

第 1 2 回科学技術部会	資 料
平成 1 5 年 1 月 2 9 日	1 - 1

神 戸 大 学 医 学 部 附 属 病 院 の 遺 伝 子 治 療 臨 床 研 究 実 施 計 画 に つ い て

神戸大学医学部附属病院遺伝子治療臨床研究実施計画書

目 次

	(頁)
1. 遺伝子治療臨床研究実施計画申請書及び概要書 (当初：平成14年2月15日)	1
2. 遺伝子治療臨床研究実施計画概要書 (最終：平成14年12月16日)	12
3. 遺伝子治療臨床研究実施計画書	22
4. 遺伝子治療臨床研究のための説明と同意書	90
5. 施設内審査委員会関係資料 (審査経過、結果、規定、委員名簿)	108
参考：遺伝子治療臨床研究に関する指針	124

神戸大学医学部附属病院遺伝子治療臨床研究実施計画書

目 次

(頁)

1. 遺伝子治療臨床研究実施計画申請書及び概要書	
(当初：平成14年2月15日)	
2. 遺伝子治療臨床研究実施計画概要書	
(最終：平成14年12月16日)	
3. 遺伝子治療臨床研究実施計画書	
4. 遺伝子治療臨床研究のための説明と同意書	
5. 施設内審査委員会関係資料	
(審査経過、結果、規定、委員名簿)	
参考：遺伝子治療臨床研究に関する指針	

別紙様式第 1

遺 伝 子 治 療 臨 床 研 究 実 施 計 画 申 請 書

平成 1 4 年 2 月 1 5 日

厚 生 労 働 大 臣 殿

実 施 設	所 在 地	神戸市中央区楠町 7 丁目 5 - 2 (郵便番号 650-0017)	
	名 称	神戸大学医学部附属病院	(電話番号 078-382-5111) (FAX 番号 078-382-5111)
	代 表 者 役職名・氏名	神戸大学医学部附属病院長 中 村 章	

下記の遺伝子治療臨床研究について、別紙様式第 2 の実施計画に対する意見を求めます。

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
前立腺癌転移巣及び局所再発巣に対する臓器特異性オステオカルシンプロモーターを組み込んだアデノウイルスベクター (Ad-OC-TK) 及びバラシクロビルを用いた遺伝子治療臨床研究	神戸大学医学部附属 医学研究国際交流センター 助教授・後 藤 章 暢

遺 伝 子 治 療 臨 床 研 究 実 施 計 画 概 要 書

平成14年 2月15日

研 究 の 名 称	前立腺癌転移巣及び局所再発巣に対する臓器特異性オステオカルシンプロモーターを組み込んだアデノウイルスベクター (Ad-OC-TK) 及びパラシクロビルを用いた遺伝子治療臨床研究
研 究 実 施 期 間	了承の日より3年間

総括責任者	所属部局の所在地	神戸市中央区楠町 7-5-1 (郵便番号 650-0017)	
	所属機関・部局・職	神戸大学・医学部附属医学研究国際交流センター・助教授	
	氏 名	後 藤 章 暢 	
実施の場所	所 在 地	神戸市中央区楠町 7-5-2 (郵便番号 650-0017)	
	名 称	神戸大学医学部附属病院	
	連 絡 先	神戸大学医学部総務課企画調査掛 (電話番号 078-382-5020)	
総括責任者以外の研究者	氏 名	所属機関・部局・職	役 割
	守 殿 貞 夫	神戸大学・大学院医学系研究科・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
	白 川 利 朗	神戸大学・大学院医学系研究科・助手	患者の選定, 患者への説明及び同意の取得, ベクターの調整, ベクターの投与, 臨床観察, 臨床効果判定, 基礎効果判定
	荒 川 創 一	神戸大学・大学院医学系研究科・助教授	泌尿器科的診療
	岡 田 弘	神戸大学・医学部附属病院・講師	泌尿器科的診療
	藤 澤 正 人	神戸大学・医学部附属病院・助手	泌尿器科的診療
	原 勲	神戸大学・大学院医学系研究科・助手	泌尿器科的診療

日向 信之	神戸大学・大学院医学系研究科・大学院生	臨床観察，臨床効果判定，基礎効果判定
和田 義孝	神戸大学・大学院医学系研究科・講師（非常勤）	基礎効果判定
松尾 雅文	神戸大学・医学部附属医学研究国際交流センター・教授	遺伝子治療臨床研究における全般的指導
杉村 和朗	神戸大学・大学院医学系研究科・教授	ベクターの投与，臨床観察，臨床効果判定
佐々木 良平	神戸大学・医学部附属病院・医員	ベクターの投与，臨床観察，臨床効果判定
前田 盛	神戸大学・大学院医学系研究科・教授	臨床効果判定，基礎効果判定
Leland W.K. Chung	エモリー大学・泌尿器科学教室・教授	遺伝子治療臨床研究における全般的指導

審査委員会が 研究計画の実施を 適当と認める理由	別紙のとおり	
	審査委員会の長の職名	氏 名
	神戸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	横野 浩 

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	癌に対する遺伝子治療において、対象とする遺伝子を癌細胞に特異的に効率良く発現させるために、近年、癌細胞特異的に活性化される臓器特異性プロモーターを用いた癌遺伝子治療法の基礎研究、及び臨床試験が盛んにおこなわれている。特に臓器特異性プロモーターと自殺遺伝子を組み合わせた治療法が注目を集めている。 自殺遺伝子とは、細胞毒性のないプロドラッグを細胞毒性を有する物質に変換する酵素をコードする遺伝子であり、この遺伝子を導入された細胞はプロドラッグの投与によって殺傷される。癌細胞に特異的なプロモーターと自殺遺伝子を組み合わせた場合、自殺遺伝子は癌細胞特異的に発現し、正常細胞に自殺遺伝子が導入されても発現せず、プロドラッグを投与しても正常細胞は殺傷されない。このように臓器特異性プロモーターを用いることによって癌遺伝子治療の安全性を高め、副作用を軽減させることができると考えられる。 本研究は、内分泌療法抵抗性前立腺癌の骨転移、リンパ節転移及び、局所再発例に対し、自殺遺伝子として、単純ヘルペスウイルスのチミジンキナーゼ (Herpes Simplex Virus-Thymidine Kinase, (以下: HSV-TK) 遺伝子を、臓器特異性オステオカルシン (Osteocalcin, 以下: OC) プロモーターにより制御発現させるアデノウイルスベクター (以下: Ad-OC-TK) を単独で癌転移巣又は局所再発巣に局所内投与し、その後バラシクロビルを経口投与するという局所療法を施行した場合の安全性の検討 (最大耐量の推定) 及び、治療効果の観察 (評価可能症例) を目的とする第1相試験である。 OC プロモーターは、造骨中の骨内に見られる骨芽細胞で機能する臓器特異的なプロモーターで、OC 遺伝子の転写を誘導し OC タンパク質の発現をもたらす。組織内における OC タンパク質の発現は一般的に骨形成、骨芽細胞の活性化、石灰化、癌細胞の発育に伴う組織の微少石灰化と関係する。これまでの我々の研究において、OC プロモーターは、前立腺癌や骨肉腫の種々の細胞株において特異的にプロモーター活性が高いことが確認されている。また、臨床検体においては、前立腺癌の原発巣及び転移巣 (リンパ節と骨) での組織化学的免疫染色で OC の発現が確認されており、OC プロモーターのヒト前立腺癌の転移巣における特異的なプロモーター活性が予想される。 内分泌療法抵抗性前立腺癌症例で、画像診断学的 (CT, MRI) に転移又は局所再発巣を確認できる症例に対し、まず Ad-OC-TK を単独で CT 又は超音波ガイド下に腫瘍内に直接投与し、その後バラシクロビルを経口投与する。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、組織採取が可能な症例においては、画像診断学的な腫瘍退縮や血清中の前立腺特異抗原 (PSA) 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、OC プロモーター 制御下の mRNA レベル及びたんぱく質レベルでの 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。 本臨床研究は米国ヴァージニア大学で実施された遺伝子治療臨床研究のプロトコルとその結果を参考に、同医科大学の Leland W. K.	

	Chung 博士（現、エモリー大学教授）ら研究協力者と神戸大学の研究者間で実施される共同研究であり、製造承認を目的とした治験ではない。本臨床研究に用いられる Ad-OC-TK ベクターは米国 Molecular Medicine 社で製造され、直接、神戸大学に供給される。
対象疾患及びその選定理由	対象疾患は、根治的前立腺全摘出術後の前立腺癌再発例又は、外科的切除不能な進行性前立腺癌症例（臨床病期 C, D）で、内分泌療法（放射線療法、抗癌化学療法の併用を含む）を施行された経験があり、腫瘍マーカーである PSA を用いた生化学診断上、内分泌療法抵抗性前立腺癌と診断され、かつ画像診断学的に評価可能な病巣を有する患者を対象とする。その選定理由を以下に述べる。 前立腺癌は、米国では年間約 33 万 5 千人の罹患数があり、男性癌としては最も多く、死亡数でも年間約 4 万 2 千人と肺癌の次ぎに多い癌である。日本においても、1977 年以後、泌尿器科領域の癌としては最も死亡数の多い癌となり、1980 年の年間 2 千人から 1990 年の 3 千 4 百人と増加しており、罹患数についても、年間約 4 千人から約 9 千人と増加している。日本における前立腺癌の年齢別死亡率と人口の年齢別構成比率から推定すると、2010 年には前立腺癌の死亡数が 1 万人を超える可能性が高いと考えられる。 前立腺に局限した癌の場合は根治的前立腺全摘出術が選択されるが、手術を受けた患者の 20-30%の患者はその手術時に前立腺被膜外への癌浸潤を有しているといわれており、相当数の前立腺癌患者が術後局所再発の危険性を有していると考えられる。さらに、前立腺癌全摘出術後や放射線療法後の転移による再発も数多く認められ、骨転移とリンパ節転移が、最も頻繁にみられる前立腺癌転移巣である。実際、前立腺癌が被膜をこえて進展した場合、前立腺摘除術を行っても根治する可能性は低く、40-60%の症例において 2-3 年以内に局所再発若しくは遠隔転移を認めている。それらの転移性又は局所再発性の前立腺進行癌に対しては、去勢術を代表とする内分泌療法が、一般的に用いられ、75%以上の患者で良好な効果を示す。しかしながら、その 40-80%の患者に、内分泌療法抵抗性前立腺癌の出現による、癌の再燃を 1 年以内に認める。 前立腺被膜を越える局所浸潤や遠隔転移により、外科的切除で根治不能と判断された、進行性前立腺癌症例に対しても内分泌療法が第一選択で用いられるが、根治的前立腺全摘出術後の再発例と同様に、内分泌療法抵抗性前立腺癌の出現による、癌の再燃を 1 年以内に認める症例が約 7 割ある。 一般に、内分泌療法抵抗性前立腺癌に対する治療法としては、抗癌化学療法若しくは放射線治療が選択されている。しかし前立腺癌に対する抗癌化学療法、特に内分泌療法抵抗性前立腺癌に対する有効率は 0-29%と低率であり、予後を有意に改善する有効な抗癌化学療法は未だ確立されていないのが現状である。前立腺癌に対する放射線治療に関しては、癌病巣が前立腺被膜内に局限した病期 B 症例に対する初期治療としての有効性は確立されている。一方、被膜外に進展した病期 C 症例に対しても初期治療として内分泌療法を併用して放射線治療を行った場合は 5 年生存率 70-80%、局所制御率 90-95%と良好である。しかし、局所再発又は遠隔転移を有する、内分泌療法抵抗性前立腺癌に対する放射線療法の有効性に関しては、局所再発例における排尿障害などの症状の緩和、骨転移症例に対する骨痛

	の緩和、などの対症療法における有効性が報告されるのみである。また、放射線治療については、種々の合併症が認められ、頻度は3-5%と低率とはいえ重篤な晩期合併症（消化管穿孔、潰瘍）の発生も報告されている。 以上のように、局所再発又は遠隔転移を有する内分泌療法抵抗性前立腺癌に対する安全で有効な治療法は未だ確立されておらず、新しい有効な治療法の出現が待ち望まれている。
遺伝子の種類及びその導入方法	導入を企図する遺伝子は、HSV-TK タンパク質の全ての翻訳領域を含む遺伝子である。 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 タンパクはヒトの TK タンパクと比較してプリン誘導体のガンシクロビル及びアシクロビルに対しより親和しやすい。これらの同族体の、HSV-TK タンパクに対する親和性は、これら薬剤のヘルペスウィルスに対する治療効果にて証明されている。HSV-TK タンパクを発現した癌細胞はプロドラッグ（プリン誘導体）の投与により殺傷される。HSV-TK 遺伝子はグアニンアナログであるガンシクロビル及びアシクロビルを過リン酸化する酵素をコードする。段階的にリン酸化され、最終的に三リン酸化された代謝産物は、癌細胞における DNA 合成を阻害し、癌細胞における DNA 鎖の分裂及び細胞死、アポトーシスを引き起こす。 アシクロビルの L-valine エステルであるバラシクロビルは経口でも生物学的活性を示し、一日 3 回の服用という簡便性を有する。バラシクロビルは腸管及び肝の酵素によりアシクロビルに変換される。アシクロビル及びバラシクロビルともに安全でかつ有効なプロドラッグである。ガンシクロビルは HSV-TK 遺伝子とともに癌遺伝子治療に用いられてきたが、経口での生物学的活性は最小であるため 1 日に 2 回の静脈内投与を必要とする。したがって本臨床研究ではプロドラッグの投与方法としてバラシクロビルの一日 3 回の経口投与を選択した。 HSV-TK 遺伝子を発現する細胞に、本来活性を持たない薬剤（プロドラッグ）であるバラシクロビルを投与し、細胞内のバラシクロビルが HSV-TK タンパクにより三リン酸化バラシクロビルとなり DNA の合成を阻害し、細胞をアポトーシスに導く。したがって、Ad-OC-TK ベクターを細胞に感染させて遺伝子を導入しただけでは細胞の殺傷効果は起こらない。引き続いてバラシクロビルを作用させることにより障害性を発揮するわけである。さらにその機序は解明されていないものの、HSV-TK 遺伝子導入細胞がアポトーシスに陥り細胞死を来すときに、遺伝子が導入されていない周囲の細胞も巻き込まれて死滅するというバイスタンダー効果を有する。このバイスタンダー効果は、必ずしもすべての腫瘍細胞に遺伝子を導入しなくとも、治療効果が得られるという可能性があることを意味している。 これら自殺遺伝子の導入とプロドラッグの併用療法を用いた遺伝

	子治療は、普遍的プロモーター(Rous Sarcoma Virus- Promoter)を組み込んだ HSV-TK 遺伝子を含むアデノウイルスベクターとガンシクロビルを用いた遺伝子治療で実用化され、初期段階ではあるが、ある程度の有効性を示している。 本臨床研究に用いられる、組換えアデノウイルスベクターの特徴は、HSV-TK 遺伝子の上流に臓器特異性プロモーター、マウス OC プロモーターを組み込み、臓器特異的な HSV-TK 遺伝子の発現を可能としたことである。マウス OC プロモーター配列、HSV-TK 遺伝子、シミアンウイルス 40 (SV40)・ポリ A シグナルからなる HSV-TK 遺伝子発現カセットを、E1 領域を欠き複製能力を持たないヒトアデノウイルス 5 型ベクターの E1 欠損部に組み込み、Ad-OC-TK ベクターが作製された。Ad-OC-TK ベクターは、E1 遺伝子導入ヒト胎児腎細胞 293 細胞への感染により増殖され、塩化セシウム(CsCl)を用いた超遠心にて精製されたロットが臨床研究に用いられる。 本臨床研究における遺伝子の導入方法としては、Ad-OC-TK ベクターを前立腺癌の局所再発巣、又はリンパ節や骨などの転移巣へ直接、CT 又は超音波ガイド下に局所注入する。Ad-OC-TK ベクターの局所への注入は、同時に付近の正常細胞にも Ad-OC-TK ベクターを暴露し、さらに血管系へのベクターの漏出による Ad-OC-TK ベクターの全身への運搬、特に肝臓の細胞への Ad-OC-TK ベクターの感染が危惧される。実際、1996 年より米国ベイラー医科大学で行われた RSV プロモーターを使用した前立腺癌に対する HSV-TK 遺伝子治療の臨床研究では、1 人の患者に重篤な肝臓障害が生じており、ベクターの血管系への漏出が疑われている。 マウス OC プロモーターを HSV-TK 遺伝子の前に組み込んだ場合、OC プロモーターを活性化できる細胞(造骨中の骨芽細胞及び前立腺癌細胞)でのみ HSV-TK 遺伝子は転写され HSV-TK タンパクが発現する。すなわち HSV-TK タンパクの発現には、細胞が OC プロモーターを活性化させることができないとしないので、肝細胞を含む OC タンパクを発現しない正常細胞においては Ad-OC-TK ベクターが感染しても HSV-TK タンパクは発現しない。アデノウイルスベクターは高力価の濃縮ベクター液を調整することが可能であり、またアデノウイルスベクターの高い遺伝子導入効率は腫瘍内直接投与に適していると思われるが、本臨床研究においては、臓器特異性プロモーター、OC プロモーターを用いることにより、アデノウイルスベクターの高い遺伝子導入効率に伴う周囲の正常組織への障害、又は血管系へのベクターの漏出による全身性の障害、特に肝障害の危険性を軽減することが可能であると考えられる。 以上の理由により、前立腺癌に対する遺伝子治療臨床研究の実施に際し、導入する遺伝子として HSV-TK 遺伝子を選択し、さらにマウス OC プロモーターを組み込んだ Ad-OC-TK ベクターをベクターとして選択した。
これまでの研究成果	前立腺癌に対する OC プロモーターを組み込んだ HSV-TK 遺伝子発現アデノウイルスベクターを用いた遺伝子治療の研究は、研究協力者であるヴァージニア大学の Leland W.K. Chung 教授(現、エモリー大学)の研究室において精力的に行われた。ヒト前立腺癌培養細胞(内分泌療法感受性細胞及び内分泌療法抵抗性細胞)、実験動物で

	あるマウスを用いた遺伝子治療の基礎研究において、腫瘍増殖抑制効果、転移抑制効果（マウスの前立腺癌骨転移モデルを含む）などが確認された。また治療実験及び安全性実験等の動物実験においては問題となるような有害事象は発生していない。特に、マウスを用いた毒性試験においては、Ad-OC-TK を静脈注射しアシクロビルを併用した場合、RSV プロモーターを用いた HSV-TK 遺伝子発現アデノウイルスベクターとアシクロビルの併用に比較して、病理組織学的に、非常に有意な肝臓障害の軽減を認めており、OC プロモーターを用いたベクターの安全性が示唆された。 これらの基礎研究結果を踏まえ、Ad-OC-TK ベクターを用いた遺伝子治療臨床プロトコールは、米国国立衛生研究所(NIH)の Office of Recombinant DNA Activities (ORDA:旧 RAC) 及び米国食品医薬品庁(FDA)の認可を受け、1999 年 7 月より同じくヴァージニア大学にて内分泌療法後の再燃前立腺癌患者を対象とした第 1 相臨床試験が実施された。現在までに Ad-OC-TK ベクター投与による有害事象に関するデータは蓄積されてきており、臨床効果の評価についても詳細な解析が進んでおり、一部は論文化され公表されている。 以下にその概略を述べる。対象は内分泌療法抵抗性症例で、かつ画像上病巣の評価可能な 11 例の前立腺癌患者である。ウイルス濃度は 2.5×10^8 PFU (plaque forming unit) の用量から開始され順次 10 倍量ずつ増量され、最終的に 2.5×10^{10} PFU まで増量された。各症例とも Ad-OC-TK ベクターは 1 病巣のみに治療第 1 日目と第 8 日目に計 2 回注入された。バラシクロビルは治療第 1 日目より連日 21 日間経口投与された。Ad-OC-TK ベクターが注入された病巣の内訳は局所再発巣 2 例、リンパ節転移巣 4 例、骨転移巣 5 例であった。全 11 症例中、いわゆる感冒様症状、軽度の発熱、倦怠感などが数症例で認められたが、いずれも軽度のものであり、経過観察を含めた保存的治療にて軽快した。また全例においてベクターの循環血液中への出現を認めているのにも関わらず、肝機能障害は認められず、OC プロモーターの有効性が示唆された。治療効果の判定にはさらなる検討が要されるが、Ad-OC-TK ベクターの転移又は局所再発巣に対する局所投与、バラシクロビルの全身投与に関する安全性並びに臨床的有用性の可能性は認められたものと判断された。 また本治療法は放射線治療、抗癌化学療法と相違し手技的にも簡便であり、考えられる副作用も他の治療法と比較して軽微であることより、患者の QOL を損なう可能性は極めて低いことも確認された。
安全性についての評価	本研究に用いられる Ad-OC-TK ベクターは、癌原性のないアデノウイルス 5 型をもとに作製されたベクターであり、現行の米国 GLP 基準に従って、マスターセルバンク、マスターウイルスバンクなどの原材料から、その製造工程に至るまで一貫した品質管理のもとに米国 Molecular Medicine 社において生産され、最終製品については、FDA 基準に従った安全性項目のすべてが確認される。理論的にはアデノウイルスベクターは E1 遺伝子を欠損しており、自律増殖不能であるが、大量製造過程では相同組換えによりある程度の確率で野生型アデノウイルスが生じてしまうことは避けられない。 米国ヴァージニア大学における第 1 相臨床試験は、すでに 2.5×10^8 から 2.5×10^{10} PFU レベルまでの投与が行われており、FDA はこの濃度の Ad-OC-TK ベクターを生体に投与することを了承している。

	1999年9月、米国でアデノウイルスベクターを用いた OTC 欠損症に対する遺伝子治療において重篤な肝障害により患者が死亡し、米国ベイラー医科大学で行われた前立腺癌に対する Rous Sarcoma Virus プロモーターを用いた HSV-TK 遺伝子発現アデノウイルスベクターによる臨床試験も1例ではあるが、重篤な肝機能障害が生じている。このようにアデノウイルスベクターを用いた遺伝子治療においてもっとも慎重に考慮されるべき有害事象である肝機能障害は、米国ヴァージニア大学における臨床試験では認められておらず、Ad-OC-TK ベクターを用いた遺伝子治療の肝機能障害に対する安全性が確認された。
遺伝子治療臨床研究の実施が可能であると判断する理由	培養前立腺癌細胞並びに動物を用いた遺伝子治療基礎実験において、Ad-OC-TK ベクターとバラシクロビルを用いた際の抗腫瘍効果及び安全性は確認されており、臨床研究プロトコルは、1998年10月に米国国立衛生研究所(NIH)の Office of Recombinant DNA Activities (ORDA:旧 RAC)及び米国食品医薬品庁(FDA)の認可を受け、1999年7月より米国ヴァージニア大学にて再燃前立腺癌患者を対象とした第1相臨床試験が実施された。Ad-OC-TK ベクター投与による有害事象に関するデータは蓄積されてきており、安全性が確認されたことが論文として公表された(2000年4月)。今回用いる予定である Ad-OC-TK ベクターは、米国 Molecular Medicine 社において作製され安全性試験を通過した製品として直接供給を受ける。 また、現在のところ、内分泌療法抵抗性前立腺癌に対する標準治療に関するコンセンサスは得られていないのが現状であり、有効性が期待される新しい治療を試みることは、患者に対して適切に「説明と同意」(インフォームドコンセント)が行われている限り倫理的に許容されると考えられる。 神戸大学大学院医学系研究科・器官治療医学講座・腎泌尿器科学教室では、従来より前立腺癌をはじめとする尿路性器悪性腫瘍の治療に関する基礎的・臨床的研究を積極的に行っている。また、研究者の後藤章暢、白川利朗、和田義孝らは米国ヴァージニア大学泌尿器科にて Ad-OC-TK ベクターの開発から基礎実験、さらに前立腺癌に対する臨床試験に直接関与してきた。さらに神戸大学ではすでにベクターの取り扱い場所、患者の研究を実際に行う施設(病棟の隔離室、手術室)及びその設備を確保している。また、審査体制を含めた学内の体制も確立されている。こういった背景より今回申請する遺伝子治療臨床研究を神戸大学で実施することは可能であると判断した。
実施計画	Ad-OC-TK ベクターは、増殖性アデノウイルスの混入否定試験をはじめ、各種安全性試験を経た後、臨床試験材料として本研究に用いられる。Ad-OC-TK ベクターの局所投与とバラシクロビル全身投与による副作用の評価、治療効果、及び Ad-OC-TK ベクターの最大耐量の推定のために、投与量を 2.5×10^9 PFU の低用量群と、2.5×10^{10} PFU の高用量群との2群に設定する。低用量レベルで3人の被験者を評価し有害事象が発生しなければ高用量レベルに移行する。ただし有害事象が発生した場合はその重篤度を評価しプロトコルにのっとり症例数を追加し同一用量で検討するか、試験を中止するか判定する。最大耐量(Maximum Tolerated Dose, MTD)では3人の被験者に投与し安全性の検討(最大耐量の推定)及び、治療効果の観察も行う計画で

	ある。 遺伝子導入方法は被験者に対しCT又は経直腸的超音波を用い病変部(骨転移巣, リンパ節転移巣, 又は局所再発巣)を確認した後, CT又は超音波穿刺用ガイド装置を用いAd-OC-TKベクターの溶液を注入する。溶液の容量は病巣に応じ0.5-2mlに希釈する。Ad-OC-TKベクターは1病巣のみに治療第1日目と第8日目に計2回注入する。バラシクロビルの投与は遺伝子導入第1日目から開始し21日間連日投与し, 1回1000mgを一日3回経口投与する。薬剤はバラシクロビル500mgを含有するバルトレックス錠500(グラクソ・ウェルカム社)を用い1回2錠を経口投与する。その後, プロトコルを遵守して安全性並びに治療効果の評価を行う。被験者は, 本臨床研究について文書に基づいて説明を受け, その内容と期待される臨床効果及び危険性を理解した上で, 同意書に署名したものとする。 安全性の評価は, 1)有害事象及び副作用, 2)臨床検査値(血液学的検査, 血液生化学的検査, 尿検査), 3)バイタルサインについて定期的に観察, 測定を行い実施する。 有効性評価は, 1)PSA効果判定基準によるComplete Response (CR), Partial Response (PR), Stable Disease (SD), Progressive Disease (PD)の評価により行う。 CR:血清PSAの正常化(<0.2ng/ml: post-prostatectomy, <4.0ng/ml: no-prostatectomy)が少なくとも2週間以上の測定間隔を空け, 2回連続で認められた症例。PR:治療前の血清PSA値より50%以上の減少が少なくとも2週間以上の測定間隔を空け, 2回連続で認められた症例。CR, PR又はPDに当てはまらない症例。PD:治療前の血清PSA値より50%以上の増加が少なくとも2週間以上の測定間隔を空け, 2回連続で認められた症例。 2)Ad-OC-TK注入病変部の治療効果判定基準によるComplete Response (CR), Partial Response (PR), No Change (NC), Progressive Disease (PD)の評価により行う。 CR:病変部がすべて消失した場合。PR:測定可能病変の最大腫瘍面積の縮小率が50%以上である場合。NC:病変部の縮小率が50%未満で, 25%未満の増大率にとどまるもの。PD:25%以上の増大率を認めるもの。
備 考	被験者の同意取得について:被験者は本臨床研究について文書に基づいて説明を受け, その内容と期待される治療効果及び危険性を十分に理解し, 自主的に同意をした上で, 同意書に署名したものとする。なお, 被験者はその申し出により同意を撤回し, 本臨床研究への参加をいつでも中止することができる。 神戸大学医学部附属病院遺伝子治療臨床研究審査委員会は, 平成14年2月4日, 本臨床研究の研究計画の実施を承認した。

別紙

神戸大学医学部附属病院遺伝子治療臨床研究審査委員会が
研究計画の実施を適当と認める理由

「前立腺癌転移巣及び局所再発巣に対する臓器特異性オステオカルシンプロモーターを組み込んだアデノウイルスベクター（Ad-OC-TK）及びバラシクロビルを用いた遺伝子治療臨床研究」に係わる審査経緯と実施計画が適当と認めた理由は以下のとおりであります。

本学の器官治療医学講座・腎泌尿器科学分野の後藤 章暢氏から、平成13年5月29日付けで神戸大学医学部附属病院長に対して遺伝子治療臨床研究の実施の了承を求める実施計画申請書が提出された。病院長は、神戸大学医学部附属病院遺伝子治療臨床研究審査委員会（以下「審査委員会」という）に対し、審査委員会内規第2条の規定に基づき、上記遺伝子治療臨床研究に関する審査を要請した。

病院長の審査依頼を受け、本審査委員会は、平成13年8月29日に第1回審査委員会を開催し、平成6年文部省告示第79号の「大学等における遺伝子治療臨床研究に関するガイドライン」及び平成6年厚生省告示第23号の「遺伝子治療臨床研究に関する指針」に基づき、本臨床研究の研究の目的、対象疾患、遺伝子の種類と導入方法、米国における研究成果、安全性の評価、実施計画、研究のための説明と同意書等につき審査を開始した。

審査委員会では本遺伝子治療臨床研究実施計画概要書、実施計画書等に関し総括責任者である後藤氏をはじめ共同研究者から詳細な説明を求めるとともに、本研究の審査に関する「安全・効果評価・適応判定部会」を設置し、本研究の具体的な実施のための留意点や改善点を担当研究者と詳細に検討した。本部会は平成13年9月26日、10月31日、12月14日の3回行われ、部会委員からの質問に対する申請者からの回答をくり返す形式で行われ、審議内容は逐一審査委員に報告し意見を伺う形式をとった。

主な論点は（1）本臨床研究が第1相試験か、第2相試験も一部含まれるのかについて。（2）対象疾患の病態について。（3）用いるベクターの安全性について。（4）同意書の記載について、等であった。各問題点について申請者から十分な説明と概要書及び実施計画書等の修正改善が認められたため、平成13年12月26日第2回審査委員会を開催した。

この第2回審査委員会において、今日までの審議結果から文部省告示第79号及び厚生省告示第23号の申請に向けての条件が達成され、実施計画が適当との結論に達した。

しかし、同委員会でおお数箇所の修正を要する事項が認められたため、最終的な修正を指示した。この度、修正内容が持ち回り委員会です承が得られたので、病院長に報告し、文部科学省、厚生労働省への申請手続きを進めることとした。

平成14年 2月 4日

神戸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 横 野 浩



遺 伝 子 治 療 臨 床 研 究 実 施 計 画 概 要 書

平成14年 9月30日

研 究 の 名 称	前立腺癌転移巣及び局所再発巣に対する臓器特異性オステオカルシンプロモーターを組み込んだアデノウイルスベクター (Ad-OC-TK) 及びパラシクロビルを用いた遺伝子治療臨床研究
研 究 実 施 期 間	了承の日より3年間

総括責任者	所属部局の所在地	神戸市中央区楠町 7-5-1 (郵便番号 650-0017)	
	所属機関・部局・職	神戸大学・医学部附属医学研究国際交流センター・助教授	
	氏 名	後 藤 章 	
実施の場所	所 在 地	神戸市中央区楠町 7-5-2 (郵便番号 650-0017)	
	名 称	神戸大学医学部附属病院	
	連 絡 先	神戸大学医学部総務課専門職員 岸本 (電話番号 078-382-5014)	
総括責任者以外の研究者	氏 名	所属機関・部局・職	役 割
	守 殿 貞 夫	神戸大学・大学院医学系研究科・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
	白 川 利 朗	神戸大学・大学院医学系研究科・助手	患者の選定, 患者への説明及び同意の取得, ベクターの調整, ベクターの投与, 臨床観察, 臨床効果判定, 基礎効果判定
	荒 川 創 一	神戸大学・大学院医学系研究科・助教授	泌尿器科的診療
	岡 田 弘	神戸大学・医学部附属病院・講師	泌尿器科的診療
	藤 澤 正 人	神戸大学・医学部附属病院・助手	泌尿器科的診療
	原 勲	神戸大学・大学院医学系研究科・助手	泌尿器科的診療

日向 信之	神戸大学・大学院医学系研究科・大学院生	臨床観察，臨床効果判定，基礎効果判定
和田 義孝	神戸大学・大学院医学系研究科・講師（非常勤）	基礎効果判定
松尾 雅文	神戸大学・医学部附属医学研究国際交流センター・教授	遺伝子治療臨床研究における全般的指導
杉村 和朗	神戸大学・大学院医学系研究科・教授	ベクターの投与，臨床観察，臨床効果判定
佐々木 良平	神戸大学・医学部附属病院・医員	ベクターの投与，臨床観察，臨床効果判定
前田 盛	神戸大学・大学院医学系研究科・教授	臨床効果判定，基礎効果判定
Leland W. K. Chung	エモリー大学・泌尿器科学教室・教授	遺伝子治療臨床研究における全般的指導

審査委員会が 研究計画の実施を 適当と認める理由	別紙のとおり	
	審査委員会の長の職名	氏 名
	神戸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	横野 浩一 

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	癌に対する遺伝子治療において、対象とする遺伝子を癌細胞に特異的に効率良く発現させるために、近年、癌細胞特異的に活性化される臓器特異性プロモーターを用いた癌遺伝子治療法の基礎研究、及び臨床試験が盛んにおこなわれている。特に臓器特異性プロモーターと自殺遺伝子を組み合わせた治療法が注目を集めている。 自殺遺伝子とは、細胞毒性のないプロドラッグを細胞毒性を有する物質に変換する酵素をコードする遺伝子であり、この遺伝子を導入された細胞はプロドラッグの投与によって殺傷される。癌細胞に特異的なプロモーターと自殺遺伝子を組み合わせた場合、自殺遺伝子は癌細胞特異的に発現し、正常細胞に自殺遺伝子が導入されても発現せず、プロドラッグを投与しても正常細胞は殺傷されない。このように臓器特異性プロモーターを用いることによって癌遺伝子治療の安全性を高め、副作用を軽減させることができると考えられる。 本研究は、内分泌療法抵抗性前立腺癌の骨転移、リンパ節転移及び、局所再発例に対し、自殺遺伝子として、単純ヘルペスウイルスのチミジンキナーゼ (Herpes Simplex Virus-Thymidine Kinase, (以下: HSV-TK) 遺伝子を、臓器特異性オステオカルシン (Osteocalcin, 以下: OC) プロモーターにより制御発現させるアデノウイルスベクター (以下: Ad-OC-TK) を単独で癌転移巣又は局所再発巣に局所内投与し、その後バラシクロビルを経口投与するという局所療法を施行した場合の安全性の検討及び、治療効果の観察(評価可能症例)を目的とする第1/2相試験である。 OCプロモーターは、造骨中の骨内に見られる骨芽細胞で機能する臓器特異的なプロモーターで、OC遺伝子の転写を誘導しOCタンパク質の発現をもたらす。組織内におけるOCタンパク質の発現は一般的に骨形成、骨芽細胞の活性化、石灰化、癌細胞の発育に伴う組織の微少石灰化と関係する。これまでの我々の研究において、OCプロモーターは、前立腺癌や骨肉腫の種々の細胞株において特異的にプロモーター活性が高いことが確認されている。また、臨床検体においては、前立腺癌の原発巣及び転移巣(リンパ節と骨)での組織化学的免疫染色でOCの発現が確認されており、OCプロモーターのヒト前立腺癌の転移巣における特異的なプロモーター活性が予想される。 内分泌療法抵抗性前立腺癌症例で、画像診断学的(CT, MRI)に転移又は局所再発巣を確認できる症例に対し、まずAd-OC-TKを単独でCT又は超音波ガイド下に腫瘍内に直接投与し、その後バラシクロビルを経口投与する。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、組織採取が可能な症例においては、画像診断学的な腫瘍退縮や血清中の前立腺特異抗原(PSA)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、OCプロモーター制御下のmRNAレベル及びたんぱく質レベルでの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。 本臨床研究は米国ヴァージニア大学で実施された遺伝子治療臨床研究のプロトコールとその結果を参考に、同医科大学のLeland W. K.	

