



別紙様式第4

遺 伝 子 治 療 臨 床 研 究 終 了 報 告 書

平成 25 年 7 月 26 日

厚生労働大臣 殿
(文部科学大臣)

実 施 施 設	所 在 地	神奈川県相模原市南区北里 1 丁目 15 番 1 号 (郵便番号 252-0375)
	名 称	北里大学病院 (電話番号 042-778-8440) (Fax 番号 042-778-9371)
	代 表 者 役職名・氏名	病院長 海 野 信 也



下記の遺伝子治療臨床研究について、別添の終了報告書を提出します。

記

遺 伝 子 治 療 臨 床 研 究 の 課 題 名	総括責任者の所属・職・氏名
前立腺癌に対する Herpes Simplex Virus-thymidine kinase 遺伝子発現アデノウイルスベクター及びガンシクロビルを用いた遺伝子治療臨床研究	北里大学医学部・泌尿器科学・ 診療教授（北里大学病院・泌尿 器科） 吉 田 一 成



遺 伝 子 治 療 臨 床 研 究 終 了 報 告 書

(受付番号)

(初回申請年月日)

平成18年1月19日

研 究 の 名 称	前立腺癌に対する Herpes Simplex Virus-thymidine kinase 遺伝子発現 アデノウイルスベクター及びガンシクロビルを用いた遺伝子治療臨床研究
研 究 実 施 期 間	平成19年 3月 26日 (承認日) から 平成25年 5月 31日

総括責任者	所属部局の所在地	神奈川県相模原市南区北里1丁目15番1号 (郵便番号 252-0375)	
	所属機関・部局・職	北里大学医学部・泌尿器科学・診療教授 (北里大学病院・泌尿器科)	
	氏 名	吉 田 一 成 	
実施の場所	所 在 地	神奈川県相模原市南区北里1丁目15番1号 (郵便番号 252-0375)	
	名 称	北里大学病院	
	連 絡 先	神奈川県相模原市南区北里1丁目15番1号 (電話番号 042-778-9091) 北里大学医学部泌尿器科学教室内	
総括責任者以外の研究者	氏 名	所属機関・部局・職	役 割
	佐藤威文	北里大学医学部・泌尿器科・講師	患者の選定、患者への説明及び同意の取得、ベクターの調整投与、臨床観察、臨床効果判定、基礎的効果判定
	岩村正嗣	(旧) 北里大学医学部・泌尿器科・診療准教授 (新) 北里大学医学部・泌尿器科・教授	患者の選定、患者への説明及び同意の取得、病理学的評価判定
	宋 成浩	独協医科大学越谷病院・泌尿器科・准教授	患者の選定、患者への説明及び同意の取得、病理学的評価判定
	藤田哲夫	北里大学医学部・泌尿器科・講師	患者の選定、患者への説明及び同意の取得、基礎的効果判定、免疫学的評価、組織内における HSV-tk 遺伝子の同定
	松本和将	北里大学医学部・泌尿器科・講師	患者の選定、患者への説明及び同意の取得、基礎的効果判定、免疫学的評価
	岡安 勲	(旧) 北里大学医学部・名誉教授	病理学的評価・解析、

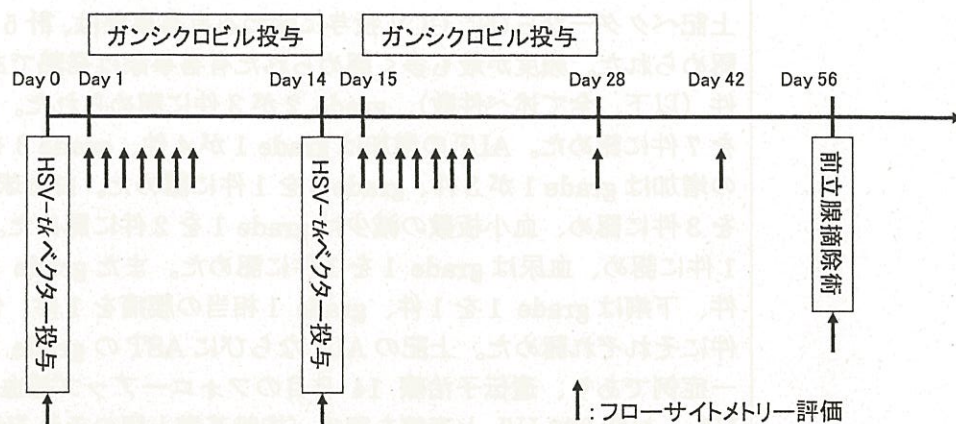
	(新) 北里大学・学長	遺伝子治療臨床研究における指導
小幡文弥	北里大学医療衛生学部・免疫学・教授	免疫学的評価・解析、 遺伝子治療臨床研究における指導
公文裕巳	岡山大学大学院医歯学総合研究科・病態制御科学専攻病態機構学（泌尿器病態学分野）・教授 岡山大学医学部・歯学部附属病院・遺伝子・細胞治療センター・所長	遺伝子治療臨床研究における指導
那須保友	岡山大学病院新医療研究開発センター・教授	遺伝子治療臨床研究における指導、評価判定
山田雅夫	岡山大学大学院医歯学総合研究科・社会環境生命科学専攻国際環境科学（ウイルス学講座）・教授	ウイルスベクター力価の測定、安全性の確認、 遺伝子治療臨床研究における指導
Timothy C. Thompson	MD アンダーソンがんセンター・泌尿器科腫瘍学・教授	遺伝子治療臨床研究における臨床的解析の指導
Dov Kadmon	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指導、評価判定
Thomas M. Wheeler	ベイラー医科大学・病理学科・教授	病理学的評価・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・室長	アデノウイルスベクターの作製、安全性の確認、品質管理
田畑健一	北里大学医学部・泌尿器科・講師	ウイルスベクターに関する情報の提供
山下英之	国際医療福祉大学三田病院泌尿器科	ウイルスベクターに関する情報の提供

審査委員会の開催状況	北里大学病院では、手術単独では治療後に再発する可能性が高い（ハイリスク群）限局性前立腺癌に対し、単純ヘルペスウイルスチミジンキナーゼ遺伝子発現アデノウイルスベクターを前立腺内に注入し、抗ウイルス剤であるガンシクロビルを投与する術前補助療法としての遺伝子治療臨床研究を計画し、厚生労働大臣の承認（平成 19 年 3 月 26 日付け）の後、被験者のリクルートを開始した。当該臨床研究における被験者の適確性ならびに安全性の審査につき、北里大学医学部・病院遺伝子治療臨床研究審査委員会に所属する北里大学医学部・病院遺伝子治療・安全・効果評価・適応判定専門小委員会において、各症例の適確性等について検討・判定を行い、最終的に 5 症例が適確と判断され同臨床研究が実施された。当該臨床研究の実施期間の期日である平成 24 年 3 月 25 日をもって被験者のリクルートが終了し、総括責任者からの終了報告を北里大学医学部・病院遺伝子治療臨床研究審査委員会で受け、協議・検討を行った。その結果、生体内へのベクターの移行は同定されず、単純ヘルペスウイルスチミジンキナーゼ遺伝子発現アデノウイルスベクターの認容性は高く、全身に及ぼす影響も比較的軽微なことから、「有害事象は保存的な対応で改善し、安全性が確認された」および「全ての症例で PSA 値の低下ならびに病理学的な殺細胞効果が認められ、その明らかな治療効果が確認された」とする総括は妥当と考えられた。しかしながら、全症例に grade 1,2 の発熱が認められていることより、当該ベクターの投与に際しては、同有害事象を想定した対応が必要と判断された。上記判断をもって当該臨床研究の終了を了承し、北里大学病院長への報告の後、所轄官庁へ報告することとした。				
	<table border="1"> <tr> <th data-bbox="790 1205 1165 1265">審査委員会の長の職名</th><th data-bbox="1165 1205 1412 1265">氏 名</th></tr> <tr> <td data-bbox="790 1265 1165 1417">北里大学医学部・病院遺伝子治療臨床研究審査委員会委員長（医学部内科学教授・血液内科長）</td><td data-bbox="1165 1265 1412 1417">東原 正明 </td></tr> </table>	審査委員会の長の職名	氏 名	北里大学医学部・病院遺伝子治療臨床研究審査委員会委員長（医学部内科学教授・血液内科長）	東原 正明 
審査委員会の長の職名	氏 名				
北里大学医学部・病院遺伝子治療臨床研究審査委員会委員長（医学部内科学教授・血液内科長）	東原 正明 				

研究の区分	○遺伝子治療臨床研究 遺伝子治療標識研究
研究の目的	本研究は、単独治療では治療後に再発する可能性が高い（ハイリスク群）限局性前立腺癌に対し、単純ヘルペスウイルスチミジンキナーゼ（Herpes Simplex Virus-thymidine kinase、以下：HSV-tk）遺伝子発現アデノウイルスベクターを前立腺内に注入し、抗ウイルス剤であるガンシクロビル（Ganciclovir、以下：GCV）を全身投与した後、根治的前立腺摘除術（以下鏡視下手術を含む）を施行した場合の安全性、および直接的な抗腫瘍効果と、間接的な免疫学的効果の解析・評価を目的とした第Ⅰ／Ⅱ相試験である。 臨床的に遠隔転移を認めず、かつ術後 5 年以内に再発する可能性の高い予後不良限局性前立腺癌に対し、まず HSV-tk 遺伝子発現アデノウイルスベクターを前立腺内に直接注入し、次いで GCV を全身投与する。その後同治療を反復加療した後、根治的前立腺摘除術を施行する。当該研究のプライマリーエンドポイントは、アデノウイルスを用いた HSV-tk 遺伝子発現ベクターの反復投与、ならびに外科手術を併用するネオアジュバント療法としての安全性の確認であり、セカンダリーエンドポイントは、当該遺伝子治療における有効性を来す可

