

試験実施計画書

前立腺癌に対する G47Δを用いたウイルス療法

版数：1.3 版

作成日：2021 年 3 月 30 日

改訂履歴

作成日	版数
2020 年 11 月 13 日	1.0 版
2020 年 12 月 18 日	1.1 版
2020 年 12 月 25 日	1.2 版
2021 年 3 月 30 日	1.3 版

本試験実施計画書における略語および用語の定義

略号・略記	英語表記	日本語表記、説明など
HSV-1	Herpes simplex virus 1	単純ヘルペスウイルス I 型
CTCAE	Common Terminology Criteria for Adverse Events	有害事象共通用語規準
JCOG	Japan Clinical Oncology Group	日本臨床腫瘍研究グループ
CRF	Case Report Form	症例報告書
CRC	Clinical Research Coordinator	臨床試験コーディネーター
PSA	prostate specific antigen	前立腺特異抗原
GFR	Glomerular Filtration Rate	糸球体濾過量
MOI	multiplicity of infection	細胞数に対する感染性ウイルス投与量の比
RR	ribonucleotide reductase	リボヌクレオチド還元酵素
PCR	polymerase chain reaction	DNA の特定の部位のみを増幅する方法
LH-RH	luteinizing hormone-releasing hormone	性腺刺激ホルモン放出ホルモン
cGMP	current Good Manufacturing Products	現行医薬品適正製造基準
PKR	double stranded RNA-activated protein kinase	二本鎖 RNA 依存性プロテインキナーゼ
MRI	Magnetic Resonance Imaging	核磁気共鳴画像法
CT	Computed Tomography	コンピュータ断層撮影
FAS	full analysis set	最大の解析対象集団
PPS	per protocol set	試験実施計画書に適合した対象集団
AMED	Japan Agency for Medical Research and Development	日本医療研究開発機構
jRCT	Japan Registry of Clinical Trial	臨床研究実施計画・研究概要公開システム

目次

0. 試験の概要	6
1. 緒言	9
1.1. 試験の背景	9
1.2. 転移性前立腺癌に対する標準治療	9
1.3. 試験薬について	10
1.4. 先行する他の研究の治療成績	11
2. 試験の目的と必要性	13
3. 対象患者	13
3.1. 選択基準	13
3.2. 除外基準	14
4. 被験者の同意	15
4.1. 同意文書及びその他の説明文書の作成並びに改訂	15
4.2. 同意取得の時期と方法	15
4.3. 被験者およびその代諾者に対する説明事項	15
5. 試験の方法	17
5.1. 試験のデザイン	17
5.2. 試験のアウトライン	17
5.3. 目標被験者数と試験実施期間	18
5.4. 施設登録および症例登録	18
5.5. 登録されなかった被験者の取り扱い	19
5.6. 投与スケジュールおよび投与量・投与方法	19
5.7. 減量基準	19
5.8. 休薬の基準	20
5.9. 個々の症例の中止基準	20
5.10. 併用薬	20
5.11. 併用禁止薬	20
5.12. 併用禁止療法	20
5.13. 後治療	20
5.14. 試験終了後の対応	21
6. 試験薬	21
6.1. 試験薬の概要	21
6.2. 導入する遺伝子	21
6.3. 品質試験	24
6.4. 被験者への投与に用いられる特殊な機器や医療材料	221
6.5. 非臨床試験における生物学的特徴	21
6.6. 非臨床試験における安全性の評価	27
7. 観察・検査・評価項目、方法及び実施時期	31
7.1. 実施スケジュールと手順	31
8. 有害事象発生時の取扱い	37
8.1. 有害事象の定義	37
8.2. 有害事象発生時の被験者への対応	37
8.3. 報告の対象となる有害事象	37
8.4. 有害事象発生時の報告手順	37
8.5. 有害事象の評価に必要な記載内容	37

8.6.	有害事象の回復性と試験薬との因果関係	39
8.7.	検査値の異常	39
8.8.	重篤な有害事象の定義	39
9.	疾病等情報の報告	39
9.1.	東京大学臨床研究審査委員会への死亡又は重篤な疾病等情報の逐次報告	39
9.2.	厚生労働大臣への死亡又は重篤な疾病等情報の逐次報告	39
9.3.	東京大学臨床研究審査委員会への定期報告	40
9.4.	厚生労働大臣への定期報告	40
9.5.	実施医療機関の管理者への報告	40
9.6.	研究機関の長の対応	40
10.	評価項目	40
10.1.	主要評価項目	40
10.2.	副次評価項目	40
11.	統計学的事項	41
11.1.	解析対象集団	42
11.2.	目標症例数と設定根拠	42
11.3.	症例の取り扱い	42
11.4.	データの取り扱い	42
11.5.	統計解析項目および解析計画	43
11.6.	独立データモニタリング委員会	43
11.7.	適格性判定委員会	43
11.8.	最終解析	43
12.	試験実施計画書の遵守および逸脱	44
13.	試験実施計画書、症例報告書又は解析計画に関する変更	44
13.1.	試験実施計画書および症例報告書の改訂	44
13.2.	統計解析計画の変更	44
14.	試験の中止、中断または終了	44
14.1.	試験全体での中止または中断の基準	44
14.2.	試験全体での中止又は中断する場合の手続き	45
14.3.	試験の終了	45
15.	データマネジメント	45
15.1.	データ登録の方法及び管理方法	45
15.2.	症例報告書に直接記載され、かつ原資料(原データ)と解すべき資料の特定	45
16.	原資料及びその他の記録の保存	46
17.	試料等の保存及び他機関等の試料等の利用	46
18.	原資料の直接閲覧	46
19.	試験の品質管理及び品質保証	46
19.1.	品質管理	46
19.2.	品質保証	46
20.	倫理	47
21.	被験者の秘密の保全	47
22.	臨床研究倫理審査委員会	47
23.	健康被害補償及び保険	47
23.1.	健康被害の補償	47
23.2.	臨床研究保険（補償保険）への加入	47

23.3. 賠償保険への加入	47
24. 金銭の支払い	47
25. 研究資金および利益の衝突	48
26. 研究に関する情報公開	48
27. 結果の公表	48
27.1. 公表の方法	48
27.2. 公表についての取り決め	48
28. 試験実施体制	48
29. 参考資料・文献リスト	50

添付資料

資料 1	: 第 I 相試験における安全性情報
資料 2	: 同意説明文書
資料 3 (1)	: 試験薬概要書
資料 3 (2)	: 製剤品質試験項目
資料 3 (3)	: G47Δの構造および塩基配列解析
資料 3 (4)	: G47Δの安全性試験
資料 3 (5)	: プロトコール表

0. 試験の概要

試験課題名	前立腺癌に対する G47Δを用いたウイルス療法																
試験の目的	本研究は、転移性前立腺癌の患者を対象とし、遺伝子組換え単純ヘルペスウイルス I 型 (herpes simplex virus1、以下 HSV-1) である G47Δを前立腺癌内に投与する。ホルモン療法との併用を行う。 1 年後 failure-free 生存割合 (無増悪生存割合) の調査を主目的とする。																
試験デザイン	対照群のないオープンラベル試験																
フェーズ	第 II 相試験																
被験薬	一般名 : teserpaturev 剤型、保存条件 : 10% glycerol / 燐酸緩衝生理食塩水(Phosphate buffered saline: PBS)に溶解され、滅菌状態で 1.5ml の凍結用バイアルに投与量に応じて分注され、-75°C以下で凍結保存される。																
選択基準	以下のすべての条件に該当する患者を対象とする。 <ol style="list-style-type: none"> 1) 前立腺癌の存在が病理学的に確認された患者 (神経内分泌癌や小細胞癌を腺癌に併存している場合も含む) 2) 長期のアンドロゲン遮断療法を行う意思がある患者 3) WHO Performance Status : 0~1 の患者 4) 登録 12 週以内の画像検査にて転移が確認された患者 5) 登録 12 週以前にアンドロゲン遮断療法を開始していない患者 6) 年齢 : 20 歳以上の男性 7) 本試験の参加にあたり十分な説明を受けた後、十分な理解の上、患者本人の自由意思による文書同意が得られた患者 8) 登録前 14 日以内の測定データにより以下の骨髄・腎機能を有する患者 <table border="1" data-bbox="448 1310 1268 1630"> <thead> <tr> <th>項目</th> <th>閾値</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>好中球数</td> <td>1,500/mm³ 以上</td> </tr> <tr> <td>血小板数</td> <td>10×10⁴/mm³ 以上</td> </tr> <tr> <td>AST (GOT)</td> <td>75 U/L 以下 (基準値の 2.5 倍)</td> </tr> <tr> <td>ALT (GPT)</td> <td>105 U/L 以下 (基準値の 2.5 倍)</td> </tr> <tr> <td>総ビリルビン値</td> <td>2.25 IU/L 以下 (基準値の 1.5 倍)</td> </tr> <tr> <td>血清カリウム値</td> <td>3.5 mmol/mL 以上</td> </tr> <tr> <td>GFR</td> <td>30 ml/min/1.73mm² 以上</td> </tr> </tbody> </table>	項目	閾値	好中球数	1,500/mm ³ 以上	血小板数	10×10 ⁴ /mm ³ 以上	AST (GOT)	75 U/L 以下 (基準値の 2.5 倍)	ALT (GPT)	105 U/L 以下 (基準値の 2.5 倍)	総ビリルビン値	2.25 IU/L 以下 (基準値の 1.5 倍)	血清カリウム値	3.5 mmol/mL 以上	GFR	30 ml/min/1.73mm ² 以上
項目	閾値																
好中球数	1,500/mm ³ 以上																
血小板数	10×10 ⁴ /mm ³ 以上																
AST (GOT)	75 U/L 以下 (基準値の 2.5 倍)																
ALT (GPT)	105 U/L 以下 (基準値の 2.5 倍)																
総ビリルビン値	2.25 IU/L 以下 (基準値の 1.5 倍)																
血清カリウム値	3.5 mmol/mL 以上																
GFR	30 ml/min/1.73mm ² 以上																
除外基準	以下のいずれかの条件に該当する者は対象としない。 <ol style="list-style-type: none"> 1) 前立腺癌に対する根治的な治療を施行した患者 2) 脳や軟膜への転移を有する患者 3) 前立腺癌に対して化学療法を受けた患者 4) ホルモン療法を受けた患者 5) 登録時に同時活動性の重複癌を有する患者 6) 過去 4 週以内に TURP など前立腺肥大症手術を受けた患者 7) 本研究参加前 30 日以内に未承認薬の治験/臨床研究に参加している患者 8) ウイルス療法に既往のある患者 9) HIV 陽性またはその既往患者 																

	<p>10) 活動性のヘルペスウイルス感染を有する患者 11) アルコールまたは他の薬物中毒患者 12) 活動性でコントロールされていない感染症のある患者 13) コントロール不良または重度の心不全・糖尿病・高血圧・間質性肺炎・腎不全・自己免疫疾患を有する患者 14) 抗 HSV 薬（アシクロビル）に対するアレルギーを有する患者 15) その他、研究責任医師又は、研究分担医師が本試験を安全に実施するのに不相当と判断した患者</p>
<p>評価項目</p>	<p>主要評価項目 【1年後 failure-free 生存割合（無増悪生存割合）】 1年後 failure-free 生存割合および Clopper-Pearson の 90%信頼区間を算出する。PSA 増悪もしくは進行までを failure-free 生存と定義し、登録日から1年の時点における failure-free 生存割合を1年後 failure-free 生存割合とする。PSA 増悪とは、PSA 最低値（nadir）からの PSA 値の上昇とし、進行とは、画像的進行もしくは前立腺癌死と定義する。</p> <p>副次評価項目 【1年後 failure-free 生存割合の統計学的検討】 ホルモン療法に対する優越性およびホルモン療法併用放射線治療に対する非劣性を検討する。90%信頼区間の下限が 51%（対照治療であるホルモン療法の奏効率）を上回っていれば、臨床的にホルモン療法に対し優越性を持つことを示唆するものとする。90%信頼区間の下限が 53%（ホルモン療法併用放射線治療の奏効率の-10%を非劣性マージンとする）を上回っていれば、臨床的にホルモン療法併用放射線治療に対し非劣性であることを示唆するものとする。</p> <p>【全生存期間】 研究期間内において追跡可能な限り、生存情報を追跡する。</p> <p>【failure-free 生存期間】 PSA 増悪もしくは進行（画像的進行および癌死）までを failure-free 生存と定義し、研究期間内において追跡可能な限り、failure-free 生存情報を追跡する。</p> <p>【有害事象発生割合】 適格・不適格を問わず、プロトコル治療の一部以上が施行された患者数（全治療例）を分母とし、G47Δ最終投与4週間後までの下記の有害事象についてそれぞれ CTCAE v5.0 日本語訳 JCOG 版による最悪の Grade の頻度を（群別に）求める。</p> <p>①血液/骨髄：ヘモグロビン、白血球、血小板 ②代謝/臨床検査値：総ビリルビン、Al-P、LDH、γGTP、AST、ALT、Na、K、クレアチニン ③全身症状：発熱、倦怠感、筋肉痛、頭痛、食欲不振、悪心、嘔吐 ④腎および尿路障害：頻尿、尿失禁、尿閉、尿路閉塞、尿路痛、尿意切迫、血尿 ⑤感染：好中球減少を伴わない感染</p> <p>【重篤有害事象発生割合】 プロトコル治療の一部以上が開始された患者数（全治療例）を分母として、以下のいずれかの重篤な有害事象がひとつ以上観察された患者数を分子とする割合を重篤有害事象発生割合とする。</p> <p>①G47Δ投与後 30 日以内までの全ての死亡（死因は治療との因果関係を</p>

	問わない) ②G47Δ投与後から 31 日以降であるが、治療との因果関係が否定できない死亡 ③Grade 4 の有害事象（ただし、臨床的に意義をもたない検査値の異常は除く）
試験方法	G47Δの投与は入院の上、手術室にて行う。投与に際しては、碎石位にて MRI 画像と同期させた経直腸超音波ガイド下に前立腺腫瘍内に経会陰的に投与する。10% グリセリン加リン酸緩衝液(PBS)で総量 1ml となるよう希釈した G47Δを、前立腺腫瘍内の数カ所に分けて緩徐に注入する。 1 回目と 2 回目は 7 日（5-14 日）の間隔を置いて投与し、3 回目以降は 4 週間（±2 週間）の間隔をおいて投与する。最大 6 回投与する。なお、前立腺針生検は、適宜行う。また、試験担当医師が退院可能と判断するまでを入院期間とする。 また、G47Δ初回投与までにアンドロゲン遮断 3 ヶ月製剤を皮下注射し、12-13 週毎に継続投与する。
追加治療：治療不応例に対する治療選択	登録後 1 年間およびプロトコル治療中止後の治療は規定しない。
目標被験者数	30 人
試験実施期間	試験実施期間： 5 年（2021 年 4 月 1 日 - 2026 年 3 月 31 日） 症例登録期間： 3 年（2021 年 4 月 1 日 - 2024 年 3 月 31 日）
試験施設数	1 施設
倫理指針	本試験の実施に際しては「ヘルシンキ宣言」に基づく倫理的原則、及びその他の関連する規制要件を遵守するものとする。
臨床研究倫理審査委員会	本試験の実施に先立ち、認定臨床研究倫理審査委員会は、本試験の倫理的、科学的及び医学的妥当性を審査する。本試験は、認定臨床研究倫理審査委員会の承認を得た後に実施する。認定臨床研究倫理審査委員会の審議結果が「修正の上で承認する」であった場合には、審議結果に基づいて実施計画書又は症例報告書、同意説明文書等を修正した後、本試験を実施する。また、認定臨床研究倫理審査委員会は少なくとも 1 年に 1 回以上の頻度で本試験が適切に実施されているか否かを継続的に審査する。

1. 緒言

1.1. 試験の背景

我が国における前立腺癌の新規罹患数は年々増加しており、男性癌で最多になると予測されている。2017年の実測値では9万1,215人が罹患しており、男性の前立腺癌粗罹患率(対人口10万人)は147.9であり、最も高くなっている(国立がん研究センターがん対策情報センターのデータより)。2018年の前立腺癌死亡数は12,250人、前立腺癌死亡率は10万人あたり20.3と男性癌死亡の7番目である。前立腺癌が前立腺に局限している場合には、手術療法、放射線療法およびホルモン療法が標準治療とされている。一方、転移を有する進行例ではホルモン療法が第一選択となる²⁾。また、再発した場合にもホルモン療法が行われ、ホルモン療法が効かない去勢抵抗性前立腺癌になれば、抗癌剤治療が行われるが、一般的に予後不良であり、最終的に前立腺癌死するのは去勢抵抗性前立腺癌となってからである²⁻⁴⁾。ホルモン療法は、前立腺癌の促進因子である男性ホルモンを抑制することにより前立腺癌の縮小を目指すアンドロゲン遮断療法を基本とする。多くの患者でアンドロゲン遮断療法導入初期は良好に反応してPSA値が低下するが、2-10年(平均5年)でPSA値が再上昇するという「再燃」が見られる⁵⁾。最近、アンドロゲン遮断療法に加えて、CYP17阻害薬やアンドロゲン受容体阻害薬、細胞障害性抗がん剤との併用を行う治療が行われ始めた。しかし、CYP17阻害薬⁶⁾はステロイド併用を必要とし、アンドロゲン受容体阻害薬^{7,8)}は全身倦怠感など有害事象が、細胞障害性抗がん剤は血液毒性などの有害事象が問題視され、普及の障害となっている。

近年、転移性前立腺癌に前立腺局所の治療を行う概念が提唱されており、ホルモン療法併用による生存期間の延長が期待されている^{9,10)}。このように、ホルモン療法だけではなく、局所治療を行うことにより生存期間の延長を期待する治療戦略は、ホルモン療法しか選択肢を提示されてこなかった癌患者にとっては朗報であると考えられる。

以上より、転移を有する患者に対してホルモン療法だけではなく、異なるアプローチによる新たな治療法の開発を行うことは臨床的に非常に意義深いと考えられる¹¹⁾。

1.2. 転移性前立腺癌に対する標準治療

転移を有する前立腺癌では、ホルモン療法が第一選択として用いられる。転移性前立腺癌ではアンドロゲン遮断療法が標準治療であるが、前立腺癌腫瘍マーカーPSA値が平均5年で再上昇してホルモン療法抵抗性となる。ホルモン療法を施行した場合の1年後failure-free生存率は約50%に留まる^{9,10)}。アンドロゲン遮断療法に加えて、CYP17阻害薬やアンドロゲン受容体阻害薬との併用を行う治療が行われることもある。アンドロゲン受容体阻害薬であるピカルタミドはよく併用されていたが、効果の面から最近では使用されなくなっている。新規のCYP17阻害薬やアンドロゲン受容体阻害薬との併用が行われ始めている。しかし、CYP17阻害薬であるアピラテロン⁸⁾はステロイド併用を必要とし、アンドロゲン受容体阻害薬であるイクスタンジ⁹⁾やアパルタミド¹⁰⁾は全身倦怠感など有害事象が問題視され、使用されないことも多い。たとえば、アピラテロンは524例中、皮疹114例(21.8%)、疲労68例(13.0%)、ほてり66例(12.6%)など315例(60.1%)に副作用が認められた⁸⁾。イクスタンジは572例中、ほてり(20.5%)及び疲労(14.9%)など303例(53.0%)に副作用が認められ⁹⁾、アピラテロンは597例中、高血圧110例(18.4%)、低カリウム血症83例(13.9%)など336例(56.3%)に副作用が認められた¹⁰⁾。これらは臨床試験での成績だが、実際には他疾患を併用する高齢の患者が多く、我が国のガイドラインには記載されておらず、実臨床ではまだ広く普及していないのが現状である。

近年、転移性前立腺癌に前立腺局所の治療を行う概念が提唱されており、ホルモン療法併用による生存期間の延長が期待されている。単なる前立腺局所の治療に留まらず、抗腫瘍免疫を惹起させ、遠隔転移の腫瘍にも抗腫瘍作用を有する新規のアプローチへの期待は大きい¹²⁾。

