

遺伝子治療臨床研究実施計画の 変更報告及び終了報告について

(変更報告)

○ 九州大学病院からの変更報告書P 1

課題名：血管新生因子（線維芽細胞増殖因子：FGF-2）遺伝子搭載非
伝播型組換えセンダイウイルスベクターによる慢性重症虚血
肢（閉塞性動脈硬化症、バージャー病）

(終了報告)

○ 東北大学病院からの終了報告書P15

課題名：非小細胞肺癌に対する正常型 p53 遺伝子発現アデノウイルス
ベクター及びシスプラチン(CDDP)を用いた遺伝子治療臨床
研究（※多施設共同研究）

○ 東京医科大学病院からの終了報告書P27

課題名：非小細胞肺癌に対する正常型 p53 遺伝子発現アデノウイルス
ベクター及びシスプラチン(CDDP)を用いた遺伝子治療臨床
研究（※多施設共同研究）

○ 岡山大学医学部・歯学部附属病院からの終了報告書P41

課題名：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

○ 大阪大学医学部附属病院からの終了報告書P53

課題名：HGF 遺伝子プラスミドを用いた末梢性血管疾患（慢性閉塞性
動脈硬化症・ビュルガー病）の治療のための遺伝子治療臨床
研究

〔・別紙 最終報告書 P59～
・添付資料 1 治療成績のまとめ ―抜粋― P67～
・添付資料 2 安全性・有効性評価結果 最終報告書 ―抜粋― P99～〕

遺伝子治療臨床研究実施計画変更報告書

平成18年7月4日

厚生労働大臣 殿

実施 施設	所在地	福岡市東区馬出3丁目1-1 (郵便番号 812-8582)
	名称	九州大学病院 (電話番号: 092-642-3436 (消化器・総合外科医局)) (FAX 番号: 092-642-9489 (消化器・総合外科医局))
	代表者 役職名・氏名	九州大学病院長・ 水田 祥代 (職印)

下記の遺伝子治療臨床研究について、別添のとおり実施計画を変更したことを報告します。

遺伝子治療臨床研究の課題名	総括責任者の所属・職・氏名
血管新生因子（線維芽細胞増殖因子：FGF-2）遺伝子搭載 非伝播型組換えセンダイウイルスベクターによる慢性重 症虚血肢（閉塞性動脈硬化症、バジャー病）に対する血 管新生遺伝子治療臨床研究	九州大学病院 第2外科・科長 九州大学大学院医学研究院 消化器・総合外科学・教授 前原 喜彦

別紙様式第2の別添

遺伝子治療臨床研究実施計画変更報告書

受付番号	(初回申請年月日)
	平成14年10月28日

研究の名称	血管新生因子(線維芽細胞増殖因子: FGF-2) 遺伝子搭載非伝播型組換えセンダイウイルスベクターによる慢性重症虚血肢(閉塞性動脈硬化症、バージャー病) に対する血管新生遺伝子治療臨床研究
研究実施期間	平成18年1月31日(承認日) から 平成21年1月31日(36ヶ月間) まで

総括責任者	所属部局の所在地	福岡市東区馬出3丁目1-1 (郵便番号 812-8582)	
	所属機関・部局・職	九州大学病院 第2外科・科長 九州大学大学院医学研究院 消化器・総合外科学・教授	
	氏 名	前原 喜彦 (まえはら よしひこ) 	
実施の場所	所在地	福岡市東区馬出3丁目1-1 (郵便番号 812-8582)	
	名称	九州大学病院 第2外科病棟、遺伝子治療室	
	連絡先	福岡市東区馬出3丁目1-1 (電話番号 092(642)5461)	
総括責任者以外の研究者	氏 名	所 属 機 関 ・ 部 局 ・ 職	役 割
	居石 克夫	九州大学大学院医学研究院・病理病態学 ・ 教授	副総括責任者、基礎分野、臨床研究の評価と総括
	砂川 賢二	九州大学大学院医学研究院・循環器内科学 ・ 教授	副総括責任者、臨床分野、臨床研究の評価と総括
	小野原俊博	九州大学病院・第2外科 ・ 講師	臨床研究の実施、臨床分野からの研究計画の推進
	江頭 健輔	九州大学大学院医学研究院・循環器内科学 ・ 助教授	臨床分野からの研究計画の推進
	米満 吉和	九州大学大学院医学研究院・特任教員 ・ 教授	ベクターの設計、構築、管理、基礎分野からの研究計画の推進
	協力研究者	(九州大学病院) 本田 浩 (放射線科・教授)、高橋成輔 (麻酔科蘇生科・教授)、 井口 博之 (第2外科・医員)、池田康博 (眼科・助手) (九州大学大学院医学研究院) 柳 雄介 (ウイルス学・教授)、中川和憲 (病理病態学・講師)、 岡野慎士 (病理病態学・助手)、 鬼丸満穂 (病理病態学・助手)、高野壮史 (大学院生)、 藤井孝明 (大学院生)、吉田久美 (大学院生)、 (外部研究協力者) 永井美之 (理化学研究所感染症研究ネットワークセンター長・名古屋大学名誉教授) 古森公浩 (名古屋大学血管外科・教授)、今泉勉 (久留米大学第3内科・教授) 室原豊明 (名古屋大学器官制御内科・教授) 加藤 篤 (国立感染症研究所・ムンプス感染研究部・室長) 長谷川護 (ディナベック株式会社・代表取締役社長)	

審査委員会 の開催状況及び実 施計画書の変更を 適当と認める理由	九州大学遺伝子治療臨床研究審査専門委員会では、提出された実施計画書、遺伝子治療臨床研究実施計画書変更報告書を慎重に審査した。 検査スケジュールの変更については、被験者の利便性に配慮したスケジュールに変更されており、科学的・倫理的に問題はなく、適切な変更であると判断した。 利益相反に関わる被験者への同意・説明文書における追記・変更については、別途開催された臨床研究に係る利益相反マネジメント委員会の審議の結果を踏まえ適切に改訂されており、問題のないことを確認した。 語句の統一ならび臨床研究に関わる研究者の異動等に関する変更については、現状が正確に反映されており問題ないと判断した。 以上から、九州大学遺伝子治療臨床研究審査専門委員会は提出された実施計画書ならびに遺伝子治療臨床研究実施計画書変更報告書は適切であると判断し、承認した。 九州大学遺伝子治療臨床研究審査専門委員会における審議結果を踏まえ、さらに九州大学医学部倫理委員会で審議が行われ、研究の変更は適当なものであると判断し、遺伝子治療臨床研究実施計画変更報告書、改訂した実施計画書を所轄官庁へ提出することを平成18年6月27日付で承認された。 <table border="1" data-bbox="400 880 1495 1010"> <tr> <th data-bbox="400 880 1038 925">審査委員会の長の職名</th><th data-bbox="1038 880 1495 925">氏 名</th></tr> <tr> <td data-bbox="400 925 1038 1010">九州大学遺伝子治療臨床研究審査専門委員会・委員長 九州大学大学院医学研究院 分子細胞生化学・教授</td><td data-bbox="1038 925 1495 1010">竹重 公一朗 </td></tr> </table>	審査委員会の長の職名	氏 名	九州大学遺伝子治療臨床研究審査専門委員会・委員長 九州大学大学院医学研究院 分子細胞生化学・教授	竹重 公一朗 
審査委員会の長の職名	氏 名				
九州大学遺伝子治療臨床研究審査専門委員会・委員長 九州大学大学院医学研究院 分子細胞生化学・教授	竹重 公一朗 				
研究の区分	<table border="1" data-bbox="539 1037 1495 1099"> <tr> <td data-bbox="539 1037 850 1099">遺伝子治療臨床研究</td><td data-bbox="850 1037 1495 1099">遺伝子標識臨床研究</td></tr> </table>	遺伝子治療臨床研究	遺伝子標識臨床研究		
遺伝子治療臨床研究	遺伝子標識臨床研究				
研究の目的	Fontaine III・IV 度の重症虚血肢による肢切断は、QOL の悪化のみならず生命予後も進行大腸癌より悪い重篤な疾患であり、有効な治療法は確立していない。 我々は独自に開発したセンダイウイルスベクターによる血管新生因子（塩基性線維芽細胞増殖因子：FGF-2）を用いた遺伝子治療が下肢重症虚血の救肢に最も効果的であることを動物実験で見出した。 本臨床研究計画では、1）ヒトにおける SeV/dF-hFGF2 投与の安全性を明らかにし（主要エンドポイント）、2）臨床効果を示すと考えられる投与量を決定する（副次エンドポイント）ことを目的とする。				
対象疾患	閉塞性動脈硬化症あるいは閉塞性血栓性動脈炎患者 [Fontaine III 度あるいは IV 度（Rutherford 慢性虚血肢重症度分類 III 度 6 群を除く）] で、人工血管あるいは自家静脈グラフトによる大腿動脈以下の血行再建術の適応がなく、2 週間の継続した薬物療法（血管拡張剤および／または抗血小板剤）で改善が見られない患者、かつ 40 歳以上の症例。				
変更時期	九州大学遺伝子治療臨床研究審査専門委員会により審議され、九州大学医学部倫理委員会で平成 18 年 6 月 27 日に計画変更案が承認された。				

変更内容	実施計画書における事項	変更前	変更後
	1. 人事異動に伴う変更 2. 語句の統一、整備 3. 検査項目の削除 4. 検査スケジュールの変更 5. 利益相反に関する記載の追加・変更	1. 別紙「新旧対照表」のとおり 2. 別紙「新旧対照表」のとおり 3. 別紙「別紙6」のとおり 4. 別紙「別紙6」のとおり 5. 別紙「新旧対照表」のとおり	1. 別紙「新旧対照表」のとおり 2. 別紙「新旧対照表」のとおり 3. 別紙「別紙6 Ver2」のとおり（血小板凝集能測定の新規削除） 4. 別紙「別紙6 Ver. 2」のとおり 5. 別紙「新旧対照表」のとおり
変更理由	1. 人事異動に伴う変更 発令された人事異動を踏まえ、適切に変更した。 2. 語句の統一、整備 実施計画書、同意説明文書中に複数の統一されていない表記があったため、統一を図った。 3. 検査項目の削除 血小板凝集能検査が九州大学病院検査部における検査項目から除外され、さらに検査外注先もないため、実施が困難となり検査項目から削除した。 4. 検査スケジュール変更 スクリーニング検査を被験者の利便性に配慮して柔軟に実施できるように一部変更した。今回の検査スケジュール変更は軽微なものであり、変更に伴う科学的・倫理的問題は生じない。 5. 利益相反に関する説明の追加・変更 臨床研究に係る利益相反マネジメント委員会の設置に伴い、本臨床研究実施計画書が審議された。同委員会の指示事項等をふまえ、被験者への同意説明文書における利益相反に関する説明について追加・変更した。		
今後の研究計画	新たな実施計画書及び検査スケジュールに従い臨床試験を実施する。 検査スケジュール変更は、軽微かつ被験者の利便性に配慮したものであり、変更に伴う科学的・倫理的問題は生じない。		
これまでの研究結果及び研究結果の公表状況	1. これまでの研究結果 第一症例目の同意取得が適切になされ、平成18年4月21日に登録された。5月25日に開催された九州大学病院先進医療適応評価委員会にて適格性に関する審議がなされ、軽度の肝機能障害の改善を条件に承認された（条件付承認）。以後生活指導の実施により肝逸脱酵素値は正常化、除外基準に抵触しないことが明らかになったため、6月11日に再度同意を取得し、6月20日に再登録した。 同委員会書面回議にて、適格性再確認後に臨床研究薬が投与される予定である。 臨床研究薬投与による有害事象が発生した場合は、適宜同委員会にて臨床研究薬との因果関係等について、実施計画書に定められた手順ならびに基準に従って、適切に評価される予定である。		

	2. 公表状況 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. 記載欄に記載事項のすべてを記載できない時には、その欄に「別紙（ ）のとおり」と記載し、別紙を添付すること。
5. 大学等にあつては、この報告書を厚生労働大臣のほか文部科学大臣にも提出すること。

実施計画書1版(平成18年1月23日)から2版への変更点に関する新旧対照表

旧頁(新頁)	旧実施計画書のタイトルなど	旧実施計画書の記載	改訂後の記載	修正理由
P1(P1)	分担研究者	米満吉和 九州大学大学院医学研究院 病理病態学・助教授	九州大学大学院医学研究院 特任教授	異動・昇進
P1(P1)	その他の研究協力者	九州大学病院 医員(第二外科) 古山 正(研究実施協力)	削除	異動
P1(P1)	その他の研究協力者	九州大学大学院医学研究院 学術研究員(病理病態学) 金 成豪(研究実施協力)	削除	異動
P1(P1)	その他の研究協力者	九州大学大学院医学研究院 大学院生(病理病態学) 金子 和裕(研究実施協力)	削除	異動
P1(P1)	その他の研究協力者	九州大学大学院医学研究院 大学院生(消化器・総合外科) 井口 博之(研究実施協力)	九州大学病院 医員(第2外科) 井口 博之(研究実施協力)	異動
P1(P1)	その他の研究協力者	記載なし	九州大学大学院医学研究院 大学院生(病理病態学) 研究実施協力	異動
P3(P3)	3.実施施設の名称及び所在地	名称 九州大学病院 第2外科病棟 冠動脈疾患治療部遺伝子治療室	名称 九州大学病院 第2外科病棟 【遺伝子治療室】 冠動脈疾患治療部遺伝子治療室 北棟11階1181号室及び1182号室	遺伝子治療室追加に伴う整備
P6(P6)	(3)当該遺伝子治療臨床研究の概要 遺伝子導入法 3,2行目	保冷下で九州大学病院南棟3階冠動脈疾患治療部内 遺伝子治療室へ搬入する。	保冷下で 遺伝子治療室 へ搬入する。	遺伝子治療室追加に伴う整備
P7(P7)	除外基準(注2)4行目	嚴重な管理のもとで本研究の対象とする。	嚴重な管理のもとで 本臨床研究 の対象とする。	語句の統一
P8(P8)	(5)研究等における倫理的配慮について 研究等の対象とする個人の人權擁護 1行目	本研究実施計画書は	本 臨床 研究実施計画書は	語句の統一
P8(P8)	(5)研究等における倫理的配慮について 研究等によって生ずる個人への不利益ならびに危険性、及び医学上の貢獻の予測 1行目	本研究に使用される遺伝子は	本 臨床 研究に使用される遺伝子は	語句の統一
P10(P10)	(2)タイトル	(2)本研究計画で使用するその他のDNAの構造と性質	(2) 本 臨床 研究計画で使用するその他のDNAの構造と性質	語句の統一
P24(P24)	9. 遺伝子治療臨床研究の実施計画 (1) 遺伝子治療臨床研究を含む全体の治療計画 【本臨床研究の実施に際し設置される委員会】 2行目	九州大学病院内に以下の2 種 の委員会を設置する。	九州大学病院内に以下の委員会を設置する。	整備
P24(P24)	9. 遺伝子治療臨床研究の実施計画 (1) 遺伝子治療臨床研究を含む全体の治療計画 【本臨床研究の実施に際し設置される委員会】 11行目	各委員会は、結果報告書ならびに	九州大学病院先進医療適応評価 委員会は、結果報告書ならびに	整備
P25(P25)	【本臨床研究の実施手順】 【患者適応評価から治療実施】 3) 2行目	保冷下で九州大学病院南棟3階冠動脈疾患治療部内 遺伝子治療室へ搬入する。	保冷下で 遺伝子治療室 へ搬入する。	遺伝子治療室追加に伴う整備
P27(P27)	(注2)4行目	嚴重な管理のもとで本研究の対象とする。	嚴重な管理の下で本 臨床 研究の対象とする。	語句の統一

旧頁(新頁)	旧実施計画書のタイトルなど	旧実施計画書の記載	改訂後の記載	修正理由
P27(P27)	< 患者選定に必要な検査項目 (治療前4日までに施行) > (6)血液・凝固系:	赤血球数、ヘモグロビン、ヘマトクリット、白血球数、白血球分画、血小板数、血小板凝集能、PT、APTT、FDP、プラスミノーゲンアクチベーター、アンチトロンピンIII、プロテインC活性、プロテインS活性、フィブリノーゲン	赤血球数、ヘモグロビン、ヘマトクリット、白血球数、白血球分画、血小板数、PT、APTT、FDP、プラスミノーゲンアクチベーター、アンチトロンピンIII、プロテインC活性、プロテインS活性、フィブリノーゲン	九州大学病院における検査項目から除外され、さらに外注検査もないため、実施が困難。
P28(P28)	中央部分((3)被験者の同意の取得方法の前パラグラフ)	除外項目判定のための以下の検査については、同意日以前3ヶ月以内に実施された検査結果を用いることができることとする。	除外項目判定のための以下の検査については、 投与 日以前3ヶ月以内に実施された検査結果を用いることができることとする。	検査スケジュール改訂に伴う整備
P29 (P29)	(5) 遺伝子治療臨床研究の実施方法 対照群の設定方法 1行目	本研究計画に用いるベクターは	本 臨床 研究計画に用いるベクターは	語句の統一
P31(P31)	< 安全性評価のための検査 > (6)血液・凝固系:	赤血球数、ヘモグロビン、ヘマトクリット、白血球数、白血球分画、血小板数、 血小板凝集能 、PT、APTT、FDP、プラスミノーゲンアクチベーター、アンチトロンピンIII、プロテインC活性、プロテインS活性、フィブリノーゲン	赤血球数、ヘモグロビン、ヘマトクリット、白血球数、白血球分画、血小板数、PT、APTT、FDP、プラスミノーゲンアクチベーター、アンチトロンピンIII、プロテインC活性、プロテインS活性、フィブリノーゲン	九州大学病院における検査項目から除外され、さらに外注検査もないため、実施が困難。
P36(P36)	2行目	本研究で用いるウイルスベクターが	本 臨床 研究で用いるウイルスベクターが	語句の統一
P37(P37)	B. 安全性に関する判定に必要な検査項目 (別紙6) (4)血液・凝固系:	赤血球数、ヘモグロビン、ヘマトクリット、白血球数、白血球分画、血小板数、 血小板凝集能 、PT、APTT、FDP、プラスミノーゲンアクチベーター、アンチトロンピンIII、プロテインC活性、プロテインS活性、フィブリノーゲン	赤血球数、ヘモグロビン、ヘマトクリット、白血球数、白血球分画、血小板数、PT、APTT、FDP、プラスミノーゲンアクチベーター、アンチトロンピンIII、プロテインC活性、プロテインS活性、フィブリノーゲン	九州大学病院における検査項目から除外され、さらに外注検査もないため、実施が困難。
P39(P39)	記録の保存及び成績公表の方法 6行目	保管責任者:所属 九州大学病院臨床研究センター	保管責任者:所属 九州大学病院 高度先端医療センター	組織改変に伴う整備
P43(P43)	[患者治療室の設置] 3行目	九州大学病院 南棟冠動脈疾患治療部 内に設置している。	九州大学病院内に設置している。	遺伝子治療室追加に伴う整備
P45,P72 (P45,P74)		第8版(作成日:平成18年1月23日)	第 9 版(作成日:平成18年 6月 27 日)	整備
P45,P72(P45,P75)	[はじめに] 試験相の数字を漢数字へ変更 (合計6箇所)	第1相試験 第2相試験 第3相試験	第 二 相試験 第 三 相試験 第 三 相試験	語句の統一
P46 ,P73 (P46,P75)	【遺伝子治療臨床研究の名称と実施施設、担当医師】 分担研究医師	米満 吉和(九州大学大学院医学研究院 病理病態学)	米満 吉和(九州大学大学院医学研究院 特任教員)	異動
P49,P76 (P49,P78)	【現在研究が始まっている他の類似の治療法について】 1) 骨髄細胞移植療法 4行目	この治療法は、国内では主に久留米大学病院、関西医科大学病院、名古屋大学医学部附属病院、京都府立医科大学医学部附属病院、山口大学医学部附属病院、山科大学医学部附属病院などで行われております。	この治療法は、国内では主に久留米大学病院、関西医科大学病院、名古屋大学医学部附属病院、京都府立医科大学医学部附属病院、 山口大学医学部附属病院 、 徳島大学医学部附属病院 、 千葉大学医学部附属病院 などで行われております。	最新の情報に整備
P50,P77 (P50,P79)	(3)治療の実施方法(一連の流れ) 4行目	治療前検査はあなたの病状にかかわるものであるものについては保険適応となるため、あなたに三割負担が必要となる場合がありますが	治療前検査はあなたの病状に関わるものであるものについては保険適応となるため、 あなたの加入している保険に依りて 負担が必要となる場合がありますが	より適切に記載整備
P51(P51)	4行目	あなたに三割負担が必要となる場合がありますが	あなたの 加入している保険に依りて 負担が必要となる場合がありますが	より適切に記載整備

旧頁(新頁)	旧実施計画書のタイトルなど	旧実施計画書の記載	改訂後の記載	修正理由
P51, 78 (P51, P80)	31行目、24行目	また不幸にして何らかの原因で死に至った場合、本試験との因果関係の有無に関わらず病理解剖の許可が求められます。	また不幸にして何らかの原因で死に至った場合、本 臨床研究 との因果関係の有無に関わらず病理解剖の許可が求められます。	語句の統一
P52 (P52)	(4)治療にあたって注意していただきたいこと 16行目	あなたの生活は著しく規制されますので、特にご注意下さい。	あ なた の生活は著しく規制されますので、特にご注意下さい。	整備
P57,84(P57, P86)	検査概要 最後のパラグラフ	各時点の検査項目と1回あたりの採血量を次頁に示しますが、1回あたりの目安となる採血量は投与日から26.5mLで計142.5mL、それから6ヶ月までは月1回17.5mL、それから6ヶ月までは月1回17.5mLです。潰瘍をお持ちの患者さんで、細菌感染が陽性となった場合は、治療前の検査ではさらに10mLの採血が必要になります。	各時点の検査項目と1回あたりの採血量を次頁に示しますが、1回あたりの目安となる採血量は投与日から26.5mLで計142.5mL、それから6ヶ月までは月1回17.5mLです。潰瘍をお持ちの患者さんで、細菌感染が陽性となった場合は、治療前の検査ではさらに10mLの採血が必要になります。	検査項目の削除
P60,87(P60, P89)	検査スケジュール	変更内容は、	「検査内容変更の概要」参照	検査項目の一部削除、ならびに被験者の利便性を考慮
P61,P88 (P61,P90)	(2)必要な費用について 1行目	あなたの病状に関わるものであるものについては保険適応となるため、あなたに三割負担が必要となる場合がありますが	あなたの病状に関わるものであるものについては保険適応となるため、あ なたの加入している保険に 応じて負担が必要となる場合がありますが	より適切に記載整備
P64 (P64)	(2)T細胞性白血病(2001年フランス)	3名とも制癌剤などによるの 治療 を受けておりました が 、	3名とも制癌剤などによる治療を受けておりましたが、	整備
P65,P92 (P65,P 94)	【利益相反(りえきそうはん)に関する説明】	記載なし	1. 利益相反とは 大学には教育・研究機関という機能に加え、自らの研究成果を社会へ還元することにより、積極的に社会へ貢献することが必要とされています。一方で、研究成果を社会へ還元する過程では多額の開発経費を必要とすることから、大学が単独でこれを遂行することは不可能です。したがって、大学の研究成果を社会の要請に応じて機動的かつ最終的に社会へ還元するためには、大学(学)・企業(民)・所管官庁(官)がお互いに相談しあい、ルールを作りながら、そして情報を開示しながら進められています。これを「産学官連携」と呼びます。 IT(情報技術)やバイオテクノロジー(遺伝子治療もこの領域に含まれます)、次世代エネルギーなど、高度に専門化された最先端研究領域においてこのような産学官連携の体制を運営を行うためには、大学および大学に所属する教員の知識・技能の提供は必須のものであり、従って大学の教員が特定の企業に対し必要な範囲で貢献を要すること、そしてそれに見合う正当な利益を受けるとは妥当なこととされています。 一方で、教育と研究を目的とした大学と、適当な利益を得ることをその立場(仕度)へ偏ってしまうことが生じかねません。この状態を「利益相反」と呼びます。利益相反は大学がしっかりとルールを作り、情報を公開したもとでコントロールしなければなりません。なぜなら最悪の場合、大学の教員が企業へ利益を贈与するために大学を利用する、などという問題が出てくるからです。 従ってこういう事例が決して起きないよう、九州大学ではルールを作り適切な対応をします。	利益相反について詳細を追記、改訂(利益相反マネジメント委員会の指示・承認により改訂した。)

旧頁(新頁)	旧実施計画書のタイトルルなど	旧実施計画書の記載	改訂後の記載	修正理由
P65,P92 (P65,P 94)	【利益相反(りえきそうはん)に関する説明]	記載なし	2. 利益相反に対する九州大学の対応 九州大学では、「九州大学利益相反マネジメント事項」及び「医学系学部における臨床研究に係る利益相反マネジメント事項」を定めています。本臨床研究はこれらの事項に基づいて実施されます。 臨床研究の各々について、利益相反について考慮すべき場合は大学内に設置された「臨床研究に係る利益相反マネジメント委員会」が審議し、適切な対応が行われております。 以下に、臨床研究に係る利益相反マネジメント委員会の指示にしたがって、本臨床研究に係る研究者ならびに企業に関する情報を示します。	利益相反について詳細を追記、改訂(利益相反マネジメント委員会の指示・承認により改訂した。)
P65,P92 (P65,P 94)	【利益相反(りえきそうはん)に関する説明]	1. 本臨床研究に関わる研究関連組織について 本遺伝子治療臨床研究は九州大学病院が自主的に実施しますが、この臨床研究に用いられるベクター技術は1995年4月から2004年3月まで医薬品副作用被害調査用被害救済・研究旅費調査機構(現独立行政法人医薬品医療機器総合機構)ならびに民間企業7社が共同出資して設立したベンチャー企業である株式会社ディナベック研究所が開発したものです。株式会社ディナベック研究所は予定の事業期間が終了し、現在は研究成果管理会社になっておりますが、その技術は民間会社として新たに発足したディナベック株式会社(代表取締役社長 長谷川 謙、茨城県つくば市)へ2004年4月より継承されました。本臨床研究においては、このベクター技術と材料を用いて、英国のベクター製造委託会社(BioReliance社、英国スターリング)に九州大学病院が治療用ベクター製造を委託しております。 従って、ベクターに関連する一部の専門的検査項目の測定技術などに関しては、同社の助言、指導が必要な場合があります。つまり本臨床研究の実施にはディナベック株式会社は直接的に関与しませんが、あなただけの血液、尿サンプルなどにおけるベクターの挙動に関する重要なデータ収集に対して、同社は科学的助言や、一部では技術的協力を行う予定であるため、本臨床研究における外部研究協力者として位置付けられております。 また動物実験データ収集など、本臨床研究に至るまでの基礎研究を同社と共同で行ってきた居石克夫教授、米満吉和助教授は、本臨床研究計画における役割は、ベクターの生体内実験の検査などの基礎研究分野関連業務に限定されています。本臨床研究における治療行為の実施、九州大学病院先進医療適応評価委員会、効果判定委員会など、あなただけの診療に直接関わり、かつ臨床的判断を行う議決組織の全てにおいて、居石克夫教授、米満吉和助教授およびディナベック株式会社関係者は一切除外されているため、中立性と客観性は保たれております。	2. 1) 本臨床研究に関わる研究関連組織(企業)について A. ディナベック株式会社(ホームページ: http://www.dnavec-corp.com/) 本遺伝子治療臨床研究は九州大学病院が自主的に実施しますが、この臨床研究に用いられる検査用ベクター技術は1995年4月から2004年3月まで医薬品副作用被害調査用被害救済・研究旅費調査機構(現独立行政法人医薬品医療機器総合機構)ならびに民間企業7社が共同出資して設立したベンチャー企業である株式会社ディナベック研究所が開発したものです。株式会社ディナベック研究所は予定の事業期間が終了し、現在は研究成果管理会社になっておりますが、その技術は民間会社として新たに発足したディナベック株式会社(代表取締役社長 長谷川 謙、茨城県つくば市)へ2004年4月より継承されました。本臨床研究においては、同社が保有するこのベクター技術と材料を用いて、英国のベクター製造委託会社(BioReliance社、英国スターリング)に九州大学病院が治療用ベクター製造を委託しております。 従って、本臨床研究においては、ベクターに関連する一部の専門的検査項目の測定技術などに関しては、同社の助言、指導が必要な場合があります。つまり本臨床研究の実施にはディナベック株式会社は直接的に関与しませんが、あなただけの血液、尿サンプルなどにおけるベクターの挙動に関する重要な科学的データ収集に対して、同社はこのように科学的助言や、一部で技術的協力を行うため、本臨床研究における外部研究協力者として位置付けられております。 B. バイオリリアイアンス社(ホームページ: http://www.bioreliance.com/) 製薬書へ投与されるベクターの生産を行った会社です。本臨床研究においては、九州大学病院の依頼を受けて同社がベクターの生産を行い、出来上がったベクターが通常の医薬品と同様の純度を持つレベルであることが決定されています。 バイオリリアイアンス社はベクター生産以外、本臨床研究の実施には、いっさい関わっておりません。	利益相反について詳細を追記、改訂(利益相反マネジメント委員会の指示・承認により改訂した。)
P65,P92 (P65,P 94)	【利益相反(りえきそうはん)に関する説明]	(付記) 前述のごとく、本臨床研究は九州大学病院が実施します。一方でディナベック株式会社は国費を用いて開発された遺伝子治療用ベクター技術を継承していただくから、その研究成果として患者さんへ投与された場合のベクターの安全性や性能を客観的に記録することが必要とされております。そのために同社は外部受託会社(イーピーエス株式会社)に対し、第三者の立場から九州大学病院の本臨床研究のデータを客観的かつ公正に記録することを同社の資金を拠出して業務委託しており、九州大学病院はこれを認めています。このようなイーピーエス株式会社を含む外部受託会社は客観的、中立的に挙動することを使命とする会社であり、ディナベック株式会社の意向に影響を受けることはありません。	(附記) 本臨床研究に係る第三者チェック機関: イーピーエス株式会社(ホームページ: http://www.eps.co.jp) 利益相反とは関係ありませんが、本臨床研究に関わっている企業として、イーピーエス株式会社があります。 イーピーエス株式会社は第三者機関として、本臨床研究が法律や規制などに則って適切に実施されているかについて、監視する業務を担当しています。具体的には、本臨床研究が厚生労働省の定める新GCP等関連法規に準拠し、臨床研究実施計画書及び本臨床研究に関する業務手順書を遵守して行われているかを確認し、本臨床研究の客観性を担保し、信頼性を向上させることを責務としています。	

旧頁(新頁)	旧実施計画書のタイトルなど	旧実施計画書の記載	改訂後の記載	修正理由
P65,P92 (P65,P 94)	【利益相反(りえきそうはん)に関する説明]		2-2)本臨床研究に関わる研究者と研究関連企業との関係について 本臨床研究に関わる医師のうち、総括責任医師である則副重彦(第2外科教授、分担責任医師である砂川馨二(循環器内科教授、江頭倫輔(同助教授、そして小野展俊(第2外科教授)は、研究関連企業との利益相反に関わる関係は一切ありません。 動物実験データ収集など、本臨床研究に至るまでの基礎研究をデナイベック株式会社と共同で行ってきた分担研究医師である尾石克夫教授は、本臨床研究計画における役割は、ベクターの生体内補助の検査などの基礎研究分野の通達に限定されています。すなわち、本臨床研究における治療行為の実施、九州大学病院先進医療推進部評価委員会、効果判定委員会など、あなたの診療に直接関わり、かつ安全性や効果などの臨床的判断を行う議決組織の全てにおいて、尾石克夫教授は一切除外されておりま 分担研究医師である米澤吉和特任教授は、現在は千葉大学大学院医学研究院客員教授であり、本臨床研究で使用するベクターに関する専門家として九州大学へ招聘され兼任することにより、本臨床研究へ参画しております。米澤吉和特任教授はセンダイワイルスベクターに関する専門的知識を産学連携活動へ活用するため、平成18年4月よりデナイベック株式会社の技術顧問に就任しております。米澤吉和特任教授は、技術顧問としての技術指導に相応する報酬を同社から受けておりますが、同特任教授の家族を含め、同社に関わる株式、出資金、ストックオプション、受益権等は保有しておりません。また尾石教授と同様、本臨床研究における治療行為の実施、九州大学病院先進医療推進部評価委員会、効果判定委員会など、あなたの診療に直接関わり、かつ安全性や効果などの臨床的判断を行う議決組織の全てにおいて、米澤特任教授は一切除外されております。 これらの情報を提供した上で、九州大学利益相反マネジメント委員会と倫理委員会では本臨床研究実施計画は賛成、承認されました。また、利益相反状態が存在することによって、被験者(患者さん)に不利益が及ぶ恐れはないと判断されました。	利益相反について詳細を追記、改訂(利益相反マネジメント委員会の指示・承認により改訂した。)
			2-3)本臨床研究により得られたデータに対し客観性を担保する方法について 以上、ご説明させて頂きました通り、利益相反に関する情報公開と九州大学における利益相反マネジメントの実施下に、本臨床研究は行われております。またさらに、被験者(患者さん)から得られるデータに関してより高い客観性を担保するため、本臨床研究においては以下のことを遵守しております。 (1)尾石教授、米澤特任教授は、被験者に関わる臨床データを固執・恣意で書き制限をいっさい持ちません。ただし、両者は高度な専門的知識・技術を必要とする被験者の安全性に関わる検査(ベクター検査等)については、被験者の個人情報等を閲覧しないかたちで実施いたします。 (2)尾石教授、米澤特任教授は、被験者の氏名・住所などの個人情報をいっさい閲覧できません。 (3)第三者機関であるイービーエス株式会社(http://www.eps.co.jp/)が客観的かつ公正にデータを記録および管理し、定期的なモニタリング・監査を行っています。 以上のような複数の方策を取ることで、本臨床研究における高い中立性と客観性は保たれております。 以上、本臨床研究において利益相反およびそれに関連する事項について説明致しました。 利益相反の詳細について、さらに詳しくお知らせしたい場合は、利益相反マネジメント委員会(連絡窓口:九州大学病院高度先端医療センター、電話:092-642-5774)までお問い合わせ下さい。	利益相反について詳細を追記、改訂(利益相反マネジメント委員会の指示・承認により改訂した。)

旧頁(新頁)	旧実施計画書のタイトルなど	旧実施計画書の記載	改訂後の記載	修正理由
P65.P92 (P67.P96)	2. 本臨床研究の実施における資金出所について (1) 本臨床研究に用いるベクターのGMP生産: 3行目	これには九州大学大学院医学研究院および九州大学病院が獲得した公的な補助金が充てられています。	これには九州大学病院における公費あるいは研究費などが充てられています。	語句の統一
P65.P92 (P67.P96)	(2) 本臨床研究の実施に関わる診療・治療経費:	これには保険適応可能な経費には保険適応分が、保険適応外の診療経費については九州大学病院の公費あるいは九州大学大学院医学研究院の委任経理費などまでまかなわれます。	これには保険適応可能な経費には保険適応分が、保険適応外の診療経費については九州大学病院における公費あるいは研究費などまでまかなわれます。	語句の統一
P66.P93 (P66.P96)	付記	(付記)	(附記)	語句の統一
P69.95 (P69.P98)	4. あなたの個人情報閲覧可能な第三者と、九州大学病院の個人情報管理と監督 9行目	九州大学病院が適正に本研究を実施しているか確認するときにあなたの診療記録を閲覧します。	九州大学病院が適正に本臨床研究を実施しているか確認するときあなたの診療記録を閲覧します。	語句の統一
P69.96 (P71.P100)	【疑問点や質問について】	ベクター、蛋白、安全性に関わる疑問・御相談) 九州大学大学院医学研究院 病理病態学 (第1病理) 分担研究者: 居石克夫 電話: 092-642-6060 (内線6060)	(ベクター、蛋白、安全性に関わる疑問・御相談) 九州大学大学院医学研究院 病理病態学 (第1病理) 分担研究者: 居石克夫 電話: 092-642-6060 (内線6060) または、 九州大学大学院医学研究院 遺伝子治療臨床研究準備室 分担研究者: 米満吉和 電話およびファックス: 092-642-4777 (内線4777)	異動による整備
P69.96 (P71.P100)		記載なし	(利益相反に関する疑問・御相談) 利益相反マネジメント委員会(連絡窓口: 九州大学病院高度先端医療センター) 電話: 092-642-5774	追記
P105 (P109)	分担研究者: 米満 吉和(よねみつ よしかず) 現職 職歴 所属学会 併任・兼任等	現職: 九州大学大学院 医学研究院 病理病態学 助教授 職歴: 右を追記 所属学会: 右を追記 併任・兼任等: 削除	現職: 千葉大学大学院 医学研究院 客員教員・教授 (兼任) 九州大学大学院医学研究院 特任教員 教授 職歴: 2006年 4月 千葉大学大学院 医学研究院 遺伝子治療学 客員教授 2006年 5月 九州大学大学院 医学研究院 特任教授(兼任) 所属学会: 日本血栓止血学会(平成17年~)	異動による整備

検査内容変更概要

検査項目	変更前	変更後	変更理由
ジビリダモール負荷心筋シンチ	－ 1 4 ～－ 4 日 に実施	同意取得以後か ら－ 4 日までに 実施	スケジュールの変更：検査が多岐に 渡るため、変更前のスケジュールで は被検者への負担が大であるため、 負担軽減目的で変更した。また科学 的・医学的観点から、スケジュール 変更による問題は生じない。
クレアチニンクリアランス			
ICG 1 5 分値			
眼底検査			
全身PET			
頭部・胸部・腹部CT			
子宮頸部細胞診（女性のみ）			
上部消化管内視鏡			
BUN、Cr、尿中蛋白、尿中潜血	－ 2 日に実施	－ 3 ～－ 1 日 に実施	スケジュールの変更：変更前のスケ ジュールでは、投与日によっては検 査日が土日となり、実施が困難であ ることが判明したため、スケジュー ル変更を行った。また科学的・医学 的観点から、スケジュール変更によ る問題は生じない。
アルブミン、総ビリルビン、直接ビリルビ ン、AST、ALT、LDH、 γ -GTP			
数、血液凝集能（PT、APTT、 Fibrinogen）			
免疫グロブリン（IgG、IgA、IgM、IgE、 IgD）			
CPK、CRP			
Na、K、Cl、Ca			
血液サイトカイン定量			
SeV/dF-hFGF2ゲノムコピー数定量（定量 的taqman-PCR法）			
センダイウイルス価（トリ血球凝集法）			
血中抗センダイウイルス抗体価			
血中血管新生因子蛋白定量			
血小板凝集能	－ 1 4 ～－ 4 日 に実施	実施せず	検査項目の削除：九州大学病院検査 部における検査項目から除外され、 さらに外注検査もないため、実施が 困難

↑一次スクリーニング

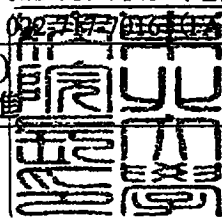
別紙様式第 4

遺 伝 子 治 療 臨 床 研 究 終 了 報 告 書

平成 18 年 1 月 27 日

厚 生 労 働 大 臣 殿

実 施 施 設	所 在 地	仙台市青葉区星陵町 1-1（郵便番号 980-8574）	
	名 称	東北大学病院	022-717-7145（電話番号） 022-717-7146（FAX 番号）
	代 表 者 役職名・氏名	東北大学病院長（職印） 里見 進	



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
非小細胞肺癌に対する正常型 p53 遺伝子発現ア デノウイルスベクター及びシスプラチン(CDDP) を用いた遺伝子治療臨床研究	東北大学病院 遺伝子・呼吸器内科長 教授 貫和 敏博

遺 伝 子 治 療 臨 床 研 究 終 了 報 告 書

平成 12 年 9 月 21 日

研 究 の 名 称	非小細胞肺癌に対する正常型 p53 遺伝子発現アデノウイルスベクター及びシスプラチン(CDDP)を用いた遺伝子治療臨床研究
研 究 実 施 期 間	平成 12 年 9 月 29 日から平成 17 年 6 月 24 日まで

総括責任者	所属部局の所在地	仙台市青葉区星陵町 1-1 (郵便番号 980-8574)	
	所属機関・部局・職	東北大学病院 遺伝子・呼吸器内科長 教授 (東北大学加齢医学研究所 呼吸器腫瘍研究分野 教授)	
	氏 名	貫和 敏博 	
実施の場所	所 在 地	仙台市青葉区星陵町 1-1 (郵便番号 980-8574)	
	名 称	東北大学病院	
	連 絡 先	仙台市青葉区星陵町 1-1 (電話番号 022-717-8539) 東北大学病院 遺伝子・呼吸器内科	
総括責任者以外の研究者	氏 名	所 属 機 関 ・ 部 局 ・ 職	役 割
	西條 康夫	東北大学病院 遺伝子・呼吸器内科 教授	患者の選定、患者への説明及び同意の取得、薬剤投与、臨床観察、効果判定
	田澤 立之	東北大学病院 遺伝子・呼吸器内科 助手	患者の選定、患者への説明及び同意の取得、ベクター調整、薬剤投与、臨床観察
	菊地 利明	東北大学病院 遺伝子・呼吸器内科 助手	患者の選定、患者への説明及び同意の取得、ベクター調整、薬剤投与、臨床観察
	海老名 雅仁	東北大学病院 遺伝子・呼吸器内科 講師	患者の選定、患者への説明及び同意の取得、薬剤投与、臨床観察、効果判定
	近藤 丘	東北大学病院 呼吸器外科 教授	患者への説明及び同意の取得、薬剤投与、臨床観察
	石岡千加史	東北大学病院 腫瘍内科 教授	P53 遺伝子異常の検索、分子生物学的実験