	能性のある免疫学的な反応の解析と、同治療効果の病理学的な評価を目的とする。
対象疾患	外科的切除は可能ではあるが、手術前における血清前立腺特異抗原値 (PSA)、臨床病期、および前立腺生検の病理学的分化度を指標とした予測 (ノモグラム評価) において、術後 5 年以内に 35% 以上の確率で再発するとされるハイリスク群症例 (総得点 115 点以上) で、かつ臨床的に遠隔転移を認めない限局性前立腺癌症例を対象とした。
実施方法	1. 本臨床研究の対象者の選択基準および除外基準 選択基準 1) 被験者は 35 歳以上から 75 歳以下の成人男性を原則とし、医学的に本研究を遂行するに足る十分な身体的機能を有すると判断された者。 2) 前立腺生検にて組織学的に前立腺癌と診断され、かつ臨床的に前立腺に局在すると判断された者。 3) ノモグラムにおいて、手術後再発する可能性が高いと判断されるハイリスク症例であること (注記 1)。 4) 画像診断上明らかな転移病巣を認めないこと (注記 2)。 5) 被験者は以下の骨髄機能、肝機能、腎機能を保っていること。その指標としては、末梢血顆粒球数 $>2,000 /\text{mm}^3$、血小板数 $>100,000 /\text{mm}^3$、総ビリルビン $<1.5 \text{ mg/dl}$、クレアチニン $<1.5 \text{ mg/dl}$。 6) 出血傾向を認めない (PT・PTT の著明延長を認めない)。 注記 1: 手術前の血清前立腺特異抗原値 (PSA)、臨床病期、および前立腺生検での病理学的評価 (Gleason Sum) を加味したノモグラムにおいて (Kattan MW, et al. J Natl Cancer Inst 90: 766-771, 1998)、総得点 115 点以上を占めるもの。すなわち手術後 5 年以内に 35% 以上の症例が、再発すると考えられる予後不良症例を示す。 注記 2: 骨シンチグラフィーにて骨転移の有無、CT にて腹部並びに骨盤部における転移の有無を検索し、骨シンチグラフィーにて疑わしい病変を認めた場合は磁気共鳴装置 (MRI) にて確認する。 2. 遺伝子治療臨床研究の実施方法 本臨床研究では、米国 cGMP (current Good Manufacturing Practices) 基準に従って、米国ベイラー医科大学遺伝子ベクター室において生産された Herpes Simplex Virus-thymidine kinase 遺伝子発現アデノウイルスベクターを用いる。 遺伝子導入方法は被験者に対し経直腸の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 HSV-tk 遺伝子発現アデノウイルスベクターの溶液を 4 ヲ所に注入した (計 $2 \times 10^{11} \text{ vp}$)。GCV の投与は遺伝子導入 24 時間後から開始し、1 回投与量は体重 1 kg あたり原則として 5 mg とし 1 日 2 回 14 日間投与した (計 28 回)。この一連のベクター投与から GCV 投与終了までを 1 サイクルとし、初回ベクター投与日より 2 週間後に、2 サイクル目の投与を同一スケジュールで行った。最終ベクター投与日より起算して 6 週間後に根治的前立腺全摘除術を行い、プロトコルを遵守してその治療効果の評価を行なった。

当該遺伝子治療の実施方法



3. 遺伝子治療臨床研究の評価方法

(1) 安全性の評価

プライマリーエンドポイントとは、予後不良局所限局性前立腺癌に対するHSV-tk 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、ならびに根治的前立腺全摘除術を施行した場合の安全性の確認であり、その評価については、Common Terminology Criteria for Adverse Events ver 4.0を基準とした、副作用の発現頻度、程度、合併症を検討する。

(2) 治療効果の評価

セカンダリーエンドポイントとして、当該遺伝子治療における有効性を示す可能性のある免疫学的な反応の解析と、同治療効果の病理学的な評価を目的としており、その治療効果の評価基準として、免疫学的な各種評価項目における定量的評価の比較・検定を行うものとする。

研究結果の概要及び考察

計5症例が登録され、その全例にHSV-tk 遺伝子発現アデノウイルスベクターによる治療が実施された。

次に本臨床研究を実施した5症例の研究結果及び評価結果を以下に示す。

1. 研究結果

2007年10月に第1例目を施行し、現在までに5症例・計10回の遺伝子治療が実施され、臨床研究を終了した(表1)。

表1 患者背景

症例	PSA (ng/ml)	TNM分類	臨床病期分類	Gleason score
1	13.7	T2cN0M0	B2	3+3
2	6.59	T2bN0M0	B1	3+5
3	44.1	T2cN0M0	B2	4+3
4	7.82	T2bN0M0	B1	4+3
5	28.9	T2bN0M0	B1	3+3

2. 評価結果

(1) 安全性の評価

1) 有害事象

Herpes Simplex Virus-thymidine kinase 遺伝子発現アデノウイルスベクター及びガンシクロビル(GCV)投与に関わる有害事象は、CTCAE (common

terminology criteria for adverse event) ver. 4.0 (日本語訳 JCOG 版) を基に分類された。

上記ベクターならびに GCV 投与に関わる有害事象は、計 5 症例の述べ 36 件に認められた。頻度が最も多く認められた有害事象は発熱であり、grade 1 が 6 件 (以下、全て述べ件数)、grade 2 が 3 件に認められた。次いで CRP の上昇を 7 件に認めた。ALT の増加は grade 1 が 4 件、grade 3 を 1 件に認め、AST の増加は grade 1 が 3 件、grade 3 を 1 件に認めた。白血球数の減少は grade 1 を 3 件に認め、血小板数の減少は grade 1 を 2 件に認めた。頻尿は grade 2 を 1 件に認め、血尿は grade 1 を 1 件に認めた。また grade 1 の APTT 延長を 1 件、下痢は grade 1 を 1 件、grade 1 相当の腰痛を 1 件、便秘の grade 1 を 1 件にそれぞれ認めた。上記の ALT ならびに AST の grade 3 有害事象症例は同一症例であり、遺伝子治療 14 日目のフォローアップ採血において ALT 207 U/L、AST 268 U/L と高値を認め (施設基準上限のそれぞれ 5.9 倍、6.7 倍)、grade 3 の肝機能障害と判断した。同日の消化器内科専門医の診察の結果、理学所見を含め、全身状態は安定しており、発熱・炎症反応もなく (CRP 0.19 mg/dL)、肝臓保護剤の投与による保存的な加療にて経過観察となる。また北里大学医学部・病院遺伝子治療・安全・効果評価・適応判定専門小委員会が招集され、審議の結果、遺伝子治療翌日以後の採血評価において肝機能障害を含めた異常値を認めず、遺伝子治療開始 7 日後の定期採血評価でも肝機能は正常であることより、遺伝子治療後に投与を行った抗生剤、ならびに継続して投与を施行している抗ウイルス剤等に伴う薬剤性肝機能障害が考えられ、同症例に対するプロトコル治療の継続については、標準治療への変更が適切と判断し、所轄官庁への報告と共に変更となった。なお同肝機能障害については、事象確認から 42 日目に ALT 35 U/L、AST 35 U/L へと正常値まで保存的に回復し退院となった。

2) アデノウイルスベクターの生体内における移行

①血液中へ移行：治療後 2 日、7 日、14 日、16 日、21 日、28 日、42 日、56 日の各時点で検査を実施し、血液中へのアデノウイルスベクターの移行は全てのポイントで同定されなかった。

②尿中への移行：治療後 2 日、7 日、14 日、16 日、21 日、28 日、42 日、56 日の各時点で検査を実施し、尿中へのアデノウイルスベクターの移行につき評価を施行するも、治療後 2 日の時点を含め、尿中へのアデノウイルスベクターは同定されなかった。

③鼻腔への移行：治療後 2 日、7 日、14 日、16 日、21 日、28 日、42 日、56 日の各時点で検査を実施し、鼻腔へのアデノウイルスベクターの移行につき評価を施行するも、全てのポイントにおいてアデノウイルスベクターは同定されなかった。

3) アデノウイルス抗体

ベクター投与後の抗アデノウイルス中和抗体価の上昇は、全ての症例に治療後 14 日目、および 28 日目に最大で 1024 倍まで上昇したが、その後低下する一過性の上昇であった。

(2) 治療効果の評価

1) 血清前立腺特異抗原 (PSA: prostate specific antigen)

治療効果の指標として腫瘍マーカーである PSA は、5 例中 5 例の全例において低下を認めた。遺伝子治療後 56 日目までの最大 PSA 減少率 (PSA reduction)

