

遺伝子治療臨床研究に関する実施施設からの報告について

【 国立大学法人三重大学 】

課題名 : MAGE-A4 抗原特異的 TCR 遺伝子導入リンパ球輸注による治療抵抗性食道癌に対する遺伝子治療臨床研究

○ 終了報告書 P. 1



遺 伝 子 治 療 臨 床 研 究 終 了 報 告 書

平成 26 年 03 月 28 日

厚生労働大臣 殿
(文部科学大臣)

実 施 施	所 在 地	三重県津市江戸橋二丁目174番地 (郵便番号 514-8507)
	名 称	国立大学法人三重大学医学部附属病院 (電話番号 059-232-1111) (FAX番号 059-321-5276)
	代 表 者 役職名・氏名	国立大学法人三重大学医学部附属病院 病院長・伊藤 正明 (職印)

下記の遺伝子治療臨床研究について、別添の終了報告書を提出します。

記


遺 伝 子 治 療 臨 床 研 究 の 課 題 名	総 括 責 任 者 の 所 属 ・ 職 ・ 氏 名
MAGE-A4 抗原特異的 TCR 遺伝子導入リンパ球輸注による 治療抵抗性食道癌に対する遺伝子治療臨床研究	国立大学法人三重大学大学院医学系 研究科 遺伝子・免疫細胞治療学講座・ 大学教員・珠玖 洋




遺 伝 子 治 療 臨 床 研 究 終 了 報 告 書

(受付番号)	(初回申請年月日) 平成20年6月9日
--------	------------------------

研 究 の 名 称	MAGE-A4抗原特異的TCR遺伝子導入リンパ球輸注による治療抵抗性食道癌に対する遺伝子治療臨床研究
研 究 実 施 期 間	平成21年7月17日～平成25年5月13日

総括責任者	所属部局の所在地	三重県津市江戸橋二丁目174番地 (郵便番号 514-8507)	
	所属機関・部局・職	三重大学大学院医学系研究科 遺伝子・免疫細胞治療学講座・大学教員	
	氏 名	珠玖 洋 	
実施の場所	所 在 地	三重県津市江戸橋二丁目174番地 (郵便番号 514-8507)	
	名 称	三重大学医学部附属病院	
	連 絡 先	三重県津市江戸橋二丁目174番地 (電話番号 059-232-1111)	
総括責任者以外の研究者	氏 名	所 属 機 関 ・ 部 局 ・ 職	役 割
	影山 慎一	三重大学大学院医学系研究科・ 遺伝子・免疫細胞治療学講座・准教授	レトロウイルスベクター製剤の品質管理責任者、遺伝子導入細胞製剤の品質管理責任者、試験登録患者の診療
	池田 裕明	三重大学大学院医学系研究科・ 遺伝子・免疫細胞治療学講座・准教授	レトロウイルスベクター製剤の製造管理責任者、遺伝子導入細胞製剤の製造管理責任者、遺伝子導入細胞製剤の体内動態及び免疫反応の評価
	宮原 慶裕	三重大学大学院医学系研究科・ がんワクチン講座・講師	遺伝子導入細胞製剤の体内動態及び免疫反応の評価、試験登録患者の診療
	今井 奈緒子	三重大学大学院医学系研究科・ 遺伝子・免疫細胞治療学講座・助教	遺伝子導入細胞製剤の体内動態及び免疫反応の評価、試験登録患者の診療
	石原 幹也 片山 直之	三重大学医学部附属病院腫瘍内科・医員 三重大学大学院医学系研究科・臨床医学系講座・血液・腫瘍内科学・教授 三重大学医学部附属病院・ 血液内科、腫瘍内科・科長	試験登録患者の診療 試験登録患者の診療

	中瀬 一則	三重大学医学部附属病院・	試験登録患者の診療
	榊屋 正浩	がんセンター・准教授、センター長	試験登録患者の診療
	水野 聡朗	三重大学大学院医学系研究科・	試験登録患者の診療
	齋藤 佳菜子	臨床医学系講座・血液・腫瘍内科学・	試験登録患者の診療
	大石 晃嗣	准教授	アフェレーシスの管理
	濱田 康彦	三重大学医学部附属病院・腫瘍内科・	試験登録患者の診療
	白石 泰三	講師、副科長	病理組織学的診断
	佐藤 永一	三重大学医学部附属病院	病理組織学的診断
大谷 明夫	腫瘍内科・助教	病理組織学的診断	
		三重大学医学部附属病院・	
		輸血部・部長、講師	
		三重大学医学部附属病院・	
		光学医療診療部・助教	
		三重大学大学院医学系研究科・	
		基礎医学系講座・	
		腫瘍病理学・教授	
		東京医科大学・	
		人体病理学講座・助教	
		独立行政法人国立病院機構 水戸医療	
		センター・病理診断科・臨床研究部長	
外部協力者	峰野 純一	タカラバイオ株式会社・	ウイルスベクターに関する基礎的助言
		細胞・遺伝子治療センター・センター長	及び遺伝子導入Tリンパ球調製技術の提供と助言、遺伝子導入細胞製剤の体内動態検査、RCR 検査及び LAM-PCR に関する技術提供
審査委員会の開催状況	平成 21 年 8 月 17 日より遺伝子治療臨床研究審査委員会が 11 回開催され、研究の進捗等の報告と検討がなされた。平成 26 年 2 月 10 日の同 委員会において、研究担当者より本研究の概要、経過および成果について審査委員会各委員に報告がなされ、全委員からの承認を得て、本研究の終了が了承された。		
		審査委員会の長の職名	氏名
		三重大学医学部附属病院・遺伝子治療臨床研究審査委員会・委員長	登 勉
		三重大学大学院医学系研究科・臨床医学系講座・検査医学分野・教授	

研究の区分	遺伝子治療臨床研究	遺伝子標識臨床研究
研究の目的	<p>本臨床研究は、標準的な治療法（化学療法、放射線療法等）による効果が期待できない治療抵抗性の食道癌患者を対象として、腫瘍抗原 MAGE-A4 を HLA-A2402 存在下で特異的に認識する T 細胞受容体 (TCR) α 鎖及び β 鎖の遺伝子をレトロウイルスベクターにより遺伝子導入した自己リンパ球 (TCR 遺伝子導入リンパ球) 輸注について、その安全性、体内動態及び臨床効果を以下のエンドポイントにより評価することを目的とする。</p> <p>①主要エンドポイント</p> <ul style="list-style-type: none"> ・本遺伝子治療の安全性 [有害事象、臨床検査、増殖性レトロウイルス (RCR)、linear amplification mediated-PCR (LAM-PCR)] <p>②副次エンドポイント</p> <ul style="list-style-type: none"> ・TCR 遺伝子導入リンパ球の血中動態及び腫瘍組織への浸潤 ・腫瘍特異的免疫反応 ・腫瘍縮小効果 	
対象疾患	標準的な治療法（化学療法、放射線療法等）による効果が期待できない治療抵抗性の食道癌	
実施方法	<p>治療抵抗性食道癌患者より一次登録時の選択基準・除外基準に適合する患者を選定し、本臨床研究への一次登録を行った。アフエレーシスにて採取した自己 PBL に MAGE-A4₁₄₃₋₁₅₁ ペプチドを認識する TCR α 鎖及び β 鎖遺伝子をレトロウイルスベクターにて導入し、得られた TCR 遺伝子導入リンパ球を ex vivo 培養し、一旦凍結保存した。TCR 遺伝子導入リンパ球の調製を終了し、安全性を確認した時点で、二次登録時の選択基準・除外基準に適合する患者を選定し、本臨床研究への二次登録を行った。</p> <p>TCR 遺伝子導入リンパ球 (単回投与) を経静脈的に投与した。TCR 遺伝子導入リンパ球投与日を 0 日として 14 日目及び 28 日目の 2 日間の計 2 回、1 日投与量 300 μg の MAGE-A4₁₄₃₋₁₅₁ ペプチドと不完全フロイントアジュバントとの懸濁液を、皮下投与した。追跡調査を行った後、本遺伝子治療の安全性 (有害事象、臨床検査、RCR、LAM-PCR)、TCR 遺伝子導入リンパ球の血中動態及び腫瘍組織への浸潤、腫瘍特異的免疫反応及び腫瘍縮小効果を評価した。</p> <p>「詳細は別紙 1 のとおり」</p>	
研究結果の概要及び考察	<p>・コホート 1 では 6 例が一次登録され、3 例に遺伝子導入細胞が投与された。残りの 3 例は二次登録に至らず、遺伝子導入細胞の投与前に試験を中止した。遺伝子導入細胞を投与された 3 例において、遺伝子導入細胞に起因する有害事象は認められなかった。</p> <p>登録 1 例目： 2010 年 5 月に一次登録したが、アフエレーシス後に脳内転移が見つかり、遺伝子導入細胞投与前に試験を中止した。2010 年 9 月に原病悪化で死亡。</p>	