石橋 忠司	東北大学医学部保健学科 放射線技術科学 専攻 放射線医療技術学講座総合画像診断 技術学分野 教授	臨床観察、効果判定、画像診 断
田中 紀章	岡山大学医学部第一外科学講座 教授	岡山大学附属病院における 臨床研究に関する情報提供、 共同研究施設間の症例の調 整
藤原 俊義	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・助教授	岡山大学附属病院における 臨床研究に関する情報提供、 共同研究施設間の症例の調 整
Jack A. Roth	テキサス大学 M.D アンダーソン 癌センター・胸部心臓血管外科・教授	Ad5CMV-p53 ウイルスベク ターの作製、遺伝子治療臨床 研究全体の指導
Shawn Gallagher	Introgen Therapeutics 社・製品開発担当 副社長	Ad5CMV-p53 ウイルスベク ターの提供

審査委員会の開催状況	平成 13 年 10 月 30 日、本研究計画の一部変更である、臨床試験(治験)から、臨床研究への変更について審議し、承認した。また、第 1 例目の経過についての報告を得た。	
	平成 17 年 6 月 24 日、本研究の概要、経過、およ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。	
	審査委員会の長の職名	氏 名
	東北大学大学院医学系研 究科発生・発達医学講座 遺伝病学分野教授	松原 洋一 

研 究 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	本邦における肺癌患者の発生率は増加を続けている。扁平上皮癌、腺癌、大細胞癌を一括した非小細胞肺癌はその 80%以上を占めており、2/3 が発見時に切除不能であり予後は不良である。肺癌の発生・進展に遺伝子レベルの変化が関与していることは明らかであり、非小細胞肺癌では約 50%に癌抑制遺伝子 p53 の異常が認められている。本研究の目的は、p53 遺伝子に突然変異や欠失などの異常を有する根治的切除不能な原発性あるいは再発性非小細胞肺癌症例において、正常型 p53 遺伝子発現アデノウイルスベクターの局所投与とシスプラチン(CDDP)の全身投与を行った場合の安全性を観察し最大耐量を決定することであり、併せて治療効果も検討することである。まず正常型 p53 遺伝子発現アデノウイルスベクターを単独で局所投与した場合の質的・量的安全性を確認し、次いで CDDP の全身投与を併用した場合の質的・量的安全性を観察する。さらにそれぞれにおいて治療効果の判定を行うとともに、腫瘍退縮や転移抑制、生存期間の延長などを期待する際の根拠となる分子生物学的効果、たとえばベクターの感染、mRNA レベル及び蛋白質レベルでの p53 遺伝子の発現、アポトーシスの誘導、などについて解析する。本研究は、テキサス大学 MD アンダーソン癌センターの遺伝子治療臨床研究プロトコールに準じて、同センターの J. A. Roth 博士との共同研究で行われる。試験薬である正常型 p53 遺伝子発現アデノウイルスベクター Ad5CMV-p53 は Introgen Therapeutics 社から供給される。
対 象 疾 患	非小細胞肺癌
実 施 方 法	正常型 p53 遺伝子発現アデノウイルスベクター(Ad5CMV-p53)は、各種安全性試験を経て本研究に用いられた。第 1 群は Ad5CMV-p53 ウイルスベクター単独投与による安全性を検討するために行われた。被験者が気管支内腔から観察可能な中枢性の腫瘍を有している場合、気管支鏡を挿入し 21G の経気管支的吸引針を用いて腫瘍内数ヵ所に Ad5CMV-p53 ウイルスベクター調製液を注入した。局所的に進行した末梢型腫瘍に対しては、21G 穿刺針を用いて CT ガイド下穿刺にて腫瘍内にベクター液を局所注入した。ウイルスベクター量は 10^9 PFU から始め、第 1 群でのウイルスベクター単独投与が安全であれば、第 2 群として Ad5CMV-p53 ウイルスベクター局所投与と CDDP の全身投与を同時に行った。80 mg/m^2 の CDDP を第 1 日目に点滴にて静脈内投与し、Ad5CMV-p53 ウイルスベクターは第 4 日目に腫瘍内に局注された。10^9 PFU のレベルで第 1 群、第 2 群それぞれ 3 人ずつの被験者に試みられた後、Ad5CMV-p53 ウイルスベクター投与量を 10 倍増量し、10^{10} PFU のレベルでは第 1 群、第 2 群それぞれ 3 人ずつの被験者に試みられた。次いで最大用量の 10^{11} PFU では、第 1 群のみで 3 人の被験者に投与された。CDDP 投与量は原則として一定に保たれた。治療後の観察期間中に重篤な副作用が見られず、かつ病変の進行がみられなければ、この治療は 1 ヶ月に 1 度繰り返された。被験者は非小細胞肺癌を有し、原則として臨床病期 IIIA・B 期あるいは IV 期で外科的に治癒切除不能の症例とされた。被験者の病歴・現症や赤血球・白血球数、血小板数、出血・凝固時間、電解質、生化学検査一般などの検査は、治療前及び治療中各クールの開始前後に行われた。治療開始前後の血液を採取し、アデノウイルスに対する抗体の産生をチェックした。治療前及び治療中の臨床効果を画像診断及び内視鏡診断により評価した。気

	管支鏡的に腫瘍が直視可能であれば一定の距離から写真撮影を行い、その位置と大きさを記録した。また胸部 X 線写真、CT・MRIなどで抽出可能であれば同様の所見を記録した。臨床病期は肺癌取り扱い規約（改訂第4版）に基づいて決定した。動脈血ガス分析、O₂ 飽和度、FEV1.0 を含む呼吸機能検査も施行した。気管支鏡的あるいは CT ガイド下に到達可能な腫瘍からは、Ad5CMV-p53 ウイルスベクター投与後に微細針吸引あるいは生検により癌組織を採取し、DNA 及び mRNA を抽出した。癌組織の DNA サンプルより特異的なプライマーを用いて PCR を行い Ad5CMV-p53 ウイルスベクターの感染を確認した。また、Reverse Transcription-PCR により正常型 p53 遺伝子の発現を RNA レベルで確認した。治療中及び治療後に見られるすべての毒性・副作用は、各治療前後に 0～4 度で評価された。治療効果は以下の評価指標に基づいて判定された。Complete Response (CR)：完全に腫瘍が消失、Partial Response (PR)：腫瘍体積で 50%かそれ以上の縮小、あるいは直交する長径と短径が測定不能な症例では、最大腫瘍径の平均で 30%かそれ以上の縮小、Progressive Disease (PD)：腫瘍体積で 25%あるいはそれ以上の増加、No Change (NC)：CR、PR、PD、いずれの範疇も入らない場合。本研究の登録症例数は 15 例、本学においては 2 例の被験者に治療が行われた。
研究結果の概要 及び考察	別紙 1 のとおり
研究成果の公表状況	別紙 2 のとおり

研究結果の概要および考察

課題名：

非小細胞肺癌に対する正常型 p53 遺伝子発現アデノウイルスベクター及びシスプラチン(CDDP)を用いた遺伝子治療臨床研究

総括責任者：

貫和敏博（東北大学病院 遺伝子・呼吸器内科長 教授）

主な分担研究者：

西條 康夫（東北大学病院 遺伝子・呼吸器内科 教授）

田澤 立之（東北大学病院 遺伝子・呼吸器内科 助手）

菊地 利明（東北大学病院 遺伝子・呼吸器内科 助手）

田中 紀章（岡山大学医学部第一外科学講座 教授）

藤原 俊義（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 助教授）

【要旨】

「非小細胞肺癌に対する正常型 p53 遺伝子発現アデノウイルスベクター及びシスプラチン(CDDP)を用いた遺伝子治療臨床研究」について臨床応用を推進した。対象となる被験者は切除不能な p53 遺伝子に異常を持つ非小細胞肺癌患者であり、気管支内に突出する腫瘍を有する場合は気管支鏡下に、また末梢型の腫瘍を認める場合はコンピュータリッド・トモグラフィー(CT)ガイド下穿刺により腫瘍部位に微細穿刺針を用いて正常型 p53 遺伝子発現アデノウイルスベクターAd5CMV-p53 液を注入した。本研究は岡山大学で平成 11 年 3 月より第 1 例目の被験者の治療を開始し、翌平成 12 年 4 月より東北大学を含む 4 施設の共同研究の形で進められてきた。平成 15 年 4 月に目標症例数である 15 例目の被験者の登録を終え、平成 17 年 5 月にすべての被験者の死亡が確認されたため第 I 相臨床試験を終了した。15 例中 6 例ではシスプラチン (CDDP) の全身投与が併用された。最も多くみられた副作用は一過性の発熱のみであり、その他に明らかな因果関係が証明された重篤な有害事象は認められなかった。臨床効果としては、咳や血痰の消失、呼吸機能の改善、腫瘍マーカーの低下などがみられた。また、症例によっては腫瘍縮小がみられ、局所的には癌細胞のアポトーシス誘導が組織学的に確認された。Ad5CMV-p53 投与後に血中抗アデノウイルス中和抗体価は全例で上昇したが、治療後の生検サンプルを用いた RT-PCR 解析では、p53 mRNA 発現は経過中維持される症例がほとんどであった。Ad5CMV-p53 の生体内分布の解析も行ったが、遷延するベクターの排泄などは認められなかった。ただ、腫瘍内投与にもかかわらず Ad5CMV-p53 は血漿中に検出され、全身循環に入ることが確認された。本研究により、Ad5CMV-p53 の腫瘍内投与は安全に施行可能であることが明らかとなった。

【研究目的】

本邦における肺癌患者の発生率は増加を続けている。扁平上皮癌、腺癌、大細胞癌を一括した非小細胞肺癌はその 80%以上を占めており、2/3 が発見時に切除不能であり予後は不良である。肺癌の発生・進展に遺伝子レベルの変化が関与していることは明らかであり、非小細胞肺癌では約 50%に癌抑制遺伝子 p53 の異常が認められている。本研究の目的は、p53 遺伝子に突然変異や欠失などの異常を有する根治的切除不能な原発性あるいは再発性非小細胞肺癌症例において、正常型 p53 遺伝子発現アデノウイルスベクターの局所投与とシスプラチン(CDDP)の全身投与を行った場合の安全性を観察し最大耐量を決定することであり、併せて治療効果も検討することである。まず正常型 p53 遺伝子発現アデノウイルスベクターを単独で局所投与した場合の質的・量的安全性を確認し、次いで CDDP の全身投与を併用した場合の質的・量的安全性を観察する。さらにそれぞれにおいて治療効果の判定を行うとともに、腫瘍退縮や転移抑制、生存期間の延長などを期待する際の根拠となる分子生物学的効果、たとえばベクターの分布や p53 遺伝子の発現などについて解析する。本研究は、テキサス大学 MD アンダーソン癌センターの遺伝子治療臨床研究プロトコルに準じて、同センターの J. A. Roth 博士との共同研究で行われた。試験薬である正常型 p53 遺伝子発現アデノウイルスベクターAd5CMV-p53 は Introgen Therapeutics 社から供給された。

【実施方法】

正常型 p53 遺伝子発現アデノウイルスベクター(Ad5CMV-p53)は、各種安全性試験を経て本研究に用いられた。第 1 群は Ad5CMV-p53 ウイルスベクター単独投与による安全性を検討するために行われた。被験者が気管支内腔から観察可能な中枢性の腫瘍を有している場合、気管支鏡を挿入し 21G の経気管支的吸引針を用いて腫瘍内数ヵ所に Ad5CMV-p53 ウイルスベクター調製液を注入された。局所的に進行した末梢型腫瘍に対しては、21G 穿刺針を用いて CT ガイド下穿刺にて腫瘍内にベクター液を局所注入した。ウイルスベクター量は 10^9 PFU から始め、第 1 群でのウイルスベクター単独投与が安全であれば、第 2 群として Ad5CMV-p53 ウイルスベクター局所投与と CDDP の全身投与を同時に行った。 80 mg/m^2 の CDDP を第 1 日目に点滴にて静脈内投与し、Ad5CMV-p53 ウイルスベクターは第 4 日目に腫瘍内に局注された。 10^9 PFU のレベルで第 1 群、第 2 群それぞれ 3 人ずつの被験者に試みられた後、Ad5CMV-p53 ウイルスベクター投与量を 10 倍増量し、 10^{10} PFU のレベルでは第 1 群、第 2 群それぞれ 3 人ずつの被験者に試みられた。次いで最大用量の 10^{11} PFU では、第 1 群のみで 3 人の被験者に投与された。CDDP 投与量は原則として一定に保たれた。治療後の観察期間中に重篤な副作用が見られず、かつ病変の進行がみられなければ、この治療は 1 ヶ月に 1 度繰り返された。被験者は非小細胞肺癌を有し、原則として臨床病期 IIIA・B 期 あるいは IV 期で外科的に治癒切除不能の症例とされた。被験者の病歴・現症や赤血球・白血球数、血小板数、出血・凝固時間、電解質、生化学検査一般などの検査は、治療前及び治療中各クールの開始前後に行われた。治療開始前後の血液を採取し、アデノウイルスに対する抗体の産生をチェックした。治療前及び治療中の臨床効果を画像診断及び内視鏡診断により評価した。気管支鏡的に腫瘍が直視可能であれば一定の距離から写真撮影を行い、その位置と大きさを記録した。また胸部 X 線写真、CT・MRI などで抽出可能であれば同様の所見を記録した。臨床病期は肺癌取り扱い規約（改訂第 4 版）に基づいて決定した。動脈血ガス分析、 O_2 飽和度、FEV1.0 を含む呼吸機能検査も施行した。気管支鏡的あるいは CT ガイド下に到達可能な腫瘍からは、Ad5CMV-p53 ウイルスベクター投与後に微細針吸引あるいは生検により癌組織を採取し、DNA 及び mRNA を抽出した。癌組織の DNA サンプルより特異的なプライマーを用いて PCR を行い Ad5CMV-p53 ウイルスベクターの感染を確認した。また、Reverse Transcription-PCR により正常型 p53 遺伝子の発現を RNA レベルで確認した。治療中及び治療後に見られるすべての毒性・副作用は、各治療前後に 0～4 度で評価された。治療効果は以下の評価指標に基づいて判定された。Complete Response (CR)：完全に腫瘍が消失、Partial Response (PR)：腫瘍体積で 50%かそれ以上の縮小、あるいは直交する長径と短径が測定不能な症例では、最大腫瘍径の平均で 30%かそれ以上の縮小、Progressive Disease (PD)：腫瘍体積で 25%あるいはそれ以上の増加、No Change (NC)：CR、PR、PD、いずれの範疇にも入らない場合。本研究の登録症例数は 15 例、本学においては 2 例の被験者に治療が行われた。

（倫理面への配慮）

被験者へのインフォームドコンセントのために作成した文書は新 GCP に乗っ取って作成されており、治療遺伝子やベクターに関しても図を多用してできるだけ平易な言葉で説明している。また、米国で進行中の臨床試験の安全性や治療効果の情報も網羅されている。本研究の「実施計画書」および「説明と同意書」は、東北大学の遺伝子治療臨床研究審査委員会で承認されており、また厚生省先端医療技術評価部会および文部省遺伝子治療臨床研究専門委員会で倫理的妥当性について了承されている。

【研究結果】

平成 11 年 3 月に岡山大学医学部・歯学部附属病院で開始した本研究は、平成 12 年 4 月に多施設共同臨床試験に移行しており、以後、岡山大学医学部・歯学部附属病院、東京医科大学、東北大学病院、慈恵会医科大学の 4 施設の共同研究として進められた。平成 15 年 4 月に 15 例目の被験者の登録が行われ、平成 17 年 5 月にすべての被験者の死亡が確認され第 I 相臨床試験を終了した。9 例の p53 遺伝子導入単独投与あるいは 6 例のシスプラチン併用の治療が行われた（岡山大学 9 例、東京医大 3 例、東北大学 2 例、慈恵会医大 1 例）（表 1）。

1) **安全性**：現在までのところ、高い確率をもって発症する重篤な副作用は認められておらず（表 2）、ベクター投与の当日あるいは翌日に一過性の 38°C 台の発熱はみられているが、いずれも自然と軽快している。ベクター投与後に閉塞性肺炎を発生した症例も認められたが、ベクターそのものとの明らかな因果関係はないと考えられた。CT ガイド下投与の際の気胸やシスプラチン由来と思われる嘔気、食欲不振はみられているが、いずれも米国の臨床試験の結果から予測される範囲内であり、本治療は安全に施行可能であると考えられる。

2) **生体内分布**: 喀痰から抽出した DNA をテンプレートとしてベクター特異的なプライマーを用いて行った PCR 解析では、多くの症例で投与翌日にベクター断片が検出され、ほとんどの症例で 2 週間以内に陰性となっていた。一方、尿中にはほとんどベクターは検出されておらず、2 症例で一時的に認められたのみであった。また、腫瘍内局所投与にもかかわらず、投与後 30 分をピークに血漿中にベクターが検出された。これはバイオアッセイでの結果であるため、感染性のベクターが検出されていると考えられる。しかし、ベクターの全身循環に由来すると思われる反復する重篤な有害事象は認められていない。10⁹ および 10¹⁰ PFU の Ad5CMV-p53 が投与された 12 症例の投与前後の生検サンプルの解析では、48 時間後に採取した組織の DNA-PCR により 42 回の投与のうち 37 回でベクターが確認されており、ほとんどのケースで確実にベクターが標的部位に deliver されていることが証明された。症例 3 と症例 7 では、それぞれ最終投与後 25 日目、151 日目に剖検が可能であった。いずれも腫瘍組織からは DNA-PCR にてベクター断片が検出され、近位リンパ節でも確認された。また、同サンプルの RT-PCR により 42 回中 34 回で p53 mRNA 発現が認められ、高率に p53 遺伝子発現が誘導されていることが明らかになった。さらに、血中抗アデノウイルス中和抗体価は、ほぼ全例で初回投与後に上昇していた。すなわち、抗体価の上昇にもかかわらず p53 遺伝子発現は持続的に保たれており、局所投与の場合には全身循環する血中中和抗体は導入遺伝子発現に顕著な影響をおよぼさないと推測された。また、血中抗 p53 抗体価は 3 例で比較的継続的に上昇がみられたが、2 例は治療前から上昇しており、その他の症例では有意な変化は認められなかった。

3) **臨床効果**: Ad5CMV-p53 を投与した 15 例中評価可能であった 13 例の臨床効果は、PR (partial response) 1 例、SD (stable disease) 10 例、PD (progressive disease) 2 例であり、1 例の PR 症例と 3 例の SD 症例、計 4 例では、呼吸機能の改善、血痰の消失、肺活量の増加と咳症状の軽快などの QOL (quality of life) の改善や腫瘍マーカーの低下などの臨床的有用性が確認された。SD とは、実施方法で述べている NC (no change) と同義である。第 1 例目の症例では、気管分岐部の扁平上皮癌の退縮 (PR) が見られ、1 年間、計 14 回の投与を行うことが可能であった。治療期間中、病理学的には complete remission (CR) には至らなかったが、腫瘍量は明らかに減少し、そこからの腫瘍増殖は月 1 回のベクター投与で抑制されていた。左肺上葉の腺癌を持つ第 4 例目の症例でも、前医で大量の抗癌剤を使用したにもかかわらず増大していた腫瘍が、遺伝子治療とシスプラチンの併用を開始するとその増殖が止まり、治療を中止した約 8 ヶ月後までほぼサイズが変化しなかった。さらに興味深い点は、この症例では両肺野に多数みられた微小肺内転移も治療期間中増大しなかったことである。右肺上葉の腺癌を持つ第 10 例目では、シスプラチンを併用する遺伝子治療を 2 回施行した後、放射線療法を行った。その後、2 年を越えて腫瘍サイズはほとんど変化せず、平成 16 年 9 月に永眠されたが、治療開始から 3 年 9 ヶ月の生存が得られた。また、東北大学で実施された第 14 例目においても 4 回の遺伝子治療後に、同部位に対して照射を実施したところ、他臓器への転移で死亡するまでの 2 年 4 ヶ月間、原発巣の増大は認められなかった。本症例の経過から、p53 遺伝子導入により放射線感受性が誘導された可能性が示唆された。

【考察】

非小細胞肺癌に対する p53 遺伝子治療は、安全に施行可能であることが明らかとなった。生体内分布に関しても詳細な解析が行われ、抗アデノウイルス抗体価の上昇にもかかわらず、導入された p53 遺伝子発現が長期に得られることがわかった。また、症例によっては腫瘍縮小効果や増殖抑制が認められ、簡便な局所療法としての有用性が確認された。臨床効果で興味深い点は、p53 遺伝子治療後に放射線療法を行った症例で比較的長期の生存が得られたことである。p53 遺伝子導入により放射線感受性が増強した可能性があり、今後のメカニズムの解析や臨床応用への反映が望まれる。欧米では、Ad5CMV-p53 は ADVEXIN[®] として開発が進んでおり、2003 年 9 月、米国食品医薬品庁 (FDA) から頭頸部扁平上皮癌に対するオーファンドラッグとして迅速審査対象医薬品に認定された。近い将来、ADVEXIN[®] は遺伝子治療製剤として市場に出るとされる。それに続き、非小細胞肺癌に対しても世界的に臨床開発が進行する予定である。一方、中国では、1998 年より臨床試験が開始され、Gendicine[®] として 2003 年 10 月に頭頸部癌に対する医薬品として承認され、臨床で使用されている。

本臨床研究への参加希望が 4 施設で計 450 人以上に達しており、残念ながら適応患者はかなりしぼられたものの、社会的ニーズは極めて高いと思われる。今後、第 II 相臨床試験に進み、その有効性を明らかにすることは、一般医療として本治療法が確立されることにつながり、社会的にも重要であると考えられる。現在は極めて進行した患者が対象であるが、ベクターの安全性が確認できれば積極的に他の治療法との併用を検討することができる。例えば、外科的切除可能な症例に術前投与することで腫瘍サイズの縮小を期待したり、また術中の腫瘍細胞散布による転移を抑制することもできる。根治切除不能な症例の切除断端に投与することで、局所再発や遺残腫瘍組織の再増殖を予防することができる。すなわち、

より早期の患者に使用することが可能となり、集学的治療法の一つの選択肢として考えられるようになると期待される。

【結論】

p53 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は安全に施行可能であり、遺伝子導入およびその発現が確認された。遺伝子治療による奏功率は 8%（13 例中 1 例）であり、強い抗腫瘍効果を認めず、本プロトコールによる p53 遺伝子治療については結果を確認して終了することとする。放射線療法との併用効果が推定された結果を受けて今後は、放射線療法と p53 遺伝子治療の併用療法についての研究を行う。

表 1 p53 遺伝子治療を施行された症例一覧

症 例	年／性	病 理	部 位	病 期	前 治 療	投与経路	投 与 量	回数
(岡山大学) 01	58／男	扁平上皮癌	気管分岐部	cT4N0M0 St IIIB	化学療法 放射線療法	気管支鏡	10 ⁹ PFU	14
(岡山大学) 02	58／男	扁平上皮癌	左肺下葉	cT4N2M0 St IIIB	化学療法 放射線療法	気管支鏡 CT	10 ⁹ PFU	9
(岡山大学) 03	66／男	扁平上皮癌	右主気管支	cT2N0M0 St IB (術前)	手術 化学療法 レーザー療法	気管支鏡	10 ⁹ PFU	4
(岡山大学) 04	46／女	腺癌	左肺上葉	cT2N3M1 St IV	化学療法	CT	10 ⁹ PFU + CDDP	10
(岡山大学) 05	55／男	扁平上皮癌	右肺下葉	cT4N1M0 St IIIB	化学療法 放射線療法	気管支鏡 CT	10 ⁹ PFU + CDDP	3
(岡山大学) 06	54／男	扁平上皮癌	左肺上葉	cT3N2M0 St IIIB	化学療法 放射線療法	CT	10 ⁹ PFU + CDDP	2
(東北大学) 07	71／男	扁平上皮癌	右肺上葉	cT4N1M0 St IIIB	化学療法 放射線療法	気管支鏡	10 ¹⁰ PFU	2
(岡山大学) 08	52／男	扁平上皮癌	右肺下葉	cT2N2M0 St IIB	化学療法 放射線療法	気管支鏡	10 ¹⁰ PFU	1
(岡山大学) 09	66／男	扁平上皮癌	左肺上葉	cT2N0M0 St IB (術前)	手術 化学療法 放射線療法	CT	10 ¹⁰ PFU	4
(慈恵会医大) 10	51／男	腺癌	右肺下葉	cT2N2M1 St IV	化学療法	CT	10 ¹⁰ PFU + CDDP	1
(東京医大) 11	51／男	腺癌	右肺上葉	cT4N3M0 St IIIB	化学療法	CT	10 ¹⁰ PFU + CDDP	2
(東京医大) 12	61／男	扁平上皮癌	右肺上葉	cT4N2M0 St IIIB	化学療法 放射線療法	気管支鏡	10 ¹⁰ PFU + CDDP	2
(岡山大学) 13	62／男	扁平上皮癌	左肺下葉	cT4N3M0 St IIIB	化学療法 放射線療法	気管支鏡	10 ¹¹ PFU	1
(東北大学) 14	70／男	扁平上皮癌	左肺上葉	cT2N2M0 St IIIA	化学療法 放射線療法	気管支鏡	10 ¹¹ PFU	4
(東京医大) 15	62／男	扁平上皮癌	右肺上葉	cT4N2M0 St IIIB	化学療法 放射線療法	気管支鏡	10 ¹¹ PFU	4

表 2 p53 遺伝子治療における有害事象

有害事象	重症度			計 (%) N=15
	軽度	中等度	重度	
発熱	1	11	2	14 (93.3%)
血痰	8	1	0	9 (60%)
悪心	2	3	0	5 (33.3%)
嘔吐	3	2	0	5 (33.3%)
咳	4	0	0	4 (26.7%)
下痢	4	0	0	4 (26.7%)
閉塞性肺炎	0	3	1	4 (26.7%)
便秘	3	0	0	3 (20%)
背部痛	2	1	0	3 (20%)
胸痛	3	0	0	3 (20%)
貧血	0	1	2	3 (20%)
口内炎	2	0	0	2 (13.3%)
左肩疼痛	2	0	0	2 (13.3%)
感染症	1	1	0	2 (13.3%)
全身倦怠感	2	0	0	2 (13.3%)
腰痛	2	0	0	2 (13.3%)
神経系 - 聴覚	0	2	0	2 (13.3%)
呼吸困難	0	0	1	1 (6.7%)
肺炎	0	1	0	1 (6.7%)
無気肺	0	0	1	1 (6.7%)
腹部膨満感	1	0	0	1 (6.7%)
感覚神経異常	1	0	0	1 (6.7%)
気胸	1	0	0	1 (6.7%)
血腫 (前胸部)	1	0	0	1 (6.7%)
鼻汁	1	0	0	1 (6.7%)
胸水	1	0	0	1 (6.7%)
下血	1	0	0	1 (6.7%)
歯痛	1	0	0	1 (6.7%)
急性上気道炎	0	1	0	1 (6.7%)
神経系 - 気分	1	0	0	1 (6.7%)
生検部疼痛	1	0	0	1 (6.7%)
白血球減少	1	0	0	1 (6.7%)
食欲不振	0	1	0	1 (6.7%)
体重減少	0	0	1	1 (6.7%)
左手第 2 指化膿	1	0	0	1 (6.7%)
上腕疼痛 (右)	0	1	0	1 (6.7%)

研究成果の公表状況

【学会発表】

1. 藤原俊義、香川俊輔、西崎正彦、田中紀章：非小細胞肺癌に対する Ad5CMV-p53 による遺伝子治療臨床研究：安全性、効果、遺伝子発現、生体内分布に関する中間報告。 **第61回日本癌学会総会（ワークショップ）**、2002.
2. 藤原俊義、田中紀章、香川俊輔、西崎正彦、吉村邦彦、佐藤哲夫、衛藤義勝、西條康夫、貫和敏博、中村治彦、加藤治文：p53 遺伝子発現アデノウイルスベクター（ADVEXIN）を用いた肺癌の遺伝子治療：多施設共同による第 I 相臨床試験。 **第41回日本癌治療学会総会（シンポジウム）**、2003.
3. Fujiwara, T., Tanaka, N., Kataoka, M., Nakamura, H., Saji, H., Kato, H., Saijo, Y., Nukiwa, T., Yoshimura, K., Akiba, T., Sato, T., Eto, Y. Multicenter phase I trial of adenovirus expressing the wild-type p53 gene (Ad-p53) administered intratumorally for the treatment of advanced lung cancer patients: safety, efficacy, transgene expression, and shedding in biological fluids. **第9回日本遺伝子治療学会**、2003.
4. 藤原俊義、田中紀章、香川俊輔、西崎正彦、吉村邦彦、佐藤哲夫、衛藤義勝、中村治彦、加藤治文、西條康夫、貫和敏博：多施設共同による p53 遺伝子発現アデノウイルスベクター（ADVEXIN）を用いた肺癌遺伝子治療の第 I 相臨床試験。 **第62回日本癌学会総会**、2003.

【誌上発表】

1. Fujiwara T, Tanaka N, Kanazawa S, Ohtani S, Saijo Y, Nukiwa T, Yoshimura K, Sato T, Eto Y, Chada S, Nakamura H, Kato H. Multicenter phase I study of repeated intratumoral delivery of adenoviral p53 in patients with advanced non-small-cell lung cancer. *J. Clin. Oncol.* 2006, in press.

別紙様式第4

遺 伝 子 治 療 臨 床 研 究 終 了 報 告 書

平成 18 年 7 月 4 日

厚 生 労 働 大 臣 殿

実 施 施 設	所 在 地	東京都新宿区西新宿 6-7-1 (郵便番号 160-0023)
	名 称	東京医科大学病院 03-3342-6111 (電話番号) 03-3342-6154 (FAX番号)
	代 表 者 役職名・氏名	東京医科大学病院長 阿 部 公 彦



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
非小細胞肺癌に対する正常型 p53 遺伝子発現アデノウイルスベクター及びシスプラチン(CDDP)を用いた遺伝子治療臨床研究	東京医科大学病院 外科学第一講座 教授 加藤 治文

別紙様式第4の別添

遺 伝 子 治 療 臨 床 研 究 終 了 報 告 書

(受付番号)

平成 11 年 9 月 17 日

研 究 の 名 称	非小細胞肺癌に対する正常型 p53 遺伝子発現アデノウイルスベクター及びシスプラチン(CDDP)を用いた遺伝子治療臨床研究
研 究 実 施 期 間	平成 13 年 1 月 17 日から平成 15 年 7 月 9 日まで

総括責任者	所属部局の所在地	東京都新宿区西新宿 6-7-1 (郵便番号 160-0023)	
	所属機関・部局・職	東京医科大学病院 外科学第一講座 教授	
	氏 名	加藤 治文 	
実施の場所	所 在 地	東京都新宿区西新宿 6-7-1 (郵便番号 160-0023)	
	名 称	東京医科大学病院	
	連 絡 先	東京都新宿区西新宿 6-7-1 (電話番号 03-3342-6111) 東京医科大学第一外科	
総括責任者以外の研究者	氏 名	所 属 機 関 ・ 部 局 ・ 職	役 割
	中村 治彦	東京医科大学病院・第一外科・講師	患者の選定、説明及び同意の取得、ベクターの投与、臨床観察、効果判定
	平野 隆	東京医科大学病院・第一外科・講師	説明及び同意の取得、ベクターの投与、臨床観察、効果判定
	大平 達夫	東京医科大学病院・第一外科・助手	説明及び同意の取得、ベクターの投与、臨床観察、効果判定
	海老原 善郎	東京医科大学・病理学第二講座・教授	治療効果の病理学的検討
	水口 純一郎	東京医科大学・免疫学・教授	治療効果の免疫学的検討
	水野 文雄	東京医科大学・微生物学・教授	治療効果のウイルス学的検討

	向井 清	東京医科大学・病理学第一講座・教授	治療効果の病理学的検討
	植田 信太郎	東京大学大学院・理学系研究科生物科学専攻・助教授	分子生物学的実験に関する情報提供
	西條 長宏	国立がんセンター中央病院・内科部長	化学療法に関する情報提供
	横田 淳	国立がんセンター研究所・生物部・部長	癌関連遺伝子に関する情報提供
	Shawn Gallagher	Introgen Therapeutics 社・製品開発担当副社長	Ad5CMV-p53 ウイルスベクターの提供

審査委員会の開催状況	平成 18 年 6 月 1 日の審査委員会において、本研究の目的、経過及び成果について審査委員会各委員に報告し、全委員から承諾を得て、本研究の終了が了承された。 別紙 2 参照		
	審査委員会の長の職名		氏 名
	東京医科大学病院 遺伝子治療臨床研究 審査委員会委員長		大屋敷 一馬 

研 究 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	遺伝子治療は分子標的治療のひとつと位置づけられ、元来、生体内に存在していた細胞制御機構を調整して治療効果を得る点で、従来の薬物治療とは一線を画した治療法である。日本では 1995 年に北海道大学で、先天性代謝疾患であるアデノシンデアミナーゼ (ADA) 欠損症の 4 歳男児に対して、ADA 遺伝子を導入した自己末梢血単核球を投与したのが初めての臨床例である。現在、米国を中心として施行されている遺伝子治療の対象疾患として最も多いのは悪性腫瘍に対するもので、肺癌に対する臨床試験としては米国テキサス大学 MD アンダーソン癌センターの Jack Roth らのグループによって報告されたものが最初である。これは代表的な癌抑制遺伝子である p53 に変異を有する非小細胞肺癌に対して、正常型 p53 遺伝子を導入することにより腫瘍の悪性形質を抑制し、抗腫瘍効果を得ることを目的としている。
対 象 疾 患	非小細胞肺癌
実 施 方 法	1999 年、日本では Roth らの使用したアデノウイルスベクター (Ad5CMV-p53) とその治療プロトコルを導入した phase I 臨床試験がアール ピー アール ジェンセル社と共同で岡山大学第一外科によって開始された。その後、このプロジェクトに東北大学加齢医学研究所、東京慈恵会医科大学、東京医科大学第一外科が加わり、多施設共同研究としての治験が開始された (2001 年から臨床研究)。 1. 東京医科大学病院における p53 肺がん遺伝子治療のプロトコル 本治療には遺伝子組み換え技術によってウイルス増殖に必須な E1A 遺伝子を除去し、正常な p53 遺伝子が組み込まれたアデノウイルスベクター (Ad5CMV-p53) が使用される。このベクターは米国のベンチャー企業の Introgen Therapeutics 社が開発し、米国における治験開始に際しての安全性については FDA の認可が得られている。治療の対象は原則として手術適応がないか、すでに手術後で化学療法、放射線療法が施行され、従来の治療法ではそれ以上の効果が期待できない IIIA 期以上の進行した非小細胞肺癌である。また、腫瘍組織の SSCP 解析で p53 遺伝子に変異を認め、また腫瘍組織の PCR 法解析で E1A 遺伝子が検出されない事が前提となる。臨床試験という性格上、安全を期すためにこの他にもいくつかの除外項目がある。 p53 は最も活発に研究されてきた癌抑制遺伝子のひとつであり、その機能は多岐にわたるが、総じて腫瘍の増殖を抑制する分子機構に深く関与している。 本プロトコルでの肺癌細胞への Ad5CMV-p53 ベクター導入は腫瘍局所への注入で行われる。末梢肺癌に対しては CT ガイド下で経皮的に注入し、中枢気管支の肺癌に対しては内視鏡下に注入される。プロトコルにはベクター単独投与群とベクターと CDDP 併用投与群の 2 アームがある。遠隔転移が存在する症例は必然的に CDDP 併用投与群に振り分けられた。第 1 群は Ad5CMV-p53 ウイルスベクター単独投与による安全性を検討するために行われた。被験者が気管支内腔から観察可能な中枢性の腫瘍を有している場合、気管支鏡を挿入し 21G の経気管支的吸引針を用いて腫瘍内数ヵ所に Ad5CMV-p53 ウイルスベクター調製液を注入した。局所的に進行した末梢型腫瘍に対しては、21G 穿刺針を用いて CT ガイド下穿刺にて腫瘍内にベクター液を局所注入した。ウイルスベクター量は 10^9 PFU から始

	め、第 1 群でのウイルスベクター単独投与が安全であれば、第 2 群として Ad5CMV-p53 ウイルスベクター局所投与と CDDP の全身投与を同時に行った。80 mg/m² の CDDP を第 1 日目に点滴にて静脈内投与し、Ad5CMV-p53 ウイルスベクターは第 4 日目に腫瘍内に局注された。10⁹ PFU のレベルで第 1 群、第 2 群それぞれ 3 人ずつの被験者に試みられた後、Ad5CMV-p53 ウイルスベクター投与量を 10 倍増量し、10¹⁰ PFU のレベルでは第 1 群、第 2 群それぞれ 3 人ずつの被験者に試みられた。次いで最大用量の 10¹¹ PFU では、第 1 群のみで 3 人の被験者に投与された。CDDP 投与量は原則として一定に保たれた。治療後の観察期間中に重篤な副作用が見られず、かつ病変の進行がみられなければ、この治療は 1 ヶ月に 1 度繰り返された。被験者は非小細胞肺癌を有し、原則として臨床病期 IIIA・B 期 あるいは IV 期で外科的に治癒切除不能の症例とされた。月 1 回の間隔で投与し、重篤な副作用、肺癌の進行、患者の中止希望などがなければ最大 12 回の投与を行う。多施設共同で行った臨床研究全体で、15 症例登録し、東京医科大学では、3 症例に対して遺伝子治療を行った。
研究結果の概要 及 び 考 察	症例 1 68 歳 男性 腺癌 症例 2 61 歳 男性 扁平上皮癌 症例 3 62 歳 男性 扁平上皮癌 症例 1 (68 歳) に対して Ad5CMV-p53 ウイルスベクター 10¹⁰ PFU 2 回 (CDDP 併用)、(2001. 1. 17, 2001. 2. 14)、症例 2 (61 歳) には治療回数は 10¹⁰ PFU 3 回 (CDDP 併用)、(2001. 5. 23, 2001. 6. 20, 2001. 7. 18)、症例 3 (62 歳) に対しては 10¹¹ PFU 4 回 (CDDP 併用なし) 行った (2003. 4. 16, 2003. 5. 14, 2003. 6. 11, 2003. 7. 9)。いずれの症例も治療効果としては、SD (Stable Disease) と診断された。遺伝子治療では他の抗癌剤等の治療法に抵抗性の症例を対象に行っており、SD を得られるということは非常に評価される。特に、東京医科大学での一症例が (症例 1)、当臨床研究での最終生存例として長期生存が得られており (遺伝子治療開始より 3 年 8 ヶ月)、その有効性を期待する結果となった。しかし最終症例も死亡し、臨床試験登録症例全例が死亡し、臨床研究は終了した。 死亡原因は全例、癌による死亡であり、遺伝子治療に関連する重篤な合併症などは認められなかった。 詳細は別紙 1 参照。
研究結果の 公 表 状 況	1. Endobronchial/Endothoracic Treatment: Up-to-Date p53 アデノウイルスベクターによる肺癌遺伝子治療 中村治彦, 佐治久, アウテ・イデリス, 緒方昭彦, 川崎徳仁, 西條天基, 本田英俊, 原田匡彦, 加藤治文 気管支学 25 巻 8 号 709-713 頁 (2003.12) 2. 非小細胞肺癌に対する正常型 p53 遺伝子発現アデノウイルスベクター及びシスプラチンを用いた遺伝子治療臨床研究 第 I 相試験 中村治彦, 加藤治文, 西條康夫, 貫和敏博, 吉村邦彦, 佐藤哲夫, 衛藤義勝, 藤原俊義, 田中紀章 肺癌 43 巻 5 号 407 頁 (2003.10) 3. p53 遺伝子発現アデノウイルスベクター (ADVEXIN) を用いた肺癌の遺伝子治療

