

遺 伝 子 治 療 等 臨 床 研 究 終 了 報 告 書

平成 30 年 12 月 25 日

厚生労働大臣 殿

研 究 機 関	所 在 地	岡山県岡山市北区鹿田町2丁目5番1号 (郵便番号 700-8558)
	名 称	岡山大学病院 (電話番号 086-223-7151) (FAX番号 086-235-7636)
	代 表 者 役職名・氏名	岡山大学病院長 金澤 右 (印)



下記の遺伝子治療等臨床研究について、別添の総括報告書を提出します。

記

遺 伝 子 治 療 等 臨 床 研 究 の 課 題 名	研 究 責 任 者 の 所 属 ・ 職 ・ 氏 名
前立腺癌に対するInterleukin-12 遺伝子発現アデノウイルスベクターを用いた遺伝子治療臨床研究	岡山大学 大学院医歯薬学総合研究科・ 教授・公文 裕巳

申請年月日 H30年 11月 6日

## 1. 基本情報

研究の名称	前立腺癌に対するInterleukin-12 遺伝子発現アデノウイルスベクターを用いた 遺伝子治療臨床研究		
研究実施期間	H20年 4月 1日から	H27年 3月 31日まで	
多施設共同臨床研究	該当	非該当	

## 2. 研究責任者及び研究機関に関する情報

研究責任者	所属部局の所在地	岡山市北区鹿田町2-5-1 (郵便番号 700-8558)	
	所属機関・部局・職	岡山大学・大学院医歯薬学総合研究科病態制御科学専攻(泌尿器病態学分野) ・教授	
	氏名	公文 裕巳	(印)
研究機関	所在地	岡山市北区鹿田町2-5-1 (郵便番号 700-8558)	
	名称	岡山大学大学院医歯薬学総合研究科病態制御科学専攻(泌尿器病態学分野)及び岡山大学病院	
	連絡先	岡山市北区鹿田町 2-5-1 (電話番号 086-235-7287) 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科(泌尿器病態学分野)	
研究責任者以外の研究者	氏名	所属機関・部局・職	役割
	那須保友	岡山大学・大学院医歯薬学総合研究科病態制御科学専攻(泌尿器病態学分野)・准教授	患者の選定、患者への説明及び同意の取得、ベクターの投与、臨床観察、臨床効果判定
	雑賀隆史	岡山大学病院・泌尿器科・講師	患者の選定、患者への説明及び同意の取得、ベクターの調製、ベクターの投与、臨床観察、基礎的効果判定
	賀来春紀	岡山大学病院、遺伝子・細胞治療センター・助教	患者への説明及び同意の取得、ベクターの投与、臨床観察
	江原伸	岡山大学病院・泌尿器科・助教	患者への説明及び同意の取得、ベクターの投与、臨床観察
	小林知子	岡山大学病院・泌尿器科・医員	患者への説明及び同意の取得、分子生物学的解析
	谷本竜太	岡山大学・大学院医歯薬学総合研究科病態制御科学専攻(泌尿器病態学分野)・大学院生	患者への説明及び同意の取得、分子生物学的解析
	清水憲二	岡山大学・大学院医歯薬学総合研究科病態制御科学専攻(分子遺伝学分野)・教授	組織内におけるInterleukin-12遺伝子の同定
山田雅夫	岡山大学・大学院医歯薬学総合研究科社会環境生命科学専攻(病原ウイルス学分野)・教	ウイルスベクター方面の測定	

	授	
中山 睿 一	岡山大学・大学院医歯薬学総合研究科病態制御科学専攻（免疫学分野）・教授	免疫学的解析
七 條 茂 樹	久留米大学医学部免疫学講座・准教授	CTL誘導ペプチドに対する特異的IgG抗体の測定
Timothy C. Thompson	ベイラー医科大学・泌尿器科・教授	遺伝子治療臨床研究における全般的指導
Brian J. Miles	ベイラー医科大学・泌尿器科・教授	遺伝子治療研究における基礎的・臨床的解析の指導
Malcolm K. Brenner	ベイラー医科大学・小児科・教授・遺伝子・細胞治療センター所長	ウイルスベクターの作製、安全性のチェック、品質管理
枝 村 康 平	ベイラー医科大学・泌尿器科・研究員	ウイルスベクターに関する情報の提供