	は平均 23.1% (1.7 – 32.0%) であり、遺伝子治療毎となる 2 峰性に一過性の PSA 上昇を認めた後、緩やかに低下する結果であった。 2) フローサイトメトリー ①CD3+/CD19- 治療前の平均 60.4%から治療後 2 日目、7 日目、14 日目、16 日目、56 日目にはそれぞれ平均 58.5%、63.5%、67.1%、69.8%、62.0%へと変化し、一過性の CD3 陽性 T リンパ球の増加が確認された。 ②CD3-/CD19+ 治療前の平均 14.5%から治療後 2 日目、7 日目、14 日目、16 日目、56 日目にはそれぞれ平均 14.4%、15.0%、12.6%、9.7%、14.9%へと推移し、治療後緩やかに減少する傾向が認められた。 ②CD3+/CD8+ 治療前の平均 16.9%から治療後 2 日目、7 日目、14 日目、16 日目、56 日目にはそれぞれ平均 18.0%、17.8%、24.6%、29.5%、20.9%へと変化し、治療後 16 日目をピークとして増加する傾向が認められた。 ③CD3+/CD4+ 治療前の平均 40.7%から治療後 2 日目、7 日目、14 日目、16 日目、56 日目にはそれぞれ平均 39.6%、44.5%、41.5%、39.2%、40.7%へと変化し、遺伝子治療直後に一過性に減少する傾向が認められた。 ④CD8+/HLA-DR+ 治療前の平均 10.2%から治療後 2 日目、7 日目、14 日目、16 日目、56 日目にはそれぞれ平均 14.0%、12.3%、19.7%、25.4%、14.0%へと変化し、今回の末梢血リンパ球解析において、有意かつ最も増加変動が大きな項目であった。 ⑤CD4+/HLA-DR+ 治療前の平均 6.9%から治療後 2 日目、7 日目、14 日目、16 日目、56 日目にはそれぞれ平均 9.1%、7.7%、7.9%、8.0%、6.8%へと変化し、遺伝子治療に伴う大きな変化は確認されなかった。 ⑥CD3+/HLA-DR+ 治療前の平均 13.3%から治療後 2 日目、7 日目、14 日目、16 日目、56 日目にはそれぞれ平均 16.9%、15.2%、22.3%、28.4%、16.3%へと変化し、CD8+/HLA-DR+と同じく、有意な増加が確認された。 ⑦CD3-/CD56+CD16+ 治療前の平均 13.5%から治療後 2 日目、7 日目、14 日目、16 日目、56 日目にはそれぞれ平均 17.3%、14.5%、14.5%、15.6%、14.2%へと変化し、大きな変動は確認されなかった。 ⑧CD4+/CD25+ 治療前の平均 13.3%から治療後 2 日目、7 日目、14 日目、16 日目、56 日目にはそれぞれ平均 10.6%、12.2%、10.9%、10.4%、10.4%へと変化し、遺伝子治療後に継続して減少する傾向が認められた。 3) サイトカイン測定 IFN-γ、IL-2、IL-12、TNF-α、TGF-βの測定にて、IFN-γは治療直後に増加する一方、TGF-βにおいては治療直後に減少し、その後遅れて増加する傾向が確認された。 4) NK 活性 治療前、7 日目、14 日目、21 日目、28 日目、56 日目の時点での変化につき、
--	--

治療前との比較を行ったが、NK 活性における有意な変化は確認されなかった。

5) 病理学的解析

①殺細胞効果 (Cytopathic Effect)

殺細胞効果に関して ssDNA LI を用いて解析を行い、症例間での比較において、症例 4 が有意に高い殺細胞効果を示し、全体を通して前立腺尖部 (apex) における殺細胞効果が高い結果が確認された。また前立腺の解剖学的領域での検討では、前立腺移行領域 (transition zone) との比較において、殺細胞効果は辺縁領域 (peripheral zone) に高く認められる結果であった。

また各因子間の比較において、ssDNA と CD68, CD4 の逆相関が認められた。

②局所免疫反応 (Local Immune Response)

炎症細胞浸潤は症例 1、症例 5 に強く認められ、CD68、CD3、CD8 は、全体を通して前立腺尖部 (apex) と中部 (mid) に高い浸潤が確認された。また CD20 のみ、前立腺辺縁領域 (peripheral zone) との比較において、移行領域 (transition zone) に高い傾向が確認された。また各因子間の比較において、CD20 は治療効果との弱い負の相関を認めた。CD68、CD3、CD4、CD8 の各因子間において、有意な正の相関が認められた。

③コクサッキーウイルスアデノウイルス受容体 (Coxsackievirus and adenovirus receptor: CAR) 発現

CAR 発現の検討において、残存腫瘍が多い症例 1 において、その治療効果との関係が示唆される結果が確認された。

6) 転帰

全 5 症例のうち、3 症例は前立腺癌血清腫瘍マーカーである PSA 値が 0.1 ng/ml 未満で推移しており、生化学的再発を認めない状態が維持・確認されている。また 1 症例については救済内分泌療法を施行中であり、現在臨床的進行を認めない状態が維持されており、同じく外来での経過観察中である。また 1 症例においては、遺伝子治療臨床研究終了後の深部静脈血栓症に起因した肺梗塞にて死亡となり、他因子での死亡であった。また同有害事象については、遺伝子治療臨床研究重大事態等報告として所轄官庁へ報告した。

3. 臨床研究の総括

1) 安全性に関する考察と結論

本臨床研究において使用されたレベルのベクター容量と回数において、その有害事象は保存的な対応で改善し、安全性が確認された。しかしながら、一過性の発熱を全例に認めており、先行する米国との比較において、日本人ではその反応性が強く認められる可能性も示唆された。また生体内へのベクターの移行に関しては同定されず、その安全性が確認された。

2) 治療効果に関する考察と結論

当該遺伝子治療により、全ての症例で PSA 値の低下が確認され、その低下率は平均 23.1%であった。また末梢血における CD8 陽性 T リンパ球を中心とした変化ならびに病理学的な殺細胞効果が認められ、その明らかな治療効果が確認された。

研究成果の公表状況	(学会等発表) 1. Kubo M, Satoh T, Tabata K, Matsumoto K, Baba S, Obata F. Immune responses in prostate cancer patients received in situ gene therapy of repeated HSV-tk injection and ganciclovir administration. 第 38 回日本免疫学会総会・学術集会 (京都) 2008 年 2. 佐藤威文、久保 誠、柳澤信之、田畑健一、松本和将、佐藤絵里奈、大草 洋、岩村正嗣、小幡文弥、岡安 勲、邦須保友、公文裕巳、馬場志郎 ハイリスク前立腺癌に対する HSV-tk ネオアジュバント遺伝子治療 平成 20 年度科学技術振興調整費 国際共同研究の推進 「アジア人の癌体質と遺伝子治療共同臨床研究」 第 1 回 国際研究者会議 (岡山) 2009 年 3. 佐藤威文、久保 誠、柳澤信之、田畑健一、松本和将、佐藤絵里奈、大草 洋、岩村正嗣、小幡文弥、岡安 勲、邦須保友、公文裕巳、馬場志郎 ハイリスク前立腺癌に対するネオアジュバント遺伝子治療の検討 第 97 回日本泌尿器科学会総会 (岡山) 2009 年 4. Kubo M, Satoh T, Tabata K, Matsumoto K, Baba S, Obata F. The increase of activated CD8+ T cells in prostate cancer patients received in situ gene therapy of repeated HSV-tk injection and ganciclovir administration. 第 39 回 日本免疫学会総会・学術集会 (大阪) 2009 年 5. 佐藤威文、久保 誠、柳澤信之、田畑健一、松本和将、佐藤絵里奈、大草 洋、岩村正嗣、小幡文弥、岡安 勲、邦須保友、公文裕巳、馬場志郎 Neoadjuvant In Situ Gene Therapy for Prostate Cancer 平成 20 年度科学技術振興調整費 国際共同研究の推進「アジア人の癌体質と遺伝子治療共同臨床研究」第 2 回 国際研究者打合せ会 (岡山) 2010 年 6. Kubo M, Satoh T, Tabata K, Matsumoto K, Baba S, Obata F. Immune responses in prostate cancer patients received in situ gene therapy of repeated HSV-tk injection and ganciclovir administration. 14th International Congress of Immunology (Kobe) 2010 7. Kubo M, Satoh T, Tabata K, Matsumoto K, Baba S, Obata F. Immune responses in prostate cancer patients received in situ gene therapy of repeated HSV-tk injection and ganciclovir administration. 16th Japan Society of Gene Therapy (Utsunomiya) 2010 8. 佐藤威文、久保 誠、柳澤信之、田畑健一、松本和将、佐藤絵里奈、大草 洋、岩村正嗣、小幡文弥、岡安 勲、邦須保友、公文裕巳、馬場志郎 Neoadjuvant In Situ Gene Therapy for Prostate Cancer: Kitasato Trial 平成 20 年度科学技術振興調整費 国際共同研究の推進「アジア人の癌体質と遺伝子治療共同臨床研究」第 3 回 国際研究者打合せ会 (岡山) 2011 年 9. Kubo M, Satoh T, Tabata K, Matsumoto K, Baba S, Obata F. Enhanced CD8+ T cell activation after in situ gene therapy of repeated HSV-tk injection and ganciclovir administration in prostate cancer patients 第 40 回日本免疫学会総会・学術集会 (幕張) 2011
-----------	--