1.3. 試験薬について

HSV-1はエンベロープを持つ二重鎖DNAウイルスである。ゲノムの大きさが約152kbであり、約80のウイルス遺伝子を持つ。ゲノムは両端に特徴的な繰り返し配列がある。ヒトを宿主とし、「口唇ヘルペス」として知られ、野生型ウイルスの初期感染は一般に軽症あるいは無症状である。まれに、角膜炎や脳炎を起こす。ヘルペス脳炎の発生は日本の調査では年間100万人に2.9人¹³⁾、欧米では年間20万人に1人¹⁴⁾である。発癌性はない。免疫不全や新生児など特殊な条件を除くと、HSV-1はウイルス血症を生じることがなく、初期感染後全身に分布しない。成人の60~70%は抗HSV-1抗体を保持している。抗ウイルス薬が存在し、重症の場合アシクロビル、バラシクロビルなどで治療される。

HSV-1は、ヒトの粘膜表面（通常は口腔咽頭）への直接の接触により感染する。接触感染以外の感染形式はない。感染した局所で複製した後、神経末端から感覚神経節（しばしば三叉神経節）にウイルスは移送され、潜伏感染（latency）を確立する。潜伏感染においてはウイルスの複製は行われず、別の宿主への感染性を有しない。潜伏感染から再活性化（reactivation）が起きると、ウイルスは皮膚粘膜（通常は口唇）で顕在化し、水疱を形成する。潜伏感染の再燃などに際しまれに脳炎を発症する¹⁵⁾。

がん治療用としての HSV-1 が癌治療に適しているとされるのは、次のような利点に基づいている。1) ヒトのほぼ全ての種類の細胞に感染可能である、2) 比較的低い multiplicity of infection (MOI; 細胞数に対する感染性ウイルス投与量の比) で全ての細胞の死滅が可能である、3) 病原性を呈するのに必要なウイルス遺伝子が解明されており、遺伝子操作を加えることで病原性の除去が可能である、4) HSV-1 に感受性を示すマウスが存在するために、動物で安全性や効果の非臨床的評価を行える、5) 抗ウイルス薬が存在するために治療を中断することが可能である、6) ウイルス自体の免疫原性が比較的 low、血中抗 HSV-1 抗体が細胞間ウイルス伝搬に影響しない、7) ウイルス DNA が宿主細胞のゲノムに取り込まれない、という特徴を有する。

G47Δは、臨床応用された第二世代複製型遺伝子組換え HSV-1 G207 の改良型で、第三世代複製型遺伝子組換え HSV-1 に位置づけられる。正常組織では複製せず腫瘍細胞においてのみウイルス複製を可能にするため、ウイルスゲノムの遺伝子組換え操作により、3つの非必須遺伝子（合計4箇所）が人為的に除去或いは不活化されている¹⁾。すなわち、2つコピーが存在する γ 34.5 遺伝子の双方の欠失と、マーカーの LacZ 遺伝子の挿入による ICP6 遺伝子（ribonucleotide reductase (RR)の大サブユニットをコードする）の不活化、および α 47 遺伝子の欠失という三重変異を有する。G47Δは、 γ 34.5 遺伝子欠失と ICP6 遺伝子不活化の二重変異を有する遺伝子組換え HSV-1 G207 のウイルスゲノムに、 α 47 遺伝子の欠失変異を加えることによって作製された。ICP6 遺伝子は、リボヌクレオチド還元酵素の大サブユニットを司り、非分裂細胞における HSV-1 の DNA 合成に必須であるが、ICP6 遺伝子不活化により G47Δは DNA 合成できず、増殖することができない。一方、腫瘍細胞中のリボヌクレオチド還元酵素を利用して、G47Δは腫瘍細胞では増殖が可能となる。一方、 γ 34.5 遺伝子は、リン酸化プロテインキナーゼ R に拮抗し、宿主細胞がウイルス感染に呼応して蛋白合成を遮断する反応を抑制するが、その欠失により蛋白合成は遮断される。そのため、G47Δは正常細胞では自ら複製できず、腫瘍特異的な作用を示す。また、ICP47

遺伝子の欠失により、宿主細胞の MHC ClassI 発現が温存され、 γ 34.5 遺伝子欠失による複製能が腫瘍細胞で改善される。これらの三重変異にて、G47 Δ は、腫瘍特異的に増殖する特徴を有する。

1.4. 先行する他の研究の治療成績

1.4.1. 試験薬 G47 Δ の第 I-II a 相臨床試験

2009 年から 5 年間、再発膠芽腫患者を対象に第 I-II 相試験（非治験）が東京大学で実施された。G47 Δ は、定位脳手術によって脳腫瘍内に、2 週間以内に 2 回投与された。3 例ずつの用量増加とし、設定用量で更に症例を追加した(www.umin.ac.jp UMIN000002661)。第 I-II 相試験では、G47 Δ の脳腫瘍内投与の安全性が確立され、再発膠芽腫が画像上縮小したり、比較的高い割合での長期生存が見られたりするなど、既存治療では通常経験しないような良好な経過も観察された。この結果をもとに、第 II 相試験が医師主導治験として 2015 年 5 月より東京大学医科学研究所附属病院で開始された。対象は、初回手術に続く放射線治療後、腫瘍が残存又は再発した膠芽腫患者で、テモゾロミド内服治療と併用して G47 Δ の投与を実施した。1 回投与量 1×10^9 pfu を、定位脳手術により脳腫瘍内に、4 週間間隔で最大で 6 回投与するプロトコルで行われた(www.umin.ac.jp UMIN0000015995)。2016 年には G47 Δ が厚労省の先駆け審査指定制度の対象品目に、2017 年には悪性神経膠腫を対象とした希少疾病用製品に指定された。2018 年に中間解析が実施されて主要評価項目の 1 年生存割合が 92%であることが明らかとなり、予め設定されたメタ解析に基づく対照値 15%と比較して著しく高い治療成績が示された。治験プロトコルの有効中止基準を有意に上回ったため、被験者登録は早期終了となり、本治験を pivotal study として製造販売承認申請が行われる。

一方、前立腺癌を対象とした臨床試験（非治験）が 2013 年 5 月より開始し、2016 年 3 月に予定されていた全症例の投与が終了した(www.umin.ac.jp UMIN000010463)。本試験は、化学療法の有無および遠隔転移の有無は問わず、前立腺全摘を受けていない去勢抵抗性前立腺癌患者を対象とした。経直腸超音波ガイド下の前立腺内投与により、1 回投与量 3×10^8 pfu の G47 Δ を、3 例ずつ 3 段階で投与回数を増加した（2 回投与→3 回投与→4 回投与）。G47 Δ に起因すると思われる重篤な有害事象は認められなかった。

また、進行性嗅神経芽細胞腫の臨床試験（非治験）も 2013 年 9 月より開始された(www.umin.ac.jp UMIN000011636)。4 週間毎の腫瘍内投与を繰り返す行うプロトコルで試験が進んでいる。さらに、悪性胸膜中皮腫の臨床試験（非治験）も 2018 年 11 月より開始されている(www.umin.ac.jp UMIN000034063)。

1.4.2. 先行する他の研究（G207 の第 I 相臨床試験）

G207 を用いた第 I 相臨床試験が、再発悪性グリオーマの患者 21 例を対象に、米国ジョージタウン大学とアラバマ大学バーミングハム校にて行われた¹⁶⁾。一投与量ごとに 3 例ずつ、 1×10^6 pfu から 3 倍ずつ投与量を増やして 3×10^9 pfu まで、増強 CT の増強部位に定位脳手術により腫瘍内投与された。その結果、G207 に起因する grade 3 以上の有害事象は認めず、軽度の adverse events として痙攣発作 2 例、脳浮腫 1 例を認めた。1 例 (3×10^8 pfu)が投与後 24 時間以内に見当識障害と構語障害を呈したが、投与 14 日後の定位的生検は腫瘍所見のみで炎症を認めず、HSV 免疫染色も陰性であった。投与 3 ヶ月以上後の、腫瘍増大では説明できない神経症状悪化が 2 例あったが、いずれも生検で HSV 免疫染色が陰性であった。生検或いは再摘出術で得られた腫瘍組織 7 例中 2 例で PCR にて G207 DNA が検出された（投与後 56 日と 157 日）。G207 投与後、Karnofsky スコアの改善が 6 例（29%）に

認められた。経時的 MRI 評価を行った 20 例中 8 例に腫瘍の縮小を認めたが、脳梗塞で死亡した 1 例を除いた全例にて再増大を認めた。ステロイド投与にも関わらず、術前抗 HSV-1 抗体が陰性であった 5 例中 1 例に陽転を認めた。剖検が 5 例で行われ、脳病理はいずれも脳炎や白質変性を認めず、HSV-1 免疫染色陰性であった。3 例にて腫瘍が脳の 1 領域に限局し、膠芽腫に通常見られるような腫瘍細胞の周囲脳組織への著明な浸潤を認めなかった。脳梗塞で死亡した 1 例では残存腫瘍を認めなかった。この臨床試験で、G207 の 3×10^9 pfu までの脳内投与の安全性が確認された。

同じく米国アラバマ大学バーミングハム校において、G207 を用いて再発悪性グリオーマ患者 6 例を対象に米国で第 Ib 相臨床試験が行われた (2002 年～2003 年)¹⁷⁾。腫瘍摘出前後の 2 回、G207 を投与するというプロトコルにて施行された。まず、 1.5×10^8 pfu の G207 を腫瘍内に投与し、2-5 日後に腫瘍を外科的に摘出した後で摘除部位に 1.0×10^9 pfu の G207 を投与した。G207 に起因する重篤な有害事象は認めず、ヘルペス脳炎やアシクロビルを要するような副作用は認めなかった。1 例で G207 投与 2 日後に一時的な高熱と見当識障害を認めたが、ステロイド投与にて 12 時間以内に快復した。腫瘍検体の培養から 1 例のみ HSV が単離され、PCR 解析では全ての腫瘍検体で HSV DNA が確認された。一方、唾液、尿、結膜、血清には G207 は認められなかった。効果に関しては、G207 投与後に Karnofsky スコアの改善が 3 例 (50%) に認められた。CR や PR は得られず、生存期間は G207 投与後 6.6 ヶ月 (中央値) であった。死亡原因は原病進行のためと考えられた。しかし、G207 投与部位には進行した所見を認めない 1 例も見られた。剖検が行われた 1 例では、脳、肝臓、膵臓、血液全てで HSV 陰性であった。

1.4.3. 先行する他の研究 (1716 を用いた臨床試験)

HSV-1716 は、 γ 34.5 遺伝子のみを欠失した単一変異の第一世代 HSV-1 である。比較的強い殺細胞効果を維持する一方で、動物の正常脳組織に対する病原性もある程度残存し、G207 で安全性が確認された量の 1 万分の 1 の量でもラットやマウスの脳内投与で時に強い脳炎を起こすと報告されている¹⁸⁾。脳腫瘍内定位的投与による第 I 相試験がイギリスで再発悪性グリオーマ患者を対象に行われた。 10^3 pfu から 3 例ずつ漸増し、G207 よりも 3 万分の 1 の低用量 (10^5 pfu) までの投与が行われた。有害事象は観察されなかったが、臨床症状の改善も見られなかった。投与後 2 日目、6 日目、その後は 4 週間まで毎週、血清と口腔粘膜を検査したが、感染性ウイルスは検出されなかった。またヘルペスウイルス感染症の皮膚症状も見られなかった¹⁹⁾。次に、12 例に対して 10^5 pfu を脳腫瘍内に定位的に投与し、その 4-9 日後に腫瘍の切除手術を行い、腫瘍組織内でのウイルス複製の有無やウイルス DNA の存在、ウイルスに対する免疫反応などが検討された。有害事象は観察されなかった。2 例において、切除後の腫瘍組織から感染性ウイルスが回収された。1 例において、PCR 法にて投与 5 日後 (腫瘍摘出の翌日) の血清からウイルス DNA が検出され、その後速やかに陰性化した。他の 11 例では一度も血清中から HSV-1 の DNA は検出されなかった。²⁰⁾ 引き続き 12 例の再発悪性グリオーマの患者に対し、今度は腫瘍切除と同時に腫瘍腔壁へ 10^5 pfu の HSV-1716 の投与が行われた⁷⁾。必要に応じて従来の放射線照射や化学療法も併用された。ウイルス投与に関連する重篤な有害事象の出現はなかった。効果に関しては、術後 1 年余りを過ぎた時点で、3 名が安定した状態で生存したと報告された²¹⁾。

1.4.4. 先行する他の研究 (T-Vec を用いた臨床試験)

T-Vec は OncoVEX^{GM-CSF} と呼ばれていたウイルスであり、 γ 34.5 遺伝子と α 47 遺伝子を欠失し、GM-CSF を発現する²²⁾。OncoVEX^{GM-CSF} は乳癌、頭頸部癌、消化器癌、悪性黒色腫で重篤な有害事象を認めず²³⁾、転移性悪性黒色腫を対象にした第 II 相試験でも安全性

と有効性が確認された^{24,25)}。これらの結果を基に、第Ⅲ相臨床試験がⅢB期もしくはⅣ期の切除不能な進行悪性黒色腫に対して計画され、436症例がT-Vec腫瘍内投与群とGM-CSF皮下注射群に対して2:1に割り付けられた。持続的局所奏効率がT-Vec群で26.4%、GM-CSF群で5.7%と有意にT-Vec群で良好であり²⁶⁾、更に、T-Vec群では全生存期間の有意な延長が見られた。特に、Ⅳ期を除く患者群や、初期治療(first-line therapy)としてT-Vec投与を受けた患者群では、著明な生存期間の延長を認め、放射線治療と違って、ウイルス療法では、局所治療が全身に治療効果を及ぼすことが臨床試験で始めて証明された。悪性黒色腫だけでなく、放射線療法と併用した頭頸部扁平上皮癌でも第Ⅱ相試験で有効性が認められた²⁷⁾。T-Vecは、2015年10月に米国で悪性黒色腫を適応疾患として先進国初のウイルス療法薬として承認された²⁸⁾。

2. 試験の目的と必要性

本研究は、転移性前立腺癌の患者を対象とし、遺伝子組換え単純ヘルペスウイルスⅠ型(herpes simplex virus1、以下HSV-1)であるG47Δ¹⁾を前立腺腫瘍内に投与する。1年後failure-free生存割合を主要評価項目とする。本研究は、対照群のないオープンラベル試験である。

転移を有する前立腺癌では、ホルモン療法が第一選択として用いられる。転移性前立腺癌ではホルモン療法が標準治療であるが、前立腺癌腫瘍マーカーPSA値が平均5年で再上昇してホルモン療法抵抗性となる。近年、転移性前立腺癌に前立腺局所の治療を行う概念が提唱されており、ホルモン療法併用による生存期間の延長が期待されている。しかし、ホルモン療法併用による放射線治療による場合の1年後failure-free生存率は60%に留まり、晩期合併症などの副作用も懸念される。単なる前立腺局所の治療に留まらず、抗腫瘍免疫を惹起させ、遠隔転移の腫瘍にも抗癌作用を有する新規のアプローチが存在するとすれば、非常に期待されている。その一つとして、ウイルス療法が挙げられる。上述のごとく、ウイルス療法の中でもHSV-1は癌治療に適しており、G47Δは膠芽腫を対象に製造販売承認申請が行われる予定である。G47Δは、安全性と効果を高めた最新世代の複製型遺伝子組換えHSV-1で、前立腺癌の患者にも第Ⅰ相臨床試験において安全性が示され有効性を示唆する所見も得られている。

本試験では、ホルモン療法併用における腫瘍学的効果と安全性(有害事象発生率)の検討を行う。すなわち、主要評価項目として、ホルモン療法併用ウイルス療法の1年後failure-free生存割合およびClopper-Pearsonの90%信頼区間を算出する。副次評価項目として、90%信頼区間の下限が51%(対照治療であるホルモン療法の奏効率)を上回っていれば、臨床的にホルモン療法に対し優越性を持つことを示唆するものとする。90%信頼区間の下限が53%(ホルモン療法併用放射線治療の奏効率の-10%を非劣性マージンとする)を上回っていれば、臨床的にホルモン療法併用放射線治療に対し非劣性であることを示唆するものとする。また、全生存期間やfailure-free生存期間、通常有害事象発生率も評価する。

3. 対象患者

3.1. 選択基準

以下のすべての条件に該当する患者を対象とする。

- 1) 前立腺癌の存在が病理学的に確認された患者(神経内分泌癌や小細胞癌を腺癌に併存している場合も含む)

- 2) 長期のアンドロゲン遮断療法を行う意思がある患者
- 3) WHO Performance Status : 0~1 の患者
- 4) 登録 12 週以内の画像検査にて転移が確認された患者
- 5) 登録 12 週以前にアンドロゲン遮断療法を開始していない患者
- 6) 年齢 : 20 歳以上の男性
- 7) 本試験の参加にあたり十分な説明を受けた後、十分な理解の上、患者本人の自由意思による文書同意が得られた患者
- 8) 登録前 14 日以内の測定データにより以下の骨髄・腎機能を有する患者

項目	閾値
好中球数	1,500/mm ³ 以上
血小板数	10×10 ⁴ /mm ³ 以上
AST (GOT)	75 U/L 以下 (基準値の 2.5 倍)
ALT (GPT)	105 U/L 以下 (基準値の 2.5 倍)
総ビリルビン値	2.25 IU/L 以下 (基準値の 1.5 倍)
血清カリウム値	3.5 mmol/mL 以上
GFR	30 ml/min/1.73mm ² 以上

【設定の根拠】

1)-8) : 対象患者の安全性及び倫理性を考慮し、信頼性のあるデータを得るために設定した。

3.2. 除外基準

以下のいずれかの条件に該当する者は対象としない。

- 1) 前立腺癌に対する根治的な治療を施行した患者
- 2) 脳や軟膜への転移を有する患者
- 3) 前立腺癌に対して化学療法を受けた患者
- 4) ホルモン療法を受けた患者
- 5) 登録時に同時活動性の重複癌を有する患者
- 6) 過去 4 週以内に TURP など手術を受けた患者
- 7) 本研究参加前 30 日以内に未承認薬の治験／臨床研究に参加している患者
- 8) ウイルス療法に既往のある患者
- 9) HIV 陽性またはその既往患者
- 10) 活動性のヘルペスウイルス感染を有する患者
- 11) アルコールまたは他の薬物中毒患者
- 12) 活動性でコントロールされていない感染症のある患者
- 13) コントロール不良または重度の心不全・糖尿病・高血圧・間質性肺炎・腎不全・自己免疫疾患を有する患者
- 14) 抗 HSV 薬 (アシクロビル) に対するアレルギーを有する患者
- 15) その他、研究責任医師又は、研究分担医師が本試験を安全に実施するのに不相当と判断した患者

【設定根拠】

1)-7) : 本試験の有効性の評価に影響を与えると考えられるため、設定した。

8)-14) : 対象患者の安全性を考慮し、設定した。

4. 被験者の同意

4.1. 同意文書及びその他の説明文書の作成並びに改訂

研究責任医師は、被験者及び被験者の代諾者から試験参加の同意を得るために用いる同意文書及びその他の説明文書を可能な限り平易な表現で作成する。また、同意文書及びその他の説明文書を改訂する必要があると認めた場合は、これらを改訂する。

研究責任医師は、作成又は改訂された同意文書及びその他の説明文書を認定臨床研究倫理審査委員会に提出し、その承認を得る。

4.2. 同意取得の時期と方法

4.2.1. 同意の取得

研究責任医師又は研究分担医師は、同意文書及びその他の説明文書を被験者に手渡し、「4.3 被験者及びその代諾者に対する説明事項」に示す内容について十分な説明を行う。また、必要な場合には、試験協力者も被験者に補足的な説明を行う。被験者が試験の内容を良く理解したことを確認した上で、試験開始前(スクリーニング)検査を実施するまでに文書で自由意思による同意を取得する。

