

## 遺伝子治療等臨床研究に関する実施施設からの報告について

### 【 岡山大学病院 】

課題名 : 悪性胸膜中皮腫に対する Reduced Expression in  
Immortalized Cells/Dickkopf-3 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

○ 重大事態等報告書 . . . . . P. 1

### 【 三重大学医学部附属病院 】

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

○ 重大事態等報告書 . . . . . P. 9

遺 伝 子 治 療 等 臨 床 研 究 重 大 事 態 等 報 告 書

平成 28 年 3 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 2-5-1 (郵便番号 700-8558)
	名 称	岡山大学病院 (電話番号 086-233-7151) (FAX番号 086-235-6761)
	代 表 者 役職名・氏名	岡山大学病院長 榎野 博史 (職印)

下記の遺伝子治療等臨床研究について、重大な事態等が生じたので別添のとおり報告します。

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
悪性胸膜中皮腫に対する Reduced Expression in Immortalized Cells/Dickkopf-3 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 臨床遺伝子医療学・教授・豊岡 伸一

申請年月日	平成26年 3月25日
-------	-------------

1. 基本情報

研究の名称	悪性胸膜中皮腫に対する Reduced Expression in Immortalized Cells/Dickkopf-3 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	平成26年 3月 4日 から 最終症例の治療終了後5年間	
多施設共同臨床研究	該当	<input type="checkbox"/> 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	岡山県岡山市北区鹿田町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臨床遺伝子医療学・教授	
	氏名	豊岡 伸一	
研究機関	所在地	岡山県岡山市北区鹿田町2-5-1 (郵便番号 700-8558)	
	名称	岡山大学病院	
	連絡先	岡山県岡山市北区鹿田町2-5-1 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科呼吸器・乳腺内分泌外科 (電話番号 086-235-7265)	
研究責任者以外の研究者	氏名	所属機関・部局・職	役割
	宗 淳一	岡山大学病院 呼吸器外科 講師	患者の選定、患者への説明及び同意の取得、ベクターの投与、臨床観察、臨床効果判定
	山根正修	岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 医学教育リノベーションセンター 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、基礎的効果判定
	大藤剛宏	岡山大学病院 臓器移植医療センター 教授	患者への説明及び同意の取得、ベクターの投与、臨床観察
	三好新一郎	岡山大学大学院医歯薬学総合研究科呼吸器・乳腺内分泌外科学 教授	患者の選定、臨床観察、臨床効果判定
	堀田勝幸	岡山大学病院 呼吸器・アレルギー内科 助教	患者の選定、患者への説明及び同意の取得、ベクター投与、臨床効果判定
	田端雅弘 木浦勝行	岡山大学病院 腫瘍センター 准教授 岡山大学病院 呼吸器・アレルギー内科 教授	患者の選定、臨床効果判定、臨床観察 患者の選定、臨床観察、基礎的効果判定、臨床効果判定

谷本光音	岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 血液・腫瘍・呼吸器内科学 教授	患者の選定、臨床観察、臨床効果判定
平木隆夫	岡山大学病院 放射線科 講師	ベクター投与、画像効果判定
郷原英夫	岡山大学病院 放射線科 講師	ベクター投与、画像効果判定
金澤 右	岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 放射線医学科 教授	ベクター投与、画像効果判定
渡部昌実	岡山大学病院 新医療研究開発センター 准教授	ベクターの調製、ベクターの管理、基礎的効果判定
那須保友	岡山大学大学院医歯薬学総合研究科泌尿器病態学 教授	総括責任者の補佐、研究全体の総合的支援、関係省庁との調整

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)

5. 倫理審査委員会の見解

倫理審査委員会の見解	はじめに、遺伝子治療審査専門委員会安全・効果評価・適応判定部会を招集し、委員全員より原疾患（悪性胸膜中皮腫）による入院並びに原病死と判断された。審査専門委員会として改めて審査を行ったが、原疾患の進行が明らかであり、REIC遺伝子発現アデノウイルスベクター投与後より6週間経過し、血中・尿水のアデノウイルスDNAは検出されていなかったことから、原疾患の病勢によるとの結論となった。研究を進めるにあたって研究責任者・研究分担者は実施計画書を遵守することを確認した。
------------	--

	倫理審査委員会の長の職名	氏 名
	岡山大学病院 遺伝子治療臨床研究審査委員会 委員長	伊達 勲 (印)