研究結果の概要
及 び 考 察

登録2例目(投与例): 2010年7月に一次登録し、2010年8月に遺伝子導入細胞の投与を実施した。投与後63日の観察の後、2010年10月に臨床研究を終了した。2011年8月に原病悪化で死亡。

登録3例目: 2010年8月に一次登録したが、原病悪化のために遺伝子導入細胞投与前に試験を中止した。2011年1月に原病悪化で死亡。

登録4例目(投与例): 2011年1月に一次登録し、2011年4月に遺伝子導入細胞の投与を実施した。投与後63日の観察の後、2011年6月に臨床研究を終了した。2011年10月に原病悪化で死亡。

登録5例目: 2011年2月に一次登録したが、原病悪化のために遺伝子導入細胞投与前に試験を中止した。2011年3月に原病悪化で死亡。

登録6例目(投与例): 2011年5月に一次登録し、2011年6月に遺伝子導入細胞の投与を実施した。投与後63日の観察の後、2011年7月に臨床研究を終了した。

・コホート2では6例が一次登録され、4例に遺伝子導入細胞が投与された。残りの2例は二次登録に至らず、遺伝子導入細胞の投与前に試験を中止した。遺伝子導入細胞を投与された4例のうち、1例は遺伝子導入細胞の投与後、ペプチド投与の実施前に原病の悪化により試験を中止した。遺伝子導入細胞を投与された4例において、遺伝子導入細胞に起因する有害事象は認められなかった。

登録7例目: 2011年10月に一次登録したが、原病悪化のために遺伝子導入細胞投与前に試験を中止した。

登録8例目(投与例): 2011年10月に一次登録し、2012年3月に遺伝子導入細胞の投与を実施した。投与後63日の観察の後、2012年5月に臨床研究を終了した。2014年3月現在、生存中。

登録9例目(投与例): 2012年1月に一次登録し、2012年5月に遺伝子導入細胞の投与を実施した。投与後、ペプチド投与前に原病悪化により試験を中止した。2012年8月に原病悪化で死亡。

登録10例目(投与例): 2012年3月に一次登録し、2012年4月に遺伝子導入細胞の投与を実施した。投与後63日の観察の後、2012年6月に臨床研究を終了した。2013年4月に原病悪化で死亡。

登録11例目: 2012年3月に一次登録したが、原病悪化のために遺伝子導入細胞投与前に試験を中止した。

登録12例目(投与例): 2012年6月に一次登録し、2012年7月に遺伝子導入細胞の投与を実施した。投与後63日の観察の後、2012年9月に臨床研究を終了した。2014年3月現在、生存中。

	<p>・コホート3では3例が一次登録され、3例に遺伝子導入細胞が投与された。遺伝子導入細胞を投与された3例において、遺伝子導入細胞に起因する有害事象は認められなかった。</p> <p><u>登録13例目（投与例）</u>： 2012年9月に一次登録し、2012年10月に遺伝子導入細胞の投与を実施した。投与後63日の観察の後、2012年12月に臨床研究を終了した。2014年3月現在、生存中。</p> <p><u>登録14例目（投与例）</u>： 2012年11月に一次登録し、2013年1月に遺伝子導入細胞の投与を実施した。投与後63日の観察の後、2013年3月に臨床研究を終了した。2013年9月に原病悪化で死亡。</p> <p><u>登録15例目（投与例）</u>： 2012年11月に一次登録し、2013年2月に遺伝子導入細胞の投与を実施した。投与後63日の観察の後、2013年4月に臨床研究を終了した。2014年3月現在、生存中。</p> <p>主要エンドポイントの安全性については、遺伝子治療実施10例において、重篤な有害事象は発生せず、また、増殖性レトロウイルスと細胞クロナリティも認めなかったことより、本遺伝子治療の安全性に問題はなかった。副次エンドポイントでは、血中動態データが取得され、腫瘍組織浸潤も確認された。腫瘍特異的な免疫反応が確認された。なお、腫瘍縮小効果は示されなかった。</p> <p>以上より、本研究の目的が達成された。</p> <p>「詳細は別紙1のとおり」</p>
<p>研究成果の公表状況</p>	<p>(学会発表)</p> <ul style="list-style-type: none"> ・影山慎一、池田裕明、今井奈緒子、他、食道癌を対象にしたMAGE-A4特異的TCR遺伝子導入リンパ球輸注における輸注細胞の体内動態と臨床評価、第17回日本がん免疫学会総会（平成25年7月4日、宇部市） ・池田裕明、抗原受容体遺伝子改変T細胞輸注療法、第17回日本がん免疫学会総会（平成25年7月4日、宇部市） ・影山慎一、池田裕明、今井奈緒子、他、MAGE-A4発現食道癌における抗原特異的TCR遺伝子導入リンパ球輸注後のin vivo血中持続、第72回日本癌学会学術総会（平成25年10月5日、横浜市） ・池田裕明、抗原受容体を遺伝子改変したT細胞の輸注療法、第72回日本癌学会学術総会（平成25年10月5日、横浜市） ・Hiroaki Ikeda, Shinichi Kageyama, Naoko Imai, et al. Adoptively transferred TCR gene-transduced lymphocytes persist with anti-tumor reactivity in patients with MAGE-A4+ esophageal cancer, ESGCT (European Society of Gene and Cell Therapy) 2013 Annual Congress（平成25年10月26日、マドリッド、スペイン）

	<p>・ Hiroaki Ikeda, Shinichi Kageyama, Naoko Imai, et al. In Vivo Persistence of Adoptively Transferred TCR Gene-transduced Lymphocytes with Anti-tumor Reactivity in Patients with MAGE-A4 Expressing Esophageal Cancer SITC(Society of Immunotherapy to Cancer) 28th Annual Meeting (平成 25 年 11 月 8 日、ナショナルハーバー、米国)</p>
--	---

(注意)

1. 用紙の大きさは、日本工業規格A列4番とすること。
2. この申請書は、正本1通及び副本2通を提出すること。
3. 字は黒・インクを用い、楷書ではっきり書くこと。
4. 記載欄に記載事項のすべてを記載できない時は、その欄に「別紙（ ）のとおり」と記載し、別紙を添付すること。
5. 大学等にあつては、この申請書の写しを文部科学大臣にも送付すること。

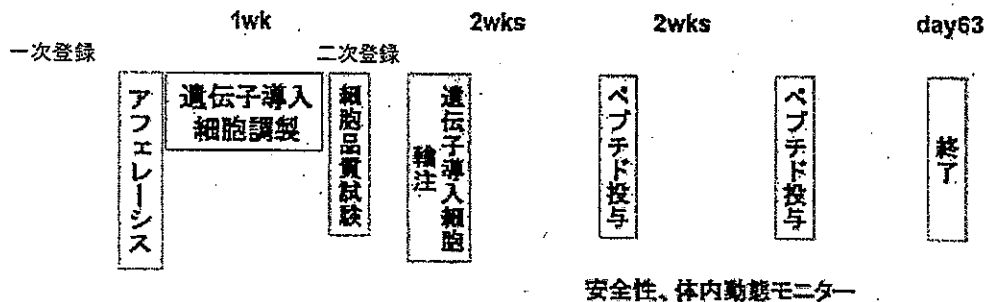
遺伝子治療臨床研究報告

総括責任者 珠玖 洋



遺伝子治療臨床研究実施計画「MAGE-A4抗原特異的 TCR 遺伝子導入リンパ球輸注による治療抵抗性食道癌に対する遺伝子治療臨床研究」について、2009年7月17日に厚生労働省より臨床研究実施の承認を受けた。本臨床研究では再発・進行食道癌患者を対象として、レトロウイルスベクターMS-bPaを用いて MAGE-A4 特異的 TCR 遺伝子を導入した自己リンパ球を輸注し、MAGE-A4 抗原ペプチドを2週間隔にて2回皮下投与する。輸注細胞数は 2×10^8 細胞/輸注、 1×10^9 細胞/輸注、及び 5×10^9 細胞/輸注の3グループとし、各グループ評価対象3名ずつの登録による用量増加試験である(図1)。

