

れば、第2群としてAd5CMVp53 ウイルスベクター局所投与とCDDPの全身投与を同時に行う。80 mg/m²のCDDPを第1日目に点滴にて静脈内投与し、Ad5CMVp53 ウイルスベクターは第4日目に腫瘍内に局注される。10⁹ PFUのレベルで第1群、第2群それぞれ3人ずつの被験者に試みられた後、Ad5CMVp53 ウイルスベクター投与量を10倍増量し、10¹⁰ PFUのレベルで第1群に続き第2群が行われる。次いで、同様に10¹¹ PFUで第1群、第2群それぞれ3人ずつの被験者に試みられ、最大耐量のAd5CMVp53 ウイルスベクターのレベルでは、第1群のみで3人の被験者に投与される。CDDP投与量は原則として一定に保たれる。治療後の観察期間中に重篤な副作用が見られず安全性が確認されれば、この治療を1ヶ月に1度繰り返す。腫瘍の増大が認められない限り治療は1年間継続され、その時点で被験者は治療を続行するかどうかを再評価される。被験者は非小細胞肺癌を有し、原則として臨床病期 IIIA・B期 あるいはIV期で外科的に治癒切除不能の症例とする。被験者の病歴・現症や赤血球・白血球数、血小板数、出血・凝固時間、電解質、生化学検査一般などの検査は、治療前及び治療中各クールを開始前後に行う。治療開始前後の血液を採取し、アデノウイルスに対する抗体の産生をチェックする。治療前及び治療中の臨床効果を画像診断及び内視鏡診断により評価する。気管支鏡的に腫瘍が直視可能であれば一定の距離から写真撮影を行い、その位置と大きさを記録する。また胸部X線写真、CT・MRIなどで抽出可能であれば同様の所見を記録する。臨床病期は肺癌取扱い規約（改訂第4版）に基づいて決定する。動脈血ガス分析、O₂飽和度、FEV1.0を含む呼吸機能検査も施行する。気管支鏡的あるいはCTガイド下に到達可能な腫瘍からは、Ad5CMVp53 ウイルスベクター投与後に微細針吸引あるいは生検により癌組織を採取し、DNA及びmRNAを抽出する。癌組織のDNAサンプルより特異的なプライマーを用いてPCRを行いAd5CMVp53 ウイルスベクターの感染を確認する。また、Reverse Transcription-PCRにより正常型p53遺伝子の発現をRNAレベルで確認する。さらに、採取した癌組織及び正常組織をヘマトキシリン・エオジン（HE）染色にて組織学的に検討し、症例によっては抗p53抗体による免疫組織学的染色を行いp53蛋白質の発現を確認したり、TdT-mediated biotin-dUTP nick end labeling (TUNEL)法にてアポトーシスに陥っている細胞を検出する。治療中及び治療後に見られるすべての毒性・副作用は、各治療前後に0～4度で評価される。副作用の認められ