6. 重大事態等の概要

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>本臨床研究は、悪性胸膜中皮腫に対し Reduced Expression in Immortalized Cells/Dickkopf-3 (以下、REIC/Dkk-3) 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、</p> <p>1) 安全性の検討 (最大耐量の推定) を行うことを本試験の主な目的とする (主要エンドポイント)。  2) 治療効果の観察 (評価可能症例) を行い、治療効果を総合的に判定する (副次エンドポイント)。  3) 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を解析するとともに、治療効果の病理学的評価を行う (副次エンドポイント)</p> <p>悪性胸膜中皮腫症例に対して、REIC/Dkk-3 遺伝子発現アデノウイルスベクターを単独で胸水または局所病巣内に直接投与する。</p> <p>その際の質的、量的安全性を確認し、治療効果の判定を行うとともに、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、組織学的、分子生物学的効果、ベクターの感染、mRNA レベル及びたんぱく質レベルでの REIC/Dkk-3 遺伝子の発現について総合的に解析することを目的とした第 I / II 相試験とする。</p> <p>本臨床研究は岡山大学前立腺がん遺伝子治療臨床研究プロトコルを参考に、悪性胸膜中皮腫臨床プロトコル検討委員会を含む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。</p> <p>本臨床研究に用いられる REIC/Dkk-3 遺伝子発現アデノウイルスベクターは桃太郎源株式会社より供給される。</p>	
対象疾患及びその選定理由	<p>1. 対象疾患</p> <p>本臨床研究では悪性胸膜中皮腫と診断され、選択基準に該当し、除外基準に抵触しない患者を対象とする。</p> <p>2. 対象疾患の選定理由 (対象疾患に対する現時点での知見)</p> <p>悪性胸膜中皮腫は、アスベストへの曝露を原因として発症するとされ、実際にアスベストを吸入してから悪性胸膜中皮腫を発症するまで 20 年から 40 年の潜伏期間があると言われているが、米国では早期のアスベスト規制の結果、すでに 2004 年をピークに悪性胸膜中皮腫の患者数、死亡数とも減少傾向に向かっている。</p> <p>一方、規制の遅れた日本では、悪性胸膜中皮腫の患者は、1980 年代前半には年間 100 人程度であったが、95 年に 500 人、2004 年には 953 人となっている。1960 年代以降のアスベストの輸入量増加や広範な利用状況を考慮すれば、2025 年にピークに達し、今後 40 年間の死亡者は 10 万 3000 人に達すると推計されている。</p> <p>さらに、欧州における患者数のピークは 2015 年から 20 年で、今後の 40 年間の死亡者は 25 万人とされ、経済成長の著しい中国やインドにおいては、アスベストの使用は</p>	

未だに禁止されておらず、早晚、大量の患者が発生すると考えられている。

このように、世界的に増加が推定される悪性胸膜中皮腫患者に対する治療薬のニーズは高まると予測されるが、現時点で悪性胸膜中皮腫に対する治療薬としては顕著に有効な薬剤はない。米国で2004年に、日本で2007年に承認されたペメトレキセド(商品名:アリムタ)においても、シスプラチンとの併用で延命効果があることが示されているものの、臨床試験に参加した症例では生存期間中央値 12.1 カ月、1 年生存率 50.3%と限定的なもので、新しい薬剤の開発が強く望まれている。

#### (REIC/Dickkopf-3 による遺伝子治療に関する現時点での知見)

新規がん治療遺伝子 REIC/Dickkopf-3 は、2000 年に、岡山大学での細胞の不死化の研究の過程において、ヒト正常線維芽細胞の不死化に伴って発現が減弱する遺伝子として同定された遺伝子で、細胞のアポトーシスを司る遺伝子と考えられている。後に、アフリカツメガエルの頭部形成に関わる Dkk (dickkopf) 遺伝子ファミリーの Dkk-3 と相同であることが明らかになった。

REIC/Dkk-3 遺伝子は正常細胞では発現しているが、種々のがん細胞(非小細胞肺癌、腎がん、前立腺がん、精巣がん、悪性胸膜中皮腫)で発現が低下しており、これらのがん細胞に REIC/Dkk-3 遺伝子を過剰発現させると、対照とした正常細胞には傷害を与えず、がん細胞選択的に小胞体ストレスによるアポトーシスが誘導された。前立腺がんでは、研究協力者・分担者である公文・那須らのグループにおける検討で、マウス前立腺がん同所移植モデルを用いた前臨床試験において、ヒト REIC/Dkk-3 遺伝子発現アデノウイルスベクター(以下、Ad-REIC)の局所投与により、①局所前立腺腫瘍の発育抑制、②肺及びリンパ節転移の抑制という全身効果、③生存期間の延長効果が確認され、原発巣のみならず転移病巣の治療も目的とした REIC/Dkk-3 遺伝子の局所投与の有用性が明らかにされた。すなわち、局所への遺伝子導入(*in situ* gene therapy)により、局所での腫瘍退縮とともに、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が明らかにされている。

選択的細胞死による直接的な抗腫瘍効果のみならず、REIC 遺伝子により産生される分泌型 REIC タンパクは、樹状細胞様細胞の分化誘導能を有している。このことは、Ad-REIC による局所遺伝子治療は、腫瘍局所において選択的細胞死の結果生じる「がん細胞膜断片(がん抗原)」の樹状細胞様細胞への取込みによる特異的な細胞傷害性 T 細胞を誘導するという、自己がんワクチン化のための最適環境を構築する治療法として位置づけることができる。さらに、Ad-REIC の局所腫瘍内投与は、腫瘍組織内間質細胞などからの Interleukin-7 (IL-7) の産生による NK 細胞の活性化も同時に惹起されることから、これらの相乗的な抗がん免疫の賦活化作用の結果として、局所がん病巣のみならず遠隔転移病巣への顕著な治療効果が存在することが動物実験において実証されている(6-3-4-3. 前立腺がんでの基礎的研究に詳細を記載)。これらの研究を踏まえ前立腺がんを対象とした臨床研究はすでに実施承認されている(平成 23 年 1 月 25 日実施)。