	多施設共同による第Ⅰ相臨床試験 藤原俊義, 田中紀章, 香川俊輔, 西崎正彦, 吉村邦彦, 佐藤哲夫, 衛藤義勝, 西條康夫, 貫和敏博, 中村治彦, 加藤治文 日本癌治療学会誌 38 巻 2 号 226 頁(2003.09) 4. 多施設共同による p53 遺伝子発現アデノウイルスベクター(ADVEXIN)を用いた肺癌遺伝子治療の第Ⅰ相臨床試験 藤原俊義, 田中紀章, 香川俊輔, 西崎正彦, 吉村邦彦, 佐藤哲夫, 衛藤義勝, 中村治彦, 加藤治文, 西條康夫, 貫和敏博 日本癌学会 62 回総会記事 163 頁(2003.08) 5. p53 アデノウイルスベクターによる肺癌遺伝子治療 中村治彦, 佐治久, 緒方昭彦, 萩原優, 川崎徳仁, 西條天基, 加藤治文 気管支学 25 巻 3 号 163 頁(2003.04) 6. 肺癌遺伝子治療の現況 中村治彦, 佐治久, 加藤治文 呼吸器科 2 巻 3 号 215-220 頁(2002.09) 7. 癌免疫療法・化学療法の新知見 非小細胞肺癌に対する遺伝子治療 中村治彦, 佐治久, 萩原優, 川崎徳仁, 保坂誠, 緒方昭彦, 大平達夫, 加藤治文 日本気管食道科学会会報 53 巻 2 号 155 頁(2002.04) 8. 遺伝子診断及び治療のもたらすもの 肺癌遺伝子治療の経験 佐治久, 中村治彦, 大平達夫, 川崎徳仁, 萩原優, 緒方昭彦, 保坂誠, 小守千守, 加藤治文 東京医科大学雑誌 59 巻 6 号 496-497 頁(2001.11) 9. 分子標的と肺癌治療 非小細胞肺癌に対する p53 アデノウイルスベクターを用いた遺伝子治療 中村治彦, 佐治久, 川崎徳仁, 保坂誠, 緒方昭彦, 萩原優, 大平達夫, 小中千守, 加藤治文 肺癌 41 巻 5 号 414 頁(2001.09) 10. 肺癌の遺伝子診断・治療 中村治彦, 加藤治文 外科治療 82 巻 3 号 364-365 頁(2000.03) 11. Multicenter phase I trial of adenovirus expressing the wild-type <i>p53</i> gene (Ad-<i>p53</i>) administered intratumorally for the treatment of advanced lung
--	---

	cancer patients: safety, efficacy, transgene expression, and shedding in biological fluids. Fujiwara, T., Tanaka, N., Kataoka, M., Nakamura, H., Saji, H., Kato, H., Saijo, Y., Nukiwa, T., Yoshimura, K., Akiba, T., Sato, T., Eto, Y. 第 9 回日本遺伝子治療学会 (2003) 12. Multicenter phase I study of repeated intratumoral delivery of adenoviral p53 in patients with advanced non-small-cell lung cancer. Fujiwara T, Tanaka N, Kanazawa S, Ohtani S, Saijo Y, Nukiwa T, Yoshimura K, Sato T, Eto Y, Chada S, Nakamura H, Kato H. J Clin Oncol. 24(11): 1689-99 (2006.04)
--	--

研究結果の概要および考察

課題名：

非小細胞肺癌に対する正常型 p53 遺伝子発現アデノウイルスベクター及びシスプラチン(CDDP)を用いた遺伝子治療臨床研究

総括責任者：

加藤治文（東京医科大学病院・外科学第一講座・教授）

主な分担研究者：

中村 治彦	東京医科大学病院・第一外科・講師
平野 隆	東京医科大学病院・第一外科・講師
大平 達夫	東京医科大学病院・第一外科・助手
海老原 善郎	東京医科大学・病理学第二講座・教授
水口 純一郎	東京医科大学・免疫学・教授
水野 文雄	東京医科大学・微生物学・教授
向井 清	東京医科大学・病理学第一講座・教授
植田 信太郎	東京大学大学院・理学系研究科生物科学専攻・助教授
西條 長宏	国立がんセンター中央病院・内科部長
横田 淳	国立がんセンター研究所・生物部・部長
Shawn Gallagher	Introgen Therapeutics 社・製品開発担当副社長

【要旨】

「非小細胞肺癌に対する正常型 p53 遺伝子発現アデノウイルスベクター及びシスプラチン(CDDP)を用いた遺伝子治療臨床研究」について臨床応用を推進した。対象となる被験者は切除不能な p53 遺伝子に異常を持つ非小細胞肺癌患者であり、気管支内に突出する腫瘍を有する場合は気管支鏡下に、また末梢型の腫瘍を認める場合はコンピュータリッド・トモグラフィ(CT)ガイド下穿刺により腫瘍部位に微細穿刺針を用いて正常型 p53 遺伝子発現アデノウイルスベクター Ad5CMV-p53 液を注入した。本研究は岡山大学で平成 11 年 3 月より第 1 例目の被験者の治療を開始し、phase I 臨床試験がアール ピー アール ジェンセル社と共同で岡山大学第一外科によって開始された。その後、このプロジェクトに東北大学加齢医学研究所、東京慈恵会医科大学、東京医科大学第一外科が加わり、それぞれ倫理的妥当性に関する国の確認も得た上で、多施設共同研究としての治験が開始された（平成 13 年から臨床研究）。平成 15 年 4 月に目標症例数である 15 例目の被験者の登録を終え、平成 17 年 5 月にすべての被験者の死亡が確認されたため第 I 相臨床試験を終了した。15 例中 6 例ではシスプラチン（CDDP）の全身投与が併用された。最も多くみられた副作用は一過性の発熱のみであり、その他に明らかな因果関係が証明された重篤な有害事象は認められなかった。臨床効果としては、咳や血痰の消失、呼吸機能の改善、腫瘍マーカーの低下などがみられた。また、症例によっては腫瘍縮小がみられ、局所的には癌細胞のアポトーシス誘導が組織学的に確認された。Ad5CMV-p53 投与後に血中抗アデノウイルス中和抗体価は全例で上昇したが、治療後の生検サンプルを用いた RT-PCR 解析では、p53 mRNA 発現は経過中維持される症例がほとんどであった。Ad5CMV-p53 の生体内分布の解析も行ったが、遷延するベクターの排泄などは認められなかった。ただ、腫瘍内投与にもかかわらず Ad5CMV-p53 は血漿中に検出され、全身循環に入ることが確認された。本研究により、Ad5CMV-p53 の腫瘍内投与は安全に施行可能であることが明らかとなった。

【研究結果】

平成 11 年 3 月に岡山大学医学部・歯学部附属病院で開始した本研究は、平成 12 年 4 月に多施設共同臨床研究に移行しており、以後、岡山大学医学部・歯学部附属病院、東京医科大学、東北大学病院、慈恵会医科大学の 4 施設の共同研究として進められた。平成 15 年 4 月に 15 例目の被験者の登録が行われ、平成 17 年 5 月にすべての被験者の死亡が確認され第 I 相臨床試験を終了した。9 例の p53 遺伝子導入単独投与あるいは 6 例のシスプラチン併用の治療が行われた（岡山大学 9 例、東京医大 3 例、東北大学 2 例、慈恵会医大 1 例）（表 1）。

1) **安全性**：現在までのところ、高い確率をもって発症する重篤な副作用は認められておらず（表 2）、

ベクター投与の当日あるいは翌日に一過性の 38℃ 台の発熱はみられているが、いずれも自然と軽快している。ベクター投与後に閉塞性肺炎を発生した症例も認められたが、ベクターそのものとの明らかな因果関係はないと考えられた。CT ガイド下投与の際の気胸やシスプラチン由来と思われる嘔気、食欲不振はみられているが、いずれも米国の臨床試験の結果から予測される範囲内であり、本治療は安全に施行可能であると考えられる。

2) 生体内分布：喀痰から抽出した DNA をテンプレートとしてベクター特異的なプライマーを用いて行った PCR 解析では、多くの症例で投与翌日にベクター断片が検出され、ほとんどの症例で 2 週間以内に陰性となっていた。一方、尿中にはほとんどベクターは検出されておらず、2 症例で一時的に認められたのみであった。また、腫瘍内局所投与にもかかわらず、投与後 30 分をピークに血漿中にベクターが検出された。これはバイオアッセイでの結果であるため、感染性のベクターが検出されていると考えられる。しかし、ベクターの全身循環に由来すると思われる反復する重篤な有害事象は認められていない。10⁹ および 10¹⁰ PFU の Ad5CMV-p53 が投与された 12 症例の投与前後の生検サンプルの解析では、48 時間後に採取した組織の DNA-PCR により 42 回の投与のうち 37 回でベクターが確認されており、ほとんどのケースで確実にベクターが標的部位に deliver されていることが証明された。症例 3 と症例 7 では、それぞれ最終投与後 25 日目、151 日目に剖検が可能であった。いずれも腫瘍組織からは DNA-PCR にてベクター断片が検出され、近位リンパ節でも確認された。また、同サンプルの RT-PCR により 42 回中 34 回で p53 mRNA 発現が認められ、高率に p53 遺伝子発現が誘導されていることが明らかになった。さらに、血中抗アデノウイルス中和抗体価は、ほぼ全例で初回投与後に上昇していた。すなわち、抗体価の上昇にもかかわらず p53 遺伝子発現は持続的に保たれており、局所投与の場合には全身循環する血中中和抗体は導入遺伝子発現に顕著な影響をおよぼさないと推測された。また、血中抗 p53 抗体価は 3 例で比較的継続的に上昇がみられたが、2 例は治療前から上昇しており、その他の症例では有意な変化は認められなかった。

3) 臨床効果：Ad5CMV-p53 を投与した 15 例中評価可能であった 13 例の臨床効果は、PR (partial response) 1 例、SD (stable disease) 10 例、PD (progressive disease) 2 例であり、1 例の PR 症例と 3 例の SD 症例、計 4 例では、呼吸機能の改善、血痰の消失、肺活量の増加と咳症状の軽快などの QOL (quality of life) の改善や腫瘍マーカーの低下などの臨床的有用性が確認された。

【考察】

非小細胞肺癌に対する p53 遺伝子治療は、安全に施行可能であることが明らかとなった。生体内分布に関しても詳細な解析が行われ、抗アデノウイルス抗体価の上昇にもかかわらず、導入された p53 遺伝子発現が長期に得られることがわかった。また、症例によっては腫瘍縮小効果や増殖抑制が認められ、簡便な局所療法としての有用性が確認された。臨床効果で興味深い点は、p53 遺伝子治療後に放射線療法を行った症例で比較的長期の生存が得られたことである。p53 遺伝子導入により放射線感受性が増強した可能性があり、今後のメカニズムの解析や臨床応用への反映が望まれる。欧米では、Ad5CMV-p53 は ADVEXIN[®] として開発が進んでおり、2003 年 9 月、米国食品医薬品庁 (FDA) から頭頸部扁平上皮癌に対するオーファンドラッグとして迅速審査対象医薬品に認定された。近い将来、ADVEXIN[®] は遺伝子治療製剤として市場に出るとされる。それに続き、非小細胞肺癌に対しても世界的に臨床開発が進行する予定である。一方、中国では、1998 年より臨床試験が開始され、Gendicine[®] として 2003 年 10 月に頭頸部癌に対する医薬品として承認され、臨床で使用されている。

本臨床研究への参加希望が 4 施設で計 450 人以上に達しており、残念ながら適応患者はかなりしぼられたものの、社会的ニーズは極めて高いと思われる。今後、第 II 相臨床試験に進み、その有効性を明らかにすることは、一般医療として本治療法が確立されることにつながり、社会的にも重要であると考えられる。現在は極めて進行した患者が対象であるが、ベクターの安全性が確認できれば積極的に他の治療法との併用を検討することができる。例えば、外科的切除可能な症例に術前投与することで腫瘍サイズの縮小を期待したり、また術中の腫瘍細胞散布による転移を抑制することもできる。根治切除不能な症例の切除断端に投与することで、局所再発や遺残腫瘍組織の再増殖を予防することができる。すなわち、より早期の患者に使用することが可能となり、集学的治療法の一つの選択肢として考えられるようになると期待される。

【結論】

p53 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は安全に施行可能であり、遺伝子導入およびその発現が確認された。

表 1 p53 遺伝子治療を施行された症例一覧

症 例	年 / 性	病 理	部 位	病 期	前 治 療	投与経路	投 与 量	回数
(岡山大学) 01	58 / 男	扁平上皮癌	気管分岐部	cT4N0M0 St IIIB	化学療法 放射線療法	気管支鏡	10 ⁹ PFU	14
(岡山大学) 02	58 / 男	扁平上皮癌	左肺下葉	cT4N2M0 St IIIB	化学療法 放射線療法	気管支鏡 CT	10 ⁹ PFU	9
(岡山大学) 03	66 / 男	扁平上皮癌	右主気管支	cT2N0M0 St IB (術前)	手術 化学療法 レーザー療法	気管支鏡	10 ⁹ PFU	4
(岡山大学) 04	46 / 女	腺癌	左肺上葉	cT2N3M1 St IV	化学療法	CT	10 ⁹ PFU + CDDP	10
(岡山大学) 05	55 / 男	扁平上皮癌	右肺下葉	cT4N1M0 St IIIB	化学療法 放射線療法	気管支鏡 CT	10 ⁹ PFU + CDDP	3
(岡山大学) 06	54 / 男	扁平上皮癌	左肺上葉	cT3N2M0 St IIIB	化学療法 放射線療法	CT	10 ⁹ PFU + CDDP	2
(東北大学) 07	71 / 男	扁平上皮癌	右肺上葉	cT4N1M0 St IIIB	化学療法 放射線療法	気管支鏡	10 ¹⁰ PFU	2
(岡山大学) 08	52 / 男	扁平上皮癌	右肺下葉	cT2N2M0 St IIB	化学療法 放射線療法	気管支鏡	10 ¹⁰ PFU	1
(岡山大学) 09	66 / 男	扁平上皮癌	左肺上葉	cT2N0M0 St IB (術前)	手術 化学療法 放射線療法	CT	10 ¹⁰ PFU	4
(慈恵医大) 10	51 / 男	腺癌	右肺下葉	cT2N2M1 St IV	化学療法	CT	10 ¹⁰ PFU + CDDP	1
(東京医大) 11	51 / 男	腺癌	右肺上葉	cT4N3M0 St IIIB	化学療法	CT	10 ¹⁰ PFU + CDDP	2
(東京医大) 12	61 / 男	扁平上皮癌	右肺上葉	cT4N2M0 St IIIB	化学療法 放射線療法	気管支鏡	10 ¹⁰ PFU + CDDP	3
(岡山大学) 13	62 / 男	扁平上皮癌	左肺下葉	cT4N3M0 St IIIB	化学療法 放射線療法	気管支鏡	10 ¹¹ PFU	1
(東北大学) 14	70 / 男	扁平上皮癌	左肺上葉	cT2N2M0 St IIIA	化学療法 放射線療法	気管支鏡	10 ¹¹ PFU	4
(東京医大) 15	62 / 男	扁平上皮癌	右肺上葉	cT4N2M0 St IIIB	化学療法 放射線療法	気管支鏡	10 ¹¹ PFU	4

表 2 p53 遺伝子治療における有害事象

有害事象	重症度			計(%)N=15
	軽度	中等度	重度	
発熱	1	11	2	14(93.3%)
血痰	8	1	0	9(60%)
悪心	2	3	0	5(33.3%)
嘔吐	3	2	0	5(33.3%)
咳	4	0	0	4(26.7%)
下痢	4	0	0	4(26.7%)
閉塞性肺炎	0	3	1	4(26.7%)
便秘	3	0	0	3(20%)
背部痛	2	1	0	3(20%)
胸痛	3	0	0	3(20%)
貧血	0	1	2	3(20%)
口内炎	2	0	0	2(13.3%)
左肩疼痛	2	0	0	2(13.3%)
感染症	1	1	0	2(13.3%)
全身倦怠感	2	0	0	2(13.3%)
腰痛	2	0	0	2(13.3%)
神経系 - 聴覚	0	2	0	2(13.3%)
呼吸困難	0	0	1	1(6.7%)
肺炎	0	1	0	1(6.7%)
無気肺	0	0	1	1(6.7%)
腹部膨満感	1	0	0	1(6.7%)
感覚神経異常	1	0	0	1(6.7%)
気胸	1	0	0	1(6.7%)
血腫(前胸部)	1	0	0	1(6.7%)
鼻汁	1	0	0	1(6.7%)
胸水	1	0	0	1(6.7%)
下血	1	0	0	1(6.7%)
歯痛	1	0	0	1(6.7%)
急性上気道炎	0	1	0	1(6.7%)
神経系 - 気分	1	0	0	1(6.7%)
生検部疼痛	1	0	0	1(6.7%)
白血球減少	1	0	0	1(6.7%)
食欲不振	0	1	0	1(6.7%)
体重減少	0	0	1	1(6.7%)
左手第2指化膿	1	0	0	1(6.7%)
上腕疼痛(右)	0	1	0	1(6.7%)

別紙 2

遺伝子治療臨床研究審査委員会

1. 平成13年12月4日（火）午後6時
 - ・ 遺伝子治療臨床研究実施計画書
「非小細胞肺癌に対する正常型 p53 遺伝子発現アデノウイルスベクター及びシスプラチン（CDDP）を用いた遺伝子治療臨床研究」について
 - ・ 本治療について経過報告があり、合わせて当院が実施した2症例についても経過報告があった。
 - ・ 本臨床研究の「治験」から「臨床研究」への切り替えが審査委員会で承認され、厚生労働省並びに文部科学省へ遺伝子治療臨床研究実施計画変更報告書を提出する事になった。
2. 平成18年6月1日（木）午後3時
 - ・ 遺伝子治療臨床研究終了報告書（案）
「非小細胞肺癌に対する正常型 p53 遺伝子発現アデノウイルスベクター及びシスプラチン（CDDP）を用いた遺伝子治療臨床研究」について
 - ・ 本治療について経過報告があり、本院が実施した3例目について報告があった。
 - ・ 遺伝子治療臨床研究終了報告書の提出が承認された。

遺伝子治療臨床研究適応・安全評価部会

1. 平成13年1月10日（水）午後5時
 - ・ 「非小細胞肺癌に対する正常型 p53 遺伝子発現アデノウイルスベクター及びシスプラチン（CDDP）を用いた遺伝子治療臨床研究」について
 - ・ 第1例目について、臨床研究の適応安全性及び医学的な妥当性について具体的に評価を行い、遺伝子治療が承認された。
2. 平成13年5月18日（金）午後6時
 - ・ 「非小細胞肺癌に対する正常型 p53 遺伝子発現アデノウイルスベクター及びシスプラチン（CDDP）を用いた遺伝子治療臨床研究」について
 - ・ 第1例目について、経過報告があった。
 - ・ 第2例目について、臨床研究の適応安全性及び医学的な妥当性について具体的に評価を行い、遺伝子治療が承認された。
3. 平成13年11月12日（月）午後6時
 - ・ 「非小細胞肺癌に対する正常型 p53 遺伝子発現アデノウイルスベクター及びシスプラチン（CDDP）を用いた遺伝子治療臨床研究」について
 - ・ 第2例目について、経過報告があった。

4. 平成15年4月8日（火）午後6時

- ・ 「非小細胞肺癌に対する正常型 p 53 遺伝子発現アデノウイルスベクター及びシスプラチン（CDDP）を用いた遺伝子治療臨床研究」について
- ・ 第3例目について、臨床研究の適応安全性及び医学的な妥当性について具体的に評価を行い、遺伝子治療が承認された。

5. 平成15年7月30日（水）午後6時

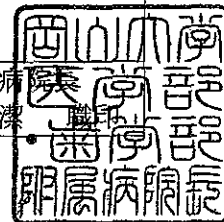
- ・ 「非小細胞肺癌に対する正常型 p 53 遺伝子発現アデノウイルスベクター及びシスプラチン（CDDP）を用いた遺伝子治療臨床研究」について
- ・ 第3例目について、経過報告があった。
- ・ 「遺伝子治療臨床研究重大事態等報告書」の提出について、報告に基づき審議され、遺伝子治療との直接の因果関係は明らかでないと判断された。

遺伝子治療臨床研究終了報告書

平成 18 年 6 月 30 日

厚生労働大臣 殿

実施施設	所在地	岡山県岡山市鹿田町 2 丁目 5 番 1 号 (〒700-8558)
	名称	岡山大学医学部・歯学部附属病院 電話 086-235-7287 FAX 086-231-3986
	代表者 役職名・氏名	岡山大学医学部・歯学部附属病院 森 田 潔



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	岡山大学大学院医歯薬学総合研究科・泌尿器病態学・教授 公文裕巳

遺伝子治療臨床研究終了報告書

平成11年9月16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12年6月29日から平成18年1月12日まで

総括責任者	所属部局の所在地	岡山市鹿田町 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・泌尿器病態学・教授 (岡山大学医学部・歯学部附属病院 泌尿器科 科長)	
	氏名	公文 裕巳	
実施施設	所在地	岡山市鹿田町 2-5-1 (郵便番号 700-8558)	
	名称	岡山大学医学部・歯学部附属病院	
	連絡先	岡山市鹿田町 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	
総括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・泌尿器病態学・助教授	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	岡山大学医学部・歯学部附属病院・泌尿器科・講師	患者の選定、患者への説明及び同意の取得、ベクターの調整、ベクターの投与、臨床観察、基礎的効果判定
	江原 伸	岡山大学医学部・歯学部附属病院・泌尿器科・助手	患者への説明及び同意の取得、ベクターの投与、臨床観察
	賀来春紀	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・助手	患者への説明及び同意の取得
	清水憲二	岡山大学医学部附属分子細胞医学研究施設・病態遺伝子解析部門・教授	組織内における HSV-tk 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・ウイルス学・教授	ウイルスベクター力価の測定

	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
	Dov Kadmon	ベイラー医科大学・泌尿器科・助教授	遺伝子治療研究における基礎的・臨床的解析の指導
	Estuardo Aguilar-Cordova	ベイラー医科大学・小児科・講師、同大学・遺伝子ベクター室長、米国 NIH・Recombinant DNA Advisory Committee (RAC)・委員	ウイルスベクターの作製、安全性のチェック、品質管理
審査委員会の開催状況		平成 18 年 6 月 22 日、本研究の概要、経過、およ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。 なお、研究期間中においては適宜安全・効果判定・適応判定部会を開始したが、重篤な副作用が発生した事例は無く、審査委員会は開催していない。	
		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副委員長 (委員長が病気休暇のため副委員長の決裁とする。)	二宮善文 

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、内分泌療法抵抗性局所再燃前立腺癌に対し Herpes Simplex Virus-thymidine kinase (HSV-tk) 遺伝子発現アデノウイルスベクターを単独で局所内投与し、その後ガンシクロビル (Ganciclovir:GCV) を全身投与した場合の a)安全性の検討 (最大耐量の推定) b)治療効果の観察 (評価可能症例) を目的とする。 内分泌療法中に再燃してきた前立腺癌症例で、臨床的に遠隔転移を認めない局所再燃前立腺癌に対し、まず HSV-tk 遺伝子発現アデノウイルスベクターを単独で腫瘍内に直接投与し、その後 GCV を全身投与する。その際の質的、量的安全性を確認することを本試験の主な目的とする。また、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、ベクターの感染、HSV-tk 遺伝子の発現、アポトーシスの誘導について解析する。	
対象疾患	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、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を対象とした。	
実施方法	<u>前立腺への遺伝子導入：</u> HSV-tk 遺伝子発現アデノウイルスベクターを直接前立腺癌患者の組織内に注射することにより HSV-tk 遺伝子を導入する。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1ないし2ヵ所 (最大2ヵ所) に注入する。注入後、針を抜去する。ウイルスベクター液は原則1ml とした。HSV-tk 遺伝子発現アデノウイルスベクターの注入量は当初レベル1：10^9PFU、レベル2：10^{10}PFU、レベル3：10^{11}PFU と設定したが、本臨床研究の共同研究者である米国ベイラー医科大学で実施された遺伝子治療臨床研究の結果で同じ HSV-tk 遺伝子発現アデノウイルスベクターの至適投与量は低い副作用発現率と同等の臨床効果という観点から 1×10^{10}PFU と判明したので、当初予定していた高用量 (レベル3：1×10^{11}PFU) の投与は施行せず、低用量 (レベル1) と中用量 (レベル2) を投与した。 <u>ガンシクロビル (GCV) の投与：</u> 本来活性を持たない薬剤 (プロドラッグ) であるガンシクロビルの投与は遺伝子導入24時間後から開始する。1回投与量は体重1kgあたり5mgとし、1日2回14日間 (計28回) とした。体重あたりの投与量より換算された量の溶解液を100mlの点滴用生理食塩水に注入し1時間かけて静脈内投与した。 被験者の病歴・現症や赤血球・白血球数、血小板数、出血・凝固時間、電解質、生化学検査一般などの検査は、治療前後に行った。治療開始前後の血液を採取し、アデノウイルスに対する抗体の産生をチェックした。治療前及び治療中の臨床効果は PSA 値および画像診断より評価した。 可能な症例については HSV-tk アデノウイルスベクター投与後に再度経直腸的前立腺針生検により癌組織を採取し、DNA 及び mRNA を抽出した。癌組織の DNA サンプルより特異的なプライマーを用いて PCR を行い HSV-tk 遺伝子発現アデノウイルスベクターの感染を確認した。治療中及び治療後に見られるすべての毒性・副作用は、各治療前後に0～4度で評価された。 治療効果は以下の評価指標に基づいて判定された。 1) Complete Response (CR)：血清 PSA の値が4ng/ml以下に下降し、前立腺生検にて癌病巣が検出されず、癌に関連した症状を認めない場合。 2) Partial Response (PR)：血清 PSA の値が50%以上下降したものの4ng/ml以下には下降しなかった場合。もしくは血清 PSA の値が4ng/ml以下に下降したものの生検で癌細胞を認める場合。 3) No Change (NC)：血清 PSA の値が50%未満の改善か25%未満の増悪を呈した場合。 4) Progressive Disease (PD)：血清 PSA の値が25%以上の増悪を来した場合。も	

	しくは推定腫瘍体積の 25%あるいはそれ以上の増加が見られた場合。または同等の新しい病変が生じた場合。 効果持続期間は効果判定の条件とはせずに、効果発現時期、PR 到達時期、CR 到達時期、病変の増悪時期および患者生存期間を観察し別に明記する（前立腺癌取り扱い規約：前立腺癌の非観血的治療効果判定基準に準拠）。
研究結果の概要及び考察	別紙 1 のとおり
研究成果の公表状況	別紙 2 のとおり

**課題名：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**

総括責任者：

公文裕巳 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 泌尿器病態学 教授

主な分担研究者：

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・助教授
雑賀隆史	岡山大学医学部附属病院・泌尿器科・講師
江原 伸	岡山大学医学部附属病院・泌尿器科・助手
賀来春紀	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・助手

研究協力者

清水憲二	岡山大学医学部附属分子細胞医学研究施設・病態遺伝子解析部門・教授
山田雅夫	岡山大学大学院医歯薬学総合研究科・ウイルス学・教授
Timothy C. Thompson	ベイラー医科大学・泌尿器科・教授
Dov Kadmon	ベイラー医科大学・泌尿器科・助教授
Estuardo Aguilar-Cordova	ベイラー医科大学・小児科・講師
	同大学・遺伝子ベクター研究室・室長
	米国 NIH・Recombinant DNA Advisory Committee (RAC)・委員

【要旨】

「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」を実施した。対象となる被験者は内分泌療法中に再燃してきた臨床的に遠隔転移を認めない局所再燃前立腺癌とした。まず Herpes Simplex Virus-thymidine kinase (HSV-tk) 遺伝子発現アデノウイルスベクターを単独で腫瘍内に直接投与し、その後ガンシクロビル (GCV) を全身投与した。本研究は 2001 年 3 月より第 1 例目の被験者の治療を開始し、平成 17 年 7 月に最終登録例である 9 例目の被験者の治療を実施し、6 ヶ月以上観察したので、臨床試験を終了とした（8 名のべ 9 症例）。

9 症例すべてにおいて重篤な副作用は認めなかった。アデノウイルスベクターの前立腺への注入は簡便かつ低侵襲に実施可能であった。ウイルス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軽度でかつ一過性であった。ウイルスベクター投与後、48 時間において採取した組織において mRNA レベルでの HSV-tk 遺伝子の発現が確認された。治療効果の指標として腫瘍マーカーである PSA は 9 例中 6 例 (66.7%) において低下した。

結論として局所再燃前立腺癌に対し、HSV-tk 遺伝子発現アデノウイルスベクターを単独で局所内投与し、その後 GCV を全身投与することの安全性および治療効果が確認された。

【研究目的】

HSV-tk 遺伝子を用いた遺伝子治療は別名「自殺遺伝子治療」と呼ばれ、遺伝子導入を受けた細胞を死に至らしめる治療法である。HSV-tk 遺伝子が導入された細胞に、本来活性を持たない薬剤（プロドラッグ）であるガンシクロビル (GCV:Ganciclovir) を作用させた場合、GCV は細胞内で発現した thymidine kinase により段階的にリン酸化され、最終的には 3 リン酸化 GCV となり DNA の合成を阻害し、細胞をアポトーシスに導く。本治療法を用いた臨床研究は米国において脳腫瘍、悪性中皮腫、卵巣癌、肺癌、悪性黒色腫、頭頸部癌、前立腺癌に対して施行されており、特に前立腺癌に関する研究はすべてベイラー医科大学ならびにその関連施設からのものである。本研究においては、臨床的に有効な治療法が確立されていない内分泌療法抵抗性局所再燃前立腺癌にこの自殺遺伝子治療を適用し、安全性を検討するとともに殺細胞効果によってもたらされる臨床効果を観察する。

本研究は、内分泌療法抵抗性局所再燃前立腺癌に対し、HSV-tk 遺伝子発現アデノウイルスベクターを単独で局所内投与し、その後 GCV を全身投与した場合の

- 1) 安全性の検討（最大耐量の推定）
- 2) 治療効果の観察（評価可能症例）

を目的とする。

内分泌療法中に再燃してきた前立腺癌症例で、臨床的に遠隔転移を認めない局所再燃前立腺癌に対し、まず HSV-tk 遺伝子発現アデノウイルスベクターを単独で腫瘍内に直接投与し、その後 GCV を全身投与する。その際の質的、量的安全性を確認することを本試験の主な目的とする。また、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、ベクターの感染、HSV-tk 遺伝子の発現、アポトーシスの誘導について解析する。

【実施方法】

遺伝子導入方法：

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 アデノウイルスベクターの溶液を 1 ないし 2 ヶ所（最大 2 ヶ所）に注入する。穿刺に関しては一般臨床に用いている装置を用いたが、注入に関しては岡山大学で作成したベクター注入装置を用いて行った（特許申請中）。注入後、針を抜去する。ウイルスベクター液は原則 1 ml とする。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、翌日抜去する。

HSV - tk アデノウイルスベクターの注入量は当初レベル 1 : 10^9 PFU、レベル 2 : 10^{10} PFU、レベル 3 : 10^{11} PFU と設定したが、本臨床研究の共同研究者である米国ベイラー医科大学で実施された遺伝子治療臨床研究の結果では同じ HSV-tk アデノウイルスベクターの至適投与量が低い副作用発現率と同等の臨床効果という観点から 1×10^{10} PFU と判明したので、当初予定していた高用量（レベル 3 : 1×10^{11} PFU）の投与は施行せず、低用量（レベル 1）と中用量（レベル 2）を投与した。

ガンシクロビル（GCV）の投与：

ガンシクロビルの投与は遺伝子導入 24 時間後から開始する。腎機能正常例での 1 回投与量は体重 1 kg あたり 5 mg とし、1 日 2 回 14 日間（計 28 回）とする。薬剤は 500mg が 1 バイアルに包装されており 10ml の生理食塩水で溶解し 50mg/ml に調整する。体重あたりの投与量より換算された量の溶解液を 100ml の点滴用生理食塩水に注入し 1 時間かけて静脈内投与する。腎機能障害例ではその障害の程度に応じて減量もしくは投与間隔を変更する。

被験者の病歴・現症や赤血球・白血球数、血小板数、出血・凝固時間、電解質、生化学検査一般などの検査は、治療前後に行った。治療開始前後の血液を採取し、アデノウイルスに対する抗体の産生をチェックした。治療前及び治療中の臨床効果は PSA 値および画像診断より評価した。

可能な症例については HSV - tk アデノウイルスベクター投与後に再度経直腸的前立腺針生検により癌組織を採取し、DNA 及び mRNA を抽出した。癌組織の DNA サンプルより特異的なプライマーを用いて PCR を行い HSV - tk ウイルスベクターの感染を確認した。治療中及び治療後に見られるすべての毒性・副作用は、各治療前後に 0 ～ 4 度で評価された。

治療効果は PSA が最大下降を示した時点で以下の評価指標に基づいて判定された。

- 1) Complete Response (CR) : 血清 PSA の値が 4 ng/ml 以下に下降し、前立腺生検にて癌病巣が検出されず、癌に関連した症状を認めない場合。
- 2) Partial Response (PR) : 血清 PSA の値が 50% 以上下降したものの 4 ng/ml 以下には下降しなかった場合。もしくは血清 PSA の値が 4 ng/ml 以下に下降したものの生検で癌細胞を認める場合。
- 3) No Change (NC) : 血清 PSA の値が 50% 未満の改善か 25% 未満の増悪を呈した場合。
- 4) Progressive Disease (PD) : 血清 PSA の値が 25% 以上の増悪を来した場合。もしくは推定腫瘍体積の 25% あるいはそれ以上の増加が見られた場合。または同等の新しい病変が生じた場合。

効果持続期間は効果判定の条件とはせずに、効果発現時期、PR 到達時期、CR 到達時期、病変の増悪時期および患者生存期間を観察し別に明記する（前立腺癌取り扱い規約：前立腺癌の非観血的治療効果判定基準に準拠）。

（倫理面への配慮）

被験者へのインフォームドコンセントのために作成した文書は新 GCP に乗っ取って作成されており、治療遺伝子やベクターに関しても図を多用してできるだけ平易な言葉で説明している。また、米国で進行中の臨床試験の安全性や治療効果の情報も網羅されている。本研究の「実施計画書」および「説明と同意書」は、遺伝子治療臨床研究審査委員会承認されており、また厚生省先端医療技術評価部会および文部省遺伝子治療臨床研究専門委員会が倫理的妥当性について了承されている。

【研究結果】

2001 年 3 月第 1 例目を施行し、現在までに 8 名のべ 9 症例に対して実施しており、臨床研究を終了し

た(表1)。HSV-tk 遺伝子発現アデノウイルスベクターの低用量(レベル1: 1×10^9 PFU)の投与は3例、中用量(レベル2: 1×10^{10} PFU)は6例の投与を行った。この内、中用量を投与した1例(症例7)は低用量投与後(症例3に該当、2002年3月26日投与)にPSAが低下したため経過観察を行っていたが再度上昇したため、初回投与後より2年後(2004年4月7日)に2回目の遺伝子治療を行った症例である。(症例3,7は同一患者である。)

本臨床研究の共同研究施設である米国ベイラー医科大学で実施された遺伝子治療臨床研究の結果で HSV-tk 遺伝子発現アデノウイルスベクターの至適投与量は低い副作用発現率と同等の臨床効果という観点から 1×10^{10} PFU と判明したので、当初予定していた高用量(レベル3: 1×10^{11} PFU)の投与は施行せず、中用量は予定より3例を追加した。以下にベイラー医科大学での経過の概略を記載する。まず初期

の18例においては 1×10^{10} PFU 投与の4例中2例に grade1 の発熱、 1×10^{11} PFU 投与の5例中2例に grade2 の発熱が出現し、 1×10^{11} PFU 投与の5例目に血小板減少症(grade4)、肝機能障害(grade3)が出現し試験は中止となった(当該症例については、審査段階で確認・討議されておりベクターが誤って静脈内に投与されたことが原因と考えられている)。治療効果的には PSA が50%以上下降した症例を 1×10^{10} PFU、 1×10^{11} PFU 投与各群に一例ずつ認めた。(Herman. Human Gene Therapy 10:1239, 1999.)その後、試験を継続拡大し18例の追加投与が行われ、その際には 1×10^{10} PFU を中心に 1×10^{10} PFU11例、 2.5×10^{10} PFU3例、 3.0×10^{10} PFU4例実施されている。(Miles. Human Gene Therapy 12:1955, 2001)

1) 安全性:

研究期間を通じて grade3 もしくは grade4 の重篤な副作用は認められなかった。副作用についてその詳細を表2に示すがいずれも grade1-2 であり特に治療を要せず自然軽快した。副作用により治療を中止した症例は認められなかった。

血尿、頭痛、発熱、嘔気などをアデノウイルスベクター注入当日から三日目までに認めたが軽度であり自然軽快した。CRPの軽度かつ一過性上昇を高用量投与群の6例中4例に認めた。

2) 手技の簡便性、低侵襲性

前立腺へのベクター注入は経直腸的超音波を用い超音波に装着された穿刺用ガイド装置を用いて実施されたが、手技的には一般臨床にてルーチンに実施されている前立腺生検術(通常:無麻酔下、外来処置もしくは短期入院)と同様である。ベクターの注入に関してもわれわれが考案した注入装置により術者が足元のスイッチを用いて正確かつ迅速に注入することが可能となった。そのため超音波装置を挿入し、注入を終え超音波装置を抜去するまでの所要時間は10~20分である。現時点では腰椎麻酔下を実施しているが、将来は米国同様無麻酔にて実施可能と考える。

3) 生体内分布:

血液中へのアデノウイルスベクターの移行は低用量群においては認められず、中用量群において投与30分をピークに認められたが翌日には消失した。尿中への移行は投与直後において認めたが多くの場合は2日目に消失した(別表)。ウイルス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軽度で

表1 Patients Characteristics

Patients no.	Age	Stage	Gleason Score	Prior-treatment	Pre-treatment PSA(ng/ml)
Level 1					
1	65	C	5+5	Castration	23.2
2	61	C	5+4	LH-RH+XRT	4.1
3*	78	B	3+3	LH-RH	4.0
Level-2					
4	64	C	4+5	LH-RH	26.0
5	69	C	5+4	LH-RH	21.8
6	70	C	4+5	LH-RH	29.9
7*	80	B	3+3	LH-RH	7.0
8	80	C	5+4	LH-RH	8.8
9	66	C	5+3	LH-RH +XRT	14.6

*: same patients

表2 Adverse Events

Patients no.	Increased CRP	Hematuria	headache	Dermoreaction	Others
<u>Level 1</u>					
1		Grade 1			Voiding disturbance, Pollakisuria, Increased LD Nausea
2					
3			Grade 1		
<u>Level 2</u>					
4	Grade 1	Grade 1		Grade 2 (eczema)	Fever,,Lukocytopenia Increased T bil. Micturition pain
5	Grade 1		Grade 1		
6	Grade 1				
7		Grade 1			
8	Grade 1				
9					

かつ一過性であった（別表）。ウイルスベクター投与後、48 時間において採取した組織において mRNA レベルでの HSV-tk 遺伝子の発現が確認された（検討可能であった症例 1, 2, 4, 6）。

4) 臨床効果： （別表）

治療効果の指標として腫瘍マーカーである PSA は 9 例中 6 例（66.7%）において低下した。PSA の低下した 6 例の PSA 減少率（PSA reduction）は 6.7～43.9%（平均 24.1%）であった。PSA が低下した症例においてはベクター投与後 3～4 週間の時点において PSA は最大下降を示した。2 回投与を行った 1 名（のべ 2 症例）では、低用量である 1×10^9 PFU 投与後（症例 3 に該当、2002 年 3 月 26 日投与）に PSA が低下したため経過観察を行っていたが投与再度上昇したため、初回投与後より 2 年後（2004 年 4 月 7 日）に中用量である 1×10^{10} にて 2 回目の遺伝子治療を行った（症例 7 に該当）。

PSA 下降例 6 例についてはその後 PSA は徐々に上昇をきたし、5 例は PSA 最大下降時から中央値 3 ヶ月（2～7 ヶ月）で治療前値にまで戻った（PSA が治療前値にまで戻る期間：TR-PSA the time of return to initial PSA として別表に記載）。1 例（症例 7）は 13 ヶ月の時点で治療前値には戻っておらず LH-RH 投与のみ経過観察中である。

転帰であるが、PSA の下降を示さなかった 3 例中 2 例（症例 1, 2）は死亡した（症例 1 は前立癌による死亡、症例 2 については経過中に大腸がんを発症、両者とも進行し死亡）。経過の追跡が可能であった他の 5 症例（症例 3, 4, 7, 8, 9）については現在生存中である。症例 7（3 と同一症例）については LH-RH 投与のみにて経過観察中であり、症例 4, 8, 9 については LH-RH の継続投与と抗がん剤もしくは抗アンドロゲン剤による治療を実施中である。

【考察】

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及びガンシクロビルを用いた遺伝子治療は、安全かつ簡便に施行可能であることが明らかとなった。

生体内分布の解析により、血液中にはほとんど移行せず、尿中へのベクターは翌日にはほとんどの例で消失しており最大でも 2 日目には全例消失しており、将来的には原則投与後 24 時間の個室隔離期間を含めた短期間の入院にて治療可能となることが示唆された。このことは前立腺組織に治療用アデノウイルスベクターを注入することの安全性を確認したこととなり、今後類似の遺伝子治療臨床研究を実施する上において有益な情報となる。