MAGE-A4特異的TCR導入T細胞とペプチドワクチンの臨床試験



対象

MAGE-A4抗原発現、HLA-A2402陽性
難治性食道癌、

細胞量増加試験

2×10^8 細胞/輸注	3例
1×10^9 細胞/輸注	3例
5×10^9 細胞/輸注	3例

図1 レトロウイルスベクターMS-bPaを用いた TCR 遺伝子治療臨床研究実施計画

1. 臨床研究登録症例

2010年5月から2012年11月まで15名の治療抵抗性食道癌患者が登録された。このうち登録1例目(登録番号: TCR-MA-101)、3例目(登録番号: TCR-MA-103)、5例目(登録番号: TCR-MA-105)、7例目(TCR-MA-207)及び11例目(TCR-MA-211)は、一次登録後に遺伝子導入細胞調製中あるいは調製後に原病の悪化などにより、二次登録が不適格となったため試験中止となった(TCR 遺伝子導入 T リンパ球は未投与)。

コホート1では、登録2例目(登録番号: TCR-MA-102)、4例目(登録番号: TCR-MA-104)、及び6

別紙様式第4の別添 別紙1

例目(登録番号: TCR-MA-106)の患者に TCR 遺伝子導入 T リンパ球の輸注を行い、試験を終了した。この3例の試験結果について、三重大学医学部附属病院遺伝子治療臨床研究審査委員会の安全・効果評価・適応判定部会及び遺伝子製剤検証部会において評価が行われ、コホート2への移行が認められた。

コホート2では、登録8例目(登録番号: TCR-MA-208)、9例目(登録番号: TCR-MA-209)、10例目(登録番号: TCR-MA-210)、12例目(登録番号: TCR-MA-212)の4例に TCR 遺伝子導入 T リンパ球の輸注を行い、TCR-MA-208、TCR-MA-210及びTCR-MA-212は試験を終了した。また、TCR-MA-209は TCR 遺伝子導入 T リンパ球の輸注後、ペプチド投与の実施前に原病の悪化により試験を中止した。この4例の試験結果について、安全・効果評価・適応判定部会及び遺伝子製剤検証部会において評価が行われ、コホート3への移行が認められた。

コホート3では、登録13例目(登録番号: TCR-MA-213)、14例目(登録番号: TCR-MA-314)、15例目(登録番号: TCR-MA-315)の3例に TCR 遺伝子導入 T リンパ球の輸注を行い、試験を終了した。

登録患者の一覧(2014年1月31日現在、経過概要)を以下に示す。

登録番号	年齢 (登録時)	性別	初発年月・病期	臨床研究 登録年月	細胞 調製	細胞輸注	予後・経過
コホート1				(一次登録)	(二次登録)		
TCR-MA-101	52	女性	2009年7月 StageIV T4N2M0	2010年5月	○	投与せず	2010年9月 原病悪化で死亡
TCR-MA-102	69	男性	2008年6月 StageIII T3N2M0	2010年6月	○	2010年8月投与	試験終了 2011年8月 原病悪化で死亡
TCR-MA-103	59	男性	2008年12月 StageIV T4N1M1	2010年8月	○	投与せず	2011年1月 原病悪化で死亡
TCR-MA-104	56	男性	2010年5月 StageIV T4N4M0	2011年1月	○	2011年4月投与	試験終了 2011年10月 原 病悪化で死亡
TCR-MA-105	69	男性	2008年10月 Stage I T1N0M0	2011年2月	○	投与せず	2011年3月 原病悪化で死亡
TCR-MA-106	73	男性	2010年8月 StageIII T3N1M0	2011年5月	○	2011年6月投与	試験終了 2012年4月 原病悪化で死亡
コホート2				(一次登録)	(二次登録)		
TCR-MA-207	59	男性	2010年10月 StageIII T3N1M0	2011年10月	○	投与せず	2012年4月 原病悪化で死亡
TCR-MA-208	67	男性	2005年12月 StageIII T3N2M0	2011年10月	○	2012年3月投与	試験終了 生存
TCR-MA-209	57	男性	2010年4月 StageIII T3N2M0	2012年1月	○	2012年5月投与	試験中断 2012年8月 原病悪化で死亡
TCR-MA-210	54	男性	2011年5月 StageIV	2012年3月	○	2012年4月投与	試験終了 2013年4月 原病悪化で死亡

別紙様式第4の別添 別紙1

TCR-MA-211	69	男性	2011年7月 Stage III T3N2M0	2012年3月	○	投与せず	2012年8月 原病悪化で死亡
TCR-MA-212	43	男性	2010年8月 Stage III T3N2M0	2012年6月	○	2012年7月投与	試験終了 生存
コホート3			(一次登録)		(二次登録)		
TCR-MA-213	68	男性	2011年6月 Stage I T1N0M0	2012年9月	○	2012年10月投与	試験終了 生存
TCR-MA-314	64	男性	2010年7月 Stage III T4NanyM0	2012年11月	○	2013年1月投与	試験終了 2013年9月 原病悪化で死亡
TCR-MA-315	57	女性	2009年7月 Stage II T3N0M0	2012年11月	○	2013年2月投与	試験終了 生存

2. TCR 遺伝子導入 T リンパ球の投与を実施した各症例の経過 (2014年1月現在)

1) コホート1: 2×10^8 個 遺伝子導入 T リンパ球投与

TCR-MA-102 (コホート1 : 投与1例目)

69歳(登録時)男性。2008年6月に食道癌発症、臨床病期Ⅲ(T3N2M0)の進行期、病理診断は扁平上皮癌であった。初期治療は放射線及び化学療法(シスプラチン、5FU)を施行した。2009年1月にリンパ節に再発を来し、化学療法、放射線治療を施行し、一時効果があったが、2010年3月肝転移、肺転移で再燃した。その後、化学療法を継続し、腫瘍はやや縮小したが、本人の希望により化学療法の継続が中断となった。

2010年6月28日に院内審査委員会において適格判定が行われ、本遺伝子治療臨床研究に一次登録された。同年7月8日に成分採血を実施、TCR 遺伝子導入 T リンパ球の調製を行った。二次登録後、同年8月17日にTCR 遺伝子導入 T リンパ球輸注を実施した。TCR 遺伝子導入 T リンパ球投与から2週間後、4週間後にMAGE-A4₁₄₃₋₁₅₁抗原ペプチド300 µgとMontanide™ ISA 51VGの懸濁液を皮下投与した。

遺伝子治療実施後、治療に関連する有害事象は観察されず、2010年9月21日には安全性評価(day35)を行い、遺伝子治療については安全と判断した。

その後、肝転移巣の増大がみられたため、2010年10月1日より化学療法(シスプラチン、5FU)を開始した。計4コースの化学療法を実施した後に一時的な肝転移巣の縮小が認められたが、同年12月21日には再増大した。2011年1月13日より化学療法をドセタキセルに変更して継続的に4コース施行した。肝転移巣は不変であったが、副作用(浮腫)のため、継続を断念した。同年4月19日より臨床研究(CHP-MAGE-A4がんワクチン)に参加し、試験薬を2週毎に7回投与され、有害事象は観察されなかった。同年6月28日の画像診断にて肝転移巣は著明に増大し、また全身状態が徐々に悪化し、積極的な治療は困難となり、同年7月11日以降は無治療にて観察となった。その後、全身状態が悪化し、肝不全にて、2011年8月23日死亡した。剖検は行われなかった。

TCR-MA-104 (コホート1 : 投与2例目)

56歳(登録時)男性。2010年4月に食道癌発症、臨床病期Ⅳ(T4N4M0)の進行期、病理診断は扁平上皮癌であった。初期治療は放射線及び化学療法(シスプラチン、5FU)を施行した。同年7月には

別紙様式第4の別添 別紙1

一旦病変は縮小したが、同年9月に食道原発巣が増悪し、通過障害が出現した。再び化学療法（シスプラチン、5FU）を行い、同年12月まで計3コース実施した。

病変が残存したため、予後不良の再発食道癌と判断し、2011年1月17日に院内審査委員会において適格判定が行われ、本遺伝子治療臨床研究に一次登録された。同年1月18日に成分採血を実施、TCR遺伝子導入Tリンパ球の調製を行った。その後、化学療法（シスプラチン、5FU）2コースを実施したが、腫瘍が縮小しなかったため、遺伝子治療実施に問題ないと判断し、二次登録後、同年4月12日にTCR遺伝子導入Tリンパ球輸注を実施した。TCR遺伝子導入Tリンパ球投与から2週間後、4週間後にMAGE-A4₁₄₈₋₁₅₁抗原ペプチド300 µgとMontanide™ ISA 51VGの懸濁液を皮下投与した。