悪性胸膜中皮腫に対しても臨床研究の導入を企図して同様の研究が実施された(6-3-4-1. 悪性胸膜中皮腫での基礎的研究)。Ad-REIC の局所投与により、①局所腫瘍の発育抑制、②生存期間の延長効果が確認され、③遠隔病巣の発育抑制という全身効果も確認された。これらの結果は前立腺がんを対象とした前臨床研究と同等のものであり、悪性胸膜中皮腫を対象に臨床研究を開始するための科学的根拠となり得る。

安全性という観点においても種々の検討が実施されている。Ad-REIC による各種正常細胞に対する細胞毒性について解析を行ったが明らかな細胞毒性は認められていない(6-3-4-2. 各種正常細胞における細胞毒性の解析)。また、投与におけるヒトでの安全性をさらに確認、確保する目的で、種々の動物実験が実施されているが、動物実験レベルではいずれも有害事象は生じていない。さらに、正常細胞においても REIC は強く発現しており、Ad-REIC の局所投与にとまなう全身的な随伴症状(副作用)はほとんどないものと考えられる。

	<p>以上のように、悪性胸膜中皮腫は現存の治療薬だけでは十分な有用性が得られていないこと、悪性胸膜中皮腫においてREICの発現が90%以上の症例において抑制されていることさらに前臨床研究 (<i>in vitro</i>, <i>in vivo</i>) における安全性、有効性に関する良好な結果より、悪性胸膜中皮腫に対するREIC/Dkk-3遺伝子治療は効果が期待されると考え、アデノウイルスベクターによりREIC/Dkk-3遺伝子を直接がん細胞に導入する遺伝子治療臨床研究を計画した。</p>
実施方法	<p>岡山大学病院総合診療棟 IVR-CT 室にて局所麻酔を施行し、REIC/Dkk-3 遺伝子発現アデノウイルスベクターの溶液を CT ガイド下に胸水貯留を認める胸腔内、あるいは評価可能な1病変部に注入する。ウイルスベクター溶液量は胸腔内注入の場合 50ml とし、腫瘍内へは 1-2 ml とする。なお、胸腔内注入の際は胸腔内にカテーテルチューブを挿入し、可能な限り胸水を排出したのち、50 ml のアデノウイルスベクター溶液を注入する。</p>
重大事態等の発生時期	<p>REIC 遺伝子発現アデノウイルスベクター投与から 6 週間後の 2015 年 11 月 17 日</p> <p>治療前より Hgb 10.0g/dl と軽度の貧血を認めていたが、治療 3 週目より炎症所見に伴って、徐々に貧血の進行を認めていた。夕方の発熱と倦怠感を認め、近医での採血で Hb 7.2g/dl と貧血の進行を指摘され、11 月 17 日 (治療後 6 週間) 岡山大学病院を紹介受診した。Hgb 5.2g/dl と高度な貧血の進行と炎症所見、アルブミンの低値を認めため、精査、加療目的に入院を勧めたが、本人と家族の希望で翌日の 11 月 18 日に入院となった。入院と考えられる事態の発生日は、再入院の必要性が判断された 11 月 17 日となる。</p>
重大事態等の内容及びその原因	<p>内容：貧血の進行 (最低値 Hgb 5.2g/dl：有害事象の評価指標 Grade4)・炎症反応 (白血球、CRP 高値) の遷延・アルブミン低値</p> <p>経過：</p> <p>患者は70歳女性で、腹膜にも病変があったため手術適応とはならず、ペメトレキセドを含む化学療法にも不応となり、他の化学療法も希望されなかったため、2015年10月1日、遺伝子治療臨床研究審査委員会 安全・効果評価・適応判定部会で本試験の適応承認を受けた。</p> <p>2015年10月5日 岡山大学病院に入院し、10月6日 IVR-CT 室で遺伝子治療を施行した。治療に先立ち、スクリーニングの CT を施行したところ、極少量の右胸水が出現していた。右胸腔内腫瘍のうち、前胸壁の長径 44.8mm の腫瘍に REIC/Dkk-3 遺伝子発現アデノウイルスベクター製剤を投与。投与量レベル 1 である <math>1.0 \times 10^{11}</math> vp (virus particles) を注入し、10月14日に退院した。</p> <p>入院中に発熱 (10月8日が最高 39.0 度：有害事象の評価指標 Grade2) を認めたが、アセトアミノフェン内服で対応し、一度解熱していた。感染性胸水を否定するため、10月11日に右胸水穿刺を施行し、漿液性の胸水を採取した。培養に提出したが、細菌は検出されなかった。しかし、細胞診で ClassIV であり、悪性胸水と考えた。</p> <p>別の有害事象として、肝酵素 (AST、ALT) 上昇 (10月12日が最悪 AST 100IU/l、ALT 66 IU/l Grade2) を認めたが、強力ネオミノファーゲンシー静注のみで軽快している。</p> <p>退院後より、徐々に貧血と炎症所見の進行、アルブミンの低下を認めた。具体的な数値は下表の通りである。</p> <p>2015年10月20日外来では発熱を認めず、炎症所見、肝酵素とも軽快傾向であった。10月27日外来で CRP15.99 と上昇を認めたが、軽度の頭痛以外に身体症状の乏しく、11月4日に予定していた治療後腫瘍生検の際に精査を行う方針とした。</p> <p>2015年11月3日岡山大学病院に入院の上、11月4日に治療後腫瘍の CT ガイド下生検を施行した。生検前に施行した CT で右胸水の著明な増加と左胸水の出現を認め、翌日 (11月5日) に施行した PET-CT では腹膜病変の進行も指摘された。生検の病理診断でも悪性胸膜中皮腫であり、壊死等の治療後変化は認めなかった。</p>