	<p>た期間及びそれに対する治療についても記録される。治療効果は以下の評価指標に基づいて判定される。Complete Response (CR) : 完全に腫瘍が消失、Partial Response (PR) : 腫瘍体積で 50%かそれ以上の縮小、あるいは直交する長径と短径が測定不能な症例では、最大腫瘍径の平均で 30%かそれ以上の縮小、Progressive Disease (PD) : 腫瘍体積で 25%あるいはそれ以上の増加、No Change (NC) : CR、PR、PD、いずれの範中にも入らない場合。本研究の実施期間は了承が得られた時点から最長 5 年間とし、症例数は第 1 群 9 例、第 2 群 6 例合計 15 例を当院、岡山大学医学部附属病院、東北大学医学部附属病院、東京医大病院の 4 施設の共同研究として実施した。</p>
<p>研究結果の概要及び考察</p>	<p><u>遺伝子治療準備状況</u></p> <p>東京慈恵会医科大学においては、複数の部門の緊密な関係の中で全学的な研究として準備が進められ、学内IRBでの審議終了後、平成11年4月に厚生・文部両省に研究計画書を提出し、翌平成12年1月に両省の承認が得られ、同年12月から第1例目の肺癌遺伝子治療が開始された。まず、厚生・文部両省の承認を得た平成12年1月以後、患者ないし家族からの遺伝子治療参加への問い合わせに対し、合計332通のデータシートを送付し、そのうち84例について主治医により病状を記載されたデータシートを受領した。さらに、適応症例判定小委員会のメンバーにより、さらに詳細な問診や検査をすべきと判断された20例が、その後遺伝子治療外来を受診され、うち11例で同意取得後、腫瘍組織の生検が行われた。しかしながら、これらの生検施行例中、腫瘍細胞内のp53遺伝子に変異が確認された症例はわずか2例に留まり、さらにそのうち1例はその後の肺癌の進展のため治療を断念した。したがって、最終的に当院での肺癌遺伝子治療臨床試験に参加したのは1症例であった。この例は多施設共同の臨床試験では通算第10例目に相当し、CDDP併用例となった。</p> <p><u>対象症例の概要</u></p> <p>当該患者TYは51歳 男性。既往症に糖尿病があり、40本/日×26年の喫煙歴を有していた。現病歴では、平成10年健診で胸部異常影を指摘されるも放置し、翌平成11年再度同一の胸部異常陰影を指摘され、前医(国立がんセンター東病院)を紹介受診した。精査の結果、右下葉S6原発の非小細胞性肺癌(腺癌)、T2N2M1(OSS)、臨床病期IV期と診断され、CDDP+VDSの化学治療を2コースを受けるも、病状は進展(PD)した。平成12年4月に肺癌遺伝子治療を希望して当院受診し、同年6月に文書によるインフォームドコンセント取得後、原発巣から</p>

の腫瘍生検を施行し、p53遺伝子の一方のアリルのエクソン7に15塩基の欠失を確認した。この異常は、コドン241から245にかけて5つのアミノ酸がin frameで欠落する変異であった。当院での遺伝子治療施行準備が整った後、平成12年11月治療前最終評価（最終病期診断：T4N2M1：HEP, PUL, OSS; PS1)を行った。

治療経緯

12月2日に治療前の腫瘍生検を施行し、同月5日の学内IRBの最終承認後、実際の遺伝子治療が開始された。12月8日にCDDP(80 mg/m²)を全身投与し、4日目の12月11日にAd5CMV-p53ベクターを10¹⁰ PFU、右下葉の原発巣内にCTガイド下に注入した。その後の臨床経過は順調で、自覚所見上発熱なども見られず、また腎機能や肝機能などの主要な臨床検査値にも明らかな異常は認められなかった。しかしながら、Ad5CMV-p53注入後、PCR増幅法による喀痰からのベクター排出の確認で14日間持続的な排出が見られたため、この間学内のバイオセーフティ委員会の規定にしたがっての個室での管理収容管理となり、一切病室からの外出ができなかったこと、さらにこの期間中、喫煙および飲酒が許可されなかったことなどから、高度の拘禁症状を呈するようになり、第1コース終了時には第2コース以降の遺伝子治療を中止したい旨の希望が出され、関係者の討議の結果、同年12月28日に退院が了承された。その後翌平成13年1月17日に外来にて、遺伝子治療後の全身状態の評価のための諸検査と治療効果判定を行い、この症例での臨床試験を最終的に終了した。

当院での治療後は再び前医である国立がんセンター東病院の緩和ケア外来に定期的に通院して、対症療法を継続していたが、同年3月に入り労作時の呼吸苦と顔面浮腫が出現し、4月12日に同院緩和ケア病棟に入院、4月30日午後8時34分に死亡した。病理解剖は実施していないが、死因は腫瘍の進展に伴う呼吸不全およびSVC症候群であり、すでに遺伝子治療から4ヶ月が経過しており、第1コースの経過観察中に明らかな副作用と考えられる事象も出現しなかったため、最終的には遺伝子治療との因果関係は無いものと考えられた。また、本例での死亡確認が遅れた理由に関しては、遺伝子治療第1コース終了退院後、患者との連絡が途絶した結果であった。再三自宅に電話、e-mailあるいは簡易書留郵便などで連絡をとろうと試みたが、連絡の取れない状況が続いた。国立がんセンター東病院の主治医とは連絡が取れていたが、この主治医が3月末で退職