遺伝子治療実施後、治療に関連する有害事象は観察されず、2011年5月19日には安全性評価（day35）を行い、遺伝子治療については安全と判断した。

2011年5月27日に肺炎を発症、精査の結果、食道癌増悪により食道気管支瘻が形成され、それによる肺炎合併と診断した。肺炎は抗菌療法で一旦改善し、再び化学療法（シスプラチン、5FU）を行ったが効果は乏しく、また、肺炎も再燃を繰り返すようになった。その後は自宅にて療養をしていたが、肺炎は再燃を繰り返し、同年7月26日に再入院し、抗菌療法が行われた。また、食道気管支瘻に対しては食道ステントを挿入して、やや症状の改善を得た。本人の希望もあり一時退院したが、栄養状態も徐々に悪化し、全身衰弱が進み、同年10月10日再び入院した。肺炎再燃によって、抗菌療法などを行ったが全身状態が悪化し、2011年10月28日に死亡した。剖検は行われなかった。

TCR-MA-106（コホート1：投与3例目）

73歳（登録時）男性。2010年8月に食道癌発症、臨床病期Ⅲ（T3N1M0）の進行期、病理診断は扁平上皮癌であった。初期治療は放射線及び化学療法（シスプラチン、5FU）を施行した。当該治療では効果が乏しく、化学療法をシスプラチン、TS-1に変更したが徐々に悪化し、経口食の通過が困難になり、2011年3月28日に食道ステントを留置、経口摂取は可能となった。

この時点で治療抵抗性食道癌と判断し、院内審査委員会での適格判定を経て、2011年5月13日に本遺伝子治療臨床研究に一次登録された。同年5月20日に成分採血を実施、TCR遺伝子導入Tリンパ球の調製を行った。二次登録後、同年6月21日にTCR遺伝子導入Tリンパ球輸注を実施した。TCR遺伝子導入Tリンパ球投与から2週間後、4週間後にMAGE-A4₁₄₈₋₁₅₁抗原ペプチド300 µgとMontanide™ ISA 51VGの懸濁液を皮下投与した。

遺伝子治療実施後、ペプチド投与による皮膚硬結、掻痒、発赤（いずれもグレード1）が観察された以外、遺伝子治療に関連する有害事象は観察されず、2011年7月26日には安全性評価（day35）を行い、遺伝子治療については安全と判断した。

その後、腫瘍増大により留置食道ステントが閉塞し、経口食の通過が不能となり、2011年8月9日に胃瘻を造設した。同年9月9日よりドセタキセルによる化学療法を開始、3コースまで実施し、若干の腫瘍縮小をみたが、栄養状態が徐々に悪化し、全身状態が低下した。2012年1月よりは積極的な治療はせずに、在宅診療を受けながら、栄養管理、疼痛治療が行われてきた。4月からはさらに全身衰弱が進み、2012年4月6日に死亡した。剖検は行われなかった。

別紙様式第4の別添 別紙1

2) コホート2: 1 x 10⁹個 TCR 遺伝子導入 T リンパ球投与

TCR-MA-208 (コホート2 : 投与1例目)

67歳(登録時)男性。2005年12月に食道癌発症、臨床病期Ⅲ(T3N2M0)の進行期、病理診断は扁平上皮癌であった。初期治療は放射線及び化学療法(シスプラチン、5FU)を施行して完全縮小した。2010年8月～11月にかけて縦隔リンパ節が徐々に増大し、2011年8月には増大が著明となり、生検にて食道癌転移が判明したため、化学療法(シスプラチン、5FU)を2コース実施した。

この時点で治療抵抗性食道癌と判断し、院内審査委員会での適格判定を経て、2011年10月17日に本遺伝子治療臨床研究に一次登録された。同年10月26日に成分採血を実施、TCR 遺伝子導入 T リンパ球の調製を行った。その後、化学療法(シスプラチン、5FU)、放射線治療を施行して腫瘍の縮小を認めたが、残存が認められた。二次登録後、2012年3月6日にTCR 遺伝子導入 T リンパ球輸注を実施した。TCR 遺伝子導入 T リンパ球投与から2週間後、4週間後にMAGE-A4₁₄₃₋₁₅₁抗原ペプチド300 µgとMontanide™ ISA 51VGの懸濁液を皮下投与した。

遺伝子治療実施後、治療に関連する有害事象は観察されず、2012年4月10日には安全性評価(day35)を行い、遺伝子治療については安全と判断した。

輸注後から2013年6月まで病状の再発、悪化は観察されなかったが、同年12月CT検査にて左肺門リンパ節腫大があり、2014年1月PET検査にて原病の再発と判断された。生存中である。

TCR-MA-210 (コホート2 : 投与2例目)

54歳(登録時)男性。2011年5月に食道癌発症、臨床病期Ⅳ(初診時肺転移)の進行期、病理診断は扁平上皮癌であった。初期治療は化学療法(シスプラチン、5FU、ドセタキセル)を6コース施行したが、同年12月には肺転移の増悪が認められた。

三重大学医学部附属病院内の遺伝子治療臨床研究審査委員会での適格判定を経て、2012年3月6日に本遺伝子治療臨床研究に一次登録された。同年3月8日に成分採血を実施、TCR 遺伝子導入 T リンパ球の調製を行った。二次登録後、同年4月10日にTCR 遺伝子導入 T リンパ球輸注を実施した。また、TCR 遺伝子導入 T リンパ球投与から2週間後、4週間後にMAGE-A4₁₄₃₋₁₅₁抗原ペプチド300 µgとMontanide™ ISA 51VGの懸濁液を皮下投与した。

遺伝子治療実施後、ペプチド投与による皮膚反応(グレード1)が観察されたが、それ以外は遺伝子治療に関連する有害事象は観察されず、2012年5月17日には安全性評価(day35)を行い、遺伝子治療については安全と判断した。

その後、食道病変に増大があり、6月28日より食道への放射線治療を実施した。9月12日からはパグリタキセルによる化学療法を行った。一時的な腫瘍縮小をみたが、12月中旬から浮遊感を感じ、脳MRI検査にて多発性脳転移が判明した。2013年1月7日より全脳放射線治療を行うも、2月には肝転移が出現、さらに脳転移の悪化が確認された。3月中旬よりは意識レベルが低下した。支持療法を行うも、改善せず、2013年4月27日死亡した。剖検は行われなかった。

TCR-MA-209 (コホート2 : 投与3例目)

57歳(登録時)男性。2010年4月に食道癌発症、臨床病期Ⅲ(T3N2M0)の進行期、病理診断は扁平上皮癌であった。初期治療は化学療法(シスプラチン、5FU)を2コース施行し、同年8月に根治手

別紙様式第4の別添 別紙1

術を実施した。2011年9月に気管、縦隔リンパ節に再発を認め、放射線化学療法を施行して改善が認められたが、同年12月に増悪し、また新たなリンパ節転移病変を認めた。

この時点で治療抵抗性食道癌と判断し、院内審査委員会での適格判定を経て、2012年1月10日に本遺伝子治療臨床研究に一次登録され、同年1月12日に成分採血を実施、TCR遺伝子導入Tリンパ球の調製を行った。その後、化学療法（シスプラチン、5FU）を実施したが、病変の残存が認められ、二次登録後、同年5月8日にTCR遺伝子導入Tリンパ球輸注を実施した。TCR遺伝子導入Tリンパ球投与から2週間後の5月22日に原病悪化による全身状態悪化を認め、ペプチド投与せずに試験中止となった。試験中止までの期間、遺伝子治療に関連する有害事象は観察されなかった。

その後、小腸瘻造設、化学療法等による治療を実施したが原病は悪化し、同年8月14日に死亡した。剖検は行われなかった。

TCR-MA-212（コホート2：投与4例目）

43歳（登録時）男性。2010年8月に食道癌発症、臨床病期Ⅲ（T3N2M0）の進行期、病理診断は扁平上皮癌であった。初期治療は化学療法（シスプラチン、5FU、ドキシソルビシン）を1コース施行後に根治術を施行し、術後はドセタキセル治療を行った。2011年1月に胸骨転移を認め、放射線治療と化学療法（シスプラチン、5FU）を実施した。化学療法は、MAGE-A4自己リンパ球輸注とMAGE-A4ペプチドを併用した。十分な病変縮小は得られず、同年10月31日胸骨、鎖骨部分摘除を含む広範切除術を実施した。さらに2012年2月に鎖骨、第7頸椎への転移を認め、放射線治療、経口化学療法剤（TS-1）を投与したが、病変残存を認めた。