	Chung 博士（現、エモリー大学教授）ら研究協力者と神戸大学の研究者間で実施される共同研究であり、製造承認を目的とした治験ではない。本臨床研究に用いられる Ad-OC-TK ベクターは米国 Molecular Medicine 社で製造され、直接、神戸大学に供給される。
対象疾患及びその選定理由	対象疾患は、根治的前立腺全摘出術後の前立腺癌再発例又は、外科的切除不能な進行性前立腺癌症例（臨床病期 C, D）で、内分泌療法（放射線療法、抗癌化学療法の併用を含む）を施行された経験があり、腫瘍マーカーである PSA を用いた生化学診断上、内分泌療法抵抗性前立腺癌と診断され、かつ画像診断学的に評価可能な病巣を有する患者を対象とする。その選定理由を以下に述べる。 前立腺癌は、米国では年間約 33 万 5 千人の罹患数があり、男性癌としては最も多く、死亡数でも年間約 4 万 2 千人と肺癌の次ぎに多い癌である。日本においても、1977 年以後、泌尿器科領域の癌としては最も死亡数の多い癌となり、1980 年の年間 2 千人から 1990 年の 3 千 4 百人と増加しており、罹患数についても、年間約 4 千人から約 9 千人と増加している。日本における前立腺癌の年齢別死亡率と人口の年齢別構成比率から推定すると、2010 年には前立腺癌の死亡数が 1 万人を超える可能性が高いと考えられる。 前立腺に局限した癌の場合は根治的前立腺全摘出術が選択されるが、手術を受けた患者の 20-30%の患者はその手術時に前立腺被膜外への癌浸潤を有しているといわれており、相当数の前立腺癌患者が術後局所再発の危険性を有していると考えられる。さらに、前立腺癌全摘出術後や放射線療法後の転移による再発も数多く認められ、骨転移とリンパ節転移が、最も頻繁にみられる前立腺癌転移巣である。実際、前立腺癌が被膜をこえて進展した場合、前立腺摘除術を行っても根治する可能性は低く、40-60%の症例において 2-3 年以内に局所再発若しくは遠隔転移を認めている。それらの転移性又は局所再発性の前立腺進行癌に対しては、去勢術を代表とする内分泌療法が、一般的に用いられ、75%以上の患者で良好な効果を示す。しかしながら、その 40-80%の患者に、内分泌療法抵抗性前立腺癌の出現による、癌の再燃を 1 年以内に認める。 前立腺被膜を越える局所浸潤や遠隔転移により、外科的切除で根治不能と判断された、進行性前立腺癌症例に対しても内分泌療法が第一選択で用いられるが、根治的前立腺全摘出術後の再発例と同様に、内分泌療法抵抗性前立腺癌の出現による、癌の再燃を 1 年以内に認める症例が約 7 割ある。 一般に、内分泌療法抵抗性前立腺癌に対する治療法としては、抗癌化学療法若しくは放射線治療が選択されている。しかし前立腺癌に対する抗癌化学療法、特に内分泌療法抵抗性前立腺癌に対する有効率は 0-29%と低率であり、予後を有意に改善する有効な抗癌化学療法は未だ確立されていないのが現状である。前立腺癌に対する放射線治療に関しては、癌病巣が前立腺被膜内に局限した病期 B 症例に対する初期治療としての有効性は確立されている。一方、被膜外に進展した病期 C 症例に対しても初期治療として内分泌療法を併用して放射線治療を行った場合は 5 年生存率 70-80%、局所制御率 90-95%と良好である。しかし、局所再発又は遠隔転移を有する、内分泌療法抵抗性前立腺癌に対する放射線療法の有効性に関しては、局所再発例における排尿障害などの症状の緩和、骨転移症例に対する骨痛

	の緩和，などの対症療法における有効性が報告されるのみである。また，放射線治療については，種々の合併症が認められ，頻度は3-5%と低率とはいえ重篤な晩期合併症（消化管穿孔，潰瘍）の発生も報告されている。 以上のように，局所再発又は遠隔転移を有する内分泌療法抵抗性前立腺癌に対する安全で有効な治療法は未だ確立されておらず，新しい有効な治療法の出現が待ち望まれている。
遺伝子の種類及びその導入方法	導入を企図する遺伝子は，HSV-TK タンパク質の全ての翻訳領域を含む遺伝子である。 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 タンパクはヒトの TK タンパクと比較してプリン誘導体のガンシクロビル及びアシクロビルに対しより親和しやすい。これらの同族体の，HSV-TK タンパクに対する親和性は，これら薬剤のヘルペスウィルスに対する治療効果にて証明されている。HSV-TK タンパクを発現した癌細胞はプロドラッグ（プリン誘導体）の投与により殺傷される。HSV-TK 遺伝子はグアニンアナログであるガンシクロビル及びアシクロビルを過リン酸化する酵素をコードする。段階的にリン酸化され，最終的に三リン酸化された代謝産物は，癌細胞における DNA 合成を阻害し，癌細胞における DNA 鎖の分裂及び細胞死，アポトーシスを引き起こす。 アシクロビルのL-valine エステルであるバラシクロビルは経口でも生物学的活性を示し，一日 3 回の服用という簡便性を有する。バラシクロビルは腸管及び肝の酵素によりアシクロビルに変換される。アシクロビル及びバラシクロビルともに安全でかつ有効なプロドラッグである。ガンシクロビルは HSV-TK 遺伝子とともに癌遺伝子治療に用いられてきたが，経口での生物学的活性は最小であるため 1 日に 2 回の静脈内投与を必要とする。したがって本臨床研究ではプロドラッグの投与方法としてバラシクロビルの一 3 回の経口投与を選択した。 HSV-TK 遺伝子を発現する細胞に，本来活性を持たない薬剤（プロドラッグ）であるバラシクロビルを投与し，細胞内のバラシクロビルが HSV-TK タンパクにより三リン酸化バラシクロビルとなり DNA の合成を阻害し，細胞をアポトーシスに導く。したがって，Ad-OC-TK ベクターを細胞に感染させて遺伝子を導入しただけでは細胞の殺傷効果は起こらない。引き続いてバラシクロビルを作用させることにより障害性を発揮するわけである。さらにその機序は解明されていないものの，HSV-TK 遺伝子導入細胞がアポトーシスに陥り細胞死を来すときに，遺伝子が導入されていない周囲の細胞も巻き込まれて死滅するというバイスタンダー効果を有する。このバイスタンダー効果は，必ずしもすべての腫瘍細胞に遺伝子を導入しなくとも，治療効果が得られるという可能性があることを意味している。 これら自殺遺伝子の導入とプロドラッグの併用療法を用いた遺伝

	子治療は、普遍的プロモーター (Rous Sarcoma Virus- Promoter) を組み込んだ HSV-TK 遺伝子を含むアデノウイルスベクターとガンシクロビルを用いた遺伝子治療で実用化され、初期段階ではあるが、ある程度の有効性を示している。 本臨床研究に用いられる、組換えアデノウイルスベクターの特徴は、HSV-TK 遺伝子の upstream に臓器特異性プロモーター、マウス OC プロモーターを組み込み、臓器特異的な HSV-TK 遺伝子の発現を可能としたことである。マウス OC プロモーター配列、HSV-TK 遺伝子、シミアンウイルス 40 (SV40)・ポリ A シグナルからなる HSV-TK 遺伝子発現カセットを、E1 領域を欠き複製能力を持たないヒトアデノウイルス 5 型ベクターの E1 欠損部に組み込み、Ad-OC-TK ベクターが作製された。Ad-OC-TK ベクターは、E1 遺伝子導入ヒト胎児腎細胞 293 細胞への感染により増殖され、塩化セシウム (CsCl) を用いた超遠心にて精製されたロットが臨床研究に用いられる。 本臨床研究における遺伝子の導入方法としては、Ad-OC-TK ベクターを前立腺癌の局所再発巣、又はリンパ節や骨などの転移巣へ直接、CT 又は超音波ガイド下に局所注入する。Ad-OC-TK ベクターの局所への注入は、同時に付近の正常細胞にも Ad-OC-TK ベクターを暴露し、さらに血管系へのベクターの漏出による Ad-OC-TK ベクターの全身への運搬、特に肝臓の細胞への Ad-OC-TK ベクターの感染が危惧される。実際、1996 年より米国ベイラー医科大学で行われた RSV プロモーターを使用した前立腺癌に対する HSV-TK 遺伝子治療の臨床研究では、1 人の患者に重篤な肝臓障害が生じており、ベクターの血管系への漏出が疑われている。 マウス OC プロモーターを HSV-TK 遺伝子の前に組み込んだ場合、OC プロモーターを活性化できる細胞 (造骨中の骨芽細胞及び前立腺癌細胞) でのみ HSV-TK 遺伝子は転写され HSV-TK タンパクが発現する。すなわち HSV-TK タンパクの発現には、細胞が OC プロモーターを活性化させることができないと仮定されるので、肝細胞を含む OC タンパクを発現しない正常細胞においては Ad-OC-TK ベクターが感染しても HSV-TK タンパクは発現しない。アデノウイルスベクターは高力価の濃縮ベクター液を調整することが可能であり、またアデノウイルスベクターの高い遺伝子導入効率は腫瘍内直接投与に適していると思われるが、本臨床研究においては、臓器特異性プロモーター、OC プロモーターを用いることにより、アデノウイルスベクターの高い遺伝子導入効率に伴う周囲の正常組織への障害、又は血管系へのベクターの漏出による全身性の障害、特に肝障害の危険性を軽減することが可能であると考えられる。 以上の理由により、前立腺癌に対する遺伝子治療臨床研究の実施に際し、導入する遺伝子として HSV-TK 遺伝子を選択し、さらにマウス OC プロモーターを組み込んだ Ad-OC-TK ベクターをベクターとして選択した。
これまでの研究成果	前立腺癌に対する OC プロモーターを組み込んだ HSV-TK 遺伝子発現アデノウイルスベクターを用いた遺伝子治療の研究は、研究協力者であるヴァージニア大学の Leland W.K. Chung 教授 (現、エモリー大学) の研究室において精力的に行われた。ヒト前立腺癌培養細胞 (内分泌療法感受性細胞及び内分泌療法抵抗性細胞)、実験動物で

	あるマウスを用いた遺伝子治療の基礎研究において、腫瘍増殖抑制効果、転移抑制効果（マウスの前立腺癌骨転移モデルを含む）などが確認された。また治療実験及び安全性実験等の動物実験においては問題となるような有害事象は発生していない。特に、マウスを用いた毒性試験においては、Ad-OC-TK を静脈注射しアシクロビルを併用した場合、RSV プロモーターを用いた HSV-TK 遺伝子発現アデノウイルスベクターとアシクロビルの併用に比較して、病理組織学的に、非常に有意な肝臓障害の軽減を認めており、OC プロモーターを用いたベクターの安全性が示唆された。 これらの基礎研究結果を踏まえ、Ad-OC-TK ベクターを用いた遺伝子治療臨床プロトコルは、米国国立衛生研究所(NIH)の Office of Recombinant DNA Activities (ORDA:旧 RAC)及び米国食品医薬品庁(FDA)の認可を受け、1999年7月より同じくヴァージニア大学にて内分泌療法後の再燃前立腺癌患者を対象とした第1相臨床試験が実施された。現在までにAd-OC-TK ベクター投与による有害事象に関するデータは蓄積されてきており、臨床効果の評価についても詳細な解析が進んでおり、一部は論文化され公表されている。 以下にその概略を述べる。対象は内分泌療法抵抗性症例で、かつ画像上病巣の評価可能な11例の前立腺癌患者である。ウイルス濃度は 2.5×10^8 PFU (plaque forming unit) の用量から開始され順次10倍量ずつ増量され、最終的に 2.5×10^{10} PFU まで増量された。各症例ともAd-OC-TK ベクターは1病巣のみに治療第1日目と第8日目に計2回注入された。バラシクロビルは治療第1日目より連日21日間経口投与された。Ad-OC-TK ベクターが注入された病巣の内訳は局所再発巣2例、リンパ節転移巣4例、骨転移巣5例であった。全11症例中、いわゆる感冒様症状、軽度の発熱、倦怠感などが数症例で認められたが、いずれも軽度のものであり、経過観察を含めた保存的治療にて軽快した。また全例においてベクターの循環血液中への出現を認めているのにも関わらず、肝機能障害は認められず、OC プロモーターの有効性が示唆された。治療効果の判定にはさらなる検討が要されるが、Ad-OC-TK ベクターの転移又は局所再発巣に対する局所投与、バラシクロビルの全身投与に関する安全性並びに臨床的有用性の可能性は認められたものと判断された。 また本治療法は放射線治療、抗癌化学療法と相違し手技的にも簡便であり、考えられる副作用も他の治療法と比較して軽微であることより、患者のQOLを損なう可能性は極めて低いことも確認された。
安全性についての評価	本研究に用いられるAd-OC-TK ベクターは、癌原性のないアデノウイルス5型をもとに作製されたベクターであり、現行の米国GLP基準に従って、マスターセルバンク、マスターウイルスバンクなどの原材料から、その製造工程に至るまで一貫した品質管理のもとに米国Molecular Medicine社において生産され、最終製品については、FDA基準に従った安全性項目のすべてが確認される。理論的にはアデノウイルスベクターはE1遺伝子を欠損しており、自律増殖不能であるが、大量製造過程では相同組換えによりある程度の確率で野生型アデノウイルスが生じてしまうことは避けられない。 米国ヴァージニア大学における第1相臨床試験は、すでに 2.5×10^8 から 2.5×10^{10} PFU レベルまでの投与が行われており、FDAはこの濃度のAd-OC-TK ベクターを生体に投与することを了承している。

	1999年9月、米国でアデノウイルスベクターを用いた OTC 欠損症に対する遺伝子治療において重篤な肝障害により患者が死亡し、米国ペイラー医科大学で行われた前立腺癌に対する Rous Sarcoma Virus プロモーターを用いた HSV-TK 遺伝子発現アデノウイルスベクターによる臨床試験も1例ではあるが、重篤な肝機能障害が生じている。このようにアデノウイルスベクターを用いた遺伝子治療においてもっとも慎重に考慮されるべき有害事象である肝機能障害は、米国ヴァージニア大学における臨床試験では認められておらず、Ad-OC-TK ベクターを用いた遺伝子治療の肝機能障害に対する安全性が確認された。
遺伝子治療臨床研究の実施が可能であると判断する理由	培養前立腺癌細胞並びに動物を用いた遺伝子治療基礎実験において、Ad-OC-TK ベクターとバラシクロビルを用いた際の抗腫瘍効果及び安全性は確認されており、臨床研究プロトコルは、1998年10月に米国国立衛生研究所(NIH)の Office of Recombinant DNA Activities (ORDA:旧 RAC)及び米国食品医薬品庁(FDA)の認可を受け、1999年7月より米国ヴァージニア大学にて再燃前立腺癌患者を対象とした第1相臨床試験が実施された。Ad-OC-TK ベクター投与による有害事象に関するデータは蓄積されてきており、安全性が確認されたことが論文として公表された(2000年4月)。今回用いる予定である Ad-OC-TK ベクターは、米国 Molecular Medicine 社において作製され安全性試験を通過した製品として直接供給を受ける。 また、現在のところ、内分泌療法抵抗性前立腺癌に対する標準治療に関するコンセンサスは得られていないのが現状であり、有効性が期待される新しい治療を試みることは、患者に対して適切に「説明と同意」(インフォームドコンセント)が行われている限り倫理的に許容され则认为られる。 神戸大学大学院医学系研究科・器官治療医学講座・腎泌尿器科学教室では、従来より前立腺癌をはじめとする尿路性器悪性腫瘍の治療に関する基礎的・臨床的研究を積極的に行っている。また、研究者の後藤章暢、白川利朗、和田義孝らは米国ヴァージニア大学泌尿器科にて Ad-OC-TK ベクターの開発から基礎実験、さらに前立腺癌に対する臨床試験に直接関与してきた。さらに神戸大学ではすでにベクターの取り扱い場所、患者の研究を実際に行う施設(病棟の隔離室、手術室)及びその設備を確保している。また、審査体制を含めた学内の体制も確立されている。こういった背景より今回申請する遺伝子治療臨床研究を神戸大学で実施することは可能であると判断した。
実施計画	Ad-OC-TK ベクターは、増殖性アデノウイルスの混入否定試験をはじめ、各種安全性試験を経た後、臨床試験材料として本研究に用いられる。Ad-OCTK ベクターの局所投与とバラシクロビル全身投与による副作用の評価、治療効果、及び <u>Ad-OC-TK ベクターの安全性の検討のために</u>、投与量を 2.5×10^9 PFU の低用量群と、2.5×10^{10} PFU の高用量群との2群に設定する。低用量レベルで3人の被験者を評価し有害事象が発生しなければ高用量レベルに移行する。ただし有害事象が発生した場合はその重篤度を評価しプロトコルにのっとり症例数を追加し同一用量で検討するか、試験を中止するか判定する。<u>高用量群では3人の被験者に投与し安全性の検討及び、治療効果の観察も行う計画である。</u>

	遺伝子導入方法は被験者に対しCT又は経直腸的超音波を用い病変部(骨転移巣, リンパ節転移巣, 又は局所再発巣)を確認した後, CT又は超音波穿刺用ガイド装置を用いAd-OC-TKベクターの溶液を注入する。溶液の容量は病巣に応じ0.5-2mlに希釈する。Ad-OC-TKベクターは1病巣のみに治療第1日目と第8日目に計2回注入する。バラシクロビルの投与は遺伝子導入第1日目から開始し21日間連日投与し, 1回1000mgを一日3回経口投与する。薬剤はバラシクロビル500mgを含有するバルトレックス錠500(グラクソ・ウェルカム社)を用い1回2錠を経口投与する。その後, プロトコルを遵守して安全性並びに治療効果の評価を行う。被験者は, 本臨床研究について文書に基づいて説明を受け, その内容と期待される臨床効果及び危険性を理解した上で, 同意書に署名したものとする。 安全性の評価は, 1) 有害事象及び副作用, 2) 臨床検査値(血液学的検査, 血液生化学的検査, 尿検査), 3) バイタルサインについて定期的に観察, 測定を行い実施する。 有効性評価は, 1) PSA効果判定基準によるComplete Response (CR), Partial Response (PR), Stable Disease (SD), Progressive Disease (PD)の評価により行う。 CR: 血清PSAの正常化(<0.2ng/ml: post-prostatectomy, <4.0ng/ml: no-prostatectomy)が少なくとも2週間以上の測定間隔を空け, 2回連続で認められた症例。PR: 治療前の血清PSA値より50%以上の減少が少なくとも2週間以上の測定間隔を空け, 2回連続で認められた症例。CR, PR又はPDに当てはまらない症例。PD: 治療前の血清PSA値より50%以上の増加が少なくとも2週間以上の測定間隔を空け, 2回連続で認められた症例。 2) Ad-OC-TK注入病変部の治療効果判定基準によるComplete Response (CR), Partial Response (PR), No Change (NC), Progressive Disease (PD)の評価により行う。 CR: 病変部がすべて消失した場合。PR: 測定可能病変の最大腫瘍面積の縮小率が50%以上である場合。NC: 病変部の縮小率が50%未満で, 25%未満の増大率にとどまるもの。PD: 25%以上の増大率を認めるもの。
備 考	被験者の同意取得について: 被験者は本臨床研究について文書に基づいて説明を受け, その内容と期待される治療効果及び危険性を十分に理解し, 自主的に同意をした上で, 同意書に署名したものとする。なお, 被験者はその申し出により同意を撤回し, 本臨床研究への参加をいつでも中止することができる。 神戸大学医学部附属病院遺伝子治療臨床研究審査委員会は, 平成14年2月4日, 本臨床研究の研究計画の実施を承認した。

別紙

神戸大学医学部附属病院遺伝子治療臨床研究審査委員会が 研究計画の実施を適当と認める理由

「前立腺癌転移巣及び局所再発巣に対する臓器特異性オステオカルシンプロモーターを組み込んだアデノウイルスベクター（Ad-OC-TK）及びバラシクロビルを用いた遺伝子治療臨床研究」に係わる実施計画を「第Ⅰ相試験」より「第Ⅰ/Ⅱ相試験」の方が適当と認めた理由は以下のとおりであります。

厚生労働省がん遺伝子治療臨床研究作業委員会に2回出席した申請者の後藤助教授（総括責任者）から以下の説明があった。

1. 同委員会の先生から、「どう見てもこれは、内容的に第Ⅰ/Ⅱ相の試験に該当するのではないかとの指摘を受けた。」こと。
2. 学内審査委員会の過程においては、どうであったのかとの質問を受け、当時、学内委員会においても大きな議題「第Ⅰ/Ⅱ相の試験に該当するのではないか。」として取り上げられていたが、「第Ⅰ/Ⅱ相の試験で申請する」のを、敢えて、安全性の面を重視し、早期の承認を得るため「第Ⅰ相の試験で申請する」ことにしたこと。
3. 学内審査委員会の考えが、「第Ⅰ相の試験で申請する」のであれば、持ち帰って、「第Ⅰ/Ⅱ相の試験で申請する」ように再審査願いたいこと。社会的にも、一般的に患者さんを受入れるうえで、安全性だけで云々する時代でなく、治療の面から「第Ⅰ/Ⅱ相の試験で申請する」ようにとの御示唆を受け、持ち帰ったことの説明があった。

以上の報告をもとに審査の結果、「高度先進医療を患者さんにお願いする場合に、安全性だけを患者さんに依頼してご負担をかけながら看るということよりも、ある程度治療効果が期待できる計画で、患者さんに御依頼することは必要なことと思う。」との合意があった。

また、審査を行った当時の安全・効果評価・適応判定部会における、「第Ⅰ/Ⅱ相の試験」の基準の捉え方が少し曖昧だったとの意見が部会委員からなされた。

これらを踏まえ、本委員会において、「第Ⅰ/Ⅱ相の試験」の基準を再確認するとともに審議を行い、改めて「第Ⅰ/Ⅱ相の試験で実施する」ことを承認致しました。

平成14年9月30日

神戸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 横野 浩



遺伝子治療臨床研究実施計画書

前立腺癌転移巣及び局所再発巣に対する臓器特異性プロモーターオステオカルシンプロモーターを組み込んだアデノウイルスベクター (Ad-OC-TK) 及びバラシクロビルを用いた遺伝子治療臨床研究

神戸大学医学部附属病院

目次

1	研究の名称	p 2
2	研究者の氏名及び担当する役割	p 2
3	遺伝子治療臨床研究の実施施設の名称及びその所在地	p 4
4	遺伝子治療臨床研究の目的	p 5
5	遺伝子治療臨床研究の対象疾患を選んだ理論的根拠	p 6
6	遺伝子及び遺伝子導入方法	p 1 1
7	これまでの研究成果	p 1 6
8	安全性についての評価	p 2 3
9	遺伝子治療臨床研究の実施が可能であると判断する根拠	p 3 3
1 0	遺伝子治療臨床研究の計画	p 3 4
1 1	当該遺伝子治療臨床研究の実施施設の状況	p 4 7
1 2	当該遺伝子治療臨床研究に関連する国内外の研究状況	p 4 7
	(参考文献)	p 4 9
1 3	研究者の略歴, 研究業績	p 5 2
1 4	添付資料一覧	p 6 7

1. 研究の名称

前立腺癌転移巣及び局所再発巣に対する臓器特異性プロモーターオステオカルシンプロモーターを組み込んだアデノウイルスベクター(Ad-OC-TK)及びバラシクロビルを用いた遺伝子治療臨床研究

2. 研究者の氏名及び担当する役割

2-1. 総括責任者の氏名及び担当する役割

後藤章暢 神戸大学医学部附属医学研究国際交流センター・助教授

遺伝子治療臨床研究実施の総合判断及び研究全体の総括

遺伝子治療臨床研究が適切に行われていることを定期的に確認する

2-2. 総括責任者以外の研究者, 氏名及び担当する役割

研究担当医師

守殿貞夫 神戸大学大学院医学系研究科・器官治療医学講座・腎泌尿器科学分野・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

白川利朗 神戸大学大学院医学系研究科・器官治療医学講座・腎泌尿器科学分野・助手

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, 臨床効果判定, 基礎効果判定

荒川創一 神戸大学大学院医学系研究科・器官治療医学講座・腎泌尿器科学分野・助教授

泌尿器科学的診療

岡田 弘 神戸大学医学部附属病院・泌尿器科・講師

泌尿器科学的診療

藤澤正人 神戸大学医学部附属病院・泌尿器科・講師

泌尿器科学診療

原 勲 神戸大学大学院医学系研究科・器官治療医学講座・腎泌尿器科学分野・助手
泌尿器科学的診療

日向信之 神戸大学大学院医学系研究科・器官治療医学講座・腎泌尿器科学分野・
大学院生

臨床観察, 臨床効果判定, 基礎効果判定

和田義孝 神戸大学大学院医学系研究科・器官治療医学講座・腎泌尿器科学分野・
講師 (非常勤)

基礎効果判定

松尾雅文 神戸大学医学部附属医学研究国際交流センター・教授

遺伝子治療臨床研究における全般的指導

研究協力者

杉村和朗 神戸大学大学院医学系研究科・生体情報医学講座・放射線医学分野・教授
ベクターの投与, 臨床観察, 臨床効果判定

佐々木良平 神戸大学大学院医学系研究科・生体情報医学講座・放射線医学分野・
大学院生

ベクターの投与, 臨床観察, 臨床効果判定

前田 盛 神戸大学大学院医学系研究科・生体情報医学講座・分子病理学分野・教授
臨床効果判定, 基礎効果判定

Leland W.K. Chung エモリー大学・泌尿器科学教室・教授

遺伝子治療臨床研究における全般的指導

3. 遺伝子治療臨床研究の実施施設の名称及びその所在地

神戸大学医学部附属病院 〒650-0017 神戸市中央区楠町 7-5-2

(TEL) 078-382-6155 (泌尿器科) 078-382-5020 (総務課企画調査掛)

(FAX) 078-382-6169 (泌尿器科)

4. 遺伝子治療臨床研究の目的

癌に対する遺伝子治療の最も基本的な問題の一つとして、対象とする遺伝子をいかに癌細胞に特異的に効率良く発現させるかということがある。近年、癌細胞特異的に活性化される臓器特異性プロモーターを用いた癌遺伝子治療法の基礎研究、及び臨床試験が盛んにおこなわれているが、特に臓器特異性プロモーターと自殺遺伝子を組み合わせた治療法が注目を集めている。自殺遺伝子とは、細胞毒性の低いプロドラッグを高い細胞毒性を有する物質に変換する酵素をコードする遺伝子であり、この遺伝子を導入された細胞はプロドラッグの投与によって殺傷される。臓器特異性プロモーターと自殺遺伝子を組み合わせた場合、自殺遺伝子は癌細胞特異的に発現し、正常細胞に自殺遺伝子が導入されても発現せず、プロドラッグを投与しても正常細胞は殺傷されない。このように臓器特異性プロモーターを用いることによって癌遺伝子治療の安全性を高め、副作用を軽減させることができると考えられる。

本研究は、内分泌療法抵抗性前立腺癌（骨転移、リンパ節転移及び、局所再発例）に対し、自殺遺伝子、Herpes Simplex Virus-Thymidine Kinase（以下：HSV-TK）遺伝子を臓器特異性プロモーター、Osteocalcin（以下：OC）プロモーターにより制御発現させるアデノウイルスベクター（以下：Ad-OC-TK）を単独で癌転移巣又は局所再発巣に局所内投与し、その後バラシクロビルを経口投与するという局所療法を施行した場合の、安全性の検討及び、治療効果の観察（評価可能症例）を目的とする第 1/2 相試験である。

内分泌療法抵抗性前立腺癌症例で、画像診断学的（CT、MRI、超音波など）に転移又は局所再発巣を確認できる症例に対し、まずAd-OC-TKを単独でCT又は超音波ガイド下に腫瘍内に直接投与し、その後バラシクロビルを経口投与する。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、可能な症例においては画像診断学的な腫瘍退縮や腫瘍マーカー（PSA）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、OCプロモーター制御下のmRNAレベル及びタンパク質レベルでの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。

5. 遺伝子治療臨床研究の対象疾患を選んだ理論的根拠

根治的前立腺全摘出術後の前立腺癌再発症例又は、外科的切除により根治不能な進行性前立腺癌症例（臨床病期 C, D）で、内分泌療法（放射線療法、抗癌化学療法の併用を含む）を施行された経験があり、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、内分泌療法抵抗性前立腺癌と診断され、かつ画像診断学的に評価可能な病巣（局所再発巣、リンパ節転移巣、又は骨転移巣）を有する患者を対象とする。その選定理由を以下に述べる。

5-1. 前立腺癌に関する現時点での知見

前立腺癌は、米国では年間約33万5千人の罹患数があり、男性癌としては最も多く、死亡数でも年間約4万2千人と肺癌の次ぎに多い癌である。日本においても、1977年以後、泌尿器科領域の癌としては最も死亡数の多い癌となり、1980年の年間2千人から1990年の3千4百人と増加しており、罹患数についても、年間約4千人から約9千人と増加している。日本における前立腺癌の年齢別死亡率と人口の年齢別構成比率から推定すると、2010年には前立腺癌の死亡数が1万人を超える可能性が高いと考えられる。

前立腺に局限した癌（病期B及びCの一部）の場合は根治的前立腺全摘出術が選択されるが、手術を受けた患者の20-30%の患者はその手術時に前立腺被膜外への癌浸潤を有している（病期C）といわれており、相当数の前立腺癌患者が術後局所再発の危険性を有していると考えられる。さらに、前立腺癌全摘出術後や放射線療法後の転移による再発も数多く認められ、骨転移とリンパ節転移が、最も頻繁にみられる前立腺癌転移巣である。実際、前立腺癌が被膜をこえて進展した場合（病期C）、前立腺摘除術を行っても根治する可能性は低く、40-60%の症例において2-3年以内に局所再発若しくは遠隔転移を認めている。それらの転移性又は局所再発性の前立腺進行癌に対しては、去勢術を代表とする内分泌療法が、一般的に用いられ、75%以上の患者で良好な効果を示す。しかしながら、その40-80%の患者に、内分泌療法抵抗性前立腺癌の出現による、癌の再燃を1年以内

に認める。

前立腺被膜を越える局所浸潤や遠隔転移により、外科的切除で根治不能と判断された、進行性前立腺癌症例（臨床病期 C, D）に対しても内分泌療法が第一選択で用いられるが、根治的前立腺全摘出術後の再発例と同様に、内分泌療法抵抗性前立腺癌の出現による、癌の再燃を 1 年以内に認める症例が約 7 割ある。

現在、一般的に、内分泌療法抵抗性前立腺癌に対する治療法としては、抗癌化学療法若しくは放射線治療が選択されている。しかし前立腺癌に対する抗癌化学療法、特に内分泌療法抵抗性前立腺癌に対する有効率は 0-29%と低率であり、予後を有意に改善する有効な抗癌化学療法は未だ確立されていないのが現状である。前立腺癌に対する放射線治療に関しては、癌病巣が前立腺被膜内に限局した病期 B 症例に対する初期治療としての有効性は確立されている。一方、被膜外に進展した病期 C 症例に対しても初期治療として内分泌療法を併用して放射線治療を行った場合は 5 年生存率 70-80%、局所制御率 90-95%と良好である。しかし、局所再発又は遠隔転移を有する、内分泌療法抵抗性前立腺癌に対する放射線療法の有効性に関しては、局所再発例における排尿障害などの症状の緩和、骨転移症例に対する骨痛の緩和、などの対症療法における有効性が報告されるのみである。また、放射線治療については、種々の合併症が認められ、頻度は 3-5%と低率とはいえ重篤な晩期合併症（消化管穿孔、潰瘍）の発生も報告されている。

以上のように、局所再発又は遠隔転移を有する内分泌療法抵抗性前立腺癌に対する安全で有効な治療法は未だ確立されておらず、新しい有効な治療法の出現が待ち望まれている。

5-2. 当該遺伝子治療臨床研究の概要

自殺遺伝子とは、毒性の低いプロドラッグを代謝して強い細胞障害性のある物質に変換させる働きを持つ酵素をコードする遺伝子であり、外来性にこの遺伝子を導入された細胞はプロドラッグの投与により選択的に殺傷される。近年、この自殺遺伝子を用いた癌に対する遺伝子治療が基礎及び臨床の分野で盛んに研究されている。今回、我々が用いる自殺遺伝子である、単純ヘルペスウイルスが有する HSV-TK はヒトの TK と比較してプリン誘導体のガンシクロビル及びアシクロビ

ルに対しより親和しやすい。これらの誘導体の、HSV-TK に対する親和性は、これら薬剤のヘルペスウイルスに対する治療効果にて証明されている。HSV-TK を発現した癌細胞はプロドラッグ（プリン誘導体）の投与により殺傷される。HSV-TK 遺伝子はグアニンアナログであるガンシクロビル及びアシクロビルを過リン酸化する酵素をコードする。段階的にリン酸化され、最終的に三リン酸化された代謝産物は、癌細胞における DNA 合成を阻害し、癌細胞における DNA 鎖の分裂及び細胞死、アポトーシスを引き起こす。

