

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）・教授	ウイルスベクター力価の測定
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	C T L 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
審査委員会が研究計画の実施を適当と認める理由	別紙のとおり（末尾に添付）	
	審査委員会の長の職名	氏 名
	岡山大学医学部・歯学部附属病院 遺伝子治療臨床研究審査委員会委員長	伊達 勲 (印)

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、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 a) 安全性の検討 (最大耐量の推定) を確認することを本試験の主な目的とする (主要エンドポイント)。また腫瘍免疫を中心とした 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 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する (副次エンドポイント)。 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) 病巣内に直接投与する。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分子生物学的効果、免疫学的効果、ベクターの感染、mRNA レベル及びたんぱく質レベルでの IL-12 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 相試験である。 本臨床研究は米国ペ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、直接供給される。	
対象患者及びその選定理由	1. 対象疾患 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、以下の3カテゴリーに分類する。 ①. 内分泌療法抵抗性局所再燃前立腺癌: (非転移症例) 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。 ②. 内分泌療法抵抗性転移性再燃前立腺癌: (有転移症例) 前立腺全摘出術の有無により、2カテゴリーに分類する。 ②-1: 前立腺全摘出手術未施行例 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。 ②-2: 前立腺全摘出手術施行例 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。 2. 対象疾患の選定理由 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。 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。 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 γ 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いての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 <i>in vitro</i> および <i>in vivo</i> 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 (<i>in situ</i> 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。
遺伝子の種類及びその導入方法	1. ヒトに導入する IL-12 遺伝子の構造、性質、活性 (遺伝子の構造) 導入を企図する遺伝子は、インターロイキン 12 (Interleukin-12: IL-12) たんぱく質の全ての翻訳領域を含む遺伝子である。サイトメガロウイルス・プロモーター (CMV) 配列、IL-12 遺伝子、シミアンウイルス 40 (SV40)・ポリ A シグナルからなる IL-12 遺伝子発現カセットを、E1 領域を欠き複製能力を持たないヒトアデノウイルス 5 型ベクターに組み込み、組換えアデノウイルスベクターを作製した。このアデノウイルスベクターを、E1 遺伝子導入ヒト胎児腎細胞 293 への感染により増殖させ、塩化セシウム (CsCl) を用いた超遠心にて精製したロットを臨床研究に用いる。IL-12 遺伝子発現アデノウイルスベクターを腫瘍組織内に直接注射することにより IL-12 遺伝子を導入する。アデノウイルスベクターは高力価の濃縮ベクター液を調製することが可能であり、またアデノウイルスベクターの高い遺伝子導入効率は腫瘍内直接投与に適していると思われる。 (IL-12 遺伝子の生物活性) IL-12 は分子量約 70kDa (p70) の糖蛋白質で、1 個の分子内ジスルフィド結合により結ばれた分子量各 40kDa (p40) と 35kDa (p35) の互いに相同性のない 2 つのサブ