治療が行われた 9 例中 6 例（66.7%）に PSA の低下が認められ、2 回投与を行った 1 名（のべ 2 症例）では、用量を 10 倍上げた 2 回目にも PSA の低下が認められ、複数回の投与の安全性も示唆された。

本治療は簡便かつ低侵襲にかつ複数回実施可能であり、QOL を低下することなく治療可能であり高齢者や合併症を有する患者にも恩恵があると思われる。

今回の一連の結果は、先行する米国ベ일러医科大学で前立腺癌放射線治療後の再発症例に対して同じく HSV-tk 遺伝子発現アデノウイルスベクターを用いて実施された研究結果（Miles et al: Human Gene Therapy 12: 1955-67, 2001: 36 例中 27 例 78%の症例に PSA の低下をみとめ、複数回投与での有効性を確認）とほぼ同様の結果を得ることが出来たことになる。内分泌療法後の再燃症例に対する当該遺伝子治療の有効性をヒトにおいて確認したという点においては世界で最初である。

現在は倫理的観点から有効な治療法が確立されていない内分泌療法再燃患者が対象であるが、今回当該治療法の安全性が確認され、有効性も示唆されたことにより積極的に他の治療法との併用を検討することが可能となる。例えば、外科的切除可能な症例に術前投与することで腫瘍サイズの縮小を期待したり、またネオアジュバント効果としての再発ならびに転移を抑制することも期待できる（米国ベ일러医科大学で実施中、北里大学申請中）。放射線療法、内分泌療法との併用も可能と考えられる（米国ベ일러医科大学で実施中）。すなわち、より早期の患者に使用することが可能となり、集学的治療法の 1 つの選択肢として考えられるようになると期待される。また岡山大学では次のステップとして 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を前立腺癌を対象として実施計画中であるが、その安全性と有効性が確認されれば、両者の併用による臨床研究も実施可能となる。分担研究者である那須は研究協力者のベ일러医科大学 Thompson 博士らとともにすでに両者の併用効果を動物実験にて確認しており、ヒトでの効果発現を期待したい。

【結論】

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及びガンシクロビルを用いた遺伝子治療は安全、簡便かつ低侵襲に施行可能であった。さらに投与部位における導入遺伝子の発現が確認され、治療効果も認められた。

別表 HSV-tk 遺伝子治療を施行された症例一覧

	Age	Stage	Dose (PFU)	Vector shedding (real-time PCR)	Neutralising antibody	Gene expression	Pre-treatment PSA	PSA Nadir	PSA reduction	Effect	TR-PSA (months)	Survival (follow up duration: months)
1	65	C	10 ⁹	Positive in Urine 30min	Pre: 8 2w : 8 4w: N/A	Yes	23.2	(34.9)	(+50.4%)	PD	none	Died from Prostatic ca(60)
2	61	C	10 ⁹	None	Pre: 4 2w : 512 4w: 1024	Yes	4.1	(5.68)	(+38.5%)	PD	none	Died from colon ca and prostate ca (50)
3*	78	B	10 ⁹	None	Pre: 4 2w : 512 4w: 256	No sample obtained	4.0	3.58 at 8 weeks	<u>Normalized</u> -10.1%	PR	7.0	Alive (52 from 1 st injection)
4	64	C	10 ¹⁰	Positive in Urine 90min	Pre: 4 2w : 256 4w: 128	Yes	26.0	24.4 at 8 weeks	-6.7%	NC	6.0	Alive (34)
5	69	C	10 ¹⁰	Positive in Urine 30min	Pre: 32 2w : 2048 4w: 1024	No sample obtained	21.8	13.3 at 3 weeks	-38.7%	NC	2.0	Out of follow (alive at 23)
6	70	C	10 ¹⁰	Positive in Urine day 1	Pre: 32 2w : 2048 4w: 1024	Yes	29.9	20.7 at 4 weeks	-30.6%	NC	4.0	Out of follow (alive at 9)
7*	80	B	10 ¹⁰	Positive in Urine day 1	Pre: 64 2w : 256 4w: 128	No sample obtained	7.0	3.9 at 4 weeks	<u>Normalized</u> -43.9%	PR	>13.0	Alive (27 from 2 nd injection)
8	80	C	10 ¹⁰	Positive in Urine 90min	Pre: 64 2w : 128 4w: 256	No sample obtained	8.8	7.3 at 4 weeks	-17.6%	NC	3.0	Alive (15)
9	66	C	10 ¹⁰	Positive in Urine 90min	Pre: 128 2w : 256 4w: 128	No sample obtained	14.6	(26.2)	(+79.4%)	PD	none	Alive (12)

*: 同一症例

Normalized: PSA が 4.0ng/ml 以下に下降

PSA reduction (PSA 減少率): NC,PR 症例については最大下降時(PSA nadir)をもとに計算

PD 症例については 4 週の時点での PSA 値で計算

TR-PSA (the time of return to initial PSA): PSA が治療前値にまで戻る期間

予後 (survival) : 症例 5,6 については患者の希望により転院 (追跡可能であった期間を記載)

研究成果の公表状況

【学会発表】

1. 那須保友, 江原 伸, 新 良治, 津島知靖, 公文裕巳, Thompson T.C. : 前立腺癌に対する自殺遺伝子治療臨床研究－第一例目の実施報告－ 泌尿器遺伝子治療研究会 2001.
2. Nasu Y., Ebara S., Saika T., Tsushima T., Thompson T.C., Kumon H. : Phase I/II study of adenoviral vector delivery of HSK-TK gene and the intravenous administration of ganciclovir in men with local recurrence of prostate cancer after hormonal therapy 日本遺伝子治療学会 2002.
3. 那須保友, 江原 伸, 津島知靖, 公文裕巳, Thompson T.C. : 前立腺癌に対する自殺遺伝子治療臨床研究の経過報告 日本癌治療学会総会 2002.
4. 江原 伸, 那須保友, 津島知靖, 公文裕巳, Thompson T.C. : 前立腺癌に対する自殺遺伝子治療臨床研究の経過報告 泌尿器遺伝子・細胞治療研究会 2002.
5. 江原 伸, 那須保友, 津島知靖, 公文裕巳, Thompson T.C. : 前立腺癌に対する自殺遺伝子治療臨床研究の経過報告 日本泌尿器科学会総会 2003.
6. 那須保友, 江原 伸, 日下信行, 雑賀隆史, 津島知靖, 公文裕巳, 賀来春紀, Thompson T.C. : 前立腺癌に対する自殺遺伝子治療臨床研究の経過報告 泌尿器遺伝子・細胞治療研究会 2003.
7. 那須保友, 江原 伸, 真鍋大輔, 雑賀隆史, 公文裕巳, 賀来春紀, 藤原俊義, Timothy C. Thompson : 内分泌療法抵抗性進行前立腺癌に対する遺伝子治療臨床研究 日本癌治療学会 2005.
8. 賀来春紀, 那須保友, 江原 伸, 雑賀隆史, 公文裕巳, Thompson T. : 前立腺癌に対する自殺遺伝子治療臨床研究報告 泌尿器遺伝子・細胞治療研究会 2005.

【雑誌発表】

1. 那須保友 : 前立腺癌の遺伝子治療－臨床研究における最近の動向－ 医学のあゆみ 203(5) : 323-327 2002.
2. 那須保友, 公文裕巳 : 前立腺癌に対する自殺遺伝子治療の最新知見 日本臨床 61(7) : 1257-1265 2003.
3. 那須保友, 公文裕巳 : 前立腺癌の遺伝子治療 日本臨床 63 : 335-338 2005.



別紙様式第4

遺 伝 子 治 療 臨 床 研 究 終 了 報 告 書

平成18年 6 月 30日

厚生労働大臣 殿

実 施 施 設	所在地	〒565-0871 大阪府吹田市山田丘 2-15
	名 称	大阪大学医学部附属病院 電話番号：06-6879-5111（代表） FAX 番号：06-6879-5019
	代表者 役職名・氏名	大阪大学医学部附属病院 病院長 荻原 俊男



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
HGF 遺伝子プラスミドを用いた末梢性血管疾患（慢性閉塞性動脈硬化症・ビュルガー病）の治療のための遺伝子治療臨床研究	大阪大学医学部附属病院 老年・高血圧内科長 （現 老年・腎臓内科） 大阪大学大学院医学系研究科 加齢医学講座教授 荻原 俊男

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：1999年11月10日

研究の名称	HGF 遺伝子プラスミドを用いた末梢性血管疾患（慢性閉塞性動脈硬化症・ビュルガー病）の治療のための遺伝子治療臨床研究
研究実施期間	2001年5月9日から2005年5月9日まで

総括責任者	所属部局の所在地	〒565-0871 大阪府吹田市山田丘 2-15	
	所属機関・部局・職	大阪大学医学部附属病院・老年・高血圧内科・科長(現 老年・腎臓内科)	
	氏 名	荻原 俊男  印	
実施の場所	所在地	〒565-0871 大阪府吹田市山田丘 2-15	
	名 称	大阪大学医学部附属病院	
	連絡先	大阪府吹田市山田丘 2-15 電話番号：06-6879-3850	
総括責任者以外の研究	氏 名	所属機関・部局・職	役 割
	金田 安史	大阪大学大学院・医学系研究科・遺伝子治療学教授	プラスミド作成および管理、分子生物学的助言
	松田 暉	大阪大学医学部附属病院・心臓血管外科長(退職後)	外科的診療の管理
	澤 芳樹	大阪大学医学部附属病院・心臓血管外科講師(現 教授)	外科的診療の管理、緊急時の担当
	森下 竜一	大阪大学大学院・医学系研究科・寄附講座教員(客員教授)	遺伝子治療病棟の管理
	青木 元邦	大阪大学医学部附属病院・老年・高血圧内科助手	患者の選定、薬剤投与、臨床観察
	大石 充	大阪大学医学部附属病院・老年・高血圧内科助手	患者の治療、薬剤投与、臨床観察
	山崎 慶太	大阪大学医学部附属病院・老年・高血圧内科医師(退職後)	患者の治療、薬剤投与、臨床観察
	橋弥 尚孝	大阪大学医学部附属病院・老年・高血圧内科医師(退職後)	患者の治療、薬剤投与、臨床観察
	牧野 寛史	大阪大学医学部附属病院・老年・高血圧内科医師	患者の治療、薬剤投与、臨床観察
	志水 秀郎	大阪大学医学部附属病院・老年・高血圧内科医師	患者の治療、薬剤投与、臨床観察
	東 純哉	大阪大学医学部附属病院・老年・高血圧内科医師	患者の治療、薬剤投与、臨床観察
	栗波 仁美	大阪大学医学部附属病院・老年・高血圧内科医師	患者の治療、薬剤投与、臨床観察
	竹屋 泰	大阪大学医学部附属病院・老年・高血圧内科医師	患者の治療、薬剤投与、臨床観察

審査委員会の開催状況	大阪大学医学部附属病院遺伝子治療臨床審査委員会は、平成 11 年 4 月に設置され、平成 11 年 4 月 12 日に第一回の審査委員会を開催し、以後合計 29 回の審査委員会を開催した。審査・検討内容については、本対象疾患（慢性閉塞性動脈硬化症・ビュルガー病）及びその検査法・合併症の領域における学内外の専門家からなる適応・評価小委員会を平成 11 年 6 月に設置し、これまで 33 回、本小委員会を開催した。検討・審査結果は、審査委員会に答申され、審査委員会で審議して承認する審査体制をとった。 <table border="1" data-bbox="582 584 1487 900"> <tr> <th data-bbox="582 584 1090 633">審査委員会の長の職名</th><th data-bbox="1090 584 1487 633">氏 名</th></tr> <tr> <td data-bbox="582 633 1090 900"> 大阪大学医学部附属病院 循環器内科・腎臓内科長 (現 循環器内科) 大阪大学大学院医学系研究科 病態情報内科学 教授 (現 循環器内科学) </td><td data-bbox="1090 633 1487 900"> 堀 正二  </td></tr> </table>	審査委員会の長の職名	氏 名	大阪大学医学部附属病院 循環器内科・腎臓内科長 (現 循環器内科) 大阪大学大学院医学系研究科 病態情報内科学 教授 (現 循環器内科学)	堀 正二 
審査委員会の長の職名	氏 名				
大阪大学医学部附属病院 循環器内科・腎臓内科長 (現 循環器内科) 大阪大学大学院医学系研究科 病態情報内科学 教授 (現 循環器内科学)	堀 正二 				

研究の区分	遺伝子治療臨床研究 遺伝子標識臨床研究
研究の目的	本遺伝子治療臨床研究では、代替療法のない末梢性血管疾患（慢性閉塞性動脈硬化症・ビュルガー病）患者を対象に血管新生因子である肝細胞増殖因子（hepatocyte growth factor：HGF）遺伝子プラスミド（以下「プラスミド」という。）の筋肉内注射を行い、本治療法の安全性と有効性を検討する。本臨床研究では、上記疾患により著しくQOLが障害されているが、内科的治療による改善がみられず、血行再建術の適応がなく将来肢趾切断が予想される患者を対象とする。これまでの動物実験により、HGF遺伝子の投与は末梢性血管疾患モデルにおいて血管新生に伴う血流増加作用をもたらすことが示されている。本臨床研究の主たる目的は、末梢性血管疾患患者に対し、初めてヒトHGFプラスミドの筋肉内投与を行い、その安全性と有効性を検討することである。
対象疾患	末梢性血管疾患（慢性閉塞性動脈硬化症・ビュルガー病）
実施方法	第一および第二ステージは本来一つの臨床研究であるが、安全性確保のため便宜的に二つのステージに分けて実施する。第一ステージは「急性アレルギー反応およびプラスミド投与による安全性と治療効果の予備判定」を行うため、安静時痛または虚血性潰瘍・壊死を有する患者（Fontaine 分類：Ⅲ度およびⅣ度、または、Rutherford 慢性虚血肢臨床分類：Ⅱ度 4 群、Ⅲ度 5 群およびⅢ度 6 群）に行う。 まず、0.4 mg のプラスミド予備投与を行い、2 週間後 2 mg のプラスミドを罹患肢筋肉の 4 ヲ所に 0.5mg ずつ注入する。プロトコールに沿った検査項目および観察項目の観察・測定を実施し、有害事象に留意しながら、1 ヲ月後にプラスミドを 4 ヲ所に各 0.5 mg（合計 2 mg）ずつ筋肉内投与する。 第一ステージの全症例が最終遺伝子導入 2 ヲ月を経過して、小委員会が安全性に問題がないと判断し、審査委員会で承認された後、第二ステージ「プラスミド投与による安全性と治療効果の確認、有効用量の決定」に進む。第二ステージの患者は、高度跛行、安静時疼痛または虚血性潰瘍・壊死を有する患者（Fontaine 分類：Ⅱb 度、Ⅲ度およびⅣ度、もしくは、Rutherford 慢性虚血肢臨床分類：Ⅰ度 3 群、Ⅱ度 4 群、Ⅲ度 5 群およびⅢ度 6 群）を対象とし、予備投与を行わず、1) 2 mg 投与を 8 例、2) 4 mg 投与を 8 例に行う（各群へのエントリーは封筒法を用いて無作為に行う）。 研究実施期間は、厚生労働省および文部科学省から実施が差し支えない旨回答された日から 4 年間とする。
研究結果の概要 及び考察	別紙最終報告書のとおり
研究成果の公表状況	Morishita R, Aoki M, Hashiya N, Yamasaki K, Azuma J, Sawa Y, Matsuda H, Kaneda Y, Ogiwara T. Safety evaluation of clinical gene therapy using hepatocyte growth factor to treat peripheral arterial disease.

	Hypertension 2004; 44(2): 203-9 (一部修正あり)
--	--

(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. この申請書は、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. 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. 大学等にあつては、この報告書を、厚生労働大臣のほか文部科学大臣にも提出すること。

「HGF 遺伝子プラスミドを用いた末梢性血管疾患（慢性閉塞性動脈硬化、ビュルガー病）の
治療のための遺伝子治療臨床研究」に対する最終報告書

大阪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 堀 正二

平成18年6月

添付資料

1. 申請者から提出された「HGF 遺伝子プラスミドを用いた末梢性血管疾患の治療のための
遺伝子治療臨床研究－治療成績のまとめ－最終投与 24 ヶ月後までの成績」
（小委員会からの検討結果に基づいて 2006.4.26 改訂、2006.6.6 最終改訂） → 抜粋を添付
2. HGF 遺伝子プラスミドを用いた末梢性血管疾患の治療のための遺伝子治療臨床研究－
安全性・有効性評価最終報告書（小委員会） → 抜粋を添付
3. HGF 遺伝子プラスミドを用いた末梢性血管疾患の治療のための遺伝子治療臨床研究－
治療投与後 6 ヶ月までの安全性・有効性報告（小委員会） → 添付省略

1. 最終報告にあたって

大阪大学医学部附属病院遺伝子治療臨床研究審査委員会（平成 11 年 4 月設置）は、これまで「HGF 遺伝子プラスミドを用いた末梢性血管疾患（慢性閉塞性動脈硬化症、ビュルガー病）の治療のための遺伝子治療臨床研究」に対し、プロトコールの検討・承認、研究実施体制の評価、適応患者選定・評価、検査結果の検討、評価法の検討・策定、各症例の有効性・安全性評価、公表内容の妥当性評価、研究実施上の問題点の検討など倫理的側面、科学的側面から検討、評価、助言を行ってきた。その実施にあたっては、本治療対象疾患である末梢性血管疾患や検査法・合併症の領域における学内外の専門家からなる適応・評価小委員会（平成 11 年 6 月設置、委員長：川崎富夫）を設置し、検討・審議結果を本審査委員会に答申し、その内容を本審査委員会で審議して承認する審査体制を構築し、本最終報告に至るまで、審査委員会を 29 回、適応・評価小委員会を 33 回開催した。本報告は、平成 13 年 6 月から平成 16 年 9 月に実施された「HGF 遺伝子プラスミドを用いた末梢性血管疾患のための遺伝子治療臨床研究（総括責任者：荻原俊男）」の安全性・有効性に関する最終報告である。

2. 安全性の評価

安全性の評価はプロトコールに従って、HGF プラスミド投与開始から、最終投与後 2 年まで実施された。一般的な診察および検査の実施は、概ねプロトコールに準じて行われたが、通院後他院で治療を受けたり、来診を中断した患者については、詳細な安全性データが十分に把握できていない可能性は否定できない。しかし、重篤な有害事象の把握は実施できたと考えられる。

本臨床試験の対象となった 22 例の有害事象は 1228 件報告されたが、プラスミド投与との因果関係が否定できなかったものは 221 件であった（添付資料 1）。このうち、重篤な有害事象は 17 件に認められた（添付資料 1）。Fontaine IIb 群では 2 件が 1 例（2 肢）に、Fontaine III 群では、6 件が 2 例（2 肢）に、Fontaine IV 群では、9 件が 4 例（6 肢）にみられた。但し、両足肢ともプラスミドが投与された 3 例では、重篤な有害事象が重複して算定されている。死亡例は、同意番号 4 と同意番号 11 の重症下肢虚血患者 2 例で、ともに片足肢のみに HGF 遺伝子が投与され最終投与後 8 ヶ月での死亡であった。1 例はプラスミド投与による改善がみられず悪化した Fontaine III 群症例であり、2 回目のプラスミド投与後 226 日目の死亡である。本例は、転院先の病院で左下肢バイパス術をうけ、術後約 4 時間後に心停止に至った。患者は慢性腎不全により透析を行っており、術後の高カリウム血症により致死性不整脈が誘発されたものと考えられ、遺伝子治療と死亡との因果関係は否定的であると判断した。他の死亡例は Fontaine IV 群であり、遠隔地の病院に入院後の死亡である。死亡の直接的原因は肺

炎および喀痰の気道閉塞による無気肺に起因する呼吸不全と考えられ、本例も HGF 遺伝子プラスミド投与との直接的因果関係は否定的であると判断した（添付資料 1、2、3）。プロトコルでは死亡例については病理解剖を行うことになっているが、これらの 2 例については実施されなかった。他の重篤な有害事象も、いずれも FontaineⅢ群とⅣ群に認められた（添付資料 1、2、3）が、これらの重篤有害事象と HGF プラスミド投与との間に、明かな因果関係は認められないと判断した。同意番号 3（FontaineⅢ群）は HGF プラスミド最終投与後 3 ヶ月までの安全性データは得られているが、その後、患者が来院と検査を拒否したため、3 ヶ月以降 24 ヶ月までのデータは取得されていない。しかし、24 ヶ月までの生存とその間に足趾切断等の重篤な有害事象がなかったことは申請者が確認しており、これらの報告に基づき、本治療法は、情報が得られた範囲内で安全であると判断した。

同意番号 4（HGF プラスミド 2mg 投与）、同意番号 11（同 4mg 投与）、同意番号 27・34（両側下肢へ各々 4mg、計 8mg 投与）、同意番号 29・32（両側下肢へ各々 2mg と 4mg、計 6mg 投与）の 4 例（6 肢）において HGF プラスミド投与により「炎症あるいはアレルギーを惹起した可能性」を否定できなかった（添付資料 1、2、3）。とくに、頻回に熱発の認められた同意番号 11 の症例については、本委員会も小委員会の見解（添付資料 2 の資料 7）を承認し、HGF プラスミド投与が「炎症あるいはアレルギーを惹起する可能性」は否定しえず、今後、引き続き安全性が確認される必要があると判断した。

同意番号 4、8、15（26、同一患者）、16、17（28、同一患者）、29（32、同一患者）において、糖尿病による増殖網膜症が認められたため、いずれも病状安定後に HGF プラスミドの投与が行われた。24 ヶ月までの観察期間中に網膜症の悪化は認められなかったため、HGF 遺伝子治療が安定した増殖網膜症を悪化させる可能性は否定的であると判断した。

トレッドミル運動負荷検査時の心電図検査にて、虚血性変化を認めた症例はなく、本臨床研究の範囲内において HGF 遺伝子投与による冠動脈病変進行の証左は得られなかった。

同意番号 2（9、同一患者）において肺野 BOOP（bronchiolitis obliterance organizing pneumonia）所見がみられたが、HGF プラスミド投与前後に変化は認められなかった。同意番号 22 は、サルコイドーシスの合併が認められていたが、HGF プラスミド投与前後で変化はみられなかった。

HGF は血管新生作用のため悪性腫瘍の成長を促進させる可能性が指摘されているが、本臨床研究期間中に、皮下脂肪腫（同意番号 15、26）と腓管内乳頭粘液腫（同意番号 20）が各 1 例認められた。いずれも悪性所見はなく、後者は、プラスミド投与前の画像にてもその存在が確認されており、HGF プラスミド投与による悪性腫瘍の発生はみられなかった。

本臨床研究の実施に起因する重篤有害事象として、血管造影時に発生した脳梗塞が 1 例（同意番号 8）が存在した。本例は、血管造影手技に伴う脳梗塞と判断され、その原因として（1）左前腕動脈アプローチによるカテーテル操作に伴う大動脈弓部壁在血栓の遊離による脳塞栓、

あるいは(2)造影後の血圧変動や血管収縮などに起因する血行力学的機序による脳梗塞が考えられた。本例の重篤有害事象の発生をうけて、侵襲的検査に伴うリスクを軽減させるため、第二ステージでは、血管造影の実施回数が1回減らされることになった。

以上より、有害事象と HGF 遺伝子治療との因果関係の検討から、本遺伝子治療、臨床研究を中止すべき有害事象はなく、その意味で HGF プラスミド投与は安全であると判断した。ただし、HGF プラスミド投与が「炎症あるいはアレルギーを惹起する可能性」については否定できないため、今後の臨床研究において特に慎重に検討される必要があると判断した。

3. 有効性の評価と評価項目

本遺伝子治療は当初の規約から対照群(コントロール)を設定しないプロトコールのため、限られた症例で本遺伝子治療の有効性を判定することは極めて困難と考えられた。また、本遺伝子治療の効果がどの程度のものか予測することもできなかったため、あらかじめ評価項目及びその評価判定基準を設定することも困難であることが議論され、評価項目の設定については、治療開始後3ヶ月の成績をみた上で行うことにした。その結果、本臨床研究では、厳密な意味での有効性は判定せず、一定の基準に基づいた「改善度」の評価判定を行うことにした。判定基準については、これまでも専門家の一定した基準が存在しないため、本試験において独自の基準を設定した。即ち、「改善度」を「改善」「保留」「不変」「悪化」「判定不能」の5段階に分類し、ABI (ankle-brachial index) は基本評価項目とし、Fontaine II b 群、Fontaine III 群、Fontaine IV 群では、それぞれトレッドミル運動負荷試験、VAS (Visual Analog Scale) および最大潰瘍の直径(最大径)を必須項目とした。ABI は0.1以上の改善を「ABIの改善」と判断し、トレッドミル運動負荷試験は最大歩行距離が25%以上延長した場合を「最大歩行距離の改善」、安静時疼痛におけるVASは10cmスケールにおいて2cm以上軽減した場合を「VASの改善」、潰瘍は最大潰瘍の直径が25%以上縮小した場合を「潰瘍の改善」と判断した。これらの必須項目と、ABI(基本評価項目)の2項目の結果の組み合わせで評価判定を行うことにした。すなわち、ABIと必須項目の両者とも改善を認める場合を「改善」、ABIまたは必須項目のいずれかが改善し、他方が不変ないし欠測の場合を「保留」、必須項目のみが不変でABIのデータ欠測の場合あるいは両者とも不変の場合を「不変」、どちらか一方が悪化した場合を「悪化」、患者が来院せず検査が施行しえなかった場合を「判定不能」とした。さらに、Rutherfordの虚血肢取り扱い基準に示されている「慢性虚血肢の臨床分類」の少なくともI群改善の場合は「改善」とし、その他の場合は、必須項目とABIの両方で改善が認められた場合に「改善」と判定した。本遺伝子治療は、動物実験の成績よりHGF遺伝子投与により血管新生を促し、血流改善を得ることを目的としているため、血管造影は、本臨床研究において、重要な評価項目と考えられたが、プラスミド投

与後2ヵ月の血管造影で、新たな造影血管または造影の増強が確認された4例はいずれもBurger病であり、新たな造影血管が新生血管とは考えられず、既存の血管が血行の改善により造影されるようになったものと考えられたため、血管造影検査は必須評価項目から除外し、小委員会で個々に詳細に検討した。小委員会の見解は、新たに造影された血管は、それまで血栓塞栓のため血行が乏しく造影されなかった血管が血栓溶解または血栓の位置変化により血行が再建され造影されるようになったものか、末梢の血管新生（造影限界以下の微小血管）あるいは血管拡張のため血管抵抗が減少し、新たに造影されるようになったためのいずれかによるものであり、新たに造影された血管そのものが新生された血管とは考えにくいとするものであり、Burger病では、頻々、血管内血栓がみられ、血栓の変化に伴う血管造影の変化が生じやすいと考えるのが妥当であるとの見解であった。本臨床研究審査委員会も小委員会の見解に同意した。また、これらの評価項目以外にレーザードップラ血流計測、経皮酸素分圧（TcPO₂）、QOL（SF-36）なども測定したが、いずれもばらつきが大きく主要評価項目からは除外し、参考データとして扱うことにした。（添付資料2の資料5）

4. 有効性の判定結果

Fontaine IIb群（高度跛行、7肢）は、閉塞性動脈硬化症6肢とビュルガー病1肢であったが24ヵ月の研究期間において、Fontaine III群またはIV群に重症化した症例、あるいは足肢の切断に至った症例および中止例はみられなかった。プラスミド投与後2ヵ月において、「改善」が2例、「保留」が4例、「不変」が1例に認められたが、「悪化」および「判定不能」はなかった。3ヵ月後は、「保留」の2例が「改善」になり、「不変」の1例が「保留」に移行したため、3ヵ月後の判定は7例中4例が「改善」、3例が「保留」となった。6ヵ月後、12ヵ月後は、プロトコール上トレッドミル運動負荷試験が施行されておらず、データ欠測のため「判定不能」となった。24ヵ月後は、データ欠測のため4例が「判定不能」、1例が「改善」、1例が「保留」、1例が「不変」であった（添付資料2）。これらの結果から、Fontaine IIb群では、プラスミド投与後3ヵ月で改善傾向がみられるが、小委員会は様々なバイアスを考慮すると、これらの改善が遺伝子プラスミド投与による効果である根拠に乏しいこと、また6ヶ月以降については欠測データが多く判定不能と判断しており、本委員会もこれを承認した。

Fontaine III群（安静時疼痛、4肢）は閉塞性動脈硬化症2肢及びビュルガー病2肢であり、Fontaine IV群（足趾潰瘍又は壊死、11肢）は、閉塞性動脈硬化症6肢及びビュルガー病5肢であった。Fontaine III群及びIV群の重症虚血肢（15肢）におけるプラスミド投与2ヵ月後の成績は「改善」6例、「保留」6例、「不変」3例であり「悪化」症例はなかった。3ヵ月後の成績は、患者不来院のため検査データがなく判定不能の1例を除いた14肢のうち、「改善」は9例、「保留」1例、「不変」3例、「悪化」1例であった。14肢のうち、2ヵ月後の評

価と変わらなかったのは9肢であり、3肢で「保留」から「改善」になったが、1肢で「不変」から「悪化」に移行したと判断された。6ヵ月後は「悪化」例（同意番号4）が足趾の切断に至った他は、3ヵ月後の評価と変りがなく、「改善」の認められた症例では、6ヵ月後も「改善」が維持されていることを示した。治療3ヵ月後に「改善」と判定された9肢のうち、24ヵ月後も改善を維持したのは7肢あり、残り2肢のうち1肢で「改善」から「保留」になり、他の1肢では、人工血管感染により再バイパス術を施行した。この成績から Fontaine III群、IV群の重症虚血肢では治療後3ヵ月で「改善」を示す症例が15例中9例に認められ、3ヵ月後に「改善」を示す症例は、その多く（9例中7例）が24ヵ月後も「改善」を維持したと判断した（添付資料2）。一方、治療2～3ヵ月後に「改善」の認められない場合（「不変」または「悪化」）は予後が不良と考えられた。また、プラスミド投与量と有効性については、症例数が少なく、プラスミド2mgと4mg投与の間に用量依存性を確認することはできなかった。

以上の有効性に関する成績から小委員会は、本遺伝子治療臨床研究の対象となった Fontaine III群及び Fontaine IV群において、HGF プラスミド投与が明らかな改善傾向があると結論したが（添付資料2の資料2）、本審査委員会は、個々の評価については、小委員会の判断を承認するが、本遺伝子治療臨床研究には、対照群がなく様々なバイアスが存在すること、十分な症例数における検討でないことから、有効性については、多くの症例で改善が認められるものの、総合判断はより慎重でなければならないとの意見が多数を占めた。したがって、本審査委員会は、有効性について次のように判断した。

Fontaine IIb 群（高度跛行）における有効性については、本臨床研究では、HGF プラスミド投与後3ヵ月において、改善傾向を認めるが、無視し得ない様々なバイアスが存在している可能性が高いこと、6ヵ月以降の有効性の判断ができないこと、および一般的な治療患者群と比較してもその差が明らかとは言えないことから、Fontaine IIb 群（高度跛行）においては臨床症状およびトレッドミル運動負荷検査上の改善傾向は認められるが、HGF プラスミド投与と因果関係があるとの明確な結論は得られないと判断した。Fontaine III群（安静時疼痛）および Fontaine IV群（足趾潰瘍または壊死）において、HGF プラスミド投与後3ヵ月までに15例中9例に臨床症状または潰瘍の改善が認められ、そのうち7例で24ヵ月後も「改善」が維持されたが、本臨床研究にはコントロールがなく様々なバイアスが存在することから、HGF プラスミド投与が改善をもたらしたとの結論に達するには、その科学的根拠が十分でないと考えられた。有効性を科学的に検証するためには、プラセボ対照2重盲検試験が必要であり、前述の安全性に関する評価も考慮して本遺伝子治療は第Ⅲ相試験を実施するのに価値ある治療法であると判断した。

5. 本遺伝子治療臨床研究の実施及び評価にあたっての問題点

本遺伝子治療臨床研究の実施にあたって幾つかの問題点が認識された。それらは、本臨床

研究の限界を示すものでもあるが、今後の改善に資するものと考え以下にまとめる。

- (1) 遺伝子治療については文部科学省の「大学等における遺伝子治療臨床研究のガイドラインの規程について」および厚生労働省の「遺伝子治療臨床研究に関する指針」に従って本遺伝子治療臨床研究審査委員会が設置され、遺伝子治療臨床研究実施の倫理性・科学性の検討のみならず、評価まで含めて実施するよう規定された。

本審査委員会では、構成メンバーに、本遺伝子治療の対象領域の専門家が2名しか含まれていないことから、遺伝子治療臨床研究適応・評価小委員会（学内委員6名、学外委員3-4名）を設置し、専門家の立場から適応患者の選定、臨床研究実施上の指導、成績の評価を行い、本審査委員会に答申する体制を構築した。適応・評価小委員会は、本審査委員会の諮問委員会として個々の症例の具体的検討を行ったが、検討・審議に費やされる時間と労力は予想以上に莫大であり、新GCP基準に準拠したモニタリング（SDV（Source Data Verification）機能）の実施は組織体制上不可能であった。申請者らが要請したNPO法人 日本臨床研究支援ユニットによる外部監査が実施されたが、プラスミド投与後3ヵ月までの臨床研究に対する監査であり、以後の研究に関する監査は実施されていない。本遺伝子臨床研究は、あくまでも自主研究であり、本審査委員会はデータの正確性・信頼性の責任は研究申請者にあることを確認したが、結果の解釈・評価について申請者と委員会見解に齟齬が生じた場合の取り扱いについては規程を設けておらず、委員会見解の規制力について議論がなされた。具体的には、申請者の公共への発表（学会発表、講演、論文発表）については、本審査委員会の判定がなされる前に申請者より研究結果の発表がなされたり、審査委員会の判断を超えた解釈や誇張された発表がなされたことは問題であった。Hypertension 誌（Hypertension, 44:203-209, 2004）への公表については、新たに造影された血管を“血管の新生”と記述したり、 $TcPO_2$ を主要評価項目と誤解されるような記述があったため申請者へ修正を申し入れた。申請者らは本審査委員会の見解を受け入れてHypertension 誌の編集長に修正を要望し、次号に修正記事が掲載されることになった。

- (2) 本遺伝子臨床研究では、申請者は可及的にプロトコールを遵守するよう努めたが、2年間の経過観察中、他院への転入院や、追跡期間中に他院で細胞治療を受ける等、適正な評価に支障を生じる症例が認められた。とくに死亡例における病理解剖が遺族の拒否で実施できなかったことは本臨床研究の質を担保するために重大な弱点であると考えられる。本遺伝子治療臨床研究の有効性・安全性の評価のためにも死亡例の病理解剖は必須であり、2例ともそれがなされなかったことは、申請者と患者・家族との信頼関係が十分に確立されていなかった可能性も否定できない。また、遺伝子治療の規定上、対照群を設定できなかったことは、評価に大きな限界となったが、遺伝子治療

の特殊性のためやむを得ない規定であったと考える。

- (3) 本臨床研究は、トランスレーショナル・リサーチとして、申請者らは大学発のベンチャー企業（アンジェス MG）を設立し、本研究成果を第Ⅲ相治験に移行させる計画をすすめたが、このことは、申請者から本審査委員会にあらかじめ開示されなかった。その結果、本審査委員会は、当初の意図と異なり、結果的に利益相反に係わることになり、本審査委員の間で申請者に対する不信感を引き起こすことになった。その後、利益相反に関する対応が議論となり、本審査委員会の要請をうけて大阪大学の利益相反に関するガイドラインが策定された。今後、大学における臨床研究の成果をトランスレーショナル・リサーチとして産業界に移行させるプロセスの明確化が必要であると考えられた。

以上、大阪大学医学部附属病院で実施された HGF 遺伝子プラスミドを用いた末梢性血管疾患（慢性閉塞性動脈硬化症、ピュルガー病）の治療のための遺伝子治療臨床研究に対する遺伝子治療臨床研究審査委員会の最終報告とする。本審査委員会、適応・評価小委員会の各委員及び本審査に支援頂いた関係各位に謝意を表す。

平成18年6月

大阪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 堀 正二

HGF 遺伝子プラスミドを用いた末梢性血管疾患
(慢性閉塞性動脈硬化症・ビュルガー病) の治療のための
遺伝子治療臨床研究

第一ステージ
第二ステージ

治療成績のまとめ
□ (最終投与 24 ヲ月後までの成績) □

2006 年 6 月 6 日改訂

- 抜粋 -

I. 試験全体の成績

1. 患者背景

ステージ	同意 取得番号	患者番号 ¹⁾	患者 イニシャル	年齢 ²⁾ (歳)	性別	投与量 (mg)	対象疾患名	Fontaine 分類 ³⁾
第 1	1	10101	TY	56	男	2	ASO	Ⅲ
	2	10105	IF	66	男	2	TAO	Ⅳ
	3	10104	FM	64	女	2	TAO	Ⅲ
	4	10102	NT	42	男	2	ASO	Ⅳ
	5	10103	KN	47	男	2	TAO	Ⅳ
	8	10106	SS	69	男	2	ASO	Ⅳ
第 2	9	10107	IF	67	男	4	TAO	Ⅳ
	11	10108	YY	61	男	4	TAO	Ⅲ
	15	10109	IS	67	男	2	ASO	Ⅱb
	16	10110	OH	60	男	4	ASO	Ⅱb
	17	10111	OM	66	男	4	ASO	Ⅱb
	20	10112	YS	70	女	2	ASO	Ⅳ
	22	10113	KK	59	男	2	TAO	Ⅱb
	23	10117	MM	27	女	2	TAO	Ⅳ
	24	10115	MN	53	男	2	TAO	Ⅳ
	25	10114	KK	78	女	2	ASO	Ⅲ
	26	10116	IS	66	男	4	ASO	Ⅱb
	27	10119	HJ	66	男	4	ASO	Ⅳ
	28	10118	OM	66	男	2	ASO	Ⅱb
	29	10120	SK	63	男	4	ASO	Ⅳ
	32	10121	SK	63	男	2	ASO	Ⅳ
	34	10122	HJ	66	男	4	ASO	Ⅱb

