, Homma Y : Intermittent docetaxel therapy for castration resistant prostate cancer. 33rd Congress of the Société Internationale d'Urologie, Vancouver, Canada. Sep 9, 2013.
- ⑤ Taguchi S, Nakagawa T, Hattori M, Niimi A, Nagata M, Kawai T, Fukuhara H, Nishimatsu H, Ishikawa A, Kume H, Homma Y : Factors impacting survival in patients with metastatic urothelial carcinoma undergoing salvage