画像所見と細胞診、病理診断から短期間での病勢の悪化は明らかであり、それに伴う炎症とFeの利用障害による貧血と考えられた。

その後、夕刻の発熱が出現し(37~38度)、11月17日に再診したところ、炎症所見の悪化と、更なる貧血の悪化(Hb 6.6g/dl)を認めたため、即日入院を進めたが、ご本人の希望で翌日の11月18日に岡山大学病院に入院となった。

	2015/6/29	10/5	10/7	10/9	10/11	10/12	10/13	10/20
	登録時	治療前	治療後 Day1	day3	day5	day6	day7	day14
WBC	6810	8720	8810	10590	11080	11270	10620	10400
Hb	10.4	10.0	9.4	9.9	9.8	9.2	9.0	8.6
Plt	29.9	35.2	32.4	34.8	29.8	28.6	43.8	68.8
TP	8.0	8.0	7.0	7.7	8.7	8.8	7.6	8.2
Alb	4.6	3.9	3.3	3.3	3.2	3.2	3.0	3.2
T-bil	0.60	0.50	0.84	0.69	0.93	0.88	0.68	0.60
AST	27	23	24	98	58	100	64	29
ALT	12	13	12	47	45	66	57	24
Na	140	138	132	133	138	137	138	138.0
K	4.4	4.4	4.5	4.5	4.2	4.1	4.4	4.9
BUN	21.5	19.5	17.2	12.8	12.4	13.7	13.8	17.6
Creat	0.81	0.86	0.89	0.95	0.93	0.88	0.89	0.9
CRP	0.10	5.02	5.51	20.18	15.18	12.96	9.89	8.47

	10/27	11/4	11/17	11/18	11/19	11/21	11/26
	day21	day29	day42	day43 (輸血)	day44	day46	day51
WBC	8650	8630	10050	11060	11420	11940	15410
Hb	8.1	7.7	6.6	5.2	9.4	8.5	8.5
Plt	58.2	59.8	84.1	76.2	75.7	66.2	99.3
TP	8.1	7.6	6.9	6.1	7.0	7.7	6.7
Alb	3.0	2.5	1.9	1.6	1.7	2.1	2.0
T-bil	0.60	0.71	0.58	0.55	1.29	0.81	0.77
AST	35	34	20	16	19	16	35
ALT	27	25	14	10	10	7	21
Na	136	135	136	137	137	135	140
K	4.5	4.7	4.8	4.6	4.6	3.9	4.3
BUN	18.5	12.2	12.6	12.5	8.9	11.8	11.3
Creat	0.97	0.85	0.95	0.99	0.96	0.96	0.86
CRP	15.99	19.95	27.99	23.76	27.10	25.38	26.82

原因：10月6日の治療直前CTで腫瘍の増大と極少量の胸水が出現していた。治療後もCTで腫瘍の増大と胸水の増加を認め、治療4週後のPET/CT検査(11月5日)では腹膜の結節の増大、増量と腹水も出現していた。入院後の11月20日のCTで更に胸腹水の増量と腹膜結節の増大を認め、11月23日からは腹満感を自覚し、触診でも明らかな腹水の増量を認めている。画像所見と身体所見からは原疾患(悪性胸膜中皮腫)の進行が明らかであり、一方でREIC遺伝子発現アデノウイルスベクター投与後より6週間経過し血中・尿中のアデノウイルスDNAは1度も検出されていないことから、REIC遺伝子発現アデノウイルスベクターの影響というよりは原疾患の病勢による影響が第一に考えられる。



