

遺伝子治療臨床研究実施計画書

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」

三重大学医学部附属病院

第 1.2 版：平成 21 年 3 月 5 日作成

記号・略号一覧表

記号・略号	一般名等
ALT	alanine aminotransferase (GPT) (アラニンアミノトランスフェラーゼ)
APTT	activated partial thromboplastin time (活性化部分トロンボプラスチン時間)
AST	aspartate aminotransferase (GOT) (アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ)
BUN	blood urea nitrogen (尿素窒素)
cDNA	complementary DNA (相補的 DNA)
CDR	complementarity determining region (相補性決定領域)
CEA	carcinoembryonic antigen (癌胎児性抗原)
Cr	creatinine (クレアチニン)
CRP	C reactive protein (C 反応性蛋白)
CT	computed tomography (コンピューター断層撮影)
CTL	cytotoxic T lymphocyte (細胞傷害性 T リンパ球)
D-bil	direct bilirubin (直接ビリルビン)
DNA	deoxyribonucleic acid (デオキシリボ核酸)
EGFR	epidermal growth factor receptor (上皮細胞成長因子受容体)
ELISPOT	enzyme-linked immunospot
Fbg	fibrinogen (フィブリノゲン)
FDA	Food and Drug Administration (《米》食品医薬品局)
FDP	fibrin degradation products (フィブリン分解産物)
GaLV	Gibbon ape leukemia virus
GMP	Good Manufacturing Practice (医薬品の製造管理及び品質管理に関する基準)
GVHD	graft-versus-host disease (移植片対宿主病)
HBV	hepatitis B virus (B 型肝炎ウイルス)
HCV	hepatitis C virus (C 型肝炎ウイルス)
HIV	human immunodeficiency virus (ヒト免疫不全ウイルス)
HLA	human leukocyte antigen (ヒト白血球抗原)
HSA	human serum albumin (ヒト血清アルブミン)
HTLV-1	human T-lymphotrophic virus type 1 (ヒト T 細胞向性ウイルス 1 型)
ICH	International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use (日米 EU 医薬品規制調和国際会議)

IL-2	interleukin 2 (インターロイキン 2)
ITAM	immunoreceptor tyrosine-based inhibitory motif
LAM-PCR	linear amplification mediated-PCR
LTR	long terminal repeat (末端反復配列)
MAGE-A4	melanoma associated antigen-A4
MART-1	melanoma antigen recognized by T cells-1 (メラノーマ抗原-1)
MCB	master cell bank (マスターセルバンク)
MHC	major histocompatibility complex (主要組織適合抗原)
MLV	murine leukemia virus (マウス白血病ウイルス)
MoMLV	Moloney murine leukemia virus (モロニーマウス白血病ウイルス)
MSCV	murine stem cell virus (マウス幹細胞ウイルス)
NCI	National Cancer Institute (《米》国立癌研究所)
NIH	National Institutes of Health (《米》国立衛生研究所)
OKT3	Orthoclone OKT3 (オルソクローン OKT3: 抗 CD3 抗体)
PBL	peripheral blood lymphocyte (末梢血リンパ球)
PBMC	peripheral blood mononuclear cell (末梢血単核球)
PCMV	PCC4-cell-passaged myeloproliferative sarcoma virus
PCR	polymerase chain reaction (ポリメラーゼ連鎖反応)
PET	positron emission tomography (陽電子放出断層撮影)
PGK	phosphoglycerate kinase (ホスホグリセリンキナーゼ)
PR	partial response (部分奏効)
PT	prothrombin time (プロトロンビン時間)
QOL	quality of life (クオリティ・オブ・ライフ: 生活の質)
RCR	replication competent retrovirus (増殖性レトロウイルス)
rhIL-2	recombinant human interleukin 2 (組換えヒトインターロイキン 2)
SCC	squamous cell carcinoma related antigen (扁平上皮癌関連抗原)
T-bil	total bilirubin (総ビリルビン)
TCR	T cell receptor (T 細胞受容体)
TIL	tumor-infiltrating lymphocyte (腫瘍浸潤リンパ球)
TRALI	transfusion-related acute lung injury (輸血関連急性肺障害)
UA	ureic acid (尿酸)