1): 遺伝子投与を実施した順番 2): 観察期開始前の同意取得時の満年齢 3): 観察期開始前の同意取得時の Fontaine 分類

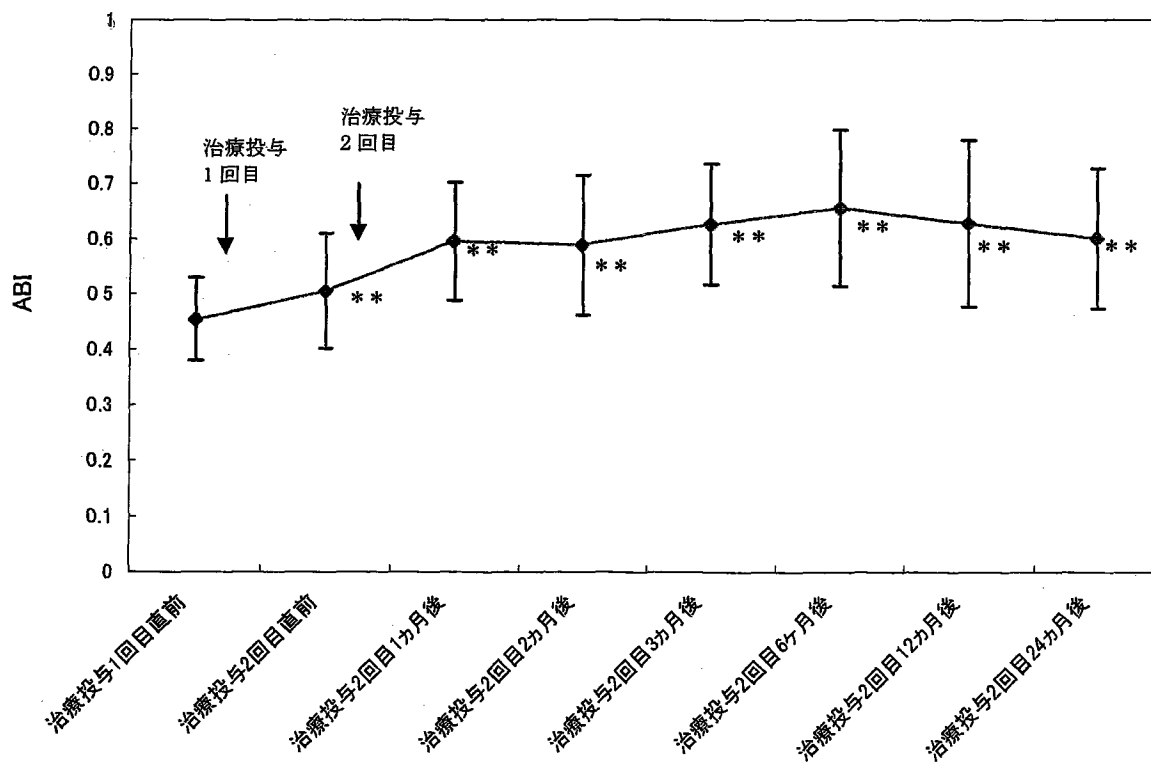
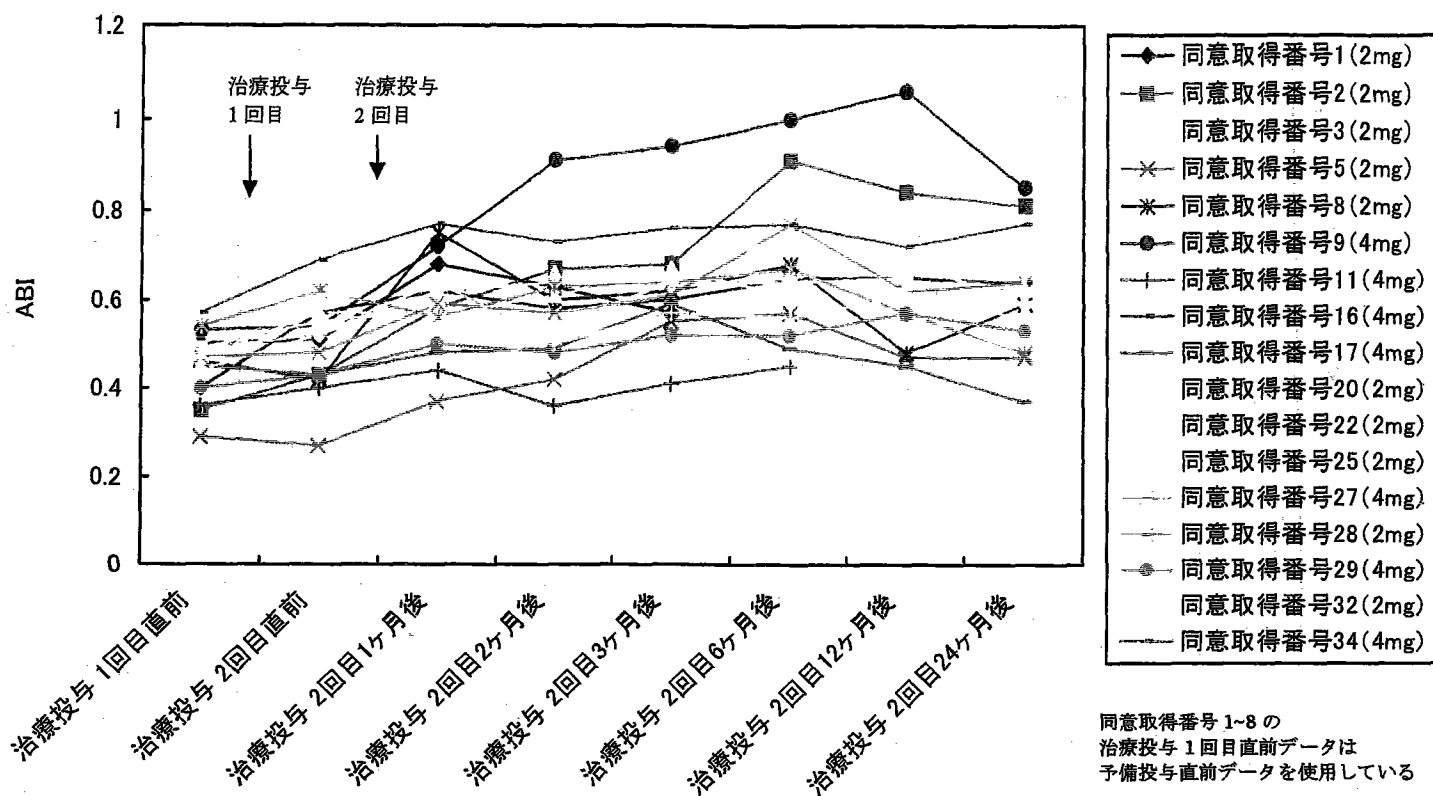
2. 治療の経過

同意取得番号	患者番号 ¹⁾	対象疾患名	投与量 (mg)	予備投与	治療投与 1回目	治療投与 2回目	遺伝子治療対象肢
1	10101	ASO	2	2001年 6月25日	2001年 7月9日	2001年 8月7日	右下肢
2	10105	TAO	2	2001年 7月20日	2001年 8月3日	2001年 9月1日	右下肢
3	10104	TAO	2	2001年 7月4日	2001年 7月20日	2001年 8月16日	左下肢
4	10102	ASO	2	2001年 6月27日	2001年 7月11日	2001年 8月9日	左下肢
5	10103	TAO	2	2001年 6月29日	2001年 7月13日	2001年 8月11日	左下肢
8	10106	ASO	2	2001年 9月4日	2001年 9月18日	2001年 10月17日	右下肢
9	10107	TAO	4		2002年 3月5日	2002年 4月2日	左下肢
11	10108	TAO	4		2002年 4月2日	2002年 4月30日	左下肢
15	10109	ASO	2		2002年 4月3日	2002年 5月1日	左下肢
16	10110	ASO	4		2002年 4月11日	2002年 5月9日	右下肢
17	10111	ASO	4		2002年 5月9日	2002年 6月6日	左下肢
20	10112	ASO	2		2002年 6月20日	2002年 7月18日	左下肢
22	10113	TAO	2		2002年 6月27日	2002年 7月25日	左下肢
23	10117	TAO	2		2002年 8月6日	2002年 9月3日	右下肢
24	10115	TAO	2		2002年 7月24日	2002年 8月21日	左下肢
25	10114	ASO	2		2002年 7月9日	2002年 8月6日	左下肢
26	10116	ASO	4		2002年 8月1日	2002年 8月29日	右下肢
27	10119	ASO	4		2002年 8月16日	2002年 9月13日	右下肢
28	10118	ASO	2		2002年 8月8日	2002年 9月5日	右下肢
29	10120	ASO	4		2002年 8月22日	2002年 9月19日	左下肢
32	10121	ASO	2		2002年 8月22日	2002年 9月19日	右下肢
34	10122	ASO	4		2002年 10月4日	2002年 11月18日	左下肢

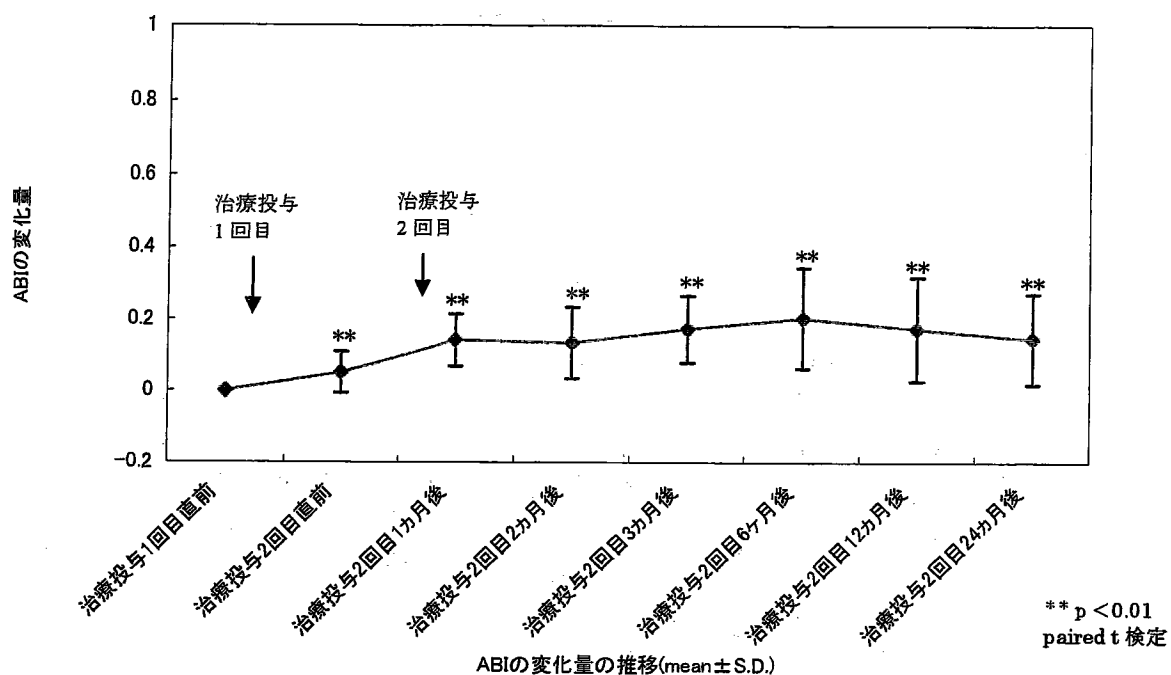
1): 遺伝子投与を実施した順番

(3) 有効性

1) -1 ABI (足関節・上腕動脈血圧比) 《同意取得後 0.6 以上の 2 症例を除く》



ABIの変化量の推移



ABI の改善率

<同意取得後 0.6 以上の 2 症例を除く>

	2 回目投与 2 ヶ月後 #1	2 回目投与 3 ヶ月後	2 回目投与 6 ヶ月後 #2	2 回目投与 12 ヶ月後	2 回目投与 24 ヶ月後 #3
0.1 以上の上昇 (脱落症例を除く)	64.71% (11/17 例)	81.25% (13/16 例)	80.00% (12/15 例)	76.92% (10/13 例)	76.92% (10/13 例)
0.1 以上の上昇 (LOCF*)	64.71% (11/17 例)	82.35% (14/17 例)	76.47% (13/17 例)	70.59% (12/17 例)	70.59% (12/17 例)

*LOCF : Last observation carried forward

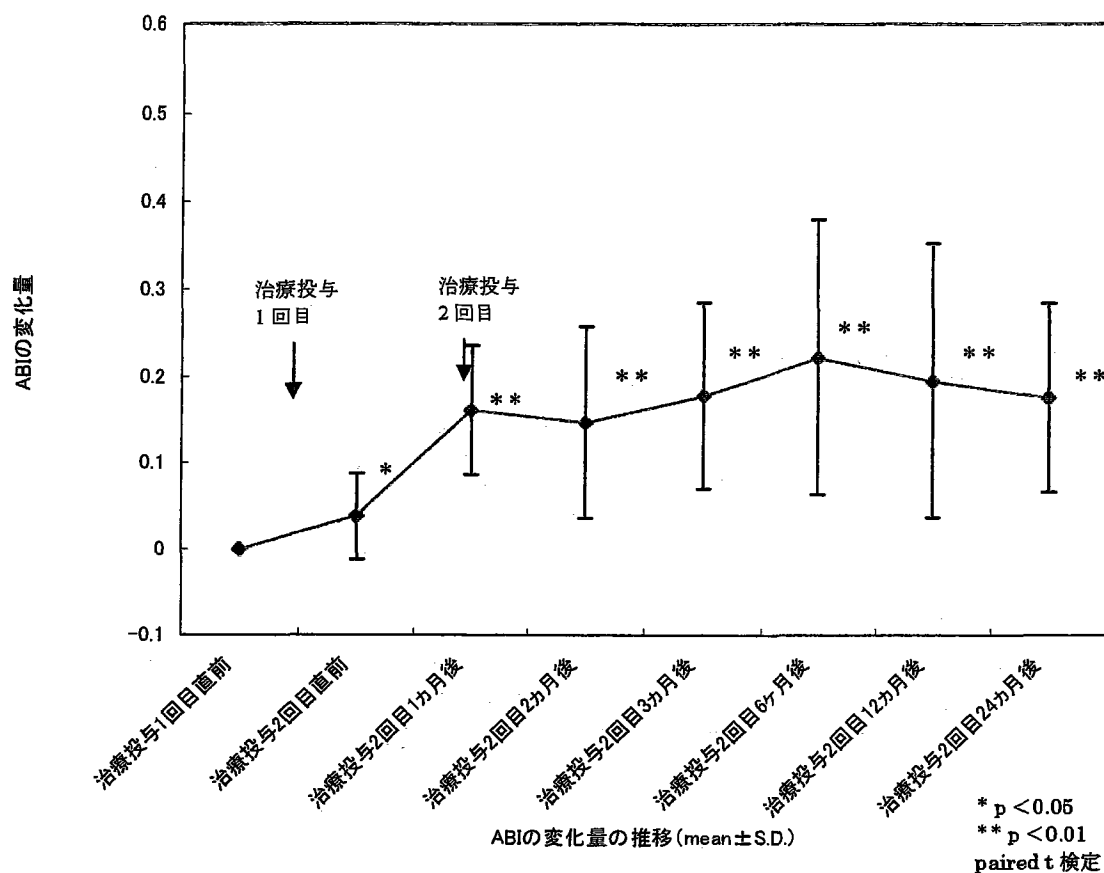
#1 : 2 例、治療投与 2 回目 8 週後 SAE 発生の為、治療投与 2 回目 6 週後のデータを使用

#2 : 1 例、治療投与 2 回目 6 ヶ月後 SAE 発生の為、治療投与 2 回目 5 ヶ月後のデータを使用

#3 : 2 例、治療投与 2 回目 24 ヶ月後検査未実施の為、治療投与 2 回目 18 ヶ月後のデータを使用

1) -2 ABI (足関節・上腕動脈血圧比)《FontaineⅢ・Ⅳ症例のみ》

ABIの変化量の推移



ABIの改善率

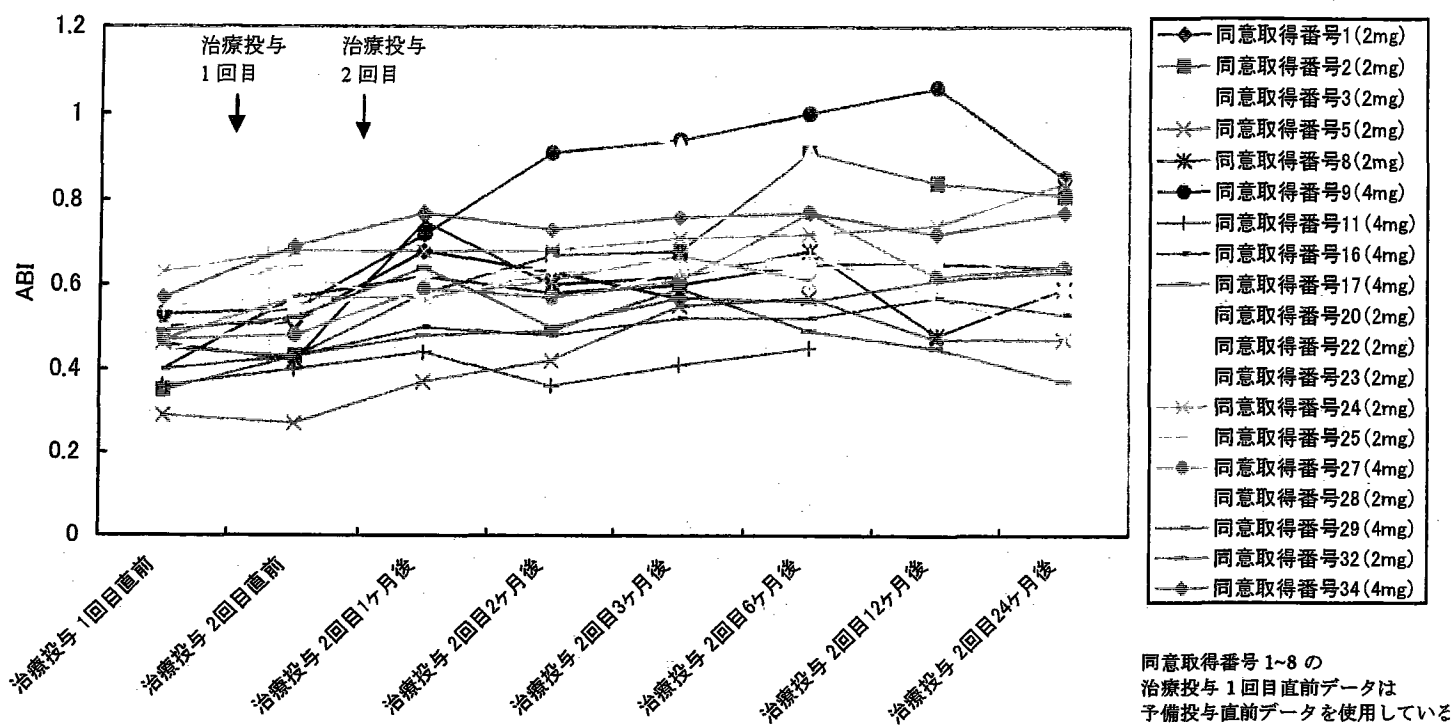
<FontaineⅢ・Ⅳ症例のみ(同意取得後 0.6 以上の2症例を除く)>

	2回目投与 2ヵ月後 #1	2回目投与 3ヵ月後	2回目投与 6ヵ月後 #2	2回目投与 12ヵ月後	2回目投与 24ヵ月後 #3
0.1以上の上昇 (脱落症例を除く)	75.00% (9/12例)	72.73% (8/11例)	80.00% (8/10例)	87.50% (7/8例)	100.00% (8/8例)
0.1以上の上昇 (LOCF*)	75.00% (9/12例)	75.00% (9/12例)	75.00% (9/12例)	75.00% (9/12例)	83.33% (10/12例)

*LOCF: Last observation carried forward

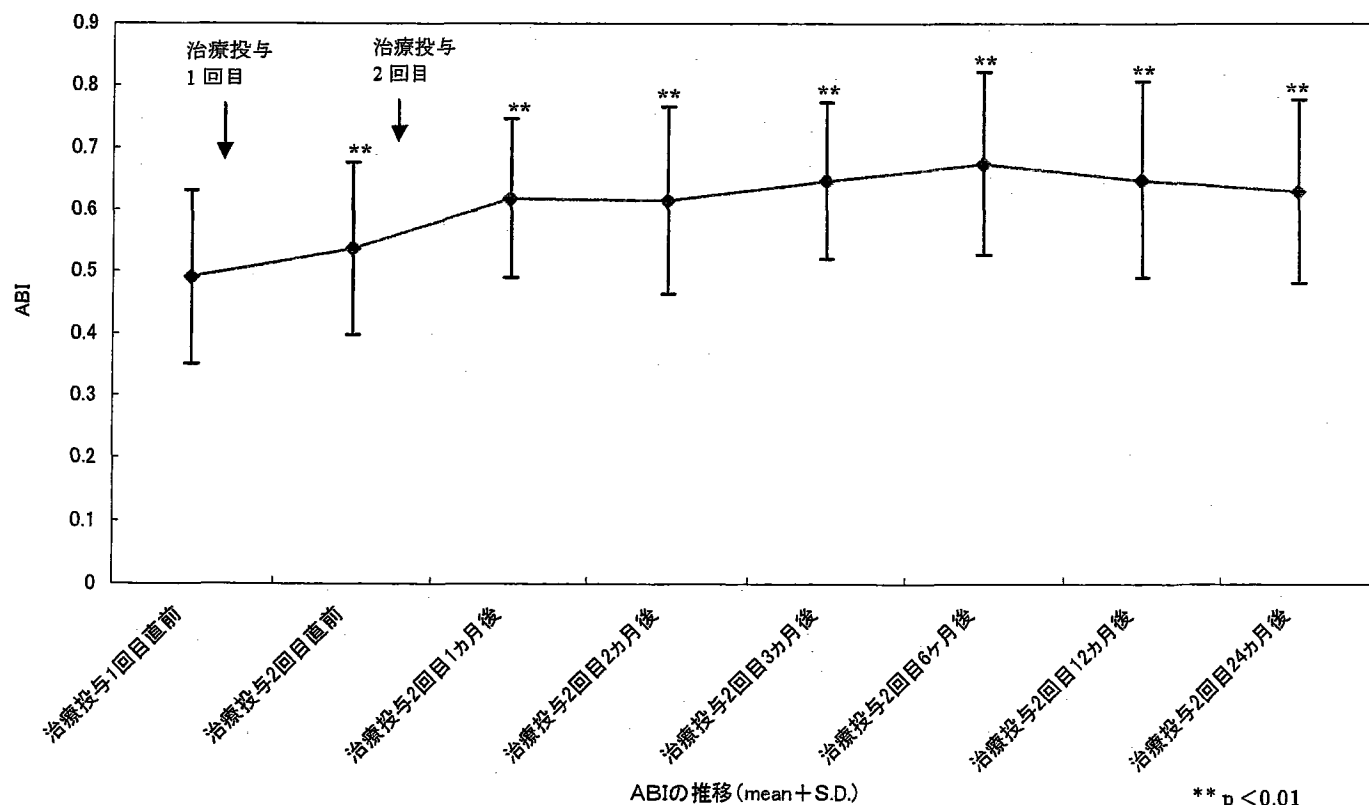
- #1: 2例、治療投与2回目8週後SAE発生の為、治療投与2回目6週後のデータを使用
 #2: 1例、治療投与2回目6ヵ月後SAE発生の為、治療投与2回目5ヵ月後のデータを使用
 #3: 2例、治療投与2回目24ヵ月後検査未実施の為、治療投与2回目18ヵ月後のデータを使用

1) -3 ABI (足関節・上腕動脈血圧比)《全症例》

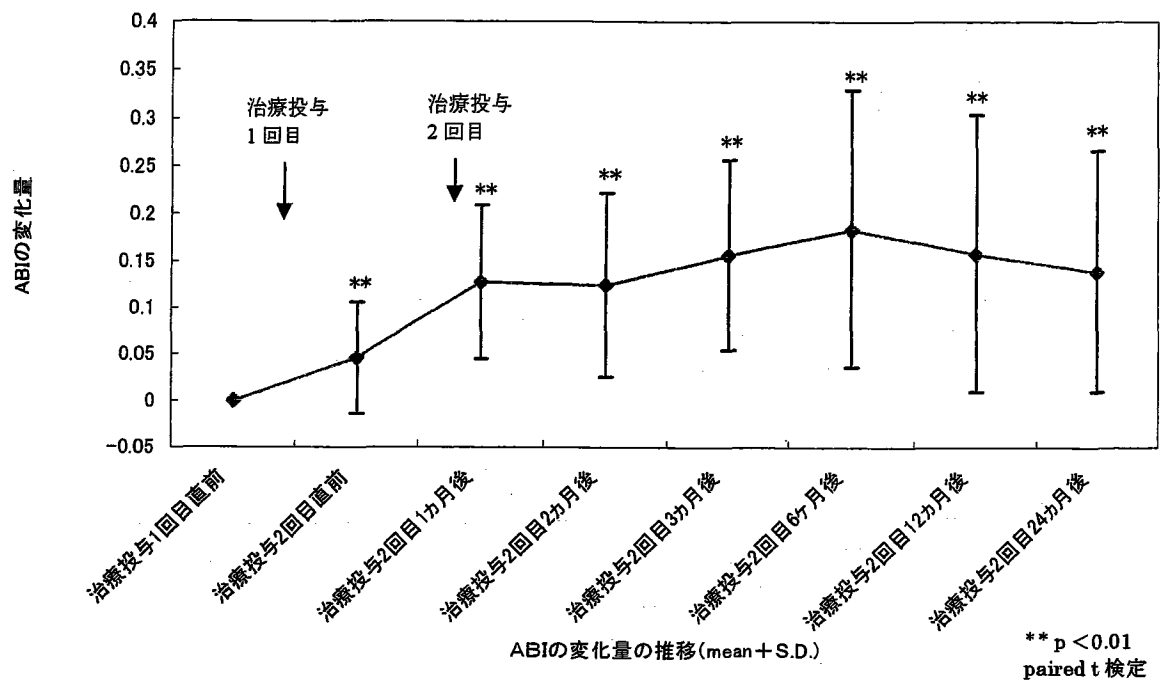


ABI の推移<全症例>

ABIの推移



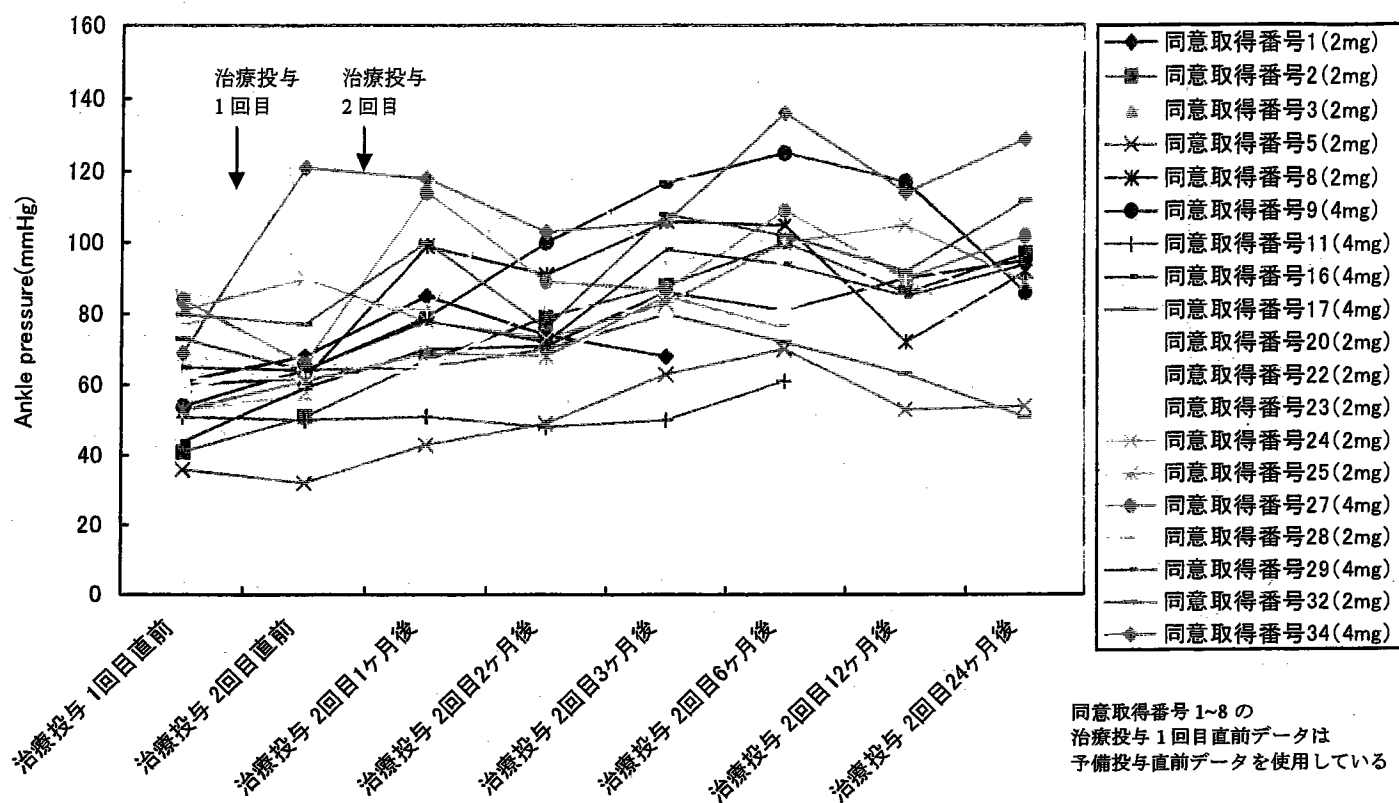
ABIの変化量の推移

ABIの改善率
<全症例>

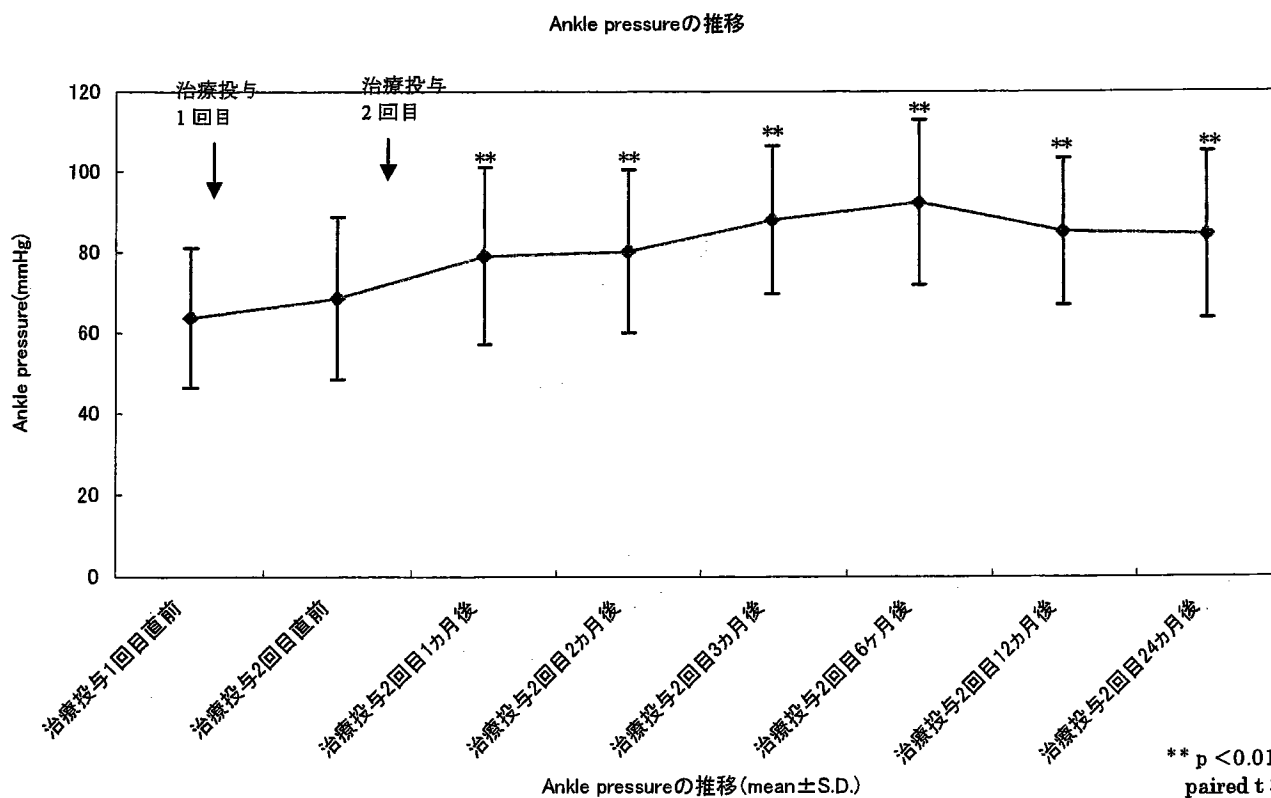
	2回目投与 2ヵ月後 #1	2回目投与 3ヵ月後	2回目投与 6ヵ月後 #2#3	2回目投与 12ヵ月後	2回目投与 24ヵ月後 #4
0.1以上の上昇 (脱落症例を除く)	57.89% (11/19 例)	72.22% (13/18 例)	70.59% (12/17 例)	78.57% (11/14 例)	73.33% (11/15 例)
0.1以上の上昇 (LOCF)	57.89% (11/19 例)	73.68% (14/19 例)	68.42% (13/19 例)	68.42% (13/19 例)	68.42% (13/19 例)

- #1: 2例、治療投与2回目8週後SAE発生の為、治療投与2回目6週後のデータを使用
 #2: 1例、治療投与2回目6ヵ月後SAE発生の為、治療投与2回目5ヵ月後のデータを使用
 #3: 1例、治療投与2回目6ヵ月後検査未実施の為、治療投与2回目5ヵ月後のデータを使用
 #4: 2例、治療投与2回目24ヵ月後検査未実施の為、治療投与2回目18ヵ月後のデータを使用

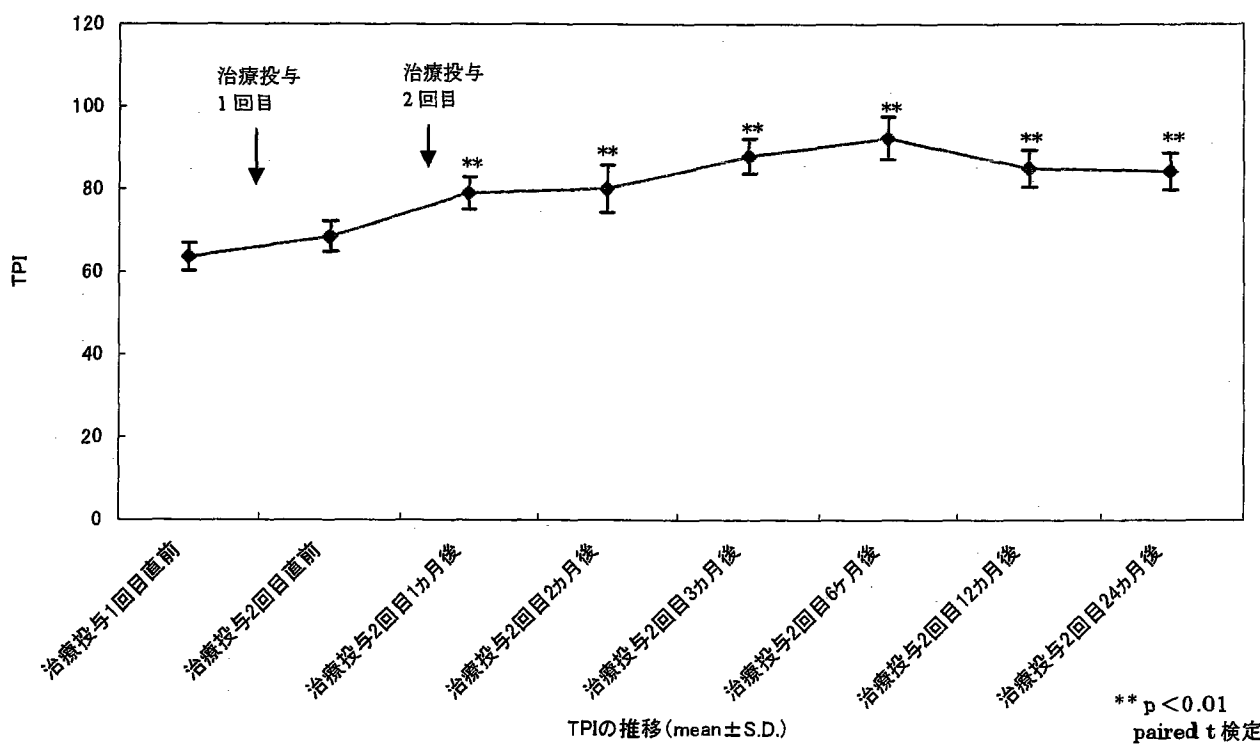
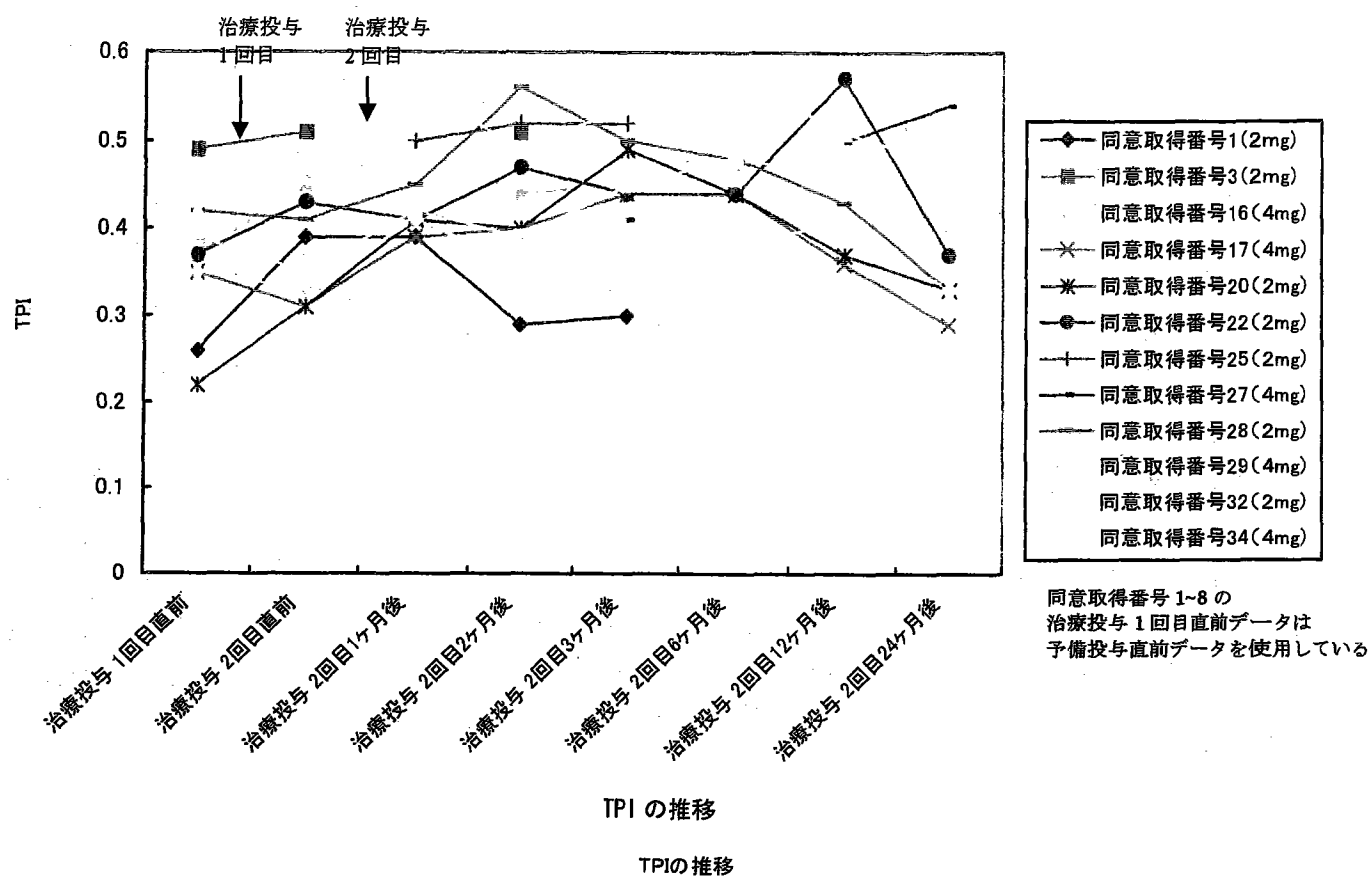
2) Ankle pressure (平均値)