	<p>し、たまたま後任医師への引き継ぎが充分されていなかったなどのため、患者情報が入手できない状況となった。これらの複合事情により、当施設における死亡確認や重大事象の発生届が遅れる結果となった。本症例の死亡の確認は、同院の呼吸器内科部長に直接の面談ならびに e-mail にて、平成 13 年 11 月上旬に最終的に成しえたものであった。</p> <p><u>治療効果</u></p> <p>平成 13 年 1 月 17 日の胸部 X 線写真および同部の CT スキャンでは、肺内の原発巣および転移巣、腫大リンパ節のサイズは、治療前と比較してほとんど差が認められず、効果判定では不変(no change, NC)であった。また、血中および腫瘍内の Ad5CMV-p53 ベクターの biodistribution のデータから、12 月 11 日の Ad5CMV-p53 投与直後の血漿中と、12 月 13 日の生検した腫瘍組織内にきわめて多数(10^3 PFU のオーダー)の Ad5CMV-p53 ベクターの存在が確認された。さらに、腫瘍組織内の p53 蛋白の発現を免疫組織化学的手法で検討すると、投与直前には腫瘍細胞内の p53 蛋白の発現はまばらであったが、ベクター投与 3 日目の 12 月 13 日の同組織では p53 蛋白発現陽性細胞が明らかに増加していた。</p> <p><u>考察</u></p> <p>本例は、当学での唯一の肺癌遺伝子治療例であり、準備や実施に様々なハードルや困難を乗り越え、複数部門からなる担当者がチームとして成しえた、貴重な成果であった。遺伝子治療の実施に当たっては、科学的側面のみならず、施設のハードおよびソフトウェアの充実と、綿密な協力体制の確立が必須であると痛感させられるとともに、大学や病院当局の理解と支援が欠くべからざるものであることが改めて認識された。Ad5CMV-p53 の臨床応用を含め、この領域の更なる進歩と発展が期待される。</p>
<p>研究成果の公表状況</p>	<p>1) 佐藤哲夫, 吉村邦彦, 村松弘康, 古田島太, 秋葉直志, 佐藤修二, 山崎洋次, 福田 安, 河上牧夫, 衛藤義勝.</p> <p>Ad5CMV-p53 により遺伝子治療を施行した非小細胞性肺癌の一症例. 第 42 回日本肺癌学会総会, 大阪, 2001 年 11 月 1, 2 日</p> <p>進行性肺癌の治療は依然困難を極めているなか、アウトブレイクスルーの一つとして遺伝子治療が試みられている。しかし、実際に臨床試験が開始されたプロトコールは極めて少ない。我々は、岡山大、東北大、東京医大とともに米国で開発された進行非小細胞肺癌に対する Ad5CMV-p53 による p53 遺伝子治療を実施する機会を得た。</p>

当院で実施された症例を提示し、その問題点などを考察する。

症例と方法

51歳男性、IV期(T4N2M1)の肺腺癌の症例、他病院でCDDP + VDSにより2クール治療されたがPDであり、その後はBSCで経過観察されていた。肝転移、骨転移、肺内転移などが認められ、CEA高値であるがPSは1であった。事前に生検した肺腫瘍組織にてp53の変異が確認された。CDDP 80 mg/m²投与3日後、原発と思われる腫瘍にCTガイド下でAd5CMV-p53を10¹⁰PFU注入した。

結果と考察

特記すべき副作用は認めず、喀痰中のAd5CMV-p53排出が陰性となった2週間後に退院となった。1コース終了後の効果はNCであったが患者の希望で退院となった。1コース施工後の効果はNCであったが患者の希望で以後の遺伝子治療は中止とした。本症例の経験に基づき、実際に遺伝子治療を施行するまでの準備および実施上の問題点など、今後の同様な治療への参考としたい。

- 2) 吉村邦彦, 佐藤哲夫, 古田島 太, 村松弘康, 木村 啓, 山口浩史, 山崎洋次, 吉田和彦, 秋葉直志, 武山 浩, 佐藤修二, 三澤健之, 福田国彦, 関根広, 福田 安, 貞岡俊一, 午来ヨリ子, 小池 優, 八子ほなみ, 河上牧夫, 鈴木正章, 守屋邦夫, 川井龍美, 加藤 健, 中村 篤, 飯塚佐代子, 衛藤義勝. 「ワークショップ6 遺伝子治療の現況と将来」「当学における肺癌遺伝子治療臨床試験の準備とその実施状況」. 第39回日本癌治療学会総会, 広島, 2001年11月7-9日.

