

遺伝子治療等臨床研究に関する実施施設からの報告について

【 岡山大学病院 】

課題名 : 悪性胸膜中皮腫に対する Reduced Expression in
Immortalized Cells/Dickkopf-3 遺伝子発現アデノウイルスベ
クターを用いた遺伝子治療臨床研究

○ 重大事態等報告書 P. 1

【 三重大学医学部附属病院 】

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

○ 重大事態等報告書 P. 9

遺 伝 子 治 療 等 臨 床 研 究 重 大 事 態 等 報 告 書

平成 28 年 3 月 25 日

厚生労働大臣 殿

研 究 機 関	所 在 地	岡山県岡山市北区鹿田町 2-5-1 (郵便番号 700-8558)
	名 称	岡山大学病院 (電話番号 086-233-7151) (FAX番号 086-235-6761)
	代 表 者 役職名・氏名	岡山大学病院長 榎野 博史 (職印)

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

記


遺 伝 子 治 療 等 臨 床 研 究 の 課 題 名	研 究 責 任 者 の 所 属 ・ 職 ・ 氏 名
悪性胸膜中皮腫に対する Reduced Expression in Immortalized Cells/Dickkopf-3 遺伝子発現アデノウイルスベクターを用いた遺伝子治療臨床研究	岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 臨床遺伝子医療学・教授・豊岡 伸一

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

1. 基本情報

研究の名称	悪性胸膜中皮腫に対する Reduced Expression in Immortalized Cells/Dickkopf-3 遺伝子発現アデノウイルスベクターを用いた遺伝子治療臨床研究
研究実施期間	平成26年 3月 4日 から 最終症例の治療終了後5年間
多施設共同臨床研究	該当 <input type="checkbox"/> 非該当 <input checked="" type="checkbox"/>

2. 研究責任者及び研究機関に関する情報

研究責任者	所属部局の所在地	岡山県岡山市北区鹿田町2-5-1 (郵便番号 700-8558)	
	所属機関・部局・職	岡山大学・大学院医歯薬学総合研究科臨床遺伝子医療学・教授	
	氏名	豊岡 伸一	
研究機関	所在地	岡山県岡山市北区鹿田町2-5-1 (郵便番号 700-8558)	
	名称	岡山大学病院	
	連絡先	岡山県岡山市北区鹿田町2-5-1 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科呼吸器・乳腺内分泌外科 (電話番号 086-235-7265)	
研究責任者以外の研究者	氏名	所属機関・部局・職	役割
	宗 淳一	岡山大学病院 呼吸器外科 講師	患者の選定、患者への説明及び同意の取得、ベクターの投与、臨床観察、臨床効果判定
	山根正修	岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 医学教育リノベーションセンター 准教授	患者の選定、患者への説明及び同意の取得、ベクターの投与、臨床観察、基礎的効果判定
	大藤剛宏	岡山大学病院 臓器移植医療センター 教授	患者への説明及び同意の取得、ベクターの投与、臨床観察
	三好新一郎	岡山大学大学院医歯薬学総合研究科呼吸器・乳腺内分泌外科学 教授	患者の選定、臨床観察、臨床効果判定
	堀田勝幸	岡山大学病院 呼吸器・アレルギー内科 助教	患者の選定、患者への説明及び同意の取得、ベクター投与、臨床効果判定
	田端雅弘 木浦勝行	岡山大学病院 腫瘍センター 准教授 岡山大学病院 呼吸器・アレルギー内科 教授	患者の選定、臨床効果判定、臨床観察 患者の選定、臨床観察、基礎的効果判定、臨床効果判定

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

3. 総括責任者及び総括責任者が所属する研究機関に関する情報（多施設共同臨床研究に該当する場合は、以下の項目を記載すること。）

総括責任者	所属部局の所在地	(郵便番号)
	所属機関・部局・職	
	氏 名	
研究機関	所 在 地	(郵便番号)
	名 称	
	連 絡 先	(電話番号)

4. 総括責任者以外の研究責任者及び当該研究責任者が所属する研究機関に関する情報（多施設共同臨床研究に該当する場合は、以下の項目を記載すること。）

研究責任者①	所属部局の所在地	(郵便番号)
	所属機関・部局・職	
	氏 名	
研究機関①	所 在 地	(郵便番号)
	名 称	
	連 絡 先	(電話番号)

5. 倫理審査委員会の見解

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

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

6. 重大事態等の概要

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

未だに禁止されておらず、早晚、大量の患者が発生すると考えられている。

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

(REIC/Dickkopf-3 による遺伝子治療に関する現時点での知見)

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

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

選択的細胞死による直接的な抗腫瘍効果のみならず、REIC 遺伝子により産生される分泌型 REIC タンパクは、樹状細胞様細胞の分化誘導能を有している。このことは、Ad-REIC による局所遺伝子治療は、腫瘍局所において選択的細胞死の結果生じる‘がん細胞膜断片(がん抗原)’の樹状細胞様細胞への取込みによる特異的な細胞傷害性 T 細胞を誘導するという、自己がんワクチン化のための最適環境を構築する治療法として位置づけることができる。さらに、Ad-REIC の局所腫瘍内投与は、腫瘍組織内間質細胞などからの Interleukin-7 (IL-7) の産生による NK 細胞の活性化も同時に惹起されることから、これらの相乗的な抗がん免疫の賦活化作用の結果として、局所がん病巣のみならず遠隔転移病巣への顕著な治療効果が存在することが動物実験において実証されている(6-3-4-3. 前立腺がんでの基礎的研究に詳細を記載)。これらの研究を踏まえ前立腺がんを対象とした臨床研究はすでに実施承認されている(平成 23 年 1 月 25 日実施)。