3. 総括責任者及び総括責任者が所属する研究機関に関する情報（多施設共同臨床研究に該当する場合は、以下の項目を記載すること。）

総括責任者	所属部局の所在地	(郵便番号 )
	所属機関・部局・職	
	氏 名	
研究機関	所 在 地	(郵便番号 )
	名 称	
	連 絡 先	(電話番号 )

4. 総括責任者以外の研究責任者及び当該研究責任者が所属する研究機関に関する情報（多施設共同臨床研究に該当する場合は、以下の項目を記載すること。）

研究責任者①	所属部局の所在地	(郵便番号 )
	所属機関・部局・職	
	氏 名	
研究機関①	所 在 地	(郵便番号 )
	名 称	
	連 絡 先	(電話番号 )

研究責任者②	所属部局の所在地	(郵便番号 )
	所属機関・部局・職	
	氏 名	
研	所 在 地	



研究機関②	名 称	(郵便番号 )
	連 絡 先	(電話番号 )

研究責任者③	所属部局の所在地	(郵便番号 )
	所属機関・部局・職 氏 名	
	研究機関③	連 絡 先 (電話番号 )

5. 倫理審査委員会の見解

倫理審査委員会の意 見	平成30年12月25日の岡山大学医療系部局遺伝子治療等審査専門委員会において、本研究の概要、経過、及び成果について審査委員会各委員に報告し、全委員の承諾を得て、本研究の終了が了承された。	
	倫理審査委員会の長の職名	氏 名
	岡山大学病院 遺伝子治療等臨床研究 審査専門委員会委員長	尾崎 敏文 (印)

研 究 の 区 分	治療に係る臨床研究	予防に係る臨床研究
研究の目的及び意義	<p>本臨床研究では、内分泌療法抵抗性再燃前立腺癌に対しInterleukin-12 (以下IL-12) 遺伝子発現アデノウイルスベクターを単独で投与した場合の、以下のa)～c)について解析を行うことを目的とした。</p> <p>a) 安全性を検討することを主な目的とした (主要エンドポイント)。 また腫瘍免疫を中心とした、</p> <p>b) 免疫学的反応の検討 (局所および全身反応の解析) ならびに</p> <p>c) 治療効果の観察 (評価可能症例) を行い、治療効果判定を総合的に解析した (副次エンドポイント)。</p> <p>具体的には、遠隔転移の有無にかかわらず、内分泌療法中に再燃してきた前立腺癌症例に対して、IL-12遺伝子発現アデノウイルスベクターを単独で前立腺腫瘍内もしくは局所ないし遠隔転移 (軟部組織を含む) 病巣内に直接投与した。その際の質的、量的安全性を確認し、腫瘍免疫を中心とした生体における免疫学的反応の検討を行うとともに治療効果の判定を行い、腫瘍退縮や腫瘍マーカーの低下を期待する際の根拠となる免疫学的効果、血清中のIL-12タンパク質レベルについて総合的に解析することを目的とした。本臨床研究は、第I/II相試験として実施された。本臨床研究は米国ベイラー医科大学の遺伝子治療臨床研究プロトコルを参考に、同医科大学のTimothy C. Thompson博士等の研究協力者と岡山大学の研究者間で実施される共同研究であり、製造販売承認を目的とした治験ではない。本臨床研究に用いられるIL-12遺伝子発現アデノウイルスベクターは同じく研究</p>	