わが国の遺伝子治療臨床研究は欧米の後塵を拝しており、すでに臨床試験が開始されたプロトコールは極めて少ない。この中で進行非小細胞肺癌(NSCLC)患者を対象としたアデノウィルスベクター(Ad5CMV-p53)によるp53遺伝子治療は、米国での実績をふまえ、わが国でもその成果が期待されている。当学では遺伝子治療研究に対する研究環境が整備された1997年より具体的な肺癌遺伝子治療のプロトコール作成作業に入った。同一の臨床試験の準備を先に開始した岡山大学の計画を参考にし、約1年の歳月をかけその試験計画を立案し、学内審査委員会による審査を経て、1999年4月に文部科学、厚生労働両省に計画書を提出、2000年1月に最終承認を得た。その後、200名を越える治療希望NSCLC患者に病

	<p>状記載用データシートを発送した後、慎重な患者選考過程を経て、同年12月に当学第1例目の実際のNSCLC患者への遺伝子治療を開始した。本研究は、当学の全面的な支援と全学挙げての遂行体制、さらにRPRGenCell社の協力を得て実現したものであり、本報告ではその遺伝子治療臨床試験実施に至る周到な準備と学内の支援体制の確立に焦点を当て、その詳細を紹介する。</p> <p>3) 吉村邦彦, 佐藤哲夫, 古田島太, 村松弘康, 木村 啓, 山崎洋次, 秋葉直志, 佐藤修二, 福田国彦, 福田 安, 河上牧夫, 衛藤義勝. 非小細胞肺癌に対するp53遺伝子治療の臨床試験とその評価. 第42回日本呼吸器学会総会, 仙台, 2002年4月5日.</p> <p>進行非小細胞肺癌(NSCLC)患者を対象としたアデノウィルスベクター(AdCMV-p53)による遺伝子治療は、米国での実績を踏まえわが国でもその成果が期待されている。本邦では当学ほか計4施設の共同臨床試験としてNSCLC遺伝子治療が進められているが、今回当学での実施状況と基礎的・臨床的評価につき報告する。</p> <p>【方法】症例は51歳男性、右下葉原発の腺癌で臨床病期IV期。同意取得後、腫瘍組織中のp53遺伝子exon7の変異を確認し、学内IRBの承認を得た。CDDP投与4日目に1010PFUのAdCMV-p53をCTガイド下に腫瘍内に注入し、その効果等を検討した。</p> <p>【成績】腫瘍サイズは原発巣・転移巣とも40日の経過前後で不変であり、CDDPないしベクター投与に伴う副作用は認められなかった。注入直後の血漿および投与2日目の腫瘍組織内で103以上のベクター粒子を検出し、腫瘍細胞内のP53蛋白の発現増強を確認した。</p> <p>【結論】今後進行肺癌に対する新しい補助療法としての遺伝子治療の有用性が期待される。</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. この報告書は、正本1通及び副本2通を提出すること。
3. 字は墨・インク等を使い、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報告書を、厚生労働大臣のほか文部科学大臣にも提出すること。

東京慈恵会医科大学附属病院遺伝子治療臨床研究 実施計画の審査経緯

課題名：

「非小細胞肺癌に対する正常型 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」

○平成 9 年 12 月 5 日

第 1 回遺伝子治療審査委員会を開催し、委員会の設置趣意と慈大の遺伝子治療の現状報告があり、本委員会の運営規約の作成について打ち合わせを行った。

○平成 10 年 1 月 28 日

第 2 回遺伝子治療審査委員会を開催し、学内における本委員会の位置付け（委員構成）、遺伝子治療審査委員会規程、遺伝子治療規程について検討した。委員会にて審議、調整し、疑義事項については、行政所轄官庁へ確認し決定することとした。