アシクロビルの L-valine エステルであるバラシクロビルは経口でも生物学的活性を示し、一日 3 回の服用という簡便性を有する。バラシクロビルは腸管及び肝の酵素によりアシクロビルに変換される。アシクロビル及びバラシクロビルともに安全でかつ有効なプロドラッグである。ガンシクロビルは HSV-TK 遺伝子とともに癌遺伝子治療に用いられてきたが、経口での生物学的活性は最小であるため 1 日に 2 回の静脈内投与を必要とする。したがって本臨床研究ではプロドラッグの投与方法としてバラシクロビルの一日 3 回の経口投与を選択した。

これらの HSV-TK 遺伝子を用いた遺伝子治療は、遺伝子導入を受けた細胞を死に至らしめる治療法であり、HSV-TK 遺伝子を発現する細胞に、本来活性を持たない薬剤（プロドラッグ）であるバラシクロビルを投与し、細胞内のバラシクロビルが HSV-TK により三リン酸化バラシクロビルとなり DNA の合成を阻害し、細胞をアポトーシスに導く。従って Ad-OC-TK ベクターを細胞に感染させて遺伝子を導入しただけでは細胞の殺傷効果は起こらない。引き続いてバラシクロビルを作用させることにより障害性を発揮するわけである。さらにその機序は解明されていないものの、HSV-TK 遺伝子導入細胞がアポトーシスに陥り細胞死を来すときに、遺伝子が導入されていない周囲の細胞も巻き込まれて死滅するという バイスタンダー効果を有する場合がある。このバイスタンダー効果は、必ずしもすべての腫瘍細胞に遺伝子を導入しなくとも、治療効果が得られるという可能性があることを意味している。

これらの自殺遺伝子の導入とプロドラッグの併用療法を用いた遺伝子治療は、普遍的プロモーター (Rous Sarcoma Virus- Promoter) を組み込んだ HSV-TK 遺伝子を含むアデノウイルスベクターとガンシクロビルを用いた遺伝子治療で実用化され、初期段階ではあるが、ある程度の有効性を

示している。

本臨床研究に用いられる、組換えアデノウイルスベクターの大きな特徴は、HSV-TK 遺伝子の
上流に臓器特異性プロモーター、マウスオステオカルシン (OC) プロモーターを組み込み、臓器特
異的な HSV-TK 遺伝子の発現を可能としたことである。マウス OC プロモーター配列、HSV-TK 遺伝
子、シミアンウイルス 40 (SV40)・ポリ A シグナルからなる HSV-TK 遺伝子発現カセットを、E1 領域
を欠き複製能力を持たないヒトアデノウイルス 5 型ベクターの E1 欠損部に組み込み、組換えアデ
ノウイルスベクター (Ad-OC-TK) が作製された。

本臨床研究における遺伝子の導入方法としては、Ad-OC-TK ベクターを前立腺癌の局所再発巣、
又はリンパ節や骨などの転移巣へ直接、CT 又は超音波ガイド下に局所注入する。Ad-OC-TK ベク
ターの局所への注入は、同時に付近の正常細胞にも Ad-OC-TK ベクターを暴露し、さらに血管系への
ベクターの漏出による Ad-OC-TK ベクターの全身への運搬、特に肝臓の細胞への Ad-OC-TK ベク
ターの感染が危惧される。実際、1996 年より米国 Baylor 大学で行われた RSV プロモーターを使用した
前立腺癌に対する HSV-TK 遺伝子治療の臨床研究では、1 人の患者に重篤な肝臓障害が生じており、
ベクターの血管系への漏出が疑われている。マウスの OC プロモーターを HSV-TK 遺伝子の前に組
み込んだ場合、OC プロモーターを活性化できる細胞（造骨中の骨芽細胞及び前立腺癌細胞）での
み HSV-TK 遺伝子は転写され TK タンパク質が発現する。すなわち TK タンパク質の発現には、細胞
が OC プロモーターを活性化させることができないとしないので、OC を発現しない正常細胞
（肝細胞を含む）においては Ad-OC-TK ベクターが感染しても TK タンパク質は発現しない。アデ
ノウイルスベクターは高力価の濃縮ベクター液を調整することが可能であり、またアデノウイル
スベクターの高い遺伝子導入効率は腫瘍内直接投与に適していると思われるが、本臨床研究にお
いては、臓器特異性プロモーター、OC プロモーターを用いることにより、アデノウイルスベクター
の高い遺伝子導入効率に伴う周囲の正常組織への障害、又は血管系へのベクターの漏出による全
身性の障害、特に肝障害の危険性を軽減することが可能であると考えられる。

5-3. 他の治療法との比較及び遺伝子治療を選択した理由

本臨床試験の対象疾患である、転移性又は局所再発性の内分泌療法抵抗性前立腺癌の、診断及び経過観察は、腫瘍マーカーである血清 PSA の測定や、CT、MRI などの画像診断により、非常に正確に、しかも詳細に行うことが可能である。しかしながら、これらの患者の治療は非常に困難である。現在、様々な治療法が、転移性又は局所再発性の内分泌療法抵抗性前立腺癌に対して行われているが、真に有効な治療法はいまだに確立されていない。

(外科的治療法) これらの患者に対する外科的治療法としては、前立腺癌骨転移による病理学的骨折の治療若しくは疼痛を緩和する為に、骨転移症例にのみ適応があり、せいぜい姑息的手段としかならない。

(放射線療法) 骨転移症例において、疼痛緩和の意味で放射線療法が適応となることがあるが、あくまで対症療法であり病状の悪化を防ぐものではない。また、前立腺摘出術後の局所再発巣に放射線を照射することもあるが、満足な効果は得られていない。また、骨転移巣への照射は骨髄抑制を引き起こし、局所再発巣への照射は尿失禁やインポテンツ、消化管穿孔などの副作用を引き起こす可能性がある。このように放射線療法は患者の QOL の向上を目指した対症療法として行われることがあるが、逆にその副作用により却って患者の QOL を損なう可能性が懸念される。

(抗癌化学療法) 内分泌療法抵抗性の進行性前立腺癌の治療において、現在、複数の薬剤を併用する抗癌化学療法のプロトコールが開発され、一部のプロトコールで有効性が報告されているが、その延命効果に関してはいまだに満足な結果は得られていない。抗癌化学療法に伴う、骨髄抑制や著明な食欲不振、吐き気、神経障害などの重篤な副作用を考慮すると、患者の QOL 面からいつでも決して有効な治療法とはなり得ていないのが現状である。

今回、我々の計画した遺伝子治療臨床研究は、内分泌療法抵抗性の進行性前立腺癌の転移巣又は局所再発巣に CT 又は超音波ガイド下に直接 Ad-OC-TK アデノウイルスベクターを注射し、引き続きバラシグロビルを経口投与するという治療法であり、ヴァージニア大学で行われた 11 症例に対する臨床研究でも重篤な副作用は報告されておらず、この治療による患者の QOL の低下も全く

認められなかった。また分子生物学に基づきデザインされた今回の治療法では、理論的には、ベクター注入部での前立腺癌の縮小が期待され、それに伴い患者の QOL の向上及び延命効果が期待される。

以上のように本治療法は従来の他の治療法に比較して、患者の QOL の向上といった面などからいっても非常に有望であり、さらに将来的には適正な用量設定などがなされた後には、患者の延命効果の面からいっても非常に有望な治療法となりえることが期待される。従って、我々は今回、内分泌療法抵抗性の進行性前立腺癌の治療に本遺伝子治療法を選択した。

6. 遺伝子及び遺伝子導入方法

今回、我々が導入を企図する遺伝子は臓器特異性プロモーター、OC プロモーターで発現制御可能な単純ヘルペスウイルスチミジンキナーゼ、HSV-TK 遺伝子であり、その遺伝子はアデノウイルスベクターを介して癌細胞に導入する予定である。

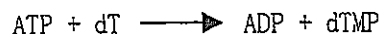
6-1. HSV-TK 遺伝子の構造と性質

6-1-1. HSV-TK 遺伝子の構造

今回、我々が導入を企図する HSV-TK 遺伝子の全塩基配列は、添付資料 1, Ad-OC-TK ベクターの全塩基配列に明記した。

6-1-2. HSV-TK の性質

HSV-TK (Herpes Simplex Virus - thymidine kinase) は単純ヘルペスウイルスのもつチミジンキナーゼでチミジン (正確にはデオキシチミジン; dT) の代謝に関与した酵素であり、以下の反応を触媒する。



6-1-3. 導入細胞における HSV-TK の生物活性

単純ヘルペスウイルスのチミジンキナーゼ (TK) 酵素はヒトの TK 酵素に比較してプリンアナログ (ガンシクロビル又はアシクロビル) に対して親和力が高い。HSV-TK に対する、これらのアナログの親和力は、これらの抗ウイルス薬としての臨床的有用性が証明している。Moolten (文献 1)

らは HSV-TK を発現する癌細胞がガンシクロビルの投与により殺傷されうることを示した。単純ヘルペスウイルスの HSV-TK はガンシクロビルやアシクロビル等のグアニンアナログをリン酸化する酵素をコードする。段階的にリン酸化され、最終的に三リン酸化された代謝産物は、癌細胞における DNA 合成を阻害し、癌細胞における DNA 鎖の分裂及び細胞死、アポトーシスを引き起こす。

6-2. Osteocalcin promoter 遺伝子の構造と性質

6-2-1. Osteocalcin promoter 遺伝子の構造

HSV-TK 遺伝子上流に約 1.3Kb のマウス OC プロモーターを配列することにより、臓器特異的な HSV-TK 遺伝子の転写活性を実現した。マウス OC プロモーター遺伝子の全塩基配列は、添付資料 1, Ad-OC-TK ベクターの全塩基配列に明記した。

6-2-2. Osteocalcin promoter の性質

OC プロモーター(文献 2, 3)は、造骨中の骨内に見られる骨芽細胞で機能する組織特異的のプロモーターで、OC 遺伝子の転写を誘導し OC タンパク質の発現をもたらす(文献 4)。組織内における OC タンパク質の発現は一般的に骨形成、骨芽細胞の活性化、石灰化、癌細胞の発育に伴う組織の微少石灰化と関係する。RT-PCR 法にてラットの肝臓、腎臓、十二指腸、肺、骨、そして脳において OC mRNA の発現を検出することができるが、骨での OC mRNA レベルは他の組織で検出されたものの 1000 倍であった。マウス OC promoter-directed transgene expression Assay においてはマウスの頭蓋冠、大腿骨、軟骨、骨髄そして少量ではあるが脳の細胞での OC プロモーター活性が確認された。また様々なヒト前立腺癌細胞株にてマウス OC プロモーターの活性が非常に高いことが確認された。

臨床検体においては、前立腺癌の原発巣及び転移巣(リンパ節と骨)での組織化学的免疫染色で OC タンパク質の発現が確認された。マウス OC プロモーターのヒト前立腺癌における臓器特異的なプロモーター活性が予想される。

マウスの OC プロモーターを HSV-TK 遺伝子の前に組み込んだ場合、OC プロモーターを活性化できる細胞(骨芽細胞及び前立腺癌細胞)でのみ TK 遺伝子は転写され TK 酵素が発現する。TK の発

現には、細胞が OC プロモーターを活性化させることができないので、前立腺癌細胞や骨造成を行っている骨芽細胞以外の OC を発現しない正常細胞においては Ad-OC-TK が感染しても TK は発現しないことが期待される。

6-3. アデノウイルスベクターを用いた遺伝子導入方法の概略及び当導入法を選択した理由

6-3-1. 野生型アデノウイルスの生物学的特徴及び人に対する影響

1953 年に、ウイルスの adenoviridae family が小児の咽頭、腺様組織より最初に分離された(文献 5)。現在までに、アデノウイルスの 6 つの属(a, b, c, d, e, f)及び 42 の血清型が同定されている(文献 6)。いくつかの分離株はヒト以外の動物の腫瘍との関連が示唆されたが、ヒトの腫瘍と関連するものはない。本研究に用いられたアデノウイルスベクターは c 属、血清型 5 (Ad5 と呼ばれる)に属する。野生型 Ad5 はいかなる腫瘍の形成とも関連していない。Ad5 による感染の結果、一般の感冒と同様の軽度な症状を持つ、上気道、眼、リンパ節、鼻の粘膜の急性炎症が起こる。人の C-type アデノウイルスへの感染は一般的で、ヒト成人の大多数はこのタイプのアデノウイルスに対し血清抗体陽性である。

6-3-2. Ad-OC-TK ベクターの構造と作製方法

アデノウイルスは全質量の 13% を占める DNA と 87% を占めるタンパク質を含む、直径 65-80 nm の正二十面体の構造を有する。ウイルスの DNA は約 36 kb の長さである。アデノウイルス蛋白の発現は、一般的に早期と後期とに分類される。6 つのタンパク質が早期(E1A, E1B, E2A, E2B, E3, E4)に、他のタンパク質(L1, IVa2, IX)は後期に発現する。E1A と E1B はウイルス DNA の複製に重要な役割を果たす。E2A は DNA 結合タンパクをコードし、E2B は DNA polymerase 及びウイルスゲノムの 5' 末端に見られるタンパクをコードする。E3 はウイルス DNA の複製に関連しないが、ウイルスの感染に対する宿主免疫反応を引き起こすと考えられる。E4 蛋白はウイルスの構築と関連すると考えられている。本研究に用いられる Ad-OC-TK ベクターは、E1A 及び E1B 部分が欠損しておりその欠損部にマウス OC プロモーターで転写制御される HSV-TK 遺伝子が挿入されている。

尚、Ad-OC-TK ベクターの全塩基配列を添付資料 1 に示す。また本臨床研究に用いられる

Ad-OC-TK の作製方法としては、現行の米国 GLP 基準に従って、マスターセルバンク、マスターウイルスバンクなどの原材料が米国 Magenta 社において作製され、その後、ウイルスの増殖から最終製品に至るまでの過程を米国 Molecular Medicine 社において行われている。

Ad-OC-TK の作製方法を添付資料 2 に詳細に示す。

6-3-3. アデノウイルスベクターの特徴

遺伝子治療に用いられる、遺伝子導入法としては、非増殖性ウイルスベクターを用いる方法、リポソームを用いる方法、naked DNA を直接導入する方法などが実用されており、さらに新しい工夫もいろいろ試みられている。しかし、HSV-TK 遺伝子を直接癌組織に導入する *in vivo* 遺伝子治療である本研究の場合、できるだけ多くの癌細胞に高率に遺伝子導入することが局所効果を期待するためには重要であり、高い導入効率を有するベクターが適しているといえる。

マウス白血病由来のレトロウイルスベクターが基礎実験や臨床応用の実績から、その遺伝子導入効率や安全性についてもよく研究されており、米国を初めとする各国の遺伝子治療のプロトコールに用いられている。しかし、このレトロウイルスベクターの短所としては、高力価のウイルスを得ることが困難なこと、活発に増殖している細胞にしか感染できないことなどがあげられる。そこで近年、高力価で非増殖性細胞にも感染可能なアデノウイルスベクターが注目されており、種々の組織での高い遺伝子導入効率が証明されている。

アデノウイルスベクターの局所内投与による遺伝子治療は、これまでに、他の様々な研究者によっても安全に行われてきた。進行性の肺癌(文献 7)、頭頸部癌(文献 8)に対しては Ad-CMV-p53 を用いた遺伝子治療が認可されており、さらには Ad-RSV-TK ベクターの前立腺内への注入もすでに実施されており、それらの安全性が確認されている(文献 9)。このように、アデノウイルスベクターはその高率な遺伝子導入高率故に *in vivo* 遺伝子治療に適しているとされている。

アデノウイルスベクターの問題点としては 1) 細胞毒性の問題、2) 免疫反応の問題がある。細胞毒性は高い MOI のアデノウイルスベクターが作用した場合に問題となる。また免疫反応としては標的細胞からの IL-6 や IL-8 などのサイトカインの産生による非特異的炎症反応、中和抗体が

產生される液性免疫反応、細胞障害性 T リンパ球 (CTL) が誘導される細胞性免疫反応などが考えられている。

またアデノウイルスベクターの安全性に関しては、米国では30年以上の間、約100万人の兵士に対しワクチンとしてアデノウイルスが投与され、その後重篤な副作用の報告がなかったという実績を持つ。

また、遺伝子治療に用いられるアデノウイルスベクターでは E1A, E1B, 及び E3 欠損型の非増殖性アデノウイルスベクターが用いられる。E1A・E1B 遺伝子の欠損部には、代わりに HSV-TK 遺伝子がマウスオステオカルシン (OC)・プロモーター及びシミアンウイルス 40 (SV40)・ポリ A シグナルとともに組み込まれている。この組換えウイルスベクターは、E1A・E1B 遺伝子を持続的に発現しているヒト胎児腎由来細胞株 (293 細胞) 内で高力価になるまで増殖する。このウイルスベクター液を他の培養細胞や動物組織に感染させると、ウイルス粒子は細胞内に高率に侵入してウイルスゲノムは核内へと注入される。しかし、次に発現すべき E1A 遺伝子が欠損しているため、この蛋白質により転写活性化を受ける他のすべてのアデノウイルスプロモーターは駆動することができず、ウイルスの生活環はここで停止する。そして、OC プロモーター活性を持つ細胞 (前立腺癌細胞、及び骨芽細胞など) において、OC プロモーターから転写される HSV-TK 遺伝子のみが発現することになる。

OC プロモーターの方向と E2 及び E4 遺伝子の向きは逆方向になるため、OC プロモーター活性が E2 及び E4 遺伝子の転写を引き起こすことはない。また、他の正方向のアデノウイルス由来の遺伝子は OC プロモーターの位置から遠く離れており、なおかつリニアなアデノウイルスゲノム上には SV40 ポリ A シグナルの他に少なくとも 4 個のポリ A シグナルが存在することから、OC プロモーター活性がこれらの遺伝子を活性化する可能性は考えにくい。

アデノウイルスベクターによる外来遺伝子発現の持続性は比較的長いものの一過性発現であり、染色体への積極的な組み込み機構は有していない。したがって、患者に直接ウイルスベクターを投与する *in vivo* 治療においても、移入遺伝子による副作用が永続することは考え難く、また宿主ゲノム内への組み込みに伴う挿入突然変異を考慮する必要もないと考えられる。さらに、極めて

高力価の精製ウイルスが得られる点も、アデノウイルスベクターが *in vivo* 遺伝子治療に適している理由の一つである。

7. これまでの研究成果

Ad-OC-TK ベクターを用いた癌に対する遺伝子治療の研究は、その開発から臨床応用まで、主に研究協力者である Leland W. K. Chung 教授（ヴァージニア大学, 現エモリー大学）の研究室において行われている。その開発から基礎研究までの過程で、本臨床研究の実施者である後藤章暢、白川利朗、和田義孝らが多くの研究に従事しその一部を論文として報告している。（文献 10, 11, 12）また 1999 年 7 月に承認され、ヴァージニア大学で実施された第 1 相臨床試験（前立腺癌に対する Ad-OC-TK 及びバラシクロピアの併用療法）ではこれまでに 11 人の患者に本臨床試験と同一の遺伝子治療が行われ、その途中報告が論文にてなされている（文献 13）。

以下に、論文等にて未発表の多くのデータを加え、これまでの研究成果を述べる。

7-1 培養細胞を用いた研究成果

Ad-OC-TK 及びアシクロビル併用療法の *in vitro* における細胞殺傷効果はラット (ROS17/2.8) 及びヒト (MG-63) 骨肉腫の細胞において既に報告されている（文献 10, 11）。

前立腺癌細胞と骨肉腫細胞は共に、OC の mRNA と蛋白を高度に発現している。これらの癌のオステオカルシン発現は、オステオカルシンプロモーターの積極的な転写調節に基づく自殺遺伝子 (HSV-TK) の発現、及びそれに引き続くプロドラッグ、アシクロビル投与後の細胞死を理論的に約束する。

オステオカルシンプロモーターの様々な細胞株におけるプロモーター活性を評価するために thymidine kinase functional assay を行った（文献 14）。方法としては、細胞を Ad-OC-TK に感染させた 72 時間後に細胞を採取し細胞数を計測する。計 3 回の凍結/融解の後、溶解質を採取する。この溶解質は次にトリチウム標識されたガンシクロビルと混ぜられ、トリチウム標識されたガンシクロビルの加リン酸化された形態の総量を 2 時間後にシンチレーションカウンターを用いて計

測し、OC プロモーターによって転写された HSV-TK の値を測定した。結果、前立腺癌細胞及び骨肉腫細胞にのみ細胞特異的な TK 活性の上昇を認めた（添付資料 3, Figure 1）。

これら HSV-TK の発現に加え、アシクロビルを投与し、*in vitro* の killing assay が行われた。Ad-OC-TK/ACV が各種前立腺癌細胞、LNCaP, C4-2, PC-3, DU-145 細胞において細胞毒性を起こしかどうかを確認した。方法としては、 5×10^3 の細胞が各細胞につき 24 well のプレートにまかれ、細胞は Ad-OC-TK に感染され、7 日間アシクロビル ($10 \mu\text{g/ml}$) にて処理された。

In vitro において OC プロモーターにより引き起こされる高い TK 活性に比例して (Figure 1), PC-3, LNCaP, C4-2 は day7 から day9 までの観察期間において Ad-OC-TK プラス ACV の細胞毒性が認められたが、DU-145 においては認められなかった（添付資料 3, Figure 2）。

また各種細胞のアデノウイルスベクターに対する感受性決定のため、Ad-CMV- β gal を用いて、80%以上の遺伝子導入効率、すなわち 80%以上の X-gal 陽性細胞を達成する MOI を決定した。結果、DU-145 細胞は 200moi を必要とし、一方テストされた他のすべての細胞株は 20moi で 80%以上の遺伝子導入効率を示した。続いて我々は *in vitro* における ACV (0 から $1000 \mu\text{g/ml}$ の幅に設定された) 単独の細胞毒性につき評価した。ACV は $40 \mu\text{g/ml}$ 以下の濃度において、すべての細胞株で細胞の発育を阻害しなかった。

7-2 実験動物を用いた研究成果

文献 10, 11 に示されたように、骨肉腫動物実験モデルにおいて行われた、Ad-OC-TK/ACV による *in vivo* の腫瘍増殖抑制効果の確認が前立腺癌モデルにおいても施行された。最初に、PC-3 腫瘍を、胸腺のないヌードマウスの皮下に発育させ、Ad-OC-TK 若しくは PBS を腫瘍に局所注射し、ACV 若しくは PBS を腹腔内へ連日、21 日間投与し、腫瘍の発育を 45 日間観察した。

方法としては、ヌードマウスへ PC-3 細胞 (2×10^6 cells/site) を皮下注射し、PC-3 腫瘍の異種移植腫瘍を発育させた。腫瘍が触知可能となった（おおよそ直径 4 mm から 5 mm）後に、マウスは Ad-OC-TK（各注入あたり 1×10^8 pfu にて day1, 3, 5 に）、アシクロビル（3 週間の間 40mg/kg に

て連日腹腔内投与される), 若しくは Ad-OC-TK とアシクロビルの併用療法にて治療された。腫瘍の体積は連日, 計測された。その結果を figure 3 に示す。腫瘍体積の平均は day29 と day45 において Ad-OC-TK プラス ACV の治療グループの方がすべてのコントロールグループに対して有意に小さかった ($p < 0.005$)。Figure 4 にコントロール及び治療グループの代表的な肉眼的腫瘍像及び組織学的所見を示す。Ad-OC-TK プラス ACV の併用療法を施行された腫瘍が腫瘍体積の著明な減少を示すことがこれらの実験によって明らかになった (Figure 4 panel i 及び ii)。Ad-OC-TK プラス ACV にて治療された腫瘍内へのリンパ球及び炎症細胞の出現による腫瘍中心部の著明なネクロシスが組織形態学的実験により示された (Figure 4 panel iv)。コントロール群の動物は腫瘍のネクロシス若しくはリンパ球浸潤をほとんど示さなかった。

Ad-OC-TK の前立腺癌若しくは骨転移巣における腫瘍増殖抑制効果を確認するために, 骨における異種移植腫瘍モデルが胸腺のないヌードマウスにおいて PC-3 若しくは C4-2 細胞株を用いて樹立された (文献 15)。最初に, PC-3 細胞がヌードマウスの骨内腔に注入された。PC-3 細胞接種の一週間後より, 二回の Ad-OC-TK の骨内腔への注入を受け, その後 ACV (40mg/kg) の投与を連日, 二週間受ける。さらに腫瘍接種後 4 週間後に X 線写真が撮影された。Figure 5 は PC-3 骨内腫瘍の代表的な X 線写真像を示した (A コントロール B 治療)。Figure 6 は, 腫瘍標本に対応する病理組織所見である。典型的な低分化型で invasive な組織像が骨内に腫瘍細胞を接種されたコントロール動物において, 一貫して観察された。本研究において, 治療された大腿骨内に残された腫瘍の壊死した組織像は, この骨の比較的正常な放射線学的外観と一致する。

骨環境内でヒト前立腺癌細胞の成長を調節する Ad-OC-TK の能力は C4-2 骨内異種移植腫瘍モデルを用いても確認された。C4-2 株は転移能を持ち, アンドロゲン非依存性で, PSA を産生する (文献 15)。遠位大腿骨への C4-2 の骨内接種の一週間後より, Ad-OC-TK が遠位大腿骨内へ投与された。血清 PSA 値が治療一週間後及び治療後三週, 五週に検査された。各々のコントロールグループは腫瘍の発育に応じて見られた PSA 上昇のパターンを示した。C4-2 モデルにおける X 線上の骨形成変化は同定されるのに最低でも 6 週間かかるために放射線医学的評価の代わりに血清 PSA が代理の結果として用いられた。Figure 7 にコントロール及び治療群の C4-2 骨内腫瘍を有するマウスの血

清 PSA 値を示す。Figure7 は血性 PSA がコントロール及び Ad-OC-TK/ACV で治療されたマウスの両者において検出されうることを示す。しかしながら、3 週と 5 週の間に、有意な PSA の低下 ($p < 0.01$) が Ad-OC-TK プラス ACV にて治療されたマウスにおいてのみ認められた。Figure 8 には、3 週から 5 週にかけての、PSA 値の変化の割合をグラフ化したものを示す。すべてのコントロール群において血清 PSA の特徴的な上昇の継続が認められた、一方治療群においてのみ血清 PSA の低下が示された。

7-3. 米国で行われた遺伝子治療臨床研究の研究成果

臨床試験に先立ち、本臨床試験の理論的根拠の裏付けとして、前立腺癌患者の前立腺原発巣、リンパ節転移巣、及び骨転移巣における OC 蛋白の発現を調べるため抗 OC 抗体を用いた組織免疫染色が行われた。Figure9 に、代表的な限局性前立腺癌 (A. H&E, B. OC IHC)、リンパ節転移 (C. H&E, D. OC IHC)、骨転移 (E. H&E, F. OC IHC) の OC モノクローナル抗体 (TAK Mo31 Panvera, Madison, WI) による免疫染色を行った組織像を示す。原発巣及び転移性前立腺癌における抗 OC 抗体による染色は、OC 蛋白の発現を示唆する。したがってそれら前立腺癌の原発巣及び転移巣における高い OC プロモーター活性が示唆され、Ad-OC-TK ベクターの前立腺癌原発巣及び転移巣における高率の HSV-TK 遺伝子導入発現が期待される。

以下に、1999 年 7 月に承認され、ヴァージニア大学で実施された第 1 相臨床試験（前立腺癌に対する Ad-OC-TK 及びバラシクロビルの併用療法）の研究成果を述べる。（文献 13、抜粋和訳）

Trial Design 今回の phase I 臨床研究における、第一の目的は、本遺伝子治療法の安全性の評価であり、12 - 18 人の患者の登録を予定している。第二の目的は、生物学的な有効性の確認であり、転移若しくは局所再発を起こした前立腺癌患者に対する、本治療法の有効性を評価することである。本臨床研究では、ホルモン抵抗性の転移性若しくは局所再発を起こした前立腺癌を有する患者に対する治療に、複製不能なヒトアデノウイルス、Ad-OC-TK を用いた。転移巣は画像診断学的に測定可能で、CT 若しくは US ガイド下にウイルスベクター注入可能な症例を選択した。一人の

患者につきウイルスベクター注入個所は一部位のみである。泌尿器科医、オンコロジスト、そして放射線科医の研究チームが患者の適応基準を評価した。

プロトコール上、ウイルスの投与量は、 2.5×10^8 pfu を最小量として3段階の投与量を設定した。ウイルスの溶液量は、投与に指定した腫瘍の体積によって0.5-2mlの容量に設定した。各患者は1コースの治療において、計二回のウイルス注入を受けた。一回目は第一日目、そして二回目は第八日目である。それぞれのウイルス注射の後、患者は入院の上、48時間経過観察をおこなった。治療第一日目より、一日二回のバラシクロビルの経口投与を21日間行った。治療第一日目と第八日目のAd-OC-TKの注射に先立って、治療部位より最低二カ所若しくは三カ所の生検を18ゲージのBiopsy Needleにて行った。治療部位よりの生検は第三十日目にも行った。この材料の一部は液体窒素の中で新鮮なまま保存され、一部は初代培養で細胞株を作るのに用いられ、他は、病理学的評価と、将来のマーカーでの評価のためにパラフィン化された。

投与量、ドーズの増加は以下のスケジュールにて行われた：三人の患者が低用量のドーズ(2.5×10^8 pfu)の注射を受け、三人の患者が中用量のドーズ(2.5×10^9 pfu)を受け、そして残りが高用量のドーズ(2.5×10^{10} pfu)を受けた。おのおのの患者は治療期間中、副作用及び病理学的な効果に対して注意深く観察された。観察は様々なタイプの血液ルーチンワーク、たとえばCBC、肝機能評価、PT/PTT、BUN/Cr、血清化学の測定、PSA、PAPの測定、そして検尿により行われた。治療開始後、最初の三十日間には特に厳重に経過観察がなされた。ウイルスの体内動態は、治療前及び治療中に血清ウイルス量及び血清OCレベルを測定する事によりモニターされた。

全患者が治療前及び治療中に多くの画像診断を受けた。これは胸部X線写真、骨シンチ、腹部骨盤部のCT、骨の部分のMRI、そして「全身的な」骨の検査、そして、適応があるときは前立腺部のTRUSが行われた。加えて、PETが選択された患者に施行された。解剖学/形態学と機能検査の総合評価が、腫瘍関連パラメーターとの相互関係とともに、アデノウイルス遺伝子治療の有効性の評価に用いられた。登録された全患者が、画像診断学的に二方向で測定可能な評価病巣を有するので、治療の有効性を画像診断学的に評価することが可能であった。

治療の有効性は血清腫瘍マーカー(PSA、PAP、ALP)や痛みの軽減などにおいても評価された。

QOL に関する, 様々なパラメーターを評価する広範囲の問診もプロトコールに含まれた。

適応基準には, 一般的な評価基準も含まれている。鎮痛薬の投与量が安定している, ホルモン療法抵抗性, ECOG のパフォーマンスステータス ≤ 2 , 抗癌化学療法などの他の治療法が現在行われていない, そしてインフォームドコンセントを理解する能力を備える, などの項目である。加えて通常の肝機能, 腎機能や通常の血小板数やPT/APTTが適切な血球数のパラメーター(ヘモグロビン ≥ 8.5 , 好中球 >1000)を示すことなどが適応基準項目に含まれた。

Progress report

低及び中用量群(各 dose levelにつき三人ずつ)は臨床的合併症なしに injection phaseを終えた。; 高容量群のうち5人を含む合計11人が injection phaseを完了した。本臨床研究の年齢分布は53-77歳であった。出身地分布はテネシー, ニューヨーク, メリーランド, カリフォルニア, ペンシルベニア, そしてヴァージニアを含む。プロトコールに準じて, すべての被験者が転移性若しくは局所再発の前立腺癌であった。患者は手術, 放射線, ホルモン療法, そして定型的な化学療法に抵抗性であった。全員が生検により指標部位の前立腺癌の組織型の確認がなされた。全患者が進行性の病期を示しており, ホルモン療法抵抗性であった。

治療前のPSA値は0.98から170までであった。この母集団では, ある患者は非常に高いPSA値をしめし, 一方別の患者は非常に低い値を示した。登録患者の概要を以下に示す。

患者	Dose	注入された指標部位	治療前 PSA 値 (ng/ml)	Follow-up
1	低 (2.5×10^8 pfu)	局所の前立腺窩	9	≥ 270 日
2	低 (2.5×10^8 pfu)	リンパ節	170	≥ 180 日
3	低 (2.5×10^8 pfu)	リンパ節	19.52	≥ 180 日
4	中 (2.5×10^9 pfu)	L3 腰椎	0.98	≥ 180 日
5	中 (2.5×10^9 pfu)	座骨/腸骨 (骨盤骨)	160	≥ 180 日
6	中 (2.5×10^9 pfu)	局所の前立腺窩	2.7	≥ 180 日
7	高 (2.5×10^{10} pfu)	リンパ節	83	≥ 120 日
8	高 (2.5×10^{10} pfu)	腸骨 (骨盤骨)	45	≥ 120 日
9	高 (2.5×10^{10} pfu)	リンパ節	21	≥ 180 日
10	高 (2.5×10^{10} pfu)	L2 腰椎	14	≥ 120 日
11	高 (2.5×10^{10} pfu)	L2 腰椎	128	≥ 120 日

前臨床研究及び動物実験による副作用研究により予想されたように、OC プロモーターの活性は骨組織及び腫瘍に限定された。臨床的には、明らかな毒性は認められなかった。ウイルスの一過性の全身循環が認められたが、肝毒性は認められなかった。局所再発巣にウイルスを注射された患者においては、尿中に一過性にウイルスが検出されたが、すぐに消失した。多くの症例で、急性の (< 24 時間) "flu-like" 症候群が認められた。これは熱発、時に悪寒、そして倦怠感の自覚などの症状を呈し、まれに筋痛、関節痛を伴った。この所見と関連して、リンパ球数の軽度の上昇が 72 時間以内に認められた。また、骨転移巣にベクターを注入した 5 例の患者 (患者 #4, 5, 8, 10, 11) については、ベクター注射後の生検組織の解析上、PCR 法にて 5 例全例に TK 遺伝子の発現を認めた。また組織学的検討では免疫染色により 5 例中 3 例に TK 蛋白の発現を認め、TUNEL 法にて 5 例中 3 例にアポトーシスの誘導を認めた。また病理組織学的には 5 例全例に炎症細胞の出現や癌細胞の減少、線維化像などの変化を認めた。