平成 25 年 7 月 4 日

北里大学病院

院長 海野 信也 殿

泌尿器科
吉田 一成



前立腺癌遺伝子治療臨床研究終了に伴う御報告

平成 19 年 3 月 26 日より当院で実施しておりました「前立腺癌に対する Herpes Simplex Virus-thymidine kinase 遺伝子発現アデノウイルスベクター及びガンシクロビルを用いた遺伝子治療臨床研究」(前総括責任者:馬場志郎)でございますが、平成 25 年 5 月 31 日をもって同臨床研究が終了致しました。同臨床研究につきましては、厚生労働省・文部科学省が規定する「遺伝子治療臨床研究に関する指針」に準じて、総括責任者が施設長に内容を報告し、「遺伝子治療臨床研究終了報告書」ならびに「総括報告書」をそれぞれ両省庁へ報告する規定となっております。

上記報告書を添付いたしますので、内容につき御審議・御承認頂きたく存じます。
何卒宜しく御願い申し上げます。

以 上

遺伝子治療臨床研究総括報告書

研究の名称:

前立腺癌に対する Herpes Simplex Virus-thymidine kinase 遺伝子発現アデノウイルスベクター及びガンシクロビルを用いた遺伝子治療臨床研究

報告書作成年月日:平成 25 年 7 月 4 日

研究期間:平成 19 年 3 月 26 日から平成 25 年 5 月 31 日

総括責任者: 吉田 一成

所属機関・部局・職: 北里大学医学部・泌尿器科学・診療教授

総括責任者以外の研究者: 佐藤 威文、他

所属機関・部局・職: 北里大学医学部・泌尿器科学・講師、他(遺伝子治療臨床研究終了報告書に準ずる)

1. 遺伝子治療臨床研究の目的

本研究は、単独治療では治療後に再発する可能性が高い(ハイリスク群)限局性前立腺癌に対し、Herpes Simplex Virus-thymidine kinase(以下:HSV-tk)遺伝子発現アデノウイルスベクターを前立腺内に注入し、抗ウイルス剤であるガンシクロビル(Ganciclovir: GCV)を全身投与した後、根治的前立腺摘除術(以下鏡視下手術を含む)を施行した場合の安全性、および直接的な抗腫瘍効果と、間接的な免疫学的効果の解析・評価を目的とした第 I/II 相試験である。

臨床的に遠隔転移を認めず、かつ術後 5 年以内に再発する可能性の高い予後不良限局性前立腺癌に対し、まず HSV-tk 遺伝子発現アデノウイルスベクターを前立腺内に直接注入し、次いで GCV を全身投与する。その後同治療を反復加療した後、根治的前立腺摘除術を施行する。当該検討のプライマリーエンドポイントは、アデノウイルスを用いた HSV-tk 遺伝子発現ベクターの反復投与、ならびに外科手術を併用するネオアジュバント療法としての安全性の確認であり、セカンダリーエンドポイントは、当該遺伝子治療における有効性を示す可能性のある免疫学的な反応の解析と、同治療効果の病理学的な評価を目的とする。

2. 対象疾患

外科的切除は可能ではあるが、手術前における血清前立腺特異抗原値(PSA)、臨床病期、および前立腺生検の病理学的分化度を指標とした予測(ノモグラム評価)において、術後 5 年以内に 35%以上の確率で再発するとされるハイリスク群症例(総得点 115 点以上)で、かつ臨床的に遠隔転移を認めない限局性前立腺癌患者を対象とした。

3. 実施方法

1) 本臨床研究の対象者の選択基準および除外基準

選択基準

- ① 被験者は 35 歳以上から 75 歳以下の成人男性を原則とし、医学的に本研究を遂行するに足る十分な身体的機能を有すると判断された者。
- ② 前立腺生検にて組織学的に前立腺癌と診断され、かつ臨床的に前立腺に局在すると判断された者。

- ③ ノモグラムにおいて、手術後再発する可能性が高いと判断されるハイリスク症例であること(注記 1)。
- ④ 画像診断上明らかな転移病巣を認めないこと(注記 2)。
- ⑤ 被験者は以下の骨髄機能、肝機能、腎機能を保っていること。その指標としては、末梢血顆粒球数 $>2,000/\text{mm}^3$ 、血小板数 $>100,000/\text{mm}^3$ 、総ビリルビン $<1.5\text{ mg/dl}$ 、クレアチニン $<1.5\text{ mg/dl}$ 。
- ⑥ 出血傾向を認めない(PT・PTT の著明延長を認めない)。

注記 1: 手術前の血清前立腺特異抗原値(PSA)、臨床病期、および前立腺生検での病理学的評価(Gleason Sum)を加味したノモグラムにおいて(Kattan MW, et al. J Natl Cancer Inst 90: 766-71, 1998)、総得点 115 点以上を占めるもの。すなわち手術後 5 年以内に 35%以上の症例が、再発すると考えられる予後不良症例を示す。

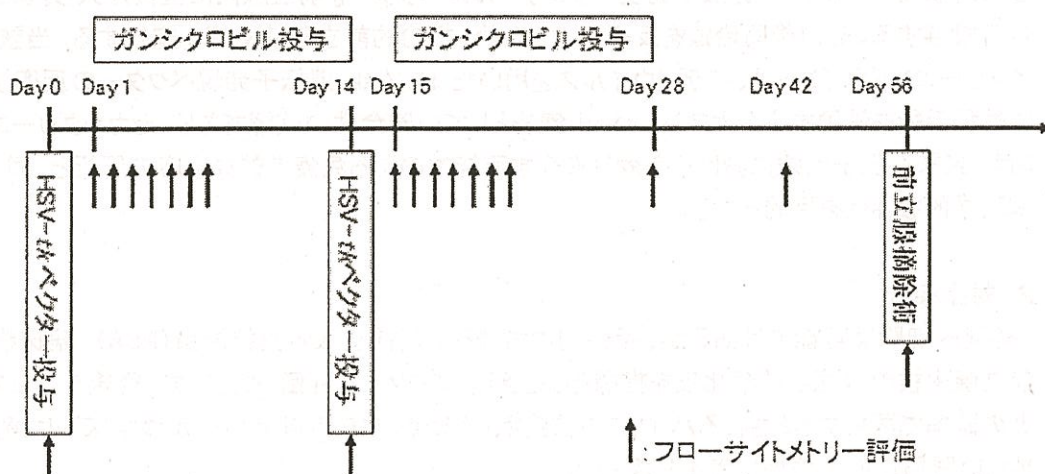
注記 2: 骨シンチグラフィーにて骨転移の有無、CT にて腹部並びに骨盤部における転移の有無を検索し、骨シンチグラフィーにて疑わしい病変を認めた場合は磁気共鳴装置(MRI)にて確認する。

2) 遺伝子治療臨床研究の実施方法

本臨床研究では、米国 cGMP(current Good Manufacturing Practices)基準に従って、米国ベ일러医科大学遺伝子ベクター室において生産された Herpes Simplex Virus-thymidine kinase 遺伝子発現アデノウイルスベクターを用いた。

遺伝子導入方法は被験者に対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 HSV-tk 遺伝子発現アデノウイルスベクターの溶液を 4 カ所に注入した(計 2×10^{11} vp)。GCV の投与は遺伝子導入 24 時間後から開始し、1 回投与量は体重 1 kg あたり原則として 5 mg とし 1 日 2 回 14 日間投与した(計 28 回)。この一連のベクター投与から GCV 投与終了までを 1 サイクルとし、初回ベクター投与日より 2 週間後に、2 サイクル目の投与を同一スケジュールで行った。最終ベクター投与日より起算して 6 週間後に根治的前立腺全摘除術を行い、プロトコルを遵守してその治療効果の評価を行なった。

当該遺伝子治療の実施方法



3) 遺伝子治療臨床研究の評価方法

① 安全性の評価

プライマリーエンドポイントとは、予後不良局所限局性前立腺癌に対する HSV-tk 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、ならびに根治的前立腺全摘除術を施行した場合の安全性の確認であり、その評価については、Common Terminology Criteria for Adverse Events ver 4.0 を基準とした、副作用の発現頻度、程度、合併症を検討した。

② 治療効果の評価

セカンダリーエンドポイントとして、当該遺伝子治療における有効性を示す可能性のある免疫学的な反応の解析と、同治療効果の病理学的な評価を目的としており、その治療効果の評価基準として、免疫学的な各種評価項目における定量的評価の比較・検定を行った。

4. 実施症例数

本研究期間内に計 5 症例・述べ 10 回の遺伝子治療が実施され、臨床研究を終了した。患者背景を以下の表 1 に示す。

表1 患者背景

症例	PSA (ng/ml)	TNM分類	臨床病期分類	Gleason score
1	13.7	T2cN0M0	B2	3+3
2	6.59	T2bN0M0	B1	3+5
3	44.1	T2cN0M0	B2	4+3
4	7.82	T2bN0M0	B1	4+3
5	28.9	T2bN0M0	B1	3+3

5. 評価結果

1) 安全性の評価

① 有害事象

Herpes Simplex Virus-thymidine kinase 遺伝子発現アデノウイルスベクター及びガンシクロビル (GCV) 投与に関わる有害事象は、CTCAE (common terminology criteria for adverse event) ver. 4.0 (日本語訳 JCOG 版) を基に分類した。