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

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

	<p>以上のように、悪性胸膜中皮腫は現存の治療薬だけでは十分な有用性が得られていないこと、悪性胸膜中皮腫においてREICの発現が90%以上の症例において抑制されていることさらに前臨床研究 (<i>in vitro</i>, <i>in vivo</i>) における安全性、有効性に関する良好な結果より、悪性胸膜中皮腫に対するREIC/Dkk-3遺伝子治療は効果が期待されると考え、アデノウイルスベクターによりREIC/Dkk-3遺伝子を直接がん細胞に導入する遺伝子治療臨床研究を計画した。</p>
実施方法	<p>岡山大学病院総合診療棟 IVR-CT 室にて局所麻酔を施行し、REIC/Dkk-3 遺伝子発現アデノウイルスベクターの溶液を CT ガイド下に胸水貯留を認める胸腔内、あるいは評価可能な1病変部に注入する。ウイルスベクター溶液量は胸腔内注入の場合 50ml とし、腫瘍内へは 1-2 ml とする。なお、胸腔内注入の際は胸腔内にカテーテルチューブを挿入し、可能な限り胸水を排出したのち、50 ml のアデノウイルスベクター溶液を注入する。</p>
重大事態等の発生時期	<p>REIC 遺伝子発現アデノウイルスベクター投与から 6 週間後の 2015 年 11 月 17 日</p> <p>治療前より Hgb 10.0g/dl と軽度の貧血を認めていたが、治療 3 週目より炎症所見に伴って、徐々に貧血の進行を認めていた。夕方の発熱と倦怠感を認め、近医での採血で Hb 7.2g/dl と貧血の進行を指摘され、11 月 17 日 (治療後 6 週間) 岡山大学病院を紹介受診した。Hgb 5.2g/dl と高度な貧血の進行と炎症所見、アルブミンの低値を認めため、精査、加療目的に入院を勧めたが、本人と家族の希望で翌日の 11 月 18 日に入院となった。入院と考えられる事態の発生日は、再入院の必要性が判断された 11 月 17 日となる。</p>
重大事態等の内容及びその原因	<p>内容：貧血の進行 (最低値 Hgb 5.2g/dl：有害事象の評価指標 Grade4)・炎症反応 (白血球、CRP 高値) の遷延・アルブミン低値</p> <p>経過：</p> <p>患者は 70 歳女性で、腹膜にも病変があったため手術適応とはならず、ペメトレキセドを含む化学療法にも不応となり、他の化学療法も希望されなかったため、2015 年 10 月 1 日、遺伝子治療臨床研究審査委員会 安全・効果評価・適応判定部会で本試験の適応承認を受けた。</p> <p>2015 年 10 月 5 日 岡山大学病院に入院し、10 月 6 日 IVR-CT 室で遺伝子治療を施行した。治療に先立ち、スクリーニングの CT を施行したところ、極少量の右胸水が出現していた。右胸腔内腫瘍のうち、前胸壁の長径 44.8mm の腫瘍に REIC/Dkk-3 遺伝子発現アデノウイルスベクター製剤を投与。投与量レベル 1 である 1.0×10^{11} vp (virus particles) を注入し、10 月 14 日に退院した。</p> <p>入院中に発熱 (10 月 8 日が最高 39.0 度：有害事象の評価指標 Grade2) を認めたが、アセトアミノフェン内服で対応し、一度解熱していた。感染性胸水を否定するため、10 月 11 日に右胸水穿刺を施行し、漿液性の胸水を採取した。培養に提出したが、細菌は検出されなかった。しかし、細胞診で Class IV であり、悪性胸水と考えた。</p> <p>別の有害事象として、肝酵素 (AST、ALT) 上昇 (10 月 12 日が最悪 AST 100IU/l、ALT 66 IU/l Grade2) を認めたが、強力ネオミノファーゲンシー静注のみで軽快している。</p> <p>退院後より、徐々に貧血と炎症所見の進行、アルブミンの低下を認めた。具体的な数値は下表の通りである。</p> <p>2015 年 10 月 20 日外来では発熱を認めず、炎症所見、肝酵素とも軽快傾向であった。10 月 27 日外来で CRP 15.99 と上昇を認めたが、軽度の頭痛以外に身体症状の乏しく、11 月 4 日に予定していた治療後腫瘍生検の際に精査を行う方針とした。</p> <p>2015 年 11 月 3 日岡山大学病院に入院の上、11 月 4 日に治療後腫瘍の CT ガイド下生検を施行した。生検前に施行した CT で右胸水の著明な増加と左胸水の出現を認め、翌日 (11 月 5 日) に施行した PET-CT では腹膜病変の進行も指摘された。生検の病理診断でも悪性胸膜中皮腫であり、壊死等の治療後変化は認めなかった。</p>

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

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

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

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

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

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

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

(注意)

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