他の施設で行われた HSV-TK 遺伝子を用いた遺伝子治療臨床研究については、Phase I から III までのいくつかの臨床研究が論文化されている (文献 16-22)。それらの論文では安全性と遺伝子導入効率などを中心に検討している。治療効果に関する検討においては、文献 21 の論文で、Glioblastoma に対する治療で、従来の手術療法と放射線療法に遺伝子治療を追加した群と従来の

手術療法と放射線療法のみ行った群を比較した大規模な Phase III 試験を行っているが、治療効果の有意な差は認められなかった。しかしながら文献17または22の論文ではベクター注入部の局所的な治療効果が病理組織学的には認められており、また画像上、多くの症例で病変部の Stabilization が得られた例などが報告されている。以上のように、HSV-TK遺伝子を用いた癌に対する遺伝子治療法は現在までに明確な治療効果は確認されていないが、今後さらにその治療効果、有用性などを検討する価値は十分にある治療法と考えられる。

以上の結論として、本治療法は、従来の化学療法などと比較して副作用は非常に軽度であり、今後、本治療法が患者にとって有益な治療法となることが期待された。

8. 安全性についての評価

8-1. 遺伝子導入方法の安全性

8-1-1. 遺伝子導入に用いるウイルスベクターの安全性

本研究に用いられる Ad-OC-TK ベクターは、現行の米国 GLP 基準に従って、マスターセルバンク、マスターウイルスバンクなどの原材料が米国 Magenta 社において作製され、その後、ウイルスの増殖から最終製品に至るまでの過程を米国 Molecular Medicine 社において行われる。Magenta 社、Molecular Medicine 社及び神戸大学で実施される Ad-OC-TK ベクターの安全性試験について以下に述べる。

1) Magenta 社で実施される試験

マスターセルバンク、マスターウイルスバンクなどの原材料に関しては、FDA 基準に従った純度を含む安全性項目のすべてが Magenta 社において確認される。

a) 293 細胞のマスターセルバンクの品質管理試験

- 1) ウイルス存在否定 in vitro 試験
- 2) ウイルス存在否定 in vivo 試験
- 3) 透過型電子顕微鏡によるウイルス粒子の評価

- 4) HIV 否定試験 (バイオアッセイ・ELISA)
- 5) アイソザイムによる細胞確認試験
- 6) ソフト・アガロース培養試験
- 7) サイトメガロウイルス否定 in vitro 試験
- 8) B 型肝炎ウイルス表面抗原 (HBsAg) 検出試験
- 9) EB ウイルス DNA 検出 in vitro 試験
- 10) Adeno-Associated Virus (AAV) DNA 検出 in vitro 試験
- 11) ヒトパルボウイルス B-19 DNA 検出試験
- 12) HTLV-I, HTLV-II 検出 PCR 試験
- 13) 無菌・真菌否定試験
- 14) マイコプラズマ否定試験
- 15) レトロウイルス否定試験 (逆転写酵素活性)
- 16) C 型肝炎ウイルス検出試験 (PCR)
- 17) 腫瘍形成能確認試験 (ヌードマウス)

b) Ad-OC-TK マスターウイルスバンクの品質管理試験

- 1) 無菌試験
- 2) ウイルス存在否定 in vitro 試験
- 3) ウイルス存在否定 in vivo 試験
- 4) マイコプラズマ否定試験
- 5) HTLV-I, HTLV-II 検出 PCR 試験
- 6) HIV 検出 PCR 試験
- 7) EB ウイルス検出 PCR 試験
- 8) サイトメガロウイルス検出 PCR 試験
- 9) B 型肝炎ウイルス検出 PCR 試験
- 10) Adeno-Associated Virus (AAV) DNA 検出 in vitro 試験

11) ヒトパルボウイルス B-19 DNA 検出試験

2) Molecular Medicine 社で実施される試験

最終製品の品質管理試験

- 1) 純 度：力価測定, OD 比, 塩化セシウム残量, 蛋白質含量,
ウイルス粒子/PFU 比, SDS-PAGE
- 2) 確認試験：ウェスタンブロット解析, 制限酵素マッピング
- 3) 無菌試験：培養上清中の好気性・嫌気性細菌, 真菌, マイコプラズマの混入
- 4) 異常毒性否定試験：外来性の毒性物質の混入を検出するために, モルモットと
マウスに検体を接種し体重の変化と予知できない生体反応について観察する。
- 5) エンドトキシン試験：Limulus Amebocyte Lysate (LAL) gel-clot 法を用いて,
検体中のグラム陰性菌のエンドトキシン・レベルを定量的に検出する。
- 6) RCA 検出試験：最終バイアルより 10 バイアルをサンプリングして実施
(試験方法については「8-1-2-2. 増殖性ウイルスの検出法」の項を参照)

3) 神戸大学で実施される試験

a) 受け入れ試験

Ad-OC-TK アデノウイルスベクターの最終製品は凍結した状態で日本へ輸送され, 受け入れ機関である神戸大学において受け入れ試験を行うウイルスベクターは同一ロットの製品が概ね 1 回の治療分に分注された状態で搬入されるため (10-20 バイアルの予定), 凍結された 1 本を抽出, 融解後に受け入れ試験を実施する。

- 1) 変性の有無を確認する外観試験,
融解後ベクター液の混濁の有無を肉眼で確認する。
- 2) ウイルスの力価の測定,
ウイルス粒子の測定と, プラークアッセイを神戸大学遺伝子診断室において実施する。
- 3) Ad-OC-TK の生物学的活性を確認するための殺細胞効果試験

ヒト前立腺癌細胞である PC-3 を用いた in vitro cytotoxicity assay を行う。詳細は 7-1 培養細胞を用いた研究成果を参照。

なお、本受け入れ試験は、空輸時における予期せぬ温度上昇に起因する力価低下の有無を検定する目的で、神戸大学に搬入された時点で施行する。

b) 年 2 回の力価測定

神戸大学において、受入れ試験後も年 2 回試験管内での効力（力価）をチェックし力価の低下が無いことを確認して使用することとする。最初の PFU で示す力価から 25%以内に維持されていない場合は、これを破棄する。

4) 製品の保管について

品質管理用として、米国 Molecular Medicine 社において同じロットの製品が一部保管されることとなっているが、神戸大学においても同様にバイアルの一部を保管する。

8-1-2. 増殖性ウイルス出現の可能性

8-1-2-1. 増殖可能なアデノウイルス (replication competent adenovirus, RCA) 出現の機序

遺伝子治療に用いられるほとんどのアデノウイルスベクターは 2 型若しくは 5 型 C 型アデノウイルスより作製される。第 1 世代のウイルスに対して、ウイルス複製に必要な E-1 部がウイルスより除かれそして特定の目的遺伝子に置き換えられた。第一世代の組換え型アデノウイルスは、293 細胞において起こるように、E1 部位の必要な遺伝子がトランスに発現されなければ複製することが出来ない。すなわち非増殖性アデノウイルスは、E1 遺伝子を発現しない一般の細胞内ではウイルスの複製が出来ない。非増殖性アデノウイルスはこれらの細胞に感染できるが、その細胞内で複製は出来ない。同時に、非増殖性アデノウイルスは感染した標的細胞内で目的の遺伝子を発現する。ウイルスの複製の起こらない感染及び遺伝子発現の過程は、第 1 世代アデノウイルスベクターを用いたほとんど（全部ではないにしろ）の遺伝子治療法の基本である。

これらの第1世代アデノウイルスベクターを複製するために、除去された E-1 部位を補足するヘルパー細胞株が必要とされる。組換え型アデノウイルスベクターの増殖に用いられる主要な細胞株は 293 細胞株である。293 細胞株は除去された Ad5DNA の E1 部分を、胎児性腎細胞に遺伝子導入することにより作製される。結果として、293 細胞株は、ヒト 5 型アデノウイルスの E1a 及び E1b をコードするアデノウイルスゲノムの左腕の 12%を含んでいる。

組換え型アデノウイルス作製の間に、293 細胞は失われた E-1 部位をトランスに供給する。それ故ウイルスの増殖のために、アデノウイルスゲノムと目的の遺伝子の両者を含む DNA の構成物が 293 細胞内に co-transfect される。組換え型アデノウイルス遺伝子産物と 293 細胞により提供される E1a の存在下に組換え型アデノウイルスベクターは複製を開始する。この方法により作成されたアデノウイルスベクターはさらに 293 細胞内にて増殖させることができる。一般的に、293 細胞への 1 particle の組換え型アデノウイルスの感染は 10000 Particle 以上の子孫アデノウイルスを生じうる。この方法により、多量の高力価ウイルスが得られるのである。

同時に、非増殖性アデノウイルスベクターに、293 細胞に含まれる E-1 部位が、一回の相同組換えにより挿入されることで、増殖性アデノウイルス (RCA) の出現が起こり得る。ウイルスと 293 細胞間の一回の相同組換えが起こる頻度は最低で 10^6 回の組換えイベントに一回であると予想される。

8-1-2-2. 増殖性アデノウイルスの検出法

細胞内で増殖可能なアデノウイルス (replication competent adenovirus, RCA) の混入を調べるためには、現在、アデノウイルスに感受性をもつ細胞 (ヒト子宮頸癌由来 HeLa 細胞、ヒト肺癌由来 A549 細胞) を用いたバイオアッセイが一般的に行われており、FDA もこの検出方法を推奨している。研究室レベルでは精製された Ad-OC-TK ベクターを用いて、HeLa 細胞アッセイが行われている。Ad-OC-TK ベクターを HeLa 細胞に 100 MOI で感染させ、その細胞から頻回の凍結/融解の繰り返しにより得た抽出物を、再び HeLa 細胞と混合培養する。この HeLa 細胞から DNA を抽出し、PCR 解析を行って、Ad-OC-TK ベクターが検出されず、RCA が出現していないことを確認する。また、Ad-OC-TK

ベクター液に $[^3\text{H}]$ Thymidine を加え、ウイルス DNA がラベルされず、増殖可能な RCA が存在しないことを確認する。

規格では 10^9 PFU 中の RCA が 1 以下としているが、 10^{10} PFU のベクターを試験するためには 1 ロットのベクターを生産するのに相当する細胞を必要とするため試験としては現実的に実施不可能であり、 10^{10} PFU 以上の Ad-OC-TK ベクターでは RCA の混入の可能性は否定できない。米国ヴァージニア大学における第 1 相臨床試験は、すでに 2.5×10^{10} PFU レベルまで行われており、FDA はこの濃度の Ad-OC-TK ベクターを生体に投与することを了承している。

ヒトアデノウイルスは、遺伝的に安定な二重鎖 DNA ウイルスであり、レトロウイルスと比較して、生体内で突然変異が起きる可能性は低い。また、アデノウイルス DNA は、宿主細胞のゲノムに組み込まれることなく作用するため、Ad-OC-TK ベクターを患者に投与後、被験者の体内で内在性ウイルスなどとの組換えにより RCA が出現する可能性は極めて低い。さらに、被験者の体内で、ヒト由来の転写因子を利用して、わずかながら Ad-OC-TK ベクターが再度パッケージされる可能性があるが、このウイルス粒子にも E1 が欠損しているため増殖性はないと考えられる。

8-1-2-3. 増殖性アデノウイルスの人体におよぼす影響

増殖性すなわち野生型の 5 型アデノウイルスの出現は、人体にとっての重篤なリスクであるとは考えられない。抗体価を計測した Retrospective Study では、実際誰もが五歳までに 5 型アデノウイルスに感染していることを示した。さらに、ほとんどの感染は臨床上的の症状を示さない不顕性感染である。

5 型アデノウイルスとは対照的に、4 型や 7 型アデノウイルスは、特に米国における軍隊の新兵に特徴的な急性呼吸器疾患 (ARD) を引き起こす。これらの病原ウイルス予防ために、米国の軍隊は、様々な不活型の 4 型や 7 型のアデノウイルスワクチンを開発しテストした。筋肉内にこれらを注射したとき、これらのワクチンは安全で穏やかな免疫原性があることが分かった。しかしながら、セロコンバージョンの頻度とそれによるこれらのワクチン効果の度合いは満足いくものであるとは考えられなかった。

これらのワクチンの有用性を改善するために、第2世代のワクチンが開発された。アデノウイルスは消化器に感染する能力を持つため、Sabin polio ワクチンと同様に、経口製剤として投与されうるアデノウイルスワクチンが開発された。この目的のために生きた4型及び7型のアデノウイルス株が腸溶カプセルにて投与された。これらの処方では安全でかつ免疫原性があることが判明した。これらの経口製剤でのワクチネーション後に、セロコンバージョンの割合は平均約80%となった。過去二十年間、これらの生ワクチンは広範囲に使用され、数万人の軍隊の新兵に投与された。そして4型及び7型アデノウイルスの引き起こすARDを大いに減少させた。

増殖性アデノウイルスは様々な臨床試験においても使用されてきた。1950年代初期のアデノウイルスの最初の分離のすぐ後に、これらの“adenoidal-pharyngeal-conjunctival”(APC、現在はAd)ウイルスの病原性を理解するために、米国において医師がこれらのウイルスを健康で正常なボランティアに投与し始めた。これらの最初の研究により、APCウイルスは、結膜に感染した場合のみ、客観的に病状を示し、他の部位に接種されても何も起こらないことが確認された。これらの初期研究のフォローアップとして、増殖性アデノウイルスが、類上皮子宮頸癌の30人の患者の腫瘍内に直接投与された。これらの進行癌の予後が治療により改善された例は無かったが、アデノウイルス療法は15人の患者において重大な腫瘍崩壊効果を認めた。さらに、観察された腫瘍毒性は注入された癌に特異的で健常組織においては認められなかった。

これら初期の試みのおおよそ40年後に、増殖性アデノウイルスは再び癌治療薬として腫瘍内に注入された。Onyx “Ad 015”はp53に変異を持つ細胞内で複製する能力を持つE1Bの欠損した5型アデノウイルスで、結果としてp53の変異した細胞に細胞毒性を持つ。多くの癌はp53が変異しているので、Ad 015は様々なヒトの腫瘍において高率良く複製する。対照的に、正常なp53を持つ細胞はAd 015の複製を効率よく促すことが出来ない。それ故、理論的には、癌治療薬として用いられた場合、Ad 015はp53変異を有する標的腫瘍細胞への選択的細胞毒性を有すると考えられる。

2型及び5型アデノウイルスのキメラであるOnyx 015は現在様々な臨床試験にて用いられている。現在、第Ⅲ相臨床試験として、Ad 015は頭頸部癌に直接注入されている。第Ⅱ相臨床試験で治療された30人の患者のうち、25人の患者の腫瘍はAd 015と化学療法の併用療法に反応を示

した。さらに、治療された患者のうち19人で、Ad015を注入した腫瘍の最大面積において50%以上の縮小を認め、8人でAd015を注入した腫瘍が消失した。重要なことに、平均5ヶ月間の経過観察をされた患者において、治療に反応した19個の腫瘍のうち成長し始めたものは無い。

結論として、増殖性アデノウイルスの感染に関する情報は非常に多く集積されている。大きな母集団が50以上の血清型のアデノウイルスに感染し、これらのウイルスの健康への影響はよく知られている。ヒトにおいて、アデノウイルス感染の大多数の症状は、比較的良性の結膜炎と咽頭炎である。さらに、遺伝子治療の研究において主要なベクターとして用いられる野生型の2型及び5型アデノウイルスの感染の結果は、健康への影響がほとんど若しくは全くないsub-clinicalな症状である。アデノウイルスの最初の分離から、野生型アデノウイルスは健康な健常者及び癌患者に接種されてきた。すべての場合において、増殖性アデノウイルス接種は、長期間の毒性という結果にはいたらなかった。アデノウイルスワクチンは有効で安全であることが示されもしてきた。今日までに、米国の軍隊では、既に数万人の新兵に不活型と活性型のアデノウイルス製剤を接種し、流行性のARCの危険性を減らしてきた。それらの事実より低レベルのRCAの混入は患者の人体に悪影響をもたらす可能性は極めて低いと考えられる。

8-1-3. 遺伝子導入に用いるウイルスベクターの細胞障害性

Ad-OC-TKベクターの細胞障害性を、アデノウイルスベクターを用いた遺伝子治療で一般的によく用いられるユニバーサルプロモーター、CMVプロモーターを用いたAd-CMV-TKベクターと比較し安全性を検討した。

8-1-3-1. Ad-OC-TK及びAd-CMV-TKの静脈注射によるTK酵素発現の組織分布

Ad-CMV-TK(2×10^9 pfu)及びAd-OC-TK(2×10^9 pfu)をそれぞれ3匹のマウスのグループに静注した3日後に様々な臓器を採取しTK活性を計測した。平均(+/-SD)TK酵素活性はAd-CMV-TK群においてのみ、肝と脾で検出され、Ad-OC-TK群では検出されなかった(以下のTable1参照)。

Table1 Ad-OC-TK 及び Ad-CMV-TK の経静脈投与における各臓器の比較

臓器	Ad-CMV-TK (2x10 ⁹ PFUs)	Ad-OC-TK (2x10 ⁹ PFUs)
	pico mole/ タンパク 1mg	pico mole/ タンパク 1mg
脳	*	*
肺	*	*
肝	309 + / - 222	*
心	*	*
腎	*	*
脾	76 + / - 35	*
膵	*	*
膀胱	*	*
前立腺	*	*
精巣	*	*

*検出不能レベル

8-1-3-2. Ad-OC-TK/GCV と Ad-CMV-TK/GCV の毒性における比較

Ad-OC-TK 及び Ad-CMV-TK の静脈注射による TK 酵素発現の組織分布のデータは, OC プロモーターが肝臓及び脾臓では機能しないことを示唆する。10匹の C57BL/6 マウスに Ad-OC-TK 若しくは Ad-CMV-TK を静脈注射し, 引き続き腹腔内へ GCV を投与した結果, Ad-CMV-TK 群においては Ad-CMV-TK 静脈注射後ほとんどのマウスが死亡し (Figure10), 病理組織学的に重篤な肝毒性 (Figure11) を示した, 一方 Ad-OC-TK プラス GCV 療法を施されたマウスの生存率や肝臓の病理組織学的な所見に有意な変化は認められなかった。このことは, Ad-OC-TK の腫瘍内注射における腫瘍増殖抑制効果は, Ad-RSV-TK や Ad-CMV-TK の腫瘍内注射と同等, 又は OC を高度に発現する癌細胞においてはそれ以上の効果を有するが, Ad-OC-TK は普遍的プロモーターを用いたアデノウイルスベクターのように血管内へのベクターの漏出による重篤な肝障害を引き起こさないという, 臓器特

異性プロモーターを用いた遺伝子治療の安全性を裏付けている。

8-1-3-3. アデノウイルスベクターを用いた遺伝子治療法における肝毒性について

1999年9月に米国でアデノウイルスベクターを用いた OTC 欠損症に対する遺伝子治療で患者が死亡した。アデノウイルスベクターには急性毒性があり, dose と adverse event の間に直線性がなく, ある種の閾値を越えると強い adverse event が生じることが示されており, 肝動脈からベクターを 3×10^{13} particle 接種された患者が死亡し, 3×10^{12} particle の接種を受けた患者に強い adverse event が認められた例も報告された。当該研究に用いられるベクターの PFU: Particle 比は 1 : 10 から 1 : 20 であるので今回の死亡例における投与量を PFU に換算すると 3×10^{12} から 1.5×10^{12} PFU に相当する。また adverse event の生じた症例は 3×10^{11} から 1.5×10^{11} PFU に相当すると考えられる。

当該試験における最高投与量は 2.5×10^{10} PFU であり死亡例における投与量の 15—30 分の 1 であり, 直接血管内に投与されると副作用が発生する可能性は否定できないものの, 投与経路の相違も考慮に入れると安全性は確保されていると推察される。また当該遺伝子治療と同様の投与方法を行った, 米国ペイラー医科大学で行われた前立腺癌に対する Ad-RSV-TK/GCV 併用療法の臨床試験においても, 1×10^{11} PFU の投与量において 1 例ではあるが, 重篤な肝機能障害が生じている。この症例に関してはベクターが誤って血管内に一部投与された可能性も示唆されているが, 注入されたベクターのごく一部が拡散し, 血管内に溢流する可能性は否定できない。当該遺伝子治療においては, 上述の動物実験でも示されたように, ベクターの一部が血管内に漏出し肝細胞に感染しても, 臓器特異性プロモーターを用いる事により肝臓において HSV-TK 酵素は発現せず, 肝機能障害の起こる可能性は低いと考えられる。

8-1-4. 患者以外の人への遺伝子導入の可能性

Ad-OC-TK ベクターの患者以外の人への感染の可能性は極めて低いが, 患者の家族や医療従事者への感染を防止するために, 治療中はマスクや予防衣の着用など注意を払う。

8-1-5. 染色体内へ遺伝子が組み込まれる場合の問題点

アデノウイルス DNA は宿主細胞のゲノムに組み込まれることなく複製するため、積極的に染色体内に組み込まれる機構を持っていない。アデノウイルス DNA が染色体に取り込まれた場合でも、組み込まれた DNA が活性化されウイルス粒子として染色体上から複製を認めた報告はない。また、HSV-tk による蛋白質の発現は一過性であり、この点は安全性の観点から長所と考えられる。

8-1-6. がん原性の有無

ヒト・アデノウイルスには 41 種の亜型が存在し、6 群に分類されているが、げっ歯類におけるその腫瘍形成能は群によって異なり、2 型、5 型を含む群では発癌性は示されていない。アデノウイルス 5 型は幼児期の「かぜ」の原因ウイルスの一つであり、ヒトにおいても感染による悪性腫瘍の発生は報告がない。さらに、Ad-OC-TK ベクターにおいては、哺乳類の細胞をトランスフォームさせる機能を持ち、またげっ歯類における癌化に関与しているとされる E1 領域は欠損させてあり、癌原性はないと考えられる。最近、アデノウイルス 9 型の E4 領域にコードされている蛋白が、ヒト細胞に形質転換能を持つという報告がなされたが、アデノウイルス 5 型では形質転換能は認められなかった。

8-2. 遺伝子産物の安全性

Ad-OC-TK ベクターによる HSV-TK 蛋白質の発現は一過性であり、タンパク質そのものの細胞毒性は認められておらず安全性の点からも問題はないと思われる。

9. 遺伝子治療臨床研究の実施が可能であると判断する根拠

前立腺癌細胞並びに動物を用いた基礎実験において Ad-OC-TK ベクターとアシクロビルを用いた際の抗腫瘍効果及び安全性は確認されており、臨床研究プロトコールは、1999 年 7 月に米国国立衛生研究所 (NIH) の Office of Recombinant DNA Activities (ORDA:旧 RAC) 及び米国食品医薬

品庁(FDA)の認可を受け、米国ヴァージニア大学にて前立腺癌患者を対象とした第1相臨床試験が実施されている。アデノウイルスベクター投与による有害事象に関するデータは蓄積されてきており、臨床効果の評価については現在詳細な解析が進行中であり、その一部は論文化され、安全性が確認されている(文献13)。

今回用いる Ad-OC-TK ベクターは、ヴァージニア大学で用いられたベクターのマスターウィルスバンクを用いて米国 Molecular Medicine 社によって米国の GLP 基準にのっとり製造、品質管理されたものである。

内分泌療法抵抗性局所再燃前立腺癌に対する標準治療に関するコンセンサスが得られていないのが現状であり、有効性が期待される新しい治療を試みることは、患者に対して適切に「説明と同意」(インフォームドコンセント)が行われている限り倫理的にも許容されと考えられる。神戸大学泌尿器科学教室では、従来より前立腺癌をはじめとする尿路性器悪性腫瘍の治療に関する基礎的・臨床的研究を積極的に行っている。また、研究者の後藤章暢、白川利朗、和田義孝らはヴァージニア大学泌尿器科にて Ad-OC-TK ベクターの開発から基礎実験、さらに前立腺癌に対する臨床試験に直接関与してきた(文献10-13)。

一方、神戸大学では、ベクターの取り扱い場所、患者の研究を実際に行う施設(病棟の隔離室、手術室)及びその設備はすでに整備されている。また、更に審査体制を含めた学内の体制も充分確立され有機的に機能している。こういった背景より今回申請する遺伝子治療臨床研究を神戸大学で実施することは可能であると判断した。

10. 遺伝子治療臨床研究の計画

10-1. 遺伝子治療臨床研究を含む全体の治療計画

選択基準に合致した被験者は、臨床研究を開始する 28 日以上前に LH-RH アゴニストを除く前立腺癌に対するすべての治療を中止する(注記1)。研究を開始する直前に再評価し(注記2)、この時点で被験者としての選択基準を満たしていれば、実施計画にしたがってベクター投与を施行する。その後、評価基準に従って安全性並びに治療効果を評価する。ベクター投与後 12 週目に

効果が認められた場合は、原則として他の治療法を併用することなく経過を観察するが、経過中に被験者が希望すれば他の治療法を併用する。効果無しと判定された場合は他の治療を開始する。

注記1：内分泌療法としてLH-RHアゴニストが投与されている被験者の場合、LH-RHアゴニストの投与が中止されれば血中のテストステロン濃度は去勢術前のレベルに回復する。アンドロゲンが除去された環境下においても増殖可能となった前立腺癌細胞のうち、アンドロゲンの刺激によって増殖速度が増す細胞が存在することが報告されており、このことは臨床的にはLH-RHアゴニストの中断によってアンドロゲン血中濃度が再上昇し、癌細胞の増殖が刺激され病勢の悪化を生じる可能性があることを示唆している。Taylor（文献23）は内分泌療法無効例に対する次の治療を行う際に、それまでの内分泌療法を継続した場合と中止した場合の予後の差を解析した。それによると内分泌療法を継続し次の治療を施行した群と内分泌療法を中止し次の治療を施行した群における50%生存期間はそれぞれ9.9ヶ月、3.6ヶ月と有意の差を認め、内分泌療法を継続することの有用性を報告している。以上の基礎的、臨床的な根拠により、内分泌療法再燃前立腺癌の治療に際し、前治療である内分泌療法を中止するか継続するかについては、前立腺癌の生物学的特性から継続することが妥当であると判断した。

注記2：抗アンドロゲン剤（フルタミド、プロスターール、カソデックス）の投与を中止すると、PSAの上昇がとまり低下する現象が認められることがある。抗アンドロゲン剤除去症候群とよばれ、抗アンドロゲン剤そのものが、前立腺癌の増殖を促進するようになる現象が近年確認されており、本症候群を呈する場合は再燃とはみなされない。したがって、抗アンドロゲン剤を併用している症例では、投薬を中止し抗アンドロゲン除去症候群でないことを確認する。

10-2. 被験者の選択基準及び除外基準

10-2-1. 選択基準

次の全ての項目に該当する者

- 1) 被験者は20歳以上の成人とし、その年齢に上限を設けないが、医学的に本試験を遂行するに足る

十分な身体的機能を有すると判断された者。(注記 1)

- 2) 外科的切除では根治不可能な進行性前立腺癌, 臨床病期 C, D の前立腺癌症例で, 内分泌療法が施行された者, 若しくは, 前立腺全摘出術後の局所又は転移による再発症例で, 内分泌療法が施行された者, 並びに患者の希望により外科的切除が選択されず, 内分泌療法療法が施行された者 (注記 2-1, 2-2)
- 3) 前立腺又は転移巣の生検にて組織学的に前立腺癌と診断された者。
- 4) 内分泌療法を施行中であり血清 PSA が正常値 (4ng/ml 以下) となった既往があること。(注記 3)
- 5) 血中テストステロンが 1 ng/ml 以下の症例。
- 6) 内分泌療法施行中に血清 PSA の有意な上昇 (2 週間以上の間隔での 3 回の測定において連続的に上昇し, かつ最終的に PSA 値が 4.0ng/ml 以上) を認める生物学的に活動性の再燃癌。(注記 4)
- 7) 前治療の影響がないと考えられる症例。
- 8) CT や MRI などの画像診断上評価可能で, CT ガイド下又は超音波ガイド下にペクターの注入が可能な病変部 (局所再発巣, リンパ節転移巣, 骨転移巣) を有する症例。
- 9) 被験者は, 効果判定のため少なくとも 12 週以上の生存が期待でき, performance status (PS) が 2 以下の者。
- 10) バラシクロビル又は類似化合物 (ガンシクロビル, アシクロビル等) に対する過敏症の既往歴のない症例
- 11) 被験者は正常な骨髓機能, 肝機能, 腎機能を保っていること。その指標としては, 末梢血顆粒球数 $>2000/\text{mm}^3$, 血小板 $100,000/\text{mm}^3$, 総ビリルビン $<1.5\text{mg/dl}$, クレアチニン $<1.5\text{mg/dl}$, クレアチニンクリアランス $>30\text{ml/min}$ 。

注記 1 : 前立腺癌における患者の年齢構成は 75 歳以上が 32% と高い割合を示すこと,

米国での臨床試験においても年齢の上限は無いことより年齢に上限は設定しない。

注記 2-1 : 臨床病期分類の定義 :

病期 A : たまたま前立腺肥大症や膀胱癌などの手術試料の病理学的検索で

癌が見出されたもの。

病期B：前立腺内に限局している腫瘍でしかも転移のないもの。

病期C：前立腺被膜、又は被膜をこえて、又は精囊にあるいは膀胱頸部に、
又は膜様部尿道に浸襲しているが、転移を認めないもの。

病期D：臨床的に明らかな転移が認められる腫瘍。

(前立腺癌取り扱い規約より)

注記2-2：臨床病期Bにおいて患者の希望により外科的切除が選択されなかった場合、再
燃時においても初診時と同じく前立腺内に限局している場合は、外科的切除の適応
も再度生じることを同意取得時に充分説明する。

注記3：内分泌療法の内容は問わない。放射線治療、抗癌化学療法の併用の有無についても
問わないが症例記録用紙にその詳細を記載すること。内分泌療法を継続することの
理由については10-1の注記1を参照。

注記4：参考として本院で使用するPSA測定キットの添付文書の写しを添付資料-4とする。

9)、11)については「抗悪性腫瘍薬の臨床評価方法に関するガイドライン」に従い関連した
項目として設定した。

10-2-2. 除外基準

症例の選択に際し、次の項目の何れか一つに該当する被験者は本研究の対象としない。

- 1) コントロールされていない活動性感染症など、重篤な併発疾患がある場合。
- 2) 本研究参加6ヶ月以内に未承認薬の臨床試験に参加している場合。
- 3) 前立腺癌以外の悪性腫瘍歴がある場合。ただし根治しており、無病期間が2年以上に達している場
合はこの限りではない。
- 4) アデノウイルスベクターを用いた遺伝子導入療法歴がある場合。
- 5) その他、担当医が不適当と認める場合。

設定の根拠

1), 3)は安全性配慮のため設定した。

2)は安全性評価又は有効性評価に影響すると考えられるため除外基準として設定した。

5)は一般的な除外基準

10-3. 被験者の同意の取得方法

1) 被験者は、本研究について文書により説明を受け、その内容と期待される治療効果及び危険性を理解した上で、同意書に署名した者とする（添付資料5「遺伝子治療臨床研究のための説明と同意書」参照）。

2) 説明と同意書は、本計画書に添付資料5として含まれている書式である。

10-4. 実施期間及び目標症例数

本研究の実施期間は了承が得られた時点から3年間とする。目標症例数は原則として6例とする。

ただし低用量群にて、有害事象が発生した場合、最大3例の症例を追加する。

10-5. 遺伝子治療臨床研究の実施方法（治療計画）

10-5-1. 対象群及び治療群の設定

1) Ad-OC-TK ベクターの局所投与とバラシクロビル投与による副作用の評価、治療効果、及びAd-OC-TK ベクターの最大耐量の決定のために1群2レベルを以下に示すごとく設定する。

Ad-OC-TK スペクター + バラシクロビル*

低用量レベル 2.5×10^9 P F U

高用量レベル 2.5×10^{10} P F U

*バラシクロビル1日3回21日間経口投与

<アデノウイルスベクターの投与量設定の具体的な科学的根拠>

米国の試験において FDA は 10^8 PFU を初回投与量として推奨した。ヴァージニア大学で行われた臨床研究においては、 2.5×10^8 PFU, 2.5×10^9 PFU, 2.5×10^{10} PFU の 3 レベルの用量が設定されたが、 2.5×10^8 PFU のレベルでは全く副作用を認めなかった。また、動物実験モデルにおいては体重約 25 g のマウスに 1×10^9 PFU の Ad-OC-TK ベクターを用いて重篤な副作用を認めることなく、治療効果を得た。ヒトに投与する場合においては、腫瘍の体積も動物モデルよりも著明に大きく 2.5×10^8 PFU の用量では治療効果はほとんど期待できない。したがって今回の臨床研究においては、最低投与量レベルを 2.5×10^9 PFU に設定した。

- 2) それぞれの用量レベルでそれぞれ 3 人の被験者を評価する。低用量レベルの終了後、高用量レベルに移行する。ただし、観察期間は最低 2 週間以上とし、各コホートにおける最終被験者の副作用の観察期間が終了するまでは高用量レベルへの移行はしない。

10-5-2. 遺伝子導入方法

前立腺癌局所再発巣、リンパ節転移巣又は骨転移巣に、経直腸的超音波ガイド又は、CT 若しくは単純 X 線透視ガイドを用いて、Ad-OC-TK ベクターを 1 病巣のみに治療第 1 日目と第 8 日目に計 2 回注入する。患者が複数の転移巣を有しても、注入部位は一箇所に限定する。注入部位は放射線学的に計測可能な部位とする。疼痛などの症状を有する部位に関しては、疼痛軽減作用などの付加的な評価も加えられる。この Ad-OC-TK ベクターの用量は、低用量及び高用量群ともに、腫瘍体積によって 0.5-2.0 ml に調製される。

10-5-3. バラシクロビルの投与

バラシクロビルの投与は遺伝子導入第 1 日目の朝から開始する。1 回投与量は 1000mg とし、一日 3 回 2 1 日間（計 6 3 回）とする。薬剤は 500mg (VARTREX Tablets 500, グラクソ・ウエルカム株式会社) が 1 錠で 1 回に 2 錠経口投与する。

<バラシクロビルのバイオアベイラビリティと代謝,排泄について>

バラシクロビル 1000mg 経口投与のアシクロビル 350mg 1 時間点滴静脈注射に比較したクロスオーバー法によるバイオアベイラビリティは 54.2%であった。また,バラシクロビルは肝初回通過効果により加水分解され, L-バリンとアシクロビルに変換される。主排泄経路は腎で,排泄機構として糸球体濾過及び尿細管分泌の両方の関与が認められている。