<p>その後の対応状況</p>	<p>11月18日に岡山大学病院に入院され、照射赤血球4Uを輸血した。11月19日に上部・下部消化管内視鏡検査を実施したが、貧血の原因となる出血性病変は認めなかった。呼吸器内科および血液腫瘍内科に診察を依頼し、貧血および炎症反応遷延の原因について検討した。11月20日に右胸水貯留に対し、胸腔穿刺を実施し、胸水を約500mL排液した。胸水の性状は漿液性であり、感染や出血を疑う所見は認めなかった。採取した胸水を培養検査・細胞診検査に提出した。腹水貯留および再貯留した胸水に対し、胸腔穿刺と腹腔穿刺を施行した。腹水は約900mL排液した。採取した胸水・腹水ともアデノウイルスDNAおよび抗体価の測定の検査に提出した(アデノウイルスDNAは胸水・腹水とも陰性であった)。11月25日に血液像から多発性骨髄腫の可能性も考えられたため、11月26日に骨髄穿刺を施行した。ここまでの検査結果から、貧血の進行・炎症反応の遷延の原因は原疾患の増悪によるものと判断した。</p> <p>原疾患の進行度を考慮すると、今後は対症療法が中心となるため、本人の希望もあり、近医であるベルランド総合病院と連携を取りながら加療と観察を継続する予定で、11月27日退院となった。12月8日にベルランド総合病院を受診予定であったが、腹部膨満や下腿浮腫などの症状が悪化し、予定を早めて12月4日に受診し、酸素4L投与下でPS3であったため、ベルランド総合病院の呼吸器内科へ即日入院となった。その後も対処療法(腹水穿刺:2015年12月17日、2016年1月20日、輸血:2015年12月6-9日20%アルブミン50ml2本/day、12月10日RBC2単位、12月22-24日20%アルブミン50ml2本/day、12月29日RBC2単位、12月30日20%アルブミン50ml2本)を続けながら、徐々にADL低下しPS4となった。この間、2015年12月12-13日および2015年12月31日-2016年1月2日外泊した。2016年1月15日頃より食事量が低下し、1月19日同院の緩和ケア病棟に転床となった。1月27日永眠となった。</p> <p>前述の通り、画像所見、身体所見から原疾患の病勢は明らかであり、今回の治療との因果関係は否定的であると判断している。急激な病状の進行は悪性胸膜中皮腫の特徴の一つでもあり、今後の当該遺伝子治療臨床研究の継続は可能と考える。</p>
-----------------	---

<p>備考 (共同研究機関の実施状況等)</p>	
------------------------------	--

(注意)

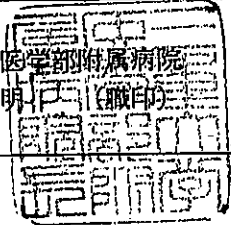
1. 用紙の大きさは、日本工業規格A列4番とすること。
2. この報告書は、正本1通及び副本2通を提出すること。
3. 字は墨・インク等を用い、楷書ではっきり書くこと。
4. 各項目数行程度で簡潔に記載すること。記載欄に記載事項のすべてを記載できない時は、その欄に「別紙( )のとおり」と記載し、別紙を添付すること。
5. 多施設共同臨床研究に該当する場合は、備考欄に共同研究機関における本重大事態等への対応状況を記載すること。

遺 伝 子 治 療 等 臨 床 研 究 重 大 事 態 等 報 告 書

平成 28 年 3 月 25 日

厚生労働大臣 殿

研 究 機 関	所 在 地	三重県津市江戸橋二丁目174番地 (郵便番号 514-8507)
	名 称	国立大学法人三重大学医学部附属病院 (電話番号 059-232-1111) (FAX番号 059-321-5815)
	代 表 者 役職名・氏名	国立大学法人三重大学医学部附属病院 病院長 伊藤 正明 (職印)



下記の遺伝子治療等臨床研究について、重大な事態等が生じたので別添のとおり報告します。

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
MAGE-A4抗原特異的TCR遺伝子導入リンパ球輸注による治療抵抗性食道癌に対する遺伝子治療臨床研究	国立大学法人三重大学 大学院医学系研究科 遺伝子・免疫細胞治療学講座 大学教員 珠玖 洋

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

## 1. 基本情報

研究の名称	MAGE-A4抗原特異的TCR遺伝子導入リンパ球輸注による治療抵抗性食道癌に対する遺伝子治療臨床研究	
研究実施期間	平成21年7月17日から 平成25年5月13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	三重県津市江戸橋二丁目174番地 (郵便番号 514-8507)	
	所属機関・部局・職	三重大学大学院医学系研究科 遺伝子・免疫細胞治療学講座 大学教員	
	氏名	珠 玖 洋 	
研究機関	所在地	三重県津市江戸橋二丁目174番地 (郵便番号514-8507)	
	名称	三重大学医学部附属病院	
	連絡先	三重県津市江戸橋二丁目174番地 (電話番号 059-232-1111)	
研究責任者以外の研究者	氏名	所属機関・部局・職	役割
	影山 慎一	三重大学大学院医学系研究科 遺伝子・免疫細胞治療学講座 准教授	レトロウイルスベクター製剤の品質管理責任者、遺伝子導入細胞製剤の品質管理責任者、試験登録患者の診療
	池田 裕明	三重大学大学院医学系研究科 遺伝子・免疫細胞治療学講座 准教授	レトロウイルスベクター製剤の製造管理責任者、遺伝子導入細胞製剤の製造管理責任者、遺伝子導入細胞製剤の体内動態及び免疫反応の評価
	宮原 慶裕	三重大学大学院医学系研究科 遺伝子・免疫細胞治療学講座 講師	遺伝子導入細胞製剤の体内動態及び免疫反応の評価、試験登録患者の診療
	今井 奈緒子	三重大学大学院医学系研究科 遺伝子・免疫細胞治療学講座 助教	遺伝子導入細胞製剤の体内動態及び免疫反応の評価、試験登録患者の診療
	石原 幹也	三重大学附属病院 腫瘍内科 医員	試験登録患者の診療
	片山 直之	三重大学大学院医学系研究科 臨床医学系講座 血液・腫瘍内科学 教授	試験登録患者の診療
	中瀬 一則	三重大学医学部附属病院 血液内科、腫瘍内科 科長	試験登録患者の診療
	柘屋 正浩	三重大学大学院医学系研究科 臨床医学系講座 血液・腫瘍内科学 准教授	試験登録患者の診療