4.2.2. 同意書への記入方法および説明文書の交付

被験者の同意に際しては、説明を行った研究責任医師又は研究分担医師が記名捺印又は署名し、説明した日付を記入する。被験者は同意書に署名し、同意した日付を記入する。なお、試験協力者が補足的な説明を行った場合は、当該試験協力者も記名捺印又は署名し、説明した日付を記入する。同意を得た後、説明文書及び同意書の写しを被験者に交付する。

4.2.3. 説明文書改訂時

研究責任医師又は研究分担医師は、被験者の同意に関連し得る新たな情報の入手などにより同意文書及びその他の説明文書を改訂した場合、被験者に対して改訂された同意文書及びその他の説明文書を用いて改めて説明し、治験への参加継続について文書で同意を取得する。

4.3. 被験者に対する説明事項

研究責任医師が作成する説明文書には、以下の事項を記載する。臨床試験コーディネーター (Clinical Research Coordinator: CRC) 同席のもとで以下の内容を口頭で詳しく説明する。

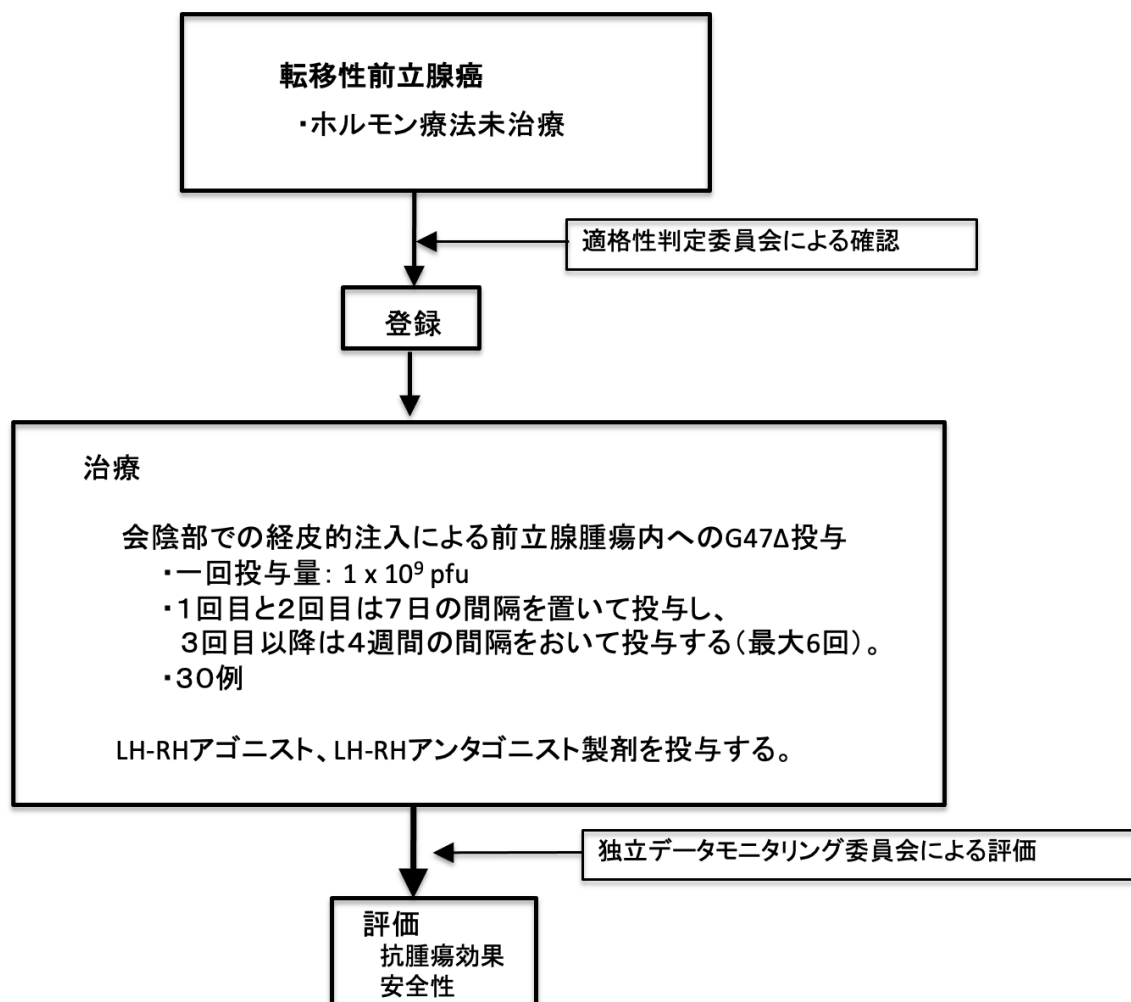
- 1) 遺伝子治療等臨床研究の名称及び当該遺伝子治療等臨床研究の実施について研究機関の長の許可を受けている旨
- 2) 研究機関の名称及び研究責任医師の氏名
- 3) 遺伝子治療等臨床研究の目的及び意義
- 4) 遺伝子治療等臨床研究の方法 (被験者から取得された試料・情報の利用目的を含む。) 及び期間
- 5) 被験者として選定された理由
- 6) 被験者に生じる負担並びに予測されるリスク及び利益
- 7) 遺伝子治療等臨床研究が実施又は継続されることに同意した場合であっても随時これを

- 撤回できる旨（但し、試験薬の投与後は、同意撤回ができない旨及びその説明）
- 8) 遺伝子治療等臨床研究が実施又は継続されることに同意しないことによって被験者等が不利益な取扱いを受けない旨
 - 9) 遺伝子治療等臨床研究に関する情報公開の方法
 - 10) 被験者等の求めに応じて、他の被験者等の個人情報等の保護及び当該遺伝子治療等臨床研究の独創性の確保に支障がない範囲内で、研究計画書及び遺伝子治療等臨床研究の方法に関する資料を入手又は閲覧できる旨並びにその入手又は閲覧の方法
 - 11) 個人情報等の取扱い（匿名化をする場合にはその方法を含む。）
 - 12) 試料・情報の保管及び廃棄の方法
 - 13) 研究の資金源等、研究機関の遺伝子治療等臨床研究に係る利益相反及び個人の収益等、研究者の遺伝子治療等臨床研究に係る利益相反に関する状況
 - 14) 被験者等及びその関係者からの相談等への対応
 - 15) 被験者等に経済的負担又は謝礼がある場合には、その旨及びその内容
 - 16) 他の治療方法等に関する事項
 - 17) 被験者への遺伝子治療等臨床研究の実施後における医療の提供に関する対応
 - 18) 遺伝子治療等臨床研究の実施に伴い、被験者の健康、子孫に受け継がれ得る遺伝的特徴等に関する重要な知見が得られる可能性がある場合には、被験者に係る研究結果（偶発的所見を含む。）の取扱い
 - 19) 遺伝子治療等臨床研究によって生じた健康被害に対する補償の有無及び内容
 - 20) 被験者から取得された試料・情報について、被験者等からの同意を受ける時点では特定されない将来の研究のために用いられる可能性又は他の研究機関に提供する可能性がある場合には、その旨と同意を受ける時点において想定される内容
 - 21) 被験者の秘密が保全されることを前提として、モニタリングに従事する者、倫理審査委員会並びに厚生労働大臣が必要な範囲内において当該被験者に関する試料・情報を閲覧する旨

5. 試験の方法

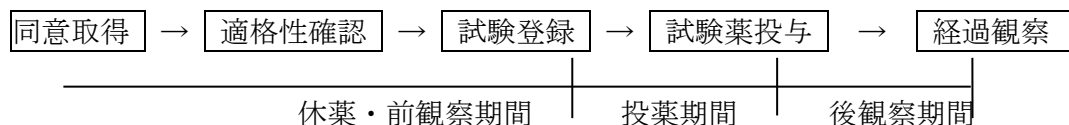
5.1. 試験のデザイン

検証的、単群、ランダム化無、非盲検、無対照のオープンラベル試験である。



5.2. 試験のアウトライン

被験者の試験参加期間は、試験登録から最終投与までの投与期間が約 18 週、後観察期間は最終投与 4 週間目までとする。



1 回目と 2 回目は 7 日 (5-14 日) の間隔を置いて投与し、3 回目以降は 4 週間 (±2 週間) の間隔をおいて投与する。最大 6 回投与する。

また、G47Δ初回投与までにアンドロゲン遮断 3 ヶ月製剤を皮下注射し、12-13 週毎に継続投与する。

【投与回数、投与量および投与間隔の設定根拠】

本試験では、腫瘍の残存部位に治療を継続できるよう、最大 6 回まで投与を繰り返すこととした。第 I 相臨床試験では投与回数を 2-4 回としたのに対して、本試験では最大 6 回まで投与することとしたのは、非臨床試験成績から G47Δの有効性は投与回数に依存すると考えたためである。具体的には、マウス皮下腫瘍モデルを用いて G47Δを 2、3、4 回投与したときの抗腫瘍効果を比較した結果、4 回投与時の抗腫瘍効果が最も高いことが示された。したがって、第 I 相臨床試験よりも G47Δ の投与回数を増やすこととし、実臨床の運用面を考慮して、投与回数を最大 6 回とした。

なお、投与量に関しては、 1×10^9 pfu 投与とした。第一相試験では 3×10^8 pfu 投与としていたが、その研究計画書が 2011 年に承認された後、膠芽腫始め他疾患で臨床試験が進行した。現在では、膠芽腫の製造販売承認での申請を含め、 1×10^9 pfu が至適量との判断にて、全て 1×10^9 pfu 投与する計画としている。機能障害が起こりうる脳内への穿刺を含め、 1×10^9 pfu で安全性が確認されており、本臨床研究では、前立腺癌に対する 1×10^9 pfu 投与の安全性も評価項目としている。

投与間隔は、2 回目のみ初回投与から 7 日（5-14 日）間とした。ウイルス投与と同時に生検を行い、腫瘍効果を確認するためである。次に、非臨床試験成績から、G47Δを腫瘍部位に局所投与すると 4 週間後にはウイルスが消失すると推定されるため、3 回目以降は投与間隔 4 週間と設定した。また、G47Δは入院下で投与するため、被験者の負担という観点からも 4 週間という投与間隔が妥当である。なお、ヌードマウスに作成した U87MG 皮下腫瘍内に G47Δを局所投与した非臨床試験では、腫瘍内に存在する G47Δの量を計測した結果、腫瘍内のウイルス量は投与 2 日後に最大値を示した後に減少し、14 日後の値は投与したウイルス量と同程度であった。去勢抵抗性前立腺癌患者に対する第 I 相臨床試験においても、尿・唾液・血液のウイルス排出が全症例で測定されたが、ウイルス投与後 7 日にウイルスが検出されたのは 1 症例のみであった（尿中）。

5.3. 目標被験者数と試験実施期間

目標被験者数：30 例

試験実施期間：5 年（2021 年 4 月 1 日 - 2026 年 3 月 31 日）

症例登録期間：3 年（2021 年 4 月 1 日 - 2024 年 3 月 31 日）

5.4. 施設登録および症例登録

症例登録は、東京大学医科学研究所附属病院 TR・治験センターにおける中央登録制とする。症例登録は以下の手順で行なう。なお、症例登録について臨床試験システムを用いて被験者識別コードを発番し対応表を作成し、連結可能匿名化を行う。

5.4.1. 症例登録

- 1) 登録は、原則として同意取得後 14 日以内に行うこととする。
- 2) 研究責任医師または研究分担医師は、文書による同意を取得し、スクリーニング検査の結果、被験者が選択基準を満たし、除外基準に抵触していないことを確認する。研究責任医師または研究分担医師が「適格」と判断した被験者について、試験薬投与開始前に症例登録を行う。本試験での被験者の登録は、EDC (Electric Data Capture) システムを通じて行う。

3) 研究責任医師、研究分担医師は、EDC システムにて選択基準・除外基準への適合性を入力し、被験者の登録を行う。判定はシステム上で自動的になされる。研究責任医師または分担医師は判定結果に従ってプロトコル治療を開始する。

一度登録された患者は登録取り消し（データベースから抹消）はされない。重複登録の場合は、いかなる場合も初回の登録情報（登録番号）を採用する。

誤登録・重複登録が判明した際には速やかに TR・治験センターに連絡すること。

* 研究責任医師又は研究分担医師は、被験者を登録するまで試験薬を投与してはならない。

5.4.2. 症例登録先

東京大学医科学研究所附属病院 TR・治験センター

TEL：03-5449-5462

5.5. 登録されなかった被験者の取り扱い

登録前に不適格などの何らかの理由で登録が行われなかった場合は、登録されなかった被験者となり、試験の登録症例には含めない。研究責任医師又は研究分担医師は、当該被験者に本試験への登録が不可である旨を説明する。

5.6. 投与スケジュールおよび投与量・投与方法

G47Δの投与は入院の上、手術室にて行う。投与に際しては、碎石位にて MRI 画像と同期させた経直腸超音波ガイド下に前立腺腫瘍内に経会陰的に投与する。10% グリセリン加燐酸緩衝液(PBS)で総量 1ml となるよう希釈した G47Δを、前立腺腫瘍内の数カ所に分けて緩徐に注入する。1回目と2回目は7日(5-14日)の間隔を置いて投与し、3回目以降は4週間(±2週間)の間隔をおいて投与する。最大6回投与する。なお、前立腺針生検は、適宜行う。また、試験担当医師が退院可能と判断するまでを入院期間とする。

なお、G47Δ初回投与までにアンドロゲン遮断3ヶ月製剤を皮下注射し、12-13週毎に継続投与する。

【投与量設定の根拠】

1回あたりの投与量は、製造販売承認申請される膠芽腫を対象にした第II相臨床試験の成績に基づいて 1.0×10^9 pfu とした。なお、前立腺癌における第I相臨床試験試験では、1回あたり 3×10^8 pfu とし、第1コホート (6×10^8 pfu)、第2コホート (9×10^8 pfu)、第3コホート (1.2×10^9 pfu) の投与回数増加による用量増加のデザインであった。独立データモニタリング委員会にて、 1.2×10^9 pfu まで妥当な設定用量であることが確認された。G47Δと関連を否定できない、有害事象の発現状況を別資料に示す。用量制限毒性は出現しなかった。

G47Δと関連を否定できない、CTCAEによる臨床上の Grade3 以上の有害事象は認められず、臨床検査値異常の Grade3 以上の有害事象もリンパ球数減少のみであった。

5.7. 減量基準

有害事象に応じた個別の用量の変更、延期、減量は行わない。

5.8. 休薬の基準

有害事象に応じた個別の用量の変更、延期、減量を行わない。

5.9. 個々の症例の中止基準

以下の基準に該当した場合、研究責任医師又は研究分担医師は試験薬投与を中止する。ただし、検査スケジュールに沿った検査・評価は継続して実施する。

- 1) 試験薬の投与継続が困難な有害事象が発現し、かつ研究責任医師又は研究分担医師が中止を必要と認めた場合。
- 2) 被験者又は代諾者からの中止の申し出があった場合。
- 3) その他、研究責任医師又は研究分担医師が被験者の試験継続が不可能と判断した場合。
- 4) 研究責任医師または試験調整委員会が中止の決定を判断した場合。

試験が中止された場合の「中止日」は、中止の理由となる事象が発現した日ではなく、研究責任医師又は研究分担医師が中止を判断した日とする。

5.10. 併用薬

アンドロゲン遮断製剤

- 1) LH-RH アゴニスト（ゴセレリン、リュープロレリン）
- 2) LH-RH アンタゴニスト（デガレリクス）

5.11. 併用可能薬

骨修飾薬

- 1) ゴレドロン酸
- 2) デノスマブ

5.12. 併用禁止療法

- 1) 抗アンドロゲン薬（フルタミド、ビカルタミド、クロルマジノン）
- 2) アンドロゲン受容体シグナル阻害薬（エンザルタミド、アパルタミド、ダロルタミド）
- 3) CYP17A 阻害薬（アビラテロン）
- 4) その他ホルモン治療薬
- 5) 抗癌剤（ドセタキセル、カバジタキセル、リン酸エストラムスチンナトリウム）
- 6) 免疫チェックポイント阻害薬
- 7) アシクロビル、バラシクロビルなどの抗 HSV 薬（ただし、G47Δ投与後の HSV-1 感染症-疑い例を含む-に対する投与を除く）

5.13. 後治療

- 1) 登録1年間もしくは臨床的増悪を認めるまでの期間のいずれか早い方の期間、他の抗腫瘍治療は行わないで観察する。
- 2) 登録後1年後およびプロトコル治療中止後の治療は規定しない。

5.14. 試験終了後の対応

ヘルシンキ宣言、人を対象とする医学系研究に関する倫理指針に則り、被験者が試験終了後においても試験の結果により得られた最善の予防、診断及び治療を受けることができるよう努める。

6. 試験薬（導入する遺伝子及び遺伝子の導入方法）

6.1. 試験薬の概要

試験薬：G47Δ

一般名：teserpaturev

剤型、保存条件：10% glycerol / 燐酸緩衝生理食塩水(Phosphate buffered saline: PBS)に溶解され、滅菌状態で1.5ml の凍結用バイアルに投与量に応じて分注され、-75°C以下で凍結保存される。

6.2. 導入する遺伝子

6.2.1. 人に導入する遺伝子の構造と性質

6.2.1.1. 人に導入する遺伝子の構造

本臨床研究では、複製型遺伝子組換え HSV-1 である G47Δそのものが直接腫瘍細胞を破壊するものであり、治療目的で人に導入される外来治療遺伝子はない。なお、G47Δにはウイルス複製を検出するために大腸菌 LacZ 遺伝子 cDNA が挿入されており、G47Δが複製する腫瘍細胞に導入される。

6.2.1.2. 人に導入する遺伝子の性質

本臨床研究では、複製型遺伝子組換え HSV-1 である G47Δそのものが直接腫瘍細胞を破壊するも人に導入する遺伝子の性質

導入された腫瘍細胞内において大腸菌 LacZ 遺伝子 cDNA は G47Δウイルスゲノムの一部として存在し、細胞の染色体に組込まれることはない。導入された LacZ 遺伝子は G47Δ自身の ICP6 プロモーターにより一過性に発現される。

6.2.1.3. 導入遺伝子からの生成物の構造およびその生物活性

LacZ 遺伝子からの生成物はβ-ガラクトシダーゼである。β-ガラクトシダーゼは分子量116 kDa で四量体として機能し、ラクトースを分解してグルコースとガラクトースを生成する。β-ガラクトシダーゼは人体に対し毒性や病原性を有しない。LacZ 遺伝子を発現する第二世代複製型遺伝子組換え HSV-1 である G207 が第 I 相臨床試験において人の脳内（脳腫瘍内）に投与されており、LacZ 遺伝子生成物の安全性は示されている。

6.2.1.4. 本計画で使用するその他の組換え DNA の構造と性質

本計画では他の組換え DNA は使用しない。

6.2.1.5. 標的細胞とした細胞の由来および生物学的特徴ならびに標的細胞とした理由

本研究での標的細胞は前立腺癌細胞そのものであり、G47Δが感染した標的細胞でウイルス複製が行われる過程で癌細胞が直接破壊される。

6.2.1.6. G47Δの野生型ウイルスの生物学的特徴および人に対する影響

HSV-1はエンベロープを持つ二重鎖DNAウイルスである。ゲノムの大きさが約152kbであり、約80のウイルス遺伝子を持つ。ゲノムは両端に特徴的な繰り返し配列がある。ヒトを宿主とし、「口唇ヘルペス」として知られ、野生型ウイルスの初期感染は一般に軽症あるいは無症状である。まれに、角膜炎や脳炎を起こす。ヘルペス脳炎の発生は日本の調査では年間100万人に2.9人¹³⁾、欧米では年間20万人に1人¹⁴⁾である。発癌性はない。免疫不全や新生児など特殊な条件を除くと、HSV-1はウイルス血症を生じることがなく、初期感染後全身に分布しない。成人の60~70%は抗HSV-1抗体を保持している。抗ウイルス薬が存在し、重症の場合アシクロビル、バラシクロビルなどで治療される。