	<p>協力者であるMalcolm Brenner博士が所長を務める同医科大学遺伝子・細胞治療センターで作製され、直接供給された。</p>
<p>対象疾患及びその選定理由</p>	<p>1. 対象疾患</p> <p>本研究では病理組織学的に前立腺癌と診断され、内分泌療法で治療された患者のうち、経過中に腫瘍マーカーである前立腺特異抗原 (PSA: Prostate Specific Antigen) を用いた生化学診断上、内分泌療法が無効と診断された症例を対象とし、症例は以下のカテゴリーに分類した。</p> <p>① 内分泌療法抵抗性局所再燃前立腺癌 (非転移症例)</p> <p>外科的切除により根治不能な局所的に進行した前立腺癌症例で、内分泌療法 (放射線療法、抗癌化学療法の併用を含む) の経過中に、PSAを用いた生化学診断上、内分泌療法抵抗性局所再燃前立腺癌と診断され、かつ臨床的に遠隔転移を認めない患者。</p> <p>② 内分泌療法抵抗性転移性再燃前立腺癌 (有転移症例)</p> <p>前立腺全摘出術の有無により、2カテゴリーに分類した。</p> <p>1) 前立腺全摘出手術未施行例</p> <p>前立腺癌診断時、既に臨床的に遠隔転移を有し、外科的切除により根治不能な進行前立腺癌症例で内分泌療法 (放射線療法、抗癌化学療法の併用を含む) の経過中に、PSAを用いた生化学診断上、内分泌療法抵抗性転移性再燃前立腺癌と診断された患者。</p> <p>2) 前立腺全摘出手術施行例</p> <p>根治的前立腺全摘術後に局所ないし遠隔転移 (軟部組織を含む) にて再発した前立腺癌症例で、内分泌療法 (放射線療法、抗癌化学療法の併用を含む) の経過中に、PSAを用いた生化学診断上、内分泌療法抵抗性転移性再燃前立腺癌と診断され、かつ再燃時に組織学的に転移が確認された患者。</p> <p>2. 対象疾患の選定理由</p> <p>内分泌抵抗性局所再燃前立腺癌に対する放射線治療の有効性は、排尿障害などの症状の緩和に対しては約90%と良好な成績が報告されているものの、2年以内に約75%の症例においてPSAの再上昇を認め、予後の改善に関しては満足すべき成績は得られていない。しかも放射線治療については、種々の合併症が認められ、頻度は3-5%と低率とはいえ重篤な晩期合併症 (消化管穿孔、潰瘍) の発生も報告されており、Quality of Life (QOL) の観点から問題があるといえる。また内分泌抵抗性転移性前立腺癌に対する放射線治療の有効性は骨転移やリンパ節転移に伴う疼痛緩和には有効性が示されるものの、放射線照射部以外の病巣に対する効果は期待できないことが問題となる。</p> <p>内分泌療法治療中に再燃してきた内分泌療法抵抗性再燃前立腺癌に対しては一般に抗癌化学療法が選択されるが、抗癌化学療法として本邦では保険適応のある化学療法剤であるエストラサイト、イフォマイド、シスプラチン、ペプロマイシンおよびUFT が挙げられる。一過性のPSA減少、および症状の改善は期待できるものの、生存率の延長効果は認められていない。また対象症例の多くが高齢者であり患者の認容性に問題がある。対象となる患者として高齢者が多い現実を考えると、よりlow risk and high benefitな治療法の開発が望まれている。</p> <p>古くから免疫系を介した腫瘍特異的免疫療法は注目されてきたが、免疫抑制がかかった担癌状態のなかで腫瘍の退縮を導くメカニズムが今日の実験系で次第に明らかになってきた。なかでも、腫瘍特異的免疫活性を賦活化させるサイトカインの1つとしてInterleukin-12 (IL-12) が注目されている。しかし種々の癌を対象とした臨床試験においてIL-12タンパクの静脈内投与後、重篤な副作用が発生し死亡例が発生した。この臨床試験におけるIL-12タンパク投与は、(用量設定試験に</p>



おいては実施された) 2週間前に実施するテスト投与を省略し、500ng/kgのIL-12タンパクを静脈内に連日5日間投与し、3週ごとに2回投与するスケジュールであった。重篤な副作用の原因が、テスト投与省略による血清中インターフェロン $\gamma$ 濃度の著明上昇と相関していると判明した。引き続きIL-12タンパクの皮下投与に投与方法を変更し、悪性腫瘍、C型肝炎を対象に臨床試験が実施され、静脈内投与よりも低い投与量と長い投与間隔における安全性と有効性が確認された(皮膚T細胞性リンパ腫10例を対象に50~300 ng/kgを週2回24週皮下投与するスケジュールで実施された。副作用は軽度の発熱、頭痛であり限られた症例においてのみ認められた。評価可能症例9例中5例において完全もしくは部分寛解が認められた。)。また、より確実に安全性の確保と高い臨床効果を目指し、IL-12遺伝子治療の研究が開始され、前立腺癌を含む様々な癌種においてIL-12遺伝子*in vitro* および*in vivo*実験が行われ、遺伝子治療の安全性と有用性が動物実験において確認された。