	水野 聡朗	三重大学医学部附属病院 腫瘍内科 講師、副科長	試験登録患者の診療
	齋藤 佳菜子	三重大学医学部附属病院 腫瘍内科 助教	試験登録患者の診療
	大石 晃嗣	三重大学医学部附属病院 輸血部 部長、講師	アフェレーシスの管理
	濱田 康彦	三重大学医学部附属病院 光学医療診療部 助教	試験登録患者の診療
	白石 泰三	三重大学大学院医学系研究科 基礎医学系講座 腫瘍病理学 教授	病理組織学的診断
	佐藤 永一	東京医科大学 人体病理学講座 助教	病理組織学的診断
	大谷 明夫	独立行政法人国立病院機構 水戸医療 センター 病理診断科 臨床研究部長	病理組織学的診断
外部 協力 者	峰野 純一	タカラバイオ株式会社 細胞・遺伝子治療センター センター長	ウイルスベクターに関する基礎的助言 及び遺伝子導入Tリンパ球調製技術の 提供と助言、遺伝子導入細胞製剤の体 内動態検査、RCR検査及びLAM-PCR に関する技術提供

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。)  
該当なし

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。)  
該当なし

5. 倫理審査委員会の見解

倫理審査委員会の 見	<p>本遺伝子治療臨床研究については、平成26年3月28日に遺伝子治療臨床研究 終了報告を行っている。</p> <p>今回の死亡例については、原病の食道癌の増悪が死因であり、二次発癌、血 液細胞の異常増殖（細胞クローナリティ）は認めていない。よって、本例では 遺伝子治療との因果関係は認められないものと判断する。</p> <p>今後も本遺伝子治療臨床研究の生存被験者2例のフォローアップと安全性の 確認に努めるよう、研究実施者に要望する。</p>	
	<p>倫理審査委員会の長の職名</p> <p>三重大学医学部附属病院 遺伝子治療臨床研究審査委員会 委員長 三重大学医学部附属病院 中央検査部・オーダーメイド医療部・ 遺伝子診療科 教授</p>	<p>氏 名</p> <p>中谷 中 </p>

6. 重大事態等の概要

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>本臨床研究は、標準的な治療法（化学療法、放射線療法等）による効果が期待 できない治療抵抗性の食道癌患者を対象として、腫瘍抗原MAGE-A4を HL A-A2402存在下で特異的に認識するT細胞受容体（TCR）α鎖及びβ鎖の遺伝子を レトロウイルスベクターにより遺伝子導入した自己リンパ球（TCR遺伝子導入）</p>	