HSV-1は、ヒトの粘膜表面（通常は口腔咽頭）への直接の接触により感染する。接触感染以外の感染形式はない。感染した局所で複製した後、神経末端から感覚神経節（しばしば三叉神経節）にウイルスは移送され、潜伏感染（latency）を確立する。潜伏感染においてはウイルスの複製は行われず、別の宿主への感染性を有しない。潜伏感染から再活性化（reactivation）が起きると、ウイルスは皮膚粘膜（通常は口唇）で顕在化し、水疱を形成する。潜伏感染の再燃などに際しまれに脳炎を発症する¹⁵⁾。

HSV-1は、エンベロープが破壊・変性すると容易に感染性を失う。宿主から離れると環境中では2時間で死滅する²⁹⁾。Biosafety上、消毒薬（chemical disinfectants）に対する感受性の点でlipid virusesに分類され、微生物の中で消毒薬に対する感受性が最も高い。HSV-1を速やかに不活化する消毒薬（chemical disinfectants）は以下のものを含む：70%イソプロパノール、70-90%エタノール、塩素系漂白剤（例えば0.2%次亜塩素酸ナトリウムなど）、10%ポビドンヨード、0.5~0.1%グルコン酸クロルヘキシジン、0.05~0.2%塩化ベンザルコニウム、など。物理的不活法（physical inactivation）として、HSV-1は56°C(30分間)の加熱や紫外線照射(15分間)、pH4以下で速やかに感染性を失う³⁰⁾。

6.2.2. G47Δの作製方法

研究薬である複製型遺伝子組換え単純ヘルペスウイルス 1 型 G47Δは、院内製剤としてcGMP 準拠施設である東京大学医科学研究所治療ベクター開発室にて製造される。製造は、東京大学医科学研究所・先端医療研究センター・先端がん治療分野・教授・藤堂 具紀を責任者とし、東京大学医科学研究所・先端がん治療分野が行う。

WHO Vero マスターセルバンクからワーキングセルバンクを構築し、ウイルス製造には継代数の低い細胞を使用した。正しい変異を有することが確認された G47Δから作製したマスターウイルスストックを Vero 細胞に感染させた。細胞を回収し、凍結融解操作で細胞内の G47Δを遊離させる。フィルターろ過により細胞成分を除去したのち、細胞由来の DNA および RNA を Benzonase にて酵素処理した。高速遠心にてウイルスを沈殿させ、混入する核酸および蛋白を除去した。これを 10% グリセリン加燐酸緩衝液(PBS)に再浮遊して、チューブに分注した。

使用する培地、血清、試薬等は全て cGMP 規格に準拠している。ウシ血清についてはオーストラリア産でウイルスなどの病原体の混入がなく、さらにガンマ線照射されたものを使用した。

6.2.3. G47Δの構造

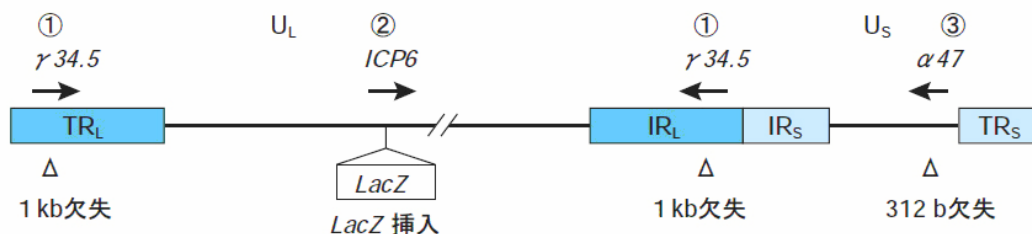


図 増殖性遺伝子組換え HSV-1 G47Δの構造

HSV-1のゲノムは152 kbの大きさを、2つの固有配列領域 (unique sequences : U_L と U_S) とその両端に位置する繰り返し配列 (terminal repeat : TR, inverted repeat : IR) からなる。①両コピーの $\gamma 34.5$ 領域の欠失により、病原性の消失と腫瘍選択的ウイルス複製が得られる。② *ICP6* の不活化により、増殖が盛んでRR活性が上昇している細胞において選択的にウイルスは複製する。③ $\alpha 47$ の欠失により、ウイルスに感染した細胞のMHC Class Iの提示低下が防止される。また $\gamma 34.5$ 欠失ウイルスの複製能力が腫瘍細胞で改善するが、正常細胞への毒性に変化はない。

エンベロープおよびその内側のキャプシドは野生型 HSV-1 と同じである。G47Δは、臨床応用された第二世代複製型遺伝子組換え HSV-1 G207 の改良型で、第三世代複製型遺伝子組換え HSV-1 に位置づけられる。正常組織では複製せず腫瘍細胞においてのみウイルス複製を可能にするため、ウイルスゲノムの遺伝子組換え操作により、3つの非必須遺伝子 (合計4箇所) が人為的に除去或いは不活化されている³¹⁾。すなわち、2つコピーが存在する $\gamma 34.5$ 遺伝子の双方の欠失と、マーカーの *LacZ* 遺伝子の挿入による *ICP6* 遺伝子 (ribonucleotide reductase (RR)の大サブユニットをコードする) の不活化、および $\alpha 47$ 遺伝子の欠失という三重変異を有する。G47Δは、 $\gamma 34.5$ 遺伝子欠失と *ICP6* 遺伝子不活化の二重変異を有する遺伝子組換え HSV-1 G207 のウイルスゲノムに、 $\alpha 47$ 遺伝子の欠失変異を加えることによって作製された。

$\gamma 34.5$ は HSV-1 の病原性に関連した遺伝子で、これを欠失させた変異株は正常細胞でのウイルス複製能が著しく減弱することが判明している³¹⁻³³⁾。また、 $\gamma 34.5$ 遺伝子欠失 HSV-1 である R3616 は、病原性を失い、かつ悪性腫瘍では増殖が可能であったことが報告されている³⁴⁾。この、 $\gamma 34.5$ 遺伝子欠失 HSV-1 が正常細胞では病原性を失い、かつ、腫瘍細胞では増殖能を維持することは多くの研究で現象として知られている。ただ、そのメカニズムは完全には解明されておらず、いくつかの説が述べられている。一つの機序として、腫瘍細胞における PKR の活性化阻害機構が考えられている。正常細胞ではウイルス感染が起こると二本鎖 RNA 依存性プロテインキナーゼ(double stranded RNA-activated protein kinase: PKR)が活性化され、その結果ウイルス蛋白を含む細胞内での蛋白合成が遮断される。 $\gamma 34.5$ 遺伝子産物は活性化 PKR に拮抗してウイルス蛋白の合成を可能にするが、 $\gamma 34.5$ 遺伝子欠失 HSV-1 は正常細胞で複製を行えない。一方、*ras* シグナルを活性化させた NIH-3T3 細胞では、PKR の活性化が妨げられ、 $\gamma 34.5$ 遺伝子欠失の HSV-1 でも複製可能となると考えられている³⁵⁾。また、IFN 受容体欠失マウスでは、 $\gamma 34.5$ 遺伝子欠失 HSV-1 の病原性低下を認めなかったとの報告があり^{36,37)}、癌細胞では一様に IFN- β の signaling pathway が低下しているため、腫瘍細胞でのみ病原性と増殖能を有するという説もある。

RR はウイルス DNA 合成に必要な酵素であるが、この遺伝子を不活化すると、ウイルスは非分裂細胞では複製できず、分裂が盛んで RR 活性の上昇した細胞でのみウイルスの欠落酵素が補われてウイルス複製が可能となる。 α 47 遺伝子のコードする蛋白質は、宿主細胞の抗原呈示関連トランスポーター(TAP)を阻害して細胞表面の MHC Class I の発現を抑えることによって、ウイルス蛋白の提示を抑制し、宿主の免疫サーベイランスから逃れる作用を有する。従って α 47 遺伝子欠失 HSV-1 では宿主細胞の MHC Class I 発現が維持され、抗腫瘍免疫細胞に対する刺激が強くなると期待される。また、 α 47 遺伝子欠失の結果、 α 47 プロモータが US11 遺伝子と直結してそれを制御するようになるため、本来晩期発現型の US11 遺伝子が最早期に発現し、これが γ 34.5 変異の second site suppressor として機能して γ 34.5 欠失 HSV-1 において減弱したウイルス複製能を腫瘍細胞に限って復元する。

これらの三重変異により、G47 Δ は、ウイルス複製に関して高い腫瘍特異性を示し、腫瘍細胞に限局した高い殺細胞効果を呈する一方、正常組織では毒性を呈さない。親ウイルス G207 に比較して、その安全性を維持しながら、抗腫瘍効果が格段に改善された。また G207 に比べ、高い力価のウイルス製剤が生産できることもあり、同じ用量でも高い治療効果が期待できる。G47 Δ は、ウイルスゲノム上、間隔の離れた 4 箇所の人為的変異を有することから、野生型 HSV-1 に戻る(revert)可能性がゼロに等しい点でも安全性の高いゲノム構造となっている。G47 Δ は HSV-1 strain F 由来であることから、37°C では複製するが 39.5°C では複製しないという温度感受性を有する。

臨床製剤の製造に先立ち、使用する G47 Δ の全ゲノムの塩基配列の解析を行い、 γ 34.5、ICP6、 α 47 の 3 つの遺伝子の改変箇所が設計どおりであることが確認された。

6.3. 品質試験

品質試験の結果は、「資料 3 (2) : 製剤品質試験項目および結果」に記載する。

6.4. 被験者への投与に用いられる特殊な機器や医療材料

本臨床研究では被験者への投与に特殊な機器や医療材料は用いない。

6.5. 非臨床試験における生物学的特徴

6.5.1. 培養細胞におけるウイルス複製能力

G47 Δ は、臨床応用された第二世代複製型遺伝子組換え HSV-1 G207 の改良型であることから、G47 Δ の生物学的特徴については G207³⁸⁾との比較検討が主になされた。ヒト神経芽細胞腫株 SK-N-SH、ヒト膠芽腫細胞株 U87MG、ヒト膠芽腫細胞株 U373、ヒト頭頸部扁平上皮癌細胞株 SQ20B、およびアフリカミドリザル腎細胞株 Vero において、G47 Δ は G207 に比し優れた複製能力を示し、multiplicity of infection (MOI) = 0.01 にて感染後 24 時間後の産生ウイルスの回収量は G207 に比し 4 倍から 1000 倍高かった¹⁾。U87MG は MOI=2 でも検討を行い、感染後 24 時間後のウイルスの回収量は G207 に比し 12 倍高かった¹⁾。ヒト前立腺癌細胞株 LNCaP においても、MOI=2 で感染させた 24 時間後の G47 Δ の産生ウイルス回収量は G207 に比し 22 倍高かった³⁹⁾。また、実際の前立腺の手術検体に感染させて解析したところ、G47 Δ は G207 に比し約 28 倍の増殖能を有していた⁴⁰⁾。膠芽腫細胞株 U87、T98、大腸癌細胞株 SW-480、肺癌細胞株 A549 においても G47 Δ は 7.1 倍から 100 倍に増殖していることが確認された⁴¹⁾。一方、増殖中のヒト臍帯静脈内皮細胞(HUVEC)では G47 Δ が 20 倍に増殖したが、細胞周期を停止させた HUVEC 細胞や正常前立腺組織 PrEC 細胞では増殖を認めなかった⁴¹⁾。また、ヒト膠芽腫 U87 細胞株、ヒト悪性髄膜腫 F5

細胞株、マウス悪性末梢神経腫瘍 37-3-18-4 細胞株、増殖中の HUVEC 細胞でも G47Δの増殖が確認された⁴²⁾。

さらに、MOI = 0.1、つまり、ウイルス 1 に対して 10 倍の腫瘍細胞に感染させるという条件下で殺細胞効果の検討を行った。この条件下では、ウイルスが増殖して 10 倍の細胞を死滅させることとなる。G207 について多くのヒト腫瘍細胞株で殺細胞効果を認めている。前立腺癌細胞株 LNCaP、DU145、PC-3、TSUPR-1 において、MOI=0.1 にて殺細胞効果を認めた⁴³⁾。特に、LNCaP、DU145、PC-3 の 3 細胞株では、MOI=0.01 にて day3 までにほぼ全ての細胞が死滅した⁴⁴⁾。DU145、PC-3 の 2 細胞株では、MOI=0.1 にて殺細胞効果が確認されている⁴⁴⁾。前立腺癌以外でも、MOI=0.1 にて、乳癌 MDA-MB-435、MCF7、T47D 細胞株⁴⁵⁾、大腸癌 C86、C85、HCT8、C29、C18 細胞株⁴⁶⁾、胃癌 MKN-74、OCUM-2MD3、AGS、MKN-1、MKN-45-P 細胞株⁴⁷⁾、肝癌 Hep3B、HuH7 細胞株⁴⁸⁾、胆嚢癌 GB-d15、HAG-1、TGBC1TKB、TGBC2TKB 細胞株⁴⁸⁾、膀胱癌 RT-4、MGH-U3、5637、EJ 細胞株¹⁾、膀胱癌 KU19-19、T24 細胞株⁴⁹⁾、頭頸部癌 UM-SCC 22A、UM-SCC 38、PCI 51、SCC-25/CP、SQ20B 細胞株⁵⁰⁾、頭頸部癌 SCC1483 細胞株⁵¹⁾、卵巣癌 A2780、SKOV3、NIH:OVCAAR3、CaOV3 細胞株および卵巣癌初期培養株⁵²⁾、悪性黒色腫 SK-MEL3、RPMI 7951、Mel888、Mel624 細胞株¹⁾、神経芽腫 UKF-NB-3 (VCR^r)、UKF-NB-3 (DOX^r)、IMR-32、IMR-32 (cisPt^r)、UKF-NB-4、UKF-NB-4 (dox^r) 細胞株⁵³⁾、神経膠腫 U87MG、T98G、U373MG、U138MG 細胞株³⁸⁾、悪性髄膜種 F5、GPSM4、GPSM5 細胞株⁵⁴⁾、また、腎癌 ACHN、A498 細胞株⁵⁵⁾ など調べた限り、白血病細胞や骨髄、T リンパ球の血球系細胞⁵⁶⁾ を除く、ほとんど全ての腫瘍細胞株で殺細胞効果を認めている。唯一、MOI=0.1 にて十分に殺細胞効果を示さなかった乳癌細胞株 MDA-MB-231 も、MOI=1 では day7 までに 75% 以上の細胞が死滅した⁵⁵⁾。

G47Δは理論的に G207 よりも増殖能が劣ることにはならないため、ほとんどの癌細胞が G47Δに感受性を示すと推察される。実際に、MOI=0.1 の条件下に G47Δを感染させたところ、前立腺癌細胞株 LNCaP では day2 までにほぼ全ての細胞が死滅し、DU145 では day4 までにほぼ全ての細胞が死滅した³⁹⁾。PC-3 においても day4 までに 70%以上の細胞が死滅した³⁹⁾。また、マウス前立腺癌 Pr14-2⁵⁷⁾ および TRAMP-C2 細胞株⁵⁸⁾ においても MOI=0.1 で殺細胞効果を認めた。マウス前立腺癌 Pr14-2 および TRAMP-C2 細胞株については、我々も MOI=0.1 で殺細胞効果を確認している⁵⁹⁾。前立腺細胞株以外でも、ヒト膠芽腫 U87MG、U373、U138 細胞株¹⁾、ヒト悪性黒色腫 624、888 細胞株¹⁾、マウス神経芽腫 Neuro2a 細胞株¹⁾、ヒト乳癌 MDA-MB-435 細胞株⁶⁰⁾、マウス乳癌 M6、M6c 細胞株⁵⁷⁾、MOI=0.2 でヒト膠芽腫由来癌幹細胞 GBM4、GBM8、BT74⁶¹⁾、MOI=0.5 で細胞周期を停止させないヒト初代培養ケラチノサイト (HKC)、ヒト膠芽腫 U251、PGBM1 細胞株、ヒト肺癌 A549 細胞株⁶²⁾ で殺細胞効果を認めた。

G47Δと野生型 HSV-1 との比較では、MOI=2 における産生ウイルスの回収量は、U87MG では感染 24 時間後において 9.5 倍、U138 では感染 22 時間後において 125 倍、野生型 HSV-1 のほうが G47Δより高く、野生型 HSV-1 に比べると G47Δの複製能は減弱している。

G47Δは細胞周期を停止させたヒト初代培養ケラチノサイト (HKC) において、MOI ≤ 10 でウイルス複製による殺細胞効果を現さなかった⁴⁹⁾。G207 は MOI=0.1 で正常星状細胞や正常神経細胞の培養細胞においてウイルス複製による殺細胞効果を現さなかった³⁸⁾。

6.5.2. 培養細胞における殺細胞効果

ヒト前立腺癌細胞株 LNCaP と DU145 において、MOI=0.1 で、G47Δは G207 に比べ有意に速やかな殺細胞効果を呈した³⁹⁾。ヒト膠芽腫細胞株 U87MG、U373、U138、ヒト悪性黒色腫細胞株 624 および 888 においては MOI = 0.01 にて、またマウス神経芽細胞腫株

Neuro2a においては MOI=0.1 にて、感染後 3-4 日で G47Δ は G207 に比しより速やかに細胞を死滅させた。U87MG 細胞株において G47Δ (MOI=0.01, day3) が 80% の細胞を死滅させたのに対し、G207 は 10% の細胞を死滅させたのみであった¹⁾。

6.5.3. 感染宿主細胞の MHC Class I 発現に対する影響

ヒト前立腺癌細胞株 PC-3、DU145、LNCaP において、G207 は感染 24 時間以内に宿主細胞の MHC Class I の発現を低下させたのに対し、G47Δ は MHC Class I の発現を維持した。特に、MHC Class I 発現の低い LNCaP 細胞と比較して、MHC Class I 発現の高い PC-3 細胞において高い MHC Class I の発現を維持していた。また、ヒト繊維芽細胞株 Detroit551 において、野生型 HSV-1 (strain F) または G207 は、感染 24 時間以内に宿主細胞の MHC Class I の発現を 40% 程度にまで低下させたのに対し、G47Δ は MHC Class I の発現を 100% 維持した¹⁾。ヒト悪性黒色腫細胞株を用いた検討では、MHC Class I の発現が元来比較的高い 938 株と 1102 株において、G47Δ は G207 に比べ、感染後の MHC Class I の発現低下を有意に抑制した。MHC Class I の発現が元来低い 624 株、888 株、および 1383 株においては G207 との差は見られなかった。

6.5.4. 腫瘍反応性 T 細胞の活性化作用

ヒト悪性黒色腫細胞株 938 および 1102 において、G47Δ 感染腫瘍細胞は G207 感染腫瘍細胞に比べ、それぞれの細胞株に特異的に反応する腫瘍浸潤 T 細胞株の刺激によるインターフェロン γ の分泌を 25-40% 増加させた¹⁾。888 株においては、腫瘍浸潤 T 細胞刺激によるインターフェロン γ の分泌は G47Δ、G207 いずれの感染腫瘍細胞でもほとんど見られなかった。

6.5.5. ヒト前立腺癌およびマウス前立腺癌細胞に対する抗腫瘍効果 (マウス皮下腫瘍モデルにおいて)

アンドロゲン依存性前立腺癌細胞株であるヒト HONDA およびマウス TRAMP-C2 を用いたマウス皮下腫瘍モデルにおいて、G47Δ を 2 回腫瘍内投与すると投与量依存性に腫瘍増殖が抑制された。特に、ヒト HONDA 細胞株においては、 4×10^6 plaque-forming units (pfu) 腫瘍内投与にて 6 匹中 2 匹で腫瘍が消失した。また HONDA モデルに対しては 2×10^5 pfu の 2 回、TRAMP-C2 モデルに対しては 5×10^6 pfu 2 回の腫瘍内投与を行い、ホルモン療法を併用するとさらに治療効果の増強が得られた³⁹⁾。またホルモン療法後にホルモン不応性となり再発したヒト前立腺癌 HONDA に対しても G47Δ の腫瘍内投与は増殖抑制効果を示した³⁹⁾。ただ、これらは限られた細胞での結果であり、ほぼ全ての腫瘍細胞で認められた *in vitro* での殺細胞効果が、*in vivo* での腫瘍において明確な腫瘍の縮小効果として認められるかどうかは不明であり、その効果は腫瘍細胞によって異なることも推察される。