<バラシクロビルによる重篤な副作用について>

次のような症状に関して,観察を十分に行い,異常が認められた場合には,投与を中止するなどの適切な処置を行う。

- 1、アナフィラキシーショック,アナフィラキシー様症状(呼吸困難,血管浮腫など)
- 2、血小板減少,汎血球減少,無顆粒球症,播種性血管内凝固症候群,血小板減少性紫斑病
- 3、急性腎不全
- 4、皮膚粘膜眼症候群 (Stevens-Johnson 症候群)
- 5、呼吸抑制,無呼吸
- 6、間質性肺炎

(添付資料 6 : 薬剤添付文書参照)

10-5-4. 臨床検査項目及び観察項目

10-5-4-1. 治療開始前評価 (添付資料 7 : 「遺伝子治療臨床研究のフローチャート」 参照)

- 1) 初回の治療を開始する前に,被験者の病歴及び現症について記録する。この記録には PS (performance status : 添付資料 8), 体重, 最近の体重減少, 他の悪性あるいは良性疾患の有無及びその治療状況, さらに過去に行われた内分泌療法を含む抗癌治療の方法と施行年月日などについても記録する。
- 2) 臨床検査データとしては, 定量的免疫グロブリン, 白血球分画, 血小板数を含む CBC, 電解質, ビリルビン, クレアチニン, クレアチニン・クリアランス, トランスアミナーゼなどを含む生化学検査一般,

及び尿検査, 胸部 X 線写真, 腫瘍マーカーなどを記録する。

- 3) 治療開始以前に施行された抗癌療法の影響が認められる場合は, 副作用の評価指標 (添付資料 9「副作用の評価指標」参照) に従ってその重篤度を判定し記録する。
- 4) 治療開始前の臨床病期を画像診断及び触診所見により評価する。臨床病期は前立腺癌取扱規約に基づいて決定する。
- 5) 治療前に血液サンプルを採取する。白血球と血清を分離し, 血清を用いてアデノウイルスに対する抗体価 (ELISA 法にて確認) を測定する。また, アデノウイルス 5 型に対し感受性の高い培養細胞を用いて感染効率に対する阻害作用を確認し, アデノウイルス中和抗体価を測定する。

10-5-4-2. 評価 (添付資料 7:「遺伝子治療臨床研究のフローチャート」参照)

臨床研究期間中, 以下の検査を実施する。

- 1) 臨床症状: 期間中は患者の臨床症状について, 定期的に注意深く観察する。
- 2) 理学所見: 一般的な理学所見をチェックする。すなわち被験者の病状及び PS (performance status) や体重を含む現症を記録する。
- 3) 被験者の CBC, 血小板数, 出血・凝固時間, PT, PTT, 電解質, 生化学検査一般などの検査は, 治療中定期的にを行い記録する。
- 4) 定期的に血清を採取し, アデノウイルスに対する抗体及びアデノウイルス中和抗体の産生をチェックする。
- 5) 血中, 尿中, 喀痰中におけるアデノウイルスの有無の検索。
- 6) 分子生物学的検討

ベクター注入前及び後に, 発熱など早期の副作用が認められず, また, 再生検が治療の安全性を損なわないと担当医が判断した症例に対して, ベクター注入部の生検を施行して検査材料とする。

1 ベクター投与部位の HSV-TK mRNA の発現を RT-PCR 法で確認する。

2 HSV-TK タンパク質の発現を抗 HSV-TK 抗体を用いた免疫組織学的染色にて検出する。

3 HE 染色にて癌組織破壊やリンパ球浸潤などの組織学的変化を観察し, 腫瘍組織にアポトーシ

スが誘導されているかどうかを Tunnel 染色法により検出する。

4 また、誘導されたリンパ球について CD4, CD8 染色などを行い腫瘍免疫学的反応を確認する。

7) 免疫学的検査として、第 1 回目アデノウイルスベクター投与翌日の血中 IL-6 濃度を測定する。

10-5-4-3. 治療効果の評価（添付資料 7：「遺伝子治療臨床研究のフローチャート」参照）

1) PSA, PAP の血清腫瘍マーカーを測定する。

2) CT, MRI, 又は超音波検査などで画像上の病変部の評価（腫瘍面積の推移）を行う。

10-5-4-4. 臨床研究実施中の患者の管理

全ての被験者は個室管理とする。ベクター投与後の被験者は、肺癌の場合と異なりマスク着用の必要はないが、尿中へのベクター排出の可能性があるため、排尿は専用の便器を使用する。被験者に接するすべての医療従事者は、被験者の尿中からのベクター排出の消失が確認されるまでは予防衣を着用する。また尿中ベクター排出の消失を確認して退院とする。

10-5-5. 副作用の判定基準

治療中及び治療後に見られるすべての有害事象のうち、治療に関する毒性・副作用は、添付資料 9「副作用の評価指標」に基づいて grade 0～4 で評価する。この「副作用の評価指標」は、NCI (National Cancer Institute) の common toxicity criteria に基づいて作成されたものである。副作用の認められた期間及びそれに対する治療についても記録する。致死的な副作用が生じた場合は、実施施設の長である神戸大学医学部附属病院長を通じて厚生大臣に報告する。Ad-OC-TK ベクターの低用量を 3 人の被験者に投与する。3 人の内 1 人に肝機能、腎機能、循環器系、神経系等において grade3 以上（血液系では grade4）の副作用（添付資料 9：「副作用の評価指標」参照）が認められた場合、さらに 3 人の被験者に低用量の Ad-OC-TK ベクターを投与する。6 人中 2 人以上の被験者で肝機能、腎機能、循環器系、神経系等において grade3 以上（血液系では grade4）の副作用が見られた場合その時点で臨床研究を中止し高容量群には移行しない。

高度の副作用が見られた被験者数

次回 Ad-OC-TK 投与量

0 / 3

高容量群へ移行

1 / 3

さらに3人の被験者を低用量群で評価

1 / 3 + 0 / 3

高容量群へ移行

1 / 3 + 1 / 3

中止

1 / 3 + 2 / 3

中止

1 / 3 + 3 / 3

中止

2 / 3

中止

3 / 3

中止

10-5-6. 遺伝子治療臨床研究の評価方法, 評価基準及び中止判定基準

10-5-6-1. 治療効果の評価方法及び評価基準

臨床的効果

- 1) PSA の推移, 及び PSA 効果判定基準による Complete Response (CR), Partial Response (PR), Stable Disease (SD), Progressive Disease (PD) の割合により行う。

PSA 効果判定基準 ; CR : 血清 PSA の正常化 ($<0.2\text{ng/ml}$: post-prostatectomy, $<4.0\text{ng/ml}$: no-prostatectomy) が少なくとも2週間以上の測定間隔を空け, 2回連続で認められた症例。PR : 治療前の血清 PSA 値より 50%以上の減少が少なくとも2週間以上の測定間隔を空け, 2回連続で認められた症例。CR, PR 又は PD に当てはまらない症例。PD : 治療前の血清 PSA 値より 50%以上の増加が少なくとも2週間以上の測定間隔を空け, 2回連続で認められた症例。

- 2) 腫瘍面積の推移, 及び Ad-OC-TK 注入病変部の治療効果判定基準による Complete Response (CR), Partial Response (PR), No Change (NC), Progressive Disease (PD) の割合により行う。CR : 病変部がすべて消失した場合。PR : 測定可能病変の最大面積の縮小率が 50%以上である場合。NC : 病変部の縮小率が 50%未満で, 25%未満の増大率にとどまるもの。PD : 25%以上の増大率を認める

もの。

10-5-6-2. 治療中止の判定基準

- 1) 血小板減少, 肝機能障害等の重篤な副作用が認められた場合。その他の有害事象が発生して生命に危険があり, (又は) 非可逆性で対症療法によって管理できない場合, あるいはそれによりバラシクロピルの投与が大幅に (4 週間以上) 遅延する場合。
- 2) 抗癌剤や Ad-OC-TK 以外の実験的薬物を投与した場合。
- 3) 本研究に登録された後に, 被験者の都合で必要な検査, 調査の実施が不可能であることが判明した場合。
- 4) 被験者が本研究の円滑な遂行に非協力的である場合。
- 5) 被験者が治療の中止を申し出た場合。
- 6) その他, 担当医が中止の必要性を認めた場合。

10-5-6-3. 試験の安全性確保

- 1) 本実施計画書は, 神戸大学医学部附属病院に設置された遺伝子治療臨床研究審査委員会で審議され承認を得た後, がん遺伝子治療臨床研究作業委員会などにて科学面, 倫理面について審議される。
- 2) 安全・効果評価・適応判定部会は, 「抗悪性腫瘍薬の臨床評価方法に関するガイドライン」により第三者的な委員会として設置することが推奨されている効果・安全性評価委員会に相当する。本部会は, 担当医師及び総括責任者より提出された被験者の病歴や諸検査結果などの情報をもとに本研究における被験者の適確性を科学的・倫理的に評価し, その上部組織である遺伝子治療臨床研究審査委員会に意見を提出しなければならない。また, 治療中あるいは治療後に集積されたデータの妥当性を検討し, 個々の被験者における治療効果について評価し, 遺伝子治療臨床研究審査委員会に意見を提出する。さらに, 予期しない重篤な副作用が発現した場合, 又は本治療法の最大耐量の判定が可能となった場合に, 本治療を中止あるいは終了するか否かを協議する。

- 3) 予期せぬ重大な副作用の発現などの不測の事態が生じた場合、担当医師は直ちに治療（投与）を中止するなど適切な処置を講ずる。その場合、症状（検査値）が投与開始直前の状態にほぼ回復するまで、経過観察するのものとし、ほぼ現状に回復したと認められる場合でも、最低 28 日間（4 週間）は経過観察しなければならない。総括責任者は安全・効果評価・適応判定部会に諮るのものとし、部会は試験継続の可否を決定する。
- 4) 予期せぬ重大な事態（被験者死亡、被験者に重篤な副作用が生じた場合など）は速やかにその概要及び対処の方針を第 1 報として厚生科学課に報告し、15 日を目安に厚生科学課長通知（平成 6 年 2 月 8 日厚科第 5 4 号）の別紙様式 5 により厚生大臣に対し報告する。
- 5) 総括責任者は、実施している遺伝子治療臨床研究に関連する内外の情報収集に務め、実施に影響を及ぼす可能性のある知見を発見した場合、実施施設の長等に必要な報告を行い、実施施設の長はその旨を厚生科学課に速やかに報告する。

10-5-7. 症例記録に関する記録用紙などの様式

（添付資料 10：「症例登録用紙」「症例記録に関する記録用紙」参照）

被験者の容態、治療内容、検査内容と結果、及び家族への説明などは一般の入院患者と同様に診療記録（カルテ）に記載し保存する。診療記録とは別に、遺伝子治療臨床研究に関連する全ての事項は症例記録に関する記録用紙の様式に従って、定期的に記入する。

10-5-8. 記録の保存及び成績の公表の方法

- 1) 被験者からの正式な同意は、すべての試験手順を開始する前に、対象となる被験者本人に「遺伝子治療臨床研究のための説明と同意書」に基づいて十分に説明する。被験者が内容をよく理解したことを確認した上で、本研究への参加について被験者本人の自由意志による同意を文書にて得るものとする。記名捺印又は署名された 2 通の同意書の 1 通を被験者に手渡し、他の 1 通を診療記録とともに保存する。
- 2) 被験者の同意が得られた後、担当医師は被験者の登録を行う。この時、各被験者ごとに症例報告書

(症例記録)を作成する。症例記録には、病期(前立腺癌取扱規約に基づく臨床病期)、PS(performance status)、体重減少、登録前に施行された治療及びその結果などを記載する。

- 3) 各薬剤(Ad-OC-TK ベクター液あるいはバラシクロビル錠)投与前に、本研究に携わっている医師及び看護婦は治療の遂行が可能かどうかを十分に検討し、その結果を症例記録に記載する。
- 4) 担当医師は、被験者と接するときに毎回、具体的質問や検査(適宜)によって有害事象に関する情報を調査する。有害事象に関する情報は、直ちにすべて症例記録の有害事象記録欄に記録する。重篤な有害事象については、それ以外に重篤有害事象報告書(添付資料10)にも必要事項を記入する。明らかに関連性がある徴候、症状及び異常な診断検査結果は、まとめて単一の事象として症例記録に記入する。研究期間中に発生した有害事象はすべて症例記録に記載する。各事象の臨床経過は、消失又は安定化するまで、あるいは各薬剤(Ad-OC-TK ベクター液あるいはバラシクロビル錠)投与や試験への参加が原因でないことが確認されるまで追跡する。試験終了時にも持続している重篤な有害事象は、転帰が明らかになるまで追跡する。試験終了後に発生した重篤な有害事象は薬剤投与若しくは試験への参加によるものである疑いがあると考えられる場合は、そのすべてを直ちに症例記録に記載する。
- 5) 治療期間中及び治療終了後の臨床検査データは、神戸大学医学部附属病院医事課にて保存し、必要に応じて統計解析を行う。
- 6) 治療期間中及び治療終了後、本研究に携わっている医師は評価基準に基づいて治療効果と副作用を判定する。その結果は、安全・効果評価・適応判定部会において評価され、上部組織である遺伝子治療臨床研究審査委員会に意見が提出される。ここでその評価が了承されれば、必要に応じて統計学的解析を行う。
- 7) 本研究に関するすべての記録は、総括責任者の責任のもと神戸大学医学部附属病院医事課に保存される。
- 8) 本研究の結果を医学雑誌や学会で報告する場合でも被験者のプライバシーは守られる。

実施施設の長である神戸大学医学部附属病院長は、遺伝子治療臨床研究審査委員会が判断した基準のもと、本研究に関する適切かつ正確な情報の公表等の措置を講じるよう努める。

11. 当該遺伝子治療臨床研究の実施施設の状況

神戸大学医学部泌尿器科学教室の研究室では、日常的に各種癌細胞や正常細胞の組織培養が行われており、プラスチック器具（ディスポーザブル）や各種培養液は常備され、クリーンベンチや CO₂ 培養器の設備も整っている。切除標本や生検材料のモノクローナル抗体を用いた免疫組織学的染色も教室員や技官によって行われており、さらに PCR やウェスタンブロットなどの分子生物学的実験や蛋白質分析の実験も行われている。

本研究に用いる非増殖性 Ad-OC-TK ウイルスベクターに関しては、臨床研究棟泌尿器科学教室 P2 実験室及び遺伝子診断室 P2 実験室で使用可能であり、受け入れ試験としての変性の有無を確認する外観試験、ウイルスの力価の測定、さらに HSV-TK の生物学的活性を確かめるための殺細胞効果試験は実施可能である。一方、本遺伝子治療臨床研究の場合、アデノシンデアミナーゼ欠損症などの ex vivo 遺伝子治療と異なり、被験者の細胞をウイルスベクターとともに研究室で培養する必要はない。したがって、治療上最も重要なことは被験者に投与するウイルスベクターの品質管理であり、この点は製造元の Molecular Medicine 社により十分な管理が行われている。

神戸大学医学部附属病院では、CT ガイド下でのリンパ節又は骨組織の採取が日常的に行われており、CT ガイド下での Ad-OC-TK ベクター液注入に関して、臨床的技術の点では本治療の実施には問題はないと考えられる。Ad-OC-TK ベクター液の注入を受けた被験者は、24 時間監視モニターが設置された個室にて管理される。もし重篤な副作用が認められた場合は、集中治療室 (ICU) で麻酔科蘇生科の管理下で治療を行うことができる。以上のように、施設設備の面では基礎レベルから臨床レベルまで治療計画で設定したすべての事項を遂行することができる。また、本研究中に生じた重篤な副作用など不測の事態に対しても適切に対処することが可能であると考ええる。

12. 当該遺伝子治療研究に関連する国内外の研究状況

Ad-OC-TK ベクターを用いた癌に対する遺伝子治療の研究は、その開発から臨床応用まで、主に研究協力者である Leland W. K. Chung（ヴァージニア大学・泌尿器科・教授）の研究室において行われている。その開発から基礎研究までの過程で、本臨床研究の実施者である後藤章暢、白川利朗、和田義

孝らが多くの研究に従事しその一部を論文として報告している。(文献 10, 11, 12)

また 1999 年 7 月に承認され、ヴァージニア大学で実施された第 1 相臨床試験（前立腺癌に対する Ad-OC-TK 及びバラシクロビルの併用療法）ではこれまでに 11 人の患者に本臨床試験と同一の遺伝子治療が行われ、その途中報告が論文にてなされている（文献 13）。臨床試験においては、Ad-OC-TK 及びバラシクロビルの併用療法による明らかな毒性は認められなかった。また、前臨床研究及び動物実験による副作用研究により予想されたように、OC プロモーターの活性は骨組織及び腫瘍に限定された。Ad-OC-TK 注射後、ウイルスベクターの一過性の全身循環が認められたが、肝毒性は認められなかった。

前立腺癌に対する Herpes Simplex Virus-thymidine kinase (HSV-TK) 遺伝子を用いた、他の遺伝子治療の臨床研究としては、ペイラー医科大学においてユニヴァーサルプロモーター、RSV プロモーターを組み込んだ Ad-RSV-TK ベクターを用いた遺伝子治療が放射線療法後再燃前立腺癌に対して行われおり、本邦でも同様の遺伝子治療が、岡山大学泌尿器科にて、内分泌療法後再燃前立腺癌に対して、すでに開始されている。ペイラー医科大学及び岡山大学で行われている治療法においては、ウイルスベクターの投与法は、ともに前立腺内局所注射に限定されている。ペイラー医科大学の臨床研究では 18 例の第 1 相臨床試験が行われたが、そのうち 1 例に重篤な肝障害が認めれており、ウイルスベクターの血管系への漏出が疑われている（文献 9）。

当該遺伝子治療臨床研究においては、臓器特異性プロモーター、OC プロモーターを用いたことにより、肝臓などの正常細胞における毒性を軽減することが可能となり、本遺伝子治療の安全性を高めることができた。また、ベクターの投与法に関しても前立腺内局所注入から、リンパ節又は骨転移巣への局所注入へと拡大することが可能となり、適応症例が拡大され、臨床病期のより進んだ遠隔転移を有する前立腺癌症例も適応症例となった。

前立腺癌に対する HSV-TK 遺伝子を用いたアデノウイルスベクターによる *in vivo* 遺伝子治療に関しては、前述のペイラー医科大学で行われた臨床研究などにより、その安全性と初期段階ではあるが、ある程度の有効性も確認されている。本臨床研究においては、より病期の進んだ他に治療法のない前立腺癌症例に、安全に臨床研究を行うことが可能となり、今後の進行性前立腺癌治療法の開発において、非常に有益な臨床研究であると思われる。

(参考文献)

1. Moolten FL, Wells JM. Curability of tumors bearing herpes thymidine kinase genes transferred by retroviral vectors. *J Natl. Cancer Inst.* 1990 82(4):297-300.
2. Desbois C, Hogue DA, Karsenty G. The mouse osteocalcin gene cluster contains three genes with two separate spatial and temporal patterns of expression. *J Biol Chem.* 1994 269(2):1183-90.
3. Desbois C, Seldin MF, Karsenty G. Localization of the osteocalcin gene cluster on mouse chromosome 3. *Mamm Genome.* 1994 5(5):321-322.
4. Hauschka PV, Frenkel J, DeMuth R, Gundberg CM. Presence of osteocalcin and related higher molecular weight 4-carboxyglutamic acid-containing proteins in developing bone. *J Biol Chem.* 1983 258(1):176-82.
5. Rowe, W. P., Huebner, R. J., Gillmore, L. K., and Ward, T. G. Isolation of a cytopathogenic agent from human adenoids undergoing spontaneous degeneration in tissue culture., *Proc Soc Exp Biol Med.* 1953 84:4201-4204.
6. Horwitz, M. S. *Adenoviridae and their replication.*, 771-813. New York: Raven Press, 1991.
7. Roth JA, Swisher SG, Merritt JA, Lawrence DD, Kemp BL, Carrasco CH, El-Naggar AK, Fossella FV, Glisson BS, Hong WK, Khuri FR, Kurie JM, Nesbitt JC, Pisters K, Putnam JB, Schump DS, Shin DM, Walsh GL. Gene therapy for non-small cell lung cancer: a preliminary report of a phase I trial of adenoviral p53 gene replacement. *Semin Oncol.* 1998 25(3 Suppl 8):33-37.
8. Clayman GL, el-Naggar AK, Lippman SM, Henderson YC, Frederick M, Merritt JA, Zumstein LA, Timmons TM, Liu TJ, Ginsberg L, Roth JA, Hong WK, Bruso P, Goepfert H. Adenovirus-mediated p53 gene transfer in patients with advanced recurrent head and neck squamous cell carcinoma. *J Clin Oncol.* 1998 16(6):2221-2232.

9. Herman JR, Adler HL, Aguilar-Cordova E, Rojas-Martinez A, Woo S, Timme TL, Wheeler TM, Thompson TC, Scardino PT. In situ gene therapy for adenocarcinoma of the prostate: a phase I clinical trial. *Hum Gene Ther.* 1999 10(7):1239-1249.
10. Ko SC, Cheon J, Kao C, Gotoh A, Shirakawa T, Sikes RA, Karsenty G, Chung LWK Osteocalcin Promoted-based Toxic Gene Therapy for the Treatment of Osteosarcoma in Experimental Models *Cancer Research*, 1996 56(20):4614-4619
11. Shirakawa T, Ko SC, Gardner TA, Cheon J, Miyamoto T, Gotoh A, Chung LWK, Kao C In Vivo Suppression of Osteosarcoma Pulmonary Metastasis with Intra Venous Osteocalcin Promoter-Based Toxic Gene Therapy. *Cancer Gene Therapy*, 1998 5(5):274-280,
12. Shirakawa T, Gotoh A, Wada Y, Kamidono S, Ko SC, Kao C, Gardner TA, Chung LWK Tissue-specific promoters in gene therapy for the treatment of prostate cancer *Molecular Urology*, 2000 4(2):73-82
13. Koeneman KS, Kao C, Ko SC, Yang L, Wada Y, Kallmes DF, Gillenwater JV, Zhou HE, Chung LWK, Gardner TA Osteocalcin-directed gene therapy for prostate-cancer bone metastasis *World J Urol* 2000 18, 102-110
14. Ives DH, Durham JP, Tucker VS. Rapid determination of nucleoside kinase and nucleotidase activities with tritium-labeled substrates. *Anal Biochem.* 1969 28(1):192-205.
15. Wu TT, Sikes RA, Cui Q, Thalmann GN, Kao C, Murphy CF, Yang H, Zhou HE, Balian G, Chung LW. Establishing human prostate cancer cell xenografts in bone: induction of osteoblastic reaction by prostate-specific antigen-producing tumors in athymic and SCID/bg mice using LNCaP and lineage-derived metastatic sublines. *Int J Cancer.* 1998 77(6):887-894.
16. Sterman DH, et al, (1998) Adenovirus-mediate herpes simplex virus thymidine kinase/ganciclovir gene therapy in patients with localized malignancy: Results of a phase I clinical trial in malignant mesothelioma. *Hum. Gene. Ther.* 9: 1083-1092
17. Herman JR, et al, (1999) In situ gene therapy for adenocarcinoma of the prostate: a phase

- I clinical trial. Hum. Gene Ther. 10: 1239-1249
18. Shand N, et al, (1999) A phase 1-2 clinical trial of gene therapy for recurrent glioblastoma multiforme by tumor transduction with the herpes simplex thymidine kinase gene followed by ganciclovir. Hum. Gene Ther. 10: 2325-2335
 19. Alvarez RD, et al, (2000) Adenoviral-mediated suicide gene therapy for ovarian cancer. Mol. Ther. 2: 524-530
 20. Traks TW, et al, (2000) Phase I study of adenoviral delivery of the HSV-tk gene and ganciclovir administration in patients with recurrent malignant brain tumors. Mol. Ther. 1: 195-203
 21. Rainov NG, (2000) A phase III clinical evaluation of herpes simplex virus type 1 thymidine kinase and ganciclovir gene therapy as an adjuvant to surgical resection and radiation in adults with previously untreated glioblastoma multiforme. Hum. Gene Ther. 11: 2389-2401.
 22. Sung MW, et al, (2001) Intratumoral adenovirus-mediated suicide gene transfer for hepatic metastases from colorectal adenocarcinoma: results of a phase I clinical trial. Mol. Ther. 4: 182-191
 23. Taylor CD, Elson P, Trump DL. Importance of continued testicular suppression in hormone-refractory prostate cancer. J Clin Oncol. 1993 11(11):2167-2172.

13. 申請者の略歴及び研究業績

後藤 章暢

略歴； 昭和 62 年 3 月	産業医科大学医学部卒業
昭和 62 年 6 月	神戸大学医学部附属病院 研修医（泌尿器科）
昭和 63 年 4 月	神戸大学大学院医学研究科入学
平成 4 年 3 月	同 修了（医学博士取得）
平成 4 年 4 月	神戸大学医学部 非常勤講師 国立神戸病院（泌尿器科）
平成 6 年 7 月	アメリカ合衆国テキサス大学 MD Anderson Cancer Center 泌尿器科研究員
平成 7 年 7 月	アメリカ合衆国ヴァージニア大学泌尿器科研究員
平成 8 年 7 月	神戸大学医学部泌尿器科学講座 助手
平成 13 年 4 月	神戸大学大学院医学系研究科・器官治療医学講座・腎泌尿器科学分野 助手

研究業績；

- 1) Osteocalcin Promoter-based Toxic Gene Therapy for the Treatment of Osteosarcoma in Experimental Models. *Cancer Research* 56; 4614-4619, 1996.
- 2) Molecular therapy with recombinant p53 adenovirus in an androgen independent metastatic human prostate cancer model. *Chung Human Gene Therapy* 7; 1683-1691, 1996.
- 3) Surgical treatment of renal cell carcinoma with tumor thrombi in the inferior vena cava. *International J. Clinical Oncology* 2; 213-218, 1997.
- 4) Neuroendocrine cells in the prostatic carcinomas after neoadjuvant hormonal therapy. *Kobe J. Med. Sci.* 43; 71-81, 1997.
- 5) Chemogene therapy; Osteocalcin promoter-based suicide gene therapy in combination with methotrexate in a murine osteosarcoma model. *Cancer Gene Therapy* 4; 359-365, 1997.
- 6) 前立腺癌遺伝子治療の臨床応用への検討. *泌尿器科紀要* 43; 829-833, 1997.
- 7) Cytotoxic effects of recombinant adenovirus p53 and cell cycle regulator genes p21WAF1/CIP1 and p16CDKN4 in human prostate cancers *J. Urol.* 158; 636-641, 1997.
- 8) Pitfalls of measuring residual urine volume in orthotopic neobladders. *British J. Urol.* 80 ; 567-569, 1997.
- 9) In vivo suppression of osteosarcoma pulmonary metastasis with intra venous osteocalcinpromoter-based toxic gene therapy. *Cancer Gene Therapy* 5 ; 274-280, 1998.
- 10) Development of prostate-specific antigen promoter-based gene therapy for androgen-independent human prostate cancer. *J. Urol.* 160 ; 220-229, 1998.
- 11) Assessment of proliferating cell nuclear antigen expression and prognosis in renal cell carcinoma with pulmonary metastases. *Int. J. Urol.* 5 ; 214-218, 1998.
- 12) Cytotoxicity of adenoviral-mediated cytosine deaminase plus 5-fluorocytosine gene therapy is superior to thymidine kinase plus acyclovir in a human renal cell carcinoma model. *J. Urol.* 162;949-954, 1999.
- 13) 遺伝子治療開発研究ハンドブック. 固形癌—前立腺癌. 日本遺伝子治療学会編 1999 年、

p. 181-187

- 14) Tissue-specific promoters in gene therapy for the treatment of prostate cancer. Molecular Urology 55; 862-865, 2000.
- 15) The drug resistant human bladder cancer cells are more sensitive to the adenoviral-mediated wt-p53 gene therapy compared to the drug-sensitive human bladder cancer cells. Int. J Cancer in press 2001.
- 16) Gene Therapy for Bladder Cancer Using Adenoviral Vector. Mol Urol, 5: 47-52, 2001.

守殿 貞夫

略歴； 昭和42年3月 兵庫県立神戸医科大学卒業
昭和42年11月 神戸大学医学部附属病院 助手（泌尿器科）
昭和49年9月 医学博士取得（神戸大学）
昭和50年3月 神戸大学医学部附属病院 講師（泌尿器科）
昭和54年1月 神戸大学医学部附属病院 助教授（泌尿器科）
昭和54年5月 アメリカ合衆国ニューヨーク医科大学・泌尿器科客員助教授
（同年9月帰国）
昭和60年5月 神戸大学医学部泌尿器科学講座 教授
（平成8年10月～平成12年9月 神戸大学医学部附属病院 病院長）
平成13年4月 神戸大学大学院医学系研究科・器官治療医学講座・腎泌尿器科学分野
教授

研究業績；

- 1) Expression of mage genes in testicular germ cell tumors. Urology, 53: 843-947, 1999.
- 2) Elevation of serum level of vascular endothelial growth factor as a new predictor of recurrence and disease progression in patients with superficial urothelial cancer. Urology, 53: 302-307, 1999.
- 3) Klinefelter's syndrome in the male infertility clinic. Human Reproduction, 14: 946-952, 1999.
- 4) Assisted reproduction technology for patients with congenital bilateral absence of vas deferens. J. Urol., 161: 1157-1162, 1999.
- 5) Assisted reproduction for infertile patients with 9+0 immotile spermatozoa associated with autosomal dominant polycystic kidney disease. Human Reproduction, 14: 110-113, 1999.
- 6) Conservative therapy for stage T1b, grade 3 transitional cell carcinoma of the bladder, Urology, 53: 308-313, 1999.
- 7) Long-term experience with orthotopic reconstruction of the lower urinary tract in women. J. Urol., 161: 573-577, 1999.
- 8) Renal angiolipoma associated with inferior vena caval tumor thrombus. Br. J. Urol., 81: 773-774, 1999.
- 9) Outcome of precise vesicourethral anastomosis following retropubic radical prostatectomy using a Foley catheter. Int. J. Urol., 6: 75-77, 1999.
- 10) Clinical outcome of microsurgery for obstructive azoospermia. Int. J. Urol., 6: 139-144, 1999.
- 11) 前立腺癌遺伝子治療の臨床応用への検討. 泌尿器科紀要 43; 829-833, 1997.
- 12) Cytotoxicity of adenoviral-mediated cytosine deaminase plus 5-fluorocytosine gene therapy is superior to thymidine kinase plus acyclovir in a human renal cell carcinoma model. J. Urol. 162;949-954, 1999.
- 13) 遺伝子治療開発研究ハンドブック. 固形癌—前立腺癌. 日本遺伝子治療学会編 1999年、p 181-187
- 14) Gene Therapy for Bladder Cancer Using Adenoviral Vector. Mol Urol, 5: 47-52, 2001.

白川 利朗

略歴： 平成4年3月 神戸大学医学部卒業
平成4年6月 神戸大学医学部附属病院 研修医（泌尿器科）
平成4年10月 市立三木市民病院 医員（泌尿器科）
平成6年4月 神戸大学大学院医学研究科入学
平成8年4月 アメリカ合衆国ヴァージニア大学泌尿器科 研究員
平成10年3月 神戸大学大学院医学研究科修了（医学博士取得）
平成10年4月 神戸大学医学部附属病院 医員（泌尿器科）
平成11年4月 神戸大学医学部医学研究国際交流センター 研究員
神戸大学医学部泌尿器科学講座 非常勤講師
平成13年4月 神戸大学大学院医学系研究科・器官治療医学講座・腎泌尿器科学分野
助手

研究業績：

- 1) Osteocalcin Promoted-based Toxic Gene Therapy for the Treatment of Osteosarcoma in Experimental Models. *Cancer Research*, 56:4614-4619, 1996
- 2) Microdeletion of the Y chromosome in Yq11 in idiopathic azoospermia *International Journal of Urology*, 4:198-201, 1997
- 3) Chemogene Therapy: Osteocalcin Promoter-Based Suicide Gene Therapy in Combination with Methotrexate in a Murine Osteosarcoma Model. *Cancer Gene Therapy*, 4: 359-365, 1997
- 4) Development of Prostate-Specific Antigen Promoter-Based Gene Therapy for Androgen-Independent Human Prostate Cancer. *Journal of Urology*, 160: 220-229, 1998
- 5) In Vivo Suppression of Osteosarcoma Pulmonary Metastasis with Intra Venous Osteocalcin Promoter-Based Toxic Gene Therapy. *Cancer Gene Therapy*, 5:274-280, 1998
- 6) Exploiting Stromal-Epithelial Interaction for Model Development and New Strategies of Gene Therapy for Prostate Cancer and Osteosarcoma Metastases. *Gene Therapy and Molecular Biology*, 2: 41, 1998. (Text Book)
- 7) Cytotoxicity of Adenoviral-Mediated Cytosine Deaminase Plus 5-Fluorocytosine Gene Therapy is Superior to Thymidine Kinase Plus Acyclovir in a Human Renal Cell Carcinoma Model. *Journal of Urology*, 162:949-954, 1999
- 8) 遺伝子治療開発研究ハンドブック. 固形癌一前立腺癌. 日本遺伝子治療学会編 1999 年、p. 181-187
- 9) Tissue-specific promoters in gene therapy for the treatment of prostate cancer. *Molecular Urology* 55; 862-865, 2000.
- 10) p53 adenoviral vector (Ad-CMV-p53) induced prostatic growth inhibition of primary cultures of human prostate and an experimental rat model. *Journal of Gene medicine*, 2: 426-432, 2000
- 11) Gene Therapy for Bladder Cancer Using Adenoviral Vector. *Mol Urol*, 5: 47-52, 2001.
- 12) The drug resistant human bladder cancer cells are more sensitive to the adenoviral-mediated wt-p53 gene therapy compared to the drug-sensitive human bladder cancer cells. *Int. J Cancer* in press 2001.