	<p>ンパ球) 輸注について、その安全性、体内動態及び臨床効果を以下のエンドポイントにより評価することとする。</p> <p>① 主要エンドポイント</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>・本遺伝子治療の安全性 〔有害事象、臨床検査、増殖性レトロウイルス(RCR)、linear amplification mediated-PCR (LAM-PCR) 〕</li> </ul> <p>② 副次エンドポイント</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>・TCR遺伝子導入リンパ球の血中動態及び腫瘍組織への浸潤</li> <li>・腫瘍特異的免疫反応</li> <li>・腫瘍縮小効果</li> </ul>
対象疾患及びその選定理由	標準的な治療法(化学療法、放射線療法等)による効果が期待できない治療抵抗性の食道癌。選定理由は別紙の通り。
実施方法	<p>治療抵抗性食道癌患者より一次登録時の選択基準・除外基準に適合する患者を選定し、本臨床研究への一次登録を行った。アフェレーシスにて採取した自己PBLにMAGE-A4<sub>143-151</sub>ペプチドを認識するTCRα鎖及びβ鎖遺伝子をレトロウイルスベクターにて導入し、得られたTCR遺伝子導入リンパ球をex vivo培養し、一旦凍結保存した。TCR遺伝子導入リンパ球の調製を終了し、安全性を確認した時点で、二次登録時の選択基準・除外基準に適合する患者を選定し、本臨床研究への二次登録を行った。</p> <p>TCR遺伝子導入リンパ球(単回投与)を経静脈的に投与した。TCR遺伝子導入リンパ球投与日を0日として14日目及び28日目の2日間の計2回、1日投与量300µgのMAGE-A4<sub>143-151</sub>ペプチドと不完全フロイントアジュバントとの懸濁液を、皮下投与した。</p> <p>追跡調査を行った後、本遺伝子治療の安全性(有害事象、臨床検査、RCR、LAM-PCR)、TCR遺伝子導入リンパ球の血中動態及び腫瘍組織への浸潤、腫瘍特異的免疫反応及び腫瘍縮小効果を評価した。</p>
重大事態等の発生時期	平成28年2月4日
重大事態等の内容及びその原因	<p>内容 被験者死亡</p> <p>原因 気道内出血(食道癌増悪による)</p> <p>経過</p> <p>1. 遺伝子治療実施までの経過</p> <p>71歳(死亡時)男性。2005年12月に食道癌発症、臨床病期Ⅲ(T3N2M0)の進行期、病理診断は扁平上皮癌であった。初期治療は放射線及び化学療法(シスプラチン、5FU)を施行して完全縮小した。2010年8月～11月にかけて縦隔リンパ節が徐々に増大し、2011年8月には増大が著明となり、生検にて食道癌転移が判明したため、化学療法(シスプラチン、5FU)を2コース実施した。この時点で治療抵抗性食道癌と判断し、三重大学医学部附属病院内の遺伝子治療臨床研究審査委員会での適格判定を経て、2011年10月17日に本遺伝子治療臨床研究に一次登録された。同年10月26日に成分採血を実施、TCR遺伝子導入Tリンパ球の調製を行った。その後、化学療法(シスプラチン、5FU)、放射線治療を施行して腫瘍の縮小を認めたが、残存が認められたため、遺伝子治療実施に問題ないと判断し、二次登録後、2012年3月6日にTCR遺伝子導入Tリンパ球輸注を実施した。</p> <p>また、TCR遺伝子導入Tリンパ球投与2週間後、及び4週間後にMAGE-A4 143-151抗原ペプチド300 µgとMontanide™ ISA 51VGの懸濁液を皮下投与した。</p> <p>2. 遺伝子治療実施後の経過</p> <p>遺伝子治療実施後、治療に関連する有害事象は観察されず、2012年5月8日に安全性評価を行い、遺伝子治療については安全と判断し、臨床試験を終了した。その後は抗原ペプチド300 µgとMontanide™ ISA 51VGの懸濁液の皮下投与を</p>

	<p>2014年6月10日まで毎月行った。</p> <p>2013年12月のCT検査にて、右肺門リンパ節に転移病変が指摘され、再発と判断した。無症状であり、本人の希望に沿い、積極的治療は行わず、経過観察とした。腫瘍は徐々に増大を来した。そのため、2014年7月より化学療法（パクリタキセル）を実施したが、不整脈が出現し、10月中止となった。</p> <p>同年11月に医師主導治験TBI-1201「化学療法剤投与による前処置後のMAGE-A4抗原特異的TCR遺伝子導入Tリンパ球輸注による固形癌を対象とした多施設共同臨床第I相医師主導治験」に参加し、2015年1月19日にTCR遺伝子導入リンパ球輸注が実施された。本治験での安全性に問題なく、治験は終了した。なお、増殖性レトロウイルスと細胞異常増殖（細胞クロナリティ）は検出されなかった。</p> <p>しかし、食道癌転移病変の経過は悪化を辿り、2015年8月より抗PD-L1抗体の治験を大阪大学で受けた。安全性には問題なかったが、現病の悪化のため、同年11月に治験は中断された。比較的症状に乏しく、以降は無治療で自宅療養を続けていたが、2016年1月から、呼吸器症状（咳、痰）が現れ、緩和ケアを近医で受けていた。</p> <p>2016年2月4日、三重大学医学部附属病院に検査目的にて訪れたところ、受付前に突然大量喀血を来し心肺停止状態となった。同院救命救急センターにて心肺蘇生を実施したが、効なく同日死亡した。死後、剖検を行った。剖検時所見では、気管、左右気管支は血液で充満され、左気管支には腫瘍が露出していた。同部からの気道内出血による窒息が死因と推定された。</p> <p>3. 遺伝子治療との関連</p> <p>初回遺伝子治療実施後、3年11か月後の食道癌増悪による気道内出血による死亡である。遺伝子治療臨床研究終了後において、遺伝子導入Tリンパ球による関連有害事象は観察されなかった。また、2015年3月まで増殖性レトロウイルスと細胞異常増殖（細胞クロナリティ）は観察されなかった。以上より、遺伝子治療との関連はないものとする。</p>
その後の対応状況	<p>本遺伝子治療の安全性の確認</p> <p>本遺伝子治療臨床研究では、本例を含め10例の食道癌に対して遺伝子治療を実施した。全例において重篤な治療関連有害事象は観察されず、増殖性レトロウイルスと細胞異常増殖（細胞クロナリティ）も観察されていない。現在生存2例においては、今後も経過観察、定期検査を継続していく。</p>

備考 共同研究機関の実施状況等	該当なし
--------------------	------

(注意)