6.5.6. マウス脳腫瘍に対する抗腫瘍効果

マウス脳内に形成された U87MG ヒトグリオーマや Neuro2a マウス神経芽細胞腫に対し、それぞれ 1×10^6 pfu 単回および 2×10^5 pfu 2 回の腫瘍内投与を行うと、G47Δ は G207 に比べ生存期間を延長した。U87MG 対照群の生存期間中央値が 27 日であったのに対し、G207 治療群は 36 日、G47Δ 治療群は 42 日と有意に生存期間を延長した。Neuro2a においては対照群の生存期間中央値が 11 日であったのに対し、G207 治療群は 14 日、G47Δ 治療群は 15 日と生存期間を延長する傾向が見られた。ヌードマウス皮下に形成された U87MG ヒトグリオーマ腫瘍内に 1×10^6 pfu のウイルスを投与し、48 時間後に複製したウイルス量を測定すると G47Δ は G207 に比べ 5 倍高かった。

6.5.7. マウス乳癌モデルにおける抗腫瘍効果

マウス乳癌細胞株 M6c の皮下腫瘍および脳内移植腫瘍のモデルにおいて、それぞれ 2×10^7 pfu の 4 回腫瘍内投与および 2×10^6 pfu の単回腫瘍内投与を施行したところ、G47Δは G207 に比し有意に優れた抗腫瘍効果を示した^{63,64}。また、ヒト乳癌 MDA-MB-435 の脳内移植腫瘍に対して血液脳関門開放薬剤との併用で 1×10^7 pfu 単回の頸動脈内投与を行ったところ、対照群の生存期間中央値が 12.9 日であったのに対し、G47Δ治療群は 17.4 日と有意に生存期間を延長した。乳癌を自然発生する C3(1)/T-Ag マウスモデルにおいて、 2×10^7 pfu の G47Δを毎週 1 回腫瘍内に投与したところ、対照群の生存期間中央値が 5.5 週であったのに対し、G47Δ治療群は 8.5 週と有意に優れた抗腫瘍効果を示した^{63,64}。

6.5.8. マウス神経線維腫モデルにおける抗腫瘍効果

マウス神経線維腫症 2 型(NF2)の自然発生腫瘍モデル P0-SchΔD (39–121) line 27 において腫瘍の大きさを経時的に MRI にて観察したところ、 1×10^7 pfu の 6 日おき 2 回の G47Δ腫瘍内投与にて腫瘍増殖が抑制される傾向が見られた。またヌードマウス皮下で継代した NF2 患者由来のヒト神経鞘腫において、 1×10^7 pfu の 6 日おき 2 回の G47Δ腫瘍内投与を行なうと、腫瘍縮小効果が見られた⁶⁵。

6.5.9. G207 を用いた調査

G207 は、ヒト前立腺癌細胞株に対し高い殺細胞効果を示し、*in vitro* では MOI 0.1 で 3~6 日以内に腫瘍細胞を全滅させる。この効果は *in vivo* にも反映され、腫瘍内投与や静脈内投与にて前立腺癌細胞に有効であるが確認されている。ヌードマウスにおける皮下腫瘍モデルでは、G207 投与により有意に腫瘍は縮小し、22%以上で完全に腫瘍の消退を認めた。また、放射線治療後に再発したヒト前立腺癌 LNCaP 細胞にも G207 が有効であることが確認されている⁶⁶。G207 は現在までに 60 種以上の細胞株で試され、前立腺癌に限らず、多種のヒトの腫瘍に（血液腫瘍を除く）有効であることが確かめられている。

正常免疫下におけるG207の抗腫瘍効果は、C57BL/6マウスと同系のTRAMP-C2（前立腺癌）細胞の皮下腫瘍、A/Jマウスと同系のN18（神経芽細胞腫）細胞やNeuro2a（神経芽細胞腫）細胞の脳腫瘍および皮下腫瘍モデル、およびBALB/cマウスのCT26（大腸癌）皮下腫瘍モデルで調べられた⁶⁷。その結果、G207は正常免疫下においても高い抗腫瘍効果を呈するのみならず、腫瘍内投与により特異的抗腫瘍免疫を惹起するため、抗腫瘍効果が増強されることが示された。この抗腫瘍免疫は腫瘍特異的な細胞傷害性T細胞活性（CTL）の上昇を伴った。同じマウス腫瘍モデルでステロイド投与の影響を調べたところ、免疫抑制下においても腫瘍内のウイルス複製に変化はなく、基本的な抗腫瘍効果に影響は無かったが、ステロイド長期投与ではCTL活性の抑制に伴い、腫瘍の治癒率が減少した⁶⁸。また、成人の60~70%はHSV-1に対する抗体を保有するが、予め非致死量のHSV-1を投与して抗体を形成させたマウスで調べた結果、G207の抗腫瘍効果は血中の抗HSV-1抗体には全く影響されなかった⁶⁹。

6.6. 非臨床試験における安全性の評価

6.6.1. 遺伝子導入方法の安全性

6.6.1.1. 遺伝子導入方法の安全性

G47Δの投与は、MRI 画像と同期させた経直腸超音波ガイド下に経会陰的に行われる。経直腸超音波ガイド下での操作については、杏林大学医学部付属病院泌尿器科では、年間約

350-400 症例の前立腺針生検が日常的に施行されており、習熟度の面からも安全性が確認されている。

6.6.1.2. 遺伝子導入に用いる G47Δの純度

臨床研究に使用される G47Δ製剤は、cGMP 準拠の管理施設である東京大学医科学研究所治療ベクター開発室において cGMP 生産された。製造は、東京大学医科学研究所・先端医療研究センター・先端がん治療分野・教授・藤堂 具紀を責任者とし、東京大学医科学研究所・先端がん治療分野が行う。正しい変異を有することが確認された G47Δを用い、WHO Vero 細胞のマスターセルバンクを用いて臨床製剤は作製される。G47Δ製剤は 10%のグリセリンを含む燐酸緩衝液(Phosphate-buffered Saline: PBS)内に浮遊している。

これらは臨床製剤生産の 4 工程、すなわち、マスターセルバンク、精製前のウイルス回収液（バルクハーベスト）、精製後のウイルス、およびチューブに分注後の製剤において、英国 BioReliance 社に委託して品質試験を施行した。精製前のウイルス回収液（バルクハーベスト）において最も重点的な試験を行った。ろ過と遠心による精製、およびチューブへの分注過程では細胞成分および動物由来の試薬を使用しておらず、各種ウイルスの混入の可能性は極めて少ないと考えられ、この 2 工程においては無菌試験およびエンドトキシン試験のみを行った。

6.6.1.3. 被験者に投与する物質の純度およびその安全性

臨床研究用 G47Δ製剤は、cGMP 生産され、10% グリセリン/燐酸緩衝生理食塩水 (phosphate buffered saline: PBS)の懸濁液として、滅菌状態で凍結用バイアルに分注され、-75°C以下で凍結保存されている。使用する培地、血清、試薬等は全て cGMP 規格に準拠しており、医薬品、医薬品原料、またはそれに準じている。ウシ血清についてはオーストラリア産でウイルスなどの病原体の混入がなく、さらにガンマ線照射されたものを使用した。

6.6.1.4. 増殖性ウイルスの出現の可能性

G47Δ自体が複製可能型であるが、前述の通り、複数の機序を介して、そのウイルス複製は、高い特異性をもって腫瘍細胞に限られる。G47Δは、ウイルスゲノム上、間隔の離れた 4 箇所の人為的変異を有することから、野生型 HSV-1 に戻る(revert)可能性はゼロに等しい。野生型 HSV-1 が既に脳に潜伏している状態で脳内に複製型遺伝子組換え HSV-1 を投与した場合の、潜伏野生型 HSV-1 の活動を誘発する可能性 (reactivation) については、二重変異複製型遺伝子組換え HSV-1 G207 を用いてマウスで調査されており、潜伏野生型 HSV-1 の活動を誘発しないことが実証された。また、最終製剤中の野生型 HSV-1 の混入の有無については、PCRにて野生型由来する DNA 断片が増幅されないことを検証した。

6.6.1.5. 遺伝子導入に用いる G47Δの細胞傷害性

A/J マウスや BALB/c マウスは、HSV-1 に感受性の高いマウス系として知られる⁷⁰⁾。三重変異を有する第三世代複製型遺伝子組換え HSV-1 G47Δは、臨床応用を目的に安全性を主眼に開発された第二世代複製型遺伝子組換え HSV-1 G207 の二重変異ウイルスゲノムに更に遺伝子工学的に変異を加えて作製された、G207 の改良型である。G47Δの前立腺内投与について、マウスを用いた安全性評価が行われた。A/J マウスの前立腺内に G47Δの最高量 1×10^7 pfu を単回投与したところ、3 ヶ月の観察期間で何の症状も認めず、死亡したマウスも存在しなかった。一方、野生型 HSV-1 (strain F) 投与群では、 1×10^4 pfu 投与にもかかわらず 7 日目までに 10 匹中 3 匹が死亡し、3 週目までには全マウスが死亡した。病理組織学的検査では、G47Δ投与群では異常を認めなかったのに対して、野生型 HSV-1 投

与群では、上皮の抜け落ち、間質の浮腫が見られた。前立腺内投与において、G47Δは野生型 HSV-1 に比べ、少なくとも 1000 倍以上の安全性を呈することが示された。

また、ヒト前立腺癌細胞株 HONDA を用いたマウス皮下腫瘍モデルでの非臨床試験では、G47Δを 4×10^6 pfu 2 回腫瘍内投与したが、G47Δに起因すると思われる異常を認めなかった。さらに、マウス前立腺癌細胞株 TRAMP-C2 を用いた皮下腫瘍モデルでの非臨床試験では、4 回腫瘍内投与でも G47Δに起因すると思われる異常を認めなかった。従って、このモデルでは、4 回投与まで安全であることが示された³⁹⁾。

また、A/J マウスを用いて、G47Δの脳内投与の安全性を検討した。野生型 HSV-1 (strain F; 2×10^3 pfu) および G207 の可能最高投与量 (2×10^6 pfu) を対照として、G47Δ (2×10^6 pfu) の脳内単回投与の安全性を盲検法で比較した⁴⁾。野生型 HSV-1 は 10 匹全て死亡したのに対し、G207 は 2/8 匹が一過性の軽度の外観異常、G47Δは 1/10 匹が一過性の軽度の外観異常を呈したに過ぎず、脳内単回投与において G47Δが G207 と同等以上の安全性を有していること、野生型 HSV-1 の少なくとも 1000 倍以上安全であることが示された。さらに、G47Δの脳内単回投与、静脈内単回投与、腹腔内単回投与の安全性を、野生型 HSV-1 (strain F) を対照に、繰り返し徹底的に調査した。脳内単回投与では、野生型 HSV-1 (2×10^3 pfu) で 29/30 匹が死亡したのに対し、G47Δではその 1000 倍量 (2×10^6 pfu) で 30 匹全て、2500 倍量 (5×10^6 pfu) で 29/30 匹が生存した。静脈内単回投与では、野生型 HSV-1 は 1×10^5 pfu で 11/15 匹、 1×10^6 pfu で 22/25 匹、 1×10^7 pfu で 6/10 匹が死亡したのに対し、G47Δは 1×10^7 pfu で 10 匹全て、 4×10^7 pfu で 15 匹全て、 2×10^8 pfu で 19/25 匹が生存した。腹腔内単回投与では、野生型 HSV-1 は、 2×10^4 pfu で 2/25 匹、 2×10^5 pfu で 2/25 匹、 2×10^6 pfu で 3/10 匹が死亡したのに対し、G47Δは研究に用いた 60 匹全てが生存した (1×10^7 pfu が 5 匹、 3×10^7 pfu が 25 匹、 1×10^8 pfu が 20 匹、 3×10^8 pfu が 10 匹)。以上より、脳内単回投与では、G47Δは野生型 HSV-1 に比べ 1000 倍以上の安全性を示すことが再確認された。また、静脈内単回投与や腹腔内単回投与では、野生型 HSV-1 でも全例死亡するほどの毒性を呈するに至らなかったが、死亡例が出始める最低投与量を比較すると、いずれの投与経路においても、G47Δは野生型 HSV-1 に比べ、少なくとも 1000 倍以上の安全性を呈することが示された。

G47Δは G207 の改良型ウイルスであり、G207 に関しても動物を用いた徹底的な安全性評価が行われている。G207 の前立腺内投与に関しても、マウスとサルを用いた安全性評価が行われた⁷⁾。BALB/c マウスの前立腺内に G207 の 1×10^7 pfu を単回投与したところ、5 ヶ月の観察期間で何の症状も認めず、死亡したマウスも存在しなかった。一方、 1×10^6 pfu の野生型 HSV-1 (strain F) 投与群では、50%に活動が鈍く、姿勢異常のマウスが認められ、13 日までに死亡した。病理組織学的検査では、G207 投与群では異常を認めなかったのに対して、野生型 HSV-1 投与群では、上皮の抜け落ち、間質の浮腫が見られた。また、ヨザル (*Aotus nancymae* (owl monkey)) は HSV-1 に感受性が高い霊長類として知られており、臨床用 (clinical grade) の G207 の前立腺内投与の安全性は 4 匹のサルでも詳細に検討された⁷⁾。G207 (1×10^7 pfu) を前立腺内に単回投与したところ、21 日もしくは 28 日の観察期間中、サルは全く無症状であった。また、G207 の前立腺内投与後、7, 14, 21, 28, 56 日目に血液、脳脊髄液、尿、分泌液(尿道、直腸、口内、結膜部)を採取し、ウイルス排出の有無が検証されたが、いずれの検体からも感染性ウイルスおよび G207 の DNA は検出されなかった。14 日目の精液からもウイルスは検出されず、剖検時の解剖で採取した脳脊髄液からも感染性ウイルスは検出されなかった。

また、脳内投与についても検討が行われ、BALB/c マウスの脳内または脳室内単回投与では G207 最高量 1×10^7 pfu で何の症状も認めず、LD₅₀ 量の野生型 HSV-1 の脳内単回投与を生き延びた BALB/c マウスの脳に再度 G207(1×10^7 pfu)を投与しても潜在 HSV-1 の再

活動を誘発しなかった⁷²⁾。また、ヨザル 22 匹が G207 の安全性評価に用いられた⁷³⁾。ヨザルの脳に野生型 HSV-1 (strain F) を 10^3 pfu 単回投与すると脳炎を生じて 5 日以内に死亡するが、G207 では 10^9 pfu までの単回投与或いは 10^7 pfu の反復投与でも症状を呈さず、MRI や病理学上も異常を示さなかった。臨床用 (clinical grade) の G207 の安全性は 4 匹のサルで詳細に検討され、 3×10^7 pfu が脳内に単回投与された⁷³⁾。観察期間中、サルは全く無症状の上、1, 3, 7, 10, 14, 21, 31 日目に唾液、涙、膺分泌液を採取し、ウイルス排出の有無が検証されたが、いずれの検体からも感染性ウイルスおよび G207 の DNA は検出されなかった。G207 の脳内投与 1 ヶ月後 (3×10^7 pfu) もしくは 2 年後 (10^9 pfu) の解剖で採取した全身の組織検体からは、いずれも感染性ウイルスが検出されず、PCR により G207 の DNA が中枢神経系に限局して検出された。また、全例で血清抗 HSV-1 抗体が G207 脳内投与約 3 週間後より上昇した。ヨザルを用いた安全性評価の結果は、マウスを用いた安全性評価の結果を再確認した。

6.6.1.6. 体内の標的細胞以外の細胞へ、また被験者以外の人への遺伝子導入の可能性

本臨床研究はウイルス (G47Δ) のみの腫瘍内投与を行い、治療遺伝子の導入はない。G47Δ は、ウイルス複製に関して腫瘍細胞に高い特異性を有し、腫瘍細胞以外では複製不能である。また、そのため自然界で増殖拡散し得ない。G207 の第 I 相臨床試験では、G207 の腫瘍内単回投与後 4 日、1 ヶ月、3 ヶ月、6 ヶ月、1 年の各時点で患者の唾液と血液が採取され、ウイルス排出の有無が検証されたが、いずれの検体からも感染性ウイルスおよび G207 の DNA は検出されなかった¹⁶⁾。米国アラバマ大学での第 I 相臨床試験においても、G207 投与後 24 時間、72 時間、7 日、1 ヶ月、3 ヶ月、6 ヶ月、9 ヶ月、1 年の各時点で患者の血液、唾液、尿、および結膜スワブが採取され、ウイルス排出の有無が検証されたが、いずれの検体からも G207 の DNA は検出されなかった¹⁷⁾。またヨザルを用いた非臨床研究では、G207 の前立腺内単回投与後 (1×10^7 pfu)、7, 14, 21, 28, 56 日目に血液、脳脊髄液、尿、分泌液(尿道、直腸、口内、結膜部)を採取し、ウイルス排出の有無が検証されたが、いずれの検体からも感染性ウイルスおよび G207 の DNA は検出されなかった⁷¹⁾。14 日目の精液からもウイルスは検出されず、剖検時の解剖で採取した脳脊髄液からも感染性ウイルスは検出されなかった。

6.6.1.7. 染色体内へ遺伝子が組み込まれる場合の問題点

HSV-1 のウイルスゲノムまたは遺伝子は宿主の染色体には組み込まれない。

6.6.1.8. がん原性の有無

HSV-1 のウイルスゲノムまたは遺伝子は宿主の染色体には組み込まれず、HSV-1 にがん原性はない。遺伝子組換え HSV-1 を原因とするがんの発生は、臨床試験、非臨床試験いずれでも報告されていない。

6.6.2. 遺伝子産物の安全性

G47Δ は直接的な殺細胞作用により腫瘍細胞を破壊し、治療遺伝子を発現しない。G47Δ にはウイルス複製を検出するために大腸菌 LacZ 遺伝子 cDNA が挿入されており、G47Δ が複製する腫瘍細胞に導入される。LacZ 遺伝子からの生成物は β-ガラクトシダーゼである。β-ガラクトシダーゼは分子量 116 kDa で四量体として機能し、ラクトースを分解してグルコースとガラクトースを生成する。β-ガラクトシダーゼは人体に対し毒性や病原性を有しない。LacZ 遺伝子を発現する第二世代複製型遺伝子組換え HSV-1 である G207 が第 I 相

臨床試験において人の脳内（脳腫瘍内）に投与されており、LacZ 遺伝子生成物の安全性は示されている。

6.6.3. 細胞の安全性

6.6.3.1. 培養細胞の純度

G47Δはマスターウイルスストックを Vero 細胞(アフリカミドリザル由来腎細胞株)に感染させて作製した。Vero 細胞のマスターセルバンクは、ワクチン製造用に WHO で唯一認定されている Vero 細胞の Seed lot 10-87 (WHO Vero) をもとに構築され、英国 BioReliance 社において無菌性、病原性ウイルス混入の否定、他種細胞の混入の否定などに関して品質試験を行った。

6.6.3.2. 培養細胞の遺伝子型、表現型の安全性

マスターセルバンクの Vero 細胞については英国 BioReliance 社において品質試験を行った。G47Δ作製にはマスターセルバンクからの継代数が低い Vero 細胞を用いた。

6.6.3.3. 被験者に投与する細胞の安全性

本臨床研究では被験者にはこの Vero 細胞は投与されない。G47Δの精製の過程でこの Vero 細胞は破碎、除去される。

7. 観察・検査・評価項目、方法及び実施時期

7.1. 実施スケジュールと手順

観察・検査・評価の実施スケジュールを以下の表に示す。研究責任医師又は研究分担医師は、スケジュールに従って観察・検査等を実施する。なお、被験者背景の調査や臨床検査など、試験協力者が実施可能な項目については、研究責任医師の管理下で試験協力者が実施してもよい。