院内審査委員会での適格判定を経て、2012年6月12日に本遺伝子治療臨床研究に一次登録された。同年6月14日に成分採血を実施、TCR遺伝子導入Tリンパ球の調製を行った。二次登録後、同年7月17日にTCR遺伝子導入Tリンパ球輸注を実施した。TCR遺伝子導入Tリンパ球投与から2週間後、4週間後にMAGE-A4₁₄₃₋₁₅₁抗原ペプチド300 µgとMontanide™ ISA 51VGの懸濁液を皮下投与した。

遺伝子治療実施後、ペプチド投与による皮膚反応（グレード1）が観察されたが、それ以外は遺伝子治療に関連する有害事象は観察されず、2012年8月21日には安全性評価（day35）を行い、遺伝子治療については安全と判断した。

輸注後から現在まで、病状の再発、悪化は観察されず、生存中である。

3) コホート3: 5×10^9 個 TCR 遺伝子導入 T リンパ球投与

TCR-MA-213（コホート3：投与1例目）

68歳（登録時）男性。2011年6月に食道癌発症、臨床病期Ⅰ（T1N0M0）、病理診断は扁平上皮癌であった。初期治療は食道亜全摘、胃管再建を施行した。2011年8月に鎖骨転移再発の疑いがあり、2012年1月には再発が確定し、放射線治療、化学療法（シスプラチン・5FU）8コースを実施したが、病変は残存した。

院内審査委員会での適格判定を経て、2012年9月10日に本遺伝子治療臨床研究に一次登録された。同年9月12日に成分採血を実施、TCR遺伝子導入Tリンパ球の調製を行った。その後、化学療法（シスプラチン、5FU）を実施したが、病変の残存が認められた。二次登録後、同年10月30日にTCR遺伝子導入Tリンパ球輸注を実施した。また、TCR遺伝子導入Tリンパ球投与から2週間後、4週間後に

別紙様式第4の別添 別紙1

MAGE-A4₁₄₃₋₁₅₁ 抗原ペプチド 300 µg と Montanide™ ISA 51VG の懸濁液を皮下投与した。

遺伝子治療実施後、治療に関連する有害事象は観察されず、2012年12月4日には安全性評価(day35)を行い、遺伝子治療については安全と判断した。

輸注後から現在まで、病状の再発、悪化は観察されず、生存中である。

TCR-MA-314 (コホート3 : 投与2例目)

64歳(登録時)男性。2010年7月に食道癌発症、臨床病期Ⅲ(T4NanyM0)の進行期、病理診断は扁平上皮癌であった。初期治療は放射線治療、化学療法(シスプラチン、5FU)を7コース施行して部分寛解となり、2011年5月からドセタキセル5コース施行して完全縮小した。2012年7月に右頸部、腋窩リンパ節に再発を認め、放射線治療と化学療法(ネダプラチン、5FU)を実施したが、病変は残存した。

院内審査委員会での適格判定を経て、2012年11月6日に本遺伝子治療臨床研究に一次登録された。同年11月13日に成分採血を実施、TCR遺伝子導入Tリンパ球の調製を行った。二次登録後、2013年1月8日にTCR遺伝子導入Tリンパ球輸注を実施した。また、TCR遺伝子導入Tリンパ球投与から2週間後、4週間後にMAGE-A4₁₄₃₋₁₅₁抗原ペプチド300 µg と Montanide™ ISA 51VG の懸濁液を皮下投与した。

遺伝子治療実施後、治療に関連する有害事象は観察されず、2013年2月12日には安全性評価(day35)を行い、遺伝子治療については安全と判断した。

その後、頸部リンパ節病変の増大があり、3月26日より化学療法(パクリタキセル)を実施した。しかし、効果なく、右上肢の神経障害と運動マヒを来した。4月17日から化学療法をシスプラチン、5FUに再変更し、繰り返し治療を試みたが、効果はみられず、全身状態が徐々に悪化していった。8月26日に転倒し、第6頸椎骨折を来した。同部には転移病変があり、病的骨折であった。支持療法を行うも、改善せず、2013年9月3日に死亡した。剖検は行われなかった。

TCR-MA-315 (コホート3 : 投与3例目)

57歳(登録時)女性。2009年7月に食道癌発症、臨床病期Ⅱ(T3N0M0)、病理診断は扁平上皮癌であった。初期治療は食道亜全摘、胃管再建を施行した。2012年4月に頸部リンパ節に再発し、放射線治療、化学療法(シスプラチン、5FU)3コースを施行するも病変が残存した。

院内審査委員会での適格判定を経て、2012年11月6日に本遺伝子治療臨床研究に一次登録された。同年11月27日に成分採血を実施、TCR遺伝子導入Tリンパ球の調製を行った。その後、化学療法(シスプラチン、5FU)を実施したが、病変の残存が認められたため、遺伝子治療実施に問題ないと判断し、二次登録後、2013年2月26日にTCR遺伝子導入Tリンパ球輸注を実施した。また、TCR遺伝子導入Tリンパ球投与から2週間後、4週間後にMAGE-A4₁₄₃₋₁₅₁抗原ペプチド300 µg と Montanide™ ISA 51VG の懸濁液を皮下投与した。

遺伝子治療実施後、ペプチド投与による皮膚反応(グレード1)が観察された以外、遺伝子治療に関連する有害事象は観察されず、2013年4月2日には安全性評価(day35)を行い、遺伝子治療については安全と判断した。

しかし、頸部リンパ節と多発肺転移みられ、化学療法(シスプラチン、5FU 引き続きドセタキセル)

別紙様式第4の別添 別紙1

を行いながら、現在まで経過観察中で、生存中である。

3. 有害事象

これまでに、臨床研究期間中における試験薬に関連すると考えられる有害事象は、コホート1の3症例中1例、及びコホート2の4症例中2例、コホート3の3症例中1例の患者において、ペプチド投与による皮膚硬結、掻痒、発赤の皮膚反応（いずれもグレード1）が観察された。

TCR 遺伝子導入 T リンパ球に関連すると考えられる有害事象は認められなかった。

4. 増殖性レトロウイルス (RCR)、導入遺伝子のクローナリティー解析

10例での TCR 遺伝子導入 T リンパ球輸注後の RCR 検査の結果を以下に示す。実施された検査の結果は全て陰性であった。

RCR検査		登録番号		
		TCR-MA-102	TCR-MA-104	TCR-MA-106
採取 ポイント	day1	陰性	陰性	陰性
	day35(±3)	陰性	陰性	陰性
	day63(±3)	陰性	陰性	陰性
	追跡調査(1年目)	陰性	未実施(死亡)	未実施(死亡)

RCR検査		登録番号			
		TCR-MA-208	TCR-MA-209	TCR-MA-210	TCR-MA-212
採取 ポイント	day1	陰性	陰性	陰性	陰性
	day35(±3)	陰性	陰性*	陰性	陰性
	day63(±3)	陰性	-	陰性	陰性
	追跡調査(1年目)	陰性	-	未実施(死亡)	陰性

※中止時

RCR検査		登録番号		
		TCR-MA-213	TCR-MA-314	TCR-MA-315
採取 ポイント	day1	陰性	陰性	陰性
	day35(±3)	陰性	陰性	陰性
	day63(±3)	陰性	陰性	陰性
	追跡調査(1年目)	陰性	未実施(死亡)	未実施

注) 生存例 (TCR-MA-208; 212, 213, 315) については2年目以降も追跡調査を実施する。

また、10例でのTCR遺伝子導入Tリンパ球輸注後のLAM-PCR検査（導入遺伝子のクローナリティー解析）の結果を以下に示す。これまでに実施された検査では明確なクローナリティーは認められていない。

LAM-PCR		登録番号		
		TCR-MA-102	TCR-MA-104	TCR-MA-106
採取 ポイント	day35(±3)	クローナリティーを認めず	クローナリティーを認めず	クローナリティーを認めず
	day63(±3)	クローナリティーを認めず	約500bpのバンドを確認*	クローナリティーを認めず
	追跡調査(1年目)	クローナリティーを認めず	未実施(死亡)	未実施(死亡)