1. 用紙の大きさは、日本工業規格A列4番とすること。
2. この報告書は、正本1通及び副本2通を提出すること。
3. 字は墨・インク等を用い、楷書ではっきり書くこと。
4. 各項目数行程度で簡潔に記載すること。記載欄に記載事項のすべてを記載できない時は、その欄に「別紙（ ）のとおりに」と記載し、別紙を添付すること。
5. 多施設共同臨床研究に該当する場合は、備考欄に共同研究機関における本重大事態等への対応状況を記載すること。

## 別紙

### 他の治療法との比較及び遺伝子治療を選択した理由

治療抵抗性食道癌に対する根治療法は現時点では存在せず、栄養管理や QOL 向上のための緩和医療を行っているのが現状である。

食道癌に対する抗癌剤以外の治療として、分子標的治療の開発が期待されている。本邦に多い食道癌と同じ扁平上皮癌である頭頸部癌を適応として、上皮細胞成長因子受容体 (epidermal growth factor receptor: EGFR) 阻害剤である Cetuximab が、米国食品医薬品局 (Food and Drug Administration: FDA) により承認されている。食道癌における EGFR の発現率が頭頸部癌に次いで非常に高いことから、食道癌に対する分子標的治療の開発が期待されているが、臨床研究結果の報告はない。このような現状において、食道癌に発現する腫瘍抗原を標的とした新規治療の開発が期待される。

腫瘍抗原を標的とした免疫療法の 1 つとして、抗腫瘍活性を有する自己 T リンパ球を投与する細胞療法が積極的に研究されており、複数の臨床試験において有効例が報告されている。中でも、米国国立衛生研究所 (National Institutes of Health: NIH) の Rosenberg SA らのグループは、転移性悪性黒色腫患者を対象とした臨床試験において、体外で増殖させた腫瘍浸潤リンパ球 (tumor infiltrating lymphocyte: TIL) を患者に再移入する養子免疫療法を実施し、RECIST ガイドラインによる判定として 51% の腫瘍縮小効果を報告している。

このように、体外で増殖させた腫瘍抗原反応性 T リンパ球の再移入による抗腫瘍効果が報告されているが、投与細胞が体内での腫瘍細胞に対する傷害活性を発揮させるために、これまで通常  $10^8 \sim 10^{11}$  個の細胞が投与され、生体内での一定期間の維持が確認された。このような細胞数を準備するために、これまで、体外での抗原刺激、オルソクローン OKT3 (Orthoclone OKT3: OKT3) 及びインターロイキン 2 (interleukin 2: IL-2) 等を用いて T リンパ球を活性化し、2~3 週間培養して増殖させたものが用いられてきた。投与細胞としては、複数のクローンを含む腫瘍浸潤リンパ球 (tumor-infiltrating lymphocyte: TIL)、又は患者自己末梢血リンパ球あるいは TIL から樹立された腫瘍抗原反応性 T 細胞クローンが用いられてきた。しかし、これらの方法では患者自身の病態により細胞入手可能例がごく少数に限られ、また、十分量の細胞数を得られない症例もあり、実際の治療応用には多くの制限がある。

これら養子免疫療法における従来の細胞調製法と比較して、本遺伝子治療では、HLA-A2402 陽性患者の T リンパ球に MAGE-A4 特異的 TCR 遺伝子を導入することによって、腫瘍細胞に対する傷害活性を付与するものであり、必要量の MAGE-A4 抗原特異的 T リンパ球を調製することが可能である。実際に、当施設で調製された MAGE-A4 TCR 遺伝子導入リンパ球は、MAGE-A4 陽性・HLA-A2402 陽性のヒト腫瘍細胞株に対して特異的な細胞傷害活性を示すことが *in vitro* において確認されている。また、免疫不全マウスに MAGE-A4 陽性・HLA-A2402 陽性のヒト腫瘍細胞株を接種したモデル実験において、TCR 遺伝子導入ヒトリン

パ球投与群に特異的な腫瘍径増大の抑制効果が認められた。なお、上記の NIH Rosenberg SA らのグループは、腫瘍抗原 MART-1 特異的 TCR 遺伝子を導入した T リンパ球を投与した臨床試験において、悪性黒色腫患者 17 名中 2 名について転移腫瘍巣の明らかな退縮を観察しており、この戦略が有望な新規癌治療法となる可能性を示唆している。更に、同グループは、高親和性ヒト MART-1 特異的 TCR 遺伝子 (DMF5)、又はマウス由来の gp100 特異的 TCR 遺伝子 (gp100 (154)) を導入した T リンパ球を使用することにより、悪性黒色腫患者 36 名中 9 名について腫瘍退縮を観察している。

以上より、本研究で実施を計画している遺伝子治療は、患者自己末梢血リンパ球から腫瘍傷害性 T リンパ球を大量に調製する方法を基礎としており、将来他の癌種への応用により幅広い患者を対象とすることが期待される。本臨床研究では、大量調製された腫瘍傷害性 T リンパ球の安全性、体内動態及び臨床効果を評価することを計画している。

以上