荒川 創一

略歴； 昭和 53 年 3 月 鹿児島大学医学部卒業
昭和 53 年 6 月 神戸大学医学部附属病院泌尿器科 研修医
昭和 54 年 4 月 神戸大学大学院医学研究科入学
昭和 58 年 3 月 同 修了（医学博士取得）
昭和 58 年 4 月 神戸大学医学部泌尿器科学講座 助手
昭和 59 年 4 月 国立神戸病院泌尿器科
昭和 61 年 4 月 神戸大学医学部附属病院 講師（泌尿器科）
平成 5 年 4 月 神戸大学医学部泌尿器科学講座 助教授
平成 6 年～平成 7 年 ドイツヴィッテンヘルデッケ大学医学部泌尿器科客員医師
平成 13 年 4 月 神戸大学大学院医学系研究科・器官治療医学講座・腎泌尿器科学分野
助教授

研究業績；

- 1) Elevation of urokinase-type plasminogen activator and its receptor densities as new predictors of disease progression and prognosis in men with prostate cancer. Int J Oncol. 1999 Mar; 14(3): 535-41.
- 2) Assisted reproduction technology for patients with congenital bilateral absence of vas deferens. J Urol. 1999 Apr; 161(4): 1157-62.
- 3) Expression of MAGE genes in testicular germ cell tumors. Urology. 1999 Apr; 53(4): 843-7.
- 4) Ryoikibetsu Shokogun Shirizu. 1999; (25 Pt 3): 226-30. Review.
- 5) Prostatitis—the Japanese viewpoint. Int J Antimicrob Agents. 1999 May; 11(3-4): 201-3; discussion 213-6.
- 6) Synergistic antitumor effects of interleukin-12 gene transfer and systemic administration of interleukin-18 in a mouse bladder cancer model. Cancer Immunol Immunother. 1999 Sep; 48(6): 297-302.
- 7) Synergistic antitumor effect of ionomycin and cisplatin against renal cell carcinoma in vitro and in vivo. Urology. 2001 Jan; 57(1): 188-92.
- 8) Optimal timing and dosage of chemotherapy as a combined treatment with androgen withdrawal in the human prostate LNCaP tumour model. Br J Cancer. 2001 Mar 23; 84(6): 859-63.
- 9) Adenovirus-mediated p53 gene transfer to rat testis impairs spermatogenesis. Arch Androl. 2001 May-Jun; 46(3): 223-31.

岡田 弘

略歴； 昭和 55 年 3 月 神戸大学医学部卒業
昭和 56 年 4 月 神戸大学大学院医学研究科入学
昭和 60 年 3 月 同 修了（医学博士取得）
昭和 60 年 7 月 神戸大学医学部泌尿器科 助手
昭和 60 年 10 月 アメリカ合衆国ニューヨーク医科大学
泌尿器科学講座および微生物学免疫学講座 研究員
昭和 64 年 1 月 三木市立三木市民病院泌尿器科 医長
平成 4 年 4 月 神戸大学医学部附属病院 講師（泌尿器科）

研究業績；

- 1) Assessment of germ-cell kinetics in the testes of patients with varicocele using image analysis of immunostained proliferating cell nuclear antigen. Br. J. Urol. 78: 769-771, 1996.
- 2) Nitric oxide production by cultured rat leydig cells. Endocrinology. 138: 994-998, 1997
- 3) Relationship of acrosin activity to sperm function tests. Andrologia. 29: 103-108, 1997.
- 4) Enzymes involved in DNA synthesis in the testes are regulated by temperature in vitro. Eur. Urol. 31: 237-242, 1997.
- 5) Formation of reactive oxygen species by spermatozoa from asthenospermic patients: response to treatment with pentoxifylline. J. Urol. 157: 2140-2146, 1997.
- 6) Image cytometry for quantitative analysis of DNA in the testes of infertile men with varicocele; comparison with flow cytometry. J. Urol. 157: 2370-2374, 1997.
- 7) Recovery of leukocyte function after super-high-dose chemotherapy with peripheral blood stem cell transplantation in testicular cancer patients. Int. J. Cancer. 72: 39-42, 1997.
- 8) Pitfalls of measuring residual urine volume in orthotopic neobladders. Br. J. Urol. 80: 567-569, 1997.
- 9) The apoptotic changes of testicular germ cells in the obstructive azoospermia models of prepubertal and adult rats. J. Urol. 160: 540-544, 1998.
- 10) Multifocal renal cell carcinoma in Japanese patients with tumors with maximal diameters of 50 mm or less. J. Urol. 159: 1144-1147, 1998.
- 11) Long-term experience with orthotopic reconstruction of the lower urinary tract in women. J. Urol. 161: 573-577, 1999.
- 12) Conservative therapy for stage T1b, grade 3 transitional cell carcinoma of the bladder. Urology 53: 308-313, 1999
- 13) Assisted reproduction technology for patients with congenital bilateral absence of vas deferens. J. Urol. 161: 1157-1162, 1999
- 14) Conservative therapy for stage T1b, grade 3 transitional cell carcinoma of the bladder. Urology, 53: 308-313, 1999.

藤澤 正人

略歴； 昭和 59 年 3 月 神戸大学医学部卒業
昭和 60 年 4 月 神戸大学大学院医学研究科入学
昭和 62 年 1 月-12 月 名古屋大学医学部病態制御研究施設特別研究学生
平成 1 年 3 月 神戸大学大学院医学研究科修了（医学博士取得）
平成 1 年 4 月 神鋼病院泌尿器科
平成 2 年 1 月 The Population Council, Center for Biomedical Research 研究員
平成 4 年 4 月 神戸大学医学部附属病院・助手（泌尿器科）
平成 13 年 5 月 神戸大学医学部附属病院 講師（泌尿器科）

研究業績；

- 1) Changes in enzymes involved in DNA synthesis in the testis of cryptorchid rats. J. Reprod. Fertil. 84, 123-130, 1988
- 2) Deoxyribonucleic acid polymerase activity in the testes of infertile men with varicocele. Fertil. Steril. 50, 795-800, 1988
- 3) Decrease in topoisomerase I activity in the testes of infertile men with varicocele. Arch. Androl. 21, 45-50, 1988
- 4) The effect of temperature on recombination activity in the testes of rodents. Exp. Cell. Res. 178, 163-168, 1988
- 5) A germ cell factor(s) modulates preproenkephalin gene expression in rat Sertoli cells. Mol. Cell. Endocrinol. 84: 79-88, 1992
- 6) A spermatid factor inhibits cAMP and calcium signaling in spermatid but not Leydig cells. Recent Progress in Hormone Research. 49: 353-358, 1993
- 7) Germ cell factor(s) regulate opioid gene expression in Sertoli cells. Recent Progress in Hormone Research. 48: 497-504, 1993
- 8) The significance of gonadotropin-releasing hormone test for predicting fertility after varicocelectomy. Fertil Steril 61: 779-782, 1994
- 9) Enzymes involved in DNA synthesis in the testes are regulated by temperature in vitro. Eur Urol 31: 237-242, 1997

原 勲

略歴； 昭和 60 年 3 月 神戸大学医学部卒業
昭和 60 年 6 月 神戸大学医学部附属病院泌尿器科（研修医）
昭和 61 年 4 月 神戸大学大学院医学研究科入学
平成 2 年 3 月 同 修了（医学博士取得）
平成 2 年 4 月 神戸大学医学部附属病院泌尿器科 医員
平成 3 年 4 月 Memorial Sloan Kettering Cancer Center 研究員
平成 7 年 4 月 神戸大学医学部泌尿器科学講座 助手
平成 13 年 4 月 神戸大学大学院医学系研究科・器官治療医学講座・腎泌尿器科学分野
助手

研究業績；

- 1) Bcl-2 modulates Fas-mediated apoptosis in human renal cell carcinoma cell lines. Int J Oncol. 2001 Jun;18(6):1181-5.
- 2) Significance of matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinase expression in the recurrence of superficial transitional cell carcinoma of the bladder. J Urol. 2001 May;165(5):1769-72.
- 3) Optimal timing and dosage of chemotherapy as a combined treatment with androgen withdrawal in the human prostate LNCaP tumour model. Br J Cancer. 2001 Mar 23;84(6):859-63.
- 4) Synergistic antitumor effect of ionomycin and cisplatin against renal cell carcinoma in vitro and in vivo. Urology. 2001 Jan;57(1):188-92.
- 5) Effectiveness of cancer vaccine therapy using cells transduced with the interleukin-12 gene combined with systemic interleukin-18 administration. Cancer Gene Ther. 2000 Jan;7(1):83-90.

日向 信之

略歴； 平成 10 年 3 月 神戸大学医学部卒業
平成 10 年 6 月 神戸大学医学部附属病院泌尿器科（研修医）
平成 11 年 4 月 神戸大学大学院医学研究科入学
平成 13 年 4 月 神戸大学大学院医学系研究科・器官治療医学講座・腎泌尿器科学分野・
大学院生

研究業績；

- 1) p53 adenoviral vector (Ad-CMV-p53) induced prostatic growth inhibition of primary cultures of human prostate and an experimental rat model. Journal of Gene medicine, 2: 426-432, 2000

和田義孝

略歴； 平成 6 年 3 月 神戸大学医学部卒
平成 7 年 6 月 兵庫県立尼崎病院（泌尿器科） 研修医
平成 9 年 4 月 神戸大学医学部大学院医学研究科入学（泌尿器科）
平成 10 年 2 月 アメリカ合衆国ヴァージニア大学研究員（泌尿器科）
平成 13 年 3 月 神戸大学大学院医学研究科卒業
平成 13 年 4 月 神戸大学大学院医学系研究科・器官治療医学講座・腎泌尿器科学分野
非常勤講師

研究業績；

- 1) Assessment of proliferating cell nuclear antigen expression and prognosis in renal cell carcinoma with pulmonary metastases. Int. J. Urol. 5; 214-218, 1998.
- 2) Osteocalcin Directed Gene Therapy for Prostate Cancer Bone Metastasis. World J. Urol 18:102-110, 2000.
- 3) Gene Therapy for Bladder Cancer Using Adenoviral Vector. Mol Urol, 5: 47-52, 2001.

松尾 雅文

略歴； 昭和47年3月 神戸大学医学部卒業
昭和47年7月 神戸大学医学部附属病院小児科 研修医
昭和48年4月 神戸大学大学院医学研究科入学
昭和52年3月 同 修了（医学博士取得）
昭和52年4月 米国ヴァージニア大学医学部研究員
昭和54年5月 兵庫県立こども病院新生児科医師
昭和57年8月 神戸大学医学部附属病院小児科 助手
昭和63年1月 神戸大学医学部附属病院小児科 講師
平成1年2月 神戸大学医学部小児科 講師
平成2年12月～平成3年9月 文部省長期在外研究員として
Stanford 大学小児科人類遺伝学教室にて研究に従事
平成3年11月 神戸大学医学部小児科 助教授
平成4年8月 神戸大学医学部附属医学研究国際交流センター 教授
平成12年1月 Bravijawa 大学（インドネシア）客員教授（3年間）兼任
平成13年4月 神戸大学大学院医学系研究科・国際環境医科学講座・遺伝病統御学分野
教授

研究業績；

- 1) Antioxidative mechanism and apoptosis induction by 3-hydroxyanthranilic acid, an antioxidant in Indonesian food Tempeh, in the human hepatoma-derived cell line, HuH-7. J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo). 1997 Apr; 43(2):249-59.
- 2) Genotype and electroretinal heterogeneity in Duchenne muscular dystrophy. Exp Eye Res. 1997 Dec;65(6):861-4. No abstract available.
- 3) Splicing error due to a splice acceptor site mutation in the ALD gene identified in a Japanese childhood cerebral adrenoleukodystrophy case.
- 4) High incidence of a survival motor neuron gene/cBCD541 gene ratio of 2 in Japanese parents of spinal muscular atrophy patients: a characteristic background of spinal muscular atrophy in Japan? J Neurol. 1999 Jan;246(1):48-52.
- 5) A simple explanation for a case of incompatibility with the reading frame theory in Duchenne muscular dystrophy: failure to detect an aberrant restriction fragment in Southern blot analysis. Brain Dev. 1999 Sep;21(6):386-9.
- 6) Complete skipping of exon 66 due to novel mutations of the dystrophin gene was identified in two Japanese families of Duchenne muscular dystrophy with severe mental retardation. Brain Dev. 2000 Mar;22(2):107-12.
- 7) Nonsense mutation of the alpha-actinin-3 gene is not associated with dystrophinopathy. Am J Med Genet. 2000 May 1;92(1):77-8.
- 8) Prenatal diagnosis of a Japanese family at risk for Tay-Sachs disease. Application of a fluorescent competitive allele-specific polymerase chain reaction (PCR) method. Kobe J Med Sci. 1999 Dec;45(6):259-70.
- 9) Non-homologous recombination between Alu and LINE-1 repeats caused a 430-kb deletion in the dystrophin gene: a novel source of genomic instability. J Hum Genet. 2000;45(6):331-6.

- 10) p53 adenoviral vector (Ad-CMV-p53) induced prostatic growth inhibition of primary cultures of human prostate and an experimental rat model. J Gene Med. 2000 Nov-Dec;2(6):426-32.

杉村 和朗

略歴； 昭和52年3月 神戸大学医学部卒
昭和59年6月 医学博士修得
昭和62年1月 島根医科大学附属病院 助教授
昭和63年9月 文部省在外研究員としてカリフォルニア大学サンフランシスコ校留学
平成6年4月 島根医科大学放射線医学講座 教授
平成10年12月 神戸大学医学部放射線医学講座 教授
平成13年4月 神戸大学大学院医学系研究科・生体情報医学講座・放射線医学分野教授

研究業績；

- 1) Bone marrow diseases of the spine: differentiation with T1 and T2 relaxation times in MR imaging. Radiology. 165: 541-544, 1987
- 2) Postirradiation changes in the pelvis: assessment with MR imaging. Radiology. 175: 805-813, 1990
- 3) Detection and staging of prostatic carcinoma after transurethral resection or open enucleation of the prostate: accuracy of magnetic resonance imaging. The Journal of Urology, 147: 402-406, 1992
- 4) A critical evaluation of transvaginal doppler studies, transvaginal sonography, magnetic resonance imaging, and CA 125 in detecting ovarian cancer. Obstetrics and Gynecology. 80: 922-926, 1992
- 5) Pelvic endometriosis: Detection and diagnosis with chemical shift MR imaging. Radiology. 188: 435-438, 1993
- 6) The role of MR Imaging in determining surgical eligibility for pelvic exenteration. American Journal of Roentgenology. 160: 525-531, 1993
- 7) Benign Prostatic Hyperplasia : Value of MR imaging for determining histologic type. Radiology. 190: 329-331, 1994
- 8) Diagnosis of pelvic endometriosis by magnetic resonance imaging using "fat-saturation" technique. Fertility and Sterility. 62: 973-977, 1994
- 9) Magnetic resonance imaging and serum CA-125 in evaluating patients with endometriomas prior to medical therapy. Fertility and Sterility. 65: 288-292, 1996
- 10) Rectal carcinoma: prospective comparison of conventional and gadopentetate dimeglumine enhanced fat-suppressed MR imaging. Journal of Magnetic Resonance Imaging. 6: 465-471, 1996

佐々木 良平

略歴； 平成5年3月 神戸大学医学部卒
平成6年6月 天理よろづ病院勤務
平成9年4月 神戸大学大学院医学研究科入学
平成13年3月 同 修了（医学博士取得）
平成13年4月 神戸大学医学部附属病院・放射線科 医員

研究業績；

- 1) Medical Record Management System for Radiation Oncology Operating on a Local Area Network. J Jpn Soc Ther Radiat Oncol. 8:317-328, 1996.
- 2) Experience in treatment of patients with locally advanced or recurrent breast cancer: intraarterial infusion chemotherapy combined with radiotherapy. Nippon Igaku Hoshasen Gakkai Zasshi. 57:189-94, 1997.
- 3) Radiation therapy for non-small cell lung cancer with postoperative intrathoracic recurrence. Nippon Igaku Hoshasen Gakkai Zasshi. 58:18-24, 1998.
- 4) Clinical results and prognostic factors of radiotherapy for bone metastases from breast cancer Nippon Igaku Hoshasen Gakkai Zasshi. 59:27-33, 1999.
- 5) Optimal thoracic irradiation for stage IV lung cancer. Nippon Igaku Hoshasen Gakkai Zasshi. 59:689-97, 1999.
- 6) The efficacy of conventional radiation therapy in the management of pituitary adenoma. Int J of Radiat Oncol, Biol, Phys. In printing.
- 7) Target cells of apoptosis in the adult murine dentate gyrus and O4 immunoreactivity after ionizing radiation. Neuroscience Letter. 279: 57-60, 2000

前田 盛

略歴； 昭和46年3月 神戸大学医学部医学科卒業
昭和49年1月 神戸大学医学部病理学第二講座助手採用
昭和49年10月 イスラエル Weizmann Institute of Science, Professor Leo Sachs,
Dept of Genetics に留学 (昭和51年3月まで)
昭和55年11月 医学博士取得 (神戸大学)
昭和56年1月 神戸大学医学部病理学第二講座講師
昭和56年1月 神戸大学大学院医学研究科博士課程担当 (現在に至る)
昭和59年6月 米国イリノイ州 Argonne National Laboratory, Biological and
Medical Research, Director Eliezer Huberman に Visiting
Scientist

として留学 (昭和60年7月まで)
昭和60年11月 神戸大学医学部病理学第二講座助教授
平成1年12月 神戸大学医学部病理学第二講座教授 (現在に至る)
平成13年4月 神戸大学大学院医学系研究科・生体情報医学講座・分子病理学分野
教授

研究業績；

- 1) Glut1 expression in T1 and T2 stage colorectal carcinomas; its relationship to clinicopathological features. Eur. J. Cancer, 37: 204-209, 2001
- 2) Novel presenilin-1 mutation with widespread cortical amyloid deposition but limited cerebral amyloid angiopathy. Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry, 68(2): 220-223, 2000
- 3) Induction of S100A4 gene expression inhibits in vitro invasiveness of human squamous cell carcinoma, KOSC-3 cells. Cancer Letters, 149: 135-141, 2000
- 4) A role for heterologous gap junctions between melanoma and endothelial cells in metastasis. The Journal of Clinical Investigation, 105(9): 1189-1197, 2000
- 5) 遺伝子診断とはー 病理と臨床, 18(7): 620-623, 2000
- 6) Preservation of pathological tissue specimens by freeze-drying for immunohistochemical staining and various molecular biological analyses. Pathol. Int., 49: 383-390, 1999
- 7) Methylglyoxal modification of protein. J. Biol. Chem., 274(26): 18492-18502, 1999
- 8) Fatal liver cirrhosis and esophageal variceal hemorrhage in a patient with type (a) glycogen storage disease. Int. Medicine, 37(12): 1055-1058, 1998
- 9) Codon 201 Arg/Gly Polymorphism of the DCC (deleted in colorectal carcinoma) gene in Flat-and Polypoid-Type Colorectal tumors. Digest. Dis. & Sci., 42(12), 2446-2452, 1997
- 10) Alternative splicing of the erythropoietin receptor gene correlates with erythroid differentiation in rat hematopoietic leukemic cells. Cancer Letter, 112: 47-55, 1997
- 11) Molecular characterization of a novel cancer cell line established from human carcinoma in pleomorphic adenoma (CaPA-4). Int. J. Cancer, 67: 204-210, 1996

Leland W. K. Chung

略歷 ; 1958-1962 Agricultural Chemistry, National Taiwan University, Taipei, Taiwan
B. S. 取得
1963-1965 Biochemistry, Oregon State University Corvallis, Oregon
M. S. 取得
1965-1969 Pharmacology, University of Oregon Health Science Center,
Portland, Oregon Ph. D. 取得
1969-1972 Department of Pharmacology and Experimental Therapeutics
Johns Hopkins University School of Medicine, Baltimore, MD
(Postdoctoral Fellow)
1963-1976 Department of Pharmacology and Therapeutics, McGill University, Montreal,
Quebec, Canada (Assistant Professor) School of Pharmacy, University of Colorado,
Boulder,
CO (Assistant Professor)
1977-1980 School of Pharmacy, University of Colorado, Boulder, CO (Associate Professor)
1980-1986 Department of Pharmacology, School of Medicine, University of Colorado
Health Science Center, Denver, CO (Associate Professor)
1986-1990 The University of Texas, M. D. Anderson Cancer Center, Houston, TX
(Associate Professor of Urology, Biochemistry, and Molecular Biology)
1990-1995 The University of Texas, M. D. Anderson Cancer Center, Houston, TX
(Professor of Urology, Biochemistry and Molecular Biology)
1995-1996 Department of Urology, University of Virginia Health Sciences Center,
Charlottesville, VA (Professor of Urology, Director of Molecular
Urology and Therapeutics Program)
1996-present University of Virginia Health Sciences Center, Charlottesville, VA
(Professor of Cell Biology, Department of Cell Biology)

研究業績 ;

- 1) Osteocalcin promoter-based toxic gene therapy for the treatment of osteosarcoma in experimental models. Cancer Res. 56:4614-4619, 1996.
- 2) Prostate epithelial differentiation is dictated by its surrounding stroma. Molec. Biol Reps. 23:13-19, 1996.
- 3) Androgen-repressed phenotype in human prostate cancer. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93:15152-15157, 1996.
- 4) Genetic changes associated with the acquisition of androgen-independent growth, tumorigenicity and metastatic potential in a prostate cancer model. Brit. J. Cancer 75:190-195, 1997.
- 5) Adenovirus-mediated expression of PML suppresses growth and tumorigenicity of prostate cancer cells. Cancer Res. 56:1868-1872, 1997.
- 6) Cytotoxic effects of recombinant adenovirus p53 and cell-cycle regulator genes (p21^{WAF1/cip1} and p16^{INK4}) in human prostate cancers. J. Urol. 158:636-641, 1997.
- 7) Development of human prostate cancer models for chemoprevention and experimental

therapeutics studies. J. Cell. Biochem. (in press).

- 8) Chemogene Therapy: Osteocalcin promoter based suicide gene therapy in combination with methotrexate in a murine osteosarcoma model. Cancer Gene Therapy. 4:359-365, 1997.
- 9) Human prostate cancer progression models and therapeutic intervention. Acta Urol. Jpn. 43:815-820, 1997.
- 10) Development of prostate-specific antigen promoter-based gene therapy for androgen-independent human prostate cancer. J. Urol. 160:220-229, 1998.
- 11) Establishing Human Prostate Cancer Cell Xenografts in Bone: Induction of Osteoblastic Reaction by PSA-Producing Tumors in Athymic and SCID/bg Mice Using LNCaP and Lineage-Derived Metastatic Sublines. Int. J. Cancer. 77:887-894, 1998.
- 12) In vivo suppression of osteosarcoma pulmonary metastasis with intravenous osteocalcin promoter-based toxic gene therapy. Cancer Gene Therapy 5(5): 274-280, 1998..
- 13) Targeting angiogenic pathways involving tumor-stromal interaction to treat advanced human prostate cancer. Cancer & Metastasis Reviews, 17(4):307-15, 1998-99
- 14) Cytotoxicity of adenoviral-mediated cytosine deaminase plus 5-fluorocytosine gene therapy is superior to thymidine kinase plus acyclovir in a human renal cell carcinoma model. Journal of Urology 162(3 Pt1):949-54, 1999.
- 15) Osteocalcin Directed Gene Therapy for Prostate Cancer Bone Metastasis. World J. Urol 18:102-110, 2000.
- 16) Thalmann GN, Sikes RA, Wu TT, DeGeorges A, Chang S-M, Ozen M, Pathak S and Chung LWK. The LNCaP progression model of human prostate cancer: Androgen-independence and osseous metastasis. The Prostate 44:91-013, 2000.

14. 添付資料一覧

添付資料 1、Ad-OC-TK の全塩基配列

添付資料 2、Ad-OC-TK ベクターの作製法

添付資料 3、Ad-OC-TK ベクターの基礎研究

添付資料 4、PSA 測定キットの添付文書の写し

添付資料 5、遺伝子治療臨床研究のための説明と同意書

添付資料 6、バラシクロビルに関する薬剤添付文書

添付資料 7、遺伝子治療臨床研究のフローチャート

添付資料 8、パフォーマンスステータスの評価指標

添付資料 9、副作用の評価指標

添付資料 10、症例登録用紙および症例記録に関する記録用紙

添付資料 5

遺伝子治療臨床研究のための説明と同意書（案）

遺伝子治療臨床研究のための説明と同意書（案）

説 明

はじめに

新しい治療法あるいは薬剤が一般的に使われるようになるためには、まずその安全性と効果を確認しなければなりません。この過程を臨床研究あるいは臨床試験といいます。一般的に試験は治療法あるいは薬剤の副作用を確認し、安全であるかどうかを調べる第一相試験、第一相試験で安全性が確認された治療方法、薬剤の投与量で治療を行い効果を調べる第二相試験、現在一般的に使われている治療方法や薬剤と比較する第三相試験に分けられます。今回の臨床研究は治療の安全性を調べることを主たる目的とし、同時に治療の効果も調べることを目的としており、第一／第二相試験に相当すると考えられます。

前立腺癌は、早期であれば手術療法で根治させることが可能ですが、癌が広がっていたり、合併症で手術が危険な場合には手術は行われません。この場合には内分泌療法や放射線療法が行われますが、これらの治療に抵抗して癌が進行することがあります。このような癌に対して、残念ながら、有効な治療法は、現在まだ確立されておられません。神戸大学医学部附属病院ではこのような患者さんに対する新しい治療法の確立を目的として、前立腺癌に対する遺伝子治療臨床研究を計画しました。これは、前立腺癌に対する将来の治療の基礎となる大切な臨床研究です。

臨床研究の名称：前立腺癌転移巣および局所再発巣に対する臓器特異性オステオカルシンプロモーターを組み込んだアデノウイルスベクター(Ad-OC-TK)およびバラシクロビルを用いた遺伝子治療臨床研究

実施施設：神戸大学医学部附属病院

総括責任医師：後藤章暢（神戸大学・医学部附属医学研究国際交流センター・助教授）

連絡先：神戸大学・医学部附属医学研究国際交流センター

TEL 078-382-5694

FAX 078-382-5693

これから、この遺伝子治療臨床研究（以下「臨床研究」と略します）で行われる前立腺癌の遺伝子治療の内容、期待される効果、予想される副作用などについてご説明いたします。この説明を聞かれたうえで、この臨床研究に被験者（患者さん）として参加して遺伝子治療を受けられるか受けられないかをご検討下さい。

この臨床試験に参加する、しないはあなたの自主性に基づいた自由意志によって慎重に決めてください。

もちろん、実際にはこの文書に基づいて担当の医師が詳しくお話しいたしますので、分からない点があればなんでもご質問ください。

あなたの人権および患者としての権利を守るために、以下のことを約束します。

● 説明の後で、あなたが臨床研究に参加しないと決められた場合も、今後の治療などで不利益を受けることは一切無いこと。

● 臨床研究に参加することに同意された場合でも、その後に何らかの事情で参加することを取り止めたくなったら、いつでも研究参加の同意を撤回し臨床研究の中止を求めることができること。

遺伝子治療臨床研究について

1. あなたの前立腺癌について

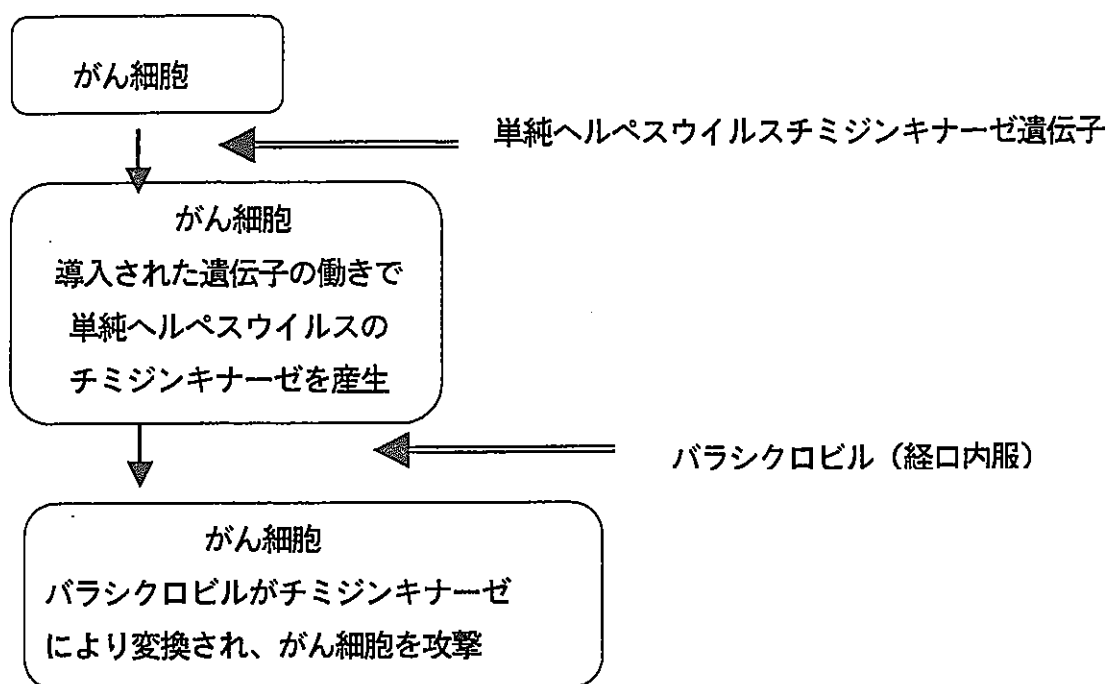
あなたの前立腺癌の治療には、既に、手術療法（前立腺全摘除術）、内分泌療法、放射線療法あるいは抗癌化学療法のいずれか、あるいはそのいくつかの組み合わせの治療が行われてきました。しかし、現在の治療では癌を完全に抑えることができず、癌の増殖の程度を示す指標（腫瘍マーカー）である前立腺特異抗原（PSA）値が徐々に上昇しています。このまま前立腺癌が進行すると、生命にも危険を及ぼすことになります。現在、そのような癌に対する有効な治療法はまだ確立されているとは言えません。

私たちは、癌細胞にある種の遺伝子を導入して、その働きで癌細胞を死滅させることで治療効果を得る遺伝子治療という新しい治療法を考えています。この治療法はあなたの前立腺癌に効果があるかもしれないと考えています。

2. 遺伝子治療について

私たちの計画している遺伝子治療は、単純ヘルペスウイルスが持っているチミジンキナーゼ（HSV-TK）という酵素を作るチミジンキナーゼ遺伝子をアデノウイルスベクターという運び屋を使って前立腺癌細胞に導入します。単純ヘルペスウイルスのチミジンキナーゼという酵素はヒトにはありませんが、治療により導入された単純ヘルペスウイルスのチミジンキナーゼ遺伝子をもとにして、この酵素が前立腺癌細胞内で新たに作られるようになります。単純ヘルペスウイルスのチミジンキナーゼはヒトが本来もっているチミジンキナーゼと異なり、抗ウイルス薬の一種アシクロビルを細胞毒性を持つ物質に変換する働きが強く、したがってこの酵素を作るようになった前立腺癌細胞にアシクロビル（実際には体内でアシクロビルに変換されるバラシクロビルという薬を服用して頂きます）を作用させると、癌細胞は変換された有毒物質によって殺傷されます（図1）。

図1 単純ヘルペスウイルスチミジンキナーゼ遺伝子導入
による抗腫瘍効果の説明



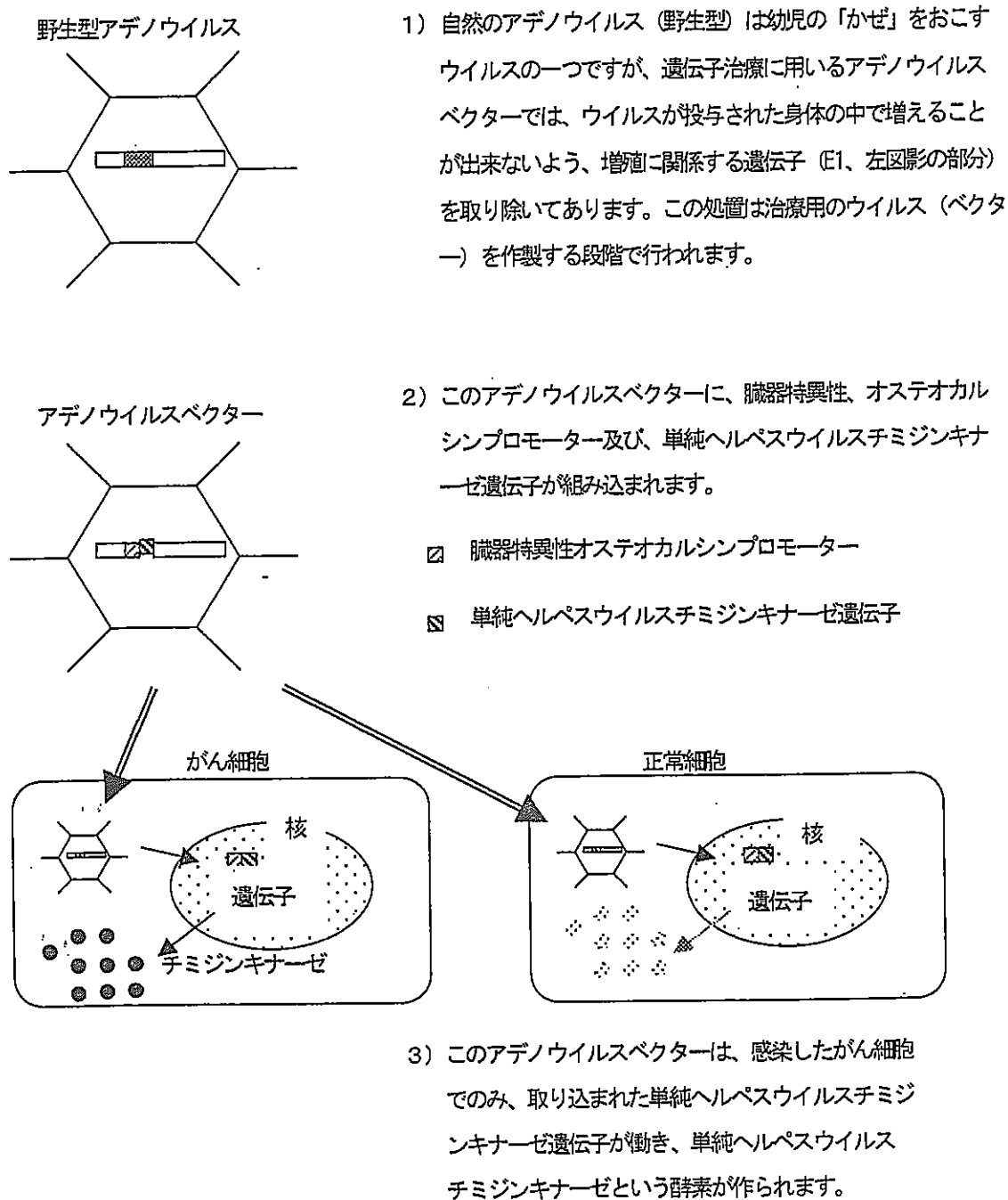
3. アデノウイルスベクターについて

遺伝子を細胞の中に入れるためには、アデノウイルスを遺伝子の運び屋（ベクター）として用います。アデノウイルスは幼児の「かぜ」を起こすウイルスの一つですが、投与された身体の中で増えることが出来ないような処理をしてベクターとして使用します。このアデノウイルスベクターに単純ヘルペスウイルス由来のチミジンキナーゼ遺伝子を組み込んで、これを癌組織に注射します。具体的にはコンピューター断層撮影（CT）や超音波で癌組織を描出しながら、アデノウイルスベクターを注射します。アデノウイルスベクターは癌細胞に感染し、チミジンキナーゼ遺伝子が癌細胞の中に導入されます。この癌細胞に感染したアデノウイルスベクターは、その後細胞の中で新しいウイルスを作り出せないまま、約2週間で細胞の中から消えてしまいます。