臨床試験日程	適格性 評価	登録後から G47Δ投与 前まで	第1回G47 Δ投与 当日	第1回G47 Δ投与 3日以内	第2回G47 Δ投与 前日まで	第2回G47 Δ投与 当日	第2回G47 Δ投与 3日以内	第n回G47 Δ投与 前日まで	第n回G47 Δ投与 当日	第n回G47 Δ投与 3日以内	最終G47Δ 投与 4週間後	登録後 7.8ヶ月後	登録後 9ヶ月後	登録後 10.11ヶ月後	登録後 12ヶ月後
身体所見	○ ○ ○ ○ ○	○ ○ ○ ○	○ ○ ○ ○	○ ○ ○ ○	○ ○ ○ ○	○ ○ ○ ○	○ ○ ○ ○	○ ○ ○ ○	○ ○ ○ ○	○ ○ ○ ○	○ ○ ○ ○	○ ○ ○ ○	○ ○ ○ ○	○ ○ ○ ○	○ ○ ○ ○
検査所見	○ ○	○ ○ ○ ○ ○	○ ○	○ ○	○ ○	○ ○	○ ○	○ ○	○ ○	○ ○	○ ○	○ ○	○ ○	○ ○	○ ○ ○ ○
画像検査	○ ○ ○ ○														○ ○ ○ ○
治療			○						○						

7.1.1. スクリーニング検査

同意取得後、スクリーニング検査を開始する。研究責任医師又は研究分担医師は以下のスクリーニング検査を行い、選択基準を満たし、除外基準に抵触しない患者を被験者とする。検査項目は以下に記載の通りとする。

- ① 現病歴、既往歴・手術歴
- ② 身体所見、身長・体重
- ③ バイタルサイン(心拍数・血圧・体温・呼吸数)
- ④ 血液学的検査(WBC、RBC、Hb、Hct、Plt、白血球分画：好中球、リンパ球、単球、好塩基球、好酸球)
- ⑤ 生化学検査(GOT、GPT、T-BIL、LDH、BUN、 γ GTP、Na、K、Cr)
- ⑥ 凝固系 (PT INR)
- ⑦ 腹骨盤部 CT
- ⑧ 骨シンチ
- ⑨ 骨盤部 MRI
- ⑩ 血清 PSA 値
- ⑪ 心電図
- ⑫ 併用薬、併用療法

7.1.2. 被験者の情報

同意取得時又はスクリーニング検査時に、以下の被験者情報を記録する。

- 1) 同意取得日
- 2) 被験者識別コード
- 3) 被験者背景
 - ・性別
 - ・生年月
 - ・年齢
 - ・身長
 - ・体重
 - ・診断病日
 - ・既往歴
 - ・合併症(併存症)
- 4) 現病歴
 - ・診断日
 - ・家族歴

7.1.3. 観察・検査・評価項目

Visit ごとの検査項目を以下に記す。

7.1.3.1. 登録後第1回 G47Δ投与前日まで

- ① バイタルサイン(心拍数・血圧・体温・呼吸数)
- ② 血液学的検査(WBC、RBC、Hb、Hct、Plt、白血球分画：好中球、リンパ球、単球、好塩基球、好酸球)

- ③ 生化学検査(GOT、GPT、T-BIL、LDH、BUN、 γ GTP、Na、K、Cr、Glu、HbA1c、T-Chol、HDL、TG)
- ④ 凝固系 (PT INR)
- ⑤ リンパ球 CD4/CD8 数および比
- ⑥ HSV 抗体価
- ⑦ HSV の排出 (血清、唾液、尿の PCR。陽性の場合は定量的 PCR も)
- ⑧ 併用薬、併用療法の調査

7.1.3.2. 第 1 回 G47 Δ 投与当日の投与後

- ① 有害事象の観察
- ② バイタルサイン(心拍数・血圧・体温・呼吸数)
- ③ 併用薬、併用療法の調査

7.1.3.3. 第 1 回 G47 Δ 投与後 3 日以内

- ① 有害事象の観察
- ② バイタルサイン(心拍数・血圧・体温・呼吸数)
- ③ 血液学的検査(WBC、RBC、Hb、Hct、Plt、白血球分画：好中球、リンパ球、単球、好塩基球、好酸球)
- ④ 生化学検査(GOT、GPT、T-BIL、LDH、BUN、 γ GTP、Na、K、Cr)
- ⑤ 凝固系 (PT INR)
- ⑥ HSV の排出 (血清、唾液、尿の PCR。陽性の場合は定量的 PCR も)
- ⑦ 併用薬、併用療法の調査

7.1.3.4. 第 2 回 G47 Δ 投与前日まで

- ① 有害事象の観察
- ② バイタルサイン(心拍数・血圧・体温・呼吸数)
- ③ 血液学的検査(WBC、RBC、Hb、Hct、Plt、白血球分画：好中球、リンパ球、単球、好塩基球、好酸球)
- ④ 生化学検査(GOT、GPT、T-BIL、LDH、BUN、 γ GTP、Na、K、Cr)
- ⑤ 凝固系 (PT INR)
- ⑥ 血清 PSA 値
- ⑦ 併用薬、併用療法の調査

7.1.3.5. 第 2 回 G47 Δ 投与当日の投与後

- ① 有害事象の観察
- ② バイタルサイン(心拍数・血圧・体温・呼吸数)
- ③ 併用薬、併用療法の調査

7.1.3.6. 第 2 回 G47 Δ 投与後 3 日以内

- ① 有害事象の観察
- ② バイタルサイン(心拍数・血圧・体温・呼吸数)
- ③ 血液学的検査(WBC、RBC、Hb、Hct、Plt、白血球分画：好中球、リンパ球、単球、好塩基球、好酸球)
- ④ 生化学検査(GOT、GPT、T-BIL、LDH、BUN、 γ GTP、Na、K、Cr)
- ⑤ HSV の排出 (血清、唾液、尿の PCR。陽性の場合は定量的 PCR も)

- ⑥ 併用薬、併用療法の調査

7.1.3.7. 第 n (3-6) 回 G47Δ投与前日まで

- ① 有害事象の観察
- ② バイタルサイン(心拍数・血圧・体温・呼吸数)
- ③ 血液学的検査(WBC、RBC、Hb、Hct、Plt、白血球分画：好中球、リンパ球、単球、好塩基球、好酸球)
- ④ 生化学検査(GOT、GPT、T-BIL、LDH、BUN、 γ GTP、Na、K、Cr)
- ⑤ 凝固系 (PT INR)
- ⑥ 血清 PSA 値
- ⑦ 併用薬、併用療法の調査

7.1.3.8. 第 n (3-6) 回 G47Δ投与当日の投与後

- ① 有害事象の観察
- ② バイタルサイン(心拍数・血圧・体温・呼吸数)
- ③ 併用薬、併用療法の調査

7.1.3.9. 第 n (3-6) 回 G47Δ投与後 3 日以内

- ① 有害事象の観察
- ② バイタルサイン(心拍数・血圧・体温・呼吸数)
- ③ 血液学的検査(WBC、RBC、Hb、Hct、Plt、白血球分画：好中球、リンパ球、単球、好塩基球、好酸球)
- ④ 生化学検査(GOT、GPT、T-BIL、LDH、BUN、 γ GTP、Na、K、Cr)
- ⑤ HSV の排出 (血清、唾液、尿の PCR。陽性の場合は定量的 PCR も)
- ⑥ 併用薬、併用療法の調査

7.1.3.10. G47Δ最終投与 4 週間後±7 日

- ① 有害事象の観察
- ② バイタルサイン(心拍数・血圧・体温・呼吸数)
- ③ 血液学的検査(WBC、RBC、Hb、Hct、Plt、白血球分画：好中球、リンパ球、単球、好塩基球、好酸球)
- ④ 生化学検査(GOT、GPT、T-BIL、LDH、BUN、 γ GTP、Na、K、Cr)
- ⑤ 凝固系 (PT INR)
- ⑥ HSV 抗体価
- ⑦ 血清 PSA 値
- ⑧ 腹骨盤部 CT
- ⑨ 骨シンチ
- ⑩ 併用薬、併用療法の調査

7.1.3.11. 登録後 t (7, 8, 10, 11)ヶ月後±14 日

- ① 有害事象の観察
- ② バイタルサイン(心拍数・血圧・体温・呼吸数)
- ③ 血液学的検査(WBC、RBC、Hb、Hct、Plt、白血球分画：好中球、リンパ球、単球、好塩基球、好酸球)
- ④ 生化学検査(GOT、GPT、T-BIL、LDH、BUN、 γ GTP、Na、K、Cr)

- ⑤ 凝固系 (PT INR)
- ⑥ 血清 PSA 値
- ⑦ 併用薬、併用療法の調査

7.1.3.12. 登録後 9 ヶ月後±14 日

- ⑧ 有害事象の観察
- ⑨ バイタルサイン(心拍数・血圧・体温・呼吸数)
- ⑩ 血液学的検査(WBC、RBC、Hb、Hct、Plt、白血球分画：好中球、リンパ球、単球、好塩基球、好酸球)
- ⑪ 生化学検査(GOT、GPT、T-BIL、LDH、BUN、 γ GTP、Na、K、Cr)
- ⑫ 凝固系 (PT INR)
- ⑬ HSV 抗体価
- ⑭ 血清 PSA 値
- ⑮ 腹骨盤部 CT
- ⑯ 骨シンチ
- ⑰ 併用薬、併用療法の調査

7.1.3.13. 登録後 1 年後±14 後

- ① 有害事象の観察
- ② バイタルサイン(心拍数・血圧・体温・呼吸数)
- ③ 血液学的検査(WBC、RBC、Hb、Hct、Plt、白血球分画：好中球、リンパ球、単球、好塩基球、好酸球)
- ④ 生化学検査(GOT、GPT、T-BIL、LDH、BUN、 γ GTP、Na、K、Cr)
- ⑤ 凝固系 (PT INR)
- ⑥ リンパ球 CD4/CD8 数および比
- ⑦ HSV 抗体価
- ⑧ 腹骨盤部 CT
- ⑨ 骨シンチ
- ⑩ 血清 PSA 値
- ⑪ リンパ球 CD4/CD8 数および比
- ⑫ 併用薬、併用療法の調査

7.1.3.14. 中止時

- ① 有害事象の観察
- ② バイタルサイン(心拍数・血圧・体温・呼吸数)
- ③ 血液学的検査(WBC、RBC、Hb、Hct、Plt、白血球分画：好中球、リンパ球、単球、好塩基球、好酸球)
- ④ 生化学検査(GOT、GPT、T-BIL、LDH、BUN、 γ GTP、Na、K、Cr)
- ⑤ 凝固系 (PT INR)
- ⑥ HSV の排出 (血清、唾液、尿の PCR。陽性の場合は定量的 PCR も)
- ⑦ 併用薬、併用療法の調査

8. 有害事象発生時の取扱い

8.1. 有害事象の定義

有害事象とは試験薬が投与されたのちに生じる、好ましくない、あるいは意図しない徴候（臨床検査値の異常変動を含む）、症状または疾病のことであり、試験薬との因果関係を問わない。

8.2. 有害事象発生時の被験者への対応

研究責任医師または研究分担医師は、有害事象を認めたときは、直ちに適切な処置を行うとともに、試験薬の投与を中止した場合や、有害事象に対する治療が必要となった場合には、被験者にその旨を伝える。

8.3. 報告の対象となる有害事象

試験薬が投与されてから試験薬投与終了後7日目までに発生した、下記の予期される有害事象以外は試験薬との因果関係の有無に関わらず報告し、有害事象が消失するか試験薬投与終了後（中止後）4週まで観察する。なお、原病に関連してもしくは慢性的にG47Δ投与以前より存在した症状や徴候は有害事象に含めない。また、試験薬との因果関係があると判断された有害事象については、jRCTデータベースに公開された日から本臨床研究の終了届が厚生労働大臣に受理されるまで適用する。

*予期される有害事象

G47Δの前立腺腫瘍内投与に伴う有害事象としては次のものが考えられる。

i) 研究薬 G47Δの投与によるもの

1. 悪寒戦慄、筋肉痛、関節痛、脊髄炎、神経痛、リンパ節腫脹などの全身性ウイルス感染の症状
2. かゆみ、じんま疹、血圧の変動、呼吸困難などのアレルギー反応

ii) 投与手技に関連するもの

1. 穿刺部位からの出血
2. 直腸および肛門からの出血
3. 血尿、血便、血精液症
4. 急性前立腺炎
5. 排尿困難、尿閉頻尿、尿意切迫、尿路痛
6. 下腹部や会陰、肛門周囲の不快感、鈍痛

8.4. 有害事象発生時の報告手順

研究責任医師は、本臨床研究で発生した非重篤を含むすべての有害事象（因果関係は問わない）の情報を収集する。研究責任医師または研究分担医師は、本臨床研究で発生した非重篤を含むすべての有害事象（因果関係は問わない）の情報を診療録等の原資料に記載する。

研究責任医師は、独立データモニタリング委員会に、本臨床研究で発生した疾病等の評価を依頼する。

8.5. 有害事象の評価に必要な記載内容

- 1) 有害事象の名称
- 2) 発現日
- 3) 転帰日

- 4) 転帰：回復、消失、軽快、回復または消失したが後遺症あり、未回復、死亡、不明
- 5) 処置（試験薬の投与）：変更なし、中止、休薬、減量、増量、該当せず
- 6) その他の処置：なし、薬物治療、その他
- 7) 重篤度：非重篤、重篤
- 8) 重症度：軽度、中等度、高度

出現した有害事象は CTCAE v.5.0 日本語訳 JCOG 版に準じて症例報告書に記載する。また従来の CTCAE に記載がないものも CTCAE に準じて分類し、これに基づいて記載する。なお、当該様式以外での項目については、該当する区分の“その他”の障害とし以下の基準に従って grading したうえで症例報告書に記載する。また、被験者の経過に関しては、毎週泌尿器科にて施行される定例カンファレンスにおいても逐次症例報告する。

1. Grade 0: 正常、正常／基準範囲内 (WNL)
2. Grade 1: 軽症／軽度の障害
3. Grade 2: 中等症／中等度の障害
4. Grade 3: 重症／高度の障害
5. Grade 4: 生命を脅かす又は活動不能に至る障害
6. Grade 5: 死亡

全ての有害事象は、発生前の状態に復するまで、あるいは研究担当医師が十分に解決したと判断するまで経過を観察し、必要な検査を行い、結果を記載する。

8.6. 有害事象の回復性と試験薬との因果関係

有害事象の消失とは、有害事象がない状態、又は投与前の状態への回復とする。有害事象における試験薬との因果関係の判定に際しては、被験者の全身状態、合併症、併用薬・併用療法、時間的關係を勘案して判断する。研究担当医師は、G47Δと有害事象との関連性を評価し、以下の規準で記載する。

1. 明らかに関連：G47Δの投与と有害事象の発生に、臨床的にもっともらしい時間的経過があり、他の可能性は否定されている。
2. 関連している可能性が高い：G47Δの投与と有害事象の発生に、臨床的にもっともらしい時間的経過がある。その有害事象は、原疾患・合併疾患・他の薬剤・他の処置によって起こったとは考えにくい（該当する場合のみ：G47Δを中止すると有害事象も軽快する、という時間経過をとる）。
3. 関連している可能性あり：G47Δの投与と有害事象の発生に、臨床的にもっともらしい時間的経過がある場合も、ない場合もある。研究薬が原因として否定はできない。
4. 関連していない可能性が高い：有害事象の理由としては、他の原因がもっともらしい。G47Δの投与と有害事象の発生には時間的関連がない。医学生物学的に、因果関係は考えにくい。
5. 関連はない：G47Δの投与と有害事象の発生には時間的関連がない。有害事象は原疾患あるいは合併疾患、他の薬剤、他の処置によるものである可能性が高い。G47Δを中止しても有害事象は軽快しない。

8.7. 検査値の異常

検査結果はすべてカルテに保存する。臨床的に意義をもたない検査値の異常、すなわち医療処置を要しない若干の正常値からの変動は報告の対象となる有害事象とはみなさない。CTCAE grade 3 および 4 の異常、あるいは研究担当医により臨床的に意義があると判断された異常は患者経過記録用紙(CRF)に記載する。また、すでに報告されている有害事象、疾

病、あるいは合併疾患に関連しない検査値の異常や、併用すべき薬剤の変更を要するものに関しては、異常値は有害事象として記載する。それらの異常値は、再検し、早急に「重篤性」についての評価を行う。「重篤」の定義に合致する場合には、重篤な有害事象の項に従い報告する。

8.8. 重篤な有害事象の定義

重篤な有害事象とは、次のいずれかに該当するものとする。

- (1) 死亡
- (2) 死亡につながるおそれのあるもの
- (3) 障害（日常生活に支障をきたす程度の機能不全の発現）
- (4) 障害につながるおそれのあるもの
- (5) 治療のために病院又は診療所への入院又は入院期間の延長が必要とされるもの
- (6) (1)～(5)までに掲げる症例に準じて重篤であるもの
- (7) 後世代における先天性の疾病又は異常

なお、(5)の「入院」には、再検査、追跡調査のための入院又は入院期間の延長、及び試験前より予定していた療法又は検査を試験中に実施することのみを目的とした入院（予定手術や検査等）は含まれない。（ただし、その入院中に新たに発生したものは有害事象として取扱う。）

9. 疾病等情報の報告

研究責任医師は、評価した疾病等情報について、個別症例情報の逐次報告及び集積症例情報の定期報告を行う。

なお、研究者が本臨床研究の実施において重篤な有害事象の発生を知った場合には、被験者等への説明等、必要な措置を講じるとともに、速やかに研究責任者に報告する。研究責任医師が重篤と判断した場合は、速やかに、その旨を研究機関の長に報告するとともに、次の手順に従い当該有害事象情報を取り扱う。

9.1. 東京大学臨床研究審査委員会への死亡又は重篤な疾病等情報の逐次報告

研究責任医師は、本臨床研究と合理的因果関係がある死亡・死亡のおそれ又は重篤な（不具合報告の場合では、死亡のおそれ又は重篤のおそれのある）疾病等、あるいは本臨床研究以外で発生した感染症による未知で重篤又は非重篤もしくは既知で重篤な疾病等について、個別症例情報の逐次報告を行う（死亡・死亡のおそれは7日報告、重篤は15日報告、不具合による死亡のおそれ又は重篤のおそれは30日報告、感染症による既知で非重篤以外の疾病等は15日報告）。

研究責任医師は、東京大学臨床研究審査委員会の研究倫理審査申請システムの申請者メニューより「疾病等報告書の提出」を選択し、統一書式で作成した疾病等報告書を東京大学臨床研究審査委員会に提出する。下記9.2で提出前に一時保存した疾病等報告書を添付して提出することもできる。

9.2. 厚生労働大臣への死亡又は重篤な疾病等情報の逐次報告

研究責任医師は、東京大学臨床研究審査委員会への報告と同時に厚生労働大臣へ合理的因果関係がある死亡・死亡のおそれは7日以内又は重篤な疾病等情報のうち予測できないものについては15日以内に逐次報告を行う。また、先進医療通知に基づいて当該通知添付の別紙7の様式第2号「先進医療に係る重篤な有害事象報告書」により厚生労働大臣および地方厚生局長に報告する。

9.3. 東京大学臨床研究審査委員会への定期報告

研究責任医師は、実施計画を厚生労働大臣に提出（jRCTデータベースで公開）した日から起算して1年ごと当該期間満了後2月以内に、当該研究との因果関係に係らず、集積評価したすべての重篤な疾病等情報を、統一書式、通知別紙様式、参考様式のラインリストなどにより東京大学臨床研究審査委員会へ報告する。非重篤な疾病等については、高頻度に発生している疾病等や通常の診療に比べて特筆すべき事項などの報告として差し支えないものとする。

9.4. 厚生労働大臣への定期報告

研究責任医師は、東京大学臨床研究審査委員会に定期報告した疾病等情報について、東京大学臨床研究審査委員会において結論を得た日から起算して1月以内に、別紙様式で地方厚生局に報告する。