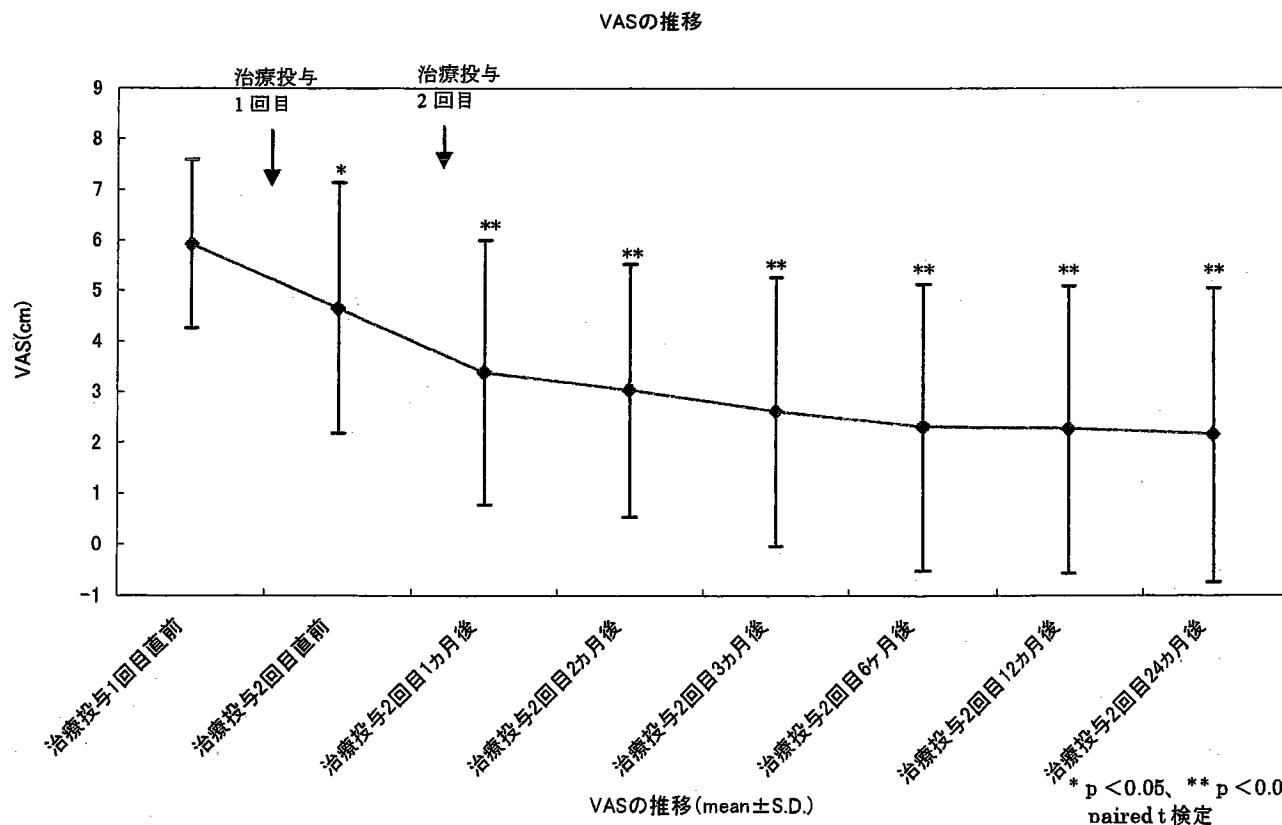
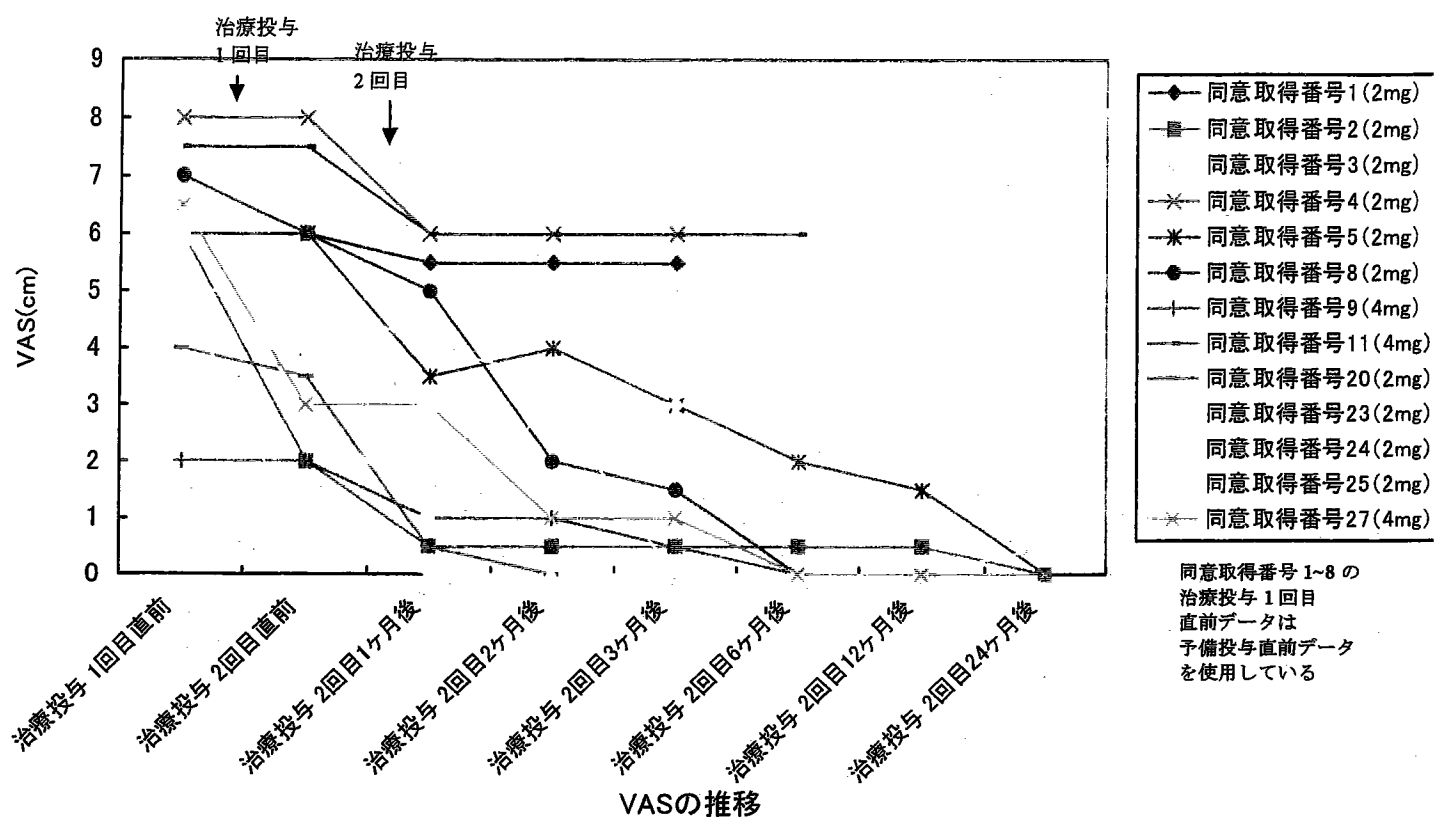
Ankle Pressure の推移

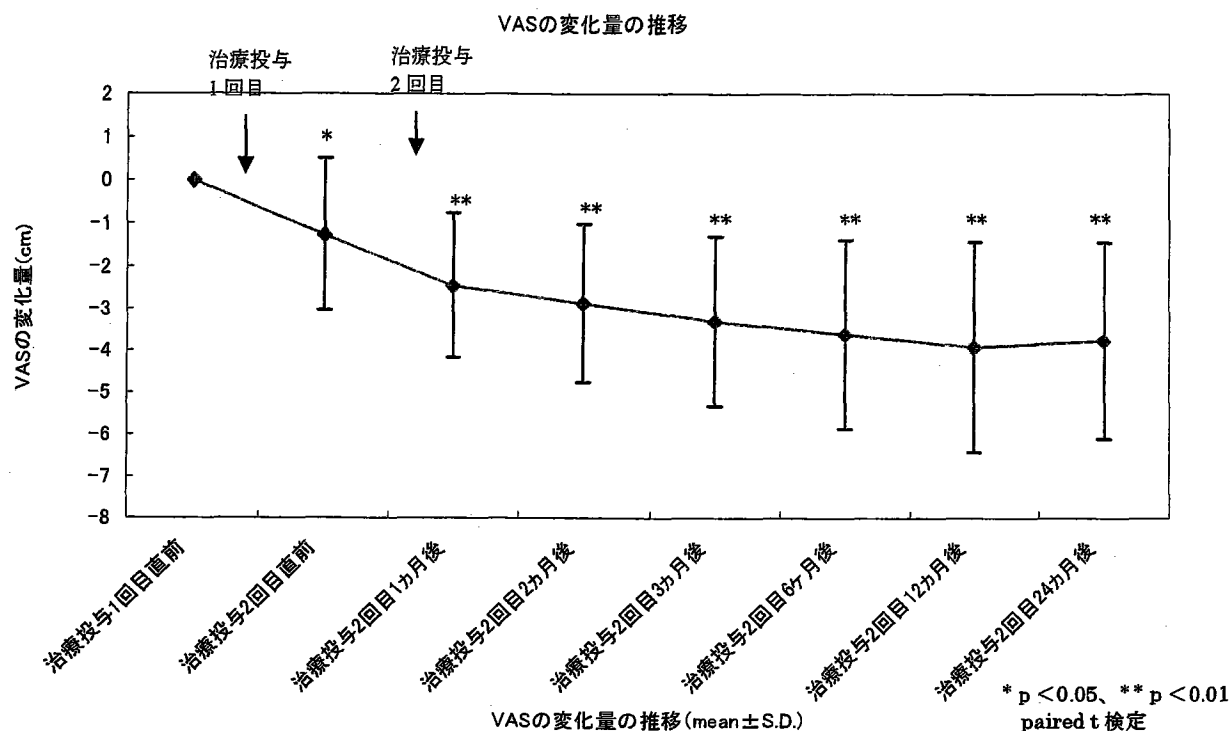


3) TPI (足趾血圧・上腕動脈圧比)



5) 疼痛評価〔VAS (Visual Analog Scale) の推移〕



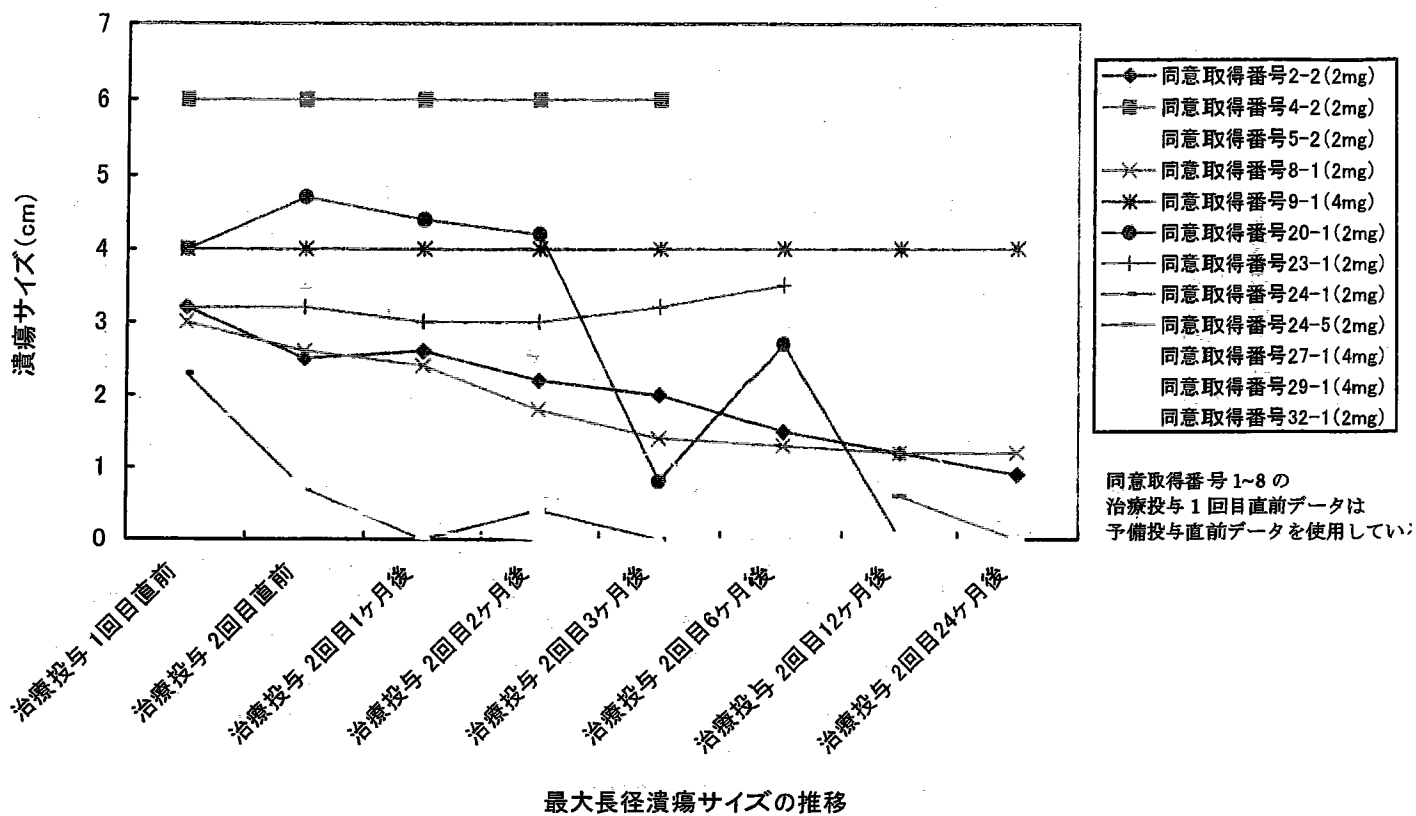


VASの改善率

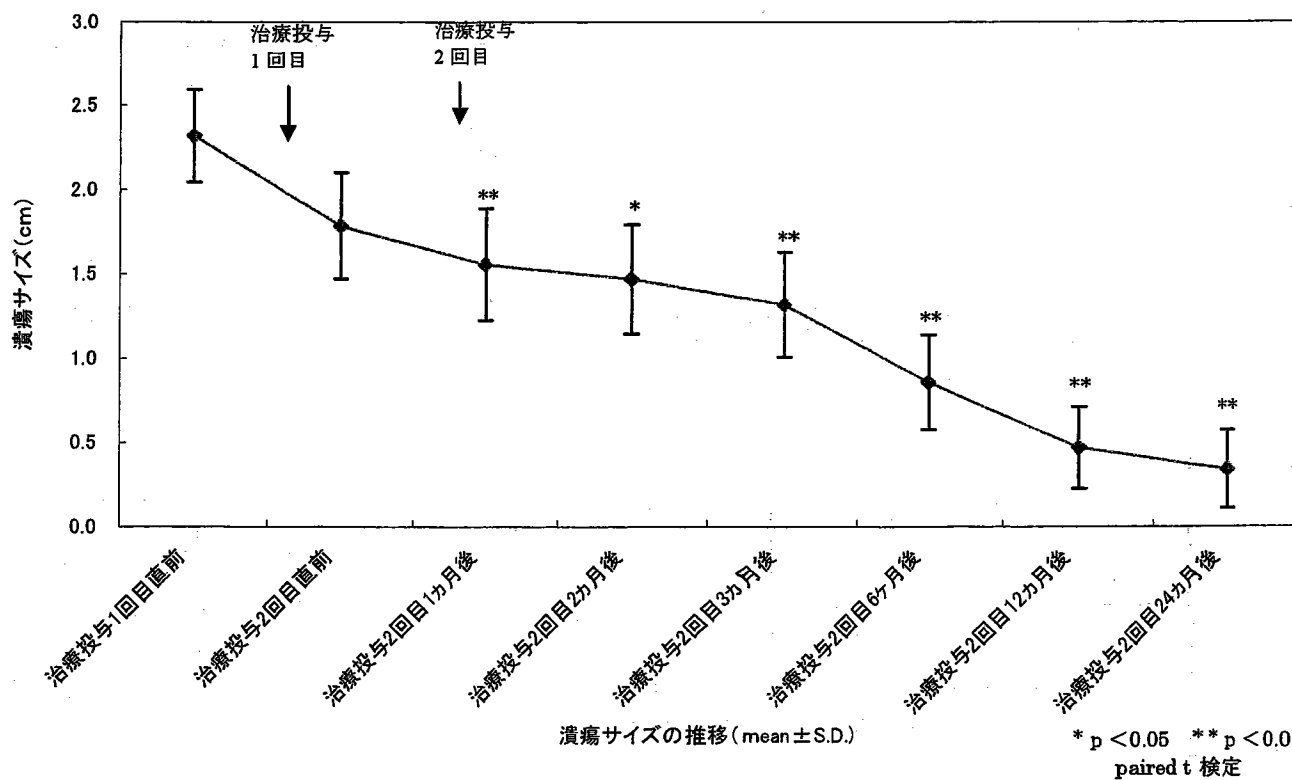
	2回目投与 2ヵ月後	2回目投与 3ヵ月後	2回目投与 6ヵ月後 #1#2	2回目投与 12ヵ月後	2回目投与 24ヵ月後
1cm以上の減少 (脱落症例を除く)	92.31% (12/13 例)	91.67% (11/12 例)	100% (10/10 例)	100% (7/7 例)	100% (7/7 例)
1cm以上の減少 (LOCF)	92.31% (12/13 例)	92.31% (12/13 例)	92.31% (12/13 例)	92.31% (12/13 例)	92.31% (12/13 例)
2cm以上の減少 (脱落症例を除く)	61.54% (8/13 例)	75.00% (9/12 例)	90.00% (9/10 例)	100% (7/7 例)	100% (7/7 例)
2cm以上の減少 (LOCF)	61.54% (8/13 例)	69.23% (9/13 例)	76.92% (10/13 例)	76.92% (10/13 例)	76.92% (10/13 例)

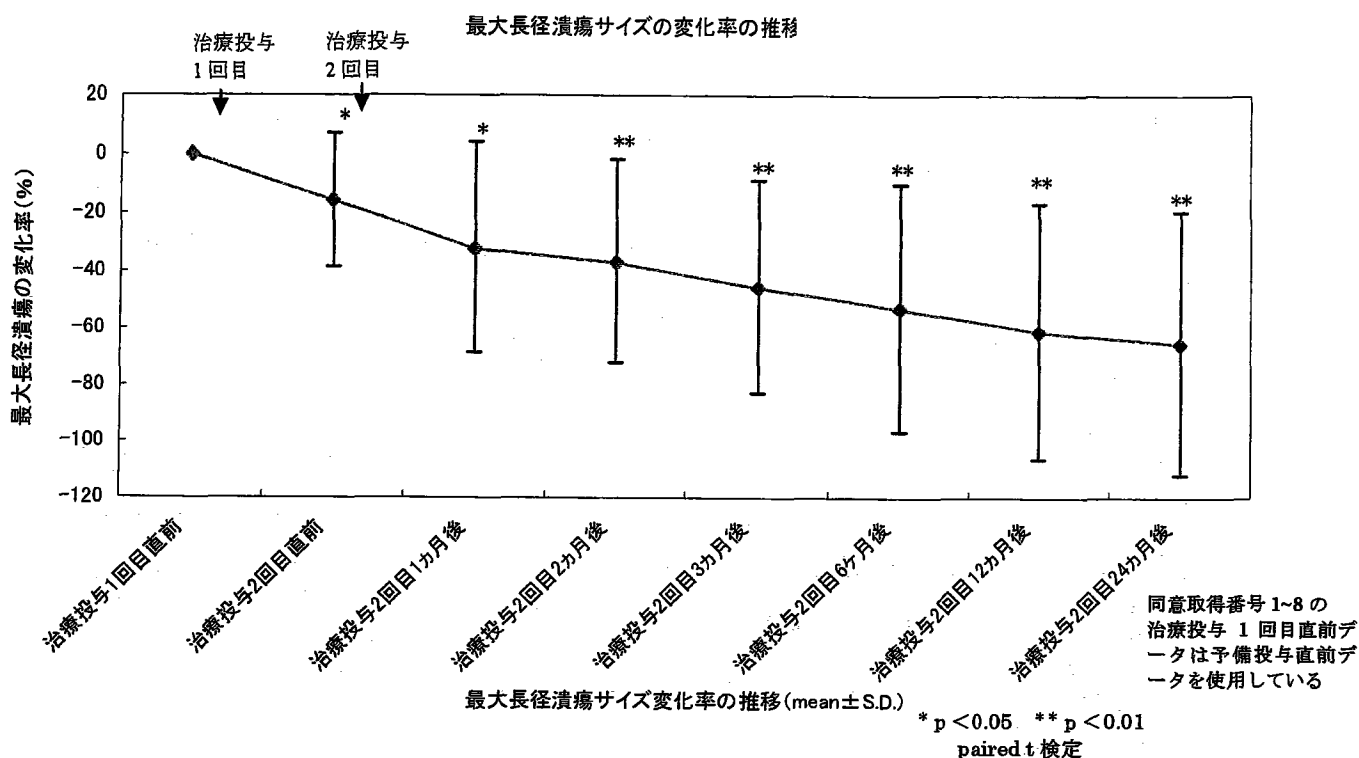
#1: 1例、治療投与2回目6ヵ月後SAE発生の為、治療投与2回目5ヵ月後のデータを使用
 #2: 1例、治療投与2回目6ヵ月後検査未実施の為、治療投与2回目5ヵ月後のデータを使用

6) -2 虚血性潰瘍《最大長径潰瘍》



潰瘍サイズの推移





虚血性潰瘍の改善率

	2 回目投与 2 ヲ月後 #1	2 回目投与 3 ヲ月後	2 回目投与 6 ヲ月後 #2	2 回目投与 12 ヲ月後	2 回目投与 24 ヲ月後 #3
全潰瘍 (脱落症例を除く)	72.00% (18/25 例)	76.00% (19/25 例)	85.71% (18/21 例)	94.44% (17/18 例)	94.44% (17/18 例)
全潰瘍 (LOCF)	72.00% (18/25 例)	76.00% (19/25 例)	76.00% (19/25 例)	76.00% (19/25 例)	76.00% (19/25 例)
最大長径潰瘍 (脱落症例を除く)	63.64% (7/11 例)	72.73% (8/11 例)	80.00% (8/10 例)	88.89% (8/9 例)	88.89% (8/9 例)
最大長径潰瘍 (LOCF)	63.64% (7/11 例)	72.73% (8/11 例)	72.73% (8/11 例)	72.73% (8/11 例)	72.73% (8/11 例)

#1: 2 例、治療投与 2 回目 8 週後 SAE 発生の為、治療投与 2 回目 6 週後のデータを使用

#2: 1 例、治療投与 2 回目 6 ヲ月後検査未実施の為、治療投与 2 回目 5 ヲ月後のデータを使用

#3: 2 例、治療投与 2 回目 24 ヲ月後検査未実施の為、治療投与 2 回目 18 ヲ月後のデータを使用

7) 最大歩行距離

単位：m

同意取得 番号	開始前※	2 回目投与 1 カ月後	2 回目投与 2 カ月後	2 回目投与 3 カ月後	2 回目投与 24 カ月後
15	85	141 (65.88%)	135 (56.98%)	138 (62.35%)	93※2 (9.41%)
16	14	75 (435.71%)	99 (607.14%)	103 (635.71%)	66 (371.43%)
17	90	141 (56.67%)	143 (58.89%)	163 (81.11%)	未実施
22	72	97 (34.72%)	135 (87.50%)	142 (97.22%)	190 (163.89%)
26	138	166 (20.29%)	193 (39.86%)	201 (45.65%)	113※2 (-18.12%)
28	143	163 (13.99%)	167※1 (16.78%)	162 (13.29%)	137 (-4.2%)
34	38	88 (131.58%)	110 (189.47%)	154※2 (305.26%)	141※2 (271.05%)

()：増加率

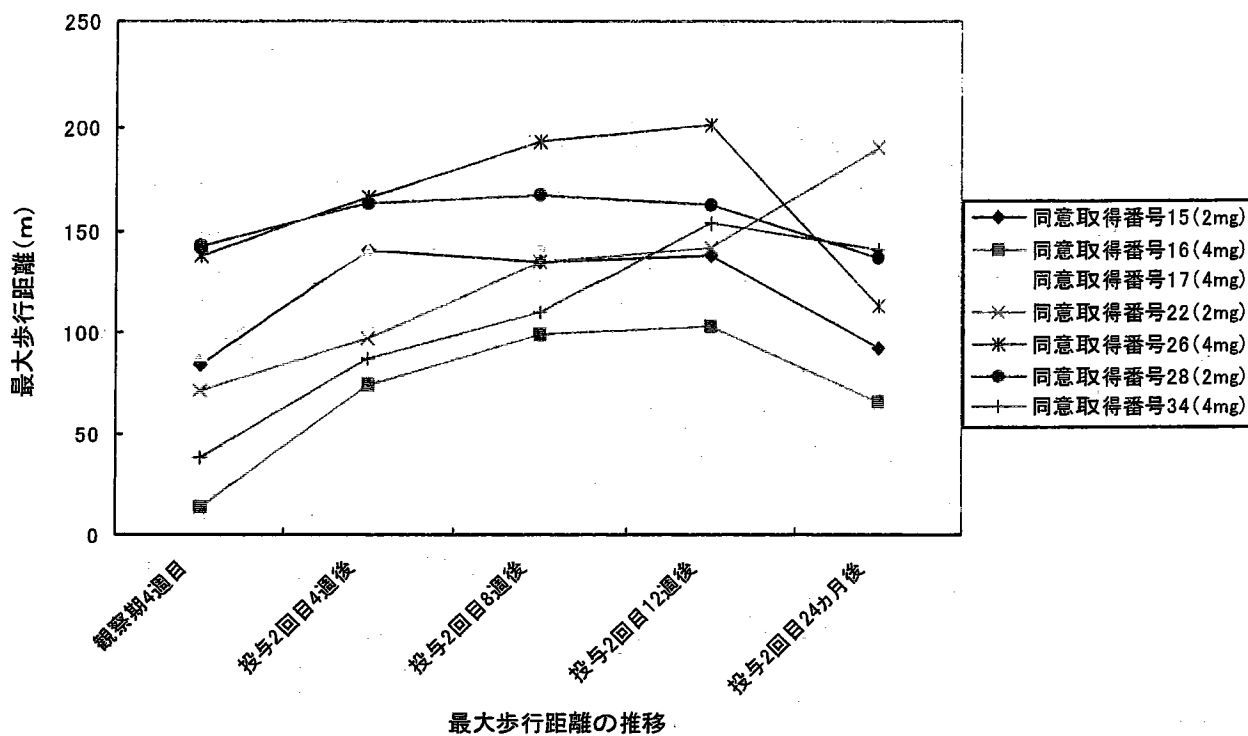
※ 観察期 4 週のデータを採用

※ 1 非対象肢の疼痛出現にて終了

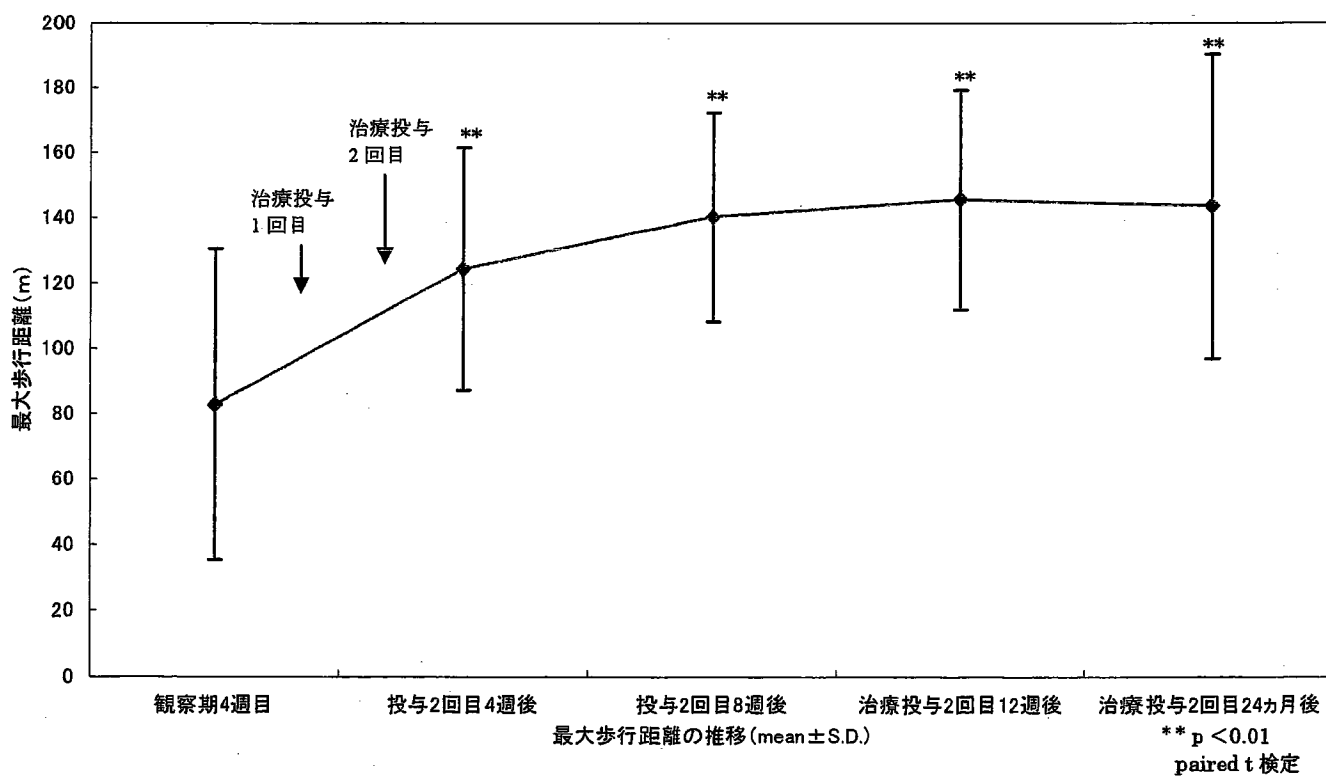
※ 2 安全性を考慮し、途中で中止

下肢症状以外のなんらかの理由で歩行を中止した場合、それは欠落データとしている。

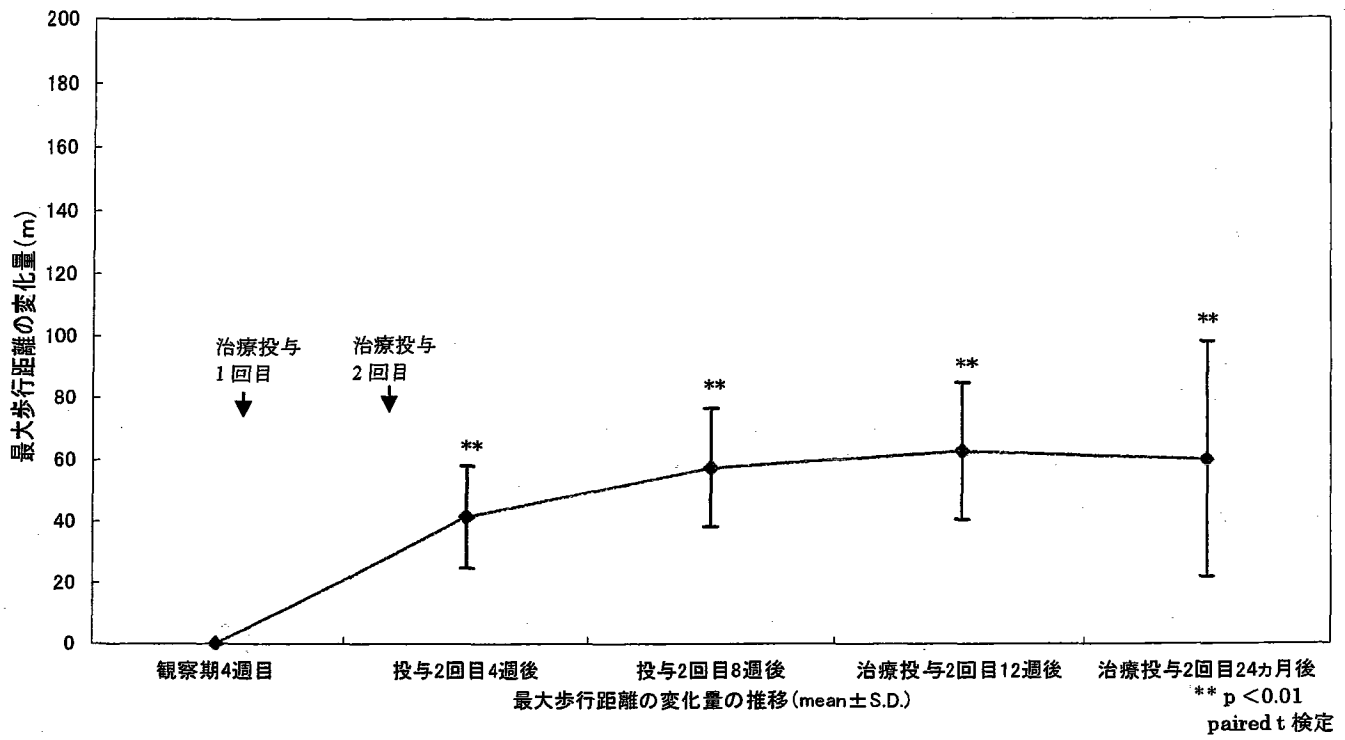
最大歩行距離の推移



最大歩行距離の推移



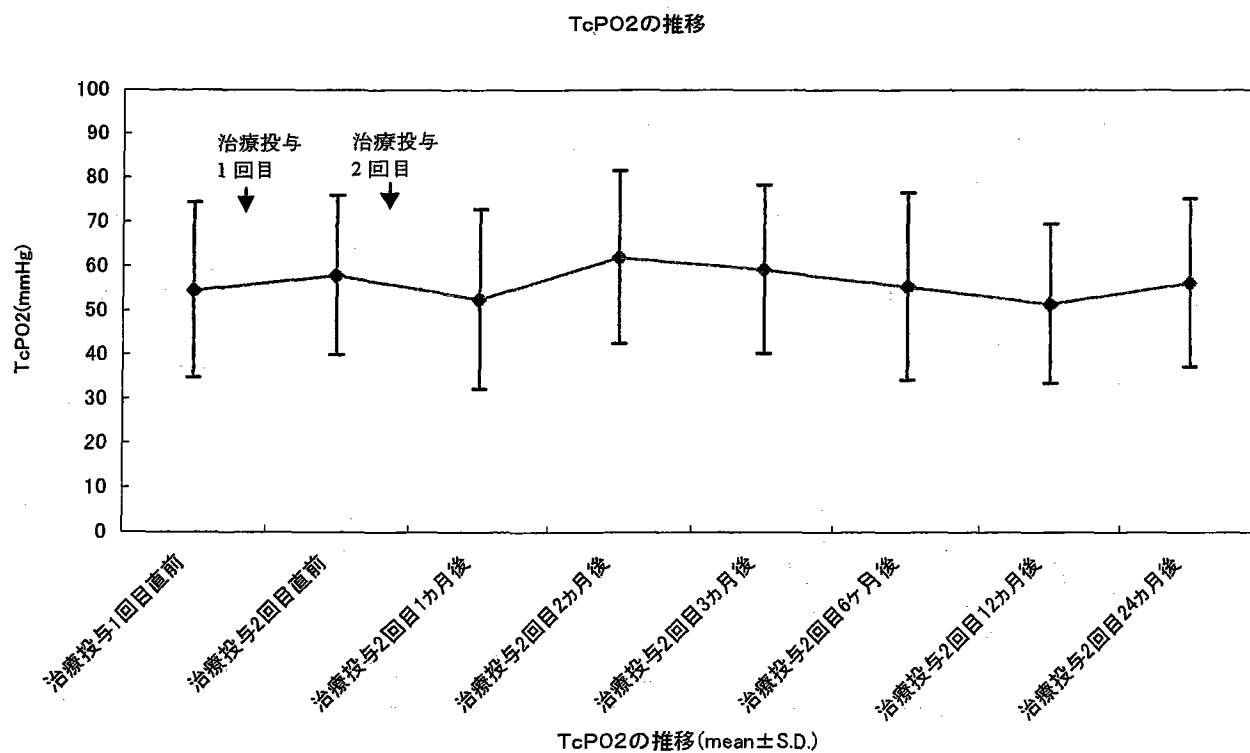
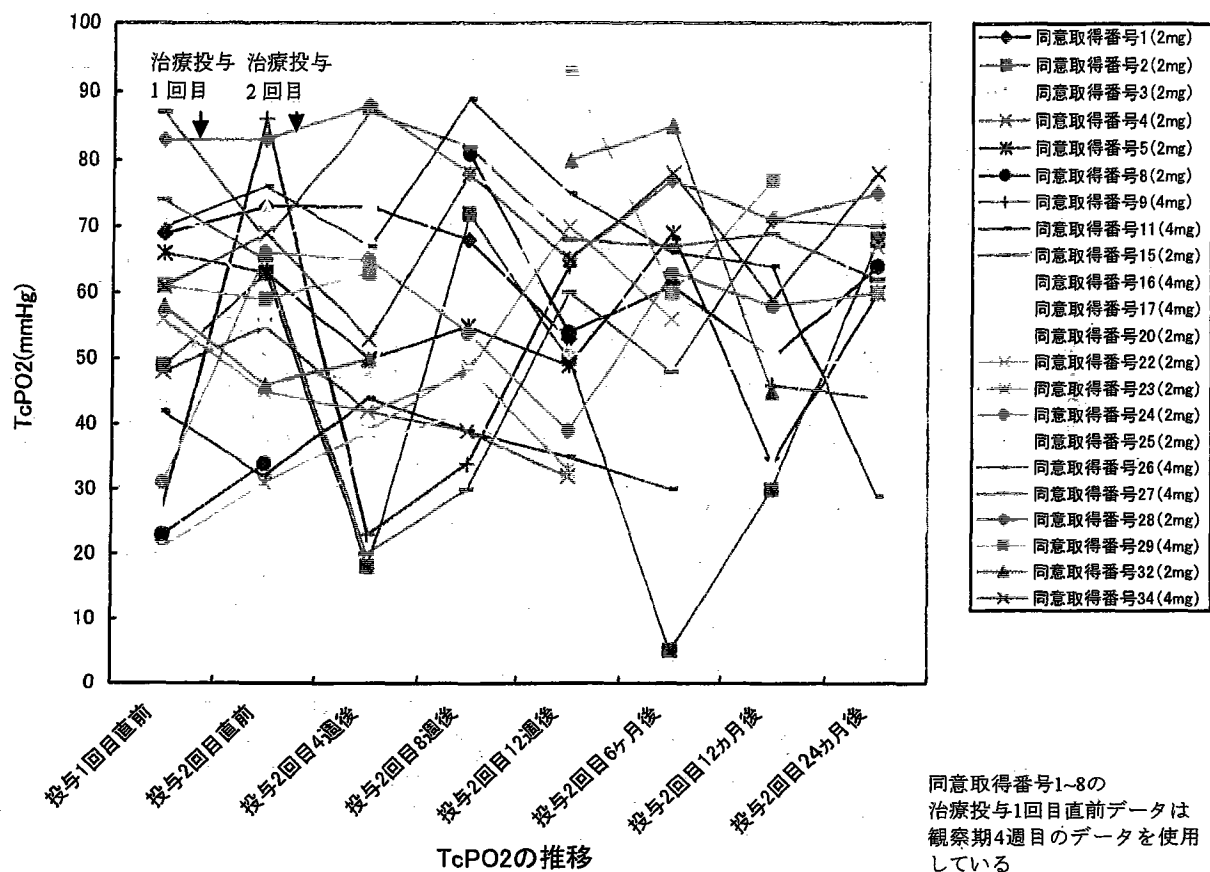
最大歩行距離の変化量の推移



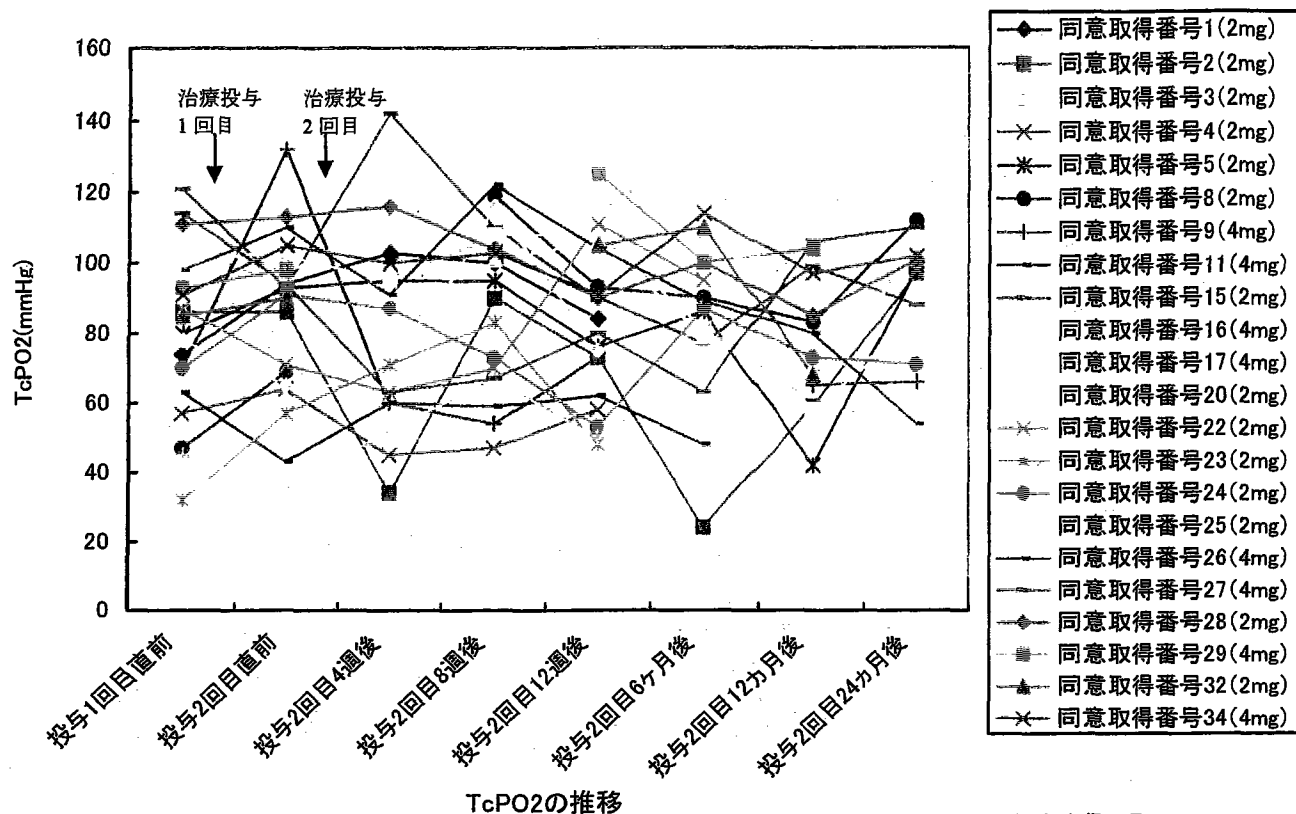
最大歩行距離の改善率

	2回目投与 1ヵ月後	2回目投与 2ヵ月後	2回目投与 3ヵ月後	2回目投与 24ヵ月後
25%以上の 改善 (脱落症例を除く)	71.43% (5/7 例)	85.71% (6/7 例)	85.71% (6/7 例)	50.00% (3/6 例)
25%以上の 改善 (LOCF)	71.43% (5/7 例)	85.71% (6/7 例)	85.71% (6/7 例)	57.14% (4/7 例)
50%以上の 改善 (脱落症例を除く)	57.14% (4/7 例)	71.43% (5/7 例)	71.43% (5/7 例)	50.00% (3/6 例)
50%以上の 改善 (LOCF)	57.14% (4/7 例)	71.43% (5/7 例)	71.43% (5/7 例)	57.14% (4/7 例)