研究担当医師である那須保友は、マウス前立腺癌同所移植モデルを用いた前臨床試験において、マウスIL-12遺伝子発現アデノウイルスベクターの局所投与により、1) 局所前立腺腫瘍の発育抑制、2) 肺転移および骨転移の抑制という全身効果、3) 生存期間の延長効果、を確認し、転移病巣の治療を目的としたIL-12遺伝子の局所投与の有用性を明らかにした。すなわち局所への遺伝子導入(*in situ gene therapy*)による免疫の賦活化などを介した全身への治療効果を期待するという臨床研究立案のための科学的根拠を明らかにした。

上記のような成績から、本研究の対象患者として、内分泌療法抵抗性局所再燃前立腺癌患者ならびに内分泌療法抵抗性転移性再燃前立腺癌患者を選定し、アデノウイルスベクターによりIL-12遺伝子を直接癌細胞に導入する遺伝子治療臨床研究を計画した。

実 施 方 法

(ベクターの作製)

本臨床研究に用いられたIL-12アデノウイルスベクターは、該当するFDAガイダンス、GMP基準に従って、マスターセルバンク、マスターウイルスバンクなど原材料から製造工程、最終製品に至るまで一貫した品質管理のもとにペイラー医科大学遺伝子ベクター室において作製され、ペイラー医科大学より供与を受けた。

(同意取得方法)

本遺伝子治療臨床研究の適応が予測される患者について、岡山大学病院にて患者ならびに家族(あるいは親族)に対し、文書によるインフォームド・コンセント(第1回目)を行い、同意が得られた場合に限り、本臨床研究へエンロール(患者登録)し治療前検査を開始した。治療前検査にて本臨床研究の選択基準に合致、さらに除外基準に抵触しないことが明らかになった場合、治療前検査データを基に院内の遺伝子治療臨床研究審査委員会の下に設置された安全・効果評価・適応判定部会にて適応を評価した。安全・効果評価・適応判定部会で本臨床研究の適応と判断された場合、岡山大学病院にて患者ならびに家族(あるいは親族)に対し、文書によるインフォームド・コンセント(第2回目)を行った。そこで同意が得られた場合に限り、以下に示す方法によって本臨床研究を実施した。

(投与量)

Dose escalation方式により、投与するIL-12アデノウイルスベクターの用量に応じて6つの投与量レベルを設定した。1~5レベルについては3名ずつ、またレベル6については6名への投与を予定し研究を開始した。

レベル	1	1.0x10 <sup>10</sup> vp (viral particle)
レベル	2	5.0x10 <sup>10</sup> vp
レベル	3	1.0x10 <sup>11</sup> vp
レベル	4	5.0x10 <sup>11</sup> vp
レベル	5	1.0x10 <sup>12</sup> vp

レベル 6

5.0x10<sup>12</sup> vp

(投与方法・投与スケジュール)

IL-12 遺伝子発現アデノウイルスベクターの溶液を1ないし2ヵ所(最大2ヵ所)の病巣(前立腺局所病変、遠隔転移病変)に対して直接穿刺により注入投与した。必要に応じて生理食塩水で調整したウイルスベクター液の投与量は、原則として1ヵ所につき1mlと設定した。28日毎に3回の投与を行い、研究計画で定めたタイムスケジュールに基づき各種評価を実施した。

(カテゴリーによる投与方法)

① 内分泌療法抵抗性局所再燃前立腺癌(非転移症例)

岡山大学病院北病棟3階手術場無菌室内にて、腰椎麻酔を施行し、経直腸的超音波を用い病変部を確認した後、その超音波に装着された穿刺用ガイド装置を用いIL-12遺伝子発現アデノウイルスベクターの溶液を1ないし2ヵ所(最大2ヵ所)に注入した。注入そのものにより前立腺部の一過性の腫大を来し、尿閉を生じることがまれにあるため、尿道カテーテルを注入直後に留置し、翌日抜去した。原則として、治療後3日間の抗生剤投与を行った。

② 内分泌療法抵抗性転移性再燃前立腺癌(有転移症例)