遺伝子治療は基本的には、導入された遺伝子から、治療に必要な蛋白質が合成されて初めて治療効果が得られるのであって、遺伝子が導入されても蛋白質が合成されなければ、効果はありません。今回の遺伝子治療では、チミジンキナーゼ遺伝子から蛋白質であるチミジンキナーゼ酵素が合成される過程において、前立腺癌細胞でだけチミジンキナーゼ酵素が合成されるように工夫されています。遺伝子から蛋白質を合成させるにはプロモーターといういわばスイッチを入れる遺伝子の働きが必要であり、一般的にはどんな細胞においても働くプロモーターが遺伝子治療に用いられてきました。今回、私たちがアデノウイルスに組み込んだプロモーター遺伝子は、臓器特異性、オステオカルシン - プロモーターという種類のものです。このオステオカルシン - プロモーターは導入された細胞内にオステオカルシンという物質が発現されている場合にのみスイッチを入れる働きがあります。前立腺癌細胞はオステオカルシンを発現しているので、前立腺癌細胞内で単純ヘルペスウイルスのチミジンキナーゼ酵素は産出されますが、オステオカルシンを発現しない細胞では、単純ヘルペスウイルスのチミジンキナーゼ遺伝子が導入されても、単純ヘルペスウイルスのチミジンキナーゼ酵素は産出されないわけです。（図2）

また、オステオカルシンは造骨中の骨芽細胞にも発現しており、本遺伝子治療によってベクター注入部の一部の骨芽細胞が殺傷される可能性は否定できません。

図2 アデノウイルスベクター・システムの説明



4. バラシクロビルについて

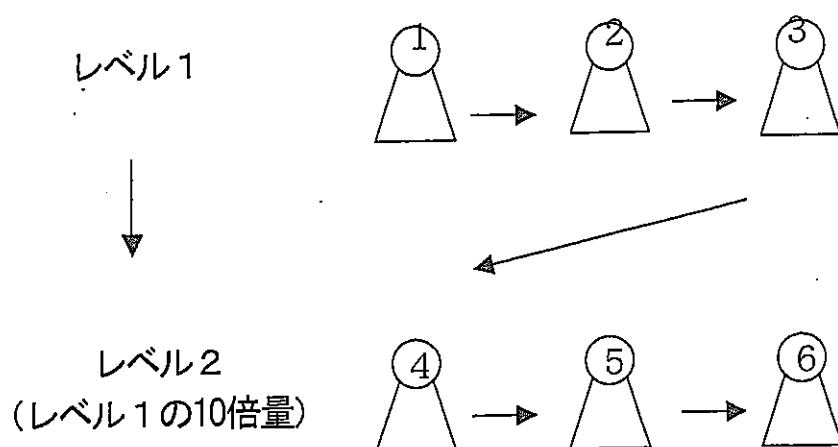
バラシクロビルはウイルス感染症に効果のある薬剤です。商品名「バルトレックス」として、一般に使用されています。したがって日本及び外国ともに前立腺癌に対する直接的な効果はなく、適応もありません。バラシクロビルは体内でアシクロビルに変換されます。アシクロビルおよびバラシクロビルともに安全な薬剤です。バラシクロビルは、あなたの身体の状態を確認しながら、アデノウイルスベクター液を最初に注射した翌日から3週間、1日3回経口服用していただきます。

5. 臨床研究の進め方

この臨床研究では、新しく開発された臓器特異性プロモーター、オステオカルシンプロモーターを組み込んだ単純ヘルペスウイルスチミジンキナーゼ遺伝子発現アデノウイルスベクターを投与した場合の、人体での安全性を確認するために、投与量について低用量と高用量の2段階の設定をしています。

まず、ある濃度のアデノウイルスベクターを3人の患者さんに投与して、副作用と癌に対する効果の有無を調べます（レベル1）。この治療で重い副作用が認められなければ、次の3人の患者さんには、10倍増量したアデノウイルスベクターが投与されます（レベル2）。計画通りに進めば合計6人の患者さんでこの臨床研究が終了することとなります。ただし、この臨床研究の途中で重い副作用が認められたときは直ちに投与を中止し、副作用に対する治療に努めることとなります。（図3）この臨床研究の進め方と現在の進行状況について十分に説明を受けて、納得されたうえで同意するか否かの判断をして下さい。

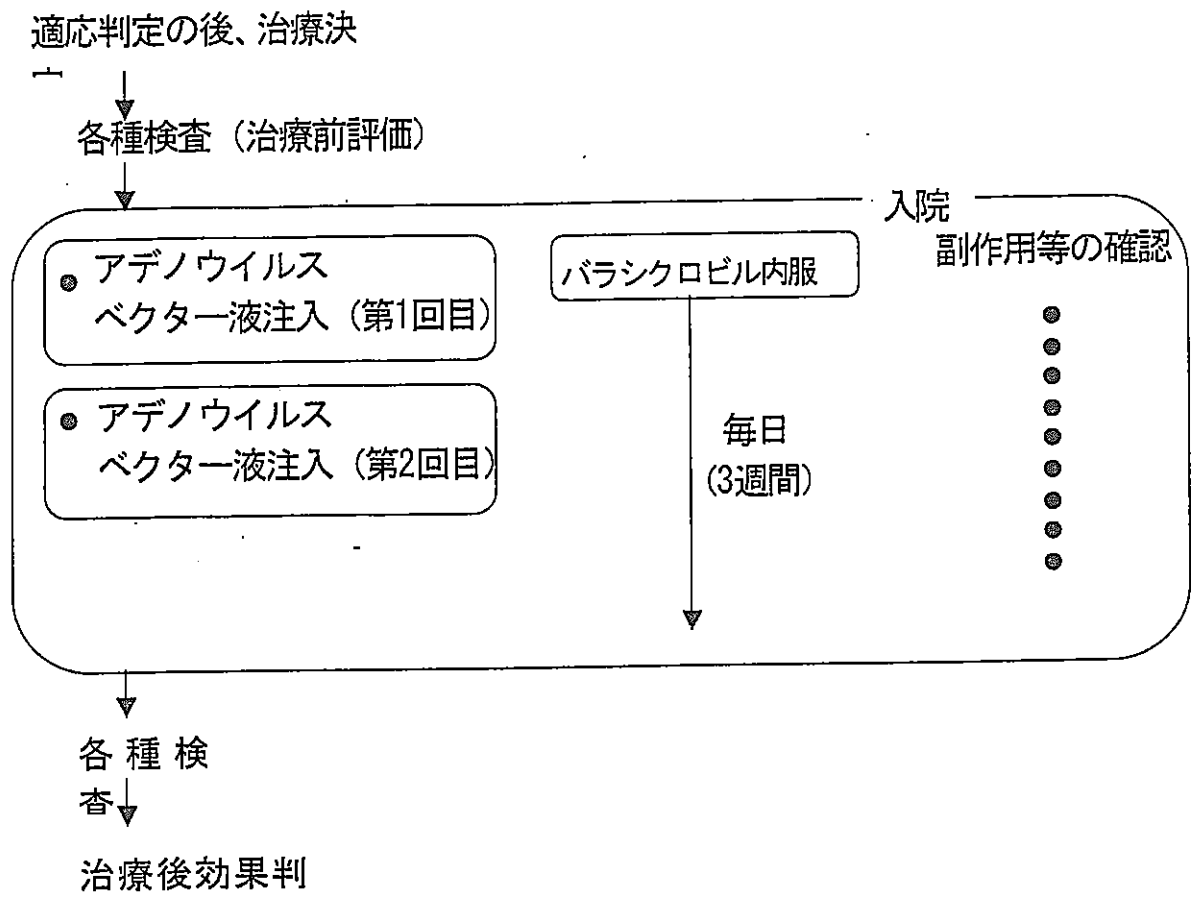
図3 臨床研究の進め方



<治療の進め方>

治療においては、まず超音波、CT、もしくは単純X線透視を用いて確認しながら腫瘍に向けて針を刺して、その部位に直接アデノウイルスベクター液を注射します。なお腫瘍の部分が2箇所以上あっても、今回の臨床研究では1箇所だけにしかアデノウイルスベクター液を注射しません。注射翌日からバラシクロビルを1日3回3週間服用していただきます。アデノウイルスベクター液は最初の注射から1週間後に再度同じ場所に同じ量、同じ方法で注射されます。この間の治療は入院にて行い、プロトコールに従って定期的に血液検査、その他の画像診断検査、必要があればベクター液注入部位の生検検査を行って治療効果、副作用をチェックします。その治療効果、副作用については、神戸大学医学部附属病院遺伝子治療臨床研究審査委員会の中の、効果判定部会において評価を行います。（図4）また臨床研究期間中に患者さんより採取させて頂いた血液、または生検によって得られた組織などは保存され、本遺伝治療に関連した、今後の研究に利用させていただきます。

図4 治療の進め方



6. 副作用と安全性について

1) ベクターの副作用について

単純ヘルペスウイルスチミジンキナーゼ遺伝子を持つアデノウイルスベクターは、米国の Magenta 社において製造されたもので、ヒトの体の中でウイルスが増えないように処理されています。しかし、高濃度のアデノウイルスベクターを製造する場合、現在の技術では増殖する可能性のある自然のアデノウイルス（野生型アデノウイルス）がごく少量、出現することは避けられません。今回の製剤も、米国の Magenta 社によって検査され、米国食品医薬品庁（FDA）によって、野生型アデノウイルスの混入も含めてその安全性が認められ、ヒトへの使用が許可されたものです。アデノウイルスは、ありふれた「かぜ」症状を起こすウイルスなので、たとえ増殖可能な野生型アデノウイルスが存在しても、重い副作用には結びつかないと考えています。米国ならびに岡山大学第一外科、岡山大学泌尿器科においても遺伝子治療の目的で、ベクターとしてアデノウイルスが使用されていますが、野生型ウイルスの発生による副作用はこれまでのところ報告されていません。ただし、アデノウイルスベクターの投与によって一過性の発熱などの副作用が認められています。また、1999 年 9 月に米国でアデノウイルスベクターを用いた遺伝子治療で患者が死亡しましたが、この治療では血管内に高濃度のウイルスベクターを注入したために事故がひきおこされたと考えられています。今回の我々の臨床研究では、血管内ではなく、リンパ節や骨の転移組織内にウイルスベクター液を注入する方法であり、血液中に高濃度のウイルスベクターが入る可能性は極めて低いと考えています。しかも、臓器特異性プロモーターと言って、癌細胞内でのみ、細胞死を引き起こすという安全装置のようなもので制御されるため、万が一血管内にウイルスが混入したとしても、このベクターがもとで副作用が引き起こされる可能性は非常に低いと考えられています。

2) バラシクロビル[®]の副作用について

バラシクロビルは体内で代謝されて、ウイルス感染症（ヘルペスウイルス）の治療薬として以前から一般的に使用されているアシクロビルに変換されます（バラシクロビル自体もまた抗ウイルス剤として発売されており、既に安全性のテストは終了しています。）。バラシクロビルに関連した副作用として、頭痛、めまい、吐き気、嘔吐、下痢、食欲不振などがあり、低い確率で、せん妄、嗜眠、振戦、痙攣、錯乱などの神経系の副作用がみられます。またごくまれにショックなどの重篤な副作用があるとの報告もありますので、慎重にあなたの体調を管理しながら使用します。

3) ベクターの注入に伴う副作用について

アデノウイルスベクター液は、CT 等を用いて位置を確認しながら局所の再発部位や、リンパ節あるいは骨の転移部位へ針を差しそこから注入されます。ベクター液注入後は原則として一晩ベッド上にて安静にさせていただきます。その際に起こりうる合併症として発熱及び感染や出血が考えられますが、その都度適切な処置をさせていただきます。また、感染予防として抗菌薬を使用します。抗菌薬等にアレルギー症状をきたしたことがある場合は、その旨お申しで下さい。

以上が予測される副作用ですが、遺伝子治療臨床研究はまだ、ごく限られた患者さんにしか行われていないため、予想されない問題が起きるかもしれません。あなたの病状については、本臨床研究の担当医師以外に、先の安全・効果評価・適応判定部会の複数の委員が監視する仕組みとなっています。もちろん予測されなかった事態が生じたときには、私たちは全力でそれに対処させていただきますが、治療を中止せざるを得なくなることがあることを、予めご理解いただきたいと思います。その際は、事前、あるいは事後に十分に説明をさせていただきます。

7. 期待される治療効果について

具体的な治療効果としては、腫瘍マーカーである前立腺特異抗原（PSA）が下降する、あるいは上昇がとまること、また、ウイルスベクター液を注入した箇所（転移部位）の腫瘍体積が減少することです。ウイルスベクター注入部位の組織学的な効果確認のため再度生検をさせていただきます。動物実験においては局所のみならず他の部位でも効果を示す場合もありますが、ヒトではまだ確認されておられません。

8. 遺伝子治療臨床研究に関わる副作用が生じた場合

本臨床研究の期間中及び終了後にあなたが身体の異常に気付かれたときには、担当医師や看護婦にすぐにお申し出て下さい。専門の医師が直ちに適切な処置を行います。このような自覚症状がなくても遺伝子治療による何らかの副作用が発見された場合には、直ちに適切な治療を行います。神戸大学医学部附属病院は、本臨床研究による治療が原因で生じたいかなる身体的障害に対しても十分な医療的処置を提供いたします。

また、当院に過失のない限り、本臨床研究の実施において生じた、通院や入院による臨床研究期間中の減収や、不快感などの精神的あるいは肉体的な不利益に対する金銭的補償はいたしません。

9. 外国での状況

本遺伝子治療臨床研究と同じウイルスベクターを用いた第1相臨床試験が、米国ヴァージニア大学において、1999年7月に承認され実施されました。その結果は以下の通りです。低および中用量群(各群3人ずつ)は臨床的合併症なしに試験を終えました。高用量群の5人も試験を完了し、合計11人において臨床試験を終えました。本臨床研究の年齢分布は53-77歳であり、すべての被験者が転移性もしくは局所再発の前立腺癌で手術、放射線、ホルモン療法、そして定型的な化学療法に抵抗性でした。臨床試験の結果、臨床的には、明らかな毒性は認められませんでした。ウイルスが一時的に血液中に認められましたが、肝毒性は認められませんでした。局所再発巣にウイルスを注射された患者さんにおいては、尿中に一過性にウイルスが検出されましたが、すぐに消失しました。多くの症例で、24時間以内に“かぜ”症状が認められました。これは発熱、時に悪寒、そして倦怠感の自覚などの症状を呈し、まれに筋痛、関節痛を伴いました。この所見と関連して、リンパ球数の軽度の上昇が、72時間以内に認められました。従来の化学療法の毒性に比較して、本治療法における副作用は非常に軽度でした。効果については、ウイルスベクターを注入した病巣で癌細胞が一部、死滅していることが確認されましたが、具体的な延命効果などについては確定的な成績は出ていません。また現在までにアメリカの他の施設で行われた、同じ単純ヘルペスウイルスチミジンキナーゼ遺伝子を用いた癌に対する遺伝子治療臨床研究においても延命効果などのはっきりとした治療効果は確認されてはいませんが、本臨床研究と同様にウイルスベクターを注入した病巣において癌細胞の壊死などが確認されています。

以上の結果より、本臨床研究は延命効果などのはっきりとした治療効果は確認されてはいませんが、安全性は高く、今後、有益な治療法となることが期待されました。尚、アメリカ等において本臨床研究のさらなる試験は現在、行われておりません。

10. 患者さんの権利について

人権にかかわる重要なことがらは最初に説明いたしましたが、念のためにもう一度以下のことについて申し上げますのでご確認下さい。

あなたがこの臨床研究に参加されるかどうかは、あなたの自由意思によって決められるもので、決して強制されるものではありません。臨床研究に参加することを断られても、あるいは一度同意された後にその同意を撤回して治療中止の申し出をされても、その後の治療においてあなたが何ら不利益を受けないことを保証いたします。

臨床研究に参加されましたら、治療終了後も経過観察のために神戸大学医学部附属病院、あるいはそれと密接な関連をもつ医療施設(担当医師よりお知らせいたします)を定期的に受診されることを希望します。このことは何よりも、あなたにとって不利益となる副作用を監視し、それを防止

するためであり、また先に述べました遺伝子治療の効果を明らかにするためです。その際、採血や核磁気共鳴画像診断（MRI 検査）あるいはコンピューター断層撮影（CT 検査）を行います。臨床研究の参加に同意されても、医療訴訟をすることや患者としての権利が制約されることはありません。

11. 治療に関わる諸経費

本臨床研究の治療に関わる諸経費（入院治療や検査にかかる費用）の内、保険診療の支給対象とならない治療にかかる費用（アデノウイルスベクター、バラシクロビルやそれらの注射手技）は、あなたの負担となることはありません。ただし、保険診療でまかなわれる経費の自己負担分は支払っていただく必要があります。

12. 遺伝子治療臨床研究実施に必要な手続き

日本国内で遺伝子治療臨床研究を実施する場合には、国が定めた「遺伝子治療臨床研究ガイドライン」の規定に従って、神戸大学医学部附属病院の遺伝子治療臨床研究審査委員会および厚生労働省厚生科学審議会が、研究の安全性、予測される効果、倫理的な諸問題などについて慎重に審議し、臨床研究の実施に問題がないことを確認します。すべての審議で了承されて、初めて臨床研究を開始することが許されています。

今回、あなたに提案した遺伝子治療はこのような手続きを経ています。

13. プライバシーの保護

あなたの診療記録は、神戸大学医学部附属病院医事課で保管し、秘密を厳守いたします。治療に関することは公開を原則としますが、あなたのプライバシーを保護することをお約束いたします。この研究の結果を医学雑誌や学会で報告する場合にも、あなたのプライバシーは保護されます。なお、治療開始後に同意を撤回された場合には、それ以後の治療は行いませんが、あなたの臨床経過や検査結果については遺伝子治療臨床研究の資料として使用させていただきますことをご了承下さい。

14. 問題あるいは質問

この臨床研究への参加者としてのあなたの権利や、健康問題などについて、何らかの問題が生じたり質問したいことができた時には、神戸大学医学部附属病院泌尿器科（TEL：078-382-6155）または、神戸大学医学部総務課企画調査掛（TEL：078-382-5020）にご連絡下さい。

15. 書類の保管

この説明書と同意書の原本は、神戸大学医学部附属病院医事課にて保管いたします。今後の参考と個人的な記録としてこの書類の写しをあなたにお渡しいたしますので保管して下さい。

私は、患者 _____ 様に対して、この遺伝子治療臨床研究の目的、必要性、危険性、副作用などについて説明いたしました。

平成 年 月 日

神戸大学医学部附属病院泌尿器科

担当医師

（署 名）

（印）

(医師控（カルテ貼付用）)

同意書

私は、この前立腺癌に対する遺伝子治療臨床研究に関し下記の内容について説明を受け、十分に納得しましたので、この臨床研究に参加することに同意します。

○本遺伝子治療臨床研究の目的および方法

○本遺伝子治療臨床研究への参加期間

○予想される効果および副作用

○本遺伝子治療臨床研究への参加に同意しない場合でも不利益を受けないこと

○本遺伝子治療臨床研究への参加に同意した場合でも随時これを撤回できること

○健康被害が発生した場合に受けることができる補償と治療

○その他、私の人権に関して、プライバシーは厳重に守られること

○本臨床研究中に採取された私の血液や組織が保存され、本遺伝子治療に関連した研究に使用されること

同意者（本人）：

同意日 年 月 日

氏名（署名）

同意者（代理人）：

同意日 年 月 日 本人との続柄

氏名（署名）

【説明者】

本遺伝子治療臨床研究担当医師：

説明日 年 月 日 職名

氏名（署名）

本遺伝子治療臨床研究協力者（必要に応じて）

説明日 年 月 日 職名

氏名（署名）

（患者控）
同 意 書

私は、この前立腺癌に対する遺伝子治療臨床研究に関し下記の内容について説明を受け、十分に納得しましたので、この臨床研究に参加することに同意します。

- 本遺伝子治療臨床研究の目的および方法
- 本遺伝子治療臨床研究への参加期間
- 予想される効果および副作用
- 本遺伝子治療臨床研究への参加に同意しない場合でも不利益を受けないこと
- 本遺伝子治療臨床研究への参加に同意した場合でも随時これを撤回できること
- 健康被害が発生した場合に受けることができる補償と治療
- その他、私の人権に関して、プライバシーは厳重に守られること
- 本臨床研究中に採取された私の血液や組織が保存され、本遺伝子治療に関連した研究に使用されること

同意者（本人）：

同意日 年 月 日

氏名（署名）

同意者（代理人）：

同意日 年 月 日 本人との続柄

氏名（署名）

【説明者】

本遺伝子治療臨床研究担当医師：

説明日 年 月 日 職名

氏名（署名）

本遺伝子治療臨床研究協力者（必要に応じて）

説明日 年 月 日 職名

氏名（署名）

第1回神戸大学医学部附属病院遺伝子治療臨床研究審査委員会議事要旨

日 時 平成13年8月29日(水) 15時～16時15分

場 所 共同会議室(医学部管理棟3階:学務課東隣)

出席者 委員 片岡委員 寺島委員 松尾委員 奥村委員 前田(盛)委員
饗場委員 堀田委員 横野委員 前田(潔)委員 黒田委員
春日委員 熊谷委員 滝澤委員 丸山委員 松本委員

遺伝子治療臨床研究実施責任者(説明者)

後藤助手

ワグナー

企画調査掛長, 宮原企画調査掛員

欠席者 中村委員 市橋委員

審議に先立ち新規委員(饗場教授, 堀田教授)の紹介があった。

審議事項

1 委員長の選出について

松尾委員長から, 同委員長及び前田(盛)委員は, 今回泌尿器科から申請のあった新たな遺伝子治療臨床研究実施計画の共同研究者であるため, 委員会内規第5条第4項の規定によりその審査に関与することができない, したがって本委員会委員を辞任したい旨提案がありこれを了承した。これを受け委員の互選により, 委員長に横野委員を選出した。

2 泌尿器科から申請のあった新たな遺伝子治療臨床研究実施計画申請書

課題名「前立腺癌転移巣および局所再発巣に対する臓器特異性オステオカルシンプロモーターを組み込んだアデノウイルスベクター(Ad-OC-TK)およびバラシクロビルを用いた遺伝子治療臨床研究」について, 実施責任者 後藤章暢助手から配布済みの実施計画申請書及び当日配付の別紙資料「今回の遺伝子治療臨床研究の前回との相違点」に基づき概要説明がなされた。

以上の説明の後, 委員からベクターの有効性と安全性, プロモーターの臓器特異性などに関する質問があり, 質疑応答がなされた。

3 部会委員の選出について(部会内規第4条関係)

横野委員長から, 安全・効果評価・適応判定部会委員を下記のとおりとしたい旨提案があり審議の結果, これを承認した。

第2号委員(委員会内規第3条第1項第1号の委員から1人) 片岡委員

第3号委員(委員会内規第3条第1項第2号及び第5号の委員から3人)

黒田委員 春日委員 松本委員

第4号委員(委員長が必要と認めた者) 饗場委員

4 今後の審査日程について

横野委員長から, 安全・効果評価・適応判定部会を9月, 10月に各1回開催し, 審査委員会を11月に開催したいとの提案があり, 了承された。

5 その他 横野委員長から, 副委員長として片岡委員を指名した。

「前立腺癌転移巣および局所再発巣に対する臓器特異性オステオカルシンプロモーターを組み込んだアデノウイルスベクター（Ad-OC-TK）およびパラシクロビルを用いた遺伝子治療臨床研究」に係る第1回安全・効果評価・適応判定部会議事要旨

日 時 平成13年9月26日（水） 15時～17時20分

場 所 共同会議室（医学部管理棟3階：学務課東隣）

出席者 横野委員（部会長） 片岡委員 春日委員 黒田委員 松本委員

欠席者 櫻場委員

ワザハザ 企画調査掛長

- 1 横野部会長から、第1回審査委員会での審査の結果、泌尿器科へ次の諸点につき書面による回答を求めているところ、回答を得たので先に配付したところである。これらの回答が、質問に対し妥当なものであるかどうかを手始めとして、申請のあった研究課題の科学的妥当性及び倫理性につきその適否及び留意点、改善点の審査を開始したいとの発言があり、審査を開始した。
 - ア. 本研究で使用するベクターの安全性について。
 - イ. オステオカルシン（OC）プロモーターの臓器特異性あるいは感受性と、前立腺癌の多様性 heterogeneity について。
 - ウ. 本ベクターを局所注入したときの他の組織などへの影響について。
 - エ. OC プロモーターの一部しかベクターに挿入されていないため、TK の発現が十分か否か。
 - オ. 本研究と類似の臨床研究の方法、安全性、効果などの報告について。

以上の問題点に対する申請者の回答書を審査の結果、その内容はほぼ承認された。

- 2 横野部会長から、回答書の内容の多くが実施計画書に記載されていることを含め、実施計画書の記載事項につき逐次点検したいとの提案があり、以下の項目につき検討した。主要な意見等は以下のとおりである。

（1）「目的」（P.5）について

・実施計画書では安全性の検討及び治療効果の観察（評価可能症例）を目的とする第一相試験であるとしているが、添付資料5「遺伝子治療臨床研究のための説明と同意書」では第一／第二相試験となっている。どちらであるのか。

・横野部会長から、本部会の任務は安全性を審査するものと理解してしており、第一相試験にとどめるべきであるが、第二相試験まで進むとすれば、合意書等の手直しが必要である。最も重要な点であるので、確認したいとの発言があった。

（2）「対象疾患を選んだ理論的根拠」について（P.6～10）

・前立腺癌では一般的に全てにオステオカルシン（OC）が発現しているのか、原発巣と転移巣でその発現に差はないのか、対象の選択にあたっては、前もって治療部位のOCの発現を検索してから決めるべきではないか。

(3)「遺伝子及び導入方法」について (P.11～16)

- ・添付資料3 図1の各種ヒト前立腺癌培養細胞においても TK 活性が発現していない細胞株が2種認められる。本研究で用いられているのがマウスの OC プロモーターであることより、その機能がヒトプロモーターと異なる可能性はないか。

(4)「これまでの研究成果」について (P.16～22) 意見なし

(5)「安全性についての評価」について (P.22～33)

- ・細胞内で増殖可能なアデノウイルス(RCA)の混入を調べるのに、 10^{10} PFU では混入の可能性が調査できない点が問題。
- ・RCA が生じた場合に野生型になり人体に大きなリスクはないと書いてあるが、ある種の組み換えが生じて有害な RCA が出現する可能性はないか。
- ・このような観点から当該試験における $2.5 \times 10^9 \sim 2.5 \times 10^{10}$ は適当か

(6)「実施が可能であると判断する根拠」について (P.33～34) 意見なし

(7)「計画」について (P.34～46)

- ・被験者の選択基準は、1) から 11) のすべてに該当する者、除外基準は、1) から 5) までのどれか一つに該当する場合と解釈すべきであるが、確認する必要がある。
- ・安全性を確認する第一相試験が主体であることより、本研究のベクターの最低投与量 2.5×10^9 PFU は高すぎるのではないか。ヴァージニア大学で行われた 2.5×10^9 PFU にすべきでないか。

(8)「実験施設の施設設備の状況」以降の項目について (P.46～66) 意見なし

(9) 添付書類5の同意書について

- ・p. 1 第一相試験なのか第一／第二相試験なのか明らかにする。
- ・p. 2 「あなたの前立腺がんについて」中、7行目「有効かつ決定的な治療法・・・」は強すぎる表現
- ・p. 3 アデノウイルスベクターについて：プロモーターの使用つまりがん細胞特異性の説明がない。
- ・p. 5 臨床研究の進め方：重い副作用について具体的な症状とそれに対する治療をわかりやすく書く。
- ・p. 6 選択基準：専門用語が多く患者さんにわかりづらい。
- ・p. 7 治療の進め方：患者さんによくわかるよう図示する。
- ・p.10 8行目「不幸にして何らかの・・・」：同意書には必要でないのでは。
- ・全体的に患者さんにわかりにくい、である調の部分があるが、ですます調に統一する。

審査の結果、疑問と思われる点につき、後刻共同研究者の白川助手に出席を求め質すこととした。

3 共同研究者 白川助手の出席を求め、上記 1 及び 2 の疑問点を質した。

ア 「目的」(P.5) について

A 安全性の確認を目的とする第一相試験であるが、副次的に治療目的を一部加えたい。同種の臨床研究を申請した岡山大学では、厚生省（当時）から第二相にまで進めたらどうかとの指導を受け、そのように変更の上申請し、承認を得たと聞いている。（事務局において、岡山大学に確認し、それを受けて部会長が厚生労働省に問い合わせることとした。）

イ 「ベクターの安全性」について

A 増殖性すなわち野生型のアデノウイルスであるかどうかについては、文書により回答する。

ウ 「マウスのデータしかない、治療効果を目的とするなら症例を示すべき」ことについて

A 文書により回答する。

エ 「アデノウイルスベクターの投与量 2.5×10^9 PFU（計画書 P.38）」について

A 第 2 相試験を想定したものを補う。

オ 「被験者の選択基準、除外基準」について

A 上記 2 の 7) のとおりである。

後日、部会長からの質問に対して、文書により回答願うこととした。

「前立腺癌転移巣および局所再発巣に対する臓器特異性オステオカルシンプロモーターを組み込んだアデノウイルスベクター (Ad-OC-TK) およびバラシクロビルを用いた遺伝子治療臨床研究」に係る第2回安全・効果評価・適応判定部会議事要旨

日 時 平成13年10月31日(水) 15時～16時10分

場 所 神緑会館第二研修室

出席者 横野委員(部会長) 片岡委員 春日委員 黒田委員 松本委員 饗場委員
オブザーバー 後藤助手(総括責任者), 白川助手(担当医師), 企画調査掛長

審議に先立ち、第1回部会(9月26日開催)の議事要旨を確認した。

- 1 横野部会長から、第1回部会での審査の際、「目的」につき、同種の臨床研究を申請した岡山大学では、厚生省(当時)から第2相にまで進めたらどうかとの指導を受け、そのように変更の上申請し、承認を得たかどうか確認すると約束していた件につき説明があった。
・岡山大学から資料の提供を受け、内容を確認したところ、厚生省(当時)からではなく、文部省(当時)の指導であったこと、その指導は数回の審査委員会を経て申請者が省庁において説明した時期であったとの報告があった。
- 2 横野部会長から、第1回部会での審査の結果、研究申請者である腎泌尿器科学、後藤助手並びに白川助手へ次の諸点につき書面による回答を求めているところ、回答を得たので先に配付したところである。これらの回答が、質問に対し妥当なものであるかどうかを審査したいとの発言があり、審査を行った。主要な意見等は以下のとおりである。

質問1.「目的」(p5)について

「実施計画書では安全性の検討及び治療効果の観察(評価可能症例)を目的とする第1相試験であるとしているが、添付文書5の「同意書」では第1/第2相試験となっている。本試験は安全性を検討するものと理解しており、第1相試験に止めるべきであるが、第2相まで進むのであれば計画書の手直しが必要である。この点は本研究の重要なポイントと考えられる。」
・安全性を確認するための第1相試験であるとの回答であったが、実施計画書には治療効果を期待する内容も認められた。申請者からは患者さんにかなりの負担をかける治療なので、ある程度の効果が期待できる計画(特にベクターの注入濃度を含めて)を立案したとの見解が示された。これなら第2相も含まれると考えられるが、委員より多発性転移に対して1カ所のための注入に限定されているため、全身的にQOLを改善するなどの治療効果まで到らないのではないかと意見が出された。また基本的には申請者側が第1相か第2相かを決めて本部会に諮るべきとの意見もあった。審議の結果、治療後の注入部の生検などは副次的に治療効果の判定にも用いられるが、安全性の確認にも必要なものと考えられることより、本研究を第1相試験として申請するのが妥当であると判断した。

質問2.「対象疾患の根拠」(p6～10)について

「前立腺癌では一般的に全ての癌にオステオカルシン(OC)が発現しているのか。原発巣と転移巣でその発現に差異はないのか。対象の選択にあたっては、前もって治療部位のOC発現を検索してから決めるべきでないか。」

・「バージニア大学で行われた前立腺癌の原発巣および転移巣の病理組織標本において、In situ hybridizationにて全標本にOC mRNAの発現を認めたことより、基本的には前立腺癌全般においてOCプロモーター活性の高値が予想される。よって治療前に患者さんの組織のOCプロモーター活性を確認する必要性はないと考える」との申請者の回答を了承した。

質問3.「遺伝子および導入方法」(p11～16)について

「本研究で用いられる OC プロモーターがマウスのものであることより、その機能がヒトプロモーターと異なる可能性はないか。添付資料3、図1の各種ヒト前立腺癌培養細胞においても TK 活性が発現していない細胞株が2種認められる。」

・「マウスおよびヒトの OC プロモーターは相同性が高く、その核となる部分は相同である。また、OCを発現する多くのヒト細胞において OC プロモーター活性の高値が確認されており、種の違いによる活性の違いは少ないと考えられる。また、添付資料3に示された培養前立腺癌細胞 DU145 は最近では典型的な前立腺癌細胞株と考えられていない」との申請者の回答を了承した。

質問4.「安全性についての評価」(22～33)について

(1)「細胞内で増殖可能なアデノウイルス(RCA)の混入が調査できない状態の中で、RCAが生じた場合に野生型になり人体に大きなリスクはないとされているが、ある組換えが生じて有害なRCAが出現する可能性はないか。」