9.5. 実施医療機関の管理者への報告

実施している臨床研究で発生した疾病等情報について、本臨床研究の研究責任医師は、研究計画書及び実施医療機関の定めに従い、実施医療機関の管理者へ報告する。

9.6. 研究機関の長の対応

研究機関の長は、研究責任者が重篤な有害事象に関し倫理審査委員会に意見を求める前に必要に応じ、研究責任者に対し、遺伝子治療等臨床研究の中止又は暫定的な措置を講じるよう、指示することができる。

10. 評価項目

10.1. 主要評価項目

【1年後治療 failure-free 生存割合（無増悪生存割合）】

主要評価項目として、1年後 failure-free 生存割合および Clopper-Pearson の 90%信頼区間を算出する。PSA 増悪もしくは進行を増悪と定義し、登録日から1年の時点における failure-free 生存割合を1年後 failure-free 生存割合とする。

なお、PSA 増悪とは、PSA 最低値（nadir）から PSA 値が上昇した場合とする。具体的には、①登録後 24 週以内の PSA 最低値が治療前 PSA 値の 50%以上かつ 4ng/mL 以上である場合、即時 PSA 増悪と定義し、登録日を増悪日とする。②PSA 最低値が治療前 PSA 値の 50%以下かつ 4ng/mL 以上である場合、PSA nadir より 50%の上昇を PSA 増悪と定義する。③PSA 最低値が 4ng/mL 以下である場合、再度 4ng/mL を超えた時点の PSA nadir より 50%の上昇を PSA 増悪と定義する。

進行とは、画像的進行もしくは前立腺癌死と定義する。画像的進行とは、標的病変（1臓器あたり 5 個まで、全体で 10 個まで）の最大径の和が最小となった時点に比べ 20%以上増大するか、新病変の出現があった場合と定義する。

【評価項目の設定根拠】

1年後 failure-free 生存割合を算出し、一次治療としてホルモン療法を施行した過去の研究(Lancet: 392, 2353-2366, 2018¹⁰)を参考に評価項目を定めた。ホルモン療法単独の1年後 failure-free 生存割合は 51%(増悪 489 例、failure-free 516 例; 51.3%)、局所療法であるホルモン療法併用放射線治療の1年後 failure-free 生存割合は 59%(増悪 414 例、failure-free 588 例; 58.7%)となっており、後述の症例数設定の根拠となっている。

10.2. 副次評価項目

【有効性の副次評価項目】

【1年後 failure-free 生存割合（無増悪生存割合）】

ホルモン療法に対する優越性およびホルモン療法併用放射線治療に対する非劣性を検討する。90%信頼区間の下限が51%（対照治療であるホルモン療法の奏効率）を上回っていれば、臨床的にホルモン療法に対し優越性を持つことを示唆するものとする。90%信頼区間の下限が53%（ホルモン療法併用放射線治療の奏効率の-10%を非劣性マージンとする）を上回っていれば、臨床的にホルモン療法併用放射線治療に対し非劣性であることを示唆するものとする。

【全生存期間】

研究期間内において追跡可能な限り、生存情報を追跡する。

【failure-free 生存期間】

PSA 増悪もしくは進行（画像的進行および癌死）までを failure-free 生存と定義して、研究期間内において追跡可能な限り、failure-free 生存情報を追跡する。

【安全性の副次評価項目】

【有害事象発生割合】

適格・不適格を問わず、プロトコル治療の一部以上が施行された患者数（全治療例）を分母とし、G47Δ投与4週間後までの下記の有害事象についてそれぞれ CTCAE v5.0 日本語訳 JCOG 版による最悪の Grade の頻度を（群別に）求める。

- ①血液/骨髄：ヘモグロビン、白血球、血小板
- ②代謝/臨床検査値：総ビリルビン、Al-P、LDH、 γ GTP、AST、ALT、Na、K、クレアチニン
- ③全身症状：発熱、倦怠感、筋肉痛、頭痛、食欲不振、悪心、嘔吐
- ④腎および尿路障害：頻尿、尿失禁、尿閉、尿路閉塞、尿路痛、尿意切迫、血尿
- ⑤感染：好中球減少を伴わない感染

【重篤有害事象発生割合】

プロトコル治療の一部以上が開始された患者数（全治療例）を分母として、以下のいずれかの重篤な有害事象がひとつ以上観察された患者数を分子とする割合を重篤有害事象発生割合とする。

- ① G47Δ投与後30日以内までの全ての死亡（死因は治療との因果関係を問わない）
- ② G47Δ投与後から31日以降であるが、治療との因果関係が否定できない死亡
- ③ Grade 4の有害事象（ただし、臨床的に意義をもたない検査値の異常は除く）

【有効性の副次評価項目の設定根拠】

1年後 failure-free 生存割合の統計学的な解析を行う。前立腺癌の進行を PSA 値、画像で評価する。

【安全性の副次評価項目の設定根拠】

CTCAE v5.0 日本語訳 JCOG 版に基づいて、前立腺癌進行に伴う有害事象を中心に、安全性の評価を行う。

11. 統計学的事項

本試験の統計解析計画の概要を以下にまとめた。

11.1. 解析対象集団

11.1.1. 最大の解析対象集団 (full analysis set : FAS)

本試験に登録され、ランダム化後に 1 回以上試験薬を投与され、有効性データがあるすべての被験者を最大の解析対象集団 (FAS) とする。ただし、ベースラインのデータが取得できない被験者及び、重大な試験実施計画書違反 (同意未取得、契約期間外の登録等) の被験者については除外する。

11.1.2. 試験実施計画書に適合した対象集団 (per protocol set : PPS)

FAS から、試験方法や併用療法など試験実施計画書の規定に対して、以下の重大な違反があった症例を除いた被験者とする。

選択基準違反

除外基準違反

併用禁止薬違反

併用禁止療法違反

11.1.3. 安全性解析対象集団

本試験に登録され、少なくとも 1 度は試験薬を投与された症例を解析の対象とし、実際に投与された試験治療を群とする。

11.2. 目標症例数と設定根拠

目標症例数 : 30 名

【設定根拠】

第 I 相試験において多発骨転移を除く転移性前立腺癌 5 例中 4 例に PSA 低下が観察されたことから、1 年後 failure-free 生存割合 x がベータ分布 $\text{beta}(x;5,2)$ に従うと仮定し、Clopper-Pearson の 90% 信頼区間の幅が 30% 未満、かつ 1 年後 failure-free 生存割合の点推定値が、ホルモン療法併用放射線治療の奏功割合である 59% 以上となる確率が 75% 以上となる最小の N を選択した ($N=28$ 例、ベータ二項分布を利用)。脱落例の影響等も考慮し 30 例と設定した。

11.3. 症例の取り扱い

原則として登録された症例については、試験調整医師および統計専門家が協議の上、症例の取り扱いを決定する。新たな問題が起こった場合の症例の取り扱いについても、試験調整医師および統計専門家が、協議の上、決定する。

11.4. データの取り扱い

データ集計・解析時におけるデータの取り扱いについては、原則として以下に示す通りとする。疑義が生じた場合は、統計専門家と試験調整医師が協議の上決定する。

欠測値に対しては、必要に応じて補完を行う。詳細については、統計解析計画書に記載する。なお、この研究で得られたデータが、本研究の目的以外に 2 次的に使用されることはない。

11.5. 統計解析項目および解析計画

全ての症例において試験薬の投与が終了し、データが固定された後に解析を行う。全ての有効性評価において、最大の解析対象集団 (FAS) における解析を主解析とし、参考として試験実施計画書に合致した解析対象集団 (PPS) における解析を行う。安全性の解析は、安全性解析対象集団における解析を実施する。

11.5.1. 被験者背景の解析

各解析対象集団における被験者背景データの分布及び要約統計量を群ごとに算出する。名義変数については、カテゴリの頻度及び割合を群ごとに示す。

11.5.2. 有効性の解析

「1 年後 failure-free 生存割合」を 1 年後 failure-free 生存割合および Clopper-Pearson の 90%信頼区間を算出する。

11.5.3. 安全性の解析

安全性の評価項目は、有害事象の発生頻度であり、評価項目について集計表を作成し、割合の推定には 2 項分布の正確な両側 90% 信頼区間を群ごとに算出する。必要に応じて Fisher の直接確率計算法を用いて群間比較を行う。

11.5.4. 中間解析

本試験において中間解析は行わない。

11.6. 独立データモニタリング委員会

本試験では独立データモニタリング委員会を設置する。独立データモニタリング委員会は自ら試験を実施する者と独立した機関として設立され、本試験とは独立した立場である 3 人以上の専門家による委員で構成される。独立データモニタリング委員会は、患者の安全性を確保することを目的に、必要に応じて、被験治療及び対照における有害事象発現率の比較、重篤な有害事象に関する詳細な検討等の安全性モニタリングを行う。ときにその結果を踏まえて有害事象のリスクを軽減する為に、組入れ基準の変更等の試験デザインの変更を勧告すること、あるいは試験の継続の可否を判断することもある。

11.7. 適格性判定委員会

適格性判定委員会をおく。適格性判定委員会は、対象患者が選択基準を全て満たし除外基準のいずれにも該当しないことの判定・確認を行なう。杏林大学医学部付属病院において適格性判定委員会を開催する。研究責任医師または試験担当医師が症例提示を行うが、適格性判定には関与しない。適格性判定委員会での承認の記録は症例登録票に記載する。

11.8. 最終解析

追跡期間終了後、データが得られ症例が固定された後に解析を行う。統計解析責任者が「解析報告書」をまとめ、研究責任医師に提出する。

12. 試験実施計画書の遵守および逸脱

- (1) 研究責任医師又は研究分担医師は、試験実施計画書から逸脱した行為を理由のいかんによらずすべて記録する。
- (2) 被験者の緊急の危機を回避するためその他医療上やむを得ない理由により実施計画書から逸脱した場合、研究責任医師は、逸脱の内容及びその理由を記載した文書を実施医療機関の長に直ちに提出するとともに、当該文書の内容を実施医療機関の長を経由して臨床研究倫理審査委員会に速やかに報告する。

13. 試験実施計画書、症例報告書又は解析計画に関する変更

13.1. 試験実施計画書および症例報告書の改訂

試験実施計画書及び症例報告書を改訂する場合には、以下の手順により行う。

- (1) 研究責任医師は試験実施計画書改訂版及び症例報告書改訂版を速やかに実施医療機関の長に提出し、実施医療機関の長を経由して速やかに臨床研究倫理審査委員会の承認を得る。
- (2) 臨床研究倫理審査委員会の意見に基づく実施医療機関の長の指示が研究代表者および試験調整委員会の許容できる範囲内で、試験実施計画書及び症例報告書用紙を修正する場合も同様の手順とする。

13.2. 統計解析計画の変更

統計解析責任者は、統計解析の内容を変更した場合、変更内容をすべて本試験の統計解析報告書に記載する。

14. 試験の中止、中断または終了

14.1. 試験全体での中止または中断の基準

研究責任医師は、以下の情報が得られ、試験全体の続行が困難であると考えられる時には、独立データモニタリング委員会と試験全体の中止又は中断について協議のうえ、決定する。

- (1) 予期できない重篤な副作用の発生
- (2) 予期できる重篤な副作用の発生件数、発生頻度、発生条件等の発生傾向がインタビューフォーム・添付文書から予測できないことを示す情報
- (3) 重篤な有害事象のうち因果関係がないと判断されていたが、その後発生数、発生頻度、発生条件等の発生傾向から因果関係が否定できないと判断される情報

- (4) 副作用の発生数、発生頻度、発生条件等の発生傾向が著しく変化したことを示す研究報告
- (5) がんその他の重大な疾病、障害もしくは死亡が発生するおそれがあることを示す研究報告
- (6) 当該治験で有効性が認められないことを示唆する情報
- (7) 試験の対象となる疾患に対して効能もしくは効果を有していないことを示す情報
- (8) 試験薬と同一成分を含む市販医薬品について、製造、輸入又は販売の中止、回収、廃棄その他の保健衛生上の危害の発生又は拡大を防止するための措置の実施の情報

14.2. 試験全体での中止又は中断する場合の手続き

研究責任医師は試験全体を中止又は中断する場合には、実施医療機関の長にその旨とその理由を詳細に速やかに文書で通知する。また、投与中の被験者に対して速やかにその旨を伝え、適切な治療への変更等の適切な処理を行うものとする。

14.3. 試験の終了

研究責任医師は、試験終了後、実施医療機関の長に試験が終了した旨を文書で通知し、試験結果の概要を文書で報告する。

15. データマネジメント

15.1. データ登録の方法及び管理方法

- 1) 電子症例報告書 (Electronic Case Report Form ; eCRF) の作成
eCRF はすべて EDC システムを通じて作成され、東京大学医科学研究所附属病院 TR・治験センターにてデータマネジメントを行う。EDC システムは、アクセスログを取得可能かつバリデーションされたシステムを用い、同 TR・治験センターにてデータセットの作成を行う。
- 2) データの保管
eCRF はセキュリティの保証された EDC システムサーバー上に保管され、作成された固定データセット (ファイル) は東京大学医科学研究所附属病院 TR・治験センターで管理する。
- 3) データ固定
研究責任医師が確認後、データ固定を行う。

15.2. 症例報告書に直接記載され、かつ原資料(原データ)と解すべき資料の特定

本試験においては、以下の文書などを原資料(原データ)とする。

- (1) 被験者の同意及び被験者への情報提供に関する記録
診療録、看護記録、臨床検査データ及び画像検査フィルム等症例報告書作成の基となった記録。なお、電子カルテに格納されたデータも原資料とみなす。
- (2) 試験薬投与に関する記録
- (3) 本試験に関連する指針上必要な試験に係る文書又は記録

症例報告書に記載されたデータのうち、以下に示す項目は症例報告書の記載をもって原資料(原データ)とする。ただし、診療録等に記載のある場合は、当該診療録等を原資料(原データ)とみなす。

- (1) 併用薬・併用療法の目的

- (2) 有害事象の程度、転帰(追跡調査時の結果を含む)、重篤度、本試験薬との因果関係の判定及び判定根拠
- (3) 被験者の試験中止理由
- (4) 研究責任医師又は研究分担医師のコメント

16. 原資料及びその他の記録の保存

研究責任医師は、研究等の実施に関係する全ての文書（申請書類、各種通達文書、各種申請書・報告書、被験者識別番号リスト、同意書、症例報告書、その他データの信頼性を保証するのに必要な書類または記録など、またはその写し）を保存し、研究終了後最低 10 年間は保管する。データはパスワード付のパソコンに、原資料は鍵のかかるロッカーで保管する。保管責任者は、研究責任医師が指名した者とする。なお、研究終了 10 年後に、データおよび原資料は再現できない形で破棄する。

17. 試料等の保存

研究責任医師は、本試験に関する試料を保存し、研究終了後最低 10 年間は保管する。試料は鍵のかかる冷凍冷蔵庫で保管し、保管責任者は、研究責任医師が指名した者とする。なお、研究終了 10 年後に、試料は再現できない形で破棄する。

18. 原資料の直接閲覧

試験実施医療機関の長及び研究責任医師は、モニタリング、監査及び臨床研究倫理審査委員会又は規制当局による調査の際に、原資料等すべての記録を閲覧できることを保証する。試験が適切に実施されていること及びデータの信頼性が十分に確保されていることを確認する。

19. 試験の品質管理及び品質保証

19.1. 品質管理

本試験が安全に、かつ実施計画書に従って実施されているか、データが正確に集積されているかを確認する目的でモニタリングを行う。モニタリングは、「臨床試験のモニタリングと監査に関するガイドライン」に基づいて行う。定期的に東京大学医科学研究所附属病院 TR・治験センターに集積される症例報告書の記入データに基づいて中央モニタリングを実施する。また、リスクに基づき、施設における品質管理（オンサイト・オフサイトモニタリング）を別途定めるモニタリング手順書に従って行う。

モニタリングに従事する者は、当該モニタリングの結果を研究責任医師に報告しなければならない。また、業務上知りえた情報を正当な理由なく漏らしてはならない。その業務に従事しなくなった後も同様とする。

19.2. 品質保証

研究責任医師は本試験の品質保証の為に、必要に応じて監査を実施する。

20. 倫理

本試験は人を対象とする医学系研究に関する倫理指針およびヘルシンキ宣言を遵守して実施する。

21. 被験者の秘密の保全

研究責任医師は被験者の個人情報を守られていることを確認しなければならない。

- (1) 症例報告書では被験者の識別は固有の被験者識別番号のみで行う。
- (2) 被験者の個人情報が記載された同意文書などの書類は試験担当医師が機密文書として扱う。

22. 臨床研究倫理審査委員会

本試験の実施に先立ち、実施医療機関の臨床研究倫理審査委員会は、本試験の倫理的、科学的及び医学的妥当性を審査する。本試験は、臨床研究倫理審査委員会の承認を得た後に実施する。臨床研究倫理審査委員会の審議結果が「修正の上で承認する」であった場合には、審議結果に基づいて実施計画書又は症例報告書、同意説明文書等を修正し承認した後、本試験を実施する。また、臨床研究倫理審査委員会は少なくとも1年に1回以上の頻度で本試験が適切に実施されているか否かを継続的に審査する。

23. 健康被害補償及び保険

23.1. 健康被害の補償

健康被害については、研究責任医師等はその回復に努め適切な医療を提供するものとする。

- 1) 本研究により因果関係が否定できない健康被害が生じ、賠償責任を有する場合、下記の賠償責任保険にて対応する。ただし、治療後最長1年までとする。
- 2) 医療費以外の実費や、副作用等による症状が固定した後の治療費を含む費用については補償しない。
- 3) 1),2)は他の医療機関で治療された場合にも適用する。

23.2. 臨床研究保険（補償保険）への加入

被験者の健康被害への補償責任に備え、研究責任医師および研究分担医師は賠償責任保険に加入する。

23.3. 賠償保険への加入

賠償責任に備え、研究責任医師および研究分担医師は賠償責任保険に加入する。

24. 金銭の支払い

保険適応外使用である G47Δ腫瘍内投与は先進医療として行われる。G47Δ腫瘍内投与に関連する薬剤や医療材料などの費用は患者の自己負担となる。その他の入院、外来診療に係る費用は保険診療である。

25. 研究資金および利益の衝突

本試験は、日本医療研究開発機構研究費 (AMED) 「橋渡し研究戦略的推進プログラム」、同「革新的がん医療実用化研究事業」などの研究助成を得て実施する。本研究試験は研究責任医師と研究分担医師により公正に行われる。また、研究資金については、資金計画書に基づいて運用される。本研究の利害関係については、杏林大学医学部附属病院利益相反委員会の承認を得た上で、本学附属病院「臨床研究に関する利益相反ポリシー」に従い、適切に利益相反のマネジメントを行い、また、当該研究(試験)の経過を定期的に利益相反委員会へ報告等行うことにより、本研究の利害関係についての公正性を保つ。

本試験の研究責任医師には開示すべき利益相反はない。研究分担医師藤堂具紀は本試験で使用する研究薬 G47Δの日本における特許を有しており、将来、報酬を得る可能性がある。

26. 研究に関する情報公開

研究責任医師は、当該臨床試験について、jRCT (Japan Registry of Clinical Trial, <https://jrct.niph.go.jp>)の公開データベースに、当該研究の概要をその実施に先立って登録し、実施計画書の変更及び試験の進捗に応じて適宜更新する。また、臨床試験を終了したときは、遅滞なく、当該臨床試験の結果を登録する。

27. 結果の公表

27.1. 公表の方法

研究責任医師は、試験を終了したときは、遅滞なく、被験者等及びその関係者の人権又は研究者等及びその関係者の権利利益の保護のために必要な措置を講じた上で、当該試験の結果を公表する。結果の公表方法としては、学会発表や論文掲載、公開データベースへの登録等を含む。