上記ベクターならびに GCV 投与に関わる有害事象は、計 5 症例の述べ 36 件に認められた。頻度が最も多く認められた有害事象は発熱であり、grade 1 が 6 件 (以下、全て述べ件数)、grade 2 が 3 件に認められた。次いで CRP の上昇を 7 件に認めた。ALT の増加は grade 1 が 4 件、grade 3 を 1 件に認め、AST の増加は grade 1 が 3 件、grade 3 を 1 件に認めた。白血球数の減少は grade 1 を 3 件に認め、血小板数の減少は grade 1 を 2 件に認めた。頻尿は grade 2 を 1 件に認め、血尿は grade 1 を 1 件に認めた。また grade 1 の APTT 延長を 1 件、下痢は grade 1 を 1 件、grade 1 相当の腰痛を 1 件、便秘の grade 1 を 1 件にそれぞれ認めた。上記の ALT ならびに AST の grade 3 有害事象症例は同一症例であり、遺伝子治療 14 日目のフォローアップ採血において ALT 207 U/L、AST 268 U/L と高値を認め (施設基準上限のそれぞれ 5.9 倍、6.7 倍)、grade 3 の肝機能障害と判断した。同日の消化器内科専門医の診察の結果、理学所見を含め、全身状態は安定しており、発熱・炎症反応もなく (CRP 0.19 mg/dL)、肝庇護剤の投与による保存的な加療にて経過観察となる。また北里大学医学部・病院遺伝子治療・安全・効果評価・適応判定専門小委員会が招集され、審議の結果、遺伝子治療翌日以後の採血評価において肝機能障害を含めた異常値を認めず、遺伝子治療開始 7 日後の定期採血評価でも肝機能は正常であることより、遺伝子治療後に投与を行った抗生剤、ならびに継続して投与を施行している抗ウイルス剤等に伴う薬剤性肝機能障害が考えられ、同症例に対するプロトコール治療の継続については、標準治療への変更が適切と判断し、所轄官庁への報告と共に変更となった。なお同肝機能障害については、事象確認から 42 日目に ALT 35 U/L、AST 35 U/L へと正常値まで保存的に回復し退院となった。

2) アデノウイルスベクターの生体内における移行

① 血液中へ移行: 治療後 2 日、7 日、14 日、16 日、21 日、28 日、42 日、56 日の各時点で検査を実施し、血液中へのアデノウイルスベクターの移行は全てのポイントで同定されなかった。

② 尿中への移行: 治療後 2 日、7 日、14 日、16 日、21 日、28 日、42 日、56 日の各時点で検査を実施

し、尿中へのアデノウイルスベクターの移行につき評価を施行するも、治療後 2 日の時点を含め、尿中へのアデノウイルスベクターは同定されなかった。

③鼻腔への移行:治療後 2 日、7 日、14 日、16 日、21 日、28 日、42 日、56 日の各時点で検査を実施し、鼻腔へのアデノウイルスベクターの移行につき評価を施行するも、全てのポイントにおいてアデノウイルスベクターは同定されなかった。

3) アデノウイルス抗体

ベクター投与後の抗アデノウイルス中和抗体価の上昇は、全ての症例に治療後 14 日目、および 28 日目に最大で 1024 倍まで上昇したが、その後低下する一過性の上昇であった。同アデノウイルス抗体を別紙・図 1 に示す。

2) 治療効果の評価

①血清前立腺特異抗原 (PSA: prostate specific antigen)

治療効果の指標として腫瘍マーカーである PSA は、5 例中 5 例の全例において低下を認めた。遺伝子治療後 56 日目までの最大 PSA 減少率 (PSA reduction) は平均 23.1% (1.7 - 32.0%) であり、遺伝子治療毎となる 2 峰性に一過性の PSA 上昇を認めた後、緩やかに低下する結果であった。同 PSA 値の変化を別紙・図 2 に示す。

②フローサイトメトリー

・ CD3+/CD19-

治療前の平均 60.4% から治療後 2 日目、7 日目、14 日目、16 日目、56 日目にはそれぞれ平均 58.5%、63.5%、67.1%、69.8%、62.0% へと変化し、一過性の CD3 陽性 T リンパ球の増加が確認された。

・ CD3-/CD19+

治療前の平均 14.5% から治療後 2 日目、7 日目、14 日目、16 日目、56 日目にはそれぞれ平均 14.4%、15.0%、12.6%、9.7%、14.9% へと推移し、治療後緩やかに減少する傾向が認められた。

・ CD3+/CD8+

治療前の平均 16.9% から治療後 2 日目、7 日目、14 日目、16 日目、56 日目にはそれぞれ平均 18.0%、7.8%、24.6%、29.5%、20.9% へと変化し、治療後 16 日目をピークとして増加する傾向が認められた。

・ CD3+/CD4+

治療前の平均 40.7% から治療後 2 日目、7 日目、14 日目、16 日目、56 日目にはそれぞれ平均 39.6%、44.5%、41.5%、39.2%、40.7% へと変化し、遺伝子治療直後に一過性に減少する傾向が認められた。

・ CD8+/HLA-DR+

治療前の平均 10.2% から治療後 2 日目、7 日目、14 日目、16 日目、56 日目にはそれぞれ平均 14.0%、12.3%、19.7%、25.4%、14.0% へと変化し、今回の末梢血リンパ球解析において、有意かつ最も増加変動が大きな項目であった。

・ CD4+/HLA-DR+

治療前の平均 6.9% から治療後 2 日目、7 日目、14 日目、16 日目、56 日目にはそれぞれ平均 9.1%、7.7%、7.9%、8.0%、6.8% へと変化し、遺伝子治療に伴う大きな変化は確認されなかった。

・ CD3+/HLA-DR+

治療前の平均 13.3% から治療後 2 日目、7 日目、14 日目、16 日目、56 日目にはそれぞれ平均 16.9%、15.2%、22.3%、28.4%、16.3% へと変化し、CD8+/HLA-DR+ と同じく、有意な増加が確認された。

・ CD3-/CD56+CD16+

治療前の平均 13.5% から治療後 2 日目、7 日目、14 日目、16 日目、56 日目にはそれぞれ平均 17.3%、14.5%、14.5%、15.6%、14.2% へと変化し、大きな変動は確認されなかった。

・ CD4+/CD25+

治療前の平均 13.3%から治療後 2 日目、7 日目、14 日目、16 日目、56 日目にはそれぞれ平均 10.6%、12.2%、10.9%、10.4%、10.4%へと変化し、遺伝子治療後に継続して減少する傾向が認められた。以上の末梢血 T リンパ球におけるフローサイトメトリー結果につき、別紙・図3に示す。

3) サイトカイン測定

IFN- γ 、IL-2、IL-12、TNF- α 、TGF- β の測定にて、IFN- γ は治療直後に増加する一方、TGF- β においては治療直後に減少し、その後遅れて増加する傾向が確認された。

4) NK 活性

治療前、7 日目、14 日目、21 日目、28 日目、56 日目の時点での変化につき、治療前との比較を行ったが、NK 活性における有意な変化は確認されなかった。

5) 病理学的解析

① 殺細胞効果 (Cytopathic Effect)

殺細胞効果に関して ssDNA LI を用いて解析を行い、症例間での比較において、症例4が有意に高い殺細胞効果を示し、全体を通して前立腺尖部 (apex) における殺細胞効果が高い結果が確認された。また前立腺の解剖学的領域での検討では、前立腺移行領域 (transition zone) との比較において、殺細胞効果は辺縁領域 (peripheral zone) に高く認められる結果であった。

また各因子間の比較において、ssDNA と CD68、CD4 の逆相関が認められた。

② 局所免疫反応 (Local Immune Response)

炎症細胞浸潤は症例1、症例5に強く認められ、CD68、CD3、CD8 は、全体を通して前立腺尖部 (apex) と中部 (mid) に高い浸潤が確認された。また CD20 のみ、前立腺辺縁領域 (peripheral zone) との比較において、移行領域 (transition zone) に高い傾向が確認された。また各因子間の比較において、CD20 は治療効果との弱い負の相関を認めた。CD68、CD3、CD4、CD8 の各因子間において、有意な正の相関が認められた。

以上の①②における病理学的解析結果を、別紙・図4に示す (A: SS DNA, B: CD3, C: CD4, D: CD8, E: CD68, F: CD20)。

③ コクサッキーウイルスアデノウイルス受容体 (Coxsackievirus and adenovirus receptor: CAR) 発現

CAR 発現の検討において、残存腫瘍が多い症例1において、その治療効果との関係が示唆される結果が確認された。同 CAR 発現と殺細胞効果の評価に用いた whole-mount での実症例結果を別紙・図5に示す。

6) 転帰

全 5 症例のうち、3 症例は前立腺癌血清腫瘍マーカーである PSA 値が 0.1 ng/ml 未満で推移しており、生化学的再発を認めない状態が維持・確認されている。

また 1 症例については救済内分泌療法を施行中であり、現在臨床的進行を認めない状態が維持されており、同じく外来での経過観察中である。また 1 症例においては、遺伝子治療臨床研究終了後の深部静脈血栓症に起因した肺梗塞にて死亡となり、他因子での死亡であった。また同有害事象については、遺伝子治療臨床研究重大事態等報告として所轄官庁へ報告した。

6. 臨床研究の総括

1) 安全性に関する考察と結論

本臨床研究において使用されたレベルのベクター容量と回数において、その有害事象は保存的な

対応で改善し、安全性が確認された。しかしながら、一過性の発熱を全例に認めており、先行する米国との比較において、日本人ではその反応性が強く認められる可能性も示唆された。また生体内へのベクターの移行に関しては同定されず、その安全性が確認された。