・「RCAの組換え混入に関しては293細胞とベクターの相同部位に起る相同組換えによっておこるものであり、理論的にはベクターにE1部以外の組換えが起ることは考えにくく、野生型以外の新種のベクターの発現の可能性は低い。またアデノウイルス外被蛋白内には野生型のウイルスゲノム(36kb)の105%までのDNAしかパッケージングできず、野生型のアデノウイルスに2.5kbのOC-TKが挿入されることはない」との回答を了承した。

(2)「このような点から当該試験における投与量 $2.5 \times 10^9 \sim 2.5 \times 10^{10}$ は適当か。」

・「現在行われているアデノウイルスを用いた遺伝子治療臨床試験は $1 \times 10^9 \sim 1 \times 10^{11}$ PFUの濃度で行われており、本研究における濃度も適切であると考えられる」。

この回答に対して質問5(2)の項に記すような審議があった。

質問5.「計画」(p34～46)について

(1)「被験者の選択基準は1)から11)の全てに該当する人、除外基準は1)から5)のどれか一つでも該当する人、と明記する。」

・修正が不十分であり、指摘どおりに修正すること。

(2)「安全性を確認する第1相試験が主体であることより、本研究のベクターの最低投与量を 2.5×10^9 PFUではなく、バージニア大学で行われた 2.5×10^8 PFUにすべきではないか。」

・「 2.5×10^8 PFUは既に安全性が米国において確認されている。日本では、低用量は 10^7 レベルとされている」との回答に対して、安全性を検討する第1相試験であることより人種差を考慮して慎重を期すのであれば、 10^8 レベルから始めるのがよいのではないかと意見が示された。

審議の結果、部会としては 10^8 レベル(2×10^8 PFU)を設定するのが望ましいと考えるが、ほとんど効果が期待できない濃度の治療は患者さんの負担を考慮すると実施が難しいことより、 10^9 レベル(2.5×10^9 PFU)から始めることもやむを得ないと、審査委員会に報告することとした。

質問6 添付書類5の「同意書」について

「p2:第1相試験なのか、第1/第2相試験なのか明らかにする。」・第1相試験であることが明らかにされている。

「p3:前立腺癌について「有効かつ決定的な治療法??」は強すぎる表現。」・文章が削除され、修正されている。

「p4:ベクターについて「プロモーターの使用つまり癌細胞特異性の説明がない。」・説明文と図2が追加され、修正されている。

「p6:臨床研究の進め方「重い副作用について具体的な症状とそれに対する治療法をわかりやすく記載する。」・説明文が追加され、修正されている。ただし、「ある濃度のアデノウイルスベクター」(第2段落)は、「ある量の・・・」と訂正すること。

「p7:選択基準「専門用語が多く患者さんに分りにくい。」・実施計画書と同様、修正が不十分であり、指摘どおりに修正すること。遺伝子治療の性質上、これ以上分かりやすくとい

う要求は、困難であることは認めるが、可能な限り、医学知識のない方にも理解できるよう工夫すること。

「p 8：治療の進め方　ープロトコールを患者さんに分り易く図示しては。」・ ・ 図5が追加され、修正されている。

「p 11：病理解剖に関する項は同意書には不適切では。」・ ・ 文章が削除され、修正されている。

「文中に「である調」があり、「ですます調」に統一する。」・ ・ 修正されている。

「同意書」は、最も重要な書類であり、審査委員会においても、論議が集中するものと思われる。全体を見渡すと、患者さんには理解しにくい部分が多く、また矛盾する表現も数箇所認められる。したがって未修正のところを含め訂正の上、修正済みのものを提出し審査委員会までに部会委員による再審査を持ち回りで行うことにした。

3 横野部会長から、部会としては審査を終了したので、審査委員会を11月下旬以降開催し、その結果を報告し審議願いたいと考えているとの提案があり、これを了承した。

「前立腺癌転移巣および局所再発巣に対する臓器特異性オステオカルシンプロモーターを組み込んだアデノウイルスベクター（Ad-OC-TK）およびバラシクロビルを用いた遺伝子治療臨床研究」に係る第3回安全・効果評価・適応判定部会（持ち回り）議事要旨

日 時 平成13年12月6日（木）～14日（金）

・平成13年12月6日付けで下記の委員長名文書を部会委員に送付し、持ち回り部会を行った。

同意書（案）の送付について

「前立腺癌転移巣および局所再発巣に対する臓器特異性オステオカルシンプロモーターを組み込んだアデノウイルスベクター（Ad-OC-TK）およびバラシクロビルを用いた遺伝子治療臨床研究」に係る第2回安全・効果評価・適応判定部会（平成13年10月31日開催）において、同意書の取り扱いを下記のとおり決議していたところですが、昨日訂正済みの同意書（案）を受理しましたので送付いたします。

「同意書」は、最も重要な書類であり、審査委員会においても、論議が集中するものと思われる。全体を見渡すと、患者さんには理解しにくい部分が多く、また矛盾する表現も数箇所認められる。したがって未修正のところを含め訂正の上、修正済みのものを提出し審査委員会までに部会委員による再審査を持ち回りで行うことにした。

修正すべき箇所がありましたら、朱書で修正の上、12月14日（金）までに総務課企画調査掛へ提出願います。

・期日までに委員長を含む2名の部会委員から修正すべき箇所が指摘されたため、その結果を総括責任者に通知した。

第2回神戸大学医学部附属病院遺伝子治療臨床研究審査委員会議事要旨

日 時 平成13年12月26日(水) 15時10分～16時15分

場 所 第二会議室(外来診療棟4階)

出席者 委員 横野委員長 片岡委員 饒場委員 中村委員 市橋委員
黒田委員 春日委員 熊谷委員 滝澤委員 丸山委員
松本委員

オブザーバー

後藤助教授(総括責任者), 白川助手(担当医師),
企画調査掛長, 宮原企画調査掛員

欠席者 寺島委員 奥村委員 堀田委員 前田委員

審議事項

- 1 泌尿器科から申請のあった遺伝子治療臨床研究実施計画書
課題名「前立腺癌転移巣および局所再発巣に対する臓器特異性オステオカルシン
プロモーターを組み込んだアデノウイルスベクター(Ad-OC-TK) およ
びバラシクロビルを用いた遺伝子治療臨床研究」について

ア 横野委員長から次の委員会及び部会の議事につき概要の説明があった。

- ・第1回審査委員会(平成13年8月29日開催)
- ・第1回安全・効果評価・適応判定部会(平成13年 9月26日開催)
- ・第2回安全・効果評価・適応判定部会(平成13年10月31日開催)
- ・第3回安全・効果評価・適応判定部会(平成13年12月14日持ち回り開催)

上記第2回安全・効果評価・適応判定部会議事要旨(平成13年10月31日開催)
中の質問5(2)「安全性を確認する第1相試験が主体であることより、本研究のベク
ターの最低投与量を 2.5×10^9 PFUではなく、バージニア大学で行われた 2.5×10^8 PFUにす
べきではないか。」との部会意見に対する総括責任者の「ほとんど効果が期待できない
濃度の治療は患者さんの負担を考慮すると実施が難しいことより、 2.5×10^9 PFU から治
療を開始したい」という回答をやむを得ないと判断したことについて了承を求めたところ、
特に異議はなく了承された。

また、総括責任者及び共同研究者 白川助手にも出席してもらっているので、質問が
あれば回答願うことが了承された。

イ 以上の説明の後実施計画書及び添付資料5「遺伝子治療臨床研究のための説明と同
意書(案)」について全体審議を行った。丸山委員及び滝澤委員から意見があり、審
議の結果修正等が必要とされた主な事項は以下のとおりである。

- ・添付資料5の項目8「遺伝子治療臨床研究に関わる副作用が生じた場合」中

「しかし、通院や入院、社会的問題などによる臨床研究期間中の減収や、不快感などの
精神的あるいは肉体的な不利益に対する金銭的補償をすることはできません。」との表
現は、過失の有無に触れておらず、「社会的問題」の意味もあいまいである。また、「で
きません」は先行する表現と異なるため、全体を「また、当院に過失のない限り、本臨

床研究の実施において生じた、通院や入院による臨床研究期間中の減収や、不快感などの精神的あるいは肉体的な不利益に対する金銭的補償はいたしません。」に修正する。

・添付資料5の項目5「臨床研究の進め方〈治療の進め方〉」には、試料の採取及び保存に関する事項が明確に記載されていないため、最後に「また臨床研究期間中に患者さんより採取させていただいた血液、又は生検によって得られた組織などは保存され、本遺伝子治療に関連した今後の研究に利用させていただきます。」との記述を追加する。

また、同意書の医師控及び患者控に

「○本臨床研究中に採取された私の血液や組織が保存され、本遺伝子治療に関連した研究に使用されること」を項目として追加する

・以上の修正等が完了したときは、総括責任者は遅滞なく横野委員長に実施計画書等を提出し、委員長が確認の上持ち回り委員会を開催し、委員の了承を得ることとした。

第3回神戸大学医学部附属病院遺伝子治療臨床研究審査委員会（持ち回り）議事要旨

日 時 平成14年1月24日（木）～平成14年2月4日（月）

・平成14年1月24日付けで下記の委員長名文書を審査委員会委員に送付し、持ち回り審査委員会を行った。

神戸大学医学部附属病院遺伝子治療臨床研究審査委員会
（持ち回り）の開催について（通知）

平成13年12月26日開催の第2回審査委員会において、「総括責任者は実施計画書等を修正の上委員長に提出し、委員長は確認の上持ち回り委員会を開催して委員の了承を得る」と決議しておりましたところ、この度下記書類の提出があり、必要な修正がなされていることを確認いたしました。

ついては、当該遺伝子治療臨床研究の計画実施を適当と認めることの賛否を議題として第3回審査委員会（持ち回り）を開催しますので、別紙により1月31日（木）までに医学部総務課企画調査掛へご回答くださるようお願いいたします。

なお、賛成が3分の2以上の場合は、本委員会において承認されたものとして取り扱いますので御了承願います。

添付書類

1. 遺伝子治療臨床研究のための説明と同意書（添付資料5）
2. 遺伝子治療臨床研究についての打合せ要旨（14. 1. 16）

議 是 頁

1. 下記遺伝子治療臨床研究の計画実施を適当と認めることについて

「前立腺癌転移巣および局所再発巣に対する臓器特異性オステオカルシンプロモーターを組み込んだアデノウイルスベクター（Ad-OC-TK）およびパラシクロビルを用いた遺伝子治療臨床研究」

どちらかに○印をつけて下さい。

賛 成 反 対

氏 名 _____

・期日までに14名の委員から回答があったが、成立要件を充たさず、2月4日に残る1名から回答が寄せられ審査委員会は成立した。投票の結果は以下のとおりである。

賛成15票 反対なし

・以上の結果、上記遺伝子治療臨床研究の計画実施を適当と認めることとした。

神戸大学医学部附属病院遺伝子治療臨床研究審査委員会内規

(設置)

第1条 神戸大学医学部附属病院（以下「病院」という。）において行う遺伝子治療臨床研究について、大学等における遺伝子治療臨床研究に関するガイドライン（平成6年6月9日文部省告示第79号）に基づき審査を行うため、病院に神戸大学医学部附属病院遺伝子治療臨床研究審査委員会（以下「審査委員会」という。）を置く。

(任務)

第2条 審査委員会は、病院長の諮問に基づき、次の各号に掲げる業務を行うものとする。

- (1) 遺伝子治療臨床研究の実施計画を記載した書類（以下「実施計画書」という。）等に基づき、当該遺伝子治療臨床研究の実施について審査を行い、その適否及び留意点、改善点等について意見を提出すること。
- (2) 遺伝子治療臨床研究の進行状況及び結果について報告を受け、必要に応じて調査を行い、その留意点、改善点等について意見を提出すること。
- (3) 承認された遺伝子治療臨床研究の実施に関する重大な変更について、その実施の適否及び留意点、改善点等について意見を提出すること。

(組織)

第3条 審査委員会は、次の各号に掲げる委員で組織する。

- (1) 基礎医学系（分子生物学、細胞生物学、遺伝学、臨床薬理学、病理学等）の教授又は助教授のうちから 5人以上
- (2) 臨床医学系の教授又は助教授のうちから 3人以上
- (3) 法律に関する専門家 1人以上
- (4) 生命倫理に関する学識経験者 1人以上
- (5) 提出された実施計画書の対象となる疾患に関する臨床医 1人以上

2 委員は、神戸大学医学部附属病院運営委員会において選出し、病院長が委嘱する。

3 第1項第1号から第4号までの委員の任期は2年とし、再任を妨げない。

4 第1項第1号から第4号までの委員に欠員を生じた場合の補欠の委員の任期は、前項の規定にかかわらず、前任者の残任期間とする。

5 第1項第5号の委員は、提出された実施計画書ごとに選出する。

(委員長)

第4条 審査委員会に委員長及び副委員長を置く。

2 委員長は委員の互選により選出し、副委員長は委員長が指名する。

3 委員長は、審査委員会を招集し、その議長となる。

4 委員長に事故があるときは、副委員長がその職務を代行する。

(議事)

第5条 会議は、委員の3分の2以上が出席し、かつ、第3条第1項第3号、第4号及び第5号の委員のうちそれぞれ1人以上が出席しなければ開くことができない。

2 審査の対象となっている実施計画書を提出している委員は、当該実施計画に係る審査に関与することができないものとする。

3 議事は、出席委員の、3分の2以上の合意により決定するものとする。

(審査の方法)

第6条 審査委員会は、第2条に掲げる事項に関する科学的妥当性及び倫理性を総合的に審査するものとする。

2 審査委員会は、審査に当たり実施計画の総括責任者、その他委員以外の者を会議に出席させ、当該実施計画の内容その他審査に必要な事項について説明を求め、又は意見を聴取することができる。

(報告)

第7条 委員長は、審査終了後速やかにその結果を文書をもって病院長に報告するものとする。

(情報の公開)

第8条 この内規及びこの内規に基づいて審査委員会が定めた事項は、公開するものとする。

2 審査委員会による審査の過程は、記録、保管し、個人のプライバシーに関する事項を除き、公開するものとする。

(秘密の保護)

第9条 委員その他審査委員会の関係者は、任務遂行上知り得た個人に関する秘密を正当な理由なく漏らしてはならない。

(審査の公正保持)

第10条 審査委員会における審査の公正を保持するため、病院長その他関係者は、審査委員会の活動の自由及び独立が保証されるよう努めなければならない。

(事務)

第11条 審査委員会の事務は、総務課において処理する。

(雑則)

第12条 この内規に定めるもののほか、審査委員会の運営に関し必要な事項は、審査委員会が別に定める。

附 則

- 1 この内規は、平成11年1月20日から施行する。
- 2 この内規施行後、最初に委嘱される第3条第1項第1号から第4号の委員の任期は、同条第3項の規定にかかわらず、平成12年3月31日までとする。

神戸大学医学部附属病院遺伝子治療臨床研究審査委員会安全・効果評価・適応判定部会要項

(設置)

第1条 神戸大学医学部附属病院遺伝子治療臨床研究審査委員会内規（以下「内規」という。）第12条の規定に基づき、神戸大学医学部附属病院遺伝子治療臨床研究審査委員会（以下「審査委員会」という。）に神戸大学医学部附属病院遺伝子治療臨床研究審査委員会安全・効果評価・適応判定部会（以下「部会」という。）を置く。

第2条 部会は、審査委員会に提出された遺伝子治療臨床研究（以下「臨床研究」という。）の課題ごとに置くものとする。

(任務)

第3条 部会は、審査委員会の諮問に基づき、臨床研究の安全性及び効果並びに被験者の適応性に関する具体的事項について評価及び判定を行い、その実施の適否及び留意点、改善点等について審査委員会に意見を提出するものとする。

(組織)

第4条 部会は、それぞれ次の各号に掲げる委員で組織する。

- (1) 審査委員会委員長
- (2) 内規第3条第1項第1号委員から 1人
- (3) 内規第3条第1項第2号及び第5号委員から 3人
- (4) その他委員長が必要と認めた者

2 委員は、審査委員会の議を経て、病院長が委嘱する。

(任期)

第5条 前条第1項第2号の委員の任期は、2年とし、再任を妨げない。

2 前条第1項第2号の委員に欠員が生じた場合の補欠の委員の任期は、前項の規定にかかわらず、前任者の残任期間とする。

(部会長)

第6条 部会に部会長を置き、第4条第1項第1号の委員をもって充てる。

2 部会長は、部会を招集し、その議長となる。

3 部会長に事故があるときは、部会長があらかじめ指名する委員がその職務を代行する。

(審査)

第7条 部会は、審査に当たり臨床研究の総括責任者その他委員以外の者を会議に出席させ、臨床研究の内容その他審査に必要な事項について説明を求め、又は意見を聴取することができる。

(重大事態の報告)

第8条 部会長は、評価及び判定の結果、臨床研究の実際に際して重大な事態が生じたと認めたときは、速やかにその旨を審査委員会に報告しなければならない。

(秘密の保護)

第9条 委員その他部会の関係者は、任務遂行上知り得た個人に関する秘密を正当な理由なく漏らしてはならない。

(事務)

第10条 部会の事務は、総務課において処理する。

(雑則)

第11条 この要項に定めるもののほか、部会の運営に関し必要な事項は、審査委員会が別に定める。

附則

1 この要項は、平成11年3月9日から施行する。

2 この要項施行後、最初に委嘱される第4条第1項第2号の委員の任期は、第5条第1項の規定にかかわらず、平成12年3月31日までとする。

神戸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名簿

平成13年8月29日現在

課題名「前立腺癌転移巣及び局所再発巣に対する臓器特異性オステオカルシンプロモーターを組み込んだアデノウイルスベクター（Ad-OC-TK）及びパラシクロビルを用いた遺伝子治療臨床研究」

○委員会内規第3条第1項第1号委員

部会委員

基礎医学系の教授又は助教授のうちから5人以上

片岡徹	教授	副委員長	◎
寺島俊	教授		
奥村勝	教授		
饗場篤	教授		◎
堀田博	教授		

○内規第3条第1項第2号委員

臨床医学系の教授又は助教授のうちから3人以上

横野浩一	教授	委員長	◎（指定）
前田	教授		
中村肇	教授		
市橋正光	教授		
黒田嘉和	教授		◎
春日雅人	教授		◎
熊谷俊一	教授		

○内規第3条第1項第3号委員

法律に関する専門家1人以上

滝澤功治 弁護士

○内規第3条第1項第4号委員

生命倫理に関する学識経験者1人以上

神戸大学大学院法学研究科

丸山英二 教授

○内規第3条第1項第5号委員

提出された実施計画書の対象となる疾患に関する臨床医1人以上

三木市立三木市民病院

松本修 泌尿器科部長

◎

○文部科学省 告示第一号
厚生労働省

遺伝子治療臨床研究に関する指針を次のように定めたので公表する。

平成十四年三月二十七日

文部科学大臣 遠山 敦子
厚生労働大臣 坂口 力

遺伝子治療臨床研究に関する指針

目次

第一章 総則

第二章 被験者の人権保護

第三章 研究及び審査の体制

第四章 研究実施の手続

第五章 厚生労働大臣の意見等

第六章 雑則

第一章 総則

第一 目的

この指針は、遺伝子治療の臨床研究（以下「遺伝子治療臨床研究」という。）に関し遵守すべき事項を定め、もって遺伝子治療臨床研究の医療上の有用性及び倫理性を確保し、社会に開かれた形での適正な実施を図ることを目的とする。

第二 定義

一 この指針において「遺伝子治療」とは、疾病の治療を目的として遺伝子又は遺伝子を導入した細胞を人の体内に投与すること及び次の二に定める遺伝子標識をいう。

二 この指針において「遺伝子標識」とは、疾病の治療法の開発を目的として標識となる遺伝子又は標識となる遺伝子を導入した細胞を人の体内に投与することをいう。

三 この指針において「研究者」とは、遺伝子治療臨床研究を実施する者をいう。

四 この指針において「総括責任者」とは、遺伝子治療臨床研究を実施する研究者に必要な指示を行うほか、遺伝子治療臨床研究を総括する立場にある研究者をいう。

五 この指針において「実施施設」とは、遺伝子治療臨床研究が実施される施設をいう。

第三 対象疾患等

一 遺伝子治療臨床研究（遺伝子標識の臨床研究（以下「遺伝子標識臨床研究」という。）を除く。以下この第三で同じ。）の対象は、次のすべての要件に適合するものに限られるものとする。

1 重篤な遺伝性疾患、がん、後天性免疫不全症候群その他の生命を脅かす疾患又は身体の機能を著しく損なう疾患であること。

2 遺伝子治療臨床研究による治療効果が、現在可能な他の方法と比較して優れていることが十分に予測されるものであること。

3 被験者にとつて遺伝子治療臨床研究により得られる利益が、不利益を上回ることが十分予測されるものであること。

二 遺伝子標識臨床研究の対象は、次のすべての要件に適合するものに限られるものとする。

1 重篤な遺伝性疾患、がん、後天性免疫不全症候群その他の生命を脅かす疾患又は身体の機能を著しく損なう疾患であること。

2 遺伝子標識臨床研究により得られる医学的知見が、他の方法により得られるものと比較して優れていることが十分に予測されるものであること。

3 遺伝子標識臨床研究が、被験者に対し実施される治療に組み入れて実施できるものであること。

第四 有効性及び安全性

遺伝子治療臨床研究は、有効かつ安全なものであることが十分な科学的知見に基づき予測されるものに限られるものとする。

第五 品質等の確認

遺伝子治療臨床研究に使用される遺伝子その他の人に投与される物質については、医薬品の臨床試験の実施の基準に関する省令（平成九年厚生省令第二十八号）第十七条第一項において求められる水準に達している施設において製造され、その品質、有効性及び安全性が確認されているものに限られるものとする。

第六 生殖細胞等の遺伝的改変の禁止

人の生殖細胞又は胚（一の細胞又は細胞群であつて、そのまま人又は動物の胎内において発生の過程を経ることにより一の個体に成長する可能性のあるもののうち、胎盤の形成を開始する前のものをいう。以下同じ。）の遺伝的改変を目的とした遺伝子治療臨床研究及び人の生殖細胞又は胚の遺伝的改変をもたらすおそれのある遺伝子治療臨床研究は、行つてはならないものとする。

第七 適切な説明に基づく被験者の同意の確保

遺伝子治療臨床研究は、適切な説明に基づく被験者の同意（インフォームド・コンセント）が確実に確保されて実施されなければならないものとする。

第八 公衆衛生上の安全の確保

遺伝子治療臨床研究は、公衆衛生上の安全が十分確保されて実施されなければならないものとする。

第二章 被験者の人権保護

第一 被験者の選定

被験者の選定に当たつては、人権保護の観点から、病状、年齢、同意能力等を考慮し、慎重に検討されるものとする。

第二 被験者の同意

一 総括責任者又は総括責任者の指示を受けた医師である研究者（以下「総括責任者等」という。）は、遺伝子治療臨床研究の実施に際し、第三に掲げる説明事項を被験者に説明し、文書により自由意思による同意を得るものとする。

二 同意能力を欠く等被験者本人の同意を得ることが困難であるが、遺伝子治療臨床研究を実施することが被験者にとつて有用であることが十分に予測される場合には、当該被験者の法定代理人等被験者の意思及び利益を代弁できると考えられる者の文書による同意を得るものとする。この場合においては、当該同意に関する記録及び同意者と当該被験者の関係を示す記録を残すものとする。

第三 被験者に対する説明事項

総括責任者等は、第二の同意を得るに当たり次のすべての事項を被験者（第二の二に該当する場合にあつては、被験者の意思及び利益を代弁できると考えられる者）に対し十分な理解が得られるよう可能な限り平易な用語を用いて説明するものとする。

一 遺伝子治療臨床研究の目的、意義及び方法

二 遺伝子治療臨床研究により予測される効果及び危険

三 他の治療法の有無、内容並びに当該治療法により予測される効果及び危険

四 被験者が遺伝子治療臨床研究の実施に同意しない場合であっても何ら不利益を受けることはないこと。

- 五 被験者が遺伝子治療臨床研究の実施に同意した場合であっても随時これを撤回できること。
- 六 その他被験者の人権の保護に関し必要な事項

第三章 研究及び審査の体制

第一 研究者

- 一 研究者（総括責任者を除く。）は、総括責任者を補助し遺伝子治療臨床研究の実施計画に関する資料を作成するとともに、当該計画を実施し、総括責任者に対し必要な報告を行うものとする。
- 二 研究者は、遺伝子治療臨床研究を適正に実施するために必要な専門的知識又は臨床経験を有する者とする。

第二 総括責任者

- 一 総括責任者は、次の業務を行うものとする。

- 1 遺伝子治療臨床研究の実施に関して内外の入手し得る資料及び情報に基づき、遺伝子治療臨床研究の医療上の有用性及び倫理性について検討すること。
- 2 1の検討の結果に基づき、遺伝子治療臨床研究の実施計画を記載した書類（以下「実施計画書」という。）を作成し、実施施設の長の了承を求めること。
- 3 遺伝子治療臨床研究を総括し、研究者に必要な指示を行うこと。
- 4 遺伝子治療臨床研究が実施計画書に従い適切に実施されていることを随時確認すること。
- 5 遺伝子治療臨床研究の進捗状況及び結果に関し、実施施設の長及び審査委員会に対し必要な報告を行うこと。
- 6 1から5までに定めるもののほか、遺伝子治療臨床研究を総括するに当たって必要となる措置を講ずること。

- 二 総括責任者は、一の遺伝子治療臨床研究について一名とし、一に掲げる業務を適確に実施できる者とする。

第三 実施施設

実施施設は、次のすべての要件を満たすものとする。

- 一 十分な臨床観察及び検査並びにこれらの結果の分析及び評価を行うことができる人的能力及び施設機能を備えたものであること。
- 二 被験者の病状に応じた必要な措置を採ることができる人的能力及び施設機能を備えたものであること。

- 三 審査委員会が置かれているものであること。

第四 実施施設の長

実施施設の長は、次の業務を行うものとする。

- 一 総括責任者から遺伝子治療臨床研究の実施（当該遺伝子治療臨床研究の重大な変更を含む。第四章第三を除き、以下同じ。）の了承を求められた際に、遺伝子治療臨床研究の実施について審査委員会及び厚生労働大臣に意見を求めるとともに、当該意見に基づき必要な指示を与え、実施を了承すること。

- 二 遺伝子治療臨床研究の進捗状況及び結果について、総括責任者又は審査委員会から報告又は意見を受け、必要に応じ、総括責任者に対しその留意事項、改善事項等に関して指示を与え、ともに厚生労働大臣に対し報告を行うこと。

- 三 総括責任者から受理した総括報告書の写しを速やかに厚生労働大臣に提出すること。

- 四 被験者の死亡その他遺伝子治療臨床研究の実施に際して生じた重大な事態及び遺伝子治療臨床研究の実施に影響を及ぼすおそれがある情報について、速やかに厚生労働大臣に報告すること。

- 五 実施施設が大学、大学共同利用機関又は文部科学大臣が所管する法人であつて、法律により直

接に設立された法人若しくは民法（明治二十九年法律第八十九号）第三十四条の規定により設立された法人（以下「大学等」という。）である場合においては、一から四までに掲げるもののほか、一の規定による意見の求めの写しを文部科学大臣に提出するとともに、二及び四の規定による報告並びに三の規定による提出を文部科学大臣に対しても行うこと。

第五 審査委員会

一 審査委員会は、次の業務を行うものとする。

- 1 実施計画書等に基づき、当該遺伝子治療臨床研究の実施についてこの指針に即し審査を行い、その適否及び留意事項、改善事項等について、実施施設の長に対し意見を提出するとともに、当該審査の過程の記録を作成し、これを保管すること。
- 2 遺伝子治療臨床研究の進行状況及び結果について報告を受け、必要に応じて調査を行い、その留意事項、改善事項等について実施施設の長に対し、意見を提出すること。

二 審査委員会は、次のすべての要件を満たすものとする。

- 1 審査委員会は、遺伝子治療臨床研究の実施に関する医療上の有用性及び倫理性を総合的に審査できるよう分子生物学、細胞生物学、遺伝学、臨床薬理学、病理学等の専門家、遺伝子治療臨床研究の対象となる疾患に係る臨床医、法律に関する専門家及び生命倫理に関する意見を述べるにふさわしい識見を有する者を含めて構成されるものであること。
- 2 審査委員会は、男性委員及び女性委員双方から構成され、複数の外部委員を含むものとすること。

- 3 審査委員会における審査が公正に行われるよう審査委員会の活動の自由及び独立が保障されていること。なお、実施計画書を提出している研究者は、審査委員会の求めに応じてその会議に出席し、説明する場合を除き、当該遺伝子治療臨床研究に関する審査に参加できないものであること。

- 4 審査委員会の構成、組織及び運営並びに公開その他遺伝子治療臨床研究の審査に必要な手続に関する規則が定められ、公開されているものであること。

- 5 審査委員会による審査の過程は、記録を作成してこれを保管し、個人の情報、研究の独創性及び知的財産権の保護に支障を生じるおそれのある事項を除き公開すること。

第四章 研究実施の手続

第一 研究の開始の手続

- 一 総括責任者は、遺伝子治療臨床研究を実施するに当たっては、あらかじめ実施計画書を作成し、実施施設の長の了承を得るものとする。

二 一の実施計画書には、次の事項を記載するものとする。

- 1 遺伝子治療臨床研究の名称
- 2 総括責任者及びその他の研究者の氏名並びに当該遺伝子治療臨床研究において果たす役割
- 3 実施施設の名称及びその所在地
- 4 遺伝子治療臨床研究の目的
- 5 対象疾患及びその選定理由
- 6 遺伝子の種類及びその導入方法
- 7 安全性についての評価
- 8 遺伝子治療臨床研究の実施が可能であると判断した理由
- 9 遺伝子治療臨床研究の実施計画
- 10 その他必要な事項

三 一の実実施計画書には、次の資料を添付するものとする。

- 1 研究者の略歴及び研究業績
- 2 実施施設の施設設備の状況

- 3 実施施設における当該遺伝子治療臨床研究に関する培養細胞、実験動物を用いた研究成果
- 4 遺伝子治療臨床研究に関連する実施施設以外の内外の研究状況

- 5 その他必要な資料

四 実施計画書には、その概要を可能な限り平易な用語を用いて記載した要旨を添付するものとする。

第二 研究中の手続

総括責任者は、遺伝子治療臨床研究の進行状況を審査委員会及び実施施設の長に随時報告するものとする。

第三 研究の終了の手続

総括責任者は、遺伝子治療臨床研究の終了後直ちに次の事項を記載した総括報告書を作成し、実施施設の長に対し提出するものとする。

- 一 遺伝子治療臨床研究の目的及びその実施期間
- 二 総括責任者及びその他の研究者の氏名
- 三 実施施設の名称及び所在地
- 四 遺伝子治療臨床研究の実施方法
- 五 遺伝子治療臨床研究の結果及び考察
- 六 その他必要な事項

第五章 厚生労働大臣の意見等

第一 厚生労働大臣の意見

一 厚生労働大臣は、実施施設の長の求めに応じ、あらかじめ当該実施施設における遺伝子治療臨床研究の実施に関し意見を述べるものとする。

二 実施施設の長は、第三章第四の一に基づき厚生労働大臣に対し意見を求めるに当たって、次の書類を提出するものとする。

- 1 実施計画書及び当該実施計画書に添付する資料
- 2 審査委員会における審査の過程及び結果を示す書類
- 3 第三章第五の二の4に定める規則

三 厚生労働大臣は、二に基づき意見を求められた場合において、複数の有識者の意見を踏まえ、当該遺伝子治療臨床研究が次に掲げる事項のいずれかに該当すると判断するときは、当該遺伝子治療臨床研究の医療上の有用性及び倫理性について厚生科学審議会の意見を聴くものとする。

1 新規のベクター（疾病の治療のための遺伝子が組み込まれたDNA又はこれを含むウイルスその他の粒子であつて、当該遺伝子を細胞内に導入する際に用いられるものをいう。）又は新規の遺伝子投与方法を用いていること。

2 新規の疾病を対象としていること。

3 新規の遺伝子治療方法を用いていること（一又は二に該当するものを除く。）。

4 その他個別の審査を必要とするような事項を含んでいること。

四 厚生労働大臣は、三の規定による厚生科学審議会からの意見の聴取が必要ないと判断する場合には、意見を求められた日から三十日以内に、当該遺伝子治療臨床研究の実施に関し意見を述べるものとする。

第二 重大な事態等に係る厚生労働大臣の意見

厚生労働大臣は、第三章第四の四に基づき実施施設の長から報告を受けた場合には、必要に応じ、

遺伝子治療臨床研究に関して意見を述べるものとする。

第三 厚生労働大臣の調査等

厚生労働大臣は、第一の一又は第二の意見を述べるときその他必要があると認めるときは、実施施設の長に対し第一の三に定める書類以外の資料の提出を求めるとともに、当該実施施設の長の承諾を得て当該実施施設の調査その他必要な調査を行うものとする。

第四 文部科学大臣への連絡

厚生労働大臣は、実施施設が大学等である場合においては、第一の一又は第二の規定による意見を記載した書面の写しを文部科学大臣に送付するものとする。

第六章 雑則

第一 記録の保存

実施施設の長は、遺伝子治療臨床研究に関する記録に関し、保管責任者を定め、適切な状態の下で、研究終了後少なくとも五年間保存しなければならないものとする。

第二 秘密の保護

研究者、審査委員会の委員、実施施設の長その他研究に携わる関係者は、遺伝子治療臨床研究を行う上で知り得た個人に関する秘密を正当な理由なく漏らしてはならないものとする。その職を辞した後も同様とする。

第三 情報の公開

実施施設の長は、計画又は実施している遺伝子治療臨床研究に関する情報の適切かつ正確な公開に努めるものとする。

第四 啓発普及

研究者は、あらゆる機会を利用して遺伝子治療臨床研究に関し、情報の提供等啓発普及に努めるものとする。

第五 適用除外

第二章から第五章まで及び本章第二及び第四の規定は、薬事法（昭和三十五年法律第四百十五号）に定める治験に該当する遺伝子治療臨床研究については、適用しない。

第六 施行期日等

一 この指針は、平成十四年四月一日から施行する。

二 遺伝子治療臨床研究に関する指針（平成六年厚生省告示第二十三号）及び大学等における遺伝子治療臨床研究に関するガイドライン（平成六年文部省告示第七十九号）（三において「旧指針等」という。）は、廃止する。

三 この指針の施行前に旧指針等の規定によってした手続その他の行為であつて、この指針に相当の規定があるものは、この指針の相当の規定によってしたものとみなす。