1) 前立腺全摘出手術未施行例

岡山大学病院北病棟3階手術場無菌室内にて、腰椎麻酔を施行し、経直腸的超音波を用い病変部を確認した後、その超音波に装着された穿刺用ガイド装置を用いIL-12遺伝子発現アデノウイルスベクターの溶液を1ないし2ヵ所(最大2ヵ所)に注入した。注入そのものにより前立腺部の一過性の腫大を来し、尿閉を生じることがまれにあるため、尿道カテーテルを注入直後に留置し、翌日抜去した。治療後3日間の抗生剤投与を行った。

2) 前立腺全摘出手術施行例

局所再発腫瘍に対しては岡山大学病院北病棟3階手術場無菌室内にて、腰椎麻酔を施行し、経直腸的超音波を用いて病変部を確認した後、その超音波に装着された穿刺用ガイド装置を用いIL-12遺伝子発現アデノウイルスベクターの溶液を1ないし2ヵ所(最大2ヵ所)に注入することとした。

上記のいずれの症例においても転移性腫瘍に対しては、超音波下で投与する場合は岡山大学病院北病棟3階手術場無菌室内にて局所麻酔を施行し、その超音波に装着された穿刺用ガイド装置を用いIL-12遺伝子発現アデノウイルスベクターの溶液を注入することとした。CTガイド下で注入する場合は岡山大学病院中央放射線部CT室にて局所麻酔を施行し、CTガイド下にベクターを注入した。治療後3日間の抗生剤投与を行った。

(安全性の評価)

以下に示すタイムスケジュールにて安全性の評価に関する検査を行った。

安全性の評価に関する検査項目ならびにタイムスケジュール

項目	投与前	2日後	7日後	2週後	4週後 (1回目投与前)	8週後 (2回目投与前)	12週後 (3回目投前)	治療終了後 3ヶ月後	治療終了後 1年後 (12ヶ月ごと2年まで)
	4週ごとの3回投与前を1サイクルとする 最終投与前はこのサイクルを繰り返す								治療終了とは 最終投与前4週後をさす
理学所見 (体重、T5を含む)	○	○	○	○	○	○	○	○	○
血液一般 (血小板、白血球分類 を含む)	○	2日毎に観察 ○	○	○	○	○	○	○	○
生化学検査一般 (腎機能・肝機能を含む)	○	2日毎に観察 ○	○	○	○	○	○	○	○
クレアチニン・クリ アランス	○								
出血・凝固時間	○								
PI, FII, fibrinogen	○								
尿沈渣	○	○	○	○	○	○	○	○	○
尿培養、感受性試験	○	○							
アデノウイルス中和抗体 測定	○	○	○	○	○	○	○	○	○
アデノウイルスベクター の測定 (血漿、尿中PCR法)	○	2日毎に観察 ○			○	○	○		
心電図	○							○	○
胸部レントゲン	○	○						○	○
鉄量状態 (Tferrometry, Albscore)	○*	○*			○*	○*	○*	○*	○

\*前立腺内注入例または前立腺全摘出術後の局所再発例に実施

(有効性の評価)

以下に示すタイムスケジュールにて効果判定に関する検査を行い、臨床症状や腫瘍マーカーの推移、画像等の評価を行った。

治療効果判定に関する検査ならびにタイムスケジュール

項目	投与前	1 6日	7日後	2週後	4週後 (2回目投与前)	8週後 (3回目投与前)	12週後 (4回目投前)	治療終了後 3ヶ月後	治療終了後 1年後 (12ヶ月ごと2年まで)
	4週ごとの3回投与前を1サイクルとする 最終投与前はこのサイクルを繰り返す								治療終了とは 最終投与前4週後をさす
PSA	○			○	○	○	○	○	○
血液中リンパ球サブ セット	○	○	○	○	○	○	○	○	○
NK細胞活性	○		○	○	○	○	○	○	○
血清サイトカイン	○	○	○	○	○	○	○	○	○
血清CTL誘導ペプチド に対する特異的 IgG抗体	○				○	○	○	○	○
経直腸的超音波検査 (注)	○						○	○	○
前立腺生検または 組織生検	○	○*					○		○ (1年後) **
骨シンチ	○						○	○	○
骨転移部のMRI (骨転移症例)	○						○	○	○
前立腺部MRI (注)	○						○	○	○
腹部、骨盤部CT	○						○	○	○