*TCR-MA-104のday63の検査で約500bpのバンドが検出されたが、予備検体を用いた試験では同バンドは検出されず、再現性が確認されなかった。

LAM-PCR		登録番号			
		TCR-MA-208	TCR-MA-209	TCR-MA-210	TCR-MA-212
採取 ポイント	day35(±3)	クローナリティーを認めず	クローナリティーを認めず*	クローナリティーを認めず	クローナリティーを認めず
	day63(±3)	クローナリティーを認めず	-	クローナリティーを認めず	クローナリティーを認めず
	追跡調査(1年目)	クローナリティーを認めず	-	未実施(死亡)	クローナリティーを認めず

※中止時

LAM-PCR		登録番号		
		TCR-MA-213	TCR-MA-314	TCR-MA-315
採取 ポイント	day35(±3)	クローナリティーを認めず	クローナリティーを認めず	クローナリティーを認めず
	day63(±3)	クローナリティーを認めず	クローナリティーを認めず	クローナリティーを認めず
	追跡調査(1年目)	クローナリティーを認めず	未実施(死亡)	未実施

注) 生存例 (TCR-MA-208, 212, 213, 315) については2年目以降も追跡調査を実施する。

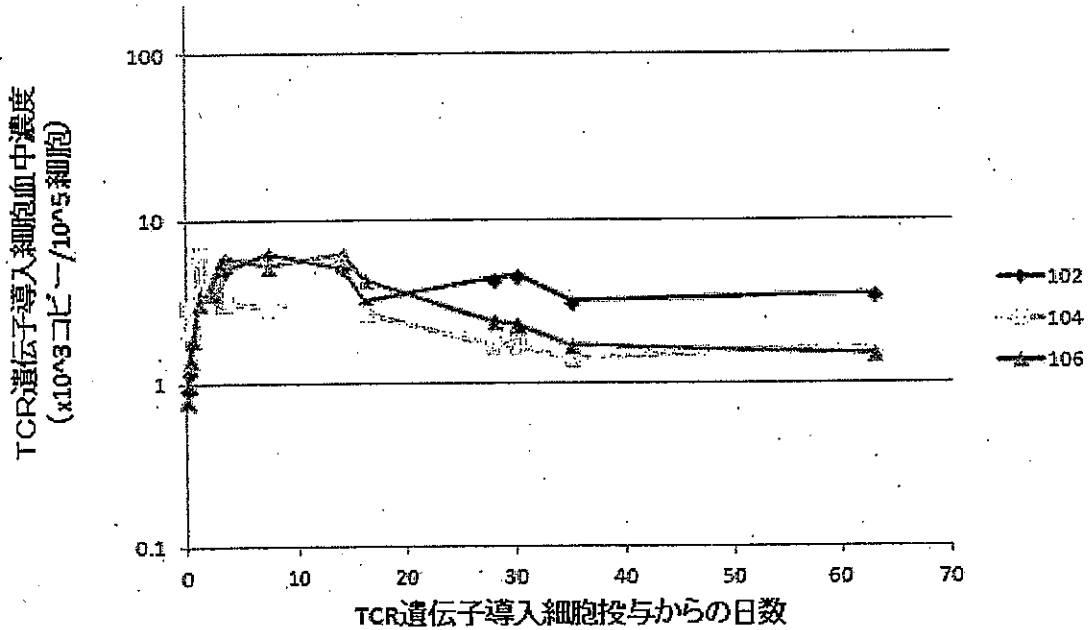
5. TCR 遺伝子導入 T リンパ球の血中動態検査の結果

TCR 遺伝子導入 T リンパ球の輸注後、経時的に採血を行い、導入 TCR 遺伝子コピー数を PCR 解析して、末梢血中における TCR 遺伝子導入 T リンパ球の動態を検査した。コホート毎の結果を図2に示す。コホート1では、輸注直後より TCR 遺伝子導入 T リンパ球が検出され、ピーク時には末梢血有核細胞 10^5 個あたり約 6×10^3 コピー数に達した。輸注に用いたリンパ球の平均導入コピー数から換算すると、この時点で末梢血リンパ球中の輸注細胞は約1%に相当するレベルである。また、輸注後63日を経た時点でもピーク時の約1/3~1/2の頻度で輸注細胞が末梢血中に検出されていた。コホート2でも、輸注直後より TCR 遺伝子導入 T リンパ球が検出され、バラツキがあるが、ピーク時には末梢血有核細胞 10^5 個あたり約1から 3×10^4 コピー数に達し、輸注細胞量に依存する動態を形成していた。輸注後63日では、

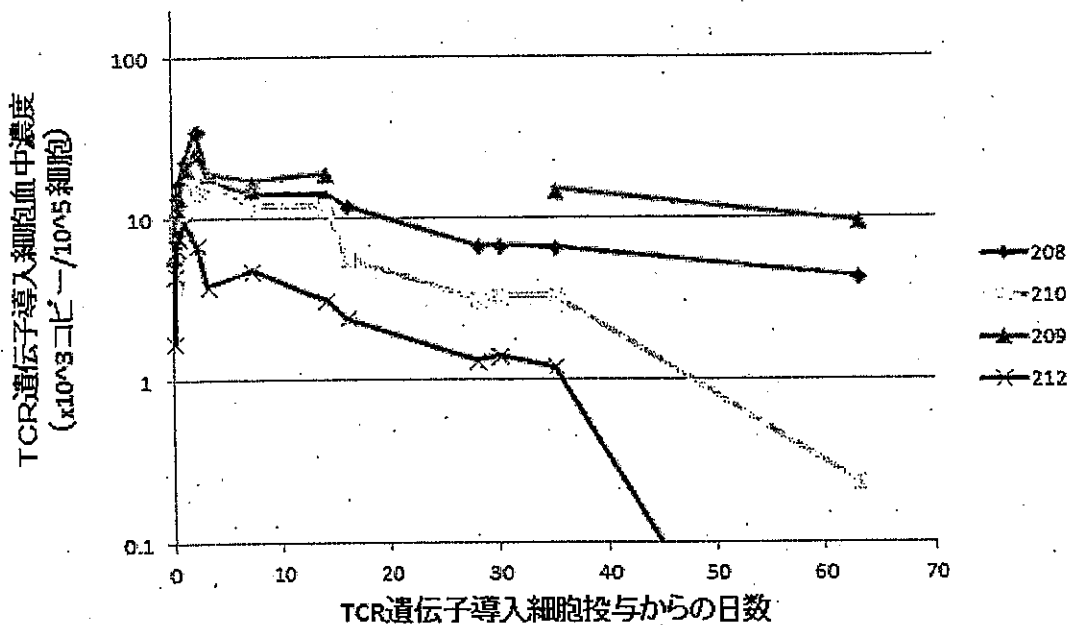
別紙様式第4の別添 別紙1

3例で検出され、2例ではコホート1の2~3倍のレベルであった。コホート3でも、輸注直後よりTCR遺伝子導入Tリンパ球が検出され、ピーク時には、末梢血有核細胞 10^5 個あたり約 9×10^4 コピー数に達し、コホート1、2より大量の輸注細胞が検出された。輸注後63日では、2例で検出され、末梢血リンパ球中の約0.5ないし1%に相当するレベルであった。

(コホート1)



(コホート2)



(コホート3)