○平成 10 年 2 月 1 日

「大学等における遺伝子治療臨床研究に関するガイドライン」（平成 6 年 6 月 9 日文部省告示第 79 号及び「遺伝子治療臨床研究に関する指針」（平成 6 年 2 月 8 日厚生省告示第 23 号）に基づき、遺伝子治療臨床研究の審査を行うため、東京慈恵会医科大学附属病院遺伝子治療審査委員会規程を制定した。同時に、遺伝子治療規程も制定された。

○平成 10 年 3 月 19 日

第 3 回遺伝子治療審査委員会を開催し、平成 10 年 4 月 1 日付けで実施される学内組織の名称変更に係る遺伝子治療審査委員会規程の改訂について討議し、改訂規程を平成 10 年 4 月 1 日付で承認した。

○平成 10 年 6 月 1 日

小児科衛藤義勝教授（総括責任者）より大石幸彦病院長（実施施設の長）に遺伝子治療臨床研究実施申請書「非小細胞肺癌に対する正常型 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」が提出された。

○平成 10 年 6 月 2 日

病院長から遺伝子治療審査委員長宛に遺伝子治療臨床研究実施承認申請「非小細胞肺癌に対する正常型 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」に伴う審査依頼書が提出された。

病院長より岡村学長に遺伝子治療臨床研究に伴う承認申請書の受理報告が行われた。

○平成 10 年 6 月 3 日

- ① 第 4 回遺伝子治療審査委員会を開催し、遺伝子治療審査委員会規程に定める「遺伝子治療審査委員会審査手続き」および遺伝子治療承認申請書（院内様式）の変更承認が行われた。
- ② 「非小細胞肺癌に対する正常型 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」に係る審査を開始した。計画概要が確認され、実施計画書および添付資料の構成等について討議された。

○平成 10 年 6 月 23 日

第 5 回遺伝子治療審査委員会において総括責任者による説明を求めるため、遺伝子審査委員長より病院長へ派遣依頼書が提出された。これを受け、病院長は衛藤総括責任者に遺伝子治療審査委員会への出席要請を行った。

○平成 10 年 7 月 21 日

第 5 回遺伝子治療審査委員会を開催し「非小細胞肺癌に対する正常型 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（CPPD）を用いた遺伝子治療臨床研究」について、衛藤総括責任者の代理、DNA 医学研究所遺伝子治療部門吉村講師より、①遺伝子治療臨床研究の背景と意義、②遺伝子治療の目的と方法、③期待される効果と予想される副作用、④説明と同意書、⑤医療費の取り扱いについて説明があり、治療の有効性と安全性、シスプラチンの併用、副作用についての質疑応答が行われた。委員会の指示に基づき申請者は実施計画書、同意書の記載内容の訂正を再検討することとした。主たる指摘事項として、①p53 アデノウイルスベクターを用いた遺伝子治療の意義と有効性について、②シスプラチンの投与の必要性と副作用の問題について、③同意書の表現が被験者に判りにくいことなどが挙げられた。

○平成 10 年 9 月 7 日

審査委員長より第 5 回遺伝子治療審査委員会にて指摘（改善）事項に関する意見書が病院長に提出した。病院長は遺伝子治療審査委員会から提出された意見書に基づき実施計画書等の改善に関する指示書を衛藤総括責任者に提出した。

○平成 10 年 9 月 16 日

第 6 回遺伝子治療審査委員会を開催し、衛藤総括責任者より前回委員会での指摘事項および質疑に対する回答があった。前回委員会に引き続き、①岡山大学医学部附属病院との共同研究、②シスプラチンの併用の意義、③説明と同意書についての内容説明があり、引き続き質疑応答を行なった。主な指摘事項としては、①岡山大学附属病院との共同研究の具体的な内容を明確にする必要がある。②シスプラチンの投与の有効性と安全性に疑問がある。③説明と同意書は患者の心情を配慮した表現に改めるべきである。④臨床研究としての意義、目的を明確にさせる必要があるなどの意見があり、研究者により再度内容を検討することとした。また、共同研究の方法、あり方については、衛藤総括責任者が岡山大学附属病院に確認し、報告することとした。