2) 治療効果に関する考察と結論

当該遺伝子治療により、全ての症例で PSA 値の低下が確認され、その低下率は平均 23.1%であった。また末梢血における CD8 陽性 T リンパ球を中心とした変化ならびに病理学的な殺細胞効果が認められ、その明らかな治療効果が確認された。

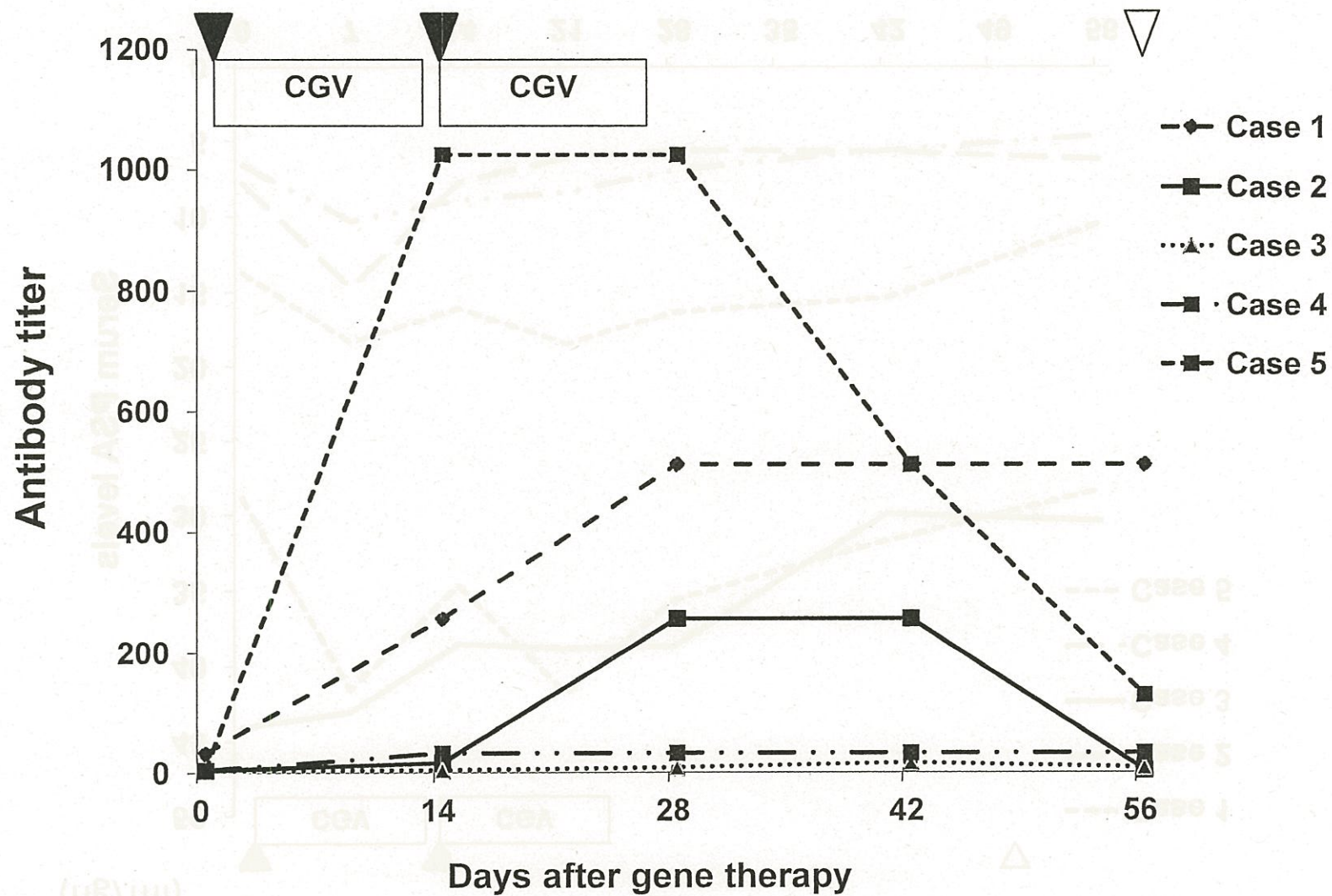


図1 遺伝子治療後におけるアデノウイルス抗体価の推移

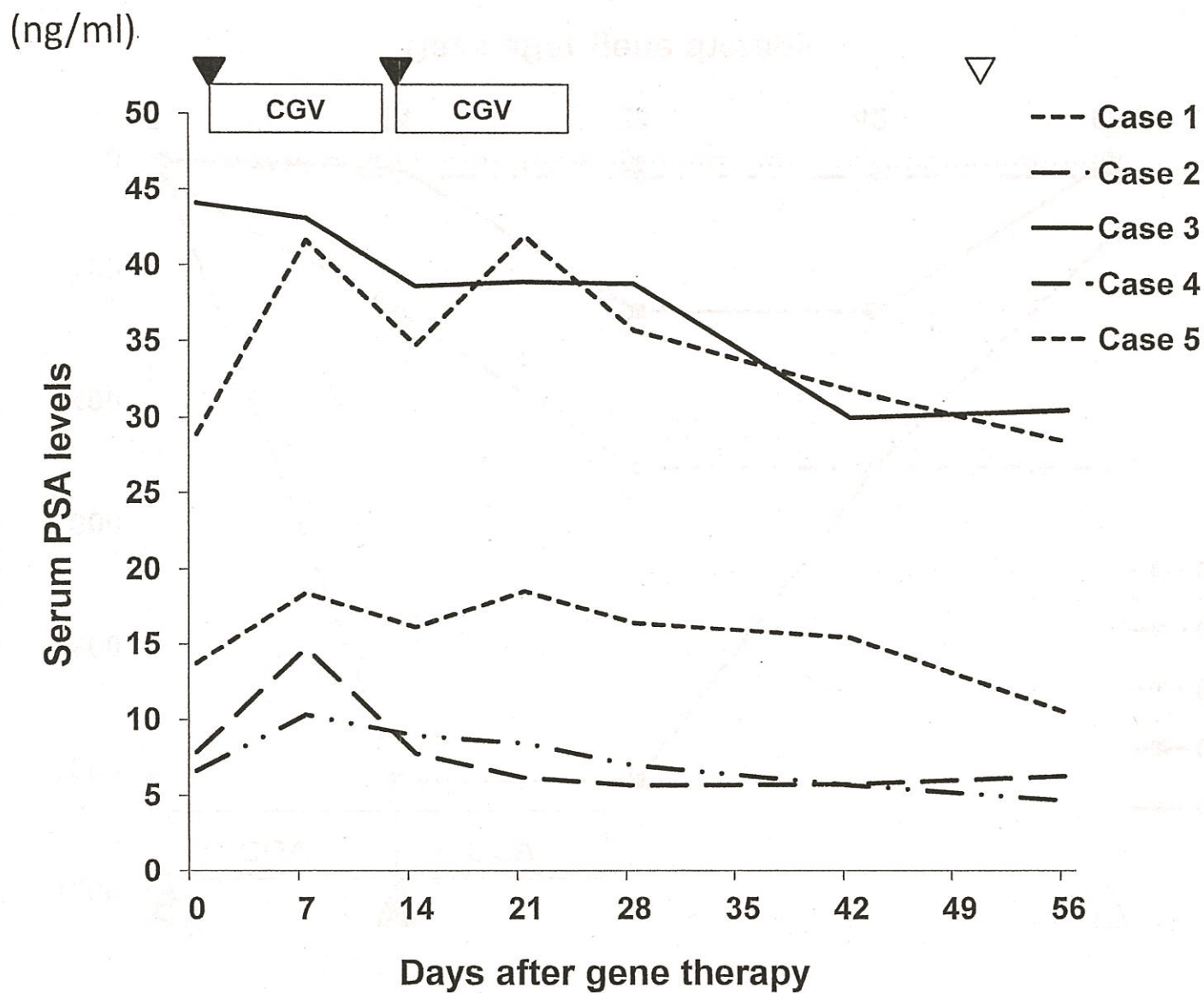


図2 遺伝子治療後における血清PSA値の推移

図3 遺伝子治療後における末梢血Tリンパ球の推移(1)