目 次

	頁
I. 遺伝子治療臨床研究の名称	9
II. 総括責任者及びその他の研究者の氏名並びに当該遺伝子治療臨床研究において果たす役割	10
II.1 総括責任者の氏名	10
II.2 総括責任者以外の研究者の氏名及びその担当する役割	10
III. 実施施設の名称及びその所在地	12
IV. 遺伝子治療臨床研究の目的	13
V. 遺伝子治療臨床研究の対象疾患及びその選定理由	14
V.1 研究の区分	14
V.2 対象疾患に関する現時点での知見	14
V.3 当該遺伝子治療臨床研究の概要	14
V.4 他の治療法との比較及び遺伝子治療を選択した理由	15
V.5 MAGE-A4 ₁₄₃₋₁₅₁ ペプチド投与を併用する理由	16
V.5.1 MAGE-A4 ₁₄₃₋₁₅₁ ペプチド投与の根拠	16
V.5.2 MAGE-A4 ₁₄₃₋₁₅₁ ペプチド投与量の設定根拠	17
VI. 遺伝子の種類及びその導入方法	18
VI.1 人に導入する遺伝子の構造と性質	18
VI.1.1 人に導入する遺伝子の構造	18
VI.1.1.1 T細胞受容体 (TCR) α 鎖遺伝子	18
VI.1.1.2 T細胞受容体 (TCR) β 鎖遺伝子	20
VI.1.2 人に導入する遺伝子の性質	22
VI.1.3 導入遺伝子からの生成物の構造及びその生物活性	23
VI.2 本計画で使用するその他の組換え DNA の構造と性質	24
VI.3 標的細胞とした細胞の由来及び生物学的特徴並びに当該細胞を標的細胞とした理由	24
VI.4 遺伝子導入方法の概略及び当該導入法を選択した理由	24
VI.4.1 遺伝子導入方法の概略	24
VI.4.2 当該導入法を選択した理由	24
VI.4.3 レトロウイルスベクターの選択根拠	25
VI.5 ウイルスベクターを用いた遺伝子導入	25
VI.5.1 野生型ウイルスの生物学的特徴及び人に対する影響	25
VI.5.2 ウイルスベクターの作製方法	26
VI.5.2.1 ウイルスプラスミドベクター pMS-bPa の構築	26

VI. 5. 2. 2 パッケージング細胞株の構築	33
VI. 5. 2. 3 ウイルス産生細胞株の構築	33
VI. 5. 2. 4 レトロウイルスベクターMS-bPa の製造	34
VI. 5. 3 ウイルスベクターの構造	34
VI. 5. 4 ウイルスベクターの生物学的特徴	34
VII. 安全性についての評価（ウイルスベクター、遺伝子産物、細胞及びペプチド）	35
VII. 1 遺伝子導入方法の安全性	35
VII. 1. 1 遺伝子導入に用いるウイルスベクターの純度	35
VII. 1. 1. 1 MCB の作製法	35
VII. 1. 1. 2 レトロウイルスベクターMs-bPa の製造方法	36
VII. 1. 2 患者に投与する物質の純度及びその安全性	38
VII. 1. 3 増殖性ウイルス出現の可能性	38
VII. 1. 3. 1 レトロウイルスベクターの安全性	38
VII. 1. 3. 2 パッケージング細胞の安全性	39
VII. 1. 4 遺伝子導入に用いるウイルスベクターの細胞傷害性	42
VII. 1. 5 体内の標的細胞以外の細胞への遺伝子導入の可能性	42
VII. 1. 6 患者以外の人に遺伝子が導入される可能性	43
VII. 1. 7 染色体内へ遺伝子が組み込まれる場合の問題点	43
VII. 1. 8 癌原性の有無	43
VII. 2 遺伝子産物の安全性	44
VII. 3 細胞の安全性	45
VII. 3. 1 遺伝子導入細胞の調製方法	45
VII. 3. 2 培養細胞の純度	48
VII. 3. 3 細胞の遺伝子型、表現型の安定性	48
VII. 3. 4 被験者に投与する細胞の安全性	50
VII. 4 ペプチドの安全性	51
VII. 4. 1 MAGE-A4 ₁₄₃₋₁₅₁ ペプチドの純度	51
VII. 4. 2 MAGE-A4 ₁₄₃₋₁₅₁ ペプチドの安全性	51
VIII. 遺伝子治療臨床研究の実施が可能であると判断した理由	52
IX. 遺伝子治療臨床研究の実施計画	54
IX. 1 遺伝子治療臨床研究を含む全体の治療計画	54
IX. 1. 1 本臨床研究の実施に際し三重大学医学部附属病院内に設置される委員会	54
IX. 1. 1. 1 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	54