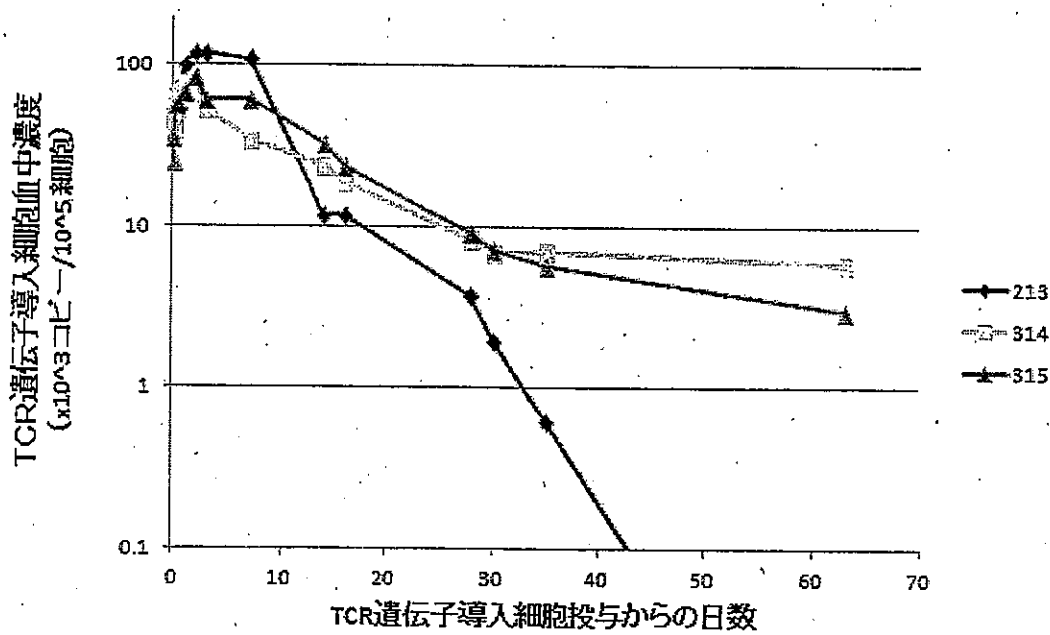


図2 各コホートの TCR 遺伝子導入 T リンパ球の血中動態

図3にコホート1~3の症例の結果のまとめを示す。投与直後から、輸注した TCR 遺伝子導入 T リンパ球の用量依存的な曲線を描く。

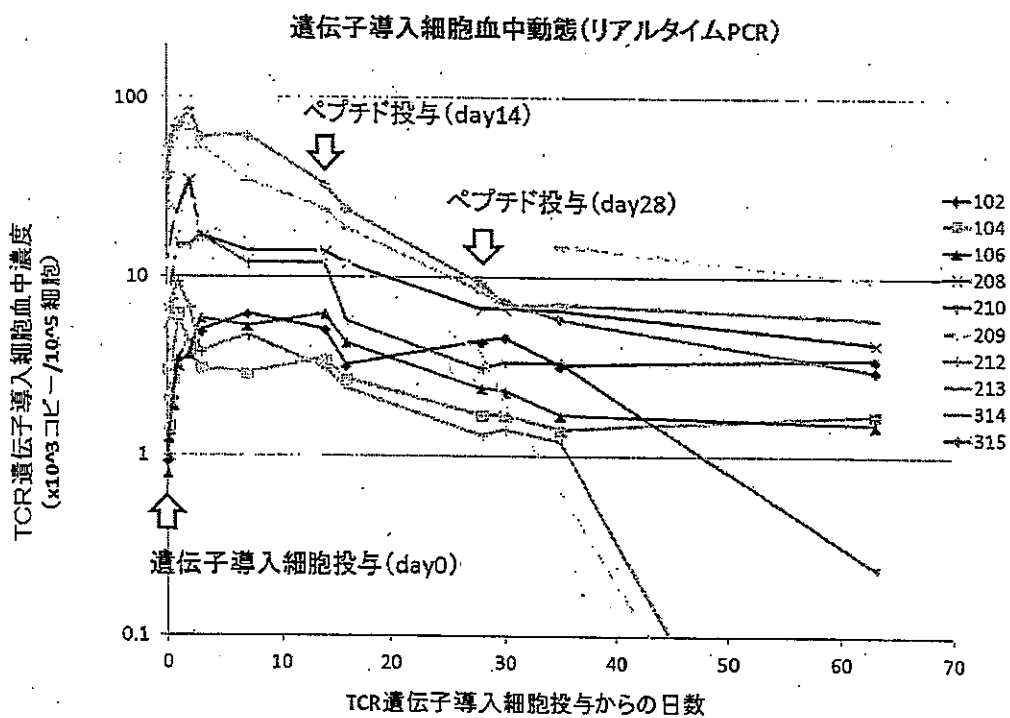


図3 コホート1~3の TCR 遺伝子導入 T リンパ球の血中動態

6. TCR 遺伝子導入 T リンパ球の腫瘍内浸潤

TCR 遺伝子導入 T リンパ球の輸注後、腫瘍組織の生検が可能であった3症例 (TCR-MA-104、106、210) について、腫瘍組織からゲノム DNA を抽出して導入遺伝子の PCR 解析を行い、TCR 遺伝子導入 T リンパ球の腫瘍内浸潤を評価した。その結果、TCR-MA-104 において輸注後 35 日における腫瘍組織中で導入遺伝子が検出され (1.4×10^2 コピー/ 10^5 細胞)、輸注した TCR 遺伝子導入 T リンパ球の腫瘍内浸潤が示された。

7. 臨床効果 (図 4)

10 例の TCR 遺伝子導入 T リンパ球輸注後の臨床経過では、腫瘍縮小例はみられず、7 例では輸注後 63 日までに PD (progressive disease) となり、6 例で化学療法が実施された。6 例は原病増悪により死亡した。1 例 (TCR-MA-315) では化学療法を継続中である。1 例 (TCR-MA-208) は無病生存期間 1 年 10 か月後再発した。10 例中 2 例 (TCR-MA-212、213) は、病変の再燃はみられず、生存中である。