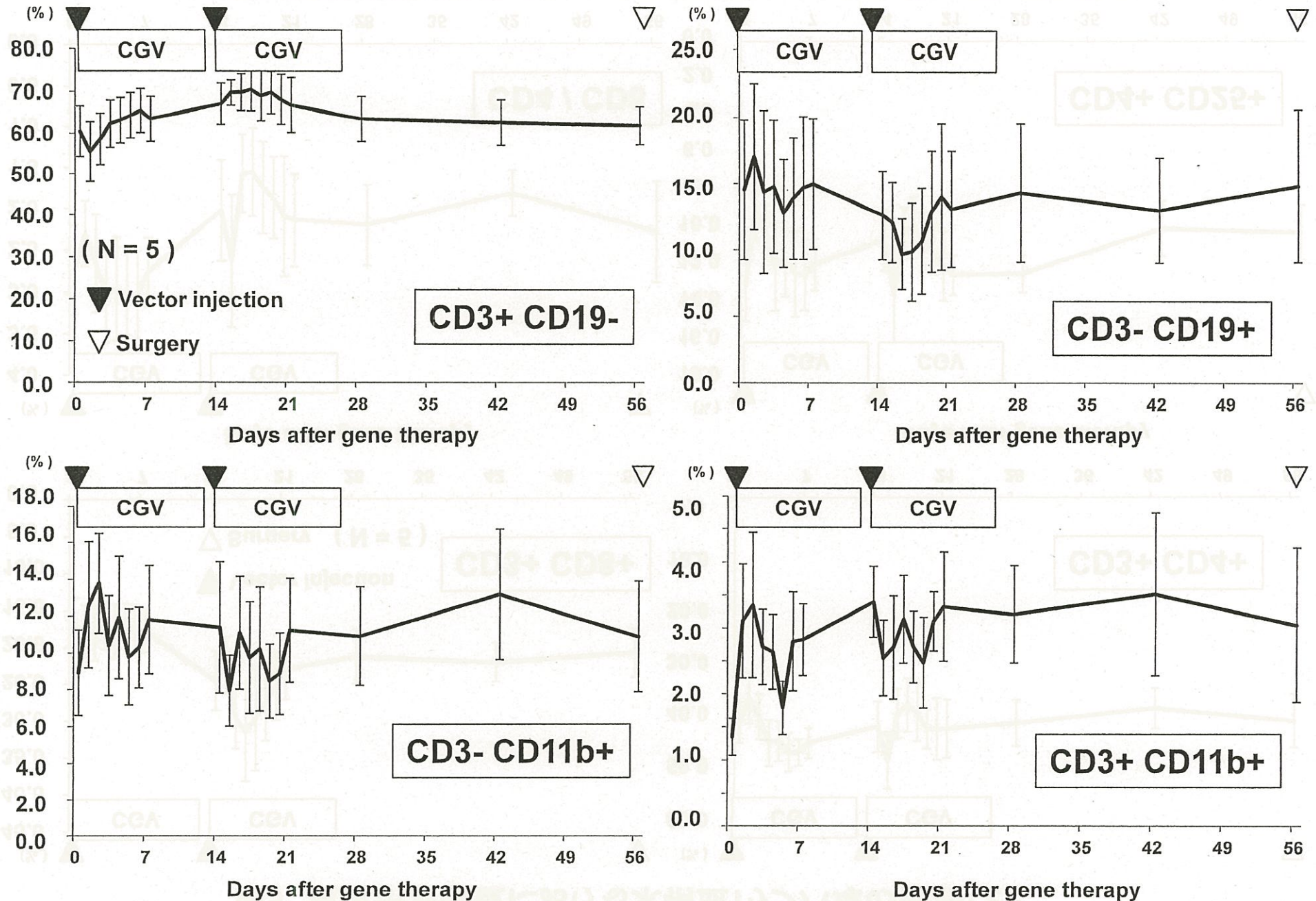


図3 遺伝子治療後における末梢血Tリンパ球の推移(2)

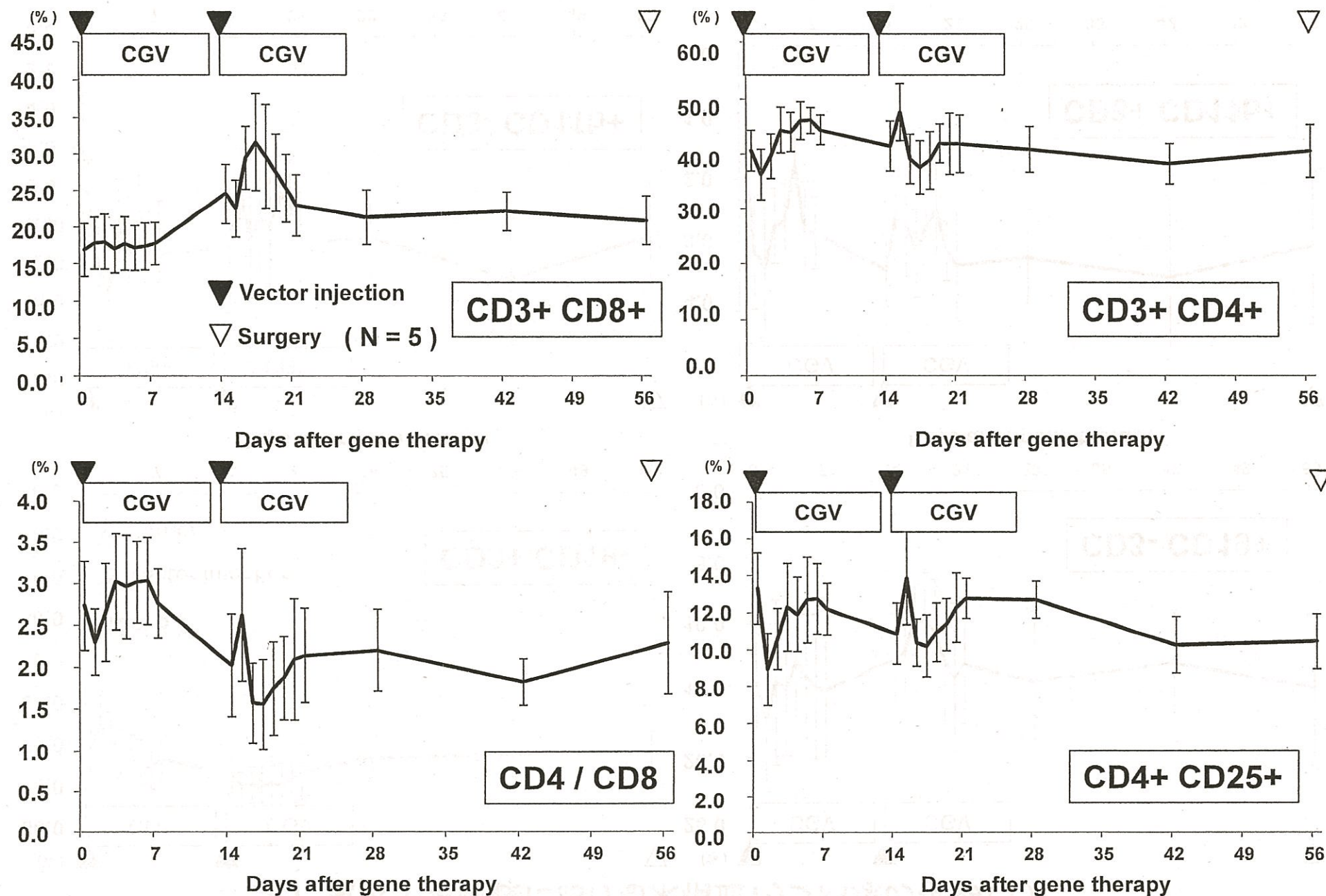


図3 遺伝子治療後における末梢血Tリンパ球の推移(3)