○平成 10 年 12 月 1 日

遺伝子治療審査委員会の下部組織として東京慈恵会医科大学附属病院遺伝子治療審査委員会安全・効果評価・適応判定部会を設立した。

○平成 10 年 12 月 14 日

第 7 回遺伝子治療審査委員会において総括責任者による説明を求めるため、遺伝子審査委員長より病院長へ派遣依頼書が提出された。これを受け、病院長は衛藤総括責任者に遺伝子治療審査委員会への出席要請を行った。

○平成 10 年 12 月 25 日

「非小細胞肺癌に対する正常型 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」に係る説明書、同意書に関し、第三者の意見聴取する目的で、医師以外の学内関係者へのヒアリングを行った。

○平成 11 年 1 月 20 日

第 7 回審査委員会を開催にあたり、日本放送協会 (NHK) を審査会場に入室させ、審査状況を公開した。衛藤総括責任者より、遺伝子治療実施計画書、説明と同意書の訂正について説明があり、①岡山大学附属病院との共同研究および調整委員会の役割、②施設間での被験者の振分け、③シスプラチンの投与に関する問題点、④説明と同意書の変更内容等が説明された。審議の結果、本遺伝子治療は、科学のおよび倫理的妥当性、医の倫理に適合するものであり、本臨床研究に使用するウイルスベクターの品質および安全性においても十分評価できるものと認めた。なお、調整委員会は被験者の振分けおよび単なる情報保全機構に止まらず、4 施設の研究者が相互に各々の施設に出向き、共同で臨床観察、評価を行い単独施設で実施した場合と同様の環境整備を行うべきとの指導事項を加えた上で、文部省、厚生省に申請することを決定した。

審査委員会承認後、報道関係者を招集し記者会見を行った。

○平成 11 年 1 月 21 日

委員長より遺伝子治療研究実施承認申請に伴う審査結果報告書

○平成 13 年 12 月 5 日

平成 13 年度第 2 回審査委員会を開催した。

- (1) 治療に用いる p53 遺伝子治療薬の独占商業化権がアベンティスファーマからイントロジェンセラピューティクス社に委譲され、日本国内での p53 遺伝子治療の継続の必要性などについて検討した結果、治験を臨床研究に改めたうえで、継続実施する方向で検討した。プロトコール、説明と同意書の記述が不十分であるとの見解に達し、改めて審議することを決定した。
- (2) 遺伝子治療臨床研究対象患者が死亡した件について、入院治療中の状況、死亡の因果関係に関する審議を行なった。当院での治療は、治療期間中の個室での厳重な管理や喫煙および飲酒が許可されなかったことによる、拘束症状を呈するようになったことによる、患者自身の希望による 1 クールのみの中断である。今回の死因は腫瘍の進展に伴う呼吸不全および S V C 症候群であり、すでに遺伝子治療から 4 ヶ月が経過しており、第 1 コースの経過観察中に明らかな副作用と考えられる事象も出現しなかったため、最終的には遺伝子治療との因果関係は無いものと判断した。総括責任者に対しては、治療の経緯並びに審査委員からの意見を真摯に受け止め、遺伝子治療臨床研究実施計画書の内容を遵守するとともに、治療を受ける患者の心情を考慮し、適正な治療を行なうよう指示した。

○平成 13 年 12 月 27 日

平成 13 年度第 3 回審査委員会を開催した。

前回委員会において継続検討事項となった、プロトコール、説明と同意書の記述内容について検討した結果、総括責任者は委員会での意見をもとに修正したものを田嶋委員長に提出することとした。提出後の内容審査については、田嶋委員長に一任することとした。

○平成 15 年 3 月

臨床研究期間の満了を受け、研究期間の延長について、総括責任者より願い書が提出され、書類審査を行なった結果、平成 12 年 1 月より最大 5 年間の研究機関延長が承認された。

以 上