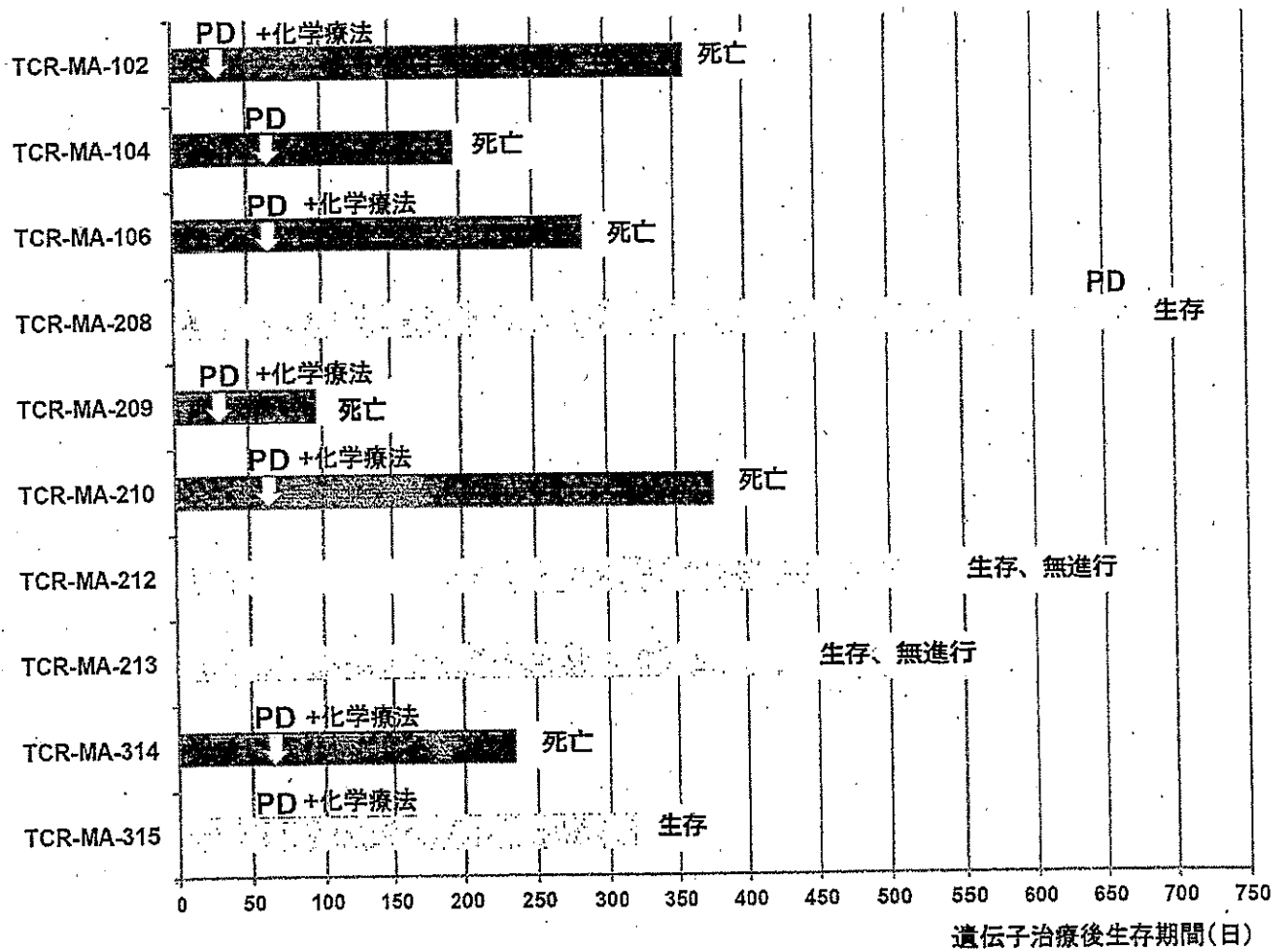


図 4 TCR 遺伝子導入 T リンパ球輸注後の臨床経過

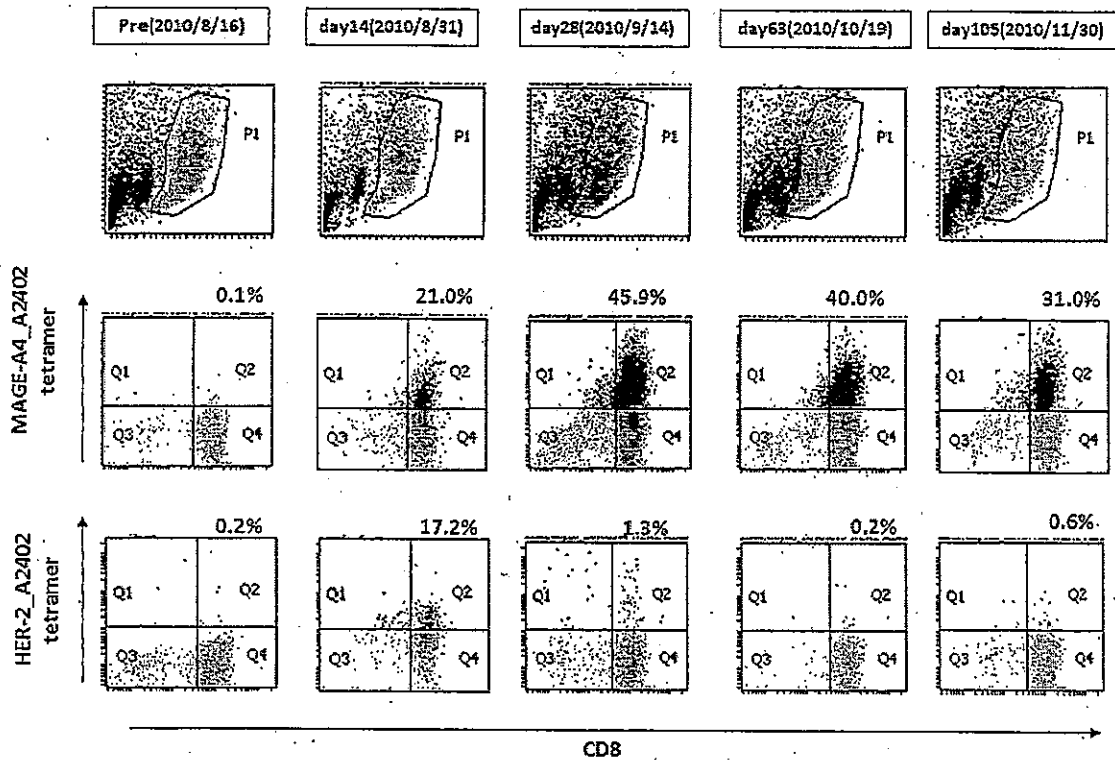


図6 テトラマーによる患者末梢血中 MAGE-A4 特異的 T リンパ球の検出 (in vitro 抗原ペプチド刺激あり)

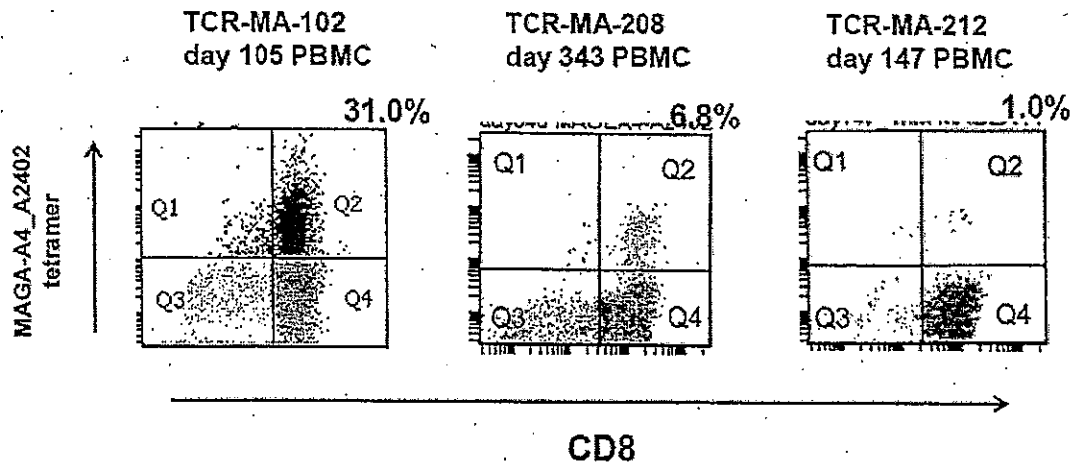


図7 長期経過観察例でのテトラマーによる患者末梢血中 MAGE-A4 特異的 T リンパ球の検出 (in vitro 抗原ペプチド刺激あり)

(以上)

8. 免疫反応

末梢血中の MAGE-A4 特異的 T リンパ球を検出する目的で特異的テトラマーによる検出を行った (TCR-MA-102)。採血した末梢血を *in vitro* での抗原刺激なしでテトラマー染色した場合には、テトラマー陽性と思われるドットが検出されたが、その頻度が少なく、検出感度以下であるためにバックグラウンドとの識別が困難であった (図5)。末梢血の PBMC を *in vitro* で抗原ペプチドによって刺激し、8日間培養した後にテトラマー染色を行った。その結果、輸注後14日では21.0%、輸注後28日では45.9%という高頻度のテトラマー陽性細胞が検出された (図6)。

長期追跡が可能であった TCR-MA-102、208、212 例において、末梢血リンパ球を *in vitro* ペプチド刺激を行い、テトラマー染色をすると、3例とも テトラマー陽性細胞が検出された (図7)。

以上より、細胞輸注後において、MAGE-A4 特異的 T リンパ球が検出され、これらは *in vitro* でペプチドに反応していた。

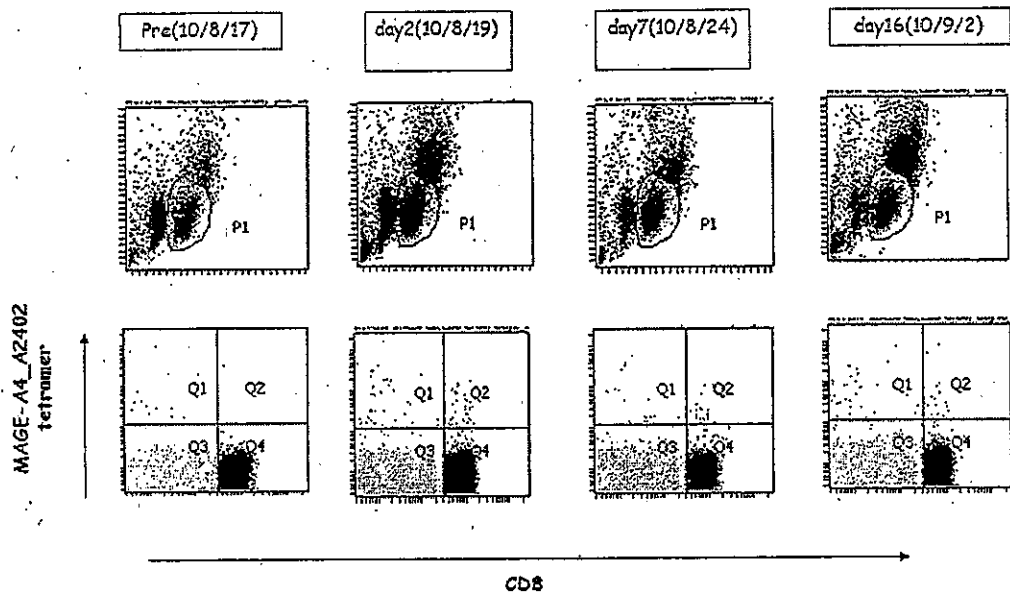


図5 テトラマーによる患者末梢血中 MAGE-A4 特異的 T リンパ球の検出 (in vitro 抗原ペプチド刺激なし)