IX. 1. 1. 2 遺伝子治療臨床研究遺伝子製剤検証部会	54
IX. 1. 2 本臨床研究の実施手順	55
IX. 2 被験者の選択基準及び除外基準	56
IX. 2. 1 一次登録	56
IX. 2. 1. 1 選択基準（一次登録）	56
IX. 2. 1. 2 除外基準（一次登録）	57
IX. 2. 2 二次登録	58
IX. 2. 2. 1 選択基準（二次登録）	58
IX. 2. 2. 2 除外基準（二次登録）	58
IX. 3 被験者の同意の取得方法	59
IX. 4 実施期間及び目標症例数	61
IX. 5 遺伝子治療臨床研究の実施方法	61
IX. 5. 1 対照群の設定方法	61
IX. 5. 2 遺伝子導入方法	62
IX. 5. 2. 1 PBMC の採取	62
IX. 5. 2. 2 TCR 遺伝子導入リンパ球の調製	62
IX. 5. 2. 3 TCR 遺伝子導入リンパ球の投与	62
IX. 5. 3 前処置及び併用療法の有無	62
IX. 5. 3. 1 前処置	62
IX. 5. 3. 2 MAGE-A4 ₁₄₃₋₁₅₁ ペプチド投与	63
IX. 5. 3. 3 併用禁止療法及び併用禁止薬	63
IX. 5. 4 臨床検査項目及び観察項目	63
IX. 5. 5 予測される副作用及びその対処方法	71
IX. 5. 5. 1 アフェレーシスに伴う副作用	71
IX. 5. 5. 2 TCR 遺伝子導入リンパ球輸注に伴う副作用	71
IX. 5. 5. 3 ペプチド投与に伴う副作用	72
IX. 5. 6 遺伝子治療臨床研究の評価方法、評価基準及び中止判定基準	73
IX. 5. 6. 1 主要評価項目	73
IX. 5. 6. 2 副次的評価項目	74
IX. 5. 6. 3 中止基準	76
IX. 5. 7 有害事象が発現した場合の措置	77
IX. 5. 7. 1 有害事象が発現した場合	77
IX. 5. 7. 2 重篤な有害事象が発現した場合	77
IX. 5. 8 症例記録に関する記録用紙等の様式	77
IX. 5. 9 記録の保存及び成績の公表の方法	77

IX. 5. 10 個人情報の保護の徹底	77
IX. 5. 10. 1 個人情報保護に関する責務	77
IX. 5. 10. 2 個人情報の取得と利用に関する制限	78
IX. 5. 10. 3 個人情報保護に関する安全管理措置	79
IX. 5. 10. 4 第三者提供の制限	80
IX. 5. 10. 5 個人情報の開示、訂正、利用停止等	80
X. その他必要な事項	82
X. 1 遵守する法令/省令等	82
X. 2 引用文献	83
X. 3 検査・観察スケジュール	89
X. 4 TNM 病期分類 (TNM Classification of Malignant Tumours)	90
X. 5 Performance Status (Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG))	91
X. 6 RECIST ガイドライン (Response Evaluation Criteria In Solid Tumors)	92
X. 7 同意・説明文書	94

<実施計画書に添付すべき資料>

遺伝子治療臨床計画実施計画書添付資料

- I 研究者の略歴及び研究業績
- II 実施施設の施設設備の状況
- III 実施施設における当該遺伝子治療臨床研究に関する培養細胞、実験動物を用いた研究成果
- IV 遺伝子治療臨床研究に関する実施施設以外の内外の研究状況
- V その他必要な資料

<参考資料>

- 参考資料 1: レトロウイルスベクターMS-bPa の全塩基配列
- 参考資料 2: マスターセルバンクの作製方法
- 参考資料 3: マスターセルバンク試験成績書
- 参考資料 4: マスターセルバンクの品質試験
- 参考資料 5: レトロウイルスベクターMS-bPa の製造方法
- 参考資料 6: 製造施設 (位置・構造設備)
- 参考資料 7: レトロウイルスベクター試験成績書
- 参考資料 8: レトロウイルスベクターMS-bPa の品質試験
- 参考資料 9: SEPPIC 社 MONTANIDE™ 資料