\* 主治医が医学的に可能と判断し、同意が得られた場合48-72時間後に実施(遺伝子発現解析) 注) 前立腺全摘除例については吻合部の検査を行う  
\*\* 同意を得られた患者に対して治療終了1年後より1年毎に施行予定(組織学的治療効果判定)

研究結果の概要  
及び考察

「研究結果の概要」(詳細については、別紙1参照)  
難治性固形癌である前立腺癌に対して、抗癌免疫療法としてのInterleukin-12 遺伝子治療の臨床研究を計10症例において実施した。安全性の評価として、ベクター投与レベル3 ( $1 \times 10^{11}$  vp) までは、有害事象はGrade1までのごく軽微なもので、経過観察のみで自然軽快した。ベクター投与レベル4 ( $5 \times 10^{11}$  vp) ではGrade2の倦怠感、およびGrade3の発熱、肝トランスアミナーゼの上昇を認め、それぞ



	<p>れ、解熱鎮痛剤、肝臓保護剤の投与により軽快した。有効性の評価として、ベクター投与レベル4 (<math>5 \times 10^{11}</math> vp) の1症例において、PSAの低下、画像上の一部奏効所見(リンパ節転移巣の消失)を認め、総合評価にて一部奏効と判断し、プロトコールに従い2回の追加投与を行った。</p> <p>「考察」</p> <p>本遺伝子治療臨床研究において、癌抑制性サイトカインであるIL-12の遺伝子発現アデノウイルスベクターを前立腺に直接注入する遺伝子治療は安全に施行可能であった。IL-12遺伝子発現アデノウイルスベクターは、少なくとも<math>1 \times 10^{11}</math> vpまでは安全に投与可能と考えられた。<math>5 \times 10^{11}</math> vp以上の投与量については、患者数が1名のため評価が難しく、結果として最大投与量(最大耐量)については<math>5 \times 10^{11}</math> vp以上と推定された。有効性については、10例中1例で総合評価にて一部奏効と判断され、有効性が確認される症例が認められた。免疫学的反応については、血清中の一部サイトカインの上昇や、末梢血フローサイトメトリーにおける免疫担当細胞の注入ごとの変化が認められたが、投与量との明らかな相関および、有効性、有害事象との明確な相関を認めなかった。</p> <p>対象となる患者が第10例目までしか登録されず、当該第10例目の患者については██████████をもって治療を終了した。その後、その他有効な遺伝子治療法が開発され、新規患者が登録されなかったため研究を終了とする。</p>
<p>今後の研究計画</p>	<p>特記すべき事なし。</p>
<p>研究成果の公表状況</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>●A phase I/II study of adenovirus-mediated interleukin-12 gene therapy for hormone refractory prostate cancer:A report of initial 6 cases. Sasaki K, Nasu Y, Kaku H, Watanabe M, Edamura K, Saika T, Kumon H, Brenner MK. 第15回 日本遺伝子治療学会(大阪). 2009. 7.</li> <li>●A phase I/II study of adenovirus-mediated interleukin-12 gene therapy for hormone refractory prostate cancer:An interim report. Sasaki K, Nasu Y, Kaku H, Watanabe M, Edamura K, Saika T, Kumon H, Brenner MK. 第16回 日本遺伝子治療学会(栃木). 2010. 7.</li> <li>●A phase I/II study of adenovirus-mediated interleukin-12 gene therapy for hormone refractory prostate cancer:An interim report. Sasaki K, Nasu Y, Kaku H, Watanabe M, Nose H, Kanbara D, Saika T, Kumon H. American Society of Clinical Oncology 2010 Genitourinary Cancers Symposium (Florida, U. S. A.). 2011. 2.</li> <li>●Adenovirus-mediated Interleukin-12 gene therapy for castration resistant prostate cancer : Report of a clinically responded case. Kanbara T, Nasu Y, Sasaki K, Kaku H, Watanabe M, Watanabe T, Kumon H, Brenner MK. 第17回 日本遺伝子治療学会(福岡). 2011. 7.</li> </ul>
<p>備考 (共同研究機関の実施状況等)</p>	