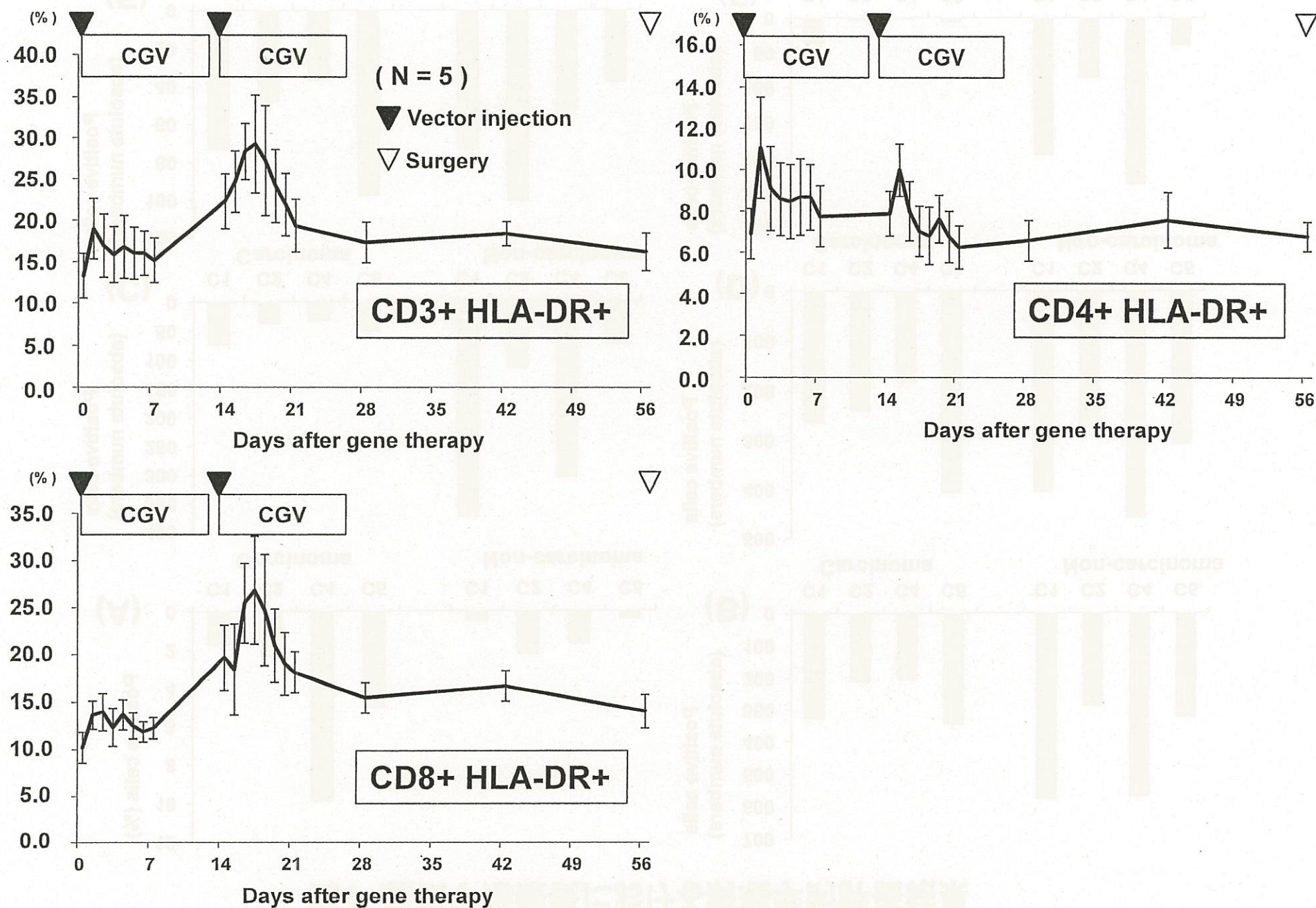


図4 遺伝子治療後における病理学的評価結果

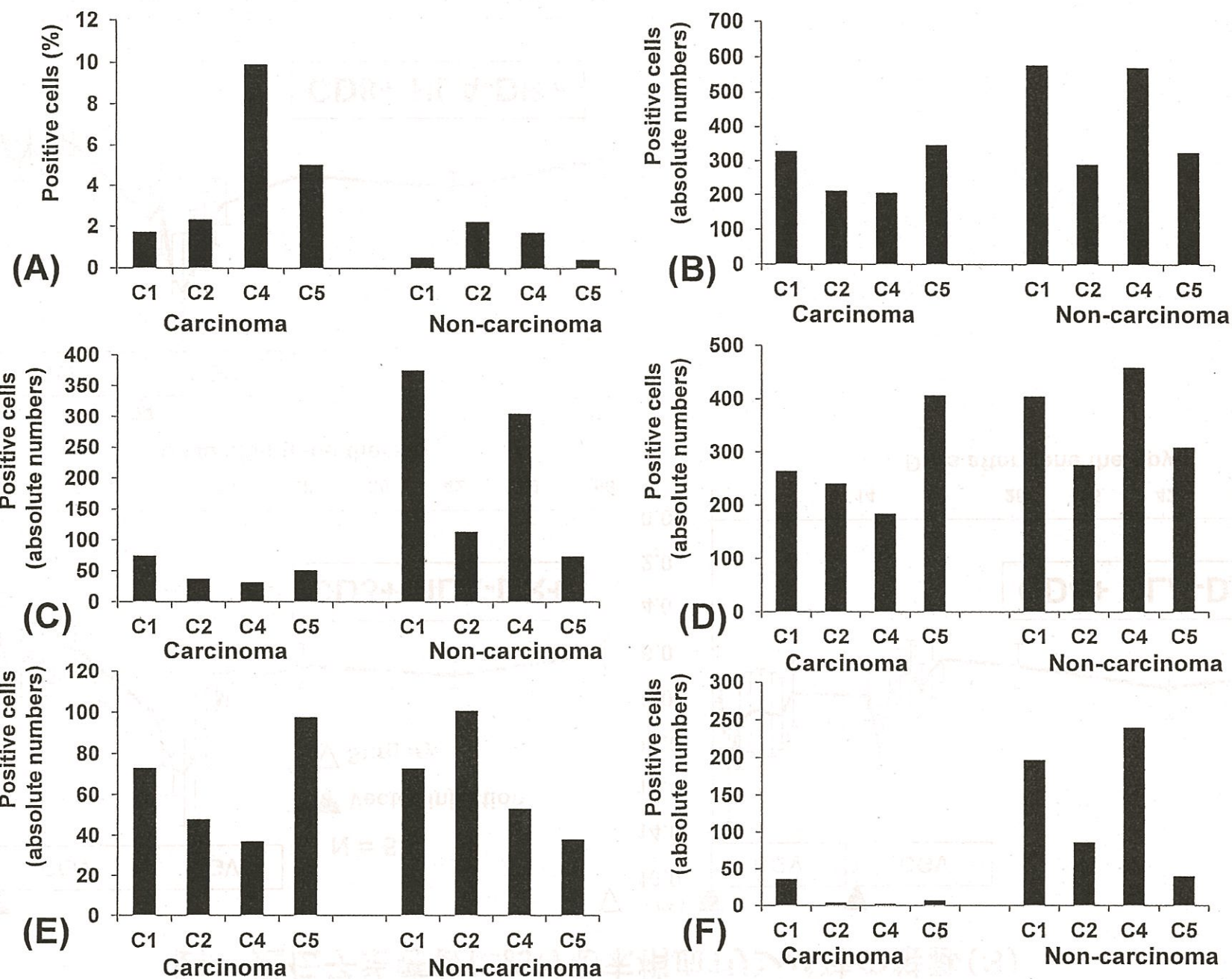
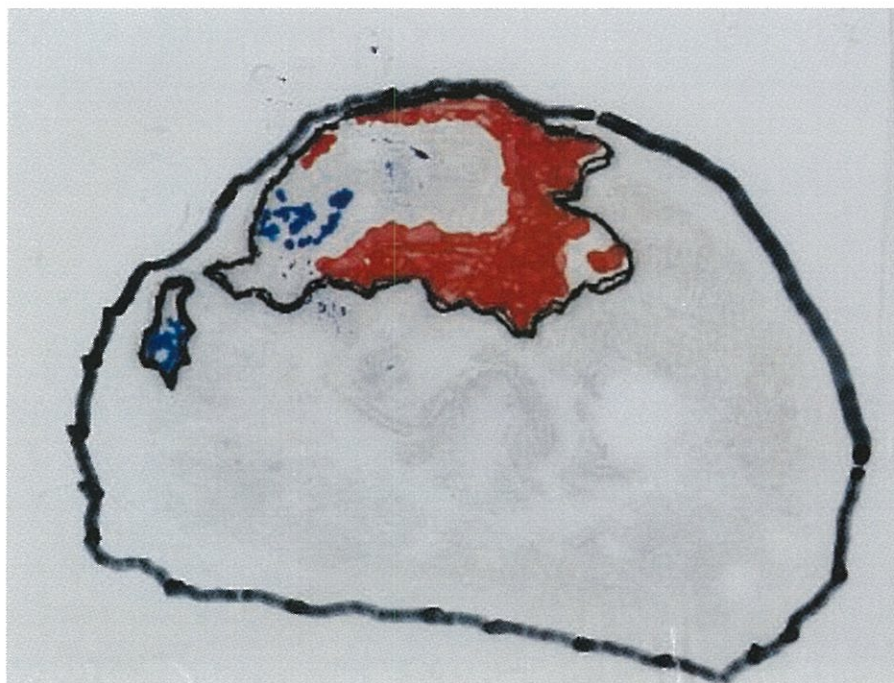
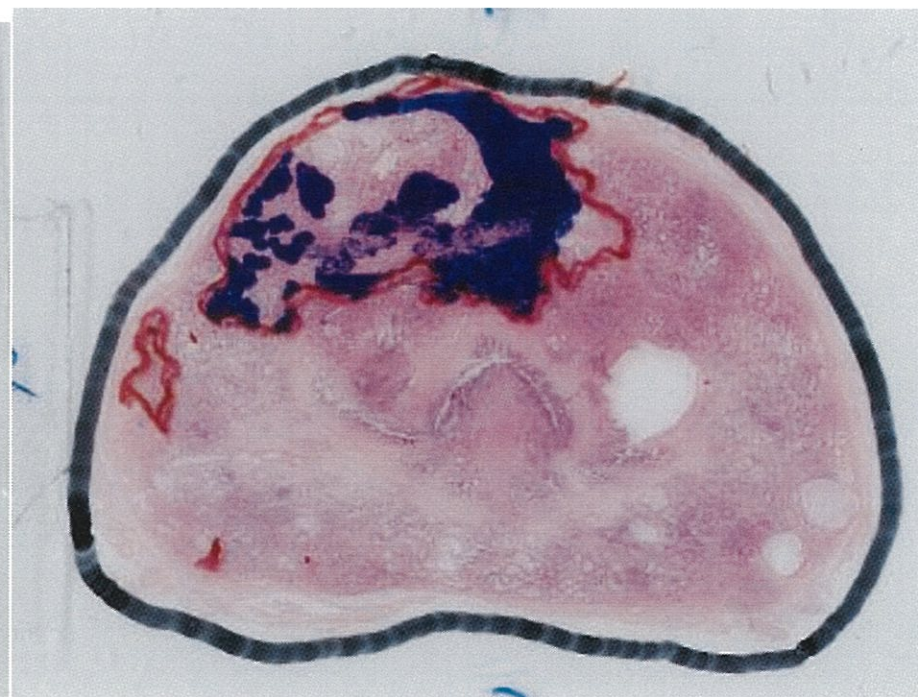


図5 遺伝子治療後におけるCAR発現と殺細胞効果(症例1)



CAR発現部分を赤エリアで示す



殺細胞効果を認めた部位を青エリアで示す