27.2. 公表についての取り決め

研究責任医師はこの臨床研究の結果を学術雑誌・学術集会などで発表する。結果の公表を行う場合には、個人情報保護に配慮する。研究結果は研究責任医師に帰属する。この臨床研究から得られた情報は G47Δの医薬品としての開発に使用される可能性があり、その内容は様々な国の政府機関に公開される可能性がある。以上は、研究が途中で中止あるいは中断になった場合も同様である。

28. 試験実施体制

1. 研究責任医師

杏林大学医学部附属病院 泌尿器科 教授 福原
浩
〒181-8611 東京都三鷹市新川 6-20-2 Tel: 0422-47-5511

2. 試験事務局

杏林大学医学部附属病院 泌尿器科
〒181-8611 東京都三鷹市新川 6-20-2 Tel: 0422-47-5511

3. モニタリング責任者

東京大学医科学研究所附属病院
先端医療研究センター先端医療分野 責任者 准教授 野島 正
寛
〒181-8611 東京都港区白金台 4-6-1 Tel: 03-6409-2340

4. 臨床研究品質管理委員

杏林大学医学部附属病院 泌尿器科 助教 中村 雄
〒181-8611 東京都三鷹市新川 6-20-2 Tel: 0422-47-5511

5. 症例登録

東京大学医科学研究所附属病院 TR・治験センター 責任者 准教授 野島 正寛
〒181-8611 東京都港区白金台 4-6-1 Tel: 03-5449-5462

6. データマネジメント・中央モニタリング

東京大学医科学研究所附属病院
先端医療研究センター先端医療分野 責任者 准教授 野島 正寛
〒181-8611 東京都港区白金台 4-6-1 Tel: 03-6409-2340

7. 統計解析責任者／統計解析アドバイザー

東京大学医科学研究所附属病院
先端医療研究センター先端医療分野 責任者 准教授 野島 正寛
〒181-8611 東京都港区白金台 4-6-1 Tel: 03-6409-2340

8. 独立データモニタリング委員会

帝京大学医学部附属病院泌尿器科 委員長 教授 中川 徹
杏林大学医学部附属病院呼吸器外科 教授 近藤 晴彦
東京医科歯科大学医歯学総合研究科腎泌尿器外科学 教授 藤井 靖久
東京大学医学部附属病院・泌尿器・男性科 准教授 鈴木 基文

9. プロトコル評価専門部会

杏林大学医学部附属病院 臨床試験管理室 室長 要 伸也
〒181-8611 東京都三鷹市新川 6-20-2 Tel: 0422-47-5511

10. 研究代表医師及び研究責任医師以外の研究を総括する者

東京大学医科学研究所附属病院
先端医療研究センター先端医療分野 責任者 教授 藤堂 具紀

29. 参考資料・文献リスト

1. Todo T, Martuza, RL, Rabkin, SD, et al. Oncolytic herpes simplex virus vector with enhanced MHC class I presentation and tumor cell killing. *Proc Natl Acad Sci USA* 98: 6396-6401.2001.
2. 前立腺癌診療ガイドライン 2016 年版、日本泌尿器科学会編 メディカルビュー社.
3. Group PCTC. Maximum androgen blockade in advanced prostate cancer: an overview of the randomised trials. *Lancet* 355: 1491-8 2000.
4. Eisenberger MA, Blumenstein BA, Crawford ED, et al. Bilateral orchiectomy with or without flutamide for metastatic prostate cancer. *N Engl J Med* 339: 1036-42, 1998.
5. Eisenberger MA, Blumenstein BA, Crawford ED, et al. Bilateral orchiectomy with or without flutamide for metastatic prostate cancer. *N Engl J Med* 339: 1036-42, 1998.
6. Chi, K. N. et al. Apalutamide for metastatic, castration-sensitive prostate cancer. *N. Engl. J. Med.* 381, 13–24, 2019.
7. Davis ID et al. Enzalutamide with Standard First-Line Therapy in Metastatic Prostate Cancer. *N Eng J Med* 381: 121-131, 2019.
8. James ND et al. Abiraterone for Prostate Cancer Not Previously Treated with Hormone Therapy *N Eng J Med* 377: 338-351, 2017.
9. Parker CC, et al, Radiotherapy to the primary tumour for newly diagnosed, metastatic prostate cancer (STAMPEDE): a randomised controlled phase 3 trial. *Lancet*: 392, 2353-2366, 2018.
10. Boevé LMS, Hulshof MCCM, Vis AN, et al. Effect on Survival of Androgen Deprivation Therapy Alone Compared to Androgen Deprivation Therapy Combined with Concurrent Radiation Therapy to the Prostate in Patients with Primary Bone Metastatic Prostate Cancer in a Prospective Randomized Clinical Trial: Data from the HORRAD Trial. *Eur Urol*, 75, 410-418, 2019.
11. Fukuhara H, Homma Y, Todo T. Oncolytic virus therapy for prostate cancer. *Int J Urol* 17: 20-30, 2010.
12. Fukuhara H, Ino Y, Todo T. Oncolytic virus therapy: A new era of cancer treatment at dawn. *Cancer Sci.* 107, 1373-1379, 2016.
13. Kamei S, Takasu, T. Nationwide survey of the annual prevalence of viral and other neurological infections in Japanese inpatients. *Intern Med* 39: 894-900.2000.
14. Wald A, Corey L. Persistence in the population: epidemiology, transmission. In *Human Herpesviruses*. Arvin A., et al. eds., pp659-671, Cambridge University Press, Cambridge 2007
15. Mori I, Nishiyama, Y, Yokochi, T, et al. Olfactory transmission of neurotropic viruses. *J Neurovirol* 11: 129-137.2005.
16. Markert JM, Medlock, MD, Rabkin, SD, 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.
17. Markert JM, Liechty PG, Wang W, et al. Phase Ib trial of mutant herpes simplex virus G207 inoculated pre- and post-tumor resection for recurrent GBM. *Mol. Ther* 17:

- 199-207, 2009.
18. Lasner, T. M., Tal-Singer, R., Kesari, S., *et al.* Toxicity and neuronal infection of a HSV-1 ICP34.5 mutant in nude mice. *J Neurovirol* 4: 100-105, 1998
 19. Rampling, R., Cruickshank, G., Papanastassiou, V., *et al.* Toxicity evaluation of replication-competent herpes simplex virus (ICP 34.5 null mutant 1716) in patients with recurrent malignant glioma. *Gene Ther* 7: 859-866, 2000
 20. Papanastassiou, V., Rampling, R., Fraser, M., *et al.* The potential for efficacy of the modified (ICP 34.5(-)) herpes simplex virus HSV1716 following intratumoural injection into human malignant glioma: a proof of principle study. *Gene Ther* 9: 398-406, 2002
 21. Harrow, S., Papanastassiou, V., Harland, J., *et al.* HSV1716 injection into the brain adjacent to tumour following surgical resection of high-grade glioma: safety data and long-term survival. *Gene Ther* 11: 1648-1658, 2004
 22. Liu BL, Robinson M, Han ZQ *et al.* ICP34.5 deleted herpes simplex virus with enhanced oncolytic, immune stimulating, and anti-tumour properties. *Gene Ther* 10: 292-303, 2003
 23. Hu JCC, Coffin RS, Davis CJ. A phase I study of OncoVEX^{GM-CSF}, a second-generation oncolytic herpes simplex virus expressing granulocyte macrophage colony-stimulating factor. *Clin Cancer Res* 12: 6737-6747, 2006
 24. Senzer NN, Kaufman HL, Amatruda T *et al.* Phase II clinical trial of a granulocyte-macrophage colony-stimulating factor-encoding, second-generation oncolytic herpesvirus in patients with unresectable metastatic melanoma. *J Clin Oncol* 27: 5763-5771, 2009
 25. Kaufman HL, Kim DW, DeRaffele G *et al.* Local and distant immunity induced by intralesional vaccination with an oncolytic herpes virus encoding GM-CSF in patients with stage IIIc and IV melanoma. *Ann Surg Oncol* 17:718-730, 2010
 26. Andtbacka RH, Kaufman HL, Collichio F *et al.* Talimogene laherparepvec Improves durable response rate in patients with advanced melanoma. *J Clin Oncol* 33: 2780-8, 2015
 27. Harrington KJ, Puzanov I, Hecht JR, *et al.* Clinical development of talimogene laherparepvec (T-VEC): a modified herpes simplex virus type-1-derived oncolytic immunotherapy. *Expert Rev Anticancer Ther* 15: 1389-403, 2015
 28. Taguchi S, Fukuhara H, Homma Y, Todo T. Current status of clinical trials assessing oncolytic virus therapy for urological cancers. *Int J Urol.* 24, 342-351, 2017.
 29. Assar, S. *et al.* Survival of Microorganisms in the Environment. In *Disinfection, Sterilization, and Preservation*. 5th edn Block S. ed., 1221-1242, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia (2001)
 30. Croughan WS, Behbehani, AM. Comparative study of inactivation of herpes simplex virus types 1 and 2 by commonly used antiseptic agents. *J Clin Microbiol* 26: 213-215.1988.
 31. Chou J, Kern, ER, Whitley, RJ, *et al.* Mapping of herpes simplex virus-1 neurovirulence to g₁34.5, a gene nonessential for growth in culture. *Science* 250: 1262-1266.1990.

32. Chou J, Kern ER, Whitley RJ, Roizman B. Mapping of herpes simplex virus-1 neurovirulence to gamma 134.5, a gene nonessential for growth in culture. *Science* 250: 1262-6, 1990.
33. Martuza RL, Malick A, Markert JM, Ruffner KL, Coen DM. Experimental therapy of human glioma by means of a genetically engineered virus mutant. *Science* 252:854-6, 1991.
34. He B, Gross M, Roizman B. The gamma (1)34.5 protein of herpes simplex virus 1 complexes with protein phosphatase 1alpha to dephosphorylate the alpha subunit of the eukaryotic translation initiation factor 2 and preclude the shutoff of protein synthesis by double-stranded RNA-activated protein kinase. *Proc Natl Acad Sci USA* 94: 843-848, 1997.
35. Farassati F, Yang AD, Lee PW. Oncogenes in Ras signalling pathway dictate host-cell permissiveness to herpes simplex virus 1. *Nat Cell Biol* 3: 745-750.2001.
36. Leib DA, Harrison TE, Laslo KM, Machalek MA, Moorman NJ, Virgin HW. Interferons regulate the phenotype of wild-type and mutant herpes simplex viruses in vivo. *J Exp Med.* 189: 663-72, 1999.
37. Leib DA, Machalek MA, Williams BR, Silverman RH, Virgin HW. Specific phenotypic restoration of an attenuated virus by knockout of a host resistance gene. *Proc Natl Acad Sci U S A* 97: 6097-101, 2000.
38. Mineta T, Rabkin SD, Yazaki T, et al. Attenuated multi-mutated herpes simplex virus-1 for the treatment of malignant gliomas. *Nat Med* 1: 938-943.1995.
39. Fukuhara H, Martuza RL, Rabkin SD, et al. Oncolytic herpes simplex virus vector G47D in combination with androgen ablation for the treatment of human prostate adenocarcinoma. *Clin Cancer Res* 11: 7886-7890.2005.
40. Passer BJ, Wu CL, Wu S, Rabkin SD, Martuza RL. Analysis of genetically engineered oncolytic herpes simplex viruses in human prostate cancer organotypic cultures. *Gene Ther.* 16: 1477-482, 2009.
41. Liu TC, Castelo-Branco P, Rabkin SD, Martuza RL. Trichostatin A and oncolytic HSV combination therapy shows enhanced antitumoral and antiangiogenic effects. *Mol Ther.* 16: 1041-1047, 2008.
42. Liu TC, Zhang T, Fukuhara H, Kuroda T, Todo T, Cannon X, Bikfalvi A, Martuza RL, Kurtz A, Rabkin SD. Dominant-negative fibroblast growth factor receptor expression enhances antitumoral potency of oncolytic herpes simplex virus in neural tumors. *Clin Cancer Res.* 12: 6791-6799, 2006.
43. Walker JR, McGeagh KG, Sundaresan P, Jorgensen TJ, Rabkin SD, Martuza RL. Local and systemic therapy of human prostate adenocarcinoma with the conditionally replicating herpes simplex virus vector G207. *Hum Gene Ther.* 10: 2237-2243, 1999.
44. Oyama M, Ohigashi T, Hoshi M, Murai M, Uyemura K, Yazaki T. Oncolytic viral therapy for human prostate cancer by conditionally replicating herpes simplex virus 1 vector G207. *Jpn J Cancer Res.* 91: 1339-1344, 2000.
45. Toda M, Rabkin SD, Martuza RL. Treatment of human breast cancer in a brain metastatic model by G207, a replication-competent multimutated herpes simplex virus 1. *Hum Gene Ther.* 9: 2177-2185, 1998.
46. Kooby DA, Carew JF, Halterman MW, Mack JE, Bertino JR, Blumgart LH, Federoff HJ, Fong Y. Oncolytic viral therapy for human colorectal cancer and liver metastases

- using a multi-mutated herpes simplex virus type-1 (G207). *FASEB J.* 13: 1325-1334, 1999.
47. Bennett JJ, Kooby DA, Delman K, McAuliffe P, Halterman MW, Federoff H, Fong Y. Antitumor efficacy of regional oncolytic viral therapy for peritoneally disseminated cancer. *J Mol Med* 78: 166-174, 2000.
 48. Nakano K, Todo T, Chijiwa K, Tanaka M. Therapeutic efficacy of G207, a conditionally replicating herpes simplex virus type 1 mutant, for gallbladder carcinoma in immunocompetent hamsters. *Mol Ther.* 3: 431-437, 2001.
 49. Oyama M, Ohigashi T, Hoshi M, Nakashima J, Tachibana M, Murai M, Uyemura K, Yazaki T. Intravesical and intravenous therapy of human bladder cancer by the herpes vector G207. *Hum Gene Ther.* 11: 1683-1693, 2000.
 50. Chahlavi A, Todo T, Martuza RL, Rabkin SD. Replication-competent herpes simplex virus vector G207 and cisplatin combination therapy for head and neck squamous cell carcinoma. *Neoplasia* 1: 162-169, 1999.
 51. Carew JF, Kooby DA, Halterman MW, Federoff HJ, Fong Y. Selective infection and cytolysis of human head and neck squamous cell carcinoma with sparing of normal mucosa by a cytotoxic herpes simplex virus type 1 (G207). *Hum Gene Ther.* 10: 1599-1606, 1999.
 52. Coukos G, Makrigiannakis A, Montas S, Kaiser LR, Toyozumi T, Benjamin I, Albelda SM, Rubin SC, Molnar-Kimber KL. Multi-attenuated herpes simplex virus-1 mutant G207 exerts cytotoxicity against epithelial ovarian cancer but not normal mesothelium and is suitable for intraperitoneal oncolytic therapy. *Cancer Gene Ther.* 7: 275-283, 2000.
 53. Mashour GA, Moulding HD, Chahlavi A, Khan GA, Rabkin SD, Martuza RL, Driever PH, Kurtz A. Therapeutic efficacy of G207 in a novel peripheral nerve sheath tumor model. *Exp Neurol.* 169: 64-71, 2001.
 54. Yazaki T, Manz HJ, Rabkin SD, Martuza RL. Treatment of human malignant meningiomas by G207, a replication-competent multimutated herpes simplex virus 1. *Cancer Res.* 55: 4752-4756, 1995.
 55. Oyama M, Ohigashi T, Hoshi M, Murai M, Uyemura K, Yazaki T. Treatment of human renal cell carcinoma by a conditionally replicating herpes vector G207. *J Urol.* 165: 1274-1278, 2001.
 56. Wu A, Mazumder A, Martuza RL, Liu X, Thein M, Meehan KR, Rabkin SD. Biological purging of breast cancer cells using an attenuated replication-competent herpes simplex virus in human hematopoietic stem cell transplantation. *Cancer Res.* 61: 3009-3015, 2001.
 57. Liu RB, Rabkin SD. Oncolytic herpes simplex virus vectors for the treatment of human breast cancer. *Chin Med J (Engl)* 118: 307-12, 2005.
 58. Varghese S, Rabkin SD, Liu R, Nielsen PG, Ipe T, Martuza RL. Enhanced therapeutic efficacy of IL-12, but not GM-CSF, expressing oncolytic herpes simplex virus for transgenic mouse derived prostate cancers. *Cancer Gene Ther.* 13: 253-265, 2006.
 59. Fukuhara H, Ino Y, Kuroda T, Martuza RL, Todo T. Triple gene-deleted oncolytic herpes simplex virus vector double-armed with interleukin 18 and soluble B7-1 constructed by bacterial artificial chromosome-mediated system. *Cancer Res.* 65: 10663-10668, 2005.

60. Liu R, Varghese S, Rabkin SD. Oncolytic herpes simplex virus vector therapy of breast cancer in C3(1)/SV40 T-antigen transgenic mice. *Cancer Res.* 65: 1532-40, 2005.
61. Wakimoto H, Kesari S, Farrell CJ, Curry WT Jr, Zaupa C, Aghi M, Kuroda T, Stemmer-Rachamimov A, Shah K, Liu TC, Jeyaretna DS, Debasitis J, Pruszkak J, Martuza RL, Rabkin SD. Human glioblastoma-derived cancer stem cells: establishment of invasive glioma models and treatment with oncolytic herpes simplex virus vectors. *Cancer Res.* 69: 3472-3481, 2009.
62. Hoffmann D, Wildner O. Comparison of herpes simplex virus- and conditionally replicative adenovirus-based vectors for glioblastoma treatment. *Cancer Gene Ther.* 14: 627-639. 2007
63. Liu R, Martuza, RL, Rabkin, SD. Intracarotid delivery of oncolytic HSV vector G47D to metastatic breast cancer in the brain. *Gene Ther* 12: 647-654.2005.
64. Liu R, Varghese, S, Rabkin, SD. Oncolytic herpes simplex virus vector therapy of breast cancer in C3(1)/SV40 T-antigen transgenic mice. *Cancer Res* 65: 1532-1540.2005.
65. Messerli SM, Prabhakar, S, Tang, Y, et al. Treatment of schwannomas with an oncolytic recombinant herpes simplex virus in murine models of neurofibromatosis type 2. *Hum Gene Ther* 17: 20-30.2006.
66. Hunter WD, Martuza, RL, Feigenbaum, F, et al. Attenuated, replication-competent herpes simplex virus type 1 mutant G207: safety evaluation of intracerebral injection in nonhuman primates. *J. Virol.* 73: 6319-6326.1999.
67. Todo T, Rabkin, SD, Sundaresan, P, et al. Systemic antitumor immunity in experimental brain tumor therapy using a multimutated, replication-competent herpes simplex virus. *Hum Gene Ther* 10: 2741-2755.1999.
68. Todo T, Rabkin, SD, Chahlavi, A, et al. Corticosteroid administration does not affect viral oncolytic activity, but inhibits antitumor immunity in replication-competent herpes simplex virus tumor therapy. *Hum Gene Ther* 10: 2869-2878.1999.
69. Chahlavi A, Rabkin, S, Todo, T, et al. Effect of prior exposure to herpes simplex virus 1 on viral vector-mediated tumor therapy in immunocompetent mice. *Gene Ther.* 6: 1751-1758.1999.
70. Lopez C. Genetics of natural resistance to herpesvirus infections in mice. *Nature* 258: 152-153.1975.
71. Varghese S, Joseph T, Rabkin, SD, et al. Preclinical safety evaluation of G207, a replication-competent herpes simplex virus type 1, inoculated intraprostatically in mice and nonhuman primates. *Hum Gene Ther* 12: 999-1010.2001.
72. Sundaresan P, Hunter, WD, Martuza, RL, et al. Attenuated, replication-competent herpes simplex virus type 1 mutant G207: safety evaluation in mice. *J Virol* 74: 3832-3841.2000.
73. Todo T, Feigenbaum, F, Rabkin, SD, et al. Viral shedding and biodistribution of G207, a multimutated, conditionally replicating herpes simplex virus type 1, after intracerebral inoculation in aotus. *Mol Ther* 2: 588-595.2000.