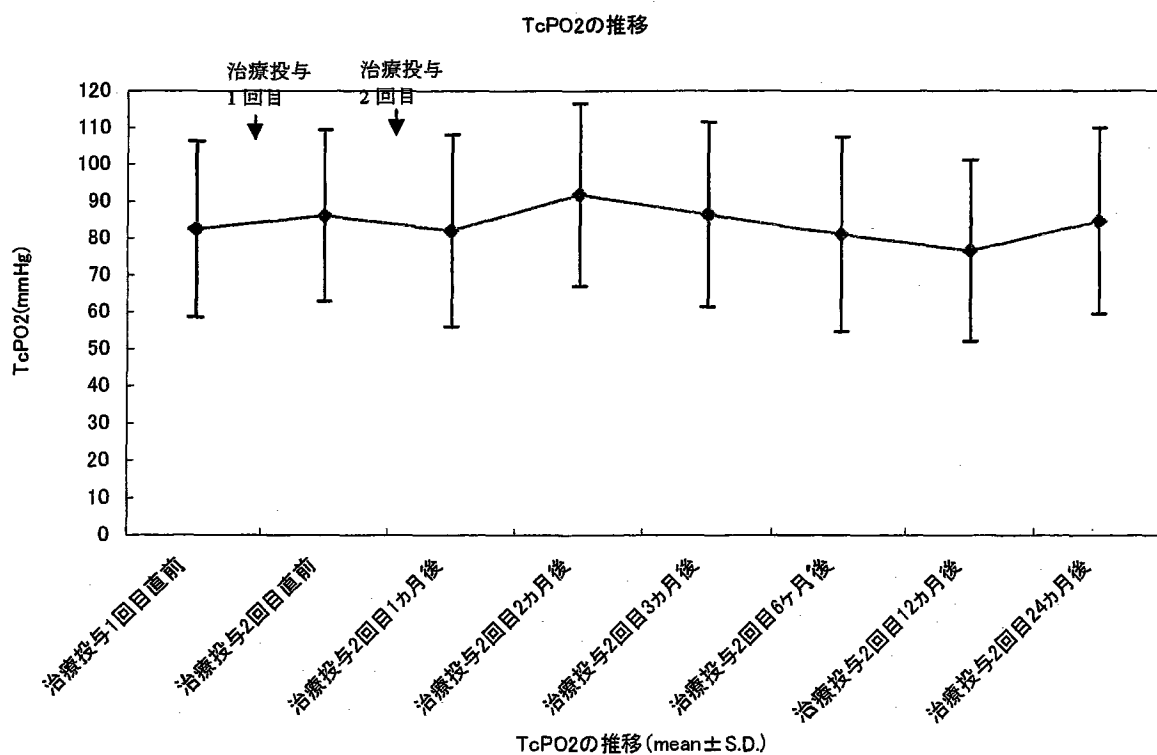
8) -1 TcPO2 (経皮酸素分圧) 《O2 負荷前》



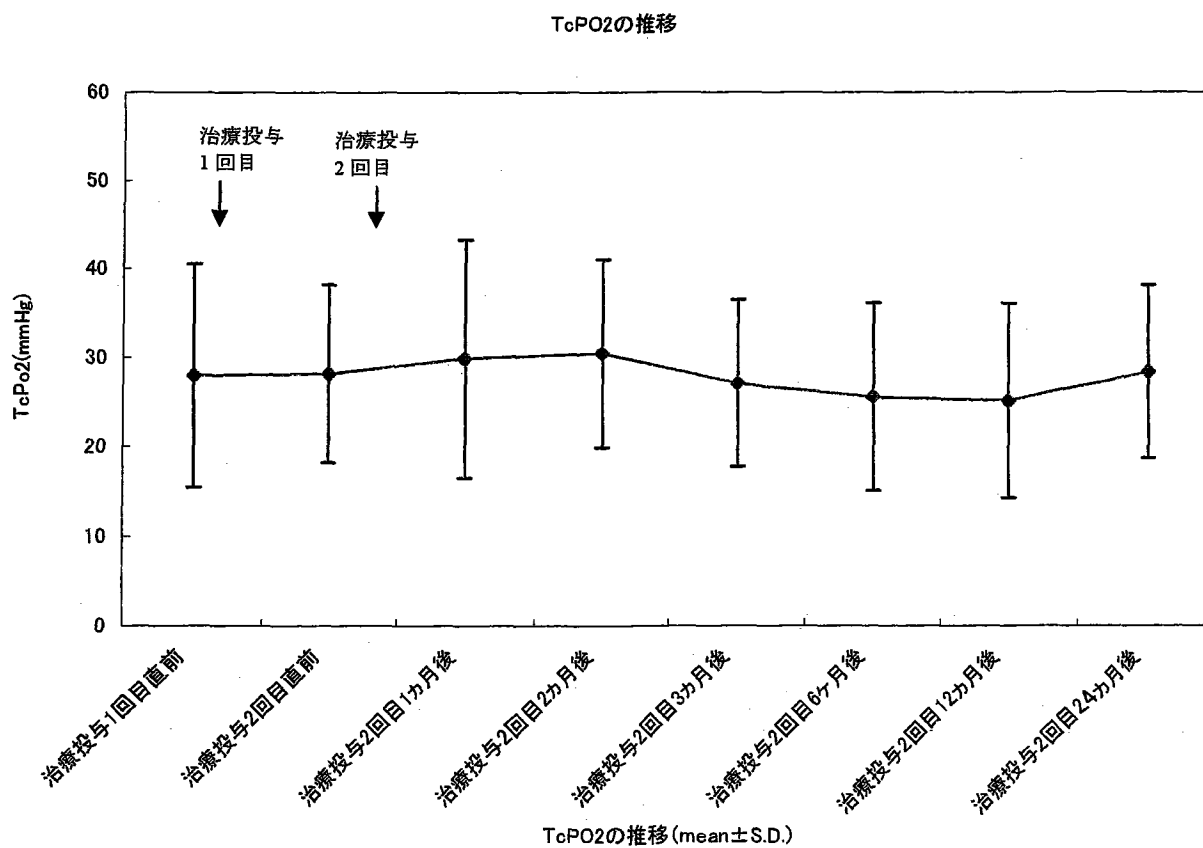
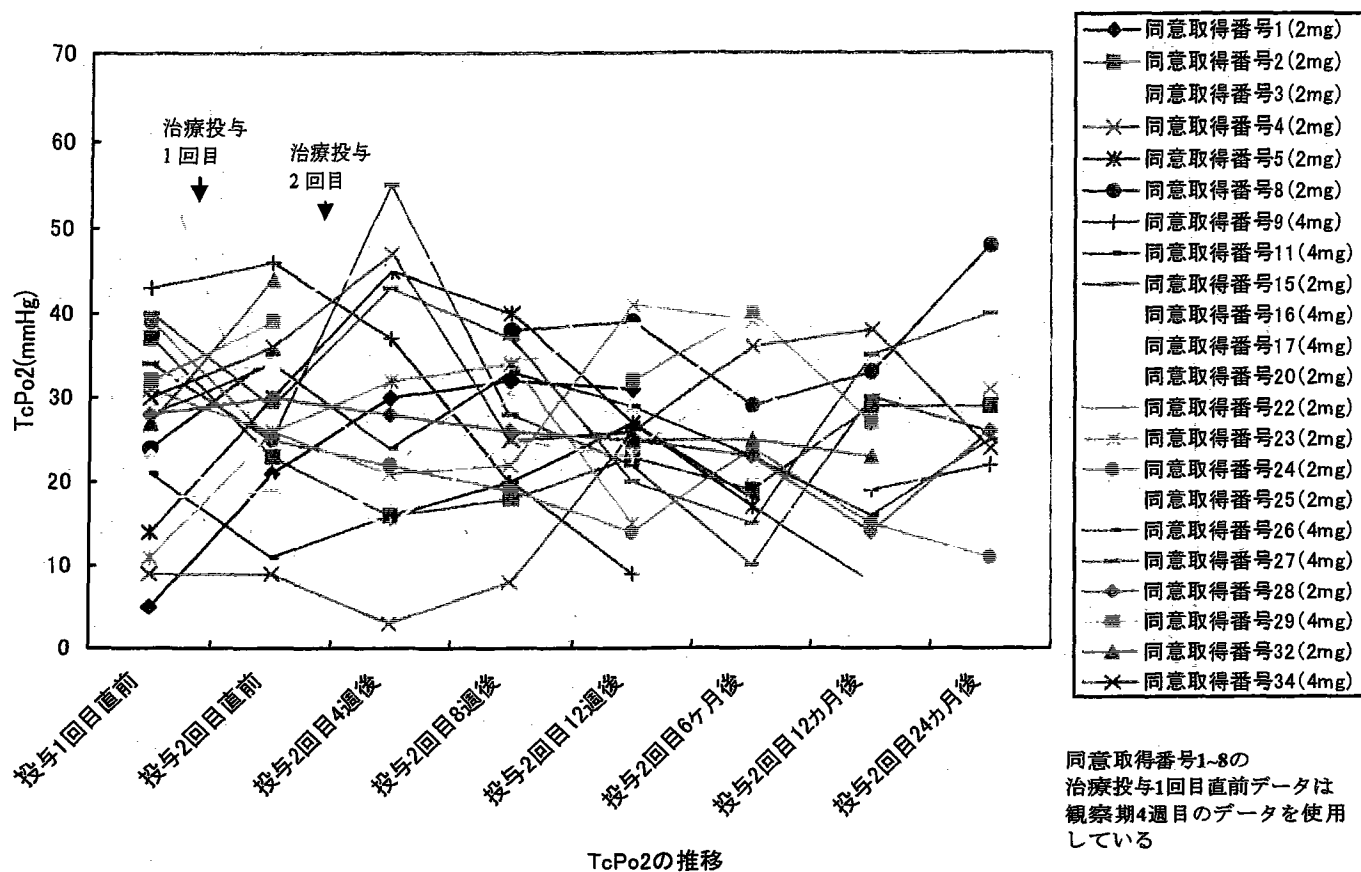
8) -2 TcPO2 (経皮酸素分圧) 《O2 負荷後》



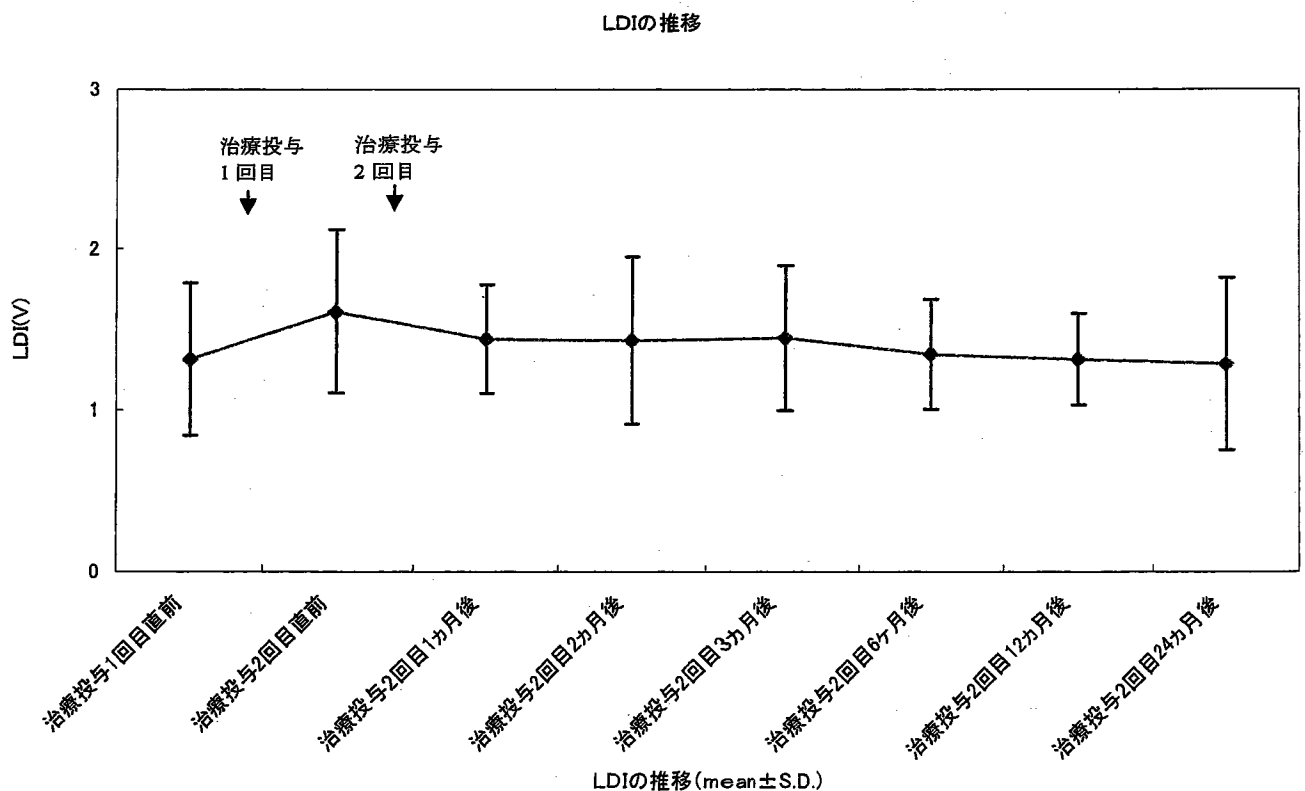
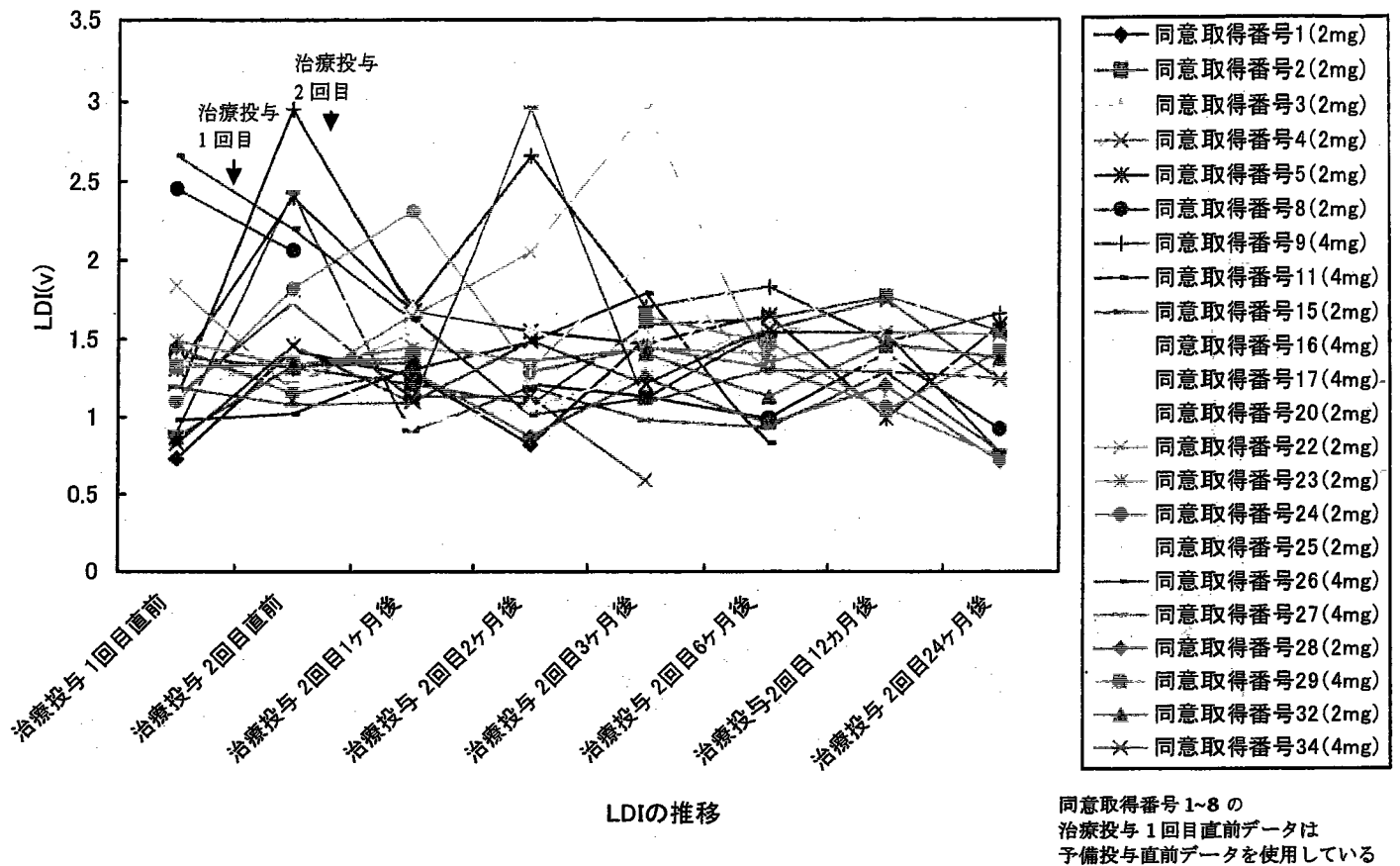
同意取得番号1~8の
治療投与1回目直前データは
観察期4週目のデータを使用
している



8) -3 TcPO₂ (経皮酸素分圧) 《O₂ 負荷後-O₂ 負荷前》



9) -1 LDI (レーザードップラ) 《平均値》



尺度	投与前	治療投与2回目 2ヵ月後	治療投与2回目 3ヵ月後	治療投与2回目 6ヵ月後	治療投与2回目 12ヵ月後	治療投与2回目 24ヵ月後	日本人の標準値
身体的機能	35.90±21.90	37.00±24.90	36.5±23.7	46.0±24.2	53.5±20.1(*)	55.00±27.7	87.9±15.5
日常役割機能 (身体)	29.50±31.70	22.70±28.10	25.0±32.4(*)	31.3±34.3	44.1±33.7	40.0±38.7	85.3±29.0
体の痛み	43.50±26.70	50.50±27.40	53.7±24.1(**)	53.7±26.2(**)	63.9±34.0(*)	54.0±20.3(*)	76.2±22.7
全体的健康感	35.00±18.50	37.30±18.10	36.0±17.9	40.7±15.5	40.9±17.1	40.0±11.1	65.0±19.6
活力	38.70±20.90	40.20±22.80	42.8±22.3	45.6±20.6	47.4±11.9	39.3±18.7	65.8±20.4
社会生活機能	44.90±31.70	50.00±31.30	47.5±31.0	58.1±24.8	65.4±26.3(*)	65.0±25.5	86.2±19.4
日常役割機能 (精神)	33.30±41.40	31.80±42.00	20.0±34.9(*)	25.0±34.0	47.1±40.92	40.00±47.5	83.8±31.5
心の健康	42.50±21.00	48.50±25.20	53.2±19.1(**)	57.0±22.3(**)	65.6±15.8(**)	54.1±16.2	72.7±19.2

** p<0.01 * p<0.05
paired t 検定

4. まとめ

(1) 安全性

- 1). 有害事象は 22 症例で 1228 件発現した。そのうち因果関係が否定できなかったものは 221 件であった。
- 2). 遺伝子投与と因果関係が否定できないものとして脂肪腫・膵管内乳頭粘液腫があった。ともに悪性腫瘍ではない。また、膵管内乳頭粘液腫に関しては遺伝子投与前から存在している。
- 3). 遺伝子投与に起因すると考えられる重篤有害事象はなかった。
- 4). 総合的に判断して安全性は許容範囲であり、これに問題ないと考える。

(2) 薬物動態 (2 ヶ月までの検索)

1) HGF 蛋白濃度

①血清中

通常採血あるいはヘパリン投与後採血において、血清 HGF 濃度の上昇を認めず、遠隔臓器への影響の可能性は低く、安全性に問題ないと考える。

②血中 HGF プラスミド濃度 (第 2 ステージの 16 症例のみで検討)

投与後翌日において血中プラスミドは少量検出されるが、12 症例において投与 1 週後に検出感度以下である。4 症例において投与 1 週後に微量量残存するも 2 週間には検出感度以下である。プラスミドが残存し長期に影響を及ぼす可能性は低く安全であると考え。

(3) 有効性

(対象群を設置していないため、有効性に言及することはできない。下記事項は有効性について言及したものではない。)

1) 血管造影

遺伝子投与 2 ヶ月後の初期判定において下記事項が認められている。

同意取得番号 2 番: 「末梢血管抵抗の低下を認める。」

同意取得番号 5 番: 「遺伝子投与前に全く造影されていなかった血管が、遺伝子投与後は明らかに造影されるようになった。」

同意取得番号 24 番: 「血管増成と微細血管描出能の向上を認める。」

(ただし、上記は遺伝子治療の有効性に言及したものではない。)

これら症例では 2 ヶ月後以降に明らかな変化を認めない。

その他の症例では 24 ヶ月を通じて明らかな変化を認めない。

血管造影における改善度評価は困難であった。

2) ABI (足関節・上腕動脈血圧比)

治療投与 2 ヶ月後に有意な上昇を認め、24 ヶ月まで維持できている。Fontaine III, IV のみの群においても同様の結果を認める。

3) Ankle pressure

治療投与 2 ヶ月後に有意な上昇を認め、24 ヶ月まで維持できている。

4) TPI (足趾血圧・上腕動脈血圧比)

治療投与 2 ヶ月後に観察された改善度は 12 ヶ月まで維持できているが、24 ヶ月後に低下傾向を認める。

5) 疼痛評価 (Visual Analog Scale の推移)

治療投与 2 ヶ月後に観察された改善度は 24 ヶ月まで維持できている。

6) 虚血性潰瘍

治療投与 2 ヶ月後に観察された改善度は 24 ヶ月まで維持できている。

7) 最大歩行距離

グラフ参照。12 週後で有意に改善している。

8) TcPO₂ (経皮酸素分圧)

グラフ参照。有意な変化を認めず。ばらつきが大きく、本研究における症例数では評価は困難。

9) LDI (レーザードップラ)

グラフ参照。有意な変化を認めず。ばらつきが大きく、本研究における症例数では評価は困難。

10) QOL (SF-36)

各パラメータにおいて改善傾向を認める。一部に有意差を有するパラメータがあり、遺伝子投与による QOL の改善傾向は認められる。

12) Fontaine 分類

6 症例において、Fontaine 分類の群間に改善を認めた (p 72 参照)

以上のことより、遺伝子投与の有効性を示唆できると考える。厳密な有効性評価にはプラセボコントロールを設定した研究が必要である。

統計解析：本資料における統計解析は、LOCF を使用し、paired t 検定にて行った。すなわち、中途脱落症例では、脱落時の最終データが以後持続していると仮定し、n 数を変化させず pre 値との paired t 検定を行っている。

II. 試験全体の試験成績概要

1. 主な評価項目有効率のまとめ

2回目投与後 評価項目	2ヵ月後	3ヵ月後	6ヶ月後	12ヵ月後	24ヵ月後
ABI0.1以上の上昇 (同意取得直後にABI0.6以上の2症例を除く) #1	64.70% (11/17例)	81.25% (13/16例)	80.00% (12/15例) #3	76.92% (10/13例)	76.92% (10/13例) #4
ABI0.1以上の上昇 (同意取得直後にABI0.6以上の2症例を除く) (LOCF)	64.71% (11/17例)	82.35% (14/17例)	76.47% (13/17例)	70.59% (12/17例)	70.59% (12/17例)
ABI0.1以上の上昇 <22症例> #1	57.89% (11/19例)	72.22% (13/18例)	70.59% (12/17例) #2#3	78.57% (11/14例)	73.33% (11/15例) #4
ABI0.1以上の上昇 <22症例>(LOCF)	57.89% (11/19例)	73.68% (14/19例)	68.42% (13/19例)	68.42% (13/19例)	68.42% (13/19例)
VAS <1cm以上の減少>	92.31% (12/13例)	91.67% (11/12例)	100% (10/10例) #2#3	100% (7/7例)	100% (7/7例)
VAS <1cm以上の減少> (LOCF)	92.31% (12/13例)	92.31% (12/13例)	92.31% (12/13例)	92.31% (12/13例)	92.31% (12/13例)
VAS <2cm以上の減少>	61.54% (8/13例)	75.00% (9/12例)	90.00% (9/10例) #2#3	100% (7/7例)	100% (7/7例)
VAS <2cm以上の減少> (LOCF)	61.54% (8/13例)	69.23% (9/13例)	76.92% (10/13例)	76.92% (10/13例)	76.92% (10/13例)
潰瘍<全潰瘍> #1	72.00% (18/25例)	76.00% (19/25例)	85.71% (18/21例) #2	94.44% (17/18例)	94.44% (17/18例) #4
潰瘍<全潰瘍> (LOCF)	72.00% (18/25例)	76.00% (19/25例)	76.00% (19/25例)	76.00% (19/25例)	76.00% (19/25例)
潰瘍 <最大長径潰瘍> #1	63.64% (7/11例)	72.73% (8/11例)	80.00% (8/10例) #2	88.89% (8/9例)	88.89% (8/9例) #4
潰瘍 <最大長径潰瘍> (LOCF)	63.64% (7/11例)	72.73% (8/11例)	72.73% (8/11例)	72.73% (8/11例)	72.73% (8/11例)
最大歩行距離 <25%以上の延長>	100% (6/6例)	83.33% (5/6例)			66.67% (2/3例)
最大歩行距離 <25%以上の延長> (LOCF)	85.71% (6/7例)	85.71% (6/7例)			57.14% (4/7例)
最大歩行距離 <50%以上の延長>	83.33% (5/6例)	66.67% (4/6例)			66.67% (2/3例)
最大歩行距離 <50%以上の延長> (LOCF)	71.43% (5/7例)	71.43% (5/7例)			57.14% (4/7例)

#1: 2例、治療投与2回目8週後SAE発生の為、治療投与2回目6週後のデータ使用

#2: 2例、治療投与2回目6ヶ月後未実施の為、治療投与2回目5ヵ月後のデータ使用

#3: 2例、治療投与2回目6ヶ月後SAE発生の為、治療投与2回目5ヵ月後のデータ使用

#4: 2例、治療投与2回目24ヶ月後未実施の為、治療投与2回目18ヶ月後のデータ使用

2. 各症例毎の主な評価項目の変化

2回目投与後2ヵ月後

同意 取得 番号	患者 番号	対象疾患	Fontaine 分類	投与 対象肢	投与量	ABI	VAS	潰瘍	最大歩行距離	改善度
1	10101	ASO	III	右下肢	2mg	↑ (0.50→0.63)	→ (6.0cm→5.5cm)	対象外	対象外	保留
2	10105	Buerger	IV	右下肢	2mg	↑ (0.35→0.67)	対象外 (6.0cm→0.5cm)	↑ (31%) (3.2cm→2.2cm)	対象外	改善
3	10104	Buerger	III	左下肢	2mg	↑ (0.53→0.66)	→ (8.0cm→7.0cm)	対象外	対象外	保留
4	10102	ASO	IV	左下肢	2mg	測定不能	対象外 (8.0cm→6.0cm)	→ (6.0cm→6.0cm)	対象外	不変
5	10103	Buerger	IV	左下肢	2mg	↑ (0.29→0.42)	対象外 (6.0cm→4.0cm)	↑ (44%) (4.5cm→2.5cm)	対象外	改善
8	10106	ASO	IV	右下肢	2mg	↑ (0.46→0.60)	対象外 (7.0cm→2.0cm)	↑ (40%) (3.0cm→1.8cm)	対象外	改善
9	10107	Buerger	IV	左下肢	4mg	↑ (0.53→0.91)	対象外 (2.0cm→1.0cm)	→ (4.0cm→4.0cm)	対象外	保留
11	10108	Buerger	III	左下肢	4mg	→ (0.36→0.36)	→ (7.5cm→6.0cm)	対象外	対象外	不変
15	10109	ASO	IIb	左下肢	2mg	測定不能	対象外	対象外	↑ (57%) (85m→135m)	保留
16	10110	ASO	IIb	右下肢	4mg	↑ (0.40→0.58)	対象外	対象外	↑ (507%) (14m→99m)	改善
17	10111	ASO	IIb	左下肢	4mg	→ (0.45→0.49)	対象外	対象外	↑ (59%) (81m→143m)	保留
20	10112	ASO	IV	左下肢	2mg	↑ (0.44→0.64)	対象外 (4.0cm→0cm)	→ (-5%) (4.0cm→4.2cm)	対象外	保留
22	10113	Buerger	IIb	左下肢	2mg	→ (0.49→0.54)	対象外	対象外	↑ (88%) (72m→135m)	保留
23	10117	Buerger	IV	右下肢	2mg	対象外	対象外 (5.0cm→3.5cm)	→ (6%) (3.2cm→3.0cm)	対象外	不変
24	10115	Buerger	IV	左下肢	2mg	対象外	対象外 (6.0cm→3.0cm)	↑ (83%) (2.3cm→0.4cm)	対象外	保留
25	10114	ASO	III→ IIb以上	左下肢	2mg	↑ (0.47→0.61)	↑ (5.0cm→0.0cm)	対象外	対象外	改善
26	10116	ASO	IIb	右下肢	4mg	測定不能	対象外	対象外	↑ (40%) (138m→193m)	保留
27	10119	ASO	IV	右下肢	4mg	↑ (0.47→0.57)	対象外 (6.5cm→1.0cm)	↑ (44%) (1.8cm→1.0cm)	対象外	改善
28	10118	ASO	IIb	右下肢	2mg	→ (0.54→0.63)	対象外	対象外	→ (17%) (非対象肢疼痛) (143m→167m)	不変
29	10120	ASO	IV	左下肢	4mg	→ (*1) (0.40→0.48)	対象外	↑ (64%) (*1) (1.1cm→0.4cm)	対象外	保留
32	10121	ASO	IV→ IIb以上	右下肢	2mg	→ (*1) (0.49→0.50)	対象外	完全治癒 (*1) (0.8cm→0cm)	対象外	改善
34	10122	ASO	IIb	左下肢	4mg	↑ (0.57→0.73)	対象外	対象外	↑ (189%) (38m→110m)	改善

(*1) 治療投与2回目8週後SAE発生の為、治療投与2回目6週後のデータを使用

2回目投与後3ヵ月後

同意 取得 番号	患者 番号	対象疾患	Fontaine 分類	投与 対象肢	投与量	ABI	VAS	潰瘍	最大歩行距離	改善度
1	10101	ASO	III	右下肢	2mg	→ (0.50→0.57)	→ (6.0cm→5.5cm)	対象外	対象外	不変
2	10105	Buerger	IV	右下肢	2mg	↑ (0.35→0.68)	対象外 (6.0cm→0.5cm)	↑ (38%) (3.2cm→2.0cm)	対象外	改善
3	10104	Buerger	III	左下肢	2mg					判定不能
4	10102	ASO	IV	左下肢	2mg	測定不能	対象外 (8.0cm→6.0cm)	↓ (6.0cm→6.0cm)	対象外	悪化
5	10103	Buerger	IV	左下肢	2mg	↑ (0.29→0.55)	対象外 (6.0cm→3.0cm)	↑ (44%) (4.5cm→2.5cm)	対象外	改善
8	10106	ASO	IV	右下肢	2mg	↑ (0.46→0.62)	対象外 (7.0cm→1.5cm)	↑ (53%) (3.0cm→1.4cm)	対象外	改善
9	10107	Buerger	IV	左下肢	4mg	↑ (0.53→0.94)	対象外 (2.0cm→0.5cm)	→ (4.0cm→4.0cm)	対象外	保留
11	10108	Buerger	III	左下肢	4mg	→ (0.36→0.41)	→ (7.5cm→6.0cm)	対象外	対象外	不変
15	10109	ASO	IIb	左下肢	2mg	測定不能	対象外	対象外	↑ (62%) (85m→138m)	保留
16	10110	ASO	IIb	右下肢	4mg	↑ (0.40→0.60)	対象外	対象外	↑ (634%) (14m→103m)	改善
17	10111	ASO	IIb	左下肢	4mg	↑ (0.45→0.59)	対象外	対象外	↑ (81%) (90m→163m)	改善
20	10112	ASO	IV	左下肢	2mg	↑ (0.44→0.63)	対象外 (4.0cm→0cm)	↑ (80%) (4.0cm→0.8cm)	対象外	改善
22	10113	Buerger	IIb	左下肢	2mg	↑ (0.49→0.64)	対象外	対象外	↑ (97%) (72m→142m)	改善
23	10117	Buerger	IV	右下肢	2mg	対象外 (0.96→0.93)	対象外 (5.0cm→3.0cm)	→ (3.2cm→3.2cm)	対象外	不変
24	10115	Buerger	IV→ IIb以上	左下肢	2mg	対象外 (0.63→0.71)	対象外 (6.0cm→0cm)	完全治癒 (2.3cm→0.0cm)	対象外	改善
25	10114	ASO	III→ IIb以上	左下肢	2mg	↑ (0.47→0.67)	↑ (5.0cm→0.0cm)	対象外	対象外	改善
26	10116	ASO	IIb→IIa	右下肢	4mg	測定不能	対象外	対象外	↑ (47%) (138m→201m)	保留
27	10119	ASO	IV	右下肢	4mg	↑ (0.47→0.61)	対象外 (6.5cm→1.0cm)	↑ (33%) (1.8cm→1.2cm)	対象外	改善
28	10118	ASO	IIb	右下肢	2mg	↑ (0.54→0.64)	対象外	対象外	→ (13%) (143m→162m)	保留
29	10120	ASO	IV	左下肢	4mg	↑ (0.40→0.52)	対象外	↑ (55%) (1.1cm→0.5cm)	対象外	改善
32	10121	ASO	IV→ IIb以上	右下肢	2mg	→ (0.49→0.57)	対象外	完全治癒 (0.8cm→0cm)	対象外	改善
34	10122	ASO	IIb	左下肢	4mg	↑ (0.57→0.76)	対象外	対象外	↑ (305%) (38m→154m)	改善

2回目投与後6ヵ月後

同意 取得 番号	患者 番号	対象疾患	Fontaine 分類	投与 対象肢	投与量	ABI	VAS	潰瘍	最大歩行距離	改善度
1	10101	ASO	Ⅲ	右下肢	2mg	→ (*2) (0.50→0.48)	→ (*2) (6.0cm→5.5cm)	対象外		判定不能
2	10105	Buerger	Ⅳ	右下肢	2mg	↑ (0.35→0.91)	対象外 (6.0cm→0.5cm)	↑ (53%) (3.2cm→1.5cm)		改善
3	10104	Buerger	Ⅲ	左下肢	2mg					判定不能
4	10102	ASO	Ⅳ	左下肢	2mg	測定不能	対象外 (*3) (8.0cm→7.5cm)	測定不能 (*3)		判定不能
5	10103	Buerger	Ⅳ	左下肢	2mg	↑ (0.29→0.57)	対象外 (6.0cm→2.0cm)	↑ (52%) (4.5cm→2.2cm)		改善
8	10106	ASO	Ⅳ	右下肢	2mg	↑ (0.46→0.68)	対象外 (7.0cm→0cm)	↑ (57%) (3.0cm→1.3cm)		改善
9	10107	Buerger	Ⅳ	左下肢	4mg	↑ (0.53→1.0)	対象外 (2.0cm→0cm)	→ (4.0cm→4.0cm)		保留
11	10108	Buerger	Ⅲ	左下肢	4mg	→ (0.36→0.45)	→ (7.5cm→6.0cm)	対象外		不変
15	10109	ASO	Ⅱb	左下肢	2mg	測定不能	対象外	対象外		判定不能
16	10110	ASO	Ⅱb	右下肢	4mg	↑ (0.40→0.65)	対象外	対象外		判定不能
17	10111	ASO	Ⅱb	左下肢	4mg	→ (0.45→0.49)	対象外	対象外		判定不能
20	10112	ASO	Ⅳ	左下肢	2mg	↑ (0.44→0.65)	対象外 (4.0cm→0cm)	↑ (33%) (4.0cm→2.7cm)		改善
22	10113	Buerger	Ⅱb	左下肢	2mg	↑ (0.49→0.64)	対象外	対象外		判定不能
23	10117	Buerger	Ⅳ	右下肢	2mg	対象外 (5ヵ月後) (0.96→0.91)	対象外 (5ヵ月後) (5.0cm→3.0cm)	→ (-9%) (5ヵ月後) (3.2cm→3.5cm)		不変
24	10115	Buerger	Ⅳ→ Ⅱb以上	左下肢	2mg	対象外 (0.63→0.72)	対象外 (6.0cm→0cm)	完全治癒		改善
25	10114	ASO	Ⅲ→ Ⅱb以上	左下肢	2mg	↑ (5ヵ月後) (0.47→0.61)	↑ (5ヵ月後) (5.0cm→0.0cm)	対象外		改善
26	10116	ASO	Ⅱb→Ⅱa	右下肢	4mg	測定不能	対象外	対象外		判定不能
27	10119	ASO	Ⅳ→ Ⅱb以上	右下肢	4mg	↑ (0.47→0.77)	対象外 (6.5cm→0.0cm)	完全治癒 (1.8cm→0cm)		改善
28	10118	ASO	Ⅱb	右下肢	2mg	↑ (0.54→0.67)	対象外	対象外		判定不能
29	10120	ASO	Ⅳ→ Ⅱb以上	左下肢	4mg	↑ (0.40→0.52)	対象外	完全治癒 (1.1cm→0cm)		改善
32	10121	ASO	Ⅳ→ Ⅱb以上	右下肢	2mg	→ (0.49→0.56)	対象外	完全治癒 (0.8cm→0cm)		改善
34	10122	ASO	Ⅱb	左下肢	4mg	↑ (0.57→0.77)	対象外	対象外		判定不能

(*2): 治療投与2回目6ヶ月後までにイリザロフ法施行後

(*3): 治療投与2回目6ヶ月後までに amputation 及び細胞治療施行

2回目投与後 12 ヶ月後

同意 取得 番号	患者 番号	対象疾患	Fontaine 分類	投与 対象肢	投与量	ABI	VAS	潰瘍	最大歩行距離	改善度
1	10101	ASO	Ⅲ	右下肢	2mg	→ (*2) (0.50→0.59)	↑ (*2) (6.0cm→3.5cm)	対象外		判定不能
2	10105	Buerger	Ⅳ	右下肢	2mg	↑ (0.35→0.84)	対象外 (6.0cm→0.5cm)	↑ (63%) (3.2cm→1.2cm)		改善
3	10104	Buerger	Ⅲ	左下肢	2mg					判定不能
4	10102	ASO	Ⅳ	左下肢	2mg					判定不能 (*4)
5	10103	Buerger	Ⅳ	左下肢	2mg	↑ (0.29→0.47)	対象外 (6.0cm→1.5cm)	↑ (62%) (4.5cm→1.7cm)		改善
8	10106	ASO	Ⅳ	右下肢	2mg	→ (0.46→0.48)	対象外 (7.0cm→0cm)	↑ (60%) (3.0cm→1.2cm)		保留
9	10107	Buerger	Ⅳ	左下肢	4mg	↑ (0.53→1.06)	対象外 (2.0cm→0cm)	→ (4.0cm→4.0cm)		保留
11	10108	Buerger	Ⅲ	左下肢	4mg					判定不能 (*4)
15	10109	ASO	Ⅱb	左下肢	2mg	測定不能	対象外	対象外		判定不能
16	10110	ASO	Ⅱb	右下肢	4mg	↑ (0.40→0.65)	対象外	対象外		判定不能
17	10111	ASO	Ⅱb	左下肢	4mg	→ (0.45→0.45)	対象外	対象外		判定不能
20	10112	ASO	Ⅳ→ Ⅱb 以上	左下肢	2mg	↑ (0.44→0.69)	対象外 (4.0cm→0cm)	↑ (4.0cm→0cm)		改善
22	10113	Buerger	Ⅱb	左下肢	2mg	↑ (0.49→0.65)	対象外	対象外		判定不能
23	10117	Buerger	Ⅳ	右下肢	2mg					判定不能 (*5)
24	10115	Buerger	Ⅳ	左下肢	2mg	対象外 (0.63→0.74)	対象外 (6.0cm→0cm)	9 ヶ月後に新しい 潰瘍出現		保留
25	10114	ASO	Ⅲ→ Ⅱb 以上	左下肢	2mg					判定不能 (*6)
26	10116	ASO	Ⅱb→Ⅱa	右下肢	4mg	測定不能	対象外	対象外		判定不能
27	10119	ASO	Ⅳ→ Ⅱb 以上	右下肢	4mg	↑ (0.47→0.62)	対象外 (6.5 cm→0.0cm)	完全治癒 (1.8cm→0cm)		改善
28	10118	ASO	Ⅱb	右下肢	2mg	→ (0.54→0.57)	対象外	対象外		判定不能
29	10120	ASO	Ⅳ→ Ⅱb 以上	左下肢	4mg	↑ (0.40→0.57)	対象外	完全治癒 (1.1cm→0cm)		改善
32	10121	ASO	Ⅳ→ Ⅱb 以上	右下肢	2mg	↑ (0.49→0.61)	対象外	完全治癒 (0.8cm→0cm)		改善
34	10122	ASO	Ⅱb	左下肢	4mg	↑ (0.57→0.72)	対象外	対象外		判定不能