参考資料 10 : 遺伝子導入細胞調製に使用する培地等の資料

参考資料 11 : 遺伝子導入細胞試験成績書

参考資料 12 : 遺伝子導入調製細胞構成

参考資料 13 : FDA CBER CTGTAC, March 4, 2005. Table 1

参考資料 14 : 遺伝子導入リンパ球の品質試験

参考資料 15 : ペプチド製造工程・品質試験報告書

参考資料 16 : ラット単回皮下投与急性毒性試験

参考資料 17 : MAGE-A4 抗原発現検査プロトコール

I. 遺伝子治療臨床研究の名称

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

II. 総括責任者及びその他の研究者の氏名並びに当該遺伝子治療研究において果たす役割

II.1 総括責任者の氏名

珠玖 洋

三重大学名誉教授 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 教員
遺伝子治療臨床研究の総括

II.2 総括責任者以外の研究者の氏名及びその担当する役割

氏名	所属	役職	役割分担
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
日浅 厚則	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	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
池田 裕明	三重大学大学院医学系研究科 がんワクチン講座	准教授	遺伝子導入細胞製剤の体内動態及び免疫反応の評価
西川 博嘉	三重大学大学院医学系研究科 がんワクチン講座	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
片山 直之	三重大学大学院医学系研究科 病態制御医学講座 造血病態内科学 三重大学医学部附属病院 血液内科、腫瘍・免疫内科	教授 科長	試験登録患者の診療
中瀬 一則	三重大学医学部附属病院 がんセンター	准教授 センター長	試験登録患者の診療
梶屋 正浩	三重大学大学院医学系研究科 病態制御医学講座 造血病態内科学	准教授	試験登録患者の診療
水野 聡朗	三重大学大学院医学系研究科 病態制御医学講座 腫瘍・免疫内科学	助教	試験登録患者の診療

北野 滋久	三重大学医学部附属病院 腫瘍・免疫内科	医員	試験登録患者の診療、遺伝子導入細胞製剤の体内動態及び免疫反応の評価
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
田中 匡介	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 病態解明医学講座 腫瘍病態解明学	教授	病理組織学的診断
佐藤 永一	東京医科大学 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 研究検査科	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
-------	----------------------------	-----------	---

Ⅲ. 実施施設の名称及びその所在地

名称：三重大学医学部附属病院

所在地：三重県津市江戸橋二丁目 174 番地

TEL：059-232-1111 FAX：059-321-5276

IV. 遺伝子治療臨床研究の目的

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 HLA-A2402 存在下で特異的に認識する T 細胞受容体（T cell receptor : 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 遺伝子導入リンパ球）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を目的とする。

① 主要エンドポイント

- 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（replication competent retrovirus : RCR）、linear amplification mediated-PCR (LAM-PCR)〕

② 副次エンドポイント

- 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
- 腫瘍縮小効果

V. 遺伝子治療臨床研究の対象疾患及びその選定理由

V.1 研究の区分

遺伝子治療臨床研究

遺伝子標識臨床研究

V.2 対象疾患に関する現時点での知見

食道癌は60歳代男性に多くみられる疾患であり、本邦での年間罹患数（1999年、年齢調整）は男性12,402人、女性2,428人、死亡数（2003年、年齢調整）は男性9,397人、女性1,651人である（文献1：以下(1)と略す）。

食道癌の発生因子として、喫煙、飲酒及び熱い飲食物の嗜好が密接に関係するといわれている。また、アルコール代謝酵素の遺伝子多型と強く関連し、アルコールの第一代謝産物であるアセトアルデヒドの蓄積が原因である可能性が示唆されている(2)。

本邦の食道癌の特徴として、扁平上皮癌が全体の90%以上を占め、また、発生部位が胸部中部食道に多く、欧米の下部食道に多く発生する腺癌とは異なっている。食道癌は縦隔等へ浸潤傾向が強く、また、早期からリンパ節転移をきたす治療困難例が多いため、予後不良癌とされている。

食道癌の治療法はその進行度により、内視鏡的粘膜切除、手術、放射線療法及び化学療法から選択される。近年、食道癌の治療成績は手術や補助療法の進歩により改善が得られているが、全国食道癌登録調査報告書によれば、全体の5年生存率〔TNM病期分類（X.4「TNM病期分類」参照）〕は、0期：70.2%、I期：64.5%、IIa期：51.5%、IIb期：34.0%、III期：19.8%、IVa期：13.7%、IVb期：5.5%と未だ予後不良である(3)。

現在、病期進行食道癌に対する治療法として、シスプラチン（CDDP：白金系抗腫瘍剤）/5-フルオロウラシル（5-FU：葉酸代謝拮抗剤）による化学療法と放射線療法の併用療法（化学放射線療法）が標準的治療法として選択されているが、無効例も少なくない。また、CDDP/5-FUの他、ドセタキセルやパクリタキセル（本邦では食道癌の適応未承認）等のタキソイド系製剤の併用が検討されている。

食道癌では、初回治療が適正に行われたにもかかわらず再発を認めることが多く、再発食道癌に対する治療法は、現在のところ一定の見解が得られていない。その治療にあたっては、もっぱら延命効果の期待あるいは患者の生活の質（quality of life：QOL）改善を目的とし(4)、再発食道癌の50%生存期間は約6ヶ月とされている。

V.3 当該遺伝子治療臨床研究の概要

本臨床研究では、治療抵抗性の食道癌患者〔ヒト白血球抗原（human leukocyte antigen：HLA）-A2402陽性、腫瘍組織中にMAGE-A4が発現〕から採取した末梢血リンパ球に、MAGE-A4