(*2): 治療投与 2 回目 6 ヶ月後までにイリザロフ法施行後

(*4): 死亡症例

(*5): 治療投与 2 回目 9 ヶ月後の段階で対象肢の第 1、3 趾の amputation 施行

(*6): 治療投与 2 回目 5 ヶ月以降に再バイパス術施行

2 回目投与後 24 ヶ月後

同意 取得 番号	患者 番号	対象疾患	Fontaine 分類	投与 対象肢	投与量	ABI	VAS	潰瘍	最大歩行距離	改善度
1	10101	ASO	Ⅲ	右下肢	2mg	↑ (*2) (0.50→0.63)	↑ (*2) (6.0cm→3.0cm)	対象外	対象外	判定不能
2	10105	Buerger	Ⅳ	右下肢	2mg	↑ (0.35→0.81)	対象外 (6.0cm→0 cm)	↑ (72%) (3.2cm→0.9cm)	対象外	改善
3	10104	Buerger	Ⅲ	左下肢	2mg					判定不能
4	10102	ASO	Ⅳ	左下肢	2mg					判定不能 (*4)
5	10103	Buerger	Ⅱb	左下肢	2mg	↑ (0.29→0.47)	対象外 (6.0cm→0cm)	↑ (100%) (4.5cm→0cm)	対象外	改善
8	10106	ASO	Ⅳ	右下肢	2mg	↑ (0.46→0.59)	対象外 (7.0cm→0cm)	↑ (60%) (3.0cm→1.2cm)	対象外	改善
9	10107	Buerger	Ⅳ	左下肢	4mg	↑ (0.53→0.85)	対象外 (2.0cm→0cm)	→ (4.0cm→4.0cm)	対象外	保留
11	10108	Buerger	Ⅲ	左下肢	4mg					判定不能 (*4)
15	10109	ASO	Ⅱb	左下肢	2mg	測定不能	対象外	対象外	→ (9%) (*7) (85m→93m)	保留
16	10110	ASO	Ⅱb	右下肢	4mg	↑ (0.40→0.64)	対象外	対象外	↑ (313%) (16m→66m)	改善
17	10111	ASO	Ⅱb	左下肢	4mg	→ (0.45→0.37)	対象外	対象外	(*8)	保留
20	10112	ASO	Ⅳ→ Ⅱb 以上	左下肢	2mg	↑ (0.44→0.59)	対象外 (4.0cm→0cm)	↑ (4.0cm→0cm)	対象外	改善
22	10113	Buerger	Ⅱb	左下肢	2mg	→ (0.49→0.55)	対象外	対象外	↑ (164%) (72m→190m)	保留
23	10117	Buerger	Ⅳ→ Ⅱb 以上	右下肢	2mg	対象外 (*5) (0.96→1.16)	対象外 (*5) (5.0cm→0m)	対象外 (*5) (3.0cm→0cm)	対象外	判定不能
24	10115	Buerger	Ⅳ	左下肢	2mg	対象外 (0.63→0.84)	対象外 (6.0cm→0.5cm)	21 ヶ月後に新しい潰瘍出現	対象外	保留
25	10114	ASO	Ⅲ→ Ⅱb 以上	左下肢	2mg					判定不能 (*6)
26	10116	ASO	Ⅱb	右下肢	4mg	測定不能	対象外	対象外	→ (-20%) (*7) (141m→113m)	保留
27	10119	ASO	Ⅳ→ Ⅱb 以上	右下肢	4mg	↑ (0.47→0.64)	対象外 (6.5 cm→0.0cm)	↑ (100%) (1.8cm→0cm)	対象外	改善
28	10118	ASO	Ⅱb	右下肢	2mg	→ (0.54→0.48)	対象外	対象外	→ (-4%) (143m→137m)	不変
29	10120	ASO	Ⅳ→ Ⅱb 以上	左下肢	4mg	↑ (18 ヶ月後) (0.40→0.53)	対象外	完全治癒	対象外	改善
32	10121	ASO	Ⅳ→ Ⅱb 以上	右下肢	2mg	↑ (18 ヶ月後) (0.49→0.63)	対象外	完全治癒	対象外	改善
34	10122	ASO	Ⅱb	左下肢	4mg	↑ (0.57→0.77)	対象外	対象外	↑ (271%) (*7) (38m→141m)	保留

(*2): 治療投与 2 回目 6 ヶ月後までにイリザロフ法施行後 (*4): 死亡症例

(*5): 治療投与 2 回目 9 ヶ月後の段階で対象肢の第 1、3 趾の amputation 施行 (*6): 治療投与 2 回目 5 ヶ月以降に再バイパス術施行

(*7): 安全性を考慮し、途中で中止 (*8): 入院期間中にオーダーが入らなかったため

3. 各症例毎の Fontaine 分類の変化と脱落理由

同意 取得 番号	患者 番号	対象疾患	Fontaine 分類 (同意取得直後)	Fontaine 分類 (治療投与 2ヶ月後)	Fontaine 分類 (治療投与 3ヶ月後)	Fontaine 分類 (治療投与 6ヶ月後)	Fontaine 分類 (治療投与 12ヶ月後)	Fontaine 分類 (治療投与 24ヶ月後)
1	10101	ASO	III	III	III	対象肢の関節拘縮に対してイリザロフ法施行 (治療投与4ヶ月後)		
2	10105	Buerger	IV	IV	IV	IV	IV	IV
3	10104	Buerger	III	III	患者未来院のため検査データなし。			
4	10102	ASO	IV	IV	IV	足趾潰瘍部位 amputation 施行 (治療投与4ヶ月後)、細胞治療 (治療投与5ヶ月後)、死亡 (治療投与8ヶ月後)		
5	10103	Buerger	IV	IV	IV	IV	IV	IIb
8	10106	ASO	IV	IV	IV	IV	IV	IV
9	10107	Buerger	IV	IV	IV	IV	IV	IV
11	10108	Buerger	III	III	III	III	死亡 (治療投与8ヶ月後)	
15	10109	ASO	IIb	IIb	IIb	IIb	IIb	IIb
16	10110	ASO	IIb	IIb	IIb	IIb	IIb	IIb
17	10111	ASO	IIb	IIb	IIb	IIb	IIb	IIb
20	10112	ASO	IV	IV	IV	IV	IIb	IIb
22	10113	Buerger	IIb	IIb	IIb	IIb	IIb	IIb
23	10117	Buerger	IV	IV	IV	IV	足趾潰瘍部位 amputation 施行 (治療投与9ヶ月後)	
24	10115	Buerger	IV	IV	IIb	IIb	IV	IV
25	10114	ASO	III	IIb	IIb	IIb	人工血管感染により再バイパス術施行。(治療投与5ヶ月後)	
26	10116	ASO	IIb	IIb	IIa	IIa	IIa	IIb
27	10119	ASO	IV	IV	IV	IIb	IIb	IIb
28	10118	ASO	IIb	IIb	IIb	IIb	IIb	IIb
29	10120	ASO	IV	IV	IV	IIb	IIb	IIb
32	10121	ASO	IV	IIb	IIb	IIb	IIb	IIb
34	10122	ASO	IIb	IIb	IIb	IIb	IIb	IIb

平成17年12月14日

大阪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 堀 正二殿

HGF 遺伝子プラスミドを用いた末梢性血管疾患
(慢性閉塞性動脈硬化症・ビュルガー病) の治療のための遺伝子治療臨床研究

安全性・有効性評価結果
最終報告書

大阪大学医学部附属病院遺伝子治療臨床研究適応・評価小委員会
委員長 川崎 富夫

川崎 富夫 

- 抜粋 -

1. はじめに
2. 小委員会の構成
3. 臨床研究の経過
4. 判定方法
 - a. 血管造影の判定方法
 - b. 安全性の判定方法
 - c. 有効性の判定方法
5. データの限界
 - a. 安全性データの限界
 - b. 有効性データの限界
6. 判定結果
 - a. 安全性の判定結果
 - b. 有効性の判定結果
7. まとめ
8. 追記

1. はじめに

遺伝子治療臨床研究適応・評価小委員会（以下、小委員会）は、「HGF 遺伝子プラスミドを用いた末梢血管疾患（慢性閉塞性動脈硬化症・ビュルガー病）の治療のための遺伝子治療臨床研究」における遺伝子治療臨床研究審査委員会（以下、親委員会）の諮問委員会であり、専門家集団として実施計画書に基づいて科学的・客観的に適応患者の選定および安全性と有効性の確認と判定を行い、その結果を親委員会に対して報告するとともに、申請者に対して適切な助言を行ってきた。小委員会は、本臨床研究の安全性ならびに有効性の最終評価判定結果を以下の通り報告する。

2. 小委員会の構成

小委員会は血管外科疾患の専門家および本臨床研究実施に伴う関連疾患の専門医から構成されている。学内は血管外科を専門とする医師1名、腎臓内科専門医師1名、糖尿病専門医師1名、心臓外科を専門とする医師1名、放射線科専門医師1名、形成外科専門医師1名の計6名であり、学外は血管外科を専門とする医師1名、血管内科を専門とする医師1名、血管外科・消化器外科を専門とする医師1名の3名、計9名であった。またこの後、学外委員として医師1名を加えて最終的に計10名で評価判定を行った（資料1）。親委員会委員の2名はオブザーバーとして小委員会に出席できるようになっており、小委員会は小委員会委員の全員一致を原則として判定を行った。

3. 臨床研究の経過

- 平成11年 4月 遺伝子治療臨床研究審査委員会（親委員会）が発足。
- 平成11年 6月 遺伝子治療臨床研究適応・評価小委員会（小委員会）設置。
- 平成11年11月 実施計画概要等の総合審査が終了。
- 平成12年 5月 文部省と厚生省から実施許可。
- 平成13年 6月 第1ステージの遺伝子プラスミド投与開始。
- 平成13年12月 第2ステージへの移行承認。
- 平成14年 3月 第2ステージの遺伝子プラスミド投与開始。
- 平成16年 9月 第2ステージ最終症例投与後2年経過。
- 平成17年11月 小委員会最終報告書作成。

4. 判定方法

a. 血管造影の判定方法

本臨床研究では血管新生ならびに血管腫発生の有無を確認することが特に重要と考えられていた。小委員会は申請者に対して、造影剤の一回使用量と注入速度、造影時のカテーテルの種類とカテーテル先端の位置等について、同一症例では血管造影施行日によらず全て統一するように指導した。また、画像処理に関しては、経時的な造影画像の比較では

digital subtraction angiography (DSA)を使用して造影のタイミングが一致した画像のみで経過判定を行うこと、画像処理において経時的に正確な比較ができるように画像強調を行わないこと、画像の重ね合わせ（あるいは重ね焼き）処理は行わないこと等を申請者に指導した。また、直径200 μ m (0.2 mm) の血管が血管造影で認識できる限界であることを確認した。その上で、小委員会では出席委員全員で画像判定を行った。

b. 安全性の判定方法

小委員会は、安全性の有無とは本臨床研究が各段階で継続可能か否かという意味であると理解しており、最終的な判断は安全か否か（つまり本遺伝子治療が続行可能か否か）の二者択一にて判定を行った。本臨床研究において発生した有害事象とプラスミド投与との因果関係については、直接的で明らかな因果関係、時間的な因果関係、発生頻度による因果関係が認められるか否かから判断した。また、検査等を含む本臨床計画全体の安全性と、プラスミドとその投与方法の安全性の両者を判定した。

c. 有効性の判定方法

本HGF遺伝子治療臨床研究の目的は、プラスミド投与によって望ましい効果が得られるかどうかの「瀬踏み」を行うことにあると考えられた。本臨床研究はコントロールをしておらず、また様々なバイアスが存在することから、厳密な意味での「有効性」を判定することはできなかった。親委員会の助言を参考に小委員会は、一定の基準に基づいた「改善度」を評価判定した。判定基準は以下の通りである。「改善度」を「改善」「保留」「不変」「悪化」「判定不能」の5段階に分けた。Fontaine IIb群、Fontaine III群、Fontaine IV群では、それぞれトレッドミル運動負荷検査、VAS (Visual Analog Scale)、および最大潰瘍の直径を必須項目とした。トレッドミル運動負荷検査の最大歩行距離は25%以上延長した場合を「最大歩行距離の改善」、安静時疼痛におけるVASは10 cmスケールにおいて2 cm以上減少した場合を「VASの改善」、潰瘍は最大潰瘍の直径が25%以上減少した場合を「潰瘍の改善」と判断した。また、ABIは0.10以上上昇した場合を「ABIの改善」と判断した。次に、Fontaine IIb群、Fontaine III群、Fontaine IV群において、各群における必須項目とABIを組み合わせる評価判定を行った。具体的には、必須項目とABIの両方とも改善を認める場合を「改善」、必須項目のみが改善しABIが不変またはデータ欠測の場合を「保留」、必須項目のみが不変でABIのデータ欠測の場合あるいは両方とも不変の場合を「不変」、どちらか一方が悪化した場合を「悪化」、中止等により患者が来院せず検査そのものが不可能であるか検査が終了できなかった場合を「判定不能」とした。Rutherfordの虚血肢取扱い基準に示されている臨床状態の変化についての段階表では「慢性虚血肢の臨床分類」の少なくともI群改善あるいはABIが0.10以上上昇した場合は改善と判断されている。しかし、ここではより正確を期す目的で、臨床状態の変化についての段階表では「慢性虚血肢の臨床分類」の少なくともI群改善の場合

は「改善」、その他は必須項目とABIの両方で改善が認められた場合に「改善」と判断した。

5. データの限界

a. 安全性データ

本臨床研究の観察期間は2年間であった。一般的な診察および検査項目の実施日は、プラスミド2回目投与後1ヶ月までは毎週、その後投与後3ヶ月までは隔週、その後投与後6ヶ月までは毎月、その後投与後24ヶ月までは3ヶ月毎であった。プラスミド投与後の初期は患者が入院期間中であり経過を追ってデータを得ることが可能であった。その後外来通院となった後は詳細なデータを得ることは困難であった。そのため、外来通院期間においては、「重篤な有害事象」をとらえることは可能であったが、その重篤な有害事象が発生するまでの間の「有害事象」ならびに詳細なデータの多くは捉えきれていなかったと考えられる。そのため、プラスミド2回目投与後6ヶ月以降の安全性の評価は「重篤な有害事象」と定期的諸検査の結果が中心となった。小委員会は、これらの限界は経過観察が2年にわたる長期間であることに由来するものと判断した。

b. 有効性データの限界

本HGF遺伝子治療臨床研究は症例数が少なく、コントロールを置いた二重盲検法ではないので、厳密な意味で有効性を正確に判断することは困難であった。小委員会では以下に述べる様々なバイアスを否定できないことを認識している。つまり、1ヶ月間の観察期間を置いていることから限られた患者群が対象となっていること、そのため一般的な自然経過と単純に比較することができないこと、プラスミド投与群が明らかであるため申請者および患者あるいは申請者と患者相互間のバイアスを否定できないこと等がその理由である。このため、評価においては本遺伝子治療の有効性を判断するのではなく、本遺伝子治療による改善度を評価判定した。

また、Fontaine IV群において、潰瘍の治療にプロスタンディン軟膏およびフィブラストスプレーが使用されていた。この潰瘍処置が、潰瘍の治癒に影響した可能性について親委員会から諮問があったが、小委員会はその影響を無視しえると判断し報告した（資料2）。

6. 判定結果

a. 安全性の判定結果

対象となった22例の有害事象は1228件発生しており、因果関係が否定できなかったものは221件であった。プラスミド投与による急性アレルギー反応は認められず、投与部位の局所反応も許容範囲内であると判断した。また、HGFプラスミド注入によって血管腫の発生が懸念されたが、臨床研究期間を通じて注入部位の造影血管に血管腫を認めなかった。

研究期間中に皮下脂肪腫と膵管内乳頭粘液腫が各1例認められた。脂肪腫は両下肢に計6mgのプラスミドが投与された症例（同意番号15と26）であり、最終投与後24ヶ月に確認されたが、その後の再検査では確認されていない。直径が13mmと小さいため、CTスライス幅の中に入って描出できなかったことが原因と考えられた。小委員会としては、現時点でこの脂肪腫を一般の良性腫瘍と考えて矛盾はないと判断した。膵管内乳頭粘液腫は片足肢に2mgのプラスミドが投与された症例（同意番号20）の最終投与後24ヶ月に確認された。見直したところ同意取得前の画像にも存在していたが、その時点では指摘されていなかった。経過中に軽度の拡大傾向を認めたが、侵襲的な検査の適応は無く現時点では悪性の所見は認められなかった。小委員会として、膵管内乳頭粘液腫はHGFプラスミドの投与前から存在していたことから、HGFプラスミドが膵管内乳頭粘液腫の発生を引き起こしたものではないと判断した。薬物動態に関して、血中プラスミドは投与後2週間以内に消失しており、血中HGF濃度の上昇も認められないことから、投与されたプラスミドが遠隔臓器に影響を及ぼした可能性は低いと判断した。

このHGF遺伝子治療臨床研究では、研究期間中に17件の「重篤な有害事象」があった。（表1）。両下肢とも遺伝子治療の対象となった症例があるため、3症例において「重篤な有害事象」が重複して積算されている。Fontaine IV群では9件が4症例6肢に、Fontaine III群では6件が2症例2肢に、Fontaine IIb群では2件が1症例2肢に認められた。一方、本遺伝子治療の対象は総数で17名22肢であり、Fontaine IV群11肢、Fontaine III群4肢、Fontaine IIb群7肢であった。両下肢がHGF遺伝子治療の対象となったのは、Fontaine IV群2症例、Fontaine III群0症例、Fontaine IIb群2症例、Fontaine IVとFontaine IIb群1症例であった。死亡例は同意番号4と同意番号11の重症下肢虚血患者2例で、ともに片足肢のみにHGF遺伝子投与が行われ最終投与後8ヶ月での死亡であった。死亡した中の一例はプラスミド投与による改善が見られず悪化した症例で高カリウム血症にて死亡した。もう一例は遠隔地の病院に入院後の死亡であったため詳細なデータが得られなかった。小委員会は、2例とも死亡とプラスミド投与との間に因果関係は認められないと判断した（資料3）。

間歇性跛行を主訴とするFontaine IIb群では特記すべき重篤な有害事象は無いが、重症虚血肢であるFontaine IV群とFontaine III群を有する患者においては、重篤な有害事象が高頻度にそして同一症例で重複して生じていた（表1、表2）。重症虚血肢を有する患者は全身状態が悪いことが多く生命予後も悪いことが知られている。これらの重篤な有害事象は重症虚血肢を有する患者の健康的特徴を表現していると理解された。小委員会は、表1および表2のデータに関して、発生した重篤な有害事象とHGFプラスミド投与と間に明らかな因果関係は認められないと判断した。また、HGFプラスミド投与が遠隔臓器に作用した可能性、あるいは対側肢に影響を与えたと考えられる有害事象は認められなかった。同意番号3（Fontaine III群）は、HGFプラスミド最終投与後3ヶ月までの安全性データはあるが、その後患者が来院と検査を拒否したため、最終投与後24ヶ月までの検

査データはない。しかし、24ヶ月までの生存とその間に足趾切断等の重篤な有害事象が無かったことは申請者が確認しており、小委員会は情報が得られた範囲内で安全と判断した。

ただし、以下の4例6肢においてHGF遺伝子治療が「炎症あるいはアレルギーを惹起する可能性」を完全には否定できなかったため、付帯事項として指摘した（表2）。その後研究期間終了までの間に同様の症状は認められなかった。付帯事項とプラスミド投与量の関係は、同意番号4（2mg）、同意番号11（4mg）、同意番号27・34（両側下肢へのプラスミド投与でそれぞれ各4mg計8mg）、同意番号29・32（両側下肢へのプラスミド投与でそれぞれ2mgと4mg計6mg）であった。これらの症例は全て重症虚血肢を有する症例であり、重篤な有害事象はこの群における患者の健康的特徴を表現していると理解された。症例数が少なく、個々の症例の病態も一様でないので、「重篤な有害事象」の発生におけるプラスミド投与量の用量依存性は確認できなかった。小委員会は、「炎症あるいはアレルギーを惹起する可能性」について今後のHGF遺伝子治療臨床研究において引き続き安全性が確認される必要があると判断した。

糖尿病網膜症について： 同意番号4, 8, 15（26, 同一患者）、16, 17（28, 同一患者）、29（32, 同一患者）において、HGF遺伝子投与に基づく糖尿病網膜症の悪化の可能性が考えられ、プロトコール上、増殖網膜症症例においては網膜症安定後に投与が行われた。24ヶ月までの観察期間中に悪化した症例は認められなかった。したがって、HGF投与が安定した増殖網膜症を悪化させる可能性は、本臨床研究の範囲内では否定的であると判断した。

トレッドミル運動負荷検査時の心電図検査について： 観察期間中の検査において心電図変化が認められた症例は無かった。トレッドミル運動負荷検査において最後まで運動負荷が出来ず検査を途中で中止した症例とその理由は以下の通りである。HGF遺伝子最終投与後2ヶ月、同意番号28（対側肢の疼痛出現のため）、最終投与3ヶ月、同意番号34（胸痛のため、心電図変化はなし）、最終投与24ヶ月、同意番号15（ふらつき）、同意番号26（ふらつき）、同意番号34（息切れ）であった。申請者はいずれの症例も心電図上の変化は無かったことを報告している。小委員会は、本臨床研究の範囲内でHGF遺伝子治療による冠動脈病変の進行の可能性は低いと判断した。

治療開始前から存在するBOOP（bronchiolitis obliterans organizing pneumonia）およびサルコイドーシスについて： 同意番号2（9, 同一症例）における肺野BOOP所見は遺伝子治療前後において変化は認められなかった。また、同意番号22は同意取得前にサルコイドーシスが指摘されていたが、同意取得前から臨床試験終了後の経過において変化は認められなかった。BOOPおよびサルコイドーシスがHGF遺伝子治療の影響を受ける可能性について、小委員会は本臨床研究の範囲内で可能性は低いと判断した。

本臨床研究と関係する重篤有害事象等について： 第1ステージにおいて血管造影時に脳梗塞症が1例に発生したが、第1ステージにおいて血管造影にて血管腫あるいは新生血

管を確認しえた症例は1例も無かった。そのため第2ステージでは血管造影の実施回数が5回から4回に変更された。第2ステージでは、安全性および有効性の判断において、血管造影上の変化は観察されなかった。血管造影は侵襲的検査であるため、安全性と有効性を確認する検査自体が合併症を引き起こす可能性を含んでいるが、本HGF臨床研究開始前にVEGF遺伝子治療の効果が血管造影で確認できたとの論文報告が存在すること、また血管腫発生の可能性が指摘されているため、血管造影を省略することは困難であった。小委員会は、血管造影時の脳梗塞症をプラスミド投与によるものではないが、本臨床研究自体と直接関係する重篤な有害事象と判断した。

以上より、小委員会は、遺伝子治療臨床研究を中止すべき明らかな事象がないとの判断から、本HGF遺伝子治療におけるプラスミド投与は安全と考えた。ただし、HGFプラスミド投与が「炎症あるいはアレルギーを惹起する可能性」については完全には否定できないので、今後の臨床研究においてこの点は特に慎重に検討される必要があると判断した。

b. 有効性の判定結果

先行するVEGF遺伝子治療において血管造影により血管新生が確認されたとの報告があった。また、その後も血管造影により血管新生が確認されたとの報告が続いていた。そのため、本臨床研究においても当初は血管造影の結果に高い期待があった。しかし、小委員会にて検討した結果、血管新生の証拠となる画像所見は認められないという結論に達した。血管造影所見において遺伝子投与後の3例に「末梢血管抵抗の低下を認める（同意番号2）」、「新生血管とは考えられないが比較的太い血管の描出を認める（同意番号5）」、「血管増生と微細血管描出能の向上を認める（同意番号24）」という結果が得られたが（資料4）、その後はさらなる明らかな変化を認めなかった。これら3例は全てビュルガー病であり、その本態は特発性閉塞性血栓性血管炎であるため血栓が溶解した時に再疎通が起こることが知られている。頻回の血管造影により動脈内の血栓が溶解した結果が捉えられた、あるいは血栓溶解による血行改善が観察された可能性が高い。閉塞性動脈硬化症患者の血管造影では同様の所見は1例も得られなかったのもこの結論と矛盾するものではない。従って小委員会は、これら3例の血管造影所見はビュルガー病の自然経過を観察しているに過ぎないと理解できるので「血管新生を示す画像所見ではない」と判断した。

Fontaine IIb群（7肢）は閉塞性動脈硬化症6肢とビュルガー病1肢であった。24ヶ月の研究期間に増悪して重症虚血肢（Fontaine III群またはIV群）になった症例、大または小切断に至った症例、および中止例は無かった（表3）（資料5）。小委員会は、Fontaine IIb群はプラスミド投与後3ヶ月まで有効性の判定が可能であるが、それ以降は判定不能と判断した。

高度跛行（Fontaine IIb群）7例の改善度を小委員会でまとめた結果を表3および資料5に示す。

(1) プラスミド投与後2ヶ月において2例が「改善」であった。2例とも投与後3ヶ月においても「改善」であった。

(2) プラスミド投与後2ヶ月において4例が「保留」であった。2例は投与後3ヶ月で「改善」、2例は投与後3ヶ月で「保留」のままであった。

(3) プラスミド投与後2ヶ月において1例が「不変」であった。この症例は、投与後3ヶ月で「保留」となった。

(4) プラスミド投与後24ヶ月まで、悪化症例は認められなかった。

Fontaine IIb 群では、1ヶ月間の観察期間をおいていること、歩行可能な患者が対象であり本人の意欲に依存する歩行運動が影響した可能性があること、本臨床研究はコントロールがない等、バイアスが存在する可能性があった。また、改善例が多いことと悪化症例が無かったことについて、適切な治療計画下に置かれた Fontaine IIb 群では必ずしも珍しい結果では無いと考えられた。

小委員会は、本遺伝子治療臨床研究の Fontaine IIb 群の対象肢において3ヶ月までに改善傾向が認められることを確認した。しかし、様々なバイアスを考慮すると、本遺伝子治療臨床研究のプラスミド投与が3ヶ月までの改善傾向をもたらしたとの直接的な因果関係は乏しいと判断した。つまり、小委員会は、本遺伝子治療臨床研究の Fontaine IIb 群において臨床的および検査上の改善を認めるが、厳密な意味においてその改善が遺伝子プラスミドによる効果であったと言える根拠がないと判断した。また、6ヶ月以降については有効性（および改善度）の判定を行える検査結果がそろっておらず、判定不能と判断した。

Fontaine III 群（4肢）は閉塞性動脈硬化症2肢およびビュルガー病2肢であり、24ヶ月間に増悪して Fontaine IV 群になった症例、あるいは大切断に至った症例は無かった。最終投与後8ヶ月で死亡した症例（同意番号11）が1例あった。

Fontaine IV 群（11肢）は、閉塞性動脈硬化症6肢およびビュルガー病5肢であり、観察期間に悪化した症例（同意番号4）が1例あった。この症例は最終投与後8ヶ月で死亡した。その他、Fontaine IV 群において不変のまま潰瘍疼痛のため足趾の小切断となった症例が1例あった。

重症虚血肢（Fontaine III 群および Fontaine IV 群、15肢）における判定不能は計6例であり、対象肢の関節拘縮に対してイリザロフ手術施行（同意番号1、Fontaine III 群、最終投与後4ヶ月後）、足趾潰瘍部位の小切断（同意番号23、Fontaine IV 群、最終投与後9ヶ月後）、以前にバイパスされた人工血管の感染に対して再バイパス術施行（同意番号25、Fontaine III 群、最終投与後5ヶ月後）、及び中止3例であった。中止3例は、死亡2例（同意番号11、Fontaine III 群、最終投与後8ヶ月にて死亡）（同意番号4、Fontaine IV 群、最終投与後8ヶ月にて死亡）、および患者の来院と検査の拒否（同意番号3、Fontaine III 群、最終投与後3ヶ月以降）であった。

重症虚血肢全体（Fontaine III 群および Fontaine IV 群）15例の改善度を小委員会がまとめた結果を表4および資料5に示す。

(1) プラスミド投与後2ヶ月において6例が「改善」であった。そのうち5例は投与後24ヶ月において「改善」であった。他の1例は投与後12ヶ月で判定不能(投与後5ヶ月で判定不能となったが6ヶ月のデータとして使用可能であることを小委員会が承認したため)となった。

(2) プラスミド投与後3ヶ月において9例が「改善」であった。そのうち7例は投与後24ヶ月において「改善」であった。他の1例は投与後12ヶ月で判定不能、1例は投与後12ヶ月で「保留」となった。

(3) プラスミド投与後2ヶ月において6例が「保留」であった。そのうち3例は投与後3ヶ月において「改善」、この3例のうち2例は投与後24ヶ月において「改善」、1例は投与後12ヶ月で「保留」となり投与後24ヶ月でも「保留」のままであった。また、投与後2ヶ月が「保留」で投与後3ヶ月において「改善」が認められなかった症例は3例で、1例は投与24ヶ月まで「保留」のままで経過し、1例は投与後3ヶ月以降「判定不能」、他の1例は3ヶ月で「不変」となり投与後6ヶ月で「判定不能」となった。

(4) プラスミド投与後2ヶ月において3例が「不変」であった。この3例は、1例は悪化、他の2例は「不変」のまま投与後8ヶ月で死亡した。

(5) プラスミド投与後3ヶ月では、Buerger病における「改善」3例、「保留」1例、「不変」2例、「悪化」0例、「判定不能」1例であった。また閉塞性動脈硬化症では「改善」6例、「保留」0例、「不変」1例、「悪化」1、「判定不能」0例であった。

(6) プラスミド投与後3ヶ月では、プラスミド2mg投与群における「改善」7例、「保留」0例、「不変」2例、「悪化」1例、「判定不能」1例であった。またプラスミド4mg投与群における「改善」2例、「保留」1例、「不変」1例、「悪化」0、「判定不能」0例であった。

小委員会は、Fontaine III 群およびFontaine IV 群において、治療投与後3ヶ月までに15例中9例の改善が認められたこと、および24ヶ月ではその中の7例に改善が認められたことから、「本臨床研究の重症虚血肢を有する症例において、明らかな「改善」傾向が認められた」と判断した。小委員会は、「治療投与後2ヶ月で「不変」であった症例はその予後は極めて不良であった」ことを確認した。また小委員会は、「治療投与後2ヶ月で確実な改善傾向が認められない「保留」の症例は、半数が3ヶ月までに「改善」し、他の半数は改善しなかった」ことを確認した。なお、症例数が少なく、有効性におけるHGFプラスミドの用量依存性は確認出来なかった。

小委員会は、本遺伝子治療臨床研究の対象となったFontaine III 群およびFontaine IV 群において、明らかな改善傾向があったことを認める。同時に、1ヶ月間の観察期間が設けられていたこと、無作為割付け二重盲検法を使用していないことなど、様々なバイアスが存在することも明らかであることから、本臨床研究にて認められた改善傾向がプラスミドの投与の結果であるとの結論に達するには、その科学的根拠がまだ十分とは言えないと判断した。

これらの結果について小委員会委員の意見を併記する。『一般に経験する重症虚血肢の自然経過より良好である』との意見、『この結果であれば本疾患の患者に対して是非使用したい』との意見、『現在までの副作用と比較して効果に期待してもよい』との意見が出された。同時に、『重症虚血肢の症状が比較的安定した症例を選択したことによるバイアスが存在するので自然経過と単純に比較できない』との意見、『無作為割付け二重盲検法による試験ではないので安全性を中心に検討し有効性については瀬踏みを行う程度であるので改善度の厳密な評価はできない』との意見も出された。

7. まとめ

安全性について、局所反応やアレルギー反応などの急性反応、腫瘍原性、遠隔臓器への影響、およびHGFプラスミド投与と直接関係する重篤有害事象は認められなかった。小委員会は、HGFプラスミド投与は本プロトコール下では安全と判断した。ただし、「炎症あるいはアレルギーを惹起する可能性」については、今後注意して臨床研究を進める必要があると判断した。

Fontaine IIb 群（高度跛行）における有効性については、本臨床研究では3ヶ月までに改善傾向を認めた。しかし、無視し得ない様々なバイアスが存在している可能性が高いこと、6ヶ月以降の有効性の判断ができないこと、および一般的な治療患者群と比較してもその差が明らかとは言えないことから、小委員会は「遺伝子治療臨床研究の Fontaine IIb 群における臨床上および検査上の改善傾向は認められるが、HGFプラスミド投与と因果関係があるとの明確な結論は得られない」と判断した。

Fontaine III 群（安静時疼痛）および Fontaine IV 群（足趾潰瘍または壊死）において、明らかな「改善」傾向を認めた。本臨床研究にはコントロールが無く様々なバイアスが存在することから、HGFプラスミド投与がこの「改善」をもたらしたとの結論に達するには、その科学的根拠が十分でないと判断した。つまり、小委員会は、「本遺伝子治療臨床研究の Fontaine III 群および Fontaine IV 群における臨床上および検査上の改善傾向が認められ、HGFプラスミド投与が有効であるとの印象が得られた。ただし、科学的根拠が不十分であるので phase III 試験でこの点を明らかにする必要がある」と判断した。

8. 追記

申請者最終報告書の40ページから75ページまでに申請者による2次解析結果が記載されている（追加資料1）。小委員会はこれまでの小委員会判定結果と比較検討し、誤解を招く可能性が高い表およびグラフ指摘した（追加資料2）。小委員会は、申請者最終報告書の2次解析結果を直接の判定根拠としては使用せず、参考としてのみ扱った。その後、申請者から訂正文書が提出された（追加資料3）。

資料

1. 小委員会委員名 → 添付省略
2. 親委員会からの質問「主要評価項目判定の妥当性」についての小委員会報告書 → 添付省略
3. 治療投与後 3 ヶ月までの安全性報告 → 添付省略
4. 変化のみられた血管造影画像 → 添付省略
5. 小委員会判定結果一覧表
6. 第 11 番目同意取得患者の有害事象に対する小委員会判断（補足） → 添付省略
7. 申請者最終報告書【平成 17 年 11 月 7 日開催：遺伝子治療臨床研究適応・評価小委員会資料「治験成績のまとめ－（最終投与 24 ヶ月後までの成績）－】に対する小委員会検討結果の報告 → 添付省略

表1 重篤な有害事象

Fontaine IV 群	有害事象数=9	症例数=4	対象肢数=6
死亡、脳梗塞、血糖値上昇、感染症、足趾切断、肺炎(同一症例対側肢の治療にて事象が重複)、心不全(同一症例異肢の治療にて事象が重複)			
Fontaine III 群	有害事象数=6	症例数=2	対象肢数=2
熱発、熱発、下血、死亡、人工血管感染、左大腿骨頸部骨折			
Fontaine IIb 群	有害事象数=2	症例数=1	対象肢数=2
白内障手術(同一症例異肢の治療にて事象が重複)			

表2 安全性評価結果（投与24ヶ月まで）

同意番号	判定結果	重篤な有害事象、その他	24ヶ月での生死
同意番号1	安全	—	生存
同意番号2・9	安全	—	生存
同意番号3	判定不能	検査と通院を拒否	生存（確認27月）
同意番号4	判定不能（付帯事項）	趾切断術、単核球細胞移植	死亡（投与8月）
同意番号5	安全	—	生存
同意番号8	安全	脳梗塞、血糖値上昇、感染症	生存
同意番号11	安全（付帯事項）	熱発、熱発、下血	死亡（投与8月）
同意番号15・26	安全	白内障手術	生存
同意番号16	安全	—	生存
同意番号17・28	安全	—	生存
同意番号20	安全	—	生存
同意番号22	安全	—	生存
同意番号23	安全	足趾切断	生存
同意番号24	安全	—	生存
同意番号25	安全	人工血管感染、左大腿骨骨折	生存
同意番号27・34	安全（付帯事項）	—	生存
同意番号29・32	安全（付帯事項）	肺炎、心不全	生存

同意番号4付帯事項 : 炎症を惹起する可能性に留意。

同意番号11付帯事項 : 炎症を惹起する可能性に留意。

同意番号27・34付帯事項 : アレルギーおよび炎症を惹起する可能性に留意。

同意番号29・32付帯事項 : 炎症を惹起する可能性に留意。

同意番号2・9、同意番号15・26、同意番号17・28、同意番号27・34、同意番号29・32は両側下肢に対してHGF 遺伝子プラスミドを投与された症例である。

表3 Fontaine IIb 群の改善度

改善度\期間	2ヶ月	3ヶ月	6ヶ月*	12ヶ月	24ヶ月
改善	2	4	—	—	1
保留	4	3	—	—	1
不変	1	0	—	—	1
悪化	0	0	—	—	0
判定不能(欠測)	0	0	7(7)	7(7)	4(4)

* 欠測：トレッドミル運動負荷試験施行なし。

表4 Fontaine III, IV群の改善度

	2ヶ月	3ヶ月	6ヶ月	12ヶ月	24ヶ月
改善	6	9	9	6	7
保留	6	1	1	3	2
不変	3	3	2	0	0
悪化	0	1	0	0	0
判定不能(中止)	0	1(1)	3(1)	6(3)	6(3)

各症例毎の Fontaine 分類と判定結果一覧

同意 取得 番号	患者 番号	対象疾患	Fontaine 分類 (同意取得直後)	治療投与 2ヶ月後	治療投与 3ヵ月後	治療投与 6ヶ月後	治療投与 12ヵ月後	治療投与 24ヵ月後
15	10109	ASO	IIb	● 保留	● 保留	判定不能 (欠測)	判定不能 (欠測)	判定不能 (欠測)
16	10110	ASO	IIb	● 改善	● 改善	判定不能 (欠測)	判定不能 (欠測)	● 改善
17	10111	ASO	IIb	● 保留	● 改善	判定不能 (欠測)	判定不能 (欠測)	判定不能 (欠測)
22	10113	Buerger	IIb	● 保留	● 改善	判定不能 (欠測)	判定不能 (欠測)	● 保留
26	10116	ASO	IIb	● 保留	● 保留	判定不能 (欠測)	判定不能 (欠測)	判定不能 (欠測)
28	10118	ASO	IIb	● 不変	● 保留	判定不能 (欠測)	判定不能 (欠測)	● 不変
34	10122	ASO	IIb	● 改善	● 改善	判定不能 (欠測)	判定不能 (欠測)	判定不能 (欠測)
1	10101	ASO	III	● 保留	● 不変	対象肢の関節拘縮に対してイリザロフ法施行 (治療投与4ヵ月後)		
3	10104	Buerger	III	● 保留	患者未来院のため検査データなし。			
11	10108	Buerger	III	● 不変	● 不変	● 不変	死亡 (治療投与8ヵ月後)	
25	10114	ASO	III	● 改善	● 改善	● 改善	人工血管感染により再バイパス術施行。(治療投与5ヵ月後)	
2	10105	Buerger	IV	● 改善	● 改善	● 改善	● 改善	● 改善
4	10102	ASO	IV	● 不変	● 悪化	足趾潰瘍部位 amputation 施行 (治療投与4ヵ月後)、細胞治療 (治療投与5ヵ月後)、死亡 (治療投与8ヵ月後)		
5	10103	Buerger	IV	● 改善	● 改善	● 改善	● 改善	● 改善
8	10106	ASO	IV	● 改善	● 改善	● 改善	● 保留	● 改善
9	10107	Buerger	IV	● 保留	● 保留	● 保留	● 保留	● 保留
20	10112	ASO	IV	● 保留	● 改善	● 改善	● 改善	● 改善
23	10117	Buerger	IV	● 不変	● 不変	● 不変	足趾潰瘍部位 amputation 施行 (治療投与9ヵ月後)	
24	10115	Buerger	IV	● 保留	● 改善	● 改善	● 保留	● 保留
27	10119	ASO	IV	● 改善	● 改善	● 改善	● 改善	● 改善
29	10120	ASO	IV	● 保留	● 改善	● 改善	● 改善	● 改善
32	10121	ASO	IV	● 改善	● 改善	● 改善	● 改善	● 改善

● 改善、● 保留、● 不変、● 悪化、○判定不能 (欠測)